



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการการดัดแปรแป้งข้าวด้วยความร้อนขึ้นเพื่อลดการพองตัวและ
เพิ่มปริมาณ Resistant Starch

โดย สันทณีย์ ปัญจอนนท์

เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2555

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการการดัดแปรแป้งข้าวด้วยความร้อนขึ้นเพื่อลดการพองตัวและ
เพิ่มปริมาณ Resistant Starch

ผู้วิจัย สันทณีย์ ปัญจอนนท์
สังกัด สายวิชาเทคโนโลยีชีวเคมี
คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย
และ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว.ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: TRG5380003
 ชื่อโครงการ: โครงการการดัดแปรแป้งข้าวด้วยความร้อนชื้นเพื่อลดการพองตัว และเพิ่มปริมาณ **Resistant Starch**
 ชื่อนักวิจัย: สันทณีย์ ปัญจอนนท์
 สังกัด สายวิชาเทคโนโลยีชีวเคมี คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี
 E-mail Address : santhanee.pun@kmutt.ac.th
 ระยะเวลาโครงการ: 2 ปี

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อดัดแปรแป้งข้าว พลาเวอร์ข้าว และเมล็ดข้าวโดยใช้ความร้อนร่วมกับความชื้น โดยใช้วิธีการดัดแปรสองวิธีคือ การใช้ความร้อนชื้นที่ความชื้น 20, 25, 30% อุณหภูมิ 100 และ 120°C เวลา 4 และ 16 ชั่วโมง และการทำแอนนิลลิงที่ความชื้นมากเกินพอที่อุณหภูมิ 55°C เวลา 24 ชั่วโมง ศึกษาลักษณะของเม็ดแป้ง คุณสมบัติด้านความหนืด คุณสมบัติด้านความร้อน เนื้อสัมผัสของเจลแป้ง ปริมาณ resistant starch (RS) การพองตัวในน้ำและน้ำมัน และการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างโมเลกุล พบว่าการดัดแปรด้วยความร้อนชื้นทำให้แป้งมีความหนืดลดลง มีอุณหภูมิการเกิดเจลสูงขึ้น ความแข็งแรงของเจลแป้งลดลง การพองตัวในน้ำและน้ำมันลดลง มีปริมาณ slowly digestible starch และ RS เพิ่มขึ้นที่การดัดแปรที่ความชื้น 20% การดัดแปรด้วยความร้อนชื้นไม่ทำให้ขนาดโมเลกุลของอะไมโลเพคตินในแป้งข้าวเปลี่ยนไป โดยปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงที่สำคัญคือความชื้น ระยะเวลา และอุณหภูมิตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าการดัดแปรด้วยความร้อนชื้นส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสมบัติด้านความหนืดในพลาเวอร์ข้าวมากกว่าในแป้งข้าวอย่างมีนัยสำคัญ สำหรับการทำแอนนิลลิงพบว่าในแป้งข้าวมีความหนืดเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ส่วนพลาเวอร์ข้าวความหนืดไม่แตกต่างจากพลาเวอร์ข้าวที่ไม่ได้ดัดแปร แต่มีการพองตัวในน้ำและน้ำมันสูงขึ้น การดัดแปรในสภาพของเมล็ดข้าวพบว่าการดัดแปรด้วยความร้อนชื้นมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของแป้งเช่นเดียวกับการดัดแปรพลาเวอร์ข้าว กล่าวคือ แป้งมีความหนืด ความแข็งแรงของเจลแป้งและการพองตัวลดลง ส่วนการดัดแปรด้วยวิธีแอนนิลลิงไม่ทำให้คุณสมบัติของแป้งจากเมล็ดข้าวเปลี่ยนแปลง ซึ่งจากการทดลองสรุปได้ว่าสามารถใช้การดัดแปรแบบความร้อนชื้นเพื่อปรับปรุงสมบัติของแป้งข้าวโดยทำในเมล็ดข้าวที่ไม่ผ่านการสกัดได้เลย

คำหลัก : แป้งข้าว, พลาเวอร์ข้าว, การดัดแปรด้วยความร้อนชื้น, การดัดแปรด้วยแอนนิลลิง, การพองตัว, แป้งทนย่อย

Abstract

Project Code : TRG5380003
Project Title : Hydrothermal treatment of rice starch/flour to reduce swelling and increase resistant starch content
Investigator : Santhanee Pucha-arnon
Division of Biochemical Technology
School of Bioresources and Technology
E-mail Address : santhanee.pun@kmutt.ac.th
Project Period : 2 years

The aim of this research was to investigate the effects of physical treatments, heat-moisture treatment (HMT) and annealing, on properties of starch, flour, and grain from the same source of rice grains. For heat-moisture treatments, samples with moisture contents of 20, 25 and 30% were treated at 100 and 120°C for 4 and 16 h, whereas annealing were performed on the samples with excess water at 55°C for 24 h. Granule morphologies, pasting properties, thermal properties, textural properties, resistant starch, swelling capability in water and oil and amylopectin structure of the modified samples were investigated. After HMT, peak viscosity, gel hardness and swelling capability in water and oil decreased, while gelatinization temperature increased. Slowly digestible starch and resistant starch increased in the samples with 20% moisture content. Amylopectin structure of rice starch was not altered by HMT. Moisture is the most important factor affecting the properties of the modified samples, followed by time and temperature, respectively. HMT had more effect on pasting property of rice flour than rice starch. Annealing resulted in a slight increase of peak viscosity of rice starch. In case of rice flour, there was no change in viscosity, but swelling capability in water and oil increased.

The effect of HMT on properties of rice grain was similar to that of the rice flour (decreased in peak viscosity, gel hardness and swelling capability), whereas there was no changes in the samples treated by annealing. In conclusion, the heat-moisture treatment can be used to modify the properties of starch in rice grains directly without starch isolation.

Keywords: Rice starch, Rice flour, Heat-moisture treatment, Annealing, Swelling

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร.ดุชนี อุตภาพ ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษา ที่กรุณาให้แนวคิดและคำแนะนำในการดำเนินงานวิจัย ตลอดจนแก้ปัญหาต่างๆ ทั้งยังช่วยเหลืออนุเคราะห์ตำราและเอกสารทางวิชาการอันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่องานวิจัย และขอขอบคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยที่ช่วยเหลือเงินทุนในการวิจัยครั้งนี้ให้สามารถสำเร็จลุล่วงได้ผลเป็นอย่างดี

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
กิตติกรรมประกาศ	ง
สารบัญ	จ
รายการตาราง	ช
รายการรูปประกอบ	ฅ
ประมวลคำย่อและสัญลักษณ์	ญ
บทที่	
1. บทนำ	1
1.1 วัตถุประสงค์ของโครงการ	4
1.2 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	5
1.4 ระยะเวลาที่ทำการทำวิจัย	5
2. ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	6
2.1 ผลของการตัดแปรด้วยความร้อนขึ้นต่อสมบัติด้านเคมีกายภาพ	6
2.2 ผลของการตัดแปรด้วยความร้อนขึ้นต่อการย่อยสลายด้วยเอนไซม์	9
2.3 ผลของการตัดแปรด้วยความร้อนขึ้นต่อโครงสร้างภายในเม็ดแป้ง	10
2.4 การนำแป้งตัดแปรไปใช้ประโยชน์	11
3. วิธีการทดลอง	12
3.1 การเตรียมแป้งข้าวและแป้งฟลาวร์	12
3.2 ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของแป้งข้าวเจ้าและฟลาวร์ข้าว	12
3.2.1 ปริมาณความชื้น	12
3.2.2 ปริมาณไขมัน	12
3.2.3 ปริมาณโปรตีน	13
3.2.4 ปริมาณเถ้า	13
3.2.5 ปริมาณอะไมโลส	14

สารบัญ

	หน้า
3.3 ศึกษาการดัดแปรแป้งข้าวเจ้าโดยใช้ความร้อนขึ้น	14
3.4 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเคมีกายภาพของแป้งข้าวและแป้งฟลาวร์ดัดแปร	15
3.4.1 ลักษณะของเม็ดแป้งด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด	15
3.4.2 ลักษณะโครงสร้างผลึกโดย X-ray diffractometer	15
3.4.3 พฤติกรรมการเปลี่ยนแปลงความหนืดด้วยเครื่อง RVA	15
3.4.4 สมบัติทางความร้อนในการเกิดเจลลาติไนซ์เซชันของแป้ง	16
3.4.5 การทดสอบค่าแรงกด (Compressive test) ของเจลแป้ง	16
3.4.6 วิเคราะห์กำลังการพองตัวของเม็ดแป้งในน้ำ และน้ำมัน	17
3.5 ศึกษาการย่อยสลายด้วยเอนไซม์	17
3.5.1 การวิเคราะห์ปริมาณแป้งทั้งหมด (total starch; TS)	18
3.5.2 การวิเคราะห์ปริมาณ RDS, SDS และ RS	18
3.6 ศึกษาโครงสร้างทางเคมีภายในเม็ดแป้งหลังการดัดแปร	19
3.7 ศึกษาการดัดแปรด้วยวิธีแอนนิลลิงในแป้งข้าวและแป้งฟลาวร์	21
3.8 ศึกษาการดัดแปรด้วยความร้อนขึ้นในข้าวหัก	21
4. ผลการทดลอง	22
4.1 คุณสมบัติของแป้งข้าวและแป้งฟลาวร์	22
4.1.1 องค์ประกอบทางเคมีของแป้งข้าวและฟลาวร์ข้าว	22
4.1.2 รูปร่างและลักษณะของเม็ดแป้งข้าวและฟลาวร์ข้าว	23
4.2 การดัดแปรแป้งข้าวเจ้าโดยใช้ความร้อนขึ้น	23
4.2.1 ลักษณะของเม็ดแป้งข้าวเจ้าและฟลาวร์ข้าวหลังการดัดแปรด้วย ความร้อนขึ้นด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด	23
4.2.2 ลักษณะการบิตระนาบแสงโพลาไรซ์ของเม็ดแป้งหลังการดัดแปร ด้วยความร้อนขึ้น	24
4.2.3 ลักษณะโครงสร้างผลึก โดย X-ray diffractometer หลังการดัดแปร ด้วยความร้อนขึ้น	27
4.2.4 วิเคราะห์กำลังการพองตัวของเม็ดแป้งในน้ำ และน้ำมัน	28
4.2.5 พฤติกรรมการเปลี่ยนแปลงความหนืดด้วยเครื่อง RVA	29
4.2.6 สมบัติทางความร้อนในการเกิดเจลลาติไนซ์เซชันของแป้งด้วย	

สารบัญ

หน้า

4.2.7 เนื้อสัมผัสของเจลแบ่ง	36
4.3 ศึกษาการย่อยสลายด้วยเอนไซม์	37
4.3.1 การวิเคราะห์ปริมาณ RDS, SDS และ RS ของแบ่งที่ไม่ต้ม	37
4.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณ RDS, SDS และ RS ของแบ่งที่ต้ม 5 นาที	38
4.4 ศึกษาโครงสร้างทางเคมีภายในเม็ดแบ่งหลังการดัดแปร	39
4.5 การดัดแปรด้วยวิธีแอนนิลลิงในแบ่งข้าวและแบ่งฟลัวร์	40
4.5.1 พฤติกรรมการเปลี่ยนแปลงความหนืด	40
4.5.2 สมบัติทางความร้อนในการเกิดเจลลาติไนซ์เซชันของแบ่ง	41
4.5.3 กำลังการพองตัวของเม็ดแบ่งในน้ำและน้ำมัน	43
4.5.4 เนื้อสัมผัสของเจลแบ่ง	44
4.6 การดัดแปรด้วยความร้อนขึ้นในข้าวหัก	45
4.6.1 พฤติกรรมการเปลี่ยนแปลงความหนืด	45
4.6.2 สมบัติทางความร้อนในการเกิดเจลลาติไนซ์เซชันของแบ่ง	46
4.6.3 กำลังการพองตัวของเม็ดแบ่งในน้ำ และน้ำมัน	47
4.6.4 การทดสอบค่าแรงกด (Compressive test) ของเจลแบ่ง	47
5. สรุปและข้อเสนอแนะ	49
5.1 การดัดแปรแบ่งข้าวและฟลัวร์ข้าวด้วยความร้อนขึ้น	49
5.2 การดัดแปรแบ่งข้าวและฟลัวร์ข้าวด้วยวิธีแอนนิลลิงเปรียบเทียบกับ การดัดแปรด้วยความร้อนขึ้น	49
5.3 การดัดแปรข้าวหักด้วยความร้อนขึ้นและวิธีแอนนิลลิงเปรียบเทียบกับ การดัดแปรในฟลัวร์ข้าว	49
5.4 ข้อเสนอแนะ	50
เอกสารอ้างอิง	51
ภาคผนวก	56

รายการตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของแป้งข้าวและฟลัวร์ข้าว	22
ตารางที่ 2 กำลังการพองตัวในน้ำและน้ำมันของแป้งข้าวและฟลัวร์ข้าวที่ไม่ได้ดัดแปรและแป้งดัดแปรด้วยความร้อนชื้น	30
ตารางที่ 3 ค่าพารามิเตอร์การเกิดเจลลิตีในเซชันของแป้งข้าวและฟลัวร์ข้าวที่ไม่ได้ดัดแปรและแป้งดัดแปรด้วยความร้อนชื้น	35
ตารางที่ 4 เนื้อสัมผัสของเจลแป้งข้าวและฟลัวร์ข้าวที่ไม่ได้ดัดแปรและแป้งดัดแปรด้วยความร้อนชื้น	37
ตารางที่ 5 ปริมาณ RDS, SDS และ RS ในแป้งข้าวและฟลัวร์ข้าวที่ไม่ได้ดัดแปรและดัดแปรด้วยความร้อนชื้นโดยวิเคราะห์ในแป้งดิบและแป้งที่ผ่านการเจลาติไนซ์	39
ตารางที่ 6 กำลังการพองตัวในน้ำและน้ำมันของแป้งข้าวและฟลัวร์ข้าวที่ไม่ได้ดัดแปรและดัดแปรด้วยวิธีแอนนิวลิง	44
ตารางที่ 7 เนื้อสัมผัสของเจลแป้งข้าวและฟลัวร์ข้าวที่ไม่ได้ดัดแปรและดัดแปรด้วยวิธีแอนนิวลิง	44
ตารางที่ 8 กำลังการพองตัวในน้ำและน้ำมันของแผ่นแป้งจากข้าวหักที่ดัดแปรด้วยความร้อนชื้นและแอนนิวลิง และเนื้อสัมผัสของเจลแป้งข้าวหักที่ไม่ได้ดัดแปรและดัดแปรด้วยความร้อนชื้นและแอนนิวลิงเปรียบเทียบกับฟลัวร์ข้าวที่ไม่ได้ดัดแปรและที่ดัดแปรด้วยวิธีเดียวกัน	48

รายการรูปประกอบ

หน้า

รูปที่ 1 SEM ของแป้งข้าวและฟลาร์ข้าวที่กำลังขยาย 500 และ 3500 เท่า	
23	
รูปที่ 2 แป้งข้าวหลังการดัดแปรด้วยความร้อนขึ้นที่ความชื้น 20, 25, 30% อุณหภูมิ 100 และ 120°C ระยะเวลา 4 และ 16 ชั่วโมง (x3500, bar as 5 μm)	25
รูปที่ 3 แป้งข้าวหลังการดัดแปรด้วยความร้อนขึ้นที่ความชื้น 20, 25, 30% อุณหภูมิ 100 และ 120°C ระยะเวลา 4 และ 16 ชั่วโมง (x10000, bar as 1 μm)	26
รูปที่ 4 เจลแป้งข้าวดัดแปรด้วยความร้อนขึ้นหลังจากวิเคราะห์ด้วยเครื่อง RVA ที่ความเข้มข้น 8%	27
รูปที่ 5 X-ray diffraction patterns ของแป้งข้าว (A) และแป้งข้าวดัดแปรด้วยความร้อนขึ้นที่ความชื้น 25% อุณหภูมิ 100°C เวลา 16 ชั่วโมง (B)	28
รูปที่ 6 กราฟความหนืดที่ได้จากเครื่อง RVA ของแป้งข้าวและแป้งข้าวดัดแปรด้วยความร้อนขึ้น	31
รูปที่ 7 กราฟความหนืดที่ได้จากเครื่อง RVA ของฟลาร์ข้าวและฟลาร์ข้าวดัดแปรด้วยความร้อนขึ้น	32
รูปที่ 8 Thermogram ของแป้งข้าวและฟลาร์ข้าวที่ไม่ได้ดัดแปรและแป้งดัดแปรด้วยความร้อนขึ้น	34
รูปที่ 9 HPSEC chromatogram ของอะไมโลเพคตินตัดกึ่งจากแป้งข้าวที่ไม่ได้ดัดแปรและแป้งข้าวดัดแปรด้วยความร้อนขึ้นที่ความชื้น 25% อุณหภูมิ 100°C ระยะเวลา 16 ชั่วโมง	40
รูปที่ 10 กราฟความหนืดที่ได้จากเครื่อง RVA ของแป้งข้าวและฟลาร์ข้าวดัดแปรด้วยวิธีแอนนิลลิง เปรียบเทียบกับการดัดแปรด้วยความร้อนขึ้น	42
รูปที่ 11 Thermogram ของแป้งข้าวและฟลาร์ข้าวที่ไม่ได้ดัดแปรและดัดแปรด้วยวิธีแอนนิลลิง	43
รูปที่ 12 กราฟความหนืดที่ได้จากเครื่อง RVA ของเมล็ดข้าวหักดัดแปรด้วยวิธีความร้อนขึ้นและแอนนิลลิงเปรียบเทียบกับฟลาร์ข้าวดัดแปรด้วยวิธีความร้อนขึ้นและแอนนิลลิง	
46	
รูปที่ 13 Thermogram ของฟลาร์ข้าวที่ไม่ได้ดัดแปร และข้าวหักและฟลาร์ข้าวที่ดัดแปรด้วยความร้อนขึ้นและวิธีแอนนิลลิง	47

ประมวลคำย่อและสัญลักษณ์

HMT	=	การดัดแปรด้วยความร้อนชื้น
ANN	=	การดัดแปรด้วยแอนนิลลิง
St	=	แป้ง (starch)
Fl	=	ฟลาวัวร์ (flour)
Native	=	แป้งที่ไม่ผ่านการดัดแปร
NRS	=	แป้งข้าวที่ไม่ได้ดัดแปร (native rice starch)
NRF	=	ฟลาวัวร์ข้าวที่ไม่ได้ดัดแปร (native rice flour)
RDS	=	แป้งย่อยสลายง่าย
SDS	=	แป้งย่อยสลายยาก
RS	=	แป้งทนย่อย
DP	=	degree of polymerization
N ₂	=	ก๊าซไนโตรเจน
I ₂	=	ไอโอดีน
KI	=	โพแทสเซียมไอโอไดด์
μm	=	ไมโครเมตร
%w/w	=	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก
pH	=	ค่าความเป็นกรด - ด่าง
SEM	=	Scanning Electron Microscope
DSC	=	Differential Scanning Calorimetry
ΔH	=	พลังงานที่ใช้ในการเกิดเจลลิตไนซ์
J/g	=	จูลต่อกรัม
T _o	=	อุณหภูมิเริ่มเกิดเจลลิตไนซ์
T _p	=	อุณหภูมิที่เกิดเจลลิตไนซ์สูงสุด
T _c	=	อุณหภูมิที่สิ้นสุดการเกิดเจลลิตไนซ์
HPSEC	=	High-performance size-exclusion chromatography
°C	=	องศาเซลเซียส
RVA	=	Rapid Visco Analyzer
RVU	=	Rapid Visco Unit
DMSO	=	dimethyl sulfoxide

ml	=	มิลลิลิตร
g	=	กรัม
mg	=	มิลลิกรัม
kV	=	กิโลโวลต์
rpm	=	รอบต่อนาที
min	=	นาที
sec	=	วินาที
Temp.	=	temperature

บทที่ 1 บทนำ

ข้าวเป็นอาหารหลักของประชากรมากกว่าครึ่งในโลก โดยมีการบริโภคในรูปของผลผลิตปรุงสุกเช่น ข้าวสวย และบริโภค/อุปโภคในรูปของผลิตภัณฑ์ที่ทำจากแป้ง โดยข้าวที่ผลิตได้ทั้งหมดส่วนใหญ่ใช้บริโภคโดยตรงประมาณร้อยละ 43.0 ของข้าวที่ผลิตได้ทั้งหมด เก็บไว้ทำพันธุ์ประมาณร้อยละ 4.0 และเก็บสต็อกไว้ประมาณร้อยละ 3.0 ส่วนข้าวที่เหลืออีกร้อยละ 50.0 นั้นแยกเป็นการส่งออกข้าวสารร้อยละ 40.0 ที่เหลือส่งเข้าโรงงานแปรรูปร้อยละ 10 โดยแยกเป็นการแปรรูปเพื่อบริโภคในประเทศประมาณร้อยละ 9.0 และแปรรูปแล้วส่งออกในลักษณะของผลิตภัณฑ์ข้าวร้อยละ 1.0

ผลิตภัณฑ์จากข้าว นับเป็นสินค้าอุตสาหกรรมการเกษตรที่น่าสนใจ แม้ว่าในปัจจุบันมูลค่าการส่งออกยังไม่สูงมากนัก ตัวอย่างผลิตภัณฑ์จากข้าว ได้แก่ แป้งข้าวเจ้า แป้งข้าวเหนียว เส้นหมี่ เส้นก๋วยเตี๋ยว ขนมหวาน ขนมปังกรอบ ขนมปังขิง บิสกิตหวาน แวฟเฟิลและเวเฟอร์ รัสค์ขนมปังปิ้งและผลิตภัณฑ์ปิ้งที่คล้ายกัน แคปซูลเปล่าที่ทำจากแป้งข้าว ใบเมี่ยง เครื่องดื่มพร้อมชม แป้งเด็ก และอื่นๆ ข้อมูลการส่งออกผลิตภัณฑ์ข้าวนั้นในช่วง 11 เดือนแรกของปี 2549 มีปริมาณ 183,011 ตัน มูลค่า 7,004 ล้านบาท โดยผลิตภัณฑ์ข้าวที่น่าสนใจและมีอัตราการขยายตัวของมูลค่าการส่งออกอยู่ในเกณฑ์สูงอย่างต่อเนื่องคือ แป้งข้าวเหนียว เส้นหมี่และเส้นก๋วยเตี๋ยว รวมทั้งขนมขบเคี้ยวที่ทำจากแป้งข้าว (ที่มา: มองเศรษฐกิจ ฉบับที่ 1930 วันที่ 24 มกราคม 2550 บริษัท ศูนย์วิจัยกสิกรไทย จำกัด)

เนื่องจากแป้ง (starch) เป็นองค์ประกอบหลักของข้าว ดังนั้นการนำข้าวหรือผลิตภัณฑ์จากข้าวไปใช้อุปโภคหรือบริโภคจะเกี่ยวข้องกับคุณสมบัติเชิงหน้าที่ (functional properties) ของแป้งแป้งในข้าวอาจทำหน้าที่เป็นแหล่งให้พลังงาน ให้ resistant starch (ส่วนของแป้งที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ทำหน้าที่เป็นเส้นใยอาหารและมีประโยชน์ต่อสุขภาพ) ให้เนื้อสัมผัสต่าง ๆ เช่น ความเหนียว ความนุ่ม ความกรอบ ความหนืด การพองตัว ความใสของเจล ความยืดหยุ่นของเจล ช่วยให้ขึ้นรูปเป็นฟิล์มหรือเป็นเส้นได้ ช่วยให้ผลิตภัณฑ์มีความคงตัว เป็นต้น ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อสมบัติของแป้งข้าวคือสายพันธุ์ของข้าว แป้งจากต่างสายพันธุ์กันจะมีองค์ประกอบทางเคมี เช่น อะไมโลส โปรตีน ไขมัน เกลือแร่ต่าง ๆ ในปริมาณที่แตกต่างกัน รวมถึงโครงสร้างระดับโมเลกุลของแป้งก็แตกต่างกันด้วย ถ้าแบ่งแป้งข้าวตามปริมาณอะไมโลสจะแบ่งได้เป็น 3 กลุ่มคือ กลุ่มที่มีอะไมโลสสูง กลุ่มที่มีอะไมโลส ปานกลางและกลุ่มที่มีอะไมโลสต่ำ ผลิตภัณฑ์จากข้าวแต่ละชนิดอาจต้องการแป้งจากข้าวสายพันธุ์ต่างกัน ขึ้นกับว่าต้องการคุณสมบัติใดจากแป้งนั้น ตัวอย่างเช่น ข้าว

สวที่ใช้ในการการบริโภคต้องการข้าวที่มีอะไมโลสปานกลางถึงค่อนข้างสูงเพื่อให้ได้ข้าวสวที่ไม่และและหุงขึ้นหม้อ ในขณะที่ข้าวต้มอาจต้องใช้ข้าวที่มีอะไมโลสปานกลางหรือค่อนข้างต่ำเพื่อให้ได้ข้าวที่เหนียวนุ่ม เส้นกวยเตี๋ยวต้องใช้ข้าวที่มีอะไมโลสสูงเพื่อให้ได้เส้นที่แข็งแรงไม่ละ ขนมหอทดที่ต้องการความกรอบอาจต้องการข้าวที่มี อะไมโลสสูง เป็นต้น

อย่างไรก็ตามแม้ว่าจะเลือกแบ่งจากสายพันธุ์ที่เหมาะสมแล้ว แต่แบ่งนั้นอาจให้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพสูงขึ้นได้อีกถ้ามีการดัดแปรแบ่งให้มีคุณสมบัติที่ดียิ่งขึ้นซึ่งอาจส่งผลให้ผลิตภัณฑ์นั้นมีมูลค่าที่สูงขึ้นด้วย ตัวอย่างเช่น ผลิตภัณฑ์เส้นกวยเตี๋ยวซึ่งทราบกันดีว่าต้องใช้ข้าวที่มีอะไมโลสสูงและเป็นข้าวเก่าซึ่งจะทำให้ได้เส้นที่มีคุณภาพดี แต่ผู้ประกอบการยังมีความต้องการคุณสมบัติอื่นเพิ่มเติมเช่น ต้องการเพิ่มระยะเวลาการดูดซับน้ำเข้าสู่ผลิตภัณฑ์กวยเตี๋ยวเส้นเล็กจนอึดตัวภายหลังจากการลวกด้วยน้ำร้อน หรือต้องการลดระยะเวลาที่ใช้ในการลวกผลิตภัณฑ์กวยเตี๋ยวเส้นเล็ก (โจทยวิจัยจาก สกว.) นอกจากนี้ผู้ประกอบการบางรายต้องการผลิตภัณฑ์จากแบ่งข้าวที่มีปริมาณ resistant starch สูงขึ้น ซึ่งจะเป็นการเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์ในแง่ของการเป็นอาหารเพื่อสุขภาพ resistant starch หมายถึงแบ่งและผลิตภัณฑ์จากแบ่งที่ไม่สามารถถูกย่อยสลายได้ด้วยเอนไซม์และไม่ดูดซึมภายในลำไส้เล็กของมนุษย์ที่มีสุขภาพแข็งแรง ดังนั้นจะผ่านไปยังส่วนของลำไส้ใหญ่และถูกหมักโดยจุลินทรีย์ภายในลำไส้ใหญ่ได้เป็นกรดไขมันสายสั้นๆ resistant starch มีประโยชน์ต่อระบบขับถ่าย ช่วยควบคุมระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือด ป้องกันหรือลดภาวะโรคอ้วน มีบทบาทในการลดปริมาณคอเลสเตอรอลในเส้นเลือดและช่วยให้ร่างกายดูดซึมแคลเซียมและโปแตสเซียมไปใช้ได้มากขึ้น

การดัดแปรแบ่งให้มีคุณสมบัติตามที่ต้องการสามารถทำได้โดยใช้วิธีการทางเคมี (chemical modification) หรือวิธีการทางกายภาพ (physical modification) วิธีการทางกายภาพ เช่น การใช้ความร้อน ความดัน การใช้รังสี เป็นวิธีการที่ได้รับความนิยมมากขึ้นในการดัดแปรแบ่งที่ต้องการนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร เนื่องจากในกระบวนการไม่มีการใช้สารเคมี การดัดแปรแบ่งโดยการใช้ความร้อนกับการให้ความร้อน (hydrothermal treatment) เป็นวิธีการหนึ่งที่มีการศึกษาวิจัยกันมาก กระบวนการนี้แบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ แอนนิวาลิง (annealing; ANN) เป็นการให้ความร้อนกับแบ่งที่มีปริมาณน้ำมากเกินไป โดยใช้อุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิการเกิดเจล (อุณหภูมิที่ใช้ในการดัดแปรอยู่ที่ประมาณ 50-60°C) อีกประเภทหนึ่งคือ การดัดแปรด้วยความร้อนชื้น (heat-moisture treatment; HMT) เป็นการให้ความร้อนแบ่งที่อุณหภูมิสูงกว่าอุณหภูมิการเกิดเจล (100-120°C) โดยแบ่งมีความชื้นจำกัด (โดยทั่วไปอยู่ในช่วง 18-35%) ซึ่งจากรายงานที่ผ่านมาพบว่าการดัดแปรด้วยความร้อนชื้นทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสมบัติของแบ่งมากกว่าการแอนนิวาลิง โดยทั่วไปการดัดแปรแบ่งโดยการใช้ความร้อนกับการให้ความร้อนจะทำให้การพองตัวของเม็ดแบ่งลดลง อุณหภูมิในการเกิดเจลสูงขึ้น แบ่งมีความหนืดและการแตกของเม็ดแบ่งลดลง ซึ่งระดับการเปลี่ยนแปลงเหล่านี้ขึ้นกับชนิดของแบ่งและสภาวะการดัดแปร (ความชื้น อุณหภูมิและระยะเวลาการดัดแปร) ส่วน

รูปร่างลักษณะของเม็ดแป้งพบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงหรือมีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก (Hoover และ Vasanathan, 1994; Hoover และ Manuel, 1996; Jacobs และคณะ, 1998; Stute, 1992; Waduge และคณะ, 2006; Khunae และคณะ, 2007; Watcharatwinkul และคณะ, 2009) การเปลี่ยนแปลงสมบัติของแป้งคาดว่าเกี่ยวข้องกับการจัดเรียงตัวใหม่ของโมเลกุลแป้งภายในเม็ดแป้ง โดยมีข้อมูลสนับสนุนจากลักษณะโครงสร้างผลึกในแป้งที่เปลี่ยนแปลงไปหลังการดัดแปร อย่างไรก็ตามการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างโมเลกุลแป้งโดยตรงจากการดัดแปรด้วยความร้อนขึ้นยังมีการศึกษากันน้อยมาก โดยพบรายงานวิจัยเพียง 3 เรื่องที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงขนาดความยาวของสายโซ่อะไมโลเพคตินภายหลังการดัดแปรด้วยความร้อนขึ้นในตัวอย่างแป้งข้าวโพดแป้งมันฝรั่งและแป้งสาลี (Kohyama และ Sasaki, 2006; Lan และคณะ, 2008; Chung และคณะ, 2009a) ส่วนในแป้งข้าวเมื่อสืบค้นจากฐานข้อมูล scopus พบว่ายังไม่มีรายงานเกี่ยวกับเรื่องนี้เลย

จากรายงานที่ผ่านมาเกือบทั้งหมดรายงานไว้ว่าแป้งดัดแปรโดยใช้ความร้อนขึ้นมีการพองตัวและการละลายลดน้อยลง แป้งที่มีการพองตัวลดลงนี้สามารถนำไปใช้ได้กับผลิตภัณฑ์จากแป้งบางกลุ่มที่ต้องการแป้งที่มีการดูดซับน้ำลดลง เช่น เส้นก๋วยเตี๋ยวที่ทำจากแป้งข้าวเจ้าจะทำให้ได้เส้นที่ไม่พองอัดและไม่เกาะกันเป็นก้อนหลังการลวก หรือในผลิตภัณฑ์แป้งทอดกรอบโดยมีรายงานว่าแป้งที่มีการพองตัวน้อยเหมาะสำหรับนำไปทำเป็นแป้งชุบทอดเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความกรอบมากขึ้นและมีการดูดซับน้ำและน้ำมันน้อยลง (Matsunaga และคณะ, 2003) หรืออาจใช้ในซูปหรือน้ำซอสบางประเภทที่ต้องการแป้งที่มีการคั้นตัวน้อย (Adebawale และคณะ, 2009) นอกจากนี้แป้งดัดแปรที่ได้ยังมีความทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์เพิ่มขึ้น ทำให้เมื่อนำไปบริโภคแป้งมีการย่อยน้อยลงและมีปริมาณของแป้งที่ไม่ถูกย่อย (resistant starch) เพิ่มขึ้น ซึ่งข้อดีดังกล่าวสามารถพัฒนาต่อยอดเพื่อผลิตเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพสำหรับผู้ป่วยที่มีโรคประจำตัวเช่นโรคเบาหวานให้สามารถบริโภคแป้งโดยไม่กระทบต่อปริมาณน้ำตาลในกระแสเลือดได้

จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้นทั้งในส่วนของคุณสมบัติการพองตัวของแป้งประโยชน์ของ resistant starch และสมบัติของแป้งที่เปลี่ยนไปจากการดัดแปรโดยใช้ความร้อนขึ้นจึงเป็นที่มาของการเสนอข้อเสนอดังกล่าว “การดัดแปรแป้งข้าวด้วยความร้อนขึ้นเพื่อลดการพองตัวและเพิ่มปริมาณ resistant starch โดยวัตถุประสงค์สำคัญของงานวิจัยนี้คือ เพื่อปรับปรุงสมบัติของแป้งข้าวเจ้าให้มีการพองตัวลดลงและมีส่วนของแป้งข้าวที่ทนต่อการย่อยสลายด้วยเอนไซม์มากขึ้น รวมถึงการศึกษาผลของการดัดแปรด้วยความร้อนขึ้นต่อโครงสร้างอะไมโลสและอะไมโลเพคตินของแป้งข้าว โดยในการทดลองจะใช้ข้าวเจ้าพันธุ์พลายงามปราจีนที่มีปริมาณอะไมโลสสูง (ประมาณ 30%) ทำการดัดแปรด้วยความร้อนขึ้นทั้งในตัวอย่างแป้งข้าว (rice starch) และฟลาวร์ข้าว (rice flour) ที่สภาวะต่างๆ เพื่อให้ทราบถึงบทบาทขององค์ประกอบอื่นๆ (เช่น ไขมัน โปรตีน เป็นต้น) ที่มีในเมล็ดข้าวต่อสมบัติของแป้งข้าวที่เปลี่ยนไปหลังการดัดแปร เนื่องจากงานวิจัยที่ผ่านมาทำการทดลองเฉพาะในแป้งข้าวหรือในฟลาวร์ข้าวอย่างเดียวอย่างหนึ่งเท่านั้น หรือ

