รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการการพัฒนาโครงสร้างในเจลสตาร์ชข้าวให้ทนต่อการแช่เยือกแข็งและทำละลาย โดยการเติมสารพอลิแซคคาไรด์ของไทย

โดย รองศาสตราจารย์ ดร. สงวนศรี เจริญเหรียญ

กรกฎาคม 2553

สัญญาเลขที่ RSA5080014

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการการพัฒนาโครงสร้างในเจลสตาร์ชข้าวให้ทนต่อการแช่เยือกแข็งและทำละลาย โดยการเติมสารพอลิแซคคาไรด์ของไทย

รองศาสตราจารย์ ดร. สงวนศรี เจริญเหรียญ

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย สำหรับการสนับสนุนทุนพัฒนานักวิจัยเรื่อง โครงการการพัฒนาโครงสร้างในเจลสตาร์ชข้าวให้ทนต่อการแช่เยือกแข็งและทำละลายโดยการเติมสาร พอลิแซคคาไรด์ของไทยและมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ในการสนับสนุนเงินวิจัยสมทบ

รองศาสตราจารย์ ดร. สงวนศรี เจริญเหรียญ

สารบัญ

บทคัดย่อ 5

Abstract 6

สรุปสำหรับผู้บริหาร (Executive summary) 7

เนื้อหางานวิจัย 9

- หลักการ เหตุผลและวัตถุประสงค์ 9
- ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 10
- วิธีการทดลอง 12
- ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง 13
- เอกสารอ้างอิง 35

Output ที่ได้จากโครงการ 38

ภาคผนวก 40

- บทความที่ 1 41
- บทความที่ 2 46
- บทความที่ 3 51
- บทความที่ 4 56

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ RSA5080014

ชื่อโครงการ การพัฒนาโครงสร้างในเจลสตาร์ชข้าวให้ทนต่อการแช่เยือกแข็งและทำละลายโดยการเติมสารพอลิแซคคาไรด์ของไทย

ชื่อนักวิจัย รศ. ดร. สงวนศรี เจริญเหรียญ
ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จตุจักร กรุงเทพ 10900

ระยะเวลาโครงการ 3 ปี (25 กรกฎาคม 2550 – 24 กรกฎาคม 2553)

จากการศึกษาพบว่า สารพอลิแซคคาไรด์ทั้ง 3 ชนิดที่เลือกใช้ในการศึกษา ได้แก่ ผงบุก-คอนยักกลูโคแมนแนน แป้งข้าวเหนียว และสตาร์ชมันสำปะหลัง สามารถช่วยทำให้โครงสร้างของเจลสตาร์ชข้าวทนต่อการแช่เยือกแข็งและทำละลายได้ โดยพอลิแซคคาไรด์แต่ละชนิดมีประสิทธิภาพและกลไกในการปรับโครงสร้างที่แตกต่างกัน การเติมผงบุก-คอนยักกลูโคแมนแนน ทำให้เม็ดสตาร์ชที่พองตัวกระจายตัวกันในลักษณะเป็นโครงข่าย (network) อยู่ในเฟสที่ข้นหนืดซึ่งอาจเกิดจากโมเลกุลของคอนยักกลูโคแมนแนนเกิดอันตรกิริยากับแอมิโลสที่ออกมาจากเม็ดสตาร์ชข้าวที่พองตัว การกระจายตัวนี้ช่วยลดการเกิดรีโทรกราเดชันของเจลสตาร์ชข้าวจากการแช่เยือกแข็งและทำละลาย ทำให้ลักษณะโครงสร้างแบบฟองน้ำเกิดน้อยลง ลดการแยกตัวของน้ำจากการคืนรูปจากเยือกแข็ง และลดการเพิ่มความแข็งของเจลสตาร์ชข้าวหลังคืนรูปจากเยือกแข็ง ส่วนการเติมแป้งข้าวเหนียวลงในเจลสตาร์ชข้าวนั้น การให้ความร้อนในระหว่างการเตรียมเจล ทำให้เม็ดสตาร์ชข้าวเหนียวมีการพองตัวสูงมากและแผ่ปกคลุมเม็ดสตาร์ชข้าวที่พองตัวน้อยกว่า ซึ่งคาดว่าลักษณะดังกล่าวจะช่วยลดการจับตัวของโมเลกุลสตาร์ชข้าวจากการแช่เยือกแข็งและทำละลาย ทำให้ลักษณะโครงสร้างแบบฟองน้ำเกิดน้อยลง ลดการแยกตัวของน้ำจากการคืนรูปจากเยือกแข็ง และลดการเพิ่มความแข็งของเจลสตาร์ชข้าวหลังคืนรูปจากเยือกแข็ง ในขณะที่การเติมสตาร์ชมันสำปะหลังนั้น เม็ดสตาร์ชที่พองตัวของสตาร์ชมันสำปะหลัง (แต่ไม่พองตัวมากเหมือนในแป้งข้าวเหนียว) ช่วยเชื่อมต่อเม็ดสตาร์ชข้าวที่พองตัวให้กระจายตัวมากขึ้น ซึ่งโครงสร้างดังกล่าวนี้จะช่วยลดการเกิดโครงสร้างแบบฟองน้ำในเจลสตาร์ชหลังคืนรูปจากเยือกแข็งลงได้ ลดการแยกตัวของน้ำจากการคืนรูปจากเยือกแข็ง แต่กลับไปเพิ่มความแข็งของเจลสตาร์ชข้าวหลังคืนรูปจากเยือกแข็ง ซึ่งสันนิษฐานว่า เกิดจากการที่เม็ดสตาร์ชมันสำปะหลังยังไม่พองตัวมากจนแตกออกเหมือนในแป้งข้าวเหนียว จึงทำให้เจลสตาร์ชข้าวที่เติมสตาร์ชมันสำปะหลังมีความแน่นแข็งมากขึ้น จากผลข้างต้นสามารถสรุปได้ว่า คอนยักกลูโคแมนแนนมีประสิทธิภาพในการลดการเกิดโครงสร้างแบบฟองน้ำในเจลสตาร์ชข้าวแช่เยือกแข็งและทำละลายได้ดีที่สุด รองลงมาคือสตาร์ชมันสำปะหลังและแป้งข้าวเหนียว นอกจากนี้น้ำตาลซูโครสยังช่วยลดการเกิดโครงสร้างแบบฟองน้ำ ลดการแยกตัวของของเหลวจากเจลสตาร์ชข้าวหลังการคืนรูปจากเยือกแข็ง การแช่เยือกแข็งอย่างเร็วทำให้เจลสตาร์ชข้าวเกิดลักษณะโครงสร้างแบบฟองน้ำน้อยกว่าการแช่เยือกแข็งอย่างช้า การเติมน้ำตาลและคอนยักกลูโคแมนแนนช่วยลดการเกิดโครงสร้างแบบฟองน้ำและการแยกตัวของน้ำในเจลสตาร์ชข้าวที่ผ่านการแช่เยือกแข็งอย่างช้าได้

คำสำคัญ: สตาร์ชข้าว, คอนยักกลูโคแมนแนน, มันสำปะหลัง, ข้าวเหนียว, การแช่เยือกแข็ง, โครงสร้าง

ABSTRACT

Project Code: RSA 5080014

Project Title: Improving structure of rice starch gel to resist freeze-thaw process by addition of Thai polysaccharides

Investigator: Associate Professor Dr. Sanguansri Charoenrein
Department of Food Science and Technology, Faculty of Agro-Industry
Kasetsart University, Chatuchak, Bangkok 10900

Project Period 3 years (25 July 2007 – 24 July 2010)

This research shows that three polysaccharides i.e. konjac glucomannan (KGM), waxy rice flour (WF) and tapioca starch (TS) reduced spongy structure of freeze-thaw rice starch gels. However, their effectiveness and mechanism were different. Rice starch gels with KGM showed that swollen starch granules were more evenly distributed and appeared to connect as a network suspended in viscous KGM-leached amylose phase. This arrangement retarded rice starch gel retrogradation, reduced spongy structure, lower % syneresis and hardness of freeze-thaw starch gel. Gel with WF showed that highly swollen WF starch granules spread and covered the less swollen rice starch granules which could explain the retardation of rice starch gel retrogradation, reduced spongy structure, lower % syneresis and hardness of freeze-thaw starch gel. While gels with TS showed the connection of swollen TS granules and swollen rice starch granules. This arrangement retarded rice starch gel retrogradation, reduced spongy structure and lower % syneresis. However, both swollen granule types caused an increase in hardness of unfrozen and freeze-thaw starch gel. It can be concluded that the most effective polysaccharide in reducing the spongy structure of freeze-thaw rice starch gels was KGM followed by TS and then by WF. Furthermore, sucrose also reduced the spongy structure formation, lowered % syneresis and hardness of freeze-thaw rice starch gels. Fast frozen gels had less spongy structure than slow frozen gel. Addition of sucrose and KGM retarded spongy structure formation, lowered % syneresis and decreased hardness of slow frozen rice starch gels.

Key words: rice starch, konjac glucomannan, tapioca, waxy rice, freezing, structure

สรุปย่อสำหรับผู้บริหาร
(Executive Summary)

การแช่เยือกแข็งอาหารเป็นวิธีการหนึ่งที่สามารถเก็บรักษาอาหารไว้ได้นาน หากมีการดำเนินการแช่เยือกแข็งอย่างถูกต้องเหมาะสม จะช่วยรักษาคุณภาพทั้งในรูปร่าง กลิ่น สีและคุณภาพทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์อาหารไว้ได้อย่างมีประสิทธิภาพเพราะสิ่งสำคัญสองประการ คือ การใช้อุณหภูมิต่ำกับการเปลี่ยนสถานะของน้ำจากของเหลวไปเป็นของแข็ง ปริมาณวอเตอร์แอคติวิตี้ (water activity) จึงลดลง ทำให้ปฏิกิริยาต่าง ๆ ที่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของอาหารลดลงด้วย แต่จะสามารถรักษาลักษณะเนื้อสัมผัส (texture) ไว้ได้ในระดับปานกลางเท่านั้น ในปัจจุบันสินค้าอาหารแช่เยือกแข็งเป็นที่ยอมรับโดยทั่วไป ทำให้อุตสาหกรรมอาหารแช่เยือกแข็งมีการขยายตัวเพิ่มขึ้นเป็นจำนวนมากโดยเฉพาะอาหารพร้อมบริโภค (ready-to-eat food) มีสัดส่วนการตลาดที่สูงในตลาดอาหารแช่เยือกแข็ง(ไพบูลย์, 2532; รุ่งนภา, 2535; วิไล, 2546 และสายสนม, 2546) ในระบบของอาหารแช่เยือกแข็งหลายชนิดได้นำสตาร์ชมาใช้เป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์ ทำให้มีความข้นหนืดและเนื้อสัมผัสที่ดีขึ้นและตามที่ต้องการ (Holmes and Solender, 1981) แต่ปัญหาสำคัญที่เกิดขึ้นกับอาหารแช่เยือกแข็งเหล่านี้ คือ ในระหว่างการแช่เยือกแข็ง การเก็บรักษา และเมื่อนำมาละลาย (thawing) จะเกิดการแยกตัวของน้ำ (syneresis) และเกิดรีโทรเกรเดชันของสตาร์ช โดยจะมีความสัมพันธ์กับคุณสมบัติความคงตัวต่อการแช่เยือกแข็ง (freeze-thaw stability) ซึ่งทำให้เกิดเนื้อสัมผัสที่ไม่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภค และเกิดการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างของอาหาร โดยเกิดโครงสร้างแบบฟองน้ำ (spongy structure) ขึ้นเนื่องมาจากผลึกน้ำแข็งที่เกิดขึ้นขณะอยู่ในสภาพแช่เยือกแข็งยังคงทิ้งร่องรอยไว้ในเนื้อเจลสตาร์ชข้าวหลังทำละลายเป็นเหตุให้อาหารแช่เยือกแข็งมีคุณภาพด้อยลง (Lee et al., 2002; Ferrero and Zaritzky, 2000; Rahman, 1999)

แนวคิดที่ใช้ในงานวิจัยนี้คือ การลดการจับตัวกันของสายโมเลกุลสตาร์ชในระหว่างการแช่เยือกแข็งและเก็บรักษาเจลสตาร์ชข้าวด้วยการเติมสารพอลิแซคคาไรด์จากธรรมชาติที่มีในประเทศไทยลงไปขัดขวางการจับตัวกันของสายโมเลกุลสตาร์ชดังกล่าว เพื่อลดการเกิดรีโทรเกรเดชันของสตาร์ช ลดการแยกตัวของน้ำและลดลักษณะโครงสร้างแบบฟองน้ำของเจลสตาร์ชข้าวหลังการแช่เยือกแข็งและทำละลาย โดยระบบที่ศึกษาประกอบด้วย สตาร์ชข้าว และน้ำซึ่งเป็นระบบจำลองอาหาร (model food system) และยังได้ศึกษาในระบบที่ประกอบด้วยสตาร์ชข้าว น้ำ และน้ำตาลสำหรับอาหารหวานแช่เยือกแข็งอีกด้วย

จากผลการศึกษาเบื้องต้น ผู้วิจัยจึงได้เลือกสารพอลิแซคคาไรด์ที่จะใช้ในงานวิจัยนี้ 3 ตัว คือ ผงบุก – คอนยักกลูโคแมนแนน แป้งข้าวเหนียวและสตาร์ชมันสำปะหลัง

งานวิจัยนี้พบว่าสารพอลิแซคคาไรด์ทั้งสามที่เลือกมาสามารถช่วยทำให้โครงสร้างของเจลสตาร์ชข้าวทนต่อการแช่เยือกแข็งและทำละลายได้ โดยพอลิแซคคาไรด์แต่ละชนิดมีประสิทธิภาพและกลไกในการปรับโครงสร้างที่แตกต่างกัน การเติมผงบุก-คอนยักกลูโคแมนแนน ทำให้เม็ดสตาร์ชที่พองตัวกระจายตัวกันในลักษณะเป็นโครงข่าย (network) อยู่ในเฟสที่ข้นหนืดซึ่งอาจเกิดจากโมเลกุลของคอนยักกลูโคแมนแนนเกิดอันตรกิริยากับแอมิโลสที่ออกมาจากเม็ดสตาร์ชข้าวที่พองตัว การกระจายตัวนี้ช่วยลดการรีโทรกราเดชันของเจลสตาร์ชจากการแช่เยือกแข็งและทำละลาย ทำให้ลักษณะโครงสร้างแบบฟองน้ำเกิดน้อยลง ลดการแยกตัวของน้ำจากการคืนรูปจากเยือกแข็ง และลดการเพิ่มความแข็งของเจลสตาร์ชหลังคืนรูปจากเยือกแข็ง ส่วนการ

เติมแป้งข้าวเหนียวลงในเจลสตาร์ชข้าวนั้น การให้ความร้อนในระหว่างการเตรียมเจล ทำให้เม็ดสตาร์ชข้าวเหนียวมีการพองตัวสูงมากและแผ่ปกคลุมเม็ดสตาร์ชข้าวที่พองตัวน้อยกว่า ซึ่งคาดว่าลักษณะดังกล่าวจะช่วยลดการจับตัวของโมเลกุลสตาร์ชจากการแช่เยือกแข็งและทำละลาย ทำให้ลักษณะโครงสร้างแบบฟองน้ำเกิดน้อยลง ลดการแยกตัวของน้ำจากการคืนรูปจากเยือกแข็ง และลดการเพิ่มความแข็งของเจลสตาร์ชหลังคืนรูปจากเยือกแข็ง ในขณะที่การเติมสตาร์ชมันสำปะหลังนั้น เม็ดสตาร์ชที่พองตัวของสตาร์ชมันสำปะหลัง (แต่ไม่พองตัวมากเหมือนของแป้งข้าวเหนียว) ช่วยเชื่อมต่อเม็ดสตาร์ชข้าวที่พองตัวให้กระจายตัวมากขึ้น ซึ่งโครงสร้างดังกล่าวนี้จะช่วยลดการเกิดโครงสร้างแบบฟองน้ำในเจลสตาร์ชหลังคืนรูปจากเยือกแข็งลงได้ ลดการแยกตัวของน้ำจากการคืนรูปจากเยือกแข็ง แต่กลับไปเพิ่มความแข็งของเจลสตาร์ชข้าวหลังคืนรูปจากเยือกแข็ง ซึ่งสันนิษฐานว่า เกิดจากการที่เม็ดสตาร์ชมันสำปะหลังยังไม่พองตัวมากจนแตกออกเหมือนในแป้งข้าวเหนียว จึงทำให้เจลสตาร์ชข้าวที่เติมสตาร์ชมันสำปะหลังมีความแน่นแข็งมากขึ้น สามารถสรุปได้ว่า คอนยักกลูโคแมนแนนมีประสิทธิภาพในการลดการเกิดโครงสร้างแบบฟองน้ำในเจลสตาร์ชข้าวแช่เยือกแข็งและทำละลายได้ดีที่สุด รองลงมาคือสตาร์ชมันสำปะหลังและแป้งข้าวเหนียว นอกจากนี้การเติมน้ำตาลในเจลสตาร์ชข้าวนั้น พบว่า น้ำตาลซูโครสสามารถช่วยลดการเกิดโครงสร้างแบบฟองน้ำ ลดการแยกตัวของของเหลวจากเจลสตาร์ชข้าวหลังการคืนรูปจากเยือกแข็ง เนื่องจากน้ำตาลซูโครสช่วยลดปริมาณน้ำที่แข็งตัวได้ จึงลดปริมาณของผลึกน้ำแข็งในเจลสตาร์ชระหว่างการแช่เยือกแข็ง ทำให้เพิ่มความคงตัวแก่เจลสตาร์ชข้าวแช่เยือกแข็ง

สำหรับผลของอัตราการแช่เยือกแข็งต่อโครงสร้างของเจลสตาร์ชข้าว พบว่า การแช่เยือกแข็งอย่างเร็วทำให้เจลสตาร์ชข้าวเกิดลักษณะโครงสร้างแบบฟองน้ำน้อยกว่าการแช่เยือกแข็งแบบช้า และการเติมน้ำตาลร่วมกับสารพอลิแซคคาไรด์ ซึ่งได้เลือกคอนยักกลูโคแมนแนนในการศึกษานี้ พบว่าคอนยักกลูโคแมนแนนและน้ำตาลซูโครสช่วยลดการเกิดโครงสร้างแบบฟองน้ำและการแยกตัวของน้ำในเจลสตาร์ชข้าวที่แช่เยือกแข็งอย่างช้าได้

องค์ความรู้ที่ได้รับนี้ช่วยเพิ่มความเข้าในพฤติกรรมของอาหารแช่เยือกแข็งที่มีแป้งข้าวหรือสตาร์ชข้าวเป็นองค์ประกอบหลัก และนำมาช่วยในการปรับปรุงคุณภาพของอาหารประเภทนี้

เนื้อหางานวิจัย

1. หลักการ เหตุผลและวัตถุประสงค์

ข้าวมีมากในประเทศแถบทวีปเอเชีย เช่น ประเทศไทย เวียตนาม อินเดีย ปากีสถาน พม่า ฟิลิปปินส์ ญี่ปุ่น ไต้หวัน และประเทศในแถบทวีปยุโรป อเมริกา ออสเตรเลีย โดยประเทศไทยมีปริมาณการส่งออกข้าวจัดเป็นอันดับหนึ่งของตลาดโลก (กรมการค้าภายใน, 2548) จึงนับว่าข้าวเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญนำรายได้เข้าสู่ประเทศ อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาในด้านเศรษฐกิจพบว่าประเทศไทยแม้จะเป็นผู้ผลิตและส่งออกข้าวรายใหญ่ แต่เมื่อคำนึงถึงรายได้จากการขายข้าวแล้วจะเห็นว่าไม่สูงนัก สาเหตุส่วนหนึ่งมาจากการที่ประเทศเราส่งออกข้าวในรูปข้าวสารซึ่งยังมีมูลค่าต่ำเมื่อเทียบกับการส่งออกสินค้าแปรรูปที่ให้มูลค่าสูงกว่า ดังนั้นการแปรรูปข้าวเป็นอาหารพร้อมบริโภคจึงเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการเพิ่มมูลค่าแก่ข้าว

การแช่เยือกแข็งอาหารเป็นวิธีการหนึ่งที่สามารถเก็บรักษาอาหารไว้ได้นาน หากมีการดำเนินการแช่เยือกแข็งอย่างถูกต้องเหมาะสม จะช่วยรักษาคุณภาพทั้งในรูป กลิ่น สีและคุณภาพทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์อาหารไว้ได้อย่างมีประสิทธิภาพเพราะสิ่งสำคัญสองประการ คือ การใช้อุณหภูมิต่ำกับการเปลี่ยนสถานะของน้ำจากของเหลวไปเป็นของแข็ง ปริมาณวอเตอร์แอคติวิตี้ (water activity) จึงลดลง ทำให้ปฏิกิริยาต่าง ๆ ที่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของอาหารลดลงด้วย แต่จะสามารถรักษาลักษณะเนื้อสัมผัส (texture) ไว้ได้ในระดับปานกลางเท่านั้น ในปัจจุบันสินค้าอาหารแช่เยือกแข็งเป็นที่ยอมรับโดยทั่วไป ทำให้อุตสาหกรรมอาหารแช่เยือกแข็งมีการขยายตัวเพิ่มขึ้นเป็นจำนวนมากโดยเฉพาะอาหารพร้อมบริโภค (ready-to-eat food) มีสัดส่วนการตลาดที่สูงในตลาดอาหารแช่เยือกแข็ง(ไพบูลย์, 2532; รุ่งนภา, 2535; วิไล, 2546 และสายสนม, 2546) ในระบบของอาหารแช่เยือกแข็งหลายชนิดได้นำสตาร์ชมาใช้เป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์ ทำให้มีความข้นหนืดและเนื้อสัมผัสที่ดีขึ้นและตามที่ต้องการ (Holmes and Solender, 1981) แต่ปัญหาสำคัญที่เกิดขึ้นกับอาหารแช่เยือกแข็งเหล่านี้ คือ ในระหว่างการแช่เยือกแข็ง การเก็บรักษา และเมื่อนำมาละลาย (thawing) จะเกิดการแยกตัวของน้ำ (syneresis) และเกิดรีโทรเกรเดชันของสตาร์ช โดยจะมีความสัมพันธ์กับคุณสมบัติความคงตัวต่อการแช่เยือกแข็ง (freeze-thaw stability) ซึ่งทำให้เกิดเนื้อสัมผัสที่ไม่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภค และเกิดการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างของอาหาร โดยเกิดโครงสร้างแบบฟองน้ำ (spongy structure) ขึ้น เนื่องมาจากผลึกน้ำแข็งที่เกิดขึ้นขณะอยู่ในสภาพแช่เยือกแข็งยังคงทิ้งร่องรอยไว้ในเนื้อเจลสตาร์ชหลังทำละลายเป็นเหตุให้อาหารแช่เยือกแข็งมีคุณภาพด้อยลง (Ferrero and Zaritzky, 2000; Rahman, 1999)

จากอดีตจนถึงปัจจุบันมีมีงานวิจัยจากนักวิจัยหลายกลุ่มที่สนใจศึกษาเกี่ยวกับผลของการแช่เยือกแข็งต่อความคงตัวของเจลสตาร์ชแช่เยือกแข็งอย่างจริงจังและต่อเนื่อง โดยส่วนใหญ่เป็นนักวิจัยในต่างประเทศซึ่งมักศึกษาในสตาร์ชข้าวสาลี ข้าวโพด มันเทศ (Lee et al., 2002; Ferrero et al., 2000) แต่การศึกษาในเจลสตาร์ชข้าวยังมีอยู่น้อยมากทั้ง ๆ ที่ประเทศไทยผลิตข้าวได้เป็นมาก นอกจากนี้ยังไม่พบงานวิจัยที่เกี่ยวกับการลดการเกิดโครงสร้างแบบฟองน้ำในเจลสตาร์ชแช่เยือกแข็ง

โครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ

1 พัฒนาโครงสร้างของเจลสตาร์ชข้าวแช่เยือกแข็ง โดยลดลักษณะโครงสร้างฟองน้ำและลดการแยกตัวของน้ำออกหลังการละลายน้ำแข็ง เพื่อให้มีเนื้อสัมผัสที่ดีและลักษณะปรากฏเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

2 นำเสนอกลไกการลดลักษณะโครงสร้างฟองน้ำในเจลสตาร์ชข้าวและลดการแยกตัวของน้ำหลังการแช่เยือกแข็งและทำละลายด้วยสารพอลิแซคคาไรด์ที่หาได้ภายในประเทศจำนวน 3 ชนิด

3 สร้างฐานความรู้พื้นฐานทางเทคโนโลยีการแช่เยือกแข็งและเทคโนโลยีของแป้ง เพื่อนำไปพัฒนาต่อและได้ผลงานวิจัยที่มีคุณภาพเชิงลึกและมีทิศทาง

4 สามารถเสนอผลงานเพื่อเผยแพร่โครงการวิจัยออกสู่สาธารณชน และมีผลงานตีพิมพ์ในวารสารระดับนานาชาติ

5. ผลิตนิสิตปริญญาโท – เอก อย่างน้อย 3 คน (3 ปี)

2. ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การเปลี่ยนแปลงที่ไม่ต้องการให้เกิดขึ้นระหว่างการแช่เยือกแข็งของระบบสตาร์ชนั้น ได้แก่ การเพิ่มขึ้นของความขุ่น และการแยกการแยกตัวของน้ำ (syneresis) เป็นต้น (Schoch, 1968) ซึ่งเป็นผลมาจากการจัดเรียงตัวกันใหม่ของโมเลกุลแอมิโลสด้วยพันธะไฮโดรเจน เรียกว่าการเกิดรีโทรเกรเดชันของสตาร์ช (starch retrogradation) โดยจะเกิดได้มากในสตาร์ชจากธัญพืช เช่น ข้าวโพด ข้าวสาลี และข้าวเจ้า ทำให้ความสามารถในการอุ้มน้ำลดต่ำลง และยังพบว่าการแช่แข็งอย่างช้าๆ ทำให้เกิดผลึกน้ำแข็งขนาดใหญ่ เจลสตาร์ชจึงถูกทำลาย (Schoch, 1968)

