

## บทที่ 2

### วารสารปริทัศน์

#### แป้ง

##### 1. โครงสร้างของโมเลกุลแป้ง

แป้งเป็นพอลิเมอร์ของน้ำตาลกลูโคส โดยโมเลกุลของแป้งสามารถแบ่งเป็น 2 ชนิดคือ อะไมโลสและอะไมโลเพกติน สิ่งที่แตกต่างกันระหว่างโมเลกุลทั้งสองชนิดคือ อะไมโลสเป็นพอลิเมอร์ของดี-กลูโคส (D-Glucose) ที่เป็นสายตรง เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ  $\alpha$ -1,4-กลูโคสิดิก (Luallen, 1988)ถึงแม้ว่ามีหลักฐานที่บ่งชี้ว่าโมเลกุลอะไมโลสไม่ได้เป็นโมเลกุลสายตรงเพียงอย่างเดียว (Curá, Jansson และ Krisma 1995) แต่พฤติกรรมยังคงใกล้เคียงกับพอลิเมอร์สายตรง (Karim และคณะ, 2000) ส่วนโมเลกุลของอะไมโลเพกตินจะมีลักษณะเป็นกิ่งก้านสาขา บริเวณกิ่งก้านดังกล่าวเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ  $\alpha$ -1,6-กลูโคสิดิก (Luallen, 1988) โดยในแป้งข้าวเจ้าและแป้งมันสำปะหลังมีปริมาณอะไมโลสประมาณร้อยละ 27 และ 17 ตามลำดับ (Hizukuri, 1986)

##### 2. สมบัติของแป้ง

###### 2.1 การเกิดการเจลาตินในเซชัน

โมเลกุลของแป้งจะมีหมู่ hydroxy ที่มีคุณสมบัติชอบน้ำ (hydrophillic) อยู่ใน ส่วนที่เป็น amorphous region ซึ่งสามารถจับกับโมเลกุลของน้ำได้ เมื่อให้ความร้อนและแรงเฉือนจากการกวนผสมแก่น้ำแป้ง เม็ดแป้งจะพองตัวมากขึ้น ความหนืดของน้ำแป้งจะเพิ่มขึ้นเนื่องจากโมเลกุลของน้ำอิสระรอบๆเม็ดแป้งลดลง ปรากฏการณ์นี้เรียกว่า การเกิด เจลาตินในเซชัน (gelatinization) โดยกระบวนการการเกิดเจลาตินในเซชัน จะแบ่งออกได้เป็น 3 ระยะ (กล้าณรงค์ ศรีรอด และ เกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ, 2543) คือ ระยะแรก เมื่อใส่น้ำเย็นลงในแป้ง เม็ดแป้งจะดูดน้ำได้ในระดับหนึ่ง และเม็ดแป้งจะเกิดการพองตัวแบบผันกลับได้ เมื่อมีการเพิ่มอุณหภูมิในแป้งจนถึงอุณหภูมิเริ่มเกิดการเจลาตินในเซชัน (gelatinization temperature) พันธะไฮโดรเจน (hydrogen bond) ในเม็ดแป้งจะถูกทำลาย เม็ดแป้งจะพองตัวอย่างรวดเร็วในช่วงนี้ และเกิดการพองตัวอย่างผันกลับไม่ได้ มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและโครงสร้างไบรีฟริงเจนซ์ (birefringence) ปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นในขั้นนี้เรียกว่า การเกิดเจลาตินในเซชัน เมื่อเพิ่มอุณหภูมิต่อไป เม็ดแป้งจะพอง

ตัวเต็มที่และแตกออก การละลายของแป้งจะเพิ่มขึ้น รูปร่างของเม็ดแป้งไม่แน่นอน และเมื่อนำไปทำให้เย็นจะเกิดการจับตัวกันเป็นเจล (gelation)

## 2.2 การเกิดรีโทรเกรเดชัน

แป้งจะเกิดเป็นโครงข่ายสามมิติที่สามารถอุ้มน้ำได้บ้างและไม่มีการดูดน้ำเพิ่ม ในหรือเรียกว่าการเกิดเป็นเจลของแป้ง (gelation) จากนั้นเมื่อลดอุณหภูมิของเจลแป้งลง โมเลกุลของแป้งที่สูญเสียโครงสร้างและกระจัดกระจายออกมาเนื่องด้วยการเกิดเจลาติโนเซชันจะเกิดการจัดเรียงตัวกันใหม่ด้วยพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุล จากนั้นเมื่อเก็บเจลแป้งไว้นานขึ้นเจลแป้งจะเกิดรีโทรเกรเดชัน หรือการคืนตัว หรือ setback ซึ่งเมื่อลดอุณหภูมิลงไปเรื่อยๆ โครงสร้างดังกล่าวจะมีการจัดเรียงตัวที่แน่นมากขึ้น เจลแป้งจะมีความขุ่นและความหนืดสูงขึ้น เกิดโครงสร้างแป้งที่ไม่ละลายน้ำและอาจตกตะกอนออกมา และเกิดการบีบตัวของโครงสร้างทำให้โมเลกุลน้ำอิสระออกมานอกโครงสร้าง หรือเรียกว่าการเกิด syneresis โมเลกุลของแป้งจะจับตัวกันเป็นเกลียวคู่ (co-axial double helices) ทั้งโมเลกุลของอะไมโลส-อะไมโลส และกิ่งด้านนอกของอะไมโลเพกทินเช่นกัน โดยค่า Degree of Polymerization หรือค่า DP เป็นค่าที่ใช้บ่งบอกจำนวนโมเลกุลของ monomer ที่อยู่ในสายโพลิเมอร์นั้นๆ ค่า DP ที่ต่ำที่สุดที่จะสามารถเกิดการจับตัวกันเพื่อเป็นโครงสร้างของโมเลกุลแป้งได้คือ DP 10-11 (Gidley และคณะ, 1987; Kennedy และคณะ, 1987) โดยในระบบที่มีแป้งโมเลกุลสายสั้นอยู่ด้วย ( $DP < 6$ ) โมเลกุลเหล่านั้นก็จะเกิดการจับตัวร่วม (co-crystallization) ได้ (Clark และคณะ, 1989)

ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดรีโทรเกรเดชันมีหลายประการ ได้แก่ ชนิดของแป้ง ปริมาณและขนาดอะไมโลสและอะไมโลเพกทินของแป้ง แป้งที่มีปริมาณของอะไมโลสสูงจะเกิดการรีโทรเกรเดชันได้มากกว่าและเร็วกว่าแป้งที่มีปริมาณอะไมโลสต่ำ ส่วนอะไมโลเพกทินจะมีส่วนช่วยให้เกิดรีโทรเกรเดชันน้อยลง เวลาและอุณหภูมิการเก็บรักษาเจลแป้งที่อุณหภูมิต่ำจะเกิดรีโทรเกรเดชันสูงกว่าที่อุณหภูมิสูง และการเกิดรีโทรเกรเดชันจะเกิดมากขึ้นเมื่อเก็บเป็นเวลานานขึ้น pH ก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อรีโทรเกรเดชัน โดยเจลแป้งจะสามารถเกิดรีโทรเกรเดชันได้ดีที่สุดในช่วง pH ประมาณ 5-7 นอกจากนี้ยังมีองค์ประกอบอื่นๆที่ส่งผลต่อการเกิดรีโทรเกรเดชันได้แก่ เกลือ น้ำตาลสายสั้น (oligo saccharides) และ plasticisers เป็นต้น (Nakazawa, Noguchi และ Takahashi, 1985; Baker และ Duarte 1998; Jacobson และ BeMiller 1998; Fan และ Marks 1998; Perdon และคณะ, 1999)

## 2.2.1 การติดตามการเกิดรีโทรเกรเดชัน

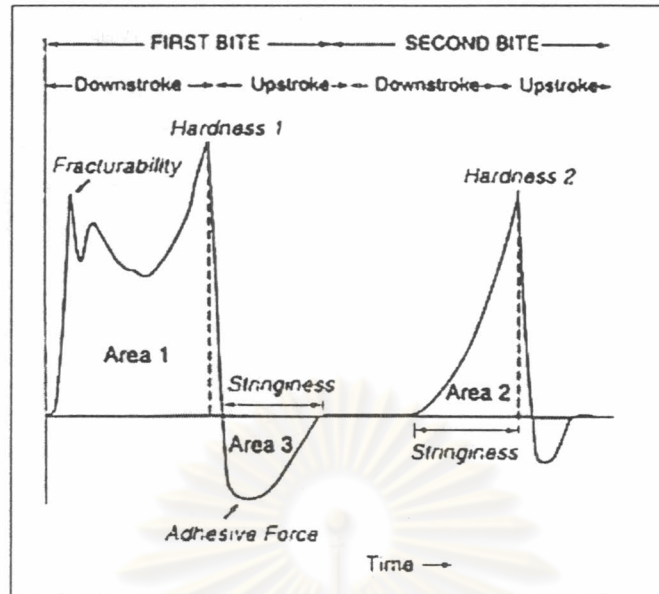
### 2.2.1.1 การศึกษาโดยวิธีทางกระแสวิทยา (rheological test)

เนื่องจากความแน่นเนื้อ (firmness) หรือความเกร็ง (rigidity) ของเจลแป้งจะเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัดเมื่อเกิดปรากฏการณ์รีโทรเกรเดชัน (Karim, 2000) ดังนั้นการทดสอบแบบ large deformation fundamental test เช่น การกดในทิศทางเดียว (uniaxial compression หรือ empirical test) และการวัดแบบเจาะทะลุ สามารถใช้ติดตามการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวได้ โดยเชื่อมโยงการเปลี่ยนแปลงเหล่านั้นไปสู่ปรากฏการณ์รีโทรเกรเดชันได้ ซึ่งการกดในทิศทางเดียวนี้อาจใช้ทดสอบจะต้องมีความแน่นเนื้อ (firmness) สูงมากพอสมควรจึงจะสามารถใช้วิธีนี้ได้ อีกทั้งยังต้องทำการวัดซ้ำ (replication) ตัวอย่างที่มีรูปร่างและขนาดที่เหมือนกันหลายๆครั้ง เพื่อให้ได้ reproducibility ที่ยอมรับได้

