

การผลิตแป้งทนย่อยจากแป้งถั่วโดยการหมักร่วมกับพุลูลาเนสและการเกิดรีโทรเกรเดชัน

Production of Resistant Starch from Legume Flour by Co-Fermentation and Using Pullulanase and Retrogradation

สุทธิดา วิตนาลัย*

Suttida Wittanalai*

Received: March 2, 2024; Revised: August 9, 2024; Accepted: August 14, 2024

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการหมักร่วมกับการใช้พุลูลาเนสและการเกิดรีโทรเกรเดชันต่อปริมาณและคุณสมบัติของแป้งทนย่อยด้วยเอนไซม์ (Resistant Starch: RS) ในแป้งถั่ว โดยหมักแป้งฟลาวถั่ว (ถั่วเขียว ถั่วแดง และถั่วเหลือง) ด้วยการหมักธรรมชาติเป็นเวลา 1 วัน จากนั้นนำแป้งฟลาวถั่วที่ผ่านกระบวนการหมักมาตัดพันธะ α -1,6-Glycosidic Linkages ด้วยพุลูลาเนส (40 ยูนิตต่อกรัม) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 24 36 และ 48 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบระดับการย่อยด้วยพุลูลาเนส พบว่าระยะเวลาการบ่มเอนไซม์ที่เหมาะสมคือ 24 ชั่วโมง เมื่อนำฟลาวถั่วหมักที่ผ่านการตัดพันธะกึ่งมาบ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 3 5 7 และ 14 วัน พบว่าระยะเวลาการเกิดรีโทรเกรเดชันที่เหมาะสมคือ 14 วัน ซึ่งมีปริมาณ RS สูงที่สุด เมื่อนำแป้งทนย่อยของถั่วที่ผ่านการตัดแปรรูป ศึกษาลักษณะรูปร่างของเม็ดแป้งด้วยเครื่อง Scanning Electron Microscope (SEM) ไม่พบลักษณะเม็ดแป้ง และมีรูปร่างไม่แน่นอน เมื่อศึกษาโครงสร้างผลึก ด้วยเครื่อง X-Ray Diffractometer (XRD) พบว่าแป้งทนย่อยของถั่วทั้ง 3 ชนิด มีรูปร่างผลึกแบบ A จากผลการทดลองพบว่ากระบวนการที่ใช้ในการตัดแปรรูปทำให้ได้ปริมาณ RS เพิ่มขึ้น และลักษณะเม็ดแป้งและโครงสร้างผลึกที่เปลี่ยนแปลงไปทำให้ได้แป้งทนย่อยที่มีความหลากหลายที่จะนำไปประยุกต์ใช้เป็นส่วนประกอบของอาหารเพื่อสุขภาพได้

คำสำคัญ : แป้งทนย่อย; แป้งถั่ว; พุลูลาเนส; รีโทรเกรเดชัน

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรดิตถ์

Faculty of Science and Technology, Uttaradit Rajabhat University

* Corresponding Author; Tel. 08 9858 6805, E - mail: suttida_wit@uru.ac.th

Abstract

This research aimed to investigate the effect of fermentation and using pullulanase and retrogradation time on resistant starch (RS) content and properties of legume flour. The legume flours (mung bean, red kidney bean and soybean) were naturally fermented for 1 day and the fermented legume flours were debranched by hydrolyze the α -1,6-Glycosidic Linkages by pullulanase (40 U/g) at 50 °C for 12 24 36 and 48 hours. The optimal incubation time with high degree of pullulanase hydrolysis was 24 hours. The fermented debranched flours were then induced at 4 °C for 1 3 5 7 and 14 days. The results showed that the optimum retrogradation time was 14 days with high RS content. The modified resistant starch was analyzed its granule structure by Scanning Electron Microscope (SEM) and showed that there was not found the granule starch with an irregular shape. The crystalline structure of the modified resistant starch by X-Ray diffractometer (XRD) showed that all 3 kinds of legumes were A-type patterns. It was found from this study that the process used to modify the starch can increase the RS content with the different granule structure and crystalline structure, resulting in a variety of resistant starch that could be applied as food ingredients in healthy foods.

Keywords: Resistant Starch; Legume Flour; Pullulanase; Retrogradation

บทนำ

ถั่ว จัดว่าเป็นธัญพืชที่มีการบริโภคทั่วโลกในปริมาณสูง เนื่องจากมีราคาถูกและมีคุณค่าทางโภชนาการสูง องค์ประกอบของถั่วมีโปรตีนร้อยละ 16 - 33 มีเส้นใยอาหารร้อยละ 19 - 28 และยังมีวิตามิน เกลือแร่ และ กรดไขมันไม่อิ่มตัว ปัจจุบันมีการนำถั่วและผลิตภัณฑ์แปรรูปจากถั่วมาใช้ในการเพื่อสุขภาพเพิ่มมากขึ้น ซึ่งในอุตสาหกรรมอาหารนิยมนำถั่วมาแปรรูปเป็นผงแป้งก่อนนำไปใช้เป็นวัตถุดิบตั้งต้นในการผลิตผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ผงแป้งถั่วแต่ละชนิดมีความแตกต่างทั้งทางด้านองค์ประกอบ โครงสร้างภายใน คุณสมบัติ มีงานวิจัยที่นำแป้งถั่ว มาใช้ทดแทนในส่วนประกอบของอาหาร เช่น การใช้แป้งถั่วเหลืองพร้อมไขมันทดแทนแป้งสาลีในเค้กชิฟฟอน [1] และการนำแป้งถั่วแดงมาใช้ทดแทนแป้งสาลีในหมั่นโถว ซึ่งสามารถเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ให้กับหมั่นโถว [2] เป็นต้น

อาหารเพื่อสุขภาพ (Healthy Foods) หรืออาหารฟังก์ชัน (Functional Foods) กำลังได้รับความนิยม ในปัจจุบัน แป้ง (Starch) เป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญของมนุษย์และเป็นองค์ประกอบหลักของอาหารหลายชนิด แป้งสามารถถูกย่อยด้วยเอนไซม์และได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นกลูโคส ซึ่งจะดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือด นอกจากนี้ ยังมีแป้งอีกกลุ่มหนึ่งที่ไม่สามารถถูกย่อยด้วยเอนไซม์ในลำไส้เล็ก และไม่สามารถดูดซึมภายในลำไส้เล็กของมนุษย์ เรียกแป้งกลุ่มนี้ว่า แป้งหรือสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ (Resistant Starch) สามารถแบ่งแป้งทนย่อย ด้วยเอนไซม์ได้ 4 ประเภท ได้แก่ RS1 เป็นแป้งที่มีลักษณะกายภาพขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ พบในพืช ตระกูลถั่ว RS2 เป็นเม็ดแป้งดิบที่ทนต่อการทำงานของเอนไซม์ พบในแป้งกล้วยดิบ แป้งมันฝรั่งดิบ RS3 เป็นแป้งคืนตัว (Retrograded Starch) ที่ถูกนำมาให้ความร้อนจนเกิดเจลาติไนเซชัน เมื่อทำให้เย็นลงจะเกิดการเรียงตัวของอะไมโลสใหม่ และ RS4 เป็นแป้งที่เกิดจากการดัดแปรโดยใช้สารเคมีคลอสลิง [3] สมบัติ ของแป้งที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ คือ อนุภาคเล็ก ไม่มีรสชาติ การอุ้มน้ำต่ำ มีการพองตัวและความหนืดสูง และมีคุณสมบัติเทียบเท่ากับใยอาหาร [4] ทำให้สามารถนำไปใช้เป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์อาหาร เพื่อสุขภาพได้หลายชนิด

