

ผลและการวิจารณ์ผลการทดลอง

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของแป้งถั่วเขียว

จากการวิเคราะห์พบว่า แป้งถั่วเขียวที่ใช้ในการทดลองนี้มีองค์ประกอบทางเคมี ดังนี้ โปรตีนร้อยละ 0.1 เถ้าร้อยละ 0.05 และความชื้นร้อยละ 10.29 โดยน้ำหนักเปียก ไม่มีไขมันและเส้นใย จากการคำนวณได้คาร์โบไฮเดรตประมาณร้อยละ 89.65 โดยน้ำหนักเปียก (ตารางที่ 3) ทั้งนี้เพราะการผลิตแป้งถั่วเขียวเป็นแบบบดเปียก การแช่เมล็ดถั่วก่อนบดทำให้องค์ประกอบที่เกาะติดกับเมล็ดแป้งในลักษณะตาข่ายกระจายตัวออก เมื่อเมล็ดถั่วผ่านการบดและผ่านการแยกแป้งออกจากองค์ประกอบอื่นโดยวิธีหมุนเหวี่ยงหรือตกตะกอน จึงได้แป้งที่มีคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบอยู่สูง (Whistler and Paschall, 1965; Inglett, 1978) ถึงร้อยละ 99.93 โดยน้ำหนักแห้ง นอกจากนี้ยังพบว่าแป้งถั่วเขียวที่มีความเข้มข้นร้อยละ 10 มีค่าความเป็นกรด-ด่าง 8.3 และแป้งถั่วเขียวละลายน้ำเป็นแป้งเปียกที่อุณหภูมิ 71-73 องศาเซลเซียส ดังนั้นลิเคอแฟคชันควรทำที่อุณหภูมิสูงกว่า 71 องศาเซลเซียสเพราะอุณหภูมิสูงกว่านี้ทำให้เม็ดแป้งบวมน้ำและคุดน้ำมากขึ้นจนกระทั่งเกิดเจลาติไนเซชัน จึงช่วยให้แอลฟา-อะไมเลสย่อยโมเลกุลแป้งบนผิวเม็ดแป้งที่เกิดเจลาติไนเซชันและโมเลกุลแป้งที่ละลายออกจากเม็ดแป้งได้ดีกว่าเม็ดแป้งในสภาพธรรมชาติ (Reilly, 1985; Williamson *et al.*, 1992)

ตารางที่ 3 องค์ประกอบของแป้งถั่วเขียว

องค์ประกอบ	ปริมาณโดยเฉลี่ย (ร้อยละ)
ความชื้น	10.29
โปรตีน	0.01
เถ้า	0.05
ไขมัน	0.00
เส้นใย	0.00
คาร์โบไฮเดรต	89.65



การศึกษาภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการผลิตบัต้า-ลิมิต เค้กชักรินจากแป้งถั่วเขียว

การผลิตบัต้า-ลิมิต เค้กชักริน โดยวิธีการย่อยแป้งด้วยแอลฟา-อะไมเลสและบัต้า-อะไมเลส มีขั้นตอนการผลิตที่สำคัญ 2 ขั้นตอนคือ ลิเคอแฟคชัน และแซคคาริฟิเคชัน ดังนั้นการวิจัยนี้จึงศึกษาภาวะที่มีอิทธิพลต่อการย่อยแป้งถั่วเขียวด้วยแอลฟา-อะไมเลสในขั้นตอนลิเคอแฟคชัน และภาวะที่มีอิทธิพลต่อการย่อยแป้งถั่วเขียวด้วยบัต้า-อะไมเลสในขั้นตอนแซคคาริฟิเคชัน ผลการทดลองที่ได้มีรายละเอียดดังต่อไปนี้

1. ภาวะที่เหมาะสมสำหรับขั้นตอนลิเคอแฟคชัน

1.1 ค่าความเป็นกรด-ด่าง

จากการทดลองย่อยสารละลายแป้งถั่วเขียว ซึ่งมีความเข้มข้น 1 กรัม ต่อเดซิลิตร ด้วยแอลฟา-อะไมเลส เป็นเวลานาน 1 นาที โดยใช้อัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งถั่วเขียวแห้ง 1.66 KNU ต่อ 100 กรัม และอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส พบว่าความเร็วของปฏิกิริยาการย่อยเพิ่มขึ้นจาก 7.78 ± 1.30 เป็น 15.75 ± 2.40 มิลลิโมลาร์ของกลูโคสต่อนาทีเมื่อค่าความเป็นกรด-ด่างเพิ่มขึ้นจาก 3.5 เป็น 4.5 แต่เมื่อค่าความเป็นกรด-ด่างเพิ่มขึ้นจาก 4.5 ถึง 8.5 ถึงแม้ว่าความเร็วของปฏิกิริยาการย่อยไม่เปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เนื่องจากเวลาที่ใช้ในการย่อยน้อยเกินไปเพียง

1 นาที ทำให้ไม่เห็นความแตกต่างของความเร็วของปฏิกิริยาการย่อยในช่วงค่าความเป็นกรด-ด่างนี้ แต่แสดงแนวโน้มว่าค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมที่สุดในการย่อยนี้คือ ค่าความเป็นกรด-ด่าง 5.0 ซึ่งมีความเร็วของปฏิกิริยาการย่อย 16.68 ± 2.70 มิลลิโมลาร์ของกลูโคสต่อ นาที (ตารางที่ 4) การที่ความเร็วของปฏิกิริยาการย่อยขึ้นอยู่กับค่าความเป็นกรด-ด่าง เนื่องจากที่ค่าความเป็นกรด-ด่างต่างกันทำให้การแตกออกของกรดอะมิโนในบริเวณเอนไซม์เอนไซม์ที่อยู่ในรูปที่เหมาะสมต่อการจับกันของเอนไซม์กับสับสเตรตต่างกัน (Segel, 1976)

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าแอลฟา-อะไมเลสจาก *Bacillus licheniformis* ย่อยแป้งได้ดีที่ค่าความเป็นกรด-ด่างกว้าง มีแอกติวิตีลดลงที่ค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำกว่า 4.5 (Novo Nordisk, 1993; Wingard, Katchalski-Katzir and Goldstein, 1979; Wiseman, 1985) และมีค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมที่สุดในการย่อยแป้งถั่วเขียวคือ 5.0

1.2 อุดหนุน

จากการทดลองย่อยสารละลายแป้งถั่วเขียว ซึ่งมีความเข้มข้น 1 กรัม ต่อเดซิลิตร ด้วยแอลฟา-อะไมเลส เป็นเวลานาน 1 นาที โดยใช้อัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งถั่วเขียวแห้ง 1.66 KNU ต่อ 100 กรัม และค่าความเป็นกรด-ด่าง 5.0 พบว่าความเร็วของปฏิกิริยาการย่อยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่ออุดหนุนเพิ่มขึ้นในช่วง 75 ถึง 95 องศาเซลเซียส แต่แสดงแนวโน้มว่าอุดหนุนที่เหมาะสมที่สุดในการย่อยนี้ คือ อุดหนุน 90 องศาเซลเซียส ซึ่งมีความเร็วของปฏิกิริยาการย่อย 57.60 ± 7.30 มิลลิโมลาร์ของกลูโคสต่อ นาที (ตารางที่ 5)

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าแอลฟา-อะไมเลส (Termamyl[®]) มีอุดหนุนที่เหมาะสมที่สุดในการย่อยแป้งถั่วเขียวคือ 90 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ยังย่อยได้ดีที่อุดหนุนสูงถึง 95 องศาเซลเซียส แต่จากผลการทดลองในข้อ 1.1 พบว่าที่อุดหนุนคงที่ เมื่อค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำกว่า 4.5 ทำให้เอนไซม์มีแอกติวิตีลดลง ดังนั้นการหยุดปฏิกิริยาของแอลฟา-อะไมเลสนี้ต้องปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 3.5 ร่วมกับให้ความร้อนที่อุดหนุน 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 10 นาที ซึ่งสอดคล้องกับวิธีที่ใช้ในงานวิจัยซึ่งย่อยแป้งข้าวเจ้าหรือแป้งมันสำปะหลังด้วยแอลฟา-อะไมเลสที่ทนความร้อน (Brooks and Griffin, 1987; 1989; วัฏญู ศรีเดช, 2537; จิรารัตน์ ทัดติยกุล, 2538)

ตารางที่ 4 ความสัมพันธ์ระหว่างความเร็วของปฏิกิริยาการย่อยแป้งถั่วเขียวด้วย
แอลฟา-อะไมเลสและค่าความเป็นกรด-ด่าง

ที่ภาวะ :

ความเข้มข้นของสารละลายแป้งถั่วเขียว	1	กรัม/เดซิลิตร
อัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งถั่วเขียวแห้ง	1.66	KNU/100 กรัม
อุณหภูมิ	60	องศาเซลเซียส
เวลาของการย่อย	1	นาที

ค่าความเป็นกรด-ด่าง	ความเร็วของปฏิกิริยา (มิลลิโมลาร์ของกลูโคส/นาที)
3.5	7.78 _± 1.30 b
4.0	9.38 _± 1.00 b
4.5	15.75 _± 2.40 a
5.0	16.68 _± 2.70 a
5.5	16.58 _± 2.75 a
6.0	16.28 _± 2.60 a
7.0	16.08 _± 2.55 a
8.0	15.77 _± 2.70 a

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในตารางแสดงว่า ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่าง
อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 5 ความสัมพันธ์ระหว่างความเร็วของปฏิกิริยาการย่อยแป้งข้าวเจ้า ด้วย
แอลฟา-อะไมเลสและอุณหภูมิ

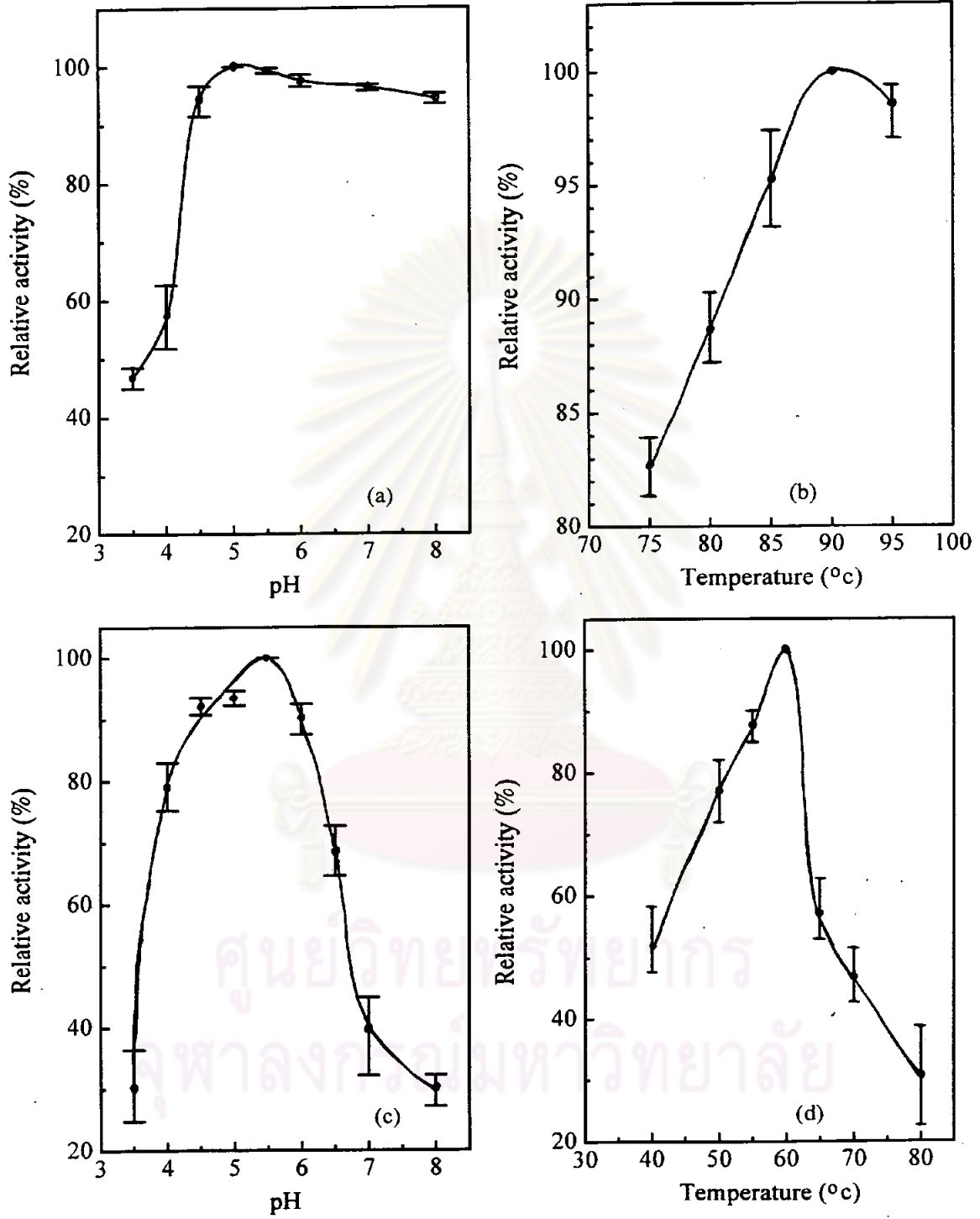
ที่ภาวะ :

ความเข้มข้นของสารละลายแป้งข้าวเจ้า	1	กรัม/เดซิลิตร
อัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งข้าวเจ้าแห้ง	1.66	GNU/100 กรัม
ค่าความเป็นกรด-ด่าง	5.0	
เวลาของการย่อย	1	นาที