การวิเคราะห์รูปแบบเนื้อสัมผัส (Texture profile analysis) โดยใช้เครื่อง Instron universal testing machine เป็นเครื่องวัดค่าทางเนื้อสัมผัสที่มีการใช้อย่างแพร่หลายเพื่อศึกษาการเกิดรีโทรเกรเดชันในอาหารจริงและระบบเจลแป้งจำลอง (model starch system) (Bourne, Moyer และ Hand, 1966; Bourne, 1968, 1978) โดยการทดลองหา texture profile analysis นี้จะกดตัวอย่างที่มีรูปร่างที่กำหนดค่าแน่นอ่อนในทิศทางเดียว จากนั้นลดแรงกดออกก่อนที่จะกดซ้ำอีกครั้งหนึ่ง การกดซ้ำสองครั้งนี้เป็นจำลองการ "เคี้ยว" หรือ "กัด" สองครั้ง ระหว่างการทดสอบ เครื่องจะบันทึกแรงที่ใช้กดเป็นฟังก์ชันของปริมาณการกด (ระยะทาง) ซึ่งเมื่อวิเคราะห์ TPA แล้วจะได้ profile ออกมาดังรูปที่ 1

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย





รูปที่ 1 : ลักษณะของรูปแบบเนื้อสัมผัสโดยทั่วไป (Bourne 1978)

จากรูปที่ 1 จะสามารถวิเคราะห์ parameter ที่เกี่ยวข้องกับ texture profile ได้ ค่าความแน่นเนื้อ (firmness) หรือค่าความแข็ง (hardness) คือแรงสูงสุด (H) ที่เกิดขึ้นที่จุดสุดท้ายของการกัดครั้งแรก ค่าแรงสูงสุดที่ปรากฏออกมาแรกสุดของการกัดคือค่าความสามารถในการแตก (fracturability) ซึ่งไม่จำเป็นต้องพบในอาหารทุกชนิดก็ได้ งานที่ใช้เพื่อคัดตัวอย่างในช่วงการกัดครั้งแรกและครั้งที่ 2 สามารถหาได้จากพื้นที่ใต้กราฟแรกและกราฟที่สองตามลำดับ อัตราส่วนระหว่างงานของการกัดครั้งที่สองต่อการกัดครั้งแรก ( $A_2/A_1$ ) คือค่า cohesiveness (C) ของตัวอย่าง ระยะระหว่างจุดเริ่มของกราฟที่มีค่าติดลบ (negative peak) ของการกัดครั้งแรกจนถึงจุดสุดท้ายของ negative peak แรกคือค่า springiness และพื้นที่ของกราฟด้านล่างคือค่า adhesiveness หรือ stickiness ของตัวอย่าง ส่วนลักษณะทางเนื้อสัมผัสอื่นๆ เช่น gumminess (hardness x cohesiveness) และ chewiness (hardness x cohesiveness x springiness) ก็สามารถหาได้เช่นกัน (Bourne 1978)

เนื่องจากการวัด texture profile analysis ด้วยเครื่องมือนี้ยังไม่มีกำหนดมาตรฐาน (non-standardization) ที่แน่นอนของขั้นตอนการทดลอง รวมไปถึงสภาวะการทดลอง ดังนั้นจึงอาจจะไม่สามารถเปรียบเทียบข้อมูล texture profile analysis ของงานวิจัยแต่ละชิ้นได้ หรืออาจเปรียบเทียบได้แต่มีความยุ่งยากในการเปรียบเทียบผลการทดลอง (Karim และคณะ, 2000) ดังนั้นการอธิบายขั้นตอนการทดลองและสภาวะที่ใช้อย่างละเอียดจึงมีความสำคัญอย่างมาก เนื่องจากเป็นที่ทราบกันแล้วว่า ปัจจัยต่างๆ เช่น ขนาดและรูปร่างของชิ้นตัวอย่าง อัตราส่วนระหว่าง

ขนาดหัวกดต่อขนาดตัวอย่าง ระยะทางการกด cross head speed ปริมาณครั้งของการ"กด" และ ปริมาณการทดลองซ้ำ ส่งผลต่อ parameter ต่างๆที่เกี่ยวข้องกับเนื้อสัมผัสอย่างมาก (Karim และ คณะ, 2000)

ตารางที่ 1 : สภาวะต่างๆที่ถูกใช้เพื่อวัดเนื้อสัมผัสของแป้งที่เกิด retrogradation<sup>a</sup> (Karim, 2000)

System	Sample/Probe diameter or size (mm)	Instrument <sup>b</sup>	% deformation	Cross-head speed (mm min <sup>-1</sup> )	Reference
Bread	1 in <sup>3</sup> /ns	Instron (ns)	25	100	Ruan et al. (1996)
Cooked Potato tuber	12 $\phi$ x 12/ns	Instron (ns)	75	50	Jankowski (1992)
Starch gels	4 cm <sup>2</sup> square piece/0.5cm <sup>2</sup>	Compression Tester (ns)	15, 30, 60	1.2	Inaba, Hoshizawa, Adachi, Matsumura and Mori (1994)
Starch gels	30 $\phi$ x 20/ns	Zwick Universal Testing Machine (1000N)	60	50	CondeOPetit and Escher (1994)
Bread	1.25in $\phi$ /ns	Instron (ns)	20-50	10	Rao et al. (1992)
Bread	6 ( $\phi$ ?)/35	Instron (ns)	ns	ns	Rogers et al. (1988)
Bread	25 ( $\phi$ ?)/36	Instron (ns)	25	50	Martin et al. (1991)
Bread	$\phi$ ? X 25 /36	Instron (2kg)	16	50	Inagaki and Seib (1992)

<sup>a</sup> ns, not specified.

<sup>b</sup> Number in bracket denotes load cell.