สำหรับเจลสตาร์ชแช่เยือกแข็งนั้น ทั้งอัตราการแช่เยือกแข็ง อุณหภูมิในการเก็บรักษา และการเติมไฮโดรคลอลอยด์นั้นล้วนส่งผลต่อคุณภาพของเพสต์ ดังจะเห็นได้จากงานวิจัยของ Ferrero และคณะ (1994) ซึ่งศึกษาอิทธิพลของอัตราเร็วในการแช่เยือกแข็งต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของผลึกน้ำแข็งในเพสท์สตาร์ชข้าวโพดและแป้งสาลีที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 เปอร์เซ็นต์ พบว่าการแช่เยือกแข็งแบบช้าจะทำให้ได้ขนาดของผลึกน้ำแข็งใหญ่กว่าการแช่เยือกแข็งแบบเร็ว โดยขนาดของผลึกน้ำแข็งในเพสท์สตาร์ชข้าวโพดและแป้งสาลีที่ทำการแช่เยือกแข็งที่อัตราเร็วแบบช้า (20 มม./ชม.) เท่ากับ37.3 และ 33.8 ไมโครเมตร ในขณะที่การแช่เยือกแข็งแบบเร็วมาก (150 มม./ชม.) ได้ขนาดผลึกน้ำแข็งเท่ากับ 30.9 และ 33.8 ไมโครเมตรตามลำดับ ในปี Ferrero และคณะ (1994) ได้แช่เยือกแข็งเพสต์ของสตาร์ชข้าวโพดความเข้มข้น 10%นน./นน. (ไม่เติมและเติมแซนแทนกัม 0.3%นน./นน.) ด้วยอัตราเร็วในการแช่แข็ง 2 เซนติเมตร/ชั่วโมง และ15 เซนติเมตร/ชั่วโมง แล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -5,-10 และ -20 ^{0}C พบว่าเริ่มต้นการแช่แข็งด้วยอัตราเร็วที่สูงกว่า จะให้ค่าความถี่ของเส้นผ่านศูนย์ผลึกน้ำแข็ง (frequencies of ice crystal equivalent diameters) มากกว่าตัวอย่างที่แช่เยือกแข็งด้วยอัตราเร็วต่ำ และเมื่อนำตัวอย่างไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -5 ^{0}C ซึ่งอยู่ในสภาวะ rubbery นั้นจะส่งเสริมการเคลื่อนที่ของโมเลกุล ทำให้เกิดการเสื่อมสภาพลงของเพสต์ โดยเกิดลักษณะเป็นฟองน้ำ (spongy structure) และผลึกน้ำแข็งของตัวอย่างที่แช่เยือกแข็งทั้งสองอัตราเร็วการแช่เยือกแข็งต่างก็มีขนาดใหญ่ขึ้นมากด้วย ส่วนที่อุณหภูมิ -10 และ -20 ^{0}C นั้นเพสต์จะอยู่ภายใต้สภาวะ glassy จึงไม่ตรวจพบการคืนตัวของสตาร์ช (starch retrogradation) แต่ยังคงพบการตกผลึกใหม่ของน้ำแข็ง (ice recrystallization) โดยขนาดผลึกน้ำแข็งเพิ่มขึ้นน้อยกว่าตัวอย่างซึ่งเก็บที่อุณหภูมิ -5^{0}C ในปี 2002 Lee และคณะได้ศึกษาความคงตัวของของเจลสตาร์ชมันเทศ (sweet potato) แช่เยือกแข็งโดยเติมกัม 9 ชนิด พบว่าการเติมแซนแทนกัม อัลจิเนท และกัวกัมมีประสิทธิภาพในการลดการแยกตัวของน้ำ (syneresis) ค่อนข้างสูง โดยการเติม 0.6% กัวกัมนั้นลดการแยกตัวของน้ำ (syneresis) ได้มากที่สุด แต่ที่ระดับความเข้มข้นของกัม 0.3% แซนแทนกัมกลับให้ผลดีกว่ากัวกัม นอกจากนี้แซนแทนกัมยังมีผลไปลดความหนืดของเพสต์ ในขณะที่อัลจิเนทและกัวกัมนั้นไปเพิ่มความ

หนืดของเพสต์ อย่างไรก็ตามกัมทั้งหมดก็มีผลไปยับยั้งการเกิดรีโทรเกรเดชันของสตาร์ช (starch retrogradation) โดยอัลจิเนทให้ผลในการยับยั้งดีกว่าแซนแทนกัมและกัวร์กัม

เมื่อทำการแช่เยือกแข็ง ความเข้มข้นของสารละลายในระบบจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เนื่องจากน้ำในระบบจะค่อยๆ เกิดเป็นผลึกมากเพิ่มขึ้น จนกระทั่งเมื่ออุณหภูมิต่ำถึงอุณหภูมิกลาสทรานซิชันก็จะทำให้เกิดผลึกน้ำแข็งมากที่สุดและส่วนที่ไม่แข็งตัวหรือส่วนของสารละลายมีความหนืดมากจนไม่สามารถเกิดผลึกน้ำแข็งแยกตัวออกมาได้อีก (Ferrero และ Zaritzky, 2000)

ในระหว่างการเก็บรักษา เพสท์สามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงไปสู่ลักษณะที่ไม่เป็นต้องการได้แก่การเกิดเนื้อสัมผัสแบบฟองน้ำและการเกิดการแยกของน้ำออกจากโครงสร้างซึ่งเป็นผลจาก การเกิดรีโทรเกรเดชันของแอมิโลสและแอมิโลเพกทินกับการเกิดการตกผลึกใหม่ (recrytallization) การเปลี่ยนแปลงนี้จะเกิดมากหรือน้อยขึ้นกับอัตราเร็วในการแช่แข็งและอุณหภูมิในการเก็บรักษา Ferrero และคณะ (1994) ศึกษาผลของอัตราเร็วในการแช่แข็งแบบช้า เร็วและเร็วมากกับอุณหภูมิในการเก็บรักษาที่ -5, -10 และ -20 องศาเซลเซียสต่อความคงตัวของระบบที่มีสตาร์ชข้าวโพด 10 เปอร์เซ็นต์และแซนแทนกัม 0.3 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ที่อัตราเร็วมาก (270 ซม./ชม.) จะมีเปอร์เซ็นต์การแยกของน้ำน้อยที่สุดและเมื่อเปรียบเทียบผลของอุณหภูมิพบว่า การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -5 องศาเซลเซียสจะทำให้ระบบที่ไม่มีแซนแทนกัมเกิดเนื้อสัมผัสแบบฟองน้ำจากการเกิดรีโทรเกรเดชันของแอมิโลสได้มากที่สุด เนื่องจากเป็นอุณหภูมิที่สูงกว่าอุณหภูมิกลาสทรานซิชัน ดังนั้นเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมินี้จะทำให้ในส่วนของสารละลายที่ไม่แข็งตัวเกิดการเปลี่ยนแปลงจากของเหลวที่มีความหนืดสูงไปเป็นของเหลวที่มีความหนืดน้อยลง ดังนั้นโมเลกุลในส่วนนี้จึงสามารถเคลื่อนที่มาทำปฏิสัมพันธ์กันได้ ส่วนที่ -10 และ -20 องศาเซลเซียส พบว่าค่าเปอร์เซ็นต์การแยกของน้ำไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยทั้งสองอุณหภูมินี้จะไม่เกิดลักษณะโครงสร้างแบบฟองน้ำที่พบเมื่อเก็บรักษาที่ -5 องศาเซลเซียส ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบผลของอัตราเร็วกับอุณหภูมิ พบว่า อัตราเร็วมีผลต่อเปอร์เซ็นต์การแยกของน้ำมากกว่าเนื่องจากตัวอย่างที่ใช้อัตราเร็วแบบเร็วมากไม่เกิดเนื้อสัมผัสแบบฟองน้ำเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -5 องศาเซลเซียส เนื่องจากการแช่แข็งแบบเร็วมากจะทำให้ไม่เกิดขั้นการก่อผลึก ดังนั้นแม้เก็บรักษาที่อุณหภูมิสูงกว่าอุณหภูมิกลาสทรานซิชันก็จะไม่เกิดรีโทรเกรเดชันของแอมิโลสและแอมิโลเพกทิน

นอกจากนี้ Ferrero และคณะ (1994) ยังพบว่าเมื่อเติมแซนแทนกัมลงไปในระบบแล้ว แซนแทนกัมจะช่วยลดเปอร์เซ็นต์การแยกของน้ำออกจากระบบได้ทั้ง 3 อุณหภูมิการเก็บรักษา นอกจากนี้ยังช่วยป้องกันการเกิดรีโทรเกรเดชันของแอมิโลสที่ทำให้เกิดโครงสร้างแบบฟองน้ำที่ -5 องศาเซลเซียส ที่ทั้งสามระดับอัตราเร็วในการแช่เยือกแข็งเนื่องจากแซนแทนกัมจะเข้าไปจับกับโมเลกุลแอมิโลสจึงสามารถลดการเกิดรีโทรเกรเดชันของแอมิโลสได้นั่นเอง แต่เมื่อวัดการเกิดรีโทรเกรเดชันของแอมิโลเพกทินด้วยเครื่อง DSC พว่า อัตราเร็วและอุณหภูมิในการเก็บรักษาไม่มีผลต่อการเกิดรีโทรเกรเดชันของแอมิโลเพกทินเนื่องจากค่าปริมาณความร้อนที่ใช้ในการสลายพันธะระหว่างโมเลกุล (ΔH) ที่วัดได้ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ทุกๆ อัตราเร็วและอุณหภูมิในการเก็บรักษา นอกจากนี้แซนแทนกัมที่ความเข้มข้น 0.3 เปอร์เซ็นต์ก็ไม่สามารถยับยั้งการเกิดรีโทรเกรเดชันของแอมิโลเพกทินได้

Lee และคณะ (2002) เปรียบเทียบประสิทธิภาพของไฮโดรคอลลอยด์ 9 ชนิดในการเพิ่มความคงตัวของเพสท์สตาร์ชมันเทศด้วยวิธีการคืนรูปจากเยือกแข็ง (freeze-thawing treatments) ซึ่งเป็นการวัด

เปอร์เซ็นต์การแยกของน้ำ โดยพบว่าเมื่อเปรียบเทียบกับคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส เคิร์ดแลน (curdlan) เจลแลน (gellan) กัมอาราบิก แคปป้าคาร์รากีแนน และโลกัสบีนกัมแล้ว โซเดียมอัลจิเนต กัวร์กัมและแซนแทนกัมสามารถช่วยลดการเกิดการแยกตัวของน้ำ (syneresis) ได้ดีกว่า โดยที่ความเข้มข้นของไฮโดรคอลลอยด์ 0.3% แซนแทนกัมจะมีประสิทธิภาพดีที่สุด ส่วนที่ความเข้มข้น 0.6% กัวร์กัมจะมีประสิทธิภาพดีที่สุดในการลดการเกิดการแยกของน้ำ แต่การทดสอบการเกิดรีโทรเกเดชันของแอมิโลเพกทินด้วยเครื่อง differential scanning calorimetry (DSC) พบว่า โซเดียมอัลจิเนตจะมีประสิทธิภาพในการป้องกันการเกิดรีโทรเกเดชันมากกว่าแซนแทนและกัวร์กัม

3. วิธีการทดลอง

โครงการวิจัยนี้แบ่งการทดลองออกเป็น 4 ส่วนดังนี้

1. วิเคราะห์องค์ประกอบและสมบัติของวัตถุดิบ ได้แก่ สตาร์ชข้าว (rice starch, RS) ผงบุก – คอนยักกลูโคแมนแนน (konjac glucomannan, KGM) แป้งข้าวเหนียว (waxy rice flour, WF) และสตาร์ชมันสำปะหลัง (tapioca starch, TS)

   การวิเคราะห์องค์ประกอบของวัตถุดิบ ตามวิธีของ AACC (2000), AOAC(1985) และ วิเคราะห์ปริมาณแอมิโลสตามวิธีการของ Juliano (1971)

   สมบัติความหนืดของสตาร์ชข้าว วิเคราะห์ด้วยเครื่องวิเคราะห์ความหนืดแบบรวดเร็ว (Rapid Visco Analyzer: RVA)
2. ศึกษาผลของการเติมคอนยักกลูโคแมนแนน แป้งข้าวเหนียว และสตาร์ชมันสำปะหลังต่อสมบัติด้านความหนืดของระบบสตาร์ชข้าว – น้ำ และเนื้อสัมผัสของเจลสตาร์ชข้าว นอกจากนี้ยังศึกษาผลของการเติมน้ำตาลซูโครสลงในระบบสตาร์ชข้าว - น้ำด้วย

   การเตรียมเจลสตาร์ชตามวิธีของ Charoenrein et al. (2010) เจลสตาร์ชข้าวในทุกตัวอย่างมีความเข้มข้นของสตาร์ชข้าวเท่ากับ 8 % (น้ำหนัก/น้ำหนัก)

   เนื้อสัมผัสของเจลสตาร์ชวิเคราะห์ด้วยเครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (Texture Analyzer)
3. ศึกษาผลของการเติมคอนยักกลูโคแมนแนน แป้งข้าวเหนียว และสตาร์ชมันสำปะหลัง ต่อความคงตัวของเจลสตาร์ชข้าวแช่เยือกแข็ง (freeze-thaw stability) เนื้อสัมผัสและโครงสร้างระดับจุลภาค (microstructure) ของเจลสตาร์ชข้าวแช่เยือกแข็ง นอกจากนี้ยังศึกษาผลของอัตราเร็วในการแช่เยือกแข็งและการเติมน้ำตาลซูโครสต่อสมบัติดังกล่าวของเจลสตาร์ชข้าวและเจลสตาร์ชข้าวผสมกับคอนยักกลูโคแมนแนนแช่เยือกแข็งด้วย

   การแช่เยือกแข็งตัวอย่างเจลสตาร์ชใช้เครื่องแช่เยือกแข็งแบบ cryogenic freezer ที่ควบคุมอุณหภูมิอากาศภายในเครื่องเท่ากับ -40 $^{\circ}$ ซ และนำตัวอย่างออกจากเครื่องเมื่ออุณหภูมิใจกลางตัวอย่างลดลงถึง -20 $^{\circ}$ ซ แล้วนำตัวอย่างเก็บรักษาในตู้แช่เยือกแข็งแบบ chest freezer อุณหภูมิ -18 ถึง -20 $^{\circ}$ ซ สำหรับการแช่เยือกแข็งแบบเร็วในการศึกษาอัตราเร็วของการแช่เยือกแข็งนั้น ใช้วิธีปรับอุณหภูมิของอากาศภายในเครื่อง cryogenic freezer เป็น -80 $^{\circ}$ ซ ส่วนการแช่เยือกแข็งแบบช้า เป็นการแช่เยือกแข็งตัวอย่างในตู้แช่เยือกแข็งแบบ chest freezer ที่มีอุณหภูมิ -18 ถึง -20 $^{\circ}$ ซ

   การหาความคงตัวของเจลสตาร์ชแช่เยือกแข็ง ตามวิธีของ Charoenrein et al. (2008) และ ในตัวอย่างที่มีน้ำตาลใช้ตามวิธีของ Arunyanart and Charoenrein (2008)

โครงสร้างระดับจุลภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดตามวิธีของ Satmalee and Charoenrein (2009) และ Charoenrein et al. (2010) ส่วนการศึกษาโครงสร้างระดับจุลภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบ confocal laser scanning microscope ย้อมสีตัวอย่างด้วย FITC-dextran

4. ประมวลผลการทดลองและนำเสนอกลไกการเกิดและการลดลักษณะโครงสร้างฟองน้ำในเจลสตาร์ชข้าวด้วยการเติมคอนยักกลูโคแมนแนน แป้งข้าวเหนียว และสตาร์ชมันสำปะหลัง และในเจลสตาร์ชข้าวที่เติมน้ำตาลซูโครส

4. ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. วิเคราะห์องค์ประกอบและสมบัติของวัตถุดิบ

1.1 องค์ประกอบทางเคมี

สตาร์ชข้าว คอนยักกลูโคแมนแนน แป้งข้าวเหนียว และสตาร์ชมันสำปะหลังที่นำมาใช้ในการทดลองนี้มีองค์ประกอบทางเคมีดังตารางที่ 1 สตาร์ชข้าวมีปริมาณแอมิโลส 31.57% ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มข้าวที่มีปริมาณแอมิโลสสูง (Juliano, 1992) ส่วนปริมาณโปรตีน ไขมัน และเถ้ามีในปริมาณต่ำ คอนยักกลูโคแมนแนนมีปริมาณโปรตีน ไขมันและเถ้าอยู่เท่ากับ 0.87, 0.95 และ 1.89% ตามลำดับ ซึ่งเป็นค่าโดยประมาณสำหรับผงบุกที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์แล้ว ในขณะที่แป้งข้าวเหนียวมีปริมาณแอมิโลสต่ำมากคือ 4.11% ซึ่งเป็นปริมาณที่พบทั่วไปในแป้งข้าวเหนียว และมีปริมาณโปรตีน ไขมัน และเถ้าในปริมาณที่สูงกว่าสตาร์ชข้าวเนื่องจากยังไม่ได้ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ ส่วนสตาร์ชมันสำปะหลังมีปริมาณแอมิโลสในระดับปานกลาง และมีปริมาณโปรตีน ไขมัน และเถ้าในปริมาณต่ำซึ่งเป็นลักษณะทั่วไปของสตาร์ชมันสำปะหลัง

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของสตาร์ชข้าว (RS) คอนยักกลูโคแมนแนน (KGM) แป้งข้าวเหนียว (WF) และสตาร์ชมันสำปะหลัง (TS)

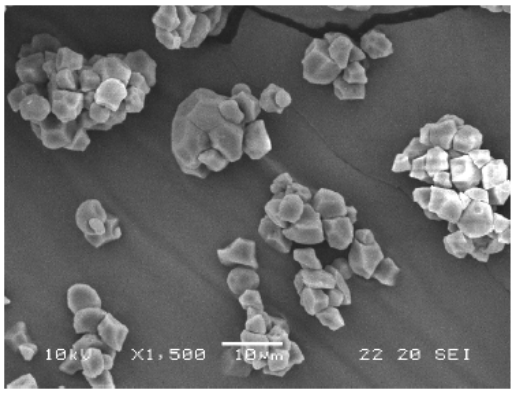
(หน่วย : เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง)

ตัวอย่าง	ความชื้น	แอมิโลส	โปรตีน	ไขมัน	เถ้า
RS	11.41 ± 0.03	31.57 ± 0.38	0.94 ± 0.05	0.06 ± 0.01	0.04 ± 0.02
KGM	11.71 ± 0.01	-	0.87 ± 0.03	0.95 ± 0.03	1.89 ± 0.03
WF	11.69 ± 0.01	4.11 ± 0.08	6.99 ± 0.02	0.25 ± 0.05	0.24 ± 0.02
TS	12.69 ± 0.01	17.13 ± 0.60	0.03 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.10 ± 0.06

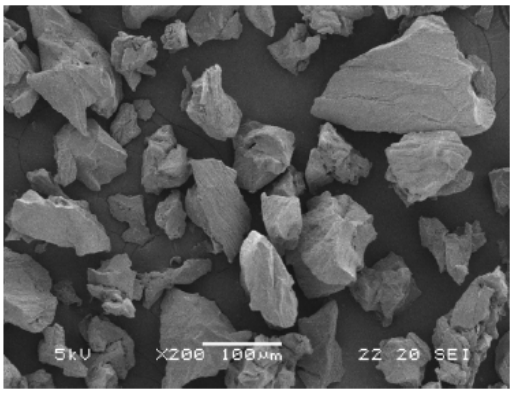
หมายเหตุ * ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

1.2. ลักษณะวัตถุดิบส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (SEM)

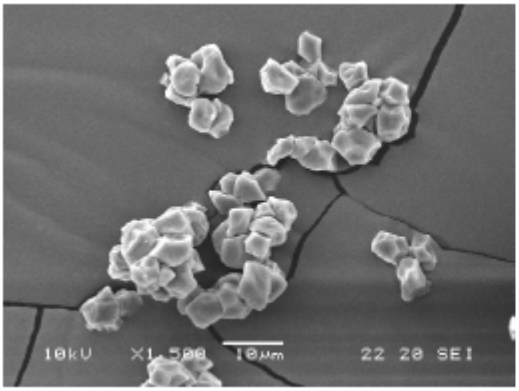
พบว่า สตาร์ชข้าวและแป้งข้าวเหนียวมีเม็ดสตาร์ชที่มีขนาดลักษณะคล้ายกัน คือ มีรูปร่างหลายเหลี่ยมและมีขนาดค่อนข้างสม่ำเสมอ (ดังภาพที่ 1) ขนาดเม็ดสตาร์ชอยู่ในช่วง 3 – 8 ไมครอน เม็ดสตาร์ชบางเม็ดมีร่องรอยการหลุดออกไปของโปรตีนบอดีซึ่งเห็นเป็นหลุมตื้นเล็กตามผิวเม็ดสตาร์ช ส่วนคอนยักกลูโคแมนแนนมีขนาดไม่สม่ำเสมอ ส่วนใหญ่มีขนาดมากกว่าเม็ดสตาร์ชข้าวและมันสำปะหลัง ผิวของคอนยักกลูโคแมนแนนเป็นเหลี่ยมมุมแสดงถึงการถูกบดให้แตกออก ไม่มีลักษณะเป็นเม็ดแกรนนูล ในขณะที่สตาร์ชมันสำปะหลังพบว่า เม็ดสตาร์ชมีลักษณะเป็นทรงกลมที่มีปลายตัดคล้ายปากแตร (truncated end) และมีขนาดใหญ่กว่าเม็ดสตาร์ชข้าวอย่างชัดเจน เม็ดสตาร์ชจากสตาร์ชมันสำปะหลังมีขนาดประมาณ 5-40 ไมครอน



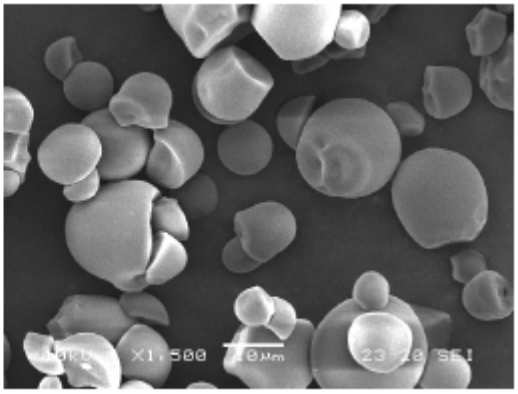
สตาร์ชข้าว x1,500 เท่า



คอนยักกลูโคแมนแน x200 เท่า



แป้งข้าวเหนียว x1,500 เท่า

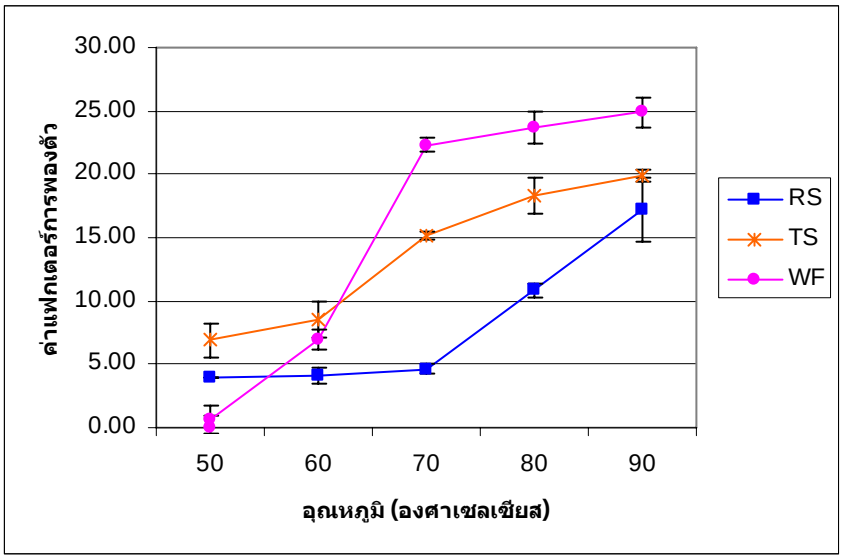


สตาร์ชมันสำปะหลัง x1,500 เท่า

ภาพที่ 1 ลักษณะของเม็ดสตาร์ชข้าว คอนยักกลูโคแมนแนน เม็ดสตาร์ชในแป้งข้าวเหนียว และเม็ดสตาร์ชมันสำปะหลัง ส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

1.3 ค่าการพองตัวของสตาร์ชข้าว

ทั้งสตาร์ชข้าว แป้งข้าวเหนียว และสตาร์ชมันสำปะหลังมีค่าการพองตัวเพิ่มสูงขึ้นเมื่อระดับอุณหภูมิเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 2) และที่อุณหภูมิในช่วง 70 – 90 $^{\circ}$ซ ซึ่งใช้ในการเตรียมเจลนั้น พบว่าแป้งข้าวเหนียวมีการพองตัวสูงสุด รองลงมาคือสตาร์ชมันสำปะหลังและสตาร์ชข้าวตามลำดับ นอกจากนี้ในช่วงอุณหภูมิ 80 -90 $^{\circ}$ซ พบว่า การพองตัวของแป้งข้าวเหนียวมีค่าลดลง ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการที่เม็ดสตาร์ชในแป้งข้าวเหนียวที่พองตัวมากเกิดการแตกตัวเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น



ภาพที่ 2 ค่าการพองตัวของสตาร์ชข้าว แป้งข้าวเหนียวและสตาร์ชมันสำปะหลังที่อุณหภูมิ 50, 60, 70, 80 และ 90 °ซ

1.4 สมบัติด้านความหนืด

จากการวิเคราะห์สมบัติด้านความหนืดด้วยเครื่องวิเคราะห์ความหนืดแบบรวดเร็ว (RVA) พบว่าสตาร์ชข้าวเจ้า แป้งข้าวเหนียวและสตาร์ชมันสำปะหลังมีอุณหภูมิที่เริ่มเกิดการเปลี่ยนแปลงความหนืดหรืออุณหภูมิที่เกิดเจลาทิไนเซชันเท่ากับ 82.78, 71.08 และ 69.45 °ซ ตามลำดับ ซึ่งผลสอดคล้องกับค่าการพองตัว สำหรับค่าความหนืดสุดท้าย และค่าเซตแบคนั้น พบว่าแป้งข้าวเหนียวมีค่าเซตแบคต่ำที่สุดรองลงมาเป็นสตาร์ชมันสำปะหลังและสตาร์ชข้าวตามลำดับ สันนิษฐานว่า น่าจะเป็นผลมาจากปริมาณแอมิโลสที่แตกต่างกันของวัตถุดิบ เมื่อทำการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าค่าเซตแบคของวัตถุดิบทั้งหมดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 2 ค่าความหนืดสูงสุด ความหนืดต่ำสุด ความหนืดลดลง ความหนืดสุดท้าย เซตแบคและอุณหภูมิที่เริ่มเกิดความหนืดของสตาร์ชข้าว แป้งข้าวเหนียวและสตาร์ชมันสำปะหลัง

ตัวอย่าง	อุณหภูมิเริ่มเกิดความหนืด (ซ°)	ความหนืด (RVU)				
		ความหนืดสูงสุด	ความหนืดต่ำสุด	ความหนืดลดลง	ความหนืดสุดท้าย	เซตเบค
RS	82.78a	228.92c	186.63a	42.29c	305.67a	119.04a
TS	71.08b	406.17a	150.13b	256.04a	255.04b	104.92b
WF	69.45c	286.79b	140.63c	146.17b	173.17c	32.54c

หมายเหตุ - ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรเล็กที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

2. ผลของการเติมคอนยักกลูโคแมนแนน แป้งข้าวเหนียว สตาร์ชมันสำปะหลัง และน้ำตาลซูโครสต่อสมบัติด้านความหนืดของระบบสตาร์ชข้าวและเนื้อสัมผัสของเจลสตาร์ชข้าวก่อนการแช่เยือกแข็ง

2.1 สมบัติด้านความหนืด

จากการวิเคราะห์สมบัติด้านความหนืด พบว่า เมื่อเติมคอนยักกลูโคแมนแนนลงในระบบสตาร์ชข้าว-น้ำ ทำให้ค่าความหนืดสูงสุด ความหนืดลดลง ความสุดท้าย และเซคแบค มีค่าสูงขึ้น (ตารางที่ 3) และเมื่อเพิ่มปริมาณของคอนยักกลูโคแมนแนน ค่าความหนืดเหล่านี้มีค่าสูงขึ้น Rojas และคณะ (1999) อธิบายว่า อาจเป็นผลจากการเพิ่มความหนืดของคอนยักกลูโคแมนแนน หรือการเกิดอันตรกิริยาระหว่างคอนยักกลูโคแมนแนนและเม็ดสตาร์ชที่พองตัวเมื่อได้รับความร้อน

ตารางที่ 3 การเปลี่ยนแปลงความหนืดของสตาร์ชข้าว (RS) ผสมคอนยักกลูโคแมนแนน KGM) ที่ความเข้มข้น 0-0.5%

ตัวอย่าง	ความหนืด (RVU)*				
	ความหนืดสูงสุด	ความหนืดต่ำสุด	ความหนืดลดลง	ความหนืดสุดท้าย	เซตแบค
RS	127..92 ± 0.71	102.64 ± 0.28	25.46 ± 2.18	133.88 ± 0.18	31.42 ± 2.71
RS+0.3%KGM	231.05 ± 5.48	164.29 ± 5.25	66.75 ± 0.24	285.25 ± 3.18	120.96 ± 2.06
RS+0.5%KGM	330.50 ± 2.83	257.34 ± 6.24	73.17 ± 3.42	400.80 ± 2.30	143.46 ± 8.54

