

บทที่ 2

วารสารปริทัศน์



2.1 องค์ประกอบของเม็ดสตาร์ช

สตาร์ชเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญของมนุษย์ พืชสังเคราะห์และเก็บสะสมอยู่ในเม็ดสตาร์ช (starch granule) ที่มีขนาดและรูปร่างแตกต่างกันขึ้นกับแหล่งที่มาของสตาร์ชโดยมีองค์ประกอบหลักที่สำคัญคืออัมัยโลสและอัมัยโลเพกติน

2.1.1 อัมัยโลส (amylose)

เป็นโพลิเมอร์เชิงเส้นที่ประกอบด้วยกลูโคส 500-6000 หน่วย (AGU) เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ α -1,4-glucosidic แต่จากการศึกษาในปัจจุบันพบว่าอัมัยโลสไม่ใช่โมเลกุลที่เป็นเส้นตรงโดยสิ้นเชิงแต่มีพันธะ α -1,6-glucosidic อยู่บ้างเล็กน้อย (Hizukuri, 1996) ตำแหน่งของอัมัยโลสภายในเม็ดสตาร์ชขึ้นกับสายพันธุ์ของสตาร์ชโดยบางส่วนอยู่ในสภาพอิสระ รวมทั้งไขมันในรูปของสารเชิงซ้อนที่ไม่ละลายน้ำ หรืออาจอยู่ร่วมกับอัมัยโลเพกตินเป็นเกลียวคู่ (double helix) (Biliaderis, 1992)

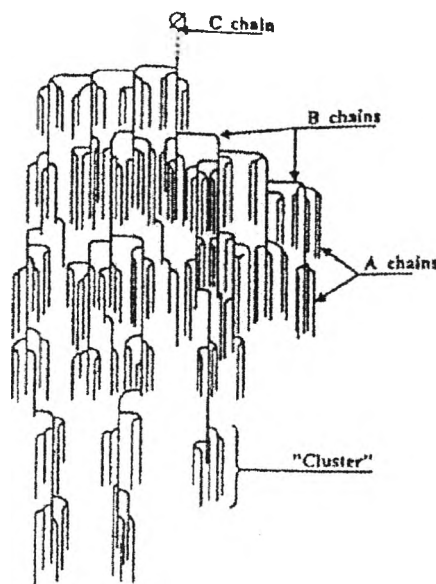
2.1.2 อัมัยโลเพกติน (amylopectin)

เป็นโพลิเมอร์เชิงกิ่งที่มีขนาดใหญ่ประกอบด้วยกลูโคส 3×10^5 - 3×10^6 หน่วย (AGU) ในบริเวณที่เป็นเส้นตรงเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ α -1,4-glucosidic และในบริเวณกิ่งก้านเป็นโพลิเมอร์ของกลูโคสสายสั้นมีค่า DP อยู่ในช่วง 10-60 หน่วย เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ α -1,6-glucosidic โดยอัมัยโลเพกติน 1 โมเลกุลจะมีพันธะ α -1,6-glucosidic ประมาณ 4-5% (Jacobs และ Delcour, 1998) ซึ่งโครงสร้างแบบกิ่งของอัมัยโลเพกตินประกอบด้วยสาย (chain) 3 ชนิด (Robin และคณะ, 1974) ดังแสดงในภาพที่ 2.1

(1) สาย A เชื่อมต่อกับสายอื่นที่ตำแหน่งเดียว ไม่มีกิ่งเชื่อมต่อออกจากสายชนิดนี้ (unbranch structure)

(2) สาย B มีโครงสร้างแบบกิ่งเชื่อมต่อกับสายอื่น ๆ 2 สาย หรือมากกว่า

(3) สาย C เป็นสายแกนที่ประกอบด้วยหมู่ reducing 1 หมู่ โดยที่อัมัยโลเพกติน 1 โมเลกุลมีสาย C อยู่เพียง 1 สายเท่านั้น ซึ่งหมู่ reducing ของอัมัยโลเพกตินจะอยู่ในบริเวณจุดศูนย์กลางของเม็ดสตาร์ชหรือไฮลัม (hilum) ส่วนหมู่ non-reducing ของอัมัยโลเพกตินจะกระจายตัวออกไปทางส่วนนอกของเม็ดสตาร์ช



ภาพที่ 2.1 โครงสร้างของอัมัยโลเพกติน

ที่มา : Robin และคณะ (1974)

2.2 ลักษณะของเม็ดสตาร์ช

สตาร์ชต่างชนิดกันจะมีลักษณะเม็ดสตาร์ชแตกต่างกันไปทั้งขนาดและรูปร่างดังตารางที่

2.1

ตารางที่ 2.1 ขนาดและรูปร่างของเม็ดสตาร์ชชนิดต่าง ๆ

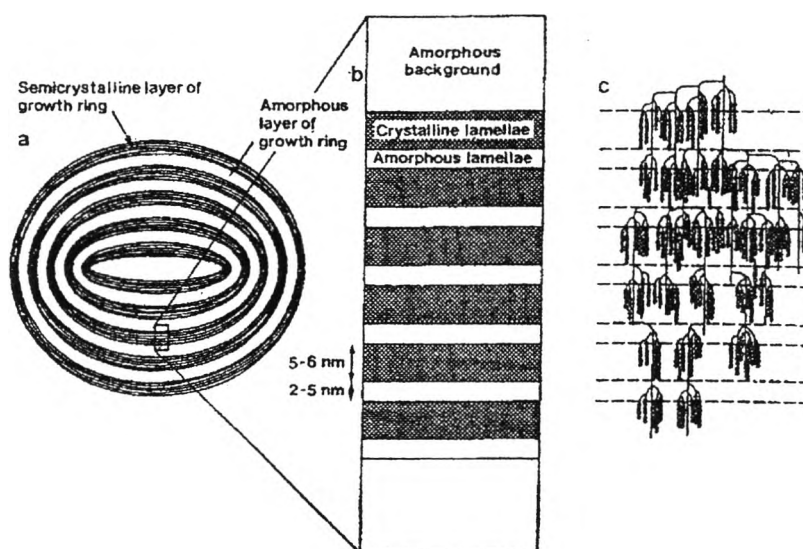
แหล่งของสตาร์ช	ขนาดเม็ด (μm)	ค่าเฉลี่ย (μm)	รูปร่างของเม็ดสตาร์ช
มันฝรั่ง	5-100	30	กลม รูปไข่มีวงคล้ายเปลือกหอย
ข้าวโพด	3-26	15	กลมแบน มีหลายเหลี่ยม
ข้าวสาลี	1-40	10	กลมค่อนข้างรี
มันสำปะหลัง	4-35	20	กลม คล้ายรูปถ้วย

ที่มา : ดัดแปลงจาก Ellis และคณะ (1998)

เมื่อส่องดูเม็ดสตาร์ชภายใต้กล้องจุลทรรศน์จะเห็นว่าภายในเม็ดสตาร์ชมีลักษณะเป็นชั้นของวงแหวน (growth ring) โดยมีจุดศูนย์กลางของวงแหวนอยู่ที่บริเวณไฮลัม ซึ่งชั้นของวงแหวนนี้เกิดจากการเรียงตัวของโมเลกุลของอัมัยโลเพกตินที่มีความหนาบางสลับกันไปในแนวรัศมีของเม็ดสตาร์ช (French, 1984) ทำให้เกิดชั้นอสัณฐาน (amorphous layer) สลับกับชั้นที่มีลักษณะกึ่งผลึก (semicrystalline layer) ดังแสดงในภาพที่ 2.2 และในชั้นกึ่งผลึกก็ยังประกอบด้วย 2 ชั้นที่สลับกันอยู่ภายในคือ

(1) crystalline lamellae มีขนาด 5-6 nm. เป็นชั้นที่เกิดจากสายของอัมัยโลเพกติน 2 สายที่อยู่ใกล้กันและมีความยาวมากกว่า 10 หน่วยกลูโคสพันกันเป็นเกลียวคู่โดยใช้พันธะไฮโดรเจนและแรงแวนเดอร์วาลส์ในการเชื่อมต่อกัน ทำให้เม็ดสตาร์ชมีความคงทนต่อการเข้าทำปฏิกิริยาด้วยกรดและเอนไซม์ ซึ่งเกลียวคู่นี้เองที่ทำให้เม็ดสตาร์ชมีความเป็นผลึกอยู่ประมาณ 20-40% (Biliaderis และคณะ, 1986)