ค่าที่ได้จาก tensile deformation test และค่า extensibility สามารถใช้บ่งบอกถึงการดำเนินไปของปรากฏการณ์รีโทรเกรเดชันในเจลแป้งได้ (Gujral, Haros และ Rosell, 2004) โดยแป้งที่เกิดรีโทรเกรเดชันจะมีค่า tensile strength เพิ่มขึ้น และค่า extensibility ลดลงอย่างรวดเร็ว ดังผลการทดลองของ Lawton และคณะ (1996) ซึ่งศึกษาผลของชนิดของสตาร์ชต่อสมบัติของฟิล์มที่มีสตาร์ชเป็นองค์ประกอบ พบว่าฟิล์มของสตาร์ชจะมีแนวโน้มของค่า TS ที่ลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้น อีกทั้งค่า elongation หรือค่า extensibility จะมีแนวโน้มที่ลดลงทุกชนิดของแป้งที่นำมาทดสอบโดยการติดตามสมบัติทางด้านเนื้อสัมผัสโดยใช้เครื่อง Instron Testing Machine ที่ ความเร็วการดึง 200mm/min และใช้ขนาดของชิ้นตัวอย่างเท่ากับ 50mm x 50mm

Gujral และ Pathak (2002) ศึกษาผลของแป้งคอมโพสิท (composite flours) และ สารเติมแต่ง (additives) ต่อสมบัติทางด้านเนื้อสัมผัสของชาพาตี (chapati) พบว่าการผสมแป้งชนิดต่างๆลงไปในชาพาตีจะทำให้ค่า tensile strength และ extensibility มีการเปลี่ยนแปลงไปต่างกัันขึ้นกับชนิดของแป้งที่นำมาผสม และเมื่อเก็บชาพาตีไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมงพบว่าค่า tensile strength จะมีค่าที่เพิ่มขึ้นทั้งหมดในขณะที่ค่า extensibility จะมีค่าที่ลดลงอย่างเห็นได้ชัด การทดลองนี้วัดด้วยเครื่อง Instron Universal Testing Machine ใช้ชาพาตีขนาด 90mmx18mm load cell 100N และความเร็วที่ใช้เท่ากับ 50 mm/min จากนั้นในปี 2004 Gujral และคณะ ได้



ศึกษาการปรับปรุงเนื้อสัมผัสและชะลอการคืนตัวของซาฟตีที่เตรียมจากแป้งข้าวเจ้าด้วยสารไฮโดรคอลลอยด์และเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส โดยติดตามการเปลี่ยนแปลงของเนื้อสัมผัสด้วยเครื่อง texture analyzer รุ่น TA-XT2i (Stable Micro Systems, Surrey, UK) พบว่าการเติมสารที่มีโครงสร้างขนาดใหญ่เช่นไฮโดรคอลลอยด์ลงไปจะทำให้ซาฟตีที่ได้มีค่าแรงสูงสุดเมื่อดึงขาด (peak force at rupture) ในวันที่ 0 สูงขึ้น อีกทั้งยังมีค่า extensibility ที่สูงขึ้นเช่นกัน และเมื่อเก็บซาฟตีไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมงพบว่า ค่าแรงสูงสุดเมื่อดึงขาดจะมีค่าที่เพิ่มสูงขึ้นและค่า extensibility จะมีค่าที่ลดลงทั้งหมด

เครื่องมืออื่น เช่น เครื่อง material testing machine (Lloyd LRX, Lloyd Instruments Ltd., UK) ก็สามารถวัด tensile strength และ extensibility ของตัวอย่างแป้งได้ เช่น ในการทดลอง ของ Krogars และคณะ (2002) วัดตัวอย่างแป้งที่มีความยาว 40 mm และทดสอบด้วยความเร็ว 10 mm/min ซึ่งผู้วิจัยรายงานว่าค่า tensile strength จะเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาการเก็บเพิ่มขึ้น แต่ค่า extensibility ในการทดลองนี้ไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งนี้ผู้วิจัยได้ตั้งสมมติฐานว่าอาจเนื่องจากการผสม plasticizer จำพวก glycerol และ sorbitol เข้าไปในตัวอย่างแป้ง จึงทำให้ค่า extensibility ไม่มีการเปลี่ยนแปลง ผลการทดลองดังกล่าวมีส่วนคล้ายกับงานวิจัยของ Santos และคณะ (2004) ซึ่งทดสอบสมบัติทางกล (mechanical properties) ของฟิล์มแป้งมันสำปะหลังที่ผสมสารเติมแต่ง (additives) จำพวกน้ำตาลโมเลกุลเล็ก ทำการวัดสมบัติของฟิล์มแป้งด้วยเครื่อง Instron Universal Testing Instrument (model 5500R) ขนาดตัวอย่างเท่ากับ 8 x 2.5 cm สภาวะการทดลองดึงด้วยความเร็ว 12.5 mm/min รายงานว่าเมื่อปริมาณของน้ำตาลโมเลกุลเล็กเพิ่มขึ้นจะทำให้ค่า elongation เพิ่มขึ้นในแรกของการทดสอบ โดยผู้วิจัยได้ตั้งสมมติฐานไว้ว่า plasticizers effect ของน้ำตาลโมเลกุลเล็กเป็นสาเหตุทำให้ค่า elongation ของฟิล์มแป้งสูงขึ้นนั่นเอง