ทำการเปรียบเทียบกันโดยใช้ข้าวคนละสายพันธุ์ที่มีองค์ประกอบต่างกัน (Lorlowhakarn และ Naivikul, 2006; Wadchararat และคณะ, 2006; Anderson และ Guraya, 2006; Shih และคณะ, 2007; Hormdok และ Noomhorm, 2007) จากนั้นเลือกสภาวะการตัดแปรที่ทำให้การพองตัวของแป้งลดลงและมีปริมาณแป้งที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์เพิ่มขึ้นนำมาเปรียบเทียบสมบัติกับแป้งที่ตัดแปรโดยวิธีแอนนิลลิง เนื่องจากทั้งสองวิธีมีข้อแตกต่างกันอยู่บ้างเพื่อให้ได้ข้อมูลการตัดแปรโดยการใช้ความร้อนร่วมกับการให้ความร้อนอย่างครบถ้วน นอกจากนี้ในส่วนท้ายของโครงการวิจัยจะทำการทดลองตัดแปรแป้งข้าวที่อยู่ในรูปของเมล็ดข้าวหรือเมล็ดข้าวหักด้วยความร้อนขึ้น เปรียบเทียบกับสมบัติของแป้งที่ได้เมื่อตัดแปรแป้งในรูปของแป้งฟลาวัวร์ ซึ่งการทดลองในส่วนนี้将会有ประโยชน์ในแง่ของการนำกระบวนการตัดแปรไปใช้จริงในระดับอุตสาหกรรม และจากรายงานที่ผ่านมาเป็นการทดลองในแป้งข้าวและฟลาวัวร์ข้าวแต่ยังไม่มีทดลองในเมล็ดข้าว

โดยสรุปแล้วความรู้ที่จะได้จากการวิจัยนี้จะเป็นประโยชน์โดยตรงต่อผู้ประกอบการในการนำไปพัฒนาผลิตภัณฑ์จากข้าวบางประเภทหรืออาจประยุกต์ความรู้ที่ได้ไปใช้กับผลิตภัณฑ์จากแป้งชนิดอื่นๆ นอกจากนี้ในแง่ทางวิชาการก็จะช่วยให้มีความรู้ความเข้าใจในสมบัติของแป้งข้าวและการเปลี่ยนแปลงสมบัติของแป้งข้าวมากขึ้น โดยองค์ความรู้ใหม่ที่คาดว่าจะได้จากงานวิจัยนี้คือความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างระดับโมเลกุลของแป้งกับสมบัติของแป้งข้าวที่เปลี่ยนไปจากการตัดแปร และผลขององค์ประกอบอื่นๆ ที่มีในข้าวต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติของแป้งข้าว

1.1 วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. เพื่อตัดแปรแป้งข้าว/ฟลาวัวร์ข้าว/เมล็ดข้าวโดยการใช้ความร้อนร่วมกับการให้ความร้อน (การใช้ความร้อนขึ้นและการแอนนิลลิง) และหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการตัดแปรเพื่อให้ได้แป้งข้าวตัดแปรที่มีการพองตัวลดลงและทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์เพิ่มมากขึ้น
2. เพื่อให้ได้องค์ความรู้ใหม่เกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของอะไมโลสและอะไมโลเพคตินภายในแป้งข้าวภายหลังการตัดแปร และผลขององค์ประกอบอื่นๆ ที่มีในข้าวต่อการตัดแปรแป้งข้าว

1.2 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้องค์ความรู้ในการตัดแปรแป้งข้าว ฟลาวัวร์ข้าวและเมล็ดข้าวให้ให้มีการพองตัวลดลงและทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์เพิ่มขึ้น
2. ได้องค์ความรู้เกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างภายในแป้งข้าวภายหลังการตัดแปรด้วยความร้อนขึ้น
3. บริษัทเอกชนสามารถใช้ความรู้ที่ได้นำไปตัดแปรแป้งข้าวเพื่อปรับปรุงคุณภาพของอาหาร

4. มีผลงานเผยแพร่ในวารสารระดับนานาชาติอย่างน้อย 1 เรื่อง และนำเสนอผลงานในงานประชุม 1 ครั้ง

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

1. ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของแป้งข้าวเจ้าและฟลาวัวร์ข้าวของข้าวเจ้าพันธุ์ปลายงามปราจีน
2. ศึกษาการดัดแปรแป้งข้าวเจ้าโดยใช้ความร้อนขึ้น
 - ศึกษาระยะเวลาการดัดแปร
 - ศึกษาความชื้นที่ใช้สำหรับดัดแปร
 - ศึกษาอุณหภูมิที่ใช้ดัดแปร
3. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเคมีกายภาพ
 - ลักษณะของเม็ดแป้ง
 - ลักษณะโครงสร้างผลึกของเม็ดแป้ง
 - การพองตัวของเม็ดแป้งในน้ำและในน้ำมัน
 - ความสามารถในการละลายของเม็ดแป้ง
 - พฤติกรรมของการเปลี่ยนแปลงความหนืด
 - สมบัติทางความร้อนในการเกิดเจลลาติไนซ์เซชันของแป้ง
 - การทดสอบค่าแรงกด
4. ศึกษาการย่อยสลายด้วยเอนไซม์
5. ศึกษาโครงสร้างของอะไมโลสและอะไมโลเพคตินก่อนและหลังการดัดแปร
6. ศึกษาการดัดแปรด้วยวิธีแอนนิวลิงในแป้งข้าวเจ้าและฟลาวัวร์ข้าว
7. ศึกษาการดัดแปรด้วยความร้อนขึ้นในข้าวหัก

1.4 ระยะเวลาที่ทำการทำวิจัย 2 ปี ตั้งแต่ 1 มิถุนายน 2553 - 31 พฤษภาคม 2555

บทที่ 2 ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การใช้ความร้อนขึ้นในการดัดแปรแป้งเป็นการใช้น้ำร่วมกับการให้ความร้อนในการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างภายในเม็ดแป้ง เป็นการดัดแปรแบบใช้ความชื้นต่ำ (18-30%) ที่อุณหภูมิสูงกว่าอุณหภูมิการเกิดเจล ซึ่งการดัดแปรด้วยความร้อนขึ้นส่วนใหญ่ไม่ทำให้รูปร่างของเม็ดแป้งเปลี่ยนแปลงไป แต่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างภายในเม็ดแป้ง ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสมบัติของแป้ง ซึ่งที่ผ่านมามีการทดลองมาแล้วในแป้งหลายชนิด เช่น แป้งข้าวโพด แป้งมันสำปะหลัง แป้งสาลี แป้งบาร์เลย์ แป้งโอ๊ต แป้งมันเทศ แป้งพุทธรักษา แป้งข้าว (Hoover และ Manuel, 1996; Hoover และ Vasanthan, 1994; Hoover และคณะ, 1994; Stute, 1992; Watcharatewinkul และคณะ, 2009; Collado และ Corke, 1999; Anderson และ Guraya, 2006; Shih และคณะ 2007) โดยพบว่าสมบัติของแป้งที่เปลี่ยนไป ได้แก่ อุณหภูมิที่ทำให้แป้งเริ่มเกิดเจล (pasting temperature) เพิ่มขึ้น ความหนืดของเจลแป้ง การคืนตัวของแป้ง การพองตัวและการละลายลดลง (Collado และ Corke, 1999; Takaya และคณะ, 2000; Miyazaki และ Morita, 2005; Hoover และ Vasanthan, 1994; Hoover และคณะ, 1994; Maruta และคณะ, 1994; Hoover และ Manuel, 1996; Takaya และคณะ, 2000; Gunaratne และ Hoover, 2002; Adebawale และ Lawal, 2003; Singh และคณะ, 2005; Vermeylen และคณะ, 2006) ความเป็นผลึกในเม็ดแป้ง (granular crystallinity) ลดลง (Lim และคณะ, 2001) นอกจากนี้ยังพบว่าการดัดแปรด้วยความร้อนขึ้นมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างผลึกในเม็ดแป้งโดยเฉพาะแป้งที่มีโครงสร้างผลึกประเภท B เช่น แป้งมันฝรั่ง (Lim และคณะ, 2001; Gunaratne และ Hoover, 2002)

2.1 ผลของการดัดแปรด้วยความร้อนขึ้นต่อสมบัติด้านเคมีกายภาพ

การเปลี่ยนแปลงสมบัติของแป้งที่ดัดแปรด้วยความร้อนขึ้นขึ้นกับปัจจัยหลายปัจจัย โดยเฉพาะที่มีการศึกษากันมากคือ ปริมาณอะไมโลสในแป้ง Collado และ Corke (1999) ศึกษาผลของการดัดแปรด้วยความร้อนขึ้นในแป้งมันเทศที่มีปริมาณอะไมโลส 15.2% และ 28.5% โดยปรับความชื้นของแป้งเป็น 25% ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 110°C ระยะเวลา 4, 8, 16 ชั่วโมง พบว่าการดัดแปรด้วยความร้อนขึ้นที่เวลา 4 และ 8 ชั่วโมง ให้สมบัติด้านความหนืดของแป้งไม่แตกต่างกันมาก แต่แตกต่างจากแป้งที่ไม่ได้ดัดแปรและแป้งดัดแปรด้วยความร้อนขึ้นที่ 16 ชั่วโมง แป้งดัดแปรด้วยความร้อนขึ้นที่ระยะเวลา 8 และ 16 ชั่วโมง มีการพองตัวและการละลายลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับแป้งไม่ดัดแปรและแป้งที่ดัดแปรด้วยความร้อนขึ้นที่ระยะเวลา 4 ชั่วโมง แป้งที่มีอะไมโลส

15.2% เมื่อตัดแปรด้วยความร้อนขึ้นที่ระยะเวลา 16 ชั่วโมง ให้เจลแข็งกว่าแปงตัดแปรที่ระยะเวลา 4 และ 8 ชั่วโมง

Hoover และ Vasanthan (1994); Gunaratne และ Hoover (2002); Adebawale และ Lawal (2003) รายงานว่าการตัดแปรด้วยความร้อนขึ้นทำให้การพองตัวของแป้งมันฝรั่ง แป้งสาลี แป้งข้าวโอ๊ต แป้งแยม แป้งเผือก แป้งมันสำปะหลัง แป้งเลนทิล new cocoyam, mucuna bean ลดลง และ Hoover และ Vasanthan (1994); Jacobs และคณะ (1998); Stute (1992); Waduge และคณะ (2006); Khunae และคณะ (2007) พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะภายนอกของเม็ดแป้ง (แป้งสาลี แป้งโอ๊ต แป้งเลนทิล แป้งมันฝรั่ง บางสายพันธุ์ของแป้งบาเลย์ แป้งข้าว) ภายหลังการตัดแปรด้วยวิธีการแอนนิวลิง แต่ Kiseleve และคณะ (2005) พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงลักษณะของเม็ดแป้งเล็กน้อยในแป้งที่อะไมโลสสูงและแป้งสาลีชนิดแวกซ์ซึ่งภายหลังการทำแอนนิวลิง

นอกจากนั้น Hoover และ Manuel (1996) ศึกษาผลของการตัดแปรด้วยความร้อนขึ้น (ปรับความชื้นเป็น 30% ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 16 ชั่วโมง) ต่อสมบัติทางเคมีกายภาพของแป้งจากพืชจำพวกเมล็ดแบบฝัก (legume starches) พบว่าการตัดแปรไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะภายนอก ได้แก่ รูปร่างและผิวของเม็ดแป้ง แต่ทำให้การละลายของอะไมโลส (amylose leaching) และการพองตัวของแป้งลดลง

Singh และคณะ (2005); Maruta และคณะ (1994); Hoover และ Manuel (1996); Adebawale และ Lawal (2003); Hoover และ Vasanthan (1994) พบว่าการตัดแปรแป้งด้วยความร้อนขึ้นทำให้ความหนืด (paste viscosity) ของแป้งมันเทศ แป้งข้าวโพด แป้งข้าวโพดที่มีปริมาณอะไมโลสสูง แป้งข้าวโอ๊ต แป้งเลนทิล แป้งแยมและแป้งมันฝรั่งลดลง นอกจากนี้ Singh และคณะ (2005) พบว่าแป้งมันเทศที่ตัดแปรด้วยความร้อนขึ้นโดยปรับความชื้นของแป้งเป็น 25-28% ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 110°C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง พบว่าเจลแปงตัดแปรมีค่า gel strength, adhesiveness และ elasticity ของเจล ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับแป้งที่ไม่ตัดแปร

Miyazaki และ Morita (2005) ศึกษาผลของแป้งข้าวโพดตัดแปรด้วยความร้อนขึ้นต่อสมบัติของแป้งโด (dough) และขนมปัง (bread) โดยผสมแป้งข้าวโพดตัดแปร (หรือแป้งข้าวโพดปกติ) 20% แทนที่แป้งสาลี ผลการศึกษาสมบัติของแป้งโดที่ได้พบว่าแป้งโดที่ผสมแป้งข้าวโพดตัดแปรมีความยืดหยุ่น (elasticity) ลดลงเมื่อเทียบกับแป้งโดที่ผสมด้วยแป้งข้าวโพดที่ไม่ผ่านการตัดแปร รวมถึงแป้งโดที่ไม่ผสมแป้งข้าวโพด ผลการวิเคราะห์โดย DSC และ viscograph พบว่าแป้งสาลีผสมแป้งข้าวโพดตัดแปรมีการพองตัวต่ำและเกิดเจลาคีในช่่ายากขึ้น

Lorlowhakarn และ Naivikul (2006) ศึกษาการดัดแปรแป้งฟลาวร์ของข้าวพันธุ์ชัยนาท1 ด้วยความร้อนขึ้นโดยปรับความชื้นเป็น 25% ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 110 และ 120°C ระยะเวลา 1, 3, 5 ชั่วโมง พบว่าแป้งฟลาวร์ดัดแปรที่อุณหภูมิ 120°C ระยะเวลา 5 ชั่วโมง เจลแป้งมีค่าความหนืด break down, และ setback ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับแป้งที่ไม่ได้ดัดแปรอย่างมีนัยสำคัญ และมีการพองตัวลดลงแต่การละลายน้ำไม่แตกต่างจากแป้งไม่ได้ดัดแปร นอกจากนี้การดัดแปรที่อุณหภูมิ 120°C ระยะเวลา 5 ชั่วโมง พบว่าแป้งฟลาวร์ดัดแปรมีสีเปลี่ยนไปโดยมีความเข้มของสีแดงและสีเหลืองเพิ่มขึ้น และเมื่อนำไปผสมทำเป็นเส้นก๋วยเตี๋ยวที่ความเข้มข้น 10% จะให้เส้นที่มี tensile strength สูงกว่าเส้นก๋วยเตี๋ยวจากแป้งฟลาวร์ที่ไม่ได้ดัดแปร

Wadchararat และคณะ (2006) ศึกษาการดัดแปรแป้งข้าวสามสายพันธุ์ที่มีปริมาณอะไมโลส แตกต่างกันคือ พันธุ์ชัยนาท1 (28.72%) พันธุ์ขาวดอกมะลิ105 (16.45%) และพันธุ์ข6 (5.54%) โดยปรับความชื้นแป้งฟลาวร์เป็น 40% นำไปผ่าน drum dryer พบว่าแป้งดัดแปร มี pasting temperature ความหนืด breakdown และ setback ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับแป้งที่ไม่ได้ดัดแปร และมีการหดตัวของเจล (syneresis) เพิ่มขึ้นจากแป้งไม่ได้ดัดแปร ส่วนการดัดแปรด้วยความร้อนขึ้นโดยปรับความชื้นเป็น 30% และให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100°C ระยะเวลา 16 ชั่วโมง พบว่าแป้งฟลาวร์ดัดแปรด้วยความร้อนขึ้นมี pasting temperature เพิ่มขึ้น และมีความหนืด breakdown และ setback ลดลง ส่วนการพองตัวและการละลายลดลงด้วยเช่นกัน

Anderson และ Guraya (2006) ศึกษาการดัดแปรด้วยความร้อนขึ้นในแป้งข้าวเจ้าและแป้งข้าวเหนียวโดยปรับความชื้นเป็น 20% และไมโครเวฟที่อุณหภูมิการละลาย (Melting temperature) ระยะเวลา 60 นาที พบว่าแป้งทั้งสองชนิดมีการเปลี่ยนแปลงของสมบัติด้านความหนืด โดยแป้งข้าวเจ้ามีค่า breakdown เพิ่มขึ้น ในขณะที่แป้งข้าวเหนียวมีค่า breakdown ลดลง

Shih และคณะ (2007) ศึกษาการดัดแปรด้วยวิธีแอนนิลลิงในแป้งข้าวเจ้าเม็ดยาวและแป้งข้าวเหนียว โดยใช้ปริมาณน้ำมากเกินพอและให้ความร้อนที่ 50°C ระยะเวลา 4 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับการดัดแปรด้วยความร้อนขึ้นที่ปรับความชื้นเป็น 20, 30, 40% ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 110°C ระยะเวลา 8 ชั่วโมง พบว่าแป้งดัดแปร มี peak viscosity และ setback ลดลง มีการพองตัวลดลง และไม่มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะโครงสร้างผลึกภายในเม็ดแป้ง แต่วิธีแอนนิลลิงทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสมบัติของแป้งทั้งสองชนิดน้อยกว่าการดัดแปรด้วยความร้อนขึ้น

Olayinka และคณะ (2008) ศึกษาแป้งข้าวฟ่างขาว (white sorghum) ที่ดัดแปรด้วยความร้อนขึ้นโดยปรับความชื้นเป็น 18-27% ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 110°C ระยะเวลา 16 ชั่วโมง แป้งดัดแปรที่ได้มีการพองตัวและการละลายลดลง นอกจากนี้พบว่าค่าความเป็นกรดต่าง (pH) ยังมีผล

ต่อการพองตัวและการละลายด้วย โดยการพองตัวและการละลายจะแปรผันกับค่าความเป็นกรดต่าง เมื่อสารละลายมีความเป็นด่างมากขึ้นทำให้แป้งมีการพองตัวและการละลายลดลง

Chung และคณะ (2009a) ศึกษาเปรียบเทียบการดัดแปรแป้งข้าวโพดโดยวิธีแอนนิลลิง (ความชื้น 70% อุณหภูมิ 50°C ระยะเวลา 24 ชั่วโมง) และการดัดแปรด้วยความร้อนชื้น (ความชื้น 30% อุณหภูมิ 120°C ระยะเวลา 24 ชั่วโมง) และผลของการดัดแปรทั้งสองวิธีร่วมกันโดยสลับลำดับการดัดแปรก่อนหลัง พบว่าการดัดแปรด้วยความร้อนชื้นมีผลต่อลักษณะการบิตระนาบแสงโพลาไรซ์ของเม็ดแป้ง (birefringence) ทำให้เห็นเป็นช่องว่างขนาดใหญ่บริเวณกลางเม็ดแป้ง นอกจากนี้แป้งดัดแปรด้วยความร้อนชื้นมีการพองตัวและการปลดปล่อยอะไมโลสมากกว่าแป้งที่ดัดแปรด้วยวิธี แอนนิลลิง และเจลแป้งดัดแปรด้วยความร้อนชื้นมีความหนืด breakdown และ setback ลดลงมากกว่าแป้งไม่ดัดแปรและแป้งดัดแปรด้วยวิธีแอนนิลลิง เมื่อใช้ทั้งสองวิธีร่วมกันพบว่าแป้งดัดแปรมีการพองตัวลดลงและปลดปล่อยอะไมโลสมากกว่าแป้งที่ดัดแปรด้วยวิธีเดียว ส่วนสมบัติด้านความหนืดคล้ายแป้งดัดแปรด้วยความร้อนชื้นและไม่ขึ้นอยู่กับการดัดแปรก่อนหลัง

Adebowale และคณะ (2009) ศึกษาการดัดแปรแป้ง African yam bean ด้วยความร้อนชื้น โดยปรับความชื้นตั้งแต่ 18-27% ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100°C ระยะเวลา 16 ชั่วโมง พบว่าแป้งดัดแปรมีการละลายและการพองตัวน้อยกว่าแป้งที่ไม่ได้ดัดแปร และทำให้ water absorption เพิ่มขึ้น แต่ oil absorption ลดลง โดยระดับการเปลี่ยนแปลงจะเพิ่มมากขึ้นตามความชื้นในการดัดแปร แป้งดัดแปรที่ความชื้น 18% สามารถเกิดเป็นเจลแข็งได้ในขณะที่ตัวอย่างที่ดัดแปรด้วยความชื้นสูงขึ้นไม่สามารถเกิดเป็นเจลแข็งได้ นอกจากนี้การดัดแปรยังทำให้ค่า gelatinization enthalpy ลดลง แป้ง African yam bean แสดงโครงสร้างผลึกเป็นแบบชนิด C เมื่อดัดแปรด้วยความร้อนชื้นแป้งมีความเป็นผลึกเพิ่มขึ้นเล็กน้อยแต่ยังคงมีโครงสร้างผลึกเป็นแบบชนิด C เช่นเดิม

Watcharatwinkul และคณะ (2009) ศึกษาการดัดแปรแป้งพุทธรักษาด้วยความร้อนชื้น โดยปรับระดับความชื้นตั้งแต่ 15-25% ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100°C ระยะเวลา 16 ชั่วโมง พบว่าแป้งพุทธรักษาดัดแปรไม่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างภายนอก แต่มีค่า paste viscosity และ setback ลดลง โดยเฉพาะการดัดแปรที่ความชื้นสูง (22-25%) เม็ดแป้งมีการพองตัวลดลงมีความแข็งแรงมากขึ้น

2.2 ผลของการดัดแปรด้วยความร้อนชื้นต่อการย่อยสลายด้วยเอนไซม์

ที่ผ่านมามีการทดลองย่อยสลายแป้งดัดแปรด้วยความร้อนชื้นด้วยเอนไซม์อะไมเลสในแป้งหลายชนิด ซึ่งให้ผลแตกต่างกันขึ้นกับชนิดของแป้ง **Hoover และ Manuel (1996)** และ **Hoover และ Vasanthan (1994)** รายงานว่าแป้งถั่ว แป้งมันฝรั่ง แป้งแยมและแป้งข้าวโอ๊ตถูกย่อยสลายด้วย

เอนไซม์ได้มากขึ้นภายหลังการดัดแปร ในขณะที่แป้งสาลีและแป้งเลนทิล (Hoover และ Vasanthan, 1994) แป้งข้าวโพดและข้าวโพดข้าวเหนียว (Franco และคณะ, 1995) แป้งข้าวเจ้า และแป้งข้าวเหนียว (Anderson และคณะ, 2002) ให้ผลที่ตรงกันข้ามคือ สามารถทนต่อการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อะไมเลสมากขึ้น

Jacobasch และคณะ (2006) พบว่าแป้ง Novelose330 ที่ดัดแปรด้วยวิธีแอนนิลิ่งและด้วยความร้อนชื้นสามารถเพิ่มปริมาณแป้งที่ทนต่อการย่อย (resistant starch; RS) จาก 40.4% เป็น 67 และ 74.7% ตามลำดับ

Wongsagonsup และคณะ (2008) ศึกษาการดัดแปรแป้งข้าวโพดโดยใช้ความร้อนชื้น ร่วมกับการใช้ temperature cycling และ isothermal holding พบว่าการใช้ temperature cycling ที่ -24°C ระยะเวลา 1 ชั่วโมง และให้ความร้อนที่ 30°C ระยะเวลา 24 ชั่วโมง 1 รอบ หลังการดัดแปรด้วยความร้อนชื้น ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างภายในทำให้ปริมาณแป้งที่ย่อยสลายช้า (slowly digestible starch; SDS) และ RS เพิ่มขึ้น แต่โครงสร้างผลึกภายในเม็ดแป้งยังคงเป็นประเภท A และยังคงสมบัติการบิกระนาบแสงโพลาไรซ์ของเม็ดแป้งไว้เช่นเดิม

Chung และคณะ (2009b) พบว่าการดัดแปรด้วยวิธีแอนนิลิ่งและการดัดแปรด้วยความร้อนชื้นทำให้ได้แป้งที่ย่อยสลายได้เร็ว (rapidly digestible; RDS) และ RS เพิ่มขึ้น ส่วน SDS มีปริมาณลดลง นอกจากนี้ได้ศึกษาการดัดแปรแบบใช้ทั้งสองวิธีร่วมกัน พบว่าการดัดแปรด้วยความร้อนชื้นก่อนดัดแปรด้วยวิธีแอนนิลิ่งทำให้ RDS เพิ่มขึ้น SDS ลดลง และ RS ไม่แตกต่างจากแป้งไม่ดัดแปร ส่วนการดัดแปรด้วยวิธีแอนนิลิ่งก่อนการดัดแปรด้วยความร้อนชื้นพบว่ามี RDS เพิ่มขึ้น ส่วน SDS และ RS น้อยกว่าแป้งที่ไม่ดัดแปร

2.3 ผลของการดัดแปรด้วยความร้อนชื้นต่อโครงสร้างภายในเม็ดแป้ง

Kohyama และ Sasaki (2006) ศึกษาการดัดแปรด้วยวิธีแอนนิลิ่งในแป้งข้าวสาลี แป้งข้าวโพด และแป้งมันฝรั่ง พบว่าแป้งข้าวสาลีที่ดัดแปรด้วยวิธีแอนนิลิ่งโดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 20 และ 50°C ระยะเวลา 72 ชั่วโมง พบว่าโครงสร้างของอะไมโลเพคตินของแป้งข้าวโพดดัดแปรที่อุณหภูมิ 50°C มี short chain (DP 6-12) และ long chain (DP>36) มากกว่าแป้งข้าวโพดดัดแปรที่อุณหภูมิ 20°C ส่วนในแป้งมันฝรั่งดัดแปรที่อุณหภูมิ 50°C พบว่ามี short chain (DP 6-12) ลดลงและ long chain (DP>36) เพิ่มขึ้น เมื่อเทียบกับการดัดแปรที่ 20°C แต่การดัดแปรด้วยวิธีแอนนิลิ่งไม่มีผลต่อปริมาณอะไมโลสของแป้งทั้งสามชนิด และเมื่อเปรียบเทียบแป้งทั้งสามชนิดที่มีโครงสร้างผลึกแตกต่างกัน พบว่าแป้งมันฝรั่งที่เป็นชนิด B จะมีความคงรูปน้อยกว่าแป้งข้าวสาลี และแป้งข้าวโพดที่เป็นชนิด A เมื่อทำการดัดแปรด้วยวิธีแอนนิลิ่งที่อุณหภูมิ 50°C แป้งมันฝรั่งชนิด B จะมีการเปลี่ยนโครงสร้างผลึกเป็นชนิด A ส่วนแป้งที่เป็นชนิด A อยู่แล้วจะยังคงความเป็น

ชนิด A อยู่ เช่นเดียวกับที่ Stute (1992) และ Vermeulen และคณะ (2006) รายงานว่าแบ่งจากพืชหัวบางชนิดมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างผลึกจากชนิด B เป็นชนิด A

Lan และคณะ (2008) ศึกษาการดัดแปรแป้งสาลีสามชนิดด้วยวิธีแอนนิลลิง พบว่าปริมาณองค์ประกอบทางเคมี เช่น โปรตีน ไขมัน ถ้า ฟอสฟอรัสไม่เปลี่ยนแปลง แต่ปริมาณอะไมโลสในแป้งดัดแปรลดลงประมาณ 1.8-2.2% และมีความยาวเฉลี่ยของสายโซ่โมเลกุลอะไมโลเพคตินลดลงเล็กน้อย

Chung และคณะ (2009a) ได้ศึกษาโครงสร้างภายในของแป้งข้าวโพดดัดแปรด้วยความร้อนขึ้นเปรียบเทียบกับวิธีแอนนิลลิง พบว่าการดัดแปรทั้งสองวิธีทำให้ปริมาณอะไมโลสปรากฏลดลง ส่วนการดัดแปรด้วยความร้อนขึ้นมีผลต่อความยาวของสายโมเลกุลอะไมโลเพคติน แป้งที่ดัดแปรด้วยความร้อนขึ้นพบที่มีความยาวเฉลี่ยของสายโมเลกุลอะไมโลเพคตินลดลง และมีการเพิ่มขึ้นของโมเลกุลสายสั้นของอะไมโลเพคติน

2.4 การนำแป้งดัดแปรไปใช้ประโยชน์

Matsunaga และคณะ (2003) ศึกษาการนำแป้งดัดแปรไปใช้กับแป้งทอดเทียมปุระ โดยใช้แป้งทางการค้า 9 ชนิด นำมาดัดแปรด้วยความร้อนขึ้นโดยปรับความชื้นเป็น 20% ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 120°C ระยะเวลา 1 ชั่วโมงในหม้อหนึ่งไอน้ำจากนั้นทำให้แห้ง นำไปเป็นส่วนผสมสำหรับทำแป้งทอดเทียมปุระเปรียบเทียบกับแป้งที่ไม่ผ่านการดัดแปร เมื่อใช้แป้งที่ไม่ผ่านการดัดแปรพบว่าแป้งทอดเทียมปุระมี water evaporation และ breaking strength แตกต่างกันขึ้นกับชนิดของแป้ง แป้งที่มาจากธัญพืชเมื่อใช้เป็นส่วนผสมของแป้งชุบทอดเทียมปุระให้แป้งทอดที่กรอบกว่าแป้งที่มาจากพืชหัวหรือรากซึ่งให้ลักษณะแป้งทอดที่เหนียวมากกว่า และเมื่อใช้แป้งดัดแปรด้วยความร้อนขึ้นแทนแป้งไม่ดัดแปรพบว่า แป้งชุบทอดมีความกรอบเพิ่มขึ้นโดยเฉพาะในแป้งที่มาจากพืชหัวหรือรากจะเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน

Horndok และ Noomhorm (2007) รายงานการใช้ hydrothermal treatment ในแป้งข้าว โดยเปรียบเทียบระหว่างการดัดแปรด้วยวิธีแอนนิลลิงโดยให้ความชื้นมากเกินไป ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 55°C ระยะเวลา 24 ชั่วโมง และการดัดแปรด้วยความร้อนขึ้นโดยปรับความชื้นเป็น 15, 20, 25% ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100, 105, 110°C ระยะเวลา 0.5, 1, 1.5 ชั่วโมง โดยเลือกใช้ข้าวพันธุ์ชัยนาทที่มีปริมาณอะไมโลส 30% และแป้งข้าวของบริษัทยอดเองที่มีปริมาณอะไมโลส 27% พบว่าการดัดแปรทั้งสองวิธีทำให้ gel hardness ของแป้งข้าวเพิ่มขึ้น ทำให้ค่าการพองตัวของแป้งลดน้อยลง ส่วนค่าการละลายของแป้งข้าวเป็นไปทั้งเพิ่มขึ้นและลดลง และเมื่อศึกษาสมบัติของเส้นก๋วยเตี๋ยวที่ทำจากแป้งข้าวดัดแปรด้วยความร้อนขึ้น (ความชื้น 20% อุณหภูมิ 110°C ระยะเวลา 1.5 ชั่วโมง) และแป้งดัดแปรแอนนิลลิง พบว่าเส้นก๋วยเตี๋ยวที่ได้หลังจากการทำให้สุก (cooked

noodle) จากการใช้แป้งดัดแปรทั้งสองวิธีมี cooking loss และ retrogradation ลดลง และแป้งดัดแปรจากทั้งสองวิธีให้เส้นก๋วยเตี๋ยวที่มี hardness เพิ่มขึ้น และมี adhesiveness, chewiness ลดลง แต่เมื่อผสมกับแป้งฟลาวาร์ 50% พบว่าค่า hardness, adhesiveness, chewiness ไม่แตกต่างกับการผลิตด้วยแป้งฟลาวาร์เพียงอย่างเดียว

บทที่ 3 วิธีการทดลอง

3.1 การเตรียมแป้งข้าวและแป้งฟลาวาร์

เตรียมแป้งข้าวและแป้งฟลาวาร์โดยใช้ข้าวเจ้าสายพันธุ์พลาญงามปราจีนที่มีประมาณอะไมโลส ค่อนข้างสูง โดยการเตรียมแป้งข้าวจะทำการแช่เมล็ดข้าวไว้ในน้ำที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 1 คืน จากนั้นนำมาบดโดยใช้น้ำ กรองด้วยตะแกรงขนาด 63 ไมครอน ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอนที่อุณหภูมิ 4°C จากนั้นเทน้ำส่วนบนออก เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.35% ปริมาณ 4 เท่าของตะกอนแป้ง กวนให้แป้งกระจายตัวตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอนที่อุณหภูมิ 4°C เติมน้ำส่วนบนทั้ง ล้างตะกอนแป้งด้วยน้ำหลายๆ ครั้งจน pH เท่ากับ 7 นำตะกอนแป้งที่ได้มาอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 40°C นำมาบดละเอียดอีกครั้งกรองด้วยตะแกรงขนาด 63 ไมครอน ส่วนแป้งฟลาวาร์ใช้เมล็ดข้าวสายพันธุ์เดียวกันนำมาบดแบบแห้งโดยใช้เครื่องบด จากนั้นกรองด้วยตะแกรงขนาด 106 ไมครอน

3.2 ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของแป้งข้าวเจ้าและฟลาวาร์ข้าว

วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของแป้งข้าวและฟลาวาร์ข้าวเพื่อใช้อธิบายผลขององค์ประกอบทางเคมีต่อสมบัติของแป้งข้าวและฟลาวาร์ข้าวหลังการดัดแปร

3.2.1 ปริมาณความชื้น ตามวิธีการของ AOAC (1990)

ชั่งตัวอย่าง 2.0000 กรัม ให้น้ำหนักแน่นอน ใส่ลงในภาชนะอะลูมิเนียมที่แห้งสนิท (อบในตู้อบที่อุณหภูมิ $130 \pm 3^{\circ}\text{C}$ (ถ้าเป็นฟลาวาร์จะใช้อุณหภูมิ $105 \pm 3^{\circ}\text{C}$) จนน้ำหนักคงที่แล้วทิ้งไว้เย็นใน desiccator จากนั้นชั่งน้ำหนักภาชนะอะลูมิเนียมเปล่าเก็บไว้) นำตัวอย่างไปอบในตู้อบโดยควบคุมอุณหภูมิ $130 \pm 3^{\circ}\text{C}$ (ถ้าเป็นฟลาวาร์จะใช้อุณหภูมิ $105 \pm 3^{\circ}\text{C}$) เป็นเวลา 4 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบ ทิ้งไว้ให้เย็นใน desiccator แล้วชั่งน้ำหนักภาชนะอะลูมิเนียมพร้อมตัวอย่าง และนำเข้าตู้อบอีกครั้งเพื่ออบจนน้ำหนักคงที่ โดยจะนำออกมาชั่งน้ำหนักทุกชั่วโมงจนน้ำหนักคงที่

คำนวณปริมาณความชื้นโดยใช้สูตร

$$\text{ปริมาณความชื้น (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักก่อนอบ (g)} - \text{น้ำหนักหลังอบ (g)}}{\text{น้ำหนักก่อนอบ (g)}} \times 100$$

น้ำหนักก่อนอบ

3.2.2 ปริมาณไขมัน ตามวิธีการของ AOAC (1990)

ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 2.0000 กรัม ให้น้ำหนักแน่นอน แล้วห่อด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 ใส่ห่อตัวอย่างลงใน thimble บรรจุลงในชุดสกัดไขมัน โดยเติมสารทำละลายปิโตรเลียมอีเธอร์ 50 มิลลิลิตร ใน Soxhlet cup (ที่ทราบน้ำหนักแน่นอนแล้ว) แซะ thimble ตัวอย่างลงในถ้วยที่มีตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเธอร์ และให้ความร้อนเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ยก thimble ตัวอย่างเหนือถ้วยและกลั่นชะอีกครั้งเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ระเหยปิโตรเลียมอีเธอร์ออกจากไขมันที่สกัดได้ โดยเปิดวาล์วให้ปิโตรเลียมอีเธอร์ที่ระเหยไหลไปรวมด้านบนของ Condenser นำ Soxhlet cup ที่ปราศจากปิโตรเลียมอีเธอร์แล้วไปอบที่อุณหภูมิ 100°C นาน 30 นาที หรือจนน้ำหนักคงที่ นำ Soxhlet cup ที่แห้งไว้ใน desiccator ชั่งน้ำหนัก Soxhlet cup

