



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ ผลของอุณหภูมิ ปริมาณน้ำ และการเปลี่ยนแปลงสมบัติทาง
กายภาพต่อการเกิดรีโทรเกรดชันของแป้งมันสำปะหลัง

โดย นางสุนันทา ทองทา และคณะ

กุมภาพันธ์ 2549

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ ผลของอุณหภูมิ ปริมาณน้ำ และการเปลี่ยนสมบัติทาง
กายภาพต่อการเกิดรีโทรเกรเดชันของแป้งมันสำปะหลัง

คณะผู้วิจัย

สังกัด

1. นางสาวนันท์ ทองทา

สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร
สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
จ.นครราชสีมา

2. นายกล้าณรงค์ ศรีรอด

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
คณะอุตสาหกรรมเกษตร
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
กรุงเทพมหานคร

สนับสนุนโดยทบวงมหาวิทยาลัย และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย ทบวงฯ และสกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ ขอขอบคุณทบวงมหาวิทยาลัยและสำนักกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ที่ให้การสนับสนุนเงินวิจัยอย่างดียิ่ง ขอขอบพระคุณ รศ. ดร. กล้าณรงค์ ศรีรอด ที่ให้คำปรึกษากับโครงการนี้อย่างดียิ่ง ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีที่ให้การสนับสนุนเงินทุนในการเดินทางไปเสนอผลงานวิชาการในการประชุม XII International Starch Convention เมือง Cracow ประเทศโปแลนด์ ระหว่างวันที่ 14 - 18 มิถุนายน 2547 ขอขอบคุณนางสาว รวิภัสรา เกียรติพงษ์ลาภ นักศึกษาระดับปริญญาโท และนางสาวสุรีย์พร บุญญา ผู้ช่วยวิจัย ที่ช่วยเหลือในการวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือต่างๆ ขอขอบคุณ นางศุภกัญญา บุญอยู่ สถานวิจัย สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่ช่วยเหลือในการจัดทำบัญชีงบประมาณและเบิกจ่ายของโครงการฯ ขอขอบคุณ บริษัทสงวนวงษ์อุตสาหกรรม จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์แบ่งมันสำปะหลังในการดำเนินการวิจัย และงานวิจัยนี้ไม่สามารถสำเร็จลุล่วงได้ หากไม่ได้รับการสนับสนุนทางด้านเครื่องมือและอุปกรณ์ต่างๆที่เกี่ยวข้องจากภายในมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อไทย	1
Abstract	3
Executive summary	5
เนื้อหางานวิจัย	
บทนำ	9
วิธีการทดลอง	13
ผลการทดลองและวิจารณ์	20
เอกสารอ้างอิง	58
Output จากโครงการวิจัย	60
ภาคผนวก	61

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: MRG4680153

ชื่อโครงการ: ผลของอุณหภูมิ ปริมาณน้ำ และการเปลี่ยนสมบัติทางกายภาพต่อการเกิดรีโทรเกรเดชันของแป้งมันสำปะหลัง

ชื่อนักวิจัย: นางสาวนันตา ทองทา

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สาขาเทคโนโลยีอาหาร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จ. นครราชสีมา 30000

E-mail address: s-tongta@sut.ac.th

ระยะเวลาโครงการ: 2.5 ปี (กันยายน2546 - กุมภาพันธ์2549)

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิ ปริมาณน้ำ ระยะเวลา และผลของการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพแบบต่างๆต่อลักษณะการเกิดรีโทรเกรเดชันของแป้งมันสำปะหลัง โดยศึกษาผลของอุณหภูมิการเก็บที่ -20, 5, 25 และ 45°C และปริมาณน้ำของเจลแป้งมันสำปะหลังที่ 60, 70 และ 80% เป็นระยะเวลา 30-55 วัน โดยเตรียมเจลแป้งมันสำปะหลังด้วยการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 30 นาที แล้วตรวจสอบพฤติกรรมการเกิดรีโทรเกรเดชันด้วยวิธีการที่แตกต่างกัน 4 วิธี คือ X-ray diffraction (XRD), Fourier Transform Infra-red (FTIR) Spectroscopy, Differential Scanning Colorimetry (DSC) และเนื้อสัมผัสของเจลแบบ compression

การเก็บเจลที่อุณหภูมิต่ำมีผลทำให้ระดับการเกิดรีโทรเกรเดชันในช่วงระยะแรกของการเก็บที่สูงกว่าอุณหภูมิสูง ซึ่งให้ผลที่สอดคล้องทั้ง XRD, FTIR และความแข็งของเจล แต่ในการตรวจด้วย DSC นั้น การเก็บที่อุณหภูมิ -20°C ให้ผลการเกิดรีโทรเกรเดชันที่ต่ำกว่า 5 และ 25°C ในช่วงระยะเวลาที่นานขึ้นการเก็บที่อุณหภูมิ 25°C สามารถเกิดรีโทรเกรเดชันในระดับที่มากกว่าการเก็บที่อุณหภูมิต่ำได้ แต่การเก็บที่ 45°C ไม่พบการเกิดรีโทรเกรเดชันในการตรวจวัดเนื้อสัมผัสของเจลตลอดระยะเวลาการเก็บ 52 วัน ที่ปริมาณน้ำ 70% มีผลให้เกิดรีโทรเกรเดชันมากที่สุดทั้งใน XRD และ FTIR แต่ในเนื้อสัมผัสของเจลและ DSC กลับพบที่ 60% เจลที่มีน้ำมากและเก็บที่อุณหภูมิสูง เกิดผลรวมทำให้เกิดรีโทรเกรเดชันเกิดต่ำมากหรือไม่เกิดรีโทรเกรเดชันใน FTIR และเนื้อสัมผัส

การให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 7 ชั่วโมงมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนสมบัติทางกายภาพแบบ heat-moisture treatment การบ่มแป้งมันสำปะหลังที่ความชื้น 75% และอุณหภูมิ 57°C เป็นเวลา 6 วันมีผลทำให้เกิด annealing แป้งพรีเจลาคัดในซ์แบบ drum dried pregelatinization, half-product extrusion และ expanded-product มีความหนืดของเจลจากมากไปน้อยตามลำดับ การเกิดรีโทรเกรเดชันของสตาร์ชพรีเจลแบบ drum dried และสตาร์ชตัด

แปรรูปแบบ heat-moisture treatment มีค่าสูงกว่าสตาร์ชพรีเจลแบบ expansion เมื่อวัดด้วย FTIR แต่เมื่อตรวจวัดด้วย DSC การเกิดรีโทรเกรเดชันของสตาร์ชดัดแปรแบบ heat-moisture treatment มีค่าสูงกว่าสตาร์ชดัดแปรอื่นๆ แต่ก็ไม่ได้แตกต่างจาก native starch เมื่อใช้การคำนวณเปรียบเทียบกับค่า enthalpy ของสตาร์ชดัดแปรเอง แต่เมื่อเปรียบเทียบกับ enthalpy ของ native starch ระดับการเกิดรีโทรเกรเดชันของสตาร์ชดัดแปรแบบ annealing กลับมีค่าสูงกว่าสตาร์ชดัดแปรอื่นๆ แต่ไม่ได้แตกต่างจาก native starch นอกจากนี้อุณหภูมิ thermal transition (T_o และ T_p) ของสตาร์ชดัดแปรทั้งหมดที่เกิดการรีโทรเกรดแล้วมีค่าสูงกว่า native starch ที่เกิดการรีโทรเกรดแล้ว

คำสำคัญ: รีโทรเกรเดชัน อุณหภูมิ ปริมาณน้ำ แป้งดัดแปรทางกายภาพ

Abstract

Project code: MRG4680153

Project title: Effect of Temperature, Water Content และ Physical Treatment on the Retrogradation of Tapioca Starch.

Investigator: Ms. Sunanta Tongta

Assistant Professor, Food Technology

Suranaree University of Technology, Nakhonratchasima 30000

E-mail address: s-tongta@sut.ac.th

Project period: 2.5 years (September2003 - February2006)

The objectives of this research project were to study the relationship of temperature, water content and storage time and different physical treatment on the retrogradation characteristics of tapioca starch. The temperatures of -20, 5, 25 and 45°C and gel water contents of 60, 70 and 80% were studied for 30-55 days. Tapioca starch gel was prepared by heating at 100°C for 30 minutes. Retrogradation behavior was investigated using four different methods: X-ray diffraction (XRD), Fourier Transform Infra-red (FTIR) Spectroscopy, Differential Scanning Colorimetry (DSC) and compression test.

The lower storage temperature of starch gel resulted in greater degree of retrogradation in the first storage period. This result was in agreement among XRD, FTIR and compression test. However, the retrogradation at the temperature of -20°C was lower than that of 5 and 25°C in DSC. In later period, the temperature of 25°C induced more retrogradation than the lower temperatures. On the contrary, the retrogradation was not found at the temperature of 45°C in a textural measurement during the 52 days of storage. In XRD and FTIR, the water content of 70% induced the maximum retrogradation, but this was found in 60% water content of DSC และ gel texture test. The interaction between more water content and higher temperature retarded or inhibited the retrogradation as monitored by FTIR and textural test.

Heating tapioca starch at 100°C for 7 hours produced physical modified starch of heat-moisture treatment: Annealed tapioca starch occurred after incubation of 75% moisture starch at the temperature of 57°C for 6 days. The gel viscosity of drum-dried pregelatinized starch, half-product extruded pregelatinized starch and expansion-

extrudated pregelatinized starch was high, medium and low respectively. The retrogradation of drum-dried pregel starch and heat moisture treated starch was larger than that of expanded pregel starch as monitored by FTIR. From DSC the heat-moisture treated starch retrograded in a greater extent than the other modified starches but it was not different from native starch as calculated in a basis of its enthalpy. As calculated in a basis of the enthalpy of native starch, the degree of retrogradation of annealed starch was the highest among the modified starch and equal to that of native starch. In addition, the thermal transition temperatures (T_o and T_p) of retrograded modified starch was superior than those of retrograded native starch.

Key words: retrogradation, temperature, water content, physical modified starch

Executive Summary

ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

มันสำปะหลังเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทย ในปี พ.ศ. 2543 ประเทศไทยผลิตมันสำปะหลังได้ 19,049,000 เมกะตัน ซึ่งผลิตได้เป็นอันดับ 3 ของโลก รองจากประเทศไนจีเรียและบราซิล (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2544) ซึ่งมันสำปะหลังที่ผลิตได้ มีการนำไปใช้ประโยชน์หลายด้าน เช่น ใช้บริโภคเป็นอาหารโดยตรง ใช้ในอุตสาหกรรมมันเส้น อุตสาหกรรมมันอัดเม็ด และอุตสาหกรรมแป้งมันสำปะหลัง ประเทศไทยมีกำลังการผลิตแป้งมันสำปะหลังปีละ 2.5-3.0 ล้านตัน เป็นประเทศที่ผลิตแป้งมันสำปะหลังและส่งออกมากที่สุดในโลก ซึ่งปัจจุบันอุตสาหกรรมแป้งมันสำปะหลังของไทยยังมีการลงทุนและขยายกำลังผลิตอย่างต่อเนื่อง (เสรี เต่นวรัลภพ, 2545) ในอุตสาหกรรมการผลิตแป้งมันสำปะหลังนี้มีการนำแป้งมันสำปะหลังไปใช้ประโยชน์หลายด้านทั้งในอุตสาหกรรมที่เป็นอาหารและไม่ใช่อาหาร เช่น ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร, แป้งดัดแปร, ใช้ทำผงชูรสและไลซีน, เป็นสารให้ความหวาน, อุตสาหกรรมกระดาษ และ อุตสาหกรรมกาว เป็นต้น (กล้าณรงค์ ศรีรอด และคณะ, 2542) ซึ่งการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากแป้งมันสำปะหลังหรือการใช้ประโยชน์จากแป้งมันสำปะหลังในลักษณะต่างๆ มีความจำเป็นต้องใช้ข้อมูลพื้นฐานทางด้านวิทยาศาสตร์ ทั้งทางด้านโครงสร้างของแป้งและคุณสมบัติการนำไปใช้ประโยชน์ (functional properties) ซึ่งข้อมูลพื้นฐานทางด้านต่างๆ ของแป้งมันสำปะหลังยังมีน้อยมากเมื่อเปรียบเทียบกับแป้งชนิดอื่น เช่น แป้งสาลี แป้งข้าวโพด และแป้งมันฝรั่ง เนื่องจากมันสำปะหลังเป็นพืชที่ไม่ได้ปลูกมากในประเทศที่ทำวิจัยเหล่านั้นได้ ข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับแป้งมันสำปะหลัง เช่น องค์ประกอบทางเคมี ลักษณะโครงสร้างของแป้ง คุณสมบัติบางประการของแป้ง และคุณภาพของแป้งมันสำปะหลังที่แตกต่างกันอันเนื่องจากสายพันธุ์ที่ต่างกัน อายุการเก็บเกี่ยวที่ต่างกัน หรือสภาพแวดล้อมของการปลูกที่ต่างกันก็ได้มีการศึกษาทำวิจัยบ้างแล้วทั้งภายในประเทศและต่างประเทศ ข้อมูลพื้นฐานทางวิทยาศาสตร์ในด้านต่างๆ ของแป้งมันสำปะหลัง โดยเฉพาะสมบัติทางด้านเจลลิตไนเซชัน (gelatinization) และรีโทรเกรเดชัน (retrogradation) นอกจากจะมีความสำคัญต่อความเข้าใจและการนำแป้งมันสำปะหลังไปใช้ประโยชน์ ยังมีความสำคัญต่อการค้าแป้งมันสำปะหลังของประเทศไทยอีกด้วย เนื่องจากในการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากแป้งมันสำปะหลังนั้น จำเป็นต้องใช้ข้อมูลพื้นฐานทางวิทยาศาสตร์เพื่อช่วยในการพัฒนา ประเทศไทยจึงจำเป็นต้องมีข้อมูลเหล่านี้เพื่อช่วยในการสนับสนุนการค้าแป้งมันสำปะหลัง

รีโทรเกรเดชัน (retrogradation) เป็นปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นหลังจากแป้งผ่านการเจลลิตไนเซชันแล้ว เป็นการจัดเรียงตัวกันใหม่ของโมเลกุลแป้ง ให้ความกระชับมากขึ้น ซึ่งเกี่ยวข้องกับการ recrystallization ของสตาร์ช จัดว่าเป็นปรากฏการณ์ที่สำคัญอันเป็นที่ต้องการและไม่ต้องการในกระบวนการแปรรูปและผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ การศึกษาปรากฏการณ์นี้จัดว่าเป็นข้อมูล

พื้นฐานสำคัญอย่างหนึ่งสามารถนำไปอธิบายหรือใช้ประโยชน์ต่อไปในกระบวนการแปรรูป แป้งและผลิตภัณฑ์ที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบ ซึ่งมีผลกระทบต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ เช่น ความต้องการขึ้นรูปของผลิตภัณฑ์ระหว่างการผลิต (intermediate products) ย่อมต้องการให้ แป้งเกิดรีโทรเกรดมากขึ้น แต่การเกิดรีโทรเกรเดชันนั้นไม่เป็นที่ต้องการในขนมปัง และ อาหารที่ต้องการความนุ่ม การศึกษาเกี่ยวกับรีโทรเกรเดชันจึงมีการศึกษาอย่างกว้างขวาง ในแป้งสาลี แป้งข้าวโพด แป้งมันฝรั่ง แต่ลักษณะทางโครงสร้างหรือองค์ประกอบทางเคมีโดย ธรรมชาตินั้นมีความแตกต่างจากแป้งมันสำปะหลัง จึงไม่สามารถที่จะทำข้อมูลเหล่านี้มาใช้ ประโยชน์ได้โดยตรง สำหรับการศึกษาการเกิดรีโทรเกรเดชันในแป้งมันสำปะหลังนั้นมีน้อย มาก ซึ่งข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับอัตราการเกิดรีโทรเกรเดชัน ลักษณะที่เกิด ปัจจัยต่าง ๆ ทั้ง ด้านองค์ประกอบ หรือโครงสร้างแป้ง สภาพแวดล้อมภายนอก ที่มีต่อการเกิดรีโทรเกรเดชัน ของแป้งมันสำปะหลังนั้นมีน้อยมากหรือไม่เลย ซึ่งความรู้พื้นฐานเหล่านี้ จะช่วยให้เกิด ความเข้าใจและควบคุมปรากฏการณ์นี้ให้เป็นไปตามต้องการได้ และสามารถนำไปใช้ ประโยชน์ได้โดยตรงกับการแปรรูปหรือผลิตภัณฑ์ที่ใช้แป้งมันสำปะหลัง นอกจากนี้การศึกษา เกี่ยวกับความสัมพันธ์เกี่ยวกับอุณหภูมิการเก็บเจล ปริมาณน้ำในเจล และเวลา ต่อพฤติ กรรมการเกิดรีโทรเกรเดชันของแป้งมันสำปะหลัง จะเป็นองค์ความรู้ที่ช่วยนำไปใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมการผลิตแป้งมันสำปะหลังดัดแปรทางเทคโนโลยีชีวภาพหรือแป้ง resistant starch จาก มันสำปะหลังได้

จากการที่ทราบว่าการเปลี่ยนสมบัติทางกายภาพของแป้งธรรมชาติด้วยการ annealing และ heat-moisture treatment นั้น เป็นการปรับปรุงสมบัติความเป็นผลึก (crystallinity) ของ เม็ดแป้ง (starch granule) และเปลี่ยนอุณหภูมิการเกิดเจลลิตในเซชันของแป้ง ทำให้นักวิจัยเริ่ม มีความสนใจศึกษาผลของ heat-moisture treatment ต่อสมบัติต่างๆของสตาร์ชมากขึ้น นอกจากนี้แป้งพรีเจลลิตไนซ์ (pregelatinized starch) ก็มีการใช้อย่างหลากหลายในอุตสาหกรรมอาหาร องค์ความรู้เกี่ยวกับลักษณะหรือบทบาทของรีโทรเกรเดชันของแป้งมัน สำปะหลังจะมีผลกระทบหรือไม่ อย่างไร จากการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพของแป้งมัน สำปะหลังด้วยวิธีการต่างๆ เหล่านี้ ก็เป็นแนวทางการวิจัยหนึ่งที่น่าสนใจ และมีบทบาทสำคัญ เกี่ยวข้องกับการนำความรู้พื้นฐานนี้ไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมแป้งมันสำปะหลังอีกด้วย ซึ่ง ข้อมูลเหล่านี้ยังไม่มีการศึกษาเลย

วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. เพื่อศึกษาและสร้างข้อมูลพื้นฐานของแป้งมันสำปะหลังโดยเน้นด้านการเกิดรีโทรเกรเดชันของแป้งมันสำปะหลัง
2. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิ, ปริมาณน้ำ และเวลาต่อลักษณะการเกิดรีโทรเกรเดชันของแป้งมันสำปะหลังด้วยเทคนิคที่แตกต่างกัน

3. เพื่อศึกษาผลของการดัดแปรทางกายภาพด้วยวิธี pregelatinization, heat-moisture treatment และ annealing ต่อลักษณะการเกิดรีโทรเกรเดชันของแป้งมันสำปะหลัง

ระเบียบวิธีการวิจัย

1. การตรวจสอบคุณสมบัติแป้งมันสำปะหลัง

ตัวอย่างแป้งมันสำปะหลังที่จะใช้ในการศึกษาครั้งนี้ทั้งหมด จะใช้แป้งมันสำปะหลังที่มาจากชุด (lot) การผลิตหรือการเตรียมแป้งมันสำปะหลังเดียวกันทั้งหมดในทุกการทดลอง ซึ่งจะมาจากวัตถุดิบหัวมันสำปะหลังที่มาจากพันธุ์ อายุหัว และฤดูกาลเก็บเกี่ยวเดียวกัน นอกจากนี้จะทำการตรวจสอบคุณสมบัติทางเคมี ทางกายภาพด้วย เช่น วิเคราะห์ปริมาณอะมิโลส วัด pasting viscosity ด้วย Rapid Visco Analyser เป็นต้น เพื่อใช้อ้างอิงในผลการทดลองต่อไป

2. ผลของปริมาณน้ำและอุณหภูมิต่ออัตราปริมาณ ของเจลแป้งมันสำปะหลัง

เตรียมตัวอย่างเจลแป้งมันสำปะหลังที่ปริมาณน้ำ 3 ระดับ คือ 60, 70 และ 80% โดยการผสมแป้งกับน้ำแล้วให้ความร้อน 100°C เป็นเวลา 30 นาที เก็บตัวอย่างเจลแป้งที่อุณหภูมิต่าง ๆ กัน 4 อุณหภูมิ คือ -20 , 5 , 25 , 45°C เป็นระยะเวลา 0-55 วัน จากนั้นเก็บตัวอย่างเพื่อตรวจสอบการเกิดรีโทรเกรเดชัน ดังต่อไปนี้

2.1 Thermal analysis ด้วยวิธี Differential Scanning Colorimetry (DSC) โดยวัด endotherm onset temperature (T_o), endotherm peak temperature (T_p), endotherm conclusion temperature (T_c), T_c-T_o และ enthalpy

2.2 วัดปริมาณ crystallinity ด้วยวิธีการ X-ray diffraction

2.3 วัดปริมาณการเกิดรีโทรเกรเดชันด้วย Fourier Transform Infra-red (FTIR) spectroscopy

2.4 วัดลักษณะเนื้อสัมผัสของเจล ด้วยเครื่อง Instron universal testing machine

3. ผลการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพแป้งมันสำปะหลังต่อการเกิดรีโทรเกรเดชัน

เตรียมแป้งมันสำปะหลังด้วยวิธี pregelatinization 2 วิธี คือ ด้วยการทำให้แห้งแบบลูกกลิ้ง (drum drying) และวิธีการเอกซ์ทรูชัน ซึ่งวิธีหลังนี้แยกเป็นแป้งฟรีเจล 2 ชนิด คือ direct expanded product pregelatinized starch และ half-product pregelatinized starch เตรียมแป้งผ่าน heat-moisture treatment โดยการให้ความร้อนกับแป้งที่มีความชื้น 25% ที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 7 ชั่วโมง เตรียมแป้งที่ผ่านการ annealing ด้วยการบ่มแป้งที่มีความชื้น 75% ที่อุณหภูมิ 57°C เป็นเวลา 6 วัน จากนั้นทำการตรวจสอบสมบัติทางเจลลาติไนซ์เซชันของแป้งที่ดัดแปรด้วย DSC และสมบัติทาง rheology ด้วย RVA

เตรียมตัวอย่างเจลแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านกระบวนการด้วยวิธีการข้างต้น แล้วเก็บตัวอย่างเจลเป็นเวลา 0-30 วัน จากนั้นสุ่มเก็บตัวอย่างเพื่อตรวจสอบการเกิดรีโทรเกรเดชันด้วยวิธีการ FTIR และ DSC

แผนการดำเนินงาน

กิจกรรม	ปีที่ 1		ปีที่ 2		ปีที่ 3
	1-6	7-12	1-6	7-12	1-6
1.ตรวจสอบคุณสมบัติของแป้งมันสำปะหลัง	↔				
2.เตรียมและเก็บเจลที่ปริมาณน้ำและอุณหภูมิต่างๆ	↔	→			
3.วัดปริมาณหรือลักษณะรีโทรเกรเดชันด้วยวิธีการต่างๆ	←			→	
4.เตรียมแป้งมันสำปะหลังที่มีสมบัติทางกายภาพที่เปลี่ยนไปวิธีต่างๆ			↔		
5. ตรวจสอบสมบัติแป้งในข้อ 4			↔		
6. ทดลองแป้งในข้อ 4 ต่อการเกิดรีโทรเกรเดชัน				↔	→

เนื้อหางานวิจัย

บทนำ

มันสำปะหลังเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทย ในปี พ.ศ. 2543 ประเทศไทยผลิตมันสำปะหลังได้ 19,049,000 เมกะตัน ซึ่งผลิตได้เป็นอันดับ 3 ของโลกรองจากประเทศไนจีเรียและบราซิล (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2544) ซึ่งมันสำปะหลังที่ผลิตได้ มีการนำไปใช้ประโยชน์หลายด้าน เช่น ใช้บริโภคเป็นอาหารโดยตรง ใช้ในอุตสาหกรรมมันเส้น อุตสาหกรรมมันอัดเม็ด และอุตสาหกรรมแป้งมันสำปะหลัง โดยประเทศไทยเป็นประเทศที่ผลิตแป้งมันสำปะหลังและส่งออกมากที่สุดในโลก ในอุตสาหกรรมการผลิตแป้งมันสำปะหลังนี้มีการนำแป้งมันสำปะหลังไปใช้ประโยชน์หลายด้านทั้งในอุตสาหกรรมที่เป็นอาหารและไม่ใช่อาหาร ซึ่งการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากแป้งมันสำปะหลังหรือการใช้ประโยชน์จากแป้งมันสำปะหลังในรูปแบบต่างๆ มีความจำเป็นต้องใช้ข้อมูลพื้นฐานทางด้านวิทยาศาสตร์ ทั้งทางด้านโครงสร้างของแป้งและคุณสมบัติการนำไปใช้ประโยชน์ (functionality) ซึ่งข้อมูลพื้นฐานทางด้านต่างๆ ของแป้งมันสำปะหลังยังมีน้อยมากเมื่อเปรียบเทียบกับแป้งชนิดอื่น เช่น แป้งสาลี แป้งข้าวโพด และแป้งมันฝรั่ง โดยเฉพาะข้อมูลในด้านการเกิดรีโทรเกรเดชันของแป้งมันสำปะหลังที่ปลูกในประเทศไทย ในเชิงความสัมพันธ์กับปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการเกิดรีโทรเกรเดชันของแป้งมันสำปะหลัง ซึ่งจะช่วยให้เกิดความเข้าใจและนำไปประยุกต์ใช้ในการใช้ประโยชน์จากแป้งมันสำปะหลังในอุตสาหกรรมต่างๆ

การเกิดรีโทรเกรเดชันของสตาร์ช (starch retrogradation) เป็นการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นหลังจากสตาร์ชผ่านการเจลาตีไนเซชันจากบริเวณ amorphous ไปจนถึงส่วนอื่นๆ รวมทั้งส่วนที่เป็น crystalline การเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นเนื่องจากเจลสตาร์ชไม่อยู่ในสมดุลทางเทอร์โมไดนามิกส์ทำให้เกิดการจัดเรียงตัวกันใหม่ของโมเลกุลสตาร์ชด้วยพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุลให้มีความระเบียบมากขึ้น โดยทำให้เกิดลักษณะการเรียงตัวของโครงสร้างแน่นขึ้น โมเลกุลอิสระของน้ำที่อยู่ภายในถูกบีบออกมาจนเจลหรือเกิดการสูญเสียความสามารถในการเก็บน้ำ หรือเรียกว่า recrystallization ของสตาร์ช

กระบวนการเกิดรีโทรเกรเดชันเกิดหลังจากการเกิดเจลาตีไนเซชัน เมื่อให้ความร้อนอย่างต่อเนื่องเม็ดแป้งจะถูกทำลายทำให้ความหนืดลดลง เมื่อเย็นลงแป้งจะเกิดการคืนตัว (set back) หรือเกิดรีโทรเกรเดชัน โมเลกุลของอะมิโลสและอะมิโลเพคตินจะเกิดการจัดเรียงตัว ซึ่งอัตราการเกิดรีโทรเกรเดชันของอะมิโลสจะเร็วกว่าอะมิโลเพคติน เนื่องจากโครงสร้างของอะมิโลเพคตินมีโครงสร้างเหมือนพุ่มไม้ทำให้เป็นอุปสรรคในการเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุลและโมเลกุลไม่สามารถจับกันได้อย่างแน่นทำให้เกิดเป็นเจลที่ไม่แข็งแรง โมเลกุลของอะมิโลสเป็นส่วนสำคัญที่ทำให้เกิดการรีโทรเกรเดชัน เนื่องจากเป็นส่วนที่ไม่เป็นกึ่ง ก้านหรือมีกึ่ง ก้านเพียงเล็กน้อยทำให้โมเลกุลมาเชื่อมต่อกันอย่าง

หนาแน่นเป็นเจลหรือตะกอน โดยในกรณีของแป้งที่มีปริมาณอะมิโลสสูงแต่มีความเข้มข้นของแป้งต่ำเกิดการเป็นตะกอน แต่เมื่อความเข้มข้นของแป้งสูงทำให้เกิดเป็นเจลที่แข็งแรง อัตราส่วนของอะมิโลสต่ออะมิโลเพคตินก็เป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญ ปริมาณอะมิโลเพคตินที่เพิ่มขึ้นจะขัดขวางการเรียงตัวกันของอะมิโลส เนื่องจากอะมิโลสซึ่งเป็นโมเลกุลหลักที่ทำให้เกิดรีโทรเกรดชันมีสัดส่วนที่ลดลง นอกจากนี้ความยาวสายโซ่ อะมิโลสยังมีผลต่อการเกิดรีโทรเกรดชัน สายโซ่ที่ยาวสามารถเกิดพันธะเชื่อมข้าม (crosslink) ระหว่างสายโซ่ เกิดเป็น macromolecular network ซึ่งเป็นผลให้เกิดเจล โดยมีบริเวณการจับกันของสายโซ่ที่เรียกว่า junction zones การเกิดพันธะเชื่อมข้ามนี้จะขัดขวางการจัดเรียงตัวเป็น crystalline ของ double helices ทำให้มีลักษณะเป็น amorphous เพิ่มขึ้น ซึ่งมีรายงานว่าอะมิโลสที่มีค่า degree of polymerization (DP) เท่ากับ 40 จะไม่เกิดพันธะเชื่อมข้าม ส่วน DP 110 เกิด crosslink และ DP 250 เกิด crosslink มาก (Gidley และ Bulpin, 1989) จากการศึกษาของ Biliaderis (1998) พบว่า ความยาวสายโซ่ของอะมิโลสที่ทำให้เกิดรีโทรเกรดชันสูงสุดประกอบด้วยกลูโคส 80 - 100 หน่วย (DP) แต่ถ้ามากหรือน้อยกว่านี้การเกิดรีโทรเกรดชันจะลดลง โดยความยาวสายโซ่ที่เป็นเส้นตรงที่สั้นที่สุดที่ต้องการสำหรับการเกิดรีโทรเกรดชันประกอบด้วย 8 - 10 หน่วย กลูโคส สำหรับ อะมิโลเพคตินที่ประกอบด้วยสายโซ่สั้นมาเชื่อมต่อกันเป็นกิ่งก้านสามารถเกิดรีโทรเกรดชันได้ แต่สายโซ่ของอะมิโลเพคตินที่มีความยาวสั้นกว่า 15 หน่วยกลูโคสจะไม่เกิดรีโทรเกรดชัน

