การแยกสตาร์ชและโปรตีนจากแป้งข้าวโดยใช้เอนไซม์นิวทรัลโปรติเอส และการศึกษาสมบัติของสตาร์ชและโปรตีนที่แยกได้

นางสาวศิริกัญญา กุลสุวรรณ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2549
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ISOLATION OF STARCH AND PROTEINS FROM RICE FLOUR USING NEUTRAL PROTEASES AND DETERMINATION OF PROPERTIES OF ISOLATED STARCH AND PROTEINS

Miss Sirikanya Koolsuwan

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Food Technology
Department of Food Technology
Faculty of Science
Chulalongkorn University
Academic Year 2006

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การแยกสตาร์ชและโปรตีนจากแป้งข้าวโดยใช้เอนไซม์นิวทรัลโปรติเอส และการศึกษาสมบัติของสตาร์ชและโปรตีนที่แยกได้
โดย	นางสาวศิริกัญญา กุลสุวรรณ
สาขาวิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษา	อ. ดร. ขนิษฐา ธนานุวงศ์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ดร. โศรดา วัลภา

คณะวิทยาศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร. เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รมณี สงวนดีกุล)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(อ. ดร. ขนิษฐา ธนานุวงศ์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ดร. โศรดา วัลภา)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. วรรณา ตุลยธัญ)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จิรารัตน์ ทัตติยกุล)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ศิริกัญญา กุลสุวรรณ : การแยกสตาร์ชและโปรตีนจากแป้งข้าวโดยใช้เอนไซม์นิวทรัลโปรติเอสและการศึกษาสมบัติของสตาร์ชและโปรตีนที่แยกได้ (ISOLATION OF STARCH AND PROTEINS FROM RICE FLOUR USING NEUTRAL PROTEASES AND DETERMINATION OF PROPERTIES OF ISOLATED STARCH AND PROTEINS) อ. ที่ปรึกษา : อ. ดร. ขนิษฐา ธนานุวงศ์, อ. ที่ปรึกษาร่วม : ดร. โศรดา วัลภา. 117 หน้า

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการใช้เอนไซม์นิวทรัลโปรติเอสในการสกัดโปรตีนออกจากแป้งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์ชัยนาท 1 ด้วยเอนไซม์ Neutrase® และ bromelain โดยแบ่งงานวิจัยออกเป็น 3 ส่วน ดังนี้ ส่วนที่ 1 ศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนจากแป้งข้าวด้วยเอนไซม์ โดยการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว แปรความเข้มข้นเอนไซม์เป็น 0.5-1.0% ต่อน้ำหนักแป้งข้าว เวลาสกัด 4-8 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 50°C pH 7.0 ภาวะการสกัดที่ดีที่สุดจากการสกัดด้วยเอนไซม์แต่ละชนิด คือ ให้สตาร์ชที่มีโปรตีนต่ำที่สุดสำหรับแป้งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ได้แก่ การสกัดด้วย Neutrase® เข้มข้น 1.5% 8 ชั่วโมง ได้สตาร์ชที่มีโปรตีน 0.57% ผลผลิต 81.4% เม็ดแป้งที่เสียหาย 1.82% และการสกัดด้วย bromelain เข้มข้น 1.0% 6 ชั่วโมง ได้สตาร์ชที่มีโปรตีน 0.65% ผลผลิต 79.2% เม็ดแป้งที่เสียหาย 2.13% ส่วนแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ได้แก่ การสกัดด้วย Neutrase® เข้มข้น 1.5% 8 ชั่วโมง ได้สตาร์ชที่มีโปรตีน 0.96% ผลผลิต 80.1% เม็ดแป้งที่เสียหาย 1.71% และการสกัดด้วย bromelain เข้มข้น 1.5% 8 ชั่วโมง ได้สตาร์ชที่มีโปรตีน 0.89% ผลผลิต 79.7% เม็ดแป้งที่เสียหาย 1.17% การสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์ไม่ส่งผลให้ปริมาณโปรตีนในสตาร์ชลดลง แต่ผลผลิตลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ส่วนที่ 2 ศึกษาสมบัติของสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ การวิเคราะห์สมบัติของสตาร์ชที่ได้จากภาวะการสกัดโปรตีนที่ดีที่สุดด้วยเอนไซม์แต่ละชนิดในขั้นตอนเดียว เปรียบเทียบกับสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยสารละลายด่าง (0.3% NaOH) ในภาวะที่ให้สตาร์ชมีโปรตีนใกล้เคียงกับการสกัดด้วยเอนไซม์ พบว่าเมื่อวิเคราะห์สมบัติทางความร้อนด้วย DSC สตาร์ชที่สกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์มีอุณหภูมิเริ่มต้นของการเกิดเจลาติไนเซชันสูงกว่า แต่มีช่วงอุณหภูมิการเกิดเจลาติไนเซชันแคบกว่าสตาร์ชที่สกัดโปรตีนด้วยสารละลายด่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อวิเคราะห์สมบัติทางความหนืดด้วย RVA พบว่าสตาร์ชที่สกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์มีค่า pasting temperature และ peak time สูงกว่า แต่มีค่า peak viscosity และ breakdown ต่ำกว่าสตาร์ชที่สกัดโปรตีนด้วยสารละลายด่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) สตาร์ชที่สกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์มีกำลังการพองตัวที่อุณหภูมิ ≥ 60°C ต่ำกว่าสตาร์ชที่สกัดโปรตีนด้วยสารละลายด่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการเกิด annealing ของสตาร์ชระหว่างการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ ซึ่งช่วยเพิ่มความแข็งแรงให้แก่โครงสร้างของเม็ดแป้ง สตาร์ชที่สกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์มีอุณหภูมิการเกิดเจลาติไนเซชันใกล้เคียงกันกับสตาร์ชที่สกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ขั้นตอนเดียว ส่วนที่ 3 ศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ และคุณค่าทางโภชนาการของโปรตีนข้าวที่สกัดด้วยเอนไซม์เปรียบเทียบกับโปรตีนข้าวที่สกัดด้วยสารละลายด่าง พบว่าโปรตีนสกัดจากแป้งข้าวทั้ง 2 พันธุ์ ที่สกัดด้วยเอนไซม์มีค่าการละลาย foaming capacity และ emulsion activity สูงกว่า แต่มีค่า foaming stability ต่ำกว่าโปรตีนสกัดที่สกัดด้วยสารละลายด่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ด้านสมบัติเชิงหน้าที่อื่นๆ คือ ความสามารถในการจับกับน้ำและน้ำมัน และค่า emulsion stability กลับไม่พบแนวโน้มที่ชัดเจนจากการเปรียบเทียบสมบัติดังกล่าวของโปรตีนที่สกัดด้วยเอนไซม์และโปรตีนที่สกัดด้วยสารละลายด่าง เนื่องจากค่าดังกล่าวขึ้นอยู่กับพันธุ์ข้าวและชนิดของเอนไซม์ที่ใช้สกัด โปรตีนจากข้าวทั้ง 2 พันธุ์ ที่สกัดด้วยเอนไซม์มีปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นไลซีนต่ำกว่า แต่มีเมทไทโอนีนสูงกว่าโปรตีนจากข้าวที่สกัดด้วยสารละลายด่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ภาควิชา.....เทคโนโลยีทางอาหาร.....	ลายมือชื่อนิสิต.....ศิริกัญญา กุลสุวรรณ.....
สาขาวิชา....เทคโนโลยีทางอาหาร.....	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....
ปีการศึกษา.....2549.....	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4672544623 : MAJOR FOOD TECHNOLOGY

KEY WORD : RICE STARCH / NEUTRAL PROTEASES / RICE PROTEINS / STARCH ISOLATION

SIRIKANYA KOOLSUWAN : ISOLATION OF STARCH AND PROTEINS FROM RICE FLOUR USING NEUTRAL PROTEASES AND DETERMINATION OF PROPERTIES OF ISOLATED STARCH AND PROTEINS. THESIS ADVISOR : KANITHA TANANUWONG, Ph.D. THESIS COADVISOR : SORADA WANLAPA, Ph.D., 117 pp.

The objective of this research was to study the isolation of starch and proteins from Thai rice flour (Khao Dawk Mali 105 and Chainat 1) by neutral proteases (Neutrase® and bromelain). The research was divided into 3 parts. Part 1 involves the selection of the optimum conditions for the isolation of protein from rice flour using neutral proteases. In the single step isolation, rice flour was treated with 0.5-1.5% (on flour basis) proteases for 4-8 h at 50°C, pH 7.0. The optimum conditions for each type of proteases, providing starch with the lowest residue protein content, for Khao Dawk Mali 105 flour were the isolation with 1.5% Neutrase® for 8 h, providing starch with 0.57% protein, 81.4% yield, and 1.82% damaged starch, and 1.0% bromelain, 6 h, providing starch with 0.65% protein, 79.2% yield, and 2.13% damaged starch. For Chainat 1 flour, the optimum conditions were 1.5% Neutrase®, 8 h, providing starch with 0.96% protein, 80.1% yield, and 1.71% damaged starch, and 1.5% bromelain, 8 h, providing starch with 0.89% protein, 79.7% yield, and 1.17% damaged starch. Double-step protein isolation with the proteases insignificantly affected protein content in starches ($p > 0.05$), but significantly decreased starch yield ($p \leq 0.05$). Part 2 involves the determination of properties of starches obtained from the optimized single step protease digestion in comparison with those obtained from alkaline extraction (0.3% NaOH, providing the similar protein content starch with the protease digestion). Thermal properties of starches as measured by DSC showed that the protease-treated starches had significantly higher onset temperature, but significantly lower gelatinisation temperature range than the alkaline-treated starches ($p \leq 0.05$). The pasting properties of starches as measured by RVA indicated that the protease-treated starch had significantly higher pasting temperature and peak time, but had significantly lower peak viscosity and breakdown than the alkaline-treated starches ($p \leq 0.05$). The starches obtained from single and double-step enzymatic isolation had similar gelatinisation temperature. The swelling power of the protease-treated starches at ≥ 60°C were significantly lower than that of alkaline-treated starches ($p \leq 0.05$). These results could be related to the annealing of starch during the enzymatic digestion, which helped strengthen the crystalline structure of starch granules. Part 3 involves the determination of functional properties and nutritional value of the protease-isolated proteins in comparison with the alkaline-isolated proteins. The protease-isolated proteins had significantly higher solubility, foaming capacity, and emulsion activity, but had significantly lower foaming stability than the alkaline-isolated proteins ($p \leq 0.05$). Water and oil binding capacity and emulsion stability of the isolated proteins depended on the types of rice flours and neutral proteases used. Therefore, the comparison between these functional properties between rice protein isolated from proteases and alkaline was more complicated. Considering of essential amino acid content of the isolated proteins, the protease-isolated proteins had significantly lower lysine, but had significant higher methionine than the alkaline-isolated protein ($p \leq 0.05$).

Department.....Food Technology.....	Student's signature.....Sirikanya koolsuwan
Field of study....Food Technology.....	Advisor's signature.....
Academic year.....2006.....	Co-Advisor's signature.....

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ อ. ดร. ขนิษฐา ธนานุวงศ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่กรุณาให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นต่างๆ และความช่วยเหลือทางด้านวิชาการตลอดระยะเวลาของการปฏิบัติงานวิจัยนี้ รวมทั้งการตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ เพื่อให้วิทยานิพนธ์สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ ดร. โศรดา วัลภา อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์สำหรับงานวิจัยนี้ และกรุณาตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ เพื่อให้วิทยานิพนธ์สมบูรณ์ยิ่งขึ้น ตลอดจนการจัดหาวัตถุดิบสำหรับงานวิจัย และการอำนวยความสะดวกในระหว่างการทำวิจัยที่สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

ขอขอบพระคุณสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) ที่ให้การสนับสนุนด้านงบประมาณตลอดงานวิจัย โดยงานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการการสร้างภาคีในการผลิตบัณฑิตระดับปริญญาโท-เอก ระหว่าง วว. กับสถาบันการศึกษา

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รมณี สงวนดีกุล ที่กรุณาเป็นประธานกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร.วรรณา ตุลยธัญ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จิรารัตน์ ทัตติยกุล ที่ได้กรุณาเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และกรุณาตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ เพื่อให้วิทยานิพนธ์สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. ไสยวิชญ์ วรวินิต ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือในการวิเคราะห์สมบัติทางความหนืดตัวอย่างสตาร์ชในงานวิจัยนี้ และขอขอบพระคุณคุณรัตนา จันทร์ส่ง เจ้าหน้าที่ศูนย์ทดสอบและมาตรวิทยา วว. ที่ให้คำแนะนำและอำนวยความสะดวกในการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโน

ขอขอบพระคุณบริษัท อีสต์ เอเชียติ๊ก และบริษัท Great Food (Biochem) ที่ให้ความอนุเคราะห์เอนไซม์สำหรับงานวิจัย

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่และบุคลากร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ที่ได้ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกด้านต่างๆ ตลอดงานวิจัย ขอบคุณเพื่อน พี่ และน้องๆ นิสิตปริญญาโท และพี่ปริญญาเอก ที่ให้ความช่วยเหลือและให้กำลังใจกันมาโดยตลอด

ท้ายสุดนี้ขอกราบขอบพระคุณพ่อและแม่ ขอบคุณน้องชาย สำหรับกำลังใจ ความเชื่อมั่น และการสนับสนุนที่มีให้เสมอมา

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....จ

กิตติกรรมประกาศ.....ฉ

สารบัญ.....ช

สารบัญตาราง.....ฌ

สารบัญรูป.....ฎ

บทที่ 1 บทนำ.....1

บทที่ 2 วารสารปริทัศน์.....3

2.1 ข้าว.....3

2.2 องค์ประกอบทางเคมีของข้าว.....7

2.3 สมบัติของสตาร์ช.....10

2.4 ผลของโปรตีนในข้าวต่อสมบัติของแป้ง.....12

2.5 การผลิตสตาร์ชข้าว.....13

2.6 การเกิด annealing ของสตาร์ช.....19

2.7 สมบัติของโปรตีน.....19

บทที่ 3 การดำเนินงานวิจัย.....25

บทที่ 4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง.....37

4.1 ผลการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของแป้งข้าว.....37

4.2 ผลการศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนจากแป้งข้าวด้วยเอนไซม์นิวทรัลโปรติเอส.....38

4.2.1 ผลการศึกษาผลของความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาในการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว.....38

4.2.2 ผลการศึกษาการสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์เปรียบเทียบกับการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว.....46

4.3 ผลการศึกษาสมบัติของสตาร์ชข้าวที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์.....47

4.4 ผลการศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่และคุณค่าทางโภชนาการของโปรตีนข้าวที่สกัดด้วยเอนไซม์เปรียบเทียบกับโปรตีนข้าวที่สกัดด้วยสารละลาย 0.3% NaOH.....69

หน้า

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....81
รายการอ้างอิง.....85
ภาคผนวก.....96
ภาคผนวก ก วิธีการวิเคราะห์.....97
ภาคผนวก ข การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ.....113
ภาคผนวก ค รายละเอียดข้อมูลเพิ่มเติม.....115
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....117

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 ปริมาณส่งออกข้าวของประเทศไทย ปี 2545-2548.....5

2.2 ปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของข้าว.....8

2.3 กรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบของโปรตีนจากส่วนต่างๆ ของข้าว.....24

4.1 องค์ประกอบทางเคมีของแป้งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1.....37

4.2 ร้อยละโปรตีน ผลผลิต และเม็ดแป้งที่เสียหายในสตาร์ชข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ได้จากภาวะการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ Neutrase® 39

4.3 ร้อยละโปรตีน ผลผลิต และเม็ดแป้งที่เสียหายในสตาร์ชข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ได้จากภาวะการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ bromelain.....40

4.4 ร้อยละโปรตีน ผลผลิต และเม็ดแป้งที่เสียหายในสตาร์ชข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากภาวะการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ Neutrase®.....42

4.5 ร้อยละโปรตีน ผลผลิต และเม็ดแป้งที่เสียหายในสตาร์ชข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากภาวะการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ bromelain.....43

4.6 ร้อยละโปรตีน ผลผลิต และเม็ดแป้งที่เสียหายในสตาร์ชข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากภาวะการสกัดโปรตีนที่ดีที่สุดด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว.....45

4.7 ร้อยละโปรตีน ผลผลิต และเม็ดแป้งที่เสียหายในสตาร์ชข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนในขั้นตอนเดียวและสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์ 46

4.8 ร้อยละโปรตีน ผลผลิต และเม็ดแป้งที่เสียหายในสตาร์ชข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนในขั้นตอนเดียวและสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์.....47

4.9 ร้อยละโปรตีน ผลผลิต และเม็ดแป้งที่เสียหายในสตาร์ชข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากภาวะสกัดโปรตีนที่ดีที่สุดด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว และสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยสารละลาย 0.3% NaOH.....48

4.10 สมบัติทางความร้อนของสตาร์ชข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว และที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยสารละลาย 0.3% NaOH.....49

4.11 สมบัติทางความร้อนของสตาร์ชข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว และที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยสารละลาย 0.3% NaOH.....49

4.12 สมบัติทางความร้อนของสตาร์ชข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนในขั้นตอนเดียวและสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์.....51

ตารางที่ หน้า

4.13 สมบัติทางความร้อนของสตาร์ชข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนในขั้นตอนเดียวและสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์.....52
4.14 สมบัติทางความร้อนของแป้งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ได้จากภาวะต่างๆ ของการเกิด annealing และการ annealing ซ้ำ.....53
4.15 สมบัติทางความร้อนของแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากภาวะต่างๆ ของการเกิด annealing และการ annealing ซ้ำ.....54
4.16 สมบัติทางความหนืดของสตาร์ชข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว และสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยสารละลาย 0.3% NaOH.....56
4.17 สมบัติทางความหนืดของสตาร์ชข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว และสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยสารละลาย 0.3% NaOH.....57
4.18 สมบัติทางความหนืดของสตาร์ชข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนในขั้นตอนเดียวและสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์ Neutrase®.....58
4.19 สมบัติทางความหนืดของสตาร์ชข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนในขั้นตอนเดียวและสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์ bromelain.....59
4.20 สมบัติทางความหนืดของสตาร์ชข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนในขั้นตอนเดียวและสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์ Neutrase®.....60
4.21 สมบัติทางความหนืดของสตาร์ชข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนในขั้นตอนเดียวและสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์ bromelain.....61
4.22 ค่าสีในระบบ Hunter (L*, a, b) ของสตาร์ชข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105.....65
4.23 ค่าสีในระบบ Hunter (L*, a, b) ของสตาร์ชข้าวพันธุ์ชัยนาท 1.....65
4.24 ผลผลิตโปรตีนสกัดที่ได้จากแป้งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105.....69
4.25 ผลผลิตโปรตีนสกัดที่ได้จากแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1.....70
4.26 ร้อยละการละลายของโปรตีนที่สกัดได้จากแป้งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105.....71
4.27 ร้อยละการละลายของโปรตีนที่สกัดได้จากแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1.....71
4.28 ความสามารถในการจับกับน้ำและน้ำมันของโปรตีนสกัดจากแป้งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105.....72

ตารางที่ หน้า

4.29 ความสามารถในการจับกับน้ำและน้ำมันของโปรตีนสกัดจาก
แป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1.....73
4.30 สมบัติการเกิดโฟมของโปรตีนสกัดจากแป้งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105.....73
4.31 สมบัติการเกิดโฟมของโปรตีนสกัดจากแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1.....74
4.32 สมบัติการเกิดอิมัลชันของโปรตีนสกัดจากแป้งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105.....76
4.33 สมบัติการเกิดอิมัลชันของโปรตีนสกัดจากแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1.....76
4.34 ปริมาณกรดอะมิโนในโปรตีนจากแป้งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105.....78
4.35 ปริมาณกรดอะมิโนในโปรตีนจากแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1.....79
4.36 ปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นในโปรตีนจากแป้งข้าวและโปรตีนจากไข่.....80
ข. 1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละโปรตีน ผลผลิต และเม็ดแป้งที่เสียหาย
ในสตาร์ชข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนในขั้นตอนเดียว
ด้วยเอนไซม์ Neutrase®.....113
ข. 2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละโปรตีน ผลผลิต และเม็ดแป้งที่เสียหาย
ในสตาร์ชข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนในขั้นตอนเดียว
ด้วยเอนไซม์ bromelain.....113
ข. 3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละโปรตีน ผลผลิต และเม็ดแป้งที่เสียหาย
ในสตาร์ชข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนในขั้นตอนเดียวด้วย
เอนไซม์ Neutrase®.....114
ข. 4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละโปรตีน ผลผลิต และเม็ดแป้งที่เสียหาย
ในสตาร์ชข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนในขั้นตอนเดียวด้วย
เอนไซม์ bromelain.....114
ค. 1 กำลังการพองตัวของสตาร์ชข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ได้จากการสกัด
โปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว และสารละลาย 0.3% NaOH.....115
ค. 2 กำลังการพองตัวของสตาร์ชข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากการสกัดโปรตีน
ด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว และสารละลาย 0.3% NaOH.....115
ค. 3 ร้อยละการละลายของสตาร์ชข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ได้จากการสกัด
โปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว และสารละลาย 0.3% NaOH.....116
ค. 4 ร้อยละการละลายของสตาร์ชข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากการสกัดโปรตีน
ด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว และสารละลาย 0.3% NaOH.....116

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

2.1 โครงสร้างภายในของเมล็ดข้าว....4

3.1 ขั้นตอนการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์โดยย่อ....28

3.2 ขั้นตอนการสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์โดยย่อ....30

3.3 ขั้นตอนการสกัดโปรตีนด้วยสารละลายด่างโดยย่อ.... 31

3.4 การแยกโปรตีนที่สกัดด้วยเอนไซม์โดยย่อ....34

3.5 การแยกโปรตีนที่สกัดด้วยสารละลายด่างโดยย่อ....35

4.1 กำลังการพองตัวของสตาร์ชข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว และสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยสารละลาย 0.3% NaOH....62

4.2 กำลังการพองตัวของสตาร์ชข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว และสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยสารละลาย 0.3% NaOH....62

4.3 ร้อยละการละลายของสตาร์ชข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว และสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยสารละลาย 0.3% NaOH....63

4.4 ร้อยละการละลายของสตาร์ชข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียวและสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยสารละลาย 0.3% NaOH....64

4.5 SEM แสดงการกระจายตัวและพื้นผิวเม็ดแป้งในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105....67

4.6 SEM แสดงการกระจายตัวและพื้นผิวเม็ดแป้งในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1....68

ก. 1 กราฟมาตรฐานอมัยโลส....101

ก. 2 ตัวอย่างกราฟจากการวิเคราะห์สมบัติทางความหนืดของสตาร์ชด้วย RVA....105

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

ข้าวเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย ในแต่ละปีจะมีผลผลิตข้าวเปลือกประมาณ 22-26 ล้านตัน ผลผลิตที่ได้นำมาใช้บริโภคในประเทศและส่งออก ในปี 2549 ประเทศไทยส่งออกข้าวปริมาณ 8 ล้านตัน มูลค่ากว่า 1 แสนล้านบาท ตลาดที่สำคัญ ได้แก่ แอฟริกา เอเชีย และตะวันออกกลาง (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2550) โดยไทยเป็นประเทศที่ส่งออกข้าวมากที่สุดในโลก คิดเป็น 28% ของปริมาณการส่งออกข้าวทั่วโลก (Foreign Agricultural Service, 2007) ก่อนนำข้าวไปบริโภคจะต้องผ่านกระบวนการขัดสีเพื่อให้ได้ข้าวสาร โดยผลผลิตจากการสีข้าวประกอบด้วยแกลบ 20% เมล็ดสมบูรณ์ 50% ข้าวหัก 16% และรำ 14% (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, 2544) ข้าวหักหรือปลายข้าวที่เกิดขึ้นเป็นส่วนที่มีราคาถูก การนำปลายข้าวมาผลิตเป็นแป้งข้าวและสตาร์ชข้าวจึงเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับวัตถุดิบ สตาร์ชข้าว (rice starch) เป็นแป้งข้าวบริสุทธิ์ที่ได้จากการแยกโปรตีนและสิ่งเจือปนออกจากเม็ดแป้งจนเกือบหมด ทำให้สตาร์ชข้าวมีสมบัติแตกต่างจากแป้งข้าวที่ยังคงมีโปรตีนและสิ่งเจือปนอื่นๆ รวมอยู่กับเม็ดแป้ง สตาร์ชข้าวนอกจากจะถูกนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารแล้วยังมีการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอื่นๆ เช่น อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง ยา เครื่องนุ่งห่ม และกาว เป็นต้น เนื่องจากมีสมบัติที่เหมาะสม ได้แก่ ขนาดเม็ดแป้งเล็ก สีขาวสะอาด ไม่มีกลิ่น และมีสารที่ทำให้เกิดอาการแพ้ต่ำ

การผลิตสตาร์ชข้าวระดับอุตสาหกรรมนิยมใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ในการแยกโปรตีนและสิ่งเจือปนออกจากเม็ดแป้ง เพราะเป็นวิธีที่ให้ผลผลิตสูงและสตาร์ชข้าวที่ได้มีโปรตีนคงเหลือต่ำ เนื่องจากกลูเตลินซึ่งเป็นโปรตีนที่พบมากที่สุดในข้าวละลายได้ในสารละลายด่าง อย่างไรก็ตามวิธีการนี้มีข้อด้อยหลายประการ กล่าวคือ ทำให้เกิดน้ำทิ้งที่มีสมบัติเป็นด่างปริมาณมาก และโปรตีนข้าวที่แยกได้ไม่เหมาะสมสำหรับการใช้เป็นอาหารมนุษย์ เนื่องจากเกิดปฏิกิริยากับสารละลายด่างได้เปปไทด์สายสั้นที่ทำให้เกิดรสขม (Guraya and James, 2002) นอกจากนี้สารละลายด่างยังทำให้เม็ดแป้งเกิดการเปลี่ยนแปลง สตาร์ชข้าวที่ได้จึงมีสมบัติต่างไปจากเดิม (Mistry and Eckhoff, 1992) ปัจจุบันจึงมีความพยายามที่จะหาวิธีการใหม่มาทดแทนการใช้สารละลายด่าง จากงานวิจัยของ Wang และ Wang (2001) พบว่าการใช้เอนไซม์นิวทรัลโปรติเอส (neutral protease) ให้ประสิทธิภาพการแยกโปรตีนออกจากแป้งข้าวได้ดีที่ภาวะเป็นกลาง โดยไม่ทำให้เม็ดแป้งเปลี่ยนแปลง และไม่ก่อปัญหาเรื่องน้ำทิ้งที่มีสมบัติเป็นด่าง

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาการแยกโปรตีนออกจากแป้งข้าวที่สำคัญของประเทศไทย 2 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์ชัยนาท 1 ด้วยเอนไซม์นิวทรัลโปรติเอส 2 ชนิด ศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพของสตาร์ชข้าวที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์เปรียบเทียบกับสตาร์ชข้าวที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยสารละลายด่าง และศึกษาผลของการสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์ รวมทั้งศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่และคุณค่าทางโภชนาการของโปรตีนที่สกัดด้วยเอนไซม์เปรียบเทียบกับโปรตีนที่สกัดด้วยสารละลายด่าง เพื่อเป็นข้อมูลนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตสตาร์ชข้าว และการนำโปรตีนจากข้าวมาใช้ประโยชน์

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

2.1 ข้าว

ข้าวเป็นพืชล้มลุกตระกูลหญ้า (annual grass) จัดอยู่ในสกุลออไรซา (Genus *Oryza*) ของวงศ์แกรมินี (Family Gramineae) เจริญเติบโตได้ดีทั้งในเขตร้อน และเขตอบอุ่น โดยข้าวที่ขึ้นอยู่ในท้องที่ต่างๆ ของโลกแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ๆ ได้แก่ ออไรซา ซาไทวา (*Oryza sativa* L.) มีแหล่งกำเนิดในทวีปเอเชียและปลูกทั่วไปในเอเชีย และแหล่งอื่นๆ ของโลก ออไรซา กลาเบอริมา (*Oryza glaberrima*) มีแหล่งกำเนิดและปลูกเฉพาะในทวีปแอฟริกา และข้าวป่า (wild rice) ซึ่งเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติในประเทศต่างๆ ของทุกทวีปที่ปลูกข้าว เช่น ออไรซา เพอเรนนิส (*Oryza perennis*) โดยข้าวออไรซา ซาไทวา (*Oryza sativa* L.) แบ่งออกเป็น 3 ชนิด ได้แก่ (บุญหงษ์ จงคิด, 2547)

1. อินดิคา (Indica) เป็นข้าวเมล็ดยาวเรียว เจริญเติบโตได้ดีในเขตร้อน (tropical zone) เช่น ศรีลังกา จีนตอนใต้และตอนกลาง อินเดีย อินโดนีเซีย บังคลาเทศ ไทย ฟิลิปปินส์ เป็นต้น
2. จาโปนิคา (Japonica) เป็นข้าวเมล็ดสั้นป้อม มีปริมาณอมัยโลสต่ำ เจริญเติบโตได้ดีในเขตอบอุ่น (temperate zone) เช่น ประเทศจีนตอนเหนือและตะวันออก ญี่ปุ่น เกาหลี ยุโรปตอนใต้ รัสเซีย อเมริกาใต้ เป็นต้น
3. จาวานิคา (Javanica) เป็นข้าวต้นสูง เมล็ดใหญ่ป้อม สันนิษฐานว่าเกิดขึ้นจากการคัดเลือกพันธุ์มาจากข้าวอินดิคา ส่วนใหญ่ปลูกในประเทศอินโดนีเซียเท่านั้น

2.1.1 โครงสร้างของเมล็ดข้าว

เมล็ดข้าวประกอบด้วยส่วนใหญ่ๆ 2 ส่วน คือ ส่วนที่ห่อหุ้ม เรียกว่า แกลบ และส่วนที่รับประทานได้ เรียกว่า ข้าวกล้อง (อรอนงค์ นัยวิกุล และอรสิริ ทุติภาค, 2542)

1. แกลบ (hull หรือ husk) เป็นเปลือกของเมล็ดข้าว ผิวหยาบ แยกเป็นสองฝา ประกบหุ้มเมล็ดข้าวกล้องตามแนวยาวด้วยเปลือกใหญ่ (lemma) และเปลือกเล็ก (palea) ส่วนของแกลบมีประมาณ 18-24% ของน้ำหนักข้าวเปลือก

2. ข้าวกล้อง (caryopsis, brown rice, cargo rice หรือ dehulled rice) เป็นส่วนที่ใช้บริโภคเป็นอาหาร ประกอบด้วยส่วนต่างๆ ที่สำคัญ ดังนี้

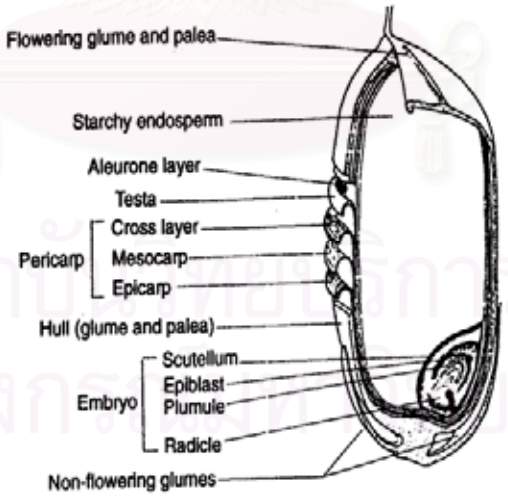
2.1 เยื่อหุ้มผล (pericarp) เป็นส่วนที่พัฒนามาจากผนังรังไข่ แบ่งออกเป็นเซลล์ชั้นนอก (epicarp) เซลล์ชั้นกลาง (hypoderm หรือ mesocarp) และเซลล์ชั้นใน (endocarp) ผนังเซลล์ของเยื่อหุ้มผลประกอบด้วยโปรตีน เฮมิเซลลูโลส เซลลูโลส และมีสารสีอยู่ ทำให้ข้าวกล้องมีสีต่างๆ เช่น ขาว แดง น้ำตาลเข้ม น้ำตาล-เทา และม่วงถึงเกือบดำ

2.2 เยื่อหุ้มเมล็ด (tegmen หรือ seed coat) เป็นเซลล์รูปยาว เรียงตามขวางและมีผนังบาง ภายในเซลล์มีไขมันและสารสีเช่นเดียวกับเยื่อหุ้มผล

2.3 คัพภะหรือเชื้อพันธุ์ (embryo) อยู่ทางด้านท้องที่อยู่ใกล้ก้านผล มีขนาดเล็กภายในประกอบด้วยต้นอ่อนที่จะเจริญต่อไปเป็นต้นข้าว เป็นส่วนที่อุดมไปด้วยโปรตีนและไขมัน

2.4 เยื่อแอลูโรน (aleurone layers) เป็นส่วนที่ห่อหุ้มคัพภะและเอนโดสเปิร์ม ประกอบด้วยเซลล์ 1-7 ชั้น เป็นส่วนที่มีสารอาหารหลายชนิด เช่น โปรตีน ไขมัน เป็นต้น

2.5 เอนโดสเปิร์ม (endosperm) คือส่วนที่เป็นข้าวสาร ประกอบด้วยเซลล์พาเรนไคมาที่มีผนังบาง ภายในเซลล์อัดแน่นด้วยกลุ่มสตาร์ช (starch compound) ที่มีเม็ดสตาร์ช (starch granule) อัดกันอยู่ภายใน โดยมีกลุ่มโปรตีนแทรกอยู่ระหว่างกลุ่มสตาร์ช



รูปที่ 2.1 โครงสร้างภายในของเมล็ดข้าว (Blakeney, 1996)

2.1.2 ตลาดของข้าว

ข้าวเป็นสินค้าส่งออกที่สำคัญของประเทศไทย โดยไทยเป็นประเทศที่ส่งออกข้าวมากที่สุดในโลก (Foreign Agricultural Service, 2007) ตลาดที่สำคัญ ได้แก่ แอฟริกา เอเชีย และตะวันออกกลาง ปริมาณการส่งออกข้าวของไทยไปยังทวีปต่างๆ แสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ปริมาณส่งออกข้าวของประเทศไทย ปี 2545-2548

ทวีป	2545	2546	2547	2548
เอเชีย	2,364,617	2,681,249	2,584,491	2,057,800
ตะวันออกกลาง	1,220,294	1,165,997	1,610,267	906,178
ยุโรป	345,072	344,069	441,633	332,282
แอฟริกา	2,863,159	2,615,450	4,757,263	3,450,533
อเมริกา	373,024	699,397	613,534	414,293
โอเชียเนีย	79,473	91,253	133,036	143,261
รวม	7,245,638	7,579,415	10,140,224	7,304,346
มูลค่าข้าว (ล้านบาท)	67,193	76,368	110,376	90,874

ที่มา: สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2549) ปริมาณ : ตัน

2.1.3 การแบ่งประเภทข้าว

การแบ่งประเภทของข้าวสามารถอาศัยทั้งลักษณะทางกายภาพและองค์ประกอบทางเคมี เช่น การแบ่งตามรูปร่างและความยาวของเมล็ด ได้แก่ ข้าวเมล็ดยาว (long-grain) ข้าวเมล็ดปานกลาง (medium-grain) และข้าวเมล็ดสั้น (short-grain) ส่วนการแบ่งตามอัตราส่วนระหว่างปริมาณอมัยโลสและอมัยโลเพคติน ได้แก่ waxy (อัตราส่วนต่ำกว่า 15%) normal (อัตราส่วน 16-35%) และ high amylose (อัตราส่วน 36% ขึ้นไป) (Tester, Karkalas, and Qi, 2004) โดยทั่วไปแล้วนิยมแบ่งประเภทข้าวตามปริมาณอมัยโลส เนื่องจากเป็นองค์ประกอบที่ส่งผลต่อคุณภาพการบริโภค ซึ่งในโรงงานอุตสาหกรรมอาหารใช้เป็นปัจจัยสำคัญในการคาดคะเนลักษณะเนื้อสัมผัสของแป้ง (Cameron and Wang, 2005) โดย Juliano (1981) แบ่งประเภทของข้าวตามปริมาณอมัยโลส ดังนี้

ข้าวเหนียว ประกอบด้วยอมัยโลส 1-2%

ข้าวอมัยโลสต่ำมาก ประกอบด้วยอมัยโลส 5-12%

ข้าวอมัยโลสต่ำ ประกอบด้วยอมัยโลส 12-20%

ข้าวอมัยโลสปานกลาง ประกอบด้วยอมัยโลส 20-25%

ข้าวอมัยโลสสูง ประกอบด้วยอมัยโลส 25-33%

พันธุ์ข้าวในประเทศไทยสามารถแบ่งตามปริมาณอมัยโลสได้ดังนี้ (งามชื่น คงเสรี, 2543)

- พันธุ์ข้าวอมัยโลสต่ำ ได้แก่ ขาวดอกมะลิ 105 กข 21 และกข 15 เป็นต้น
- พันธุ์ข้าวอมัยโลสปานกลาง ได้แก่ นางมล เอส 4 ขาวปากหม้อ 148 กข 7 กข 23 สุพรรณ 2 และสุพรรณ 60 เป็นต้น
- พันธุ์ข้าวอมัยโลสสูง ได้แก่ ชัยนาท 1 เหลืองปะทิว 123 กข 5 กข 13 กข 17 สุพรรณบุรี 1 สุพรรณ 90 และปทุมธานี 60 เป็นต้น

2.1.4 ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และข้าวพันธุ์ชัยนาท 1

ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 เป็นข้าวที่มีกลิ่นหอม เมื่อหุงสุกแล้วจะมีลักษณะอ่อนนุ่ม ด้วยลักษณะดังกล่าวจึงเป็นข้าวที่ได้รับความนิยมในการบริโภคทั้งในและต่างประเทศ โดยเป็นข้าวเจ้าที่ไวต่อแสง ทนทานต่อสภาพแห้งแล้ง ดินเปรี้ยวและดินเค็มได้ดี (สถาบันวิจัยข้าว, 2550)

ข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 เป็นข้าวที่ได้จากการผสมพันธุ์โดยสถานีทดลองข้าวชัยนาท ในปี 2530 เป็นข้าวพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูง เมล็ดข้าวสารใสและมีท้องไข่น้อย ให้คุณภาพการสีดี เมื่อหุงแล้วมีลักษณะค่อนข้างแข็ง สามารถนำไปแปรรูปเป็นก๋วยเตี๋ยว เส้นหมี่ และขนมจีนได้ (ศูนย์ขยายเมล็ดพันธุ์พืช, 2550)

2.1.5 การใช้ประโยชน์จากข้าวและสตาร์ชข้าว

ข้าวเป็นธัญพืชที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรม มีรายงานว่าทั่วทั้งโลกมีข้าวกว่า 20,000 สายพันธุ์ โดยแต่ละพันธุ์จะมีสมบัติของแป้งที่ต่างกัน ซึ่งถือเป็นข้อดีทำให้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมได้หลากหลาย (Vandeputte and Delcour, 2004) ข้าวในประเทศไทยนอกจากจะใช้บริโภคเป็นอาหารหลักแล้ว ยังมีการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากข้าวในระดับอุตสาหกรรม เช่น แป้งข้าว สตาร์ชข้าว ผลิตภัณฑ์อาหารเส้นและแผ่น อาหารประเภทพองกรอบ อาหารเด็กอ่อน ข้าวกึ่งสำเร็จรูป เป็นต้น (อรอนงค์ นัยวิกุล และอรสิริ ทุติภาค, 2542)

ในอุตสาหกรรมอาหารนอกจากจะใช้สตาร์ชเป็นแหล่งพลังงานแล้วยังใช้เพื่อวัตถุประสงค์อื่นๆ โดยเฉพาะการปรับปรุงสมบัติเชิงหน้าที่ (functional properties) ของอาหารต่างๆ ดังนี้ (Pomeranz, 1985)

1. ใช้เป็นสารให้ความข้นหนืด (thickening agent) ในซอส ครีมซุป ไส้พาย เป็นต้น
2. ใช้เป็นสารให้ความคงตัว (colloidal stabilizers) ในน้ำสลัด เป็นต้น
3. ใช้เป็นสารคงความชื้น (moisture retention) ในหน้าเค้ก (cake topping) เป็นต้น

4. ใช้เป็นสารทำให้เกิดเจล (gel-forming agent) ในลูกกวาด (gum confections)
5. ใช้เป็นสารยึดเกาะ (binder) ในเวเฟอร์โคนของไอศครีม เป็นต้น
6. ใช้เป็นสารเคลือบ (coating and glazing agent) ในลูกกวาด เป็นต้น

นอกจากจะมีการใช้สตาร์ชข้าวเพื่อช่วยปรับปรุงสมบัติด้านต่างๆ ของอาหารแล้ว ยังอาจใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตฟิล์มที่บริโภคได้ (edible film) ซึ่งโดยทั่วไปแล้วฟิล์มที่ผลิตจากสตาร์ชสามารถป้องกันการซึมผ่านของก๊าซและน้ำมันได้ดี รวมทั้งมีความแข็งแรงและยืดหยุ่นดีกว่าฟิล์มที่ผลิตจากโปรตีน Lim และคณะ (1992) รายงานว่าการใช้สตาร์ชข้าวในการผลิต biodegradable plastic films ทำให้ฟิล์มมีสมบัติด้านการยืดและขยายตัว (tensile) ที่ดี นอกจากนี้ยังมีการนำสตาร์ชข้าวไปใช้เป็นสารทดแทนไขมัน (fat mimetic) ในสูตรอาหารให้พลังงานต่ำ เช่น ไอศกรีม เนื่องจากได้รับการยอมรับในเรื่องรสชาติและเนื้อสัมผัสภายในปาก (mouth feel) (Daniel and Whistler, 1990) นอกจากนี้ยังมีการนำสตาร์ชข้าวไปใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอื่นๆ เช่น ในอุตสาหกรรมสิ่งทอมีการนำสตาร์ชข้าวไปใช้ในการอัดกลีบ เนื่องจากเม็ดแป้งของสตาร์ชข้าวมีขนาดเล็กจึงสามารถแทรกเข้าไปภายในช่องว่างของเส้นใยได้ดี หลังการรีดผ้าจึงมีความเลื่อมมันและคงตัว รวมทั้งทนต่อความชื้นของอากาศได้ดีกว่าการใช้สตาร์ชชนิดอื่น (Radley, 1976) ในด้านเภสัชกรรมมีการนำสตาร์ชข้าวพรีเจลาติไนซ์ไปใช้ในการผลิตยาเม็ด และมีการนำสตาร์ชข้าวไปใช้ในการผลิตแป้งฝุ่นผัดหน้า เนื่องจากเม็ดแป้งมีขนาดเล็กและไม่ระคายเคืองต่อระบบทางเดินหายใจ (อรอนงค์ นัยวิกุล และอรสิริ ทุติภาค, 2542)