คำนวณหาปริมาณไขมันโดยใช้สูตร

$$\text{ปริมาณไขมัน (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักไขมันที่สกัดได้ (g)} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างแห้ง (g)}}$$

3.2.3 ปริมาณโปรตีน ตามวิธีการของ AOAC (1990)

ชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่ทราบแน่นอน 2.0000 กรัม ใส่ใน Kjeldahl tube เติมสารเร่งปฏิกิริยา 1 เม็ด (ประมาณ 10 g) และเติม H₂SO₄ เข้มข้น 20 ml ย่อยด้วยเครื่อง Digestion unit เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หรือจนตัวอย่างใสเป็นสีฟ้าอ่อน ทิ้งให้ Kjeldahl tube เย็นแล้วจึงประกอบเข้ากับเครื่อง Distillation unit เตรียมสารละลายกรดบอริกความเข้มข้น 4% ใส่ flask 250 ml ปริมาตร 60 ml และหยดอินดิเคเตอร์ 3-4 หยด เพื่อรองรับสารที่กลั่นได้ ตั้งโปรแกรมให้เครื่องเติมน้ำกลั่น 20 ml และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 40% ปริมาตร 60 ml หรือเติมสารละลาย NaOH จนสารละลายตัวอย่างเป็นสีน้ำตาล ทำการกลั่นตัวอย่างนาน 3.5 นาที เสร็จแล้วจึงนำ flask ที่มีสารรองรับออกไต่เตรทกับสารละลายมาตรฐานกรดเกลือ 0.01 N จนสารละลายถึงจุดยุติเป็นสีชมพูอ่อน

คำนวณหาปริมาณไนโตรเจนและปริมาณโปรตีน โดยใช้สูตร

$$\text{ปริมาณไนโตรเจน(\%)} = \frac{\text{ปริมาตรกรดเกลือที่ไต่เตรท (ml)} \times \text{ความเข้มข้นกรดเกลือ (N)} \times 1.4}{\text{น้ำหนักตัวอย่างแห้ง(g)}}$$

$$\text{ปริมาณโปรตีนในแป้ง (\%)} = \text{ปริมาณไนโตรเจน (\%)} \times 6.25$$

3.2.4 ปริมาณเถ้า ตามวิธีการของ Smith และ Caruso (1964)

ชั่งตัวอย่างที่ทราบน้ำหนักแน่นอน 2.0000 กรัม ใส่ใน crucible ที่เผาและทราบน้ำหนักแน่นอนแล้ว เผาตัวอย่างใน crucible ด้วยเตาให้ความร้อนจนตัวอย่างเป็นสีดำและไม่มีควัน นำตัวอย่างเข้าเผาใน muffle furnace ที่อุณหภูมิ 550°C จนได้เถ้าเป็นสีขาว ทิ้งให้เย็นใน desiccator เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เสร็จแล้วชั่งน้ำหนัก

คำนวณหาปริมาณเถ้า โดยใช้สูตร

$$\text{ปริมาณเถ้า (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักหลังเผา (g)} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (g)}}$$

3.2.5 ปริมาณอะไมโลส ตามวิธีการของ Jayakody และคณะ (2007)

ชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่ทราบแน่นอน 0.020 กรัม ใส่ในหลอดฝาเกลียว เดิม 90% Dimethyl sulfoxide (DMSO) 8 มิลลิลิตร ปิดฝาผสมให้เข้ากันด้วย vortex เป็นเวลา 2 นาที นำไปให้ความร้อนที่ 85°C นาน 30 นาที โดยทำการกวนตลอดเวลาขณะให้ความร้อน ตั้งทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 45 นาที เติมน้ำกลั่นปรับปริมาณเป็น 25 มิลลิลิตร ตีตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 40 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นเติม I₂/KI ความเข้มข้น 0.025/0.0065 โมลาร์ ปริมาณ 5 ml เขย่าให้เข้ากัน ปรับปริมาณเป็น 50 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับ standard

หมายเหตุ ในการเตรียมกราฟมาตรฐานจะเตรียมตัวอย่างสารละลายมาตรฐานโดยทำการผสมระหว่างอะไมโลสและอะไมโลเพคตินที่บริสุทธิ์ ในอัตราส่วนอะไมโลส 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100% และอะไมโลเพคติน 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 0% และดำเนินการวิเคราะห์เช่นเดียวกับตัวอย่างแป้ง

3.3 ศึกษาการดัดแปรแป้งข้าวเจ้าโดยใช้ความร้อนชื้น [วิธีการในการเตรียมตัวอย่างแป้งอ้างอิงตาม Watcharatwinkul และคณะ (2009)]

ทำการดัดแปรแป้งข้าวและแป้งฟลาวร์โดยศึกษาระยะเวลาการดัดแปร 2 ระดับ คือ 4 และ 16 ชั่วโมง ศึกษาความชื้นที่ใช้สำหรับดัดแปร 3 ระดับ คือ 20, 25, 30% และศึกษาอุณหภูมิที่ใช้ดัดแปร 2 ระดับ คือ 100 และ 120°C การเตรียมแป้งข้าวและแป้งฟลาวร์ดัดแปรทำโดยการนำตัวอย่างแป้งแช่น้ำที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 1 คืน เพื่อให้แป้งดูดซับน้ำจนอิ่มตัว จากนั้นนำมาคูดน้ำออกให้แห้งหมาดๆ สุ่มวัดความชื้นโดยใช้เครื่อง moisture analyzer เมื่อได้ความชื้นที่ต้องการ คือ 20, 25, 30% นำแป้งใส่ภาชนะปิด เข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 100 และ 120°C นาน 4 และ 16 ชั่วโมง จากนั้นนำแป้งที่ผ่านการดัดแปรมาอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 40°C บดละเอียดและกรองด้วยตะแกรง

ขนาด 63 ไมครอน สำหรับแป้งข้าว และ 106 ไมครอน สำหรับแป้งฟลาวัวร์ และนำไปศึกษาคุณสมบัติที่เปลี่ยนแปลงไป

3.4 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเคมีกายภาพของแป้งข้าวและแป้งฟลาวัวร์ดัดแปร

3.4.1 ลักษณะของเม็ดแป้ง ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM) [Puncha-arnon และคณะ (2007)]

นำแป้งตัวอย่างปริมาณเล็กน้อยมาโรยบนเทปกาวสองหน้าที่ติดอยู่บนแท่ง aluminium stub นำแท่ง aluminium stub ที่ติดแป้งตัวอย่างแล้วเข้าเครื่องเคลือบทองที่ผิวของแป้งตัวอย่าง ส่องดูตัวอย่างโดยควบคุมสภาวะในการทดลองดังนี้ ค่าอัตราเร่งความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ 10 หรือ 15 kV และใช้กำลังขยายที่ 3500 และ 10000 เท่า

3.4.2 ลักษณะโครงสร้างผลึก โดย X-ray diffractometer (Puncha-arnon และคณะ, 2007)

ชั่งตัวอย่างแป้งประมาณ 5 - 20 กรัม บรรจุลงในจานสำหรับตรวจวิเคราะห์ และปิดผิวหน้าของจานด้วยแผ่นอลูมิเนียมฟอยล์ เพื่อป้องกันการเปลี่ยนแปลงความชื้น วิเคราะห์ลักษณะโครงสร้างผลึกของเม็ดแป้ง โดยทดสอบที่สภาวะดังต่อไปนี้คือ ใช้ target เป็นโลหะทองแดงที่มีความต่างศักย์ไฟฟ้าเท่ากับ 45.0 kV. ใช้กระแสไฟฟ้า 30.0 mA. เริ่ม scan ที่มุม 5.00 และหยุดที่มุม 45.00 โดยมีค่า step angle เท่ากับ 0.040

3.4.3 พฤติกรรมการเปลี่ยนแปลงความหนืดด้วยเครื่อง Rapid Visco Analyzer (RVA) (Thitipraphunkul และคณะ, 2003)

เตรียมตัวอย่างแป้งให้มีความเข้มข้นร้อยละ 8 โดยน้ำหนัก โดยชั่งแป้งเทในแคนอลูมิเนียม จากนั้นจึงชั่งน้ำกลั่นใส่แคนอลูมิเนียม ให้มีน้ำหนักรวม 28 กรัม ใช้ใบพัดกวนผสมให้เข้ากัน ใส่แคนอลูมิเนียมลงในเครื่อง RVA กำหนด profile ดังตาราง แล้วเดินเครื่อง เมื่อการวิเคราะห์สิ้นสุดจะได้กราฟของตัวอย่างและค่าต่างๆ ที่วิเคราะห์ได้

Time	Type[Temp/Speed]	Value [$^{\circ}$ C] or RPM
00:00:00	Temp	40
00:00:00	Speed	960
00:00:10	Speed	160
00:01:00	Temp	40
00:18:30	Temp	92.5
00:33:30	Temp	92.5

00:51:00	Temp	40
----------	------	----

หมายเหตุ

1. อุณหภูมิเริ่มเกิดความหนืด (Pasting Temperature) คือ อุณหภูมิที่แป้งมีการเปลี่ยนแปลงความหนืดมากที่สุด มีหน่วยเป็นองศาเซลเซียส
2. ความหนืดสูงสุด (Peak Viscosity) คือ ความหนืดสูงสุดของแป้งในช่วงตั้งแต่เริ่มให้ความร้อนจนถึงสิ้นสุดการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 92.5°C มีหน่วยเป็น RVU
3. Breakdown เป็นค่าผลต่างระหว่างค่าความหนืดสูงสุดกับค่าความหนืดต่ำสุด มีหน่วยเป็น RVU
4. Setback เป็นค่าผลต่างระหว่างค่าความหนืดสุดท้ายลบด้วยค่าความหนืดต่ำสุด มีหน่วยเป็น RVU

3.4.4 สมบัติทางความร้อนในการเกิดเจลลิตไนซ์เซชันของแป้งด้วยเครื่อง differential scanning calorimeter (DSC) (Puncha-arnon และคณะ, 2007)

เตรียมตัวอย่างแป้งที่ทราบค่าความชื้นแน่นอน ชั่งแป้ง 3 มิลลิกรัมโดยน้ำหนักแห้งลงใน aluminium pan ของเครื่อง DSC และเติมน้ำกลั่นลงไปประมาณ 6 มิลลิกรัม ทำการปิด aluminium pan นำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดนำ pan ใส่ในช่อง sample ของเครื่อง DSC 1, (Mettler Toledo, Schwerzenbach, Switzerland) และวาง reference pan (panเปล่า) ให้ความร้อนในช่วงอุณหภูมิ 30-100°C ที่อัตราการเพิ่มของอุณหภูมิ 5°C/นาที คำนวณค่าทางเทอร์โมไดนามิกส์โดยใช้ระบบ autocalculation และบันทึกค่าต่างๆที่เกี่ยวข้องกับการเกิดเจลลิตไนซ์ได้แก่

1. อุณหภูมิเริ่มต้นในการเกิดเจลลิตไนซ์ (onset temperature, T_o , °C)
2. อุณหภูมิที่ทำให้เกิดเจลลิตไนซ์สูงสุด (peak temperature, T_p , °C)
3. อุณหภูมิสุดท้ายในการเกิดเจลลิตไนซ์ (conclusion temperature, T_c , °C)
4. พลังงานที่เปลี่ยนแปลงระหว่างเกิดเจลลิตไนซ์ (enthalpy, ΔH , J/g)

3.4.5 การทดสอบค่าแรงกด (Compressive test) ของเจลแป้งหลังจากผ่านเครื่อง RVA แล้วนำไปเก็บไว้ในอุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำเจลแป้งที่ได้ไปวัดค่าด้วย Texture analyzer (Saartrat และคณะ, 2005)

นำเจลแป้งที่ได้จากการวิเคราะห์ความหนืดด้วยเครื่อง RVA ซึ่งเก็บไว้ในอุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง มาวัดเนื้อสัมผัสโดยใช้เครื่อง texture analyzer รุ่น EZ50N ยี่ห้อ Shimadzu หัววัดรูปทรงกระบอกขนาด 20 มิลลิเมตร เลือกรูปแบบการวัดเป็นแบบ Compression แล้วให้เครื่องทำงานโดยใช้คอมพิวเตอร์ควบคุม มีรายละเอียดดังนี้

Mode	:	Measure force in compression
Option	:	Return to start
Pre-test speed	:	1.5 mm/sec
Test speed	:	2.0 mm/sec
Post-test speedm	:	2.0 mm/sec
Distance	:	20 mm
Trigger type	:	5 g

3.4.6 วิเคราะห์กำลังการพองตัวของเม็ดแป้งในน้ำ และน้ำมัน [ดัดแปลงจากวิธีการของ Matsunaga และคณะ (2003)]

เตรียมตัวอย่างแผ่นแป้งสำหรับวิเคราะห์การพองตัวในน้ำและในน้ำมันโดยเตรียมจากน้ำแป้งความเข้มข้น 40% ในน้ำ จากนั้นเทใส่เพลทขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9.5 เซนติเมตร ปริมาตร 15 มิลลิลิตร นำไปนึ่งนาน 1.30 นาที ทิ้งให้เย็นจากนั้นลอกแผ่นแป้งออกจากเพลท นำเข้าอบลมร้อนที่อุณหภูมิ 80°C นาน 15 นาที หลังจากนั้นนำมาบ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 3 ชั่วโมง โดยใช้ผ้าขาวคลุมไว้ไม่ให้แผ่นแป้งแห้งจนเกินไป นำแผ่นแป้งที่ได้มาตัดเป็นชิ้นขนาด 1x1 เซนติเมตร และอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50°C ก่อนนำไปวิเคราะห์การพองตัว

การพองตัวในน้ำ

นำชิ้นแผ่นแป้งที่เตรียมได้จำนวน 3 ชิ้น ตัวอย่างละ 5 ซ้ำ มาชั่งน้ำหนักที่แน่นอน จากนั้นใส่ในหลอดเติมน้ำหลอดละ 5 มิลลิลิตร ปิดฝาหลอด แล้วต้มในน้ำอุณหภูมิ 100°C นาน 5 นาที จากนั้นทิ้งไว้ให้หายร้อน 5 นาที เทน้ำออกและซับน้ำส่วนเกินให้หมด ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที นำไปชั่งน้ำหนัก

การพองตัวในน้ำมัน

นำชิ้นแผ่นแป้งที่เตรียมได้จำนวน 10 ชิ้น ตัวอย่างละ 5 ซ้ำ มาวัดปริมาตรเริ่มต้นโดยใช้ทรายละเอียดในการแทนที่ภายในภาชนะทรงกระบอก จากนั้นเคาะให้ทรายลงไปให้เต็ม โดยแบ่งการเติมทรายเป็น 4 ครั้ง แต่ละครั้งเคาะ 30 ครั้ง เมื่อทราบปริมาตรเริ่มต้นแล้ว นำชิ้นแผ่นแป้งเดิมไปทอดในน้ำมันอุณหภูมิ 180°C นาน 30 วินาที ซับน้ำมันส่วนเกินออก นำไปวัดปริมาตรหลังทอดอีกครั้ง

3.5 ศึกษาการย่อยสลายด้วยเอนไซม์

ย่อยเม็ดแป้งด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลสที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 120 นาที วิเคราะห์หาปริมาณกลูโคสที่เกิดขึ้นที่ระยะเวลาการย่อย 20 นาที สำหรับแป้งย่อยสลายเร็ว (RDS) ระยะเวลา

การย่อย 20-120 นาที สำหรับแป้งย่อยสลายช้า (SDS) และที่เวลาหลัง 120 นาที สำหรับแป้งทนการย่อยด้วยเอนไซม์ (RS)

3.5.1 การวิเคราะห์ปริมาณแป้งทั้งหมด (total starch; TS) โดยวิธี Phenol-sulfuric

ชั่งน้ำหนักตัวอย่างแป้ง 50 มิลลิกรัม แล้วจึงเติม 80% (v/v) เอทานอล ปริมาตร 200 ไมโครลิตร เพื่อช่วยในการกระจายตัว ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที หลังจากนั้นเติม 90% DMSO ปริมาตร 5 มิลลิตร เขย่าให้เข้ากันและนำไปต้มในน้ำเดือดจนตัวอย่างละลายหมด ตูตสารละลายแป้งที่เจือจางแล้วมา 1 มิลลิตร เติมสารละลายฟีนอลเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 1 มิลลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วจึงเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้นปริมาตร 5 มิลลิตร เขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลานาน 30 นาที แล้ววัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร เตรียม blank ในทำนองเดียวกันโดยเปลี่ยนจากสารละลายตัวอย่างเป็นน้ำกลั่น นำค่าที่ได้มาคำนวณหาปริมาณแป้งโดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้น 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร

3.5.2 การวิเคราะห์ปริมาณ RDS, SDS และ RS (ดัดแปลงจากวิธีการของ Englyst และคณะ 1992)

การเตรียมสารเคมี

1. sodium acetate buffer เข้มข้น 0.1 โมลาร์ pH 5.2 เตรียมโดยชั่ง sodium acetate trihydrate 13.6 กรัม ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร หลังจากนั้นใช้กรดแอซิติกเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ในการปรับค่า pH ให้มีค่าเท่ากับ 5.2 และเติมสารละลาย CaCl_2 ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 4 มิลลิตรต่อลิตรของสารละลายบัฟเฟอร์
2. สารละลายเอทานอลความเข้มข้น 80% เตรียมโดยเจือจาง absolute ethanol ด้วยน้ำกลั่น
3. สารละลายเอนไซม์ α -amylase กิจกรรม 200 unit/ml เตรียมโดยละลายเอนไซม์ α -amylase 2.143 กรัม ในน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิตร ผสมให้เข้ากันนาน 10 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5000 rpm เป็นเวลา 10 นาที
4. สารละลายเอนไซม์ amyloglucosidase กิจกรรม 300 units/ml โดยเจือจางเอนไซม์ amyloglucosidase ด้วยน้ำกลั่นให้ได้กิจกรรม 15 units/ml
5. สารละลายเอนไซม์ผสม เตรียมโดยปิเปตสารละลายเอนไซม์ α -amylase ปริมาตร 54 มิลลิตร ผสมสารละลายเอนไซม์ amyloglucosidase ปริมาตร 6 มิลลิตร

วิธีวิเคราะห์

แป้งที่ไม่ต้ม (uncooked sample)

1. ชั่งแป้ง 100 มิลลิกรัม ใส่ในพลาสติกขนาด 50 มิลลิลิตร
2. เติมน้ำปริมาตร 2 มิลลิลิตร ใส่ glass bead ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตรจำนวน 15 ลูก แล้วจึงเติมสารละลาย sodium acetate buffer 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นเติมเอนไซม์ผสมปริมาตร 5 มิลลิลิตร
3. ปิดพลาสติกด้วยลูกแก้วและบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 120 นาที โดยปรับความเร็วรอบ 130 stokes ต่อนาที
4. เมื่อบ่มครบ 20 และ 120 นาที ดูดตัวอย่าง 0.5 มิลลิลิตร นำมาผสมกับสารละลาย 80% เอทานอลปริมาตร 4.5 มิลลิลิตร (G_{20} และ G_{120}) จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิห้องที่ความเร็วรอบ 5,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที และนำไปวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคสด้วยวิธี Glucose Oxidase/Peroxidase
5. คำนวณหาปริมาณ RDS, SDS และ RS จากสูตร

$$RDS = G_{20} \times 0.9$$

$$SDS = (G_{120} - G_{20}) \times 0.9$$

$$RS = TS - (RDS + SDS)$$

แป้ง/เจลที่ต้ม (cooked sample)

1. ชั่งแป้ง 100 มิลลิกรัม ใส่ในพลาสติกขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำปริมาตร 2 มิลลิลิตร
2. นำไปต้มที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 5 นาที
3. ใส่ glass bead ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตรจำนวน 15 ลูก แล้วจึงเติมสารละลาย sodium acetate buffer 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน
4. เติมเอนไซม์ผสมปริมาตร 5 มิลลิลิตร จากนั้นทำการย่อยต่อและวิเคราะห์เช่นเดียวกับแป้งที่ไม่ต้ม

3.6 ศึกษาโครงสร้างทางเคมีภายในเม็ดแป้งหลังการตัดแปรร

ทำการแยกองค์ประกอบของแป้งคือโมเลกุลอะไมโลสและอะไมโลเพกตินออกจากกัน เพื่อนำแต่ละส่วนมาทำการศึกษาถึงโครงสร้างและสมบัติต่างๆ โดยวิธีที่ใช้ในการแยกโมเลกุลของอะไมโลสและอะไมโลเพกติน ตามวิธีของ Takeda และคณะ (1986) วิเคราะห์โครงสร้างของอะไมโลเพกตินดัดแปลงวิธีของ Vandeputte และคณะ (2003) ดังนี้

การแยกอะไมโลสและอะไมโลเพกติน

1. นำตัวอย่างแป้ง 10 g น้ำหนักแห้ง ละลายใน 90% dimethyl sulfoxide 300 ml ต้มในน้ำเดือดภายใต้สภาวะ N_2 กวนจนกระทั่งสารละลายใสประมาณ 30-60 นาที
2. ตกตะกอนด้วย 300 ml absolute ethanol โดยกวนทิ้งไว้ในห้องเย็นอุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

3. นำไปปั่นแยกตะกอนที่ความเร็ว 2,500 rpm อุณหภูมิห้อง นาน 15 นาที เก็บตะกอนไว้
4. นำตะกอนที่ได้มาละลายในน้ำกลั่นอุณหภูมิ 70-80°C ปริมาตร 400 ml เติมน้ำกลั่นละลาย 1-butanol 100 ml ร่วมกับ 3-methyl-1-butanol 100 ml เติมน้ำกลั่น 1300 ml แล้ว reflux นาน 3 ชั่วโมง
5. ทิ้งไว้ให้อุณหภูมิลดลงเหลือ 50°C ก่อนตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง และห้องเย็น 4°C 48 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปั่นแยกตะกอนที่ความเร็ว 9,000 rpm อุณหภูมิ 4°C นาน 20 นาที แยกส่วนตะกอน (อะไมโลส) และส่วนใส (อะไมโลเพคติน1)
6. นำส่วนตะกอนมาเติม 10% 1-butanol ปริมาตร 1,000 ml กวนให้ตะกอนละลาย แล้ว reflux นาน 1 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้อุณหภูมิลดลงเหลือ 50°C ก่อนตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง และห้องเย็น 4°C 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปั่นแยกตะกอนที่ความเร็ว 9,000 rpm อุณหภูมิ 4°C นาน 20 นาที แยกส่วนตะกอน (อะไมโลส) และส่วนใส (อะไมโลเพคติน2)
7. นำตะกอนที่ได้มาละลายในน้ำกลั่นอุณหภูมิ 70-80°C ปริมาตร 350 ml อุ่นให้ตะกอนละลาย เติมน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 ml เติมน้ำกลั่นละลาย 1-butanol 100 ml แล้ว reflux นาน 10 นาที นำมากรองขณะร้อนด้วย glassfillter เบอร์ 4 นำกลับไป reflux 10 นาที ทิ้งไว้ให้อุณหภูมิลดลงเหลือ 50°C ก่อนตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง และห้องเย็น 4°C 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปั่นแยกตะกอนที่ความเร็ว 9,000 rpm อุณหภูมิ 4°C นาน 20 นาที แยกส่วนตะกอน (อะไมโลส) นำตะกอนไปบดให้ละเอียดด้วย absolute ethanol ก่อนกรองด้วย glassfillter เบอร์ 4 แล้วทำให้แห้งด้วย freeze-dry ได้อะไมโลส
8. ส่วนใสทั้งสองครั้งนำมารวมกัน (อะไมโลเพคติน1+อะไมโลเพคติน2) นำไปทำให้เข้มข้นโดยใช้ evaporator ให้เหลือปริมาตร 500 ml ก่อนตกตะกอนด้วย absolute ethanol จากนั้นนำไปปั่นแยกตะกอนที่ความเร็ว 9,000 rpm อุณหภูมิ 4°C นาน 20 นาที นำตะกอนที่ได้มาบดให้ละเอียดด้วย absolute ethanol ก่อนกรองด้วย glassfillter เบอร์ 4 แล้วทำให้แห้งด้วย freeze-dry ได้อะไมโลเพคติน

การศึกษาโครงสร้างของอะไมโลเพคติน

1. นำอะไมโลเพคตินที่แยกได้ 28 mg มาละลายในน้ำกลั่น 28 ml ต้มในน้ำเดือดให้ตัวอย่างละลายจนหมด เติมน้ำกลั่น 3.85 ml และสารละลายอะซีเตตบัฟเฟอร์ 0.35 ml pH 3.5 เขย่าให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 45°C นาน 10 นาที เติมนิวคลีเอส isoamylase (0.03 unit/mg of substrate) บ่มที่อุณหภูมิ 45°C นาน 12 ชั่วโมง

2. หยุดปฏิกิริยาโดยการต้มในน้ำเดือดนาน 5 นาที นำอะไมโลเพคตินที่ตัดกิ่งได้มาทำให้แห้งด้วย freeze-dry
3. หาขนาดของสายโซ่อะไมโลเพคตินที่ตัดกิ่งแล้วโดยใช้ high-performance size-exclusion chromatography (HPSEC) โดยใช้ 2 column Zorbax PSM 60-S (Agilent, CA) ต่อกัน วิเคราะห์ด้วย refractive index (RI) detector อุณหภูมิที่ใช้สำหรับ column คือ 50°C ใช้ 90% DMSO เป็น mobile phase อัตราเร็ว 0.5 ml/นาที
4. นำอะไมโลเพคตินตัดกิ่ง 4 mg มาละลายใน 90% DMSO ปริมาตร 0.5 ml ต้มให้ละลายในน้ำเดือด 5 นาที จากนั้นเติมสารละลาย 90% DMSO อีก 0.5 ml กรองผ่าน nylon membrane 0.45 μm
5. นำตัวอย่างที่กรองแล้ว 40 μl ฉีดเข้าเครื่อง HPSEC วิเคราะห์ขนาดของอะไมโลเพคตินตัดกิ่งโดยเปรียบเทียบกับ standard คือ maltoheptaose และ pullulan standards P6000 และ P12000

3.7 ศึกษาการตัดแปรด้วยวิธีแอนนิลลิงในแป้งข้าวและแป้งฟลาวร์

ศึกษาการตัดแปรด้วยวิธีแอนนิลลิงในแป้งข้าวและแป้งฟลาวร์ที่ความชื้นมากเกินไป ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 55°C นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นศึกษาการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมีกายภาพเหมือนข้อ 3.3

3.8 ศึกษาการตัดแปรด้วยความร้อนชื้นในข้าวหัก

ศึกษาการตัดแปรด้วยความร้อนชื้นในข้าวหัก โดยใช้สภาวะเดียวกับการตัดแปรด้วยความร้อนชื้นที่ให้แป้งตัวอย่างที่มีการฟองตัวต่ำที่สุดและมีแป้งที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์สูงที่สุด จากนั้นศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเคมีกายภาพเหมือนข้อ 3.3

บทที่ 4 ผลการทดลอง

4.1 คุณสมบัติของแป้งข้าวและแป้งฟลาวร์

4.1.1 องค์ประกอบทางเคมีของแป้งข้าวและฟลาวร์ข้าว

จากตารางที่ 1 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของแป้งข้าวและฟลาวร์ข้าว โดยแป้งข้าวจะมีองค์ประกอบอื่นๆ ได้แก่ โปรตีน ไขมัน เถ้า และฟอสฟอรัสในปริมาณ 0.48%, 0.01%, 0.19% และ 12.85 ppm ตามลำดับ ส่วนฟลาวร์ข้าวที่ได้จากการไม่แห้งเมล็ดข้าวหักพบว่าปริมาณโปรตีน ไขมัน เถ้า และฟอสฟอรัสเท่ากับ 4.98%, 0.24%, 0.18% และ 102.60 ppm ตามลำดับ จากรายงานที่ผ่านมาพบว่า โปรตีน ไขมัน เถ้า ในแป้งข้าวจะมีค่าอยู่ประมาณ 0.24-0.56%, 0.46-0.51%, 0.17-0.21% ตามลำดับ ขึ้นกับสายพันธุ์ของข้าว (Khunae และคณะ, 2007) ในขณะที่ฟลาวร์ข้าวจะมีโปรตีน ไขมัน และเถ้าสูงกว่าคือ 7.85-8.26%, 0.37-0.72%, 0.46-0.73% ตามลำดับ (Lai, 2001) ซึ่งโปรตีนที่พบในข้าว ได้แก่ อัลบูมิน (Albumin) มีคุณสมบัติสามารถละลายได้ในน้ำ โกลบูลิน (Globulin) ละลายได้ในน้ำเกลือ โปรลามิน (Prolamin) ละลายได้ในแอลกอฮอล์ และกลูเตลิน (Glutelin) ละลายได้ในสารละลายกรดหรือด่าง ตามรายงานของ (Ju et al., 2001) พบว่าโปรตีนที่พบในข้าวส่วนใหญ่คือ กลูเตลิน ซึ่งมีปริมาณ 80-90% ของปริมาณโปรตีนทั้งหมด และจากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าโปรตีนมีบทบาทสำคัญมากต่อคุณสมบัติของแป้ง เช่น คุณสมบัติด้านความหนืด คุณสมบัติด้านความร้อน และเนื้อสัมผัสของแป้ง กระบวนการเตรียมแป้งข้าวจึงต้องมีการสกัดโปรตีนออกก่อน ส่วนปริมาณอะไมโลสที่ได้จากการวัดสีพบว่าแป้งข้าวมีปริมาณอะไมโลส 25.26% และในฟลาวร์ข้าวพบว่ามีปริมาณต่ำกว่า คือ 14.79% เนื่องจากในฟลาวร์ข้าวมีปริมาณ total starch น้อยกว่าแป้งข้าว โดยแป้งข้าวจะมีปริมาณ total starch 95.24% ส่วนฟลาวร์ข้าวมีปริมาณ total starch 84.66% นอกจากนั้นยังพบความแตกต่างของการละลายตัวอย่างที่ไม่สมบูรณ์ทำให้ปริมาณของอะไมโลสที่วัดได้อาจจะน้อยกว่าความเป็นจริง

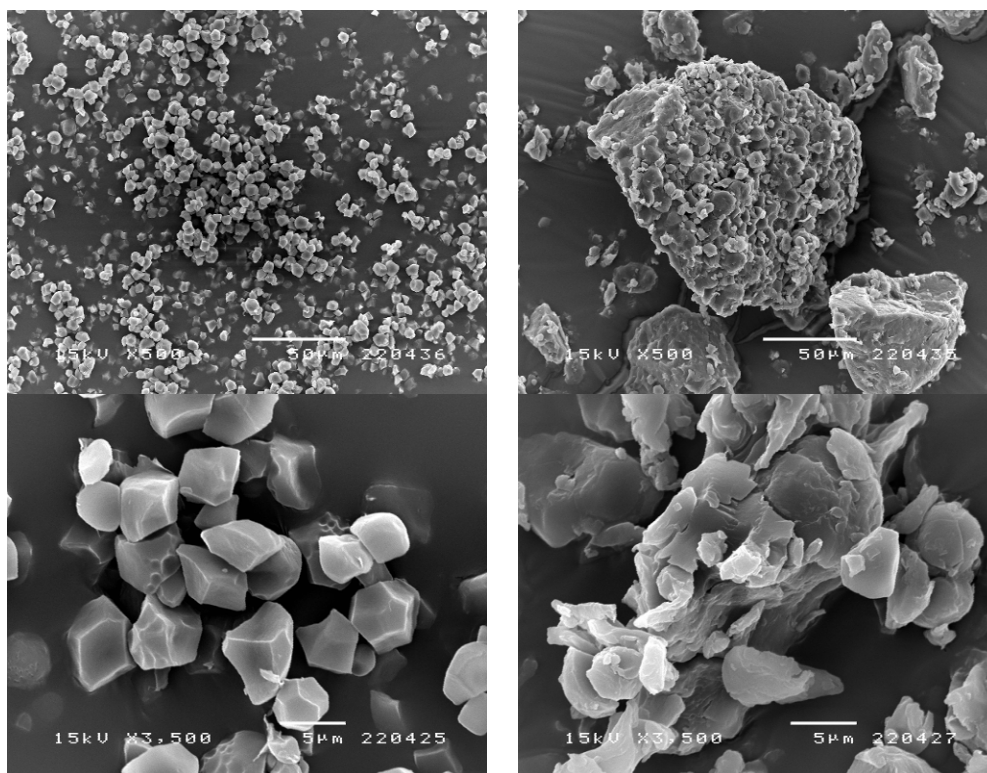
ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของแป้งข้าวและฟลาวร์ข้าว

Characteristics	แป้งข้าว	ฟลาวร์ข้าว
ปริมาณโปรตีน (%)	0.48±0.01	4.98±0.02

ปริมาณไขมัน (%)	0.01±0.01	0.24±0.01
ปริมาณเถ้า (%)	0.19±0.01	0.18±0.01
ปริมาณฟอสฟอรัส (ppm)	12.85±0.82	102.60±2.95
ปริมาณอะไมโลส (%)	25.26±1.26	14.79±1.35
Total starch (%)	95.24±0.52	84.66±0.39

4.1.2 รูปร่างและลักษณะของเม็ดแป้งข้าวและฟลาวร์ข้าว

เมื่อนำแป้งข้าวและฟลาวร์ข้าวมาดูลักษณะเม็ดแป้งด้วยเครื่อง Scanning Electron Microscope จะเห็นว่าเม็ดแป้งข้าวมีขนาดค่อนข้างเล็ก มีขนาดอยู่ระหว่าง 5-10 ไมครอน ลักษณะเป็นรูปทรงหลายเหลี่ยม ซึ่งแป้งข้าวที่ผ่านการสกัดโปรตีนและไขมันออก มีการกระจายตัวที่ดีกว่าฟลาวร์ข้าวที่ไม่ได้สกัดโปรตีนและไขมันออก โดยฟลาวร์ข้าวที่พบมีลักษณะเกาะกันเป็นกลุ่มขนาดใหญ่ 20-100 ไมครอน ซึ่งในตัวอย่างฟลาวร์ข้าวนอกจากจะเห็นเม็ดแป้งแล้วยังพบชิ้นส่วนขององค์ประกอบอื่นๆ แทรกอยู่ระหว่างเม็ดแป้งที่เกาะกลุ่มกันด้วย องค์ประกอบดังกล่าวอาจจะเป็นเศษชิ้นส่วนไฟเบอร์หรือโปรตีนที่มีอยู่ในฟลาวร์ข้าว (รูปที่ 1)



Native rice starch

Native rice flour

รูปที่ 1 SEM ของแป้งข้าวและฟลาวร์ข้าวที่กำลังขยาย 500 และ 3500 เท่า

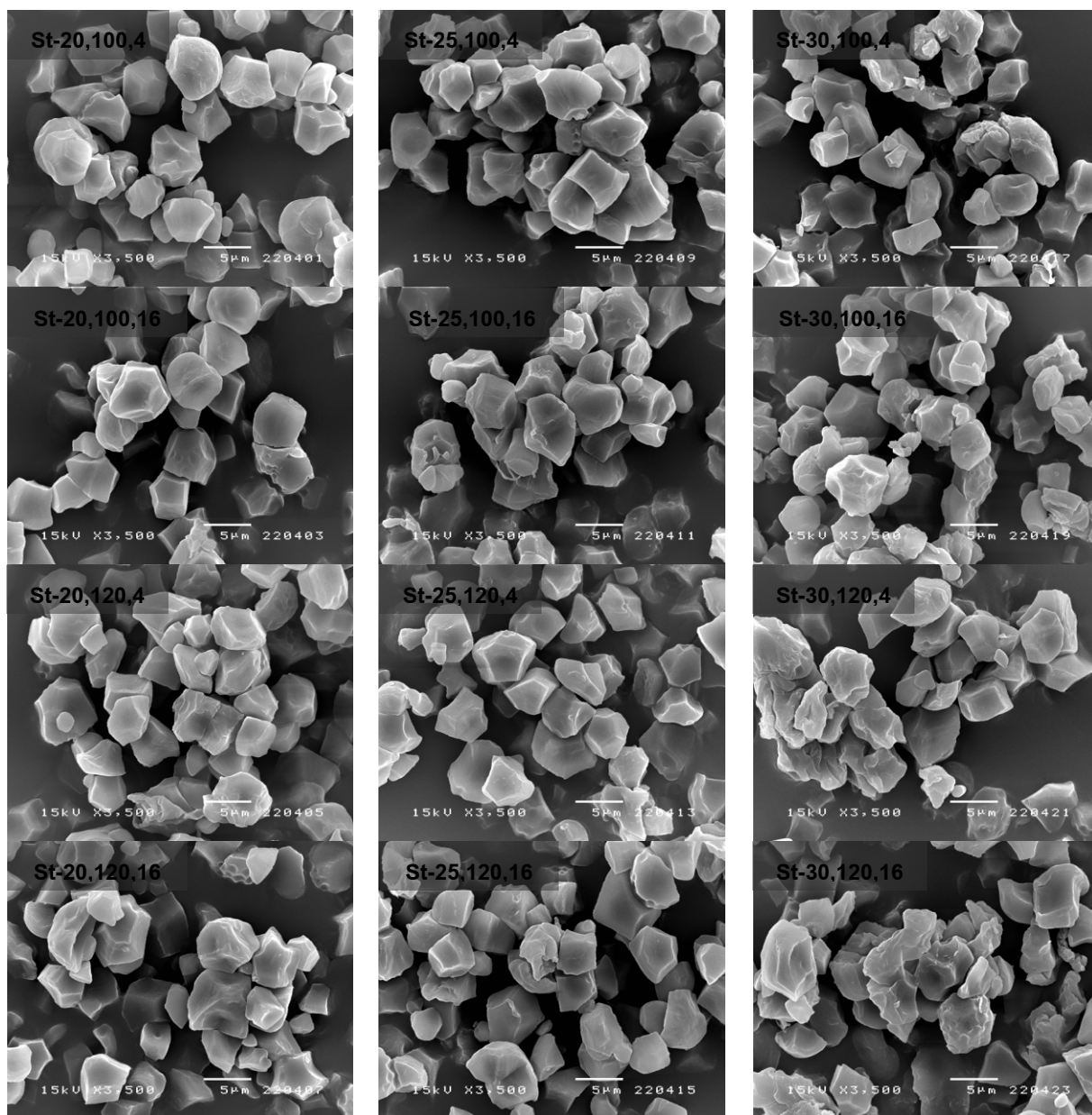
4.2 การดัดแปรแป้งข้าวเจ้าโดยใช้ความร้อนขึ้น

4.2.1 ลักษณะของเม็ดแป้งข้าวเจ้าและฟลาร์ข้าวหลังการดัดแปรด้วยความร้อนขึ้น ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM)

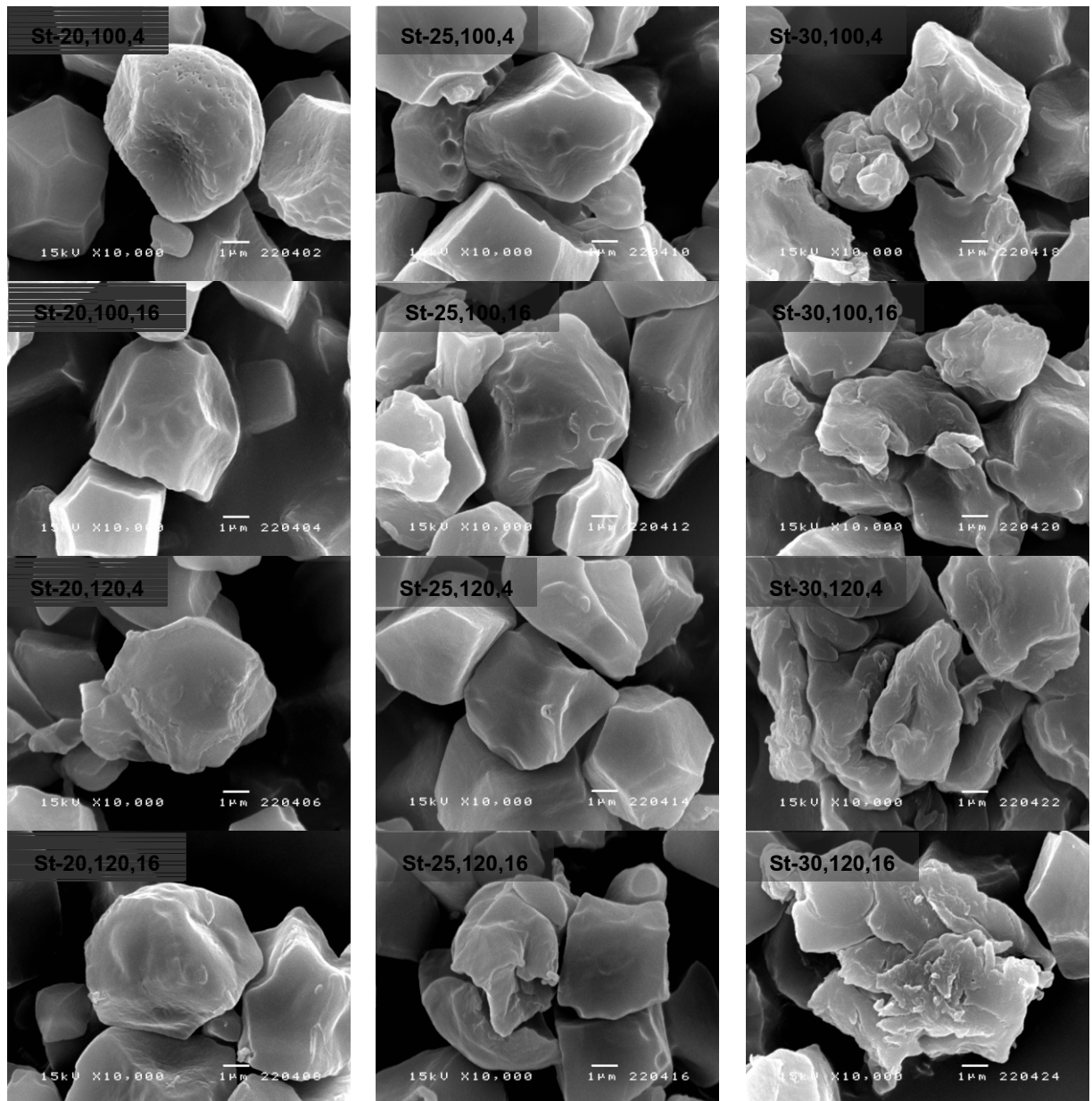
จากนั้นนำแป้งข้าวและฟลาร์ข้าวไปดัดแปรด้วยความร้อนขึ้น (รูปที่ 2) โดยใช้ความชื้น 3 ระดับคือ 20, 25, 30% อุณหภูมิ 2 ระดับ คือ 100 และ 120°C ระยะเวลา 4 และ 16 ชั่วโมง พบว่า แป้งข้าวที่ดัดแปรด้วยความร้อนขึ้นส่วนใหญ่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของลักษณะของเม็ดแป้งภายหลังการดัดแปรด้วยความร้อนขึ้น ซึ่งจากการศึกษาที่ผ่านมาส่วนใหญ่รายงานคล้ายกันว่าการดัดแปรด้วยความร้อนขึ้นไม่ส่งผลต่อลักษณะภายนอกของเม็ดแป้ง (Gunaratne และ Hoover, 2002; Adebowale และคณะ 2005; Khunae และคณะ, 2007; Watcharatewinkul และคณะ, 2009) ยกเว้นแป้งข้าวที่ดัดแปรด้วยความชื้น 30% พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงที่บริเวณพื้นผิวของเม็ดแป้งเล็กน้อย เนื่องจากในการทดลองนี้ระดับความชื้นในการดัดแปรค่อนข้างสูง ดังนั้นปริมาณน้ำที่มากร่วมกับอุณหภูมิสูงจึงอาจจะทำให้เม็ดแป้งเกิดการเจลลิตไนซ์ได้ โดยดูจากลักษณะของเม็ดแป้งที่ดัดแปรที่ความชื้น 30% เม็ดแป้งจะมีการเกาะกันเป็นกลุ่มก้อน เนื่องจากการเจลลิตไนซ์ และผิวของเม็ดแป้งคล้ายถูกความร้อนจนมีลักษณะเป็นเจล (รูปที่ 3) ซึ่งคล้ายกับที่ Anderson และ Guraya (2006), Jiranuntakul และคณะ (2011) เคยรายงานไว้ ส่วนลักษณะของฟลาร์ข้าวดัดแปรด้วยความร้อนขึ้นจะมีลักษณะคล้ายกันแต่มองเห็นได้ไม่ชัดเจน (ไม่ได้แสดงภาพไว้)

4.2.2 ลักษณะการบิกระนาบแสงโพลาไรซ์ของเม็ดแป้งหลังการดัดแปรด้วยความร้อนขึ้น

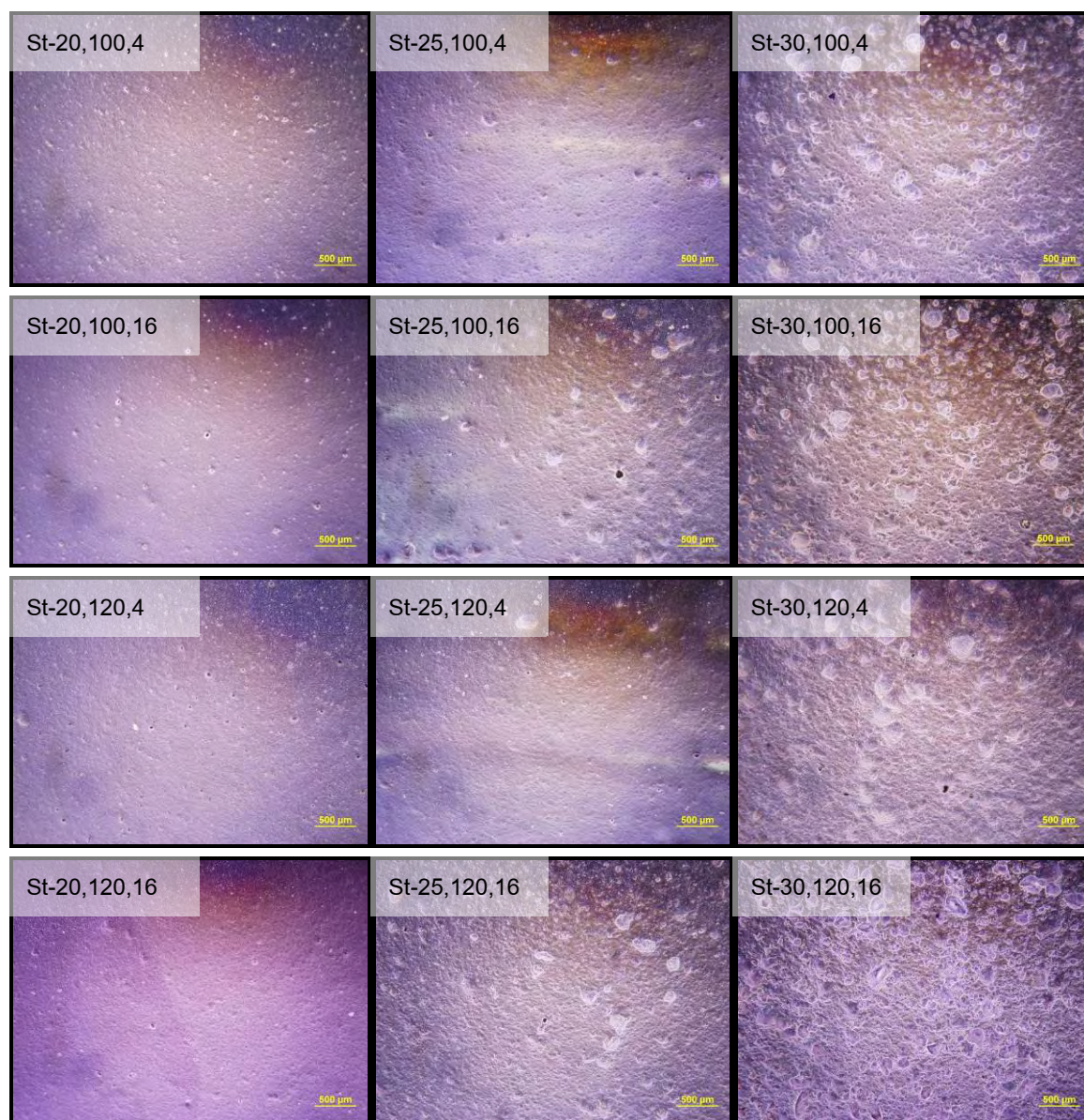
เนื่องจากเม็ดแป้งข้าวมีขนาดเล็กมากประมาณ 5-10 ไมครอน ทำให้การสังเกตลักษณะการบิกระนาบแสงโพลาไรซ์ของเม็ดแป้งทำได้ยาก และไม่สามารถเห็นได้ชัดเจนที่กำลังขยาย 1000 เท่า ซึ่งเป็นข้อจำกัดของกล้องจุลทรรศน์ แต่จากรายงานที่ผ่านมาในแป้งข้าวโพดและแป้งมันฝรั่งพบว่า ลักษณะการบิกระนาบแสงโพลาไรซ์ของเม็ดแป้งที่ดัดแปรด้วยความร้อนขึ้นจะลดลง โดยจะสังเกตเห็นเป็น hollow อยู่ตรงกลางของเม็ดแป้ง (Vermeylen และคณะ, 2006; Chung และคณะ, 2009a) นอกจากนั้นในรูปที่ 4 จะเห็นการเกาะกลุ่มกันของแป้งหลังการดัดแปรอย่างชัดเจน โดยการเกาะกลุ่มจะเพิ่มขึ้นตามความชื้น อุณหภูมิ และระยะเวลาการดัดแปร ซึ่งลักษณะการเกาะกลุ่มกันของแป้งภายหลังการดัดแปรสามารถพบได้ในแป้งขนาดเล็ก เช่น แป้งข้าว (Anderson และ Guraya, 2006; Zavareze และคณะ, 2010; Jiranuntakul และคณะ, 2011)



รูปที่ 2 แป้งข้าวหลังการดัดแปรด้วยความร้อนขึ้นที่ความชื้น 20, 25, 30% อุณหภูมิ 100 และ 120°C ระยะเวลา 4 และ 16 ชั่วโมง (x3500, bar as 5 μm)



รูปที่ 3 แป้งข้าวหลังการดัดแปรด้วยความร้อนขึ้นที่ความชื้น 20, 25, 30% อุณหภูมิ 100 และ 120°C ระยะเวลา 4 และ 16 ชั่วโมง (x10000, bar as 1 μm)

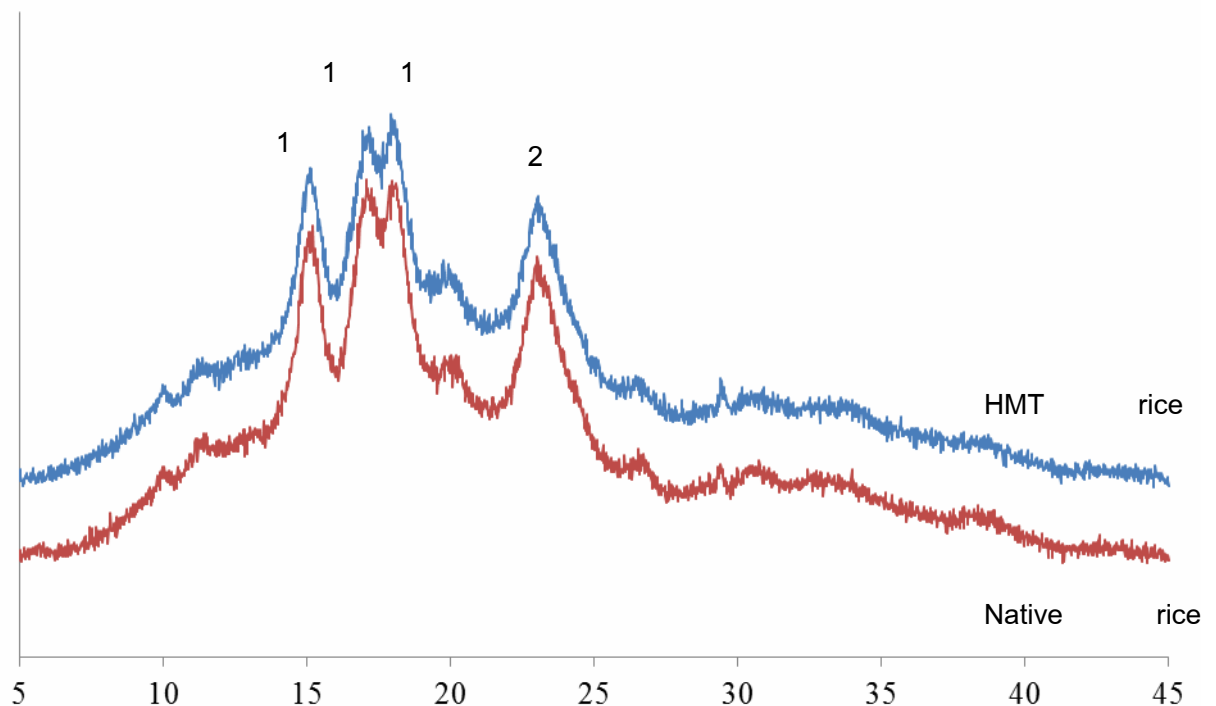


รูปที่ 4 เจลแป้งข้าวตัดแปรด้วยความร้อนขึ้นหลังจากวิเคราะห์ด้วยเครื่อง RVA ที่ความเข้มข้น 8%

4.2.3 ลักษณะโครงสร้างผลึก โดย X-ray diffractometer หลังการตัดแปรด้วยความร้อนขึ้น

จากรูปที่ 5 แสดงลักษณะโครงสร้างผลึกของเม็ดแป้งที่ไม่ได้ตัดแปรเปรียบเทียบกับแป้งตัดแปรที่เลือกจากสภาวะที่น่าจะเกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจน ได้แก่เม็ดแป้งที่ตัดแปรด้วยความร้อนขึ้น 25% อุณหภูมิ 100°C นาน 16 ชั่วโมง พบว่าลักษณะโครงสร้างผลึกของแป้งข้าวมีลักษณะเป็นแบบ A-type ซึ่งมีพีคสำคัญที่ตำแหน่ง 15, 17, 18, 23 และเมื่อนำแป้งข้าวไปตัดแปรด้วยความร้อนขึ้นพบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงของลักษณะโครงสร้างผลึกของเม็ดแป้ง ซึ่งตรงกับรายงานการวิจัยทั่วไปที่ได้ตัดแปรแป้งข้าวด้วยความร้อนขึ้น โดยแป้งข้าวหลังผ่านการตัดแปรด้วยความร้อนขึ้นจะยังคงมีลักษณะโครงสร้างผลึกแบบ A-type เช่นเดิม (Zavareze และคณะ, 2010; Jiranuntakul และคณะ, 2011) เนื่องจากลักษณะโครงสร้างผลึกแบบ A-type ค่อยข้างหนาแน่น ทำ

ให้โมเลกุลมีการเคลื่อนที่ได้น้อยกว่าแป้งที่มีลักษณะแบบ B-type เช่น แป้งมันฝรั่ง แป้งพุทธรักษา (Jiranuntakul และคณะ, 2011; Watcharatawinkul, 2009)



รูปที่ 5 X-ray diffraction patterns ของแป้งข้าว (A) และแป้งข้าวที่ดัดแปรด้วยความร้อนชื้นที่ความชื้น 25% อุณหภูมิ 100°C เวลา 16 ชั่วโมง (B)

4.2.4 วิเคราะห์กำลังการพองตัวของเม็ดแป้งในน้ำ และน้ำมัน

เมื่อนำตัวอย่างแป้งไปขึ้นรูปให้เป็นแผ่นแล้วนำมาหาค่ากำลังการพองตัวในน้ำและน้ำมัน แสดงผลในตารางที่ 2 พบว่า แป้งดัดแปรด้วยความร้อนชื้นส่วนใหญ่มีการพองตัวในน้ำลดลงเล็กน้อยประมาณ 6-15% ส่วนฟลาวัวร์ข้าวดัดแปรพบว่ามีค่าการเพิ่มขึ้นของกำลังการพองตัวในน้ำ โดยจะเพิ่มขึ้นประมาณ 10-55% ซึ่งผลการดัดแปรในแป้งข้าวสอดคล้องกับการทดลองที่ผ่านมาของ [Zavareze และคณะ \(2010\)](#) เนื่องจากกระบวนการพองตัวของเม็ดแป้งจะเริ่มจากเมื่อมีปริมาณน้ำเพียงพอและอุณหภูมิสูงกว่าอุณหภูมิในการเกิดเจลของแป้ง น้ำจะถูกดูดซึมเข้าสู่โมเลกุลของแป้ง และทำลายพันธะไฮโดรเจนภายในเม็ดแป้งเกิดการดูดซับน้ำและพองตัวออก แต่ในแป้งที่ดัดแปรด้วยความร้อนชื้นโมเลกุลของแป้งจะมีความแข็งแรงมากขึ้นจากการจัดเรียงตัวกันใหม่ในส่วน crystalline region และการเกิด interaction กันระหว่างอะไมโลสและอะไมโลเพคติน ([Hoover และ Vasanthan, 1994; Waduge และคณะ, 2006](#)) ทำให้มีการเพิ่มขึ้นของ crystallinity แต่ในทางตรงกันข้ามฟลาวัวร์ข้าวที่ดัดแปรด้วยความร้อนชื้นมีการพองตัวในน้ำสูงกว่าฟลาวัวร์ข้าวที่ไม่ได้ดัดแปรเล็กน้อย เนื่องจากฟลาวัวร์ข้าวมีองค์ประกอบอื่นๆ เช่น โปรตีน และไขมันในปริมาณที่มากกว่า ทำให้เมื่อดัดแปรด้วยความร้อนชื้นทำให้เกิด interaction กันระหว่างโมเลกุลของแป้งกับโปรตีน

หรือแข่งกับไขมันภายในเม็ดแป้ง เกิด amylose-protein interaction หรือ amylose-lipid complex ทำให้การจัดเรียงตัวใหม่ของอะไมโลสกับอะไมโลเพคตินในการเกิด crystallinity ลดน้อยลง ทำให้เม็ดแป้งสามารถพองตัวได้มากกว่าเดิม นอกจากนี้ในฟลาวร์ข้าวสามารถวิเคราะห์ปริมาณอะไมโลสได้น้อยกว่าแป้งข้าว ซึ่งเมื่อศึกษาจากรายงานวิจัยที่ผ่านมา รายงานว่าปริมาณอะไมโลสมีผลต่อการพองตัวของแป้ง แป้งที่มีปริมาณอะไมโลสต่ำกว่าจะมีการพองตัวสูงกว่าแป้งที่มีอะไมโลสสูง (Sasaki และ Matsuki, 1998; Tattiyakul และคณะ, 2006) เมื่อทดสอบการพองตัวในน้ำมันที่อุณหภูมิ 180°C พบว่าทั้งแป้งข้าวและฟลาวร์ข้าวที่ตัดแปรด้วยความร้อนขึ้นมีแนวโน้มที่จะมีกำลังการพองตัวลดลงตามความขึ้น อุณหภูมิ และเวลาการตัดแปรที่เพิ่มขึ้นตามลำดับ Hamaker และ Griffin (1990) รายงานว่าการตัดแปรด้วยความร้อนขึ้นอาจทำให้เกิดพันธะ disulfide ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้การพองตัวของเม็ดแป้งลดลง

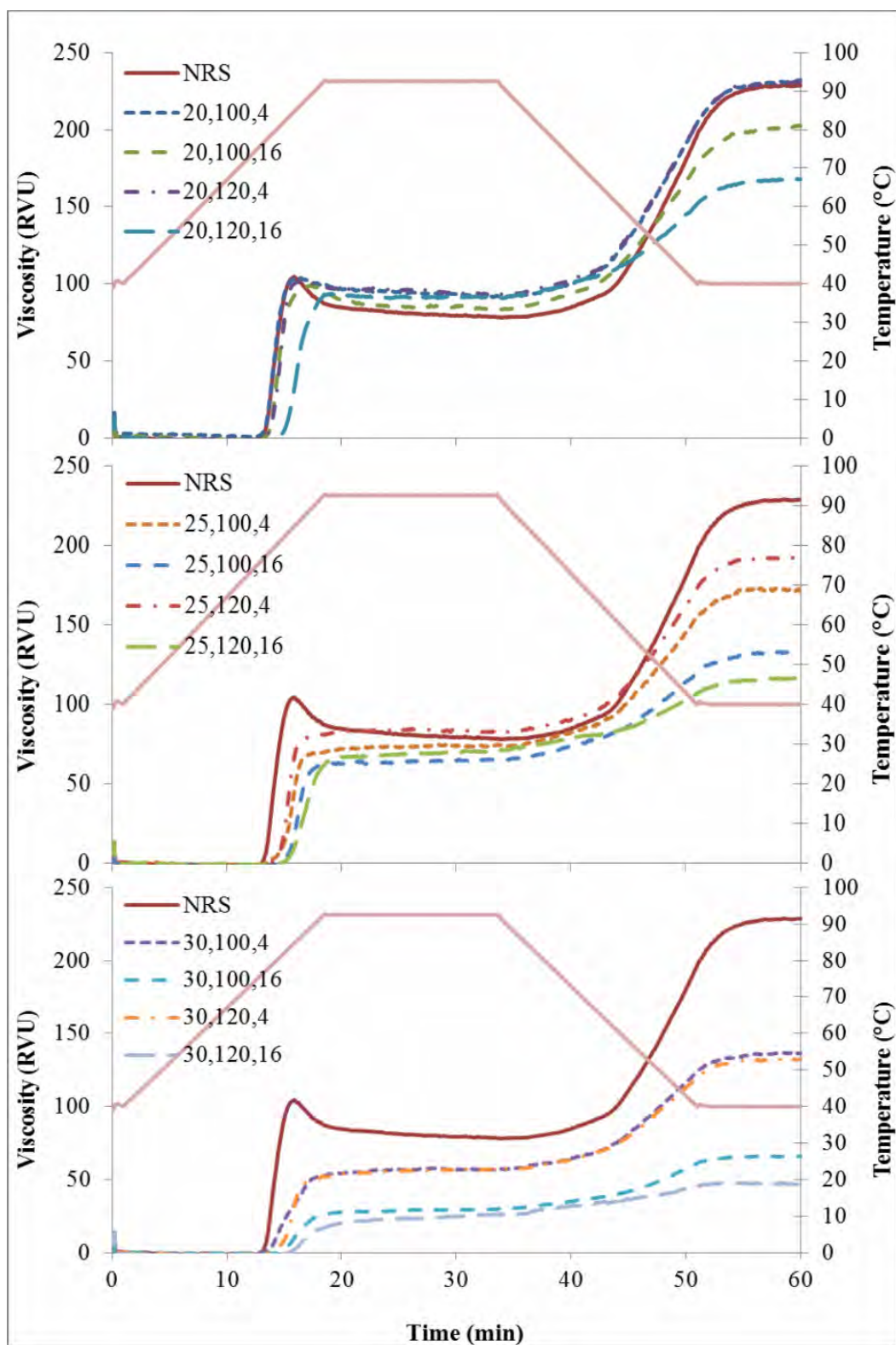
4.2.5 พฤติกรรมการเปลี่ยนแปลงความหนืดด้วยเครื่อง Rapid Visco Analyzer (RVA)

เมื่อทดสอบคุณสมบัติด้านความหนืดด้วยเครื่อง RVA พบว่า แป้งข้าวมีอุณหภูมิในการเกิดเจลต่ำกว่าฟลาวร์ข้าวเล็กน้อย (5.1°C) และมีค่า peak viscosity, breakdown และ setback สูงกว่าฟลาวร์ข้าว (3.3, 14.5, 70.7 RVU ตามลำดับ) (รูปที่ 6 และ 7) เมื่อนำไปตัดแปรด้วยความร้อนขึ้น แป้งที่ตัดแปรจะมี peak viscosity, breakdown และ setback ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อวิเคราะห์ด้วยสถิติ พบว่าความขึ้นในการตัดแปรแป้งข้าวมีผลต่อ peak viscosity อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 โดยที่ความขึ้น 25 และ 30% มีความหนืดลดลงจาก 103.7 RVU เหลือ 64.8-86.6 และ 25.1-55.8 RVU ตามลำดับ แต่แป้งข้าวที่ตัดแปรด้วยความขึ้น 20% ความหนืดจะไม่แตกต่างจากแป้งที่ไม่ได้ตัดแปรด้วยความร้อนขึ้น ส่วนค่า breakdown และ setback มีแนวโน้มลดลงเช่นเดียวกับ peak viscosity โดยปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติด้านความหนืดตามลำดับ ได้แก่ ความขึ้น ระยะเวลา และอุณหภูมิ ตามลำดับ ส่วนการตัดแปรด้วยความร้อนขึ้นในฟลาวร์ข้าวพบว่าการตัดแปรด้วยความร้อนขึ้นในฟลาวร์ข้าวมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติด้านความหนืดมากกว่าการตัดแปรในแป้งข้าว โดยการใช้ความขึ้นในการตัดแปร 30% เจลของฟลาวร์ข้าวแทบจะไม่มี ความหนืดเพิ่มขึ้น (ไม่สามารถอ่านค่า peak viscosity, breakdown และ setback ได้) และจากที่ฟลาวร์ข้าวมีการเปลี่ยนแปลงสมบัติด้านความหนืดมากกว่าแป้งข้าวนั้น จากองค์ประกอบทางเคมีในตารางที่ 1 แสดงให้เห็นว่าฟลาวร์ข้าวมีโปรตีนแตกต่างจากแป้งข้าวประมาณ 10 เท่า ซึ่งโปรตีนค่อนข้างจะมีบทบาทสำคัญต่อสมบัติด้านความหนืดของเจลแป้ง การตัดแปรด้วยความร้อนขึ้นอาจทำให้เกิด interaction กันของ starch-protein, starch-starch, protein-protein ทำให้ความหนืดของฟลาวร์ข้าวลดลงอย่างมาก Lim และคณะ (1999) ทดลองสกัดโปรตีนออกจากฟลาวร์ข้าว ตั้งแต่ 0 ถึง 3 ครั้ง แล้วนำไปหาความหนืด พบว่าการสกัดโปรตีนออกจากแป้งทำให้ peak viscosity เพิ่มขึ้น และแป้งที่มีโปรตีนสูงจะมี pasting temperature สูงกว่าแป้งที่มีโปรตีนต่ำกว่า อย่างไรก็ตามแม้ว่าการตัดแปรด้วยความร้อนขึ้นส่วนใหญ่ไม่มีผลต่อลักษณะปรากฏของเม็ดแป้ง แต่จากรายงานที่ผ่านมาสามารถพบความเปลี่ยนแปลงสมบัติด้านความหนืดของเจลแป้ง โดยระดับการ

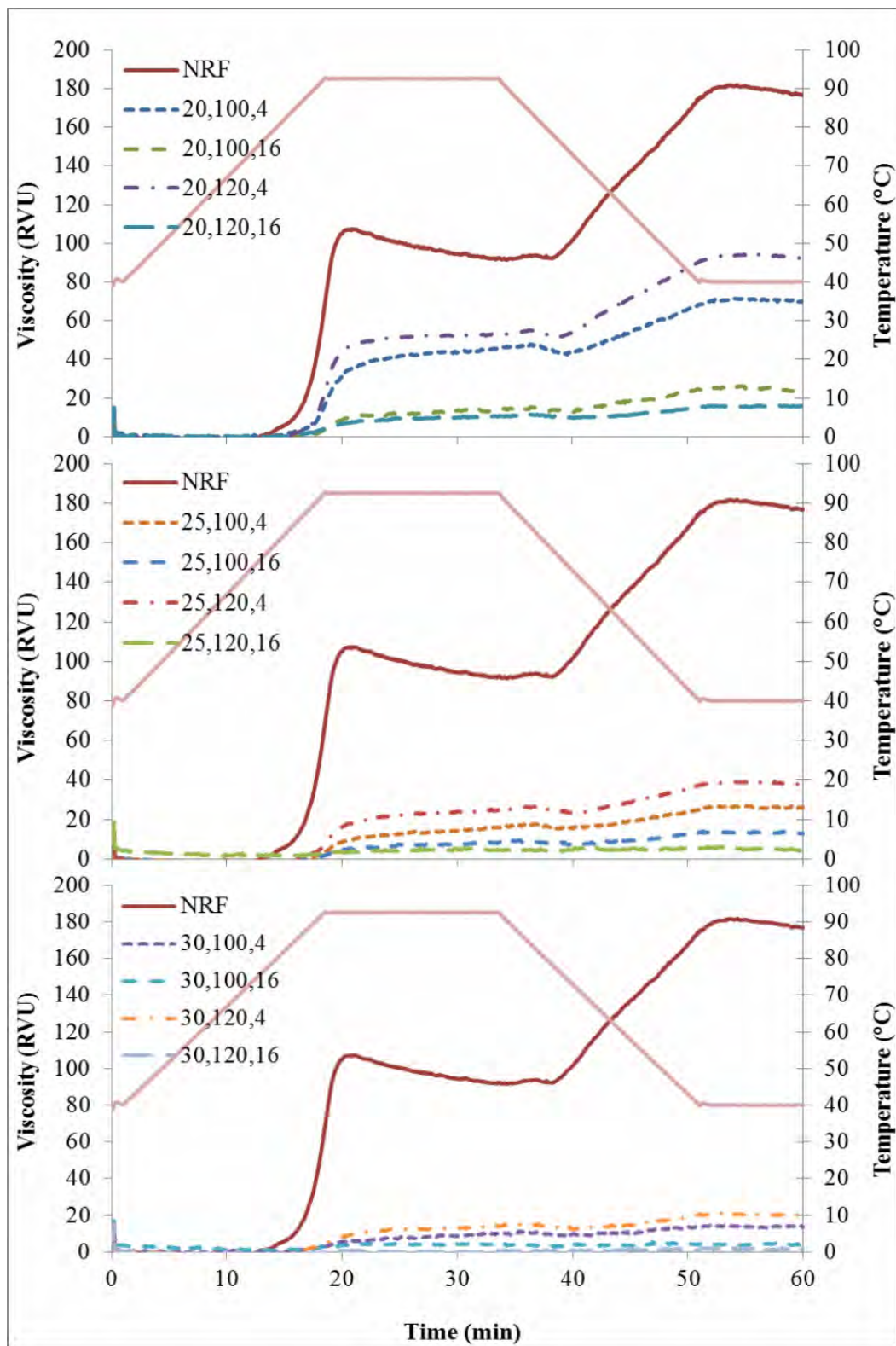
เปลี่ยนแปลงจะขึ้นกับสถานะที่ใช้ในการตัดแปรร สอดคล้องกับการทดลองในแป้งพุดรักษาของ Watcharatawinkul และคณะ (2009) ที่รายงานว่า การตัดแปรรที่ความชื้นสูงขึ้นทำให้เม็ดแป้ง พุดรักษา มีความหนืด breakdown และ setback ลดลง เนื่องจากการให้ความร้อนในสถานะที่มี ความชื้นอยู่ภายในเม็ดแป้งค่อนข้างสูง มีโอกาสทำให้เกิดการเคลื่อนที่ของโมเลกุลที่อยู่ในเม็ด แป้งอย่างเป็นระเบียบมากขึ้น ทำให้เม็ดแป้งมีแนวโน้มที่จะแข็งแรงมากขึ้น ทำให้การพองตัวของ เม็ดแป้งลดลงและมีความหนืดลดลง

ตารางที่ 2 กำลังการพองตัวในน้ำและน้ำมันของแป้งข้าวและฟลาวร์ข้าวที่ไม่ได้ตัดแปรรและแป้งตัด แปรรด้วยความร้อนขึ้น

ตัวอย่าง	กำลังการพอง ตัวในน้ำ (%)	กำลังการพอง ตัวในน้ำมัน (%)	ตัวอย่าง	กำลังการพอง ตัวในน้ำ (%)	กำลังการพอง ตัวในน้ำมัน (%)
Native rice starch	214 $\pm$ 5	424 $\pm$ 29	Native rice flour	167 $\pm$ 9	334 $\pm$ 47
St-20,100,4	192 $\pm$ 11	193 $\pm$ 7	Fl-20,100,4	190 $\pm$ 10	218 $\pm$ 30
St-20,100,16	228 $\pm$ 18	248 $\pm$ 45	Fl-20,100,16	233 $\pm$ 13	202 $\pm$ 15
St-20,120,4	196 $\pm$ 2	366 $\pm$ 60	Fl-20,120,4	211 $\pm$ 11	266 $\pm$ 8
St-20,120,16	180 $\pm$ 11	403 $\pm$ 68	Fl-20,120,16	187 $\pm$ 10	162 $\pm$ 32
St-25,100,4	201 $\pm$ 11	406 $\pm$ 32	Fl-25,100,4	225 $\pm$ 8	194 $\pm$ 34
St-25,100,16	180 $\pm$ 10	349 $\pm$ 65	Fl-25,100,16	201 $\pm$ 5	119 $\pm$ 32
St-25,120,4	238 $\pm$ 36	259 $\pm$ 10	Fl-25,120,4	184 $\pm$ 14	175 $\pm$ 27
St-25,120,16	195 $\pm$ 10	176 $\pm$ 7	Fl-25,120,16	206 $\pm$ 13	111 $\pm$ 5
St-30,100,4	194 $\pm$ 8	257 $\pm$ 11	Fl-30,100,4	259 $\pm$ 9	177 $\pm$ 15
St-30,100,16	212 $\pm$ 17	175 $\pm$ 8	Fl-30,100,16	226 $\pm$ 10	117 $\pm$ 23
St-30,120,4	206 $\pm$ 4	228 $\pm$ 10	Fl-30,120,4	202 $\pm$ 12	166 $\pm$ 31
St-30,120,16	201 $\pm$ 31	209 $\pm$ 8	Fl-30,120,16	205 $\pm$ 6	88 $\pm$ 13



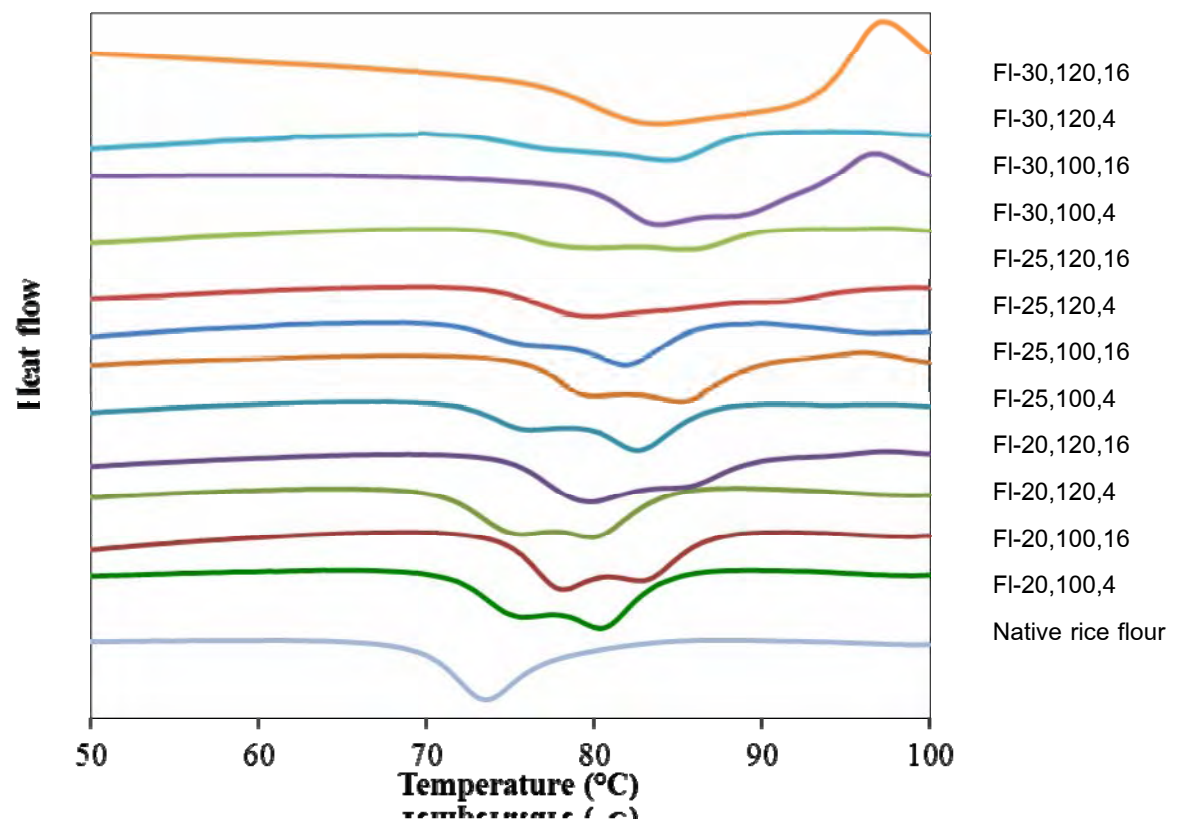
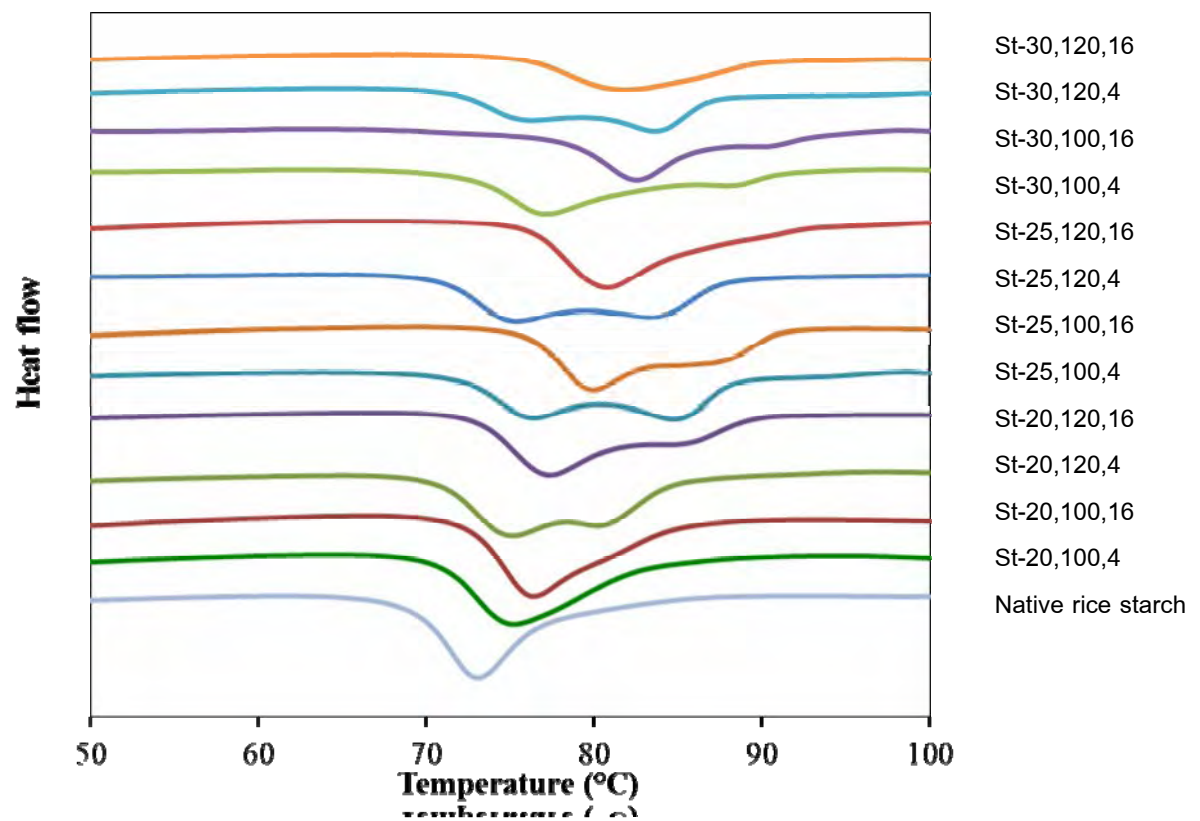
รูปที่ 6 กราฟความหนืดที่ได้จากเครื่อง RVA ของแป้งข้าวและแป้งข้าวตัดแปรด้วยความร้อนขึ้น



รูปที่ 7 กราฟความหนืดที่ได้จากเครื่อง RVA ของฟลัวร์ข้าวและฟลัวร์ข้าวตัดแปรด้วย ความร้อนขึ้น

4.2.6 สมบัติทางความร้อนในการเกิดเจลลิตไนเซชันของแป้งด้วยเครื่อง differential scanning calorimeter (DSC)

การตรวจสอบการเกิดเจลลิตไนเซชันของแป้งทำได้โดยการให้ความร้อนแก่ตัวอย่างแป้งที่ผสมกับน้ำจนถึงอุณหภูมิที่คาดว่าเลยช่วงการเกิดเจลลิตไนเซชันจะได้ thermogram ระหว่าง heat flow และอุณหภูมิ พลังงานที่ใช้ในการเกิดเจลลิตไนเซชัน (ΔH , J/g) ที่ได้จากพื้นที่ใต้กราฟหารด้วยน้ำหนักแป้ง ค่า ΔH จะบ่งบอกถึงความแข็งแรงของโครงสร้างภายในเม็ดแป้ง แสดงในตารางที่ 3 โดยแป้งข้าวมีอุณหภูมิเริ่มเกิดเจลลิตไนเซชัน (T_o) อุณหภูมิเกิดเจลลิตไนเซชันสูงสุด (T_p) อุณหภูมิสิ้นสุดการเกิดเจลลิตไนเซชัน (T_c) และค่าความร้อนในการเกิดเจลลิตไนเซชัน (ΔH) เท่ากับ 69.20, 73.10, 77.93°C และ 14.88 J/g ส่วนฟลัวร์ข้าวมีค่า T_o , T_p และ T_c ไม่แตกต่างจากแป้งข้าว แต่มีค่า ΔH น้อยกว่าคือ 11.41 J/g เมื่อนำไปตัดแปรด้วยความร้อนขึ้น พบว่าค่า T_o , T_p และ T_c ของทั้งแป้งข้าวและฟลัวร์ข้าวจะมีค่าสูงขึ้นอยู่ในช่วง (70.83-77.91, 75.10-89.83, 82.70-94.10 สำหรับแป้งข้าว และ 71.89-79.85, 75.07-92.55, 81.78-97.21 สำหรับฟลัวร์ข้าว) โดยอุณหภูมิเริ่มเกิดเจลลิตไนเซชันจะเพิ่มขึ้นและช่วงอุณหภูมิในการเกิดเจลลิตไนเซชันจะกว้างขึ้นตามระดับความชื้นของแป้งในขณะตัดแปรที่เพิ่มขึ้น นอกจากนั้นบางตัวอย่างของแป้งตัดแปรพบว่ามีอุณหภูมิเกิดเจลลิตไนเซชันสูงสุด 2 พีค (รูปที่ 8) เช่นในตัวอย่างการตัดแปรที่ความชื้น 20%, 120°C, 4 ชั่วโมง ที่ความชื้น 25 และ 30% ทุกตัวอย่างยกเว้นที่ตัดแปรด้วยอุณหภูมิ 120°C นาน 16 ชั่วโมง ส่วนค่า ΔH ในแป้งข้าวตัดแปรด้วยความร้อนขึ้นพบว่ามีค่าลดลงตามความชื้น อุณหภูมิ และเวลาที่เพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับรายงานที่ผ่านมาของ [Watcharatawinkul และคณะ \(2009\)](#) ที่พบอุณหภูมิเกิดเจลลิตไนเซชันสูงสุดเป็น 2 พีค และการตัดแปรด้วยความร้อนขึ้นทำให้ได้ค่า ΔH ลดลง โดยเสนอเหตุผลไว้ว่าการที่อุณหภูมิเกิดเจลลิตไนเซชันสูงสุดเป็น 2 พีค และมีช่วงอุณหภูมิการเกิดเจลลิตไนเซชัน ($T_c - T_o$) ที่มีความกว้างเพิ่มขึ้น บ่งบอกถึงความแตกต่างของโครงสร้างภายในส่วนอสัณฐานและส่วนผลึกของเม็ดแป้ง ส่วน ΔH ที่มีค่าต่ำลงอาจเป็นเพราะว่าโมเลกุลแป้งภายในเม็ดแป้งมีการจัดตัวอย่างเป็นระเบียบ ความเป็นผลึกลดลงโดยเกลียวคู่ของสายโซ่กิ่งของอะไมโลเพคตินอาจถูกทำลายไปบางส่วน ส่วน endotherm ที่กว้างขึ้นบ่งบอกถึงความไม่สม่ำเสมอของโครงสร้างภายใน (inhomogeneity) ที่เพิ่มขึ้นจากการตัดแปรด้วยความร้อนขึ้น ผลของการตัดแปรด้วยความร้อนขึ้นต่อลักษณะ endotherm ของแป้งข้าวและฟลัวร์ข้าวนี้จะคล้ายกับแป้งจากธัญพืชและพืชหัวอื่นๆ เช่น แป้งข้าวโพด ([Jiranuntakul และคณะ, 2011](#)) แป้งพุทธรักษา ([Watcharatawinkul และคณะ, 2009](#)) แป้งข้าวเจ้า ([Khunae และคณะ, 2007](#)) แป้งข้าวโพด ([Hoover และ Manuel, 1996](#)) แป้งมันฝรั่งและแป้งมันสำปะหลัง ([Gunaratne และ Hoover, 2002](#)) เป็นต้น



รูปที่ 8 Thermogram ของแป้งข้าวและฟลาวร์ข้าวที่ไม่ได้ดัดแปรและแป้งดัดแปรด้วยความร้อนขึ้น

ตารางที่ 3 ค่าพารามิเตอร์การเกิดเจลลาติไนเซชันของแป้งข้าวและฟลัวร์ข้าวที่ไม่ได้ดัดแปรและแป้งดัดแปรด้วยความร้อนขึ้น

ตัวอย่าง	Gelatinization ($^{\circ}\text{C}$)				Enthalpy
	T_o	T_{p1}	T_{p2}	T_c	ΔH (J/g)
Native rice starch	69.20	73.10	-	77.93	14.88
St-20,100,4	70.83	75.19	-	83.28	14.03
St-20,100,16	72.23	75.95	-	82.70	16.07
St-20,120,4	70.98	75.28	80.25	85.01	15.55
St-20,120,16	72.99	77.30	84.42	89.02	15.25
St-25,100,4	72.06	76.23	84.32	88.41	13.98
St-25,100,16	76.18	79.98	86.26	91.23	15.42
St-25,120,4	71.08	75.56	82.85	87.54	15.78
St-25,120,16	76.45	80.96	-	86.97	11.86
St-30,100,4	72.45	76.98	87.74	91.88	12.42
St-30,100,16	77.91	82.40	89.83	94.10	11.49
St-30,120,4	71.61	76.27	83.81	87.40	10.93
St-30,120,16	75.75	81.89	-	91.21	9.29
Native rice flour	69.36	73.17	-	77.74	11.41
FI-20,100,4	73.12	75.33	80.36	84.14	14.42
FI-20,100,16	74.42	78.10	83.14	86.78	14.82
FI-20,120,4	71.89	75.07	79.86	81.78	13.59
FI-20,120,16	74.67	79.79	86.00	90.67	14.77
FI-25,100,4	74.05	76.51	83.47	87.90	9.25
FI-25,100,16	77.04	79.34	85.17	88.75	13.09
FI-25,120,4	72.20	75.55	81.84	86.25	9.29
FI-25,120,16	73.67	80.18	92.55	96.77	10.08
FI-30,100,4	74.77	77.85	84.93	86.88	7.33
FI-30,100,16	79.85	-	88.54	96.23	14.66
FI-30,120,4	72.89	-	85.92	88.80	6.69
FI-30,120,16	77.61	82.72	92.64	97.21	16.42

4.2.7 เนื้อสัมผัสของเจลแบ่ง

เมื่อนำเจลแบ่ง 8% ที่ผ่านเครื่อง RVA มาเก็บที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง มาทำการทดสอบความแข็งของเจลหลังการรีโทรเกรดด้วยเครื่อง texture analyzer (ตารางที่ 4) จากการสังเกตลักษณะเนื้อเจลแบ่งก่อนที่หัววัดจะกดลงไปบนเนื้อเจล พบว่าลักษณะเนื้อเจลของแบ่งข้าวมีลักษณะสีขาวขุ่น เจลมีลักษณะยืดหยุ่น ส่วนเจลของฟลาวร์ข้าวมีลักษณะสีขาวขุ่นเช่นกัน เนื้อเจลมีลักษณะค่อนข้างอ่อนนุ่ม แบ่งข้าวมีความแข็งของเจลแบ่ง 1098 gf ส่วนฟลาวร์ข้าวมีความแข็ง 439 gf เนื่องจากฟลาวร์ข้าวมีองค์ประกอบอื่นๆ เช่นปริมาณโปรตีนและไขมันสูง เมื่อเกิดการรีโทรเกรดองค์ประกอบอื่นๆ จะมีส่วนในการขัดขวางการเกิดพันธะของอะไมโลสกับอะไมโลส หรืออะไมโลสกับอะไมโลเพคตินที่เป็นปัจจัยหลักที่ทำให้ความแข็งแรงของเจลแบ่งทำให้เจลแบ่งมีความแข็งลดลง เมื่อนำมาทดสอบกับเจลแบ่งที่ดัดแปรด้วยความร้อนขึ้นพบว่า เจลแบ่งข้าวและฟลาวร์ข้าวส่วนใหญ่มีความแข็งลดลง โดยความแข็งจะลดลงตามเปอร์เซ็นต์ความขึ้นของการดัดแปร อุณหภูมิในการดัดแปรและระยะเวลาการดัดแปรที่เพิ่มขึ้นตามลำดับ สอดคล้องกับผลของสมบัติด้านความหนืดของแบ่งที่แสดงในรูปที่ 6 และ 7 แม้ว่าผลที่ได้จะแตกต่างจากที่ [Horndok และ Noomhorm \(2007\)](#) รายงานไว้ แต่เนื่องจากซึ่งเป็นที่ยอมรับกันว่าอะไมโลสที่จับตัวกันเป็นร่างแหเป็นปัจจัยหลักที่ทำให้ความแข็งแรงของเจลแบ่ง ซึ่งการดัดแปรด้วยความร้อนขึ้นทำให้เกิดการเคลื่อนที่ภายในโมเลกุลของเม็ดแบ่ง นอกจากนั้นในการดัดแปรในแบ่งข้าวหรือฟลาวร์ข้าวนั้นทำให้เกิดการเจลาติไนซ์บางส่วนหรือภายในเม็ดแบ่ง ([Jiranuntakul และคณะ, 2011](#)) ทำให้สายอะไมโลสที่จับตัวกันเป็นร่างแหจับตัวกันใหม่ได้ยาก

ตารางที่ 4 เนื้อสัมผัสของเจลแป้งข้าวและฟลาร์ข้าวที่ไม่ได้ดัดแปรและแป้งดัดแปรด้วยความร้อนขึ้น

ตัวอย่าง	Hardness (g)	ตัวอย่าง	Hardness (g)
Native rice starch	1098 $\pm$ 148	Native rice flour	439 $\pm$ 20
St-20,100,4	1332 $\pm$ 24	FI-20,100,4	394 $\pm$ 59
St-20,100,16	1062 $\pm$ 33	FI-20,100,16	259 $\pm$ 4
St-20,120,4	1164 $\pm$ 2	FI-20,120,4	407 $\pm$ 25
St-20,120,16	986 $\pm$ 22	FI-20,120,16	144 $\pm$ 14
St-25,100,4	848 $\pm$ 72	FI-25,100,4	245 $\pm$ 6
St-25,100,16	901 $\pm$ 122	FI-25,100,16	192 $\pm$ 6
St-25,120,4	919 $\pm$ 45	FI-25,120,4	234 $\pm$ 32
St-25,120,16	702 $\pm$ 36	FI-25,120,16	82 $\pm$ 26
St-30,100,4	683 $\pm$ 50	FI-30,100,4	142 $\pm$ 25
St-30,100,16	395 $\pm$ 12	FI-30,100,16	78 $\pm$ 3
St-30,120,4	704 $\pm$ 93	FI-30,120,4	149 $\pm$ 14
St-30,120,16	360 $\pm$ 30	FI-30,120,16	52 $\pm$ 4

4.3 ศึกษาการย่อยสลายด้วยเอนไซม์

แบ่งการศึกษาการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เป็น 2 การทดลอง คือ การย่อยสลายในแป้งดิบหรือแป้งที่ไม่ผ่านการเจลาติไนซ์ และแป้งที่ผ่านการต้มหรือการเจลาติไนซ์ที่อุณหภูมิ 100°C นาน 5 นาทีก่อนนำมาทดสอบการย่อยสลาย เพื่อเปรียบเทียบการเข้าไปทำงานของเอนไซม์ระหว่างเม็ดแป้งดิบและแป้งสุก (ตารางที่ 5)

4.3.1 การวิเคราะห์ปริมาณ RDS, SDS และ RS ของแป้งที่ไม่ต้ม (uncooked sample)

เมื่อพิจารณาแบ่งตามความสามารถในการถูกย่อยสลายสามารถแบ่งประเภทของแป้งในอาหารได้แก่แป้งที่สามารถถูกย่อยได้อย่างรวดเร็ว (Rapidly digestible starch; RDS) แป้งที่สามารถถูกย่อยได้อย่างช้าๆ (Slowly digestible starch; SDS) และแป้งที่ไม่สามารถย่อยได้ด้วยเอนไซม์ (Resistant starch; RS) เมื่อนำเม็ดแป้งดิบมาวิเคราะห์การย่อยสลายด้วยเอนไซม์พบว่า มีปริมาณ SDS และ RS ของแป้งข้าวดิบเท่ากับ 41.01 และ 38.97% ฟลาร์ข้าวเท่ากับ 35.23 และ 42.23% ตามลำดับ เมื่อผ่านการดัดแปรด้วยความร้อนขึ้นที่ความชื้น 20% พบว่ามีค่า RS เพิ่มขึ้นเล็กน้อยอยู่ระหว่าง 41.06-50.15% แต่มีปริมาณ SDS ลดลงเหลือ 32.40-37.05% น้อยกว่าที่พบในฟลาร์ข้าวเล็กน้อย เนื่องจากการให้ความร้อนทำให้โมเลกุลมีการเคลื่อนที่เกิดการจัดเรียงตัวกันเป็นระเบียบมากขึ้น เอนไซม์จึงเข้าไปทำปฏิกิริยาได้ยาก ส่วนแป้งข้าวที่ดัดแปรด้วยความชื้น 25 และ 30% มีค่า SDS และ RS ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เพราะปริมาณความชื้นที่ค่อนข้างสูงทำให้เม็ด

แป้งที่ผ่านการตัดแปรด้วยความร้อนขึ้น 25 และ 30% เกิดการเจลาติไนซ์ระหว่างการตัดแปร ซึ่งเม็ดแป้งที่ถูกเจลาติไนซ์จะทำให้เอนไซม์เข้าถึงโมเลกุลแป้งและเกิดการย่อยสลายได้ง่ายขึ้น (Juangsang และคณะ, 2011) การตัดแปรด้วยความร้อนขึ้นในฟลาวร์ข้าวให้ผลการทดลองคล้ายคลึงกับการตัดแปรในแป้งข้าว

4.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณ RDS, SDS และ RS ของแป้งที่ต้ม 5 นาที (cooked sample)

ซึ่งปริมาณ RDS, SDS และ RS ของแป้งดิบและแป้งที่ผ่านการเจลาติไนซ์จะแตกต่างกัน เนื่องจากเหตุผลที่กล่าวไปข้างต้นว่าการเกิดเจลาติไนซ์จะทำให้เม็ดแป้งแตกออกและโมเลกุลภายในกระจัดกระจายออกมามาก เอนไซม์สามารถเข้าไปย่อยสลายได้ง่ายขึ้นกว่าเม็ดแป้งดิบ ปริมาณ SDS และ RS ของแป้งข้าวที่ผ่านการเจลาติไนซ์มีค่าลดลงเท่ากับ 12.12 และ 31.13% ส่วนฟลาวร์ข้าวผ่านการเจลาติไนซ์มีค่าลดลงเท่ากับ 6.08 และ 31.23% ตามลำดับ และเมื่อนำไปตัดแปรด้วยความร้อนขึ้นในแป้งข้าวพบว่าปริมาณ SDS ส่วนใหญ่มีค่าลดลงเหลือประมาณ 2.43-21.85% แต่มีปริมาณของ RS เพิ่มขึ้นเป็น 42.61-62.28% การที่แป้งข้าวตัดแปรด้วยความร้อนขึ้นมีปริมาณ RS ที่สูงขึ้นนั้น อาจเนื่องมาจากการจัดเรียงตัวของโมเลกุลที่ทำให้เม็ดแป้งมีความแข็งแรงมากขึ้น โดยดูได้จากคุณสมบัติด้านความหนืดที่มีค่า peak viscosity และ breakdown ลดลง และมี pasting temperature สูงขึ้น ทำให้ระดับการเจลาติไนซ์ในแป้งข้าวที่ไม่ได้ตัดแปรและแป้งข้าวที่ตัดแปรแตกต่างกัน Juangsang และคณะ (2011) รายงานไว้ถึงระดับการเจลาติไนซ์ต่อปริมาณ RDS, SDS และ RS ของแป้งพุทธรักษาว่าเวลาในการเจลาติไนซ์มีผลต่อเม็ดแป้งและปริมาณ RDS, SDS และ RS ส่วนในฟลาวร์ข้าวตัดแปรด้วยความร้อนขึ้นให้ผลของการเปลี่ยนแปลงปริมาณ RDS, SDS และ RS ไม่ชัดเจนเนื่องจากในฟลาวร์ข้าวมีองค์ประกอบอื่นๆ ได้แก่ ไขมันและโปรตีน ซึ่งองค์ประกอบทั้งสองชนิดมีบทบาทสำคัญต่อคุณสมบัติของแป้งข้าวและการเปลี่ยนแปลงเมื่อได้รับความร้อน ซึ่งจะทำให้การศึกษาในโอกาสต่อไป

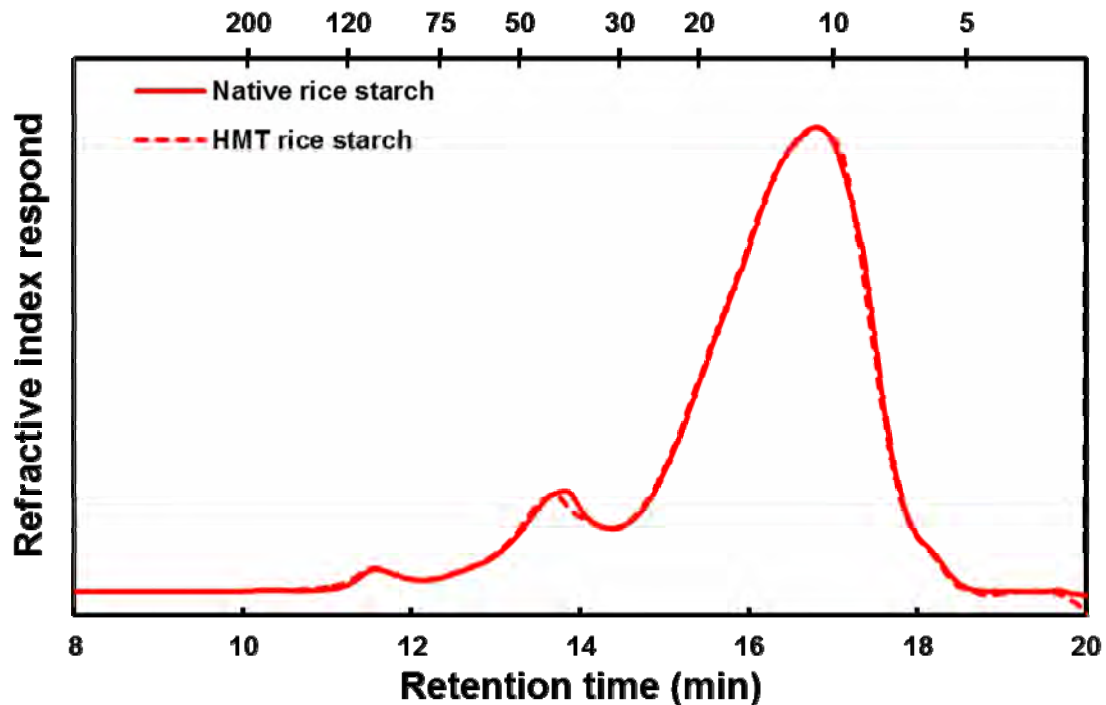
ตารางที่ 5 ปริมาณ RDS, SDS และ RS ในแป้งข้าวและฟลาวร์ข้าวที่ไม่ได้ดัดแปรและดัดแปรด้วยความร้อนขึ้นโดยวิเคราะห์ในแป้งดิบและแป้งที่ผ่านการเจลาติไนซ์

	ไม่ผ่านการต้ม			ผ่านการต้ม		
ตัวอย่าง	% RDS	% SDS	% RS	% RDS	% SDS	% RS
Native rice starch	20.02+1.09 ^d	41.01+1.27 ^a	38.97+0.85 ^b	56.75+7.90 ^a	12.12+3.85 ^{bc}	31.13+6.66 ^c
St-20,100,4	17.65+0.23 ^d	32.40+4.16 ^{bcd}	49.95+3.98 ^a	41.18+0.87 ^{bc}	10.07+1.28 ^{bcd}	48.76+1.05 ^b
St-20,100,16	17.06+0.60 ^d	32.80+2.53 ^{bcd}	50.15+2.95 ^a	41.98+2.50 ^{bc}	10.14+1.07 ^{bcd}	47.88+2.34 ^b
St-20,120,4	21.89+2.57 ^d	37.05+2.38 ^{ab}	41.06+4.96 ^b	43.06+5.62 ^{bc}	11.54+6.35 ^{bc}	45.40+7.58 ^b
St-20,120,16	20.26+1.78 ^d	35.66+0.46 ^{abc}	44.08+1.87 ^b	40.30+4.29 ^c	17.09+5.83 ^{ab}	42.61+2.55 ^b
St-25,100,4	44.78+3.53 ^b	31.52+3.80 ^{bcd}	23.70+4.32 ^{cd}	29.43+4.86 ^d	21.85+7.07 ^a	48.72+6.42 ^b
St-25,100,16	43.99+1.82 ^b	30.65+2.78 ^{bcd}	25.36+2.64 ^{cd}	50.68+1.90 ^{ab}	5.68+4.67 ^{cd}	43.65+4.41 ^b
St-25,120,4	39.69+2.32 ^{bc}	34.54+4.95 ^{abcd}	25.77+2.92 ^{cd}	30.66+5.35 ^d	7.06+3.24 ^{cd}	62.28+3.84 ^a
St-25,120,16	35.24+0.69 ^c	35.24+2.38 ^{abcd}	29.52+2.99 ^c	40.25+2.67 ^c	2.43+2.02 ^d	57.32+3.00 ^a
St-30,100,4	44.65+3.77 ^b	28.06+1.72 ^{cde}	27.29+3.16 ^{cd}	46.41+8.49 ^{bc}	7.08+5.42 ^{cd}	46.50+3.22 ^b
St-30,100,16	58.38+6.88 ^a	25.28+10.28 ^e	16.34+3.77 ^{ef}	46.52+7.66 ^{bc}	4.87+4.84 ^{cd}	48.61+5.76 ^b
St-30,120,4	56.47+3.66 ^a	27.58+1.36 ^{de}	15.95+3.35 ^f	49.40+3.07 ^{abc}	3.11+0.90 ^d	47.49+3.91 ^b
St-30,120,16	60.54+2.62 ^a	17.47+4.39 ^f	21.99+4.15 ^{de}	44.98+3.14 ^{bc}	9.15+1.56 ^{cd}	45.88+3.79 ^b
Native rice flour	22.54+0.97 ^h	35.23+1.09 ^{ab}	42.23+1.72 ^{abc}	62.69+5.53 ^{cde}	6.08+1.40 ^{cd}	31.23+4.84 ^{ab}
FI-20,100,4	26.48+0.62 ^g	31.75+2.70 ^{bcd}	41.77+2.61 ^{ab}	65.35+6.80 ^{bcd}	7.69+5.88 ^{cd}	26.95+3.72 ^{bc}
FI-20,100,16	25.56+2.68 ^g	29.21+4.68 ^{bcd}	45.23+2.84 ^a	55.01+9.16 ^e	16.08+4.06 ^a	28.91+5.11 ^{bc}
FI-20,120,4	38.12+2.63 ^e	28.69+6.35 ^{cd}	33.19+4.99 ^c	57.27+2.51 ^{de}	4.71+1.92 ^{cd}	38.02+4.15 ^a
FI-20,120,16	34.62+1.53 ^f	28.42+5.52 ^{cd}	36.96+4.28 ^{bc}	62.56+3.23 ^{cde}	6.05+2.82 ^{cd}	31.39+4.42 ^{ab}
FI-25,100,4	42.33+2.04 ^d	32.59+3.07 ^{bc}	25.07+1.24 ^d	80.10+6.97 ^a	2.02+0.69 ^d	17.88+6.74 ^d
FI-25,100,16	43.28+1.42 ^d	31.24+0.70 ^{bcd}	25.48+0.84 ^d	68.84+3.06 ^{bc}	8.35+1.85 ^{cd}	22.81+1.24 ^{cd}
FI-25,120,4	51.19+1.91 ^c	26.81+1.63 ^{cd}	22.00+2.10 ^d	67.94+3.14 ^{bc}	6.74+1.42 ^{cd}	25.32+3.40 ^{bcd}
FI-25,120,16	38.66+1.30 ^e	39.07+0.84 ^a	22.27+0.62 ^d	73.35+1.69 ^{ab}	3.90+0.62 ^{cd}	22.75+1.89 ^{cd}
FI-30,100,4	54.45+0.62 ^b	18.78+1.64 ^e	26.77+1.02 ^d	67.33+5.45 ^{bc}	8.90+4.77 ^{bc}	23.77+3.89 ^{bcd}
FI-30,100,16	60.21+1.76 ^a	15.09+1.30 ^e	24.70+0.62 ^d	63.22+6.10 ^{cde}	10.24+5.26 ^{abc}	26.54+3.29 ^{bc}
FI-30,120,4	50.92+0.40 ^c	27.48+0.40 ^{cd}	21.60+0.40 ^d	56.79+4.64 ^{de}	14.57+4.57 ^{ab}	28.64+4.83 ^{bc}
FI-30,120,16	51.17+3.47 ^c	25.63+5.35 ^d	23.19+7.86 ^d	67.24+1.39 ^{bc}	7.95+1.54 ^{cd}	24.81+1.08 ^{bcd}