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ความเร็วของปฏิกิริยา (มิลลิโมลาร์ของกลูโคส/นาที)
75	49.12 \pm 5.30 a
80	51.01 \pm 5.90 a
85	54.85 \pm 7.95 a
90	57.60 \pm 7.30 a
95	56.75 \pm 7.05 a

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่เหมือนกันในตารางแสดงว่า ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่าง
อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เกณฑ์การเลือกภาวะที่ใช้ในขั้นตอนลิเคอแฟชันคือ ภาวะที่ทำให้ร้อยละของแอสตีวิตี
สัมพัทธ์สูงสุด แอสตีวิตีสัมพัทธ์คือความเร็วของปฏิกิริยาการย่อยที่ภาวะนั้นๆต่อภาวะที่ให้แอสตีวิตี
สูงสุด จากเกณฑ์นี้ทำให้เลือกได้ว่าภาวะที่เหมาะสมที่สุดสำหรับลิเคอแฟชัน คือ ค่าความเป็น
กรด-ด่าง 5.0 และอุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 8 a และ b)



ภาพที่ 8 ค่าความเป็นกรด-ด่างและอุณหภูมิที่เหมาะสมในการย่อยแป้งข้าวด้วยแอลฟา-อะไมเลส (a และ b) และในการย่อยแป้งข้าวด้วยบีตา-อะไมเลส (c และ d)

2. ภาวะที่เหมาะสมสำหรับขั้นตอนแซ็คคาริโนเคชัน

2.1 ค่าความเป็นกรด-ด่าง

จากการทดลองย่อยสารละลายแป้งถั่วเขียว ซึ่งมีความเข้มข้น 1 กรัม ต่อเดซิลิตร ด้วยบีต้า-อะไมเลส เป็นเวลานาน 1 นาที โดยใช้อัตราส่วนของบีต้า-อะไมเลส ต่อแป้งถั่วเขียวแห้ง 10 KU ต่อ 100 กรัม และอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบว่า ความเร็วของปฏิกิริยาการย่อยในช่วงค่าความเป็นกรด-ด่างระหว่าง 4 ถึง 6 สูงกว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง 3.5, 7 และ 8 อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 คิดเป็นร้อยละ 67, 57 และ 67 ตามลำดับ ถึงแม้ว่าความเร็วของปฏิกิริยาการย่อยในช่วงค่าความเป็นกรด-ด่างระหว่าง 4 ถึง 6 ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เพราะเวลาที่ใช้ในการย่อยน้อยเกินไปเพียง 1 นาทีทำให้ไม่เห็นความแตกต่างของความเร็วของปฏิกิริยาการย่อยในช่วงค่าความเป็นกรด-ด่างนี้ แต่ก็แสดงแนวโน้มว่าค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมที่สุดในการย่อยนี้คือ 5.5 ซึ่งมีความเร็วของปฏิกิริยาการย่อย 10.55 ± 2.05 มิลลิโมลาร์ของมอลโตสต่อนาที (ตารางที่ 6) อธิบายสาเหตุได้เช่นเดียวกับผลของค่าความเป็นกรด-ด่างในการย่อยแป้งด้วยแอลฟา-อะไมเลส (ข้อ 1.1 บทที่ 4)

2.2 อุณหภูมิ

จากการทดลองย่อยสารละลายแป้งถั่วเขียว ซึ่งมีความเข้มข้น 1 กรัม ต่อเดซิลิตร ด้วยบีต้า-อะไมเลส เป็นเวลานาน 1 นาที โดยใช้อัตราส่วนของบีต้า-อะไมเลส ต่อแป้งถั่วเขียวแห้ง 10 KU ต่อ 100 กรัม และค่าความเป็นกรด-ด่าง 5.5 พบว่า ความเร็วของปฏิกิริยาการย่อยในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 55 ถึง 60 องศาเซลเซียส สูงกว่าที่อุณหภูมิ 40, 65, 70 และ 80 อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 คิดเป็นร้อยละ 46, 40, 51 และ 67 ตามลำดับ ถึงแม้ว่าความเร็วของปฏิกิริยาการย่อยในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 55 ถึง 60 ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แต่ก็แสดงแนวโน้มว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดในการย่อยนี้ คือ 60 องศาเซลเซียส ซึ่งมีความเร็วของปฏิกิริยาการย่อย 30.48 ± 3.10 มิลลิโมลาร์ของมอลโตสต่อนาที (ตารางที่ 7) ทั้งนี้เพราะอุณหภูมิสูงขึ้นในช่วง 40 ถึง 55 องศาเซลเซียส ทำให้ทั้งเอนไซม์และสับสเตรทที่เข้าทำปฏิกิริยากันมีพลังงานจลน์เพิ่มขึ้น การชนกันต่อหน่วยเวลาเพิ่มขึ้น ทำให้ความเร็วของปฏิกิริยาการย่อยเพิ่มขึ้น แต่เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นจาก 55 เป็น 60 องศาเซลเซียส ถึงแม้ว่าอุณหภูมิที่สูงขึ้นนี้จะทำให้พลังงานจลน์สูงขึ้นแต่ก็ไปทำให้เอนไซม์เริ่มเสียสภาพธรรมชาติ (Segel, 1976) และเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 60 องศาเซลเซียส การเสียสภาพธรรมชาติของเอนไซม์มากขึ้นทำให้แอคติวิตีของเอนไซม์ลดลง

ตารางที่ 6 ความสัมพันธ์ระหว่างความเร็วของปฏิกิริยาการย่อยแป้งด้วย
บีต้า-อะไมเลสและค่าความเป็นกรด-ด่าง

ที่ภาวะ:

ความเข้มข้นของสารละลายแป้งข้าวเจ้า	1 กรัม/เดซิลิตร
อัตราส่วนของบีต้า-อะไมเลสต่อแป้งข้าวเจ้าแห้ง	10 KU/100 กรัม
อุณหภูมิ	25 องศาเซลเซียส
เวลาของการย่อย	1 นาที

ค่าความเป็นกรด-ด่าง	ความเร็วของปฏิกิริยา (มิลลิโมลาร์ของมอลโตส/นาที)
3.5	3.15 \pm 0.05 c
4.0	8.30 \pm 1.20 ab
4.5	9.72 \pm 1.85 a
5.0	9.85 \pm 1.85 a
5.5	10.55 \pm 2.05 a
6.0	9.46 \pm 1.58 ab
6.5	7.20 \pm 1.10 b
7.0	4.08 \pm 0.95 c
8.0	3.13 \pm 0.30 c

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในตารางแสดงว่า ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 7 ความสัมพันธ์ระหว่างความเร็วของปฏิกิริยาการย่อยแป้งข้าวเจ้าด้วย
บีต้า-อะไมเลสและอุณหภูมิ

ที่ภาวะ:

ความเข้มข้นของสารละลายแป้งข้าวเจ้า	1	กรัม/เดซิลิตร
อัตราส่วนของบีต้า-อะไมเลสต่อแป้งข้าวเจ้าแห้ง	10	KU/100 กรัม
ความเป็นกรด-ด่าง	5.5	
เวลาของการย่อย	1	นาที

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ความเร็วของปฏิกิริยา (มิลลิโมลาร์ของมอลโตส/นาที)
40	15.52±0.30 cd
50	23.23±1.50 b
55	26.72±2.35 ab
60	30.48±3.10 a
65	17.08±2.05 c
70	14.10±2.20 d
80	9.50±3.33 e

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในตารางแสดงว่า ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่าง
อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

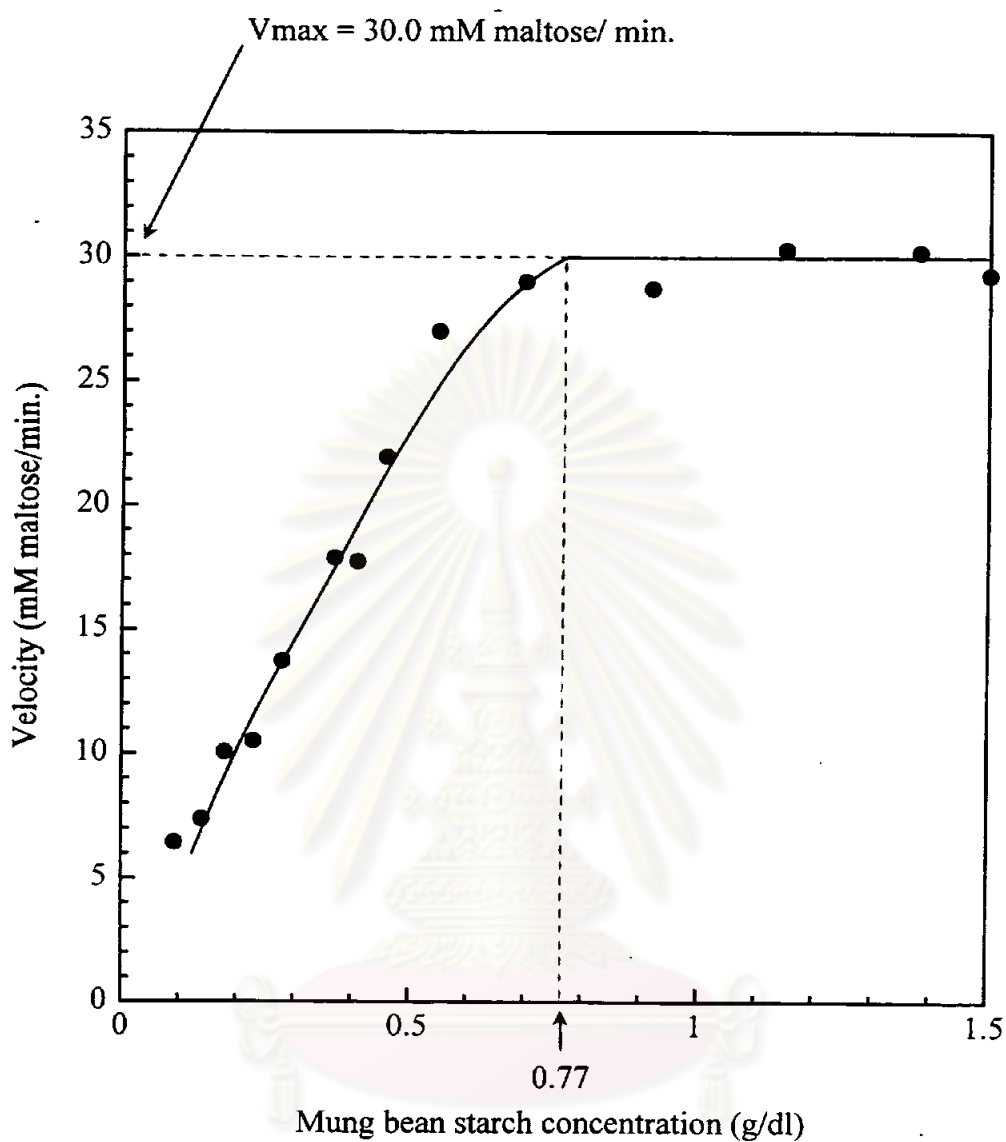
2.3 อัตราส่วนของบีต้า-อะไมเลสต่อแป้งข้าวเจ้า

จากการทดลองย่อยสารละลายแป้งข้าวเจ้าด้วยบีต้า-อะไมเลส ซึ่งมีความเข้มข้น 88.78 U ต่อเดซิลิตร เป็นเวลานาน 1 นาที โดยใช้ค่าความเป็นกรด-ด่าง 5.5 และอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และนำผลการทดลองคือความเร็วของปฏิกิริยาการย่อยที่ความเข้มข้นของแป้งข้าวเจ้าต่างๆมาเขียนกราฟ Substrate saturation curve ได้ความเร็วของปฏิกิริยาการย่อยสูงสุด (V_{max}) 30.0 มิลลิโมลาร์ของมอลโตสต่อนาที ค่าคงที่ Michaelis-Menten (K_m) 3.85 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และความเข้มข้นของแป้งข้าวเจ้า 0.77 กรัมต่อเดซิลิตรทำให้ความเร็วของปฏิกิริยาการย่อยสูงสุด เมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์คงที่ (ภาพที่ 9) หรือคำนวณเป็นอัตราส่วนของบีต้า-อะไมเลสต่อแป้งได้เท่ากับ 12.86 KU ต่อ 100 กรัม ทั้งนี้เพราะเอนไซม์มีตัวด้วยสปีดเทรทพอดี้ แสดงว่าอัตราส่วนของบีต้า-อะไมเลสต่อแป้งที่เหมาะสมที่สุดคือ 12.86 KU ต่อ 100 กรัม

2.4 เวลาที่ใช้ในการย่อยลิโคเฟสตาร์ชด้วยบีต้า-อะไมเลส

เพื่อหาเวลาที่บีต้า-อะไมเลสสิ้นสุดการย่อยลิโคเฟสตาร์ชจึงศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่ใช้ในการย่อยลิโคเฟสตาร์ชด้วยบีต้า-อะไมเลสและค่าสมมูลเดกซ์โตรสของเดกซ์ทรินผสม ที่ภาวะ คือ อัตราส่วนของบีต้า-อะไมเลสต่อแป้งข้าวเจ้าแห้ง 12.86 KU ต่อ 100 กรัม ค่าความเป็นกรด-ด่าง 5.5 และอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส โดยเตรียมลิโคเฟสตาร์ชจากการย่อยสารแขวนลอยแป้งข้าวเจ้า ซึ่งมีความเข้มข้น 20 กรัมต่อเดซิลิตร ด้วยแอลฟา-อะไมเลส เป็นเวลานาน 30 นาที ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง 5.0 และอุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส และใช้อัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งข้าวเจ้าแห้ง 3.32 และ 16.60 KNU ต่อ 100 กรัม