หมายเหตุ * ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

จากการตรวจสอบสมบัติด้านความหนืดของระบบสตาร์ชข้าวผสมแป้งข้าวเหนียว 1.0, 1.5 และ 2.0% (ของแข็งทั้งหมดในระบบคือ 8%) พบว่าการเติมแป้งข้าวเหนียวทำให้สมบัติด้านความหนืดของระบบเพิ่มขึ้นตามลำดับ (ตารางที่ 4) ความหนืดที่เพิ่มขึ้นนี้อาจเกิดจากความหนืดของแป้งข้าวเหนียว หรือ การเกิดอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลของแป้งข้าวเหนียวกับสตาร์ชข้าว

ตารางที่ 4 การแปลี่ยนแปลงค่าความหนืดของสตาร์ชข้าว (RS) ผสมแป้งข้าวเหนียว (WF) ที่ความเข้มข้น 0 - 2.0% (นน.แห้งของของแข็งทั้งหมดในระบบคือ 8%)

ตัวอย่าง	ความหนืด (RVU)*				
	ความหนืดสูงสุด	ความหนืดต่ำสุด	ความหนืดลดลง	ความหนืดสุดท้าย	เซตแบค
RS	133.79 ± 2.65	120.29 ±2.06	13.50 ± 4.71	181.83 ± 0.82	61.54 ± 2.89
RS+1%WF	189.08 ± 0.94	163.08 ± 1.77	26.00 ± 0.82	241.88 ± 2.77	78.79 ± 4.54
RS+1.5%WF	234.42 ± 1.77	195.33 ± 2.24	39.08 ± 0.47	292.38 ± 2.30	97.04 ± 0.06
RS+2%WF	265.17 ± 1.53	219.13 ± 2.42	46.04 ± 3.95	319.54 ± 2.06	100.42 ± 4.48

หมายเหตุ - ค่าเฉลี่ยคิดจากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

จากการตรวจสอบสมบัติด้านความหนืดของระบบสตาร์ชข้าวผสมสตาร์ชมันสำปะหลัง 1.0 1.5 และ 2.0% (นน.แห้งของของแข็งทั้งหมดในระบบคือ 8%) พบว่าการเติมสตาร์ชมันสำปะหลังทำให้สมบัติด้านความ

หนืดของระบบสูงขึ้นตามลำดับ (ดังตารางที่ 5) ซึ่งความหนืดที่เพิ่มขึ้นนี้อาจเกิดจากความหนืดของสตาร์ชมันสำปะหลัง หรือ การเกิดอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลของสตาร์ชมันสำปะหลังกับสตาร์ชข้าว

ตารางที่ 5 การแปลี่ยนแปลงค่าความหนืดของสตาร์ชข้าว (RS) ผสมสตาร์ชมันสำปะหลัง (TS) ที่ความเข้มข้น 0 - 2.0% (นน.แห้งของของแข็งทั้งหมดในระบบคือ 8%)

ตัวอย่าง	ความหนืด (RVU)*				
	ความหนืดสูงสุด	ความหนืดต่ำสุด	ความหนืดลดลง	ความหนืดสุดท้าย	เซตแบค
RS	133.79 ± 2.65	120.29 ±2.06	13.50 ± 4.71	181.83 ± 0.82	61.54 ± 2.89
RS+1%TS	222.33 ± 5.66	171.63 ± 11.02	50.71 ± 5.36	274.08 ± 3.06	102.46 ± 7.95
RS+1.5%TS	274.71± 4.54	192.63 ± 7.01	82.08 ±11.55	310.75 ± 4.95	118.13 ± 11.96
RS+2%TS	317.21 ± 5.36	212.33 ± 2.24	104.88 ± 3.12	327.13 ± 2.53	114.79 ± 4.77

หมายเหตุ - ค่าเฉลี่ยคิดจากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

การเติมน้ำตาลซูโครสลงในระบบสตาร์ชข้าว – น้ำ พบว่าทำให้ความหนืดสูงสุด ความหนืดต่ำสุด ความหนืดลดลงและความหนืดสุดท้ายเพิ่มขึ้น เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาล ค่าความหนืดเหล่านี้ยิ่งเพิ่มขึ้น ส่วนค่าเซคแบคมีค่าลดลงเมื่อเติมน้ำตาลซูโครส (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 การแปลี่ยนแปลงค่าความหนืดของสตาร์ชข้าว (RS) 8% ผสมน้ำตาลซูโครส (Su) ที่ความเข้มข้น 0 -20%

ตัวอย่าง	ความหนืด (RVU)*				
	ความหนืดสูงสุด	ความหนืดต่ำสุด	ความหนืดลดลง	ความหนืดสุดท้าย	เซตแบค
RS	134.7 ± 0.5	122.0 ± 2.0	12.7 ± 1.5	146.2 ± 5.4	24.2 ± 3.4
RS +10% Su	215.7 ± 0.4	197.1 ± 0.2	18.6 ± 0.2	214.6 ± 2.2	17.5 ± 2.5
RS + 20% Su	294.0 ± 0.9	278.0 ± 2.2	15.9 ± 1.3	291.1 ± 1.8	13.1 ± 0.4

หมายเหตุ * ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

2.2 เนื้อสัมผัส

จากการวัดเนื้อสัมผัสของเจลสตาร์ชข้าวด้วยเครื่องวัดเนื้อสัมผัส (texture analyzer) ซึ่งอ่านผลเป็น ค่า maximum force (แรงต้านการกดสูงสุด) ที่แสดงถึงความแข็งของเจล สำหรับเจลสตาร์ชข้าวเจลสตาร์ชข้าวผสมคอนยักกลูโคแมนแนน 0.3% และ 0.5% ก่อนแช่เยือกแข็งมีค่า maximum force ลดลงเมื่อเติมคอนยักกลูโคแมนแนนนั้น (ตารางที่ 7) คาดว่าเกิดจากการที่โมเลกุลของคอนยักกลูโคแมนแนนเข้าไปกีดขวางการจับตัวกันของโมเลกุลสตาร์ช จึงทำให้ความแข็งของเจลลดลง

ตารางที่ 7 ค่าความแข็ง (maximum force) ของเจลสตาร์ชข้าวที่เติมคอนยักกลูโคแมนแนน 0 – 0.5% ก่อนการแช่เยือกแข็ง

ตัวอย่าง	ค่าความแข็ง (นิวตัน)
RS	3.323 ± 0.091
RS + 0.3% KGM	2.725 ± 0.159
RS + 0.5% KGM	2.644 ± 0.116

หมายเหตุ - ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 5 ซ้ำ ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
- deformation level = 60% of original gel height

สำหรับเจลสตาร์ชข้าวและเจลสตาร์ชข้าวผสมแป้งข้าวเหนียว 1.0, 1.5 และ 2.0% ก่อนแช่เยือกแข็ง พบว่ามีค่า maximum force ลดลง (ตารางที่ 8) สันนิษฐานว่า เกิดจากการที่แป้งข้าวเหนียวมีอัตราการพองตัวสูง ดังนั้นในขณะเตรียมเจล เม็ดสตาร์ชของแป้งข้าวเหนียงพองตัวและแตกออก ทำให้โมเลกุลของแอมิโลเพกตินในแป้งข้าวเหนียวเข้าไปกีดขวางการจับตัวกันของโมเลกุลสตาร์ช จึงทำให้ความแข็งของเจลลดลง

ตารางที่ 8 ค่าความแข็ง (maximum force) ของเจลสตาร์ชข้าว (RS) ที่เติมแป้งข้าวเหนียว (WF) 0 - 2.0% ก่อนการแช่เยือกแข็ง

ตัวอย่าง	ค่าความแข็ง (นิวตัน)
8%RS	1.65 ±0.06
8%RS+1.0%WF	1.48 ± 0.06
8%RS+1.5%WF	1.34 ± 0.04
8%RS+2.0%WF	1.25 ± 0.09

หมายเหตุ - ค่าเฉลี่ยคิดจากการวิเคราะห์ 5 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
- deformation level = 40% of original gel height

ส่วนเจลสตาร์ชข้าวผสมสตาร์ชมันสำปะหลัง 1.0, 1.5 และ 2.0% ก่อนแช่เยือกแข็ง พบว่ามีค่า maximum force เพิ่มขึ้น (ตารางที่ 9) สันนิษฐานว่า เกิดจากการที่เม็ดสตาร์ชมันสำปะหลังที่พองตัวแต่ยังไม่แตกออก (ภาพที่ 2) ไปเบียดแทรกอยู่กับเม็ดสตาร์ชข้าวที่พองตัว ทำให้เพิ่มความแข็งของเจลสตาร์ชข้าว

ตารางที่ 9 ค่าความแข็ง (maximum force) ของเจลสตาร์ชข้าว (RS) ที่เติมสตาร์ชมันสำปะหลัง (TS) 0 - 2.0% ก่อนการแช่เยือกแข็ง

ตัวอย่าง	ค่าความแข็ง (นิวตัน)
8%RS	1.65 ±0.06
8%RS+1.0%TS	2.05 ± 0.06
8%RS+1.5%TS	2.02 ± 0.03
8%RS+2.0%TS	2.04 ± 0.02

หมายเหตุ - ค่าเฉลี่ยคิดจากการวิเคราะห์ 5 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

- deformation level = 40% of original gel height

ส่วนเจลสตาร์ชข้าวผสมน้ำตาลซูโครส 10% ก่อนแช่เยือกแข็ง พบว่ามีค่าความแข็งลดลง (ตารางที่ 10) สันนิษฐานว่า เป็นเพราะน้ำตาลซูโครสในระดับนี้ทำหน้าที่เป็นพลาสติไซเซอร์ทำให้เจลมีความอ่อนตัว แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลมากขึ้น โมเลกุลน้ำตาลจะไปแย่งจับกับโมเลกุน้ำและทำให้ความหนืดในระบบสูงขึ้นจนทำให้เความแข็งของเจลสตาร์ชข้าวเพิ่มขึ้นเมื่อผสมกับน้ำตาลซูโครส 20%

ตารางที่ 10 ค่าความแข็ง (maximum force) ของเจลสตาร์ชข้าว (RS) ที่เติมน้ำตาลซูโครส(Su) 0 – 20% ก่อนการแช่เยือกแข็ง

ตัวอย่าง	ค่าความแข็ง (นิวตัน)
8%RS	0.39 ± 0.11
8%RS+10% Su	0.22 ± 0.01
8%RS+20% Su	1.17 ± 0.19

หมายเหตุ - ค่าเฉลี่ยคิดจากการวิเคราะห์ 5 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

- deformation level = 20% of original gel height

ในการทดลองเบื้องต้นพบว่า ตัวอย่างเจลสตาร์ชข้าวผสมสารพอลิแซคคาไรด์และน้ำตาลซูโครสนั้น เกิดการแตกในขณะที่ใช้หัววัดเนื้อสัมผัสของเครื่อง texture analyzer กดลงบนเนื้อเจล ดังนั้นจึงปรับเปลี่ยนสภาวะในการวัดเนื้อสัมผัสโดยใช้ deformation level ต่าง ๆ กัน เพื่อไม่ให้ตัวอย่างเกิดการแตกขึ้นระหว่างการกด

3. ผลของการเติมสารพอลิแซคคาไรด์ต่อความคงตัวของเจลสตาร์ชข้าวแช่เยือกแข็ง (freeze-thaw stability) เนื้อสัมผัสและโครงสร้างระดับจุลภาค (microstructure) ของเจลสตาร์ชข้าวแช่เยือกแข็ง

3.1 การเติมผงบุก-คอนยักกลูโคแมนแนน (KGM)

จากตารางที่ 11 พบว่าค่าการแยกตัวของน้ำในการคืนรูปจากเยือกแข็ง 1 -5 รอบของเจลสตาร์ชข้าวที่ไม่ได้เติมคอนยักกลูโคแมนแนนมีค่าสูงประมาณ 62% ในขณะที่เจลสตาร์ชข้าวที่มีคอนยักกลูโคแมนแนนความเข้มข้น 0.3 และ 0.5% มีค่าการแยกตัวของน้ำลดลงเหลือ 32.02 และ 21.53% ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่า คอนยักกลูโคแมนแนนสามารถลดการแยกตัวของน้ำจากเจลสตาร์ชข้าวได้ และเมื่อเพิ่มปริมาณคอนยักกลูโคแมนแนนทำให้ปริมาณการแยกตัวของน้ำในเจลสตาร์ชข้าวแช่เยือกแข็งและทำละลายลดลง

ตารางที่ 11 ค่าการแยกออกของน้ำ ในการคืนรูปจากเยือกแข็งรอบที่ 1-5 ของเจลสตาร์ข้าว (RS) ที่เติมคอนยักกลูโคแมนแนน (KGM) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0 – 0.5%

ตัวอย่าง	ค่าร้อยละการแยกออกของน้ำ				
	จำนวนรอบการคืนรูปจากเยือกแข็ง				
	1	2	3	4	5
RS	62.50^{aA} ± 0.82	66.22^{aB} ± 0.60	65.96^{aB} ± 0.35	66.60^{aB} ± 1.15	69.93^{aB} ± 0.41
RS +0.3%KGM	32.02^{bA} ± 6.85	57.78^{aB} ± 8.41	56.62^{bB} ± 5.47	62.57^{aB} ± 3.77	64.91^{aB} ± 2.95
RS +0.5%KGM	21.53^{bA} ± 6.40	44.65^{bB} ± 2.91	43.53^{cB} ± 3.31	49.02^{bB} ± 0.01	49.68^{bB} ± 2.17

หมายเหตุ - ค่าเฉลี่ยคิดจากการวิเคราะห์ 5 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
- ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรใหญ่ที่เหมือนกันในแนวนอนไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05)
- ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรเล็กที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05)

ในด้านเนื้อสัมผัส เจลสตาร์ชข้าวเมื่อผ่านการแช่เยือกแข็งและคืนรูปจากเยือกแข็งในรอบที่ 1 มีความแข็งเพิ่มขึ้น 56% จากเจลก่อนแช่เยือกแข็ง แต่เมื่อเติมคอนยักกลูโคแมนแนนลงไป ค่าความแข็งของเจลสตาร์ชแช่เยือกแข็งลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) นอกจากนี้ความแข็งของเจลสตาร์ชข้าวที่เติมคอนยักกลูโคแมนแนนเมื่อผ่านการแช่เยือกแข็งและคืนรูปจากเยือกแข็งแล้ว ยังมีค่าใกล้เคียงกับเจลสตาร์ชข้าวที่ไม่ได้เติมคอนยักกลูโคแมนแนนก่อนการแช่เยือกแข็งอีกด้วย การลดการเปลี่ยนแปลงด้านเนื้อสัมผัสและการลดการแยกตัวของน้ำของเจลสตาร์ชข้าวจากการคืนรูปจากเยือกแข็งด้วยการเติมคอนยักกลูโคแมนแนนนี้ สามารถอธิบายได้ด้วยโครงสร้างระดับจุลภาคของเจลสตาร์ชข้าว

ตารางที่ 12 ค่าความแข็งของเจลสตาร์ข้าว (RS) ที่เติมคอนยักกลูโคแมนแนน (KGM) ที่ความเข้มข้น 0 – 0.5% ที่ผ่านการคืนรูปจากเยือกแข็งรอบที่ 1

ตัวอย่าง	ค่าความแข็ง (นิวตัน)	
	ก่อนแช่เยือกแข็ง	คืนรูปจากเยือกแข็งรอบที่ 1
RS	3.323^{aB} ± 0.091	5.193^{aA} ± 0.761
RS+ 0.3% KGM	2.725^{bA} ± 0.159	3.237^{bA} ± 0.714
RS + 0.5% KGM	2.644^{bA} ± 0.116	3.292^{bA} ± 1.389

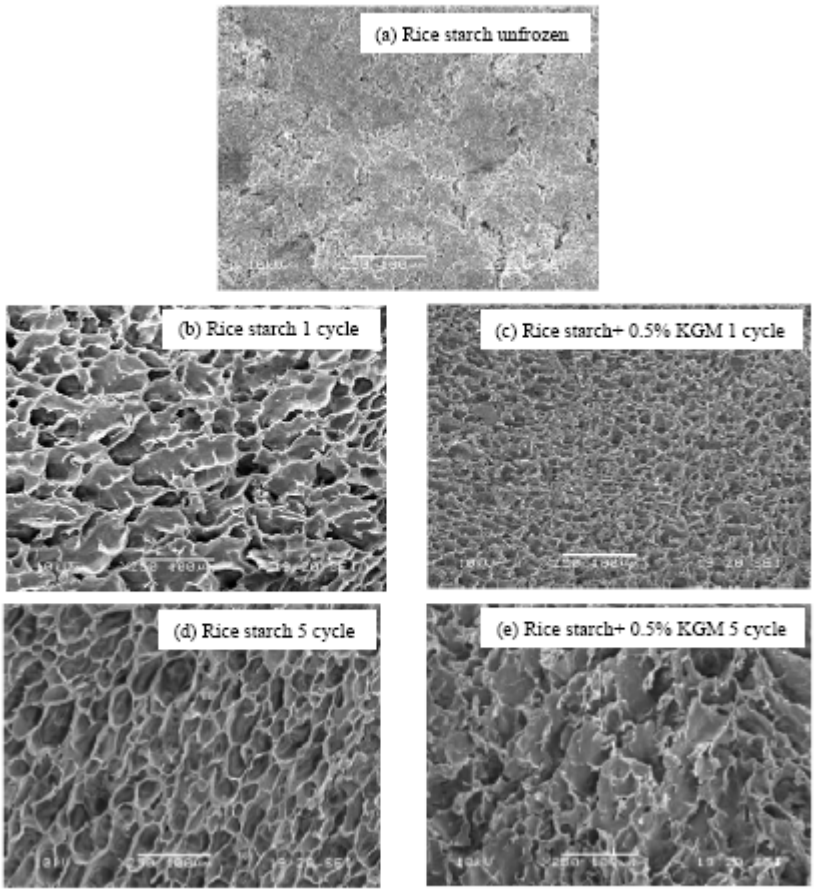
หมายเหตุ - ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 5 ซ้ำ ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
- deformation level = 60% of original gel height
- ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรใหญ่ที่เหมือนกันในแนวนอนไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05)
- ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรเล็กที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05)

จากการศึกษาโครงสร้างระดับจุลภาคของเจลสตาร์ชข้าวโดยการส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดดังภาพที่ 3 แสดงให้เห็นว่า โครงสร้างของเจลสตาร์ชข้าวก่อนและหลังการแช่เยือกแข็งและทำ

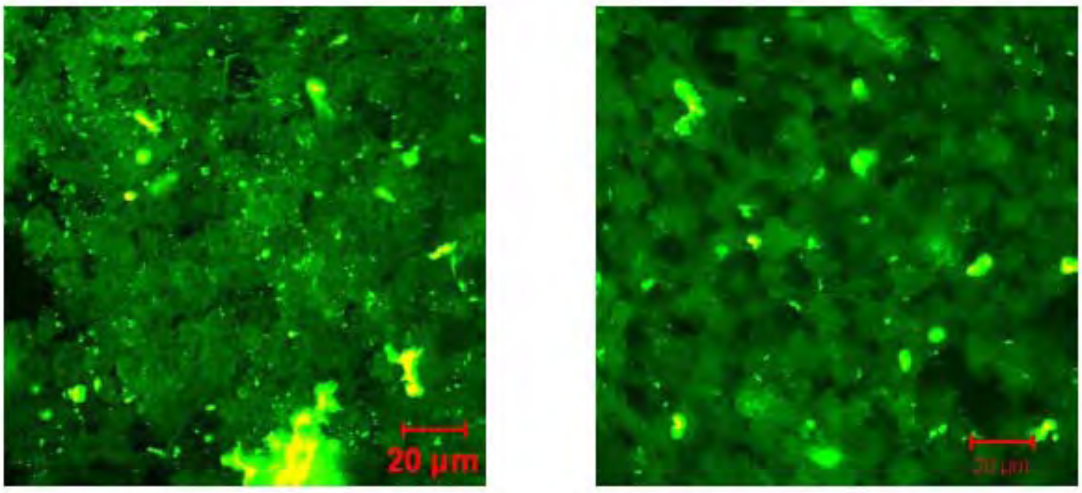
ละลายมีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน ภายหลังการแช่เยือกแข็งและคืนรูปในรอบที่ 1 เจลสตาร์ชข้าวเกิดโครงสร้างแบบฟองน้ำขึ้น คือมีรูพรุนซึ่งเกิดจากผลึกน้ำแข็งที่ก่อตัวขึ้นในระหว่างการแช่เยือกแข็งและฝังตัวอยู่ในเมทริกซ์รอบ ๆ รูพรุน โครงสร้างฟองน้ำนี้ยังทำให้เกิดการแยกตัวของน้ำออกจากโครงสร้างของเจลด้วย (Ferreo et al. 1993; Lee et al. 2002) เมทริกซ์นี้ คือ ส่วนของเจลสตาร์ชที่ไม่แข็งตัวและบีบจับตัวกันแน่น หรือที่เรียกว่า การเกิดรีโทรกราเดชัน เมื่อเติมคอนยักกลูโคแมนแนนลงในเจลสตาร์ช พบว่า เกิดโครงสร้างแบบฟองน้ำในเจลที่ผ่านการคืนรูปจากเยือกแข็งในรอบที่ 1 น้อยลง รูพรุนมีขนาดเล็กลง และเมทริกซ์รอบรูพรุนมีความหนาลดลง ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ค่าความแข็งของเจลสตาร์ชข้าวและการแยกตัวของน้ำต่ำกว่าตัวอย่างที่ไม่ได้เติมคอนยักกลูโคแมนแนน ถึงแม้เจลสตาร์ชที่เติมคอนยักกลูโคแมนแนนหลังคืนรูปจากเยือกแข็งรอบที่ 5 จะมีรูพรุนใหญ่ขึ้น แต่เมทริกซ์รอบรูพรุนมีลักษณะไม่หนาและแข็งแรงเท่าตัวอย่างที่ไม่ได้เติมคอนยักกลูโคแมนแนน

จากการใช้กล้องจุลทรรศน์แบบ confocal laser scanning microscope ตรวจสอบโครงสร้างระดับจุลภาคของเจลสตาร์ชข้าวก่อนการแช่เยือกแข็ง พบว่า เจลสตาร์ชข้าวที่ไม่ได้เติมคอนยักกลูโคแมนแนนมีเม็ดสตาร์ชที่พองตัวจับกลุ่มกันอย่างไม่เป็นระเบียบ (ภาพที่ 4 ซ้ายมือ) ในขณะที่เจลสตาร์ชข้าวที่มีคอนยักกลูโคแมนแนนผสมอยู่ 0.5% เม็ดสตาร์ชข้าวที่พองตัวจะมีขนาดเล็กกว่าและกระจายตัวกันในลักษณะโครงข่าย (network) ดังภาพที่ 4 ขวามือ Ishihara และคณะ (2010) ได้รายงานว่า เมื่อเม็ดสตาร์ชข้าวที่ได้เจลาติไนซ์ในสารละลายกัมอาราบิกและ soybean polysaccharide จะมีขนาดเล็กลง

จากผลการทดลองข้างต้นทำให้สันนิษฐานว่า เฟสที่ข้นหนืดของสารละลายที่อยู่รอบ ๆ เม็ดสตาร์ชข้าวที่พองตัวอาจเกิดจากโมเลกุลของคอนยักกลูโคแมนแนนเกิดอันตรกิริยากับแอมิโลสที่ออกมาจากเม็ดสตาร์ชข้าวที่พองตัว การที่เม็ดสตาร์ชข้าวลดการจับตัวแน่น น่าจะแสดงถึงการเกิดรีโทรกราเดชันที่ต่ำกว่า เจลสตาร์ชข้าวที่ไม่ได้เติมคอนยักกลูโคแมนแนน ซึ่งทำให้ % การแยกตัวของน้ำและความแข็งของเจลสตาร์ชลดลง



ภาพที่ 3 โครงสร้างระดับจุลภาคของเจลสตาร์ชข้าวที่เติม KGM 0 – 0.5% ก่อนแช่เยือกแข็ง และหลังคืนรูปจากเยือกแข็งรอบที่ 1 และ 5 จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (250x, Bar = 100 μm)



ภาพที่ 4 โครงสร้างระดับจุลภาคของเจลสตาร์ชข้าว (ซ้าย) และที่เติม KGM 0.5% (ขวา) ก่อนแช่เยือกแข็งจากกล้องจุลทรรศน์ Confocal Laser Scanning Microscope (Bar = 20 μm)

3.2 การเติมแป้งข้าวเหนียว (WF)

จากการทดลองนำเจลสตาร์ชข้าวที่เติมแป้งข้าวเหนียวไปแช่เยือกแข็งและทำละลาย จำนวน 5 รอบ พบว่า แป้งข้าวเหนียวสามารถลดการแยกตัวของน้ำได้ดีหลังการแช่เยือกแข็งและทำละลาย 1 รอบ (ตารางที่ 13) สอดคล้องกับผลโครงสร้างระดับจุลภาคของเจล โดยสามารถลดโครงสร้างฟองน้ำได้ แต่ในรอบการแช่เยือกแข็งและทำละลายรอบที่ 2-5 ประสิทธิภาพในการลดการแยกตัวของน้ำลดลง

ตารางที่ 13 ค่าการแยกออกของน้ำ ในการคืนรูปจากเยือกแข็งรอบที่ 1-5 ของเจลสตาร์ข้าวเจ้า (RS) ที่มีการเติมแป้งข้าวเหนียว (WF) ที่ความเข้มข้น 0 – 2.0 %

ตัวอย่าง	ค่า % การแยกออกของน้ำ				
	จำนวนรอบการคืนรูปจากเยือกแข็ง				
	1	2	3	4	5
8% RS	38.14aA ± 0.69	52.65aB ± 0.58	55.76aC ± 2.11	56.74abC ± 1.06	57.49aC ± 1.60
8% RS +1% WF	26.97bA ± 4.02	52.56aB ± 0.88	54.49aBC ± 4.53	56.48abC ± 0.70	57.49aC ± 0.39
8% RS +1.5% WF	20.82cA ± 2.72	49.62bB ± 2.17	55.24aC ± 0.64	57.72aD± 0.81	57.73aD ± 0.31
8% RS +2% WF	14.05dA ± 2.64	47.60cB ± 0.84	55.44aC ± 1.32	56.00bC ± 1.84	56.79aC ± 0.64

หมายเหตุ - ค่าเฉลี่ยคิดจากการวิเคราะห์ 5 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
- ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรใหญ่ที่เหมือนกันในแนวนอนไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05)
- ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรเล็กที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05)

ความแข็งของเจลสตาร์ชข้าวที่เติมแป้งข้าวเหนียว เมื่อผ่านการแช่เยือกแข็งและคืนรูปจากเยือกแข็งแล้ว มีค่าต่ำกว่าความแข็งของเจลสตาร์ชข้าวแช่เยือกแข็งและทำละลายอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) ดังตารางที่ 14 และยังมีค่าใกล้เคียงกับเจลสตาร์ชข้าวก่อนการแช่เยือกแข็งและคืนรูปจากเยือกแข็งก่อนการแช่เยือกแข็งอีกด้วย การลดการเปลี่ยนแปลงด้านเนื้อสัมผัสและการลดการแยกตัวของน้ำของเจลสตาร์ชด้วยการเติมแป้งข้าวเหนียวนี้ สามารถอธิบายได้ด้วยโครงสร้างระดับจุลภาคของเจลสตาร์ชข้าว

ตารางที่ 14 ค่าความแข็งของเจลสตาร์ข้าวเจ้า (RS) ที่เติมแป้งข้าวเหนียว (WF) ที่ความเข้มข้น 0 – 2.0% ที่ผ่านการคืนรูปจากเยือกแข็งรอบที่ 1