4.4 ศึกษาโครงสร้างทางเคมีภายในเม็ดแป้งหลังการดัดแปร

ทำการวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีภายในเม็ดแป้งของแป้งข้าวและแป้งข้าวดัดแปรที่ถูกเลือกมาเป็นตัวแทนคือ แป้งข้าวดัดแปรด้วยความร้อนขึ้น 25% อุณหภูมิ 100°C นาน 16 ชั่วโมง พบว่าไม่มีความแตกต่างกันของขนาดโมเลกุลของอะไมโลเพคตินที่ตัดกิ่ง การดัดแปรด้วยความร้อนขึ้นอาจจะส่งผลให้เกิดการเคลื่อนที่ของโมเลกุลภายในโครงสร้างแต่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของขนาดหรือความยาวของโมเลกุลแต่อย่างใด เช่นเดียวกับแป้งข้าวโพด แป้งข้าวโพดข้าวเหนียว แป้ง

มันฝรั่ง แป้ง waxy potato แป้งข้าว และแป้งข้าวเหนียวที่เคยมีรายงานไว้ (Jiranuntakul และคณะ, 2011)



รูปที่ 9 HPSEC chromatogram ของอะไมโลเพคตินตัดกิ่งจากแป้งข้าวที่ไม่ได้ตัดแปร และแป้งข้าวตัดแปรด้วยความร้อนขึ้นที่ความชื้น 25% อุณหภูมิ 100°C ระยะเวลา 16 ชั่วโมง

4.5 การตัดแปรด้วยวิธีแอนนิวาลิงในแป้งข้าวและแป้งฟลวาร์

จากนั้นนำแป้งข้าวและฟลวาร์ข้าวมาตัดแปรด้วยวิธีแอนนิวาลิงเพื่อเปรียบเทียบกับผลการตัดแปรด้วยความร้อนขึ้นโดยศึกษาสมบัติด้านความหนืด สมบัติด้านความร้อน การพองตัวและเนื้อสัมผัสของเจลแป้ง ในที่นี้เลือกตัวอย่างแป้งข้าวและฟลวาร์ข้าวตัดแปรที่ความชื้น 25% อุณหภูมิ 100°C นาน 16 ชั่วโมง มาเปรียบเทียบ

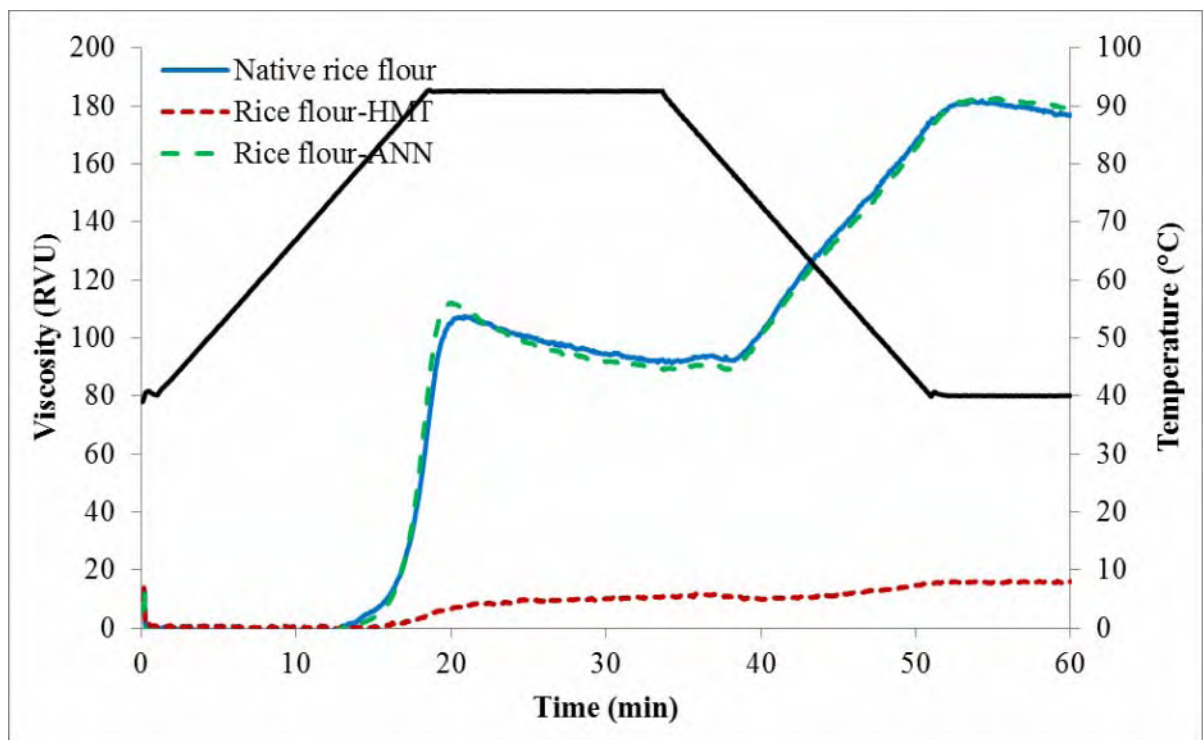
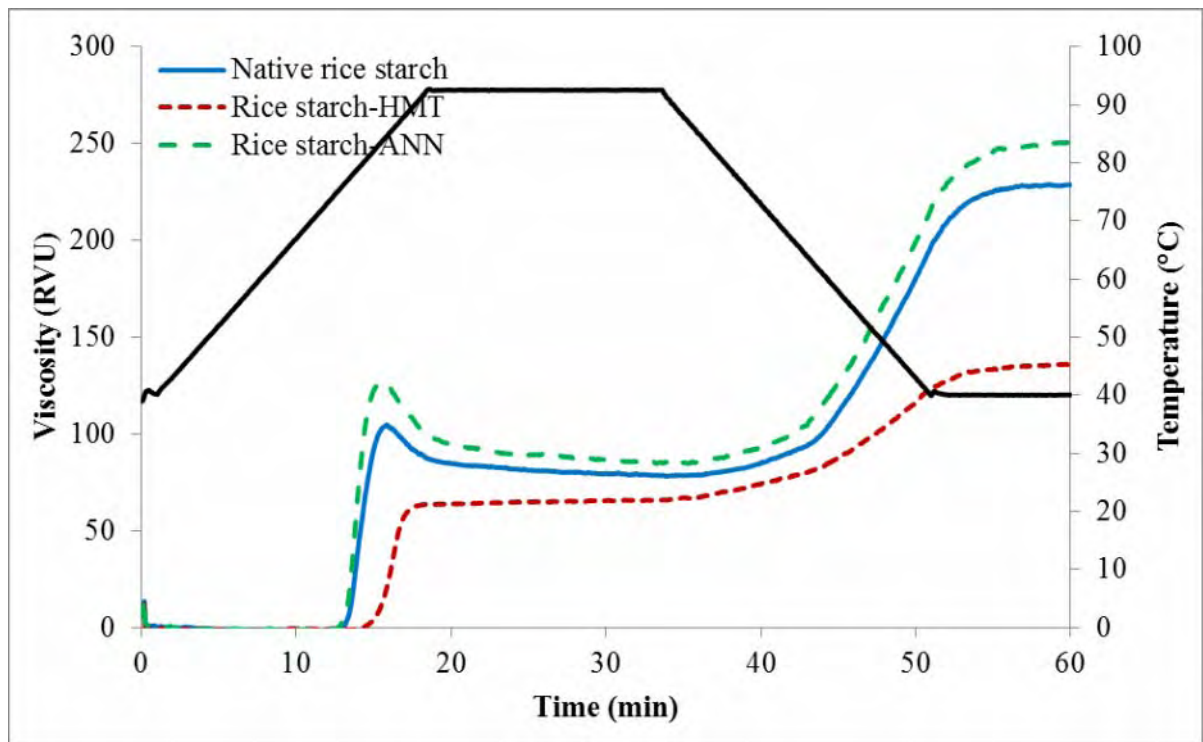
4.5.1 พฤติกรรมการเปลี่ยนแปลงความหนืด

จากการทดลองพบว่าแป้งข้าวตัดแปรด้วยวิธีแอนนิวาลิงมีค่า peak viscosity, breakdown, setback และ pasting temperature สูงกว่าแป้งข้าวที่ไม่ได้ตัดแปรและแป้งข้าวที่ตัดแปรด้วยความร้อนขึ้น การตัดแปรด้วยวิธีแอนนิวาลิงเป็นการตัดแปรโดยใช้ความชื้นที่มากพอรวมกับการใช้อุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิการเกิดเจลลิตีในซีในการตัดแปร ซึ่งแตกต่างจากการตัดแปรด้วยความร้อนขึ้นที่ใช้ความชื้นต่ำและอุณหภูมิสูงในการตัดแปร ซึ่งอุณหภูมิและความชื้นที่ใช้ในการตัดแปรด้วยแอนนิวาลิงมีผลให้โมเลกุลภายในเม็ดแป้งเกิดการเคลื่อนที่และเกิดการจับกันระหว่างโมเลกุลของ

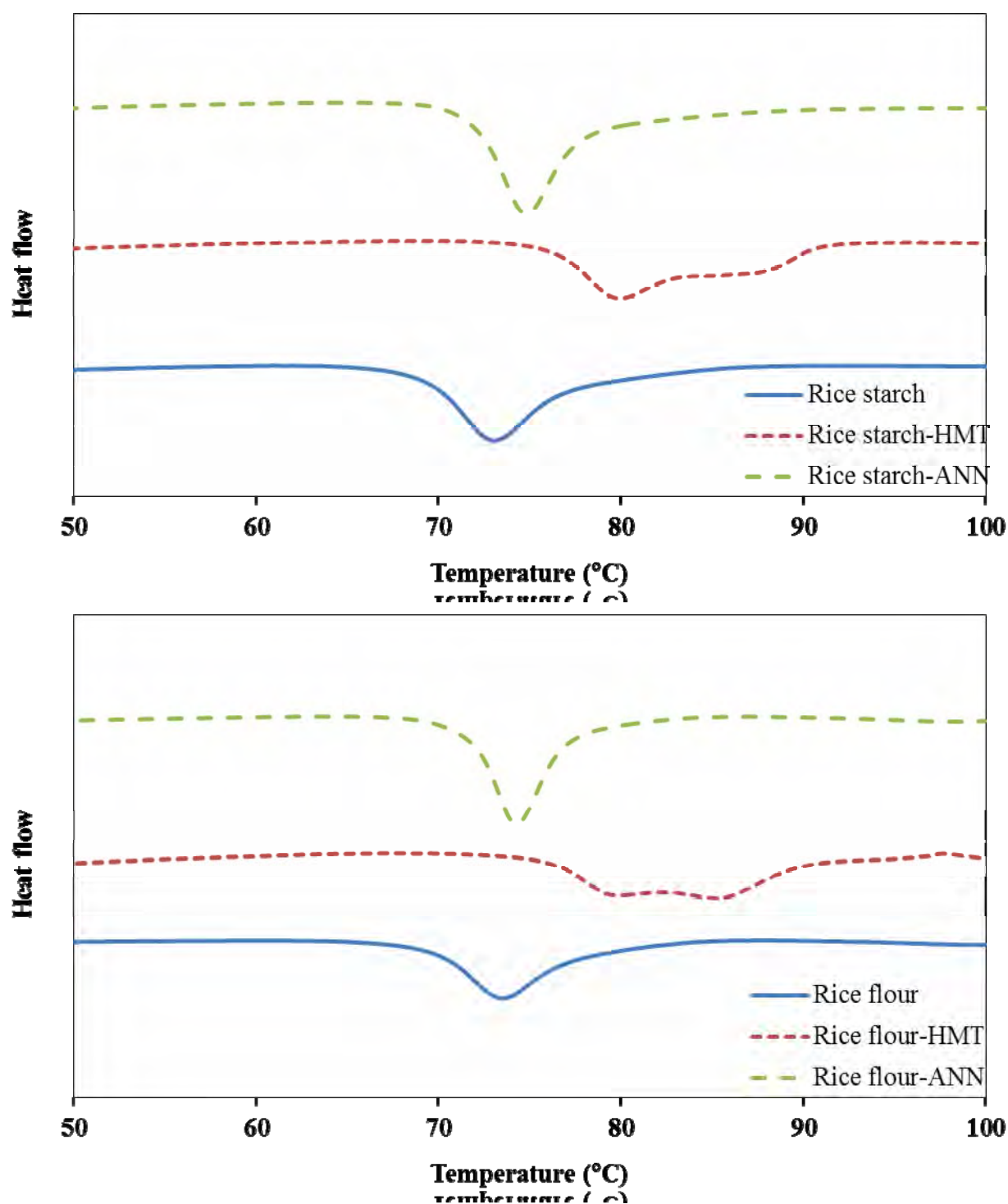
อะไมโลสกับอะไมโลสหรืออะไมโลสกับอะไมโลเพคติน ซึ่งมีผลต่อการพองตัวของเม็ดแป้ง ทำให้มีความสามารถในการดูดน้ำและพองตัวได้มากกว่าเดิม เหมือนกับรายงานของ Dias และคณะ (2010) และ Jacobs และคณะ (1995) โดย Jacobs และคณะ (1995) ได้ทำการศึกษาการทำแอนนิลลิงในแป้งข้าว แป้งมันฝรั่ง แป้งสาลี และแป้งถั่ว พบการเพิ่มขึ้นของความหนืดและการพองตัวของแป้งหลังการตัดแปรซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงมากในแป้งมันฝรั่งและแป้งถั่วซึ่งเป็นแป้ง type B และพบการเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในแป้งข้าวและแป้งสาลีที่เป็นแป้ง type A ซึ่งการเปลี่ยนแปลงความหนืดและการพองตัวนั้นจะสอดคล้องกับปริมาณการปลดปล่อยของอะไมโลสของเม็ดแป้ง ซึ่ง Dias และคณะ (2010) พบว่าแป้งข้าว high amylose (32%) ตัดแปรด้วยแอนนิลลิงมี peak viscosity, breakdown, setback ต่ำกว่าแป้งข้าว low amylose (7%) และ medium amylose (23%) ส่วนในฟลัวร์ข้าวพบว่าการตัดแปรด้วยวิธีแอนนิลลิงให้คุณสมบัติด้านความหนืดไม่แตกต่างจากฟลัวร์ข้าวที่ไม่ได้ตัดแปร ซึ่งต่างกับผลของการตัดแปรด้วยความร้อนชื้น ที่ฟลัวร์ข้าวมีการเปลี่ยนแปลงหลังการตัดแปรมากกว่าแป้งข้าว ทั้งๆ ที่ในฟลัวร์ข้าวมีองค์ประกอบอื่นๆ เช่น โปรตีน ไขมัน มากกว่าในแป้งข้าว การที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากการทำแอนนิลลิงใช้อุณหภูมิการตัดแปรต่ำ จึงไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงโมเลกุลของโปรตีนและไขมัน นอกจากนี้โปรตีนและไขมันที่พบมากในฟลัวร์ข้าวอาจไปขัดขวางการจับกันของอะไมโลสกับอะไมโลสหรืออะไมโลสกับอะไมโลเพคติน ทำให้ไม่พบว่าการเปลี่ยนแปลงสมบัติด้านความหนืดของฟลัวร์ข้าวตัดแปรด้วยแอนนิลลิง

4.5.2 สมบัติทางความร้อนในการเกิดเจลลิตไนซ์เซชันของแป้ง

ในรูปที่ 11 แป้งข้าวและฟลัวร์ข้าวที่ตัดแปรด้วยวิธีแอนนิลลิงมีสมบัติทางความร้อนคล้ายคลึงกับแป้งข้าวและฟลัวร์ข้าวที่ไม่ได้ตัดแปร แต่มีค่า ΔH สูงกว่า โดยแป้งข้าวตัดแปรด้วยวิธีแอนนิลลิงมีค่า ΔH เท่ากับ 16.97 J/g และฟลัวร์ข้าวที่ตัดแปรด้วยวิธีแอนนิลลิงมีค่า ΔH เท่ากับ 16.27 J/g เนื่องจากกระบวนการตัดแปรด้วยแอนนิลลิงทำให้โมเลกุลอะไมโลสภายในเม็ดแป้งมีการจัดเรียงตัวที่เป็นระเบียบมากขึ้น โดยอาจเกิดพันธะกันระหว่างอะไมโลสกับอะไมโลเพคติน หรืออะไมโลสกับอะไมโลส ทำให้โครงสร้างของเม็ดแป้งมีความแข็งแรงมากขึ้น นอกจากนั้น การตัดแปรด้วยวิธีแอนนิลลิงจะทำให้แป้งข้าวและฟลัวร์ข้าวมีอุณหภูมิเริ่มเกิดเจลลิตไนซ์เซชัน (T_0) เพิ่มขึ้น 2-3°C และมีช่วงอุณหภูมิในการเกิดเจลลิตไนซ์เซชันที่แคบลงเนื่องจากโมเลกุลเรียงตัวเป็นระเบียบมากขึ้นและความสม่ำเสมอของโครงสร้างภายใน (inhomogeneity) ที่เพิ่มขึ้นจากการตัดแปรด้วยวิธีแอนนิลลิง ซึ่งแตกต่างจากการตัดแปรด้วยความร้อนชื้นอย่างมีนัยสำคัญ การเปลี่ยนแปลง thermogram ของแป้งข้าวภายหลังการตัดแปรด้วยแอนนิลลิงคล้ายกับการศึกษาของ Jacobs และคณะ (1995) และ Dias และคณะ (2010) แต่แตกต่างจากรายงานของ Hormdok และ Noomhorm (2007)



รูปที่ 10 กราฟความหนืดที่ได้จากเครื่อง RVA ของแป้งข้าวและฟลาวร์ข้าวตัดแปรด้วยวิธีแอนนิลลิง
เปรียบเทียบกับ การตัดแปรด้วยความร้อนขึ้น



รูปที่ 11 Thermogram ของแป้งข้าวและฟลัวร์ข้าวที่ไม่ได้ดัดแปรและดัดแปรด้วยวิธีแอนนิลลิง

4.5.3 กำลังการพองตัวของเม็ดแป้งในน้ำและน้ำมัน

ตารางที่ 6 แสดงกำลังการพองตัวของแป้งข้าวและฟลัวร์ข้าวที่ขึ้นรูปเป็นแผ่นในน้ำและในน้ำมัน ค่าการพองตัวในน้ำของแป้งข้าวดัดแปรด้วยวิธีแอนนิลลิงต่ำกว่าแผ่นแป้งที่ไม่ได้ดัดแปร ตรงข้ามกับฟลัวร์ข้าวที่ดัดแปรด้วยวิธีแอนนิลลิงที่มีค่ากำลังการพองตัวในน้ำสูงกว่าฟลัวร์ข้าวที่ไม่ได้

ดัดแปรเล็กน้อย ส่วนกำลังการพองตัวในน้ำมันพบว่าแป้งข้าวและฟลาวร์ข้าวดัดแปรด้วยแอนนิวาลิงมีค่ากำลังการพองตัวในน้ำมันสูงกว่าแป้งข้าวและฟลาวร์ข้าวที่ไม่ได้ดัดแปร และที่ดัดแปรด้วยความร้อนขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับสมบัติทางความร้อนในรูปที่ 11 ซึ่งพบว่าแป้งที่ดัดแปรด้วยวิธีแอนนิวาลิงจะทำให้โมเลกุลมีการจัดเรียงตัวเป็นระเบียบและแข็งแรงมากขึ้น ทำให้สามารถพองตัวเวลาได้รับความร้อนมากกว่าแป้งที่ไม่ได้ดัดแปร ซึ่งทั้งแป้งข้าวและฟลาวร์ข้าวให้ผลคล้ายกัน

ตารางที่ 6 กำลังการพองตัวในน้ำและน้ำมันของแป้งข้าวและฟลาวร์ข้าวที่ไม่ได้ดัดแปรและดัดแปรด้วยวิธีแอนนิวาลิง

ตัวอย่าง	กำลังการพองตัวในน้ำ (%)	กำลังการพองตัวในน้ำมัน (%)	ตัวอย่าง	กำลังการพองตัวในน้ำ (%)	กำลังการพองตัวในน้ำมัน (%)
Native rice starch	214 $\pm$ 5	424 $\pm$ 29	Native rice flour	167 $\pm$ 9	334 $\pm$ 47
Rice starch HMT	180 $\pm$ 10	349 $\pm$ 65	Rice flour HMT	201 $\pm$ 5	377 $\pm$ 52
Rice starch ANN	179 $\pm$ 13	772 $\pm$ 39	Rice flour ANN	172 $\pm$ 6	759 $\pm$ 91

4.5.4 เนื้อสัมผัสของเจลแป้ง

จากการทดสอบเนื้อสัมผัสของเจลแป้งข้าวและฟลาวร์ข้าวที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีแอนนิวาลิงพบว่าเจลแป้งข้าวที่ผ่านการแอนนิวาลิงมีความแข็งของเจลแป้ง 1280 gf ส่วนฟลาวร์ข้าวที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีแอนนิวาลิงมีความแข็ง 500 gf (ตารางที่ 7) ซึ่งค่าความแข็งของเจลแป้งหลังการเกิดรีโทรเกรเดชันของแป้งข้าวและฟลาวร์ข้าวที่ดัดแปรด้วยแอนนิวาลิงสูงกว่าตัวอย่างที่ไม่ได้ดัดแปรและที่ดัดแปรด้วยความร้อนขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลของสมบัติด้านความหนืดในรูปที่ 10 จะเห็นได้ว่าแป้งข้าวและฟลาวร์ข้าวที่ดัดแปรด้วยแอนนิวาลิงมีการพองตัวได้มากกว่า มีความหนืดสูงกว่า และมีค่า setback ที่บ่งบอกถึงการเกิดรีโทรเกรเดชันที่สูงกว่า เนื่องจากการใช้ความร้อนต่ำร่วมกับความชื้นนอกจากจะทำให้โมเลกุลเกิดการเคลื่อนที่มาจับกับเป็นระเบียบมากยิ่งขึ้น ทำให้เม็ดแป้งแข็งแรงมากยิ่งขึ้นแล้ว เมื่อได้รับความร้อนอาจจะมีระดับการเกิดเจลลาติไนซ์ที่สูงกว่า ทำให้โมเลกุลของอะไมโลสหลุดออกมาจากเม็ดแป้งมากกว่าซึ่งเมื่อลดอุณหภูมิลงสายของอะไมโลสจะกลับมาจับกันเป็นร่างแหทำให้เจลแป้งมีความแข็งแรงมากขึ้น

ตารางที่ 7 เนื้อสัมผัสของเจลแป้งข้าวและฟลาวร์ข้าวที่ไม่ได้ดัดแปรและดัดแปรด้วยวิธีแอนนิวาลิง

ตัวอย่าง	Hardness (g)	ตัวอย่าง	Hardness (g)
Native rice starch	1098 $\pm$ 148	Native rice flour	439 $\pm$ 20
Rice starch HMT	901 $\pm$ 122	Rice flour HMT	192 $\pm$ 5
Rice starch ANN	1280 $\pm$ 38	Rice flour ANN	500 $\pm$ 11

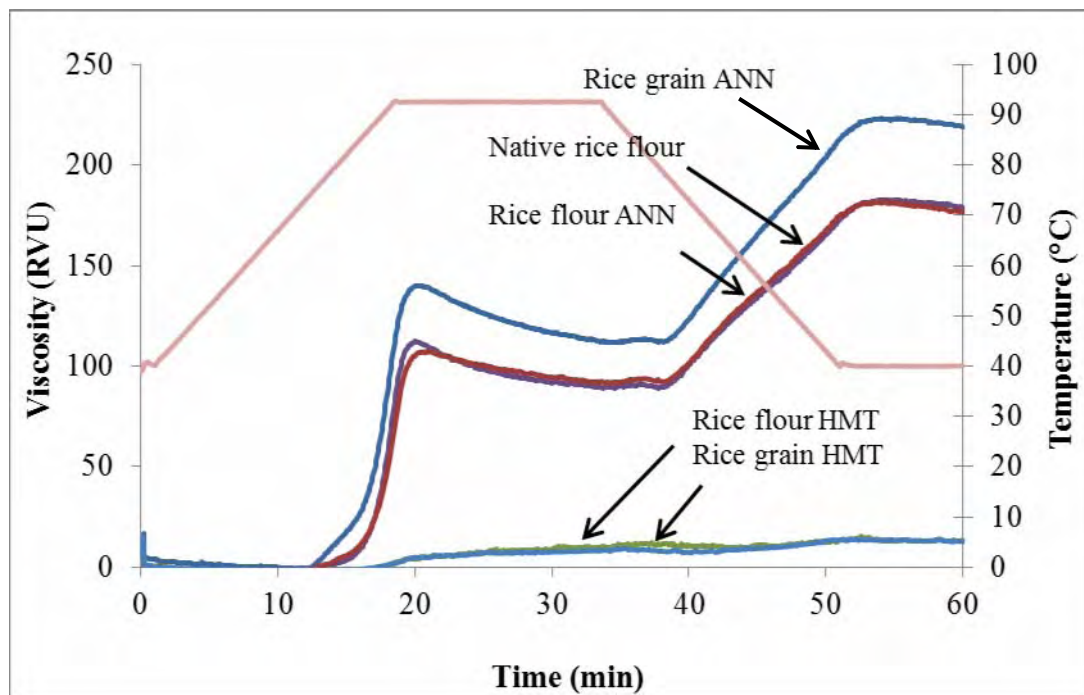
4.6 การตัดแปรด้วยความร้อนขึ้นในข้าวหัก

จากนั้นทำการทดลองตัดแปรในเมล็ดข้าวหัก (rice grain) เพื่อหาความเป็นไปได้ในการตัดแปรที่สะดวกมากยิ่งขึ้น โดยนำเมล็ดข้าวหักมาตัดแปรด้วยความร้อนขึ้นและวิธีแอนนิลลิงแล้วอบแห้ง จากนั้นนำไปบดแห้งด้วยเครื่องบดแล้วผ่านตะแกรงขนาด 106 ไมครอน เช่นเดียวกับการเตรียมฟลาวร์ข้าว นำไปเปรียบเทียบกับฟลาวร์ข้าวตัดแปรด้วยความร้อนขึ้นและวิธีแอนนิลลิง โดยมี

ฟลาวร์ข้าว (Native rice flour) เป็นตัว control

4.6.1 พฤติกรรมการเปลี่ยนแปลงความหนืด

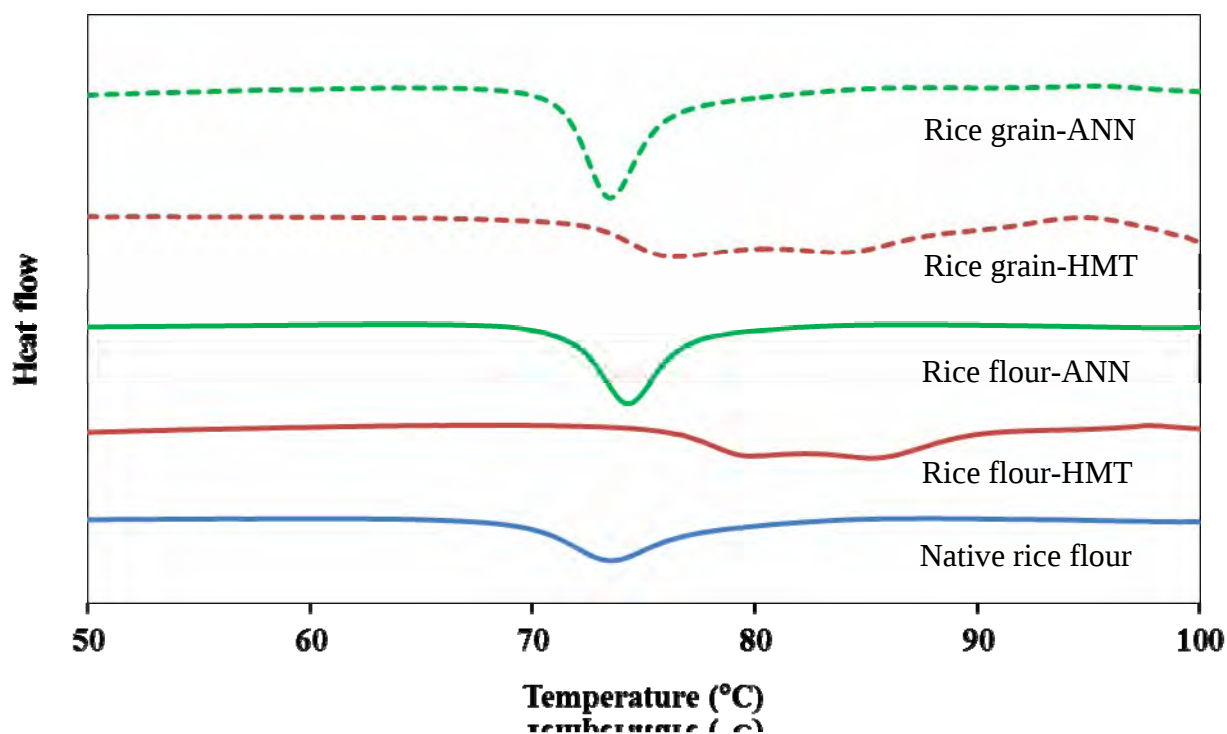
จากรูปที่ 12 จากการวิเคราะห์ด้วย RVA ที่ความเข้มข้น 8% พบว่าเมล็ดข้าวหักตัดแปรด้วยความร้อนขึ้นมี pasting profile เหมือนกับฟลาวร์ข้าวตัดแปรด้วยความร้อนขึ้น ซึ่งจะเห็นว่าขนาดของอนุภาคไม่มีผลต่อการตัดแปรด้วยความร้อนขึ้น เนื่องจากก่อนการตัดแปรได้ทำการแช่ตัวอย่างในน้ำเพื่อให้สามารถดูดซึมน้ำได้อย่างเต็มที่ ก่อนทำการระเหยนํ้าออกเพื่อให้ได้ความชื้นที่ต้องการ ร่วมกับการใช้อุณหภูมิที่ใช้ในการตัดแปรสูงและเวลานาน ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงภายในเม็ดแป้งไม่แตกต่างจากการตัดแปรด้วยความร้อนขึ้นในฟลาวร์ข้าว ส่วนการตัดแปรด้วยวิธีแอนนิลลิงเมล็ดข้าวหักตัดแปรด้วยแอนนิลลิงมี pasting profile คล้ายกับฟลาวร์ข้าวตัดแปรด้วยวิธีแอนนิลลิง แต่มีค่า pasting temperature ต่ำกว่า ค่า peak viscosity, breakdown และ setback สูงกว่า แม้ว่าเมล็ดข้าวหักและฟลาวร์ข้าวที่นำมาใช้ในการทดลองจะมาจากแหล่งเดียวกันและมีองค์ประกอบทางเคมีเหมือนกัน แต่เม็ดแป้งในข้าวหักจะอยู่ภายในเซลล์โดยมีโปรตีนเกาะอยู่บริเวณพื้นผิวหรือแทรกอยู่ระหว่างเม็ดแป้ง ซึ่งผนังเซลล์ที่กั้นเป็นห้องอยู่น่าจะมีบทบาทช่วยให้องค์ประกอบที่เป็นโปรตีนหรือไขมันอยู่ใกล้ชิดกับเม็ดแป้ง การตัดแปรในรูปที่เป็นเมล็ดข้าวจึงอาจจะช่วยให้เกิด interaction กันของโปรตีนและไขมันที่อยู่ภายในเซลล์กับเม็ดแป้งทำให้มีการเปลี่ยนแปลงสมบัติด้านความหนืดมากกว่าการตัดแปรในฟลาวร์ข้าว



รูปที่ 12 กราฟความหนืดที่ได้จากเครื่อง RVA ของเมล็ดข้าวหักดัดแปรด้วยวิธีความร้อนชื้นและแอนนิลลิงเปรียบเทียบกับฟลาร์ข้าวดัดแปรด้วยวิธีความร้อนชื้นและแอนนิลลิง

4.6.2 สมบัติทางความร้อนในการเกิดเจลลาติไนซ์เซชันของแป้ง

สมบัติทางความร้อนของข้าวหักดัดแปรด้วยความร้อนชื้นและแอนนิลลิงแสดงในรูปที่ 13 เมื่อเปรียบเทียบกับฟลาร์ข้าวพบว่าการดัดแปรในเมล็ดข้าวหักมี T_0 สูงกว่าฟลาร์ข้าวที่ไม่ได้ดัดแปรประมาณ 3°C และมีค่า ΔH สูงกว่าฟลาร์ข้าวที่ไม่ได้ดัดแปรด้วยเช่นกัน ($\square 6 \text{ J/g}$) และสูงกว่าฟลาร์ข้าวดัดแปรด้วยวิธีแอนนิลลิงเล็กน้อย ($\square 1 \text{ J/g}$) ซึ่งสอดคล้องกับผลของสมบัติความหนืดที่แสดงให้เห็นว่าข้าวหักที่ดัดแปรด้วยวิธีแอนนิลลิงเม็ดแป้งจะมีความแข็งแรงภายในโครงสร้างมากกว่าการดัดแปรด้วยวิธีเดียวกันในฟลาร์ข้าว ส่วนการดัดแปรด้วยความร้อนชื้นพบว่าข้าวหักดัดแปรและฟลาร์ข้าวดัดแปรไม่มีความแตกต่างกัน



รูปที่ 13 Thermogram ของฟลาวร์ข้าวที่ไม่ได้ตัดแปรรูป และข้าวหักและฟลาวร์ข้าวที่ตัดแปรรูปด้วยความร้อนชื้นและวิธีแอนนิลลิง

4.6.3 กำลังการพองตัวของเม็ดแป้งในน้ำ และน้ำมัน

ข้าวหักตัดแปรรูปด้วยความร้อนชื้นให้ค่ากำลังการพองตัวในน้ำสูงกว่าฟลาวร์ข้าวตัดแปรรูปด้วยความร้อนชื้นเล็กน้อย และให้ค่ากำลังการพองตัวในน้ำมันต่ำกว่าฟลาวร์ข้าวตัดแปรรูปด้วยความร้อนชื้นเล็กน้อย ส่วนการตัดแปรรูปด้วยวิธีแอนนิลลิงพบว่าข้าวหักตัดแปรรูปมีกำลังการพองตัวในน้ำสูงกว่าและกำลังการพองตัวในน้ำมันต่ำกว่า เช่นเดียวกับที่พบในการตัดแปรรูปด้วยความร้อนชื้น (ตารางที่ 8)

4.6.4 การทดสอบค่าแรงกด (Compressive test) ของเจลแป้งหลังจากผ่านเครื่อง RVA แล้ว

ค่าความแข็งของเจลแป้งหลังผ่าน พบว่าข้าวหักตัดแปรรูปด้วยความร้อนชื้นมีความแข็งของเจลแป้งต่ำกว่าฟลาวร์ข้าวตัดแปรรูปด้วยความร้อนชื้น แต่ในข้าวหักที่ตัดแปรรูปด้วยวิธีแอนนิลลิงพบว่ามีความแข็งของเจลแป้งมากกว่าฟลาวร์ข้าวตัดแปรรูปด้วยวิธีเดียวกัน

ตารางที่ 8 กำลังการพองตัวในน้ำและน้ำมันของแผ่นแป้งจากข้าวหักที่ดัดแปรด้วยความร้อนชื้นและแอนนิลลิง และเนื้อสัมผัสของเจลแป้งข้าวหักที่ไม่ได้ดัดแปรและดัดแปรด้วยความร้อนชื้นและแอนนิลลิงเปรียบเทียบกับฟลัวร์ข้าวที่ไม่ได้ดัดแปรและที่ดัดแปรด้วยวิธีเดียวกัน

ตัวอย่าง	กำลังการพองตัวในน้ำ (%)	กำลังการพองตัวในน้ำมัน (%)	Hardness (g)
Native rice flour	167 $\pm$ 9	334 $\pm$ 47	439 $\pm$ 20
Rice flour HMT	201 $\pm$ 5	377 $\pm$ 52	192 $\pm$ 5
Rice flour ANN	172 $\pm$ 6	759 $\pm$ 91	500 $\pm$ 11
Rice grain HMT	232 $\pm$ 6	117 $\pm$ 18	84 $\pm$ 4
Rice grain ANN	192 $\pm$ 11	330 $\pm$ 17	598 $\pm$ 18

บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ

5.1 การตัดแปรรูปแป้งข้าวและฟลาวัวร์ข้าวด้วยความร้อนชื้น

จากการตัดแปรรูปด้วยความร้อนชื้นในแป้งข้าวและฟลาวัวร์ข้าวพบว่า แป้งข้าวและฟลาวัวร์ข้าวตัดแปรรูปด้วยความร้อนชื้นมี peak viscosity, breakdown และ setback ลดลง pasting temperature สูงขึ้น ความแข็งแรงของเจลแป้งหลังการรีโทรเกรดลดลง สมบัติทางความร้อนพบว่าโครงสร้างภายในเม็ดแป้งมีความแข็งแรงลดลง ซึ่งการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมีกายภาพของแป้งข้าวและฟลาวัวร์ข้าวตัดแปรรูปขึ้นกับความชื้น ระยะเวลา และอุณหภูมิตามลำดับ ส่วนการพองตัวในน้ำไม่แตกต่างจากแป้งที่ไม่ได้ตัดแปรรูป แต่การพองตัวในน้ำมันของแป้งข้าวและฟลาวัวร์ข้าวตัดแปรรูปด้วยความร้อนชื้นมีค่าลดลง นอกจากนั้นแป้งข้าวตัดแปรรูปที่ผ่านการต้มจะมี RS สูงขึ้นเล็กน้อย ซึ่งสมบัติของแป้งข้าวและฟลาวัวร์ข้าวตัดแปรรูปด้วยความร้อนชื้นจะแตกต่างกันเนื่องจากองค์ประกอบทางเคมี เช่น โปรตีนและไขมันที่ฟลาวัวร์ข้าวมีมากกว่า ทำให้ในระหว่างการตัดแปรรูปโมเลกุลของโปรตีนหรือไขมันอาจเกิด interaction กับโมเลกุลของแป้งฟลาวัวร์ข้าวที่ตัดแปรรูปด้วยความร้อนชื้นจะมี peak viscosity, breakdown, setback ต่ำ และส่งผลให้เจลมีการคืนตัวต่ำและความแข็งแรงของเจลน้อยกว่าแป้งข้าวตัดแปรรูป

5.2 การตัดแปรรูปแป้งข้าวและฟลาวัวร์ข้าวด้วยวิธีแอนนิลลิงเปรียบเทียบกับ การตัดแปรรูปด้วยความร้อนชื้น

เมื่อทำการทดลองตัดแปรรูปด้วยแอนนิลลิงที่ใช้อุณหภูมิต่ำกว่า เปรียบเทียบกับการตัดแปรรูปด้วยความร้อนชื้น พบว่าในแป้งข้าวและฟลาวัวร์ข้าวมีการเปลี่ยนแปลงสมบัติด้านความหนืด สมบัติทางความร้อน ความแข็งแรงของเจล และการพองตัวที่ตรงข้ามกับการตัดแปรรูปด้วยความร้อนชื้น โดยมี peak viscosity, breakdown และ setback สูงขึ้น ส่วนความแข็งแรงของเจลแป้งหลังการรีโทรเกรดเพิ่มขึ้น เนื่องจากโครงสร้างภายในเม็ดแป้งมีความแข็งแรงมากขึ้น การพองตัวในน้ำไม่ค่อยเปลี่ยนแปลง แต่การพองตัวในน้ำมันสูงขึ้น โดยแป้งข้าวจะมีการเพิ่มขึ้นของความหนืดมากกว่าในฟลาวัวร์ข้าว

5.3 การตัดแปรรูปข้าวหักด้วยความร้อนชื้นและวิธีแอนนิลลิงเปรียบเทียบกับ การตัดแปรรูปในฟลาวัวร์ข้าว

ในการตัดแปรรูปในเมล็ดข้าวหักพบว่าอนุภาคของตัวอย่างไม่มีผลต่อคุณสมบัติของแป้งตัดแปรรูปในการตัดแปรรูปด้วยความร้อนชื้น เนื่องจากการตัดแปรรูปด้วยความร้อนชื้นใช้อุณหภูมิที่สูงประกอบกับระยะเวลาที่นานทำให้สามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงภายในเมล็ดข้าวได้เช่นเดียวกับการตัดแปรรูปใน

ฟลาวัวร์ข้าว ส่วนการตัดแปรรูปด้วยวิธีแอนนิลลิง เนื่องจากอุณหภูมิที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาต่ำการตัด

แปรรูปในเมล็ดข้าวจึงไม่มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของแป้งข้าวที่ได้ แตกต่างจากการดัดแปรโดยใช้ฟลาวร์ข้าว

5.4 ข้อเสนอแนะ

จากการทดลองทั้งหมดสรุปได้ว่าการดัดแปรด้วยความร้อนชื้นและการดัดแปรด้วยแอนนิวาลิงมีผลทำให้สมบัติของแป้งข้าวและฟลาวร์ข้าวเปลี่ยนไป โดยการดัดแปรด้วยความร้อนชื้นส่งผลให้แป้งข้าวและฟลาวร์ข้าวมีความหนืด ความแข็ง และการพองตัวลดลง และสามารถเพิ่ม RS ได้เล็กน้อย น่าจะสามารถนำไปใช้ในอุตสาหกรรมแป้งที่ต้องการความแข็งแรงของแป้งสูงๆ เช่น ในอาหารที่ไม่ต้องการความชื้นหนืดสูงและยังสามารถช่วยเพิ่ม RS ในผลิตภัณฑ์ ซึ่งการดัดแปรด้วยความร้อนชื้นนั้นต้องคำนึงถึงองค์ประกอบอื่นๆ ภายในแป้งด้วย ส่วนการดัดแปรด้วยวิธีแอนนิวาลิงให้แป้งข้าวและฟลาวร์ข้าวที่มีสมบัติตรงกันข้ามกับการดัดแปรด้วยความร้อนชื้น โดยแป้งมีความหนืด ความแข็ง และการพองตัวสูงขึ้น เหมาะกับการนำไปประยุกต์ใช้ในอาหารชุบทอด ซึ่งน่าจะเพิ่มความกรอบและการพองตัวของผลิตภัณฑ์ได้มากขึ้น แต่จากการทดลองดัดแปรที่อุณหภูมิ 55°C ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ไม่พบการเปลี่ยนแปลงในการดัดแปรในเมล็ดข้าว หากต้องการดัดแปรเมล็ดข้าวให้มีคุณสมบัติเช่นเดียวกับการดัดแปรในฟลาวร์ข้าวอาจจะต้องมีการเพิ่มอุณหภูมิในการดัดแปรให้สูงขึ้นเล็กน้อย และอาจจะเพิ่มการทดลองเพิ่มคุณสมบัติอื่นๆ เพิ่มเติม ซึ่งข้าวเป็นพืชหลักของประเทศไทยมีการเพาะปลูกมาก ดังนั้นจึงน่าจะส่งเสริมให้มีการวิจัยเพื่อเพิ่มมูลค่าให้แป้งข้าวมากยิ่งขึ้น

เอกสารอ้างอิง

- ผลิตภัณฑ์ข้าว : ตลาดส่งออกที่ยังเติบโตต่อไปได้, มอญเศรษฐกิจ ฉบับที่ 1930, บริษัท ศูนย์วิจัย
กสิกรไทย จำกัด. 24 มกราคม 2550.
http://www.kasikornresearch.com/portal/site/KResearch/rsh_d/?id=8326&cid=4
- Adebowale, K. O., Henle, T., Schwarzenbolz, U., & Doert, T. (2009). Modification and properties of African yam bean (*Sphenostylis stenocarpa* Hochst. Ex A. Rich.) Harms starch I: Heat moisture treatments and annealing. *Food Hydrocolloids*, 23(7), 1947-1957.
- Adebowale, K. O., & Lawal, O. S. (2003). Microstructure, physicochemical properties and retrogradation behaviour of mucuna bean (*Mucuna pruriens*) starch on heat moisture treatment. *Food Hydrocolloids*, 17, 265-272.
- Adebowale, K. O., Olu-Owolabi, B. I., Olawumi, E. k., & Lawal, O. S. (2005). Functional properties of native, physically and chemically modified breadfruit (*Artocarpus artilis*) starch. *Industrial Crops and Products*, 21 (3), 343-351.
- Anderson, A. K., & Guraya, H. S. (2006). Effects of microwave heat-moisture treatment on properties of waxy and non-waxy rice starches. *Food Chemistry*, 97, 318-323.
- Anderson, A. K., Guraya, H. S., James, C., & Salvaggio, L. (2002). Digestibility and pasting properties of rice starch heat-moisture treated at the melting temperature (T_m). *Starch/Starke*, 54, 401-409.
- Association of Official Analytical Chemists. (1990). Official Methods of Analysis, 15th ed., Virginia : The Association of Official Agricultural Chemists.
- Chung, H.-J., Hoover, R., & Liu, Q. (2009a). The impact of single and dual hydrothermal modifications on the molecular structure and physicochemical properties of normal corn starch. *International Journal of Biological Macromolecules*, 44(2), 203-210.
- Chung, H.J., Liu, Q., & Hoover, R. (2009b). Impact of annealing and heat-moisture treatment on rapidly digestible, slowly digestible and resistant starch levels in native and gelatinized corn, pea and lentil starches. *Carbohydrate Polymers*, 75, 436-447.
- Collado, L.S., & Corke, H. (1999). Heat-moisture treatment effects on sweetpotato starches differing in amylose content. *Food Chemistry*, 65, 339-346.

- Dias, A.R.G., Zavareze, E.da R., Spier, F., Suita de Castro, L.A., & Gutkoski, L.C. (2010). Effects of annealing on the physicochemical properties and enzymatic susceptibility of rice starches with different amylose contents. *Food Chemistry*, 123 (3), 711-719.
- Englyst, H.N., Kingman, S.M., & Cummings, J.H. (1992). Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *European Journal of Clinical Nutrition*, 46 (SUPPL. 2), S33-s50.
- Franco, C.M.L., Ciacco, C.F., & Tavares, D.Q. (1995). Effect of heat-moisture treatment on the enzymatic susceptibility of corn starch granules. *Starch/Starke*, 47, 223–228.
- Gunaratne, A., & Hoover, R. (2002). Effect of heat-moisture treatment on the structure and physicochemical properties of tuber and root starches. *Carbohydrate Polymers*, 49, 425-437.
- Hamaker, B.R., & Griffin, V.K. (1990). Changing the viscoelastic properties of cooked rice through protein disruption. *Cereal Chemistry*, 67, 261-264.
- Horndok, R., & Noomhorm, A. (2007). Hydrothermal treatments of rice starch for improvement of rice noodle quality. *LWT - Food Science and Technology*, 40, 1723-1731.
- Hoover, R., & Manuel, H. (1996). Effect of heat-moisture treatment on the structure and physicochemical properties of legume starches. *Food Research International*, 96, 731-750.
- Hoover, R., Vasanthan, T., Senanayake J. N., & Martin M. A. (1994). The effects of defatting and heat-moisture treatment on the retrogradation of starch gels from wheat, oat, potato, and lentil. *Carbohydrate Research*, 261(1), 13-24.
- Hoover, R., & Vasanthan, T. (1994). Effect of heat-moisture treatment on the structure and physicochemical properties of cereal, legume, and tuber starches. *Carbohydrate Research*, 252, 33-53.
- Jacobasch, G., Dongowski, G., Schmiedl, D., & Muller-Schmehl, K. (2006). Hydrothermal treatment of Novelose 330 results in high yield of resistant starch type 3 with beneficial prebiotic and decreased secondary bile acid formation in rats. *British Journal of Nutrition*, 95, 1063–1074.
- Jacobs, H., & Delcour, J. (1998). Hydrothermal modifications of granular starch with retention of the granular structure – A review. *Journal of Agricultural and food Chemistry*, 46, 2895-2905.

- Jacobs, H., Eerlingen, R.C., Clauwaert, W., & Delcour, J.A. (1995). Influence of annealing on the pasting properties of starches from varying botanical sources. *Cereal Chemistry*, 72 (5), 480-487.
- Jayakody, L., Hoover, R., Liu, Q., & Donner, E. (2007). Studies on tuber starches. II. Molecular structure, composition and physicochemical properties of yam (*Dioscorea sp.*) starches grown in Sri Lanka. *Carbohydrate Polymers*, 69, 148–163.
- Jiranuntakul, W., Puttanlek, C., Rungsardthong, V., Puncha-Arnon, S., & Uttapap, D. (2011). Microstructural and physicochemical properties of heat-moisture treated waxy and normal starches. *Journal of Food Engineering*, 104 (2), 246-258.
- Ju, Z.Y., Hettiarachchy, N.S., & Rath, N. (2001). Extraction, denaturation and hydrophobic properties of rice flour proteins. *Journal of Food Science*, 66, 229-232.
- Juansang, J., Puttanlek, C., Rungsardthong, V., Puncha-Arnon, S., & Uttapap, D. (2012). Effect of gelatinisation on slowly digestible starch and resistant starch of heat-moisture treated and chemically modified canna starches. *Food Chemistry*, 131 (2), 500-507.
- Khunae, P., Tran, T., & Sirivongpaisal, P. (2007). Effect of heat-moisture treatment on structural and thermal properties of rice starches differing in amylose content. *Starch/Starke*, 59, 593–599.
- Kiseleva, V.I., Krivandin, A.V., Formal, J., Blaszcack, W., Jelinska, T., & Yuryev, V.P. (2005). Annealing of normal and mutant wheat starches. LM, SEM, DSC and SAXS studies. *Carbohydrate Research*, 340, 75–83.
- Kohyama, K., & Sasaki, T. (2006). Differential scanning calorimetry and a model calculation of starches annealed at 20 and 50°C. *Carbohydrate Polymers*, 63(1), 82-88.
- Lan, H., Hoover, R., Jayakody, L., Liu, Q., Donner, E., Baga, M., Asare, E. K., Hucl, P., & Chibbar, R.N. (2008). Impact of annealing on the molecular structure and physicochemical properties of normal, waxy and high amylose bread wheat starches. *Food Chemistry*, 111(3), 663-675.
- Lai, H.-M. (2001). Effects of hydrothermal treatment on the physicochemical properties of pregelatinized rice flour. *Food Chemistry*, 72 (4), 455-463.
- Lim, S.-T., Chang, E.H., & Chung, H.J. (2001). Thermal transition characteristics of heat-moisture treated corn and potato starches. *Carbohydrate Polymers*, 46, 107–115.

- Lim, S.-T., Lee, J.-H., Shin, D.-H., & Lim, H. S. (1999). Comparison of Protein Extraction Solutions for Rice Starch Isolation and Effects of Residual Protein Content on Starch Pasting Properties. *Starch - Stärke*, 51 (4), 120-125.
- Lorlowhakarn, K., & Naivikul, O. (2006) Modification of rice flour by heat moisture treatment (HMT) to produce rice noodle. *Kasetsart Journal-Natural Science*, 40, 135-143.
- Maruta, I., Kurahashi, Y., Takayano, R., Hayashi, K., Yoshino, Z., & Komaki, T. (1994). Reduced-pressurized heat-moisture treatment. A new method for heat-moisture treatment of starch. *Starch/Starke*, 46, 177-181.
- Matsunaga, K., Kawasaki, S., & Takada, Y. (2003). Influence of physicochemical properties of starch on crispness of tempura fried batter. *Cereal Chemistry*, 80(3), 339-345.
- Miyazaki, M., & Morita, N. (2005). Effect of heat-moisture treated maize starch on the properties of dough and bread. *Food Research International*, 38, 369-376
- Olayinka, O.O., Adebawale, K.O., & Olu-Owolabi, B.I. (2008). Effect of heat-moisture treatment on physicochemical properties of white sorghum starch. *Food Hydrocolloids*, 22(2), 225-230.
- Puncha-arnon, S., Puttanlek, J., Rungsardthong, V., Pathipanawat, W., & Uttapap, D. (2007). Changes in physicochemical properties and morphology of canna starches during rhizomal development. *Carbohydrate Polymers*, 70(2), 206-217.
- Saartrat, S., Puttanlek, C., Rungsardthong, V., & Uttapap, D. (2005). Paste and gel properties of low-substituted acetylated canna starches. *Carbohydrate Polymers*, 61(2), 211-221.
- Sasaki, T., & Matsuki, J. (2005). Effect of wheat starch structure on swelling power. *Cereal Chemistry*, 75, 525-529.
- Shih, F., King, J., Daigle, K., An, H.J., & Ali, R. (2007). Physicochemical properties of rice starch modified by hydrothermal treatments. *Cereal Chemistry*, 84, 527-531.
- Singh, S., Raina, C.S., Bawa, A.S., & Saxena, D.C. (2005). Effect of heat-moisture treatment and acid modification on rheological, textural, and differential scanning calorimetry characteristics of sweetpotato starch. *Journal of Food Science*, 70, 373-378.
- Smith, R.J., & Caruso, J. (1964). Determination of phosphorus, In R.L. Whistler (Ed.) *Methods in carbohydrate chemistry : Starch*, Orlando, FL Academic press. Vol. 4, pp. 42-46.
- Stute, R. (1992). Hydrothermal modification of starches: Difference between annealing and heat/moisture treatment. *Starch/Starke*, 44, 205-214.

- Takeda, Y., Hizukuri, S., & Juliano, B.O. (1986). Purification and structure of amylose from rice starch. *Carbohydrate Research*, 148, 299–308.
- Takaya, T., Sano, C., & Nishinari, K. (2000). Thermal studies on the gelatinisation and retrogradation of heat-moisture treated starch. *Carbohydrate Polymers*, 41, 97-100.
- Tattiyakul, J., Naksriarporn, T., Pradipasena, P., & Miyawaki, O. (2006). Effect of moisture on hydrothermal modification of yam *Dioscorea hispida* Dennst starch. *Starch - Stärke*, 58, 170-176.
- Thitipraphunkul, K., Uttapap, D., Piyachomkwan, K., & Takeda, Y. (2003). A comparative study of edible canna (*Canna edulis*) starch from different cultivars. Part I. Chemical composition and physicochemical properties. *Carbohydrate Polymers*, 53(3), 317–324.
- Vandeputte, G.E., Derycke, V., Geeroms, J., & Delcour, J.A. (2003). Rice starches. II. Structural aspects provide insight into swelling and pasting properties. *Journal of Cereal Science*, 38(1), 53-59.
- Vermeulen, R., Goderis, B., & Delcour, J.A. (2006). An X-ray study of hydrothermally treated potato starch. *Carbohydrate Polymers*, 64, 364-375.
- Wadchararat, C., Thongngam, M., & Naivikul, O. (2006). Characterization of pregelatinized and heat moisture treated rice flours. *Kasetsart Journal-Natural Science*, 40, 144-153.
- Waduge, R.N., Hoover, R., Vasanthan, T., Gao, J., & Li, J. (2006). Effect of annealing on the structure and physicochemical properties of barley starches of varying amylose content. *Food Research International*, 39, 59–77.
- Watcharatewinkul, Y., Puttanlek, C., Rungsardthong, V., & Uttapap, D. (2009). Pasting properties of a heat-moisture treated canna starch in relation to its structural characteristics. *Carbohydrate Polymers*, 75, 505-511.
- Wongsagonsup, R., Varavinit, S., & BeMiller, J. (2008). Increasing slowly digestible starch content of normal and waxy maize starches and properties of starch products. *Cereal chemistry*, 85(6), 738-745.
- Zavareze, E.d.R., Storck, C.R., de Castro, L.A.S., Schirmer, M.A., & Dias, A.R.G. (2010). Effect of heat-moisture treatment on rice starch of varying amylose content. *Food Chemistry*, 121 (2), 358-365.

ภาคผนวก

1. นำเสนอผลงานในการประชุมวิชาการนานาชาติ 2 เรื่อง

1.1. Pucha-arnon, S., Puttanlek, C., Rungsardthong, V. and Uttapap, D. 2010. Resistant starch and pasting properties of rice starch and flour modified by heat-moisture treatment, International Conference on Agriculture and Agro-Industry (ICAAI2010), November 19-20, 2010, Chiang Rai, Thailand.

1.2. Pucha-arnon, S., Puttanlek, C., Rungsardthong, V. and Uttapap, D. 2011. Differences in physicochemical properties and amylopectin structure of heat-moisture treated starches of A- and B-type X-ray patterns, EFFoST Annual Meeting-Process-Structure-Function Relationships, November 9-11, 2011, Berlin, Germany.

2. ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการนานาชาติ

ยื่น manuscript สำหรับตีพิมพ์ในวารสาร Carbohydrate Polymer กำลังอยู่ในระหว่างการพิจารณา (ตามเอกสารแนบ)

Resistant starch and pasting properties of rice starch and flour modified by heat-moisture treatment

Santhaneer Pancha-arnon^{1*}, Chureerat Puttanlek², Vilai Rungsardthong³,
Dudsadee Uttapap¹

¹ Division of Biochemical Technology, School of Bioresources and Technology, King Mongkut's University of Technology Thonburi, 83 moo 8, Tha-kham, Bangkhuntian, Bangkok 10150, Thailand.

² Department of Biotechnology, Faculty of Engineering and Industrial Technology, Silpakorn University, Nakorn Pathom 73000, Thailand.

³ Department of Agro-Industrial Technology, Faculty of Applied Science, King Mongkut's Institute of Technology North Bangkok, 1518 Pibulsongkram Road, Bangsue, Bangkok 10800, Thailand.

*Corresponding author. E-mail: santhaneer@hotmail.com

Abstract

Starch and flour from indica rice (Prachinburi variety, 25% amylose) with moisture contents of 20, 25 and 30% were exposed to heat-moisture treatment (HMT) at 100 and 120°C for 4 and 16 h. The effects of HMT on resistant starch, morphology, pasting properties and gel hardness of the modified samples were evaluated. The native rice starch comprised 19% rapidly digestible (RDS), 40% slowly digestible (SDS) and 41% resistant starch (RS). After HMT, the starch with moisture content of 20% displayed higher RS content (about 52% and 43% for the treatments at 100°C and 120°C, respectively) whereas those with moisture content of 25% and 30% had lower RS (27-32% and 17-39%, respectively), compared to the untreated starch. For rice flour, the RDS, SDS and RS were 29, 43, and 28%, respectively. Similarly, HMT resulted in an increase of the RS content of flour with moisture content of 20% (29-34% for the flour treated at 100°C) but the RS was reduced when the flour with higher moisture content was heat treated (1-9%). The surface morphology of starch granules was slightly changed in HMT starch with moisture content of 30% but no change had been found in HMT starches with 20 and 25% moisture contents. All treated starches and flours had higher pasting temperature and lower viscosity after HMT. Paste viscosity decreased with increase in the moisture content in starch samples. The effect of HMT on paste viscosity was more pronounced in flour than in starch samples. Gel hardness of rice starch with moisture content of 20% was increased, whereas that of the other samples was decreased, by HMT.

Keywords: Rice starch, Rice flour, Resistance starch, Heat-moisture treatment

[P2.10]

Differences in physicochemical properties and amylopectin structure of heat-moisture treated starches of A- and B-type X-ray patternsS. Pucha-arnon^{*1}, D. Uttapap¹, C. Puttanlek², V. Rungsardthong³¹King Mongkut's University of Technology Thonburi, Thailand, ²Silpakorn University, Thailand,³King Mongkut's University of Technology North Bangkok, Thailand

This study aimed to assess whether there are any differences between the impact of heat-moisture treatment (HMT) on physicochemical properties and amylopectin (AMP) structure of starches of A- and B-type X-ray patterns. Two kinds each of A-type (rice and cassava) and B-type (canna and lasser yam) starches with a moisture content of 25% were subjected to HMT at 100°C for 16 h. Granule morphologies of both A- and B-type starches remained unchanged after HMT. All HMT starches had higher pasting temperature and lower peak viscosity, breakdown and setback, compared to the native starch counterparts. The magnitude of change was more pronounced in B-type starches. X-ray diffraction pattern of the A-type starches was unaffected whereas that of B-type starches was altered to C-type (B+A). Distribution profiles of starch molecules (amylose and AMP) analyzed by high pressure size exclusion chromatography showed that there was no change in canna and lasser yam AMPs, whereas slight degradation was found in rice and cassava AMPs. This inferred that the degradation of AMP by HMT was possibly correlated with the A- and B-type X-ray patterns. However, unit chain length distributions of debranched AMP from all starch samples were not affected by HMT, i.e. the proportion of short A chains (DP 6-12) to B1 chains (DP 13-24), B2 chains (DP 25-36) and B3 chains (DP ≥ 37) was close to those before HMT.

Keywords: Amylopectin structure, Heat-moisture treatment, X-ray pattern, Physicochemical properties

Manuscript Number: CARBPOL-D-12-00811

Title: Rice starch vs. rice flour: differences in their properties when modified by heat-moisture treatment

Article Type: Research Paper

Keywords: Rice starch; Rice flour; Heat-moisture treatment; Pasting properties

Corresponding Author: Dr. Santhanee Punchaarnon, Ph.D.

Corresponding Author's Institution: King Mongkut's University of Technology Thonburi

First Author: Santhanee Punchaarnon, Ph.D.

Order of Authors: Santhanee Punchaarnon, Ph.D.; Dudsadee Uttapap, Ph.D.

Abstract: Starch and flour from the same rice grain source (with 20, 25 and 30% moisture content) were exposed to heat-moisture treatment (HMT) at 100 °C for 16 h in order to investigate whether there were differences in their susceptibility to modification by HMT and, if any, to determine the main causes of the differences. HMT had a far greater effect on paste viscosity of flour than of starch. A significant increase in paste viscosity after removal of proteins from HMT flour - as well as images of fast green-stained HMT flour gels - indicated that an important role was played by proteins in affecting properties of the modified samples. Greater effects of HMT on thermal parameters of gelatinization and gel hardness values of flours were observed - more so than those of starches. Following this observation, it was ascertained that components in rice flour other than rice starch granules also underwent alterations during HMT.

1 Rice starch vs. rice flour: differences in their properties when
2 modified by heat-moisture treatment

3

4 Santhanee Pucha-arnon *, Dudsadee Uttapap

5

6

7 *Division of Biochemical Technology, School of Bioresources and Technology,*
8 *King Mongkut's University of Technology Thonburi, 49 Soi Tientalay 25, Bangkhuntien-*
9 *Chaitalay Road, Takham, Bangkhuntien, Bangkok 10150, Thailand*

10

11 * Corresponding author. Tel.: +66 2 470 7761; fax: +66 2 452 3479.

12 *E-mail address: santhanee.pun@kmutt.ac.th (S. Pucha-arnon).*

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

ABSTRACT

Starch and flour from the same rice grain source (with 20, 25 and 30% moisture content) were exposed to heat-moisture treatment (HMT) at 100 °C for 16 h in order to investigate whether there were differences in their susceptibility to modification by HMT and, if any, to determine the main causes of the differences. HMT had a far greater effect on paste viscosity of flour than of starch. A significant increase in paste viscosity after removal of proteins from HMT flour – as well as images of fast green-stained HMT flour gels – indicated that an important role was played by proteins in affecting properties of the modified samples. Greater effects of HMT on thermal parameters of gelatinization and gel hardness values of flours were observed – more so than those of starches. Following this observation, it was ascertained that components in rice flour other than rice starch granules also underwent alterations during HMT.

Abbreviations: HMT, heat-moisture treatment/heat-moisture treated; PB, protein body; T_o , onset temperature; T_p , peak temperature; T_c , conclusion temperature; ΔH , gelatinization enthalpy

Keywords: Rice starch; Rice flour; Heat-moisture treatment; Pasting properties

46 1. Introduction

47 Rice and rice products have potential applications in a wide range of food categories.
48 Rice in the form of grain, flour and starch has been successfully utilized in many food
49 products. The major component of rice is starch, which displays diverse functions in food
50 products. In some applications, although the production processes of rice products are well
51 established, entrepreneurs still need to improve products, thus adding more value to each.
52 Improvement of rice product qualities could be achieved by either chemical or physical
53 modification of rice starch. Current market trends are driving producers toward more natural
54 food components, so there is growing interest in finding new ways to improve the properties
55 of native starches without using chemical modification. Heat-moisture treatment (HMT) is a
56 physical modification technique considered to be natural and safe compared to chemical
57 modification. Numerous studies have demonstrated the effects of such treatment on the
58 structure and physicochemical properties of cereal, tuber and legume starches, including
59 significant changes in X-ray diffraction pattern, crystallinity, starch chain interactions,
60 granule swelling, amylose leaching, viscosity, gelatinization parameters, retrogradation, and
61 acid and enzyme hydrolysis (Gunaratne & Hoover, 2002; Hoover & Vasanathan, 1994;
62 Horndok & Noomhorm, 2007; Jiranuntakul, Puttanlek, Rungsardthong, Pucha-arnon, &
63 Uttapap, 2011; Juansang, Puttanlek, Rungsardthong, Pucha-arnon, & Uttapap, 2012;
64 Watcharatwinkul, Puttanlek, Rungsardthong, & Uttapap, 2009; Watcharatwinkul, Uttapap,
65 Puttanlek, & Rungsardthong, 2010). Changes in these properties would affect the versatility
66 of starch in food products such as fried batter food, noodles, and other healthy food products.

67 Flours are fine, powdery materials obtained by grinding and sifting the starch-
68 containing plant organelles, such as those from grains, seeds, roots, tubers, fruits, and so on.
69 Usually, flours contain almost the same components as the raw materials, except for moisture

70 content. Components often found in flours include starch, non-starch polysaccharide, sugar,
 71 protein, lipid, and inorganic materials. Commercial rice flour is produced either by dry or wet
 72 milling of broken rice, whereas rice starch is generally obtained by the alkaline steeping
 73 method with multi-stage purification. Such a treatment results in a significant reduction of
 74 protein content as well as other components in rice starch. As reported by Singh, Okadome,
 75 Toyoshima, Isobe, & Ohtsubo (2000), the protein content of rice starch (0.2–0.9%) was much
 76 lower than that of rice flour (5.2–6.87%). It has been claimed that protein components
 77 account for the differences in thermal and pasting properties of rice starch and rice flour
 78 (Hamaker & Griffin, 1993; Lim, Lee, Shin, & Lim, 1999; Zhu, Liu, Sang, Gu, & Shi, 2010).

79 The effects of HMT on various aspects of rice starch properties have been reported by
 80 several researchers (Hormdok & Noomhorm, 2007; Khunae, Tran, & Sirivongpaisal, 2007;
 81 Shih, King, Daigle, An, & Ali, 2007; Zavareze, Storck, Suita de Castro, Schirmer, & Dias,
 82 2010), whereas relatively little work has been done on properties of rice flour (Cham &
 83 Suwannaporn, 2010; Lorlowhakarn & Naivikul, 2006). None of the reviewed works involved
 84 comparison of starch and flour from the same source of rice kernels (the same variety, batch,
 85 etc.) in terms of susceptibility to modification by HMT. Therefore, in order to obtain
 86 information on properties of HMT rice starch compared to HMT rice flour, as well as to
 87 obtain a better understanding of the role of the components in flour (other than starch) on
 88 properties of HMT products, rice starch and rice flour from the same source – with moisture
 89 contents of 20, 25 and 30% – were subjected to HMT at 100 °C for 16 h. The treated products
 90 were then analyzed for their paste and gel properties as well as thermal properties. The
 91 magnitude of change in these attributes of starch and flour by HMT was compared and
 92 discussed in relation to the composition of rice kernels, especially the protein component.

93

94 2. Materials and methods

95 2.1. Materials

96 Rice grains (Prachinburi variety) were provided from Prachinburi Rice Research
97 Center, Prachinburi, Thailand. Porcine pancreatic α -amylase (EC 3.2.1.1, 28 U/mg solid) and
98 amyloglucosidase (EC 3.2.1.3, 300 U/ml) were purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis
99 MO, USA). A GLUCOSE liquicolor complete kit was purchased from Human Diagnostics
100 (Wiesbaden, Germany). Protease (E-BSPRT) at a concentration of 50 mg/ml was purchased
101 from Megazyme International Ireland (Bray, Ireland).

102

103 2.2. Starch and flour preparations

104 Rice starch was prepared by the alkaline steeping method (Ju, Hettiarachchy, & Rath,
105 2001), with some modifications. Dehulled rice grains were steeped in distilled water at 4 °C
106 for 24 h. The supernatant was discarded and the steeped rice grains were ground with a
107 blender, then passed through a 63 μ m screen. The slurry was allowed to stand at 4 °C for 48
108 h. The supernatant was removed and the starch cake was re-suspended in 0.35% sodium
109 hydroxide solution and kept at 4 °C for 48 h. The supernatant was decanted and the starch
110 layer was re-slurried with water. The starch slurry was passed through a 63 μ m sieve and
111 allowed to stand at 4 °C for 24 h. The steps of washing with water were repeated three times.
112 The starch cake was re-suspended in water, neutralized with 1 M hydrochloric acid to pH 7,
113 and stored at 4 °C for 24 h. The supernatant was decanted, and the neutralized starch was re-
114 suspended in water and placed at 4 °C for 24 h. Finally, the supernatant was removed and the
115 starch cake was dried in an oven at 40 °C for 24 h. For rice flour, rice grains were ground
116 with a blender, then passed through a 106 μ m screen.

117

118 2.3. Chemical composition of starch and flour

119 Standard AOAC methods (1990) were used for the measurement of moisture,
120 nitrogen, ash, and lipid. Protein was determined from estimation of total nitrogen using a
121 conversion factor of 6.25. Phosphorus content was determined by a colorimetric chemical
122 method (Smith & Caruso, 1964). Apparent amylose content was determined by a procedure
123 described by Hoover and Ratnayake (2001). The amylose content was calculated from a
124 standard curve prepared by using mixtures of pure amylose and amylopectin fractionated
125 from rice starch (over a range of 0–100% amylose). Total starch was determined according to
126 the method of McCleary, Gibson, & Mugford (1997).

127

128 2.4. Heat-moisture treatment

129 Rice starch and flour samples were adjusted to the desired moisture content (20, 25 or
130 30%) by soaking 200 g of starch in 600 ml of water overnight at 4 °C. The excess water in
131 equilibrated slurry was then drawn out by vacuum suction to obtain a cake with moisture
132 content around 40%. The cake was then air-dried to allow the moisture content to drop to the
133 desired level. Moist samples (native and moistened rice starches and flours) in 250 ml screw-
134 capped bottles were heated at 100 °C for 16 h. After HMT, the starches were dried at 40 °C
135 overnight. Untreated rice starch and flour were used as controls.

136

137 2.5. Pasting properties

138 Pasting properties of starch slurry at a concentration of 8% (w/w) were determined by
139 a Rapid Visco Analyzer (RVA-3D; Newport Scientific, Narrabeen, Australia) with a paddle
140 rotated at a fixed speed of 160 rpm. The starch slurry was heated from 40 to 92.5 °C at a rate
141 of 3 °C/min, maintained at 92.5 °C for 15 min, and then cooled to 40 °C at the same rate.

142

143 *2.6. Light microscope*

144 Samples were stained with fast green (0.1% for 20 min) and then rinsed with water,
145 followed by iodine (0.2% iodine for 10 s), to observe the protein and starch in samples. The
146 stained samples were examined under a light microscope at 200x.

147

148 *2.7. Preparation of deproteinized rice flour*

149 HMT rice flours were deproteinized by two methods: alkaline steeping and enzyme
150 hydrolysis. Removal of protein by alkaline steeping was carried out according to the
151 procedure described in section 2.2. For enzyme hydrolysis, proteins in flour were hydrolyzed
152 with protease as follows: a slurry of 2.24 g of HMT rice flour in 14.0 g of water was prepared
153 in a Rapid Visco Analyzer (RVA) canister and its pH was adjusted to pH 7.8 with 0.1 N
154 NaOH. Protease solution (0.1 ml) was then added, and the concentration of slurry was
155 brought up to 8% before incubating at 37 °C for 30 min. Pasting properties of the
156 deproteinized samples were then determined with an RVA. The control samples were done in
157 parallel by using an equivalent amount of bovine serum albumin (BSA) instead of protease.

158

159 *2.8. Texture analysis*

160 After RVA testing, the canister containing starch/flour paste was covered with
161 paraffin film and kept at 4 °C for 24 h. Texture of the gel was then determined using a
162 Shimadzu EZ-S 50N Texture Analyzer (Shimadzu, Kyoto, Japan). Gel in the canister (with a
163 dimension of 20 mm in height and 38 mm in diameter) was compressed at a speed of 2.0
164 mm/s to a distance of 15 mm with a cylindrical probe 20 mm in diameter. The obtained
165 textural parameters were means of at least three measurements.

166

167 *2.9. Differential scanning calorimetry*

168 The thermal properties of starch/flour were determined by a differential scanning
 169 calorimeter (DSC 1; Mettler-Toledo, Schwerzenbach, Switzerland). The starch/flour (3 mg)
 170 was weighed in an aluminum pan (ME-00026763; Mettler-Toledo) and water (6 mg) was
 171 added. The pan was sealed and allowed to stand for 24 h at 4 °C. The scanning temperature
 172 range and heating rate were 25–100 °C and 5 °C/min, respectively. An empty pan was used
 173 as a reference. The transition temperatures reported were the onset temperature (T_o), peak
 174 temperature (T_p), and conclusion temperature (T_c). The enthalpy of gelatinization (ΔH) was
 175 estimated by integrating the area between the thermograms and a baseline under the peak,
 176 and was expressed in terms of J/g of dry starch.

177

178 *2.10. Statistical analysis*

179 All analyses of starch and flour characteristics and properties were carried out with
 180 three replications. Experimental data were analyzed using one-way analysis of variance
 181 (ANOVA) and expressed as mean values $\pm$ standard deviations. A Duncan's test was
 182 conducted to examine significant differences among experimental mean values ($P \leq 0.05$).
 183 The software used for all analyses was SPSS version 16.0.

184

185 **3. Results and discussion**186 *3.1. Chemical composition*

187 The chemical compositions of the starch and flour samples are presented in Table 1.
 188 Rice flour contained noticeably higher amounts of protein, lipid and phosphorus compared to
 189 rice starch. Protein, lipid, ash and phosphorus in rice flour were 4.97%, 0.24%, 0.18% and

190 102.6 ppm, whereas those in rice starch were 0.48%, 0.01%, 0.19% and 12.8 ppm,
 191 respectively. Purified rice starch had much higher contents of total starch and amylose
 192 (95.24% and 25.01%, respectively) compared to rice flour (85.66% and 14.39%). Previous
 193 studies have shown that rice starch contained 98% starch, 0.07–0.68% protein, 0.01–0.35%
 194 ash and 13–47 ppm phosphorus (Zhu et al., 2010), whereas rice flour contained 71–91%
 195 starch, 7–11% protein, 0.87–8.1% lipid and 0.46–1.1% ash (Dias, Zavareze, Spier, Suita de
 196 Castro, & Gutkoski, 2010; Gunaratne & Hoover, 2002; Zhu et al., 2010). Differences in the
 197 chemical compositions of flour and starch would influence their paste and gel properties, as
 198 well as the susceptibility of flour and starch to HMT.

199

200 3.2. Pasting properties of HMT rice starch and rice flour

201 RVA viscographs of native and HMT rice starches are shown in Fig. 1A. Pasting
 202 temperature, peak viscosity, breakdown and setback of native rice starch were 76.8 °C, 103.7
 203 RVU, 25.8 RVU and 151.5 RVU, respectively. After HMT, pasting temperature of treated
 204 starch with a moisture content of 20% increased slightly, while significant increases were
 205 observed for treated starches with moisture contents of 25% and 30%. On the other hand,
 206 increases in levels of moisture treatment caused a progressive decrease in the peak viscosity
 207 of HMT starches. Reduced viscosity and increased pasting temperature after HMT were
 208 consistent with previous reports on other starches: rice and corn (Jiranuntakul et al., 2011),
 209 canna (Watcharatewinkul et al., 2009), and lentil, potato and yam (Hoover & Vasanthan,
 210 1994). These studies indicated that structural rearrangement and starch-chain associations
 211 contributed to these changes. In addition, phase separation between amylose and
 212 amylopectin, compaction of granular matter by vapor pressure force, and chemical

213 bonding/interactions that occur during HMT might be other factors influencing the strength
 214 of HMT starch (Watcharatewinkul et al., 2009).

215 The pasting profile of untreated rice flour was similar to that of untreated rice starch,
 216 except that the flour sample had a higher pasting temperature and a slightly lower breakdown,
 217 could develop viscosity faster when cooled down, and had much lower setback than the
 218 starch sample (Fig. 1B). Pasting temperature, peak viscosity, breakdown and setback of
 219 untreated rice flour were 81.9 °C, 100.4 RVU, 11.3 RVU and 80.7 RVU, respectively. Lim et
 220 al. (1999), Xie, Chen, Duan, Zhu, & Liao (2008), and Zhu et al. (2010) have demonstrated
 221 that rice protein is primarily responsible for the differences in pasting properties between rice
 222 flour and rice starch. As shown in Fig. 1B, the effect of HMT on paste viscosity was much
 223 more pronounced in rice flour than in rice starch. Significant changes in pasting profile of
 224 HMT rice flour were found; viscosities of all treated flour were very low, and almost
 225 approached zero in the case of flour having 30% moisture content during treatment. All
 226 viscograms showed no clearly defined peak/trough; therefore, pasting parameters – such as
 227 peak viscosity, breakdown and setback – could not be determined. Since protein is the second
 228 major component in flour (after starch), and can be denatured by heat treatment, it was
 229 postulated in this study that protein in rice flour would also undergo alteration by HMT along
 230 with the starch granules, and that some interactions might occur between them during heat
 231 treatment. Accordingly, these changes would account for the differences in paste and gel
 232 properties of HMT rice starch and rice flour. In view of this, the untreated and HMT rice
 233 flours were stained with fast green, followed by iodine, to observe the changes in protein and
 234 starch granules by HMT.

235

236 *3.3. Light microscopy of stained samples*

237 Images of untreated and HMT rice flours stained with fast green and iodine and
 238 examined by light microscope (200x) are shown in Fig. 2. Green and blue colors appearing
 239 on stained samples represent the existing protein and starch, respectively. Most of the stored
 240 protein in rice endosperm is glutelin, with the remainder consisting of prolamin, albumin and
 241 globulin. Glutelin and prolamin accumulate in the 2–3 μm semi-ellipsoidal and 1–2 μm
 242 spherical bodies, called protein body II (PB-II) and protein body I (PB-I), respectively
 243 (Tanaka, Sugimoto, Ogawa, & Kasai, 1980). It is well known that the starch in plants is
 244 stored in the form of granules with varying size and shape depending on the botanical source.
 245 Rice starch granules have a polyhedral shape with a diameter range of 1–7 μm . As shown in
 246 Fig. 2, the image of untreated rice flour is entirely different from those of HMT flours. The
 247 compound starch granules in untreated flour were mostly uniformly dispersed, with the
 248 protein bodies distributed among them. However, most of the protein bodies were observed
 249 as agglomerations rather than as singular bodies. These agglomerations might occur during
 250 the dry-milling of the rice kernel. As a result of HMT, the starch granules clumped together,
 251 forming small lumps. The degree of clumping was greater with an increase in the moisture
 252 content in flour samples during heat treatment. Similar results were found for the protein
 253 bodies. It was observed that the protein bodies were deformed and spread over the lumps of
 254 starch granules. Due to their fragile nature (Varatharajan, Hoover, Liu, & Seetharaman,
 255 2010), protein bodies can easily be denatured by heating at 100 °C. The enlarged photo
 256 (1000x, Fig. 2 inset) of HMT rice flour with 30% moisture content reveals that the denatured
 257 protein bodies spread over, and adhered to, the surfaces of the starch granule clumps. These
 258 protein layers were presumably the main cause of the differences in pasting properties
 259 between HMT rice starch and rice flour. To verify this supposition, the proteins in HMT rice

260 flour were removed by dissolution in alkaline solution and by enzyme hydrolysis. The pasting
261 profiles of deproteinized HMT flours were then compared with those of HMT starches.

262

263 *3.4. Pasting properties of deproteinized HMT rice flour*

264 Pasting profiles of deproteinized HMT flours are shown in Fig. 3. Removal of
265 proteins from HMT flours by dissolving in alkaline solution resulted in an increase of
266 viscosity of all HMT flour samples. However, their viscosities remained lower than those of
267 HMT starches, possibly due to incomplete removal of the salt- and/or alcohol-soluble
268 proteins, and possibly even alkali-soluble proteins. Similar results were found for HMT flours
269 treated with proteinase. Viscosities of the hydrolyzed flour samples, especially HMT flour
270 with 20% moisture content, increased significantly, but could not attain the viscosity values
271 of HMT starches. (The presence of BSA with equal amounts of enzyme had no/little effect on
272 the viscosity of HMT flour [data not shown]). HMT proteins very likely could not be readily
273 hydrolyzed by proteinase as a result of their structural deformation. Rice albumin, globulin
274 and glutelin have been reported to be denatured at 73.3, 78.9 and 82.2 °C, respectively (Ju et
275 al., 2001). Denaturation of rice proteins results in an increase of their surface
276 hydrophobicities, due to exposure of hydrophobic groups folded inside the intact native
277 protein molecule (Mine, 1997).

278 In relation to the results obtained from these experiments, together with information
279 from previous studies as mentioned above, it can be concluded that rice proteins played an
280 important role in the different characteristics of HMT rice flour and rice starch. During HMT
281 at 100 °C, protein bodies were deformed and denatured. Interactions that occurred between
282 denatured proteins, and between proteins and starch granules, consequently caused the
283 association of the protein networks with the surfaces of starch granules (Fig. 2). These protein

284 layers, in cooperation with the increased hydrophobicity, retarded the swelling of HMT starch
285 granules in flour. Therefore, paste viscosities of HMT flours were much lower than those of
286 HMT starches treated under the same conditions. The role of proteins in pasting
287 characteristics was consistent with previous reports. [Lim et al. \(1999\)](#), for example, reported
288 that reducing the protein content in rice flour increased its peak viscosity. [Tan and Corke](#)
289 [\(2002\)](#) proposed that protein content was negatively correlated with peak viscosity and hot
290 paste viscosity. [Chrastil \(1990\)](#) reported that disulfide bonding increased during storage of
291 rice at high temperatures.

292

293 3.5. Gel texture

294 Hardness values (as analyzed by a texture analyzer) of rice starch and flour gels after
295 being kept at 4 °C for 24 h are summarized in Table 2. Native rice starch (1,098 g) had much
296 higher gel hardness than rice flour (439 g). These values were consistent with the setback
297 values determined from their pasting profiles (Fig. 1). The setback, as well as gelation
298 abilities of starch and flour, depended mainly on the amylose fraction of starch. Amylose
299 leaching from the swelled/disrupted granules during gelatinization would associate to form
300 networks when the paste was cooled down, resulting in an increase of setback values or
301 hardness of gel. Therefore, the most important factor determining the setback/gel hardness
302 was the amount of amylose leached from starch granules; this was correlated with the
303 physical states of starch granules after gelatinization (swelled, fragmented, dispersed, etc.),
304 the starch content in the sample, and amylose content in the starch. Other components in flour
305 and starch samples – such as protein, lipid, and non-starch polysaccharides – would also take
306 part in the network formation, either facilitating or impeding the process. In this study, the
307 higher hardness of starch gel compared to flour gel was presumably due to its higher starch

308 content, as well as a greater extent of granule disruption due to lower protein and lipid
 309 content.

310 Modification by HMT resulted in a reduction of gel hardness of both starch and flour
 311 samples. Under the same HMT conditions, starch samples exhibited much higher gel
 312 hardness than flour samples. An increase in the moisture content of samples during treatment
 313 tended to decrease the hardness of gels. It was speculated that starch granules were destroyed
 314 to a lesser extent as the moisture content of the starch/flour samples increased. Therefore, the
 315 smaller amounts of leaked amylose (which plays a major role in network formation) resulted
 316 in steadily decreasing gel hardness. In the case of HMT flours, not only did amylose leach
 317 out from the starch granules, but a sharp decrease in gel hardness was also affected by
 318 components other than starch in flours. Protein layers that formed on the starch surface
 319 during HMT inhibited the swelling of starch granules; as a consequence, less amylose could
 320 leak out to form gel networks. In addition, protein and lipid in flours might also directly
 321 impede the association of leaked amylose. [Biliaderis and Tonogai \(1991\)](#) found that lipids
 322 formed complexes with amylose on the granular surface and thereby restricted granular
 323 swelling. Low gelatinization in fried batter was reportedly due to amylose-lipid complex
 324 formation ([Matsunaga, Kawasaki, & Takeda, 2003](#)). [Hamaker and Griffin \(1993\)](#) explained
 325 that proteins with intact disulfide bonds made the swollen granules less susceptible to
 326 breakdown, either by imparting strength to the swollen granules or by reducing the degree of
 327 swelling.

328

329 *3.6. Thermal properties*

330 Thermal transition behaviors of native and HMT rice starch and flour are presented in
 331 Fig. 4. The gelatinization temperature range of native rice starch (69.2–77.9 °C) was very

close to that of native rice flour (69.4–77.3 °C), indicating that the other components in flour had a negligible effect on the thermal properties of rice starch. After HMT, the endotherms of both starch and flour samples were shifted to a higher temperature with a broader shape and gelatinization temperature (T_p) of HMT starch and flour increased with an increase of moisture content. These results were consistent with other studies (Gunaratne & Hoover, 2002; Hoover & Vasanthan, 1994; Watcharatewinkul et al, 2009). However, the thermograms of HMT rice flours were significantly different from those of HMT rice starches treated under the same conditions. The most obvious case was the sample with 20% moisture content during treatment. Under this condition, starch displayed one peak endotherm, whereas flour displayed a biphasic endotherm. Both starch and flour exhibited biphasic endotherms at higher moisture contents (25 and 30%). The biphasic endotherms of starches and flours indicated a greater inhomogeneity in structural organization caused by HMT. However, distinctive features of biphasic endotherms were observed in HMT starch and flour samples: the second peak was dominant in flour samples, while the opposite was found for starch samples. This indicated that HMT had a greater influence on the structure of flour than of starch. This finding again confirmed the role of non-starch components on properties of HMT flours. In addition to rearrangement of amylose and amylopectin inside starch granules, as suggested by many researchers (Hoover & Vasanthan, 1994; Khunae et al., 2007; Zavareze et al., 2010), interactions of starch granules and other components in flours during HMT would also strengthen the structure of HMT flours, as denoted by more energy (enthalpy) needed to melt the HMT flours.

4. Conclusions

HMT had greater effects on paste and gel properties of rice flour, as well as on thermal properties, than on those of the corresponding starch. Removal of protein from HMT flours, resulting in higher paste viscosity, indicated the important role of protein in affecting the properties of HMT products. Other components in flours, such as lipids and non-starch polysaccharides, might also have an effect on the properties of HMT rice flours, and should be investigated in future studies.

361

362 **Acknowledgements**

The authors would like to thank the Thailand Research Fund (TRF) and the National Research University (NRU) initiative for financial support.

365

366 **References**

- 367 AOAC (Association of Official Analytical Chemists). (1990). *Official methods of analysis*
368 (15th ed.). Arlington, Virginia: AOAC.
- 369 Biliaderis, C. G., & Tonogai, J. R. (1991). Influence of lipids on the thermal and mechanical
370 properties of concentrated starch gels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,
371 39, 833–840.
- 372 Cham, S., & Suwannaporn, P. (2010). Effect of hydrothermal treatment of rice flour on
373 various rice noodles quality. *Journal of Cereal Science*, 51, 284–291.
- 374 Chrastil, J. (1990). Protein-starch interactions in rice grains. Influence of storage on oryzenin
375 and starch. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38, 1804–1809.
- 376 Dias, A. R. G., Zavareze, E. da R., Spier, F., Suita de Castro, L. A., & Gutkoski, L. C. (2010).
377 Effects of annealing on the physicochemical properties and enzymatic susceptibility
378 of rice starches with different amylose contents. *Food Chemistry*, 123, 711–719.

- 379 Gunaratne, A., & Hoover, R. (2002). Effect of heat-moisture treatment on the structure and
380 physicochemical properties of tuber and root starches. *Carbohydrate Polymers*, 49,
381 425–437.
- 382 Hamaker, B. R., & Griffin, V. K. (1993). Effect of disulfide bond-containing protein on rice
383 starch gelatinization and pasting. *Cereal Chemistry*, 70, 377–380.
- 384 Hoover, R., & Ratnayake, W. S. (2001). Determination of total amylose content of starch.
385 *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, E2.3.1–E2.3.5.
- 386 Hoover, R., & Vasanathan, T. (1994). Effect of heat-moisture treatment on the structure and
387 physicochemical properties of cereal, legume, and tuber starches. *Carbohydrate*
388 *Research*, 252, 33–53.
- 389 Horndok, R., & Noomhorm, A. (2007). Hydrothermal treatments of rice starch for
390 improvement of rice noodle quality. *LWT - Food Science and Technology*, 40, 1723–
391 1731.
- 392 Jiranuntakul, W., Puttanlek, C., Rungsardthong, V., Pancha-arnon, S., & Uttapap, D. (2011).
393 Microstructural and physicochemical properties of heat-moisture treated waxy and
394 normal starches. *Journal of Food Engineering*, 104, 246–258.
- 395 Ju, Z. Y., Hettiarachchy, N. S., & Rath, N. (2001). Extraction, denaturation and hydrophobic
396 properties of rice flour proteins. *Journal of Food Science*, 66, 229–232.
- 397 Juansang, J., Puttanlek, C., Rungsardthong, V., Pancha-arnon, S., & Uttapap, D. (2012).
398 Effect of gelatinisation on slowly digestible starch and resistant starch of heat-
399 moisture treated and chemically modified canna starches. *Food Chemistry*, 131, 500–
400 507.

- 401 Khunae, P., Tran, T., & Sirivongpaisal, P. (2007). Effect of heat-moisture treatment on
 402 structural and thermal properties of rice starches differing in amylose content. *Starch/
 403 Stärke*, 59, 593–599.
- 404 Lim, S. T., Lee, J. H., Shin, D. H., & Lim, H. S. (1999). Comparison of protein extraction
 405 solutions for rice starch isolation and effects of residual protein content on starch
 406 pasting properties. *Starch/Stärke*, 51, 120–125.
- 407 Lorlowhakarn, K., & Naivikul, O. (2006). Modification of rice flour by heat moisture
 408 treatment (HMT) to produce rice noodles. *Kasetsart Journal of Natural Sciences*, 40,
 409 135–143.
- 410 Matsunaga, K., Kawasaki, S., & Takeda, Y. (2003). Influence of physicochemical properties
 411 of starch on crispness of tempura fried batter. *Cereal Chemistry*, 80, 339–345.
- 412 McCleary, B. V., Gibson, T. S., & Mugford, D. C. (1997). Measurement of total starch in
 413 cereal products by amyloglucosidase- α -amylase method: collaborative study. *Journal
 414 of AOAC International*, 80, 571–579.
- 415 Mine, Y. (1997). Effect of dry heat and mild alkaline treatment on functional properties of
 416 egg white proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 2924–2928.
- 417 Shih, F., King, J., Daigle, K., An, H. J., & Ali, R. (2007). Physicochemical properties of rice
 418 starch modified by hydrothermal treatments. *Cereal Chemistry*, 84, 527–531.
- 419 Singh, V., Okadome, H., Toyoshima, H., Isobe, S., & Ohtsubo, K. (2000). Thermal and
 420 physicochemical properties of rice grain, flour and starch. *Journal of Agricultural and
 421 Food Chemistry*, 48, 2639–2647.
- 422 Smith, R. J., & Caruso, J. (1964). Determination of phosphorus. In R. L. Whistler (Ed.).
 423 *Methods in carbohydrate chemistry: Vol. IV – Starch* (pp. 42–46). Orlando, FL:
 424 Academic Press.

- 425 Tan, Y., Corke, H. (2002). Factor analysis of physicochemical properties of 63 rice varieties.
426 *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82, 745–752.
- 427 Tanaka, K., Sugimoto, T., Ogawa, M., & Kasai, Z. (1980). Isolation and characterization of
428 two types of protein bodies in the rice endosperm. *Agricultural and Biological*
429 *Chemistry*, 44, 1633–1639.
- 430 Varatharajan, V., Hoover, R., Liu, Q., & Seetharaman, K. (2010). The impact of heat-
431 moisture treatment on the molecular structure and physicochemical properties of
432 normal and waxy potato starches. *Carbohydrate Polymers*, 81, 466–475.
- 433 Watcharatewinkul, Y., Puttanlek, C., Rungsardthong, V., & Uttapap, D. (2009). Pasting
434 properties of a heat-moisture treated canna starch in relation to its structural
435 characteristics. *Carbohydrate Polymers*, 75, 505–511.
- 436 Watcharatewinkul, Y., Uttapap, D., Puttanlek, C., & Rungsardthong, V. (2010). Enzyme
437 digestibility and acid/shear stability of heat–moisture treated canna starch.
438 *Starch/Stärke*, 62, 205–216.
- 439 Xie, L., Chen, N., Duan, B., Zhu, Z., & Liao, X. (2008). Impact of proteins on pasting and
440 cooking properties of waxy and non-waxy rice. *Journal of Cereal Science*, 47, 372–
441 379.
- 442 Zavareze, E. da R., Storck, C. R., Suita de Castro, L. A., Schirmer, M. A., & Dias, A. R. G.
443 (2010). Effect of heat-moisture treatment on rice starch of varying amylose content.
444 *Food Chemistry*, 121, 358–365.
- 445 Zhu, L. J., Liu, Q. Q., Sang, Y., Gu, M. H., & Shi, Y. C. (2010). Underlying reasons for waxy
446 rice flours having different pasting properties. *Food Chemistry*, 120, 94–100.
- 447
- 448

449 **Table legends**

450

451 **Table 1**

452 Chemical composition dwb of rice starch and flour.

453

454 **Table 2**

455 Hardness values of native and HMT rice starches and flours.

456

457

458

459

460

461

462

463

464

465

466

467

468

469

470

471 **Figure Captions**

472

473 **Fig. 1.** RVA pasting profiles of native and HMT rice starches and flours.

474 **Fig. 2.** Light microscopy of native and HMT rice flours stained with fast green and iodine
475 (200x).

476 **Fig. 3.** RVA pasting profiles of HMT rice flours deproteinized by alkaline dissolution (A)
477 and enzyme hydrolysis (B).

478 **Fig. 4.** Gelatinization thermograms of native and HMT rice starches and flours.

479 **Table 1**

480 Chemical compositions dwb of rice starch and flour.

Characteristics	Composition (% dry basis)	
	Rice starch	Rice flour
Protein (%)	0.48 ± 0.01	4.97 ± 0.02
Lipid (%)	0.01 ± 0.01	0.24 ± 0.01
Ash (%)	0.19 ± 0.01	0.18 ± 0.01
Phosphorus (ppm)	12.85 ± 0.82	102.60 ± 2.95
Amylose (%)	25.01 ± 0.79	14.39 ± 1.26
Total starch (%)	95.24 ± 0.52	84.66 ± 0.39

481

482

483

484

485

486

487

488

489

490

491

492

493

494

495

496

497

498 **Table 2**

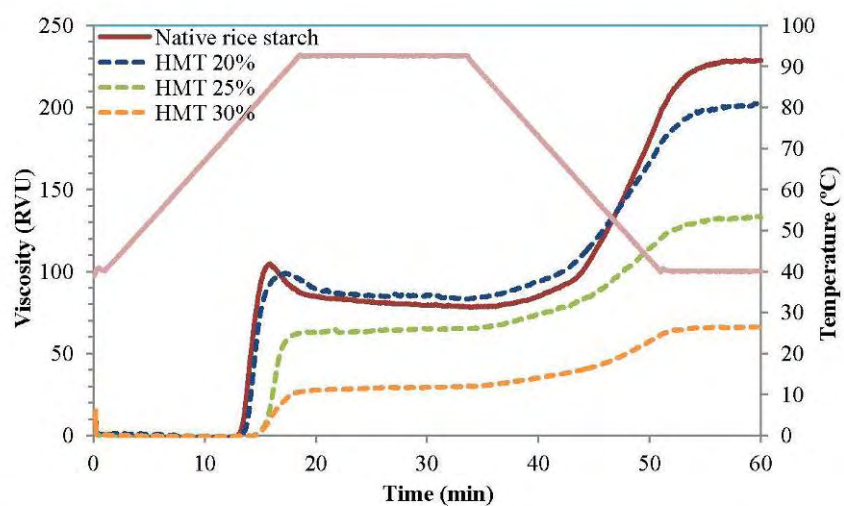
499 Hardness values of native and HMT rice starches and flours.

Starch sample	Hardness (gf)	Flour sample	Hardness (gf)
Native rice starch	1098 ± 148 ^a	Native rice flour	439 ± 20 ^c
HMT20%	1062 ± 33 ^a	HMT20%	259 ± 4 ^{de}
HMT25%	901 ± 122 ^b	HMT25%	192 ± 5 ^{ef}
HMT30%	395 ± 12 ^{cd}	HMT30%	78 ± 3 ^f

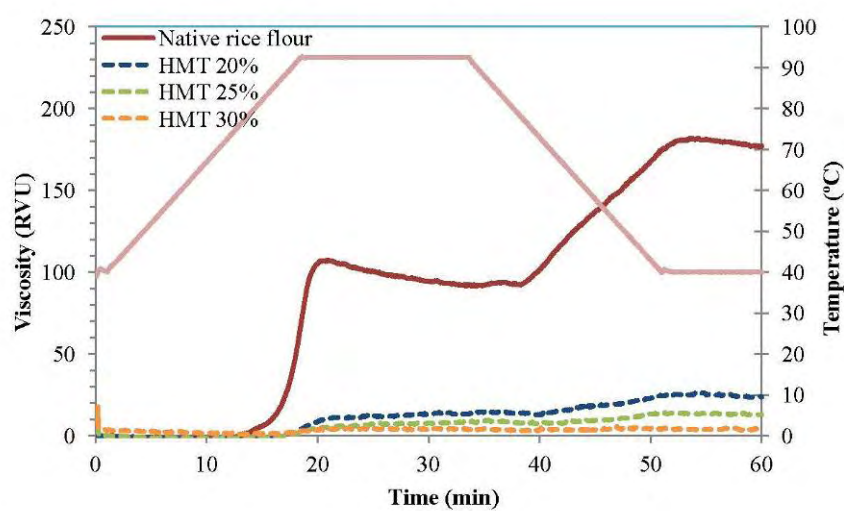
500 *Means with different letters (^{a, b, ...}) are significantly different ($P \leq 0.05$).

501 Fig. 1.

502 RVA pasting profiles of native and HMT rice starches and flours.



503



504

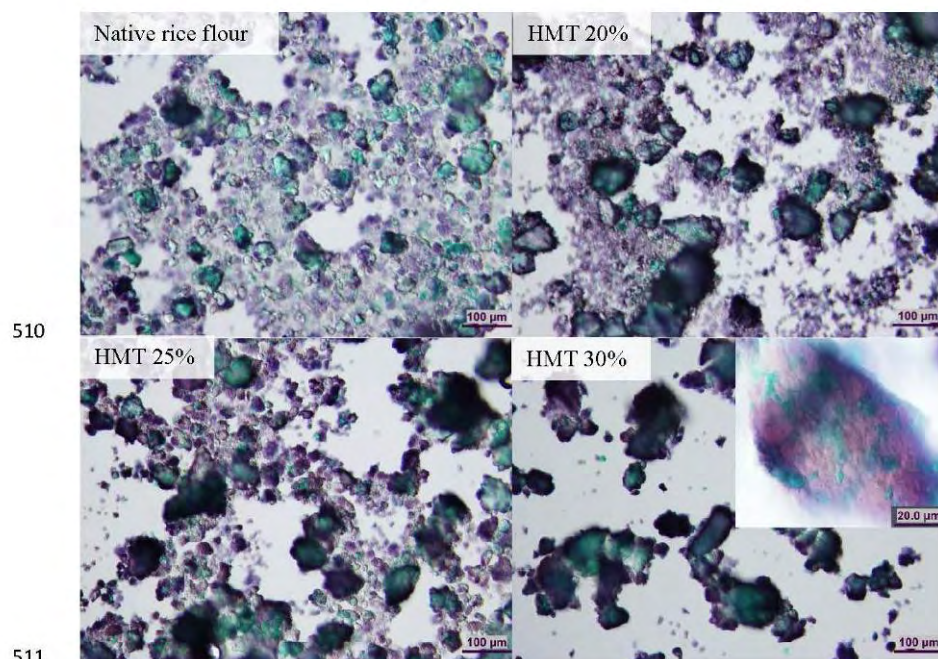
505

506

507

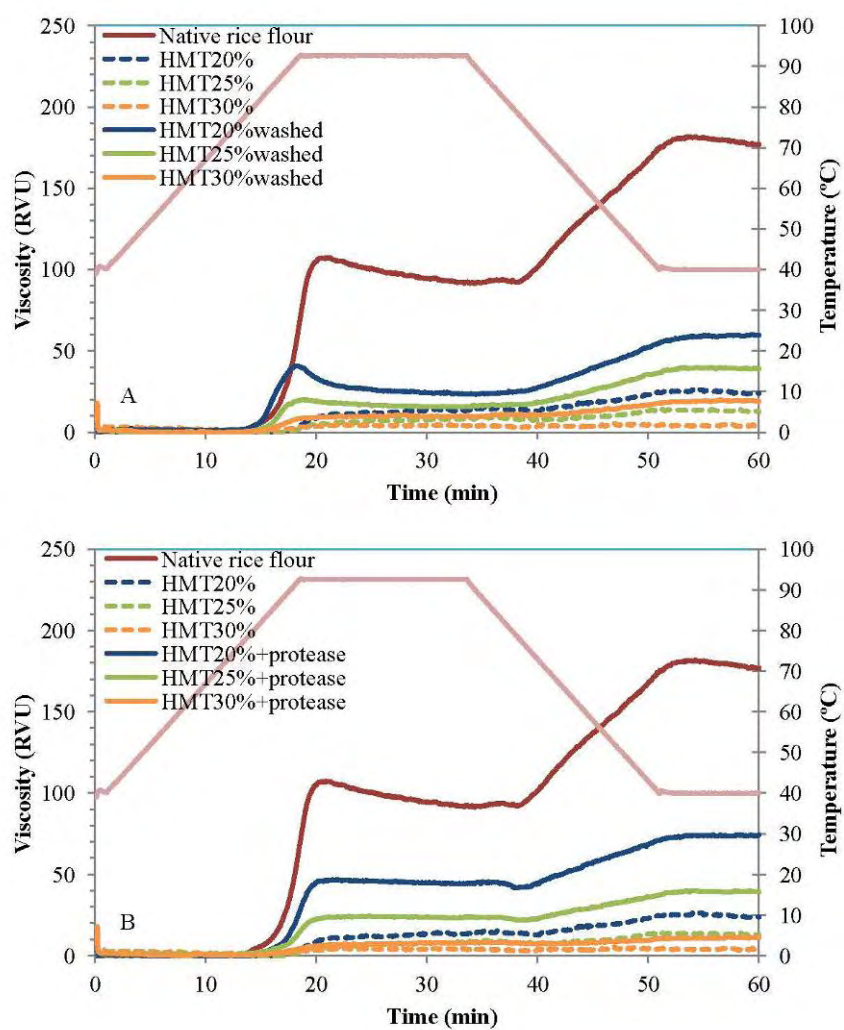
508 **Fig. 2.**

509 Light microscopy of native and HMT rice flours stained with fast green and iodine (200x).



522 **Fig. 3.**

523 RVA pasting profiles of HMT rice flours deproteinized by alkaline dissolution (A) and
524 enzyme hydrolysis (B).



530 **Fig. 4.**

531 Gelatinization thermograms of HMT and native rice starches and flours.