2.2 องค์ประกอบทางเคมีของข้าว

ข้าวเป็นธัญพืชที่นิยมบริโภคในรูปของเมล็ดข้าวสาร โดยการนำข้าวเปลือกไปผ่านกระบวนการขัดสีเพื่อให้ได้เป็นข้าวสาร ผลผลิตจากการสีข้าวประกอบด้วยแกลบ 20% เมล็ดสมบูรณ์ 50% ข้าวหัก 16% และรำ 14% (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, 2544) ในเมล็ดข้าวสาร (rice endosperm) ประกอบด้วยสตาร์ช (starch) ประมาณ 90% และโปรตีน 6-9% (Shih and Daigle, 1997) องค์ประกอบทางเคมีของข้าวกล้อง (brown rice) และข้าวขาว (white rice) แสดงในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 ปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของข้าว (หน่วยน้ำหนักแห้ง)

องค์ประกอบทางเคมี (%)	ข้าวกล้อง	ข้าวขาว
คาร์โบไฮเดรต	88	91
โปรตีน	8.0	7.6
ไขมัน	2.2	0.5
เถ้า	1.0	0.6
เส้นใย	0.8	0.3

ที่มา: ดัดแปลงจาก Bogdan และ David (2001)

2.2.1 สตาร์ช

สตาร์ชเป็นคาร์โบไฮเดรตที่สะสมอยู่ในพืชชั้นสูง พบได้ทั้งในส่วนของใบ ลำต้น ราก หัว ผล หรือเมล็ด สตาร์ชเป็นคาร์โบไฮเดรตที่พบมากที่สุดในเมล็ดข้าวสาร สตาร์ชเป็นโพลิเมอร์ของน้ำตาลกลูโคส ประกอบด้วยธาตุคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน มีสูตรเคมีทั่วไปคือ $(C_6H_{10}O_5)_n$ เม็ดแป้งโดยทั่วไปประกอบด้วยอมัยโลส 0-30% และอมัยโลเพคติน 70-100% ส่วนเม็ดแป้งจากข้าวชนิดที่มีการดัดแปลงพันธุกรรมเพื่อให้มีอมัยโลสเพิ่มขึ้นนั้น อาจมีอมัยโลสสูงถึง 35-40% (Juliano, 1992) สตาร์ชจากพืชต่างชนิดจะแสดงสมบัติเชิงหน้าที่ต่างกัน ขึ้นอยู่กับโครงสร้างของอมัยโลสและอมัยโลเพคตินในเม็ดแป้ง รวมทั้งองค์ประกอบอื่นๆ ที่มีเป็นจำนวนน้อยในเม็ดแป้ง เช่น โปรตีน ไขมัน และหมู่ฟอสเฟตเอสเทอร์ เป็นต้น นอกจากนี้การดัดแปรโครงสร้างของสตาร์ชด้วยวิธีทางเคมี เอนไซม์ หรือทางกายภาพ ทั้งที่ยังรักษาโครงสร้างของเม็ดแป้งไว้ได้หรือทำให้โครงสร้างของเม็ดแป้งถูกทำลาย จะส่งผลให้สมบัติเชิงหน้าที่ของสตาร์ชเปลี่ยนแปลงไป (Biliaderis, 1998) เม็ดแป้งจากพืชต่างชนิดจะมีขนาดและรูปร่างต่างกัน ซึ่งเม็ดแป้งข้าวมีรูปร่างหลายเหลี่ยม มีขนาดเล็กประมาณ 2-7 ไมครอน โดยอยู่รวมกันเป็นกลุ่มภายในส่วนอมัยโลพลาสต์ (amyloplast) และมีกลุ่มโปรตีนโครงสร้าง (protein bodies) แทรกอยู่ระหว่างเม็ดแป้ง (Cagampang et al., 1966; Lasztity, 1996)

อมัยโลส (amylose)

อมัยโลสเป็นโพลิเมอร์เชิงเส้นของกลูโคส เชื่อมต่อกันด้วยพันธะกลูโคซิดิก (glucosidic bond) ชนิด α-1,4 มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 10^5–10^6 (Tester, Karkalas, and Qi, 2004) มีค่า degree of polymerization (DP_n) 800-4920 และมีความยาวสายโซ่เฉลี่ย 250-670 (Morrison and Karkalas, 1990) อมัยโลสส่วนใหญ่อยู่อย่างอิสระ (free amylose) แต่บางส่วนรวมตัวเป็นสารเชิงซ้อนกับไขมันภายในเม็ดแป้ง (lipid complexed amylose) (Morrison

et al., 1993) อมัยโลสสามารถรวมตัวกับไอโอดีนได้สารเชิงซ้อนสีน้ำเงิน นอกจากนี้ยังรวมตัวกับสารประกอบอินทรีย์ เช่น แอลกอฮอล์ กรดไขมัน สารลดแรงตึงผิว ได้สารเชิงซ้อนที่ไม่ละลายน้ำ (Galliard and Bowler, 1987)

อมัยโลสในสตาร์ชข้าวมีค่า DP_n ประมาณ 920-1110 ความยาวสายโซ่เฉลี่ย 250-370 และมีโซ่กิ่งเล็กน้อยประมาณ 2-5 สาย (Takada, Hizukuri, and Juliano, 1986)

อมัยโลเพคติน (amylopectin)

อมัยโลเพคตินเป็นโพลิเมอร์เชิงกิ่งของกลูโคส ส่วนที่เป็นเส้นตรงของกลูโคสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะกลูโคซิดิกชนิด α-1,4 (ประมาณ 95% ของพันธะทั้งหมด) และส่วนที่เป็นกิ่งเชื่อมต่อกันด้วยพันธะกลูโคซิดิกชนิด α-1,6 (ประมาณ 5%) น้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง $10^7 - 10^9$ (Tester, Karkalas, and Qi, 2004) มีค่า DP_n 4700 -12,800 และความยาวสายโซ่เฉลี่ย 17-24 (Morrison and Karkalas, 1990) อมัยโลเพคตินสามารถรวมตัวกับไอโอดีนได้สารเชิงซ้อนสีแดง

อมัยโลเพคตินในสตาร์ชข้าวมีค่า DP_n 8200-12,800 และความยาวสายโซ่เฉลี่ย 19-23 (Takada, Hizukuri, and Juliano, 1986)

2.2.2 โปรตีน

โปรตีนเป็นองค์ประกอบที่มีมากในข้าวสารรองจากสตาร์ช โปรตีนในข้าวเปลือกประกอบด้วยกลูเตลิน 80% กลอบูลิน 12% อัลบูมิน 5% และโพรลามิน 3% (Juliano, 1985) โดยพบมากในส่วนของรำ (bran) และบริเวณขอบนอกของเมล็ดข้าวสาร ส่วนบริเวณเปลือกหรือแกลบพบเพียงเล็กน้อย ดังนั้นโปรตีนในเมล็ดข้าวหลังการสียังคงมีสูงถึง 82% ของโปรตีนทั้งหมดในข้าวเปลือก โปรตีนแต่ละชนิดในข้าวจะกระจายอยู่เป็นบริเวณที่ค่อนข้างแน่นอน โดยกลูเตลินพบมากในเมล็ดข้าวสาร อัลบูมินและกลอบูลินพบในส่วนของรำ (bran) และรำละเอียด (polish) ในขณะที่โพรลามินพบกระจายอยู่ทั่วไปในเมล็ดข้าว (Cagampang et al., 1966)

โปรตีนส่วนใหญ่ในเมล็ดข้าวสารอยู่ในรูปโปรตีนสะสม (storage proteins) และบางส่วนเป็นเอนไซม์ (biosynthetic หรือ degradative enzymes) ซึ่งจะติดอยู่บนพื้นผิวและ/หรืออยู่ภายในเม็ดแป้งหลังการสังเคราะห์เม็ดแป้งเสร็จสิ้น เรียกว่า starch granule-associated proteins (SGAPs) กลูเตลินเป็นโปรตีนสะสมหลักเพียงชนิดเดียวในข้าว มีชื่อเรียกเฉพาะว่า โอริเซนิน (oryzenin) โดยอยู่ในรูปของโปรตีนโครงสร้าง (protein body) (Baldwin, 2001) ส่วนโพรลามินพบเป็นโปรตีนสะสมเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ซึ่งต่างจากธัญพืชชนิดอื่นๆ ที่มีทั้งกลูเตลินและโพรลามินเป็นโปรตีนสะสมหลัก (Juliano and Boulter, 1976) โปรตีนโครงสร้างในข้าว

แบ่งออกเป็น protein bodies I ซึ่งมีลักษณะเป็น spherical ได้แก่ โพรลามิน และ protein bodies II ซึ่งมีลักษณะเป็น crystalline ได้แก่ กลูเตลิน (Adoracion et al., 1993)

2.2.3 ไขมัน

ไขมันในเมล็ดข้าวอยู่ในรูปหยดกลม (lipid droplet) แทรกอยู่ในชั้นแอลูโรนและคัพภะ ส่วนไขมันภายในเมล็ดข้าวสารจะอยู่ร่วมกับโปรตีน และบางส่วนรวมตัวอยู่กับอมัยโลส สตาร์ชข้าวเจ้า (12-28% amylose) มีไขมันเป็นองค์ประกอบ 0.9-1.3% ส่วนสตาร์ชข้าวเหนียว (1-2% amylose) มีไขมันเป็นองค์ประกอบต่ำมาก (Azudin and Morrison, 1986)

2.2.4 แร่ธาตุ

แร่ธาตุเป็นองค์ประกอบที่มีเพียงเล็กน้อยในสตาร์ชข้าว โดยฟอสฟอรัสเป็นแร่ธาตุที่พบมากที่สุด ฟอสฟอรัสส่วนใหญ่ในสตาร์ชข้าวเจ้าจะอยู่ในรูป phospholipids (0.048% ของน้ำหนักแป้งแห้ง) ส่วนฟอสฟอรัสส่วนใหญ่ในสตาร์ชข้าวเหนียวจะอยู่ในรูป phosphate-monoesters (0.003% ของน้ำหนักแป้งแห้ง) นอกจากนี้แร่ธาตุอื่นๆ ที่พบในสตาร์ชข้าว ได้แก่ แคลเซียม โพแทสเซียม แมกนีเซียม และโซเดียม (Hizukuri, Kaneko, and Takeda, 1983; Jane et al., 1996)

2.3 สมบัติของสตาร์ช

สตาร์ชแต่ละชนิดจะมีโครงสร้างแตกต่างกัน เช่น อัตราส่วนระหว่างอมัยโลสและอมัยโลเพคติน และความยาวสายโซ่ของอมัยโลเพคติน เป็นต้น โดยขึ้นอยู่กับกระบวนการสังเคราะห์เม็ดแป้งซึ่งมีเอนไซม์หลายชนิดเข้ามาเกี่ยวข้อง ด้วยโครงสร้างที่ต่างกันนี้เองจึงส่งผลให้สตาร์ชมีสมบัติที่ต่างกัน (Vandeputte and Delcour, 2004) โครงสร้างภายในเม็ดแป้งประกอบด้วยส่วนผลึก (crystalline) และส่วนอสัณฐาน (amorphous) โดยเม็ดแป้งที่มีอมัยโลเพคตินเป็นองค์ประกอบเพียงอย่างเดียว (waxy starch) โครงสร้างเกลียวคู่ของอมัยโลเพคตินจะเป็นส่วนผลึก และจุดเชื่อมกิ่งของอมัยโลเพคตินจะเป็นส่วนอสัณฐาน ส่วนเม็ดแป้งที่มีอมัยโลสอยู่ร่วมด้วยส่วนอสัณฐานจะประกอบด้วยอมัยโลสและจุดเชื่อมกิ่งของอมัยโลเพคติน (Vandeputte and Delcour, 2004; Tester, Karkalas, and Qi, 2004) ซึ่งอมัยโลสจะเสริมความแข็งแรงให้แก่โครงสร้างเม็ดแป้ง (Seguchi et al., 2003)

2.3.1 **เจลาติไนเซชัน** (gelatinisation)

เจลาติไนเซชันเป็นคำที่ใช้อธิบายการเปลี่ยนแปลงของสตาร์ชที่ช่วงอุณหภูมิต่างๆ ประกอบด้วย การดูดซึมน้ำและการพองตัว การเปลี่ยนแปลงขนาดและรูปร่างของเม็ดแป้ง การสูญเสีย birefringence และ X-ray diffraction pattern การที่อมัยโลสหลุดออกจากเม็ดแป้ง และการเกิดโครงสร้างเจล (Eliasson and Larsson, 1993) หรืออาจเรียกว่าเป็นกระบวนการทำลายโครงสร้างผลึกภายในเม็ดแป้ง (Atwell, Hood, and Lineback, 1988) การติดตามการเกิดเจลาติไนเซชันทำได้หลายวิธี เช่น ติดตามการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการพองตัวของเม็ดแป้ง ความสามารถในการดูดน้ำและการละลาย ความหนืดของแป้งเปียก (โดยใช้ rapid visco analyzer) การสูญเสีย birefringence (โดยใช้กล้องจุลทรรศน์แสงโพลาไรซ์) การสูญเสียโครงสร้างเกลียวคู่ (โดยใช้ nuclear magnetic resonance, NMR) การสูญเสียโครงสร้างผลึก (โดยใช้ X-ray diffraction) และติดตามกระบวนการดูดความร้อนระหว่างเจลาติไนเซชัน (โดยใช้ differential scanning calorimetry) (Di Paola, Asis, and Aldao, 2003)

2.3.2 **สมบัติทางความหนืดของสตาร์ช**

ความหนืดเป็นสมบัติเฉพาะตัวที่สำคัญของแป้ง น้ำแป้งจะให้ความหนืดเมื่อได้รับความร้อน โดยเม็ดแป้งจะดูดซึมน้ำและพองตัวขยายใหญ่ขึ้น ทำให้น้ำบริเวณรอบๆ เม็ดแป้งเหลือน้อยลง เม็ดแป้งเคลื่อนไหวได้ยากจึงเกิดความหนืดขึ้น อุณหภูมิที่น้ำแป้งเริ่มเกิดความหนืดเรียกว่า pasting temperature เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นความหนืดจะเพิ่มขึ้นจนถึงจุดที่มีความหนืดสูงสุด (peak viscosity) ซึ่งเป็นจุดที่เม็ดแป้งพองตัวเต็มที่ เมื่อเพิ่มอุณหภูมิและเวลาต่อไปอีกรวมทั้งมีการกวนอย่างต่อเนื่อง จะทำให้โครงสร้างเม็ดแป้งถูกทำลายและอมัยโลสจะหลุดออกจากเม็ดแป้ง ความหนืดของแป้งเปียกจะลดลง ต่อมาลดอุณหภูมิลงทำให้เกิดรีโทรกราเดชัน (retrogradation) หรือการคืนตัว (setback) เนื่องจากการจัดเรียงตัวกันใหม่ของโมเลกุลอมัยโลสเกิดเป็นร่างแห ทำให้ความหนืดเพิ่มขึ้น การติดตามการเปลี่ยนแปลงความหนืดสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การใช้ Brabender amylograph หรือการใช้เครื่อง Rapid Visco Analyser (กล้าณรงค์ ศรีรอต และเกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ, 2546)

2.3.3 **สมบัติทางความร้อนของสตาร์ช**

โครงสร้างภายในเม็ดแป้งประกอบด้วยส่วนที่เป็นผลึก และส่วนอสัณฐาน ซึ่งจะมีการเปลี่ยนแปลงเมื่อได้รับความร้อน การเกิดเจลาติไนเซชันของแป้งเป็นกระบวนการดูดพลังงานความร้อนในภาวะที่มีน้ำเพียงพอเพื่อทำลายโครงสร้างผลึก แป้งในภาวะที่มีน้ำจำกัดเมื่อให้

ความร้อนจะมีอุณหภูมิการหลอมละลายที่สูงมาก แต่เมื่อปริมาณน้ำเพิ่มสูงขึ้นอุณหภูมิของการหลอมละลายจะลดลง (กล้าณรงค์ ศรีรอต และเกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ, 2546)

2.4 ผลของโปรตีนในข้าวต่อสมบัติของแป้ง

ฟลาวร์ข้าว (rice flour) หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ประกอบด้วยองค์ประกอบดั้งเดิมที่มีอยู่ในเมล็ดข้าว ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน และแร่ธาตุต่างๆ เป็นต้น ส่วนสตาร์ชข้าว (rice starch) หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการแยกสิ่งเจือปนอื่นๆ ที่ไม่ใช่เม็ดแป้งออกจากฟลาวร์ข้าวจนเกือบหมด องค์ประกอบเกือบทั้งหมดในสตาร์ชข้าวจึงเป็นเม็ดแป้ง (กล้าณรงค์ ศรีรอต และเกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ, 2546)

โปรตีนส่งผลต่อคุณภาพของข้าว 2 ด้าน คือ ด้านคุณค่าทางโภชนาการและด้านคุณภาพการบริโภค (Blakeney, 1996) ในด้านคุณภาพการบริโภค พบว่าข้าวที่มีโปรตีนต่ำจะให้รสชาติความเหนียวนุ่มและการจับตัวกันมากกว่าข้าวที่มีโปรตีนสูง (Hamaker,1994) กลูเตลินซึ่งเป็นโปรตีนสะสมหลักในข้าวมีสมบัติไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) มีน้ำหนักโมเลกุลสูง และจับอยู่กับพื้นผิวของเม็ดแป้งอย่างแน่นหนาด้วยพันธะไดซัลไฟด์และ/หรือพันธะไฮโดรโฟบิค จากสาเหตุดังกล่าวจึงทำให้กลูเตลินไม่ละลายน้ำที่ pH เป็นกลาง ส่งผลให้เกิดประจุบนพื้นผิวเม็ดแป้ง มีผลต่อการกระจายตัวทำให้แป้งมีอัตราการดูดซับน้ำ อัตราการพองตัว และการเกิดเจลาติไนเซชันเปลี่ยนไป ปริมาณโปรตีนในข้าวมีความสัมพันธ์กับเวลาในการหุงต้ม โดยข้าวที่มีโปรตีนสูงจะดูดซึมน้ำได้น้อยกว่าข้าวที่มีโปรตีนต่ำ ซึ่งมีการสันนิษฐานว่าโปรตีนจะขัดขวางการดูดน้ำของเม็ดแป้ง ทำให้การดูดซึมน้ำเกิดได้ช้าลงจึงใช้เวลาในการหุงต้มนานขึ้น Hamaker, Griffin และ Moldenhauer (1991) รายงานว่าปริมาณของ starch-granule associated proteins (SGAPs) ที่มีขนาดโมเลกุล 60 kD มีความสัมพันธ์เชิงลบกับค่า stickiness ของสตาร์ชข้าว ($r = -0.85$, $p< 0.01$) เช่นเดียวกับปริมาณอมัยโลส ($r = -0.87$, $p< 0.01$) Lim และคณะ (1999) รายงานว่าปริมาณโปรตีนคงเหลือในแป้งมีความสัมพันธ์เชิงลบกับค่า peak viscosity ($r = -0.96$) แต่มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับค่า pasting temperature การเติมสารรีดิวซิ่ง (reducing agent) ในน้ำที่ใช้หุงต้มเพื่อทำลายพันธะไดซัลไฟด์ในโครงสร้างโปรตีน ทำให้ข้าวหุงสุกมีค่า stickiness เพิ่มขึ้น (Hamaker and Griffin, 1990) และระดับการเกิดเจลาติไนเซชันจะเพิ่มขึ้นเมื่อพันธะไดซัลไฟด์ของโปรตีนในแป้งถูกทำลาย (Villaveal and Juliano, 1986) นอกจากนี้เมื่อโปรตีนในสตาร์ชเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด จะส่งผลให้สีและกลิ่นของผลิตภัณฑ์เปลี่ยนแปลง (กล้าณรงค์ ศรีรอต และเกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ, 2546)

โปรตีนส่งผลต่อสมบัติทางความร้อนของแป้ง โดยทำให้อุณหภูมิการเกิดเจลาติไนเซชันสูงขึ้น (Teo et al., 2000) เนื่องจากโปรตีนจะขัดขวางการดูดน้ำของเม็ดแป้ง ทำให้มีปริมาณน้ำที่

เกิดอันตรกิริยากับเม็ดแป้งน้อย จึงต้องใช้อุณหภูมิสูงขึ้นเพื่อทำลายโครงสร้างผลึกของเม็ดแป้ง การแยกโปรตีนออกจากเม็ดแป้งจะทำให้อุณหภูมิการเกิดเจลาติไนเซชันลดลง (Lim et al., 1999) เอนทาลปีของการเกิดเจลาติไนเซชันของสตาร์ชข้าวจะมีค่าสูงกว่าฟลาวร์ข้าว (Patidol, Wang, and Jane, 2005)

2.5. การผลิตสตาร์ชข้าว

การสกัดโปรตีนออกจากเม็ดแป้งเป็นขั้นตอนที่สำคัญในการผลิตสตาร์ช เนื่องจากโปรตีนเป็นองค์ประกอบที่มีมากและส่งผลต่อสมบัติทางความหนืด รวมถึงสมบัติทางความร้อนของสตาร์ช โปรตีนสะสมหลักในข้าวไม่ละลายน้ำที่ pH เป็นกลาง และจับอยู่กับพื้นผิวของเม็ดแป้งด้วยพันธะที่แข็งแรง รวมทั้งไม่สามารถรวมตัวกันเป็นร่างแห (protein matrix) เช่น โปรตีนในข้าวสาลี จึงทำให้การแยกโปรตีนออกจากเม็ดแป้งทำได้ยาก (Hamaker,1994) และเกิดการสูญเสียได้มากในกระบวนการผลิตเนื่องจากเม็ดแป้งมีขนาดเล็ก ดังนั้นต้นทุนการผลิตสตาร์ชข้าวจึงสูงกว่าสตาร์ชชนิดอื่นๆ (Tanaka et al., 1980) การสกัดโปรตีนออกจากเม็ดแป้งสามารถทำได้ทั้งวิธีทางกายภาพ เคมี และชีวภาพ การเลือกวิธีการสกัดโปรตีนจะต้องพิจารณาถึงปัจจัยหลายประการ เช่น ปริมาณโปรตีนและเม็ดแป้งที่เสียหายในสตาร์ช ผลผลิต สมบัติของสตาร์ช (Wang and Wang, 2001; Guraya and James, 2002; Wang and Wang, 2004a; Lumdubwong and Seib, 2000) รวมทั้งต้นทุนการผลิต และโปรตีนที่แยกได้ (Lumdubwong and Seib, 2000)

การผลิตสตาร์ชข้าวในระดับอุตสาหกรรมในปัจจุบันนิยมใช้สารละลายด่าง ได้แก่ โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เพื่อแยกโปรตีนและสิ่งเจือปนออกจากเม็ดแป้ง เพราะเป็นวิธีที่ให้ผลผลิตสูงและสตาร์ชที่ได้มีโปรตีนคงเหลือต่ำ เนื่องจากกลูเตลินซึ่งเป็นโปรตีนที่พบมากที่สุดในข้าวละลายได้ในสารละลายด่าง วัตถุดิบอาจเป็นข้าวสาร ปลายข้าว หรือแป้งข้าว กระบวนการสกัดโดยทั่วไปเริ่มจากการแช่ข้าวในสารละลาย 0.1-0.5% NaOH ที่อุณหภูมิ 25-50°C จนกระทั่งเมล็ดข้าวนิ่มจึงโม่ให้เป็นแป้ง แล้วแช่ในสารละลายด่างที่ความเข้มข้นเดิมต่ออีก 10-24 ชั่วโมง จากนั้นเหวี่ยงแยกสตาร์ชที่สกัดได้ และแยกโปรตีนโดยการตกตะกอนที่ pH 6.4 (Cagampang et al., 1966; Yang, Lai, and Lii, 1984; Lumdubwong and Seib, 2000) การสกัดโปรตีนด้วยสารละลายด่างให้ประสิทธิภาพการแยกโปรตีนสูงแต่มีข้อด้อยหลายประการ เช่น ก่อให้เกิดน้ำทิ้งที่มีสมบัติเป็นด่างจำนวนมาก จึงต้องเสียค่าใช้จ่ายในการบำบัดน้ำเสียเพื่อไม่ให้เกิดปัญหาต่อสิ่งแวดล้อม และโปรตีนข้าวที่แยกได้โดยวิธีนี้จะเสียสภาพธรรมชาติ เนื่องจากเกิดปฏิกิริยากับสารละลายด่างได้เปปไทด์สายสั้นที่ทำให้เกิดรสขม ไม่เหมาะสำหรับการใช้เป็นอาหารมนุษย์ ส่วนใหญ่จึงใช้เป็นอาหารสัตว์ (Guraya and James, 2002) นอกจากนี้สารละลายด่างยังทำให้เม็ดแป้งเกิดการเปลี่ยนแปลง สตาร์ชที่ได้จึงมีสมบัติต่างไปจากเดิม (Mistry and Eckhoff, 1992; Chiue, Martin,

and Fitzgerald, 2002) ปัจจุบันจึงมีความพยายามที่จะหาวิธีการใหม่ทดแทนการใช้สารละลายด่างในการผลิตสตาร์ชข้าวระดับอุตสาหกรรม

Guraya และ James (2002) ได้ศึกษาการสกัดโปรตีนจากแป้งข้าวด้วยวิธีทางกายภาพ โดยใช้เครื่อง Microfluidizer® ซึ่งมีหลักการทำงานแบบ high-pressure homogenizer สกัดโปรตีนออกจากแป้งข้าวเหนียวและแป้งข้าวเจ้า พบว่าภาวะสกัดที่เหมาะสมที่สุด คือ ให้น้ำแป้งเข้มข้น 32% ผ่านเข้าเครื่อง Microfluidizer® 2 รอบ โดยแป้งข้าวเหนียวใช้ความดัน 6.2×10^4 kPa ได้แป้งที่มีโปรตีนคงเหลือ 3.3% starch recovery 76% ส่วนแป้งข้าวเจ้าใช้ความดัน 10.0×10^4 kPa ได้แป้งที่มีโปรตีนคงเหลือ 2.7% starch recovery 72% ดังนั้นการใช้เครื่อง Microfluidizer® เพียงอย่างเดียวไม่สามารถใช้ผลิตสตาร์ชข้าวโปรตีนต่ำได้

Guraya, James, และ Champagne (2003) ได้ศึกษาการใช้เครื่อง Microfluidizer® ร่วมกับสารละลายต่างชนิดในการสกัดโปรตีนออกจากแป้งข้าวเจ้าและแป้งข้าวเหนียว ได้แก่ 80% (w/v) CeCl, 6.0 M NaCl/50% (w/v) sucrose, 4.0 M NaCl, 75%(w/v) $ZnSO_4.7H_2O$ และน้ำ พบว่าภาวะสกัดที่ให้สตาร์ชมีโปรตีนต่ำที่สุด คือ ให้น้ำแป้งเข้มข้น 32% ผ่านเข้าเครื่อง Microfluidizer® 4 รอบ ที่ความดัน 10.0×10^4 kPa เหวี่ยงแยกน้ำออกแล้วนำแป้งที่ได้มาผสมกับสารละลาย 4.0 M NaCl เหวี่ยงแยกสารละลายออกแล้วนำแป้งที่ได้มาผสมกับสารละลาย 6.0 M NaCl/50% (w/v) sucrose เหวี่ยงแยกสารละลายออกแล้วล้างด้วยน้ำ 4 ครั้ง ได้สตาร์ชข้าวเหนียวที่มีโปรตีน 0.35% และสตาร์ชข้าวเจ้าที่มีโปรตีน 0.06% แต่เกลือที่ถูกดูดซึมเข้าไปในเม็ดแป้งไม่สามารถแยกออกได้

Wang และ Wang (2004a) ได้ศึกษาการใช้ high-intensity ultrasound สกัดโปรตีนออกจากแป้งข้าวเจ้า ที่ภาวะ 25-75% amplitude (100% amplitude; probe tip ขนาด 0.75 นิ้ว เคลื่อนที่เป็นระยะทาง 61 μm) เวลา 15-60 นาที พบว่าภาวะที่ให้แป้งมีโปรตีนต่ำที่สุด คือ การใช้ high-intensity ultrasound ที่ 75% amplitude เป็นเวลา 30 นาที ได้แป้งที่มีโปรตีนคงเหลือ 1.2% ผลผลิต 76.2% และเม็ดแป้งที่เสียหาย 3.4% การวิเคราะห์สมบัติทางความหนืดด้วย RVA พบว่าสตาร์ชที่ได้จากการใช้ high-intensity ultrasound มีค่า peak viscosity ไม่แตกต่างกันกับสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยสารละลาย 0.1% NaOH เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ซึ่งได้สตาร์ชมีโปรตีน 0.1% ผลผลิต 71.6% และเม็ดแป้งที่เสียหาย 1.6% แต่มีค่า final viscosity และ setback ต่ำกว่า ส่วนการใช้ high-intensity ultrasound ที่ 75% amplitude ร่วมกับสารลดแรงตึงผิว ได้แก่ sodium dodecyl sulfate (SDS) sodium stearoyl lactylate (SSL) และ Tween 80 ความเข้มข้น 0.1-0.5% ให้ประสิทธิภาพการสกัดโปรตีนสูงกว่าการใช้ high-intensity ultrasound เพียงอย่างเดียว โดยภาวะสกัดที่ให้สตาร์ชมีโปรตีนต่ำที่สุด คือ ใช้

high-intensity ultrasound ที่ 75% amplitude เป็นเวลา 20 นาที ร่วมกับสารละลาย 0.5% SDS ได้สตาร์ชที่มีโปรตีน 0.2% ผลผลิต 84.9% และเม็ดแป้งที่เสียหาย 3.1% การวิเคราะห์สมบัติทางความหนืดด้วย RVA ของสตาร์ช พบว่าสตาร์ชที่ได้จากการใช้ high-intensity ultrasound ร่วมกับสารลดแรงตึงผิว มีค่า peak viscosity final viscosity และ setback สูงกว่าสตาร์ชที่ได้จากการใช้ high-intensity ultrasound เพียงอย่างเดียว

การสกัดโปรตีนด้วยวิธีทางเคมีทำได้โดยอาศัยสมบัติการละลายของโปรตีนในสารละลายต่างๆ และการใช้สารลดแรงตึงผิวระหว่างโปรตีนและน้ำ เพื่อให้โปรตีนที่ไม่ละลายน้ำสามารถละลายน้ำได้ Lim และคณะ (1999) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมีต่างชนิดในการสกัดโปรตีนออกจากแป้งข้าวเจ้า ได้แก่ 0.1 และ 0.2% NaOH, 1.2% sodium lauryl sulfate (SLS) ที่มี 0.12% sodium sulfite และ 1.2% dodecyl benzene sulfonate (DoBS) ที่มี 0.12% sodium sulfite โดยแปรอุณหภูมิสกัดเป็น 20-45°C เวลาสกัด 1-3 ชั่วโมง พบว่าอุณหภูมิมีผลต่อประสิทธิภาพการสกัดโปรตีนเพียงเล็กน้อย และการสกัดโปรตีนจะเกิดขึ้นมากในช่วงชั่วโมงแรกของการสกัดเท่านั้น สารละลาย 1.2% DoBS ให้ประสิทธิภาพการสกัดโปรตีนสูงที่สุด โดยมีปริมาณโปรตีนในสารละลายสูงที่สุด การศึกษาผลของการสกัดซ้ำด้วยสารละลายชนิดเดียวกันซ้ำ 4 ครั้งๆ ละ 2 ชั่วโมง พบว่าประสิทธิภาพการสกัดโปรตีนเพิ่มขึ้น สตาร์ชที่ได้มีโปรตีนลดลงเมื่อจำนวนครั้งของการสกัดเพิ่มขึ้น สมบัติทางความหนืดของแป้งที่ได้จากการสกัดซ้ำแต่ละครั้งจะเปลี่ยนไป โดยเมื่อจำนวนครั้งของการสกัดซ้ำเพิ่มขึ้นแป้งที่สกัดได้จะมีค่า pasting temperature ลดลง แต่ค่า peak viscosity เพิ่มขึ้น การสกัดโปรตีนซ้ำด้วย 1.2% DoBS 4 ครั้งๆ ละ 2 ชั่วโมง ได้สตาร์ชที่มีโปรตีน 0.35% อย่างไรก็ตามแม้ว่าสารลดแรงตึงผิวจะสามารถแยกโปรตีนออกจากแป้งได้ดี แต่ยังคงต้องเสียค่าบำบัดน้ำทิ้งปริมาณมากที่เกิดขึ้น นอกจากนี้การแยกสารลดแรงตึงผิวออกจากสตาร์ชและโปรตีนทำได้ยากจึงอาจเกิดอันตรายจากสารเคมีตกค้าง (Cone and Wolters, 1990) รวมทั้งสารลดแรงตึงผิวอาจทำให้ความหนืดของแป้งเปียกลดลง (Lumdubwong and Seib, 2000)

2.5.1 การสกัดโปรตีนจากแป้งด้วยเอนไซม์โปรติเอส

โปรติเอส (protease) เป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายพันธะเปปไทด์ (peptide bond) ของโปรตีนให้เป็นเปปไทด์สายสั้นๆ และกรดอะมิโน โปรติเอสพบได้ทั้งในพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ ซึ่งจะมีลักษณะแตกต่างกันทั้งทางด้านความจำเพาะต่อซับสเตรท บริเวณเร่งกลไกในการเร่งปฏิกิริยา ช่วง pH และอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงาน รวมทั้งเสถียรภาพของเอนไซม์ (Ward, 1983) เอนไซม์โปรติเอสมีการนำมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมหลายด้าน เช่น อุตสาหกรรมอาหาร เครื่องดื่ม ผงซักฟอก และการฟอกหนัง เป็นต้น (Gary, 2002) โปรติเอส

สามารถแบ่งตามตำแหน่งของพันธะเปปไทด์ที่ย่อยได้ 2 ชนิด คือ เอกโซเปปติเดส (exopeptidase) ที่ย่อยพันธะเปปไทด์จากด้านปลายสายเข้ามา และเอนโดเปปติเดส (endopeptidase) ที่จะย่อยพันธะเปปไทด์ภายในโมเลกุลโปรตีน โปรติเอสส่วนใหญ่ที่ใช้ในอุตสาหกรรมเป็นเอนโดเปปติเดส (Hamada, 2000) นอกจากนี้แล้วโปรติเอสสามารถแบ่งตามกลไกของปฏิกิริยา (mechanism of action) ได้ 4 ชนิด ดังนี้ (Gary, 2002)

1. เซรีนโปรติเอส (serine protease) เป็นเอนไซม์ที่มีกรดอะมิโนเซรีนอยู่ที่บริเวณเร่งของเอนไซม์ สามารถเร่งปฏิกิริยาได้ดีที่ pH 7-11 จึงมีชื่อเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า alkaline protease เช่น trypsin subtilisins เป็นต้น

2. แอสพาร์ติกโปรติเอส (aspartic protease) เป็นเอนไซม์ที่มีกรดอะมิโนกรดแอสพาร์ติกอยู่ที่บริเวณเร่งของเอนไซม์ สามารถเร่งปฏิกิริยาได้ดีที่ pH 3-4 จึงมีชื่อเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า acid protease เช่น pepsin rennin เป็นต้น

3. ซีสเตอีนโปรติเอส (cysteine protease) เป็นเอนไซม์ที่มีกรดอะมิโนซีสเตอีนและฮีสติดีนอยู่ที่บริเวณเร่งของเอนไซม์ สามารถเร่งปฏิกิริยาได้ดีที่ pH เป็นกลาง เช่น papain bromelain เป็นต้น

4. เมทัลโลโปรติเอส (metallo protease) เป็นเอนไซม์ที่ต้องการอิออนของโลหะในการเร่งปฏิกิริยา ซึ่งมักพบอิออนดังกล่าวที่บริเวณเร่งของเอนไซม์ สามารถเร่งปฏิกิริยาได้ดีที่ช่วง pH เป็นกลางและด่าง เช่น alastase thermolysin เป็นต้น

การใช้เอนไซม์โปรติเอสในการสกัดโปรตีนออกจากแป้งเพื่อผลิตสตาร์ช เป็นวิธีที่ได้รับความสนใจมากขึ้นในปัจจุบัน มีงานวิจัยที่ศึกษาในพืชชนิดต่างๆ เช่น ข้าวโอ๊ต (Lim et al., 1992) เมล็ดผักโขม (Radosavlvic, Jane, and Johnson, 1998) ข้าวฟ่างและข้าวโพด (Mezo-Villanueva and Serna-Saldivar, 2004) รวมทั้งข้าว โดยการใช้เอนไซม์โปรติเอสในการสกัดโปรตีนออกจากแป้งข้าวมีการใช้ในหลายรูปแบบ ทั้งการใช้เอนไซม์โปรติเอสเพียงอย่างเดียวและการใช้เอนไซม์โปรติเอสร่วมกับวิธีการอื่นๆ เช่น การใช้ร่วมกับสารลดแรงตึงผิว การใช้ร่วมกับสารละลายด่าง และการใช้ร่วมกับ high-intensity ultrasound เป็นต้น

รุ่งทิวา วันสุขศรี (2543) ศึกษาการสกัดโปรตีนออกจากแป้งข้าวหอมมะลิ (โปรตีน 6.5%) ด้วยเอนไซม์โปรติเอสต่างชนิด ได้แก่ อัลคาไลน์โปรติเอสจาก ***Aspergillus oryzae*** ที่ pH 6.5 อุณหภูมิ 45°C นิวทรัลโปรติเอสจาก ***Bacillus subtilis*** ที่ pH 7.5 อุณหภูมิ 37°C และแอซิดโปรติเอสจาก ***Rhizopus*** sp. ที่ pH 3.0 อุณหภูมิ 37°C แปรความเข้มข้นของเอนไซม์เป็น 10 50 และ 100 หน่วย ต่อแป้งข้าว 10 กรัม ใช้เวลาสกัด 1 ชั่วโมงเท่ากัน พบว่าอัลคาไลน์โปรติเอสจาก ***Aspergillus oryzae*** ที่ความเข้มข้น 100 หน่วย ให้ประสิทธิภาพการสกัดโปรตีน

สูงที่สุด ได้แป้งข้าวที่มีโปรตีนคงเหลือ 3.67% เมื่อใช้การสกัดด้วยสารละลายด่างร่วมกับเอนไซม์โปรติเอส โดยการแช่แป้งข้าวในสารละลาย 0.35% NaOH เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วสกัดโปรตีนต่อด้วยเอนไซม์นิวทรัลโปรติเอสจาก *Bacillus subtilis* ความเข้มข้น 100 หน่วย ที่ pH 7.5 อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง พบว่าให้ประสิทธิภาพการสกัดโปรตีนเพิ่มขึ้นจากการใช้สารละลายด่างเพียงอย่างเดียว กล่าวคือ ได้สตาร์ชที่มีโปรตีน 0.4% ในขณะที่การสกัดด้วย 0.35% NaOH เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เพียงอย่างเดียวได้แป้งที่มีโปรตีนคงเหลือ 1.45%

Lumdubwong และ Seib (2000) ศึกษาการสกัดโปรตีนออกจากแป้งข้าวเจ้า (โปรตีน 8.0%) ด้วยอัลคาไลน์โปรติเอส ได้แก่ Optimase APL-440 โดยแปรความเข้มข้นของเอนไซม์ เป็น 0.5-1.5% ต่อน้ำหนักแป้ง ใช้เวลาสกัด 5-30 ชั่วโมง ที่ pH 8.5-10.0 อุณหภูมิ 55°C เปรียบเทียบกับการสกัดโปรตีนด้วยสารละลายด่าง (0.2% NaOH) ที่อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง พบว่าภาวะเหมาะสมที่สุดของการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ คือ ความเข้มข้นเอนไซม์ 1.1% pH 10.0 เวลาสกัด 18 ชั่วโมง ได้สตาร์ชที่มีโปรตีน 0.52% เม็ดแป้งที่เสียหาย 2.1% และผลผลิต 73% ในขณะที่การสกัดโปรตีนด้วยสารละลายด่างได้สตาร์ชที่มีโปรตีน 0.42% เม็ดแป้งที่เสียหาย 2.6% และผลผลิต 65% จากการวิเคราะห์สมบัติทางความหนืดด้วย RVA พบว่าสตาร์ชที่สกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์มีค่า pasting temperature สูงกว่า แต่ค่า peak viscosity และ setback ต่ำกว่าสตาร์ชที่สกัดโปรตีนด้วยสารละลายด่าง เมื่อพิจารณาต้นทุนการผลิต พบว่าการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ที่ภาวะที่เหมาะสมที่สุด ได้ผลผลิตสูงกว่าการสกัดโปรตีนด้วยสารละลายด่างประมาณ 10% แต่ต้นทุนการผลิตสูงกว่าเกือบ 2 เท่า เมื่อคำนวณจากราคาวัตถุดิบปี 1995 (ประเทศสหรัฐอเมริกา) โดยต้นทุนส่วนใหญ่เป็นค่าเอนไซม์ นอกจากนี้การสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ที่ใช้เวลานาน ทำให้โปรตีนที่สกัดได้อยู่ในรูปเกลือของกรดอะมิโน (amino acid salt) แต่ในการสกัดโปรตีนด้วยสารละลายด่าง โปรตีนที่สกัดได้สามารถนำกลับมาใช้ประโยชน์เป็นผลพลอยได้

Wang และ Wang (2001) ศึกษาการสกัดโปรตีนออกจากแป้งข้าว (โปรตีน 7.7%) ด้วยเอนไซม์โปรติเอสต่างชนิด ได้แก่ แอซิดโปรติเอส (GC 106) ความเข้มข้น 0.5-1.5% (v/w) ต่อน้ำหนักแป้ง อัลคาไลน์โปรติเอส (Protex 6L) ความเข้มข้น 0.05-0.15% (v/w) ต่อน้ำหนักแป้ง และนิวทรัลโปรติเอส (N “Amano”) ความเข้มข้น 0.005-0.015% (w/w) ต่อน้ำหนักแป้ง ที่ pH 6.5 อุณหภูมิ 50°C เวลาสกัด 18 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับการสกัดด้วยสารละลายด่าง (0.1% NaOH) ที่อุณหภูมิ 25°C เวลาสกัด 18 ชั่วโมง พบว่าการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ได้สตาร์ชที่มีโปรตีน 0.07-0.33% ผลผลิต 68.2-77.6% และเม็ดแป้งที่เสียหาย 1.5-2.0% ส่วนการสกัดโปรตีนด้วยสารละลายด่างได้สตาร์ชที่มีโปรตีน 0.15% ผลผลิต 72% และเม็ดแป้งที่เสียหาย 2.3% จากการวิเคราะห์สมบัติทางความหนืดด้วย RVA พบว่าสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์มีค่า peak viscosity สูงกว่าสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยสารละลายด่างอย่าง

มีนัยสำคัญ ($p< 0.05$) และเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์สูงขึ้น สตาร์ชที่ได้จะมีค่า breakdown ลดลง แต่มีค่า final viscosity และ setback เพิ่มขึ้น