นอกจากปัจจัยทางด้านโครงสร้างและอัตราส่วนเชิงโมลของอะมิโลสและอะมิโลเพคตินแล้ว ปัจจัยที่มีความสำคัญต่อการเกิดรีโทรเกรดชันหรือการ recrystallization ของสตาร์ชส่วนใหญ่เป็นผลจากอุณหภูมิ ซึ่งเกี่ยวข้องกับอุณหภูมิของ glass transition และสามารถอธิบายได้ในเชิง phase transition โดยกลไกการเกิดผลึกที่สมบูรณ์มี 3 ขั้นตอน คือ การเกิดนิวเคลียสซึ่งเป็นจุดที่โมเลกุลของแป้ง 2 โมเลกุลหรือมากกว่ามาเชื่อมต่อกัน การเติบโตของผลึก และการเกิดผลึกอย่างสมบูรณ์ การเกิดผลึกขึ้นกับ glass transition temperature (T_g) และ melting temperature (T_m) โดยการเกิดนิวเคลียสและการเติบโตของผลึกขึ้นกับสองอุณหภูมินี้ เมื่ออุณหภูมิของเจลสตาร์ชอยู่ระหว่าง T_g และ T_m อัตราการเกิดนิวเคลียสจะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิลดลงจนถึง T_g ในขณะที่อัตราการเติบโตของผลึกจะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นจนถึง T_m ซึ่งแนวคิดเกี่ยวกับการเกิดผลึก (crystallization) ที่เกี่ยวข้องกับอุณหภูมิของ glass transition นั้น เป็นแนวคิดที่ใช้และยอมรับกันในกลุ่มของวิทยาศาสตร์ทางโพลิเมอร์ ซึ่งนักวิชาการทางวิทยาศาสตร์การอาหารก็ได้ใช้แนวคิดนี้ในการศึกษาการเกิดผลึกของสตาร์ชเช่นกัน ดังเช่น Jouppila และ Roos (1997) ได้รายงานว่าพฤติกรรมการเกิดผลึก (crystallization behavior) ของสตาร์ชข้าวโพดที่มีโครงสร้างอสัณฐาน (amorphous corn starch) ที่มีปริมาณของแป้ง 60, 70, 80% มีลักษณะคล้ายคลึงกับพฤติกรรมการเกิดผลึกของโพลิเมอร์สังเคราะห์ โดยความแตกต่างระหว่างอุณหภูมิของการเก็บรักษาและ T_g ($T - T_g$) ของส

สตาร์ชที่เจลดินโซแล้วมีผลต่อทั้งปริมาณการเกิดผลึก และพฤติกรรมการหลอมของผลึกที่เกิดขึ้นและอัตราการเกิดผลึก (rate of crystallization) นั้นก็ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิการเก็บ ปริมาณน้ำ และผลต่างของอุณหภูมิการเก็บกับ T_g ($T - T_g$) โดยในปีต่อมา Jouppila et al. (1998) ได้สรุปว่าอัตราการเกิดผลึกในสตาร์ชข้าวโพดที่มีปริมาณของแข็งดังกล่าวมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มอุณหภูมิการเก็บและเมื่อเพิ่ม $T - T_g$ โดย Avrami equation เป็นโมเดลที่มีประโยชน์ในการทำนายอัตราการเกิดผลึกดังกล่าว แต่พบว่ารูปแบบของผลึก (crystal form) ที่เกิดขึ้นนั้นไม่ขึ้นกับปริมาณน้ำและอุณหภูมิในการเก็บ นอกจากนี้ Lu et al. (1997) ได้ศึกษาผลของอุณหภูมิต่ออัตราการเกิดรีโทรเกรเดชันและโครงสร้างผลึกของอะมิโลสมันฝรั่ง และรายงานว่าการเกิดรีโทรเกรเดชันในช่วง 24 ชั่วโมงแรกนั้นลดลงเมื่ออุณหภูมิในการเก็บเพิ่มจาก 5-45°C Kim และ Shin (1996) ได้ศึกษาการเกิดรีโทรเกรเดชันของเจลฟาล์วข้าวเจ้าที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นเวลา 6 วัน และรายงานว่าการเกิดรีโทรเกรเดชันเพิ่มขึ้นตามลำดับ คือ ที่อุณหภูมิ -18°C มีมากกว่าที่อุณหภูมิ 20°C และมากกว่าที่ 4°C แต่การทดลองของ Kim et al. (1996) ในเจลสตาร์ชข้าวเจ้าที่ความชื้น 60-65% และเก็บที่อุณหภูมิ -18 ถึง 37°C นั้น กลับพบว่าอัตราการเกิดรีโทรเกรเดชันเกิดสูงสุดที่ 4°C และลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น นอกจากนี้ Mizuno et al. (1998) ได้ศึกษาผลของการเกิดผลึกต่อ T_g ใน สตาร์ชข้าวสาลีและมันฝรั่ง และรายงานว่าการเกิด T_g ของสตาร์ชที่เก็บไว้ระยะเวลาหนึ่งมีค่าสูงกว่า T_g ของตัวอย่างที่ไม่ได้เก็บไว้ โดยค่า T_g ก็มีความสัมพันธ์กับการเกิดรีโทรเกรเดชัน

ปริมาณน้ำในเจลของสตาร์ชมีความสำคัญมากต่อการเกิดรีโทรเกรเดชัน ซึ่งการเกิด crystallization ในเจลของสตาร์ชจะเกิดขึ้นได้ในเจลที่ประกอบด้วยสตาร์ชระหว่าง 10 - 80 เปอร์เซ็นต์ และเกิดขึ้นสูงสุดในเจลที่ประกอบด้วยสตาร์ช 50 - 55 เปอร์เซ็นต์ (Eliasson และ Gudmundsson, 1996) กระบวนการ recrystallization ขึ้นกับ $T - T_g$ ของ amorphous gel เนื่องจากการเคลื่อนที่ของสายโซ่ของแป้งเป็นตัววัดอัตราการจับตัวกันของโมเลกุล ดังนั้นน้ำจึงทำหน้าที่เป็น plasticizer ซึ่งควบคุม T_g ของ amorphous gel เมื่อปริมาณน้ำต่ำ T_g จะสูงกว่าอุณหภูมิห้องทำให้ amorphous gel มีความหนืดสูงเป็นผลในการขัดขวางการเคลื่อนที่ของโมเลกุล การเกิด recrystallization จะเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณน้ำเพิ่มขึ้นถึง 40 - 50 เปอร์เซ็นต์ ทำให้โมเลกุลเกิดการเคลื่อนที่มากขึ้นและ T_g ก็ลดลงต่ำกว่าอุณหภูมิห้อง แต่การเกิด recrystallization จะลดลงเมื่อปริมาณน้ำสูงถึง 90 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากการเจือจางโมเลกุลที่สามารถจัดเรียงได้ Jang และ Pyun (1997) ได้ศึกษาผลของความชื้นต่อการเกิดรีโทรเกรเดชันของสตาร์ชข้าวสาลีที่อุณหภูมิต่างๆ ด้วยเทคนิค DSC และรายงานว่าการเกิดรีโทรเกรเดชันที่ความชื้น 25-80% มีการเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ ยกเว้นที่ความชื้น 50, 60, 70% ในขณะที่อุณหภูมิ 26 และ 32°C พบการเกิด recrystallization ภายใน 1 และ 2 สัปดาห์ของการเก็บ ในขณะที่การเกิด recrystallization ที่ความชื้น 50% ที่ 26°C ใช้เวลา 4 สัปดาห์ Liu และ Thompson (1998) ก็ศึกษาแบบเดียวกันในอะมิโลสของสตาร์ชข้าวโพดพันธุ์

ต่างๆ ซึ่งก็รายงานว่าสตาร์ชข้าวโพดทุกสายพันธุ์มีค่า enthalpy ของการเกิดรีโทรเกรเดชันสูงที่สุดที่ปริมาณความชื้นปานกลาง แต่ความสัมพันธ์ที่แม่นยำระหว่างปริมาณความชื้นและ enthalpy ของการเกิดรีโทรเกรเดชันเปลี่ยนไปตามแต่ละชนิดของสตาร์ช คือ สายพันธุ์ (amylose – extender) waxy maize starch มีผลจากความชื้นน้อยที่สุด รีโทรเกรเดชันของสายพันธุ์ (sugary-waxy) maize starch มีค่าต่ำมากแม้ที่ระดับความชื้นปานกลาง และ enthalpy ของรีโทรเกรเดชันสายพันธุ์ค่อนข้างจะไวต่อระดับความชื้น

การศึกษาผลของชนิดสตาร์ชจากแหล่งต่างๆ ต่ออัตราและปริมาณการเกิดรีโทรเกรเดชันก็มีหลากหลายวิธีการเช่นกัน Roulet et al. (1990) ได้ศึกษาอัตราและปริมาณการรีโทรเกรเดชันของสตาร์ช 8 ชนิด ที่ผ่านการให้รังสีไมโครเวฟด้วยการวัดสมบัติการไหล (rheology) และใช้ DSC (Differential scanning calorimetry) พบว่าสตาร์ชแต่ละชนิดมีปริมาณและอัตราการรีโทรเกรเดชันแตกต่างกัน Fan และ Marks (1998) ได้สรุปว่าอัตราการรีโทรเกรเดชันของแป้งข้าวเจ้าเพิ่มขึ้นอยู่กับลักษณะของเมล็ดยาและปริมาณอะมิโลส (amylose) Jacobson et al. (1997) ได้ศึกษาลักษณะและอัตราการเกิด รีโทรเกรเดชันของสตาร์ชชนิดต่าง ๆ คือ ข้าวโพด ข้าวโพดข้าวเหนียว มันฝรั่ง ข้าว ข้าวสาลี และมันสำปะหลัง โดยใช้เทคนิคการวัดความชื้น และการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบว่าอัตราการเกิดรีโทรเกรเดชันเรียงจากมากไปน้อย คือ ข้าวสาลีและข้าวโพด รองลงมาคือ ข้าวเจ้าและมันสำปะหลังและมันฝรั่ง และน้อยที่สุดคือ ข้าวโพดข้าวเหนียว ในปี 1998 Jacobson และ BeMiller ได้เพิ่มวิธีการวัดปริมาณและอัตราการรีโทรเกรเดชันด้วย DSC และใช้ X-ray diffraction ในการติดตามลักษณะผลึกที่เกิดขึ้น (crystallinity) และรายงานว่าการเร่งการเกิดรีโทรเกรเดชันด้วยวิธี freeze-thaw-cycle มีประสิทธิภาพดี โดยศึกษาในน้ำแป้งความเข้มข้น 2.5% ของแป้งมันฝรั่ง ข้าวโพด ข้าวเจ้า ข้าวสาลี และมันสำปะหลัง

นอกจากนี้การเตรียมเจลสตาร์ชด้วยวิธีการต่าง ๆ กันที่มีผลทำให้ระดับการเกิดเจลตีในเซชันไม่เท่ากันและการเติมส่วนผสมอื่นๆที่ไม่ใช่สตาร์ชไปในเจล ก็มีผลต่อระดับการรีโทรเกรเดชันเช่นกัน ดังที่ Inaba et al. (1994) ได้รายงานสรุปว่า รีโทรเกรเดชันเกิดขึ้นน้อยในตัวอย่างเจลที่เตรียมด้วยวิธีที่ทำให้เกิดระดับการเจลตีในเซชันน้อย ซึ่งศึกษาในแป้งจากมันฝรั่ง มันเทศ ข้าวโพด ข้าวสาลี ดังนั้นการเตรียมแป้งพรีเจล (pergelatinized starch) ด้วยวิธีการที่แตกต่างกันอาจมีผลต่อลักษณะของการเกิดรีโทรเกรเดชัน

ปัจจุบันการปรับเปลี่ยนคุณสมบัติของแป้งโดยกระบวนการ annealing และ heat-moisture treatment ได้ถูกนำมาศึกษาในแป้งที่ยังไม่ผ่านกระบวนการเจลตีในเซชัน เป็นอย่างมาก การ annealing คือการแปรรูปแป้งทางกายภาพโดยใช้ความร้อนที่อุณหภูมิต่ำกว่าเจลตีในเซชัน ซึ่งทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในระดับของผลึก แรงจับตัวระหว่างผลึกกับอสัณฐาน (amorphous matrix) เปลี่ยนไป ทำให้ผลึกมีความสมบูรณ์มากขึ้น อุณหภูมิของการเกิดเจลตีในเซชันจะเพิ่มขึ้น สำหรับการแปรรูปด้วย heat-moisture treatment เป็นการแปรรูป

ที่ให้ความร้อนแก่แป้งที่อุณหภูมิสูงกว่าเจลาตินในเซชัน โดยจำกัดปริมาณน้ำทำให้คุณสมบัติของแป้งเปลี่ยนไป โดยทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงด้านในโครงสร้างของผลึกในแป้งโดยจะเปลี่ยนชนิดผลึกของแป้ง และทำให้คุณสมบัติด้านความร้อนและความหนืดเปลี่ยนแปลงไป การศึกษาแป้งดัดแปรเหล่านี้ต่อคุณสมบัติทางด้านเคมีกายภาพมีการศึกษากันอย่างแพร่หลายแต่ในศึกษาด้านการเกิดรีโทรเกรเดชันยังมีข้อมูลน้อยและไม่ชัดเจน ดังเช่น Takaya et al. (2000) ได้ศึกษาลักษณะเจลาตินในเซชันและรีโทรเกรเดชันของสตาร์ชข้าวโพดที่ผ่าน heat-moisture treatment ที่ 120°C และ 130°C เป็นเวลา 20 นาที พบว่า เอนทาลปีของเจลาตินในเซชันลดลงแต่รีโทรเกรเดชันนั้นเกิดเร็วขึ้นในสตาร์ชข้าวโพดที่ผ่าน heat-moisture treatment อย่างไรก็ตาม Lim et al. (2001) รายงานว่าสตาร์ชข้าวโพดและสตาร์ชมันฝรั่งที่ผ่าน heat-moisture treatment ที่ 120°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมงนั้น มีระดับการเกิดรีโทรเกรเดชันไม่แตกต่างจากสตาร์ชที่ไม่ผ่านกระบวนการนี้

กระบวนการเกิดรีโทรเกรเดชัน จัดว่าเป็นปรากฏการณ์ที่สำคัญอันเป็นที่ต้องการและไม่ต้องการในกระบวนการแปรรูปและผลิตภัณฑ์ต่างๆ การศึกษาปรากฏการณ์นี้จัดว่าเป็นข้อมูลพื้นฐานสำคัญอย่างหนึ่งสามารถนำไปอธิบายหรือใช้ประโยชน์ต่อไปในกระบวนการแปรรูปแป้งมันสำปะหลังและผลิตภัณฑ์ที่มีแป้งมันสำปะหลังเป็นองค์ประกอบ ซึ่งมีผลกระทบต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ การศึกษาเกี่ยวกับรีโทรเกรเดชันจึงมีมากในแป้งสาลี แป้งข้าวโพด แป้งมันฝรั่ง แต่ลักษณะทางโครงสร้างหรือองค์ประกอบทางเคมีโดยธรรมชาตินั้นมีความแตกต่างจากแป้งมันสำปะหลัง จึงอาจไม่สามารถที่จะนำข้อมูลเหล่านี้มาใช้ประโยชน์ได้โดยตรง

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัยนี้ มีดังนี้

1. เพื่อศึกษาและสร้างข้อมูลพื้นฐานของแป้งมันสำปะหลังโดยเน้นด้านการเกิดรีโทรเกรเดชันของแป้งมันสำปะหลัง
2. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิ ปริมาณน้ำ และเวลาต่อลักษณะการเกิดรีโทรเกรเดชันของแป้งมันสำปะหลังด้วยเทคนิคที่แตกต่างกัน
3. เพื่อศึกษาผลของการดัดแปรทางกายภาพด้วยวิธี pregelatinization, heat-moisture treatment และ annealing ต่อลักษณะการเกิดรีโทรเกรเดชันของแป้งมันสำปะหลัง

วิธีการทดลอง

การเตรียมตัวอย่างเจลาแป้งมันสำปะหลังที่ปริมาณน้ำต่าง ๆ

แป้งมันสำปะหลังได้รับจากบริษัทสงวนวงษ์อุตสาหกรรม จำกัด จังหวัดนครราชสีมา ได้ถูกเตรียมเป็นเจลาที่ความเข้มข้นของแป้ง 20, 30 และ 40% (w/w) หรือมีปริมาณน้ำเป็น 80, 70 และ 60% ตามลำดับ โดยชั่งแป้ง (โดยน้ำหนักแห้ง) และเติมน้ำปราศจากอ็อกซิเจน (deionized water) ใส่ในกระป๋องขนาด 300 x 200 สำหรับการตรวจวัด X-ray diffraction (XRD) และ FTIR

spectroscopy และกระป๋องขนาด 202 x 308 สำหรับการตรวจวัดเนื้อสัมผัส หลังจากปิดกระป๋องแล้ว สารละลายน้ำแป้งถูกทิ้งไว้ข้ามคืนที่อุณหภูมิห้องเพื่อให้แป้งดูดน้ำเต็มที่จนถึงสมดุล (equilibration) จากนั้นนำกระป๋องที่บรรจุแป้งไปแช่ในอ่างน้ำร้อนที่อุณหภูมิและเวลาตามลำดับต่อไปนี้ คือ 50°C 15 นาที, 60°C 15 นาที, 70°C 15 นาที และ 80°C 15 นาที แล้วนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 30 นาทีในหม้อหนึ่งความดันไอน้ำเพื่อทำให้แป้งเกิดเจลลิตในเซชันที่สมบูรณ์ หลังจากเจลแป้งเย็นตัวลงแล้วได้มีการสุ่มตัวอย่างเพื่อตรวจสอบการเจลลิตในเซชันที่สมบูรณ์ของเม็ดแป้งด้วยกล้องโพลาไรซ์ (polarized light microscopy) เก็บตัวอย่างเจลแป้งมันสำปะหลังที่อุณหภูมิ -20, 5, 25 และ 45°C เป็นเวลา 30-60 วัน เมื่อถึงวันตรวจวัดตัวอย่าง สุ่มตัวอย่างเจลแป้งมาทำแห้งด้วยวิธีการระเหิดแห้งในเครื่องระเหิดแห้ง (Heto, model FD8, Denmark) โดยใช้วิธีการแช่แข็งตัวอย่างแบบ rapid freezing ด้วยการใช้นิโตรเจนเหลว จากนั้นนำตัวอย่างเจลแป้งที่แห้งแล้วไปบดที่อุณหภูมิ 5-10°C โดยใช้เครื่องบดแบบ mortar grinder (Mortar Grinder KM100, Retsch GmbH, Germany) แล้วร่อนแยกขนาดอนุภาคให้อยู่ในช่วง 75-100 μm โดยตัวอย่างผงแป้งมันสำปะหลังแห้งนั้นใช้ในการตรวจวัดด้วย XRD และ DSC ส่วนตัวอย่างเจลแป้งแบบเปียก (wet gel) ใช้เพื่อการตรวจวัดด้วย FTIR และการตรวจวัดเนื้อสัมผัสของเจลแบบ compression test

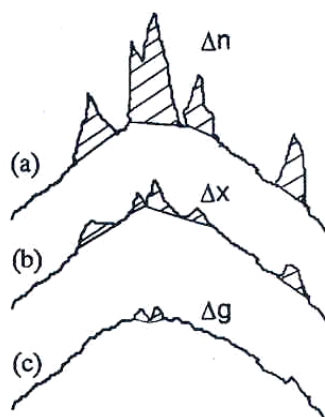
การตรวจวัดปริมาณผลึกด้วย X-ray diffraction (XRD)

การตรวจวัดปริมาณผลึกของเจลแป้งมันสำปะหลังผง โดยเทคนิค X-ray diffraction ใช้เครื่อง Powder X-ray diffractometer รุ่น D5005 (Bruker GmbH, Germany) โดยใช้ $1.54\text{\AA}$ Cu K α ในการกำเนิดรังสีเอกซ์ ทำการตรวจวัด diffraction pattern ในช่วงมุม (2θ) 4-30 องศา โดยกำหนดสภาพการตรวจวัดดังต่อไปนี้ กระแสไฟฟ้า 40 mA ศักย์ไฟฟ้า 40 kV ความกว้าง divergence slit 1° ความกว้าง antiscattering slit 1° ความเร็วในการตรวจวัด 0.480 องศาต่อวินาที (step size 0.02 องศา และ time per step 2.5 วินาที) และถาดรองตัวอย่างหมุนด้วยความเร็วรอบ 30 รอบต่อวินาที

Diffraction pattern ที่ได้ถูกนำมาวิเคราะห์เชิงปริมาณด้วยโปรแกรม Diffract Plus #1 software โดยวัดพื้นที่ใต้กราฟของตัวอย่างและคำนวณหาปริมาณผลึก (relative crystallinity) เทียบกับแป้งมันสำปะหลังดิบ ดังรูปที่ 1 (ดัดแปลงจาก Mizuno และคณะ, 1998) และคำนวณหาปริมาณร้อยละของผลึกจากสูตร

$$X = \frac{(\Delta x - \Delta g)}{(\Delta n - \Delta g)} \times 100$$

เมื่อ	X	คือ	ร้อยละปริมาณผลึก (percentage of relative crystallinity)
	Δx	คือ	พื้นที่ใต้กราฟของ retrograded starch
	Δg	คือ	พื้นที่ใต้กราฟของ gelatinized starch
	Δn	คือ	พื้นที่ใต้กราฟของ native starch



รูปที่ 1 ไลอะแกรมแสดงพื้นที่ใต้กราฟในการวิเคราะห์ปริมาณผลึกของแป้งด้วยเทคนิค X-ray diffractometry ตามแบบวิธี Mizuno et al. (1998) โดยที่ (a) native starch; (b) retrograded starch; (c) gelatinized starch

การตรวจสอบการเกิดรีโทรเกรเดชันด้วย Fourier Transform Infra-red (FTIR)spectroscopy

นำตัวอย่างเจลแป้งแบบเปียกมาวัดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างเพื่อตรวจสอบการเกิด รีโทรเกรเดชันด้วยเทคนิค FTIR spectroscopy ด้วยเครื่อง Spectrum GX FT-IR spectrometer (Perkin Elme Ltd., Buckinghamshire, UK) ที่วัดแสงอินฟราเรดด้วย deuterated triglycines sulphate (DTGS) detector ทำการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างเจลแป้งด้วยเทคนิค Attenuated Total Reflectance (ATR) ซึ่งใช้ ZnSe เป็นผลึกวัสดุ ทำการตรวจวิเคราะห์โดยตัดตัวอย่างด้วยเครื่องสไลด์ให้ตัวอย่างมีความหนา 2 มิลลิเมตร นำไปวางบน ZnSe crystal ให้ทุกส่วนของตัวอย่างแนบพอดีกับ cell ของ ZnSe crystal ทำการตรวจวัด FTIR spectra ในช่วง wave number $4000 - 600 \text{ cm}^{-1}$ โดยกำหนด resolution 4 cm^{-1} และจำนวนครั้งในการ scan 32 ครั้ง วัด spectra ของตัวอย่างเทียบกับ crystal cell เปล่าซึ่งเป็น background เพื่อกำจัดการรบกวนจากสิ่งแวดล้อม จากอินฟราเรดสเปกตรัมที่วัดได้นำมาวิเคราะห์เทียบสัดส่วนความเข้ม spectra ที่ตำแหน่ง 1045 cm^{-1} ต่อตำแหน่ง 1037 cm^{-1} ; $R (1045/1037)$ ตามวิธีการของ Van Soest et al. (1995) ทำการดัดแปลง spectra ด้วยโปรแกรม Spectrum GX software โดยปรับแต่ง baseline ในช่วง wave number $1200 - 800 \text{ cm}^{-1}$ และ deconvoluted ด้วย enhancement (line-narrowing) factor 2.0 และ length 25% ความเข้มของ spectra ทั้ง

2 ตำแหน่งวิเคราะห์จาก deconvoluted spectra โดยวัดความสูงของ absorbance b และ จาก baseline

การตรวจสอบการเกิดรีโทรเกรเดชันด้วย Differential Scanning Calorimetry (DSC)

เตรียมตัวอย่างสารละลายแป้งมันสำปะหลังที่ปริมาณน้ำ 80, 70 และ 60% ปริมาตร 40 μL ลงใน aluminum DSC pan ที่มีปริมาตร 50 μL โดยชั่งน้ำหนักแป้ง 8, 12 และ 16 มิลลิกรัมและน้ำปราศจากไอออน 31, 26 และ 22 มิลลิกรัม ตามลำดับ ปั่นไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 8 ชั่วโมง ให้ความร้อนด้วยเครื่อง Pyris Diamond DSC (Perkin Elmer, Connecticut, USA) เพื่อให้สารละลายแป้งเกิดเจลลาคีไนซ์โดยตั้งค่าโปรแกรมดังนี้ ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 5 – 95°C ที่อัตรา 20°C/min จากนั้นลดอุณหภูมิจาก 95 – 5°C ที่อัตรา 40°C/min และให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 5 – 95°C ที่อัตรา 20°C/min โดยใช้ระบบ Intracooler ในการให้ความเย็น จากนั้นนำตัวอย่าง gelatinized starch ไปปั่นไว้ที่อุณหภูมิ -20, 5, 25 และ 45°C ติดตามการเกิดรีโทรเกรเดชันเป็นระยะเวลา 31 วัน

ตัวอย่างที่ผ่านการบ่มตามระยะเวลาที่กำหนด ทำการวัดการเกิดรีโทรเกรเดชันด้วยเครื่อง DSC โดยให้ความร้อนตั้งแต่อุณหภูมิ 5 – 95°C ที่อัตรา 10°C/min โดยใช้ panเปล่าเป็น reference และ ใช้ Indium ในการเทียบอุณหภูมิมาตรฐาน คำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การเกิดรีโทรเกรเดชัน จากสูตร

$$\% \text{ Retrogradation} = \frac{\text{Enthalpy ของ retrograded starch}}{\text{Enthalpy ของ native starch}} \times 100$$

การตรวจสอบเนื้อสัมผัสของเจลแบบ compression test

นำตัวอย่างเจลแป้งในกระป๋องขนาด 202 x 308 ที่ผ่านการบ่มตามระยะเวลาต่างๆ มาตรวจวัดลักษณะทางเนื้อสัมผัสโดยการวัดแรงกด (compression force) ด้วยเครื่อง Instron Universal Testing Machine 5560 (Instron Corp., Canton, MA, USA) โดยมี load cells ขนาด 5 kN และใช้ cylinder probe ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20 mm และระยะทางที่วัด คือ 10 mm วัดค่าแรงกดในหน่วยกรัม(g)

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพแป้งมันสำปะหลังต่อการเกิดรีโทรเกรเดชัน

การเตรียมแป้งฟรีเจลลาคีไนซ์ ด้วยวิธีการเอกซ์ทรูชันแบบ Half product

ปรับความชื้นของแป้งมันสำปะหลังให้ได้ประมาณ 20% (wb) และนำมาใส่ในถังป้อนวัตถุดิบ (K-Tron International, Piman, NJ, USA) ที่ป้อนด้วยอัตรา 3% ผ่านเข้าเครื่อง extruder แบบสกรูคู่ (MPF19:25 APV Beaker company, UK) โดยทำการเรียงสกรูแบบ half product ใช้ความเร็วรอบสกรู 100 rpm, ควบคุมอุณหภูมิใบเรลดังนี้ zone 1: 50°C, zone 2: 70°C, zone 3: 85°C และ zone 4: 95°C ปรับความชื้นของกระบวนการเอกซ์ทรูชันให้ได้ 80%

โดยควบคุม moisture feed rate ที่ใช้ peristatic pump ที่ 15% จากนั้นนำตัวอย่างที่ผ่านออกจากหัวแบบ (die plate) แล้วไปอบที่ตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 50°C จนกระทั่งมีค่าความชื้นคงที่ประมาณ 8% นำตัวอย่างแบ่งที่ได้มาบดด้วยเครื่องบด super blender (ยี่ห้อ National รุ่น MX-T2GN, ใต้หวัน) นำไปร่อนแยกขนาดด้วยเครื่องร่อน (Vibration Sieve Shaker, Fritsch, USA) และเก็บตัวอย่างแบ่งที่มีขนาดอนุภาคตั้งแต่ 150-250 ไมครอนเพื่อนำไปใช้ต่อไป

การเตรียมแป้งพรีเจลลาติไนซ์ ด้วยวิธีการเอกซ์ทรูชันแบบ Direct-expanded product

ปรับความชื้นของแป้งมันสำปะหลังให้ได้ประมาณ 20% (wb) และนำมาผ่านเข้าเครื่อง extruder แบบสกรูคู่ (MPF19:25 APV Beaker company, UK) โดยมีการเรียงสกรูแบบ direct-expanded product ใช้หัว die ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 มม. ความเร็วรอบสกรู 350 rpm ควบคุมอุณหภูมิบริเวณนี้ zone 1: 90°C, zone 2: 110°C, zone 3: 140°C และ zone 4: 170°C ปรับความชื้นของกระบวนการเอกซ์ทรูชันให้ได้ 20% โดยควบคุม moisture feed rate ที่ใช้ peristatic pump ที่ 14% และ dry feed rate 37% จากนั้นนำตัวอย่างที่ผ่านออกจากหัว die แล้วไปอบที่ตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 50°C จนกระทั่งมีค่าความชื้นคงที่ประมาณ 8% นำตัวอย่างแบ่งที่ได้มาบดด้วยเครื่องบด super blender (ยี่ห้อ National รุ่น MX-T2GN, ใต้หวัน) นำไปร่อนแยกขนาดด้วยเครื่องร่อน (Vibration Sieve Shaker, Fritsch, USA) และเก็บตัวอย่างแบ่งที่มีขนาดอนุภาคตั้งแต่ 150-250 ไมครอนเพื่อนำไปใช้ต่อไป

การเตรียมแป้งพรีเจลลาติไนซ์ ด้วยการทำแห้งแบบลูกกลิ้ง (Drum drying)

เตรียมตัวอย่างน้ำแป้ง 30% solid (wb) นำมาป้อนเข้าเครื่องทำแห้งแบบลูกกลิ้งคู่ (double drum dryer 6 x 8, New Way Manufacturing Co, Ltd. Thailand) โดยสภาวะที่ใช้ คือ ระยะห่างระหว่างลูกกลิ้ง 1.5 mm อุณหภูมิของลูกกลิ้ง 120°C และความเร็วรอบของลูกกลิ้ง 0.845 rpm (101.6 Hz.) จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้มาบดด้วยเครื่องบด super blender (ยี่ห้อ National รุ่น MX-T2GN, ใต้หวัน) แล้วนำไปร่อนแยกขนาดด้วยเครื่องร่อน (Vibration Sieve Shaker, Fritsch, USA) เก็บตัวอย่างแบ่งที่มีขนาดอนุภาคตั้งแต่ 150-250 ไมครอนเพื่อนำไปใช้ต่อไป

การเตรียมแป้งที่ผ่าน Heat- moisture treatment

นำแป้งมันสำปะหลังมาปรับความชื้นให้ได้ 25% (wb) จากนั้นปรับสมดุลความชื้นของแป้ง (equilibration) ที่อุณหภูมิ 4-5°C เป็นเวลา 1 คืน แล้วนำไปให้ความร้อนใน hot air oven อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 7 ชั่วโมง จากนั้นทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง และนำมาทำให้แห้งโดยนำเข้าตู้อบลมร้อนที่ปรับอุณหภูมิ 50°C จนมีความชื้นประมาณ 10% นำตัวอย่างที่ได้มาบดด้วยเครื่องบด super blender (ยี่ห้อ National รุ่น MX-T2GN, ใต้หวัน) แล้วนำไปร่อนแยกขนาด

ด้วยเครื่องร่อน (Vibration Sieve Shaker, Fritsch, USA) เก็บตัวอย่างแป้งที่มีขนาดอนุภาคตั้งแต่ 150-250 ไมครอนเพื่อนำไปใช้ต่อไป

การเตรียมแป้งที่ผ่าน *Annealing*

นำแป้งมันสำปะหลังมาปรับความชื้นให้ได้ 75% (wb) โดยใช้สารละลาย 0.01% NaN_3 ในขวดโหลแก้วขนาด 1.5 ลิตร หลังจากนั้น นำไปเก็บใน hot air oven ที่ปรับอุณหภูมิ 57°C เป็นเวลา 6 วัน เมื่อครบระยะเวลาที่กำหนดนำมากรองด้วยเครื่องกรองสุญญากาศผ่านกระดาษกรองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 150 mm (No.595, Schleicher&Schuell Microscience, Germany) จากนั้นนำมาทำให้แห้งโดยนำเข้าตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 40°C จนมีความชื้นประมาณ 10% นำตัวอย่างที่ได้มาบดด้วยเครื่องบด super blender (ยี่ห้อ National รุ่น MX-T2GN, ใต้หวัน) แล้วนำไปร่อนแยกขนาดด้วยเครื่องร่อน (Vibration Sieve Shaker, Fritsch) เก็บตัวอย่างแป้งที่มีขนาดอนุภาคตั้งแต่ 150-250 ไมครอนเพื่อนำไปใช้ต่อไป

การตรวจสอบการเกิดรีโทรเกรเดชันในแป้งดัดแปรทางกายภาพ

การศึกษาผลการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพแป้งมันสำปะหลังต่อการเกิดรีโทรเกรเดชันใช้เทคนิคในการตรวจสอบการเกิดรีโทรเกรเดชันในแป้งดัดแปรด้วยวิธี Fourier Transform Infra-red (FTIR) spectroscopy และ Differential Scanning Calorimetry (DSC)

การเตรียมตัวอย่างและการตรวจสอบด้วย FTIR

นำแป้งดัดแปร 5 ชนิด คือ pregelatinized starch แบบ Half-product pregelatinized starch (HPPS), Expและed-product pregelatinized starch (EPPS), Drum-drying pregelatinized starch (DDPS), Heat-moisture treated starch (HMTS) และ Annealed starch (AS) เตรียมเจลลงในกระป๋องขนาด 300 x 200 ให้มีปริมาณน้ำ 80% โดยนำแป้งฟรีเจลลาติไนซ์ทั้ง 3 ชนิด คือ HPPS, EPPS และ DDPS มาละลายในน้ำที่อุณหภูมิห้องเพื่อให้เกิดเจล สำหรับแป้ง HMT และ annealing ทำการเตรียมเจลโดยให้ความร้อนกับสารละลายแป้งเช่นเดียวกับการเตรียมเจลแป้งมันสำปะหลังดิบ จากนั้นนำเจลแป้งดัดแปรทั้งหมดไปให้ความร้อนเพื่อให้เกิดการเจลาติไนซ์อย่างสมบูรณ์ ในหม้อนึ่งไอน้ำ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 105°C เป็นระยะเวลา 30 นาที บ่มตัวอย่างเจลแป้งที่อุณหภูมิ 5°C และติดตามการรีโทรเกรเดชันด้วยเทคนิค FTIR เช่นเดียวกับเจลแป้งมันสำปะหลังดิบเป็นระยะเวลา 7, 11, 14, 21 และ 31 วัน

การเตรียมตัวอย่างและการตรวจสอบด้วย DSC

ทำการเตรียมตัวอย่างเจลและตรวจสอบการเกิดรีโทรเกรเดชันในแป้งดัดแปรด้วย DSC เช่นเดียวกับแป้งมันสำปะหลังดิบ โดยเตรียมสารละลายแป้งดัดแปรที่มีปริมาณน้ำ 70%

ปริมาตร 30 μL ลงใน aluminum DSC pan ที่มีปริมาตร 50 μL บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 8 ชั่วโมง ให้ความร้อนด้วยเครื่อง Pyris Diamond DSC เพื่อให้สารละลายแบ่งเกิดเจลลาติไนซ์ โดยตั้งโปรแกรมดังนี้ ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 5 – 95°C ที่อัตรา 20°C/min จากนั้นลดอุณหภูมิ จาก 95 – 5°C ที่อัตรา 40°C/min และให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 5 – 95°C ที่อัตรา 20°C/min โดยใช้ระบบ Intracooler ในการให้ความเย็น นำตัวอย่างเจลแบ่งไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 5°C ติดตามการเกิดรีโทรเกรเดชันด้วย DSC เป็นระยะเวลา 7, 11, 14, 21 และ 31 วัน โดยคำนวณ %การเกิดรีโทรเกรเดชันดังนี้

$$\text{วิธีที่ 1 \% Retrogradation} = \frac{\text{Enthalpy ของ retrograded modified starch}}{\text{Enthalpy ของ modified starch}} \times 100$$

$$\text{วิธีที่ 2 \% Retrogradation} = \frac{\text{Enthalpy ของ retrograded modified starch}}{\text{Enthalpy ของ native starch (เฉพาะ HMTS และ AS)}} \times 100$$

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

การวิเคราะห์ผลของการตรวจวัดปริมาณผลึกด้วย XRD การตรวจสอบการเกิดรีโทรเกรเดชันด้วย FTIR การตรวจสอบเนื้อสัมผัสของเจลแบบ compression test และการตรวจสอบการเกิดรีโทรเกรเดชันด้วย DSC ใช้การวางแผนการทดลองแบบ Factorial in Randomized complete block design (RCBD) โดยใช้ปริมาณน้ำและอุณหภูมิในการเก็บเป็นปัจจัยหลัก โดยทำการทดลอง 2 ซ้ำ สำหรับการตรวจสอบการเกิดรีโทรเกรเดชันในแป้งดัดแปรทางกายภาพทั้ง 5 ชนิด ใช้การวางแผนการทดลองแบบ RCBD โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติด้วย ANOVA และวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) โดยใช้โปรแกรม SAS for window v6.12

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. คุณภาพของแป้งมันสำปะหลังที่ใช้ในการทดลอง

แป้งมันสำปะหลังที่ใช้ในการทดลองนี้เป็นสตาร์ชทางการค้า โดยผลวิเคราะห์องค์ประกอบได้จากหน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีแปรรูปมันสำปะหลังและแป้ง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (1 และ 2 ในตารางที่ 1) และผลรับรองการวิเคราะห์จากบริษัทสงวนวงษ์ จำกัด (3 - 6 ในตารางที่ 1) ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 Analysis of tapioca starch

Analysis	Method	Results
1. Starch (%)	มอก. 274 - 2521	99.82
2. Amylose (%)	High Performance Size Exclusion Chromatograph (HPSEC)	17.16
3. Sulphur dioxide (ppm)	Titration	Not detectable
4. Pulp (%)	Sieve test	0.039
5. pH (33.33% concentration)	pH meter	5.84
6. Peak viscosity (6%db BU.)	Brabender Amylograph	720

จากผลการวิเคราะห์ดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าแป้งมันสำปะหลังที่นำมาใช้ในการทดลองเป็นสตาร์ชที่มีคุณภาพดีมาก มีเชื้อแป้งที่สูงแสดงถึงความบริสุทธิ์ของสตาร์ชที่ดี และมีปริมาณอะมิโลสอยู่ในเกณฑ์ที่พบทั่วไป นอกจากนี้ยังมีปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ที่ต่ำมากและมี peak viscosity ที่สูง ซึ่งเป็นลักษณะเด่นของแป้งมันสำปะหลัง

ทำการตรวจสอบความสม่ำเสมอของคุณภาพแป้งมันสำปะหลังที่ใช้ในการทดลองทั้งหมดตลอดระยะเวลาการทดลอง 2.5 ปี โดยแป้งมันสำปะหลังมีทั้งหมด 4 ถุงๆ ละ 100 kg โดยทำการสุ่มตัวอย่างถุงละ 3 ชุด คือ บน กลางและล่างของถุง ทำการตรวจคุณภาพทางด้านความหนืดด้วย Rapid Visco Analyzer (RVA, Newport Scientific, Australia) ผลการตรวจวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 2 จากผลการวิเคราะห์จะเห็นได้ว่าพารามิเตอร์ต่างๆ ของ RVA คือ pasting temperature, peak time, peak viscosity, holding strength, break down, final viscosity และ setback ของตัวอย่างจากการสุ่มที่จุดต่างๆ ทั้ง 4 ถุง มีค่าใกล้เคียงกัน แสดงว่าแป้งมันสำปะหลังที่ใช้ในการทดลองมีความสม่ำเสมอในคุณภาพดีมาก ซึ่งควรมาจาก lot การผลิตเดียวกัน ที่มีวัตถุดิบหัวมันมาจากพันธุ์เดียวกันและอายุการเก็บเกี่ยวเดียวกัน นอกจากนี้เมื่อทำการตรวจวัดความชื้น พบว่ามีความชื้นอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด แม้ว่าจะมีความแตกต่างของความชื้น

อยู่ถึง 3% ในบางถุง แต่อย่างไรก็ตามความชื้นของแป้งไม่ใช่ดัชนีคุณภาพของแหล่งหัวมันสำปะหลัง

ตารางที่ 2 RVA analysis and moisture content of tapioca starch

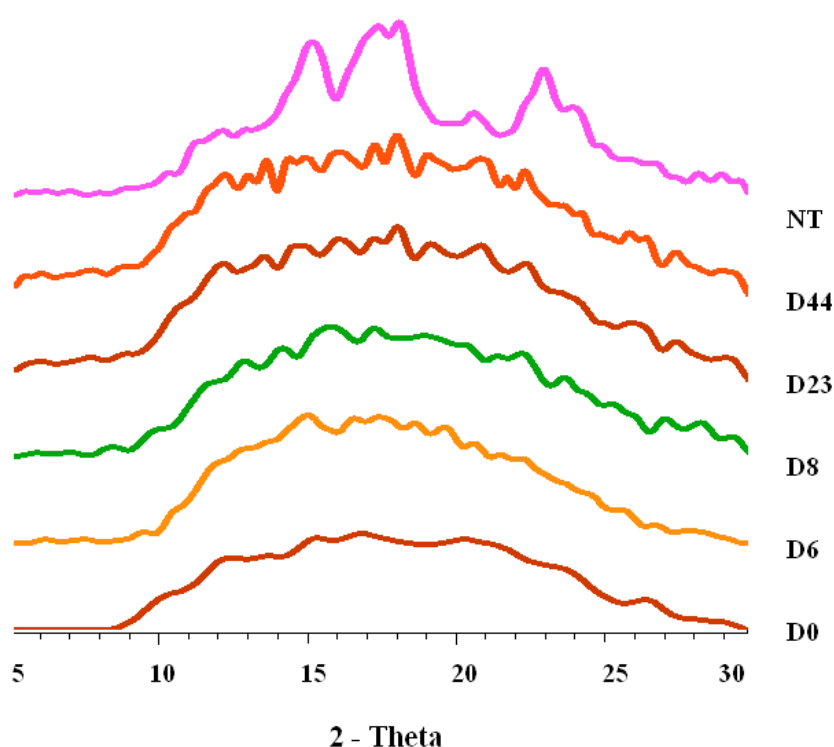
Sample (Bag/ Location)	Pasting temp (° C)	Peak time (min)	Peak viscosity (RVU)	Holding strength (RVU)	Breakdown (RVU)	Final viscosity (RVU)	Setback (RVU)	Moisture (%)
1A	73.9	4.2	353.8	145.9	207.8	230.0	84.0	10.5
1B	74.3	4.2	361.0	149.0	212.0	238.0	89.1	11.1
1C	74.3	4.2	356.3	147.7	208.6	231.5	83.8	10.5
2A	74.7	4.2	363.6	148.5	215.2	236.8	88.3	10.7
2B	74.3	4.2	359.7	148.7	211.0	231.9	836.2	10.6
2C	74.3	4.2	365.0	150.3	214.8	238.6	88.3	1.4
3A	73.9	4.2	352.5	144.3	208.3	228.5	84.3	9.6
3B	74.4	4.2	343.2	139.9	203.3	232.4	92.5	10.0
3C	74.4	4.2	336.6	138.0	198.6	252.3	114.3	8.3
4A	75.1	4.3	345.5	141.5	204.0	237.9	96.4	8.7
4B	74.7	4.2	342.3	140.8	201.6	230.2	89.4	8.3
4C	74.7	4.2	345.8	142.0	203.8	229.8	87.8	8.3

2. ผลของอุณหภูมิ ปริมาณน้ำ และระยะเวลาต่อการเกิดรีโทรเกรเดชันของเจลแป้งมันสำปะหลัง

2.1 พฤติกรรมการเกิดผลึก (crystallinity)

เทคนิค XRD เป็นเทคนิคที่นิยมใช้วัดความเป็นผลึกของสารและสามารถใช้ในการตรวจสอบปริมาณผลึก ซึ่งเทคนิคนี้เป็นวิธีที่สามารถบ่งบอกการเกิดผลึกในโครงสร้างของโมเลกุลของสารต่างๆ ได้โดยตรง การศึกษาพฤติกรรมการเกิดผลึกของสตาร์ชนั้น นิยมใช้เทคนิค XRD ในการตรวจ diffraction pattern ของสตาร์ช ซึ่งบ่งบอกถึงการจัดเรียงตัวในระดับ long – range order structure และยังใช้ในการติดตามการเกิดรีโทรเกรเดชันของสตาร์ช ซึ่งสามารถบอกได้ทั้งปริมาณและชนิดของผลึกที่เกิดขึ้นในสตาร์ชได้โดยตรง สำหรับการตรวจวัดปริมาณผลึก (crystallinity) ในการศึกษาครั้งนี้เป็นการตรวจวัดเชิงปริมาณสัมพัทธ์ (relative crystallinity) เทียบกับปริมาณผลึกที่ตรวจพบในสตาร์ชธรรมชาติ (native starch) ที่อยู่ในรูปของ semi-crystalline structure ซึ่งค่าของปริมาณผลึกที่เกิดขึ้นในสตาร์ชมันสำปะหลังของทุกสภาวะการทดลองมีค่าอยู่ในช่วง 8.34 – 23.45% หลังจากบ่มเจลไว้ 58 วัน แสดงให้เห็นว่าการเกิดผลึกในสตาร์ชที่รีโทรเกรดมีความเป็นผลึกน้อยกว่าในสตาร์ชธรรมชาติมาก ซึ่งแสดงถึงการจัดเรียงตัวใหม่ของโครงสร้างอะมิโลสและอะมิโลเพคตินของมัน

สำปะหลังที่ไม่สมบูรณ์เท่ากับการจัดเรียงตัวในรูป starch granule โดยธรรมชาติ เมื่อเปรียบเทียบกับ relative crystallinity ที่เกิดขึ้นในสตาร์ชข้าวสาลีที่เก็บที่ 5°C เป็นเวลา 20 วัน ที่รายงานโดย Mizuno et al. (1998) ซึ่งมีค่าสูงสุดประมาณ 45% นั้น จะเห็นได้ว่าการเกิดผลึกในสตาร์ชมันสำปะหลังนั้นเกิดขึ้นได้ แต่มีความเป็นผลึกน้อย ดังจะเห็นได้จากการเปลี่ยนแปลง XRD pattern ของสตาร์ชที่เก็บไว้ที่ระยะเวลาต่างๆ ที่สภาวะการเก็บที่อุณหภูมิ 5°C และปริมาณน้ำ 60% ในรูปที่ 2 ซึ่งจะเห็นได้ว่าความคมชัดของ peak ในสตาร์ชที่รีโทรเกรดแล้วมีน้อยกว่าในสตาร์ชธรรมชาติมาก

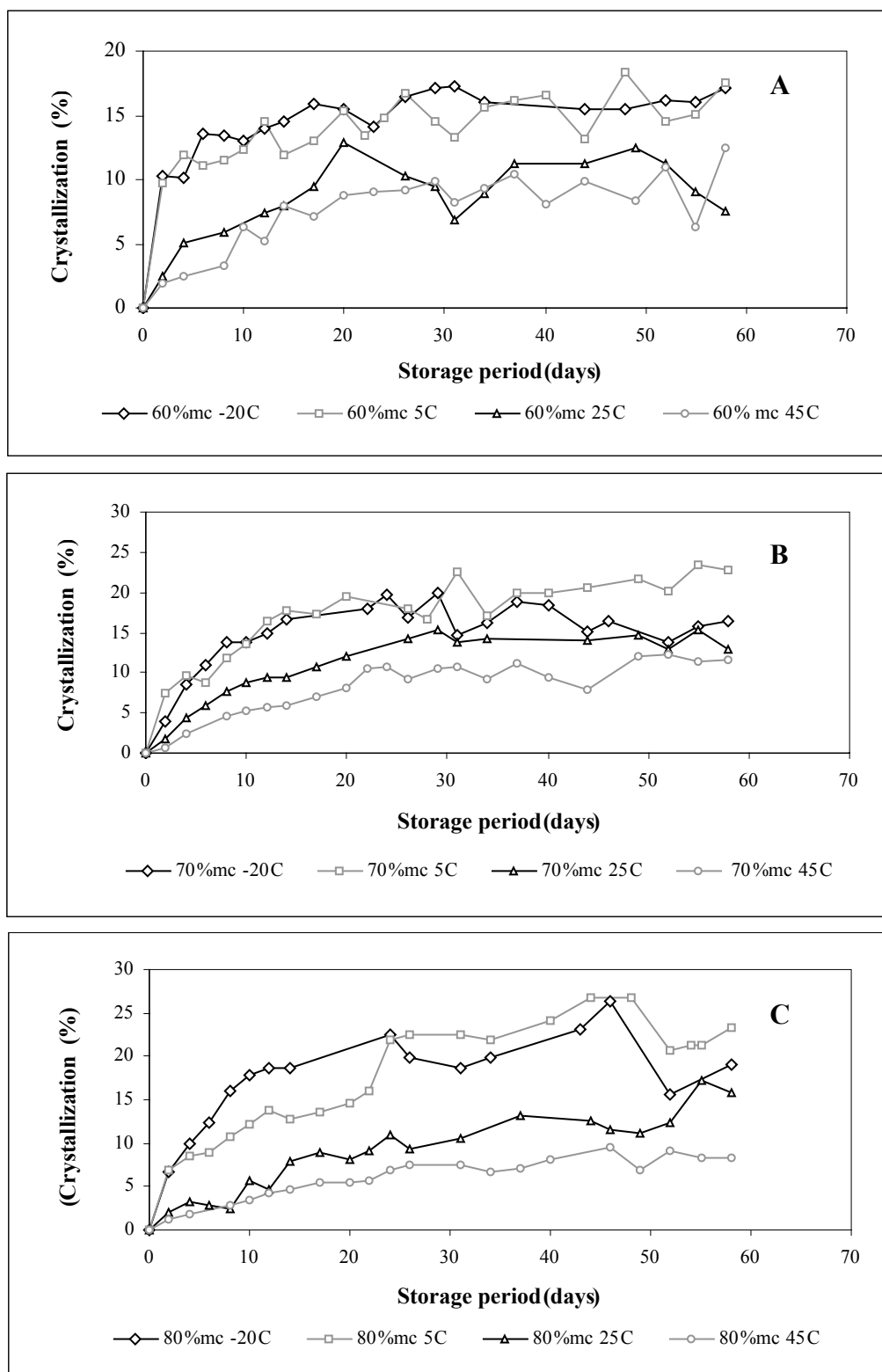


รูปที่ 1 X – ray diffractogram of native and retrograded tapioca starch aged at 5°C and 60% water; NT: native tapioca starch; D44, D23, D8, D6: retrograded tapioca starch aged for 44, 23, 8 และ 6 day, respectively; D0: gelatinized tapioca starch

นอกจากนี้ XRD diffraction pattern ของสตาร์ชมันสำปะหลังที่รีโทรเกรดแล้วก็มีรูปแบบที่แตกต่างไปจากในสตาร์ชธรรมชาติ โดยในสตาร์ชมันสำปะหลังธรรมชาติมีรูปแบบเป็น A – type ที่เป็นรูปแบบที่พบทั่วไปในสตาร์ชมันสำปะหลัง ส่วนสตาร์ชที่รีโทรเกรดที่อุณหภูมิ 5°C และเก็บไว้เป็นระยะเวลานานขึ้น จะพบลักษณะการเพิ่มขึ้นของความเข้มใน diffractogram ซึ่งแสดง diffraction pattern ที่มีรูปแบบเป็น C – type โดยพบ doublet peak ในช่วง 2θ 14 - 16°

และ $22 - 24^{\circ}$ ที่แสดงลักษณะของ B – type และพบ doublet peak ในช่วง 2θ $17 - 18^{\circ}$ ที่แสดงลักษณะของ A – type ซึ่งการพบ pattern ที่แสดงลักษณะของ A – type และ B – type ผสมอยู่ด้วยกัน จะบ่งชี้ได้ว่าสสารที่รีโทรเกรดแล้วมีลักษณะแบบ C – type

ปริมาณผลึกที่เกิดขึ้น (relative crystallinity) ของเจลสตาร์ชมันสำปะหลังที่ปริมาณน้ำ 60% 70% และ 80% ที่บ่มไว้ที่อุณหภูมิ -20 , 5 , 25 และ 45°C ตามระยะเวลา $0 - 58$ วัน แสดงดังรูปที่ 2A, 2B และ 2C ตามลำดับ จากผลการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าอุณหภูมิและปริมาณน้ำเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อปริมาณผลึกที่เกิดในเจลสตาร์ชมันสำปะหลังหลังจากเก็บไว้เป็นระยะเวลาหนึ่งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) ซึ่งปริมาณผลึกนี้แสดงถึงระดับของการเกิดรีโทรเกรเดชันที่เกิดขึ้นในสภาวะการเก็บเจลต่างๆ โดยการเก็บที่อุณหภูมิ -20 และ 5°C ทำให้ระดับการเกิดรีโทรเกรเดชันสูงกว่าที่อุณหภูมิ 25°C และที่ 25°C สูงกว่าที่ 45°C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งจะเห็นได้อย่างชัดเจนในทุกปริมาณน้ำ (รูปที่ 2) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของหลายงานวิจัยที่รายงานว่า การเก็บเจลสตาร์ชไว้ที่อุณหภูมิ $4 - 5^{\circ}\text{C}$ มีการเกิดรีโทรเกรเดชันมากที่สุด (Lu et al., 1997 ; Jang and Pyun , 1997 ; Kim et al., 1996) สำหรับผลของปริมาณน้ำต่อระดับการเกิดรีโทรเกรเดชันนั้น พบว่าปริมาณผลึกเกิดขึ้นมากที่สุดในเจลสตาร์ชที่มีปริมาณน้ำ 70% รองลงมาคือ 80% และเกิดผลึกน้อยที่สุดที่ปริมาณน้ำ 60% ($p < 0.05$) จะเห็นได้ว่าโดยภาพรวมของทุกอุณหภูมิการเก็บที่ศึกษานั้น ปริมาณน้ำ 70% เป็นปริมาณที่เหมาะสมที่เกิดการเคลื่อนที่ของโมเลกุลของสตาร์ชมาจัดเรียงกันให้เป็นโครงสร้างที่เป็นระเบียบเรียบร้อย จัดเป็น packing unit ได้เหมาะสมและเกิดได้มาก ในขณะที่ปริมาณน้ำที่มากขึ้นกลับทำให้การจัดเรียงตัวเกิดขึ้นช้าและน้อยกว่า อาจเนื่องมาจากมี diluting effect ทำให้โมเลกุลของสตาร์ชมาจัดเรียงตัว (aggregation) ได้ช้า ขณะที่เจลสตาร์ชที่มีปริมาณน้ำ 60% เกิดผลึกน้อยที่สุดนั้น อาจเป็นเพราะเจลสตาร์ชมีความหนืดสูง และมีปริมาณสตาร์ชสูง โมเลกุลสตาร์ชเกิดการเกาะเรียงตัวได้ง่ายและรวดเร็วในช่วงแรก แต่เมื่อระยะเวลาผ่านไป การจัดเรียงของโมเลกุลจะเกิดขึ้นได้อย่างช้าๆ ปริมาณผลึกที่เกิดขึ้นไม่เพิ่มขึ้นหรือเพิ่มขึ้นไม่มากนัก จึงทำให้มีปริมาณผลึกต่ำสุด สำหรับผลของระยะเวลาการเก็บนั้น พบว่าปริมาณผลึกเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงระยะเวลาแรกๆของการเก็บ จากนั้นก็เพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ จนกระทั่งไม่เปลี่ยนแปลง ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานเกี่ยวกับอัตราการเกิดรีโทรเกรเดชันที่ศึกษาในสตาร์ชข้าวเจ้า (Kim et al., 1996) และในสตาร์ชข้าวโพดที่ศึกษาโดย Jouppila et al. (1998) โดยศึกษาในด้าน crystallization kinetics ซึ่งใช้สมการ Avrami มาทดสอบความพอดีกับ crystallization kinetics ของสตาร์ชเช่นเดียวกับ Van Soest et al. (1994) ที่ใช้สมการ Avrami กับ การเกิดรีโทรเกรเดชันในสตาร์ชมันฝรั่ง ดังนั้นพฤติกรรมของการเกิดผลึกของเจลสตาร์ชมันสำปะหลังที่เก็บไว้เป็นระยะเวลา 2 เดือนนี้ จึงมีพฤติกรรมคล้ายคลึงกับสตาร์ชประเภทอื่น

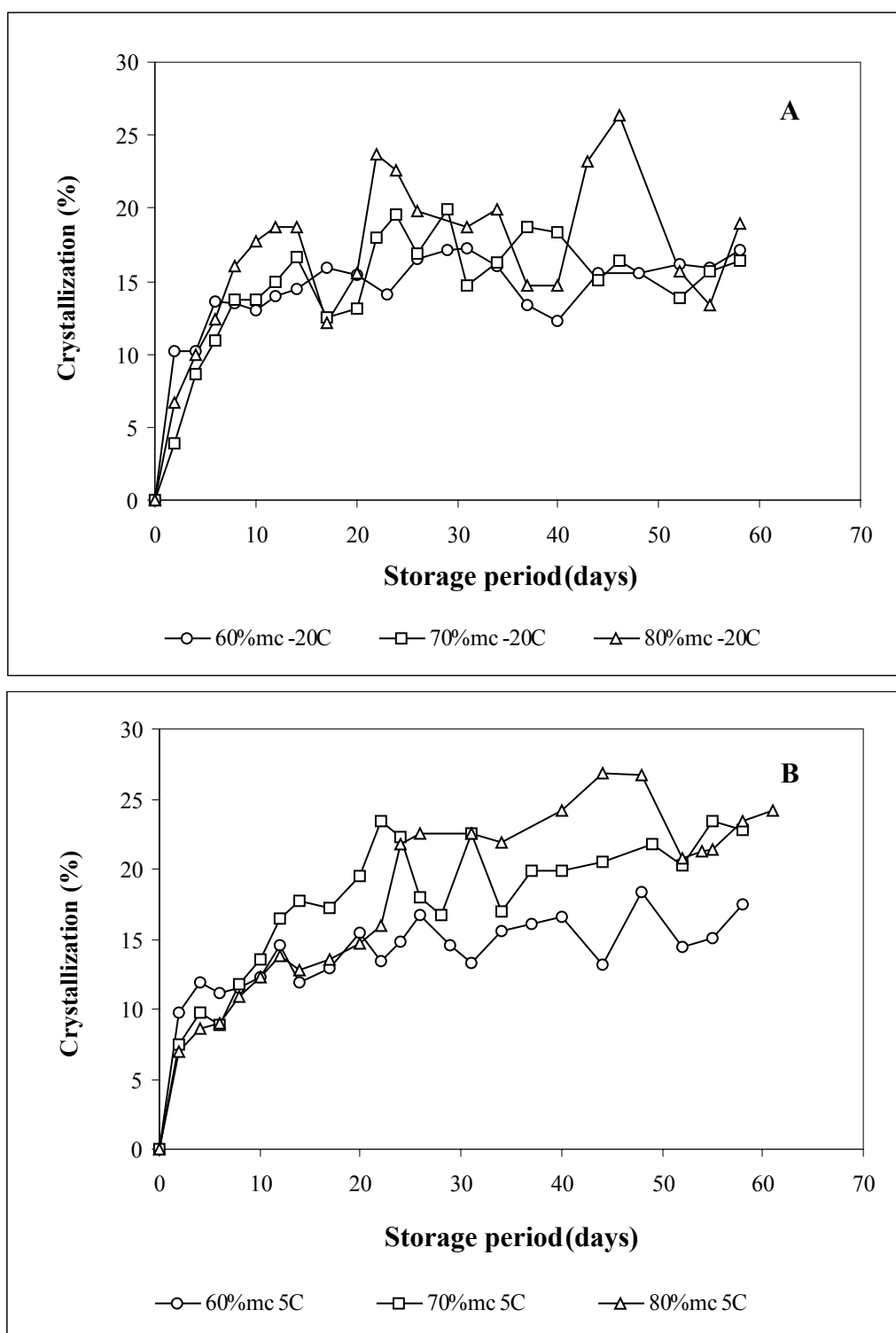


รูปที่ 2 XRD crystallinity of retrograded tapioca starch contain water content of 60% (A), 70% (B) and 80% (C) aged at different temperatures