การย่อยลิโคเฟสตาร์ชที่เตรียมโดยใช้อัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งแห้ง 16.60 KNU ต่อ 100 กรัม ด้วยบีต้า-อะไมเลส โดยเพิ่มเวลาของการย่อยจนถึง 48 ชั่วโมง ทำให้ค่าสมมูลเดกซ์โตรสของเดกซ์ทรินผสมเพิ่มขึ้นจาก 8.51 ± 0.33 ถึง 35.12 ± 2.75 แต่การเพิ่มเวลาของการย่อยจาก 48 เป็น 96 ชั่วโมงไม่มีผลทำให้ค่าสมมูลเดกซ์โตรสของเดกซ์ทรินผสมเพิ่มขึ้น อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 การย่อยลิโคเฟสตาร์ชที่เตรียมโดยใช้อัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งแห้ง 3.32 KNU ต่อ 100 กรัม ด้วยบีต้า-อะไมเลส โดยเพิ่มเวลาของการย่อยจนถึง 72 ชั่วโมง ทำให้ค่าสมมูลเดกซ์โตรสเป็นเช่นเดียวกับข้างต้น แต่เมื่อเวลาเพิ่มขึ้นจาก 72 เป็น 96 ชั่วโมง ค่าสมมูลเดกซ์โตรสของเดกซ์ทรินผสมลดลงจาก 31.76 ± 0.93 เป็น 27.48 ± 0.58 อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ภาพที่ 10) ทั้งนี้เพราะเวลาของการย่อยนานขึ้น บีต้า-



ภาพที่ ๑ Substrate saturation curve ของการย่อยแป้งถั่วเขียวด้วยบีตา-อะไมเลส ที่ภาวะ

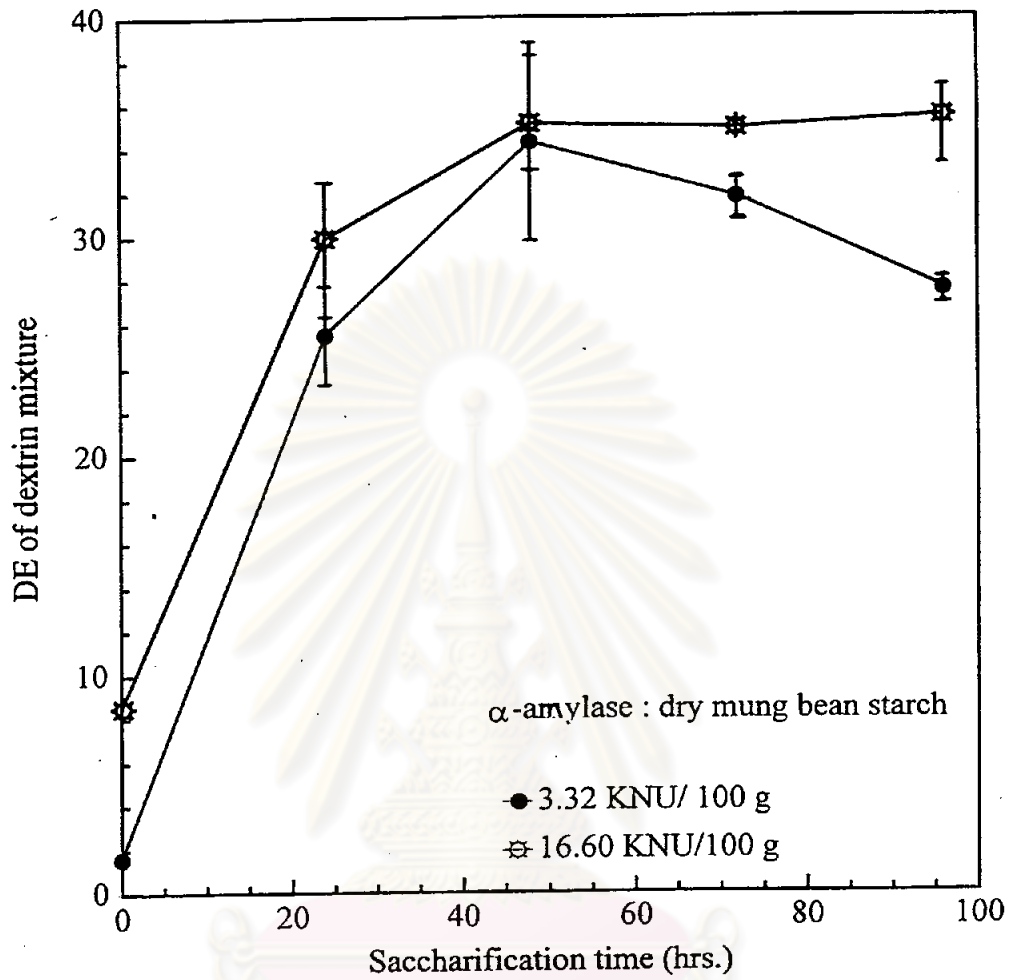
ความเข้มข้นของบีตา-อะไมเลส	88.78	U/เดซิลิตร
ค่าความเป็นกรด-ด่าง	5.5	
อุณหภูมิ	60	องศาเซลเซียส
เวลาของการย่อย	1	นาที

อะไมเลสย่อยลิโคเฟสตาไรซ์ได้ปริมาณมอลโตสเพิ่มขึ้น ทำให้ค่าสมมูลเดกรีโตรสของเดกรีทรินผสมสูงขึ้น ที่เวลาของการย่อยนานกว่า 48 ชั่วโมง ค่าสมมูลเดกรีโตรสของเดกรีทรินผสมไม่เพิ่มขึ้นเพราะปริมาณมอลโตสไม่เพิ่มขึ้น แสดงว่าบีต้า-อะไมเลสย่อยลิโคเฟสตาไรซ์เกือบหมดที่เวลา 48 ชั่วโมง และการที่ค่าสมมูลเดกรีโตรสลดลงภายหลังเวลา 72 ชั่วโมง เมื่อบีต้า-อะไมเลสย่อยลิโคเฟสตาไรซ์ที่เตรียมโดยใช้อัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งแห้ง 3.32 KNU ต่อ 100 กรัม เนื่องจากอะไมโลสที่มี degree of polymerization สูงกว่า 50 หน่วย เกิด ordered double helical structure ซึ่งทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์และขัดขวางการทำปฏิกิริยาของหมู่รีดิวซ์ โครงสร้างนี้มีปริมาณมากขึ้นเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น (Ring et al., 1987) ทำให้ค่าสมมูลเดกรีโตรสที่วัดได้ลดลง โดยการลดลงของค่าสมมูลเดกรีโตรสเด่นชัดขึ้นเมื่อปริมาณมอลโตสไม่เพิ่มขึ้น ภายหลังเวลา 72 ชั่วโมง

ผลการทดลอง แสดงให้เห็นว่า เวลาที่บีต้า-อะไมเลสสิ้นสุด การย่อยลิโคเฟสตาไรซ์ทั้งที่เตรียมจากการย่อยแป้งข้าวเจ้าด้วยแอลฟา-อะไมเลสที่อัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งข้าวเจ้าแห้ง เป็น 3.32 และ 16.60 KNU ต่อ 100 กรัม คือ 48 ชั่วโมง การทดลองต่อไปเตรียมลิโคเฟสตาไรซ์ โดยใช้อัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งข้าวเจ้าแห้งในช่วงตั้งแต่ 3.32 ถึง 16.60 KNU ต่อ 100 กรัม ดังนั้นเวลาที่เหมาะสมที่สุดในการย่อยลิโคเฟสตาไรซ์ด้วยบีต้า-อะไมเลส คือ 48 ชั่วโมง

เกณฑ์การเลือกภาวะที่ใช้ในขั้นตอนแซคคาริฟิเคชัน คือ ภาวะที่ทำให้ร้อยละของแอสตีวีสัมพัทธ์สูงสุด จากเกณฑ์นี้ทำให้เลือกได้ว่าภาวะที่เหมาะสมที่สุดสำหรับแซคคาริฟิเคชันคือค่าความเป็นกรด-ด่าง 5.5 อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 8 c และ d) และอัตราส่วนของบีต้า-อะไมเลสต่อแป้งแห้ง 12.86 KU ต่อ 100 กรัม แต่เกณฑ์การเลือกเวลาที่ใช้ในขั้นตอนแซคคาริฟิเคชันคือเวลาที่บีต้า-อะไมเลสสิ้นสุดการย่อยลิโคเฟสตาไรซ์ซึ่งก็คือ 48 ชั่วโมง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 10 ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่ใช้ในการย่อยลิโคเฟสคาร์ชด้วยบีต้า-อะไมเลส และค่าสมมูลเดกซ์โตรอสของเดกซ์ทรินผสม

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การผลิตบีต้า-ลิมิต เดกซ์ทริน

จากภาวะที่เหมาะสมที่สุดจากผลการทดลองข้างต้น นำมาใช้ในการผลิตบีต้า-ลิมิต เดกซ์ทริน โดยแปรอัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งข้าวเหนียวแห้งในขั้นตอนลิเคอแฟคชัน เป็น 3.32, 6.64, 9.96, 13.28 และ 16.60 KNU ต่อ 100 กรัม และติดตามผลการทดลองโดยการวิเคราะห์ค่าสมมูลเดกซ์โตรอสและปริมาณผลผลิตที่ได้ของลิเคอไฟสตาร์ช เดกซ์ทรินผสม บีต้า-ลิมิต เดกซ์ทริน และโอลิโกแซคคาไรด์ และการวิเคราะห์ความหนืดปรากฏของ ลิเคอไฟสตาร์ช เดกซ์ทรินผสม และบีต้า-ลิมิต เดกซ์ทริน ผลการทดลองมีรายละเอียดใน ขั้นตอนต่างๆ ดังนี้

1. ลิเคอแฟคชัน

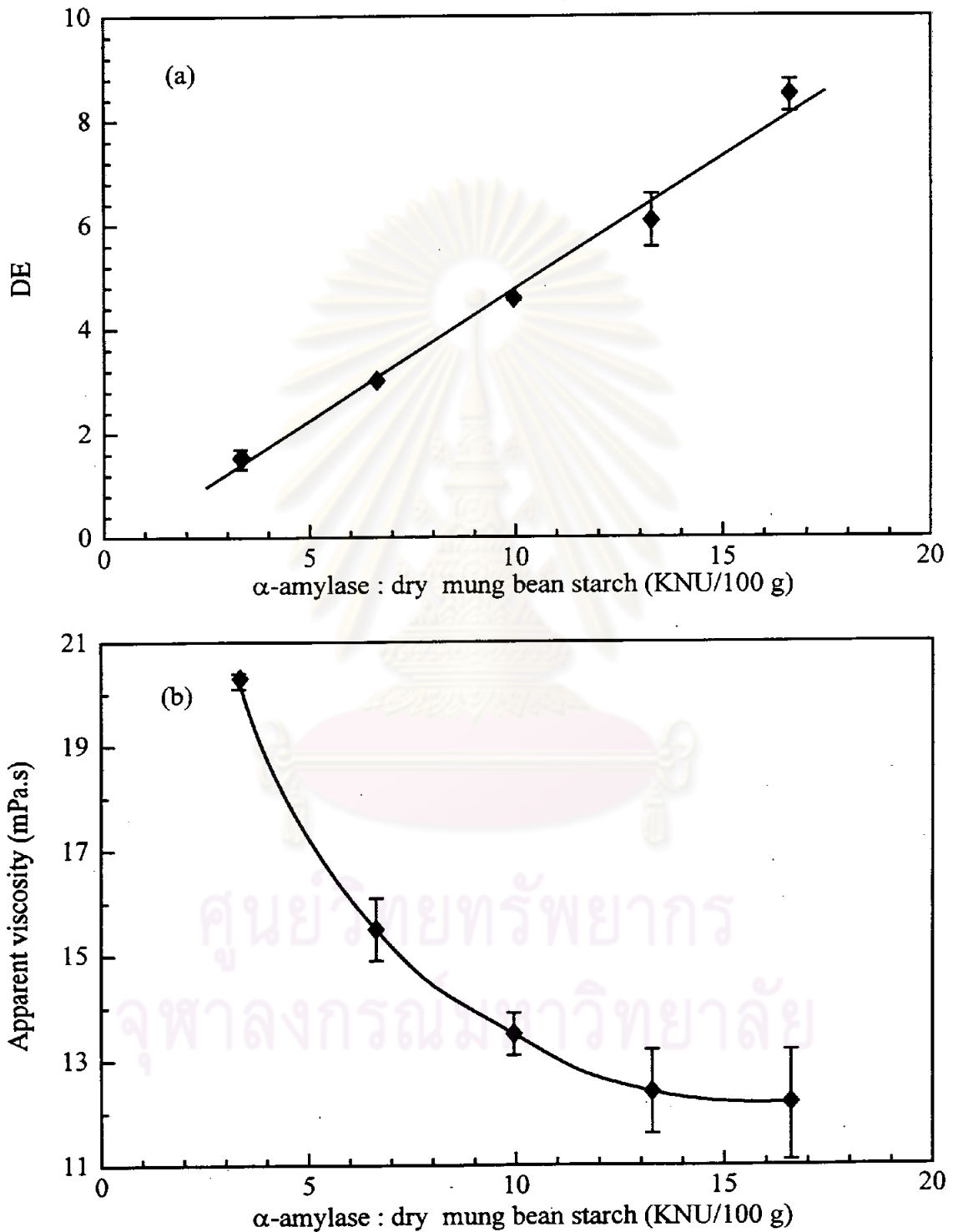
ผลของการเพิ่มอัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งแห้งในช่วง 3.32 ถึง 16.60 KNU ต่อ 100 กรัม ทำให้ค่าสมมูลเดกซ์โตรอสของลิเคอไฟสตาร์ชเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 11 a) อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 การเพิ่มค่าสมมูลเดกซ์โตรอสของลิเคอไฟสตาร์ช เป็นสัดส่วนโดยตรงกับอัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งแห้ง โดยอัตราการเพิ่มเป็น 0.51 หน่วยต่อ (KNU ต่อ 100 กรัม) (สมการที่ 1)

$$DE_{1.2} = 0.51X - 0.29 \quad (R^2 = 0.99) \quad (1)$$

เมื่อ $DE_{1.2}$ คือ ค่าสมมูลเดกซ์โตรอสของลิเคอไฟสตาร์ช

X คือ อัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งแห้ง (KNU ต่อ 100 กรัม)