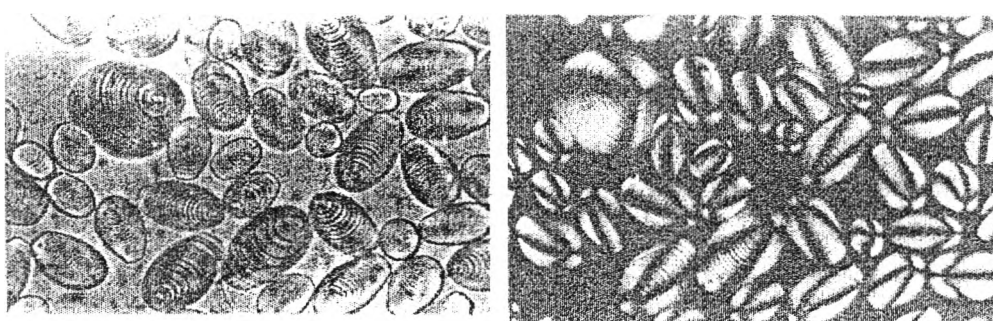
(2) amorphous lamellae มีขนาด 2-5 nm. เป็นชั้นที่เกิดจากจุดเชื่อมกิ่งของอัมัยโลเพกตินที่มีพันธะ α -1,6-glycosidic ทำให้เกิดเป็นชั้นอสัณฐานที่แยกชั้นของผลึกออกจากกัน



ภาพที่ 2.2 โครงสร้างของเม็ดสตาร์ช

ที่มา : Jenkin และคณะ (1994)

จากการที่ภายในเม็ดสตาร์ชมีบริเวณกึ่งผลึกและอสัณฐานสลับกันเป็นวงแหวนจึงทำให้เม็ดสตาร์ชมีค่าดัชนีหักเหของแสง (refractive index) สองค่าสูงและต่ำสลับกันอย่างเป็นระเบียบจัดเป็นวัตถุ birefringence (Morris และ Miles, 1994) ดังนั้นเมื่อส่องดูเม็ดสตาร์ชในกล้องจุลทรรศน์ที่ใช้แสงโพลาไรซ์ เม็ดสตาร์ชแต่ละเม็ดจะแสดงลักษณะ birefringence หรือ polarization cross หรือ Maltese cross เป็นเครื่องหมายกากบาทสีดำโดยแขนของกากบาทจะตัดกันที่ตำแหน่งไฮลัมดังแสดงในภาพที่ 2.3 โดยพื้นที่มืดเป็นตำแหน่งของสายโพลิเมอร์ของสตาร์ชที่อยู่ใกล้ขณะตั้งฉากหรือขนานกับระนาบของแสงโพลาไรซ์ แต่เนื่องจากเม็ดสตาร์ชเป็นเส้นโค้งจึงมีสายโพลิเมอร์บางสายที่ไม่อยู่ในลักษณะตั้งฉากหรือขนานกับระนาบของแสงโพลาไรซ์ ทำให้บดระนาบแสงโพลาไรซ์และเห็นเป็นพื้นที่สว่าง (French, 1984)



ภาพที่ 2.3 ลักษณะของเม็ดสตาร์ชมันฝรั่งเมื่อส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่ใช้แสงธรรมดาและแสงโพลาไรซ์

ที่มา : Charley (1982)

2.3 ลักษณะโครงสร้างผลึกของสตาร์ช

สตาร์ชธรรมชาติมีความเป็นผลึกบางส่วน (semicrystalline) ดังนั้นจึงมีการนำเทคนิค X-ray diffraction มาใช้ศึกษาเม็ดสตาร์ชเพื่อแยกแยะความแตกต่างของชนิดสตาร์ช และใช้สำหรับตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของระดับความเป็นผลึก (degree of crystallinity) ที่เกิดจากการดัดแปรทางเคมีหรือทางกายภาพ (Zobel, 1964)

สตาร์ชธรรมชาติจะมีโครงสร้างผลึก 3 ชนิดและให้ X-ray diffraction pattern 3 ชนิดคือ (Zobel, 1964 และ Hosney, 1994)

(1) ชนิด A ส่วนใหญ่เป็นสตาร์ชจากธัญพืช เช่น สตาร์ชข้าวโพด ข้าวสาลี ข้าวเจ้า ยกเว้นสตาร์ช amylo maize (มีอมัยโลส > 40%)

(2) ชนิด B เป็นสตาร์ชจากพืชหัวและผลไม้ เช่น สตาร์ชมันฝรั่ง สตาร์ชกล้วย และสตาร์ชที่เกิดการ retrograde

(3) ชนิด C เป็นรูปแบบผลึกที่อยู่ระหว่างแบบ A และ B เช่นสตาร์ชมันสำปะหลัง

โดยมีตารางการจัดจำแนกรูปแบบผลึกของสตาร์ชจากการทำ X-ray diffraction ดังแสดงในตารางที่ 2.2 นอกจากนี้ยังมีโครงสร้างผลึกอีกชนิดหนึ่งที่ไม่สามารถพบได้ในสตาร์ชธรรมชาติคือชนิด V ซึ่งเกิดขึ้นจากการที่สตาร์ชเจลาติโนเซชันแล้วเกิดสารเชิงซ้อนระหว่างโมเลกุลของอามัยโลสกับลิปิด

ตารางที่ 2.2 การจัดจำแนกรูปแบบผลึกของสตาร์ชด้วยการทำ X-ray diffraction ^(a)

A			B			C		
d-spacing	intensity ^b	$2\theta^c$	d-spacing	intensity	2θ	d-spacing	intensity	2θ
8.72	W ⁻	10.1	15.80	M	5.59	15.4	W	5.73
7.70	W ⁻	11.5	8.90	W ⁻	9.93	8.82	W ⁻	10.0
5.78	S	15.3	7.94	W ⁻	11.1	7.66	W ⁻	11.5
5.17	S	17.1	6.14	M	14.4	5.78	S	15.3
4.86	S ⁻	18.2	5.16	S	17.2	5.12	S	17.3
4.37	M	20.3	4.54	W ⁺	19.5	4.85	M	18.3
3.78	S	23.5	4.00	M	22.2	4.35	W ⁻	20.4
3.30	W ⁺	27.0	3.70	M ⁻	24.0	3.78	M ⁺	23.5
2.88	W	31.0	3.38	W	26.3	3.32	W	26.8
			2.60	W	34.4			

a รูปแบบผลึกชนิด A,B และ C ที่ได้จากสตาร์ชข้าวโพด มันฝรั่ง และ horse chestnut ตามลำดับ

b ระดับความเข้มของรังสี X ที่ตกกระทบฉากรับซึ่งแสดงได้ด้วยความสูงของ peak บน chart : strong(S), medium(M), weak(W), less than(-),and more than (+)

c Bragg reflection angle

ที่มา : Zobel (1964)

2.4 กำลัังการพองตัวและการละลายของสตาร์ช

สตาร์ชธรรมชาติ (native starch) ไม่ละลายในน้ำเย็นแต่ดูดซับน้ำได้ประมาณ 25-30 % และมีการพองตัวน้อยมากจนไม่สามารถสังเกตเห็นได้เนื่องจากการจัดเรียงตัวระหว่างโมเลกุล

ของอิมัลชันและอิมัลชันโพลีเมอร์ในเม็ดสตาร์ช โดยที่บริเวณผลึกจะมีการจัดเรียงตัวกันอย่างแน่นหนาและแข็งแรงเกิดเป็นลักษณะที่เรียกว่า micelle ซึ่งจะป้องกันการกระจายตัวและการละลายของสตาร์ชในน้ำเย็น และบริเวณอสัณฐานเป็นส่วนที่เกาะเกี่ยวกันอย่างหลวม ๆ ไม่เป็นระเบียบแทรกตัวอยู่ระหว่าง micelle มีหมู่ไฮดรอกซิลอิสระอยู่เป็นจำนวนมาก ดังนั้นน้ำจึงแทรกตัวเข้าไปได้บ้าง แต่เมื่ออุณหภูมิของสารแขวนลอยสตาร์ชสูงกว่าอุณหภูมิเจลาติไนเซชัน บริเวณอสัณฐานในเม็ดสตาร์ชจะดูดซับน้ำได้มากขึ้น บริเวณผลึกที่มีการเกาะเกี่ยวกันอย่างแน่นหนาเริ่มคลายตัวออกจากกันและมีโมเลกุลของน้ำแทรกตัวเข้าไปได้มากขึ้นทำให้เม็ดสตาร์ชพองตัว โดยที่โมเลกุลของสตาร์ชในส่วนที่เป็นบริเวณผลึกจะยังคงยึดกันอยู่อย่างหลวมๆ ในสภาพที่คล้ายร่างแหเรียกว่า micelle network ทำให้เม็ดสตาร์ชยังคงสภาพอยู่ได้ แต่อาจมีโมเลกุลของอิมัลชันและอิมัลชันโพลีเมอร์ที่มีขนาดเล็กเคลื่อนตัวออกมาจากเม็ดสตาร์ชทำให้เกิดสภาพการละลายขึ้น (Leach, McCowen และ Schoch, 1959)