Wang และ Wang (2004b) ศึกษาการสกัดโปรตีนออกจากแป้งข้าวเมล็ดยาวพันธุ์ RL-100 (โปรตีน 7.7%) ด้วยเอนไซม์นิวทรัลโปรติเอส คือ N "Amano" ความเข้มข้น 0.01-0.05% (w/w) ต่อน้ำหนักแป้ง เวลาสกัด 1-5 ชั่วโมง ที่ pH 7.0 อุณหภูมิ 50°C พบว่าได้สตาร์ชที่มีโปรตีน 0.53-0.88% ผลผลิต 62.5-71.8% และเม็ดแป้งที่เสียหาย 0.99-1.81% การสกัดโปรตีนด้วย high-intensity ultrasound ที่ 50-75% amplitude (100% amplitude; probe tip ขนาด 0.75 นิ้ว เคลื่อนที่เป็นระยะทาง 61 μm) เป็นเวลา 15-30 นาที แล้วสกัดโปรตีนต่อด้วยเอนไซม์ N "Amano" ความเข้มข้น 0.03% เป็นเวลา 2 ชั่วโมง พบว่าสามารถเพิ่มผลผลิตเป็น 79.8-86.7% แต่สตาร์ชที่ได้มีโปรตีน 0.50-0.96% ซึ่งยังคงสูงกว่าปริมาณโปรตีนในสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยสารละลายด่าง (0.1% NaOH) เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25°C (ได้สตาร์ชมีโปรตีน 0.12% ผลผลิต 71.6% และเม็ดแป้งที่เสียหาย 1.59%) จากการวิเคราะห์สมบัติทางความหนืดด้วย RVA พบว่าสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์เพียงอย่างเดียวมีค่า peak viscosity final viscosity และ setback สูงกว่าสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยสารละลายด่าง แต่มีค่า breakdown ไม่แตกต่างกัน ส่วนสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วย high-intensity ultrasound ร่วมกับเอนไซม์ มีค่า peak viscosity และ breakdown สูงกว่า แต่มีค่า final viscosity และ setback ต่ำกว่าสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์เพียงอย่างเดียว

Puchongkavarin, Varavinit, และ Bergthaller (2005) ศึกษาการสกัดโปรตีนออกจากข้าวเมล็ดยาวชนิดอินดิคา (โปรตีน 6.9%) ด้วยเอนไซม์เปรียบเทียบกับการสกัดโปรตีนด้วยสารละลายด่าง การสกัดด้วยเอนไซม์เริ่มจากแช่เมล็ดข้าวสารในน้ำอุณหภูมิ 5°C เป็นเวลา 18 ชั่วโมง แยกน้ำออกแล้วโม่ให้เป็นแป้ง จากนั้นแช่ในสารละลายเอนไซม์ cellulase ความเข้มข้น 0.1% (w/w) ต่อน้ำหนักแป้งแห้ง เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 40°C pH 5.0 แล้วสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์โปรติเอส ได้แก่ Corolase 7089 และ papain ความเข้มข้น 98 หน่วย เป็นเวลา 45 นาที ที่อุณหภูมิ 40°C pH 7.0 พบว่าการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ Corolase 7089 ได้สตาร์ชที่มีโปรตีน 0.60% starch recovery 76.48% และการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ papain ได้สตาร์ชที่มีโปรตีน 0.55% starch recovery 76.50% ส่วนการสกัดโปรตีนด้วยสารละลายด่าง เริ่มจากแช่เมล็ดข้าวสารในสารละลาย 0.4% NaOH ที่อุณหภูมิ 5°C เป็นเวลา 18 ชั่วโมง จากนั้นแยกสารละลายออกและโม่ให้เป็นแป้ง แล้วแช่ในสารละลายด่างที่เตรียมใหม่ที่ความเข้มข้นเดิมอีก 1 ชั่วโมง ได้สตาร์ชที่มีโปรตีน 0.48% starch recovery 79.75% จากการวิเคราะห์สมบัติทางความหนืดของสตาร์ชด้วย RVA พบว่าสตาร์ชที่สกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด มีค่า pasting

temperature สูงกว่าสตาร์ชที่สกัดโปรตีนด้วยสารละลายด่าง แต่มีค่า breakdown ต่ำกว่า เมื่อศึกษาผลของการสกัดโปรตีนจากแป้งข้าวด้วยเอนไซม์ Corolase 7089 แล้วสกัดโปรตีนซ้ำด้วยสารละลาย 0.2% NaOH เป็นเวลา 30 นาที พบว่าได้สตาร์ชที่มีโปรตีนลดลงจาก 0.60% เป็น 0.54% ส่วนการสกัดโปรตีนซ้ำด้วยสารละลาย 0.5% SDS เป็นเวลา 30 นาที ได้สตาร์ชที่มีโปรตีนลดลงเป็น 0.50% ในขณะที่การสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ papain แล้วสกัดโปรตีนซ้ำด้วย 0.2% NaOH เป็นเวลา 30 นาที โปรตีนในสตาร์ชลดลงจาก 0.55% เป็น 0.52% ส่วนการสกัดโปรตีนซ้ำด้วยสารละลาย 0.5% SDS เป็นเวลา 30 นาที ได้สตาร์ชที่มีโปรตีนลดลงเป็น 0.49%

2.6 การเกิด annealing ของสตาร์ช

การเกิด annealing ของสตาร์ชเป็นการดัดแปรโครงสร้างของสตาร์ชด้วยวิธีการทางกายภาพ โดยมีปริมาณน้ำ อุณหภูมิ และเวลา เป็นปัจจัยสำคัญ (Tester and Debon, 2000) สตาร์ชสามารถเกิด annealing ได้ในภาวะที่มีปริมาณน้ำตั้งแต่ 40% (w/w) ขึ้นไป (Jacobs and Delcour, 1998) ในภาวะที่มีน้ำมากเกินพอ (> 60%, w/w) การเกิด annealing ของสตาร์ชจะไม่ถูกจำกัดด้วยปริมาณน้ำ (Tester, Debon and Karkalas, 1998) โดยน้ำจะทำให้การเคลื่อนที่ของโมเลกุลในส่วนอสัณฐานเกิดได้ง่ายขึ้นส่งผลให้สตาร์ชมีอุณหภูมิ glass transition (T_g) ลดลง สตาร์ชจะเกิด annealing ที่อุณหภูมิสูงกว่า T_g แต่ต่ำกว่าอุณหภูมิเริ่มต้นของการเกิดเจลาติไนเซชัน (T_o) และเป็นกระบวนการที่ใช้เวลานาน (Jacobs and Delcour, 1998; Tester and Debon, 2000) โดยการเคลื่อนที่ของโมเลกุลในส่วนอสัณฐาน จะเหนี่ยวนำให้เกิดการจัดเรียงตัวใหม่ของโครงสร้างผลึกภายในเม็ดแป้ง กล่าวคือ โครงสร้างเกลียวคู่ของอมัยโลเพคตินในส่วนผลึกเป็นระเบียบมากขึ้น (Tester and Debon, 2000; Wang, Powell and Oates, 1997) และส่วนอสัณฐานมีความแข็งแรงเพิ่มขึ้น (Tester and Debon, 2000) จึงส่งผลให้สมบัติบางประการของสตาร์ชเปลี่ยนแปลงไป เช่น อุณหภูมิการเกิดเจลาติไนเซชันสูงขึ้น แต่ช่วงอุณหภูมิการเกิดเจลาติไนเซชันแคบลง (Hoover and Vasanthan, 1994; Tester et al., 2005) ความหนืดสูงสุดของสตาร์ชลดลง (Gomes et al., 2004; Gomes, Mendes da Silva, and Ricardo, 2005) กำลังการพองตัวและการละลายของสตาร์ชลดลง (Hoover and Vasanthan, 1994; Gomes et al., 2004) เป็นต้น

2.7 สมบัติของโปรตีน

โปรตีนเป็นโพลิเมอร์ของกรดอะมิโน (amino acid) เกิดจากกรดอะมิโนจำนวนมากมาเรียงต่อกันด้วยพันธะเปปไทด์ (peptide bond) กรดอะมิโนแต่ละชนิดจะมีหมู่ side chain แตกต่างกัน ซึ่งมีผลต่อสมบัติทางเคมีกายภาพของกรดอะมิโน เช่น ประจุ การละลาย และ

การเกิดปฏิกิริยาเคมี (Damodaran, 1997a) โปรตีนแต่ละชนิดจะมีชนิดและจำนวนของกรดอะมิโน รวมถึงการจัดเรียงตัวของกรดอะมิโนภายในสายโพลิเปปไทด์ต่างกัน ซึ่งทำให้โปรตีนมีสมบัติและหน้าที่แตกต่างกัน โปรตีนในพืชสามารถแบ่งตามสมบัติการละลายได้ 4 ชนิด ดังนี้ (Tanaka, 1997)

1. อัลบูมิน (albumin) เป็นโปรตีนที่ละลายได้ในน้ำ หรือสารละลายกรดเจือจาง สามารถตกตะกอนอย่างรวดเร็วเมื่อให้ความร้อน โดยส่วนใหญ่เป็นโปรตีนเอนไซม์

2. กลอบูลิน (globulin) เป็นโปรตีนที่ละลายได้ในน้ำเกลือ (0.4M NaCl) ส่วนใหญ่เป็นโปรตีนที่สะสมอยู่ในพืชใบเลี้ยงคู่ โดยเฉพาะตระกูลถั่ว เช่น arakin ในถั่วลิสง และ glycinin ในถั่วเหลือง เป็นต้น

3. กลูเตลิน (glutelin) เป็นโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายด่างหรือกรด (NaOH หรือ 0.1M HCl) เป็นโปรตีนสะสมในเมล็ดพืชใบเลี้ยงเดี่ยว เช่น glutenin ในข้าวสาลี oryzenin ในข้าว หรือ holdenin ในบาร์เลย์ เป็นต้น

4. โพรลามิน (prolamin) เป็นโปรตีนที่ละลายได้ใน 70-80% ethanol พบได้ในเมล็ดพืชตระกูลหญ้า เช่น gliadin ในข้าวสาลี zein ในข้าวโพดหรือ holdein ในบาร์เลย์ เป็นต้น

2.7.1 **สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน**

การนำโปรตีนมาเป็นส่วนผสมของอาหารต้องคำนึงถึงสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน ซึ่งเป็นสมบัติทางเคมีกายภาพที่มีผลต่ออาหารในระหว่างการผลิต และการเก็บรักษา โดยส่งผลถึงลักษณะทางประสาทสัมผัสและคุณค่าทางโภชนาการของอาหาร (Kinsella, 1976) สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนที่สำคัญ ได้แก่ การละลาย การให้ความหนืด การจับกับน้ำและน้ำมัน การเกิดเจล ความยืดหยุ่น การเกิดอิมัลชัน และการเกิดโฟม เป็นต้น (Damodaran, 1994) การนำโปรตีนไปใช้ในอาหารแต่ละชนิดจะต้องคำนึงถึงสมบัติเชิงหน้าที่ต่างๆ ของโปรตีน เช่น ในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มต้องคำนึงถึงการละลายของโปรตีนที่ pH ต่างๆ ความหนืดและเสถียรภาพต่อความร้อนของโปรตีน ในผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ต้องคำนึงถึงความสามารถในการดูดซับน้ำ การเกิดโฟม การเกิดเจล การเกิดอิมัลชัน และการเสียสภาพด้วยความร้อนของโปรตีน เป็นต้น (Cheftel, Cuq, and Lorient, 1985)

2.7.1.1 **สมบัติการละลาย**

การละลายเป็นสมบัติที่สำคัญของโปรตีนซึ่งมักจะใช้พิจารณาเป็นอันดับแรกในการนำโปรตีนไปใช้เป็นส่วนผสมในอาหาร โดยการละลายของโปรตีนขึ้นอยู่กับชนิดและการจัดเรียงตัวของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบ น้ำหนักโมเลกุล โครงรูป (conformation) และจำนวน

หมู่ที่มีขั้ว (polar groups) และหมู่ที่ไม่มีขั้ว (nonpolar groups) ภายในโมเลกุลของกรดอะมิโน รวมทั้งปัจจัยภายนอก เช่น ชนิดของตัวทำละลาย pH อุณหภูมิ และภาวะอื่นๆ ในกระบวนการผลิต การละลายของโปรตีนขึ้นอยู่กับความสมดุลระหว่างอันตรกิริยาแบบไฮโดรโฟบิค (hydrophobic interactions) ซึ่งเกิดระหว่างหมู่ที่ไม่มีขั้วภายในโมเลกุลของโปรตีนส่งผลให้การละลายลดลง และอันตรกิริยาระหว่างประจุ (electrostatic interactions) ของโปรตีนกับตัวทำละลายซึ่งส่งผลให้ความสามารถในการละลายเพิ่มขึ้น โปรตีนจะมีการละลายต่ำที่สุดที่ค่า pH เท่ากับจุดไอโซอิเลคทริค (pI) ของโปรตีน (Zayas, 1997) โดยทั่วไปการเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนเนื่องจากความร้อนจะทำให้หมู่ที่มีสมบัติไม่ชอบน้ำ ซึ่งขดพับอยู่ด้านในของโมเลกุลโปรตีนถูกเปิดให้หันออกด้านนอก ส่งผลให้การละลายน้ำของโปรตีนลดลง (Mine, 1997) การละลายของโปรตีนยังส่งผลต่อสมบัติเชิงหน้าที่อื่นๆ ของโปรตีน เช่น การเกิดโฟม และการเกิดอิมัลชันเป็นต้น (Tunctürk and Zorba, 2006)

2.7.1.2 **สมบัติการจับกับน้ำ**

การจับกับน้ำของโปรตีนเกิดจากพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุลของน้ำกับหมู่ที่ชอบน้ำ (hydrophilic groups) ในโมเลกุลของโปรตีน ความสามารถในการจับกับน้ำของโปรตีนขึ้นกับชนิดและจำนวนของหมู่ที่มีขั้วภายในสายโพลิเปปไทด์ของโปรตีน เช่น หมู่ไฮดรอกซิล หมู่คาร์บอนิล หมู่ซัลไฟดริล และหมู่อะมิโน เป็นต้น โปรตีนที่ประกอบด้วยกรดอะมิโนชนิดที่มีประจุจำนวนมาก ได้แก่ กรดแอสพาร์ติก กรดกลูตามิก อาร์จินีน และไลซีน จะมีความสามารถในการจับกับน้ำสูง ส่วนกรดอะมิโนชนิดที่ไม่มีขั้ว เช่น อลานีน วาลีน ฟีนิลอลานีน และทริปโตเฟน จะมีความสามารถในการจับกับน้ำได้จำกัด (Damodaran, 1997a) ปัจจัยภายนอกที่มีผลต่อการจับกับน้ำของโปรตีน ได้แก่ ความเข้มข้นของโปรตีน ค่า ionic strength อุณหภูมิ pH และองค์ประกอบอื่นๆ ที่มีอยู่ในอาหาร เช่น ไขมัน เกลือ รวมทั้งขนาด รูปร่าง และลักษณะพื้นผิวของโมเลกุลโปรตีน (Zayas, 1997)

2.7.1.3 **สมบัติการจับน้ำมัน**

สมบัติการจับกับน้ำมันของโปรตีนเป็นปัจจัยที่ต้องพิจารณาในการนำโปรตีนมาเป็นส่วนผสมในอาหารที่ต้องการลักษณะบางประการ เช่น การเกิดอิมัลชัน และการดูดซึมสารให้กลิ่นรส (flavor absorption) เป็นต้น โปรตีนจับกับน้ำมันด้วยแรงดึงดูดระหว่าง nonpolar side chains ของโมเลกุลโปรตีนกับน้ำมัน โดยทั่วไปโปรตีนที่มีสมบัติไม่ชอบน้ำจะมีความสามารถในการจับกับน้ำมันสูงกว่าโปรตีนที่มีสมบัติชอบน้ำ (Zayas, 1997) การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโมเลกุลโปรตีนโดยเปิดส่วนที่มีสมบัติไม่ชอบน้ำให้หันออกด้านนอกโมเลกุล จะทำให้ความสามารถ

ในการจับกับน้ำมันของโปรตีนเพิ่มขึ้น (Smith, Fantozzi, and Creveling, 1983) สมบัติการจับกับน้ำมันของโปรตีนขึ้นกับปัจจัยต่างๆ ได้แก่ ชนิดและขนาดอนุภาคของโปรตีน อุณหภูมิ องค์ประกอบอื่นๆ ที่มีอยู่ในอาหาร รวมทั้งภาวะในกระบวนการผลิตอาหาร (Zayas, 1997)

2.7.1.4 **สมบัติการเกิดโฟม**

สมบัติการเกิดโฟมของโปรตีนพิจารณาได้ 2 ด้าน ได้แก่ foaming capacity เป็นความสามารถของโปรตีนในการสร้างพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างอากาศกับของเหลว โปรตีนที่ถูกดูดซึมเข้าไปยังพื้นที่ผิวสัมผัสได้อย่างรวดเร็ว และสามารถเปลี่ยนแปลงโครงรูปแล้วจัดเรียงตัวใหม่ที่ผิวสัมผัสระหว่างอากาศกับของเหลวรวมทั้งลดแรงตึงผิวได้อย่างรวดเร็ว จะมีค่า foaming capacity สูง ส่วน foaming stability เป็นความสามารถของโปรตีนในการรักษาพื้นที่ผิวสัมผัสไม่ให้เปลี่ยนแปลงเนื่องจากแรงกระทำทั้งภายในและภายนอก ซึ่งขึ้นอยู่กับความสามารถของโปรตีนในการสร้างฟิล์มที่มีความแข็งแรงและยืดหยุ่นจากแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลของโปรตีน (Damodaran, 1997b) ลักษณะของโปรตีนที่บริเวณผิวสัมผัสขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น องค์ประกอบของโปรตีน โครงรูปของโปรตีนในสารละลาย และโครงรูปของโปรตีนที่บริเวณผิวสัมผัสระหว่างของเหลวกับอากาศ (Phillip, Davis and Kinsella, 1989) โมเลกุลของโปรตีนที่มีความยืดหยุ่นสูง(flexible protein) จะช่วยให้เกิดผิวสัมผัสระหว่างอากาศกับของเหลวอย่างรวดเร็ว ทำให้มีค่า foaming capacity สูง ส่วน globular protein จะสร้างฟิล์มที่แข็งแรงจึงสามารถรักษาความคงตัวของฟิล์มได้ดี ทำให้ค่า foaming stability สูง สมบัติการเกิดโฟมของโปรตีนขึ้นอยู่กับโครงสร้าง surface hydrophobicity ประจุ และ pI ของโปรตีน (Damodaran, 1996) รวมทั้งพันธะไดซัลไฟด์ในโมเลกุลของโปรตีน (Zayas,1997)

2.7.1.5 **สมบัติการเกิดอิมัลชัน**

อิมัลชันเป็นระบบของของเหลว 2 ชนิด ที่มีของเหลวชนิดหนึ่งกระจายตัวอยู่ในของเหลวอีกชนิดหนึ่ง อิมัลชันในอาหารสามารถแบ่งออกได้ 2 แบบ ได้แก่ อิมัลชันแบบน้ำมันในน้ำ (oil-in-water, o/w) ซึ่งมีหยดไขมันกระจายตัวอยู่ในน้ำ และอิมัลชันแบบน้ำในน้ำมัน (water-in-oil, w/o) ซึ่งมีหยดน้ำกระจายตัวอยู่ในน้ำมัน อิมัลชันเป็นระบบที่ไม่เสถียรจึงต้องมีการเติมอิมัลซิไฟเออร์เพื่อช่วยให้อิมัลชันมีความคงตัว โมเลกุลโปรตีนประกอบด้วยส่วนที่มีสมบัติชอบน้ำและส่วนที่มีสมบัติชอบน้ำมัน จึงสามารถสร้างฟิล์มที่เหนียวและยืดหยุ่นที่บริเวณผิวสัมผัสระหว่างน้ำและน้ำมันได้ emulsion activity เป็นความสามารถของโปรตีนในการทำให้เกิดอิมัลชันและคงสภาพอิมัลชันที่สร้างขึ้น ส่วน emulsion stability เป็นความสามารถของอิมัลชันที่จะรักษาการกระจายตัวของหยดของเหลวไม่ให้รวมตัวกันแล้วเกิดการแยกชั้น (Zayas, 1997) ปัจจัย

ที่มีผลต่อสมบัติการเกิดอิมัลชันของโปรตีน ได้แก่ การละลายของโปรตีน ค่า ionic strength อุณหภูมิ pH รวมทั้งองค์ประกอบอื่นๆ ที่มีในอาหาร เช่น โพลิแซคคาไรด์ โปรตีน ไขมัน (Damodaran, 1997b)

2.7.1.6 **สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนข้าว**

ในปัจจุบันมีความพยายามที่จะนำโปรตีนจากพืชมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหารทดแทนโปรตีนจากสัตว์ เนื่องจากมีราคาถูกและสามารถหาได้ง่าย แต่ยังมีข้อจำกัดเนื่องจากโปรตีนจากพืชมีสมบัติเชิงหน้าที่ค่อนข้างต่ำ (Zayas, 1997) โปรตีนกลูเตลินในข้าวมีโมเลกุลขนาดใหญ่ ภายในเชื่อมต่อกันด้วยพันธะที่แข็งแรง ได้แก่ พันธะไดซัลไฟด์ พันธะไฮโดรเจน และอันตรกิริยาแบบไฮโดรโฟบิค ส่งผลให้กลูเตลินไม่ละลายที่ pH เป็นกลาง (Juliano, 1985) แต่ละลายได้ในสารละลายด่างที่ pH สูงกว่า 10 และสารละลายกรดที่ pH ต่ำกว่า 3 (Shih, 2004) ทำให้มีสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนต่ำ (Katsube-Tanaka, et al., 2004) การปรับปรุงสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การใช้สารเคมี การใช้ความร้อน และการใช้เอนไซม์ การย่อยโมเลกุลโปรตีนด้วยเอนไซม์โปรติเอสทำให้โปรตีนมีสมบัติการละลายดีขึ้น (Kim, Park, and Rhee, 1990; Oritz and Wagner, 2002) โดยทั่วไปโปรตีนที่มีโมเลกุลขนาดเล็ก มีประจุสุทธิสูง และมีจำนวนหมู่ไฮโดรโฟบิคที่หันออกด้านนอกต่ำจะมีความสามารถในการละลายสูง (Nielsen, 1997) การทำลายหรือดัดแปรพันธะไดซัลไฟด์ในโมเลกุลโปรตีนโดยการย่อยด้วยเอนไซม์หรือการใช้สารเคมีทำให้โปรตีนมีสมบัติการเกิดโฟมและสมบัติการเกิดอิมัลชันดีขึ้น (Dalgleish, 1989)

2.7.2 **คุณค่าทางโภชนาการของโปรตีนข้าว**

ธัญพืชเป็นแหล่งโปรตีนที่สำคัญกว่า 70% ของโปรตีนที่ประชากรโลกได้รับ โดยประชากรกว่าครึ่งหนึ่งของโลกบริโภคข้าวเป็นอาหารหลัก นอกจากข้าวจะเป็นแหล่งพลังงานที่ดีแล้ว โปรตีนในข้าวยังมีคุณค่าทางโภชนาการสูงกว่าโปรตีนในธัญพืชชนิดอื่นๆ แม้ว่าข้าวจะมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบต่ำ (Moldenhauer et al., 1998) เนื่องจากโปรตีนข้าวมีกรดอะมิโนไลซีนสูงที่สุด (Mutsuo et al., 1997) โดยมีไลซีนเป็นองค์ประกอบ 3-4% (Shih and Daigle, 1997) ซึ่งไลซีนจัดเป็น first limiting amino acid ของธัญพืช กลูเตลินเป็นโปรตีนสะสมหลักในข้าว ในขณะที่ธัญพืชชนิดอื่นมีโพรลามินเป็นโปรตีนสะสมหลัก ซึ่งกลูเตลินประกอบด้วยกรดอะมิโนในสัดส่วนที่สมดุลกว่าโพรลามินที่มีกรดอะมิโนจำเป็นไลซีนและทริปโตเฟนในปริมาณต่ำ (Hamaker, 1994) นอกจากนี้เมื่อโพรลามินเสียสภาพธรรมชาติจากการหุงต้มจะต้านทานการย่อยโดยเอนไซม์มากขึ้น ทำให้ความสามารถในการถูกย่อยของโปรตีน (protein digestibility) ลดลง (Tanaka

et al., 1978) โปรตีนข้าวทำให้เกิดอาการแพ้ต่ำ (hypoallergenic) จึงเป็นแหล่งโปรตีนที่ดีสำหรับ hypoallergenic food ซึ่งอาการแพ้โปรตีนในทารกหรือเด็กมักจะเกิดจากโปรตีนจากนม ไข่ และถั่วลิสง (Helm and Burks, 1996) กรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบในโปรตีนจากส่วนต่างๆ ของข้าว แสดงในตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 ปริมาณกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบในโปรตีนจากส่วนต่างๆ ของข้าว

(กรัม/ 100 กรัมโปรตีน)

กรดอะมิโน	ข้าวกล้อง (a)	ปลายข้าว (b)	คัพภะ (c)	เนื้อเมล็ด (c)	แอลูโรน (c)	โพรลามิน (d)	กลูเตลิน (e)	RPI (f)
Ala	4.6	4.0	6.2	6.3	7.1	8.6	8.1	4.5
Arg	7.2	4.6	9.2	8.0	8.4	4.7	6.2	7.2
Asp	7.2	7.0	8.8	9.8	11	6.4	10.7	7.4
Cys	1.2	0.1	2.2	0.5	0.5	4.2	2.0	1.8
Glu	15.4	12.3	15.2	20.1	15.3	19	12.5	14.6
Gly	4.1	3.0	5.5	5.1	4.3	6.1	7.2	5.6
His	1.6	2.0	3.5	2.6	3.0	1.4	1.9	2.0
Ile	3.5	2.0	3.6	3.9	3.6	3.8	4.3	3.4
Leu	7.2	5.6	6.8	9.5	8.6	10.3	8.5	7.1
Lys	3.4	2.2	6.5	4.3	5.7	0.8	3.0	2.3
Met	1.6	0.6	1.9	1.4	0.8	3.1	2.0	2.1
Phe	3.3	3.3	4.5	5.9	5.9	4.4	4.4	4.5
Pro	3.9	3.1	4.7	6.3	5.6	6.2	5.0	3.8
Ser	4.2	3.5	4.6	3.8	4.0	6.3	6.3	4.3
Thr	3.2	2.4	3.8	3.4	3.8	3.4	4.0	2.9
Tyr	4.0	2.7	3.2	3.4	3.2	5.4	3.7	4.5
Val	4.8	3.2	4.9	7.0	7.3	6.0	7.4	4.9

ที่มา: (a) Juliano (1985) (b) รุ่งทิวา วันสุขศรี (2543)

(c) Bradbury และคณะ (1980) (d) Shewry และ Miflin (1985)

(e) Juliano และ Boulter (1976) (f) Morita และ Kiriyama (1993)

RPI = rice protein isolated

บทที่ 3

การดำเนินงานวิจัย

3.1 ขอบเขตงานวิจัย

งานวิจัยนี้แบ่งออกเป็น 4 ส่วน ได้แก่

3.1.1 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนจากแป้งข้าวด้วยเอนไซม์นิวทรัลโปรติเอส

งานวิจัยส่วนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนออกจากแป้งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ด้วยเอนไซม์นิวทรัลโปรติเอส 2 ชนิด คือ Neutrase® และ bromelain ประกอบด้วย 2 ส่วนย่อย คือ ส่วนที่ 1 ศึกษาผลของความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาสกัด เพื่อหาภาวะการสกัดโปรตีนที่ดีที่สุด คือ ให้สตาร์ชข้าวที่มีโปรตีนคงเหลือต่ำที่สุดจากการสกัดด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว และส่วนที่ 2 ศึกษาผลของการสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์ต่อปริมาณโปรตีน ผลผลิต และเม็ดแป้งที่เสียหายในสตาร์ชที่ได้เปรียบเทียบกับการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว (โดยใช้ภาวะสกัดที่ได้จากการทดลองในส่วนที่ 1)

3.1.2 ศึกษาสมบัติของสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์

งานวิจัยส่วนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสมบัติของสตาร์ชข้าวที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ ประกอบด้วย 2 ส่วนย่อย คือ ส่วนที่ 1 ศึกษาสมบัติของสตาร์ชข้าวที่ได้จากภาวะการสกัดโปรตีนที่ดีที่สุดด้วยเอนไซม์แต่ละชนิด เปรียบเทียบกับสตาร์ชข้าวที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยสารละลาย 0.3% NaOH ภายใต้ภาวะที่ให้ปริมาณโปรตีนคงเหลือในสตาร์ชใกล้เคียงกับการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ สมบัติที่ศึกษา ได้แก่ สมบัติทางความร้อน สมบัติทางความหนืด ความสามารถในการพองตัวและการละลาย ค่าสี และลักษณะสัณฐานของเม็ดแป้ง ส่วนที่ 2 ศึกษาสมบัติทางความร้อน และสมบัติทางความหนืดของสตาร์ชข้าวที่ได้จากการสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์เปรียบเทียบกับสตาร์ชข้าวที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว

3.1.3 ศึกษาการเกิด annealing ของสตาร์ชข้าวระหว่างการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์

งานวิจัยส่วนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเกิด annealing ของสตาร์ชข้าวในระหว่างการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ที่ภาวะการสกัดโปรตีนที่ดีที่สุดด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว และที่ภาวะการสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์ (จากข้อ 3.1.1)

3.1.4 ศึกษาสมบัติของโปรตีนข้าวที่ได้จากการสกัดด้วยเอนไซม์เปรียบเทียบกับโปรตีนข้าวที่ได้จากการสกัดด้วยสารละลาย 0.3% NaOH

งานวิจัยส่วนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสมบัติของโปรตีนข้าว ได้แก่ สมบัติเชิงหน้าที่ คือ สมบัติการละลาย ความสามารถในการจับกับน้ำและน้ำมัน ความสามารถในการเกิดโฟม ความสามารถในการเกิดอิมัลชัน และคุณค่าทางโภชนาการ ได้แก่ ปริมาณกรดอะมิโนชนิดต่างๆ ที่เป็นองค์ประกอบ

3.2 วัตถุดิบและอุปกรณ์

3.2.1 แป้งข้าว

แป้งข้าวที่ศึกษามี 2 พันธุ์ ได้แก่ แป้งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 เป็นตัวแทนข้าวที่มีอมัยโลสต่ำ และแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 เป็นตัวแทนข้าวที่มีอมัยโลสสูง โดยแป้งข้าวทั้ง 2 พันธุ์ ได้รับความอนุเคราะห์จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

3.2.2 เอนไซม์

เอนไซม์ที่ศึกษา 2 ชนิด ได้แก่ Neutrase® 0.8L ซึ่งมีลักษณะเป็นของเหลวสีน้ำตาลเข้ม จากบริษัท Novozymes Activity 0.8 AU/g และ bromelain ซึ่งมีลักษณะเป็นผงสีขาวขุ่น จากบริษัท Great Food (Biochem) Activity 587 CDU/g ซึ่งเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดนี้เป็น endopeptidase เช่นเดียวกัน แต่มีแหล่งที่มาและความจำเพาะต่างกัน โดย Neutrase® 0.8L เป็นเอนไซม์ที่อยู่ในกลุ่ม metallo protease ผลิตโดยเชื้อ *Bacillus amyloliquefaciens* ส่วน bromelain เป็นเอนไซม์ที่อยู่ในกลุ่ม cysteine protease ได้จากสับปะรด เอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดนี้ทำงานได้ดีที่ช่วง pH เป็นกลาง อุณหภูมิ 45-55°C

3.2.3 อุปกรณ์และเครื่องมือในการสกัดโปรตีน

1. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath shaker, Julabo shake temp SW23, Germany)
2. Magnetic stirrer
3. Blender (Panasonic MX-795N, Malaysia)
4. เครื่องหมุนเหวี่ยง (Hettich zentrifugen, Rotanta 460R, England)
5. ตะแกรงร่อนขนาด 100 และ 200 mesh (Retsch, Germany)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.3 ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย

3.3.1 ศึกษาองค์ประกอบของแป้งข้าว

วิเคราะห์องค์ประกอบของแป้งข้าวทั้ง 2 พันธุ์ ดังนี้

(1) ปริมาณความชื้น โดยการอบแห้งในตู้อบลมร้อน ดัดแปลงวิธีของ AOAC (1995) ดังแสดงในภาคผนวก ก. 1

(2) ปริมาณไขมันทั้งหมด โดยการสกัดด้วยตัวทำละลายตามวิธีของ AOAC (1995) ดังแสดงในภาคผนวก ก. 2

(3) ปริมาณโปรตีน โดยการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนตามวิธีของ AOAC (1995) ดังแสดงในภาคผนวก ก. 3

(4) ปริมาณเถ้า ตามวิธีของ AOAC (1995) ดังแสดงในภาคผนวก ก. 4

(5) ปริมาณคาร์โบไฮเดรต คำนวณจาก 100 - % (ไขมัน + โปรตีน + เถ้า)

(6) ปริมาณอมัยโลส ด้วยวิธี spectrophotometry ตามวิธีของ Juliano (1981) ดังแสดงในภาคผนวก ก.5

(7) ปริมาณเม็ดแป้งที่เสียหาย (damaged starch) ด้วยวิธีทางเอนไซม์โดยใช้ damaged starch test kits จากบริษัท Megazyme (Ireland) ซึ่งอ้างอิงวิธีของ AACC (1995) ดังแสดงในภาคผนวก ก.6

วิเคราะห์ 3 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย T-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3.3.2 ศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนจากแป้งข้าว โดยการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียวและการสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์

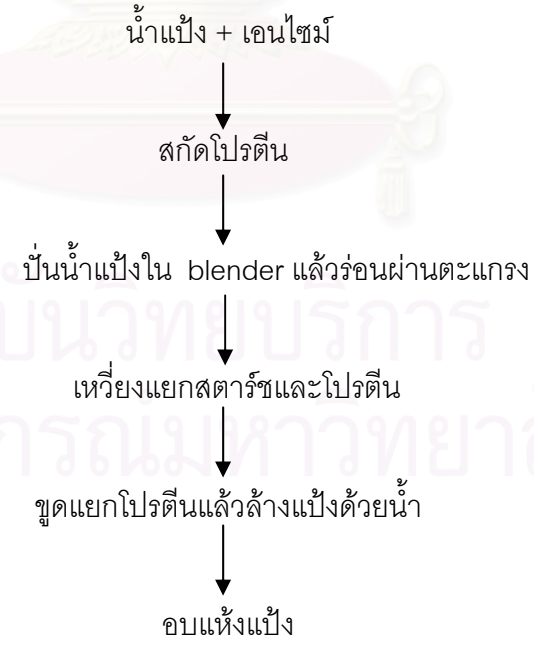
3.3.2.1 ศึกษาผลของความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาในการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว

นำแป้งข้าวทั้ง 2 พันธุ์ มาสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ตามวิธีที่ดัดแปลงมาจากวิธีของ Wang และ Wang (2004b) โดยได้ทดลองแปรอุณหภูมิการสกัดเป็น 45 50 และ 55°C เพื่อเลือกอุณหภูมิที่เหมาะสมของเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด ในการสกัดโปรตีนจากแป้งข้าว พบว่าเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดทำงานได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 50°C ดังนั้นจึงเลือกอุณหภูมินี้ในการสกัดโปรตีน และกำหนดค่า pH ของการสกัดเป็น 7.0 เนื่องจากเอนไซม์ทำงานได้ดีและไม่ก่อปัญหาเรื่องน้ำทิ้งที่มีสมบัติเป็นด่าง วางแผนการทดลองแบบ 3×3 Factorial in Completely Randomized Design (CRD)

สำหรับการสกัดโปรตีนจากแป้งข้าวแต่ละพันธุ์ด้วยเอนไซม์แต่ละชนิด โดยตัวแปรในการทดลองได้แก่ - ความเข้มข้นของเอนไซม์ 3 ระดับ คือ 0.5 1.0 และ 1.5% ต่อน้ำหนักแป้ง (v/w, Neutrase® และ w/w, bromelain)

- เวลาในการสกัด 3 ระดับ คือ 4 6 และ 8 ชั่วโมง

วิธีการสกัดโปรตีนเริ่มจากนำแป้งข้าว 50 กรัม (wb) ผสมกับน้ำปราศจากไอออน 100 mL ปรับ pH เป็น 7.0 แล้วเติมเอนไซม์ Neutrase® 0.25 0.50 และ 0.75 mL หรือ bromelain 0.25 0.50 และ 0.75 กรัม จากนั้นสกัดโปรตีนในอ่างน้ำอุณหภูมิ 50°C เขย่าที่ความเร็ว 200 rpm เป็นเวลา 4 6 และ 8 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงนำน้ำแป้งที่ได้มาปั่นใน blender เป็นเวลา 1 นาที เพื่อให้แป้งกระจายตัวได้ดี แล้วร่อนผ่านตะแกรงขนาด 200 mesh นำน้ำแป้งที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงที่ 14000 ×g 15 นาที เทส่วนน้ำใสทิ้งและขูดแยกโปรตีนซึ่งอยู่ด้านบนชั้นแป้งออก แล้วล้างตะกอนแป้งโดยเติมน้ำปราศจากไอออน 100 mL กวนผสมให้เข้ากันแล้วจึงนำไปเหวี่ยงแยกแป้งที่ 14000 ×g 15 นาที ทำเช่นนี้ 3 ครั้ง นำสตาร์ชที่แยกได้ไปอบแห้งในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50°C 24 ชั่วโมง (ได้สตาร์ชที่มีความชื้น 8-10%) บดลดขนาดสตาร์ชแล้วร่อนผ่านตะแกรงขนาด 100 mesh บรรจุในถุง polyethylene เก็บในเดซิเคเตอร์ก่อนนำไปวิเคราะห์สมบัติต่างๆ ต่อไป ขั้นตอนการสกัดโดยย่อแสดงในรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.1 ขั้นตอนการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์โดยย่อ (ดัดแปลงจาก Wang และ Wang, 2004b)

ทดลอง 2 ซ้ำ คำนวณร้อยละผลผลิตสตาร์ชในรูปน้ำหนักสตาร์ชที่ได้ต่อน้ำหนักแป้งข้าวเริ่มต้น วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนและเม็ดแป้งที่เสียหายในสตาร์ชที่ได้จากแต่ละภาวะสกัดด้วยวิธีเดียวกับข้อ 3.3.1 วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (Cochran and Cox, 1992) เลือกภาวะที่ดีที่สุด คือ ได้สตาร์ชที่มีโปรตีนต่ำที่สุด ในการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์แต่ละชนิดจากแป้งข้าวแต่ละพันธุ์ นำสตาร์ชที่ได้จากภาวะการสกัดนี้ไปใช้ในการทดลองข้อ 3.3.3.1

3.3.2.2 **ศึกษาการสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์**

เลือกภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดโปรตีนจากแป้งข้าวทั้ง 2 พันธุ์ ด้วยเอนไซม์แต่ละชนิด จากผลการทดลองข้อ 3.3.2.1 (ทั้งหมด 4 ภาวะ) ขั้นตอนการสกัดเช่นเดียวกับการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว แต่แบ่งเวลาการสกัดในแต่ละภาวะออกเป็น 2 ช่วง ซึ่งแต่ละช่วงใช้เวลาครึ่งหนึ่งของเวลาที่ใช้สกัดทั้งหมด โดยหลังการสกัดช่วงแรกนำน้ำแป้งไปปั่นใน blender 1 นาที ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 200 mesh แล้วจึงนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 14000 ×g 15 นาที เพื่อแยกส่วนของโปรตีนที่ถูกสกัดออกจากแป้งแล้ว จากนั้นนำส่วนชั้นแป้งมาสกัดโปรตีนซ้ำอีกครั้งด้วยสารละลายเอนไซม์ใหม่ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์เท่ากับการสกัดครั้งแรก ขั้นตอนการสกัดโดยย่อแสดงในรูปที่ 3.2 คำนวณผลผลิตสตาร์ช วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนและเม็ดแป้งที่เสียหายในสตาร์ชที่ได้ด้วยวิธีเดียวกับข้อ 3.3.1 เปรียบเทียบกับสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว (สตาร์ชที่ได้จากภาวะสกัดที่ดีที่สุดในข้อ 3.3.2.1)

ทดลอง 2 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย T-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

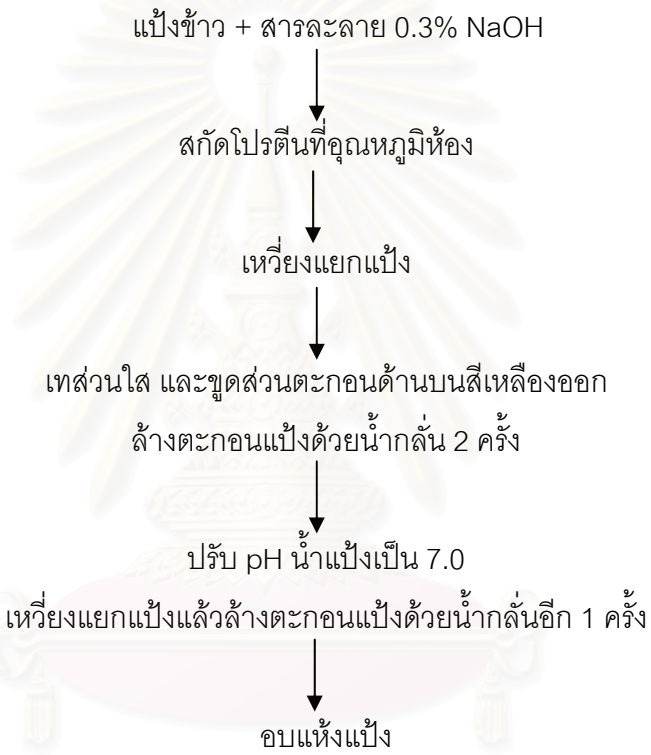
รูปที่ 3.2 ขั้นตอนการสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์โดยย่อ

3.3.2.3 **ศึกษาการสกัดโปรตีนด้วยสารละลาย** 0.3% NaOH

นำแป้งข้าวทั้ง 2 พันธุ์ มาสกัดโปรตีนด้วยสารละลาย 0.3% NaOH ตามวิธีที่ดัดแปลงมาจากวิธีของ Lumdubwong และ Seib (2000) โดยแปรเวลาสกัดเป็น 0.5 1.0 และ 1.5 ชั่วโมง เพื่อเลือกเวลาสกัดที่ให้ปริมาณโปรตีนคงเหลือในสตาร์ชใกล้เคียงกับการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ วิธีการสกัดเริ่มจากนำแป้งข้าว 50 กรัม (wb) ผสมกับสารละลาย 0.3% NaOH 125 mL สกัดที่อุณหภูมิห้อง กวนตลอดเวลาด้วย magnetic stirrer เป็นเวลา 0.5 1.0 และ 1.5 ชั่วโมง แล้วร่อนผ่านตะแกรงขนาด 200 mesh นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3000 ×g 10 นาที เทส่วนใสทิ้งและขูดส่วนตะกอนด้านบนสีเหลืองออก จากนั้นล้างตะกอนแป้งด้วยน้ำกลั่น 150 mL กวนผสมให้เข้ากันแล้วจึงนำไปเหวี่ยงแยกแป้งที่ 3000 ×g 10 นาที ทำเช่นนี้ 2 ครั้ง จากนั้นจึงเติมน้ำกลั่น 150 mL กวนผสมให้เข้ากันแล้วปรับ pH ของน้ำแป้งให้เป็น 7.0 โดยใช้ 1.0 M HCl นำไปเหวี่ยง

