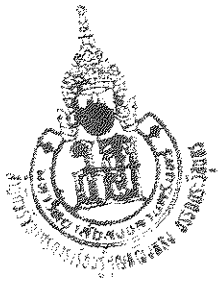


ผลของการดัดแปรสตาร์ชกล้วยด้วยวิธีทางกายภาพต่อปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์และสมบัติทางรีโอโลยี

Effect of Physical Modification on Resistant Starch Content and Rheological Properties of Banana Starch

จุไรรัตน์ ถนอมกิจ

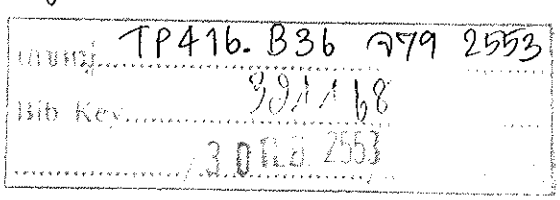
Jurairat Tanomkit

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of
Master of Science in Food Technology
Prince of Songkla University
2553

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

จ



ชื่อวิทยานิพนธ์ ผลของการดัดแปรสตาร์ชกล้วยด้วยวิธีทางกายภาพต่อปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์และสมบัติทางรีโอโลยี

ผู้เขียน นางสาวจุไรรัตน์ ถนอมกิจ

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปิยรัตน์ ศิริวงศ์ไพศาล)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

.....

(ดร.สัญญา หกพุดซา)

คณะกรรมการสอบ

.....ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เสาวคนธ์ วัฒนจันทร์)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุนันทา ทองทา)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปิยรัตน์ ศิริวงศ์ไพศาล)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.เกริกชัย ทองหนู)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อวิทยานิพนธ์	ผลของการดัดแปรสตาร์ชกล้วยด้วยวิธีทางกายภาพต่อปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์และสมบัติทางรีโอโลยี
ผู้เขียน	นางสาวจุไรรัตน์ ถนอมกิจ
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร
ปีการศึกษา	2552

บทคัดย่อ

สตาร์ชกล้วยนางพญาประกอบด้วยปริมาณอะมิโลสร้อยละ 17.09 มีโครงสร้างผลึกเป็นแบบ B (B-type) โดยมีปริมาณผลึกร้อยละ 36.81 มีอุณหภูมิเริ่มเกิดเจลาทิไนเซชันเท่ากับ 72.70°C และมีปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ในระดับสูงคือร้อยละ 60.16รูปร่างของเม็ดสตาร์ชกล้วยนางพญามีความหลากหลาย ซึ่งมีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 25.04 ไมโครเมตร ได้ทำการดัดแปรสตาร์ชกล้วยนางพญาด้วยวิธีทางกายภาพ 2 วิธี ได้แก่ วิธีความร้อนชื้น (Heat-Moisture Treatment) ที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 16 ชั่วโมง ที่ระดับความชื้นในช่วงร้อยละ 18-27 และวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชันที่อุณหภูมิ 4°C ที่ช่วงระยะเวลาการเก็บรักษา 1 – 15 วัน จากผลการศึกษาการดัดแปรด้วยวิธีความร้อนชื้น พบว่ารูปแบบโครงสร้างผลึกเปลี่ยนแปลงจากแบบ B เป็นแบบ A+B และมีปริมาณผลึกลดลง จากผลการศึกษาคุณสมบัติเชิงหน้าที่ พบว่าค่ากำลังการพองตัว ความสามารถในการละลาย ความหนืด สัมประสิทธิ์ความคงตัว (consistency coefficient) และปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ของสตาร์ชกล้วยมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ขณะที่อุณหภูมิการเกิดเจลาติไนเซชัน อุณหภูมิเริ่มเปลี่ยนแปลงความหนืด ค่า storage modulus (G') และค่า instantaneous elastic (G_o) ของเจลสตาร์ชและความสามารถในการถูกย่อยด้วยเอนไซม์และกรดมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับสตาร์ชกล้วยนางพญาก่อนการดัดแปรด้วยความร้อนชื้น และจากการศึกษาผลของระดับความชื้นที่ใช้ในการดัดแปร พบว่าเมื่อระดับความชื้นที่ใช้ดัดแปรเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 18 เป็น ร้อยละ 27 กำลังการพองตัวของสตาร์ชกล้วย นางพญามีค่าลดลงจาก 16.23 เป็น 10.86 ขณะที่อุณหภูมิการเกิดเจลาติไนเซชันมีค่าเพิ่มขึ้นจาก 71.56°C เป็น 81.86°C และความแข็งแรงของเจลสตาร์ชมีค่าเพิ่มขึ้น โดยค่า G' และ G_o เพิ่มขึ้นจาก 2152.48 เป็น 3386.70 Pa และจาก 4301.43 เป็น 6837.20 Pa ตามลำดับ นอกจากนั้นพบว่าความสามารถในการถูกย่อยด้วยเอนไซม์และกรดของสตาร์ชกล้วยที่ผ่านการดัด

แปรด้วยวิธีความร้อนชื้นมีค่าเพิ่มขึ้น ขณะที่ปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์มีค่าลดลง เมื่อระดับความชื้นที่ใช้ดัดแปรมีค่าเพิ่มขึ้น

จากผลการศึกษาการดัดแปรสตาร์ชกล้วยนางพญาด้วยวิธีรีโทรเกรเดชัน ซึ่งสตาร์ชกล้วยก่อนการดัดแปรได้ผ่านการตัดสายกิ่งของอะมิโลเพคตินด้วยเอนไซม์ pullulanase ที่ระดับร้อยละ 77.09 พบว่าลักษณะทางโครงสร้างและคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของสตาร์ชกล้วยนางพญาที่ผ่านการดัดแปรขึ้นอยู่กับระยะเวลาในการเก็บรักษาขณะเกิดรีโทรเกรเดชัน โดยพบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นจาก 1 วัน เป็น 15 วัน รูปแบบโครงสร้างผลึกมีการพัฒนาจากความเป็นผลึกที่ไม่สมบูรณ์จนมีรูปแบบที่ใกล้เคียงกับโครงสร้างผลึกแบบ B และพบว่าปริมาณผลึกสัดส่วนของโมเลกุลที่จัดเรียงตัวแบบเกลียวคู่ต่อส่วนอสัณฐาน และพลังงานที่ใช้ในการเกิดเจลาติไนเซชัน (ΔH) มีค่าเพิ่มขึ้น ซึ่งแสดงให้เห็นว่าโครงสร้างของสตาร์ชกล้วยมีความแข็งแรงเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น โดยส่งผลให้ความหนืดและสัมประสิทธิ์ความคงตัวของสตาร์ชเพสท์มีค่าลดลง ความแข็งแรงของเจลสตาร์ช (ค่า G' และ G_o) มีค่าเพิ่มขึ้น นอกจากนั้นความสามารถในการถูกย่อยด้วยเอนไซม์และกรดของสตาร์ชมีค่าลดลง ขณะที่ปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์มีค่าเพิ่มขึ้นซึ่งมีค่าสูงสุดร้อยละ 71.05 เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษา 15 วัน

Thesis Title	Effect of Physical Modification on Resistant Starch Content and Rheological Properties of Banana Starch
Author	Miss Jurairat Tanomkit
Major Program	Science and Food Technology
Academic Year	2009

ABSTRACT

Nang paya banana starch consisted of 17.09% amylose content, which was found in B-type crystalline pattern with 36.81% 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 two physical methods: (1) heat-moisture treatment (HMT) at 100 °C for 16 hours at different moisture levels (18 - 27%) and (2) retrogradation at 4°C with different storage times (1-15 days). After HMT, the crystalline pattern of banana starch changed from B-type to A+B type and the crystallinity content decreased. For the functional properties of heat-moisture treated starches, it revealed that their swelling power, solubility index, viscosity, consistency coefficient and resistant starch content of this banana starch decreased, while the To, the pasting temperature, the storage modulus (G'), the instantaneous elastic (G_o) of starch gel, and susceptibility towards enzyme and acid hydrolysis increased significantly ($P < 0.05$) compared with native banana starch. As for the effect of moisture level of the treatment, increasing moisture content from 18% to 27% decreased the swelling power from 16.23 to 10.86 and To increased from 71.56°C to 81.86°C as well as the strength of gel increased with increasing G' and G_o from 2152.48 Pa to 3386.70 Pa and 4301.43 Pa to 6837.20 Pa, respectively. In addition, the susceptibility towards hydrolysis by acid and *alpha*–amylase enzyme increased, while resistant starch content decreased further with increasing moisture level of the treatments.

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 decreased, while resistant starch content increased with the highest value of 71.05% at the end of investigation (15 days of storage time).

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปิยรัตน์ ศิริวงศ์ไพศาล ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และ ดร.สัญญา หกพุดซา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำในการค้นคว้าวิจัยและตรวจทานแก้ไขการเขียนวิทยานิพนธ์ให้ถูกต้องสมบูรณ์ ส่งผลให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี และขอขอบคุณ Dr.Thierry Tran ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำในการตรวจทานแก้ไขข้อมูลวิทยานิพนธ์เพื่อใช้ในการเผยแพร่

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เสาวคนธ์ วัฒนจันทร์ ประธานกรรมการสอบ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุนันทา ทองทา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่กรุณาให้คำปรึกษาและเสียสละเวลาเป็นกรรมการตรวจสอบและให้คำแนะนำในการแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ คณะอุตสาหกรรมเกษตร บัณฑิตวิทยาลัย และสถานวิจัยอาหารเพื่อสุขภาพ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัยและค่าใช้จ่ายระหว่างการศึกษา

ขอขอบคุณบุคลากรคณะอุตสาหกรรมเกษตรทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือในการทดลองทั้งเครื่องมือเครื่องใช้ รวมทั้งการให้คำแนะนำในการปฏิบัติงาน

ขอบคุณพี่ๆ และเพื่อนๆ ทุกคนที่คอยให้กำลังใจในระหว่างทำการทดลองและการเขียนวิทยานิพนธ์จนสำเร็จ

ขอขอบคุณ พ่อ แม่ พี่ชาย และญาติพี่น้อง ที่สนับสนุนในและเป็นกำลังใจในการศึกษาเสมอมาจนกระทั่งสำเร็จการศึกษา

จุไรรัตน์ ถนอมกิจ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(3)
Abstract	(5)
กิตติกรรมประกาศ	(7)
สารบัญ	(8)
LIST OF TABLES	(11)
LIST OF FIGURES	(13)
บทที่	
1 บทนำ	
บทนำต้นเรื่อง	1
การตรวจเอกสาร	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 ประโยชน์ของสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์	18
3.3 การประยุกต์ใช้สตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ในอุตสาหกรรมอาหาร	20
4. สมบัติทางรีโอโลยีของสตาร์ชกล้วย	22
วัตถุประสงค์	30
2 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ	31
1. วัสดุและอุปกรณ์	31
2. วิธีการดำเนินงานวิจัย	33
2.1 การผลิตสตาร์ชกล้วยนางพญา	33
2.2 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสตาร์ชกล้วยนางพญา	33

สารบัญ (ต่อ)

2.3 การดัดแปรสตาร์ชกล้วยนางพญาด้วยวิธีทางกายภาพ 33
2.3.1 การดัดแปรด้วยวิธีความร้อนชื้น 33
2.3.2 การดัดแปรด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชัน 34
2.4 การศึกษาลักษณะทางโครงสร้างของสตาร์ชกล้วยนางพญา 35
2.5 การศึกษาคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของสตาร์ชกล้วยนางพญา 36
2.6 การศึกษาระดับการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ 38
2.7 การศึกษาระดับการถูกย่อยด้วยกรด 39
2.8 การศึกษาปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ 39

3 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง 41

1. องค์ประกอบทางเคมีและลักษณะทางของสตาร์ชกล้วยนางพญา 41
1.1 การผลิตสตาร์ชกล้วยนางพญา 41
1.2 องค์ประกอบทางเคมีของสตาร์ชกล้วยนางพญา 41
1.3 ลักษณะทางโครงสร้างของสตาร์ชกล้วยนางพญา 42
1.3.1 ลักษณะรูปร่างและขนาด (granular shape and size) 42
1.3.2 โครงสร้างผลึก (crystalline) 44
2. การดัดแปรสตาร์ชกล้วยนางพญาด้วยวิธีความร้อนชื้น 45
2.1 ลักษณะทางโครงสร้าง 45
2.2 คุณสมบัติเชิงหน้าที่ 47
2.2.1 กำลังการพองตัวและความสามารถในการละลาย 47
2.2.2 คุณสมบัติทางความร้อน 49
2.2.3 คุณสมบัติทางรีโอโลยี 52
2.2.4 การเกิดรีโทรเกรเดชัน 64
2.3 ระดับการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ 68
2.4 ระดับการถูกย่อยด้วยกรด 72
2.5 ปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ 74

สารบัญ (ต่อ)

3. การดัดแปรสตาร์ชกล้วยนางพญาด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชัน 76

3.1 ระดับการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ pullunase 76

3.2 ลักษณะทางโครงสร้าง 76

3.3 คุณสมบัติเชิงหน้าที่ 82

3.3.1 คุณสมบัติทางความร้อน 82

3.3.2 คุณสมบัติทางรีโอโลยี 87

3.4 ระดับการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ 97

3.5 ระดับการถูกย่อยด้วยกรด 99

3.6 ปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ 101

4 สรุปและข้อเสนอแนะ 103

เอกสารอ้างอิง 106

ภาคผนวก 120

ก การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ทางกายภาพ และปริมาณผลผลิต 121

ข การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 129

ค การวิเคราะห์ linear viscoelastic 133

ง การคำนวณพารามิเตอร์ของการคืบ ด้วยวิธีของ Inokuchi 134

จ การทำนายอัตราการเกิดรีโทรเกรเดชันโดยใช้สมการ Avrami (Avrami equation) 136

ฉ การวิเคราะห์ผลทางสถิติ 137

ประวัติผู้เขียน 139

LIST OF TABLES

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.....	42
4.	Crystallinity of native and heat-moisture treated banana starches at 18% (HMT_{18}), 21%(HMT_{21}), 24%(HMT_{24}) and 27%(HMT_{27}) moisture content.....	46
5.	Swelling power and solubility of native and heat-moisture treated banana starches at 18%(HMT_{18}), 21%(HMT_{21}), 24%(HMT_{24}) and 27%(HMT_{27}) moisture content.....	48
6.	Gelatinization parameters of native and heat-moisture treated banana starches at 18%(HMT_{18}), 21%(HMT_{21}), 24%(HMT_{24}) and 27%(HMT_{27}) moisture content.....	50
7.	Viscosity parameters from Rapid Visco Analyzer (RVA) of native and heat-moisture treated banana starches at 6% (w/w).....	56
8.	Consistency coefficient (k) and Flow behavior index (n) of native and heat-moisture treated banana starches.....	59
9.	Viscoelastic parameter of native and heat-moisture treated banana starches at concentration of 8% (w/w) and at 1 Hz.....	62
10.	Creep parameters of native and heat-moisture treated banana starches at concentration of 10% (w/w).....	65
11.	Resistant starch content of native and heat-moisture treated banana starches.....	76
12.	Crystallinity and relative crystallinity of native and retrograded banana starches (RBS) at various storage times.....	79
13.	Ratio of short-range molecular order to amorphous (RSA) and relative RSA (%) of native and retrograded banana starches (RBS) at various storage times.....	81
14.	Gelatinization parameters of native and retrograded banana starches (RBS) at various storage times.....	85
15.	Viscosity parameters from Rapid Visco Analyzer (RVA) of native and retrograded banana starches (RBS) at 6% (w/w).....	88

LIST OF TABLES (Continued)

16. Consistency coefficient (k) and Flow behavior index (n) of native and retrograded banana starches (RBS) at various storage times..... 90

17. Viscoelastic parameter of native and retrograded banana starches (RBS) at concentration of 8% (w/w) and at 1 Hz..... 93

18. Creep parameters of native and retrograded banana starches (RBS) at concentration of 10% (w/w)..... 96

19. Resistant starch content of native and retrograded banana starch (RBS) at various storage times..... 102

LIST OF FIGURES

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.....	43
5.	Particle size distribution of native Nang paya banana starch.....	43
6.	Crystallinity pattern of native Nang paya banana starch.....	44
7.	Crystallinity pattern of native and heat-moisture treated banana starches at 18% (HMT_{18}), 21%(HMT_{21}), 24%(HMT_{24}) and 27%(HMT_{27}) moisture content.....	46
8.	Relationship of swelling power of heat-moisture treated banana starches and moisture content of the treatments.....	48
9.	Thermogram of native and heat-moisture treated banana starches at 18% (HMT_{18}), 21% (HMT_{21}), 24% (HMT_{24}) and 27% (HMT_{27}) moisture content.....	50
10.	Relationship of onset gelatinization temperature (To) of heat-moisture treated banana starches and moisture content of the treatments.....	51
11.	Relationship of gelatinization temperature range (Tc-To) of heat-moisture treated banana starches and moisture content of the treatments.....	51
12.	Pasting profile at (a) pH 7.0 and (b) pH 3.5 of native and heat-moisture treated banana starches at 18% (HMT_{18}), 21 %(HMT_{21}), 24 %(HMT_{24}) and 27 %(HMT_{27}) moisture content.....	54
13.	Relationship of pasting temperature of heat-moisture treated banana starches and moisture content of the treatments.....	55
14.	Relationship of apparent viscosity and shear rate of (a) native and (b) heat-moisture treated banana starches at 18%(□), 21%(△), 24%(○) and 27%(◇) moisture content...	58

LIST OF FIGURES (Continued)

15. Effect of frequency on (a) G' and (b) G" of 8% starch paste for native (+) and heat-moisture treated banana starches at 18 %(□), 21 %(△), 24 %(○) and 27%(◇) moisture content. All samples were measured at 25°C and at 0.1-100 Hz..... 61

16. Relationship of G' value of heat-moisture treated banana starches and moisture content of the treatments..... 62

17. Creep compliance and creep recovery of 10% starch gels for (a) native (+) and (b) heat-moisture treated banana starches at 18%(□), 21%(△), 24%(○) and 27%(◇) moisture content. All samples were measured at 25 °C and at 2% strain..... 64

18. FTIR spectra at various storage times for (a) native and (b) heat-moisture treated at 27% moisture content of banana starch gel..... 67

19. The change for the ratio of short-range molecular order to amorphous region (RSA) of native (+) and heat-moisture treated at 27% moisture content (◇) of banana starch gels. The lines represent the Avrami equation fitting..... 68

20. Enzyme hydrolysis of native (+) and heat-moisture treated banana starches (HMT) at 18 %(■), 21%(▲), 24%(●) and 27%(◆) moisture content..... 70

21. Relationship of enzyme hydrolysis at 24 hours to various moisture content of the heat-moisture treated banana starches (HMT)..... 71

22. SEM micrograph (x5000) of (a) native (b) heat-moisture treated banana starches at 18% moisture content and (c) heat-moisture treated banana starches 27% moisture content after attack by porcine pancreatic *alpha*–amylase..... 72

23. Acid hydrolysis of native (+) and heat-moisture treated banana starches (HMT) at 18% (■), 21%(▲), 24%(●) and 27%(◆) moisture content..... 74

24. Relationship of acid hydrolysis at 12 days to various moisture content of the heat-moisture treated banana starch..... 74

25. Relationship of resistant starch content to moisture content of the heat-moisture treated banana starches..... 76

LIST OF FIGURES (Continued)

26. Crystallinity pattern of retrograded banana starches (RBS) at various storage times. Arrow denoted growing peaks at 15.17° 16.93° 23.33° (2 Theta)..... 78

27. The change of the crystallinity of retrograded banana starches (RBS) at various storage times..... 79

28. Deconvoluted ATR-FTIR spectra of retrograded banana starches (RBS) at various storage times. Arrow indicated growing peaks at 1047 cm^{-1}..... 81

29. The change of absorbance ratio at wave number 1047 cm^{-1} to 1022 cm^{-1} of retrograded banana starches (RBS) at various storage times..... 82

30. Thermogram of retrograded banana starches (RBS) at various storage times..... 84

31. The change of the enthalpy of retrograded banana starches (RBS) at various storage times..... 84

32. Comparison of the relative extent of the retrogradation for retrograded banana starches (RBS) as measured by the three techniques (XRD, FTIR and DSC)..... 86

33. Pasting profile at pH 7.0 of native and retrograded banana starches (RBS) at 5 and 15 days of storage times..... 88

34. 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..... 90

35. 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..... 92

36. G' value (at 1 Hz) of 8% starch paste for retrograded banana starches (RBS) at various storage times..... 93

37. 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..... 95

38. Enzyme hydrolysis of native (+) and retrograded banana starch (RBS) at 1(□), 3(△), 5(◇), 9(x), 13(○) and 15(✳) days of storage times..... 98

LIST OF FIGURES (Continued)

39. Relationship of enzyme hydrolysis at 24 hours to various storage times of the retrograded banana starches..... 98

40. Acid hydrolysis of native (+) and retrograded banana starches (RBS) at 1(□), 3(△), 5(◇), 9(x), 13(○) and 15(✳) days of storage times..... 99

41. Relationship of acid hydrolysis at 12 days with various storage times of retrograded banana starches..... 100

บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

สตาร์ชเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญในทางโภชนาการของมนุษย์ และเป็นองค์ประกอบหลักของอาหารหลายชนิด ได้แก่ ข้าว ขนมปัง ก๋วยเตี๋ยว พาสต้า ผลิตภัณฑ์เบเกอร์รี และขนมขบเคี้ยวต่าง ๆ เป็นต้น สตาร์ชที่เข้าสู่ร่างกายจะถูกย่อยเป็นน้ำตาลกลูโคสในลำไส้เล็กและถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือด ถ้าระดับน้ำตาลกลูโคสในกระแสเลือดมีมากเกินความต้องการก็จะก่อให้เกิดโรคอ้วนได้ 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) กล้วย

นางพญา [Musa *sp.* (AAB group)] เป็นกล้วยท้องถิ่นของภาคใต้ พบได้มากที่สามจังหวัดชายแดนภาคใต้ ได้แก่ จังหวัดสงขลา ยะลา และปัตตานี และเป็นพืชที่ให้ผลผลิตได้ตลอดปี จึงทำให้ง่ายต่อการส่งเสริมการปลูกหากต้องการผลผลิตเพิ่ม นอกจากนั้นกล้วยดิบยังมีสรรพคุณแก้อาการท้องเสียได้ โดยมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย ที่เป็นสาเหตุอาการท้องเสีย เช่น *Escherichia coli, Bacillus subtilis* และแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคไทฟอยด์ เป็นต้น (Ko R, 1917) ซึ่งสารสำคัญในการออกฤทธิ์แก้อาการท้องเสียคือสารแทนนิน ซึ่งมีฤทธิ์ฝาดสมาน นอกจากนั้นยังพบว่าแป้งจากผลกล้วยสามารถป้องกันการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร โดยแป้งจากผลกล้วยจะออกฤทธิ์สมานแผลและเพิ่มความแข็งแรงของเนื้อเยื่อเมือก (Goel *et al.*, 1986; Mukhopadhayaya *et al.*, 1987) และเร่งการแบ่งตัวของเซลล์ และมีผลต่อกระบวนการสร้าง macrophage cell ส่งผลไปถึงการรักษาแผลในกระเพาะ (Chattopadhayay *et al.*, 1987)

จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้น พบว่าสตาร์ชกล้วยมีประโยชน์ทางด้านโภชนาการสูง แต่อย่างไรก็ตามพบว่าสตาร์ชกล้วยซึ่งเป็นสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ตามธรรมชาตินั้นไม่สามารถทนต่อกระบวนการแปรรูปที่ผ่านการให้ความร้อนสูงได้ (Berry *et al.*, 1986) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะปรับปรุงคุณสมบัติของสตาร์ชกล้วยให้สามารถทนต่อความร้อนได้มากขึ้นและยังคงมีปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ในระดับสูง โดยทำการดัดแปรสตาร์ชกล้วยด้วยวิธีทางกายภาพ 2 วิธี คือ การดัดแปรสตาร์ชด้วยวิธีความร้อนชื้น (heat-moisture treatment) ซึ่งเป็นวิธีหนึ่งที่ช่วยเพิ่มปริมาณ RS type 2 ให้สูงขึ้น และการดัดแปรด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชัน ซึ่งเป็นวิธีที่ทำให้เกิดสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ชนิดที่ 3 (retrograded starch, RS type 3) นอกจากนั้นเพื่อให้การประยุกต์ใช้งานในอุตสาหกรรมอาหารและอุตสาหกรรมอื่นๆ เป็นไปอย่างเหมาะสม งานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะศึกษาคุณสมบัติทางโครงสร้าง และคุณสมบัติทางรีโอโลยีของสตาร์ชกล้วยที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีทางกายภาพทั้งสองวิธีดังกล่าว

การตรวจเอกสาร

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 sp.*(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 ml แล้วบดเนื้อกล้วยกับสารละลายและกรองผ่านตะแกรงเพื่อล้างทำความสะอาดสตาร์ชก่อนนำไปหมุนเหวี่ยงเอาสตาร์ชที่ได้ไปอบแห้งที่ 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) เรียกว่าปลายรีดิวซ์ซึ่งประกอบด้วยพอลิเมอร์ 2 ชนิด คืออะมิโลสและอะมิโลเพคติน

2.2.1 อะมิโลส (amylose)

อะมิโลสเป็นพอลิเมอร์เชิงเส้นที่ประกอบด้วยกลูโคสประมาณ 2000 หน่วยเชื่อมต่อกันด้วยพันธะกลูโคซิดิกชนิด *alpha*-1,4 ดัง Figure 1

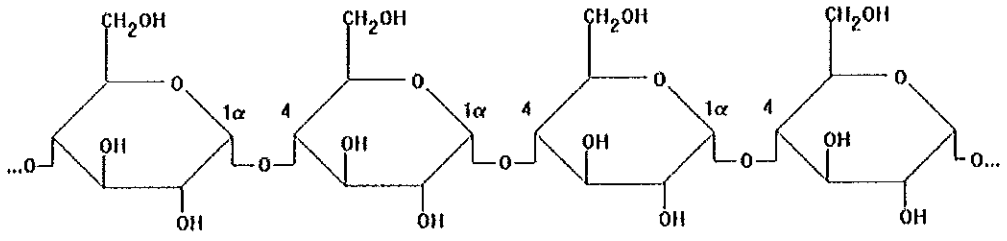


Figure 1. Amylose structure

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 and Hood (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

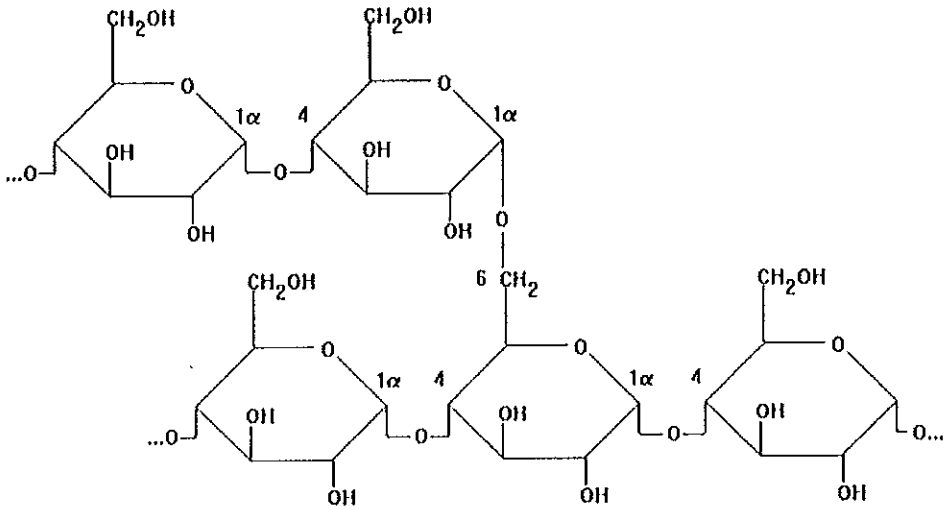


Figure 2. Amylopectin structure

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 ไปจนถึงเม็ดสตาร์ชที่มีรูปร่างเป็นรูปไข่มีขนาดใหญ่ เช่น สตาร์ชมันฝรั่ง เป็นต้น โดยทั่วไปแล้วขนาดและรูปร่างของเม็ดสตาร์ชที่สกัดได้จากกล้วย cooking banana และ

กล้วยกล้ายที่ดิบ 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) ซึ่งสามารถตรวจสอบชนิดของโครงสร้างผลึกและปริมาณผลึกได้โดยเทคนิครังสีเอกซ์เรย์ (X-ray diffraction)

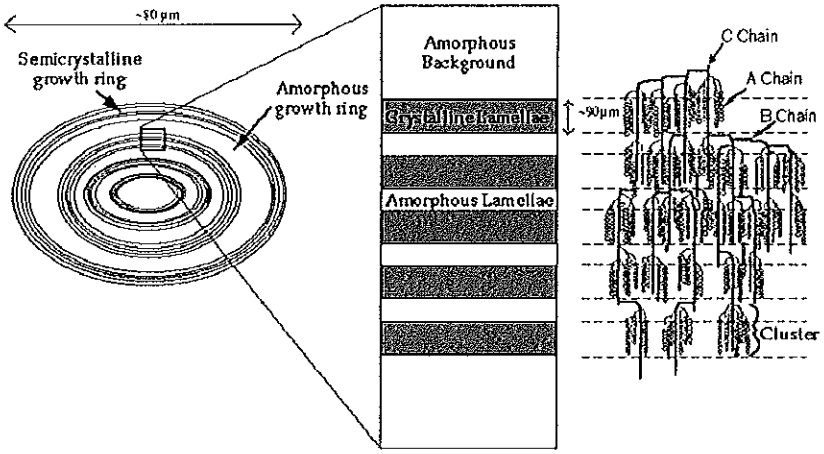


Figure 3. Structure of starch granule

ที่มา : Jenkins และ คณะ (1994)

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

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

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 เพิ่มปริมาณของของเหลวและปรับสภาวะความเป็นกรด/ด่างภายในลำไส้ใหญ่ให้ต่ำลง ซึ่งมีผลในการป้องกันมะเร็งลำไส้ใหญ่ได้ (Alexander , 1995) โดยเฉพาะบิวทิเรท (butyrate) ช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดมะเร็ง ยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์ โดยมีอิทธิพลต่อการตายของเซลล์ (apoptosis) เนื้องอก รวมทั้งความเป็นพิษของสารที่ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ เช่น ไนโตรซาไมด์ และไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ในเซลล์ลำไส้คนก็สามารถถูกยับยั้งได้โดยบิวทิเรท นอกจากนี้สตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ยังมีคุณสมบัติเทียบเท่ากับเส้นใยอาหาร (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 (very 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)

สตาร์ชที่เม็ดแป้งมีคุณสมบัติทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ตามลักษณะของโครงสร้างที่เป็นธรรมชาติของเม็ดแป้งที่ไม่มีรูหรือช่องเปิดให้เอนไซม์เข้าไปในเม็ดแป้ง 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 และ คณะ(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 ปริมาณสตาร์ชที่ถูกย่อยอย่างช้าๆ 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) เกิดเป็นโครงร่างตาข่ายสามมิติที่มีความแข็งแรงและสามารถถูกย่อยด้วยเอนไซม์ได้น้อยลง ดังนั้นสตาร์ชที่มีอัตราส่วนของอะมิโลสที่สูงกว่า จะสามารถเกิดรีโทรเกรเดชันได้มากกว่าสตาร์ชที่มีปริมาณอะมิโลสต่ำ ทำให้สตาร์ชที่มีอะมิโลสสูงสามารถนำไปใช้ผลิตสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ได้ในระดับสูง

Eerlingen และคณะ(1993) ศึกษาการเกิดสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ (RS type 3) ของสตาร์ชข้าวสาลีที่ผ่านการให้ความร้อนด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 120°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และควบคุมสภาวะการเกิดรีโทรเกรเดชันโดยทำให้สตาร์ชที่ผ่านการเจลาทิไนซ์เย็นลงที่อุณหภูมิ 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 ซึ่งใช้เวลาน้อยกว่าตัวอย่างสตาร์ชข้าวเหนียวก่อนการให้ความร้อนซึ่งใช้เวลาประมาณ 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 เป็นผลทำให้กระบวนการเกิดรีโทรเกรเดชันเกิดได้ช้าและจากการทดลองพบว่าระยะเวลาการเก็บรักษาไม่มีผลต่อปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ 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

ส่วนสตาร์ชข้าวโพดที่ผ่านการดัดแปรแบบวิธีเชื่อมข้าม พบว่าปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ มีการเปลี่ยนแปลงอย่างไม่มีนัยสำคัญ

Onyango และคณะ (2006) ศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการบ่มต่อการเกิดสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ (RS type 3) โดยเตรียมสารละลายสตาร์ชมันสำปะหลังด้วยน้ำ และกรดแลกติก 1, 10, 100 mmol/ l 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) ส่วนใหญ่เป็นสตาร์ชที่เกิดจากการครอสลิง (crosslink)ได้มาจากปฏิกิริยาของสตาร์ชกับสาร bi-or polyfunctional เช่น sodium trimetaphosphate, phosphorus oxychloride หรือการผสม anhydrides ของ acetic acid และ dicarboxylic acids เช่น adipic acid ครอสลิงกิง (cross linking) จะเกิดโดยหมู่ sulphonate และ phosphate ระหว่างโมเลกุลของสตาร์ชรวมกับหมู่ไฮดรอกซิลทำให้ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์

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) แต่มีคุณสมบัติที่เหมือนกันกับไฟเบอร์ที่ละลายน้ำได้ (soluble fiber) นอกจากนั้นสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์แสดงให้เห็นว่ามีความสามารถในการถูกย่อยต่ำและสามารถใช้เป็นเครื่องมือในการวัดการปลดปล่อยปริมาณกลูโคส จากการที่สตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์มีลักษณะ

เหมือนกับไฟเบอร์ที่ละลายน้ำได้ จึงส่งผลต่อสุขภาพของลำไส้ โดยเพิ่มอัตราการผลิตต่อมเซลล์เล็กๆ หรือลดการฝ่อของเยื่อบุผิวที่ลำไส้เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารที่ไม่มีไฟเบอร์ แสดงให้เห็นว่าสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์มีลักษณะคล้ายกับกัวร์ ไฟเบอร์ที่ละลายน้ำ ซึ่งมีอิทธิพลต่อการเกิดเนื้องอก และลดคลอเรสเตอรอลในเลือด 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 มีความเข้มข้นต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญ (Raben *et al.* , 1994) คล้ายกับการศึกษาจากการให้คนรับประทานอาหารที่มีส่วนผสมของสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ทางการค้า (RS type 3, CrystaLean®) พบว่าระดับกลูโคสในเลือดที่สูงสุดที่พบมีค่าต่ำกว่าคาร์โบไฮเดรตอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญ (น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว โอลิโกแซคคาไรด์ และสตาร์ชทั่วไป) โดยสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์จะเป็นตัวขัดขวาง จึงช่วยลดระดับกลูโคสในเลือดภายหลังรับประทานอาหารและมีบทบาทสำคัญในการควบคุมกระบวนการเผาผลาญ (metabolism)ในโรคเบาหวานชนิดที่ 2 (ไม่ขึ้นกับอินซูลิน)

สำนักวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

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

โดยทั่วไปความสามารถในการย่อยของสตาร์ชข้าวและข้าวสาลี เพิ่มจากการโม่แป้ง(flour) (Heaton, 1988) และจากการที่สตาร์ชถูกย่อยได้ จึงส่งผลทำให้เกิดหินปูนในก้อนนิ่ว โดยการหลั่งออกมามากของอินซูลิน และอินซูลินทำให้เกิดการกระตุ้นการสังเคราะห์คลอเรสเตอรอล (cholesterol) จากการศึกษาของ Malhotra (1968) พบว่าโรคหินปูนในก้อนนิ่วพบน้อยในแถบอินเดียใต้ เพราะในแถบนี้มีการบริโภคเมล็ดธัญพืชลักษณะเต็มมากกว่าในอินเดียเหนือที่นิยมบริโภคแป้ง (flour) และยังเห็นได้ชัดจากการได้รับเส้นใยอาหารจากสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ของประชากรใน United States ,Europe และ Australia ที่มีค่าต่ำกว่า 2 ถึง 4 เท่า เมื่อเทียบกับประชากรในประเทศ อินเดียและจีน ที่บริโภคอาหารที่มีสตาร์ชสูง ซึ่งจะสะท้อนจำนวนของกรณีที่เกิดหินปูนในก้อนนิ่วที่แตกต่างกัน (Birkett *et al.*, 2000)