แหล่งของแป้งทนย่อยสามารถพบได้ในธัญพืช มันฝรั่ง พืชตระกูลถั่ว และกล้วย พืชตระกูลถั่ว นอกจากเป็นพืชที่มีโปรตีนปริมาณสูงแล้ว ยังมีปริมาณแป้งทนย่อยสูง ดังนั้นจึงมีการศึกษาเกี่ยวกับเทคนิคและสภาวะที่เหมาะสมของกระบวนการผลิตแป้งทนย่อยจากถั่ว กระบวนการผลิตแป้งทนย่อยนั้นสามารถทำได้โดยการตัดแปรงแป้งโดยใช้วิธีที่แตกต่างกันเพื่อเพิ่มปริมาณ RS ในพืชชนิดต่าง ๆ เช่น การใช้ความร้อนขึ้น การใช้เอนไซม์ในการย่อยแป้ง การใช้ความร้อนร่วมกับเอนไซม์ และกระบวนการหมัก เป็นต้น การหมักแป้งทางธรรมชาติจะมีแบคทีเรียกรดแลคติกที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการหมัก โดยแบคทีเรียจะผลิตเอนไซม์ย่อยแป้ง ซึ่งสามารถย่อยโมเลกุลแป้งได้เป็นน้ำตาล หรือโอลิโกแซคคาไรด์ ทำให้ปริมาณอะไมโลสเพิ่มขึ้น และเกิดการสร้างสารเมแทบอไลต์อื่น ๆ เช่น กรดแลคติก เอทานอล คาร์บอนไดออกไซด์ ไดอะซิดิล เป็นต้น จากการศึกษาของ [5] ได้ใช้กระบวนการหมักธรรมชาติในการย่อยแป้งข้าวพันธุ์เหลืองประทิวร่วมกับการให้ความร้อนและความชื้น โดยแป้งที่ผ่านการหมัก 1 วัน และผ่านกระบวนการให้ความร้อนร่วมกับความชื้นที่ระดับ 25 % และอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส ทำให้ปริมาณ RS สูงขึ้น นอกจากนี้การเพิ่มปริมาณ RS สามารถใช้พอลูลานเนสซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีความจำเพาะในการย่อยพันธะ α -1,6 Glycosidic Linkages ของโมเลกุลแป้งมีผลให้ปริมาณ RS เพิ่มขึ้น ซึ่งเมื่อใช้ร่วมกับการเกิดรีโทรเกรเดชัน (Retrogradation) ที่มีการให้ความร้อนจนแป้งเกิดเจลาติไนเซชันแล้วทำให้เย็นลงจะเกิดการเรียงตัวใหม่ของอะไมโลสจะทำให้ปริมาณ RS เพิ่มขึ้น และยังพบว่าสภาวะที่ใช้ในการเก็บรักษา สตาร์ชที่เกิดรีโทรเกรเดชัน ระยะเวลาและอุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษามีความสัมพันธ์กัน งานวิจัยของ [6] ได้นำสตาร์ชถั่วเขียว ถั่วดำ ถั่วแดงหลวงที่ผ่านการตัดพันธะ α -1,6-Glycosidic Linkages ด้วยพอลูลานเนสปริมาณ 0.02 มิลลิกรัมต่อกรัม ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 36 ชั่วโมง มาตัดแปรงร่วมกับกระบวนการให้ความร้อนขึ้น พบว่าสตาร์ชถั่วทั้งสามชนิดมีปริมาณแป้งทนย่อยเพิ่มสูงขึ้น

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนากระบวนการผลิตแป้งทนย่อยในพืชตระกูลถั่วด้วยกระบวนการหมักและการใช้พอลูลานเนสซึ่งทำหน้าที่ตัดพันธะ α -1,6-Glycosidic Linkages ของแป้งร่วมกับการเกิดรีโทรเกรเดชันเพื่อตัดแปรงแป้งจากถั่วให้มีปริมาณแป้งทนย่อยเพิ่มสูงขึ้น เพื่อการนำไปประยุกต์เป็นส่วนประกอบของอาหารในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพ (Functional Food) ที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงและเป็นการเพิ่มมูลค่าของพืชตระกูลถั่วที่ปลูกในประเทศไทย

วิธีดำเนินการ

1. การเตรียมแป้งฟลาวถั่วที่ผ่านกระบวนการหมัก

นำเมล็ดถั่วเขียว (*Vigna radiata*) ถั่วแดง (*Phaseolus vulgaris*) และถั่วเหลือง (*Glycine max*) มาล้างน้ำจนสะอาด แล้วนำไปแช่น้ำที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 ชั่วโมง เทน้ำทิ้งแยกเอาเปลือกออก แล้วนำถั่วแต่ละชนิดผสมกับน้ำ อัตราส่วนระหว่างถั่วกับน้ำเท่ากับ 1:2 ปั่นถั่วให้ละเอียดแล้วใส่ภาชนะแบบปิด หมักทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง เมื่อครบระยะเวลาหมักให้กรองน้ำทิ้งด้วยผ้าขาวบาง แล้วนำถั่วที่ผ่านการกรองใส่ถาดอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมง นำไปบดเป็นผง แล้วนำมาผ่านตะแกรงร่อนขนาด 100 Mesh ได้แป้งฟลาวถั่วที่ผ่านกระบวนการหมัก วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของแป้งฟลาวดั้งเดิม และแป้งฟลาวที่ผ่านการหมัก โดยวิเคราะห์ปริมาณอะไมโลส ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณแป้งทนย่อย

2. ศึกษาระยะเวลาตัดพันธะ α -1,6-Glycosidic Linkages ในแป้งฟลาวของพอลูลานเนสและระยะเวลาการเกิดรีโทรเกรเดชันในการผลิต RS

เตรียมสารแขวนลอยแป้งฟลาวที่ผ่านการหมักของถั่วเขียว ถั่วเหลือง ถั่วแดง เข้มข้นร้อยละ 8 โดยชั่งแป้งฟลาวถั่วตัวอย่างละ 8 กรัมใส่ในสารละลาย 0.1 โมลาร์ อะซิเตทบัฟเฟอร์ pH 5.2 ปริมาตร 100 มิลลิกรัม คนให้เข้ากันจากนั้นนำไปให้ความร้อนด้วยเครื่อง Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และเติมพอลูลานเนสที่มีความเข้มข้น 40 ยูนิตต่อกรัม เพื่อตัดสายกิ่ง (Debranching) ที่เกิดจากพันธะ α -1,6-Glycosidic Linkages แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ

50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 24 36 และ 48 ชั่วโมง จากนั้นนำไปให้ความร้อนด้วยเครื่อง Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที นำสารละลายแบ่งฟลาวที่ได้ตั้งทิ้งไว้จนมีอุณหภูมิเท่าอุณหภูมิห้อง นำแบ่งฟลาวที่ผ่านการตัดสายพันธะกึ่งที่ระยะเวลาต่าง ๆ ไปวิเคราะห์หาปริมาณการย่อยด้วยพุลูลาเนส (Degree of Pullulanase Hydrolysis; % D.H.) โดยวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณน้ำตาล (ดัดแปลงจากวิธีของ [4]) แล้วคำนวณค่า % D.H. ดังสมการที่ (1) เลือกระยะเวลาของเอนไซม์ที่ใช้ในการตัดสายพันธะกึ่งที่มีระดับการย่อยด้วยพุลูลาเนสสูงสุดไปใช้ในการทดลองต่อไป

$$\text{ระดับการย่อยด้วยพุลูลาเนส} = \frac{\text{ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์หลังจากถูกย่อยด้วยพุลูลาเนส}}{\text{ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดหลังจากถูกย่อยด้วยพุลูลาเนส}} \times 100 \quad (1)$$

% D.H.

นำแบ่งฟลาวที่ผ่านกระบวนการหมักแล้วตัดสายพันธะกึ่งด้วยพุลูลาเนสโดยใช้ระยะเวลาที่มีระดับการย่อยด้วยพุลูลาเนสสูงสุด ให้ความร้อนด้วย Autoclave อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 1 3 7 และ 14 วัน แล้วนำตัวอย่างไปทำแห้งด้วยเครื่องอบลมร้อน ร้อนผ่านตะแกรงขนาด 100 Mesh บรรจุในถุงอะลูมิเนียมฟอยด์ และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (ดัดแปลงจากวิธีของ [6]) จากนั้นนำแบ่งที่ผ่านการเกิดรีโทรเกรเดชันที่ผลิตได้ไปวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณ RS แล้วเลือกระยะเวลาการเก็บรักษาที่มีปริมาณ RS สูงที่สุดใช้เป็นสภาวะในการผลิตแป้งทนย่อยที่ผ่านกระบวนการหมัก ร่วมกับการใช้พุลูลาเนสและการเกิดรีโทรเกรเดชัน นำแป้งทนย่อยที่ได้วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี และลักษณะโครงสร้างของแป้งทนย่อยต่อไป

3. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

3.1 การวิเคราะห์ปริมาณ RS (ตามวิธีการของ [7]) วิเคราะห์ปริมาณ RS โดยการชั่งแบ่งฟลาวถั่ว 0.5 กรัม ลงในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6.0 ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน และเติมอะไมเลส 0.2 กรัม นำไปบ่มในอ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ทำให้เย็นแล้วปรับ pH ให้เท่ากับ 4.5 ด้วยสารละลายไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.275 นอร์มอล เติมอะไมโลกลูโคซิเดส 0.5 มิลลิลิตร นำไปบ่มในอ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที แล้วทำให้เย็น เติมสารละลายโปรติเอส 0.5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที จากนั้นนำไปเหวี่ยงแยกที่ 3,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ล้างตะกอน 2 ครั้ง ด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 85 และน้ำกลั่น ตามลำดับ กรองผ่านชุดกรองสุญญากาศ นำตะกอนที่เหลืออยู่ในกระดาศกรอง ไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 นาที จากนั้นนำน้ำหนักที่เหลืออยู่คำนวณหาปริมาณ RS ดังสมการที่ (2)

$$\text{ปริมาณ RS (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักของส่วนที่ไม่ละลายน้ำที่เหลืออยู่ (กรัม)}}{\text{น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)}} \times 100 \quad (2)$$

3.2 การวิเคราะห์ปริมาณอะไมเลส ตามวิธีการของ [8]

3.3 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยวิธี DNS Method [9] ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดโดยวิธี Phenol-sulfuric [10]

3.4 การวิเคราะห์โปรตีน แก้ว เส้นใย ไขมัน และความชื้น ตามวิธีการของ AOAC [11] และร้อยละคาร์โบไฮเดรต คำนวณจากสูตร = 100 - (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้งของโปรตีน + แก้ว + เส้นใย + ไขมัน + ความชื้น)

4. การศึกษาลักษณะโครงสร้างของแป้งทนย่อย

4.1 รูปร่างของเม็ดแป้ง ด้วยเครื่อง Scanning Electron Microscope (SEM) โดยนำตัวอย่างแป้งมากระจายลงบนแท่นตัวอย่าง ทำการเคลือบผิวหน้าตัวอย่างด้วยทอง นำตัวอย่างที่เตรียมเสร็จแล้วมาส่องด้วยเครื่อง SEM ที่กำลังขยาย 100 500 1,000 และ 5,000 เท่า โดยกำหนดค่า kV เท่ากับ 10

4.2 การกระจายตัวของเม็ดแป้ง ศึกษาขนาดและการกระจายตัวของเม็ดแป้งด้วยเครื่อง Laser Diffraction Particle Size Analyzer โดยใช้ He-Ne เป็นแหล่งกำเนิดคลื่นแสง การวัดครอบคลุมขนาดอนุภาค 1 - 3,000 ไมโครเมตร

4.3 รูปแบบโครงสร้างผลึก ด้วยเครื่อง X-Ray Diffractometer (XRD) กำหนดสภาวะตัวกำเนิด X-ray ที่ 40 kV และ 40 mA และมุมสแกน 2θ จาก $4^\circ - 45^\circ$ ในอัตราสแกน $0.1^\circ/\text{นาท}$

5. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) ในการวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของปริมาณอะไมโลส ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณ RS ระหว่างแป้งฟลาวักซ์ดั้งเดิม และแป้งฟลาวักซ์ที่ผ่านกระบวนการหมัก ใช้สถิติ T-Test โดยกำหนดนัยสำคัญที่ 0.05 (ช่วงความเชื่อมั่นร้อยละ 95) สำหรับการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของแป้งฟลาวักซ์ที่ผ่านกระบวนการหมัก ตัดกึ่งด้วยพลาสมาและการเกิดรีโทรเกรเดชัน วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้ Analysis of Variance (ANOVA) และวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลการวิจัย

1. ผลของการหมักต่อองค์ประกอบของแป้งฟลาวักซ์

องค์ประกอบของแป้งฟลาวักซ์เขียว ถั่วแดง และถั่วเหลืองดั้งเดิม และแป้งฟลาวักซ์ที่ผ่านกระบวนการหมัก ดังตารางที่ 1 พบว่า การหมักแป้งฟลาวักซ์เป็นระยะเวลา 1 วัน ส่งผลให้ปริมาณอะไมโลส และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้น ($p < 0.05$) เนื่องจากในกระบวนการหมักแป้งด้วยจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในธรรมชาติ ซึ่งแป้งฟลาวักซ์เขียวมีปริมาณอะไมโลสสูงที่สุด โดยเมื่อหมักแล้วแป้งฟลาวักซ์เขียวมีอะไมโลสร้อยละ 34.67 ± 1.00 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์พบในแป้งฟลาวักซ์แดงมากที่สุด เมื่อหมักแล้วแป้งฟลาวักซ์แดงมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 8.67 ± 0.06 มก./ก. ส่วนปริมาณ RS ในแป้งฟลาวักซ์ทั้ง 3 ชนิด มีแนวโน้มลดลงเมื่อผ่านกระบวนการหมัก ($p < 0.05$) ซึ่งแป้งฟลาวักซ์แดงมีปริมาณ RS สูงที่สุด เมื่อหมักแล้วมีปริมาณ RS ร้อยละ 25.06 ± 1.22

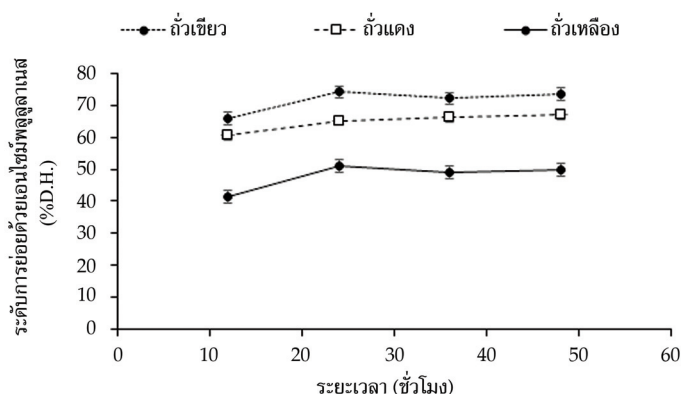
ตารางที่ 1 องค์ประกอบของแป้งฟลาวักซ์ดั้งเดิม และแป้งฟลาวักซ์ที่ผ่านกระบวนการหมัก

องค์ประกอบ	แป้งฟลาวักซ์		
	แป้งฟลาวักซ์เขียว	แป้งฟลาวักซ์แดง	แป้งฟลาวักซ์เหลือง
ปริมาณอะไมโลส (ร้อยละ)			
ดั้งเดิม	$32.01^b \pm 0.97$	$20.42^b \pm 0.88$	$10.82^b \pm 0.75$
หมัก	$34.67^a \pm 1.00$	$23.32^a \pm 0.78$	$14.87^a \pm 0.98$
ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (มก./ก.)			
ดั้งเดิม	$1.35^b \pm 0.03$	$4.56^b \pm 0.07$	$0.49^b \pm 0.02$
หมัก	$5.44^a \pm 0.04$	$8.67^a \pm 0.06$	$0.95^a \pm 0.01$
ปริมาณ RS (ร้อยละ)			
ดั้งเดิม	$22.08^a \pm 0.70$	$28.45^a \pm 1.03$	$16.35^a \pm 0.59$
หมัก	$19.67^b \pm 0.89$	$25.06^b \pm 1.22$	$14.80^b \pm 0.45$

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งของแป้งฟลาวักซ์แต่ละชนิดแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ของแต่ละองค์ประกอบ

2. ผลของระยะเวลาตัดกิ่งของพลูลูลาเนส

จากการศึกษาผลของระยะเวลาตัดกิ่งของพลูลูลาเนส ความเข้มข้น 40 ยูนิตต่อกรัม ต่อระดับการย่อยด้วยพลูลูลาเนส (% D.H.) ของแป้งฟลาวัดัวเขียว ถั่วแดง และถั่วเหลืองที่ผ่านการหมักเป็นระยะเวลา 1 วัน ดังรูปที่ 1 แป้งฟลาวัดัวเขียวหมัก และแป้งฟลาวัดัวเหลืองหมักมี % D.H. สูงสุดเมื่อบ่มเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง เท่ากับ 74.22 % และ 51.02 % ในขณะที่แป้งฟลาวัดัวแดงหมักมี % D.H. เพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการบ่มเพิ่มขึ้น จาก 60.63 % เป็น 67.01 % เมื่อพิจารณาผลของระยะเวลาการบ่มพลูลูลาเนสในแป้งฟลาวัดัวหมักทั้ง 3 ชนิด พบว่า % D.H. ที่เวลา 24 36 และ 48 ชั่วโมง แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ดังนั้นจึงเลือกระยะเวลาในการตัดกิ่งที่บ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในการเกิดรีโทรเกรเดชันในการทดลองต่อไป



รูปที่ 1 ระดับการย่อยด้วยพลูลูลาเนส (% D.H.) ของแป้งฟลาวัดัวที่ใช้เอนไซม์ตัดกิ่งที่ระยะเวลาแตกต่างกัน

3. ผลของระยะเวลาการเกิดรีโทรเกรเดชันต่อปริมาณ RS

ผลการศึกษาระยะเวลาการเกิดรีโทรเกรเดชันต่อปริมาณ RS ของแป้งฟลาวัดัวที่ผ่านกระบวนการหมัก ร่วมกับการตัดกิ่งด้วยพลูลูลาเนสความเข้มข้น 40 ยูนิตต่อกรัมเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง และเกิดรีโทรเกรเดชัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0 1 3 7 และ 14 วัน ดังตารางที่ 2 พบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษา เพิ่มขึ้นจาก 1 วัน เป็น 14 วัน แป้งฟลาวัดัวทั้ง 3 ชนิด มีปริมาณ RS เพิ่มขึ้น โดยแป้งฟลาวัดัวเขียวมีปริมาณ RS เพิ่มขึ้นจากร้อยละ 21.65 เป็น 30.98 ($p<0.05$) แป้งฟลาวัดัวแดงมีปริมาณ RS เพิ่มขึ้นจากร้อยละ 25.66 เป็น 33.02 ($p<0.05$) และแป้งฟลาวัดัวเหลืองมีปริมาณ RS เพิ่มขึ้นจากร้อยละ 19.65 เป็น 28.44 ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบแป้งฟลาวัดัวเขียว ถั่วแดง และถั่วเหลือง พบว่ามีปริมาณ RS แตกต่างกัน โดยแป้งฟลาวัดัวแดง มีปริมาณ RS มากที่สุด รองลงมาคือแป้งฟลาวัดัวเขียว และถั่วเหลือง ($p<0.05$)

ตารางที่ 2 ปริมาณ RS ของแป้งฟลาวัดัวผ่านกระบวนการหมักร่วมกับการตัดกิ่งด้วยพลูลูลาเนสและเกิดรีโทรเกรเดชันที่ 4 องศาเซลเซียสที่ระยะเวลาแตกต่างกัน

ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณ RS (ร้อยละ)		
	แป้งฟลาวัดัวเขียว	แป้งฟลาวัดัวแดง	แป้งฟลาวัดัวเหลือง
0	21.02 ^{Bc} ±0.24	24.78 ^{Ad} ±0.44	19.11 ^{Cd} ±0.30
1	21.65 ^{Bbc} ±0.12	25.66 ^{Ad} ±0.19	19.65 ^{Cd} ±0.22
3	25.72 ^{Bb} ±0.40	27.54 ^{Ac} ±0.22	22.37 ^{Cc} ±0.48
7	28.02 ^{Aa} ±0.66	30.00 ^{Bb} ±0.47	25.64 ^{Cb} ±0.17
14	30.98 ^{Aa} ±0.56	33.02 ^{Ba} ±0.36	28.44 ^{Ca} ±0.68

หมายเหตุ: ตัวอักษร ^{a,b,c} ที่แตกต่างกันในแนวดิ่งแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ตัวอักษร ^{A,B,C} ที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

4. ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี และลักษณะโครงสร้างของแป้งนย้อย

แป้งนย้อยถั่วเขียว ถั่วแดง และถั่วเหลือง ที่ผ่านกระบวนการคัดแปรด้วยการหมักธรรมชาติ 1 วัน แล้วตัดกึ่งด้วยพลูลูลาเนส (40 ยูนิตต่อกรัม) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยใช้ระยะเวลาในการเก็บรักษา 14 วัน องค์ประกอบทางเคมีของแป้งนย้อย ซึ่งแสดงค่าร้อยละต่อน้ำหนักแห้งของแป้งนย้อย ดังตารางที่ 3 พบว่าแป้งนย้อยทั้ง 3 ชนิดมีปริมาณโปรตีนระหว่างร้อยละ 22.03±2.01 ถึง 34.21±3.00 ปริมาณเถ้าอยู่ในช่วงร้อยละ 1.67±0.02 ถึง 2.50±0.08 เส้นใยมีปริมาณร้อยละ 38.51±1.12 ถึง 51.10±3.05 ไขมันมีปริมาณร้อยละ 1.15±0.49 ถึง 1.74±0.27 และความชื้นมีปริมาณร้อยละ 5.42±0.88 ถึง 8.58±0.56 โดยแป้งนย้อยถั่วเหลืองมีปริมาณโปรตีน ไขมันสูงที่สุด ส่วนแป้งนย้อยถั่วแดงมีปริมาณเถ้า เส้นใย และความชื้นสูงที่สุด ซึ่งองค์ประกอบทางเคมีของแป้งนย้อยทั้ง 3 ชนิด มีความแตกต่างกัน ซึ่งความแตกต่างขององค์ประกอบทางเคมีของพืชตระกูลถั่ว ขึ้นอยู่กับชนิดถั่ว พันธุกรรม สายพันธุ์ และสิ่งแวดล้อมในการปลูก

ตารางที่ 3 องค์ประกอบทางเคมีของแป้งนย้อยถั่วจากกระบวนการหมัก ตัดกึ่งด้วยพลูลูลาเนสและการเกิดรีโทรเกรเดชันโดยบ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน

องค์ประกอบทางเคมี (ร้อยละของน้ำหนักแห้ง)	ชนิดแป้งนย้อย		
	ถั่วเขียว	ถั่วแดง	ถั่วเหลือง
โปรตีน (Protein)	22.03±2.01 ^b	23.42±1.42 ^b	34.21±3.00 ^a
เถ้า (Ash)	1.67±0.02 ^b	2.50±0.08 ^a	1.99±0.03 ^b
เส้นใย (Crude Fiber)	38.51±1.12 ^c	51.10±3.05 ^a	46.97±2.41 ^b
ไขมัน (Fat Oil)	1.22±0.50 ^b	1.15±0.49 ^b	1.74±0.27 ^a
ความชื้น (Moisture)	8.16±0.62 ^a	8.58±0.56 ^a	5.42±0.88 ^b
คาร์โบไฮเดรต (Carbohydrate)	28.41±1.34 ^a	13.25±1.02 ^b	9.67±0.98 ^c

หมายเหตุ: a, b และ c หมายถึง ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีตัวอักษรกำกับต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

การตรวจสอบลักษณะรูปร่างของเม็ดแป้งของแป้งนย้อยถั่วเขียว ถั่วเหลือง และถั่วแดงด้วยเครื่อง Scanning Electron Microscope (SEM) ดังรูปที่ 2 ผลการตรวจสอบไม่พบลักษณะของเม็ดแป้งของแป้งนย้อยทั้ง 3 ชนิด ทั้งนี้เนื่องจากกระบวนการที่ใช้ในการผลิตแป้งนย้อยทำให้เกิดการทำลายความเป็นผลึกของเม็ดแป้ง