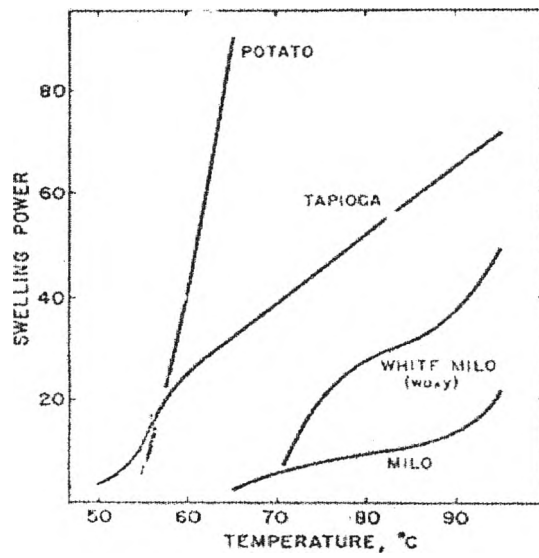
กำลังการพองตัวของสตาร์ชจะแสดงเป็นปริมาตรหรือน้ำหนักของเม็ดสตาร์ชที่เพิ่มขึ้นมากที่สุดเมื่อเม็ดสตาร์ชพองตัวได้อย่างเป็นอิสระในน้ำ ส่วนความสามารถในการละลายจะแสดงเป็นน้ำหนักของของแข็งทั้งหมดที่สามารถละลายได้ในสารละลาย รูปแบบการพองตัวและการละลายของสตาร์ชชนิดต่าง ๆ แสดงดังภาพที่ 2.4 และ 2.5

Leach และคณะ (1959) ได้จัดสตาร์ชออกเป็น 3 กลุ่มตามรูปแบบการพองตัว (swelling pattern) ที่คล้ายกันดังนี้

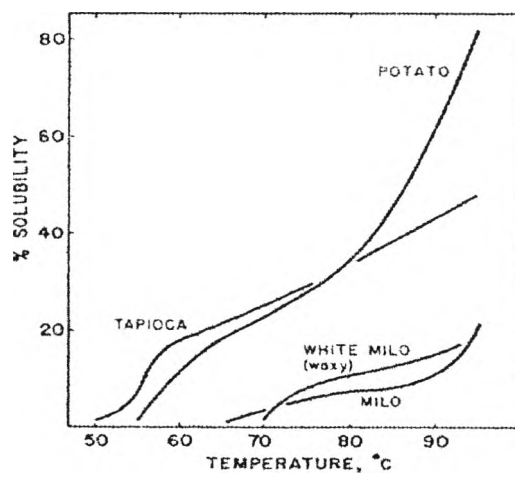
(1) สตาร์ชจากพืชหัว เช่นสตาร์ชมันฝรั่ง มีการพองตัวที่อุณหภูมิต่ำกว่ากลุ่มอื่นแต่มีการพองตัวอย่างรวดเร็วมาก และมีรูปแบบการพองตัวเป็นแบบขั้นตอนเดียว (one stage swelling) เนื่องจากแรงที่ยึดพันธะไว้เป็นแรงที่ค่อนข้างอ่อนแต่มีความลุ่มาเสมอ

(2) สตาร์ชจากพืชราก เช่นสตาร์ชมันสำปะหลัง มีการพองตัวที่อุณหภูมิใกล้เคียงกับสตาร์ชมันฝรั่งแต่ดำเนินไปด้วยอัตราที่ช้ากว่า และมีรูปแบบการพองตัวเป็นแบบขั้นตอนเดียว

(3) สตาร์ชจากธัญพืช มีช่วงอุณหภูมิเจลาติไนเซชันสูงกว่าสตาร์ชจากพืชหัวและพืชหัว เริ่มพองตัวได้ที่อุณหภูมิสูงกว่าและมีรูปแบบการพองตัวและการละลายเป็นแบบ 2 ขั้นตอน (two stage swelling) เนื่องจากมีจำนวนพันธะมากที่สุดและแรงที่ยึดพันธะไว้มีความไม่ลุ่มาเสมอ โดยมีแรงสองชุด (two sets of bonding force) ที่คลายตัวได้ที่อุณหภูมิต่างกัน



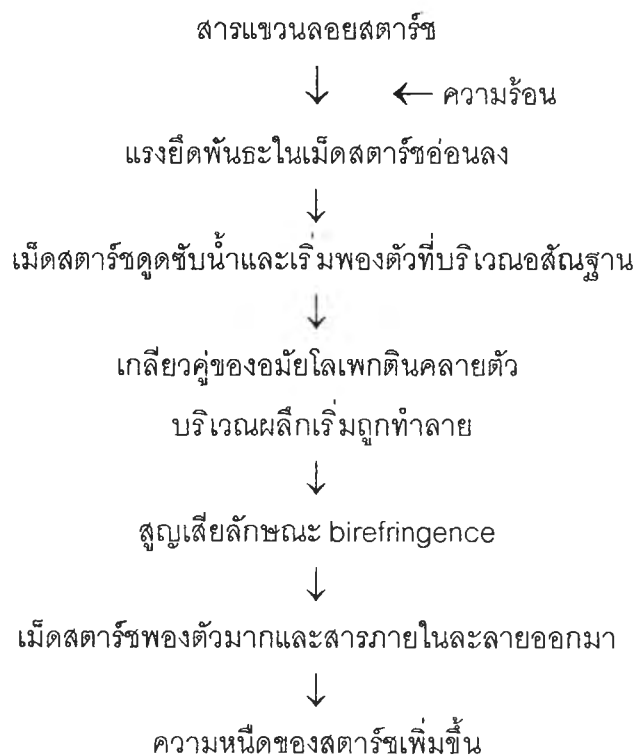
ภาพที่ 2.4 รูปแบบการพองตัวของสตาร์ชชนิดต่าง ๆ
ที่มา : Leach และคณะ (1959)



ภาพที่ 2.5 รูปแบบการละลายของสตาร์ชชนิดต่าง ๆ
ที่มา : Leach และคณะ (1959)

2.5 การเจลาติไนเซชันของสตาร์ช

ถึงแม้ว่าเม็ดสตาร์ชจะถูกสร้างขึ้นจากกลูโคสที่มีความชอบน้ำ (hydrophilic) มาเชื่อมต่อกันเป็นสายโพลีเมอร์ แต่เม็ดสตาร์ชไม่สามารถละลายในน้ำเย็นได้เนื่องจากมีพันธะไฮโดรเจนจำนวนมากยึดโมเลกุลของสตาร์ชไว้ (Leach และคณะ, 1959) จึงเป็นประโยชน์ในการเป็นแหล่งสะสมพลังงานจากคาร์โบไฮเดรตเพื่อให้พืชเก็บไว้ใช้ (Eliasson และ Gudmundsson, 1996) อย่างไรก็ตามเม็ดสตาร์ชสามารถดูดซับน้ำได้ประมาณ 30 % ของน้ำหนักสตาร์ชแห้ง โดยน้ำที่ถูกดูดซับจะเข้าไปแทรกตัวอยู่ในบริเวณออสชันฐานซึ่งมีพันธะไม่แข็งแรงและมีหมู่ไฮดรอกซิลอิสระทำให้เม็ดสตาร์ชพองตัวได้เล็กน้อยคือมีปริมาตรเพิ่มขึ้นประมาณ 5 % (Hoseney, 1994) ซึ่งการพองตัวนี้สามารถย้อนกลับได้เมื่อนำสตาร์ชไปอบแห้งและยังคงมี birefringence แต่เมื่อให้ความร้อนแก่เม็ดสตาร์ชจนกระทั่งถึงอุณหภูมิเจลาติไนเซชัน (gelatinization temperature) เม็ดสตาร์ชจะเกิดการพองตัว ดูดซับน้ำได้มากขึ้น เป็นการเปลี่ยนแปลงที่ไม่สามารถย้อนกลับได้และเกิดปรากฏการณ์ต่าง ๆ กับเม็ดสตาร์ชดังภาพที่ 2.6



ภาพที่ 2.6 ขั้นตอนการเกิดเจลาติไนเซชันของสตาร์ช
ที่มา : แปลและดัดแปลงจาก Hari, Garg และ Garg (1989)

การเกิดเจลาตินในเซชันไม่ได้เกิดเฉพาะที่อุณหภูมิใดอุณหภูมิหนึ่งแต่เกิดเป็นช่วงอุณหภูมิคือเม็ดสตาร์ช 1 เม็ดที่ได้รับความร้อนในปริมาณน้ำที่มากเกินไป (excess water) คืออัตราส่วนสตาร์ช : น้ำ คือ 1 : 2 มีช่วงอุณหภูมิเจลาตินในเซชัน 1-2 °C ในขณะที่ประชากรของเม็ดสตาร์ชมีช่วงอุณหภูมิเจลาตินในเซชันประมาณ 10-15 °C ขึ้นกับชนิดของสตาร์ช (Liu และ Lelievre, 1993) เนื่องจากเม็ดสตาร์ชแต่ละเม็ดมีระดับความเป็นผลึกแตกต่างกัน จึงเกิดเจลาตินในเซชันที่อุณหภูมิแตกต่างกัน โดยเม็ดสตาร์ชชนิดเดียวกันจากแหล่งเดียวกันที่มีขนาดใหญ่กว่าจะเริ่มเสีย birefringence ก่อนเม็ดสตาร์ชที่มีขนาดเล็ก (Leszczynski, 1987) เนื่องจากเม็ดสตาร์ชขนาดใหญ่เริ่มพองตัวก่อนเม็ดสตาร์ชที่มีขนาดเล็ก