จากการศึกษาเปรียบเทียบการดูดซึมแคลเซียม (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) นอกจากนั้นคุณสมบัติเชิงหน้าที่และประโยชน์ของ RS type 2 และ RS type 3 (Nugent, 2005) สามารถสรุปได้ คือ มาจากแหล่งธรรมชาติ ไม่มีกลิ่น มีสีขาว มีขนาดอนุภาคละเอียด (เป็นสาเหตุทำให้มีผลต่อเนื้อสัมผัสน้อย) มีอุณหภูมิการเกิดเจลาทิไนเซชันสูง และมีสมบัติในการอุ้มน้ำต่ำกว่าผลิตภัณฑ์ที่ทำจากไฟเบอร์ดั้งเดิม มีการอนุญาตให้นำไปใช้ในผลิตภัณฑ์เพื่อ

เสริมคุณค่าทางไฟเบอร์ 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 Inst. of Baking (AIB) โดยประเมินผลของปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ต่อลักษณะของขนมปังเทียบกับขนมปังที่ทำจากไฟเบอร์แบบดั้งเดิม โดยการศึกษาประกอบด้วย เซลลูโลส ไฟเบอร์ข้าวโอ๊ต ไฟเบอร์ข้าวสาลี และ RS 23% (Hylon VII starch) และ 40% TDF (Novelose 240 starch) และผสมไฟเบอร์ข้าวโอ๊ตกับ Novelose 240 starch 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 และวาฟเฟิล อาหารแช่แข็งที่ต้องให้ความร้อนซ้ำ ซึ่งเป็นอาหารที่ต้องการให้ผิวหน้ามีความกรอบ จึงได้มีการทดสอบเปรียบเทียบคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์และไฟเบอร์ต่างๆ ในวาฟเฟิล โดยประเมินความกรอบเริ่มต้น และความกรอบภายหลังการปิ้ง 3 นาที ความชื้น และเนื้อสัมผัส จากการทดสอบทางประสาทสัมผัส พบว่าวาฟเฟิลที่ทำจากสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์มีความกรอบมากกว่าวาฟเฟิลที่ทำจากไฟเบอร์แบบดั้งเดิม

3.2.3 การใช้สตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์เป็นส่วนผสมในอาหารอื่นๆ

สตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์สามารถนำมาช่วยในการปรับปรุงการพองตัวของอาหารจำพวกธัญพืชอบกรอบและขนมขบเคี้ยว ธัญพืชที่นำมาใช้มีหลากหลาย ประกอบด้วย 40% TDF (Novelose 240 starch) เพียงอย่างเดียว และการผสมระหว่างไฟเบอร์ข้าวโอ๊ตกับ 40% TDF (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 สมบัติทางความหนืด (viscosity)

ความหนืดเป็นสมบัติของของไหลในการต้านทานต่อแรงเสียดทานที่เกิดขึ้นในของไหล เนื่องจากความหนืดเป็นสมบัติเฉพาะตัวที่สำคัญของสตาร์ชโดยเกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ ซึ่งวิธีการวัดค่าความหนืดนั้นสามารถกระทำได้หลายวิธี และเครื่องมือที่ใช้ในการวัดค่าความหนืดมีหลายชนิด แต่ละชนิดมีหลักการและวิธีการทำงานต่างกัน ควรเลือกใช้เครื่องมือที่เหมาะสมกับวัตถุประสงค์ในการใช้งาน

Kayisu และ Hood (1981) ได้ทำการศึกษาผลของความเข้มข้นต่อคุณสมบัติความหนืดของแป้งเปียกของสตาร์ชกล้วย โดยใช้สตาร์ชกล้วยเขียว Valery มีปริมาณอะมิโลส 16%โดยใช้เครื่อง Barbender viscoamylograph ที่ระดับความเข้มข้น 4-8% พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของ

สตาร์ชกล้วยต่ำๆ จะไม่พบการเกิด Peak viscosity ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Nunez-Santiago และคณะ (2004) แต่ที่ความเข้มข้นสูงๆ (ประมาณ 7-8 %) จะพบการเกิด 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) ได้ทำการศึกษาคุณสมบัติความหนืดของแป้งเปียกของสตาร์ชกล้วย 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 (cooling) ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความสามารถในการเกิดรีโทรเกเดชันจากคุณสมบัติของสตาร์ชกล้วยทนต่อการแตกตัวของเม็ดสตาร์ช (resist breakdown) และต้านทานต่อการลดลงของความหนืดในระหว่างการให้ความร้อน (on thinning) และแรงเฉือน (mechanical shear) แสดงให้เห็นว่าสตาร์ชกล้วยเหมาะที่จะนำไปประยุกต์ใช้ในอาหารกระป๋อง แม้ว่าสตาร์ชกล้วยจะมีความสามารถในการเกิดรีโทรเกเดชันได้แต่ก็สามารถป้องกันได้โดยการดัดแปรทางเคมี เช่น etherification หรือ 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 นอกจากนี้เมื่อพิจารณาในช่วงของการทำให้เย็น (cooling) นั้นสตาร์ช กล้วยมีความหนืดเพิ่มสูงขึ้นซึ่งแสดงให้เห็นถึงความสามารถในการเกิดรีโทรเกเดชัน

4.1.1 พฤติกรรมการไหล (flow behavior)

พฤติกรรมการไหลของอาหารสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท ตามลักษณะความสัมพันธ์ของระหว่างความเค้นเฉือนละอัตราการเฉือน ได้แก่

4.1.1.1 ของไหลนิวโตเนียน (newtonian fluid) ความเค้นเฉือน (shear stress) ของของไหลนิวโตเนียนเพิ่มขึ้นอย่างเป็นสัดส่วนกับอัตราเฉือน (shear rate) ถ้านำความเค้นเฉือนมาพลอตกับอัตราการเฉือนจะได้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงผ่านจุดกำเนิด ซึ่งเส้นตรงนี้มีค่าความชันที่คงที่เรียกว่า สัมประสิทธิ์ความหนืด (coefficient of viscosity, μ) หรือความหนืดพลวัต (dynamic viscosity) หรือเรียกสั้นๆ ว่าความหนืด (viscosity, η)

4.1.1.2 ของไหลนอนนิวโตเนียน (non-newtonian fluids) พบในอาหารที่เป็นของไหลประกอบด้วยโมเลกุลขนาดใหญ่ที่ละลายได้ (dissolved macromolecules) และอนุภาค

แขวนลอย (suspended particle) ทำให้พฤติกรรมการไหลแตกต่างจากของไหลนิวโตเนียนเป็นอย่างมาก นั่นคือความสัมพันธ์ระหว่างความเค้นเฉือนและอัตราการเฉือนของของไหลนิวโตเนียนไม่เป็นเส้นตรงออกจากจุดกำเนิด ของไหลนอนนิวโตเนียนแบ่งตามพฤติกรรมการไหล ได้ 2 แบบ ได้แก่ ของไหลนอนนิวโตเนียนที่ไม่ขึ้นกับเวลาและของไหลนอนนิวโตเนียนที่ขึ้นกับเวลา

ก. ของไหลนอนนิวโตเนียนที่ไม่ขึ้นกับเวลา (time-indipendent non-newtonian Fluids) หมายถึงของไหลที่ความหนืดปรากฏขึ้นกับอัตราการเฉือนเท่านั้นแต่ไม่ขึ้นกับเวลา สำหรับ shear-thinning liquid พบว่าเมื่ออัตราการเฉือนเพิ่มขึ้นความหนืดปรากฏลดลงบางครั้งเรียก shear-thinning liquid ว่า pseudoplastic ซึ่งได้แก่ condensed milk, fruit puree, มายองเนส เป็นต้น เมื่อพลอตอัตราเฉือนกับความเค้นเฉือนจะได้ non-linear falling curve (เส้นโค้งนูน) สำหรับ shear-thickenning liquid หรือ dialatant liquid พบว่าความหนืดปรากฏเพิ่มขึ้นเมื่ออัตราเฉือนเพิ่มขึ้น ตัวอย่างอาการกลุ่มนี้ เช่น homogenized peanut butter, สารละลายแป้งข้าวโพดเข้มข้น 60% เป็นต้น เมื่อพลอตอัตราเฉือนกับความเค้นเฉือนจะได้ non-linear rising curve (เส้นโค้งว้าว) แต่ถ้าของไหลนอนนิวโตเนียนต้องใช้ความเค้นเฉือนเริ่มต้นค่าหนึ่งซึ่งเรียกว่า yield stress (τy) ก่อนที่จะเกิดการไหลได้ แสดงว่าของไหลนั้นมีพฤติกรรม Plastic ด้วย ความสัมพันธ์ของความเค้นเฉือนและอัตราเฉือนของของไหลนอนนิวโตเนียนที่ไม่เปลี่ยนตามเวลาสามารถอธิบายได้ด้วยแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ ดังสมการที่ 1 และ 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)

ข. 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 (concentrict 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)

สมบัติวิสโคอิลาสติกเป็นคุณสมบัติของอาหารที่มีคุณสมบัติกึ่งกลางระหว่างของแข็งกับของไหล เช่น เจล ซึ่งวัสดุที่มีคุณสมบัติวิสโคอิลาสติกนี้จะแสดงการเปลี่ยนแปลงของความเครียดเมื่อให้ความเค้นคงที่ และเมื่อหยุดให้ความเค้นวัสดุสามารถคืนกลับสภาพเดิมได้บ้างแต่ก็มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างอย่างถาวร

4.1.2.1 การวิเคราะห์สมบัติวิสโคอิลาสติก

การวิเคราะห์สมบัติเชิงวิสโคอิลาสติกของอาหารนั้น อาศัยหลักการของพฤติกรรมการตอบสนองต่อความเค้นหรือความเครียดของวัสดุนั้น ซึ่งอาจแบ่งออกได้เป็น 3 แบบใหญ่ๆ ได้แก่

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

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

เมื่อ G(t) = stress relaxation modulus

$\sigma(t)$ = ความเค้นที่เปลี่ยนแปลง

ε_o = ความเครียด

วัสดุ viscoelastic solid ความเค้นจะลดลงจนเป็นค่าหนึ่งที่เรียกว่า ค่าความเค้นสมดุล (equilibrium stress value, $\sigma_e > 0$) ในทำนองเดียวกัน shear modulus (G) ก็จะถึงจุดสมดุล นะ ณ $G_e > 0$ วัสดุ viscoelastic liquid ความเค้นลดลงเป็นศูนย์ วัสดุ viscous liquid ไม่สามารถที่จะควบคุมความเค้นเมื่อไม่มีการเคลื่อนที่ทำให้ความเค้นถูกปลดปล่อยทันทีทันใด

ข. การวิเคราะห์ความคืบ (creep) เป็นการวิเคราะห์ผลการตอบสนองต่อความเค้นที่คงที่ของวัสดุวิสโคอิลาสติกในรูปของ creep compliance, J(t) ซึ่งเป็น viscoelastic parameter และมีค่าเท่ากับอัตราส่วนของความเครียดที่เปลี่ยนแปลงต่อความเค้น ดังแสดงในสมการที่ 5

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

เมื่อ J(t) = creep compliance

$\varepsilon(t)$ = ความเค้นที่เปลี่ยนแปลง

σ_o = ความเครียด

วัสดุ viscoelastic solid เมื่อให้ load คงที่ J จะเข้าสู่สภาวะสมดุล J_e หลังจากเอา load ออก ณ เวลา t_1 J จะลดลงเป็นศูนย์ วัสดุ viscoelastic liquid เมื่อให้ load คงที่ J จะเป็นฟังก์ชันเส้นตรงของเวลา หลังจากเอา load ออก ณ เวลา t_1 J จะลดลงเป็นค่าคงที่หนึ่ง (finite value)

Berger model ซึ่งได้มาจากการนำ Maxwell model และ Kelvin model มาต่ออนุกรม สามารถอธิบายพฤติกรรม Creep 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 terminalviscosity (Pa.s)

τ_1 = the retardation time (s)

= $J_1 \cdot \eta_1$

ค. การวิเคราะห์การสั่นทางพลวัต (dynamic oscillation) เป็นการศึกษาการตอบสนองต่อความเค้นหรือความเครียดภายใต้การเคลื่อนที่แบบสั่น (harmonic oscillation) ของวัสดุวิสโคอิลาสติกในเทอมของ viscoelastic parameter หลายตัวได้แก่ 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 และความสัมพันธ์ของความเครียดกับเวลาภายใต้การเคลื่อนที่แบบ harmonic

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาองค์ประกอบทางเคมี ลักษณะทางโครงสร้าง และสมบัติเชิงหน้าที่ของสตาร์ชกล้วยนางพญา

2. ศึกษาผลของความร้อนชื้นที่ระดับความชื้นต่างๆ ต่อปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ และสมบัติทางรีโอโลยีของสตาร์ชกล้วยนางพญา

3. ศึกษาผลของระยะเวลาในการเกิดรีโทรเกรเดชันต่อปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ และสมบัติทางรีโอโลยีของสตาร์ชกล้วยนางพญา

บทที่ 2

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

1. วัสดุอุปกรณ์

1.1 วัตถุดิบ

- กล้วยนางพญา [Musa *sp.* (AAB Group) 'Kluai Nang Paya'] ระยะการสุกที่ 1 (เปลือกมีสีเขียว ผลแข็ง ยังไม่มีการสุก)

1.2 สารเคมี

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

1.3 เอนไซม์

- เอนไซม์ *alpha*-amylase (porcine pancrease) (sigma chemical , activity 2520 U/ml)
- เอนไซม์ pullulanase (sigma chemical, activity 444 U/ml)
- เอนไซม์ amyloglucosidase (sigma chemical, activity 3,300 U/ml)

1.4 อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับผลิตสตาร์ชและการดัดแปรด้วยวิธีทางกายภาพทั้ง 2 วิธี

- 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
- เครื่องนวดผสมแป้ง ยี่ห้อ Thai mixer รุ่น KV-05 ประเทศไทย
- กระป๋องขนาด 307 x 108
- ตู้อบลมร้อน ยี่ห้อ Memmert ประเทศเยอรมัน

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

1.5 อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับการวิเคราะห์ทางด้านเคมีและกายภาพ

- เครื่องวัดพีเอช 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
- เครื่องวัดความหนืด (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

2. วิธีการดำเนินงานวิจัย

2.1 การผลิตสตาร์ชกล้วยนางพญา

คัดเลือกกล้วยดิบจากกล้วยพันธุ์พื้นเมืองภาคใต้ คือกล้วยนางพญา ที่ระยะการสุกที่ 1 (เปลือกมีสีเขียว ผลแข็ง ยังไม่มีการสุก) ทำการผลิตสตาร์ชจากกล้วย ด้วยวิธี 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 2.2) ลักษณะทางโครงสร้าง (ข้อ 2.4) คุณสมบัติเชิงหน้าที่ (ข้อ 2.5) ระดับการถูกย่อยด้วยเอนไซม์และกรด (ข้อ 2.6 และ 2.7) และปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ (ข้อ 2.8) จากนั้นคำนวณปริมาณผลผลิต (yield) ที่ได้จากการสกัดสตาร์ชจากกล้วยนางพญา และคำนวณค่าดัชนีความขาวของสตาร์ชที่ได้ (Chen *et al* .,1999)

2.2 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสตาร์ชกล้วยนางพญา

นำสตาร์ชกล้วยนางพญาที่ผลิตได้จากข้อ 2.1 มาวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ไขมัน ความชื้น เถ้า (AOAC., 2000) และปริมาณอะมิโลส (Shanthy *et al.*, 1980)

2.3 การดัดแปรสตาร์ชกล้วยนางพญาด้วยวิธีทางกายภาพ

2.3.1 การดัดแปรด้วยวิธีความร้อนชื้น

นำสตาร์ชกล้วยนางพญามาทำการดัดแปรด้วยวิธีความร้อนชื้น โดยผันแปรระดับความชื้นของสตาร์ชเป็น 4 ระดับ (18%, 21%, 24% และ 27% โดยน้ำหนักแห้ง) นำสตาร์ชแต่ละตัวอย่างที่ผ่านการปรับความชื้น น้ำหนัก 200 กรัม ไปบรรจุในกระป๋องขนาด 307 X108 จากนั้นนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 °C เป็นเวลา 16 ชั่วโมง นำสตาร์ชที่ได้ไปอบแห้งในตู้อบลมร้อน

ที่อุณหภูมิ 45 °C จนมีความชื้นสุดท้าย 10-12 % (โดยน้ำหนักเปียก) แล้วนำไปบรรจุในถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C (Sair, 1964 อ้างโดย Hoover and Manuel, 1996) จากนั้นนำสตาร์ชกล้วยนางพญาที่ผ่านการดัดแปรไปศึกษาลักษณะทางโครงสร้าง (ข้อ 2.4.1 และ 2.4.3) คุณสมบัติเชิงหน้าที่ (ข้อ 2.5.1 , 2.5.2 และ 2.5.3) ระดับการถูกย่อยด้วยเอนไซม์และกรด (ข้อ 2.6 และ 2.7) และปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ (ข้อ 2.8)

2.3.2 การดัดแปรด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชัน

เตรียมสารแขวนลอยสตาร์ชกล้วยนางพญา 25 กรัม ในสารละลาย 0.1M อะซิเตทบัฟเฟอร์ pH 5.2 ปริมาตร 100 ml นำไปให้ความร้อนในอ่างน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำไปให้ความร้อนด้วยเครื่อง autoclave ที่ระดับอุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 30 นาที นำแป้งเปียกร้อนที่ได้ไปละลายด้วยอะซิเตทบัฟเฟอร์ ปริมาตร 125 ml ทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิ 50 °C และเติมเอนไซม์ pullulanase 10.6 U/g starch เพื่อตัดสายกิ่ง (debranching) ของสตาร์ชกล้วย แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

นำสตาร์ชกล้วยที่ผ่านการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ pullulanase และบ่มด้วยวิธีข้างต้นไปให้ความร้อนด้วยเครื่อง autoclave ที่ระดับอุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำสารละลายสตาร์ชที่ได้ตั้งทิ้งไว้จนมีอุณหภูมิเท่ากับ 60 °C แบ่งตัวอย่างออกเป็น 2 ส่วน ส่วนหนึ่งนำไปวิเคราะห์หาระดับการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ pullulanase (degree of pullulanase hydrolysis, D.H.) โดยวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี Somogyi-Nelson (1944) และปริมาณน้ำตาลทั้งหมดโดยวิธี Phenol-sulfuric (Dubios *et al.*, 1956) ดังภาคผนวก ข แล้วคำนวณค่า D.H. ดังสมการที่ 8 อีกส่วนหนึ่งนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นระยะเวลา 1, 3, 5, 9, 13 และ 15 วัน เพื่อศึกษาผลของเวลาในการเกิดรีโทรเกรเดชัน จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้ไปทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่แข็ง (freeze dryer) แล้วนำไปบดให้ละเอียด ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 60 mesh บรรจุในถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C (Gonzalez-Soto *et al.*, 2006) จากนั้นนำสตาร์ชกล้วยนางพญาที่ผ่านการดัดแปรไปศึกษาลักษณะทางโครงสร้าง (ข้อ 2.4.3 และ 2.4.4) คุณสมบัติเชิงหน้าที่ (ข้อ 2.5.2 และ 2.5.3) ระดับการถูกย่อยด้วยเอนไซม์และกรด (ข้อ 2.6 และ 2.7) และปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ (ข้อ 2.8)

$$\text{ระดับการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ pullulanase (D.H., \%)} = \frac{\text{ผลต่างของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของสตาร์ชหลังและก่อนการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ pullulanase} \times 100}{\text{ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของสตาร์ชหลังการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ pullulanase}} \quad (8)$$

2.4 การศึกษาลักษณะทางโครงสร้างของสตาร์ชกล้วยนางพญา

2.4.1 รูปร่างของเม็ดสตาร์ชกล้วยนางพญา

ศึกษาลักษณะรูปร่างของเม็ดสตาร์ชกล้วยนางพญาทั้งก่อนและหลังการดัดแปรด้วยวิธีความร้อนชื้น ด้วยเครื่อง Scanning Electron Microscope (SEM) โดยนำตัวอย่างสตาร์ชมากระจายลงบนแท่นตัวอย่าง ทำการเคลือบผิวหน้าของตัวอย่างด้วยทอง นำตัวอย่างที่เตรียมเสร็จแล้วมาส่องด้วยกล้อง SEM ที่กำลังขยาย 1000 2500 และ 5000 เท่า โดยกำหนดค่า kV เท่ากับ 10

2.4.2 ขนาดและการกระจายตัวของสตาร์ชกล้วยนางพญา

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

2.4.3 ชนิดและปริมาณผลึก

ศึกษาชนิดและปริมาณผลึกของสตาร์ชกล้วยนางพญาทั้งก่อนและหลังการดัดแปรด้วยวิธีทางกายภาพทั้งสองวิธี 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 และคำนวณค่าปริมาณผลึกสัมพัทธ์ (relative crystallinity) โดยคำนวณจากค่าปริมาณผลึกที่เวลาใดๆ เทียบกับปริมาณผลึกของสตาร์ชก่อนการดัดแปร

2.4.4 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) แล้วทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ช่วงความถี่ (wave number) 1300-800 cm^{-1} และอุณหภูมิ 25°C คำนวณสัดส่วนของโมเลกุลที่จัดเรียงตัวแบบเกลียวคู่ต่อส่วนอสัณฐาน (RSA) โดยคำนวณจากอัตราส่วนของค่าการดูดกลืนแสงที่ความถี่ 1047 cm^{-1} ต่อ 1022 cm^{-1} และคำนวณค่าปริมาณ

RSA สัมพัทธ์ (relative RSA) โดยคำนวณจากค่าปริมาณ RSA ที่เวลาใดๆ เทียบกับปริมาณ RSA ของสตาร์ชก่อนการดัดแปร

2.5 การศึกษาคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของสตาร์ชกล้วยนางพญา

2.5.1 กำลังการพองตัวและความสามารถในการละลาย (swelling power and solubility)

ศึกษากำลังการพองตัวและความสามารถในการละลายของสตาร์ชกล้วยนางพญาทั้งก่อนและหลังการดัดแปรด้วยวิธีความร้อนชื้น โดยเตรียมสตาร์ชความเข้มข้นร้อยละ 0.7 โดยน้ำหนักแห้ง จากนั้นนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 95 °C เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 2200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที ทำการดูดส่วนละลายส่วนใสแล้วนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 100 °C จากนั้นชั่งน้ำหนักสตาร์ชแห้งที่เหลือค้างอยู่เพื่อนำมาคำนวณค่าร้อยละการละลาย (สมการที่ 9) สำหรับตะกอนเปียกสตาร์ชเปียกในหลอดนำมาชั่งน้ำหนักสตาร์ชที่พองตัวเพื่อคำนวณค่ากำลังการพองตัว (สมการที่ 10) (ดัดแปลงจาก Schoch, 1964 และ Eliasson, 1985)

$$\text{ร้อยละการละลาย} = \frac{\text{น้ำหนักสตาร์ชส่วนที่ละลายได้ในน้ำ (กรัม)} \times 100}{\text{น้ำหนักแห้งของสตาร์ช (กรัม)}} \qquad (9)$$

$$\text{กำลังการพองตัว} = \frac{\text{น้ำหนักสตาร์ชที่พองตัว (กรัม)}}{\text{น้ำหนักแห้งของสตาร์ช (กรัม)}} \qquad (10)$$

2.5.2 คุณสมบัติการเกิดเจลาติไนเซชัน (gelatinization properties)

ศึกษาคุณสมบัติการเกิดเจลาติไนเซชันของสตาร์ชกล้วยนางพญาทั้งก่อนและหลังการดัดแปรด้วยวิธีทางกายภาพทั้งสองวิธี 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_0) อุณหภูมิสูงสุด (T_p) และอุณหภูมิสุดท้าย (T_c) ของการเกิดเจลาติไนเซชัน และพลังงานที่ใช้ในการเกิดเจลาติไนเซชัน (ΔH) และคำนวณค่าปริมาณเอลทัลปีสัมพัทธ์ (relative enthalpy) โดยคำนวณจากค่าปริมาณเอลทัลปีที่เวลาใดๆ เทียบกับปริมาณเอลทัลปีของสตาร์ชก่อนการดัดแปร

2.5.3 คุณสมบัติทางรีโอโลยี (rheological properties)

2.5.3.1 คุณสมบัติการเกิดเพสท์ของสตาร์ช (pasting properties)

ศึกษาคุณสมบัติการเกิดเพสท์ของสตาร์ชจากกล้วยนางพญาทั้งก่อนและหลังการดัดแปรด้วยวิธีทางกายภาพทั้งสองวิธี ด้วยเครื่อง Rapid Visco Analyzer (RVA) ในสภาวะที่เป็นกลาง(พีเอช 7.0) โดยใช้สารละลาย NaOH เข้มข้น 0.1 M และสภาวะที่เป็นกรด (พีเอช 3.5) โดยใช้สารละลายกรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 30 โดยเตรียมสตาร์ชเข้มข้นร้อยละ 12 (โดยน้ำหนักแห้ง) ใส่ลงในถ้วยอะลูมิเนียม ตั้งโปรแกรมอุณหภูมิและเวลาให้ความร้อนดังนี้ ช่วงแรกเพิ่มอุณหภูมิจาก25 ^{0}C ให้สูงขึ้นในอัตรา 1.5 ^{0}C/min จนกระทั่งถึงอุณหภูมิ 95 ^{0}C คงไว้ที่อุณหภูมินี้นาน 3 นาที จากนั้นค่อย ๆ ลดอุณหภูมิลงในอัตราเดียวกันจนถึงอุณหภูมิ 25 ^{0}C คงไว้ที่อุณหภูมินี้นาน 5 นาที บันทึกค่าการเปลี่ยนแปลงความหนืดที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ วิเคราะห์อุณหภูมิเริ่มต้นของการเกิดความหนืด (pasting temperature) ค่าความหนืดสูงสุด (peak viscosity) ค่า breakdown และค่า setback (Whalen *et al.*, 1997)

2.5.3.2 พฤติกรรมการไหล (flow behavior)

ศึกษาพฤติกรรมการไหลของสตาร์ชกล้วยนางพญาทั้งก่อนและหลังการดัดแปรด้วยวิธีทางกายภาพทั้งสองวิธี โดยเตรียมสตาร์ชที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 4 (โดยน้ำหนักแห้ง) แล้วนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 95 ^{0}C เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำไปวัดค่าความหนืดและค่าความเค้นเฉือนที่อัตราการเฉือนในช่วง 10-1000 s^{-1} ที่อุณหภูมิ 60 ^{0}C ด้วยเครื่องรีโอมิเตอร์ (RheoStress, HAKKE, Germany) ซึ่งต่อกับหัววัดชนิด coaxial cylinder (Z41) ทำการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างค่าความหนืดและความเค้นเฉือนกับอัตราการเฉือน ในรูปแบบสมการคณิตศาสตร์ คำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความคงตัว (consistency coefficient) และค่าดัชนีพฤติกรรมการไหล (flow behavior index)

2.5.3.3 คุณสมบัติวิสโคอิลาสติก (viscoelastic properties)

2.5.3.3.1 การวิเคราะห์การสั่นทางพลวัต (dynamic oscillation)

ศึกษาคุณสมบัติวิสโคอิลาสติกของสตาร์ชกล้วยนางพญาทั้งก่อนและหลังการดัดแปรด้วยวิธีทางกายภาพทั้งสองวิธี โดยทำการวิเคราะห์หาช่วง linear viscoelastic แสดงดังภาคผนวก ค ซึ่งได้ค่า strain เท่ากับร้อยละ 2 จากนั้นเตรียมสตาร์ชที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 8 (โดยน้ำหนักแห้ง) แล้วนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 95 ^{0}C เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำไปวัดค่า storage modulus (G') loss modulus (G'') และค่า loss tangent (tan δ) ที่ช่วงความถี่ 0.1-10 Hz ที่อุณหภูมิ 60 ^{0}C ด้วยเครื่องรีโอมิเตอร์ (RheoStress, HAKKE., Germany) ซึ่งต่อกับหัววัดชนิด cone and plate (CP4/40)

2.5.3.3.2 การวิเคราะห์ความคืบ (creep study)

ศึกษาการคืบ (creep study) ของสตาร์ชกล้วยนางพญาทั้งก่อนและหลังการดัดแปรด้วยวิธีทางกายภาพทั้งสองวิธี โดยเตรียมสารละลายสตาร์ชที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 (โดยน้ำหนักแห้ง) นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 95 °C เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำไปศึกษาการคืบภายใต้ความเค้นเฉือน 10 Pa ในช่วงเวลา 400 วินาที ด้วยเครื่องรีโอมิเตอร์ซึ่งต่อกับหัววัดชนิด parallel plate จากนั้นศึกษาความสัมพันธ์ของค่า compliance กับเวลาโดยใช้แบบจำลอง 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_n) โดยใช้วิธีการของ Inokuchi (Shama and Sherman, 1966 ; Sherman, 1966) แสดงดังภาคผนวก ง

2.5.3.3.3 การเกิดรีโทรเกรเดชัน

ศึกษาการเกิดรีโทรเกรเดชันของสตาร์ชกล้วยนางพญาทั้งก่อนและหลังการดัดแปรด้วยวิธีความร้อนชื้น โดยเตรียมสารละลายสตาร์ชที่ความเข้มข้นร้อยละ 25 (โดยน้ำหนักแห้ง) นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 95 °C เป็นเวลา 15 นาที ทำให้เย็นลงจนกระทั่งอุณหภูมิเท่ากับ 30°C นำตัวอย่างไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นระยะเวลา 0, 2, 5, 8, 26,50 และ 70 ชั่วโมง จากนั้นจึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงอินฟาเรดที่ความถี่ช่วง 1200-800 cm^{-1} คำนวณสัดส่วนของโมเลกุลที่จัดเรียงตัวแบบเกลียวคู่ต่อส่วนอสัณฐาน (RSA) โดยคำนวณจากอัตราส่วนของค่าการดูดกลืนแสงที่ความถี่ 1047 cm^{-1} ต่อ 1022 cm^{-1} ศึกษาความสัมพันธ์ของการเปลี่ยนแปลงค่า RSAกับเวลา และทำการคำนวณค่าอัตราการเกิดรีโทรเกรเดชันโดยใช้สมการ Avrami แสดงดังภาคผนวก จ (Avrami, 1941)

2.6. การศึกษาระดับการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ (degree of enzyme hydrolysis) ของสตาร์ชกล้วยนางพญา

ศึกษาระดับการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ของสตาร์ชกล้วยนางพญาทั้งก่อนและหลังการดัดแปรด้วยวิธีทางกายภาพทั้งสองวิธี (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) และนำตัวอย่าง

สตาร์ชกล้วยก่อนการดัดแปรไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดโดยวิธี Phenol-sulfuric (Dubios *et al.*, 1956) แสดงดังภาคผนวก ข แล้วคำนวณระดับการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ ด้วยสมการที่ (11)

ระดับการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ = (ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ X 100) / (ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด) (11)

2.7. การศึกษาระดับการถูกย่อยด้วยกรด (degree of acid hydrolysis) ของสตาร์ชกล้วยนางพญา

ศึกษาระดับการถูกย่อยด้วยกรดของสตาร์ชกล้วยนางพญาทั้งก่อนและหลังการดัดแปรด้วยวิธีทางกายภาพทั้งสองวิธี (Hoover and manuel, 1996) โดยชั่งตัวอย่างสตาร์ช 0.25 กรัม เติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 2.2 โมล 10 ml นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C จากนั้นทำตัวอย่างให้เป็นกลางด้วย 1 N NaOH นำตัวอย่างมาหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 2500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที แยกสารละลายส่วนใส 1 มิลลิลิตร ไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี Somogyi-Nelson (1944) และนำตัวอย่างสตาร์ชกล้วยก่อนการดัดแปรไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดโดยวิธี Phenol-sulfuric (Dubios *et al.*, 1956) แสดงดังภาคผนวก ข คำนวณระดับการถูกย่อยด้วยกรด ด้วยสมการที่ (12)

ระดับการถูกย่อยด้วยกรด = (ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ X 100) / (ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด) (12)

2.8. การศึกษาปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ ของสตาร์ช กล้วยนางพญา

ศึกษาปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ของสตาร์ชกล้วยนางพญาทั้งก่อนและหลังการดัดแปรด้วยวิธีทางกายภาพทั้งสองวิธี ด้วยวิธีของ McCleary and Monaghan (2002) โดยชั่งตัวอย่างสตาร์ช 0.1 g ในหลอดที่มีฝาปิด จากนั้นเติมสารละลายเอนไซม์ pancreatic *alpha*-amylase ที่มีเอนไซม์ amyloglucosidase (AMG, 3 U/ml) 4 ml ผสมให้เข้ากัน นำไปวางในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 37 °C ที่ความเร็ว 200 stroke/min เป็นเวลา 16 ชั่วโมง จากนั้นเติมเอทานอล (99%) 4 ml แล้วนำตัวอย่างที่ได้ไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3000 rpm เป็นเวลา 10 นาที เทส่วนใสทิ้ง นำตะกอนที่ได้มาละลายด้วยเอทานอล (50%) 8 ml แล้วนำตัวอย่างที่ได้ไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3000 rpm เป็นเวลา 10 นาที (ทำซ้ำ 2 ครั้ง) นำตะกอนที่ได้มาเติม 2 M KOH 2 ml (ใส่ magnetic stirred bar ขนาด 5x15 mm) จากนั้นนำไปกวนเป็นเวลา 20 นาที ในอ่างน้ำแข็ง เมื่อครบเวลาเติม 1.2 M sodium acetate buffer (pH 3.8) 8 ml และเติมเอนไซม์ amyloglucosidase (AMG, 3,300 U/ml) 0.1 ml โดยทันที ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปวางในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 30 นาที

จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้มาปรับปริมาตรให้ได้ 100 ml ด้วยน้ำกลั่น ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3000 rpm เป็นเวลา 10 นาที นำตัวอย่างที่ได้ 0.1 ml ใส่ในหลอดแก้ว (ทำ 3 ซ้ำ) เติมสารละลาย GOPOD 3 ml แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 20 นาที แล้วจึงนำตัวอย่างที่ได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 nm ด้วย reagent blank คำนวณปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ (RS) ด้วยสมการที่ (13)

ปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ (RS %) = $\Delta E \times (F/W) \times 90$ (13)

ΔE = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 510 nm

F = 100 (mg of D-glucose) / ค่าการดูดกลืนแสงของ 100 g D-glucose ที่ความยาวคลื่น 510 nm

W = น้ำหนักแห้งของตัวอย่างสตาร์ช (กรัม)

บทที่ 3

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. องค์ประกอบทางเคมีและลักษณะทางโครงสร้างของสตาร์ชกล้วยนางพญา

1.1 การผลิตสตาร์ชกล้วยนางพญา

จากการศึกษาการผลิตสตาร์ชกล้วยนางพญา [Musa *sp.*(AAB Group) 'Kluai Nang Paya'] โดยคัดเลือกกล้วยนางพญาที่มีเปลือกสีเขียวเข้ม (7.5 GY6/6) ซึ่งเป็นกล้วยที่มีระยะการสุกที่ 1 (เปลือกเขียว ผลแข็ง ยังไม่มีการสุก) (Lii *et al.*, 1982) โดยระยะการสุกที่ 1 มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่อยู่ในรูปของสตาร์ชสูง จึงเหมาะแก่การนำมาผลิตสตาร์ช ซึ่งในงานวิจัยนี้ได้เลือกใช้วิธีการผลิตด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เนื่องจากสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นสารที่สามารถย่อยผนังเซลล์ของเนื้อเยื่อกล้วยได้ (Chiang *et al.*, 1987) ดังนั้นเมื่อใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ในการผลิตสตาร์ชจึงทำให้ผนังเซลล์ที่ห่อหุ้มสารต่างๆภายในเซลล์ถูกทำลาย สตาร์ชจึงสามารถหลุดออกมาได้ง่ายกว่าการผลิตด้วยสารละลายชนิดอื่น นอกจากนั้นสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์สามารถล้างเอาโปรตีนที่เกาะกับเม็ดสตาร์ชให้ละลายออกมาอยู่ในสารละลายได้ (Rayas-Duarte *et al.*, 1995) เมื่อพิจารณาปริมาณสตาร์ชกล้วยนางพญาที่ผลิตได้พบว่ามีค่าร้อยละ 55.70 (โดยน้ำหนักแห้ง) และมีค่าดัชนีความขาวเท่ากับร้อยละ 95.36 ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับค่าที่ได้จากสตาร์ชจากกล้วยหักมุก สตาร์ชกล้วยน้ำว้าค่อมและสตาร์ชกล้วยตานี (วสันต์ ศิริวงศ์, 2543)

1.2 องค์ประกอบทางเคมีของสตาร์ชกล้วยนางพญา

องค์ประกอบทางเคมีของสตาร์ชกล้วยนางพญา แสดงดัง Table 3 โดยสตาร์ชกล้วยนางพญามีปริมาณความชื้นร้อยละ 11.97 (โดยน้ำหนักแห้ง) ปริมาณโปรตีนร้อยละ 0.25 (โดยน้ำหนักแห้ง) ปริมาณไขมันร้อยละ 0.01 (โดยน้ำหนักแห้ง) และปริมาณเถ้าร้อยละ 0.18 (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) และสตาร์ชกล้วย 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 ซึ่งเม็ดสตาร์ชที่มีความสมบูรณ์ส่งผลให้คุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพที่ได้มีความถูกต้อง นอกจากนั้นเมื่อศึกษาการกระจายตัวของขนาดเม็ดสตาร์ชกล้วยนางพญาด้วยเครื่อง Laser Particle Size Analyzer (LPSA) ซึ่งเทคนิคการวัดด้วยเครื่อง LPSA นี้สามารถวัดได้ทั้งขนาดและการกระจายตัวของเม็ดสตาร์ช แสดงดัง Figure 5 โดยพบว่าสตาร์ชกล้วยนางพญามีการกระจายตัวของขนาดอนุภาคในช่วง 6.16 - 69.61 ไมโครเมตร ซึ่งอยู่ในช่วงที่ใกล้เคียงกับสตาร์ชกล้วยไต้หวัน (20-60 ไมโครเมตร) (Lii *et al.*, 1982) สตาร์ชกล้วยหักมุก (13.20-66.71ไมโครเมตร) และสตาร์ชกล้วยน้ำว้าค่อม (15.23-55.07 ไมโครเมตร) (วสันต์ ศิริวงศ์, 2543) และพบว่าขนาดของเม็ดสตาร์ชโดยเฉลี่ยของสตาร์ชกล้วยนางพญาเท่ากับ 22.99 ไมโครเมตร ซึ่งสอดคล้องกับสตาร์ชกล้วย plantain (24.1-26.6 ไมโครเมตร) (Eggleston *et al.*, 1992) แต่พบว่ามีค่าต่ำกว่าขนาดของเม็ดสตาร์ชกล้วยหักมุก (30.81 ไมโครเมตร) และสตาร์ชกล้วยน้ำว้าค่อม (30.12 ไมโครเมตร) (วสันต์ ศิริวงศ์, 2543)

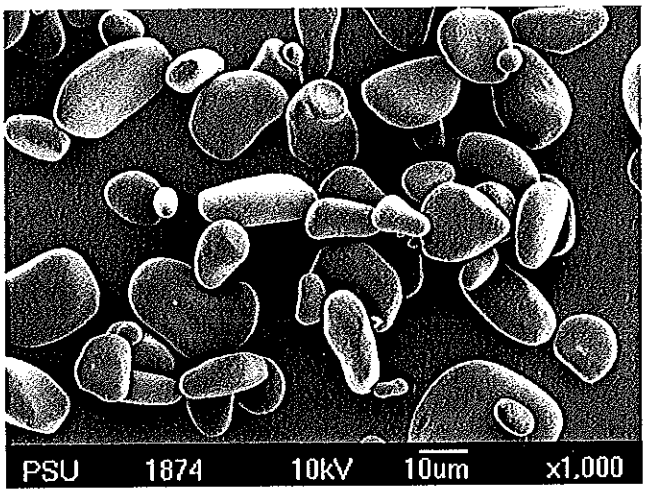


Figure 4. SEM micrograph (x1000) of native Nang paya banana starch.