แยกแป้งที่ 3000 ×g 10 นาที แล้วล้างตะกอนแป้งครั้งสุดท้ายด้วยน้ำกลั่น 150 mL กวนผสมให้เข้ากันแล้วจึงนำไปเหวี่ยงแยกแป้งที่ 3000 ×g 10 นาที นำสตาร์ชที่ได้ไปอบแห้งในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ได้สตาร์ชที่มีความชื้น 8-10%) บดลดขนาดสตาร์ชแล้วร่อนผ่านตะแกรงขนาด 100 mesh บรรจุในถุง polyethylene เก็บในเดซิเคเตอร์ก่อนนำไปวิเคราะห์สมบัติต่างๆ ต่อไป ขั้นตอนการสกัดโดยย่อแสดงในรูปที่ 3.3

ทดลอง 2 ซ้ำ คำนวณร้อยละผลผลิตสตาร์ช วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนและเม็ดแป้งที่เสียหายในสตาร์ช เช่นเดียวกับการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์



รูปที่ 3.3 การสกัดโปรตีนด้วยสารละลายด่างโดยย่อ (ดัดแปลงจาก Lumdubwong และ Seib, 2000)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.3.3 ศึกษาสมบัติของสตาร์ชข้าวที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์

3.3.3.1 ศึกษาสมบัติของสตาร์ชข้าวที่ได้จากภาวะการสกัดโปรตีนที่ดีที่สุดด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียวเปรียบเทียบกับสตาร์ชข้าวที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยสารละลาย 0.3% NaOH

นำสตาร์ชข้าวทั้ง 2 พันธุ์ที่ได้จากภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์แต่ละชนิด (จากการทดลองข้อ 3.3.2.1) มาวิเคราะห์สมบัติต่างๆ เปรียบเทียบกับสตาร์ชข้าวที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยสารละลาย 0.3% NaOH (จากการทดลองข้อ 3.3.2.3) วิเคราะห์สมบัติของสตาร์ช ดังนี้

(1) สมบัติทางความร้อน ด้วยเครื่อง Differential Scanning Calorimeter (DSC) ดัดแปลงวิธีของ Kim และคณะ (1995) ดังแสดงในภาคผนวก ก.7

(2) สมบัติทางความหนืด ด้วยเครื่อง Rapid Visco Analyser (RVA) ตามวิธีมาตรฐานของเครื่องมือ ดังแสดงในภาคผนวก ก.8

(3) ความสามารถในการพองตัวและการละลาย ดัดแปลงวิธีของ Schoch (1964) ดังแสดงในภาคผนวก ก.9

(4) ค่าสีในระบบ Hunter (L*, a, b) ด้วยเครื่อง Chromameter ดังแสดงในภาคผนวก ก.10

(5) ตรวจสอบลักษณะการกระจายตัวและพื้นผิวเม็ดแป้งด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็คตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscopy, SEM) วิธีการดังแสดงในภาคผนวก ก. 11

ทดลอง 2 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (Cochran and Cox, 1992)

3.3.3.2 ศึกษาสมบัติของสตาร์ชข้าวที่ได้จากการสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์เปรียบเทียบกับสตาร์ชข้าวที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว

นำสตาร์ชข้าวทั้ง 2 พันธุ์ที่ได้จากการสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์ (จากการทดลองข้อ 3.3.2.2) มาวิเคราะห์สมบัติทางความร้อนและสมบัติทางความหนืดด้วยวิธีเดียวกับข้อ 3.3.3.1 เปรียบเทียบกับสตาร์ชข้าวที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว (สตาร์ชข้าวที่ได้จากภาวะที่ดีที่สุดในการทดลองข้อ 3.3.2.1) วิเคราะห์ 2 ซ้ำ และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย T-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

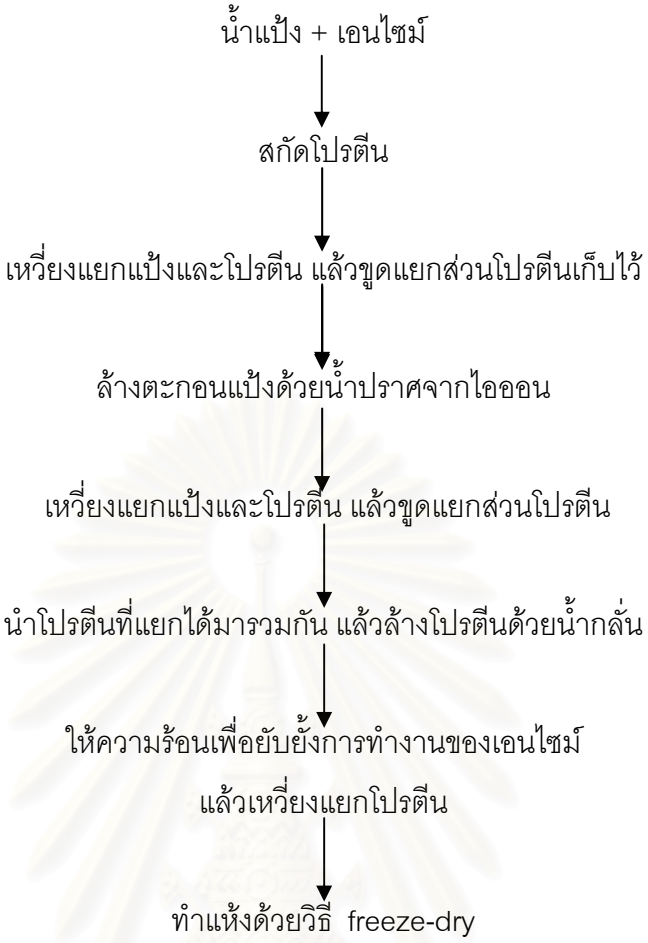
3.3.4 ศึกษาการเกิด annealing ของสตาร์ชข้าวระหว่างการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์

ศึกษาการเกิด annealing ของแป้งข้าวทั้ง 2 พันธุ์ ที่ภาวะการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ที่เลือกได้ในข้อ 3.3.2.1 โดยวิธีที่แสดงในรูปที่ 3.1 แต่ไม่เติมเอนไซม์ และที่ภาวะเดียวกันกับการสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์ (annealing ซ้ำ) โดยใช้วิธีการเช่นเดียวกับข้อ 3.3.2.2 แต่ไม่เติมเอนไซม์ เพื่อนำผลการทดลองที่ได้ไปใช้ประกอบการอธิบายถึงการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในสตาร์ชข้าวที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ โดยวิเคราะห์สมบัติทางความร้อน (Kim et al., 1995) ของแป้งข้าวที่ได้จากการ annealing ในขั้นตอนเดียว และแป้งข้าวที่ได้จากการ annealing ซ้ำเปรียบเทียบกับแป้งข้าวที่เป็นตัวอย่างควบคุม (วิธีการเช่นเดียวกับการ annealing แต่ไม่มีการแช่แป้ง)

ทดลอง 2 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (Cochran and Cox, 1992)

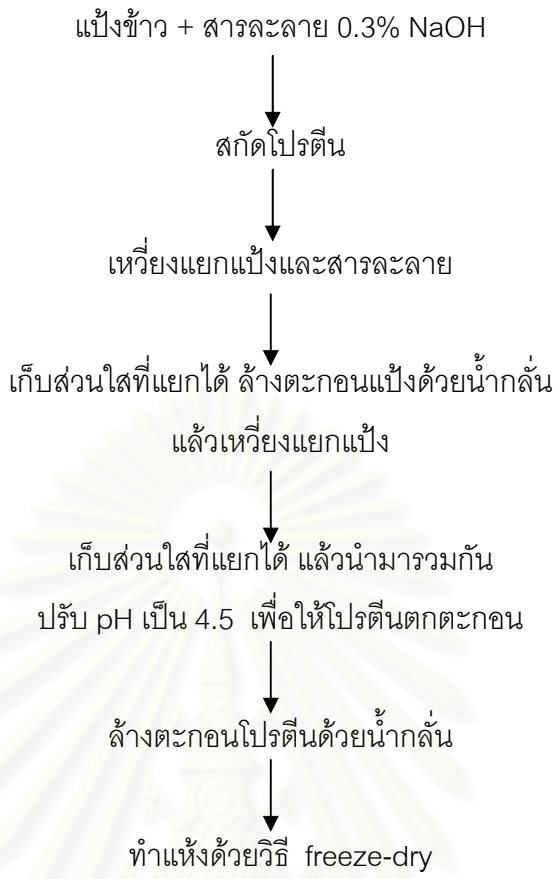
3.3.5 วิธีการแยกโปรตีนที่ได้จากการสกัดด้วยเอนไซม์และโปรตีนที่ได้จากการสกัดด้วยสารละลาย 0.3% NaOH

การแยกโปรตีนที่สกัดด้วยเอนไซม์ใช้วิธีที่ดัดแปลงมาจากวิธีของ Hamada (2000) โดยแยกโปรตีนที่สกัดได้จากภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดโปรตีนจากแป้งข้าวแต่ละพันธุ์ด้วยเอนไซม์แต่ละชนิด (จากข้อ 3.3.2.1) วิธีการเริ่มจากนำแป้งข้าว 500 กรัม (wb) ผสมกับน้ำปราศจากไอออน 1 L แล้วสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์แต่ละชนิดที่ภาวะการสกัดที่ดีที่สุดของแป้งข้าวแต่ละพันธุ์ หลังการสกัดปั่นน้ำแป้งใน blender เป็นเวลา 1 นาที แล้วร่อนผ่านตะแกรงขนาด 200 mesh นำน้ำแป้งที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงที่ 3000 ×g 15 นาที เทส่วนน้ำใสทิ้งและขูดแยกโปรตีนซึ่งอยู่ด้านบนชั้นแป้งเก็บไว้ ล้างตะกอนแป้งอีกครั้งด้วยน้ำปราศจากไอออน 1 L กวนผสมให้เข้ากันแล้วนำน้ำแป้งไปปั่นเหวี่ยงที่ 3000 ×g 15 นาที เทส่วนน้ำใสทิ้งและขูดแยกโปรตีนอีกครั้ง นำโปรตีนที่แยกได้มารวมกัน ล้างตะกอนโปรตีนโดยเติมน้ำกลั่น 300 mL แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3000 ×g 15 นาที เทส่วนน้ำใสทิ้ง นำตะกอนโปรตีนที่ได้มาเติมน้ำกลั่น 300 mL แล้วให้ความร้อนเพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ โดยโปรตีนที่สกัดด้วยเอนไซม์ Neutrase® ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85°C 2 นาที ส่วน bromelain ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90°C 10 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3000 ×g 15 นาที เพื่อแยกโปรตีนอีกครั้ง นำโปรตีนที่ได้มาทำแห้งด้วยวิธี freeze-dry (ได้โปรตีนที่มีความชื้น 4-5%) บรรจุในถุง polyethylene เก็บโปรตีนที่สกัดได้ไว้ในเดซิเคเตอร์ก่อนนำไปวิเคราะห์สมบัติต่างๆ ต่อไป ขั้นตอนโดยย่อแสดงในรูปที่ 3.4



รูปที่ 3.4 การแยกโปรตีนที่สกัดได้ด้วยเอนไซม์โดยย่อ (ดัดแปลงจาก Hamada, 2000)

การแยกโปรตีนที่สกัดได้ด้วยสารละลาย 0.3% NaOH ใช้วิธีที่ดัดแปลงมาจากวิธีของรุ่งทิวา วันสุขศรี (2543) วิธีการเริ่มจากนำแป้งข้าว 500 g (wb) ผสมกับสารละลาย 0.3% NaOH ปริมาตร 1250 mL สกัดโปรตีนที่อุณหภูมิห้อง กวนตลอดเวลาด้วย magnetic stirrer เป็นเวลา 0.5 ชั่วโมง สำหรับแป้งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และ 1 ชั่วโมง สำหรับแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 จากนั้นร่อนผ่านตะแกรงขนาด 200 mesh นำน้ำแป้งไปปั่นเหวี่ยงที่ 3000 ×g 10 นาที เก็บส่วนใสที่แยกได้แล้วล้างตะกอนแป้งด้วยน้ำกลั่น 1500 mL 2 ครั้ง ในแต่ละครั้งให้เหวี่ยงแยกแป้งที่ 3000 ×g 10 นาที แล้วเก็บส่วนใส นำส่วนใสที่แยกได้มารวมกันแล้วปรับ pH เป็น 4.5 ด้วย 1.0 M HCl เพื่อให้โปรตีนตกตะกอน จากนั้นล้างโปรตีนด้วยน้ำกลั่น 300 mL 2 ครั้ง ในแต่ละครั้งให้เหวี่ยงแยกโปรตีนที่ 3000 ×g 10 นาที นำโปรตีนที่แยกได้มาทำแห้งด้วยวิธี freeze-dry (ได้โปรตีนที่มีความชื้น 4-5%) บรรจุในถุง polyethylene เก็บในเดซิเคเตอร์ก่อนนำไปวิเคราะห์สมบัติต่างๆ ต่อไป ขั้นตอนโดยย่อแสดงในรูปที่ 3.5



รูปที่ 3.5 การแยกโปรตีนที่สกัดได้ด้วยสารละลายด่างโดยย่อ
(ดัดแปลงจาก รุ่งทิวา วันสุขศรี, 2543)

3.3.6 ศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่และคุณค่าทางโภชนาการของโปรตีนข้าวที่สกัดได้ด้วยเอนไซม์เปรียบเทียบกับโปรตีนข้าวที่สกัดได้ด้วยสารละลาย 0.3% NaOH

คำนวณผลผลิตโปรตีนสกัดจากแป้งข้าวแต่ละพันธุ์ ที่ได้จากการสกัดด้วยเอนไซม์และสารละลาย 0.3% NaOH (จากข้อ 3.3.5) ในรูปปริมาณโปรตีนสกัดที่ได้ต่อแป้งข้าว 100 กรัม (น้ำหนักแห้ง) วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบในโปรตีนสกัดด้วยวิธีเดียวกับข้อ 3.3.1 และวิเคราะห์สมบัติของโปรตีนสกัดที่ได้ ดังนี้

1. สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน

(1) สมบัติการละลาย ตามวิธีของ AACC (1995) ดังแสดงในภาคผนวก ก.12

(2) สมบัติการจับกับน้ำและน้ำมัน ดัดแปลงวิธีของ Beuchat (1977) ดังแสดงในภาคผนวก ก.13 และภาคผนวก ก.14

(3) สมบัติการเกิดโฟม ดัดแปลงวิธีของ Kato, Lee และ Kobayashi (1989) ดังแสดงในภาคผนวก ก.15

(4) สมบัติการเกิดอิมัลชัน ดัดแปลงวิธีของ Pearce และ Kinsella (1978) ดังแสดงในภาคผนวก ก.16

ทดลอง 2 ซ้ำวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (Cochran and Cox, 1992)

2. คุณค่าทางโภชนาการของโปรตีน

วิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบในโปรตีนข้าวที่สกัดได้ด้วยเอนไซม์แต่ละชนิด และโปรตีนข้าวที่สกัดได้ด้วยสารละลาย 0.3% NaOH โดยเตรียมตัวอย่างและวิเคราะห์ตามวิธีของ Shimadzu (2004) ดังแสดงในภาคผนวก ก.17

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ผลการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของแป้งข้าว

จากผลการทดลองที่แสดงในตารางที่ 4.1 พบว่าแป้งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 มีโปรตีนต่ำกว่าแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ทั้งนี้ปริมาณโปรตีนในข้าวขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น สายพันธุ์ของข้าว วิธีการเพาะปลูก และลักษณะภูมิอากาศ (Juliano, 1990) ส่วนปริมาณไขมันและเถ้าในแป้งข้าวทั้ง 2 พันธุ์ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบทางเคมีของแป้งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1

พันธุ์แป้งข้าว	ความชื้น (%wb)	โปรตีน (%db)	ไขมัน^{ns} (%db)	เถ้า^{ns} (%db)	คาร์โบ-ไฮเดรต (%db)	อมัยโลส (%db)	damaged starch (%db)
ขาวดอกมะลิ 105	6.86^{a} (0.08)	7.18^{a} (0.13)	0.48 (0.03)	0.26 (0.03)	92.07^{b} (0.17)	25.65^{a} (0.17)	2.15^{b} (0.06)
ชัยนาท 1	7.70^{b} (0.27)	7.66^{b} (0.01)	0.43 (0.03)	0.24 (0.02)	91.67^{a} (0.02)	41.70^{b} (0.57)	1.17^{a} (0.03)

ตัวเลขในวงเล็บแสดงค่า standard deviation

^{a,b} ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

^{ns} ตัวเลขในสดมภ์เดียวกันมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

เมื่อพิจารณาปริมาณอมัยโลส พบว่าแป้งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 มีปริมาณอมัยโลสต่ำกว่าแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ส่วนการวิเคราะห์ปริมาณเม็ดแป้งที่เสียหาย พบว่าแป้งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 มีปริมาณเม็ดแป้งที่เสียหายสูงกว่าแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ซึ่งอาจเป็นผลจากกระบวนการผลิตแป้งที่ต่างกันและ/หรือเป็นผลจากปริมาณอมัยโลสในข้าว โดยข้าวที่มีอมัยโลสสูงจะมีความแข็งแรงของเมล็ดสูงด้วย ทำให้ทนทานต่อการแตกหักระหว่างการสีหรือโม่ได้มาก (Tester, 1997)

2. ผลการศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนจากแป้งข้าวด้วยเอนไซม์นิวทรัลโปรติเอส

2.1 การศึกษาผลของความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาในการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว

2.1.1 การสกัดโปรตีนจากแป้งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105

จากผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของภาวะการสกัดโปรตีนจากแป้งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ด้วยเอนไซม์ Neutrase® พบว่าความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาสกัดมีอิทธิพลร่วมกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ต่อปริมาณโปรตีนและเม็ดแป้งที่เสียหายในสตาร์ชที่ได้ แต่ไม่มีอิทธิพลร่วมกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ต่อปริมาณผลผลิตสตาร์ช จากผลการทดลองตารางที่ 4.2 เมื่อพิจารณาปริมาณโปรตีนในสตาร์ช พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์จาก 0.5 เป็น 1.0 และ 1.5% ส่งผลให้ปริมาณโปรตีนในสตาร์ชลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ที่เวลาสกัด 8 ชั่วโมงเท่านั้น แต่การเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เวลาสกัด 4 และ 6 ชั่วโมง ไม่ส่งผลต่อปริมาณโปรตีนในสตาร์ชอย่างชัดเจน เมื่อพิจารณาที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์เท่ากัน พบว่าการเพิ่มเวลาสกัดจาก 4 เป็น 6 ชั่วโมงไม่ส่งผลให้ปริมาณโปรตีนในสตาร์ชลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ในขณะที่การเพิ่มเวลาสกัดจาก 6 เป็น 8 ชั่วโมง ส่งผลให้ปริมาณโปรตีนในสตาร์ชลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ยกเว้นที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ 0.5%

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.2 ร้อยละโปรตีน ผลผลิต และเม็ดแป้งที่เสียหายในสตาร์ชข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ได้จากภาวะการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ Neutrase®

ภาวะการสกัดโปรตีน	% โปรตีน (db)	% ผลผลิต (db)	% เม็ดแป้งที่เสียหาย (db)
0.5% Neutrase® 4 ชั่วโมง	1.11 ^{d} (0.03)	78.7 ^{abc} (0.4)	2.19 ^{bc} (0.06)
0.5% Neutrase® 6 ชั่วโมง	1.00 ^{c} (0.08)	78.4 ^{abc} (1.1)	2.05 ^{ab} (0.01)
0.5% Neutrase® 8 ชั่วโมง	0.94 ^{c} (0.06)	82.8 ^{d} (1.4)	1.82 ^{a} (0.05)
1.0% Neutrase® 4 ชั่วโมง	0.99 ^{c} (0.02)	77.9 ^{ab} (0.8)	2.35 ^{cd} (0.04)
1.0% Neutrase® 6 ชั่วโมง	1.01 ^{c} (0.02)	76.9 ^{a} (1.4)	2.64 ^{e} (0.08)
1.0% Neutrase® 8 ชั่วโมง	0.76 ^{b} (0.04)	80.9 ^{bcd} (0.5)	1.92 ^{a} (0.04)
1.5% Neutrase® 4 ชั่วโมง	0.96 ^{c} (0.06)	76.9 ^{a} (1.7)	2.40 ^{cd} (0.16)
1.5% Neutrase® 6 ชั่วโมง	0.99 ^{c} (0)	76.0 ^{a} (2.2)	2.44 ^{de} (0.14)
1.5% Neutrase® 8 ชั่วโมง	0.57 ^{a} (0.03)	81.4 ^{cd} (0.4)	1.82 ^{a} (0.16)

ตัวเลขในวงเล็บแสดงค่า standard deviation

$^{a,b,...}$ ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

เมื่อพิจารณาปริมาณผลผลิตและเม็ดแป้งที่เสียหายในสตาร์ช (ตารางที่ 4.2) พบว่าเมื่อเวลาสกัดเท่ากัน การเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์ไม่มีผลทำให้ปริมาณผลิตสตาร์ชแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) เมื่อพิจารณาที่ความเข้มข้นของเอนไซม์เท่ากัน พบว่าการเพิ่มเวลาสกัดจาก 4 เป็น 6 ชั่วโมง ไม่ส่งผลต่อปริมาณผลผลิตอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แต่การเพิ่มเวลาสกัดจาก 6 เป็น 8 ชั่วโมง ทำให้ปริมาณผลผลิตเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อพิจารณาปริมาณเม็ดแป้งที่เสียหายในสตาร์ช พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาสกัดจะส่งผลต่อปริมาณเม็ดแป้งที่เสียหายในสตาร์ชที่ได้อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ในบางภาวะ แต่กลับไม่พบแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงค่าดังกล่าวอย่างชัดเจน อาจเนื่องมาจากในการทดลองนี้มีหลายปัจจัยที่ส่งผลต่อปริมาณเม็ดแป้งที่เสียหายในสตาร์ชที่ได้ โดยระหว่างการสกัดเอนไซม์จะย่อยโปรตีนที่ติดอยู่บนพื้นผิวของเม็ดแป้งทำให้เม็ดแป้งส่วนที่เสียหายหลุดออกมา แล้วจึงถูกแยกในขั้นตอนการล้างแป้ง (Wang and Wang, 2001) แต่การปั่นน้ำแป้งใน blender ก่อนร่อนผ่านตะแกรงและการบดลดขนาดสตาร์ชเพื่อนำไปวิเคราะห์สมบัติด้านต่างๆ อาจทำให้เม็ดแป้งเสียหายเพิ่มขึ้น ดังนั้นจึงเป็นการยากที่จะอธิบายถึงการเปลี่ยนแปลงปริมาณเม็ดแป้งที่เสียหายในแต่ละภาวะสกัด

ตารางที่ 4.3 ร้อยละโปรตีน ผลผลิต และเม็ดแป้งที่เสียหายในสตาร์ชข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ได้จากภาวะการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ bromelain

ภาวะการสกัดโปรตีน	% โปรตีน (db)	% ผลผลิต (db)	% เม็ดแป้งที่เสียหาย (db)
0.5% bromelain 4 ชั่วโมง	0.96 ^{e} (0)	78.9 ^{ab} (0.8)	1.97 ^{ab} (0)
0.5% bromelain 6 ชั่วโมง	0.82 ^{cd} (0.06)	78.7 ^{ab} (0.6)	2.13 ^{b} (0.01)
0.5% bromelain 8 ชั่วโมง	0.84 ^{d} (0.08)	79.6 ^{bc} (2.7)	2.09 ^{b} (0.31)
1.0% bromelain 4 ชั่วโมง	0.80 ^{bcd} (0)	77.6 ^{ab} (0.3)	1.87 ^{ab} (0.05)
1.0% bromelain 6 ชั่วโมง	0.65 ^{a} (0)	79.2 ^{abc} (0.1)	2.13 ^{b} (0.11)
1.0% bromelain 8 ชั่วโมง	0.68 ^{a} (0.02)	80.1 ^{bc} (0.6)	2.05 ^{b} (0.11)
1.5% bromelain 4 ชั่วโมง	0.73 ^{abc} (0.06)	76.9 ^{a} (0.9)	1.72 ^{a} (0.07)
1.5% bromelain 6 ชั่วโมง	0.72 ^{ab} (0.02)	78.4 ^{ab} (0.1)	2.09 ^{b} (0)
1.5% bromelain 8 ชั่วโมง	0.70 ^{a} (0.03)	81.6 ^{d} (0.5)	2.11 ^{b} (0.11)

ตัวเลขในวงเล็บแสดงค่า standard deviation

$^{a,b,....}$ ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ในการทดลองสกัดโปรตีนจากแป้งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ด้วยเอนไซม์ bromelain เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่าความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาสกัดไม่มีอิทธิพลร่วมกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ต่อปริมาณโปรตีน ผลผลิต และเม็ดแป้งที่เสียหายในสตาร์ชที่ได้ จากข้อมูลในตารางที่ 4.3 เมื่อพิจารณาปริมาณโปรตีนในสตาร์ช พบว่าเมื่อเวลาสกัดเท่ากัน การสกัดด้วยเอนไซม์ความเข้มข้น 1.0 และ 1.5% ได้สตาร์ชที่มีปริมาณโปรตีนไม่แตกต่างกัน แต่ต่ำกว่าที่ความเข้มข้นเอนไซม์ 0.5% อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์เท่ากัน ปริมาณโปรตีนในสตาร์ชที่สกัดเป็นเวลา 6 และ 8 ชั่วโมง ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แต่ต่ำกว่าสตาร์ชที่สกัด 4 ชั่วโมง อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ยกเว้นที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ 1.5% ซึ่งอาจเป็นผลมาจากจลนพลศาสตร์ของเอนไซม์ (enzyme kinetics) โดยเมื่อปริมาณของซับสเตรทคงที่ การเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์จะทำให้โปรตีนถูกย่อยได้มากขึ้นจนถึงจุดอิ่มตัวของสับสเตรท ที่การเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์จะไม่ส่งผลให้การย่อยโปรตีนเพิ่มขึ้นปริมาณโปรตีนในสตาร์ชจึงไม่ลดลง และเมื่อเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้นเอนไซม์จะย่อยโปรตีนได้มากขึ้นจนถึงจุดหนึ่งที่การทำงานของเอนไซม์จะลดลง เนื่องจากเอนไซม์เสียสภาพ

และ/หรือถูกยับยั้งด้วยผลิตภัณฑ์ที่ย่อยได้ การเพิ่มเวลาสกัดจึงไม่ทำให้เอนไซม์ย่อยโปรตีนได้มากขึ้น (Whitaker, 1994)

เมื่อพิจารณาปริมาณผลผลิตของสตาร์ช พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เวลาสกัด 4 และ 6 ชั่วโมง ได้ผลผลิตสตาร์ชไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แต่ที่เวลาสกัด 8 ชั่วโมง พบว่าการสกัดด้วยเอนไซม์ความเข้มข้น 0.5 และ 1.0% ได้ผลผลิตสตาร์ชไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แต่ต่ำกว่าการสกัดด้วยเอนไซม์ความเข้มข้น 1.5% อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) และเมื่อพิจารณาปริมาณเม็ดแป้งที่เสียหาย พบว่าการเพิ่มเวลาสกัดจาก 4 ชั่วโมงเป็น 6 ชั่วโมง ไม่มีผลต่อปริมาณเม็ดแป้งที่เสียหายอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) สำหรับสตาร์ชที่สกัดด้วยเอนไซม์ความเข้มข้น 0.5 และ 1.0% แต่ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 1.5% พบว่าปริมาณเม็ดแป้งที่เสียหายในสตาร์ชที่สกัดเป็นเวลา 6 ชั่วโมง สูงกว่าสตาร์ชที่สกัดเป็นเวลา 4 ชั่วโมงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ซึ่งสามารถอธิบายการเปลี่ยนแปลงของปริมาณเม็ดแป้งที่เสียหายได้เช่นเดียวกับการสกัดด้วยเอนไซม์ Neutrase®

เมื่อพิจารณาชนิดของเอนไซม์ พบว่าที่ภาวะสกัดเดียวกันเอนไซม์ bromelain สามารถสกัดโปรตีนจากแป้งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ได้ดีกว่าเอนไซม์ Neutrase® ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเอนไซม์ bromelain มีความจำเพาะกับโปรตีนในแป้งข้าวมากกว่าและ/หรือมีแอคติวิตีสูงกว่าโปรตีนจึงถูกย่อยได้ดีกว่า โดยเอนไซม์แต่ละชนิดจะมีแอคติวิตีและความจำเพาะกับสับสเตรตแตกต่างกัน

2.1.2 การสกัดโปรตีนจากแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของภาวะสกัดโปรตีนจากแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ด้วยเอนไซม์ Neutrase® พบว่าความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาสกัดมีอิทธิพลร่วมกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ต่อปริมาณโปรตีนในสตาร์ชที่ได้ แต่ไม่มีอิทธิพลร่วมกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ต่อปริมาณผลผลิตและเม็ดแป้งที่เสียหายในสตาร์ช จากผลการทดลองในตารางที่ 4.4 เมื่อพิจารณาปริมาณโปรตีนในสตาร์ช พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์จาก 0.5 เป็น 1.0 และ 1.5% ส่งผลให้ปริมาณโปรตีนในสตาร์ชลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ที่เวลาสกัด 8 ชั่วโมงเท่านั้น โดยที่เวลาสกัด 4 และ 6 ชั่วโมง การเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์จาก 0.5 เป็น 1.0% ส่งผลให้ปริมาณโปรตีนในสตาร์ชลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แต่การเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์จาก 1.0 เป็น 1.5% ไม่ส่งผลให้ปริมาณโปรตีนในสตาร์ชลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) เมื่อใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ 0.5% พบว่าการเพิ่มเวลาสกัดไม่มีผลให้ปริมาณโปรตีนในสตาร์ชลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ในขณะที่การสกัดด้วยเอนไซม์ความเข้มข้น 1.0% พบว่าการเพิ่มเวลาสกัดจาก 4 เป็น 6 ชั่วโมง ส่งผลให้ปริมาณโปรตีนในสตาร์ชลดลงอย่างมี

นัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แต่การเพิ่มเวลาสกัดจาก 6 เป็น 8 ชั่วโมงไม่ส่งผลให้ปริมาณโปรตีนในสตาร์ชลดลงมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) เมื่อพิจารณาที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 1.5% พบว่าการเพิ่มเวลาสกัดจาก 4 เป็น 6 และ 8 ชั่วโมง ส่งผลให้ปริมาณโปรตีนในสตาร์ชลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.4 ร้อยละโปรตีน ผลผลิต และเม็ดแป้งที่เสียหายในสตาร์ชข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากภาวะการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ Neutrase®

ภาวะการสกัดโปรตีน	% โปรตีน (db)	% ผลผลิต (db)	% เม็ดแป้งที่เสียหาย (db)
0.5% Neutrase® 4 ชั่วโมง	1.91 ^{d} (0.22)	74.0 ^{a} (4.0)	0.97 ^{a} (0.02)
0.5% Neutrase® 6 ชั่วโมง	1.70 ^{cd} (0.02)	81.0 ^{cd} (0.3)	1.36 ^{bc} (0)
0.5% Neutrase® 8 ชั่วโมง	1.73 ^{cd} (0.10)	82.6 ^{d} (1.9)	1.20 ^{b} (0.04)
1.0% Neutrase® 4 ชั่วโมง	1.57 ^{c} (0.02)	74.6 ^{a} (0.5)	1.39 ^{bc} (0.06)
1.0% Neutrase® 6 ชั่วโมง	1.29 ^{b} (0.06)	79.2 ^{bcd} (1.1)	1.66 ^{d} (0.02)
1.0% Neutrase® 8 ชั่วโมง	1.31 ^{b} (0.03)	79.7 ^{bcd} (1.5)	1.56 ^{cd} (0.12)
1.5% Neutrase® 4 ชั่วโมง	1.55 ^{c} (0.01)	76.3 ^{ab} (0.6)	1.42 ^{c} (0.11)
1.5% Neutrase® 6 ชั่วโมง	1.29 ^{b} (0)	77.1 ^{abc} (1.3)	1.69 ^{d} (0.17)
1.5% Neutrase® 8 ชั่วโมง	0.96 ^{a} (0.09)	80.1 ^{bcd} (0.5)	1.71 ^{d} (0.03)

ตัวเลขในวงเล็บแสดงค่า standard deviation

$^{a,b,...}$ ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

เมื่อพิจารณาปริมาณผลผลิตสตาร์ช (ตารางที่ 4.4) พบว่าเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์เท่ากัน ปริมาณผลผลิตสตาร์ชที่เวลาสกัด 6 และ 8 ชั่วโมง ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แต่สูงกว่าที่เวลาสกัด 4 ชั่วโมง อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ยกเว้นที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 1.5% เมื่อพิจารณาที่เวลาสกัดเท่ากัน พบว่าความเข้มข้นของเอนไซม์ไม่ส่งผลอย่างมีนัยสำคัญต่อปริมาณผลผลิตสตาร์ช ($p > 0.05$) เมื่อพิจารณาปริมาณเม็ดแป้งที่เสียหายในสตาร์ช พบว่าเมื่อเวลาในการสกัดเท่ากัน การสกัดด้วยเอนไซม์ความเข้มข้น 1.0 และ 1.5% ได้สตาร์ชที่มีปริมาณเม็ดแป้งที่เสียหายไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แต่มีค่าสูงกว่าที่ภาวะความเข้มข้นของเอนไซม์ 0.5% อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์เท่ากัน พบว่าการเพิ่มเวลาสกัดจาก 4 เป็น 6 ชั่วโมง ส่งผลให้ปริมาณเม็ดแป้งที่เสียหายในสตาร์ชเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แต่การเพิ่มเวลาสกัดจาก 6 เป็น 8 ชั่วโมง ไม่ส่งผลต่อปริมาณเม็ดแป้ง

ที่เสียหายในสตาร์ชอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ซึ่งสามารถอธิบายการเปลี่ยนแปลงของปริมาณเม็ดแป้งที่เสียหายได้เช่นเดียวกับกรณีที่ผ่านมา

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของภาวะการสกัดโปรตีนจากแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ด้วยเอนไซม์ bromelain พบว่าความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาสกัดมีอิทธิพลร่วมกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ต่อปริมาณโปรตีนและเม็ดแป้งที่เสียหายในสตาร์ชที่ได้ จากผลการทดลองในตารางที่ 4.5 เมื่อพิจารณาปริมาณโปรตีนจะเห็นได้ว่าการเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์จาก 0.5 เป็น 1.0 และ 1.5% ส่งผลให้ปริมาณโปรตีนในสตาร์ชลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ที่เวลาสกัด 4 ชั่วโมง เท่านั้น โดยที่เวลาสกัด 6 และ 8 ชั่วโมง พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์จาก 1.0 เป็น 1.5% เท่านั้น ที่ส่งผลให้ปริมาณโปรตีนในสตาร์ชลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) การเพิ่มเวลาสกัดจาก 4 เป็น 6 และ 8 ชั่วโมง ส่งผลให้ปริมาณโปรตีนในสตาร์ชลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 0.5 และ 1.0% เท่านั้น โดยที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 1.5% พบว่าการเพิ่มเวลาสกัดจาก 4 เป็น 6 ชั่วโมง ไม่ส่งผลให้ปริมาณโปรตีนในสตาร์ชลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แต่การเพิ่มเวลาสกัดจาก 6 เป็น 8 ชั่วโมง ส่งผลให้ปริมาณโปรตีนในสตาร์ชลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.5 ร้อยละโปรตีน ผลผลิต และเม็ดแป้งที่เสียหายในสตาร์ชข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากภาวะการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ bromelain

ภาวะการสกัดโปรตีน	% โปรตีน (db)	% ผลผลิต (db)	% เม็ดแป้งที่เสียหาย (db)
0.5% bromelain 4 ชั่วโมง	1.52 ^{e} (0.01)	80.4 ^{ab} (0.6)	1.02 ^{ab} (0.02)
0.5% bromelain 6 ชั่วโมง	1.18 ^{c} (0.06)	79.2 ^{a} (0.4)	1.01 ^{ab} (0.07)
0.5% bromelain 8 ชั่วโมง	1.06 ^{b} (0.01)	80.1 ^{ab} (1.1)	1.14 ^{bc} (0.01)
1.0% bromelain 4 ชั่วโมง	1.26 ^{d} (0)	80.5 ^{ab} (0.6)	0.94 ^{a} (0.08)
1.0% bromelain 6 ชั่วโมง	1.14 ^{c} (0.01)	82.9 ^{b} (0.3)	0.99 ^{a} (0.04)
1.0% bromelain 8 ชั่วโมง	1.04 ^{b} (0.04)	83.1 ^{b} (2.1)	1.57 ^{d} (0.03)
1.5% bromelain 4 ชั่วโมง	1.07 ^{b} (0.04)	79.7 ^{a} (1.1)	0.88 ^{a} (0.04)
1.5% bromelain 6 ชั่วโมง	1.01 ^{b} (0.01)	81.4 ^{b} (2.3)	0.98 ^{a} (0.11)
1.5% bromelain 8 ชั่วโมง	0.89 ^{a} (0.02)	79.7 ^{a} (0.9)	1.17 ^{c} (0.06)

ตัวเลขในวงเล็บแสดงค่า standard deviation

$^{a,b,...}$ ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาสกัดไม่มีอิทธิพลอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ต่อปริมาณผลผลิตสตาร์ช เมื่อพิจารณาปริมาณเม็ดแป้งที่เสียหายในสตาร์ช พบว่าการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของเอนไซม์มีผลต่อปริมาณเม็ดแป้งที่เสียหายในสตาร์ชที่ได้อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ที่เวลาสกัด 8 ชั่วโมง เท่านั้น และเมื่อเพิ่มเวลาสกัดปริมาณเม็ดแป้งที่เสียหายในสตาร์ชจะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นด้วย

เมื่อพิจารณาชนิดของเอนไซม์ พบว่าที่ภาวะสกัดเดียวกัน เอนไซม์ bromelain สามารถสกัดโปรตีนจากแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ได้ดีกว่าเอนไซม์ Neutrase® ยกเว้นที่ภาวะความเข้มข้นเอนไซม์ 1.5% เวลาสกัด 8 ชั่วโมง ที่ได้สตาร์ชมีปริมาณโปรตีนไม่แตกต่างกัน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเอนไซม์ bromelain มีความจำเพาะกับโปรตีนในแป้งข้าวมากกว่าโปรตีนจึงถูกย่อยได้ดีกว่า

2.1.3 การเลือกภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์นิวทรัลโปรติเอสในขั้นตอนเดียว

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.2 4.3 4.4 และ 4.5 สามารถเลือกภาวะการสกัดโปรตีนที่ดีที่สุดจากแป้งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ด้วยเอนไซม์ Neutrase® และ bromelain ได้ดังแสดงในตารางที่ 4.6 เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย T-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% พบว่าสตาร์ชข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ได้จากภาวะสกัดที่ดีที่สุดด้วยเอนไซม์ Neutrase® และเอนไซม์ bromelain มีปริมาณโปรตีนและผลผลิตไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แต่ปริมาณเม็ดแป้งที่เสียหายในสตาร์ชข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ bromelain สูงกว่าที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ Neutrase® อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อพิจารณาการสกัดโปรตีนจากแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 พบว่าสตาร์ชที่ได้จากภาวะการสกัดโปรตีนที่ดีที่สุดด้วยเอนไซม์ Neutrase® และ bromelain มีปริมาณโปรตีนและผลผลิตไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) เช่นเดียวกับแป้งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 แต่ปริมาณเม็ดแป้งที่เสียหายในสตาร์ชข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ Neutrase® สูงกว่าที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ bromelain อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.6 ร้อยละโปรตีน ผลผลิต และเม็ดแป้งที่เสียหายในสตาร์ชข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากภาวะการสกัดโปรตีนที่ดีที่สุดด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว

พันธุ์แป้งข้าว	ภาวะการสกัดโปรตีน	% โปรตีน (db)	% ผลผลิต (db)	% เม็ดแป้งที่เสียหาย(db)
ขาวดอกมะลิ 105	1.5% Neutrase® 8 ชั่วโมง	0.57 ^{a} (0.03)	81.4 ^{a} (0.4)	1.82 ^{a} (0.16)
	1.0% bromelain 6 ชั่วโมง	0.65 ^{a} (0)	79.2 ^{a} (0.1)	2.13 ^{b} (0.11)
ชัยนาท 1	1.5% Neutrase® 8 ชั่วโมง	0.96 ^{A} (0.09)	80.1 ^{A} (0.5)	1.71 ^{B} (0.03)
	1.5% bromelain 8 ชั่วโมง	0.89 ^{A} (0.02)	79.7 ^{A} (0.9)	1.17 ^{A} (0.06)

$^{a, b, A, B}$ ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

เมื่อพิจารณาผลของสายพันธุ์ข้าวต่อปริมาณโปรตีนในสตาร์ชที่ได้จากภาวะสกัดที่ดีที่สุดด้วยเอนไซม์ Neutrase® และ bromelain จะเห็นได้ว่าปริมาณโปรตีนคงเหลือในสตาร์ชข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 สูงกว่าสตาร์ชข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 แสดงให้เห็นว่าการสกัดโปรตีนออกจากแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ด้วยเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด ทำได้ยากกว่าแป้งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 โดยอาจเป็นไปได้ว่าแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 มีปริมาณ waxy protein สูงกว่าแป้งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 เนื่องจาก Hamaker, Griffin และ Moldenhauer (1991) รายงานว่า waxy protein มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณอมัยโลสในสตาร์ชข้าว ซึ่งแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 มีอมัยโลสสูงกว่าแป้งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 จึงน่าจะมี waxy protein มากกว่าด้วย Mu-Forster และ Wasserman (1998) รายงานว่า waxy protein ซึ่งอยู่ภายในเม็ดแป้งของสตาร์ชข้าวโพดต้านทานต่อการย่อยด้วยเอนไซม์โปรติเอส การแยก waxy protein ทั้งหมดออกจากเม็ดแป้งจะต้องทำให้เม็ดแป้งเกิดเจลาติไนเซชันอย่างสมบูรณ์ (Hamaker et al., 1991) waxy protein (starch granule-bound starch synthase isoform I) มีขนาดโมเลกุล 60 kD เป็นโปรตีนเอนไซม์ชนิดหนึ่งในกลุ่มของ starch granule-associated proteins (SGAPs) ซึ่งเป็นโปรตีนที่จับอยู่อย่างแน่นหนากับพื้นผิวเม็ดแป้งและ/หรืออยู่ภายในเม็ดแป้ง ประกอบไปด้วยโปรตีนหลายชนิดที่มีขนาดโมเลกุลต่างๆ กัน (Baldwin, 2001) นอกจากนี้ Zeng และคณะ (1997) รายงานว่า waxy protein มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณอมัยโลสในข้าวสาลีเช่นกัน