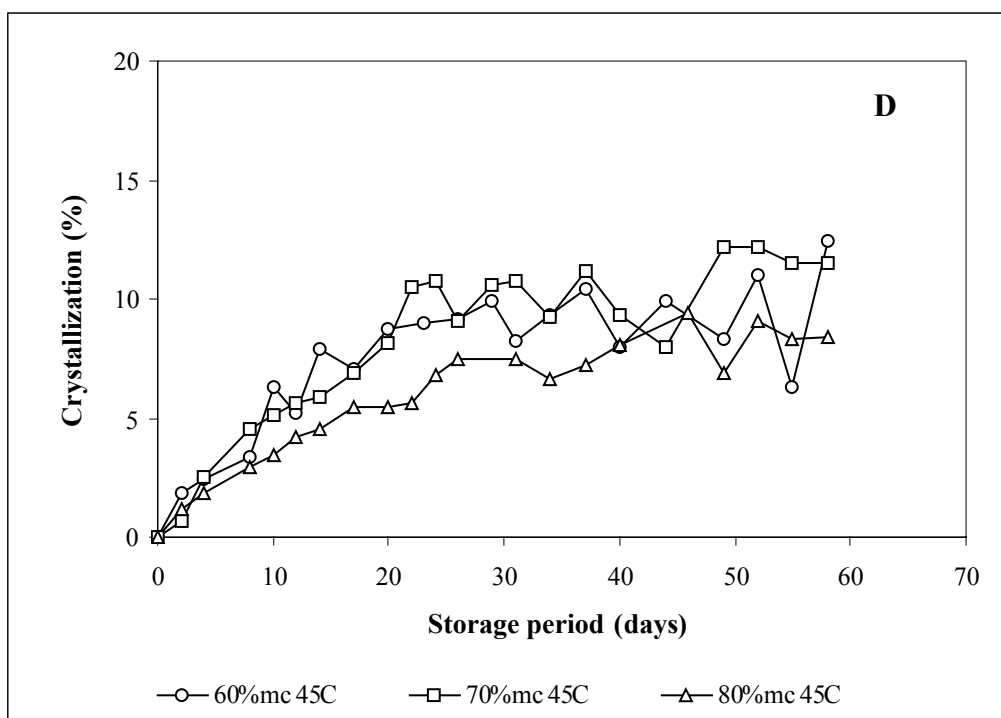
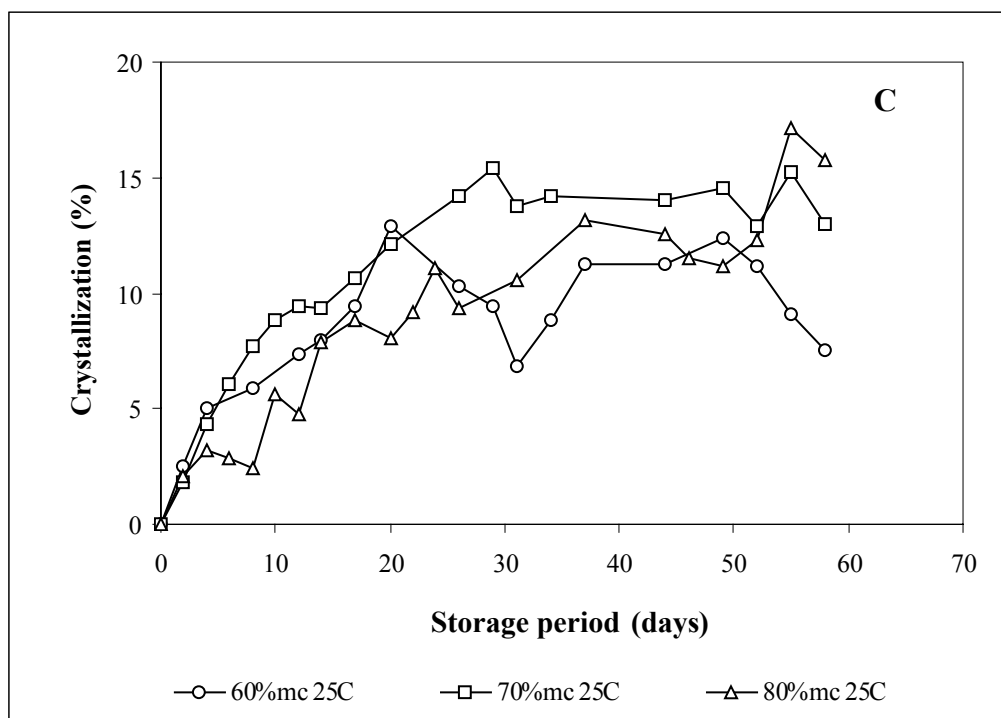
จากการวิเคราะห์ทางสถิติของปฏิสัมพันธ์ (interaction) ระหว่างอุณหภูมิกับปริมาณน้ำ ก็พบว่ามีความสำคัญทางสถิติเช่นกัน ($p < 0.01$) โดยผลของความแตกต่างของปริมาณน้ำจะเห็นชัดเจนที่อุณหภูมิต่ำ (-20 และ 5°C) (รูปที่ 3A , 3B) แต่ที่อุณหภูมิสูงขึ้น (45°C) (รูปที่ 3D) จะไม่เห็นความแตกต่างเรื่องผลของปริมาณน้ำ นอกจากนี้ที่อุณหภูมิ 5°C (รูปที่ 3B) เมื่อเพิ่มปริมาณน้ำจาก 60% เป็น 70% ทำให้ปริมาณผลึกเกิดเพิ่มขึ้น แต่เมื่อเพิ่มน้ำเป็น 80% ปริมาณผลึกไม่ต่างจากที่น้ำ 70% อย่างมีความสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนที่อุณหภูมิ -20°C นั้น (รูปที่ 3A) ปริมาณผลึกที่น้ำ 60% และ 70% ไม่แตกต่างกันอย่างมีความสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเพิ่มน้ำจาก 70% เป็น 80% ทำให้ปริมาณผลึกเกิดมากขึ้นและมากกว่าที่น้ำ 80% ของอุณหภูมิ 5°C ส่วนที่อุณหภูมิ 25°C (รูปที่ 3C) ปริมาณการเกิดผลึกที่น้ำ 70% มีค่ามากกว่าที่น้ำ 60 และ 80% อย่างมีความสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) จะเห็นได้ว่าอิทธิพลของอุณหภูมิ การเก็บร่วมกับปริมาณน้ำในเจลสตาร์ช มีผลเสริมการเร่งพฤติกรรมการเกิดผลึกในเจลสตาร์ชมันสำปะหลังได้ โดยหากต้องการให้เกิดผลึกอย่างรวดเร็วและมีปริมาณมากก็สามารถเลือกเจลที่มีน้ำ 70% เก็บที่อุณหภูมิ 5°C หรือเลือกเจลที่มีน้ำ 80% เก็บที่ -20°C

จากความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาเก็บกับปริมาณน้ำนั้น ที่ปริมาณน้ำน้อย (60%) การเกิดผลึกจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงระยะเวลาเก็บแรกๆ ซึ่งจะเห็นได้ว่าหลังจากวันที่ 6 ของการเก็บเจลที่อุณหภูมิ -20 และ 5°C (รูปที่ 2A) ค่าความเป็นผลึกของเจลสตาร์ชมันสำปะหลังมีแนวโน้มที่จะคงที่ ในขณะที่อุณหภูมิเดียวกันเจลสตาร์ชมันสำปะหลังที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ 70% ค่าความเป็นผลึกมีแนวโน้มเริ่มจะคงที่หลังจากวันที่ 14 และในเจลที่มีน้ำ 80% มีแนวโน้มเริ่มจะคงที่หลังจากวันที่ 24 ซึ่งพบลักษณะเดียวกันที่อุณหภูมิสูงขึ้น (25 และ 45°C) คือ เมื่อปริมาณน้ำในเจลสตาร์ชมันสำปะหลังมากขึ้น จะชะลอการเกิดผลึกหรือมีอัตราการเกิดผลึกที่ช้าลงในช่วงระยะแรกของการเกิดผลึก ก่อนที่อัตราการเกิดผลึกจะเริ่มคงที่ นอกจากนี้อิทธิพลของปริมาณน้ำที่ 80% ที่ชะลอการเกิดผลึกนี้เอง ทำให้ค่าความเป็นผลึกในระยะแรก (2 – 24 วัน) ของที่อุณหภูมิเร่งการเกิดผลึก (5°C) และระยะแรก (2 – 30 วัน) ของที่อุณหภูมิชะลอการเกิดผลึก (25 และ 45°C) มีค่าต่ำกว่าที่ปริมาณน้ำ 70% ที่สภาวะเดียวกัน

ความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาเก็บกับอุณหภูมิ พบว่าการเกิดผลึกในช่วงระยะเวลาแรกๆ ที่อุณหภูมิต่ำที่ -20 และ 5°C มีมากกว่าที่อุณหภูมิ 25 และ 45°C ในระยะแรกๆเช่นกัน นอกจากนี้ที่ปริมาณน้ำ 80% การเกิดผลึกของเจลสตาร์ชที่ -20°C มีมากกว่าที่ 5°C ในช่วงระยะแรกของการเก็บ แต่หลังจากวันที่ 24 การเกิดผลึกที่ 5°C กลับมีมากกว่าที่ -20°C ซึ่งเกิดลักษณะคล้ายคลึงกันที่ปริมาณน้ำ 70% แต่การเกิดผลึกที่ 5°C จะเริ่มมีมากกว่าที่ -20°C หลังจากวันที่ 10 ของการเก็บ



รูปที่ 3 XRD crystallinity of retrograded tapioca starch aged at -20°C (A) and 5°C (B)



รูปที่ 3 XRD crystallinity of retrograded tapioca starch aged at 25°C (C) and 45°C (D)

จากอิทธิพลของอุณหภูมิ ปริมาณน้ำ และระยะเวลาต่อพฤติกรรมการเกิดผลึกของเจลสตาร์ชมันสำปะหลังทั้งหมด จะเห็นได้ว่ามีความสัมพันธ์ค่อนข้างซับซ้อน หากคำนึงถึงปริมาณผลึกที่เกิดขึ้นหลังจากเก็บไว้ประมาณ 2 เดือนอย่างเดียว อาจกล่าวได้ว่าปริมาณผลึกสามารถเกิดขึ้นได้สูงสุดที่ปริมาณ 18 – 22% ในสภาวะการเก็บของเจลสตาร์ชที่มีปริมาณน้ำ 70% ที่อุณหภูมิ -20 และ 5°C สำหรับสภาวะการเก็บเจลที่มีปริมาณน้ำ 60% หรือ 80% ที่อุณหภูมิ 45°C ทำให้การเกิดผลึกเกิดได้น้อยในปริมาณ 8 - 13% ดังนั้นอิทธิพลของอุณหภูมิเป็นอิทธิพลหลักในการเกิดผลึก ส่วนปริมาณน้ำมีอิทธิพลรองลงมา

2.2 พฤติกรรมการเกิดรีโทรเกรเดชันที่ติดตามด้วย FTIR

FTIR ที่ใช้ร่วมกับ attenuated total reflectance (ATR) เป็นเทคนิคหนึ่งที่มีการนำมาใช้ในการติดตามรีโทรเกรเดชันของสตาร์ช โดยศึกษาการเปลี่ยนแปลง conformation ของโมเลกุลของสตาร์ช เนื่องจากการเกิดรีโทรเกรเดชันในระหว่างการเก็บรักษาสามารถติดตามได้จากการวิเคราะห์ band narrowing และการเปลี่ยนแปลงความเข้มของ conformational-sensitive bands ที่อยู่ในช่วง $1300\text{--}800\text{ cm}^{-1}$ (Karim et al., 2000) ซึ่งสเปกตรัมในช่วงนี้มีรายงานว่าเกี่ยวข้องกับ C-C และ C-O stretching ดังนั้นเทคนิค FTIR จึงเป็นวิธีที่สามารถติดตามกระบวนการเกิด รีโทรเกรเดชันได้ตั้งแต่ short-range order ของโครงสร้างสตาร์ช (van Soest et al., 1994)

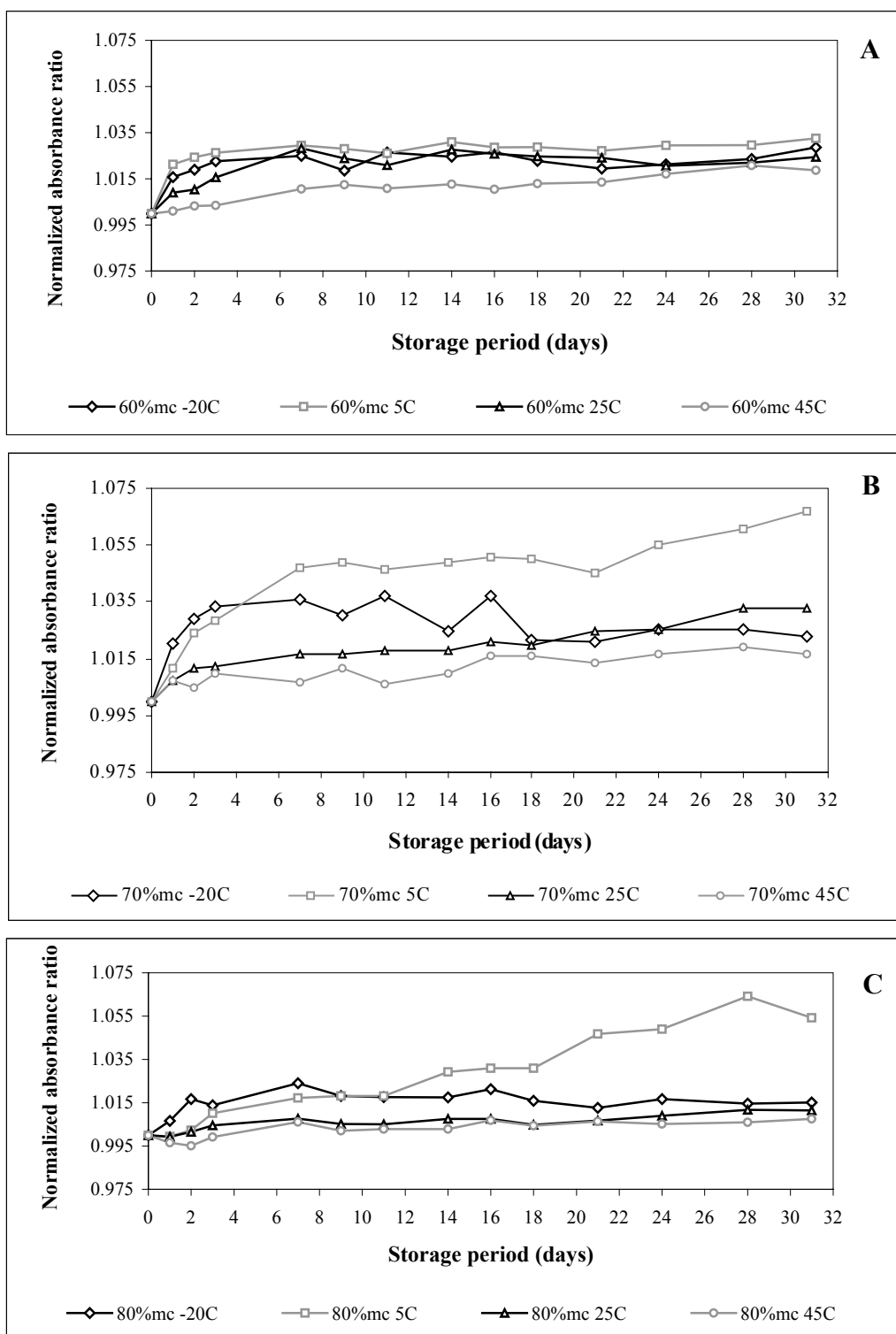
จากการติดตามการเกิดรีโทรเกรเดชันของเจลสตาร์ชมันสำปะหลังด้วย FTIR-ATR ในระยะแรกของโครงการวิจัยนี้ ได้ทดลองใช้ตัวอย่างเจลสตาร์ชที่เตรียมแบบผงแห้งวางบน ATR cell โดยตรง และได้ติดตามสเปกตรัมเป็นระยะเวลา 31 วัน ผลปรากฏว่าการเปลี่ยนแปลงของสเปกตรัมเมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้นไม่ชัดเจน การเกิด band narrowing ในช่วง $1020\text{--}1015\text{ cm}^{-1}$ หลังจากเก็บนานขึ้นไม่ชัดเจน ซึ่ง Wilson และ Beton (1998) รายงานว่าเมื่อเก็บสตาร์ชข้าวโพดข้าวเหนียวไว้นานขึ้นจะปรากฏการค่อยๆเพิ่มขึ้นของ band ที่ 1046 และ 1019 cm^{-1} จาก band เริ่มต้นที่มีลักษณะกว้างมีจุดกึ่งกลางที่ 1020 cm^{-1} ที่พบในสตาร์ชที่เจลาติไนซ์ใหม่ๆ เมื่อนำข้อมูลในช่วง wave number เหล่านี้มาวิเคราะห์แล้ว ไม่เห็นความแตกต่างหรือแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงที่ชัดเจนของผลของระยะเวลาการเก็บในแต่ละอุณหภูมิและปริมาณน้ำเลย จึงทำให้ต้องทำการทดลองใหม่ทั้งหมดโดยใช้ตัวอย่างในรูปเจลสดจึงจะเห็นผลของการเปลี่ยนแปลงความเข้มของ bands ตามระยะเวลาการเก็บที่ชัดเจนขึ้น

รูปที่ 4 แสดงพฤติกรรมการเกิดรีโทรเกรเดชันของเจลสตาร์ชมันสำปะหลังที่ตรวจวัดด้วย FTIR ที่อุณหภูมิต่างๆ และมีปริมาณน้ำในเจล 60, 70 และ 80% (รูปที่ 4A, 4B และ 4C) ซึ่งจากผลการวิเคราะห์ทางสถิติได้สนับสนุนว่า อุณหภูมิ ปริมาณน้ำ และ ระยะเวลาการเก็บเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการเกิดรีโทรเกรเดชันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) โดยการเก็บที่อุณหภูมิ 5°C มีระดับการเกิดรีโทรเกรเดชันมากกว่าที่อุณหภูมิ -20°C 25°C และ 45°C

ตามลำดับอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และสามารถสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจนในรูปที่ 4 ซึ่งผลของอุณหภูมิที่ศึกษานี้คล้ายกับผลการตรวจวัดปริมาณผลึกด้วย XRD แต่แตกต่างกันที่การเก็บที่อุณหภูมิ 5°C มีผลทำให้ระดับการเกิดรีโทรเกรเดชันมากกว่าที่ -20°C ซึ่งปริมาณผลึกของ XRD นั้นไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนผลของปริมาณน้ำในเจลนั้นพบว่าปริมาณน้ำที่ 70 และ 80% ให้ผลการเกิดรีโทรเกรเดชันไม่แตกต่างกันแต่เกิดระดับรีโทรเกรเดชันมากกว่าที่น้ำ 60% ซึ่งผลการทดลองนี้ของ FTIR ก็คล้ายคลึงกับของ XRD โดยเจลที่มีปริมาณน้ำ 60% เกิดผลึกน้อยที่สุด อย่างไรก็ตามอัตราการเกิดรีโทรเกรเดชันในช่วงแรกของ FTIR นั้นสั้นกว่าของ XRD โดยอัตราการเพิ่มที่แตกต่างกันทางสถิติที่ชัดเจนนั้นอยู่ในช่วง 0 – 3 วันใน FTIR แต่ใน XRD นั้นอยู่ในช่วง 0 – 6 วัน จึงแสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่าการติดตามพฤติกรรมของการเกิดรีโทรเกรเดชันด้วยวิธี FTIR นั้น เป็นการติดตามการเปลี่ยนแปลงในโครงสร้างระดับที่เล็กกว่าหรือการเปลี่ยนแปลงของ short-range order structure ในขณะที่ XRD เป็นการติดตามการเปลี่ยนแปลงของ long-range order structure จึงทำให้มีช่วงระยะเวลาของการเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็วที่สั้นกว่าใน FTIR ดังที่ van Soest et al. (1994) ได้สรุปถึงกระบวนการเกิดรีโทรเกรเดชันว่าเป็นกระบวนการหลายขั้นตอนและมีลักษณะของการรวมตัวกันของโครงสร้างที่เป็น short และ long-range order โดยในขั้นแรกมีลักษณะของการสร้าง helices และสร้างส่วนที่เป็น crystalline amylose อย่างรวดเร็ว ขั้นที่สองได้อธิบายว่าเป็นระยะเวลาในการเหนียวทำให้เกิด amylopectin helix aggregation และขั้นที่สามเป็นการเกิด helix - helix aggregation และ crystallization ของ amylopectin

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของปฏิสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิกับปริมาณน้ำ พบว่ามีความสำคัญอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยการเพิ่มน้ำในเจลจาก 60% เป็น 70% ที่อุณหภูมิ 5°C (รูปที่ 5B) มีผลทำให้เพิ่มระดับการเกิดรีโทรเกรเดชันได้มากกว่าที่อุณหภูมิ -20°C และการเพิ่มอุณหภูมิจาก 25°C เป็น 45°C ที่ปริมาณน้ำ 60% (รูปที่ 4A) ทำให้ปริมาณรีโทรเกรเดชันลดลงได้มากกว่าที่ปริมาณน้ำ 80% (รูปที่ 4C) ดังนั้นจึงเห็นผลเสริมกันระหว่างอุณหภูมิการเก็บและปริมาณน้ำในเจล

ปฏิสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและเวลาการเก็บของ FTIR ก็พบว่ามีผลสำคัญอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยในระยะเวลาการเก็บในช่วงแรกของที่อุณหภูมิ -20°C และ 5°C มีการเพิ่มขึ้นของระดับรีโทรเกรเดชันมากกว่าที่อุณหภูมิ 25°C และ 45°C ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับผลของ XRD นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบระหว่างอุณหภูมิ -20°C และ 5°C ระดับรีโทรเกรเดชันของที่อุณหภูมิ -20°C จะมีมากกว่าที่ 5°C ในช่วงแรก (รูปที่ 4B และ 4C) จากนั้นที่อุณหภูมิ 5°C จะเกิดรีโทรเกรเดชันมากกว่าที่ -20°C โดยที่ปริมาณน้ำ 70% ระดับรีโทรเกรเดชันที่ 5°C มีมากกว่าที่ -20°C หลังจากวันที่ 4 ของการเก็บ ส่วนในปริมาณน้ำ 80% ระดับรีโทรเกรเดชันที่ 5°C จะเริ่มมากกว่าหลังจากวันที่ 11 ของการเก็บ



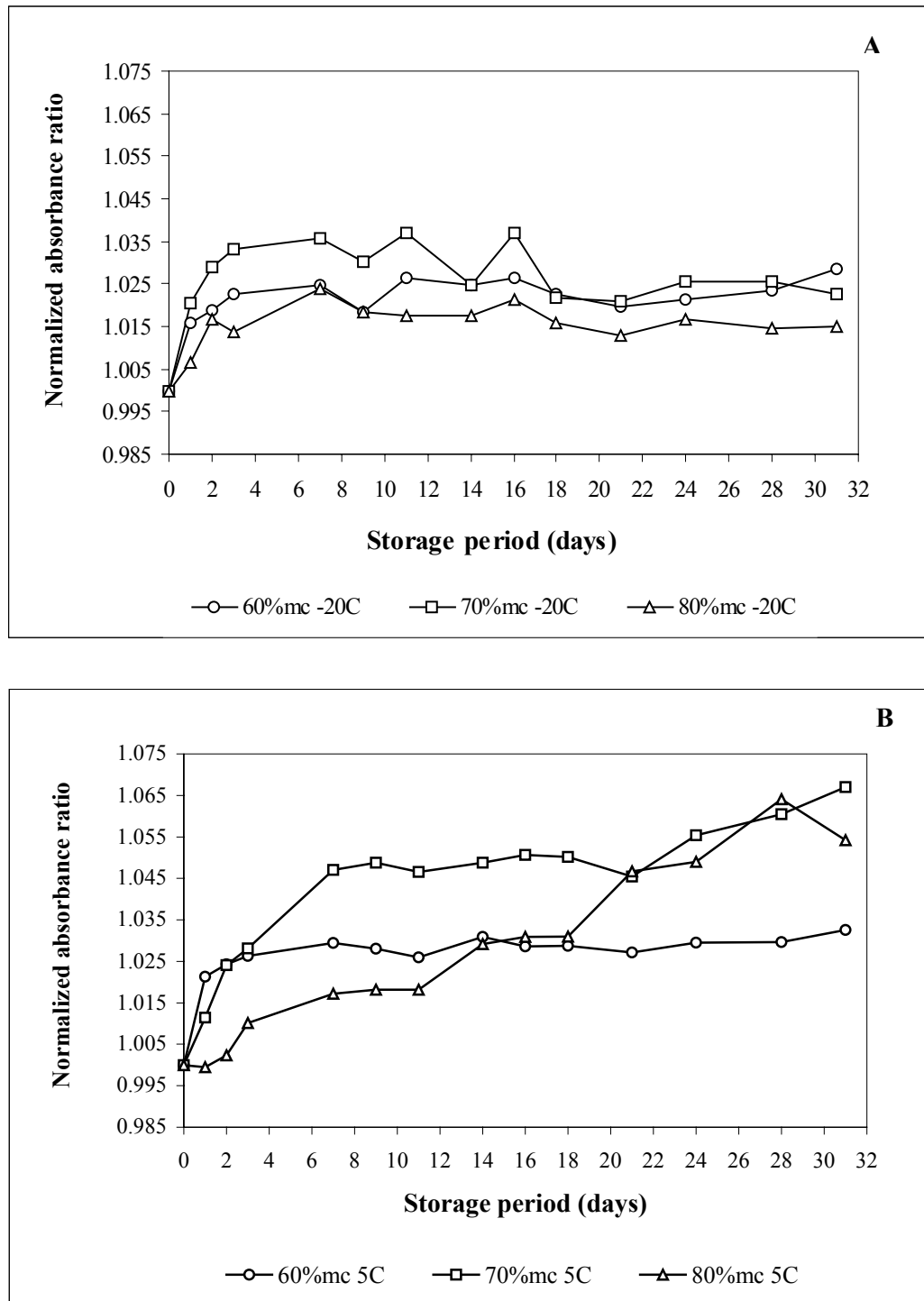
รูปที่ 4 FTIR absorbance ratio of retrograded tapioca starch contain water content of 60% (A), 70% (B) and 80% (C) aged at different temperatures

ปฏิสัมพันธ์ระหว่างปริมาณน้ำและระยะเวลาการเก็บของ FTIR พบว่าไม่มีความสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามในระยะแรกของการเก็บที่อุณหภูมิ 5°C (รูปที่ 5B) เจลที่มีน้ำ 70% มีการเกิดรีโทรเกรเดชันที่สูงกว่าเจลที่มีน้ำ 80% แต่เมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้นหลังจากวันที่ 21 เจลที่มีน้ำ 80% เกิดรีโทรเกรเดชันเพิ่มขึ้นจนกระทั่งใกล้เคียงกับที่น้ำ 70% ซึ่งก็ปรากฏพฤติกรรมเหมือนกันระหว่างเจลที่มีน้ำ 60% และ 80% เมื่อระยะเวลาขึ้นถึง 14 วัน เจลที่มีน้ำ 80% มีปริมาณการเกิดรีโทรเกรเดชันที่มากกว่าที่น้ำ 60% หรือที่อุณหภูมิ 25°C ในระยะแรกของการเก็บที่ปริมาณน้ำ 60% มีปริมาณการเกิดรีโทรเกรเดชันมากกว่าน้ำ 70% แต่ในช่วงระยะหลังกลับตรงกันข้าม เป็นต้น แสดงให้เห็นว่าพฤติกรรมการเกิดรีโทรเกรเดชันของเจลแป้งมันสำปะหลังที่มีน้ำแตกต่างกันขึ้นอยู่กับเวลา โดยในช่วงระยะเวลานานขึ้นอัตราการเกิดรีโทรเกรเดชันเริ่มคงที่หรือมีการเพิ่มขึ้นน้อยมากแล้ว โมเลกุลของสตาร์ชมันสำปะหลังในเจลที่มีน้ำน้อยยังมีการจัดเรียงตัวของโมเลกุลให้เป็นระเบียบได้อีก ซึ่งเกิดขึ้นเนื่องจากเจลของแป้งมันสำปะหลังมีความหนืดต่ำ โดยเฉพาะในเจลที่มีน้ำมาก แม้ว่าจะเกิดรีโทรเกรเดชันไปแล้วความหนืดที่เพิ่มขึ้นก็ยังไม่มากพอที่จะชะลอหรือยับยั้งการมาจัดเรียงตัวของโมเลกุลอะมิโลเพคติน จึงทำให้การเกิดรีโทรเกรเดชันก็สามารถเกิดขึ้นได้เรื่อยๆ ในขณะที่เจลที่มีน้ำน้อยซึ่งมีความหนืดสูงมากกว่า เมื่อเกิดรีโทรเกรเดชันไปแล้วระยะหนึ่ง ความหนืดเพิ่มสูงขึ้นจนทำให้โมเลกุลอะมิโลเพคตินเคลื่อนที่ยากขึ้น เป็นผลทำให้การเกิดรีโทรเกรเดชันไม่มีการเปลี่ยนแปลงต่อไป