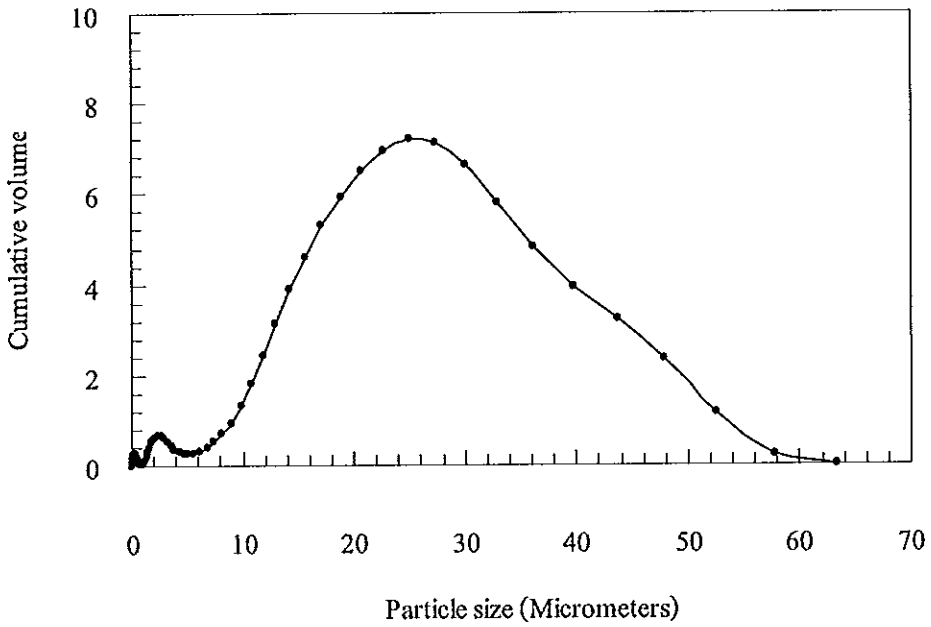


Figure 5. Particle size distribution of native Nang paya banana starch.

1.3.2 โครงสร้างผลึก (crystallinity)

การตรวจสอบรูปแบบโครงสร้างผลึกของสตาร์ชกล้วยนางพญาด้วยเครื่อง X-ray diffractometer (XRD) พบว่าสตาร์ชกล้วยนางพญามีปริมาณผลึกร้อยละ 36.81 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) ในขณะเดียวกันพบว่าสตาร์ช กล้วยตานี (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

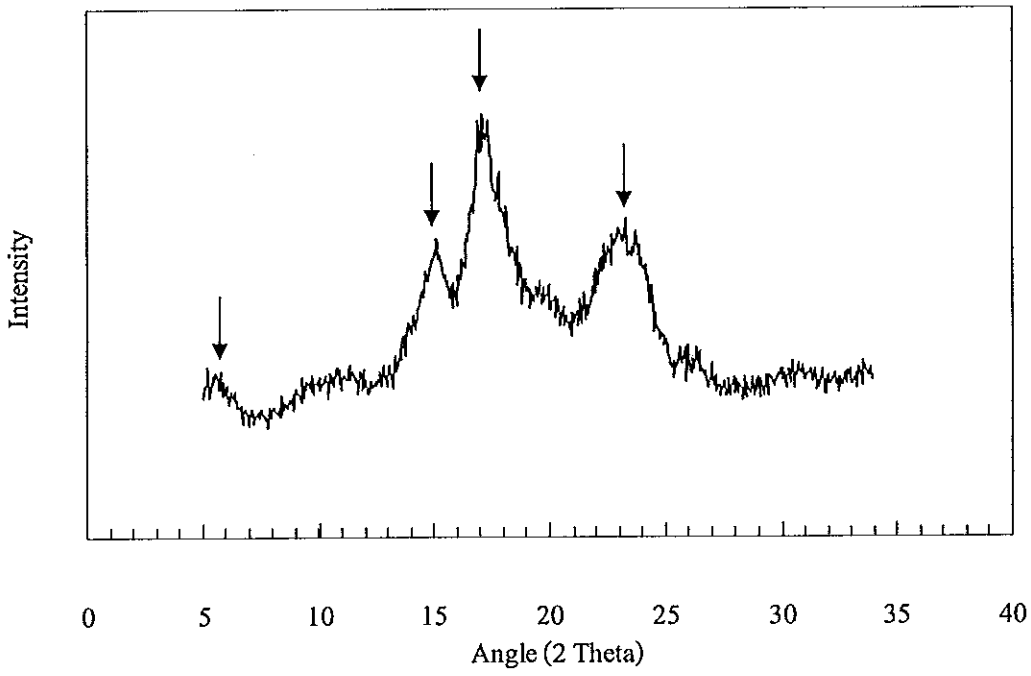


Figure 6. Crystallinity pattern of native Nang paya banana starch.

2. การดัดแปรสตาร์ชกล้วยนางพญาด้วยวิธีความร้อนชื้น (Heat-moisture treatment)

2.1 ลักษณะทางโครงสร้าง

2.1.1 ลักษณะรูปร่างและขนาด (granular shape and size) ของเม็ดสตาร์ช

การตรวจสอบลักษณะรูปร่างของเม็ดสตาร์ชกล้วยนางพญาภายหลังการดัดแปรด้วยวิธีความร้อนชื้นด้วยเครื่อง Scanning Electron Microscope (SEM) พบว่าลักษณะรูปร่างและขนาดเม็ดสตาร์ชกล้วยนางพญาไม่มีการเปลี่ยนแปลง โดยเม็ดสตาร์ชกล้วยนางพญาภายหลังการดัดแปรยังคงมีความสมบูรณ์ และไม่เกิดความเสียหายจากผลของความร้อนชื้น ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองการดัดแปรด้วยวิธีความร้อนชื้นของสตาร์ชข้าวสาลีและสตาร์ชมันฝรั่ง (Kulp and Lorenz, 1981) สตาร์ชมันสำปะหลัง (Abraham, 1993) สตาร์ชถั่ว (Hoover and Manuel, 1996a) สตาร์ชถั่วหรั่ง (Adebowale and Lawal, 2002) สตาร์ชถั่ว (Adebowale and Lawal, 2003) สตาร์ชข้าวฟ่าง (Adebowal *et al*., 2005) และสตาร์ชข้าว (Khunae *et al* , 2007)

2.1.2 โครงสร้างผลึก (crystallinity)

การตรวจสอบรูปแบบโครงสร้างผลึกของสตาร์ชกล้วยนางพญาภายหลังการดัดแปรด้วยวิธีความร้อนชื้นที่ระดับความชื้นต่างๆ ด้วยเครื่อง X-ray diffractometer (XRD) พบว่ารูปแบบโครงสร้างผลึกของสตาร์ชกล้วยนางพญามีลักษณะเปลี่ยนไปจากรูปแบบ B เป็นรูปแบบ (A+B) ซึ่งมีพีคเด่นชัดที่มุม (2 Theta) เท่ากับ 5.92° 15.12° 17.32° 18.30° และ 23.43° (Figure 7) (Zobel, 1988) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองการดัดแปรด้วยวิธีความร้อนชื้นของสตาร์ชมันฝรั่งและสตาร์ชมันแกว (Gunaratne and Hoover, 2002) จากการเปลี่ยนแปลงของรูปแบบโครงสร้างผลึกแบบ B เป็น A+B ภายหลังการดัดแปรด้วยวิธีความร้อนชื้น อธิบายได้ว่าเป็นผลมาจากการระเหยของโมเลกุลน้ำที่อยู่ในบริเวณช่องว่างตรงกลางของโครงสร้างผลึกรูปแบบ B ทำให้เกิดการเคลื่อนที่ของสายโมเลกุลเกลียวคู่เข้าไปแทนที่ ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของการจัดเรียงตัวของโครงสร้างผลึก (Gunaratne and Hoover, 2002) เมื่อพิจารณาปริมาณผลึก (crystallinity) ของสตาร์ชกล้วยนางพญาภายหลังการดัดแปรแสดงดัง Table 4 พบว่ามีค่าต่ำกว่าของสตาร์ชกล้วยนางพญาก่อนการดัดแปรอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แต่พบว่าเมื่อระดับความชื้นที่ใช้ในการดัดแปรเพิ่มสูงขึ้น พบว่าปริมาณผลึกมีค่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

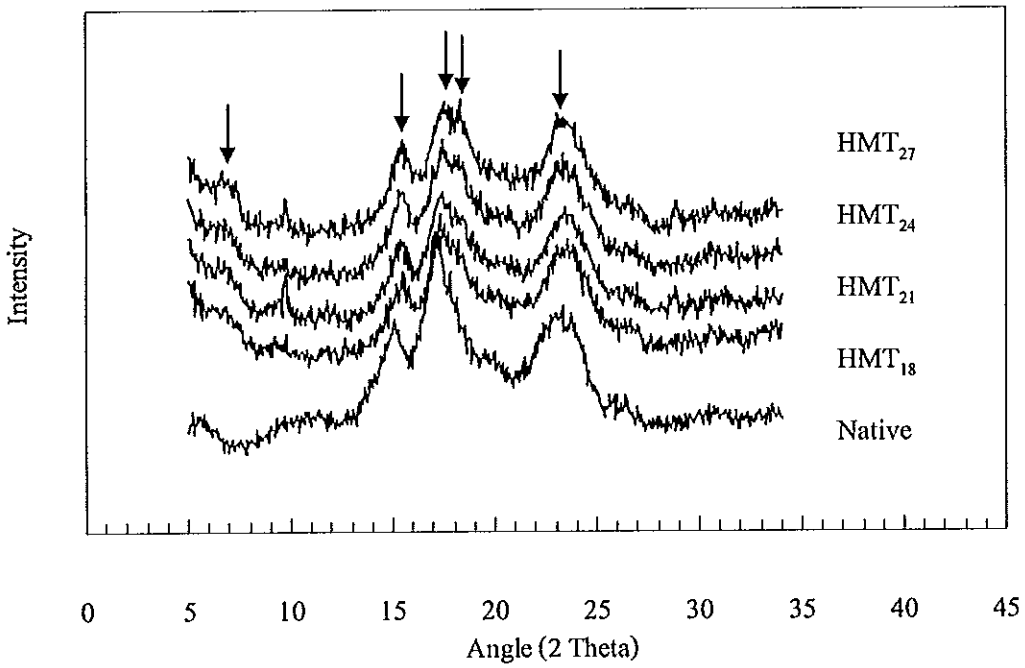


Figure 7. Crystallinity pattern of native and heat-moisture treated banana starches at 18% (HMT_{18}), 21%(HMT_{21}), 24%(HMT_{24}) and 27%(HMT_{27}) moisture content. Arrow denoted growing peak at 5.92° 15.12° 17.32° 18.30° and 23.43° (2 Theta).

Table 4. Crystallinity of native and heat-moisture treated banana starches at 18% (HMT_{18}), 21%(HMT_{21}), 24%(HMT_{24}) and 27%(HMT_{27}) moisture content.

Treatment	Crystallinity (%)
Native	$36.81^{a} \pm 0.83$
HMT_{18}	$33.51^{b} \pm 1.72$
HMT_{21}	$34.02^{b} \pm 0.90$
HMT_{24}	$33.28^{b} \pm 2.33$
HMT_{27}	$33.47^{b} \pm 0.87$

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

2.2 คุณสมบัติเชิงหน้าที่

2.2.1 กำลังการพองตัวและความสามารถในการละลาย (swelling power and solubility)

ศึกษากำลังการพองตัวและความสามารถในการละลายของสตาร์ชกล้วยนางพญาที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 95°C พบว่ากำลังการพองตัวของสตาร์ชกล้วยนางพญาก่อนการดัดแปรมีค่าเท่ากับ 25.72 ในขณะที่ค่าความสามารถในการละลายมีค่าเท่ากับร้อยละ 15.64 ดังแสดงใน Table 5 ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของสตาร์ชกล้วยหักมุก สตาร์ชกล้วยตานี และสตาร์ชกล้วยน้ำว้าค่อม ซึ่งมีค่ากำลังการพองตัวและความสามารถในการละลายอยู่ในช่วง 21.43-26.91 และร้อยละ 9.36-12.42 ตามลำดับ (วสันต์ ศิริวงศ์, 2003) การพองตัวของเม็ดสตาร์ชเกิดจากการที่ระบบของสตาร์ชที่มีปริมาณน้ำเพียงพอ เมื่อได้รับความร้อนทำให้พันธะไฮโดรเจนระหว่างสายโมเลกุลต่างๆ ภายในเม็ดสตาร์ชถูกทำลาย ทำให้โมเลกุลของน้ำที่อยู่ภายนอกเม็ดสตาร์ชสามารถเข้าไปจับกับไฮโดรเจนได้มากขึ้น เม็ดสตาร์ชเกิดการพองตัว สำหรับค่าความสามารถในการละลายเกิดจากการที่เม็ดสตาร์ชเกิดการพองตัว สายโมเลกุลของอะมิโลสซึ่งเป็นพอลิเมอร์เชิงเส้นสามารถหลุดออก (amylose leaching) มาอยู่ในสารละลายสตาร์ช (Hoover, 2001)

เมื่อทำการดัดแปรสตาร์ชกล้วยนางพญาด้วยความร้อนชื้นที่ระดับความชื้นต่างๆ พบว่าสตาร์ชกล้วยนางพญามีค่ากำลังการพองตัวและความสามารถในการละลายลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับสตาร์ชก่อนการดัดแปร ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาการดัดแปรด้วยวิธีความร้อนชื้นของสตาร์ชธัญพืช สตาร์ชถั่ว สตาร์ชพืชหัว สตาร์ชข้าวเหนียว สตาร์ชข้าวเจ้าและสตาร์ชข้าวหอมมะลิ (Hoover and Vasanthan, 1994; Hoover and Manuel, 1996a,b; Kulp and Lorenz, 1981; Khunae *et al.*, 2007) อธิบายได้ว่าการดัดแปรด้วยความร้อนชื้นส่งผลให้เกิดการเคลื่อนที่ของสายโมเลกุลภายในเม็ดสตาร์ชทำให้เกิดอันตรกิริยาระหว่างสายโมเลกุลอะมิโลสกับอะมิโลส (AM-AM) และ/หรือ อะมิโลสกับอะมิโลเพคติน(AM-AMP) จึงทำให้ความแข็งแรงของโครงสร้างภายในเม็ดสตาร์ชเพิ่มมากขึ้น กำลังการพองตัวจึงมีค่าลดลงและสายโมเลกุลที่อยู่ภายในเม็ดสตาร์ชหลุดออกมาอยู่ในสารละลายสตาร์ชได้น้อยลง (Hoover and Manuel, 1996a,b; Gunaratne and Hoover, 2002) นอกจากนั้นจากผลการทดลองพบว่าความสัมพันธ์ของระดับความชื้นที่ใช้ในการดัดแปรกับค่ากำลังการพองตัวและความสามารถในการละลายเป็นแบบเชิงเส้น ($R^2 = 0.97$, $p < 0.05$) แสดงดัง Figure 8 โดยพบว่าเมื่อระดับความชื้นที่ใช้ในการดัดแปรเพิ่มขึ้น ค่ากำลังการพองตัวและความสามารถในการละลายมีค่าลดลง

Table 5. Swelling power and solubility of native and heat-moisture treated banana starches at 18%(HMT_{18}), 21%(HMT_{21}), 24%(HMT_{24}) and 27%(HMT_{27}) moisture content.

Treatment	Swelling power (g swollen/g dry starch)	Solubility (%)
Native	$25.72^{a} \pm 0.45$	$15.64^{a} \pm 0.88$
HMT_{18}	$16.23^{b} \pm 0.10$	$10.30^{b} \pm 0.40$
HMT_{21}	$14.10^{c} \pm 0.30$	$7.20^{c} \pm 0.83$
HMT_{24}	$12.84^{d} \pm 0.16$	$5.68^{d} \pm 0.56$
HMT_{27}	$10.86^{e} \pm 0.65$	$3.82^{e} \pm 0.89$

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

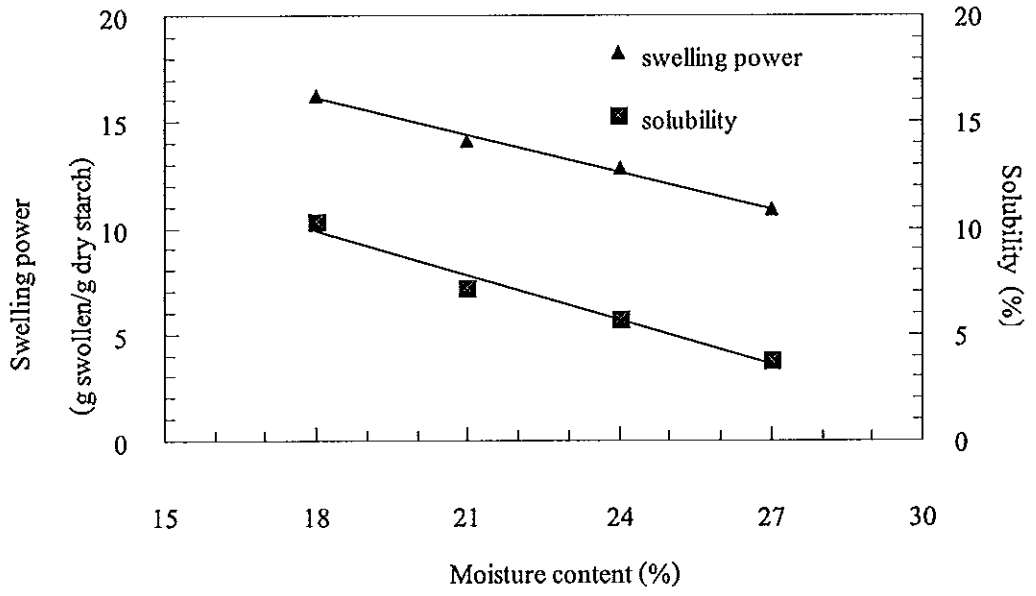


Figure 8. Relationship of swelling power and solubility of heat-moisture treated banana starches and moisture content of the treatments.

2.2.2 คุณสมบัติทางความร้อน (thermal properties)

ศึกษาสมบัติทางความร้อนของสตาร์ชกล้วยนางพญาด้วยเครื่อง Differential Scanning Carolimetry (DSC) พบว่าสตาร์ชกล้วยนางพญาแสดงพีคดูดความร้อน (endotherm) ซึ่งแสดงถึงการใช้พลังงานในการหลอมละลายผลึกของสตาร์ช (Figure 9) จากการทดลองสามารถวิเคราะห์ค่าอุณหภูมิเริ่มเกิดเจลาติไนเซชัน (To) อุณหภูมิสูงสุดในการเกิดเจลาติไนเซชัน (Tp) อุณหภูมิสุดท้ายของการเกิดเจลาติไนเซชัน (Tc) ช่วงของอุณหภูมิการเกิดเจลาติไนเซชัน (Tc-To) และพลังงานในการเกิดเจลาติไนเซชัน (ΔH) แสดงดัง Table 6 พบว่าสตาร์ชกล้วยนางพญาก่อนการดัดแปรมีค่า To เท่ากับ 72.70°C ซึ่งค่าที่ได้ใกล้เคียงกับค่า To ของสตาร์ชกล้วยหักมุก (70.96°C) สตาร์ชกล้วยน้ำว้าค่อม (71.97°C) สตาร์ชกล้วยตานี (71.67°C) (วสันต์ ศิริวงศ์, 2003) และสตาร์ชกล้วย Square (*Musa balbisiana*) (71.60°C) (Torre-Gutierrez *et al.*, 2007) จากนั้นเมื่อทำการดัดแปรสตาร์ชกล้วยนางพญาด้วยวิธีความร้อนชื้น พบว่าค่า To ของสตาร์ชภายหลังการดัดแปรมีค่าสูงกว่าของสตาร์ชก่อนการดัดแปร และเมื่อระดับความร้อนชื้นที่ใช้ในการดัดแปรเพิ่มสูงขึ้นส่งผลให้ค่าTo มีค่าเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (R^2 =0.97, $p < 0.05$)แสดงดัง Figure 10 ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองการดัดแปรสตาร์ชข้าวเหนียวด้วยวิธีความร้อนชื้น (ปาริดา ขุนแอ, 2008) Lim และคณะ (2001) รายงานว่าการเพิ่มขึ้นของค่า To ของสตาร์ชข้าวโพดที่ผ่านการดัดแปรด้วยความร้อนชื้นมีสาเหตุมาจากการเปลี่ยนแปลงของสายกิ่งอะมิโลเพคติน บริเวณที่ก้ำกึ่งระหว่างผลึกและอสัณฐาน (intercrystalline amorphous parts) ส่งผลให้สายโมเลกุลของอะมิโลเพคตินบริเวณนี้สามารถเคลื่อนที่ได้อย่างอิสระและมีโอกาสเกิดอันตรกิริยากับสายโมเลกุลของอะมิโลสในบริเวณอสัณฐานได้มากขึ้น ทำให้โครงสร้างของสตาร์ชมีความแข็งแรงยิ่งขึ้น จึงส่งผลให้อุณหภูมิที่ใช้ในการหลอมละลายมีค่าสูงขึ้น สำหรับช่วงอุณหภูมิการเกิดเจลาติไนเซชัน (Tc-To) ของสตาร์ชกล้วยนางพญาพบว่ามีแนวโน้มลดลงเมื่อระดับความชื้นที่ใช้ในการดัดแปรเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (R^2 =0.97, $p < 0.05$) แสดงดัง Figure 11 แสดงให้เห็นว่าโครงสร้างผลึกของสตาร์ชกล้วยนางพญามีความเป็นหนึ่งเดียวกันมากขึ้น (homogeneity of the crystallites) (Hoover *et al.*, 2002) เมื่อพิจารณาค่า ΔH พบว่าการดัดแปรสตาร์ชกล้วยนางพญาด้วยความร้อนชื้นส่งผลให้ ΔH มีค่าลดลง และมีแนวโน้มลดลงเมื่อระดับความชื้นที่ใช้ในการดัดแปรเพิ่มขึ้น ซึ่งอธิบายได้ว่าสายเกลียวคู่ของอะมิโลเพคตินที่อยู่ในบริเวณผลึกบางส่วนมีการคลายเกลียวมากขึ้น ดังนั้นพลังงานที่ต้องใช้ในการหลอมละลายผลึกจึงลดลง (Cook and Kidley, 1992; Gunaratne and Hoover, 2002)

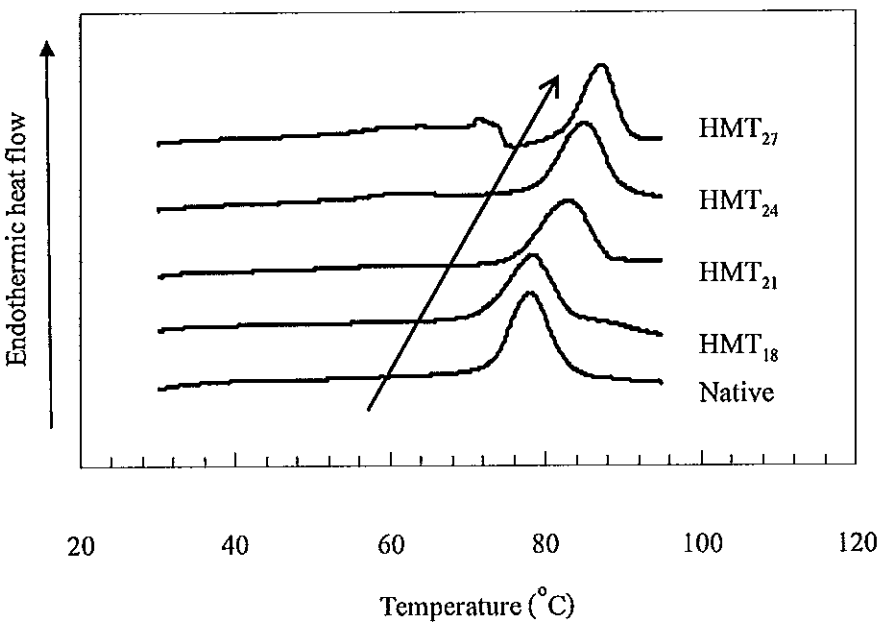


Figure 9. Thermogram of native and heat-moisture treated banana starches at 18% (HMT_{18}), 21% (HMT_{21}), 24% (HMT_{24}) and 27% (HMT_{27}) moisture content.

Table 6. Gelatinization parameters of native and heat-moisture treated banana starches at 18 % (HMT_{18}), 21 %(HMT_{21}), 24 %(HMT_{24}) and 27 %(HMT_{27}) moisture content.

Treatment	Gelatinization temperature (°C)				Enthalpy (ΔH)
	To	Tp	Tc	Tc-To	(J/g)
Native	$72.70^{d} \pm 0.35$	$77.83^{d} \pm 0.17$	$82.77^{d} \pm 0.22$	$10.09^{b} \pm 0.14$	$19.27^{a} \pm 0.48$
HMT_{18}	$71.56^{e} \pm 0.21$	$78.56^{d} \pm 0.10$	$84.14^{c} \pm 0.89$	$12.58^{a} \pm 1.02$	$16.13^{b} \pm 1.22$
HMT_{21}	$76.69^{c} \pm 0.82$	$82.44^{c} \pm 1.11$	$87.88^{b} \pm 0.25$	$11.20^{ab} \pm 1.01$	$14.10^{bc} \pm 2.13$
HMT_{24}	$78.96^{b} \pm 0.08$	$84.94^{b} \pm 0.25$	$89.61^{a} \pm 0.19$	$10.65^{b} \pm 0.12$	$15.83^{b} \pm 0.35$
HMT_{27}	$81.86^{a} \pm 0.77$	$87.28^{a} \pm 0.35$	$89.76^{a} \pm 0.77$	$7.90^{c} \pm 1.05$	$13.16^{c} \pm 1.05$

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

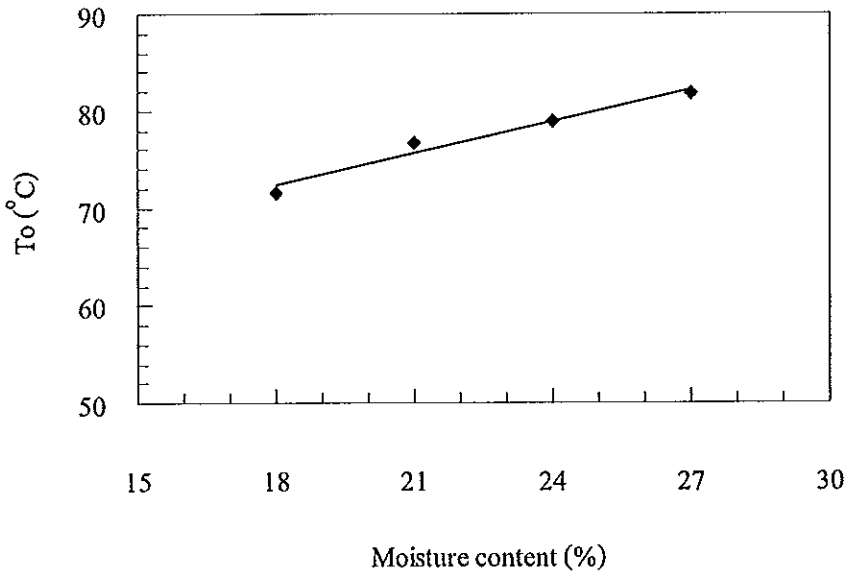


Figure 10. Relationship of onset gelatinization temperature (To) of heat-moisture treated banana starches and moisture content of the treatments.

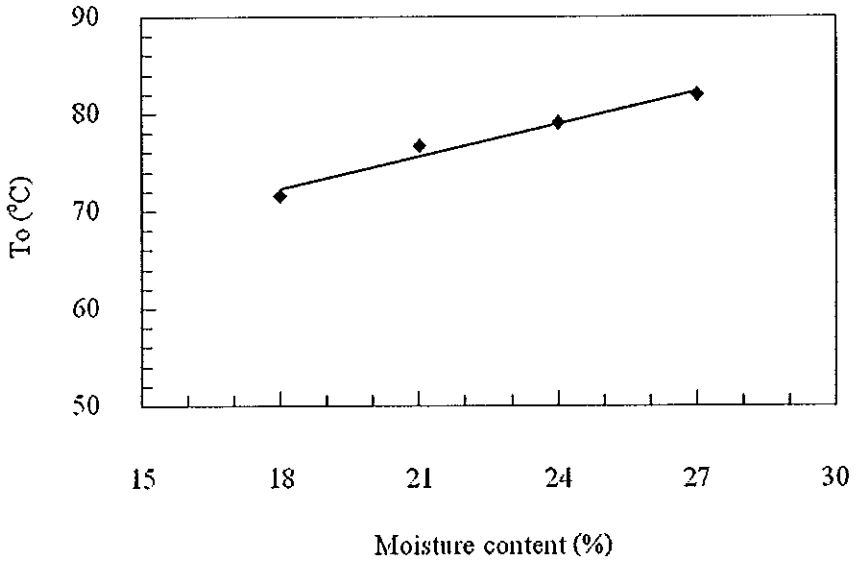


Figure 11. Relationship of gelatinization temperature range (Tc-To) of heat-moisture treated banana starches and moisture content of the treatments.