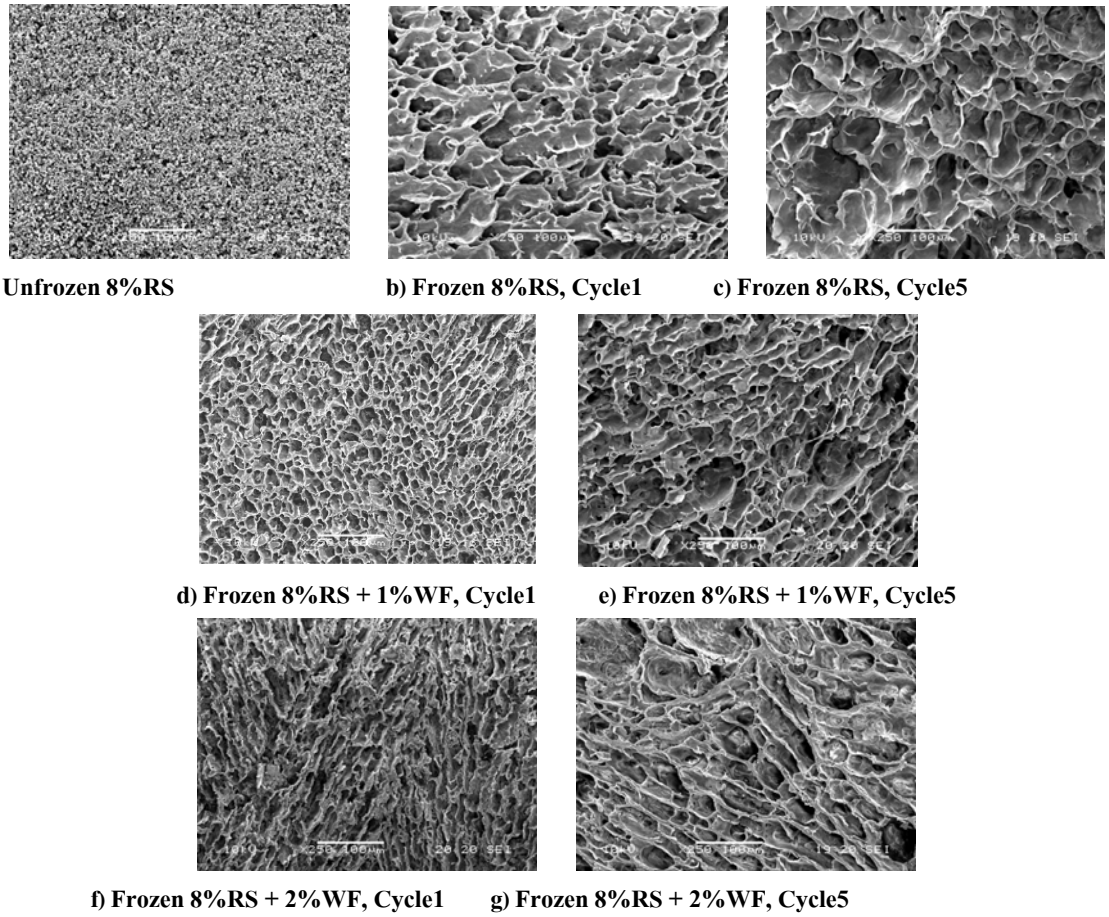
ตัวอย่าง	ค่าความแข็ง (นิวตัน)	
	ก่อนแช่เยือกแข็ง	คืนรูปจากเยือกแข็งรอบที่ 1
RS	1.65aA ±0.06	$5.9b^{aB}$ ± 0.14
RS+ 1% WF	1.48aA ± 0.06	3.24^{bB} ± 0.71
RS + 1.5% WF	1.34aA ± 0.04	2.65^{bB} ± 0.26
RS + 2.0% WF	1.25aA ± 0.09	2.00^{bB} ± 0.07

หมายเหตุ - ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 5 ซ้ำ ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
- deformation level = 40% of original gel height
- ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรใหญ่ที่เหมือนกันในแนวนอนไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05)

- ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรเล็กที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

จากการศึกษาโครงสร้างระดับจุลภาคของเจลสตาร์ชข้าวโดยการส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดดังภาพที่ 5 แสดงให้เห็นว่า โครงสร้างของเจลสตาร์ชข้าวหลังการแช่เยือกแข็งและคืนรูปในรอบที่ 1 มีลักษณะโครงสร้างแบบฟองน้ำ คือมีรูพรุนซึ่งเกิดจากผลึกน้ำแข็งที่ก่อตัวขึ้นในระหว่างการแช่เยือกแข็งและฝังตัวอยู่ในเมทริกซ์รอบ ๆ รูพรุน โครงสร้างฟองน้ำนี้ยังทำให้เกิดการแยกตัวของน้ำออกจากโครงสร้างของเจลด้วย เมทริกซ์นี้ คือ ส่วนของเจลสตาร์ชที่ไม่แข็งตัวและบีบจับตัวกันแน่น แต่เมื่อเติมแป้งข้าวเหนียว 1 และ 2% ลงในเจลสตาร์ช พบว่า เกิดโครงสร้างแบบฟองน้ำในเจลที่ผ่านการคืนรูปจากเยือกแข็งในรอบที่ 1 น้อยลง รูพรุนมีขนาดเล็กลง และเมทริกซ์รอบรูพรุนมีความหนาลดลง ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ค่าความแข็งของเจลสตาร์ชข้าวและการแยกตัวของน้ำต่ำกว่าตัวอย่างที่ไม่ได้เติมแป้งข้าวเหนียว การเพิ่มปริมาณแป้งข้าวเหนียวช่วยลดการเกิดโครงสร้างแบบฟองน้ำมากขึ้น แต่ในเจลสตาร์ชที่เติมแป้งข้าวเหนียวหลังคืนรูปจากเยือกแข็งรอบที่ 5 จะมีรูพรุนใหญ่ขึ้นใกล้เคียงกับเจลสตาร์ชข้าวที่ไม่ได้เติมแป้งข้าวเหนียว ผลโครงสร้างลักษณะดังกล่าวนี้ช่วยอธิบายผลการลดลงของค่าการแยกตัวของน้ำจากเจลสตาร์ชข้าวที่เติมแป้งข้าวเหนียวที่ผ่านการคืนรูปจากเยือกแข็งรอบที่ 1 แต่เพิ่มค่าขึ้นในรอบถัดมา

จากการใช้กล้องจุลทรรศน์แบบ confocal laser scanning microscope ตรวจสอบโครงสร้างระดับจุลภาคของเจลสตาร์ชข้าวก่อนการแช่เยือกแข็ง พบว่า ในเจลสตาร์ชข้าวที่มีแป้งข้าวเหนียวผสมอยู่ 2% เม็ดสตาร์ชที่พองตัวมากจะกระจ่ายตัวทั่วไป (ภาพที่ 6) ซึ่งสันนิษฐานว่า อาจเป็นเม็ดสตาร์ชจากแป้งข้าวเหนียวที่พองตัวมากกว่าเม็ดสตาร์ชข้าวและปกคลุมเม็ดสตาร์ชข้าวที่พองตัวน้อยกว่า ซึ่งโครงสร้างดังกล่าวนี้จะช่วยทำให้ความแข็งของเจลสตาร์ชลดลง ช่วยลด % การแยกตัวของน้ำและการเกิดโครงสร้างแบบฟองน้ำในเจลสตาร์ชหลังคืนรูปจากเยือกแข็งในรอบต้น ๆ

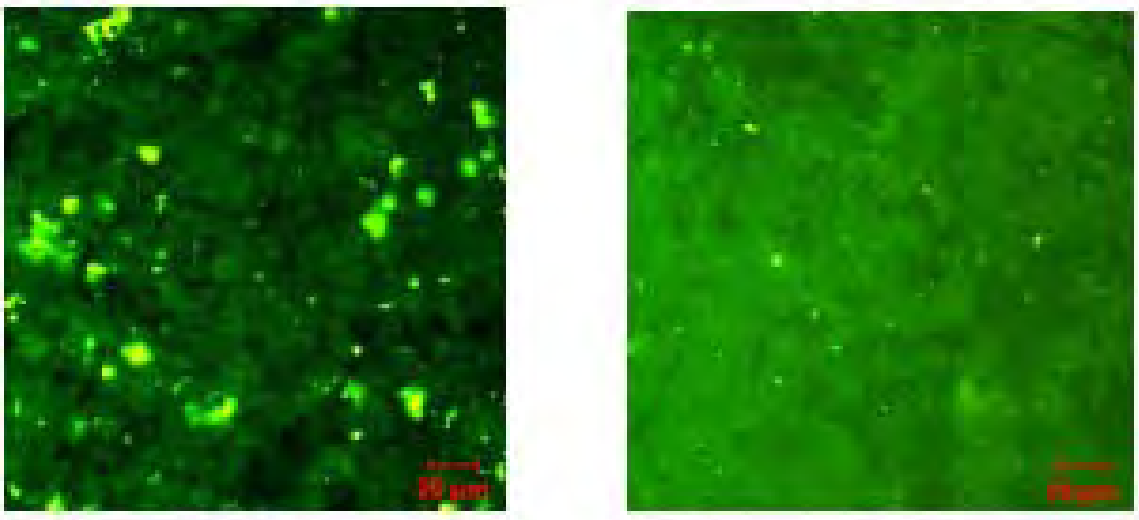


a) Unfrozen 8%RS **b) Frozen 8%RS, Cycle1** **c) Frozen 8%RS, Cycle5**

d) Frozen 8%RS + 1%WF, Cycle1 **e) Frozen 8%RS + 1%WF, Cycle5**

f) Frozen 8%RS + 2%WF, Cycle1 **g) Frozen 8%RS + 2%WF, Cycle5**

<u>ภาพที่ 5</u> โครงสร้างระดับจุลภาคของเจลสตาร์ชข้าว (RS) และที่เติมแป้งข้าวเหนียว (WF) ก่อนแช่เยือกแข็ง และที่ผ่านการแช่เยือกแข็งและคืนรูปจากเยือกแข็งรอบที่ 1 และ 5 จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (250x, Bar = 250 µm)



<u>ภาพที่ 6</u> โครงสร้างระดับจุลภาคของเจลสตาร์ชข้าว (ซ้าย) และที่เติมแป้งข้าวเหนียว (WF) 2 % (ขวา) ก่อนแช่เยือกแข็งจากกล้องจุลทรรศน์ Confocal Laser Scanning Microscope (Bar = 20 µm)

3.3 การเติมสตาร์ชมันสำปะหลัง (TS)

จากการทดลองนำเจลสตาร์ชข้าวที่เติมสตาร์ชมันสำปะหลังไปแช่เยือกแข็งและทำละลาย จำนวน 5 รอบ พบว่า สตาร์ชมันสำปะหลังสามารถลดการแยกตัวของน้ำได้ดีหลังการแช่เยือกแข็งและทำละลาย 1 รอบ (ตารางที่ 15) สอดคล้องกับผลโครงสร้างระดับจุลภาคของเจล โดยสามารถลดโครงสร้างฟองน้ำได้ แต่ในรอบการแช่เยือกแข็งและทำละลายรอบที่ 2-5 ประสิทธิภาพในการลดการแยกตัวของน้ำลดลง อย่างไรก็ตามเมื่อเทียบกับแป้งข้าวเหนียวแล้ว พบว่า การเติมสตาร์ชมันสำปะหลังทำให้ % การแยกตัวของน้ำในการคืนรูปจากเยือกแข็งในรอบที่ 2-5 มีค่าต่ำกว่าการเติมแป้งข้าวเหนียวเล็กน้อย

ตารางที่ 15 ค่าการแยกออกของน้ำ ในการคืนรูปจากเยือกแข็งรอบที่ 1-5 ของเจลสตาร์ข้าวเจ้า (RS) ที่มีการเติมสตาร์ชมันสำปะหลัง (TS) ที่ความเข้มข้น 0 – 2.0 %

ตัวอย่าง	ค่า % การแยกออกของน้ำ				
	จำนวนรอบการคืนรูปจากเยือกแข็ง				
	1	2	3	4	5
8% RS	38.14aA ± 0.69	52.65aB ± 0.58	55.76aC ± 2.11	56.74abC ± 1.06	57.49aC ± 1.60
8% RS +1% TS	28.52bA ± 3.16	46.61bB ± 1.29	48.36bBC ± 1.95	49.74bC ± 0.73	49.26bC ± 1.46
8% RS +1.5% TS	24.24cA ± 1.59	41.70cB ± 2.28	44.30cC ± 0.50	45.13cCD ± 0.18	46.80cD ± 0.84
8% RS +2% TS	21.94cA ± 1.89	39.25dB ± 0.90	43.11cC ± 2.04	45.51cC ± 1.67	45.41cC ± 2.21

หมายเหตุ - ค่าเฉลี่ยคิดจากการวิเคราะห์ 5 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
- ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรใหญ่ที่เหมือนกันในแนวนอนไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05)
- ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรเล็กที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05)

ความแข็งของเจลสตาร์ชข้าวที่เติมสตาร์ชมันสำปะหลัง เมื่อผ่านการแช่เยือกแข็งและคืนรูปจากเยือกแข็งแล้ว มีค่าสูงกว่าความแข็งของเจลสตาร์ชข้าวแช่เยือกแข็งและทำละลายอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) ดังตารางที่ 16 ซึ่งผลดังกล่าวแตกต่างจากการเติมคอนยักกลูโคแมนแนและแป้งข้าวเหนียว การเปลี่ยนแปลงด้านเนื้อสัมผัสและการลดการแยกตัวของน้ำของเจลสตาร์ชด้วยการเติมสตาร์ชมันสำปะหลังนี้ สามารถอธิบายได้ด้วยโครงสร้างระดับจุลภาคของเจลสตาร์ชข้าว

ตารางที่ 16 ค่าความแข็งของเจลสตาร์ข้าวเจ้า (RS) ที่เติมสตาร์ชมันสำปะหลัง (TS) ที่ความเข้มข้น 0 – 2.0% ที่ผ่านการคืนรูปจากเยือกแข็งรอบที่ 1

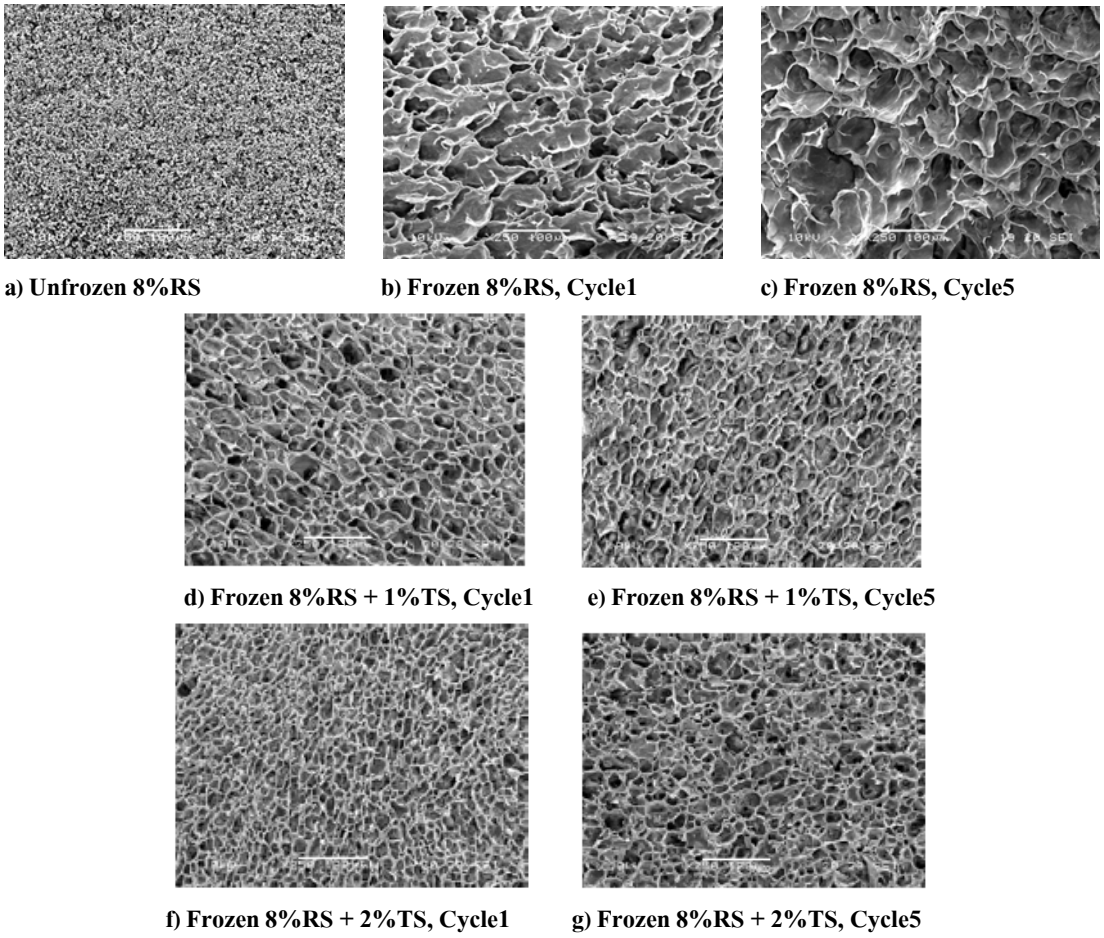
ตัวอย่าง	ค่าความแข็ง (นิวตัน)	
	ก่อนแช่เยือกแข็ง	คืนรูปจากเยือกแข็งรอบที่ 1
RS	1.65aB ±0.06	5.95cA ± 0.14
RS+ 1% TS	2.05bB ± 0.06	7.08bA ± 0.19
RS + 1.5% TS	2.02bB ± 0.03	6.88bA ± 0.47
RS + 2.0% TS	2.04bB ± 0.02	7.82aA ± 0.37

หมายเหตุ - ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 5 ซ้ำ ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

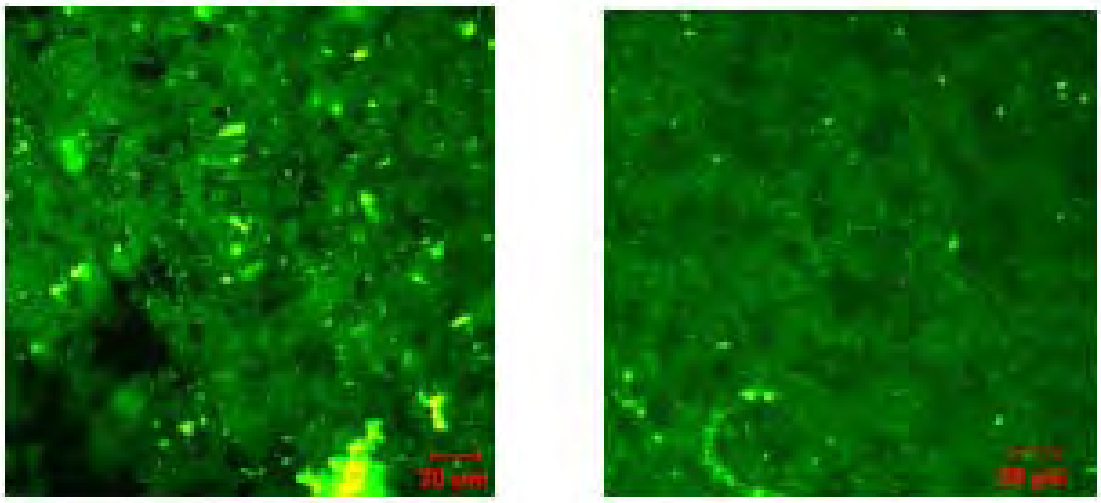
- deformation level = 40% of original gel height
- ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรใหญ่ที่เหมือนกันในแนวนอนไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)
- ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรเล็กที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

จากการศึกษาโครงสร้างระดับจุลภาคของเจลสตาร์ชข้าวโดยการส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดดังภาพที่ 7 แสดงให้เห็นว่า เมื่อเติมสตาร์ชมันสำปะหลัง 1% ทำให้เจลสตาร์ชข้าวเกิดโครงสร้างแบบฟองน้ำในเจลที่ผ่านการคืนรูปจากเยือกแข็งในรอบที่ 1 น้อยลง รูพรุนมีขนาดเล็กลง และเมทริกซ์รอบรูพรุนมีความหนาลดลง ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ค่าความแข็งของเจลสตาร์ชข้าวและการแยกตัวของน้ำต่ำกว่าตัวอย่างที่ไม่ได้เติมสตาร์ชมันสำปะหลัง เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสตาร์ชมันสำปะหลังเป็น 2% โครงสร้างแบบฟองน้ำเกิดน้อยลง อย่างไรก็ตามในเจลสตาร์ชที่เติมสตาร์ชมันสำปะหลังหลังคืนรูปจากเยือกแข็งรอบที่ 5 มีรูพรุนใหญ่ขึ้น และความหนาของเมทริกซ์รอบรูพรุนมากขึ้น ผลโครงสร้างลักษณะดังกล่าวนี้ช่วยอธิบายผลการลดลงของค่าการแยกตัวของน้ำจากเจลสตาร์ชข้าวที่เติมสตาร์ชมันสำปะหลังที่ผ่านการคืนรูปจากเยือกแข็งรอบที่ 1 แต่เพิ่มค่าขึ้นในรอบถัดมา

จากการใช้กล้องจุลทรรศน์แบบ confocal laser scanning microscope ตรวจสอบโครงสร้างระดับจุลภาคของเจลสตาร์ชข้าวก่อนการแช่เยือกแข็ง พบว่า ในเจลสตาร์ชข้าวที่มีสตาร์ชมันสำปะหลังผสมอยู่ 2% เม็ดสตาร์ชจะเกาะกลุ่มกันกระจายทั่ว ๆ ไปมากกว่าเจลสตาร์ชที่ไม่ได้เติมสตาร์ชมันสำปะหลัง (ภาพที่ 6) สันนิษฐานว่า เม็ดสตาร์ชที่พองตัวของสตาร์ชมันสำปะหลังช่วยเชื่อมต่อเม็ดสตาร์ชข้าวให้กระจายตัวมากขึ้น ซึ่งโครงสร้างดังกล่าวนี้จะช่วยลด % การแยกตัวของน้ำและการเกิดโครงสร้างแบบฟองน้ำในเจลสตาร์ชหลังคืนรูปจากเยือกแข็งในรอบต้น ๆ อย่างไรก็ตามเนื่องจากเม็ดสตาร์ชมันสำปะหลังน่าจะยังไม่พองตัวมากจนแตกออกเหมือนในแป้งข้าวเหนียว จึงทำให้เจลสตาร์ชข้าวที่เติมสตาร์ชมันสำปะหลังมีความแน่นแข็งมากกว่าเจลสตาร์ชข้าวที่ไม่ได้เติมสตาร์ชมันสำปะหลัง รวมทั้งเจลสตาร์ชข้าวที่เติมคอนยักกลูโคแมนแนนและแป้งข้าวเหนียว



ภาพที่ 7 โครงสร้างระดับจุลภาคของเจลสตาร์ชข้าว (RS) และที่เติมสตาร์ชมันสำปะหลัง (TS) ก่อนแช่เยือกแข็ง และที่ผ่านการแช่เยือกแข็งและคืนรูปจากเยือกแข็งรอบที่ 1 และ 5 จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (250x, Bar = 250 μm)



ภาพที่ 8 โครงสร้างระดับจุลภาคของเจลสตาร์ชข้าว (ซ้าย) และที่เติมสตาร์ชมันสำปะหลัง 2.0% (ขวา) ก่อนแช่เยือกแข็งจากกล้องจุลทรรศน์ Confocal Laser Scanning Microscope (Bar = 20 μm)

3.4 การเติมน้ำตาลซูโครส

จากการทดลองนำเจลสตาร์ชข้าวและเจลสตาร์ชข้าวที่เติมน้ำตาลซูโครสไปแช่เยือกแข็งและทำละลาย จำนวน 1-5 รอบ พบว่า การเติมน้ำตาลซูโครสช่วยลด % การแยกของของเหลวลดลง โดยที่ลดลงตามความเข้มข้นของซูโครสที่เพิ่มขึ้น (ตารางที่ 17) เหตุผลที่ในการทดลองนี้ใช้ คำว่า การแยกตัวของของเหลวแทนการแยกตัวของน้ำ เนื่องจากของเหลวที่แยกตัวมามีน้ำตาลซูโครสผสมอยู่ด้วย

ตารางที่ 17 ค่าการแยกออกของของเหลว ในการคืนรูปจากเยือกแข็งรอบที่ 1-5 ของเจลสตาร์ข้าวเจ้า (RS) ที่เติมน้ำตาลซูโครส (Su) ที่ความเข้มข้น 0 – 20 %

ตัวอย่าง	ค่า % การแยกออกของของเหลว				
	จำนวนรอบการคืนรูปจากเยือกแข็ง				
	1	2	3	4	5
RS	55.02aAB ± 0.57	57.25aC ± 0.39	55.41aB ± 0.41	55.62aB ± 0.39	54.54aA ± 0.27
RS +10% Su	14.48bA ± 2.16	25.37bB ± 1.53	28.34bBC ± 2.70	31.05bBC ± 6.28	34.47bC ± 0.39
RS +20% Su	1.25cA ± 0.36	4.64cB ± 1.20	25.20bC ± 2.54	28.57bD ± 1.41	32.54bE ± 1.80

หมายเหตุ - ค่าเฉลี่ยคิดจากการวิเคราะห์ 5 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
- ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรใหญ่ที่เหมือนกันในแนวนอนไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05)
- ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรเล็กที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05)

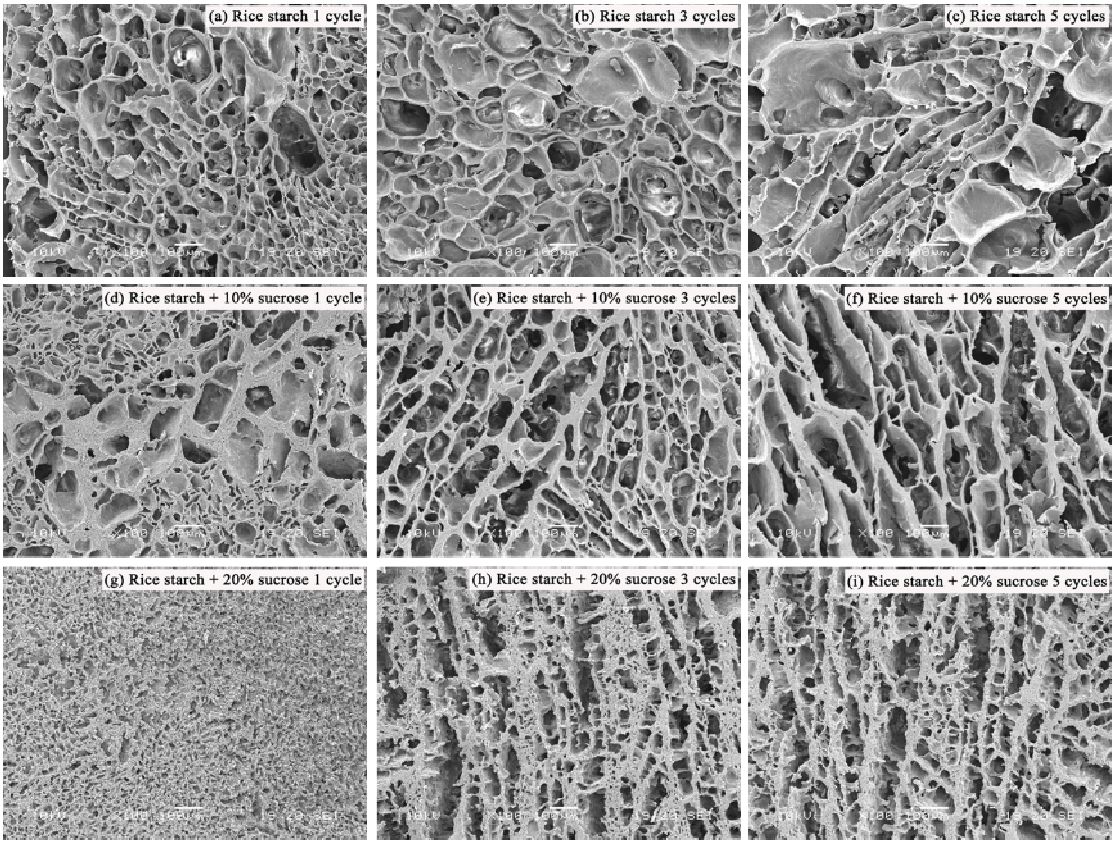
ความแข็งของเจลสตาร์ชข้าวที่เติมน้ำตาลซูโครส เมื่อผ่านการแช่เยือกแข็งและคืนรูปจากเยือกแข็งแล้วมีค่าต่ำกว่าความแข็งของเจลสตาร์ชข้าวแช่เยือกแข็งและทำละลายอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) ดังตารางที่ 18 การลดการเปลี่ยนแปลงด้านเนื้อสัมผัสและการลดการแยกตัวของน้ำของเจลสตาร์ชด้วยการเติมแป้งข้าวเหนียวนี้ สามารถอธิบายได้ด้วยโครงสร้างระดับจุลภาคของเจลสตาร์ชข้าว และปริมาณน้ำที่แข็งตัวได้ในระบบเจลสตาร์ชข้าว