นอกจากนี้ มีงานวิจัยพบว่าการเติมสารบางชนิดลงในผลิตภัณฑ์แป้งจะทำให้สมบัติด้าน tensile strength และ extensibility ของผลิตภัณฑ์แป้งดังกล่าวเปลี่ยนไป เช่น Kasemsuan และคณะ (1998) ศึกษาการเตรียมวุ้นเส้นจากแป้งมันสำปะหลังควบคู่กับแป้งที่มีปริมาณของอะไมโลสสูง วัดค่า tensile strength ด้วยเครื่อง Instron Universal Testing System (UTM model 4502) โดยใช้ load cell ขนาด 100N และหัววัดรุ่น pneumatic action grips No. 2712-002 (Instron Corporation, Canton, MA) พบว่าค่า tensile strength ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเวลาในการเตรียมวุ้นเส้นในน้ำเดือดเปลี่ยนแปลงจาก 10 ถึง 60 วินาที และการทดแทนแป้งมันสำปะหลังด้วยแป้งข้าวโพดอะไมโลสสูงจะทำให้ค่า tensile strength มีค่าลดลง

และเมื่อปริมาณของแป้งข้าวโพดอะไมโลสสูงมีค่าสูงมากขึ้นจะทำให้ค่า tensile strength มีค่าที่ลดลง

Inglett และคณะ (2005) ศึกษาสมบัติของเส้นก๋วยเตี๋ยวเมื่อมีการผสมสารจำพวกไฮโดรคอลลอยด์จากธัญพืชข้าวโอ๊ตด้วยเครื่อง Texture Analyzer รุ่น TA-XT2 (Stable Micro System, England) พบว่าเมื่อผสมแป้งข้าวเจ้าในเส้นก๋วยเตี๋ยวเพิ่มมากขึ้น เส้นก๋วยเตี๋ยวที่ได้จะมีค่า tensile strength เพิ่มขึ้น และการเติมสารไฮโดรคอลลอยด์ Nutrim-5 ซึ่งเป็นไฮโดรคอลลอยด์ที่ได้จากการแปรรูปทางกลเชิงอุณหภูมิ (thermomechanical process) ลงไปจะทำให้ค่า Peak Viscosity จากเครื่อง RVA และค่า tensile strength ที่ลดลง

### 2.2.1.2 Thermal Analysis

Differential Scanning Calorimetry หรือ DSC และ Diferential Thermal Analysis หรือ DTA สามารถใช้วัดการเกิดรีโทรเกรเดชันได้ โดยสิ่งที่แตกต่างระหว่างสองเครื่องนี้คือ เครื่อง DSC จะใช้วัดความแตกต่างระหว่างพลังงานที่ถูกให้กับตัวอย่างและวัตถุอ้างอิง โดยเป็นฟังก์ชันกับอุณหภูมิ ในขณะที่ DTA จะวัดความแตกต่างของอุณหภูมิระหว่างตัวอย่างและวัตถุอ้างอิง (Karim และคณะ, 2000)

ในเครื่อง DSC เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงของพลังงานขึ้น พลังงานที่ตัวอย่างดูดกลืน (absorb) จะถูกทดแทนให้ความแตกต่างของอุณหภูมิของตัวอย่างและวัตถุอ้างอิงคงที่ และเนื่องจากพลังงานที่ถูกทดแทนนี้มีค่าเท่ากับพลังงานที่ตัวอย่างดูดกลืนไปเท่านั้น ค่าพลังงานที่เครื่องอ่านได้จึงเป็นค่าพลังงานเท่ากับค่าพลังงานที่ตัวอย่างใช้ไปในการเปลี่ยนแปลงเท่านั้น โดยพลังงานที่วัดได้จะถูกบันทึกในรูปของยอดกราฟ (peak) และพื้นที่ใต้กราฟดังกล่าวจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับการเปลี่ยนแปลงเอนทัลปี (enthalpy change;  $\Delta H$ ) และทิศทางของยอดกราฟที่เกิดขึ้นจะเป็นตัวบ่งบอกว่าการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวเป็นปฏิกิริยาดูดพลังงาน (endothermic) หรือคายพลังงาน (exothermic) โดยในกรณีของแป้งที่เกิดรีโทรเกรเดชัน ค่า  $\Delta H$  ที่วัดได้จะเป็นค่าของพลังงานที่เกิดขึ้นระหว่างการละลาย (melting) ของโมเลกุลแป้งที่เกิดการจับตัวกันใหม่ (recrystallization) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาคูดความร้อน

การเกิดรีโทรเกรเดชันที่วัดได้จากเครื่อง DSC นั้นเป็นผลมาจากส่วนของโมเลกุลแป้งที่เป็นอะไมโลเพ็กทิน (Eliasson และ Ljunger, 1988; Russell, 1983, 1987) เนื่องจากเมื่อทำการวัดค่าพลังงานของแป้ง waxy maize starch ที่ไม่มีอะไมโลสอยู่เลยเปรียบเทียบกับของแป้ง