2.6 วิธีวัดอุณหภูมิเจลาตินในเซชัน

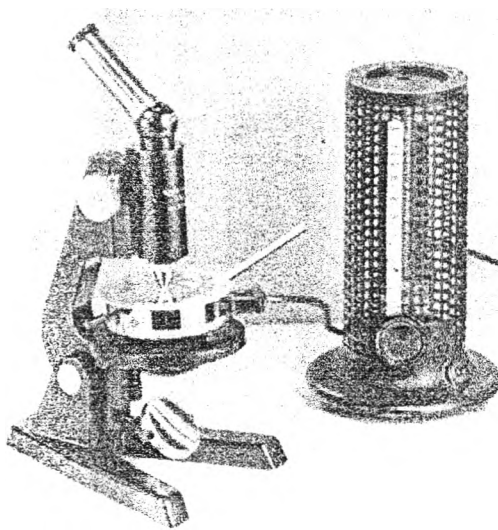
ในขณะที่เม็ดสตาร์ชเกิดการเจลาตินในเซชันมีการเปลี่ยนแปลงสมบัติในหลาย ๆ ด้านดังที่กล่าวมาแล้วในภาพที่ 2.6 จึงมีการวัดอุณหภูมิเจลาตินในเซชันหลายวิธีโดยอาศัยสมบัติของเม็ดสตาร์ชที่เปลี่ยนแปลงไปเหล่านั้น แต่วิธีที่นิยมใช้กันมี 3 วิธี คือการวัดอุณหภูมิที่เม็ดสตาร์ชเสีย birefringence อุณหภูมิที่สารแขวนลอยสตาร์ชเริ่มมีความหนืด และอุณหภูมิที่เกิดการหลอมผลึกสตาร์ช

2.6.1 วิธีวัดการเสีย birefringence

เมื่อนำเม็ดสตาร์ชมาส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่ใช้แสงโพลาไรซ์ เม็ดสตาร์ชที่ยังไม่เจลาตินในเซชันจะแสดงลักษณะ birefringence แต่เมื่อให้ความร้อนจนถึงอุณหภูมิเจลาตินในเซชัน birefringence จะเริ่มหายไป ซึ่งบ่งบอกว่าเม็ดสตาร์ชสูญเสียความเป็นระเบียบ (order) ไปแล้ว โดยเครื่องมือที่ใช้ติดตามการเสีย birefringence คือเครื่อง Kofler hot stage microscope ดังแสดงในภาพที่ 2.7 ที่ประกอบด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่ใช้แสงโพลาไรซ์ และ Kofler hot stage ที่ประกอบด้วยแท่นโลหะกลมที่มีขดลวดความต้านทานไฟฟ้าอยู่ภายในสำหรับให้ความร้อนแก่สไลด์ของสารแขวนลอยสตาร์ชที่วางอยู่บนแท่นโลหะกลม และมีเทอร์โมมิเตอร์เสียบอยู่ที่แท่นโลหะเพื่อวัดอุณหภูมิของสารแขวนลอยสตาร์ชในขณะที่มีการให้ความร้อน (Watson, 1964)

ขั้นตอนสำหรับวัดอุณหภูมิเจลาตินในเซชันด้วยเครื่องนี้ทำได้โดยเตรียมสารแขวนลอยสตาร์ชความเข้มข้นประมาณ 0.1-0.2% แล้วหยดลงบนแผ่นสไลด์ ปิดรอบ ๆ หยดสารแขวนลอยสตาร์ชด้วย mineral oil ที่มีความหนืดสูงเพื่อป้องกันการระเหยของน้ำออกไปในขณะที่

ให้ความร้อน หลังจากนั้นปิดทับด้วย cover slip โดยไม่ให้มีฟองอากาศอยู่ภายใน นำสไลด์วางบนแท่นโลหะสำหรับให้ความร้อนที่อัตรา $2^{\circ}\text{C}/\text{นาท}$ ผู้ทดลองจะบันทึกอุณหภูมิที่จำนวนเม็ดสตาร์ชที่มี birefringence หายไป 2, 10, 25, 50, 75, 90 และ 98 % โดยถือว่าอุณหภูมิที่ birefringence หายไป 98% เป็นอุณหภูมิสิ้นสุดเจลาติไนเซชัน (birefringence end point temperature, BEPT) แต่การวัดอุณหภูมิเจลาติไนเซชันด้วยวิธีนี้มีข้อเสียเพราะขึ้นกับผู้ทดลองเป็นอย่างมากเนื่องจากการนับจำนวนเม็ดสตาร์ชที่ birefringence หายไปพร้อมกับการอ่านค่าอุณหภูมิจากเทอร์โมมิเตอร์ จึงทำให้ผลที่ได้เกิดความคลาดเคลื่อนและไม่น่าเชื่อถือ (Leszczynski และ Golachowski, 1988)

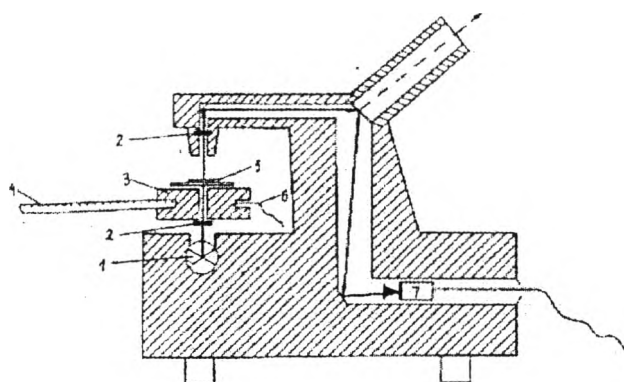


ภาพที่ 2.7 Kofler hot stage microscope

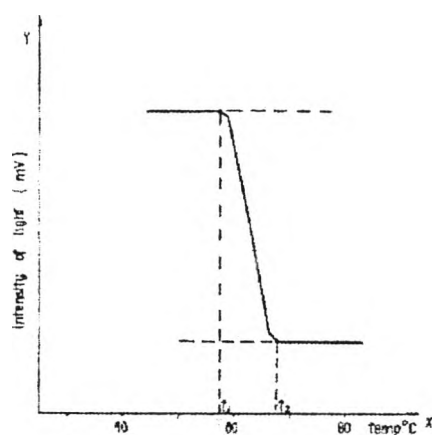
ที่มา : Kofler, Kofler และ Branstatler (1954)

ในปี ค.ศ.1987 Leszczynski ได้ปรับปรุงวิธีการวัดอุณหภูมิเจลาติไนเซชันด้วยเครื่องนี้ให้มีความแม่นยำมากขึ้นและขึ้นกับผู้ทดลองน้อยลงโดยติดตั้งเครื่องบันทึกค่าการเปลี่ยนแปลงของความเข้มแสงที่ส่องผ่านเม็ดสตาร์ชออกมาแล้วตกกระทบกับ photoelement ที่มีความไวสูงไปพร้อมกับการบันทึกอุณหภูมิตามภาพที่ 2.8 โดยอาศัยหลักการที่ว่าเม็ดสตาร์ชปกติจะแสดงลักษณะ birefringence ที่มีทั้งพื้นที่มืดและสว่างสลับกัน แต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิขึ้นจนกระทั่งสตาร์ชเจลาติไนซ์และเสีย birefringence ไป พื้นที่ที่เคยสว่างจะกลายเป็นมืดทั้งหมดทำให้ความเข้มของแสงที่ส่องผ่านสตาร์ชและตกกระทบกับ photoelement ลดลง โดยกำหนดอุณหภูมิที่เริ่มมีการลดลงของความเข้มแสง (t_1) เป็นอุณหภูมิเริ่มต้นเจลาติไนเซชัน และอุณหภูมิสิ้นสุดการเปลี่ยนแปลงความเข้มแสง (t_2) เป็นอุณหภูมิสิ้นสุดเจลาติไนเซชันตามภาพที่ 2.9 นำเครื่องมา

ทดลองวัดอุณหภูมิเจลาตินในเซชันของสตาร์ชมันฝรั่งสองตัวอย่าง ๆ ละ 11 ซ้ำ ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 2.3



ภาพที่ 2.8 objective hot stage microscope :1-light source, 2-polarizing filters, 3-hot stage, 4-thermometer, 5-preparation, 6-thermoelement, 7-photoelement, → light
ที่มา : Leszczynski (1987)



ภาพที่ 2.9 กราฟการเปลี่ยนแปลงความเข้มของแสงโพลาไรซ์ที่ส่องผ่านเม็ดสตาร์ชเมื่อได้รับความร้อน

ที่มา : Leszczynski และ Golachowski (1988)

ตารางที่ 2.3 ช่วงอุณหภูมิเจลลิตีในเซชันของสตาร์ชมันฝรั่งที่วัดจากเครื่องของ Leszczynski

ค่าทางสถิติ	อุณหภูมิเจลลิตีในเซชัน ($^{\circ}\text{C}$)			
	เริ่มต้น		สิ้นสุด	
	ตัวอย่างที่ 1	ตัวอย่างที่ 2	ตัวอย่างที่ 1	ตัวอย่างที่ 2
ค่าเฉลี่ย	60.0	58.3	75.4	74.1
ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	0.514	0.668	0.739	0.651
สัมประสิทธิ์ของการแปรผัน (coefficient of variation)	0.87	1.15	0.98	0.88

ที่มา : แปลจาก Leszczynski (1987)

อย่างไรก็ตามเครื่องนี้ยังจำเป็นต้องใช้แหล่งกำเนิดแสงจากกล้องจุลทรรศน์ที่มีขนาดใหญ่และราคาค่อนข้างสูง และใช้อุปกรณ์ Kofler hot stage ซึ่งเป็นแทนที่ให้ความร้อนทางด้านล่างแผ่นสไลด์สารแขวนลอยสตาร์ชเท่านั้นจึงมีการสูญเสียความร้อนออกไปได้มาก ดังนั้นในงานวิจัยนี้จะสร้างเครื่องมีวัดอุณหภูมิเจลลิตีในเซชันของสตาร์ชที่ใช้หลักการวัดความเข้มแสงที่ลดลงเช่นเดียวกับเครื่องที่ Leszczynski พัฒนาขึ้น แต่ใช้แหล่งกำเนิดแสงจากอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ที่มีขนาดเล็กและราคาถูกกว่ากล้องจุลทรรศน์ นอกจากนี้ยังสร้างอุปกรณ์ให้ความร้อนที่มีตัวให้ความร้อนล้อมรอบแผ่นสไลด์สารแขวนลอยสตาร์ชซึ่งจะทำให้ร้อนเร็วขึ้นและเสียความร้อนออกไปยังบรรยากาศรอบ ๆ น้อยลง

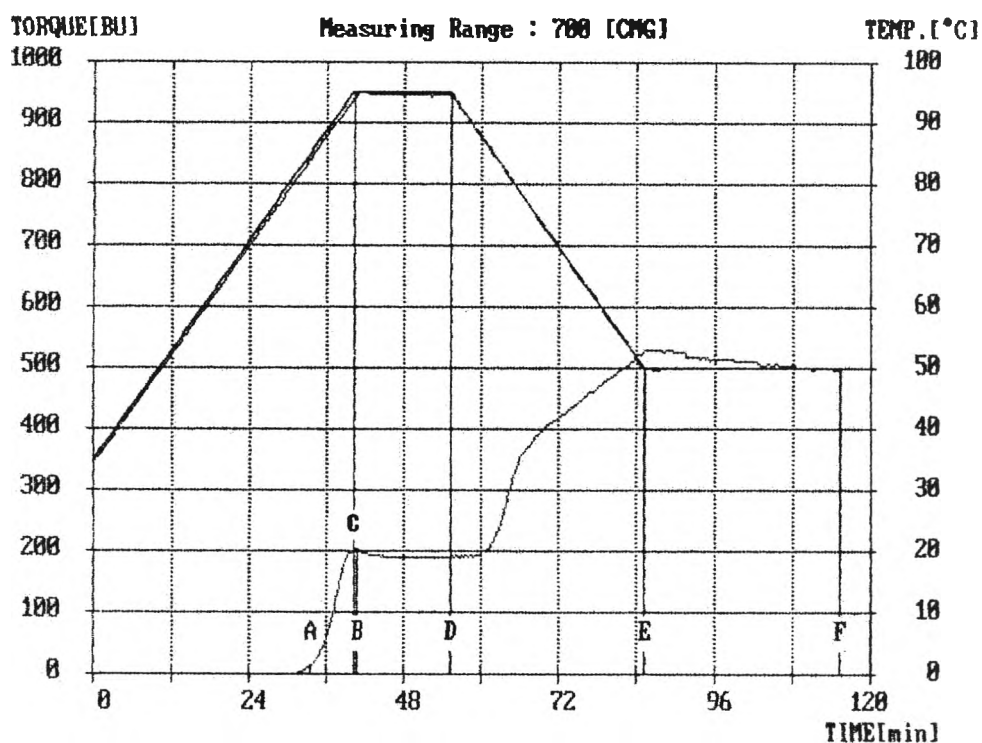
2.6.2 วิธีวัดความหนืดที่เพิ่มขึ้น

2.6.2.1 เครื่อง Brabender viscograph

Brabender viscograph เริ่มใช้กันในปี ค.ศ.1930 เพื่อประเมินคุณภาพของแป้งข้าวไรย์ (rye flour) และควบคุมกิจกรรมของเอนไซม์ α -amylase ในเมล็ดข้าวสาลีที่กำลังงอก หลังจากนั้นในปี ค.ศ.1944 Anker และ Gedds ได้นำเครื่องนี้มาใช้ในการติดตามการเปลี่ยนแปลงความหนืดของแป้ง (flour) และสตาร์ช (starch) และในปัจจุบันเครื่องนี้เป็นที่นิยมใช้กันมากที่สุดในงานอุตสาหกรรมแป้งและสตาร์ช

ขั้นตอนการใช้เครื่องนี้ทำได้โดยใส่สารแขวนลอยสตาร์ชที่เตรียมไว้ลงในถ้วยทรงกระบอกที่มีการหมุนด้วยอัตราคงที่ในขณะเดียวกันก็มีการให้ความร้อนแก่สารแขวนลอย

สตาร์ชด้วยอัตราค่าที่ 1.5 °C/นาที จนถึงอุณหภูมิ 95 °C แล้วควบคุมอุณหภูมิให้คงที่เป็นระยะเวลาหนึ่ง จากนั้นลดอุณหภูมิด้วยอัตรา 1.5 °C/นาทีจนถึงอุณหภูมิ 50 °C แล้วควบคุมอุณหภูมิให้คงที่เป็นระยะเวลาหนึ่ง (Mazur, Schoch และ Kite, 1957) โดยเครื่องจะบันทึกค่า torque ที่ต้องการเพื่อให้เกิดความสมดุลกับความหนืดที่เพิ่มขึ้น ติดตามและแสดงผลในรูปกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความหนืดและอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลง หน่วยของความหนืดที่ได้คือ Brabender unit (BU) ซึ่งสามารถเปลี่ยนเป็นหน่วย centipoise (cP) ได้จากความหนืดของสารแขวนลอย สตาร์ช 5 % ที่มีความหนืดเท่ากับ 500 BU เทียบเท่ากับ 2,700 cP เมื่อเม็ดสตาร์ชได้รับความร้อน จะดูดซับน้ำและพองตัวขึ้นเป็นอย่างมาก ปริมาณน้ำอิสระที่อยู่รอบ ๆ เม็ดสตาร์ชน้อยลงรวมทั้งเม็ดสตาร์ชปลดปล่อยสารภายในออกมาสู่ตัวกลางภายนอก ทำให้เม็ดสตาร์ชเคลื่อนไหวได้ยาก จึงเกิดความหนืดขึ้น โดยมีจุดสำคัญในการวัดความหนืดของสารแขวนลอยสตาร์ชด้วยเครื่อง Brabender viscograph ดังแสดงในภาพที่ 2.10



ภาพที่ 2.10 จุดสำคัญในการวัดความหนืดของสารแขวนลอยสตาร์ชด้วยเครื่อง Brabender viscograph

จุด A แสดงอุณหภูมิที่เริ่มเกิดเจลาคีโนเซชันเป็นอุณหภูมิที่เครื่องวัดความหนืดได้ 10 BU

จุด B แสดงความหนืดสูงสุด (peak viscosity) เป็นความหนืดสูงสุดในช่วงให้ความร้อนเป็นจุดที่เม็ดสตาร์ชพองตัวเต็มที่

จุด C แสดงความหนืดเริ่มต้นที่อุณหภูมิ 95 °C ซึ่งให้เห็นถึงความยากง่ายในการหุงต้ม

จุด D แสดงความหนืดสุดท้ายที่อุณหภูมิ 95 °C ซึ่งให้เห็นถึงความคงตัวของเม็ดสตาร์ช

จุด E แสดงความหนืดเริ่มต้นที่อุณหภูมิ 50 °C ซึ่งให้เห็นถึงการเกิดริโทรเกรเดชันเนื่องจากการทำให้เย็น

จุด F แสดงความหนืดสุดท้ายที่อุณหภูมิ 50 °C ซึ่งให้เห็นถึงความคงตัวของสารแขวนลอยสตาร์ชสุกที่ผ่านการหุงต้มและทิ้งไว้ให้เย็น

2.6.2.2 เครื่อง Rapid visco analyser (RVA)

เป็นเครื่องมือสำหรับวัดความหนืดในขณะที่มีการให้ความร้อนและในขณะที่ทำให้เย็นของผลิตภัณฑ์ที่มีสตาร์ชเป็นองค์ประกอบหลัก โดยจะวัดค่าความหนืดเป็นฟังก์ชันของอุณหภูมิและเวลา เดิม RVA เป็นเครื่องมือที่ใช้สำหรับวัดกิจกรรมของเอนไซม์ α - amylase ในเมล็ดข้าวสาลีที่กำลังงอก แต่ในปัจจุบันได้มีการพัฒนาขึ้นมาเพื่อให้มีการใช้งานได้กว้างขวางมากขึ้นในด้านงานวิจัย การพัฒนาผลิตภัณฑ์ การควบคุมกระบวนการผลิต และการประกันคุณภาพในอุตสาหกรรมอาหาร ข้อดีของเครื่อง RVA มีดังนี้

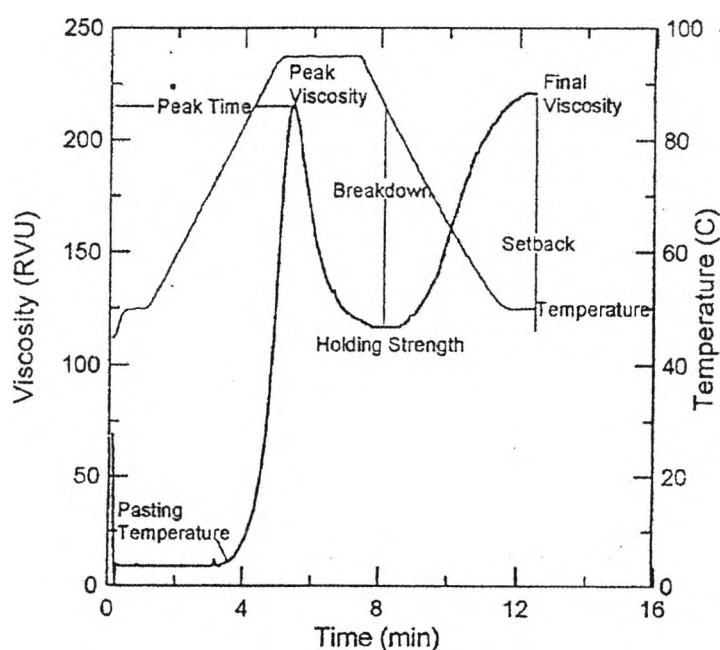
- (1) มีลักษณะเป็น objective
- (2) เวลาที่ใช้ทดสอบสั้น ขึ้นกับ profile ที่เลือกใช้ เช่น profile standard 1 ใช้เวลาทดสอบ 13 นาที profile standard 2 ใช้เวลาทดสอบ 23 นาที เป็นต้น
- (3) สามารถเลือกใช้อัตราการเพิ่มหรือลดอุณหภูมิ เวลา และความเร็วยกของใบกวนที่ใช้ทดสอบได้ตามความต้องการของผู้ใช้ เพื่อให้คล้ายคลึงกับกระบวนการจริงมากที่สุด
- (4) ใช้ตัวอย่างเพียงเล็กน้อยจึงเหมาะกับงานวิจัยที่มีตัวอย่างในปริมาณจำกัด
- (5) ภาชนะบรรจุเมื่อนำไปใช้แล้วทิ้งได้เลยเพราะมีราคาถูก ทำให้ไม่ต้องเสียเวลาในการล้างทำความสะอาด และภาชนะมีความบางมากทำให้มีการถ่ายเทความร้อนที่ดี

ตัวอย่างสารแขวนลอยสตาร์ชจะถูกบรรจุในภาชนะอะลูมิเนียมรูปทรงกระบอกพร้อมใบกวนแล้วนำไปใส่ใน copper block เมื่อ block ได้รับความร้อนจากขดลวดก็จะมี การถ่ายเทความร้อนมาสู่ภาชนะและตัวอย่างสารแขวนลอยสตาร์ชที่บรรจุอยู่ภายใน ส่วนระบบทำความเย็นจะใช้น้ำเย็นไหลผ่านเข้าไปลดอุณหภูมิของ block โดยอุณหภูมิของ block จะถูกควบคุมโดยโปรแกรมคอมพิวเตอร์เพื่อให้ได้ความถูกต้องแม่นยำตาม profile ที่ต้องการ แต่ในระบบอาจมีความแตกต่างระหว่างอุณหภูมิของ block และอุณหภูมิของตัวอย่างที่อยู่ภายในภาชนะ ซึ่งความแตกต่างจะมากหรือน้อยขึ้นกับอัตราการเพิ่มและลดอุณหภูมิ และความหนืดของตัวอย่าง โดยที่ความแตกต่างจะมากเมื่ออัตราการเพิ่มและลดอุณหภูมิและความหนืดของตัวอย่างเพิ่มขึ้น

แต่ใบกวนของเครื่อง RVA ก็ได้ถูกออกแบบมาให้เกิดความแตกต่างของอุณหภูมิน้อยที่สุด และป้องกันการเกิดช่องว่างเมื่อสตาร์ชสุกเมื่อใช้ความเข้มข้นของสารแขวนลอยสตาร์ชสูง ซึ่งจะเป็นผลดีต่อกราฟความหนืดที่ได้จะค่อนข้างแน่นอนและเชื่อถือได้ และทำให้ใช้ช่วงความเข้มข้นของสารแขวนลอยสตาร์ชได้กว้างขึ้น ลักษณะของกราฟความหนืดที่วัดด้วยเครื่อง RVA แสดงดังภาพที่ 2.11

ค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ที่วัดได้จากเครื่อง RVA มีดังนี้

- (1) Peak time คือเวลาที่เกิดความหนืดสูงสุด
- (2) Pasting temperature คืออุณหภูมิที่เริ่มมีความหนืดเพิ่มขึ้นอย่างน้อย 2 RVU ในเวลา 20 วินาที
- (3) Peak viscosity คือความหนืดสูงสุดบ่งชี้ถึงความหนืดชั้นของสารแขวนลอยสตาร์ช
- (4) Holding strength หรือtrough คือความหนืดต่ำสุด
- (5) Breakdown คือผลต่างของความหนืดสูงสุดและความหนืดต่ำสุดบ่งชี้ถึงความคงตัวของสตาร์ชจากแรงเฉือนและความร้อน
- (6) Final viscosity คือความหนืดสุดท้ายของการวัดบ่งชี้ถึงเนื้อสัมผัสของสตาร์ชสุดท้ายเมื่อเย็นตัวลง
- (7) Setback from trough คือผลต่างของความหนืดสุดท้ายที่ 50 °C กับความหนืดต่ำสุดบ่งชี้ถึงการเกิดรีโทรเกรดเซน



ภาพที่ 2.11 ลักษณะกราฟความหนืดและค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ที่วัดด้วยเครื่อง RVA

ที่มา : Newport Scientific (1995)