ตารางที่ 18 ค่าความแข็งของเจลสตาร์ข้าวเจ้า (RS) ที่เติมน้ำตาลซูโครส (Su) ที่ความเข้มข้น 0-20 % ที่ผ่านการคืนรูปจากเยือกแข็งรอบที่ 1

ตัวอย่าง	ค่าความแข็ง (นิวตัน)	
	ก่อนแช่เยือกแข็ง	คืนรูปจากเยือกแข็งรอบที่ 1
RS	0.39Be ± 0.11	8.73aA ± 0.37
RS +10% Su	0.22Be ± 0.01	5.96bA ± 0.19
RS +20% Su	1.17Bd ± 0.19	3.38cA ± 0.35

หมายเหตุ - ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 5 ซ้ำ ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
- deformation level = 20% of original gel height
- ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรใหญ่ที่เหมือนกันในแนวนอนไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05)
- ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรเล็กที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05)

การศึกษาหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าการแยกของของเหลวกับโครงสร้างระดับจุลภาคของเจลสตาร์ชหลังการคืนรูปจากเยือกแข็ง จากภาพที่ 9 เห็นได้อย่างชัดเจนถึงความแตกต่างในโครงสร้างระดับจุลภาคของเจลสตาร์ชข้าวหลังการคืนรูปจากเยือกแข็งที่เติมน้ำตาลและไม่เติมน้ำตาลซูโครส เมื่อนำเจลสตาร์ชมาแช่เยือกแข็งส่วนที่ไม่แข็งตัวหรือที่เรียกว่า เมทริกซ์ (matrix) จะมีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น ทำให้สายโซ่ของโมเลกุลสตาร์ชมาบีบอัดตัวกันแน่นและเมื่อนำมาทำละลายส่วนที่แข็งตัวได้หรือเกิดผลึกน้ำแข็งจะเกิดการละลาย กระบวนการที่เกิดขึ้นนี้จะทำให้เกิดโครงสร้างแบบฟองน้ำ และเกิดการแยกของของเหลวออกจากเจล (Ferrero *et al*., 1993; Lee *et al*., 2002) โดยสามารถที่จะลดกระบวนการที่เกิดขึ้นนี้ได้ด้วยการเติมซูโครสลงไปในระบบของเจลสตาร์ชข้าว โดยพบว่าส่วนของเมทริกซ์รอบๆ รูพรุน (pore) จากผลึกน้ำแข็งของเจลสตาร์ชที่เติมซูโครสมีความหนามากกว่าเจลสตาร์ชที่ไม่ได้เติมซูโครสโดยความหนาในส่วนของเมทริกซ์รอบๆ รูจะมีความหนามากขึ้นตามความเข้มข้นของซูโครสที่เพิ่มขึ้น และจำนวนรอบของการคืนรูปจากเยือกแข็งก็จะมีผลต่อความหนาในส่วนของเมทริกซ์รอบๆ รูพรุนจากผลึกน้ำแข็ง โดยเมื่อจำนวนรอบของการคืนรูปจากเยือกแข็งเพิ่มขึ้น รูพรุนมีขนาดใหญ่ขึ้นเบียดให้ส่วนของเมทริกซ์รอบๆ รูพรุนของเจลสตาร์ชมีความหนาลดลง กระบวนการที่เกิดขึ้นเหล่านี้จะทำให้โครงสร้างของเจลสตาร์ชเกิดโครงสร้างแบบฟองน้ำ



<u>ภาพที่ 9</u> โครงสร้างระดับจุลภาคของเจลสตาร์ชข้าว (RS) และที่เติมน้ำตาลซูโครส (Su) ที่ผ่านการคืนรูปจากเยือกแข็งรอบที่ 1, 3 และ 5 จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (100x, Bar = 100 μm)

ตารางที่ 19 แสดงให้เห็นว่าเมื่อเติมน้ำตาลซูโครสลงในเจลสตาร์ชข้าว น้ำตาลซูโครสจะไปจับกับโมเลกุลของน้ำในระบบเจลสตาร์ช เมื่อนำไปแช่เยือกแข็งส่วนของน้ำที่แข็งตัวได้จึงมีปริมาณน้อยลง ทำให้ผลึกน้ำแข็งเกิดน้อยลง ดังนั้นรูพรุนจากผลึกน้ำแข็งที่เกิดขึ้นเนื่องจากผลึกน้ำแข็งมีน้อยลง และความหนาในส่วน

ของเมทริกซ์รอบ ๆ รูมีความหนามากขึ้น ซึ่งผลที่ได้ให้ผลที่สอดคล้องกับโครงสร้างระดับจุลภาคและค่าการแยกของของเหลว

ตารางที่ 19 ปริมาณน้ำที่แข็งตัวได้ในระบบเจลสตาร์ชข้าวที่เติมน้ำตาลซูโครส (Su) ที่ความเข้มข้น 0-20 %

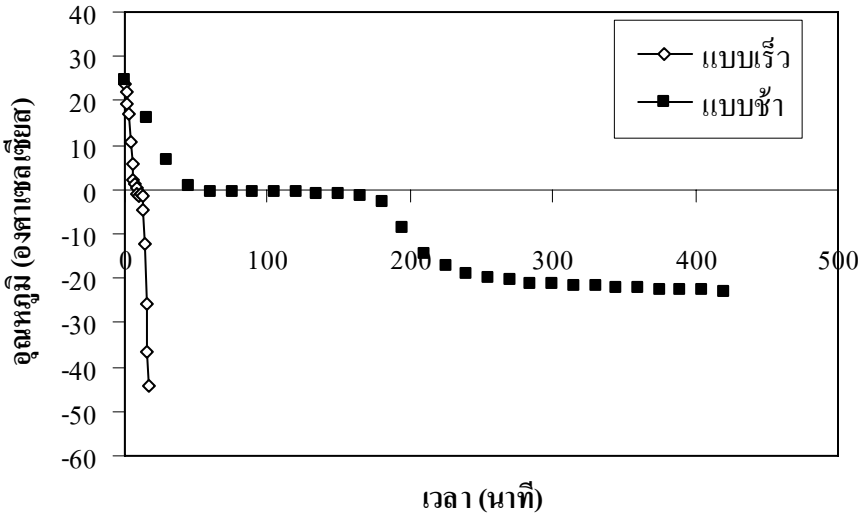
ตัวอย่าง	ปริมาณน้ำที่แข็งตัวได้ (กรัมน้ำ/กรัมของแข็ง)
Rice starch	1.638 ± 0.008 a
Rice starch + 10% sucrose	1.157 ± 0.005 b
Rice starch + 20% sucrose	0.842 ± 0.006 c

หมายเหตุ - ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

- ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรเล็กที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

3.5 การเติมผงบุก-คอนยักกลูโคแมนแนน น้ำตาลซูโครสและอัตราเร็วในการแช่เยือกแข็ง

ในการแช่เยือกแข็งตัวอย่างเจลสตาร์ชได้ใช้อัตราเร็วในการแช่เยือกแข็ง 2 ระดับ คือแบบเร็วซึ่งมีอัตราการแช่เยือกแข็งประมาณ 4 °ซ/นาที และแบบช้า ซึ่งมีอัตราการแช่เยือกแข็งประมาณ 0.1 °ซ/นาที การลดลงของอุณหภูมิตัวอย่างแสดงในภาพที่ 10



ภาพที่ 10 แผนภาพการแช่เยือกแข็งด้วยอัตราการแช่เยือกแข็งแบบช้าและแบบเร็วของเจลสตาร์ช

เจลสตาร์ชข้าวที่แช่เยือกแข็งด้วยอัตราการแช่เยือกแข็งแบบเร็วมีค่าการแยกของของเหลวน้อยกว่าเจลสตาร์ชข้าวที่แช่เยือกแข็งด้วยอัตราการแช่เยือกแข็งแบบช้า (ตารางที่ 20) ทั้งนี้เนื่องจากการแช่เยือกแข็งด้วยอัตราการแช่เยือกแข็งแบบเร็วจะทำให้ระบบผ่านสภาวะรับเบอรี่ (rubbery) ซึ่งเป็นช่วงที่มีการเกิดนิวเคลียสและการโตของผลึกไปได้อย่างรวดเร็ว จึงช่วยลดการเกิดรีโทรเกรเดชันของแอมิโลสและแอมิโลเพกทินลงได้ (Ferrero *et al*., 1994) สำหรับค่าการแยกของของเหลวของเจลสตาร์ชข้าวที่แช่เยือกแข็งด้วยอัตราการแช่เยือก

แข็งแบบช้า พบว่าการเติมคอนยักกลูโคแมนแนนสามารถลดค่าเปอร์เซ็นต์การแยกของของเหลวของเจลสตาร์ชข้าวที่เติมและไม่เติมน้ำตาลได้ โดยเจลสตาร์ชข้าวที่เติมคอนยักกลูโคแมนแนนร่วมกับซูโครสจะมีประสิทธิภาพในการลดการแยกของของเหลวออกจากเจลมากที่สุด จากผลการทดลองดังกล่าวคาดว่าคอนยักกลูโคแมนแนนสามารถขัดขวางการเกิดรีโทรเกรเดชันของแอมิโลสได้

ตารางที่ 20 ค่าการแยกของของเหลวของเจลสตาร์ชที่ผ่านการแช่เยือกแข็งด้วยอัตราการแช่เยือกแข็งแบบช้าและแบบเร็ว

ตัวอย่าง	อัตราการแช่เยือกแข็ง	ค่า % การแยกของของเหลว ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน) 0	7	21	45
RS	ช้า	58.12 ^{eA} ± 0.63	59.38 ^{eA} ± 0.22	59.01 ^{A} ± 1.06	59.11 ^{eA} ± 1.71
RS + 10% Su		24.36 ^{dA} ± 0.72	24.16 ^{dA} ± 2.09	24.47 ^{dA} ± 0.82	25.65 ^{dA} ± 0.39
RS + 0.5% KGM		25.45 ^{dA} ± 1.98	25.62 ^{dA} ± 1.16	25.82 ^{eA} ± 1.12	25.93 ^{dA} ± 1.20
RS + 0.5% KGM + 10% Su		0.50 ^{aA} ± 0.06	0.51 ^{abA} ± 0.12	0.54 ^{aA} ± 0.11	0.54 ^{aA} ± 0.12
RS	เร็ว	22.47 ^{cA} ± 0.98	23.57 ^{dA} ± 2.76	22.95 ^{cA} ± 0.21	22.25 ^{cA} ± 0.20
RS + 10% Su		3.65 ^{bA} ± 0.39	3.94 ^{cA} ± 0.14	3.51 ^{bA} ± 0.40	3.67 ^{bA} ± 0.58
RS + 0.5% KGM		0.41 ^{aA} ± 0.01	0.41 ^{abA} ± 0.01	0.41 ^{aA} ± 0.01	0.40 ^{aA} ± 0.01
RS + 0.5% KGM + 10% Su		0.10 ^{aA} ± 0.00	0.10 ^{aA} ± 0.00	0.27 ^{aB} ± 0.05	0.28 ^{aB} ± 0.06

หมายเหตุ - ค่าเฉลี่ยคิดจากการวิเคราะห์ 3 ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
- ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรใหญ่ที่เหมือนกันในแนวนอนไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)
- ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรเล็กที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

เจลสตาร์ชข้าวที่แช่เยือกแข็งด้วยอัตราการแช่เยือกแข็งแบบเร็วมีค่าความแข็งของเจลน้อยกว่าเจลสตาร์ชข้าวที่แช่เยือกแข็งด้วยอัตราการแช่เยือกแข็งแบบช้า (ตารางที่ 21) สำหรับค่าความแข็งของเจลสตาร์ชข้าวที่แช่เยือกแข็งด้วยอัตราการแช่เยือกแข็งแบบช้า พบว่าสภาวะที่เติมคอนยักกลูโคแมนแนน หรือ ซูโครส และคอนยักกลูโคแมนแนนร่วมกับซูโครสลดค่าความแข็งของเจลสตาร์ชได้

ตารางที่ 21 ค่าความแข็งของเจลสตาร์ชที่ผ่านการแช่เยือกแข็งด้วยอัตราการแช่เยือกแข็งแบบช้าและแบบเร็ว

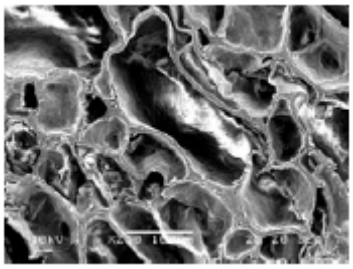
ตัวอย่าง	อัตราแช่เยือกแข็ง	ค่าความแข็งของเจล (นิวตัน) ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)				
		ก่อนแช่เยือกแข็ง	0	7	21	45
RS	ช้า	0.390 ^{bA} ± 0.115	6.239 ^{gB} ± 0.392	6.538 ^{fB} ± 0.305	6.639 ^{gB} ± 0.316	6.546 ^{dB} ± 0.579
RS + 10% Su		0.220 ^{aA} ± 0.011	3.956 ^{eBC} ± 0.307	3.696 ^{cB} ± 0.623	4.295 ^{dC} ± 0.116	4.585 ^{cD} ± 0.318
RS + 0.5% KGM		0.361 ^{bA} ± 0.034	3.976 ^{eB} ± 0.375	4.929 ^{eC} ± 0.145	5.228 ^{fC} ± 0.124	4.934 ^{cC} ± 0.341
RS + 0.5% KGM + 10% Su		0.164 ^{aA} ± 0.022	1.144 ^{bB} ± 0.183	2.512 ^{bC} ± 0.214	2.935 ^{bD} ± 0.069	3.012 ^{aD} ± 0.105
RS	เร็ว	0.390 ^{bA} ± 0.115	4.525 ^{fBC} ± 0.249	4.354 ^{dB} ± 0.287	4.735 ^{eC} ± 0.115	4.785 ^{cC} ± 0.105
RS + 10% Su		0.220 ^{aA} ± 0.011	3.222 ^{cB} ± 0.072	3.237 ^{cB} ± 0.149	3.502 ^{cC} ± 0.056	3.708 ^{bD} ± 0.154
RS + 0.5% KGM		0.361 ^{bA} ± 0.034	3.351 ^{cdB} ± 0.173	3.491 ^{cBC} ± 0.111	3.634 ^{cC} ± 0.237	3.896 ^{bD} ± 0.111
RS + 0.5% KGM + 10% Su		0.164 ^{aA} ± 0.022	0.571 ^{aB} ± 0.068	0.720 ^{aB} ± 0.101	2.676 ^{aC} ± 0.021	2.693 ^{aC} ± 0.221

หมายเหตุ - ค่าเฉลี่ยคิดจากการวิเคราะห์ 5 ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

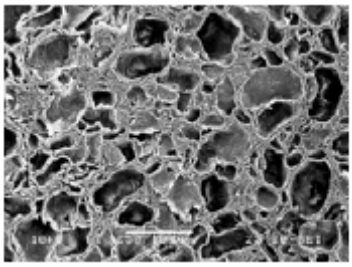
- ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรใหญ่ที่เหมือนกันในแนวนอนไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)
- ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรเล็กที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

โครงสร้างระดับจุลภาคของเจลสตาร์ชข้าวที่แช่เยือกแข็งด้วยอัตราการแช่เยือกแข็งแบบเร็ว (ภาพที่ 11 จ –ซ) แสดงถึงรูพรุนที่เกิดจากผลึกน้ำแข็งที่มีขนาดเล็กและสม่ำเสมอกว่าเจลสตาร์ชข้าวที่แช่เยือกแข็งด้วยอัตราการแช่เยือกแข็งแบบช้า (ภาพที่ 11 ก – ง) นอกจากนี้เจลสตาร์ชที่แช่เยือกแข็งอย่างช้ามีส่วนของเมทริกซ์รอบ ๆ รูพรุน (pore) จากผลึกน้ำแข็งของเจลสตาร์ช มาอัดตัวกันแน่นขึ้นเนื่องจากผลึกน้ำแข็งที่มีขนาดใหญ่และการเกิดรีโทรกราเดชัน ดังนั้นเมื่อนำตัวอย่างเจลสตาร์ชทั้งสองไปหาค่าการแยกตัวของของเหลว พบว่า เจลสตาร์ชที่แช่เยือกแข็งด้วยอัตราการแช่เยือกแข็งแบบเร็วมีค่าการแยกของของเหลวน้อยกว่าเจลสตาร์ชที่แช่เยือกแข็งด้วยอัตราการแช่เยือกแข็งแบบช้า การเติมคอนยักกลูโคแมนแนน 0.5% และน้ำตาลซูโครส 10% ช่วยลดการเกิดโครงสร้างแบบฟองน้ำในเจลสตาร์ชข้าวที่แช่เยือกแข็งอย่างช้า แต่มีผลน้อยกว่าในการแช่เยือกแข็งแบบเร็ว ซึ่งผลดังกล่าวนี้ช่วยอธิบายผลการแยกตัวของของเหลวและความแข็งของเจลสตาร์ชข้าว

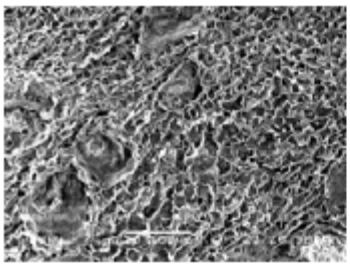
อัตราการแช่เยือกแข็งแบบช้า



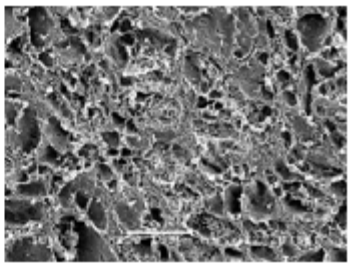
(ก) สตาร์ชข้าว 8 %



(ข) สตาร์ชข้าว 8 % + ซูโครส 10%

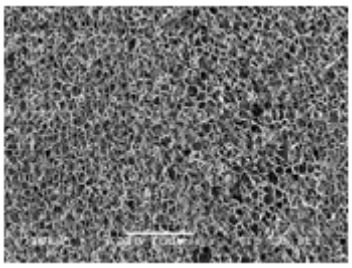


(ค) สตาร์ชข้าว 8 %+
คอนยักกลูโคแมนแนน 0.5 %

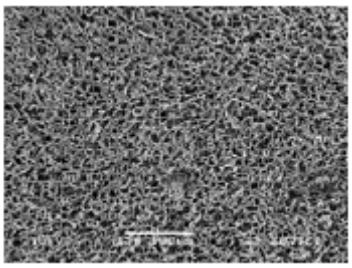


(ง) สตาร์ชข้าว 8 % +
คอนยักกลูโคแมนแนน 0.5% +
ซูโครส 10 %

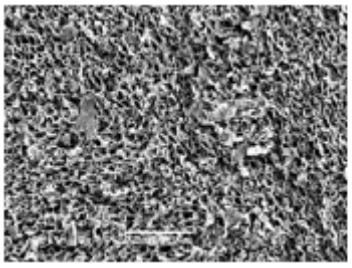
อัตราการแช่เยือกแข็งแบบเร็ว



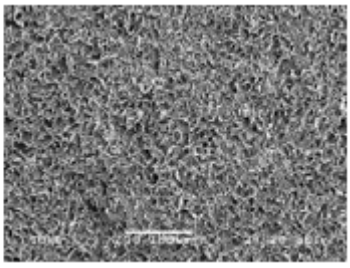
(จ) สตาร์ชข้าว 8 %



(ฉ) สตาร์ชข้าว 8 % + ซูโครส 10%



(ช) สตาร์ชข้าว 8 %+
คอนยักกลูโคแมนแนน 0.5 %



(ซ) สตาร์ชข้าว 8 % +
คอนยักกลูโคแมนแนน 0.5% +
ซูโครส 10 %

<u>ภาพที่ 11</u> โครงสร้างระดับจุลภาคของเจลสตาร์ชข้าวที่เติมคอนยักกลูโคแมนแนนและน้ำตาลซูโครสที่แช่เยือกแข็งแบบช้าและเร็วและเก็บรักษานาน 21 วัน จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (250x, Bar = 100 μm)

4. กลไกการเกิดและการลดลักษณะโครงสร้างฟองน้ำในเจลสตาร์ชข้าวด้วยการเติมคอนยักกลูโคแมนแนน แป้งข้าวเหนียว และสตาร์ชมันสำปะหลัง

4.1 กลไกการเกิดโครงสร้างแบบฟองน้ำในเจลสตาร์ชข้าวแช่เยือกแข็ง

การเกิดโครงสร้างแบบฟองน้ำในเจลสตาร์ชข้าวหลังการแช่เยือกแข็งและทำละลาย คือมีรูพรุนซึ่งเกิดจากผลึกน้ำแข็งที่ก่อตัวขึ้นในระหว่างการแช่เยือกแข็งและฝังตัวอยู่ในเมทริกซ์รอบ ๆ รูพรุน จะเห็นได้ว่า เมื่อแช่เยือกแข็งอย่างช้า ผลึกน้ำแข็งมีขนาดใหญ่ รูพรุนก็จะมีขนาดใหญ่ตามไปด้วย นอกจากนี้การแช่เยือกแข็งอย่างช้าทำให้สตาร์ชเกิดการรีโทรกราเดชันมาก เมทริกซ์จะมีความหนามากกว่าในเจลสตาร์ชที่ผ่านการแช่เยือกแข็งแบบเร็ว

4.2 กลไกการลดลักษณะโครงสร้างฟองน้ำในเจลสตาร์ชข้าวแช่เยือกแข็งด้วยการเติมคอนยักกลูโคแมนแนน

ผลจากการทดลองทำให้สันนิษฐานว่า

เมื่อเติมคอนยักกลูโคแมนแนนลงในเจลสตาร์ชข้าว ทำให้เม็ดสตาร์ชที่พองตัวกระจายตัวกันในลักษณะเป็นโครงข่าย (network) อยู่ในเฟสที่ข้นหนืดซึ่งอาจเกิดจากโมเลกุลของคอนยักกลูโคแมนแนนเกิดอันตรกิริยากับแอมิโลสที่ออกมาจากเม็ดสตาร์ชข้าวที่พองตัว การกระจายตัวดังกล่าวนี้ช่วยลดการเกิดรีโทรกราเดชันของเจลสตาร์ชจากการแช่เยือกแข็งและทำละลาย ทำให้ลักษณะโครงสร้างแบบฟองน้ำเกิดน้อยลง

4.3 กลไกการลดลักษณะโครงสร้างฟองน้ำในเจลสตาร์ชข้าวแช่เยือกแข็งด้วยการเติมแป้งข้าวเหนียว

ผลจากการทดลองทำให้สันนิษฐานว่า

เมื่อเติมแป้งข้าวเหนียวลงในเจลสตาร์ชข้าวและให้ความร้อนในระหว่างการเตรียมเจล ทำให้เม็ดสตาร์ชข้าวเหนียวที่มีการพองตัวสูงกว่าเม็ดสตาร์ชข้าวพองตัวปกคลุมปกคลุมเม็ดสตาร์ชข้าวที่พองตัวน้อยกว่า ซึ่งคาดว่าลักษณะดังกล่าวจะช่วยลดการจับตัวของโมเลกุลสตาร์ชจากการแช่เยือกแข็งและทำละลาย ทำให้ลักษณะโครงสร้างแบบฟองน้ำเกิดน้อยลง

4.4 กลไกการลดลักษณะโครงสร้างฟองน้ำในเจลสตาร์ชข้าวแช่เยือกแข็งด้วยการเติมสตาร์ชมันสำปะหลัง

ผลจากการทดลองทำให้สันนิษฐานว่า

เมื่อเติมสตาร์ชมันสำปะหลังลงในเจลสตาร์ชข้าวและให้ความร้อนในระหว่างการเตรียมเจล เม็ดสตาร์ชที่พองตัวของสตาร์ชมันสำปะหลัง (แต่ไม่พองตัวมากเหมือนของแป้งข้าวเหนียว) ช่วยเชื่อมต่อเม็ดสตาร์ชข้าวให้กระจายตัวมากขึ้น ซึ่งโครงสร้างดังกล่าวนี้จะช่วยลดการเกิดโครงสร้างแบบฟองน้ำในเจลสตาร์ชหลังคืนรูปจากเยือกแข็งลงได้

5. เอกสารอ้างอิง

กรมการค้าภายใน. 2548. สถานการณ์ข้าวสถานการณ์สินค้าส่งออก: สถานการณ์ข้าว.

แหล่งที่มา: http://www.dft.moc.go.th, 10 สิงหาคม 2548

รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต. 2535. **วิศวกรรมการแปรรูป: การถนอมอาหาร.** โอ.เอส.พริ้นติ้งเฮาส์, กรุงเทพฯ.

วิไล รังสาดทอง. 2546. **เทคโนโลยีการแปรรูปอาหาร**. พิมพ์ครั้งที่ 3. ภาควิชาเทคโนโลยี

อุตสาหกรรมเกษตร. คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนคร เหนือ, กรุงเทพฯ.

สายสนม ประดิษฐดวง. 2546. **กระบวนการแช่เยือกแข็งอาหาร**, น. 154-186. ในคณาจารย์ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร, ผู้รวบรวม. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ไพบูลย์ ธรรมรัตน์วาสิก. 2532. **กรรมวิธีการแปรรูปอาหาร**. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.

A.A.C.C. 2000. Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists. 10th ed., American Association of Cereal chemists, St. Paul, MN.

A.O.A.C. 2000. **Official Method of Analysis.** 17th ed., The Association of official Analytical Chemists, Arlington, Virginia.

Arunyanart, T. and S. Charoenrein. 2008. Effect of sucrose on the freeze-thaw stability of rice starch gels: Correlation with microstructure and freezable water. **Carbohydrate Polymers** 74: 514-518

Charoenrein S and Preechathammawong N. 2010. Undercooling associated with slow freezing and its influence on the microstructure and properties of rice starch gel. **Journal of Food Engineering** 100: 310–314.

Charoenrein S, Tatirat O and Muadklay J. 2008. Use of centrifugation – filtration for determination of syneresis in freeze-thaw starch gels**. Carbohydrate Polymers** 73: 143-147.

Ferrero, C. and N.E. Zaritzky. 2000. Effect of freezing rate and frozen storage on starch-sucrose-hydrocolloid system. **Journal Science of Food and Agriculture** 80:2149-2158.

Ferrero, C., M.N. Martino and N.E. Zaritzky. 1994. Corn Starch-xanthan gum and it effect on the stability during storage of frozen gelatinized suspensions. **Starch/Stärke** 46: 300-308.

Holmes, Z.A. and A. Solender. 1981. Macrostructure of selected raw starches and selected heated starch dispersion. **J. American Dietetic Association**. 78: 153-160.

Ishihara, S., Nakauma, M., Funami, T., Nakaura, Y., Inouchi, N. and Nishinari, K. 2010. Functions of gum Arabic and soybean soluble polysaccharide in cooked rice as a texture modifier. **Bioscience, Biotechnology, Biochemistry**, 74, 101-107.

Juliano, B.O. 1971. A simplified assay for milled-rice amylose. **Cereal Science Today** 16: 334-360.

Lee, M.H., M.H. Baek, D.S. Cha, H.J. Park snd S.T. Lim. 2002. Freeze-thaw stabilization of sweet potato starch gel by polysaccharide gums. **Food Hydrocolloids**. 16: 345-352.

Rahman, M.S. 1999. **Food preservation by freezing**. In M. S. Rahman, Handbook of food preservation. New York: Marcel Dekker. 259-284 p.

Rojas, J. A., Rosell, C. M., and Benidito de Barber, C. 1999. Pasting properties of different wheat

flour–hydrocolloid systems. **Food Hydrocolloids,** 13, 27–33.

Satmalee, P.and Charoenrein, S. 2009. Acceleration of ageing in rice stick noodle sheets using low temperature. **International Journal of Food Science and Technology** 44, 1367-1372.

Schoch, T.J.1968. Effect of freezing and cold storage on pasted starchs, pp. 44-56. In D.K. Tressler, W.B.V. Arsdel and M.J. Copley,eds. **The Freezing Preservation of Foods.** The AVI Publishing Company, Inc., Connecticut.

Output ที่ได้จากโครงการ

1. ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ

1. **Charoenrein S**, Tatirat O and Muadklay J. Use of centrifugation – filtration for determination of syneresis in freeze-thaw starch gels**.** *Carbohydrate Polymers* **2008**; 73: 143-147. *(Impact Factor (2009) = 3.167)*

2. Arunyanart T and **Charoenrein S**. Effect of sucrose on the freeze–thaw stability of rice starch gels: Correlation with microstructure and freezable water. *Carbohydrate Polymers* **2008**: 514- 518. *(Impact Factor (2009) = 3.167)*

3. **Charoenrein S** and Preechathammawong N. Undercooling associated with slow freezing and its influence on the microstructure and properties of rice starch gel. *Journal of Food Engineering* **2010**; 100: 310–314. *(Impact Factor (2009) = 2.313)*

5. **Charoenrein S**, Tatirat O, Rengsutthi K and Thongngam M. Effect of konjac glucomannan on syneresis, textural properties and the microstructure of frozen rice starch gels *Carbohydrate Polymers* (inpress). *(Impact Factor (2009) = 3.167)*

หมายเหตุ บทความที่ 1 เกิดจากการทดลองหาวิธีการตรวจหา % การแยกตัวของน้ำจากเจลสตาร์ชแช่เยือกแข็งและทำละลาย และพบว่าวิธีการใหม่นี้ลดการแปรปรวนของผลได้ดี จึงนำมาเขียนเป็นบทความ ส่วนบทความที่ 3 เกิดจากการสังเกตุในระหว่างการทดลองและเห็นว่าเป็นประเด็นที่น่าสนใจ จึงนำมาเขียนเป็นบทความ

2. การเผยแพร่ผลงานวิจัยในการประชุมวิชาการระดับนานาชาติ

1. **Charoenrein, S.** and Tatirat, O. 2007. Effect of konjac glucomannan on stability of frozen rice starch gel. 10th Asean Food conference. 21-23 August 2007. Kuala Lumpur, Malaysia.

2. **Charoenrein, S**., Tatirat, O. and Muadklay, J. 2008. New and simple method for determination of syneresis in freeze-thaw starch gels. 9th International Hydrocolloids Conference. 15-19 June 2008. Singapore.

3. **Charoenrein S**, Rengsutthi K and Tatirat O. 2010. Freeze–thaw stability and microstructure of starch gel: Influence of type of starches, sugars and freezing rate. XVIII International Starch Convention Moscow-Cracow 2010. 20-26 June 2010. Cracow, Poland.

3. การเผยแพร่ผลงานวิจัยในการประชุมวิชาการระดับชาติ

1. Preechathammawong N and **Charoenrein S.** 2008. Effects of waxy rice flour and freezing rate on freeze-thaw stability of rice starch gel. The 34th Congress on Science and Technology of Thailand (STT 34), October 31-November 2, 2008, Bangkok, Thailand.

2. Arunyanart T and **Charoenrein S.** 2008. Effects of sucrose, xylitol and konjac glucomannan on stability of frozen rice starch gels. The 34th Congress on Science and Technology of Thailand (STT 34), October 31-November 2, 2008, Bangkok, Thailand.

4. การนำผลงานไปใช้ประโยชน์ด้านการเรียนการสอน

งานวิจัยนี้เป็นประโยชน์ต่อการเรียนการสอนด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหารทั้งในระดับปริญญาตรีและบัณฑิตศึกษา

5. ผลิตนิสิตระดับปริญญาโท เอก จำนวน 3 คน

1. นายธันยบูรณ์ อรัญนารถ ระดับปริญญาโท
วิทยานิพนธ์เรื่อง การปรับปรุงคุณภาพของเจลสตาร์ชข้าวแช่เยือกแข็งด้วยคอนยักกลูโคแมน-แนนและน้ำตาลชนิดต่างๆ

2. นางสาวณัฐสุดา ปรีชาธรรมวงศ์ ระดับปริญญาโท
วิทยานิพนธ์เรื่อง การปรับปรุงคุณภาพของเจลสตาร์ชข้าวแช่เยือกแข็งด้วยสตาร์ชมันสำปะหลังและแป้งข้าวเหนียว

3. นางสาวอรวรรร ตติรัตน์ ระดับปริญญาเอก (โครงการปริญญาเอกกาญจนาภิเษก)
วิทยานิพนธ์เรื่อง Influence of Extrusion Process on Physicochemical Properties of Konjac Glucomannan (เป็นงานวิจัยที่มีจุดเริ่มต้นจากผลงานวิจัยของโครงการนี้)

6. การผลิตนักวิจัย/ผู้ช่วยวิจัย จำนวน 3 คน

นางสาวอรวรรร ตติรัตน์
นางสาวจรรยา หมวดคลาย
นางสาวเกษกัญญา เร่งสุทธิ

ภาคผนวก

Available online at www.sciencedirect.com
ScienceDirect
Carbohydrate Polymers 73 (2008) 143–147
Carbohydrate Polymers
www.elsevier.com/locate/carbpol

Use of centrifugation–filtration for determination of syneresis in freeze–thaw starch gels

Sanguansri Charoenrein *, Orawan Tatirat, Janya Muadklay

Faculty of Agro-Industry, Department of Food Science and Technology, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

Received 4 August 2007; received in revised form 31 October 2007; accepted 8 November 2007
Available online 17 November 2007

Abstract

Several methods for measuring the freeze–thaw stability of starch gels can lead to inaccurate and imprecise estimates of syneresis due to partial reabsorption of separated water by spongy starch gels. This study evaluates a method that combines centrifugation with simultaneous separation of released water through a separator and filter paper. The evaluation procedure used low- and high-amylose rice flour gels treated to 5 freeze–thaw cycles. The traditional centrifugation method was unable to detect significant increases in syneresis ($p < .05$) of medium-amylose gel after 4 freeze–thaw cycles due to formation of a water reabsorbing spongy structure in 4–5 cycles. For high-amylose flour gel, which forms a spongy structure after the first freeze–thaw cycle, the traditional method did not detect significant change in syneresis values in any of the freeze–thaw cycles. In contrast, the centrifugation–filtration method, which actively separated released water and prevented its reabsorption, detected significant increases ($p < .05$) in syneresis with each cycle for medium-amylose flour gels. When using this method with high-amylose flour gel, we detected high syneresis values after the first cycle which stayed similar through 2–5 cycles indicating a progressive reduction in freeze–thaw stability of the samples which is consistent with the fact that high-amylose rice flour gels have less freeze–thaw stability than do gels made from medium-amylose flour. In conclusion, this study demonstrated that the centrifugation–filtration method measures syneresis with increased accuracy and precision. The authors recommend adoption of this method for determination of freeze–thaw stability in starch gels.
© 2007 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Keywords: Syneresis; Freeze–thaw; Stability; Starch; Gels

1. Introduction

As demand for ready-to-eat food products increases, a variety of frozen foods are continually launched into world markets. Upon freezing, however, water in the foods transforms into ice, often resulting in physical stress to the food matrix. When a frozen food is thawed for consumption, the moisture is readily separated from the matrix and it causes softening of the texture, drip loss, and often deterioration of overall quality (Rahman, 1999).

In the freezing process, when starch pastes or gels are frozen, phase separation occurs upon formation of ice crystals. Upon thawing, a phenomenon known as syneresis occurs with starch pastes and gels because the water can be easily expressed from the dense network (Karim, Norziah, & Seow, 2000). Repeating the cycle of freezing and thawing enforces the phase separation and ice growth (Eliasson & Kim, 1992). As the ice crystals become larger, the syneresis and sponge formation occur more readily. Syneresis in freeze-thawed gel is due to the increase of molecular association between starch chains, in particular retrogradation of amylose (Morris, 1990), expelling water from gel structure (Saartratra, Puttanlekb, Rungsardthong, & Uttapap, 2005). Thus the amount of syneresis is a useful indicator for the tendency of starch to retrograde (Karim et al., 2000).

Freeze–thaw stability is an important property that is used to evaluate the ability of starch to withstand the undesirable physical changes occurring during freezing and

* Corresponding author. Tel.: +66 2 562 5027; fax: +66 2 562 5021.
E-mail address: fagisscr@ku.ac.th (S. Charoenrein).

0144-8617/$ - see front matter © 2007 Elsevier Ltd. All rights reserved.
doi:10.1016/j.carbpol.2007.11.012

thawing. This property may be simply evaluated by gravimetric measurement of the water of syneresis that separates from starch pastes or gels (Schoch, 1968; Wu & Seib, 1990). Repeated freeze–thaw cycles that involve subjecting samples to repeated freezing and intermittent thawing to room temperature over a period of 2–4 h are known to drastically accelerate retrogradation and syneresis (Radley, 1976).

Several syneresis based measures for determination of the freeze–thaw stability of starches have been reported. However, the procedures for these methods have not been standardized. In general, methods for measuring syneresis fall into four groups. The most widely used group uses centrifugation (Lee, Kim, Park, & Lee, 2006; Schoch, 1968; Varavinit, Shobsngob, Varanyanond, Chinachoti, & Naivikul, 2002; Yeh & Yeh, 1993; Yuan & Thompson, 1998). In this method, the weight of water extruded by centrifugation at 1000–8000*g* is used to measure syneresis as the percent reduction of the original gel mass (Yeh & Yeh, 1993). However, the result of syneresis measurement taken after a fixed number of freeze–thaw cycles may lead to improper or misleading conclusions since some starch pastes subjected to several freeze–thaw cycles may partially reabsorb separated liquid upon standing for a short time at room temperature.

The second group uses vacuum filtration of the freeze–thaw gel samples through the filter paper with a constant weight placed upon the sample during filtration. The extent of syneresis is calculated as weight percent of water loss based on the initial water content in the gel (Lee, Baek, Cha, Park, & Lim, 2002).

The third group uses gravimetric drip of expelled water from the thawed gels. In this method the thawed starch gel was placed into a glass funnel, allowing the water to drip out for 2 h by gravity (Chen, Schols, & Voragen, 2003).

The fourth group uses the measurement of diameter of the released water front on the filter paper from contacting the freeze–thaw sample with controlled time. The extent of syneresis is calculated as difference in diameter of released water front of the freeze–thaw sample and unfrozen sample after a controlled time as compared with the diameter at the initial contact time (Ferrero, Martino, & Zaritzky, 1994).

The second, third, and fourth methods could partially prevent or eliminate the problem of re-absorption of extruded water; however, these methods either consist of complicated steps or require a long time to perform. Moreover, if the measurement conditions are not properly controlled, the results will lack precision.

In this paper, we present an alternative approach to separate the released water by combined method of low force centrifugation with simultaneous separation of the extruded water through a drilled hole separator and filter paper. Two types of rice flour with medium- and high-amylose content were used to verify our proposed techniques. Both rice flour pastes exhibited different frozen structure after being subjected to repeated freeze–thaw cycles. The traditional and widely used method with centrifugation was selected to compare with our proposed method. These two methods measure the released water after freeze–thaw starch gel was subjected to a centrifugal force.

2. Materials and methods

2.1. Materials

Two varieties of Thai rice Khao Dok Mali 105-KDML105 and Luang 11-L11 from the Kalasin province were selected for the study. The crude rice was stored for six months prior to milling in Karasin Rung Rueng Rice Mill Factory. Rice was wet milled and then dried at 45 °C for 5 h. Resulting flours were then ground in a hammer mill and passed through a 100 mesh sieve. The granule size of KDML 105 was 2.8–5.1 μm with mean diameter of $3.8 \pm .7$ μm and L11 was 2.3–5.6 μm with mean diameter of $3.9 \pm .9$ μm. KDML 105 and L11 rice flour contained 7.68 and 10.59% moisture and 17.58 and 32.48% amylose contents, respectively (AACC, 2000).

2.2. Flour gel preparation

Rice flour suspensions (9% total solid w/w wet basis) were prepared by mixing the starch in distilled water and stirring continuously at 250 rpm for 1 h followed by 200 rpm at 85 °C for 25 min. The suspensions were then loaded into 10 ml syringes (20 mm in diameter) and steamed for 9 min. Finally, the samples were placed in an incubator at 25 °C for 2 h.

2.3. Freezing and thawing

Flour gel samples were frozen in chest freezer at −18 °C for 22 h and then thawed at room temperature for 2 h. This freeze–thaw cycle was repeated for up to 5 cycles.

2.4. Syneresis measurement

Two methods for measuring syneresis were compared. For method 1, thawed flour gel samples were removed from the syringes and put in centrifuge tubes with closed screw caps. Samples were centrifuged at 8000*g* for 15 min. The supernatant was decanted and the residue was weighed. The percentage of syneresis was then calculated as follows:

$$\%\text{Syneresis} = \frac{\text{Weight of separated liquid from gel}}{\text{Total wt. of gel before centrifuging}} \times 100$$

For method 2, the syneresis was determined in the cylindrical plastic tube with filter paper (Whatman No. 41) on the drilled holes (.7 mm diameter, 13 holes) at the bottom. The cylindrical plastic tube was placed in centrifuge tubes as shown in Fig. 1. Centrifuge tube (28×104 mm) was weighed (wt_0). A single piece of Whatman No. 41 filter paper (24 mm diameter) was placed at the bottom of the cylindrical plastic tube with cover, after which the tube

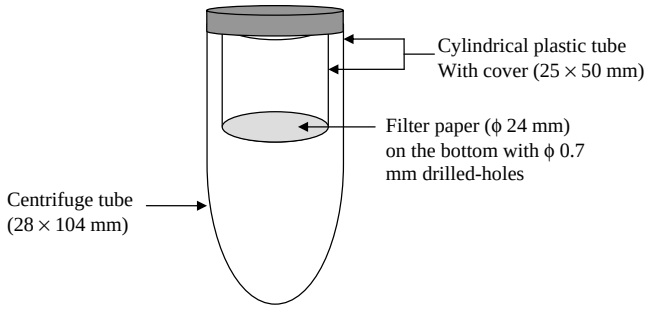


Fig. 1. Apparatus for centrifugation–filtration of gels (tube set).

set was weighed (wt_1). Thawed flour gels were added to each tube set (added into cylindrical plastic tube with cover) and the tube set with sample was weighed (wt_2) again. The tube was then centrifuged at 100*g* (centrifuge DAMON/IEC division) for 15 min. The cylindrical plastic tube with cover was pulled from centrifuge tube, before final weighing (wt_3). The liquid separated from starch gel was weighed and the syneresis percentage calculated as method 1. The data were reported as averages of five measurements.

2.5. Frozen structure by scanning electron microscope (SEM)

The freeze–thaw samples were cut and gradually dehydrated in 50, 70, 90%, and absolute ethanol at room temperature for 24 h at each concentration and finally dehydrated using a critical point dryer. The cut surface samples were mounted on the stub, coated with gold, and observed with a JSM-5600LV microscope (JEOL, England). The accelerating voltage and the magnification are shown on the micrographs.

2.6. Statistical analysis

We used a completely randomized design. The difference between means was determined using the Duncan's new multiple range test. All statistical analyses were performed using SPSS 12.0 for Windows.

3. Results and discussion

3.1. Structure of freeze–thaw gels

To elucidate the relationship between the syneresis and the structure of rice flour gels, the microstructure of freeze-thawed gels was examined using SEM. Specimen images are shown in Fig. 2. There were clear differences in microstructure in KDML105 and L11 flour gels after 1–3 freeze–thaw cycles. The freezing and thawing processes resulted in pores in the gels. However, for KDML 105, medium-amylose, flour gel treated with 1–3 freeze–thaw cycles appeared to have less well-defined pores embedded in a weak matrix and a texture that was similar in appearance to mashed wet tissue paper (Fig. 2a). In contrast, after 4–5 cycles, the texture of the flour gels changed to a sponge-like structure (Fig. 2b). The pores resulting from ice crystal formation and thawing were more clearly seen and the matrix surrounded pores were stronger due to increasing retrogradation of the starch matrix from repeated freeze–thaw cycles.

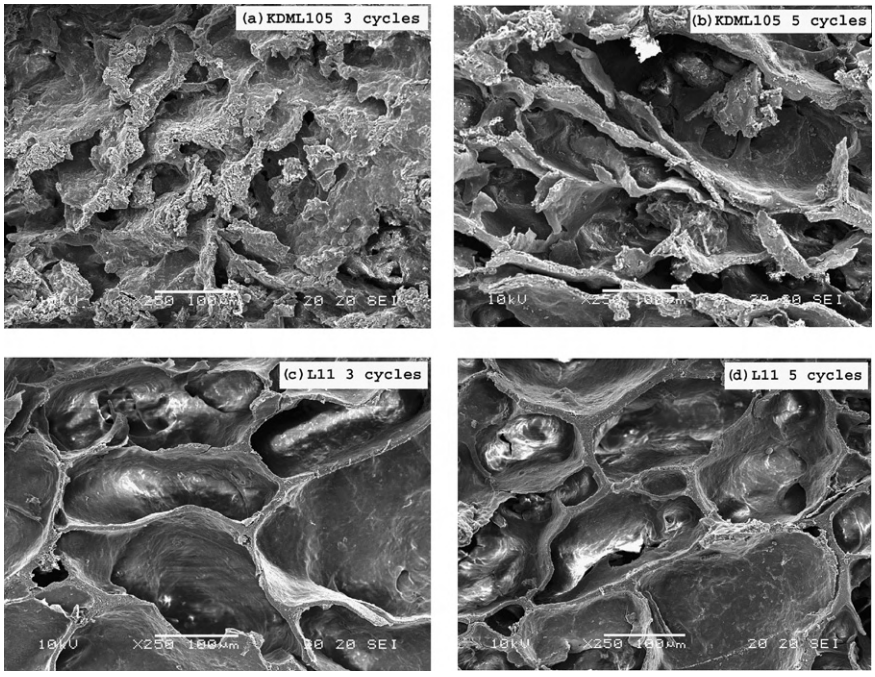


Fig. 2. SEM images of freeze–thaw rice flour gels. (a) KDML 105 after 3 cycles, (b) KDML 105 after 5 cycles, (c) L11 after 3 cycles, and (d) L11 after 5 cycles.

Table 1
Syneresis during freeze–thaw cycles for KDML 105 and L11 flour gels determined by method 1 (M1) and method 2 (M2)

Sample/method	Syneresis (%)[a]				
	1 cycle	2 cycle	3 cycle	4 cycle	5 cycle
KDML 105 M1	1.86 ± 2.53 a	14.67 ± 3.64 b	27.35 ± .56 c	7.65 ± 10.59 ab	6.98 ± 6.18 ab
KDML 105 M2	1.74 ± 1.49 a	3.75 ± .84 a	15.09 ± 6.07 b	32.79 ± 2.50 c	47.80 ± 2.48 d
L11 M1	3.79 ± 6.41 ns	5.62 ± 3.72	6.01 ± 3.86	6.03 ± 3.50	3.61 ± 3.05
L11 M2	59.46 ± 1.13 a	63.17 ± 1.36 b	64.86 ± 1.04 bc	66.16 ± .63 c	64.62 ± 3.20 bc

A significant letter in the same row of flour gel/method indicates the difference in each method ($p < .05$).
[ns]There is no significant difference ($p > .05$) among freeze–thaw cycle of each method.
[a] The values reported as means ± standard deviation.

Freeze-thawed L11, high-amylose, flour gels behaved differently. The well-defined spongy structure with termite gallery-like pores appeared after 1 freeze–thaw cycle, and there were no additional significant changes in frozen structure during 4 more cycles. The frozen structure of L11 flour gel cycles 3 and 5 is shown in Fig. 2c and d. The matrix surrounding the pores was thick and strong due to retrogradation of amylose.

3.2. Syneresis

Method 1 and method 2 show that both rice flour gels synerese after 1–5 freeze–thaw cycles. However, the results from each method differed (Table 1). Moreover, the standard deviations for results clearly show that method 1 results had much larger variation for both rice flour gels. This indicates that method 1 is less precise than method 2.

For KDML 105, medium-amylose rice flour, method 1 and method 2 resulted in similar syneresis after 1 freeze–thaw cycle. However, the results after 2–5 cycles using both methods were different. Method 1 resulted in significant increase of syneresis values ($p < .05$) from freeze–thaw cycles 1–3. However, after fourth and fifth freeze–thaw cycles the percentage of syneresis decreased. This decrease was likely from the changes in gel structure to sponge-like structure (Fig. 2b). This structure easily reabsorbed most of the extruded water if the water separation was too slow. Chen et al. (2003) state that the spongy structure made it difficult to measure the excluded water because, after centrifugation the sponge-like gel reabsorbed most of the separated liquid, which led to misleading results. Similarly, Yuan and Thompson (1998) also encountered the same problem in their research. Since the flour gel directly contacted the released water, separation of the water was difficult to control, leading to results with high standard deviations. In contrast, method 2 exhibited a continuous significant increase ($p < .05$) in the syneresis values with increasing freeze–thaw cycles. The flour gel with spongy structure from 4 to 5 freeze–thaw cycles could not reabsorb the extruded water back into the gel matrix since the extruded water was readily separated out from the gel and was collected at the bottom of the centrifuge tube. This result is reflected in the changes in gel structure from cycles 3 to 4 and 5 as shown in Fig. 2a and b.

For L11, high-amylose rice flour, method 1 resulted in nonsignificantly low syneresis values in all freeze–thaw cycles. This could be misleading. These rice flour gels showed a sponge-like structure since passing after the first freeze–thaw cycle and through the fifth freeze–thaw cycle (Fig. 2c and d). Again, method 1 could not separate extruded water fast enough before it was reabsorbed into the spongy gels. The large variation in results of each cycle was noticeable. On the other hand, method 2 resulted in high syneresis values after the first cycle and changed little through 2–5 freeze–thaw cycles. This indicates a reduction in freeze–thaw stability of the samples, which correlates to the fact that high-amylose rice flour gels are of less freeze–thaw stability than medium-amylose rice flour gels. Using method 1 could not clearly show this fact.

Another advantage of method 2 is that it used low centrifugal force of 100*g* which would not cause severe distortion to the freeze–thaw gel.

4. Conclusion

This study reported on the advantages of using a combination of centrifugation and filtration method for measuring syneresis in rice starch gels. This method has proved to be successful in determination of syneresis in freeze–thaw rice flour gels and offers important advantages over centrifugation method. The results obtained from medium- and high-amylose rice flour gels correlated well to the structure of freeze–thaw gels by SEM. Moreover, the results had less variation than those of traditional centrifugation method due to simultaneous separation of the released water.

Acknowledgements

Financial support from the Thailand Research Fund under project RSA 5080014 is acknowledged. The authors thank Andrew J. Mullard for reviewing the manuscript and Thunyaboon Arunyanart, Yupadee Poapun, and Sajjawat Charoenrien for SEM and graphic advice.

References

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

Chen, Z., Schols, H. A., & Voragen, A. G. J. (2003). Physicochemical properties of starches obtained from three varieties of Chinese sweet potatoes. *Journal of Food Science, 68*, 431–437.

Eliasson, A.-C., & Kim, H. R. (1992). Changes in rheological properties of hydroxypropyl potato starch pastes during freeze–thaw treatments. 1. A rheological approach for evaluation of freeze–thaw stability. *Journal of Texture Studies, 23*, 279–295.

Ferrero, C., Martino, M. N., & Zaritzky, N. E. (1994). Corn starch–xanthan gum interaction and its effect on the stability during storage of frozen gelatinized suspensions. *Starch/Stärke, 46*(8), 300–308.

Karim, A. A., Norziah, M. H., & Seow, C. C. (2000). Methods for the study of starch retrogradation. *Food Chemistry, 71*, 9–36.

Lee, M. H., Baek, M. H., Cha, D. S., Park, H. J., & Lim, S. T. (2002). Freeze–thaw stability of sweet potato gel by polysaccharide gums. *Food Hydrocolloids, 16*, 345–352.

Lee, K. Y., Kim, Y.-R., Park, K. H., & Lee, H. G. (2006). Effects of a-glucanotransferase treatment on the thermo-reversibility and freeze–thaw stability of a rice starch gel. *Carbohydrate Polymers, 63*, 347–354.

Morris, V. J. (1990). Starch gelation and retrogradation. *Trends in Food Science and Technology, 1*, 2–6.

Radley, J. A. (1976). *Industrial Uses of Starch and its Derivatives*. London: Applied Sciences Publishers.

Rahman, M. S. (1999). Food preservation by freezing. In M. S. Rahman (Ed.), *Handbook of Food Preservation* (pp. 259–284). New York: Marcel Dekker.

Saartratra, S., Puttanlekb, C., Rungsardthong, V., & Uttapap, D. (2005). Paste and gel properties of low-substituted acetylated canna starches. *Carbohydrate Polymers, 61*, 211–221.

Schoch, T. J. (1968). Effects of freezing and cold storage on pasted starches. In D. K. Tressler, W. B. van Arsdel, & M. J. Copley (Eds.). *The Freezing Preservation of Foods* (Vol. 4, pp. 44–56). Westport, CT: AVI.

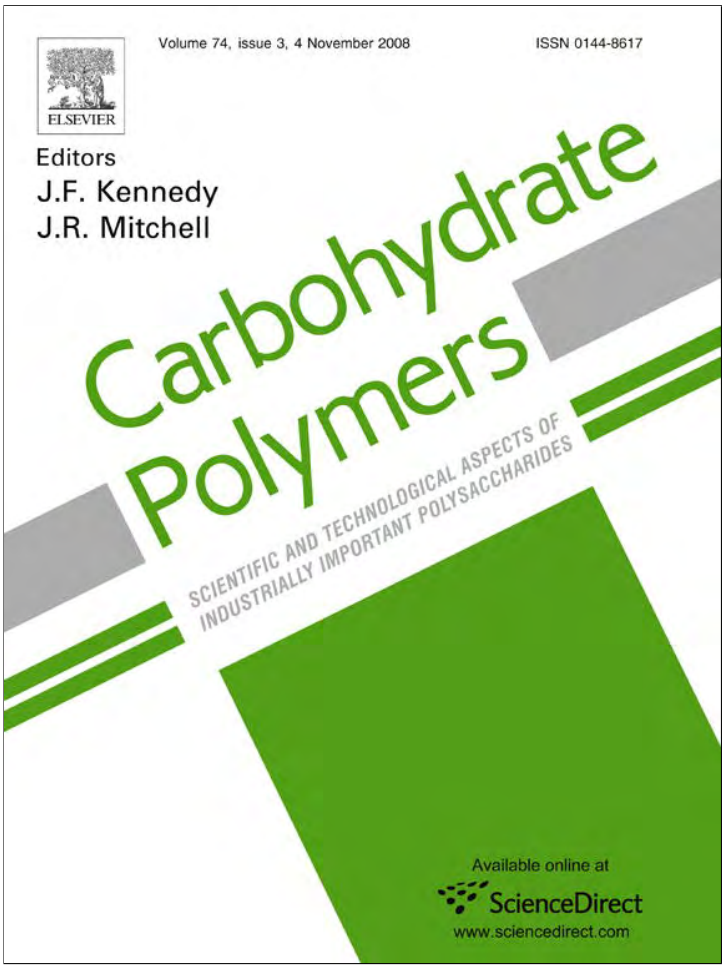
Varavinit, S., Shobsngob, S., Varanyanond, W., Chinachoti, P., & Naivikul, O. (2002). Freezing and thawing conditions affect the gel stability of different varieties of rice flour. *Starch/Stärke, 54*, 31–36.

Wu, S. H., & Seib, P. A. (1990). Acetylated and hydroxypropylated distarch phosphates from waxy barley: paste properties and freeze–thaw stability. *Cereal Chemistry, 67*, 202–208.

Yuan, R. C., & Thompson, D. B. (1998). Freeze–thaw stability of three waxy maize starch pastes measured by centrifugation and calorimetry. *Cereal Chemistry, 75*, 571–573.

Yeh, A.-I., & Yeh, S.-L. (1993). Some characteristics of hydroxypropylated and cross-linked rice starch. *Cereal Chemistry, 70*, 596–601.

Provided for non-commercial research and education use.
Not for reproduction, distribution or commercial use.



This article appeared in a journal published by Elsevier. The attached copy is furnished to the author for internal non-commercial research and education use, including for instruction at the authors institution and sharing with colleagues.

Other uses, including reproduction and distribution, or selling or licensing copies, or posting to personal, institutional or third party websites are prohibited.

In most cases authors are permitted to post their version of the article (e.g. in Word or Tex form) to their personal website or institutional repository. Authors requiring further information regarding Elsevier's archiving and manuscript policies are encouraged to visit:

http://www.elsevier.com/copyright

Author's personal copy

Carbohydrate Polymers 74 (2008) 514–518

Contents lists available at ScienceDirect

Carbohydrate Polymers

journal homepage: www.elsevier.com/locate/carbpol

Effect of sucrose on the freeze–thaw stability of rice starch gels: Correlation with microstructure and freezable water

Thunyaboon Arunyanart, Sanguansri Charoenrein *

Department of Food Science and Technology, Faculty of Agro-Industry, Kasetsart University, 50 Phaholyothin Road, Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand

ARTICLE INFO

Article history:
Received 28 February 2008
Accepted 1 April 2008
Available online 7 April 2008

Keywords:
Rice starch
Sucrose
Freeze–thaw stability
Syneresis
Microstructure

ABSTRACT

Rice starch gels subjected to repeated freezing and thawing tend to decrease in quality. This study investigated how the addition of sucrose to rice starch gels affects factors commonly used to measure quality. Rice starch gels containing 0–20% sucrose were treated to 5 freeze–thaw cycles. The result showed that sucrose effectively reduced the % syneresis. Scanning electron micrographs of freeze–thaw gels showed that smaller pore size and a thicker surrounding matrix corresponded with increasing sucrose concentration. Furthermore, the amount of freezable water in starch systems decreased with increasing sucrose concentrations, which also corresponded with gel microstructure. These results suggest that re-association of starch chains (retrogradation) induced by freeze–thaw treatment is retarded by sucrose. This study showed that sucrose is an effective agent for preserving the quality of freeze–thawed rice starch gels.

© 2008 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

New and innovative frozen food products are continually being launched into world markets as a result of lifestyle changes by consumers. Upon freezing, however, water in these foods transforms into ice, often resulting in physical stress to the food matrix. When a frozen food is thawed for consumption, the moisture is readily separated from the matrix and it causes softening of the texture, drip loss, and often lead to deterioration of overall product quality (Rahman, 1999).

In the freezing process, when starch pastes or gels are frozen, phase separation occurs upon formation of ice crystals. Upon thawing, a phenomenon known as syneresis occurs with starch pastes and gels because the water can be easily expressed from the dense network (Karim, Norziah, & Seow, 2000). Repeating the cycle of freezing and thawing enforces the phase separation and ice growth (Eliasson & Kim, 1992). As the ice crystals become larger, the syneresis and sponge formation occurs more readily. Syneresis in freeze–thawed gel is due to the increase of molecular association between starch chains, in particular retrogradation of amylose (Morris, 1990), expelling water from gel structure (Saartratra, Puttanlekb, Rungsardthong, & Uttapap, 2005). Thus the amount of syneresis is a useful indicator for the tendency of starch to retrograde (Karim et al., 2000).

Freeze–thaw stability is an important property that is used to evaluate the ability of starch to withstand the undesirable physical changes that may occur during freezing and thawing. This property may be simply evaluated by gravimetric measurement of the water of syneresis that separates from starch pastes or gels (Schoch, 1968; Wu & Seib, 1990). Multiple freeze–thaw cycles that involve subjecting samples to repeated freezing and intermittent thawing to room temperature over a period of 2–4 h are known to drastically accelerate retrogradation and syneresis (Radley, 1976; Yuan & Thompson, 1998).

The effect of starch modification on freeze–thaw stability of different starch gels has been investigated in numerous studies (Hung & Morita, 2005; Kaur, Singh, & Singh, 2004; Pal, Singhal, & Kulkarni, 2002; Reddy & Seib, 2000). However, few studies have investigated the role of food ingredients on freeze–thaw stability in starch gels. Sucrose is one of the major food ingredients and about 10^8 tonnes are produced annually (Izydorezyk, 2005). It is a common ingredient in baked and processed foods. Research on the effects of sucrose upon the retrogradation of starch gels has been conflicting and inclusive. Sugars have been shown to retard retrogradation. I'Anson et al. (1990) and Chang and Liu (1991) found that sugars reduced crystallinity in retrogradated wheat starch gels. Kohyama and Nishinari (1991) found that sugars decreased retrogradation in sweet potato starch pastes. Katsuta, Nishimura, and Miura (1992) reported that sugars inhibited retrogradation of rice starch gels. Lii, Lai, and Liu (1998) reported that sugars showed marked suppression effects on retrogradation of rice starch gel. Baker and Rayas-Duarte (1998) found that adding sugars to amaranth starch gels had varying results, but for the most part, sugars showed similar or increased stability when compared with a control freeze–thaw. Other researchers have found accelerated retrogradation

* Corresponding author. Tel.: +66 2 562 5027; fax: +66 2 562 5021.
E-mail address: fagisscr@ku.ac.th (S. Charoenrein).

0144-8617/$ - see front matter © 2008 Elsevier Ltd. All rights reserved.
doi:10.1016/j.carbpol.2008.04.002

Author's personal copy

with sugars. An increased rate of retrogradation was reported with the addition of sugars to corn and rice starch gels (Chang & Liu, 1991; Germani, Ciacco, & Rodrigues-Amaya, 1983). Maxwell and Zoble (1978) reported increased rate of crystallization in wheat starch gels with the addition of sugar. The majority of their research used differential scanning calorimetry technique to measure the extent of retrogradation due to amylopectin reorganization. This may not correlated well with the freeze–thaw stability of starch gels, which is mainly due to amylose re-association. Only two studies investigation the effect of sucrose on the freeze–thaw stability of starch gels have been reported in the literature (Ahmad & Williams, 1999; Baker & Rayas-Duarte, 1998).

In the present study, change in % syneresis (reflective freeze–thaw stability) of sucrose added rice starch gels were correlated with concomitant changes in microstructure observed by scanning electron microscopy. Freezable water of sucrose added to rice starch gels were determined and used to elucidate these results.

2. Materials and methods

2.1. Materials

Rice starch was supplied by Cho Heng Rice Vermicelli Factory Co., Ltd. (Nakorn Prathom, Thailand). The amylose content of the rice starch was 31.60% as determined by the method of Juliano (1971). Food-grade sucrose (Mitr Phol Sugar Co., Ltd., Supanburi, Thailand) was purchased from a local supermarket.

2.2. Starch gel preparation

The preparation of starch gel followed the method of Charoenrein, Tatirat, and Muadklay (2008). Rice starch suspensions (8% total solid w/w wet basis) containing 0%, 10% and 20% w/w sucrose were heated to 80, 82.5 and 87 °C for 25 min, respectively. The suspensions were then loaded into 10 ml syringes (20 mm in diameter) and steamed for 9 min. Finally, the samples were placed in an incubator at 25 °C for 2 h.

2.3. Freezing and thawing

Starch gel samples were frozen in a chest freezer (Sanyo refrigerator, model SF-C1497) at −18 °C for 22 h and then thawed at room temperature for 2 h. This freeze–thaw cycle was repeated for up to 5 cycles.

2.4. Syneresis measurement

Syneresis measurement was modified from methods of Charoenrein et al. (2008) and Baker and Rayas-Duarte (1998). The thawed starch gel samples were removed from syringes and put in the cylindrical plastic tube with filter paper (Whatman No. 41). The cylindrical plastic tube was placed in centrifuge tubes. The tube was then centrifuged at 100*g* (centrifuge CN-1050, MRC Ltd., Holon, Israel) for 15 min. The amount of liquid separated from the gel was measured in a burette. The percentage of syneresis was then calculated as the ratio of the amount of liquid separated (ml) to the total weight (g) of the gel before centrifugation and multiplied by 100. The data were reported as averages of three measurements.

2.5. Frozen structure by scanning electron microscope (SEM)

The freeze–thaw samples were cut and gradually dehydrated in 50%, 70%, 90% and absolute ethanol at room temperature for 24 h at each concentration and finally dehydrated using a critical point dryer. The cut surface samples were mounted on the stub, coated with gold and observed with a JSM-5600LV microscope (JEOL, England). The accelerating voltage and the magnification are shown on the micrographs.

2.6. Determination of freezable water

Freezable water is defined as water that can phase separate within the sample matrix and, when sufficiently cooled, from ice crystals detectable by DSC (Reid & Kerr, 1993). A differential scanning calorimetry (Pyris-1, Perkin Elmer, Norwalk, CT, USA) with Pyris™ operation software was used for determination of the amount of freezable water in starch systems. The instrument was calibrated with indium. The weight ratio between dry solids of starch and water remained constant (1:2.3), whereas the sucrose addition was either 1:2.7 or 2.25:2.7, based on the dry weight of starch. Rice starch (5.4 mg, dry basis) and sucrose (0, 2 or 4.5 mg) were placed in a stainless steel pan, and then a microsyringe was used to add distilled water (12.6 mg) until the starch–sugar mixture was fully wet. The water was allowed to evaporate on a balance, until the ratio between starch and water reached exactly 1:2.3, and then the pan was hermetically sealed. Using an empty pan as reference, the sample pan was cooled to −60 °C at 30 °C/min, and then held at that temperature for 20 min. Then heated to 160 °C at 10 °C/min. The sample was then cooled to −60 °C and held for 20 min once more, before heating to 160 °C at 10 °C/min again. Based on the known heat of fusion of ice of 334 J/g, freezable water (g water/g solids) was calculated from the area under the ice melting endotherm of the second scan. All measurements were done in duplicate.

2.7. Statistical analysis

We used a completely randomized design. The difference between means was determined using the Duncan's new multiple range test. All statistical analyses were performed using SPSS 12.0 for Windows.

3. Results and discussion

3.1. Syneresis

Freeze–thaw stabilities of starch gels were assessed by measuring liquid separated after freezing/thawing 1–5 cycles. The effect of sucrose on the amount of syneresis in rice starch gels is presented in Table 1.

In the first to fifth cycles, the analysis of variance shows that rice starch gels without sucrose and rice starch gels containing 10% and 20% sucrose significantly ($p \leqslant 0.05$) affects the percentage of syneresis of rice starch gels. Freeze–thawed rice starch gels no containing added sucrose had a high syneresis value (55%) after the first cycle and showed little change through subsequent freeze–thaw cycles. On the other hand, freeze–thaw rice starch gel with sucrose showed markedly lower in % syneresis and behaved differently from that of without sucrose addition. Starch gels containing 10% sucrose which had 14.84% syneresis in the first cycle, showed an obvious increase in syneresis value to 25.37 after 2 freeze–thaw cycle. After that the syneresis values changed slightly through 3–5 cycles. Starch gels containing 20% sucrose which had only 1.25% syneresis in the first cycle, showed a progressive increase in syneresis values, 4.64–25.20%, through 1–3 cycles. However, after fourth and fifth freeze–thaw cycles, the percentage of syneresis slightly increased. Our finding agreed with Baker and Rayas-Duarte (1998) who found that 10% and 20% sucrose addition into amaranth starch gels significantly improved the stability of

Author's personal copy

Table 1
Percentage of liquid separated (syneresis) of rice starch gels (8% w/w) containing sucrose 0%, 10% and 20% at each freeze–thaw cycle

Sample	Syneresis (%)*				
	1 cycle	2 cycle	3 cycle	4 cycle	5 cycle
Rice starch	55.02 ± 0.57^{aAB}	57.25 ± 0.39^{aC}	55.41 ± 0.41^{aB}	55.62 ± 0.39^{aB}	54.54 ± 0.27^{aA}
Rice starch + 10% sucrose	14.84 ± 2.16^{bA}	25.37 ± 1.53^{bB}	28.34 ± 2.70^{bBC}	31.05 ± 6.28^{bBC}	34.47 ± 5.25^{bC}
Rice starch + 20% sucrose	1.25 ± 0.36^{cA}	4.64 ± 1.20^{cB}	25.20 ± 2.54^{bC}	28.57 ± 1.41^{bD}	32.54 ± 1.80^{bE}

[a–c]Mean values in each column with different superscripts are significantly different ($p \leqslant 0.05$).
[A–E]Mean values in each row with different superscripts are significantly different ($p \leqslant 0.05$).
* The values reported as means ± standard deviation.

Table 2
The amount of freezable water in starch systems

Sample	Amount of freezable water (g water/g solids) in starch systems (gelled)*
Rice starch	1.638 ± 0.008^{a}
Rice starch + 10% sucrose	1.157 ± 0.005^{b}
Rice starch + 20% sucrose	0.842 ± 0.006^{c}

[a–c]Mean values in each column with different superscripts are significantly different ($p \leqslant 0.05$).
* The values reported as means ± standard deviation.

the starch gels after 2 cycles. However, after more repeated freeze–thaw cycles, they observe no significant differences in freeze–thaw stability between sugar added amaranth starch gels and control samples. The observed difference between Baker & Rayas-Duarte's results and ours is probably due to measurement method and starch types used in each experiment.

It is well known that when a starch gel is frozen, starch-rich regions are created in the matrix, where water remains partially unfrozen. High solid concentration in the regions facilitates the starch chains to associate forming thick filaments, whereas water molecules coagulate into ice crystals forming a separated phase. These effects contribute to spongy structure and released liquid or syneresis (Ferrero, Martino, & Zaritzky, 1993; Lee, Baek, Cha, Park, & Lim, 2002), which can be reduced by adding sucrose (Fig. 1). However, after increasing freeze–thaw cycles, starch gel containing sucrose increasing syneresis values. This indicates that acceleration of starch chain association and progressive larger ice crystals formation by repeated freezing and thawing reduce the influence of sucrose on freeze–thaw stability of starch gels.

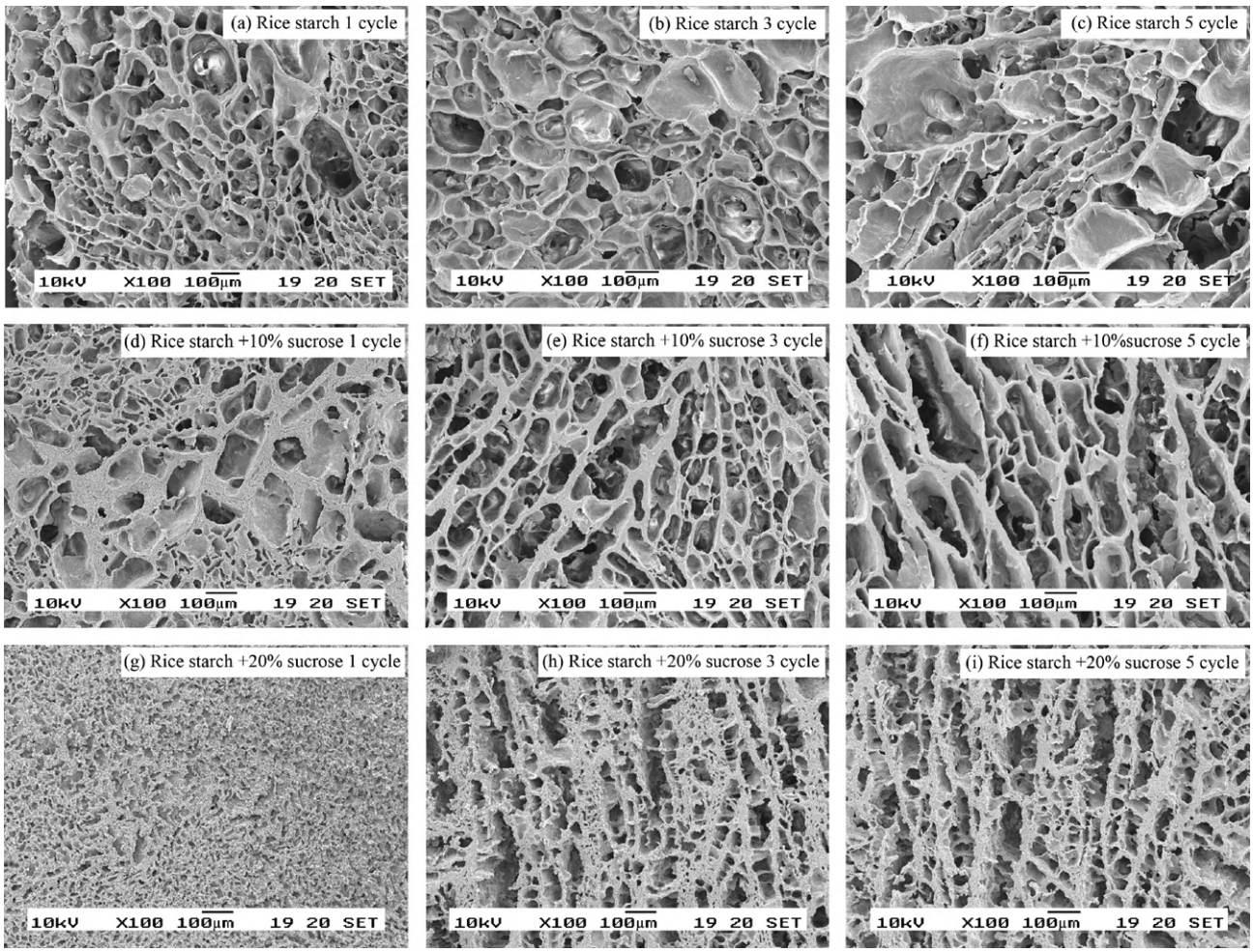


Fig. 1. SEM images of rice starch gels (8% w/w) containing sucrose (0%, 10% and 20%) after freeze–thaw for 1, 3 and 5 cycles (100×, Bar = 100 μm).

Author's personal copy

3.2. Structure of freeze–thaw starch gels

To elucidate the relationship between the syneresis and the microstructure of rice starch gels, the microstructure of freeze–thawed gels was examined using SEM. Images of treated specimens are shown in Fig. 1. Clear differences were observed in the microstructure of rice starch gels after 1–5 freeze–thaw cycles for both gels with and without added sucrose. All freeze–thaw treated starch gels developed a spongy structure which can be attributed to amylose retrogradation and ice crystal formation. Along with syneresis, a thick fibrillar network of starch gel was formed in the spongy structure during the repeated freeze–thaw cycles; similar findings were reported by Ferrero et al. (1993). In rice starch gel with no sugar added, the microstructure after the first freeze–thaw cycle produced pores in the gel (Fig. 1a). After the third and fifth freeze–thaw cycle, the starch gels had slightly larger pores but the matrix surrounding pores showed similar thickness (Fig. 1b and c). These structural findings correlate well with insignificant changes in syneresis values found after 1–5 freeze–thaw cycles of rice starch gel with no sucrose addition. After 1 freeze–thaw cycle, the starch gels containing 10% sucrose appeared to have smaller pores but have thicker matrix surrounded the pores (Fig. 1d). After 3 and 5 freeze–thaw cycles, pore size increased while matrix thickness decreased (Fig. 1e and f). In 20% sucrose systems after 1 freeze–thaw cycle, the matrix surrounded the pores was thickest and the pores were smallest (Fig. 1g–i). However, with succeeding freeze–thaw cycles, the matrix surrounding pores in the starch gels became thinner and more compact and the pores became larger (Fig. 1h and i). In the rice starch gels containing added sucrose and treated to multiple freeze–thaw cycles change in microstructure corresponded closely with increased percent syneresis.

The specimen images showed that sucrose effectively stabilized the microstructure of rice starch gels because sucrose could maintain the matrix surrounding pores in the starch gels. We speculate that increasing the concentration of sucrose in starch gels may retard amylose retrogradation by a mechanism that slows amylose–amylose re-association.

3.3. DSC studies of freezable water in starch systems

The amount of freezable water in starch systems significantly decreased ($p \leqslant 0.05$) with increasing sucrose concentration (Table 2).

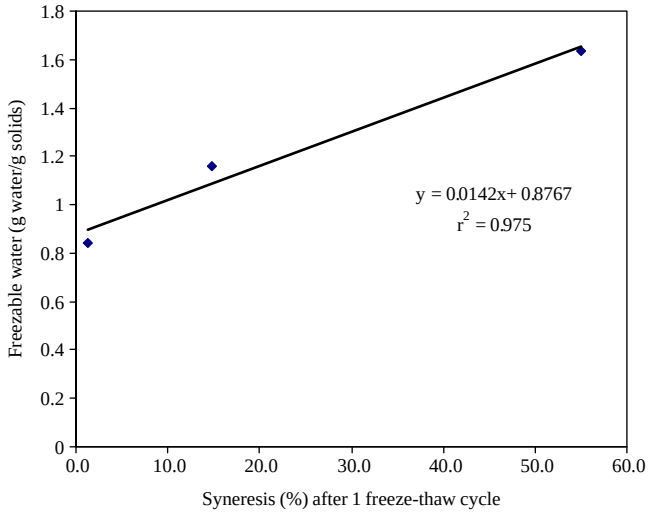


Fig. 2. Correlation between freezable water (g water/g solids) and syneresis (%) after 1 freeze–thaw cycle.

The results show that sucrose hydrated water in starch systems leads to lower amounts of freezable water. Thus, pores size resulted from ice crystals formation were smaller and the matrix surrounded pores were thicker.

Simple linear regression of freezable water on syneresis produced very high model fit ($r^2 = 0.975$) suggesting a linear relationship between the amount of freezable water and % syneresis after 1 freeze–thaw cycle (Fig. 2).

It can be noted that starch based frozen foods containing sucrose would show a low syneresis value after the first freeze–thaw cycle. However, if production, distribution, storage and consumer handling conducted without proper care and allowed the foods subjected to more than 2 freeze–thaw cycles, increase in syneresis as well as spongy structure can be noticeable.

4. Conclusions

The addition of sucrose was shown to be an effective agent for the reduction of syneresis in rice starch gels subjected to repeated freeze–thaw cycles. In this work, sucrose was most effective in enhancing freeze–thaw stability of starch gels at 20%. Therefore, sucrose could retard changes in the texture in rice starch gel to spongy structure during repeated freeze–thawing. Moreover, the amount of freezable water in starch systems was decreased with increasing sucrose concentrations, which correlated to gel microstructure and % syneresis. This research shows that sucrose can be a useful additive for preservation of the quality of frozen food products.

Acknowledgements

We gratefully acknowledge the Thailand Research Fund Grants under TRF-MAG project MRG495S024 and project RSA 5080014 and Kasetsart University Research and Development Institute (KURDI), under the SRU-FPF project. The authors also thank Andrew J. Mullard for reviewing the manuscript.

References

Ahmad, F. B., & Williams, P. A. (1999). Effect of sugars on the thermal and rheological properties of sago starch. *Biopolymers, 50*, 401–412.

Baker, L. A., & Rayas-Duarte, P. (1998). Freeze–thaw stability of amaranth starch and the effects of salt and sugars. *Cereal Chemistry, 75*, 301–307.

Chang, S. M., & Liu, L. C. (1991). Retrogradation of rice starch studies by differential scanning calorimetry and influence of sugars, NaCl and lipids. *Journal of Food Science, 56*, 564–566. 570.

Charoenrein, S., Tatirat, O., & Muadklay, J. (2008). Use of centrifugation-filtration for determination of syneresis in freeze–thaw starch gels. *Carbohydrate Polymers, 73*, 143–147.

Eliasson, A-C., & Kim, H. R. (1992). Changes in rheological properties of hydroxypropyl potato starch pastes during freeze–thaw treatments. 1. A rheological approach for evaluation of freeze–thaw stability. *Journal of Texture Studies, 23*, 279–295.

Ferrero, C., Martino, M. N., & Zaritzky, N. E. (1993). Stability of frozen starch pastes: Effect of freezing, storage and xanthan gum addition. *Journal of Food Processing and Preservation, 17*, 191–211.

Germani, R., Ciacco, C. F., & Rodrigues-Amaya, D. B. (1983). Effects of sugars, lipids, and type of starch on the mode and kinetics of retrogradation of concentrated corn starch gels. *Starch/Stärke, 35*(11), 377–381.

Hung, P. V., & Morita, N. (2005). Physicochemical properties of hydroxypropylated and cross-linked starches from A-type and B-type wheat starch granules. *Carbohydrate Polymers, 59*, 239–246.

I'Anson, K. J., Miles, M. J., Morris, V. J., Besford, L. S., Jarvis, D. A., & Marsh, R. A. (1990). The effects of added sugars on the retrogradation of wheat starch gels. *Journal of Cereal Science, 11*, 243–248.

Izydorezyk, M. (2005). Understanding the chemistry of food carbohydrate. In S. W. Cui (Ed.), *Food carbohydrates: Chemistry, physical properties, and applications* (pp. 23). Florida: CRC Press.

Juliano, B. O. (1971). A simplified assay for milled-rice amylose. *Cereal Science Today, 16*, 334–340.

Karim, A. A., Norziah, M. H., & Seow, C. C. (2000). Methods for the study of starch retrogradation. *Food Chemistry, 71*, 9–36.

Katsuta, K., Nishimura, A., & Miura, M. (1992). Effects of saccharides on stabilities of rice starch gels. I. Mono- and disaccharides. *Food Hydrocolloids, 6*, 387–398.

Author's personal copy

Kaur, L., Singh, N., & Singh, J. (2004). Factors influencing the properties of hydroxypropylated potato starches. *Carbohydrate Polymers, 55*, 211–223.

Kohyama, K., & Nishinari, K. (1991). Effect of soluble sugars in gelatinization and retrogradation of sweet potato starch. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 39*, 1406–1410.

Lee, M. H., Baek, M. H., Cha, D. S., Park, H. J., & Lim, S. T. (2002). Freeze–thaw stability of sweet potato gel by polysaccharide gums. *Food Hydrocolloids, 16*, 345–352.

Lii, C-y., Lai, M.-F., & Liu, K.-F. (1998). Factors influencing the retrogradation of two rice starches in low-molecular-weight saccharide solutions. *Journal of Cereal Science, 28*, 175–185.

Maxwell, J. L., & Zoble, H. F. (1978). Model studies on cake staling. *Cereal Food World, 23*, 124–128.

Morris, V. J. (1990). Starch gelation and retrogradation. *Trends in Food Science and Technology, 1*, 2–6.

Pal, J., Singhal, R. S., & Kulkarni, P. R. (2002). Physicochemical properties of hydroxypropyl derivative from corn and amaranth starch. *Carbohydrate Polymers, 48*, 49–53.

Radley, J. A. (1976). *Industrial uses of starch and its derivatives*. London: Applied Sciences Publishers.

Rahman, M. S. (1999). Food preservation by freezing. In M. S. Rahman (Ed.), *Handbook of food preservation* (pp. 259–284). New York: Marcel Dekker.

Reddy, I., & Seib, P. A. (2000). Modified waxy wheat starch compared to modified waxy corn starch. *Journal of Cereal Science, 31*, 25–39.

Reid, D. S., & Kerr, W. (1993). Calorimetry. In J. M. V. Blanshard (Ed.), *The glassy state in foods* (pp. 123–132). Nottingham: Nottingham University Press.

Saartratra, S., Puttanlekb, C., Rungsardthong, V., & Uttapap, D. (2005). Paste and gel properties of low-substituted acetylated canna starches. *Carbohydrate Polymers, 61*, 211–221.

Schoch, T. J. (1968). Effects of freezing and cold storage on pasted starches. In D. K. Tressler, W. B. van Arsdel, & M. J. Copley (Eds.). *The freezing preservation of foods* (Vol. 4, pp. 44–56). Westport, CT: AVI.

Wu, S. H., & Seib, P. A. (1990). Acetylated and hydroxypropylated distarch phosphates from waxy barley: Paste properties and freeze–thaw stability. *Cereal Chemistry, 67*, 202–208.

Yuan, R. C., & Thompson, D. B. (1998). Freeze–thaw stability of three waxy maize starch pastes measured by centrifugation and calorimetry. *Cereal Chemistry, 75*, 571–573.