2.2 ผลการศึกษาการสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์เปรียบเทียบกับการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว

จากการศึกษาผลของการสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด ในแป้งข้าวทั้ง 2 พันธุ์ (ตารางที่ 4.7 และ 4.8) พบว่าให้ผลไปในแนวทางเดียวกัน โดยสตาร์ชข้าวที่ได้จากการสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์มีปริมาณโปรตีนและเม็ดแป้งที่เสียหายไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) กับสตาร์ชข้าวที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว ยกเว้นสตาร์ชข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์ Neutrase® ซึ่งมีปริมาณเม็ดแป้งที่เสียหายเพิ่มขึ้น ในขณะที่การสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์ทำให้ปริมาณผลผลิตสตาร์ชลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) สาเหตุที่ปริมาณโปรตีนในสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์ไม่ลดลงอย่างชัดเจน อาจเนื่องมาจากแอคติวิตีของเอนไซม์ Neutrase® และ bromelain มีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยเท่านั้นระหว่างการสกัดโปรตีนในขั้นตอนเดียว ดังนั้นการสกัดโปรตีนซ้ำซึ่งเป็นการเปลี่ยนสารละลายเอนไซม์ใหม่เข้ามาจึงทำให้การย่อยโปรตีนเพิ่มขึ้นไม่มากนัก และการสกัดโปรตีนซ้ำทำให้ผลผลิตสตาร์ชลดลงเนื่องจากต้องมีการถ่ายเทแป้งหลายครั้งในขั้นตอนการสกัดจึงอาจเกิดการสูญเสียได้มากกว่า

ตารางที่ 4.7 ร้อยละโปรตีน ผลผลิต และเม็ดแป้งที่เสียหายในสตาร์ชข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนในขั้นตอนเดียวและสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์

ภาวะการสกัดโปรตีน	% โปรตีน (db)	% ผลผลิต (db)	% เม็ดแป้งที่เสียหาย (db)
1.5% Neutrase® 8 h *	0.57^{a} (0.02)	81.4^{b} (0.42)	1.82^{a} (0.16)
1.5% Neutrase® 4/4 h **	0.40^{a} (0.01)	72.2^{a} (0.78)	2.78^{b} (0.16)
1.0% bromelain 6 h	0.65^{A} (0.00)	79.2^{B} (0.07)	2.13^{A} (0.11)
1.0% bromelain 3/3 h	0.65^{A} (0.03)	75.2^{A} (0.14)	1.76^{A} (0.04)

ตัวเลขในวงเล็บแสดงค่า standard deviation

^{a,b,A,B} ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

* หมายถึง สตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว

** หมายถึง สตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์

ตารางที่ 4.8 ร้อยละโปรตีน ผลผลิต และเม็ดแป้งที่เสียหายในสตาร์ชข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนในขั้นตอนเดียวและสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์

ภาวะการสกัดโปรตีน	% โปรตีน (db)	% ผลผลิต (db)	% เม็ดแป้งที่เสียหาย (db)
1.5% Neutrase® 8 h *	0.96 ^{a} (0.10)	80.1 ^{b} (0.42)	1.71 ^{a} (0.03)
1.5% Neutrase® 4/4 h **	0.82 ^{a} (0.01)	72.5 ^{a} (0.50)	1.76 ^{a} (0.09)
1.5% bromelain 8 h	0.89 ^{A} (0.02)	79.7 ^{B} (0.85)	1.17 ^{A} (0.06)
1.5% bromelain 4/4 h	0.90 ^{A} (0.01)	72.9 ^{A} (1.20)	1.18 ^{A} (0.08)

ตัวเลขในวงเล็บแสดงค่า standard deviation

^{a,b,A,B} ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

* หมายถึง สตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว

** หมายถึง สตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์

3. ผลการศึกษาสมบัติของสตาร์ชข้าวที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์

จากการแปรเวลาในการสกัดโปรตีนจากแป้งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ด้วยสารละลาย 0.3% NaOH เพื่อให้ได้สตาร์ชที่มีปริมาณโปรตีนใกล้เคียงกับสตาร์ชที่สกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ที่ภาวะสกัดที่ดีที่สุดจากข้อ 2.1.3 พบว่าแป้งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ใช้เวลาสกัด 0.5 ชั่วโมง ได้สตาร์ชมีโปรตีน 0.54% ในขณะที่แป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ใช้เวลาสกัด 1 ชั่วโมง ได้สตาร์ชมีโปรตีน 1.11% ปริมาณโปรตีน ผลผลิต และเม็ดแป้งที่เสียหายในสตาร์ชที่ได้จากภาวะการสกัดโปรตีนที่ดีที่สุดด้วยเอนไซม์ และสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยสารละลาย 0.3% NaOH แสดงในตารางที่ 4.9

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.9 ร้อยละโปรตีน ผลผลิต และเม็ดแป้งที่เสียหายในสตาร์ชข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากภาวะสกัดโปรตีนที่ดีที่สุดด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว และสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยสารละลาย 0.3% NaOH

พันธุ์แป้งข้าว	ภาวะการสกัดโปรตีน	% โปรตีน (db)	% ผลผลิต (db)	% เม็ดแป้งที่เสียหาย(db)
ขาวดอกมะลิ 105	1.5% Neutrase® 8 ชั่วโมง	0.57^{a} (0.03)	81.4^{b} (0.4)	1.82^{ab} (0.16)
	1.0% bromelain 6 ชั่วโมง	0.65^{b} (0)	79.2^{b} (0.1)	2.13^{b} (0.11)
	0.3% NaOH 0.5 ชั่วโมง	0.54^{a} (0.03)	63.4^{a} (1.0)	1.67^{a} (0.09)
ชัยนาท 1	1.5% Neutrase® 8 ชั่วโมง	0.96^{AB} (0.09)	80.1^{B} (0.5)	1.71^{C} (0.03)
	1.5% bromelain 8 ชั่วโมง	0.89^{A} (0.02)	79.7^{B} (0.9)	1.17^{B} (0.06)
	0.3% NaOH 1 ชั่วโมง	1.11^{B} (0.05)	61.8^{A} (3.1)	0.97^{A} (0.03)

ตัวเลขในวงเล็บแสดงค่า standard deviation

$^{a,b,A,B....}$ ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

3.1 ผลการวิเคราะห์สมบัติทางความร้อนของสตาร์ชข้าวที่ได้จากภาวะการสกัดโปรตีนที่ดีที่สุดด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียวเปรียบเทียบกับสตาร์ชข้าวที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยสารละลาย 0.3% NaOH

การวิเคราะห์สมบัติทางความร้อนของสตาร์ชด้วย DSC พบว่าสตาร์ชข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ Neutrase® และ bromelain มีค่าอุณหภูมิเริ่มต้น (onset temperature, T_o) อุณหภูมิที่ heat flow มีค่าสูงสุด (peak temperature, T_p) และอุณหภูมิสุดท้ายของการเกิดเจลาติไนเซชัน (conclusion temperature, T_c) สูงกว่า แต่มีช่วงอุณหภูมิการเกิดเจลาติไนเซชัน (T_c-T_o) แคบกว่าสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยสารละลาย 0.3% NaOH อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ในขณะที่ค่าเอนทาลปีของการเกิดเจลาติไนเซชัน (ΔH) ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ดังตารางที่ 4.10

ส่วนสตาร์ชข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ Neutrase® และ bromelain มีค่า T_o และ T_p สูงกว่า แต่มีช่วง T_c-T_o แคบกว่าสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยสารละลาย 0.3% NaOH อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เช่นเดียวกับแป้งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในขณะที่ค่า T_c และ ΔH ไม่แตกต่างกันมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ดังตารางที่ 4.11

ตารางที่ 4.10 สมบัติทางความร้อนของสตาร์ชข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว และสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยสารละลาย 0.3% NaOH

ภาวะการสกัดโปรตีน	Onset temp. (T_o,°C)	Peak temp. (T_p,°C)	Conclusion temp. (T_c,°C)	T_c-T_o (°C)	ΔH^{ns} (J/g(db))
1.5% Neutrase® 8 h	67.54 ^{b} (0.09)	71.95 ^{b} (0.07)	76.48 ^{b} (0)	8.94 ^{a} (0.08)	15.67 (0.21)
1.0% bromelain 6 h	67.55 ^{b} (0.06)	71.97 ^{b} (0)	76.74 ^{c} (0)	9.19 ^{b} (0.06)	15.61 (0.30)
0.3% NaOH 0.5 h	65.54 ^{a} (0.04)	71.04 ^{a} (0.09)	76.33 ^{a} (0)	10.80 ^{c} (0.04)	15.07 (0.11)

ตัวเลขในวงเล็บแสดงค่า standard deviation

$^{a,b,..}$ ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

^{ns} ตัวเลขในสดมภ์เดียวกันมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

ตารางที่ 4.11 สมบัติทางความร้อนของสตาร์ชข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว และสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยสารละลาย 0.3% NaOH

ภาวะการสกัดโปรตีน	Onset temp. (T_o,°C)	Peak temp. (T_p,°C)	Conclusion ^{ns} temp. (T_c,°C)	T_c-T_o (°C)	ΔH^{ns} (J/g(db))
1.5% Neutrase® 8 h	73.86 ^{b} (0.09)	77.97 ^{b} (0.09)	81.99 (0.11)	8.13 ^{a} (0.01)	16.85 (0.13)
1.5% bromelain 8 h	73.97 ^{b} (0)	78.13 ^{b} (0.12)	82.17 (0.03)	8.20 ^{a} (0.03)	17.15 (0.04)
0.3% NaOH 1 h	72.67 ^{a} (0.21)	77.55 ^{a} (0.01)	81.97 (0.01)	9.31 ^{b} (0.23)	17.23 (0.39)

ตัวเลขในวงเล็บแสดงค่า standard deviation

^{a,b} ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

^{ns} ตัวเลขในสดมภ์เดียวกันมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

จากผลการวิเคราะห์ดังกล่าว คาดคะเนว่าทั้งสตาร์ชข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และสตาร์ชข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 อาจเกิด annealing ในระหว่างการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ ซึ่งสตาร์ชจะเกิดการจัดเรียงตัวใหม่ของโครงสร้างผลึกภายในเม็ดแป้ง ส่งผลให้โครงสร้างผลึกมีความเป็นระเบียบและแข็งแรงมากขึ้น (Hoover and Vasanthan, 1994) มีงานวิจัยหลายชิ้นที่รายงานว่าสตาร์ชสามารถเกิด annealing ได้ในระหว่างกระบวนการผลิตแป้งและสตาร์ชที่ใช้วิธีการโม่เปียก (wet milling) เช่น สตาร์ชข้าวโพด (Perez, Haros, and Suarez, 2001; Perez et al., 2003) สตาร์ชมันฝรั่ง (Tester et al., 2005) สตาร์ชมันสำปะหลังที่ผ่านการหมัก (Gomes, Mendes da Silva and Ricardo, 2005) เป็นต้น ในการทดลองนี้แป้งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์ชัยนาท 1 ถูกแช่ในภาวะที่มีน้ำประมาณ 67% (อัตราส่วนแป้งต่อน้ำเท่ากับ 1:2) อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 6-8 ชั่วโมง จึงมีความเป็นไปได้ที่สตาร์ชจะเกิด annealing ระหว่างการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ ทำให้อุณหภูมิการเกิดเจลาติไนเซชันของสตาร์ชสูงขึ้น เนื่องจากเป็นกระบวนการที่โครงสร้างผลึกของเม็ดแป้งถูกทำลาย และมีช่วง T_c-T_o แคบลง ซึ่งแสดงว่าการจัดเรียงตัวของโครงสร้างผลึกมีความสมบูรณ์มากขึ้น (Hoover and Vasanthan, 1994)

3.2 ผลการวิเคราะห์สมบัติทางความร้อนของสตาร์ชข้าวที่ได้จากการสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์เปรียบเทียบกับสตาร์ชข้าวที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว

จากการวิเคราะห์สมบัติทางความร้อนของสตาร์ชข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และสตาร์ชข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์ เมื่อพิจารณาโดยรวม พบว่ามีสมบัติทางความร้อนใกล้เคียงกับสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว ดังแสดงในตารางที่ 4.12 และ 4.13 ซึ่งระหว่างการสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์อาจทำให้สตาร์ชเกิด annealing ได้เช่นเดียวกับการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.12 สมบัติทางความร้อนของสตาร์ชข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนในขั้นตอนเดียวและสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์

ภาวะการสกัดโปรตีน	Onset temp. (T_o,°C)	Peak temp. (T_p,°C)	Conclusion temp. (T_c,°C)	T_c-T_o (°C)	ΔH (J/g(db))
1.5% Neutrase® 8 h *	67.54 ^{a} (0.09)	71.95 ^{a} (0.07)	76.48 ^{a} (0)	8.94 ^{a} (0.08)	15.67 ^{a} (0.21)
1.5% Neutrase® 4/4 h **	67.96 ^{a} (0.09)	72.44 ^{b} (0.04)	77.09 ^{a} (0.17)	9.13 ^{a} (0.16)	16.66 ^{a} (0.40)
1.0% bromelain 6 h	67.55 ^{A} (0.06)	71.97 ^{A} (0)	76.74 ^{A} (0)	9.19 ^{A} (0.06)	15.61 ^{A} (0.30)
1.0% bromelain 3/3 h	67.69 ^{A} (0.03)	72.19 ^{A} (0.08)	76.93 ^{A} (0.03)	9.25 ^{A} (0.05)	16.61 ^{A} (0.08)

ตัวเลขในวงเล็บแสดงค่า standard deviation

^{a,b,A,B} ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

* หมายถึง สตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว

** หมายถึง สตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.13 สมบัติทางความร้อนของสตาร์ชข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนในขั้นตอนเดียวและสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์

ภาวะการสกัดโปรตีน	Onset temp. (T_o,°C)	Peak temp. (T_p,°C)	Conclusion temp. (T_c,°C)	T_c-T_o (°C)	ΔH (J/g(db))
1.5% Neutrase® 8 h *	73.86 [a] (0.09)	77.97 [a] (0.09)	81.99 [a] (0.11)	8.13 [a] (0.01)	16.85 [a] (0.13)
1.5% Neutrase® 4/4 h **	73.95 [a] (0.04)	78.02 [a] (0.04)	82.04 [a] (0.21)	8.09 [a] (0.17)	17.79 [a] (0.47)
1.5% bromelain 8 h	73.97 [A] (0)	78.13 [A] (0.12)	82.17 [A] (0.03)	8.20 [A] (0.03)	17.15 [A] (0.04)
1.5% bromelain 4/4 h	73.94 [A] (0.04)	78.12 [A] (0.11)	82.18 [A] (0.15)	8.24 [A] (0.11)	17.72 [A] (0.10)

ตัวเลขในวงเล็บแสดงค่า standard deviation

[a,b,A,B] ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

* หมายถึง สตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว

** หมายถึง สตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์

3.3 ผลการศึกษาการเกิด annealing ของสตาร์ชข้าวระหว่างการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์

การศึกษาการเกิด annealing ของสตาร์ชโดยการวิเคราะห์สมบัติทางความร้อนด้วย DSC มีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิการเกิดเจลาติไนเซชันที่เห็นได้ชัดเจน คือ การเพิ่มขึ้นของค่า T_o (Tester et al., 2005; Gomes, Mendes da Silva and Ricardo, 2005; Nakazawa and Wang, 2003; Tester, Debon and Sommerville, 2000) และช่วง T_c-T_o แคบลง (Tester, Debon and Sommerville, 2000; Tester et al., 2005; Nakazawa and Wang, 2003) ในขณะที่ค่า T_p, T_c และ ΔH มีการเปลี่ยนแปลงต่างกันในสตาร์ชแต่ละชนิด โดยอาจจะเพิ่มขึ้นหรือคงที่ จากการวิเคราะห์สมบัติทางความร้อนของแป้งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ได้จากการ annealing ที่ภาวะเดียวกันกับการสกัดโปรตีนออกจากแป้งข้าวด้วยเอนไซม์ (ภาวะการ annealing ไม่เติมเอนไซม์) เปรียบเทียบกับแป้งที่ใช้เป็นตัวอย่างควบคุม (แป้งมีขั้นตอนสกัดเช่นเดียวกันกับแป้งที่ annealing

ยกเว้นขั้นตอนการแช่แป้ง) พบว่าแป้งข้าวที่ได้จากภาวะการเกิด annealing มีค่า T_o เพิ่มขึ้น และช่วง T_c-T_o แคบลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ส่วนค่า T_p, T_c และ ΔH ไม่แตกต่างกันอย่างชัดเจน (ตารางที่ 4.14) ในขณะที่การ annealing ซ้ำ มีผลต่อสมบัติทางความร้อนของแป้งเพียงเล็กน้อยเท่านั้น

ตารางที่ 4.14 สมบัติทางความร้อนของแป้งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ได้จากภาวะต่างๆ ของการเกิด annealing และการ annealing ซ้ำ

ภาวะการ annealing	Onset temp. (T_o,°C)	Peak temp. (T_p,°C)	Conclusion temp. (T_c,°C)^{ns}	T_c-T_o (°C)	ΔH (J/g(db))
0% enzyme * 0 h (control)	65.65^{a} (0.02)	71.45^{a} (0)	76.72 (0.06)	11.08^{d} (0.04)	14.22^{a} (0.11)
0% enzyme ann 6 h **	67.45^{b} (0.16)	71.91^{ab} (0.23)	76.50 (0.34)	9.06^{bc} (0.18)	15.08^{b} (0.22)
0% enzyme ann 8 h	67.43^{b} (0.40)	71.86^{ab} (0.39)	76.54 (0.31)	9.12^{c} (0.09)	16.19^{c} (0.12)
0% enzyme ann 3/3 h ***	67.83^{bc} (0.05)	72.36^{b} (0.04)	76.65 (0.05)	8.82^{ab} (0)	14.80^{ab} (0.27)
0% enzyme ann 4/4 h	68.02^{c} (0.18)	72.40^{b} (0.24)	76.63 (0.29)	8.61^{a} (0.11)	15.27^{b} (0.33)

ตัวเลขในวงเล็บแสดงค่า standard deviation

$^{a,b,....}$ ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

^{ns} ตัวเลขในสดมภ์เดียวกันมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

* หมายถึง แป้งที่ผ่านขั้นตอนสกัดเช่นเดียวกับแป้งที่ annealing ยกเว้นขั้นตอนการแช่แป้ง

** หมายถึง annealing เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

*** หมายถึง annealing ซ้ำ โดยแต่ละช่วงใช้เวลา 3 ชั่วโมง

ผลการวิเคราะห์แสดงให้เห็นว่า ที่ภาวะเดียวกันกับภาวะการสกัดโปรตีนออกจากแป้งข้าวด้วยเอนไซม์ Neutrase® และ bromelain สตาร์ชข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 สามารถเกิด annealing ได้ เมื่อพิจารณาผลของเวลา พบว่าที่เวลา 6 และ 8 ชั่วโมง แป้งที่ได้มีค่า T_o, T_p

และ T_c ไม่แตกต่างกัน ทั้งนี้อาจเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของค่าดังกล่าวเกิดขึ้นมากในช่วงแรกและ/หรือช่วงเวลาเพียง 2 ชั่วโมง น้อยเกินไปที่จะเห็นความแตกต่าง

ส่วนการวิเคราะห์สมบัติทางความร้อนของแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากการ annealing ที่ภาวะเดียวกันกับการสกัดโปรตีนออกจากแป้งข้าวด้วยเอนไซม์ทั้ง Neutrase® และ bromelain เปรียบเทียบกับแป้งที่ใช้เป็นตัวอย่างควบคุม พบว่าแป้งที่ได้จากการ annealing มีค่า T_o สูงกว่า แต่ช่วง T_c-T_o ต่ำกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ส่วนค่า T_p, T_c และ ΔH ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) (ตารางที่ 4.15) แสดงให้เห็นว่าแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 สามารถเกิด annealing ได้ที่ภาวะเดียวกันกับภาวะการสกัดโปรตีนออกจากแป้งข้าวด้วยเอนไซม์เช่นเดียวกับแป้งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ส่วนการ annealing ซ้ำ มีผลต่อสมบัติทางความร้อนของแป้งเพียงเล็กน้อยเท่านั้น

ตารางที่ 4.15 สมบัติทางความร้อนของแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากภาวะต่างๆ ของการเกิด annealing และการ annealing ซ้ำ

ภาวะการ annealing	Onset temp. (T_o,°C)	Peak temp. (T_p,°C)	Conclusion temp. (T_c,°C) ^{ns}	T_c-T_o (°C)	ΔH (J/g(db)) ^{ns}
0% enzyme * 0 h (control)	76.38 ^{a} (0.18)	80.05 ^{a} (0.23)	84.33 (0.11)	7.95 ^{b} (0.08)	15.41 (0.76)
0% enzyme ann 8 h **	76.94 ^{b} (0.13)	80.36 ^{ab} (0.05)	84.35 (0.07)	7.41 ^{a} (0.06)	16.61 (0.61)
0% enzyme ann 4/4 h ***	77.15 ^{b} (0.18)	80.68 ^{b} (0.23)	84.64 (0.26)	7.49 ^{a} (0.08)	16.22 (0.38)

ตัวเลขในวงเล็บแสดงค่า standard deviation

^{a,b} ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

^{ns} ตัวเลขในสดมภ์เดียวกันมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

* หมายถึง แป้งที่ผ่านขั้นตอนสกัดเช่นเดียวกับแป้งที่ annealing ยกเว้นขั้นตอนการแช่แป้ง

** หมายถึง annealing เป็นเวลา 8 ชั่วโมง

*** หมายถึง annealing ซ้ำ โดยแต่ละช่วงใช้เวลา 4 ชั่วโมง

การวิเคราะห์สมบัติทางความร้อนของสตาร์ชข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และสตาร์ชข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากการ annealing สอดคล้องกับงานวิจัยของ Krueger และคณะ (1987) ที่ศึกษาผลของการเกิด annealing ต่อการเกิดเจลาติไนเซชันของสตาร์ชข้าวโพด เมื่อมีน้ำมากเกินพอ ที่อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 0-48 ชั่วโมง พบว่าสตาร์ชที่เกิด annealing มีค่า T_o และ T_p สูงขึ้นตามเวลาที่เพิ่มขึ้น โดยเพิ่มขึ้นมากที่สุดใน 2 ชั่วโมงแรก และงานวิจัยของ Gomes, Mendes da Silva และ Ricardo (2005) ที่ศึกษาผลของ annealing ต่อสมบัติทางเคมีกายภาพของสตาร์ชมันสำปะหลังที่ผ่านการหมัก (fermented cassava starch) ที่ภาวะอุณหภูมิ 50°C อัตราส่วนแป้งต่อน้ำเท่ากับ 1:5 เวลา 0-240 ชั่วโมง พบว่าสตาร์ชมีค่า T_o , T_p และ ΔH สูงขึ้นเมื่อเวลาการเกิด annealing เพิ่มขึ้น และงานวิจัยของ Kohyama และ Sasaki (2006) ที่ศึกษาการเกิด annealing ของสตาร์ชต่างชนิด ได้แก่ ข้าวสาลี ข้าวโพด และมันฝรั่ง ที่ภาวะอุณหภูมิ 20 และ 50 °C อัตราส่วนแป้งต่อน้ำเท่ากับ 1:10 เวลา 72 ชั่วโมง พบว่าที่อุณหภูมิ 50°C สตาร์ชทั้ง 3 ชนิด มีค่า T_o และ T_p สูงขึ้น แต่มีช่วง T_c-T_o แคบลง โดยสตาร์ชแต่ละชนิดจะมีระดับการเกิด annealing ต่างกัน (การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิการเกิดเจลาติไนเซชัน) ในขณะที่อุณหภูมิ 20°C สตาร์ชทั้ง 3 ชนิด มีอุณหภูมิการเกิดเจลาติไนเซชันใกล้เคียงกับสตาร์ชวัตถุดิบเริ่มต้น แสดงให้เห็นว่าที่อุณหภูมิ 50°C สตาร์ชทั้ง 3 ชนิด เกิด annealing ได้มากกว่าที่ 20°C

Lumdubwong และ Seib (2000) ได้ศึกษาการสกัดโปรตีนออกจากแป้งข้าวด้วยเอนไซม์ Optimase APL-440 เปรียบเทียบกับการสกัดโปรตีนด้วยสารละลายด่าง พบว่าภาวะการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ที่เหมาะสมที่สุด คือ ความเข้มข้นเอนไซม์ 1.1% ต่อน้ำหนักแป้ง อุณหภูมิ 55°C pH 10.0 เวลาสกัด 18 ชั่วโมง ได้สตาร์ชที่มีโปรตีน 0.52% ในขณะที่การสกัดโปรตีนด้วยสารละลาย 0.2% NaOH ที่อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ได้สตาร์ชที่มีโปรตีน 0.42% การวิเคราะห์สมบัติทางความร้อนของสตาร์ชจากทั้ง 2 ภาวะดังกล่าว พบว่าสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์มีค่า T_o, T_c, T_p และ ΔH สูงกว่า แต่มีช่วง T_c-T_o แคบกว่าสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยสารละลาย 0.2% NaOH อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ซึ่งได้อธิบายว่าเป็นผลมาจากสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์มีปริมาณไขมันสูงกว่าสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยสารละลายด่าง และเนื่องจากสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์มีค่า T_o และช่วง T_c-T_o ไม่แตกต่างกับแป้งที่ใช้เป็นวัตถุดิบ ผู้วิจัยจึงคาดคะเนว่าสตาร์ชที่ได้จากภาวะสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ไม่เกิด annealing อย่างไรก็ตามงานวิจัยนี้ไม่ได้อธิบายถึงผลของปริมาณโปรตีนในแป้งและสตาร์ชที่ต่างกัน (8.0 และ 0.52%)

3.4 ผลการวิเคราะห์สมบัติทางความหนืดของสตาร์ชข้าวที่ได้จากภาวะการสกัดโปรตีนที่ดีที่สุดด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียวเปรียบเทียบกับสตาร์ชข้าวที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยสารละลาย 0.3% NaOH

จากการวิเคราะห์สมบัติทางความหนืดของสตาร์ชด้วย RVA พบว่าสตาร์ชข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และสตาร์ชข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ Neutrase® และ bromelain มีค่า pasting temperature และ peak time สูงกว่า แต่มีค่า peak viscosity และ breakdown ต่ำกว่าสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยสารละลาย 0.3% NaOH อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.16 และ 4.17

ตารางที่ 4.16 สมบัติทางความหนืดของสตาร์ชข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว และสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยสารละลาย 0.3% NaOH

ภาวะการสกัดโปรตีน	Pasting temp. (°C)	Peak time (min.)	Peak viscosity (RVU)	Holding strength (RVU)	Break-down (RVU)	Final viscosity (RVU)	Setback (RVU)
1.5% Neu 8 h	75.65 ^{c} (0.07)	6.44 ^{b} (0.05)	389.17 ^{a} (15.79)	298.90 ^{a} (0.68)	90.17 ^{a} (14.97)	407.46 ^{b} (10.43)	108.46 ^{b} (9.61)
1.0% bro 6 h	74.83 ^{b} (0.11)	6.47 ^{b} (0)	468.33 ^{b} (6.36)	361.75 ^{b} (5.19)	106.59 ^{a} (11.55)	494.42 ^{c} (3.66)	132.67 ^{c} (1.53)
0.3% NaOH 0.5 h	72.38 ^{a} (0.04)	5.74 ^{a} (0.09)	520.21 ^{c} (8.31)	286.63 ^{a} (8.31)	233.58 ^{b} (0)	328.09 ^{a} (9.31)	41.46 ^{a} (1.00)

ตัวเลขในวงเล็บแสดงค่า standard deviation

$^{a,b,...}$ ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.17 สมบัติทางความหนืดของสตาร์ชข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว และสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยสารละลาย 0.3% NaOH

ภาวะการสกัดโปรตีน	Pasting temp. (°C)	Peak time (min.)	Peak viscosity (RVU)	Holding strength (RVU)	Break-down (RVU)	Final viscosity (RVU)	Setback (RVU)
1.5% Neu 8 h	80.78 ^{b} (0.67)	6.04 ^{b} (0.05)	333.29 ^{a} (4.19)	236.96 ^{b} (0.76)	96.34 ^{a} (3.42)	372.79 ^{a} (5.71)	135.83 ^{a} (4.95)
1.5% bro 8 h	81.20 ^{b} (1.06)	6.14 ^{b} (0.09)	363.96 ^{b} (3.36)	257.59 ^{c} (2.60)	106.38 ^{a} (5.95)	410.58 ^{b} (2.48)	153.00 ^{b} (5.07)
0.3% NaOH 1 h	78.85 ^{a} (0)	5.43 ^{a} (0.14)	384.75 ^{c} (4.13)	222.92 ^{a} (3.30)	161.84 ^{b} (0.83)	454.67 ^{c} (2.60)	231.75 ^{c} (0.71)

ตัวเลขในวงเล็บแสดงค่า standard deviation

$^{a,b,...}$ ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ผลการวิเคราะห์สมบัติทางความหนืดของสตาร์ชข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และสตาร์ชข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์แสดงให้เห็นถึงการเกิด annealing ของสตาร์ชเช่นเดียวกับผลการวิเคราะห์สมบัติทางความร้อน เนื่องจากสตาร์ชที่เกิด annealing จะมีโครงสร้างผลึกของเม็ดแป้งที่แข็งแรงขึ้นจึงส่งผลต่อสมบัติทางความหนืด โดยเม็ดแป้งจะพองตัวที่อุณหภูมิสูงขึ้นแต่พองตัวได้น้อยลง และทนทานต่อแรงเฉือนได้มากขึ้น ทำให้สตาร์ชมีค่า pasting temperature และ peak time สูงขึ้น แต่ค่า peak viscosity และ breakdown ต่ำลง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Gomes, Mendes da Silva และ Ricardo (2005) ที่ศึกษาผลของการเกิด annealing ต่อสมบัติทางเคมีกายภาพของสตาร์ชมันสำปะหลังที่ผ่านการหมัก (fermented cassava starch) ที่อุณหภูมิ 50°C อัตราส่วนแป้งต่อน้ำเท่ากับ 1:5 เวลา 0-240 ชั่วโมง และงานวิจัยของ Gomes และคณะ (2004) ที่ศึกษาผลของการเกิด annealing ต่อสมบัติทางเคมีกายภาพของสตาร์ชมันสำปะหลังที่ไม่ผ่านการหมัก (unfermented cassava starch) ที่อุณหภูมิ 50°C อัตราส่วนแป้งต่อน้ำเท่ากับ 1:5 เวลา 24-192 ชั่วโมง โดยงานวิจัยดังกล่าวข้างต้น พบว่าสตาร์ชมีค่า pasting temperature สูงขึ้นตามเวลาการเกิด annealing ที่เพิ่มขึ้น แต่มีค่า peak viscosity และ breakdown ลดลง

3.5 ผลการวิเคราะห์สมบัติทางความหนืดของสตาร์ชข้าวที่ได้จากการสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์เปรียบเทียบกับสตาร์ชข้าวที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว

จากการวิเคราะห์สมบัติทางความหนืดของสตาร์ชข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์ Neutrase® พบว่ามีค่า pasting temperature, peak time และ peak viscosity ต่ำกว่า แต่มีค่า breakdown สูงกว่าสตาร์ชข้าวที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียวอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ส่วนค่า setback ไม่แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 4.18 เนื่องจากสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนในขั้นตอนเดียวและสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์มีปริมาณโปรตีนและสมบัติทางความร้อนไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 4.7 และ 4.12) ดังนั้นสมบัติทางความหนืดของสตาร์ชที่แตกต่างกัน อาจเป็นผลมาจากสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนซ้ำมีปริมาณเม็ดแป้งที่เสียหายสูงกว่าสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนในขั้นตอนเดียว ซึ่งเม็ดแป้งที่เสียหายนี้แม้จะมีปริมาณเพียงเล็กน้อย แต่ส่งผลต่อสมบัติทางความหนืดของสตาร์ช โดยทำให้สตาร์ชมีค่า peak viscosity ลดลง (Wang and Wang, 2001; Sabularse et al., 1992) เนื่องจากเม็ดแป้งที่เสียหายสามารถดูดน้ำและละลายได้มากกว่าเม็ดแป้งที่สมบูรณ์ (Evers and Stevens, 1985)

ตารางที่ 4.18 สมบัติทางความหนืดของสตาร์ชข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนในขั้นตอนเดียวและสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์ Neutrase®

ภาวะการสกัดโปรตีน	Pasting temp. (°C)	Peak time (min.)	Peak viscosity (RVU)	Holding strength (RVU)	Break-down (RVU)	Final viscosity (RVU)	Setback (RVU)^{ns}
1.5% Neu 8 h *	75.65^{b} (0.07)	6.44^{b} (0.05)	389.17^{b} (15.79)	298.90^{b} (0.68)	90.17^{a} (14.97)	407.46^{b} (10.43)	108.46 (9.61)
1.5% Neu 4/4 h **	74.88^{a} (0.04)	5.07^{a} (0)	247.04^{a} (19.74)	69.04^{a} (21.51)	178.00^{b} (1.77)	115.21^{a} (23.39)	46.17 (1.88)

ตัวเลขในวงเล็บแสดงค่า standard deviation

^{a,b} ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

^{ns} ตัวเลขในสดมภ์เดียวกันมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

* หมายถึง สตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว

** หมายถึง สตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์

สำหรับการวิเคราะห์สมบัติทางความหนืดของสตาร์ชข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์ bromelain พบว่ามีค่า pasting temperature, peak viscosity และ setback ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) กับสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว แต่สตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนซ้ำมีค่า breakdown สูงกว่าสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนในขั้นตอนเดียวอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.19

ตารางที่ 4.19 สมบัติทางความหนืดของสตาร์ชข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนในขั้นตอนเดียวและสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์ bromelain

ภาวะการสกัดโปรตีน	Pasting temp. (°C)^{ns}	Peak time (min.)	Peak viscosity (RVU)^{ns}	Holding strength (RVU)	Break-down (RVU)	Final viscosity (RVU)	Setback (RVU)^{ns}
1.0% bro 6 h *	74.83 (0.11)	6.47^{b} (0)	468.33 (6.36)	361.75^{b} (5.19)	106.59^{a} (11.55)	494.42^{b} (3.66)	132.67 (1.53)
1.0% bro 3/3 h **	74.45 (0.54)	6.04^{a} (0.05)	467.92 (3.54)	282.67^{a} (8.01)	185.25^{b} (11.55)	414.50^{a} (7.07)	131.84 (0.94)

ตัวเลขในวงเล็บแสดงค่า standard deviation

^{a,b} ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

^{ns} ตัวเลขในสดมภ์เดียวกันมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

* หมายถึง สตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว

** หมายถึง สตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์

จากการวิเคราะห์สมบัติทางความหนืดของสตาร์ชข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์ Neutrase® พบว่ามีค่า peak viscosity peak time และ setback ต่ำกว่า แต่มีค่า breakdown สูงกว่าสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียวอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ส่วนค่า pasting temperature ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.20 เมื่อพิจารณาถึงปริมาณโปรตีนและเม็ดแป้งที่เสียหายในสตาร์ช รวมทั้งสมบัติทางความร้อน พบว่ามีค่าไม่แตกต่างกันระหว่างสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ Neutrase® ทั้ง 2 ภาวะ ดังนั้นในการทดลองนี้จึงยังไม่สามารถอธิบายสาเหตุที่ทำให้สตาร์ชข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์ Neutrase® มีสมบัติทางความหนืดแตกต่างกับสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว

ส่วนการวิเคราะห์สมบัติทางความหนืดของสตาร์ชข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์ bromelain พบว่ามีสมบัติทางความหนืดไม่แตกต่างกับสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนในขั้นตอนเดียว ดังแสดงในตารางที่ 4.21 ซึ่งสอดคล้องกับการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนและเม็ดแป้งที่เสียหายในสตาร์ช รวมทั้งสมบัติทางความร้อนซึ่งเป็นปัจจัยที่มีผลต่อสมบัติทางความหนืด โดยสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนทั้ง 2 ภาวะมีค่าไม่แตกต่างกัน

ตารางที่ 4.20 สมบัติทางความหนืดของสตาร์ชข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนในขั้นตอนเดียวและสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์ Neutrase®

ภาวะสกัด	Pasting temp. (°C)^{ns}	Peak time (min.)	Peak viscosity (RVU)	Holding strength (RVU)	Break-down (RVU)	Final viscosity (RVU)	Setback (RVU)
1.5% Neu 8 h *	80.78 (0.67)	6.04^{b} (0.05)	333.29^{b} (4.19)	236.96^{b} (0.76)	96.34^{a} (3.42)	372.79^{b} (5.71)	135.83^{b} (4.95)
1.5% Neu 4/4 h **	80.45 (0)	5.07^{a} (0)	298.13^{a} (0.89)	89.42^{a} (5.18)	208.71^{b} (6.07)	178.21^{a} (0.30)	88.80^{a} (4.89)

ตัวเลขในวงเล็บแสดงค่า standard deviation

^{a,b} ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

^{ns} ตัวเลขในสดมภ์เดียวกันมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

* หมายถึง สตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว

** หมายถึง สตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.21 สมบัติทางความหนืดของสตาร์ชข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนในขั้นตอนเดียวและสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์ bromelain

ภาวะสกัด	Pasting temp. (°C) [ns]	Peak time (min.) [ns]	Peak viscosity (RVU) [ns]	Holding strength (RVU) [ns]	Break-down (RVU) [ns]	Final viscosity (RVU) [ns]	Setback (RVU) [ns]
1.5% bro 8 h *	81.20 (1.06)	6.14 (0.09)	363.96 (3.36)	257.59 (2.60)	106.38 (5.95)	410.58 (2.48)	153.00 (5.07)
1.5% bro 4/4 h **	80.43 (0.04)	6.07 (0.09)	342.50 (0.59)	235.84 (2.24)	106.67 (1.65)	396.00 (2.01)	160.17 (0.23)

ตัวเลขในวงเล็บแสดงค่า standard deviation

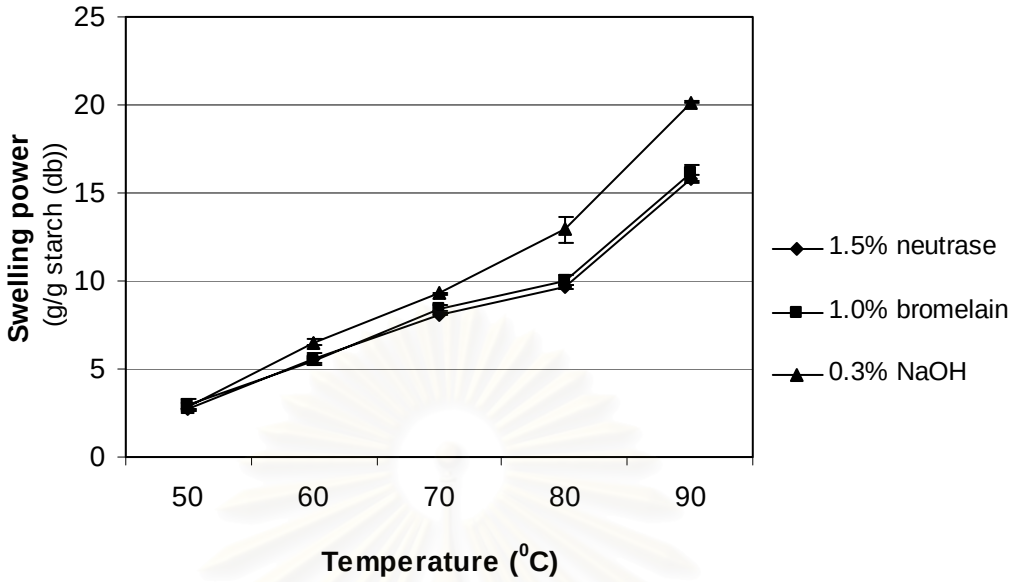
[ns] ตัวเลขในสดมภ์เดียวกันมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

* หมายถึง สตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว

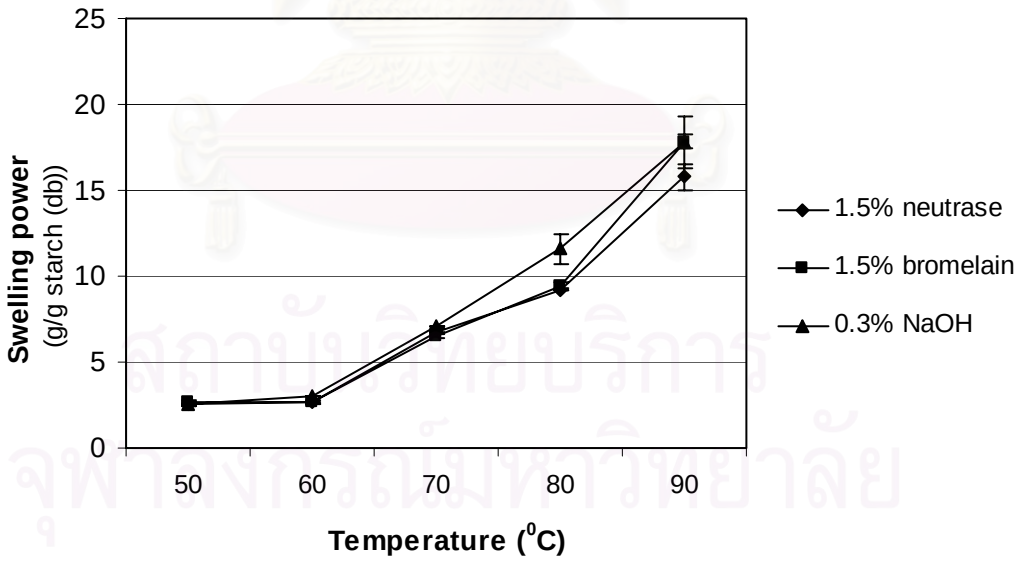
** หมายถึง สตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์

3.6 ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการพองตัวและการละลายของสตาร์ชข้าวที่ได้จากภาวะการสกัดโปรตีนที่ดีที่สุดด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียวเปรียบเทียบกับสตาร์ชข้าวที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยสารละลาย 0.3% NaOH