2.2.3 คุณสมบัติทางรีโอโลยี (rheology properties)

2.2.3.1 คุณสมบัติการเกิดเพสท์ของสตาร์ช (pasting properties)

ศึกษาการเปลี่ยนแปลงความหนืดของสตาร์ชกล้วยนางพญาด้วยเครื่อง Rapid Visco Analyzer (RVA) ซึ่งเป็นวิธีการหนึ่งที่ใช้ในการประเมินและติดตามสมบัติทางความหนืดในขณะที่สารละลายได้รับความร้อนรวมไปถึงความคงตัวของสารละลายสตาร์ชในช่วงการลดอุณหภูมิ จากการศึกษาสมบัติทางความหนืดของสตาร์ชกล้วยนางพญาทั้งก่อนและหลังการดัดแปรในสภาวะที่เป็นกลาง (พีเอช 7.0) มีรูปแบบความหนืด (pasting profile) แสดงดัง Figure 12a ซึ่งเมื่อแบ่งรูปแบบความหนืดของสตาร์ชตามวิธีของ Schoch และ Mayward (1968) พบว่าสตาร์ชกล้วยนางพญาก่อนการดัดแปรมีรูปแบบความหนืดแบบ b คือลักษณะกราฟความหนืดที่มีความสูงชันและเกิดการแตกตัวของเม็ดสตาร์ชระหว่างการให้ความร้อนในระดับปานกลาง และเมื่อทำการดัดแปรด้วยวิธีความร้อนชื้นส่งผลให้รูปแบบความหนืดของสตาร์ชเปลี่ยนแปลงเป็นแบบ c คือลักษณะกราฟไม่ปรากฏยอดสูงสุด(peak) และค่าความหนืดเพิ่มขึ้นระหว่างการให้ความร้อน สำหรับค่าพารามิเตอร์ทางความหนืดของสตาร์ชกล้วยนางพญาก่อนการดัดแปรในสภาวะที่เป็นกลาง พบว่าอุณหภูมิเริ่มเปลี่ยนแปลงความหนืด (pasting temperature) มีค่าเท่ากับ 79.02°C ในขณะที่ค่าความหนืดสูงสุด (peak viscosity) และค่า breakdown มีค่าเท่ากับ 4370.67 mPa.s และ 1253.67 mPa.s ตามลำดับ จากนั้นเมื่อลดอุณหภูมิของสตาร์ชลงพบว่าค่าความหนืดเนื่องมาจากการคืนตัว (setback:) มีค่าเท่ากับ 1033.33 mPa.s (Table 7) หลังจากทำการดัดแปรสตาร์ชกล้วยนางพญาด้วยวิธีความร้อนชื้นที่ระดับความชื้นต่างๆ พบว่าสมบัติทางความหนืดมีลักษณะเปลี่ยนไป โดยค่าอุณหภูมิเริ่มเปลี่ยนแปลงความหนืดของสตาร์ชที่ผ่านการดัดแปรมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อระดับความชื้นที่ใช้ในการดัดแปรเพิ่ม ซึ่งสามารถแสดงความสัมพันธ์ของค่าอุณหภูมิเริ่มเปลี่ยนแปลงความหนืดกับความชื้นที่ใช้ในการดัดแปรด้วยสมการเชิงเส้น ($R^2 = 0.97$, $p < 0.05$) แสดงดัง Figure 13 จากการเปลี่ยนแปลงอธิบายได้ว่าการดัดแปรด้วยความร้อนชื้นทำให้สายโมเลกุลภายในเม็ดสตาร์ชเกิดการเคลื่อนที่และสามารถเกิดอันตรกิริยาขึ้นระหว่างสายอะมิโลสกับสายอะมิโลส (AM-AM) และ/หรือ สายอะมิโลสกับสายอะมิโลเพคติน (AM-AMP) ส่งผลให้โครงสร้างภายในเม็ดสตาร์ชมีความแข็งแรงขึ้น (Stute, 1992; Hoover and Manuel, 1996b) สอดคล้องกับผลการทดลองการดัดแปรด้วยความร้อนชื้นของสตาร์ชมันฝรั่ง (Kulp and Lorenze, 1981) สตาร์ชข้าวโพด (Hoover and Manuel, 1996a,b) สตาร์ชข้าวโอ๊ต สตาร์ชถั่ว lentil และสตาร์ชกลอย (Hoover and Vasanthan, 1994) สตาร์ชข้าว (ปาริดา ขุนแอ, 2008) เมื่อพิจารณาค่าความหนืดสุดท้าย (final viscosity) พบว่าสตาร์ชที่ผ่านการดัดแปรมีค่าความหนืดสุดท้ายลดลงเมื่อระดับความร้อนชื้นที่ใช้ในการดัดแปรเพิ่ม เนื่องจากความแข็งแรงของเม็ดสตาร์ชเพิ่มมากขึ้นจึง

สามารถทนต่อความร้อนได้มากขึ้นและทำให้การแตกตัวของเม็ดสตาร์ชลดลง (Adobewal and Lawel, 2003)

จากการศึกษาสมบัติทางความหนืดในสภาวะที่เป็นกรด (พีเอช 3.5) ของสตาร์ชกล้วยนางพญาทั้งก่อนและหลังการดัดแปร มีรูปแบบความหนืด (pasting profile) แสดงดัง Figure 12b ซึ่งพบว่าสตาร์ชกล้วยนางพญาก่อนการดัดแปรในสภาวะที่เป็นกรดยังคงมีรูปแบบความหนืดแบบ b และเมื่อทำการดัดแปรด้วยวิธีความร้อนชื้นส่งผลให้รูปแบบความหนืดของสตาร์ชเปลี่ยนแปลงเป็นแบบ c เช่นเดียวกันกับสตาร์ชกล้วยนางพญาในสภาวะที่เป็นกลาง เมื่อพิจารณาค่าพารามิเตอร์ทางความหนืดในสภาวะที่เป็นกรดของสตาร์ชกล้วยนางพญาที่ผ่านการดัดแปร พบว่าอุณหภูมิเริ่มเปลี่ยนแปลงความหนืดมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อระดับความชื้นที่ใช้ในการดัดแปรมีค่าเพิ่ม (Table 7) ซึ่งสามารถแสดงความสัมพันธ์ของค่าอุณหภูมิเริ่มเปลี่ยนแปลงความหนืด กับความชื้นที่ใช้ในการดัดแปรด้วยสมการเชิงเส้น ($R^2 = 0.92$, $p < 0.05$) แสดงดัง Figure 13 เมื่อเปรียบเทียบกับสภาวะที่เป็นกลาง พบว่าสตาร์ชกล้วยนางพญาก่อนและหลังการดัดแปรในสภาวะที่เป็นกรดมีอุณหภูมิเริ่มเปลี่ยนแปลงความหนืดและความหนืดเนื่องจากการคืนตัวต่ำกว่า ในขณะที่ค่าความหนืดสูงสุด ค่า breakdown สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แสดงให้เห็นว่ากรดสามารถเข้าไปทำลายโครงสร้างของเม็ดสตาร์ชทั้งก่อนและหลังการดัดแปรได้ จึงทำให้ความแข็งแรงของโครงสร้างสตาร์ชลดลง

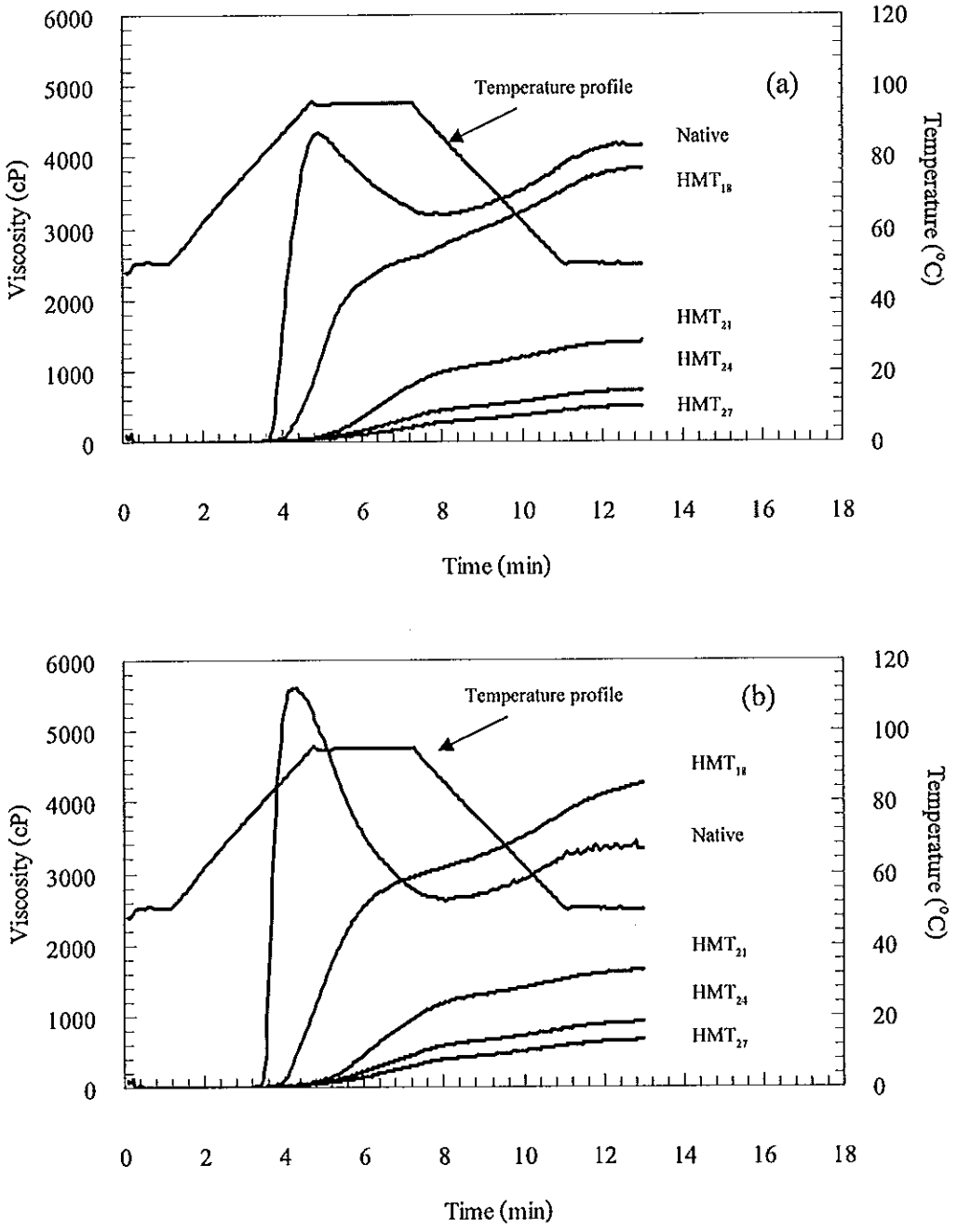


Figure 12. Pasting profile at (a) pH 7.0 and (b) pH 3.5 of native and heat-moisture treated banana starches at 18% (HMT_{18}), 21 %(HMT_{21}), 24 %(HMT_{24}) and 27 %(HMT_{27}) moisture content.

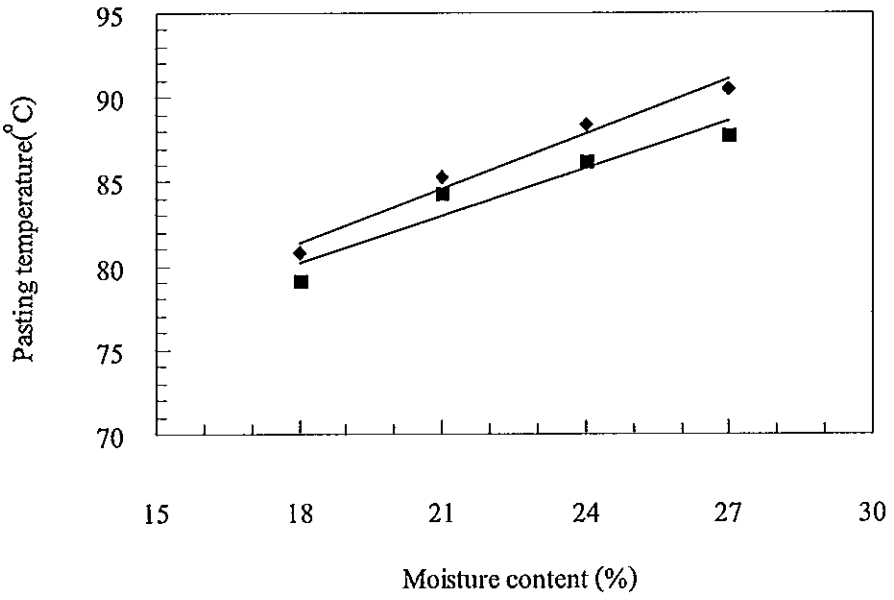


Figure 13. Relationship of pasting temperature at pH 3.5 (■) and pH 7.0 (◆) of heat-moisture treated banana starches and moisture content of the treatments.

Table 7. Viscosity parameters from Rapid Visco Analyzer (RVA) of native and heat-moisture treated banana starches at 6% (w/w).

Condition	Treatment	Pasting temperature(°C)	Peak viscosity (mPa.s)	Breakdown (mPa.s)	Setback (mPa.s)	Final viscosity (mPa.s)
pH 7.0	Native	79.02^{g} ± 0.58	4370.67±51.19	1253.67±115.30	1033.33 ± 71.18	4150.33^{b} ± 52.73
	HMT_{18}	80.77^{f} ± 0.40	-	-	-	3887.67^{c} ± 122.28
	HMT_{21}	85.27^{d} ± 0.49	-	-	-	1416.00^{f} ± 41.24
	HMT_{24}	88.33^{b} ± 0.49	-	-	-	707.33^{h} ± 37.58
	HMT_{27}	90.50^{a} ± 0.00	-	-	-	497.67^{g} ± 14.50
pH 3.5	Native	76.30^{h} ± 0.58	5659.50±78.49	3014±48.08	709.00±9.90	3354.50^{d} ± 20.51
	HMT_{18}	79.15^{g} ± 0.07	-	-	-	4289.00^{a} ±45.25
	HMT_{21}	84.33^{e} ± 0.49	-	-	-	1670.67^{e} ±28.75
	HMT_{24}	86.23^{c} ± 0.51	-	-	-	918.33^{g} ±19.55
	HMT_{27}	87.83^{b} ± 0.46	-	-	-	695.33^{h} ±34.56

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

2.2.3.2 พฤติกรรมการไหล (flow behavior)

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

$$\sigma = k\dot{\gamma}^n \qquad (14)$$

เมื่อ σ คือความเค้นเฉือน (Pa), $\dot{\gamma}$ คืออัตราการเฉือน (s^{-1}), k คือค่าสัมประสิทธิ์ความคงตัว (consistency coefficient) ($Pa.s^n$) และ n คือดัชนีพฤติกรรมการไหล (flow behavior index)

จากการศึกษาความสัมพันธ์ของค่าความหนืดปรากฏและอัตราการเฉือนของสตาร์ชกล้วยนางพญาก่อนการดัดแปรด้วยวิธีความร้อนชื้น พบว่าความหนืดปรากฏมีค่าลดลงเมื่ออัตราการเฉือนเพิ่มขึ้น (Figure 14a) โดยมีค่า k เท่ากับ 2.69 ($Pa.s^n$) ดัง Table 8 และเมื่อพิจารณาจากค่าดัชนีพฤติกรรมการไหล (n) พบว่าสตาร์ชกล้วยนางพญาก่อนการดัดแปรมีค่าเท่ากับ 0.53 ซึ่งแสดงว่าสตาร์ชกล้วยนางพญาก่อนการดัดแปรมีพฤติกรรมการไหลแบบ shear-thinning (pseudoplastic) (Doublier, 1981;Noel *et al.*, 1993) เมื่อทำการดัดแปรสตาร์ชกล้วยนางพญาด้วยความร้อนชื้นพบว่าค่าความหนืดปรากฏและค่า k ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) และพบว่าอัตราการเฉือนไม่ส่งผลต่อค่าความหนืดปรากฏ แสดงดัง Figure 14b ทั้งนี้เนื่องจากเมื่อสตาร์ชกล้วยนางพญาผ่านการดัดแปรด้วยความร้อนชื้น ส่งผลให้โครงสร้างของเม็ดสตาร์ชมีความแข็งแรงมากขึ้น ความสามารถในการพองตัวน้อยลงส่งผลให้ความหนืดมีค่าลดต่ำลง นอกจากนั้นจากผลการทดลองพบว่าสตาร์ชกล้วยนางพญาภายหลังการดัดแปรด้วยความร้อนชื้นมีค่า n เพิ่มขึ้นและมีค่าใกล้เคียงกับ 1 ซึ่งแสดงถึงพฤติกรรมการไหลแบบ newtonian

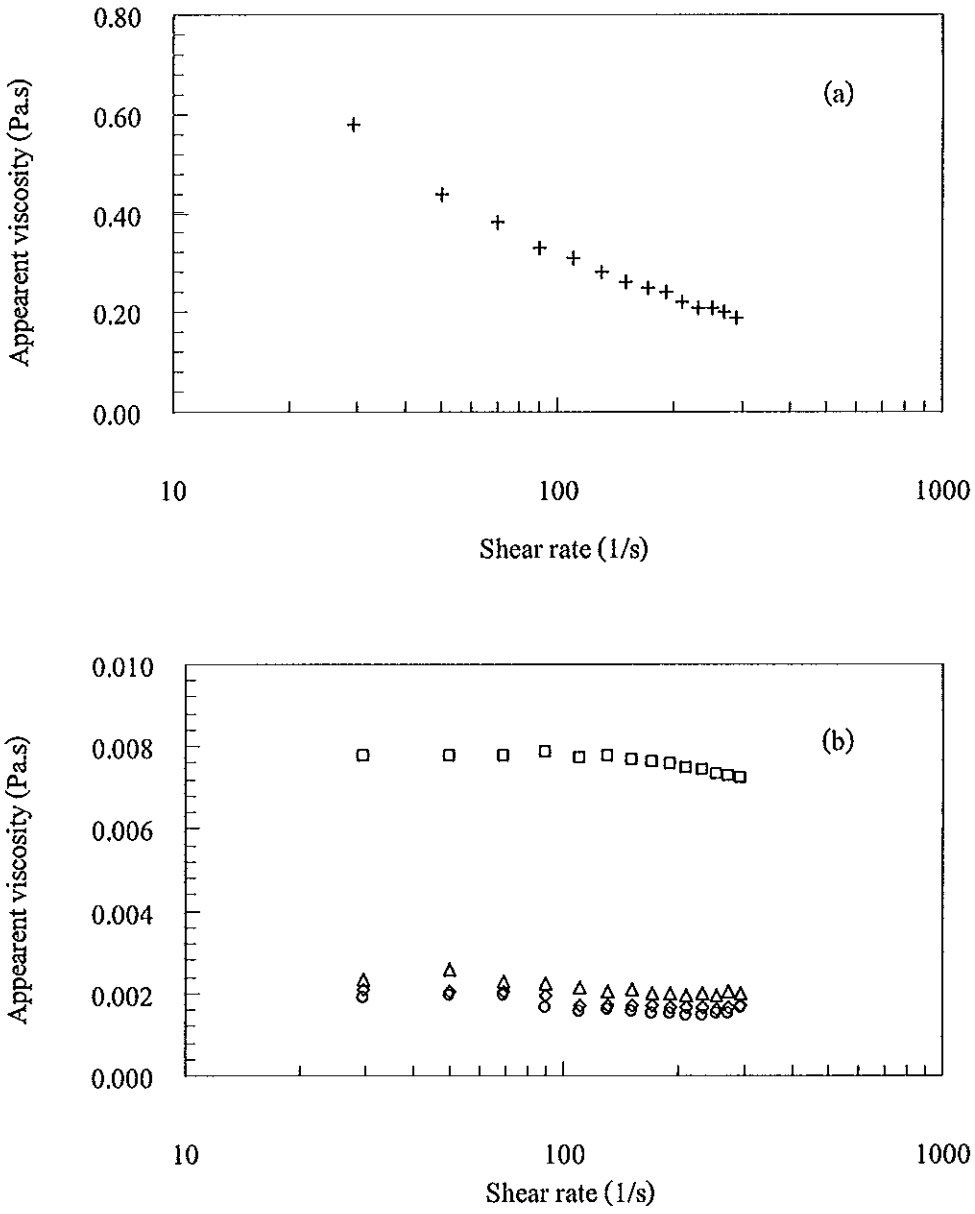


Figure 14. Relationship of apparent viscosity and shear rate of (a) native and (b) heat-moisture treated banana starches at 18%(□), 21%(△), 24%(○) and 27%(◇) moisture content.

Table 8. Consistency coefficient (k) and Flow behavior index (n) of native and heat-moisture treated banana starches.

Treatment	k ($Pa.s^n$)	n
Native	$2.690^a \pm 0.141$	$0.53^b \pm 0.01$
HMT_{18}	$0.010^b \pm 0.001$	$0.94^a \pm 0.01$
HMT_{21}	$0.003^b \pm 0.000$	$0.91^a \pm 0.01$
HMT_{24}	$0.002^b \pm 0.000$	$0.96^a \pm 0.02$
HMT_{27}	$0.001^b \pm 0.001$	$0.98^a \pm 0.02$

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

2.2.3.3 สมบัติวิสโคอิลาสติก (viscoelastic properties)

การวิเคราะห์สมบัติวิสโคอิลาสติกแบบการสั่นทางพลวัติ (dynamic oscillation) เป็นการวิเคราะห์การตอบสนองต่อความเค้น (stress) หรือความเครียด (strain) ภายใต้การเคลื่อนที่แบบสั่นของวัสดุวิสโคอิลาสติก โดยพารามิเตอร์ที่ทำการศึกษา ได้แก่ storage modulus (G'), loss modulus (G") และ loss tangent (tan δ) ซึ่งค่า G' หมายถึงปริมาณพลังงานที่ถูกเก็บไว้ในวัสดุเมื่อได้รับความเค้นหรือความเครียด ค่า G" หมายถึงพลังงานที่สูญเสียไปเนื่องจากความหนืด และค่า tan δ หมายถึงสัดส่วนของการแสดงสถานการณ์เป็นวัสดุไหลหนืดต่อสถานะยืดหยุ่น (G" /G') โดยการวิเคราะห์สมบัติวิสโคอิลาสติกนี้เป็นการศึกษา frequency sweep test ของสตาร์ชเพสท์ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 8 (โดยน้ำหนักแห้ง) ที่อุณหภูมิ 25 °C โดยทำการทดลองในช่วง linear viscoelastic

จากการวิเคราะห์พารามิเตอร์ของสมบัติวิสโคอิลาสติก พบว่าสตาร์ชกล้วยนางพญาทั้งก่อนและหลังการดัดแปรด้วยวิธีความร้อนชื้น มีค่า G' สูงกว่าค่า G" แสดงดัง Figure 15 ซึ่งเป็นคุณลักษณะของเจล (Biliaderis *et al.*, 1992) นอกจากนั้นพบว่าค่า G' มีการเปลี่ยนแปลงกับค่าความถี่น้อยมาก ซึ่งแสดงถึงคุณลักษณะที่ใกล้เคียงกับเจลที่แท้จริง (true gel) (Clark and Ross-Murphy, 1987) เมื่อพิจารณาค่า G' ที่ความถี่ 1 Hz แสดงดัง Table 8 พบว่าค่า G' ของสตาร์ชกล้วยนางพญาก่อนการดัดแปรมีค่าเท่ากับ 294.44 Pa และมีค่า tan δ เท่ากับ 0.172 เมื่อทำการดัดแปรสตาร์ชกล้วยนางพญาด้วยวิธีความร้อนชื้น พบว่า G' มีค่าเพิ่มขึ้นแบบเชิงเส้น ($R^2 = 0.99$, $p < 0.05$) เมื่อปริมาณความชื้นที่ใช้ในการดัดแปรเพิ่มขึ้นแสดงดัง Figure 16 โดยที่ระดับความชื้นร้อยละ 27 มีค่า G' และค่า tan δ เท่ากับ 3386.70 Pa และ 0.072 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าการดัดแปรด้วยวิธีความร้อนชื้นส่งผลให้เจลของสตาร์ชกล้วยนางพญามีความแข็งแรงมากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองการดัดแปรสตาร์ชข้าวหอมมะลิ และสตาร์ชข้าวเฉี้ยงด้วยวิธีความร้อนชื้น (ปาริดา ขุนแอ, 2008) ทั้งนี้สามารถอธิบายได้ว่าอาจเป็นผลเนื่องมาจากการเกิดอันตรกิริยากันระหว่างสายโมเลกุลของสายอะมิโลสกับอะมิโลส (AM-AM) และ/หรือ สายอะมิโลสกับสายอะมิโลเพคติน(AM-AMP) ภายในเม็ดสตาร์ชในระหว่างกระบวนการดัดแปรด้วยวิธีความร้อนชื้น (Hoover and Manuel, 1996a,b)

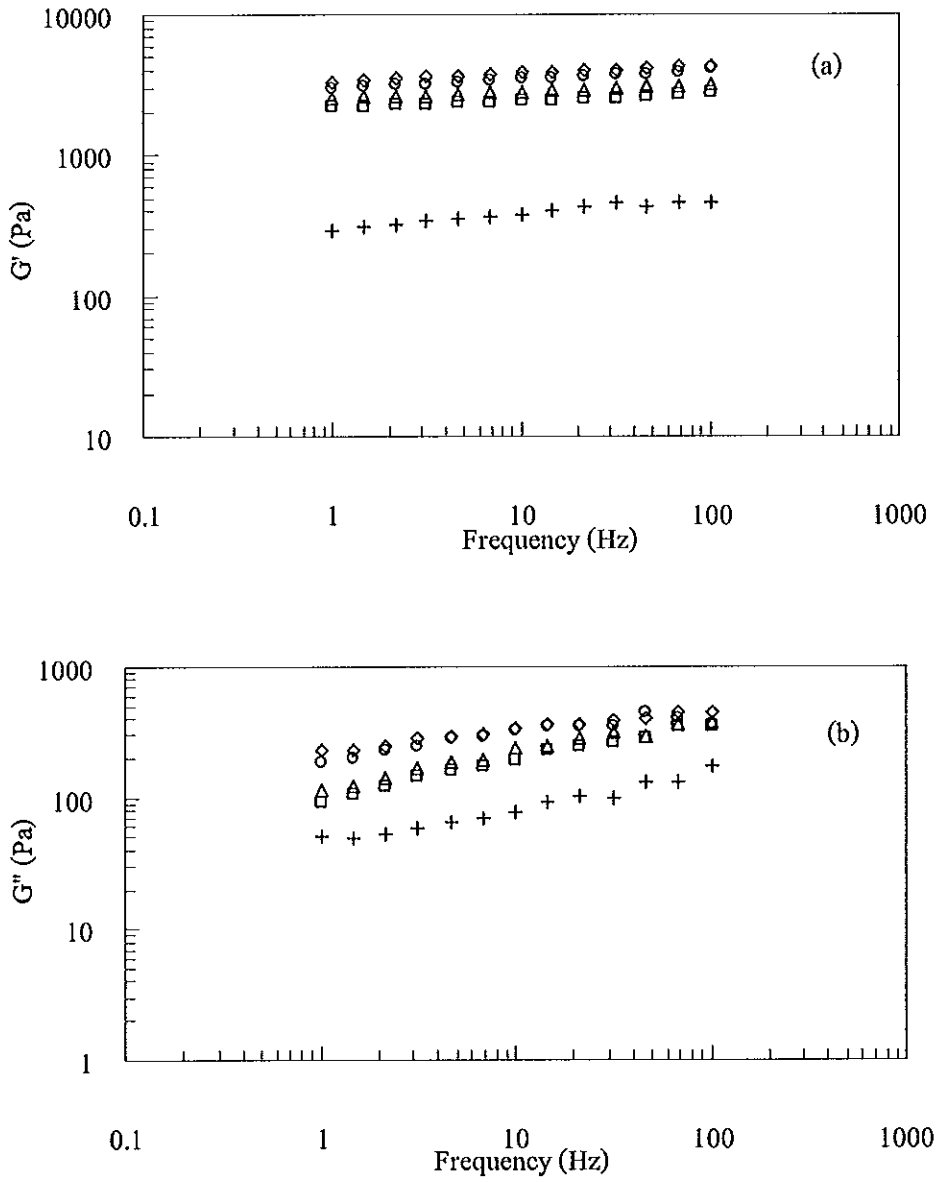


Figure 15. Effect of frequency on (a) G' and (b) G" of 8% starch paste for native (+) and heat-moisture treated banana starches at 18 %(□), 21 %(△), 24 %(○) and 27%(◇) moisture content. All samples were measured at 25°C and at 0.1-100 Hz.

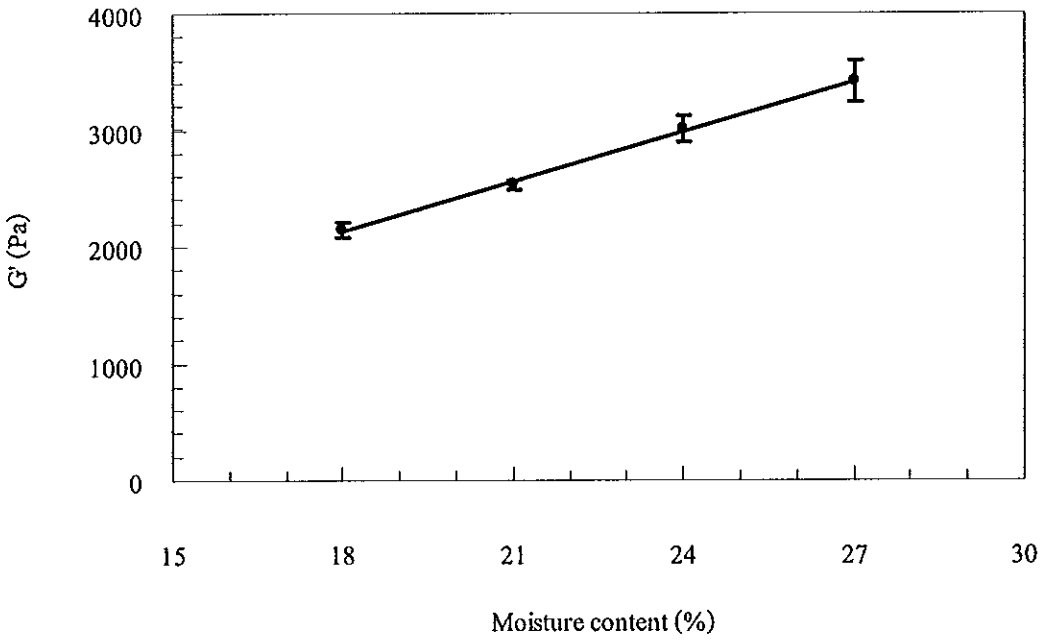


Figure 16. Relationship of G' value of heat-moisture treated banana starches and moisture content of the treatments.

Table 9. Viscoelastic parameters of native and heat-moisture treated banana starches at concentration of 8% (w/w) and at 1 Hz.

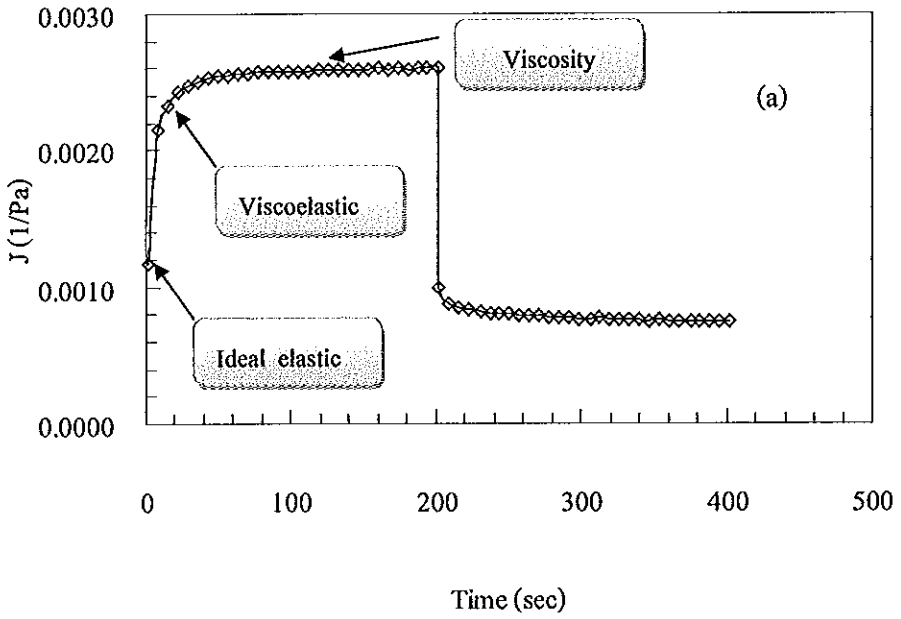
Treatment	G' (Pa)	G'' (Pa)	tan δ
Native	$294.44^{e} \pm 24.47$	$50.24^{e} \pm 1.15$	$0.172^{a} \pm 0.017$
HMT_{18}	$2152.48^{d} \pm 63.30$	$88.20^{d} \pm 2.48$	$0.041^{d} \pm 0.001$
HMT_{21}	$2529.35^{c} \pm 42.98$	$112.50^{c} \pm 0.75$	$0.044^{d} \pm 0.001$
HMT_{24}	$3009.00^{b} \pm 119.96$	$182.65^{b} \pm 6.27$	$0.061^{c} \pm 0.001$
HMT_{27}	$3386.70^{a} \pm 178.68$	$241.70^{a} \pm 10.02$	$0.072^{b} \pm 0.002$

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

2.2.3.4 การวิเคราะห์การคืบ (creep study)

ศึกษาการคืบ (creep compliance) และการคืนตัวจากการคืบ (creep recovery) ของเจลสตาร์ชกล้วยนางพญาทั้งก่อนและหลังการดัดแปรด้วยวิธีความร้อนชื้นด้วยเครื่องรีโอโลยี จากการศึกษาความสัมพันธ์ของค่า compliance กับเวลาในรูปแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ โดยใช้แบบจำลอง Burger model พบว่าการเปลี่ยนแปลงการคืบของเจลสตาร์ชกล้วยนางพญาก่อนการดัดแปรสามารถแบ่งได้เป็น 3 ช่วง (Sherman, 1970) แสดงดัง Figure 17 คือช่วง ideal elastic ซึ่งแสดงค่า instantaneous elastic modulus (G_0) บ่งบอกถึงการที่พันธะภายในของเจลสตาร์ชมีการยืดตัวอย่างยืดหยุ่น ถ้าเอาแรงเฉือนออกสามารถเกิดการคืนตัว (recovery) ได้อย่างสมบูรณ์ ช่วง viscoelastic ซึ่งแสดงค่า retarded elastic modulus (G_1), retarded viscosity (η_1) และ retard time (τ_1) ช่วงนี้เป็นช่วงที่พันธะของวัสดุมีการแตกออกและคืนรูป (reform) โดยพันธะทั้งหมดไม่ได้แตกออกและคืนรูปที่อัตราเดียวกัน และช่วง viscosity แสดงค่า terminal viscosity (η_n) เป็นช่วงที่พันธะของวัสดุเกิดการแตกออกและไม่สามารถคืนรูปได้ จึงทำให้วัสดุเกิดการไหลแบบนิวโตเนียน (newtonian) สำหรับสตาร์ชกล้วยนางพญาภายหลังการดัดแปรด้วยวิธีความร้อนชื้น ที่ระดับความชื้นต่างๆ พบว่าการเปลี่ยนแปลงการคืบแสดงเฉพาะช่วง ideal elastic เท่านั้นซึ่งแสดงถึงการที่พันธะภายในโครงสร้างของเจลสตาร์ชมีการยืดตัวอย่างยืดหยุ่นโดยไม่มีการแตกตัวออก

จากการวิเคราะห์พารามิเตอร์การเปลี่ยนแปลงการคืบของเจลสตาร์ชกล้วยนางพญาด้วยวิธี Inokushi (Shama and Sherman, 1966; Sherman, 1966) แสดงดัง Table 10 พบว่าเจลสตาร์ชกล้วยนางพญาก่อนการดัดแปร มีค่า G_0 เท่ากับ 875.95 Pa ค่า G_1 เท่ากับ 785.73 Pa ค่า τ_1 เท่ากับ 7.62 ค่า η_1 เท่ากับ 6.01×10^3 Pa.s และค่า η_n เท่ากับ 5.40×10^5 Pa.s เมื่อทำการดัดแปรสตาร์ชกล้วยนางพญาด้วยวิธีความร้อนชื้นพบว่า G_0 มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเจลของสตาร์ชกล้วยนางพญาภายหลังการดัดแปรมีความแข็งแรงมากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองในข้อ 2.2.3.2 เมื่อเปรียบเทียบผลของระดับความชื้นที่ใช้ในการดัดแปร พบว่าเมื่อระดับความชื้นที่ใช้ในการดัดแปรมีค่าเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ G_0 มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยที่ระดับความชื้นร้อยละ 27 มีค่า G_0 สูงสุด เท่ากับ 6837.20 Pa



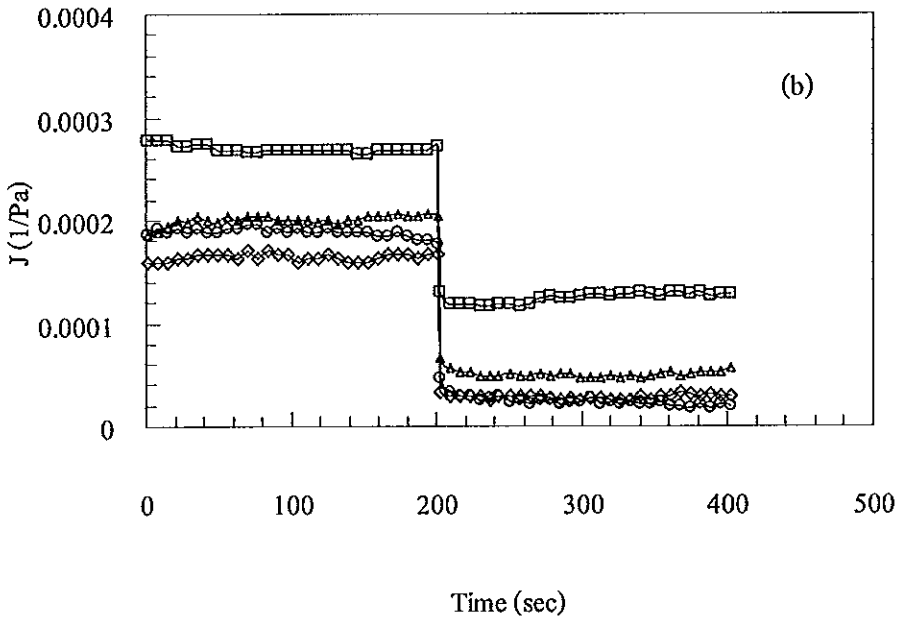


Figure 17. Creep compliance and creep recovery of 10% starch gels for (a) native (+) and (b) heat-moisture treated banana starches at 18%(□), 21%(△), 24%(○) and 27%(◇) moisture content. All samples were measured at 25 °C and at 10 Pa.

Table 10. Creep parameters of native and heat-moisture treated banana starches at concentration of 10% (w/w).

Treatment	Ideal elastic	Viscoelastic			Viscosity
	G_o (Pa)	G_1 (Pa)	τ_1 (sec)	η_1 (Pa.s) x 10^3	η_n (Pa.s) x 10^5
Native	$875.95^{d} \pm 14.74$	785.73 ± 5.03	7.62 ± 0.00	6.01 ± 0.00	5.40 ± 2.84
HMT_{18}	$4301.43^{c} \pm 547.27$	-	-	-	-
HMT_{21}	$5736.98^{b} \pm 780.12$	-	-	-	-
HMT_{24}	$6377.16^{ab} \pm 219.33$	-	-	-	-
HMT_{27}	$6837.20^{a} \pm 327.80$	-	-	-	-

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

2.2.4 การเกิดรีโทรเกรเดชัน

ศึกษาการเกิดรีโทรเกรเดชันของเจลสตาร์ชกล้วยนางพญาด้วยเครื่อง Fourier Transform Infrared Spectoscopy (FT-IR) ซึ่งเป็นการวัดการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนของปริมาณสายเกลียวคู่ต่ออสัณฐาน โดยติดตามการเปลี่ยนแปลงพีคการดูดกลืนแสงอินฟาเรดที่วัดการยืด (stretching) ของหมู่ C-C กับ C-O และการงอ (bending) ของหมู่ COH ในช่วงจำนวนคลื่น (wave number) 1300–800 cm^{-1} (Cael *et al.*, 1975) โดยพีคการดูดกลืนแสงที่ 1047 cm^{-1} มีความสัมพันธ์กับปริมาณสายเกลียวคู่หรือปริมาณผลึก และพีคการดูดกลืนแสงที่ 1022 cm^{-1} มีความสัมพันธ์กับส่วนอสัณฐานของสตาร์ช ดังนั้นอัตราส่วนของค่าการดูดกลืนแสงที่ 1047 ต่อ 1022 cm^{-1} จึงแสดงถึงสัดส่วนของโมเลกุลที่จัดเรียงตัวแบบเกลียวคู่ต่อส่วนอสัณฐาน (RSA) (van Soet *et al.*, 1995)

จากการศึกษาการเก็บรักษาเจลของสตาร์ชกล้วยนางพญาทั้งก่อนและหลังการดัดแปรด้วยวิธีความร้อนชื้น ที่ระดับความชื้นร้อยละ 27 ความเข้มข้นร้อยละ 25 (โดยน้ำหนักแห้ง) โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 70 ชั่วโมง พบว่าพีคการดูดกลืนแสงอินฟาเรด (FTIR spectra) ที่ 1047 cm^{-1} ของเจลสตาร์ชกล้วยนางพญาทั้งก่อนและหลังการดัดแปรมีค่าสูงขึ้น เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่ม แสดงผลดัง Figure 18 เมื่อพิจารณาค่า RSA ของเจลสตาร์ชกล้วยนางพญา พบว่าค่า RSA ของเจลสตาร์ชทั้งก่อนและหลังการดัดแปรด้วยวิธีความร้อนชื้นที่ระดับ

ความชื้นร้อยละ 27 แสดงดัง Figure 19 สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ช่วง โดยช่วงแรกมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วภายในระยะเวลาการเก็บรักษา 8 ชั่วโมงแรก ซึ่งเป็นผลเนื่องมาจากสายโมเลกุลอะมิโลส ซึ่งเป็นพอลิเมอร์เชิงเส้นสามารถเคลื่อนที่เข้ามาจัดเรียงตัวกันใหม่ได้ง่ายโดยเหนี่ยวนำให้เกิดเป็นโครงสร้างสามมิติของเจลสตาร์ช (Goodfellow and Wilson, 1990; van Soet, 1994; Hoover, 2001) จากนั้นเป็นช่วงที่ค่า RSA เพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ ซึ่งเกิดจากการจัดเรียงตัวของสายโมเลกุลอะมิโลเพคตินซึ่งเป็นพอลิเมอร์ที่มีกิ่งก้านจำนวนมาก การเปลี่ยนแปลงในช่วงนี้จะช่วยให้เกิดการจัดเรียงตัวเป็นโครงสร้างผลึกที่สมบูรณ์ขึ้น (Goodfellow and Wilson, 1990; van Soet, 1994; Hoover, 2001) สำหรับช่วงที่ 3 เป็นช่วงที่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงหรือเข้าสู่สมดุล เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษามากกว่า 50 ชั่วโมง ซึ่งเป็นช่วงที่โครงสร้างผลึกมีการจัดเรียงตัวอย่างสมบูรณ์ (Hoover, 2001) จากการทดลองสามารถทำนายอัตราการเกิดรีโทรเกรเดชันของสตาร์ชกล้วยนางพญาได้โดยใช้สมการ Avrami (Avrami, 1941) โดยพบว่าค่าอัตราการเกิดรีโทรเกรเดชันของสตาร์ชกล้วยนางพญาทั้งก่อนและหลังการดัดแปรมีค่าใกล้เคียงกัน โดยมีค่าเท่ากับ 1.26×10^{-5} (s^{-1}) และ 1.40×10^{-5} (s^{-1}) ตามลำดับ

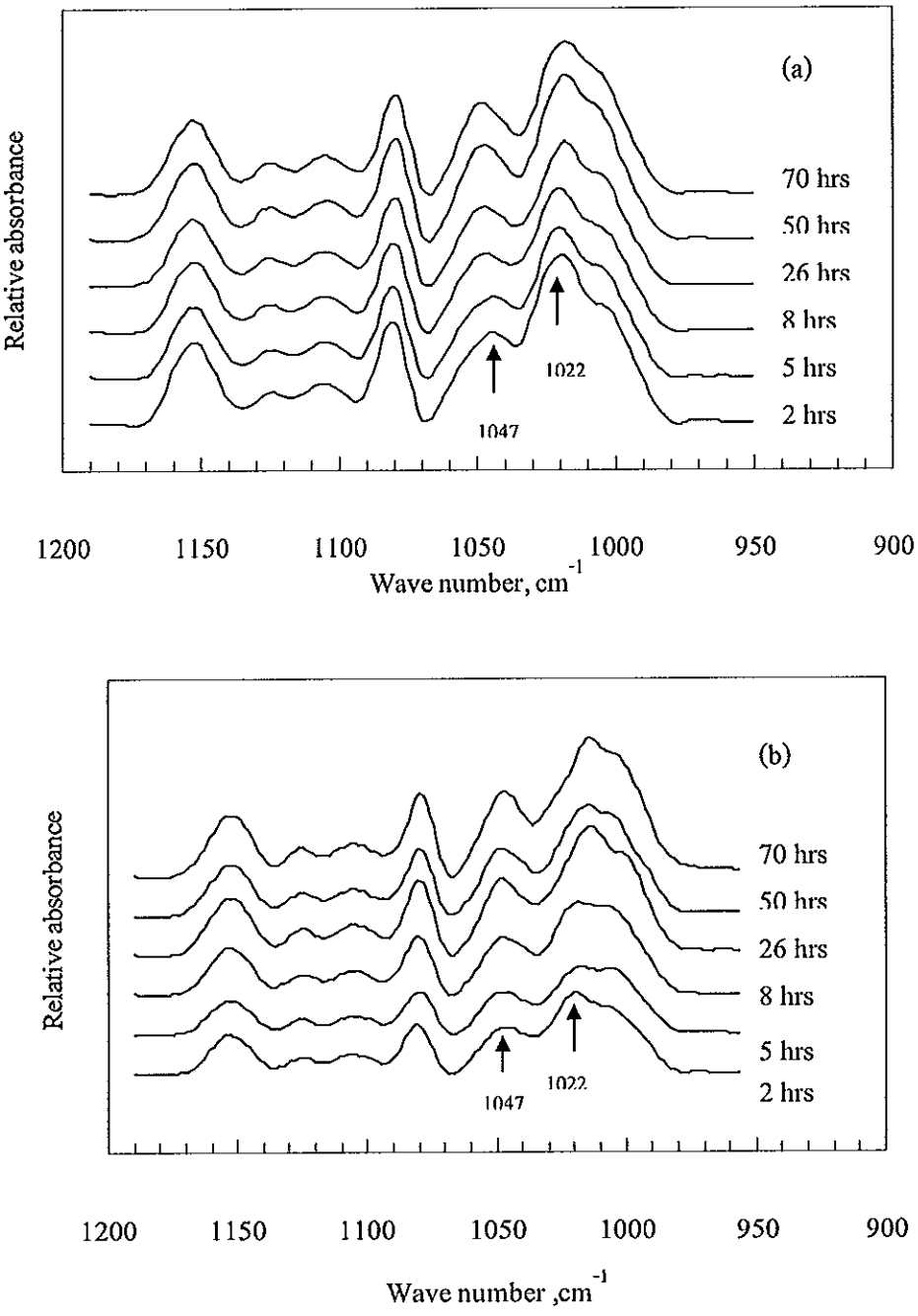


Figure 18. FTIR spectra at various storage times for (a) native and (b) heat-moisture treated at 27% moisture content of banana starch gel.

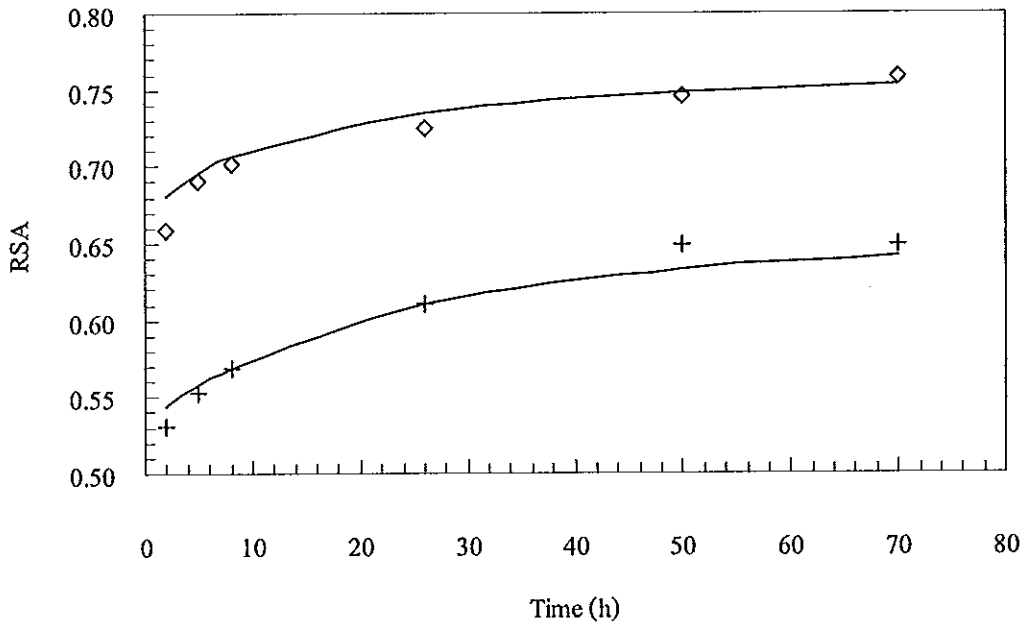


Figure19. The change for the ratio of short-range molecular order to amorphous region (RSA) of native (+) and heat-moisture treated at 27% moisture content (◇) of banana starch gels. The lines represent the Avrami equation fitting.

2.3 ระดับการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ (degree of enzyme hydrolysis)

จากการศึกษาระดับการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ของสตาร์ชกล้วยนางพญา โดยใช้เอนไซม์ porcine pancreatic *alpha*–amylase พบว่ารูปแบบการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ของสตาร์ชกล้วยนางพญาทั้งก่อนและหลังการดัดแปรด้วยวิธีความร้อนชื้น แสดงดัง Figure 20 โดยพบว่าความสามารถในการถูกย่อยด้วยเอนไซม์แบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอน (two-stage pattern) โดยช่วงแรกสตาร์ชกล้วยนางพญาถูกย่อยด้วยเอนไซม์อย่างรวดเร็วภายในเวลา 24 ชั่วโมงแรก จากนั้นการย่อยเกิดขึ้นอย่างช้าๆ จนเข้าสู่สมดุล จากการศึกษาลักษณะปรากฏของเม็ดสตาร์ชกล้วยนางพญาที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์อะมิเลส แสดงดัง Figure 22 ซึ่งพบว่าหลังจากถูกย่อยด้วยเอนไซม์ 54 ชั่วโมง ผิวหนังของเม็ดสตาร์ชเกิดเป็นรูพรุน มีลักษณะขรุขระ เกิดการสึกกร่อนที่บริเวณผิวหน้ามากกว่าที่ระยะเวลาการย่อย 10 ชั่วโมง นอกจากนั้นพบว่าสตาร์ชกล้วยนางพญาที่ผ่านการดัดแปรมีค่าระดับการถูกย่อยด้วยเอนไซม์สูงกว่าของสตาร์ชกล้วยนางพญาก่อนการดัดแปร และพบว่าเมื่อระดับความชื้นที่ใช้ในการดัดแปรเพิ่มขึ้น ค่าระดับการถูกย่อยด้วยเอนไซม์มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นแบบเชิงเส้น ($R^2 = 0.97$, $p < 0.05$) แสดงดัง Figure 21 โดยพบว่าลักษณะปรากฏของเม็ดสตาร์ชกล้วยนางพญาที่ถูกดัดแปรที่ระดับความชื้นสูง (27%) เกิดเป็นรูพรุน และเกิดการสึกกร่อนที่ผิวหน้ามากกว่าของสตาร์ชที่ถูกดัดแปรที่ระดับความชื้นต่ำ (18%) และก่อนการดัดแปร ตามลำดับ (Figure 22) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองการดัดแปรด้วยความร้อนชื้นของสตาร์ชข้าวสาลีและสตาร์ชมันฝรั่ง (Kulp and Lorenz, 1981) สตาร์ชถั่ว สตาร์ชมันฝรั่ง และสตาร์ชมันแกว (Hoover *et al.*, 1993; Hoover and Vasanthan, 1994) ทั้งนี้ค่าระดับการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ที่สูงขึ้นของสตาร์ชกล้วยนางพญาที่ผ่านการดัดแปร สามารถอธิบายได้ว่าอาจเป็นผลจากการเปลี่ยนแปลงรูปแบบโครงสร้างผลึกของสตาร์ชกล้วยนางพญาจากรูปแบบ B เป็นรูปแบบ A+B ภายหลังการดัดแปรด้วยวิธีความร้อนชื้น (ดังหัวข้อ 2.1.2) ซึ่ง Jane และคณะ(1997)ได้รายงานว่าโครงสร้างผลึกรูปแบบ A (A-type crystalline) มีความไวต่อการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ได้มากกว่าโครงสร้างผลึกรูปแบบ B (B-type crystalline) เนื่องจากโครงสร้างผลึกรูปแบบ A มีอะมิโลเพคตินสาย A (A-chain) ซึ่งเป็นโมเลกุลสายสั้น (DP 6-12) มากกว่าโครงสร้างผลึกรูปแบบ B ซึ่งอะมิโลเพคตินสาย A นี้สามารถเกิดอันตรกิริยากันเป็นสายโมเลกุลเกลียวคู่สายสั้นๆ (short double helices) ซึ่งสามารถเชื่อมต่อกับอะมิโลเพคตินสาย B ทำให้เกิดเป็นจุดเชื่อมต่อของโครงสร้างแบบกิ่ง (branch point) ในบริเวณส่วนที่เป็นผลึก (crystalline region) มากกว่าโครงสร้างผลึกรูปแบบ B เป็นผลให้โครงสร้างของสตาร์ชมีความแข็งแรงลดลงจึงสามารถถูกย่อยด้วยเอนไซม์ได้มากขึ้น นอกจากนั้น Wang และคณะ(1996)ได้รายงานว่า การดัดแปรด้วยวิธีความร้อนชื้นส่งผลทำให้เกิดรู (pores) หรือรอยแยกบริเวณทั้งหมดของเม็ดสตาร์ช และพบว่าเกิดการพองตัวของบริเวณส่วนอสัณฐานทำให้เม็ดสตาร์ชถูกย่อยด้วย

เอนไซม์ได้ง่ายขึ้น Hoover and Manuel (1996) ได้รายงานว่าความเข้มข้นของเอนไซม์อะมิเลสภายในเม็ดสตาร์ชที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีความร้อนชื้นมีค่าสูงกว่าของสตาร์ชก่อนการดัดแปร ทั้งนี้เนื่องจากเอนไซม์อะมิเลสสามารถแพร่ผ่านผิวหน้าของเม็ดสตาร์ชที่ถูกดัดแปรด้วยความร้อนชื้นได้มากกว่า จึงส่งผลให้สตาร์ชที่ผ่านการดัดแปรสามารถถูกย่อยด้วยเอนไซม์ได้มากกว่า อย่างไรก็ตามความแตกต่างของความสามารถในการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ของสตาร์ชอาจมีผลมาจากปัจจัยต่างๆ ดังนี้ ขนาดของเม็ดสตาร์ช (granular size) พื้นที่ผิวของเม็ดสตาร์ช (surface area) อัตราส่วนของอะมิโลสและอะมิโลเพคติน ปริมาณของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างอะมิโลสกับไขมัน ปริมาณผลึก และการกระจายตัวของตำแหน่งการเชื่อมต่อของพันธะ alpha (1-6) ระหว่างบริเวณที่เป็นอสัณฐานและบริเวณที่เป็นผลึกของอะมิโลเพคติน (Holm *et al.*, 1983; Hoover and Sosulski, 1991; Jane *et al.*, 1997; Planchot *et al.*, 1997)

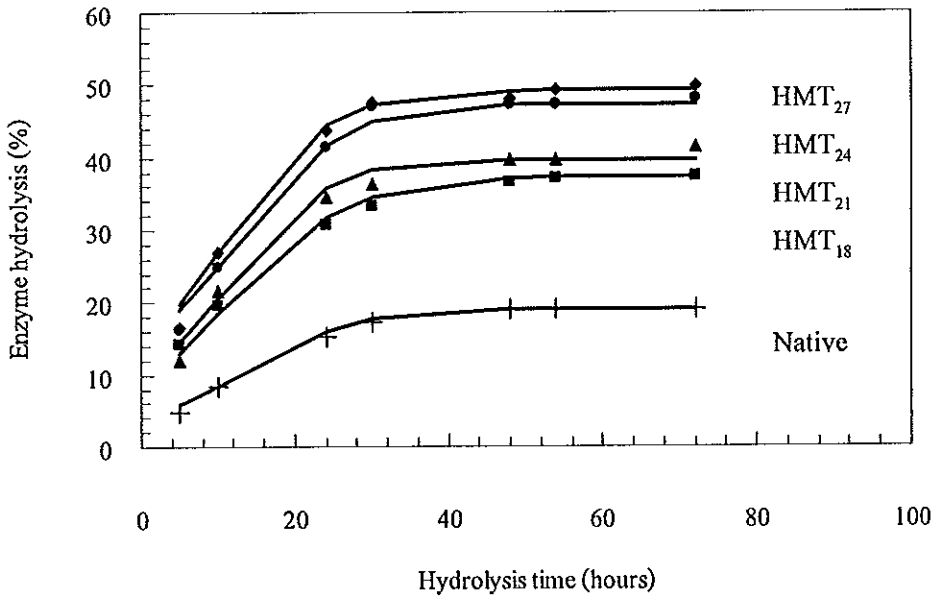


Figure 20. Enzyme hydrolysis of native (+) and heat-moisture treated banana starches (HMT) at 18 %(■), 21%(▲), 24%(•) and 27%(◆) moisture content.

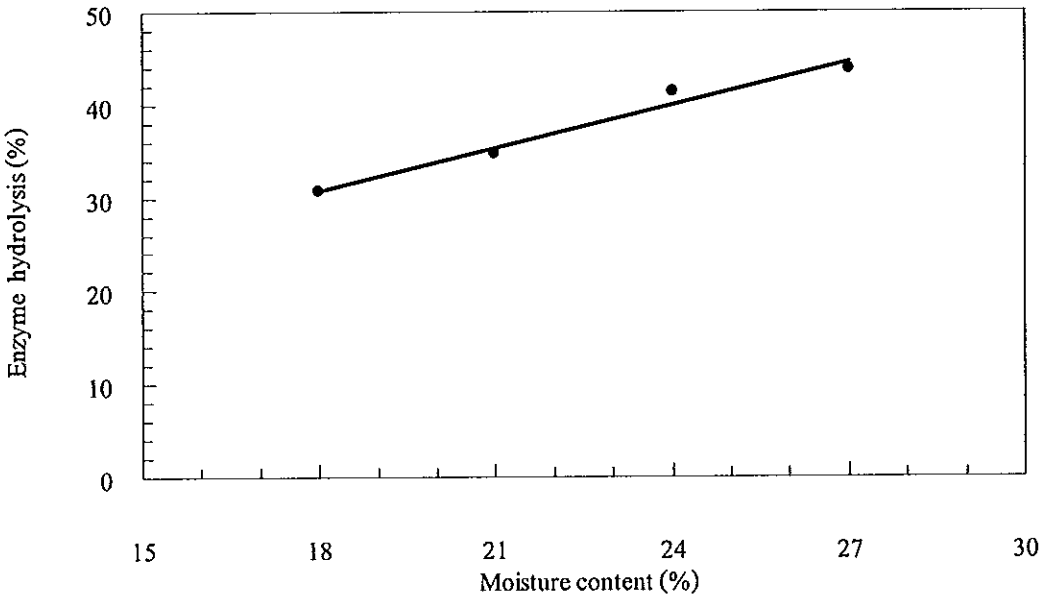
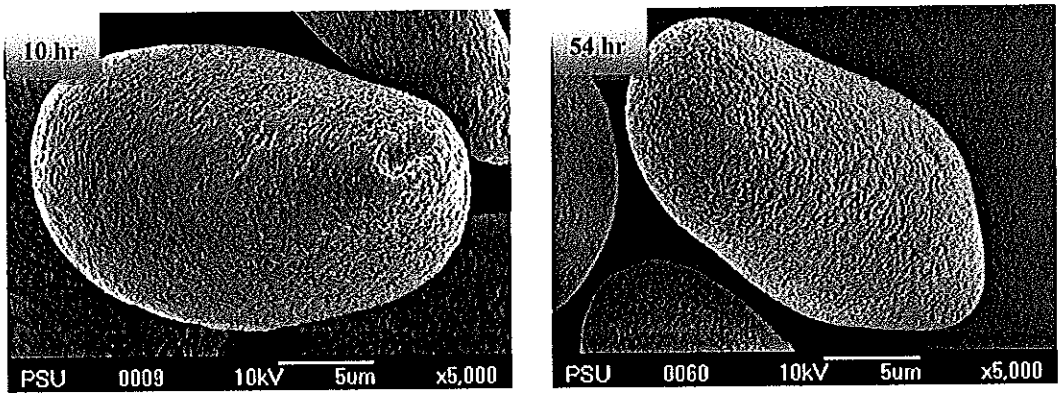
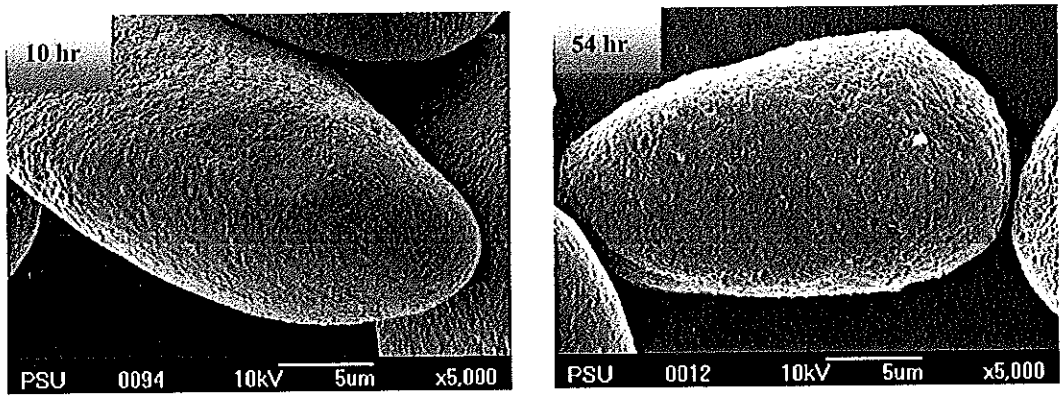


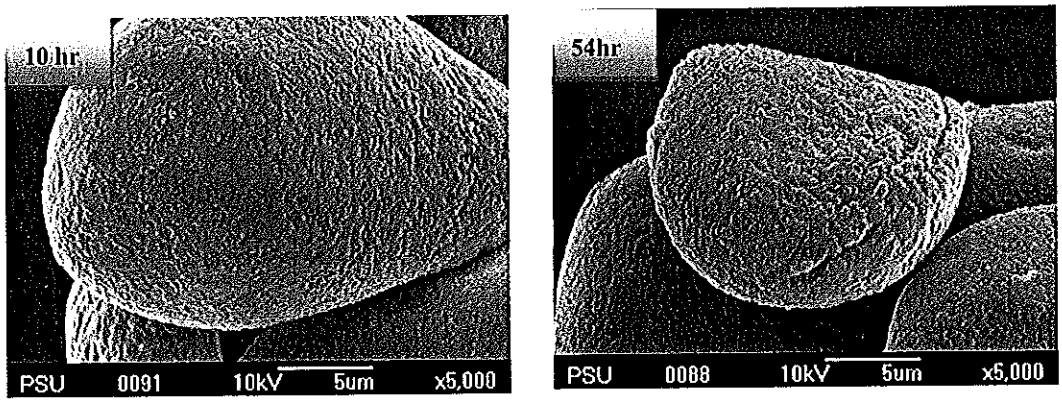
Figure 21. Relationship of enzyme hydrolysis at 24 hours to various moisture content of the heat-moisture treated banana starches (HMT).



(a)



(b)



(c)

Figure 22. SEM micrograph (x5000) of (a) native (b) heat-moisture treated banana starches at 18% moisture content and (c) heat-moisture treated banana starches 27% moisture content after attack by porcine pancreatic *alpha*–amylase.

2.4 ระดับการถูกย่อยด้วยกรด (degree of acid hydrolysis)

จากการศึกษาระดับการถูกย่อยด้วยกรดไฮโดรคลอริก 2.2 โมล ของสตาร์ชกล้วยนางพญา พบว่ารูปแบบการถูกย่อยด้วยกรดของสตาร์ชกล้วยนางพญาทั้งก่อนและหลังการดัดแปรด้วยวิธีความร้อนชื้นเป็นแบบ 2 ขั้นตอน (two-stage pattern) เช่นเดียวกับรูปแบบการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ แสดงดัง Figure 23 โดยพบว่าระดับการถูกย่อยด้วยกรดมีค่าเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วภายในเวลา 12 วันแรก จากนั้นการย่อยเกิดขึ้นอย่างช้าๆ จนเข้าสู่สมดุล ซึ่งสามารถอธิบายได้ว่าระดับการถูกย่อยที่เพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงแรกเป็นผลเนื่องจากการทำงานของกรดในบริเวณโครงสร้างส่วนอสัณฐาน (amorphous region) ซึ่งอยู่ใกล้กับบริเวณผิวหน้าของเม็ดสตาร์ช จากนั้นกรดจึงเข้าไปย่อยในบริเวณส่วนที่เป็นผลึก (crystalline region) ซึ่งเป็นส่วนที่มีความแข็งแรง โดยการย่อยเกิดขึ้นอย่างช้าๆ จนเข้าสู่สมดุล (Kainuma and French,1971; Cairna *et al.*, 1990) นอกจากนั้นพบว่าสตาร์ชกล้วยนางพญาภายหลังการดัดแปรมีระดับการถูกย่อยด้วยกรดสูงกว่าของสตาร์ชกล้วยนางพญาก่อนการดัดแปร และเมื่อระดับความชื้นที่ใช้ในการดัดแปรมีค่าเพิ่มขึ้น พบว่าระดับการถูกย่อยมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นแบบเชิงเส้น ($R^2 = 0.97$, $p < 0.05$) แสดงดัง Figure 24 สอดคล้องกับผลการทดลองการดัดแปรด้วยวิธีความร้อนชื้นของสตาร์ชถั่ว (legume starches) (Hoover and Manuel, 1996) สตาร์ชเผือก (Gunaratne and Hoover, 2002) Hoover (2000) ได้รายงานว่าความแตกต่างของความสามารถในการถูกย่อยด้วยกรดของสตาร์ชอาจมีผลมาจากปัจจัยต่างๆ ดังนี้ ขนาดของเม็ดสตาร์ช (granular size) ปริมาณการเกิดอันตรกิริยาของสายโมเลกุลของสตาร์ช ปริมาณโครงสร้างของสายโมเลกุลเกลียวคู่ในบริเวณส่วนที่เป็นอสัณฐาน องค์ประกอบทางเคมีของสตาร์ช อัตราส่วนของอะมิโลสและอะมิโลเพคติน และปริมาณของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างอะมิโลสกับไขมัน

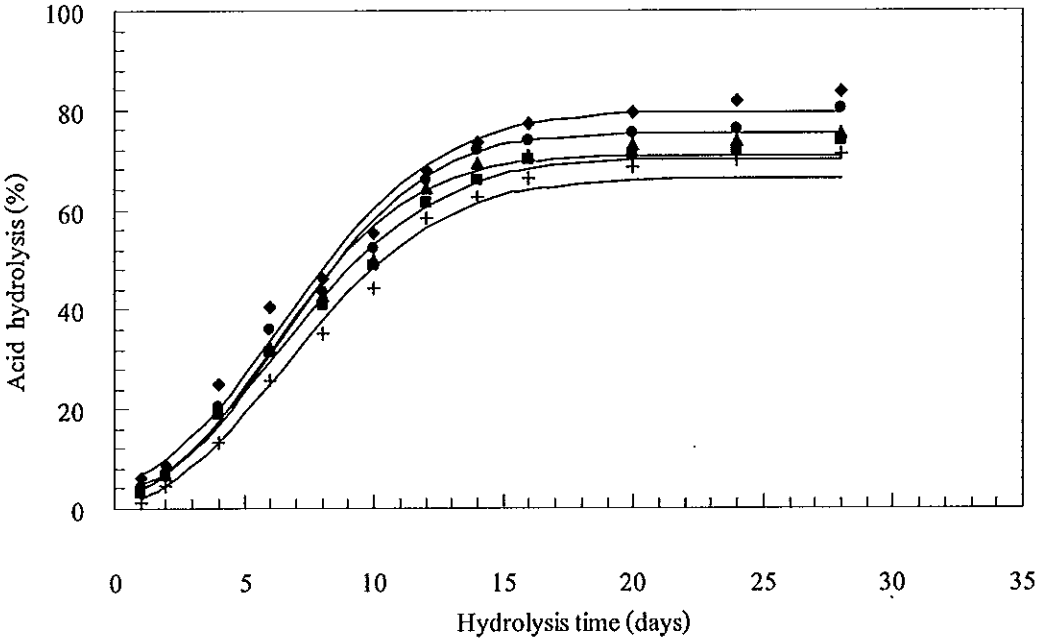


Figure 23. Acid hydrolysis of native (+) and heat-moisture treated banana starches (HMT) at 18% (■), 21%(▲), 24%(●) and 27%(◆) moisture content.

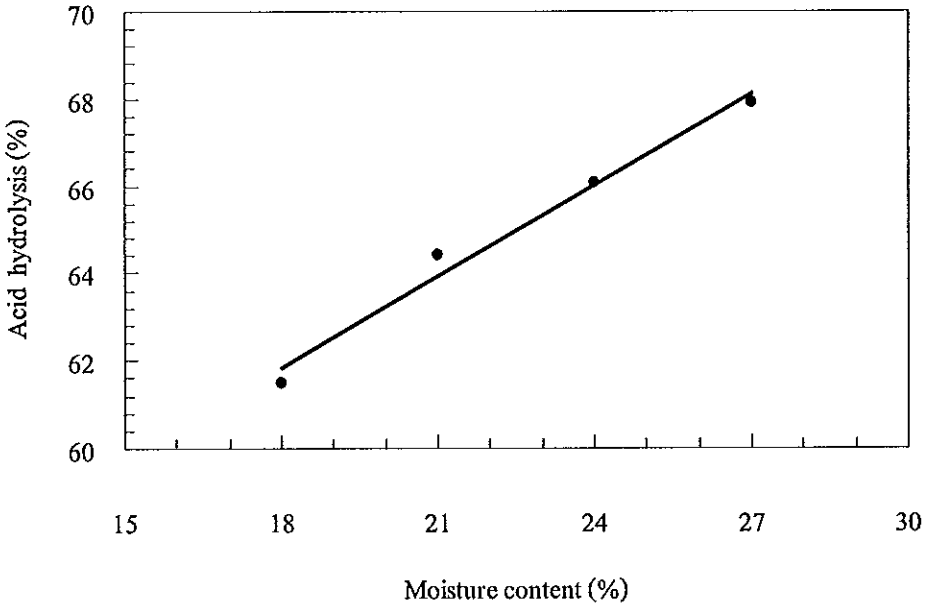


Figure 24. Relationship of acid hydrolysis at 12 days to various moisture content of the heat-moisture treated banana starch.

2.5 ปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ (resistant starch content)

จากการศึกษาปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ พบว่าสตาร์ชกล้วยนางพญาก่อนการดัดแปรด้วยวิธีความร้อนชื้น มีปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ร้อยละ 60.16 (โดยน้ำหนักแห้ง) ซึ่งมีค่าต่ำกว่าของสตาร์ชกล้วยสายพันธุ์ Musa acuminatar var. Nandigobe สตาร์ชมันฝรั่ง และสตาร์ชข้าวโพดที่มีปริมาณอะมิโลสสูง(amylomaize) ซึ่งมีปริมาณร้อยละ 95.1 ร้อยละ 66.50 และร้อยละ 71.40 ตามลำดับ (Champ *et al.*, 2002; Lehmann *et al.*, 2002) สตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ที่พบในสตาร์ชกล้วยนางพญาจัดเป็นสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ประเภทที่ 2 (RS type 2) คือสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ที่เกิดขึ้นเองโดยธรรมชาติ (native resistant starch granules) เนื่องจากสตาร์ชกล้วยมีขนาดของเม็ดสตาร์ชใหญ่ มีชั้นผิวนอกของเม็ดแกรนูลที่หนา ทำให้เม็ดแป้งไม่มีรูหรือช่องเปิดให้เอนไซม์เข้าไปในเม็ดแป้ง จึงทำให้ขัดขวางและป้องกันการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ได้ดี (Zhang *et al.*, 2005) เมื่อทำการดัดแปรสตาร์ชกล้วยนางพญาด้วยวิธีความร้อนชื้น พบว่าปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แสดงดัง Table 11 และพบว่าเมื่อระดับความชื้นที่ใช้ในการดัดแปรมีค่าเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์มีค่าลดลงแบบเชิงเส้น ($R^2= 0.97$, $p < 0.05$) แสดงดัง Figure 25 แต่อย่างไรก็ตามพบว่าปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ของสตาร์ชกล้วยนางพญาที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีความร้อนชื้นที่ระดับความชื้นร้อยละ 27 ซึ่งมีค่าต่ำสุดเท่ากับร้อยละ 34 ยังคงจัดอยู่ในกลุ่มของสตาร์ชที่มีปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ในระดับสูงมาก (very high) คือมากกว่าร้อยละ 15 (Goni *et al.*, 1996) ซึ่งยังคงมีความเหมาะสมในการนำไปประยุกต์ใช้สำหรับผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพ

Table 11. Resistant starch content of native and heat-moisture treated banana starches.

Treatment	Resistant starch content (%, db)
Native	$60.16^{a} \pm 0.28$
HMT_{18}	$57.87^{b} \pm 0.43$
HMT_{21}	$54.07^{c} \pm 0.50$
HMT_{24}	$42.25^{d} \pm 0.84$
HMT_{27}	$34.00^{e} \pm 0.84$

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

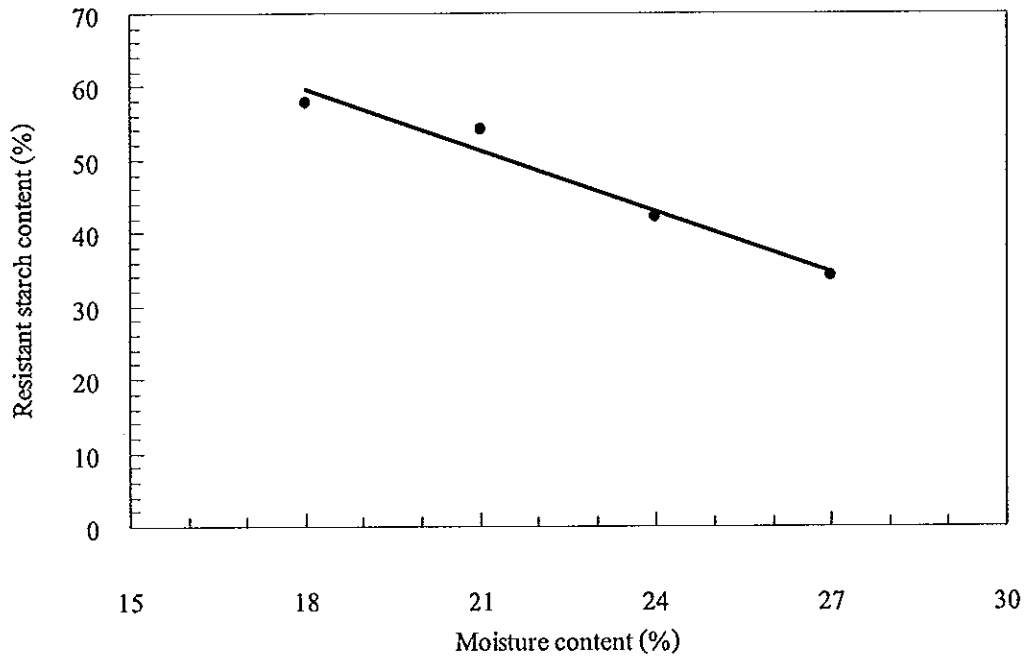


Figure 25. Relationship of resistant starch content to moisture content of the heat-moisture treated banana starches.

3. การดัดแปรสตาร์ชกล้วยนางพญาด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชัน (Retrogradation)

3.1 ระดับการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ pullulanase (degree of pullulanase hydrolysis)

จากการศึกษาระดับการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ pullulanase พบว่าสตาร์ชกล้วยนางพญามีระดับการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ pullulanase ร้อยละ 77.79 Lin และ Chang (2006) ได้รายงานว่าการย่อยด้วยเอนไซม์ 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) ขณะสตาร์ชเกิดรีโทรเกรเดชัน เกิดเป็นโครงสร้างของผลึกที่มีความแข็งแรงมากขึ้น ส่งผลทำให้ปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์เพิ่มสูงขึ้น (Guraya *et al.*, 2001) สอดคล้องกับการศึกษาของ Ozturk และคณะ (2009) และ Pongjanta และคณะ (2009) ซึ่งพบว่าสตาร์ชข้าวโพดที่มีปริมาณอะมิโลสสูงและสตาร์ชข้าวที่ผ่านการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ pullulanase ก่อนการเกิดรีโทรเกรเดชัน ส่งผลให้มีปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์เพิ่มสูงขึ้น

3.2 ลักษณะทางโครงสร้าง

3.2.1 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 26) ซึ่งมีรูปแบบโครงสร้างผลึกคล้ายคลึงกับแบบ B เช่นเดียวกับสตาร์ชกล้วยนางพญาก่อนการดัดแปร อย่างไรก็ตาม Gonzalez-Soto และคณะ (2006) ได้รายงานว่าสตาร์ชกล้วยแมกซิโกเมื่อผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชันที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 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) แต่อย่างไรก็ตามพบว่าปริมาณผลึกของสตาร์ชกล้วยนางพญาก่อนการดัดแปรมีค่าสูงกว่าภายหลังการดัดแปรอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แสดงดัง Table 12 จากการพิจารณาค่าปริมาณผลึก

สัมพัทธ์ (relative crystallinity) พบว่ามีค่าเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 54.47 เป็นร้อยละ 76.77 เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นจาก 1 วันเป็น 15 วัน Figure 27 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 ซึ่งเป็นผลจากการจัดเรียงตัวของสายอะมิโลเพคตินทำให้เกิดการจัดเรียงตัวเป็นโครงสร้างผลึกที่แข็งแรงขึ้น (Goodfellow and Wilson, 1990) Lu และคณะ (1997) ได้รายงานว่าปริมาณผลึกที่เกิดจากกระบวนการเกิดรีโทรเกรเดชัน อาจเป็นผลมาจากหลายปัจจัยได้แก่ ปริมาณอะมิโลสและ/หรืออะมิโลเพคติน ความเข้มข้นของสตาร์ช ระยะเวลาและอุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษา

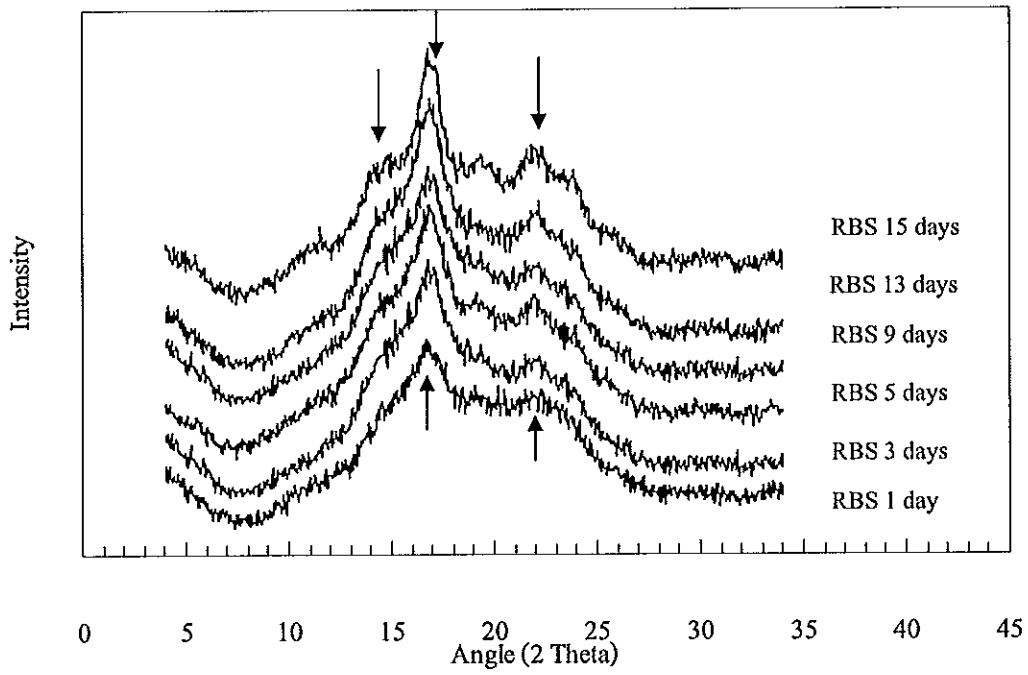


Figure 26. Crystallinity pattern of retrograded banana starches (RBS) at various storage times. Arrow denoted growing peaks at 15.17° 16.93° 23.33° (2 Theta).

Table 12. Crystallinity and relative crystallinity of native and retrograded banana starches (RBS) at various storage times.

Treatment	Crystallinity (%)	Relative crystallinity (%)
Native	$36.81^{a} \pm 0.83$	100
RBS 1 day	$20.05^{d} \pm 0.06$	54.47
RBS 3 days	$23.18^{c} \pm 0.16$	62.97
RBS 5 days	$23.61^{c} \pm 0.02$	64.14
RBS 9 days	$27.35^{b} \pm 0.28$	74.30
RBS 13 days	$27.58^{b} \pm 0.04$	74.93
RBS 15 days	$28.26^{b} \pm 0.04$	76.77

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

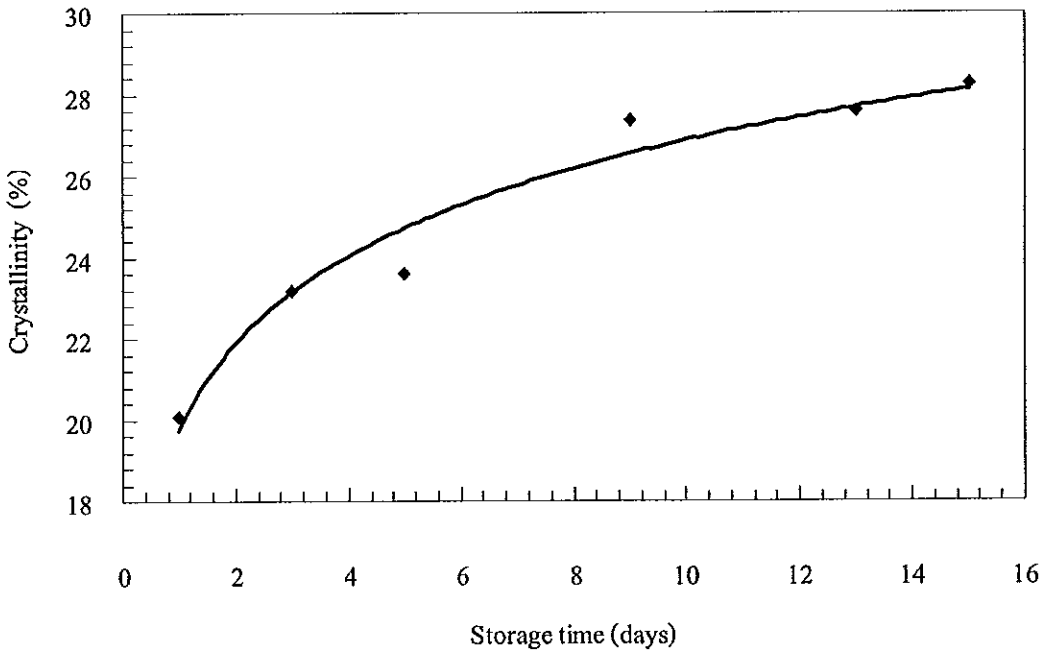


Figure 27. The change of the crystallinity of retrograded banana starches (RBS) at various storage times.

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

เมื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของโมเลกุลที่มีการจัดเรียงตัวแบบเกลียวคู่ (short-range molecular order) ของสตาร์ชกล้วยนางพญาภายหลังการดัดแปรด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชัน ที่อุณหภูมิ 4°C พบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น พีคการดูดกลืนแสงที่ 1047 cm^{-1} มีลักษณะเด่นชัดขึ้น ซึ่งเป็นพีคที่มีความสัมพันธ์กับปริมาณสายเกลียวคู่ (double helix) (van Soet *et al.*, 1995) แสดงดัง Figure 28 เมื่อพิจารณาค่าสัดส่วนของโมเลกุลที่มีการจัดเรียงตัวแบบเกลียวคู่ต่อส่วนอสัณฐาน (RSA) ของสตาร์ชกล้วยนางพญาพบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น ค่า RSA มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Bello-Perez และคณะ (2005) แต่อย่างไรก็ตามพบว่าค่า RSA ของสตาร์ชกล้วยนางพญาก่อนการดัดแปรมีค่าสูงกว่าภายหลังการดัดแปรอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แสดงดัง Table 13 จากการพิจารณาค่า RSA สัมพัทธ์ (relative RSA) พบว่ามีค่าเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 72.05 เป็นร้อยละ 91.16 เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นจาก 1 วัน เป็น 15 วัน Figure 29 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)

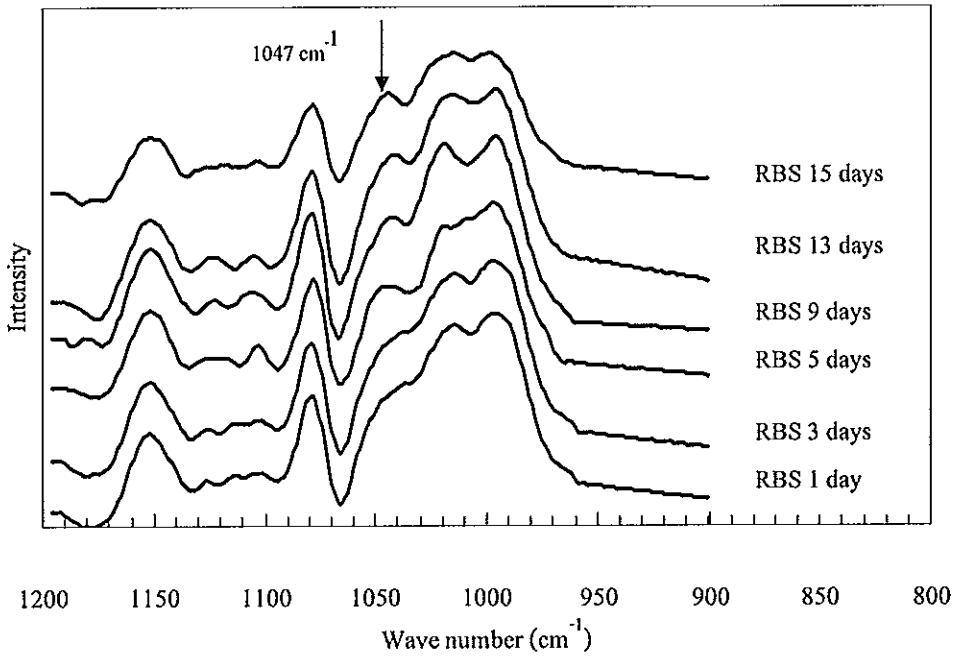


Figure 28. Deconvoluted ATR-FTIR spectra of retrograded banana starches (RBS) at various storage times. Arrow indicated growing peaks at 1047 cm^{-1}.

Table 13. 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 ($p < 0.05$).

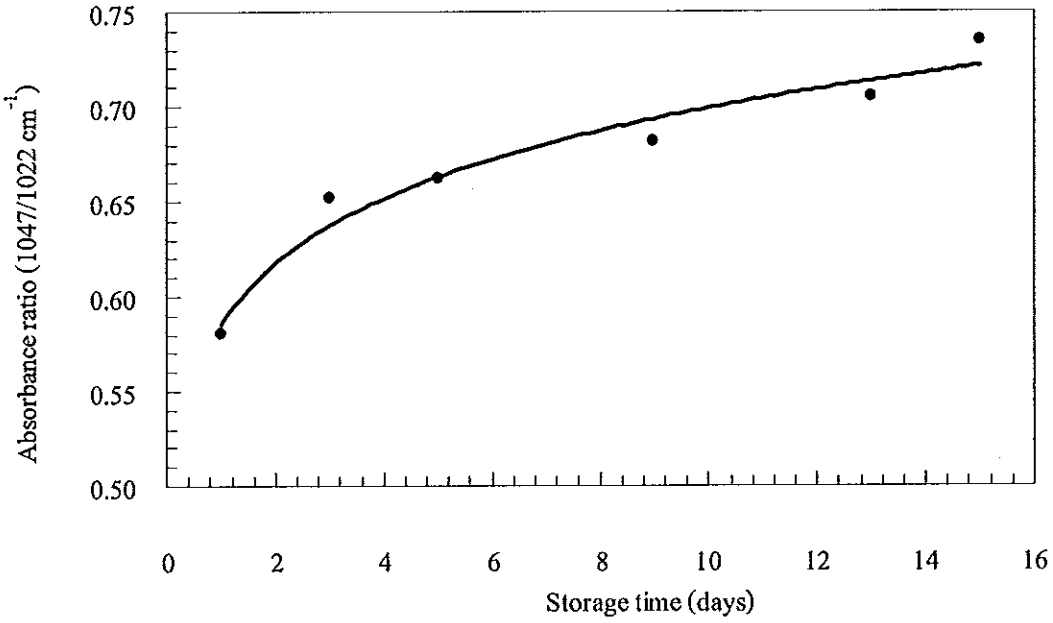


Figure 29. The change of absorbance ratio at wave number 1047 cm^{-1} to 1022 cm^{-1} of retrograded banana starches (RBS) at various storage times.

3.3 คุณสมบัติเชิงหน้าที่

3.3.1 คุณสมบัติทางความร้อน (thermal propertie)

จากการศึกษาคุณสมบัติทางความร้อนของสตาร์ชกล้วยนางพญาภายหลังการดัดแปรด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชัน พบว่าสตาร์ชกล้วยนางพญาภายหลังการดัดแปรยังคงแสดงพีคที่มีลักษณะดูดความร้อน (endotherm) ดัง Figure 30 และเมื่อเปรียบเทียบผลของระยะเวลาที่ใช้ในการเก็บรักษา พบว่าเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น อุณหภูมิเริ่มต้นการเกิดเจลาติไนเซชัน(To) มีค่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แสดงดัง Table 14 จากการพิจารณาช่วงอุณหภูมิในการเกิดเจลาติไนเซชัน (Tc-To) พบว่าสตาร์ชกล้วยนางพญาที่ผ่านการดัดแปรมีค่า (Tc-To) มากกว่าสตาร์ชกล้วยนางพญาก่อนการดัดแปรอย่างมีนัยสำคัญ($p < 0.05$) ซึ่งอาจเป็นผลเนื่องมาจากการเกิดความหลากหลายไม่เป็นหนึ่งเดียวกันของโครงสร้างผลึก(heterogeneity of the crystallites) ขณะที่เกิดรีโทรเกรเดชัน (Vasanthan and Bhatty, 1996) นอกจากนั้นพบว่าค่าพลังงานที่ใช้ในการเกิดเจลาติไนเซชัน (ΔH) ของสตาร์ชกล้วยนางพญาภายหลังการดัดแปร มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น จากการพิจารณาค่าเอลทัลปีสัมพัทธ์ (relative enthalpy) พบว่ามีค่าเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 43.08 เป็นร้อยละ 78.78 เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นจาก 1 วันเป็น 15 วัน ซึ่งอธิบายได้ว่าเป็นผลจากการจัดเรียงตัวของโครงสร้างผลึกใหม่เพิ่มมากขึ้น

ระหว่างกระบวนการเกิดรีโทรเกรเดชัน ดังนั้นจึงต้องใช้พลังงานมากขึ้นในการหลอมละลายโครงสร้างของผลึกที่เกิดขึ้นใหม่ (Bello-Perez *et al.*, 2005) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Chung และคณะ (2006) ที่พบว่าค่า ΔH ของสตาร์ชข้าวที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชัน ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 4°C มีค่าเพิ่มมากขึ้น เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น Figure 31 แสดงให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงค่า ΔH กับระยะเวลาการเก็บรักษา โดยพบว่าค่าΔH เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเป็น13.54 (J/g) ภายใน 9 วันแรกของการเก็บรักษา จากนั้นมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ จนมีค่าเท่ากับ 15.48 (J/g) ที่ระยะเวลาเก็บรักษา 15 วัน ซึ่งผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างผลึก (ดังหัวข้อ 3.2.1) และการเปลี่ยนแปลงของโมเลกุลที่มีการจัดเรียงตัวแบบเกลียวคู่ (ดังหัวข้อ 3.2.2)

จากการศึกษาความสัมพันธ์ของการเกิดรีโทรเกรเดชันกับระยะเวลาการเก็บรักษา พบว่าการวัดด้วยเทคนิค DSC ซึ่งเป็นการวัดพลังงานในการหลอมละลายโครงสร้างของผลึกที่เกิดขึ้นใหม่ มีค่าใกล้เคียงกับเทคนิค XRD แสดงดัง Figure 32 ซึ่งเป็นการวัดการจัดเรียงตัวของโครงสร้างของสายโมเลกุลที่มีการรวมตัวกันเป็นโครงสร้างผลึก (long-range molecular order) อย่างไรก็ตามพบว่าค่าการเกิดรีโทรเกรเดชันสัมพัทธ์ ที่ได้จากการติดตามด้วยเทคนิค FTIR มีค่าสูงกว่าค่าการเกิดรีโทรเกรเดชันสัมพัทธ์ที่ได้จากการติดตามด้วยเทคนิค XRD และ DSC อธิบายได้ว่าการติดตามด้วยเทคนิค FTIR นั้นสามารถตรวจวัดสายโมเลกุลที่มีการจัดเรียงตัวแบบเกลียวคู่ (short-range molecular order) ซึ่งเกิดขึ้นตั้งแต่ช่วงแรกของกระบวนการเกิดรีโทรเกรเดชัน (Bulkin and Kwak, 1987)

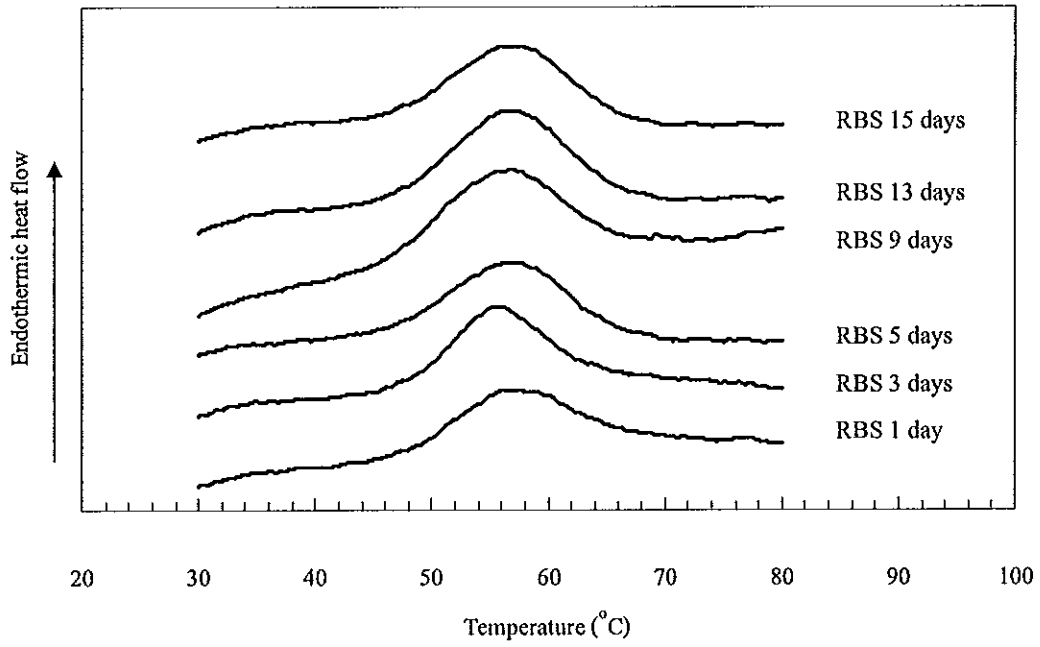


Figure 30. Thermogram of retrograded banana starches (RBS) at various storage times.

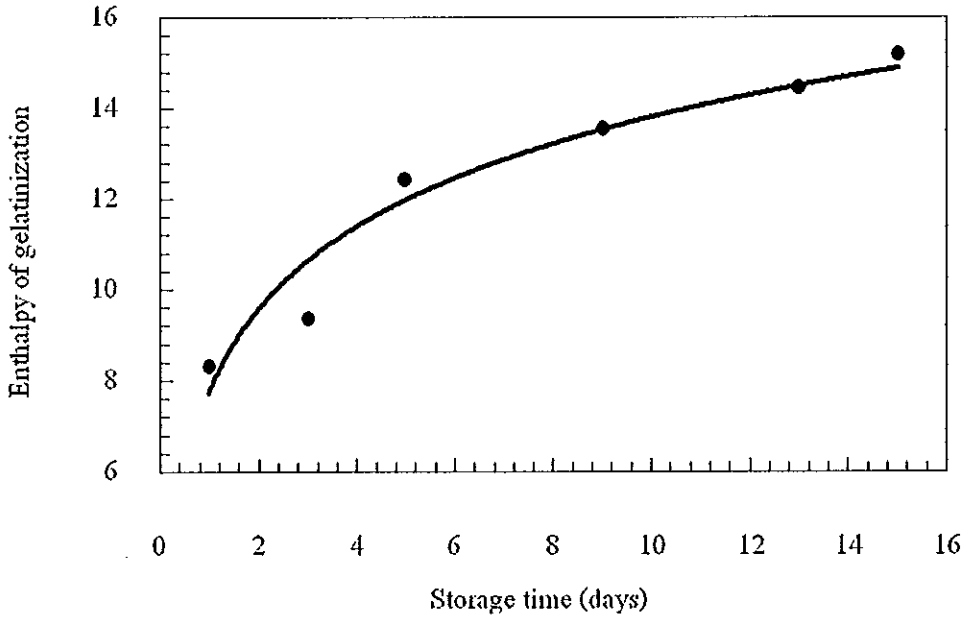


Figure 31. The change of the enthalpy of retrograded banana starches (RBS) at various storage times.

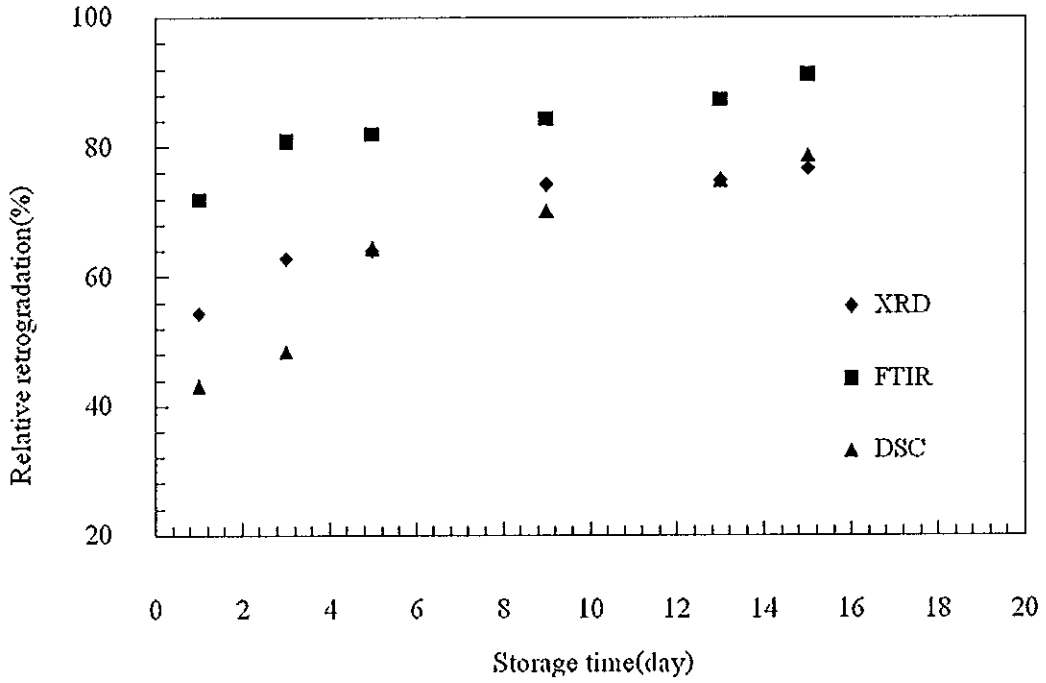


Figure 32. Comparison of relative retrogradation of retrograded banana starches (RBS) as measured by three techniques (XRD, FTIR and DSC).

Table 14. 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	$72.70^{a} \pm 0.35$	$77.83^{a} \pm 0.17$	$82.77^{a} \pm 0.22$	$10.09^{c} \pm 0.14$	$19.27^{a} \pm 0.48$	100
RBS 1 day	$51.52^{cd} \pm 0.07$	$59.94^{e} \pm 0.48$	$68.58^{c} \pm 0.48$	$17.06^{b} \pm 0.54$	$8.30^{f} \pm 0.30$	43.08
RBS 3 days	$51.44^{d} \pm 0.27$	$59.39^{ef} \pm 0.19$	$68.33^{c} \pm 0.54$	$16.89^{b} \pm 0.37$	$9.35^{e} \pm 0.33$	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	$52.19^{bc} \pm 0.35$	$61.44^{d} \pm 0.35$	$71.34^{b} \pm 0.31$	$19.15^{a} \pm 0.32$	$13.54^{c} \pm 0.62$	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 ($p < 0.05$)

3.3.2 คุณสมบัติทางรีโอโลยี (rheology properties)

3.3.2.1 คุณสมบัติการเกิดเพสท์ของสตาร์ช (pasting properties)

ศึกษาการเปลี่ยนแปลงความหนืดในสภาวะที่เป็นกลาง (พีเอช 7.0) ของสตาร์ชกล้วยนางพญาทั้งก่อนและหลังการดัดแปรด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชันด้วยเครื่อง Rapid Visco Analyzer (RVA) พบว่ามีรูปแบบความหนืดแสดงดัง Figure 33 สำหรับค่าพารามิเตอร์ทางความหนืดแสดงดัง Table 15 ซึ่งพบว่าอุณหภูมิเริ่มเปลี่ยนแปลงความหนืด ค่าความหนืดสูงสุด ค่า breakdown และค่าความหนืดจากการคืนตัวของสตาร์ชกล้วยนางพญาที่ผ่านการดัดแปรมีค่าต่ำกว่าของสตาร์ชกล้วยนางพญาก่อนการดัดแปรอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อทำการดัดแปรสตาร์ช กล้วยนางพญาด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชัน 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) จากเหตุผลดังกล่าวส่งผลให้โครงสร้างของสตาร์ชกล้วยนางพญาที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชัน โดยเก็บรักษาที่ระยะเวลานาน มีความแข็งแรงขึ้น

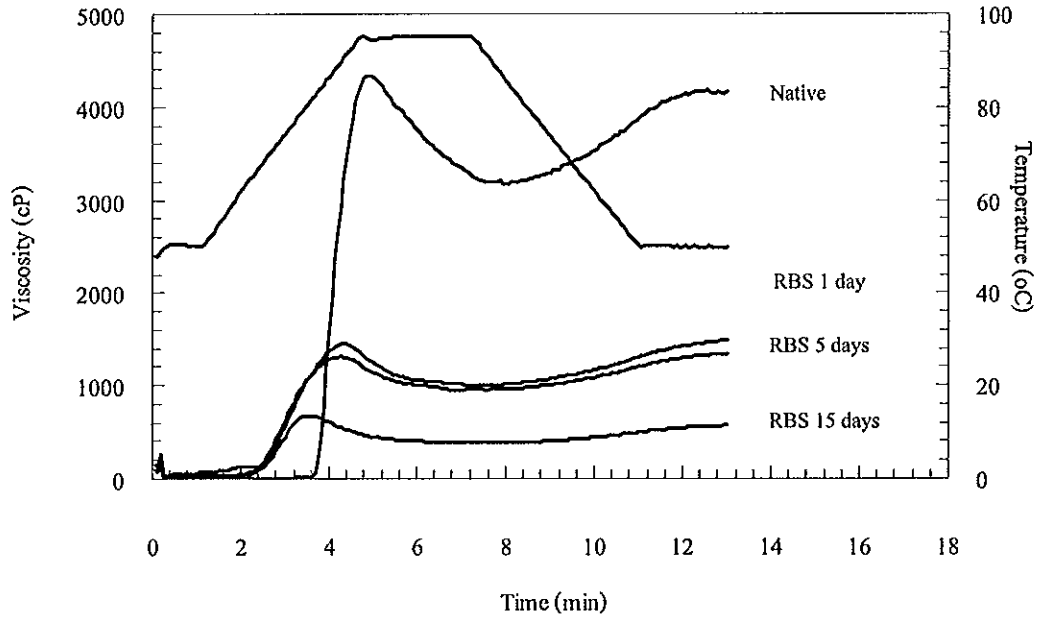


Figure 33. Pasting profile at pH 7.0 of native and retrograded banana starches (RBS) at 1, 5 and 15 days of storage times.

Table 15. 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 ($p < 0.05$).

3.3.2.2 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 34 และจากการศึกษาค่าดัชนีพฤติกรรมการไหล (n) ของสตาร์ชกล้วยนางพญาทั้งก่อนและหลังการดัดแปรพบว่ามีค่าน้อยกว่า 1 ซึ่งแสดงให้เห็นว่ามีพฤติกรรมการไหลแบบ shear-thinning (pseudoplastic) (Doublier, 1981; Noel *et al.*, 1993) เมื่อพิจารณาค่าสัมประสิทธิ์ทางความหนืด (k) พบว่าสตาร์ชกล้วยนางพญาภายหลังการดัดแปรที่ทุกระยะเวลาการเก็บรักษามีค่าต่ำกว่าของสตาร์ชกล้วยนางพญาก่อนการดัดแปรอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แสดงดัง Table 16 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 จึงทำให้โครงสร้างของสตาร์ชกล้วยนางพญามีความแข็งแรงขึ้นและสามารถทนต่อการเฉือน (shear) ได้มากขึ้นด้วย (Miles *et al.*, 1985; Orford *et al.*, 1987; Clark *et al.*, 1989; Gidley, 1989; Goodfellow and Wilson, 1990)

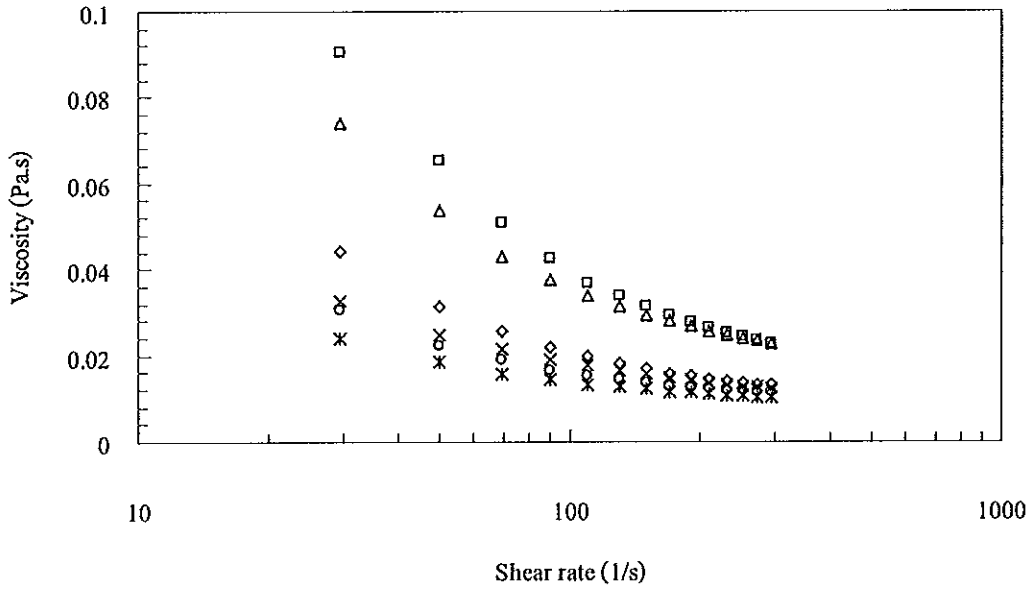


Figure 34. Relationship of apparent viscosity and shear rate of retrograded banana starches (RBS) at 1(□), 3(△), 5(◇), 9(x), 13(○) and 15(✳) days of storage times.

Table 16. 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 ($p < 0.05$)

3.3.2.3 คุณสมบัติวิสโคอิลาสติก (viscoelastic properties)

ศึกษาสมบัติวิสโคอิลาสติกแบบการสั่นทางพลวัติ (dynamic oscillation) ของสตาร์ชเพสท์ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 8 (โดยน้ำหนักแห้ง) ที่อุณหภูมิ 25 °C โดยทำการทดลองในช่วง linear viscoelastic จากการวิเคราะห์พารามิเตอร์ของสมบัติวิสโคอิลาสติก พบว่าสตาร์ชกล้วยนางพญาทั้งก่อนและหลังการดัดแปรด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชัน มีค่า G' สูงกว่าค่า G" แสดงดัง Figure 35 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 ส่งผลให้เกิดการจัดเรียงตัวเป็นโครงสร้างผลึกใหม่ (recrystalline) ได้มากขึ้น (Goodfellow and Wilson, 1990) ทำให้โครงสร้างของสตาร์ชกล้วยนางพญามีความแข็งแรงขึ้น เป็นผลให้คุณลักษณะของเจลที่ได้ มีความแข็งแรงยิ่งขึ้น และจากการศึกษาผลของระยะเวลาการเก็บรักษาต่อค่า G' ที่ความถี่1 Hz พบว่าค่า G' ของเจลจากสตาร์ชกล้วยนางพญาที่ผ่านการดัดแปรมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้นแสดงดัง Figure 36 โดยมีค่าเพิ่มขึ้นจาก 387.40 เป็น 491.32 Pa เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นจาก 1 วันเป็น 15 วัน แสดงดัง Table 17

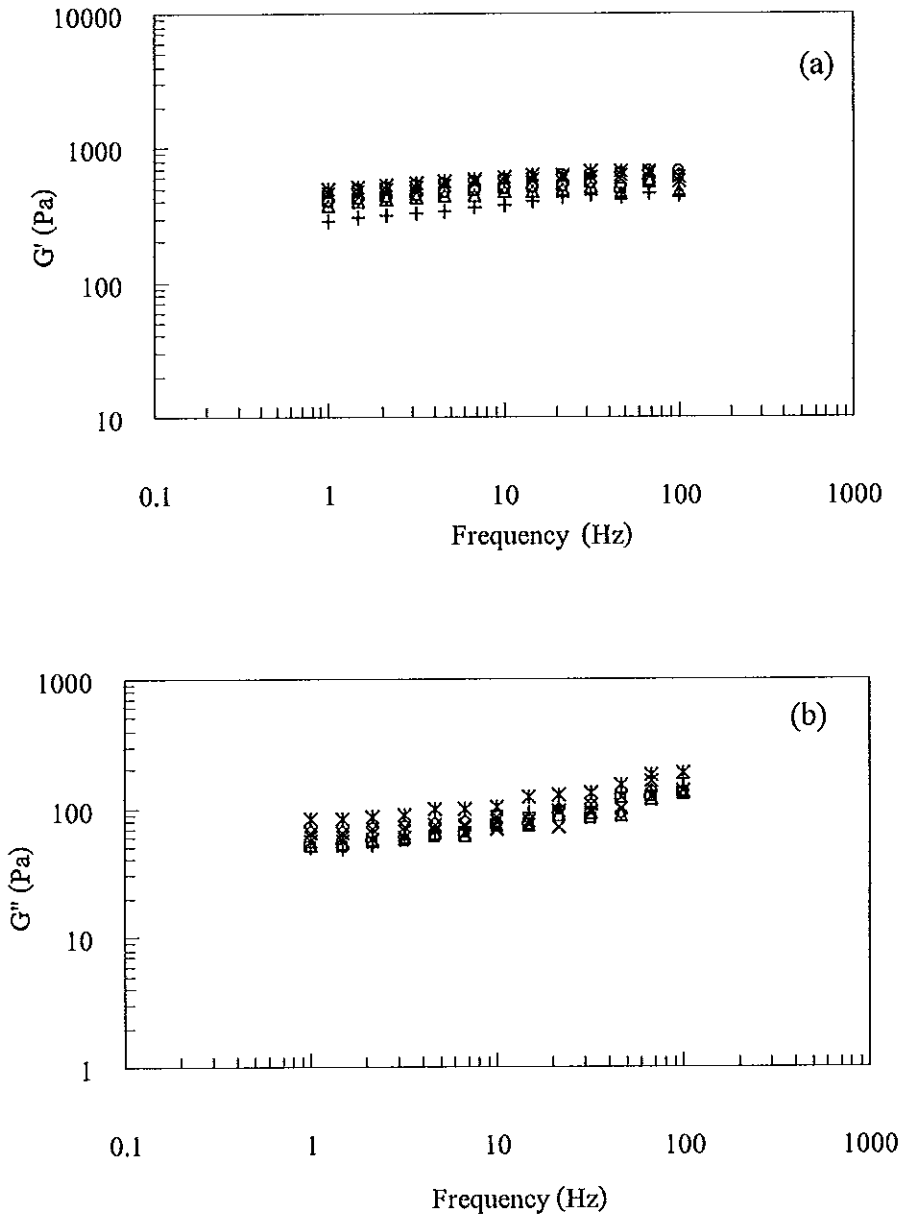


Figure 35. Effect of frequency on (a) G' and G" (b) of 8% starch paste for native (+) and retrograded banana starches (RBS) at 1(□), 3(△), 5(◇), 9(x), 13(○) and 15(✳) days of storage time. All samples were measured at 25°C and at 0.1-100 Hz.

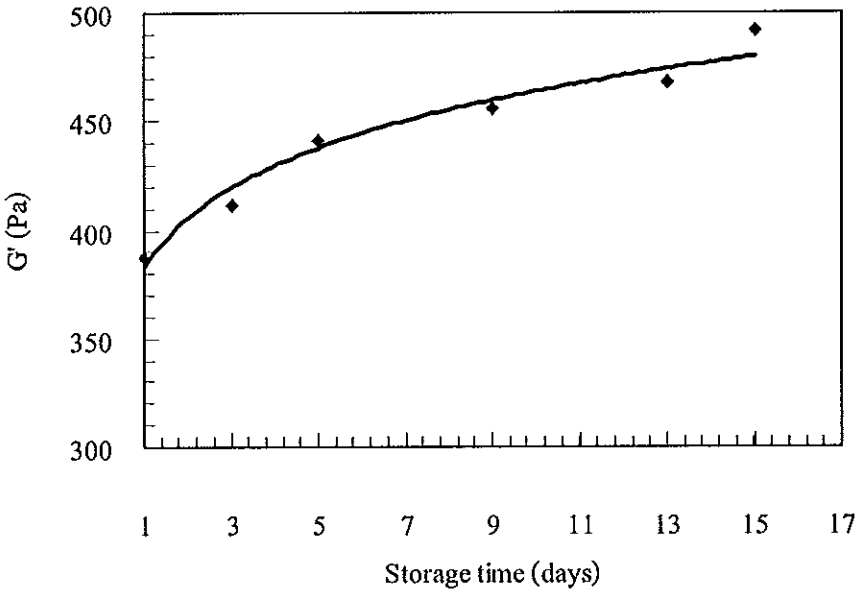


Figure 36. G' value (at 1 Hz) of 8% starch paste for retrograded banana starches (RBS) at various storage times.

Table 17. Viscoelastic parameters of native and retrograded banana starches (RBS) at concentration of 8% (w/w) and at 1 Hz.

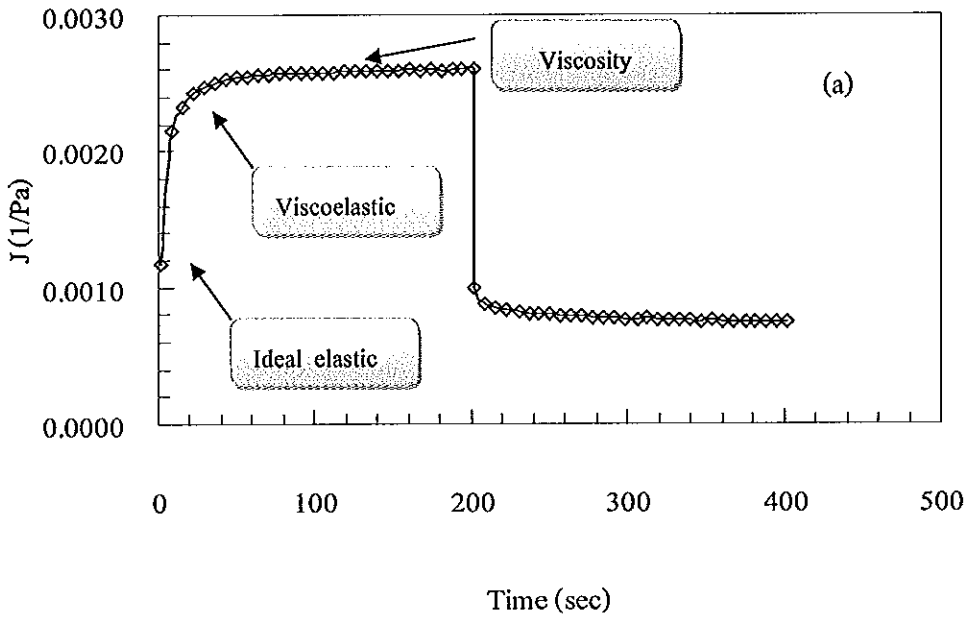
Treatment	G' (Pa)	G" (Pa)	tan δ
Native	$294.44^{e} \pm 24.47$	$50.24^{c} \pm 1.15$	$0.172^{a} \pm 0.017$
RBS1 day	$387.40^{d} \pm 6.88$	$53.08^{c} \pm 2.87$	$0.137^{bc} \pm 0.005$
RBS3 days	$411.66^{cd} \pm 41.09$	$55.56^{c} \pm 2.24$	$0.139^{b} \pm 0.000$
RBS5 days	$440.74^{bc} \pm 36.10$	$57.88^{c} \pm 2.61$	$0.141^{b} \pm 0.001$
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 ($p < 0.05$).

3.3.2.4 การวิเคราะห์ความคืบ (creep study)

ศึกษาการคืบ (creep compliance) และการคืนตัวจากการคืบ (creep recovery) ของเจลจากสตาร์ชกล้วยนางพญาก่อนและหลังการดัดแปรด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชัน ด้วยเครื่องรีโอโลยี จากการศึกษาความสัมพันธ์ของค่า compliance กับเวลาในรูปแบบจำลองทางคณิตศาสตร์โดยใช้แบบจำลอง Burger model พบว่าการเปลี่ยนแปลงการคืบของเจลจากสตาร์ชกล้วยนางพญาที่ผ่านการดัดแปร สามารถแบ่งได้เป็น 3 ช่วง (Sherman, 1970) แสดงดัง Figure 37b คือ ช่วง ideal elastic ช่วง viscoelastic และช่วง viscosity เช่นเดียวกับการเปลี่ยนแปลงการคืบของเจลจากสตาร์ชกล้วยนางพญาก่อนการดัดแปร (Figure 37a) แต่อย่างไรก็ตามพบว่าการเปลี่ยนแปลงการคืบของเจลจากสตาร์ชกล้วยนางพญาที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชันมีความแตกต่างจากการดัดแปรด้วยวิธีความร้อนชื้น ที่พบการเปลี่ยนแปลงการคืบเฉพาะช่วง ideal elastic (ดังหัวข้อ 2.3.3) 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 18 นอกจากนั้นพบว่าการดัดแปรสตาร์ชกล้วยนางพญาด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชันที่ระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น ค่า G_0 และ G_1 มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยพบว่า G_0และ 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 ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาคุณสมบัติการเกิดเพสท์ของสตาร์ช (ดังหัวข้อ 3.3.2.1) และคุณสมบัติวิสโคอิลาสติก (ดังหัวข้อ 3.3.2.3)



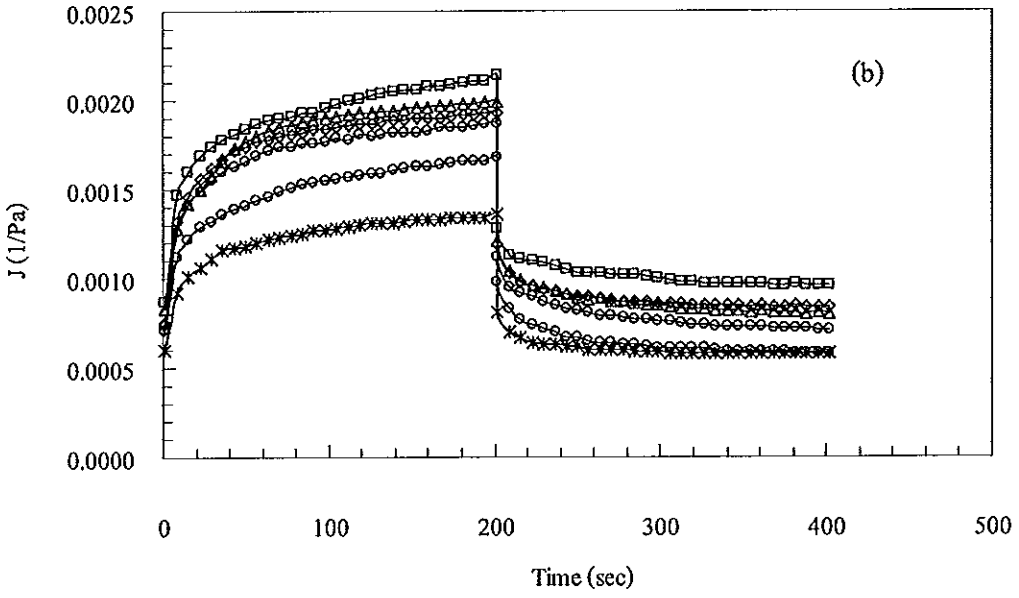


Figure 37. Creep compliance and creep recovery for (a) native and (b) retrograded banana starches (RBS) of 10 % starch paste at 1(□), 3(△), 5(◇), 9(x), 13(○) and 15(∗) days of storage time. All samples were measured at 25°C and at 10 Pa.

Table18. Creep parameters of native and retrograded banana starches (RBS) at concentration of 10% (w/w).

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

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

3.4 ระดับการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ (degree of enzyme hydrolysis)

จากการศึกษาระดับการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ของสตาร์ชกล้วยนางพญา โดยใช้เอนไซม์ porcine pancreatic *alpha*–amylase พบว่ารูปแบบการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ของสตาร์ชกล้วยนางพญาทั้งก่อนและหลังการดัดแปรด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชัน แสดงดัง Figure 38 โดยพบว่าความสามารถในการถูกย่อยด้วยเอนไซม์แบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอน (two-stage pattern) โดยพบว่าที่ระยะเวลาการเก็บรักษาน้อยกว่า 15 วัน ค่าระดับการถูกย่อยด้วยเอนไซม์เพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วภายในเวลา 24 ชั่วโมงแรก จากนั้นการย่อยเกิดขึ้นอย่างช้าๆ จนเข้าสู่สมดุล แต่อย่างไรก็ตามที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 15 วัน ระดับการถูกย่อยด้วยเอนไซม์เพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วภายในเวลา 10 ชั่วโมงแรก นอกจากนั้นพบว่าการดัดแปรสตาร์ชกล้วยนางพญาด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชันที่ระยะเวลาการเก็บรักษาที่นานขึ้น ส่งผลให้ระดับการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ลดลงแบบเชิงเส้น (R^2 = 0.94, $p < 0.05$) แสดงดัง Figure 39 และพบว่าที่ระยะเวลาการเก็บรักษานานกว่า 9 วัน สตาร์ชกล้วยนางพญาที่ผ่านการดัดแปรมีค่าระดับการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ต่ำกว่าของสตาร์ชกล้วยนางพญาก่อนการดัดแปรอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) 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 ชั่วโมง เป็น 1 วัน จากผลการทดลองสามารถอธิบายได้การดัดแปรสตาร์ชกล้วยนางพญาด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชันที่ระยะเวลาการเก็บรักษาที่นานขึ้นส่งผลให้การจัดเรียงตัวใหม่ของโครงสร้างผลึกสตาร์ชเกิดได้มากขึ้น จึงเป็นผลให้สตาร์ชถูกย่อยด้วยเอนไซม์ได้ยากขึ้น (Ring *et al.*, 1987; Mile *et al.*, 1984)

3.4 ระดับการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ (degree of enzyme hydrolysis)

จากการศึกษาระดับการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ของสตาร์ชกล้วยนางพญา โดยใช้เอนไซม์ porcine pancreatic *alpha*–amylase พบว่ารูปแบบการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ของสตาร์ชกล้วยนางพญาทั้งก่อนและหลังการดัดแปรด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชัน แสดงดัง Figure 38 โดยพบว่าความสามารถในการถูกย่อยด้วยเอนไซม์แบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอน (two-stage pattern) โดยพบว่าที่ระยะเวลาการเก็บรักษาน้อยกว่า 15 วัน ค่าระดับการถูกย่อยด้วยเอนไซม์เพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วภายในเวลา 24 ชั่วโมงแรก จากนั้นการย่อยเกิดขึ้นอย่างช้าๆ จนเข้าสู่สมดุล แต่อย่างไรก็ตามที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 15 วัน ระดับการถูกย่อยด้วยเอนไซม์เพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วภายในเวลา 10 ชั่วโมงแรก นอกจากนั้นพบว่าการดัดแปรสตาร์ชกล้วยนางพญาด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชันที่ระยะเวลาการเก็บรักษาที่นานขึ้น ส่งผลให้ระดับการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ลดลงแบบเชิงเส้น (R^2 = 0.94, $p < 0.05$) แสดงดัง Figure 39 และพบว่าที่ระยะเวลาการเก็บรักษานานกว่า 9 วัน สตาร์ชกล้วยนางพญาที่ผ่านการดัดแปรมีค่าระดับการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ต่ำกว่าของสตาร์ชกล้วยนางพญาก่อนการดัดแปรอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) 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 ชั่วโมง เป็น 1 วัน จากผลการทดลองสามารถอธิบายได้การดัดแปรสตาร์ชกล้วยนางพญาด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชันที่ระยะเวลาการเก็บรักษาที่นานขึ้นส่งผลให้การจัดเรียงตัวใหม่ของโครงสร้างผลึกสตาร์ชเกิดได้มากขึ้น จึงเป็นผลให้สตาร์ชถูกย่อยด้วยเอนไซม์ได้ยากขึ้น (Ring *et al.*, 1987; Mile *et al.*, 1984)

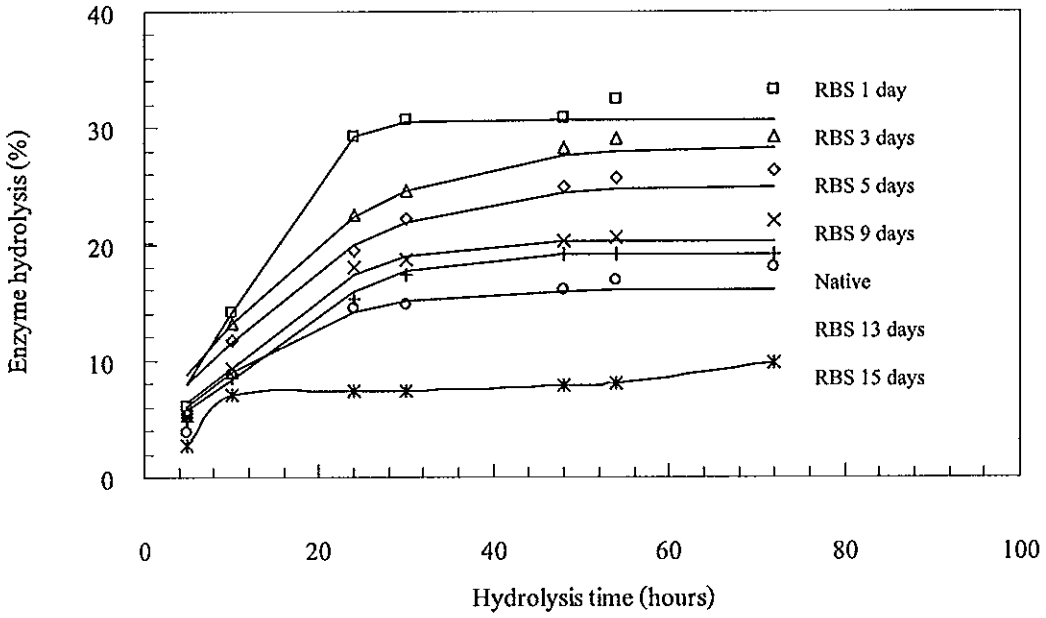


Figure 38. Enzyme hydrolysis of native (+) and retrograded banana starches (RBS) at 1(□), 3(△), 5(◇), 9(x), 13(○) and 15(∗) days of storage times.

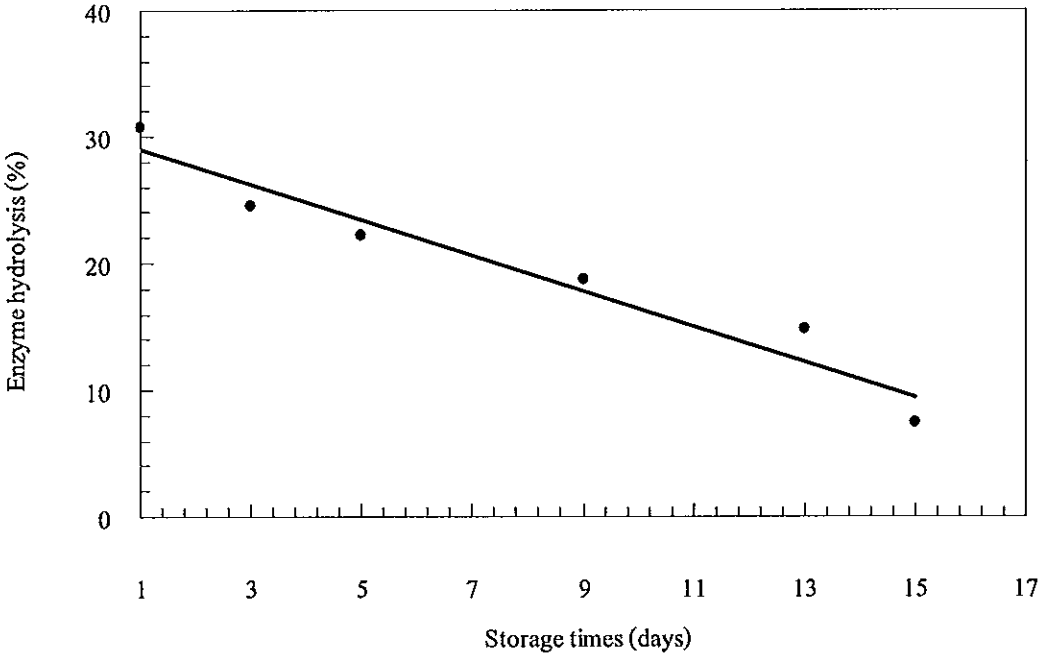


Figure 39. Relationship of enzyme hydrolysis at 24 hours to various storage times of the retrograded banana starches.

3.5 ระดับการถูกย่อยด้วยกรด (degree of acid hydrolysis)

จากการศึกษาระดับการถูกย่อยด้วยกรดไฮโดรคลอริก 2.2 โมล ของสตาร์ชกล้วยนางพญา พบว่ารูปแบบการย่อยด้วยกรดของสตาร์ชกล้วยนางพญาทั้งก่อนและหลังการดัดแปรด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชัน แสดงดัง Figure 40 โดยพบว่าความสามารถในการถูกย่อยด้วยกรดแบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอน (two-stage pattern) เช่นเดียวกันกับรูปแบบการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ โดยช่วงแรกสตาร์ชกล้วยนางพญาถูกย่อยด้วยกรดอย่างรวดเร็วภายในเวลา 12 วันแรก จากนั้นการย่อยเกิดขึ้นอย่างช้าๆ จนเข้าสู่สมดุล Mun และ Shin (2006) ได้ทำการศึกษาพบว่าสตาร์ชข้าวโพดที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชัน โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C มีระดับการถูกย่อยด้วยกรดเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วภายใน 10 วันแรก จากนั้นเริ่มมีแนวโน้มคงที่ จากการศึกษาพบว่าการดัดแปรสตาร์ชกล้วยนางพญาด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชันที่ระยะเวลาการเก็บรักษาที่นานขึ้น ส่งผลให้ระดับการถูกย่อยด้วยกรดลดลงแบบเชิงเส้น ($R^2 = 0.96$, $p < 0.05$) แสดงดัง Figure 41 แสดงให้เห็นว่าโครงสร้างของสตาร์ชกล้วยนางพญาภายหลังการดัดแปรที่ระยะเวลาการเก็บรักษาที่นานขึ้นมีความสามารถในการทนต่อการถูกย่อยด้วยกรดได้มากขึ้น

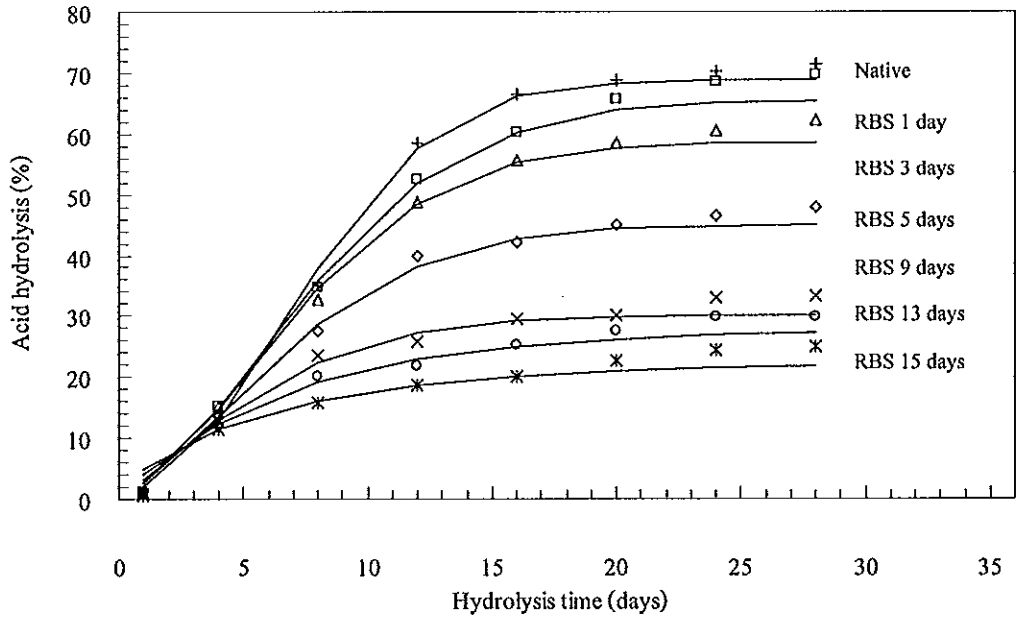


Figure 40. Acid hydrolysis of native (+) and retrograded banana starches (RBS) at 1(□), 3(△), 5(◇), 9 (x), 13(○) and 15(∗) days of storage times.

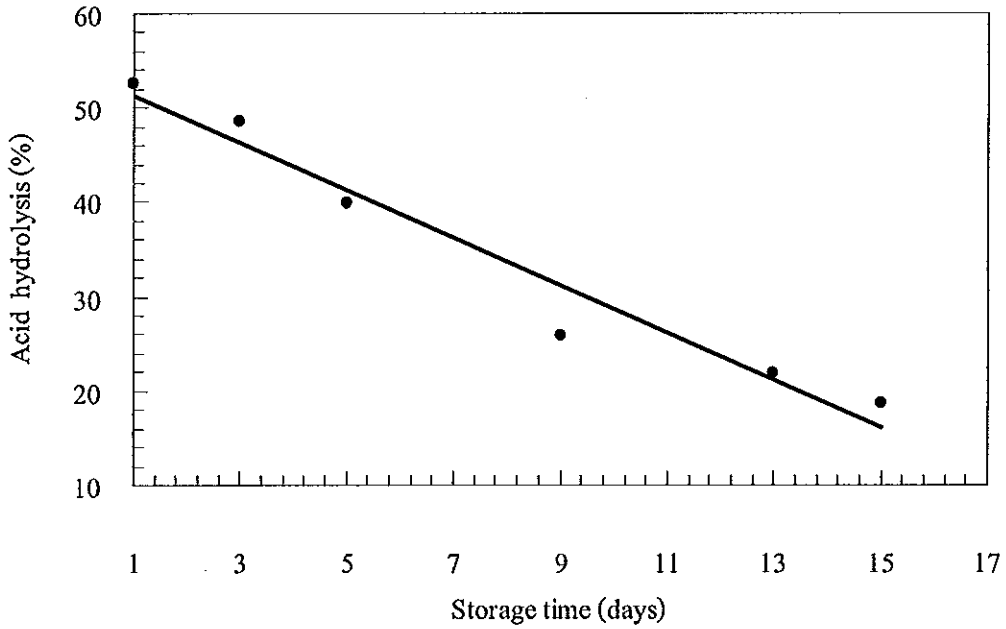


Figure 41. Relationship of acid hydrolysis at 12 days with various storage times of retrograded banana starches.

3.6 ปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ (resistant starch content)

เมื่อทำการดัดแปรสตาร์ชกล้วยนางพญาด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชัน ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาต่างๆ พบว่าสตาร์ชกล้วยนางพญาที่ผ่านการดัดแปร ที่ระยะเวลาการเก็บรักษามากกว่า 9 วัน มีปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์สูงกว่าของสตาร์ชกล้วยนางพญาก่อนการดัดแปรอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แสดงดัง Table 19 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) Lehmann และคณะ (2002) ได้รายงานว่าปริมาณกรดไขมันสายสั้น (short chain fatty acid : SCFA) ของสตาร์ชกล้วยที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชันมีค่าสูงกว่าของสตาร์ชกล้วยก่อนการดัดแปร ซึ่ง SCFA มีประโยชน์ต่อสุขภาพโดยช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคและปรับสภาวะความเป็นกรด/ด่างภายในลำไส้ใหญ่ให้ต่ำลง ซึ่งมีผลในการป้องกันมะเร็งลำไส้ใหญ่ได้ เป็นต้น (Alexander, 1995) จากผลการทดลองพบว่าการดัดแปรที่ระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้นส่งผลให้ปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์มีค่าเพิ่มขึ้น โดยเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 22.75 เป็นร้อยละ 71.05 เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นจาก 1 วัน เป็น 15 วัน ซึ่งผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับผลการศึกษาการดัดแปรด้วยวิธีการเกิดรีโทร เกรเดชันของสตาร์ชกล้วยสายพันธุ์ Musa paradisiaca และสายพันธุ์แม็กซิโก (Bello-Perez *et al.*, 2005; Gonzalez-Soto *et al.*,2006) Eliasson และ Aman (2000) ได้รายงานว่าการเพิ่มปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ของสตาร์ชที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชัน เป็นผลมาจากปัจจัยต่างๆ ได้แก่ ระยะเวลาและอุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษา อัตราส่วนของปริมาณ อะมิโลสและอะมิโลเพคติน ความยาวของสายโซ่ (chain length) อุณหภูมิที่ใช้ในการ autoclave และความเข้มข้นของสตาร์ช

Table 19. 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

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

1. กล้วยนางพญาประกอบด้วยปริมาณอะมิโลสร้อยละ 17.09 รูปร่างของเม็ดสตาร์ชกล้วยนางพญามีความหลากหลาย ได้แก่ กลมคล้ายไข่ เป็นแท่งยาว และรูปร่างสามเหลี่ยม โดยมีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 22.99 ไมโครเมตร รูปแบบโครงสร้างผลึกเป็นแบบB (B-type) และมีปริมาณผลึกร้อยละ 36.81 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 โดยเมื่อค่าพีเอชลดลงจาก 7.0 เป็น 3.5 พบว่าความหนืดสูงสุดและค่า breakdown มีค่าเพิ่มขึ้นจาก 4370.67 เป็น 5659.50 Pa และจาก 1253.67 เป็น 3014.00 Pa ตามลำดับ

2. การดัดแปรด้วยวิธีความร้อนชื้นส่งผลให้รูปแบบโครงสร้างผลึกของสตาร์ชกล้วยนางพญาเปลี่ยนแปลงจากแบบ B เป็นแบบ A+B และปริมาณผลึกมีค่าลดลง นอกจากนั้นยังส่งผลให้สายโมเลกุลภายในเม็ดสตาร์ชเกิดอันตรกริยาต่อกัน ทำให้โครงสร้างของสตาร์ชมีความแข็งแรงมากขึ้น เป็นผลให้กำลังการพองตัว ความสามารถในการละลาย ความหนืด และสัมประสิทธิ์ความคงตัว (consistency coefficient) มีค่าลดลง ขณะที่อุณหภูมิเริ่มต้นการเกิดเจลาติไนเซชันและอุณหภูมิเริ่มเปลี่ยนแปลงความหนืดมีค่าเพิ่มขึ้น และเจลของสตาร์ชมีความแข็งแรงมากขึ้นโดยแสดงคุณลักษณะ ideal elastic และมีค่า G' และ G_o เพิ่มขึ้น แต่อย่างไรก็ตามพบว่าสตาร์ชกล้วยนางพญาที่ผ่านการดัดแปรด้วยความร้อนชื้นสามารถถูกย่อยด้วยเอนไซม์และกรดได้มากขึ้นและมีปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับสตาร์ชกล้วยนางพญาก่อนการดัดแปร นอกจากนั้นพบว่าเมื่อระดับความชื้นในการดัดแปรมีค่าเพิ่มขึ้นส่งผลให้โครงสร้างของสตาร์ชกล้วยนางพญามีความแข็งแรงขึ้น โดยพบว่าเมื่อระดับความชื้นในการดัดแปรมีค่าเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 18 เป็นร้อยละ 27 กำลังการพองตัวมีค่าลดลงจาก 16.23 เป็น

10.86 ขณะที่อุณหภูมิการเกิดเจลาติไนเซชันมีค่าเพิ่มขึ้นจาก 71.56°C เป็น 81.86°C ค่า G' และ G_0 เพิ่มขึ้นจาก 2152.48 เป็น 3386.70 Pa และจาก 4301.43 เป็น 6837.20 Pa ตามลำดับ นอกจากนั้นยังพบว่าเมื่อระดับความชื้นในการดัดแปรมีค่าเพิ่มขึ้น ส่งผลให้สตาร์ชกล้วยนางพญาสามารถถูกย่อยด้วยเอนไซม์

จากคุณสมบัติของสตาร์ชกล้วยที่ผ่านการการดัดแปรด้วยวิธีความร้อนชื้นดังกล่าว พบว่ามีความเป็นไปได้ในการนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารที่ผ่านกระบวนการแปรรูปด้วยความร้อนสูงและใช้แรงเฉือนในกระบวนการผลิต แต่อย่างไรก็ตามการดัดแปรด้วยวิธีนี้มีข้อด้อยคือทำให้สตาร์ชกล้วยสามารถถูกย่อยด้วยเอนไซม์และกรดได้มากขึ้น และมีปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ลดลง แต่อย่างไรก็ตามพบว่าปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ที่มีค่าลดลงนี้ยังคงจัดอยู่ในกลุ่มของสตาร์ชที่มีปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ในระดับสูงมาก ซึ่งยังคงมีความเป็นไปได้ในการนำสตาร์ชกล้วยที่ผ่านการดัดแปรด้วย วิธีนี้ไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพ

3. การดัดแปรสตาร์ชกล้วยนางพญาด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชันโดยสตาร์ชกล้วยก่อนการดัดแปรได้ผ่านการตัดสายกิ่งของอะมิโลเพคตินด้วยเอนไซม์ pullulanase ที่ระดับร้อยละ 77.09 ทำให้ได้พอลิเมอร์สายตรงของอะมิโลสจำนวนมากซึ่งสามารถจัดเรียงตัวเป็นโครงสร้างสามมิติขณะที่สตาร์ชเกิดรีโทรเกรเดชัน เกิดเป็นโครงสร้างของผลึกที่มีความแข็งแรงมากขึ้น ลักษณะทางโครงสร้างและคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของสตาร์ชกล้วยนางพญาภายที่ผ่านการดัดแปรนั้นขึ้นอยู่กับระยะเวลาในการเก็บรักษาขณะเกิดรีโทรเกรเดชัน โดยพบว่าปริมาณผลึก สัดส่วนของโมเลกุลที่จัดเรียงตัวแบบเกลียวคู่ต่อส่วนอสัณฐาน และพลังงานที่ใช้ในการเกิดเจลาติไนเซชัน (ΔH) มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วภายใน 9 วันแรกของการเก็บรักษา ซึ่งอธิบายได้ว่าเป็นผลจากการเกิดอันตรกิริยาของสายโมเลกุลอะมิโลสเกิดเป็นโครงร่างสามมิติที่มีความแข็งแรง และเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานกว่า 9 วัน พบว่าค่าเหล่านั้นเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ ซึ่งเป็นผลจากการจัดเรียงตัวของสายอะมิโลเพคติน ทำให้เกิดการจัดเรียงตัวเป็นโครงสร้างผลึกที่แข็งแรงขึ้น การเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างสตาร์ชที่มีความแข็งแรงเพิ่มขึ้นเนื่องจากระยะเวลาในการเก็บรักษาที่นานขึ้นนี้ ส่งผลให้ความหนืดและสัมประสิทธิ์ความคงตัวของสตาร์ชเพสท์มีค่าลดลง เจลสตาร์ชยังคงแสดงคุณลักษณะวิสโคอิลาสติกแต่มีค่า G' และ G_0เพิ่มขึ้น นอกจากนั้นส่งผลให้ความสามารถในการถูกย่อยด้วยเอนไซม์และกรดของสตาร์ชมีค่าลดลง ขณะที่ปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ที่มีค่าเพิ่มขึ้นโดยมีค่าสูงสุดร้อยละ 71.05 เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษา 15 วัน

เมื่อพัฒนาคุณสมบัติของสตาร์ชกล้วยที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชันดังกล่าว ซึ่งพบว่ามีอุณหภูมิการเกิดเจลาติไนเซชันและอุณหภูมิการเกิดเพสท์ลดลง แต่มีความทนต่อแรงเฉือน ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์และกรดได้มากขึ้น และมีปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ในระดับที่สูงมาก ซึ่งจากคุณสมบัติดังกล่าวพบว่ามีความเป็นไปได้ในการนำสตาร์ช กล้วยที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการเกิดรีโทรเกรเดชันนี้ ไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพที่ไม่ต้องผ่านกระบวนการแปรรูปด้วยความร้อนสูงในระหว่างกระบวนการผลิต

ข้อเสนอแนะ

1. เพื่อให้การประยุกต์ใช้สตาร์ชกล้วยนางพญาที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีทางกายภาพทั้ง 2 วิธีเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ และสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้จริง ควรศึกษาความเป็นไปได้ในการนำสตาร์ชกล้วยนางพญาที่ผ่านการดัดแปรทั้ง 2 วิธีนี้ไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพ

2. ควรทำการศึกษาสมบัติพรีไบโอติก (prebiotics) ของสตาร์ชกล้วยนางพญาที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีทางกายภาพทั้ง 2 วิธี เพื่อเป็นข้อมูลสนับสนุนเพิ่มเติมในแง่ของงานวิจัยอาหารเพื่อสุขภาพ

เอกสารอ้างอิง

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

ปราณี อ่านเปรื่อง.2543.เอนไซม์ทางอาหาร.ภาควิชาเทคโนยีอาหาร 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.

Abraham, T. E. 1993. Stabilization of paste viscosity of cassava starch by heat-moisture treatment. Starch. 45: 131-135.

Adebowale, K. O. and Lawal, O. S. 2002. Effect of annealing and heat moisture conditioning on the physicochemical characteristics of Bambara groundnut (Vandzeia subterranea) starch. Nahrung/Food. 46: 311-316.

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. 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. 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. 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. Eur. J. Nutri. 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.

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. pp 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. 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. Eur. J. Clin. Nutr. 46:s51-s62.

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 chem.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 Hill, R. D. and Munck, L., (Ed). New Approaches to Research on Cereal Carbohydrates. p 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. Am J. Clin. Nutr. 44 : 42–50.

Englyst, H. N. and Hudson, G. J. 1996. The classification and measurement of dietary carbohydrate. Analyst. Am J. Clin. Nutr 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. 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. J. 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. Ethnol .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 chem. 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. Food. Res. Inter. 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.

Gunaratne, A., and Hoover, R. 2002. Effect of heat-moisture treatment on the structure and physicochemical properties of tuber and root starches . Carbohydr. Polym. 49: 425-437.

Guraya, H. S., Jame, C., and Champagne, T.2001. Effect of cooling and freezing on the digestibility of debranched non waxy and waxy starch and physical properties of the resulting material. Starch/Starke.53:64-74.

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 Lancester:MTP (Ed). Bile Acids And Diseases. pp 57–169.

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 Vassanthan, T. 1994. Effect of heat-moisture treatment on the structure and physicochemical properties of cereal, tuber, and legume starches. Carbohydr. Res. 252: 33-53.

Hoover, R. and Manuel, H. 1996a. The effect of heat-moisture treatment on the structure and physicochemical properties of legume starches. Food. Res. Inter. 29: 731-750.

Hoover, R. and Manuel, H. 1996b. Effect of heat-miosture treatment on the structure and physicochemical properties of normal maize, waxy maize, dull waxy maize and Amylomaize V starches. J. Cereal Sci. 23: 153-162.

Hoover, R. and Sosulski, F. W. 1991. Composition, structure, functionality and chemical modification of legumes starches. A review. J. Phys and Pharma. 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 Suaceptibility 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. Food Sci. 46: 1885-1890.

Khunae, P., Tran, T. and Sirivongpaisal, P. 2007. Effect of heat-moisture treatment on structural and thermal properties of rice starches differing in amylose content. Starch/Starke. 59:593-599.

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.

Kulp, K. and Lorenze, K. 1981. Heat-moisture Treatment of Starch : I Physicocchemical Properties. Cereal Chem. 46-52.

Kweon, M., Hayne, L., Stade, L. and Levine, H. 2000. The effect of heat and moisture treatments on enzyme digestibility of *AeWx*, *Aewx* and *aeWx* corn starch. J. Therm. Anal. and Calorim. 59: 571-586.

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

Lii, C. Y., Chang, S. M. and Young, Y. L. 1982. Investigation of physical and chemical properties of banana starch. J. Food Sci. 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.

Lim, S.-T., Chang, E.-H. and Chung, H.-J. 2001. Thermal transition characteristics of heat-moisture treated corn and potato starches. Carbohydr. Polym. 46: 107-115.

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. 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 chem. 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. Ethnol. 21(1): 11-9.

Nelson, N. 1944. Determination of glucose. J. 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. pp 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. 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. 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(Ed). 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.

Pongjanta, J., Utaipatanacheep, A., Naivikul, O. and Piyachomkwan, K. 2009. Debranching enzyme concentration effected on physicochemical properties and alpha-amylase hydrolysis rate of resistant starch type III from amylase rice starch .2009.78:5-9.

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. Am. J. 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. 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.

Sang, Y. and Seib, P.A.2006. Resistant starches from amylose mutants of corn by simultaneous heat-moisture treatment and phosphorylation. Carbohydr. Polym. 63:167-175.

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 sci. 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. Food sci. 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. Food Bio. 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.

Stute, R. 1992. Hydrothermal modification of starches: The difference between annealing and heat/moisture-treatment. Starch/Starke. 44: 205–214.

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.Food Ingredients J. 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

ภาคผนวก ก การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ทางกายภาพ และปริมาณผลผลิต

1. การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (A.O.A.C, 2000)

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. ตู้อบลมร้อน (hot air oven)
2. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
3. เดซิเคเตอร์ (desiccator)
4. ภาชนะอะลูมิเนียมมีฝาปิด (moisture can)

วิธีการ

1. อบภาชนะสำหรับหาความชื้นในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105±2°C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ในโถดูดความชื้น ปล่อยทิ้งไว้จนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก
2. ทำซ้ำกับข้อที่ 1 จนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่ง 2 ครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม
3. ชั่งตัวอย่างที่ต้องการให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน ประมาณ 1–2 ใส่ลงในภาชนะหาความชื้นซึ่งทราบน้ำหนักแล้ว
4. นำไปอบในตู้ไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 ± 2°C เป็นเวลาประมาณ 5–6 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ในโถดูดความชื้น ปล่อยทิ้งไว้ในอุณหภูมิของภาชนะลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก จากนั้นนำกลับไปเข้าตู้อบอีกครั้ง
5. ทำซ้ำเช่นข้อที่ 4 จนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1–3 มิลลิกรัม
6. คำนวณปริมาณความชื้นจากสูตร

$$\text{ปริมาณความชื้น (ร้อยละโดยน้ำหนัก)} \quad \frac{(W_1 - W_2) \times 100}{W_1}$$

กำหนดให้ W_1 คือ น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)

W_2 คือ น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ (กรัม)

2. การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (A.O.A.C, 2000)

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. อุปกรณ์ชุดสกัดไขมัน (soxhlet apparatus) ประกอบด้วยขวดกลม (สำหรับใส่ตัวทำละลาย) ซอคเลต (soxhlet) อุปกรณ์ควบแน่น (condenser) และเตาให้ความร้อน (heating mantle)
2. หลอดใส่ตัวอย่าง (extraction thimble)
3. สำลี
4. ตู้อบไฟฟ้า
5. เครื่องชั่งไฟฟ้า
6. โถดูดความชื้น (desiccators)

สารเคมี

1. ปิโตรเลียมอีเทอร์ (petroleum ether)

วิธีการ

1. อบขวดกลมสำหรับหาปริมาณไขมัน ซึ่งมีขนาดบรรจุ 250 มิลลิลิตร ในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105±2 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น ปล่อยทิ้งไว้จนกระทั่งอุณหภูมิของขวดกลมลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก
2. ทำซ้ำเช่นข้อที่ 1 จนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1 – 3 มิลลิกรัม
3. ชั่งตัวอย่างบนกระดาษกรองที่ทราบน้ำหนักประมาณ 1 - 2 กรัม ห่อให้มิดชิด แล้วใส่ลงในหลอดสำหรับใส่ตัวอย่าง คลุมด้วยสำลีเพื่อให้สารตัวทำละลายมีการกระจายอย่างสม่ำเสมอ
4. นำหลอดตัวอย่างใส่ลงในซอคเลต เติมสารตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ลงในขวดหาไขมันประมาณ 150 มิลลิลิตร แล้ววางบนเตาให้ความร้อน
5. ทำการสกัดไขมันเป็นเวลา 14 ชั่วโมง โดยปรับเตาความร้อนให้หยดของสารทำละลายกลั่นตัวจากอุปกรณ์ควบแน่นด้วยอัตรา 150 หยดต่อนาที
6. เมื่อครบ 14 ชั่วโมงแล้ว นำหลอดใส่ตัวอย่างออกจากซอคเลต และกลั่นเก็บสารทำละลายจนเหลือสารทำละลายในขวดกลมเพียงเล็กน้อยด้วยเครื่องระเหยสูญญากาศ
7. นำขวดหาไขมันอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 80-90 °C จนแห้งใช้เวลาประมาณ 30 นาที นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น ปล่อยทิ้งไว้จนกระทั่งอุณหภูมิของขวดก้นกลมลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก

8. ทำซ้ำเช่นข้อที่ 7 จนกระทั่งผลต่างของน้ำหนักสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม
9. คำนวณหาปริมาณไขมันจากสูตร

$$\text{ปริมาณไขมัน (ร้อยละโดยน้ำหนัก)} = \frac{W_2 \times 100}{W_1}$$

กำหนดให้ W_1 คือ น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น (กรัม)
W_2 คือ น้ำหนักไขมันหลังอบ (กรัม)

3. การวิเคราะห์โปรตีนโดยวิธี Kjeldahl Method (AOAC, 2000)

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. ขวดย่อยโปรตีน ขนาด 200 มิลลิลิตร
2. อุปกรณ์ให้ความร้อน
3. อุปกรณ์กลั่นโปรตีน (Semi-microdistillation)
4. ขวดรูปชมพู่ (erlenmeyer flask) ขนาด 125 มิลลิลิตร
5. ขวดวัดปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 100 มิลลิลิตร
6. ปิเปต ขนาด 5, 10 มิลลิลิตร
7. บิวเรตต์
8. ตู้ดูดควัน
9. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
10. ลูกแก้ว (glass bead)
11. เตาย่อย (VELP DK6)
12. เครื่องดักจับไอกรด (scrubber)

สารเคมี

1. กรดซัลฟูริกเข้มข้น (conc.H_2SO_4)
2. ตัวเร่งผสม (Catalyst) ระหว่าง $CuSO_4$ กับ K_2SO_4 อัตราส่วน (Cu : K_2SO_4) คือ 1 : 10
3. โซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 40 %
4. กรดไฮโดรคลอริกที่ทราบความเข้มข้นแน่นอน (HCl 0.1 N)
5. กรดบอริกเข้มข้น 4 %
6. โพแทสเซียมไฮโดรเจนพธาเลต

7. อินดิเคเตอร์ผสม (Mixed indicator ระหว่าง Methylene blue 0.1 กรัม กับ Methyl red 0.2 กรัม ละลายในแอลกอฮอล์ 90 % 100 มิลลิลิตร)

วิธีการ

การทำมาตรฐานสารละลายกรดไฮโดรคลอริกมาตรฐาน

1. การเตรียมสารละลายมาตรฐานปฐมภูมิโพแทสเซียมไฮโดรเจนพธาเลต
   1.1 ชั่งโพแทสเซียมไฮโดรเจนพธาเลตที่ผ่านการอบแห้ง (อุณหภูมิ 120 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง) ให้ได้น้ำหนักอยู่ในช่วง 2.0 – 2.2 กรัม โดยเครื่องชั่งละเอียดบันทึกน้ำหนักที่ชั่ง
   1.2 นำมาละลายด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรด้วยขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร เขย่าขวดให้สารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน
   1.3 คำนวณหาความเข้มข้นที่แน่นอน
2. การเตรียมสารละลาย 0.1 M HCl จากกรดเกลือเข้มข้น
   2.1 รินกรดเกลือเข้มข้นจากขวดลงในบิกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร (ทำในตู้ควัน)
   2.2 ตวงกรดเกลือเข้มข้นให้มีปริมาตร 4.0 - 4.5 มิลลิลิตร ด้วยกระบอกตวงขนาด 10 มิลลิลิตร
   2.3 เทกรดเกลือเข้มข้นที่ตวงแล้วลงในน้ำกลั่นปริมาตร 500 มิลลิลิตรที่บรรจุอยู่ในบิกเกอร์ขนาด 600 มิลลิลิตร คนให้สารละลายเข้ากันดี
   2.4 สารละลาย HCl ที่เตรียมขึ้นนี้มีความเข้มข้นประมาณ 0.1 M ถ่ายเก็บในขวดแก้วเพื่อเก็บสารละลายนี้ไว้ใช้ต่อไป
3. การทำมาตรฐานสารละลายกรดเกลือ
   3.1 ปิเปตสารละลายกรดเกลือมา 25 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปกรวยขนาด 250 มิลลิลิตร เติมสารละลาย
   3.2 ฟีนอล์ฟทาลีน 2-3 หยด เขย่าสารละลายในขวดให้เข้ากัน
   3.3 ไทเทรตด้วยสารละลายมาตรฐานทุติยภูมิโซเดียมไฮดรอกไซด์ จนกระทั่งสารละลายในขวดเปลี่ยนเป็นสีชมพูอ่อน บันทึกปริมาตรโซเดียมไฮดรอกไซด์
   3.4 ไทเทรตซ้ำ 2 ครั้ง
   3.5 คำนวณหาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายกรดเกลือ

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักแน่นอน ประมาณ 1-2 กรัม ใส่ลงในขวดย่อยโปรตีน
2. การย่อย
   2.1. เติมตัวเร่งผสม (Catalyst) ระหว่าง $CuSO_4$ กับ K_2SO_4 ($CuSO_4$ 0.5 กรัม และ K_2SO_4 5 กรัม) ในขวดย่อยโปรตีน เพื่อเร่งปฏิกิริยาการย่อย
   2.2. เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 20 มิลลิลิตร (ค่อยๆไหลตามข้างขวด) เขย่าเบาๆจนแป้งไม่จับเป็นก้อน ปิดปากขวดด้วยกระเปาะแก้วกลม
   2.3. ย่อยบนอุปกรณ์ให้ความร้อนอ่อนๆ จนได้สารละลายสีเขียวใส
   2.4. ปล่อยทิ้งให้เย็น
3. การกลั่น
   3.1. เมื่อสารละลายมีอุณหภูมิลดลงแล้ว จึงเติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร และเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 40 %
   3.2. จัดอุปกรณ์กลั่น
   3.3. เติมกรดบอริกเข้มข้น 4 % ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ แล้วหยดอินดิเคเตอร์ 5-6 หยด นำไปรองรับของเหลวรองรับสารละลายที่กลั่นได้ โดยใช้อุปกรณ์ควบแน่นจุ่มในสารละลายกรดบอริก
   3.4. กลั่นจนกระทั่งไม่มีแอมโมเนียเหลือ ให้ได้สารละลายที่กลั่นได้ประมาณ 150 มิลลิลิตร
4. การไทเทรต
   4.1. ไทเทรตสารละลายที่กลั่นได้ด้วยกรดไฮโดรคลอริกที่ทราบความเข้มข้นแน่นอน สังเกตสีของสารละลายจะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีม่วงอ่อน จดปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้
   4.2. ทำ blank โดยใส่สารเคมีและขั้นตอนการวิเคราะห์เช่นเดียวกับตัวอย่าง แต่ไม่ใส่ตัวอย่าง

<u>สูตรคำนวณ</u>

$$\text{ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ)} = \frac{1.4007 \times N \times (A-B) \times F}{W}$$

โดย A = ปริมาตรกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไทเทรตกับตัวอย่าง

B = ปริมาตรกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไทเทรตกับ blank

W = น้ำหนักตัวอย่าง

N = ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก (นอร์มอล)

F = แฟกเตอร์เท่ากับ 5.95

4. การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (AOAC, 2000)

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. ถ้วยครูซิเบิล
2. เตาไฟฟ้า
3. เตาเผา
4. เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง
5. เดซิเคเตอร์

วิธีการ

1. เผาครูซิเบิลเพื่อหาน้ำหนักที่แน่นอน
2. ชั่งตัวอย่างประมาณ 5 กรัมใส่ครูซิเบิล นำไปเผาบนเตาไฟฟ้าจนควันหมด
3. นำไปเผาจนได้ต่อในเตาไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส นานประมาณ 2-3 ชั่วโมง จนกระทั่งได้เถ้าสีขาวหรือสีเทา
4. จากนั้นนำมาใส่เดซิเคเตอร์ ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้องแล้วนำไปชั่ง เผาตัวอย่างซ้ำนานครั้งละ 30 นาที จนได้น้ำหนักต่างกันไม่เกิน 1 มิลลิกรัม

<u>สูตรคำนวณ</u>

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

โดย W = น้ำหนักของครูซิเบิล (กรัม)

W_1 = น้ำหนักของครูซิเบิลและตัวอย่างก่อนเผา (กรัม)

W_2 = น้ำหนักของครูซิเบิลและตัวอย่างหลังเผาจนน้ำหนักคงที่ (กรัม)

5. การวิเคราะห์หาปริมาณอะมิโลส (amylose content)

เครื่องมือและอุปกรณ์

0. อ่างน้ำ
1. เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง

สารเคมี

1. เอทานอล
2. กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1 นอร์มอล
3. โซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1 นอร์มอล
4. สารละลายไอโอดีนเข้มข้น 0.2 %
5. กระดาษกรองเบอร์ 4
6. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง

วิธีการ

1. ชั่งสตาร์ช 100 mg นำไปละลายในเอทานอล 1 ml และน้ำกลั่น 50 ml
2. ให้ความร้อนแก่สตาร์ชที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
3. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 100 ml แล้วกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4
4. ดูดสารละลายสตาร์ชมา 5 ml แล้วเติมน้ำกลั่น 50 ml ปรับให้เป็นกลางด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1 นอร์มอล
5. เติมสารละลายไอโอดีน 2 ml ปรับปริมาตรให้เป็น 100 ml และตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 20 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 630 nm แล้วคำนวณค่าปริมาณอะมิโลส ที่ละลายได้
6. วัดค่าการดูดกลืนแสงของอะมิโลสมาตรฐาน (standard amylose) โดยทำการทดลองเช่นเดียวกันกับข้อ 1-5 แต่ใช้สารละลายอะมิโลสมาตรฐานปริมาตร 1 ml แทนสารละลายสตาร์ช 5 ml ในข้อ 4

<u>สูตรคำนวณ</u>

$$\text{amylose content} = \frac{R \times a \times 20}{A \times r}$$

โดย amylose content = ปริมาณอะมิโลส

R = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

A = ค่าการดูดกลืนแสงของ standard amylose

r = น้ำหนักตัวอย่าง (db)

a = น้ำหนักของ standard amylose

6. ค่าดัชนีความขาว โดยใช้ colorimeter ระบบ Hunter ตามวิธีของ Chen และคณะ (1999)

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องวัดค่าสี (Hunter colorimeter) (Minota Chroma Meter รุ่น CR300)

วิธีการ

1.นำชุดหัววัดตัวอย่างแห้งที่มีแผ่นใสป้องกันหัวแสงประกอบเข้ากับเครื่องวัดสี

2. ทำการปรับมาตรฐาน (calibrate) ค่าสีของเครื่อง โดยใช้แผ่นสีขาวมาตรฐานที่มีค่าสีระบบ Hunter คือ L = 96.54, a = +0.03 และ b = +1.69

3. วัดค่าสีของตัวอย่างเดียวกัน 5 ซ้ำจากนั้นหาค่าเฉลี่ยเป็นหนึ่งค่า บันทึกค่า L, a และ b ในระบบ Hunter ที่วัดได้จากเครื่อง

4. นำค่า L, a และ b ในระบบ Hunter มาคำนวณหาค่าดัชนีความขาว โดยใช้สูตร

$$\text{ค่าดัชนีความขาว (white index)} = 100 - \sqrt{(100-L)^2 + a^2 + b^2}$$

7. การหาปริมาณผลผลิต (วสันต์ ศิริวงศ์, 2543)

วิธีการ

1.ชั่งน้ำหนักเนื้อกล้วยดิบที่ทราบความชื้นของเนื้อกล้วย ซึ่งนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการสกัดสตาร์ช

2. ชั่งน้ำหนักของสตาร์ชที่ทราบความชื้น ซึ่งสกัดได้จากเนื้อกล้วยดิบ

3. คำนวณปริมาณผลผลิต (%yield) ของสตาร์ชที่สกัดได้ โดยใช้สูตร

$$\text{ปริมาณผลผลิต (\%yield)} = \frac{\text{น้ำหนักแห้งของสตาร์ช(กรัม)} \times 100}{\text{น้ำหนักแห้งของเนื้อกล้วย(กรัม)}}$$

ภาคผนวก ข ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

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

สารเคมี

- สารละลายกลูโคสมาตรฐาน
- Alkaline copper reagent
- Nelson reagent

วิธีการ

1.1. การเตรียมกราฟมาตรฐานกลูโคสของการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

1.1.1 เตรียมสารละลายน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้น 1000 μg/ml

1.1.2 นำสารละลายน้ำตาลกลูโคส1000 μg/ml มาทำให้เจือจางให้มีความเข้มข้น 40, 80, 120, 160 และ 200 μg/ml แสดงดังตารางข้างล่างนี้

ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส (μg/ml)	ปริมาณน้ำกลั่น (ml)	ปริมาณสารละลายน้ำตาลกลูโคส 1000 μg/ml (ml)
40	48	2
80	46	4
120	44	6
160	42	8
200	40	10

1.1.3 ดูดสารละลายที่เตรียมได้ 1 ml ใส่ลงในหลอดทดลอง

1.1.4 เติม Alkaline copper reagent 1 ml ผสมให้เข้ากัน

1.1.5 นำไปต้มในอ่างน้ำเดือด 15 นาที

1.1.6 นำไปทำให้เย็นใน Ice bath

1.1.7 เติม Nelson reagent 1 ml ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที

1.1.8 เติมน้ำกลั่น 5 ml ผสมให้เข้ากัน

1.1.9 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร

1.2.0 Plot graph ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของน้ำตาล โดยให้ค่าการดูดกลืนแสงอยู่แกน Y และความเข้มข้นของน้ำตาลอยู่แกน X หาค่าความชันจากกราฟที่ได้

1.2.การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากตัวอย่าง

1.2.1 ดูดตัวอย่าง (สารละลายสตาร์ชกล้วยก่อนและหลังการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ pullanase ดังข้อ 2.3.2/ สารละลายส่วนใสของสตาร์ชกล้วยที่ผ่านการถูกย่อยด้วยเอนไซม์หรือกรด ดังข้อ 2.6 และ 2.7) อย่างละ 1 ml ใส่ลงไปในหลอดทดลอง

1.2.2 ทำการทดลองดังข้อ 1.1.4 – 1.19

1.3.การคำนวณ

$$\text{ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ } (\mu g/ml) = \frac{Ab_{520} \text{ X Dil}}{\text{Slope}}$$

Ab_{520} คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร

Dil คือ Dilution

Slope คือ ค่าความชันจากกราฟมาตรฐานกลูโคสของการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

2. การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (total sugar) ด้วยวิธี Phenol-Sulfuric Reaction (Dubios *et al.*,1956)

สารเคมี

- สารละลายซัลฟูริกเข้มข้น
- Phenol solution ความเข้มข้นร้อยละ 0.5

วิธีการ

2.1. การเตรียมกราฟมาตรฐานกลูโคสของการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

2.1.1 เตรียมสารละลายน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้น 100 μg/ml

2.1.2 นำสารละลายน้ำตาลกลูโคส 100 μg/ml มาทำให้เจือจางให้มีความเข้มข้น 20, 40, 60, 80 g/ml แสดงดังตารางข้างล่างนี้

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

2.1.3 ดูดสารละลายที่เตรียมได้ 1 ml ใส่ลงในหลอดทดลอง

2.1.4 ใส่สารละลาย 5% phenol ลงในหลอดทดลอง 1 ml ผสมให้เข้ากันอย่างรวดเร็วด้วย mixer

2.1.5 ใส่สารละลายซัลฟูริกเข้มข้น 5 ml ผสมให้เข้ากันอย่างรวดเร็วด้วย mixer

2.1.6 ตั้งทิ้งไว้ในตู้ดูดควันเป็นเวลา 30 นาที

2.1.7 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 485 นาโนเมตร

2.1.8 Plot graph ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของน้ำตาล โดยให้ค่าการดูดกลืนแสงอยู่แกน Y และความเข้มข้นของน้ำตาลอยู่แกน X หาค่าความชันจากกราฟที่ได้

2.2 การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดจากตัวอย่าง

2.2.1 ดูดตัวอย่าง(สารละลายสตาร์ชกล้วยที่ผ่านการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ pullulanase ดังข้อ 2.3.2/ สารละลายสตาร์ชกล้วยก่อนการดัดแปรที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 ซึ่งผ่านการให้ความร้อนในอ่างน้ำเดือดเป็นเวลา 20 นาที อย่างละ 1 ml ใส่ลงไปในหลอดทดลอง

2.2.2 ทำการทดลองดังข้อ 2.1 (ข้อ 2.1.4- 2.1.8)

2.3 การคำนวณ

ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (μg/ml) = $\frac{Ab_{485} \times Dil}{Slope}$

Ab_{485} คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 485 นาโนเมตร

Dil คือ Dilution

Slope คือ ค่าความชันจากกราฟมาตรฐานกลูโคสของการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

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
1. เติมเอทานอล (99%) 4 ml แล้วนำตัวอย่างที่ได้ไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3000 rpm เป็นเวลา 10 นาที เทส่วนใสทิ้ง
2. นำตะกอนที่ได้มาละลายด้วยเอทานอล (50%) 8 ml แล้วนำตัวอย่างที่ได้ไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3000 rpm เป็นเวลา 10 นาที (ทำซ้ำ 2 ครั้ง)
3. นำตะกอนที่ได้มาเติม 2 M KOH 2 ml (ใส่ magnetic stirred bar ขนาด 5x15 mm) จากนั้นนำไป stirred เป็นเวลา 20 นาที ในอ่างน้ำแข็ง
4. เติม 1.2 M sodium acetate buffer (pH 3.8) 8 ml และเติมเอนไซม์ amyloglucosidase (AMG, 3,300 U/ml) 0.1 ml โดยทันที ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปวางในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 30 นาที
5. จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้มาปรับปริมาตรให้ได้ 100 ml ด้วยน้ำกลั่น ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3000 rpm เป็นเวลา 10 นาที
6. นำตัวอย่างที่ได้ 0.1 ml ใส่ในหลอดแก้ว (ทำ 3 ซ้ำ) เติมสารละลาย GOPOD 3 ml แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 20 นาที
7. นำตัวอย่างที่ได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 nm ด้วย reagent blank คำนวณปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ (RS) ดังสมการ

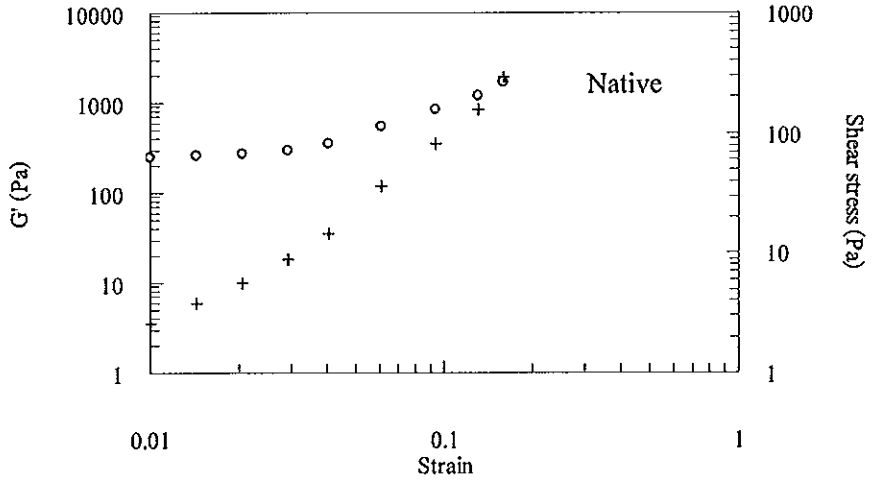
ปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ (RS %) = $\Delta E \times (F/W) \times 90$

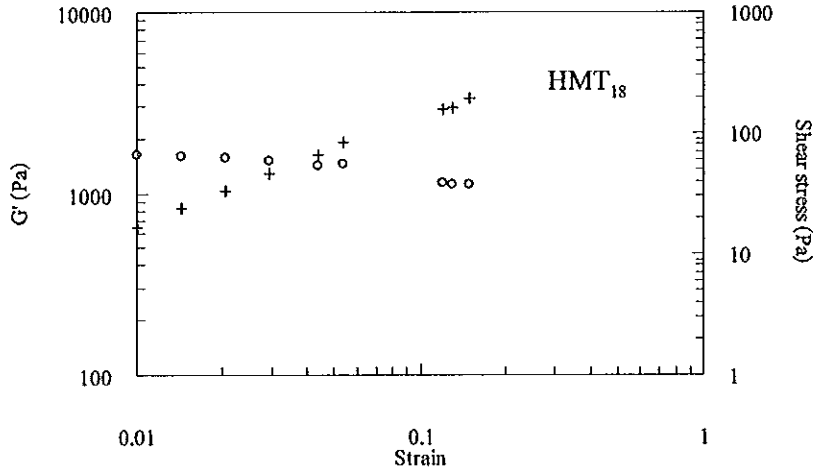
ΔE = ค่าการดูดกลืนแสง

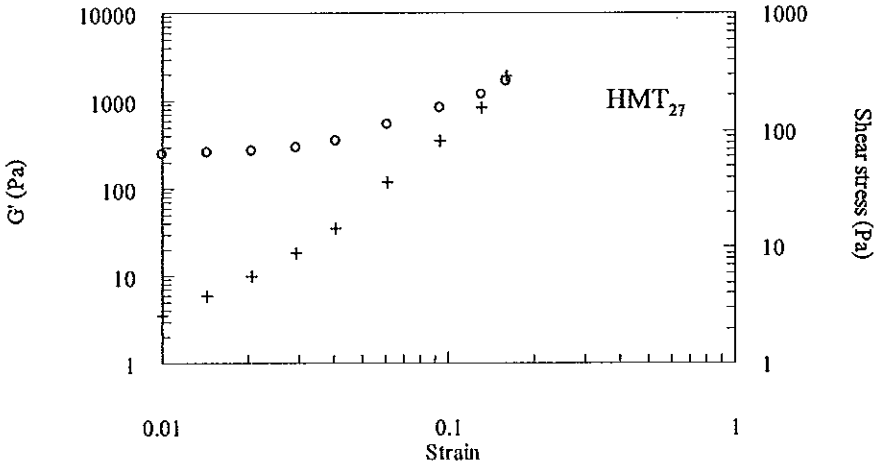
F = 100(mg of D-glucose) / ค่าการดูดกลืนแสงของ 100 g D-glucose

W = น้ำหนักแห้งของตัวอย่างสตาร์ช (กรัม)

ภาคผนวก ค การวิเคราะห์ linear viscoelastic (Strain sweep test)







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

การศึกษาสมบัติวิสโคอิลาสติกของเจลสตาร์ชโดยการติดตามการเปลี่ยนแปลงของค่า Creep compliance J(t) ที่เวลาต่างๆ โดยค่า J คืออัตราส่วนของความเครียด (Ɛ) ต่อค่าแรงเฉือน (σ) จากกราฟของ Creep compliance (ภาพที่ 8) สามารถแบ่งการคำนวณออกได้เป็น 3 ช่วงดังนี้ (Sharma and Sherman, 1996 and Sherman, 1966):

(1) ช่วง instantaneous elastic compliance, J_0, (A-B) ซึ่งบ่งบอกถึงการที่พันธะภายในวัสดุมีการยืดตัวอย่างยืดหยุ่น ถ้าเอาแรงเฉือนออกวัสดุสามารถเกิดการคืนตัว (recovery) ได้อย่างสมบูรณ์ แสดงดังสมการที่ (15)

$$J_0 = \frac{1}{G_0} = \frac{\varepsilon_0(t)}{\sigma} \qquad (15)$$

(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

$$J_R = \frac{1}{G_R} = J_a(1-e^{\frac{-t}{\tau}}) = \frac{\varepsilon_R(t)}{\sigma} \qquad (16)$$

เมื่อ J_a คือค่าเฉลี่ยของค่า retarded elastic compliance

สมการที่ (15) สามารถเขียนในรูปแบบสมการที่มีหลายองค์ประกอบดังนี้

$$J_R = \sum_{i=1}^{n} J_i(1-e^{\frac{-t}{\tau_i}}) = \sum_{i=1}^{n} J_i(1-e^{\frac{-t}{\eta_i J_i}}) \qquad (17)$$

โดยที่ η_i คือจำนวนขององค์ประกอบของค่าความหนืดซึ่งมีความสัมพันธ์กับค่า retarded elastic compliance

สามารถประยุกต์วิธีการคำนวณโดยการใช้กราฟของ Inokuchi (1955) กับสมการ (16) ได้สมการดังนี้

$$Q = \sum_{i=1}^{n} J_i - \frac{\varepsilon_R(t)}{\sigma} \qquad (18)$$

สมการ (17) แสดงถึงคือระยะห่างระหว่างเส้นตรง DCP กับเส้นโค้ง DCB ที่เวลาใด ๆ ดังนั้นสามารถแสดงสมการที่ (17) ในรูปแบบสมการใหม่ได้ดังนี้

$$Q = \sum_{i=1}^{n} J_i e^{\frac{-t}{\tau_i}} \qquad (19)$$

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 (19)

$$J_N = \frac{\varepsilon_N(t)}{\sigma} = \frac{t}{\eta_N} \qquad (20)$$

เมื่อ ε_N คือ ค่าความเครียด (shear strain) ในช่วงที่กราฟการคืบมีลักษณะเป็นเส้นตรง ดังนั้นค่าความชันของกราฟคือส่วนกลับของค่าความหนืด ($1/\eta_N$)

ภาคผนวก จ การทำนายอัตราการเกิดรีโทรเกรเดชันโดยใช้สมการ Avrami (Avrami equation)

การศึกษาจลนศาสตร์ของการเกิดรีโทรเกรเดชันของสตาร์ช ทำได้โดยการใช้สมการของ Avrami (Avrami, 1941) ในการทำนายการเกิดรีโทรเกรเดชันที่เวลาต่างๆ โดยคำนวณจากสัดส่วนที่ยังไม่เกิดผลึกใหม่ที่เวลาใดๆ $U(t)$ ดังสมการที่ 21

$$U(t) = \exp(-kt^n) \qquad (21)$$

เมื่อ k = อัตราการเติบโตของผลึก

n = ค่าคงที่ Avrami

ค่า $U(t)$ สามารถเขียนในรูปสัดส่วนที่ยังไม่เกิดผลึกใหม่ดังสมการที่ 22

$$U(t) = \frac{Y_\infty - Y_t}{Y_\infty - Y_\circ} \qquad (22)$$

เมื่อ Y_t = พารามิเตอร์ที่บ่งชี้ถึงการเกิดผลึกใหม่ (ได้แก่ G', RSA)

$Y_\circ$ = พารามิเตอร์ที่บ่งชี้ถึงการเกิดผลึกใหม่ที่เวลาเริ่มต้น (t = 0)

Y_∞ = พารามิเตอร์ที่บ่งชี้ถึงการเกิดผลึกใหม่เมื่อเข้าสู่สมดุล (t = ∞)

เมื่อรวมสมการ 10 และ 11 เข้าด้วยกันจะได้สมการใหม่แสดงดังสมการที่ 23

$$U(t) = Y_\infty - [(Y_\infty - Y_\circ)\exp(-kt^n)] \qquad (23)$$

ค่า k และ n ได้จากการคำนวณด้วยสมการที่ 21 โดยการหาความสัมพันธ์เชิงเส้นของค่า log(-ln [U(t)]) และ log(t)

จากค่า k และค่า n ที่คำนวณได้สามารถนำไปคำนวณอัตราการเกิดรีโทรเกรเดชัน (G) ด้วยสมการที่ 24

$$G = k^{1/n} \qquad (24)$$

ค่าคงที่ Avrami (n) มีความสัมพันธ์กับจลนศาตร์ของการเปลี่ยนแปลงเฟสระหว่างการเติบโตของผลึกรอบๆ นิวเคลียสที่มีการกระจายตัวแบบสุ่ม (Sherman, 1970) โดยพบว่าค่า n มีค่าอยู่ระหว่าง 1 ถึง 4 ซึ่งขึ้นอยู่กับกลไกของการเกิดนิวเคลียส (Mandalkern, 1964) จากกลไกพื้นฐานของการเกิดรีโทรเกรเดชัน พบว่าสตาร์ชสามารถเกิดนิวเคลียสขึ้นทันที แล้วมีการพัฒนาเป็นโครงสร้างผลึกที่มีรูปร่างแบบแท่ง (rod-like) โดยมีค่า n เท่ากับ 1

ภาคผนวก ฉ การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

Table appendix D1. Enzyme hydrolysis (%) of native and heat-moisture treated banana starches (HMT) at various moisture content.

Treatment	Number of hours						
	5	10	24	30	48	54	72
Native	4.82	8.48	15.21[e]	17.41	19.15	19.18	19.18
HMT_{18}	10.06	18.96	32.24[d]	33.48	36.38	37.36	39.75
HMT_{21}	11.85	21.73	34.65[c]	36.26	39.75	39.75	41.49
HMT_{24}	16.39	25.02	41.39[b]	46.95	47.28	47.33	47.98
HMT_{27}	16.53	26.90	43.84[a]	47.59	47.94	49.21	49.71

Table appendix D2. Enzyme hydrolysis (%) of native and retrograded banana starches (RBS) at various storage times.

Treatment	Number of hours						
	5	10	24	30	48	54	72
Native	4.82	8.48	15.21[e]	16.13	19.15	19.06	19.06
RBS 1 day	6.14	14.15	29.26[a]	30.70	30.80	32.40	33.33
RBS 3 days	5.68	13.10	22.42[b]	24.56	28.33	29.03	29.19
RBS 5 days	5.43	11.66	19.46[c]	22.14	24.94	25.77	26.32
RBS 9 days	5.24	9.26	17.94[d]	18.65	20.25	20.60	22.06
RBS 13 days	3.85	8.89	14.40[f]	14.83	16.08	16.88	18.32
RBS 15 days	2.80	7.11	7.32[g]	7.33	7.92	8.10	9.86

Table appendix D3. Acid hydrolysis (%) of native and heat-moisture treated banana starches (HMT) at various moisture content.

Treatment	Number of days							
	1	4	8	12	16	20	24	28
Native	1.26	13.44	35.11	58.51^{e}	66.44	68.71	70.16	71.28
HMT_{18}	2.93	18.93	41.02	61.49^{d}	70.25	71.16	72.10	73.90
HMT_{21}	3.25	20.14	42.75	64.43^{c}	70.83	73.25	73.71	75.33
HMT_{24}	4.30	20.40	43.62	66.07^{b}	73.93	75.54	76.23	80.37
HMT_{27}	6.00	25.07	46.24	67.90^{a}	77.26	79.71	81.77	83.90

Table appendix D4. Acid hydrolysis (%) of native and retrograded banana starches (RBS) at various moisture content.

Treatment	Number of days							
	1	4	8	12	16	20	24	28
Native	1.26	13.44	35.11	58.51^{a}	66.44	68.71	70.16	71.28
RBS 1 day	1.18	15.18	34.82	52.55^{b}	60.35	65.58	68.56	69.56
RBS 3 days	1.11	15.22	32.56	48.66^{c}	55.69	58.63	60.56	62.52
RBS 5 days	1.09	13.47	27.66	39.77^{d}	42.06	45.04	46.39	47.86
RBS 9 days	0.98	12.65	23.45	25.82^{e}	29.41	30.17	32.99	32.19
RBS 13 days	0.85	12.02	20.11	21.82^{f}	25.32	27.55	29.75	29.96
RBS 15 days	0.68	11.47	15.66	18.75^{g}	20.03	22.56	24.39	24.88

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นางสาวจุไรรัตน์ ถนอมกิจ

รหัสประจำตัวนักศึกษา 5011020006

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (อุตสาหกรรมเกษตร)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2549

ทุนการศึกษา (ที่ได้รับในระหว่างการศึกษา)

- ทุนการศึกษาสถานวิจัยผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและอาหารเพื่อสุขภาพ 2550

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

Tanomkit, J. and Sirivongpaisal, P. 2008. Effect of Heat-Moisture Treatment on Structure and Viscosity of Banana Starch . ***Poster Presentation of 14th World Congress of Food Science and Technology.*** October 19-23, Shanghai, China

Tanomkit, J., Tran, T., Hokputsa, S. and Sirivongpaisal, P. 2009. Viscoelastic Property and Enzyme Hydrolysis of Heat-Moisture Treated Banana Starch. ***Proceeding: 5th International Conference on Starch Technology.*** September 24-25, Bangkok, Thailand