Journal of Food Engineering 100 (2010) 310–314

Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Food Engineering

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jfoodeng

Undercooling associated with slow freezing and its influence on the microstructure and properties of rice starch gels

Sanguansri Charoenrein *, Nutsuda Preechathammawong

Department of Food Science and Technology, Faculty of Agro-Industry, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

ARTICLE INFO

Article history:
Received 25 February 2010
Received in revised form 11 April 2010
Accepted 16 April 2010
Available online 21 April 2010

Keywords:
Undercooling
Freezing
Ice crystal
Rice starch
Retrogradation
Microstructure
Syneresis

ABSTRACT

It is well accepted that high undercooling or supercooling usually produces numerous small ice crystals. This paper shows that if heat transfer is not rapid enough, high undercooling causes non-homogenous sized ice crystals. Three freezing regimes (i.e. fast, slow and slow with undercooling) were used in this study. Fast freezing produced numerous homogeneously small ice crystals embedded in a thin rice starch gel matrix. This microstructure caused low % syneresis and hardness versus slow freezing's rather homogenous distribution of fewer large ice crystals embedded in a thicker gel matrix resulting in high % syneresis and hardness. However, slow freezing with undercooling produced non-homogenous clusters involving small and large ice crystals embedded in a very thick gel matrix. Starch retrogradation before ice formation played an important role in this frozen structure. The information gained from this study enhances understanding of the behavior of starch-based food during freezing and storage.

© 2010 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Freezing has been recognized as an excellent and fairly widespread method of preserving food products, especially ready to eat meals which increasingly play an important role in today's lifestyle. The freezing process involves removing sensible and latent heat in order to lower product temperature generally to −18 °C or below (Delgado and Sun, 2001). During freezing, nucleation of ice occurs when the temperature of a food is lowered to the initial freezing point and this is followed by ice crystal growth.

Undercooling, sometimes called supercooling, is the phenomenon where the temperature of a solution or material is reduced below its freezing point without ice crystallization occurring (IIR, 2006). Undercooling is a non-equilibrium, metastable state, which is analogous to an activation energy necessary for nucleation process (Fernández et al., 2006). It is well accepted that the number of nuclei formed is directly proportional to the extent of undercooling reached in the sample before nucleation occurs (Burke et al., 1975; Gilpin, 1977). There are several investigations showing that a higher extent of undercooling causes smaller ice crystal formation in pressure shift freezing (Fernández et al., 2007; Fuchigami et al., 2002; Kalichevsky-Dong et al., 2000) and in conventional freezing (Miyawaki, 2001; Petzold and Aguilera, 2009). However, there has been no published data on undercooling induced by slow freezing and its impact on ice crystal size and the properties of starch gels.

The rate of freezing is also known to affect the retrogradation rate of starch gels. Slower freezing rates increase both starch molecular associations and precipitation (Jacobson and BeMiller, 1998) and result in a harder rice starch gel (Varavinit et al., 2002) and a harder texture in cooked pasta (Olivera and Salvadori, 2009) as well as high syneresis in tapioca starch gel (Muadklay and Charoenrein, 2008). The beneficial effects of faster freezing can be attributed to the prevention or retardation of the formation of retrogradation nuclei due to the rapid transition through the rubbery state during which both nucleation and the propagation of starch chain association occur (Ferrero et al., 1994).

In this study, we were able to consistently create an undercooling condition associated with slow freezing rice starch gels and then to compare the ice crystal size, microstructure, syneresis and texture of this frozen gel with fast and slow frozen gels. Syneresis and changes in texture are two of the most important properties of frozen starch-based foods which affect acceptability by consumers. The outcome of this research would be a benefit in gaining a greater understanding of the freezing process and its behavior in a model system as well as in frozen cooked rice or starch-based products.

* Corresponding author. Tel.: +66 2 562 5027; fax: +66 2 562 5021.
E-mail address: fagisscr@ku.ac.th (S. Charoenrein).

0260-8774/$ - see front matter © 2010 Elsevier Ltd. All rights reserved.
doi:10.1016/j.jfoodeng.2010.04.014

2. Materials and methods

2.1. Materials

Rice starch was supplied by Thai Flour Industry Co., Ltd. (Bangkok, Thailand). The amylose content of the rice starch was 37.50% as determined by the method of Hoover and Ratnayake (2001).

2.2. Starch gel preparation

The preparation of starch gel followed the method of Charoenrein et al. (2008). Rice starch suspension (8% total solid w/w wet basis) was heated to 80 °C for 25 min. The suspension was then loaded into 10 ml syringes (20 mm in diameter) and steamed for 9 min. Finally, the samples were placed in an incubator at 25 °C for 2 h.

2.3. Freezing and thawing

Starch gel samples were frozen using three systems. Systems (i) and (ii) used a cryogenic cabinet freezer (Minibatch 1000 L; Bangkok Industrial Gas Co., Bangkok, Thailand) which allowed the flow rate of liquid nitrogen to be adjusted creating a cold atmosphere of −80 °C and −20 °C respectively and (iii) used a chest freezer (Sanyo refrigerator, model SF-C1497) at −20 °C. The temperature inside this freezer after sample loading was around 10–12 °C before the freezer door was closed. During freezing, sample temperatures were recorded using thermocouples placed in the sample cylinders at surface and center positions. The temperature inside the freezer was also recorded. Temperature measurements for (i) and (ii) were recorded every 30 and 60 s respectively and every 10 min for (iii) using a data acquisition system. Each experiment was repeated twice. The frozen samples were first kept in a chest freezer at −20 °C for 24 h and were then thawed at room temperature (25 ± 2 °C) for 120 min. After thawing, they were removed from the syringes prior to performing the following tests.

2.4. Determination of frozen structure with scanning electron microscopy (SEM)

The freeze–thaw samples were cut and gradually dehydrated in 50%, 70%, 90% and absolute ethanol at room temperature for 24 h at each concentration and finally dehydrated using a critical point dryer. The cut surface samples were mounted on a stub, coated with gold and observed using a JSM-5600LV microscope (JEOL, England). The accelerating voltage and the magnification are shown on the micrographs.

2.5. Syneresis measurement

Syneresis measurement followed the method of Charoenrein et al. (2008). The thawed starch gel samples were removed from their syringes and put in a cylindrical plastic tube with a perforated bottom which was covered with filter paper (Whatman No. 41). These tubes were then placed in centrifuge tubes and centrifuged at 100*g* (centrifuge CN-1050, MRC Ltd., Holon, Israel) for 15 min. The cylindrical plastic tube with cover was removed from the centrifuge tube, and the liquid which had separated from the starch gel was weighed. The percentage of syneresis was then calculated as the ratio of the weight of liquid separated from the gel to the total weight of the gel before centrifugation and multiplied by 100. The data were reported as the average of five measurements.

2.6. Texture measurement

The thawed rice starch gel was transferred from the syringe into a rectangular mold (about 150 × 40 mm and 30 mm deep which had a gap for sample cutting) and the middle of the gel was cut into a sample 20 mm in length. The texture was determined using the Texture Profile Analysis method (five replicates per treatment) with a Stable Micro System (TA-XT plus) Texture Analyzer. Samples were compressed with a 100-mm diameter probe at a test speed of 0.5 mm/s. The deformation level was 40% of the original sample height and the gels were compressed twice. Hardness was expressed as the maximum force exerted during the first compression cycle.

2.7. Statistical analysis

A completely randomized design was used. The difference between means was determined using the Duncan's new multiple range test. All statistical analyses were performed using SPSS 12.0 for Windows.

3. Results and discussion

Rice starch gel was used as a model system in this investigation because it is a common ingredient in foods. In addition to showing sensitivity to freezing rate (Jacobson and BeMiller, 1998; Ferrero et al., 1994; Muadklay and Charoenrein, 2008), it is semi-solid and hence eliminates the possibility of convective heat transfer. Thus, a relatively uniform distribution of ice crystals is produced. Moreover, the frozen structure of a starch gel can be easily illustrated (Charoenrein et al., 2008).

3.1. Freezing of rice starch gel

Fig. 1a–c shows the temperature–time freezing curves obtained experimentally for freezing rice starch gel under different freezing regimes. Fast freezing i.e. freezing at −80 °C in a cryogenic freezer lowered the sample temperature from 20 to −20 °C within 11 min (Fig. 1a). A small but noticeable freezing plateau (around 6 min) was observed after the sample reached the freezing point; however, no undercooling was observed. Fig. 1b shows the freezing curve for slow freezing at −20 °C in a cryogenic freezer with a freezing time of 59 min. It should be noted that the temperature inside the freezer was lowered to −20 °C in only 10 min due to the high efficiency of the freezer. A clear appreciable freezing plateau (around 30 min) was observed; however no noticeable undercooling was detected at this freezing rate. Fig. 1c shows a freezing curve for slow freezing at −20 °C in a chest freezer with a long freezing time of 307 min. It can be noted that the temperature inside the freezer after closing the freezer door was approximately 10 °C. This is due to the considerable length of time the chest freezer was open during sample loading and the lower efficiency of the chest freezer (as compared to the cryogenic freezer). The time required for the chest freezer temperature to reach −20 °C was about 100 min. In this freezing regime, clearly noticeable undercooling was observed before the freezing plateau was reached (at around 90 min). Our two separate experiments involving this freezing regime showed the same freezing curve pattern. The average gel surface temperature was lowered to about −7.5 °C before instantaneous ice formation took place. The surface temperature lowered slightly faster than the center temperature. After nucleation was initiated at the surface, a temperature increasing appeared due to the released latent heat into the still unfrozen gel from the frozen surface. Therefore a slightly higher undercooling temperature at the center was noticed. Freezing

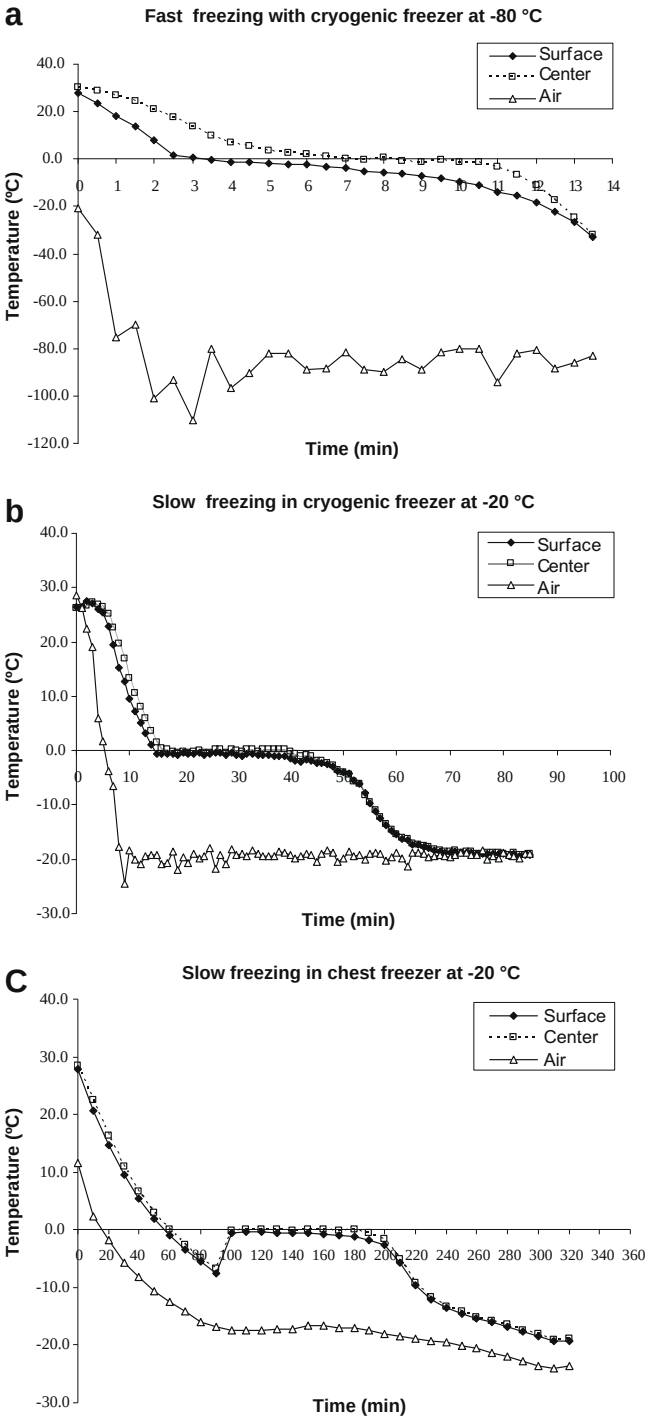


Fig. 1. Freezing curves of rice starch gels (8% w/w) at (a) −80 °C in cryogenic freezer, (b) −20 °C in cryogenic freezer, and (c) −20 °C in chest freezer.

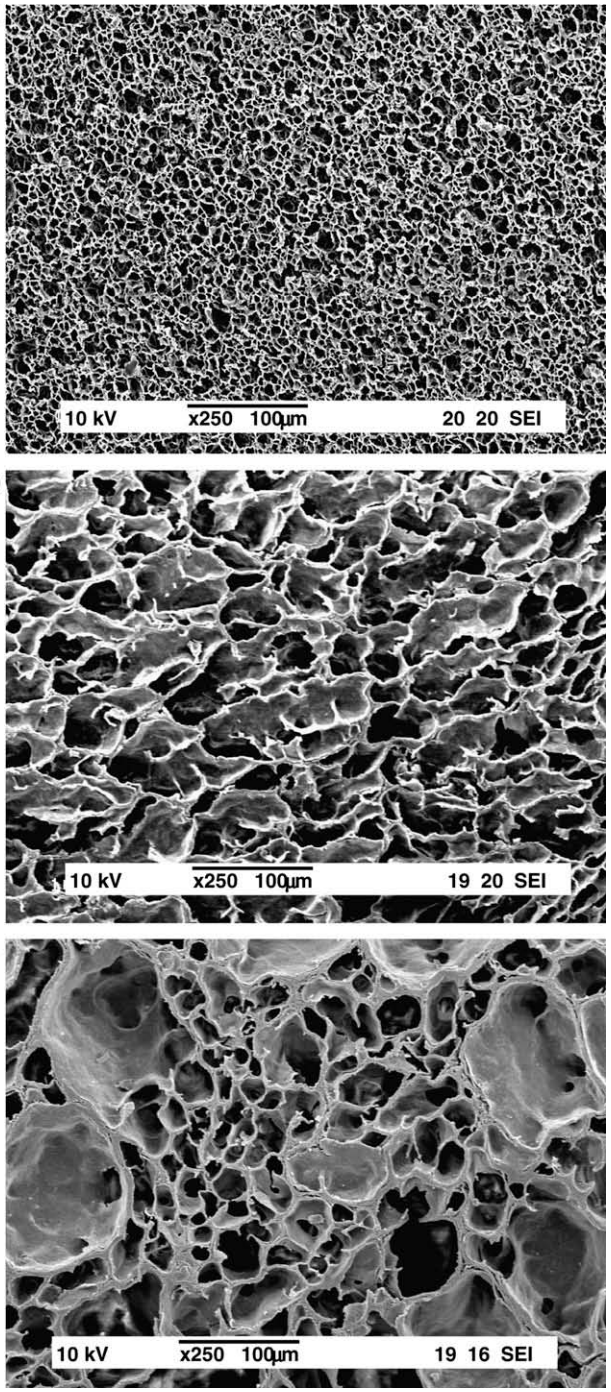


Fig. 2. SEM images of rice starch gels (8% w/w) after one freeze–thaw cycle (a) frozen at −80 °C in a cryogenic freezer, (b) frozen at −20 °C in a cryogenic freezer, and (c) frozen at −20 °C in a chest freezer (250×, bar = 100 µm).

profiles involving fast and slow freezing using the cryogenic freezer did not show undercooling and this might be because of the conditions under which these samples were frozen and the rate of heat transfer from the samples.

3.2. Frozen structure

The SEM images of frozen rice starch gels are shown in Fig. 2a–c. Ice crystals were visualized as holes left in the matrix. Fast freezing in the cryogenic freezer (−80 °C) produced, as expected, a large number of small ice crystals and each crystal was surrounded by a thin gel matrix (Fig. 2a). The shape of the ice crystals was spherical or oval and they were uniformly distributed throughout the sample. In contrast, slow frozen samples without undercooling contained a few large ice crystals embedded in a thicker gel matrix (Fig. 2b). A well-defined spongy structure with termite gallery – like pores was evident in this sample. It is surprising that the structure of samples that were slow frozen with undercooling in a chest freezer (Fig. 2c) was significantly different from that of fast and slow frozen gels. A less homogenous frozen structure was observed in this sample. It was expected, based on Fig. 1c, that high undercooling would

result in numerous small ice crystals in the frozen gel. However, the SEM micrograph showed otherwise. A cluster of small spherical ice crystals was surrounded by a few irregularly shaped large crystals within a very thick gel matrix. This frozen structure can be explained by its freezing profile (Fig. 1c). First, during cooling and undercooling which range in this sample from 10 to −7.5 °C, the gel temperature fell slowly (0.3 °C/min) which allowed amylose chains to retrograde to the highest extent as revealed by the presence of the thickest matrix around the ice crystals. In fact, several investigations have reported that low temperature accelerates retrogradation of starch gels or starch-based foods (Lin and Chein, 1995; Czuchajowska et al., 1998; Satmalee and Charoenrein, 2009). Second, although high undercooling is usually associated with a high nucleation rate (Reid, 1983) and consequently results in numerous small ice crystals (Miyawaki, 2001; Petzold and Aguilera, 2009), this phenomenon was not observed in this experiment. We understood that although a high nucleation rate was induced, with this slow freezing rate, the rate of heat removal was not sufficiently rapid to facilitate the growth of all nuclei into ice crystals. Instead, some ice nuclei might have melted due to the temperature increasing after releasing latent heat of ice crystallization while those remaining grew and became ice crystals. This explains the occurrence of non-uniform ice crystals surrounded by a very thick gel matrix.

3.3. % Syneresis

The determination of % syneresis from freeze–thaw starch gels is used to evaluate the ability of starch to withstand the undesirable physical changes which occur during freezing and thawing. Syneresis in a freeze–thawed gel is due to the increase in molecular associations between starch chains, in particular the retrogradation of amylose (Morris, 1990) which results in the expulsion of water from the gel structure (Saartratra et al., 2005). Thus the amount of water released due to syneresis is a useful indicator of the tendency of starch to retrograde (Karim et al., 2000).

Our previous study showed that medium-amylose rice flour (17.58%) gels had a significantly lower % syneresis after the first freeze–thaw cycle than did high-amylose rice flour (32.47%) gels (Charoenrein et al., 2008). This result implies that amylose plays an important role in the retrogradation associated with freezing and thawing.

Several studies on the effect of freezing rate on syneresis of freeze–thaw starch gels have been reported. Fast freezing was shown to result in lower syneresis (Muadklay and Charoenrein, 2008) or lower retrogradation (Jacobson and BeMiller, 1998; Ferrero et al., 1994) than slow freezing. The beneficial effects of fast freezing can be attributed to the prevention of starch retrogradation nuclei formation due to the rapid transition through the rubbery state during which both nucleation and propagation occur (Ferrero et al., 1994). In this study, we also found the same trend, that is, the fast frozen rice starch gel had a significantly lower % syneresis (18.02%) than the slow frozen starch gel (38.14%) as shown in Table 1. It was expected that the starch gel frozen at a slow freezing rate with undercooling freeze–thaw starch gel would have the highest % syneresis. However, this starch gel had the lowest % syneresis (1.92%) even though it retrograded to the greatest extent. This apparent contradiction could be due to the fact that the thawed water, especially that in the small pores surrounded with big pores, (Fig. 2c) was trapped in the thick matrix. In this study, we used a combination of centrifugation and filtration to simultaneously separate the released water from the freeze–thaw gels and to use this water as a measure of syneresis (Charoenrein et al., 2008). A low centrifugation force (100*g*) was used to minimize the impact of structural changes caused by high centrifugation force. However, the low centrifugation force applied in this study might not be sufficient to expel the water present in the thick matrix. When we removed these samples after centrifuging them and pressed them between our fingers, a large amount of water was released.

Table 1
Percent of water separated (syneresis) of rice starch gel at 8% (db) with different freezing rate. The samples were subjected to one freeze–thaw cycle.

Freezing rate	Syneresis (%)
Fast freezing (cryo −80 °C)	18.02 ± 1.49^{b}
Slow freezing (cryo −20 °C)	38.14 ± 0.69^{a}
Slow freezing (chest −20 °C)	1.92 ± 0.36^{c}

Mean values followed by the different letter are significantly different ($p < 0.05$).

Table 2
Hardness of rice starch gels with different freezing rate after subjecting to one freeze–thaw cycle.

Freezing rate	Hardness (N)
Fast freezing (cryo −80 °C)	3.92 ± 0.17^{c}
Slow freezing (cryo −20 °C)	5.95 ± 0.14^{b}
Slow freezing (chest −20 °C)	7.54 ± 1.98^{a}

Mean values followed by the different letter are significantly different ($p < 0.05$).

3.4. Texture

The textural properties of rice starch gels were studied after freezing and thawing. Table 2 shows that starch gels that were fast frozen and thawed were not as hard as were the slow frozen and thawed gels. Fast freezing took the starchy foods through the temperature zone for maximum staling faster than slow freezing (Kock et al., 1995; Muadklay and Charoenrein, 2008); therefore, much more starch retrogradation occurred during the slow freezing process which consequently resulted in the higher hardness values for the thawed gels. These results are consistent with the findings of Ferrero et al. (1994) which showed that increasing the freezing rate of 10% corn starch pastes decreased retrogradation. However, undercooling associated with slow freezing resulted in the highest hardness for the starch gels. The temperature range of this sample (10 to −7.5 °C) was lowered slowly (0.3 °C/min) which allowed amylose chains to retrograde to the greatest extent as revealed by the thickest matrix around the ice crystals in these samples. Several investigations have revealed that a temperature which is low but is above the glass transition temperature accelerates retrogradation or an increase in the hardness of starch gels and starch-based foods (Czuchajowska et al., 1998; Lin and Chein, 1995; Slade and Levine, 1986). This thick matrix caused a high hardness in the starch gel.

4. Conclusion

High undercooling can be achieved in rice starch gels using slow freezing in a chest freezer. However, in this study, with a low rate of heat transfer, a large number of the ice nuclei which formed subsequently melted and this resulted in a non-homogenous frozen structure. Clusters of relatively small ice crystals with some large ice crystals embedded in a very thick gel matrix resulted due to the large extent of retrogradation which occurred during the long cooling and undercooling period. This frozen structure caused a low % syneresis and high hardness which is different from starch gel properties seen in normal fast and slow freezing. However, further work on syneresis measurement with higher centrifugal force needs to be conducted to elucidate the relationship between

syneresis and microstructure of slow frozen rice gel with undercooling. This overall finding will assist in the understanding of changes in starch-based food during freezing and storage.

Acknowledgements

We gratefully acknowledge the Thailand Research Fund Grants under project RSA 5080014 and the Kasetsart University Research and Development Institute (KURDI) under the SRU-FPF project.

References

Burke, M.J., George, M.F., Bryant, R.G., 1975. Water in plant tissues and frost hardiness. In: Duckworth, R.B. (Ed.), Water Relations of Foods. Food Science and Technology Monographs. Academic Press, New York, pp. 111–135.

Charoenrein, S., Tatirat, O., Muadklay, J., 2008. Use of centrifugation–filtration for determination of syneresis in freeze–thaw starch gels. Carbohydrate Polymers 73, 143–147.

Czuchajowska, Z., Otto, T., Paszczynska, B., Baik, B.-K., 1998. Composition, thermal behavior and gel texture of prime and tailing starches form garbanzo beans and peas. Cereal Chemistry 75, 446–472.

Delgado, A.E., Sun, D.-W., 2001. Heat and mass transfer models for predicting freezing processes – a review. Journal of Food Engineering 47, 157–174.

Fernández, P.P., Otero, L., Guignon, B., Sanz, P.D., 2006. High-pressure shift freezing versus high-pressure assisted freezing: effect on the microstructure of a food model. Food Hydrocolloids 20, 510–522.

Fernández, P.P., Martino, M.N., Zaritzky, N.E., Guignon, B., Sanz, P.D., 2007. Effects of locust bean, xanthan and guar gums on the ice crystals of a sucrose solution frozen at high pressure. Food Hydrocolloids 21, 507–515.

Ferrero, C., Martino, M.N., Zaritzky, N.E., 1994. Corn starch–xanthan gum interaction and its effect on the stability during storage of frozen gelatinized suspensions. Starch/Starke 46, 300–308.

Fuchigami, M., Ogawa, N., Teramoto, A., 2002. Structural and textural quality of pressure-shift-frozen tofu (soybean curd) as affected by trehalose. Innovative Food Science and Emerging Technologies 3, 139–147.

Gilpin, R.R., 1977. The effect of cooling rate on the formation of dendritic ice in a pipe with no main flow. Journal of Heat Transfer 99, 419–424.

Hoover, R., Ratnayake, W.S., 2001. Determination of total amylose content of starch. In: Wrolstad, R.E., Acree, T.E., An, H., Decker, E.A., Penner, M.A., Reid, D.S., Schwartz, S.J., Shoemaker, C.F., Sporns, P. (Eds.), Current Protocols in Food Analytical Chemistry. Wiley, New York.

International Institute of Refrigeration, 2006. Scientific aspects of freezing, storage and thawing of foodstuffs. In: Øgh-SØrensen, B. (Ed.), Recommendations for the Processing and Handling of Frozen Foods. IIR/IIF, Paris, pp. 11–33.

Jacobson, M.R., BeMiller, J.N., 1998. Method for determining the rate and extent of accelerated starch retrogradation. Cereal Chemistry 75, 22–29.

Kalichevsky-Dong, M.T., Ablett, S., Lillford, P., Knorr, D., 2000. Effects of pressure-shift freezing and conventional freezing on model food gels. International Journal of Food Science and Technology 35, 163–172.

Karim, A.A., Norziah, M.H., Seow, C.C., 2000. Methods for the study of starch retrogradation. Food Chemistry 71, 9–36.

Kock, S.D., Minnaar, A., Berry, D., Talor, J.R.N., 1995. The effect of freezing rate on the quality of cellular and non-cellular par-cooked starchy convenience food. LWT – Food Science and Technology 28, 87–95.

Lin, J.Y., Chein, J.T., 1995. Effect of storage condition on the compatibility between alkaline-treated glutens and gelatinized corn starch. Journal of Chinese Agricultural Chemist Society 33, 65–76.

Miyawaki, O., 2001. Analysis and control of ice crystal structure in frozen food and their application to food processing. Food Science and Technology Research 7, 1–7.

Morris, V.J., 1990. Starch gelation and retrogradation. Trends in Food Science and Technology 1, 2–6.

Muadklay, J., Charoenrein, S., 2008. Effects of hydrocolloids and freezing rates on freeze–thaw stability of tapioca starch gels. Food Hydrocolloids 22, 1268–1272.

Olivera, D.F., Salvadori, V.O., 2009. Effect of freezing rate in textural and rheological characteristics of frozen cooked organic pasta. Journal of Food Engineering 90, 271–276.

Petzold, G., Aguilera, J.M., 2009. Ice morphology: fundamentals and technological applications in foods. Food Biophysics 4, 378–396.

Reid, D.S., 1983. Fundamental physicochemical aspects of freezing. Food Technology 37, 110–113, 115.

Saartratra, S., Puttanlekb, C., Rungsardthong, V., Uttapap, D., 2005. Paste and gel properties of low-substituted acetylated canna starches. Carbohydrate Polymers 61, 211–221.

Satmalee, P., Charoenrein, S., 2009. Acceleration of ageing in rice stick noodle sheets using low temperature. Journal of Food Science and Technology 44, 1367–1372.

Slade, L., Levine, H., 1986. Recent advances in starch retrogradation. In: Stivala, S.S., Crescenzi, V., Dea, I.C.M. (Eds.), Industrial Polysaccharides. Gordon and Breach, New York, pp. 387–430.

Varavinit, S., Shobsngob, S., Varanyanond, W., Chinachoti, P., Naivikul, O., 2002. Freezing and thawing conditions affect the gel stability of different varieties of rice flour. Starch/Starke 54, 31–36.