ข้าวสาลี พบว่าการคูดกลืนพลังงานเกิดขึ้น ณ บริเวณเดียวกัน เนื่องจากข้อจำกัดของลักษณะโครงสร้างของอะไมโลเพ็กทิน โครงสร้างที่เกิดจากการจับตัวกันใหม่ของโมเลกุลแป้งจึงมีความเสถียรต่ำ และพันธะสามารถถูกทำลายได้ที่ช่วงอุณหภูมิ 40-100°C ซึ่งต่ำกว่าเมื่อเทียบกับอะไมโลส (120-170°C) ที่สามารถจับกันได้ดีเนื่องจากมีลักษณะทางโครงสร้างที่ไม่มีกิ่งก้านสาขา (Sievert และ Pomeranz, 1989) โดยปกติทั่วไป ช่วงของอุณหภูมิที่ใช้ในการศึกษาการเกิดรีโทรเกรเดชันในแป้งต่างๆจึงมักจะทดลองอยู่ในช่วง 30-120°C ที่อัตราการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิ 5 หรือ 10°C ต่อนาที และความเข้มข้นของแป้งที่ใช้ควรอยู่ที่ประมาณ 20 ถึง 55%

โดยปกติแล้ว ค่าเอนทาลปีของการเกิดรีโทรเกรเดชันจะต่ำกว่าเอนทาลปีของการเกิดเจลาติไนเซชันประมาณร้อยละ 60-80 อย่างไรก็ตาม ช่วงอุณหภูมิของการเกิดรีโทรเกรเดชันมักจะกว้างกว่าช่วงอุณหภูมิของการเกิดเจลาติไนเซชัน อีกทั้งอุณหภูมิการดูดความร้อนของการเปลี่ยนแปลง (endothermic transition temperature) ที่เกิดจากการสลายพันธะของแป้งที่เกิดรีโทรเกรเดชันของตัวอย่างจะเกิดขึ้นที่อุณหภูมิต่ำกว่าของการเกิดเจลาติไนเซชันประมาณ 10-26°C (Baker และ Duarte, 1998) ซึ่งอาจหมายความว่า การเกิดรีโทรเกรเดชันนั้นทำให้เกิดโครงสร้างผลึกที่แตกต่างไปจากในธรรมชาติ (Karim และคณะ, 2000)

Nakazawa และคณะ (1985) ระบุว่า การใช้เครื่อง DSC เพื่อศึกษาการเกิดรีโทรเกรเดชันนั้นมีข้อได้เปรียบเนื่องจาก สามารถใช้ได้กับระบบที่มีปริมาณของน้ำที่ใช้แตกต่างกันได้อย่างกว้างขวาง สามารถวัดพลังงานที่ใช้เพื่อสลายพันธะแป้งที่เกิดรีโทรเกรเดชันได้โดยตรง ไม่มีการสูญเสียความชื้นในตัวอย่าง เนื่องจาก DSC pan จะถูกปิดสนิท ใช้เวลาน้อยและไม่จำเป็นต้องใช้เทคนิคพิเศษใดๆ และใช้ปริมาณตัวอย่างที่น้อยมากๆ ซึ่งในข้อหลังสุดนี้ สามารถช่วยลดปัญหาการนอนตัวของแป้งในน้ำแป้งได้ อย่างไรก็ตาม เนื่องจากปริมาณตัวอย่างที่น้อยทำให้ต้องแน่ใจว่าตัวอย่างที่สุ่มขึ้นมาเป็นตัวแทนของสถานะตามที่ต้องการแน่นอน

## 2.2.2 การศึกษาที่เกี่ยวข้องกับการลดรีโทรเกรเดชัน

การเกิดรีโทรเกรเดชันเกิดจากการที่โมเลกุลของอะไมโลสและอะไมโลเพ็กทินเกิดการจับเรียงตัวกันใหม่ด้วยพันธะไฮโดรเจนหลังจากที่สูญเสียโครงสร้างไปเมื่อเกิดเจลาติไนเซชัน ดังนั้นจึงมีแนวคิดว่าหากสามารถขัดขวางการจับตัวกันใหม่ของโมเลกุลแป้งได้ ก็น่าจะสามารถลดการเกิดรีโทรเกรเดชันได้ ซึ่งจากงานวิจัยบางชิ้นพบว่าองค์ประกอบหลักในโครงสร้างของโมเลกุลแป้งที่เกิดการรีโทรเกรเดชันนั้นจะประกอบด้วยโมเลกุลแป้งที่มีค่า DP เท่ากับ 11 หรือสูงกว่าเป็นองค์ประกอบหลัก (Kennedy และคณะ, 1987) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Giddey และคณะ



(1987) ที่กล่าวว่า ค่า DP ที่ต่ำที่สุดของโมเลกุลแป้งที่จะสามารถเกิดการจับตัวกันใหม่ได้นั้น จะมีค่า DP อยู่ในช่วงประมาณ 10 ส่วนในระบบแป้งที่มีโมเลกุลแป้งขนาดเล็กมากๆ เช่นในระบบของ maltodextrin นั้น Clark และคณะ (1989) พบว่าโมเลกุลแป้งที่มีขนาดเล็กกว่า DP 10 นั้นจะเกิดการจับตัวร่วม (co-crystallization) อยู่กับสายโมเลกุลแป้งขนาดยาว