จากผลการทดลองในรูปที่ 4.1 และ 4.2 พบว่าสตาร์ชข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และสตาร์ชข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ Neutrase® และ bromelain มีค่ากำลังการพองตัวที่อุณหภูมิ $\geq 60°C$ ต่ำกว่าสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยสารละลาย 0.3% NaOH อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (ข้อมูลผลการทดลองเพิ่มเติมแสดงในภาคผนวก ค.1 และ ค.2) โดยผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับการเกิด annealing ของสตาร์ชระหว่างการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์เช่นเดียวกับผลการวิเคราะห์สมบัติทางความร้อน และสมบัติทางความหนืดของสตาร์ช เนื่องจากการเกิด annealing ทำให้โครงสร้างผลึกของเม็ดแป้งแข็งแรงขึ้น สตาร์ชจึงพองตัวได้น้อยลง สอดคล้องกับงานวิจัยของ Gomes, Mendes da Silva และ Ricardo (2005) ซึ่งพบว่าการเกิด annealing ของสตาร์ชมันสำปะหลังที่ผ่านการหมัก ทำให้กำลังการพองตัวของสตาร์ชที่อุณหภูมิ 55-95°C ต่ำลง โดยเมื่อเวลาการเกิด annealing เพิ่มขึ้น สตาร์ชจะพองตัวได้ต่ำลง และงานวิจัยของ Hoover และ Vasanthan (1994) ซึ่งพบว่าการเกิด annealing ของสตาร์ชข้าวสาลี สตาร์ชข้าวโอ๊ต สตาร์ชมันฝรั่ง และสตาร์ชถั่ว lentil ทำให้กำลังการพองตัวของสตาร์ชดังกล่าวข้างต้นลดลง

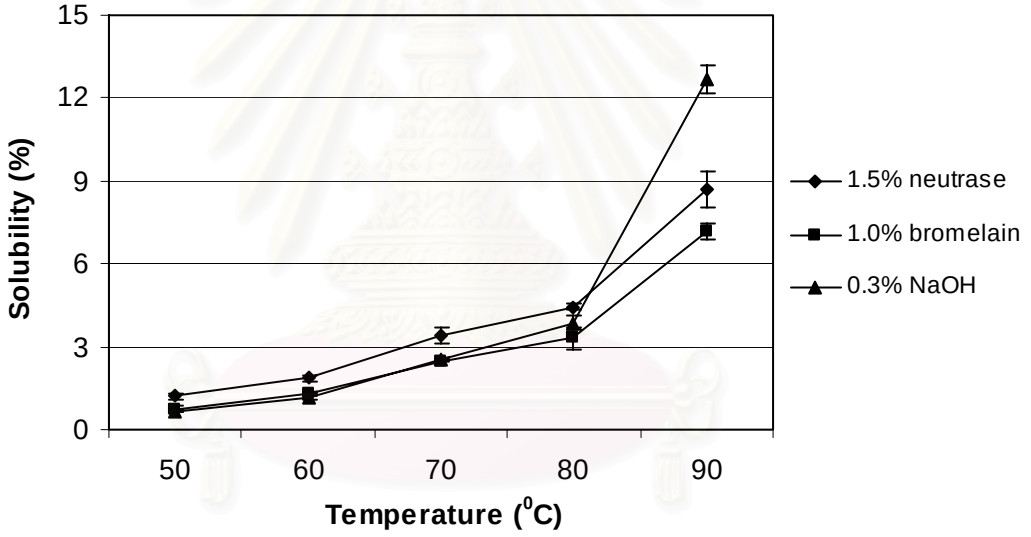


รูปที่ 4.1 กำลังการพองตัวของสตาร์ชข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว และสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยสารละลาย 0.3% NaOH



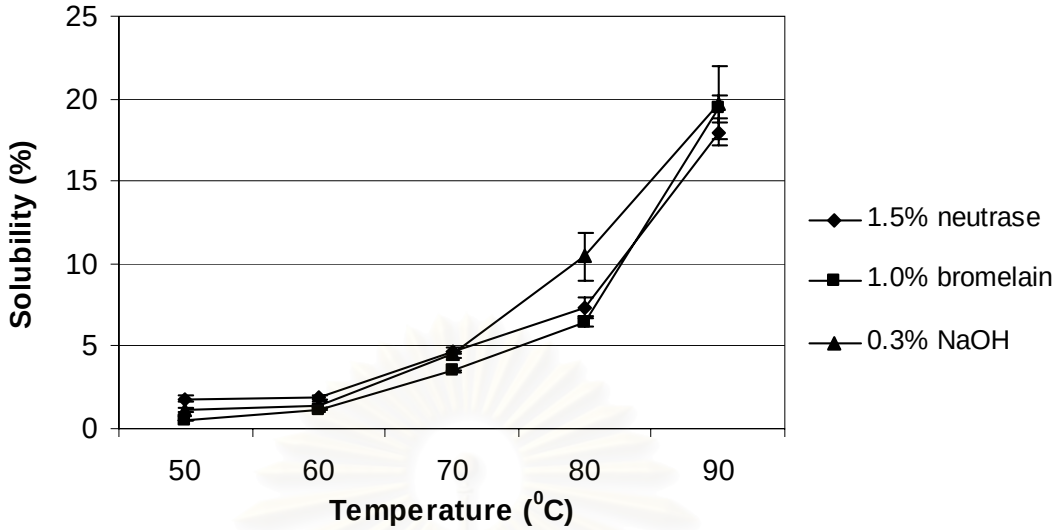
รูปที่ 4.2 กำลังการพองตัวของสตาร์ชข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว และสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยสารละลาย 0.3% NaOH

จากผลการวิเคราะห์การละลายของสตาร์ชข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และสตาร์ชข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์เปรียบเทียบกับสตาร์ชข้าวที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยสารละลาย 0.3% NaOH ดังรูปที่ 4.3 และ 4.4 (ข้อมูลผลการทดลองเพิ่มเติมแสดงในภาคผนวก ค.3 และ ค.4) พบว่าผลการทดลองที่ได้มีแนวโน้มไม่ชัดเจนเหมือนผลการวิเคราะห์กำลังการพองตัว กล่าวคือ สตาร์ชข้าวทั้ง 2 พันธุ์ ที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด มีการละลายใกล้เคียงหรือต่ำกว่าสตาร์ชข้าวที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยสารละลาย 0.3% NaOH อย่างไรก็ดี พบว่าสตาร์ชข้าวที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด มีการละลายต่ำกว่าสตาร์ชข้าวที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยสารละลาย 0.3% NaOH อย่างชัดเจนในบางอุณหภูมิ โดยสตาร์ชข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 เห็นได้ชัดเจนที่อุณหภูมิ 90°C ส่วนสตาร์ชข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 เห็นได้ชัดเจนที่อุณหภูมิ 80°C



รูปที่ 4.3 ร้อยละการละลายของสตาร์ชข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียวและสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยสารละลาย 0.3% NaOH

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.4 ร้อยละการละลายของสตาร์ชข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียวและสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยสารละลาย 0.3% NaOH

3.7 ผลการวิเคราะห์ค่าสีของสตาร์ชข้าวที่ได้จากภาวะการสกัดโปรตีนที่ดีที่สุดด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียวเปรียบเทียบกับสตาร์ชข้าวที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยสารละลาย 0.3% NaOH

จากผลการวิเคราะห์ค่าสีในระบบ Hunter (L*, a, b) ด้วยเครื่อง Chromameter ของสตาร์ชข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 พบว่าสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด มีค่าความสว่าง (L*) ไม่แตกต่างกันอย่างชัดเจนกับสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยสารละลาย 0.3% NaOH แต่มีค่าสีเขียว (ค่า a มีค่าลบ) สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ส่วนค่าสีเหลือง (ค่า b มีค่าบวก) พบว่าสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ bromelain มีค่าสีเหลืองสูงกว่าสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ Neutrase® และสารละลาย 0.3% NaOH อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.22 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ bromelain มีโปรตีนคงเหลือสูงกว่าสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ Neutrase® และสารละลาย 0.3% NaOH (ตารางที่ 4.9)

เมื่อพิจารณาสตาร์ชข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 พบว่าสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด มีค่าความสว่าง (L*) ต่ำกว่าสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยสารละลาย 0.3% NaOH อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ส่วนค่าสีเขียวและค่าสีเหลืองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.23

ตารางที่ 4.22 ค่าสีในระบบ Hunter (L*, a, b) ของสตาร์ชข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105

ภาวะการสกัดโปรตีน	ค่าความสว่าง (L*)	ค่าสีแดง-เขียว (a)	ค่าสีเหลือง-น้ำเงิน (b)
1.5% Neutrase® 8 ชั่วโมง	99.86 [b] (0.05)	-0.46 [b] (0)	0.45 [a] (0.04)
1.0% bromelain 6 ชั่วโมง	99.66 [ab] (0.08)	-0.51 [b] (0.06)	0.90 [b] (0.07)
0.3% NaOH 0.5 ชั่วโมง	99.40 [a] (0.21)	-0.20 [a] (0.05)	0.54 [a] (0.11)

ตัวเลขในวงเล็บแสดงค่า standard deviation

[a,b] ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.23 ค่าสีในระบบ Hunter (L*, a, b) ของสตาร์ชข้าวพันธุ์ชัยนาท 1

ภาวะการสกัดโปรตีน	ค่าความสว่าง (L*)	ค่าสีแดง-เขียว (a) [ns]	ค่าสีเหลือง-น้ำเงิน (b) [ns]
1.5% Neutrase® 8 ชั่วโมง	99.78 [a] (0.01)	-0.41 (0.01)	0.51 (0.05)
1.5% bromelain 8 ชั่วโมง	99.77 [a] (0.01)	-0.48 (0.07)	0.41 (0.02)
0.3% NaOH 1 ชั่วโมง	100.00 [b] (0)	-0.51 (0.06)	0.52 (0.08)

ตัวเลขในวงเล็บแสดงค่า standard deviation

[a,b] ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

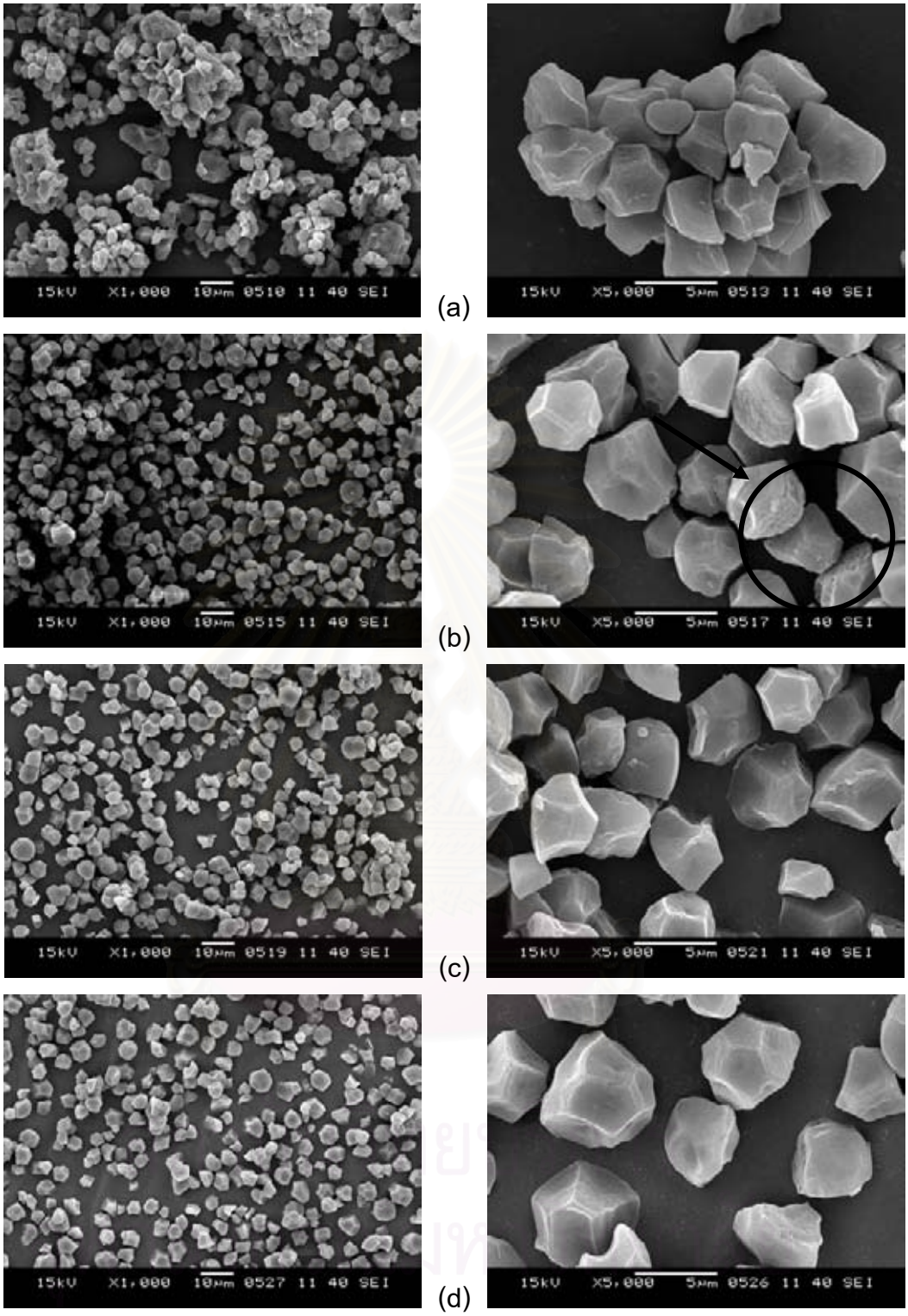
[ns] ตัวเลขในสดมภ์เดียวกันมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

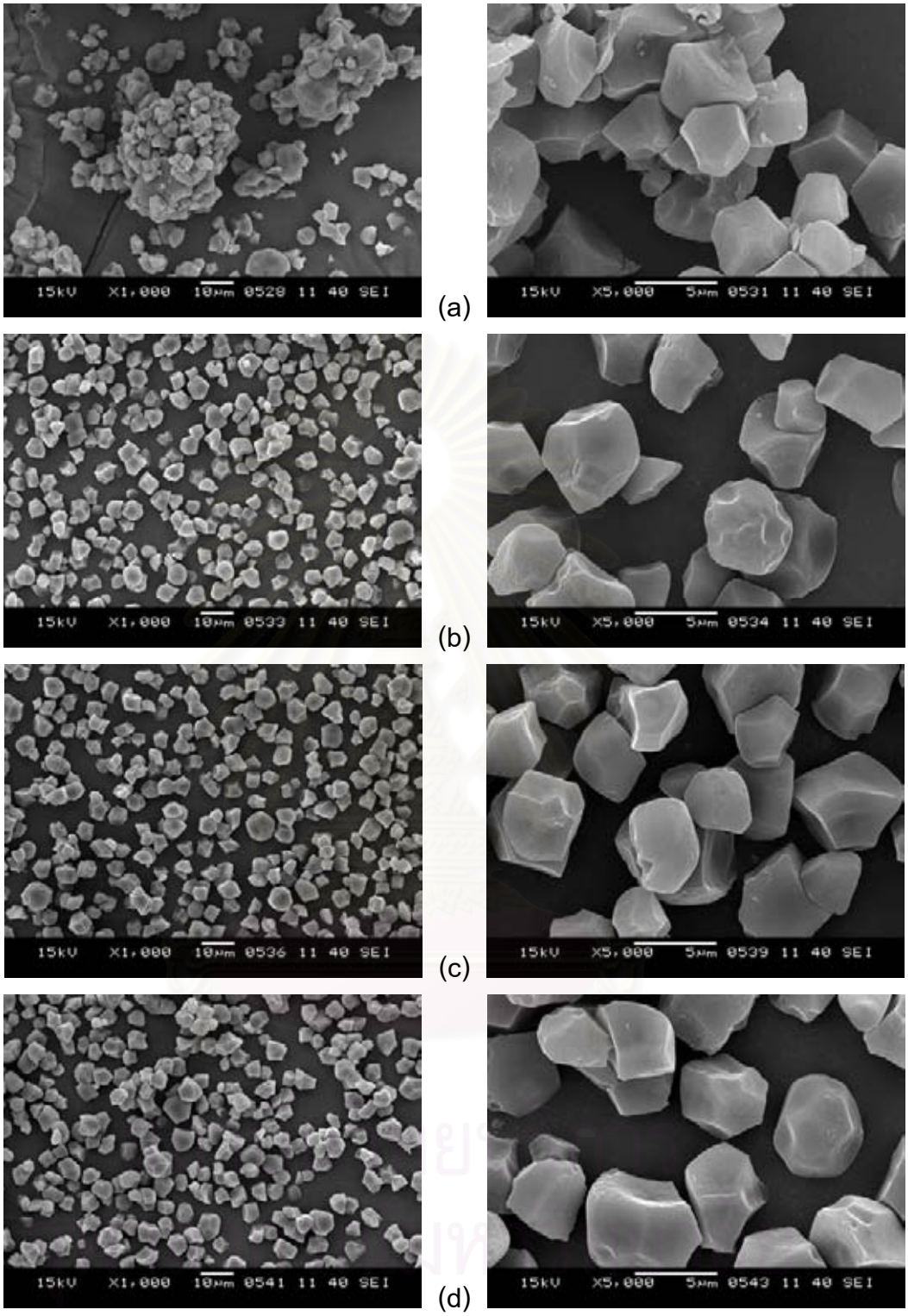
3.8 ผลการตรวจสอบลักษณะการกระจายตัวและพื้นผิวของเม็ดแป้งในแป้งข้าวและสตาร์ชข้าวที่ได้จากภาวะการสกัดโปรตีนที่ดีที่สุดด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียวและสตาร์ชข้าวที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยสารละลาย 0.3% NaOH

จากการตรวจสอบการกระจายตัวและพื้นผิวของเม็ดแป้งด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็คตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscopy, SEM) ในแป้งข้าวและสตาร์ชข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์ชัยนาท 1 เมื่อพิจารณาลักษณะการกระจายตัวของเม็ดแป้งที่กำลังขยาย 1000 เท่า พบว่าเม็ดแป้งส่วนใหญ่ในแป้งข้าวจะอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม ในขณะที่เม็ดแป้งส่วนใหญ่ในสตาร์ชข้าวทั้งที่สกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์และสารละลาย 0.3% NaOH จะกระจายตัวเป็นอนุภาคเดี่ยวๆ ดังรูปที่ 4.5 และ 4.6 ทั้งนี้เนื่องมาจากโปรตีนซึ่งเป็นตัวยึดเม็ดแป้งให้อยู่รวมกันถูกสกัดออกไป เมื่อพิจารณารูปร่างและพื้นผิวของเม็ดแป้งที่กำลังขยาย 5,000 เท่า พบว่าสตาร์ชที่สกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์และสารละลาย 0.3% NaOH โดยรวมแล้วให้เม็ดแป้งที่มีรูปร่างและความสมบูรณ์ของพื้นผิวไม่แตกต่างกัน ซึ่งเม็ดแป้งส่วนใหญ่ยังคงมีรูปร่างที่สมบูรณ์ อย่างไรก็ดีสตาร์ชที่สกัดได้มีเม็ดแป้งที่เสียหายรวมอยู่ด้วย จากรูปที่ 4.5b (ลูกศรชี้) จะเห็นได้ว่ามีเม็ดแป้งที่มีพื้นผิวเสียหายซึ่งมีลักษณะขรุขระปะปนอยู่กับเม็ดแป้งที่มีพื้นผิวเรียบสมบูรณ์

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.5 SEM แสดงการกระจายตัวและพื้นผิวเม็ดแป้งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (a) แป้งข้าว
(b) สตาร์ชที่สกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ Neutrase®
(c) สตาร์ชที่สกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ bromelain
(d) สตาร์ชที่สกัดโปรตีนด้วยสารละลาย 0.3% NaOH



รูปที่ 4.6 SEM แสดงการกระจายตัวและพื้นผิวเม็ดแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 (a) แป้งข้าว
(b) สตาร์ชที่สกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ Neutrase®
(c) สตาร์ชที่สกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ bromelain
(d) สตาร์ชที่สกัดโปรตีนด้วยสารละลาย 0.3% NaOH

4. ผลการศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่และคุณค่าทางโภชนาการของโปรตีนข้าวที่ได้จากการสกัดด้วยเอนไซม์เปรียบเทียบกับโปรตีนข้าวที่ได้จากการสกัดด้วยสารละลาย 0.3% NaOH

จากการคำนวณผลผลิตโปรตีนสกัด (protein isolate) ในรูปปริมาณโปรตีนสกัดที่ได้ต่อแป้งข้าว 100 กรัม (db) พบว่าปริมาณผลผลิตโปรตีนสกัดจากแป้งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากการสกัดด้วยเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) กับผลผลิตโปรตีนสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยสารละลาย 0.3% NaOH เมื่อพิจารณาปริมาณโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบในโปรตีนสกัด พบว่าโปรตีนสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยสารละลาย 0.3% NaOH มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบสูงกว่าโปรตีนสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.24 และ 4.25 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากวิธีการแยกโปรตีนสกัดที่แตกต่างกัน กล่าวคือ การสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ใช้วิธีการปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกตะกอนโปรตีนที่สกัดได้ออกจากสตาร์ชแล้วขูดชั้นโปรตีนออกด้วยช้อน จึงทำให้มีสตาร์ชปะปนมากับโปรตีนที่สกัดได้ ซึ่งสตาร์ชเป็นสิ่งเจือปนที่พบมากที่สุดในโปรตีนสกัดจากข้าว (Shih and Daigle, 2000) ในขณะที่การสกัดโปรตีนด้วยสารละลาย 0.3% NaOH โปรตีนจะละลายอยู่ในส่วนของสารละลายจึงสามารถเหวี่ยงแยกออกจากสตาร์ชได้ดีกว่า

ตารางที่ 4.24 ผลผลิตโปรตีนสกัดที่ได้จากแป้งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105

ภาวะการสกัดโปรตีน	ผลผลิตโปรตีนสกัด g/100 g แป้งข้าว (db) ^{ns}	% โปรตีนที่เป็นองค์ประกอบ (db)
1.5% Neutrase® 8 ชั่วโมง	3.59 (0.13)	72.56 ^{b} (0.70)
1.0% bromelain 6 ชั่วโมง	3.74 (0.23)	66.20 ^{a} (0.31)
0.3% NaOH 0.5 ชั่วโมง	3.89 (0.31)	97.19 ^{c} (0.70)

ตัวเลขในวงเล็บแสดงค่า standard deviation

$^{a,b,...}$ ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

^{ns} ตัวเลขในสดมภ์เดียวกันมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

ตารางที่ 4.25 ผลผลิตโปรตีนสกัดที่ได้จากแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1

ภาวะการสกัดโปรตีน	ผลผลิตโปรตีนสกัด g/100 g แป้งข้าว (db) [ns]	% โปรตีนที่เป็นองค์ประกอบ (db)
1.5% Neutrase® 8 ชั่วโมง	4.18 (0.25)	82.63 [b] (1.84)
1.5% bromelain 8 ชั่วโมง	4.36 (0.16)	77.36 [a] (1.00)
0.3% NaOH 1 ชั่วโมง	4.09 (0.34)	99.30 [c] (0.99)

ตัวเลขในวงเล็บแสดงค่า standard deviation

[a,b,...] ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

[ns] ตัวเลขในสดมภ์เดียวกันมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

4.1 ผลการศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนข้าว

สมบัติการละลายของโปรตีน

จากการวิเคราะห์การละลายของโปรตีนที่สกัดได้จากแป้งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 พบว่าโปรตีนที่ได้จากการสกัดด้วยเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด มีความสามารถในการละลายสูงกว่าโปรตีนที่ได้จากการสกัดด้วยสารละลาย 0.3% NaOH อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.26 และ 4.27 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ทำให้โมเลกุลของโปรตีนถูกย่อยได้เป็นเปปไทด์และกรดอะมิโน ทำให้ส่วน amino acid residue ที่มีสมบัติชอบน้ำถูกเปิดออกมากขึ้นและมีจำนวนหมู่อะมิโนและหมู่คาร์บอกซิลอิสระมากขึ้น (Nielsen, 1997) โปรตีนที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์จึงละลายน้ำได้มากขึ้น (Kim, Park and Rhee, 1990; Nielsen, 1997; Hamada, 2000) อนึ่งในการทดลองนี้มีการให้ความร้อนแก่โปรตีนที่สกัดด้วยเอนไซม์เพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (Neutrase® ที่ 85°C 2 นาที และ bromelain ที่ 90°C 10 นาที) ซึ่งความร้อนอาจทำให้โปรตีนบางส่วนเสียสภาพธรรมชาติมีผลให้การละลายน้ำของโปรตีนลดลง (Zayas, 1997) แต่เมื่อพิจารณาผลการทดลองที่ได้ พบว่าโปรตีนที่สกัดด้วยเอนไซม์ยังคงรักษาความสามารถในการละลายไว้ได้หลังผ่านการให้ความร้อน

เมื่อพิจารณาชนิดของเอนไซม์ พบว่าโปรตีนจากแป้งข้าวทั้ง 2 พันธุ์ ที่สกัดด้วยเอนไซม์ bromelain มีความสามารถในการละลายสูงกว่าโปรตีนที่สกัดด้วยเอนไซม์ Neutrase® ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากโปรตีนที่ย่อยได้มีโครงรูปต่างกัน (Hamada, 2000) โดยชนิดของเอนไซม์และภาวะในการย่อยเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อความสามารถในการละลายของโปรตีนที่ย่อยได้ (Scilingo et al., 2002; Nielsen, 1997)

ตารางที่ 4.26 ร้อยละการละลายของโปรตีนที่สกัดได้จากแป้งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105

ภาวะการสกัดโปรตีน	ร้อยละการละลาย
1.5% Neutrase® 8 ชั่วโมง	2.66 [b] (0.11)
1.0% bromelain 6 ชั่วโมง	4.24 [c] (0.10)
0.3% NaOH 0.5 ชั่วโมง	1.32 [a] (0.05)

ตัวเลขในวงเล็บแสดงค่า standard deviation

[a,b,...] ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.27 ร้อยละการละลายของโปรตีนที่สกัดได้จากแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1

ภาวะการสกัดโปรตีน	ร้อยละการละลาย
1.5% Neutrase® 8 ชั่วโมง	1.73 [b] (0.08)
1.5% bromelain 8 ชั่วโมง	3.20 [c] (0.11)
0.3% NaOH 1 ชั่วโมง	1.36 [a] (0.06)

ตัวเลขในวงเล็บแสดงค่า standard deviation

[a,b,...] ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

สมบัติการจับกับน้ำและน้ำมันของโปรตีน

จากการวิเคราะห์ความสามารถในการจับกับน้ำของโปรตีนสกัดที่ได้จากแป้งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 พบว่าโปรตีนสกัดที่สกัดด้วยเอนไซม์ bromelain มีความสามารถในการจับกับน้ำสูงกว่าโปรตีนสกัดที่สกัดด้วยเอนไซม์ Neutrase® แต่โปรตีนสกัดที่สกัดด้วยเอนไซม์แต่ละชนิดมีความสามารถในการจับกับน้ำไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) กับโปรตีนสกัดที่สกัดด้วยสารละลาย 0.3% NaOH (ตารางที่ 4.28) เมื่อพิจารณาโปรตีนสกัดที่ได้จากแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 พบว่าโปรตีนสกัดที่สกัดด้วยเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด มีความสามารถในการจับกับน้ำไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แต่โปรตีนสกัดที่สกัดด้วยเอนไซม์ Neutrase® มีค่าดังกล่าวต่ำกว่าโปรตีนสกัดที่สกัดด้วยสารละลาย 0.3% NaOH อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ดังตารางที่ 4.29 ทั้งนี้ความสามารถในการจับกับน้ำของโปรตีนขึ้นกับปัจจัยหลายประการ เช่น ชนิดของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบ (Damodaran,1997a) และภาวะในการสกัดที่ต่างกันอาจทำให้โปรตีนที่สกัดได้มีสมบัติต่างกัน เช่น ขนาด รูปร่าง และลักษณะพื้นผิว เช่น ความมีขั้วและจำนวนประจุบนพื้นผิวของโมเลกุลโปรตีน ซึ่งจะส่งผลต่อความสามารถในการจับกับน้ำของโปรตีน

(Zayas, 1997) โดยโปรตีนส่วนที่มีขั้วจะสามารถจับกับโมเลกุลของน้ำได้ นอกจากนี้การสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ทำให้โมเลกุลโปรตีนถูกย่อยซึ่งอาจทำให้ส่วนที่มีขั้วเปิดออกมากขึ้น จึงส่งผลให้สามารถจับกับน้ำได้มากขึ้น ซึ่งจากผลการวิเคราะห์ความสามารถในการละลายน้ำของโปรตีนจะเห็นได้ว่าโปรตีนที่สกัดด้วยเอนไซม์มีความสามารถในการละลายน้ำสูงกว่าโปรตีนที่สกัดด้วยสารละลาย 0.3% NaOH

การวิเคราะห์ความสามารถในการจับกับน้ำมันของโปรตีนสกัดที่ได้จากแป้งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 พบว่าโปรตีนสกัดที่สกัดด้วยเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดมีความสามารถในการจับกับน้ำมันไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แต่โปรตีนสกัดที่สกัดด้วยเอนไซม์ bromelain มีความสามารถในการจับกับน้ำมันสูงกว่าโปรตีนสกัดที่สกัดด้วยสารละลาย 0.3% NaOH อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ดังตารางที่ 4.28 เมื่อพิจารณาโปรตีนสกัดจากแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 พบว่าโปรตีนสกัดที่สกัดด้วยเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดมีความสามารถในการจับกับน้ำมันต่ำกว่าโปรตีนสกัดที่สกัดด้วยสารละลาย 0.3% NaOH อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ 4.29) ซึ่งอาจเนื่องมาจากโปรตีนสกัดที่สกัดด้วยสารละลาย 0.3% NaOH ยังคงมีส่วนที่มีสมบัติไม่ชอบน้ำมากกว่าโปรตีนสกัดที่สกัดด้วยเอนไซม์ โดยโปรตีนที่มีสมบัติไม่ชอบน้ำจะมีความสามารถในการจับกับน้ำมันได้มากกว่าโปรตีนที่มีสมบัติชอบน้ำ (Zayas, 1997) อย่างไรก็ดีโปรตีนสกัดจากแป้งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่สกัดด้วยสารละลาย 0.3% NaOH ไม่ได้มีความสามารถในการจับกับน้ำมันสูงกว่าโปรตีนสกัดที่สกัดด้วยเอนไซม์ ทั้งนี้อาจมีผลของปัจจัยอื่นร่วมด้วย โดยโปรตีนสกัดที่สกัดด้วยเอนไซม์มีการให้ความร้อนเพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ อาจทำให้ส่วนที่มีสมบัติไม่ชอบน้ำในโมเลกุลโปรตีนหันออกด้านนอกได้เพิ่มขึ้น ซึ่งโปรตีนส่วนนี้จะสามารถจับกับน้ำมันได้ (Smith, Fantozzi, and Creveling, 1983)

ตารางที่ 4.28 ความสามารถในการจับกับน้ำและน้ำมันของโปรตีนสกัดจากแป้งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105

ภาวะการสกัดโปรตีน	ความสามารถในการจับน้ำ (g น้ำ / g โปรตีนสกัด)	ความสามารถในการจับน้ำมัน (g น้ำมัน / g โปรตีนสกัด)
1.5% Neutrase® 8 ชั่วโมง	2.32 [a] (0.01)	2.37 [ab] (0.17)
1.0% bromelain 6 ชั่วโมง	3.01 [b] (0.09)	2.71 [b] (0.07)
0.3% NaOH 0.5 ชั่วโมง	2.53 [ab] (0.33)	2.16 [a] (0.21)

ตัวเลขในวงเล็บแสดงค่า standard deviation

[a,b] ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.29 ความสามารถในการจับกับน้ำและน้ำมันของโปรตีนสกัดจากแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1

ภาวะการสกัดโปรตีน	ความสามารถในการจับน้ำ (g น้ำ / g โปรตีนสกัด)	ความสามารถในการจับน้ำมัน (g น้ำมัน / g โปรตีนสกัด)
1.5% Neutrase® 8 ชั่วโมง	2.28 [a] (0.05)	2.42 [b] (0.05)
1.5% bromelain 8 ชั่วโมง	2.43 [ab] (0.02)	2.18 [a] (0.06)
0.3% NaOH 1 ชั่วโมง	2.85 [b] (0.27)	2.89 [c] (0.10)

ตัวเลขในวงเล็บแสดงค่า standard deviation

[a,b,...] ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

สมบัติการเกิดโฟมของโปรตีน

จากการวิเคราะห์ความสามารถในการเกิดโฟมของโปรตีนสกัดที่ได้จากแป้งข้าวทั้ง 2 พันธุ์ พบว่าโปรตีนสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด มีค่า foaming capacity สูงกว่าโปรตีนสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยสารละลาย 0.3% NaOH อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.30 และ 4.31 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากโปรตีนที่สกัดด้วยเอนไซม์มีความสามารถในการละลายสูงกว่าโปรตีนที่สกัดด้วยสารละลาย 0.3% NaOH (ตารางที่ 4.26 และ 4.27) โดยการละลายของโปรตีนเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อสมบัติการเกิดโฟมของโปรตีน (Klompong et al., 2007) โปรตีนที่มีความสามารถในการละลายเพิ่มขึ้นจะมีค่า foaming capacity สูงขึ้นด้วย เนื่องจากสามารถสร้างพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างน้ำกับอากาศได้มากขึ้น (Ortiz and Wanger, 2002)

ตารางที่ 4.30 สมบัติการเกิดโฟมของโปรตีนสกัดที่ได้จากแป้งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105

ภาวะการสกัดโปรตีน	Foaming capacity (%)	Foaming stability (min.)
1.5% Neutrase® 8 ชั่วโมง	42 [b] (3)	59 [a] (8)
1.0% bromelain 6 ชั่วโมง	50 [b] (8)	46 [a] (1)
0.3% NaOH 0.5 ชั่วโมง	18 [a] (3)	255 [b] (21)

ตัวเลขในวงเล็บแสดงค่า standard deviation

[a,b] ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.31 สมบัติการเกิดโฟมของโปรตีนสกัดจากแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1

ภาวะการสกัดโปรตีน	Foaming capacity (%)	Foaming stability (min.)
1.5% Neutrase® 8 ชั่วโมง	50 [c] (3)	32 [a] (2)
1.5% bromelain 8 ชั่วโมง	32 [b] (6)	34 [a] (2)
0.3% NaOH 1 ชั่วโมง	14 [a] (3)	100 [b] (28)

ตัวเลขในวงเล็บแสดงค่า standard deviation

[a,b,...] ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

เมื่อพิจารณาค่า foaming stability พบว่าโปรตีนสกัดจากแป้งข้าวทั้ง 2 พันธุ์ที่ได้จากการสกัดด้วยเอนไซม์มีค่า foaming stability ต่ำกว่าโปรตีนสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยสารละลาย 0.3% NaOH อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) อาจเนื่องมาจากการสกัดด้วยสารละลาย 0.3% NaOH อาศัยการละลายของโปรตีนในสารละลายด่าง โมเลกุลของโปรตีนจึงยังมีโครงสร้างระดับตติยภูมิสูง ส่งผลให้โมเลกุลมีความยืดหยุ่น จึงสร้างฟิล์มที่หนาและแข็งแรงสามารถรักษาโครงสร้างผิวสัมผัสระหว่างน้ำกับอากาศได้ดี ทำให้มีค่า foaming stability สูง (Damodaran, 1994; Zayas, 1997) โดยทั่วไปแล้วโปรตีนที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์จะมีค่า foaming stability ลดลง (Belitz, Grosch and Schieberle, 2004; Martinez et al., 2007) นอกจากนี้โปรตีนสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยเอนไซม์อาจมีเปปไทด์สายสั้น และกรดอะมิโนอิสระรวมอยู่ด้วย ซึ่งจะส่งผลให้โปรตีนมีค่า foaming stability ลดลง (Nielsen, 1997)

สมบัติการเกิดอิมัลชันของโปรตีน

จากการวิเคราะห์ความสามารถในการเกิดอิมัลชันของโปรตีนสกัดที่ได้จากแป้งข้าวทั้ง 2 พันธุ์ พบว่าโปรตีนสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด มีค่า emulsion activity สูงกว่าโปรตีนสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยสารละลาย 0.3% NaOH อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ยกเว้นโปรตีนสกัดจากแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากการสกัดด้วยเอนไซม์ bromelain ดังแสดงในตารางที่ 4.32 และ 4.33 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากโปรตีนที่สกัดด้วยเอนไซม์มีความสามารถในการละลายสูงกว่าโปรตีนที่สกัดด้วยสารละลาย 0.3% NaOH ซึ่งโปรตีนที่ละลายได้นี้จะสามารถแพร่เข้าไปยังผิวสัมผัสระหว่างน้ำและน้ำมัน และถูกดูดซับได้อย่างรวดเร็วบนพื้นผิวดังกล่าว จึงทำให้เกิดอิมัลชันได้ดี (Guan et al., 2007) นอกจากนี้โปรตีนที่สกัดด้วยเอนไซม์ในการทดลองนี้อาจเกิดการเสียสภาพธรรมชาติบางส่วนจากการให้ความร้อน (ขั้นตอนการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์) และอาจเกิดการทำลายพันธะไดซัลไฟด์บางส่วนในโมเลกุลของโปรตีนทำให้ส่วนที่มี

สมบัติไม่ชอบน้ำในโมเลกุลโปรตีนหันออกด้านนอกได้เพิ่มขึ้น จึงสามารถเกิดแรงดึงดูดแบบไฮโดรโฟบิคระหว่างโมเลกุลที่บริเวณผิวสัมผัสได้มากขึ้น (Zayas, 1997; Uruakpa and Arntfield, 2005) จากเหตุผลดังที่กล่าวข้างต้น จึงทำให้โปรตีนสกัดที่สกัดด้วยเอนไซม์มีค่า emulsion activity สูงกว่าโปรตีนสกัดที่สกัดด้วยสารละลาย 0.3% NaOH จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าโปรตีนสกัดจากแป้งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ได้จากการสกัดด้วยเอนไซม์ bromelain มีค่า emulsion activity สูงกว่าโปรตีนสกัดที่สกัดด้วยเอนไซม์ Neutrase® และสารละลาย 0.3% NaOH อย่างชัดเจน สอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ความสามารถในการละลายน้ำและความสามารถในการจับกับน้ำและน้ำมันของโปรตีนดังกล่าวซึ่งมีค่าสูงที่สุด โดยความสามารถเหล่านี้เป็นปัจจัยที่ส่งเสริมให้โปรตีนสกัดมีค่า emulsion activity เพิ่มขึ้น

เมื่อพิจารณาค่า emulsion stability พบว่าโปรตีนสกัดจากแป้งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ได้จากการสกัดด้วยเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด และสารละลาย 0.3% NaOH มีค่า emulsion stability ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ในขณะที่โปรตีนสกัดจากแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากการสกัดด้วยเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด มีค่า emulsion stability ต่ำกว่าโปรตีนสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยสารละลาย 0.3% NaOH อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ซึ่งการที่โปรตีนสกัดจากแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากการสกัดด้วยเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด มีค่า emulsion stability ต่ำกว่าโปรตีนสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยสารละลาย 0.3% NaOH อาจเนื่องมาจากโปรตีนที่สกัดด้วยเอนไซม์ถูกย่อยได้เป็นเปปไทด์ที่มีขนาดโมเลกุลเล็ก ทำให้ความสามารถในการลดแรงตึงผิวลดลง กล่าวคือ เปปไทด์ที่มีโมเลกุลเล็กไม่สามารถคลายตัวและจัดเรียงตัวใหม่ที่บริเวณพื้นผิวของหยดน้ำมันได้ดีดังเช่นเปปไทด์ที่มีโมเลกุลใหญ่ และยังทำให้เกิดชั้นของโปรตีนรอบหยดน้ำมันที่มีความเสถียรน้อยกว่า จึงสามารถรักษาความคงตัวของอิมัลชันไว้ได้น้อยกว่า (Gbogouri et al., 2004; Rahali et al., 2000; Guan et al., 2007) อย่างไรก็ดีโปรตีนสกัดจากแป้งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ได้จากการสกัดด้วยเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด และสารละลาย 0.3% NaOH มีค่า emulsion stability ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากระดับการถูกย่อยของโปรตีน (degree of hydrolysis) โดยโปรตีนที่ยังคงมีเปปไทด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงปริมาณมาก หรือมีจำนวนเปปไทด์ที่มีสมบัติไม่ชอบน้ำสูงจะสามารถรักษาความคงตัวของอิมัลชันไว้ได้ (Mutilangi, Panyam, and Kilara, 1996)

ตารางที่ 4.32 สมบัติการเกิดอิมัลชันของโปรตีนสกัดจากแป้งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105

ภาวะการสกัดโปรตีน	Emulsion activity (A_{500})	Emulsion stability[ns] (min.)
1.5% Neutrase® 8 ชั่วโมง	0.382[b] (0.010)	117 (2)
1.0% bromelain 6 ชั่วโมง	0.485[c] (0.001)	113 (7)
0.3% NaOH 0.5 ชั่วโมง	0.217[a] (0.006)	120 (14)

ตัวเลขในวงเล็บแสดงค่า standard deviation

[a,b,..] ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

[ns] ตัวเลขในสดมภ์เดียวกันมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

ตารางที่ 4.33 สมบัติการเกิดอิมัลชันของโปรตีนสกัดจากแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1

ภาวะการสกัดโปรตีน	Emulsion activity (A_{500})	Emulsion stability (min.)
1.5% Neutrase® 8 ชั่วโมง	0.347[b] (0.007)	48[a] (3)
1.5% bromelain 8 ชั่วโมง	0.287[a] (0.009)	44[a] (2)
0.3% NaOH 1 ชั่วโมง	0.272[a] (0.012)	305[b] (34)

ตัวเลขในวงเล็บแสดงค่า standard deviation

[a,b] ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

4.2 ผลการศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของโปรตีนข้าว

จากการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบในโปรตีนที่สกัดได้จากแป้งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 พบว่าโปรตีนที่สกัดด้วยเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด มีปริมาณกรดอะมิโนกรดแอสพาร์ติก ไกลซีน และไลซีน ต่ำกว่าแต่มีปริมาณซีสทีน และเมทไทโอนีน สูงกว่าโปรตีนที่สกัดด้วยสารละลาย 0.3% NaOH อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ 4.34) เมื่อพิจารณาโปรตีนที่สกัดได้จากแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 พบว่าโปรตีนที่สกัดด้วยเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด มีปริมาณกรดอะมิโนกรดแอสพาร์ติก ไกลซีน อลานีน ฮีสติดีน ไลซีน และอาร์จินีน ต่ำกว่าแต่มีปริมาณซีสทีน และเมทไทโอนีน สูงกว่าโปรตีนที่สกัดด้วยสารละลาย 0.3% NaOH อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ 4.35) การที่ปริมาณกรดอะมิโนบางชนิดในโปรตีนที่ได้จากการสกัดด้วยเอนไซม์มีค่าลดลง อาจเนื่องมาจากมีความจำเพาะต่อการย่อยของเอนไซม์ ทำให้สายโพลิเปปไทด์