ความหนืดปรากฏของลิเคอไฟสตาร์ช (วัดความหนืดปรากฏที่ความเข้มข้น 5 กรัมต่อเดซิลิตร อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และ shear rate $1,000 \text{ วินาที}^{-1}$) ลดลง ร้อยละ 24 และ 34 เมื่ออัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งแห้งเพิ่มขึ้นจาก 3.32 เป็น 6.64 และ 9.96 KNU ต่อ 100 กรัม ตามลำดับ แต่การเพิ่มอัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลส ต่อแป้งแห้งมากกว่า 9.96 KNU ต่อ 100 กรัม ไม่มีผลทำให้ความหนืดปรากฏลดลงอย่างมีนัย สำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ภาพที่ 11 b) ความสัมพันธ์ระหว่างความหนืดปรากฏ ของลิเคอไฟสตาร์ช และอัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งแห้งเป็นแบบ polynomial (สมการที่ 2)



ภาพที่ 11 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าสมมูลเดกซ์โตรส (a) และความหนืดปรากฏ (b) ของ
 ลิเคอไฟสตา์ชกับอัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งถั่วเขียวแห้ง

$$\eta_{sp./c} = 28.28 - 3.01X + 0.20X^2 - (4.33 \times 10^{-3})X^3 \quad (R^2 = 0.99) \quad (2)$$

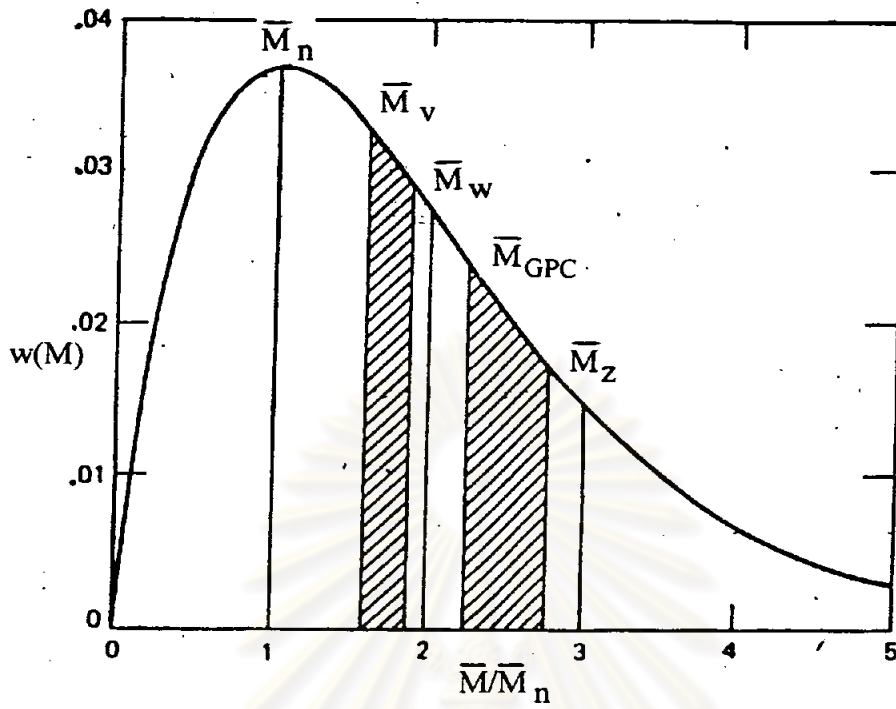
เมื่อ $\eta_{sp./c}$ คือ ความหนืดปรากฏของลิเคอไฟสตาร์ช (mPa.s)

X คือ อัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งแห้ง (KNU ต่อ 100 กรัม)

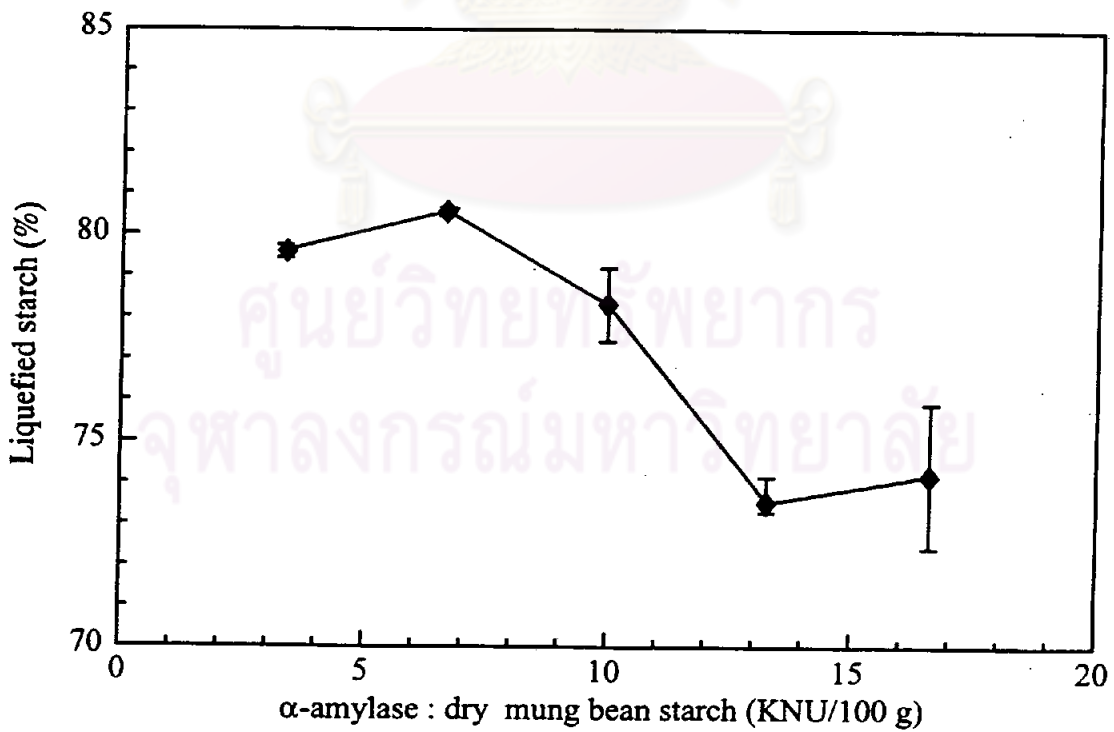
ค่าสมมูลเดกรีโตรสได้จากการวิเคราะห์ End group จึงมีความสัมพันธ์กับ Number average molecular weight (\bar{M}_n) (Billmeyer, 1962) ของลิเคอไฟสตาร์ช โดยค่าสมมูลเดกรีโตรสเพิ่มขึ้น เมื่อ \bar{M}_n ลดลง ในขณะที่ความหนืดปรากฏของลิเคอไฟสตาร์ช มีความสัมพันธ์กับ Viscosity average molecular weight (\bar{M}_v) โดยความหนืดปรากฏลดลงเมื่อ \bar{M}_v ลดลง ดังนั้นแสดงว่าการเพิ่มอัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งแห้งทำให้ได้ลิเคอไฟสตาร์ชที่มีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยลดลง

ตามปกติการกระจายของน้ำหนักโมเลกุลวัดจากอัตราส่วนของ \bar{M}_w (Weight average molecular weight) กับ \bar{M}_n (\bar{M}_w/\bar{M}_n) โดยที่ค่านี้เข้าใกล้ 1 เมื่อการกระจายของน้ำหนักโมเลกุลแคบลง น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยของสารพวกลิโพลิเมอร์และสารที่ได้จากการย่อยสลายพอลิเมอร์มี 5 ชนิด คือ \bar{M}_n , \bar{M}_v , \bar{M}_w , \bar{M}_{GPC} (Gel Permeable Chromatograph average molecular weight) และ \bar{M}_z (Z-average molecular weight) และน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยทั้ง 5 ชนิดมีความสัมพันธ์กัน ดังแสดงในภาพที่ 12 (Stevens, 1975) เมื่อการกระจายของน้ำหนักโมเลกุลกว้างขึ้น อัตราส่วนระหว่าง \bar{M}_w/\bar{M}_n , \bar{M}_v/\bar{M}_n , \bar{M}_{GPC}/\bar{M}_n และ/หรือ \bar{M}_z/\bar{M}_n มีค่าสูงขึ้น ดังนั้นจากการทดลองพบว่าเมื่ออัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งแห้งเพิ่มขึ้นในช่วง 9.96 ถึง 16.60 KNU ต่อ 100 กรัม ค่าสมมูลเดกรีโตรสของลิเคอไฟสตาร์ชเพิ่มขึ้น (ซึ่งแสดงว่าค่า \bar{M}_n ของลิเคอไฟสตาร์ชลดลง) ขณะที่ความหนืดปรากฏของลิเคอไฟสตาร์ชไม่เปลี่ยนแปลง (ซึ่งแสดงว่าค่า \bar{M}_v ของลิเคอไฟสตาร์ชไม่เปลี่ยนแปลง) ทำให้ค่า \bar{M}_w/\bar{M}_n สูงขึ้น แสดงว่าการกระจายของน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยของลิเคอไฟสตาร์ชกว้างขึ้น เมื่ออัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งแห้งเพิ่มขึ้นในช่วงนี้

จากการวิเคราะห์หาปริมาณร้อยละของลิเคอไฟสตาร์ชที่ได้จากการย่อยแป้งแห้งพบว่า การย่อยแป้งข้าวเหนียวด้วยแอลฟา-อะไมเลสให้ลิเคอไฟสตาร์ชในปริมาณร้อยละ 74 ถึง 80 โดยน้ำหนักแห้ง โดยที่ปริมาณร้อยละของลิเคอไฟสตาร์ชมีแนวโน้มลดลงเมื่ออัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งแห้งเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 13) ปรากฏการณ์นี้ก็พบในการย่อยแป้งมันสำปะหลังด้วยแอลฟา-อะไมเลสเพื่อผลิตมอลโทเดกรีทริน (จิราวัฒน์ ทิตติชกุล, 2537) ปรากฏการณ์นี้มักเกิดควบคู่กับการที่ค่าสมมูลเดกรีโตรสของลิเคอไฟสตาร์ชที่ได้เพิ่มขึ้นเมื่ออัตราส่วนของแอลฟา-



ภาพที่ 12 การกระจายของน้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์ (Stevens, 1975)



ภาพที่ 13 ความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละของลิควิเฟสตา์ชที่ได้จากการย่อยแป้งแห้งและอัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งถั่วเขียวแห้ง

อะไมเลสต่อแป้งแห้งเพิ่มขึ้น (Brooks and Griffin, 1989) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากหลังจากที่แอลฟา-อะไมเลสย่อยโมเลกุลแป้งที่อยู่รอบผิวของเม็ดแป้ง (starch granule) แล้วลำดับต่อไปแอลฟา-อะไมเลสในส่วนหนึ่งจะย่อยโมเลกุลแป้งที่ผิวใหม่ของเม็ดแป้ง แต่อีกส่วนหนึ่งจะย่อยโมเลกุลของแป้งที่ถูกย่อยแล้วต่อ เพราะการย่อยของแอลฟา-อะไมเลสเป็นแบบ Multiple attack (Fanks and Greenwood, 1975; Fogarty, 1983; Reilly, 1985) ซึ่งอาจทำให้เกิดเดกซ์ทรินที่มีน้ำหนักโมเลกุลเล็ก เช่น แอลฟา-เดกซ์ทริน มอลโตส หรือกลูโคส ก่อนโมเลกุลของแป้งถูกย่อยหมด การเพิ่มอัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งแห้ง คือ การเพิ่มจำนวนโมเลกุลของแอลฟา-อะไมเลสต่อโมเลกุลของแป้ง (ตารางที่ 8) ซึ่งเป็นผลทำให้แป้งแต่ละโมเลกุลถูกย่อยออกเป็นโมเลกุลย่อยที่มีน้ำหนักโมเลกุลน้อยลง แต่มีจำนวนสายมากขึ้น (ค่าสมมูลเดกซ์โตรสของลิเคอไฟสตาร์ชสูงขึ้น) ดังนั้นการเพิ่มอัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งแห้งมีผลทำให้เพิ่มปริมาณเดกซ์ทรินน้ำหนักโมเลกุลเล็ก เช่น แอลฟา-เดกซ์ทริน ปริมาณมอลโตสและกลูโคส สารเหล่านี้เป็นตัวยับยั้งการทำงานของแอลฟา-อะไมเลส (Jain, 1982) ปริมาณแอลฟา-เดกซ์ทริน มอลโตสและกลูโคสที่เพิ่มมากขึ้นนี้ไปยับยั้งการทำงานของแอลฟา-อะไมเลสมากขึ้นจึงเป็นผลให้ปริมาณลิเคอไฟสตาร์ชลดลง