(ก) ถั่วเขียว

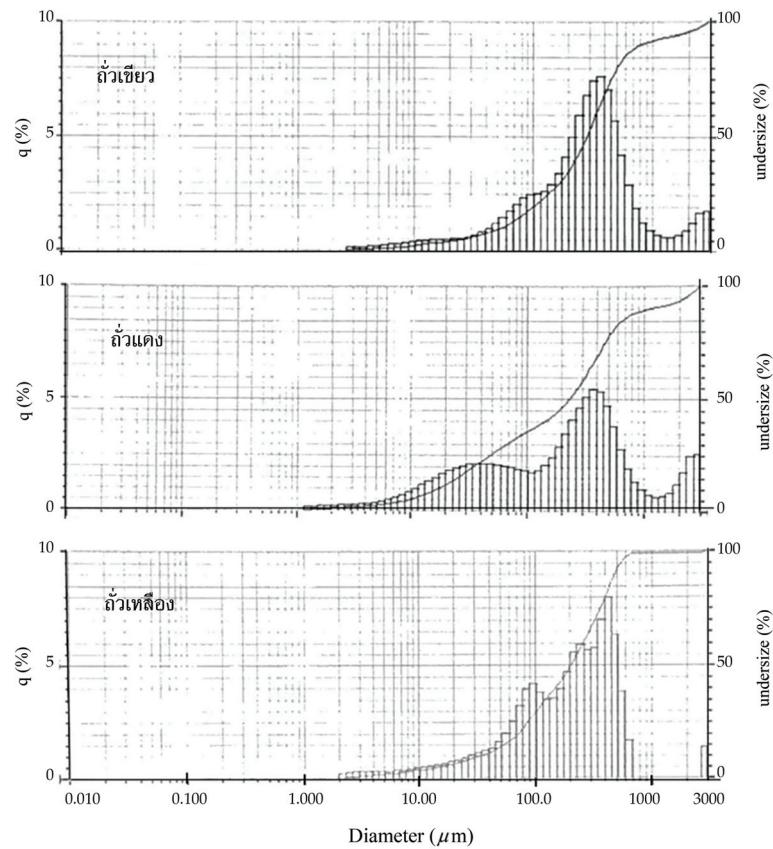
(ข) ถั่วแดง

(ค) ถั่วเหลือง

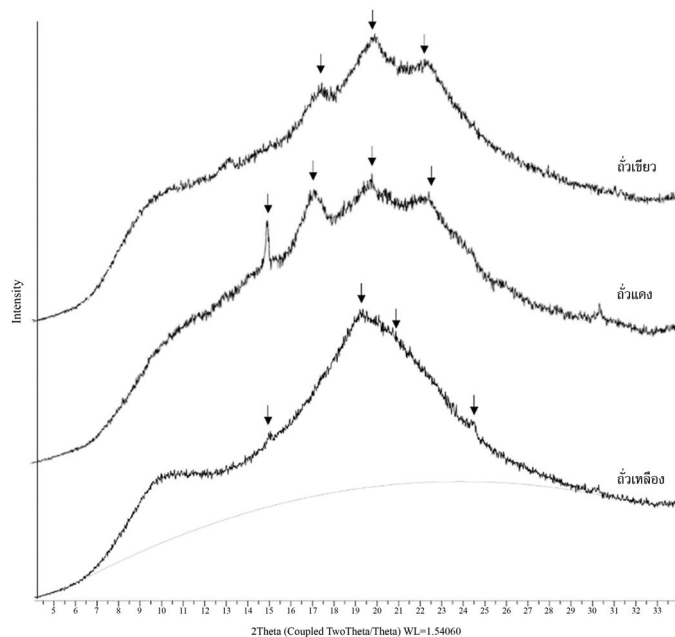
รูปที่ 2 ลักษณะรูปร่างเม็ดแป้งของแป้งนย้อยจากถั่ว กำลังขยาย 100 เท่า ด้วยเครื่อง Scanning Electron Microscope (SEM)

การตรวจสอบศึกษาขนาดและการกระจายตัวของเม็ดแป้งด้วยเครื่อง Laser Diffraction Particle Size Analyzer ดังรูปที่ 3 พบว่าแป้งนย้อยถั่วเขียว ถั่วแดง และถั่วเหลือง มีขนาด 433.61 264.61 และ 443.97 ไมโครเมตร ตามลำดับ ผลการวิเคราะห์โครงสร้างผลึกของแป้งนย้อยถั่วทั้ง 3 ชนิดด้วยเครื่อง X-Ray Diffractometer ดังรูปที่ 4 ซึ่งพบว่าแป้งนย้อยถั่วเขียวและถั่วแดงแสดงโครงสร้างผลึกแบบ A

โดยมีพีคที่ตำแหน่งมุม 2θ เท่ากับ 17.45 19.90 และ 22.50 ในขณะที่แป้งนย้อยั่วเหลืองมีพีคที่ตำแหน่งมุม 2θ เท่ากับ 14.85 17.45 19.90 และ 24.50 แสดงลักษณะโครงสร้างผลึกแบบ A เช่นกัน



รูปที่ 3 ขนาดและการกระจายตัวของเม็ดแป้งของแป้งนย้อยั่ว ข้าว ข้าวแดง และข้าวเหลือง ด้วยเครื่อง Laser Diffraction Particle Size Analyzer



รูปที่ 4 รูปแบบโครงสร้างผลึกของเม็ดแป้งของแป้งนย้อยั่ว ข้าว ข้าวแดง และข้าวเหลือง ด้วยเครื่อง X-Ray Diffractometer (XRD)

อภิปรายผล

การหมักแป้งฟลาวัวเป็นระยะเวลา 1 วัน ส่งผลให้องค์ประกอบของแป้งฟลาวัวเขียว ถั่วแดง และ ถั่วเหลืองเปลี่ยนแปลง โดยทำให้ปริมาณอะไมโลสและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้น ($p < 0.05$) เนื่องจากการหมักแป้งด้วยจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในธรรมชาติ จุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญคือ จุลินทรีย์กลุ่มแบคทีเรีย กรดแลคติกที่สามารถผลิตเอนไซม์สำหรับย่อยแป้ง เช่น แอลฟา-อะไมเลส เบต้า-อะไมเลส และอะไมโลกลูโคซิเดส ทำให้ระหว่างการหมักปริมาณกลูโคส และมอลโตสเพิ่มขึ้นและหลังจากนั้นจะถูกเปลี่ยนเป็นสารเมแทบอไลต์อื่น ๆ เช่น กรดแลคติก เอทานอล เนื่องจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ [12] ส่งผลให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และอะไมโลส เพิ่มขึ้นระหว่างการหมัก สอดคล้องกับงานวิจัยของ [5] กรดอินทรีย์ที่จุลินทรีย์ผลิตขึ้นสามารถเข้าไปตัดโมเลกุลของอะไมโลเพคตินได้เป็นโมเลกุลสายตรงที่เป็นสายสั้น ๆ ทำให้แป้งหมักมีปริมาณอะไมโลสสูงขึ้น ส่วนปริมาณ แป้งทนย่อยในแป้งฟลาวัวทั้ง 3 ชนิด มีแนวโน้มลดลงเมื่อผ่านกระบวนการหมัก ($p < 0.05$) เนื่องจากการย่อยตามธรรมชาติ (Natural Hydrolysis) ของแป้งทนย่อยประเภท RS2 เพื่อนำไปใช้เป็นแหล่งคาร์บอนของจุลินทรีย์ในการเจริญเติบโตทำให้เกิดการสลายพันธะในแป้งเป็นน้ำตาลหรือโอลิโกแซคคาไรด์ และอาจเนื่องจากกิจกรรมของจุลินทรีย์มีผลต่อการสูญเสียความสมบูรณ์ของโครงสร้างเม็ดแป้ง (Structure Integrity) โมเลกุลอะไมโลสและถูกย่อยจนเป็นสายสั้นมากเกินไป จึงไม่สามารถเกิดปฏิกิริยาระหว่างสายโมเลกุลให้เกิดเป็นโครงร่างผลึกแป้งทนย่อยได้ ทำให้ปริมาณแป้งทนย่อยลดลง [13] สอดคล้องกับการทดลองของ [14] ที่พบว่า การหมักแป้งเผือก (Taro Flour) ด้วยแบคทีเรียแลคติกเป็นเวลา 18 ชั่วโมง ส่งผลให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้น ปริมาณแป้งทนย่อยลดลง และถ้านำแป้งเผือกที่ผ่านกระบวนการหมักไปตัดแปรต่อด้วยกระบวนการ Autoclaving-Cooling จะทำให้ปริมาณแป้งทนย่อยเพิ่มขึ้น 2.8 เท่า

พลูลูลานเนสเป็นเอนไซม์ตัดกิ่งที่มีความจำเพาะในการสลายพันธะ α -1,6 Glycosidic Linkages ในโมเลกุลของแป้งทำให้ได้พอลิเมอร์สายตรงของอะไมโลส ระดับการย่อยสลายด้วยพลูลูลานเนสมีความสัมพันธ์กับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ซึ่งเมื่อระยะเวลาในการตัดสายกิ่งเพิ่มขึ้น ปริมาณน้ำตาลทั้ง 2 ชนิดจะเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับงานวิจัยของ [15] ได้ศึกษาการตัดสายกิ่งสตาร์ชข้าว พบว่าเมื่อระยะเวลาการตัดสายกิ่งเพิ่มขึ้น จากการบ่มด้วยเอนไซม์ 0 ถึง 48 ชั่วโมง ระดับการถูกย่อยด้วยพลูลูลานเนสมีค่าเพิ่มขึ้นจาก 0.44 เป็น 1.55 % และการศึกษาผลของการย่อยสตาร์ชกล้วยด้วยพลูลูลานเนสพบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากการย่อยด้วยพลูลูลานเนสเพิ่มขึ้นใน 4 ชั่วโมง หลังจากนั้นเริ่มคงที่เมื่อระยะเวลาการย่อยนานขึ้น [16]