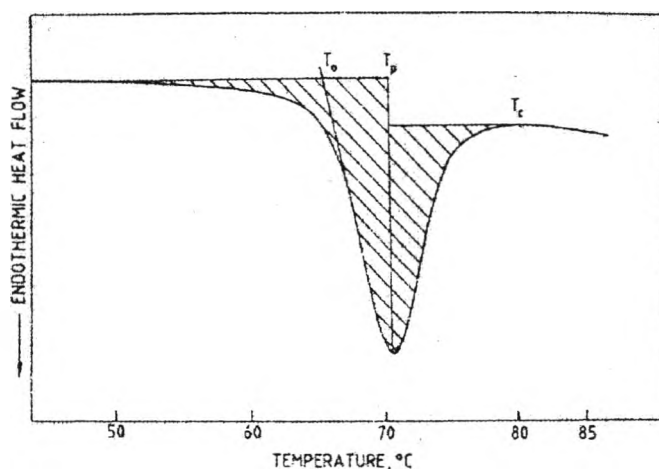
ไบกวนพลาสติกที่ใส่ลงในภาชนะที่บรรจุตัวอย่างจะเป็น sensor สำหรับตรวจวัดความหนืดของตัวอย่าง โดยระบบจะพยายามรักษาความเร็วรอบของไบกวนให้คงที่เสมอ ดังนั้นเมื่อตัวอย่างมีความหนืดเพิ่มขึ้น ระบบจะต้องส่งกระแสไฟฟ้าผ่านมอเตอร์เพิ่มขึ้นและปริมาณไฟฟ้าที่ผ่านมอเตอร์จะถูกแปลงเป็นสัญญาณดิจิตอลสำหรับเก็บเป็นข้อมูลในคอมพิวเตอร์ และแสดงผลออกมาเป็นค่าความหนืดในหน่วย Rapid visco unit (RVU) ความเร็วรอบของไบกวนสามารถปรับได้เพื่อให้ได้แรงเฉือนตามต้องการ โดยทั่วไปเมื่อเริ่มต้นการทดสอบจะให้ความเร็วรอบของไบกวนมีค่าสูงก่อน เพื่อให้ตัวอย่างกระจายตัวเป็นเนื้อเดียวกันอย่างสม่ำเสมอ เช่น profile standard1 ในช่วงเริ่มต้นของการทดสอบความเร็วรอบของไบกวนเป็น 960 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 วินาที หลังจากนั้นจะใช้ความเร็วรอบ 160 รอบต่อนาทีตลอดการทดสอบในช่วงต่อไป ส่วน profile ที่ใช้ขึ้นกับความต้องการของผู้ทดสอบว่าต้องการใช้เวลาในการทดสอบมากน้อยเท่าใด แต่ในช่วงเริ่มต้นของการทดสอบมักมีการคงอุณหภูมิ ณ จุดเริ่มต้นทดสอบไว้ประมาณ 1 นาที เพื่อให้ตัวอย่างเกิดความคงตัว

2.6.3 วิธีวัดอุณหภูมิในการหลอมผลึกสตาร์ช

เนื่องจากกระบวนการเกิดเจลาติโนเซชันของสตาร์ชเป็นกระบวนการดูดความร้อนมีค่าเอนทัลปี (enthalpy) ของการเจลาติโนเซชันอยู่ในช่วง 10-20 J/g จึงได้มีการนำเครื่อง Differential scanning calorimeter (DSC) มาใช้กับการศึกษาเจลาติโนเซชันของสตาร์ช โดย Stevens และ Elton (1971) จนกระทั่งมาถึงปัจจุบันวิธีนี้เป็นวิธีที่นิยมใช้กันมากที่สุดในงานวิจัยเพราะมีความแม่นยำ รวดเร็ว ศึกษาได้ในช่วงอุณหภูมิกว้าง และใช้ปริมาณตัวอย่างน้อยมาก (ไม่เกิน 200mg) แต่ไม่ค่อยเป็นที่นิยมใช้ในห้องทดลองของโรงงานอุตสาหกรรมเนื่องจากเครื่องมือมีราคาแพงและต้องการผู้ใช้ที่มีความชำนาญสูง (Leszczynski และ Golachowski, 1988) โดยมีหลักการวัดปริมาณความร้อนที่เปลี่ยนแปลงในรูปฟังก์ชันกับอุณหภูมิ โดยระบบจะรักษาความแตกต่างของอุณหภูมิตั้งแต่ตัวอย่างและสารอ้างอิงให้เป็น 0 เสมอ โดยมีขดลวดเป็นแหล่งให้พลังงานความร้อนเพื่อเพิ่มอุณหภูมิของตัวอย่างและสารอ้างอิง ผลการทดลองจะถูกบันทึกเป็น thermogram ตามภาพที่ 2.12 ซึ่งเป็นกราฟระหว่างปริมาณความร้อนที่เปลี่ยนแปลง (heat flow) กับอุณหภูมิ โดยเครื่องจะคำนวณค่าต่าง ๆ ในระบบ autocalculation จาก thermogram ดังนี้

- To (onset temperature) คืออุณหภูมิที่เริ่มมีการเปลี่ยนแปลง
- Tp (peak temperature) คืออุณหภูมิที่มีการเปลี่ยนแปลงสูงสุด
- Tc (conclusion temperature) คืออุณหภูมิลิ้นสุดของการเปลี่ยนแปลง

- ΔH (enthalpy of gelatinization) คือปริมาณความร้อนที่ดูดกลืนเข้าไปเพื่อหลอมผลึกสตาร์ชโดยหาได้จากพื้นที่ใต้กราฟ/น้ำหนักสตาร์ชแห้ง



ภาพที่ 2.12 thermogram ของการเกิดเจลลิตินในเซชันของสตาร์ชที่บันทึกได้จากเครื่อง DSC

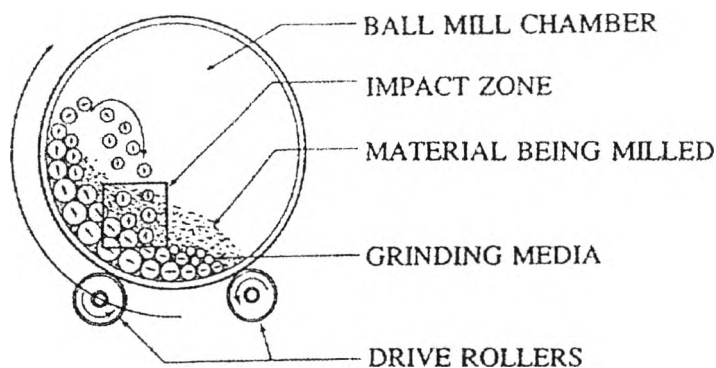
ที่มา : Hari และคณะ (1989)

อุณหภูมิเจลลิตินในเซชันของสตาร์ชที่วัดจากวิธีนี้จะไม่ขึ้นกับความเข้มข้นของสารแขวนลอยสตาร์ชถ้าใช้ปริมาณน้ำมากเกินไปคือ 60 % จะทำให้เกิดเจลลิตินในเซชันอย่างสมบูรณ์และมี peak เกิดขึ้นใน thermogram เพียง peak เดียว แต่ถ้าใช้ปริมาณน้ำน้อยกว่านี้ อุณหภูมิ เจลลิตินในเซชันจะเพิ่มขึ้นและ thermogram ที่ได้จะมี 2 peak (Hoseney, 1994)

2.7 Ball mill

Ball mill เป็นเครื่องลดขนาดสารแบบตัวเครื่องหมุน ลักษณะตัวเครื่องอาจเป็นทรงกระบอกหรือรูปกรวย หมุนรอบแกนในแนวนอนและมีลูกบอลล็กตั้งอยู่ภายใน ปริมาณของลูกบอลล็กจะใช้ 45 - 50 % แทนที่ปริมาตรของตัวเครื่อง การลดขนาดโดยใช้ลูกบอลล็กที่มีขนาดเล็กจะให้อนุภาคที่มีขนาดเล็กกว่าเมื่อเทียบกับการใช้ลูกบอลล็กขนาดใหญ่ ปริมาณของสารที่จะลดขนาดควรอยู่ในระดับเพียงพอที่จะบรรจุอยู่ในช่องว่างระหว่างลูกบอลล็ก และใส่เพิ่มให้อยู่เหนือระดับลูกบอลล็กอีกเล็กน้อย ไม่ควรใส่สารที่จะบดมากเกินไปเพราะจะทำให้ประสิทธิภาพในการลดขนาดมีค่าต่ำลง เนื่องจากปริมาณสารที่มากเกินไปจะเป็นตัวรองรับแรงบอลล็กและยังดูดซับ

พลังงานจากการกระทบของลูกบอลลิไว้อีกด้วย (ไกรสิทธิ์ อัมพรายน, 2543) กลไกการทำงานของ ball mill แสดงดังภาพที่ 2.13



ภาพที่ 2.13 กลไกการทำงานของ ball mill

ที่มา : ไกรสิทธิ์ อัมพรายน (2543)

2.8 การไม่สตาบิลิตี้ด้วย ball mill

การไม่สตาบิลิตี้ด้วย ball mill เป็นการดัดแปรสตาบิลิตี้ทางกายภาพด้วยแรงทางกลที่ทำได้ง่าย ใช้ต้นทุนต่ำ (Baldwin และคณะ, 1994) และไม่เป็นภัยต่อสิ่งแวดล้อมเนื่องจากไม่มีการใช้สารเคมี แรงทางกลที่เกิดขึ้นในขณะที่ไม่ด้วย ball mill มีดังนี้

- แรงกดอัด (compression force)
- แรงกระทบ (impact force)
- แรงเฉือน (shear force) หรือ แรงขัดสี (attrition force)

งานวิจัยที่ศึกษาผลของ ball mill ในตัวอย่างสตาบิลิตี้ชนิดต่าง ๆ มีดังนี้

(1) Baldwin และคณะ (1994) ทดลองไม่สตาบิลิตี้มันฝรั่งด้วย ball mill โดยใช้สตาบิลิตี้ 500 g ใส่ลงในหม้อบดทรงกระบอกทำด้วยเซรามิกส์ความจุ 1 kg ที่ภายในบรรจุลูกบอลลิไวเซรามิกส์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 cm จำนวน 12 ลูก ไม่ด้วยความเร็วรอบ 40 รอบ/นาที เป็นเวลา 100 นาที นำสตาบิลิตี้ที่ไม่ได้มาส่องด้วย Scanning electron microscope (SEM) พบว่าผิวของเม็ดสตาบิลิตี้มันฝรั่งเกิดความเสียหายแบบผิวหน้าขรุขระ (rough face) เพิ่มขึ้นมากที่สุดคือจากเดิม 0.6% ในสตาบิลิตี้ธรรมชาติเป็น 11.4% ในสตาบิลิตี้ที่ผ่านการไม่แล้ว รองลงมาคือความเสียหายแบบมีรอยถลอกขีดข่วนเข้าไปในเนื้อ (scratches) จากเดิม 0.8% เป็น 3.9%

(2) Adler, Baldwin และ Melia (1994) ทดลองโม่แป้งมันฝรั่งด้วย ball mill โดยใช้สภาวะเดียวกันกับ Baldwin และคณะ (1994) แล้วนำเม็ดแป้งมาศึกษาการถูกทำลายด้วยกล้อง Confocal fluorescent microscopy ร่วมกับการย้อมสีเม็ดแป้งด้วย Acridine orange (AO) และ Congo red (CR) พบว่าเม็ดแป้งมันฝรั่งที่ผ่านการโม่ด้วย ball mill เกิดความเสียหายทั้งที่ผิวชั้นนอกและ/หรือพื้นที่ภายในเม็ดแป้ง โดยความสมบูรณ์ของผิวชั้นนอกจะป้องกันการดูดซับน้ำจนพองตัวและแตกออก แต่ถ้าผิวภายนอกเกิดความเสียหายเพียงเล็กน้อยจะทำให้พื้นที่ภายในเม็ดแป้งที่เสียหายเกิดการดูดซับน้ำและปลดปล่อยสารเหนียว (gelatinous material) ออกมาได้ แต่ถ้าพื้นที่ภายในไม่เสียหายก็ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง

(3) Morrison, Tester และ Gidley (1994) ทดลองโม่แป้งข้าวสาลีและข้าวโพดด้วย Pascall ball mill โดยใช้แป้ง 5 g ใส่ในหม้อบดรูปทรงกระบอกทำจาก porcelain ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 cm สูง 15 cm ภายในบรรจุลูกบอล porcelain ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางต่าง ๆ กัน ดังนี้ 19 mm, 13 mm และ 10 mm จำนวน 16, 36 และ 86 ลูกตามลำดับ โดยหม้อบดหมุนในแนวอนที่ความเร็วรอบ 100 รอบ/นาที แปรระยะเวลาในการโม่จาก 0 ถึง 48 ชม. พบว่าเมื่อระยะเวลาในการโม่เพิ่มขึ้นความเป็นผลึก (crystallinity) ที่วัดได้จาก wide angle X-ray diffraction pattern และปริมาณเกลียวคู่ (double helix) ที่วัดได้จาก ^{13}C -CP/MAS NMR spectra มีค่าต่ำลงเรื่อย ๆ และเมื่อวัดค่า T_o , T_p และ T_c จากเครื่อง DSC ซึ่งเป็นค่าที่บ่งบอกถึงคุณภาพของการจัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบของโครงสร้างของอัมัยโลเพกตินมีค่าลดลง และค่า ΔH ซึ่งเป็นค่าที่บ่งบอกถึงความเป็นผลึกและปริมาณเกลียวคู่ก็มีค่าลดลงเช่นกัน

(4) Morrison และ Tester (1994) ใช้สภาวะในการทดลองเช่นเดียวกับ Morrison และคณะ (1994) โดยนำแป้งข้าวสาลีและข้าวโพดที่ผ่านการโม่ด้วย ball mill มาศึกษาองค์ประกอบด้วย Gel filtration chromatography เปรียบเทียบกับแป้งธรรมชาติ พบว่าปริมาณอัมัยโลสคองที่ในขณะที่ปริมาณอัมัยโลเพกติน ($DP \approx 5000$) ลดลงและปริมาณอัมัยโลเพกตินมวลโมเลกุลต่ำ ($DP_{60-2000}$) เพิ่มขึ้น

จากการทดลองของ Morrison และคณะ (1994) และ Morrison และ Tester (1994) ทำให้สรุปได้ว่า ball mill ทำให้เม็ดแป้งเกิดความเสียหายโดยทำให้สูญเสียความเป็นผลึกและการจัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบของโครงสร้างอัมัยโลเพกตินซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักในส่วนผลึกของเม็ดแป้ง โดยแรงทางกลจาก ball mill จะทำให้สายของอัมัยโลเพกตินในจุดที่ใกล้กับบริเวณจุดเชื่อมกิ่งที่มีพันธะ α -1,6-glucosidic แตกออกเกิดเป็นอัมัยโลเพกตินมวลโมเลกุลต่ำที่มีสมบัติใน

การพองตัวและละลายได้ในน้ำเย็น ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ α -amylase ได้อย่างรวดเร็วและไม่มี endotherm ของการเกิดเจลลาตินในเซชันเมื่อวัดด้วยเครื่อง DSC

(5) Tamaki และคณะ (1997) ทดลองโม่แป้งมันฝรั่งด้วย ball mill โดยใช้แป้ง 100 g ใส่ในหม้อบดเซรามิกส์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 13 cm และสูง 15 cm ใช้ลูกบอลเซรามิกส์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5 cm ปริมาณ 1.2 kg โม่ด้วยความเร็วรอบ 90 รอบ/นาที แปรระยะเวลาในการโม่เป็น 0, 1, 3, 5, 10, 20, 80 และ 320 ชม. เมื่อนำมาส่องด้วย SEM พบว่าผิวของเม็ดแป้งเปลี่ยนจากผิวเรียบเป็นขรุขระทั้งหมดภายในเวลาการโม่ 10 ชม. ขนาดอนุภาคลดลงเล็กน้อยเนื่องจากผิวหน้าถูกลอกออกไป และเม็ดแป้งเริ่มเกาะกันเป็นกลุ่มหลังจากโม่ 80 ชม. เม็ดแป้งที่มีรูปร่างรีซึ่งมีขนาดใหญ่จะเกิดความเสียหายมากที่สุดแสดงว่าลูกบอลจะกระทบที่บริเวณกลางเม็ด (central region) ซึ่งเป็นส่วนที่มีพื้นที่กว้างที่สุดบนผิวเม็ดแป้ง ในขณะที่เม็ดแป้งรูปร่างกลมที่มีขนาดเล็กกว่ายังไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงหลังจากที่โม่ 10 ชม. และจาก X-ray diffraction pattern พบว่าแป้งมันฝรั่งมี pattern ชนิด B และ pattern จะหายไปอย่างสมบูรณ์หลังจากโม่ 20 ชม. บ่งบอกได้ว่าบริเวณผลึก (crystalline region) หายไปหมดหลังจากการโม่ 20 ชม. นอกจากนี้ความสามารถในการดูดซับน้ำเพิ่มขึ้นจากการโม่ 0-10 ชม. (200%) และเพิ่มอีกเล็กน้อยหลังจากโม่ 20 ชม. (220%) และเม็ดแป้งถูกเข้าทำปฏิกิริยาโดยเอนไซม์ amylase ได้เร็วขึ้นและเจลลาตินในซ้อย่างสมบูรณ์ที่การโม่ 80 ชม. เนื่องจากแป้งถูก hydrolyze ได้ทันทีด้วยเอนไซม์ amylase และเมื่อวัดสมบัติทางความร้อนด้วยเครื่อง DSC พบว่า T_p มีค่าลดลงจาก 63.7°C ที่ 0 ชม. เป็น 58.8°C ที่ 320 ชม. และค่า ΔH ลดลงอย่างมากจาก 9.8 mJ/mg เป็น 1.1 mJ/mg

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงทำการโม่แป้งมันฝรั่งและแป้งมันสำปะหลังด้วย ball mill เป็นระยะเวลาต่าง ๆ กันเนื่องจากเมื่อเม็ดแป้งเกิดความเสียหายจากการโม่มากขึ้น ระดับความเป็นผลึกจะลดลงและเกิดเจลลาตินในเซชันได้ที่อุณหภูมิต่ำลง ซึ่งจะเป็นการแปรอุณหภูมิเจลลาตินในเซชันให้มีค่าต่าง ๆ กัน เพื่อทดสอบว่าเครื่องมือวัดอุณหภูมิเจลลาตินในเซชันที่สร้างขึ้นมีประสิทธิภาพดีพอที่จะตรวจวัดค่าอุณหภูมิเจลลาตินในเซชันที่ลดลงได้หรือไม่เมื่อเทียบกับเครื่อง Brabender viscograph, RVA และ DSC ซึ่งเป็นเครื่องที่นิยมใช้กันอยู่ในปัจจุบัน