อัตราการเกิดรีโทรเกรเดชันจะขึ้นกับปัจจัยหลายประการ เช่น พันธุ์และชนิดของพืชที่นำมาผลิตแป้ง ซึ่งทั้งสองปัจจัยนี้จะส่งผลต่อปริมาณของอะไมโลสและอะไมโลเพกตินนั่นเอง และปริมาณที่แตกต่างนี้จะส่งผลต่ออัตราการเกิดรีโทรเกรเดชันที่ต่างกันในแต่ละชนิด ซึ่งแป้งที่มีปริมาณของอะไมโลสสูงจะมีอัตราการเกิดรีโทรเกรเดชันที่สูงกว่าแป้งที่มีปริมาณอะไมโลสต่ำ (Fredrikson และคณะ, 1998) ซึ่งผลการทดลองของ Fans และ Marks (1997) ในการศึกษาผลของพันธุ์ของข้าวเจ้า 4 ชนิดต่อจลนศาสตร์การเกิดรีโทรเกรเดชันของแป้งข้าวเจ้าที่ได้ จากผลการทดลองพบว่าแป้งที่ได้จากข้าวเจ้าในพันธุ์ที่มีปริมาณอะไมโลสต่ำ จะมีอัตราการเกิดรีโทรเกรเดชันที่ต่ำกว่าแป้งที่มาจากข้าวเจ้าที่เตรียมจากข้าวเจ้าที่มีปริมาณอะไมโลสสูง ส่วนในงานวิจัยของ Ichiguro และคณะ (2000) ศึกษาความแตกต่างของการเกิดรีโทรเกรเดชันของสตาร์ชที่ได้จากมันเทศ 10 สายพันธุ์โดยใช้การวัดค่า firmness และปริมาณของ leaked water ของเจลแป้งระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งในงานวิจัยนี้ก็พบว่าพันธุ์ที่มีปริมาณอะไมโลสที่ต่ำกว่าจะเกิดการ retrogradation ที่ต่ำกว่าเช่นกัน ทั้งนี้ผู้วิจัยได้กล่าวเสริมไว้ในสรุปของงานวิจัยว่า ค่า firmness สามารถใช้วัดเพื่อติดตามการเกิดรีโทรเกรเดชันได้อย่างน่าพอใจ อีกปัจจัยที่ส่งผลต่ออัตราการเกิดรีโทรเกรเดชันคือ อุณหภูมิและระยะเวลาในการเก็บรักษา Shuh-Ming และคณะ (1991) ศึกษาการเกิดรีโทรเกรเดชันในแป้งข้าวเจ้าที่อุณหภูมิต่างๆด้วยเครื่อง DSC พบว่าที่อุณหภูมิต่ำ ( $-18^{\circ}\text{C}$ ) อัตราการเกิดรีโทรเกรเดชันของเจลแป้งข้าวเจ้าจะเร็วกว่าที่อุณหภูมิสูง ( $5^{\circ}\text{C}$  และ  $25^{\circ}\text{C}$ ) Perdon และคณะ (1999) ศึกษาการเกิดรีโทรเกรเดชันและเนื้อสัมผัสของข้าวเจ้าโดยติดตามด้วยเครื่อง DSC พบว่าเมื่ออุณหภูมิในการเก็บรักษายังต่ำ ค่า firmness ก็จะมีเพิ่มสูงมากขึ้น อีกทั้งยังพบว่า ระดับของการเกิดรีโทรเกรเดชันมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับค่า firmness ของ เจลแป้งที่วัดได้ ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่า ที่อุณหภูมิต่ำรีโทรเกรเดชันจะเกิดได้ดีกว่าที่อุณหภูมิสูง Alonso และคณะ (1999) ได้วิจัยเกี่ยวกับผลของปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเกิดเจลลาติโนเซชันและรีโทรเกรเดชันของแป้งหลายชนิด พบว่าที่อุณหภูมิก่อนการเก็บรักษาที่ต่ำกว่า จะมีอัตราการเกิดรีโทรเกรเดชันที่เร็วกว่าที่อุณหภูมิก่อนการเก็บรักษาที่สูงกว่าแล้ว ยังพบว่าหากนำเจลแป้งผ่านการ cooling ก่อนนำไปแช่เยือกแข็งแล้ว อัตราการเกิดรีโทรเกรเดชันก็จะยิ่งเร็วกว่าเจลแป้งที่ไม่ได้ผ่านการ cooling ก่อนการแช่เยือกแข็งอีกด้วย Riva, Fessas และ Schiraldi (2000) ทดลองเก็บเจลแป้งข้าวเจ้าที่  $-5^{\circ}\text{C}$ ,  $5^{\circ}\text{C}$ ,

10°C และ 20°C พบว่าที่ 20°C เกิดการรีโทรเกรเดชันที่ต่ำที่สุด อีกทั้งยังรายงานไว้ว่า bound water อาจไม่มีส่วนเกี่ยวข้องหรือมีส่วนช่วยในการเกิดรีโทรเกรเดชันในข้าวเจ้าและ pasta