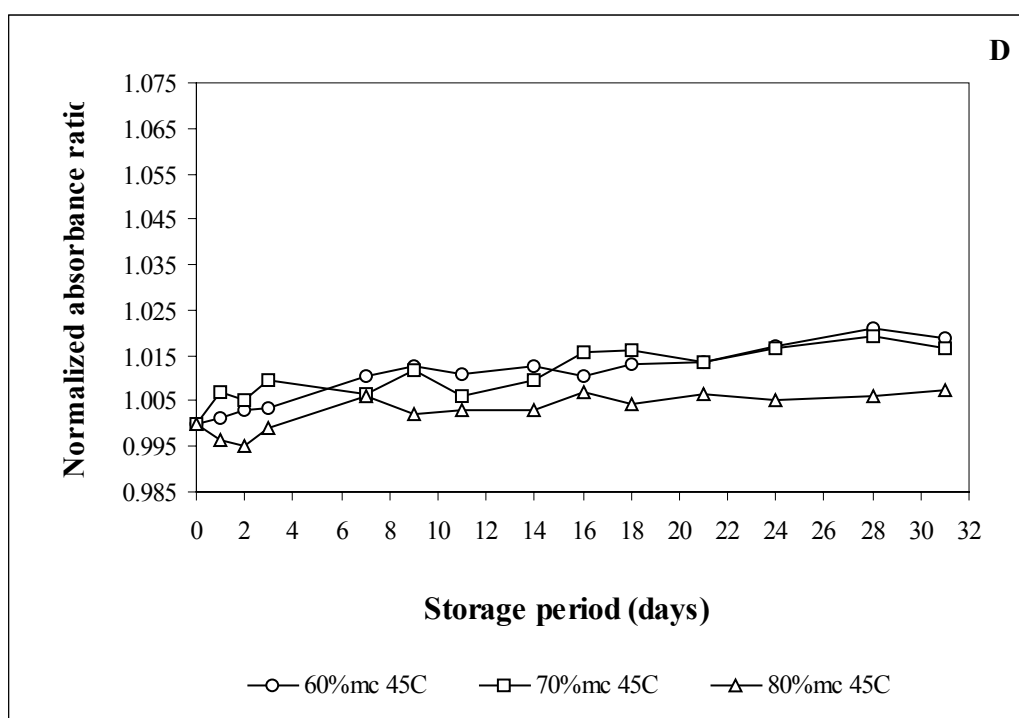
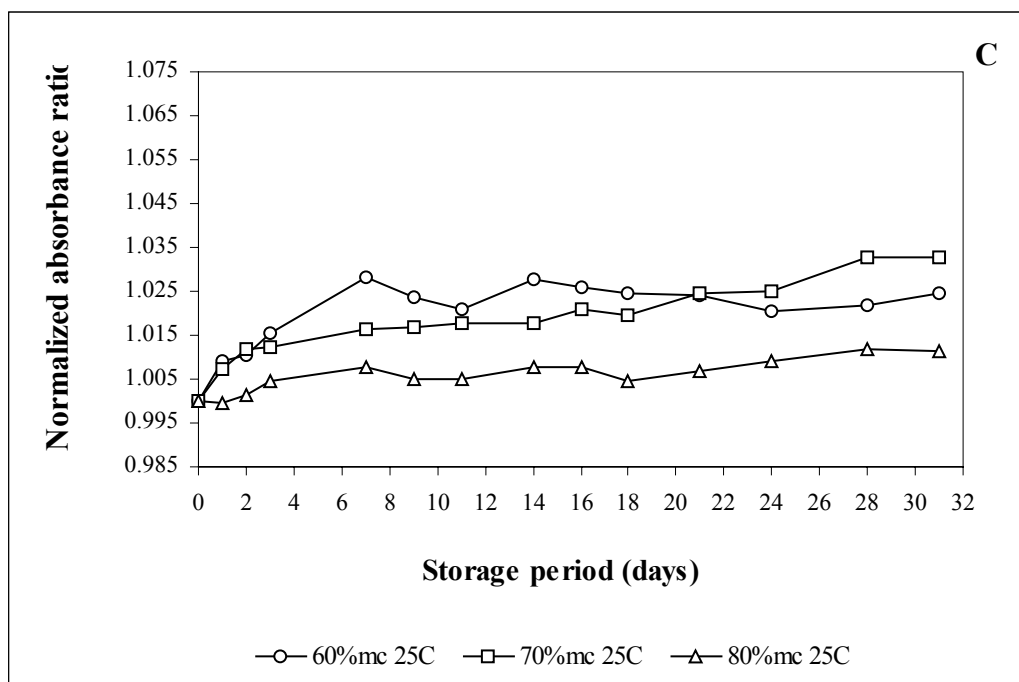
2.3 พฤติกรรมของการเกิดรีโทรเกรเดชันจากการติดตามด้วยการวัดเนื้อสัมผัสของเจล

ความแน่นหรือความแข็งของเจลสตาร์ชเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนเมื่อเกิดรีโทรเกรเดชัน ซึ่งการเปลี่ยนแปลงนี้ได้มีการศึกษาติดตามด้วยการทดสอบโดยใช้ large deformation fundamental test ดังเช่น uniaxial compression test ซึ่งเป็นการให้ข้อมูลด้านสมบัติทางกล (mechanical property) ที่พบว่ามีสัมพันธ์ที่ดีกับลักษณะทางประสาทสัมผัส (Karim et al., 2000) การเปลี่ยนแปลงด้านเนื้อสัมผัสหรือสมบัติทางกลของเจลสตาร์ชระหว่างเกิดรีโทรเกรเดชันนี้จัดได้ว่าเป็นการเปลี่ยนแปลงระดับภาพรวมขนาดใหญ่ของโครงสร้าง (macroscopic level) (Karim et al., 2000) ซึ่งอาจให้ข้อมูลหรือพฤติกรรมการเปลี่ยนแปลงที่ไม่ตรงกับการติดตามการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างอันเนื่องมาจากเกิดรีโทรเกรเดชันในระดับโมเลกุล

ผลการติดตามการเปลี่ยนแปลงเนื้อสัมผัสของเจลสตาร์ชมันสำปะหลังในระหว่างการเก็บเป็นเวลา 52 วันแสดงดังรูปที่ 6 และผลการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าอุณหภูมิ ปริมาณน้ำ และระยะเวลาการเก็บเจล เป็นปัจจัยที่มีความสำคัญอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยการเก็บเจลที่อุณหภูมิ 5°C มีค่าความแน่นของเจลมากกว่าที่อุณหภูมิ -20°C 25°C และ 45°C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งผลทางสถิติโดยภาพรวมก็คล้ายกับผลของ XRD และ FTIR การวัดเนื้อสัมผัสของเจลมีข้อดีสำหรับการศึกษาที่อุณหภูมิแช่แข็ง เนื่องจากที่อุณหภูมิ -20°C น้ำในเจลเปลี่ยนสถานะกลายเป็นน้ำแข็ง เมื่อนำมาทดสอบต้องทำการละลายน้ำแข็งก่อน



รูปที่ 5 FTIR absorbance ratio of retrograded tapioca starch aged at -20°C (A) and 5°C (B)



รูปที่ 5 FTIR absorbance ratio of retrograded tapioca starch aged at 25°C(C) and 45°C(D)

จึงจะวัดค่าได้ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างอันเนื่องมาจากการแช่แข็งและการละลายน้ำแข็ง นั่นคือโครงสร้างทางเนื้อสัมผัสหรือแน่นของเจลยอมสูญเสียไปส่วนหนึ่งอันเนื่องมาจากการเกิดผลึกของน้ำแข็ง ดังนั้นจึงสังเกตจากทุกปริมาณน้ำในรูปที่ 6 (A, B, C) ได้ว่าค่าแรงกดที่อุณหภูมิ -20°C มีค่าต่ำกว่าค่าแรงกดที่อุณหภูมิ 5°C อย่างชัดเจน แต่อย่างไรก็ตามผลของเกดรีโทรเกรเดชันที่อุณหภูมิ -20°C ก็ยังสูงมากกว่าที่อุณหภูมิ 25°C ซึ่งผลนี้ก็สอดคล้องกับผลของ XRD และ FTIR ซึ่งผลของการเก็บที่อุณหภูมิต่ำทำให้เกิดรีโทรเกรเดชันได้มากนั้นและเมื่อเพิ่มอุณหภูมิสูงขึ้นทำให้เกิดได้น้อยลงอาจอธิบายได้ด้วยทฤษฎีการเกิดผลึกของโพลิเมอร์สังเคราะห์ที่มีโครงสร้างแบบกึ่งผลึก (semi – crystalline synthetic polymers) ที่ประกอบด้วย 3 ขั้นตอน คือ 1.nucleation (การเริ่มเกิดการจัดเรียงส่วนของสายโซ่) 2.Propagation (การโตของผลึก) และ 3.maturation (การสร้างคุณสมบัติของผลึกและ/หรือการเติบโตอย่างต่อเนื่องของผลึก) โดยอัตราโดยรวมของการเกิดผลึกนั้นขึ้นอยู่กับอัตราการเกิด nucleation และอัตราการโตของผลึก ทำให้มีการสรุปในเชิงภาพรวม ภาพกราฟรูประฆังคว่ำที่ปลายทั้ง 2 ข้างอยู่ระหว่าง T_g (glass-transition temperature) และ T_m (melting transition temperature) ซึ่งผลของการเพิ่มอุณหภูมิจาก 5°C ไป 45°C จึงอธิบายได้จาก เมื่อ $T-T_g$ มากขึ้นเรื่อยๆ ทำให้อัตราการเกิดผลึกลดลงไปเรื่อยๆ เนื่องจากอุณหภูมินี้ไปอยู่ในช่วงหางของกราฟระฆังคว่ำ ดังนั้นจึงเป็นเหตุผลอย่างดีที่ยังอธิบายได้ว่า ทำไมการเกิดผลึกที่อุณหภูมิ -20°C จึงเกิดได้มากและเกิดได้มากเท่ากับที่อุณหภูมิ 5°C ในกรณีของ XRD เพราะเมื่อเจลสตาร์ชมันสำปะหลังถูกนำไปแช่ในตู้เย็นแช่แข็ง -20°C แบบนอน (chest freezer) (ทั้ง 3 กรณีการทดสอบนี้เจลสตาร์ชถูกเตรียมและเก็บด้วยวิธีการเดียวกัน) จำเป็นต้องใช้ระยะเวลา 5-6 ชั่วโมง ในการลดอุณหภูมิของเจลลงจากอุณหภูมิห้อง ($\sim 30^{\circ}\text{C}$) ลงมาที่ -20°C ดังนั้นเจลที่ถูกเก็บในตู้แช่แข็งจึงมีอุณหภูมิต่ำๆ ลดลงมาที่ 0°C และที่ -20°C ตามลำดับ ซึ่งการลดลงของอุณหภูมิในช่วงนี้เป็นการเร่งการเกิดผลึกในโครงสร้างสตาร์ชในอัตราเดียวกันกับที่ 5°C และมากกว่าการเก็บที่ 5°C เล็กน้อยในช่วงลดลงจาก 5°C ไปที่ 0°C ก่อนที่จะเกิดผลึกน้ำแข็ง และนอกจากนี้ การเกิดผลึกก็ยังสามารถเกิดขึ้นได้ในระหว่างการลดอุณหภูมิจาก 0°C ไปที่ -20°C ก่อนที่เจลสตาร์ชจะกลายเป็นของแข็งแบบ glassy (glassy solid) ที่อุณหภูมิ T_g' (glass transition temperature of maximally freeze-concentrated solute matrix)

นอกจากนี้การโตของผลึกก็สามารถเกิดขึ้นได้ในระหว่างการละลายน้ำแข็งที่อุณหภูมิ 30°C ที่ใช้ระยะเวลาไม่เกิน 45 นาที ตามที่ Jacobson และ BeMiller (1998) ได้รายงานว่าการแช่แข็งและการละลายน้ำแข็งเป็นรอบๆ เป็นวิธีที่สามารถเร่งการเกิดรีโทรเกรเดชันสตาร์ชได้ ดังนั้นการเกิดผลึกของเจลที่เก็บที่อุณหภูมิ -20°C อาจมีผลร่วมของการเกิดผลึกระหว่างการละลายน้ำแข็งเกิดขึ้นได้ ในทางทฤษฎีแล้ว การเก็บเจลสตาร์ชไว้ที่อุณหภูมิ -20°C ควรจะมีการ

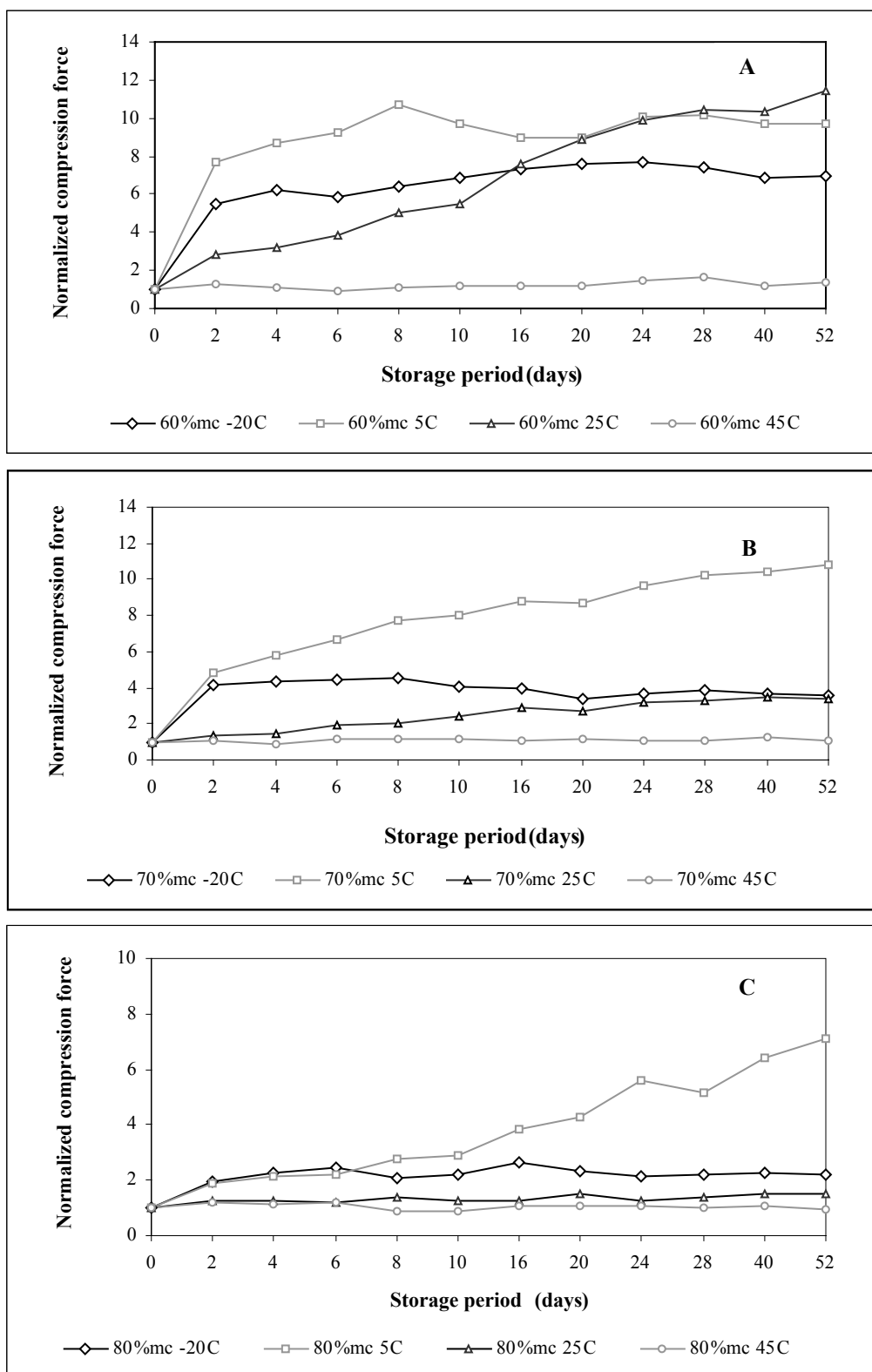


Figure 6 Compression force of retrograded tapioca starch contain water content of 60% (A), 70% (B) and 80% (C) aged at different temperatures

เปลี่ยนแปลงของผลึกน้อยมากเนื่องจากมีรายงานค่า T_g' ของสตาร์ชข้าวโพดว่ามีค่าอุณหภูมิเริ่มต้น (onset temperature) ที่ -11°C (Jouppila และ Roos, 1997) หรือ T_g' ของสตาร์ชข้าวสาลีที่เจลาติไนซ์แล้วที่ -5°C (Slade และ Levine, 1988) ซึ่งหากค่า T_g' ของสตาร์ชมันสำปะหลังมีค่าระหว่างนี้ เจลของสตาร์ชมันสำปะหลังย่อมอยู่ใน glassy state ซึ่งควรจะมีการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างเกิดขึ้นได้น้อยมาก แสดงว่าการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างสตาร์ชที่ทำให้เกิดความเป็นผลึกมากขึ้นหรือเกิดปริมาณรีโทรเกรเดชันมากขึ้นในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20°C เป็นการเปลี่ยนแปลงที่เรียกว่า physical aging แต่ถ้าค่า T_g' ของสตาร์ชมันสำปะหลังมีค่าต่ำกว่า -11°C ซึ่งก็อาจมีความเป็นไปได้เนื่องจากลักษณะทางธรรมชาติในสมบัติทางด้าน rheology ของสตาร์ชมันสำปะหลังมีค่าต่ำกว่าสตาร์ชข้าวโพดและสตาร์ชข้าวสาลีที่ความเข้มข้นสตาร์ชเท่ากัน และถ้า T_g' ของสตาร์ชมันสำปะหลังมีค่าต่ำจนกระทั่งใกล้เคียงที่ -20°C ก็อาจทำให้สถานะทางกายภาพของเจลสตาร์ชมันสำปะหลังที่เก็บไว้ที่ -20°C ไม่เป็น glassy state ทั้งหมด มีส่วนเป็น rubbery state ก็สามารถทำให้สตาร์ชเกิด รีโทรเกรเดชันได้ และเกิดในอัตราของ nucleation ที่สูงด้วยเช่นกัน

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของปฏิสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิกับปริมาณน้ำ พบว่ามีความสำคัญอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) เช่นเดียวกับกันผลของ XRD และ FTIR โดยในกรณีเนื้อสัมผัสของเจลนี้พบว่า เมื่ออุณหภูมิการเก็บจาก 25°C ไปเป็น 45°C ของเจลที่มีน้ำ 60% มีระดับการลดลงของความแข็งของเจลมากกว่าเจลที่มีปริมาณน้ำ 70 และ 80% อย่างเห็นได้ชัดเจน (รูปที่ 6A, 6B และ 6C)

ปฏิสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและระยะเวลาในการเก็บของเนื้อสัมผัสของเจล พบว่ามีความสำคัญอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) เช่นเดียวกับกันผลของ XRD และ FTIR โดยมีลักษณะเช่นเดียวกัน คือ อัตราการเพิ่มขึ้นของการเกิดรีโทรเกรเดชันของที่อุณหภูมิต่ำ -20°C และ 5°C ในช่วง 2 วันแรกมีมากกว่าที่อุณหภูมิ 25°C และ 45°C (รูปที่ 6) ซึ่งในกรณีทางด้านการเก็บเจลที่อุณหภูมิ 45°C นั้นแทบจะไม่มี的增加ของค่าแรงกดเลย หรืออีกนัยหนึ่งคือ ไม่พบการเกิดรีโทรเกรเดชันตลอดระยะเวลาการเก็บ 52 วันที่อุณหภูมิ 45°C เลย นอกจากนี้ยังพบพฤติกรรมหนึ่งของการเก็บที่อุณหภูมิ 25°C กับระยะเวลาที่เด่นขึ้นมาในการติดตามเนื้อสัมผัสของเจล คือ ที่ปริมาณน้ำ 60% การเกิดรีโทรเกรเดชันที่ 25°C ยังคงเกิดขึ้นได้เรื่อยๆ ตลอดระยะเวลาการเก็บ 52 วัน เมื่อถึงวันที่ 16 ความแข็งของเจลมีค่าเท่ากับที่อุณหภูมิ -20°C ซึ่งหลังจากวันที่ 4 ความแข็งของเจลมีแนวโน้มค่อนข้างคงที่ และเมื่อถึงวันที่ 20 ความแข็งของเจลที่อุณหภูมิ 25°C มีค่าเท่ากับที่อุณหภูมิ 5°C ซึ่งพบปรากฏการณ์คล้ายกันที่ปริมาณน้ำมากขึ้นเป็น 70% คือ ที่อุณหภูมิ 25°C ความแข็งของเจลเริ่มมีค่าเกือบเท่ากับที่อุณหภูมิ -20°C ในวันที่ 40-52 ซึ่งลักษณะพฤติกรรมนี้ก็พบใน FTIR ด้วย (ทั้งที่ปริมาณน้ำ 60 และ 70% แต่เฉพาะระหว่าง 25°C

กับ -20°C) แต่ปริมาณรีโทรเกรเดชันที่เริ่มเท่ากันใน FTIR นั้นเกิดเร็วกว่า คือประมาณวันที่ 4-5 ที่ปริมาณน้ำ 60% และประมาณวันที่ 18-19 ที่ปริมาณน้ำ 70%

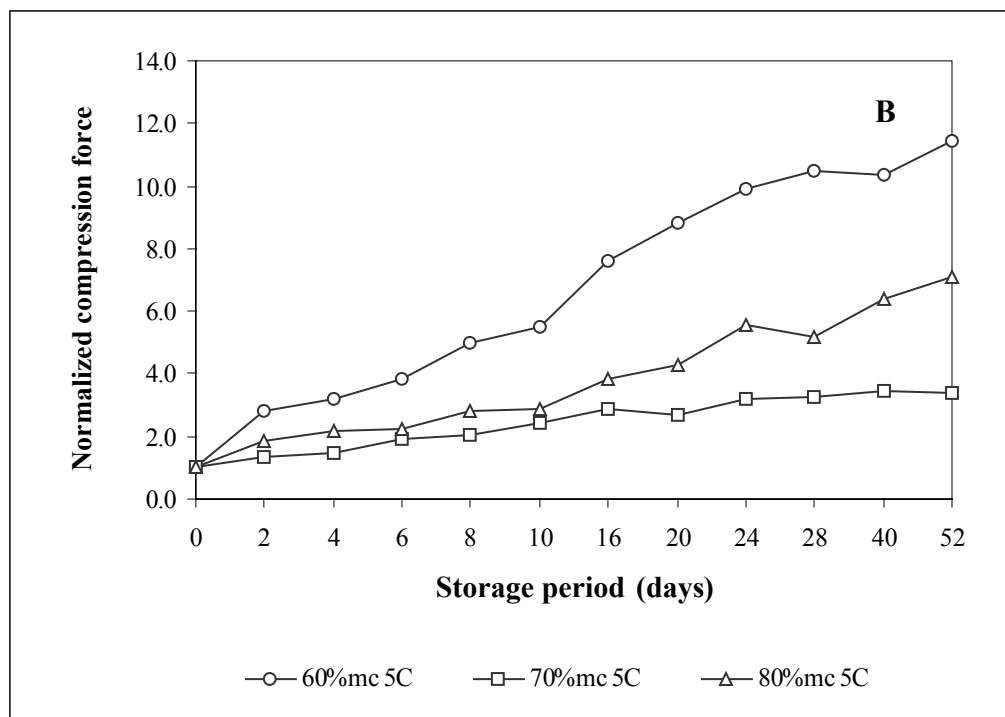
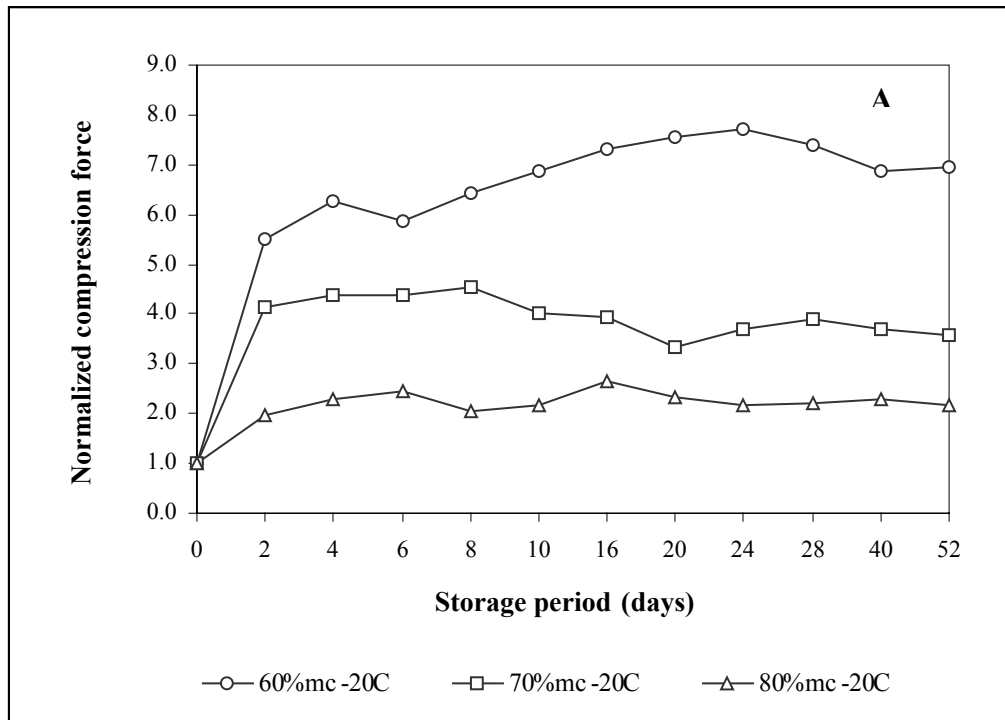
ปฏิสัมพันธ์ระหว่างปริมาณน้ำและระยะเวลาการเก็บเจล พบว่าไม่มีความสำคัญทางสถิติอีกเช่นกัน แต่อย่างไรก็ตามในช่วงระยะแรกของการเก็บเจลที่มีน้ำ 60% ที่อุณหภูมิ 5°C (รูปที่ 7B) มีปริมาณรีโทรเกรเดชันที่เกิดขึ้นมากกว่าเจลที่มีน้ำ 70% แต่หลังจากวันที่ 28 ของการเก็บเจลที่มีน้ำ 70% กลับมีการเกิดรีโทรเกรเดชันที่มากกว่าแต่ไม่แตกต่างทางสถิติ นอกจากนี้พฤติกรรมรีโทรเกรเดชันที่ปริมาณน้ำต่างๆที่ติดตามจากความเข้มของเจลที่เพิ่มขึ้นนี้มีลักษณะที่เหมือนกันที่อุณหภูมิ -20 , 5 , และ 25°C คือ เจลที่มีน้ำ 60% มีการเกิดรีโทรเกรเดชันสูงสุด ส่วนเจลที่มีน้ำ 80% มีการเกิดรีโทรเกรเดชันต่ำสุดตลอดระยะเวลาการเก็บ (รูปที่ 6A, 6B, 6C) ซึ่งต่างจากผลของ XRD และ FTIR ที่ค่อนข้างจะไม่เห็นความชัดเจนในผลของปริมาณน้ำที่ 70% ที่ให้การเกิดรีโทรเกรเดชันสูงสุดเท่ากับผลของน้ำที่ 60% ในการวัดเนื้อสัมผัสของเจล ทั้งนี้อาจเกี่ยวข้องกับการวัดเนื้อสัมผัสของเจลเป็นการวัดการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างขนาดใหญ่ (macroscopic structure) ซึ่งการมีปริมาณน้ำน้อยในโครงสร้างเป็นส่วนเสริมให้เกิดความไว (sensitivity) ของการวัดเนื้อสัมผัสมากขึ้นเมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย

เมื่อสังเกตผลของอุณหภูมิและปริมาณน้ำ ในช่วงระยะเวลาการเก็บเจลที่ปริมาณการเกิดรีโทรเกรเดชันค่อนข้างคงที่แล้ว (หลังจากวันที่ 24 ของการเก็บ) จะเห็นปฏิสัมพันธ์ของ 2 ปัจจัยนี้อย่างชัดเจน คือ เจลที่มีน้ำน้อย (60%) การเก็บที่อุณหภูมิ 25°C สามารถทำให้เกิดรีโทรเกรเดชันได้สูงเท่ากับที่อุณหภูมิ 5°C ในขณะที่เมื่อมีน้ำเพิ่มขึ้นอีก 10% (น้ำ 70%) จะไม่เห็นผลนี้เลย และเมื่อมีน้ำมากขึ้นอีก 20% (น้ำ 80%) ก็จะไม่เห็นผลของน้ำที่ไปชะลอการเกิดรีโทรเกรเดชันที่อุณหภูมิ -20 และ 25°C ดังนั้นการมีน้ำในเจล 80% จึงไม่สามารถเห็นความแตกต่างของปริมาณรีโทรเกรเดชันของการเก็บที่อุณหภูมิ -20 , 25 และ 45°C ได้เลย

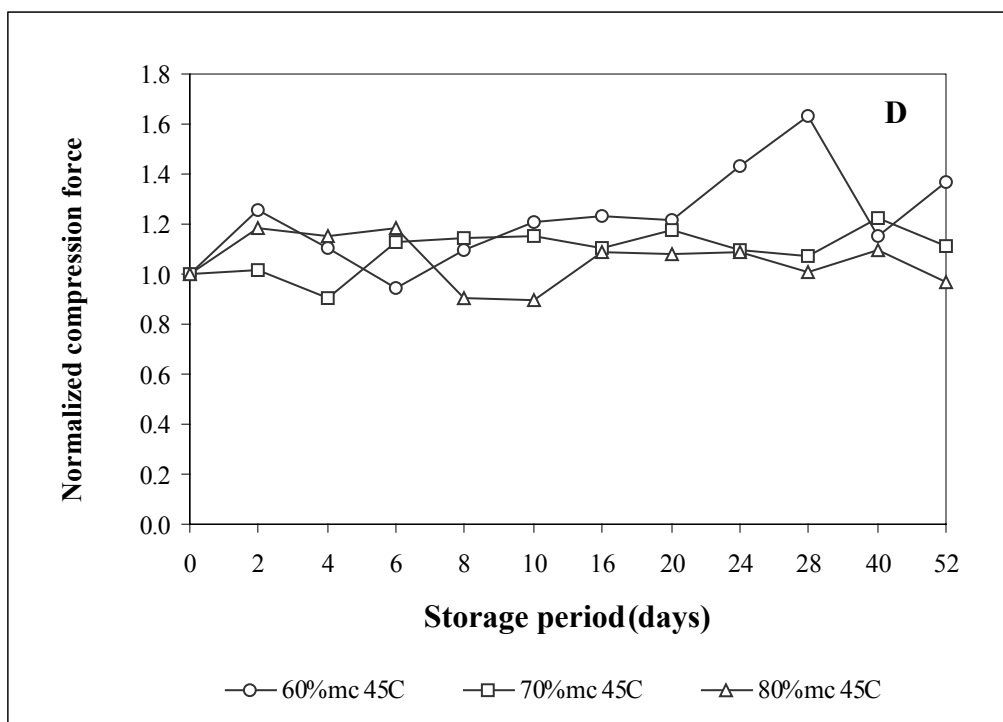
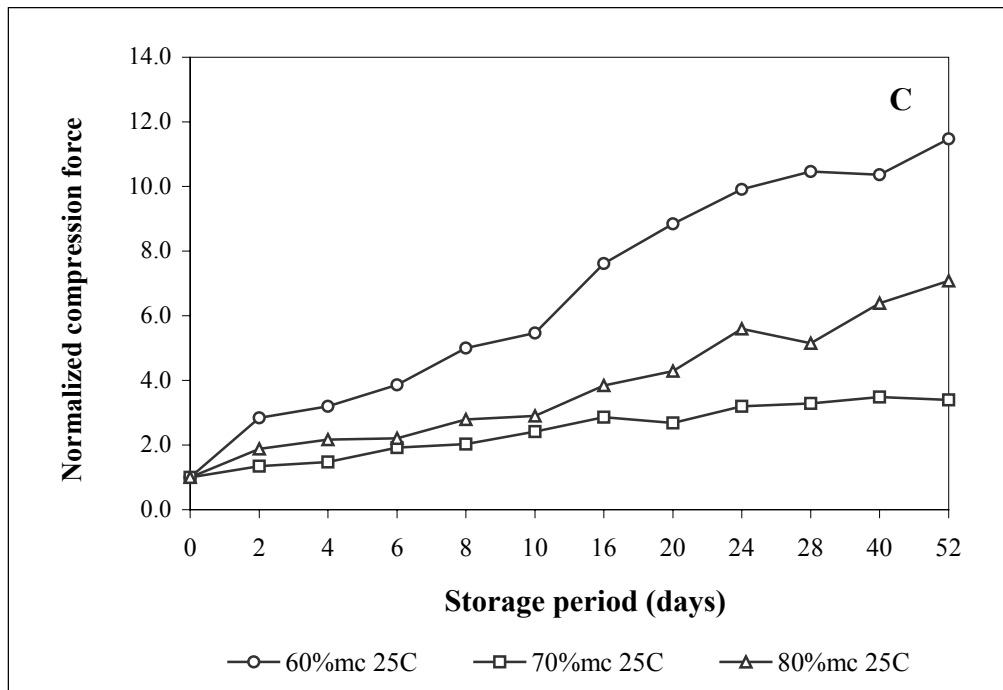
นอกจากนี้ยังพบผลของการชะลอการเกิดรีโทรเกรเดชันที่ติดตามด้วยการวัดเนื้อสัมผัสที่อุณหภูมิ 45°C ที่ชัดเจนในทุกปริมาณน้ำ โดยไม่พบการเกิดรีโทรเกรเดชัน ซึ่งบ่งบอกถึงเทคนิคการวัดเนื้อสัมผัสที่ไม่ sensitive ต่อการวัดการเกิดรีโทรเกรเดชันในระดับ macrostructure ที่เกิดขึ้นได้น้อยได้

2.4 พฤติกรรมการเกิดรีโทรเกรเดชันจากการติดตามด้วย DSC

การใช้ DSC ในการติดตามปรากฏการณ์รีโทรเกรเดชันในสตาร์ช เป็นวิธีหนึ่งที่ได้รับคามนิยมอย่างมาก โดยค่าเอนทาลปี (enthalpy) ที่เกิดขึ้นหลังจากเก็บเจลไว้ระยะหนึ่ง เป็นการบ่งบอกถึงปริมาณการจัดเรียงตัวกันของสตาร์ชหรือส่วนโครงสร้างที่เกิดผลึกในเจล ซึ่งหมายถึงปริมาณหรือระดับการเกิดรีโทรเกรเดชันนั่นเอง นอกจากนี้การศึกษารีโทรเกรเดชันด้วย DSC ยังช่วยให้ข้อมูลเพิ่มเติมเกี่ยวกับคุณสมบัติทางความร้อนของผลึกที่เกิดขึ้น คือ อุณหภูมิที่



รูปที่ 7 Compression test of retrograded tapioca starch aged at -20°C (A) and 5°C (B)

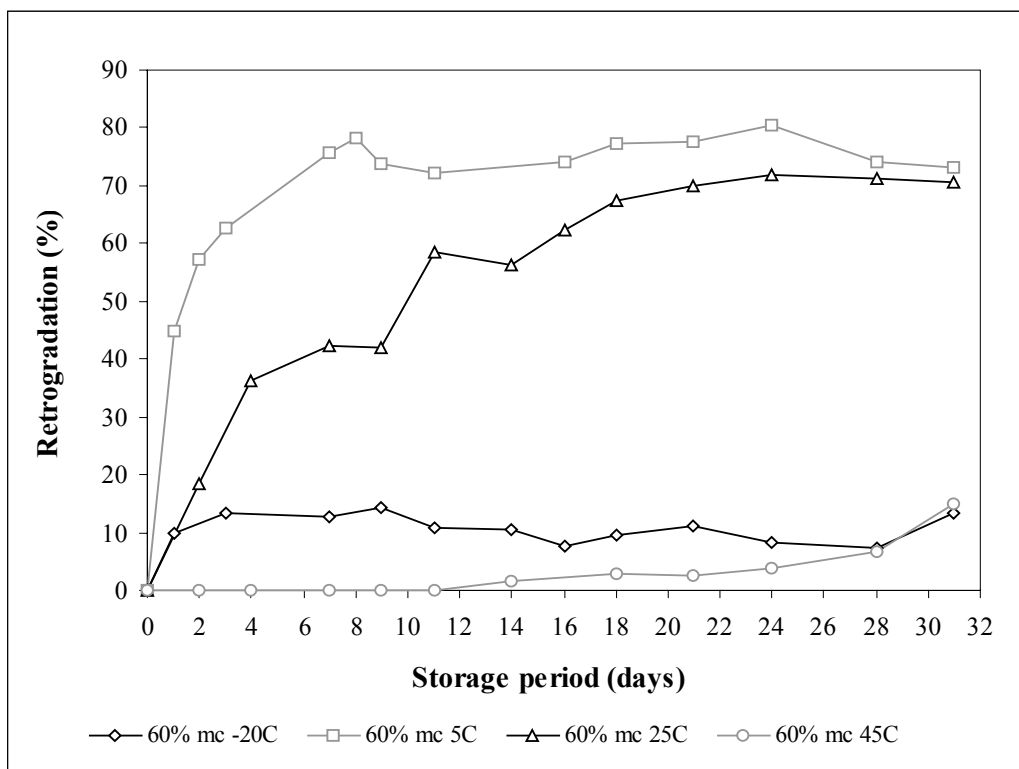


รูปที่ 7 Compression force of retrograded tapioca starch aged at 25°C (C) and 45°C (D)

ผลึกเกิดการเปลี่ยนแปลง เช่น onset (T_o), peak (T_p) และ conclusion (T_c) ของปรากฏการณ์ ดูดความร้อนนี้ด้วย

จากการศึกษาผลของอุณหภูมิการเก็บต่อปริมาณการเกิดรีโทรเกรเดชันของเจลที่มีปริมาณน้ำ 60% ได้แสดงดังรูปที่ 8 จะเห็นว่าการเก็บเจลที่อุณหภูมิ 5°C มีปริมาณการเกิดรีโทรเกรเดชันมากกว่าที่อุณหภูมิ 25°C -20°C และที่ 45°C ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) ซึ่งผลของอุณหภูมิ 5°C ที่ทำให้เกิดรีโทรเกรเดชันมากที่สุดก็สอดคล้องกับผลการทดลองของ XRD, FTIR และ เนื้อสัมผัสของเจล แต่อุณหภูมิที่ทำให้เกิดรีโทรเกรเดชันมากรองลงมาคือ 25°C ซึ่งแตกต่างจากผลใน FTIR และ เนื้อสัมผัสของเจล ซึ่งสามารถอธิบายได้ว่า ขนาดหรือปริมาณตัวอย่างที่เตรียมในการทดลองของ DSC นั้นมีขนาดน้อยกว่าในการทดลองของ XRD, FTIR และเนื้อสัมผัสของเจลมาก ดังนั้นเมื่อนำไปแช่แข็งที่ -20°C จึงใช้ระยะเวลาในการทำให้ปริมาณตัวอย่างทั้งหมดมีอุณหภูมิลดลงที่ -20°C น้อยกว่ามาก (ตามหลักการถ่ายเทความร้อน) ดังนั้นจึงเห็นว่าการเก็บที่ -20°C มีเปอร์เซ็นต์รีโทรเกรเดชันเฉลี่ยตลอด 30 วัน เพียง 10.9% และหลังจากวันแรกของการตรวจวัด (วันที่ 1) เปอร์เซ็นต์รีโทรเกรเดชันมีค่าคงที่ตลอดระยะเวลาการเก็บ จึงแสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิ -20°C เป็นอุณหภูมิที่ต่ำกว่า T_g' ของเจล สตาร์ชมันสำปะหลัง เพราะไม่สามารถเกิดการเคลื่อนที่ของโมเลกุลสตาร์ชให้มาจัดเรียงตัวใหม่ ให้มีความเป็นระเบียบมากขึ้นได้ ซึ่งหมายถึงสภาพนี้เป็น glassy state ซึ่งปรากฏการณ์นี้ก็ปรากฏในการวัดเนื้อสัมผัสเช่นกัน (รูปที่ 6A) แต่ในปริมาณการเกิดรีโทรเกรเดชันของการวัดเนื้อสัมผัสในวันแรกมีค่าค่อนข้างสูง ซึ่งสูงกว่าที่ 25°C ซึ่งเป็นผลอันเนื่องมาจากการใช้ระยะเวลานานในการลดอุณหภูมิมาที่ -20°C ของตัวอย่างขนาดใหญ่ นั่นเอง ดังนั้นจึงเห็นได้ว่าอัตราการแช่แข็งหรืออัตราการลดอุณหภูมิให้ต่ำกว่าอุณหภูมิจึงแช่แข็งมีผลต่อการเกิดผลึกของเจลสตาร์ช คือ การแช่แข็งแบบรวดเร็วทำให้เกิดผลึกได้น้อยกว่าการแช่แข็งแบบช้า สำหรับการเก็บเจลที่อุณหภูมิ 45°C จะเห็นว่าไม่มีการเกิดรีโทรเกรเดชันในช่วงแรก จนกระทั่งวันที่ 14 เริ่มมีการเกิดรีโทรเกรเดชันขึ้นและค่อย ๆ เพิ่มขึ้นจนกระทั่งระดับรีโทรเกรเดชันเท่ากับที่อุณหภูมิ -20°C ในวันที่ 28 ของการเก็บ

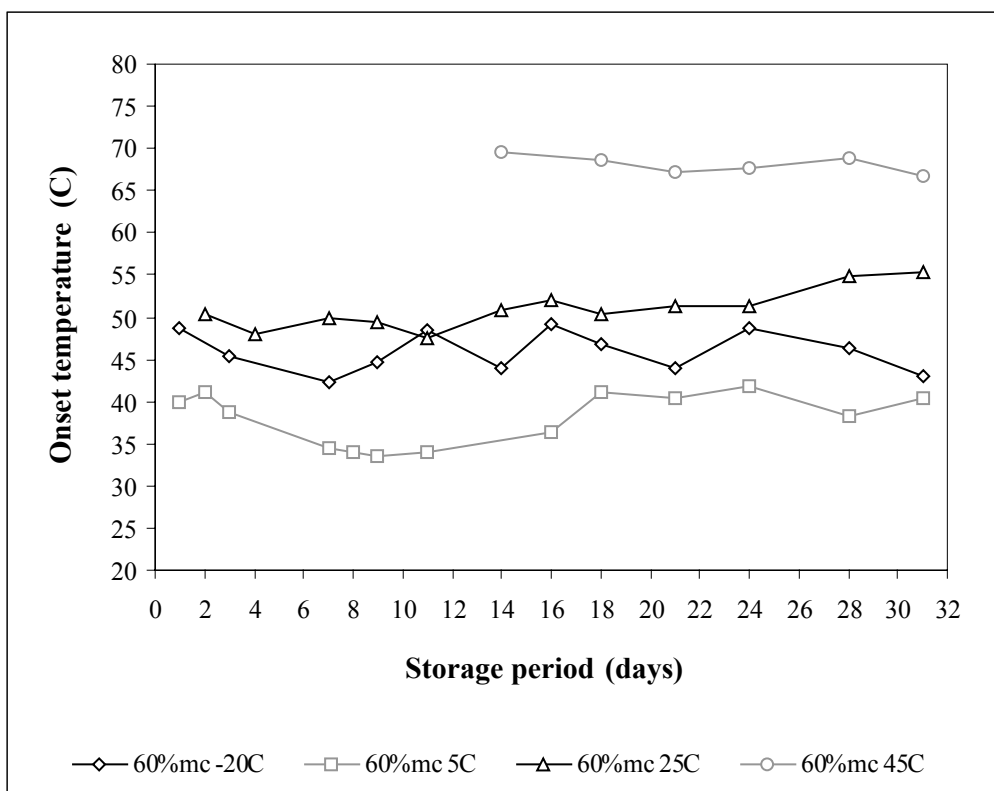
ผลของปริมาณน้ำต่อการเกิดรีโทรเกรเดชันที่ติดตามด้วย DSC พบว่าที่ปริมาณน้ำ 60% มีการเกิดรีโทรเกรเดชันสูงสุด รองลงมาคือ 70% และน้อยที่สุดคือ 80% ซึ่งผลนี้เหมือนกับผลของการวัดเนื้อสัมผัส และสอดคล้องกับในรายงานของ Jang และ Pyun (1997) เมื่อปริมาณความชื้นเพิ่มขึ้นจาก 60% เป็น 70% และ 80% ทำให้มี DSC enthalpy ของเจลสตาร์ชสาลิที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4°C ลดลงตามลำดับ และได้รายงานความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสตาร์ช (หรือปริมาณน้ำ) กับ enthalpy ของรีโทรเกรเดชันว่ามีลักษณะเป็นรูปประฆังคว่ำ โดยมีค่า Δ enthalpy สูงสุดอยู่ในช่วงของความเข้มข้นสตาร์ชที่ 50-60%



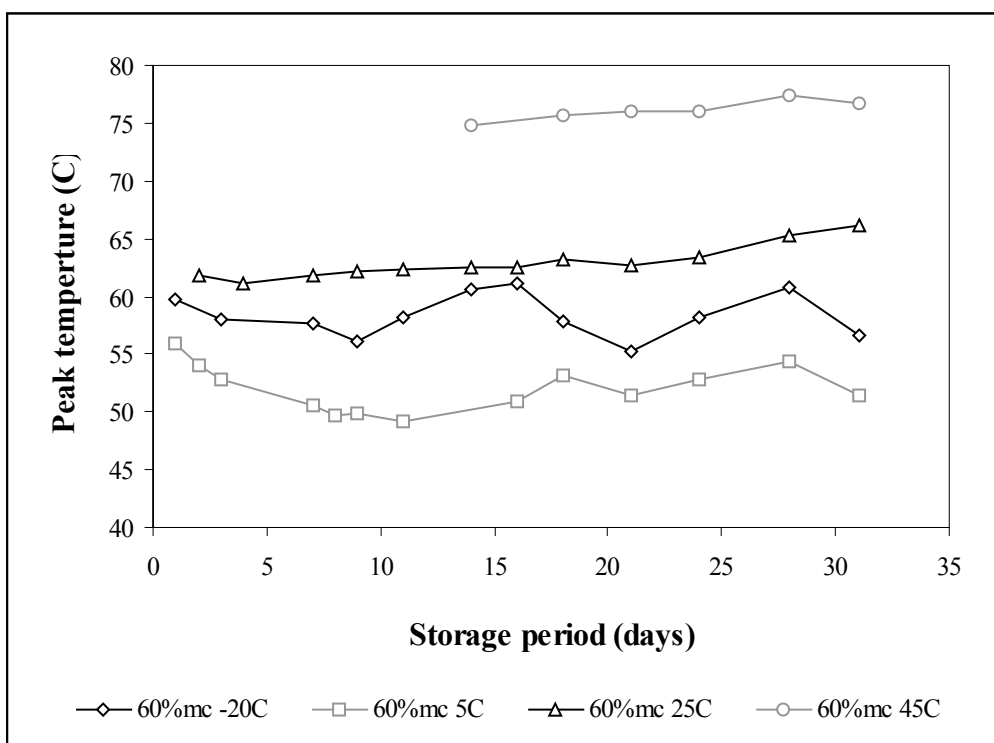
รูปที่ 8 Present retrogradation of retrograded tapioca starch contain water content of 60% aged at different temperatures

2.5 คุณสมบัติของผลึกที่เกิดขึ้น

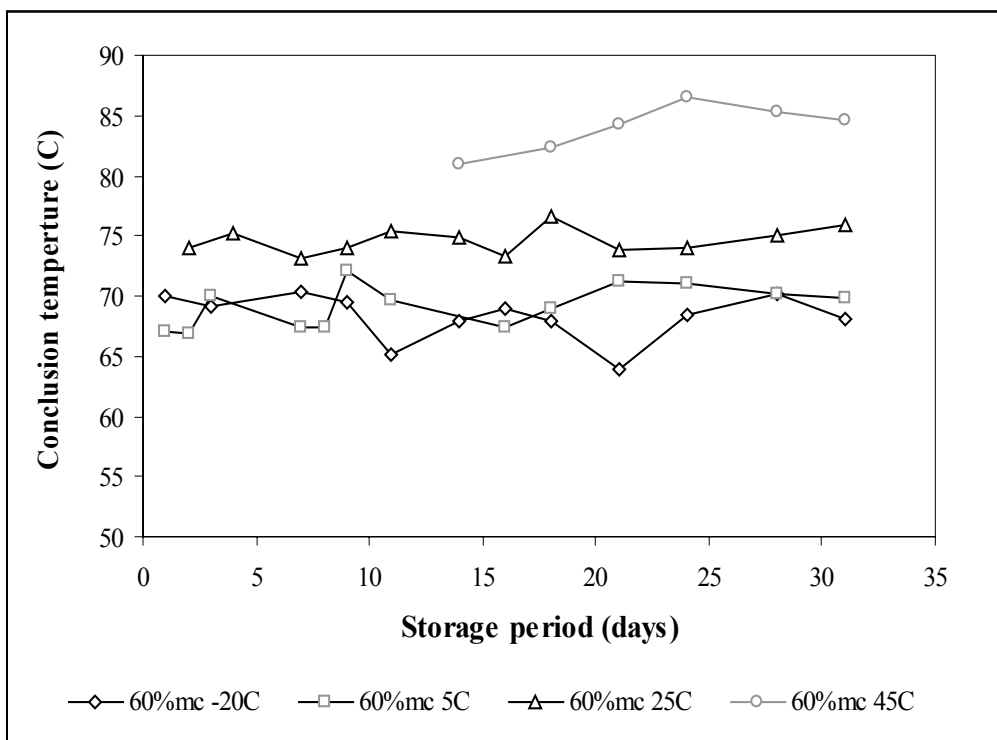
การศึกษาการเกิดรีโทรเกรเดชันด้วย DSC นอกจากจะให้ข้อมูลด้านปริมาณรีโทรเกรเดชันที่เกิดขึ้นแล้ว ยังสามารถให้ข้อมูลด้านคุณสมบัติทางความร้อนของผลึกที่เกิดขึ้นได้เช่นกัน โดยจากรูปที่ 9 10 และ 11 แสดงผลของอุณหภูมิการเก็บเจลที่มีต่อ T_o , T_p และ T_c ซึ่งเห็นได้ว่าเมื่อเก็บเจลที่อุณหภูมิสูงขึ้นทำให้ค่า T_o , T_p และ T_c ของการหลอมผลึกสตาร์ชที่รีโทรเกรดมีค่าสูงขึ้น โดย T_o , T_p และ T_c ของอุณหภูมิ 45°C มีค่าสูงกว่าอุณหภูมิต่ำๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) รองลงมาคือ 25°C และ T_o , T_p และ T_c ของอุณหภูมิ -20°C มีค่าสูงกว่า 5°C ($p < 0.01$) ซึ่งผลการทดลองนี้ก็สอดคล้องกับรายงานของ Jang และ Pyun (1997) และ Mizuno et al. (1998) โดยค่าอุณหภูมิที่เกี่ยวข้องกับ endothermic transition ของสตาร์ชที่รีโทรเกรดเหล่านี้ต่ำกว่าอุณหภูมิของสตาร์ชมันสำปะหลังที่เจลาติไนซ์ 9 - 20°C (ที่อุณหภูมิ -20, 5, 25°C) นอกจากนี้ก็มีลักษณะเป็นช่วงที่กว้างกว่าของการเกิดเจลาติไนเซชันของ starch granules ซึ่งรูปแบบที่เกิดขึ้นของ retrograded endotherm นี้แสดงให้เห็นว่ารูปแบบของผลึกที่เกิดขึ้นใหม่นี้มีลักษณะทางธรรมชาติที่แตกต่างไปจากของที่พบใน native starch granule คือมีความเป็นระเบียบน้อยกว่าจึงทำให้ความสมบูรณ์ของผลึกน้อยกว่า ซึ่งก็ยืนยันด้วยลักษณะของ diffractogram จาก XRD ที่มีลักษณะความคมชัดของแต่ละ peak น้อยกว่า และความคงตัว



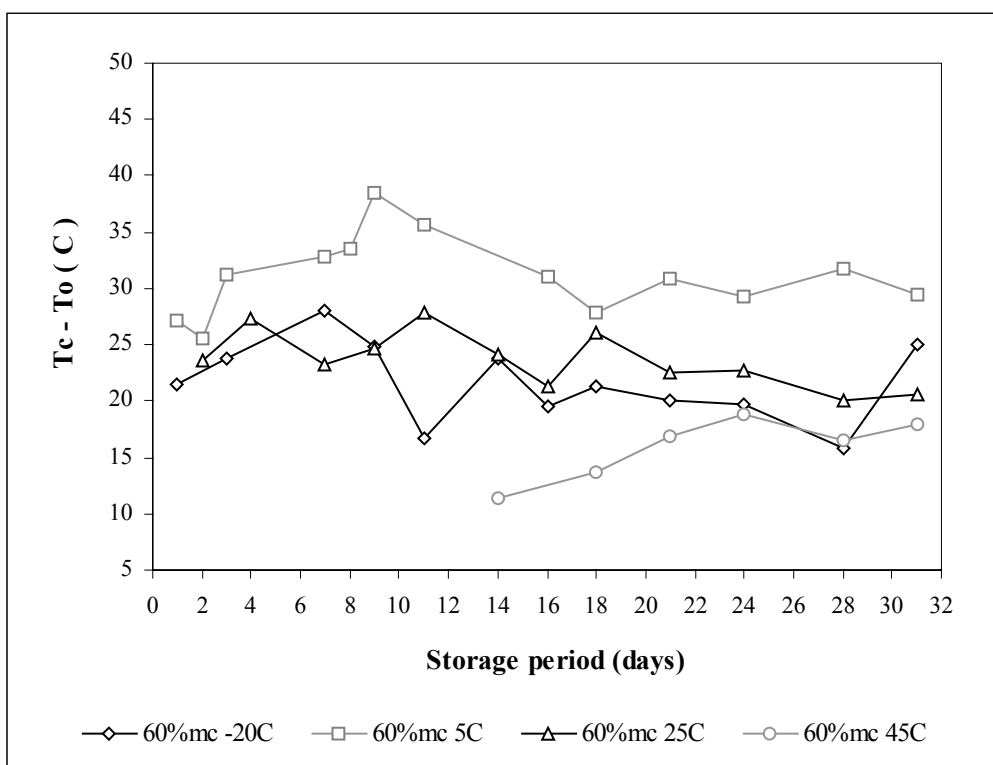
รูปที่ 9 DSC onset temperature of retrograded tapioca starch contain water content of 60% aged at different temperatures



รูปที่ 10 DSC peak temperature of retrograded tapioca starch contain water content of 60% aged at different temperatures



รูปที่ 11 DSC conclusion temperature of retrograded tapioca starch contain water content of 60% aged at different temperatures



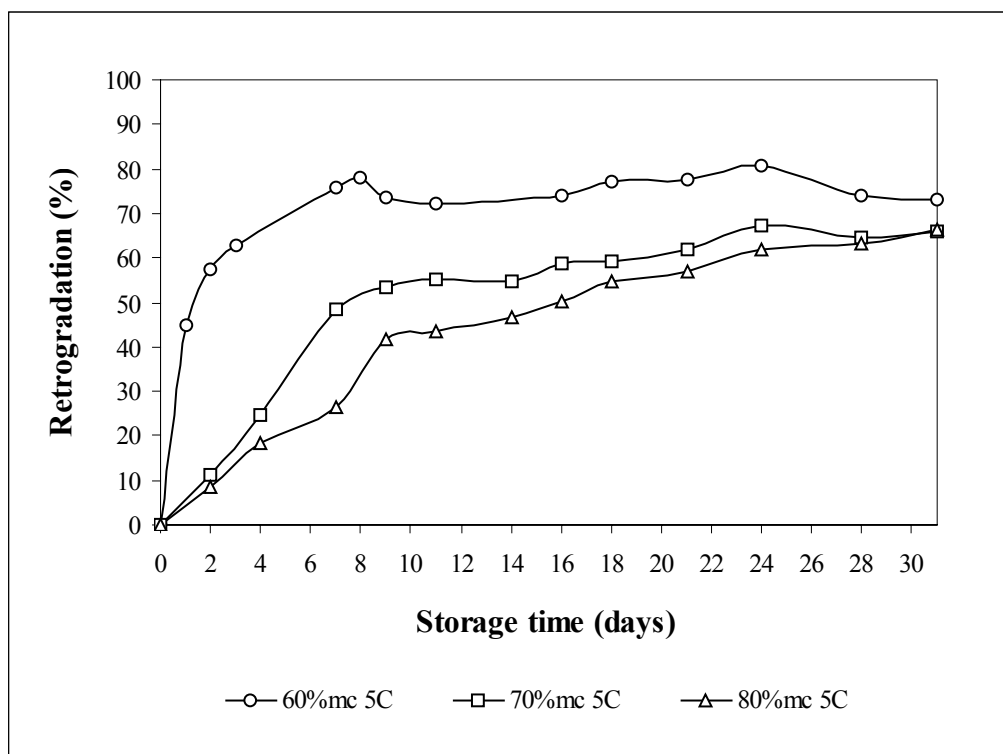
รูปที่ 12 Tc – To of retrograded tapioca starch contain water content of 60% aged at different temperatures

(stable) ของผลึกก็น้อยกว่า จากการที่ retrograded starch มีอุณหภูมิของ endothermic transition ที่ต่ำกว่า ดังนั้นแม้ว่าผลึกที่เกิดจากการเก็บที่อุณหภูมิ 45°C มีค่า T_p (76.5°C) สูงกว่า T_p ของ native starch granules (72.3°C) แต่ $T_c - T_o$ ของ retrograded starch ที่ 45°C ซึ่งมีค่า 14 – 17 °C ก็ยังมากกว่าของ native starch granule ซึ่งมีค่าประมาณ 13.5°C

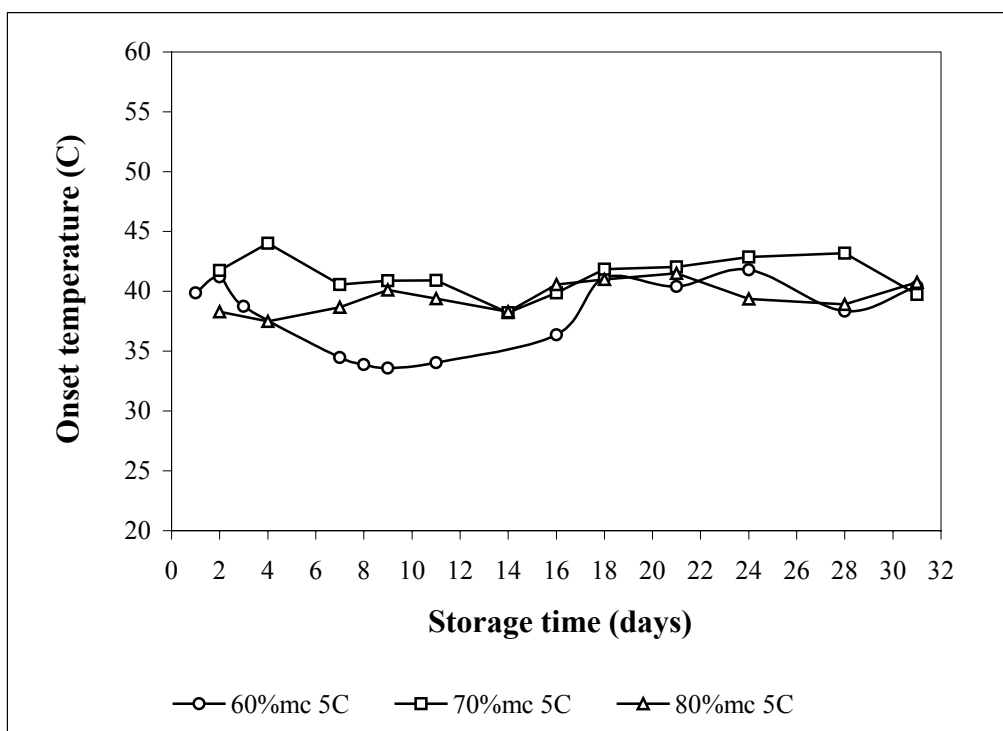
(รูปที่ 12)

จากผลของการเก็บเจลที่อุณหภูมิสูงขึ้น ทำให้อุณหภูมิการหลอมของผลึกที่เกิดขึ้นใหม่มีค่าสูงขึ้นนั้น อาจอธิบายได้ด้วยทฤษฎีการขึ้นกับอุณหภูมิของการเกิดผลึกของโพลิเมอร์ที่มีอิทธิพลต่อความสมบูรณ์ของผลึกที่เกิดขึ้น ที่ทำนายว่าเมื่อระดับความเป็นจืด (degree of supercooling) ($T_m - T$) เพิ่มขึ้น ก็ยิ่งทำให้ความสมบูรณ์ของผลึกที่เกิดขึ้นมีน้อยลง (wunderlich, 1976)

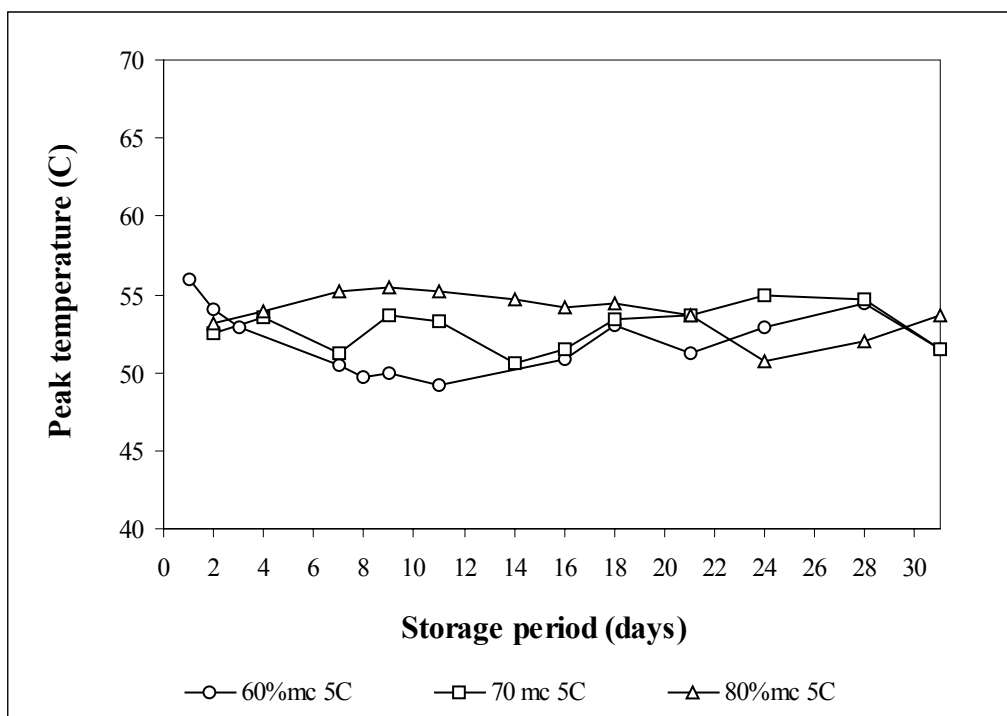
สำหรับผลของปริมาณน้ำต่อ thermal transition นั้นแสดงดังรูปที่ 13 - 17 ซึ่งพบว่าเจลที่มีน้ำ 70% มีค่า T_o มากกว่าที่มีน้ำ 80% และน้ำ 80% มี T_o มากกว่า 60% เจลที่มีน้ำ 80% มีค่า T_p เท่ากับที่มีน้ำ 70% ซึ่งมากกว่าที่มีน้ำ 60% เจลที่มีน้ำ 60% มีค่า T_c มากกว่าที่ 70% และน้ำที่ 70% มี T_c มากกว่าที่ 80% จึงทำให้เจลที่มีน้ำ 60% มีค่า $T_c - T_o$ มากกว่าที่มีน้ำ 70% ซึ่งเท่ากับ 80% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) จะเห็นได้ว่าการมีน้ำในระบบเจลมาก (70 - 80%) ทำให้อุณหภูมิของ endothermic transition สูงขึ้น และมีช่วงอุณหภูมิ transition ที่แคบหรือคมชัดเจน ซึ่งอาจกล่าวได้ว่าในระบบที่มีปริมาณน้ำมาก (excess water) ช่วยทำให้ผลึกที่เกิดขึ้นมีความเป็นระเบียบหรือมีความสมบูรณ์มากขึ้น ซึ่งอาจอธิบายได้น้ำซึ่งทำหน้าที่เป็น plasticizer ของระบบ เมื่อมีมากกว่าค่าวิกฤติค่าหนึ่ง ช่วยให้การเคลื่อนที่ของโมเลกุลสตาร์ชมีมากขึ้น เกิดการจัดเรียงตัวที่เหมาะสมขึ้น จึงทำให้ผลึกมีความสมบูรณ์มากขึ้น ซึ่งผลนี้ก็สอดคล้องกับผลของ XRD ในการวัดในเชิงปริมาณผลึก โดยในระบบน้ำมาก (80% water) ทำให้เกิดผลึกมากขึ้นด้วย



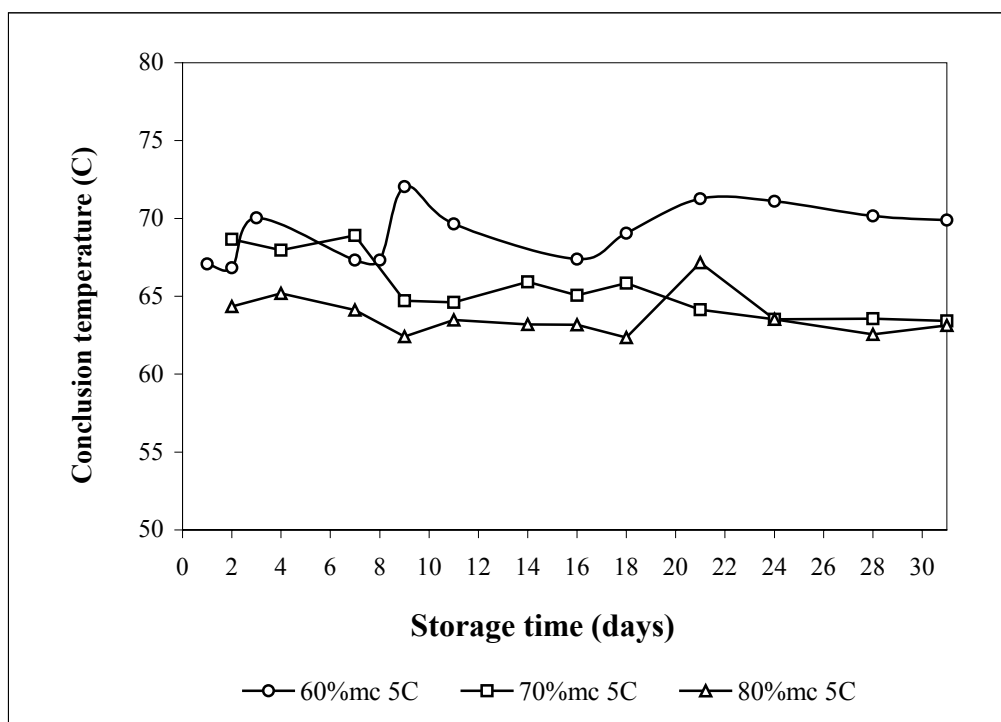
รูปที่ 13 Present retrogradation of retrograded tapioca starch contain water content of 60%, 70% and 80% aged at 5°C



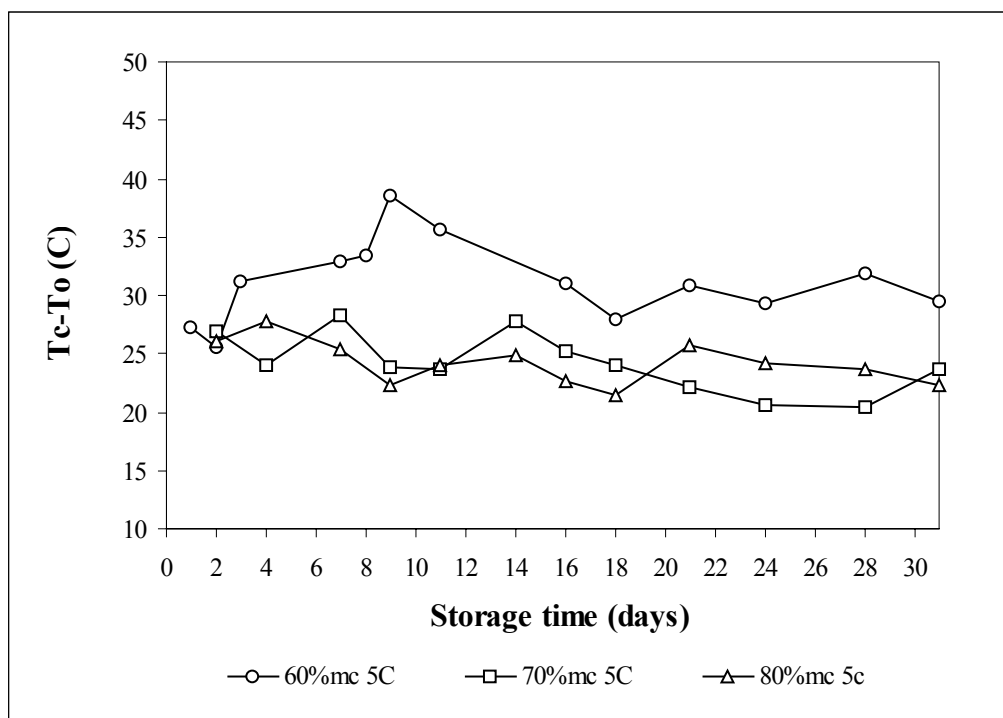
รูปที่ 14 DSC onset temperature of retrograded tapioca starch contain water content of 60%, 70% and 80% aged at 5°C



รูปที่ 15 DSC peak temperature of retrograded tapioca starch contain water content of 60%, 70% and 80% aged at 5 °C



รูปที่ 16 DSC conclusion temperature of retrograded tapioca starch contain water content of 60%, 70% and 80% aged at 5°



รูปที่ 17 Tc – To of retrograded tapioca starch contain water content of 60%, 70% and 80% aged at 5°C

3. ผลของการดัดแปรทางกายภาพต่อการเกิดรีโทรเกรเดชันของแป้งมันสำปะหลัง

การศึกษาการดัดแปรทางกายภาพได้ทำ 3 วิธีการ คือ annealing, heat-moisture treatment และ ฟรีเจลาติไนเซชัน ซึ่งสตาร์ชฟรีเจลได้ทำการฟรีเจลาติไนเซชัน 2 วิธี คือ drum drying และ extrusion โดย extrusion นั้นก็ได้แยกเป็น 2 แบบ คือ direct expansion และ indirect expansion หรือ half-product โดยคุณสมบัติทางความร้อนของแป้งดัดแปรทั้ง 5 ชนิดแสดงดังตารางที่ 3 และคุณสมบัติด้าน rheology ซึ่งตรวจสอบโดย RVA แสดงดังตารางที่ 4 และ 5

ตารางที่ 3 Thermal properties of native and physical modified starch

Sample	To (°C)	Tp (°C)	Tc (°C)	Tc – To (°C)	ΔH (J/g)
Native tapioca starch	65.51	71.67	79.01	13.50	12.67
Drum-drying pregelatinized starch	None	None	None	None	None
Half-product pregelatinized starch	None	None	None	None	None
Expanded-product pregelatinized starch	None	None	None	None	None
Annealed starch	71.25	74.76	80.94	9.69	13.65
Heat-moisture treated starch	72.91	80.60	88.33	15.42	9.67

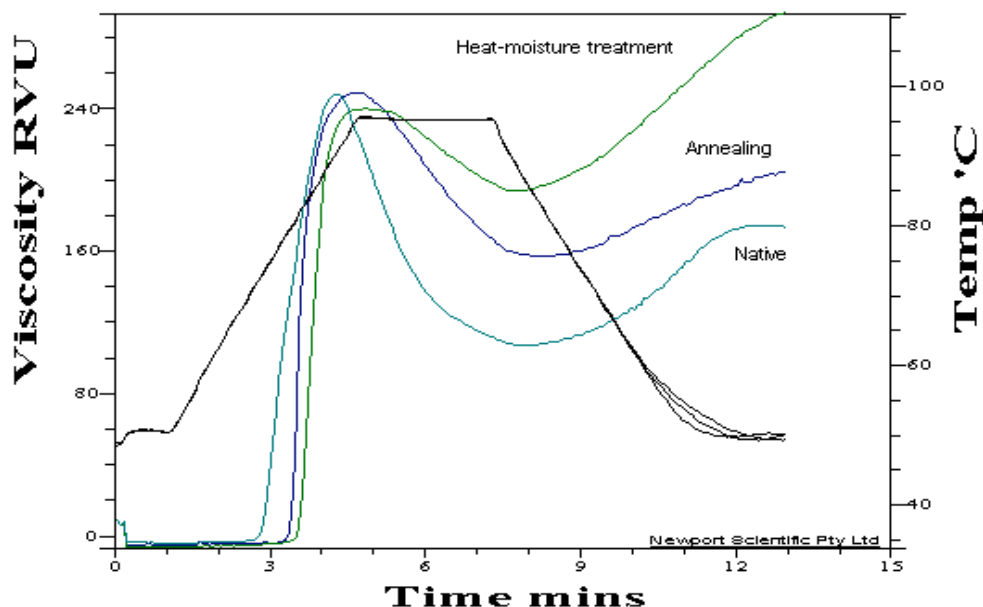
จากตารางที่ 3 จะเห็นว่าสสารที่พบเจอทั้งหมดเกิดการเจลลิตในเซชันแล้วจึงไม่พบช่วง endothermic transition ของเจลลิตในเซชัน ส่วน annealed starch และ heat-moisture treated starch มีค่าอุณหภูมิของ transition ที่เพิ่มขึ้นทั้ง T_o , T_p และ T_c ซึ่งแสดงให้เห็นถึงผลของการดัดแปรทางกายภาพทั้ง 2 ชนิดที่เกิดขึ้น โดย annealing เป็นการทำให้ผลึกมีความสมบูรณ์มากขึ้นจึงทำให้ thermal transition temperature สูงขึ้น และมีความคมชัดหรือการแคบลงของฐาน endotherm ($T_c - T_o$ ที่มีค่าน้อยลง) นอกจากนี้ก็ทำให้ค่า ΔH สูงขึ้นเล็กน้อย แสดงถึงปริมาณผลึกที่เพิ่มมากขึ้น ซึ่งผลที่เกิดขึ้นนี้ก็สอดคล้องกับผลของการทำ annealing ในสตาร์ชสาลีและสตาร์ชมันฝรั่งจากรายงานของ Jacobs et al. (1998) ส่วนผลของการทำ heat-moisture treatment กับสตาร์ชมันสำปะหลังพบการเปลี่ยนแปลงของ thermal properties ดังจะเห็นจากค่า thermal transition temperature ที่สูงขึ้น $T_c - T_o$ ที่กว้างขึ้น และ ΔH ที่ลดลงจากสตาร์ชธรรมชาติ ซึ่งก็สอดคล้องกับการทำ heat-moisture treatment ของสตาร์ชจากพืชหัวและรากที่รายงานโดย Gunarathe และ Hoover (2002) โดย Lim et al. (2001) ได้อธิบายการเพิ่มขึ้นของ melting transition temperature ว่าเกิดจากโมเลกุลของอะมิโลสที่อยู่ในส่วน amorphous เข้ามาเกาะเกี่ยวกับสายกิ่งของอะมิโลเพคตินในส่วน crystalline ทำให้การเคลื่อนไหว(mobility) ของสายอะมิโลเพคตินลดลง ส่วน ΔH ที่ลดลงนั้นเกิดจากการลดลงของ double helices ในส่วน crystalline อันเนื่องมาจากการถูกทำลายด้วยความร้อน

การวัดคุณสมบัติความหนืดของสตาร์ชด้วย RVA ในตารางที่ 4 และรูปที่ 18 นั้นเป็นการวัดด้วยวิธีการวัดความหนืดของสตาร์ชธรรมชาติในรูปเม็ดสตาร์ช ซึ่งทำการวัดใน annealed starch และ heat-moisture treated starch เท่านั้น ซึ่งผลของ pasting temperature ของ RVA ก็สอดคล้องกับ thermal transition temperature ของ DSC นอกจากนี้ค่า breakdown ของ heat-moisture treatment ก็มีค่าน้อยกว่าของ annealing ซึ่งก็น้อยกว่าของ native starch ค่า final viscosity หรือ cold viscosity ของ heat-moisture treatment มีค่ามากกว่าของ annealing ซึ่งก็มากกว่า native starch เล็กน้อย

ตารางที่ 4 RVA analysis and moisture content of native and physical modified starch

Sample	Pasting temp (°C)	Peak time (min)	Peak viscosity (RVU)	Holding strength (RVU)	Breakdown (RVU)	Final viscosity (RVU)	Setback (RVU)	Moisture (%)
NT	71.5	4.3	239.7	103.29	136.4	166.2	62.9	13.7
AS	78.0	4.7	243.5	154.4	89.0	200.9	46.5	11.5
HMTS	80.0	4.9	234.0	190.0	44.0	288.4	98.4	13.0

Note: RVA method of granular starch; NT: native tapioca starch; AS: annealed starch; HMTS: heat moisture treated starch



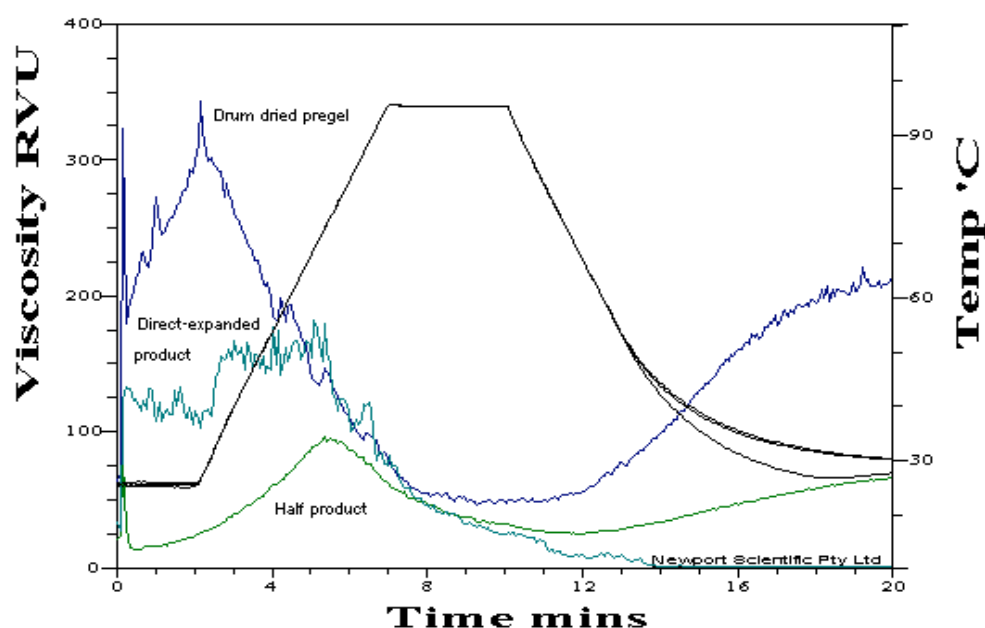
รูปที่ 18 RVA profiles of native tapioca starch, heat moisture treated starch and annealed starch

การวัดคุณสมบัติความหนืดของสตาร์ชฟรีเจลด้วย RVA ในตารางที่ 5 และรูปที่ 19 เป็นวิธีการวัดของผลิตภัณฑ์ที่ผ่านกระบวนการเอกทฤษฎัน ซึ่งมีลักษณะของการวัดที่อุณหภูมิเริ่มต้นที่ต่ำ (25°C) และจบลงที่อุณหภูมิเดิม ดังนั้นหลักการวัดความหนืดแบบนี้เพื่อตรวจสอบผลของความหนืดที่เกิดขึ้นที่อุณหภูมิต่ำหรืออุณหภูมิห้องต่อแรงเฉือน ขณะที่การเพิ่มอุณหภูมิเรื่อยๆ แล้วทำให้เย็นลงอีกครั้ง เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงของความหนืดในลักษณะการใช้งานจริง จึงเห็นได้ว่าสตาร์ชฟรีเจลจาก drum drying มีค่าความหนืดมากที่สุดทั้งช่วงแรกและช่วงหลัง อันเนื่องจากการแตกหักของโมเลกุลสตาร์ชน้อยที่สุด เพราะเป็นวิธีการที่ให้ความร้อนแบบไม่รุนแรง ส่วนสตาร์ชฟรีเจลแบบ direct expanded product มีความหนืดในช่วงแรกลดลงมา แต่ไม่ปรากฏความหนืดในช่วงท้ายเลย ซึ่งตามหลักการแล้วการทำสตาร์ชฟรีเจลแบบนี้เกิดการแตกหักของโมเลกุลมากที่สุดเพราะเป็นกระบวนการที่รุนแรงทั้งการให้ความร้อนและแรงเฉือนที่สูง ดังนั้นจึงแสดงผลออกมาทางความหนืดที่ต่ำมาก ส่วนสตาร์ชฟรีเจลแบบ half-product มีความหนืดในช่วงหลังสูงกว่าแบบ direct-expanded product เพราะกระบวนการเอกทฤษฎันแบบนี้มีความรุนแรงน้อยกว่า ทั้งอุณหภูมิที่น้อยกว่าและแรงเฉือนน้อยกว่า

ตารางที่ 5 RVA analysis and moisture content of native and pregelatinized starch

Sample	Pasting temp (°C)	Peak time (min)	Peak viscosity (RVU)	Holding strength (RVU)	Breakdown (RVU)	Final viscosity (RVU)	Setback (RVU)	Moisture (%)
DDPS	25.2	2.2	402.1	45.0	357.1	212.7	167.7	6.9
HPPS	25.4	5.2	79.9	20.4	59.5	65.4	2.8	9.3
EEPS	25.05	6.0	162.5	10.54	151.9	1.2	11.8	9.9

Note: RVA method of extruded product; DDPS: drum-dried pregelatinized starch; HPPS: half-product pregelatinized starch; EEPS: expanded-product pregelatinized starch

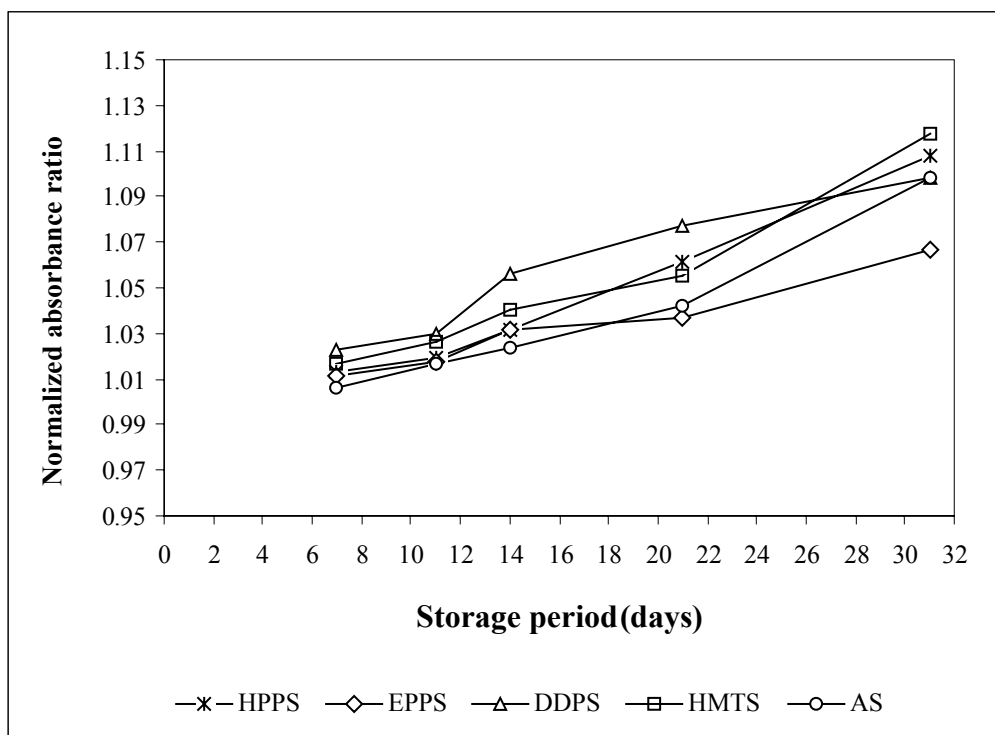


รูปที่ 19 RVA profiles of drum drying pregel starch, half-product pregel starch and expanded product pregel starch

3.1 พฤติกรรมการเกิดรีโทรเกรเดชันที่ติดตามด้วย FTIR

ผลการจัดแปลทางกายภาพสสารชั้นน้ำปะหลังด้วยวิธีการทั้ง 5 วิธี ต่อการเกิดรีโทรเกรเดชันที่ติดตามด้วย FTIR แสดงดังรูปที่ 20 แสดงให้เห็นว่าในช่วงการเก็บตัวอย่าง 2 ครั้งแรก (วันที่ 7 และ 11) การเกิดรีโทรเกรเดชันยังเกิดขึ้นน้อยในทุกๆ ตัวอย่างสสาร จึงทำให้เห็น

ความแตกต่างที่น้อยของการเกิดรีโทรเกรเดชันจากการเตรียมสตาร์ชดัดแปรทั้ง 5 ชนิด แต่อย่างไรก็ตามเมื่อนำไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ พบว่าปริมาณการเกิดรีโทรเกรเดชันในทั้ง



รูปที่ 20 FTIR absorbance ratio of modified tapioca starch contain water content of 80% aged at 5°C; HPPS: half-product pregelatinized starch; EPPS: expanded-product pregelatinized starch; DDPS: drum-drying pregelatinized starch; AS: annealed starch; HMTS: heat moisture treated starchdrum drying

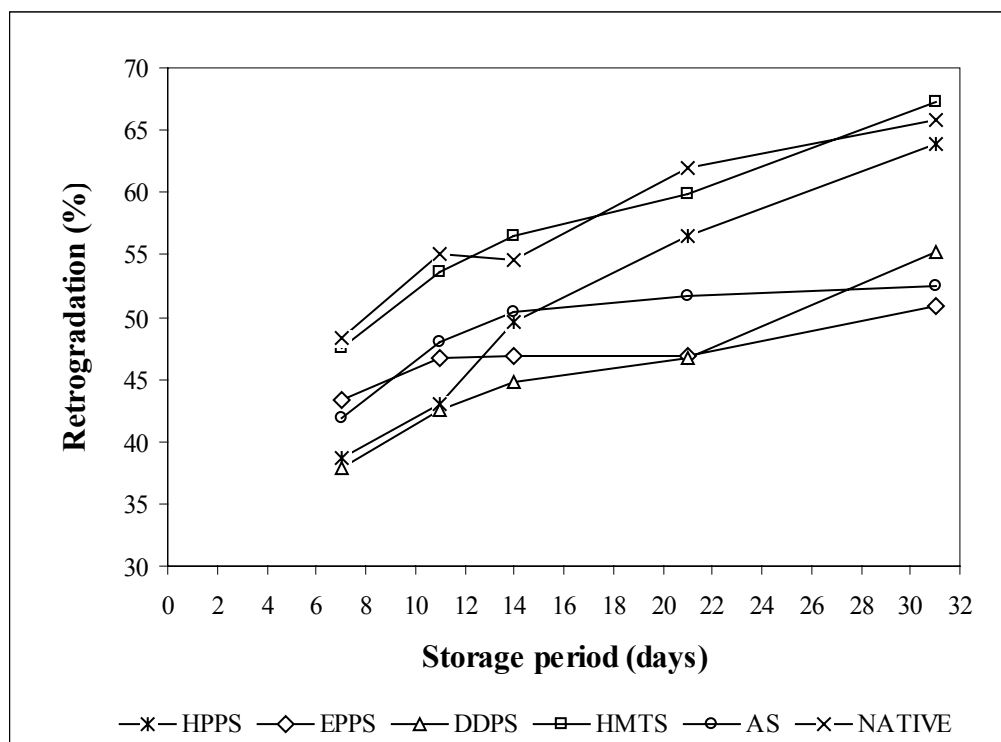
5 สตาร์ชดัดแปรนั้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยสตาร์ชฟรีเจลจาก รูป ที่มีการเกิดรีโทรเกรเดชันไม่แตกต่างจากสตาร์ชดัดแปรแบบ heat-moisture treatment และสตาร์ชฟรีเจลแบบ half product ส่วนสตาร์ชฟรีเจลแบบ half product มีการเกิดรีโทรเกรเดชันไม่แตกต่างจากสตาร์ช annealing ส่วนสตาร์ชดัดแปรแบบ annealing มีการเกิด รีโทรเกรเดชันไม่แตกต่างจากสตาร์ชฟรีเจลแบบ direct expanded product หรืออาจกล่าวได้ว่าสตาร์ชฟรีเจลจาก drum drying และสตาร์ชดัดแปรแบบ heat moisture treatment มีการเกิดรีโทรเกรเดชันมากกว่าสตาร์ชฟรีเจลแบบ direct-expanded product อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แต่เมื่อนำผลการทดลองตั้งแต่วันที่ 14 ของการเก็บไปวิเคราะห์ทางสถิติ ให้ผลค่าเฉลี่ยตามลำดับที่เหมือนกัน แต่แตกต่างกันที่ผลทางสถิติของการทดสอบค่าเฉลี่ยเพียงเล็กน้อย ดังนี้

สตาร์ชพรีเจลจาก drum drying> สตาร์ชดัดแปรแบบ heat moisture treatment> สตาร์ชพรีเจลแบบ half-product> สตาร์ชดัดแปรแบบ annealing> สตาร์ชพรีเจลแบบ direct expanded product มีค่าเฉลี่ยอัตราส่วนของ absorbance และจัดกลุ่มเป็น 1.0772 (A)> 1.0713 (A,B)> 1.0668 (A,B)> 1.0548 (B,C)> 1.0450 (C) ตามลำดับ