การตัดแปรแป้งด้วยกระบวนการหมักและการตัดสายกิ่งด้วยพลูลูลานเนสก่อนทำการรีโทรเกรดชัน จะทำให้ปริมาณแป้งทนย่อยด้วยเอนไซม์ชนิดที่ 3 (RS3) มีปริมาณเพิ่มสูงขึ้น โดยพลูลูลานเนสจะเข้าไปทำการย่อยตรงบริเวณที่เป็นสายกิ่งของอะไมโลเพคติน ทำให้ได้พอลิเมอร์สายตรงของอะไมโลส ซึ่งสามารถจัดเรียงตัวเป็นโครงสร้างสามมิติที่มีโครงสร้างผลึกที่มีความแข็งแรงมากขึ้น ส่งผลทำให้มี RS เพิ่มขึ้น [4] ระยะเวลาการเกิดรีโทรเกรดชันมีผลต่อปริมาณ RS งานวิจัยของ [6] พบว่าระยะเวลาการเก็บรักษาสตาร์ชถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วแดงหลวงที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ตัดกิ่ง (พลูลูลานเนส 0.02 มิลลิลิตรต่อกรัม) และเกิดรีโทรเกรดชันที่ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 14 วัน ทำให้ปริมาณ RS ของถั่วทั้ง 3 ชนิดสูงที่สุด และจากรายงานของ [17] ซึ่งได้ทำการศึกษาการผลิตสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์จากสตาร์ชถั่วลูกไก่ (Chickpea) พบว่ากระบวนการย่อยสตาร์ช (Hydrolysis) ด้วยพลูลูลานเนส (40 ยูนิตต่อกรัม นาน 10 ชั่วโมง) จากนั้นให้ความร้อนโดยการ Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สามารถทำให้ปริมาณ RS ของสตาร์ชถั่วลูกไก่เพิ่มขึ้นจากร้อยละ 16 เป็น 32 ($p < 0.05$)

การผลิตแป้งทนย่อยด้วยเอนไซม์จากแป้งถั่วโดยการหมักธรรมชาติ 1 วัน ร่วมกับการใช้พลูลูลานเนสตัดกิ่งเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และการเกิดรีโทรเกรดชันที่บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน องค์ประกอบทางเคมีของแป้งทนย่อยทั้ง 3 ชนิด มีความแตกต่างกัน ซึ่งความแตกต่างขององค์ประกอบทางเคมีของพืชตระกูลถั่ว ขึ้นอยู่กับชนิดถั่ว พันธุกรรม สายพันธุ์ และสิ่งแวดล้อมในการปลูก เมื่อตรวจสอบลักษณะรูปร่าง

ของเม็ดแป้งของแป้งท่อยั่วกล้วย ข้าว ถั่วเหลือง และถั่วแดง ด้วยเครื่อง SEM ไม่พบลักษณะของเม็ดแป้งของแป้งท่อยั่วทั้ง 3 ชนิด ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากกระบวนการที่ใช้ในการผลิตแป้งท่อยั่วทำให้เกิดการทำลายความเป็นผลึกของเม็ดแป้ง เม็ดแป้งของพืชที่พบในธรรมชาติจะมีขนาด รูปร่าง และลักษณะแตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับแหล่งแป้งนั้น ๆ เช่น เม็ดแป้งข้าวเจ้ามีพื้นผิวที่เรียบ รูปร่างหลายเหลี่ยม เมล็ดแป้งพุทธรักษา มีรูปร่างยาวรี คล้ายรูปไข่แบน ผิวเรียบ เป็นต้น [18] แต่อย่างไรก็ตามกระบวนการที่ใช้ในการคัดแปรแป้งบางกระบวนการอาจมีผลทำให้เกิดการทำลายความเป็นผลึกของเม็ดแป้ง และโมเลกุลภายในเม็ดแป้งเกิดการผลึกกัน เม็ดแป้งจึงแตกตัวออก ซึ่งผลการทดลองที่พบลักษณะของเม็ดแป้งของถั่วทั้ง 3 ชนิดนี้ถูกทำลายทำให้ไม่พบลักษณะเม็ดแป้ง สอดคล้องกับงานวิจัยของ [19] ที่ผลิตแป้งท่อยั่วจากแป้งข้าวโพดเหนียว (Waxy Maize Starch) โดยกระบวนการตัดกึ่งด้วยพลาสมาส่วร่วมกับการเกิดรีโทรเกรเดชันพบว่า โครงสร้างของเม็ดแป้งถูกทำลาย มีลักษณะเป็นรูปร่างที่ไม่แน่นอน (Irregular Shape) และเมื่อวิเคราะห์โครงสร้างผลึกของแป้งท่อยั่วถั่วทั้ง 3 ชนิดด้วยเครื่อง X-Ray Diffractometer แป้งท่อยั่วถั่วทั้ง 3 ชนิด มีผลึกแบบ A การคัดแปรแป้งอาจส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการจัดเรียงตัวของโครงสร้างผลึก เนื่องจากเกิดการระเหยของโมเลกุลน้ำที่อยู่บริเวณช่องว่างตรงกลางของโครงสร้างผลึกทำให้เกิดการเคลื่อนที่ของสายโมเลกุลเกลียวคู่เข้าไปแทนที่ส่งผลต่อการจัดเรียงตัวของโครงสร้างผลึกได้ [20] โดยการศึกษาของ [19] ได้รายงานว่ แป้งข้าวโพดเหนียวดั้งเดิมมีโครงสร้างผลึกแบบ A แต่เมื่อผ่านโดยกระบวนการตัดกึ่งด้วยพลาสมาส่วร่วมกับการเกิดรีโทรเกรเดชัน พบว่าโครงสร้างผลึกเปลี่ยนเป็นแบบ B และยังพบพิคที่ตำแหน่งมุม 2θ เท่ากับ 14.3 และ 19.8 ซึ่งเป็นลักษณะของผลึกแบบ V ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างผลึกดังกล่าวจะมีผลทำให้สมบัติทางเคมีกายภาพของแป้งเปลี่ยนแปลงไปด้วย