การลดการเกิดรีโทรเกรเดชันนั้นทำได้หลายวิธี โดยวิธีที่ง่ายที่สุดคือ การเก็บเจล แป้งและ/หรือผลิตภัณฑ์ที่มีปริมาณแป้งสูงไว้ที่อุณหภูมิที่สูงกว่าอุณหภูมิแช่เย็น เช่นที่อุณหภูมิ ห้อง หรือประมาณ 25°C แต่อย่างไรก็ดีต้องคำนึงถึงการเน่าเสียเนื่องจากจุลินทรีย์ควบคู่ไปด้วย (Riva และคณะ, 2000) อีกวิธีที่สามารถลดอัตราการเกิดรีโทรเกรเดชันได้คือ การเติมสารต่างๆลงไปในระบบแป้งที่ต้องการลด ดังเช่นในงานวิจัยของ Chang และ Liu (1991) ศึกษาผลของการเติมน้ำตาล sucrose, เกลือ NaCl และลิปิตบางชนิดต่อการเกิดรีโทรเกรเดชันของเจลแป้งข้าวเจ้าโดยติดตามการเกิดรีโทรเกรเดชันด้วยค่าเอนทัลปีที่วัดจากเครื่อง DSC ซึ่งผลจากการทดลองพบว่า ปริมาณน้ำตาล sucrose มีผลต่ออัตราการเกิด รีโทรเกรเดชันอย่างแปรผันตรง กล่าวคือ เมื่อปริมาณของ sucrose ในเจลแป้งสูงมากขึ้นรีโทรเกรเดชันก็จะยิ่งเกิดมากขึ้น เกลือ NaCl สามารถลดการเกิด รีโทรเกรเดชันได้ ส่วนลิปิตไม่มีแนวโน้มที่ชัดเจน งานวิจัยของ Rojas และคณะ (2001) ศึกษาผลของโอลิโกแซคคาไรด์ขนาดเล็ก DP 2-7 ต่อการเกิดรีโทรเกรเดชันของเจลแป้งข้าวสาลี โดยผสม maltodextrin ที่มีค่า DP ต่างๆในปริมาณ 0.5% (starch basis) ลงในเจลแป้งความเข้มข้น 15% (w/w) จากนั้นติดตามการเกิดรีโทรเกรเดชันด้วยการวัดเนื้อสัมผัสควบคู่กับการวัดสมบัติทางด้านความร้อนด้วยเครื่อง DSC พบว่าโอลิโกแซคคาไรด์ขนาด DP 3-7 สามารถลดการเกิดรีโทรเกรเดชันได้โดยสังเกตจากค่า firmness และเอนทัลปีของการเกิดรีโทรเกรเดชันที่มีการเปลี่ยนแปลงช้ากว่าเมื่อเทียบกับค่าของเจลแป้งที่ไม่ได้ผสม maltodextrin ส่วน Smits และคณะ (2003) ทดลองโดยใช้ plasticizers ขนาดเล็กและ malto-oligosaccharides เพื่อลดการเกิดรีโทรเกรเดชันในเจลแป้งมันฝรั่งและข้าวสาลี โดยติดตามการเกิดรีโทรเกรเดชันด้วยเครื่อง X-Ray Diffraction และ Solid State NMR ซึ่งจากการทดลองผู้วิจัยรายงานไว้ว่า oligosaccharides ที่มีขนาด DP 3-5 สามารถลดการเกิดรีโทรเกรเดชันได้เนื่องจาก malto-oligosaccharides ที่มีขนาด DP เท่ากับ 6 ขึ้นไปสามารถเกิดเป็นเกลียวขนาดเล็กได้ จึงอาจจะทำให้สามารถส่งเสริมการเกิดรีโทรเกรเดชันได้ ส่วน platicizers นั้นพบว่า threitol และ xylitol สามารถลดการเกิดรีโทรเกรเดชันได้ดีที่สุด

ในกรณีที่ในระบบเจลแป้งมีน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและโมเลกุลคู่ หรือ glucose และ maltose อยู่ด้วย น้ำตาลเหล่านี้จะมีผลช่วยส่งเสริมให้การเกิดรีโทรเกรเดชันเกิดได้เพิ่มมากขึ้น ซึ่งมี



งานวิจัยมากมายได้ผลการทดลองที่สอดคล้องในเรื่องดังกล่าว แต่ mechanism ที่เกิดขึ้นยังไม่เป็นที่เข้าใจอย่างละเอียด (Smits และคณะ, 2003.; Chang และ Liu, 1991.; Rojas และคณะ, 2001)

### 3. Gel Permeable Chromatography (GPC)

GPC คือวิธีการวิเคราะห์แบบโครมาโตกราฟีที่ใช้หลักการแยกโมเลกุลต่างๆออกจากกันด้วยขนาดของโมเลกุล นิยมใช้เพื่อวิเคราะห์มวลโมเลกุลของพอลิเมอร์ (polymer) ชนิดต่างๆ ประกอบด้วยส่วนที่เป็นปั๊ม (pump) คอลัมน์ (column) ส่วนตรวจจับ (detector) และส่วนประมวลผล (Epton, 1978) คอลัมน์จะบรรจุด้วยวัสดุที่มีรูพรุน เช่นซิลิกา (silica) หรือโพลีสไตรีนที่ผ่านการทำครอสลิงค์ (crosslinked polystyrene) จากนั้นสารละลาย (solvent) ที่มีตัวอย่างที่ต้องการทดสอบละลายอยู่จะถูกฉีดผ่านคอลัมน์ ตัวอย่างจะถูกแยกออกจากกันด้วยความแตกต่างของขนาดของโมเลกุล โดยโมเลกุลขนาดเล็กจะแทรกเข้าไปในรูพรุนของวัสดุในคอลัมน์ ในขณะที่โมเลกุลขนาดใหญ่จะผ่านออกมาโดยไม่เข้าไปในรูพรุน ดังนั้นโมเลกุลขนาดใหญ่จะถูกชะ (elute) ออกมาก่อนโมเลกุลขนาดเล็ก จากนั้นเครื่องตรวจจับจะตรวจจับปริมาณของตัวอย่างที่ละลายออกมากับสารละลายเมื่อผ่านคอลัมน์ ส่วนประมวลผลจะแปรสัญญาณที่ตรวจจับได้แล้วแปลงเป็นรูปกราฟ หรือโครมาโตแกรม (chromatogram)(Epton, 1978)

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย