รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

ผลของการดัดแปรสตาร์ชกล้วยด้วยวิธีรีโทรเกรเดชันต่อปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์และสมบัติทางรีโอโลยี

(Effect of Retrogradation Modification on Resistant Starch Content and Rheological Properties of Banana Starch)

ผู้วิจัย

ผศ.ดร. ปิยรัตน์ ศิริวงศ์โพศาล

ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่

อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา

สนับสนุนโครงการวิจัย โดยมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยเรื่อง "ผลของการดัดแปรสตาร์ชกล้วยด้วยวิธีรีโทรเกรเดชันต่อปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์และสมบัติทางรีโอโลยี" สามารถดำเนินการจนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ผู้วิจัยขอขอบพระคุณมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้การอนุเคราะห์สนับสนุนงบประมาณในการวิจัยภายใต้ทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดินปีงบประมาณ 2552

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการแปรรูปอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตรทุกคน ที่ให้การช่วยเหลือเกี่ยวกับการเตรียมวัตถุดิบ และจัดหาอุปกรณ์ต่าง ๆ ตลอดจนอำนวยความสะดวกในการวิจัย

ผศ. ดร.ปิยรัตน์ ศิริวงศ์ไพศาล

บทคัดย่อ

สตาร์ชกล้วยนางพญาประกอบด้วยปริมาณอะไมโลสร้อยละ 17.09 มีโครงสร้างผลึกเป็นแบบ B (B-type) โดยมีปริมาณผลึกร้อยละ 30.47 มีอุณหภูมิเริ่มเกิดเจลาทิไน--เซชันเท่ากับ 72.70°C และมีปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ในระดับสูงคือร้อยละ 60.16รูปร่างของเม็ดสตาร์ชกล้วยนางพญามีความหลากหลาย ซึ่งมีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 25.04 ไมโครเมตร ได้ทำการดัดแปรสตาร์ชกล้วยนางพญาด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชันที่อุณหภูมิ 4°C ที่ช่วงระยะเวลาการเก็บรักษา 1 – 15 วัน จากผลการศึกษาการดัดแปรสตาร์ชกล้วยนางพญาด้วยวิธีรีโทรเกรเดชัน ซึ่งสตาร์ชกล้วยก่อนการดัดแปรได้ผ่านการตัดสายกิ่งของอะมิโลเพคตินด้วยเอ็นไซม์ pullulanase ที่ระดับร้อยละ 77.09 พบว่าลักษณะทางโครงสร้างและคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของสตาร์ชกล้วยนางพญาที่ผ่านการดัดแปรขึ้นอยู่กับระยะเวลาในการเก็บรักษาขณะเกิดรีโทรเกรเดชัน โดยพบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นจาก 1 วัน เป็น 15 วัน รูปแบบโครงสร้างผลึกมีการพัฒนาจากความเป็นผลึกที่ไม่สมบูรณ์จนมีรูปแบบโครงสร้างผลึกแบบ B และพบว่าปริมาณผลึกสัดส่วนของโมเลกุลที่จัดเรียงตัวแบบเกลียวคู่ต่อส่วนอสัณฐาน และพลังงานที่ใช้ในการเกิดเจลาติไนเซชัน (ΔH) มีค่าเพิ่มขึ้น ซึ่งแสดงให้เห็นว่าโครงสร้างของสตาร์ชกล้วยมีความแข็งแรงเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น โดยส่งผลให้ความหนืดและสัมประสิทธิ์ความคงตัวของสตาร์ชเพสท์มีค่าลดลง ความแข็งแรงของเจลสตาร์ช (ค่า G' และ G_o) มีค่าเพิ่มขึ้น นอกจากนั้นพบว่าการดัดแปรสตาร์ชกล้วยด้วยวิธีรีโทรเกรเดชันที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 13 วันเป็นต้นไป ส่งผลให้ความสามารถในการถูกย่อยด้วยเอนไซม์มีค่าลดลง ขณะที่ปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์มีค่าเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับสตาร์ชกล้วยก่อนการดัดแปร และพบว่าปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์มีค่าสูงสุดเท่ากับร้อยละ 71.05 ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 15 วัน

ABSTRACT

Nang paya banana starch consisted of 17.09% amylose content, which was found in B-type crystalline pattern with 30.47% crystallinity and its initial gelatinization temperature (To) was 72.60 °C. The resistant starch content of Nang paya banana starch was very high (60.16%). The granules of Nang paya banana starch occurred in different shapes with average granular size of 25.04 μm. Nang paya banana starch was modified by retrogradation at 4°C with different storage times (1-15 days). The effect of retrogradation on structure and functional properties of Nang paya banana starch was investigated. The banana starch was debranched with pullulanase at the degree of debranching of 77.09% before retrogradation. Changes in structure and functional properties of retrograded banana starch (RBS) were found depending on storage times during starch retrogradation. An increase in storage time from 1 day to 15 days, the structure developed close to B-type crystalline pattern. In addition, the crystallinity, ratio of short-range molecular order to amorphous and the enthalpy of gelatinization (ΔH) increased with increasing storage times. This indicated that the strength of RBS structure was increased. Increasing the strength of RBS structure caused to decrease viscosity and consistency coefficient of starch paste and increase gel strength (G' and G_o) of starch. Furthermore, the susceptibility towards hydrolysis by acid and *alpha*–amylase enzyme of retrograded banana starch at storage time $\geq$ 13 days decreased, while resistant starch content increased comparing with native banana starch. The highest value of resistant starch content is 71.05% at 15 days of storage time.

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(5)
รายการตาราง	(7)
รายการภาพประกอบ	(8)
บทที่ 1 บทนำ	1
บทนำต้นเรื่อง	1
ตรวจเอกสาร	3
1. กล้วย	3
2. สตาร์ชกล้วยนางพญา	4
2.1 การสกัดสตาร์ชจากกล้วยดิบ	5
2.2 องค์ประกอบทางเคมีของสตาร์ช	6
2.3 โครงสร้างของสตาร์ช	8
3. สตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์	11
3.1 ประเภทของสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์	13
3.2 การประยุกต์ใช้สตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ในอุตสาหกรรมอาหาร	18
3.3 ประโยชน์ของสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์	20
4. สมบัติทางรีโอโลยีของสตาร์ชกล้วย	22
วัตถุประสงค์	29
บทที่ 2 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ	30
วัสดุ	30
อุปกรณ์	30
วิธีการทดลอง	32
1. การผลิตสตาร์ชกล้วยนางพญา	32
2. การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสตาร์ชกล้วยนางพญา	32
3. กาดัดแปรสตาร์ชกล้วยนางพญาด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชัน	32

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4. การศึกษาลักษณะทางโครงสร้างของสตาร์ชกล้วยนางพญา 33
5. การศึกษาคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของสตาร์ชกล้วยนางพญา 34
6. การศึกษาระดับการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ 36
7. การศึกษาระดับการถูกย่อยด้วยกรด 36
8. การศึกษาปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ 37

บทที่ 3 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง 38

1. องค์ประกอบทางเคมีและลักษณะทางโครงสร้างของสตาร์ชกล้วยนางพญา 38
   - 1.1 การผลิตสตาร์ชกล้วยนางพญา 38
   - 1.2 องค์ประกอบทางเคมีของสตาร์ชกล้วยนางพญา 38
   - 1.3 ลักษณะทางโครงสร้างของสตาร์ชกล้วยนางพญา 39
     - 1.3.1 ลักษณะรูปร่างและขนาด (granular shape and size) 39
     - 1.3.2 โครงสร้างผลึก (crystalline) 41
2. การดัดแปรสตาร์ชกล้วยนางพญาด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชัน 42
   - 2.1 ระดับการตัดสายกิ่ง 42
   - 2.2 ลักษณะทางโครงสร้าง 42
   - 2.3 คุณสมบัติเชิงหน้าที่ 48
     - 2.3.1 คุณสมบัติทางความร้อน 48
     - 2.3.2 คุณสมบัติทางรีโอโลยี 51
   - 2.4 ระดับการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ 61
   - 2.5 ระดับการถูกย่อยด้วยกรด 63
   - 2.6 ปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ 65

บทที่ 4 สรุปและข้อเสนอแนะ 67

เอกสารอ้างอิง 69

ภาคผนวก 79

รายการตาราง

Table		Page
1.	Amylose content from various bananas.	7
2.	Type of resistant starch based on the extent of digestibility in small intestine.	12
3.	Chemical compositions of Nang paya banana starch.	49
4.	Crystallinity and relative crystallinity of native and retrograded banana starches (RBS) at various storage times.	44
5.	Ratio of short-range molecular order to amorphous (RSA) and relative RSA (%) of native and retrograded banana starches (RBS) at various storage times.	46
6.	Gelatinization parameters of native and retrograded banana starches (RBS) at various storage times.	50
7.	Viscosity parameters from Rapid Visco Analyzer (RVA) of native and retrograded banana starches (RBS) at 6% (w/w).	52
8.	Consistency coefficient (k) and Flow behavior index (n) of native and retrograded banana starches (RBS) at various storage times.	54
9.	Viscoelastic parameter of native and retrograded banana starches (RBS) at concentration of 8% (w/w) and at 1 Hz.	57
10.	Creep parameters of native and retrograded banana starches (RBS) at concentration of 10% (w/w).	60
11.	Resistant starch content of native and retrograded banana starch (RBS) at various storage times.	66

รายการภาพประกอบ

Figure		Page
1.	Amylose structure.	6
2.	Amylopectin structure.	8
3.	Structure of starch granule.	10
4.	SEM micrograph (x1000) of native Nang paya banana starch.	40
5.	Particle size distribution of native Nang paya banana starch.	40
6.	Crystallinity pattern of native Nang paya banana starch.	41
7.	Crystallinity pattern of retrograded banana starches (RBS) at various storage times. Arrow denoted growing peaks at 15.17° 16.93° 23.33° (2 Theta).	43
8.	The change of the crystallinity of retrograded banana starches (RBS) at various storage times.	44
9.	Deconvoluted ATR-FTIR spectra of retrograded banana starches (RBS) at various storage times. Arrow indicated growing peaks at 1047 cm^{-1}.	46
10.	The change of absorbance ratio at wave number 1047 cm^{-1} to 1022 cm^{-1} of retrograded banana starches (RBS) at various storage times.	47
11.	Relationship of relative RSA and relative crystallinity of retrograded banana starches (RBS) at various storage times.	47
12.	Thermogram of retrograded banana starches (RBS) at various storage times.	49
13.	The change of the enthalpy of retrograded banana starches (RBS) at various storage times.	49
14.	Pasting profile at pH 7.0 of native and retrograded banana starches (RBS) at 5 and 15 days of storage times.	52
15.	Relationship of apparent viscosity and shear rate of retrograded banana starches (RBS) at 1(□), 3(△), 5(◇), 9(x), 13(○) and 15(✳) days of storage times.	54
16.	Effect of frequency on (a) G' and G" (b) of 8% starch paste for native (+) and retrograded banana starches (RBS) at 1(□), 3(△), 5(◇), 9(x), 13(○) and 15(✳) days of storage time. All samples were measured at 25°C and at 0.1-100 Hz.	56

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

page

Figure 57

17. G' value (at 1 Hz) of 8% starch paste for retrograded banana starches (RBS) at various storage times. 59

18. Creep compliance and creep recovery for native (+) and retrograded banana starches (RBS) of 10 % starch paste at 1(□), 3(△), 5(◇), 9(x), 13(○) and 15(∗) days of storage time. All samples were measured at 25°C and at 2% strain. 62

19. Enzyme hydrolysis of native (+) and retrograded banana starch (RBS) at 1(□), 3(△), 5(◇), 9(x), 13(○) and 15(∗) days of storage times. 62

20. Relationship of enzyme hydrolysis at 24 hours to various storage times of the retrograded banana starches. 63

21. Acid hydrolysis of native (+) and retrograded banana starches (RBS) at 1(□), 3(△), 5(◇), 9(x), 13(○) and 15(∗) days of storage times. 64

22. Relationship of acid hydrolysis at 12 days with various storage times of retrograded banana starches.

บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

สตาร์ชเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญในทางโภชนาการของมนุษย์ และเป็นองค์ประกอบหลักของอาหารหลายชนิด ได้แก่ ข้าว ขนมปัง ก๋วยเตี๋ยว พาสต้า ผลิตภัณฑ์เบเกอร์รี และขนมขบเคี้ยวต่าง ๆ เป็นต้น สตาร์ชที่เข้าสู่ร่างกายจะถูกย่อยเป็นน้ำตาลในลำไส้เล็กและถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือด ถ้าน้ำตาลในกระแสเลือดมีมากเกินความต้องการก็จะก่อให้เกิดโรคอ้วนได้ และมีผลต่อผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวาน สตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ (resistant starch) เป็นสตาร์ชที่ไม่สามารถถูกย่อยด้วยเอนไซม์ในลำไส้เล็กของมนุษย์ มีสมบัติเทียบเท่ากับเส้นใยอาหาร (dietary fiber) เมื่อละลายน้ำแล้วทำให้เกิดลักษณะคล้ายเจล (gel-like) ไปหุ้มโมเลกุลของสารอาหาร ซึ่งสามารถช่วยป้องกันกระเพาะว่าง และลดเวลาในการเคลื่อนผ่านของอาหารไปยังส่วนที่ย่อย ทำให้รู้สึกอิ่ม นอกจากนี้ยังช่วยลดการดูดซึมของไขมันโดยเจลที่เกิดขึ้นจะไปห่อหุ้มโมเลกุลของไขมัน จากนั้นจะผ่านมาในส่วนของลำไส้ใหญ่และถูกหมักโดยจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่ ได้เป็นกรดไขมันสายสั้นๆ และสามารถดูดซึมภายในลำไส้ใหญ่และขนส่งไปถึงตับได้ กรดไขมันที่เกิดขึ้นสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค เพิ่มปริมาณของของเหลวและปรับสภาวะความเป็นกรดด่างภายในลำไส้ใหญ่ให้ต่ำลง ซึ่งจะมีบทบาทในการป้องกันมะเร็งลำไส้ใหญ่ได้ (Alexander, 1995) นอกจากสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์จะช่วยทำให้ระบบขับถ่ายทำงานได้ดีขึ้น และลดความเสี่ยงของการเกิดโรคท้องผูก โรคริดสีดวงทวาร โรคผนังลำไส้อักเสบ ยังมีสมบัติที่เด่นกว่าเส้นใยอาหาร คือมีสมบัติบางประการที่เหมาะสมต่อการแปรรูปสามารถช่วยควบคุมลักษณะเนื้อสัมผัสของอาหาร ไม่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีและกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ และมีความทนทานระหว่างการแปรรูป จึงสามารถนำสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารต่าง ๆ ได้อย่างกว้างขวาง ทำให้สามารถเพิ่มความหลากหลายของผลิตภัณฑ์อาหารเสริมเพื่อสุขภาพได้มากขึ้น (Rahotra *et al.*, 1996)

สตาร์ชกล้วยเป็นสตาร์ชที่มีเม็ดแกรนูลขนาดใหญ่และทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ได้เองโดยธรรมชาติ (resistant granule starch, RS type 2) เนื่องจากสตาร์ชกล้วยมีขนาดของเม็ดสตาร์ชใหญ่ มีชั้นผิวนอกของเม็ดแกรนูลที่หนา ทำให้เม็ดแป้งไม่มีรูหรือช่องเปิดให้เอนไซม์เข้าไปในเม็ดแป้ง จึงทำให้ขัดขวางและป้องกันการย่อยด้วยเอนไซม์ได้ดี (Zhang *et al.*, 2005) กล้วยนางพญา [Musa *sp.* (AAB group)] เป็นกล้วยท้องถิ่นของภาคใต้ พบได้มากที่สามจังหวัดชายแดนภาคใต้ ได้แก่ จังหวัดสงขลา ยะลา และปัตตานี และเป็นพืชที่ให้ผลผลิตได้ตลอดปี จึงทำให้ง่ายต่อ

การส่งเสริมการปลูกหากต้องการผลผลิตเพิ่ม นอกจากนั้นกล้วยดิบยังมีสรรพคุณแก้อาการท้องเสียได้ โดยมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย ที่เป็นสาเหตุอาการท้องเสีย เช่น *Escherichia coli, Bacillus subtilis* และแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคไทฟอยด์ เป็นต้น (Ko R, 1917) ซึ่งสารสำคัญในการออกฤทธิ์แก้อาการท้องเสียคือสารแทนนิน ซึ่งมีฤทธิ์ฝาด นอกจากนั้นยังพบว่าแป้งจากผลกล้วยสามารถป้องกันการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร โดยแป้งจากผลกล้วยจะออกฤทธิ์สมานแผลและเพิ่มความแข็งแรงของเนื้อเยื่อเมือก (Goel *et al.*, 1986; Mukhopadhayaya *et al.*, 1987) และเร่งการแบ่งตัวของเซลล์ และมีผลต่อกระบวนการสร้าง macrophage cell ส่งผลไปถึงการรักษาแผลในกระเพาะ (Chattopadhayay *et al.*, 1987)

จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้น พบว่าสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์จากกล้วยมีประโยชน์ทั้งทางด้านโภชนาการ และมีความเป็นไปได้สูงในการนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมสุขภาพต่างๆ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะศึกษาปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์และสมบัติทางรีโอโลยีของสตาร์ชจากกล้วยพันธุ์พื้นเมืองภาคใต้ (กล้วยนางพญา) และศึกษาถึงผลของการดัดแปรด้วยวิธีรีโทรเกรเดชันต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ และสมบัติทางรีโอโลยี

ตรวจเอกสาร

1. กล้วย

กล้วยที่มีปลูกกันอยู่ในปัจจุบัน มีถิ่นกำเนิดอยู่ทางเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ซึ่งประเทศไทยอยู่ในเขตพื้นที่ที่เหมาะแก่การเพาะปลูกกล้วย และให้ผลผลิตมากในแถบเอเชีย โดยทุกภาคของประเทศไทยสามารถปลูกกล้วยได้ แม้ว่าประวัติความเป็นมาของกล้วยจะไม่แพร่หลายมากนักในสมัยนั้น แต่ก็เป็นที่รู้จักกันว่ากล้วยเป็นผลไม้ชนิดแรกที่คนปลูกเพื่อเป็นอาหาร ประชาชนในแถบนี้ได้ใช้ประโยชน์ของกล้วยมาเป็นเวลานาน ใบของกล้วยนำเอามาใช้ห่อหรือสกัดเอาเส้นใยที่เป็นประโยชน์ และผลของกล้วยที่นำมารับประทาน เป็นพันธุ์ที่เกิดขึ้นจากการกลายพันธุ์มาจากกล้วยป่าซึ่งมีรสหวาน ต่อมาได้มีการคัดเลือกและปรับปรุงให้ได้พันธุ์ที่ดีขึ้นเรื่อยๆ โดยใช้หน่อในการขยายพันธุ์สืบต่อกันมา

1.1 สายพันธุ์กล้วย

กล้วยเป็นไม้ล้มลุกขนาดใหญ่มีอายุหลายปี อยู่ในตระกูล Musaceae เมื่อโตเต็มที่อาจจะมีความสูง 2-9 เมตร ลำต้นที่แท้จริงของกล้วยเกิดเป็นเหง้าอยู่ใต้ดิน ส่วนลำต้นที่มองเห็นเป็นลำต้นเทียม ประกอบไปด้วยกาบใบที่อัดกันแน่น ทางพุ่มส่วนบนของลำต้นประกอบด้วยใบและช่อดอกที่เกิดมาจากจุดเจริญของเหง้า ภายในลำต้นเทียมจะมีท่อลำเลียงน้ำเต็มไปด้วยน้ำยางตลอดทุกส่วนของลำต้น ยางมีลักษณะเป็นกรดอ่อนและมีรสฝาด

กล้วยที่ปลูกกันมากอยู่ในวงศ์ Musaceae แบ่งออกเป็น 2 สกุลตามลักษณะการแตกกอ คือ *Musa* (กล้วยแตกกอ) ได้แก่กล้วยที่มีการปลูกอยู่ทั่วๆไปในปัจจุบัน มีการแตกกอหรือแตกหน่อ ผลสามารถนำมาใช้เป็นอาหารและรับประทานได้ และ *Ensete* (กล้วยไม่แตกกอ) จะขึ้นเป็นลำต้นเดี่ยวๆ มีอายุประมาณ 2 ปี หรือมากกว่า ผลรับประทานไม่ได้ เมื่อให้เมล็ดแล้วต้นจะตายไป ใช้ทำแป้งหรือเอาเส้นใย โดย Musa เป็นสกุลที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ

กล้วยมีอยู่หลายชนิด จึงมีชื่อเรียกกันมากมาย อย่างไรก็ตาม นักวิทยาศาสตร์ได้แบ่งกลุ่มกล้วยไว้เป็น 5 กลุ่มใหญ่ ดังนี้

1.) กล้วยป่าออร์นาตา (wild ornate: Musa ornata) กล้วยป่าในกลุ่มนี้ปลูกกันในประเทศไทยแถบทางเหนือ ซึ่งนิยมเรียกว่ากล้วยบัว หรืออาจเรียกชื่อพ้องว่า กล้วยป่า

2.) กล้วยป่าอะคิวมินาตา (wild acuminata: Musa acuminata) กล้วยป่าในกลุ่มนี้มีอยู่ด้วยกัน 5 ชนิด ได้แก่ malaccencis microcarpa seamea banksii และ burmanica มีอยู่แพร่หลายในประเทศไทย อาจเรียกชื่อพ้องว่า กล้วยทอง (สงขลา) กล้วยแข (แพร่ อุตรดิตถ์ และลำปาง)

3.) กล้วยป่าบาลบิเซียนา (wild balbisiana : Musa balbis) กล้วยป่าในกลุ่มนี้นิยมเรียกชื่อว่ากล้วยตานี หรืออาจเรียกชื่อพ้องว่า กล้วยพองลา (นครศรีธรรมราช) กล้วยป่า (แพร่ ,ลำปาง) มีอยู่แพร่หลายทั่วประเทศไทย

4.) กล้วยในสายพันธุ์อะคิวมินาตา (acuminate cultivars) กล้วยที่อยู่ในกลุ่มนี้มีหลายพันธุ์ได้แก่ กล้วยเล็บมือนาง กล้วยไข่ กล้วยหอม

5.) กล้วยลูกผสมอะคิวมินาตากับบาลบิเซียนา (acuminate balbisiana) พันธุ์กล้วยในกลุ่มนี้ได้แก่ กล้วยลังกา กล้วยหักมุก กล้วยน้ำว้า กล้วยนางพญา

กล้วยที่ปลูกรับประทานผลมี 2 ประเภท คือ กล้วยที่รับประทานผลสดเมื่อสุก กล้วยชนิดนี้รสหอมหวาน เรียกว่า banana บางทีเรียก sweet banana หรือ dessert banana หรือ table banana เช่น กล้วยน้ำว้า กล้วยหอม และอีกประเภทเป็นกล้วยที่รับประทานผลสุกหลังจากที่นำไปต้มหรือเผาไฟเสียก่อน กล้วยชนิดนี้ผลสดเมื่อสุกจะกระด้าง รสค่อนข้างจืด ไม่หวาน รับประทานไม่อร่อย เรียกว่า plantain หรือ cooking banana เช่นกล้วยหักมุก กล้วยกล้าย (โชติ สุวัตถิ, 2505) โดยพันธุ์กล้วยที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้คือ กล้วยนางพญา

2. สตาร์ชกล้วยนางพญา

กล้วยนางพญามีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า [*Musa* (AAB Group) 'Kluai Nang Paya'] เป็นกล้วยท้องถิ่นของภาคใต้ พบได้มากที่จังหวัดสงขลา มีลักษณะทั่วไปคือ ลำต้นเทียมสูงประมาณ 2.5-3.5 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลางมากกว่า 15 เซนติเมตร ลำต้นมีสีเขียวประดับปานกลาง กาบลำต้นด้านในมีสีขาวปนชมพู ก้านใบสีเขียวปนชมพู มีปีก เส้นกลางใบสีเขียว เครือออกทางด้านข้างขนานกับพื้นดิน ก้านเครือไม่มีขน ดอกตัวผู้ห้อยลง ใบประดับรูปไข่ค่อนข้างป้อม ปลายแหลม ใบประดับม้วนขึ้น ใบประดับมีสีม่วงเข้มอมเทา ด้านในสีแดง เครือหนึ่งมีประมาณ 7-8 หวี หนึ่งหวีมีประมาณ 12-14 ผล ผลมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3.5 เซนติเมตร ผลสุกสีเหลืองอมส้ม เนื้อสีเหลืองอมส้ม เนื้อแน่นเหมาะสำหรับทำขนม เช่น กล้วยบวชชี ข้าวต้มมัด เป็นต้น (เบญจมาศ ศิลาย้อย, 2545)

2.1 การสกัดสตาร์ชจากกล้วยดิบ

เนื่องจากกล้วยดิบมีสตาร์ชเป็นองค์ประกอบอยู่มากถึง 15% ของกล้วยทั้งผล (Simmond, 1966) จึงมีผู้สนใจการนำสตาร์ชจากกล้วยดิบมาใช้ประโยชน์ ซึ่งพบว่าสามารถทำได้ 2 วิธีคือการสกัดสตาร์ชโดยผลิตแป้ง (flour) ก่อนการสกัดเป็นสตาร์ช และการสกัดสตาร์ชจากผลกล้วยดิบโดยตรง

2.1.1 การสกัดสตาร์ชจากการผลิตแป้ง (flour) ก่อนการสกัดเป็นสตาร์ช

เป็นการสกัดสตาร์ชจากผลกล้วยดิบ โดยผลิตเป็นแป้งก่อนนำไปสกัดเป็นสตาร์ช Varavinit and Shobsngob (1996) ได้ทำการทดลองสกัดสตาร์ชจากกล้วยน้ำว้า โดยนำกล้วยไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ 0°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อป้องกันการเกิดสีน้ำตาลในแป้ง หลังจากนั้นนำมาละลายน้ำแข็งที่อุณหภูมิห้อง แล้วตัดเป็นชิ้นเล็กๆอบแห้งที่อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำมาบดให้เป็นผงและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 80 mesh จะได้เป็นแป้งกล้วย (banana flour) ที่มีปริมาณโปรตีนประมาณ 2% หลังจากนั้นจึงนำแป้งกล้วยมาละลายใน 0.3% NaOH เพื่อสกัดสตาร์ชจากนั้นแยกสตาร์ชด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง แล้วนำสตาร์ชมาละลายน้ำ ปรับ pH ให้ได้ 6.0-6.5 ด้วยสารละลายเจือจาง HCl ก่อนนำไปหมุนเหวี่ยง แยกเอาสตาร์ชไปทำแห้งที่อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาบดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 100 mesh จะได้สตาร์ชจากกล้วยที่มีปริมาณโปรตีนน้อยกว่า 0.4 %

2.1.2 การสกัดสตาร์ชจากผลกล้วยดิบโดยตรง มีผู้ทำการวิจัยไว้หลายท่านดังนี้

Lii และคณะ (1982) ได้ทำการสกัดสตาร์ชจากกล้วยดิบในประเทศไต้หวันในระดับห้องปฏิบัติการ โดยใช้สารละลาย 0.05 N NaOH ในการสกัดสตาร์ชจากกล้วย เพื่อนำมาศึกษาสมบัติทางเคมีและกายภาพ ซึ่งต่อมา Chiang และคณะ (1987) ได้ทำการสกัดสตาร์ชจากกล้วยดิบในกลุ่ม ABB ในโรงงานต้นแบบ พบว่าการจุ่มกล้วยดิบทั้งเปลือกในน้ำร้อนที่มีอุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 5-6 นาที จะทำให้การปอกเปลือกง่ายขึ้น และการบดเนื้อกล้วยกับสารละลายที่อุณหภูมิต่ำ จะช่วยลดความหนืดของสารละลายแป้ง และยังพบว่าการใช้สารละลาย 0.05 N NaOH ในการบดผสมกับเนื้อกล้วยแล้วทิ้งไว้ข้ามคืนก่อนกรองจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดสตาร์ช นอกจากนี้การนำกากที่ได้จากครั้งแรกมาบดและกรองซ้ำอีกครั้ง จะช่วยเพิ่มปริมาณผลผลิตสตาร์ชจาก 46% เป็น 70% โดยน้ำหนักแห้ง

Bello-Perez และคณะ (1998) ได้สกัดสตาร์ชจากกล้วยดิบ โดยนำเนื้อกล้วยที่หั่นแล้ว 500 กรัม มาแช่ในสารละลายโซเดียมซัลไฟต์ความเข้มข้น 1.22 gm/l ปริมาณ 500 gm แล้วบดเนื้อกล้วยกับสารละลายและกรองผ่านตะแกรงเพื่อล้างทำความสะอาดสตาร์ชก่อนนำไปหมุนเหวี่ยง เอาสตาร์ชที่ได้ไปอบแห้งที่ อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมาบดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 100 mesh จะได้สตาร์ชจากกล้วย เพื่อนำไปใช้ศึกษาสมบัติทางเคมีและกายภาพเปรียบเทียบกับสตาร์ชที่สกัดได้จาก Amaranth

Fichtali และคณะ (1999) ได้คิดค้นและจดสิทธิบัตรวิธีการสกัดสตาร์ชจากกล้วยดิบที่ไม่ปอกเปลือก ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้ทางการค้า โดยใช้การบดกล้วยที่ยังไม่ปอกเปลือกกับสารละลาย NaOH ที่มีความเข้มข้นต่ำกว่า 0.15 N ในอัตราส่วนกล้วยต่อสารละลายเป็น 1:2 ถึง 1:4 ทิ้งไว้อย่างน้อย 1 ชั่วโมง กรองแยกกากด้วยตะแกรงขนาด 30-400 mesh เพื่อล้างสตาร์ชซ้ำ 2-6 ครั้ง แล้วนำไปหมุนเหวี่ยง แยกสตาร์ชที่ได้ไปทำแห้ง จะได้สตาร์ชกล้วยที่มีสีขาว ความบริสุทธิ์มากกว่า 95% ปริมาณโปรตีนน้อยกว่า 1% ปริมาณเถ้าน้อยกว่า 0.07%

2.2 องค์ประกอบทางเคมีของสตาร์ช

สตาร์ชเป็นคาร์โบไฮเดรตที่ประกอบด้วยคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน มีสูตรเคมีโดยทั่วไปคือ $(C_6H_{10}O_5)_n$ สตาร์ชเป็นพอลิเมอร์ของกลูโคสซึ่งประกอบด้วยหน่วยของน้ำตาลกลูโคสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะกลูโคซิดิก (glucosidic linkage) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 1 ทางตอนปลายของสายพอลิเมอร์มีหน่วยกลูโคสที่มีหมู่แอลดีไฮด์ (aldehyde group) เรียกว่าปลายรีดิวซิง ประกอบด้วยพอลิเมอร์ 2 ชนิด คืออะมิโลสและอะมิโลเพคติน

2.2.1 อะมิโลส (amylose)

อะมิโลสเป็นพอลิเมอร์เชิงเส้นที่ประกอบด้วยกลูโคสประมาณ 2000 หน่วย เชื่อมต่อกันด้วยพันธะกลูโคซิดิกชนิด *alpha*-1,4 ดัง Figure 1

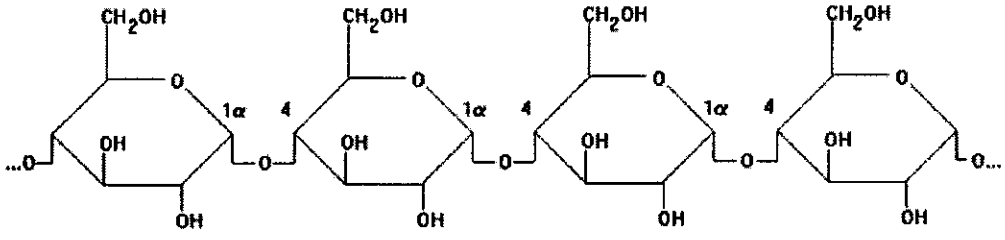

Figure 1. Amylose structure

ที่มา : Caplin (2004)

ได้มีการรายงานปริมาณอะมิโลสในสตาร์ชกล้วยไว้แตกต่างกันขึ้นกับชนิดของพันธุ์กล้วย แสดงดัง Table 1 ดังนี้ Kayisu และ Hood (1981) พบปริมาณอะมิโลสในสตาร์ชกล้วย 16 % Ling และคณะ (1982) พบปริมาณอะมิโลสในสตาร์ชกล้วย Cavendish 19.5 % Garcia และ Lajolo (1988) พบปริมาณอะมิโลสในสตาร์ชกล้วย 17 % Waliszeweki และคณะ (2003) พบปริมาณอะมิโลสในสตาร์ชกล้วย Valery 40.7% Eggleston และคณะ (1992) ได้รายงานปริมาณอะมิโลสในสตาร์ชกล้วย plantains อยู่ในช่วง 10-11 % Siriwong และคณะ (2003) ได้ทำการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสตาร์ชกล้วย 3 สายพันธุ์ คือ สตาร์ชกล้วยหักมุก สตาร์ชกล้วยน้ำว้าค่อม และสตาร์ชกล้วยตานี พบว่ามีปริมาณอะมิโลส 30.94%, 31.98% และ 31.92% ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่าสตาร์ชจากกล้วยพื้นบ้านของไทยมีปริมาณอะมิโลส ค่อนข้างสูง

Table 1. Amylose content from various bananas.