บทสรุป

การผลิตแป้งท่อยั่วด้วยเอนไซม์จากถั่วเขียว ถั่วแดง และถั่วเหลืองด้วยการหมักธรรมชาติเป็นเวลา 1 วัน ร่วมกับการใช้พลาสมาส่วร่วมความเข้มข้น 40 ยูนิต์ต่อกรัมบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และการเกิดรีโทรเกรเดชันที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยใช้ระยะเวลาในการเก็บรักษา 14 วัน พบว่าปริมาณ RS ในแป้งท่อยั่วเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับแป้งฟลาวัสดั้งเดิม โดยแป้งท่อยั่วจากถั่วเขียวมีปริมาณ RS เพิ่มขึ้นจากร้อยละ 22.08 ± 0.70 เป็น 30.98 ± 0.56 แป้งท่อยั่วถั่วแดง RS เพิ่มขึ้นจากร้อยละ 28.45 ± 1.03 เป็น 33.02 ± 0.36 และแป้งท่อยั่วถั่วเหลืองเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 16.35 ± 0.59 เป็น 28.44 ± 0.68 กระบวนการที่ใช้ในการผลิตแป้งท่อยั่วนี้มีผลทำให้โครงสร้างของเม็ดแป้งและผลึกของเม็ดแป้งถูกทำลายและเปลี่ยนแปลงไป ซึ่งอาจส่งผลให้คุณสมบัติทางเคมีกายภาพของแป้งท่อยั่วจากถั่วแต่ละชนิดเปลี่ยนแปลงไปจากแป้งฟลาวัสดั้งเดิม จึงเป็นการเพิ่มความหลากหลายของคุณสมบัติแป้งฟลาวั่ว ที่สามารถใช้เป็นทางเลือกในการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารที่หลากหลาย โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพที่สมบัตินำใยอาหาร (Dietary Fiber) และสามารถเป็นส่วนผสมในอาหารเพื่อช่วยในการปรับปรุงเนื้อสัมผัส และกลิ่นรสของอาหารได้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (ววน.) มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรดิตถ์ ปีงบประมาณ 2565

References

- [1] Punbusayakul, N. (1999). Utilization of Defatted Soy Flour For Partial Replacing of Wheat Flour Chiffon Cake. **Food**. Vol. 29, No. 3, pp. 180-186 (in Thai)

- [2] Wianggwalai, H. and Phuwong, K. (2018). Effect of Red Bean Flour Substituted for Wheat Flour on Physicochemical Properties and Free Radical Scavenging Activities in Steamed Bun (Mantou). **Thai Journal of Science and Technology**. Vol. 7, Supplement 5, pp. 534-543. (in Thai) DOI: 10.14456/tjst.2018.48
- [3] Boonkong, J. (2011). Resistant Starch. **Journal of Food Technology, Siam University**. Vol. 6, No. 1, pp. 1-8 (in Thai)
- [4] Phrukwiwattanakul, P. (2013). **Production of Resistant Starch from Different Types of Starch and Determination of Their Prebiotic Properties**. Master Degree of Science in Food Technology, Prince of Songkla University (in Thai)
- [5] Udomrati, S., Satmalee, P., and Surojanametakul, V. (2015). Production of Resistant Starch from Rice Flour by Fermentation and Hydrothermal Treatment. **KKU Science Journal**. Vol. 43, No. 2, pp. 232-248 (in Thai)
- [6] Rattanasuwan, S. and Chotineeranat, S. (2018). Effect of Production Resistant Starch by Using Pullulanase Enzyme and Retrogradation with Heat-Moisture Treatment on Legume Starch. **Phranakhon Rajabhat Research Journal: Science and Technology**. Vol. 13, No. 2, pp. 133-145 (in Thai)
- [7] Shin, S., Byun, J., Park, K. H., and Moon, T. W. (2004). Effect of Partial Acid Hydrolysis and Heat-Moisture Treatment on Formation of Resistant Tuber Starch. **Cereal Chemistry**. Vol. 81, No. 2, pp. 194-198. DOI: 10.1094/CCHEM.2004.81.2.194
- [8] Juliano, B. O. (1971). A Simplified Assay for Milled Rice Amylose. **Cereal Science Today**. Vol. 16, No. 10, pp. 334-338
- [9] Miller, G. (1959). Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugars. **Analytical Chemistry**. Vol. 31, No. 3, pp. 426-428. DOI: 10.1021/ac60147a030
- [10] Dubois, M., Gilles, K. A., Hamitton, J. K., Rebers, P. A., and Smith, F. (1956). Colorimetric Method For Determination of Sugars and Related Substances. **Analytical Chemistry**. Vol. 28, No. 3, pp. 350-356. DOI: 10.1021/ac60111a017
- [11] AOAC. (2000). **Official Methods of Analysis Association of Official Analytical Chemist**. Washington D.C.
- [12] Granito, M. and Álvarez, G. (2006). Lactic Acid Fermentation of Black Bean (*Phaseolus Vulgaris*): Microbiological and Chemical Characterization. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. Vol. 86, pp. 1164-1171. DOI: 10.1002/jsfa.2490
- [13] Yadav, B. S., Sharma, A., and Yadav, R. B. (2007). Study of Effect of Natural Fermentation on The Resistant Starch Content of Legume Based Fermented Foods. **Journal of Agricultural Technology**. Vol. 3, No. 1, pp. 21-27
- [14] Setiarto, R. H. B., Jenie, B. S. L., Faridah, D. N., Sakiawan, I., and Sulistiani. (2018). Effect of Lactic Acid Bacteria Fermentation and Autoclaving-Cooling for Resistant Starch and Prebiotic Properties of Modified Taro Flour. **International Food Research Journal**. Vol. 25, No. 4, pp. 1691-1697
- [15] Pongjanta, J., Utaipatanacheep, A., Naivikul, O., and Piyachomkwan, K. (2008). Enzymes-Resistant Starch (RS III) from Pullulanase-Debranched High Amylose Rice Starch. **Agricultural and Natural Resources**. Vol. 42, No. 5, pp. 198-205

- [16] González-Soto, R. A., Agama-Acevedo, E., Solorza-Feria, J., Rendón-Villalobos, R., and Bello-Pérez, L. A. (2004). Resistant Starch Made from Banana Starch by Autoclaving and Debranching. **Starch**. Vol. 56, Issue 10, pp. 495-49. DOI: 10.1002/star.200400283
- [17] Polesi, L. E. and Sarmento, S. B. S. (2011). Structural and Physicochemical Characterization of RS Prepared Using Hydrolysis and Heat Treatments of Chickpea Starch. **Starch**. Vol. 63, Issue 4, pp. 226-235. DOI: 10.1002/star.201000114
- [18] Chatpapamon, C., Pucha-arnon, S., and Uttapap, D. (2016). Effect of Heat-moisture Treatment on Properties and Structure of A- and B-crystalline Type Starches. **KMUTT Research and Development Journal**. Vol. 39, No. 2, pp. 257-270 (in Thai)
- [19] Shi, M., Chen, Y., Yu, S., and Gao, Q. (2013). Preparation and Properties of RS III from Waxy Maize Starch with Pullulanase. **Food Hydrocolloids**. Vol. 33, Issue 1, pp. 19-25. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2013.02.018
- [20] Gunaratne, A. and Hoover, R. (2002). Effect of Heat-Moisture Treatment on The Structure and Physicochemical Properties of Tuber and Root Starches. **Carbohydrate Polymers**. Vol. 49, Issue 4, pp. 425-437. DOI: 10.1016/S0144-8617(01)00354-X