ในการวัดเจลสตาร์ชดัดแปรทั้ง 5 ชนิดด้วยเทคนิค FTIR-ATR นี้ ตัวอย่างสตาร์ชพรีเจลสามารถดูน้ำได้ทันที จึงต้องเตรียมตัวอย่างให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยการกวนผสมให้เกิดเจลก่อน ซึ่งตัวอย่างสตาร์ชพรีเจลจาก drum drying นั้นมีความหนืดสูงกว่าตัวอย่างสตาร์ชพรีเจลตัวอย่างอื่นมาก จึงทำให้เกิดฟองอากาศขึ้นในตัวอย่างระหว่างการเตรียม ซึ่งหลีกเลี่ยงไม่ได้ เมื่อนำไปวัด FTIR แม้ว่าได้เลือกส่วนของเจลที่มีฟองอากาศน้อยที่สุด แต่ก็คาดว่าจะอาจมีผลต่อค่า absorbance ที่วัดได้ เพราะค่า standard deviation ที่คำนวณได้จากการวัดซ้ำ 6 ซ้ำของสตาร์ชพรีเจลจาก drum drying นั้น มีค่าสูงกว่าจากตัวอย่างอื่นทั้ง 4 ชนิดมาก

3.2 การเกิดรีโทรเกรเดชันที่ติดตามด้วย DSC

การเกิดรีโทรเกรเดชันของสตาร์ชดัดแปรทั้ง 5 ชนิด ที่ตรวจวัดด้วย DSC แสดงดังรูปที่ 21 ซึ่งผลของการวัดตั้งแต่วันที่ 7 และ 11 ของการเก็บ สามารถเห็นความแตกต่างของสตาร์ชดัดแปรทั้ง 5 ชนิดได้มากกว่าผลของ FTIR อย่างไรก็ตามแนวโน้มของสตาร์ชดัดแปรแต่ละชนิดต่อการเกิดรีโทรเกรเดชันที่วัดด้วย DSC ส่วนใหญ่คล้ายกับ FTIR ยกเว้นตัวอย่างเดียวคือ สตาร์ชพรีเจลแบบ drum drying นั่นคือเมื่อเรียงลำดับค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดรีโทรเกรเดชันของ DSC และผลการทดสอบความแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ย ($p < 0.05$) มีดังนี้ สตาร์ชดัดแปรแบบ heat moisture treatment> สตาร์ชพรีเจลแบบ half-product> สตาร์ชดัดแปรแบบ annealing> สตาร์ชพรีเจลแบบ direct-expanded product> สตาร์ชพรีเจลแบบ drum drying มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดรีโทรเกรเดชันและจัดกลุ่มเป็น 56.9 (A)> 50.3 (B)> 48.9 (B,C)> 46.9 (C,D)> 45.4 (D) ตามลำดับ จึงเป็นได้ว่ามีเพียงสตาร์ชพรีเจลแบบ drum drying เท่านั้นที่มีผลตรงข้ามกับ FTIR ซึ่งเมื่อคำนึงถึงลักษณะของตัวอย่างสตาร์ชพรีเจลแบบ drum drying ที่มีฟองอากาศหลังจากเตรียมเจลเพื่อใช้ในการวัด FTIR จึงอาจเป็นไปได้ว่าข้อมูลของผลการวัดปริมาณรีโทรเกรเดชันด้วย FTIR มีความน่าเชื่อถือน้อยกว่าการวัดด้วย DSC เพราะการวัดด้วย DSC นั้นไม่มีการกวนขณะเตรียมเจลใน DSC pan ดังนั้นผลของปริมาณรีโทรเกรเดชันที่เกิดขึ้นจากมากไปน้อยของสตาร์ชดัดแปรทั้ง 5 ชนิดคือ สตาร์ชดัดแปรแบบ heat moisture treatment มีการเกิดรีโทรเกรเดชันมากที่สุด รองลงมาคือ สตาร์ชพรีเจลแบบ half-product, สตาร์ชดัดแปรแบบ annealing และสตาร์ชพรีเจลแบบ directed-expanded product ส่วนสตาร์ชพรีเจลแบบ drum drying มีการเกิดรีโทรเกรเดชันน้อยที่สุด

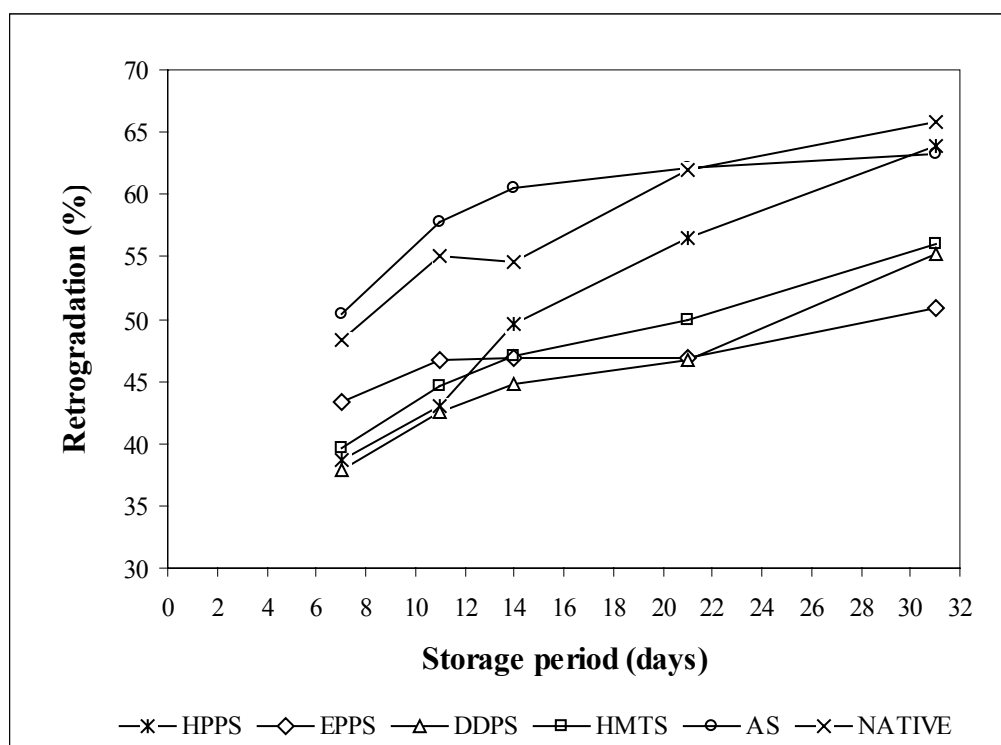


รูปที่ 21 Present retrogradation of modified tapioca starch containing water content of 70% aged at 5°C as calculated on a basic of its enthalpy; HPPS: half-product pregelatinized starch; EPPS: expanded-product pregelatinized starch; DDPS: drum-drying pregelatinized starch; AS: annealed starch; HMTS: heat moisture treated starch; NT: native tapioca starch

รูปที่ 21 แสดงผลการเกิดรีโทรเกรเดชันของสตาร์ชดัดแปรแบบ heat moisture treatment ที่มากกว่าสตาร์ชดัดแปรชนิดอื่น แต่ใกล้เคียงกับการเกิดรีโทรเกรเดชันใน native starch อย่างชัดเจนตลอดระยะเวลา 31 วัน เนื่องจากการวัดปริมาณการเกิดรีโทรเกรเดชันได้จากการคำนวณค่าเอนทาลปีของสตาร์ชดัดแปรแบบ heat moisture treatment ที่เกิดการรีโทรเกรดเทียบกับเอนทาลปีของสตาร์ชดัดแปรแบบ heat moisture treatment เอง ($\Delta H_{RHMT}/\Delta H_{HMT} \times 100$) ซึ่งปริมาณเอนทาลปีของการเจลลาคีไนซ์ของสตาร์ชดัดแปรแบบ heat moisture treatment มีค่าน้อยเพราะจากการดัดแปรแบบ heat moisture treatment จะทำให้ผลึกบางส่วนในสตาร์ชถูกทำลายเนื่องจากความร้อน ทำให้สัดส่วนของเอนทาลปีมีค่าเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับสตาร์ชดัดแปรแบบ annealing กับ heat moisture treatment พบว่าสตาร์ชดัด

แปรรูปแบบ annealing แสดงการเกิดรีโทรเกรดชันที่ต่ำกว่านั้น เนื่องจากเอนทาลปีของการเจลลาคีไนซ์ของสตาร์ชดัดแปรแบบ annealing มีค่าสูง ทำให้สัดส่วนของค่าเอนทาลปีมีค่าลดลง

อย่างไรก็ตามเมื่อวิเคราะห์การเกิดรีโทรเกรดชัน โดยการคำนวณค่าเอนทาลปีของสตาร์ชดัดแปรที่เกิดการรีโทรเกรดเทียบกับเอนทาลปีของการเจลลาคีไนซ์ของ native starch ($\Delta H_R/\Delta H_{NT} \times 100$) ดังรูปที่ 22 พบว่าผลการเกิดรีโทรเกรดชันของสตาร์ชดัดแปรแตกต่างกันไปจากการคำนวณในแบบเทียบกับค่าเอนทาลปีของสตาร์ชดัดแปรเองตั้งข้างต้น โดยการเกิดรีโทรเกรดชันในสตาร์ชดัดแปรแบบ annealing แสดงปริมาณใกล้เคียงกับเกิดรีโทรเกรดชันใน native starch และสตาร์ชดัดแปรแบบ annealing มีการเกิดรีโทรเกรดชันที่สูงกว่าสตาร์ชดัดแปรแบบ heat moisture treatment ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Gunarathe และ Hoover (2002) ซึ่งตรวจสอบการเกิดรีโทรเกรดชันในแป้งดัดแปรแบบ heat moisture treatment โดยเทียบปริมาณเอนทาลปีของแป้งดัดแปรที่เกิดการรีโทรเกรดกับ native starch และรายงานว่า การดัดแปรแป้งแบบ heat moisture treatment ทำให้ปริมาณเอนทาลปีลดลงเมื่อผ่านการบ่มเจลแป้งที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งแสดงถึงการเกิดรีโทรเกรดชันที่ลดลงของแป้งดัดแปรแบบ heat moisture treatment เมื่อเทียบกับ native starch อย่างไรก็ตามจากหลากหลายงานวิจัยของการติดตามพฤติกรรมการณ์การเกิดรีโทรเกรดชันที่ลดลงของสตาร์ชดัดแปร โดย เทคนิค DSC ได้เปรียบเทียบการลดลงของค่าเอนทาลปีของสตาร์ชดัดแปรที่เกิดรีโทรเกรดกับสตาร์ชธรรมชาติ แต่ยังไม่มียางานการเกิดรีโทรเกรดชันโดยการคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์รีโทรเกรดชันในสตาร์ชดัดแปรเลย

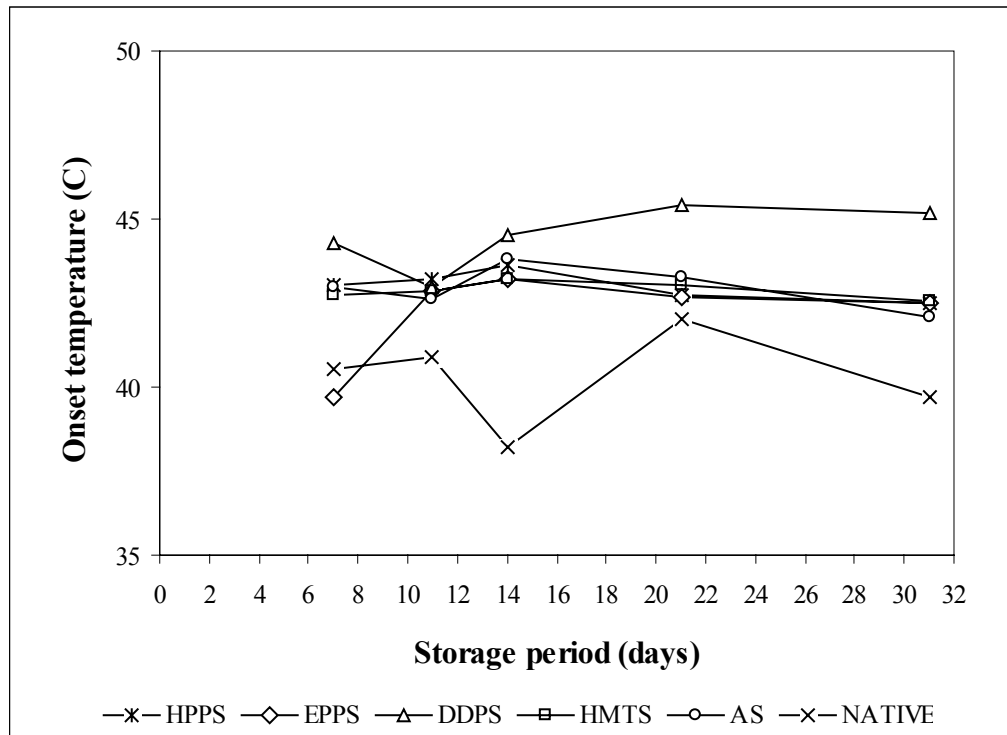


รูปที่ 22 Present retrogradation of modified tapioca starch contain water content of 70% aged at 5°C as calculated on a basic of enthalpy of native starch

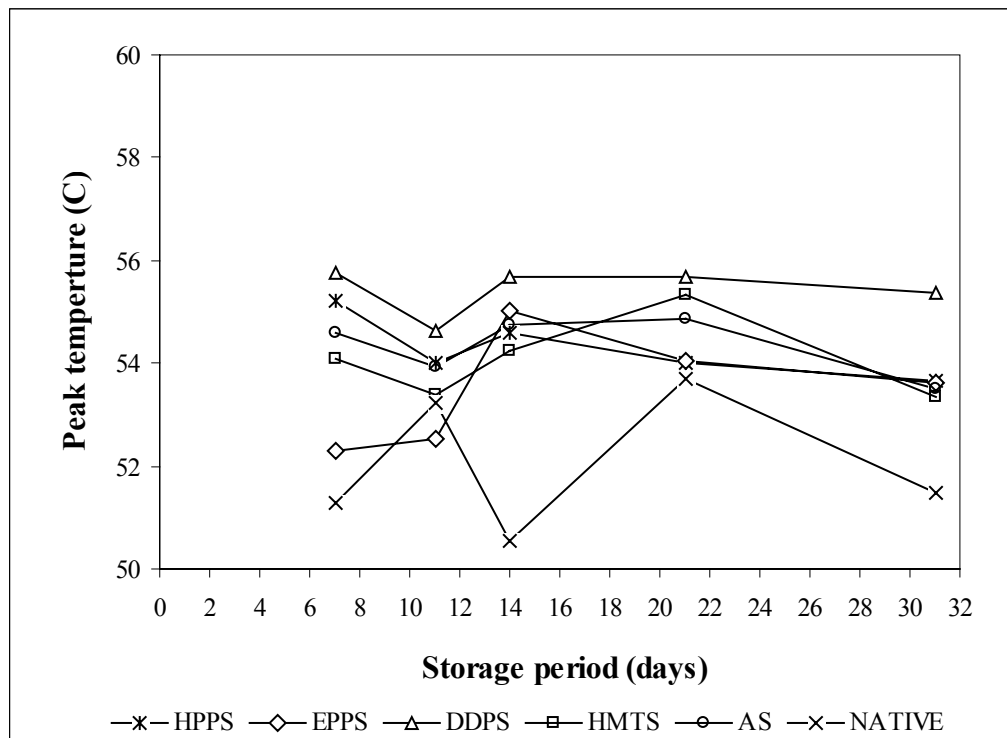
จากผลการเกิดรีโทรเกรเดชันในสตาร์ชฟรีเจลทั้ง 3 ชนิด (รูปที่ 21 และ 22) พบว่า สตาร์ชฟรีเจลแบบ direct expanded product สามารถเกิดรีโทรเกรเดชันในช่วงแรก (7 – 11) วัน ได้ไวกว่าสตาร์ชฟรีเจลแบบ half-product และสตาร์ชฟรีเจลแบบ drum drying ตามลำดับนั้น อาจเนื่องจากการเตรียมสตาร์ชฟรีเจลแบบ direct expanded product ใช้สภาวะที่รุนแรงในการ ดัดแปรโดยให้ทั้งความร้อนและแรงเฉือนที่สูง ซึ่งทำให้โมเลกุลของสายสตาร์ชบางส่วนเกิดการ แตกหักเกิดเป็นโมเลกุลที่มีขนาดเล็กลง และเมื่อโมเลกุลของสตาร์ชมีขนาดลดลงจึงเอื้ออำนวย ต่อการจัดเรียงตัวใหม่ที่เพิ่มขึ้น และพบว่าหลังจากการบ่มเป็นระยะเวลา 11 วัน การเกิดรีโทร เกรเดชันในสตาร์ชฟรีเจลแบบ direct expanded product มีค่าคงที่ และสตาร์ชฟรีเจลแบบ half-product มีการเกิดรีโทรเกรดที่มากกว่าสตาร์ชดัดแปรแบบ direct expanded product และส ตาร์ชดัดแปรแบบ drum drying

ผลการตรวจสอบคุณสมบัติทางความร้อนของผลึกที่เกิดขึ้นจากการรีโทรเกรเดชัน ของสตาร์ชดัดแปรทั้ง 5 ชนิด ที่ตรวจวัดด้วย DSC แสดงดังรูปที่ 23 (To), 24 (Tp), 25 (Tc) และ 26 (Tc-To) ค่า To และ Tp ของสตาร์ชฟรีเจลแบบ drum drying มีค่าสูงกว่าสตาร์ชชนิด อื่นทั้ง 4 ชนิดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนของ native starch มีค่าน้อยที่สุด ส่วน Tc ของสตาร์ชทั้ง 6 ชนิดมีค่าใกล้เคียงกัน ดังนั้นจึงเห็นได้ว่าคุณสมบัติทางความร้อนของผลึกที่ เกิดขึ้นจากการรีโทรเกรเดชันของสตาร์ชที่ผ่านการดัดแปรทางกายภาพแตกต่างจากของผลึก ของ native starch อย่างชัดเจน โดยมีค่า melting transition temperature ที่สูงกว่าผลึกที่เกิด จากการรีโทรเกรดของ native starch แต่ช่วงของ melting transition temperature แคบกว่า (Tc-To)

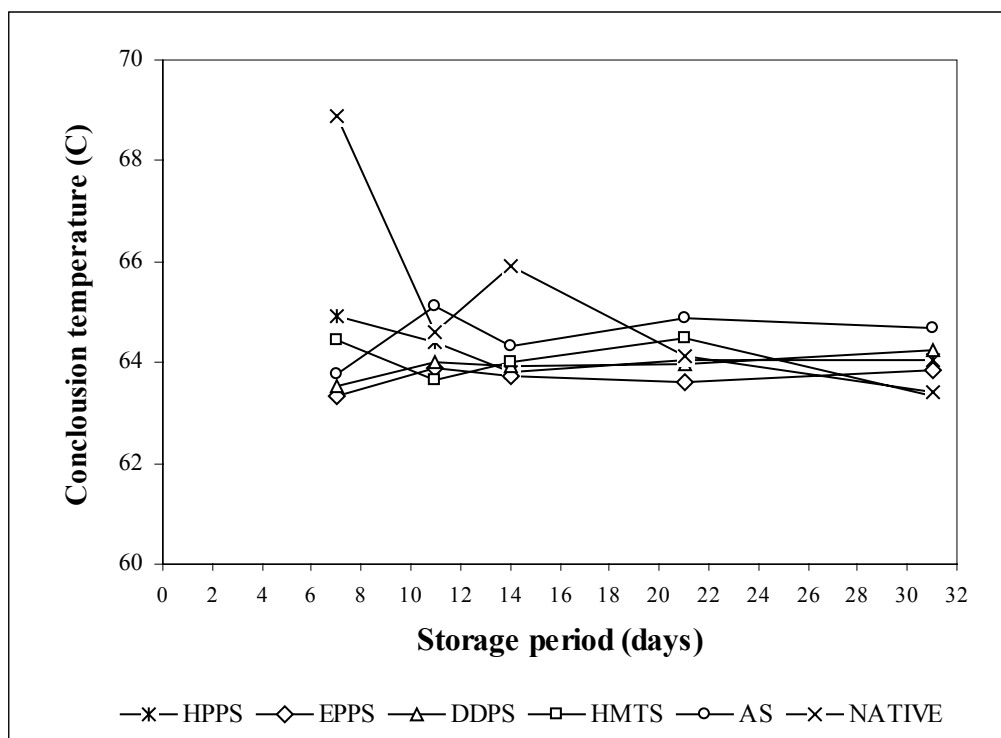
สำหรับในกลุ่มของสตาร์ชดัดแปรนั้น สตาร์ชฟรีเจลแบบ drum drying มีค่า thermal transition temperature ที่สูงกว่าชนิดอื่น แต่ช่วง Tc-To แคบกว่า จึงแสดงให้เห็นว่าผลึกที่เกิด จากการรีโทรเกรดของสตาร์ชฟรีเจลแบบ drum drying มีการทนต่อความร้อนและอาจมีความ สมบูรณ์มากกว่าผลึกที่เกิดจากการรีโทรเกรดของสตาร์ชดัดแปรแบบอื่น



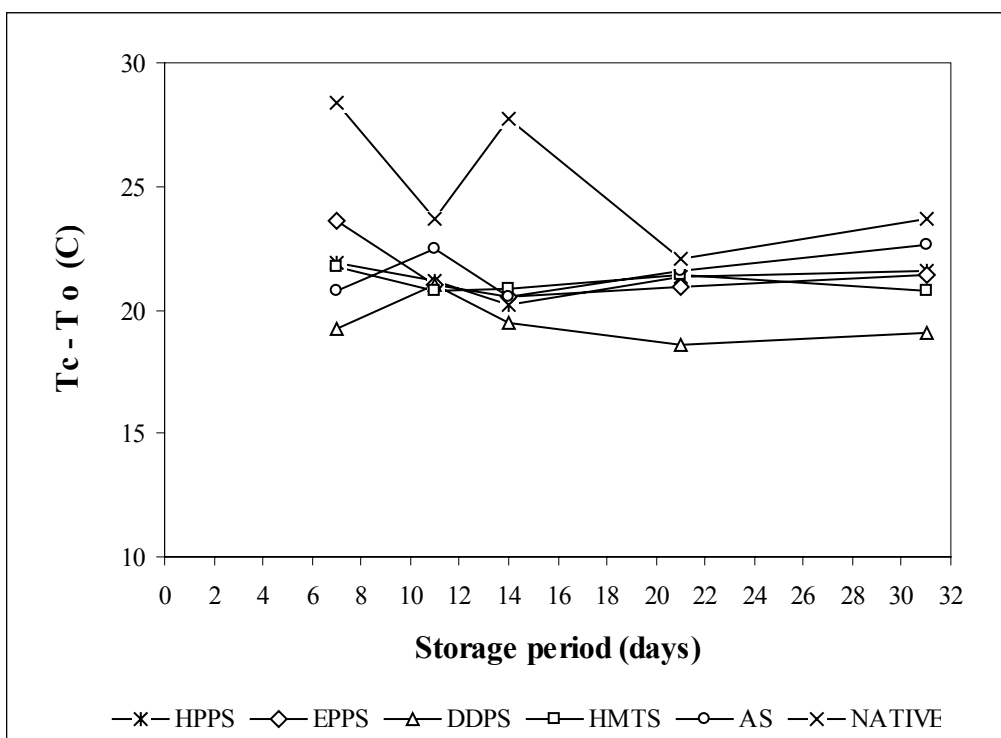
รูปที่ 23 DSC onset temperature of modified tapioca starch contain water content of 70% aged at 5°C



รูปที่ 24 DSC peak temperature of modified tapioca starch contain water content of 70% aged at 5°C



รูปที่ 25 DSC conclusion temperature of modified tapioca starch contain water content of 70% aged at 5°C



รูปที่ 26 Tc - To of modified tapioca starch contain water content of 70% aged at 5°C

เอกสารอ้างอิง (reference)

- Fan, J. and Marks, B. P. 1998. Retrogradation kinetics of rice flours as influenced by cultivars. *Cereal Chemistry*. 75(1): 153-155.
- Gidley, M. J. and Bulpin, P. V. 1989. Aggregation of aqueous system: The effect of chain length on phase behavior and aggregation kinetics. *Macromolecules*. 22: 341-346
- Inaba, H. Hatanaka, Y. Adachi, T. Matsumura, Y. and Mori, T. 1994. Effects of contions of gelatinization on the retrogradation of starches. *Journal of Applied Glycoside*. 41(2): 181-185.
- Jacobson, M. R. and Bemiller, J. N. 1998. Method for determination the rate and the extent of accelerated starch retrogradation. *Cereal Chemistry*. 75(1): 22-29.
- Jacobson, M. R., Obanni, M. and Bemiller, J. N. 1997. Retrogradation of starches from different botanical sources. *Cereal Chemistry*. 74(5): 511-518.
- Jang, J. K. and Pyun, Y. R. 1997. Effect of moisture level on the crystallinity of wheat starch agged at different temperatures. *Starch/Staerke*. 49(7/8): 8272-277.
- Jouppila, K. and Roos, Y. H. 1997. The physical state of amorphous corn starch and its impact on crystallization. *Carbohydrate Polymers*. 32: 95-104.
- Jouppila, K., Kansikas, J. and Roos, Y.H. 1998. Factors affecting crystallization and crystallization kinetics in amorphous corn starch. *Carbohydrate Polymers*. 36:143-149.
- Karim, A. A., Norziah, M. H. and Seow, C. C. 2000. Methods for the study of starch retrogradation. *Food Chemistry*. 71: 9-36.
- Kim, J.-O. and Shin, M.-S. 1996. Retrogradation of rice flour gels with different storage temperature. *Agricultural Chemistry and Biotechnology*. 39(1): 44-48.
- Kim, J. -O., Choi, C. -R., Shin, M.-S. Kim, S. -K., Lee, S. -K. and Kim, W. -S. 1996. Effects of water content and storage temperature on the aging of rice starch gels. *Korean Journal of Food Science and Technology*. 28(3): 552-557.
- Lim, S.-T., Chang, E.-H. and Chung, H.-J. 2001. Thermal transition characteristics of heat-moisture treated corn and potato starches. *Carbohydrate Polymers*. 46: 107-115.

- Liu, Q. and Thompson, D. B. 1998. Effects of moisture content and different gelatinization heating temperatures on retrogradation of waxy-type maize starches. *Carbohydrate Research*. 314: 221-235.
- Lu, T. -J., Jane, J. -L. and Keeling, P. L. 1997. Temperature effect on retrogradation rate and crystalline structure of amylose. *Carbohydrate Polymers*. 33: 19-26.
- Mizuno, A. Mitsuiki, M. and Motoki, M. 1998. Effect of crystallinity on the glass transition temperature of starch. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46:98-103.
- Roulet, P., MacInnes, W. M., Gummy, D. and Wursch, P. 1990. Retrogradation kinetics of eight starches. *Starch/Starke* 42(3): 99-101.
- Slade, L. and Levine, H. 1988. Non-equilibrium melting of native granular starch: Part I. Temperature location of the glass transition associated with gelatinization of A-type cereal starches. *Carbohydrate Polymer*. 8(3): 183-208.
- Takaya, T., Sano, C. and Nishinari, K. 2000. Thermal studies on the gelatinization and retrogradation of heat-moisture treated starch. *Carbohydrate Polymer*. 41: 97-100.
- Van Soest, J. J. G., De Wit, D. and Vliegenthart, J. F. G. 1995. Short-range structure in (partially) crystalline potato starch determined with attenuated total reflectance Fourier-transform IR spectroscopy. *Carbohydrate Research*. 279: 201-214.
- Van Soest, J. J. G., De Wit, D., Tournois, H. and Vliegenthart, J. F. G. 1994. Retrogradation of potato starch as studied by Fourier Transform Infrared spectroscopy. *Starch/Starke* 46(12): 453-457.
- Wilson, R. H., Kalichevsky, M. T., Ring, S. G. and Belton, P. S. 1987. A Fourier-transform infrared study of the gelation and retrogradation of waxy-maize starch. *Carbohydrate Research*. 166: 162-165.
- Wunderlich, B. 1976. *Macromolecular physics*, Vol.2: Crystal nucleation, growth and annealing. New York: Academic Press.

Output ที่ได้จากโครงการ

1. ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการนานาชาติ

Tongta, S. and Sriroth, K. 2006. Interaction of temperatures, water contents and time on retrogradation of tapioca starch. J. Agri. Food. Chem. In preparation.

Tongta, S. and Sriroth, K. 2007. Effect of physical modifications on retrogradation of tapioca starch. J. Agri. Food. Chem. In preparation.

2. ผลงานตีพิมพ์ใน Proceeding

Tongta, S., Kiatpongarp, W. and Sriroth, K. 2004. Effect of aging temperature on retrogradation of concentrated cassava starch gel. In Starch: Progress in structural Studies, Modifications and Applications' Tomasik, P., Yuryeu, V. P. and Bertoff, E. (eds.). Polish Society of Food Technologists', Matopolska Branch, Cracow, Poland.

3. การเสนอผลงานต่างประเทศ

Tongta, S., Kiatpongarp, W. and Sriroth, K. 2004. Effect of aging temperature on retrogradation of concentrated cassava starch gel. An oral presentation in XII International Starch Convention. June 15-18, 2004. Cracow, Poland.

4. การผลงานไปใช้ประโยชน์เชิงพาณิชย์

1. ทราบความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิ ปริมาณน้ำ และระยะเวลาการเก็บเจลผลิตภัณฑ์ที่มีแป้งมันสำปะหลังเป็นองค์ประกอบ เพื่อใช้ในการควบคุมการเกิดรีโทรเกรเดชันให้ได้มากในกรณีที่ต้องการผลิต resistant starch จากแป้งมันสำปะหลัง และควบคุมให้เกิดน้อยในกรณีที่ไม่ต้องการให้ผลิตภัณฑ์เปลี่ยนแปลงไปจากเดิม

2. แป้งมันสำปะหลังพรีเจลมีการเกิดรีโทรเกรเดชันที่ต่ำกว่าแป้งมันสำปะหลังดิบ เป็นข้อมูลที่มีประโยชน์ต่อผู้ผลิตแป้งมันสำปะหลัง

ภาคผนวก

1. Reprint ของงานวิจัยที่ตีพิมพ์ในหนังสือ Starch: Progress in Structure studies, Modified and Application