ตารางที่ 8 ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนโมเลกุลของแอลฟา-อะไมเลสที่ย่อยโมเลกุลของแป้ง
ถั่วเขียว 1 โมเลกุล และอัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งถั่วเขียวแห้ง

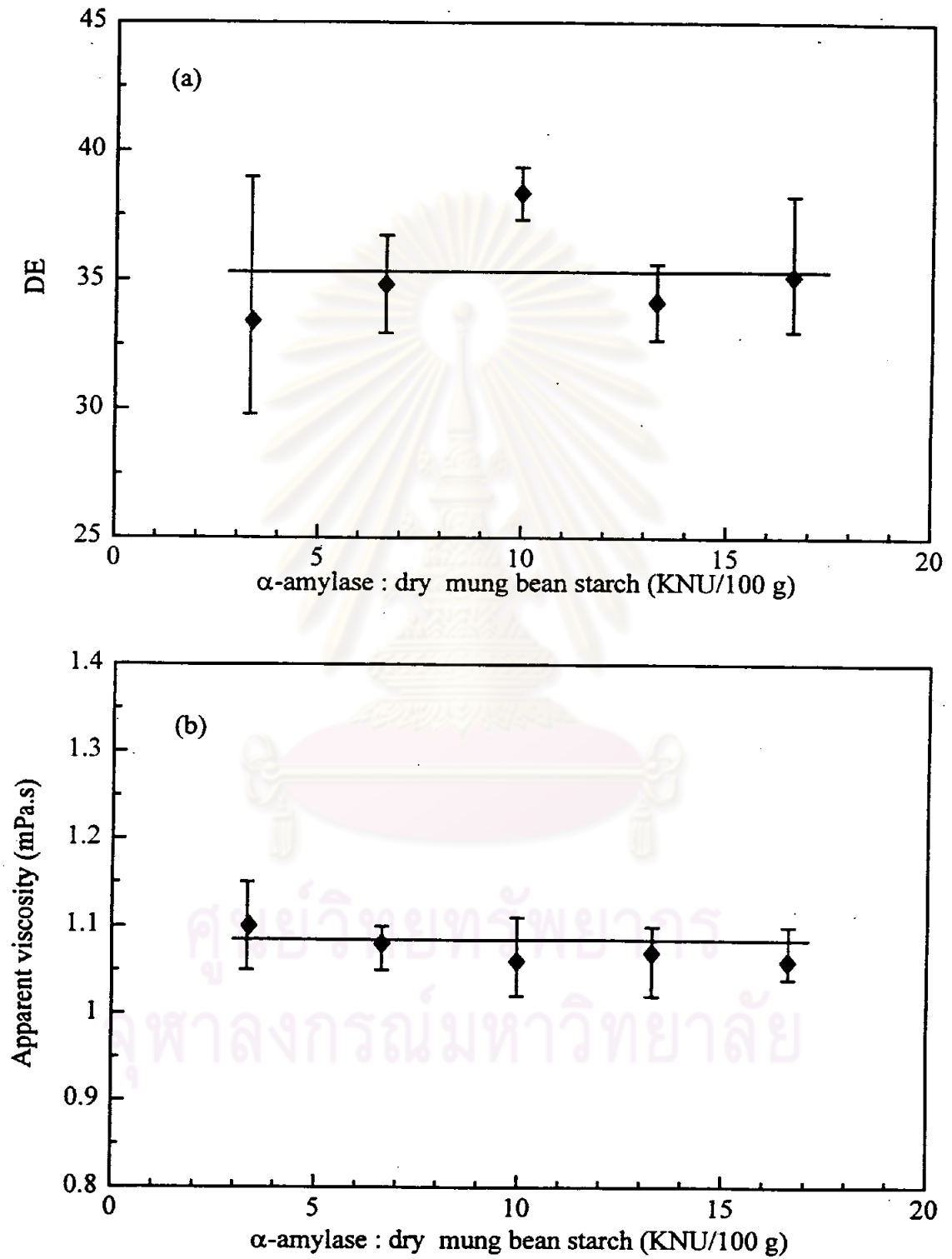
อัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งถั่วเขียวแห้ง (KNU ต่อ 100 กรัม)	จำนวนโมเลกุลของแอลฟา-อะไมเลสต่อ โมเลกุลของแป้ง 1 โมเลกุล*
3.32	1
6.64	2
9.96	3
13.28	4
16.60	6

* คำนวณจาก (น้ำหนักของแอลฟา-อะไมเลสที่ใช้/น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยของแอลฟา-อะไมเลส)
ต่อ (100/น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยของโมเลกุลแป้งในแป้งถั่วเขียว) แสดงรายละเอียดวิธีคำนวณในภาคผนวก ง

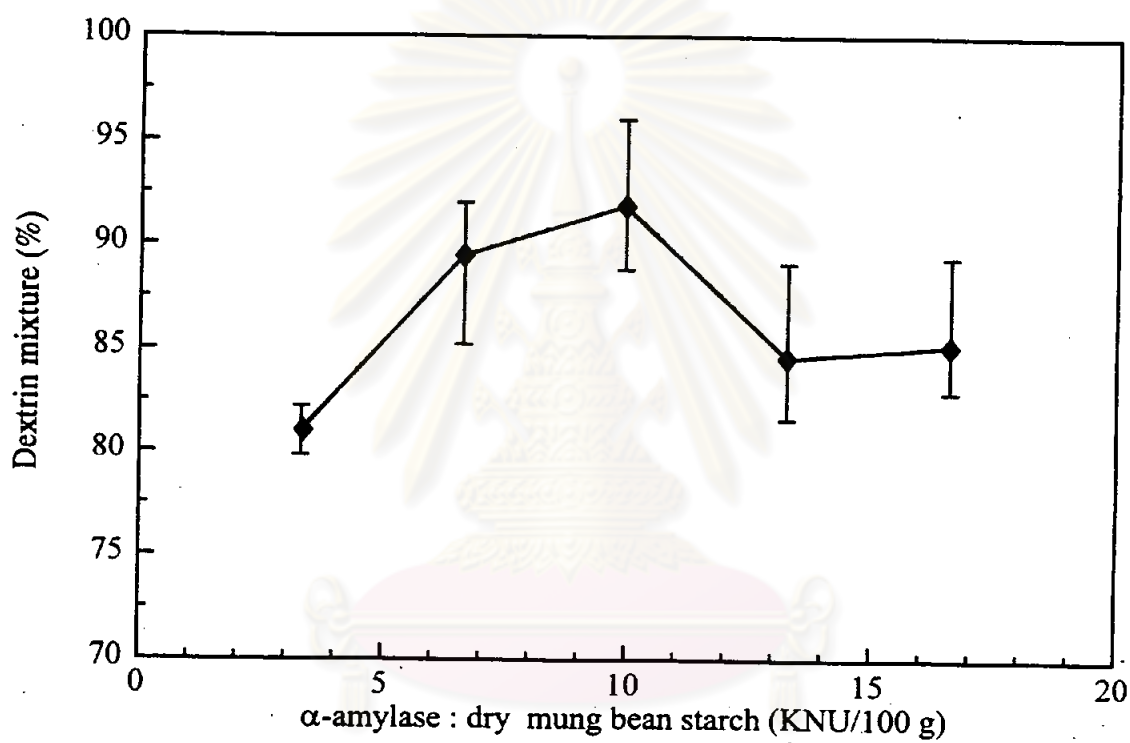
2. แชคคาริไฟเคชัน

เมื่อนำลิโคเฟสตาไรซ์ที่ได้จากการย่อยในชั้นตอนลิโคแฟคชันด้วยอัตราส่วนของ แอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งแห้งต่างกันมาย่อยต่อด้วยบีต้า-อะไมเลสที่ภาวะค่าความเป็นกรด-ต่าง 5.5 อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส อัตราส่วนของบีต้า-อะไมเลสต่อแป้งแห้ง 12.86 KU ต่อ 100 กรัม เป็นเวลานาน 48 ชั่วโมง ได้เดกซ์ทรินผสมซึ่งประกอบด้วยบีต้า-ลิมิต เดกซ์ทริน มอลโตส มอลโตไตรโอส และ branched dextrin (Yoshida *et al.*, 1989; Nebesny; 1990b) จากการวิเคราะห์หาค่าสมมูลเดกซ์โตรสและการวัดค่าความหนืดปรากฏ (ที่ความเข้มข้น 5 กรัมต่อเดซิลิตร อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสและ shear rate $1,000 \text{ วินาที}^{-1}$) ของเดกซ์ทรินผสม พบว่าทั้งค่าสมมูลเดกซ์โตรสและความหนืดปรากฏของเดกซ์ทรินผสมที่ได้จากการย่อยลิโคเฟสตาไรซ์ที่ได้จากการแปรอัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลส ในช่วง 3.32 ถึง 16.60 KNU ต่อ 100 กรัม ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ภาพที่ 14) แสดงว่าการแปรน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยของลิโคเฟสตาไรซ์ไม่สามารถนำมาใช้ในการผลิตเพื่อให้ได้เดกซ์ทรินผสมที่มีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยต่างกัน

จากการวิเคราะห์หาปริมาณร้อยละของเดกซ์ทรินผสมต่อแป้งแห้ง พบว่าการย่อยลิโคเฟสตาไรซ์ด้วยบีต้า-อะไมเลสให้ปริมาณเดกซ์ทรินผสมเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 81 เป็น 90 เมื่ออัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งแห้งในชั้นตอนลิโคแฟคชันเพิ่มขึ้นจาก 3.32 เป็น 6.64 KNU ต่อ 100 กรัม แต่การเพิ่มอัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งแห้งในช่วง จาก 6.64 ถึง 16.60 KNU ต่อ 100 กรัม ไม่เพิ่มปริมาณเดกซ์ทรินผสมที่ได้ อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ภาพที่ 15) ปริมาณร้อยละของเดกซ์ทรินผสมสูงกว่าปริมาณร้อยละของลิโคเฟสตาไรซ์ซึ่งใช้ในการเริ่มต้นของชั้นตอนนี้ที่ทุกอัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งแห้งในช่วง 3.32 ถึง 16.60 KNU ต่อ 100 กรัม โดยความแตกต่างเท่ากับร้อยละ 2 ถึง 15 (ภาพที่ 15 และ 13) ทั้งนี้เพราะเม็ดแป้งส่วนที่ไม่ถูกย่อยจากชั้นตอนลิโคแฟคชันยังคงผสมอยู่ในลิโคเฟสตาไรซ์ และถึงแม้ว่าบีต้า-อะไมเลสไม่สามารถย่อยเม็ดแป้งที่บริเวณซึ่งมีพันธะไกลโคซิดที่ α -(1,6) ของอะไมโลเพคติน แต่สามารถย่อยโมเลกุลของอะไมโลสที่รอบผิวของเม็ดแป้งนั้นได้ (Williamson *et al.*, 1992) รวมทั้งอาจมีโมเลกุลของแป้งบนผิวเม็ดแป้งซึ่งถูกย่อยด้วยแอลฟา-อะไมเลสในชั้นตอนลิโคแฟคชัน และยังไม่ได้เคลื่อนย้ายออกมาจากผิวเม็ดแป้งซึ่งทำให้ค่าที่วิเคราะห์ได้ในตอนแรกน้อยกว่าที่เป็นจริง เนื่องจากไม่ได้เขย่าก่อนวัดหาปริมาณลิโคเฟสตาไรซ์ เพื่อช่วยการถ่ายเทโมเลกุลแป้งส่วนนี้ออกมา ในระหว่างแชคคาริไฟเคชันมีการให้แรงเขย่าเป็นเวลานานถึง 48 ชั่วโมงทำให้ลิโคเฟสตาไรซ์ที่ยังบนเม็ดแป้งละลายออกมา ดังนั้นปริมาณเดกซ์ทรินผสมที่ได้จึงสูงกว่าลิโคเฟสตาไรซ์ที่ใช้เริ่มต้นในชั้นตอนนี้



ภาพที่ 14 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าสมมูลเดกซ์โตรส (a) และความหนืดปรากฏ (b) ของเดกซ์ทรินผสมกับอัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งข้าวเหนียว



ภาพที่ 15 ความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละของเดกซ์ทรินผสมที่ได้จากการย่อยแป้งแห้ง และอัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งข้าวเหนียวแห้ง

3. การทำให้บริสุทธิ์

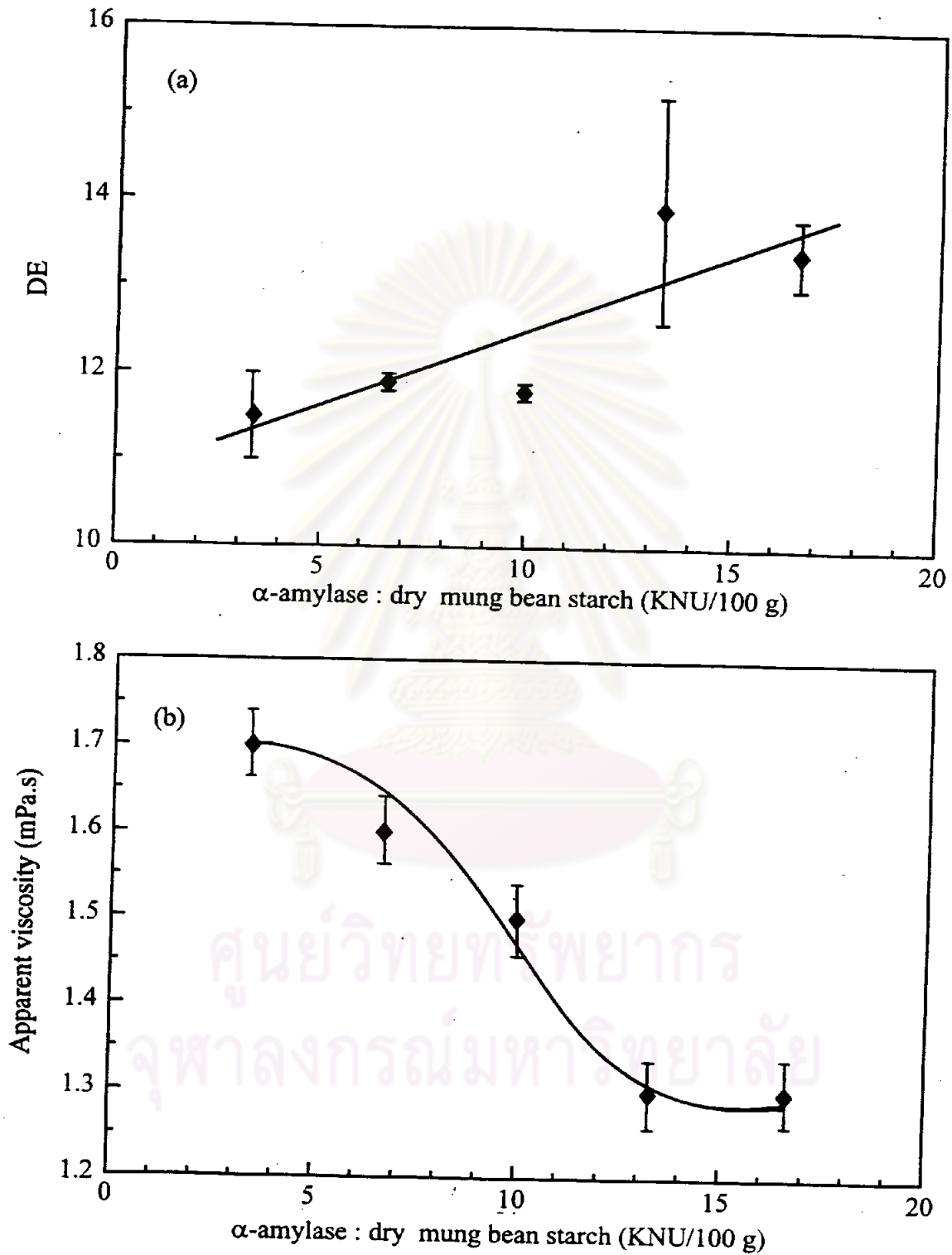
เพื่อแยกบีต้า-ลิมิต เดกซ์ทรินซึ่งเป็นสารที่ต้องการผลิตในงานวิจัยนี้ จึงนำ เดกซ์ทรินผสมที่ได้จากขั้นตอนแซคคาไรดีเคชัน มาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 10 ชั่วโมง เพื่อตกตะกอนอะไมโลสที่ไม่ถูกย่อย และปั่นแยกตะกอนที่ 5,000 รอบต่อนาที เพื่อแยกตะกอนอะไมโลสที่เกิดขึ้นและตะกอนเอนไซม์ที่เสีสภาพธรรมชาติ แล้วนำสารละลายเดกซ์ทรินผสมมาไดแอลลิสที่ molecular weight cut off 12,000 แยกบีต้า-ลิมิต เดกซ์ทรินซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยสูงกว่า 12,000 (Kaper *et al.*, 1987) ออกจากโอลิโกแซคคาไรด์ซึ่งประกอบด้วยมอลโตส มอลโตไตรโอสและ branched dextrin จากการวิเคราะห์ค่าสมมูลเดกซ์โตรสของบีต้า-ลิมิต เดกซ์ทรินและโอลิโกแซคคาไรด์ พบว่า ค่าสมมูลเดกซ์โตรสของบีต้า-ลิมิต เดกซ์ทรินเพิ่มขึ้นเป็นสัดส่วนโดยตรง กับอัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งแห้งที่ใช้ในขั้นตอนลิเคอแฟชัน (ภาพที่ 16 a และสมการที่ 3) แต่ค่าสมมูลเดกซ์โตรสของโอลิโกแซคคาไรด์ไม่มีความสัมพันธ์กับอัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งแห้งที่ใช้ในขั้นตอนลิเคอแฟชัน (ภาพที่ 17 a)

$$DE_p = 10.76 + 0.18X \quad (R^2 = 0.73) \quad (3)$$

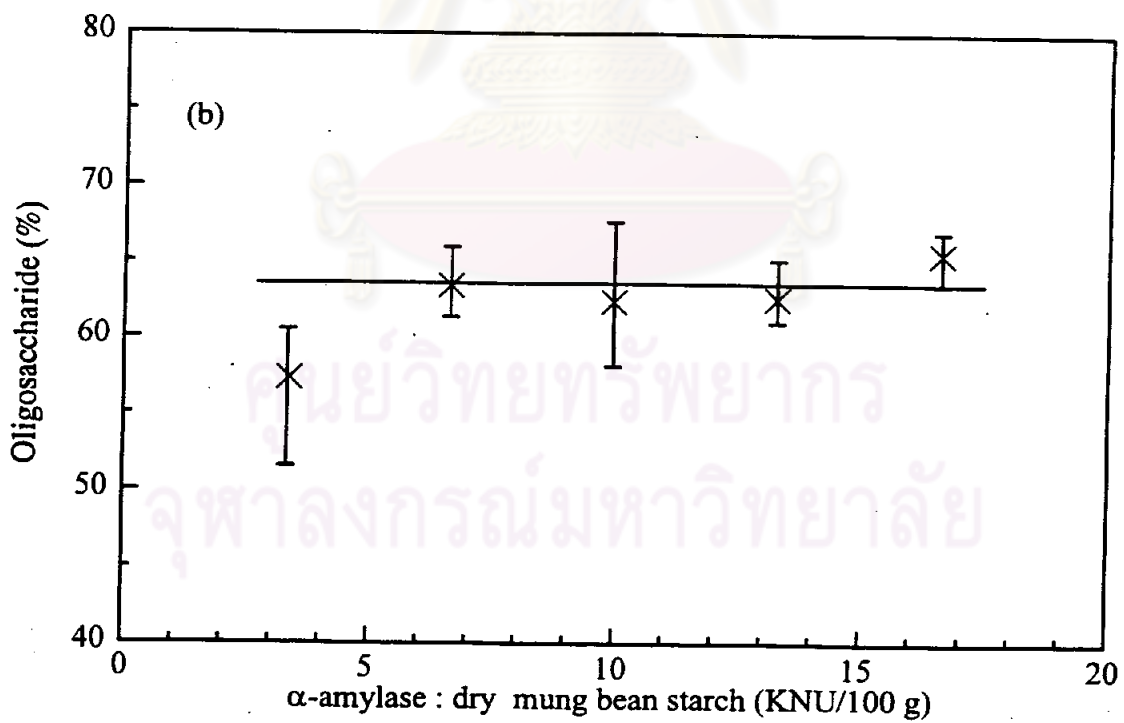
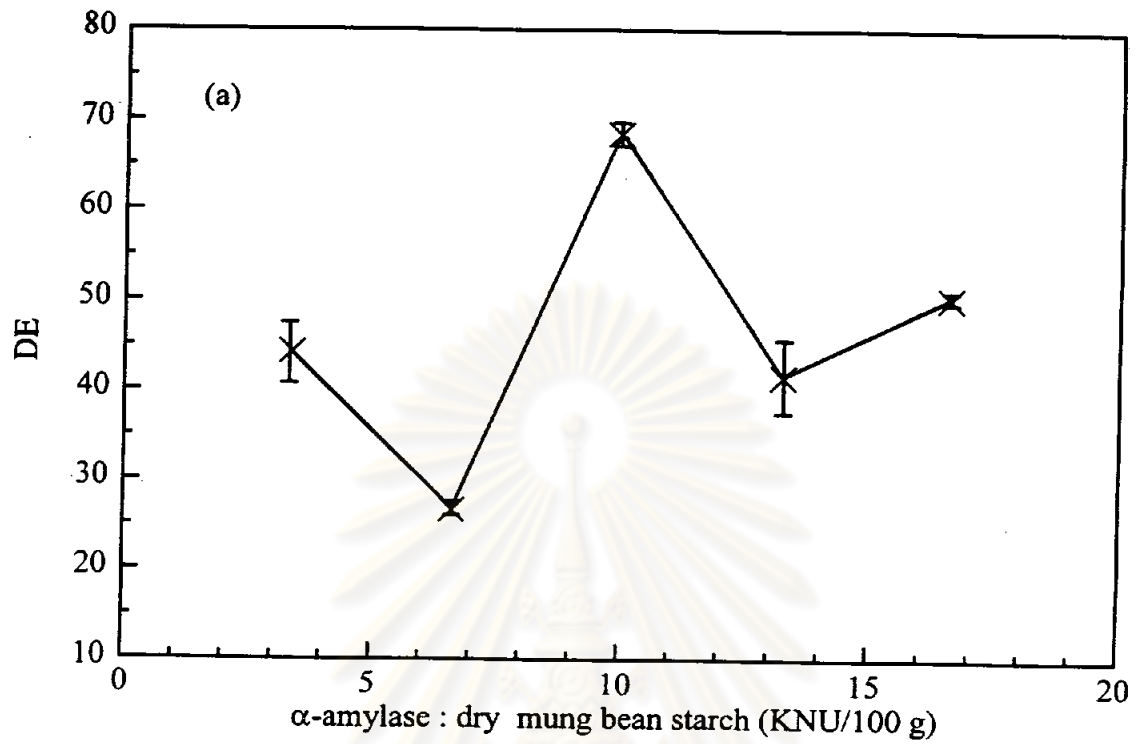
เมื่อ DE_p คือ ค่าสมมูลเดกซ์โตรสของบีต้า-ลิมิต เดกซ์ทริน

X คือ อัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งแห้ง (KNU ต่อ 100 กรัม)

ความหนืดปรากฏของบีต้า-ลิมิต เดกซ์ทริน (วัดที่ความเข้มข้น 5 กรัมต่อเดซิลิตร อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และ shear rate 300 วินาที^{-1}) ลดลง ร้อยละ 4, 12 และ 20 เมื่ออัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งแห้งเพิ่มขึ้นจาก 3.32 เป็น 6.64, 9.96 และ 13.28 KNU ต่อ 100 กรัม ตามลำดับ แต่การเพิ่มอัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งแห้งจาก 13.28 เป็น 16.60 KNU ต่อ 100 กรัม ไม่มีผลทำให้ความหนืดปรากฏของลิเคอไฟสตาร์ชลดลงอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ภาพที่ 16 b) ความสัมพันธ์ระหว่างความหนืดปรากฏของบีต้า-ลิมิต เดกซ์ทริน และอัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งแห้งเป็นแบบ polynomial (สมการที่ 4)



ภาพที่ 16 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าสมมูลเดกรีโตรส (a) และความหนืดปรากฏ (b) ของ บีต้า-ลิมิต เดกรีทรินกับอัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งถั่วเขียวแห้ง



ภาพที่ 17 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าสมมูลเดกซ์โตรสของโอลิโกแซคคาไรด์ (a) และ ร้อยละของโอลิโกแซคคาไรด์ที่ได้จากการย่อยแป้งแห้ง (b) กับอัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งข้าวเขียวแห้ง

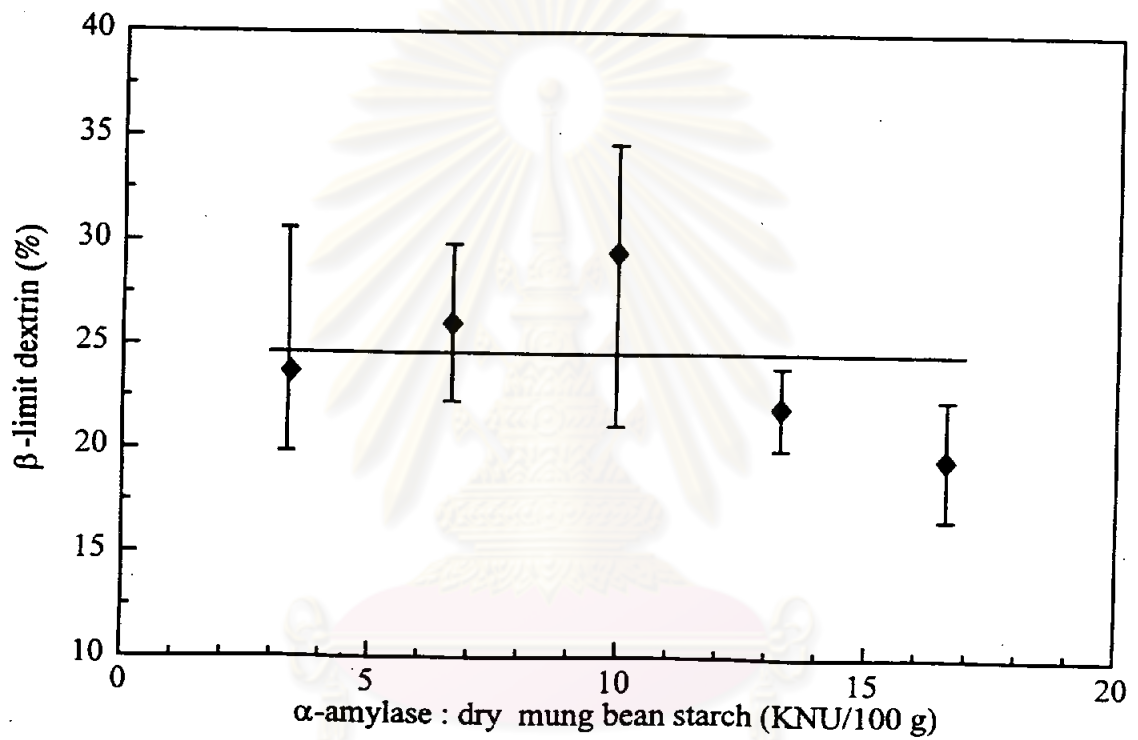
$$q_{\text{.....}} = 1.58 + (7.24 \times 10^{-2})X - (1.20 \times 10^{-2})X^2 + (4.55 \times 10^{-4})X^3 \quad (R^2 = 0.98) \quad (4)$$

เมื่อ $q_{\text{.....}}$ คือ ความหนืดปรากฏของบีต้า-ลิมิต เดกซ์ทริน (mPa.s)

X คือ อัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งแห้ง (KNU ต่อ 100 กรัม)

เนื่องจากค่าสมมูลเดกซ์โตรสเพิ่มขึ้นและความหนืดปรากฏลดลง มีความสัมพันธ์กับน้ำหนักโม่เลกุลเฉลี่ยลดลง ดังอธิบายแล้วในขั้นตอนลิเคอแฟชัน (ข้อ 1 ในหัวข้อการผลิตบีต้า-ลิมิต เดกซ์ทริน บทที่ 4) จากผลการทดลองข้างต้นพบว่า บีต้า-ลิมิต เดกซ์ทรินที่ผลิตได้มีค่าสมมูลเดกซ์โตรสเพิ่มขึ้นและความหนืดปรากฏลดลง เมื่ออัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งแห้งเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 16) แสดงว่าการเพิ่มอัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งแห้งในขั้นตอนลิเคอแฟชันทำให้ได้บีต้า-ลิมิต เดกซ์ทรินที่มีน้ำหนักโม่เลกุลเฉลี่ยลดลง แต่ไม่มีผลในการลดปริมาณร้อยละของบีต้า-ลิมิต เดกซ์ทรินที่ได้จากการย่อยแป้งแห้ง อย่างไรก็ตามมีความสำคัญที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 95 (ภาพที่ 18) การผลิตบีต้า-ลิมิต เดกซ์ทรินจากแป้งถั่วเขียวซึ่งมีอัตราส่วนของอะไมโลเพคตินต่ออะไมโลสเป็น 70 ต่อ 30 ด้วยการย่อยแป้งด้วยแอลฟา-อะไมเลสและบีต้า-อะไมเลสทำให้ได้อัตราส่วนของปริมาณบีต้า-ลิมิต เดกซ์ทรินต่อปริมาณโพลิโกแซคคาไรด์เป็น 30 ต่อ 70 (คำนวณจากปริมาณบีต้า-ลิมิต เดกซ์ทรินในภาพที่ 18 ต่อปริมาณโพลิโกแซคคาไรด์ในภาพที่ 17 b) วิธีนี้ทำให้ได้ปริมาณร้อยละของบีต้า-ลิมิต เดกซ์ทรินต่ำกว่าถึง 2 เท่า เมื่อเทียบกับวิธีการย่อยแป้งด้วยบีต้า-อะไมเลสก่อนแอลฟา-อะไมเลส (Kaper *et al.*, 1987) เพราะสาเหตุสำคัญ 3 ประการคือ ลำดับการย่อยแป้ง ปริมาณร้อยละของอะไมโลเพคตินในแป้งและระดับของการย่อยด้วยแอลฟา-อะไมเลส แต่อย่างไรก็ตามการย่อยแป้งด้วยวิธีที่ใช้ในการทดลองนี้สามารถแปรน้ำหนักโม่เลกุลเฉลี่ยของบีต้า-ลิมิต เดกซ์ทริน และยังช่วยลดขั้นตอนการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียสก่อนการย่อยแป้งด้วยบีต้า-อะไมเลส เพราะบีต้า-อะไมเลสไม่สามารถย่อยเม็ดแป้งต่อได้ เมื่อย่อยถึงบริเวณที่มีพันธะไกลโคซิดที่ α -(1,6) ของอะไมโลเพคติน แต่พันธะไกลโคซิดที่ α -(1,6) ไม่จำกัดการย่อยของแอลฟา-อะไมเลส (Williamson *et al.*, 1992) ดังนั้นถ้าเริ่มต้นการย่อยเม็ดแป้งด้วยบีต้า-อะไมเลสจึงจำเป็นต้องให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียส เป็นเวลานานจนกระทั่งเม็ดแป้งเกิดเจลาติไนเซชันอย่างสมบูรณ์ก่อนการย่อยแป้งด้วยบีต้า-อะไมเลส (Kaper *et al.*, 1987)

จากผลการทดลองข้างต้นทำให้สรุปได้ว่า การแปรน้ำหนักโม่เลกุลเฉลี่ยของลิเคอ-ไฟสคาร์ช โดยการแปรอัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งแห้งที่ใช้ในขั้นตอนลิเคอแฟชันสามารถนำมาใช้ในการผลิตบีต้า-ลิมิต เดกซ์ทริน เพื่อให้ได้บีต้า-ลิมิต เดกซ์ทรินที่มี M_n ต่างๆกัน



ภาพที่ 18 ความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละของบีตา-ลิมิต เดกซ์ทรินที่ได้จากการย่อยแป้งแห้ง กับอัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งถั่วเขียวแห้ง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การศึกษาสมบัติทางเคมีและกายภาพของบีต้า-ลิมิต เดกซ์ทรินที่ผลิตได้

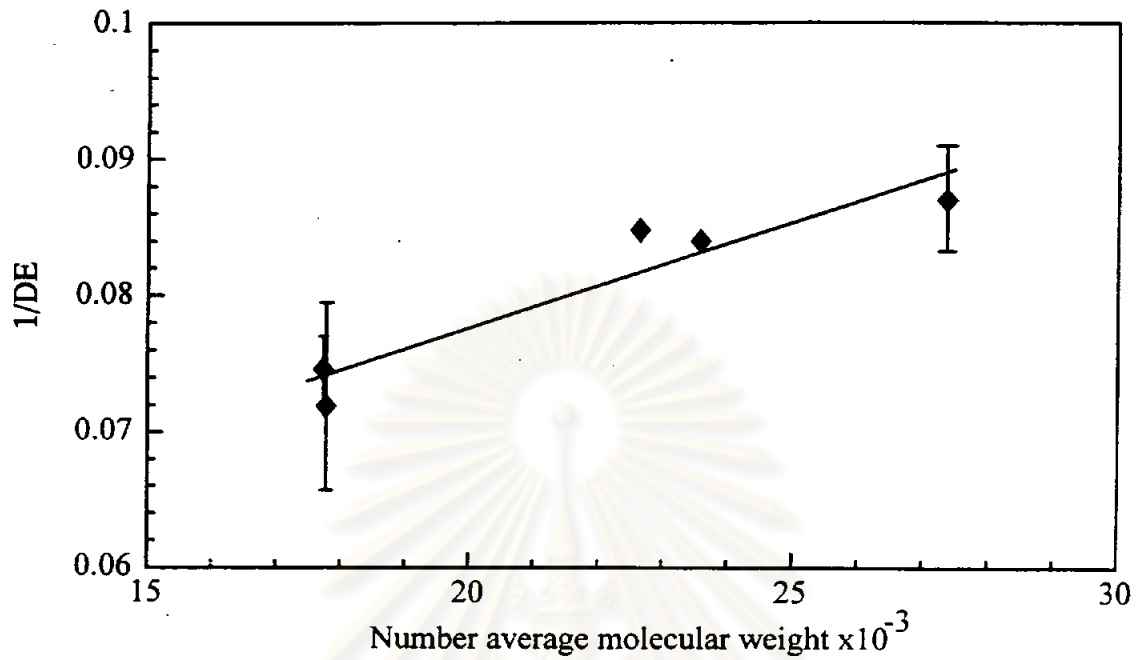
1. น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยจำนวน (Number average molecular weight, \bar{M}_n)

จากการหา \bar{M}_n ของบีต้า-ลิมิต เดกซ์ทรินด้วยวิธี freezing point depression พบว่า \bar{M}_n ของบีต้า-ลิมิต เดกซ์ทรินมีค่าเท่ากับ 27363 ± 184 , 23588 ± 16 , 22645 ± 212 , 17784 ± 46 และ 17738 ± 192 สำหรับบีต้า-ลิมิต เดกซ์ทรินซึ่งผลิตจากการใช้อัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งแห้งในชั้นตอนลิเคอแฟคชันเท่ากับ 3.32, 6.64, 9.96, 13.28 และ 16.60 ตามลำดับ (ตารางที่ 9) ผลการทดลองแสดงว่า การผลิตบีต้า-ลิมิต เดกซ์ทรินที่มี \bar{M}_n ต่างๆกันได้ โดยการแปรอัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งแห้งในชั้นตอนลิเคอแฟคชัน นอกจากนี้ยังพบว่า \bar{M}_n และค่าสมมูลเดกโตรอสของบีต้า-ลิมิต เดกซ์ทรินมีความสัมพันธ์กันแบบผกผัน (ภาพที่ 19 และสมการ 5) แสดงว่าความหวานของบีต้า-ลิมิต เดกซ์ทรินซึ่งวัดได้จากค่าสมมูลเดกโตรอสขึ้นอยู่กับ \bar{M}_n ของบีต้า-ลิมิต เดกซ์ทริน

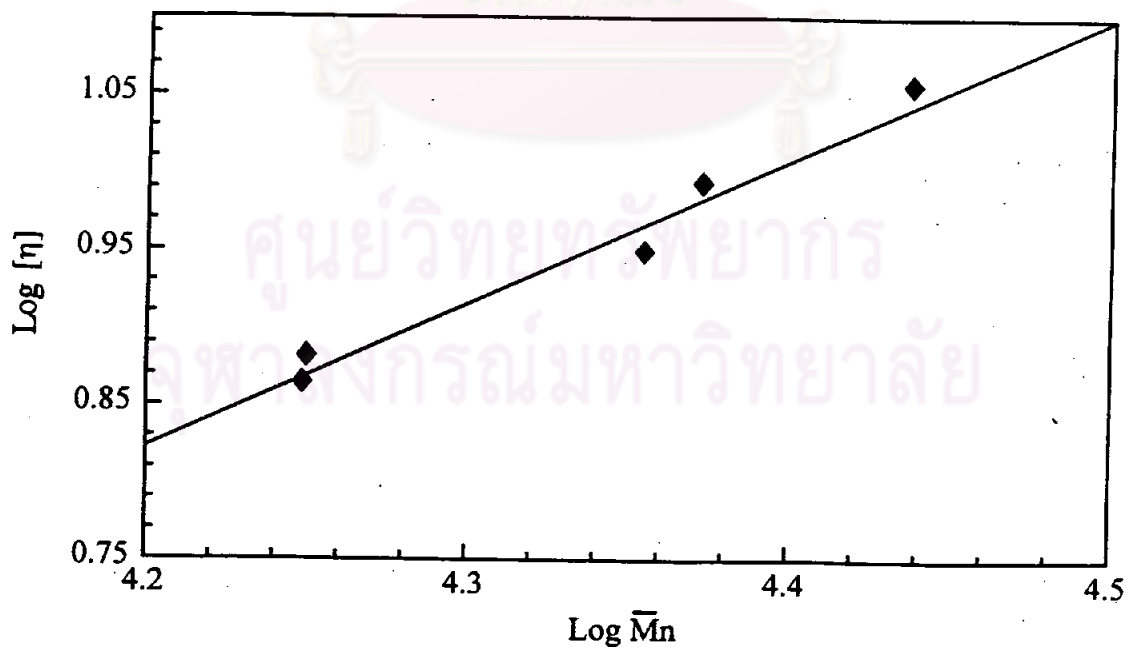
ตารางที่ 9 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งแห้งกับน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยและสมบัติทางการไหลของบีต้า-ลิมิต เดกซ์ทริน

อัตราส่วนของ แอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งแห้ง ที่ใช้ในชั้นตอนลิเคอแฟคชัน (KNU/100 กรัม)	\bar{M}_n	สมบัติทางการไหล		
		$[\eta]$ (มิลลิลิตร/กรัม)	Yield stress (mPa.)	ครรชนความหนืด (mPa.s)
3.32	27363 ± 184	11.39 ± 0.34	703.28 ± 50.01	6.69 ± 0.18
6.64	23588 ± 16	9.70 ± 0.16	316.87 ± 32.53	3.50 ± 0.10
9.96	22645 ± 212	8.89 ± 0.26	261.91 ± 36.06	3.41 ± 0.07
13.28	17783 ± 46	7.62 ± 0.15	165.77 ± 41.32	2.79 ± 0.13
16.60	17738 ± 192	7.33 ± 0.23	143.59 ± 24.12	2.53 ± 0.10

หมายเหตุ $[\eta]$ คือ intrinsic viscosity



ภาพที่ 19 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าสมมูลเลขโคตรสและ \bar{M}_n ของบีต้า-ลิมิต เดกซ์ทรีน



ภาพที่ 20 ความสัมพันธ์ระหว่าง intrinsic viscosity ($[\eta]$ ในหน่วย มิลลิลิตรต่อกรัม) และ \bar{M}_n ของบีต้า-ลิมิต เดกซ์ทรีน

$$1/DE_p = 0.0466 - (1.5 \times 10^{-6}) \bar{M}_n \quad (R^2 = 0.89) \quad (5)$$

เมื่อ DE_p คือ ค่าสมมูลเดกซ์โตรสของบีต้า-ลิมิต เดกซ์ทริน
 \bar{M}_n คือ \bar{M}_n ของบีต้า-ลิมิตเดกซ์ทริน

2. Intrinsic viscosity ($[\eta]$)

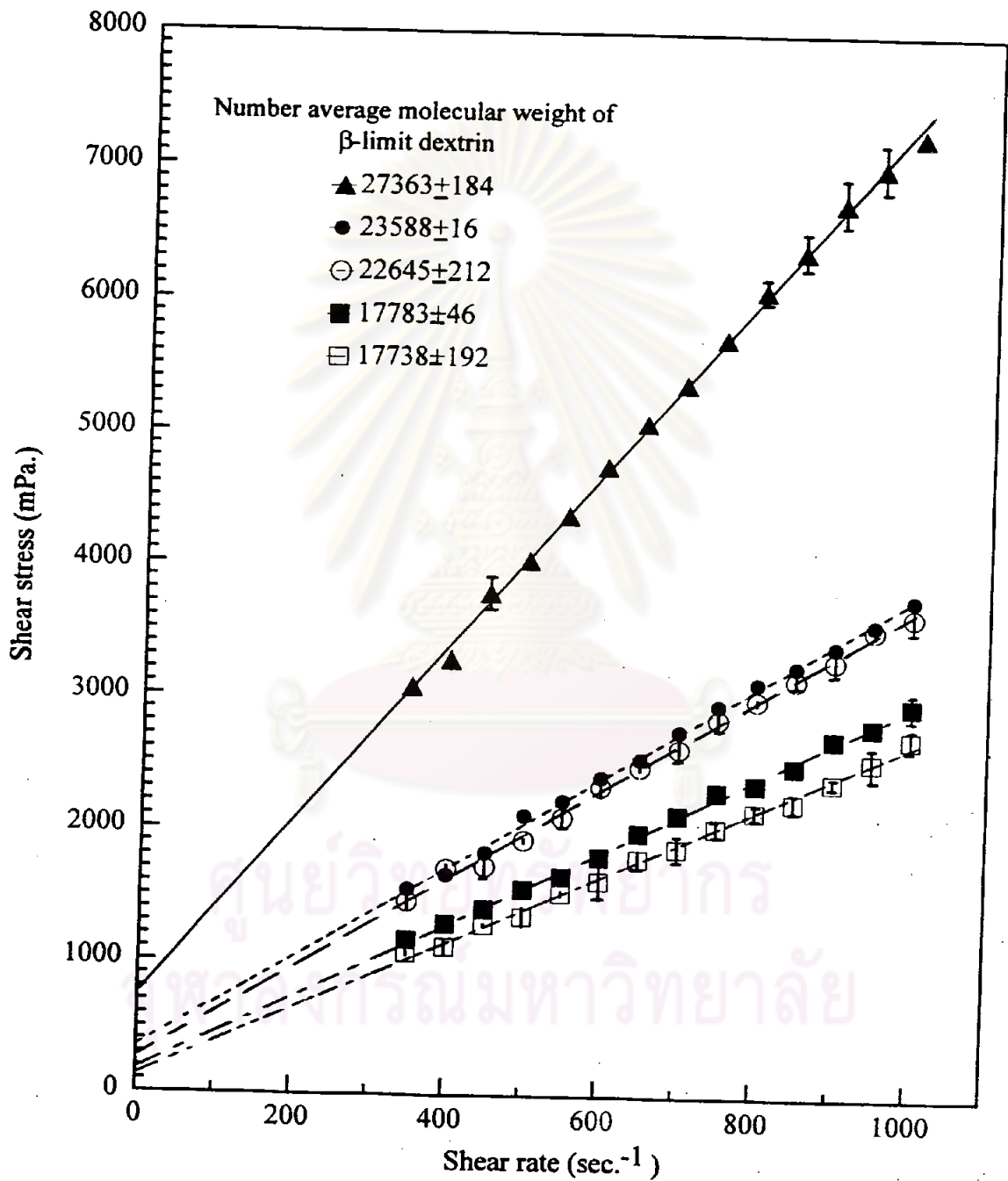
intrinsic viscosity ($[\eta]$) ของบีต้า-ลิมิต เดกซ์ทริน มีค่าเป็น 11.39±0.34, 9.70±0.16, 8.89±0.26, 7.62±0.15 และ 7.33±0.23 มิลลิลิตรต่อกรัม สำหรับบีต้า-ลิมิต เดกซ์ทรินซึ่งมี \bar{M}_n เป็น 27363±184, 23588±16, 22645±212, 17784±46 และ 17738±192 ตามลำดับ $[\eta]$ เป็นค่าซึ่งแสดงถึงขนาดของบีต้า-ลิมิต เดกซ์ทรินในตัวทำละลายซึ่งมีความสัมพันธ์กับน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย (\bar{M}) (Standinzer and Hence, 1930) ดังแสดงในภาพที่ 20 และสมการที่ 6 จากสมการที่ 6 ได้ว่า conformational constant ของบีต้า-ลิมิต เดกซ์ทรินในน้ำมีค่าเท่ากับ 0.95 แสดงว่าเมื่อบีต้า-ลิมิต เดกซ์ทรินอยู่ในน้ำมี conformation แบบ free draining flexible coil (Rha and Pradipasena, 1986)

$$[\eta] = (6.61 \times 10^{-4}) \bar{M}^{0.95} \quad (R^2 = 0.99) \quad (6)$$

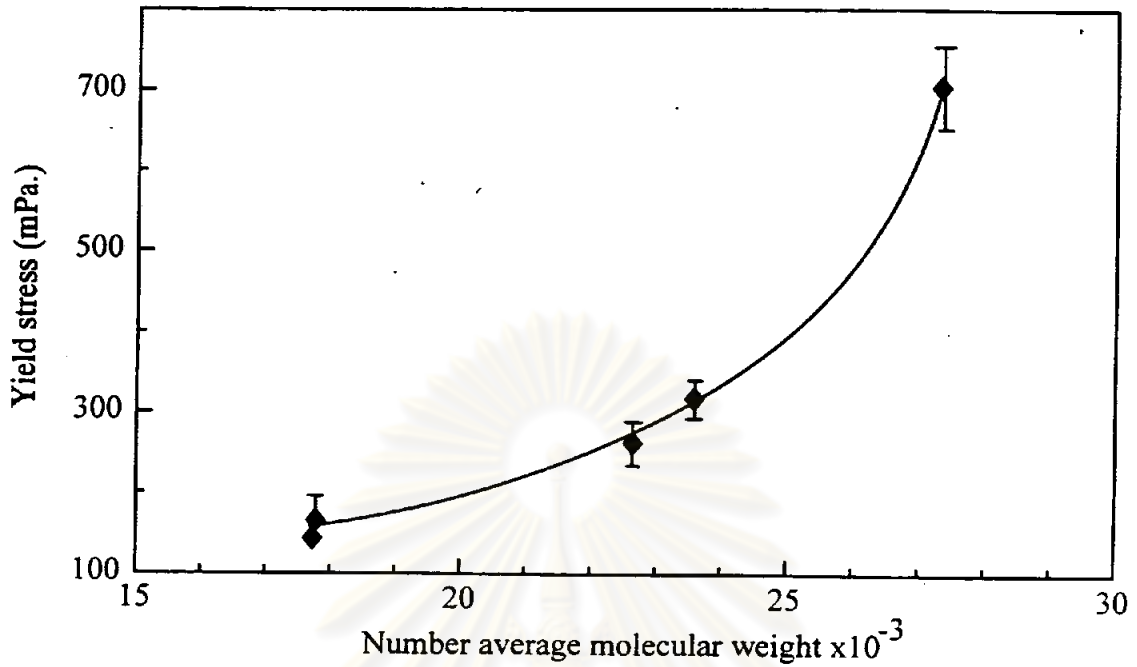
เมื่อ $[\eta]$ คือ intrinsic viscosity ของบีต้า-ลิมิตเดกซ์ทริน

3. สมบัติทางการไหล

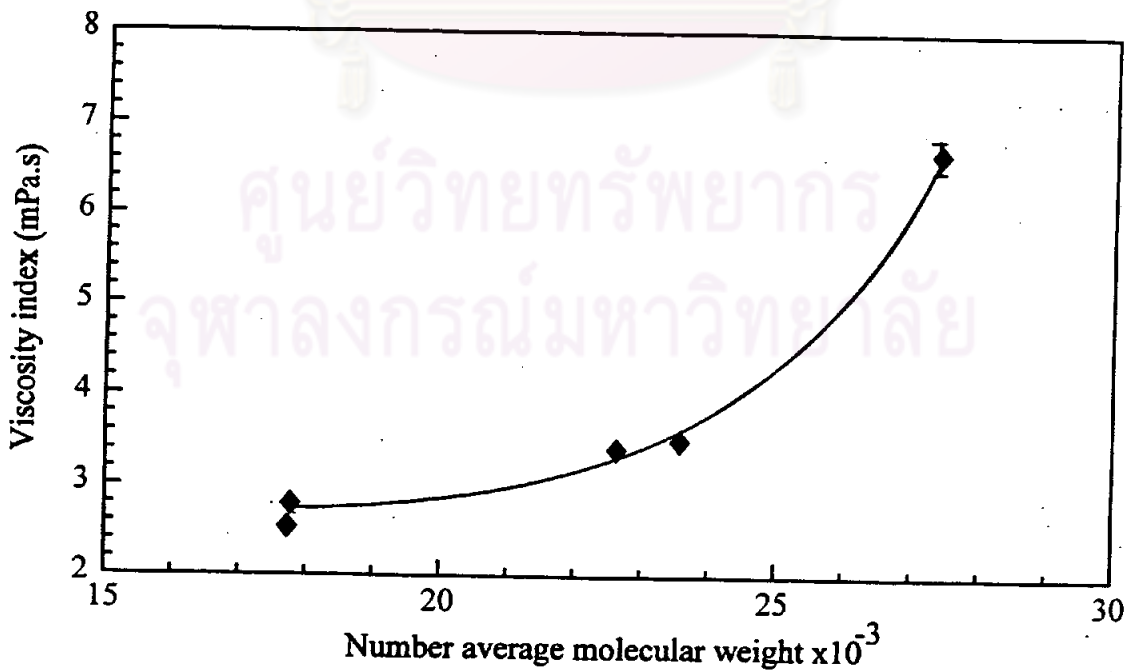
จากความสัมพันธ์ระหว่าง shear stress ของสารละลายบีต้า-ลิมิต เดกซ์ทริน (ซึ่งมีความเข้มข้น 10 กรัมต่อเดซิลิตร ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส) และ shear rate (ในช่วง 350 ถึง 1,000 วินาที⁻¹) แสดงว่าสารละลายบีต้า-ลิมิต เดกซ์ทรินในน้ำเป็นสารละลายประเภท Bingham plastic (ภาพที่ 21) ซึ่งมีค่า yield stress (τ_0) และ ดรรชนีความหนืด (viscosity index) เพิ่มขึ้น เป็นสัดส่วนโดยตรงกับ \bar{M}_n ของบีต้า-ลิมิต เดกซ์ทริน (ภาพที่ 22 และ 23 กับสมการที่ 7 และ 8) โดยที่ค่า τ_0 เป็น 703.28±50.01, 316.87±32.53, 261.91±36.06, 165.77±41.32 และ 143.59±24.12 mPa. และค่า ดรรชนีความหนืดเป็น 6.69±0.18, 3.50±0.10, 3.41±0.07, 2.79±0.13 และ 2.53±0.10 mPa.s สำหรับสารละลายบีต้า-ลิมิต เดกซ์ทริน (ความเข้มข้น 10 กรัมต่อ เดซิลิตรที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส) ซึ่งมี \bar{M}_n เป็น 27363±184, 23588±16, 22645±212, 17784±46 และ 17738±192 ตามลำดับ



ภาพที่ 21 ความสัมพันธ์ระหว่าง shear stress และ shear rate ของสารละลาย บีต้า-ลิมิต เดกซ์ทรีนที่ความเข้มข้น 10 กรัมต่อเดซิลิตรและวัดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 22 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า yield stress และ \bar{M}_n ของบีต้า-ลิมิต เดกซ์ทริน



ภาพที่ 23 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าดัชนีความหนืดและ \bar{M}_n ของบีต้า-ลิมิต เดกซ์ทริน

$$\sigma_y = 2827.7 - 0.28523\bar{M}_n + (7.5890 \times 10^{-6})\bar{M}_n^2 \quad (R^2 = 1.0) \quad (7)$$

$$b = 26.229 - (2.4593 \times 10^{-3})\bar{M}_n + (6.3750 \times 10^{-8})\bar{M}_n^2 \quad (R^2 = 0.99) \quad (8)$$

เมื่อ σ_y คือ ค่า yield stress (mPa)

b คือ ดรรชนีความเหนียว (mPa.s)

\bar{M}_n คือ \bar{M}_n ของบีต้า-ลิมิต เดกซ์ทริน

ผลการทดลองแสดงว่าการนำบีต้า-ลิมิต เดกซ์ทรินไปใช้งาน เพื่อควบคุมความเหนียวและรสหวานของอาหารเหลวให้ได้ลักษณะเนื้อสัมผัสและรสหวานที่ต้องการนั้นสามารถทำได้ โดยการเลือกใช้บีต้า-ลิมิต เดกซ์ทรินที่มีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยต่าง ๆ กัน ควบคู่กับการปรับความเข้มข้นของบีต้า-ลิมิต เดกซ์ทริน เช่นในกรณีที่ต้องการความเหนียวสูงและความหวานต่ำควรเลือกใช้บีต้า-ลิมิต เดกซ์ทรินที่มีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยสูง เป็นต้น