พันธุ์กล้วย	ปริมาณอะมิโลส(%)	ที่มา
กล้วยเขียว Valery	16	Kayisu และHood (1981)
กล้วยเขียว Valery	40.7	Waliszeweki และคณะ (2003)
กล้วยเขียว Cavendish	19.5	Ling และคณะ(1982)
กล้วยน้ำว้าค่อม	31.98	Siriwong และคณะ (2003)
กล้วยตานี	31.92	Siriwong และคณะ (2003)
กล้วยหักมุก	30.94	Siriwong และคณะ (2003)

2.2.2 อะมิโลเพกติน (amylopectin)

อะมิโลเพกตินเป็นพอลิเมอร์เชิงกิ่งของกลูโคส ส่วนที่เป็นเส้นตรงของกลูโคสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะกลูโคซิดิกชนิด *alpha*-1,4 ส่วนที่เป็นกิ่งสาขาเป็นพอลิเมอร์ของกลูโคสสายสั้น มีขนาดโมเลกุล (DP) อยู่ในช่วง 10-60 หน่วย เชื่อมต่อกันด้วยพันธะกลูโคซิดิกชนิด *alpha*-1,6 ดัง Figure 2

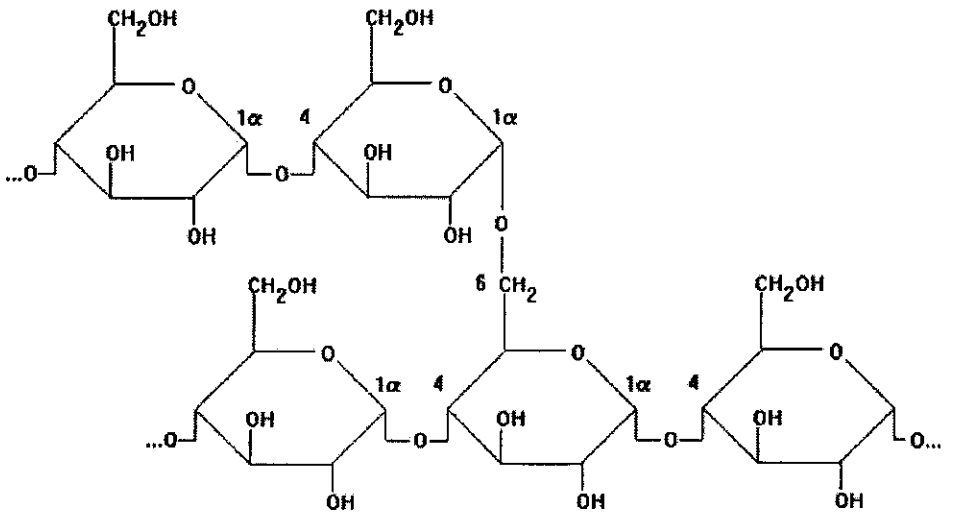

Figure 2. Amylopectin structure

ที่มา : Caplin (2004)

หน่วยของกลูโคสที่มีพันธะกลูโคซิดิกชนิด *alpha*-1,6 มีอยู่ประมาณ 5-6 % ของปริมาณกลูโคสทั้งหมด อะมิโลเพคตินมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 1000 เท่าของอะมิโลส และมีอัตราในการคืนตัวต่ำเนื่องจากอะมิโลเพคตินมีโครงสร้างแบบกิ่งประกอบด้วยสายโซ่ 3 ชนิด ดังนี้

1) สาย A (A-chain) เชื่อมต่อกับสายอื่นที่ตำแหน่งเดียว ไม่มีกิ่งเชื่อมออกจากสายชนิดนี้ (unbranched structure)

2) สาย B (B-chain) มีโครงสร้างแบบกิ่งเชื่อมต่อกับสายอื่นๆ 2 สาย หรือมากกว่า ซึ่งโครงสร้างอะมิโลเพคตินประกอบด้วยสาย A และสาย B ในอัตราส่วน 1:1

3) สาย C (C-chain) โครงสร้างแบบแกน ซึ่งประกอบด้วยหมู่รีดิวซิ่ง หมู่ในอะมิโลเพคตินแต่ละโมเลกุล ประกอบด้วยสาย C หนึ่งสายเท่านั้น

2.3 โครงสร้างของสตาร์ช

2.3.1 ขนาดและรูปร่างของเม็ดสตาร์ชกล้วย

เมื่อพืชสังเคราะห์แสงได้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวแล้ว จะมีกระบวนการลำเลียงน้ำตาลเหล่านั้นมาสู่ส่วนที่จะเก็บไว้เป็นพลังงาน โดยจะรวมน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวเหล่านั้นเป็นพอลิเมอร์ที่มีโมเลกุลใหญ่ และเก็บไว้ในลักษณะกลุ่มก้อนที่เรียกว่า “เม็ดสตาร์ช” สตาร์ชต่างชนิดกันมีลักษณะของเม็ดสตาร์ชแตกต่างกัน ขนาดและรูปร่างจะแปรผันตั้งแต่เม็ดสตาร์ชที่มีขนาดเล็ก รูปร่างหลายมุม เช่น สตาร์ชข้าวเจ้า ไปจนถึงเม็ดสตาร์ชที่มีรูร่างเป็นรูปไข่มีขนาดใหญ่ เช่น สตาร์ชมันฝรั่ง เป็นต้น โดยทั่วไปแล้วขนาดและรูปร่างของเม็ดสตาร์ชที่สกัดได้จากกล้วย cooking banana และกล้วย

กล้ายที่ดิบ มีขนาดที่แตกต่างกัน ซึ่งเม็ดสตาร์ชกล้วย cooking banana มีขนาด 3.9-76.4 ไมโครเมตร และกล้วยกล้ายมีขนาด 7.8-61.3 ไมโครเมตร แต่รูปร่างของเม็ดสตาร์ชทั้งสองชนิดเป็นรูปไข่ที่เรียวยาวไม่สม่ำเสมอ (Eggleston *et al.*, 1992)

Kayisu และ Hood (1981) ทำการศึกษาลักษณะโครงสร้างของสตาร์ชกล้วยสายพันธุ์ Valery ด้วยกล้อง Scanning Electron Microscope (SEM) พบว่าสตาร์ชกล้วยมีลักษณะหลากหลาย คือ มีรูปร่างทรงกลม (spheroid) และแท่งยาว (elongated) โดยรูปร่างทรงกลมมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 15-40 μm และรูปแท่งยาวมีความกว้าง 5-25 ไมโครเมตร และยาว 20-25 ไมโครเมตร พื้นผิวของเม็ดสตาร์ชจากกล้วยดิบ มีลักษณะเรียบ ในขณะที่เม็ดสตาร์ชจากกล้วยสุกจะมีลักษณะเป็นริ้วๆ ซึ่งเกิดจากการทำงานของเอนไซม์อะมิเลส (amylase)

2.3.2 โครงสร้างผลึกของสตาร์ชกล้วย

เม็ดสตาร์ชมีลักษณะโครงสร้างแบบกึ่งผลึก (semi-crystalline) มีบริเวณส่วนที่เป็นผลึก (crystalline) และบริเวณส่วนที่เป็นอสัณฐาน(amorphous) โดยมีโมเลกุลของอะมิโลสและอะมิโลเพกติน จัดเรียงตัวในเม็ดสตาร์ชเป็นโครงสร้างทั้งส่วนที่เป็นผลึกหรือรวมตัวกันแน่น (crystalline) และส่วนอสัณฐานหรือส่วนที่รวมตัวกันอย่างหลวมๆ (amorphous) ส่วนสายโซ่สั้นของอะมิโลเพกตินจะจัดเรียงตัวในลักษณะสายเกลียวคู่ (double helix) ซึ่งบางส่วนจะเกิดเป็นโครงสร้างที่เป็นผลึก ส่วนอสัณฐานของเม็ดสตาร์ชจะประกอบด้วยโมเลกุลของอะมิโลส และสายโซ่ยาวของอะมิโลเพกติน ดัง Figure 3 เม็ดสตาร์ชจะมีโครงสร้างผลึก 3 แบบขึ้นอยู่กับความหนาแน่นในการจัดเรียงตัวของเกลียวคู่ ถ้าการจัดเรียงตัวหนาแน่นมากจะเกิดผลึกแบบ A (สตาร์ชจากธัญพืช) ถ้าเรียงตัวกันหลวมๆ จะเกิดผลึกแบบ B (สตาร์ชจากพืชหัว) ถ้าการจัดเรียงตัวแบบ A และ B รวมกันจัดเป็นผลึกแบบ C (สตาร์ชจากพืชตระกูลถั่ว) ซึ่งสามารถตรวจสอบชนิดของโครงสร้างผลึกและปริมาณผลึกได้โดยเทคนิครังสีเอ็กซ์เรย์ (X-ray diffraction)

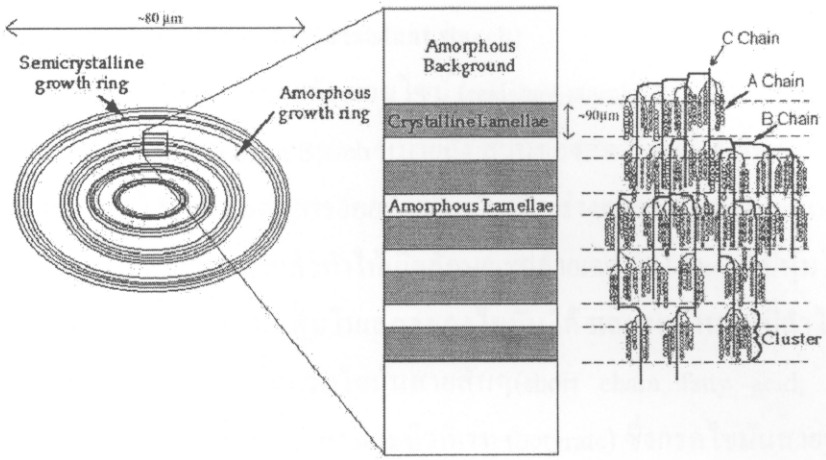

Figure 3. Structure of starch granule

ที่มา : Jenkins และ คณะ (1994)

Siriwong และคณะ (2003) ได้ทำการศึกษาโครงสร้างผลึกของสตาร์ชกล้วยพื้นบ้านของไทยคือ สตาร์ชจากกล้วยหักมุก สตาร์ชกล้วยน้ำว้าค่อมและสตาร์ชจากกล้วยตานีพบว่าสตาร์ชกล้วยหักมุก และสตาร์ชกล้วยน้ำว้าค่อม มีรูปแบบโครงสร้างผลึกแบบ B เนื่องจากปรากฏพีคที่เด่นชัดมาก (strong peak) ที่ d-spacing 5.16 ^{o}A และปรากฏ พีคที่เด่นชัดปานกลาง (medium peak) ที่ d-spacing 15.8 , 4.90 , 3.70 ^{o}A ในขณะที่สตาร์ชกล้วยตานีมีรูปแบบโครงสร้างผลึกแบบ C เนื่องจากปรากฏพีคที่เด่นชัดมาก ที่มุม (2 Theta) 5.79 และ 5.12 ^{o}A และพีคที่เด่นชัดปานกลาง ที่มุม (2 Theta) 4.61 และ3.82 ^{o}A

Bello-Perez และคณะ (1999) ได้ทำการศึกษาสตาร์ชจากกล้วยในรัฐ Guerrero ประเทศเมกซิโก สายพันธุ์ macho และ criollo ด้วยเครื่อง X-ray diffractometer พบว่ามีรูปแบบโครงสร้างผลึกแบบ A ซึ่งโดยทั่วไปแล้วรูปแบบโครงสร้างผลึกแบบ A เป็นสตาร์ชที่ได้จากธัญพืช ส่วน Lii และคณะ (1982) พบว่ามีรูปแบบโครงสร้างผลึกแบบ B ในขณะที่ Jane และคณะ (1997) พบว่าสตาร์ช กล้วยมีรูปแบบโครงสร้างผลึกแบบ C ซึ่ง Zobel (1998) ได้เสนอว่าลักษณะรูปแบบโครงสร้างผลึกที่ตรวจวัดด้วยเครื่อง X-ray diffractometer ของสตาร์ชกล้วยอาจมีความแตกต่างกันได้ เนื่องจากกล้วยมีความหลากหลายของสายพันธุ์มาก ดังนั้นจะต้องมีการศึกษาด้วยเอนไซม์เพิ่มเติม เพื่อช่วยสนับสนุนผลของลักษณะโครงสร้างผลึกที่ได้จากการตรวจวัดด้วยเครื่อง X-ray diffractometer

3. สตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ (resistant starch)

สตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ (resistant starch) ตามคำนิยามของ European FLAIR Concerted Action on Resistant Starch หมายถึง ส่วนของสตาร์ชหรือผลิตภัณฑ์จากสตาร์ชที่ไม่สามารถถูกย่อยในลำไส้เล็ก ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ในร่างกาย มีสมบัติเทียบเท่ากับเส้นใยอาหาร (dietary fiber) เมื่อละลายน้ำแล้วทำให้เกิดลักษณะคล้ายเจล (gel-like) ไปหุ้มโมเลกุลของสารอาหาร โดยเจลที่เกิดขึ้นจะไปห่อหุ้มโมเลกุลของไขมันได้ และจะผ่านไปที่ลำไส้ใหญ่ เกิดกระบวนการหมักโดยจุลินทรีย์ได้เป็นกรดไขมันสายสั้นๆ(short chain fatty acid; SCFA) เช่น แอซิเตท (acetate) โพรพิโอเนท (propionate) และบิวทิเรท (butyrate) ซึ่งกรดไขมันสายสั้นๆเหล่านี้มีประโยชน์ต่อสุขภาพ โดยไปยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค เพิ่มปริมาณของของเหลวและปรับภาวะความเป็นกรด/ด่างภายในลำไส้ใหญ่ให้ต่ำลง ซึ่งมีผลในการป้องกันมะเร็งลำไส้ใหญ่ได้ (Alexander, 1995) โดยเฉพาะบิวทิเรท (butyrate) ช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดมะเร็ง ยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์ โดยมีอิทธิพลต่อการตายของเซลล์ (apoptosis) เนื้องอก รวมทั้งความเป็นพิษของสารที่ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ เช่น ไนโตรซาไมด์ และไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ในเซลล์ลำไส้คนก็สามารถถูกยับยั้งได้โดยบิวทิเรท นอกจากนี้สตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ยังมีสมบัติเทียบเท่ากับเส้นใยอาหาร (fiber) แต่มีลักษณะบางอย่างที่เด่นกว่า คือมีสมบัติบางประการที่เหมาะสมต่อการแปรรูป สามารถช่วยควบคุมลักษณะเนื้อสัมผัสของอาหาร ไม่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีและกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ และมีความทนทานระหว่างการแปรรูป จึงสามารถนำสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ไปประยุกต์ใช้ผลิตภัณฑ์อาหารต่างๆ ได้อย่างกว้างขวาง และเมื่อพิจารณาตามความสามารถในการถูกย่อย สามารถแบ่งประเภทของสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ได้ดัง Table 2 นอกจากนั้นยังสามารถแบ่งกลุ่มปริมาณของสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ที่พบในผลิตภัณฑ์ต่างๆ ได้เป็น 5 กลุ่มดังนี้ (Goni *et al.*, 1995)

1. กลุ่มที่มีปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์เพียงเล็กน้อย (negligible) คือมีปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ น้อยกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 1 เช่น แป้งสาลี (wheat flour) พาสต้า (pasta) อาหารเช้าที่มีส่วนประกอบของถั่ว มันฝรั่งและข้าวที่ผ่านการต้มขณะร้อน

2. กลุ่มที่มีปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ต่ำ (low) คือมีปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ อยู่ในช่วงร้อยละ 1-2.5 เช่น บิสกิต ขนมปัง พาสต้า มันฝรั่งและข้าวที่ผ่านการต้มแล้วทำให้เย็น

3. กลุ่มที่มีปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ปานกลาง (intermediate) คือมีปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ อยู่ในช่วงร้อยละ 2.5-5 เช่น มันฝรั่งทอด ถั่วที่ผ่านการเอกซ์ทรูด

4. กลุ่มที่มีปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์สูง (high) คือมีปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ อยู่ในช่วงร้อยละ 5-15 เช่น ถั่ว (peas) ข้าวดิบ สตาร์ชที่ผ่านการเกิดรีโทรเกรเดชัน

5. กลุ่มที่มีปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์สูงมาก (vary high) คือมีปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์มากกว่าร้อยละ 15 เช่น มันฝรั่งดิบ ถั่ว ข้าวโพดข้าวเหนียว กล้วยดิบ

Table 2. Type of resistant starch based on the extent of digestibility in small intestine.

Type of resistant starch	Occurrence	Digestibility in small intestine
สตาร์ชที่สามารถถูกย่อยได้อย่างรวดเร็ว (Rapidly digestible starch; RDS)	อาหารที่มีส่วนประกอบของแป้งเมื่อผ่านการหุงต้มใหม่ๆ	สามารถถูกย่อยสลายได้อย่างรวดเร็ว ไปเป็นน้ำตาลกลูโคสภายใน 20 นาที
สตาร์ชที่สามารถถูกย่อยได้อย่างช้าๆ (Slowly digestible starch; SDS)	แป้งจากธัญชาติดิบ ผลิตภัณฑ์เส้นที่ทำสุกแล้ว	สามารถถูกย่อยสลายได้อย่างช้าๆ ไปเป็นน้ำตาลกลูโคสได้อย่างสมบูรณ์ โดยใช้เวลาตั้งแต่ 20 ถึง 110 นาที
สตาร์ชที่ไม่สามารถถูกย่อยได้ด้วยเอนไซม์ (Enzyme-resistant starch; RS)	เมล็ดธัญพืชที่ถูกบด หรือแป้งที่เกิดการคืนตัว	ทนต่อการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ในลำไส้เล็ก

ที่มา : Enlyst และ Hudson (1996)

3.1 ประเภทของสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ (resistant starch)

สตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์สามารถแบ่งเป็น 4 ชนิด (Sajilata *et al.*, 2006)

3.1.1 physically inaccessible starch (RS type 1)

สตาร์ชที่เม็ดแป้งถูกห่อหุ้มอยู่ภายในร่างแหโปรตีน หรือถูกตรึงอยู่ภายในเซลล์หุ้มเมล็ดพืช ทำให้สตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์เกิดขึ้นได้เองตามธรรมชาติ พบสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ชนิดนี้ในโครงสร้างของพืชที่ถูกทำลายไปบางส่วน เช่น ถั่วหรือเมล็ดธัญพืชที่ผ่านการโม่บด โดยเหลือส่วนของเม็ดแป้งติดอยู่กับผนังเซลล์ อาหารที่ทำจากสตาร์ชชนิดนี้ทนต่อความร้อนในการทำอาหารปกติและสามารถใช้เป็นส่วนผสมในอาหารได้หลากหลาย

3.1.2 resistant granular starch (RS type 2)

สตาร์ชที่เม็ดแป้งมีสมบัติทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ตามลักษณะของโครงสร้างที่เป็นธรรมชาติของเม็ดแป้งที่ไม่มีรูหรือช่องเปิดให้เอนไซม์เข้าไปในเม็ดแป้ง ซึ่งมีลักษณะรวมตัวกันหนาแน่นในแนวแผ่รัศมี จึงทำให้โครงสร้างมีข้อจำกัด ยากต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ พบได้ในสตาร์ชกล้วย สตาร์ชมันฝรั่ง หรือสตาร์ชที่ได้จากการดัดแปรทางพันธุกรรม เช่น สตาร์ชข้าวโพดสายพันธุ์ที่มีปริมาณอะมิโลสสูง เป็นต้น

Gallant และคณะ (1992) พบว่าสตาร์ชกล้วยดิบสามารถทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ได้เองโดยธรรมชาติ จากการสังเกตด้วยกล้องจุลทรรศน์ซึ่งพบว่าสตาร์ชกล้วยดิบมีชั้นผิวนอกของเม็ดแกรนูลที่หนา ทำให้เม็ดแป้งไม่มีรูหรือช่องเปิดให้เอนไซม์เข้าไปในเม็ดแป้ง จึงทำให้ขัดขวางและป้องกันการย่อยด้วยเอนไซม์ได้ดี จากการศึกษาของ Englyst และ Cummings (1986) พบว่าปริมาณสตาร์ชกล้วยที่ไม่สามารถถูกย่อยและดูดซับในลำไส้เล็ก แต่จะผ่านไปในส่วนของลำไส้ใหญ่ และถูกขับถ่ายออกไปมีปริมาณร้อยละ 90

3.1.2.1 การเพิ่มปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ (RS type 2) โดยวิธีการดัดแปรด้วยวิธีความร้อนชื้น (heat moisture treatment)

การดัดแปรสตาร์ชด้วยวิธีความร้อนชื้น (heat moisture treatment) เป็นอีกวิธีหนึ่งที่ช่วยเพิ่มปริมาณ RS type 2 โดยทำให้การจัดเรียงตัวบริเวณส่วนที่เป็นผลึกมีระเบียบมากขึ้นและ/หรือช่วยเพิ่มส่วนที่เป็นผลึกของสตาร์ช โดยเริ่มจากการเคลื่อนที่ของบริเวณส่วนที่เป็นอสัณฐาน วิธีนี้จะมีประสิทธิภาพเมื่ออุณหภูมิที่ใช้ในการดัดแปรสูงกว่าอุณหภูมิ glass transition (T_g) ของส่วนประกอบที่เป็นอสัณฐาน ดังนั้นการดัดแปรด้วยวิธีความร้อนชื้น จะเกิดขึ้นเมื่อองค์ประกอบของพอลิเมอร์ของบริเวณอสัณฐาน ภายในเม็ดแป้งอยู่ในสถานะที่เป็น rubbery หรือ mobile state เท่านั้น

ปริมาณน้ำเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการเกิดสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ การให้ความร้อน/ความชื้น ทำให้ความสามารถในการย่อยของเอนไซม์ pancreatic α-amylase ลดลง และเพิ่มปริมาณของสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ การให้ความร้อนที่ระดับความชื้นร้อยละ 18 พบว่าช่วยเพิ่มบริเวณส่วนที่เป็นผลึกของสตาร์ช ทำให้ความสามารถในการทำงานของเอนไซม์ลดลง นอกจากนั้นพบว่าที่ระดับความชื้นร้อยละ 27 พบการคืนตัวของสตาร์ชบางส่วนทำให้สตาร์ชยากต่อการเข้าถึงของเอนไซม์ ดังนั้นการให้ความร้อนและปริมาณน้ำที่เหมาะสมสามารถใช้เป็นวิธีการเตรียมสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ได้ อีกทางหนึ่งคือการใช้อุณหภูมิที่สูงและปริมาณน้ำที่น้อยจะมีผลต่อการเกิดโครงสร้างผลึกชนิด A ในขณะที่อุณหภูมิที่ต่ำและปริมาณน้ำที่มากมีผลต่อการเกิดโครงสร้างผลึกชนิด B (Sievert and Pomeranz, 1989)

Jacobs และ Delcour (1998) แบ่งการดัดแปรสตาร์ชโดยใช้ความร้อนร่วมกับความชื้น (hydrothermal treatment) เป็น 2 แบบ คือการดัดแปรด้วยวิธีความร้อนชื้น (heat moisture treatment, HMT) ซึ่งเป็นการดัดแปรที่ระดับความชื้นของสตาร์ชต่ำกว่าร้อยละ 35 และการดัดแปรแบบแอนนิวลิ่ง (annealing treatment, ANN) ซึ่งเป็นการดัดแปรที่ระดับความชื้นมากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 40 โดยทั้ง 2 วิธีสามารถเพิ่มปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ โดยไม่ทำลายโครงสร้างของเม็ดแป้ง เนื่องจากการดัดแปรทั้ง 2 วิธีส่งผลให้โครงสร้างมีการจัดเรียงตัวที่เป็นระเบียบมากขึ้น การดัดแปรสตาร์ชที่ระดับความชื้นมากกกว่าร้อยละ 60 พบว่าโครงสร้างของเม็ดแป้งจะเกิดการเสียหายเนื่องจากอุณหภูมิใกล้กับอุณหภูมิการเกิดเจลาทิไนเซชันของสตาร์ช ดังนั้นที่ระดับความชื้นนี้ อุณหภูมิที่ใช้ในการดัดแปรด้วยวิธีแอนนิวลิ่งต้องต่ำกว่าอุณหภูมิการเกิดเจลาทิไนเซชัน จึงสามารถช่วยเพิ่มหรือรักษาระดับของปริมาณ RS type 2 ได้ และเมื่อปริมาณความชื้นต่ำกว่าร้อยละ 35 พบว่าโครงสร้างของเม็ดแป้งจะเริ่มเกิดการเสียหายที่อุณหภูมิสูง ดังนั้นการดัดแปรด้วยวิธีความร้อนชื้นจะเกิดอย่างสมบูรณ์ที่ปริมาณความชื้นของสตาร์ชต่ำ และที่อุณหภูมิสูงกว่าอุณหภูมิ glass transition (T_g)

Shi และ Trzasko (1997) ศึกษาการดัดแปรสตาร์ชข้าวโพดอะมิโลสสูง (HAMS) ด้วยวิธีความร้อนชื้น (heat-moisture treatment, HMT) ที่ช่วงอุณหภูมิ 60°C ถึง 160°C ซึ่งอุณหภูมิที่ใช้จะแตกต่างกันตามระดับของความชื้น โดยเลือกใช้เวลาและอุณหภูมิที่เม็ดแป้งไม่เกิดการสูญเสียลักษณะของ birefringence จากการให้ความร้อนสตาร์ชข้าวโพดอะมิโลสสูงที่ระดับความชื้นร้อยละ 37 ที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 1-4 ชั่วโมง พบว่าปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์มีค่าเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 12 เป็นร้อยละ 40 เมื่อเปรียบเทียบกับสตาร์ชข้าวโพดอะมิโลสสูงก่อนการดัดแปร

Kweon และคณะ(2000) ศึกษาความสามารถในการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ของสตาร์ชข้าวโพดที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีความร้อนชื้น ที่ระดับความชื้นร้อยละ 15, 18, 21, 24 และ 27 ที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 16 ชั่วโมง โดยใช้เอนไซม์ porcine pancreatic *alpha*-amylase บ่มที่อุณหภูมิ 37°C และเอนไซม์ heat stable *alpha*-amylase บ่มที่อุณหภูมิ 100°C พบว่าการย่อยด้วยเอนไซม์ porcine pancreatic *alpha* -amylase ของสตาร์ชข้าวโพดที่ผ่านการดัดแปรที่ระดับความชื้นร้อยละ 18 มีความสามารถในการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ต่ำที่สุด ในขณะที่สตาร์ชข้าวโพดที่ผ่านการดัดแปรที่ระดับความชื้นร้อยละ 27 มีความสามารถในการถูกย่อยด้วยเอนไซม์สูงที่สุด นอกจากนั้นได้ศึกษาผลของการให้ความร้อนชื้นต่อความสามารถในการย่อยด้วยเอนไซม์ heat stable *alpha*-amylase ผลที่ได้พบว่าความสามารถในการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ขึ้นกับชนิดของสตาร์ชและปริมาณความชื้นที่ใช้ในการดัดแปร นอกจากนั้นได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะของ birefringence ของสตาร์ชข้าวโพดทั้งก่อนและหลังการย่อยด้วยเอนไซม์ พบว่าสตาร์ชข้าวโพดที่ผ่านการดัดแปรด้วยความร้อนชื้นที่ระดับความชื้นร้อยละ 18 สามารถถูกย่อยด้วยเอนไซม์เพียงเล็กน้อย โดยยังคงมีลักษณะของ birefringence ใกล้เคียงกับสตาร์ชก่อนการดัดแปร อย่างไรก็ตามพบว่าสตาร์ชข้าวโพดที่ผ่านการดัดแปรที่ระดับความชื้นร้อยละ 27 สามารถถูกย่อยด้วยเอนไซม์อย่างมาก ทำให้ลักษณะของ birefringence ถูกทำลายไปเกือบหมด

Yijun Sang และคณะ (2006) ศึกษาปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ของสตาร์ชข้าวโพดที่มีปริมาณอะมิโลสสูง (70%) ที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการให้ความร้อนชื้นร่วมกับวิธีการฟอสโฟริเลชันและเชื่อมข้าม (phosphorylation /cross-link) โดยใช้สารโซเดียมไตรเมตาฟอสเฟตและโซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต (STMP/STPP) อัตราส่วน 99:1 (w/w) พบว่าสตาร์ชข้าวโพดที่ใช้ STMP/STPP ร้อยละ 10 ที่ระดับความชื้นของสตาร์ชร้อยละ 45 เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 110°C พบปริมาณฟอสฟอรัสร้อยละ 0.39 ปริมาณเส้นใยอาหารทั้งหมดร้อยละ 90 ปริมาณสตาร์ชที่ถูกย่อยอย่างช้า ๆ ร้อยละ 14 และปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ร้อยละ 43 เมื่อเทียบกับสตาร์ชข้าวโพดก่อนการดัดแปร พบว่าปริมาณฟอสฟอรัสร้อยละ0.03 ปริมาณสตาร์ชที่ถูกย่อยอย่างช้า ๆ ร้อยละ 14 และปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ร้อยละ 25

3.1.3 retrogradation starch (RS type 3)

คือ สตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ ซึ่งเกิดจากการจากการจัดเรียงตัวใหม่ด้วยพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุลของสายอะมิโลสระหว่างการทำให้เย็นของสตาร์ชที่ผ่านการเกิดเจลาติไนเซชัน (การเกิดรีโทรเกรเดชัน) เกิดเป็นโครงร่างตาข่ายสามมิติที่มีความแข็งแรง และสามารถถูกย่อยด้วยเอนไซม์ได้น้อยลง ดังนั้นสตาร์ชที่มีอัตราส่วนของอะมิโลสที่สูงกว่า จะสามารถเกิดรีโทรเกรเดชันได้มากกว่าสตาร์ชที่มีปริมาณอะมิโลสต่ำ ทำให้สตาร์ชที่มีอะมิโลสสูงสามารถนำไปใช้ผลิตสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ได้ในระดับสูง

Eerlingen และคณะ(1993) ศึกษาการเกิดสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ (RS type 3) ของสตาร์ชข้าวสาลีที่ผ่านการให้ความร้อนด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 120°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และควบคุมภาวะการเกิดรีโทรเกรเดชันโดยทำให้สตาร์ชที่ผ่านการเจลาทิไนซ์เย็นลงที่อุณหภูมิ 0, 68 และ 100 °C จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ พบว่าที่อุณหภูมิการเกิดรีโทรเกรเดชันต่ำสุด (0°C) พบปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ในช่วงเวลาเริ่มต้นของการเก็บรักษา (ประมาณ 15 นาที) ขณะที่อุณหภูมิการเกิดโทรเกรเดชันที่สูงสุด (100°C) พบปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์เมื่อระยะเวลาการเก็บนานกว่า 10 ชั่วโมง อธิบายได้ว่าที่อุณหภูมิ 0°C (สูงกว่าอุณหภูมิ glass transition (T_g) ของสตาร์ช) พบอัตราการเกิดนิวคลีเอชัน (nucleation) ของผลึกอะมิโลส แต่มีข้อจำกัดของอัตราการเกิดโพรพาเกชัน ดังนั้นสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์เกิดอย่างรวดเร็วในช่วงเริ่มต้น เมื่อเก็บรักษาสตาร์ชที่ผ่านการเกิดเจลาทิไนซ์ที่อุณหภูมิ 100°C (ต่ำกว่าอุณหภูมิการหลอมตัวของผลึกอะมิโลส) พบอัตราการเกิดโพรพาเกชันของผลึก แต่มีข้อจำกัดของอัตราการเกิดนิวคลีเอชัน ดังนั้นจึงใช้เวลานานในการเกิดสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์

การเกิด RS type 3 เป็นผลมาจากการจัดเรียงตัวใหม่ของโครงสร้างผลึก จากอิทธิพลของอุณหภูมิและเวลาในการบ่ม โดยขั้นตอนการจัดเรียงตัวของผลึกใหม่ของสายพอลิเมอร์แบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอน ประกอบด้วย (1) การเกิดนิวคลีเอชัน (nucleation) (2) การเติบโตของผลึก (propagation) และ (3) ผลึกเกิดอย่างสมบูรณ์ (maturation) โดยทั่วไปขั้นตอนการเกิดนิวคลีเอชันจะเกิดอย่างรวดเร็วเมื่ออุณหภูมิการบ่มเข้าใกล้อุณหภูมิ glass transition (T_g) ของสตาร์ชซึ่งมีค่าประมาณ -5°C (Gray and Bemiller, 2003; Chung *et al.*, 2004)

Chung และคณะ (2006) ศึกษาผลของการเกิดเจลาทิไนเซชันบางส่วนและการเกิดรีโทรเกรเดชันต่อความสามารถในการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ของสตาร์ชข้าว โดยนำสารละลายสตาร์ชที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 5 (โดยน้ำหนักแห้ง) มาผ่านการเกิดเจลาทิไนซ์ที่อุณหภูมิแตกต่างกัน (60, 65, 70 °C) เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำสตาร์ชไปเก็บที่อุณหภูมิ 4°C เป็นระยะเวลา 2, 4 และ 7 วัน พบว่ารูปแบบการถูกย่อยด้วยเอนไซม์แตกต่างกันในช่วงแรก (ที่เวลาน้อยกว่า 60 นาที) และเมื่ออุณหภูมิที่ใช้ในการให้ความร้อนเพิ่มมากขึ้น เวลาที่ใช้ในการถูกย่อยจะลดลง จากการศึกษารูปแบบการย่อยของสตาร์ชข้าวเหนียวก่อนการให้ความร้อน (native waxy rice starch) สตาร์ชข้าวเหนียวที่เกิดเจลาติไนซ์โดยสมบูรณ์ (gelatinized waxy rice starch) และสตาร์ชที่ผ่านการให้ความร้อนบางส่วน ที่อุณหภูมิแตกต่างกัน พบว่าตัวอย่างสตาร์ชข้าวเหนียวที่เกิดเจลาติไนซ์โดยสมบูรณ์ มีอัตราการย่อยประมาณ 20 นาที ซึ่งใช้เวลาน้อยกว่าตัวอย่างสตาร์ชข้าวเหนียวก่อนการให้ความร้อน ซึ่งใช้เวลาประมาณ 90 นาที

Gonzalez-Soto และคณะ(2006) ศึกษาผลของระยะเวลาการเก็บรักษาและอุณหภูมิการเกิดรีโทรเกรเดชันต่อปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ของสตาร์ชกล้วยที่ผ่านการตัดสายกิ่ง (debranched banana starch) และให้ความร้อนด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 30 นาที และทำให้เย็นที่อุณหภูมิ 60°C 32°C และ 4°C และเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง พบว่าที่อุณหภูมิการเก็บรักษาสูงสุด (60°C) ปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์มีค่าลดลง เนื่องจากเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น และอุณหภูมิ glass transition (T_g) มีค่าต่ำกว่าอุณหภูมิการเก็บรักษา ส่งผลทำให้โครงสร้างของสตาร์ชอยู่ในลักษณะ rubbery เป็นผลทำให้กระบวนการเกิดรีโทรเกรเดชันเกิดได้ช้า และจากการทดลองพบว่าระยะเวลาการเก็บรักษาไม่มีผลต่อปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ ในขณะที่อุณหภูมิการเก็บรักษามีผลอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

Mun และ Shin (2006) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ของสตาร์ชข้าวโพดที่ผ่านการเกิดรีโทรเกรเดชัน (RS type 3) และสตาร์ชข้าวโพดที่ผ่านการดัดแปรแบบวิธีเชื่อมข้าม (crosslinking, RS type 4) โดยเตรียมจากสตาร์ชข้าวโพดที่ผ่านการย่อยด้วยกรดไฮโดรคลอริก 0.1 โมล ที่อุณหภูมิ 35°C เป็นเวลา 30 วัน พบว่ารูปแบบการถูกย่อยของสตาร์ชข้าวโพดที่ผ่านการเกิดรีโทรเกรเดชัน (RS type 3) แบ่งเป็น 3 ขั้นตอน คือ ใน 7 วันแรก จะมีอัตราการย่อยอย่างช้าๆ และเปลี่ยนเป็นย่อยอย่างรวดเร็วจนถึงวันที่10 และหลังจากนั้นจะค่อนข้างคงที่หรือไม่พบการเปลี่ยนแปลง เมื่อศึกษาปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์หลังจากสตาร์ชข้าวโพดผ่านการถูกย่อยด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 30 วัน พบว่าสตาร์ชข้าวโพดที่ผ่านการเกิดรีโทรเกรเดชัน มีปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์เพิ่มมากขึ้นเป็นร้อยละ 25.9 ส่วน

สตาร์ชข้าวโพดที่ผ่านการดัดแปรแบบวิธีเชื่อมข้าม พบว่าปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ มีการเปลี่ยนแปลงอย่างไม่มีนัยสำคัญ

Onyango และคณะ (2006) ศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการบ่มต่อการเกิดสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ (RS type 3) โดยเตรียมสารละลายสตาร์ชมันสำปะหลังด้วยน้ำ และกรดแลกติก 1, 10, 100 mmol/ 1 แล้วนำไปให้รับความร้อนด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ (-20, 4, 30, 60 และ 100 °C) และเวลา (6, 24 และ 48 ชั่วโมง) ที่แตกต่างกันพบว่าปริมาณ RS type 3 ที่เตรียมจากกรดแลคติกมีปริมาณน้อยกว่าเมื่อเทียบกับที่เตรียมจากน้ำ จากนั้นศึกษาผลของเวลาและอุณหภูมิที่ใช้ในการบ่มต่อการเกิด RS type 3 โดยใช้สารละลายน้ำพบว่าเมื่อเวลาและอุณหภูมิที่ใช้ในการบ่มเพิ่มขึ้น ปริมาณของสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์มีค่าเพิ่มขึ้นด้วย และพบว่าการบ่มสตาร์ชมันสำปะหลังที่อุณหภูมิ 4°C มีอัตราการเกิดนิวคลีเอชันของสายอะมิโลสสูง จึงทำให้ปริมาณ RS type 3 ที่ได้ในช่วงเริ่มต้นมีค่าสูงด้วย

3.1.4 chemically modification starch (RS type 4)

เป็นสตาร์ชชนิดใหม่ เกิดจากการดัดแปรทางเคมีทำให้มีพันธะที่ต่างไปจาก *alpha* -D-(1-4) หรือ *alpha*-D-(1-6) โดยปฏิกิริยาการดัดแปรทางเคมีแบ่งออกเป็น 3 ชนิด คือ ครอสลิงกิง (cross linking) เอสเทอร์ริฟิเคชัน (esterification) และอีเทอร์ริฟิเคชัน (etherification) ส่วนใหญ่เป็นสตาร์ชที่เกิดจากการเชื่อมข้าม (cross linking)ได้มาจากปฏิกิริยาของสตาร์ชกับสาร bifunctional หรือ polyfunctional เช่น โซเดียมไตรเมตาฟอสเฟต (sodium trimetaphosphate) ฟอสฟอรัสออกซี่คลอไรด์ (phosphorus oxychloride) หรือการผสมของกรดอะซิติก และ กรดไดคาร์บอกซิลิก (dicarboxylic acids) เช่นกรดอะดิพิค (adipic acid) โดยการเชื่อมข้ามจะเกิดโดยหมู่ซัลโฟเนต (sulphonate) และฟอสเฟตระหว่างโมเลกุลของสตาร์ชรวมกับหมู่ไฮดรอกซิลทำให้ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์

3.2 ประโยชน์ของสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์

สตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ พบว่าสามารถทนต่อเอนไซม์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมได้สูง และจัดเป็นองค์ประกอบของไฟเบอร์ได้ตามคำจำกัดความของ dietary fiber โดย AACC (2000) และ Nas (2002) แม้ว่าสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ไม่ใช่องค์ประกอบของเซลล์พืช แต่สตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์มีคุณค่าทางโภชนาการคล้ายกับ non-starch polysacharide (NSP) มากกว่า digestible starch และยังมีโครงสร้างทางสรีรวิทยาคล้ายกับไฟเบอร์ สตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์จัดเป็นไฟเบอร์ที่ไม่สามารถละลายน้ำได้ (insoluble fiber) แต่มีสมบัติที่เหมือนกันกับไฟเบอร์ที่ละลายน้ำได้ (soluble fiber) นอกจากนั้นสตาร์ชที่ทนต่อการย่อย

ด้วยเอนไซม์แสดงให้เห็นว่ามีความสามารถในการถูกย่อยต่ำและสามารถใช้เป็นเครื่องมือในการวัดการปลดปล่อยปริมาณกลูโคส จากการที่สตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์มีลักษณะเหมือนกับไฟเบอร์ที่ละลายน้ำได้ จึงส่งผลต่อสุขภาพของลำไส้ โดยเพิ่มอัตราการผลิตต่อมเซลล์เล็กๆ หรือลดการฝ่อของเยื่อบุผิวที่ลำไส้เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารที่ไม่มีไฟเบอร์ แสดงให้เห็นว่าสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์มีลักษณะคล้ายกับกัวร์ ไฟเบอร์ที่ละลายน้ำ ซึ่งมีอิทธิพลต่อการเกิดเนื้องอกและลดคลอเรสเตอรอลในเลือด และไตรกลีเซอไรด์ (triglycerides) แต่ยังคงรักษาระดับ TDF ไว้ (Haralampu, 2000)

สตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ ไม่สามารถย่อยได้ในลำไส้เล็ก แต่จะไปห่อหุ้มโมเลกุลของไขมันและถูกหมักโดยจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่ โดยทั่วไปสตาร์ชไม่พบในอุจจาระของคนหรือสัตว์ แสดงให้เห็นว่ามีกระบวนการหมักที่สมบูรณ์ จากการทดลองอุจจาระของคนใน vitro พบว่าปริมาณของบิวทิเรท (butyrate) จากสตาร์ชสูง ซึ่งบิวทิเรทนี้คือสารตั้งต้นที่สำคัญของเซลล์เยื่อบุผิวในลำไส้ใหญ่ และยับยั้งการเปลี่ยนแปลงของเนื้อร้าย โดยเฉพาะอย่างยิ่งป้องกันการเกิดมะเร็งลำไส้ (Asp and Bjorck, 1992)

อาหารที่ประกอบด้วยสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ โดยส่วนใหญ่มีอัตราการถูกย่อยต่ำจึงสามารถนำไปใช้ควบคุมการปลดปล่อยกลูโคสได้ โดยทั่วไปการเผาผลาญ (metabolism) ของสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์เกิดขึ้นภายหลังการบริโภค 5-6 ชั่วโมง ตรงกันข้ามกับสตาร์ชที่ผ่านการทำอาหารตามปกติ ซึ่งโดยส่วนมากมีการย่อยทันที และจากการที่สตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ใช้เวลาในการย่อยมากกว่า 5-6 ชั่วโมง จึงทำให้สามารถลดภาวะที่มีกลูโคสในเลือดสูงภายหลังรับประทานอาหาร (postprandial glycemia) และภาวะที่มีอินซูลินมากเกินปกติในร่างกาย (insulinemia) (Raben *et al.*, 1994; Reader *et al.*, 1997) จากการศึกษาโดยให้ผู้ชายที่มีสุขภาพดีและมีน้ำหนักปกติ จำนวน 10 คน รับประทานอาหารที่ประกอบด้วยสตาร์ช 50 กรัม ที่ไม่มีส่วนประกอบของสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์และมีส่วนประกอบของสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ร้อยละ 54 พบว่าภายหลังการรับประทานอาหารที่มีส่วนประกอบของสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ ทำให้ระดับกลูโคสในเลือด (blood glucose), อินซูลิน (insulin), epinephrine มีความเข้มข้นต่ำอย่างมีนัยสำคัญ (Raben *et al.* , 1994) คล้ายกับการศึกษาจากการให้คนรับประทานอาหารที่มีส่วนผสมของสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ทางการค้า (RS type 3, CrystaLean®) พบว่าระดับกลูโคสในเลือดที่สูงสุดที่พบมีค่าต่ำกว่าคาร์โบไฮเดรตอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญ (น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว โอลิโกแซคคาไรด์ และสตาร์ชทั่วไป) โดยสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์จะเป็นตัวขัดขวาง จึงช่วยลดระดับกลูโคสในเลือดภายหลัง

สำนักทรัพยากรการเรียนรู้คุณหญิงหลง อรรถกระวีสุนทร

รับประทานอาหารและมีบทบาทสำคัญในการควบคุมกระบวนการเผาผลาญ (metabolism)ในโรคเบาหวานชนิดที่ 2 (ไม่ขึ้นกับอินซูลิน)

สตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์สามารถใช้เป็นองค์ประกอบของโพรไบโอติก (probiotic) เพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์เช่น *Bifidobacterium* และลดจำนวนจุลินทรีย์ที่เป็นอันตราย เช่น *Escherichia coli ,Clostidia* (Brown *et al.*, 1996) โดยสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์จะผ่านลำไส้เล็กอย่างสมบูรณ์ และไปเป็นสารตั้งต้นในลำไส้ใหญ่โดยถูกนำไปเป็นแหล่งพลังงาน เพื่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์โพรไบโอติก

โดยทั่วไปความสามารถในการย่อยของสตาร์ชข้าวและข้าวสาลี เพิ่มจากการโม่แป้ง(flour) (Heaton, 1988) และจากการที่สตาร์ชถูกย่อยได้ จึงส่งผลทำให้เกิดหินปูนในก้อนนิ่วโดยการหลั่งออกมามากของอินซูลิน และอินซูลินทำให้เกิดการกระตุ้นการสังเคราะห์คลอเรสเตอรอล (cholesterol) จากการศึกษาของ Malhotra (1968) พบว่าโรคหินปูนในก้อนนิ่วพบน้อยในแถบอินเดียใต้ เพราะในแถบนี้มีการบริโภคเมล็ดธัญพืชลักษณะเต็มมากกว่าในอินเดียเหนือที่นิยมบริโภคแป้ง (flour) และยังเห็นได้ชัดจากการได้รับเส้นใยอาหารจากสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ของประชากรในสหรัฐอเมริกา ยุโรป และ ออสเตรเลียที่มีค่าต่ำกว่า 2 ถึง 4 เท่า เมื่อเทียบกับประชากรในประเทศ อินเดียและจีน ที่บริโภคอาหารที่มีสตาร์ชสูง ซึ่งจะสะท้อนจำนวนของกรณีที่เกิดหินปูนในก้อนนิ่วที่แตกต่างกัน (Birkett *et al.*, 2000)

จากการศึกษาเปรียบเทียบการดูดซับแคลเซียม (calcium) ฟอสฟอรัส (phosphorus) เหล็ก (iron) และสังกะสี (zinc) ในลำไส้เล็กจากการรับประทานอาหารที่มีส่วนผสมของสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ หรือสตาร์ชที่สามารถย่อยได้ (digestible starch) พบว่าอาหารที่มีส่วนผสมของสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ร้อยละ 16.4 มีการดูดซับของแคลเซียมและเหล็กได้ดีกว่า (Morais *et al.*, 1996)

3.3 การประยุกต์ใช้สตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ (RS) ในอุตสาหกรรมอาหาร

สตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ โดยทั่วไปมีขนาดอนุภาคที่เล็ก ลักษณะปรากฏเป็นสีขาว ไม่มีกลิ่น มีความสามารถในการอุ้มน้ำต่ำ มีสมบัติทางเคมีกายภาพที่ดี (Fausto *et al.*, 1997) เช่น ลักษณะการพองตัว สมบัติทางความหนืดที่เพิ่มขึ้น สมบัติการเป็นเจล และความสามารถในการจับกับน้ำ สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้หลากหลายในอาหาร สมบัติเหล่านี้ทำให้ง่ายในการใช้แทนที่แป้ง (flour) สตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ไม่ได้เพิ่มคุณค่าทางไฟเบอร์เพียงอย่างเดียวแต่มีลักษณะพิเศษอีกอย่างหนึ่งคือ ทำให้อาหารมีไฟเบอร์สูง (Tharanathan and Mahadevamma, 2003) นอกจากนั้นสมบัติเชิงหน้าที่และประโยชน์ของ RS type 2 และ RS type 3 (Nugent, 2005) สามารถสรุปได้ คือ มาจากแหล่งธรรมชาติ ไม่มีกลิ่น มีสีขาว มีขนาดอนุภาค

ละเอียด (เป็นสาเหตุทำให้มีผลต่อเนื้อสัมผัสน้อย) มีอุณหภูมิการเกิดเจลาทิไนเซชันสูง และมีสมบัติในการอุ้มน้ำต่ำกว่าผลิตภัณฑ์ที่ทำจากไฟเบอร์ดั้งเดิม มีการอนุญาตให้นำไปใช้ในผลิตภัณฑ์เพื่อเสริมคุณค่าทางไฟเบอร์ เพื่อช่วยในการปรับปรุงลักษณะเนื้อสัมผัส ลักษณะปรากฏ และความรู้สึกภายในปาก เทียบกับผลิตภัณฑ์ที่มีไฟเบอร์สูงดั้งเดิม พบว่าผลิตภัณฑ์มีความกรอบเพิ่มขึ้น โดยสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ทำหน้าที่เป็นส่วนผสมในอาหาร ทำให้ค่าพลังงาน (calorific) ต่ำ จากสมบัติของสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์เหล่านี้ทำให้ประสบความสำเร็จในการนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์ขนมอบ ดังนี้

3.2.1 การใช้สตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ในการทำขนมปัง

จากสมบัติทางกายภาพของสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ ที่มีความสามารถในการอุ้มน้ำต่ำสามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นส่วนผสมในการทำขนมปังและทำให้ความกรอบเพิ่มขึ้น ช่วยในการขยายตัว และปรับปรุงลักษณะเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์สุดท้าย โดยทั่วไปขนมปังที่เสริมคุณค่าโดยใช้ไฟเบอร์มีสีคล้ำ ปริมาตรขนมปังลดลง ความรู้สึกภายในปากแย่ และบดบังกลิ่น ทั้งนี้เป็นผลมาจากปริมาณไฟเบอร์ที่สูงในขนมปัง จากการศึกษาที่ American Instute of Baking (AIB) โดยประเมินผลของปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ต่อลักษณะของขนมปังเทียบกับขนมปังที่ทำจากไฟเบอร์แบบดั้งเดิม โดยการศึกษาประกอบด้วย เซลลูโลส ไฟเบอร์ข้าวโอ๊ต ไฟเบอร์ข้าวสาลี และ RS 23% (Hylon VII starch) และ TDF ร้อยละ40 (Novelose 240 starch) และผสมไฟเบอร์ข้าวโอ๊ตกับ TDF ร้อยละ40 ในอัตราส่วน 50/50 เปรียบเทียบ ไฟเบอร์ข้าวโอ๊ต เซลลูโลสและไฟเบอร์ข้าวสาลี พบว่าสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ทางการค้าทั้ง 2 มีความสามารถในการอุ้มน้ำต่ำซึ่งคล้ายกับแป้ง (flour) แม้ว่าความสามารถในการอุ้มน้ำของสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ต่ำกว่าแหล่งของไฟเบอร์อื่นๆ แต่ปริมาณไฟเบอร์ทั้งหมด (TDF)ที่ได้รับมีมากกว่า อย่างไรก็ตามการดูดซับของโดที่ทำจากสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์มีค่าน้อยกว่าเมื่อเทียบกับโดที่ทำจากไฟเบอร์อื่น แต่มีการใช้น้ำในปริมาณที่มากกว่า และพบอีกว่าขนมปังที่มีปริมาณ TDF ร้อยละ40 (Novelose 240 starch) มีปริมาตรมากกว่า และมีโครงสร้างของเซลล์ที่ดีกว่าเมื่อเทียบกับไฟเบอร์แบบดั้งเดิม (Baghurst *et al.*, 1996)

3.2.2 การใช้สตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์เป็นสารช่วยเพิ่มความกรอบ

สามารถใช้สตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ เป็นส่วนผสมเพื่อปรับปรุงความกรอบให้ผิวหน้าอาหารที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อนสูง ในอาหารจำพวกมันฝรั่งปิ้ง และวาฟเฟิลอาหารแช่แข็งที่ต้องให้ความร้อนซ้ำ ซึ่งเป็นอาหารที่ต้องการให้ผิวหน้ามีความกรอบ จึงได้มีการทดสอบเปรียบเทียบสมบัติเชิงหน้าที่ของสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์และไฟเบอร์ต่างๆ ในวาฟเฟิล โดยประเมินความกรอบเริ่มต้น และความกรอบภายหลังการปิ้ง 3 นาที ความชื้น และเนื้อ

สัมผัส จากการทดสอบทางประสาทสัมผัส พบว่าวาฟเฟิลที่ทำจากสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์มีความกรอบมากกว่าวาฟเฟิลที่ทำจากไฟเบอร์แบบดั้งเดิม

3.2.3 การใช้สตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์เป็นส่วนผสมในอาหารอื่นๆ

สตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์สามารถนำมาช่วยในการปรับปรุงการพองตัวของอาหารจำพวกธัญพืชอบกรอบและขนมขบเคี้ยว ธัญพืชที่นำมาใช้มีหลากหลาย ประกอบด้วย TDF ร้อยละ40 (Novelose 240 starch) เพียงอย่างเดียว และการผสมระหว่างไฟเบอร์ข้าวโอ๊ตกับ TDF ร้อยละ40 (Novelose 240 starh)ในอัตราส่วน 50/50 และ25/75 พบว่าธัญพืชที่มีสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์และไม่มีไฟเบอร์ข้าวโอ๊ตมีการพองตัวได้มากที่สุด ส่วนการผสมไฟเบอร์ข้าวโอ๊ตกับธัญพืชที่มี RS 75% มีการพองตัวได้มากกว่า การผสมไฟเบอร์ข้าวโอ๊ตกับธัญพืชที่มี RS 50% นอกจากนี้สตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์สามารถใช้เพื่อเพิ่มความข้นหนืดในเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพเป็นไฟเบอร์ที่ไม่ละลายน้ำ โดยทั่วไปไฟเบอร์ที่ละลายน้ำในเครื่องดื่ม มีความขุ่นเปรียบเทียบไฟเบอร์ที่ไม่ละลายน้ำคือสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์พบว่าสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ จะมีความรู้สึกเหมือนกรวดทราย (gritty) ในปากและบดบังกลิ่นน้อยกว่า

4. สมบัติทางรีโอโลยีของสตาร์ชกล้วย

รีโอโลยี (rheology) หมายถึงการศึกษาเกี่ยวกับการเปลี่ยนรูปและการไหล ซึ่งพฤติกรรมทางกลของวัสดุสามารถแสดงออกมาในเทอมของตัวแปร 3 ชนิด ได้แก่ แรง การเปลี่ยนรูปและเวลา สมบัติทางรีโอโลยีของอาหารแบ่งเป็น 2 จำพวกหลักๆ คือ ของแข็ง (solid) และของไหล (flluid) เพื่อให้การอธิบายและการวิเคราะห์ง่ายและสะดวกขึ้นจึงแบ่งการพิจารณาวัสดุเป็นกลุ่มๆ ตามสมบัติพื้นฐาน จากศึกษาสามารถแบ่งสมบัติตามพฤติกรรมด้านรีโอโลยีของวัสดุได้เป็น 3 คุณลักษณะพื้นฐานคือ elasticity, plasticity และ viscosity คุณลักษณะทางอุดมคติของทั้งสามลักษณะแสดงสมบัติในรูปของ Hookean body, St. Venant body และ Newtonian liquid ตามลำดับ คุณลักษณะทั้งสามนี้ใช้เป็นมาตรฐานหรือพื้นฐานในการเปรียบกับค่าวัสดุจริง

4.1 ความหนืด (viscosity)

ความหนืดเป็นสมบัติของของไหลในการต้านทานต่อแรงเสียดทานที่เกิดขึ้นในของไหล เนื่องจากความหนืดเป็นสมบัติเฉพาะตัวที่สำคัญของสตาร์ชโดยเกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ ซึ่งวิธีการวัดค่าความหนืดนั้นสามารถกระทำได้หลายวิธี และเครื่องมือที่ใช้ในการวัดค่าความหนืดมีหลายชนิด แต่ละชนิดมีหลักการและวิธีการทำงานต่างกัน ควรเลือกใช้เครื่องมือที่เหมาะสมกับวัตถุประสงค์ในการใช้งาน

Kayisu และ Hood (1981) ได้ทำการศึกษาผลของความเข้มข้นต่อสมบัติความหนืดของแป้งเปียกของสตาร์ชกล้วย โดยใช้สตาร์ชกล้วยเขียว Valery มีปริมาณอะมิโลส 16%โดยใช้เครื่อง Barbender viscoamylograph ที่ระดับความเข้มข้น 4-8% พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของสตาร์ชกล้วยต่ำๆ จะไม่พบการเกิด Peak viscosity ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Nunez-Santiago และคณะ (2004) แต่ที่ความเข้มข้นสูงๆ (ประมาณ 7-8 %) จะพบการเกิดความหนืดสูงสุด (peak viscosity) และ Breakdown ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Lii และคณะ (1982) เนื่องจากที่ระดับความเข้มข้นของสตาร์ชสูงจะมีความหนาแน่นของเม็ดสตาร์ชมากกว่าที่ความเข้มข้นต่ำ เมื่อเม็ดสตาร์ชเกิดการพองตัวทำให้ไม่มีช่องว่างระหว่างพื้นที่ ทำให้เกิดการชนกันระหว่างเม็ดสตาร์ช เม็ดสตาร์ชจึงเกิดการเคลื่อนที่ได้ยาก ความหนืดจึงเพิ่มสูงขึ้น และเมื่อได้รับความร้อนก็จะส่งผลให้เกิดการสั่นของโมเลกุลส่งผลให้โมเลกุลของเม็ดสตาร์ชมีพลังงานจลน์มาก เม็ดสตาร์ชจึงเกิดการชนและกระแทกกันทำให้เกิดการแตกหักของเม็ดสตาร์ชได้ง่ายทำให้เห็นการเกิด Breakdown ชัดเจน และที่ความเข้มข้นสูงนั้นเมื่อลดอุณหภูมิลงมาจะทำให้ความหนืดของสตาร์ชกล้วยมีค่าสูงขึ้น โดยสังเกตได้จากค่า Setback ที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นซึ่งบ่งบอกถึงแนวโน้มการเกิดรีโทรเกเดชัน โดยโมเลกุลของเม็ดสตาร์ชสามารถกลับมารวมตัวกันเกิดอันตรกิริยาต่อกันอีกครั้งทำให้เกิดความหนืดขึ้น และที่ความเข้มข้นของสตาร์ชกล้วย 8% นั้นจะมีปริมาณอะมิโลสมากกว่าที่ระดับความเข้มข้นอื่นๆ ทำให้เกิดอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลได้มากกว่า จึงมีแนวโน้มการเกิดรีโทรเกเดชันสูงกว่า

Siriwong และคณะ (2003) ได้ทำการศึกษาสมบัติความหนืดของแป้งเปียกของสตาร์ชกล้วย 3 พันธุ์ ในประเทศไทยคือ สตาร์ชจากกล้วยหักมุก (Musa ABB) ซึ่งมีโครงสร้างผลึกแบบ B มีปริมาณอะมิโลสประมาณ 30.94% สตาร์ชจากกล้วยน้ำว้าค่อม (Musa ABB)ซึ่งมีโครงสร้างผลึกแบบ B มีปริมาณอะมิโลสประมาณ 31.98% และสตาร์ชจากกล้วยตานี (Musa BB) ซึ่งมีโครงสร้างผลึกแบบ C มีปริมาณอะมิโลสประมาณ 31.92% โดยใช้เครื่อง Barbender viscoamylograph ที่ระดับความเข้มข้นของสตาร์ชทั้ง 3 ชนิด 6% pH 6.9 จากการทดลองพบว่าอุณหภูมิเริ่มเกิดความหนืดของสตาร์ชทั้ง 3 ชนิดอยู่ในช่วง 78-81 ^{o}C (Initial pasting temperature) และพบว่าสตาร์ชจากกล้วยตานีจะไม่พบการเกิด peak viscosity ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเมื่อเปรียบเทียบกับสตาร์ชกล้วยทั้ง 3 ชนิดแล้วสตาร์ชจากกล้วยตานีมีการพองตัวต่ำสุด (restricted swelling) แสดงว่าความร้อนเข้าไปทำลายพันธะภายในเม็ดสตาร์ชได้ไม่มาก และสตาร์ชจากกล้วยทั้ง 3 ชนิดพบการเกิด breakdown ต่ำแสดงว่าสตาร์ชจากกล้วยทั้ง 3 ชนิดมีความคงตัวต่อความร้อน แต่พบการเพิ่มขึ้นของความหนืดในช่วงของการทำให้เย็น ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความสามารถในการเกิดรีโทรเกเดชันจากสมบัติของสตาร์ชกล้วยทนต่อการแตกตัวของเม็ดสตาร์ช (resist breakdown) และต้านทานต่อ

การลดลงของความหนืดในระหว่างการให้ความร้อนและแรงเฉือน (mechanical shear) แสดงให้เห็นว่าสตาร์ชกล้วยเหมาะที่จะนำไปประยุกต์ใช้ในอาหารกระป๋อง แม้ว่าสตาร์ชกล้วยจะมีความสามารถในการเกิดรีโทรเกเดชันได้แต่ก็สามารถป้องกันได้โดยการดัดแปรทางเคมี เช่น การเกิดปฏิกิริยาอีเธอร์ (etherification) หรือ การเกิดปฏิกิริยาเอสเทอร์ (esterification)

Nunez-Santiago และคณะ (2004) ได้ทำการศึกษาความหนืดของแป้งเปียกของสตาร์ช กล้วยสายพันธุ์ Macho ซึ่งมีโครงสร้างผลึกแบบ A และมีปริมาณอะมิโลส 40.7 % ที่ระดับความเข้มข้น 5% โดยใช้เครื่อง Barbender viscoamylograph โดยทำการทดลองเปรียบเทียบกับสตาร์ชข้าวโพดซึ่งมีโครงผลึกเป็นแบบ A เหมือนกัน โดยพบว่าสตาร์ชกล้วยมีรูปแบบความหนืดของแป้งเปียกคล้ายกับสตาร์ชข้าวโพด กล่าวคือ ลักษณะความหนืดของสตาร์ชทั้ง 2 ชนิด เมื่อให้ความร้อนแก่สตาร์ชทั้ง 2 ชนิดที่อุณหภูมิ 95 ^{o}C นั้นความหนืดไม่มีการเปลี่ยนแปลงมากนักแสดงให้เห็นว่าสตาร์ชทั้ง 2 ชนิดมีความคงตัวต่อความร้อน และความหนืดของสตาร์ชกล้วยมีค่าสูงกว่าสตาร์ชข้าวโพดประมาณ 2 เท่า ซึ่งแสดงให้เห็นว่า สตาร์ช กล้วย พองตัวได้ดีกว่าสตาร์ชข้าวโพดทำให้สตาร์ชกล้วยมีความหนืดสูงกว่า

Zhang และคณะ (2005) ได้รวบรวมผลการศึกษาความหนืดของแป้งเปียกของสตาร์ชชนิดต่างๆที่ความเข้มข้น 7 % (db) โดยใช้เครื่อง Barbender viscograph พบว่าสตาร์ชกล้วยเขียว Valery มีอุณหภูมิเริ่มเกิดความหนืด (pasting temperature)อยู่ในช่วง 67-70 ^{o}C ซึ่งต่ำกว่าสตาร์ชในกลุ่มธัญพืชแต่สูงกว่าสตาร์ชจากกลุ่มพืชหัว ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความแข็งแรงภายในเม็ดสตาร์ชที่แข็งแรงกว่าสตาร์ชในกลุ่มพืชหัว และเมื่อพิจารณาค่าความหนืดสูงสุด (peak viscosity) ของสตาร์ชกล้วยพบว่า มีค่าประมาณ 960 B.U. ซึ่งต่ำกว่าสตาร์ชในกลุ่มพืชหัวแสดงให้เห็นว่าสตาร์ชจากกล้วยมีการพองตัวต่ำกว่าสตาร์ชในกลุ่มพืชหัว ในช่วงของการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 95 ^{o}C เป็นเวลา 15 นาที พบว่า สตาร์ชกล้วยมีความหนืดสูงกว่าสตาร์ชอื่นๆและมีการเปลี่ยนแปลงของความหนืดในช่วงของการให้ความร้อนน้อยแสดงให้เห็นว่าสตาร์ชกล้วยมีความคงตัวต่อการให้ความร้อน นอกจากนี้เมื่อพิจารณาในช่วงของการทำให้เย็นนั้นสตาร์ช กล้วยมีความหนืดเพิ่มสูงขึ้นซึ่งแสดงให้เห็นถึงความสามารถในการเกิดรีโทรเกเดชัน

4.1.1 พฤติกรรมการไหล (flow behavior)

พฤติกรรมการไหลของอาหารสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท ตามลักษณะความสัมพันธ์ของระหว่างความเค้นเฉือนละอัตราการเฉือน ได้แก่

ก. ของไหลนิวโตเนียน (Newtonian fluid) ความเค้นเฉือน (shear stress) ของของไหลนิวโตเนียนเพิ่มขึ้นอย่างเป็นสัดส่วนกับอัตราเฉือน (shear rate) ถ้านำความเค้นเฉือนมาพลอตกับอัตราการเฉือนจะได้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงผ่านจุดกำเนิด ซึ่งเส้นตรงนี้มีค่าความชันที่คงที่

เรียกว่า สัมประสิทธิ์ความหนืด (coefficient of viscosity, μ) หรือความหนืดพลวัต (dynamic viscosity) หรือเรียกสั้นๆ ว่าความหนืด (viscosity, η)

ข. ของไหลนอนนิวโตเนียน (non-Newtonian fluids) พบในอาหารที่เป็นของไหลประกอบด้วยโมเลกุลขนาดใหญ่ที่ละลายได้ (dissolved macromolecules) และอนุภาคแขวนลอย (suspended particle) ทำให้พฤติกรรมการไหลแตกต่างจากของไหลนิวโตเนียนเป็นอย่างมาก นั่นคือความสัมพันธ์ระหว่างความเค้นเฉือนและอัตราการเฉือนของของไหลนิวโตเนียนไม่เป็นเส้นตรงออกจากจุดกำเนิด

ของไหลนอนนิวโตเนียนแบ่งตามพฤติกรรมการไหล ได้ 2 แบบ ได้แก่ ของไหลนอนนิวโตเนียนที่ไม่ขึ้นกับเวลาและของไหลนอนนิวโตเนียนที่ขึ้นกับเวลา

- ของไหลนอนนิวโตเนียนที่ไม่ขึ้นกับเวลา (time-independent non-Newtonian fluids) หมายถึงของไหลที่ความหนืดปรากฏขึ้นกับอัตราการเฉือนเท่านั้นแต่ไม่ขึ้นกับเวลา สำหรับ shear-thinning liquid พบว่าเมื่ออัตราการเฉือนเพิ่มขึ้นความหนืดปรากฏลดลง บางครั้งเรียก shear-thinning liquid ว่า ซูโดพลาสติก (pseudoplastic) ซึ่งได้แก่ นมข้นหวาน มายองเนส เป็นต้น เมื่อพลอตอัตราเฉือนกับความเค้นเฉือนจะได้เส้นโค้งนูน สำหรับ shear-thickening liquid หรือไดลาแทน (dialatant) พบว่าความหนืดปรากฏเพิ่มขึ้นเมื่ออัตราเฉือนเพิ่มขึ้น ตัวอย่างอาการกลุ่มนี้ เช่น homogenized peanut butter สารละลายแป้งข้าวโพดเข้มข้น 60% เป็นต้น เมื่อพลอตอัตราเฉือนกับความเค้นเฉือนจะได้ เส้นโค้งว้าว แต่ถ้าของไหลนอนนิวโตเนียนต้องใช้ความเค้นเฉือนเริ่มต้นค่าหนึ่งซึ่งเรียกว่า yield stress (τy) ก่อนที่จะเกิดการไหลได้ แสดงว่าของไหลนั้นมีพฤติกรรมพลาสติกด้วย

ความสัมพันธ์ของความเค้นเฉือนและอัตราเฉือนของของไหลนอนนิวโตเนียนที่ไม่เปลี่ยนตามเวลาสามารถอธิบายได้ด้วยแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ ดังสมการที่ 1และ 2

Power law model

$$\tau = K\dot{\gamma}^{n} \qquad (1)$$

เมื่อ τ = shear stress (N/m^2)

$\dot{\gamma}$ = shear rate (1/s)

K = flow consistency coefficient / index ($Pa.s^n$)

n = flow behavior index (dimensionless)

Herschel-Bulkley model

$$\tau = \tau_o + k\dot{\gamma}^{n} \qquad (2)$$

เมื่อ τ_o = yield stress

อาหารเป็นของไหลนอนนิวโตเนียนแบบที่ไม่ขึ้นกับเวลาส่วนใหญ่เป็น pseudoplastic materials (n<1) ในขณะที่ส่วนน้อยเป็น dialatant (n>1)

- ของไหลนอนนิวโตเนียนที่ขึ้นกับเวลา (time-dependent Non Newtonian fluid) หมายถึงของไหลที่มีความสัมพันธ์ระหว่างความเค้นเฉือนและอัตราการเฉือนของของไหลนอนนิวโตเนียน เปลี่ยนแปลงตามเวลา (time of shearing) นั่นคือ ความเค้นเฉือนของของไหลมีค่าเพิ่มขึ้นหรือลดลงตามเวลา ณ อัตราเดียวกัน

อาหารที่เป็นของไหลนอนนิวโตเนียนหลายชนิดที่มีโครงสร้างที่ซับซ้อนมีพฤติกรรมรีโอโลยีที่ขึ้นกับเวลา นั่นคือความหนืดปรากฏของอาหารดังกล่าวเปลี่ยนแปลงตามเวลา ถ้าความหนืดปรากฏลดลงเมื่อเวลาผ่านไปเรียกของไหลนั้นว่า thixotropic fluids ในทางกลับกันถ้าความหนืดปรากฏเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาผ่านไปเรียกว่า rheopectic fluids

Bello-Perez และคณะ (1998) ได้ทำการศึกษาพฤติกรรมการไหลของสตาร์ชกล้วย โดยใช้เครื่อง Brookfield viscometer และใช้ความเข้มข้นของสตาร์ชกล้วย 5% นำมาทำให้ร้อนเป็นเวลา 13 และ 30 นาที จากนั้นทำให้เย็น แล้วนำสตาร์ชที่ได้มาวัดค่าความหนืดที่อัตราการเฉือนแตกต่างกันคือ 2, 4, 10, และ 20 rpm พบว่าความหนืดของสตาร์ชกล้วยจะมีค่าเปลี่ยนแปลงไปตามอัตราการเฉือนที่เพิ่มขึ้น โดยความหนืดของสตาร์ชกล้วยจะลดลงเมื่ออัตราการเฉือนเพิ่มขึ้น ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสตาร์ชกล้วยมีพฤติกรรมการไหลแบบ shear-thinning และเมื่อเปรียบเทียบระยะเวลาในการให้ความร้อนเป็นเวลา 15 และ 30 นาที ต่อความหนืดของสตาร์ชกล้วยพบว่าสตาร์ชกล้วยที่ให้ความร้อนเป็นเวลา 30 นาที จะมีความหนืดสูงกว่าสตาร์ชกล้วยที่ให้ความร้อนเป็นเวลา 15 นาที และสตาร์ชกล้วยทนต่อการเปลี่ยนแปลงความหนืดที่อัตราการเฉือน 20 rpm นอกจากนี้ เมื่อทำการศึกษาถึงเวลาที่เปลี่ยนแปลงไปต่อค่าความหนืด ที่อัตราการเฉือน 20 rpm พบว่าเมื่อเวลาเปลี่ยนไป ความหนืดมีค่าคงที่ แสดงให้เห็นว่าสตาร์ชกล้วยเป็นของไหลชนิดนอนนิวโตเนียนแบบไม่ขึ้นกับเวลา (time independent Non-Newtonian fluid)

Nunez-Santiago และคณะ (2004) ได้ทำการทดลองศึกษาพฤติกรรมการไหลของสตาร์ช กล้วยสายพันธุ์ Macho ซึ่งมีปริมาณอะมิโลสประมาณ 40.7% ที่ระดับความเข้มข้นของสตาร์ชกล้วยแตกต่างกันคือ 3-6% ด้วยเครื่องวัดความหนืด Rotation viscometer ที่ต่อด้วยหัวทรงกระบอก (concentric viscometer) โดยวัดที่อัตราเฉือน 0-700 s^{-1} ที่อุณหภูมิ 60 ^{o}C จากผลการทดลอง จะเห็นได้ว่าที่อัตราการเฉือนต่ำๆ ค่าความหนืดของสตาร์ชกล้วยมีค่าคงที่ เรียกค่าความหนืดนี้ว่า zero-shear viscosity (η_0)ซึ่งจากผลการทดลองสามารถอธิบายความสัมพันธ์นี้ด้วยสมการ Cross Model (สมการที่ 3)

$$\eta = \frac{\eta_0}{1 + K\gamma^n} \qquad (3)$$

โดยเมื่อมีการเพิ่มอัตราการเฉือน ความหนืดของสตาร์ชกล้วยจะมีค่าลดลงในทุกๆ ความเข้มข้นของสตาร์ชกล้วยที่ใช้ในการทดลอง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสตาร์ชกล้วยมีพฤติกรรมการไหลแบบ pseudoplastic หรือ shear-thinning และเมื่อพิจารณาถึงค่าดัชนีการไหล (n) พบว่าสตาร์ชกล้วยที่ระดับความเข้มข้น 3%, 4% ,5% และ 6% มีค่าดัชนีการไหลเท่ากับ 0.60 , 0.61, 0.54 ,0.25 ตามลำดับซึ่งสอดคล้องกับค่าดัชนีการไหล (n)โดยของไหลประเภท Shear-thinning จะมีค่าดัชนีการไหลอยู่ในช่วง 0-1 เมื่อทำการเปรียบเทียบค่าความหนืดที่ความเข้มข้นของสตาร์ชแตกต่างกัน เมื่อความเข้มข้นของสตาร์ชกล้วยสูงขึ้นค่าความหนืดมีค่าสูงขึ้นด้วย ทั้งนี้เนื่องจาก เมื่อความเข้มข้นของสตาร์ชเพิ่มขึ้น ส่งผลให้การเกิดอันตรกิริยาระหว่างสายโมเลกุลของสตาร์ชเพิ่มสูงขึ้น ความหนืดจึงเพิ่มขึ้น เมื่อพิจารณาถึงค่าดัชนีการไหล (n) ของสตาร์ชที่ระดับความเข้มข้น 3-6% พบว่าเมื่อความเข้มข้นของสตาร์ชเพิ่มสูงขึ้น ค่าดัชนีการไหลมีค่าลดลงแสดงให้เห็นว่า เมื่อสตาร์ชมีความเข้มข้นสูงขึ้นจะมีความเป็น shear-thinning มากขึ้น

4.1.2 สมบัติวิสโคอิลาสติก (viscoelastic properties)

สมบัติวิสโคอิลาสติกเป็นสมบัติของอาหารที่มีสมบัติกึ่งระหว่างของแข็งกับของไหล เช่น เจล ซึ่งวัสดุที่มีสมบัติวิสโคอิลาสติกนี้จะแสดงการเปลี่ยนแปลงของความเครียดเมื่อให้ความเค้นคงที่ และเมื่อหยุดให้ความเค้นวัสดุสามารถคืนกลับสภาพเดิมได้บ้าง แต่ก็มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างอย่างถาวร

4.1.2.1 การวิเคราะห์สมบัติวิสโคอิลาสติก

การวิเคราะห์สมบัติเชิงวิสโคอิลาสติกของอาหารนั้น อาศัยหลักการของพฤติกรรมการตอบสนองต่อความเค้นหรือความเครียดของวัสดุนั้น ซึ่งอาจแบ่งออกได้เป็น 3 แบบใหญ่ๆ ได้แก่

ก. การวิเคราะห์การคลายความเค้น (stress relaxation) เป็นการศึกษาการตอบสนองต่อความเครียดที่คงที่ของวัสดุวิสโคอิลาสติก ในเทอมของมอดูลัสการคลายความเค้น (stress relaxation modulus, G(t)) ซึ่งเป็นตัวแปรวิสโคอีลาสติก (viscoelastic parameter) และมีค่าเท่ากับอัตราส่วนระหว่างความเค้นที่เปลี่ยนแปลงต่อความเครียด ดังแสดงในสมการที่ 4

$$G(t) = \frac{\sigma(t)}{\varepsilon_0} \qquad (4)$$

เมื่อ G(t) = stress relaxation modulus

$\sigma(t)$ = ความเค้นที่เปลี่ยนแปลง

ε_0 = ความเครียด

ของแข็งวิสโคอีลาสติก (viscoelastic solid) ความเค้นจะลดลงจนเป็นค่าหนึ่งที่เรียกว่า ค่าความเค้นสมดุล (equilibrium stress value, $\sigma_e > 0$) ในทำนองเดียวกันมอดูลัสเฉือน (shear modulus, G) ก็จะถึงจุดสมดุล ณ $G_e > 0$ ของเหลววิสโคอีลาสติก (viscoelastic liquid) ความเค้นลดลงเป็นศูนย์ ของเหลวหนืด (viscous liquid) ไม่สามารถที่จะควบคุมความเค้นเมื่อไม่มีการเคลื่อนที่ทำให้ความเค้นถูกปลดปล่อยทันทีทันใด

ข. การวิเคราะห์การคืบ (creep) เป็นการวิเคราะห์ผลการตอบสนองต่อความเค้นที่คงที่ของวัสดุวิสโคอิลาสติกในรูปของ creep compliance ซึ่งเป็น ตัวแปรวิสโคอีลาสติกและมีค่าเท่ากับอัตราส่วนของความเครียดที่เปลี่ยนแปลงต่อความเค้น ดังแสดงในสมการที่ 5

$$J(t) = \frac{\varepsilon(t)}{\sigma_0} \qquad (5)$$

เมื่อ J(t) = creep compliance ที่เปลี่ยนแปลงตามเวลา (t)

$\varepsilon(t)$ = ความเค้นที่เปลี่ยนแปลงตามเวลา (t)

σ_o = ความเครียด

ของแข็งวิสโคอีลาสติก เมื่อให้โหลด (load) คงที่ J จะเข้าสู่สภาวะสมดุล (J_e) หลังจากเอาโหลดออก ณ เวลา t_1 J จะลดลงเป็นศูนย์ ของเหลววิสโคอีลาสติกเมื่อให้โหลดคงที่ J จะเป็นฟังก์ชันเส้นตรงของเวลา หลังจากเอาโหลดออก ณ เวลา t_1 J จะลดลงเป็นค่าคงที่หนึ่ง (finite value)

Berger model ซึ่งได้มาจากการนำ Maxwell model และ Kelvin model มาต่ออนุกรม สามารถอธิบายพฤติกรรมการคืบ ได้ดังสมการที่ 6

$$J(t) = J_0 + J_1(1 - \ell^{-t/\tau_1}) + \frac{t}{\eta_N} \qquad (6)$$

โดย $J(t)$ = the measured compliance (1/Pa)

J_o = the instantaneous elastic compliance (1/Pa)

= $1/G_0$

J_1 = the retarded elastic compliance (1/Pa)

= $1/G_1$

η_1 = the retarded viscosity (Pa.s)

η_N = the terminal viscosity (Pa.s)

τ_1 = the retardation time (s)

= $J_r \cdot \eta_1$

ค. การวิเคราะห์การสั่นทางพลวัต (dynamic oscillation) เป็นการศึกษาการตอบสนองต่อความเค้นหรือความเครียดภายใต้การเคลื่อนที่แบบสั่น (harmonic oscillation) ของวัสดุวิสโคอิลาสติกในเทอมของตัวแปรวิสโคอีลาสติกหลายตัวได้แก่ storage modulus (G'), loss modulus (G'') และ loss tangent (tan δ)

ค่า storage modulus แสดงถึงปริมาณของพลังงานที่ถูกเก็บไว้ในวัสดุเมื่อได้รับความเค้นหรือความเครียด ดังนั้นวัสดุ Hookean จึงสามารถเก็บพลังงานไว้ได้ทั้งหมด ขณะที่วัสดุไหลหนืดไม่สามารถเก็บพลังงานไว้ได้เลย พลังงานที่ได้รับจะสูญสลายไปกับการเคลื่อนที่แบบไหลหนืดทั้งหมด ส่วน loss modulus แสดงถึงพลังงานที่สูญเสียไปเนื่องจากความหนืด และแสดงถึงสัดส่วนของการแสดงสถานการณ์เป็นวัสดุไหลหนืดต่อสถานะยืดหยุ่น พารามิเตอร์อีกตัวหนึ่งที่มีความสำคัญได้แก่ loss tangent (tan δ) ดังสมการที่ 7

$$\tan\delta = G''/G' \qquad (7)$$

การวิเคราะห์สมบัติเชิงวิสโคอิลาสติกแบบการวิเคราะห์แบบสั่นทางพลวัตนั้น ในปัจจุบันเป็นที่นิยมมากเนื่องจากใช้เวลาในการทดลองสั้นและควบคุมพารามิเตอร์ได้สะดวก เหมาะสมกับการศึกษาระบบอาหารประเภทพอลิเมอร์และเจล หลักการของการวิเคราะห์ด้วยวิธีนี้คือ การให้วัสดุได้รับความเครียดในลักษณะการสั่นแบบ sine wave และความสัมพันธ์ของความเครียดกับเวลาภายใต้การเคลื่อนที่แบบฮาโมนิค (harmonic)

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ และสมบัติทางรีโอโลยีของสตาร์ชกล้วยก่อนและหลังการดัดแปรด้วยวิธีรีโทรเกรเดชัน

2. เพื่อศึกษาผลของระยะเวลาในการเกิดรีโทรเกรเดชันของสตาร์ชกล้วยต่อสมบัติทางรีโอโลยี และปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์

บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

วัสดุ

1. วัตถุดิบ

- สตาร์ชกล้วยนางพญาระยะการสุกที่ 1 (เปลือกมีสีเขียว ผลแข็ง ยังไม่มีการสุก)

2. สารเคมี

- สารเคมีที่ใช้ในการสกัดสตาร์ช คือ โซเดียมไฮดรอกไซด์
- สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ กรดซัลฟูริก คอปเปอร์ซัลเฟต โพแทสเซียมซัลเฟต โซเดียมไฮดรอกไซด์ กรดไฮโดรคลอริก กรดบอริก โพแทสเซียมไฮโดรเจนพธาเลต เมทิลีนบลู เมทิลเรด แอลกอฮอล์ สารละลายไอโอดีน (analytical grade)

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับผลิตสตาร์ช

- เครื่องโม่แป้ง ยี่ห้อ Central ประเทศไทย
- เครื่องบดผสม ยี่ห้อ Sharp รุ่น EM-11 ประเทศญี่ปุ่น
- ตู้อบลมร้อนแบบถาด ประเทศไทย
- เครื่องเหวี่ยงแยก ยี่ห้อ Hittich รุ่น Universal 16 ประเทศเยอรมัน
- ตะแกรงร่อนขนาด 250 ไมครอน ยี่ห้อ Fritsch ประเทศเยอรมัน

2. อุปกรณ์สำหรับการดัดแปรด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชัน

- เครื่องบดผสม ยี่ห้อ Sharp รุ่น EM-11 ประเทศญี่ปุ่น
- เครื่อง autoclave ยี่ห้อ VISION รุ่น VS1221
- เครื่องทำแห้งแบบแช่แข็ง (freeze dryer) ยี่ห้อ DURA-TOP รุ่น MP

3. อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับการวิเคราะห์ทางด้านเคมีและกายภาพ

- เครื่องวัด pH ยี่ห้อ Sartorius ประเทศเยอรมัน
- เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Precisa รุ่น 1000C ประเทศสหรัฐอเมริกา
- เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Mettler Toledo รุ่น AL204 ประเทศสหรัฐอเมริกา
- เครื่องกวน (magnetic stirrer) ยี่ห้อ Fisher Scientific รุ่น LR 49683C ประเทศอังกฤษ
- เครื่อง vortex mixer ยี่ห้อ IKA รุ่น MS1 ประเทศเยอรมัน

- เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ยี่ห้อ ThermoSpectronic รุ่น G-20 ประเทศอังกฤษ
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ รุ่น W350 ยี่ห้อ Memmert ประเทศเยอรมัน
- นาฬิกาจับเวลา
- กล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (Scanning Electron Microscopy) ยี่ห้อ SEM รุ่น JSM-5800LV ประเทศญี่ปุ่น
- เครื่องวัดขนาดอนุภาค (Particle Size Analyser) ยี่ห้อ COULTER รุ่น LS230 ประเทศสหรัฐอเมริกา
- เครื่องวัดปริมาณผลึก (X-Ray Diffractometer) ยี่ห้อ Phillips รุ่น X'Pert MPD ประเทศเนเธอร์แลนด์
- เครื่องอินฟาเรดสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Fourier Transfer Infrared Spectrometer, FTIR) ยี่ห้อ Bruker รุ่น IFS-48 ประเทศสหรัฐอเมริกา
- เครื่องวัดสมบัติการเกิดเพสท์ (Rapid Visco Analyzer) ยี่ห้อ Newport Sciencetific รุ่น RVA-4 ประเทศออสเตรเลีย
- เครื่องวัดความหนืด (Rheometer) ยี่ห้อ Haake รุ่น RheoStressRS75 ประเทศเยอรมัน
- เครื่อง Differential Scanning Caloremeter ยี่ห้อ Perkin Elmer รุ่น DSC7 ประเทศสหรัฐอเมริกา

วิธีการทดลอง

1. การผลิตสตาร์ชกล้วยนางพญา

คัดเลือกกล้วยดิบจากกล้วยพันธุ์พื้นเมืองภาคใต้ คือกล้วยนางพญา ที่ระยะการสุกที่ 1 (เปลือกมีสีเขียว ผลแข็ง ยังไม่มีการสุก) ทำการผลิตสตาร์ชจากกล้วย ด้วยวิธีการสกัดด้วยด่าง (alkaline extraction) โดยการปอกเปลือกกล้วยและหั่นเป็นแผ่นบางๆ บดผสมด้วย NaOH 0.05 N อัตราส่วน 1:5 (โดยน้ำหนักกล้วยต่อสารละลาย) กวนตลอดเวลา 2 ชั่วโมง แล้วนำมากรองผ่านตะแกรงขนาด 120 mesh นำส่วนที่กรองได้ไปหมุนเหวี่ยงแยกด้วยความเร็วรอบ 3500 rpm เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำตะกอนที่ได้มาล้างด้วยน้ำกรองจำนวน 2 ครั้ง อัตราส่วน 1:2 (โดยน้ำหนักตะกอนต่อน้ำกรอง) โดยแต่ละครั้งทำการหมุนเหวี่ยงแยกด้วยความเร็วรอบ 3500 rpm เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำตะกอนที่ได้มาล้างด้วยน้ำกรองด้วยอัตราส่วน 1:2 (โดยน้ำหนักตะกอนต่อน้ำกรอง) กรองผ่านตะแกรงขนาด 120 mesh ปรับค่า pH ให้ได้เท่ากับ 6.5-7 แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงแยกด้วยความเร็วรอบ 3500 rpm เป็นเวลา 15 นาที นำตะกอนสตาร์ชที่ได้ ไปอบแห้งในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 45 °C จนความชื้นสุดท้ายเท่ากับ 10-12% แล้วนำมาบดละเอียด ร่อนผ่านตะแกรง ขนาด 60 mesh (ดัดแปลงจาก Eggleston *et al.*, 1992) เก็บใส่ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C ตลอดการวิจัย จากนั้นนำสตาร์ชกล้วยนางพญาที่ผลิตได้ไปศึกษาองค์ประกอบทางเคมี(ข้อ 2 บทที่ 2) ลักษณะทางโครงสร้าง (ข้อ 4 บทที่ 2) สมบัติเชิงหน้าที่ (ข้อ 5 บทที่ 2) ระดับการถูกย่อยด้วยเอนไซม์และกรด (ข้อ 6 และ7 บทที่ 2) และปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ (ข้อ 8) จากนั้นคำนวณปริมาณผลผลิต (yield) ที่ได้จากการสกัดสตาร์ชจากกล้วยนางพญา และคำนวณค่าดัชนีความขาวของสตาร์ชที่ได้ (Chen *et al.*, 1999)

2. การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสตาร์ชกล้วยนางพญา

นำสตาร์ชกล้วยนางพญาที่ผลิตได้จากข้อ 1 (บทที่ 2) มาวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ไขมัน ความชื้น เถ้า (AOAC, 2000) และปริมาณอะมิโลส (Shanthy *et al.*, 1980)

3. การดัดแปรสตาร์ชกล้วยนางพญาด้วยวิธีเกิดรีโทรเกรเดชัน

เตรียมสารแขวนลอยสตาร์ชกล้วยนางพญา 25 กรัม ในสารละลาย 0.1 M อะซิเตทบัฟเฟอร์ pH 5.2 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปให้ความร้อนในอ่างน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำไปให้ความร้อนด้วยเครื่อง autoclave ที่ระดับอุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 30 นาที นำแป้งเปียกร้อนที่ได้ไปละลายด้วยอะซิเตทบัฟเฟอร์ ปริมาตร 125 มิลลิลิตร ทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิ 50 °C และเติม

เอนไซม์ pullulanase 10.6 U/g starch เพื่อตัดสายกิ่ง (debranching) ของสตาร์ชกล้วย แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

นำสตาร์ชกล้วยที่ผ่านการตัดสายกิ่งและบ่มด้วยวิธีข้างต้น ไปให้ความร้อนด้วยเครื่อง autoclave ที่ระดับอุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำแป้งเปียกร้อนที่ได้ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 25 °C จนอุณหภูมิแป้งเปียกมีอุณหภูมิเท่ากับ 60 °C แบ่งตัวอย่างออกเป็น2 ส่วน ส่วนหนึ่งนำไปวิเคราะห์หาระดับการตัดสายกิ่ง (degree of debraching) ตามวิธีของ Park-Johnson (Hizukuri, 1995) โดยวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณน้ำตาลทั้งหมด แสดงดังภาคผนวก ข แล้วคำนวณระดับการตัดสายกิ่งดังสมการที่ 8 อีกส่วนหนึ่งนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นระยะเวลา 1, 3, 5, 9, 13 และ 15 วัน เพื่อศึกษาผลของเวลาในการเกิดรีโทรเกรเดชัน จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้ไปทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่เข็ง (freeze dryer) แล้วนำไปบดให้ละเอียดร่อนผ่านตะแกรงขนาด 60 mesh บรรจุในถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C (Gonzalez-Soto *et al.*, 2006) จากนั้นนำสตาร์ชกล้วยนางพญาที่ผ่านการดัดแปรไปศึกษาลักษณะทางโครงสร้าง (ข้อ 4.3 และ4.4 บทที่ 2) สมบัติเชิงหน้าที่ (ข้อ 5.2 และ5.3 บทที่ 2) ระดับการถูกย่อยด้วยเอนไซม์และกรด (ข้อ 6 และ7 บทที่ 2) และปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ (ข้อ 8 บทที่ 2)

ระดับการตัดสายกิ่ง (D.H.%) = (ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ X 100) / (ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด) (8)

4. การศึกษาลักษณะทางโครงสร้างของสตาร์ชกล้วยนางพญา

4.1 รูปร่างของเม็ดสตาร์ชกล้วยนางพญา

ศึกษาลักษณะรูปร่างของเม็ดสตาร์ชกล้วยนางพญาก่อนการดัดแปรด้วยวิธีรีโทร-เกรเดชันด้วยเครื่อง Scanning Electron Microscope (SEM) โดยนำตัวอย่างสตาร์ชมากระจายลงบนแท่นตัวอย่าง ทำการเคลือบผิวหน้าของตัวอย่างด้วยทอง นำตัวอย่างที่เตรียมเสร็จแล้วมาส่องด้วยกล้อง SEM ที่กำลังขยาย 1000 2500 และ 5000 เท่า โดยกำหนดค่า kV เท่ากับ 10

4.2 ขนาดและการกระจายตัวของสตาร์ชกล้วยนางพญา

ศึกษาขนาดและการกระจายตัวของสตาร์ชกล้วยนางพญาก่อนการดัดแปรด้วยเครื่อง Particle Size Analyzer (PSA) ใช้ He-Ne เป็นแหล่งกำเนิดคลื่นแสงที่ให้ความยาวคลื่นเท่ากับ 630 nm การวัดค่าครอบคลุมขนาดอนุภาค 0.05 ถึง 880 ไมโครเมตร โดยใช้น้ำกลั่นเป็นดิสเพิร์สเฟส (disperse phases) ทำการเตรียมตัวอย่างโดยนำสตาร์ชกล้วยนางพญาประมาณ 0.5 กรัมเติมลงในน้ำกลั่นแล้วทำให้เกิดการกระจายตัวด้วยเครื่องอัลตราโซนิค (ultrasonic) ประมาณ 5 นาที จากนั้นนำตัวอย่างไปวัดขนาดและการกระจายตัวของขนาดด้วยเครื่อง PSA

4.3 ชนิด และปริมาณผลึก

ศึกษาชนิด และปริมาณผลึกของสตาร์ชกล้วยนางพญาทั้งก่อนและหลังการดัดแปรด้วยวิธีวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชัน ด้วยเครื่อง X-ray Diffractometer (XRD) โดยบรรจุตัวอย่างสตาร์ชลงในช่องใส่ตัวอย่าง จากนั้นทำการตรวจสอบการแทรกสอดของรังสี X-ray ที่มุม 2(Theta) ในช่วง 4-34 (40 kv, 30 mA, λ_{α} = 0.154 nm) คำนวณค่าร้อยละปริมาณผลึก โดยคำนวณอัตราส่วนพื้นที่ใต้พีคที่ปรากฏต่อพื้นที่ทั้งหมดด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์

4.4 สัดส่วนของโมเลกุลที่จัดเรียงตัวแบบเกลียวคู่ (double helix) ต่อส่วนอสัณฐานในโครงสร้างผลึก (ratio of short-range molecular order to amorphous: RSA)

ศึกษาอัตราส่วนโมเลกุลที่มีการจัดเรียงตัวแบบเกลียวคู่ต่ออสัณฐานของสตาร์ชกล้วยนางพญาทั้งก่อนและหลังการดัดแปรด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชัน ด้วยเครื่อง Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR) โดยใช้เซลล์วัดตัวอย่าง attenuated total reflectance (ATR) แล้วทำการวัดค่าความเข้มของแสงที่ถูกดูดกลืนต่อความยาวคลื่น (wave number) ที่ช่วง 1300-800 cm^{-1} และอุณหภูมิ 25°C คำนวณสัดส่วนของโมเลกุลที่จัดเรียงตัวแบบเกลียวคู่ต่อส่วนอสัณฐาน (RSA) โดยคำนวณจากอัตราส่วนของค่า wave number ที่ 1047 cm^{-1} ต่อ 1022 cm^{-1}

5. การศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของสตาร์ชกล้วยนางพญา

5.1 สมบัติการเกิดเจลาติไนเซชัน (gelatinization properties)

ศึกษาสมบัติการเกิดเจลาติไนเซชันของสตาร์ชกล้วยนางพญาทั้งก่อนและหลังการดัดแปรด้วยวิธีวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชัน โดยเตรียมตัวอย่างสตาร์ชต่อน้ำด้วยอัตราส่วน 1: 4 (โดยน้ำหนักแห้ง) จากนั้นตั้งทิ้งไว้ให้เกิดสมดุลเป็นเวลา 12 ชั่วโมง แล้วนำตัวอย่างไปให้ความร้อนด้วยเครื่อง Differential Scanning Calorimetry (DSC) ที่อัตรา 10 °C/min ในช่วงอุณหภูมิ 10-95°C (Lii *et al.*, 1995) ทำการบันทึกค่าอุณหภูมิเริ่มต้น (T_o) อุณหภูมิสูงสุด (T_p) และอุณหภูมิสุดท้าย (T_c) ของการเกิดเจลาติไนเซชัน และพลังงานที่ใช้ในการเกิดเจลาติไนเซชัน (ΔH)

5.2 สมบัติทางรีโอโลยี (rheological properties)

5.2.1 สมบัติการเกิดเพสท์ของสตาร์ช (pasting properties)

ศึกษาสมบัติการเกิดเพสท์ของสตาร์ชจากกล้วยนางพญาทั้งก่อนและหลังการดัดแปรด้วยวิธีวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชัน ด้วยเครื่อง Rapid Visco Analyzer (RVA) ในสภาวะที่เป็นกลาง (pH 7.0) โดยใช้สารละลาย NaOH เข้มข้น 0.1 M และสภาวะที่เป็นกรด (pH 3.5) โดยใช้สารละลายกรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 30 โดยเตรียมสตาร์ชเข้มข้นร้อยละ 12 (โดยน้ำหนักแห้ง) ใส่ลงในถ้วยอะลูมิเนียม ตั้งโปรแกรมอุณหภูมิและเวลาให้ความร้อนดังนี้ ช่วงแรกเพิ่มอุณหภูมิจาก 25 °C ให้

สูงขึ้นในอัตรา 1.5 °C/min จนกระทั่งถึงอุณหภูมิ 95 °C คงไว้ที่อุณหภูมินี้นาน 3 นาที จากนั้นค่อย ๆ ลดอุณหภูมิลงในอัตราเดียวกันจนถึงอุณหภูมิ 25 °C คงไว้ที่อุณหภูมินี้นาน 5 นาที บันทึกค่าการเปลี่ยนแปลงความหนืดที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ วิเคราะห์อุณหภูมิเริ่มต้นของการเกิดความหนืด (pasting temperature) ค่าความหนืดสูงสุด (peak viscosity) ค่า breakdown และค่า setback (Whalen *et al.*, 1997)

5.2.2 พฤติกรรมการไหล (flow behavior)

ศึกษาพฤติกรรมการไหลของสตาร์ชกล้วยนางพญาทั้งก่อนและหลังการดัดแปรด้วยวิธีวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชัน โดยเตรียมสตาร์ชที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 4 (โดยน้ำหนักแห้ง) แล้วนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 95 °C เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำไปวัดค่าความหนืดและค่าความเค้นเฉือนที่อัตราการเฉือนในช่วง 10-1000 s^{-1} ที่อุณหภูมิ 60 °C ด้วยเครื่องรีโอมิเตอร์ (RheoStress, HAKKE, Germany) ซึ่งต่อกับหัววัดชนิด coaxial cylinder (Z41) ทำการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างค่าความหนืดและความเค้นเฉือนกับอัตราการเฉือน ในรูปแบบสมการคณิตศาสตร์ คำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความคงตัว (consistency coefficient) และค่าดัชนีพฤติกรรมการไหล (flow behavior index)

5.2.3 สมบัติวิสโคอิลาสติก (viscoelastic properties)

5.2.3.1 การวิเคราะห์การสั่นทางพลวัต (dynamic oscillation)

ศึกษาสมบัติวิสโคอิลาสติกของสตาร์ชกล้วยนางพญาทั้งก่อนและหลังการดัดแปรด้วยวิธีรีโทรเกรเดชัน โดยเตรียมสตาร์ชที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 8 (โดยน้ำหนักแห้ง) แล้วนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 95 °C เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำไปวัดค่า storage modulus (G') loss modulus (G'') และ ค่า loss tangent ($\tan \delta$) ที่ช่วงความถี่ 0.1-10 Hz ที่ค่า strain ร้อยละ 2 (linear viscoelastic) และที่อุณหภูมิ 60 °C ด้วยเครื่องรีโอมิเตอร์ (RheoStress, HAKKE., Germany) ซึ่งต่อกับหัววัดชนิด cone and plate (CP4/40)

5.2.3.2 การวิเคราะห์การคืบ (creep study)

ศึกษาการคืบ (creep study) ของสตาร์ชกล้วยนางพญาทั้งก่อนและหลังการดัดแปรด้วยวิธีรีโทรเกรเดชัน โดยเตรียมสารละลายสตาร์ชที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 (โดยน้ำหนักแห้ง) แล้วนำไปศึกษาการคืบภายใต้ความเค้นเฉือน 10 Pa ในช่วงเวลา 400 วินาที ด้วยเครื่องรีโอมิเตอร์ซึ่งต่อกับหัววัดชนิด parallel plate จากนั้นศึกษาความสัมพันธ์ของค่า compliance กับเวลาโดยใช้แบบจำลองของเบอร์เกอร์ (Burker model) แล้วคำนวณค่า instantaneous elastic modulus (G_0), retarded elastic modulus (G_i), retarded viscosity (η_i), retardation time (τ_i) และ terminal viscosity

(η_{ri}) โดยใช้วิธีการของ Inokuchi (Shama and Sherman, 1966 ; Sherman, 1966) แสดงดังภาคผนวก ก

6. การศึกษาระดับการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ (degree of enzyme hydrolysis) ของสตาร์ชกล้วยนางพญา

ศึกษาระดับการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ของสตาร์ชกล้วยนางพญาทั้งก่อนและหลังการดัดแปรด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชัน (Zhang and Oates, 1999) โดยชั่งตัวอย่างสตาร์ช 0.2 กรัม เติมสารละลาย 0.1 M phosphate buffer (pH 7) ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เติมเอนไซม์ *alpha*-amylase (porcine pancrease) 2520 U/g starch จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C ที่ความเร็วรอบของการเขย่า 150 รอบต่อนาที โดยเก็บตัวอย่างที่ 5, 10, 24, 30, 48, 54 และ 72 ชั่วโมง จากนั้นหยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์ ด้วยสารละลาย $HgCl_2$ 0.4 mM นำหลอดตัวอย่างมาหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 2000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที แยกสารละลายส่วนใส 1 มิลลิลิตร ไปบ่มที่อุณหภูมิ 90 °C เป็นเวลา 15 นาที และนำไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี Somogyi-Nelson (1944) แสดงดังภาคผนวก ข แล้วคำนวณระดับการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ ด้วยสมการที่ (9)

ระดับการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ = (ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ X 100) / (ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด) (9)

7. การศึกษาระดับการถูกย่อยด้วยกรด (degree of acid hydrolysis) ของสตาร์ชกล้วยนางพญา

ศึกษาระดับการถูกย่อยด้วยกรดของสตาร์ชกล้วยนางพญาทั้งก่อนและหลังการดัดแปรด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชัน (Hoover and manuel, 1996) โดยชั่งตัวอย่างสตาร์ช 0.25 กรัม เติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 2.2 โมล 10 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C จากนั้นทำตัวอย่างให้เป็นกลางด้วย 1 N NaOH นำตัวอย่างมาหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 2500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที แยกสารละลายส่วนใส 1 มิลลิลิตร ไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี Somogyi-Nelson (1944) แสดงดังภาคผนวก ข คำนวณระดับการถูกย่อยด้วยกรด ด้วยสมการที่ (10)

ระดับการถูกย่อยด้วยกรด = (ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ X 100) / (ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด) (10)

8. การศึกษาปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ ของสตาร์ช กล้วยนางพญา

ศึกษาปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ของสตาร์ชกล้วยนางพญาทั้งก่อนและหลังการดัดแปรด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชัน ด้วยวิธีของ McCleary and Monaghan (2002) โดยชั่งตัวอย่างสตาร์ช 0.1 กรัม ในหลอดที่มีฝาปิด จากนั้นเติมสารละลายเอนไซม์ pancreatic *alpha*-amylase ที่มีเอนไซม์ amyloglucosidase (AMG, 3 U/ml) 4 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปวางในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 37 °C ที่ความเร็ว 200 stroke/min เป็นเวลา 16 ชั่วโมง จากนั้นเติมเอทานอล (99%) 4 มิลลิลิตร แล้วนำตัวอย่างที่ได้ไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เทส่วนใสทิ้ง นำตะกอนที่ได้มาละลายด้วยเอทานอล (50%) 8 มิลลิลิตร แล้วนำตัวอย่างที่ได้ไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที (ทำซ้ำ 2 ครั้ง) นำตะกอนที่ได้มาเติม 2 โมล KOH ปริมาตร 2 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปกวนเป็นเวลา 20 นาที ในอ่างน้ำแข็ง เมื่อครบเวลาเติม 1.2 โมล sodium acetate buffer (pH 3.8) 8 มิลลิลิตร และเติมเอนไซม์ amyloglucosidase (AMG, 3,300 U/ml) 0.1 มิลลิลิตร โดยทันที ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปวางในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 30 นาที

จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้มาปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที นำตัวอย่างที่ได้ 0.1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดแก้ว (ทำ 3 ซ้ำ) เติมสารละลาย GOPOD 3 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 20 นาที แล้วจึงนำตัวอย่างที่ได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ด้วยสารลายควบคุม คำนวณปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ (RS) ด้วยสมการที่ (11)

$$\text{ปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ (RS \%)} = \Delta E \times (F/W) \times 90 \qquad (11)$$

ΔE = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร

F = 100 (mg D-glucose) / ค่าการดูดกลืนแสงของ 100 (mg D-glucose) ที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร

W = น้ำหนักแห้งของตัวอย่างสตาร์ช (กรัม)

บทที่ 3

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. องค์ประกอบทางเคมีและลักษณะทางโครงสร้างของสตาร์ชกล้วยนางพญา

1.1 การผลิตสตาร์ชกล้วยนางพญา

จากการศึกษาการผลิตสตาร์ชกล้วยนางพญา [Musa (AAB Group) 'Kluai Nang Paya'] โดยคัดเลือกกล้วยนางพญาที่มีเปลือกสีเขียวเข้ม (7.5 GY6/6) ซึ่งเป็นกล้วยที่มีระยะการสุกที่ 1 (เปลือกเขียว ผลแข็ง ยังไม่มีการสุก) (Lii *et al.*, 1982) โดยระยะการสุกที่ 1 มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่อยู่ในรูปของสตาร์ชสูง จึงเหมาะแก่การนำมาผลิตสตาร์ช ซึ่งในงานวิจัยนี้ได้เลือกใช้วิธีการสกัดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เนื่องจากสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นสารที่สามารถย่อยผนังเซลล์ของเนื้อเยื่อกล้วยได้ (Chiang *et al.*, 1987) ดังนั้นเมื่อใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ในการสกัดสตาร์ชจึงทำให้ผนังเซลล์ที่ห่อหุ้มสารต่างๆภายในเซลล์ถูกทำลาย สตาร์ชจึงสามารถหลุดออกมาได้ง่ายกว่าการสกัดด้วยสารละลายชนิดอื่น นอกจากนั้นสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์สามารถล้างเอาโปรตีนที่เกาะกับเม็ดสตาร์ชให้ละลายออกมาอยู่ในสารละลายได้ (Rayas-Duarte *et al.*, 1995) เมื่อพิจารณาปริมาณสตาร์ชกล้วยนางพญาที่สกัดได้พบว่ามีค่าร้อยละ 55.70 (โดยน้ำหนักแห้ง) และมีค่าดัชนีความขาวเท่ากับร้อยละ 95.36 ซึ่งค่าทั้งสองพบว่าใกล้เคียงกับค่าที่ได้จากการสกัดสตาร์ชจากกล้วยหักมุก กล้วยน้ำว้าค่อมและกล้วยตานี (วสันต์ ศิริวงศ์, 2543)

1.2 องค์ประกอบทางเคมีของสตาร์ชกล้วยนางพญา

องค์ประกอบทางเคมีของสตาร์ชกล้วยนางพญา แสดงดัง Table 3 โดยสตาร์ชกล้วยนางพญามีปริมาณความชื้นร้อยละ 11.97 (โดยน้ำหนักแห้ง) ปริมาณโปรตีนร้อยละ 0.25 (โดยน้ำหนักแห้ง) ปริมาณไขมันร้อยละ 0.01 (โดยน้ำหนักแห้ง) และปริมาณเถ้าร้อยละ 0.10 (โดยน้ำหนักแห้ง) จากการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนและไขมันที่ได้พบว่ามีค่าน้อย แสดงให้เห็นว่าสตาร์ชกล้วยนางพญาที่สกัดได้มีความบริสุทธิ์สูง และเมื่อเปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีกับสตาร์ชกล้วยน้ำว้า สตาร์ชกล้วยตานี และสตาร์ชกล้วยหักมุก พบว่ามีค่าองค์ประกอบทางเคมีใกล้เคียงกัน (วสันต์ ศิริวงศ์, 2543) สำหรับปริมาณอะมิโลสของสตาร์ชกล้วยนางพญาที่ได้จากการทดลองพบว่ามีค่าร้อยละ 17.09 (โดยน้ำหนักแห้ง) ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับสตาร์ชกล้วย Fougamou ซึ่งมีค่าร้อยละ 17.16 (Eggleston *et al.*, 1992) สตาร์ชกล้วย Valery มีค่าร้อยละ16 (Kayisu and Hood, 1981) และสตาร์ช กล้วย Cavendish มีค่าร้อยละ 19.5 (Ling *et al.*, 1982)

Table 3. Chemical compositions of Nang paya banana starch .

Chemical composition	Content (%, db)
Moisture	11.97 ± 0.56
Protein	0.25 ± 0.16
Fat	0.01 ± 0.00
Ash	0.18 ± 0.03
Amylose	17.09 ± 0.09

Note: Each value is mean of triplicate ± SD.

1.3 ลักษณะทางโครงสร้างของสตาร์ชกล้วยนางพญา

1.3.1 ลักษณะรูปร่างและขนาด (granular shape and size)

จากการตรวจสอบลักษณะรูปร่างของเม็ดสตาร์ชกล้วยนางพญาด้วยเครื่อง Scanning Electron Microscope (SEM) พบว่าลักษณะรูปร่างและขนาดเม็ดสตาร์ชกล้วยนางพญามีรูปร่างหลากหลาย ได้แก่ รูปร่างกลมคล้ายไข่ (ellipsoidal shape) รูปร่างแท่งยาว (elongated shape) รูปร่างสามเหลี่ยม (triangular shape) และมีรูปทรงที่ไม่แน่นอน (irregular shape) แสดงดัง Figure 4 และพบว่าลักษณะพื้นผิวของเม็ดสตาร์ช มีลักษณะพื้นผิวที่เรียบ ไม่มีรอยแตกหัก แสดงให้เห็นว่าเม็ดสตาร์ชที่สกัดได้มีความสมบูรณ์และไม่ถูกทำลายในระหว่างขั้นตอนการสกัดหรือการบดร่อน ซึ่งเม็ดสตาร์ชที่มีความสมบูรณ์ส่งผลให้สมบัติทางเคมีและทางกายภาพที่ได้มีความถูกต้อง นอกจากนั้นเมื่อศึกษาการกระจายตัวของขนาดเม็ดสตาร์ชกล้วยนางพญาด้วยเครื่อง Laser Particle Size Analyzer (LPSA) ซึ่งเทคนิคการวัดด้วยเครื่อง LPSA นี้สามารถวัดได้ทั้งขนาดและการกระจายตัวของเม็ดสตาร์ช แสดงดัง Figure 5 โดยพบว่าสตาร์ชกล้วยนางพญามีการกระจายตัวของขนาดอนุภาคในช่วง 1.52 - 69.61 ไมโครเมตร ซึ่งสอดคล้องกับสตาร์ชกล้วยไต้หวัน (20-60 ไมโครเมตร) (Lii *et al.*, 1982) สตาร์ชกล้วยหักมุก (13.20-66.71 ไมโครเมตร) และสตาร์ช กล้วยน้ำว้าค่อม (15.23-55.07 ไมโครเมตร) (วสันต์ ศิริวงศ์, 2543) และพบว่าขนาดของเม็ดสตาร์ชโดยเฉลี่ยของสตาร์ชกล้วยนางพญาเท่ากับ 25.04 ไมโครเมตร ซึ่งสอดคล้องกับสตาร์ชกล้วย plantain (24.1-26.6 ไมโครเมตร) (Eggleston *et al.*, 1992) แต่พบว่ามีค่าต่ำกว่าขนาดของเม็ดสตาร์ชกล้วยหักมุก (30.81 ไมโครเมตร) และสตาร์ชกล้วยน้ำว้าค่อม (30.12 ไมโครเมตร) (วสันต์ ศิริวงศ์, 2543)

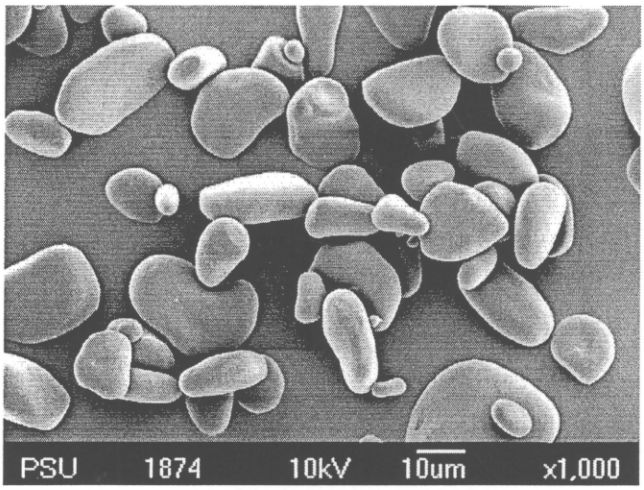

Figure 4. SEM micrograph (x1000) of native Nang paya banana starch.

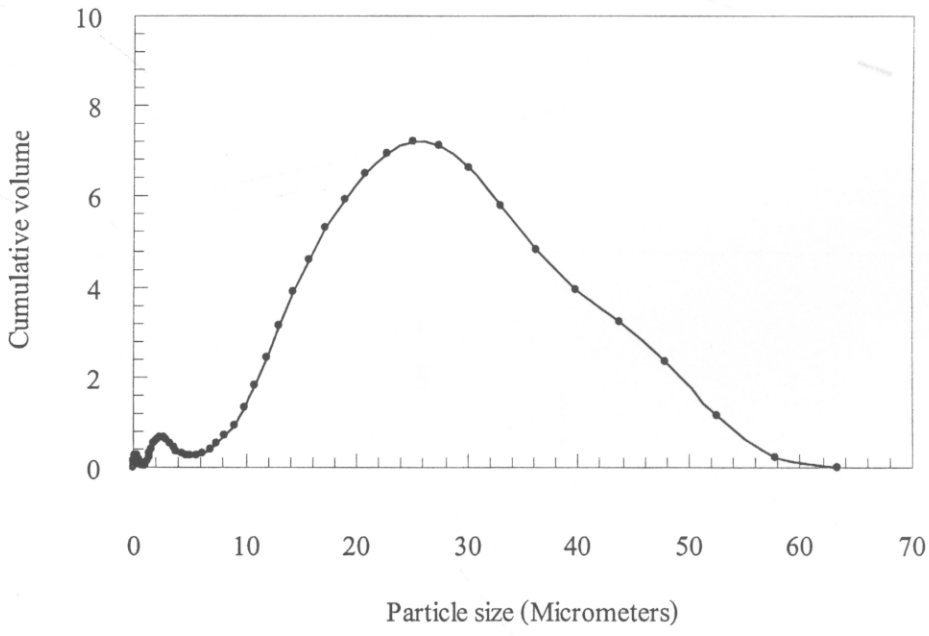

Figure 5. Particle size distribution of native Nang paya banana starch.

1.3.2 โครงสร้างผลึก (crystallinity)

จากการตรวจสอบรูปแบบโครงสร้างผลึกของสตาร์ชกล้วยนางพญาด้วยเครื่อง X-ray diffractometer (XRD) พบว่าสตาร์ชกล้วยนางพญามีปริมาณผลึกร้อยละ 30.47 และมีรูปแบบโครงสร้างผลึกที่มีพีคเด่นชัดที่มุม (2 Theta) เท่ากับ 5.92° 15.12° 17.32° และ 23.22° (Figure 6) ซึ่งเป็นรูปแบบของโครงสร้างผลึกแบบ B (Zobel, 1988) เช่นเดียวกันกับรูปแบบโครงสร้างผลึกที่ได้จากสตาร์ชกล้วยหักมุก สตาร์ชกล้วยน้ำว้าค่อม (วสันต์ ศิริวงศ์, 2543) และสตาร์ชกล้วยไต้หวัน (Lii *et al* ., 1982; Faisant *et al* ., 1995) ในขณะเดียวกันพบว่าสตาร์ชกล้วยตานี (วสันต์ ศิริวงศ์, 2543) สตาร์ชกล้วย Varley (Waliszewski *et al*., 2003) และสตาร์ชกล้วย Musa paradisiace (Millan-Testa *et al*., 2005) มีรูปแบบของโครงสร้างผลึกแบบ C นอกจากนั้น Bello-Perez และคณะ (1999) ได้ศึกษารูปแบบโครงสร้างผลึกของสตาร์ชกล้วยจากประเทศแมกซิโกสายพันธุ์ macho และ criollo พบว่ามีลักษณะโครงสร้างผลึกเป็นแบบ A ซึ่งโดยทั่วไปแล้วลักษณะโครงสร้างผลึกแบบ A เป็นสตาร์ชที่ได้จากธัญพืช อย่างไรก็ตาม Zobel (1988) ได้เสนอว่ารูปแบบของโครงสร้างผลึกจากการศึกษาด้วยเครื่อง X-ray diffractometer ของสตาร์ชกล้วยอาจมีความแตกต่างกันได้ เนื่องจากกล้วยมีความหลากหลายของสายพันธุ์

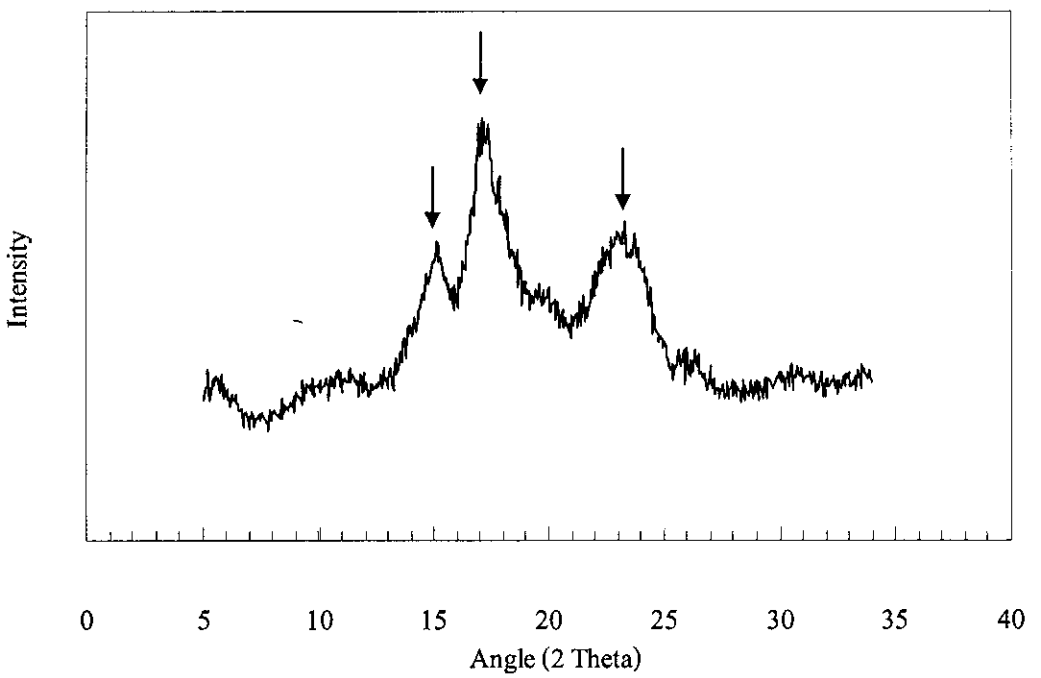

Figure 6. Crystallinity pattern of native Nang paya banana starch.

2. การดัดแปรสตาร์ชกล้วยนางพญาด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชัน (Retrogradation)

2.1 ระดับการตัดสายกิ่ง (degree of debraching)

จากการศึกษาระดับการตัดสายกิ่งของอะมิโลเพคตินของสตาร์ชกล้วยนางพญาด้วยเอนไซม์ pullulanase 10.6 U/g starch แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าสตาร์ชกล้วย นางพญามีระดับการตัดสายกิ่งร้อยละ 77.09 Lin และ Chang (2006) ได้รายงานว่าการตัดสายกิ่งด้วยเอนไซม์ pullulanase ก่อนทำการดัดแปรด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชัน ส่งผลทำให้ปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ชนิดที่ 3 (resistant starch type 3) เพิ่มสูงขึ้น โดยเอนไซม์ pullulanase จะเข้าไปทำการย่อยตรงบริเวณที่เป็นสายกิ่งของอะมิโลเพคติน (*alpha*-1,6 glucosicidic bond) ทำให้ได้พอลิเมอร์สายตรง (linear polymer) ของอะมิโลส ซึ่งสามารถจัดเรียงตัวเป็นโครงสร้างสามมิติ (three dimension network) ขณะที่สตาร์ชเกิดรีโทรเกรเดชัน เกิดเป็นโครงสร้างของผลึกที่มีความแข็งแรงมากขึ้น ส่งผลทำให้ปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์เพิ่มสูงขึ้นด้วย (Guraya *et al*., 2001) สอดคล้องกับการศึกษาการตัดสายกิ่งของของสตาร์ชข้าวโพดที่มีปริมาณอะมิโลสสูง (Ozturk *et al*, 2009) และสตาร์ชข้าว (Pongjanta *et al*, 2009) ซึ่งพบว่าการตัดสายกิ่งส่งผลทำให้ปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์เพิ่มสูงกว่าสตาร์ชที่ไม่ผ่านการตัดสายกิ่ง

2.2 ลักษณะทางโครงสร้าง

2.2.1 โครงสร้างผลึก (crystallinity)

จากการตรวจสอบรูปแบบโครงสร้างผลึกของสตาร์ชกล้วยนางพญาภายหลังการดัดแปรด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชัน ที่อุณหภูมิ 4°C ระยะเวลาการเก็บรักษา 1 วัน พบว่าเริ่มปรากฏพีคขนาดเล็กที่มุม (2 Theta) 17.32° และ 23.43 ° และเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น พบว่าลักษณะโครงสร้างผลึกมีการพัฒนามากขึ้นโดยปรากฏพีคเด่นชัดที่มุม (2 Theta) 15.12 °, 17.32° และ 23.43 ° (Figure 7) ซึ่งรูปแบบโครงสร้างผลึกยังคงเป็นแบบ B เช่นเดียวกับสตาร์ชกล้วยนางพญาก่อนการดัดแปร อย่างไรก็ตาม Gonzalez-Soto และคณะ (2006) ได้รายงานว่าสตาร์ช กล้วยแมกซิโกเมื่อผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชันที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 4°C เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง รูปแบบโครงสร้างผลึกเปลี่ยนจากแบบ C เป็นแบบ B นอกจากนั้น Miao และคณะ (2009) พบว่าสตาร์ชข้าวโพดข้าวเหนียวที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชันที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 4°C เป็นระยะเวลา 2 วัน รูปแบบโครงสร้างผลึกเปลี่ยนจากแบบ A เป็นแบบ B จากผลการทดลองเปรียบเทียบปริมาณผลึก (crystallinity) พบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น ปริมาณผลึกมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Bello-Perez และคณะ (2005) แต่อย่างไรก็ตามพบว่าปริมาณผลึกของสตาร์ชกล้วยนางพญาก่อนการดัดแปรมีค่าสูงกว่า

ภายหลังการดัดแปรอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แสดงดัง Table 4 จากการพิจารณาค่าปริมาณผลึกสัมพัทธ์ (relative crystallinity) พบว่ามีค่าเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 65.80 เป็นร้อยละ 92.73 เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นจาก 1 วันเป็น 15 วัน Figure 8 แสดงให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงปริมาณผลึกกับระยะเวลาการเก็บรักษา ซึ่งพบว่าปริมาณผลึกเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วภายใน 9 วันแรกของการเก็บรักษาโดยมีค่าเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 20.05 เป็นร้อยละ 27.35 ซึ่งอธิบายได้ว่าปริมาณผลึกที่เพิ่มขึ้นเป็นผลจากการเกิดอันตรกิริยาของสายโมเลกุลอะมิโลสเป็นโครงสร้างแบบเกลียวคู่ (double helix) และโครงสร้างแบบเกลียวคู่ เกิดการรวมกลุ่มกันเป็นโครงร่างสามมิติที่มีความแข็งแรง (Miles *et al.*, 1985; Orford *et al.*, 1987; Clark *et al.*, 1989; Gidley, 1989) เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษามากกว่า 9 วัน พบว่าปริมาณผลึกเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ โดยปริมาณผลึกเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 28.26 ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 15 วัน ซึ่งเป็นผลจากการจัดเรียงตัวของสายอะมิโลเพคตินที่ทำให้เกิดการจัดเรียงตัวเป็นโครงสร้างผลึกที่แข็งแรงขึ้น (Goodfellow and Wilson, 1990) Lu และคณะ (1997) ได้รายงานว่าปริมาณผลึกที่เกิดจากกระบวนการเกิดรีโทรเกรเดชัน อาจเป็นผลมาจากหลายปัจจัยได้แก่ ปริมาณอะมิโลสและ/หรืออะมิโลเพคติน ความเข้มข้นของสตาร์ช ระยะเวลาและอุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษา

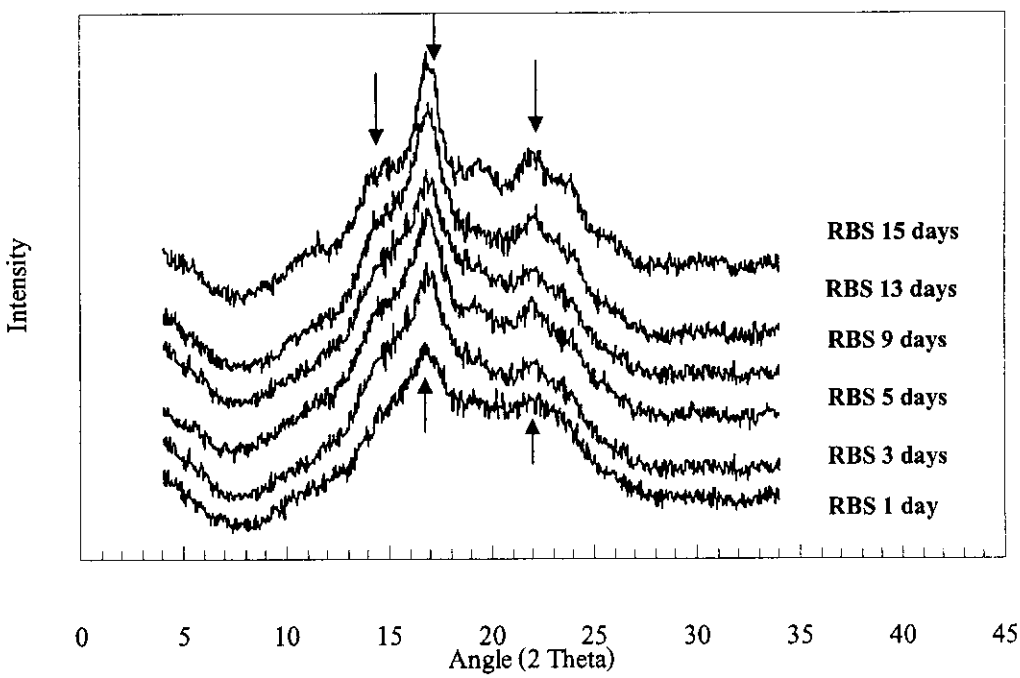

Figure 7. Crystallinity pattern of retrograded banana starches (RBS) at various storage times. Arrow denoted growing peaks at 15.17° 16.93° 23.33° (2 Theta).

Table 4. Crystallinity and relative crystallinity of native and retrograded banana starches (RBS) at various storage times.

Treatment	Crystallinity (%)	Relative crystallinity (%)
Native	$30.47^{a} \pm 0.83$	100
RBS 1 day	$20.05^{d} \pm 0.06$	65.80
RBS 3 days	$23.18^{c} \pm 0.16$	75.78
RBS 5 days	$23.61^{c} \pm 0.02$	77.52
RBS 9 days	$27.35^{b} \pm 0.28$	89.43
RBS 13 days	$27.58^{b} \pm 0.04$	90.91
RBS 15 days	$28.26^{b} \pm 0.04$	92.73

Note: Each value is mean of triplicate ± SD. The difference superscripts in each column denote the significant differences ($p < 0.05$).

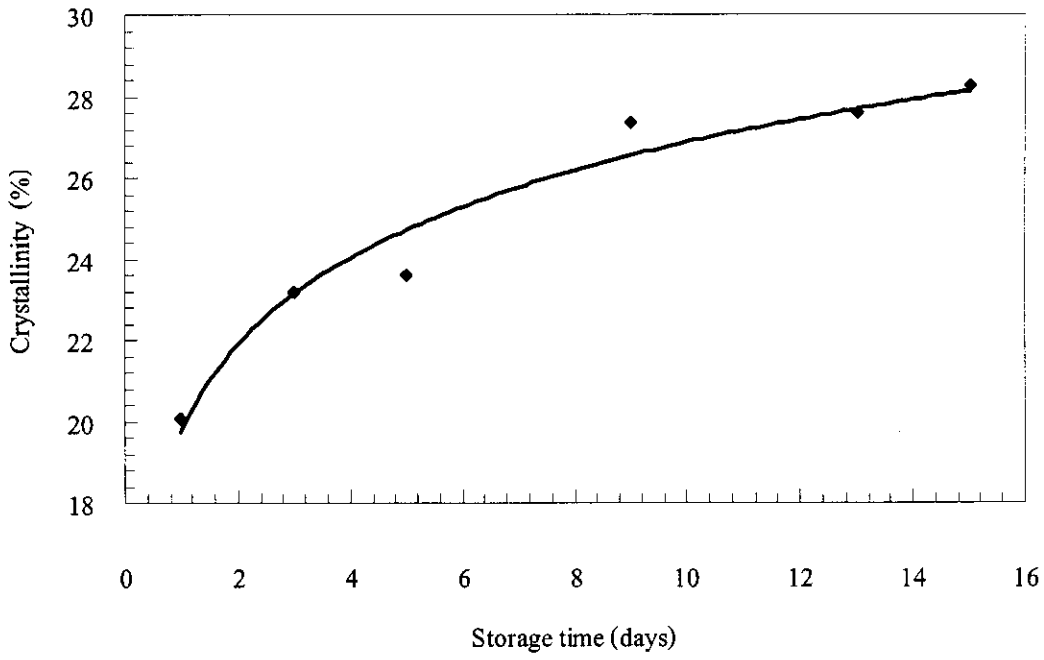

Figure 8. The change of the crystallinity of retrograded banana starches (RBS) at various storage times.

2.2.2 สัดส่วนของโมเลกุลที่มีการจัดเรียงตัวแบบเกลียวคู่ต่อส่วนอสัณฐาน (ratio of short-range molecular order to amorphous: RSA)

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของโมเลกุลที่มีการจัดเรียงตัวแบบเกลียวคู่ (short-range molecular order) ของสตาร์ชกล้วยนางพญาภายหลังการดัดแปรด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชันที่อุณหภูมิ 4°C พบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น พีคการดูดกลืนแสงที่ 1047 cm^{-1} มีลักษณะเด่นชัดขึ้น ซึ่งเป็นพีคที่มีความสัมพันธ์กับปริมาณสายเกลียวคู่ (double helix) (van Soet *et al.*, 1995) แสดงดัง Figure 9 เมื่อพิจารณาค่าสัดส่วนของโมเลกุลที่มีการจัดเรียงตัวแบบเกลียวคู่ต่อส่วนอสัณฐาน (RSA) ของสตาร์ชกล้วยนางพญาพบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น ค่า RSA มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น แสดงดัง Table 5 ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Bello-Perez และคณะ (2005) แต่อย่างไรก็ตามพบว่าค่า RSA ของสตาร์ชกล้วยนางพญาก่อนการดัดแปรมีค่าสูงกว่าภายหลังการดัดแปรอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) จากการพิจารณาค่า RSA สัมพัทธ์ (relative RSA) พบว่ามีค่าเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 72.05 เป็นร้อยละ 91.16 เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นจาก 1 วัน เป็น 15 วัน Figure 10 แสดงถึงการเปลี่ยนแปลงค่า RSA กับระยะเวลาการเก็บรักษา ซึ่งพบว่าค่า RSA เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเป็น 0.68 ภายใน 9 วันแรกของการเก็บรักษา จากนั้นค่า RSA เพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ และมีค่าเท่ากับ 0.73 ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 15 วัน ซึ่งสอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างผลึกที่ตรวจวัดด้วยเครื่อง XRD (ดังหัวข้อ 3.2.1) โดยพบว่าความสัมพันธ์ของปริมาณผลึกสัมพัทธ์ (relative crystallinity) กับ RSA สัมพัทธ์ (relative RSA) เป็นแบบสมการแบบเชิงเส้น ($R^2 = 0.91$, $p < 0.05$) แสดงดัง Figure 11

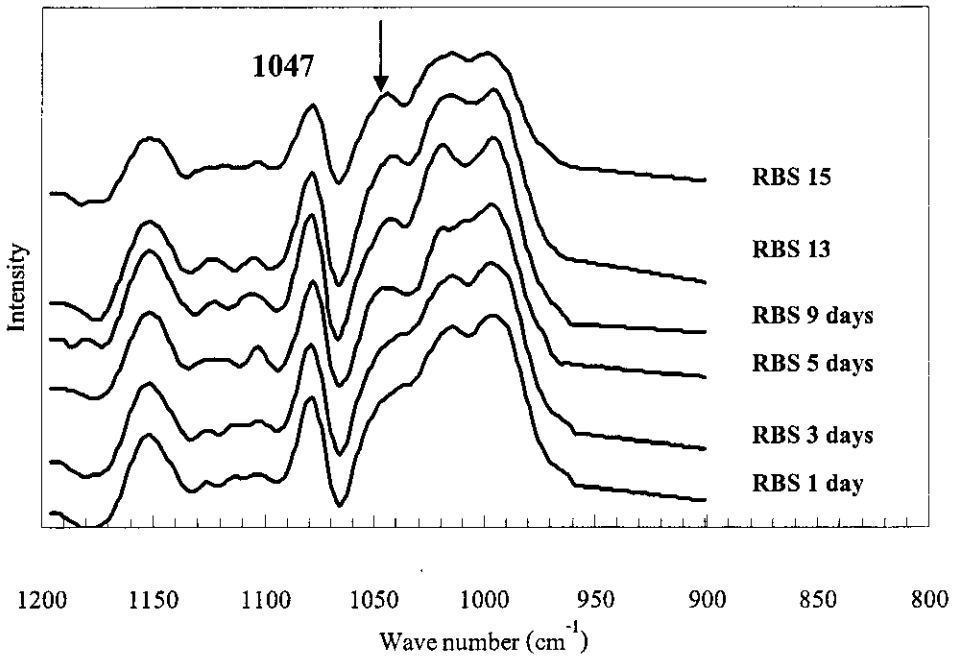

Figure 9. Deconvoluted ATR-FTIR spectra of retrograded banana starches (RBS) at various storage times. Arrow indicated growing peaks at 1047 cm^{-1}.

Table 5. Ratio of short-range molecular order to amorphous (RSA) and relative RSA (%) of native and retrograded banana starches (RBS) at various storage times.

Treatment	RSA	Relative RSA (%)
Native	$0.81^{a} \pm 0.00$	100
RBS 1 day	$0.58^{e} \pm 0.03$	72.05
RBS 3 days	$0.65^{d} \pm 0.03$	80.82
RBS 5 days	$0.66^{d} \pm 0.01$	82.09
RBS 9 days	$0.68^{cd} \pm 0.00$	84.50
RBS 13 days	$0.70^{bc} \pm 0.00$	87.43
RBS 15 days	$0.73^{b} \pm 0.00$	91.16

Note: Each value is mean of triplicate ± SD. The difference superscripts in each column denote the significant differences ($p < 0.05$).

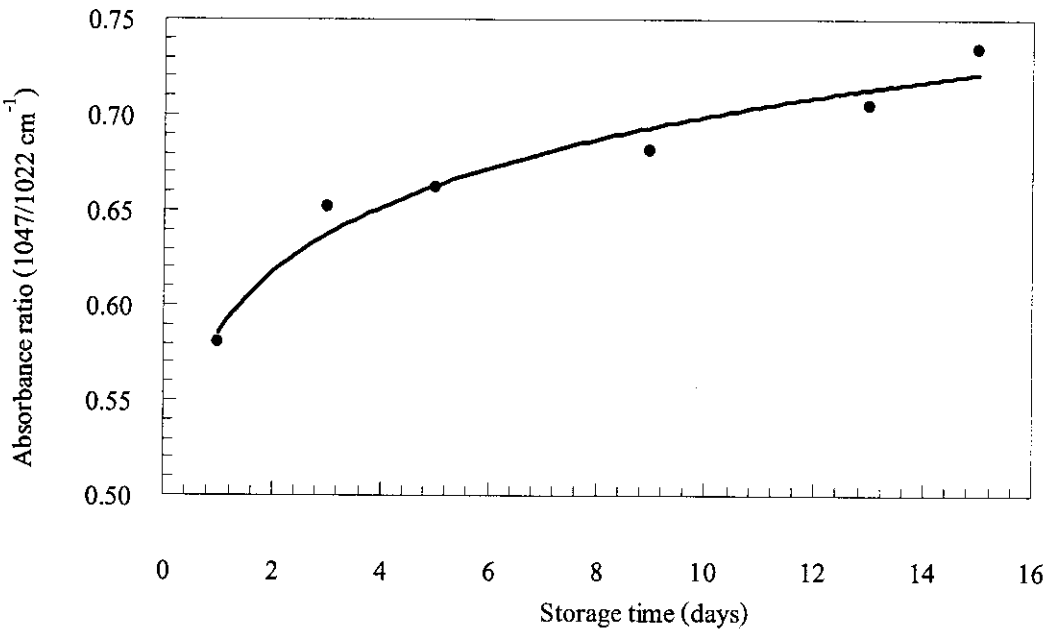

Figure 10. The change of absorbance ratio at wave number 1047 cm^{-1} to 1022 cm^{-1} of retrograded banana starches (RBS) at various storage times.

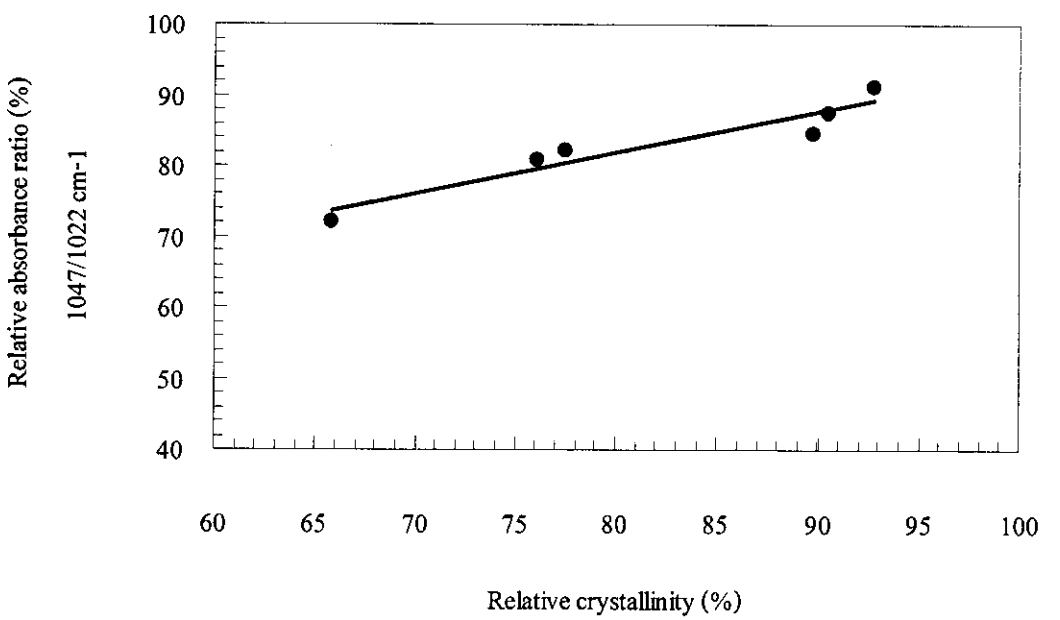

Figure 11. Relationship of relative RSA and relative crystallinity of retrograded banana starches (RBS) at various storage times.

2.3 สมบัติเชิงหน้าที่

2.3.1 สมบัติทางความร้อน (thermal propertie)

จากการศึกษาสมบัติทางความร้อนของสตาร์ชกล้วยนางพญาภายหลังการดัดแปรด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชัน พบว่าสตาร์ชกล้วยนางพญาภายหลังการดัดแปรยังคงแสดงพีคที่มีลักษณะดูดความร้อน (endotherm) ดัง Figure 12 และเมื่อเปรียบเทียบผลของระยะเวลาที่ใช้ในการเก็บรักษา พบว่าเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น อุณหภูมิเริ่มต้นการเกิดเจลาติไนเซชัน(To) มีค่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แสดงดัง Table 6 จากการพิจารณาช่วงอุณหภูมิในการเกิดเจลาติไนเซชัน (Tc-To) พบว่าสตาร์ชกล้วยนางพญาที่ผ่านการดัดแปรที่ระยะเวลาการเก็บรักษามากกว่า 5 วัน มีค่า (Tc-To) มากกว่าสตาร์ชกล้วยนางพญาก่อนการดัดแปรอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ซึ่งอาจเป็นผลเนื่องมาจากการเกิดความหลากหลายไม่เป็นหนึ่งเดียวกันของโครงสร้างผลึก (heterogeneity of the crystallites) ขณะที่เกิดรีโทรเกรเดชัน (Vasanthan and Bhatty, 1996) นอกจากนั้นพบว่าค่าพลังงานที่ใช้ในการเกิดเจลาติไนเซชัน (ΔH) ของสตาร์ชกล้วยนางพญาภายหลังการดัดแปร มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ตามระยะเวลาการเก็บรักษา จากการพิจารณาค่าเอลทัลปีสัมพัทธ์ (relative enthalpy) พบว่ามีค่าเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 43.08 เป็นร้อยละ 78.78 เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นจาก 1 วันเป็น 15 วัน ซึ่งอธิบายได้ว่าเป็นผลจากการจัดเรียงตัวของโครงสร้างผลึกใหม่เพิ่มมากขึ้นระหว่างกระบวนการเกิดรีโทรเกรเดชัน ดังนั้นจึงต้องใช้พลังงานมากขึ้นในการหลอมละลายโครงสร้างของผลึกที่เกิดขึ้นใหม่ (Bello-Perez *et al.*, 2005) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Chung และคณะ (2006) ที่พบว่าค่า ΔH ของสตาร์ชข้าวที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชัน ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 4°C มีค่าเพิ่มมากขึ้น เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น Figure 13 แสดงให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงค่า ΔH กับระยะเวลาการเก็บรักษา โดยพบว่าค่า ΔH เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเป็น13.54 (J/g) ภายใน 9 วันแรกของการเก็บรักษา จากนั้นมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ จนมีค่าเท่ากับ 15.48 (J/g) ที่ระยะเวลาเก็บรักษา 15 วัน ซึ่งเป็นผลจากการเกิดอันตรกิริยาของสายโมเลกุลอะมิโลสเป็นโครงสร้างแบบเกลียวคู่ (double helix) และโครงสร้างแบบเกลียวคู่เกิดการรวมกลุ่มกันเป็นโครงร่างสามมิติที่มีความแข็งแรงมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงระยะเวลาการเก็บรักษา 9 วัน (Miles *et al.*, 1985; Orford *et al.*, 1987; Clark *et al.*, 1989; Gidley, 1989) โดยผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างผลึก (ดังหัวข้อ 3.2.1 บทที่ 3) และการเปลี่ยนแปลงของโมเลกุลที่มีการจัดเรียงตัวแบบเกลียวคู่ (ดังหัวข้อ 3.2.2 บทที่ 3) ซึ่งมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงระยะเวลาการเก็บรักษา 9 วันเช่นกัน

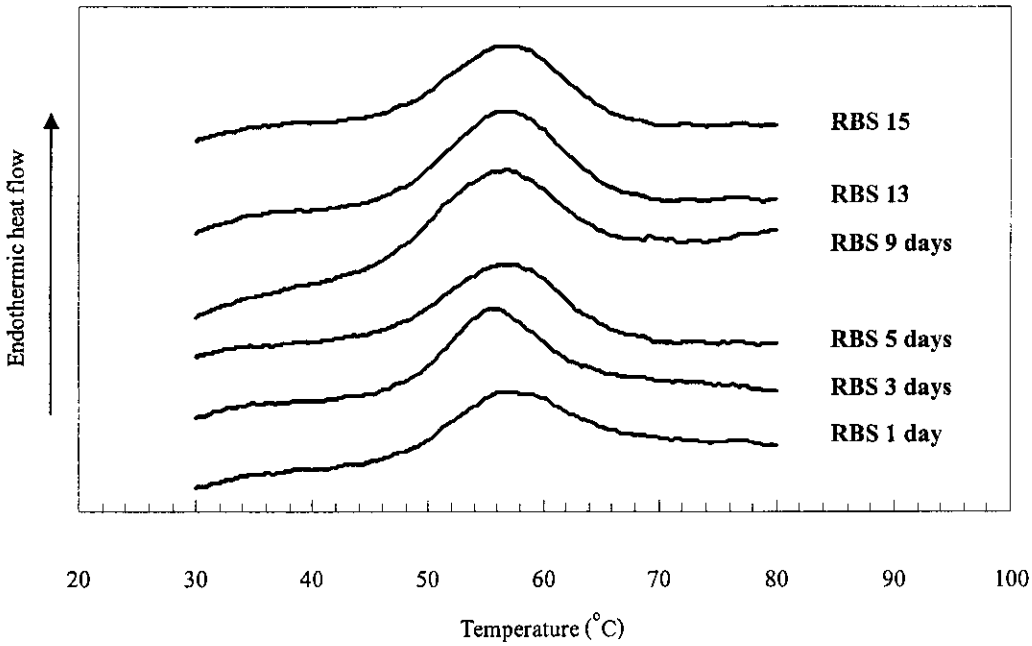

Figure 12. Thermogram of retrograded banana starches (RBS) at various storage times.

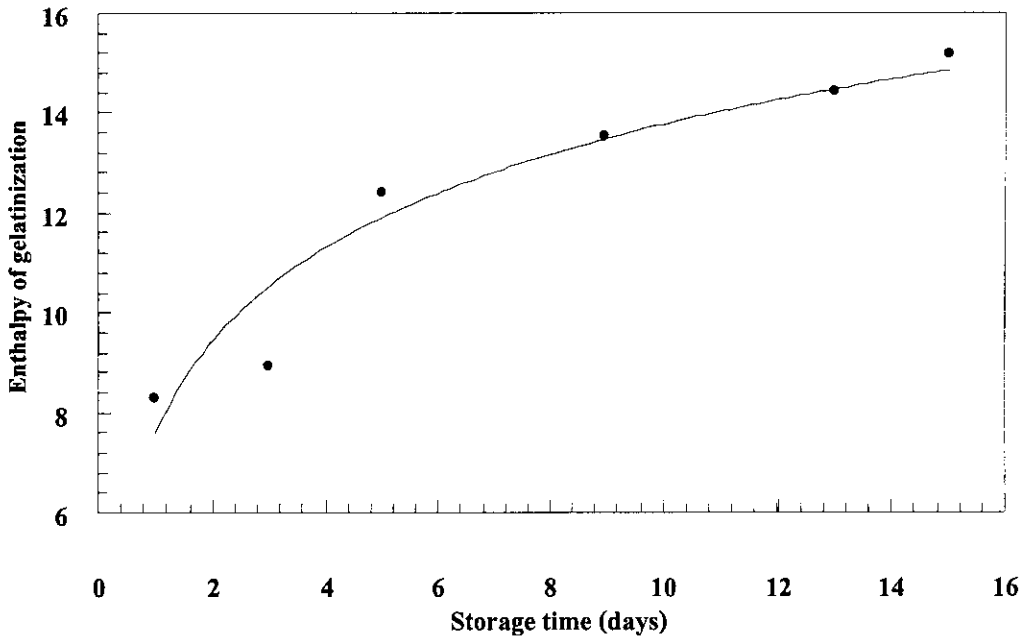

Figure 13. The change of the enthalpy of retrograded banana starches (RBS) at various storage times.

Table 6. Gelatinization parameters of native and retrograded banana starches (RBS) at various storage times.

Treatment	Gelatinization temperature (°C)				Enthalpy(ΔH)	Relative
	To	Tp	Tc	Tc-To	(J/g)	Enthalpy (%)
Native	$72.70^{a} \pm 0.35$	$77.83^{a} \pm 0.17$	$82.77^{a} \pm 0.22$	$10.09^{b} \pm 0.14$	$19.27^{a} \pm 0.48$	100
RBS 1 day	$51.52^{cd} \pm 0.07$	$59.94^{e} \pm 0.48$	$68.58^{c} \pm 0.48$	$8.42^{b} \pm 0.92$	$8.30^{f} \pm 0.30$	43.08
RBS 3 days	$51.44^{d} \pm 0.27$	$59.39^{ef} \pm 0.19$	$68.33^{c} \pm 0.54$	$7.95^{b} \pm 0.22$	$9.35^{e} \pm 0.33$	46.30
RBS 5 days	$52.00^{bcd} \pm 0.21$	$62.39^{bc} \pm 0.10$	$70.97^{b} \pm 0.17$	$18.97^{a} \pm 0.33$	$12.42^{d} \pm 0.39$	64.45
RBS 9 days	$52.19^{bc} \pm 0.35$	$61.44^{d} \pm 0.35$	$71.34^{b} \pm 0.31$	$19.52^{a} \pm 0.32$	$13.54^{c} \pm 0.62$	70.26
RBS 13 days	$51.99^{bcd} \pm 0.83$	$61.98^{c} \pm 0.17$	$71.16^{b} \pm 0.03$	$19.18^{a} \pm 0.01$	$14.44^{bc} \pm 0.40$	74.94
RBS 15 days	$52.50^{b} \pm 0.16$	$62.67^{b} \pm 0.29$	$71.29^{b} \pm 0.24$	$18.78^{a} \pm 0.30$	$15.18^{b} \pm 0.16$	78.78

Note: Each value is mean of triplicate $\pm$ SD. The difference superscripts in each column denote the significant differences ($p < 0.05$).

2.3.2 สมบัติทางรีโอโลยี (rheology properties)

2.3.2.1 สมบัติการเกิดเพสท์ของสตาร์ช (pasting properties)

ศึกษาการเปลี่ยนแปลงความหนืดในสภาวะที่เป็นกลาง (pH 7.0) ของสตาร์ช กล้วย นางพญาทั้งก่อนและหลังการดัดแปรด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชันด้วยเครื่อง Rapid Visco Analyzer (RVA) พบว่ามีรูปแบบความหนืดแสดงดัง Figure 14 สำหรับค่าพารามิเตอร์ทางความหนืดแสดงดัง Table 7 ซึ่งพบว่าอุณหภูมิเริ่มเปลี่ยนแปลงความหนืด ค่าความหนืดสูงสุด ค่า breakdown และค่าความหนืดจากการคืนตัวของสตาร์ชกล้วยนางพญาที่ผ่านการดัดแปรมีค่าต่ำกว่าของสตาร์ชกล้วยนางพญาก่อนการดัดแปรอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ทั้งนี้เนื่องจากสตาร์ชกล้วยนางพญาที่ผ่านการดัดแปรได้เกิดการเจลาติไนซ์ไปแล้วซึ่งทำให้เม็ดสตาร์ชเกิดการแตกออก จึงส่งผลต่อสมบัติการเกิดเพสท์ดังกล่าว เมื่อทำการดัดแปรสตาร์ชกล้วยนางพญาด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชัน ที่ระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น ส่งผลให้ค่าอุณหภูมิเริ่มเปลี่ยนแปลงความหนืดมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น ขณะที่ค่าความหนืดสูงสุด ค่า breakdown และค่าความหนืดจากการคืนตัว มีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อระยะเวลาการเก็บมากกว่า 9 วัน ซึ่งแสดงถึงโครงสร้างของสตาร์ชกล้วยนางพญาที่มีความแข็งแรงขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากระยะเวลาการเก็บรักษาที่นานขึ้น ส่งผลให้การจัดเรียงตัวเป็นโครงสร้างผลึกใหม่ (recrystalline) เกิดได้มากขึ้น โดยสายโมเลกุลอะมิโลสสามารถเกิดอันตรกิริยากันเป็นสายเกลียวคู่ และมีการรวมตัวกันเพื่อพัฒนาเป็นโครงร่างตาข่ายสามมิติได้มากขึ้น นอกจากนั้นสายโมเลกุลอะมิโลเพคตินที่เหลืออยู่ ก็สามารถเกิดการจัดเรียงตัวใหม่เป็นเกลียวคู่ของสายกิ่งอะมิโลเพคติน แล้วเกิดการรวมตัวกันอย่างช้าๆ เพื่อพัฒนาเป็นโครงสร้างผลึกต่อไป (Miles *et al.*, 1985; Orford *et al.*, 1987; Clark *et al.*, 1989; Gidley, 1989; Goodfellow and Wilson, 1990)

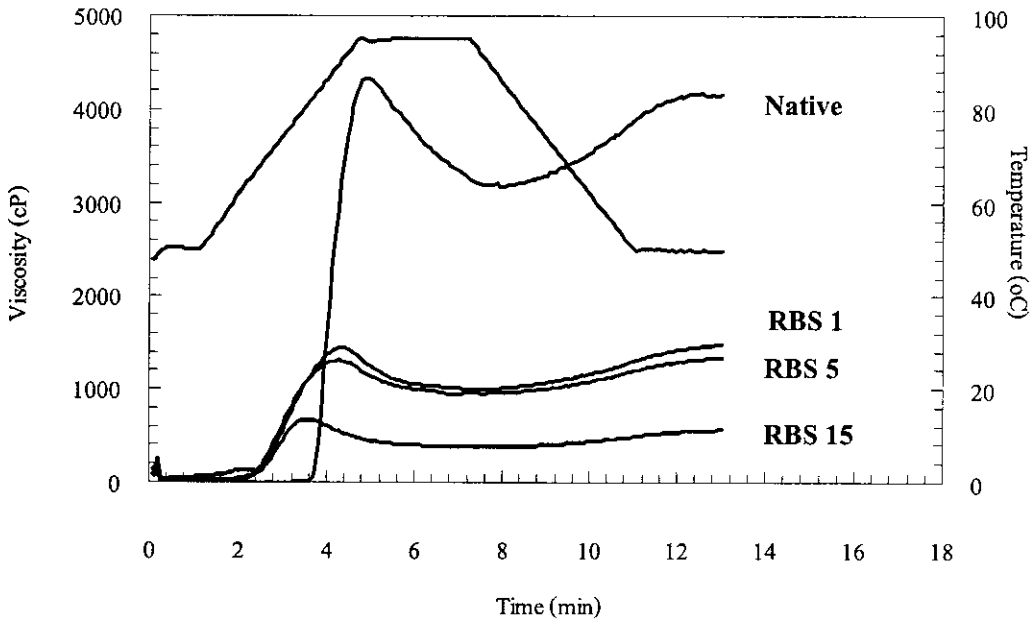

Figure 14. Pasting profile at pH 7.0 of native and retrograded banana starches (RBS) at 1, 5 and 15 days of storage times.

Table 7. Viscosity parameters from Rapid Visco Analyzer (RVA) of native and retrograded banana starches (RBS) at 6% (w/w).

Treatment	Pasting temperature(°C)	Peak viscosity (mPa.s)	Breakdown (mPa.s)	Setback (mPa.s)
Native	79.02^{a} ± 0.58	4370.67^{a} ± 51.19	1253.67^{a} ± 115.30	1033.33^{a} ±117.00
RBS 1 day	59.75^{c} ± 1.97	1444.33^{b} ± 91.68	473.33^{b} ± 43.41	340.00^{e} ± 37.24
RBS 3 days	66.80^{b} ± 0.05	1326.33^{c} ± 17.24	372.00^{d} ± 1.73	394.33^{c} ± 7.23
RBS 5 days	67.40^{b} ± 0.52	1327.33^{c} ± 28.68	417.33^{c} ± 17.04	466.67^{b} ± 9.07
RBS 9 days	67.70^{b} ± 0.05	1464.67^{b} ± 46.18	450.00^{bc} ± 2.65	471.00^{b} ± 14.00
RBS 13 days	68.85^{b} ± 0.44	1304.33^{c} ± 28.36	274.33^{e} ± 6.35	451.33^{b} ± 18.01
RBS 15 days	69.30^{b} ± 3.36	675.00^{d} ± 1.00	291.33^{e} ± 1.53	178.00^{d} ± 14.85

Note: Each value is mean of triplicate ± SD. The difference superscripts in each column denote the significant differences ($p < 0.05$).

2.3.2.2 พฤติกรรมการไหล (flow behavior)

ศึกษาพฤติกรรมการไหลของสตาร์ชกล้วยนางพญาภายหลังการดัดแปรด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชัน โดยเตรียมสตาร์ชเพสท์ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 4 (โดยน้ำหนักแห้ง) ทำการวัดที่อุณหภูมิ 60°C ในช่วงอัตราการเฉือนเท่ากับ 30-300 s^{-1} จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความเค้นเฉือนและอัตราการเฉือน พบว่าเป็นไปตามกฎสมการยกกำลัง (power law) ดังสมการที่ 14 โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ที่สูง ($R^2 = 0.99, p < 0.05$)

จากการศึกษาความสัมพันธ์ของค่าความหนืดปรากฏและอัตราการเฉือนของสตาร์ชกล้วยนางพญาภายหลังการดัดแปรด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชัน ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาต่างๆ พบว่าความหนืดปรากฏมีค่าลดลง เมื่ออัตราการเฉือน (shear rate) เพิ่มขึ้น แสดงดัง Figure 15 และจากการศึกษาค่าดัชนีพฤติกรรมการไหล (n) ของสตาร์ชกล้วยนางพญาทั้งก่อนและหลังการดัดแปรพบว่ามีค่าน้อยกว่า 1 ซึ่งแสดงให้เห็นว่ามีพฤติกรรมการไหลแบบ shear-thinning (pseudoplastic) (Doublier, 1981; Noel *et al.*, 1993) เมื่อพิจารณาค่าสัมประสิทธิ์ทางความหนืด (k) พบว่าสตาร์ชกล้วยนางพญาภายหลังการดัดแปรที่ทุกระยะเวลาการเก็บรักษามีค่าต่ำกว่าของสตาร์ชกล้วยนางพญาก่อนการดัดแปรอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แสดงดัง Table 8 ทั้งนี้เนื่องจากสตาร์ชกล้วยนางพญาที่ผ่านการดัดแปรได้เกิดการเจลาติไนซ์ไปแล้วซึ่งทำให้เม็ดสตาร์ชเกิดการแตกออก การพองตัวของเม็ดสตาร์ชจึงลดต่ำลง ส่งผลให้ค่า k ลดลง นอกจากนั้นพบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มจาก 1 วันเป็น 15 วัน ค่า k ของสตาร์ชกล้วยนางพญาภายหลังการดัดแปรมีแนวโน้มลดลงจาก 1.72 ($Pa.s^n$) เป็น 0.07 ($Pa.s^n$) ขณะที่ค่า n มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจาก 0.35 เป็น 0.64 ทั้งนี้เนื่องจากเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น ส่งผลให้การจัดเรียงตัวเป็นโครงสร้างผลึกใหม่ (recrystalline) เกิดได้มากขึ้น จึงทำให้โครงสร้างของสตาร์ชกล้วยนางพญามีความแข็งแรงขึ้น และสามารถทนต่อการเฉือน (shear) ได้มากขึ้นด้วย (Miles *et al.*, 1985; Orford *et al.*, 1987; Clark *et al.*, 1989; Gidley, 1989; Goodfellow and Wilson, 1990)

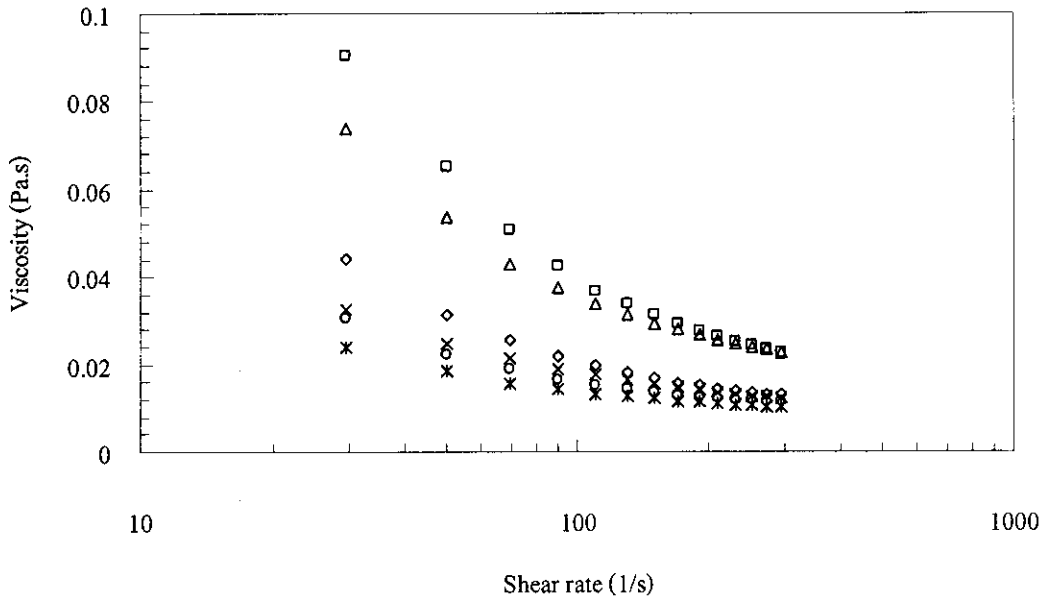

Figure 15. Relationship of apparent viscosity and shear rate of retrograded banana starches (RBS) at 1(□), 3(△), 5(◇), 9(x), 13(○) and 15(∗) days of storage times.

Table 8. Consistency coefficient (k) and Flow behavior index (n) of native and retrograded banana starches (RBS) at various storage times.

Treatment	k ($Pa.s^n$)	n
Native	$2.69^{a} \pm 0.14$	$0.53^{ab} \pm 0.01$
RBS 1 day	$1.72^{b} \pm 0.19$	$0.35^{c} \pm 0.10$
RBS 3 days	$0.38^{c} \pm 0.03$	$0.51^{b} \pm 0.01$
RBS 5 days	$0.25^{cd} \pm 0.03$	$0.50^{b} \pm 0.04$
RBS 9 days	$0.14^{de} \pm 0.03$	$0.54^{ab} \pm 0.12$
RBS 13 days	$0.13^{de} \pm 0.05$	$0.56^{ab} \pm 0.09$
RBS 15 days	$0.07^{e} \pm 0.01$	$0.64^{a} \pm 0.05$

Note: Each value is mean of triplicate ± SD. The difference superscripts in each column denote the significant differences ($p < 0.05$)

2.3.2.3 สมบัติวิสโคอิลาสติก (viscoelastic properties)

ศึกษาสมบัติวิสโคอิลาสติกแบบการสั่นทางพลวัติ (dynamic oscillation) ของสตาร์ชเพสท์ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 8 (โดยน้ำหนักแห้ง) ที่อุณหภูมิ 25 °C โดยทำการทดลองในช่วง linear viscoelastic จากการวิเคราะห์พารามิเตอร์ของสมบัติวิสโคอิลาสติก พบว่าสตาร์ชกล้วยนางพญาทั้งก่อนและหลังการดัดแปรด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชัน มีค่า G' สูงกว่าค่า G" แสดงดัง Figure 16 ซึ่งเป็นคุณลักษณะของเจล (Biliaderis *et al.*, 1992) แต่อย่างไรก็ตามพบว่าค่า G' มีการเปลี่ยนแปลงกับค่าความถี่น้อยมาก ซึ่งแสดงถึงคุณลักษณะที่ใกล้เคียงกับเจลที่แท้จริง (true gel) (Clark and Ross-Murphy, 1987)

จากการเปรียบเทียบค่า G' ที่ความถี่ 1 Hz พบว่าเจลจากสตาร์ชกล้วยนางพญาที่ผ่านการดัดแปรมีค่า G' สูงกว่าของเจลจากสตาร์ชกล้วยนางพญาก่อนการดัดแปรอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าการดัดแปรสตาร์ชกล้วยนางพญาด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชัน ทำให้เกิดการจัดเรียงตัวเป็นโครงสร้างผลึกใหม่ (recrystallization) ของสตาร์ชที่มีความแข็งแรง (Goodfellow and Wilson, 1990) ซึ่งช่วยส่งเสริมให้คุณลักษณะของเจลที่ได้มีความแข็งแรงยิ่งขึ้น และจากการศึกษาผลของระยะเวลาการเก็บรักษาต่อค่า G' ที่ความถี่1 Hz พบว่าค่า G' ของเจลจากสตาร์ช กล้วยนางพญาที่ผ่านการดัดแปรมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้นแสดงดัง Figure 17 โดยมีค่าเพิ่มขึ้นจาก 387.40 เป็น 491.32 Pa เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นจาก 1 วันเป็น 15 วัน แสดงดัง Table 9

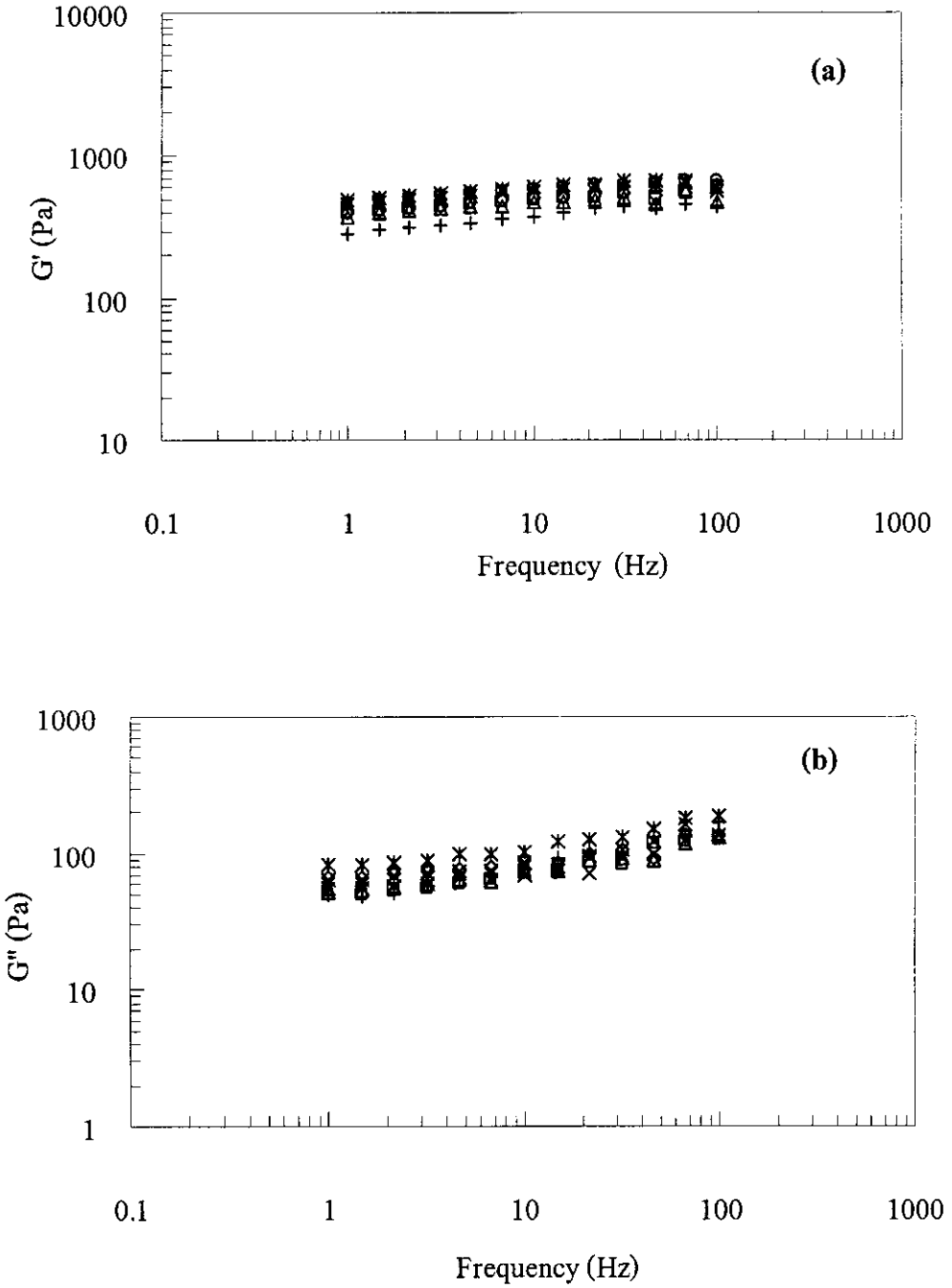

Figure 16. Effect of frequency on (a) G' and G" (b) of 8% starch paste for native (+) and retrograded banana starches (RBS) at 1(□), 3(△), 5(◇), 9(x), 13(○) and 15(∗) days of storage time. All samples were measured at 25°C and at 0.1-100 Hz.

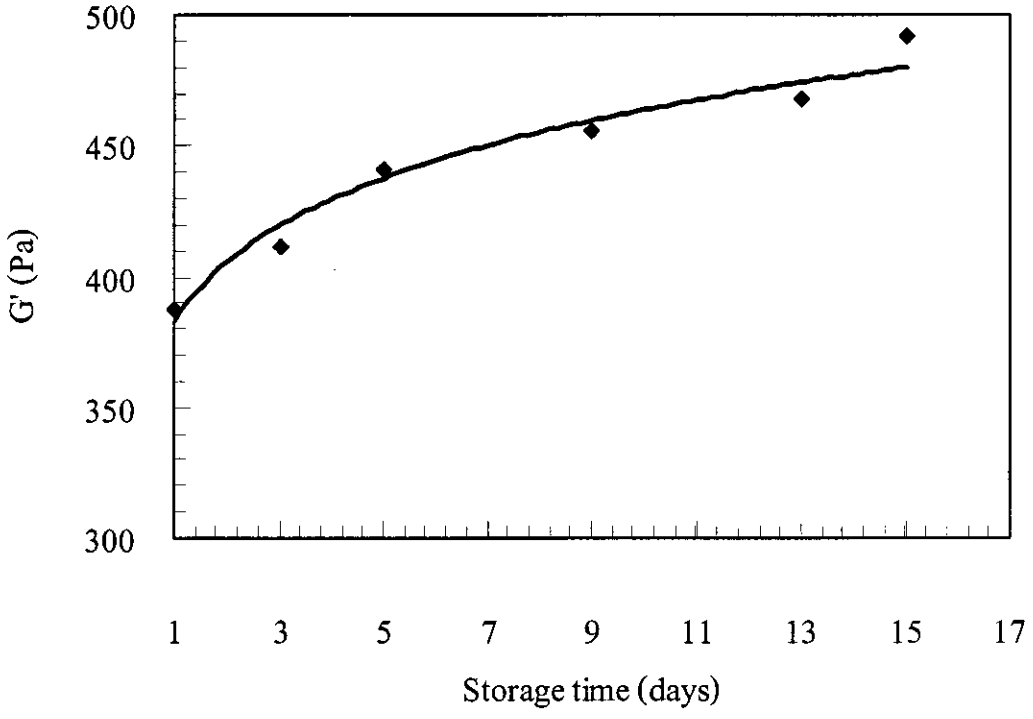

Figure 17. G' value (at 1 Hz) of 8% starch paste for retrograded banana starches (RBS) at various storage times.

Table 9.Viscoelastic parameters of native and retrograded banana starches (RBS) at concentration of 8% (w/w) and at 1 Hz.

Treatment	G' (Pa)	G" (Pa)	tan δ
Native	$294.44^{e} \pm 24.47$	$50.24^{c} \pm 1.15$	$0.172^{a} \pm 0.017$
RBS1 day	$387.40^{d} \pm 6.88$	$53.08^{c} \pm 2.87$	$0.137^{bc} \pm 0.005$
RBS3 days	$411.66^{cd} \pm 41.09$	$55.56^{c} \pm 2.24$	$0.139^{b} \pm 0.000$
RBS5 days	$440.74^{bc} \pm 36.10$	$57.88^{c} \pm 2.61$	$0.141^{b} \pm 0.001$
RBS9 days	$455.39^{abc} \pm 25.94$	$54.14^{c} \pm 1.62$	$0.127^{bc} \pm 0.005$
RBS13 days	$467.92^{ab} \pm 21.78$	$69.24^{b} \pm 0.24$	$0.136^{bc} \pm 0.001$
RBS15 days	$491.32^{a} \pm 66.44$	$82.22^{a} \pm 8.82$	$0.126^{c} \pm 0.001$

Note: Each value is mean of triplicate $\pm$ SD. The difference superscripts in each column denote the significant differences ($p < 0.05$).

2.3.2.4 การวิเคราะห์การคืบ (creep study)

ศึกษาการคืบ (creep compliance) และการคืนตัวจากการคืบ (creep recovery) ของเจลจากสตาร์ชกล้วยนางพญาก่อนและหลังการดัดแปรด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชัน ด้วยเครื่องรีโอโลยี จากการศึกษาความสัมพันธ์ของค่า compliance กับเวลาในรูปแบบจำลองทางคณิตศาสตร์โดยใช้แบบจำลองของเบอร์เกอร์ (Burger model) พบว่าการเปลี่ยนแปลงการคืบของเจลจากสตาร์ชกล้วยนางพญาที่ผ่านการดัดแปร สามารถแบ่งได้เป็น 3 ช่วง (Sherman, 1970) แสดงดัง Figure 18b คือ ช่วงอีลาสติกอุดมคติ (ideal elastic) ช่วงวีสโคอีลาสติก (viscoelastic) และช่วงความหนืด (viscosity) เช่นเดียวกับการเปลี่ยนแปลงการคืบของเจลจากสตาร์ช กล้วยนางพญาก่อนการดัดแปร (Figure 18a) แต่อย่างไรก็ตามพบว่าการเปลี่ยนแปลงการคืบของ เจลจากสตาร์ชกล้วยนางพญาที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชันมีความแตกต่างจากการดัดแปรด้วยวิธีความร้อนชื้น ที่พบการเปลี่ยนแปลงการคืบเฉพาะช่วงอีลาสติกอุดมคติ (ดังหัวข้อ 2.3.3 บทที่ 3) ซึ่งแสดงถึงการที่พันธะภายในโครงสร้างของเจลสตาร์ชมีการยืดตัวอย่างยืดหยุ่น โดยไม่เกิดการแตกตัวออก

จากการวิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์การเปลี่ยนแปลงการคืบด้วยวิธี Inokuchi (Sharma and Sherman, 1966; Sherman, 1966) พบว่าเจลจากสตาร์ชกล้วยนางพญาที่ผ่านการดัดแปร มีค่า G_0 G_1 τ_1 η_1 และ η_n สูงกว่าของเจลจากสตาร์ชกล้วยนางพญาก่อนการดัดแปรอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แสดงดัง Table 10 นอกจากนั้นพบว่าการดัดแปรสตาร์ชกล้วยนางพญาด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชันที่ระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น ค่า G_0 และ G_1 มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) โดยพบว่า G_0 และ G_1 มีค่าเพิ่มขึ้นจาก 1050.80 Pa เป็น 1636.41 Pa และจาก 1276.21 Pa เป็น 2234.24 Pa ตามลำดับ เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นจาก 1 วันเป็น 15 วัน แสดงให้เห็นว่าระยะเวลาในการเกิดรีโทรเกรเดชันที่นานขึ้นส่งผลให้เจลสตาร์ชกล้วยนางพญามีความแข็งแรงมากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาสมบัติการเกิดเพสท์ของสตาร์ช (ดังหัวข้อ 2.3.2.1 บทที่ 3) และสมบัติวิสโคอิลาสติก (ดังหัวข้อ 2.3.2.3 บทที่ 3)

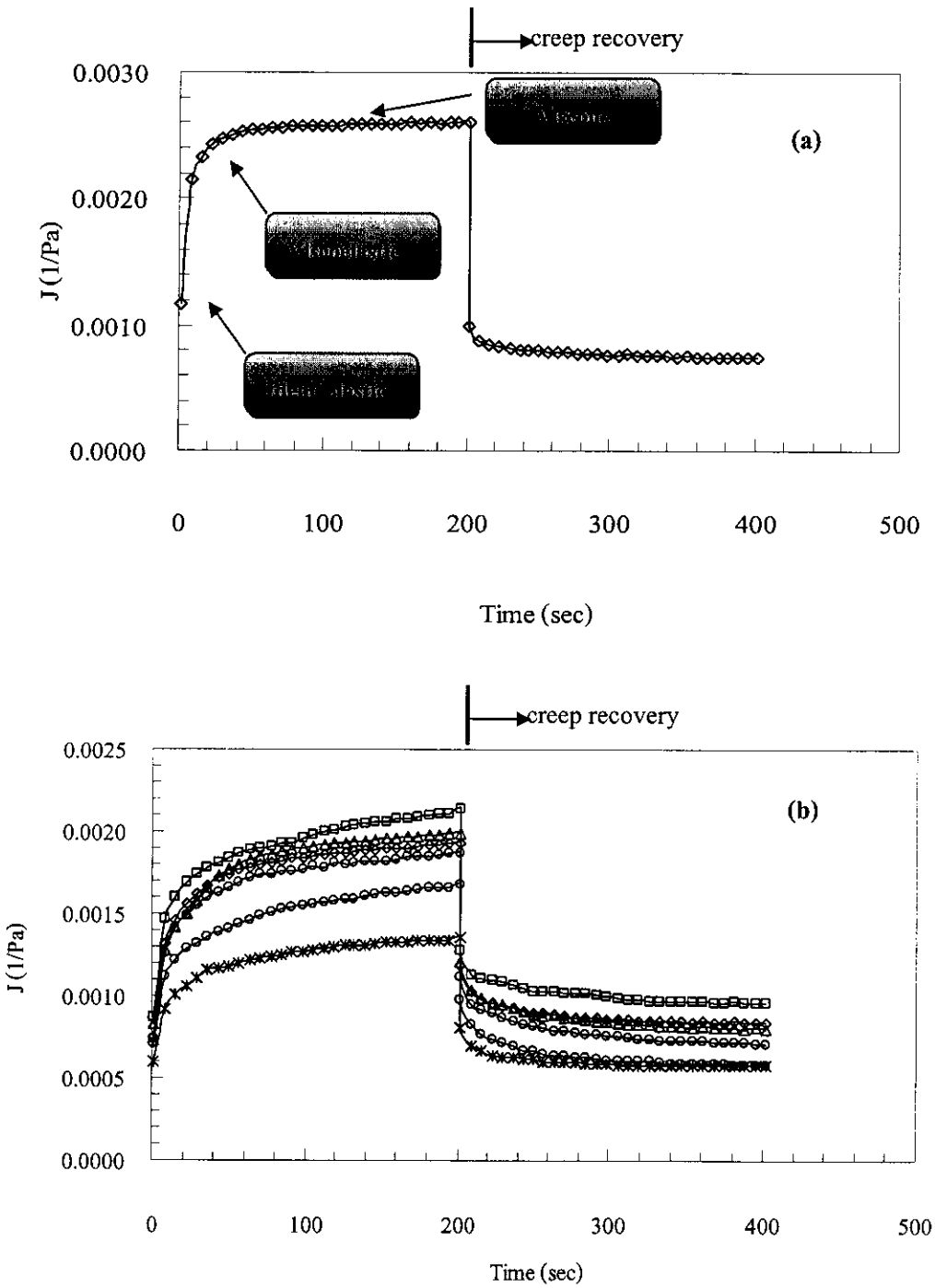

Figure18. Creep compliance for (a) native and (b) retrograded banana starches (RBS) of 10 % starch paste at 1(□), 3(△), 5(◇), 9(x), 13(○) and 15(∗) days of storage time. All samples were measured at 25°C and at 2% strain.

Table 10. Creep parameters according to the Burger model of native and retrograded banana starches (RBS) at concentration of 10% (w/w).

Treatment	Ideal elastic	Viscoelastic			Viscosity
	G_0 (Pa)	G_1 (Pa)	τ_1 (sec)	η_1 (Pa.s) x 10^3	η_n (Pa.s) x 10^5
Native	$875.95^{a} \pm 14.74$	$785.73^{c} \pm 5.03$	$7.62^{c} \pm 0.00$	$6.01^{c} \pm 0.00$	$5.40^{b} \pm 2.84$
RBS 1 day	$1050.80^{b} \pm 35.10$	$1276.21^{b} \pm 251.15$	$7.45^{c} \pm 1.46$	$9.67^{bc} \pm 3.30$	$6.93^{a} \pm 0.47$
RBS 3 days	$1194.98^{c} \pm 5.16$	$1306.68^{b} \pm 227.03$	$7.35^{c} \pm 0.64$	$11.30^{bc} \pm 3.52$	$6.15^{a} \pm 2.38$
RBS 5 days	$1244.91^{d} \pm 16.72$	$1322.71^{b} \pm 244.13$	$9.09^{bc} \pm 2.60$	$17.33^{ab} \pm 1.94$	$5.40^{a} \pm 0.75$
RBS 9 days	$1373.95^{e} \pm 33.51$	$1424.34^{b} \pm 190.84$	$9.86^{abc} \pm 3.15$	$13.61^{bc} \pm 2.75$	$5.80^{a} \pm 1.31$
RBS 13 days	$1431.46^{f} \pm 26.99$	$2225.36^{a} \pm 218.84$	$10.94^{ab} \pm 2.86$	$12.16^{bc} \pm 8.89$	$5.58^{a} \pm 2.06$
RBS 15 days	$1636.41^{g} \pm 35.09$	$2234.24^{a} \pm 279.69$	$12.68^{a} \pm 2.24$	$24.70^{a} \pm 11.87$	$5.02^{a} \pm 1.71$

Note: Each value is mean of triplicate ± SD. The difference superscripts in each column denote the significant differences ($p < 0.05$).

2.4 ระดับการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ (degree of enzyme hydrolysis)

จากการศึกษาระดับการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ของสตาร์ชกล้วยนางพญา โดยใช้เอนไซม์ porcine pancreatic *alpha*–amylase พบว่ารูปแบบการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ของสตาร์ชกล้วยนางพญาทั้งก่อนและหลังการดัดแปรด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชัน แสดงดัง Figure 19 โดยพบว่าความสามารถในการถูกย่อยด้วยเอนไซม์แบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอน (two-stage pattern) โดยพบว่าที่ระยะเวลาการเก็บรักษาน้อยกว่า 15 วัน ค่าระดับการถูกย่อยด้วยเอนไซม์เพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วภายในเวลา 24 ชั่วโมงแรก จากนั้นการย่อยเกิดขึ้นอย่างช้าๆ จนเข้าสู่สมดุล แต่อย่างไรก็ตามที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 15 วัน ระดับการถูกย่อยด้วยเอนไซม์เพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วภายในเวลา 10 ชั่วโมงแรก นอกจากนั้นพบว่าการดัดแปรสตาร์ชกล้วยนางพญาด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชันที่ระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ระดับการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ลดลงแบบเชิงเส้น (R^2 = 0.94, $p < 0.05$) แสดงดัง Figure 20 และพบว่าที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 13 วันเป็นต้นไป สตาร์ชกล้วยนางพญาที่ผ่านการดัดแปรมีค่าระดับการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ต่ำกว่าของสตาร์ชกล้วยนางพญาก่อนการดัดแปรอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และพบว่าที่ระยะเวลาการถูกย่อย (hydrolysis time) 24 ชั่วโมง ระดับการถูกย่อยด้วยเอนไซม์มีค่าลดลงจากร้อยละ 15.21 (สตาร์ชกล้วยก่อนการดัดแปร) เป็นร้อยละ 7.32 เมื่อสตาร์ชกล้วยผ่านการดัดแปรและเก็บรักษาเป็นเวลา 15 วัน Gonzalez-Soto และ คณะ (2006) ได้รายงานว่าการดัดแปรสตาร์ชกล้วยด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชัน โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C ส่งผลให้ระดับการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ลดลงจากร้อยละ 75 (สตาร์ชกล้วยก่อนการดัดแปร) เป็นร้อยละ 35 นอกจากนั้น Cui and Oates (1997) พบว่าระดับการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ของสตาร์ชสาคูที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชัน โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 °C มีค่าลดลงจากร้อยละ 45.4 เป็นร้อยละ 41.5 เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น จาก 1 ชั่วโมงเป็น 1 วัน จากผลการทดลองสามารถอธิบายได้การดัดแปรสตาร์ชกล้วยนางพญาด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชันที่ระยะเวลาการเก็บรักษาที่นานขึ้นส่งผลให้การจัดเรียงตัวใหม่ของโครงสร้างผลึกสตาร์ชเกิดได้มากขึ้น จึงเป็นผลให้สตาร์ชถูกย่อยด้วยเอนไซม์ได้ยากขึ้น (Ring *et al.*, 1987; Mile *et al.*, 1984)

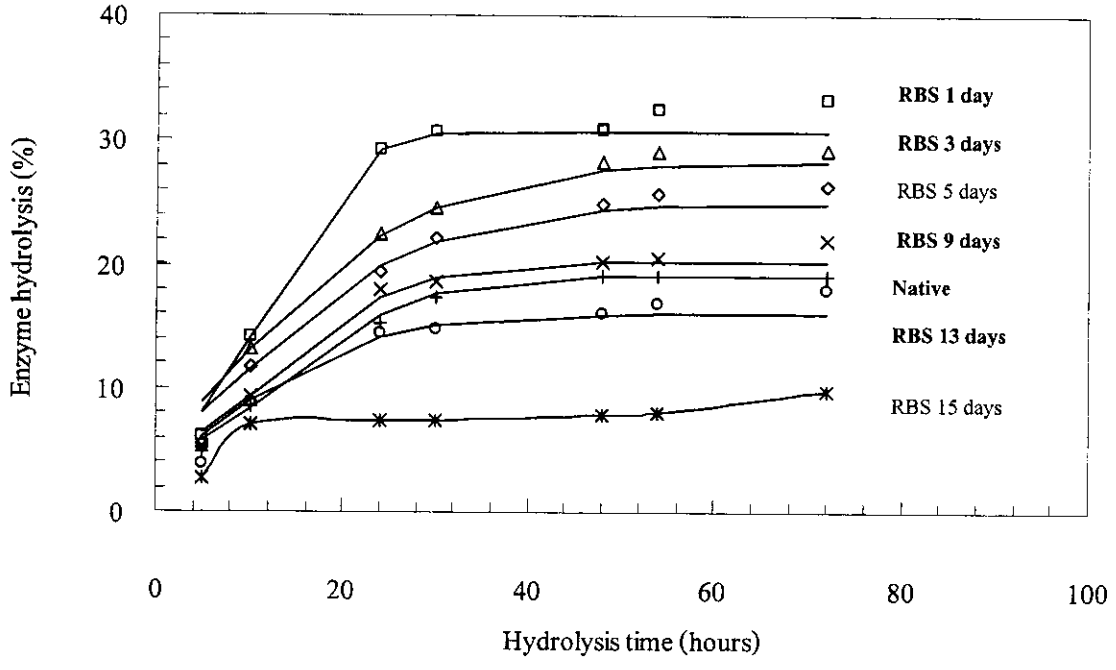

Figure 19. Enzyme hydrolysis of native (+) and retrograded banana starches (RBS) at 1(□), 3(△), 5(◇), 9(x), 13(○) and 15(∗) days of storage times.

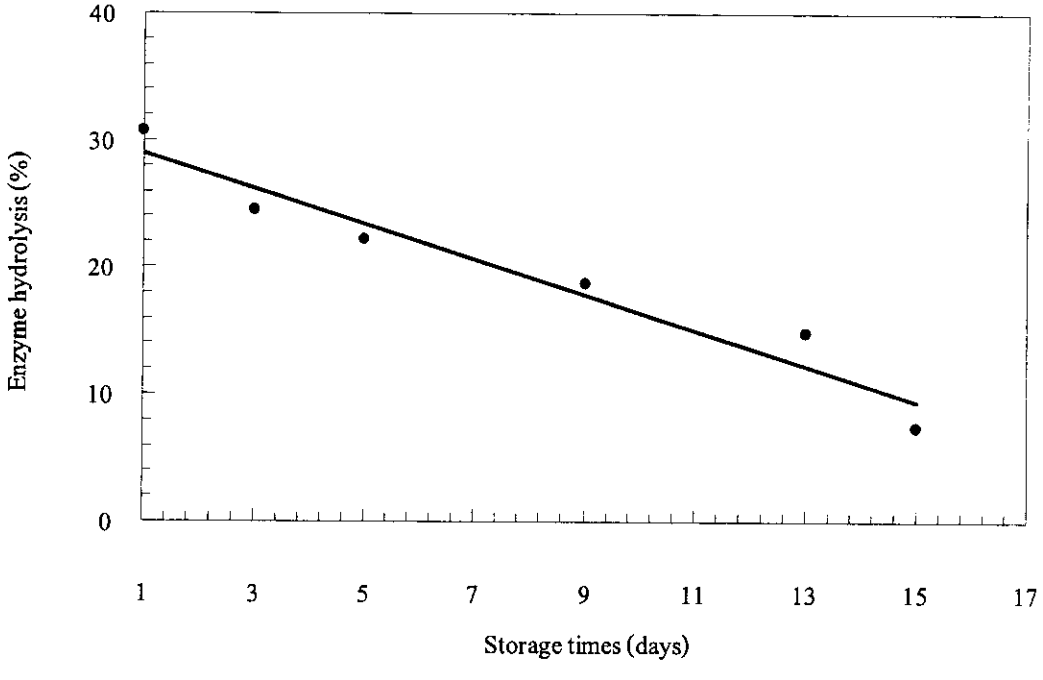

Figure 20. Relationship of enzyme hydrolysis at 24 hours to various storage times of the retrograded banana starches.

2.5 ระดับการถูกย่อยด้วยกรด (degree of acid hydrolysis)

จากการศึกษาระดับการถูกย่อยด้วยกรดไฮโดรคลอริก 2.2 โมล ของสตาร์ชกล้วยนางพญา พบว่ารูปแบบการย่อยด้วยกรดของสตาร์ชกล้วยนางพญาทั้งก่อนและหลังการดัดแปรด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชัน แสดงดัง Figure 21 โดยพบว่าความสามารถในการถูกย่อยด้วยกรดแบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอน (two-stage pattern) เช่นเดียวกันกับรูปแบบการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ โดยช่วงแรกสตาร์ชกล้วยนางพญาถูกย่อยด้วยกรดอย่างรวดเร็วภายในเวลา 12 วันแรก จากนั้นการย่อยเกิดขึ้นอย่างช้าๆ จนเข้าสู่สมดุล Mun และ Shin (2006) ได้ทำการศึกษาพบว่าสตาร์ชข้าวโพดที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชันซึ่งเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C มีระดับการถูกย่อยด้วยกรดเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วภายใน 10 วันแรก หลังจากนั้นระดับการถูกย่อยมีแนวโน้มคงที่ จากการศึกษาพบว่าการดัดแปรสตาร์ชกล้วยนางพญาด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชันที่ระยะเวลาการเก็บรักษาที่นานขึ้น ส่งผลให้ระดับการถูกย่อยด้วยกรดลดลงแบบเชิงเส้น ($R^2 = 0.96$, $p < 0.05$) แสดงดัง Figure 22 แสดงให้เห็นว่าโครงสร้างของสตาร์ชกล้วยนางพญาภายหลังการดัดแปรที่ระยะเวลาการเก็บรักษาที่นานขึ้นมีความสามารถในการทนต่อการถูกย่อยด้วยกรดได้มากขึ้น

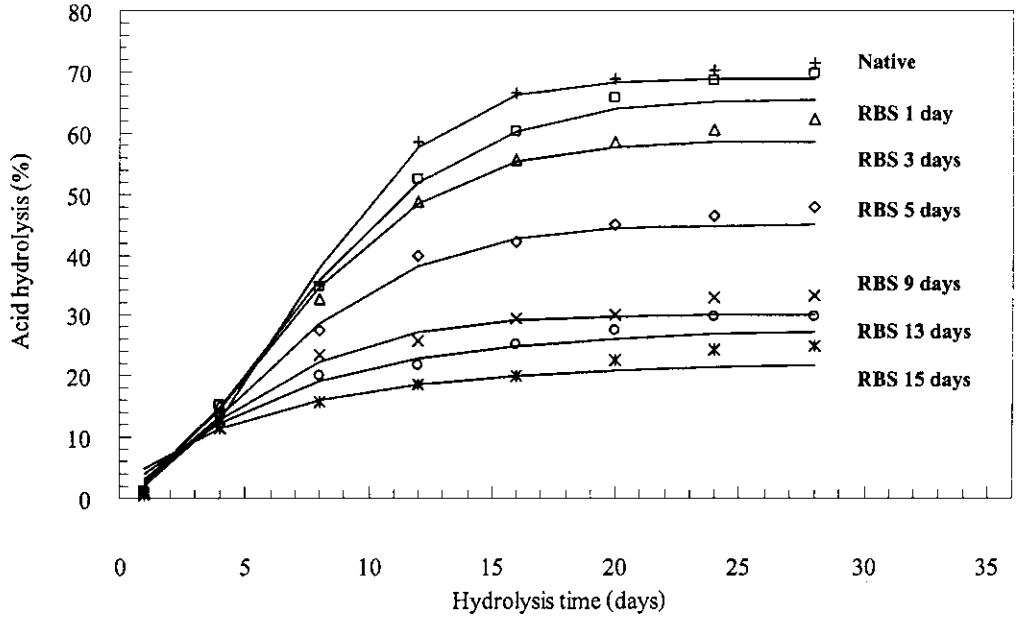

Figure 21. Acid hydrolysis of native (+) and retrograded banana starches (RBS) at 1(□), 3(△), 5(◇), 9 (x), 13(○) and 15(∗) days of storage times.

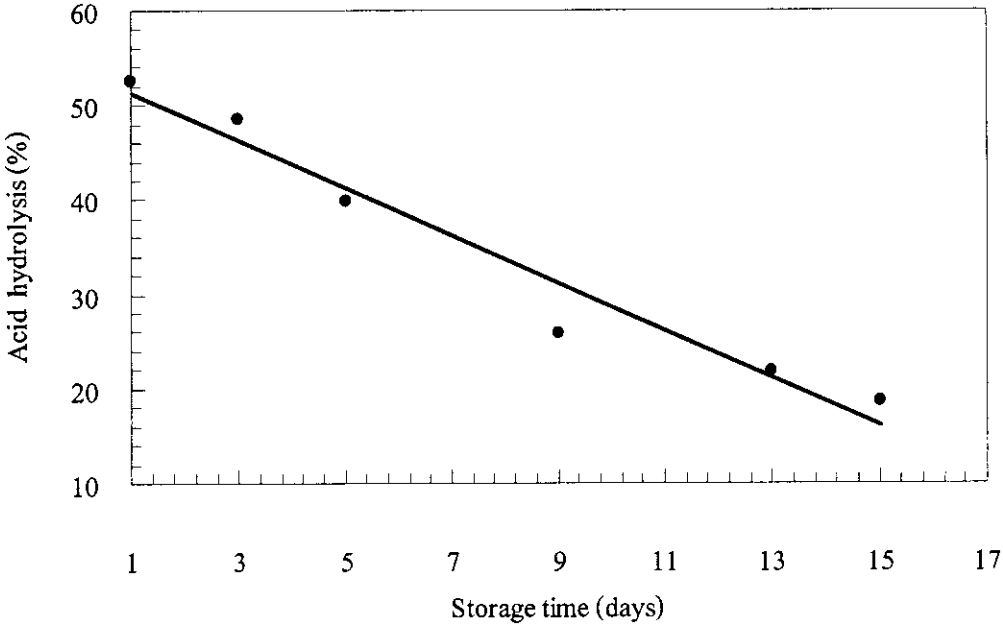

Figure 22. Relationship of acid hydrolysis at 12 days with various storage times of retrograded banana starches.

2.6 ปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ (resistant starch content)

เมื่อทำการดัดแปรสตาร์ชกล้วยนางพญาด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชัน ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาต่างๆ พบว่าสตาร์ชกล้วยนางพญาที่ผ่านการดัดแปร ที่ระยะเวลาการเก็บรักษามากกว่า 9 วัน มีปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์สูงกว่าของสตาร์ชกล้วยนางพญาก่อนการดัดแปรอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แสดงดัง Table 11 ซึ่งผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับผลการศึกษาการดัดแปรด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชันของสตาร์ชกล้วยสายพันธุ์ Musa acuminate สตาร์ชมันสำปะหลัง และสตาร์ชข้าวที่มีปริมาณอะมิโลสสูง (Lehmann *et al.*, 2002; Kiatponglarp *et al.*, 2007; Pongjanta *et al.*, 2007) แต่อย่างไรก็ตามพบว่าปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ของสตาร์ชกล้วยนางพญาที่ผ่านการดัดแปรที่ระยะเวลาการเก็บรักษาน้อยกว่า 9 วัน ซึ่งมีค่าต่ำกว่าของสตาร์ชกล้วยนางพญาก่อนการดัดแปรอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แต่ยังคงจัดอยู่ในกลุ่มของสตาร์ชที่มีปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ในระดับสูงมาก (very high) คือมากกว่าร้อยละ 15 สตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ที่เกิดขึ้นในสตาร์ชกล้วยนางพญาที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชันจัดเป็นสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ประเภทที่ 3 (RS type 3) ซึ่งเหมาะแก่นำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารมากกว่าสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ประเภทที่ 1 และ 2 เนื่องจากสามารถทนต่อความร้อนและความชื้นจากกระบวนการแปรรูปได้ดีกว่า (Berry *et al.*, 1986) Lehmann และคณะ (2002) ได้รายงานว่าปริมาณกรดไขมันสายสั้น (short chain fatty acid : SCFA) ของสตาร์ชกล้วยที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชันมีค่าสูงกว่าของสตาร์ชกล้วยก่อนการดัดแปร ซึ่ง SCFA มีประโยชน์ต่อสุขภาพโดยช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค และปรับสภาวะความเป็นกรด/ด่างภายในลำไส้ใหญ่ให้ต่ำลง ซึ่งมีผลในการป้องกันมะเร็งลำไส้ใหญ่ได้ เป็นต้น (Alexander, 1995) จากผลการทดลองพบว่าการดัดแปรที่ระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้นส่งผลให้ปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์มีค่าเพิ่มขึ้น โดยเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 22.75 เป็นร้อยละ 71.05 เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นจาก 1 วัน เป็น 15 วัน ซึ่งผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับผลการศึกษาการดัดแปรด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชันของสตาร์ชกล้วยสายพันธุ์ Musa paradisiaca และสายพันธุ์แม็กซิโก (Bello-Perez *et al.*, 2005; Gonzalez-Soto *et al.*,2006) Eliasson และ Aman (2000) ได้รายงานว่าการเพิ่มปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ของสตาร์ชที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชัน เป็นผลมาจากปัจจัยต่างๆ ได้แก่ ระยะเวลาและอุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษา อัตราส่วนของปริมาณอะมิโลสและอะมิโลเพคติน ความยาวของสายโซ่ (chain length) อุณหภูมิที่ใช้ในการ autoclave และความเข้มข้นของสตาร์ช

Table 11. Resistant starch content of native and retrograded banana starches (RBS) at various storage times.

Treatment	Resistant starch content (%, db)
Native	$60.16^{c} \pm 0.28$
RBS 1 day	$22.75^{g} \pm 0.40$
RBS 3 days	$23.86^{f} \pm 0.27$
RBS 5 days	$52.14^{e} \pm 0.61$
RBS 9 days	$55.23^{d} \pm 0.17$
RBS 13 days	$60.93^{b} \pm 0.12$
RBS 15 days	$71.05^{a} \pm 0.12$

Note: Each value is mean of triplicate ± SD. The difference superscripts in each column denote the significant differences ($p < 0.05$).

บทที่ 4
สรุป

1. กล้วยนางพญาประกอบด้วยปริมาณอะไมโลสร้อยละ 17.09 รูปร่างของเม็ดสตาร์ชกล้วยนางพญามีความหลากหลาย ได้แก่ กลมคล้ายไข่ เป็นแท่งยาว และรูปร่างสามเหลี่ยม โดยมีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 25.04 ไมโครเมตร รูปแบบโครงสร้างผลึกเป็นแบบB (B-type) และมีปริมาณผลึกร้อยละ 30.47 สตาร์ชกล้วยนางพญามีค่ากำลังการพองตัวและความสามารถในการละลายเท่ากับ 25.72 และร้อยละ 15.64 ตามลำดับ มีอุณหภูมิเริ่มเกิดเจลาติไนเซชันเท่ากับ 72.70°C มีปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ในระดับสูงคือร้อยละ 60.16 พฤติกรรมการไหลของสตาร์ชกล้วยนางพญา (ความเข้มข้นร้อยละ 4) เป็นแบบนอนนิวโตเนียนชนิด shear-thinning เจลของสตาร์ช (ความเข้มข้นร้อยละ 8 – 10) แสดงคุณลักษณะวิสโคอีลาสติก (viscoelastic) โดยมีค่า instantaneous elastic (G_o) เท่ากับ 875.95Pa และค่า storage modulus (G') เท่ากับ 294.44 Pa โครงสร้างของสตาร์ช กล้วยนางพญาไม่ทนต่อความเป็นกรด โดยเมื่อค่าpHลดลงจาก 7.0 เป็น 3.5 พบว่าความหนืดสูงสุดและค่า breakdown มีค่าเพิ่มขึ้นจาก 4370.67 เป็น 5659.50 Pa และจาก 1253.67 เป็น 3014.00 Pa ตามลำดับ

2. การดัดแปรสตาร์ชกล้วยนางพญาด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชันโดยสตาร์ช กล้วยก่อนการดัดแปรได้ผ่านการตัดสายกิ่งของอะมิโลเพคตินด้วยเอ็นไซม์ pullulanase ที่ระดับ ร้อยละ 77.09 ทำให้ได้พอลิเมอร์สายตรงของอะมิโลสจำนวนมากซึ่งสามารถจัดเรียงตัวเป็นโครงสร้างสามมิติขณะที่สตาร์ชเกิดรีโทรเกรเดชัน เกิดเป็นโครงสร้างของผลึกที่มีความแข็งแรงมากขึ้น ลักษณะทางโครงสร้างและสมบัติเชิงหน้าที่ของสตาร์ชกล้วยนางพญาภายที่ผ่านการดัดแปรนั้นขึ้นอยู่กับระยะเวลาในการเก็บรักษาขณะเกิดรีโทรเกรเดชัน โดยพบว่าปริมาณผลึก สัดส่วนของโมเลกุลที่จัดเรียงตัวแบบเกลียวคู่ต่อส่วนอสัณฐาน และพลังงานที่ใช้ในการเกิดเจลาติไนเซชัน (ΔH) มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วภายใน 9 วันแรกของการเก็บรักษา ซึ่งอธิบายได้ว่าเป็นผลจากการเกิดอันตรกิริยาของสายโมเลกุลอะมิโลสเกิดเป็นโครงร่างสามมิติที่มีความแข็งแรง และเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานกว่า 9 วัน พบว่าค่าเหล่านั้นเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ ซึ่งเป็นผลจากการจัดเรียงตัวของสายอะมิโลเพคติน ทำให้เกิดการจัดเรียงตัวเป็นโครงสร้างผลึกที่แข็งแรงขึ้น การเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างสตาร์ชที่มีความแข็งแรงเพิ่มขึ้นเนื่องจากระยะเวลาในการเก็บรักษาที่นานขึ้นนี้ ส่งผลให้ความหนืดและสัมประสิทธิ์ความคงตัวของสตาร์ชเพสท์มีค่าลดลง เจลสตาร์ชยังคงแสดงคุณลักษณะวิสโคอีลาสติกแต่มีค่า G' และ G_oเพิ่มขึ้น นอกจากนั้นพบว่าการดัดแปรสตาร์ชกล้วยด้วยวิธีรีโทรเกรเดชันที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 13 วันเป็นต้นไป ส่งผลให้ความสามารถในการถูกย่อยด้วยเอนไซม์มีค่า

ลดลง ขณะที่ปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์มีค่าเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับสตาร์ชกล้วยก่อนการดัดแปร และพบว่าปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์มีค่าสูงสุดเท่ากับร้อยละ 71.05 ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 15 วัน

ข้อเสนอแนะ

1. เพื่อให้การประยุกต์ใช้สตาร์ชกล้วยนางพญาที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีรีโทรเกรเดชันเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ และสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้จริง ควรศึกษาความเป็นไปได้ในการนำสตาร์ชกล้วยนางพญาที่ผ่านการดัดแปรนี้ไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพ

2. ควรทำการศึกษาสมบัติพรีไบโอติก (prebiotics) ของสตาร์ชกล้วยนางพญาที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีรีโทรเกรเดชัน เพื่อเป็นข้อมูลสนับสนุนเพิ่มเติมในแง่ของงานวิจัยอาหารเพื่อสุขภาพ

เอกสารอ้างอิง

กล้าณรงค์ ศรีรอด และ เกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ. 2546. เทคโนโลยีของแป้ง. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร.

ปราณี อ่านเปรื่อง. 2543. เอนไซม์ทางอาหาร. ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยจุฬาลงกรณ์.

ปาริดา ขุนแอ. 2550. ผลของการดัดแปรด้วยวิธีความร้อนชื้นต่อสมบัติทางรีโอโลยีและการเกิดรีโทรเกรเดชันของสตาร์ชข้าวที่มีปริมาณอะมิโลสแตกต่างกัน. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. คณะอุตสาหกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

โชติ สุวัตถิ. 2505. กล้วยป่าและกล้วยปลูกในเมืองไทย.มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร.

วสันต์ ศิริวงศ์. 2543. สมบัติทางเคมีกายภาพของสตาร์ชที่สกัดได้จากกล้วยไทยบางชนิด. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต.จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

เบญจมาศ ศิลาย้อย.2545. กล้วย. พิมพ์ครั้งที่ 3. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพ ฯ.

Adebowale, K. O. and Lawal, O. S. 2003. Microstructure, physicochemical properties and retrogradation behaviour of Mucuna bean (*Mucuna pruriens*) starch on heat moisture treatments. Food Hydrocolloid. 17: 265–272.

Adebowale, K. O., Olu-Owolabi, B. I., Olawumi, E. and Lawal, O. S. 2005. Funtional properties of native, physically and chemically modified breadfruit (*Artocarpus artilis*) starch. Industrial Crops and Products. 21: 343-351.

Alexander, R. J. 1995. Resistant starch-new ingredient for the food industry. Cereal Foods World. 40(6) : 455-458.

AACC. 2000. Approved Methods of the AACC.10th ed. American Association of Cereal Chemist.

Asp, N. G. and Bjorck, I. 1992. Resistant Starch. Trends Food Sci Technol. 3(5) :111–4.

AOAC. 2000. Official Methods of Analysis : 16thEd.Association of Official Analytical Chemists.

Avrami, M. 1941. Granulation, phase change, and microstructure, kinetics of phase change. III. J. of Chem. Phys. 9: 177-184.

Baghurst, P. A., Baghurst, K. I. and Record, S. J. 1996.Dietary fiber, non-starch polysaccharides and resistant starch-a review. Food Aust. 48(3):S3–S35.

Bello-Perez, L. A., Agama-Acevedo, E., Sanchez-Hernandez, L. and Paredes-Lopez, O. 1999. Isolation and partial characterization of banana starches. J. of Agri and Food Chem. 47: 854-857.

Bello-Perez, L. A., Pana de Lean, Y., Agama-Acevedo, E. and Paredes-Lopez, O. 1998. Isolation and partial characterization of amaranth and banana starches. Starch/Starke. 50: 409-413.

Bello-Perez, L. A., Pana de Lean, Y., Agama-Acevedo, E. and Paredes-Lopez, O. 2005. Isolation and partial characterization of amaranth and banana starches. Starch/Starke. 50: 409-413.

Berry , C.S.1986. Resistant starch: Formation and measurement of starch that survives exhaustive digestion with amylotic enzymes during the determination of dietary fibre. J. of Cereal Sci.4:301-314.

Birkett, A. M., Mathers, J. C., Jones, G. P., Walker, K. Z., Roth, M. J. and Muir, J. G. 2000. Changes to the quality and processing of starchy foods in a Western diet can increase polysaccharides escaping digestion and improve in vitro fermentation variables. J. of Nutrition. 84:63–72.

Brown, I. L., McNaught, K. J., Ganly, R. N., Conway, P. L., Evans, A. J., Topping, D. L. and Wang, X. 1996. Probiotic compositions. Intl. Patent WO 96/ 08261/ A1. Issued Mar 21,1996; Univ New South Wales; Burns Philip and Co. Limited; Burns Philip Res and Dev Pty;

Billiaderis, C. G. 1992. Characterization of starch network: by small strain dynamic rheometry. In R. J. Alexander and H. F. Zobel (ed.), Developments in carbohydrate chemistry, 87-135.

Cael, J. J., Koenig, J. L. and Blackwell, J. 1973. Infrared and Raman spectroscopy of carbohydrates. Part III: Raman spectra of the polymorphic forms of amylose. Carbohydr. Res. 29: 123-134.

Cairns, P., Leloup, V. M., Miles, M. J., Ring, S. G. and Morris, V. J. 1990. Resistant starch: An X-ray diffraction study into the effect of enzymatic hydrolysis on amylose gels in vitro. J. of Cereal Sci. 12:203-206.

Clark, A. H. and Ross-Murphy, S. B. 1987. Structural and mechanical properties of biopolymer gels. Advanced polymer Science. 85: 57-192.

Champ, M., 1992. Determination of resistant starch in foods and food products: interlabotarory study. European J. of Clinical Nutrition. 46:s 51-s 62.

Chattopadhyay, S., Chaudhuri, S. and Ghosal, S. 1987. Bioactive phytosterol conjugates. Part 3. Activation of peritoneal macrophages by sitoindoside IV, an anti-ulcerogenic acylsterylglycoside from *Musa paradisiaca*. Planta Med.52: 16-8.

Chen, J.J., Lu, S., and Lii, C.Y. 1999. Effect of milling on physicochemical characteristics of waxy rice in Taiwan. Cereal chemistry.76(5):796-799.

Chiang, B.H., Chu, W.C., and Chu, C.L. 1987. A pilot scale study for banana starch production. Starch/Starke. 39(1): 5-8.

Chung, H.-J., Lim, H.-S., and Lim, S.-T. 2006. Effect of partial gelatinization and retrogradation on the enzymatic digestion of waxy rice starch. Carbohydr. Polym. 55: 9–15.

Clark, A. H. and Ross-Murphy, S. B. 1987. Structural and mechanical properties of biopolymer gels. Advanced polymer Science. 85: 57-192.

Cooke, D. and Gidley, M. J. 1992. Loss of crystalline and molecular order during starch gelatinization: origin of enthalpic transition. Carbohydr. Res. 227: 103-112.

Cui, R. and Oates, D.G.1996. The effect of retrogradation on enzyme susceptibility of sago starch. Carbohydr Polym.32:65-72.

Dubois, M., K.A. Gilles, J.K. Hamilton, P.A. Rebers, and F. Smith. 1956. Colorometric method for determination of sugars and related substances. Anal. Chem. 28(3):350-356.

Doublier, J. L. 1981. Rheological studies on starch: Flow behavior of wheat starch pastes. Starch. 33: 415-420.

Eerlingen, R. C., Crombez, M. and Delcour, J. A. 1993. Enzyme-resistant starch. I. Quantitative and qualitative influence of incubation time and temperature of autoclaved starch on resistant starch formation. Cereal Chem. 70(3):339–44.

Eggleston, G., Swennen, R. and Akoni, S. 1992. Physicochemical studies on starch isolated from plantain cultivars, plantain hybrids and cooking bananas. Starch/Starke. 44: 121-128.

Elliasson, A.-C. 1985. Retrogradation of starch as measured by differential scanning calorimetry. In New Approaches to Research on Cereal Carbohydrates. (Hill, R. D. and Munck, L., eds). p. 93-98.

Englyst, H. N. and Cummings, J. H. 1986. Digestion of the carbohydrates of banana (Musa paradisiaca sapientum) in the human small intestine. American J. of Clin Nutr. 44 : 42–50.

Englyst, H. N. and Hudson, G. J. 1996. The classification and measurement of dietary carbohydrate. 57: 15–21.

Faisant, N., Gallant, D.J., Bouchet, B., and Champ, M. 1995. Banana starch breakdown in the human intestine studied by electron microscope. Eur. J. of Clin. Nutr. 49:98-104.

Fausto, F. D., Kacchi, A. I. and Mehta, D. 1997. Starch products in confectionery. Bev Food World.24(4):4–16.

Fichtali, J., Owusu_Ansah, Y.J. and Chang, P. 1999. Banana starch. U.S.Patent. 5:855,688.

Gallant, O. J., Bouchet, B., Buleon, A. and Perez, S. 1992. Physical characteristics of starch granules and susceptibility to enzymic degradation. European J. of Clin. Nutr. 46(Suppl. 2) :S3–S16.

Gidley, M. J. and Bulpin, P. V. 1989. Aggregation of amylose in aqueous systems:The effect of chain length on the paste behavior and aggregation kinetics. Macromolecules.22: 341-346.

Goel, R.K., Gupta, S., Shankar, R. and Sanyal, A.K.1986. Anti-ulcerogenic effect of banana powder (*Musa sapientum* var. *paradisiaca*) and its effect on mucosal resistance. J. of Ethnopharmacol .18(1):33-44.

Goni, I., Garcia-Diz, L., Manas, E. and Saura-Calixto, F. 1996. Analysis of resistant starch: a method for foods and food products. Food chemistry . 56:445-449.

Gonzalez-Soto, R.A., Mora-Escobedo, R. Hernandez-Sanchez, H. Sanchez-Rivera, M.and Bello-Perez, L.A.2006. The influence of time and storage temperature on resistant starch formation from autoclaved debranched banana starch. 40:304-310.

Goodfellow, B. and Wilson, R. H. 1990. A Fourier transform IR study of the gelation of amylose and amylopectin. Biopolymers. 30: 1183-1189.

Gray, J. A., and Bemiller, J. N. 2003. Bread staling: molecular basis and control. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 2:1–19.

Haralampu, S. G. 2000. Resistant starch—a review of the physical properties and biological impact of RS3. Carbohydr. Polym. 41:285–92.

Heaton, K. W. 1988. Gall stone prevention. In Bile acids and diseases. Lancester:MTP Press. p 57–169.

Hizukuri, S. 1995. Starch:Analytical aspects. In carbohydrates in food. Edited by A-C.Eliasson. Marcel Dekker Inc ., New York, Basel, Hong Kong pp. 347-429.

Holm, J., Bjorck, I., Ostrowska, S., Eliasson, A. C., Asp, N. G ., Larrson, K., and Lundquist, L. 1993. Digestibility of amylase-lipid complexs in vitro and in vivo. Starch. 35:294-297.

Hoover, R. and Sosulski, F. W. 1991. Composition, structure, functionality and chemical modification of legumes starches. A review. Canadian J. of Physiology and Pharmacology, 69:79-92.

Hoover, P. 2001. Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starches: a review. Carbohydr. Polym. 45: 253-267.

Jacob, H., Eeringen, R. C., Spaepen, H., Grober, P. J. and Del-cour, J.A. 1998. Impact of annealing on the susceptibility of Wheat, Potato, and Oat Starches to Hydrolysis with Pancreatin in Carbohydr. Res. 305:193-207.

Jane, J., Wong, K., and McPherson, A.E. 1997. Branch-structure difference in starches of A- and B-type X-ray patterns revealed by their Naegeli dextrins. Carbohydr. Res. 300: 219-227.

Kainuma, K. and French, D. 1971. Nageli amylodextrin and its relationship to starch granule structure. I. Preparation and properties of amylodextrins from various starch types. Biopolymers. 10:1673-1680.

Kayisu, K. and Hood, L.F. 1981. Characterization of starch and fiber of banana fruit. J. of Food Science. 46: 1885-1890.

Kiatponglap, W. and Tongta, S. 2007. Structural and physical properties of enzyme resistant starch produced from debraching and retrogradation of cassava starch. In proceedings starch update 2007,the 4th international conference on starch technology (pp. 253-258). Thailand: Queen Sirikit National Convention Center Bangkok.

Ko, R.1917. Action of fruit juices upon the typhoid bacillus. Taiwan Igakukai Zasshi .179:569-80.

Lehmann, U., Jacobasch, G. and Schmidiedl, D.2002. Characterization of resistant starch type III from Banana (Musa acuminate). J. of Agricultural and Food chemistry. 50: 5236-5240.

Lii, C. Y., Chang, S. M. and Young, Y. L. 1982. Investigation of physical and chemical properties of banana starch. J. of Food Science. 47: 1493-1497.

Lii, C. Y., Shao, Y. Y., Tseng, K. H. 1995. Gelation Mechanism and rheological properties of rice starch. Cereal Chem. 72(4): 393-400.

Ling, L.H., Osman, E.M., Fernand, J.B and Reilly, P.J.1982. Physical properties of starch from Cavendish banana fruit. Starch/Starke. 34: 184-188.

Lu, S., Chen, L.-N. and Lii, C.-Y. 1997. Correlations between the fine structure, physicochemical properties, and retrogradation of amylopectins from Taiwan rice varieties. Cereal Chem. 74(1) : 34-39.

Malhotra, S. L. 1968. Epidemiological study of cholelithiasis among rail road workers in India. Gut . 9:290–5.

McCleary, B.V. and Monaghan, D.A.2002. . Measurement of resistant starch. J Association of Official Analytical Chemists. J of AOAC international. 85(3): 665-675.

Miao, M., Jiang, B. and Zhang, T. 2009. Effect of pullanase debraching and recrystallization on structure and digestibility of waxy maize starch. Carbohydr. Polym. 79: 214-221.

Miles, M., Morris, V., Orford, P. and Ring, S.1985. The roles of amylose and amylopectin in the gelation and retrogradation of starch. Carbohydr. Res. 135:271-281.

Morais, M. B., Feste, A., Miller, R. G., and Lifichitz, C. H. 1996. Effect of resistant starch and digestible starch on intestinal absorption of calcium, iron and zinc in infant pigs. Paediatr Res. 39(5):872–6.

Mun, S-H. and Shin, M. 2006. Mild hydrolysis of resistant starch from maize. Food chemistry . 96:115-121.

Mukhopadhyaya, K., Bhattacharya, D., Chakraborty, A., Goel, R.K.and Sanyal, A.K.1987. Effect of banana powder *(Musa sapientum* var. *paradisiaca)* on gastric mucosal shedding. J. of Ethnopharmacol. 21(1): 11-9.

Nelson, N. 1944. Determination of glucose. J. of Biol Chem. 153:375-380.

Noel, T. R., Ring, S. G. and Whittam, M. A. 1993. Physical properties of starch products. Structure and functional. In E. Dickinson, and P. Walstra (ed.), Food colloids and polymers: stability and mechanical properties, 126-135.

Nugent, A. P. 2005. Health properties of resistant starch. Br Nutr Foundation Nutr Bull. 30: 27–54.

Nunez-Santiago, M. C., Bello-Perez, L. A. and Tecante, A. 2004. Swelling-solubility characteristic Granule size distribution and rheological behavior of banana (*Musa paradisiaca)* starch. Carbohydr. Polym. 56: 65-75.

Onyango, C., Bley. T., Jacob, A., Henle, T. and Rohm, H. 2006. Influence of incubation temperature and time on resistant starch type III formation from autoclaved and acid-hydrolysed cassava starch. 66:494-499.

Orford, P. D., Ring, S. G., Carroll, V., Miles, M. J. and Morris, V. J. 1987. The effect of concentration and botanical source on the gelation and retrogration of starch. J. of Sci. Agric. 39: 169-177.

Planchot, V., Colonna, P., Buleon, A. and Gallant, D.1997. Amylolysis of starch granules and alpha-glucan crystallites. In R.J. Frazier, A. M. Donald and P. Richmond, Starch structure and functionality (pp. 141-152).

Pongjanta, J., Utaipatanacheep, A., Naivikul, O. and Piyachomkwan, K. 2007. Improvement of resistant Type III formation from high amylose rice starch by enzymatically debraching process. In proceedings starch update 2007,the 4th international conference on starch technology (pp. 245-251). Thailand: Queen Sirikit National Convention Center Bangkok.

Raben, A., Tagliabue, A., Christensen, N. J., Madsn, J., Holst, J. J. and Astrup, A. 1994. Resistant Starch: the effect on postprandial glycemia, hormonal response and satiety. American J. of Clin Nutr. 60:544–51.

Ranhotra, G. S., Gelroth, J. A., Astroth, K. and Eisenbraun, G.J. 1991. Effect of resistant starch on intestinal responses in rats. Cereal Chem. 68(2):130–2.

Ranhotra, G. S., Gelroth, J. A. and Glaser, B. K. 1996. Energy value of resistant starch. J. of Food Sci .61(2):453–5.

Rayas-Duarte, P., Robinson, S.F., and Freeman, T.P. 1995. In situ location of starch granule protein in duram wheat endosperm by immunocytochemistry. Cereal Chem. 72: 269-274.

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

Ring, S.G., Colonna, P. and I'Anson, K.J.1987.The gelation and crystallization of amylopectin. Carbohydr. Res. 162:277-293.

Sajilata, M.G., Singhal, R.S. and Kulkarni, P.R.2006. Resistant starch-A Review. Comprehensive reviews in food science and food safety. 5:1-17.

Schoch, T. J. and Maywald, F.C. 1968. Preparation and properties of various legume starch. Cereal Chem. 45: 564-573.

Sharma, F. and Sherman, P. 1966. The texture of ice cream. 2. Rheological properties of frozen ice cream. J. Food science. 31: 399-706.

Shanthy, A. P., Sowbhagya, C. M. and Bhattacharya, K. R. 1980. Simplified determination of water-insoluble amylase content of rice. Starch. 12:409-411.

Sherman, P. 1970. Industrial rheology with particular reference to foods, Phamaceutical, and cosmetics. Academic Press. London

Sherman, P. 1966. The texture of ice cream. 3. Rheological properties of mix and melted ice cream. J. of Food science. 31: 707-716.

Shi, Y.-C. and Trzasko, P.T.1997. Process for producing amylase resistant starch, US Patent#5,593,503.

Simmond, N.W. 1996. Bananas. 2nd ed. London : Longman.

Siriwong, W., Tulyathan, V. and Waiprib, Y. 2003. Isolation and physicochemical characterization of starches from different banana varieties. J. of Food Biochem. 27: 471-484.

Sivert, D. and Pomeranz, Y. 1989. Enzyme-resistant starch II. Characterization and evaluation by enzymatic, thermoanalytical and microscopic method. Cereal Chem. 66(4):342-7.

Tharanathan, R. N. and Mahadevamma, S. 2003. Grain legumes-a boon to human nutrition.Trends Food Sci Technol. 14:507–18.

Torre-Gutierrez, L., Chel-Guerrero, L. A and Ancona, D, B. 2007. Functional properties of square banana (Musa balbisiana) starch. Food Chem. 106:1088-1144.

van Soet, J. J. G., Tournois, H., de Wit, D. J. F. and Vliegenthart, J. F. G.. 1995. Shot-range structure in (partially) crystalline potato starch determined with attenuated total reflectance Fourier-transform IR spectroscopy. Carbohydr. Res. 279: 201-214.

Varavinit, S. and Shobsngob, S. 1996. Investigation on the small scale separation of banana starch. Foods Food Ingredients J. of Jpn. 169 : 112-115.

Vasanthan, T and Bhatty, R.S. 1996. Physicochemical properties of small and large granule starches of waxy, regular and high-amylose barleys. Cereal chem.73:199-207.

Wang, W. J., Powelf, A. D. and Oats, C. G. 1995. Pattern of enzyme hydrolysis in raw sago starch: effects of processing history. Carbohydr. Polym. 26:91-97.

Waliszewski, K. N., Sparicio, M. A., Bello-Perez, L. A. and Monroy, J.A. 2003. Change of banana starch by chemical and physical modification. Carbohydr. Polym. 52: 237-242.

Whalen, P.J., Bason, R.I. Walker, C.E. and Walliams, P.J. 1997. Measurement of extrusion effects by viscosity profile using the rapid visco analyzer.Cereal Foods World. 42(6):469-475.

Wursch, P. 1999. Resistant starch. Complex Carbohydrates in foods. pp. 385-825.

Zhang, T. and Oates, C. G. 1999. Relationship between alpha-amylase degradation and physico-chemical properties of sweet patato starches. Food Chem. 65: 157-163.

Zhang, P., Whistler, R. L., Bemiller, J. N. and Hamaker, B. R. 2005. Banana starch production physicochemical properties and digestibility-a review. Carbohydr. Polym. 59: 443-458.

Zobel, H.F. 1998. Molecule to granules: A comprehensive starch review. Starch/Starke. 40 : 44-50.

Zobel, H. F., Young, S. N. and Rocca, L. A. 1988. Starch gelatinization: An x-ray diffraction study. Cereal Chem. 65: 443.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก การคำนวณพารามิเตอร์ของการคืบ (Creep study) ด้วยวิธีของ Inokuchi (Inokuchi graphical procedure)

การศึกษาสมบัติวิสโคอิลาสติกของเจลสตาร์ชข้าวโดยการติดตามการเปลี่ยนแปลงของค่า Creep compliance J(t) ที่เวลาต่างๆ โดยค่า J คืออัตราส่วนของความเครียด (ε) ต่อค่าแรงเฉือน (σ) จากกราฟของ Creep compliance (Figure 18) สามารถแบ่งการคำนวณออกได้เป็น 3 ช่วงดังนี้ (Sharma and Sherman, 1996 and Sherman, 1966):

(1) ช่วง instantaneous elastic compliance, J_0, (A-B) ซึ่งบ่งบอกถึงการที่พันธะภายในวัสดุมีการยืดตัวอย่างยืดหยุ่น ถ้าเอาแรงเฉือนออกวัสดุสามารถเกิดการคืนตัว (recovery) ได้อย่างสมบูรณ์ แสดงดังสมการที่ (12)

$$J_0 = \frac{1}{G_0} = \frac{\varepsilon_0(t)}{\sigma} \qquad (12)$$

(2) ช่วง time-dependent retarded elastic compliance, J_R, (B-C) ซึ่งแสดงค่า retarded elastic modulus (G_R), ความหนืด (η_R) และ retard time (τ) ซึ่งเท่ากับ (η_R / G_R) ช่วงนี้เป็นช่วงที่พันธะของวัสดุมีการแตกออกและคืนรูป (reform) โดยพันธะทั้งหมดไม่ได้แตกออกและคืนรูปที่อัตราเดียวกัน ดังนั้นค่า τ จึงมีหลายค่า (τ_1, τ_2, τ_3... τ_i) และค่า G และ η_R ก็มีหลายค่าเช่นกัน (G_1, G_2, G_3,.....G_i และ η_1, η_2, η_3.....η_i)

สามารถอธิบายความสัมพันธ์ของตัวแปรด้วยสมการอย่างง่าย ดังนี้

$$J_R = \frac{1}{G_R} = J_a(1-e^{\frac{-t}{\tau}}) = \frac{\varepsilon_R(t)}{\sigma} \qquad (13)$$

เมื่อ J_a คือค่าเฉลี่ยของค่า retarded elastic compliance

สมการที่ (12) สามารถเขียนในรูปแบบสมการที่มีหลายองค์ประกอบดังนี้

$$J_R = \sum_{i=1}^{n} J_i(1-e^{\frac{-t}{\tau_i}}) = \sum_{i=1}^{n} J_i(1-e^{\frac{-t}{\eta_i J_i}}) \qquad (14)$$

โดยที่ η_i คือจำนวนขององค์ประกอบของค่าความหนืดซึ่งมีความสัมพันธ์กับค่า retarded elastic compliance

สามารถประยุกต์วิธีการคำนวณโดยการใช้กราฟของ Inokuchi (1955) กับสมการที่ (13) ได้สมการดังนี้

$$Q = \sum_{i=1}^{n} J_i - \frac{\varepsilon_R(t)}{\sigma} \qquad (15)$$

สมการ (14) แสดงถึงคือระยะห่างระหว่างเส้นตรง DCP กับเส้นโค้ง DCB ที่เวลาใด ๆ ดังนั้นสามารถแสดงสมการที่ (14) ในรูปแบบสมการใหม่ได้ดังนี้

$$Q = \sum_{i=1}^{n} J_i e^{\frac{-t}{\tau}} \qquad (16)$$

เมื่อเขียนกราฟระหว่าง $\ln(Q)$ กับเวลา แล้วได้กราฟเป็นเส้นตรง ซึ่งสามารถคำนวณค่า single retardation time (τ_1) และ Creep compliance (J_1) แต่ถ้ากราฟที่ได้ไม่เป็นเส้นตรง ก็ให้เขียนกราฟใหม่ระหว่าง $\ln(Q - J_1 e^{-t/\tau_1})$ กับเวลา แล้วคำนวณค่า second retardation time (τ_2) และ secondary compliance (J_2) แต่ถ้ากราฟยังไม่เป็นเส้นตรงก็ต้องเขียนกราฟใหม่ครั้งที่ 3 ระหว่าง $ln(Q - J_1 e^{-t/\tau_1} - J_1 e^{-t/\tau_2})$ กับเวลาแล้วคำนวณค่า τ_3 และ J_3 ซึ่งจะต้องดำเนินการด้วยวิธีนี้ซ้ำจนกระทั่งได้กราฟเส้นตรง

(3) ช่วง Newtonian flow, J_N (C-D) เป็นช่วงที่พันธะของวัสดุเกิดการแตกออกและไม่สามารถคืนรูปได้ จึงทำให้วัสดุเกิดการไหลแบบนิวโตเนียน โดยการไหลเป็นสัดส่วนโดยตรงกับเวลา สามารถแสดงได้ ดังสมการที่ (17)

$$J_N = \frac{\varepsilon_N(t)}{\sigma} = \frac{t}{\eta_N} \qquad (17)$$

เมื่อ ε_N คือ ค่าความเครียด (shear strain) ในช่วงที่กราฟการคืบมีลักษณะเป็นเส้นตรง ดังนั้นค่าความชันของกราฟคือส่วนกลับของค่าความหนืด (1/ η_N)

ภาคผนวก ข การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์

1. การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugar) (Somogyi-Nelson, 1944)

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. หลอดทดลอง
2. อ่างน้ำแข็ง (ice bath)

สารเคมี

1. สารละลายกลูโคสมาตรฐาน
2. Alkaline copper reagent
3. Nelson reagent

วิธีการ

1. ดูดตัวอย่าง /Blank /สารละลายกลูโคสมาตรฐาน 1 ml ใส่ลงไปในหลอดทดลอง
2. เติม Alkaline copper reagent 1 ml ผสมให้เข้ากัน
3. นำไปต้มในอ่างน้ำเดือด 15 นาที
4. นำไปทำให้เย็นใน Ice bath
5. เติม Nelson reagent 1 ml ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที
6. เติมน้ำกลั่น 5 ml ผสมให้เข้ากัน
7. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 nm

$$\text{ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์} = \frac{\text{ค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 nm}}{\text{ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของสารละลายกลูโคสมาตรฐาน}} \qquad (18)$$

2. การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (total sugar) ด้วยวิธี Phenol-Sulfuric Reaction

สารเคมี

1. สารละลายซัลฟูริกเข้มข้น
2. Phenol Solution ละลาย phenol 5 กรัม (reagent grade) ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 100 ml ด้วย volumetric flask

วิธีการ

1. การเตรียม Standard curve glucose

1.1 เตรียมสารละลายน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้น 100 μg/ml

1.2 นำสารละลายน้ำตาลกลูโคส 100 μg/ml มาทำให้เจือจางให้มีความเข้มข้น 20, 40, 60, 80 g/ml ดังแสดงตารางข้างล่างนี้

ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส (μg/ml)	ปริมาณน้ำกลั่น (ml)	ปริมาณสารละลายน้ำตาลกลูโคส 100 μg/ml (ml)
20	8	2
40	6	4
60	4	6
80	2	8

1.3 ดูดสารละลายที่เตรียมได้ 1 ml ใส่ลงในหลอดทดลอง

1.4 ใส่สารละลาย 5% phenol ลงในหลอดทดลอง 1 ml ผสมให้เข้ากันอย่างรวดเร็วด้วย mixer

1.5 ใส่สารละลายซัลฟูริกเข้มข้น 5 ml ผสมให้เข้ากันอย่างรวดเร็วด้วย mixer

1.6 ตั้งทิ้งไว้ในตู้ดูดควันเป็นเวลา 30 นาที

1.7 นำไปวัดด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 485 นาโนเมตร

1.8 Plot graph ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของน้ำตาล โดยให้ค่าการดูดกลืนแสงอยู่แกน Y และความเข้มข้นของน้ำตาลอยู่แกน X หาค่าความชันจากกราฟที่ได้

2. การหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดจากตัวอย่าง

2.1 เตรียมตัวอย่างให้อยู่ในความเข้มข้นที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลไม่เกิน 100 μg/ml โดยทำให้เจือจางด้วยน้ำกลั่น ในกรณีที่ตัวอย่างเป็นของแข็ง จะต้องเตรียมให้อยู่ในรูปสารละลายก่อน

2.2 ทำการทดลองดังข้อ 1 (1.4- 1.8)

3. การคำนวณ

$$\text{ปริมาณ Total sugar } (\mu g/ml) = \frac{A_b \times Dil}{Slope} \qquad (19)$$

Ab คือ ค่าการดูดกลืนแสงจากตัวอย่าง

Dil คือ Dilution

Slope คือ ค่าความชันจาก Standard Curve

3. การวิเคราะห์หาปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ (resistant starch content)

(McCleary and Monaghan, 2002)

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. หลอดทดลองที่มีฝาปิด
2. ขวดปรับปริมาตร
3. Ice bath
4. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ
5. เครื่องเขย่า และเครื่อง menetic stirrer
6. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง

สารเคมี

1. สาร D-glucose มาตรฐาน
2. เอนไซม์ amyloglucosidase (AMG)
3. เอนไซม์ pancreatic *alpha*-amylase
4. สารละลาย GOPOD

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างสตาร์ช 0.1 g ในหลอดทดลองที่มีฝาปิดขนาด 16x125 mm
2. เติมสารละลายเอนไซม์ pancreatic *alpha*-amylase (10 mg/ml) ที่มีเอนไซม์ amyloglucosidase (AMG) (3 U/ml) 4 ml ผสมให้เข้ากัน นำไปวางในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 37 °C ที่ความเร็ว 200 stroke/min เป็นเวลา 16 ชั่วโมง
3. เติมเอทานอล (99%) 4 ml แล้วนำตัวอย่างที่ได้ไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3000 rpm เป็นเวลา 10 นาที เทส่วนใสทิ้ง
4. นำตะกอนที่ได้มาละลายด้วยเอทานอล (50%) 8 ml แล้วนำตัวอย่างที่ได้ไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3000 rpm เป็นเวลา 10 นาที (ทำซ้ำ 2 ครั้ง)
5. นำตะกอนที่ได้มาเติม 2 M KOH 2 ml (ใส่ magnetic stirred bar ขนาด 5x15 mm) จากนั้นนำไป stirred เป็นเวลา 20 นาที ในอ่างน้ำแข็ง
6. เติม 1.2 M sodium acetate buffer (pH 3.8) 8 ml และเติมเอนไซม์ amyloglucosidase (AMG, 3,300 U/ml) 0.1 ml <u>โดยทันที</u> ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปวางในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 30 นาที
7. จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้มาปรับปริมาตรให้ได้ 100 ml ด้วยน้ำกลั่น ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3000 rpm เป็นเวลา 10 นาที

8. นำตัวอย่างที่ได้ 0.1 ml ใส่ในหลอดแก้ว (ทำ 3 ซ้ำ) เติมสารละลาย GOPOD 3 ml แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 20 นาที

9. นำตัวอย่างที่ได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 nm ด้วย reagent blank คำนวณปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ (RS) ดังสมการ

ปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ (RS %) = $\Delta E \times (F/W) \times 90$ (20)

ΔE = ค่าการดูดกลืนแสง

F = 100(mg of D-glucose) / ค่าการดูดกลืนแสงของ 100 g D-glucose

W = น้ำหนักแห้งของตัวอย่างสตาร์ช (กรัม)