



ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วิทยาศาสตรการอาหาร)

ปริญญา

วิทยาศาสตรการอาหาร

วิทยาศาสตรและเทคโนโลยีการอาหาร

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง การแยกสตาร์ชข้าวหักด้วยวิธีการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง และการแช่เยือกแข็งอุณหภูมิต่ำ

Starch Isolation from Broken Rice by High-Intensity Ultrasound and Deep Freezing

นามผู้วิจัย นางสาวราทิพย์ ประสิทธิ์นารายณ์

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์สงวนศรี เจริญเหรียญ, Ph.D.)

กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์มาศอุบล ทองงาม, Ph.D.)

กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์เสาวณีย์ เลิศวรสิริกุล, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ธนะบุลย์ สัจจานันตกุล, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญจนา วีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การแยกสตาร์ชข้าวหักด้วยวิธีการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง และการแช่เยือกแข็งอุณหภูมิต่ำ

Starch Isolation from Broken Rice by High-Intensity Ultrasound and Deep Freezing

โดย

นางสาวราทิพย์ ประสิทธิ์นารายณ์

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตรการอาหาร)

พ.ศ. 2552

วราทิพย์ ประสิทธิ์นารายณ์ 2552: การแยกสสารข้าวหักด้วยวิธีการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง และการแช่เยือกแข็งอุณหภูมิต่ำ ปรินญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การอาหาร) สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร ปรธานกรรมการที่ปรึกษา: รองศาสตราจารย์สงวนศรี เจริญเหรียญ, Ph.D. 136 หน้า

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อใช้คลื่นเสียงความถี่สูง (HIU) และการแช่เยือกแข็งอุณหภูมิต่ำ (DF) เป็นวิธีการเลือกใหม่ในการแยกสกัดสสารจากแป้งข้าวหัก แทนการสกัดด้วยสารเคมี โดยสภาวะที่ใช้ในการสกัด คือ การนำแป้งข้าวผสมน้ำ ในอัตราส่วน 1:2 มาผ่านการสกัดด้วยวิธี HIU ที่สภาวะ 50 70 และ 90 เปอร์เซนต์ แอมพลิจูด (%Amp) เป็นเวลา 15 30 และ 45 นาที การสกัดด้วยวิธี DF จำนวน 1 และ 6 รอบ และการสกัดด้วยวิธี HIU ร่วมกับการ DF จำนวน 6 รอบ พบว่า แต่ละทริทเมนต์ ที่สกัดด้วย HIU จะมีผลได้ของสสารที่แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) มีค่าอยู่ในช่วง 74.88 ถึง 80.12 เปอร์เซนต์ และมีค่าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญกับผลได้ของสสารที่สกัดด้วย HIU ที่ 70 %Amp เป็นเวลา 30 นาที ร่วมกับการ DF จำนวน 6 รอบ อย่างไรก็ตาม ผลได้ของสสารที่สกัดด้วย HIU มีค่าสูงกว่าสสารที่ได้จากการสกัดด้วยสารละลายต่าง การสกัดด้วย HIU ที่ 70 %Amp เป็นเวลา 45 นาที สามารถลดปริมาณโปรตีนของแป้งข้าวจาก 7.0 เหลือเพียง 0.88 เปอร์เซนต์ โดยมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) กับสสารข้าว ที่สกัดด้วยสารละลายต่าง และมีค่าปริมาณโปรตีน น้อยกว่าสสารที่สกัดด้วย HIU ร่วมกับการ DF การตรวจสอบโครงสร้างโดยกล้องคอนโฟคอล เลเซอร์สแกน ยืนยันการลดลงของปริมาณโปรตีน ในตัวอย่างที่ผ่าน HIU นอกจากนี้ปริมาณสสารที่เสียหายจากการใช้ HIU เพิ่มขึ้นเมื่อ %Amp และเวลาเพิ่มสูงขึ้น และที่ 70 %Amp เป็นเวลา 45 นาที จะมีสสารที่เสียหายใกล้เคียงกับสสารข้าวที่สกัดได้จากสารละลายต่าง จากคุณสมบัติด้านความหนืด พบว่าเมื่อ %Amp และเวลาเพิ่มสูงขึ้น ค่าความหนืดสูงสุด ค่าความหนืดต่ำสุด และค่าความหนืดสุดท้ายลดลง ในขณะที่ ค่าความหนืดที่ลดลง ค่าเซตแบค และค่าอุณหภูมิเริ่มต้นของความหนืด เพิ่มขึ้น ยกเว้นที่ 90 %Amp ที่มีค่าความหนืดสูงสุด ค่าความหนืดต่ำสุด ค่าความหนืดสุดท้าย ค่าความหนืดที่ลดลง และค่าเซตแบค ลดลง ในขณะที่ค่าอุณหภูมิเริ่มต้นของความหนืดเพิ่มขึ้น เนื่องจากที่สภาวะนี้สสารเกิดการเจลาติไนเซชัน และสภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดสสารข้าวหักคือ ที่สภาวะ 70 %Amp เป็นเวลา 45 นาที เนื่องจากมีปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่และสสารที่เสียหายใกล้เคียงกับสสารที่สกัดด้วยสารละลายต่างมากที่สุด นอกจากนี้การสกัดด้วย HIU ยังสามารถลดปริมาณน้ำเสีย และระยะเวลาในการสกัดได้ดีกว่าวิธีการใช้สารละลายต่างอีกด้วย

Varatip Prasitnarai 2009: Starch Isolation from Broken Rice by High Intensity-Ultrasound and Deep Freezing. Master of Science (Food Science), Major Field: Food Science, Department of Food Science and Technology. Thesis Advisor: Associate Professor Sanguansri Charoenrein, Ph.D. 136 pages.

The purposes of this study were to use High-intensity ultrasound (HIU) and deep freezing (DF) as an alternative method to isolate rice starch from broken rice instead of using chemical extraction. Anyhow, suitable condition for extraction was bringing 1:2 ratios of rice flour slurry through extraction by HIU at 50, 70 and 90%amplitude for 15 30 and 45 min. The isolation by 1 and 6 cycles deep freezing (DF) and by HIU together with 6 cycles DF found that the results of each HIU treatment showed that their starch yields were not significantly different ($p > 0.05$) and varied from 74.88 to 80.12% and were not significantly different with starch isolation by HIU treatment at 70% amplitude for 30 min combination with 6 cycles DF. However, the starch yields by HIU treatment were significantly higher than alkaline extraction method. The HIU at 70% amplitude for 45 min could reduce protein content of rice flour from 7.0% to 0.88% which was not significantly different ($p > 0.05$) with protein content of rice starch by alkaline extraction method which had protein content below starch isolation by HIU treatment combination with DF method. The structural examination by confocal laser scanning microscopy confirmed the decreasing protein content of HIU treated samples. In addition, the damage starch of HIU treated samples gradually increased when %amplitude and time increased and at 70%amplitude for 45 min had the degree of damage starches similar to rice starch by alkaline extraction method. For pasting properties, the result found that when %amplitude and time increased, peak, trough and final viscosity decreased while breakdown, setback and peak temperature increased except at 90% amplitude that has peak, trough and final viscosity, breakdown and setback decreased. While peak temperature increased because at this condition, there was gelatinization in rice starch and the best condition for isolating broken rice starch was at 70% amplitude for 45 min that had protein content and damage starches similar to rice starch isolation by alkaline extraction method. Moreover, HIU method could more reduce the amount of waste water and time length used in isolation than alkaline extraction method.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

____ / ____ / ____

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จได้ด้วยความช่วยเหลือเป็นอย่างมากจาก รองศาสตราจารย์ ดร. สงวนศรี เจริญเหรียญ ที่ได้ให้เกียรติเป็นประธานกรรมการที่ปรึกษา และกรุณาให้คำแนะนำ ข้อคิดเห็นแนวทางในการแก้ไขปัญหา ความเมตตาและเอาใจใส่ ตลอดจนการตรวจสอบและแก้ไข วิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มาศอุบล ทองงาม กรรมการที่ปรึกษาวิชาเอก และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เสาวณีย์ เลิศวรสิริกุล กรรมการที่ปรึกษาวิชาการ และรองศาสตราจารย์ ดร.สาวิตรี จันทรานุกรักษ์ ผู้แทนบัณฑิตที่กรุณาตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น ขอขอบคุณ สถาบันวิจัยและพัฒนา (สวพ.) ที่ให้ทุนอุดหนุน โครงการวิจัยทุนอุดหนุนวิจัย มก. ภายใต้ชุด โครงการวิจัยเพื่อพัฒนาหน่วยปฏิบัติการวิจัยเชี่ยวชาญเฉพาะ (SRU) ซึ่งได้นำมาเป็นค่าใช้จ่ายในการดำเนินการวิจัย ตั้งแต่ปีงบประมาณ 2548 ถึงปีงบประมาณ 2549 และขอขอบพระคุณผู้ช่วย ศาสตราจารย์ ดร.มาศอุบล ทองงาม ที่ให้ความรู้และคำแนะนำในการใช้เครื่อง Confocal laser scanning micrographs เป็นอย่างดี ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่หน่วยงานกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ที่ได้ให้คำแนะนำตลอดจนให้ความช่วยเหลือในการใช้เครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับการทำวิทยานิพนธ์ ขอขอบคุณรุ่นพี่ และรุ่นน้องนิสิตปริญญาตรี โท และเอก สาขาเทคโนโลยีการอาหารทุกท่านที่ให้คำแนะนำ ช่วยเหลือเป็นอย่างดี ขอขอบคุณเพื่อนๆ ทุกคนที่คอยเป็นกำลังใจ ห่วงใย และให้คำปรึกษา ที่ดีตลอดระยะเวลาของการศึกษาและการทำวิจัย ขอขอบคุณ คุณไกรฤกษ์ ศิลาคม ที่ช่วยตรวจสอบ ความถูกต้อง แบบฟอร์มวิทยานิพนธ์ รวมทั้งให้สติและปัญญา อันเป็นแนวทางในการแก้ไขปัญหา และอุปสรรคต่างๆ ให้ผ่านพ้นไปได้ด้วยดี

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณบิดามารดา ที่ให้การอบรมเลี้ยงดู ให้ความช่วยเหลือและ ส่งเสริม ตลอดจนให้ความรักความเมตตา กำลังใจ และคำปรึกษาที่ดีตลอดมา รวมทั้งน้องสาวที่คอย เป็นห่วงให้กำลังใจ และอยู่เคียงข้างกันเสมอ หากวิทยานิพนธ์เล่มนี้สามารถเกิดประโยชน์ตาม สมควรแก่ผู้อ่านแล้ว ข้าพเจ้าของอุทิศคุณประโยชน์ทั้งหมดให้แก่บิดามารดา ผู้ให้การอุปการะเลี้ยงดู และครูอาจารย์ทุกท่านของข้าพเจ้า

วราทิพย์ ประสิทธิ์นารายณ์

ธันวาคม 2551

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	44
อุปกรณ์	44
วิธีการ	47
ผลและวิจารณ์	52
สรุปและข้อเสนอแนะ	93
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	95
ภาคผนวก	109
ภาคผนวก ก เครื่องคลื่นเสียงความถี่สูง	110
ภาคผนวก ข การวิเคราะห์องค์ประกอบและสมบัติทางเคมี	112
ภาคผนวก ค การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ	121
ภาคผนวก ง การวิเคราะห์สมบัติทางเคมีฟิสิกส์	124
ภาคผนวก จ กราฟผลการทดลอง	128
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	135

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	องค์ประกอบภายในเมล็ดธัญชาติชนิดต่างๆ ทั้งเมล็ด	5
2	ผลของเปอร์เซ็นต์ผลได้ และปริมาณความชื้นของแป้งข้าว และสตาร์ชข้าวที่สกัดด้วยวิธีทางกายภาพ และวิธีสกัดด้วยสารละลายต่าง	54
3	ปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่ และปริมาณสตาร์ชที่เสียหายของแป้งข้าวและสตาร์ชที่สกัดด้วยวิธีทางกายภาพและวิธีการที่ใช้สารละลายต่าง	57
4	การเกิดเจลลาทิโนเซชันของแป้งข้าวและสตาร์ชข้าวที่สกัดด้วยวิธีทางกายภาพ และวิธีการใช้สารละลายต่าง โดยใช้เครื่อง DSC	74
5	คุณสมบัติด้านความหนืด (pasting properties) ของสตาร์ช	77
5	(ต่อ) คุณสมบัติด้านความหนืด (pasting properties) ของสตาร์ช	78
6	ความเป็นผลึกสัมพัทธ์ของแป้งข้าว สตาร์ชที่สกัดด้วยวิธีทางกายภาพที่สภาวะต่างๆ และสตาร์ชที่สกัดโดยใช้สารละลายต่าง	88
7	ปริมาณและค่า pH ของน้ำทิ้งจากการกระบวนการสกัดสตาร์ชด้วยวิธีทางกายภาพ และวิธีสกัดโดยใช้สารละลายต่าง	89
8	เวลาที่ใช้ในการสกัดสตาร์ช	90
9	สมบัติทางเคมีและทางกายภาพของสตาร์ชข้าว	92
ตารางผนวกที่		
ข1	ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน	115

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 โครงสร้างโมเลกุลของเอมิโลเพกทิน	8
2 ลักษณะโปรตีนบอดี (protein body)	9
3 โครงสร้างของเอมิโลเพกทิน	11
4 แบบจำลองพื้นผิวของเม็ดแป้ง	13
5 การเปลี่ยนแปลงความหนืดของน้ำแป้ง 3 ระยะ	18
6 ลักษณะกราฟความหนืดและค่าตัวแปรต่างๆ ที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง RVA	20
7 ช่วงความถี่ของคลื่นเสียง	35
8 เครื่อง HIU หรือคลื่นอัลตราโซนิกแบบอ่าง	36
9 เครื่อง HIU หรือ อัลตราโซนิกแบบหัวโพรบ	37
10 การแตกตัวของฟองอากาศในของเหลว	38
11 การทำลายแรงดึงดูดระหว่างอนุภาค	41
12 CLSM ของสตาร์ชข้าวที่สกัดด้วย HIU ที่สภาวะต่างๆ	61
13 CLSM ของแป้งข้าวและสตาร์ชที่สกัดด้วยสารละลายต่าง	62
14 CLSM ของสตาร์ชข้าวที่สกัดด้วย DF และ HIU ร่วมกับการ DF ที่สภาวะต่างๆ	64
15 CLSM ของแป้งข้าวและสตาร์ชที่สกัดด้วยสารละลายต่าง	66
16 SEM ของแป้งข้าว สตาร์ชที่สกัดด้วย HIU และสตาร์ชที่สกัดด้วยสารละลายต่าง	67
17 SEM ของสตาร์ชข้าวที่สกัดด้วย HIU ที่สภาวะ 50 70 และ 90 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 30 นาที	68
18 SEM ของสตาร์ชข้าวที่สกัดด้วย HIU ที่สภาวะ 90 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 30 และ 45 นาที	69
19 SEM ของสตาร์ชข้าวที่สกัดด้วย HIU และ DF เพียงอย่างเดียว และสตาร์ชที่สกัดด้วย HIU ร่วมกับ DF	71

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่	หน้า
ก1 เครื่องคลื่นเสียงความถี่สูง	111
ข1 ปริมาณแอมิโลสและค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน	116
จ1 กราฟการเกิดเจลลาติโนเซชันของแป้งข้าว สดาร์ชที่สกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง และสดาร์ชที่สกัดด้วยสารละลายต่าง โดยใช้เครื่อง DSC	129
จ2 กราฟการเกิดเจลลาติโนเซชันของแป้งข้าว สดาร์ชที่สกัดด้วยการแช่เยือกแข็ง อุณหภูมิต่ำ และสดาร์ชที่สกัดด้วยสารละลายต่าง โดยใช้เครื่อง DSC	130
จ3 กราฟการเกิดเจลลาติโนเซชันของแป้งข้าว สดาร์ชที่สกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง ร่วมกับการแช่เยือกแข็งอุณหภูมิต่ำ และสดาร์ชที่สกัดด้วยสารละลายต่าง โดยใช้ เครื่อง DSC	130
จ4 กราฟคุณสมบัติด้านความหนืด (Pasting properties) ของแป้งข้าว, สดาร์ชข้าวที่ สกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงที่เวลาและแอมพลิจูดต่างกัน และสารละลายต่าง โดยใช้ เครื่อง RVA	131
จ5 กราฟคุณสมบัติด้านความหนืด (Pasting properties) ของแป้งข้าว, สดาร์ชข้าวที่ สกัดด้วย การแช่เยือกแข็งอุณหภูมิต่ำ และสารละลายต่าง โดยใช้เครื่อง Rapid Visco Analyzer	132
จ6 กราฟคุณสมบัติด้านความหนืด (Pasting properties) ของแป้งข้าว, สดาร์ชข้าวที่ สกัดด้วย คลื่นเสียงความถี่สูงร่วมกับการแช่เยือกแข็งอุณหภูมิต่ำ และสารละลาย ต่าง โดยใช้เครื่อง Rapid Visco Analyzer	133
จ7 กราฟความเป็นผลึกสัมพัทธ์ของแป้งข้าว สดาร์ชที่สกัดด้วยวิธีทางกายภาพที่ สภาวะต่างๆ และสดาร์ชที่สกัดด้วยสารละลายต่าง	134

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

HIU	คลื่นเสียงความถี่สูง
DF	การแช่เยือกแข็งอุณหภูมิต่ำ
CLSM	เครื่อง Confocal laser scanning micrographs
SEM	เครื่อง Scanning electron micrograph
DSC	เครื่อง Differential Scanning Calorimeter
RVA	เครื่อง Rapid Visco Analyzer
PT	อุณหภูมิที่เริ่มเกิดความหนืด
PV	ความหนืดสูงสุด
BD	ความหนืดลดลง
PV	ความหนืดสุดท้าย
SB	เซตแบบค

การแยกสสารข้าวหักด้วยวิธีการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง และการแช่เยือกแข็งอุณหภูมิต่ำ

Starch Isolation from Broken Rice by High-Intensity Ultrasound and Deep Freezing

คำนำ

ข้าวหักหรือปลายข้าวขาวดอกมะลิ 105 เป็นผลพลอยได้จากการขัดสีข้าว มีราคาถูก เนื่องจากไม่นิยมนำมาหุงบริโภค และไม่สามารถนำไปเป็นวัตถุดิบในการผลิตอาหารเส้น เพราะมีปริมาณแอมิโลสต่ำ ดังนั้นการนำข้าวหักขาวดอกมะลิ 105 มาใช้ประโยชน์ จะเป็นการเพิ่มมูลค่าในการผลิตข้าว และเป็นการใช้ประโยชน์จากผลพลอยได้อีกด้วย

ในปัจจุบันสสารข้าวกำลังเป็นที่ต้องการของตลาดทั้งในและต่างประเทศ เนื่องจากไม่มีโปรตีนกลูเตน จึงทำให้ย่อยง่าย สามารถใช้เป็นวัตถุดิบในอาหารทารกได้ดี นอกจากนี้ยังมีขนาดอนุภาคที่ละเอียดมาก จึงมีการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมผลิตเครื่องสำอาง กระดาษ และขนมหวาน เป็นต้น ในกระบวนการผลิตสสารข้าวซึ่งเป็นการแยกโปรตีนภายในแป้งออกนั้น นิยมใช้ผงโซเดียมไฮดรอกไซด์ในการสกัดแยกสสารจากแป้งข้าว (Wang and Wang, 2004b) เนื่องจากเป็นวิธีที่ง่ายและมีผลได้ (yield) สูง (Han and Hamaker, 2002) แต่กระบวนการดังกล่าวทำให้เกิดน้ำเสียที่มีความเข้มข้นของด่างและเกลือสูง ดังนั้นในโรงงานอุตสาหกรรมสกัดสสารจึงต้องมีบ่อบำบัดน้ำเสียก่อนปล่อยทิ้งลงสู่แหล่งน้ำตามธรรมชาติ โดยในแต่ละปีโรงงานอุตสาหกรรมเหล่านี้ต้องเสียค่าใช้จ่ายในการบำบัดน้ำเสียที่ได้จากการใช้ด่างในการสกัดสสารเป็นจำนวนมาก (Hatairat *et al.*, 2005)

Lumdubwong and Seib (2000) ได้นำเอนไซม์โปรตีเอสมาประยุกต์ใช้กับการสกัดด้วยด่างในการแยกสสารจากแป้งข้าว เพื่อลดปริมาณการเกิดน้ำเสียที่มีความเข้มข้นของด่างและเกลือสูงจากกระบวนการผลิต แต่อย่างไรก็ตามวิธีนี้ได้แค่ลดปริมาณน้ำเสียลงได้บ้างเท่านั้น Wang and Wang (2001) ได้ทดลองนำเอนไซม์โปรตีเอสมาใช้ในการสกัดสสารจากแป้งข้าว พบว่าสามารถสกัดได้ที่อุณหภูมิห้อง แต่ต้องใช้เวลาจนถึง 18 ชั่วโมงในการเกิดปฏิกิริยา เพื่อให้ได้ผลได้สูง และมีปริมาณโปรตีนเหลืออยู่น้อย ในปัจจุบันได้มีการเริ่มนำคลื่นเสียงความถี่สูง (high-intensity ultrasound, HIU) หรือในบางครั้งเรียกว่า อัลตราโซนิก (ultrasonic) มาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น การทำอิมัลชัน การสกัด การกำจัดแก๊สออก (degassing) การกรอง และการทำแห้ง

(Mason, 1990; Leadley and Williams, 2002) HIU จะส่งผ่านพลังงานไปยังตัวกลางที่เป็นของเหลว (Wang and Wang, 2004a) ทำให้เกิดฟองเล็กๆ จำนวนมากและทำให้บริเวณรอบๆ นั้นเกิดอุณหภูมิและความดันสูงขึ้น ส่งผลให้เซลล์เมมเบรนแตกและผนังเซลล์ฉีกขาด (Scherba *et al.*, 1991) เมื่อฟองเหล่านี้เกิดการแตกสลาย (Wang and Wang, 2004b) นอกจากนี้ยังมีการนำ HIU มาช่วยเพิ่มการละลายน้ำ (solubilize) ของสสารพืช ซึ่งได้มีการศึกษาโดยใช้สสารข้าวโพดและข้าวฟ่างเป็นตัวอย่าง (Jackson *et al.*, 1988, 1989) สำหรับการนำ HIU มาใช้ในการสกัดแยกสสารจากแป้งข้าว ยังมีการศึกษาไม่มากนัก

นอกจากนี้ในปี ค.ศ. 2003 Szymonska *et al.* (2003a) ได้ศึกษาพบว่าการแช่เยือกแข็งอุณหภูมิต่ำ และทำละลาย (deep freezing-thawing, deep freezing, DF) ยังทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะของผิวภายนอกและโครงสร้างภายในของเมล็ดแป้งซึ่งมีผลต่อคุณสมบัติในการละลายและการอุ้มน้ำของแป้งเล็กน้อย การเปลี่ยนแปลงลักษณะ โครงสร้างภายนอกของเมล็ดแป้งอาจทำให้โปรตีนที่เกาะอยู่บริเวณผิวกะเทาะ หรือหลุดออกไปได้

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงศึกษาวิธีการสกัดสสารข้าวด้วยวิธีทางกายภาพ โดยใช้ HIU และการ DF ในการสกัดเพื่อลดปัญหาน้ำเสีย และระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาวิธีและสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารขี้ขาว ด้วยวิธีทางกายภาพ คือ การใช้คลื่นเสียงความถี่สูง และการแช่เยือกแข็งอุณหภูมิต่ำ
2. เพื่อเปรียบเทียบข้อได้เปรียบและสมบัติของสาร ระหว่างสารขี้ขาวที่สกัดด้วยวิธีทางกายภาพที่เหมาะสม และคัดเลือกแล้วจากข้อ 1 กับวิธีการสกัดด้วยสารละลายต่าง

การตรวจเอกสาร

ข้าวหัก

ข้าวหักคือ ส่วนของข้าวที่หักซึ่งคัดแยกได้จากเครื่องคัดขนาดมีขนาดของส่วนข้าว 2.5-4.9 ส่วนจาก 10 ส่วน ตามมาตรฐานข้าวไทย และปลายข้าว คือส่วนของข้าวที่เล็กกว่า 2.5 ส่วน ผลพลอยได้ทั้ง 2 นี้ยึมนำไปเป็นวัตถุดิบในการแปรรูปด้วยการบดให้เป็นแป้งข้าว หรือนำมาใช้ในการผลิตสตาร์ชข้าวโดยนำมาผ่านกระบวนการสกัดสตาร์ช เพื่อแยกองค์ประกอบอื่นของข้าวที่ไม่ต้องการออกไป เช่น โปรตีน และไขมัน เป็นต้น (อรอนงค์, 2547) แต่เนื่องจากโปรตีนข้าวที่อยู่ในชั้นเอนโดสเปิร์ม จะเกี่ยวพันกันอย่างแน่นหนากับผิวของเมล็ดสตาร์ช (Lim *et al.*, 1999) จึงทำให้สตาร์ชข้าวแยกออกมาได้ยากกว่าธัญชาติชนิดอื่น (Han *et al.*, 2002) โดยจะมีโปรตีนในข้าว 4 ชนิดด้วยกันคือ โปรตีนที่ละลายได้ในคาง กลูเทลิน (glutelin) มีประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ โปรตีนที่ละลายได้ในน้ำ แอลบูมิน (albumin) มีประมาณ 9-11 เปอร์เซ็นต์ โปรตีนที่ละลายได้ในเกลียวโกลบูลิน (globulin) มีประมาณ 7-15 เปอร์เซ็นต์ และโปรตีนที่ละลายได้ในแอลกอฮอล์ โปรลามิน (prolamin) มีประมาณ 2-4 เปอร์เซ็นต์ (Juliano, 1985a) ซึ่งแอลบูมิน และโกลบูลิน ที่มีขนาดใหญ่และมีขนาดหลากหลาย จะอยู่ในชั้นเอนโดสเปิร์ม และมีลักษณะรวมตัวกันเป็นกลุ่มโปรตีนบอดี (protein bodies) ซึ่งโปรตีนบอดี จะยึดเหนี่ยวกับเมล็ดสตาร์ชด้วยพันธะไดซัลไฟด์ และ/หรือ พันธะไฮโดรโฟบิก (Lim *et al.*, 1999)

ในการแยกสกัดสตาร์ชสิ่งที่ต้องการคือ เม็ดสตาร์ชที่มีความบริสุทธิ์และสมบูรณ์มากที่สุด มีปริมาณการสกัดมากที่สุด และเกิดการเปลี่ยนแปลงสมบัติต่างๆ และลักษณะของเม็ดสตาร์ชให้น้อยที่สุด หลักการแยกสตาร์ชให้บริสุทธิ์คือ การแยกเม็ดสตาร์ชออกจากโปรตีน ลิพิด และส่วนประกอบอื่นจากเอนโดสเปิร์ม ซึ่งเม็ดสตาร์ชที่สมบูรณ์เป็นเม็ดสตาร์ชที่มีปริมาณความเสียหายน้อยที่สุดไม่ควรเกินประมาณ 8-12 เปอร์เซ็นต์ ในสตาร์ชข้าวควรมีปริมาณสตาร์ชที่เสียหายไม่เกิน 8.20 เปอร์เซ็นต์ (Guraya and James, 2002) และมีความบริสุทธิ์ของสตาร์ชที่สกัดได้ในระดับอุตสาหกรรม และในห้องปฏิบัติการ ประมาณ 98-99 เปอร์เซ็นต์ ของสตาร์ชทั้งหมดโดยมีปริมาณโปรตีนน้อยกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ ลิพิด 0.3-0.5 เปอร์เซ็นต์ เถ้า 0.1-0.5 เปอร์เซ็นต์ (Wang and Wang, 2001)

ความสัมพันธ์ระหว่างโปรตีนกับสตาร์ชยังไม่มีข้อมูลที่แน่นอนว่าเป็นรูปแบบใด ซึ่ง Juliano (1985) เสนอว่า กลูเทลิน ของสตาร์ชข้าว (oryzenins) มีอันตรกิริยา (interaction) กับสตาร์ช โดยมีการจับแบบผันกลับได้ (reversible) ระหว่าง แอมิโลส และแอมิโลเพกทิน หรือมีความเป็นไปได้ว่าส่วนที่ขบมน้ำของกลูเทลิน จะจับกับบริเวณที่ไม่ขบมน้ำ ของโมเลกุลสตาร์ชทำให้แป้งไม่ละลายน้ำในสถานะที่เป็นกลาง แรงเชื่อมระหว่าง โปรตีน และสตาร์ช จะลดลงเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น ทำให้สตาร์ชของข้าวแยกสกัดได้ยากกว่าพืชชนิดอื่น เนื่องจากเมล็ดสตาร์ชมีขนาดเล็ก และเมล็ดสตาร์ชเหล่านั้นยึดเกาะกับกลูเทลิน

องค์ประกอบของข้าว

องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดข้าวมีความแตกต่างกันหลากหลายขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมดินและสายพันธุ์ นอกจากนั้นวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณสตาร์ช ลิพิด และโปรตีนที่มีมากมาย ทำให้การนำค่าต่างๆ มาเปรียบเทียบกับเกิดความแตกต่างได้ (Zhou *et al.*, 2002) โดยปกติข้าวกล้องจะมีปริมาณโปรตีนต่ำที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดพืชชนิดอื่น และมีปริมาณเส้นใยหยาบกับลิพิดต่ำด้วย (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 องค์ประกอบภายในเมล็ดธัญชาติชนิดต่างๆ ทั้งเมล็ด (หน่วย : เปอร์เซ็นต์)

องค์ประกอบ	ข้าว กล้อง	ข้าวสาลี	ข้าว โพด	ข้าว บาร์เลย์	ลูกเดือย	ข้าวฟ่าง	ข้าวไรย์	ข้าวโอ๊ต
โปรตีน	7.3	10.6	9.8	11.0	11.5	8.3	8.7	9.3
ไขมัน	2.2	1.9	4.9	3.4	4.7	3.9	1.5	5.9
คาร์โบไฮเดรต	64.3	69.7	63.6	55.8	63.4	58.0	71.8	62.9
เส้นใยหยาบ	0.8	1.0	2.0	3.7	1.5	4.1	2.2	5.6
เถ้า	1.4	1.4	1.4	1.9	1.5	2.6	1.8	2.3

ที่มา: คัดแปลงจาก Juliano (1985a)

เมล็ดข้าวก่อนสีประกอบด้วยส่วนที่เป็นเกลบ (hull หรือ husk) มีประมาณ 16-28 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักแห้ง และส่วนเนื้อผล (caryopsis grand) (Juliano, 1985a) เมื่อทำการขัดสีเกลบออกไปทำให้ได้ส่วนที่เป็นข้าวกล้อง ซึ่งมีองค์ประกอบโดยน้ำหนักของส่วนต่างๆ ดังนี้คือ

เยื่อหุ้มผล (pericarp) ประมาณ 1-2 เปอร์เซ็นต์ เยื่อชั้นแอลิวโรน (aleurone) รวมทั้งเยื่อหุ้มเมล็ด (seed coat) และนิวเซลลัส (nucellus) ประมาณ 4-6 เปอร์เซ็นต์ กัณฐะ (embryo) ประมาณ 2-3 เปอร์เซ็นต์ และสตาρχในเอนโดสเปิร์ม (starchy endosperm) ประมาณ 89-94 เปอร์เซ็นต์ (Hinton and Shaw, 1954) ในการจัดสีเพื่อกำจัดส่วนเยื่อหุ้มผล เยื่อหุ้มเมล็ด เยื่อชั้นแอลิวโรน และกัณฐะ เพื่อให้ได้ข้าวขัดขาวนั้น มีผลทำให้เกิดการสูญเสียของลิพิด โปรตีน เส้นใยหยาบ น้ำตาลรีดิคซ์ น้ำตาลทั้งหมด เถ้า รวมทั้งองค์ประกอบรองอื่นๆ พวกวิตามิน กรดแอมิโนอิสระและกรดไขมัน อิสระ (Park *et al.*, 2001) ข้าวสารหรือข้าวขัดขาวนี้มีสตาρχเป็นองค์ประกอบหลักอยู่ประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักแห้ง ส่วนโปรตีน และลิพิดมีปริมาณรองลงมาซึ่งนับว่ามีความสำคัญเช่นกัน (Zhou *et al.*, 2002)

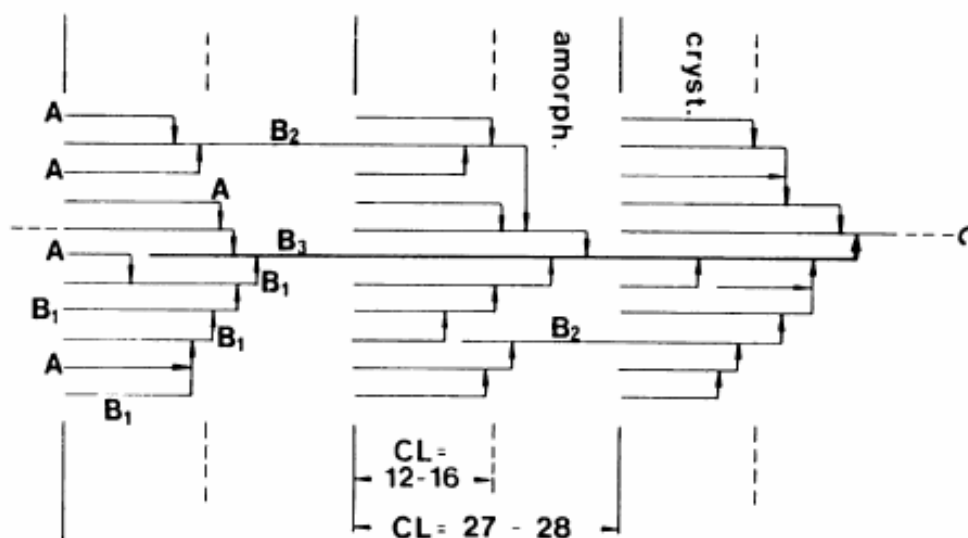
1. สตาρχ (starch)

สตาρχ เป็นโพลิเมอร์ของกลูโคสประกอบด้วยหน่วยของน้ำตาลกลูโคส (anhydroglucose unit) เชื่อมต่อกันด้วยพันธะกลูโคสิดิก (glucosidic linkage) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 1 และ 4 และเป็นคาร์โบไฮเดรตประเภทพอลิแซ็กคาไรด์ที่พบมากที่สุดคือน้ำตาลในเนื้อเมล็ดของข้าว (ประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์) จึงมีผลต่อคุณภาพของข้าวมากที่สุดเช่นกัน (อรอนงค์, 2574) โดยโมเลกุลของสตาρχ รวมตัวกันเป็นเม็ดสตาρχ มีขนาด 2-7 ไมครอน ซึ่งนับว่าเล็กที่สุดในกลุ่มธัญชาติ รูปร่างลักษณะเป็นหลายเหลี่ยม รวมตัวกันอยู่ในแอมิโลพลาสของเซลล์ (Vandeputte, 2004) จำนวน 20-60 เม็ด สตาρχ เป็นกลุ่มก้อนหรือยวรี มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของกลุ่มเม็ดสตาρχในแอมิโลพลาสนี้ ประมาณ 7-39 ไมครอน (Champagne, 1996) โดยองค์ประกอบหลักที่สำคัญของสตาρχมี 2 ส่วน คือ แอมิโลส และแอมิโลเพกทิน

แอมิโลสเป็นโพลิเมอร์ของน้ำตาลกลูโคสต่อกันด้วยพันธะแอลฟา -1,4 มีลักษณะเป็นเส้นตรง (linear chain) มีโซ่กิ่งอยู่ประมาณ 3-4 กิ่ง ซึ่งต่อกับพันธะ แอลฟา -1,6 มีระดับขั้นของพอลิเมอไรเซชันเฉลี่ย (degree of polymerization : DPn) เท่ากับ 1,000-1,100 มีความยาวของสายเฉลี่ย (CL) 250-320 จำนวนสายเฉลี่ย 3.4-4.0 และมีโมเลกุลที่เป็นกิ่งก้าน 31-49 เปอร์เซ็นต์ (Champagne, 1996) สำหรับแอมิโลสของข้าวมีการแบ่งกลุ่มตามปริมาณแอมิโลสได้เป็น 5 กลุ่มคือ ข้าวเหนียว (แอมิโลส 0-2 เปอร์เซ็นต์) ข้าวแอมิโลสต่ำมาก (5-12 เปอร์เซ็นต์) ข้าวแอมิโลสต่ำ (12-20 เปอร์เซ็นต์) ข้าวแอมิโลสปานกลาง (20-25 เปอร์เซ็นต์) และข้าวแอมิโลสสูง (25-33 เปอร์เซ็นต์) (Juliano, 1992) แอมิโลสในข้าวมีทั้งส่วนที่เป็นแอมิโลสอิสระ (free amylose) และแอมิโลสที่เกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับลิพิด (lipid-complex amylose) ซึ่งโครงสร้างแอมิโลส มีลักษณะเป็นเกลียว

และมีหมู่ไฮดรอกซิลของกลูโคสส่วนที่เหลืออยู่บนผิวด้านนอกของฮิลิกซ์ ทำให้ช่องกลางด้านในของเกลียวมีลักษณะเป็นส่วนใหญ่ที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) ดังนั้นสารพวกที่ไม่ชอบน้ำจึงสามารถยึดเกาะกับส่วนภายในเกลียวของแอมิโลสด้วยแรงแวนเดอร์วาลส์ได้ (Godet *et al.*, 1993) แอมิโลสข้าวสามารถรวมตัวเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับไอโอดีน และสารประกอบอินทรีย์อื่นๆ เช่น บิวทานอล กรดไขมัน สารลดแรงตึงผิว ฟีนอล และไฮโดรคาร์บอน (Immel and Lichtenthaler, 2000) สารประกอบเชิงซ้อนเหล่านี้จะไม่ละลายน้ำ โดยแอมิโลสจะพันเป็นเกลียวล้อมรอบสารประกอบอินทรีย์ ไอโอดีนที่อยู่ในรูปไอออนของโพลิไอโอไดด์ (I_3^-) สามารถรวมตัวได้กับทั้งแอมิโลสและแอมิโลเพกติน หากเป็นแอมิโลสจะรวมกับไอออนของโพลิไอโอไดด์ (I_3^-) ได้เป็นสีน้ำเงิน เป็นสารประกอบเชิงซ้อนของแอมิโลส ซึ่งไอโอดีนมีความสามารถในการรวมตัวกับแอมิโลสประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก (Zhou *et al.*, 2002) ส่วนสายแขนงของแอมิโลสเพกตินซึ่งค่อนข้างสั้นจะรวมตัวกับไอออนของโพลิไอโอไดด์ (I_3^-) ทำให้ได้สีม่วงแดง มีความสามารถในการรวมตัวกับแอมิโลเพกตินข้าวประมาณ 0.4-0.9 เปอร์เซ็นต์ ในข้าวที่มีแอมิโลสต่ำ (Zhou *et al.*, 2002) และ 2-3 เปอร์เซ็นต์ ในข้าวที่มีแอมิโลสสูง (Bemiller and Whistler, 1996)

แอมิโลเพกตินเป็นโพลิเมอร์ที่มีกิ่งสาขามากเชื่อมต่อกันด้วยพันธะแอลฟา-1,4 ประมาณ 96 เปอร์เซ็นต์ และพันธะแอลฟา-1,6 ประมาณ 4 เปอร์เซ็นต์ แอมิโลเพกตินในสตาร์ชข้าวมีระดับขึ้นของพอลิเมอร์ไรเซชัน (DPn) อยู่ในช่วง 4,700-18,500 ความยาวของสายโซ่เท่ากับ 18-21 ความยาวของสายภายนอกเกลียว (ECL) เท่ากับ 12-14 และความยาวของสายภายในเกลียว (ICL) เท่ากับ 5-6 (Champagne, 1996) เมื่อเปรียบเทียบสตาร์ชข้าวพันธุ์จาปอนิกากับพันธุ์อินดิกา พบว่า แอมิโลเพกตินของสตาร์ชข้าวพันธุ์อินดิกาทั้งข้าวเหนียว และข้าวเจ้ามีระดับขึ้นของพอลิเมอร์ไรเซชันต่ำกว่า โดยพันธุ์อินดิกามี DPn 4,700-5,800 ส่วนพันธุ์จาปอนิกามี DPn 8,200-12,800 แต่มีค่าความยาวของสายโซ่สูงกว่าคือพันธุ์อินดิกามี CL 21-22 และพันธุ์จาปอนิกามี CL 19-20 (Takeda *et al.*, 1987) รวมทั้งมีค่าความยาวของสายภายนอกและความยาวของสายภายในสูงกว่าด้วย ซึ่งพันธุ์อินดิกามี ECL 13.2-15.8 และ ICL 4.8-5.7 ส่วนพันธุ์จาปอนิกามี ECL 11.8-12.6 และ ICL 3.2-4.6 (Lu *et al.*, 1997) กิ่งสาขาของโมเลกุลแอมิโลเพกตินสามารถแบ่งได้เป็น 3 แบบคือ สาย A (A-chains) เป็นสายที่ไม่มีกิ่งก้านและเกาะกับโมเลกุลอื่นผ่านทางปลายหมู่รีดิวซ์ ส่วนสาย B (B-chains : B1-B3) เป็นสายที่เชื่อมต่อกับโมเลกุลอื่นด้วยวิธีการเดียวกับสาย A และมีสาย A มาเชื่อมเกาะด้วย 1 จุดหรือมากกว่า และสาย C (C-chain) เป็นสายที่มีหมู่รีดิวซ์ที่ปลายของโมเลกุล (Hizukuri, 1986) ดังแสดงในภาพที่ 1



ภาพที่ 1 โครงสร้างโมเลกุลของแอมิโลเพกทิน

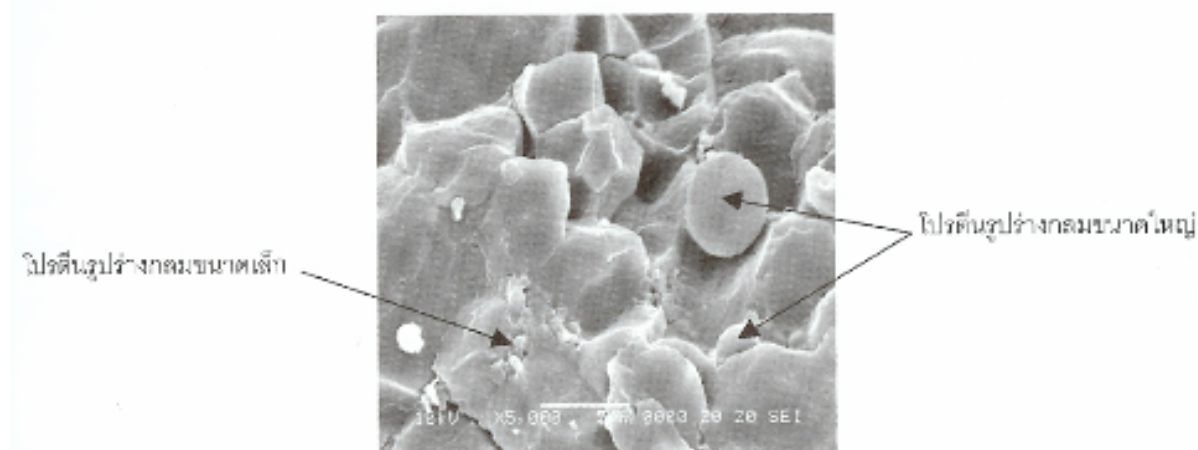
ที่มา: Hizukuri (1986)

แอมิโลเพกทินเป็นองค์ประกอบหลักของสตาร์ช ซึ่งโครงสร้างภายในของแอมิโลเพกทินมีบทบาทสำคัญต่อคุณลักษณะของสตาร์ช เช่น ความยาวสายโซ่กิ่งของแอมิโลเพกทินมีความสัมพันธ์กับโครงสร้างส่วนที่เป็นผลึกของสตาร์ช (Hizukuri, 1985) และมีผลต่อการเกิดเจลาตินในเซชัน การเกิดรีโทรเกรเดชัน รวมถึงสมบัติด้านความข้นหนืด (pasting properties) ของสตาร์ช (Kalicevsky *et al.*, 1990; Jane and Chen, 1992)

2. โปรตีน (protein)

ในข้าวทั้งเมล็ดที่ผ่านการขัดสีแล้วมีปริมาณโปรตีนอยู่ประมาณ 7-8 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแบ่งได้เป็น 4 กลุ่มคือ โปรตีนที่เป็นองค์ประกอบภายในแป้งข้าว ได้แก่ แอลบูมิน (albumin) ประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ ละลายได้ในน้ำ โกลบูลิน (globulin) ประมาณ 12 เปอร์เซ็นต์ ละลายได้ในสารละลายเกลือ โปรลามิน (prolamin) ประมาณ 3 เปอร์เซ็นต์ ละลายได้ในเอทานอล และ กลูเทลิน (glutelin) ประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ ละลายได้ในด่าง (Juliano, 1985) แอลบูมินและโกลบูลินส่วนใหญ่อยู่ในเยื่อชั้นเอนโดสเปิร์ม จึงทำให้ถูกกำจัดออกไปในระหว่างการขัดสี ส่วนภายในเนื้อเมล็ดข้าวมีโมเลกุลขนาดใหญ่ของกลูเทลินที่มีขนาดหลากหลาย และมีลักษณะรวมตัวกันเป็น โปรตีนบอดี (protein bodies) (Cagampang *et al.*, 1966; Mitsuda *et al.*, 1967) ปริมาณโปรตีนภายในแป้งข้าวที่ผ่านการ

สกัดไขมันออกแล้ว ประกอบด้วยแอลบูมิน โกลบูลิน โพรลามิน และกลูเทลินในสัดส่วน 8:9:5:70 (Padhye and Salunkhe, 1979) ส่วนชั้นชั้นไขมันในเนื้อเมล็ดมีกลุ่มโปรตีนอยู่ภายใน 3 ลักษณะ คือ ลักษณะกลมใหญ่ (ขนาด 1-2 ไมครอน) กลมเล็ก (ขนาด 0.5-0.75 ไมครอน) และเป็นผลึกติดกัน ขนาด 2-3 ไมครอน แต่ในส่วนเนื้อของเมล็ดจะมีกลุ่มโปรตีนลักษณะกลมใหญ่เท่านั้น แทรกอยู่ในระหว่างเม็ดสตาร์ชมีขนาด 3-9 ไมครอน (อรอนงค์, 2547) (ภาพที่ 2) และโปรตีนบอดีจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบแสงส่องผ่าน (Transmission Electron Microscope, TEM) ในงานวิจัยของ Tanaka *et al.* (1980) พบว่า โปรตีนบอดี PB-I มีลักษณะเป็นทรงกลม ซึ่งโครงสร้างภายในมีการเรียงตัวเป็นชั้น (lamellar) มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1-2 ไมครอน และเป็นโปรตีนชนิดโพรลามิน ส่วนโปรตีนบอดีอีกชนิดหนึ่งคือ PB-II มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางใหญ่กว่า PB-I โดยเฉลี่ยเกือบ 4 ไมครอน ไม่มีโครงสร้างภายในเรียงเป็นชั้น และเป็นโปรตีนชนิดกลูเทลินและโกลบูลิน



ภาพที่ 2 ลักษณะโปรตีนบอดี (protein body)

ที่มา: อรอนงค์ (2547)

จากการศึกษาผลของการแช่น้ำต่อการไม่ข้าวแบบเปียกของ Chiang and Yeh ในปี 2002 โดยการใช้กล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (Scanning electron microscope, SEM) ตรวจสอบลักษณะของเม็ดสตาร์ชที่บริเวณลิกลงมาจากผิวหน้าของเนื้อเมล็ดประมาณ 0.1-0.2 มิลลิเมตร พบว่า ก่อนการแช่น้ำในน้ำ ลักษณะของเม็ดสตาร์ชเป็นร่างแหเชื่อมต่อกัน และเซลล์มีการจัดเรียงตัวกันแน่น แต่หลังจากการแช่น้ำในน้ำที่มีอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที สามารถสังเกตเห็นกลุ่มของเม็ดสตาร์ช ที่มีขนาดใหญ่ (3-9 มิลลิเมตร) และเป็นรูปหลายเหลี่ยม รวมทั้งโปรตีนบอดี ทรงกลม แทรกอยู่ระหว่างเม็ดสตาร์ชด้วย (ภาพที่ 2)

3. ลิพิด (lipid)

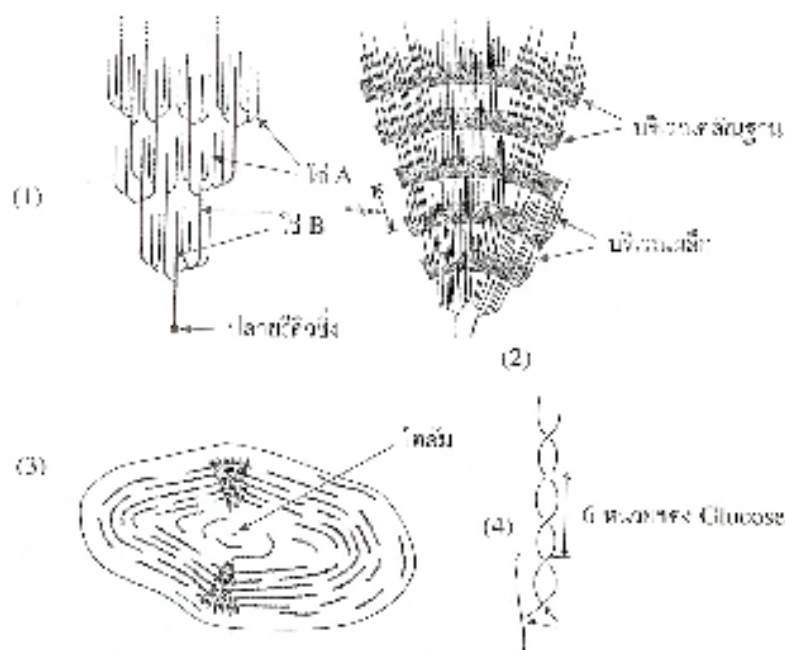
Choudhury and Juliano (1980a) รายงานว่าลิพิดในข้าวส่วนใหญ่จะมีรูปร่างเป็นทรงกลมเล็กๆ (spherosome) หรือหยดเล็กๆ (droplet) ลิพิดอยู่ในชั้นเนื้อเมล็ด (endosperm) เป็นส่วนใหญ่ โดยจะมีปฏิสัมพันธ์ (associate) กับโปรตีนบอดี และเม็ดสตาร์ช ปริมาณลิพิดในข้าวกล้องอยู่ในช่วง 1-4 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในข้าวขาวมีอยู่ประมาณ 0.2-2 เปอร์เซ็นต์ (Juliano, 1985) และข้าวเหนียวมีอยู่ประมาณ 0.03 เปอร์เซ็นต์ (Champagne, 1996) ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ และสภาวะของการเพาะปลูก (Juliano, 1985) นอกจากนี้ Choudhury and Juliano (1980a, 1980b) ได้แบ่งลิพิดออกเป็น 3 กลุ่มตามโครงสร้างทางเคมี ได้แก่ ไขมันประเภทไม่มีขั้ว (neutral lipids; เป็นเอสเทอร์ของกรดไขมันอิสระกับแอลกอฮอล์ หรือเป็นกรดไขมันอิสระ) ไกลโคลิพิด (glycolipids) และฟอสโฟลิพิด (phospholipids) แต่การกระจายตัวของลิพิดภายในเมล็ดธัญชาติไม่สม่ำเสมอ และลิพิดในเนื้อเมล็ดจะมีสัดส่วนของลิพิดที่มีขั้วสูงกว่า (Choudhury and Juliano, 1980b) โดยทั่วไป ลิพิดจะมีปฏิสัมพันธ์ (association) กับ native starch ได้ 2 ทางคือ

3.1 ลิพิดที่เกาะอยู่กับเม็ดสตาร์ช (starch lipid) และอยู่ในส่วนของเนื้อเมล็ด (Choudhury and Juliano, 1980a) ประกอบด้วยไขมันประเภทไม่มีขั้วประมาณ 28 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจะเป็นกรดไขมันอิสระ (ปาล์มิติก ลิโนเลอิก และ โอเลอิก) เป็นส่วนใหญ่ มีไกลโคลิพิด 18-20 เปอร์เซ็นต์ และมีฟอสโฟลิพิดสูงกว่าลิพิดที่กระจายอยู่ทั่วไป (nonstarch lipid) ไลโปฟอสโฟลิพิดจะเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับเอมิโลส ซึ่งโดยทั่วไปสตาร์ชข้าวเหนียวจะไม่มีไลโปฟอสโฟลิพิดที่เป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับเอมิโลส แต่ในสตาร์ชข้าวเหนียวจะมีการปฏิสัมพันธ์ของลิพิดที่ยึดเกาะอยู่กับเม็ดสตาร์ช (starch lipid) ในรูปของกรดไขมันอิสระมากกว่าในสตาร์ชข้าวเจ้า (Choudhury and Juliano, 1980a)

3.2 ลิพิดที่กระจายอยู่ทั่วไป (nonstarch lipid) มักพบมากในส่วนของรำข้าว และคัพภะของข้าวกล้อง (Choudhury and Juliano, 1980a) ประกอบด้วยไขมันประเภทไม่มีขั้ว (เป็นไตรกลีเซอไรด์ ประมาณ 73-82 เปอร์เซ็นต์) ฟอสโฟลิพิด 7-10 เปอร์เซ็นต์ และไกลโคลิพิด 2-8 เปอร์เซ็นต์ โดยมีกรดไขมันส่วนใหญ่เป็น ลิโนเลอิก โอเลอิก และปาล์มิติก (Choudhury and Juliano, 1980a)

โครงสร้างและการรวมตัวเป็นเม็ดสตาร์ช

พืชสะสมสตาร์ชที่สังเคราะห์ได้ทั้งแอมิโลเพกทินและแอมิโลสเก็บอยู่ในรูปของเม็ด ที่มีขนาดเล็กมาก มองด้วยตาเปล่าจะไม่สามารถบอกความแตกต่างได้ ต้องใช้กล้องจุลทรรศน์จึงจะมองเห็นว่าพืชต่างชนิดกันจะมีเม็ดสตาร์ชที่มีรูปร่างและขนาดแตกต่างกันออกไป เช่น สตาร์ชข้าว จะมีเม็ดสตาร์ชที่เล็กที่สุดเมื่อเทียบกับสตาร์ชชนิดอื่นทางการค้า ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเม็ดสตาร์ชข้าวประมาณ 3-8 μm มีรูปร่างหลายเหลี่ยม และมักอยู่รวมเป็นกลุ่ม ส่วนสตาร์ชมันฝรั่งจะมีขนาดเม็ดสตาร์ชที่ใหญ่ที่สุด มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 15-100 μm (โดยเฉลี่ยประมาณ 35 μm) มีรูปร่างทรงไข่กลมสามารถมองเห็นไฮลัม (hilum) ของเม็ดสตาร์ชได้ ไฮลัมคือ จุดกำเนิดของเม็ดสตาร์ช



ภาพที่ 3 โครงสร้างของแอมิโลเพกทิน (1) รูปแบบคลัสเตอร์ของแอมิโลเพกทิน (2) การจัดของชั้นออสันฐานสลับกับชั้นผลึกตามแนวรัศมีเม็ดสตาร์ช (3) ภาพตัดขวางของเม็ดสตาร์ช แสดงการจัดโมเลกุลแอมิโลเพกทิน (4) การเกิดเกลียวคู่ของสายโซ่โกลีโคส

ที่มา: Oates (1997)

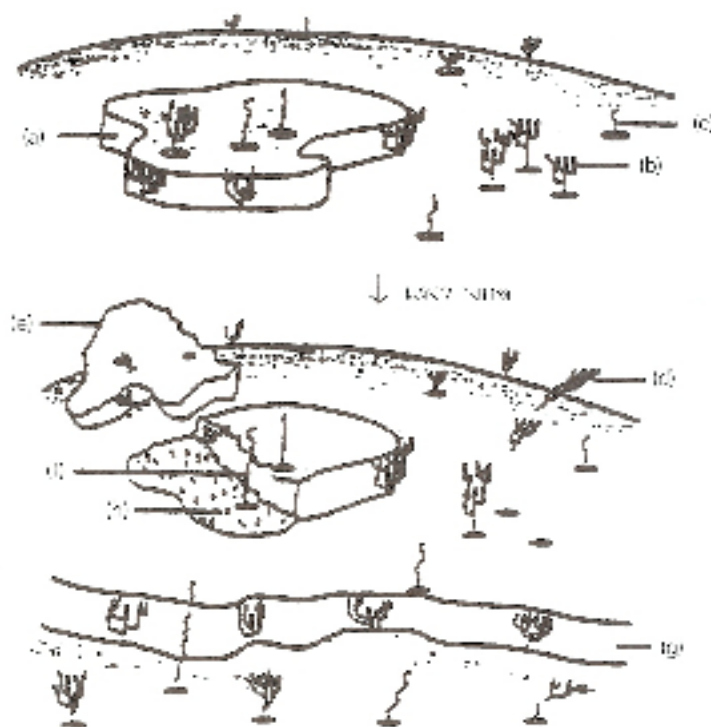
ภายในเม็ดสตาร์ชทั้งแอมิโลสและแอมิโลเพกทินจะถูกสร้างออกไปตามแนวรัศมีของเม็ดสตาร์ชจากจุดไฮลัมไปสู่ขอบเม็ดสตาร์ช ภายในจะประกอบด้วยบริเวณชั้นผลึก (crystalline) สลับกับชั้นอสัณฐาน (amorphous) เป็นชั้นสลับกันไป (ภาพที่ 3) บริเวณอสัณฐาน ที่ประกอบด้วยโมเลกุลของแอมิโลสที่อยู่อย่างอิสระและส่วนที่เป็นจุดเชื่อมกิ่งของโมเลกุลแอมิโลเพกทิน (แอมิโลเพกทินที่มีพันธะ แอลฟา-1,6) อยู่เป็นจำนวนมาก ส่วนบริเวณผลึกจะประกอบด้วยสายโมเลกุลสตาร์ชที่สามารถเกิดอันตรกิริยาระหว่างกันได้ โดยเกิดเป็นเกลียวคู่ขึ้นภายในโครงสร้าง (Appelqvist and Debet, 1997) สายกิ่งของแอมิโลเพกทินจะขนานกันไปตามลักษณะโครงสร้างคลัสเตอร์โดยมีแอมิโลสแทรกอยู่ในแอมิโลเพกทิน (วรรณ, 2549)

การจัดตัวอย่างเป็นระเบียบของโมเลกุลแอมิโลเพกทินออกไปตามแนวรัศมีภายในเม็ดสตาร์ชที่มีทั้งส่วนผลึกและอสัณฐานสลับเป็นชั้นกันไปเช่นนี้ จึงทำให้สามารถมองเห็น โครงสร้างที่เป็นระเบียบ และความสามารถในการบิดระนาบแสงโพลาไรซ์ (birefringence) ของเม็ดสตาร์ชได้ เมื่อส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ แล้ววางสไลด์ตัวอย่างสตาร์ชระหว่างแผ่นโพลาไรซ์ (polaroid) สองแผ่น โดยแผ่นหนึ่งทำหน้าที่เป็นโพลาไรเซอร์ (polarizer) และอีกแผ่นทำหน้าที่เป็นแอนาไลเซอร์ (analyzer) การหักเหของสองแนวที่มองเห็นจะปรากฏเป็นกากบาทไขว้สีดำ (maltese cross) ตัดกันที่จุดไฮลัมของเม็ดสตาร์ชแสดงให้เห็นถึงการมีระดับการจัดเรียงโมเลกุลสตาร์ชภายในอย่างเป็นระเบียบสูง (วรรณ, 2549)

เม็ดสตาร์ชที่มีสมบัติที่เป็นแบบกึ่งผลึกหรือเป็นผลึกบางส่วน ที่พบอยู่ในรูปเม็ดสตาร์ชขนาดเล็กโดยโมเลกุลของแอมิโลส และแอมิโลเพกทิน จะจัดเรียงตัวในเม็ดสตาร์ชเป็นโครงสร้างทั้งส่วนที่เป็นผลึก (crystallite) และส่วนอสัณฐาน (amorphous หรือ gel phase) แตกต่างกันไปตามชนิดของเม็ดสตาร์ช และแสดงรูปแบบ โครงสร้างผลึกที่แตกต่างกัน 3 แบบ ขึ้นอยู่กับความหนาแน่นในการจัดเรียงตัว ของเกลียวคู่ ถ้าเกิดการจัดเรียงตัวหนาแน่นมากจะเกิดเป็นผลึกแบบ A (ธัญชาติต่างๆ) ถ้าจัดเรียงตัวกันหลวมๆ จะเกิดผลึกแบบ B (แป้งจากพืชหัว) ถ้าเกิดการเรียงตัวแบบ A และ B รวมกันจัดเป็นผลึกแบบ C (แป้งจากพืชตระกูลถั่ว) โครงสร้างผลึกที่ต่างกันจะให้ลักษณะการกระจายตัวของแสงต่างกัน ซึ่งสามารถตรวจสอบชนิดโครงสร้างของเม็ดแป้งได้ด้วยเครื่องเอกซเรย์ดิฟแฟร็กโทมิเตอร์ (x-ray diffractometer) (กล้าณรงค์ และ เกื้อกุล, 2546)

แป้งที่มีโครงสร้างผลึกแบบ A จะพิคที่ 17 และ 17.9 °2 θ แต่ไม่มีพิคที่ 5.6 °2 θ แป้งจากธัญพืช เช่น ข้าว ข้าวโพด จะมีลักษณะผลึกแบบ A แป้งที่มีโครงสร้างผลึกแบบ B จะให้พิคที่ 5.6 และ 17 °2 θ แต่ไม่มีพิคที่ 17.9 °2 θ ซึ่งได้แก่พืชจากพวกหัว เช่น มันฝรั่ง เป็นต้น แป้งที่มีโครงสร้าง

ผลึกแบบ C จะให้ลักษณะรวมกันระหว่างผลึกแบบ A และ B กล่าวคือ จะมีพีคที่ 5.6 และ 17.9 °2 θ ตัวอย่างเช่น แป้งจากพืชตระกูลถั่ว แป้งบางชนิดอาจให้ลักษณะของผลึกได้มากกว่า 1 ชนิด เช่น แป้งจากมันสำปะหลัง ซึ่งสามารถตรวจพบลักษณะผลึกทั้งแบบ A และ C (Rickard *et al.*, 1991)



- a) การสร้างพื้นผิวขึ้นมาใหม่
- b) กลุ่มเอมิโลเพกทินที่ยื่นออกมา
- c) ส่วนปลายของสายเอมิโลส
- d) ส่วนของเอมิโลเพกทินที่หลุดออกเนื่องจากการทำลายอย่างอ่อน
- e) ส่วนของพื้นผิวที่หลุด เนื่องจากการทำลายอย่างอ่อน
- f) ส่วนปลายของเอมิโลสที่ยื่นออกมาจากพื้นผิวส่วนล่าง
- g) ส่วนอสังฐานที่เปิดออก
- h) พื้นผิวของเม็ดแป้งที่เกิดจากการทำลายอย่างรุนแรง

ภาพที่ 4 แบบจำลองพื้นผิวของเม็ดแป้ง

ที่มา: Stark and Lynn (1992)

โครงสร้างของเม็ดแป้งที่พื้นผิวไม่เรียบ มีบางส่วนของสายที่ยื่นออกไป ดังภาพที่ 4 (Lineback, 1986) พื้นผิวของเม็ดแป้งมีส่วนปลายแอมิโลสและแอมิโลเพกทินที่ยื่นออกไปเป็นจุดเริ่มต้นของชั้นที่จะเจริญต่อไป จากการศึกษาโครงสร้างของเม็ดแป้ง พบว่า รูปบริเวณพื้นผิวของเม็ดแป้งที่สามารถให้น้ำและโมเลกุลเล็กๆ ผ่านได้ เป็นส่วนอสัณฐาน (gel phase) ที่แทรกเข้าไปในเม็ดแป้งอยู่ระหว่างช่องของส่วนผลึกที่ขนานกัน โมเลกุลขนาดไม่เกิน 100 ดาลตันสามารถผ่านได้ และพบช่องเปิดบนพื้นผิวเม็ดแป้งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.1-0.3 ไมครอน มีช่องภายในขนาด 0.07-0.1 ไมครอน (Oates, 1997)

สตาร์ชที่เสียหาย (damaged starch)

ในระหว่างการบดข้าวสาลี มีบางส่วนของเม็ดสตาร์ชที่ได้รับความเสียหายที่เกิดจากการเสียดสี เม็ดสตาร์ชที่เสียหายจะดูดซึมน้ำอย่างรวดเร็วประมาณ 2 ถึง 4 เท่า และจะถูกย่อยด้วยเอนไซม์ สตาร์ชที่เสียหายจะมีการดูดซึมน้ำที่เหมาะสมและช่วยในปฏิกิริยาการหมักระหว่างกระบวนการทำขนมปัง อย่างไรก็ตามถ้าเกิดสตาร์ชที่เสียหายมากเกินไปจะทำให้โดดูดน้ำมากเกินไปมีผลไปเร่งการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล ทำให้โคเหนียว เกิดปัญหาน้ำขนมปังบาง และอายุการเก็บรักษาของขนมปัง (Medcalf and Gilles, 1965) จึงได้มีการตรวจวัดปริมาณสตาร์ชที่เสียหายเป็นประจำในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตขนมปัง โครงสร้างกึ่งผลึก (semi-crystalline) ของเม็ดสตาร์ชสามารถที่จะเกิดความเสียหาย จากการเสียดสี ซึ่งโดยทั่วไปจะมีเปอร์เซ็นต์ของสตาร์ชที่เสียหายในระหว่างการโม่ประมาณ 5-12 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งลักษณะของสตาร์ชที่เสียหายจะมี 2 ลักษณะคือ เป็นความเสียหายที่เกิดจากการแตกออกเป็นชิ้นเล็ก ชิ้นน้อยที่บริเวณผิวของเม็ดสตาร์ช (crack) และเป็นความเสียหายที่เกิดจากการแตกออกเป็นสองชิ้นแยกออกจากกัน (break) (Sandstedt and Schroeder, 1960) ซึ่งสตาร์ชทางการค้าควรมีความเสียหายไม่เกิน 8.20 เปอร์เซ็นต์ (Guraya, 2002)

อย่างไรก็ตามยังมีการศึกษาถึงวิธีการตรวจวัดปริมาณสตาร์ชที่เสียหายทั้งวิธีที่ใช้และไม่ใช้เอนไซม์ แต่โดยทั่วไปแล้วจะใช้เอนไซม์ในการตรวจสอบความเสียหายของสตาร์ช วิธีการตรวจที่นิยมกันมากในปัจจุบันคือ วิธี 76-30A ของ American Association of Cereal Chemists (AACC, 2000) แต่วิธีนี้ใช้เวลามากกว่า 1 ชั่วโมงในแต่ละครั้งของการทดลอง นอกจากนี้ยังมีวิธีการ iodine-absorption และวิธีการใช้ความจำเพาะของเอนไซม์ α -amylase ซึ่งเอนไซม์เหล่านี้จะมีความจำเพาะต่อสับสเตรต ไม่สามารถย่อย native starch ได้ และใช้เวลาไม่นานในการตรวจสอบ จึงเป็นวิธีที่นิยมกันแพร่หลายในปัจจุบัน

ในกรณีที่เม็ดสตาร์ชธรรมชาติไม่สมบูรณ์ เช่น เกิดการเสียหายจากการสี (milling) เป้งหรือสตาร์ชด้วยแรงกล เช่นการทำบอลล์มิลลิง (ball milling) ก็จะส่งผลต่อค่าอุณหภูมิเจลาติไนเซชันและสมบัติเพสติงของสตาร์ช ซึ่งสามารถติดตามด้วยเครื่องบราเบนเดอร์ พบว่า แรงกลจากการสีจะมีผลทำลายพันธะภายในเม็ดสตาร์ช ให้แตกออกบ้าง สตาร์ชมันฝรั่งมีความเสียหายมากกว่าเม็ดสตาร์ชมันสำปะหลัง ทั้งนี้เนื่องจากขนาดของเม็ดสตาร์ชที่แตกต่างกัน เม็ดสตาร์ชมันฝรั่งมีขนาดในช่วง 15-100 ไมโครเมตร (ค่าเฉลี่ย 35 ไมโครเมตร) ส่วนเม็ดสตาร์ชมันสำปะหลังมีขนาดในช่วง 4-35 ไมโครเมตร (ค่าเฉลี่ย 20 ไมโครเมตร) (Ellis *et al.*, 1998) ดังนั้น การที่มีเม็ดสตาร์ชที่มีพื้นผิวมากกว่าจะได้รับแรงกระแทก (impact force) สูงกว่า (Morrison *et al.*, 1994) เมื่อเวลาการสีนานขึ้น อุณหภูมิเจลาติไนเซชันเริ่มต้น (T_0) จึงลดลง และลดลงแตกต่างกันระหว่างสตาร์ชทั้งสอง (วรรณ, 2549)

ลักษณะโครงสร้างของเม็ดสตาร์ชที่ถูกทำลายด้วยวิธีต่างๆ

1. การลดขนาดของเม็ดสตาร์ชด้วยแรงกล

ขนาดของเม็ดแป้งมีผลต่อคุณสมบัติหลายอย่างของเม็ดแป้ง เช่นการพองตัว การละลายเป็นต้น การที่เม็ดแป้งถูกทำให้แตกหรือทำให้มีขนาดเล็กลงโดยกระบวนการใช้แรงกล (mechanical process) ที่สามารถควบคุมปัจจัยที่สำคัญ เช่น อุณหภูมิได้ จะทำให้เม็ดแป้งมีขนาดเล็กลง และมีคุณสมบัติแตกต่างไปจากเดิม โดยเฉพาะหมู่ไฮดรอกซิล (OH-group) ที่สามารถทำปฏิกิริยาจะมีมากขึ้น ในการเตรียมเม็ดแป้งขนาดเล็กปกติทำได้โดยการโม่ด้วยลูกบอลล (ball mill) ที่ใช้เม็ดแก้ว (glass bead) ขนาดเล็ก (0.1 มม.) โม่โดยใช้สารตัวกลาง เช่น แอลกอฮอล์ต่างๆ หรือน้ำบริสุทธิ์ (Jane *et al.*, 1992) สำหรับแป้งมันสำปะหลังสามารถลดขนาดลงจาก 18-25 ไมครอน เหลือ 3-5 ไมครอน โดยการโม่ด้วยลูกบอล (ควบคุมอุณหภูมิ) เวลา 20 นาที ความเร็วรอบ 2200 รอบต่อนาที และขนาดของเม็ดแก้วเท่ากับ 0.4 มิลลิเมตร (Piyachomkwan *et al.*, 1998) การใช้ประโยชน์ของเม็ดแป้งขนาดเล็กในอุตสาหกรรมอาหาร ได้แก่ การนำไปใช้แทนส่วนของไขมันในอาหารจำพวกไอศกรีม น้ำสลัด เป็นต้น (ก้านรงค์ และ เกื้อกุล, 2546)

Guraya *et al.* (2002) ได้ทำการศึกษา สตาร์ชข้าวที่ผ่านการโฮโมจิไนเซชันด้วยความดันสูง (high-pressure homogenization) ที่ความดันประมาณ 14,503.78 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว พบว่าความดันสูง มีผลทำให้ขนาดของเม็ดสตาร์ชเล็กลง ขนาดของเม็ดสตาร์ช ก็มีผลสำคัญต่อความหนืด กล่าวคือขนาดเม็ดสตาร์ชที่ใหญ่ ย่อมมีกำลังการพองตัวสูง และให้ค่าความหนืดสูงสุดสูงกว่า เม็ด

สตาร์ชที่มีขนาดเล็ก (กล้านรงค์ และ เกื้อกูล, 2546) เมื่อเม็ดแป้งข้าวที่ผ่านการโฮโมจิไนเซชันในครั้งที่ 2 พบว่าเม็ดสตาร์ชมีขนาดเล็กลงกว่าในครั้งแรก แต่ยังคงเป็นเม็ดสตาร์ชที่สมบูรณ์เพียงแต่มีขนาดเล็กลง และนอกจากนี้ยังพบว่าความบริสุทธิ์ของสตาร์ชเพิ่มขึ้น เมื่อเม็ดสตาร์ชมีขนาดเล็กลง ทั้งนี้อาจเป็นเพราะโปรตีนที่อยู่บริเวณผิวของเม็ดสตาร์ชหลุดออกไปด้วย ซึ่งได้สรุปไว้ว่าเม็ดสตาร์ชยังมีขนาดเล็กความบริสุทธิ์ของสตาร์ชก็จะสูงตามไปด้วย นอกจากนี้ยังได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสตาร์ชที่เสียหายกับคุณสมบัติด้านความหนืด พบว่าปริมาณสตาร์ชที่เสียหายจะผลต่อค่าความหนืดลดลง ค่าความหนืดสุดท้าย และอุณหภูมิที่เริ่มเกิดความหนืด อย่างมีนัยสำคัญ

2. การย่อยด้วยกรด

ลักษณะโครงสร้างอนุภาคของเม็ดสตาร์ชที่ผ่านการย่อยด้วยกรดมีพื้นผิวเปื่อยยุ่ย เป็นหลุม ตื้นคล้ายผิวเม็ดถูกปาแตก เมื่อทำการย่อยด้วยกรดเป็นระยะเวลานานจะเห็นชัดขึ้น (Robin *et al.*, 1974; Colonna *et al.*, 1987; Oates, 1997; Singh and Ali, 2000; Wang *et al.*, 2003) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Atichkudomchi *et al.* (2000) ซึ่งศึกษาโครงสร้างอนุภาคของเม็ดสตาร์ชมันสำปะหลัง เมื่อย่อยสตาร์ชด้วยกรดไฮโดรคลอริก พบว่าทำให้ลักษณะโครงสร้างอนุภาคของเม็ดสตาร์ชเกิดลักษณะผุกร่อนภายนอก (exo-corrosion) ขึ้นทั่วทั้งเม็ด เหลือผิวใหม่ที่เรียบเนียนของชั้นที่อยู่ลึกลงไปภายในเม็ดแป้ง และเมื่อทำการย่อยเป็นเวลานานขึ้น (768 ชั่วโมง) ผิวที่ผุกร่อนจะหลุดออกไปทั้งชั้น

3. การย่อยด้วยเอนไซม์

ลักษณะโครงสร้างของเม็ดสตาร์ชข้าวโพด ข้าวสาลี ข้าว และมันฝรั่งที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์กลูโคเอมิเลสจะมีรู เมื่อทำการย่อยนานขึ้นรูจะมีขนาดใหญ่ขึ้น (Aggarwal and Dollimore 1998) ซึ่งแบ่งลักษณะการย่อยออกเป็น 2 แบบ คือแบบที่มีการผุกร่อนภายนอก (exo-corrosion) การย่อยทำให้เกิดลักษณะผุกร่อนที่บริเวณพื้นผิวเม็ดสตาร์ช และแบบที่มีการผุกร่อนภายใน (endo-corrosion) การย่อยจะทำให้เกิดลักษณะช่องลึกลงไปภายในเม็ดสตาร์ชทั้งนี้เนื่องจากเอนไซม์กลูโคเอมิเลสเป็นเอนไซม์ที่ย่อยโมเลกุลของสตาร์ชจากปลาย non-reducing (Fujii *et al.*, 1988; Franco and Ciacco, 1992) นอกจากนี้พบว่าเม็ดสตาร์ชที่มีขนาดเล็ก อย่างเช่นเม็ดสตาร์ชของข้าว จะทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ได้เร็วกว่าเม็ดสตาร์ชที่มีขนาดใหญ่ เช่นเม็ดสตาร์ชของมันฝรั่ง เนื่องจากมีพื้นที่ผิวมากกว่า ส่วนลักษณะรูปร่างของเม็ดสตาร์ชข้าวสาลีที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาเอมิเลสเป็น

หลุมต้น (Colona *et al.*, 1987; Franco *et al.*, 1988, Jiang and Liu, 2000) ทั้งนี้เนื่องจากเอนไซม์ชนิดนี้ย่อยทำให้เกิดลักษณะหลุมบริเวณผิวเมล็ดstarfish

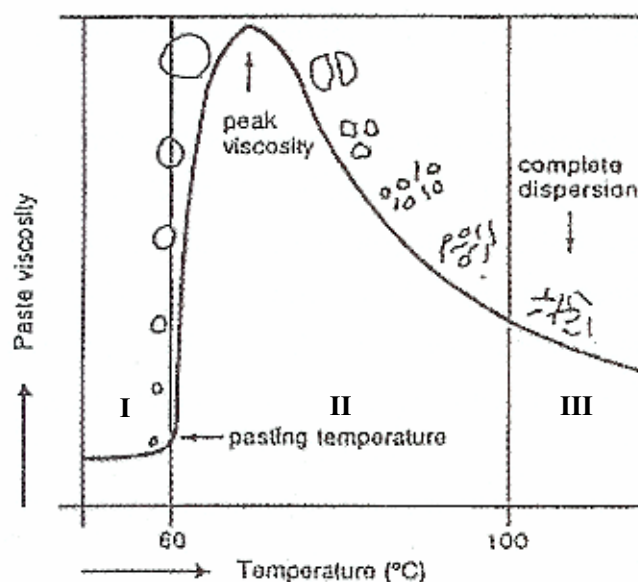
4. การหมัก

ขนาดเมล็ดstarfishมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยด้วยการหมักทางธรรมชาติจะมีขนาดเล็กลง (Moorthy and Mathew, 1998) ทั้งนี้เนื่องจากการสลายตัวของผิวเมล็ดstarfishเพิ่มขึ้นระหว่างกระบวนการหมัก เมื่อระยะเวลาการหมักนานขึ้นเมล็ดstarfishจะมีขนาดเล็กลง เนื่องจากผิวชั้นนอกสุดถูกย่อยสลาย (Martinez and Quiroga, 1988) และพบว่าเมล็ดstarfishที่ผ่านการหมักเกาะกลุ่มรวมกัน ทั้งนี้เนื่องจากเมล็ดstarfishที่สูญเสียผิวบริเวณชั้นนอกสุดทำให้มีแรงไฟฟ้าสถิตย์ (Mathew *et al.*, 1995)

สมบัติด้านความหนืดของแป้งและstarfish (pasting properties)

การเปลี่ยนแปลงความหนืดของแป้ง เกิดจากการเกิดปฏิกิริยากับน้ำ ซึ่งสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ระยะ คือ ระยะแรกเมื่ออยู่ในน้ำเย็น เม็ดแป้งจะสามารถดูดซึมน้ำ และพองตัวได้เล็กน้อย แต่เนื่องจากโมเลกุลของแป้งประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) เป็นจำนวนมากและยึดเกาะกันด้วยพันธะไฮโดรเจน เมื่อนำไปทำให้แห้งก็จะมีลักษณะเหมือนเดิม (Leach *et al.*, 1959) เนื่องจากส่วนที่เป็นผลึกสามารถยืดหยุ่นได้อย่างจำกัด ดังนั้น ความหนืดของสารแขวนลอยจะไม่เพิ่มขึ้นจนเห็นได้ชัด เม็ดแป้งยังคงรูปร่างและมีสมบัติโครงสร้างที่เป็นระเบียบ และความสามารถในการบิกระนาบแสงโพลาไรซ์ สังเกตดูได้โดยส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ใช้แสงโพลาไรซ์ (French, 1984) ระยะที่สอง เมื่อให้ความร้อนกับน้ำแป้งจนถึงอุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส (ขึ้นกับชนิดแป้ง) จะทำให้พันธะไฮโดรเจนคลายลง เม็ดแป้งจะดูดซึมน้ำแล้วพองตัวอย่างรวดเร็วและถาวร ทำให้ส่วนผลึกดังกล่าวมีความหนืดและใสมากขึ้น ปรากฏการณ์นี้เรียกว่า การพองตัวอย่างไม่ผันกลับ (irreversible swelling) และเรียกอุณหภูมิที่สารละลายแป้งเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงความหนืดว่า ค่าอุณหภูมิเริ่มต้นของความหนืด (pasting temperature) เม็ดแป้งจะมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและสูญเสียโครงสร้างที่เป็นระเบียบ และความสามารถในการบิกระนาบแสงโพลาไรซ์ เม็ดแป้งจะมีการพองตัวสูงขึ้นทำให้ความหนืดของแป้งสูงขึ้น การเกิดเจลาติไนเซชันของแป้งจะแตกต่างกันไปในแป้งแต่ละชนิด ขึ้นกับองค์ประกอบทางเคมีที่มีอยู่ เช่น สัดส่วนของปริมาณแอมิโลสและแอมิโลเพกทิน ปริมาณไขมัน การจัดเรียงตัวของโมเลกุลภายในเม็ดstarfish และการจัดเรียงตัวกันของแอมิโลสและแอมิโลเพกทิน เม็ดstarfishที่มีส่วนประกอบดังกล่าวมาแล้วไม่สม่ำเสมอจะทำให้มีการเกิดเจลาติไนเซชันที่อุณหภูมิแตกต่างกัน ซึ่งจะมีอุณหภูมิอยู่ในช่วงประมาณ 50-70 องศาเซลเซียส

เม็คสตาร์ช มีการพองตัวสูงสุดจะทำให้มีความหนืดสูงสุด (peak viscosity) เม็คสตาร์ช เริ่มแตกออกเมื่อเพิ่มอุณหภูมิต่อไป เม็คสตาร์ชเริ่มเข้าสู่ระยะที่สาม คือมีการแตกตัวของเม็คสตาร์ชอย่างสมบูรณ์ (complete dispersion) การละลายของเม็คสตาร์ชจะสูงขึ้นด้วย (ภาพที่ 8)



ภาพที่ 5 การเปลี่ยนแปลงความหนืดของน้ำแป้ง 3 ระยะ

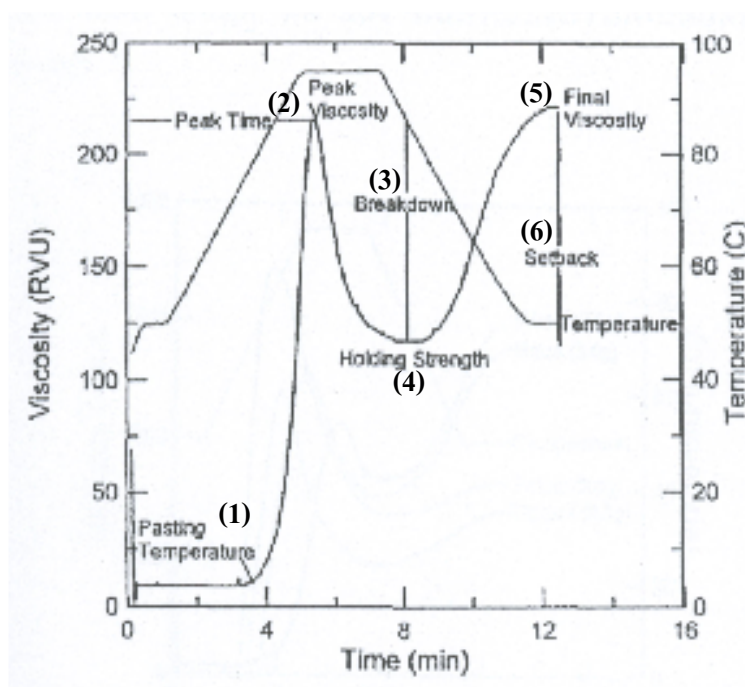
ที่มา: Sander (1996)

สำหรับการกลับคืนสู่สภาพเดิมนั้น เมื่อเม็คสตาร์ชได้รับความร้อนจนถึงอุณหภูมิที่เกิดเจลาทิไนเซชัน แล้วให้ความร้อนต่อไป เม็คสตาร์ชจะพองตัวเต็มที่แล้วแตกออกในที่สุด โดยโมเลกุลของแอมิโลสที่มีขนาดเล็กจะกระจายตัวออกมาจากเม็คสตาร์ชก่อน ความหนืดของสตาร์ชเพสท์จะลดลง เมื่อปล่อยให้สารละลายแป้งเย็นตัวลง จะเกิดการจัดเรียงตัวเป็นโครงร่างแหสามมิติขึ้น โดยโมเลกุลของแอมิโลส ที่ออกมาจากเม็คสตาร์ชที่อยู่ใกล้เคียงกันจะเข้ามาจัดเรียงตัวใกล้ๆ กัน และเกาะเกี่ยวกันเองเกิดพันธะไฮโดรเจนขึ้นระหว่างโมเลกุลของแอมิโลสทำให้ได้ลักษณะโครงสร้างใหม่ ที่สามารถอุ้มน้ำและไม่ละลายน้ำอีก จึงทำให้สารละลายกลับมามีความข้นหนืดอีก โครงสร้างที่ได้มีลักษณะเป็นเจล (gel) การเกิดเจลจะเกิดขึ้นได้เมื่อมีแอมิโลสอยู่ และการจับตัวเป็นเจล (gelation) จะเกิดเร็วที่สุดเมื่อมีแอมิโลสที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง แต่ถ้าส่วนผสมมีความเข้มข้นของแป้งต่ำมากจะไม่เกิดเจล แต่จะรวมตัวกันตกตะกอน (precipitate) การเกิดเจลของแป้งสุกนั้น เมื่อลด

อุณหภูมิให้ต่ำลงและทิ้งไว้นานขึ้น การจัดเรียงตัวกันเป็นโครงสร้างดังกล่าวยิ่งแน่นมากขึ้น ทำให้โมเลกุลอิสระของน้ำที่อยู่ภายในถูกบีบออกมาอยู่นอกเจล (syneresis) และเจลมีลักษณะขาวขุ่น ความหนืดจะกลับมาเพิ่มขึ้นใหม่ ปรากฏการณ์นี้คือการเกิดรีโทรเกรเดชันหรือเรียกว่าการคืนตัวของแป้ง โดยปัจจัยที่มีผลต่อการคืนตัวได้แก่ความเข้มข้นของแป้ง อุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง ของระบบ ปริมาณและขนาดของ แอมิโลส และ แอมิโลเพกทิน รวมทั้งองค์ประกอบทางเคมีอื่นๆ ในแป้ง (Beynum, 1985)

ความหนืดเป็นสมบัติที่สำคัญและเป็นประโยชน์มากที่สุดของแป้ง เกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของแป้ง การเปลี่ยนแปลงความหนืดของแป้งเป็นสมบัติเฉพาะตัว และแตกต่างกันไปตามชนิดและสายพันธุ์ของแป้ง การตรวจวัดค่าความหนืดมีความสำคัญในแง่การใช้แป้งในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น ใช้เป็นสารให้ความข้นหนืดและให้เนื้อสัมผัสในอาหาร เป็นต้น การเปลี่ยนแปลงความหนืดของแป้งมีเครื่องมือหลายชนิดที่ใช้ในการวัดความหนืด ซึ่งมีทั้งแบบปรับอุณหภูมิได้ เช่น Brookfield viscometer capillary viscometer และ Rheometer ซึ่งจะวัดค่าที่อุณหภูมิหนึ่งๆ เท่านั้น ส่วนเครื่องมือแบบปรับและควบคุมอุณหภูมิได้ เช่น Rapid visco analyzer และ บราเบนเดอร์ วิสโคอะไมโล กราฟ แบบปรับและควบคุมอุณหภูมิได้นี้มีความสำคัญในการศึกษา ลักษณะของกราฟความหนืดเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิให้กับน้ำแป้ง ทำให้ทราบอุณหภูมิที่เกิดเจลาไทไนเซชัน ค่าความหนืดที่จุดสูงสุด และค่าความหนืดสุดท้ายเมื่อสารละลายแป้งเกิดการกลับคืนสภาพเดิมได้ (กล้าณรงค์ และ เกื้อกูล, 2546)

ในการวัดการเปลี่ยนแปลงความหนืดของแป้งด้วยเครื่อง Rapid Visco Analyzer (RVA) จะมีข้อดี คือเครื่องมือนี้สามารถเปลี่ยนระดับอุณหภูมิ ทั้งการทำให้ร้อน และทำให้เย็นได้อย่างแม่นยำแน่นอน ควบคุมไปกับการความสามารถในการรักษาอุณหภูมิให้คงที่ ในการทดลองนั้น เม็ดสตาร์ชเมื่อได้รับความร้อนจะดูดซึมน้ำและพองตัวขยายใหญ่ขึ้น ขณะเดียวกันน้ำที่เหลืออยู่รอบๆ เหลือน้อยลงทำให้เม็ดสตาร์ชเคลื่อนไหวได้ยาก แป้งจะเกิดเจลาไทไนเซชัน มีผลทำให้ความหนืดเพิ่มขึ้นจนถึงจุดที่มีความหนืดสูงสุด (peak viscosity) ซึ่งเป็นจุดที่เม็ดสตาร์ชมีการพองตัวเต็มที่ การเพิ่มอุณหภูมิและมีการกวนภายใต้แรงเฉือน (shear force) ที่คงที่ค่าหนึ่งต่อไปอีกจะมีผลทำให้โครงสร้างภายในแตกออกทำให้ความหนืดลดลง และเมื่อลดอุณหภูมิลงจะเกิดรีโทรเกรเดชัน มีผลทำให้ความหนืดเพิ่มขึ้นอีก ซึ่งเป็นความหนืดที่เกิดจากการจัดเรียงตัวใหม่ของโมเลกุลแอมิโลสที่ละลายออกมาจากเม็ดสตาร์ช ลักษณะของกราฟความหนืดที่วัดด้วยเครื่อง Rapid Visco Analyzer (Newport Scientific, 1995) แสดงดังภาพที่ 6



ภาพที่ 6 ลักษณะกราฟความหนืดและค่าตัวแปรต่างๆ ที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง Rapid Visco Analyzer

ที่มา: Newport Scientific (1995)

ค่าตัวแปรต่างๆ ที่เครื่อง RVA แสดงผลดังต่อไปนี้

1. ค่าอุณหภูมิเริ่มต้นของความหนืด (pasting temperature)

ค่าอุณหภูมิเริ่มต้นของความหนืด หมายถึง อุณหภูมิที่เริ่มมีการเปลี่ยนค่าความหนืดหรืออุณหภูมิที่ความหนืดเพิ่มขึ้น 2 RVU ในเวลา 20 วินาที มีหน่วยเป็นองศาเซลเซียส โดยปกติแล้วสตาร์ชจะไม่ละลายน้ำที่อุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิเจลลิ่งในเซชัน เนื่องจากเม็ดสตาร์ชเกิดจากสายแอมิโลสและแอมิโลเพกทินที่จับกันด้วยพันธะไฮโดรเจนจากหมู่ไฮดรอกซิลของโมเลกุลกลูโคสที่อยู่ใกล้ๆ กัน แต่เมื่อให้พลังงานความร้อนแก่สตาร์ชเพสท์ ผลของความร้อนทำให้โมเลกุลน้ำแทรกตัวเข้าไปทำลายพันธะไฮโดรเจน โดยเริ่มจากส่วนออสซิลก่อน หมู่ไฮดรอกซิลที่อิสระเกิดมากขึ้น โมเลกุลของน้ำจะเข้าไปจับกับหมู่ไฮดรอกซิลที่อิสระเหล่านั้น ทำให้เม็ดสตาร์ชเกิดการพองตัว (swelling) กระบวนการนี้จะเกิดขึ้นอย่างช้าๆ

2. ค่าความหนืดสูงสุด (peak viscosity)

ค่าความหนืดสูงสุด หมายถึง จุดที่เกิดความหนืดสูงสุดในขณะที่ถูกความร้อน หน่วยเป็น RVU เป็นค่าที่ใช้บอกความสามารถในการพองตัวอย่างอิสระของเม็ดสตาร์ชก่อนที่จะแตก (Singh *et al.*, 2003)

3. ความหนืดต่ำสุด (holding strength)

Holding strength หรือค่า Trough หมายถึง ความหนืดต่ำสุดระหว่างการทำให้เย็น หน่วยเป็น RVU เป็นความหนืดที่เกิดขึ้นภายหลังการให้ความร้อนและแรงกวน ส่งผลให้เม็ดสตาร์ชเกิดการเจลาทิไนซ์ ทำให้ความหนืดของเพสท์ค่อยๆ ลดลง

4. ค่าความหนืดลดลง (breakdown)

ค่าความหนืดลดลง หมายถึง ความแตกต่างของความหนืดสูงสุด และความหนืดต่ำสุด หน่วยเป็น RVU บอกถึงความคงตัว และความแข็งแรงของเม็ดสตาร์ชต่อการให้ความร้อนและแรงกวนที่เกิดขึ้น ซึ่งขึ้นอยู่กับอันตรกิริยา ระหว่างสายโมเลกุลภายในเม็ดสตาร์ช ซึ่งจะทำให้เม็ดสตาร์ชที่พองตัว ทนต่อแรงเฉือน (Chung *et al.*, 2003) เป็นความหนืดที่เกิดขึ้นหลังจากการให้ความร้อนและแรงกวน ส่งผลให้เม็ดสตาร์ชที่เกิดการเจลาทิไนซ์ แล้วแตกออก จึงทำให้ความหนืดของเพสท์ค่อยๆ ลดลง และความโปร่งแสงจะเพิ่มขึ้น มีการสูญเสียโครงสร้างที่เป็นระเบียบ และความสามารถในการบิกระนาบแสงโพลาไรซ์ (อรอนงค์, 2547)

5. ค่าความหนืดสุดท้าย (final viscosity)

ค่าความหนืดสุดท้ายของการทดลอง หน่วยเป็น RVU เป็นค่าความหนืดที่วัดได้เมื่อเพสท์ของแป้งผ่านการทำให้เย็นที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ซึ่งบ่งบอกถึงความแข็งแรงของเจลที่ได้

6. ค่าเซตแบค (setback)

ค่าเซตแบค หมายถึง ผลต่างของความหนืดสุดท้ายกับความหนืดที่จุดต่ำสุด หน่วยเป็น RVU เป็นค่าที่แสดงถึงการยืดเกาะกันหรือการเกิดรีโทรเกรดของส่วนประกอบต่างๆ ได้แก่ เม็ดสตาร์ชที่พองตัว ส่วนที่แตกออกของเม็ดสตาร์ชที่พองตัวและโมเลกุลของสตาร์ชที่แขวนลอยหรือกระจายอยู่ในเฟสที่ นั่นคือในส่วนอสัณฐานจะมีการจัดเรียงอย่างเป็นระเบียบมากขึ้นหรือจัดเรียงตัวกันเป็นผลึกทำให้ความแน่นเนื้อ (firmness) หรือความแข็ง (rigidity) เพิ่มขึ้น มีการสูญเสียความสามารถในการกักเก็บน้ำ และเกิดสภาพที่เป็นผลึกอีกครั้งหนึ่ง โดยการเปลี่ยนแปลงจะเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการเก็บนานขึ้นซึ่งเรียกปรากฏการณ์นี้ว่า การเกิดรีโทรเกรดชัน (อรอนงก์, 2547)

การเปลี่ยนแปลงความหนืดของเม็ดสตาร์ชด้วยวิธีต่างๆ

1. การใช้คลื่นเสียงความถี่สูง (high-intensity ultrasound, HIU)

Chung *et al.* (2003) ได้ทดสอบคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำแป้งข้าว ที่อุณหภูมิ 65 75 85 และ 95 องศาเซลเซียส แล้วผ่าน HIU เป็นเวลา 1 3 และ 5 นาที พบว่า HIU ทำให้มีความหนืดสูงสุด ต่ำกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เนื่องการใช้ HIU จะทำลายผิวของเม็ดสตาร์ชให้เกิดความเสียหาย แต่ไม่มีผลต่อระดับของพอลิเมอร์ไรเซชัน (degree of polymerization) ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้กรดจะทำให้ค่าความหนืดสูงสุดลดลง โดยการทำลายพันธะกลูโคสิดิกของกลูโคสโพลิเมอร์ แต่การใช้ HIU จะทำให้ผิวของเม็ดสตาร์ชถูกทำลาย และมีขนาดเล็กลง จึงมีกำลังการพองตัวต่ำ ทำให้มีความหนืดสูงสุดลดลง

Wang and Wang (2004b) ได้ศึกษาการสกัดสตาร์ชข้าวเจ้าเพื่อลดระยะเวลาในการแยกสกัดสตาร์ชข้าว โดยใช้แป้งข้าว 100 กรัม กระจายในน้ำ 200 กรัม ผ่านคลื่นเสียงที่มีความถี่สูง HIU (20 กิโลเฮิร์ตซ์) ที่ 75 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 30 นาที พบว่าทำให้ได้ผลของสตาร์ชประมาณ 78 เปอร์เซ็นต์ และมีโปรตีนที่เหลืออยู่ประมาณ 0.9-1.7 เปอร์เซ็นต์ และเกิดสตาร์ชที่เสียหายประมาณ 3.1-3.5 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อนำ HIU มาใช้ร่วมกับสารลดแรงตึงผิว (Surfactants) (Sodium dodecyl sulfate, SDS) ที่ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งทำให้ได้ผลได้ของสตาร์ชเพิ่มขึ้น คือมีประมาณ 85 เปอร์เซ็นต์ มีโปรตีนที่เหลืออยู่ประมาณ 0.2 เปอร์เซ็นต์ และเกิดสตาร์ชที่เสียหายประมาณ 3.1 เปอร์เซ็นต์ Wang and Wang (2004b) ได้สรุปว่าผลของการใช้ HIU ที่มีต่อคุณสมบัติด้านความหนืดของสตาร์ชนั้นยังไม่เป็นที่ชัดเจน อาจมีความซับซ้อนกันอยู่ระหว่างผลของปริมาณโปรตีนที่

เหลืออยู่และสตาร์ชที่เสียหาย ซึ่งผลการทดลองไม่สอดคล้องกับปริมาณ โปรตีนและสตาร์ชที่เสียหายที่เกิดขึ้น และพบว่าการใช้เอนไซม์ร่วมกับ HIU นั้น โดยทั่วไปน่าจะมีค่าความหนืดสูงสุด และค่าความหนืดลดลง สูงขึ้น และมีค่าเซตแบคต่ำลง เมื่อเทียบกับการใช้เอนไซม์เพียงอย่างเดียว แต่กลับมีค่าความหนืดสูงสุด และค่าความหนืดลดลง ต่ำกว่า ซึ่งผลที่เกิดขึ้นนี้ยังไม่มีอธิบายถึงเหตุผลที่ชัดเจน

2. การใช้สารลดแรงตึงผิว

Hamaker and Griffin (1993) ได้ทำการศึกษาผลของการทำลายพันธะไดซัลไฟด์ของโปรตีน โดยใช้ dithiothreitol จากการศึกษาแป้งข้าวทั้ง 9 พันธุ์ ที่มีผลต่อการเกิดเจลและความหนืดของแป้งข้าว พบว่าเมื่อพันธะไดซัลไฟด์ของโปรตีนถูกทำลายทำให้เม็ดสตาร์ชพองตัวได้ดี ขนาดเม็ดสตาร์ชใหญ่ขึ้น มีผลต่อความหนืด และอุณหภูมิเจลาติไนซ์ที่สูงขึ้น พันธะไดซัลไฟด์ของโปรตีนจะทำให้เม็ดสตาร์ชเกิดการพองได้ตัวน้อยโดยจะเพิ่มความแข็งแรงให้แก่เม็ดสตาร์ชที่พองตัว ทำให้เม็ดสตาร์ชที่เจลาติไนซ์แล้วทนต่อความร้อนและแรงเฉือนเพิ่มขึ้น สตาร์ชข้าวมีความหนืดลดลงน้อยลง เมื่อพันธะไดซัลไฟด์ถูกตัด ระดับการเกิดเจลาติไนซ์ และความแข็งแรงของเจลจะเพิ่มขึ้น จากการศึกษาความสัมพันธ์เชิงเส้นของโปรตีนกับค่าความหนืดพบว่า โปรตีนมีผลต่อการพองตัวของเม็ดสตาร์ช ระดับการเกิดเจลาติไนซ์ และความแข็งแรงของเจล อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

3. การใช้เอนไซม์

Wang and Wang (2001) ได้ทำการเปรียบเทียบวิธีการสกัดสตาร์ชข้าว โดยใช้โปรตีเอส ที่ระดับความเป็นกรด-เบส ต่างๆ เปรียบเทียบกับวิธีการใช้สารละลายด่าง และหาความสัมพันธ์ของโปรตีน และสตาร์ชที่มีผลต่อคุณสมบัติด้านความหนืดที่เปลี่ยนไป พบว่า โปรตีนและสตาร์ชที่เสียหายมีผลต่อคุณสมบัติด้านความหนืด โดยปริมาณโปรตีนมีความสัมพันธ์กับค่าความหนืดลดลงของสตาร์ชเพียงเล็กน้อย ($r = 0.58$, $P = 0.05$) แต่มีความสัมพันธ์แบบผกผันกับค่าความหนืดสูงสุดน้อยกว่า โดยสตาร์ชที่เสียหายจะมีความสัมพันธ์แบบผกผันกับค่าความหนืดสูงสุด ($r = -0.78$, $P = 0.05$) สูงกว่าโปรตีนมาก ดังนั้นปริมาณโปรตีนและสตาร์ชที่เสียหายจะมีผลต่อคุณสมบัติด้านความหนืดของสตาร์ช

Jiang and Liu (2002) ได้ศึกษากำล้างการพองตัวและการเปลี่ยนแปลงความหนืดของสตาร์ชมันฝรั่งและสตาร์ชข้าวโพดที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาเอมิเลส พบว่ากำล้างการพองตัวของสตาร์ชที่ผ่านการย่อยลดลง เมื่อระยะเวลาในการย่อยนานขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากเมื่อระยะเวลาการย่อยนานขึ้น ทำให้อัตราส่วนเอมิโลสต่อเอมิโลเพกทินลดลง นอกจากนี้การที่เอนไซม์ย่อยเอมิโลเพกทินเป็นผลทำให้ปริมาณของเอมิโลเพกทินที่มีมวลโมเลกุลปานกลาง (intermediate Mw fraction) เพิ่มขึ้น ซึ่งทำให้มีกำล้างการพองตัวลดลง และจากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงความหนืดพบว่าสตาร์ชที่ผ่านการย่อยมีความหนืดสูงสุดต่ำ ทั้งนี้เนื่องจากสตาร์ชที่ผ่านการย่อยมีปริมาณเอมิโลส ลดลงเป็นผลมาจากเอนไซม์แอลฟาเอมิเลสทำปฏิกิริยาภายใน (endo-acting) โมเลกุลสตาร์ชตรงพันธะแอลฟา 1,4 ไกลโคสิดิกแบบสุ่ม ได้เป็นโอลิโกแซคคาไรด์ (oligosaccharide) และแอลฟา ลิมิตเดกซ์ทริน (α -limit dextrin) ซึ่งโอลิโกแซคคาไรด์เป็นส่วนที่ละลายน้ำและถูกกำจัดออกไปกับน้ำ ทั้งนี้เนื่องจากเอมิโลเพกทินที่เหลือภายในเมล็ดสตาร์ชทำตัวเลียนแบบเอมิโลสคือไปจับกับโมเลกุลของไขมันทำให้เมล็ดสตาร์ชมีความแข็งแรงมาก นอกจากนี้เมื่อระยะเวลาการย่อยเพิ่มขึ้น อัตราส่วนเอมิโลสต่อเอมิโลเพกทินทำให้มีปริมาณของเอมิโลเพกทินที่มีมวลโมเลกุลปานกลาง (intermediate Mw fraction) เพิ่มขึ้น การที่มีเอมิโลเพกทินมวลโมเลกุลปานกลางเพิ่มขึ้น ทำให้เมล็ดสตาร์ชใช้เวลาในการเปลี่ยนแปลงความหนืดสูงสุด ทำให้ความหนืดสูงสุดลดลง

4. การย่อยด้วยกรด

Wang *et al.* (2003) ศึกษากำล้างการพองตัวและการเปลี่ยนแปลงความหนืดของสตาร์ชข้าวโพดที่ผ่านการย่อยด้วยกรดไฮโดรคลอริก พบว่าสตาร์ชข้าวโพดที่ผ่านการย่อยมีกำล้างการพองตัวลดลง ทั้งนี้เนื่องจากใน ช่วงแรกไฮโดรเจนไอออนเข้าทำปฏิกิริยาตรงบริเวณผิวของเมล็ดสตาร์ชก่อนที่จะกระจายเข้าทำปฏิกิริยาภายในผิวของเมล็ดสตาร์ช ส่วนออสันฐานอยู่บริเวณของเมล็ดสตาร์ช ซึ่งเป็นส่วนที่ยึดหยุ่นถูกกำจัดออกไป (Rohwer and Klem, 1984, ; Betancur and Chel, 1997) ทำให้สตาร์ชที่ได้จากการย่อยมีสัดส่วนของผลึกมากขึ้น ส่งผลให้สตาร์ชข้าวโพดที่ผ่านการย่อยด้วยกรดไฮโดรคลอริกมีกำล้างการพองตัวลดลง นอกจากนี้งานวิจัยของ Haros *et al.* (2004) ศึกษากำล้างการพองตัวของสตาร์ชข้าวโพดที่ผ่านการแช่ด้วยกรดแลกติก พบว่ามีกำล้างการพองตัวลดลงเนื่องจากกรดแลกติกเข้าทำปฏิกิริยากับโมเลกุลของสตาร์ช ทำให้ระดับขึ้นการเกิดโพลีเมอร์ของเอมิโลสและเอมิโลเพกทินในส่วนออสันฐานของเมล็ดสตาร์ชถูกย่อย (Monica *et al.*, 2003) และจากการทดลองของ Wang *et al.* (2003) พบว่าสตาร์ชที่ผ่านการย่อยด้วยกรดมีสมบัติด้านความหนืดลดลง ทั้งนี้เนื่องจากสตาร์ชที่ผ่านการย่อยมีกำล้างการพองตัวลดลงเพราะส่วนออสันฐานซึ่งเป็นส่วนที่ยึดหยุ่นถูกกำจัดออกไป (Wang and Wang, 2001) ทำให้เมล็ดสตาร์ชพองตัวได้น้อยลง (Rohwer and

Klem, 1984; Betancur and Chel, 1997) เมื่อส่วนอสังฐานถูกกำจัดออกไปทำให้ปริมาณแอมิโลสลดลง ส่งผลให้ค่าเซตแบคคอลลิง (Franco *et al.*, 1988; Wang and Wang, 2001; Jiang and Liu, 2002) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Haros *et al.* (2004) ศึกษาความหนืดของสตาร์ชข้าวโพดที่ผ่านการแช่ด้วยกรดแลกติก พบว่าสตาร์ชมีความหนืดลดลง ทั้งนี้เนื่องจากกรดแลกติกย่อยส่วนอสังฐานของเม็ดสตาร์ชทำให้สายโมเลกุลของแอมิโลสและแอมิโลเพกทินซึ่งเป็นส่วนที่ทำปฏิกิริยากับกับน้ำลดลง ส่งผลให้มีความหนืดลดลง (Monica *et al.*, 2003)

5. การหมัก

Moorthy and Mathew (1998) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงกำลังการพองตัวและการเปลี่ยนแปลงความหนืดของสตาร์ชมันฝรั่งที่ผ่านการหมัก พบว่าสตาร์ชที่ผ่านการหมักมีกำลังการพองตัวลดลง ทั้งนี้เนื่องจากการหมักทำให้เม็ดสตาร์ชมีขนาดเล็กลง เป็นผลจากบริเวณผิวของเม็ดสตาร์ชถูกย่อยไปในระหว่างการหมักทำให้บริเวณผิวของเม็ดสตาร์ชหลุดออกไป และเม็ดสตาร์ชขนาดเล็กที่เกิดขึ้นมีส่วนผลึกมาก ส่งผลให้กำลังการพองตัวลดลง และจากการเปลี่ยนแปลงความหนืด พบว่าสตาร์ชที่ผ่านการหมักที่มีอุณหภูมิเริ่มต้นของความหนืด ความหนืดลดลง และเซตแบคคอลลิง ทั้งนี้เนื่องจากเม็ดสตาร์ชที่ผ่านการหมักมีความคงตัวมากเป็นผลมาจากแอมิโลสที่ลดลงและมีส่วนของแอมิโลเพกทินมวลโมเลกุลปานกลางเพิ่มขึ้น ทำให้กำลังการพองตัวลดลง ส่งผลให้ความหนืดลดลง

การเกิดเจลาตินในเซชัน (gelatinization)

เมื่อสารละลายแป้งได้รับความร้อน ความร้อนจะส่งเสริมให้ทำลายพันธะไฮโดรเจนของโมเลกุลน้ำที่อยู่ล้อมรอบเม็ดแป้งได้ดีและเข้าสู่ภายในเม็ดแป้งได้ ทำให้เม็ดแป้งเกิดการพองตัว (swelling) กระบวนการนี้จะเกิดขึ้นอย่างช้าๆ จนกระทั่งถึงอุณหภูมิวิกฤต (critical temperature) ซึ่งเป็นจุดที่มีความสำคัญ คือ ในบางเม็ดที่มีการพองตัว จะสูญเสียโครงสร้างที่เป็นระเบียบ และความสามารถในการบดระนาบแสงโพลาไรซ์ ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงความหนืดและการละลาย ซึ่งเรียกปรากฏการณ์นี้ว่าการเกิดเจลาตินในเซชัน (gelatinization) (Alexander and Zobel, 1992) การสูญเสียสมบัติทั้ง 2 จะเริ่มเกิดขึ้นที่ไฮลัมและจะขยายตัวไปยังบริเวณโดยรอบเม็ดสตาร์ช นอกจากนั้นการเกิดเจลาตินในเซชันยังมีผลทำให้ค่าความโปร่งแสงและค่าความหนืด มีค่าเพิ่มขึ้น

การใช้พลังงานในการหลอมเม็ดแป้งสามารถวิเคราะห์ได้ด้วยเครื่อง Differential Scanning Calorimeter (DSC) เครื่อง DSC ใช้ในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสารที่เกี่ยวข้องกับการ

เปลี่ยนแปลงพลังงาน โดยมีหลักการคือ ทั้งตัวอย่างและสารอ้างอิงจะเริ่มต้นที่อุณหภูมิเดียวกัน หลังจากนั้นจะมีกระบวนการให้ความร้อนหรือการทำให้เย็นลงในอัตราที่กำหนดไว้ ดังนั้นปริมาณความร้อนจะไหลเข้าสู่ระบบทั้งสารตัวอย่างและสารอ้างอิง ในการรักษาระดับความแตกต่างของอุณหภูมิของสารตัวอย่างและสารอ้างอิงให้เท่ากัน ปริมาณความร้อนที่ให้หรือคายออกมาจะเป็นฟังก์ชันกับเวลาหรืออุณหภูมิ

เครื่อง DSC เริ่มนำมาใช้ศึกษาเป้งครั้งแรกโดย Stevens และ Elton จากนั้นจึงเริ่มมีการศึกษาเป้งชนิดต่างๆ และปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดเจลาติไนเซชัน (Zobel, 1988) ค่าทางเทอร์โมไดนามิกที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง DSC จะมีตัวแปรดังนี้

To หมายถึง อุณหภูมิที่จุดเริ่มต้น (onset temperature) หน่วยเป็นองศาเซลเซียส

Tp หมายถึง อุณหภูมิที่จุดสูงสุด (peak temperature) หน่วยเป็นองศาเซลเซียส

Tc หมายถึง อุณหภูมิที่จุดสุดท้าย (conclusion temperature) หน่วยเป็นองศาเซลเซียส

ΔH หมายถึง ความร้อนทั้งหมดของปฏิกิริยาหรือ enthalpy หน่วยเป็นจูลต่อกรัม

อุณหภูมิในการเปลี่ยนแปลงพลังงาน (transition temperature) และพลังงานความร้อนทั้งหมด (enthalpy) ในการเกิดเจลาติไนเซชันของเม็ดเป้ง จากการวัดด้วยเครื่อง DSC จะมีความสัมพันธ์กับระดับของผลึก (degree of crystalline) ของเม็ดสตาร์ช โดยที่ระดับของผลึกที่สูงจะมีผลทำให้อุณหภูมิที่ใช้ในการเปลี่ยนแปลงพลังงานสูงขึ้นด้วย ระดับของผลึกเป็นตัวบ่งบอกถึงความคงตัว (stability) ของโครงสร้างเม็ดสตาร์ช ทำให้มีความต้านทานต่อการเกิดเจลาติไนเซชัน และเป็นผลมาจากความคงตัวของส่วนอสัณฐาน (amorphous region) หรือส่วนของกิ่งก้านสาขาด้วย

Singh *et al.* (2003) ได้ทำการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเอมิโลส และค่าเอนทาลปีของการเกิดเจลาติไนซ์ ของข้าว 19 พันธุ์ พบว่าข้าวแต่ละพันธุ์ จะมีค่า อุณหภูมิเริ่มต้นในการเกิดเจล (T_0) เอนทาลปี และช่วงอุณหภูมิในการเกิดเจลาติไนซ์ ($\Delta T = T_c - T_0$) แตกต่างกันเนื่องจากมีความยาวของเอมิโลเพกทินไม่เท่ากัน สตาร์ชพันธุ์ที่มีเอมิโลเพกทินยาวกว่าจะมีค่าเอนทาลปี สูงกว่าเอมิโลเพกทินที่สั้น เอมิโลเพกทินที่ถูกตัดความยาวของสายโซ่ให้สั้นลง อาจเกิดจากความร้อนหรือแรงกวนที่เพิ่มขึ้น มีผลทำให้ค่าความหนืดสูงสุด และค่าความหนืดลดลงต่ำลง และจากการหาค่าความสัมพันธ์พบว่า เอมิโลสจะมีความสัมพันธ์กับ ค่าความหนืดสูงสุด ค่าความหนืดสุดท้าย ($r = 0.464$, $P < 0.05$) และค่าเซตแบค ($r = 0.614$, $P < 0.01$) โดยค่าความหนืดสูงสุดจะมีความสัมพันธ์กับการพองตัวของเม็ดสตาร์ช ($r = 0.49$, $P < 0.05$) และอุณหภูมิเริ่มเกิดความหนืด ($r = -0.434$, $P < 0.05$)

วิธีที่ใช้ในการสกัดสตาร์ชข้าว

แบ่งได้เป็น 2 ประเภท ดังนี้คือ

1. การสกัดสตาร์ชด้วยวิธีทางเคมี (chemical methods)

1.1 การใช้ด่าง (alkali solution) นิยมใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ หรืออาจใช้แคลเซียมไฮดรอกไซด์ แต่ให้ผลได้ต่ำกว่า การใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ โดยโปรตีนในแป้งข้าวส่วนใหญ่เป็นกลูเทลินประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งละลายได้ในสารละลายด่าง ซึ่งโปรตีนแอลบูมินที่ละลายได้ในน้ำ และโกลบูลินที่ละลายได้ในเกลือ ที่อยู่ในชั้นแอลิวโรนจะถูกกำจัดออกไปในขั้นตอนการไม่เปียก (Lim *et al.*, 1999) ดังนั้นการใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ จึงทำให้โปรตีนแยกออกจากสตาร์ชได้อย่างสมบูรณ์ ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดสตาร์ช จะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับความเหมาะสมของตัวอย่าง วิธีนี้จะได้สตาร์ชที่มีความบริสุทธิ์สูงและเป็นวิธีที่ง่ายที่สุด แต่ก่อให้เกิดปัญหาเรื่องน้ำเสีย และมีผลทำให้ความเป็นผลึกของสตาร์ช (starch crystallinity) ลดลง (Han and Hamaker, 2002; Wang and Wang, 2001) โดยทั่วไปการสกัดสตาร์ชด้วยวิธีนี้จะใช้ โซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นประมาณ 0.1-0.2 เปอร์เซ็นต์ มีผลได้ประมาณ 73-85 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่ประมาณ 0.07-0.42 เปอร์เซ็นต์ และมีปริมาณสตาร์ชที่เสียหายประมาณ 0.07-2.6 เปอร์เซ็นต์ (Yang *et al.*, 1984; Lumdubwong and Seib, 2000) โดยการเกิดสตาร์ชที่เสียหายจากการใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์นั้น เนื่องมาจากสารละลายด่างสามารถย่อย (hydrolysis) พอลิแซ็กคาไรด์ได้ ดังนั้น สารละลายด่างจึงสามารถเป็นตัวทำลายสตาร์ชได้เช่นกัน ซึ่งความเสียหายของสตาร์ชจะเกิดจากสารละลายด่างจะทำให้เกิดการเคลื่อนย้ายเอมิโลสที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง (high molecular weight) ออกจากเม็ดสตาร์ช (Chiou *et al.*, 2002)

การแยกสกัดสตาร์ชจากข้าวนั้นยากกว่าการแยกสกัดสตาร์ชจากข้าวโพด หรือข้าวสาลี เพราะสตาร์ชข้าวจะปฏิสัมพันธ์ (association) กับโปรตีนบอดีของโพรลามิน (protein body I) และกลูเทลิน (protein body II) การที่กลูเทลินในแป้งข้าวละลายได้ยากมากเนื่องจากพันธะไฮโดรโฟบิกกับพันธะไดซัลไฟด์ นอกจากนี้รูปแบบของสารประกอบที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงมีส่วนทำให้กลูเทลินละลายออกมาได้ยาก และทางเดียวที่จะทำลายกลูเทลินได้คือ การใช้สารละลายที่มีความเป็นกรด-เบสที่ต่ำกว่า 3 หรือสูงกว่า 10 แต่สตาร์ชข้าวจะมีความบริสุทธิ์สูงเมื่อใช้สารละลายที่เป็นด่าง สารลดแรงตึงผิว (surfactants) และการใช้เอนไซม์โปรตีเอสในการย่อยโปรตีน ซึ่งการสกัด

โดยวิธีการ ใช้สารละลายต่างนั้นจะมีความบริสุทธิ์สูงที่สุด และคุณสมบัติของสตาร์ชที่สกัดด้วยวิธีการใช้ต่าง จะมีค่าอุณหภูมิของความหนืด (pasting temperature) และมีค่าความหนืดสูงสุด (peak viscosity) ต่ำกว่าสตาร์ชที่ผ่านการไม่เปียกทางการค้า การใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ เป็นสารละลายต่าง ซึ่งอาจจะเกิดการออกซิไดซ์กับไขมันบางส่วน และส่งเสริมทำให้เกิดกลิ่นที่ไม่ดี (off-odor) ในสตาร์ช สตาร์ชข้าวที่สกัดได้จากโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) มีระดับของปริมาณไขมันทั้งหมด และไลโซฟอสโฟลิพิด (lysophospholipids) ลดลง แต่มีระดับของกรดไขมันอิสระ (free fatty acid) เพิ่มขึ้น แต่มีโปรตีนที่แตกตัวและเปปไทด์ที่ได้จากสกัดสตาร์ชข้าวลดลง วิธีนี้จะไม่ทำลายโครงสร้างส่วนที่เป็นผลึกของเม็ดสตาร์ช (Wang and Wang, 2001; Han and Hamaker, 2002) และไม่พบการ depolymerization ของโมเลกุลสตาร์ชซาลิที่สกัดด้วยต่าง (Han and Hamaker, 2002)

1.2 การใช้สารลดแรงตึงผิว (surfactants) นิยมใช้ sodium dodecyl sulfate (SDS) dodecyl benzene sulfonate (DBS) และ sodium lauryl sulfate (SLS) ซึ่งเป็นสารที่ใช้โดยทั่วไปในการแยกสกัดโปรตีนออกจากเนื้อของเมล็ดข้าว (endosperm) ตัวทำละลายเหล่านี้จะทำลายบางส่วนของโครงสร้างโปรตีน (oligomeric protein structure) และแปรสภาพโปรตีนเหล่านั้นให้อยู่ในรูปที่สามารถถูกละลายได้ (Cagampang *et al.*, 1966) ด้วยเหตุนี้สารลดแรงตึงผิวจึงจะไม่สามารถขจัดโปรตีนออกได้อย่างสมบูรณ์ (Cone and Wolters, 1990) Juliano and Boulter (1976) ได้รายงานว่าการใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.1 N และสารละลาย SDS ที่ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ สามารถแยกสกัดโปรตีนได้ถึง 94-98 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ Kun *et al.* (1987) ได้ใช้สารลดแรงตึงผิว SDS ในการแยกโปรตีนร่างแหออกจากสตาร์ชข้าวได้ผลได้ประมาณ 88 เปอร์เซ็นต์ และมีปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่ประมาณ 1.6 เปอร์เซ็นต์ (Wang and Wang, 2004b) มีผลต่ออุณหภูมิการเกิดเจลที่ในซึ่ ความหนืดน้ำแป้งสูง และมีผลให้ความข้นของสตาร์ชเพลสลง ข้อเสียคือ ยังคงมีปัญหาเรื่องน้ำเสีย (Puchongkavarin *et al.*, 2005)

1.3 การใช้เอนไซม์โปรตีเอส (protease; proteolytic enzyme) ในการแยกสกัดสตาร์ช โดยเอนไซม์โปรตีเอส ซึ่งเป็นเอนโดโปรตีเอส (endo-proteas) และมีหน้าที่ในการตัดพันธะเปปไทด์จากภายในของโมเลกุลโปรตีน เอนไซม์โปรตีเอสสามารถทำให้โปรตีนละลายน้ำ และย่อยโปรตีนจนได้เป็นสารประกอบที่มีกรดอะมิโน 2 ตัว การใช้เอนไซม์ในการสกัดสามารถใช้ได้ทั้งสภาวะที่เป็นกลางและสภาวะที่เป็นด่าง แต่ในสภาวะที่มีความเป็นกรด-เบสที่เป็นกลาง (ความเป็นกรด-เบสเท่ากับ 7) ต้องใช้เวลานานในการสกัด (ประมาณ 24 ชั่วโมง) ที่อุณหภูมิ 38 องศาเซลเซียส และนอกจากจะใช้เวลานานแล้วยังเป็นการเพิ่มต้นทุนการผลิตในอุตสาหกรรมอีกด้วย เนื่องจากเอนไซม์

มีราคาสูง จากการทดลองของ Lumdubwong and Seib (2000) ได้ทำการเปรียบเทียบต้นทุนราคาของ กระบวนการผลิตสตาร์ช ระหว่างกระบวนการผลิตโดยใช้เอนไซม์กับกระบวนการผลิตโดยใช้ สารละลายต่าง พบว่า การกระบวนการผลิตที่ใช้เอนไซม์นั้นมีต้นทุนการผลิตสูงกว่ากระบวนการ ผลิตโดยใช้สารละลายต่างมากถึง 2.63 เท่า แม้ว่าความบริสุทธิ์ของสตาร์ชจะสูงกว่าวิธีการใช้ สารละลายต่างประมาณ 24 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างผลึก (crystallinity) ของสตาร์ชข้าว (โครงสร้างแบบเอ) แต่จะมีค่า x-ray crystallinity ที่ต่ำกว่าสตาร์ชข้าว ที่ได้จากการแยกสกัดด้วยสารลดแรงตึงผิวเล็กน้อย (Lugay and Juliano, 1965) และสีของสตาร์ชที่ ได้จากการสกัดด้วยเอนไซม์จะมีความขาวและสว่างกว่าวิธีการใช้สารละลายต่าง (Lumdubwong and Seib, 2000) นอกจากนี้พบว่า การนำเอนไซม์โปรตีเอสมาใช้ร่วมกับสารละลายต่าง ในการแยก สกัดสตาร์ชข้าวโอ๊ต และสตาร์ชข้าว (Lim *et al.*, 1992; Lumdubwong and Seib, 2000) โดยการใช้ โปรตีเอสกับสารละลายต่างที่ความเป็นกรด-เบส เท่ากับ 7.5 เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิประมาณ 37 องศาเซลเซียส ในการแยกสกัดสตาร์ชข้าวโอ๊ต ทำให้ได้ผลได้ของสตาร์ชข้าวโอ๊ตประมาณ 78 เปอร์เซ็นต์ และมีโปรตีนที่เหลืออยู่ประมาณ 1.1 เปอร์เซ็นต์ (Lim *et al.*, 1992) ในการประยุกต์ใช้ เอนไซม์กับสารละลายต่างเพื่อกระบวนการผลิตในอุตสาหกรรมการสกัดสตาร์ชข้าวโดยมีสถานะที่ ใช้ในการผลิตคือที่ความเป็นกรด-เบส เท่ากับ 10 เป็นเวลา 12 ชั่วโมง อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ทำ ให้ได้ผลได้ของสตาร์ชประมาณ 95 เปอร์เซ็นต์ และมีปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่ประมาณ 0.52 เปอร์เซ็นต์ มีสตาร์ชที่เสียหายประมาณ 2.1 เปอร์เซ็นต์ แต่การใช้สารละลายต่างที่ความเป็นกรด- เบส เท่ากับ 10 นั้น ยังคงทำให้เกิดน้ำทิ้งที่ต้องบำบัดอีกเป็นจำนวนมาก (Wang and Wang, 2001) ดังนั้น Wang and Wang (2001) จึงได้ทำการศึกษาความแตกต่างของสภาวะระหว่างการใช้เอนไซม์ ที่สภาวะความเป็นกรด-เบส ที่เป็นกรด เป็นกลาง และสภาวะที่เป็นด่าง และการใช้เอนไซม์ใน สภาวะที่เป็นกลาง (มีความเป็นกรด-เบส เท่ากับ 6.5) นั้น ใช้เวลาสกัดประมาณ 18 ชั่วโมง โดยทำ การย่อยที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ซึ่งวิธีนี้จะทำให้ได้ ผลได้สูงกว่า และมีปริมาณสตาร์ชที่ เสียหายน้อยกว่าสตาร์ชที่สกัดด้วยวิธีทางเคมี แต่การใช้เอนไซม์ในสภาวะที่เป็นกลางจะมีปริมาณ โปรตีนที่เหลืออยู่ใกล้เคียงกับสตาร์ชที่สกัดด้วยวิธีทางเคมี ดังนั้น การผลิตสตาร์ชด้วยวิธีนี้สามารถ พัฒนากระบวนการผลิตให้มีผลได้ที่สูงขึ้น และปราศจากน้ำเสียที่มีความเข้มข้นของด่าง และเกลือ สูง ภายหลังกระบวนการผลิต แต่ยังคงต้องมีการปรับปรุงในเรื่องระยะเวลาในการสกัด เพราะ ระยะเวลาที่นานเกินไปอาจทำให้เกิดปัญหาเรื่องการเน่าเสียของแป้งได้ และเมื่อไม่นานมานี้ Puchongkavarin *et al.* (2005) ได้นำเอนไซม์เซลลูเลสมาใช้ในช่วงเริ่มต้นของการสกัดที่มีสภาวะที่ เป็นกรดเล็กน้อยเพื่อย่อยเนื้อเยื่อผนังเซลล์ ตามด้วยเอนไซม์โปรตีเอส ภายใต้สภาวะที่เป็นกลาง เพื่อ ทำให้โปรตีนบอดี ที่มีปฏิสัมพันธ์ (association) กับเม็ดสตาร์ชหลุดออก ในการสกัดโดยใช้เอนไซม์

โปรตีนเอส พบว่า การใช้โปรตีนเอสจะมีปริมาณของสตาร์ชที่ได้ประมาณ 76 เปอร์เซ็นต์ และมีปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่ประมาณ 0.6 เปอร์เซ็นต์

1.4 การตกตะกอนสตาร์ช (purification by precipitation) โดยวิธีนี้จะใช้สารละลายแอมโมเนีย ในการทำลายผนังเซลล์ให้แตกออก เพื่อให้ไขมันออกมาจากเซลล์ จากนั้นจะใช้เอทานอล (ethanol) แอซิโตน (acetone) และ ไดเอทิล อีเทอร์ (diethyl ether) ในการตกตะกอนสตาร์ช แต่วิธีนี้ไม่สามารถที่จะสกัดโปรตีนออกมาได้หมด และทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเม็ดสตาร์ช (Matheson and Welsh, 1988)

2. การสกัดสตาร์ชด้วยวิธีทางกายภาพ (physical methods)

เป็นการใช้แรงเฉือนสูงเพื่อแยกโปรตีนออก แต่วิธีการนี้ได้สตาร์ชที่มีความบริสุทธิ์สูงกว่าวิธีอื่น แต่ไม่มีปัญหาเรื่องน้ำเสียเหมือนการใช้สารเคมีในการสกัด วิธีเหล่านี้ได้แก่

2.1 การโฮโมจีไนเซชันด้วยความดันสูง high-pressure homogenization (micro fluidizer) โดยอาศัยหลักการในการแยกโมเลกุลของโปรตีนออกจากสตาร์ชข้าวด้วยแรงดันสูง (14503.78 kPa) แป้งข้าวที่ผ่านเข้าหัวโฮโมจีไนเซอร์ จะเกิดการแยกออกของโมเลกุลโปรตีน ที่ผิวสตาร์ชเม็ดสตาร์ชวิธีนี้มีผลได้ประมาณ 72 เปอร์เซ็นต์ มีโปรตีนเหลืออยู่ประมาณ 2.7 เปอร์เซ็นต์ และเกิดสตาร์ชเสียหายประมาณ 5.3 เปอร์เซ็นต์ (Guraya and James, 2002)

2.2 การใช้ HIU ในการแยกสตาร์ช ซึ่งเป็นอีกวิธีหนึ่งที่ใช้ในการแยกสตาร์ชข้าว โดยปราศจากการใช้สารเคมีที่ทำให้เกิดน้ำเสีย การใช้ HIU ช่วยในการสกัดโปรตีน จะช่วยเพิ่มความสามารถในการละลายของโปรตีน (Morel *et al.*, 2000; Moulton and Wang, 1982; Wang, 1975) แต่จะมีผลทำให้น้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนที่สกัดได้ลดลง (Morel *et al.*, 2000)

Tang *et al.* (2002) ได้ทำการสกัดโปรตีนจากรำข้าวโดยใช้วิธีทางกายภาพเพื่อลดปริมาณการใช้สารละลายต่างในการสกัดโปรตีน โดยเลือกใช้ HIU (20 % output, output energy of 40W) เป็นเวลา 5 นาที และสามารถสกัดโปรตีนจากรำข้าวได้ประมาณ 15 เปอร์เซ็นต์

Wang and Wang (2004b) ได้นำ HIU มาใช้ในศึกษาการสกัดสตาร์ชข้าวเจ้าเพื่อลดระยะเวลาในการแยกสกัดสตาร์ชข้าว โดยใช้แป้งข้าว 100 กรัม ละลายในน้ำ 200 กรัม นำมาผ่าน

คลื่นเสียงที่มีความถี่สูง (20 กิโลเฮิร์ตซ์) ที่ 75 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 30 นาที พบว่า ทำให้ได้ผลได้ของสสารประมาณ 78 เปอร์เซ็นต์ มีโปรตีนเหลืออยู่ประมาณ 0.9-1.7 เปอร์เซ็นต์ และเกิดสสารที่เสียหายประมาณ 3.1-3.5 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อนำ HIU มาใช้ร่วมกับสารลดแรงตึงผิว (surfactants) (sodium dodecyl sulfate, SDS) ที่ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งทำให้ได้ผลได้ของสสารเพิ่มขึ้น คือมีประมาณ 85 เปอร์เซ็นต์ มีโปรตีนที่เหลืออยู่ประมาณ 0.2 เปอร์เซ็นต์ และเกิดสสารที่เสียหายประมาณ 3.1 เปอร์เซ็นต์

นอกจากนี้ Wang and Wang (2004a) ยังได้ทำการศึกษาวิธีสกัดสสารข้าวโดยใช้โปรตีนเอส ที่ความเข้มข้น 0.01 0.03 และ 0.05 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับการใช้ HIU (20 กิโลเฮิร์ตซ์) ที่ 25 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 15 30 และ 60 นาที เพื่อลดระยะเวลาในการสกัดสสารข้าว พบว่าการใช้โปรตีนเอสเพียงอย่างเดียว จะได้ผลได้ของสสารประมาณ 62.5-71.8 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่ประมาณ 0.53-0.88 เปอร์เซ็นต์ และมีสสารที่เสียหายประมาณ 0.99-1.81 เปอร์เซ็นต์ วิธีการสกัดสสารโดยใช้โปรตีนเอสร่วมกับการใช้ HIU นั้นทำให้ได้ผลได้ของสสารที่สูงขึ้น ซึ่งมีค่าประมาณ 79.8-86.7 เปอร์เซ็นต์ กับปริมาณสสารที่เหลืออยู่ประมาณ 0.5-0.96 เปอร์เซ็นต์ และมีสสารที่เสียหาย 0.98-1.87 เปอร์เซ็นต์ โดยมีสภาวะในการสกัดที่ดีที่สุดคือ การย่อยด้วยโปรตีนเอสเข้มข้น 0.03 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ก่อนแล้วตามด้วยการใช้ HIU ที่ 75 หรือ 50 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 15 หรือ 30 นาที

Zhang *et al.* (2005) ได้มีการนำ การใช้คลื่นเสียงที่มีความถี่สูงมาใช้ในการสกัดสสารข้าวโพด เพื่อลดปริมาณการใช้ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ พบว่าสสารข้าวโพดที่ได้จากการไม่เปียกที่สกัดด้วย HIU จะมีผลได้ (66.93-68.72 เปอร์เซ็นต์) ที่ใกล้เคียงกับสสารข้าวโพดที่ไม่เปียกโดยใช้ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (68.92 เปอร์เซ็นต์) เพื่อสกัดโปรตีนแมทริกซ์ออก และเมื่อนำสสารข้าวโพดที่ได้จากการไม่เปียกแล้วสกัดด้วย HIU มาเปรียบเทียบกับสสารข้าวโพดที่ไม่เปียกโดยไม่เติมซัลเฟอร์ไดออกไซด์ พบว่า สสารที่ได้จากการสกัดด้วย HIU จะมีผลได้ และมีสีของสสารข้าวโพดขาวกว่า ดังนั้น การสกัดด้วยการไม่เปียกร่วมกับ HIU จะทำให้สามารถลดการใช้สารเคมีในการผลิตสสารข้าวโพดได้

คลื่นเสียงความถี่สูง (high-intensity ultrasound, HIU)

1. คลื่น (waves)

คลื่นเกิดจากการรบกวน ซึ่งการรบกวนนั้นจะเคลื่อนที่หรือแผ่ออกจากจุดหนึ่งไปยังอีกจุดหนึ่ง เรียกว่าการเคลื่อนที่ การเคลื่อนที่ของคลื่นอาจใช้ตัวกลางหรือไม่ก็ได้ การสั่นของตัวกลาง ทำให้คลื่นเคลื่อนที่ผ่านไปด้วยความเร็วที่ขึ้นอยู่กับชนิดของตัวกลางนั้น (Serway, 1991) การเคลื่อนที่ของคลื่นจะมีการถ่ายทอดพลังงานจากแหล่งกำเนิดไปยังตำแหน่งที่คลื่นเคลื่อนที่ไปถึง ทำให้คลื่นสามารถทำงานได้ การจำแนกคลื่น สามารถจำแนกได้หลายวิธีขึ้นอยู่กับว่าจะพิจารณาโดยวิธีใด เช่น ถ้าพิจารณาที่การเคลื่อนที่ของตัวกลาง จะแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด คือ คลื่นตามยาว (longitudinal wave) และคลื่นตามขวาง (transverse wave) (Giancoli, 1991) คลื่นตามยาว เกิดขึ้นเมื่ออนุภาคของตัวกลางสั่นในแนวเดียวกับทิศทางการเคลื่อนที่ของคลื่น เช่น คลื่นเสียง คลื่นสปริง คลื่นในเส้นเชือก เป็นต้น คลื่นตามขวาง เป็นคลื่นที่อนุภาคของตัวกลางจะสั่นไปในทิศทางตั้งฉากกับทิศทางการเคลื่อนที่ของคลื่น เช่น คลื่นน้ำ ถ้าพิจารณาความจำเป็นของการใช้ตัวกลางในการเคลื่อนที่จะแบ่งคลื่นออกเป็น 2 ชนิด คือ คลื่นกล (mechanical wave) และคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (electromagnetic wave) คลื่นกล เป็นคลื่นที่ต้องใช้ตัวกลางในการเคลื่อนที่ เช่น คลื่นเสียง คลื่นน้ำ เป็นต้น ส่วนคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าเป็นคลื่นที่ไม่จำเป็นต้องอาศัยตัวกลางในการเคลื่อนที่ สามารถเคลื่อนที่ได้ในสุญญากาศ เช่นแสง เป็นต้น (Breithaupt, 1999)

คลื่นจะส่งผ่านพลังงานจากที่หนึ่งไปยังอีกที่หนึ่งเมื่อเคลื่อนที่ผ่านตัวกลาง พลังงานนี้เกิดจากการสั่นของตัวกลางที่เคลื่อนที่ผ่าน โดยมีพลังงานเป็น $E = \frac{1}{2} k x_0^2$

เมื่อ x_0 เป็นแอมพลิจูดของการเคลื่อนที่

k มีค่าเป็น $4\pi^2 m f^2$ ทั้งคลื่นตามยาวและคลื่นตามขวาง

m เป็นมวลของคลื่น

ดังนั้นกำลังของคลื่น (พลังงานต่อหนึ่งหน่วยเวลา, P) จะมีค่าเป็น

$$P = 2\pi^2 \rho A v f^2 x_0^2$$

เมื่อ f เป็นความถี่ของคลื่น

ρ เป็นความหนาแน่นของตัวกลาง

A เป็นพื้นที่ภาคตัดขวางที่คลื่นเคลื่อนที่ผ่าน

V เป็นอัตราเร็วของคลื่น (Giancoli, 1991)

2. ความเข้มของเสียง (sound intensity, I)

ในขณะที่เสียงเคลื่อนที่ จะมีการถ่ายทอดพลังงานไปให้กับวัตถุที่เสียงตกกระทบ โดยอัตราการถ่ายทอดพลังงานของเสียง ต่อพื้นที่ที่ตั้งฉากกับทิศการเคลื่อนที่ของเสียง เรียกว่าความเข้มเสียง (intensity) หรืออาจกล่าวได้ว่า ความเข้มเสียง หมายถึง กำลังของเสียงจากแหล่งกำเนิดที่ตกกระทบบนพื้นที่ 1 ตารางหน่วยในแนวตั้งฉากที่พิจารณาเนื่องจากเสียงแผ่ออกทุกทิศทาง ดังนั้นพื้นที่เสียงตกกระทบ คือ $A = 4\pi r^2$ จะได้ (ปรีชา, 2550)

$$I = \frac{P}{A} = \frac{P}{4\pi r^2}$$

โดยที่ I แทนความเข้มเสียง มีหน่วยเป็นวัตต์ต่อตารางเมตร (W/m^2)

P แทนกำลังของแหล่งกำเนิดเสียง มีหน่วยเป็นวัตต์ (W)

A แทนพื้นที่ที่เสียงตกกระทบ มีหน่วยเป็นตารางเมตร (m^2)

ความเข้มของเสียง และระดับความเข้มเสียง เป็นตัวบอกความดังของเสียง เสียงดังแสดงว่า $I_{\text{มาก}}$ เกิดจาก $P_{\text{มาก}}$ และ $r_{\text{น้อย}}$ และเสียงค่อยแสดงว่า $I_{\text{น้อย}}$ อาจเกิดจาก $P_{\text{น้อย}}$ และ $r_{\text{มาก}}$ นอกจากเสียงดังและเสียงค่อยจะขึ้นอยู่กับ r และ P แล้ว ยังขึ้นอยู่กับแอมพลิจูด (A) ของความดันด้วย กล่าวคือ แอมพลิจูดน้อยพลังงานต่ำ แอมพลิจูดมากพลังงานสูง เสียงดังสุดที่คนทนฟังได้ 1 วัตต์ต่อตารางเมตร และเสียงค่อยสุดที่คนรับฟังได้ 10^{-12} วัตต์ต่อตารางเมตร (ฟิสิกส์ราชมงคล, 2550)

3. ความถี่ของคลื่นเสียง (frequency of waves, f)

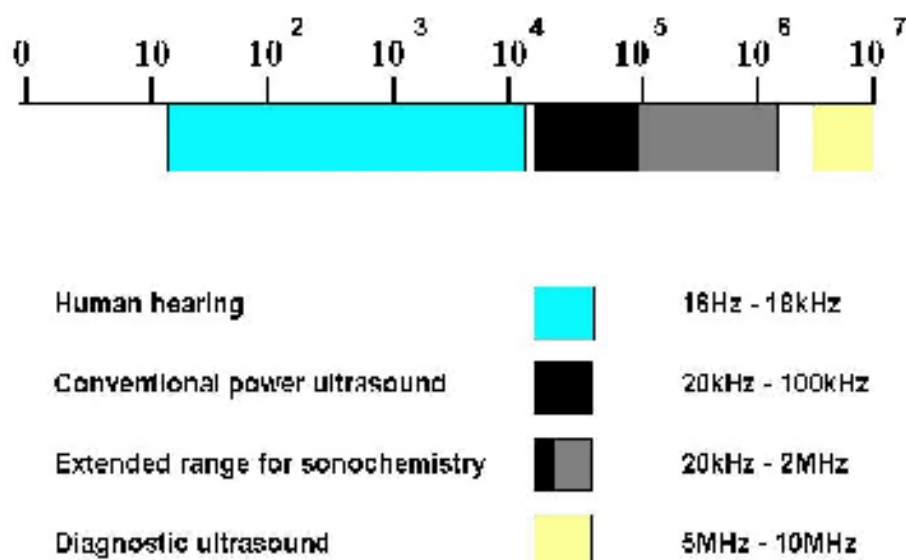
ความถี่ของคลื่นเสียงจะเป็นตัวกำหนดระดับสูงต่ำของ เสียง คลื่นเสียงที่มีความถี่สูงจะทำให้เกิดเสียงต่ำ สำหรับคลื่นเสียงที่มีความถี่ต่ำ จะทำให้เกิดเสียงสูง โดยปกติหูของคนเราจะได้ยินเสียงความถี่ในช่วง 20-20,000 (16-18,000) เฮิรตซ์ คลื่นเสียงที่มีความถี่ต่ำกว่า 20 เฮิรตซ์ เรียกว่า อินฟราโซนิก (infrasound waves) จะมีความยาวคลื่นมาก เป็นเสียงที่หูคนปกติไม่ได้ยิน เกิดจากการสั่นของตัวกำเนิดเสียงขนาดใหญ่ คลื่นเสียงที่มีความถี่สูงกว่า 20,000 เฮิรตซ์ เรียกว่า คลื่นอัลตราโซนิก (ultrasound waves) หรือ HIU มีความยาวคลื่นน้อย เมื่อผ่านช่องแคบๆ จะเลี้ยวเบนได้น้อย

และสามารถบีบให้เป็นลำเล็กๆ ที่มีพลังงานสูง จึงสามารถส่งไปได้ไกลกว่าเสียงธรรมดา (คิสิโรตม์, 2550; Berg and Stork, 1996)

การนำอัลตราโซนิก (ultrasonic) หรือมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เป็นหัวข้อที่มีการค้นคว้าและพัฒนาหลายปีแล้ว โดยมีการศึกษาเกี่ยวกับระดับของเสียง (sound ranges) ซึ่งสามารถแบ่งออกได้ตามพาวเวอร์อัลตราซาวด์ (power ultrasound) (ภาพที่ 7) ในอุตสาหกรรมอาหารมีการนำ HIU มาประยุกต์ใช้กันอย่างแพร่หลาย ซึ่งในกระบวนการผลิตอาหาร ความแรงของเสียงจะเป็นสาเหตุทำให้เกิดการเกิดฟองอากาศในของเหลว (cavitation) ซึ่งเป็นปรากฏการณ์สำคัญในการนำ HIU ไปประยุกต์ใช้เนื่องจากจะไปมีผลต่อผิวของวัสดุและไปมีผลต่อการเร่งหรือลดปฏิกิริยาของสารเคมี ความถี่ของคลื่นเสียงที่มีการนำมาใช้ส่วนมากถูกกำหนดอยู่ในช่วง 20-40 กิโลเฮิร์ตซ์ โดยปกติช่วงที่ถูกนำมาใช้มากคือ พาวเวอร์อัลตราซาวด์ ซึ่งถูกนำมาใช้ในการทำความสะอาดผิววัสดุ การทำให้เซลล์แตก เป็นต้น

4. การเกิดคลื่นอัลตราโซนิก

การเกิดคลื่น HIU หรือ อัลตราโซนิก ทำได้โดยการเปลี่ยนแปลงพลังงานไฟฟ้าเป็นพลังงานคลื่นอัลตราโซนิก โดยใช้ทรานสดิวเซอร์ (transducer) ซึ่งเป็นส่วนประกอบของตะกั่วดีทานาเตซอโคเนต (lead titanate zirconate) หรือเป็นผลึกของแบเรียมดีทานาเต เมื่อต่อผลึกนี้เข้ากับวงจรอิเล็กทรอนิกส์ ที่มีการป้อนความต่างศักย์เป็นจังหวะเข้าไป จะทำให้ผลึกเกิดการสั่นออกมาด้วยความถี่คลื่นอัลตราโซนิก จะมีค่าอยู่ระหว่าง 1.0 วัตต์ต่อตารางเซนติเมตร (ความถี่ 20 กิโลเฮิร์ตซ์) ถึง 10^5 วัตต์ต่อตารางเซนติเมตร (ความถี่ 1 เมกะเฮิร์ตซ์) โดยช่วงความถี่ระหว่าง 20 กิโลเฮิร์ตซ์ ถึง 100 กิโลเฮิร์ตซ์ ความเข้มของคลื่นอัลตราโซนิก จะมีค่าความเข้มขึ้นอยู่ระหว่าง 1.0 ถึง 10 วัตต์ต่อตารางเซนติเมตร แต่ความถี่ที่สูงกว่า 100 กิโลเฮิร์ตซ์ ขึ้นไปความเข้มของคลื่นอัลตราโซนิกจะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว (Wolfson, 1995)



ภาพที่ 7 ช่วงความถี่ของคลื่นเสียง

ที่มา: Prosonix Co., Ltd., 2007

5. ชนิดของคลื่นอัลตราโซนิกหรือคลื่นเสียงความถี่สูง

เครื่องอัลตราโซนิกที่นำมาใช้มากในอุตสาหกรรมอาหาร จะมีความแตกต่างกันไปตามการออกแบบ ของตัวกำเนิดพลังงานไฟฟ้า อุปกรณ์อัลตราโซนิกที่ใช้ในการทำให้เกิดอัลตราโซนิก โดยอัลตราโซนิกที่นิยมใช้ในการอาหาร มีอยู่สองชนิดคือ เครื่องอัลตราโซนิกแบบอ่าง (ultrasonic baths) และเครื่องอัลตราโซนิกแบบหัวโพรบ (ultrasonic probe)

5.1 เครื่องอัลตราโซนิกแบบอ่าง (ultrasonic baths) ปัจจุบันได้มีการนำเครื่องอัลตราโซนิกแบบอ่างมาใช้เป็นจำนวนมากในห้องปฏิบัติการ เนื่องจากสะดวก ง่าย มีขนาดค่อนข้างใหญ่ และมีราคาถูกกว่า แบบหัวโพรบ โดยทั่วไปทรานส์ดิวเซอร์ขึ้นอยู่กับขนาดของแท็งก์ และส่วนมากอัลตราโซนิกแบบอ่างจะทำงานอยู่ที่ 40 กิโลเฮิร์ตซ์ ดังนั้น อัลตราโซนิกแบบอ่างจึงมีความแรงสูง (high intensity) เท่ากันโดยตลอดความลึกของอ่าง ดังภาพที่ 8



ภาพที่ 8 เครื่อง HIU หรือคลื่นอัลตราโซนิกแบบอ่าง

ที่มา : Rampantapathy Co., Ltd., 2007

5.2 เครื่องอัลตราโซนิกแบบหัวโพรบ (Ultrasonic probe) การขยายพลังงานเสียงที่กำเนิดจากทรานส์ดิวเซอร์ โดยทั่วไปทรานส์ดิวเซอร์จะต่ออยู่กับโพรบดังภาพที่ 9 รูปแบบของโพรบแต่ละแบบ จะส่งผลให้มีความสามารถในการขยายคลื่นเสียงได้แตกต่างกัน แอมพลิจูดที่เกิดขึ้นจากระบบขึ้นอยู่กับรูปร่างของโพรบ ในการใช้เครื่องอัลตราโซนิกแบบหัวโพรบควรระมัดระวังไม่ให้หัวโพรบ เกิดความเสียหายจากความเครียดภายใน (internal stress)

ลักษณะของวัสดุที่ใช้ประกอบเป็นตัวทรานส์ดิวเซอร์และหัวโพรบ จะต้องเป็นวัสดุที่สามารถส่งผ่านการสั่นสะเทือนได้ดี และต้องเป็นวัสดุที่ทนต่อการเสียหายจากแรงกล วัสดุที่ใช้ได้แก่ ไททาเนียม และอะลูมิเนียมอัลลอย บริเวณพื้นที่ที่ทำให้เกิดแรงสั่นสะเทือน ขึ้นอยู่กับขนาดของโพรบ และภาชนะที่ใช้บรรจุสารตัวอย่าง



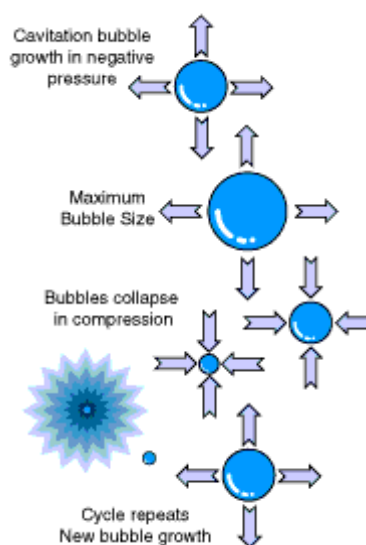
ภาพที่ 9 เครื่องอัลตราโซนิกแบบหัวโพรบ

ที่มา : Bio-polymer Lab, 2008

6. การเกิดฟองอากาศในของเหลว (cavitation) และการระเบิด (implosion)

คลื่นเสียงที่เคลื่อนที่แบบสั่นผ่านในตัวกลางอย่างต่อเนื่อง จะทำให้เกิดการแพร่กระจายของคลื่นในตัวกลาง และถ่ายเทพลังงานโดยไม่มีการถ่ายเทมวล ซึ่งความเร็วในการแพร่จะขึ้นอยู่กับสมบัติทางกายภาพของตัวกลาง เช่น เมื่อเกิดการถ่ายเทพลังงานอย่างต่อเนื่อง ในตัวกลางที่เป็นน้ำ จะเกิดการสั่นสะเทือนของอนุภาค และเมื่ออนุภาคของของเหลวได้รับพลังงานเพิ่มขึ้น จนมากพอที่จะทำให้ของเหลวเกิดการแตกตัวและเกิดฟองอากาศขึ้น ปรากฏการณ์นี้เรียกว่า การเกิดอากาศในของเหลว (cavitation) และในขณะที่คลื่นเสียงเดินทางผ่านของเหลว ฟองอากาศที่เกิดขึ้นจะมีการขยายและหดตัว กลับไปกลับมาเป็นจังหวะ และเมื่อมันขยายตัวจนมีขนาดที่ไม่เสถียรภาพ มันจะเกิดการระเบิด ซึ่งเรียกการระเบิดนี้ว่า implosion (ภาพที่ 10) การระเบิดนี้อาจทำให้เกิด shock wave ขึ้นได้ ถ้าในของเหลวเกิดฟองอากาศจำนวนมาก และถูกกระตุ้นด้วย อัลตราโซนิกหรือ HIU ให้เกิดการ

ระเบิดพร้อมๆ กัน จะทำให้เกิดความดันที่สูงกว่า 10,000 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว และอุณหภูมิที่สูงกว่า 10,000 องศาฟาเรนไฮต์ ณ จุดที่เกิดการระเบิด (คิชิโรตม์, 2550; Wang and Wang, 2004a; Knorr, 2004; Moholkar and Pandit, 2001; Moholkar *et al.*, 1999) ดังนั้นการเกิดฟองอากาศในของเหลว และการระเบิดของฟองอากาศในของเหลวนั้น จะทำให้เกิดความดันไอที่มีผลต่อการทำลายของพืชวัสดุต่างๆ หรือผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ได้ (Mason, 1990)



ภาพที่ 10 การแตกตัวของฟองอากาศในของเหลว

ที่มา : Variclean Benelux b.v., 2007a

7. ประโยชน์ของการใช้คลื่นเสียงในกระบวนการทางอุตสาหกรรม ได้แก่

7.1 ช่วยในการสกัดสารต่างๆ ตัวอย่างเช่น การสกัดโปรตีนออกจากถั่วเหลืองที่ปราศจากไขมัน Wang (1975) ได้ทำการศึกษาพัฒนากระบวนการสกัดแบบต่อเนื่อง โดยใช้ HIU ร่วมกับการกวนตลอดเวลา (convention-stir) ด้วยน้ำ และ โซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 1 นอร์มอล โดยมีสภาวะการใช้ HIU ที่ใช้ที่ 20 กิโลเฮิร์ตซ์ โดยพลังงานที่ใช้ (output power) 125 วัตต์ พบว่ามีประสิทธิภาพสูงกว่าการสกัดด้วยการกวนแบบเดิม โดยใช้ HIU กับน้ำในการสกัดโปรตีนได้ประมาณ 88 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่การใช้ HIU กับสารละลายต่างโปรตีนได้ประมาณ 95 เปอร์เซ็นต์

ส่วนโปรตีนที่สกัดได้จากการกวนแบบเดิมกับน้ำ และสารละลายต่างนั้น จะได้ประมาณ 60 และ 91 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

Moulton and Wang (1982) ได้พัฒนาการสกัดโปรตีนจากแป้งหัวเหลืองที่ปราศจากไขมัน โดยการนำ HIU มาประยุกต์ใช้ในโรงงานต้นแบบ (pilot plant) พบว่า กระบวนการสกัดนี้สามารถนำมาใช้ในอุตสาหกรรมได้มีประสิทธิภาพดี โดยสภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดด้วย HIU คือ ใช้ความถี่ 20 กิโลเฮิร์ตซ์ และพลังงานในการสกัด 550 วัตต์

Wang and Wang (2004b) ได้ศึกษาการสกัดสตาร์ชข้าวเจ้าเพื่อลดระยะเวลาในการแยกสกัดสตาร์ชข้าว โดยใช้แป้งข้าว 100 กรัม กระจายในน้ำ 200 กรัม ผ่าน HIU (20 กิโลเฮิร์ตซ์) ที่ 75 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 30 นาที พบว่าทำให้ได้ผลของสตาร์ชประมาณ 78 เปอร์เซ็นต์ และมีโปรตีนที่เหลืออยู่ประมาณ 0.9-1.7 เปอร์เซ็นต์ และเกิดสตาร์ชที่เสียหายประมาณ 3.1-3.5 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อนำ HIU มาใช้ร่วมกับสารลดแรงตึงผิว (surfactants) (sodium dodecyl sulfate, SDS) ที่ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งทำให้ได้ผลได้ของสตาร์ชเพิ่มขึ้น คือมีประมาณ 85 เปอร์เซ็นต์ มีโปรตีนที่เหลืออยู่ประมาณ 0.2 เปอร์เซ็นต์ และเกิดสตาร์ชที่เสียหายประมาณ 3.1 เปอร์เซ็นต์

ในปี พ.ศ. 2005 Zhang *et al.* ได้นำ การใช้ HIU มาใช้ในการสกัดสตาร์ชข้าวโพด เพื่อลดปริมาณการใช้ซัลเฟอร์ไดออกไซด์เพื่อฟอกขาวสตาร์ช พบว่าสตาร์ชข้าวโพดที่ได้จากการไม่เปียกที่ผ่านการใช้ HIU จะให้มีผลได้ (66.93-68.72 เปอร์เซ็นต์) ที่ใกล้เคียงกับสตาร์ชข้าวโพดที่ผ่านการไม่เปียกโดยใช้ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (68.92 เปอร์เซ็นต์) เพื่อสกัดโปรตีนแมทริกซ์ออก และเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับสตาร์ชข้าวโพดที่ผ่านการไม่โดยไม่เติมซัลเฟอร์ไดออกไซด์ พบว่า สตาร์ชที่ได้จากการใช้ HIU จะมีผลได้ และความขาวของสตาร์ชข้าวโพดสูงกว่า ดังนั้นการไม่ร่วมกับ HIU จะทำให้สามารถลดการใช้สารเคมีในการผลิตสตาร์ชข้าวโพดได้ และยังพบว่าการใช้ HIU ทำให้มีแรงดันการกวนมากขึ้น สามารถเกิดเจลที่แข็งแรงมากหลังจากการทำให้เย็น ซึ่งเกิดจากการที่สตาร์ชเกิดความเสียหาย เกิดการสีกกร่อน หรือเกิดหลุมที่ผิว ซึ่งสภาวะเหล่านี้อาจมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่างภายนอก (configuration) ของโครงสร้างเม็ดสตาร์ชเนื่องจากความร้อนและความดันสูงของ HIU

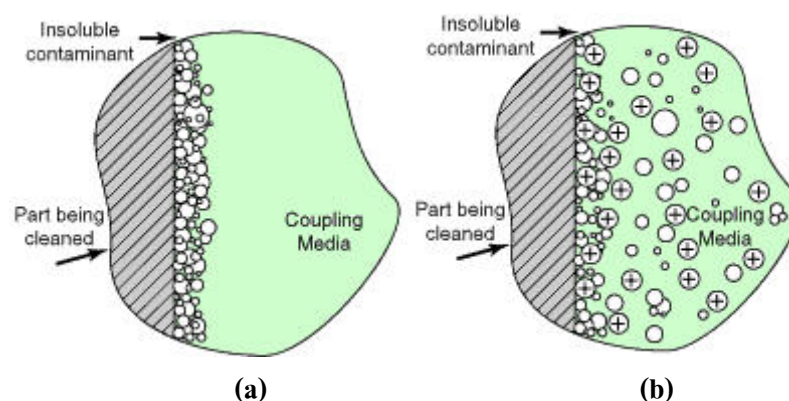
Wang and Wang (2004a) ได้ศึกษาการสกัดสตาร์ชข้าวเจ้า เพื่อลดระยะเวลาในการแยกสกัดสตาร์ชข้าว โดยใช้แป้งข้าว 100 กรัม กระจายในน้ำ 200 กรัม สกัดด้วยเอนไซม์โปรตีนเอสทีความ

เข้มข้น 0.01 0.03 และ 0.05 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง พบว่า ทำให้มีผลได้ของสตาร์ชประมาณ 62.5-71.8 เปอร์เซ็นต์ และมีโปรตีนที่เหลืออยู่ประมาณ 0.53-0.88 เปอร์เซ็นต์ และเกิดสตาร์ชที่เสียหายประมาณ 0.99-1.81 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อนำเอนไซม์ที่ความเข้มข้น 0.03 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง มาสกัดร่วมกับ HIU (20 กิโลเฮิร์ตซ์) ที่ 25 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 15 30 และ 60 นาที พบว่ามีผลได้ของสตาร์ชสูงขึ้น ประมาณ 79.8-86.7 เปอร์เซ็นต์ และมีโปรตีนที่เหลืออยู่ประมาณ 0.50-0.96 เปอร์เซ็นต์ และเกิดสตาร์ชที่เสียหายประมาณ 0.98-1.87 เปอร์เซ็นต์ ที่ 50 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เมื่อเวลาเพิ่มขึ้น ระหว่างที่ย่อยด้วยเอนไซม์ สามารถปรับปรุงผลได้ของสตาร์ชจาก 83.9 ถึง 86.1 เปอร์เซ็นต์ และจะทำการแยกสกัดได้ดีโดยใช้เอนไซม์ย่อยเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ตามด้วยการใช้ HIU ที่ 75 หรือ 50 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 15 หรือ 30 โครงสร้างของสตาร์ช ถูกวิเคราะห์ด้วย high performance size-exclusion chromatography (HPSEC) และ scanning electron microscopy (SEM) แสดงให้เห็นว่า ไม่มีความเสียหายเกิดขึ้นบนโครงสร้างโมเลกุลหรือที่ผิวหน้าของเม็ดสตาร์ช และจะมีค่าความหนืดสูงสุดของสตาร์ชเพิ่มขึ้นหลังจากผ่านการสกัดด้วย HIU

7.2 ช่วยลดระยะเวลาในการหุงต้ม Paniwnyk (1993) ได้ศึกษาผลของ HIU ต่อผิวหน้าของเมล็ดข้าวขาวที่ผ่านการขัดสี (white rice) และเมล็ดข้าวกล้อง (brown rice) พบว่าสามารถช่วยลดระยะเวลาในการหุงต้ม (cooking time) โดยให้อุณหภูมิในการเกิดเจลที่ในเซชันที่ 80 องศาเซลเซียส โดยให้เมล็ดข้าวที่กระจายตัวอยู่ในน้ำ ผ่าน HIU เป็นเวลา 5 นาที จะมีผลทำให้ที่ผิวหน้าของเมล็ดข้าวถูกทำลายโดยจะเกิดการสีกกร่อน และเกิดร่องลึกที่เมล็ดข้าว และเมื่อเวลาผ่านไป 10 นาที จะเกิดการแตกหักของเมล็ดข้าว ทำให้มีขนาดอนุภาคเล็กลง ส่งผลให้แป้งเกิดเจลได้เร็วขึ้น ดังนั้นการใช้ HIU กับข้าวขาวและข้าวกล้อง จะช่วยลดระยะเวลาในการหุงต้ม และยังทำให้ข้าวขาวมีค่าความสว่างสูงขึ้นอีกด้วย และสามารถลดระยะเวลาในการเกิดเจลที่ในเซชัน ได้ทั้งข้าวขาวและข้าวกล้อง อาจกล่าวได้ว่า HIU มีผลต่อการกะเพาะเปลือกของเมล็ดข้าวกล้อง (Masom *et al.*, 1996)

7.3 Isono *et al.* (1994) ได้ศึกษาการละลายของแป้งข้าวเหนียว (waxy rice starch) ที่ละลายในน้ำด้วยคลื่นอัลตราโซนิก โดยศึกษาน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยและค่าการกระจายของน้ำหนักโมเลกุลด้วยวิธี gel permeation chromatography ปรากฏว่าคลื่นอัลตราโซนิกจะทำให้เกิดการ depolymerization แบบไม่สุ่ม (nonrandom process) มีผลทำให้จำนวนน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยมีค่าลดลง โดยมีอัตรา degradation เพิ่มขึ้นที่อุณหภูมิเจลที่ในเซชันหรือสูงกว่า แต่ถ้าผ่านคลื่นอัลตราโซนิกเป็นเวลานาน จำนวนน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยมีแนวโน้มคงที่ ค่าการกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุลมีแนวโน้มเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย และด้วยเหตุนี้จึงมีผลทำให้เม็ดสตาร์ชอ่อนแอและ

เปราะบาง ซึ่งในขณะหุงต้มจะเกิดการพองตัวและแตกออกได้ง่ายช่วยเพิ่มความเร็วในการทำ ความสะอาด โดยจะไปทำลายพันธะไอออนิกของสิ่งสกปรก ที่มีอนุภาคเล็กๆ และเกาะตัวกันอย่าง หลวมๆ ดังนั้น สิ่งสกปรกเหล่านี้ สามารถถูกกำจัดได้โดยการทำลายแรงดึงดูดระหว่างอนุภาค คลื่นอัลตราโซนิกจะสร้างฟองอากาศในของเหลว และการระเบิดของอากาศในของเหลว เพื่อไป ทำลายแรงดึงดูดระหว่างอนุภาคเล็กๆ ทำให้สิ่งสกปรก เช่น ฝุ่นละออง หลุดออกจากพื้นผิวของ ชิ้นส่วน การกำจัดสิ่งสกปรกให้มีประสิทธิภาพนั้น ต้องใช้ตัวกลาง (coupling medium) ที่สามารถ ทำให้อนุภาคเล็กๆ เปียกได้ง่าย (ภาพที่ 11)



ภาพที่ 11 การทำลายแรงดึงดูดระหว่างอนุภาค (a) อนุภาคของสิ่งสกปรกที่ยึดติดอยู่ และ (b) อนุภาคของสิ่งสกปรกปั่นป่วนหลังการใช้ HIU

ที่มา : Variclean Benelux b.v., 2007b

การแก้ไขข้อบกพร่อง (DF)

การ DF ความเย็นสามารถเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของแข็งได้ มีปัจจัยที่มีความสำคัญและต่อ ผลคุณสมบัติของแข็งได้แก่ ความชื้นและชนิดของแข็ง การดัดแปรแข็งด้วยความเย็นส่งผลให้เกิด การเปลี่ยนแปลงลักษณะผิวและความเป็นผลึกของเม็ดสสาร แต่ไม่พบว่าทำให้เกิดการ เปลี่ยนแปลงชนิดของโครงสร้างผลึก การเปลี่ยนแปลงลักษณะผิวของเม็ดสสารและความเป็นผลึก นำไปสู่การเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติบางประการของแข็ง เช่น คุณสมบัติในการละลายน้ำ ความเหนียว การกัดกร่อน ประสิทธิภาพในการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ เป็นต้น (Szymonska *et al.*, 2000)

จากการศึกษาการดัดแปรสสารไขมันฝรั่งโดยการ DF พบว่า ความชื้นของแป้งข้าวมีผลต่อความเป็นผลึกในเม็ดสตาร์ช โดยสตาร์ชที่มีความชื้นสูง จะมีความเป็นผลึกสูงกว่าสตาร์ชที่มีความชื้นต่ำ และปัจจัยสำคัญในกระบวนการ การแช่เยือกแข็งและทำละลาย (freeze-thawing) ที่มีผลต่อความเป็นผลึกของเม็ดสตาร์ชได้แก่น้ำ (ความชื้นของแป้ง) (Szymonska *et al.*, 2000) การศึกษาการแช่เยือกแข็งและทำละลาย ของสตาร์ชข้าวโพดที่มีเอมิโลสสูง (ประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์) พบว่าความเป็นผลึก (crystallinity) ของเม็ดสตาร์ชลดลง เมื่อเพิ่มจำนวนครั้งในการทำการแช่เยือกแข็งและทำละลาย (Jeong and Lim, 2003) นอกจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างภายในของเม็ดสตาร์ชแล้วกระบวนการแช่เยือกแข็งและทำละลาย ยังทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะของผิวภายนอกซึ่งมีผลต่อคุณสมบัติในการละลายและการอุ้มน้ำของแป้งเล็กน้อย และพบว่าคุณสมบัติดังกล่าวของสตาร์ชจะเกิดการเปลี่ยนแปลงมากที่สุดหลังจาก การแช่เยือกแข็งและทำละลาย ครั้งแรก (Szymonska *et al.*, 2003a) การเปลี่ยนแปลงลักษณะพื้นผิวและ โครงสร้างภายในของเม็ดสตาร์ช นอกจากจะมีผลต่อคุณสมบัติต่างๆ ตามที่กล่าวมาแล้วยังมีผลต่อประสิทธิภาพในการถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์ด้วย หลังจากการดัดแปรสสารไขมันฝรั่งด้วยกระบวนการแช่เยือกแข็งและทำละลาย พบว่าเม็ดสตาร์ชมีแนวโน้มที่สามารถทนต่อการย่อยโดยเอนไซม์แอลฟาเอมิเลสได้สูงขึ้น แม้ว่า การดัดแปรดังกล่าวจะมีผลต่อพื้นผิวของเม็ดสตาร์ชซึ่งทำให้เอนไซม์สามารถผ่านเข้าไปทำปฏิกิริยาภายในเม็ดสตาร์ชได้มากขึ้น แต่ก็ทำให้เกิดการสูญเสียความชื้นที่มีความจำเป็นต่อการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส นอกจากนี้การที่โครงสร้างภายในของเม็ดสตาร์ชถูกทำลายยังส่งผลกระทบต่อความสามารถในการจับกันระหว่างเอนไซม์กับสับสเตรทซึ่งอาจยับยั้งไม่ให้เอนไซม์สามารถเข้าไปทำปฏิกิริยาบนผิวเม็ดสตาร์ชได้ (Szymonska and Wodnicka, 2005)

จากการทดลองของ Szymonaka *et al.* (2000) โดยให้สตาร์ชไขมันฝรั่งผ่านการ DF พบว่า เม็ดสตาร์ชจะถูกแรงอัดจากการขยายตัวของน้ำแข็ง ทำให้ที่บริเวณผิวหรือขอบของเม็ดสตาร์ชเกิดความเสียหาย แตกละเอียด แต่แรงอัดที่เกิดขึ้นไม่สามารถทำให้เกิดความเสียหายถึงขนาดทำลายโครงสร้างที่เป็นระเบียบและความสามารถในการบิดระนาบแสงโพลาไรซ์ (birefringence) ของเม็ดสตาร์ชได้ ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับสตาร์ชที่ผ่านการไฮโมจิไนเซชันด้วยความดันสูง (ที่ความดันประมาณ 14,503.78 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว) ที่ทำให้ขนาดของเม็ดสตาร์ชเล็กลง การ DF ทำให้เกิดรอยแยกที่ผิวเพิ่มขึ้นจากเดิม และเอมิโลเพกทินที่อยู่ภายในส่วนที่เป็นโครงสร้างผลึกจะถูกดันออกมาเป็นสาเหตุให้โมเลกุลของน้ำสามารถแทรกเข้าไปทำลายพันธะไฮโดรเจน จากช่องแคบๆ ที่อยู่บนผิวเม็ดสตาร์ช เหล่านี้ ทำให้มีหมู่ไฮดรอกซิลที่อิสระเกิดมากขึ้น โมเลกุลของน้ำจะเข้าไปจับกับหมู่ไฮดรอกซิลที่อิสระเหล่านั้น ทำให้เม็ดสตาร์ช เกิดการพองตัว (swelling) ได้ดีกว่าและอาจเกิด

การแตกของเม็ดสสารขึ้นด้วย และนอกจากปัจจัยที่กล่าวมาแล้ว การ DF ยังทำให้ขนาดของอนุภาคของเม็ดแป้งเล็กลงเช่นกัน

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. วัสดุดิบ

ข้าวหักพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 เป็นข้าวที่มีแอมิโลสต่ำ เป็นข้าวที่ผ่านการขัดสีจาก ห.จ.ก. โรงสีไฟฟ้าพลังงานชุมชนรุ่งเรือง 3 อ.กมลาพิสัย จ.กาฬสินธุ์

2. สารเคมี

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ทั้งหมดเป็นสารเคมีคุณภาพ Analytical grade

2.1 สารเคมีสำหรับสกัดสตาร์ช

2.1.1 ไนโตรเจนเหลว

2.1.2 โซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.05 โมลาร์

2.1.3 กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1 โมลาร์

2.2 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์แอมิโลส

2.2.1 เอทิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 95

2.2.2 โซเดียมไฮดรอกไซด์

2.2.3 กรดแอซิดิกกลั่น (glacial acetic acid)

2.2.4 แอมิโลสบริสุทธิ์จากมันฝรั่ง (Sigma, USA)

2.2.5 ไอโอดีน

2.2.6 โพแทสเซียมไอโอไดด์

2.3 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์โปรตีน

2.3.1 กรดซัลฟิวริกความเข้มข้นร้อยละ 95-97

2.3.2 คอปเปอร์ซัลเฟต

2.3.3 โซเดียมไฮดรอกไซด์

2.3.4 กรดบอริก

2.3.5 โปแทสเซียมซัลเฟต

2.3.6 กรดไฮโดรคลอริก

2.3.7 เมธิลเรดและโบรโมครีซอลกรีน

2.4 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ไขมัน ได้แก่ ปีโตรเลียมอีเทอร์

2.5 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์น้ำตาลที่เสียหาย ได้แก่ ชุดวิเคราะห์น้ำตาลที่เสียหาย (Enzyme kits) (Sigma, USA)

2.6 สีย้อมที่ใช้สำหรับการตรวจดูโครงสร้างและโปรตีนตามเม็ดน้ำตาลโดยใช้ Confocal laser scanning microscopy, CLSM ได้แก่ สีย้อมโรห์ดามีนบี (Rhodamine B)

3. เครื่องมือและอุปกรณ์

3.1 เครื่องมือผลิตแป้งข้าวและน้ำตาล

3.1.1 เครื่องโม่หินไฟฟ้า (stone mill)

3.1.2 เครื่องบด (hammer mill) พร้อมตะแกรงขนาด 0.5 และ 0.2 มิลลิเมตร

3.1.3 ตะแกรงร่อนแป้งขนาด 100 เมช

3.1.4 ตู้อบลมร้อน (hot air oven, memmert รุ่น LE-500, Germany)

3.1.5 เครื่องแยกแบบตะกร้า

3.1.6 เครื่อง Sonicator Vibra-cell (รุ่น Vcx-500, vcx-750, Power-500, Freq-20 kHz, USA)

3.1.7 เครื่องกวนที่สามารถควบคุมความเร็วรอบได้ (High torque stirrer, Ingenieurburo CAT, M.Zip รุ่น R50D, Germany)

3.2 เครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์สมบัติทางเคมี

3.2.1 ตู้อบลมร้อน (hot air oven, Memmert รุ่น ULE500, Germany)

3.2.2 เครื่องวิเคราะห์ความหนืดแบบรวดเร็ว (rapid visco analyzer, RVA3D, Newport Scientific Instrument & Engineering, Australia)

3.2.3 เครื่องวัดสี (Minolta Spectrophotometer รุ่น CM-3500d, USA)

3.2.4 เครื่องหมุนเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิต่ำได้ (refrigerated centrifuge, Hitachi รุ่น Himec CR 20B2, Germany)

3.2.5 เครื่องมือวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน (Kjeldahl apparatus, Buchi, USA)

3.2.6 เครื่องมือวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (Tecator รุ่น Soxtec system HT, USA)

3.2.7 อ่างน้ำแบบควบคุมอุณหภูมิได้ (Memmert, รุ่น WB22, Germany)

3.2.8 สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer, Labomed, รุ่น Spectronic 22,)

3.2.9 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (Scaltec รุ่น SPB31)

3.2.10 นาฬิกาจับเวลา

3.2.11 เทอร์โมมิเตอร์

3.2.12 อุปกรณ์เครื่องแก้ว

3.3 เครื่องมือวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ

3.3.1 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM) รุ่น JEOL JSM-5600LV, England)

3.3.2 กล้อง Confocal laser scanning micrographs, CLSM ความเข้มแสง 548 และ 645, Amplifier Gain 1.00, Amplifier offset -0.09 and Pinhole 134 μm (รุ่น LSM 5 PASCAL VarioOne, GB, Germany)

3.3.3 เครื่องวัดสี (Minolta Spectrophotometer รุ่น CM-3500d, USA)

3.4 เครื่องมือวิเคราะห์สมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์

3.4.1 เครื่องดิฟเฟอเรนเชียล สแกนนิ่ง แคลอริมิเตอร์ (differential scanning calorimeter, DSC, รุ่น Pyris 1, USA)

3.4.2 เครื่องเอกซเรย์ดิฟแฟร็กโทมิเตอร์ (X-ray diffractometer, JEOL, JDX-3530, Japan)

วิธีการ

1. การเตรียมแป้งข้าว

นำข้าวหัก พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ผ่านการขัดสีแล้วจาก ห.จ.ก. โรงสีไฟฟ้ากาฬสินธุ์ รุ่งเรือง 3 อ.กมลาพิสัย จ.กาฬสินธุ์ มาล้างและแช่น้ำที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลาประมาณ 4 ชั่วโมง แล้วนำมาโม่ด้วยเครื่องโม่หิน พร้อมกับค่อยๆ เติมน้ำตลอดเวลา ในอัตราส่วน ข้าวต่อน้ำ เท่ากับ 1 ต่อ 2 จากนั้นเหวี่ยงแยกน้ำออกด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 1,700 รอบต่อนาที และนำเข้าอบแห้งในตู้อบลมร้อนที่มีอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 ชั่วโมง นำแป้งหลังอบมาบดโดยใช้เครื่องบดละเอียด (Hammer mill) จากนั้นร่อนแป้งที่ได้โดยใช้ตะแกรง 100 เมช

2. การสกัดสารข้าวจากแป้งโดยวิธีทางกายภาพ

2.1 การสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง (high-intensity ultrasound, HIU)

การใช้ HIU ในการสกัดโปรตีนออกจากแป้งข้าว เริ่มจากนำแป้งข้าวขาวดอกมะลิ 105 จำนวน 60 กรัม มาผสมกับน้ำในอัตราส่วน แป้งข้าว:น้ำ เท่ากับ 1:2 เท่า (โดยน้ำหนัก) จากนั้นนำไปผ่าน HIU ด้วยเครื่อง Sonicator Vibra-cell (Power-500, Freq-20 kHz, USA) ที่ 50 70 และ 90 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 15 30 และ 45 นาที หลังจากนั้นนำไปแยกเหวี่ยงที่ 3000 x g เป็นเวลา 10 นาที แยกส่วนน้ำออก ทำเช่นนี้ 3 รอบแล้วนำส่วนที่เหลือเข้าอบในตู้อบลมร้อนที่มีอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 ชั่วโมง นำตัวอย่างหลังอบมาบดและร่อนผ่านตะแกรง 100 เมช

2.2 การแช่เยือกแข็งอุณหภูมิต่ำ (deep freezing, DF)

การ DF ในการสกัดโปรตีนออกจากข้าวหัก เริ่มจากนำแป้งข้าวที่ผ่านการ โม่เปียกและอบแห้งที่หาความชื้นแล้ว จำนวน 60 กรัม นำมาผสมกับน้ำในอัตราส่วน แป้งข้าว : น้ำ เท่ากับ 1:2 (โดยน้ำหนัก) แล้วเทในโตรเจนเหลวลงไปให้ท่วมทันที (deep freezing) (ปริมาตรประมาณ 400 มิลลิลิตร) ทิ้งไว้ เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำมาทำละลาย (thawing) โดยการหล่อด้วยน้ำที่มีอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที นับเป็นการ DF จำนวน 1 รอบ และตัวอย่างที่สอง ทำซ้ำ 6 รอบ จากนั้นนำไปแยกเหวี่ยงที่ 3000 x g เป็นเวลา 10 นาที แยกส่วนน้ำออก นำส่วนที่เหลือ

เข้าอบแห้งในตู้อบลมร้อนที่มีอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 ชั่วโมง นำตัวอย่างหลังอบมาบดโดยใช้เครื่องบดละเอียดและ ร้อนผ่านตะแกรง 100 เมช

2.3 การใช้คลื่นเสียงความถี่สูงร่วมกับการแช่เยือกแข็งอุณหภูมิต่ำ (combination of high-intensity ultrasound and deep freezing, HIU + DF)

เริ่มจากนำแป้งข้าวขาวดอกมะลิ 105 มาผสมกับน้ำที่อัตราส่วน แป้งข้าว:น้ำ เท่ากับ 1:2 เท่า (โดยน้ำหนัก) จากนั้นนำไปผ่าน HIU ด้วยเครื่อง Sonicator Vibra-cell ที่ 70 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไป DF เป็นจำนวน 1 และ 6 รอบ หลังจากนั้นนำไปแยกเหวี่ยงที่ 3000 x g เป็นเวลา 10 นาที แยกส่วนน้ำออก ทำเช่นนี้ 3 รอบแล้วนำเข้าอบในตู้อบลมร้อนที่มีอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 ชั่วโมง นำตัวอย่างหลังอบมาบดและร้อนผ่านตะแกรง 100 เมช

3. การสกัดสารด้วยวิธีทางเคมี (สารละลายต่าง)

นำแป้งข้าวจากข้อ 1 มาสกัดเป็นสารสกัด โดยดัดแปลงจากวิธีของ Lumdubwong และ Seib (2000) เริ่มจากโดยนำแป้งข้าว 60 กรัมผสมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (สารละลายต่าง) ที่มีความเข้มข้น 0.05 นอร์มอล ปริมาตร 150 มิลลิลิตร กวนตลอดเวลาด้วยความเร็วรอบ 250 รอบต่อ นาที เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นกรองผ่านตะแกรงขนาด 200 เมช ใช้เครื่องหมุนเหวี่ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ด้วยความเร็วรอบ 3000 x g เหวี่ยงแยกน้ำออกเป็นเวลา 20 นาที ทั้งส่วนที่เป็นน้ำและขูดส่วนที่มีสีเหลืองบริเวณด้านบนออกจนหมด และทำการล้างด้วยน้ำและเหวี่ยงแยกที่ 3000 x g นาน 15 นาที ทำซ้ำอีก 1 ครั้ง จากนั้นปรับความเป็นกรด-ด่างให้มีค่าเท่ากับ 7 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.01 นอร์มอล นำไปเหวี่ยงแยกน้ำที่ 3000 x g นาน 15 นาที ทำซ้ำอีก 3 ครั้ง นำตัวอย่างไปอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เวลา 15 ชั่วโมงนำตัวอย่างหลังอบมาบดละเอียด ร้อนผ่านตะแกรง 100 เมช

4. การเลือกสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารข้าว ด้วยวิธีทางกายภาพ ใช้ตัวชี้วัดดังต่อไปนี้

4.1 เปอร์เซ็นต์ผลได้ของสารหลังจากที่สกัดด้วยวิธีทางกายภาพ และวิธีการใช้สารละลายต่างโดยคำนวณจากสูตรต่อไปนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์ผลได้ หรือ \%Yield} = \frac{\text{น้ำหนักสตาร์ชหลังการอบแห้ง (กรัม)} \times 100}{\text{น้ำหนักแป้ง (db) เริ่มต้น (กรัม)}}$$

4.2 สมบัติทางเคมีของสตาร์ชที่สกัดด้วยวิธีทางกายภาพ และการใช้สารละลายต่าง

4.2.1 ปริมาณความชื้น วิเคราะห์โดยการอบแห้ง ตามวิธีของ AACC (2000)

(รายละเอียดตามภาคผนวก ข1)

4.2.2 ปริมาณโปรตีน วิเคราะห์โดยดัดแปลงตามวิธีของ AACC (2000) ด้วยเครื่องวิเคราะห์โปรตีนไนโตรเจน (2000-Digestion System) (รายละเอียดตามภาคผนวก ข1)

4.2.3 ปริมาณสตาร์ชที่เสียหาย (damaged starch) วิเคราะห์ตามวิธีของ AACC 2000 ด้วยชุดวิเคราะห์สตาร์ชที่เสียหาย (enzyme kits) (Sigma, USA) (รายละเอียดตามภาคผนวก ข1)

4.3 สมบัติทางกายภาพของสตาร์ชที่สกัดด้วยวิธีทางกายภาพ และวิธีการใช้สารละลายต่าง

4.3.1 การตรวจดูโครงสร้างและโปรตีนที่เกิดตามเม็ดสตาร์ชโดยใช้ Confocal laser scanning microscopy, CLSM (Germany, รุ่น LSM 5 PASCAL VarioOne, GB ผลิตโดยบริษัท Rushmore Precision) ตามวิธีของ Hongsprabhas *et al.* (2007) โดยใช้ตัวอย่าง สารละลายสตาร์ชเข้มข้น 1.25 (w/v)

4.3.2 การตรวจดูโครงสร้างระดับจุลภาคของเม็ดสตาร์ชด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope, JEOL, JSM-5600LV, England)

4.4 สมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ของสตาร์ชที่สกัดด้วยวิธีทางกายภาพ และวิธีการใช้สารละลายต่าง

4.4.1 สมบัติความหนืด (Pasting properties) วิเคราะห์ด้วยเครื่องวัดความหนืดแบบเร็ว (rapid visco analyzer, RVA) (รายละเอียดตามภาคผนวก ข1)

4.4.2 สมบัติด้านความร้อน (thermal properties) ด้วยเครื่องดิฟเฟอเรนเชียล สแกนนิ่ง แคลอริมิเตอร์ (Differential scanning calorimeter, DSC) ตามวิธีของ Thirathumthavorn and Charoenrein (2005) (รายละเอียดตามภาคผนวก ข1)

4.4.3 ความเป็นผลึก ด้วยเครื่องเอกซเรย์ดิฟแฟร็กโทมิเตอร์ (X-ray diffractometer, JEOL, JDX-3530, Japan) ตามวิธีการของ Barth (2004) (รายละเอียดตามภาคผนวก ข1)

5. การเปรียบเทียบข้อได้เปรียบและสมบัติของสารสกัดระหว่างสารสกัดด้วยวิธีทางกายภาพที่เหมาะสม กับวิธีการใช้สารละลายต่าง

5.1 เปรียบเทียบปริมาณน้ำทิ้ง ค่าความเป็นกรด-ด่าง ของน้ำทิ้ง และเปอร์เซ็นต์ผลได้จากกระบวนการสกัดสารสกัดด้วยวิธีทางกายภาพที่เหมาะสมกับวิธีการใช้สารละลายต่าง

5.2 เปรียบเทียบเวลาที่ใช้ในการสกัดของสารสกัดที่สกัดด้วยวิธีทางกายภาพที่เหมาะสมกับวิธีการใช้สารละลายต่าง

5.3 เปรียบเทียบคุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพ ของสารสกัดที่สกัดด้วยวิธีทางกายภาพที่เหมาะสมกับวิธีการใช้สารละลายต่าง

5.3.1 ปริมาณความชื้น ตามวิธีของ AACC (2000)

5.3.2 ปริมาณโปรตีน ตามวิธีของ AACC (2000)

5.3.3 ปริมาณไขมัน ตามวิธีของ AACC (2000)

5.3.4 ปริมาณแอมิโลส ตามวิธีของ Juliano (1971)

5.3.5 สมบัติด้านความหนืดของสารสกัดข้าว AACC (2000)

5.3.6 ปริมาณสีของสารสกัดข้าว ตามวิธีของ Hsu *et al.* (2003)

6. การวิเคราะห์ทางสถิติ

วางแผนการทดลองทางสถิติโดยใช้ Completely Randomize Design (CRD) นำผลการทดลองที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) เปรียบเทียบความแตกต่างของตัวอย่างในแต่ละวิธีการสกัดสารสกัดข้าว โดยใช้ Duncan's new Multiple Rang Test (DMRT) เพื่อทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยโปรแกรมสำเร็จรูป Statistical Package for the Social Science (SPSS) version 10.01

7. สถานที่ทดลอง

ห้องปฏิบัติการและอาคารแปรรูป ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

8. ระยะเวลาการทดลอง

ตั้งแต่เดือนมีนาคม 2548 ถึงเดือนพฤษภาคม 2550

ผลและวิจารณ์

1. การศึกษาวิธีและสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารขี้ขาว ด้วยวิธีทางกายภาพ คือการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง (HIU) การแช่เยือกแข็งอุณหภูมิต่ำ (DF) และการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงร่วมกับการแช่เยือกแข็งอุณหภูมิต่ำ (HIU + DF)

ในกระบวนการผลิตอาหารที่มีการใช้ HIU นั้น ความแรงของเสียงจะเป็นสาเหตุทำให้เกิดการคาเวชัน (cavitation) ซึ่งจะมีผลต่อผิวหน้าของวัสดุ ในการนำ HIU มาใช้ส่วนมากกำหนดความถี่อยู่ในช่วง 20-40 กิโลเฮิร์ตซ์ โดยปกติช่วงที่ถูกนำมาใช้มากคือ พาวเวอร์อัลตราซาวด์ ซึ่งถูกนำมาใช้ในการทำความสะอาดผิววัสดุ การทำให้เซลล์แตก เป็นต้น

ส่วนการแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิต่ำส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะของพื้นผิวและความเป็นผลึกของเม็ดแป้ง โดยการขยายตัวของปริมาตรของน้ำแข็งทำให้เกิดการทำลายที่บริเวณผิวหน้าของเม็ดสตาร์ชไม่ค่อยรุนแรงนัก (Szymonska *et al.*, 2000)

ผู้วิจัยจึงคิดว่าวิธีทางกายภาพทั้ง 2 วิธีนี้น่าจะมีผลทำให้โปรตีนร่างแหและโปรตีนบอดี ที่เกาะอยู่บริเวณผิวหน้าเม็ดสตาร์ชหลุดออกได้ จึงได้ศึกษานำวิธีทั้งสองมาประยุกต์ใช้ในการสกัดสตาร์ชจากแป้งข้าวที่ได้จากข้าวหัก โดยเปรียบเทียบผลกับการสกัดด้วยสารละลายต่าง

1.1 เปอร์เซ็นต์ผลได้และสมบัติทางเคมีของสตาร์ชที่สกัดด้วยวิธีทางกายภาพและวิธีสกัดโดยใช้สารละลายต่าง

1.1.1 เปอร์เซ็นต์ผลได้และปริมาณความชื้นของสตาร์ชที่สกัดด้วยวิธีทางกายภาพและวิธีการใช้สารละลายต่าง

จากการทดลองเปอร์เซ็นต์ผลได้ของสตาร์ชข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่สกัดด้วย HIU ที่สภาวะต่างๆ พบว่าที่สภาวะ 50-90 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เมื่อเวลาในการสกัดนานขึ้น ทำให้เปอร์เซ็นต์ผลได้ค่อยๆ เพิ่มขึ้นเล็กน้อย (74.88-80.12) (ตารางที่ 2) โดยมีค่าแตกต่างกัน อย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ระหว่างทรีทเมนต์ และพบว่าวิธีการนี้สามารถแยกสกัดสตาร์ชได้ เปอร์เซ็นต์ผลได้สูงกว่าสตาร์ชที่สกัดด้วยวิธีการใช้สารละลายต่าง (47.47 เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญ

($p \leq 0.05$) (ตารางที่ 2) ซึ่งโดยทั่วไปการสกัดด้วยวิธีทางเคมีโดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นประมาณ 0.1-0.2 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ได้ผลได้ประมาณ 73.85 เปอร์เซ็นต์ (Yang *et al.*, 1984; Lumdubwong and Seib, 2000) ซึ่งสูงกว่าเปอร์เซ็นต์ผลที่ได้จากการทดลอง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากปริมาณตัวอย่างที่ใช้สกัดในการทดลองนี้มากกว่าวิธีทดลองของ Lumdubwong and Seib (2000) ประมาณ 3 เท่า ซึ่งอาจมีผลต่อประสิทธิภาพในการสกัดและเปอร์เซ็นต์ผลได้ของสตาร์ช

จากการ DF พบว่า เมื่อจำนวนรอบของการ DF เพิ่มขึ้น ทำให้เปอร์เซ็นต์ผลได้แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) และมีเปอร์เซ็นต์ผลได้สูงกว่าสตาร์ชที่สกัดด้วยสารละลายต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เนื่องจากการ DF มีความบริสุทธิ์น้อยกว่า (เมื่อพิจารณาจากปริมาณโปรตีน ในตารางที่ 3) และมีค่าใกล้เคียงกับแป้งข้าว โดยมีค่าปริมาณโปรตีนแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ซึ่งอาจแสดงถึงประสิทธิภาพในการสกัดของการ DF นั้นไม่สามารถแยกส่วนประกอบอื่นๆ ออกจากเมล็ดสตาร์ชได้ จึงทำให้มีปริมาณผลได้สูงกว่าสตาร์ชที่สกัดด้วยสารละลายต่างที่มีความบริสุทธิ์ของสตาร์ชสูง

การใช้ HIU ที่สภาวะ 70 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 30 นาที และการใช้ HIU ร่วมกับการ DF พบว่า เปอร์เซ็นต์ผลได้มีค่าใกล้เคียงกันและมีค่าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แต่มีเปอร์เซ็นต์ผลได้สูงกว่าสตาร์ชที่สกัดด้วยสารละลายต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ซึ่งอาจกล่าวได้ว่าสตาร์ชที่สกัดด้วย HIU ร่วมกับการ DF ไม่สามารถเพิ่มเปอร์เซ็นต์ผลได้และประสิทธิภาพในการสกัดให้สูงขึ้นได้

จากปริมาณความชื้นในตารางที่ 2 พบว่า สตาร์ชข้าวที่สกัดด้วย HIU เกือบทุกทรีตเมนต์ จะมีปริมาณความชื้นค่อนข้างใกล้เคียงกัน นอกจากนี้ยังพบว่า สตาร์ชที่สกัดด้วย HIU ร่วมกับการ DF และสตาร์ชที่สกัดด้วยสารละลายต่าง จะมีปริมาณความชื้นน้อยกว่า แป้งข้าวอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เนื่องจากปริมาณโปรตีนในแป้งข้าว (ตารางที่ 3) มีค่าสูงกว่าสตาร์ชที่ผ่านกระบวนการสกัดด้วย HIU การใช้ HIU ร่วมกับการ DF และสารละลายต่าง ซึ่งโปรตีนเหล่านี้จะประกอบด้วยกรดอะมิโนชนิดที่เป็นโพลาไรจำนวนมาก ดังนั้นจึงสามารถดูดความชื้นได้ดีกว่าสตาร์ชที่ผ่านกระบวนการสกัดโปรตีนออกแล้ว อย่างเช่นสตาร์ชที่ได้จากสารละลายต่างและ HIU ในการทดลองนี้ (นิธิยา, 2524, Leach *et al.*, 1959)

ตารางที่ 2 ผลของเปอร์เซ็นต์ผลได้ และปริมาณความชื้น ของแป้งข้าว และสสารข้าวที่สกัดด้วยวิธีทางกายภาพ และวิธีสกัดด้วยสารละลายต่าง

ตัวอย่างสสารข้าว	ร้อยละ โดยน้ำหนักแห้ง	
	ความชื้น	ผลได้
HIU¹		
50 %แอมพลิจูด 15 นาที	6.84 ± 0.23 ^c	78.43 ± 0.40 ^a
50 %แอมพลิจูด 30 นาที	8.16 ± 0.12 ^d	77.78 ± 1.57 ^a
50 %แอมพลิจูด 45 นาที	8.92 ± 0.31 ^{bcd}	77.50 ± 1.18 ^a
70 %แอมพลิจูด 15 นาที	9.04 ± 0.09 ^{bcd}	80.12 ± 1.81 ^a
70 %แอมพลิจูด 30 นาที	9.15 ± 0.18 ^{bcd}	76.48 ± 2.71 ^a
70 %แอมพลิจูด 45 นาที	9.34 ± 0.05 ^{bc}	74.88 ± 3.32 ^a
90 %แอมพลิจูด 15 นาที	8.68 ± 0.18 ^{bcd}	79.56 ± 2.30 ^a
90 %แอมพลิจูด 30 นาที	9.55 ± 1.38 ^b	77.19 ± 0.01 ^a
90 %แอมพลิจูด 45 นาที	8.34 ± 0.07 ^{cd}	75.51 ± 5.67 ^a
แป้งข้าว	11.12 ± 0.16 ^a	-
การสกัดโดยใช้สารละลายต่าง	8.47 ± 0.04 ^{bcd}	47.47 ± 3.59 ^b
DF²		
1 รอบ	9.72 ± 0.99 ^a	93.68 ± 1.40 ^a
6 รอบ	10.04 ± 0.19 ^a	93.92 ± 0.19 ^a
แป้งข้าว	11.12 ± 0.16 ^a	-
การสกัดโดยใช้สารละลายต่าง	8.47 ± 0.04 ^b	47.47 ± 3.59 ^b
การใช้สองวิธีร่วมกัน (HIU และ DF)³		
70 %แอมพลิจูด 30 นาที	9.15 ± 0.18 ^c	76.48 ± 2.71 ^a
70 %แอมพลิจูด 30 นาที และ DF 1 รอบ	9.19 ± 0.19 ^c	72.44 ± 3.31 ^a
70 %แอมพลิจูด 30 นาที และ DF 6 รอบ	10.00 ± 0.62 ^b	69.63 ± 3.11 ^a
แป้งข้าว	11.12 ± 0.16 ^a	-
การสกัดโดยใช้สารละลายต่าง	8.47 ± 0.04 ^d	47.47 ± 3.59 ^b

- ^{1, 2, 3} อักษรตัวเล็กแสดงความแตกต่างตามแนวตั้ง (ในแต่ละกลุ่ม) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (p≤0.05)

- ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ได้จากการทดลองสกัดสสารข้าวสองครั้ง วิเคราะห์สมบัติตัวอย่างละ 2 ซ้ำ

จากการทดลองด้วยวิธีสกัดด้วยการ DF เพียงอย่างเดียว พบว่า มีปริมาณความชื้นใกล้เคียงกับแป้งข้าวอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) และจากปริมาณโปรตีนในตารางที่ 3 พบว่าการ DF มีปริมาณโปรตีนที่เหลือน้อยกว่าแป้งข้าวอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แต่มีปริมาณความชื้นใกล้เคียงกันเนื่องจากการ DF เพียงอย่างเดียวนั้นทำให้มีปริมาณสตาร์ชที่เสียหายเพิ่มขึ้น ซึ่งปริมาณสตาร์ชที่เสียหายที่เกิดขึ้นนั้นมีผลทำให้เม็ดสตาร์ชดูดความชื้นมากขึ้น ทำให้มีปริมาณความชื้นใกล้เคียงกับแป้งข้าว และจากผลการทดลองนี้อาจสรุปได้ว่า ปริมาณความชื้น เกิดจากปัจจัยที่สำคัญสองปัจจัย คือ ปริมาณโปรตีนและปริมาณสตาร์ชที่เสียหาย

1.1.2 ปริมาณโปรตีนที่เหลือน้อยและสตาร์ชที่เสียหายของสตาร์ชที่สกัดด้วยวิธีทางกายภาพและวิธีสกัดด้วยสารละลายต่าง

จากตารางที่ 3 พบว่า การสกัดด้วย HIU และการใช้สารละลายต่างสามารถแยกโปรตีนเริ่มต้น 7.02 เปอร์เซ็นต์ ของแป้งข้าวหักขาวคอกมะลิ 105 ได้โดยเรียงลำดับตามประสิทธิภาพในการแยกโปรตีนจากน้อยไปมากได้เป็น 6 กลุ่ม ดังนี้ กลุ่มที่หนึ่งแยกโปรตีนได้น้อยที่สุดคือ ที่สภาวะ 50 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 15 นาที กลุ่มที่สอง ที่สภาวะ 50 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 30 นาที และ 70 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 15 นาที กลุ่มที่สาม ที่สภาวะ 90 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 15 นาที กลุ่มที่สี่ ที่สภาวะ 50 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 45 นาที กลุ่มที่ห้า ที่สภาวะ 70 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 30 นาที 90 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 30 นาที และ 90 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 45 นาที และกลุ่มที่หกแยกโปรตีนออกได้มากที่สุดคือที่สภาวะ 70 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 45 นาที และการสกัดด้วยสารละลายต่าง โดยภายในแต่ละกลุ่มจะมีปริมาณโปรตีนที่เหลือน้อยแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ส่วนปริมาณโปรตีนระหว่างกลุ่มจะมีความแตกต่าง อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) และจากการสังเกตที่สภาวะ 50 และ 70 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูดพบว่าเมื่อเวลาในการแยกสกัด และเปอร์เซ็นต์แอมพลิจูดเพิ่มขึ้น มีผลให้ปริมาณโปรตีนที่เหลือน้อยลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เนื่องจากเมื่อเปอร์เซ็นต์แอมพลิจูดเพิ่มขึ้น มีผลทำให้ขนาดของฟองอากาศที่ได้ใหญ่ขึ้น ทำให้มีความดันและอุณหภูมิสูงกว่าเปอร์เซ็นต์แอมพลิจูดต่ำๆ ที่ทำให้เกิดฟองอากาศที่มีขนาดเล็ก (Malcolm et al., 1998) ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่า เมื่อเปอร์เซ็นต์แอมพลิจูดในการสกัดเพิ่มขึ้นอาจทำให้ประสิทธิภาพในการสกัดเพิ่มขึ้นด้วย หรือเป็นการเพิ่มความรุนแรงในการสกัด แต่ที่สภาวะ 90 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 30 และ 45 นาที ปริมาณโปรตีนจะไม่ลดลงอีก เนื่องจาก ที่สภาวะนี้เกิดความร้อนสูงทำให้สตาร์ชเกิดการเจลลิตในเซชันไปบางส่วน ซึ่งสอดคล้องกับผลของการศึกษาการเกิดเจลลิตในเซชัน

ของตัวอย่าง โดยใช้เครื่อง DSC และผลสมบัติด้านความหนืดของสตาร์ช ซึ่งจะกล่าวในหัวข้อ 1.3.1 ต่อไป

การใช้ HIU สกัดสตาร์ชทำให้ปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่ลดลง เนื่องจากการแตกสลายของฟองอากาศเล็กๆ (cavitations) ในตัวกลางที่เป็นน้ำ มีผลทำลายและแยกการเชื่อมต่อระหว่างโปรตีนร่างแห (protein matrix) ซึ่งผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Wang and Wang (2004a) โดยใช้เอนไซม์โปรตีเอส 0.01 0.03 และ 0.05 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ HIU (20 กิโล-เฮิร์ตซ์) ที่สภาวะ 25 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 15 30 และ 60 นาที พบว่าเมื่อเพิ่มเปอร์เซ็นต์แอมพลิจูดและเวลาในการแยกสกัดมีผลทำให้ปริมาณโปรตีนลดลง (มีปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่ประมาณ 0.5-0.96 เปอร์เซ็นต์) และมีสตาร์ชที่เสียหายเพิ่มขึ้น (มีปริมาณสตาร์ชที่เสียหายประมาณ 0.98-1.87 เปอร์เซ็นต์) โดยมีสภาวะในการสกัดที่ดีที่สุดคือ การใช้เอนไซม์โปรตีเอส ร่วมกับ HIU โดยใช้เวลาในการย่อยด้วยโปรตีเอส 2 ชั่วโมง ก่อนแล้วตามด้วยการใช้ HIU ที่ 75 หรือ 50 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 15 หรือ 30 นาที

จากการทดลองนี้พบว่า แป้งข้าวขาวดอกมะลิ 105 มีปริมาณสตาร์ชที่เสียหายเริ่มต้น 5.47 เปอร์เซ็นต์ โดยปกติแล้วบนผิวของเมล็ดแป้งจะพบช่องเปิดที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.1-0.3 ไมครอน ซึ่งรูพรุนเหล่านี้ อาจเกิดขึ้นในขั้นตอนการผลิตแป้ง หรืออาจมีอยู่แล้วในธรรมชาติ แต่มีขนาดใหญ่ขึ้นเนื่องจากกระบวนการไม่แป้ง (กลั่นรงค์ และ เกื้อกูล, 2546) ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิดสตาร์ชที่เสียหาย สตาร์ชโดยทั่วไปจะมีปริมาณของสตาร์ชที่หายในระหว่างการไม่แป้งประมาณ 5-12 เปอร์เซ็นต์ (Dubois, 1949) และในทางการค้าสตาร์ชข้าวควรมีปริมาณสตาร์ชที่เสียหายไม่เกิน 8.20 เปอร์เซ็นต์ (Guraya and James, 2002) และการเกิดสตาร์ชที่เสียหายจากการใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์หรือสารละลายด่างนั้น เนื่องมาจากสารละลายด่างสามารถย่อย (hydrolyzes) พอลิแซ็กคาไรด์ได้ ดังนั้นสารละลายด่างจึงสามารถเป็นตัวทำลายสตาร์ชได้เช่นกัน ซึ่งความเสียหายของสตาร์ชที่เกิดจากสารละลายด่างทำให้เกิดการเคลื่อนย้ายเอมิโลสที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง (high molecular weight) ออกจากเม็ดสตาร์ช (Chiou *et al.*, 2002) สตาร์ชที่เสียหาย เนื่องจากวิธีการแยกสกัดด้วย HIU สามารถแบ่งกลุ่มได้ออกเป็น 5 กลุ่ม (ตารางที่ 3) ซึ่งสามารถเรียงลำดับความเสียหายที่เกิดขึ้นจากน้อยไปมากดังนี้ กลุ่มที่หนึ่งเกิดสตาร์ชที่เสียหายน้อยที่สุดอยู่ในช่วงประมาณ 7.28-7.32 เปอร์เซ็นต์ คือที่สภาวะ 50 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 15 นาที และ 70 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 15 นาที กลุ่มที่สอง เกิดสตาร์ชที่เสียหายอยู่ในช่วงประมาณ 7.83-8.00 เปอร์เซ็นต์ ที่ 70 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 30 นาที และที่สภาวะ 90 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด

ตารางที่ 3 ปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่ และปริมาณสารรัซที่เสียหายของแป้งข้าวและสารรัซที่สกัดด้วยวิธีทางกายภาพและวิธีการที่ใช้สารละลายต่าง

ตัวอย่างสารรัซข้าว	ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง	
	โปรตีนที่เหลืออยู่	สารรัซที่เสียหาย
HIU¹		
50 เปอร์เซนต์แอมพลิจูด 15 นาที	3.52 ± 0.00 ^b	7.28 ± 0.09 ^c
50 เปอร์เซนต์แอมพลิจูด 30 นาที	2.43 ± 0.06 ^c	9.03 ± 0.03 ^c
50 เปอร์เซนต์แอมพลิจูด 45 นาที	1.75 ± 0.06 ^c	9.11 ± 0.11 ^c
70 เปอร์เซนต์แอมพลิจูด 15 นาที	2.44 ± 0.06 ^c	7.32 ± 0.03 ^c
70 เปอร์เซนต์แอมพลิจูด 30 นาที	1.47 ± 0.02 ^f	8.00 ± 0.05 ^d
70 เปอร์เซนต์แอมพลิจูด 45 นาที	0.88 ± 0.01 ^g	9.23 ± 0.07 ^c
90 เปอร์เซนต์แอมพลิจูด 15 นาที	2.02 ± 0.05 ^d	7.83 ± 1.27 ^d
90 เปอร์เซนต์แอมพลิจูด 30 นาที	1.31 ± 0.02 ^f	11.12 ± 0.14 ^b
90 เปอร์เซนต์แอมพลิจูด 45 นาที	1.37 ± 0.09 ^f	12.93 ± 0.39 ^a
แป้งข้าว	7.01 ± 0.00 ^a	5.48 ± 0.24 ^f
สารละลายต่าง	0.77 ± 0.00 ^g	8.93 ± 0.04 ^c
DF²		
1 รอบ	5.15 ± 0.01 ^b	7.26 ± 0.09 ^c
6 รอบ	5.01 ± 0.10 ^b	7.82 ± 0.11 ^b
แป้งข้าว	7.01 ± 0.00 ^a	5.48 ± 0.24 ^d
สารละลายต่าง	0.77 ± 0.00 ^c	8.93 ± 0.04 ^a
HIU และ DF³		
70 เปอร์เซนต์แอมพลิจูด 30 นาที	1.47 ± 0.02 ^b	8.00 ± 0.05 ^b
70 เปอร์เซนต์แอมพลิจูด 30 นาที และ DF 1 รอบ	1.36 ± 0.02 ^b	8.41 ± 0.96 ^{ab}
70 เปอร์เซนต์แอมพลิจูด 30 นาที และ DF 6 รอบ	1.14 ± 0.00 ^c	8.99 ± 1.23 ^a
แป้งข้าว	7.01 ± 0.00 ^a	5.48 ± 0.24 ^c
สารละลายต่าง	0.77 ± 0.00 ^d	8.93 ± 0.04 ^{ab}

^{-1, 2, 3} อักษรตัวเล็กแสดงความแตกต่างตามแนวตั้ง (ในแต่ละกลุ่ม) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (p≤0.05)

- ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานได้จากการทดลอง 2 ครั้ง ๆ ละ 2 ซ้ำ

เป็นเวลา 15 นาที กลุ่มที่สาม เกิดสสารที่เสียหายอยู่ในช่วงประมาณ 9.03-9.11 เปอร์เซ็นต์ ที่สภาวะ 50 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 30 นาที ที่สภาวะ 50 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 45 นาที และที่สภาวะ 70 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 45 นาที กลุ่มที่สี่เกิดสสารที่เสียหายประมาณ 11.12 เปอร์เซ็นต์ ที่สภาวะ 90 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 30 นาที และกลุ่มที่ห้า เกิดสสารที่เสียหายประมาณ 12.93 เปอร์เซ็นต์ ที่สภาวะ 90 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 45 นาที โดยภายในกลุ่มจะมีปริมาณสสารที่เสียหายแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ส่วนปริมาณสสารที่เสียหายระหว่างกลุ่มจะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) จากผลการทดลองนี้ สังเกตได้ว่าที่สภาวะเปอร์เซ็นต์แอมพลิจูดใดๆ เมื่อระยะเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้นทำให้มีเปอร์เซ็นต์สสารที่เสียหายเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แต่เพิ่มเปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด โดยใช้เวลาสกัดเท่ากัน ทำให้ปริมาณสสารที่เสียหาย มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ซึ่งอาจกล่าวได้ว่า เวลาที่ใช้ในการสกัดสสารด้วย HIU มีผลต่อปริมาณสสารที่เสียหาย นอกจากนี้สสารที่สกัดด้วยสารละลายต่างจะมีปริมาณเปอร์เซ็นต์สสารที่เสียหายใกล้เคียงกับสสารที่แยกสกัดด้วย HIU ในกลุ่มที่สอง และกลุ่มที่สาม โดยมีค่าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ในขณะที่สภาวะ 90 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เมื่อเวลาเพิ่มขึ้น ปริมาณสสารที่เสียหายจะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ที่เวลา 30 และ 45 นาที เนื่องจากที่ 90 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นสภาวะที่รุนแรงและยังเกิดการเจลาติไนเซชันของสสารมากขึ้นเนื่องจากความร้อน ทำให้เกิดสสารที่เสียหายเพิ่มขึ้นตามไปด้วย ซึ่งสอดคล้องกับผลของการศึกษาการเกิดเจลาติไนเซชันของตัวอย่าง โดยใช้เครื่อง DSC และผลสมบัติด้านความหนืดของสสาร ซึ่งจะกล่าวต่อไปในหัวข้อ 1.3.1 อย่างไรก็ตามผลของเปอร์เซ็นต์สสารที่เสียหายที่ได้จากการทดลองนี้พบว่าไม่ใกล้เคียงกับผลการทดลองของ Wang and Wang (2004b) ที่ศึกษาการสกัดสสารข้าวเจ้า เพื่อลดระยะเวลาในการแยกสกัดสสารข้าวโดยใช้แป้งข้าว 100 กรัม ทำให้กระจายในน้ำ 200 กรัม ผ่าน HIU (20 กิโลเฮิร์ตซ์) ที่ 75 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 30 นาที พบว่า มีสสารที่เสียหายประมาณ 3.1-3.5 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อนำ HIU มาใช้ร่วมกับสารลดแรงตึงผิว (Surfactants) (Sodium dodecyl sulfate, SDS) ที่ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ เกิดสสารที่เสียหายประมาณ 3.1 เปอร์เซ็นต์ โดยที่สสารที่สกัดด้วยสารละลายต่างที่ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 18 ชั่วโมง มีสสารที่เสียหายประมาณ 1.6 เปอร์เซ็นต์ โดยในการทดลองนี้ที่แป้งข้าวมีสสารที่เสียหายเริ่มต้นสูงถึง 5.4 เปอร์เซ็นต์ อาจเนื่องมาจากการถูกทำลายด้วยวิธีการไม่ข้าว และ/หรือ ชนิดของพันธุ์ข้าว ที่แตกต่างกัน ซึ่งอาจมีผลทำให้สสารที่ผ่าน HIU ในการทดลองนี้มีค่าสูงกว่า โดย HIU จะทำให้ของเหลวเกิดการแตกตัวและเกิดฟองอากาศขึ้น (cavitation) ซึ่งจะทำให้เกิดความดันไอน้ำที่มีผลต่อการทำลายบนผิวหน้าของวัสดุหรือผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ได้ (Mason *et al.*, 1996) และน่าจะมีผลต่อการถูกทำลายที่ผิวหน้าของเมล็ดสสารเช่นเดียวกัน

นอกจากนี้ในงานวิจัยนี้ยังได้ศึกษาถึงความเป็นไปได้ที่จะใช้ DF ซึ่งเป็นวิธีทางกายภาพอีกวิธีหนึ่งที่น่าจะนำมาใช้ในการสกัดสสาร หรืออาจนำมาใช้ร่วมกับวิธีการใช้ HIU ที่มีปริมาณสสารที่เสียหายต่ำกว่าหรือใกล้เคียงกับสสารที่สกัดด้วยสารละลายต่างมากที่สุด แต่มีปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่มากกว่าสสารที่สกัดด้วยสารละลายต่าง สภาวะที่เลือกมาใช้ในการทดลองต่อไปคือ ที่สภาวะ 70 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 30 นาที โดยนำมาใช้ร่วมกับ DF ที่จำนวน 1 และ 6 ครั้ง ซึ่งได้แสดงไว้ในตารางที่ 3

การใช้วิธีการแยกสกัดโดยการ DF เพียงอย่างเดียว ที่จำนวนการ DF 1 และ 6 รอบ พบว่า เมื่อเพิ่มจำนวนรอบในการแช่เยือกแข็ง ทำให้ปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่ลดลง แต่มีค่าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) และมีสสารที่เสียหายเพิ่มขึ้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) นอกจากนี้ยังมีปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่น้อยกว่า และมีสสารที่เสียหายสูงกว่าแบ่งข้าวอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ 3) ซึ่งความเสียหายที่เกิดขึ้นจากการ DF นั้น เกิดจากการขยายตัวของผลึกน้ำแข็ง เกิดความดัน และมีปริมาตรของน้ำแข็งเพิ่มขึ้น ความดันที่เกิดขึ้นจะทำให้ผิวหน้าของเมล็ดสสารได้รับแรงกดดัน และเกิดการกะเทาะที่ผิวหน้าของเมล็ดสสารได้ โดยความเสียหายที่เกิดขึ้นจะไม่สามารถกลับสู่สภาพเดิมได้หลังจากทำการละลาย (Szymonaka *et al.*, 2000) ซึ่งทำให้โปรตีนที่เกาะอยู่บริเวณผิวหน้าของเมล็ดสสารกะเทาะหรือหลุดออก จึงทำให้ปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่ลดลง โดยเมล็ดสสารที่มีขนาดเล็กจะมีแรงต้านแรงกดดันมากกว่าเมล็ดสสารที่มีขนาดใหญ่กว่า ไม่สามารถทำลายโครงสร้างที่เป็นระเบียบและความสามารถในการบิดระนาบแสงโพลาไรซ์ (birefringence) ของเมล็ดสสารได้ (Szymoneka *et al.*, 2000) ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับสสารที่ผ่านความดันสูง (Kudla and TomasiK, 1992) ดังนั้นการ DF จึงทำลายบริเวณผิวหน้าของเมล็ดสสารอย่างไม่ค่อยรุนแรงนัก (Szymonska *et al.*, 2000) น่าจะเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดสสารที่เสียหายน้อยกว่าสสารที่สกัดได้ทางเคมี และการใช้ HIU ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่าเมล็ดสสารข้าวสามารถทนต่อแรงดันของผลึกน้ำแข็งได้ดีจึงไม่ทำให้เกิดความเสียหายมากนัก

ส่วนการใช้ HIU ร่วมกับการ DF นั้น พบว่า สสารที่สกัดจาก HIU ที่ 70 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 30 นาที ร่วมกับการ DF จำนวน 1 รอบ มีปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่ (ประมาณ 1.36 เปอร์เซ็นต์) แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) กับสสารที่สกัดด้วย HIU ที่สภาวะ 70 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 30 นาที (ประมาณ 1.47 เปอร์เซ็นต์) แต่มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับสสารที่ได้จาก HIU ที่ 70 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 30 นาที ร่วมการ DF จำนวน 6 รอบ (ประมาณ 1.14 เปอร์เซ็นต์) เมื่อพิจารณาจากปริมาณของสสารที่เสียหายพบว่า สสารที่ได้จากการสกัดด้วย HIU ที่สภาวะ 70 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 30 นาที สสารที่ได้

จากการสกัดด้วย HIU ร่วมกับการ DF เป็นจำนวน 1 รอบ มีปริมาณสารรัศที่เสียหายแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p>0.05$) แต่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq 0.05$) กับที่สภาวะ 70 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 30 นาที ร่วมกับการ DF เป็นจำนวน 6 รอบ จากการใช้ HIU ร่วมกับการ DF ทั้ง 1 และ 2 รอบ พบว่า มีปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่สูงกว่าสารรัศที่สกัดด้วยสารละลายต่าง และมีเปอร์เซ็นต์ของสารรัศที่เสียหายใกล้เคียงกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq 0.05$) ดังนั้นการใช้ HIU ร่วมกับการ DF เป็นจำนวน 1 และ 6 ครั้ง ยังมีปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่สูงกว่าสารรัศที่สกัดด้วยสารละลายต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq 0.05$) และนอกจากนี้ยังมีปริมาณของสารรัศที่เสียหายสูงใกล้เคียงกับสารรัศที่สกัดด้วยสารละลายต่างอีกด้วย ดังนั้นการใช้ HIU ร่วมกับการ DF จึงไม่สามารถทำให้มีโปรตีนที่เหลืออยู่ต่ำกว่าสารรัศที่สกัดได้ด้วยสารละลายต่างอีกทั้งยังทำให้มีปริมาณสารรัศที่เสียหายเพิ่มขึ้นจากการใช้ HIU เพียงอย่างเดียวอีกด้วย เนื่องจากการ DF นั้นยังมีประสิทธิภาพไม่เพียงพอที่จะทำให้โปรตีนที่เหลืออยู่ลดลงได้ต่ำกว่าหรือใกล้เคียงสารรัศที่สกัดด้วยสารละลายต่าง

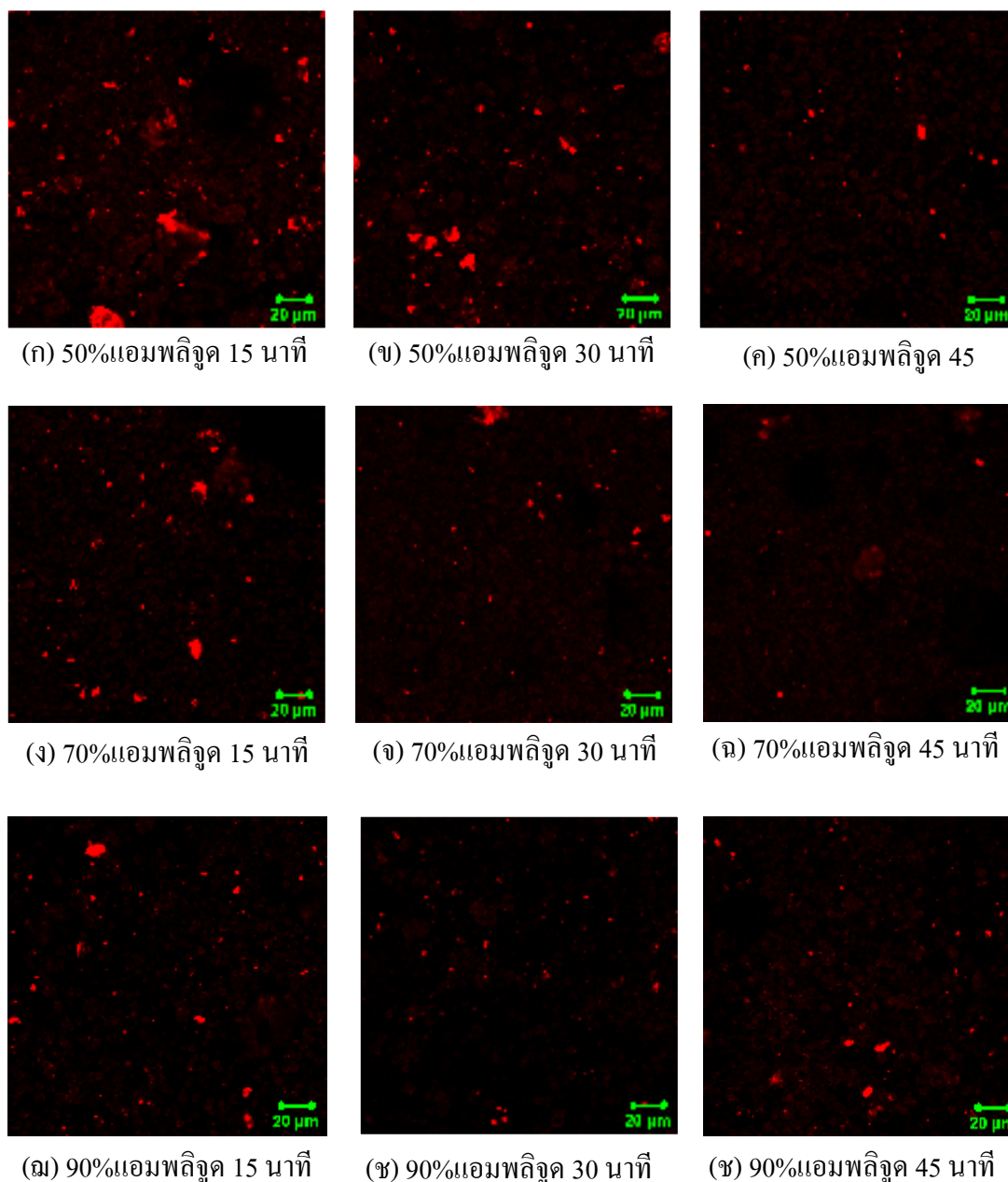
จากผลของปริมาณโปรตีนที่ลดลงและปริมาณสารรัศที่เสียหายเพิ่มขึ้นหลังจากการสกัดด้วย HIU การ DF และการสกัดร่วมกันของวิธีการใช้ HIU ร่วมกับการ DF พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดคือ การใช้ HIU ที่สภาวะ 70 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 45 นาที เนื่องจากมีปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่ และสารรัศที่เสียหายต่ำและใกล้เคียงกับสารรัศที่สกัดด้วยการใช้สารละลายต่างมากที่สุด

1.2 สมบัติทางกายภาพของสารรัศที่สกัดด้วยวิธี HIU และการ DF กับวิธีการสกัดโดยใช้สารละลายต่าง

1.2.1 การตรวจดูโครงสร้างและโปรตีนที่เกาะตามเม็ดสารรัศโดยใช้ Confocal laser scanning microscope (CLSM)

จากภาพที่ 12 และ 13 จะเห็นสีแดงของโปรตีนที่ติดสีย้อม Rhodamine B (Red fluorescent) ที่มีความจำเพาะกับโปรตีน ที่ความเข้มแสงของเลเซอร์ 548 บนเม็ดสารรัศของแป้งข้าวสารรัศที่สกัดด้วยสารละลายต่าง และสารรัศที่สกัดด้วย HIU จากการส่องด้วย CLSM สารรัศที่สกัดด้วย HIU ที่สภาวะ 50 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูดเป็นเวลา 15 30 และ 45 นาที (ภาพที่ 12ก-ค) พบว่าปริมาณสีแดงค่อยๆ ลดลง เมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น ซึ่งอาจกล่าวได้ว่า ที่สภาวะ 50 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เมื่อเพิ่มระยะเวลาในการสกัด จะทำให้ปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่ลดลง และสอดคล้องกับผลของ

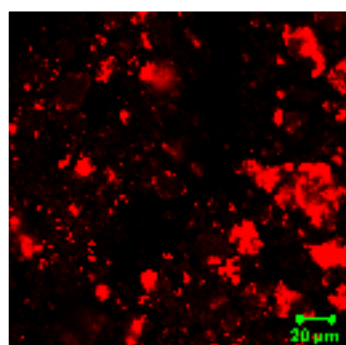
ปริมาณโปรตีนในตัวอย่างสตร้าขาวจากการสกัดด้วย HIU ดังตารางที่ 3 ที่สภาวะ 50 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 15 ปริมาณโปรตีนลดลงอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p>0.05$) เมื่อเวลาในการสกัดนานขึ้นที่เวลา 30 นาที แต่ที่เวลา 45 นาที ปริมาณโปรตีนจะลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq 0.05$)



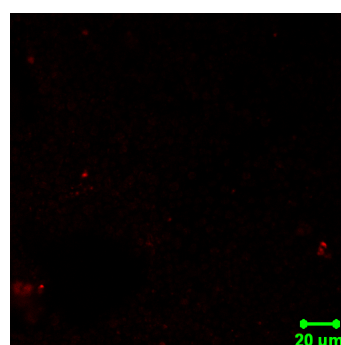
ภาพที่ 12 CLSM ของสตร้าขาวที่สกัดด้วย HIU ที่สภาวะต่างๆ บริเวณสีแดงคือส่วนของโปรตีนที่ติดสีย้อมของ Rhodamine B (ความเข้มแสงของเลเซอร์ 548, กำลังขยายเลนส์วัตถุที่ใช้ 100 เท่า)

สตาร์ชที่สกัดด้วย HIU ที่สภาวะ 70 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 15 30 และ 45 นาที (ภาพที่ 12ง-จ) พบว่า ปริมาณสีแดงลดลง เมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น ซึ่งอาจกล่าวได้ว่า ที่สภาวะ 70 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เมื่อระยะเวลาในการสกัดนานขึ้น จะทำให้ปริมาณ โปรตีนที่เหลืออยู่ลดลง สอดคล้องกับผลของปริมาณโปรตีนที่ได้จากตารางที่ 3 ที่สภาวะ 70 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 15 30 และ 45 นาที ปริมาณโปรตีนจะลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อระยะเวลาในการสกัดนานขึ้น

จากผลปริมาณ โปรตีนที่ลดลงของสตาร์ชที่สกัดด้วย HIU ที่สภาวะ 50 และ 70 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด ที่ได้จากการวิเคราะห์สมบัติทางเคมี และสมบัติทางกายภาพด้วยกล้อง CLSM นั้น สามารถยืนยันได้ว่าการใช้ HIU สามารถลดปริมาณโปรตีนในแป้งข้าวได้ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Wang and Wang (2004b) ที่กล่าวว่า การสกัดด้วย HIU ที่ 50 หรือ 75 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด สามารถทำให้โปรตีนบอดี และโปรตีนร่างแหที่เชื่อมกัน (associate) อยู่บนผิวของเม็ดสตาร์ช หลุดออกมา (Wang and Wang, 2004a)



(ก) แป้งข้าว



(ข) สกัดโดยใช้ด่าง

ภาพที่ 13 CLSM ของแป้งข้าวและสตาร์ชที่สกัดด้วยสารละลายด่างบริเวณสีแดงคือส่วนของโปรตีนที่ติดสีย้อมของ Rhodamine B (ความเข้มแสงของเลเซอร์ 548, กำลังขยายเลนส์วัตถุที่ใช้ 100 เท่า)

สตาร์ชที่สกัดด้วย HIU ที่สภาวะ 90 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 15 30 และ 45 นาที (ภาพที่ 12ข-ค) พบว่า ปริมาณสีแดงจะค่อยๆ เพิ่มขึ้น เมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น ซึ่งอาจกล่าวได้ว่า ที่ 90 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เมื่อเพิ่มระยะเวลาในการสกัด จะทำให้ปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่เพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลของปริมาณโปรตีนที่ได้ดังตารางที่ 3 ที่สภาวะ 90 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 15 และ 30 นาที ปริมาณโปรตีนจะลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) และที่เวลา 45 นาที

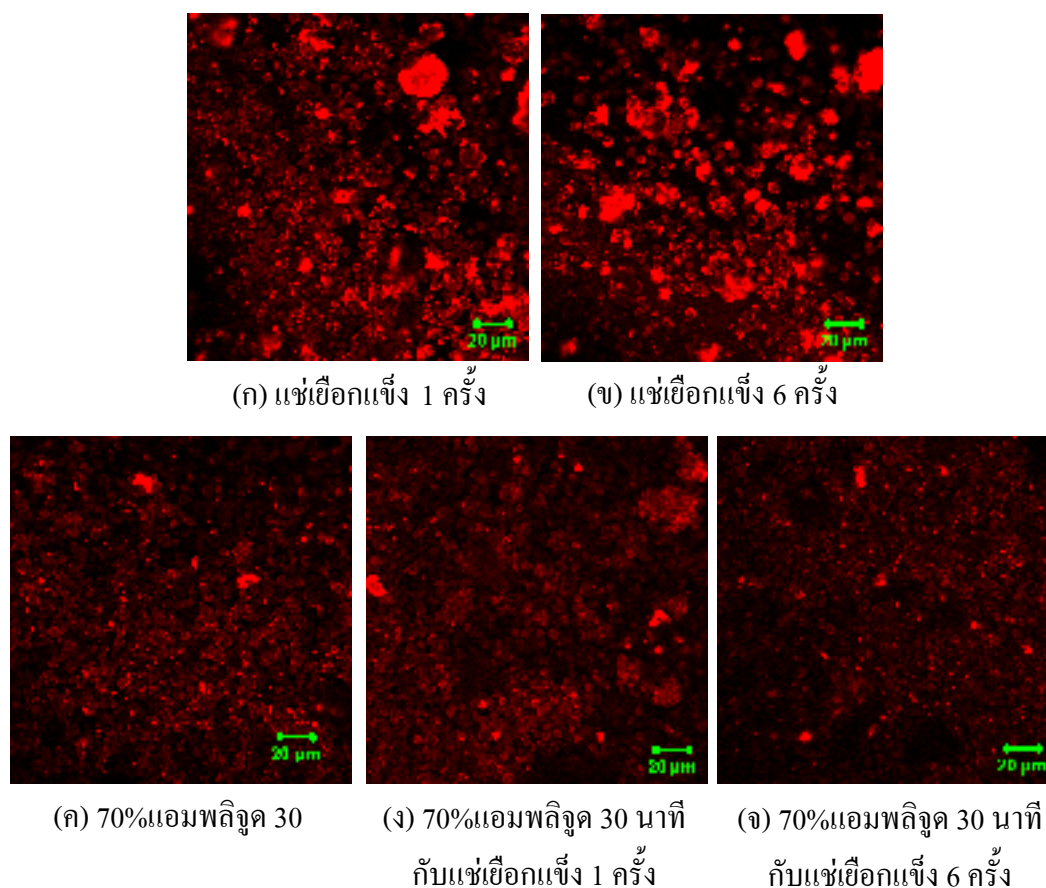
ปริมาณโปรตีนจะลดลงอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แต่ปริมาณสตาร์ชที่เสียหายเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) และจากผลปริมาณโปรตีนที่มีแนวโน้มว่าเพิ่มขึ้นของสตาร์ชที่ผ่าน HIU ที่สภาวะ 90 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 45 นาที ที่ได้จากการวิเคราะห์สมบัติทางเคมี และสมบัติทางกายภาพด้วยกล้อง CLSM นั้น อาจอธิบายได้ว่า สตาร์ชเกิดการเจลลิตในเซชันไปบางส่วน เนื่องจากการแตกสลาย หรือการระเบิดของฟองอากาศในระบบของน้ำแป้ง การใช้เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูดที่สูงเกินไป อาจทำให้เกิดการเกิด shock wave ขึ้น ถ้าเปอร์เซ็นต์ของแอมพลิจูดที่ใช้สูงขึ้นขนาดของฟองอากาศจะเพิ่มขึ้นและเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น จำนวนของฟองอากาศจะเพิ่มขึ้นจำนวนมากในระบบ ของเหลวจะถูกกระตุ้นให้เกิดการระเบิดพร้อมกันด้วย HIU และทำให้เกิดความดันที่สูงกว่า 10,000 พีเอสไอ และอุณหภูมิที่สูงกว่า 10,000 องศาฟาเรนไฮต์ ณ จุดที่เกิดการระเบิด (คิสิโรตม์, 2550; Wang and Wang, 2004a; Knorr, 2004; Moholkar and Pandit, 2001; Moholkar *et al.*, 1999) ดังนั้นการใช้ HIU ที่ 90 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูดจึงทำให้แป้งบางส่วนเกิดจากเจลลิตในซ์เป็นผลให้ประสิทธิภาพในการสกัดลดลง ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับผลของการศึกษาการเกิดเจลลิตในเซชันของตัวอย่าง โดยใช้เครื่อง DSC และผลสมบัติด้านความหนืดของสตาร์ช ซึ่งจะกล่าวในหัวข้อ 1.3.1 ต่อไป

จากภาพปริมาณสีแดงของโปรตีนที่ติดสีย้อม Rhodamine B ของแป้งข้าว (ภาพที่ 13ก) สังเกตได้ว่ามีปริมาณสีแดงที่พบมากกว่าสตาร์ชที่สกัดด้วย HIU (ภาพที่ 12ก-ฉ) และสตาร์ชที่สกัดด้วยสารละลายต่าง (ภาพที่ 13ข) ซึ่งอาจกล่าวได้ว่าแป้งข้าวมีปริมาณโปรตีนสูงกว่าสตาร์ชที่สกัดด้วย HIU และสตาร์ชที่สกัดด้วยสารละลายต่างอย่างเห็นได้ชัด ซึ่งสอดคล้องกับผลของปริมาณโปรตีนจากตารางที่ 3 ที่พบว่าแป้งข้าวมีเปอร์เซ็นต์โปรตีนสูงกว่าสตาร์ชที่สกัดด้วยวิธีทางกายภาพ และการใช้สารละลายต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

การสกัดด้วย HIU ที่สภาวะ 70 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 45 นาที (ภาพที่ 12ฉ) พบว่ามีปริมาณสีแดงใกล้เคียงกับสตาร์ชที่สกัดด้วยสารละลายต่าง ซึ่งอาจกล่าวได้ว่าการสกัดด้วย HIU ที่สภาวะ 70 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 45 นาที มีปริมาณโปรตีนใกล้เคียงกับสตาร์ชที่สกัดด้วยสารละลายต่าง ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณโปรตีนในตารางที่ 3 ซึ่งมีค่าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

ภาพที่ 14 เป็นการเปรียบเทียบสตาร์ชที่ผ่านการ DF จากการส้อมด้วย CLSM ที่ความเข้มแสงของเลเซอร์ 645 พบว่าการ DF เป็นจำนวน 1 และ 6 รอบ (ภาพที่ 12ก และ 12ข) มีปริมาณสีแดงใกล้เคียงกัน ซึ่งอาจกล่าวได้ว่าการ DF สองสภาวะนี้มีปริมาณโปรตีนใกล้เคียงกัน

และสอดคล้องกับปริมาณโปรตีนในตารางที่ 3 ที่มีปริมาณโปรตีนแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p>0.05$) เมื่อเพิ่มจำนวนครั้งในการแช่เยือกแข็ง



ภาพที่ 14 CLSM ของสตร้าซ์ข้าวที่สกัดด้วย DF และการ HIU ร่วมกับ DF ที่สภาวะต่างๆ บริเวณสีแดงคือส่วนของโปรตีนที่ติดสีของ Rhodamine B (ความเข้มแสงของเลเซอร์ 645, กำลังขยายเลนส์วัตถุที่ใช้ 100 เท่า)

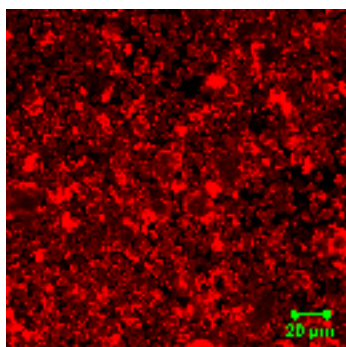
จากภาพที่ 14ค เป็นการเปรียบเทียบสตร้าซ์ที่ผ่าน HIU ที่สภาวะ 70 เปอร์เซ็นต์ แอลกอฮอล์ เป็นเวลา 30 นาที เพียงอย่างเดียว กับสตร้าซ์ที่สกัดด้วย HIU ร่วมกับการ DF จำนวน 1 และ 6 รอบ จากภาพที่ 14ง และ 14จ ตามลำดับ พบว่าสตร้าซ์ที่สกัดด้วย HIU มีปริมาณสีแดงใกล้เคียงกับสตร้าซ์ที่สกัดด้วย HIU ร่วมกับการ DF จำนวน 1 รอบ สตร้าซ์ที่สกัดได้ ทั้งสองสภาวะนี้ พบว่ามีปริมาณสีแดงมากกว่าสตร้าซ์ที่สกัด HIU ร่วมกับการ DF จำนวน 6 รอบ ซึ่งอาจกล่าวได้ว่าสตร้าซ์ที่สกัดด้วย HIU เพียงอย่างเดียว มีปริมาณโปรตีนใกล้เคียงกับสตร้าซ์ที่สกัดด้วย HIU ร่วมกับการ DF จำนวน 1 รอบ และสตร้าซ์ที่ได้จากการสกัดทั้งสองสภาวะนี้ มีปริมาณโปรตีนที่

เหลืออยู่มากกว่าสสารที่สกัดด้วย HIU ร่วมกับการ DF จำนวน 6 รอบ ซึ่งสอดคล้องกับเปอร์เซ็นต์โปรตีนในตารางที่ 3 คือสสารที่สกัดด้วย HIU เพียงอย่างเดียว มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนที่เหลืออยู่แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p>0.05$) กับสสารที่สกัดด้วย HIU ร่วมกับการ DF จำนวน 1 รอบ และสสารที่ได้จากการสกัดทั้งสองสภาวะนี้ มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนที่เหลืออยู่มากกว่าสสารที่ผ่าน HIU ร่วมกับการ DF จำนวน 6 รอบอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq 0.05$)

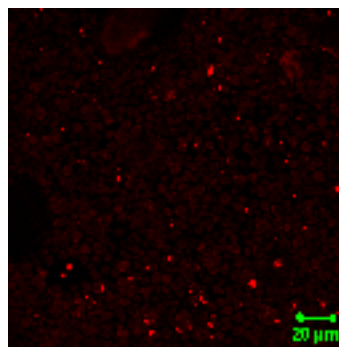
จากผลการสกัดร่วมกันระหว่าง HIU กับ DF นั้นอาจสรุปได้ว่าการใช้ HIU อาจไปช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดของการ DF โดยการสกัดด้วย HIU อาจไปทำให้พันธะระหว่างโปรตีนและสสารที่ผิวเมล็ดสสารอ่อนแอลง และเมื่อนำมาผ่านการ DF จำนวน 6 รอบจึงทำให้โปรตีนหลุดออกได้ง่ายขึ้น

สสารที่ได้จากการ DF เพียงอย่างเดียว (ภาพที่ 14ก และ 14ข) และสสารที่ได้จาก HIU ร่วมกับการ DF (ภาพที่ 14ง และ 14จ พบว่ามีสีแดงน้อยกว่าแป้งข้าว (ภาพที่ 15ก) แต่มีสีแดงมากกว่าสสารที่สกัดด้วยค่างอย่างเห็นได้ชัด ซึ่งอาจกล่าวได้ว่า สสารที่ได้จากการ DF เพียงอย่างเดียว และสสารที่ได้จาก HIU ร่วมกับการ DF มีปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่ต่ำกว่าแป้งข้าว แต่มีปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่สูงกว่าสสารที่สกัดด้วยสารละลายต่าง ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่ในตารางที่ 3 คือ สสารที่ได้จากการ DF เพียงอย่างเดียว และสสารที่ได้จาก HIU ร่วมกับการ DF จำนวน 1 และ 6 รอบ มีปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่ต่ำกว่า แป้งข้าวอย่างมีนัยสำคัญ ($P\leq 0.05$) แต่มีปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่สูงกว่าสสารที่สกัดด้วยค่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P\leq 0.05$) การนำวิธีการ DF มาใช้ในการสกัดสสาร หรือนำมาใช้ในการสกัดร่วมกับ HIU นั้นไม่สามารถสกัดสสารให้มีปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่ได้ใกล้เคียงกับสสารที่สกัดด้วยสารละลายต่าง

จากภาพที่ 13 และภาพที่ 15 เป็นภาพของแป้งข้าวและสสารที่สกัดด้วยสารละลายต่าง พบว่ามีสีแดงแตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด เนื่องจากมีความเข้มแสงของเลเซอร์แตกต่างกัน ภาพที่ 13 มีความเข้มแสงของเลเซอร์ 548 ซึ่งต่ำกว่า ภาพที่ 15 ที่มีความเข้มแสงของเลเซอร์ 645 เนื่องจากผู้ทดลองคาดว่าเมื่อการสกัดด้วย HIU แล้วเพิ่มวิธีการสกัดด้วย DF น่าจะทำให้ปริมาณสีแดงลดลงกว่าเดิมที่มีการสกัดด้วย HIU เพียงอย่างเดียว จึงให้ปริมาณความเข้มแสงของเลเซอร์ที่ใช้สูงขึ้น ซึ่งตัวอย่างแป้งข้าว และสสารที่สกัดด้วยสารละลายต่าง ที่จะนำมาเปรียบเทียบนั้นต้องนำมาถ่ายภาพใหม่โดยใช้ความเข้มแสงของเลเซอร์เดียวกันด้วยถึงจะนำมาเปรียบเทียบกันได้



(ก) แบ่งข้าว



(ข) สกัดโดยใช้ด่าง

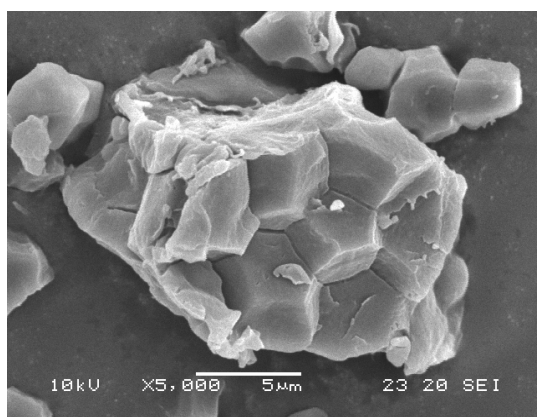
ภาพที่ 15 CLSM ของแบ่งข้าวและสตาร์ชที่สกัดด้วยสารละลายด่างบริเวณสีแดงคือส่วนของโปรตีนที่ติดสีย้อมของ Rhodamine B (ใช้ความเข้มแสงของเลเซอร์ 645, กำลังขยายเลนส์วัตถุที่ใช้ 100 เท่า)

1.2.2 การตรวจดูโครงสร้างระดับจุลภาคของเม็ดสตาร์ชด้วยกล้องจุลทรรศน์

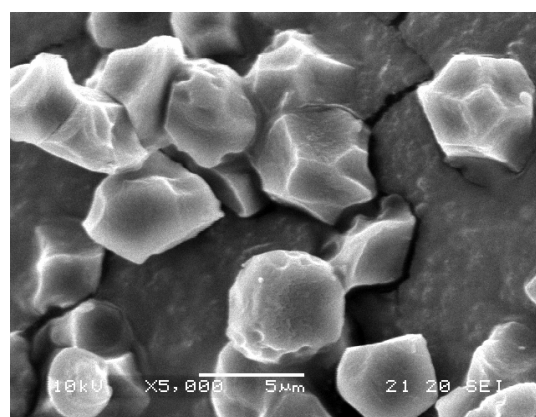
อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope, JEOL, JSM-5600LV, England)

จากภาพที่ 16 พบว่าลักษณะโครงสร้างภายนอกของเม็ดสตาร์ชแบ่งข้าว (ภาพที่ 16ก) มีรูปร่างหลายเหลี่ยม พื้นผิวเรียบ เม็ดสตาร์ชยังคงเกาะติดกันเป็นกลุ่มไม่แยกออกจากกันอย่างชัดเจน เนื่องจากยังมีส่วนที่ห่อหุ้มเม็ดสตาร์ชและองค์ประกอบอื่นๆ ที่เกาะรวมอยู่กับเม็ดสตาร์ช คือ โปรตีนและไขมัน ในภาพจะสังเกตเห็นโปรตีนบอดี้ติดอยู่ด้วย ซึ่งลักษณะการเกาะของเม็ดสตาร์ชจะแตกต่างกับสตาร์ชที่สกัดด้วยสารละลายด่าง (ภาพที่ 16ข) และสตาร์ชที่สกัดด้วย HIU ที่สภาวะ 70 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 45 นาที (ภาพที่ 16ค) พบว่าเม็ดสตาร์ชรูปร่างหลายเหลี่ยมไม่เกาะติดกัน ทั้งนี้เนื่องจากโปรตีนและไขมันที่แทรกอยู่ระหว่างเม็ดสตาร์ชและบริเวณผิวของเม็ดสตาร์ชหลุดออกไปหลังผ่านการสกัดโดยใช้สารละลายด่าง และ HIU และถูกแยกออกไปกับน้ำที่เหวี่ยงแยกออก (Yoenyong-buddhagal and Noomhorm, 2002; Chiang and Yeh, 2002; Haros *et al.*, 2002; Haros *et al.*, 2004) ความเสียหายทางกายภาพของสตาร์ชที่สกัดโดยใช้สารละลายด่าง และ HIU ที่มีลักษณะเป็นหลุมตื้น ขรุขระนั้น ซึ่งมีลักษณะที่ใกล้เคียงกัน แต่มีลักษณะแตกต่างจากแบ่งข้าวโดยแบ่งข้าวจะมีลักษณะพื้นผิวที่เรียบกว่า แสดงว่าแบ่งข้าวก่อนที่จะผ่านกระบวนการสกัดจะมีองค์ประกอบอื่นๆ เช่น โปรตีน ห่อหุ้มหรือเกาะอยู่บริเวณผิวหน้าของสตาร์ช และเมื่อผ่านการสกัดองค์ประกอบเหล่านี้ จะหลุดออกไป เหลือให้เห็นแต่เม็ดสตาร์ชที่มีลักษณะหลายเหลี่ยมชัดเจนขึ้นและมีร่องรอยการหลุดของโปรตีนบอดี้ที่มีลักษณะเป็นหลุมตื้นขรุขระ ซึ่งร่องรอยการหลุดออกของโปรตีนบอดี้ที่พบนั้น แสดงให้เห็นว่าปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่ควรจะลดลงหลังจากผ่านการ

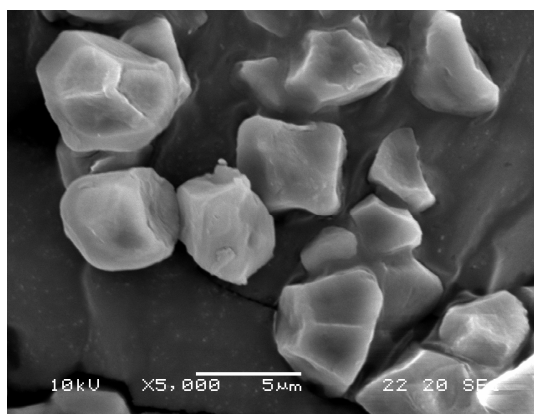
สกัดด้วย HIU และสารละลายต่าง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาสมบัติทางเคมีของแป้งข้าว สตวรรษที่ผ่านการสกัดด้วยสารละลายต่าง และสตวรรษที่สกัดด้วย HIU ที่สภาวะ 70 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 45 นาที (ตารางที่ 3) นั่นคือ แป้งข้าวยังมีปริมาณโปรตีนเริ่มต้นสูงกว่าสตวรรษที่สกัดด้วยสารละลายต่าง และ HIU ที่สภาวะ 70 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 45 นาที อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) และจากความเสียหายที่เกิดขึ้นบนผิวของเม็ดสตวรรษ ของทั้งสามตัวอย่าง สอดคล้องกับปริมาณสตวรรษที่เสียหาย คือ แป้งข้าวมียังมีปริมาณของสตวรรษที่เสียหายเริ่มต้นน้อยกว่าสตวรรษที่สกัดโดยใช้สารละลายต่าง และสตวรรษที่สกัดด้วย HIU ที่สภาวะ 70 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 45 นาที อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) และสตวรรษที่สกัดด้วยสารละลายต่าง และสตวรรษที่สกัดด้วย HIU จะมีปริมาณสตวรรษที่เสียหายแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($P > 0.05$)



(ก) แป้งข้าว



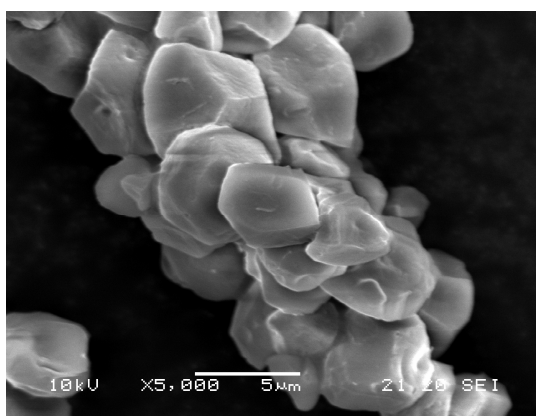
(ข) วิธีทางเคมี



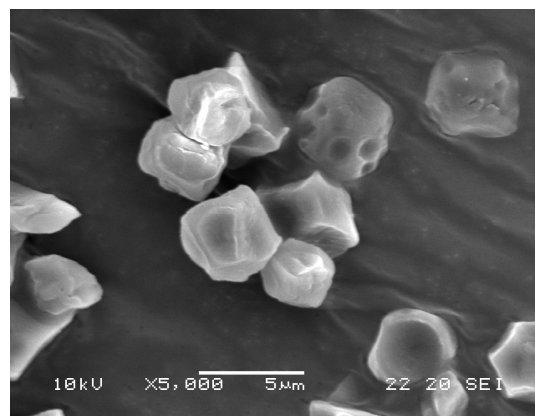
(ค) 70%แอมพลิจูด 45 นาที

ภาพที่ 16 SEM ของแป้งข้าว สตวรรษที่สกัด HIU และสตวรรษที่สกัดด้วยสารละลายต่าง (กำลังขยาย 5,000 เท่า)

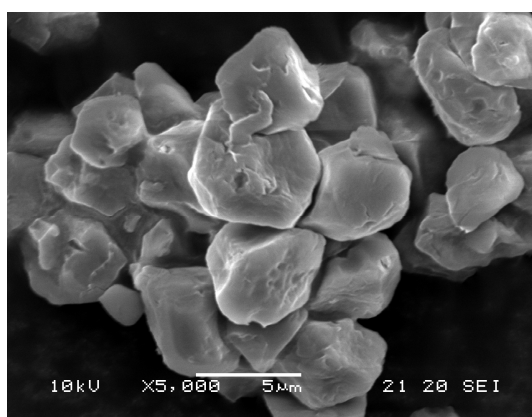
ลักษณะโครงสร้างอนุภาคของเม็ดสตาร์ช ที่สกัดจาก HIU ที่สภาวะ 50 70 และ 90 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 30 นาที เมื่อศึกษาด้วย SEM พบว่าลักษณะโครงสร้างภายนอกของเม็ดสตาร์ชที่ผ่าน HIU ที่สภาวะ 50 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด (ภาพที่ 17 ก) มีรูปร่างหลายเหลี่ยม พื้นผิวค่อนข้างเรียบมน เม็ดสตาร์ชยังคงเกาะติดกันเป็นกลุ่มไม่แยกออกจากกันอย่างชัดเจน เนื่องจากยังมีส่วนที่ห่อหุ้มเม็ดสตาร์ชและสารอื่นๆ ที่เกาะรวมอยู่กับเม็ดสตาร์ช คือ โปรตีนและไขมัน ซึ่งเมื่อเพิ่มเปอร์เซ็นต์แอมพลิจูดเป็น 70 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด (ภาพที่ 17 ข) จะมีลักษณะแตกต่างกันคือ ที่มีรูปร่างหลายเหลี่ยมชัดเจนขึ้น พื้นผิวลักษณะเป็นหลุมตื้น ขรุขระ ไม่เกาะติดกัน ทั้งนี้เนื่องจากโปรตีนและไขมันที่แทรกอยู่ระหว่างเม็ดสตาร์ชและบริเวณผิวของเม็ดสตาร์ชหลุดออกไปหลังผ่านการสกัดโดยใช้ HIU และถูกแยกออกไปกับน้ำที่เหวี่ยงแยกออก (Yoenyong-buddhagal and Noomhorm, 2002; Chiang and Yeh, 2002; Haros *et al.*, 2002; Haros *et al.*, 2004)



(ก) 50%แอมพิจูด 30 นาที



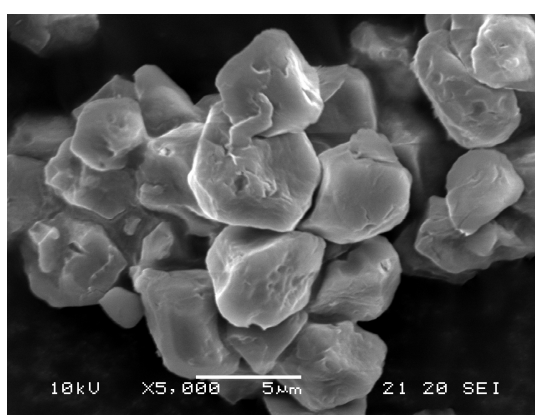
(ข) 70%แอมพิจูด 30 นาที



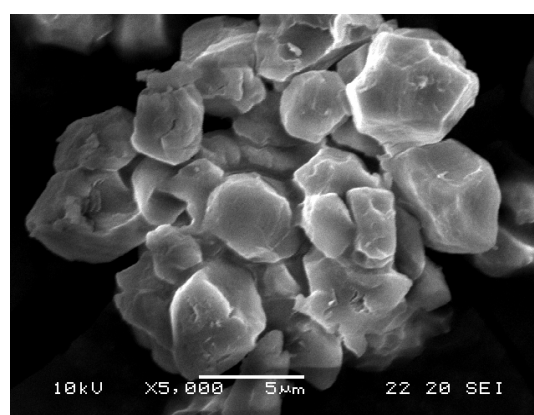
(ค) 90%แอมพิจูด 30 นาที

ภาพที่ 17 Scanning electron micrographs สตาร์ชที่ผ่าน HIU ที่สภาวะ 50 70 และ 90 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 30 นาที (กำลังขยาย 5,000 เท่า)

และเมื่อเพิ่มเปอร์เซ็นต์แอมพลิจูดเป็น 90 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 17ค) พบว่ามีการเกาะตัวกันแน่น และมีลักษณะหลอมเชื่อมติดกันของเม็ดสตาร์ช ซึ่งน่าจะเกิดจากความร้อนทำให้การเจลาทิไนเซชันของเม็ดสตาร์ชบางส่วนขณะทำการแยกสกัดด้วย HIU ที่สภาวะนี้ ผลของลักษณะโครงสร้างนี้ สอดคล้องกับการศึกษาสมบัติทางเคมีของสตาร์ชที่ผ่านการสกัดด้วย HIU ที่สภาวะ 50 70 และ 90 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 30 นาที (ตารางที่ 3) นั่นคือ เมื่อเปอร์เซ็นต์แอมพลิจูดเพิ่มขึ้น ที่ 50 และ 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 30 นาที ปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่จะลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) แต่เมื่อเพิ่มเปอร์เซ็นต์แอมพลิจูดเป็น 90 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 30 นาที ปริมาณโปรตีนจะไม่ลดลงอีก และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ความเสียหายที่เกิดขึ้นบนผิวของเม็ดสตาร์ช ของทั้งสามตัวอย่าง ยังสอดคล้องกับปริมาณสตาร์ชที่เสียหาย คือ สตาร์ชที่ผ่านการสกัด HIU ที่สภาวะ 50 และ 70 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 30 นาที มีปริมาณสตาร์ชที่เสียหายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) แต่การสกัดสตาร์ชทั้งสองสภาวะนี้ จะมีปริมาณสตาร์ชที่เสียหายน้อยกว่าสตาร์ชที่สกัดที่สภาวะ 90 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 30 นาที อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) ซึ่งความเสียหายที่เกิดขึ้นน่าจะเกิดจากการเจลาทิไนเซชันของเม็ดสตาร์ชบางส่วนขณะทำการแยกสกัดด้วย HIU ที่สภาวะนี้



(ก) 90%แอมพลิจูด 30 นาที



(ข) 90%แอมพลิจูด 45 นาที

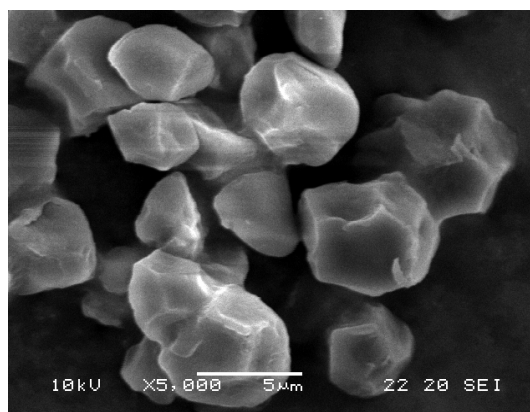
ภาพที่ 18 SEM สตาร์ชที่ผ่าน HIU ที่สภาวะ 90 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 30 และ 45 นาที (กำลังขยาย 5,000 เท่า)

ลักษณะโครงสร้างของเม็ดสตาร์ช ที่สกัดจาก HIU ที่สภาวะ 90 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 30 และ 45 นาที (ภาพที่ 18ก และ 18ข) พบว่ามีการเกาะตัวกันแน่น และมีลักษณะหลอมเชื่อมติดกันของเม็ดสตาร์ช ทั้งสองสภาวะ แต่ที่สภาวะ 90 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 45 นาที เม็ดสตาร์ชจะเกิดความเสียหายหรือมีลักษณะหลอมเชื่อมติดกันมากกว่า ซึ่งน่าจะเกิดจากการเจ

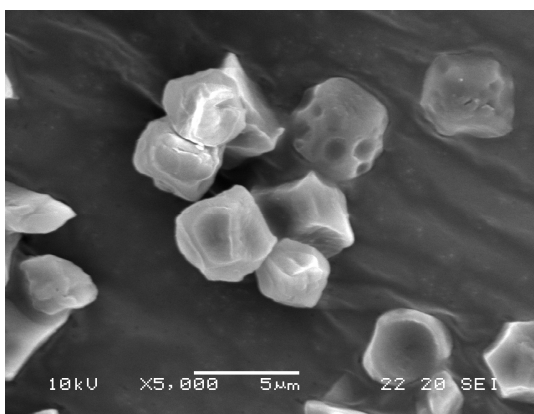
ลาทีในเซชันของเม็ดสตาร์ชบางส่วนขณะทำการแยกสกัดด้วย HIU ที่สภาวะนี้ ซึ่งผลของลักษณะโครงสร้างนี้ สอดคล้องกับการศึกษาสมบัติทางเคมีของสตาร์ชดังตารางที่ 3 จากค่าปริมาณสตาร์ชที่เสียหาย พบว่า สตาร์ชที่สกัดที่สภาวะ 90 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 45 นาที มีปริมาณสตาร์ชที่เสียหายมากกว่า สตาร์ชที่สกัดด้วย HIU ที่สภาวะ 90 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 30 นาที อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) และนอกจากนี้ยังพบว่า ที่สภาวะ 90 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เมื่อเวลาเพิ่มขึ้น จากการเจลาทีนในเซชันของเม็ดสตาร์ชจะมากขึ้นและจะมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) ที่ 90 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เนื่องจากพลังงานความร้อนที่เพิ่มขึ้นขณะสกัดด้วย HIU เป็นเวลา 45 นาที ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับผลของการศึกษาการเกิดเจลาทีนในเซชันของตัวอย่าง โดยใช้เครื่อง DSC และผลสมบัติด้านความหนืดของสตาร์ช ซึ่งจะกล่าวในหัวข้อ 1.3.1 และเป็นผลให้ประสิทธิภาพในการสกัดลดลง

จากการศึกษาโครงสร้างอนุภาคเม็ดสตาร์ชที่สกัดด้วยการ DF จำนวน 6 รอบ HIU ที่สภาวะ 70 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เวลา 30 นาที และ HIU ร่วมกับการ DF จำนวน 6 ครั้ง โดยใช้ SEM ดังแสดงในภาพที่ 17 พบว่าลักษณะโครงสร้างภายนอกของเม็ดสตาร์ชที่ผ่านการ DF 6 จำนวนรอบ (ภาพที่ 19ก) มีรูปร่างหลายเหลี่ยม พื้นผิวค่อนข้างเรียบ เม็ดสตาร์ชยังคงเกาะติดกันเป็นกลุ่มไม่แยกออกจากกันอย่างชัดเจนเนื่องจากยังมีส่วนที่ห่อหุ้มเม็ดสตาร์ชและสารอื่นๆ ที่เกาะรวมอยู่กับเม็ดสตาร์ช คือ โปรตีนและไขมัน ซึ่งแตกต่างกับสตาร์ชที่สกัดด้วย HIU ที่สภาวะ 70 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 30 นาที เพียงอย่างเดียว (ภาพที่ 19ข) และสตาร์ชที่สกัดด้วย HIU ร่วมกับการ DF (ภาพที่ 19ค) ที่มีรูปร่างหลายเหลี่ยมมีลักษณะกลมมนขึ้นเล็กน้อย พื้นผิวมีลักษณะเป็นหลุมตื้น ขรุขระ ไม่เกาะติดกัน ทั้งนี้เนื่องจากโปรตีนและไขมันที่แทรกอยู่ระหว่างเม็ดสตาร์ชและบริเวณผิวของเม็ดสตาร์ชหลุดออกไปหลังผ่านการสกัดโดยใช้ HIU และ DF และถูกแยกออกไปกับน้ำที่เหวี่ยงแยกออก (Yoenyong-buddhagal and Noomhorm, 2002; Chiang and Yeh, 2002; Haros *et.al.*, 2002; Haros *et.al.*, 2004) ความเสียหายทางกายภาพของสตาร์ชที่สกัดโดยใช้ HIU เพียงอย่างเดียว กับการสกัดด้วย HIU และ DF ที่มีลักษณะหลายเหลี่ยม กลมมนเล็กน้อย เป็นหลุมตื้น และขรุขระนั้น มีลักษณะใกล้เคียงกัน แต่มีความแตกต่างจากสตาร์ชที่สกัดด้วยการ DF จำนวน 6 รอบ เพียงอย่างเดียว ที่มีลักษณะเหลี่ยมคมกว่า และมีพื้นผิวไม่ขรุขระเป็นหลุมตื้น (ภาพที่ 17ก) จากความเสียหายที่เกิดขึ้นบนผิวของเม็ดสตาร์ช ของทั้งสามตัวอย่าง สอดคล้องกับปริมาณสตาร์ชที่เสียหาย คือ สตาร์ชที่สกัดด้วย DF จะมีปริมาณสตาร์ชที่เสียหายน้อยกว่า สตาร์ชที่สกัดด้วย HIU ที่สภาวะ 70 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 30 นาที เพียงอย่างเดียว และสตาร์ชที่สกัดด้วย HIU ร่วมกับการ DF จำนวน 6 รอบ อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) และสตาร์ชที่สกัดด้วย HIU ที่สภาวะ 70 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 30 นาที จะมีปริมาณที่เสียหายแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($P > 0.05$)

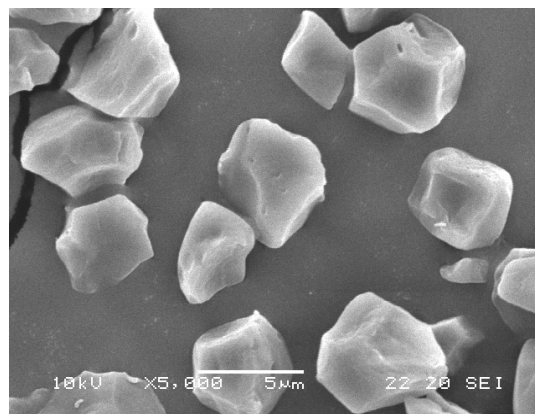
กับสสารที่สกัดด้วย HIU ร่วมกับการ DF จำนวน 6 รอบ จากภาพลักษณะของเม็ดสสารที่สกัดด้วยการ HIU ร่วมกับการ DF จำนวน 6 รอบ สังเกตได้ว่า บริเวณผิวหน้าของเม็ดสสารมีความเสียหาย โดยมีการแตกกะเทาะออก ทำให้ลักษณะของเม็ดสสารมีความสมบูรณ์น้อยกว่าสสารที่ผ่านการ DF เพียงอย่างเดียว (ภาพที่ 19ก และ 19ค)



(ก) แช่เยือกแข็ง 6 รอบ



(ข) 70%แอลกอฮอล์ 30 นาที



(ค) 70%แอลกอฮอล์ 30 นาที กับแช่เยือกแข็ง 6 รอบ

ภาพที่ 19 SEM ของสสารที่การสกัดด้วย HIU และการ DF เพียงอย่างเดียว และสสารที่สกัดด้วย HIU ร่วมกับการแช่เยือกแข็งอุณหภูมิต่ำ (กำลังขยาย 5,000 เท่า)

1.3 สมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ของสสารที่สกัดด้วย HIU และการ DF กับวิธีสกัดด้วยสารละลายต่าง

1.3.1 คุณสมบัติด้านความร้อน (thermal properties) โดยการใช้การตรวจสอบด้วยเครื่อง Differential Scanning Calorimeter (DSC)

การเกิดเจลในเซชันของแป้งข้าว สดาร์ชที่สกัดด้วย HIU การ DF สดาร์ชที่สกัดด้วย HIU ร่วมกับ DF และสดาร์ชที่สกัดด้วยสารละลายต่าง เมื่อศึกษาด้วย DSC แสดงดังตารางที่ 4 และภาพภาคผนวก จ1-3 ที่แสดงค่าอุณหภูมิเริ่มเกิดเจลในเซชัน (onset temperature, T_o) อุณหภูมิที่ทำให้เกิดเจลในเซชันสูงสุด (peak temperature, T_p) อุณหภูมิสุดท้ายในการเกิดเจลในเซชัน (conclusion temperature, T_c) และค่าพลังงานที่ใช้ในการเกิดเจลในเซชัน (enthalpy, ΔH_{gel})

เมื่อนำแป้งข้าวมารวเคราะห์ลักษณะการเกิดเจลในเซชันพบว่า มีค่าอุณหภูมิเริ่มเกิดเจลในเซชัน และค่าพลังงานทั้งหมดที่ใช้ในการเกิดเจลในเซชันประมาณ 62.30 องศาเซลเซียสและ 12.99 จูลต่อกรัม ตามลำดับ เมื่อนำแป้งข้าวมารวสกัดด้วย HIU ที่สภาวะต่างๆ พบว่า มีค่าอุณหภูมิเริ่มเกิดเจลในเซชันอยู่ในช่วงประมาณ 60.96-61.91 องศาเซลเซียส ซึ่งมีค่าลดลงหลังการสกัด แต่มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($P>0.05$) กับแป้งข้าว และสดาร์ชที่สกัดด้วยสารละลายต่าง (ประมาณ 62.05-62.30 องศาเซลเซียส) การที่อุณหภูมิเริ่มเกิดเจลในเซชันของสดาร์ชหลังการสกัดมีค่าลดลง อาจมาจากการที่มีปริมาณสดาร์ชที่เสียหายเพิ่มขึ้นหลังการสกัด อุณหภูมิในการเปลี่ยนแปลงพลังงาน (transition temperature) และพลังงานความร้อนทั้งหมด (enthalpy) ในการเกิดเจลในเซชันของเม็ดสดาร์ช จากการวัดด้วยเครื่อง DSC จะมีความสัมพันธ์กับระดับของผลึก (degree of crystalline) ของเม็ดสดาร์ช โดยที่ระดับของผลึกที่สูงจะมีผลทำให้อุณหภูมิที่ใช้ในการเปลี่ยนแปลงพลังงานสูงขึ้นด้วย ระดับของผลึกเป็นตัวบ่งบอกถึงความคงตัว (stability) ของโครงสร้างเม็ดสดาร์ช ทำให้มีความต้านทานต่อการเกิดเจลในเซชัน และเป็นผลมาจากความคงตัวของส่วนอสัณฐาน (amorphous region) หรือส่วนของกิ่งก้านสาขาด้วย นอกจากนี้พบว่าสดาร์ชที่สกัดด้วย HIU ที่สภาวะ 50 และ 70 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 15 30 และ 45 นาที มีค่าพลังงานทั้งหมดที่ใช้ในการเกิดเจลในเซชันอยู่ในช่วงประมาณ 11.83-12.41 จูลต่อกรัม ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับแป้งข้าว และสดาร์ชที่สกัดด้วยสารละลายต่าง (ประมาณ 12.99-13.33 จูลต่อกรัม) โดยมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($P>0.05$) แต่ที่ 90 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 15 30 และ 45 นาที จะมีค่าพลังงานทั้งหมดที่ใช้ในการเกิดเจลในเซชันอยู่ในช่วงประมาณ 9.18-11.46 จูลต่อกรัม ซึ่งมีค่าต่ำกว่าสดาร์ชที่สกัดด้วย HIU ที่สภาวะ 50 และ 70 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 15 30 และ 45 นาที สดาร์ชที่สกัดโดยใช้สารละลายต่าง และแป้งข้าว คาดว่าเป็นเพราะสดาร์ชที่สกัดที่สภาวะ 90 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 15 30 และ 45 นาที เกิดการเจลในเซชันของเม็ดสดาร์ชบางส่วน และการเกิดสดาร์ชที่เสียหายขณะทำการแยกสกัดที่สภาวะนี้ จึงทำให้มีค่าพลังงานทั้งหมดที่ใช้ในการเกิดเจลในเซชันต่ำกว่าแป้งข้าวและสดาร์ชที่สกัดด้วยต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P\leq 0.05$)

เนื่องจากค่าพลังงานในการเกิดเจลาทีนเซชันเป็นค่าที่ใช้บ่งบอกถึงปริมาณหรือคุณภาพของโครงร่างผลึกภายในเม็ดสตาร์ช (Ward *et al.*, 1994) และมีปริมาณแอมิโลเพกทินเป็นส่วนประกอบหลักในส่วนโครงร่างผลึกภายในสตาร์ช (Sasaki *et al.*, 2000) ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าสตาร์ชที่ผ่าน HIU ที่ 90 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด ที่เวลา 30 และ 45 นาที จะทำให้ปริมาณหรือคุณภาพของโครงร่างผลึกภายในเม็ดสตาร์ช ลดลง ซึ่งผลของค่าอุณหภูมิเริ่มเกิดเจลาทีนเซชัน สอดคล้องกับผลของค่าอุณหภูมิที่เริ่มเกิดความร้อน และค่าความหนืดสูงสุดที่วัดด้วยเครื่อง RVA ดังตารางที่ 5 ที่จะกล่าวต่อไปในหัวข้อที่ 1.3.2

เมื่อนำแป้งข้าวมาผ่านวิธีการสกัดด้วย DF จำนวน 1 และ 6 รอบ พบว่า มีค่าอุณหภูมิเริ่มเกิดเจลาทีนเซชันใกล้เคียงกับ แป้งข้าว และสตาร์ชที่สกัดด้วยสารละลายต่าง ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วงประมาณ 61.23-62.30 องศาเซลเซียส โดยมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($P>0.05$) และสตาร์ชที่ผ่าน DF มีค่าพลังงานทั้งหมดที่ใช้ในการเกิดเจลาทีนเซชันอยู่ในช่วงประมาณ 9.30-9.52 จูลต่อกรัม ซึ่งมีค่าต่ำกว่าแป้งข้าว (ประมาณ 12.99 จูลต่อกรัม) และสตาร์ชที่สกัดด้วยสารละลายต่าง (ประมาณ 13.33 จูลต่อกรัม) อย่างมีนัยสำคัญ ($P\leq 0.05$) ทั้งนี้เนื่องจากการ DF จะเกิดแรงกดดันเนื่องจากความดันของการเปลี่ยนสถานะจากน้ำ (ความชื้นที่อยู่ในเม็ดแป้ง) ทำให้ความหนาแน่นของเม็ดสตาร์ช (helium) ลดลงอย่างชัดเจน (Szymonska *et al.*, 2000)

จากการใช้ HIU ที่สภาวะ 70 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 30 นาที ร่วมกับ DF จำนวน 1 และ 6 รอบ พบว่า มีค่าอุณหภูมิเริ่มเกิดเจลาทีนเซชันใกล้เคียงกับ แป้งข้าว และสตาร์ชที่สกัดด้วยสารละลายต่าง โดยมีค่าอยู่ในช่วงประมาณ 60.95-62.30 องศาเซลเซียส ซึ่งมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($P>0.05$) และมีค่าพลังงานทั้งหมดที่ใช้ในการเกิดเจลาทีนเซชันอยู่ในช่วงประมาณ 10.17-10.47 จูลต่อกรัม ซึ่งมีค่าต่ำกว่าสตาร์ชข้าวที่สกัดด้วยสารละลายต่าง และสตาร์ชที่ผ่าน HIU ที่สภาวะ 70 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 30 นาที อย่างมีนัยสำคัญ ($P\leq 0.05$) ซึ่งมีค่าพลังงานทั้งหมดที่ใช้ในการเกิดเจลาทีนเซชันอยู่ในช่วงประมาณ 12.41-13.33 จูลต่อกรัม

ซึ่งอาจกล่าวได้ว่าสตาร์ชที่สกัดด้วย HIU ที่สภาวะ 70 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด ร่วมกับ DF จำนวน 1 และ 6 รอบ มีปริมาณหรือคุณภาพของโครงร่างผลึกภายในเม็ดสตาร์ชต่ำกว่าสตาร์ชที่ผ่าน HIU ที่สภาวะ 70 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 30 นาที สตาร์ชที่สกัดด้วยสารละลายต่าง และแป้งข้าว เพียงอย่างเดียว นอกจากนี้ค่าพลังงานในการสลายพันธะสอดคล้องกับผลของความเป็นผลึกสัมพัทธ์ของสตาร์ช ด้วยเครื่องเอกซเรย์ดิฟแฟร็กโทมิเตอร์ ซึ่งจะกล่าวต่อไปในหัวข้อ 1.3.3

ตารางที่ 4 การเกิดเจลลิตีในเซชันของแป้งข้าวและสตาร์ชข้าวที่สกัดด้วยวิธีทางกายภาพ และ
วิธีการใช้สารละลายต่าง โดยใช้เครื่อง DSC

ตัวอย่างสตาร์ชข้าว	อุณหภูมิการเกิดเจลลิตีในเซชัน (C°)			เอนทาลปี (ΔH _{gel} , J/g)
	อุณหภูมิ เริ่มต้น (T _o)	อุณหภูมิ สูงสุด (T _p)	อุณหภูมิต่ำ สุดท้าย (T _c)	
HIU ¹				
50 %แอมพลิจูด 15 นาที	60.96 ^a ± 0.51	67.62 ^{bc} ± 0.09	74.18 ^{bc} ± 0.60	11.96 ^{abc} ± 0.74
50 %แอมพลิจูด 30 นาที	61.67 ^a ± 0.25	68.18 ^{abc} ± 0.23	74.78 ^{abc} ± 0.25	11.98 ^{abc} ± 0.15
50 %แอมพลิจูด 45 นาที	62.23 ^a ± 0.17	68.36 ^{abc} ± 0.47	75.20 ^{abc} ± 0.63	12.25 ^{abc} ± 0.15
70 %แอมพลิจูด 15 นาที	61.34 ^a ± 1.10	67.42 ^c ± 0.36	74.10 ^c ± 0.53	11.92 ^{abc} ± 0.03
70 %แอมพลิจูด 30 นาที	61.35 ^a ± 1.82	68.01 ^{abc} ± 0.96	75.22 ^{abc} ± 1.82	12.41 ^{abc} ± 0.67
70 %แอมพลิจูด 45 นาที	61.43 ^a ± 0.99	67.42 ^c ± 0.36	74.08 ^c ± 0.28	11.83 ^{abc} ± 0.62
90 %แอมพลิจูด 15 นาที	61.69 ^a ± 1.11	68.52 ^{abc} ± 0.01	75.38 ^{ab} ± 0.05	11.46 ^c ± 0.75
90 %แอมพลิจูด 30 นาที	61.13 ^a ± 0.51	68.51 ^{abc} ± 0.46	75.31 ^{abc} ± 0.72	11.36 ^c ± 0.49
90 %แอมพลิจูด 45 นาที	61.91 ^a ± 0.43	68.75 ^{ab} ± 0.39	75.58 ^a ± 0.39	9.18 ^d ± 0.01
แป้งข้าว	62.30 ^a ± 2.07	68.93 ^a ± 1.05	75.50 ^a ± 0.99	12.99 ^{ab} ± 1.05
สารละลายต่าง	62.05 ^a ± 0.32	68.60 ^{abc} ± 0.12	75.07 ^{abc} ± 0.03	13.33 ^a ± 0.61
DF ²				
1 รอบ	61.62 ^a ± 0.14	68.63 ^a ± 0.27	74.76 ^a ± 0.38	9.52 ^b ± 0.22
6 รอบ	61.23 ^a ± 0.22	68.39 ^a ± 0.20	74.78 ^a ± 0.26	9.30 ^b ± 0.02
แป้งข้าว	62.30 ^a ± 2.07	68.93 ^a ± 1.05	75.50 ^a ± 0.99	12.99 ^a ± 1.05
สารละลายต่าง	62.05 ^a ± 0.32	68.60 ^a ± 0.12	75.07 ^a ± 0.03	13.33 ^a ± 0.61
HIU และ DF ³				
70 %แอมพลิจูด 30 นาที	61.35 ^a ± 1.82	68.01 ^a ± 0.96	75.21 ^a ± 0.01	12.41 ^a ± 0.67
70 %แอมพลิจูด 30 นาที และ DF 1 รอบ	60.95 ^a ± 0.47	67.91 ^a ± 0.36	74.63 ^a ± 0.42	10.17 ^b ± 0.09
70 %แอมพลิจูด 30 นาที และ DF 6 รอบ	61.56 ^a ± 0.37	68.28 ^a ± 0.12	75.05 ^a ± 0.39	10.47 ^b ± 0.16
แป้งข้าว	62.30 ^a ± 2.07	68.93 ^a ± 1.05	75.50 ^a ± 0.99	12.99 ^a ± 1.05
สารละลายต่าง	62.05 ^a ± 0.32	68.60 ^a ± 0.12	75.07 ^a ± 0.03	13.33 ^a ± 0.61

- ^{1,2,3} อักษรตัวเล็ก แสดงความแตกต่างตามแนวตั้ง (ในแต่ละกลุ่ม) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

(p≤0.05)

- ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ได้จากการทดลอง 2 ครั้ง ๆ ละ 2 ซ้ำ

1.3.2 สมบัติด้านความหนืด (pasting properties) ของสตาร์ชที่สกัดด้วยวิธีทางกายภาพและวิธีการใช้สารละลายต่าง โดยใช้การตรวจสอบด้วยเครื่อง Rapid Visco Analyzer (RVA)

สมบัติด้านความหนืดของสตาร์ชที่สกัดด้วย HIU ที่ 50 70 และ 90 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด 15 30 และ 45 นาที (ตารางที่ 5 และภาพผนวกที่ จ5-6) พบว่า

ค่าอุณหภูมิเริ่มต้นของความหนืด (pasting temperature, PT) หมายถึง อุณหภูมิที่เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงค่าความหนืดหรืออุณหภูมิที่ความหนืดเพิ่มขึ้น 2 RVU ในเวลา 20 วินาที และจากการทดลอง ของแป้งข้าว และสตาร์ชที่ผ่านการแยกด้วย HIU ที่ 50 70 และ 90 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด ที่เวลาต่างๆ และสตาร์ชที่สกัดด้วยสารละลายต่างพบว่า ค่า PT มีค่าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับแป้งข้าว ซึ่งสอดคล้องกับผลของอุณหภูมิเริ่มต้นในการเกิดเจลลิตีไนเซชัน (T_g) ที่วัดด้วยเครื่อง DSC มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แต่ค่า PT มีแนวโน้มลดลงเมื่อสกัดด้วย HIU ทั้งนี้อาจเป็นเพราะการสกัดด้วย HIU มีผลทำให้เม็ดสตาร์ช เกิดการกักกร่อนที่ผิวหน้าเกิดความเสียหาย และอาจทำให้รูพรุนบนพื้นผิวเม็ดสตาร์ชที่มีอยู่แล้วในธรรมชาติมีการขยายใหญ่ขึ้นซึ่ง Oates (1997) กล่าวว่ารูบริเวณพื้นผิวของเม็ดแป้งที่สามารถให้น้ำและโมเลกุลเล็กๆ ผ่านได้ เป็นส่วนอสังฐานของเม็ดสตาร์ช (amorphous) ที่แทรกเข้าไปในเม็ดสตาร์ชอยู่ระหว่างช่องของส่วนผลึกที่ขนานกัน โมเลกุลขนาดเล็กไม่เกิน 100 คาลตันสามารถผ่านได้ และพบช่องเปิดบนพื้นผิวเม็ดแป้ง มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.1-0.3 ไมครอน มีช่องภายในขนาด 0.07-0.1 ไมครอน ซึ่งรูพรุนเหล่านี้อาจเกิดขึ้นในขั้นตอนการผลิตแป้ง หรืออาจมีอยู่แล้วในธรรมชาติแต่มีขนาดขยายใหญ่ขึ้นเนื่องจากกระบวนการไม่แป้ง (กลั่นรงค์ และเกื้อกูล, 2546) ในระหว่างการบดข้าวสาลี มีบางส่วนของเม็ดสตาร์ชที่ได้รับความเสียหายที่เกิดจากการเสียดสี (Gibson *et al.*, 1992) เม็ดสตาร์ชที่เสียหายจะดูดซึมน้ำอย่างรวดเร็วประมาณ 2 ถึง 4 เท่า

จากค่า PT ของสตาร์ชที่สกัดด้วย DF จำนวน 1 และ 6 รอบ พบว่า มีค่าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) กับแป้งข้าว และสตาร์ชที่สกัดด้วยสารละลายต่าง สอดคล้องกับผลของช่วงอุณหภูมิในการเกิดเจลลิตีไนเซชันที่วัดด้วยเครื่อง DSC และค่า PT ของสตาร์ชที่สกัดด้วยการ DF จำนวน 1 และ 6 รอบ มีค่าใกล้เคียงกันนั้น เนื่องจากความรุนแรงของการสกัดด้วยการ DF จำนวน 1 และ 6 รอบ ยังมีความรุนแรงไม่ต่างกันมากนัก และจะเพิ่มขึ้นในครั้งแรกของการสกัดและอาจเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยเมื่อทำการสกัดผ่านไป 6 ครั้ง แต่ไม่มีผลต่อการเกิดเจลลิตีไนเซชันของเม็ดสตาร์ช (Szymonska and Wodnicka, 2005)

ค่าอุณหภูมิเริ่มต้นของความหนืดของสตาร์ชที่ผ่าน HIU ร่วมกับการ DF จำนวน 1 และ 6 รอบ นั้นพบว่า มีค่าแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p>0.05$) กับแป้งข้าว สตาร์ชที่สกัดด้วยด่าง และสตาร์ชที่ผ่าน HIU ที่สภาวะ 70 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 30 นาที ซึ่งสอดคล้องกับผลของช่วงอุณหภูมิในการเกิดเจลลิตีในเซชันที่วัดด้วยเครื่อง DSC

สำหรับค่าความหนืดสูงสุด (peak viscosity, PV) จุดที่เกิด PV คือเมื่อเม็ดสตาร์ช มีการพองตัวเต็มที่ในขณะที่ถูกความร้อน (หน่วยเป็น RVU) เป็นการบอถึง ความสามารถในการ พองตัวอย่างอิสระของเม็ดสตาร์ช ก่อนที่เม็ดสตาร์ชจะแตก ซึ่งแสดงถึงความยากง่ายในการหุงต้ม จากผลการทดลองพบว่า โดยภาพรวมแล้วสตาร์ชที่แยกด้วย HIU มีค่า PV ต่ำกว่าแป้งข้าว และ สตาร์ชที่สกัดโดยใช้ด่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq 0.05$) และที่สภาวะ 90 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูดจะมีค่า ความหนืดสูงสุดต่ำกว่าสตาร์ชข้าวที่สกัดด้วย HIU สภาวะ 50 และ 70 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด อย่างมี นัยสำคัญ ($p\leq 0.05$) เนื่องจากการสกัดที่สภาวะ 90 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูดเป็นเวลา 30 และ 45 นาที ทำให้สตาร์ชเกิดการเจลลิตีในเซชันไปบางส่วน เม็ดสตาร์ชที่ได้พองตัวไปก่อนแล้วเกิดการเรียงตัว ใหม่ ไม่มีการดูดน้ำเข้ามาอีก ซึ่งสอดคล้องกับผลของค่าพลังงานในการสลายพันธะ (ΔH_{gel}) ที่วัด ด้วยเครื่อง DSC กล่าวคือ ที่สภาวะ 90 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เมื่อเวลานานขึ้น จะมีค่าพลังงานใน การสลายพันธะค่อยๆ ลดลง และลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P\leq 0.05$) ที่เวลา 45 นาที ซึ่งสตาร์ชที่สกัด ด้วย HIU มีค่า PV สูงกว่าแป้งข้าวนั้น สอดคล้องกับการทดลองของ Chung *et al.* (2003) ที่ทดสอบ คุณสมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำแป้ง โดยนำน้ำแป้งที่มีอุณหภูมิ 65 75 85 และ 95 องศาเซลเซียส แล้วนำมาผ่าน HIU เป็นเวลา 1 3 และ 5 นาที พบว่า HIU ทำให้มีความหนืดสูงสุดต่ำกว่าแป้งข้าว อย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq 0.05$) เนื่องจากการที่เม็ดสตาร์ชถูกทำลายจากการใช้ HIU และสอดคล้องกับผล ของปริมาณสตาร์ชที่เสียหายในตารางที่ 3 ด้วย ดังที่ได้กล่าวมาแล้ว จะสามารถเห็นได้จากลักษณะ การหลอมเชื่อมติดกันเป็นกลุ่มก้อนดังภาพที่ 18

ตารางที่ 5 คุณสมบัติด้านความหนืด (pasting properties) ของแป้งข้าว และสตาร์ชข้าวที่สกัดด้วยวิธีทางกายภาพและวิธีการใช้สารละลายต่าง โดยเครื่อง RVA)

ตัวอย่างสารข้าว	ความหนืด (RVU)				อุณหภูมิที่เริ่มเกิด ความหนืด (°C) (PT)	
	ความหนืดสูงสุด (PV)	ความหนืดต่ำสุด (Trough)	ความหนืดลดลง (BD)	ความหนืดสุดท้าย (FV)		
HIU						
50 %แอมพลิจูด 15 นาที	381.46 ^b ± 6.54	313.79 ^a ± 4.54	67.67 ^c ± 2.00	409.63 ± 6.19 ^b	95.83 ± 1.65 ^c	72.63 ± 0.11 ^a
50 %แอมพลิจูด 30 นาที	348.67 ^{de} ± 9.31	267.79 ^{bc} ± 1.71	80.88 ^{cd} ± 11.02	383.29 ± 15.62 ^b	115.50 ± 17.32 ^{cde}	72.65 ± 0.00 ^a
50 %แอมพลิจูด 45 นาที	351.21 ^{de} ± 2.06	267.83 ^{bc} ± 11.55	83.38 ^{cd} ± 9.49	383.88 ± 3.83 ^b	116.04 ± 15.38 ^{cde}	72.70 ± 0.07 ^a
70 %แอมพลิจูด 15 นาที	370.46 ^{bcd} ± 6.66	286.13 ^b ± 8.90	84.33 ^{bcd} ± 2.24	390.54 ± 1.24 ^b	104.42 ± 7.66 ^{de}	65.05 ± 11.88 ^a
70 %แอมพลิจูด 30 นาที	366.50 ^{bcd} ± 8.25	284.29 ^b ± 12.67	82.21 ^{cd} ± 4.42	389.38 ± 17.97 ^b	105.08 ± 5.30 ^{de}	69.38 ± 4.63 ^a
70 %แอมพลิจูด 45 นาที	355.92 ^{cde} ± 0.00	249.25 ^{cd} ± 0.24	106.67 ^a ± 0.24	388.58 ± 3.42 ^b	139.33 ± 3.65 ^{ab}	73.48 ± 0.04 ^a
90 %แอมพลิจูด 15 นาที	334.25 ^{ef} ± 4.95	228.79 ^{de} ± 2.53	105.46 ^a ± 2.42	381.88 ±13.49 ^b	153.08 ± 10.96 ^a	72.63 ± 0.04 ^a
90 %แอมพลิจูด 30 นาที	313.46 ^f ± 23.39	227.79 ^{de} ± 19.03	85.67 ^{bc} ± 4.36	349.67 ±23.10 ^c	121.88 ± 4.07 ^{bcd}	72.73 ± 1.17 ^a
90 %แอมพลิจูด 45 นาที	282.38 ^g ± 14.44	209.75 ^e ± 13.44	72.63 ^{de} ± 1.00	318.67 ±13.32 ^d	108.92 ± 0.12 ^{cde}	72.68 ± 0.04 ^a
แป้งข้าว	419.92 ^a ± 1.18	317.50 ^a ± 1.53	102.42 ^a ± 0.35	445.08 ± 1.30 ^a	127.58 ± 0.24 ^{bc}	73.85 ± 1.70 ^a
สารละลายต่าง	377.25 ^{bc} ± 5.30	281.13 ^b ± 10.19	96.13 ^{ab} ± 4.89	388.54 ±7.72 ^b	107.42 ± 2.47 ^{cde}	73.43 ± 0.04 ^a

ตารางที่ 5 (ต่อ)

ตัวอย่างสารชี้ขาว	ความหนืด (RVU)				อุณหภูมิที่เริ่ม เกิดความหนืด (°C) (PT)
	ความหนืดสูงสุด (PV)	ความหนืดต่ำสุด (Trough)	ความหนืดลดลง (BD)	ความหนืดสุดท้าย (FV)	เขตแบบ (SB)
DF					
1 รอบ	291.75 ± 17.80 ^c	225.46 ± 27.52 ^b	66.29 ± 9.72 ^b	335.58 ± 20.74 ^c	110.13 ± 6.78 ^b
6 รอบ	271.00 ± 5.66 ^c	223.92 ± 8.49 ^b	47.08 ± 2.83 ^c	324.08 ± 4.36 ^c	100.17 ± 4.12 ^b
แป้งข้าว	419.92 ± 1.18 ^a	317.50 ± 1.53 ^a	102.42 ± 0.35 ^a	445.08 ± 1.30 ^a	127.58 ± 0.24 ^a
สารละลายต่าง	377.25 ± 5.30 ^b	281.13 ± 10.19 ^a	96.13 ± 4.89 ^a	388.54 ± 7.72 ^b	107.42 ± 2.47 ^b
HIU และ DF					
70 %แอมพลิฟิเคชัน 30 นาที	366.50 ± 8.25 ^b	284.29 ± 12.67 ^a	82.21 ± 4.42 ^b	389.38 ± 17.97 ^b	105.08 ± 5.30 ^d
HIU และ DF 1 รอบ	276.63 ± 9.96 ^c	161.79 ± 24.45 ^b	93.67 ± 9.66 ^{ab}	326.13 ± 7.84 ^c	143.17 ± 11.79 ^{ab}
HIU และ DF 2 รอบ	265.17 ± 15.67 ^c	182.96 ± 19.62 ^b	103.38 ± 8.78 ^a	317.04 ± 11.61 ^c	155.25 ± 12.85 ^a
แป้งข้าว	419.92 ± 1.18 ^a	317.50 ± 1.53 ^a	102.42 ± 0.35 ^a	445.08 ± 1.30 ^a	127.58 ± 0.24 ^{bc}
สารละลายต่าง	377.25 ± 5.30 ^b	281.13 ± 10.19 ^a	96.13 ± 4.89 ^{ab}	388.54 ± 7.72 ^b	107.42 ± 2.47 ^{cd}

- ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ได้จากการทดลองสกัดสารชี้ขาวสองครั้ง วิเคราะห์สมบัติอย่างละ 2 ซ้ำ
- อักษรตัวเล็กแสดงความแตกต่างตามแนวตั้ง (ที่เปอร์เซ็นต์แอมพลิฟิเคชันและเวลาต่าง) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (p≤0.05)

ค่า PV ของสตาร์ชที่ผ่าน HIU ที่สภาวะ 50 และ 70 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด ที่เวลาต่างๆ มีค่าต่ำกว่าแป้งข้าวอย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจากสตาร์ชที่ผ่าน HIU สามารถเกิดการเจลาติไนซ์ได้เร็วขึ้น ทั้งนี้เนื่องจาก HIU จะไปทำให้บนผิวของเม็ดสตาร์ชถูกกัดกร่อนบางส่วน บนผิวของเม็ดสตาร์ชแตก และการใช้ความร้อนสูงหรือมีการใช้แรงกลมาก จะทำให้เม็ดแป้งแตกและค่าความหนืดลดลง (กล้านรงค์ และเกื้อกุล, 2546) สอดคล้องกับการทดลองของ Paniwnyk (1993) ที่ศึกษาผลของ HIU ต่อผิวหน้าของเมล็ดข้าวขาวที่ผ่านการขัดสี (white rice) และเมล็ดข้าวกล้อง (brown rice) และการลดระยะเวลาในการหุงต้ม (cooking time) โดยให้อุณหภูมิในการเกิดเจลที่ 80 องศาเซลเซียส และเมื่อผ่าน HIU เป็นเวลา 5 นาที พบว่า HIU จะมีผลทำให้ผิวหน้าของเมล็ดข้าวถูกทำลาย โดยจะเกิดการสึกกร่อน และเกิดร่องลึกที่เมล็ดข้าว ส่งผลให้เม็ดแป้งเกิดเจลาติไนเซชันได้เร็วขึ้น และจากการทดลองนี้สังเกตได้ว่าการสกัดด้วย HIU ที่เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูดต่างๆ เมื่อระยะเวลาในการสกัดนานขึ้น ทำให้ค่า PV มีแนวโน้มลดลง ในขณะที่ปริมาณสตาร์ชที่เสียหายมีค่าเพิ่มขึ้น เมื่อระยะเวลาในการสกัดนานขึ้น ดังนั้นในการทดลองนี้อาจกล่าวได้ว่าค่า PV ที่ลดลง อาจมีความสัมพันธ์แบบผกผันกับปริมาณสตาร์ชที่เสียหายที่เพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับค่าสตาร์ชที่เสียหายดังตารางที่ 3 ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Wang and Wang (2001) ที่ศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณสตาร์ชขาวที่เสียหายที่มีผลต่อความหนืด โดยศึกษาจากวิธีการสกัดสตาร์ชขาวด้วยสารละลายต่าง เปรียบเทียบกับการใช้เอนไซม์ พบว่า สตาร์ชที่เสียหายมีผลต่อความสามารถในการจับกับน้ำ (water binding capacity) และการละลาย (solubility) สูงกว่าเม็ดสตาร์ชปกติที่ไม่ได้รับความเสียหาย นอกจากนี้ปริมาณโปรตีนและสตาร์ชที่เสียหาย ที่เกิดจากการสกัดทั้งสองวิธี มีผลต่อคุณสมบัติความหนืดของสตาร์ชขาว โดยปริมาณสตาร์ชที่เสียหายมีความสัมพันธ์แบบแปรผกผันกับค่าความหนืดสูงสุด ($r = -0.78$, $P = 0.05$) มากกว่าปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่ซึ่งมีความสัมพันธ์แบบแปรผันตรงปริมาณสตาร์ชที่เสียหาย สอดคล้องกับงานวิจัยของ Sanchez *et al.* (1986) และ Sabularse *et al.* (1992) ที่พบรายงานว่า สตาร์ชที่เสียหายมีความสัมพันธ์แบบผกผันกับค่าความหนืดสูงสุด และนอกจากนี้ยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Morrison *et al.* (1994) ที่พบว่า เมื่อเม็ดสตาร์ชเกิดความเสียหายด้วยแรงกล จะส่งผลต่ออุณหภูมิเจลาติไนเซชันของสตาร์ช โดยเมื่อปริมาณสตาร์ชที่เสียหายสูงขึ้น อุณหภูมิเจลาติไนเซชันจะลดลง จากผลการรายงานงานวิจัยข้างต้นสนับสนุนผลการทดลองนี้ได้ว่า ปริมาณสตาร์ชที่เสียหายมีผลต่อค่าความหนืดสูงสุดมากกว่าปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่ของสตาร์ช (Wang and Wang, 2001)

ส่วนที่สภาวะ 90 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เมื่อเวลาในการสกัดนานขึ้น PV มีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) อาจกล่าวได้ว่า ที่สภาวะนี้สตาร์ชจะเกิดการเจลาติไนซ์ไป

บางส่วนทำให้เกิดปริมาณสตาร์ชที่เสียหายสูง จากภาพที่ 18 เม็ดสตาร์ชที่มีลักษณะถูกหลอมเชื่อมติดกันเป็นกลุ่มก้อน

จากค่า PV ของสตาร์ชที่ผ่านการ DF เพียงอย่างเดียวที่จำนวน 1 และ 6 รอบ พบว่า มีค่า PV ต่ำกว่าแป้งข้าว และสตาร์ชที่สกัดด้วยสารละลายต่าง อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เนื่องจากการเจลาทิไนเซชัน จะเกิดการสูญเสียโครงสร้างที่เป็นระเบียบและความสามารถในการบิดระนาบแสงโพลาไรซ์ซึ่งการสูญเสียสมบัติทั้ง 2 จะเริ่มเกิดขึ้นที่ไฮลัม Alexander and Zobel, 1992) และการ DF จะทำให้เกิดแรงกดดัน เนื่องจากความดันจากการเกิดผลึกน้ำแข็ง ทำให้ความหนาแน่นของเม็ดสตาร์ช (hilum) ลดลงอย่างชัดเจน (Szymonska *et al.*, 2000) ซึ่งสอดคล้องกับผลของความ เป็นผลึกสัมพันธ์ของสตาร์ชด้วยเครื่องเอกซเรย์ดิฟแฟรกโทมิเตอร์ (ตารางที่ 6) ซึ่งจะกล่าวต่อไปใน หัวข้อ 1.3.3 ซึ่งการที่ความหนาแน่นของเม็ดสตาร์ช (hilum) ลดลงนั้นอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้ค่า PV ของสตาร์ชที่สกัดด้วย DF ลดลง ต่ำกว่าแป้งข้าว และสตาร์ชที่สกัดด้วยสารละลายต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) จากการทดลองของ Szymonaka *et al.* (2000) โดยให้สตาร์ชมันฝรั่งผ่านการ DF พบว่า เม็ดสตาร์ชจะถูกแรงอัดจากการขยายตัวของน้ำแข็ง ทำให้ที่บริเวณผิวหรือขอบของเม็ดสตาร์ชเกิดความเสียหาย แตกหักได้ และจากตารางที่ 3 สามารถนำมาอธิบายการที่ค่า PV ของสตาร์ชที่สกัดด้วย DF มีค่าต่ำกว่าแป้งข้าว อาจเป็นเพราะสตาร์ชที่สกัดด้วยการ DF นั้นมีปริมาณสตาร์ชที่เสียหายเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับงานวิจัยของ Morrison *et al.* (1994) พบว่า เมื่อเม็ดสตาร์ชเกิดความเสียหาย ด้วยแรงกล จะส่งผลต่ออุณหภูมิเจลาทิไนเซชันของสตาร์ช โดยเมื่อปริมาณสตาร์ชที่เสียหายสูงขึ้น อุณหภูมิเจลาทิไนเซชันจะลดลง

จากการสกัดสตาร์ชด้วยการ DF ที่จำนวน 1 และ 6 รอบ พบว่ามีค่า PV ต่ำกว่า สตาร์ชที่สกัดด้วยสารละลายต่าง ที่มีปริมาณสตาร์ชที่เสียหายสูงกว่า สตาร์ชที่สกัดด้วยการ DF นั้นอาจ เป็นเพราะอิทธิพลของปริมาณโปรตีนที่มีอยู่มากในสตาร์ชที่สกัดด้วยวิธี DF จึงทำให้ค่า PV ต่ำกว่า สตาร์ชที่สกัดด้วยสารละลายต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) และค่า PV ของสตาร์ชที่สกัดด้วย DF เป็นจำนวน 1 และ 6 รอบ มีค่าต่ำกว่าแป้งข้าวอย่างมีนัยสำคัญ เพราะการ DF ทำให้เกิดแรงกดดัน เนื่องจากความดันของการเปลี่ยนสถานะจากน้ำ (ความชื้นที่อยู่ในเม็ดแป้ง) ทำให้ความหนาแน่นของเม็ดสตาร์ช (helium) ลดลงอย่างชัดเจน และยังทำให้เกิดรอยแตก หรือรอยแยกที่ผิวของเม็ด สตาร์ช (Szymonska *et al.*, 2000) ซึ่งอาจเป็นผลทำให้โมเลกุลของน้ำสามารถแทรกเข้ามาทำลาย โครงสร้างภายในของเม็ดสตาร์ชทำให้เกิดจากเจลาทิไนซ์ได้เร็วขึ้น ทำให้มีค่า PV ต่ำ ซึ่งความ หนาแน่นของเม็ดสตาร์ชที่ลดลงนั้นสอดคล้องกับผลของค่าพลังงานในการสลายพันธะ (ΔH) ที่วัด

ด้วยเครื่อง DSC กล่าวคือ สตาร์ชที่ผ่านการ DF เพียงอย่างเดียวที่จำนวน 1 และ 6 รอบ พบว่า มีค่าพลังงานในการสลายพันธะต่ำกว่าแป้งข้าว และสตาร์ชที่สกัดโดยใช้ต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ค่า PV ของสตาร์ชที่ผ่าน HIU ที่สภาวะ 70 เปอร์เซนต์แอมพลิจูดเป็นเวลา 30 นาที ร่วมกับการ DF จำนวน 1 และ 6 รอบ พบว่า มีค่า PV ต่ำกว่า สตาร์ชที่สกัดโดยใช้ HIU เพียงอย่างเดียว และมีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) สันนิษฐานว่า การ HIU ร่วมกับการ DF มีผลทำลายผิวหน้าของเม็ดสตาร์ชมากกว่า สตาร์ชที่สกัดด้วยสารละลายต่าง และสตาร์ชที่ผ่าน HIU เพียงอย่างเดียว ซึ่งส่งผลต่อปริมาณหรือคุณภาพของโครงสร้างผลึกภายในเม็ดสตาร์ช โดยการ DF จะทำให้เกิดแรงกดอัด เนื่องจากความดันจากการเกิดผลึกน้ำแข็ง ทำให้ความหนาแน่นของเม็ดสตาร์ช (hilum) ลดลงอย่างชัดเจน (Szymonska *et al.*, 2000) ซึ่งสอดคล้องกับผลของความเป็นผลึกสัมพันธ์ของสตาร์ชด้วยเครื่องเอ็กซ์เรย์ดิฟแฟรกโทมิเตอร์ (ตารางที่ 6) และสอดคล้องกับผลของค่าพลังงานในการสลายพันธะ ที่วัดด้วยเครื่อง DSC นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับปริมาณของสตาร์ชที่เสียหายในตารางที่ 3 นั่นคือ สตาร์ชที่สกัด HIU ร่วมกับการ DF จะทำให้ปริมาณสตาร์ชที่เสียหายสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ค่าความหนืดลดลง (breakdown, BD) บอกรถึง ความแตกต่างของ PV และค่าความหนืดต่ำสุด (trough) ความคงตัว และความแข็งแรงของเม็ดสตาร์ชต่อการให้ความร้อนและแรงกวนที่เกิดขึ้น หรือบอกรถึงความแข็งแรงหรือความอ่อนแอของเม็ดสตาร์ชที่เกิดการพองตัว (Han and Hamaker, 2001) เม็ดสตาร์ชเกิดการพองตัวขึ้น เมื่อให้ความร้อนและแรงกวนกับเม็ดสตาร์ชต่อไป จนกระทั่งเกิดการทำลายโครงสร้างผลึกของเม็ดสตาร์ช ทำให้ความหนืดลดลง และความโปร่งแสงจะเพิ่มขึ้น ซึ่งเม็ดสตาร์ชที่มีความแข็งแรงต่อการให้ความร้อนและแรงกวนที่เกิดขึ้น จะมีค่า BD ต่ำ

จากการทดลองนี้พบว่า แป้งข้าว สตาร์ชที่สกัดด้วย HIU ที่สภาวะ 70 เปอร์เซนต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 45 นาที และ ที่ 90 เปอร์เซนต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 15 นาที มีค่า BD สูงกว่าสตาร์ชที่สกัดด้วย HIU ที่สภาวะ 50 เปอร์เซนต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 15 30 และ 45 นาที 70 เปอร์เซนต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 15 และ 30 นาที และที่สภาวะ 90 เปอร์เซนต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 30 และ 45 นาที อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แสดงว่าสตาร์ชที่สกัดด้วย HIU ดังสภาวะที่กล่าวมาข้างต้นนี้ น่าจะมีความแข็งแรงของเม็ดสตาร์ชต่อการให้ความร้อนและแรงกวนสูงกว่าแป้งข้าว สตาร์ชที่สกัดด้วย HIU ที่สภาวะ 70 เปอร์เซนต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 45 นาที และ ที่ 90 เปอร์เซนต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 15 นาที และสตาร์ชที่สกัดด้วยสารละลายต่าง โดยแป้งข้าวยังมีค่า BD แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) กับสตาร์ชที่สกัดด้วย HIU ที่สภาวะ 70 เปอร์เซนต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 45

นาที่ และที่ 90 เปอร์เซนต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 15 นาที่ ซึ่งจะสังเกตได้ว่าเมื่อเปอร์เซนต์แอมพลิจูดสูงขึ้น จะทำให้ค่า BD ของสตา์รซ์สูงขึ้นด้วย หรืออาจกล่าวได้ว่า เมื่อเปอร์เซนต์แอมพลิจูดสูงขึ้นจะทำให้เมื่อดสตา์รซ์มีความแข็งแรงต่อการให้ความร้อนและแรงกดดันลดลง และสอดคล้องกับปริมาณสตา์รซ์ที่เสียหายที่เพิ่มขึ้นจากการใช้ HIU ในการสกัดสตา์รซ์ข้าว

เมื่อให้เวลาในการสกัดนานขึ้น ที่สภาวะ 50 และ 70 เปอร์เซนต์แอมพลิจูด พบว่าค่า BD มีค่าเพิ่มขึ้นแสดงว่า เมื่อดสตา์รซ์มีความแข็งแรงต่อการให้ความร้อนและแรงกดดันลดลง ซึ่งมีแนวโน้มค่อนข้างสอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของปริมาณสตา์รซ์ที่เสียหาย และการลดลงของปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่ Wang and Wang (2001) กล่าวว่าทั้งปริมาณโปรตีนและสตา์รซ์ที่เสียหายจะมีผลต่อคุณสมบัติด้านความหนืดของสตา์รซ์ข้าว แต่ปริมาณโปรตีนจะมีความสัมพันธ์กับค่า BD ของสตา์รซ์เพียงเล็กน้อย ดังนั้นปริมาณสตา์รซ์ที่เสียหายจะมีผลต่อค่า BD อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) และในผลการทดลองนี้ปริมาณสตา์รซ์ที่เสียหายจึงน่าจะมีอิทธิพลต่อค่าความหนืดที่ลดลงของสตา์รซ์มากกว่า อาจกล่าวได้ว่าเมื่อปริมาณสตา์รซ์ที่เสียหายเพิ่มขึ้นจะทำให้ค่า BD มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น จากการทดลอง ของ Wang and Wang (2004a) ที่ทำการสกัดสตา์รซ์ข้าวโดยใช้ HIU และสารลดแรงตึงผิว พบว่าผลของค่าความหนืดของสตา์รซ์ข้าวที่ได้จากการใช้ HIU ที่เปอร์เซนต์แอมพลิจูดและเวลาต่างๆ ไม่สอดคล้องกับปริมาณโปรตีน และสตา์รซ์ที่เสียหาย ซึ่ง Wang and Wang (2004b) ได้สรุปไว้ว่าผลของการใช้ HIU ที่มีต่อคุณสมบัติด้านความหนืดของสตา์รซ์นั้นยังไม่เป็นที่ชัดเจนอาจมีความซับซ้อนกันอยู่ระหว่างปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่และสตา์รซ์ที่เสียหาย

ส่วนที่สภาวะ 90 เปอร์เซนต์แอมพลิจูด เมื่อเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้น BD มีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เนื่องจากการเจลาทิไนซ์บางส่วนทำให้ค่า PV ลดลง มีผลต่อค่า BD ลดลงตามไปด้วย ($BD = PV - \text{Trough}$) ซึ่งอาจกล่าวได้ว่าที่สภาวะนี้เมื่อเกิดการเจลาทิไนซ์ไปบางส่วนมีผลทำให้เมื่อดสตา์รซ์มีการกินตัวลดลง แต่มีปริมาณสตา์รซ์ที่เสียหายสูง จากภาพที่ 18 เมื่อดสตา์รซ์มีการเชื่อมติดกันเป็นกลุ่มก้อนทำให้สามารถทนต่อความร้อนและแรงกดดันเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับงานวิจัยของ สุพัตรา (2548) ที่ได้ทำการศึกษาคุณสมบัติด้านความหนืดของแป้งข้าวในการผลิตแป้งแผ่น พบว่าผงแป้งแผ่นมีค่าความหนืดลดลงต่ำกว่าแป้งข้าวที่ผ่านการไม่แห้ง ไม่เปียก และแป้งที่ผ่านการหมัก ทั้งนี้เนื่องจากในผงแป้งมีส่วนของเมื่อดสตา์รซ์ที่ผ่านการเจลาทิไนซ์ไปแล้ว (ซึ่งมีการกินตัวต่ำ) ดังนั้นสตา์รซ์ที่ผ่านการเจลาทิไนซ์ไปบางส่วนจะทำให้เมื่อดสตา์รซ์ทนต่อความร้อนและแรงกดดันมากขึ้น

จากค่า BD ของสตาวิชที่สกัดด้วยสารละลายต่างมีค่าต่ำกว่าแป้งข้าวอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ซึ่งอาจกล่าวได้ว่าสตาวิชที่สกัดด้วยสารละลายต่างมีความแข็งแรง หรือทนต่อแรงเค้นมากกว่าแป้งข้าว ซึ่งอาจเกิดการจัดเรียงตัวของโมเลกุลสตาวิชใหม่ที่มีความแข็งแรงหรือเป็นผลึกมากกว่าเดิม จากผลความเป็นผลึกสัมพันธ์ในข้อที่ 1.3.3 จึงทำให้มีความแข็งแรงทนต่อแรงกวน ทั้งนี้สอดคล้องกับผลของค่าพลังงานในการสลายพันธะด้วยเครื่อง DSC (ตารางที่ 4) สตาวิชที่สกัดด้วยสารละลายต่างมีค่าพลังงานในการสลายพันธะสูงกว่าแป้งข้าว ซึ่งสอดคล้องกับค่า DSC และค่าร้อยละความเป็นผลึกพบว่ามีร้อยละความเป็นผลึกสูงกว่าแป้งข้าว (ตารางที่ 6) และจากงานวิจัยของ Pereva and Hoover (1997) พบว่าแป้งมันฝรั่งมีค่า BD สูงกว่าสตาวิชมันฝรั่งที่ผ่านการสกัดแล้ว เนื่องจากสตาวิชที่ผ่านการสกัดแล้วจะทำให้เม็ดสตาวิชมีโครงสร้างภายในที่แข็งแรงกว่า แป้งมันฝรั่งที่ประกอบด้วยพันธะที่อ่อนแอกว่าสตาวิชที่ผ่านการสกัดแล้ว

เนื่องจากผลของ HIU ที่มีต่อค่า BD ของเม็ดสตาวิช ที่บอกถึงความคงตัว และความแข็งแรงของเม็ดสตาวิชต่อการให้ความร้อนและแรงกวนที่เกิดขึ้น ซึ่งยังไม่มีการศึกษาอย่างชัดเจน ดังนั้นจึงเป็นที่น่าศึกษาต่อไปถึงสาเหตุที่แน่ชัด

สตาวิชที่สกัดด้วยการ DF จำนวน 1 และ 6 รอบ พบว่ามีค่า BD ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อเพิ่มจำนวนรอบในการแช่เยือกแข็ง และที่สองสภาวะนี้มีค่า BD ต่ำกว่าแป้งข้าวอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ซึ่งจากการที่ Wang and Wang (2001) กล่าวว่าปริมาณโปรตีนและสตาวิชที่เสียหายจะมีผลต่อคุณสมบัติด้านความหนืดของสตาวิช โดยปริมาณโปรตีนมีความสัมพันธ์เชิงเส้นกับค่า BD ของสตาวิชเพียงเล็กน้อยเท่านั้น จากผลการทดลองนี้สตาวิชที่ผ่านการ DF ยังปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่มีค่อนข้างสูง อาจเรียกได้ว่าเป็นแป้งที่มีปริมาณโปรตีนต่ำ (Guraya and James, 2002) เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณโปรตีนในแป้งข้าวแล้ว จะเห็นได้ว่ามีค่าไม่แตกต่างกันมากพอที่จะทำให้ค่า BD ของสตาวิชที่สกัดด้วยการ DF มีค่าแตกต่างจากแป้งข้าวมากนัก และยังมีปริมาณสตาวิชที่เสียหายยังไม่สูงมากพอที่จะทำให้มีผลต่อค่า BD ของสตาวิชที่สกัดด้วยการ DF ที่มีค่าต่ำกว่าแป้งข้าวมาก (ประมาณ 2 เท่า) ดังนั้น เม็ดสตาวิชที่ถูกทำลายด้วย DF จะมีความคงตัวมากกว่าแป้งข้าว เนื่องจากการ DF จะทำให้เกิดแรงกดอัด เนื่องจากความดันจากการเกิดผลึกน้ำแข็ง ทำให้ความหนาแน่นของเม็ดสตาวิช (hilum) ลดลงอย่างชัดเจน (Szymonska *et al.*, 2000) ซึ่งสอดคล้องกับผลของความเป็นผลึกสัมพันธ์ของสตาวิชด้วยเครื่องเอ็กซ์เรย์ดิฟแฟรกโทมิเตอร์ (ตารางที่ 6) และสอดคล้องกับผลของค่าพลังงานในการสลายพันธะด้วยเครื่อง DSC และจากค่า BD ที่ลดลงนั้นอาจสันนิษฐานได้ว่า จากการที่ความหนาแน่นของเม็ดสตาวิชมีค่าลดลงนั้น อาจไปมีผลต่อสายของแอมิโลเพกทิน ซึ่งอาจเกิดการแตกออกหรือหักงอของสายแอมิโลเพกทิน และอาจไป

ขีดขวางการแตกออกของเม็ดสตาร์ชจากการให้ความร้อนและแรงกวน ทำให้ค่า PV ลดลง และมีผลให้ค่า BD ลดลงด้วย ($BD = PV - \text{Trough}$) ซึ่งจากผลของการ DF ที่มีต่อค่าความหนืดนั้นยังไม่มีผู้ศึกษาถึงสาเหตุที่แน่ชัดจึงน่าจะมีการศึกษาต่อไปถึงสาเหตุที่แน่ชัด

สตาร์ชที่ผ่าน HIU ที่สภาวะ 70 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 30 นาที เพียงอย่างเดียว และสตาร์ชที่สกัดด้วย HIU ที่สภาวะ 70 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 30 นาที ร่วมกับการ DF จำนวน 1 รอบ และ 6 รอบ พบว่า มีค่า BD ค่อยๆ สูงขึ้น เมื่อเพิ่มการ DF จำนวน 1 และ 6 รอบ เป็นลำดับ และมีค่าความแตกต่างกันดังนี้คือ สตาร์ชที่สกัดด้วย HIU (70 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 30 นาที) ร่วมกับการ DF จำนวน 1 รอบ มีค่า BD แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) กับทั้งสองทรีทเมนต์ คือ ที่สภาวะ HIU เพียงอย่างเดียว และ HIU ร่วมกับการ DF จำนวน 6 รอบ แต่สตาร์ชที่สกัดด้วย HIU เพียงอย่างเดียวมีค่า BD แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) กับสตาร์ชที่สกัดด้วย HIU ร่วมกับการ DF จำนวน 6 รอบ หรืออาจกล่าวได้ว่า เมื่อเพิ่มวิธีการสกัดโดยใช้ HIU ร่วมกับการ DF จำนวน 1 และ 6 รอบ มีผลทำให้เม็ดสตาร์ชมีความคงตัวลดลง สอดคล้องกับผลของค่าพลังงานในการสลายพันธะด้วยเครื่อง DSC กล่าวคือ เมื่อเพิ่มวิธีการสกัดโดยใช้ HIU ร่วมกับการ DF จำนวน 1 และ 6 รอบ มีผลทำให้ค่าพลังงานในการสลายพันธะลดลง ซึ่งอาจกล่าวได้ว่า สตาร์ชมีความเป็นผลึกลดลงสอดคล้องกับค่าร้อยละความเป็นผลึก (ตารางที่ 6)

ค่าความหนืดสุดท้าย (final viscosity, FV) แสดงสมบัติความกืดตัวของสตาร์ช โดยจะบ่งบอกถึงความแข็งแรงของเจลที่ได้ และปัจจัยที่มีผลต่อค่า FV ได้แก่ ปริมาณเอมิโลส โปรตีน ไขมันในสตาร์ช และปริมาณสตาร์ชที่เสียหาย จากการทดลอง ค่า FV ของสตาร์ช สามารถแบ่งออกได้เป็นสองกลุ่มคือ กลุ่มที่หนึ่งได้แก่ สตาร์ชที่ถูกสกัดด้วย HIU ที่สภาวะ 50 และ 70 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูดที่เวลาต่างๆ และ ที่ 90 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูดเป็นเวลา 15 นาที และสตาร์ชที่สกัดด้วยสารละลายต่าง มีค่า FV อยู่ในช่วงประมาณ 381.88-409.63 RVU ส่วนกลุ่มที่สองได้แก่ สตาร์ชที่ถูกสกัดด้วย HIU ที่สภาวะ 90 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูดเป็นเวลา 30 และ 45 นาที มีค่า FV อยู่ในช่วงประมาณ 318.67-349.67 RVU ซึ่งภายในกลุ่มจะมีค่า FV แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แต่มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ระหว่างกลุ่ม และทั้งสองกลุ่มนี้จะมีค่า FV ต่ำกว่าแป้งข้าวอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ที่มีค่า FV ประมาณ 445.08 RVU ซึ่งในการสกัดด้วย HIU นี้ ปัจจัยที่มีผลต่อค่า FV อาจสันนิษฐานได้ว่าน่าจะมีผลมาจากปริมาณสตาร์ชที่เสียหาย และปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่ ซึ่งที่มีความสัมพันธ์กับค่า FV ของสตาร์ช จากผลการทดลองของ Baxter *et al.* (2004) และ Hamaker and Griffin (1990) พบว่าเมื่อสตาร์ชมีปริมาณโปรตีนที่สูงขึ้น มีผลให้ FV ของสตาร์ชสูงขึ้นตามไปด้วย ซึ่งในขณะเดียวกัน Guraya and James (2002) ได้ศึกษาความสัมพันธ์

ระหว่างปริมาณสตาร์ชที่เสียหายกับค่า FV ของสตาร์ชข้าวที่สกัดด้วยการโฮโมจิไนเซชันด้วยความดันสูง พบว่า เมื่อปริมาณสตาร์ชที่เสียหายสูงขึ้น มีผลทำให้ FV ของสตาร์ชลดลง ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าปริมาณโปรตีนและสตาร์ชที่เสียหายจะมีผลต่อค่าของ FV ในทางตรงข้ามกันหรือสวนทางกัน ซึ่งน่าจะสอดคล้องกับผลการทดลองนี้ นั่นคือเมื่อเปอร์เซ็นต์แอมพลิจูดและเวลาในการสกัดนานขึ้น มีผลให้ปริมาณโปรตีนมีแนวโน้มลดลง และในขณะเดียวกันก็มีผลทำให้ปริมาณสตาร์ชที่เสียหายเพิ่มสูงขึ้น จึงมีผลให้ค่า FV ของสตาร์ชในกลุ่มนี้มีค่าใกล้เคียงกัน แต่มีความแตกต่างกันระหว่างปริมาณโปรตีน และปริมาณสตาร์ชที่เสียหายซึ่งมีความสัมพันธ์และซ้อนทับกันอยู่ระหว่างทรีตเมนต์ ส่วนค่า FV ของสตาร์ชที่สกัดด้วย HIU ในกลุ่มที่สองนั้น พบว่ามีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) และมีปริมาณโปรตีนกับปริมาณสตาร์ชที่เสียหายไม่สอดคล้องกับค่า FV ของทรีตเมนต์นั้นๆ เหมือนตัวอย่างในกลุ่มแรก ทั้งนี้เนื่องจาก เม็ดสตาร์ชในกลุ่มที่สองเกิดการเจลาทิไนซ์ไปบางส่วนเนื่องจากกระบวนการสกัด จึงทำให้ค่า FV ของตัวอย่างลดลง และการเกิดเจลาทิไนซ์ของตัวอย่างนี้สอดคล้องกับผลของ DSC ที่ได้กล่าวมาแล้ว โดยสตาร์ชในกลุ่มนี้จะมีค่าพลังงานทั้งหมดที่ใช้ในการเกิดเจลาทิไนเซชันต่ำกว่าสตาร์ชทุกกลุ่ม

สตาร์ชที่ได้จากการ DF ที่ 1 และ 6 รอบ พบว่ามีค่าความหนืดสุดท้ายอยู่ในช่วงประมาณ 324.08 - 335.58 มีค่าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) และมีค่า FV ต่ำกว่าแป้งข้าวและสตาร์ชที่สกัดด้วยสารละลายอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) อาจสันนิษฐานได้ว่าน่าจะเกิดจากอิทธิพลของสตาร์ชที่เสียหายเนื่องจาก เมื่อปริมาณของสตาร์ชที่เสียหายเพิ่มขึ้นจะทำให้ค่า FV มีแนวโน้มลดลงด้วย มีผลทำให้เจลของตัวอย่างที่ได้อ่อนแอลง ค่า FV ของตัวอย่างสัมพันธ์กับค่าร้อยละ ความเป็นผลึก และสอดคล้องกับผลของค่า DSC ที่ได้ เนื่องจากส่วนที่เป็นผลึกถูกทำลายหรือมีจำนวนลดลง ซึ่งส่วนที่เป็นผลึกจะเป็นส่วนที่ไม่อุ้มน้ำ จะคูดน้ำได้น้อยกว่าบริเวณอสัณฐาน (amorphous zone) (อรอนงค์, 2547) ส่วนบริเวณอสัณฐานจะอุ้มน้ำได้ดี ดังนั้นในกรณีเจลของสตาร์ชที่สกัดด้วย DF จึงอ่อนแอกว่าแป้งข้าว และเนื่องจากสตาร์ชที่ได้จากการ DF ที่ 1 และ 6 รอบ ทำให้มีปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่ลดลงมากกว่าแป้งข้าวอย่างมีนัยสำคัญ จึงเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ทำให้เจลของสตาร์ชที่ได้จากการ DF อ่อนแอกว่าแป้งข้าว สอดคล้องคลึงกับการทดลองของ Baxter *et al.* (2004) ที่พบว่าสตาร์ชข้าวที่มีปริมาณโปรตีนน้อยกว่าทำให้มีค่าความหนืดสุดท้ายต่ำกว่า สตาร์ชข้าวที่มีการเติมโปรตีนโพลามีนลงไป สอดคล้องกับ Hamaker and Geiffin (1990) ซึ่งพบว่าการทำลายพันธะไดซัลไฟด์ในเม็ดสตาร์ชข้าวด้วย dithiothreitol ทำให้ค่าความหนืดสุดท้ายลดลง

ค่า FV ของสตาร์ชที่ผ่าน HIU ที่สภาวะ 70 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 30 นาที ร่วมกับการ DF ที่ 1 และ 6 รอบ พบว่ามีค่า FV อยู่ในช่วงประมาณ 317.04 - 326.13 และมีค่า

FV ต่ำกว่าแป้งข้าว สดาร์ชที่ผ่าน HIU เพียงอย่างเดียว และสดาร์ชที่สกัดด้วยสารละลายต่าง อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เนื่องจากเมล็ดสดาร์ชมีความคงตัวต่ำเมล็ดสดาร์ชอ่อนแอเนื่องจากการสกัดด้วยวิธีทางกายภาพทั้งสองวิธีร่วมกันจึงทำให้ลักษณะเจลของตัวอย่างอ่อนลง และสอดคล้องกับผลของร้อยละความเป็นผลึกที่มีร้อยละความเป็นผลึกต่ำ และค่าของ DSC ที่มีพลังงานในการสลายพันธะต่ำกว่าแป้งข้าวและสดาร์ชที่สกัดด้วย HIU เพียงอย่างเดียว

ค่าเซตแบค (set back, SB) เนื่องจากค่าเซตแบค เป็นค่าผลต่างของความหนืดสุดท้าย (final viscosity) และความหนืดต่ำสุด (trough viscosity) ค่านี้ชี้ให้เห็นถึงการเกิดรีโทรเกรเดชัน และแสดงถึงความคงตัวของแป้งและสดาร์ช เป็นค่าที่แสดงถึงการยึดเกาะกันหรือ การเกิดรีโทรเกรดของโมเลกุลแอมิโลสที่อยู่ใกล้กันเกิดการจัดเรียงตัวกันใหม่ด้วยพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุลเกิดเป็นโครงสร้างร่างแหสามมิติสามารถอุ้มน้ำ และไม่มีการควบแน่นเข้ามาอีก ดังนั้นเมื่อค่า SB สูง แสดงว่าแป้งหรือสดาร์ชนั้นๆ มีความคงตัวสูง เกิดการรีโทรเกรเดชันง่าย จากผลการทดลองพบว่า ค่า SB ของสดาร์ช สามารถแบ่งออกได้เป็นสี่กลุ่มคือ กลุ่มที่หนึ่ง คือสดาร์ชที่ผ่านการสกัดด้วย HIU ที่ 50 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด ที่เวลา 15 30 และ 45 นาที กลุ่มที่สองคือ ที่สภาวะ 70 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 15 และ 30 นาที กลุ่มที่สามคือ ที่สภาวะ 70 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เวลา 45 นาที และที่สภาวะ 90 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูดที่เวลา 15 นาที และกลุ่มที่สี่คือ ที่สภาวะ 90 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เวลา 30 และ 45 นาที ซึ่งค่า SB ภายในกลุ่มจะมีค่าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แต่มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) นอกจากนี้ยังพบว่าสดาร์ชที่ผ่านการสกัดด้วย HIU ทุกกลุ่มนั้น มีค่า SB ต่ำกว่าแป้งข้าวอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ซึ่งจากการทดลองนี้อาจสันนิษฐานได้ว่าปริมาณสดาร์ชที่เสียหายน่าจะมีผลต่อค่า SB มากกว่าปริมาณโปรตีน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Yoenyongbuddhagal and Noomhorm (2002) ที่ศึกษาการเปลี่ยนแปลงความหนืดของแป้งไม่แห้ง และแป้งไม่เปียกในข้าวพันธุ์เสาไห้ พบว่า เมื่อแป้งมีปริมาณสดาร์ชที่เสียหายสูง (ไม่แห้ง) จะมีค่า SB สูงกว่าแป้งที่มีปริมาณสดาร์ชที่เสียหายต่ำ (ไม่เปียก) ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่า เมื่อปริมาณสดาร์ชที่เสียหายเพิ่มขึ้นมีผลทำให้ SB ของสดาร์ชสูงขึ้น แต่ที่ 90 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูดที่เวลา 30 และ 45 นาที เมื่อเวลานานขึ้น จะมีค่า SB ต่ำลง ซึ่งที่สภาวะนี้เกิดเจลที่ในเซชันของสดาร์ช และในขณะที่ใช้ HIU จะมีความร้อนเกิดขึ้นทำให้เมล็ดสดาร์ชบางส่วนเกิดการเจลที่ในซ์เป็นผลให้ค่าเซตแบคลดลง

สดาร์ชที่ได้จากการ DF จำนวน 1 และ 6 ครั้ง พบว่า มีค่า SB ต่ำกว่าแป้งข้าว การ DF อาจจะมีผลทำให้บริเวณส่วนที่เป็นผลึกลดลง (จากตารางที่ 6) เนื่องจากพบว่า การ DF ทำให้เกิดรอยแยกที่ผิวเพิ่มขึ้นจากเดิม และแอมิโลเพกทินที่อยู่ภายในส่วนที่เป็นโครงสร้างผลึกจะถูก

ดันออกมา (Szymonaka *et al.*, 2000) ซึ่งน่าจะมีผลต่อการหักงอของสายของแอมิโลเพกทิน เมื่อลดอุณหภูมิลง อาจทำให้เกิดการจัดเรียงตัวกันใหม่ได้ยากขึ้น และมีผลทำให้ มีค่าเซตแบคต่ำกว่าแป้งข้าว

จากการทดลองนี้พบว่า การใช้ HIU ที่สภาวะ 70 เปอร์เซนต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 30 นาที ร่วมกับการ DF จำนวน 1 และ 6 ครั้ง มีค่าเซตแบคสูงกว่าแป้งข้าว สตาร์ชที่สกัดด้วยต่าง และสตาร์ชที่ผ่าน HIU ที่สภาวะ 70 เปอร์เซนต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 30 นาที ดังนั้นอาจสันนิษฐานได้ว่าที่สภาวะนี้ เม็ดสตาร์ชมีความอ่อนแอมาก ดูจากค่า BD ที่สูงมาก (BD สูง แสดงว่า เม็ดสตาร์ชมีความแข็งแรงหรือมีความคงตัวต่ำ สามารถทนต่อความร้อนและแรงกวนได้ต่ำ หลังจากการให้ความร้อนและแรงกวน อาจทำให้สายของแอมิโลเพกทินที่อ่อนแอเนื่องจากการถูกทำลายด้วยวิธีการสกัดทั้งสองวิธี เกิดแตกหักเป็นสายสั้นๆ ได้ มีลักษณะคล้ายแอมิโลส ซึ่งเมื่อลดอุณหภูมิลง จะจับตัวกันทำให้ค่า SB สูงขึ้น กล้าณรงค์ และเกื้อกูล (2546) รายงานว่าการคัดแปรแป้งด้วยกรดเป็นการลดขนาดโมเลกุลของแป้ง และทำให้เกิดการแตกหักออกของพันธะร่างแห ทำให้เม็ดแป้งกระจายออกเป็นชิ้นเล็กๆ ในขณะที่ให้ความร้อน ได้ค่าเซตแบคสูง เนื่องจากการคืนตัวได้เร็ว

1.3.3 คุณสมบัติด้านความเป็นผลึก (crystallinity) ของสตาร์ชที่สกัดด้วยวิธีทางกายภาพและวิธีการใช้ต่าง โดยใช้การตรวจสอบด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ (x-ray diffraction)

จากตารางที่ 6 (ภาคผนวกที่ ๗) พบว่า การใช้ HIU และการ DF ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงชนิดของโครงสร้างผลึก กล่าวคือแป้งข้าวและสตาร์ชที่สกัดได้ทุกอย่างยังมีลักษณะโครงสร้างผลึกแบบ type A แต่มีผลเล็กน้อยต่อการลดลงของร้อยละความเป็นผลึก ซึ่งจากการแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิต่ำ พบว่า ไม่สามารถทำให้เกิดความเสียหายถึงขนาดทำลายคุณสมบัติการเกิดไบรีฟรินเจนซ์ (birefringence) ของเม็ดสตาร์ชได้ ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับสตาร์ชที่ผ่านการโฮโมจิไนเซชันด้วยความดันสูง (High-Pressure Homogenization) (ที่ความดันประมาณ 14,503.78 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว) ที่ทำให้ขนาดของเม็ดสตาร์ชเล็กลง และจากการใช้การ DF ทำให้เกิดรอยแยกที่ผิวเพิ่มขึ้นจากเดิม และแอมิโลเพกทินที่อยู่ภายในส่วนที่เป็น โครงสร้างผลึกจะถูกดันออกมา (Szymoneka *et al.*, 2000) ซึ่งอาจมีผลทำให้สายของแอมิโลเพกทินแตกหักได้ และอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้สตาร์ชมีค่าร้อยละความเป็นผลึกลดลง สามารถสังเกตได้จากที่สภาวะ การ DF จำนวน 1 และ 6 ครั้ง และการใช้ HIU ที่ 70 เปอร์เซนต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 45 นาที มีร้อยละความเป็นผลึกต่ำกว่าทริทเมนต์อื่นๆ

จากการทดลองของความเป็นผลึกของตัวอย่าง HIU สอดคล้องกับผลการทดลองค่าพลังงานในการสลายพันธะจาก DSC

ตารางที่ 6 ความเป็นผลึกสัมพันธ์ของแป้งข้าวและสตาร์ชข้าว สตาร์ชที่สกัดด้วยวิธีทางกายภาพ และวิธีการใช้สารละลายต่าง

ตัวอย่างสตาร์ชข้าว	เปอร์เซ็นต์ความเป็นผลึก
แป้งข้าว	16.89
DF 1 รอบ	15.54
DF 6 รอบ	14.88
HIU 70 เปอร์เซนต์แอมพลิจูด 30 นาที่	15.93
HIU 70 เปอร์เซนต์แอมพลิจูด 30 นาที่และ DF 1 รอบ	15.27
HIU 70 เปอร์เซนต์แอมพลิจูด 45 นาที่	16.22
สารละลายต่าง	17.06

จากผลการทดลองผู้วิจัยมีความเห็นว่า สภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการแยกสกัดสตาร์ชคือ การใช้ HIU ที่สภาวะ 70 เปอร์เซนต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 45 นาที่ เนื่องจากได้พิจารณาจากผลการทดลองดังต่อไปนี้ คือ ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดที่มีระยะเวลาที่สั้นกว่าการสกัดด้วยสารละลายต่างถึง 1.1 เท่า มีปริมาณผลได้สูงกว่าสตาร์ชที่สกัดโดยใช้สารละลายต่าง มีปริมาณเปอร์เซนต์โปรตีนที่เหลืออยู่น้อยที่สุดเมื่อเทียบกับทุกทรีทเมนต์ และยังมีค่าใกล้เคียงกับสตาร์ชที่สกัดด้วยสารละลายต่างมากที่สุด โดยที่มีค่าเปอร์เซนต์สตาร์ชที่เสียหายไม่แตกต่างกับสตาร์ชที่สกัดด้วยสารละลายต่างอีกด้วย และสมบัติด้านความหนืด และการเกิดเจลาทิโนเซชันที่ได้ในแต่ละทรีทเมนต์ไม่แตกต่างกันอย่างชัดเจน

2. การเปรียบเทียบวิธีการสกัดสตาร์ชข้าวด้วยวิธีทางกายภาพที่เหมาะสมกับวิธีสกัดโดยใช้สารละลายต่าง

2.1 การเปรียบเทียบปริมาณค่าความเป็นกรด-เบส (pH) ของน้ำทิ้ง และปริมาณผลได้ ของสตาร์ชจากกระบวนการสกัดสตาร์ชด้วยวิธีทางกายภาพที่เหมาะสมกับวิธีการสกัดโดยใช้สารละลายต่าง

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณน้ำทิ้งจากวิธีการสกัดโดยใช้สารละลายต่างกับวิธีการใช้ HIU ที่สถานะ 70 เปอร์เซนต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 45 นาที พบว่า การแยกสกัดด้วย HIU จะมีปริมาณน้ำทิ้งน้อยกว่าวิธีสกัดโดยใช้สารละลายต่างประมาณ 4.5 เท่าและมีค่าความเป็นกรด-เบสของน้ำทิ้งต่ำกว่าค่าความเป็นกรด-เบสของน้ำทิ้งที่ได้จากวิธีการสกัดโดยใช้สารละลายต่างมาก ดังนั้นการใช้ HIU ในการแยกสกัดสารพืชจะทำให้ลดปริมาณน้ำเสียจากกระบวนการผลิต และสามารถบำบัดน้ำเสียได้ง่ายเนื่องจากมีค่าความเป็นกรด-เบสใกล้เคียง 7

ตารางที่ 7 เปรียบเทียบปริมาณและค่าความเป็นกรด-เบส (pH) ของน้ำทิ้งจากกระบวนการสกัดสารพืชด้วยวิธีทางกายภาพที่เหมาะสมและวิธีการใช้สารละลายต่าง

ตัวอย่าง	ปริมาณน้ำทิ้ง (มล.)	ความเป็นกรด-เบส
HIU 70 เปอร์เซนต์แอมพลิจูด 45 นาที	186 ± 4.95	5.88 ± 0.01
สารละลายต่าง	840 ± 4.24	10.82 ± 0.01

2.2 การเปรียบเทียบเวลาที่ใช้ในการสกัดสารพืชด้วยวิธีทางกายภาพที่เหมาะสมกับวิธีการใช้สารละลายต่าง

การใช้ HIU ยังสามารถลดระยะเวลาในการแยกสกัดสารพืชได้ ถึง 1.1 เท่าของเวลาในการสกัดด้วยวิธีทางเคมี

ตารางที่ 8 เปรียบเทียบเวลาที่ใช้ในการสกัดสารพืชด้วยวิธีทางกายภาพที่เหมาะสมกับวิธีการใช้สารละลายต่าง (ไม่รวมขั้นตอนการอบแห้ง)

ตัวอย่าง	เวลา (ชั่วโมง)
HIU 70 เปอร์เซนต์แอมพลิจูด 45 นาที	1.15 ± 0.03
สารละลายต่าง	5.30 ± 0.05

หมายเหตุ: เป็นข้อมูลในการผลิตสารพืช 60 กรัม ในระดับห้องปฏิบัติการ

2.3 การเปรียบเทียบสมบัติทางเคมีและทางกายภาพ ของสารพืชที่สกัดด้วยวิธีทางกายภาพที่เหมาะสมกับวิธีการใช้สารละลายต่าง

จากตารางที่ 9 เป็นการเปรียบเทียบสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของสตาร์ชที่สกัดด้วย HIU ที่ 70 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด 45 นาที ซึ่งเป็นสภาวะการแยกสกัดที่ดีที่สุดในการทดลองนี้ กับสตาร์ชที่สกัดโดยใช้สารละลายต่าง และสตาร์ชทางการค้า โดยสตาร์ชที่สกัดด้วย HIU จะมีปริมาณความชื้น และไขมัน ต่ำกว่าสตาร์ชทางการค้า แต่สูงกว่าสตาร์ชที่สกัดด้วยสารละลายต่างเล็กน้อย นอกจากนี้ยังมีโปรตีน และแอมิโลส สูงกว่าสตาร์ชที่สกัดด้วยสารละลายต่างโดยสตาร์ชที่สกัดด้วย HIU มีค่าปริมาณโปรตีนสูงกว่าเพียงเล็กน้อยเท่านั้น และมีค่าความหนืดสูงสุด สูงกว่าสตาร์ชทางการค้า แต่ต่ำกว่าสตาร์ชที่สกัดด้วยสารละลายต่างในห้องปฏิบัติการเพียงเล็กน้อยเท่านั้น จากการวัดคุณภาพสีของสตาร์ชที่สกัดด้วย HIU กับแป้งข้าว พบว่า สตาร์ชที่สกัดด้วย HIU มีค่าความสว่าง (+L) สูงกว่า และมีค่าความเป็นสีเหลือง (+b) ต่ำกว่าแป้งข้าวอย่างเห็นได้ชัด และมีค่าความเป็นสีแดง (-a) อ่อนกว่าแป้งข้าวเล็กน้อย ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่า ของสตาร์ชที่สกัดด้วย HIU มีคุณภาพสี คือมีความเป็นสีขาวและความสว่างมากกว่าแป้งข้าวอย่างชัดเจน จากการสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของสตาร์ชที่สกัดด้วย HIU เปรียบเทียบกับแป้งข้าว สตาร์ชที่สกัดด้วยสารละลายต่าง และสตาร์ชทางการค้า ทั้งนี้เพื่อประโยชน์ในการนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ ตามความเหมาะสมต่อไป และจากการวัดคุณภาพสีของสตาร์ชที่สกัดด้วย HIU กับสตาร์ชทางการค้า พบว่าสตาร์ชที่สกัดด้วย HIU มีค่าความสว่าง (+L) น้อยกว่าสตาร์ชทางการค้าเล็กน้อย และมีค่าความเป็นสีแดง (-a) และค่าความเป็นสีเหลือง (+ b) เข้มกว่าสตาร์ชทางการค้าเล็กน้อย ส่วนค่าการวัดสีของสตาร์ชที่สกัดด้วย HIU กับสตาร์ชที่สกัดด้วยสารละลายต่าง พบว่า สตาร์ชที่สกัดด้วย HIU มีค่าความสว่าง (+L) และค่าความเป็นสีเหลือง (+ b) น้อยกว่าสตาร์ชที่สกัดด้วยสารละลายต่างเพียงเล็กน้อย และมีค่าความเป็นสีแดง (-a) เข้มกว่าสตาร์ชที่สกัดด้วยสารละลายต่างเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่า คุณภาพสีของสตาร์ชที่สกัดด้วย HIU มีความเป็นสีขาวและความสว่างใกล้เคียงกับสตาร์ชทางการค้า และสตาร์ชที่สกัดด้วยสารละลายต่างในห้องปฏิบัติการ

เมื่อเปรียบเทียบสตาร์ชที่สกัดด้วย HIU กับแป้งข้าวพบว่า การใช้ HIU ที่สภาวะนี้จะมีเปอร์เซ็นต์ความชื้น สูงกว่าแป้งข้าวเนื่องจากมีปริมาณสตาร์ชที่เสียหายสูงกว่าหลังการสกัด แต่มีปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่น้อยกว่า 1 แสดงว่าสตาร์ชที่สกัดได้มีความบริสุทธิ์ค่อนข้างสูง (Vandeputte *et al.*, 2003) นอกจากนี้ยังสามารถลดปริมาณไขมันได้อย่างมีประสิทธิภาพได้อีกด้วย จากปริมาณแอมิโลสอาจกล่าวได้ว่า HIU มีผลทำให้ปริมาณแอมิโลสเพิ่มขึ้นเล็กน้อย และมีค่าความหนืดสูงสุดของสตาร์ชที่สกัดด้วย HIU ต่ำกว่าแป้งข้าว เนื่องจากปริมาณสตาร์ชที่เสียหาย ที่มีความสัมพันธ์แบบแปรผกผันกับค่าความหนืดสูงสุด ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Wang and Wang (2001) ที่ศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณสตาร์ชข้าวที่เสียหายที่มีผลต่อค่าความหนืด โดยศึกษาจากวิธีการสกัดสตาร์ชข้าวด้วยสารละลายต่าง เปรียบเทียบกับการใช้เอนไซม์พบว่า สตาร์ชที่

เสียหายมีผลต่อความสามารถในการจับกับน้ำ (water binding capacity) และการละลาย (solubility) สูงกว่าเมล็ดสตาร์ชปกติที่ไม่ได้รับความเสียหาย นอกจากนี้ปริมาณโปรตีนและสตาร์ชที่เสียหาย ที่เกิดจากการสักรัดทั้งสองวิธี มีผลต่อคุณสมบัติความหนืดของสตาร์ชข้าว โดยปริมาณสตาร์ชที่เสียหายมีความสัมพันธ์แบบแปรผกผัน กับค่าความหนืดสูงสุด ($r = -0.78$, $P = 0.05$) มากกว่าปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่ซึ่งมีความสัมพันธ์แบบแปรผันตรงกับปริมาณสตาร์ชที่เสียหาย สอดคล้องกับงานวิจัยของ Sanchez *et al.* (1986) และ Sabularse *et al.* (1992) ที่พบรายงานว่า สตาร์ชที่เสียหายมีความสัมพันธ์แบบแปรผกผันกับค่าความหนืดสูงสุด และนอกจากนี้ยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Morrison *et al.* (1994) ที่พบว่า เมื่อเมล็ดสตาร์ชเกิดความเสียหายด้วยแรงกล จะส่งผลต่ออุณหภูมิเจลลาทีโนเซชันของสตาร์ช โดยเมื่อปริมาณสตาร์ชที่เสียหายสูงขึ้น อุณหภูมิเจลลาทีโนเซชันจะลดลง จากผลการรายงานงานวิจัยข้างต้นสนับสนุนผลการทดลองนี้ได้ว่า ปริมาณสตาร์ชที่เสียหายมีผลต่อค่าความหนืดสูงสุดมากกว่าปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่ของสตาร์ช (Wang and Wang, 2001)

ตารางที่ 9 เปรียบเทียบสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของสตรังซ์ข้าว ด้วยวิธีทางกายภาพที่เหมาะสมกับวิธีการใช้สารละลายต่าง

สมบัติทางเคมีและทางกายภาพ	ปริมาณ (เปอร์เซ็นต์)		ความหนืดสูงสุด		คุณภาพดี	
	ความชื้น	โปรตีน	ไขมัน	เอมิโลส	L	a b
แป้งข้าว	7.02	7.02	0.14	25.56	90.74	-1.48 3.05
สตรังซ์จากการสกัดด้วย H ₂ O	9.34	0.88	0.00	31.00	92.34	-1.41 0.71
สตรังซ์จากการสกัดด้วยสารละลายต่าง	8.47	0.77	0.00	28.49	93.18	-1.34 0.93
สตรังซ์ทางการค้า*	11.20	0.95	0.00	43.84	94.30	-1.29 0.60
สตรังซ์ทางการค้า**	13.00	0.50	0.20	42.49	93.0	0.2 1.8

* ข้อมูลจากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

** ข้อมูลจากผู้ผลิต

สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยฉบับนี้ทำเพื่อศึกษาวิธีและสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารข้าว ด้วยวิธีทางกายภาพ คือ การใช้คลื่นเสียงความถี่สูง และการแช่เยือกแข็งอุณหภูมิต่ำและการเปรียบเทียบคุณสมบัติของสารที่สกัดด้วยวิธีทางเคมี ได้แก่ การใช้สารละลายต่างในการสกัด

การนำ HIU มาใช้ในการแยกสารจากแป้งข้าว สามารถใช้เวลาในการแยกสกัดสารได้เร็วกว่าการใช้สารละลายต่าง นอกจากนี้การสกัดด้วย HIU ยังมีปริมาณน้ำที่น้อยกว่าการสกัดโดยใช้สารละลายต่าง ประมาณ 4.5 เท่า และมีความเป็นกรด-เบสใกล้เคียง 7 มากกว่าการสกัดด้วยสารละลายต่าง และที่สภาวะ 70 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด 45 นาที สามารถลดปริมาณโปรตีนและเกิดปริมาณสารที่เสียหาย มีค่าใกล้เคียงกับการสกัดด้วยสารละลายต่าง นอกจากนี้ยังพบว่า สารที่ได้จากการสกัดด้วย HIU ยังมีสมบัติความหนืด (pasting properties) ค่าอุณหภูมิเริ่มต้นของความหนืด ค่าความหนืดสูงสุด ค่าความหนืดลดลง และค่าความหนืดสุดท้าย ใกล้เคียงกับสารที่สกัดได้ด้วยสารละลายต่าง ในขณะที่มีค่าเซตแบบสูงกว่าสารที่สกัดได้ด้วยสารละลายต่างเล็กน้อย ส่วนสมบัติด้านความร้อน (thermal properties) มีค่าใกล้เคียงกับแป้งข้าว และสารที่สกัดได้ด้วยสารละลายต่าง

การนำการ DF มาใช้ในการแยกสกัดสารจากแป้งข้าว สามารถลดปริมาณโปรตีนได้จริง แต่ไม่สามารถสกัดสารให้มีความบริสุทธิ์ใกล้เคียงกับสารที่แยกสกัดด้วย HIU และจากการนำสองวิธีนี้มาสกัดร่วมกัน ระหว่างการใช้ HIU ที่สภาวะ 70 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 30 นาทีกับการ DF จำนวน 1 และ 2 รอบ พบว่าไม่สามารถทำให้ปริมาณโปรตีนลดลงได้ใกล้เคียงกับสารที่สกัดด้วยสารละลายต่าง ดังนั้นที่สภาวะนี้จึงไม่เหมาะสมที่จะนำมาสกัดสารได้เท่ากับวิธีการสกัด ที่สภาวะ 70 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูดเป็นเวลา 45 นาที

การนำ HIU มาประยุกต์ใช้จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่มีความเป็นไปได้ในการนำมาใช้ในทางอุตสาหกรรมอาหารต่อไป

ข้อเสนอแนะ

ควรศึกษาการเปลี่ยนแปลงของโมเลกุลสสารซ์เอมิโลส และเอมิโลเพกทิน ในระหว่างการสกัดด้วย HIU และการ DF เพื่อนำมาอธิบายผลการเปลี่ยนแปลงทางเคมี กายภาพ และเคมีเชิงฟิสิกส์ของสสารซ์ ได้ชัดเจนและถูกต้องสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ในขั้นตอนการสกัดสสารซ์ด้วยการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงร่วมกับการแช่เยือกแข็งอุณหภูมิต่ำ น่าจะมีการทำการสกัดสลับขั้นตอนกัน โดยทำการสกัดด้วยการแช่เยือกแข็งอุณหภูมิต่ำก่อนการสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง แล้วนำผลการทดลองที่ได้มาเปรียบเทียบกัน เพื่อให้ได้ข้อมูลของผลจากการสกัดด้วยสองวิธีนี้ชัดเจนและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

กระบวนการสกัดสสารซ์ด้วยการแช่เยือกแข็งอุณหภูมิต่ำ ในช่วงขั้นตอนการแยกเหวี่ยงและชุดโปรตีนที่ผิวหน้าออก หลังจากทำการสกัดที่จำนวน 1 และ 6 รอบ เพียงครั้งเดียวนั้น ควรทำการแยกเหวี่ยงสสารซ์และชุดโปรตีนที่ผิวหน้าออกทุกครั้งของการสกัดสสารซ์ด้วยการแช่เยือกแข็งอุณหภูมิต่ำในแต่ละรอบ เพื่อให้แน่ใจถึงประสิทธิภาพในการสกัด

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

- กล้าณรงค์ ศรีรอด และ เกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ. 2546. เทคโนโลยีของแป้ง. พิมพ์ครั้งที่ 3. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- นิธิยา รัตนานนท์. 2545. เคมีอาหาร. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.
- ปรีชา อนุพงษ์อ้อจ. 2550. ความเข้มเสียงและระดับความเข้มเสียง. เสียง. แหล่งที่มา: http://www.rsu.ac.th/science/physics/pom/physics_2/sound/sound_2.htm, 9 กันยายน 2550
- พิสิฏฐ์ราชมงคล, ผู้รวบรวม. 2550. ความเข้มเสียงและระดับความเข้มเสียง. เสียงและการได้ยิน. แหล่งที่มา: <http://www.rmutphysics.com/charud/specialnews/1/sound/sound5.htm>, 9 กันยายน 2550.
- วรรณา ตูลยชัย. 2549. เคมีอาหารของคาร์โบไฮเดรต. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- ศิริโรตม์ เกตุแก้ว. 2550. การประยุกต์ใช้พลังงานคลื่นอัลตราโซนิก สำหรับทำความสะอาดชิ้นส่วนเครื่องยนต์ขนาดเล็ก. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยรามคำแหง.
- สุพัตรา โพธิวิเศษ. 2548. การเปลี่ยนแปลงทางเคมี กายภาพและเคมีเชิงฟิสิกส์ของแป้งข้าวในการผลิตแป้งแผ่น. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- อรอนงค์ นัยวิกุล. 2547. ข้าว: วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- A.A.C.C. 2000. **Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists.** 10 ed. American Association of Cereal chemists, St. Paul, MN.

- Aggarwal, P. and D. Dollimore. 1998. Athermal analysis investigation of partially hydrolyzed starch. **Thermochimica Acta**. 319: 17-25.
- Alexander, R.J. and H.Z. Zobel. 1992. **Developments in Carbohydrate Chemistry**. American Association of Cereal Chemists, Minnesota.
- Appelqvist, A.M. and M.R.M. Debet. 1997. Starch-biopolymer interaction-a review. **Food Rev. Int.** (2): 163-224.
- Barth, A.M. 2004. **Role and Proposed Mechanism of starch Retrogradation in Determining Sorghum Porridge Texture**. Bauer, B.A., M. Hartmann, K. Sommer and D. Knorr. M.S. thesis, Purdue University, USA.
2004. Optical in situ analysis of starch granules under high pressure with a high pressure cell. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**. 5: 293-298.
- Baxter, G., C. Blanchard. and J. Zhao. 2004. Effects of prolamin on the textural and pasting properties of rice flour and starch. **J. Cereal Sci.** 40: 205-211.
- BeMiller, J.N. and R.L. Whistler. 1996. Carbohydrates, pp. 157-223. In O.R. Fennema, ed. **Food Chemistry**. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Berg, R.E. and D.G. Stork. 1996. **The Physics of Sound**. Prentice-Hall, Inc., U.S.A.
- Betancur, A.D. and G.L. Chel. 1997. Acid hydrolysis and Canavalia ensiformis starch. **J. Agr. Food Chem.** 45: 4237-4241.
- Beynum, G.M.A. van and J.A. Roels. 1985. **Starch Conversion Technology**. Marcel Dekker Inc., New York.

- Bio-polymer Lab. 2008. **Probe type sonicator**. Equipment. Available Source:
http://polymer.cnu.ac.kr/@biopoly/equi_.brd/, 9 September 2008.
- Breithaupt, J. 1999. **Foundations physics**. Macmillan Press, London.
- Cagampang, G.B., L.J. Cruz, S.G. Espiritu, R.G. Santiago and B.O. Juliano. 1966. Studies on the extraction and composition of rice proteins. **Cereal Chem.** 43: 145-155.
- Champagne, E.T. 1996. Rice starch composition and characteristics. **Cereal Foods World.** 41(11): 833-838.
- Chiang, P.Y. and A.I. Yeh. 2002. Effect of soaking on wet-milling of rice. **J. Cereal Sci.** 35: 58-94.
- Chiou, H., M. Martin and M. Fitzgerald. 2002. Effect of Purification Methods on Rice Starch. **Starch /starke.** 54: 415-420.
- Choudhury, N.H. and B.O. Juliano. 1980. Lipids in developing and mature rice grain. **Phytochem.** 19: 1063-1069.
- Chung, J.H., H.Y. Jeong and S.T. Lim. 2003. Effects of acid hydrolysis and defatting on crystallinity and pasting properties of freeze-thawed high amylase corn starch. **Carbohydrate polymers.** 54: 449-455.
- Colonna, P., A. Buleon and F. Lemarie. 1987. Action of *Bacillus subtilis* α -amylase on native wheat starch. **Biotech and Bioeng.** 31: 895-904.
- Cone, J.W. and M.G.E. Wolters. 1990. Some properties and degradability of isolated starch granules. **Starch/Starke.** 42: 298-301.

- Ellis, R.P., M.P. Cochrane, M.F.B. Dale, C. M. Duffus, A. Lynn, I. M. Morrison, R.D.M. Prentice, J.S. Swanston and S.A. Tiller. 1998. Starch production and industrial use. **J. Sci. Food Agric.** 77: 289-331.
- French, D. 1984 "Organization of starch granules" **Starch : Chemistry and Technology**. (edited by R. L. Whistler, J. N. BeMiller & E. F. Paschall). New York, Academic Press, 234.
- Franco, C.M.L., and C.F. Ciacco. 1992. Factors that affect the enzymatic degradation of natural starch granules. Effect of the size of the granules. **Starch/Starke**. 44: 422-426.
- Franco, C.M.L., S.J.R. Preto, C.F. Ciacco. 1988. Studies on the susceptibility of granular cassava and corn starches to enzymatic attack. Part 2: study of the granular structure of starch. **Starch/Starke**. 40: 29-32.
- Fujii, M., T. Homma and M. Taniguchi. 1988. Synergism of α -amylase and glucoamylase on hydrolysis of native starch granules. **Biotechnol. Bioeng.** 32: 910-915.
- Giancoli, D.C. 1991. **Physic**. 3 ed. Prentice Hall, New Jersey.
- Godet, M.C., V. Tran and M.M. Delagw. 1993. Molecular modelling of the specific interaction in amylose complexation by fatty acids. **Int. J. Biological Macromolecules**. 15: 11-16.
- Guraya, H. S. and C. James. 2002. Deagglomeration of Rice Starch-Protein Aggregates by High-Pressure Homogenization. **Starch/Starke**. 54: 108-116.
- Hamaker, R.B. and V.K. Griffin. 1990. Changing the viscoelastic properties of cook rice through protein disruption. **Cereal Chem.** 67: 261-264.
- _____. 1993. Effect of disulfide bond-containing protein on rice starch gelatinization and pasting. **Cereal Chem.** 70: 377-380.

Han, X.Z. and B.R. Hamaker. 2001. Amylopectin fine structure and rice paste breakdown.

Journal Cereal Science. 54: 454-460.

_____. 2002. Partial Leaching of Granule-Associated Proteins from Rice Starch during Alkaline Extraction and Subsequent Gelatinization. **Starch/Starke.** 54: 454-460.

Haros, M., O.E. Perea, and C.M. Rosell. 2004. Effect of steeping corn with lactic acid on starch properties. **Cereal Chem.** 81(1): 10-14.

Hatairat, P., V. Saiyavit and B. Wolfgang. 2005. Comparative Study of Pilot Scale Rice Starch Production by an Alkaline and an Enzymatic Process. **Starch/Starke.** 57: 134-144.

Hinton, J.J.C. and B. Shaw. 1954. The distribution of nicotinic acid in the rice grain. **Brit. J. Nutrition.** 8: 65-71. Cited Z. Zhou, K. Robards, S. Helliwell and C. Blanchard. 2002. Review composition and functional properties of rice. **Int. J. Food Sci. and Tech.** 37: 849-868.

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

Hongsprabhas P., I. Kamolwan and C. Rattanawattanprakit. 2007. Architectural changes of heated mungbean, rice and cassava starch granules: Effects of hydrocolloids and protein-containing envelope. **Carbohydrate Polymers.** 67: 614-622.

Immel, S. and F.W. Lichtenthaler. 2000. The hydrophobic Topographies of Amylose and its Blue Iodine. **Starch/Starke.** 1(52): 1-8.

Isono, Y., T. Kumagai and T. Watanabe. 1994. Ultrasonic Degradation of Waxy Rice Starch. **Biosci. Biotech. Biochem.** 10(58): 1799-1802.

- Jackson, D.S., C. Choto-Owen, R. D.Waniska, and L. W. Rooney. 1988. Characterization of starch cooked in alkali by aqueous high-performance size exclusion chromatography. **Cereal Chem.** 65: 493-496.
- _____, R. D Waniska and L. W Rooney. 1989. Differential water solubility of corn and sorghum starches as characterized by aqueous high-performance size-exclusion chromatography. **Cereal Chem.** 66: 228-232.
- Jane, J., L. Shen, L. wang and C.C. Maningat. 1992. Preparation and properties of small particle corn starch. **Cereal Chem.** 69 (3): 280-283.
- Jane, J. and J.F. Chem. 1992. Effects of amylose molecular size and amylopectin branch chain length on paste properties of starch. **Cereal Chem.** 69: 60-65.
- Jeong, H. and S. Lim. 2003. Crystallinity and pasting properties of freeze-thawed high amylase maize starch. **Starch/Starke.** 55: 511-517.
- Jiang, G. and Q. Liu. 2002. Characterization of from partially hydrolyzed potato and high amylase corn starches by pancreation α -amylase. **Starch/Starke.** 54: 527-533.
- Juliano, B.O. 1985. Polysaccharides proteins and lipids of rice, pp. 59-174. *In* **Rice: Chemistry and Technology.** 2nd ed. B.O. Juliano, ed. Am. Assoc. *Cited* B.O.Juliano. **Cereal Chemical.** St.Paul, MN.
- _____. 1992. Structure, chemistry, and function of the rice grain and its fraction. **Cereal Foods World.** 37: 772-779.
- _____ and D. Boulter. 1976. Extraction and composition of rice endosperm glutenin. **Phytochemistry.** 15: 1601-1606.

- Kalichevsky, M.T., P.D. Orford and S.G. Ring. 1990. The retrogradation and gelation of amylopectins from various botanical sources. **Carbohydrate Res.** 198: 49-55.
- Knorr, D., M. Zenker., V. Heninz and D.U. Lee. 2004. Applications and potential of ultrasonics in food processing. **Trends in Food Science and technology.** 15: 261-266.
- Kudla E and P. Tomasik. 1992. The modification of starch by high pressure. Part I: air and oven dried potato starch. **Starch/Starke.** 44: 167-253.
- Kun, L. L., H.J. Chen and H.Y. Sung. 1987. A new method for separation of rice protein and starch. **Journal of Chinese Agricultural Chemistry Society.** 25: 299-307.
- Leach, H.W., L.D. McCowen and T.J. Schoch. 1959. Structure of the starch granule Swelling and solubility patterns of various starches. **Cereal Chem.** 36: 534-544.
- Leadley, C. and A.S.Williams. 2002. **Power ultrasound-current and potential applications for food processing. Review No. 32.** Campden and Chorleywood Food Research Association.
- 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/Starke.** 51: 120-125.
- Lineback, D.R. 1984. The starch granule: Organization and properties. *Bakers Digest.* 58(2): 16-21.
- Lim, W. J., Y. T. Liang, P.A. Seib and C. S. Rao. 1992. Isolation of oat starch from oat flour. **Cereal Chem.** 69: 233-236.

- Lugay, C. J. and B.O. Juliano. 1965. Crystallinity of rice starch and its relation to gelatinization and pasting characteristics. **Journal of Applied Polymer Science**. 9: 3775-3780.
- 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.
- Malcolm, J., W. Povey and J. M. Timothy. 1998. Ultrasound in food processing. **An Imprint of Chapman & Hall**, London.
- Martinez, A. and M.C. Quiroga. 1988. Study of some physicochemical properties of cassava starch during fermentation. **Technologia**. 28: 23.
- Mason, T.J. 1990. A general introduction to sonichemistry, pp. 1-8. *In* T.J.Masno, ed. **Sonochemistry: The Uses of Ultrasoud in Chemistry**. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK.
- _____, L. Paniwnyk and J. P. Lorimer. 1996. The uses of ultrasound in food technology. **Ultrasonics Sonochemistry**. 3: S253-S260.
- Matheson, N.K. and L.A. Welsh. 1988. Welsh Estimation and fraction of the essentially unbranched (amylose) and branched (amylopectin) components of starches with concanavalin A. **Caebohydr. Res.** 180: 301-313.
- Mathew, G., S.N. Moorthy and G. Padmaja. 1995. Biochemical changes in cassava tuber during fermentation and its effect on extracted starch and residue. **J. Sci Food Agric.** 69: 36'102
- Mitsuda, H., K. Yasumoto, K. Murakami, T. Kusano and H. Kishida. 1967. Studies on the proteinaceous subcellular particles in rice endosperm: electron-microscopy and isolation. **Agr. Biol. Chem.** 31: 293-300.

- Moholkar, V.S. and A.B. Pandit. 2001. Numerical investigations in the behaviour of one-dimensional bubbly flow in hydrodynamic cavitation. **Chemical Engineering Science**. 56:1411-1418.
- _____, P.S. Kumar and A.B. Pandit. 1999. Hydrodynamic cavitation for sonochemical effects. **Ultrasonics Sonochemistry**. 6: 53-65.
- Monica, H., O.E. Pereze and C.M. Posel. 2003. Effect of steeping corn with lactic acid on starch Properties. **Cereal Chem**. 81: 10-14.
- Moorthy, S.N. and G. Mathew. 1998. Cassava fermentation and associated changes in physicochemical and functional properties. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. 38(2): 73-121.
- Morel, M.H., P. Dehlon, J.C. Autran, J.P. Leygue and C. Bar-L'Helgouac'h. 2000. Effects of temperature, sonication time and power setting on size distribution and extractability of total wheat flour proteins as determined by size-exclusion liquid chromatography. **Cereal Chemistry**. 77: 685-691.
- J.E., Morgan and P.C. William. 1995. Starch Damage in Wheat Flour: A Comparison of Enzymatic, Iodometric and Near-Infrared Reflectance Techniques. **Cereal Chem**. 72 (2): 209-212.
- Julino, B.O. 1971. A simplified essay for milled-rice amylase. **Cereal Sci. Today** 16 (10): 334-360.
- Morrison, W.R., R.F. Tester and M.J. Gidley. 1994. Properties of damaged starch granule. II Crystallinity, molecular order and gelatinization of ball-milled starches. **J. Cereal Science** 19: 209-217.

- Moulton, K.J. and L.C. Wang. 1982. A pilot-plant study of continuous ultrasonic extraction of soybean protein. **Journal of Food Science**. 47: 1127-1129.
- Newport Scientific. 1995. **Operation Manual for the Series 4 Rapid Visco Analyzer**. Warriewood, New South Wales. 93 p.
- Oates, C.G. 1997. Towards an understanding of starch granule structure and hydrolysis. **Trends in Food Science and Technology**. 8: 375-382.
- Padhye, V.W. and D.K. Salunkhe. 1979. Extraction and characterization of rice protein. **Cereal Chem**. 56: 389-393.
- Paniwnyk, L. 1993. **The effect of ultrasound on organic synthesis and processing from laboratory to large scale**. PhD thesis, Coventry University.
- Park, J.k., S.S. Kim and K.O. Kim. 2001. Effect of milling ratio on sensory properties of cooked rice and on physicochemical properties of milled and cooked rice. **Cereal Chem**. 78: 151-156.
- Perera, C. and R. Hoover. 1997. The effect of hydroxypropylation on the structure and physicochemical properties of native defatted and heat-moisture treated potato starches. **Food Research International**. 30: 235-243.
- Piyachomkwan, K.,R. Chollakup, S. Chotineeranat, N. Termvejsayanon and K. Sriroth. 1998. Thermalproperties of physically treated cassava starch. In “The 10th Annual meeting of the National Center for Genetic Engineering and Biotechnology for a self-sufficient economy” November 25-27, 1998. Sol Twin Town Hotel, Bangkok.
- Prosonix Co. Ltd. 2003. **Ultrasound**. World leaders in ultrasonic particle engineering . Available Source: <http://www.sonochemistry.info/Research.htm>, 9 September 2007.

- Puchongkavarin, H., S. Varavinit and W. Bergthaller. 2005. Comparative study of pilot rice starch production by an alkaline and an enzymatic process. **Starch/Starke**. 57:134-144.
- Rampantapathy Co., Ltd. 2002. **Ultrasonic Bath**. 12c508a Deprotection Tutorial. Available Source: <http://www.rampantapathy.co.uk/12c508a.html>, 9 September 2007
- Rickard, J.E, M. Asaoka and J.M.V. Blanshard. 1991. Review-the physicochemical properties of cassava starch. **Tropical Science**. (31): 189-207.
- Robin, J.P., C. Mercier, R. Charbonniere and A. Guilbot. 1974. Lintnerized starch : gel filtration and enzymatic studies of insoluble residues from prolonged acid treatment of potato starch. **Cereal Chem**. 51: 389-406.
- Rohwer, R.G. and R.E. Klem. 1984. Acid-modified starch: production and uses, pp. 529-541. *In* R.L. Whistler, J.N. BeMiller and E.F. Paschall (eds.). **Starch: Chemical and Technology**. 2nd ed. Academic Press, Inc., New York.
- Sabularse, V. C., J. A. Liuzzo, R. M. Rao and R. M. Grodner. 1992. Physicochemical characteristics of brown rice as influenced by gamma irradiation. **J. Food Sci** 57: 143-145.
- Sanders, 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.
- Sanchez, H.D., M.A. Torre, C.A. Osella and J.C. Mancuello. 1986. Effect of high damaged starch content on behavior of wheat flour. **Ind. Cereales** 42: 7-11.
- Sandstedt, R.M. and H. Schroeder. 1960. A photographic study of mechanically damaged wheat starch. **Food Technol**. 14: 257-265.

- Sandstedt, R.M., T. Yasui and J. Matsuki. 2000. Effect of amylose content on gelatinization, retrogradation and pasting properties of starches from waxy and non-waxy wheat and their FI seed. **Cereal Chem.** 75: 524-529.
- Serway, R.A. 1996. **Physics for Scientist & Engineers with modern physics.** 4 ed. Saunders college publishing, Florida.
- Singh, N., J. Sing, L. Kaur, N.S. Sodhi and B.S. Gill. 2003. Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. **Food Chemistry.** 81: 219-231.
- Singh, V. and S.Z. Ali. 2000. Acid degradation of starch: The effect of acid and starch type. **Carbohydrate Polymers.** 41: 191-195.
- Star, J.R. and A. Lynn. 1992. Biochemistry of plant polysaccharides : Starch granules large and small. *Biochem. Soc. Trans.* 20 : 7-12.
- Szymonska, J. and K. Wodnicka. 2005. Effect of multiple freezing and thawing on the surface and functional properties of granular potato starch. **Food Hydrocolloids.** 19: 753-760.
- Szymonska, J., F. Krok. and P. Tomasik. 2000. Deep-Freezing of potato starch. **Int. J. of Biological Macromolecules.** 27: 307-314.
- Szymonska, J., F. Krok., E. Komorowska-Czepirska and K. Rebilas. 2003a. Modification of granular potato starch by multiple deep-freezing and thawing. **Carbohydrate Polymers.** 52: 1-10.
- Takeda, Y., S. Hizukuri and B.O. Juliano. 1986. Purification and structure of amylose from rice starch. **Carbohydrate Res.** 148: 299-308.

- Takeda, Y., S. Hizukuri and B.O. Juliano. 1987. Structure of rice amylopectins with low and high affinities for iodine. **Carbohydrate Res.** 168: 79-88.
- Tanaka, K., T. Sugimoto, M. Ogawa and Z. Kasai. 1980. Isolation and characterization of two types of protein bodies in the rice endosperm. **Agri Biol. Chem.** 44: 1633-1639.
- Tang, S., N.S. Hettiarachchy and T. H. Shellhammer. 2002. Protein extraction from Heat-stabilized defatted rice brand 1. physical processing and enzyme treatments. **J. Agric. Food Chem.** 50: 7444-7448.
- Thirathumthavorn, D. and S. Charoenrein. 2005. Thermal and pasting properties of acid-treated rice starch. **Starch/Starke.** 5: 217-222.
- Vandeputte, E.G. and J.A. Delcour. 2004. From sucrose to starch granule to starch physical behavior: a focus on rice starch. **Carbohydrate Polymers.** 58: 245-266.
- _____, R. Vermeulen, J. Geeroms and J.A.Delcour. 2003. Rice starch.I. structural aspects provide insight into crystallinity characteristics and gelatinization behavior. **J. Cereal Sci.** 38: 43-52.
- Variclean Benelux b.v. 2001a. **Cavitation and Implosion.** Theoy ultrasonics. Available Source: <http://www.variclean.nl/Ultrason/theorie.php>, 9 September 2007.
- Variclean Benelux b.v. 2001b. **Ultrasonics Speeds Cleaning by Dissolution.** Theoy ultrasonics. Available Source: <http://www.variclean.nl/Ultrason/theorie.php>, 9 September 2007.
- Walker, D.A. 1976. Perparation of geological samples for scanning electron microscopy, p. 68. In A. Delokkunanund. **Specimen Preparation for SEM.** Kasetsart University, Bangkok.

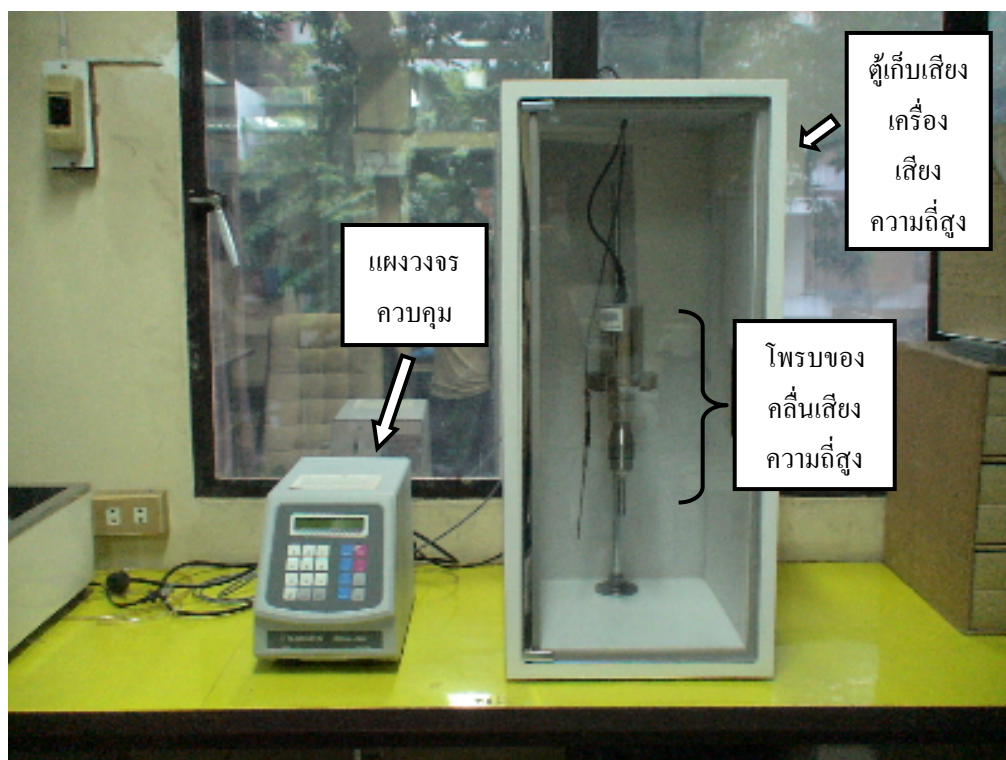
- Wang, L. and Y.J. Wang. 2001. Comparison of Protection at Neutral pH with Alkaline Steeping Method for Rice Starch Isolation. **Cereal Chem.** 78: 690-692.
- _____. 2004a. Rice starch isolation by neutral protease and high-intensity ultrasound. **Cereal science.** 39: 291-296.
- _____. 2004b. Application of High-Intensity Ultrasound and Surfactant in Rice Starch Isolation. **Cereal Chem.** 81: 140-144.
- Wang, L.C. 1975. Ultrasonic extraction of proteins from autoclaved soybean flakes. **Journal of Food Science.** 40: 549-551.
- Wang, Y.J., V.D. Truong and L. Wang. 2003. Structures and rheological properties of corn starch as affected by acid hydrolysis. **Carbohydrate Polymers.** 52: 327-333.
- Ward, J.E.K., R.C. Hoseney and P.A. Seib. 1994. Retrogradation of amylopectin from maize and wheat starches. **Cereal Chem.** 71: 150.
- Wolfson, R. and J.M. Pasachoff. 1995. **Physics with modern physics.** 2 ed. Harper collins college publishers, New York.
- Yang, C.C., H.M. Lai and C.Y. Lii. 1984. The modified alkaline steeping method for the isolation of rice starch. **Food Sci.** 11: 158-162.
- Yoenyong-buddhagal, S. and A. Noomhorm. 2002. Effect of raw material preparation on rice vermicelli quality. **Starch/Starke.** 54: 534-539.
- Zhang, Z., Y. Niu, S.R. Eckhoff and H. Feng. 2005. Sonication Enhanced Cornstarch Separation. **Starch/Starke.** 57: 240-245.

Zhou, Z., K. Robards, S. Helliwell and C. Blanchard. 2002. Review Composition and functional properties of rice. **Internation Journal of Food Science and Technology**. 37: 849-868.

Zobel, H.F. 1988. Molecules to granules: a comprehensive starch review. **Starch/Starke**. 40: 44-50.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
เครื่องคลื่นเสียงความถี่สูง



ภาพผนวกที่ ก1 เครื่องคลื่นเสียงความถี่สูง

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์องค์ประกอบและสมบัติทางเคมี

การวิเคราะห์องค์ประกอบและสมบัติทางเคมีของแป้งข้าว

ข1. การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (AACC, 2000) Method 44-15A

2.5 เครื่องมือและอุปกรณ์

- 2.1 ตู้อบลมร้อน (hot air oven)
- 2.2 ภาชนะใส่ตัวอย่าง (moisture can)
- 2.3 เดซิเคเตอร์ (desiccator)

2.6 วิธีการวิเคราะห์

ปริมาณความชื้น อบภาชนะใส่ตัวอย่าง ในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง นำออกมาใส่ในเดซิเคเตอร์ ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง นำไปชั่งน้ำหนักที่แน่นอน ชั่งตัวอย่างแป้งใส่ภาชนะใส่ตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน 3 กรัม อบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง นำออกมาใส่เดซิเคเตอร์ ทิ้งไว้ให้เย็นในอุณหภูมิห้อง นำไปชั่งน้ำหนัก

2.7 วิธีการคำนวณ

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

หมายเหตุ W_1 = น้ำหนักตัวอย่างและภาชนะใส่ตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)

W_2 = น้ำหนักตัวอย่างและภาชนะใส่ตัวอย่างหลังอบ (กรัม)

ข2. การวิเคราะห์ปริมาณแอมิโลส (apparent amylose) (Juliano, 1971)

2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

2.1.1 ขวดกำหนดปริมาตร 100 มิลลิลิตร

2.1.2 เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์

2.1.3 เครื่องชั่งละเอียด

2.1.4 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ

2.2 สารเคมี

2.1.1 เอซิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 95

2.1.2 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 นอร์มอล

2.1.3 กรดอะซีติกกลั่น ความเข้มข้น 1 นอร์มอล

2.1.4 แอมโมเนียมฟอสเฟตจากมันฝรั่ง

2.1.5 ไอโอดีน

2.3 วิธีการวิเคราะห์

2.1.1 การละลายแป้ง ซึ่งตัวอย่างแป้งให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน 0.1 กรัม ใส่ในขวดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ที่แห้งสนิท

2.1.2 นำแป้งมาเติมเอซิลแอลกอฮอล์ 1 มิลลิลิตร เขย่าเบาๆ

2.1.3 เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 นอร์มอล 9 มิลลิลิตร

2.1.4 ใส่แท่งแม่เหล็กลงไป ทำการปั่นตัวอย่าง และต้มในน้ำเดือดประมาณ 10 นาที จากนั้นนำแท่งแม่เหล็กออกจากขวดแก้ว

2.1.5 เติมน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร เขย่าขวด

2.1.6 เตรียมขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 70 มิลลิลิตร

2.1.7 ใส่น้ำแป้ง 5 มิลลิลิตร ด้วย volumetric pipette ขนาด 5 มิลลิลิตร ใส่ในขวดปรับปริมาตรที่เตรียมไว้ในข้อ 2.3.6

2.1.8 เติมกรดอะซีติกกลั่นความเข้มข้น 1 นอร์มอล 1 มิลลิลิตร สารละลายไอโอดีน 2 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น ตั้งทิ้งไว้ 20 นาที

2.1.9 ทำแบลนด์ นำขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร เติมกรดอะซีติกกลั่นความเข้มข้น 1 นอร์มอล 2 มิลลิลิตร และเติมสารละลายไอโอดีน 2 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น ตั้งทิ้งไว้ 20 นาที

2.1.10 วัดความเข้มข้นของสีสารละลาย ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 640 นาโนเมตร อ่านค่าเป็นค่าการดูดกลืนแสง โดยปรับค่าของแบลนด์เป็น 0 นำค่าการดูดกลืนแสงไปคำนวณค่าปริมาณแอมิโลสเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน

2.4 การเขียนกราฟมาตรฐาน

2.1.1 ชั่งแอมิโลสบริสุทธิ์จากมันฝรั่งสกัดจากแป้งมันฝรั่ง 0.0400 กรัม ใส่ในขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิตร และทำเช่นเดียวกับวิธีวิเคราะห์ในตัวอย่าง เป็นสารละลายมาตรฐาน

2.1.2 ปิ่ตแบ่งสารละลายมาตรฐาน 0 1 2 3 4 และ 5 มิลลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิตร เติมน้ำประมาณ 70 มิลลิตร เติมกรดอะซีติกกลั่น 1 นอร์มอล ปริมาตร 0, 0.2, 0.4, 0.8 และ 1.0 มิลลิตร ลงในขวดแก้วที่มีสารละลายมาตรฐานตามลำดับ แล้วเติมสารละลายไอโอดีน 2 มิลลิตร เติมน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิตร ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 20 นาที

2.1.3 วัดความเข้มข้นของสีสารละลาย ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 640 นาโนเมตร อ่านค่าเป็นค่าการดูดกลืนแสง โดยปรับค่าของแบลนด์เป็น 0 นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาเขียนกราฟมาตรฐาน

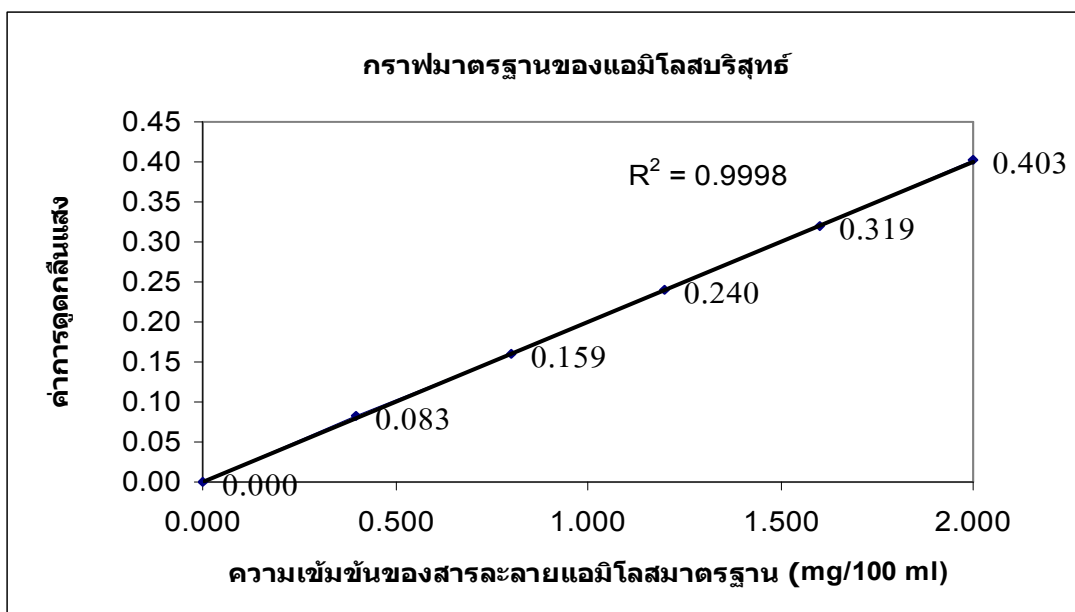
2.1.4 เขียนกราฟระหว่างค่าปริมาณแอมิโลส (แกน y) และค่าการดูดกลืนแสง (แกน X) โดยค่าปริมาณแอมิโลสของสารละลายมาตรฐาน

2.5 วิธีการคำนวณ

$$\text{ปริมาณแอมิโลส (ร้อยละ)} = \frac{\text{ความเข้มข้นที่อ่านได้จากสารละลายแอมิโลสมาตรฐาน (มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิตร)} \times 10}{5 \times \text{น้ำหนักแป้งแห้ง (กรัม)}}$$

ตารางผนวกที่ ข1 ค่าดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานโปเตโตแอมิโลสในช่วงความยาวคลื่น 640 นาโนเมตร

ความเข้มข้น (mg/100ml)	0.00	0.04	0.80	1.20	1.60	2.00
ค่าการดูดกลืนแสงที่ 620 nm	0.000	0.083	0.159	0.240	0.319	0.403



ภาพผนวกที่ ข1 ปริมาณแอมิโลสและค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน

ข3. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (AACC, 2000)

3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

3.2.1 เครื่องย่อยสลาย Buchi

3.2.2 หลอด Kjeldahl สำหรับย่อย

3.2.3 เครื่องกลั่นอัตโนมัติ Buchi

3.2 สารเคมี

3.2.1 กรดซัลฟิวริกเข้มข้น

3.2.2 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 35

3.2.3 สารละลายกรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 4

3.2.4 สารละลายกรดไฮโดรคลอริกมาตรฐาน 0.1 นอร์มอล

3.2.5 คอปเปอร์ซัลเฟต

3.2.6 โพแทสเซียมซัลเฟต

3.2.7 อินดิเคเตอร์ผสมระหว่างเมธิลเรดและโบโรโมครีซอลกรีน

3.3 วิธีการวิเคราะห์

ชั่งตัวอย่างประมาณ 0.5-1 กรัม ให้น้ำหนักแน่นอนลงในกระดาดชั่ง ใส่ลงในหลอดหยดเคลดาล์ (kjeldahl) ใส่ตัวเร่งปฏิกิริยาประกอบด้วยโปแตสเซียมซัลเฟต 7 กรัม และคอปเปอร์ซัลเฟต 0.8 กรัม พร้อมด้วยลูกแก้ว 3 เม็ด เติมน้ำกรดซัลฟิวริกประมาณ 15 มิลลิลิตร ต่อชุดย่อยเข้ากับชุดไอรคแล้วทำการย่อยย่อยจนได้สารละลายใส ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น แล้วเติมน้ำกลั่น 75 มิลลิลิตร ต่อเข้ากับชุดกลั่นซึ่งมีการเติมน้ำกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 40 ลงไปประมาณ 50 มิลลิลิตร ทำการกลั่นเป็นเวลา 3 นาที แล้วรองรับสิ่งที่กลั่นได้ด้วยขวดรูปชมพู่ที่บรรจุสารละลายกรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 4 ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ที่มีอินดิเคเตอร์ซึ่งประกอบด้วยเมทิลเรด 0.1 กรัม และโบโรโมคริสซอลกรีน 0.1 กรัม ละลายในเอทานอล 100 มิลลิลิตร ประมาณ 3 หยด แล้วนำไปไทเทรตด้วยสารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริก 0.1 นอร์มอล จนกระทั่งเปลี่ยนเป็นไม่มีสี โดยทำแบบลบล้างควบคู่ไปกับตัวอย่าง

3.4 วิธีการคำนวณ

$$\text{ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ)} = \frac{(T - B) \times N \times 1.401 \times 100 \times 5.95}{W}$$

หมายเหตุ T = ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไทเทรตกับตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

B = ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไทเทรตกับแบบลบล้าง (มิลลิลิตร)

N = ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก (นอร์มอล)

W = น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)

ข4. การหาปริมาณไขมันในแป้ง (AACC, 2000)

4.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

4.1.1 เครื่องวิเคราะห์ไขมัน (Soxtec System HT2; 1045 Extraction unit)

4.1.2 เครื่องทำความเย็น

4.1.3 extraction cup

4.1.4 ทิมเบิล (thimble)

4.1.5 เดซิเคเตอร์ (desiccator)

4.2 สารเคมี

ปิโตรเลียมอีเธอร์ที่มีจุดเดือดในช่วง 40 – 60 องศาเซลเซียส

4.3 วิธีการวิเคราะห์

ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน 2 กรัม บนกระดาษกรอง และห่อให้มิดชิด จากนั้นนำมาใส่ลงในทิมเบิลที่สะอาดและแห้ง ต่อเข้ากับเครื่องวิเคราะห์ไขมัน อบ extraction cup ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วนำมาเก็บไว้ในตู้เย็นในเดซิเคเตอร์ เป็นเวลา 1 ชั่วโมงก่อนจะชั่งน้ำหนักที่แน่นอน เติมนิโตรเจนอีเธอร์ที่มีจุดเดือด 40 – 60 องศาเซลเซียส ประมาณ 45 มิลลิลิตร นำ extraction cup เข้าไปในเครื่องวิเคราะห์ไขมัน สกัดไขมันโดยจุดทิมเบิลที่มีตัวอย่างลงในปิโตรเลียมอีเธอร์ที่มีการให้ความร้อนตลอดเวลา (boiling) เป็นเวลา 20 นาที และยกทิมเบิลที่มีตัวอย่าง โดยมีปิโตรเลียมอีเธอร์ไหลผ่านและชะไขมันออกจากไขมันที่สกัดได้ (evaporation) เป็นเวลา 10 นาที นำ extraction cup ที่มีไขมันที่ได้จากตัวอย่างมาอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำมาทำให้เย็นในเดซิเคเตอร์ แล้วชั่งน้ำหนัก

4.4 วิธีการคำนวณ

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

หมายเหตุ W_1 = น้ำหนัก ตัวอย่าง (กรัม)
 W_2 = น้ำหนัก extraction cup ก่อนสกัดไขมัน (กรัม)
 W_3 = น้ำหนัก extraction cup หลังสกัดไขมัน (กรัม)

ข5. การวิเคราะห์ปริมาณสารที่เสียหาย (AACC, 2000)

5.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

5.1.1 ชุดวิเคราะห์สารที่เสียหาย (Enzyme kits) (Sigma, USA)

5.2 สารเคมี

- 5.2.1 เอนไซม์แอลฟาเอไมเลส
- 5.2.2 อะไมโลกูโคซิเดส
- 5.2.3 กลูโคสรีเอเจนบัฟเฟอร์
- 5.2.4 สารละลายกลูโคสมาตรฐาน

5.3 วิธีการวิเคราะห์

5.3.1 ชั่งสตาร์ชหรือแป้ง 100 ± 10 มิลลิกรัม ใส่ในหลอดแยกเหวี่ยงที่มีปริมาตรบรรจุประมาณ 14 มิลลิลิตร

5.3.2 นำสารละลายแอลฟาเอไมเลสที่เตรียมไว้มาบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 2-5 นาที

5.3.3 จากนั้นเติมสารละลายแอลฟาเอไมเลสที่บ่มแล้วจำนวน 1.0 มิลลิลิตร ลงในหลอดแยกเหวี่ยงในข้อ 5.3.1 เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่านานประมาณ 2-5 วินาที

5.3.4 เติมสารละลายเอนไซม์แอลฟาเอไมเลส 1.0 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่า นานประมาณ 5 วินาที จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

5.3.5 หยุดปฏิกิริยาด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.2 เปอร์เซนต์ และนำไปแยกเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาที (1,000 g) เป็นเวลา 5 นาที

5.3.6 ดูดสารละลายใสอย่างระมัดระวัง แยกใส่ในก้นหลอดทดลองเปล่า 2 หลอดๆละ 0.1 มิลลิลิตร

5.3.7 ใส่สารละลายเอไมโลกูโคซิเดสที่เตรียมไว้แล้ว ในหลอดทดลองทั้งสองหลอดในข้อ 5.3.6 จำนวน 0.1 มิลลิลิตร จากนั้นนำหลอดทดลองดังกล่าวไปบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที

5.3.8 เติม Glucose Determination Reagent ที่เตรียมไว้แล้ว ใส่ลงในหลอดทดลองในข้อ 5.3.7 และในหลอดทดลองของกลูโคสมาตรฐาน และหลอดที่เป็นแบลนด์ หลอดละ 4.0 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที

5.3.9 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 510 นาโนเมตร

5.4 วิธีการคำนวณ

$$\text{สตาร์ชที่เสียหาย (ร้อยละ)} = \frac{\Delta E \times F \times 8.1}{W}$$

หมายเหตุ

$$\Delta E = \text{ค่าการดูดกลืนแสงของแบลงค์}$$

$$F = \frac{150 \text{ (}\mu\text{g of glucose)}}{\text{ค่าการดูดกลืนแสงของกลูโคส 150 ไมโครกรัม}}$$

$$W = \text{น้ำหนักที่แน่นอนของแป้งตัวอย่าง}$$

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ

การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ

ค1. วิเคราะห์ลักษณะโครงสร้างอนุภาคของเม็ดสตาร์ชด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM) (Walker, 1976)

1.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

- 2.1 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (JEOJ, JSM-5600LV)
- 2.2 แท่ง aluminium stub ที่ติดกาวสองหน้าชนิดบาง
- 2.3 เครื่องเคลือบทอง (ion-coater IB-2)

1.2 วิธีการวิเคราะห์

- 2.1 นำแป้งตัวอย่างปริมาณเล็กน้อย มากระจายบนเทปกาวสองหน้าที่ติดอยู่บนแท่ง aluminium stub
- 2.2 นำแท่ง aluminium stub ที่ติดแป้งตัวอย่างแล้ว เข้าเครื่องเคลือบทอง (coating gold) ที่ผิวของแป้งตัวอย่าง เพื่อช่วยในการนำประจุอิเล็กตรอน
- 2.3 ใส่แท่ง aluminium stub ที่ผ่านการเคลือบทองเรียบร้อยแล้ว ในช่องใส่แท่ง aluminium stub ภายในตัวอย่างกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน
- 2.4 ตรวจสอบลักษณะรูปร่างของอนุภาคแป้งด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนโดยควบคุมสภาวะการทดลองที่ค่าอัตราเร่งของความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ 10 กิโลโวลต์ และใช้กำลังขยายที่ 5,000 เท่า บันทึกภาพถ่าย

1.3 สถานที่วิเคราะห์

หน่วยงานกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ฝ่ายเครื่องมือวิทยาศาสตร์กลาง สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ค2. วิเคราะห์ลักษณะโครงสร้างอนุภาคของเม็ดสตาร์ชด้วยกล้องจุลทรรศน์ (Confocal Scanning Electron Microscope, LSEM) (Hongsprabhas *et al.*, 2006)

2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

การตรวจดูโครงสร้างและโปรตีนบนเม็ดสตาร์ชโดยใช้ Confocal laser scanning microscopy, CLSM (Axio Imager MI, Carl Zeiss PTe Ltd., Germany)

2.2 สารเคมี

2.2.1 Rhodamine B

2.2.2 เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์

2.3 วิธีการวิเคราะห์

2.3.1 เตรียมสารละลาย Rhodamine B 0.01 เปอร์เซ็นต์ใน เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์

2.3.2 หยดใส่หลอดทดลองที่มีสารละลายตัวอย่าง (แป้ง) เข้มข้นร้อยละ 1.25 (น้ำหนักโดยปริมาตร) ประมาณ 2-3 หยด

2.3.3 จากนั้นเขย่าให้เข้ากันโดยใช้เครื่องเขย่าประมาณ 5 วินาที

2.3.4 นำไปส่องตรวจดูโครงสร้างและโปรตีนตามเม็ดสตาร์ช

ค3. วิเคราะห์คุณภาพสีของสตาร์ช

นำแป้งและสตาร์ชที่ได้บรรจุลงใน Petri dish ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร นำไปวัดด้วยเครื่องวัดสี (Minolta Spectrophotometer รุ่น CM-3500d) และบันทึกค่าสีที่วัดได้ในระบบของ Lab เป็นค่าความสว่างของสี (L a b) โดยรายงานผลจากค่าเฉลี่ยการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

ภาคผนวก ง
การวิเคราะห์สมบัติทางเคมีฟิสิกส์

การวิเคราะห์สมบัติทางเคมีฟิสิกส์

ง1. การวิเคราะห์สมบัติความหนืด (Pasting properties) ด้วยเครื่องวัดความหนืดแบบเร็ว (Rapid Visco Analyzer, RVA)

2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องวัดความหนืดแบบรวดเร็ว (Rapid Visco Analyzer, RV A3D)

2.2 วิธีการวิเคราะห์

2.2.1 กรณีที่ตัวอย่างมีความชื้นร้อยละ 14 เปอร์เซนต์ ให้ตวงน้ำกลั่นประมาณ 25.00 มิลลิลิตร ใส่ลงในแกนของเครื่องวัดความหนืดแบบรวดเร็ว

2.2.2 ชั่งตัวอย่างแป้งมาจำนวนหนึ่งใส่ลงในแกนที่มีน้ำอยู่ โดยจำนวนของตัวอย่างแป้งขึ้นอยู่กับชนิดของตัวอย่าง

2.2.3 ใส่พายลงในแกน หมุนพายไปมาแรงๆ และดึงขึ้นลงเพื่อกวนตัวอย่างไม่ให้จับเป็นก้อนที่ผิวหน้าหรือติดอยู่ที่พาย

2.2.4 นำแกนที่ใส่พายเข้าเครื่องวัดความหนืดแบบรวดเร็ว กดมอเตอร์ลงเพื่อให้เครื่อง RVA ทำงาน

หมายเหตุ ในการชั่งตัวอย่างและตวงวัดปริมาณน้ำ เพื่อที่จะให้ได้ผลถูกต้องควรนำค่าความชื้นของตัวอย่างมาคิดด้วย ซึ่งจะทำให้เมื่อคือน้ำหนักของตัวอย่างเมื่อแห้งแล้วมีจำนวนเท่ากันปกติค่าความชื้นอยู่ที่ร้อยละ 14 และมีสูตรที่ใช้ในการคำนวณสำหรับความชื้นที่ร้อยละ 14 ดังนี้

$$M_2 = \frac{(100-14) \times M_1}{(100-M_1)}$$

$$W_2 = 25.0 + M_1 - M_2$$

เมื่อ M_1 = น้ำหนักตัวอย่างตามที่แนะนำไว้ในคู่มือ

M_2 = น้ำหนักที่ถูกต้อง

W_2 = ปริมาณน้ำที่ถูกต้อง

ง2. การวิเคราะห์สมบัติด้านความร้อน (thermal properties) ด้วยเครื่องดิฟเฟอเรนเชียล สแกนนิ่ง แคลอริมิเตอร์ (Differential scanning calorimeter, DSC) ตามวิธีของ Thirathumthavorn and Charoenrein (2005)

2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

2.2.1 เครื่องดิฟเฟอเรนเชียล สแกนนิ่ง แคลอริมิเตอร์

2.2.2 Aluminium pan

2.2.3 เครื่องปิดผนึก Aluminium pan

2.2 วิธีการวิเคราะห์

2.2.1 เตรียมตัวอย่างแป้งที่ทราบความชื้น โดยให้มีปริมาณแป้ง (น้ำหนักแห้ง) ประมาณ 4-5 มิลลิกรัม โดยผสมกับน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้นร้อยละ 30 (น้ำหนักแห้ง) คนให้เข้ากัน

2.2.2 ใส่ลงใน aluminium pan ของเครื่องดิฟเฟอเรนเชียล สแกนนิ่ง แคลอริมิเตอร์ บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง 1 ชั่วโมง

2.2.3 นำ aluminium pan เข้าเครื่องดิฟเฟอเรนเชียล สแกนนิ่ง แคลอริมิเตอร์ตั้งค่าของเครื่องในช่วงอุณหภูมิ 25-130 องศาเซลเซียส โดยมีอัตราการเพิ่มอุณหภูมิเป็น 10 องศาเซลเซียสต่อ นาที

2.2.4 ตรวจวัดค่าอุณหภูมิเริ่มเกิดเจลลิ่งในเซชัน (onset temperature, T_o) อุณหภูมิสุดท้ายในการเกิดเจลลิ่งในเซชัน (conclusion temperature, T_c) หน่วยเป็นองศาเซลเซียส และค่าพลังงานทั้งหมดที่ใช้ในการเกิดเจลลิ่งในเซชัน (enthalpy, ΔH_{gel}) หน่วยเป็นจูลต่อกรัมแป้งแห้ง

ง3. การวิเคราะห์ผลของอุณหภูมิต่อการเปลี่ยนแปลงความเป็นผลึก ด้วยเครื่องเอกซเรย์ดิฟแฟรคโตมิเตอร์ (X-ray diffractometer, JEOL, JDX-3530, Japan)

3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องเอกซเรย์ดิฟแฟรคโตมิเตอร์ (X-ray diffractometer, JEOL, JDX-3530, Japan)

3.2 วิธีการวิเคราะห์

3.2.1 เตรียมแป้งหรือสตาร์ชที่ได้ โดยนำมาร้อนผ่านตะแกรงขนาด 80 เมช

3.2.2 บรรจุแป้งลงในที่บรรจุตัวอย่างซึ่งทำจากแผ่นซิลิกา ซึ่งมีความเป็นผลึกเป็นศูนย์ โดยต้องเกลี่ยผิวหน้าของตัวอย่างให้เรียบ

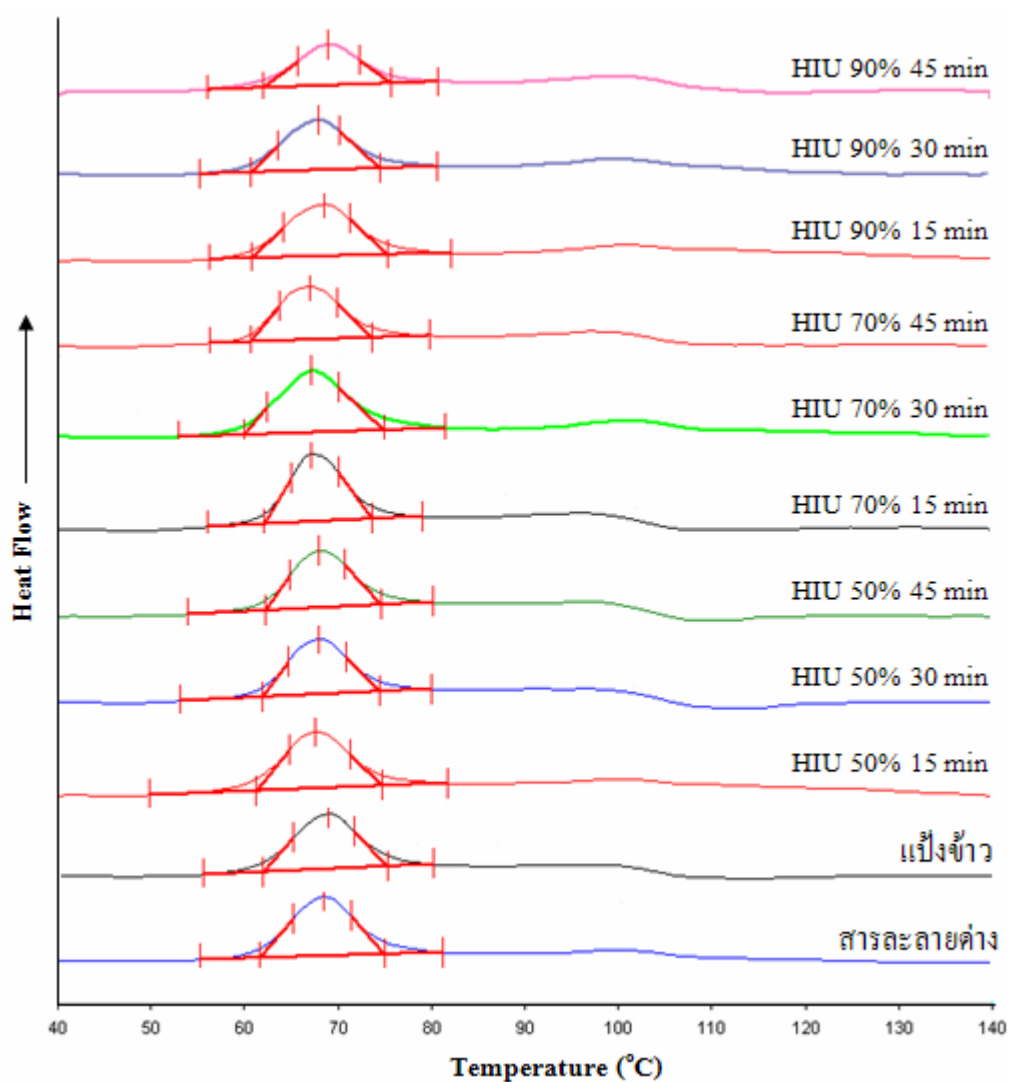
3.2.3 วิเคราะห์โครงสร้างผลึกของอนุภาคแป้งด้วยเครื่องเอ็กซ์เรย์ดิฟแฟรกโตมิเตอร์ ใช้ Target เป็นทองแดง (Cu) ความต่างศักย์ไฟฟ้า 30 กิโลโวลต์ ใช้กระแสไฟฟ้า 40 มิลลิแอมแปร์ เริ่มสแกนที่มุมหักเหช่วง 5.00 ถึง 40.00 องศา 2 theta โดยมีการเพิ่มมุม 3 วินาทีต่อขั้น

3.2.4 บันทึกรูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ที่ได้ และคำนวณค่าร้อยละของความเป็นผลึกโดยเปรียบเทียบ (Relative crystallinity)

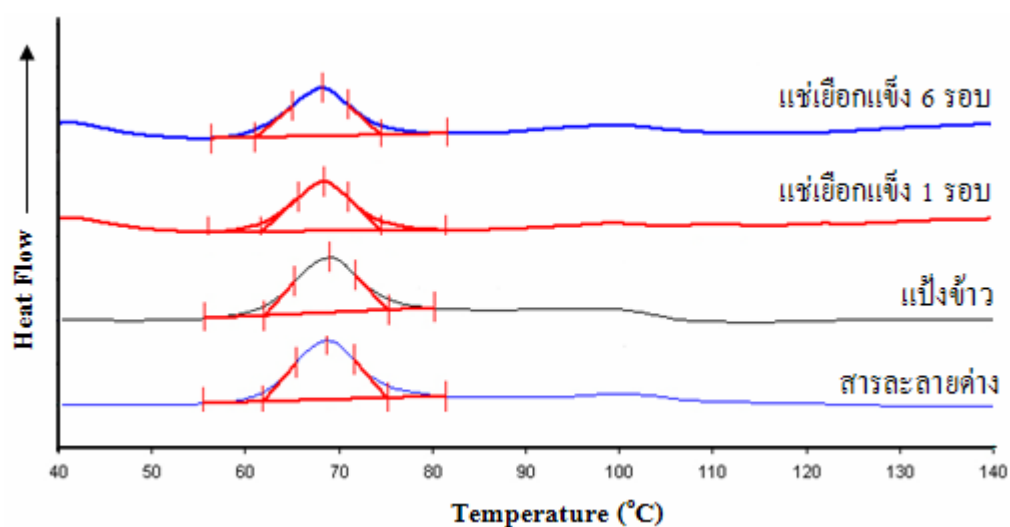
3.3 สถานที่วิเคราะห์

ห้องปฏิบัติการเอ็กซ์เรย์ดิฟแฟรกชันและเอ็กซ์เรย์ฟลูออเรสเซนส์ ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ

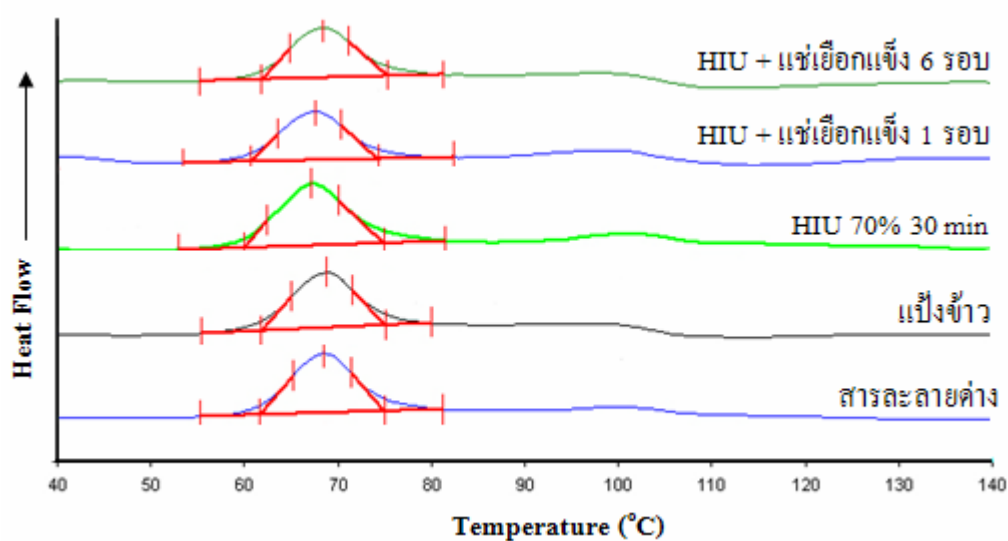
ภาคผนวก จ
กราฟผลการทดลอง



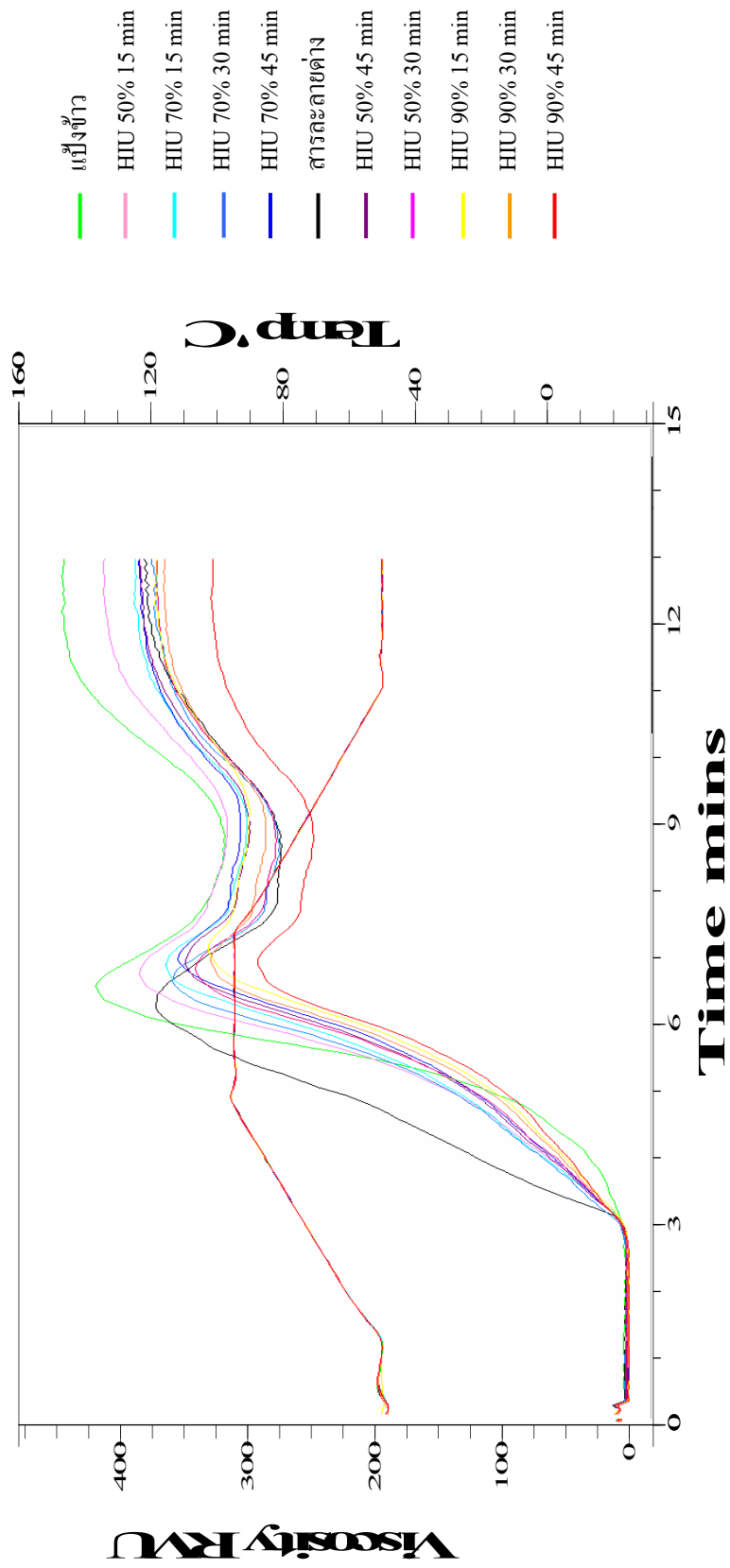
ภาพผนวกที่ จ1 กราฟการเกิดเจลลิตีในเซชันของแป้งข้าว สตาร์ชที่สกัดด้วยวิธีการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง และวิธีการใช้สารละลายต่าง โดยใช้เครื่อง Differential Scanning Calorimeter (DSC)



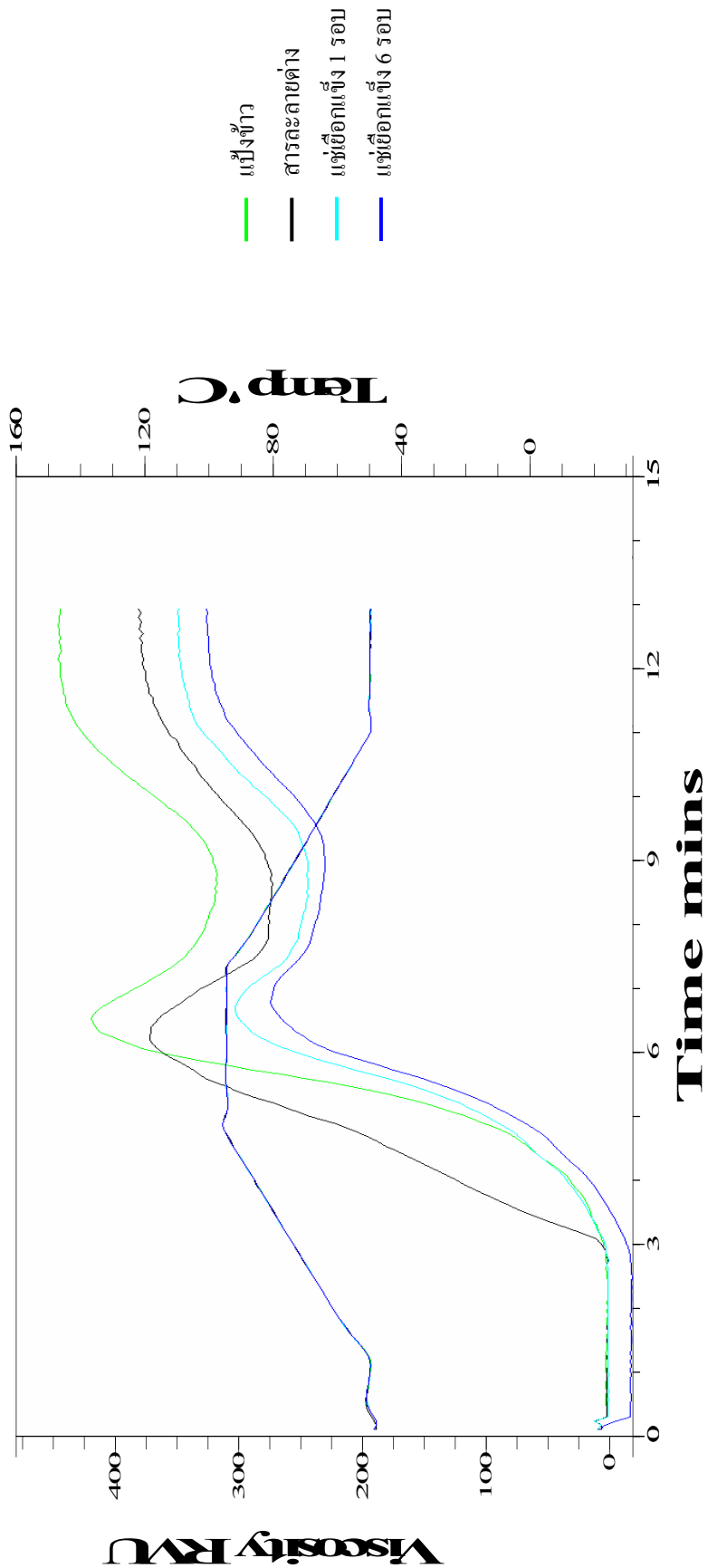
ภาพผนวกที่ จ2 กราฟการเกิดเจลลิตีในเซชันของแป้งข้าว สตาร์ชที่สกัดด้วยวิธีการแช่เยือกแข็ง อุณหภูมิต่ำ และวิธีการใช้สารละลายต่าง โดยใช้เครื่อง Differential Scanning Calorimeter (DSC)



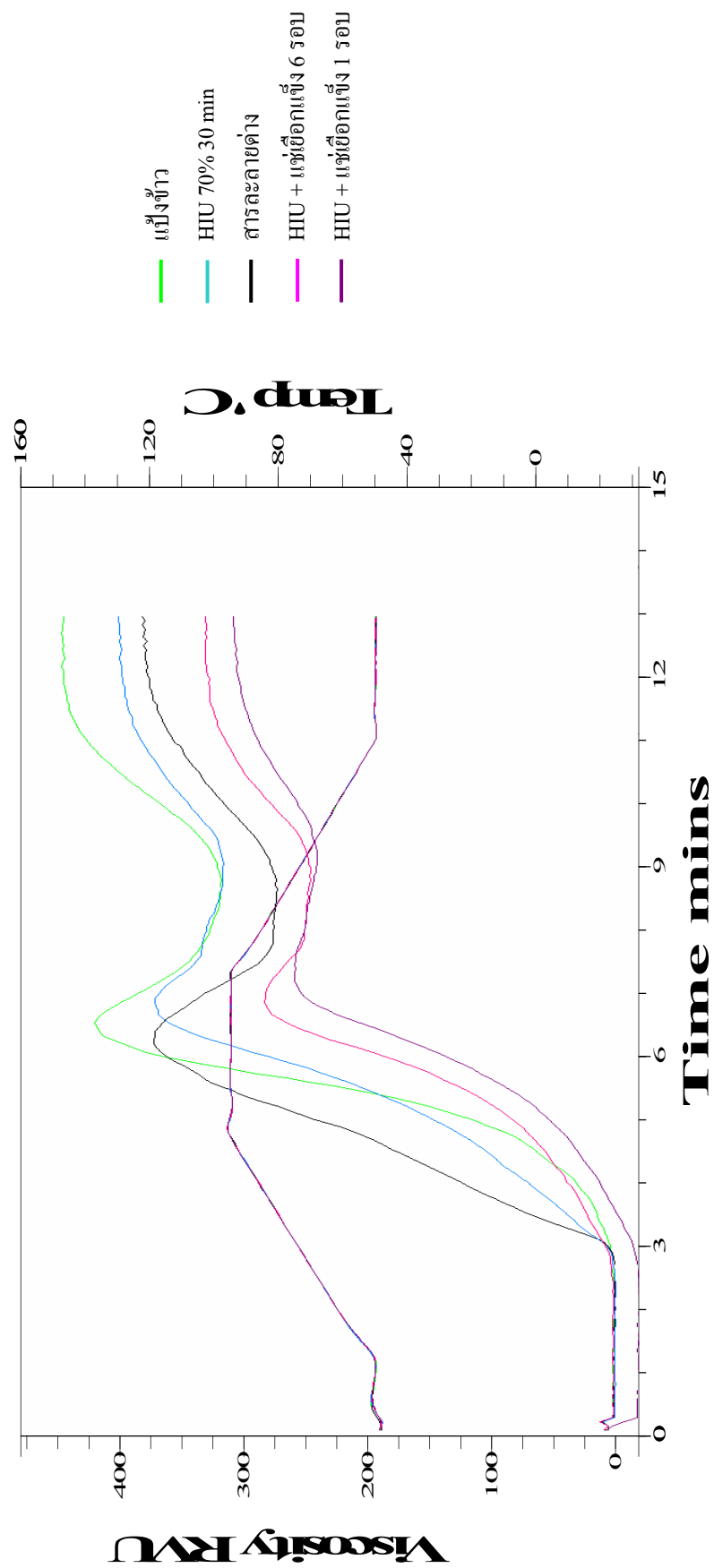
ภาพผนวกที่ จ3 กราฟการเกิดเจลลิตีในเซชันของแป้งข้าว สตาร์ชที่สกัดด้วยวิธีการใช้คลื่นเสียง ความถี่สูงร่วมกับการแช่เยือกแข็งอุณหภูมิต่ำ และวิธีการใช้สารละลายต่าง โดยใช้เครื่อง Differential Scanning Calorimeter (DSC)



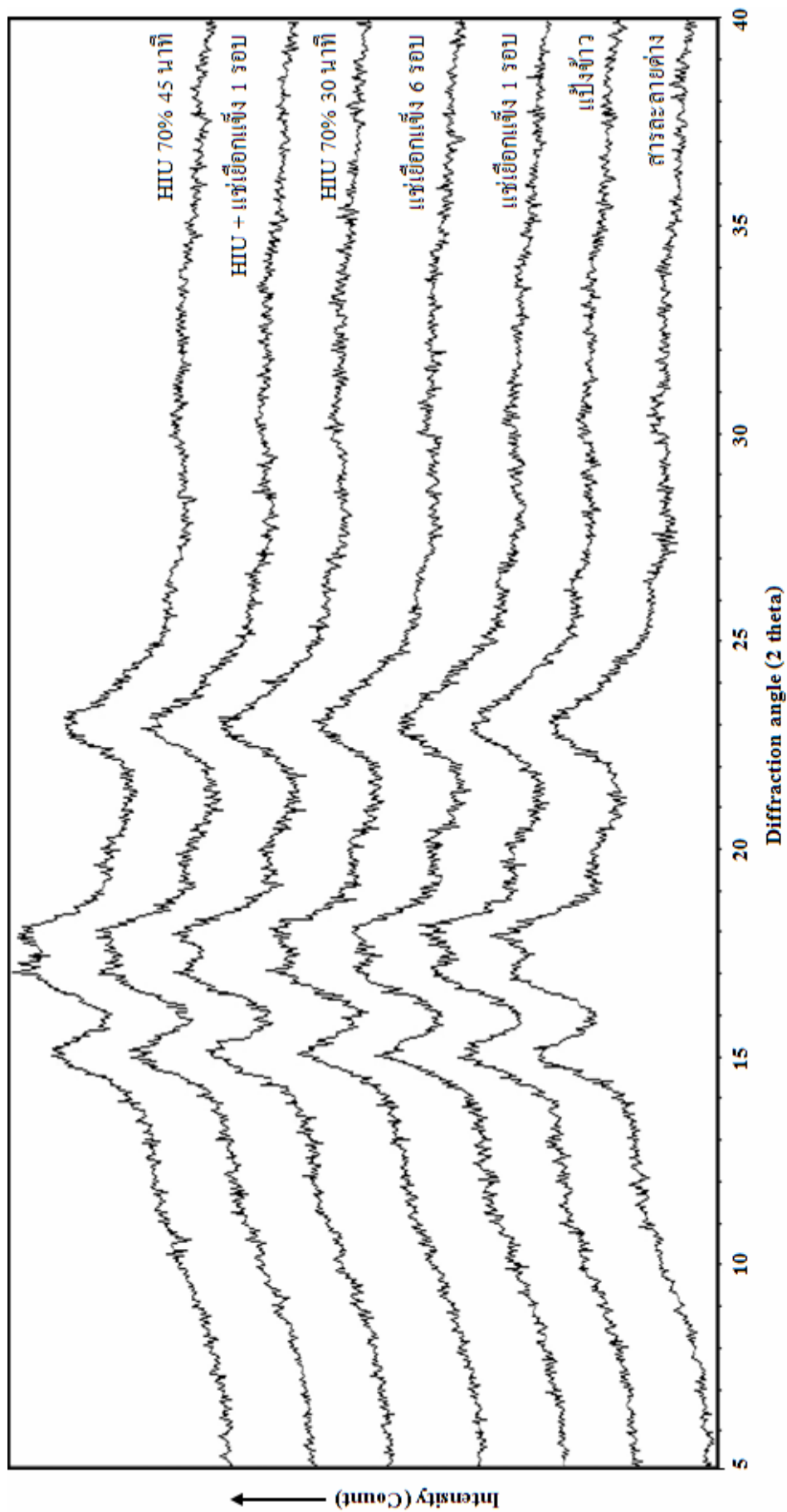
ภาพผนวกที่ ๑4 กราฟคุณสมบัติด้านความหนืด (Pasting properties) ของแป้งข้าว สดาร์ข้าวที่สกัดด้วยวิธีการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง และวิธีการใช้สารละลาย
ต่าง โดยเครื่อง Rapid Visco Analyzer



ภาพผนวกที่ จ5 กราฟคุณสมบัติด้านความหนืด (Pasting properties) ของแป้งข้าว สด ข้าวแช่แข็งที่สกัดด้วยวิธีการแช่เยือกแข็งอุณหภูมิต่ำ และวิธีการใช้ สารละลายต่าง โดยเครื่อง Rapid Visco Analyzer



ภาพผนวกที่ ๖6 กราฟคุณสมบัติด้านความหนืด (Pasting properties) ของแป้งข้าว สดาร์ข้าวที่สกัดด้วยวิธีการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงร่วมกับการแช่เยือกแข็งอุณหภูมิต่ำ และวิธีการใช้สารละลายต่าง โดยเครื่อง Rapid Visco Analyzer



ภาพผนวกที่ จ7 กราฟความเป็นผลึกสัมพัทธ์ของแป้งข้าว สตาร์ชที่สกัดด้วยวิธีทางกายภาพ และวิธีการใช้สารละลายต่าง

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นางสาววราทิพย์ ประสิทธิ์นารายณ์
วัน เดือน ปี ที่เกิด	9 พฤษภาคม 2524
สถานที่เกิด	กรุงเทพฯ
ประวัติการศึกษา	ปริญญาตรี วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เทคโนโลยีการอาหาร) คณะเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยรังสิต
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	โครงการวิจัยทุนอุดหนุนวิจัย มก. ภายใต้ชุดโครงการวิจัย เพื่อพัฒนาหน่วยปฏิบัติการวิจัยเชี่ยวชาญเฉพาะ (SRU) สถาบันวิจัยและพัฒนา (สวพ.) ปี 2548-2549