ที่มีกรดอะมิโนชนิดดังกล่าวเป็นองค์ประกอบถูกย่อยให้มีขนาดเล็กลง จึงอาจถูกแยกออกไปกับน้ำในขั้นตอนการเหวี่ยงแยกโปรตีน ส่วนโปรตีนที่ได้จากการสกัดด้วยสารละลาย 0.3% NaOH มีปริมาณกรดอะมิโนซีสทีน และเมทไทโอนีนต่ำกว่าโปรตีนที่ได้จากการสกัดด้วยเอนไซม์ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากซีสทีน และ เมทไทโอนีนเป็นกรดอะมิโนที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ ซึ่งกรดอะมิโนในกลุ่มนี้จะถูกทำลายด้วยสารละลายด่าง โดยกลไกการทำลายกรดอะมิโน 2 ชนิดนี้ คาดว่าเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ lanthionine lysonoalanine และ aminoalanine (Friedman, 1979; Nashef et al., 1977)

เมื่อพิจารณาปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นที่เป็นองค์ประกอบในโปรตีนที่สกัดจากแป้งข้าวทั้ง 2 พันธุ์ พบว่าโปรตีนจากข้าวที่สกัดด้วยเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด และโปรตีนจากข้าวที่สกัดด้วยสารละลาย 0.3% NaOH มีปริมาณกรดอะมิโนไอโซลิวซีน ไลซีน ทรีโอนีน และทริปโตโฟน ต่ำกว่าโปรตีนจากไข่ แต่มีปริมาณกรดอะมิโนฮีสติดีน และลิวซีนใกล้เคียงกัน ในขณะที่โปรตีนจากข้าวทั้ง 2 พันธุ์ ที่สกัดด้วยสารละลาย 0.3% NaOH มีปริมาณรวมของเมทไทโอนีน และซีสทีนต่ำกว่าโปรตีนจากไข่ แต่โปรตีนจากข้าวทั้ง 2 พันธุ์ ที่สกัดด้วยเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด มีปริมาณรวมของเมทไทโอนีน และซีสทีนใกล้เคียงกับโปรตีนจากไข่ ดังตารางที่ 4.36

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.34 ปริมาณกรดอะมิโน (กรัม/ 100 กรัมโปรตีน* (db)) ในโปรตีนที่สกัดจากแป้งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105

ชนิดกรดอะมิโน	ภาวะการสกัดโปรตีน		
	0.3% NaOH 0.5 ชั่วโมง	1.0% bromelain 6 ชั่วโมง	1.5% Neutrase® 8 ชั่วโมง
Aspartic acid	9.99 [b] (0.02)	8.99 [a] (0.05)	9.02 [a] (0.06)
Threonine** [ns]	3.34 (0.11)	3.31 (0.08)	3.27 (0.07)
Serine [ns]	5.30 (0.07)	5.31 (0.16)	5.22 (0.04)
Glutamic acid [ns]	18.96 (0.25)	19.61 (0.50)	19.91 (0.08)
Proline [ns]	4.47 (0.13)	4.64 (0.06)	4.72 (0.09)
Glycine	3.85 [b] (0.09)	3.49 [a] (0.04)	3.38 [a] (0.10)
Alanine	5.13 [b] (0.04)	5.03 [ab] (0.04)	4.88 [a] (0.12)
Cystine**	2.84 [a] (0.04)	4.21 [b] (0.06)	4.03 [b] (0.10)
Valine** [ns]	4.77 (0.52)	5.26 (0.11)	5.00 (0.16)
Methionine**	1.10 [a] (0.04)	1.80 [b] (0.05)	1.82 [b] (0)
Isoleucine** [ns]	3.31 (0.35)	3.87 (0.08)	3.59 (0.11)
Leucine** [ns]	8.10 (0.47)	8.71 (0.04)	8.64 (0.15)
Tyrosine** [ns]	5.43 (0.13)	5.46 (0.12)	5.54 (0.19)
Phenylalanine**	5.51 [a] (0.21)	6.10 [b] (0.06)	5.87 [ab] (0.13)
Histidine** [ns]	2.52 (0.07)	2.52 (0.06)	2.42 (0.09)
Lysine**	3.52 [b] (0.10)	2.64 [a] (0.09)	2.59 [a] (0.11)
Arginine [ns]	8.88 (0.27)	8.27 (0.13)	8.30 (0.16)
Tryptophan** [ns]	1.19 (0.02)	1.21 (0.04)	1.11 (0.03)

ตัวเลขในวงเล็บแสดงค่า standard deviation

[a,b] ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในแถวเดียวกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

[ns] ตัวเลขในแถวเดียวกันมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

***** คำนวณเปรียบเทียบกับปริมาณโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบในโปรตีนสกัด

****** กรดอะมิโนจำเป็น

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.35 ปริมาณกรดอะมิโน (กรัม/ 100 กรัมโปรตีน* (db)) ในโปรตีนที่สกัดจากแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1

ชนิดกรดอะมิโน	ภาวะการสกัดโปรตีน		
	0.3% NaOH 1 ชั่วโมง	1.5% bromelain 8 ชั่วโมง	1.5% Neutrase® 8 ชั่วโมง
Aspartic acid	10.02 ^{b} (0.23)	8.14 ^{a} (0.09)	7.82 ^{a} (0.32)
Threonine**	3.44 ^{b} (0.09)	3.22 ^{ab} (0.04)	3.10 ^{a} (0.13)
Serine ^{ns}	5.23 (0.27)	5.01 (0.18)	4.77 (0.18)
Glutamic acid	18.84 ^{a} (0.14)	20.93 ^{b} (0.10)	19.85 ^{ab} (0.65)
Proline ^{ns}	4.55 (0.14)	4.63 (0.17)	5.22 (0.95)
Glycine	3.97 ^{b} (0.18)	3.35 ^{a} (0.06)	3.38 ^{a} (0.10)
Alanine	5.23 ^{b} (0.09)	4.97 ^{a} (0.06)	4.85 ^{a} (0.03)
Cystine**	2.68 ^{a} (0.03)	4.45 ^{b} (0.06)	4.36 ^{b} (0.13)
Valine** ^{ns}	5.22 (0.64)	5.18 (0.37)	4.85 (0.14)
Methionine**	1.32 ^{a} (0.19)	1.95 ^{b} (0.17)	1.88 ^{b} (0.04)
Isoleucine** ^{ns}	3.69 (0.47)	3.89 (0.30)	3.53 (0.09)
Leucine** ^{ns}	8.30 (0.10)	8.35 (0.13)	8.06 (0.11)
Tyrosine** ^{ns}	5.48 (0.13)	5.17 (0.04)	5.12 (0.28)
Phenylalanine** ^{ns}	5.63 (0)	5.77 (0.09)	5.41 (0.18)
Histidine**	2.58 ^{b} (0.06)	2.18 ^{a} (0.01)	2.18 ^{a} (0.12)
Lysine**	3.60 ^{b} (0.04)	2.04 ^{a} (0.06)	1.98 ^{a} (0.09)
Arginine	9.10 ^{b} (0.01)	7.14 ^{a} (0.17)	7.34 ^{a} (0.34)
Tryptophan** ^{ns}	1.10 (0.05)	1.07 (0.01)	1.08 (0.01)

ตัวเลขในวงเล็บแสดงค่า standard deviation

^{a,b} ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในแถวเดียวกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

^{ns} ตัวเลขในแถวเดียวกันมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

* คำนวณเปรียบเทียบกับปริมาณโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบในโปรตีนสกัด

** กรดอะมิโนจำเป็น

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.36 ปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นในโปรตีนที่สกัดจากแป้งข้าว และโปรตีนจากไข่ (มิลลิกรัม/ กรัมโปรตีน*)

กรดอะมิโนชนิดจำเป็น	แป้งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105			แป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1			ไข่ไก่
	NaOH	bro	Neu	NaOH	bro	Neu	(a)
His	25	25	24	26	22	22	22
Ile	33	39	36	37	39	35	54
Leu	81	87	86	83	84	81	86
Lys	35	26	26	36	20	20	70
Met + Cys	39	60	59	40	64	62	57
Phe + Tyr	109	116	114	111	109	105	93
Thr	33	33	33	34	32	31	47
Trp	12	12	11	11	11	11	17
Val	48	53	50	52	52	49	51

* คำนวณเปรียบเทียบกับปริมาณโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบในอาหาร

ที่มา: (a) Zarkadas และคณะ (1993) อ้างถึงใน FAO/ WHO (1985)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนจากแป้งข้าวด้วยเอนไซม์นิวทรัลโปรติเอส

5.1.1 การศึกษาผลของความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาในการสกัดโปรตีนจากแป้งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105

ภาวะการสกัดโปรตีนที่ดีที่สุดด้วยเอนไซม์ Neutrase® ได้แก่ ความเข้มข้นเอนไซม์ 1.5% (v/w, ต่อน้ำหนักแป้ง) เวลาสกัด 8 ชั่วโมง ได้สตาร์ชที่มีโปรตีน 0.57% ผลผลิต 81.4% และเม็ดแป้งที่เสียหาย 1.82% และภาวะการสกัดโปรตีนที่ดีที่สุดด้วยเอนไซม์ bromelain ได้แก่ ความเข้มข้นเอนไซม์ 1.0%(w/w, ต่อน้ำหนักแป้ง) เวลาสกัด 6 ชั่วโมง ได้สตาร์ชที่มีโปรตีน 0.65% ผลผลิต 79.2% และเม็ดแป้งที่เสียหาย 2.13%

5.1.2 การศึกษาผลของความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาในการสกัดโปรตีนจากแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1

ภาวะการสกัดโปรตีนที่ดีที่สุดด้วยเอนไซม์ Neutrase® ได้แก่ ความเข้มข้นเอนไซม์ 1.5% (v/w, ต่อน้ำหนักแป้ง) เวลาสกัด 8 ชั่วโมง ได้สตาร์ชที่มีโปรตีน 0.96% ผลผลิต 80.1% และเม็ดแป้งที่เสียหาย 1.71% และภาวะการสกัดโปรตีนที่ดีที่สุดด้วยเอนไซม์ bromelain ได้แก่ ความเข้มข้นเอนไซม์ 1.5%(w/w, ต่อน้ำหนักแป้ง) เวลาสกัด 8 ชั่วโมง ได้สตาร์ชที่มีโปรตีน 0.89% ผลผลิต 79.7% และเม็ดแป้งที่เสียหาย 1.17%

5.1.3 การศึกษาการสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์เปรียบเทียบกับการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว

สตาร์ชข้าวทั้ง 2 พันธุ์ ที่ได้จากการสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด มีปริมาณโปรตีนไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) กับสตาร์ชข้าวที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว แต่การสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์ได้ผลผลิตสตาร์ชต่ำกว่าการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียวอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

5.2 การศึกษาสมบัติของสตาร์ชข้าวที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์

5.2.1 การศึกษาสมบัติของสตาร์ชข้าวที่ได้จากภาวะการสกัดโปรตีนที่ดีที่สุดด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียวเปรียบเทียบกับสตาร์ชข้าวที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยสารละลาย 0.3% NaOH

สตาร์ชข้าวทั้ง 2 พันธุ์ ที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด มีสมบัติทางความร้อน สมบัติทางความหนืด รวมทั้งความสามารถในการพองตัวและการละลายแตกต่างกับสตาร์ชข้าวที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยสารละลาย 0.3% NaOH กล่าวคือ การวิเคราะห์สมบัติทางความร้อนด้วย DSC พบว่าสตาร์ชข้าวที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์มีอุณหภูมิเริ่มต้นของการเกิดเจลาติไนเซชันสูงกว่าสตาร์ชข้าวที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยสารละลาย 0.3% NaOH แต่มีช่วงอุณหภูมิการเกิดเจลาติไนเซชันแคบกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) การวิเคราะห์สมบัติทางความหนืดของสตาร์ชข้าวด้วย RVA พบว่าสตาร์ชข้าวได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์มีค่า pasting temperature และ peak time สูงกว่า แต่มีค่า peak viscosity และ breakdown ต่ำกว่าสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยสารละลาย 0.3% NaOH อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) และสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์มีค่ากำลังการพองตัวที่อุณหภูมิ $\geq 60°C$ ต่ำกว่าสตาร์ชที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยสารละลาย 0.3% NaOH อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) จากผลการทดลองดังกล่าวข้างต้น จึงคาดคะเนว่าสตาร์ชข้าวอาจเกิด annealing ระหว่างการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ ซึ่งช่วยเพิ่มความแข็งแรงให้แก่โครงสร้างของเม็ดแป้ง

5.2.2 การศึกษาสมบัติของสตาร์ชข้าวที่ได้จากการสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์เปรียบเทียบกับสตาร์ชข้าวที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว

การวิเคราะห์สมบัติทางความร้อนด้วย DSC พบว่าสตาร์ชข้าวที่ได้จากการสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์มีสมบัติทางความร้อนใกล้เคียงกับสตาร์ชข้าวที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว ส่วนการวิเคราะห์สมบัติทางความหนืดด้วย RVA พบว่าสตาร์ชข้าวทั้ง 2 พันธุ์ ที่ได้จากการสกัดโปรตีนในขั้นตอนเดียวและสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์ bromelain มีค่า pasting temperature peak viscosity และ setback ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แต่สตาร์ชข้าวทั้ง 2 พันธุ์ ที่ได้จากการสกัดโปรตีนซ้ำด้วยเอนไซม์ Neutrase® มีค่า peak viscosity ต่ำกว่าสตาร์ชข้าวที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียวอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

5.3 ผลการศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่และคุณค่าทางโภชนาการของโปรตีนข้าวที่ได้จากการสกัดด้วยเอนไซม์เปรียบเทียบกับโปรตีนข้าวที่ได้จากการสกัดด้วยสารละลาย 0.3% NaOH

5.3.1 การศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนข้าว

การวิเคราะห์สมบัติการละลายของโปรตีน พบว่าโปรตีนจากแป้งข้าวทั้ง 2 พันธุ์ ที่ได้จากการสกัดด้วยเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด มีความสามารถในการละลายน้ำสูงกว่าโปรตีนที่ได้จากการสกัดด้วยสารละลาย 0.3% NaOH อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

การวิเคราะห์สมบัติการจับกับน้ำและน้ำมันของโปรตีนสกัด ไม่พบแนวโน้มที่ชัดเจนจากการเปรียบเทียบค่าความสามารถในการจับกับน้ำและน้ำมัน ระหว่างโปรตีนสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยเอนไซม์และโปรตีนสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยสารละลาย 0.3% NaOH โดยขึ้นอยู่กับพันธุ์ข้าวและชนิดของเอนไซม์ที่ใช้

การวิเคราะห์สมบัติการเกิดโฟม พบว่าโปรตีนสกัดจากแป้งข้าวทั้ง 2 พันธุ์ ที่ได้จากการสกัดด้วยเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด มีค่า foaming capacity สูงกว่า แต่มีค่า foaming stability ต่ำกว่าโปรตีนสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยสารละลาย 0.3% NaOH อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

การวิเคราะห์สมบัติการเกิดอิมัลชัน พบว่าโปรตีนสกัดจากแป้งข้าวทั้ง 2 พันธุ์ ที่ได้จากการสกัดด้วยเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด มีค่า emulsion activity สูงกว่าโปรตีนสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยสารละลาย 0.3% NaOH อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โปรตีนสกัดจากแป้งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ได้จากการสกัดด้วยเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด และสารละลาย 0.3% NaOH มีค่า emulsion stability ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แต่โปรตีนสกัดจากแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากการสกัดด้วยเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด มีค่า emulsion stability ต่ำกว่าโปรตีนสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยสารละลาย 0.3% NaOH อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

5.3.2 การศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของโปรตีนข้าว

โปรตีนจากแป้งข้าวทั้ง 2 พันธุ์ ที่ได้จากการสกัดด้วยเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด มีปริมาณกรดอะมิโนกรดแอสพาร์ติก ไกลซีน และไลซีนต่ำกว่า แต่มีปริมาณซีสทีน และเมทไทโอนีนสูงกว่าโปรตีนที่ได้จากการสกัดด้วยสารละลาย 0.3% NaOH อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

5.4 ข้อเสนอแนะ

จากผลการศึกษาสมบัติทางความหนืดของสตาร์ชข้าว ซึ่งพบว่าสตาร์ชข้าวที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์มีค่า peak viscosity breakdown และ setback ต่ำกว่าสตาร์ชข้าวที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยสารละลายด่าง จึงควรมีการศึกษาการนำสตาร์ชข้าวที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ไปใช้ในผลิตภัณฑ์ที่ต้องการลักษณะบางประการ เช่น ผลิตภัณฑ์ที่ไม่ต้องการสตาร์ชที่ให้ความหนืดสูงมากนัก แต่สามารถคงความหนืดได้ดีระหว่างกระบวนการผลิต รวมทั้งเกิดการคืนตัวต่ำ นอกจากนี้อาจมีการศึกษาการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์โปรติเอสชนิดอื่นๆ และการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ร่วมกับวิธีทางกายภาพหรือวิธีทางเคมี เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดโปรตีน ลดเวลาในการสกัด และลดการเกิด annealing ของสตาร์ชระหว่างการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์

ควรมีการศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนสกัดที่ค่า pH ต่างๆ รวมทั้งศึกษาผลขององค์ประกอบอื่นๆ ที่มักพบในอาหารต่อสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน เช่น โพลิแซคคาไรด์ น้ำตาล เกลือ เป็นต้น และควรเปรียบเทียบสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนสกัดจากข้าวกับโปรตีนชนิดอื่นที่มีการใช้โดยทั่วไป เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับการนำโปรตีนจากข้าวไปใช้เป็นส่วนผสมในอาหารชนิดต่างๆ นอกจากนี้ยังอาจศึกษาการดัดแปรโปรตีนด้วยวิธีการต่างๆ เพื่อปรับปรุงสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนสกัดจากข้าว เช่น การใช้เอนไซม์ การใช้สารเคมี

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

กล้าณรงค์ ศรีรอต และเกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ. 2546. เทคโนโลยีของแป้ง. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

งามชื่น คงเสรี. 2543. เอกสารประกอบการฝึกอบรมหลักสูตร "การวิเคราะห์คุณภาพข้าวหอมมะลิทางเคมี" รุ่นที่ 6 รุ่นที่ 7 และรุ่นที่ 8. วันที่ 7-8, 14-15, และ 28-29 ตุลาคม 2543 ณ อาคารฝึกอบรม ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี. ปทุมธานี.

บุญหงษ์ จงคิด. 2547. ข้าวและเทคโนโลยีการผลิต. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

รุ่งทิวา วันสุขศรี. 2543. การสกัดโปรตีนในปลายข้าวหอมมะลิเพื่อทำแป้งข้าวเจ้าบริสุทธิ์. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ศูนย์ขยายเมล็ดพันธุ์พืช. 2550. ข้อมูลเมล็ดพันธุ์จัดจำหน่าย. [อินเตอร์เน็ต]. กรุงเทพฯ. แหล่งที่มา : http://www. doae.go.th. [26 มกราคม 2550]

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย. 2544. ทรัพยากรพืชในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ลำดับที่ 10: ธัญพืช . นนทบุรี: สหมิตรพริ้นติ้ง.

สถาบันวิจัยข้าว. 2550. พันธุ์ข้าว. [อินเตอร์เน็ต]. กรุงเทพฯ. แหล่งที่มา : http://www. dao.go.th. [26 มกราคม 2550]

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2549. ปริมาณและมูลค่าการส่งออกข้าวรวมทั้งหมด ปี พ.ศ. 2545-2548. [อินเตอร์เน็ต]. กรุงเทพฯ. แหล่งที่มา : http://www. oae.go.th. [16 มิถุนายน 2549]

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2550. ปริมาณและมูลค่าการส่งออกสินค้าเกษตรรายเดือน. [อินเตอร์เน็ต]. กรุงเทพฯ. แหล่งที่มา : http://www. oae.go.th. [15 มีนาคม 2550]

อรอนงค์ นัยวิกุล และอรสิริ ทุติยภาค. 2542. ข้าว: ทิศทางสู่การส่งออก. วารสารอุตสาหกรรมเกษตร. ปีที่ 10 ฉบับที่ 2: 1-6.

ภาษาอังกฤษ

AACC. 1995. Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists, 9th ed. Minnesota: American Association of Cereal Chemists.

Adoracion, P. R., Li, X. L., Okita, T.W., and Juliano, B. O. 1993. Characterization of poorly digested protein of cooked rice protein bodies. Cereal Chem. 70: 101-105.

AOAC. 1995. Official Method of Analysis, 16th ed. Virgenia : The Association of Official Analytical Chemists.

Atwell, W. A., Hood, L. F., and Lineback, D. P. 1988. The terminology and methodology associated with basic starch phenomena. Cereal Food World. 33: 306-309.

Azudin, M. N., and Morrison, W. K. 1986. Non-starch lipids and starch lipids in milled rice. J. Cereal Sci. 4: 23-31.

Baldwin, P.M. 2001. Starch-granule associated proteins and polypeptides: a review. Starch/Stärke. 53: 475-503.

Belitz, H. –D., Grosch, W., and Schieberle, P. 2004. Food Chemistry, 3rd ed. New York: Springer.

Biliaderis, C. G. 1998. Structures and phase transitions of starch polymers. In R. H. Walter (ed.), Polysaccharide Association Structures in Food, pp.57-168. New York: Marcel Dekker.

Blakeney, A. B. 1996. Rice. In R. J. Henry and P. S. Kettlewell, (eds.). Cereal Grain Quality, pp. 55-76. London: Chapman & Hall.

Bogdan, J. D., and David, A. V. 2001. Cereals and Cereals Products Chemistry and Technology. Maryland: Aspen Publishers.

Bradbury, J. H., Collins, J. G., and Pyliotis, N. A. 1980. Methods of separation of the major histological component of rice and characterization of their proteins by amino acid analysis. Cereal Chem. 57: 133-138.

Beuchat, L. R. 1977. Functional and electrophoretic characteristics of succinylated peanut flour properties. J. Agric. Food Chem. 25: 258-261.

Cagampang, G. B., Cruz, L.-J., Espiritu, S. G., Santiafo, R. G., and Juliano, B. O. 1966. Studies on the extraction and composition of rice proteins. Cereal Chem. 43: 145-155.

Cameron, D.K., and Wang, Y. J. 2005. A better understanding of factors that affect the hardness and stickiness of long-grain rice. Cereal Chem. 82: 113-119.

Cheftel, J. C., Cuq, J. L., and Lorient, D. 1985. Amino acid, peptides and protein. In O. R. Fennema (ed.), Food Chemistry, pp. 282-310. New York: Marcel Dekker.

Chiou, H., Martin, M., and Fitzgerald, M. 2002. Effect of purification methods on rice starch structure. Starch/Stärke. 54: 415-420.

Cochran, W. C., and Cox, G. M. 1992. Experimental Designs. New York: John Willey & Sons.

Cone, J. W., and Wolters, M. G. E. 1990. Some properties and degradability of isolated starch granules. Starch/Stärke. 42: 298-301.

Dalgleish, D. G. 1989. Protein-stabilized emulsions and their properties. In T. Hardman (ed.), Water and Food Quality, pp. 211-250. London: Elsevier.

Damodaran, S. 1994. Structure-functional relationship of food proteins. In N. S. Hettiarachchy and G. R. Zieger (eds.), Protein Functionality in Food Systems, pp. 1-37. New York: Marcel Dekker.

Damodaran, S. 1996. Amino acids, peptide, and proteins. In O. R. Fennema (ed.), Food Chemistry, pp. 321-430. New York: Marcel Dekker.

Damodaran, S. 1997a. Food proteins: an overview. In S. Damodaran and A. Paraf (eds.), Food Proteins and Their Applications, pp. 1-23. New York: Marcel Dekker.

Damodaran, S. 1997b. Protein-stabilized foams and emulsions. In S. Damodaran and A. Paraf (eds.), Food Proteins and Their Applications, pp. 57-110. New York: Marcel Dekker.

Daniel, J. R. and Whistler, R. C. 1990. Fatty sensory qualities of polysaccharides. Cereal Food World. 35: 825-829.

Di Paola, R. D., Asis, R., and Aldao, M. A. J. 2003. Evalution of the degree of starch gelatinization by a new enzymatic method. Starch/Stärke. 55: 403-409.

Eliasson, A. C., and Larsson, K. 1993. Physicochemical behavior of the components of wheat flour, In O. R. Fennema, M. Karel, G. W. Sanderson, S. R. Tannenbaum, P. Walstra, and J. R. Whitaker (eds.), Cereals in Breadmaking, pp. 77-105. New York: Marcel Dekker.

Evers, A. D., and Stevens, D. J. 1985. Starch damage. Adv. Cereal Sci. Technol. 7: 321-349.

Foreign Agricultural Service. 2007. Grain: world markets and trade. [online]. USA. United States Department of Agriculture. Avaible from: http://www. fas.usda.gov. [March 4, 2007]

Friedman, M. 1979. Alkali-induced lysinoalanine formation in structurally different proteins. In A. Pour-El (ed.), Functionality and Protein Structure. pp. 225. Washington, DC: American Chemical Society.

Galliard, T., and P. Bowler. 1987. Morphology and composition of starch. In T. Galliard (ed.). Starch: Properties and Potential. New York: John Wiley and Sons.

Gary, W. 2002. Proteins Biochemistry and Biotechnology. Chichester: John Wiley & Sons.

Gbogouri, G. A., Linder, M., Fanni, J. and Parmentier, M. 2004. Influence of hydrolysis degree on the functional properties of salmon byproduct hydrolysate. J. Food Sci. 69: 615-622.

Gomes, A. M. M., Mendes da Silva, C. E., and Ricardo, N. M. P. S., Sasaki, J. M., and Germani, R. 2004. Impact of annealing on the physicochemical properties of unfermented cassava starch (" *Polvilho doce* "). Starch/Stärke. 56: 419-423

Gomes, A. M. M., Mendes da Silva, C. E., and Ricardo, N. M. P. S. 2005. Effect of annealing on the physicochemical properties of fermented cassava starch (*Polvilho azedo*). Carbohydr. Polym. 60: 1-6.

Guan, X., Yao, H., Chen, Z., Shan, L., and Zhang, M. 2007. Some functional properties of oat bran protein concentrate modified by trypsin. Food Chem. 101: 163-170.

Guraya, H. S., and James, C. 2002. Deagglomeration of rice starch-protein aggregates by high-pressure homogenization. Starch/Stärke. 54: 108-116.

Guraya, H. S., James, C., and Champagne, E. T. 2003. Physical basis for separation of rice starch using various gradient systems and its effect on starch recovery, purity, and pasting properties. Starch/Stärke. 55: 450-456.

Hamada, J. S. 2000. Characterization and functional properties of rice bran proteins modified by commercial exoproteases and endoproteases. J. Food Sci. 65: 305-310.

Hamaker, B. R. and Griffin, V. K. 1990. Changing the viscoelastic properties of cooked rice though protein disruption. Cereal Chem. 67: 261-264.

Hamaker, B. R., Griffin, V. K., and Moldenhauer. 1991. Potential influence of a starch granule-associated protein on cooked rice stickiness. J. Food Sci. 56: 1327-1346.

Hamaker, B. R. 1994. The influence of rice protein on rice quality. In W. E. Marshall and J. I. Wadswort (eds.), Rice Science and Technology, pp. 177-193. New York: Marcel Dekker.

Helm, R. M., and Burk, A. W. 1996. Hypoallergenicity of rice protein. Cereal Food World. 41: 839-843.

Hizukuri, S., Kaneko, T., and Takeda, Y. 1983. Measurement of the chain length of amylopectin and its relevance to the origin or crystalline polymorphism of starch granules. Biochemica et Biophysica Acta. 760: 188-191.

Hoover, R., and Vasanthan, T. 1994. The effect of annealing on the physicochemical properties of wheat, oat, potato and lentil starches. J. Food Biochem. 17: 303-325.

Jacobs, H., and Delcour, J. A. 1998. Hydrothermal modifications of granule starch, with relation of the granular structure: a review. J. Agric. Food Chem. 45: 2895-2905.

Jane, J. L., Kasemsuwan, T. Chen, J. F., and Juliano, B. O. 1996. Rice and others starches. Cereal Food World. 41: 827-832.

Juliano, B. O., and Boulter, D. 1976. Extraction and composition of rice endosperm glutelin. Phytochem. 15: 1601-1606.

Juliano, B. O. 1981. A simplified assay for milled-rice amylose. Cereal Sci. Today. 16: 334-340, 360.

Juliano, B.O. 1985. Polysaccharide, protein, and lipids of rice. In B. O. Juliano (ed.), Rice: Chemistry and Technology, 2nd ed, pp. 59-174. St. Pual, Minnesota: American Associated Cereal Chemists.

Juliano, B. O. 1990. Rice grain quality: Problem and challenges. Cereal Food World. 35: 245-250.

Juliano, B. O. 1992. Structure, chemistry and function of the rice grain and its functions. Cereal Food World. 37: 772-779.

Kato, A., Lee, Y., and Kobayashi, K. 1989. Deamidation and functional properties of food protein by the treatment with immobilized chymotrypsin at alkaline pH. J. Food Sci. 54: 1345-1347.

Katsube-Tanaka, T., Duldulao, J. B. A., Kimura, Y., Iida, S., Yamaguchi, T., Nakamo, J., and Utsumi, S. 2004. The two subfamilies of rice glutelin differ in both primary and highest-order structure. Biochimica et Biophysica Acta. 1699: 95-102.

Kinsella, J. E. 1976. Functional properties of food proteins: a review. CRC. Crit. Rev. Food. Sci. Nutr. 7: 219-280.

Kim., S. Y., Park, P. S., and Rhee, K. C. 1990. Functional properties of proteolytic enzyme modified soy protein. J. Agric. Food Chem. 38: 651-656.

Kim, Y.S., Wiesenborn, D. P., Orn, P. H., and Grant, L. A. 1995. Scanning potato starch for novel properties using differential scanning calorimeter. J. Food Sci. 60: 1060-1065.

Klompong, V., Benjakul, S., Kantachote, D., and Shahidi, F. 2007. Antioxidative activity and functionality properties of protein hydrolysate of yellow strip trevally (*Selaroides leptolepis*) as influenced by the degree of hydrolysis and enzyme type. Food Chem. 102: 1317-1327.

Kohyama, K., and Sasaki, T. 2006. Differential scanning calorimetry and model calculation of starches annealed at 20 and 50°C. Carbohydr. Polym. 63: 82-88.

Krueger, B. R., Knutson, C. A., Inglett, G. E., and Walker, C. E. 1987. A differential scanning calorimetry study on the effect of annealing on gelatinization behavior of corn starch. J. Food Sci. 52: 715-718.

Lasztity, R. 1996. The Chemistry of Cereal Proteins, 2nd ed. New York: CRC Press.

Lim, S., Jane, J. Rajagopalan, S., and Seib, P. 1992. Effect of starch granule size on physical properties of starch-filled polyethylene film. Biotechnol. Prog. 8: 51-57.

Lim, S. T., Lee, J. H., Shin, D.H., and Lim, H. S. 1999. Comparision of protein extraction solution for rice starch isolation and effect of residue protein content on starch pasting properties. Starch/Stärke. 51: 120-125.

Lim, W. J., Liang, Y. T., Seib, P. A., and Rao, C. S. 1992. Isolation of oat starch from oat flour. Cereal Chem. 69: 233-236.

Lumdubwong, N., and Seib, P. A. 2000. Rice starch isolation by alkaline protease digestion of wet- milled rice flour. J. Cereal Sci. 31: 63-74.

Martinez, K. D., Sanchez, C. C., Ruiz-Henestrosa, V. P., Patino, J. M. R., and Pilof, A. M. R. 2007. Effect of limited hydrolysis of soy protein on the interactions with polysaccharides at the air-water interface. Food Hydrocolloids. 21: 813-822.

Matsuo, T., Futsuhara, Y., Kikuchi, F., and Yamaguchi, H. 1997. Science of The Rice Plant: vol. 3 Genetics. Tokyo: Food and Agriculture Policy Research Center.

Mezo-Villanueva, M., and Serna-saldivar, S. O. 2004. Effect of protease addition on starch recovery from steeped sorghum and maize. Starch/Stärke. 56: 371-378.

Mistry, A.H., and Eckhoff, S.R. 1992. Characteristics of alkaline-extracted starch obtained from corn flour. Cereal Chem. 69: 296-303.

Mine, Y. 1997. Effect of dry heat and mild alkaline treatment on functional properties of egg white proteins. J. Agric. Food Chem. 45 : 2924-2928.

Moldenhauer, K. A., Champagne, E. T., McCaskill, D. R., and Guraya, H. 1998. Functional products from rice. In G. Mazza (ed.), Functional Foods: Biochemical & Processing Aspects, pp. 71-89. Pennsylvania: Technomic Publ. Comp.

Morita, T., and Kiriyama, S. 1993. Mass production method for rice protein isolate and nutrition evalution. J. Food Sci. 58: 1393-1396.

Morrison, W. R., and Karkalas, J. 1990. Starch. Methods in plant biochemistry (vol. 2) In P. M. Dey (ed), Carbohydrate, pp.323-352.

Morrison, W. R., Tester, R. F., Snape, C. E., Law, R., and Gidley, M. J. 1993. Swelling and gelatinization of cereal starches. IV. Some effects of lipid-complexed amylose and free amylose in waxy and normal barley starches. Cereal Chem. 70: 385-391.

Mu-Forster, C. and Wasserman, B. P. 1998. Surface location of zein storage proteins in starch granules from maize endosperm: proteolytic removal by thermolysin and *in vitro* cross-linking of granule-associated polypeptides. Plant Physiology. 116: 1563-1571.

Mutilangi, W. A. M., Panyam, D., and Kilara, A. 1996. Functional properties of hydrolysate from proteolysis of heat-denatured whey protein isolate. J. Food Sci. 61: 270-274, 303.

Nakazawa, Y., and Wang, Y. J. 2003. Acid hydrolysis of native and annealed starches and branch-structure of their Naegeli dextrins. Carbohydr. Res. 338: 2871-2882.

Nashef, A. S., Osuga, D. T., Lee, H. S., Ahmed, A. I., Whitaker, J. R., and Feeney, R. E. 1977. Effect of alkali on proteins. Disulfides and their products. J. Agric. Food Chem. 25: 245-251.

Nielsen, P. M. 1997. Functionality of protein hydrolysates. In S. Damodaran and A. Paraf (eds.), Food Protein and Their Applications, pp. 443-472. New York: Marcel Decker.

Oritz, S. E. M., and Wagner, J. R. 2002. Hydrolysates of native and modified soy protein isolates: structureal characteristics, solubility and foaming properties. Food Res. Int. 35: 511-518.

Patidol, J., Wang, Y. J., and Jane, Y. I. 2005. Structure-functionality change in starch following rough rice storage. Starch/Stärke. 57: 197-207.

Pearce, K. N., and Kinsella, J. E. 1978. Evalution of a turbidimetric technique. J. Agric. Food Chem. 26: 716-723.

Perez, O. E., Haros, M., and Suarez, C. 2001. Corn steeping: influence of time and lactic acid on isolation and thermal properties of starch. J. of Food Eng. 48: 251-256.

Perez, O. E., Haros, M., Suarez, C., and Rosell, C. M. 2003. Effect of steeping time on starch properties from ground whole corn. J. of Food Eng. 60: 281-287.

Phillips, L. G. Davis, M. J., and Kinsella, J. E. 1989. The effect of various milk proteins on the foaming properties of egg white. Food Hydrocolloids. 3: 163-167.

Pomeranz, Y. 1985. Functional properties of food components. Harcourt Brace Jovanovich, Publishers. Orlando, Florida: Academic press.

Puchongkavarin, H., Varavinit, S., and Bergthaller, W. 2005. Comparative study of pilot scale rice starch production by an alkaline and an enzymatic process. Starch/Stärke. 57: 134-144.

Radley, J. A. 1976. Starch Production Technology. London: Applied Science Publishers.

Radosavljevic, M., Jane, J., and Johnson, L. A. 1998. Isolation of amaranth starch by dilute alkaline-protease treatment. Cereal Chem. 75: 212-216.

Rahali, V., Chobert, J. M., Haertle, T., and Gueguen, J. 2000. Emulsification of chemical and enzymatic hydrolysates of β-lactoglobulin : characterization of the peptides adsorbed at the interface. Nahrung. 44: 89-95.

Sabularse, V. C., Liuzzo, J. A., Roa, R. M., and Grodner, R. M. 1992. Physicochemical characteristics of brown rice as influenced by gamma irradiation. J. Food Sci. 57: 143-145.

Schoch, T. J. 1964. Swelling power and solubility of granular starches. In R. L. Whistler, R. J. Smith, and J. N. BeMiller (eds.), Methods in Carbohydrates Chemistry Vol. 6, pp.106-108. New York: Academic Press.

Scilingo, A. A., Ortiz, S. E. M., Martinez, E. N., and Anon, M. C. 2002. Amaranth protein isolates modified by hydrolytic and thermal treatments. Relationship between structure and solubility. Food Res. Int. 35: 855-862.

Seguchi, M., Hayashi, M., Suzuki, Y., Sano, Y., and Hirano, H. Y. 2003. Role of amylose in the maintenance of the configuration of rice starch granules. Starch/Stärke. 55: 524-528.

Shewry, P. R., and Miflin, B. O. 1985. Seed storage proteins . In Y. Pomeranz (ed.), Advances in Cereal Science and Technology Vol. 7, pp. 1-83. St. Pual, Minnesota: American Associated Cereal Chemists.

Shimadzu, 2004. Shimadzu high performance liquid chromatograph amino acid analysis system application data book. Shimadzu Co., Ltd. Japan.

Shih, F. F., and Daigle, K. 1997. Use of enzymes for the separation of protein from rice flour. Cereal Chem. 74: 437-441.

Shih, F. F., and Daigle, K. 2000. Preparation and characterization of rice protein isolates. J. Am. Oil Chem. Soc. 77: 885-889.

Shih, F. F. 2004. Rice protein. In E. T. Champagne (ed), Rice Chemistry and Technology 3rd, pp.143-162. Minnesota: American Associated Cereal Chemists.

Smith, L. M., Fantozzi, P., and Creveling, R. K. 1983. Study of triglyceride-protein interactions using a microemulsion filtration method. J. Am. Oil Chem. Soc. 60: 960-967.

Takada, Y., Hizukuri, S., and Juliano, B. O. 1986. Purification and structure of amylose from rice starch. Carbohydr. Res. 148: 299-380.

Tanaka, Y., Resurreccion, A. P., Juliano, B. O., and Bachtel, D. B. 1978. Properties of whole and undigested function of protein bodies of milled rice. Agric. Biol. Chem. 42: 2015-2020.

Tanaka, Y., Suginoto, T., Ogawa, M., and Kasai, Z. 1980. Isolation and characterization of two type of protein bodies in the rice endosperm. Agric.Biol.Chem. 44:1633-1639.

Tanaka, K. 1997. Quality of grains. In T. Mutsuo, Y. Futsuhara, F. Kikuchi, and H. Yamaguchi (ed.), Science of the Rice Plant Vol.3 Genetics, pp. 422-430. Tokyo: Food and Agriculture Policy Research Center.

Teo, C. H., Abd, A., Cheahy, P. B., Norziah, M. H., and Seow, C. C. 2000. On the role of protein and starch in the aging of non-waxy rice flour. Food Chem. 69: 299-236.

Tester, R. F. 1997. Properties of damaged starch granules: composition and swelling properties of maize, rice, pea and potato starch fraction in water at various temperatures. Food Hydrocolloids. 11: 293-301.

Tester, R. F., Ansell, R., Snape, C. E., and Yusuph, M. 2005. Effects of storage temperatures and annealing conditions on the structure and properties of potato (*Solanum tuberosum*) starch. Int. J. Biol. Macr. 36: 1-8.

Tester, R. F. and Debon, S. J. J. 2000. Annealing of starch-a review. Int. J. Biol. Macr. 27: 1-12.

Tester, R. F. and Debon, S. J. J., and Karkalas, J. 1998. Annealing of wheat starch. J. Cereal Sci. 28: 259-272.

Tester, R. F. and Debon, S. J. J., and Sommerville, M. D. 2000. Annealing of maize starch. Carbohydr. Polym. 42: 287-299.

Tester, R.F., Karkalas, J., and Qi, X. 2004. Starch structure and digestibility enzyme-substrate relationship. World's Poultry Sci. J. 60: 186-195.

Tunctürk, Y., and Zorba, ö. 2006. The effects of enzymatic hydrolysis of casein on apparent yield stress and some emulsion properties. Food Hydrocolloids. 20: 475-482.

Uruakpa, F. O., Arntfield, S. D. 2005. Emulsifying characteristics of commercial canola protein-hydrocolloid systems. Food Res. Int. 38: 659-672.

Vandeputte, G. E., Delcour, J. A. 2004. From sucrose to starch granule to starch physical behaviour: a focus on rice starch. Carbohydr. Polym. 58: 245-266.

Villaveal, C. P. and Juliano, B. O. 1986. Waxy gene factor and residual protein of rice starch granules. Starch/Stärke. 38: 118-123.

Wang, W. J., Powell, A. D., and Oates, C. G. 1997. Effect of annealing on the hydrolysis of sago starch granules. Carbohydr. Polym. 33: 195-202.

Wang, L., and Wang, Y.J. 2001. Comparison of protease digestion at neutral pH with alkaline steeping method for rice starch isolation. Cereal Chem. 78: 690-692.

Wang, L., and Wang, Y. J. 2004a. Application of high - intensity ultrasound and surfactants in rice starch isolation. Cereal Chem. 81: 140-144.

Wang, L., and Wang, Y. J. 2004b. Rice starch isolation by neutral protease and high-intensity ultrasound. J. Cereal Sci. 39: 291-296.

Ward, O. P. 1983. Proteinases. In W. M. Fogarty (ed.), Microbial Enzyme and Biotechnology, pp. 251-317. London: Applied Science Publishers.

Whitaker, J. R. 1994. Principles of Enzymology for the Food Sciences, 2nd ed. New York: Marcel Dekker.

Yang, C. C., Lai, H. M., and Lii, C. Y. 1984. The modified alkaline steeping method for the isolation of rice starch. Food Sci. 11: 158-162.

Zarkadas, C. G., Yu, Z., Voldeng, H. D., and Minero-Amadou, A. 1993. Assessment of the protein quality of a new high soybean cultivar by amino acid analysis. J. Agric. Food Chem. 41: 616-623. cited in FAO/ WHO/ UNU expert consultation. 1985. Energy and Protein requirements; FAO/WHO nutrition meeting, report series 724. Geneva: Food and Agriculture Organization/ World Health Organization.

Zayas, J. F. 1997. Functionality of Proteins in Food. New York: Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

Zeng, M., Morris, C. F., Batey, I. L., and Wrigley. 1997. Sources of variation for starch gelatinization, pasting and gelation properties in wheat. Cereal Chem. 74: 63-71.

ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

ภาคผนวก ก.1 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้นด้วยวิธี air oven method ดัดแปลงวิธีของ AOAC (1995) โดยเปลี่ยนอุณหภูมิที่ใช้อบจาก 130±3°C เป็น 100±5°C

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. ตู้อบลมร้อน (Memmert รุ่น 600, Germany)

วิธีวิเคราะห์

1. นำถ้วยอลูมิเนียมไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 100±5°C นาน 1 ชั่วโมง แล้วทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์ จากนั้นชั่งน้ำหนักถ้วยอลูมิเนียมเปล่าที่แน่นอน
2. ชั่งตัวอย่างแป้งข้าวให้ได้น้ำหนักแน่นอนประมาณ 2 กรัม ใส่ในถ้วยอลูมิเนียมที่เตรียมไว้ในข้อ 1
3. นำตัวอย่างเข้าอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 100±5°C นาน 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์เป็นเวลา 30 นาที แล้วชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของถ้วยอลูมิเนียมพร้อมตัวอย่าง
4. นำตัวอย่างแป้งเข้าอบต่อในตู้อบที่อุณหภูมิ 100±5°C นาน 1 ชั่วโมง หรือจนน้ำหนักคงที่ โดยให้ค่าความชื้นมีความคลาดเคลื่อนได้ร้อยละ 0.2
5. ชั่งน้ำหนักถ้วยอลูมิเนียมพร้อมตัวอย่างแล้วหักลบด้วยน้ำหนักของถ้วยอลูมิเนียมเปล่าจะได้น้ำหนักของตัวอย่างหลังอบ

$$\text{ปริมาณความชื้น (\%) (wet basis)} = \frac{(\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ} - \text{น้ำหนักของตัวอย่างหลังอบ})}{\text{น้ำหนักของตัวอย่างก่อนอบ}} \times 100$$

ภาคผนวก ก.2 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนทั้งหมด (crude protein) ตามวิธีของ AOAC (1995)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องย่อยโปรตีน (Buchi รุ่น K-424, Switzerland)
2. เครื่องกลั่นไนโตรเจน (Buchi รุ่น B-324, Switzerland)

สารเคมี

1. สารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น
2. สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1N
3. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 35%
4. สารละลายกรดบอริกเข้มข้น 4%

5. สารผสมซีลีเนียม (selenium mixture)
6. อินดิเคเตอร์ (สารละลายเมทิลเรดเข้มข้น 0.2% ปริมาตร 50 mL ผสมกับสารละลายเมธิลีนบลูเข้มข้น 0.2% ปริมาตร 25 mL)

วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 2 กรัม ลงบนกระดาษกรองเบอร์ 1 แล้วเติมสารผสมซีลีเนียมเพื่อเร่งปฏิกิริยาประมาณ 5 กรัม ห่อกระดาษกรองแล้วใส่ลงในหลอดย่อย
2. เติมสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้นปริมาตร 20 mL ลงในหลอดย่อย
3. ทำ blank โดยการใช้น้ำกลั่น 2 mL แทนตัวอย่าง แล้ววิเคราะห์เช่นเดียวกัน
4. ต่อหลอดย่อยโปรตีนเข้ากับเครื่องย่อยโปรตีน เปิดเตาให้ความร้อนที่เบอร์ 8 ย่อยจนได้สารละลายสีเขียวอ่อนใส
5. ปิดเตาย่อยแล้วยกหลอดออกจากเครื่องย่อยแล้วทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
6. นำหลอดย่อยโปรตีนและขวดรูปชมพู่ที่เติมอินดิเคเตอร์ 2-3 หยด ไปต่อเข้ากับเครื่องกลั่นไนโตรเจน กำหนดภาวะกลั่น ดังนี้
   - สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 35% ปริมาตร 60 mL
   - สารละลายกรดบอริกเข้มข้น 4% ปริมาตร 50 mL
   - น้ำกลั่น ปริมาตร 50 mL
   - เวลาในการกลั่น 5 นาที
7. ระหว่างการกลั่นจะเกิดแอมโมเนีย และแอมโมเนียที่เกิดขึ้นจะถูกจับไว้ด้วยสารละลายกรดบอริกได้สารละลายสีเขียว นำสารละลายในขวดรูปชมพู่ที่ได้จากการกลั่นไปไตเตรทด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1N (ทราบความเข้มข้นที่แน่นอน) จนกระทั่งถึงจุดยุติได้สารละลายสีม่วงแดง จดปริมาตรสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไตเตรตไปคำนวณหาปริมาณโปรตีน

$$\text{ปริมาณไนโตรเจน (\%)} = \frac{(V-B)\times N \times 1.4 \times 100}{\text{น้ำหนักแห้งตัวอย่าง}}$$

$$\text{ร้อยละปริมาณโปรตีน (dry basis)} = \text{ร้อยละปริมาณไนโตรเจน} \times 5.95$$

เมื่อ V คือ ปริมาตรของสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไตเตรตตัวอย่าง
B คือ ปริมาตรของสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไตเตรต blank
N คือ ความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายกรดไฮโดรคลอริก

ภาคผนวก ก.3 การวิเคราะห์ปริมาณไขมันทั้งหมด (crude fat) ตามวิธีของ AOAC (1995)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องสกัดไขมัน (Soxhlet extractor)
2. ตู้อบลมร้อน (Memmert รุ่น model 600, Germany)
3. เครื่องระเหย (Rotary vacuum evaporator, EYELA รุ่น N-N series, Japan)

สารเคมี

1. ปิโตรเลียมอีเทอร์

วิธีวิเคราะห์

1. นำขวดก้นกลมขนาด 250 mL มาอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 100±5°C จนแห้งสนิทแล้วทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์ ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนเก็บไว้
2. ชั่งตัวอย่างที่อบแห้งแล้วให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 2 กรัม ห่อด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1
3. ใส่ตัวอย่างที่ห่อด้วยกระดาษกรองลงในทิมเบิลแล้วนำไปประกอบเข้ากับชุดสกัดไขมัน โดยใช้ปิโตรเลียมอีเทอร์ ปริมาตร 200 mL เป็นตัวสกัด
4. สกัดไขมันเป็นเวลา 3 ชั่วโมง
5. นำขวดก้นกลมที่ได้จากการสกัดไประเหยปิโตรเลียมอีเทอร์ด้วยเครื่องระเหยจนหมด
6. นำขวดก้นกลมไปอบในในตู้อบที่อุณหภูมิ 100±5°C จนแห้งสนิท แล้วทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์ ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของขวดก้นกลมหลังการสกัดไขมันเพื่อนำไปคำนวณหาปริมาณไขมันทั้งหมดในตัวอย่าง

$$\text{ปริมาณไขมันทั้งหมด (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักขวดก้นกลมหลังสกัด} - \text{น้ำหนักขวดก้นกลมก่อนสกัด} \times 100}{\text{น้ำหนักของตัวอย่าง}}$$

ภาคผนวก ก.4 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า ตามวิธีของ AOAC (1995)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เตาเผา (Muffle furnace, Carbolite รุ่น CWF 1200, England)
2. ครูซิเบิล (Crucible)

วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 2 กรัม ใส่ในครูซิเบิลที่เผาและทราบน้ำหนักที่แน่นอนแล้ว

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. นำตัวอย่างไปเผาโดยใช้ hot plate ในตู้ดูดควันจนกระทั่งตัวอย่างหมดควัน
3. นำตัวอย่างเข้าเผาในเตาเผา ที่อุณหภูมิ 550°C จนกระทั่งได้เถ้าสีขาว
4. ทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์ 1 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักเถ้าที่ได้และคำนวณปริมาณเถ้า

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

ภาคผนวก ก.5 การวิเคราะห์ปริมาณอมัยโลสด้วยวิธี spectrophotometry ตามวิธีของ Juliano (1981)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่อง spectrophotometer (Spectronic® 20 Genesys, USA)
2. เครื่อง magnetic stirrer และ magnetic bar

สารเคมี

1. เอทิลแอลกอฮอล์ 95%
2. สารละลายกรดอะซิติกเข้มข้น 1 N
3. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1 N
4. สารละลายไอโอดีน เตรียมจาก I_2 0.2 g และ KI 2.0 g ละลายในน้ำกลั่น 100 mL

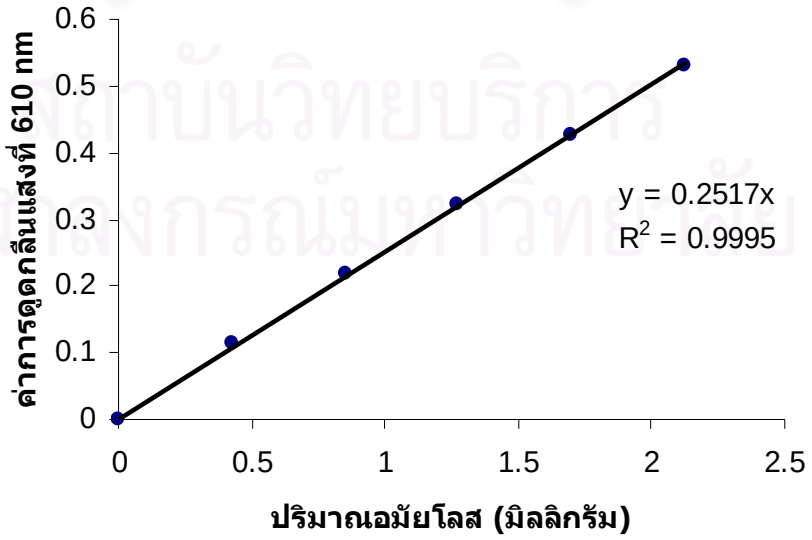
วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งน้ำหนักแป้งข้าวประมาณ 0.1000 กรัม ใส่ลงในขวดปริมาตรขนาด 100 mL ที่แห้งสนิท
2. เติมเอทิลแอลกอฮอล์ 95% ปริมาตร 1 mL เขย่าเบาๆ เพื่อเกลี่ยให้แป้งกระจายออก อย่าเขย่าแรงเพราะจะทำให้แป้งขึ้นไปเกาะตามผนังขวด
3. เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ปริมาตร 9 mL โดยในขณะเติมสารละลายนี้ให้ล้างแป้งที่เกาะติดตามคอขวดและผนังด้วย
4. ใส่แท่งแม่เหล็กลงในขวดปริมาตรแล้วนำไปปั่นบนเครื่อง magnetic stirrer นาน 10 นาที จากนั้นนำแท่งแม่เหล็กออกจากขวดปริมาตรโดยให้ล้างแท่งแม่เหล็กด้วยน้ำกลั่นก่อนนำออกจากขวด
5. ปรับปริมาตรให้ได้ 100 mL ด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน
6. เตรียมขวดปริมาตรเปล่าขนาด 100 ml เติมน้ำกลั่นประมาณ 70 mL สารละลายกรดอะซิติก ปริมาตร 2 mL และสารละลายไอโอดีน ปริมาตร 2 mL

7. ดูดน้ำแป้งจากขวดปริมาตรในข้อที่ 5 ปริมาตร 5 mL ใส่ลงในขวดปริมาตรที่เตรียมไว้ในข้อ 6 ปรับปริมาตรให้ได้ 100 mL ด้วยน้ำกลั่น ปิดจุกและเขย่าขวด แล้วตั้งทิ้งไว้ 10 นาที (blank ไม่ต้องใส่น้ำแป้ง)
8. นำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง 610 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ไปคำนวณหาปริมาณอมัยโลสโดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน

การเขียนกราฟมาตรฐานอมัยโลส

1. ชั่งอมัยโลสบริสุทธิ์ประมาณ 0.0400 กรัม ใส่ในขวดปริมาตรขนาด 100 mL แล้วดำเนินการเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ปริมาณอมัยโลสในตัวอย่างในข้อที่ 2-5 ได้เป็นสารละลายมาตรฐาน
2. เตรียมขวดปริมาตรเปล่าขนาด 100 mL จำนวน 5 ขวด เติมน้ำกลั่นขวดละประมาณ 70 mL เติมสารละลายกรดอะซิติกปริมาตร 0.4, 0.8, 1.2, 1.6 และ 2.0 mL ตามลำดับและเติมสารละลายไอโอดีนขวดละ 2 mL
3. ดูดสารละลายมาตรฐานปริมาตร 1, 2, 3, 4 และ 5 mL ใส่ลงในขวดปริมาตรที่เตรียมไว้ในข้อ 2 ตามลำดับ
4. ปรับปริมาตรให้ได้ 100 mL ด้วยน้ำกลั่น ปิดจุกแล้วเขย่าขวด
5. นำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแสง 610 นาโนเมตร
6. เขียนกราฟมาตรฐานระหว่างค่าปริมาณอมัยโลส (แกน y) กับค่าการดูดกลืนแสง (แกน x)
7. เทียบค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างกับกราฟมาตรฐานอมัยโลส (รูปที่ ก. 1)



รูปที่ ก. 1 กราฟมาตรฐานอมัยโลส

ภาคผนวก ก.6 การวิเคราะห์ปริมาณเม็ดแป้งที่เสียหายด้วย Damaged starch test kits ซึ่งอ้างอิงวิธีของ AACC (1995)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Heto Lab equipment, รุ่น DT-1, Denmark)
2. เครื่อง Vortex mixture (Vortex-2 Genie, USA)
3. เครื่อง spectrophotometer (Spectronic® 20 Genesys, USA)
4. นาฬิกาจับเวลา

สารเคมี

1. เอนไซม์ fungal ∝-amylase
2. เอนไซม์ amyloglucosidase
3. สารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.2%
4. sodium acetate buffer pH 5.0
5. สารละลายมาตรฐานกลูโคส (150 ไมโครกรัม/ 0.1 mL)
6. glucose oxidase/ peroxidase reagent (GOPOD)

วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งแป้งข้าวให้ได้น้ำหนักแน่นอนประมาณ 100 มิลลิกรัม ใส่ในหลอดทดลอง
2. แช่ในอ่างน้ำที่ควบคุมอุณหภูมิ 40°C ประมาณ 5 นาที เพื่ออุ่นแป้ง
3. เติมเอนไซม์ fungal ∝-amylase ปริมาตร 1.0 mL (ก่อนใช้อุ่นที่อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 5-10 นาที) ผสมให้เข้ากันทันทีด้วย vortex mixture แล้วบ่มในอ่างน้ำที่ควบคุมอุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 10 นาที (จับเวลาตั้งแต่เริ่มใส่เอนไซม์)
4. เติมสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.2% ปริมาตร 8.0 mL เพื่อหยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์แล้วกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 41
5. ดูดสารละลายที่กรองได้ใส่ในหลอดทดลอง 2 หลอดๆ ละ 0.1 mL
6. เติมเอนไซม์ amyloglucosidase ปริมาตร 0.1 mL แล้วบ่มในอ่างน้ำที่ควบคุมอุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 10 นาที แล้วเติมสารละลาย GOPOD ปริมาตร 4.0 mL
7. เตรียม reagent blank ซึ่งประกอบด้วย sodium acetate buffer ปริมาตร 0.2 mL และสารละลาย GOPOD ปริมาตร 4.0 mL
8. เตรียมสารละลายกลูโคส 150 ไมโครกรัม ประกอบด้วยสารละลายมาตรฐานกลูโคส (ความเข้มข้น 150 ไมโครกรัม/ 0.1 mL) ปริมาตร 0.1 mL sodium acetate buffer ปริมาตร 0.1 mL และสารละลาย GOPOD ปริมาตร 4.0 mL

9. บ่มสารละลายข้อ 7-9 ในอ่างน้ำที่ควบคุมอุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 20 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 nm

$$\text{เม็ดแป้งที่เสียหาย (\%)} = \frac{\Delta E \times (150/w) \times 8.1}{\Delta E \text{ glu}}$$

ΔE = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

ΔE glu = ค่าการดูดกลืนแสงของกลูโคส (150 ไมโครกรัม)

w = น้ำหนักตัวอย่าง (มิลลิกรัม)

ภาคผนวก ก.7 การวิเคราะห์สมบัติทางความร้อนด้วยเครื่อง Differential Scanning Calorimeter (DSC) ดัดแปลงวิธีของ Kim และคณะ (1995)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่อง Differential Scanning Calorimeter (Perkin-Elmer รุ่น Diamond-DSC, USA) ที่ต่อเชื่อมกับ Pyris™ operation software
2. เครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Ohaus รุ่น Explorer, Switzerland)

วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่างแป้งให้ได้น้ำหนักแห้งประมาณ 2.5 มิลลิกรัม ใส่ลงใน DSC volatile sample pan จากนั้นเติมน้ำกลั่นให้ได้น้ำหนักรวม 10 มิลลิกรัม (อัตราส่วนแป้ง : น้ำ เท่ากับ 1 : 3)
2. ปิดผนึก pan ด้วยเครื่องปิดผนึก แล้วเก็บ pan ที่ปิดผนึกแล้ว ไว้ที่อุณหภูมิห้องข้ามคืน
3. วิเคราะห์ตัวอย่างด้วย DSC โดยกำหนดภาวะการวิเคราะห์ ดังนี้
   - คงไว้ที่อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 1.0 นาที
   - เพิ่มอุณหภูมิจาก 25°C เป็น 90°C ด้วยอัตรา 10°C / นาที
   - คงไว้ที่อุณหภูมิ 90°C เป็นเวลา 1.0 นาที
4. คำนวณค่าต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดเจลาติไนเซชัน โดยใช้ระบบ Autocalculation ของ Pyris™ operation software และบันทึกค่าต่างๆ ได้แก่
   - อุณหภูมิเริ่มต้นของการเกิดเจลาติไนเซชัน (onset temperature, T_o หน่วย °C)
   - อุณหภูมิที่ heat flow มีค่าสูงสุด (peak temperature, T_p)

- อุณหภูมิสุดท้ายของการเกิดเจลาติไนเซชัน (conclusion temperature, T_C)
- เอนทาลปีของการเกิดเจลาติไนเซชัน (ΔH หน่วย J/g)

ภาคผนวก ก.8 การวิเคราะห์สมบัติทางความหนืดด้วยเครื่อง Rapid Visco Analyzer ตามวิธีมาตรฐานของเครื่องมือ

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่อง Rapid Visco Analyzer (RVA-3D$^+$, Newport Scientific, Australia)

วิธีวิเคราะห์

1. เตรียมน้ำแป้ง โดยชั่งแป้งข้าว 3.0 กรัม (น้ำหนักแห้ง) เติมน้ำกลั่นปริมาตร 25 mL จากนั้นกวนผสมให้เข้ากัน
2. กำหนดภาวะการวิเคราะห์สำหรับแป้งข้าว ตามโปรแกรมมาตรฐานในเครื่องมือ ดังนี้
   - อุณหภูมิเริ่มต้น 50°C
   - คงไว้ที่อุณหภูมิ 50°C 1.0 นาที
   - เพิ่มอุณหภูมิจาก 50°C เป็น 95°C ด้วยอัตรา 12 °C / นาที
   - คงไว้ที่อุณหภูมิ 95 °C 2.5 นาที
   - ลดอุณหภูมิจาก 95°C เป็น 50°C ด้วยอัตรา 12°C / นาที
   - คงไว้ที่อุณหภูมิ 50°C 2.0 นาที

   ความเร็วรอบการกวนผสม 160 รอบต่อนาที

รายงานการวิเคราะห์เป็นค่าต่างๆ ดังนี้

Pasting temperature : อุณหภูมิที่เริ่มเปลี่ยนแปลงค่าความหนืดหรือมีความหนืดเพิ่มขึ้น 2 RVU ในเวลา 20 วินาที

Peak time : เวลาที่เกิดจุดสุงสุดของความหนืด

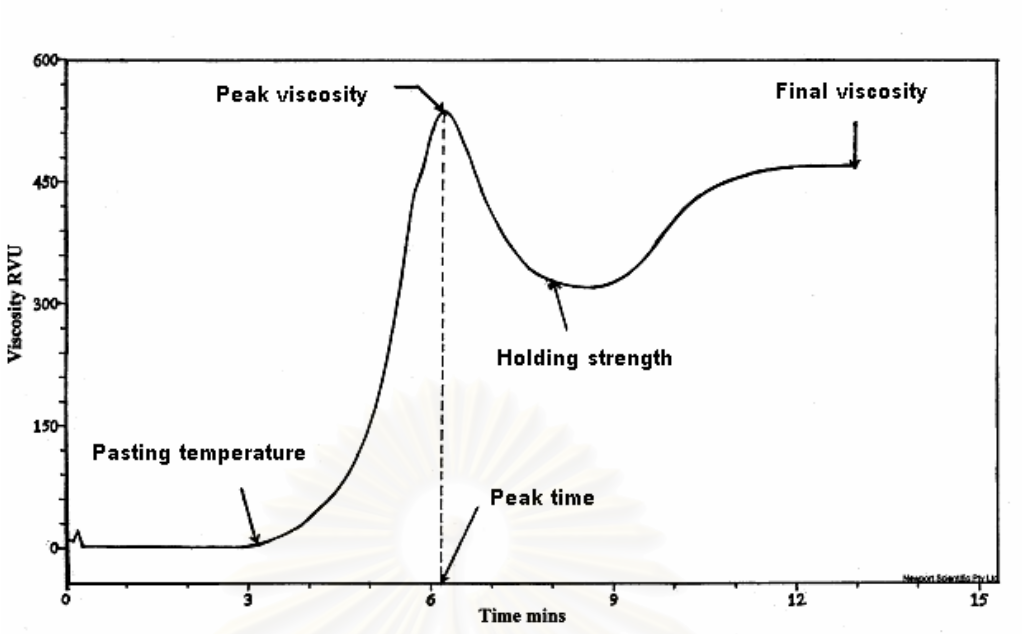
Peak viscosity : ความหนืดสูงสุดระหว่างกระบวนการให้ความร้อน

Holding strength : ความหนืดที่จุดสุดท้ายของการให้ความร้อนที่ 95°C

Final viscosity : ความหนืดสุดท้ายของการทดลอง

Breakdown : Peak viscosity - Holding strength

Setback : Final viscosity - Holding strength



รูปที่ ก.2 ตัวอย่างกราฟจากการวิเคราะห์สมบัติทางความหนืดของสตาร์ชด้วย RVA

ภาคผนวก ก.9 การวิเคราะห์กำลังการพองตัวและการละลาย (swelling power and solubility) **ดัดแปลงวิธีของ** Schoch (1964)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge Thermo IEC รุ่น IEC Multi-RF, USA)
2. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Memmert รุ่น E350, Germany)
3. ตู้อบลมร้อน (WTBbinder, Germany)

วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่างสตาร์ช 0.5 กรัม (น้ำหนักแห้ง) ใส่ในหลอดพลาสติกสำหรับปั่นเหวี่ยงที่ทราบน้ำหนักแล้ว
2. เติมน้ำกลั่นปริมาตร 20 mL
3. แช่ในอ่างน้ำร้อนที่ควบคุมอุณหภูมิ 50 60 70 80 และ 90°C กวนตลอดเวลาเป็นเวลา 30 นาที
4. นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที
5. เทส่วนของเหลวชั้นบนใส่ในถ้วยอะลูมิเนียมที่ทราบน้ำหนัก แล้วนำไปอบให้แห้งสนิทในตู้อบที่อุณหภูมิ 130°C ชั่งน้ำหนักเป็นส่วนที่ละลายน้ำ

6. ชั่งน้ำหนักส่วนของแป้งเปียกในหลอดเป็นน้ำหนักสตาร์ชที่พองตัว คำนวณตามสูตรดังนี้

$$\text{ร้อยละการละลาย} = \frac{\text{น้ำหนักส่วนที่ละลายน้ำ} \times 100}{\text{น้ำหนักสตาร์ชเริ่มต้น}}$$

$$\text{กำลังการพองตัว (กรัม/ กรัมสตาร์ช (db))} = \frac{\text{น้ำหนักสตาร์ชที่พองตัวแล้ว} \times 100}{\text{น้ำหนักสตาร์ชเริ่มต้น} \times (100 - \text{ร้อยละการละลาย})}$$

ภาคผนวก ก.10 การวิเคราะห์ค่าสีในระบบ Hunter (L*, a, b) ด้วยเครื่อง Chromameter

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องวัดสี (Minolta CR-300, Japan)

วิธีวิเคราะห์

1. ใส่ตัวอย่างสตาร์ชลงในภาชนะเกลี่ยให้เสมอกัน
2. กำหนดให้เครื่องวัดสีวัดค่าสีของตัวอย่างในระบบสี L*, a, b และคำนวณค่าเฉลี่ยของค่าสี
3. วัดค่าสีของสตาร์ช โดยกดปุ่ม measure จากนั้นรอให้เกิดการ reflect ของแสงครบ 3 ครั้ง

ภาคผนวก ก.11 การตรวจสอบลักษณะการกระจายตัวและพื้นผิวเม็ดแป้งด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็คตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscopy, SEM)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. กล้องจุลทรรศน์อิเล็คตรอนแบบส่องกราด (JEOL รุ่น JSM-6480 LV, Japan)
2. เครื่องฉาบทอง (ion sputter) (SPI-Module Sputter Coater)

วิธีวิเคราะห์

1. นำตัวอย่างแป้งติดบน stub โดยใช้เทปกาวสองหน้า แล้วฉาบผิวด้วยทอง
2. บันทึกภาพของตัวอย่างด้วย SEM ควบคุมที่ 15 kV โดยใช้กำลังขยาย 1,000 และ 5,000 เท่า
3. วิเคราะห์การกระจายตัวและลักษณะพื้นผิวของเม็ดแป้งจากภาพที่บันทึกได้

ภาคผนวก ก.12 การวิเคราะห์สมบัติการละลายของโปรตีน ตามวิธีของ AACC (1995)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge Thermo IEC รุ่น IEC Multi-RF, USA)
2. เครื่อง magnetic stirrer และ magnetic bar

วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งโปรตีนให้ได้น้ำหนักแน่นอนประมาณ 1.5 กรัม ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 60 mL
2. กวนด้วย magnetic stirrer เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง
3. นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 1500 rpm เป็นเวลา 10 นาที
4. เทน้ำส่วนใสออก แล้วนำน้ำส่วนใสที่ได้ไปหาปริมาณไนโตรเจน ดังภาคผนวก ก.2

$$\text{ร้อยละการละลายของโปรตีน} = \frac{\text{\% โปรตีนส่วนที่ละลายในน้ำ} \times 100}{\text{\% โปรตีนทั้งหมดในตัวอย่าง}}$$

ภาคผนวก ก.13 การวิเคราะห์สมบัติการจับกับน้ำของโปรตีน ดัดแปลงวิธีของ Beuchat (1977)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge Thermo IEC รุ่น IEC Multi-RF, USA)
2. เครื่องเขย่า (Gyrotary® Shaker-Model G2, USA)

วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งโปรตีนให้ได้น้ำหนัก 0.5 กรัม ใส่ในหลอดปั่นเหวี่ยงที่ทราบน้ำหนักแล้ว เติมน้ำกลั่นปริมาตร 10 mL
2. นำเข้าเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 500 rpm เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
3. ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 8000 rpm เป็นเวลา 15 นาที
4. รินส่วนใสทิ้ง แล้วเอียงให้สะเด็ดน้ำ
5. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่เหลือในหลอด

$$\text{ความสามารถในการจับกับน้ำ (กรัมน้ำ / กรัมโปรตีน (db))} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างหลังเขย่า-น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}}$$

ภาคผนวก ก.14 การวิเคราะห์สมบัติการจับกับน้ำมันของโปรตีน ดัดแปลงวิธีของ Beuchat (1977)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge Thermo IEC รุ่น IEC Multi-RF, USA)
2. เครื่องเขย่า (Gyrotary® Shaker-Model G2, USA)

วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งโปรตีนให้ได้น้ำหนัก 0.5 กรัม ใส่ในหลอดปั่นเหวี่ยงที่ทราบน้ำหนักแล้วเติมน้ำมันข้าวโพดบริสุทธิ์ปริมาตร 10 mL
2. นำเข้าเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 350 rpm เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
3. ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3000 rpm เป็นเวลา 15 นาที
4. รินส่วนใสทิ้ง แล้วเอียงให้สะเด็ดน้ำ
5. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่เหลือในหลอด

$$\text{ความสามารถในการจับกับน้ำมัน (กรัมน้ำมัน / กรัมโปรตีน (db))} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างหลังเขย่า-น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}}$$

ภาคผนวก ก.15 การวิเคราะห์สมบัติการเกิดโฟมของโปรตีน ดัดแปลงวิธีของ Kato, Lee และ Kobayashi (1989)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่อง hand homogenizer (Ystral Homogenizer รุ่น X10/25, Netherlands)

วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งโปรตีนให้ได้น้ำหนักแน่นอน 0.05 กรัม ผสมกับสารละลาย phosphate buffer เข้มข้น 0.05 M pH 7.4 ปริมาตร 25 mL
2. ปั่นผสมด้วยเครื่อง hand homogenizer ที่ความเร็วรอบเบอร์ 5 เป็นเวลา 10 นาที
3. วัดปริมาตรที่เวลา 0 นาที หลังการปั่นผสม คำนวณค่า foaming capacity จากสูตร
4. ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที แล้ววัดปริมาตร คำนวณค่า foaming stability จากสูตร

$$\text{Foaming capacity (\%)} = \frac{(\text{ปริมาตรหลังการปั่นผสม} - \text{ปริมาตรเริ่มต้น}) \times 100}{\text{ปริมาตรเริ่มต้น}}$$

Foaming stability (นาที) = $\Delta t \times (V_0/\Delta V)$

ΔV = ปริมาตรที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อเวลาผ่านไป 30 นาที

Δt = เวลาที่เปลี่ยนแปลงไป (30 นาที)

V_0 = ปริมาตรที่เวลา 0 นาที

ภาคผนวก ก.16 การวิเคราะห์สมบัติการเกิดอิมัลชันของโปรตีน ดัดแปลงจากวิธีของ Pearce และ Kinsella (1978)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่อง hand homogenizer (Ystral Homogenizer รุ่น X10/25, Netherlands)
2. เครื่อง spectrophotometer (Jasco V-530, Japan)

วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งโปรตีนให้ได้น้ำหนัก 0.2 กรัม เติมน้ำกลั่นปริมาตร 20 mL
2. ปรับ pH เป็น 7.0
3. เติมน้ำมันถั่วเหลืองปริมาตร 2.0 mL
4. ปั่นผสมด้วย hand homogenizer ที่ความเร็วเบอร์ 6 เป็นเวลา 5 นาที
5. ปิเปตสารละลายมา 50 ไมโครลิตร ที่เวลา 0 และ 10 นาที หลังการปั่นผสม แล้วเติมสารละลาย SDS เข้มข้น 0.1% ปริมาตร 5 mL
6. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 nm
7. คำนวณค่า emulsion activity และ emulsion stability จากสูตร

Emulsion activity (A_{500}) = ค่าการดูดกลืนแสงที่เวลา 0 นาที

Emulsion stability (นาที) = $\Delta t \times (T_0/\Delta T)$

ΔT = ค่าการดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อเวลาผ่านไป 10 นาที

Δt = เวลาที่เปลี่ยนแปลงไป (10 นาที)

T_0 = ค่าการดูดกลืนแสงที่เวลา 0 นาที

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก.17 การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบในโปรตีน ตามวิธีของ Shimadzu (2004)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่อง High Performance Liquid Chromatograph Amino Acid Analysis model LC-6A, Japan
2. ชุดหลอดย่อยสุญญากาศ (reaction tube set)
3. sand bath
4. เครื่องดูดอากาศ (aspirator)

สารเคมี

1. Alkaline buffer pH 10 (0.384 M Sodium carbonate + 0.216 M Boric acid + 0.108 M Potassium sulphate)
2. Diluent sample และ Diluent standard solution (0.2 N Sodium citrate + 1.5% Perchloric acid + 0.05% n-caprylic acid, pH 2.2)
3. Amino acid standard (Pierce chemical company)

ก.) การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดอะมิโน (ยกเว้นทริปโตเฟน)

วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน (ประมาณ 0.2 กรัม) ใส่ลงในหลอดย่อยสุญญากาศ เติมสารละลาย 6 N HCl ปริมาตร 4 mL ดูดอากาศออกจากหลอดย่อย แล้วปิดผนึกหลอดย่อยภายใต้ภาวะสุญญากาศ
2. ย่อยตัวอย่างใน sand bath ที่อุณหภูมิ 110°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วทิ้งให้เย็น
3. เทใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 mL ปรับปริมาตรด้วยสารละลายเพื่อเจือจางตัวอย่าง (diluent sample) แล้วกรองด้วยกระดาษกรอง เบอร์ 41
4. ฉีดสารละลายที่กรองได้ปริมาตร 20 μL เข้าเครื่อง HPLC (amino acid analyzer) โดยมีภาวะในการวิเคราะห์ ดังนี้

Columm : Shim-pack ISC-07/S 1504 Na (packed with cation exchanger consist of sulphonate syrene divinyl benzene copolymer)

Mobile phase : A = 0.2 N sodium citrate (containing 7% EtOH, pH 3.2)
B = 0.6 N sodium citrate + 0.2 N boric acid, pH 10
C = 0.2 N sodium hydroxide

Flow rate : 0.3 mL/ min.

Detector : Fluorescence detector

Reaction temperature : 55°C

Flow rate of reaction reagent = 0.3 mL/ min.

Reaction reagent

reaction A = 0.4 mL commercial sodium hypochlorite/ 1L alkaline buffer

reaction B = 0.8 g o-phthal aldehyde/ 14 mL EtOH

0.4 g polyoxyethylene lauryl ether (Brij-35)

1.0 g n-acetyl-L-cysteine

add to 1L alkaline buffer

5. คำนวณปริมาณกรดอะมิโนแต่ละชนิด จากสูตร

$$\text{ปริมาณกรดอะมิโนแต่ละชนิด (mg/ 100 g โปรตีน)} = \frac{\text{MW} \times \text{area sample} \times \text{DF} \times \text{total volume } (\mu\text{L}) \times 100}{\text{area std. amino acid} \times \text{wt. of protein (g)} \times 20 \times 10^6 \times 2}$$

MW = น้ำหนักโมเลกุลของกรดอะมิโนแต่ละชนิด

DF = dilution factor

wt. of protein = น้ำหนักของโปรตีนที่มีในตัวอย่าง (db)

ข.) การวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนทริปโตเฟน

วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน (ประมาณ 0.2 กรัม) ใส่ลงในหลอดย่อย เติมสารละลาย 4.2 N NaOH ปริมาตร 4 mL ดูดอากาศออกจากหลอดย่อยแล้วปิดผนึกหลอดย่อยภายใต้ภาวะสุญญากาศ
2. ย่อยตัวอย่างใน sand bath ที่อุณหภูมิ 110°C เป็นเวลา 20 ชั่วโมง แล้วทิ้งให้เย็น
3. ปรับให้เป็นกลางด้วยสารละลาย 4.2 N HCl เทใส่ขวดปริมาตร 25 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น
4. กรองสารละลายด้วยกระดาษกรอง เบอร์ 41
5. ฉีดสารละลายที่กรองได้ปริมาตร 20 μL เข้าเครื่อง HPLC (amino acid analyzer) โดยมีภาวะในการวิเคราะห์ ดังนี้

Columm : Shim-pack ISC-07/S 1504 Na (packed with cation exchanger consist of sulphonate syrene divinyl benzene copolymer)

Mobile phase : 0.6 N sodium citrate + 0.2 N boric acid, pH 9

Flow rate : 0.3 mL/ min.

Detector : Fluorescence detector

Reaction temperature : 55°C

Flow rate of reaction reagent = 0.3 mL/ min.

Reaction reagent : 0.8 g o-phthal aldehyde/ 14 mL EtOH add to 1L alkaline buffer

6. คำนวณปริมาณทริปโตเฟนจากสูตร

$$\text{ปริมาณทริปโตเฟน (mg/ 100 g โปรตีน)} = \frac{\text{area sample} \times \text{conc.std (mg/mL)} \times \text{DF} \times \text{total volume (mL)} \times 100}{\text{area std.} \times \text{wt. of protein (g)}}$$

DF = dilution factor

wt. of protein = น้ำหนักของโปรตีนที่มีในตัวอย่าง (db)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ตารางที่ ข.1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละโปรตีน ผลผลิต และเม็ดแป้งที่เสียหายในสตาร์ชข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนในขั้นตอนเดียวด้วยเอนไซม์ Neutrase®

Source of Variance	df	MS		
		% โปรตีน	% ผลผลิต	% เม็ดแป้งที่เสียหาย
ความเข้มข้นเอนไซม์ (A)	2	0.05 *	7.03 *	0.12 *
เวลาสกัด (B)	2	0.13 *	41.63 *	0.49 *
A* B	4	0.02 *	0.64	0.04 *
Error	9	0.01	1.40	0.01

* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละโปรตีน ผลผลิต และเม็ดแป้งที่เสียหายในสตาร์ชข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนในขั้นตอนเดียวด้วยเอนไซม์ bromelain

Source of Variance	df	MS		
		% โปรตีน	% ผลผลิต	% เม็ดแป้งที่เสียหาย
ความเข้มข้นเอนไซม์ (A)	2	0.05 *	0.02	0.01
เวลาสกัด (B)	2	0.02 *	10.65 *	0.12 *
A* B	4	0.01	2.13	0.01
Error	9	0.01	1.06	0.02

* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ข.3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละโปรตีน ผลผลิต และเม็ดแป้งที่เสียหายในสตาร์ชข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนในขั้นตอนเดียวด้วยเอนไซม์ Neutrase®

Source of Variance	df	MS		
		% โปรตีน	% ผลผลิต	% เม็ดแป้งที่เสียหาย
ความเข้มข้นเอนไซม์ (A)	2	0.43 *	3.78	0.32 *
เวลาสกัด (B)	2	0.19 *	54.17 *	0.15 *
A* B	4	0.03 *	5.91	0.01
Error	9	0.01	2.91	0.01

* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละโปรตีน ผลผลิต และเม็ดแป้งที่เสียหายในสตาร์ชข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนในขั้นตอนเดียวด้วยเอนไซม์ bromelain

Source of Variance	df	MS		
		% โปรตีน	% ผลผลิต	% เม็ดแป้งที่เสียหาย
ความเข้มข้นเอนไซม์ (A)	2	0.11 *	9.06 *	0.04 *
เวลาสกัด (B)	2	0.12 *	1.60	0.22 *
A* B	4	0.02 *	2.63	0.04 *
Error	9	0.001	1.47	0.003

* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ค

ข้อมูลผลการทดลองเพิ่มเติม

ตารางที่ ค.1 กำลังการพองตัว (กรัม/ กรัมสตาร์ช (db)) ของสตาร์ชข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว และสารละลาย 0.3% NaOH

อุณหภูมิ (°C)	ภาวะการสกัดโปรตีน		
	1.5% Neutrase® 8 ชั่วโมง	1.0% bromelain 6 ชั่วโมง	0.3% NaOH 0.5 ชั่วโมง
50 [ns]	2.68 (0.05)	2.99 (0.31)	2.87 (0.26)
60	5.56 [a] (0.37)	5.50 [a] (0.13)	6.53 [b] (0.16)
70	8.12 [a] (0.05)	8.44 [b] (0.16)	9.27 [c] (0.01)
80	9.63 [a] (0.13)	10.02 [a] (0.30)	12.90 [b] (0.73)
90	15.82 [a] (0.25)	16.14 [a] (0.47)	20.17 [b] (0.06)

ตัวเลขในวงเล็บแสดงค่า standard deviation

[a,b] ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในแถวเดียวกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

[ns] ตัวเลขในแถวเดียวกันมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

ตารางที่ ค.2 กำลังการพองตัว (กรัม/ กรัมสตาร์ช (db)) ของสตาร์ชข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว และสารละลาย 0.3% NaOH

อุณหภูมิ (°C)	ภาวะการสกัดโปรตีน		
	1.5% Neutrase® 8 ชั่วโมง	1.5% bromelain 8 ชั่วโมง	0.3% NaOH 1 ชั่วโมง
50 [ns]	2.55 (0.05)	2.64 (0.18)	2.61 (0.05)
60	2.70 [a] (0.11)	2.62 [a] (0.05)	3.05 [b] (0.01)
70	6.78 [ab] (0.16)	6.54 [a] (0.19)	7.09 [b] (0.08)
80	9.22 [a] (0.08)	9.46 [a] (0.23)	11.60 [b] (0.86)
90 [ns]	15.76 (0.78)	17.80 (0.41)	17.75 (1.52)

ตัวเลขในวงเล็บแสดงค่า standard deviation

[a,b] ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในแถวเดียวกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

[ns] ตัวเลขในแถวเดียวกันมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

ตารางที่ ค.3 ร้อยละการละลายของสตาร์ชข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว และสารละลาย 0.3% NaOH

อุณหภูมิ (°C)	ภาวะการสกัดโปรตีน		
	1.5% Neutrase® 8 ชั่วโมง	1.0% bromelain 6 ชั่วโมง	0.3% NaOH 0.5 ชั่วโมง
50	1.21 [b] (0.10)	0.75 [a] (0.09)	0.68 [a] (0.06)
60	1.85 [b] (0.13)	1.33 [a] (0.06)	1.19 [a] (0.07)
70	3.43 [b] (0.30)	2.50 [a] (0.03)	2.55 [a] (0.04)
80	4.43 [b] (0.11)	3.30 [a] (0.42)	3.87 [a] (0.25)
90	8.69 [a] (0.66)	7.19 [a] (0.27)	12.67 [b] (0.49)

ตัวเลขในวงเล็บแสดงค่า standard deviation

[a,b] ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในแถวเดียวกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ค.4 ร้อยละการละลายของสตาร์ชข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนเดียว และสารละลาย 0.3% NaOH

อุณหภูมิ (°C)	ภาวะการสกัดโปรตีน		
	1.5% neutrase® 8 ชั่วโมง	1.5% bromelain 8 ชั่วโมง	0.3% NaOH 1 ชั่วโมง
50	1.82 [c] (0.19)	0.48 [a] (0.02)	1.15 [b] (0.16)
60	1.86 [b] (0.11)	1.16 [a] (0.06)	1.42 [a] (0.19)
70	4.63 [b] (0.04)	3.51 [a] (0.04)	4.59 [b] (0.35)
80	7.36 [a] (0.65)	6.47 [a] (0.29)	10.42 [b] (1.42)
90 [ns]	17.96 (0.82)	19.40 (0.79)	19.76 (2.20)

ตัวเลขในวงเล็บแสดงค่า standard deviation

[a,b] ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในแถวเดียวกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

[ns] ตัวเลขในแถวเดียวกันมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวศิริกัญญา กุลสุวรรณ เกิดวันที่ 21 ธันวาคม พ.ศ. 2521 ที่จังหวัดร้อยเอ็ด สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร จากคณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ ในปี พ.ศ. 2544 แล้วเข้าทำงานในบริษัท ยู อาร์ ซี (ประเทศไทย) จำกัด เป็นเวลา 1 ปี และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ที่จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อ พ.ศ. 2546

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย