ผลของพันธุ์ข้าวต่อสมบัติของแผ่นเมี่ยง

บุษญา พัตรา

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีการอาหาร คณะเกษตรศาสตร์
มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
ปีการศึกษา 2559
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

EFFECT OF RICE VARIETY ON RICE PAPER PROPERTIES

BUSSAYA PHATTRA

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS
FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
MAJOR IN FOOD TECHNOLOGY
FACULTY OF AGRICULTURE
UBON RATCHATHANI UNIVERSITY
ACADEMIC 2016
COPYRIGHT OF UBON RATCHATHANI UNIVERSITY

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ข้าพเจ้าต้องขอกราบขอบพระคุณ ดร.เมทินี มาเวียง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้ความรู้ทางวิชาการ คำแนะนำ ตลอดจนให้การสนับสนุนทุนในการทำวิจัยในครั้งนี้ จนสำเร็จลุล่วงด้วยดี ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร.สุทธิพันธุ์ แก้วสมพงษ์ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ดร.วชิราพรรณ บุญญาพุทธิพงศ์ ดร.กฤษณา ศิริพล กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และอาจารย์คณะเกษตรศาสตร์ สาขาเทคโนโลยีการอาหารทุกท่านที่คอยช่วยเหลือและให้คำปรึกษา ตลอดจนช่วยแนะนำและแนะแนวทางการเขียนวิทยานิพนธ์จนสำเร็จด้วยดี และขอกราบขอบพระคุณบุคลากรคณะเกษตรศาสตร์รวมทั้งเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทุกท่านที่ให้การสนับสนุนอุปกรณ์และเครื่องมือทางวิทยาศาสตร์ และช่วยแนะนำในการใช้เครื่องมือต่างๆ เป็นอย่างดี ขอขอบพระคุณ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่เอื้อเฟื้อทุนวิจัยและสถานที่ในการทดลอง

ผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่างานวิจัยนี้จะเป็นประโยชน์ต่อผู้ที่สนใจ และเป็นแนวทางในการพัฒนางานวิจัยให้มีประสิทธิภาพในอนาคตเพื่อประโยชน์ต่อสาธารณะ และสังคมต่อไป และคุณประโยชน์ทั้งหลายที่เกิดจากงานวิจัยในครั้งนี้ขอมอบแด่ บิดา มารดา ครู อาจารย์ รวมทั้งผู้มีพระคุณทุกท่าน

บุษญา พัตรา
ผู้วิจัย

บทคัดย่อ

เรื่อง : ผลของพันธุ์ข้าวต่อสมบัติของแผ่นเมี่ยง
ผู้วิจัย : บุษญา พัตรา
ชื่อปริญญา : วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา : เทคโนโลยีการอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษา : ดร.เมทินี มาเวียง
คำสำคัญ : แผ่นเมี่ยง, การผลิตแผ่นเมี่ยง, การหมัก, น้ำแป้ง

แผ่นเมี่ยง (Rice paper) เป็นอาหารพื้นบ้านผลิตจากแป้งข้าวเจ้าที่มีปริมาณอะมิโลสสูง แผ่นเมี่ยงที่ดี จะเป็นสีขาว คืนรูปได้เร็วเมื่อจุ่มน้ำ มีความยืดหยุ่นสูง และไม่ขาดง่าย กระบวนการผลิตคือ นำข้าวเจ้ามาแช่น้ำเป็นเวลา 12 ชั่วโมง โม่เปียก และหมักนาน 3 วัน โดยทำการเปลี่ยนน้ำทุกวัน และเติมเกลือร้อยละ 1 (w/w) ก่อนนำมานึ่งขึ้นรูป จากนั้นนำแผ่นไปผึ่งแดดและผึ่งในที่ร่มจนแห้ง ซึ่งในกระบวนการดังกล่าว ผู้ผลิตต้องอาศัยความชำนาญและประสบการณ์ในการผลิต อีกทั้งกระบวนการผลิตยังเป็นการผลิตในระดับอุตสาหกรรมครัวเรือน และมีการสืบทอดกระบวนการจากรุ่นสู่รุ่น ทำให้ขาดการอธิบายตามหลักวิทยาศาสตร์ และไม่สามารถนำกระบวนการผลิตดังกล่าวมาประยุกต์ใช้ให้เข้ากับเทคโนโลยีที่มีในปัจจุบันได้ อีกทั้งงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงด้านจุลินทรีย์ เคมี และเคมีกายภาพในระหว่างกระบวนการผลิตยังมีอยู่น้อย ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางจุลินทรีย์ เคมี เคมีกายภาพระหว่างการหมัก และเปรียบเทียบคุณภาพของแผ่นเมี่ยงที่ผลิตจากข้าวเจ้า 3 พันธุ์ที่นิยมนำมาผลิตแผ่นเมี่ยง ได้แก่ พันธุ์ชัยนาท 1 (CN) เหลือง 11 (LU) และสุรินทร์ 1 (SR) จากการทดลองพบว่าเมื่อระยะเวลาการหมักน้ำแป้งเพิ่มขึ้น ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์รา และแบคทีเรียแลกติคในน้ำแป้งข้าว SR มีการเจริญสูงสุด ทำให้ปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นและพีเอชลดลงอย่างต่อเนื่อง รองลงมาคือในน้ำแป้งข้าว LU และ CN ตามลำดับ ซึ่งความเป็นกรดส่งผลให้ปริมาณอะมิโลสลดลง รูปร่างของเม็ดสตาร์ชมีขนาดเล็กลง พื้นผิวขรุขระมากขึ้น ทำให้ดัชนีการละลาย กำลังการพองตัว พลังงานในการเกิดเจลติไนซ์เพิ่มขึ้น และความหนืดลดลง การเปลี่ยนแปลงเหล่านี้เกิดขึ้นต่างกันในข้าวทั้ง 3 พันธุ์ เนื่องจากข้าวทั้ง 3 พันธุ์มีองค์ประกอบทางเคมี คือ ปริมาณอะมิโลส ไขมัน และโปรตีน เริ่มต้นต่างกัน และเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมัก นำน้ำแป้งมานึ่งขึ้นรูปเป็นแผ่น พบว่าแผ่นเมี่ยงที่ผลิตจากข้าว SR มีคุณภาพของแผ่นดีกว่าแผ่นเมี่ยงที่ผลิตจากข้าว LU และ CN ตามลำดับ ซึ่งสังเกตได้จากค่า Yong's modulus และ Elongation ที่ใกล้เคียงกับแผ่นเมี่ยงทางการค้ามากที่สุด จากการทดลองข้าว SR จึงเหมาะสมในการนำมาผลิตแผ่นเมี่ยงมากกว่าพันธุ์ LU และ CN และจากผลการศึกษาครั้งนี้ทำให้สามารถอธิบายการเปลี่ยนแปลงต่างๆ ที่เกิดขึ้นระหว่างการหมักในเชิงวิทยาศาสตร์ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานและการนำไปประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์ในเชิงอุตสาหกรรมต่อไปได้

ABSTRACT

TITLE : EFFECT OF RICE VARIETY ON RICE PAPER PROPERTIES
AUTHOR : BUSSAYA PHATTRA
DEGREE : MASTER OF SCIENCE
MAJOR : FOOD TECHNOLOGY
ADVISOR : METINEE MAWEANG, Ph.D.
KEYWORDS : RICE PAPER, RICE PAPER PRODUCTION, FERMENTATION, RICE SLURRY

Rice paper is a food ingredient made from high amylose flour. After a quick dipping in water, high quality thin sheets become white in color, completely rehydrated, elastic, and chewy. The traditional processing starts with soaking rice in water for 12 h, wet-milling into flour, and then fermenting rice slurry for three days. During this fermentation period, the supernatant is changed every day. Finally, the rice slurry is mixed with 1% (w/w) NaCl before sheeting, steaming, and 2-step drying in the sun and subsequently in a low, ventilated, shaded area. However, the production scale of rice paper in Thailand is at a household scale. The instruction is transferred from generation to generation without any scientific explanation. Unfortunately, there is little published research for this product and process and insufficient scientific knowledge for an increase in manufacturing. The objectives of this work were to study the microbiological, chemical, and physicochemical changes during the natural fermentation process of rice slurry and to compare the effects of three rice varieties (Chainat 1 (CN), Leung 11 (LU), and Surin (SR)) on those changes during slurry fermentation and on rice paper properties. The study showed that the number and growth rate of the total viable count, yeast and mold, and lactic acid bacteria in the slurry increased with increasing fermentation time. The microorganism activity caused a raising of the total titratable acidity (as lactic acid) of the slurry but a reduction of pH. These resulted in decreases in amylose content and viscosity of slurry, and SEM starch granule size but increases in SEM surface corrosion of starch granule as well as swelling power, solubility index, ratio of crystallinity and amorphous structure, and the enthalpy level of slurry. Among the the different varieties of rice, differing in initial chemical contents (amylose, protein, and fat quantities), slurry from SR had the greatest changes followed LU and CN ($P<0.05$). SR was the best raw material for making rice paper as Young's modulus and elongation values of commercial and SR products were not significantly different ($p>0.05$). The investigation revealed the science behind flour slurry fermentation and the relationship among the fermented flour slurry qualities and rice

paper properties. Thus folk wisdom can be carried on and applied for larger scale production while all the qualities of rice paper are still maintained.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	**ก**
บทคัดย่อภาษาไทย	**ข**
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	**ค**
สารบัญ	**จ**
สารบัญตาราง	**ช**
สารบัญภาพ	**ซ**
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ที่มาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย	2
1.3 ขอบเขตการวิจัย	2
1.4 สมมติฐานการวิจัย	2
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร	
2.1 แผ่นเมี่ยง	3
2.2 แป้ง	11
2.3 พันธุ์ข้าว	15
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย	
3.1 วัตถุดิบ สารเคมี และอุปกรณ์	16
3.2 วิธีการดำเนินงาน	17
3.3 การวางแผนการทดลอง	20
บทที่ 4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	
4.1 องค์ประกอบทางเคมีของแป้งข้าวเจ้า 3 พันธุ์	21
4.2 การเปลี่ยนแปลงจุลินทรีย์ในระหว่างกระบวนการหมักน้ำแป้ง	22
4.3 การเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่างในระหว่างกระบวนการหมักน้ำแป้ง	26
4.4 การเปลี่ยนแปลงปริมาณอะมิโลสในระหว่างกระบวนการหมักน้ำแป้ง	29
4.5 สัณฐานวิทยาของเม็ดแป้งในระหว่างกระบวนการหมักน้ำแป้งจากข้าว 3 พันธุ์	30
4.6 ลักษณะทางเคมีกายภาพของน้ำแป้งระหว่างกระบวนการหมัก	32
4.7 สมบัติเชิงรีโอโลยี	37
4.8 การนึ่งขึ้นรูป	38
4.9 เปรียบเทียบคุณภาพที่ดีของแผ่นเมี่ยงที่ผลิตจากข้าวเจ้า 3 พันธุ์ กับแผ่นเมี่ยงทางการค้า	39

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ	**41**
เอกสารอ้างอิง	**42**
ภาคผนวก	
ก การวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์	49
ข การวิเคราะห์ทางเคมี	55
ค การวิเคราะห์สมบัติเชิงหน้าที่ของแป้ง	60
ง การวิเคราะห์ลักษณะทางเคมีกายภาพ	63
จ การวิเคราะห์ลักษณะทางประสาทสัมผัส	65
ฉ อัตราการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์ รา และแบคทีเรียแลคติก	69
ช แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดทั้งหมดด้วยการไทเทรตเทียบเป็นกรดแลคติกและพีเอช	71
ประวัติผู้วิจัย	**73**

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
4.1	องค์ประกอบทางเคมีของแป้งข้าวเจ้า 3 พันธุ์	22
4.2	ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์ รา และปริมาณแบคทีเรียแลคติกในระหว่างกระบวนการหมักแป้งข้าว 3 พันธุ์	24
4.3	ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ทั้งหมดเทียบเป็นกรดแลคติก (w/v) และพีเอชในระหว่างกระบวนการหมักน้ำแป้งข้าวเจ้า 3 พันธุ์	28
4.4	ปริมาณอะมิโลสของแป้งข้าวเจ้า 3 พันธุ์ ในระหว่างกระบวนการหมัก	29
4.5	ค่ากำลังการพองตัวและดัชนีการละลายของน้ำแป้งระหว่างกระบวนการหมักจากแป้งข้าว 3 พันธุ์	34
4.6	สมบัติทางความร้อนระหว่างกระบวนการหมักน้ำแป้งข้าว 3 พันธุ์	36
4.7	ความหนืดของน้ำแป้งระหว่างกระบวนการหมักน้ำแป้งข้าว 3 พันธุ์	38
4.8	เปรียบเทียบคุณภาพที่ดีของแผ่นเมี่ยงที่ผลิตจากข้าวเจ้า 3 พันธุ์ และแผ่นเมี่ยงทางการค้า	40
ฉ.1	อัตราการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์ รา และแบคทีเรียแลคติก หลังจากการเปลี่ยนน้ำ	70
ช.1	แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ทั้งหมดเทียบเป็นกรดแลคติกและพีเอช	72

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	กระบวนการผลิตแผ่นเมี่ยง	3
2.2	การพองตัวของเม็ดแป้งเมื่อได้รับความร้อน	6
2.3	การเกิดเจลาติไนเซชั่นของเม็ดแป้ง	8
2.4	โครงสร้างของอะมิโลสและอะมิโลเพ็กติน	12
2.5	ลักษณะโครงสร้างแบบกิ่งของอะมิโลเพ็กติน	13
4.1	ปริมาณจุลินทรีย์ที่เหลืออยู่หลังจากการเปลี่ยนน้ำในแต่ละวันของการหมักน้ำแป้งจากข้าวทั้ง 3 พันธุ์	25
4.2	แนวโน้มปริมาณกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้เทียบเป็นกรดแลคติกและพีเอชในระหว่างกระบวนการหมักของแป้งข้าว 3 พันธุ์	27
4.3	สัณฐานวิทยาของเม็ดแป้งข้าว 3 พันธุ์ในระหว่างกระบวนการหมักและหลังเติมเกลือ 1 เปอร์เซนต์ ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็คตรอนแบบส่องกราดที่กำลังขยาย 5000x	31
4.4	สัณฐานวิทยาของแผ่นเมี่ยงหลังจากการนึ่งขึ้นรูปและการทำแห้งจากข้าว 3 พันธุ์ ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็คตรอนแบบส่องกราดที่กำลังขยาย 5000x	39
จ.1	ตัวอย่างระยะของการดึงยืดแผ่นเมี่ยงทางการค้าด้วย Texture analyzer	67
จ.2	ตัวอย่างระยะของการดึงยืดแผ่นเมี่ยงในช่วงความชันของกราฟระยะแรกของแผ่นเมี่ยงทางการค้า	68
จ.3	ตัวอย่างระยะของการดึงยืดแผ่นเมี่ยงในช่วงความชันของกราฟระยะที่สุดท้ายของแผ่นเมี่ยงทางการค้า	68

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา

แผ่นเมี่ยง หรือแผ่นแป้ง (rice paper) เป็นผลิตภัณฑ์แปรรูปจากข้าวเจ้าที่มีปริมาณอะมิโลสสูง ประมาณ 27-33 เปอร์เซ็นต์ (งามชื่น คงเสรี, 2536) มีลักษณะเป็นแผ่นกลม สีขาว พบมากในจังหวัดทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือ หนองคาย อุดรธานี สกลนคร มุกดาหาร และอุบลราชธานี (อริยาภรณ์ พงษ์รัตน์, 2546) โดยมีกระบวนการผลิตคือนำข้าวเจ้ามาแช่น้ำก่อนโม่เปียก แล้วหมักเป็นเวลา 3-4 วัน และเปลี่ยนน้ำทุกวัน จากนั้นเติมเกลือ 1 เปอร์เซ็นต์ แล้วนำน้ำแป้งมาเกลี่ยบนผ้าที่ขึงบนปากหม้อน้ำเดือด ตากแดดพอหมาด หลังจากนั้นผึ่งทิ้งในที่ร่ม แผ่นเมี่ยงที่ดีควรมีลักษณะเป็นแผ่นบาง ใส สีขาว เมื่อนำมาจุ่มน้ำหมาด ๆ จะมีลักษณะเหนียวนุ่ม (อรพิน ภูมิภมร, 2533) ทั้งนี้ในการผลิตผู้ผลิตจะใช้ข้าวที่หาได้ง่าย และมีในท้องถิ่น ทำให้แผ่นเมี่ยงในแต่ละท้องถิ่นมีลักษณะทางประสาทสัมผัสที่ต่างกัน เนื่องจากความแตกต่างที่มีในข้าวแต่ละพันธุ์ เช่น ปริมาณอะมิโลส โปรตีน ไขมัน และอื่น ๆ ซึ่งองค์ประกอบเหล่านี้เป็นปัจจัยต่อการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและเคมีกายภาพของแป้งข้าวระหว่างกระบวนการผลิตเช่น การเปลี่ยนแปลงทางเคมีระหว่างกระบวนการหมักเนื่องจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ (Phothiset and Charoenrein.,2007) ซึ่งกิจกรรมของจุลินทรีย์ระหว่างกระบวนการหมักมักมีผลต่อปริมาณอะมิโลส โปรตีน และอื่นๆในน้ำแป้ง กิจกรรมที่แตกต่างกันนี้มีผลโดยตรงต่อการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาและการเปลี่ยนแปลงทางเคมีหลังการหมัก ทำให้แผ่นเมี่ยงที่ผลิตจากข้าวต่างพันธุ์มีความสามารถในการเกิดเจลจากการนึ่ง และการเกิดรีโทรเกรเดชั่นจากกระบวนการทำแห้งต่างกัน (Zhan et al, 2009; อัมพร ทับปลา, 2544) จากการสำรวจโดยการสอบถามจากผู้ผลิตในจังหวัดอุบลราชธานี พบว่าผู้ผลิตอาศัยความชำนาญและประสบการณ์ที่สะสมมาช้านานในการผลิต ซึ่งหากขาดการถ่ายทอดจากรุ่นสู่รุ่นแล้วการควบคุมคุณภาพของแผ่นเมี่ยงที่ดีและการสืบทอดกระบวนการผลิตจะหายไป ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและเคมีกายภาพระหว่างการหมักที่เป็นกระบวนการที่สำคัญต่อคุณภาพของแผ่นเมี่ยง และเปรียบเทียบแผ่นเมี่ยงที่ผลิตจากพันธุ์ข้าวที่นิยมนำมาใช้และหาได้ง่ายในท้องถิ่นทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เพื่อเป็นแหล่งความรู้พื้นฐานในการประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์ในกระบวนการผลิต และสามารถอธิบายการเปลี่ยนแปลงในระหว่างกระบวนการหมักตามหลักทางวิทยาศาสตร์ตลอดจนเป็นแนวทางในการขยายกำลังผลิตในภาคเอกชน

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางด้านเคมี เคมีกายภาพและจุลินทรีย์ในระหว่างกระบวนการผลิตแผ่นเมี่ยง

1.2.2 เปรียบเทียบคุณภาพของแผ่นเมี่ยงและกระบวนการผลิตแผ่นเมี่ยงที่ผลิตจากข้าวเจ้า 3 พันธุ์

1.3 ขอบเขตการวิจัย

1.3.1 ข้าวเจ้าที่ใช้ในการผลิตแผ่นเมี่ยง 3 พันธุ์ ได้แก่ ชัยนาท 1 เหลือง 11 และสุรินทร์ 1

1.3.2 การโม่แป้งโดยใช้วิธีการโม่เปียก

1.3.3 การหมักน้ำแป้ง หมักที่อุณหภูมิ 37 ℃ เป็นเวลา 3 วัน และเปลี่ยนน้ำทุกวัน

1.3.4 ก่อนการนึ่งขึ้นรูปเติมเกลือ 1% (w/w)

1.3.5 เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงทางเคมี เคมีกายภาพ และจุลินทรีย์ในระหว่างกระบวนการผลิตแผ่นเมี่ยง ของข้าวทั้ง 3 พันธุ์

1.3.6 เปรียบเทียบคุณภาพแผ่นเมี่ยงจากข้าว 3 พันธุ์ และแผ่นเมี่ยงทางการค้า

1.4 สมมติฐานการวิจัย

1.4.1 การเปลี่ยนแปลงทางจุลินทรีย์ เคมี และเคมีกายภาพของน้ำแป้งจากข้าวทั้ง 3 พันธุ์ ส่งผลต่อคุณภาพของแผ่นเมี่ยงที่ดีต่างกัน

ตัวแปรต้น ข้าวเจ้า 3 พันธุ์ ได้แก่ ชัยนาท 1 เหลือง 11 และสุรินทร์ 1

ตัวแปรตาม การเปลี่ยนแปลงทางจุลินทรีย์ เคมี และเคมีกายภาพของน้ำแป้งในระหว่างการหมัก

บทที่ 2
การตรวจเอกสาร

2.1 แผ่นเมี่ยง

แผ่นเมี่ยง หรือแผ่นแป้ง (rice paper) หรือที่เรียกกันว่า ใบเมี่ยง ใบกระยอ มีลักษณะเป็นแผ่นกลม สีขาว คล้ายแผ่นปอเปียะแต่มีขนาดใหญ่และหนากว่า แผ่นแป้งที่ดีจะต้องมีลักษณะเป็นแผ่นบาง ใส สีขาว เมื่อนำมาแช่น้ำหมาด ๆ มีลักษณะเหนียวนุ่ม (อรพิน ภูมิภมร, 2533) มีอายุการเก็บรักษาเป็นเวลา 6 เดือน (อริยาภรณ์ พงษ์รัตน์, 2546) แผ่นเมี่ยงผลิตขึ้นจากข้าวเจ้าที่มีปริมาณอะมิโลสสูงประมาณ 27-33 % (งามชื่น คงเสรี, 2536) ในประเทศไทยมีการผลิตเป็นเวลานานแล้ว โดยพบว่าในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัดหนองคาย อุดรธานี สกลนคร มุกดาหาร และอุบลราชธานี เป็นแหล่งที่มีการผลิตเชิงการค้ามากที่สุด (อริยาภรณ์ พงษ์รัตน์, 2546) แต่เนื่องจากในแต่ละจังหวัดมีการใช้วัตถุดิบที่ต่างกันทำให้แผ่นเมี่ยงมีลักษณะของแผ่นที่ทำให้แต่ท้องที่มีลักษณะต่างกัน โดยจากการศึกษากระบวนการผลิตที่ผลิตในพื้นที่จังหวัดอุบลราชธานี โดยมีวิธีการผลิตดังต่อไปนี้

ข้าวเจ้า ล้างและแช่น้ำ 24 ชม.

⇩

โม่เปียกและหมักทิ้งไว้ 2-3 วัน โดยมีการเปลี่ยนน้ำ

⇩

เติมเกลือ 1 % แล้วละเลงแป้งบนผ้าขาวนึ่งด้วยไอน้ำ (แผ่นแป้งสุก)

⇩

ตากแดดบนตะแกรงไม้ไผ่

⇩

ผึ่งในที่อับลม

⇩

แผ่นเมี่ยง

ภาพที่ 2.1 กระบวนการผลิตแผ่นเมี่ยง

2.1.1 การแช่ข้าว

การแช่ข้าวเป็นเวลา 24 ชั่วโมงก่อนการนำมาโม่ในกระบวนการถัดไป จะทำให้เมล็ดข้าวดูดซึมน้ำเข้าไปในเมล็ดเพื่อให้สะดวกต่อการแปรรูปหรือการโม่และทำให้เมล็ดข้าวแตกได้ง่ายขึ้น โดยพบว่าการแช่ข้าวในน้ำมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเมล็ดข้าว (Koide et al., 2001) นอกจากนี้สภาวะในการแช่ข้าว เช่น อุณหภูมิและเวลาในการแช่ข้าวยังส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมี เช่น ความชื้น การละลายของแป้ง ปริมาณอะมิโลส และระดับของโปรตีน เป็นต้น (Bett-Garber et al., 2007) โดยพบว่าเมื่อแช่ข้าวที่อุณหภูมิที่สูงมีผลต่อการละลายของแป้งข้าว โดยจะเกิดการสูญสลายสารอาหารในเมล็ดข้าวบางส่วน (Kim et al., 2004; Yamakura et al., 2005; Thakur and Gupta, 2006; Chung et al., 2009) และ ณรงค์ นิยมวิทย์ (2538) ยังรายงานว่าการโม่ข้าวจะมีประสิทธิภาพสูงสุดจะต้องแช่ข้าวต่อน้ำประมาณ 1 ต่อ 1.9 หรือมีของแข็งประมาณ 45 %

2.1.2 การโม่

หลังจากการแช่ข้าว ขั้นตอนต่อไปคือการนำข้าวมาโม่ การโม่เป็นการลดขนาดของข้าวให้เล็กลง โดยทั่วไปแล้วการโม่แบ่งออกเป็น 2 วิธี คือ การโม่แห้งและการโม่เปียก ในกระบวนการผลิตแผ่นเมี่ยงจะใช้การโม่แบบโม่เปียก เนื่องจากแป้งที่ได้จากการโม่แห้งมีคุณภาพลดลง ได้ผงแป้งค่อนข้างหยาบ มีสิ่งเจือปนสูง ซึ่งต่างจากการโม่เปียก การโม่เปียกจะได้แป้งที่มีความละเอียดมาก และระหว่างการโม่ น้ำจะช่วยลดความร้อนทำให้แป้งมีคุณภาพมากกว่า ซึ่งเม็ดแป้งที่ผ่านการโม่จะมีขนาดเล็ก มีพื้นที่ในการสัมผัสกับน้ำมากขึ้น ทำให้เม็ดแป้งดูดน้ำได้ดีและพองตัวได้มาก ส่งผลต่อการเกิดเจลและการเกิดรีโทเกรเดชั่นที่ดี

2.1.3 การหมัก

การผลิตแผ่นเมี่ยงนอกจากการขั้นตอนการแช่ข้าวและการโม่แล้ว การหมักเป็นอีกกระบวนการที่มีความสำคัญต่อการผลิต การหมักเกิดจากการดำเนินกิจกรรมของจุลินทรีย์ โดยการใช้สารอาหารจากวัตถุดิบ โดยทั่วไปจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับอาหารหมักมี 3 ชนิดที่สำคัญ คือ แบคทีเรียแลคติก ยีสต์ และเชื้อรา (จารุวรรณ มณีศรี, 2550) ในขั้นตอนการหมักนั้น จุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในกระบวนการจะเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงแบบแปรผันตรงกับระยะเวลาในการหมัก และเจริญได้ดีในช่วง 20-24 ชั่วโมงแรกของการหมัก แต่สำหรับยีสต์นั้นส่วนใหญ่จะเพิ่มในระยะต้นๆ ซึ่งจุลินทรีย์ในกระบวนการหมักน้ำแป้งเป็นจุลินทรีย์จากธรรมชาติ การเกิดเมทาบอลิซึมทำให้มีการผลิตกรดออกมาส่งผลให้ปริมาณกรดเพิ่มขึ้น และจำนวนยีสต์จะลดลง

Phothiset and Charoenrein (2007) ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของเม็ดแป้งในระหว่างกระบวนการผลิตแผ่นเมี่ยง โดยศึกษาในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 จากผลการทดลองพบว่าในระหว่างกระบวนการหมักน้ำแป้ง จุลินทรีย์มีการเจริญและส่งผลต่อปริมาณกรด (เทียบเป็นกรดแลคติก) ที่สูงขึ้น เม็ดแป้งเกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีกายภาพ คือ ขนาด การกระจายตัว รูปร่างและพื้นผิวของเม็ดแป้ง มีลักษณะเหี่ยว มีรูพรุนเยอะขึ้น มีขนาดและรูปร่างที่แตกต่างไปจากเดิม ซึ่งลักษณะที่เปลี่ยนไปเหล่านี้มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติเชิงหน้าที่ของแป้ง (Functional properties of flours) คือ การดูดซับน้ำ การพองตัว การละลาย ความหนืด การเกิดเจลาติไนซ์ การเกิดรีโทรเกรเดชัน และการสูญเสียน้ำ

ปราโมทย์ ศิริโรจน์ (2534) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์และความสัมพันธ์ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลและกรดในกระบวนการหมักขนมจีน พบว่าปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นตามปริมาณจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้พีเอชลดลง กรดที่จุลินทรีย์สร้างขึ้นในกระบวนการหมักน้ำแป้งเป็นกรดแลคติก และความเป็นกรดที่สูงนอกจากส่งผลต่อประสิทธิภาพการเกิด Oxidation-Reduction ทำให้เกิดการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์อื่นๆ ที่ไม่ต้องการในกระบวนการหมักกรดแลคติคแล้วยังมีความสามารถในการย่อยแป้งทำให้องค์ประกอบทางเคมีของเม็ดแป้ง เช่น ปริมาณอะมิโลส อะมิโลเพคติน โปรตีน เถ้าและสารอินทรีย์อื่น ๆ เปลี่ยนแปลงไป

สุภรัตน์ ชวนะ และคณะ (2534) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีของแป้งขนมจีนในกระบวนการผลิตแบบผ่านกระบวนการหมักและไม่ผ่านกระบวนการหมัก พบว่าปริมาณความชื้นและปริมาณอะมิโลสในแป้งข้าวเจ้าเพิ่มขึ้น ปริมาณโปรตีนลดลง ส่วนองค์ประกอบทางเคมีอื่นๆลดลงเพียงเล็กน้อยในขนมจีนที่ไม่ผ่านกระบวนการหมัก ซึ่งการเปลี่ยนแปลงเหล่านี้นี้มีผลใกล้เคียงกับการผลิตแบบผ่านกระบวนการหมัก ยกเว้นปริมาณโปรตีนที่สูงกว่าเล็กน้อยในการผลิตขนมแบบไม่ผ่านกระบวนการหมัก

2.1.4 การเติมเกลือ

กระบวนการผลิตแผ่นเมี่ยงขั้นตอนหลังจากการหมัก มีการเติมเกลือก่อนนำไปนึ่งขึ้นรูปบนผ้าขาวบางบนหม้อน้ำเดือด เกลือเป็นสารประกอบทางเคมีที่เกิดขึ้นในธรรมชาติ มีรูปร่างไม่คงที่เป็นผลึกสีขาว โดยทั่วไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและครัวเรือน เกลือนอกจากจะเป็นสารให้รสชาติแก่อาหารแล้วยังช่วยในการยืดอายุการเก็บรักษาอาหาร โดยการลดปริมาณน้ำอิสระที่มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ ทำให้จุลินทรีย์เกิดการสูญเสียน้ำอย่างรุนแรง จุลินทรีย์จึงลดการเจริญ และช่วยลดการแทรกซึมของออกซิเจนเป็นผลให้จุลินทรีย์ในกลุ่มที่ต้องการออกซิเจนเจริญได้ยาก (กล้าณรงค์ ศรีรอต, 2521) และในระหว่างการนึ่งขึ้นรูป การเติมเกลือในน้ำแป้งจะช่วยให้แป้งดูดความชื้นไว้บางส่วน ทำให้แผ่นแป้งไม่กรอบและแตกหักได้ง่าย เมื่อเข้าสู่ขั้นตอนการทำแห้ง ส่งผลต่อคุณภาพของแผ่นที่เหมาะสม

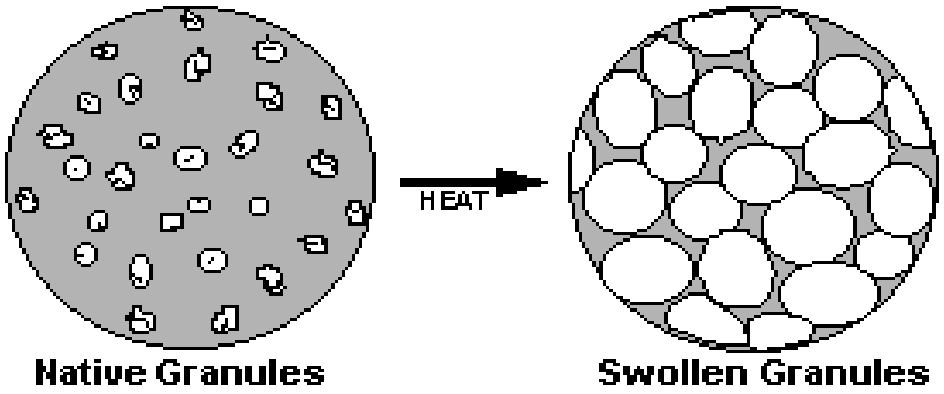
2.1.5 การนึ่งขึ้นรูปและการเปลี่ยนแปลงสมบัติเชิงหน้าที่ของน้ำแป้ง

การนึ่งขึ้นรูปแผ่นเมี่ยง ทำโดยการละเลงน้ำแป้งที่ผ่านกระบวนการหมักและการเติมเกลือ 1 เปอร์เซ็นต์ บนผ้าขาวบางที่ขึงบนหม้อนึ่งน้ำเดือด และเกลี่ยให้มีความหนาที่สม่ำเสมอโดยคำนวณเป็นน้ำหนักที่ปราศจากความชื้นต่อพื้นที่แล้วต้องไม่เกิน 2.5 กรัมต่อ 100 ตารางเซนติเมตร (สำนักมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2533) ไอน้ำจะทำให้แป้งสุกใช้เวลาประมาณ 15 วินาที จากนั้นลอกแผ่นแป้งที่สุกแล้วออกโดยกลิ้งไม้ที่เป็นท่อนกลมพันผ้าขาว ซึ่งผ้าขาวจะดูดแผ่นแป้งติดออกไปด้วย นำแผ่นแป้งที่ได้ไปแผ่ลงบนไม้ไผ่ขัดแตะ ในกระบวนการนึ่งนี้น้ำแป้งจะเกิดการเปลี่ยนแปลงสมบัติเชิงหน้าที่ ดังต่อไปนี้

2.1.5.1 การดูดซับน้ำ การการพองตัว และการละลาย

ที่อุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิการเกิดเจลาติไนซ์ เม็ดแป้งจะไม่ละลายน้ำ เนื่องจากโมเลกุลของแป้งประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl groups) จำนวนมากยึดเกาะกันด้วยพันธะไฮโดรเจน มีรูปร่างคล้ายร่างแห (micelles) ทำให้ในขณะที่แป้งอยู่ในน้ำเย็นเม็ดแป้งจะดูดซึมน้ำและพองตัวได้เล็กน้อย เมื่อให้ความร้อนน้ำแป้งจนมีอุณหภูมิสูงขึ้นประมาณ 60 องศาเซลเซียสขึ้นไป

ส่วน amorphous จะจับกับน้ำได้มากขึ้นและการจับกันของโมเลกุลในส่วน crystallite เริ่มคลายความหนาแน่นลง เนื่องจากพันธะไฮโดรเจนจะถูกทำลาย โมเลกุลน้ำจะมาจับกับหมู่ไฮดรอกซิลที่เป็นอิสระ เม็ดแป้งเกิดการพองตัวเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 2.2) โมเลกุลในส่วนผลึก (crystallite) ที่เหลืออยู่เกิดสภาพคล้ายร่างแหเรียกว่า micelle network ซึ่งยึดเหนี่ยวกันไว้ทำให้เม็ดแป้งยังคงสภาพอยู่ได้ เมื่อให้อุณหภูมิน้ำแป้งสูงขึ้นอีกส่วนผลึกที่เหลืออยู่นี้จะคลายตัวออกทำให้เม็ดแป้งพองมากขึ้นและโมเลกุลของแป้งอยู่ในสภาพละลายมากขึ้น เกิดการแตกตัวและโมเลกุลน้ำจะไปจับกับหมู่ไฮดรอกซิลอิสระของอะมิโลสและอะมิโลเพคตินด้วยพันธะไฮโดรเจน ส่งผลให้ความสามารถในการดูดซับน้ำและการละลายเพิ่มขึ้น (Singh et al., 2003) และปัจจัยที่มีผลต่อการพองตัว และความสามารถในการละลาย คือ ชนิดของแป้ง ความแข็งแรงและร่างแหภายในเม็ดแป้ง ปริมาณน้ำในสารละลายแป้ง สิ่งเจือปนภายในเม็ดแป้งที่ไม่ใช่คาร์โบไฮเดรต และการดัดแปรแป้งทางเคมี (กล้าณรงค์ ศรีรอต และเกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ, 2546) โดยแป้งที่มีปริมาณอะมิโลสสูง จะมีความแข็งแรงของพันธะไฮโดรเจนบริเวณในส่วนที่เป็นผลึกสูง ทำให้โครงร่างแหในเม็ดแป้งมีความแข็งแรงกว่าส่วนที่เป็นอสัณฐาน จึงทำให้มีกำลังการพองตัวและการละลายที่ต่ำกว่าแป้งที่มีปริมาณอะมิโลสต่ำ



ภาพที่ 2.2 การพองตัวของเม็ดแป้งเมื่อได้รับความร้อน
ที่มา: ดุษฎี อุตภาพ และน้องนุช เจริญกูล (2548)

นอกจากปัจจัยของปริมาณอะมิโลสและอะมิโลเพคตินแล้ว กระบวนการหมักก็มีผลต่อค่าการพองตัวและดัชนีการละลายเช่นกัน โดย มนต์ราม อินทรศิริ (2550) ได้ศึกษาการปรับปรุงเส้นขนมจีนเพื่อพัฒนาเป็นขนมจีนหมักพร้อมบริโภคแช่เยือกแข็ง ในแป้งปกติ แป้งหมักปกติ และแป้งหมักอบผสานเนื้อ พบว่าที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส แป้งปกติมีกำลังการพองตัวมากกว่าแป้งหมักปกติ ($p<0.05$) แต่ที่อุณหภูมิ 65, 75 และ 85 องศาเซลเซียส แป้งปกติมีกำลังการพองตัวน้อยกว่าแป้งหมักปกติ เนื่องจากผลการส่องดูเม็ดสตาร์ชด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดแป้งหมักปกติมีรูพรุนจำนวนมากที่เกิดจากการย่อยของเอนไซม์และกรดอ่อนระหว่างกระบวนการหมัก จากนั้นเมื่ออยู่ในสภาวะน้ำมากเกินพอ ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส น้ำจะสามารถซึมเข้าไปในเม็ดสตาร์ชได้มากกว่าแป้งปกติ ทำให้แป้งหมักปกติสามารถพองตัวได้มากกว่าแป้งปกติ

2.1.5.2 ความหนืด

ความหนืดเป็นคุณสมบัติที่สำคัญของแป้ง เมื่อให้ความร้อนกับน้ำแป้ง พันธะไฮโดรเจนเกิดการคลายตัว ทำให้เม็ดแป้งดูดซึมน้ำและเกิดการพองตัว โมเลกุลของน้ำอิสระบริเวณรอบ ๆเม็ดแป้งจะเหลือน้อยลง เม็ดแป้งเกิดการเคลื่อนที่ได้ยากขึ้นทำให้เกิดความหนืด พฤติกรรมความหนืดเป็นลักษณะเฉพาะตัวและแตกต่างกันไปตามชนิดของข้าว เมื่อเม็ดแป้งซึ่งแขวนลอยในน้ำได้รับความร้อนจนถึงระดับหนึ่งจะพองตัวได้อย่างรวดเร็ว ทำให้ความหนืดเพิ่มขึ้นเร็วมากจนถึงขีดสุด (peak viscosity) จากนั้นอาจลดลงหรือคงที่ขึ้นอยู่กับชนิดของแป้ง การที่แป้งมีความหนืดสูงสุดเนื่องจากเมื่อเม็ดแป้งมีการพองตัวมากขึ้น และมีชิ้นส่วนของเม็ดแป้งและหรือโมเลกุลของ อะมิโลสและอะมิโลเพคตินบางส่วนที่หลุดออกมาอยู่ในสารละลาย เมื่อส่วนที่ละลายออกมามีผลทำให้ความหนืดลดลง ซึ่งจะเห็นได้ชัดเมื่ออยู่ในช่วงหุงต้มที่ 95 องศาเซลเซียส ดังนั้นค่าความหนืดของน้ำแป้งสุกจะเป็นผลมาจากการพองตัวของเม็ดแป้งและการแตกหักของเม็ดแป้งร่วมกับสารละลายที่ออกมาจากโมเลกุลแป้ง (กล้าณรงค์ ศรีรอต และเกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ, 2546) โดยปัจจัยที่มีผลต่อความหนืดเช่น ชนิดของแป้ง ขนาดอนุภาค สัดส่วนของอะมิโลสต่ออะมิโลเพกติน อุณหภูมิ shear rate เป็นต้น ซึ่งปัจจัยที่มีผลมากที่สุดได้แก่ ชนิดของแป้ง จากรายงานของ รุ่งนภา พงสวัสดิ์มานิต และคณะ (2546) กล่าวว่าลักษณะการเปลี่ยนแปลงความหนืดของสตาร์ชข้าวจะแตกต่างตามพันธุ์ข้าว โดยพบว่าอุณหภูมิที่สารละลายเริ่มเปลี่ยนแปลงความหนืดของสตาร์ชที่มีปริมาณ อะมิโลสสูงมีค่าสูงกว่าพันธุ์ที่มีอะมิโลสต่ำ และพบว่าค่าความหนืดสูงสุดของสตาร์ชในกลุ่มที่มีปริมาณอะมิโลสต่ำจะมีแนวโน้มให้ค่าสูงกว่าสตาร์ชกลุ่มที่มีปริมาณอะมิโลสสูง

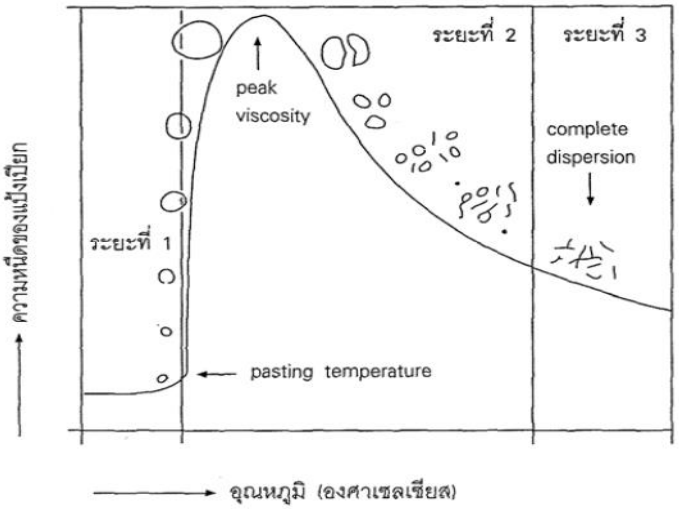
2.1.5.3 การเกิดเจลาติไนเซชั่น

เมื่อให้ความร้อนกับแป้งอุณหภูมิที่สารละลายเริ่มเปลี่ยนแปลงความหนืดเรียกว่าอุณหภูมิเริ่มเจลาติไนซ์ และเมื่อแป้งได้รับความร้อนสูงกว่าอุณหภูมิแป้งสุกจนเม็ดแป้งเกิดการพองตัวจนแตกและโมเลกุลของอะมิโลสหลุดออกจากเม็ดแป้ง ทำให้แป้งมีความหนืดเพิ่มขึ้น เมื่อปล่อยให้แป้งเย็นลงโมเลกุลของแป้งจะจับตัวกันและมีผลึกเกิดขึ้น ซึ่งส่วนใหญ่เกิดจากโมเลกุลของ อะมิโลสเนื่องจากโมเลกุลของอะมิโลเพคตินจับตัวกันอย่างไม่เป็นระเบียบทำให้จับตัวกันได้ยาก การจับตัวกันจะเกิดขึ้นทั้งในเม็ดแป้งที่ยังไม่แตกตัวและนอกเม็ดแป้ง ทำให้แป้งเปียกทั้งหมดยึดเหนี่ยวกันเหมือนโครงสร้างของฟองน้ำโดยมีเม็ดแป้งแทรกอยู่ในช่องว่างโดยทั่วไป ลักษณะเช่นนี้เรียกว่าเจล และเรียกปรากฏการณ์นี้ว่าการเกิดเจลาติไนเซชัน โดย แบ่งเป็น 3 ระยะ (ภาพที่ 2.3) คือ

ระยะที่ 1 ระยะนี้เม็ดแป้งจะดูดซึมน้ำเย็นได้อย่างจำกัดและเกิดการพองตัวแบบผันกลับได้ เนื่องจากร่างแหระหว่างไมเซลล์ยืดหยุ่นได้จำกัด ความหนืดไม่เพิ่มขึ้น เม็ดแป้งยังคงรักษา โครงร่างและโครงสร้างแบบที่เกิดการบิดแสงระนาบโพลาไรซ์ได้

ระยะที่ 2 เม็ดแป้งเกิดการพองตัวอย่างรวดเร็ว พันธะไฮโดรเจนถูกทำลาย เม็ดแป้งเกิดการดูดน้ำมาก เกิดการพองตัวแบบผันกลับไม่ได้ เรียกว่า เกิดการเจลาติไนเซชัน เม็ดแป้งเกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและโครงสร้าง ความหนืดของสารละลายแป้งจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว แป้งที่ละลายช้าจะเริ่มละลายออกมา

ระยะที่ 3 การเพิ่มของอุณหภูมิจนถึงระยะนี้ รูปร่างแป้งจะไม่แน่นอน การละลายของแป้งเพิ่มขึ้น เมื่อนำไปทำให้เย็นจะทำให้เกิดเจล (กล้าณรงค์ ศรีรอต และเกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ, 2546)



ภาพที่ 2.3 การเกิดเจลาติไนเซชันของเม็ดแป้ง

ที่มา: กล้าณรงค์ ศรีรอต และเกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ (2546)

การตรวจสอบเจลาติไนซ์สามารถตรวจสอบโดยเครื่องมือที่วัดและบันทึกปริมาณความร้อนที่เปลี่ยนแปลงระหว่างกระบวนการซึ่งเครื่องมือที่นิยมในปัจจุบันนี้คือเครื่อง Differential Scanning Colorimeter (DSC) ที่ใช้วัดการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางกายภาพหรือทางเคมีของวัสดุในรูปฟังก์ชั่นหรืออุณหภูมิ ปกติพอลิเมอร์ต่าง ๆ ในรูปผลึก และสัณฐานจะมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะได้เมื่อได้รับความร้อน สำหรับการวัดลักษณะของการเกิดเจลาติไนเซชันของแป้งโดยใช้ DSC ทำได้โดยการให้ความร้อนแก่ตัวอย่างสารผสมแป้งกับน้ำในอัตรา 30/70 จนถึงอุณหภูมิที่คาดว่าเลยช่วงในการเกิดเจลาติไนเซชันจะได้ thermogram ซึ่งเป็นกราฟระหว่าง heat flow และอุณหภูมิ พลังงานที่ใช้ในการเกิดเจลาติไนเซชันจึงได้จากพื้นที่ใต้กราฟหารด้วยน้ำหนักตัวอย่าง (กล้าณรงค์ ศรีรอต และเกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ, 2546) ค่าที่ได้จากการวัดด้วยเครื่อง DSC โดยเฉพาะค่าพลังงานความร้อนที่ใช้ในการเกิดเจล มักขึ้นอยู่กับโครงสร้างจุลภาคและองค์ประกอบของแป้ง อัตราส่วนอะมิโลสต่ออะมิโลเพคติน โครงสร้างของเม็ดแป้ง (ส่วนที่เป็นผลึกต่อส่วนที่เป็นอสัณฐาน) ที่มีกลไกเกิดในลักษณะการแตกสลายของเกลียวคู่มากกว่าการแตกสลายสายยาวของส่วนที่เป็นผลึก และเป็นความร้อนแฝงที่ถูกดูดซับโดยการหลอมละลายของผลึกในเม็ดแป้ง นอกจากนี้ยังพบว่าอุณหภูมิในการเกิดเจลาติไนซ์ที่สูงของแป้งอาจเกิดจากขนาดของเม็ดแป้ง ความแข็งแรงของพันธะในโครงสร้างตาข่ายไมเซลล์ของเม็ดแป้ง และองค์ประกอบอื่น ๆ ภายในแป้ง (Rasper et al., 1974) ซึ่งแป้งจากข้าวที่มีปริมาณอะมิโลสสูง มีผลทำให้น้ำแป้งจะเกิดเจลได้ดี แต่ถ้ามีปริมาณอะมิโลสมากเกินไปก็จะทำให้การดูดน้ำเกิดขึ้นได้ช้าและแตกตัวยาก เจลที่เกิดขึ้นจะมีลักษณะแข็งกรอบ (ณรงค์ นิยมวิทย์ และอัญชนีย์ อุทัยพัฒนาชีพ, 2535; ณรงค์ นิยมวิทย์, 2540)

มนต์ราม อินทรศิริ (2550) ได้ศึกษาการปรับปรุงเส้นขนมจีนเพื่อพัฒนาเป็นขนมจีนหมักพร้อมบริโภคแช่เยือกแข็ง ในแป้งปกติ แป้งหมักปกติ และแป้งหมักอบผสานเนื้อ พบว่าเมื่อนำแป้งทั้ง 3 ชนิดที่มีองค์ประกอบทางเคมีต่างกัน (แป้งหมักปกติมีปริมาณอะมิโลสมากกว่าแป้งหมักอบผสานเนื้อที่ 24 และ 48 ชั่วโมง) เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงในระหว่างกระบวนการหมัก นำมาหาค่าการเกิดเจลาติไนซ์ด้วย DSC พบว่าแป้งหมักปกติมีค่าพลังงานสลายพันธะน้อยกว่าแป้งหมักอบผสานเนื้อที่ระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ซึ่งหมายความว่าปริมาณอะมิโลสมีผลต่อค่าพลังงานในการเกิดเจลาติไนซ์

2.1.5.4 การเกิดรีโทรเกรเดชั่น

การเกิดรีโทรเกรเดชัน (Retrogradation) และซินเนอเรซิส (Syneresis) เมื่อแป้งได้รับความร้อนจนถึงอุณหภูมิที่เกิดเจลาติไนเซชันแล้วให้ความร้อนต่อเม็ดแป้งจะเกิดการพองตัวเต็มที่และแตกออก โมเลกุลของอะมิโลสที่มีขนาดเล็กกระจายออกในสารละลายทำให้ความหนืดลดลง เมื่อปล่อยให้เย็นโมเลกุลของอะมิโลสที่อยู่ใกล้กันเกิดการจัดเรียงตัวใหม่ด้วยพันธะไฮโดรเจน เกิดเป็นร่างแหสามมิติ ซึ่งส่งผลต่อความสามารถในการอุ้มน้ำและความหนืดที่คงตัวมากขึ้น เกิดลักษณะเป็นเจลเหนียว เรียกว่า การเกิดรีโทรเกรเดชันหรือการคืนตัว (Setback) เมื่ออุณหภูมิต่ำลงการเรียงตัวของโครงสร้างจะแน่นมากขึ้น โมเลกุลน้ำอิสระที่อยู่ภายในถูกบีบออกมานอกเจล เรียกว่า Syneresis ปรากฏการณ์ทั้ง 2 นี้จะทำให้เจลมีลักษณะขาวขุ่นและมีความหนืดเพิ่มขึ้น เกิดการตกตะกอนของอนุภาคแป้งที่ไม่ละลาย ทำให้เกิดเจลและโมเลกุลของน้ำบีบออกมานอกเจล การคืนตัวของแป้งจะเกิดขึ้นอย่างช้า ๆ และเกิดการตกตะกอน ถ้าเกิดอย่างรวดเร็วจะทำให้เจลขุ่น

ปัจจัยที่มีผลต่อการคืนตัวของแป้ง คือ ชนิดแป้ง ความเข้มข้นของแป้ง การให้ความร้อน อุณหภูมิ ระยะเวลา ความเป็นกรดด่างของสารละลาย ปริมาณและขนาดของอะมิโลสและอะมิโลเพคติน รวมถึงองค์ประกอบทางเคมีอื่น ๆ ของแป้ง (กล้าณรงค์ ศรีรอต และเกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ, 2546) เช่น ถ้าโมเลกุลของอะมิโลสมีขนาดเล็กโมเลกุลมีการเคลื่อนไหวอยู่เสมอและค่อนข้างเร็ว การจับตัวของโมเลกุลจะไม่เกิดขึ้น แต่ถ้าโมเลกุลของอะมิโลสมีขนาดใหญ่ขึ้นเกิดการเคลื่อนไหวได้ช้า การเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุลจะเกิดขึ้นได้ดี และถ้าโมเลกุลของอะมิโลสมีขนาดใหญ่มาก การเคลื่อนตัวเกิดขึ้นได้ช้ามากการคืนตัวจะเกิดขึ้นได้ช้า นอกจากนี้ค่าความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิและสารอนินทรีย์อื่น ๆ ยังมีผลคือ การเกิดรีโทรเกรเดชั่นจะเกิดขึ้นได้เร็วเมื่ออยู่ในอุณหภูมิต่ำและในสภาพที่มีพีเอชเท่ากับ 7 ถ้าความเป็นกรด-ด่างมีค่าสูงหรือต่ำกว่านี้การเกิดรีโทรเกรเดชั่นจะเกิดได้ช้า เนื่องจากโมเลกุลที่มีขนาดเล็ก ส่วนสารอนินทรีย์อื่น ๆ มีผลต่อการดูดซับน้ำของแป้ง ทำให้แป้งดูดซับน้ำได้น้อยลงทำให้การเกิดรีโทรเกรเดชั่นช้าลง เป็นต้น (ณรงค์ นิยมวิทย์ และอัญชนีย์ อุทัยพัฒนาชีพ, 2535; ณรงค์ นิยมวิทย์, 2540)

การทดสอบความสามารถในการเกิดรีโทเกรเดชันของแป้งแต่ละชนิดนอกจากจะประมาณได้จากค่าผลต่างระหว่างความหนืดสุดท้ายกับความหนืดสูงสุด (setback from peak) หรือความหนืดสุดท้ายกับความหนืดต่ำสุด (setback from trough) หรือที่เรียกว่าค่าการคืนตัวของแป้งที่วัดด้วยเครื่อง Brabender หรือ Rapid visco analyser แล้วยังสามารถวัดได้ด้วยเครื่อง DSC โดยนำแป้งดิบไปหาพลังงานที่ใช้ในการเกิดเจลาติไนเซชัน แล้วนำแป้งที่ผ่านเจลาติไนเซชันนี้ไปบ่มไว้ใน

สภาวะที่กำหนดให้เกิดรีโทรเกรเดชันโดยใช้อุณหภูมิต่างๆกัน (กล้าณรงค์ ศรีรอต และเกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ, 2546)

2.1.6 การทำให้แห้ง

ขั้นตอนการตากแดดและผึ่งในที่อับลม เป็นการลดความชื้นของผลิตภัณฑ์แผ่นเมี่ยงให้เหลือร้อยละ 13-16 ซึ่งเป็นระดับความชื้นที่สามารถเก็บได้นานโดยไม่เสีย (กล้าณรงค์ ศรีรอต, 2538) จากกระบวนการผลิตแผ่นเมี่ยงจะเห็นได้ว่าหลังจากการตากแดดแล้วจะนำไปผึ่งในที่อับลมเพื่อให้มีการแพร่ของน้ำไปอย่างช้าๆ ความชื้นจะเกิดการกระจายตัวได้ทั่วทั้งแผ่น นอกจากนี้ในขั้นตอนการทำแห้งหากสภาวะที่ใช้ไม่พอดี จะมีผลต่อการแตกของแผ่น (กล้าณรงค์ ศรีรอต, 2538) รอยแตกของแผ่นเกิดจาก ปัจจัยดังต่อไปนี้

2.1.6.1 การใช้ความร้อนในการทำแห้งสูงเกินไป (thermal check) จะทำให้ผิวภายนอกแข็งโดยที่ภายในยังคงมีความชื้นอยู่ เมื่อมีการระเหยน้ำออกมาจากที่ที่มีความชื้นสู่ภายนอก ทำให้ภายนอกและภายในเกิดการหดตัวได้ไม่เท่ากันจึงทำให้เกิดรอยแตกได้

2.1.6.2 การใช้ความร้อนปานกลาง (expention check) ในขั้นนี้จะได้รับความร้อนในระดับปานกลางไม่ร้อนมากทำให้ภายนอกไม่แข็งมาก แต่ก็มีผลทำให้อัตราการเคลื่อนที่ของน้ำระหว่างภายนอกและภายในไม่เท่ากัน ทำให้เกิดการกระจายน้ำจากภายในสู่ภายนอกเกิดการหดตัวและเกิดรอยแตกได้เช่นกัน

2.1.6.3 การดูดซึมน้ำ (compression check) เกิดเนื่องจากความชื้นของผลิตภัณฑ์และบรรยากาศภายนอกไม่เท่ากัน เมื่อผลิตภัณฑ์มีความชื้นต่ำกว่าจะเกิดการดูดซึมน้ำจากสภาพแวดล้อมและเกิดการขยายตัวจนทำให้เกิดการแตกตัวของพื้นผิวภายนอกของผลิตภัณฑ์และหลุดออกจากกันได้

2.1.6.4 การหดตัวของผิวแห้งของผลิตภัณฑ์ (tension check) เมื่อมีการเก็บไว้ในที่ที่มีอุณหภูมิสูงและแห้ง จำทำให้ผลิตภัณฑ์เกิดรอยแตกแต่ไม่ลึกมาก

ทั้งนี้จากที่กล่าวมาข้างต้นจะเห็นได้ว่ากระบวนการผลิตแผ่นเมี่ยงตั้งแต่เริ่มต้นจนสิ้นสุดกระบวนการมีการเปลี่ยนแปลงตลอดเวลา และแป้งคือวัตถุดิบหลักที่ใช้ในการผลิต ในแป้งประกอบด้วยองค์ประกอบทางเคมีคือ อะมิโลส อะมิโลเพคติน โปรตีน ไขมัน และองค์ประกอบอื่น ๆ ดังนั้นองค์ประกอบเหล่านี้จึงมีความสำคัญมากต่อการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของทั้งกระบวนการผลิตแผ่นเมี่ยง

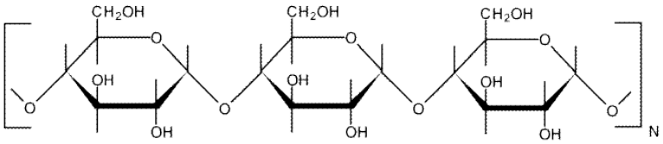
2.2 แป้ง

แป้งเป็นโพลิเมอร์ของกลูโคสที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่มีสูตรทั่วไปคือ $(C_6H_{10}O_5)_n$ พบมากในพืช ที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์แสง พืชเก็บสะสมแป้งไว้ตามส่วนต่างๆ เช่น หัว ราก เมล็ด ลำต้น ผล เป็นต้น โดยรวมตัวกันอยู่ในรูปเม็ดที่อาจมีหรือไม่มีเมมเบรน (Membrane) หุ้มก็ได้ เรียกว่า อะมิโลพลาสต์ (Amyloplast) แป้งมีหน่วยพื้นฐานเป็น anhydroglucose unit เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ **α**-glycosidic linkage ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 1 ของหน่วยกลูโคสกับคาร์บอนตำแหน่งที่ 4 ของหน่วยกลูโคสที่อยู่ถัดไป ด้านปลายของโมเลกุลแป้งจะมี anomeric carbon (C1) ซึ่งว่างอยู่ไม่ได้จับกับโมเลกุลอื่น ๆ ดังนั้นแต่ละโมเลกุลของแป้งจะมีด้านปลายที่มีคุณสมบัติรีดิวซ์ (reducing end) นั่นคือแป้งหนึ่งโมเลกุลจะมีตำแหน่ง reducing end 1 ตำแหน่ง โมเลกุลแป้งแบ่งออกเป็น 2 ชนิดหลัก ๆ ตามขนาดโมเลกุลและลักษณะการจัดเรียงตัว คือ อะมิโลสซึ่งมีขนาดเล็กและมีกิ่งก้านสาขาเพียงเล็กน้อย และอะมิโลเพคตินซึ่งมีขนาดใหญ่และมีกิ่งก้านสาขามากมาย

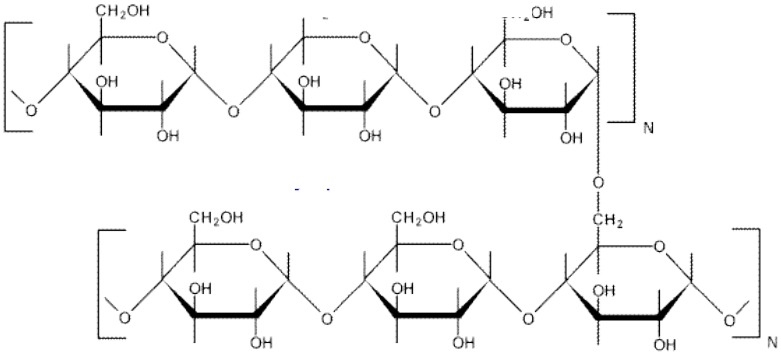
2.2.1 อะมิโลส

อะมิโลสเป็นพอลิเมอร์เชิงเส้นของน้ำตาลกลูโคส ประกอบโดยโมเลกุลของกลูโคสประมาณ 200 ถึง 2,000 หน่วย เชื่อมต่อกนด้วยพันธะ **α**-1,4-glycosidic linkage ดังภาพที่ 2.4 ตำแหน่งของอะมิโลสในเม็ดแป้งขึ้นอยู่กับชนิดของแป้ง บางชนิดอาศัยอยู่ในส่วนที่เป็นอสัณฐานและส่วนที่เป็นผลึกบางชนิดอยู่ในกลุ่มของอะมิโลเพคติน และอะมิโลสที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่จะพบเป็นเกลียวคู่กับอะมิโลเพคตินอยู่ใจกลางเม็ดแป้ง แต่ถ้ามีขนาดโมเลกุลเล็กจะพบอยู่ตามขอบของเม็ดแป้ง (Hizukuri., 1995) ในข้าวเจ้าจะมีปริมาณอะมิโลสและอะมิโลเพคตินต่างกัน อะมิโลสจะมีขนาดโมเลกุลเล็กกว่ากว่า อะมิโลเพคตินมาก และมีอัตราการคืนตัวสูงเนื่องจากมีโครงสร้างที่เป็นระเบียบ (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2545) และจะมีการเกิดเจลได้เร็วกว่าอะมิโลเพคติน (กล้าณรงค์ ศรีรอต และเกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ, 2546) โมเลกุลของอะมิโลส ไม่มีความสามารถในการละลายน้ำ ทำให้เมื่อเติมน้ำลงไปอะมิโลสเกิดเกาะตัวกันเป็นตะกอนที่ไม่ละลาย เนื่องจากโมเลกุลของอะมิโลสเป็นสายยาวจึงมีโอกาสที่จะจับคู่กับอะมิโลสอีกโมเลกุลหนึ่งเป็นสายยาวคู่ขนานเกาะกันด้วยพันธะไฮโดรเจนกลายเป็นตาข่ายมีขนาดใหญ่ขึ้น ทำให้ความสามารถในการอุ้มน้ำลดลงและตกตะกอนได้ (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2545) ในแป้งข้าวแต่ละชนิดจะมีปริมาณอะมิโลสที่แตกต่างกันเกิดจาก สายพันธุ์ แหล่งปลูก และสิ่งแวดล้อม (Wang et al., 2010)

อะมิโลสสามารถรวมตัวเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับไอโอดีนและสารประกอบอินทรีย์อื่น ๆ เช่น butanol, fatty acid, surfactant, phenol, และ hydrocarbon สารประกอบเชิงซ้อนเหล่านี้จะไม่ละลายน้ำ โดยอะมิโลสจะพันเป็นเกลียวล้อมรอบสารประกอบอินทรีย์ (Galliard และ Bowler., 1987) นอกจากนี้อะมิโลสที่รวมตัวกับไอโอดีนจะให้สีน้ำเงิน ซึ่งเป็นลักษณะที่บ่งบอกถึงแป้งที่มีองค์ประกอบของอะมิโลส



โครงสร้างอะมิโลส

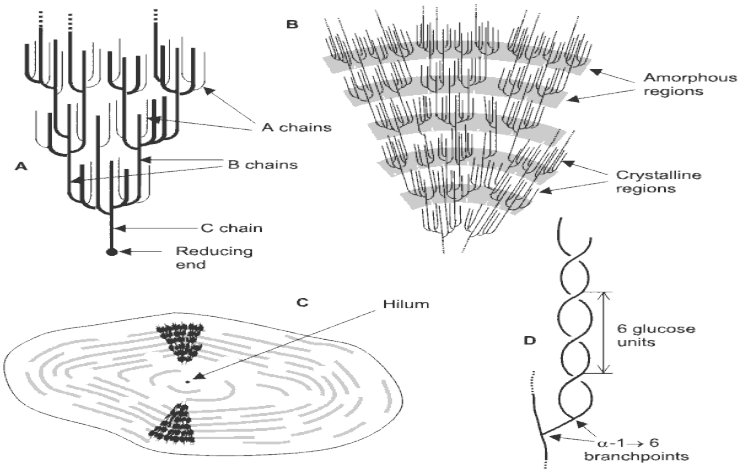


โครงสร้างอะมิโลเพคติน

ภาพที่ 2.4 โครงสร้างของอะมิโลสและอะมิโลเพคติน
ที่มา: Biochem1362 (2013: web-site)

2.2.2 อะมิโลเพคติน

โครงสร้างของอะมิโลเพคตินประกอบด้วย α–D–กลูโคส หลายๆ หน่วยมาจับต่อกันด้วยพันธะ α–1, 4’ ไกลโคซิดิก แต่มีบางส่วนจับต่อกันด้วยพันธะ α–1, 6’ ไกลโคซิดิก โดยมีอัตราส่วนระหว่างพันธะทั้งสองชนิดเป็น 15 : 1 ตามลำดับ ดังนั้นโครงสร้างของอะมิโลเพคตินจึงเป็นกิ่งก้านสาขา ดังภาพที่ 2.4 ส่วนที่เป็นกิ่งก้านสาขาเป็นโพลิเมอร์กลูโคสสายสั้นมีขนาดโมเลกุลอยู่ในช่วง 10-60 หน่วย (กล้าณรงค์ ศรีรอต และเกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ, 2546) โดยทั่วไปอะมิโลเพคตินมีขนาดโมเลกุลใหญ่กว่าอะมิโลสมาก น้ำหนักโมเลกุลประมาณ 10^6-5 x 10^8 ดาลตัน ประมาณ 1,000 เท่าของอะมิโลส และมีอัตราการคืนตัวต่ำเนื่องจากโครงสร้างที่เป็นสายกิ่ง (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2545) ลักษณะโครงสร้างแบบกิ่งของอะมิโลเพคตินประกอบด้วยสายโซ่ 3 ชนิด ดังภาพที่ 2.5 คือ สาย A (A-chain) เป็นสายโซ่ที่เชื่อมต่อกับสายอื่นที่ตำแหน่งเดียวไม่มีกิ่งเชื่อมต่อออกจากสายชนิดนี้ สาย B (B-chain) มีโครงสร้างแบบกิ่งเชื่อมต่อกับสายอื่นอีก 2 สายหรือมากกว่า และสาย C (C-chain) เป็นสายแกนซึ่งประกอบด้วยหมู่รีดิวซิง 1 หมู่ ที่เป็นอิสระและถูกแทนที่เพียงจุด C-6 (primary hydroxyl group) ซึ่งในอะมิโลเพคตินแต่ละโมเลกุลจะประกอบด้วย สาย C หนึ่งสายเท่านั้น เนื่องจากมีการเชื่อมต่อ A-chain, B-chain และ C-chain ภายในโมเลกุลอะมิโลเพคตินด้วยพันธะ α-(1,6) glycosidic linkage ซึ่งมีสาย C-chain เพียงหนึ่งสายโซ่ต่อโมเลกุล ดังนั้นอัตราส่วนของ A-chain และ B-chain จึงมีความสำคัญเนื่องจากเป็นการแสดงถึง degree of multiple branching ของโมเลกุล



ภาพที่ 2.5 ลักษณะโครงสร้างแบบกิ่งของอะมิโลเพคติน
ที่มา: ทรงศิลป์ พจน์ชนะชัย (2558: web-site)

แป้งจะอยู่ในรูปเม็ดแป้ง (Starch granule) มีขนาด 1-2 ไมครอนไปจนถึง 200 ไมครอนมีลักษณะรูปร่างแตกต่างกันไปทั้งแบบทรงกลม รูปไข่ และหลายเหลี่ยม ภายในเม็ดแป้งมีโมเลกุลเป็นเส้นยาวของ อะมิโลสมาเกาะเกี่ยวกับโมเลกุลที่มีกิ่งสาขาของอะมิโลเพคติน โดยที่พันธะไฮโดรเจนเป็นตัวช่วยยึดให้เข้ามาจัดเรียงตัวกันเป็นชั้น ๆ บางส่วนอาจเรียงตัวกันอย่างหนาแน่น บางส่วนก็บางสลับกันไปตามแนวรัศมีของเม็ดแป้ง จึงทำให้เกิดลักษณะที่เรียกว่าวงแหวน (Concentric ring) ขึ้นในเม็ดแป้งซึ่งสามารถมองเห็นได้จากกล้องจุลทรรศน์จุดศูนย์กลางของวงแหวนเรียกว่าไฮลัม (hilum) อาจอยู่ตรงกลางหรืออยู่ส่วนปลายด้านแคบของเม็ดแป้งถ้าส่องด้วยกล้องโพลาไรซ์ จะมองเห็นวงแหวนและไฮลัมเป็นเครื่องหมายกากบาทสีดำชัดเจน (birefringence หรือ polarization cross) โดยจุดตัดกากบาทจะเป็นตำแหน่งของไฮลัมและบริเวณอื่นจะเห็นเป็นแสงสว่างวาว ซึ่งเป็นสิ่งยืนยันถึงลักษณะที่โมเลกุลของเม็ดแป้งมีการจัดเรียงตัวกันอย่างเป็นระเบียบ (Kerr., 1950) และเนื่องจากการจัดเรียงตัวเป็นแบบหนาบางของอะมิโลสและอะมิโลเพคตินนี้เองทำให้เกิดบริเวณซึ่งเรียกว่า amorphous region และ crystallites (micelle หรือ crystallites) โดยส่วน crystallites จะเป็นบริเวณที่โมเลกุลจัดเรียงตัวกันอย่างหนาแน่นเป็นระเบียบ พองตัวยากและทนต่อปฏิกิริยามากกว่าส่วน amorphous ซึ่งเป็นส่วนที่โมเลกุลจัดเรียงตัวกันอย่างไม่หนาแน่น มีกลุ่มไฮดรอกซิลอิสระอยู่มากจึงทำให้พองตัวง่ายและเป็นส่วนที่ไวต่อปฏิกิริยา

2.2.2 โปรตีน

โปรตีนเป็นอีกหนึ่งองค์ประกอบทางเคมีที่มีความสำคัญ ข้าวเจ้าจะมีโปรตีนหลักอยู่ 4 ชนิด คือ อัลบูมิน (albumin) โกลบูลิน (globulin) โพรลามิน (prolamin) และกลูเตลิน (glutelin) ซึ่งในข้าวเจ้า จะมีโปรตีนชนิดกลูเตลินมากถึงร้อยละ 85-90 และถ้าอยู่ในข้าวจะเรียกโปรตีนชนิดนี้ว่าออไรเซนิน (อรอนงค์ นัยวิกุล, 2532) โปรตีนชนิดนี้จะพบมากที่สุดที่จุดศูนย์กลางของเนื้อแป้ง มีลักษณะเป็นเม็ดมีขนาด 1-4 ไมครอน โดยโปรตีนเหล่านี้จะอยู่รวมตัวกันเป็นกลุ่มเรียกว่า protein body แทรกอยู่ระหว่างกลุ่มของเม็ดแป้ง

โปรตีนที่อยู่ในแป้งข้าวมีความสามารถในการละลายได้ในสารละลายต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของโปรตีน ดังนี้ อัลบูมินสามารถละลายได้ในน้ำ โกลบูมินไม่สามารถละลายในน้ำได้แต่จะมีความสามารถละลายได้ดีในสารละลายเกลือเจือจาง โพรลามินสามารถละลายได้ในแอลกอฮอล์ กลูเตลินสามารถละลายได้ในกรดและเบสเจือจางแต่ไม่สามารถละลายน้ำและสารละลายเกลือเจือจาง (Cagampang et al., 1996)

นอกจากนี้ปริมาณโปรตีนในข้าวแต่ละพันธุ์ยังมีผลต่อการกระจายของเม็ดแป้ง ทำให้แป้งมีอัตราการดูดซับน้ำ อัตราการพองตัวและอัตราการเกิดเจลาติไนซ์ต่างกัน ซึ่งส่งผลให้เกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) ระหว่างทำปฏิกิริยาของกรดอะมิโนกับน้ำตาลรีดิวซ์ซิง ทำให้สีและกลิ่นผลิตภัณฑ์เปลี่ยนแปลงไป ส่วนใหญ่ปฏิกิริยานี้จะพบในแป้งธัญพืช เนื่องจากมีโปรตีนสูง (กล้าณรงค์ ศรีรอต และเกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ, 2546; ดุษฎี อุตภาพ และน้องนุช เจริญกูล, 2548) ปริมาณโปรตีนในแป้งเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีส่วนสำคัญต่อสมบัติของแผ่นแป้ง เนื่องจากโปรตีนจะแทรกตัวอยู่ระหว่างกลุ่มของเม็ดแป้งทำให้แป้งดูดซึมน้ำได้น้อยลง การพองตัวไม่ดี ส่งผลให้การแตกตัวของเม็ดแป้งลดลง และยังมีรายงานว่าแผ่นแป้งที่ผลิตจากแป้งที่สกัดโปรตีนออกบางส่วนด้วยด่างหรือเกลือจะมีความเหนียวและความยืดหยุ่นเพิ่มขึ้น (อัมพร ทับปลา, 2544) ดังนั้นข้าวที่มีปริมาณโปรตีนน้อยมีผลให้เม็ดแป้งสามารถดูดซึมน้ำและแตกตัวได้ง่ายเมื่อสัมผัสกับความร้อน

2.2.3 ไขมัน

ไขมันในเม็ดแป้งจากเอนโดสเปิร์มของพวกธัญพืชจะมีองค์ประกอบของไขมันประมาณ 0.6-0.8 %(w/w) จะพบที่อยู่บริเวณพื้นผิวของเม็ดแป้ง ซึ่งประกอบด้วยไตรกลีเซอรไรด์ (triglyceride) กรดไขมันอิสระ (free fatty acid) กลูโคลิพิด (glucolipids) ฟอสฟอลิพิด (phospholipids) และไขมันที่อยู่กระจายทั่วไปในเม็ดแป้ง โดยเชื่อมพันธะกับคาร์โบไฮเดรตอย่างหลวมๆ ไขมันที่มีอยู่ในแป้งมีผลต่อลักษณะและคุณสมบัติของแป้ง เนื่องจากการรวมตัวกับอะมิโลสเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของอะมิโลสกับไขมัน (Amylose-lipid complex) ส่งผลให้ความสามารถในการพองตัว การละลาย การจับกับน้ำของแป้งลดลง และไม่ละลายน้ำ แต่การจับกันจะถูกทำลายเมื่อได้รับความร้อน (มากกว่า 120 องศาเซลเซียส) พันธะที่ยึดเหนี่ยวจะถูกทำลายทำให้ส่วนของอะมิโลสละลายออกมาได้ (Davie et al., 1980) ไขมันจะรวมตัวกับอะมิโลสเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนเฉื่อย (inert complex) ทำให้ฟิล์มและแป้งเปียกมีลักษณะทึบแสงหรือขุ่น อีกทั้งกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่อยู่บริเวณพื้นผิวเม็ดแป้งยังสามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันทำให้แป้งเกิดกลิ่นหืนได้อีกด้วย แต่สำหรับไขมันที่รวมตัวเชิงซ้อนกับอะมิโลสจะไม่ก่อให้เกิดกลิ่นในแป้ง เนื่องจากสามารถต้านทานการเกิดออกซิเดชันได้

2.2.4 เถ้าและสารอนินทรีย์อื่นๆ

สารอนินทรีย์อื่นๆ ในแป้ง เช่น Ca^{2+} K^{+} Mg^{2+} และ Zn^{+} พบในปริมาณเล็กน้อย ปริมาณของสารเหล่านี้หาได้จากสิ่งที่เหลือจากการเผาที่อุณหภูมิเฉพาะหรือได้จากส่วนที่เหลือหรือเถ้าจากการเผาไหม้โดยสมบูรณ์ แป้งมันฝรั่งมีหมู่ฟอสเฟตในรูปของเกลือที่มีอยู่ในมันฝรั่งเองหรือได้จากกระบวนการล้างน้ำ ปริมาณเถ้าของแป้งมันฝรั่งเท่ากับปริมาณหมู่ฟอสเฟต ปริมาณเถ้าบางส่วนในแป้งธัญพืชคือปริมาณฟอสฟอลิปิด (Phospholipid) ปริมาณเถ้าของแป้งที่ใช้ในทางการค้าโดยทั่วไป คือสารประกอบโลหะของโซเดียม โปตัสเซียม แมกนีเซียม และแคลเซียม (กล้าณรงค์ ศรีรอต และเกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ, 2546)

2.3 พันธุ์ข้าว

ข้าวเป็นวัตถุดิบหลักที่ใช้ในการผลิตแผ่นเมี่ยง เนื่องจากคุณภาพของข้าวที่นำมาใช้เป็นวัตถุดิบเป็นปัจจัยสำคัญที่จะส่งผลต่อคุณภาพของแผ่นแป้งได้ สำหรับคุณภาพของข้าวที่จะนำมาผลิตเป็นแผ่นเมี่ยงนั้นขึ้นกับปัจจัยต่างๆ ดังนี้ (อริยาภรณ์ พงษ์รัตน์, 2546)

2.3.1 ชนิดของข้าว

ข้าวที่เหมาะสมกับการนำมาผลิตเป็นแผ่นแป้ง ต้องเป็นข้าวที่มีปริมาณอะมิโลสมากกว่า 27 % ปริมาณอะมิโลสที่สูงมีส่วนสำคัญในการสร้าง gel network เมื่อผ่านกระบวนการให้ความร้อนจะทำให้แป้งเกิดเจลาติไนซ์ โดยเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างอะมิโลสกับอะมิโลส และอะมิโลสกับอะไมโลเพคตินทำให้เจลแป้งมีความแข็งแรง และเมื่อผ่านการทำแห้ง แป้งจะมีความคงรูป เหนียวและไม่ขาดง่าย นอกจากปริมาณอะมิโลสแล้ว แป้งที่มีสายของอะมิโลสยาวมากยังมีแนวโน้มในการเกิดรีโทรเกรเดชัน (retrogradation) ลดลง

2.3.2 แหล่งปลูกข้าวและช่วงการปลูกข้าว

แหล่งปลูกข้าวและช่วงการปลูกข้าวนั้น ผู้ผลิตแผ่นแป้งไม่นิยมใช้ข้าวที่ปลูกนอกฤดูกาลหรือข้าวนาปรัง เนื่องจากเก็บเกี่ยวในฤดูฝน ทำให้ข้าวมีความชื้นสูงและเสื่อมเสียจากการทำลายของเชื้อรา (อรพิน ภูมิภมร, 2533)

2.3.3 อายุการเก็บรักษา

อายุการเก็บรักษาของเมล็ดข้าวหลังการเก็บเกี่ยวมีผลต่อสมบัติของเมล็ดข้าว โดยเฉพาะภายใน 3-4 เดือนหลังการเก็บเกี่ยว ทำให้มีสมบัติที่เปลี่ยนไป คือ มีการอุ้มน้ำและการขยายตัวของเมล็ดได้ดีขึ้น ข้าวที่มีอายุการเก็บที่นานจะยิ่งส่งผลให้มีความหนืดเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากกรดไขมัน เป็นตัวเพิ่มความหนืดของแป้ง แต่มักมีผลเสียคือ มีกลิ่นเหม็นและมีสีคล้ำลง เนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันการย่อยและการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโน (งามชื่น คงเสรี, 2536)

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 วัตถุดิบ สารเคมี และอุปกรณ์

3.1.1 วัตถุดิบ

ข้าวเจ้าพันธุ์ชัยนาท 1 เหลือง 11 จากโรงสีไฟกาฬสินธุ์ 3 จังหวัดกาฬสินธุ์ และพันธุ์สุรินทร์ 1 จากร้านอาหารอินโดจีน จังหวัดอุบลราชธานี

3.1.2 สารเคมี

3.2.1.1 Tartaric acid

3.2.1.2 Sodium hydroxide Analysis grade ยี่ห้อ Ajax ประเทศนิวซีแลนด์

3.2.1.3 Bromcresol purple (BCP)

3.2.1.4 Ethanol 99.99 เปอร์เซ็นต์

3.2.1.5 Petroleum ether

3.2.1.6 Sulfuric acid (H_2SO_4) ยี่ห้อ J.T.Baker ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.2.1.7 Acetic acid

3.2.1.8 เกลือ

3.2.1.9 โพแทสเซียมไอโอไดด์ (KI)

3.2.1.10 กรดบอริก (H_3BO_3)

3.2.1.11 สารละลายไอโอดีน

3.2.1.12 เปปโตน

3.2.1.13 อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agar (PCA) สำหรับจุลินทรีย์ทั้งหมด

3.2.1.14 อาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA) สำหรับยีสต์ รา

3.2.1.15 อาหารเลี้ยงเชื้อ De Man Rogosa and Sharpe (MRS) สำหรับแบคทีเรียแลคติก

3.2.1.16 อะไมโลสมาตรฐาน ยี่ห้อ Sigma ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.1.3 อุปกรณ์

3.1.3.1 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ยี่ห้อ Memmert S/NE601.0265 รุ่น BE600 ประเทศเยอรมัน

3.1.3.2 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ยี่ห้อ Libra รุ่น S12 UV/Visible ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.1.3.3 ตู้อบลมร้อน ยี่ห้อ BINDER รุ่น FED240-M ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.1.3.4 ตู้อบแห้งปรับอุณหภูมิ ยี่ห้อ BINDER รุ่น 710 ประเทศเยอรมนี

3.1.3.5 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) ยี่ห้อ BINDER รุ่น ED-400 ประเทศเยอรมนี

3.1.3.6 เครื่องหมุนเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิต่ำ ยี่ห้อ Universal รุ่น 32R ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.1.3.7 เครื่อง Differential Scanning Calorimeter (DSC) ของ METTLER TOLEDO รุ่น DSC1/400W ประเทศญี่ปุ่น

3.1.3.8 Scanning electron microscopy, SEM ของบริษัท JEOL รุ่น JSM 5910-LV

3.1.3.9 เครื่องวัดความหนืด (Brookfield Visco Meter ยี่ห้อ Brookfield RVDV-II)

3.1.3.10 เครื่องวิเคราะห์ลักษณะเนื้อสัมผัส ยี่ห้อ LLOYD รุ่น CR Series ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.1.3.11 เครื่องสกัดไขมัน ยี่ห้อ Gerhardt รุ่น Soxthem NO. 810600 ประเทศเยอรมนี

3.1.3.12 ชุดเครื่องย่อยและกลั่นโปรตีนยี่ห้อ Gerhardt รุ่น RF13/26 ประเทศเยอรมนี

3.1.3.13 เครื่องชั่งไฟฟ้าชนิดทศนิยม 2 ตำแหน่ง ยี่ห้อ METTLER รุ่น AB204-S และยี่ห้อANDs รุ่น GF3000 ประเทศญี่ปุ่น และยี่ห้อ Sartorius รุ่น BS2202S และรุ่น BP3100S ประเทศเยอรมนี

3.1.3.14 เครื่องชั่งชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Sartorius รุ่น BP221S ประเทศเยอรมนี

3.1.3.15 ตะแกรงร่อนแป้งขนาด 100 mesh ยี่ห้อ Retsch รุ่น ESTM E11 ประเทศเยอรมนี

3.1.3.16 ไมโครเวฟ ยี่ห้อ National รุ่น NN-C781 ประเทศญี่ปุ่น

3.1.3.17 ไมโครปิเปต ยี่ห้อ GILSON ประเทศเยอรมัน

3.1.3.18 ตู้เย็น (Refrigerator) ยี่ห้อ SHARP รุ่น SJ-D63L-GY ประเทศไทย

3.1.3.19 พีเอชมิเตอร์

3.1.3.20 เครื่องแก้ววิทยาศาสตร์

3.1.3.21 อุปกรณ์เครื่องครัว

3.2 วิธีการดำเนินงาน

3.2.1 กระบวนการผลิต

กระบวนการผลิตแผ่นเมี่ยงในการทดลองนี้อ้างอิงกระบวนการจากร้านอาหารที่เป็นที่นิยมในจังหวัดอุบลราชธานีและร้านค้าใกล้เคียงโดยมีกระบวนการดังต่อไปนี้

3.2.1.1 นำข้าวทั้ง 3 พันธุ์ มาแช่น้ำในอัตราส่วนข้าวต่อน้ำ 1 กิโลกรัม : 2 ลิตร เป็นเวลา 12 ชั่วโมง

3.2.1.2 นำข้าวที่แช่น้ำมาโม่โดยการโม่เปียก และหมักเป็นเวลา 3 วัน โดยเปลี่ยนน้ำทุก 24 ชั่วโมง โดยกำหนดให้ปริมาณที่เทน้ำทิ้งเท่ากับน้ำที่เทกลับคืน

3.2.1.3 การนึ่งขึ้นรูปเป็นแผ่นเมื่อหมักน้ำแป้งเป็นเวลา 3 วันแล้ว ก่อนการนึ่งขึ้นรูปเติมเกลือ 1เปอร์เซ็นต์ ของสารละลายน้ำแป้ง แล้วนำไปเกลี่ยให้เป็นแผ่นบนผ้าขาวบางที่ขึงบนหม้อนึ่งน้ำเดือด แล้วปิดฝาครอบเป็นเวลา 10 วินาที ก่อนการนำแผ่นมาตากแดดและผึ่งในที่ร่มจนแห้ง

3.2.2 ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของแป้งข้าวเจ้า 3 พันธุ์

3.2.2.1 การเตรียมตัวอย่าง

นำแป้งข้าวเจ้าจากข้าวทั้ง 3 พันธุ์หลังจากการโม่เปียกนำตัวอย่างแป้งมาปั่นเหวี่ยงที่ 3000 รอบ/นาที เป็นเวลา 15 นาที แยกส่วนใสทิ้งแล้วเก็บตะกอนมาอบที่ 45 °C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาบดละเอียดแล้วร่อนผ่าน sieve ขนาด 100-mesh

3.2.2.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของแป้งข้าว

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของแป้งข้าวได้แก่ ปริมาณความชื้น ไขมัน และโปรตีน ตามวิธี AOAC (1995) โดยการเตรียมตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์ในข้อ 3.2.2.1 แสดงผลโดยใช้ค่าร้อยละ และหาปริมาณอะมิโลสตามวิธี Juliano (1971) แสดงผลโดยใช้ค่าร้อยละของน้ำหนักแป้งแห้ง (ภาคผนวก ข.1)

3.2.3 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเคมี เคมีกายภาพ และจุลินทรีย์ของน้ำแป้งจากข้าวเจ้า 3 พันธุ์

3.2.3.1 การเตรียมตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างน้ำแป้งหลังจากการเปลี่ยนน้ำทุกวัน และหลังจากการเติมเกลือ 1 เปอร์เซ็นต์ (w/w) แล้วนำไปวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงทางเคมี เคมีกายภาพ และจุลินทรีย์ ในระหว่างกระบวนการหมัก ตามการวิเคราะห์ในหัวข้อถัดไป

3.2.3.2 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์ในน้ำแป้ง

ใช้ไมโครปิเปตดูดตัวอย่างน้ำแป้งที่ผ่านจากการหมัก โดยเก็บทุกวันและหลังจากการเติมเกลือ 1 เปอร์เซ็นต์ (w/w) 1 มิลลิลิตร เจือจางในสารละลาย peptone water 0.1 เปอร์เซ็นต์ 9 มิลลิลิตร ทำการเจือจางที่ระดับความเจือจางที่เหมาะสม แล้วนำมาวิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์ดังต่อไปนี้

1) ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดโดยใช้อาหาร Plate count agar (PCA) ด้วยวิธีการ pour plate (ภาคผนวก ก.1)

2) ปริมาณยีสต์ รา โดยใช้อาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) ปรับ pH โดยการเติม 0.1 เปอร์เซ็นต์ Tartaric acid ด้วยวิธีการ spread plate หลังจากนั้นบ่มเป็นเวลา 120 ชั่วโมง เพื่อนับจำนวนโคโลนีที่เกิดแล้วนำมาคำนวณเป็น logCFU/g (ภาคผนวก ก.2)

3) ปริมาณแบคทีเรียแลคติกโดยใช้อาหาร De Man Rogosa and Sharpe (MRS) ซึ่งเติม Bromocresol purple (BCP) ร้อยละ 0.004 ด้วยวิธีการ pour plate หลังจากนั้นบ่มเป็นเวลา 48-72 ชั่วโมง เพื่อนับจำนวนโคโลนีที่เกิดแล้วนำมาคำนวณเป็น logCFU/g (ภาคผนวก ก.3)

3.2.3.3 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมีของน้ำแป้ง

1) ปริมาณอะมิโลส (ร้อยละ) ตามวิธีของ Juliano (1971) (ภาคผนวก ข.2)

2) ปริมาณกรดที่ไตเตรทได้ทั้งหมดเทียบเป็นกรดแลคติก (ภาคผนวก ข.3) และวัดค่าพีเอชด้วยเครื่องพีเอชมิเตอร์ (ภาคผนวก ข.4)

3.2.3.4 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำแป้ง

1) สมบัติทางความร้อน (Thermal properties) วิเคราะห์โดยใช้เครื่อง Differential Scanning Colorimeter (DSC) รุ่น DSC1/400W ประเทศญี่ปุ่น โดยการชั่งตัวอย่างน้ำแป้งปริมาณ 15-16 มิลลิกรัม บรรจุในถาดอลูมิเนียม การวิเคราะห์จะให้ความร้อนแก่น้ำแป้ง ที่อัตราการให้ความร้อน (Scanning rate) 10 องศาเซลเซียสต่อนาที ในช่วงอุณหภูมิ 25-125 องศาเซลเซียส ภายใต้บรรยากาศไนโตรเจนจากนั้นปล่อยให้เย็นตัวลงอย่างรวดเร็ว (Quenching) ด้วยอัตราการลดอุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียสต่อนาที (ภาคผนวก ค.1)

2) วิเคราะห์ค่ากำลังการพองตัว (Swelling power) และดัชนีการละลายของแป้ง (Solubility index) (ภาคผนวก ค.2)

3) ความหนืดโดยใช้ Brookfield viscometer ยี่ห้อ Brookfield RVDV-II โดยการเก็บตัวอย่างน้ำแป้งหลังจากการเปลี่ยนน้ำทุกวัน และหลังจากการเติมเกลือ 1 เปอร์เซ็นต์ (w/w) (ภาคผนวก ค.3)

4) ลักษณะโครงสร้างด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิด Scanning electron microscopy (SEM) นำตัวอย่างน้ำแป้งที่เก็บทุกวัน (หลังเปลี่ยนน้ำ) และหลังจากการเติมเกลือ 1 เปอร์เซ็นต์ (w/w) ไปทำแห้งด้วยเครื่อง freeze-drier แล้วนำเม็ดแป้งมาติดบนสตับ แล้วนำไปเคลือบด้วยทองนาน 4 นาที แล้วนำไปส่องด้วย SEM ที่กำลังขยาย 5000x (ภาคผนวก ง.1)

3.2.3 การวิเคราะห์และเปรียบเทียบตัวอย่างที่ผ่านกระบวนการนึ่งและการทำให้แห้ง

3.2.3.1 การเตรียมตัวอย่าง

แช่ข้าวเจ้าพันธุ์ชัยนาท 1 เหลือง 11 และสุรินทร์ 1 ในอัตราส่วนข้าวต่อน้ำ 1 กิโลกรัม 2 ลิตร เป็นเวลา 12 ชั่วโมงแล้วนำมาโม่เปียก และหมักเป็นเวลา 3 วัน โดยเปลี่ยนน้ำทุกวัน แล้วเติมเกลือ 1 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 3 ก่อนนำไปนึ่งขึ้นรูปแล้วนำไปผึ่งแดดและในที่ร่มจนแห้ง การเก็บตัวอย่างเก็บหลังจากการขึ้นรูปทันทีและหลังจากการทำแห้ง เพื่อนำมาวิเคราะห์และเปรียบเทียบกับแผ่นเมี่ยงทางการค้า

3.2.3.2 วิเคราะห์ลักษณะโครงสร้างของแผ่นเมี่ยงด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิด Scanning electron microscopy (SEM)

เตรียมตัวอย่างแผ่นเมี่ยงโดยการตัดเป็นแผ่นสี่เหลี่ยมขนาดเล็กแล้วดึงน้ำออกโดยเอทานอลที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 30 50 70 80 100 และ 100 ตามลำดับ โดยใช้เวลาในแต่ละความเข้มข้น 15 นาที จากนั้นเอาตัวอย่างออกมาแช่ใน absolute ethanol ทันที แล้วนำตัวอย่างเข้าสู่กระบวนการทำแห้งด้วยวิธี Critical point dry (CPD) แล้วเก็บไว้ในโถดูดความชื้น ขั้นตอนวิเคราะห์นำตัวอย่างมาติดตัวอย่างลงใน Stub จากนั้นนำตัวอย่างไปเคลือบทองนาน 4 นาที จากนั้นนำไปส่องด้วย SEM ที่กำลังขยาย 5000x (ภาคผนวก ง.1)

3.2.3.3 วิเคราะห์ลักษณะทางประสาทสัมผัส โดยการวัด Stress VS Strain โดยใช้หัว ball เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร speed 1 มิลลิเมตรต่อวินาที โดยใช้เครื่อง Texture analyzer ยี่ห้อ LLOYD รุ่น CR Series คำนวณหาค่าความต้านทานต่อแรงดึง (tensile strength) และคำนวณตามวิธีในภาคผนวก จ.1

3.3 การวางแผนการทดลอง

3.3.1 วิเคราะห์สมบัติทางเคมี และจุลินทรีย์ ของน้ำแป้ง

การตรวจสอบสมบัติทางเคมี และจุลินทรีย์ โดยวัดแต่ละทรีทเมนต์ 3 ซ้ำ ยกเว้นการวิเคราะห์ลักษณะทางประสาทสัมผัส 15 ซ้ำ หาค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานด้วย Window Excel 2008 ใช้การทดลองจะวางแผนการทดลองแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ (randomized complete block design; RCRD) วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance: ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ถ้าพบนัยสำคัญทางสถิติจะนำไปวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติด้วยวิธี Duncans Multiple Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

3.3.2 วิเคราะห์สมบัติทางเคมีกายภาพ ของน้ำแป้ง

การตรวจสอบสมบัติทางเคมี และจุลินทรีย์ โดยวัดแต่ละทรีทเมนต์ 3 ซ้ำ ยกเว้นการวิเคราะห์ลักษณะทางประสาทสัมผัส 15 ซ้ำ หาค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานด้วย Window Excel 2008 ใช้การทดลองจะวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completed Randomized Design; CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance: ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ถ้าพบนัยสำคัญทางสถิติจะนำไปวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติด้วยวิธี Duncans Multiple Test ที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95

3.3.3 เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างก่อนและหลังการเติมเกลือ 1 เปอร์เซ็นต์ ในน้ำแป้ง

เปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลระหว่างตัวอย่างที่เติมเกลือและไม่เติมเกลือ ด้วยวิธี t-test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

บทที่ 4
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 องค์ประกอบทางเคมีของแป้งข้าวเจ้า 3 พันธุ์

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางจุลินทรีย์ เคมี และเคมีกายภาพในระหว่างกระบวนการหมักน้ำแป้งข้าวทั้ง 3 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ชัยนาท 1 เหลือง 11 และสุรินทร์ 1 โดยการศึกษาความแตกต่างด้านองค์ประกอบทางเคมีของแป้งก่อนเริ่มกระบวนการหมัก พบว่าผลการการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีโดยประมาณ (proximate analysis) ของแป้งข้าวเจ้า 3 พันธุ์ ที่ผ่านการโม่เปียกและแยกส่วนตะกอนด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิต่ำ (Universal รุ่น 32R) แป้งข้าวเจ้า 3 พันธุ์ มีการดูดซับน้ำแตกต่างกันดังจะเห็นได้จากผลของความชื้นหลังการแยกตะกอนแป้งด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที แยกส่วนใสแล้วนำตะกอนแป้งมาอบที่ 45 °C หลังจากนั้นนำมาบดและร่อนผ่าน sieve ขนาด 100-mesh ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.1 พบว่าแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1(CN) มีความชื้น โปรตีน ไขมัน 10.44% 6.95% 0.06% ตามลำดับ แป้งข้าวพันธุ์เหลือง 11 (LU) มีความชื้น โปรตีน ไขมัน 9.08% 7.76% 0.42% ตามลำดับ และสุรินทร์ 1 (SR) มีความชื้น โปรตีน ไขมัน 8.13% 9.18% 0.07% ตามลำดับ โดยแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 มีความชื้นค่อนข้างสูง ซึ่งความชื้นที่สูงเนื่องจากในระหว่างการแช่ข้าว ข้าวจะมีความสามารถในการดูดซับน้ำ ซึ่งแป้งข้าวที่มีโครงสร้างภายในที่มีการจัดเรียงตัวกันอย่างเป็นระเบียบสูงจะมีการดูดซับน้ำได้น้อย และความชื้นของแป้งข้าวแต่ละพันธุ์ มีผลต่อจุลินทรีย์คือช่วยกระตุ้นให้จุลินทรีย์เจริญได้ดี นอกจากนี้ความชื้นที่ต่างกันยังเกิดจากพันธุ์ข้าว แหล่งที่ปลูก และอายุการเก็บเกี่ยว ที่ต่างกัน และปัจจัยเหล่านี้นอกจากจะมีผลกระทบต่อปริมาณความชื้นแล้ว ยังมีผลต่อปริมาณโปรตีน ไขมัน และปริมาณอะมิโลส (Wang et al., 2010) ในข้าวด้วยเช่นกัน

ปริมาณโปรตีนในแป้งข้าวทั้ง 3 พันธุ์ หลังจากการโม่เปียกมีปริมาณแตกต่างกัน (ตารางที่ 4.1) โดยพบว่า แป้งข้าวพันธุ์สุรินทร์ 1 มีโปรตีนสูงกว่าแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และเหลือง 11 ตามลำดับ ปริมาณโปรตีนในแป้งข้าวที่ต่างกันส่งผลต่อสมบัติเชิงหน้าที่ของน้ำแป้งในระหว่างการหมัก เนื่องจากโปรตีนที่อยู่ในเม็ดแป้งส่วนใหญ่เป็นโปรตีนชนิดกลูเตลินหรือที่เรียกว่าออไรเซนิน (อรอนงค์ นัยวิกุล., 2532ก) ซึ่งมีสมบัติละลายได้ในกรดหรือด่าง ส่วนโปรตีนชนิดอัลบูมินและโกลบูลิน มีสมบัติละลายได้ในน้ำและในน้ำเกลือตามลำดับ ซึ่งจากกระบวนการผลิตในขั้นตอนการแช่ข้าวและการเปลี่ยนน้ำในระหว่างกระบวนการหมักอาจทำให้โปรตีน 3 ชนิดนี้สูญเสียไปได้

สำหรับปริมาณไขมันในแป้งข้าวหลังจากขั้นตอนการโม่เปียก พบว่าแป้งข้าวพันธุ์เหลือง 11 มีปริมาณไขมันสูงกว่าแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และสุรินทร์ 1 เนื่องจากในกระบวนการผลิตแผ่นเมี่ยงมีการโม่แป้งก่อนนำมาหมัก ดังนั้นแรงกระทำจากการโม่จึงทำให้ไขมันที่เกาะเกี่ยวกับสารอื่นกระจายตัวและหลุดออกมากับสารละลายน้ำแป้ง (Phothiset และ Charoenrein, 2006) จากผลการทดลองดังตารางที่ 4.1 จึงทำให้ปริมาณไขมันในแป้งข้าวทั้ง 3 พันธุ์มีปริมาณต่ำกว่าปริมาณไขมันในข้าวเจ้าที่ไม่ผ่านการโม่เปียก ซึ่ง โดยปกติมีปริมาณไขมันประมาณร้อยละ 0.8 (คลังความรู้ Scimath., 2553) ส่วนปริมาณอะมิโลสในแป้งข้าว วิเคราะห์โดยวิธีการทำปฏิกิริยาให้เกิดสีกับไอโอดีน เป็นการวัดปริมาณ

กลูแคนที่สามารถทำปฏิกิริยากับไอโอดีนและให้สารประกอบเชิงซ้อนและวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ใช้วิเคราะห์ได้ ดังนั้นค่าการดูดกลืนแสงจึงเป็นผลกระทบจากผลรวมทั้งหมดของโมเลกุลกลูแคนดังกล่าว ซึ่งมีทั้งอะมิโลสและมีบางส่วนของอะมิโลเพคตินที่สามารถรบกวนการวิเคราะห์ได้ จากผลการทดลองวิเคราะห์ปริมาณอะมิโลสในแป้งข้าว 3 พันธุ์ พบว่าแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 มีปริมาณอะมิโลสสูงกว่าแป้งข้าวพันธุ์สุรินทร์ 1 และเหลือง 11 ตามลำดับ ซึ่งความแตกต่างนี้เกิดจากสภาวะแวดล้อมที่ได้กล่าวมาข้างต้นแล้ว และเนื่องจากกระบวนการทำแผ่นเมี่ยงอาศัยกระบวนการหมักที่เกิดจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ซึ่งมักเกี่ยวข้องกับปริมาณอะมิโลสและจะกล่าวถึงในหัวข้อถัดไปถึงการเปลี่ยนแปลงทางจุลินทรีย์ในระหว่างกระบวนการหมัก

ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบทางเคมีของแป้งข้าวเจ้า 3 พันธุ์

ตัวอย่าง/พันธุ์	Moisture content (%w/w db)	Crude protein (%w/w db)	Crude fat (%w/w db)	Amylose (%)
ชัยนาท 1	10.44±0.02 ^{A}	6.95±0.29 ^{B}	0.06±0.01 ^{B}	36.67±0.19 ^{A}
เหลือง 11	9.08±0.01 ^{B}	7.76±0.34 ^{B}	0.42±0.02 ^{A}	34.84±0.01 ^{B}
สุรินทร์ 1	8.13±0.07 ^{C}	9.18±1.00 ^{A}	0.07±0.00 ^{B}	35.90±0.80 ^{AB}

หมายเหตุ: ^{ABC} คือตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าในตารางคือผลที่ได้จากการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

จากผลการทดลองบ่งชี้ว่าองค์ประกอบทางเคมีของแป้งข้าวทั้ง 3 พันธุ์ที่นำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตแผ่นเมี่ยงมีปริมาณแตกต่างกัน และจากการสังเกตการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของน้ำแป้งเมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้น พบว่าน้ำแป้งมีการเปลี่ยนแปลง คือ เกิดฟองบริเวณผิวน้ำ เกิดการตกตะกอนของเม็ดแป้ง และมีกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ จากการเปลี่ยนแปลงเหล่านี้จึงนำมาสู่สมมติฐานการทดลองในหัวข้อถัดไป คือ การเจริญของจุลินทรีย์ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและเคมีกายภาพของน้ำแป้งในระหว่างกระบวนการหมัก

4.2 การเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์ในระหว่างกระบวนการหมักน้ำแป้ง

จากกระบวนการผลิตแผ่นเมี่ยง หลังจากขั้นตอนการโม่เปียก น้ำแป้งที่ได้จะถูกนำมาหมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสในตู้บ่มเพื่อควบคุมอุณหภูมิ นานเวลา 3 วัน และมีการเปลี่ยนน้ำในถังหมักทุก 24 ชั่วโมง โดยทำการเทส่วนใสด้านบนถังและเติมน้ำกลับไปในถังหมักให้มีปริมาณเท่าเดิมเพื่อควบคุมสัดส่วนของของแข็งและน้ำให้มีการเปลี่ยนแปลงน้อยที่สุด และเมื่อหมักครบ 3 วัน เติมเกลือลงในน้ำแป้งให้เป็น 1 % (w/w) ของน้ำแป้ง แล้วนำไปเกลี่ยบนผ้าขาวบางที่ขึงบนหม้อนึ่งน้ำเดือดเพื่อให้เป็นแผ่นก่อนการนำไปทำแห้ง

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางจุลินทรีย์ ได้แก่ ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์ รา และแบคทีเรียแลคติก ในน้ำแป้งหลังจากการเปลี่ยนน้ำจากข้าวทั้ง 3 พันธุ์ พบว่าเมื่อระยะเวลาในการหมักเพิ่มขึ้นจุลินทรีย์มีปริมาณเพิ่มขึ้นต่างกันในข้าวทั้ง 3 พันธุ์แสดงในตารางที่ 4.2 เนื่องจากแป้งข้าวที่นำมาใช้ในการหมักมีองค์ประกอบทางเคมีต่างกันดังแสดงในตารางที่ 4.1 โดยในระหว่างกระบวนการหมักจุลินทรีย์ดำเนินกิจกรรมของเซลล์เกิดกระบวนการเมทาบอลิซึมเพื่อการดำรงชีพทำให้จุลินทรีย์เจริญและเพิ่มจำนวนมากขึ้นจากการใช้สารอาหารหรือสตาร์ชที่มีในแป้งข้าว แต่เมื่อเปรียบเทียบการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมดในแต่ละวันของการหมัก พบว่าในแต่ละวันของการหมักมีจุลินทรีย์เหลืออยู่หลังจากกระบวนการเปลี่ยนน้ำในข้าวทั้ง 3 พันธุ์แตกต่างกัน ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบในแต่ละวันพบว่ามีแนวโน้มลดลงดังแสดงในภาพที่ 4.1 เนื่องจากกระบวนการหมักน้ำแป้งเป็นการหมักแบบธรรมชาติที่จุลินทรีย์จะเจริญได้มากหรือน้อยขึ้นอยู่กับแหล่งอาหารที่มีในกระบวนการหมักโดยเฉพาะปริมาณ อะมิโลสที่มีในแป้ง ซึ่งจากผลการทดลองที่ 4.1 พบว่าแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และสุรินทร์ 1 มีปริมาณ อะมิโลสสูงสุด รองลงมาคือ แป้งข้าวพันธุ์เหลือง 11 ซึ่งทำให้จุลินทรีย์ทั้งหมดในน้ำแป้งมีการเพิ่มจำนวนขึ้นในแต่ละวัน แต่ทั้งนี้ในระหว่างกระบวนการหมักมีการเปลี่ยนน้ำทุกวันจุลินทรีย์บางส่วนจึงหายไปกับการเปลี่ยนน้ำด้วย ทำให้อัตราการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมดในแต่ละวันมีอัตราลดลงดังภาพที่ 4.1ก (ตารางอัตราการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์ รา และแบคทีเรียแลคติก แสดงตามภาคผนวก ฉ) เนื่องจากการสูญเสียไปในระหว่างกระบวนเปลี่ยนน้ำแล้วบางส่วน

จากนั้นเมื่อพิจารณาจุลินทรีย์ในกลุ่มยีสต์ รา พบว่าในข้าวทั้ง 3 พันธุ์มีปริมาณยีสต์ รา เริ่มต้นต่างกัน และเมื่อระยะเวลาการหมักผ่านไป 1 วัน พบว่าน้ำแป้งข้าวพันธุ์สุรินทร์ 1 มีปริมาณยีสต์ รา สูงสุด (ภาพที่ 4.1ค) รองลงมาคือ แป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และเหลือง 11 ตามลำดับ โดยในช่วงแรกของการหมักจุลินทรีย์กลุ่มนี้จะย่อยโมเลกุลของแป้งให้กลายเป็นกลูโคส ทำให้จุลินทรีย์กลุ่มอื่นโดยเฉพาะจุลินทรีย์ในกลุ่มแบคทีเรียแลคติกสามารถนำไปใช้ในการเจริญได้ ทำให้ปริมาณแบคทีเรียแลคติกเพิ่มจำนวนมากขึ้น (ภาพที่ 4.1ง) และจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้เมื่อมีการเจริญจะมีความสามารถในการหมักกลูโคสแล้วเกิดกรดแลคติก (Blandino et al., 2003) ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าแบคทีเรียแลคติกมีจำนวนเพิ่มขึ้นโดยเฉพาะในน้ำแป้งข้าวพันธุ์สุรินทร์ 1 (ตารางที่ 4.2) พบว่าจากวันที่ 0-3 มีการเพิ่มจำนวนมากถึง 7.57 logCFU/g ถึงแม้จะมีการเปลี่ยนน้ำทุกวันตามกระบวนการผลิต ในขณะที่น้ำแป้งจากข้าวพันธุ์เหลือง 11 และชัยนาท 1 มีปริมาณจุลินทรีย์ในกลุ่มแบคทีเรียแลคติกเพิ่มขึ้นเป็นเพียง 5.18 และ 4.17 logCFU/g ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณยีสต์ รา ที่เจริญในแต่ละวัน

จากนั้นเมื่อเติมเกลือ 1% โดยน้ำหนักในน้ำแป้งที่ทำการหมักเป็นเวลา 3 วัน พบว่าปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่แตกต่างกับน้ำแป้งที่ไม่เติมเกลืออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจากเมื่อสิ้นสุดการหมักน้ำแป้งครบ 3 วันแล้ว การเติมเกลือ 1% ในน้ำแป้งก่อนนำมานึ่งขึ้นรูปแผ่นไม่มีการทิ้งระยะเวลาให้มีการหมักของจุลินทรีย์ จึงทำให้หลังจากการเติมเกลือไม่มีผลกระทบต่อปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด

ตารางที่ 4.2 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์ รา และแบคทีเรียแลคติก ในระหว่างกระบวนการหมักแป้งข้าวเจ้า 3 พันธุ์

จุลินทรีย์	พันธุ์ข้าว	ระยะเวลาในการหมัก (วัน)/ปริมาณจุลินทรีย์ (logCFU/g)				
		วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 3+1%เกลือ
จุลินทรีย์ทั้งหมด	ชัยนาท 1	5.37 ± 0.06^{cA}	7.31 ± 0.81^{bNS}	9.13 ± 0.56^{aNS}	10.25 ± 0.35^{aNS1}	9.52 ± 0.03^{NS1}
	เหลือง 11	4.48 ± 0.08^{dB}	7.44 ± 0.01^{c}	8.49 ± 0.01^{b}	9.45 ± 0.06^{a1}	9.38 ± 0.06^{1}
	สุรินทร์ 1	5.40 ± 0.16^{dA}	7.70 ± 0.25^{c}	9.05 ± 0.48^{b}	10.30 ± 0.74^{a1}	9.44 ± 0.08^{1}
ยีสต์ รา	ชัยนาท 1	5.10 ± 0.58^{cA}	6.67 ± 0.54^{bcB}	7.49 ± 0.23^{abB}	8.64 ± 0.67^{aA1}	8.02 ± 0.22^{A1}
	เหลือง 11	2.85 ± 0.18^{dB}	4.16 ± 0.05^{cC}	5.45 ± 0.05^{bC}	6.41 ± 0.06^{aB1}	6.28 ± 0.11^{B1}
	สุรินทร์ 1	5.45 ± 0.01^{cA}	8.04 ± 0.51^{bB}	8.00 ± 0.24^{bA}	9.30 ± 0.09^{aA1}	8.19 ± 0.11^{A2}
แบคทีเรียแลคติก	ชัยนาท 1	6.15 ± 0.11^{cA}	8.81 ± 0.53^{bA}	10.28 ± 0.25^{aA}	10.32 ± 0.04^{aA1}	9.76 ± 0.42^{AB1}
	เหลือง 11	4.09 ± 0.28^{cB}	7.46 ± 0.05^{bB}	8.01 ± 0.62^{abB}	9.00 ± 0.47^{aB1}	9.27 ± 0.01^{B1}
	สุรินทร์ 1	2.86 ± 0.42^{cC}	7.05 ± 0.45^{bB}	7.90 ± 0.17^{bB}	10.43 ± 0.02^{aA1}	10.25 ± 0.04^{A1}

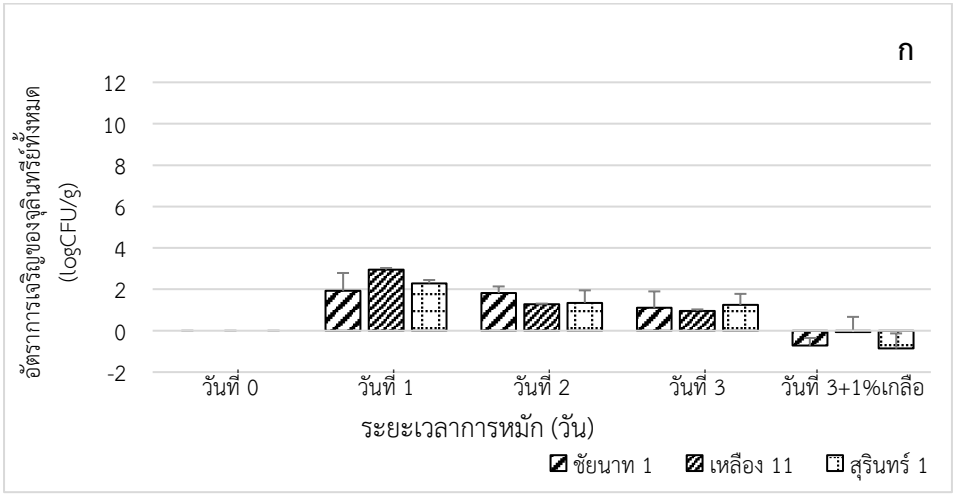
หมายเหตุ: $^{a\,b\,c}$ คือ ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

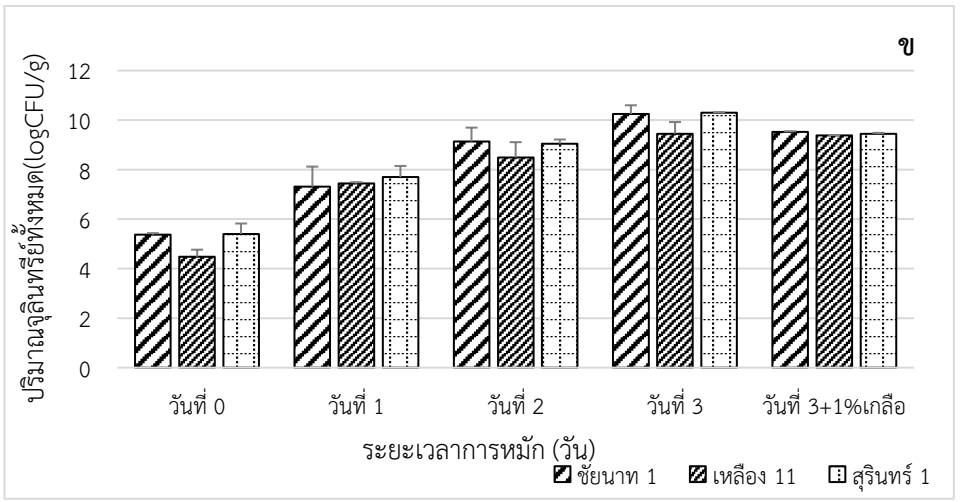
$^{A\,B\,C}$ คือ ตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

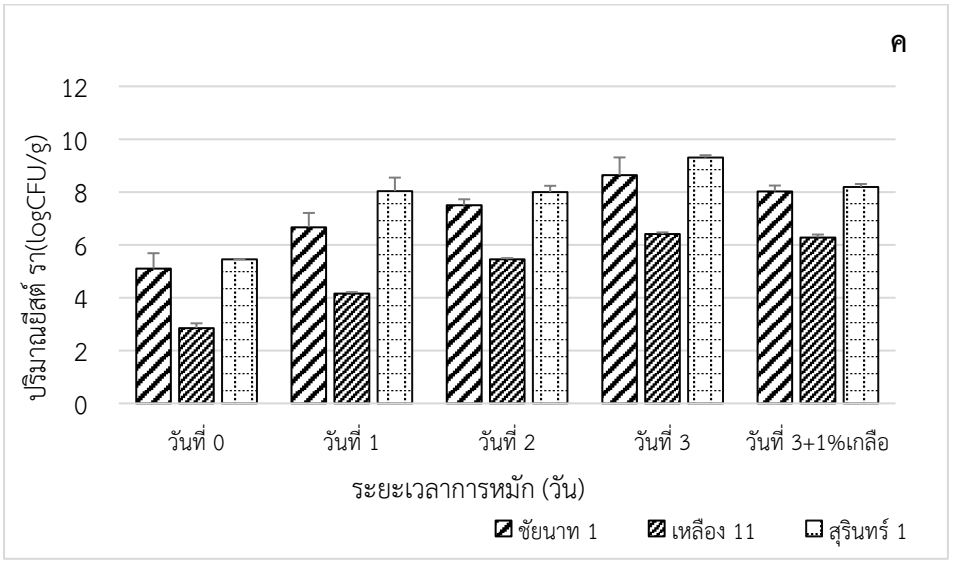
$^{1\,2}$ คือ ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

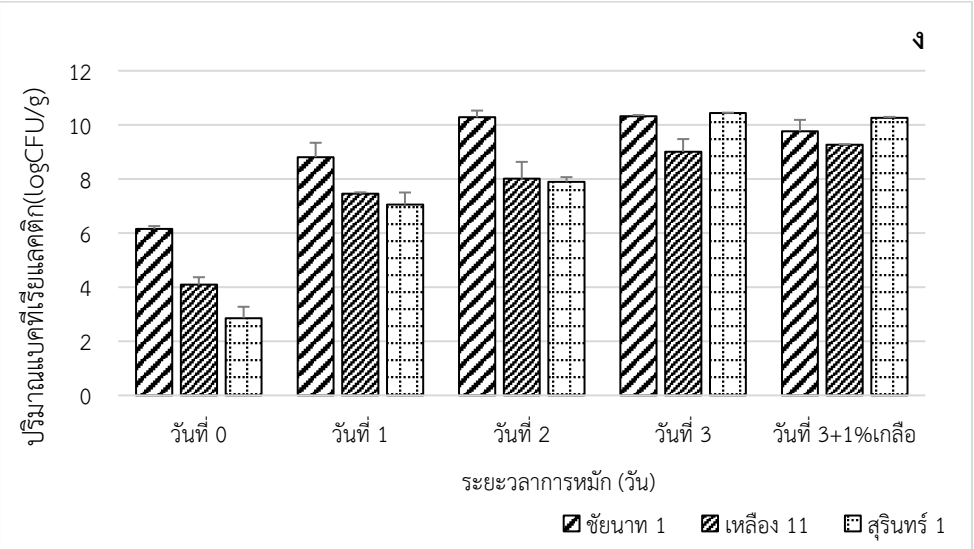
^{NS} คือ แถวหรือคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าในตารางคือผลที่ได้จากการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ


ก
อัตราการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมด (logCFU/g)
12
10
8
6
4
2
0
-2
วันที่ 0
วันที่ 1
วันที่ 2
วันที่ 3
วันที่ 3+1%เกลือ
ระยะเวลาการหมัก (วัน)
ชัยนาท 1
เหลือง 11
สุรินทร์ 1


ข
ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด(logCFU/g)
12
10
8
6
4
2
0
วันที่ 0
วันที่ 1
วันที่ 2
วันที่ 3
วันที่ 3+1%เกลือ
ระยะเวลาการหมัก (วัน)
ชัยนาท 1
เหลือง 11
สุรินทร์ 1

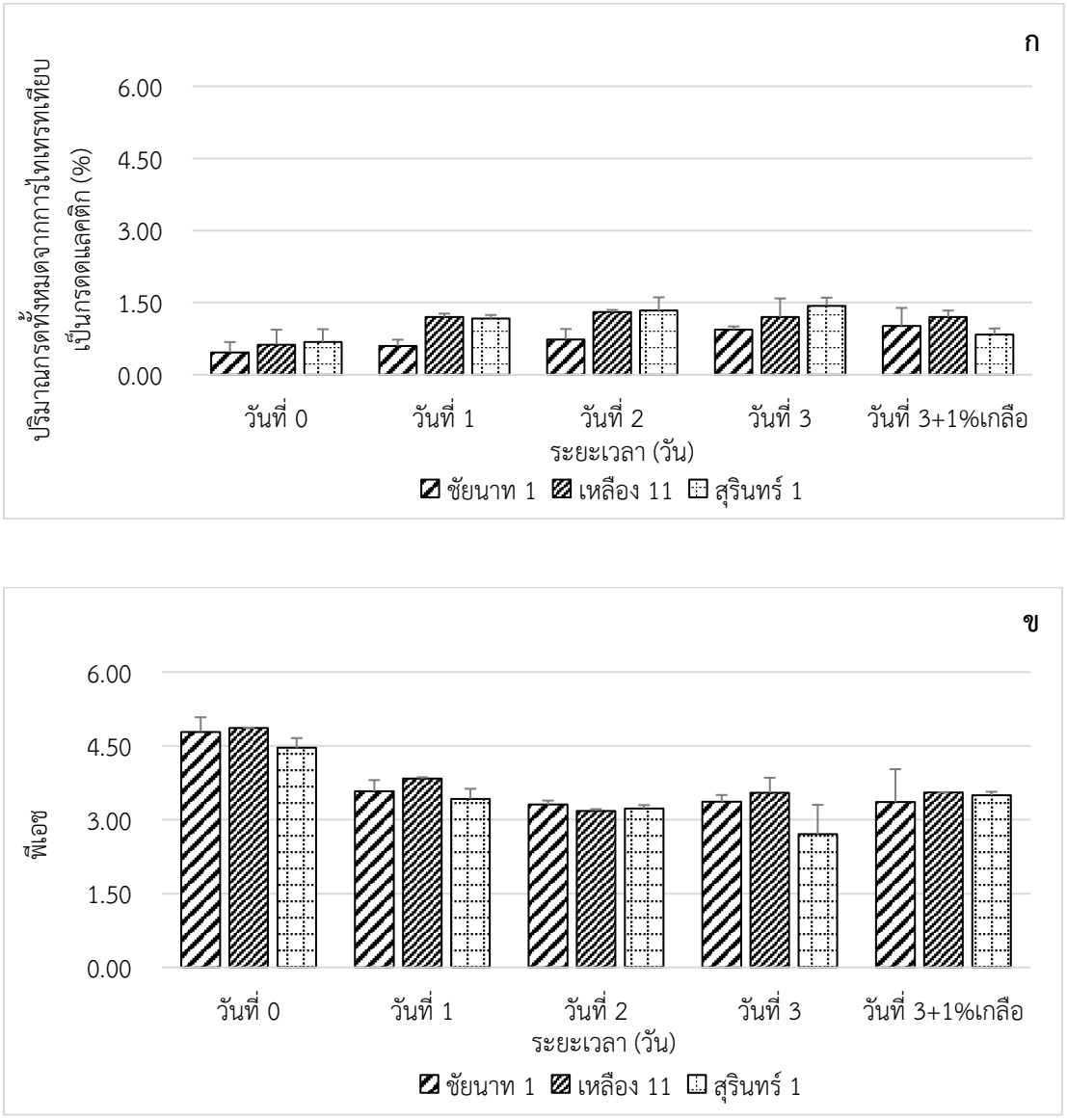

ค
ปริมาณยีสต์ รา(logCFU/g)
12
10
8
6
4
2
0
วันที่ 0
วันที่ 1
วันที่ 2
วันที่ 3
วันที่ 3+1%เกลือ
ระยะเวลาการหมัก (วัน)
ชัยนาท 1
เหลือง 11
สุรินทร์ 1



ภาพที่ 4.1 ปริมาณจุลินทรีย์ที่เหลืออยู่หลังจากการเปลี่ยนน้ำในแต่ละวันของการหมักน้ำแป้งจากข้าวทั้ง 3 พันธุ์ (ก) อัตราการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมดหลังจากการเปลี่ยนน้ำ (ข) ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (ค) ปริมาณยีสต์ รา (ง) ปริมาณแบคทีเรียแลคติก

4.3 การเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่างในระหว่างกระบวนการหมักน้ำแป้ง

จากการทดลองการเปลี่ยนแปลงด้านจุลินทรีย์พบว่าจุลินทรีย์มีการเจริญเมื่อระยะเวลาในการหมักเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะจุลินทรีย์ในกลุ่มแบคทีเรียแลคติกที่มีความสามารถในการผลิตกรดได้มากกว่าจุลินทรีย์ชนิดอื่น จากผลการทดสอบความเป็นกรดของน้ำแป้งที่ผ่านการหมักด้วยการหาปริมาณกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้เทียบเป็นกรดแลคติก (w/w) พบว่าน้ำแป้งมีปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการหมักเพิ่มขึ้น (ตารางที่ 4.3) สอดคล้องกับปริมาณจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้น และหากเปรียบเทียบในข้าวทั้ง 3 พันธุ์ จะเห็นได้ว่าแป้งข้าวพันธุ์สุรินทร์ 1 และเหลือง 11 มีค่าความเป็นกรดเพิ่มขึ้นทุกวันซึ่งเป็นค่าที่ใกล้เคียงกัน และมีค่าสูงกว่าแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ดังภาพที่ 4.2ก (SR $\geq$ LU > CN) และจากผลการทดลองการเจริญของจุลินทรีย์ในน้ำแป้งพบว่าจุลินทรีย์ในกลุ่มแบคทีเรียแลคติกในข้าวพันธุ์สุรินทร์ 1 มีปริมาณสูงสุดรองลงมาคือเหลือง 11 และชัยนาท 1 จึงส่งผลให้ข้าวพันธุ์สุรินทร์ 1 และเหลือง 11 มีค่าความเป็นกรดมากกว่าน้ำแป้งจากข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 สำหรับพีเอชของน้ำแป้ง (ตารางที่ 4.3) จากการทดสอบทางสถิติพบว่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 ในข้าวทั้ง 3 พันธุ์ และมีค่าลดลงต่างกัน (CN>LU$\geq$SR) ดังแสดงในภาพที่ 4.2ข ซึ่งมีความสอดคล้องกับปริมาณกรดแลคติกที่เพิ่มขึ้นในข้าวทั้ง 3 พันธุ์ (SR > LU > CN)



ภาพที่ 4.2 แนวโน้มปริมาณกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้เทียบเป็นกรดแลคติกและพีเอชในระหว่างกระบวนการหมักของแป้งข้าว 3 พันธุ์ (ก) ปริมาณกรดทั้งหมดจากการไทเทรท (ข) พีเอช

ตารางที่ 4.3 ปริมาณกรดที่ไทเทรทได้ทั้งหมดเทียบเป็นกรดแลคติก (w/v) และพีเอชในระหว่างกระบวนการหมักน้ำแป้งจากข้าวเจ้า 3 พันธุ์

ค่าที่วัด	พันธุ์ข้าว	ระยะเวลาในการหมัก (วัน)/ปริมาณจุลินทรีย์ (logCFU/g)				
		วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 3+1%เกลือ
ปริมาณกรดที่ไทเทรทได้ทั้งหมด (เทียบเป็นกรดแลคติก)	ชัยนาท 1	0.46 ± 0.22^{bB}	0.60 ± 0.13^{bB}	0.73 ± 0.22^{abB}	0.94 ± 0.07^{aB1}	0.79 ± 0.38^{B1}
	เหลือง 11	0.63 ± 0.33^{bA}	1.20 ± 0.07^{aA}	1.30 ± 0.05^{aA}	1.36 ± 0.39^{aA1}	1.20 ± 0.13^{A1}
	สุรินทร์ 1	0.68 ± 0.26^{cA}	1.17 ± 0.07^{bA}	1.33 ± 0.28^{abA}	1.52 ± 0.17^{aA1}	0.81 ± 0.13^{B1}
พีเอช	ชัยนาท 1	4.79 ± 0.30^{aNS}	3.58 ± 0.23^{bNS}	3.31 ± 0.08^{cNS}	3.37 ± 0.14^{bcA1}	3.36 ± 0.67^{NS1}
	เหลือง 11	4.87 ± 0.10^{d}	3.84 ± 0.03^{b}	3.18 ± 0.04^{c}	3.55 ± 0.31^{bA1}	3.55 ± 0.01^{1}
	สุรินทร์ 1	4.46 ± 0.20^{a}	3.43 ± 0.20^{b}	3.23 ± 0.07^{b}	2.71 ± 0.60^{cB1}	3.50 ± 0.07^{1}

หมายเหตุ: $^{a\,b\,c}$ คือ ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

$^{A\,B\,C}$ คือ ตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

$^{1\,2}$ คือ ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95

^{NS} คือ แถวหรือคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าในตารางคือผลที่ได้จากการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

4.4 การเปลี่ยนแปลงปริมาณอะมิโลสในระหว่างกระบวนการหมักน้ำแป้ง

การทดลองหาปริมาณอะมิโลสโดยการวิเคราะห์หาความสามารถในการจับกับไอโอดีนในระหว่างกระบวนการหมักน้ำแป้งในข้าวทั้ง 3 พันธุ์ แสดงในตารางที่ 4.4 พบว่าปริมาณอะมิโลสเริ่มต้นในแป้งจากแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 มีปริมาณอะมิโลสสูงกว่าแป้งข้าวพันธุ์สุรินทร์ 1 และเหลือง 11 ตามลำดับ จากนั้นเมื่อระยะเวลาในการหมักเพิ่มขึ้นปริมาณอะมิโลสมีแนวโน้มลดลงแตกต่างกัน โดยมีสาเหตุจากปริมาณกรดที่จุลินทรีย์สร้างขึ้นในระหว่างการหมัก และจากผลการทดลองพบว่าปริมาณอะมิโลสในข้าวพันธุ์สุรินทร์ 1 และเหลือง 11 มีปริมาณลดลงใกล้เคียงกันและมากกว่าปริมาณอะมิโลสในจากแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 โดยกรดอินทรีย์รวมทั้งกรดแลคติกที่จุลินทรีย์ผลิตในกระบวนการหมักน้ำแป้งนั้นมีความสามารถทำลายพันธะของอะมิโลสและอะมิโลเพคตินบางส่วนทำให้โมเลกุลสั้นลง และเกิดการสลายตัวของโครงสร้างภายในโมเลกุลแป้งอย่างรวดเร็ว (Franco et al., 2002) อีกทั้งในระหว่างกระบวนการหมักน้ำแป้ง โครงสร้างในส่วนของอะมิโลสและอะมิโลเพคตินที่ถูกตัดและย่อยสลาย ได้เป็น oligosaccharides และ α - limit dextrin ซึ่งบางตัวสามารถละลายน้ำได้ (Jiang and Liu, 2002) ทำให้ของแข็งที่ละลายน้ำได้หายไปบางส่วน ในขั้นตอนการเปลี่ยนน้ำใสในแต่ละวันของการหมัก

สำหรับปริมาณอะมิโลสหลังจากการเติมเกลือ 1% เมื่อเปรียบเทียบในวันที่ 3 ก่อนและหลังการเติมเกลือ 1% พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของอัมพร ทับปลา (2544) เรื่องการพัฒนาคุณภาพของแป้งแผ่น โดยทดลองสกัดโปรตีนด้วยเกลือที่มีความเข้มข้นร้อยละ 5 7 และ 9 เปรียบเทียบกับแป้งที่ไม่มีการเติมเกลือในการผลิตแผ่นเมี่ยง พบว่าเกลือมีผลต่อปริมาณโปรตีนแต่ไม่มีผลต่อปริมาณอะมิโลส

ตารางที่ 4.4 ปริมาณอะมิโลสของแป้งข้าวเจ้า 3 พันธุ์ ในระหว่างกระบวนการหมัก

ตัวอย่าง/ พันธุ์	อะมิโลส (% w/w db)				
	วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 3+1%เกลือ
ชัยนาท1	36.67 ± 0.19^{aA}	35.31 ± 0.03^{aA}	33.60 ± 0.57^{bcA}	33.34 ± 0.81^{bA1}	34.55 ± 0.19^{A1}
เหลือง 11	34.84 ± 0.01^{aB}	33.91 ± 0.52^{aB}	32.46 ± 0.83^{bA}	29.79 ± 0.01^{cB1}	31.33 ± 1.49^{B1}
สุรินทร์ 1	35.90 ± 0.80^{aAB}	34.38 ± 0.45^{bAB}	30.44 ± 0.15^{cB}	29.94 ± 0.50^{cB1}	30.51 ± 1.32^{C1}

หมายเหตุ: $^{a\,b\,c}$ คือตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

$^{A\,B\,C}$ คือตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ95

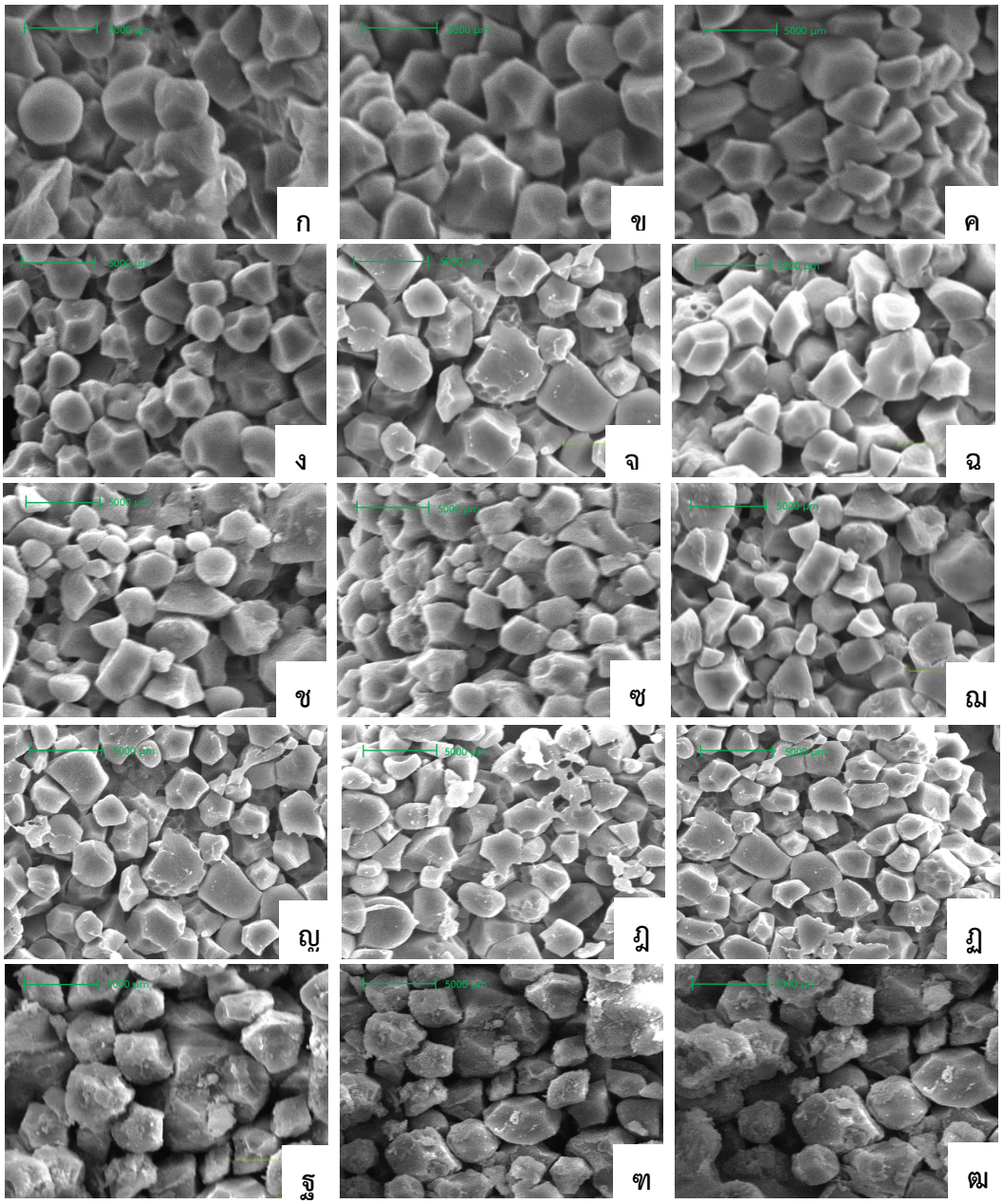
$^{1\,2}$ คือตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95

ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าในตารางคือผลที่ได้จากการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

4.5 สัณฐานวิทยาของเม็ดแป้งในระหว่างกระบวนการหมักน้ำแป้งจากข้าว 3 พันธุ์

จากผลการทดลองที่ 4.1-4.4 แสดงให้เห็นว่าในระหว่างการหมักน้ำแป้งเกิดกระบวนการเมทาบอลึซึมของจุลินทรีย์ส่งผลให้ปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ปริมาณอะมิโลสอะมิโลเพคตินลดลง และเม็ดแป้ง(สตาร์ช)เปลี่ยนแปลงลักษณะไปจากเดิม ดังนั้นเพื่อดูการเปลี่ยนแปลงทางเคมีกายภาพของเม็ดแป้ง จึงนำเอาน้ำแป้งจากข้าวทั้ง 3 พันธุ์ มาตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของเม็ดแป้งที่ระยะเวลาในการหมักต่างกันและเปรียบเทียบผลของปริมาณกรดทั้งหมดต่อการเปลี่ยนแปลงขนาดและรูปร่างของเม็ดแป้ง โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope: SEM)

จากการวิเคราะห์ทางสัณฐานวิทยาของเม็ดแป้งด้วยกล้อง SEM ที่กำลังขยาย 5000 เท่า เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงของเม็ดแป้งในระหว่างกระบวนการหมัก และเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงขนาดและรูปร่างของเม็ดแป้งหลังจากการหมัก แสดงดังภาพที่ 4.3 พบว่าเมื่อระยะเวลาในการหมักน้ำแป้งเพิ่มมากขึ้นสัณฐานวิทยาของเม็ดแป้งมีการเปลี่ยนแปลงคือ เม็ดแป้งมีขนาดเล็กลง รูปร่างเป็นเหลี่ยม และมีขนาดไม่เท่ากัน เมื่อเปรียบเทียบเม็ดแป้งในข้าวทั้ง 3 พันธุ์ ที่ทำการหมักเป็นเวลา 0-3 วัน พบว่าในวันที่ 0 (หลังจากโม่เปียก) เม็ดแป้งจากข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 (ภาพที่ 4.3ก) และเหลือง 11 (ภาพที่ 4.3ข) มีขนาดใกล้เคียงกัน และใหญ่กว่าเม็ดแป้งจากข้าวพันธุ์สุรินทร์ 1 (ภาพที่ 4.3ค) ส่วนลักษณะพื้นผิวของเม็ดแป้งของข้าวทั้ง 3 พันธุ์ พบว่าในวันที่ 0 มีลักษณะค่อนข้างเรียบ จากนั้นเมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้น พบว่าในแป้งข้าวพันธุ์สุรินทร์ 1 เม็ดแป้งมีรูพรุนเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัดเจนกว่าแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และเหลือง 11 จากการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวสอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของปริมาณกรดแลคติกในตารางที่ 4.3 (SR>LU>CN) ที่แสดงให้เห็นว่าข้าวพันธุ์สุรินทร์ 1 มีการเพิ่มของปริมาณกรดแลคติกสูงขึ้นตามระยะเวลาในการหมักที่เพิ่มขึ้นกว่าพันธุ์เหลือง 11 และชัยนาท 1 ดังนั้นจะเห็นได้ว่าปริมาณกรดแลคติกเป็นปัจจัยสำคัญต่อการเปลี่ยนแปลงของเม็ดแป้ง และจากผลการทดลองนี้ยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Phothiset และ Charoenrein (2006) ที่ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของเม็ดแป้งที่ผ่านกระบวนการหมักเพื่อผลิตแผ่นเมี่ยง



ภาพที่ 4.3 สัณฐานวิทยาของเม็ดแป้งข้าว 3 พันธุ์ในระหว่างกระบวนการหมักและหลังจากเติมเกลือ 1 เปอร์เซ็นต์ ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดที่กำลังขยาย 5000X

(ก) แป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 วันที่ 0 (ข) แป้งข้าวพันธุ์เหลือง 11 วันที่ 0 (ค) แป้งข้าวพันธุ์สุรินทร์ 1 วันที่ 0 (ง) แป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 วันที่ 1 (จ) แป้งข้าวพันธุ์เหลือง 11 วันที่ 1 (ฉ) แป้งข้าวพันธุ์สุรินทร์ 1 วันที่ 1 (ช) แป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 วันที่ 2 (ซ) แป้งข้าวพันธุ์เหลือง 11 วันที่ 2 (ฌ) แป้งข้าวพันธุ์สุรินทร์ 1 วันที่ 2 (ญ) แป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 วันที่ 3 (ฎ) แป้งข้าวพันธุ์เหลือง 11 วันที่ 3 (ฏ) แป้งข้าวพันธุ์สุรินทร์ 1 วันที่ 3 (ฐ) แป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 วันที่ 3+เกลือ (ฑ) แป้งข้าวพันธุ์เหลือง 11 วันที่ 3+เกลือ (ฒ) แป้งข้าวพันธุ์สุรินทร์ 1 วันที่ 3+เกลือ

หลังจากนั้นเมื่อเติมเกลือ 1% ก่อนนึ่งขึ้นรูป ภาพที่ 4.3 (ฐ) (ฑ) (ฒ) จากภาพเห็นได้ว่าพื้นผิวของเม็ดแป้งมีลักษณะขรุขระ ไม่เรียบเนียน ทั้งนี้เกิดเนื่องจากโมเลกุลของเกลือเข้าไปจับกับเม็ดแป้งจึงทำให้เม็ดแป้งมีลักษณะดังที่กล่าวมาข้างต้น ทั้งนี้หากพิจารณาจากปริมาณจุลินทรีย์ กรด และปริมาณอะมิโลสในวันที่ 3 และวันที่ 3+1%เกลือแล้ว (ตารางที่ 4.2 4.3 และ 4.4) พบว่าหลังจากการเติมเกลือเกลือไม่มีผลต่อปริมาณจุลินทรีย์ ปริมาณกรดทั้งหมด และปริมาณอะมิโลส ดังนั้นลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแป้งหลังจากการเติมเกลือเทียบกับแป้งในวันที่ 3 จึงไม่มีความแตกต่างกันในข้าวทุกพันธุ์

4.6 ลักษณะทางเคมีกายภาพของน้ำแป้งระหว่างกระบวนการหมัก

จากผลการทดลองที่กล่าวมาข้างต้น พบว่าในระหว่างกระบวนการหมักน้ำแป้งมีการเปลี่ยนแปลงทางจุลินทรีย์ทำให้เกิดกรด ส่งผลให้ปริมาณอะมิโลสและอะมิโลเพคตินลดลง เม็ดแป้งมีขนาดเล็กลงและมีพื้นผิวที่ขรุขระมากขึ้น ซึ่งการเปลี่ยนแปลงเหล่านี้เป็นปัจจัยสำคัญต่อคุณภาพของแผ่นเมี่ยง นอกจากนี้จากการทดลองยังใช้วัตถุดิบที่มีองค์ประกอบทางเคมีทางเคมี คือ ความชื้น ไขมัน โปรตีน อะมิโลส และจุลินทรีย์ที่ต่างกัน ซึ่งการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมี และลักษณะของเม็ดแป้งส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางเคมีกายภาพของน้ำแป้งที่ต่างกันด้วย ดังต่อไปนี้

4.6.1 กำลังการพองตัวและดัชนีการละลาย (Swelling power and Water Solubility index)

กำลังการพองตัวและดัชนีการละลายของแป้งในระหว่างกระบวนการหมักจากข้าวทั้ง 3 พันธุ์ แสดงในตารางที่ 4.5 พบว่าเมื่อหมักน้ำแป้งเป็นเวลา 3 วัน กำลังการพองตัวและดัชนีการละลายมีค่าเพิ่มขึ้น ซึ่งปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อกำลังการพองตัวและดัชนีการละลายของแป้งที่ผ่านกระบวนการหมัก ได้แก่ ปริมาณโปรตีน (ตารางที่ 4.1) องค์ประกอบทางเคมีของแป้งข้าวที่ได้จากแป้งข้าวพันธุ์สุรินทร์ 1 มีโปรตีนสูงที่สุด รองลงมาคือแป้งข้าวพันธุ์เหลือง 11 และแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ตามลำดับ และจากผลการทดลองกำลังการพองตัวในแป้งข้าวพันธุ์สุรินทร์ 1 เริ่มต้น มีค่าเท่ากับ 12.36 หลังจากนั้นเมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มมากขึ้นค่ากำลังการพองตัวเพิ่มขึ้น จากวันที่ 0-3 เท่ากับ 1.49 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งอัตราการพองตัวมีค่าต่ำที่สุด เมื่อเทียบกับแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และเหลือง 11 (3.59 และ 1.69 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) โดยโปรตีนที่แทรกอยู่ระหว่างกลุ่มของเม็ดแป้งจะทำให้แป้งดูดซึมน้ำได้น้อยลงและโปรตีนที่เกาะอยู่บริเวณผิวของเม็ดแป้งจะทำให้เกิดประจุบนพื้นผิว และส่งผลต่อการกระจายตัวของเม็ดแป้ง ทำให้เม็ดแป้งมีอัตราการดูดซับน้ำ อัตราการพองตัว และอัตราการเกิดเจลาติไนซ์เปลี่ยนแปลงไป (กล้าณรงค์ ศรีรอต และเกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ, 2546) ดังนั้นแป้งจากข้าวพันธุ์สุรินทร์ 1 ที่มีปริมาณโปรตีนสูงสุด จึงดูดซึมน้ำได้น้อย การพองตัวต่ำ ส่งผลให้เม็ดแป้งแตกตัวได้น้อยลง รองลงมาคือ แป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และเหลือง 11 และนอกจากโปรตีนจะมีผลต่อกำลังการพองตัวแล้วยังมีผลต่อดัชนีการละลายของแป้ง โดยมีผลต่อความสามารถในการจับกับน้ำและการถูกทำลายของเม็ดแป้ง เนื่องจากโครงสร้างโปรตีนมีส่วนที่ชอบน้ำอยู่ ดังนั้นแป้งข้าวพันธุ์สุรินทร์ 1 จึงมีความสามารถในการละลายได้ดีกว่าแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และเหลือง 11 (ตารางที่ 4.5) ตามลำดับ แต่ทั้งนี้ปัจจัยที่มีผลต่อค่าการพองตัวและการละลายไม่ได้มีเพียงแค่ปริมาณโปรตีนเท่านั้นที่เป็นตัวชี้วัด ปริมาณอะมิโลสเป็นอีกปัจจัยที่มีความสำคัญเช่นกัน

จากผลการทดลองพบว่าปริมาณอะมิโลสในวันที่ 0 ข้าวพันธุ์เหลือง 11 มีปริมาณอะมิโลสที่ต่ำกว่าพันธุ์สุรินทร์ 1 และชัยนาท 1 และเปรียบเทียบกับค่ากำลังการพองตัวจากตารางที่ 4.5 ในวันที่ 0 พบว่าแป้งข้าวพันธุ์เหลือง 11 มีค่าสูงใกล้เคียงกับแป้งข้าวพันธุ์สุรินทร์ 1 และมากกว่าแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 (SR≥LU>CN) เท่ากับ 11.44 12.36 และ 9.91 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณอะมิโลสที่ต่างกันในข้าวแต่ละพันธุ์ แป้งข้าวพันธุ์เหลือง 11 และสุรินทร์ 1 ที่มีปริมาณอะมิโลสต่ำการจัดเรียงตัวของโครงสร้างภายในเม็ดแป้งจึงเป็นระเบียบน้อย ทำให้การพองตัวเกิดแบบอิสระเมื่อมีการให้ความร้อน และในระหว่างการเกิดเจลาติไนซ์พันธะไฮโดรเจนในผลึกของเม็ดแป้งจะเกิดการแตกหักและถูกแทนที่ด้วยน้ำจึงทำให้ความสามารถในการพองตัวหรือดูดซึมน้ำได้มาก หลังจากนั้นเมื่อระยะเวลาในการหมักเพิ่มขึ้น พบว่ากำลังการพองตัวมีค่าเพิ่มขึ้น เนื่องจากในระหว่างกระบวนการหมักกรดที่ได้จากจุลินทรีย์ในการหมักแบบธรรมชาติทำลายพันธะของอะมิโลสและมีหมู่ไฮดรอกซิลเพิ่มขึ้นจึงทำให้ความสามารถในการพองตัวนั้นเพิ่มขึ้นจากวันที่ 0 (ตารางที่ 4.5) แสดงว่าปริมาณอะมิโลสในข้าวที่ต่างกัน (CN>SR>LU) มีผลต่อการพองตัว และระยะเวลาหมักก็ส่งผลให้อัตราส่วนระหว่างผลึกและอสัณฐานเปลี่ยนไปจากเดิม (อธิบายในหัวข้อถัดไป) ทำให้ข้าวพันธุ์สุรินทร์ 1 และเหลือง 11 ที่มีปริมาณอะมิโลส ต่ำมีความสามารถในการพองตัวที่สูงกว่าพันธุ์ชัยนาท 1

สำหรับการเปลี่ยนแปลงปริมาณอะมิโลสต่อค่าการละลายนั้น จากผลการทดลองพบว่าในวันที่ 0 ข้าวพันธุ์สุรินทร์ 1 มีค่าการละลายสูงสุด คือ 3.97 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ ชัยนาท 1 และเหลือง 11 คือ 2.98 และ 2.94 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 4.5) ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณอะมิโลสที่ต่ำสุดในข้าวพันธุ์สุรินทร์ (วันที่ 0) ข้าวที่มีปริมาณอะมิโลสต่ำ จะมีโครงสร้างที่เป็นผลึกน้อยกว่าข้าวที่มีปริมาณอะมิโลสสูง พันธะไฮโดรเจนถูกทำลายได้ง่ายจึงทำให้ค่าการละลายในแป้งข้าวพันธุ์สุรินทร์ 1 สูงกว่าแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และเหลือง 11 แต่เมื่อระยะเวลาในการหมักเพิ่มขึ้นโครงสร้างของเม็ดแป้งถูกทำลายด้วยกรดและเม็ดแป้งมีขนาดเล็กลง เมื่อน้ำแป้งได้รับความร้อนเม็ดแป้งจะดูดซับน้ำเอาไว้และส่วนของอสัณฐาน (โดยเฉพาะอะมิโลส) บางส่วนจะละลายออกมา เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นพันธะไฮโดรเจนที่จับยึดเกลียวคู่ในโมเลกุลอะมิโลเพคตินถูกทำลาย ทำให้สายโซ่เคลื่อนไหวได้อย่างอิสระ ส่งผลให้เม็ดแป้งดูดซับน้ำและปลดปล่อยอะมิโลสได้มากขึ้น ดังนั้นค่าดัชนีการละลายของแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 เหลือง 11 และสุรินทร์ 1 จึงละลายได้ง่ายขึ้น โดยพบว่ามีอัตราเพิ่มขึ้นคือ 0.68 1.32 และ 1.59 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าข้าวพันธุ์สุรินทร์ 1 มีอัตราการละลายเพิ่มขึ้นสูงสุด เนื่องจากน้ำแป้งจากแป้งข้าวพันธุ์สุรินทร์ 1 มีปริมาณกรดที่ได้จากจุลินทรีย์ผลิตขึ้นสูงรวมทั้งมีปริมาณอะมิโลสต่ำจึงส่งผลให้ค่าการละลายสูงกว่าพันธุ์อื่นๆ แต่ทั้งนี้กำลังการพองตัวและดัชนีการละลายสูงหรือต่ำยังขึ้นอยู่กับปริมาณอะมิโลเพคตินที่มีอยู่ด้วย (Aziz et al., 2011) เนื่องจากโครงสร้างของอะมิโลเพคตินมีทั้งส่วนที่เป็นระเบียบและไม่เป็นระเบียบเช่นกัน

ตารางที่ 4.5 ค่ากำลังการพองตัวและดัชนีการละลายของน้ำแป้งระหว่างกระบวนการหมักจากแป้งข้าว 3 พันธุ์

สมบัติเชิงหน้าที่	พันธุ์	ระยะเวลาการหมัก (วัน)				
		วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 3+1%เกลือ
กำลังการพองตัว (%)	ชัยนาท 1	9.91 ± 0.99^{cB}	12.10 ± 0.52^{bB}	12.37 ± 0.32^{abB}	13.50 ± 0.36^{aAB1}	8.89 ± 0.10^{B2}
	เหลือง 11	11.44 ± 1.06^{bAB}	13.28 ± 0.44^{aA}	13.63 ± 0.15^{aA}	13.13 ± 0.96^{aB1}	9.39 ± 0.11^{A2}
	สุรินทร์ 1	12.36 ± 1.20^{bA}	13.11 ± 0.49^{abA}	13.09 ± 0.31^{abA}	13.85 ± 0.00^{aA1}	9.02 ± 0.19^{B2}
ค่าการละลาย (%)	ชัยนาท 1	2.98 ± 0.90^{bNS}	3.66 ± 0.04^{bB}	5.34 ± 0.26^{aNS}	6.04 ± 0.27^{aAB1}	3.98 ± 0.13^{A2}
	เหลือง 11	2.94 ± 0.04^{c}	4.26 ± 0.30^{bB}	4.63 ± 0.58^{ab}	5.27 ± 0.71^{aB1}	3.12 ± 0.12^{B2}
	สุรินทร์ 1	3.97 ± 0.23^{b}	5.56 ± 0.94^{abA}	6.85 ± 1.69^{a}	7.33 ± 1.33^{aA1}	4.08 ± 0.05^{A2}

หมายเหตุ: $^{a\,b\,c}$ คือ ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

$^{A\,B\,C}$ คือ ตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

$^{1\,2}$ คือ ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

^{NS} คือ แถวหรือคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าในตารางคือผลที่ได้จากการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

4.6.2 สมบัติทางความร้อน (Thermal properties)

สมบัติทางความร้อนของแป้งวัดโดยเครื่อง Differential Scanning Calorimetry (DSC) ได้แก่ อุณหภูมิเริ่มเกิดเจลาติไนเซชัน (T_o) อุณหภูมิเกิดเจลาติไนเซชันสูงสุด (T_p) อุณหภูมิสิ้นสุดการเกิดเจลาติไนเซชัน (T_c) และค่าความร้อนในการเกิดเจลาติไนเซชัน (ΔH) จากตารางที่ 4.6 พบว่าแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 มี T_o ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่ทำให้เม็ดแป้งเริ่มคลายตัวสูงสุด รองลงมาคือแป้งข้าวพันธุ์สุรินทร์ 1 และเหลือง 11 เท่ากับ 65.40 64.11 และ 62.99 °C ตามลำดับ ซึ่งเมื่อพิจารณาควบคู่กับปริมาณอะมิโลสในวันที่ 0 แล้วยังพบว่าแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 มีปริมาณอะมิโลสสูงสุด บ่งบอกได้ว่าโครงสร้างระหว่างโมเลกุลภายในมีการยึดเกาะกันได้มากกว่าข้าวพันธุ์อื่น จากนั้นเมื่อระยะเวลาในการหมักเพิ่มขึ้น อุณหภูมิเริ่มเกิดเจลาติไนซ์จะสูงขึ้นตามระยะเวลาของการหมัก เนื่องจากแป้งที่ผ่านกระบวนการหมักจะถูกกรดทำลายพันธะของอะมิโลสและอะมิโลเพคติน ทำให้โครงสร้างที่เป็นอสัณฐานถูกย่อยและอัตราส่วนของผลึกเพิ่มขึ้น เม็ดแป้งมีขนาดเล็กลง เป็นเหลี่ยม และมีรูพรุนมากขึ้น (Guanaratne and Hoover, 2002; Moorthy, 2002; Sandhu and Singh, 2007) จากการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวเมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้น ส่งผลให้อุณหภูมิเปลี่ยนแปลงสุดท้าย (Conclusion temperature : T_c) และค่าพลังงานในการเกิดเจลาติไนซ์ (Enthalpy : ΔH) สูงขึ้นเช่นกัน โดยจากผลการทดลองพบว่าแป้งข้าวพันธุ์เหลือง 11 มีค่า ΔH สูงกว่า สุรินทร์ 1 และชัยนาท 1 คือ 4.54 2.13 และ 1.92 J/g ตามลำดับ โดยค่า ΔH จะบ่งบอกถึงความแข็งแรงของโครงสร้างภายในเม็ดแป้ง ซึ่งเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงของอัตราส่วนระหว่างผลึกต่ออสัณฐานที่มีการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากกรดที่จุลินทรีย์สร้างขึ้น ทำให้ค่าการพองตัวและดัชนีการละลายเพิ่มขึ้น (SR>LU>CN) เมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้นดังแสดงในตารางที่ 4.5 ซึ่งเป็นค่าที่บ่งบอกบอกถึงอัตราส่วนระหว่างผลึกต่ออสัณฐานที่มีการเปลี่ยนแปลงในเม็ดแป้งได้ น้ำจึงผ่านเข้าสู่โมเลกุลของเม็ดแป้งได้ยากขึ้น และจากผลการทดลองหาค่าการพองตัวและดัชนีการละลายพบว่าแป้งข้าวพันธุ์เหลือง 11 สุรินทร์ 1 มีค่าการพองตัวและดัชนีการละลายสูงกว่าแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ดังนั้นข้าวพันธุ์เหลือง 11 จึงมีอัตราส่วนระหว่างผลึกและอสัณฐานสูงกว่าแป้งข้าวพันธุ์สุรินทร์ 1 และชัยนาท 1 เมื่อระยะเวลาในการหมักเพิ่มขึ้นจึงทำให้ต้องใช้พลังงานในการเกิดเจลาติไนซ์ที่สูงในการทำลายโครงสร้างของเม็ดแป้งให้เกิดการแตกตัว

ตารางที่ 4.6 สมบัติทางความร้อนระหว่างกระบวนการหมักน้ำแป้งข้าว 3 พันธุ์

สมบัติทางความร้อน	พันธุ์ข้าว	วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 3+1%NaCl
onset temperature(℃)	ชัยนาท 1	65.40 ± 0.01^{bA}	65.79 ± 0.26^{bA}	66.65 ± 0.28^{aA}	65.96 ± 0.02^{bAB1}	63.35 ± 0.29^{B1}
	เหลือง 11	62.99 ± 0.57^{bC}	63.20 ± 0.16^{bC}	64.01 ± 1.19^{abB}	65.32 ± 0.48^{aA1}	65.13 ± 0.01^{A1}
	สุรินทร์ 1	64.11 ± 0.01^{cB}	64.30 ± 0.01^{bcB}	64.64 ± 0.34^{abAB}	64.98 ± 0.00^{aA1}	64.94 ± 0.49^{A1}
peak temperature (℃)	ชัยนาท 1	67.97 ± 0.14^{abB}	68.27 ± 0.15^{aB}	67.57 ± 0.01^{bAB}	67.74 ± 0.26^{bB1}	67.65 ± 0.01^{C1}
	เหลือง 11	67.24 ± 0.02^{cC}	67.46 ± 0.04^{bC}	67.93 ± 0.04^{aB}	67.98 ± 0.01^{aB1}	68.08 ± 0.11^{B1}
	สุรินทร์ 1	69.73 ± 0.10^{aA}	69.89 ± 0.13^{aA}	68.60 ± 0.36^{bA}	70.03 ± 0.77^{aA1}	70.24 ± 0.17^{A1}
Conclusion temperature (℃)	ชัยนาท 1	70.05 ± 0.06^{bC}	71.71 ± 0.54^{abB}	72.21 ± 0.79^{aB}	72.85 ± 1.13^{aNS1}	72.81 ± 1.13^{NS1}
	เหลือง 11	70.77 ± 0.14^{cB}	71.47 ± 0.02^{bB}	71.72 ± 0.21^{abB}	71.98 ± 0.01^{a1}	72.75 ± 0.56^{1}
	สุรินทร์ 1	73.32 ± 0.20^{abA}	73.02 ± 0.02^{bA}	73.48 ± 0.06^{aA}	73.60 ± 0.21^{a1}	73.94 ± 0.07^{1}
Enthalpy (J/g)	ชัยนาท 1	1.92 ± 0.07^{cC}	2.42 ± 0.01^{bB}	2.44 ± 0.01^{bB}	3.08 ± 0.05^{aB1}	3.42 ± 0.46^{B1}
	เหลือง 11	4.54 ± 0.01^{cA}	5.45 ± 0.12^{bA}	5.92 ± 0.04^{aA}	6.04 ± 0.08^{aA1}	5.90 ± 0.08^{A1}
	สุรินทร์ 1	2.13 ± 0.02^{bB}	2.74 ± 0.29^{aB}	2.83 ± 0.08^{aB}	3.27 ± 0.24^{aB1}	3.48 ± 0.52^{B1}

หมายเหตุ: $^{a\,b\,c}$ คือ ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

$^{A\,B\,C}$ คือ ตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ระดับความ เชื่อมั่นร้อยละ 95

$^{1\,2}$ คือ ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าในตารางคือผลที่ได้จากการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

4.7 สมบัติทางรีโอโลยี (Rheological properties)

ในระหว่างกระบวนการหมักน้ำแป้ง จุลินทรีย์ใช้สารอาหารที่มีในแป้งเพื่อการดำรงชีพทำให้ปริมาณจุลินทรีย์เพิ่มขึ้น เกิดกรดและเอนไซม์ ส่งผลให้ปริมาณอะมิโลสและขนาดของแป้งมีลักษณะเปลี่ยนไปดังแสดงในภาพที่ 4.3 การเปลี่ยนแปลงเหล่านี้มีผลต่อสมบัติเชิงหน้าที่บางประการของน้ำแป้ง ซึ่งมีความสำคัญต่อการเกลี่ยน้ำแป้งในระหว่างการนึ่งบนหม้อนึ่งไอน้ำเดือด และความยืดหยุ่นของแผ่นเมี่ยงหลังจากการจุ่มน้ำก่อนการรับประทาน

4.7.1 สมบัติด้านความหนืด

การศึกษาความหนืดของน้ำแป้งด้วยบรูคฟิลด์ โดยศึกษาที่ระยะเวลาในการหมักต่างกัน พบว่าแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 เหลือง 11 และสุรินทร์ 1 มีความหนืดเริ่มต้นเท่ากับ 52.44 46.57 และ 59.52 cP ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.7 ซึ่งจากการทดสอบทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งนี้เนื่องจากข้าวทั้ง 3 พันธุ์มีขนาดของเม็ดแป้งต่างกันในวันที่ 0 (ภาพที่ 4.3) และเมื่อระยะเวลาในการเพิ่มขึ้นพบว่าความหนืดมีแนวโน้มลดลง ทั้งนี้เนื่องจากการตัดพันธะภายในโครงสร้างอะมิโลสด้วยกรดทำให้มีจำนวนหมู่ไฮดรอกซิลและโมเลกุลของอะมิโลสที่สามารถละลายน้ำได้เพิ่มมากขึ้น เม็ดแป้งจึงมีขนาดเล็กลงเมื่อส่องด้วยกล้อง SEM ส่งผลให้ความหนืดของตัวอย่างน้ำแป้งลดลงเมื่อวัดด้วยบรูคฟิลด์ ซึ่งสอดคล้องกับ Bertolini, Mestres และ Colona (2000) ที่ทดลองเติมกรดแลคติกและอะซิติกลงในแป้งมันสำปะหลังและแป้งข้าวโพดพบว่ากรดมีผลทำให้ความหนืดลดลงไปจากเดิม และจากการทดลองนี้เมื่อเปรียบเทียบความหนืดที่ลดลงของแป้งข้าวทั้ง 3 พันธุ์ พบว่าในวันที่ 1 แป้งข้าวข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และสุรินทร์ 1 มีอัตราการลดลงสูงสุดรองลงมาคือแป้งข้าวพันธุ์เหลือง 11 เท่ากับ 11.17 11.16 และ 8.68 cP ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากเมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้นปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้นในข้าวแต่ละพันธุ์มีอัตราเพิ่มขึ้นที่ต่างกัน (LU≥SR>CN) ทำให้ความสามารถในการตัดพันธะภายในโครงสร้างอะมิโลสในแป้งข้าวพันธุ์เหลือง 11 และสุรินทร์ 1 มีมากกว่าแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 เม็ดแป้งจึงมีขนาดเล็กลงต่างกัน (ภาพที่ 4.3) จึงส่งผลให้เมื่อวัดความหนืดด้วยบรูคฟิวด์ เม็ดแป้งที่มีขนาดเล็กเกิดการกระจายตัวได้ดีกว่าและมีพื้นที่ในการสัมผัสกับเครื่องมือได้มากกว่าเม็ดแป้งที่มีขนาดใหญ่หรือแป้งที่ไม่ผ่านกระบวนการหมัก (วันที่ 0) จากนั้นเมื่อเติมเกลือ 1% ในน้ำแป้ง พบว่าเกลือไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าความหนืดในข้าวทั้ง 3 พันธุ์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจากเกลือไม่มีผลต่อปริมาณจุลินทรีย์ (ตารางที่ 4.2) ทำให้ปริมาณจุลินทรีย์กรดและเอนไซม์ไม่มีการเปลี่ยนแปลง และขนาดของเม็ดแป้งไม่เปลี่ยนแปลงด้วยเช่นกัน อีกทั้งการทดลองนี้เติมเกลือเพียง 1% ก่อนการนึ่งขึ้นรูป ซึ่งเป็นปริมาณที่น้อยจึงไม่สามารถทำลายพันธะระหว่างโมเลกุลของเม็ดแป้งได้

ตารางที่ 4.7 ความหนืดของน้ำแป้งระหว่างกระบวนการหมักน้ำแป้งข้าว 3 พันธุ์

พันธุ์ข้าว	Viscosity (cP)				
	วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 3+1%NaCl
ชัยนาท 1	52.44 ± 0.51^{aB}	43.76 ± 0.70^{bB}	39.28 ± 0.12^{cA}	31.96 ± 0.29^{dA1}	32.67 ± 0.94^{A1}
เหลือง 11	46.57 ± 0.12^{dC}	35.18 ± 0.56^{cC}	33.15 ± 0.01^{bB}	28.02 ± 0.29^{aC1}	27.00 ± 0.18^{C1}
สุรินทร์ 1	59.52 ± 0.72^{aA}	48.36 ± 0.73^{bA}	39.36 ± 0.03^{cA}	30.59 ± 0.63^{dB1}	31.06 ± 0.81^{B1}

หมายเหตุ: $^{a\,b\,c}$ คือตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

$^{A\,B\,C}$ คือตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

$^{1\,2}$ คือตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานค่าในตารางคือผลที่ได้จากการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

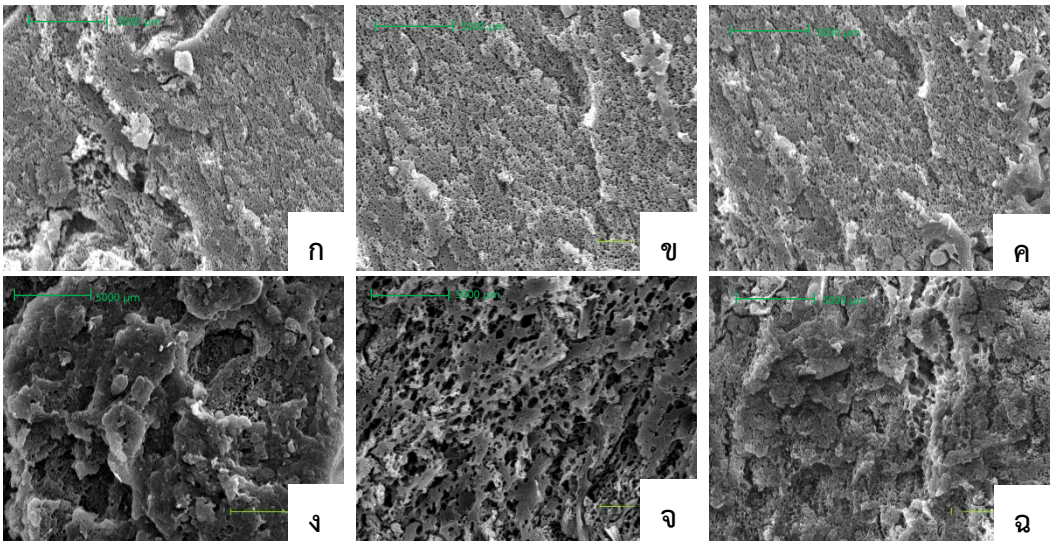
4.8 การนึ่งขึ้นรูป

หลังจากกระบวนการหมักในวันที่ 0-3 และหลังจากการเติมเกลือแล้ว ขั้นตอนต่อไปของการผลิตแผ่นเมี่ยงคือการนำน้ำแป้งมานึ่งเพื่อขึ้นรูปในหม้อนึ่งที่ขึงด้วยผ้าขาวบางบนหมอนึ่งไอน้ำเดือด แล้วนำไปผึ่งแดด และผึ่งในที่ร่มจนแห้ง ในระหว่างการนึ่งสัณฐานวิทยาของเม็ดแป้งจะเกิดการเปลี่ยนแปลง และแตกต่างกันในข้าวทั้ง 3 พันธุ์ ดังต่อไปนี้

4.8.1 สัณฐานวิทยาของเม็ดแป้งหลังจากการนึ่งขึ้นรูปและการทำแห้ง

หลังจากเสร็จสิ้นกระบวนการหมักและเติมเกลือ 1% ในวันที่ 3 ก่อนขึ้นรูปด้วยการนึ่งบนหม้อนึ่งไอน้ำเดือด แล้วนำแผ่นเมี่ยงหลังจากการนึ่งมาตรวจสอบทางสัณฐานวิทยาทันที พบว่าแผ่นแป้งที่ผลิตจากข้าวทั้ง 3 พันธุ์ มีลักษณะเป็นรูเล็ก ๆ เชื่อมต่อกันหลายรู คล้ายร่างแห ดังแสดงในภาพที่ 4.4 (ก) (ข) (ค) ทั้งนี้เนื่องจากเมื่อเม็ดแป้งถูกความร้อนจนพองตัวและแตกออกแล้วเมื่ออุณหภูมิลดลง โมเลกุลของอะมิโลสที่อยู่ใกล้กันจะเกิดการจัดเรียงตัวกันใหม่ด้วยพันธะไฮโดรเจน เกิดเป็นร่างแหสามมิติ โครงสร้างใหม่นี้จะมีความสามารถในการอุ้มน้ำ ความหนืดจะคงตัวมากขึ้น นอกจากนี้หากพิจารณาจากการกำลังพองตัวและดัชนีการละลายของแป้งข้าวทั้ง 3 พันธุ์ ที่มีส่วนเกี่ยวข้องในการจัดเรียงตัวกันใหม่ของแป้งแล้ว พบว่ามีค่าต่างกัน (SR≥LU>CN) แป้งที่มีโมเลกุลในส่วนที่เป็นผลึกสูงจะมีค่าพองตัวและการละลายต่ำ และจากผลการทดลองพบว่าแป้งข้าวพันธุ์สุรินทร์ 1 มีค่าการพองตัวและดัชนีการละลายสูง อีกทั้งยังมีค่า ΔH ที่สูงอีกด้วย จึงบ่งบอกได้ว่ามีโครงสร้างที่ผลึกมากกว่าแป้งข้าวพันธุ์อื่น การเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุลจึงเกิดขึ้นได้ดี จึงทำให้การเกิดจัดเรียงตัวกันใหม่ดังภาพที่ 4.4ค จากนั้นเมื่อนำแผ่นแป้งไปผึ่งแดดและผึ่งในที่ร่มจนแห้ง แล้วนำแผ่นเมี่ยงมาตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่าแผ่นเมี่ยงมีลักษณะเป็นรู คล้ายร่างแห แต่ขนาดใหญ่กว่า

แป้งหลังจากการนึ่งขึ้นรูป ดังภาพที่ 4.4 (ง) (จ) (ฉ) ทั้งนี้เนื่องจากในระหว่างการทำแห้งแป้งเกิดการระเหยน้ำออก ทำให้แป้งเกิดการสูญเสียน้ำ เกิดเป็นช่องว่างระหว่างเม็ดแป้งซึ่งเป็นไปในลักษณะเดียวกันในข้าวทั้ง 3 พันธุ์ แต่จะแตกต่างกันตรงที่ขนาดของรูระหว่างโมเลกุลภายในเม็ดแป้ง ซึ่งจากภาพจะเห็นได้ว่าแป้งข้าวพันธุ์เหลือง 11 และสุรินทร์ 1 มีขนาดรูที่ใหญ่กว่าแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองค่ากำลังการพองตัวและดัชนีการละลายที่เป็นไปในทิศทางเดียวกัน ซึ่งจากผลการทดลองดังกล่าวบ่งบอกถึงความสามารถในการอุ้มน้ำของแป้งข้าวพันธุ์เหลือง 11 และสุรินทร์ 1 ได้มากกว่าแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 เมื่อมีการระเหยน้ำออกจึงเกิดเป็นช่องว่างที่มีขนาดใหญ่กว่า



ภาพที่ 4.4 สัณฐานวิทยาของของแผ่นเมี่ยงหลังจากการนึ่งขึ้นรูปและการทำแห้งจากข้าว 3 พันธุ์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดที่กำลังขยาย 5000X
(ก) แผ่นแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 หลังการนึ่งขึ้นรูป (ข) แผ่นแป้งข้าวพันธุ์เหลือง 11 หลังการนึ่งขึ้นรูป (ค) แผ่นแป้งข้าวพันธุ์สุรินทร์ 1 หลังการนึ่งขึ้นรูป (ง) แผ่นแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 หลังการทำแห้ง (จ) แผ่นแป้งข้าวพันธุ์เหลือง 11 หลังการทำแห้ง (ฉ) แผ่นแป้งข้าวพันธุ์สุรินทร์ 1 หลังการทำแห้ง

4.9 เปรียบเทียบคุณภาพที่ดีของแผ่นเมี่ยงที่ผลิตจากข้าวเจ้าทั้ง 3 พันธุ์ และแผ่นเมี่ยงทางการค้า

จากผลการวิเคราะห์เนื้อสัมผัสของแผ่นเมี่ยงที่ผลิตจากแป้งข้าวเจ้า 3 พันธุ์ คือ ชัยนาท 1 เหลือง 11 และสุรินทร์ 1 เปรียบเทียบกับแผ่นเมี่ยงทางการค้า พบว่าแผ่นเมี่ยงที่ผลิตจากแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 มีค่า Young's modulus สูงที่สุด และมีค่า Elongation ต่ำที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.8) กล่าวคือแผ่นเมี่ยงดังกล่าวต้องใช้แรงในการดึงยืดมาก แสดงให้เห็นว่ามีความทนต่อแรงดึงสูงที่สุด แต่มีระยะยืดน้อย ส่วนแผ่นเมี่ยงที่ผลิตจากแป้งข้าวพันธุ์เหลือง 11 และสุรินทร์ 1 มีค่า Young's modulus และค่า Elongation ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ อีกทั้งมีค่าไม่แตกต่างจากแผ่นเมี่ยงทางการค้า โดยเฉพาะค่า Elongation แสดงให้เห็นว่าแผ่นเมี่ยงที่ผลิตจากแป้งข้าวพันธุ์สุรินทร์ 1 มีความทนต่อแรงดึงยืดได้เทียบเท่ากับแผ่นเมี่ยงทางการค้า อีกทั้งแสดงระยะยืดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แสดงถึงคุณภาพของแผ่นเมี่ยงที่เทียบเท่าได้กับแผ่นเมี่ยงทางการค้า

ตารางที่ 4.8 เปรียบเทียบคุณภาพที่ดีของแผ่นเมี่ยงที่ผลิตจากข้าวเจ้า 3 พันธุ์ และแผ่นเมี่ยงทางการค้า

แผ่นเมี่ยง/พันธุ์ข้าว	Young's modulus (N/m^2)	Elongation
แผ่นเมี่ยงทางการค้า	1.39 ± 0.36^{A}	103.53 ± 3.62^{B}
ชัยนาท 1	2.47 ± 0.01^{B}	95.73 ± 1.93^{A}
เหลือง 11	0.90 ± 0.26^{A}	110.76 ± 6.63^{C}
สุรินทร์ 1	1.16 ± 0.12^{A}	109.06 ± 0.35^{BC}

หมายเหตุ: ^{ABC} คือตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความ เชื่อมั่นร้อยละ 95

ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าในตารางคือผลที่ได้จากการทดลองทั้งหมด 10 ซ้ำ

ค่า Young's modulus และค่า Elongation ที่แตกต่างกันในข้าวทั้ง 3 พันธุ์ (ตารางที่ 4.8) เกิดเนื่องจากโครงสร้างของแผ่นเมี่ยงหลังจากการขึ้นรูป ที่เกิดการจัดเรียงตัวกันใหม่ของโครงสร้างภายในเม็ดแป้งหลังจากการเกิดเจลาติไนซ์ ซึ่งเกี่ยวข้องกับปริมาณอะมิโลส และขนาดของเม็ดแป้ง โดยจากการทดลองนี้จะเห็นได้ว่าแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 มีปริมาณอะมิโลสสูง ซึ่งโครงสร้างที่มีลักษณะเป็นเส้นตรงของอะมิโลสจะมีผลต่อการเกิดรีโทรเกรเดชันได้มากกว่าข้าวที่มีปริมาณอะมิโลสต่ำหรืออะมิโลเพคตินสูง ซึ่งมีโครงสร้างโมเลกุลลักษณะกิ่งก้านสาขา การการเคลื่อนที่กลับมารวมกันใหม่ของโมเลกุลน้ำตาลกลูโคสจึงถูกขัดขวาง ทำให้การเกิดรีโทรเกรเดชันเกิดขึ้นได้ช้า อีกทั้งเมื่อพิจารณาขนาดของเม็ดแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ยังพบว่าเม็ดแป้งมีขนาดใหญ่ ทำให้การเคลื่อนไหวเกิดขึ้นได้ช้าการเกิดพันธะไฮโดรเจนจึงเกิดขึ้นได้ดี แต่เมื่อเปรียบเทียบกับแป้งข้าวพันธุ์สุรินทร์ 1 และเหลือง 11 ที่มีปริมาณอะมิโลสน้อยกว่า และมีขนาดของเม็ดแป้งเล็กกว่า กลับพบว่าแป้งข้าวพันธุ์สุรินทร์ 1 และเหลือง 11 มีการคืนรูปที่ดีกว่าเมื่อนำมาจุ่มน้ำ (ตามวิธีการรับประทานแผ่นเมี่ยงทั่วไป) เนื่องจากสัณฐานวิทยาของแผ่นเมี่ยงหลังจากการทำแห้งในแป้งข้าวพันธุ์สุรินทร์ 1 และเหลือง 11 มีลักษณะเป็นร่างแห และมีรูขนาดใหญ่กว่าแป้งจากข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 การดูดซึมน้ำเมื่อจุ่มน้ำจึงเกิดขึ้นได้ดีกว่า อีกทั้งเมื่อพิจารณาจากผลการทดลองกำลังการพองตัวและดัชนีการละลายยังพบว่าแป้งข้าวพันธุ์สุรินทร์ 1 เหลือง 11 มีกำลังการพองที่สูงกว่าแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ซึ่งสอดคล้องกับลักษณะช่องว่างหลังจากการทำแห้งในแป้งข้าวทั้ง 3 พันธุ์ และจากผลการทดลองยังพบว่าแผ่นเมี่ยงที่ผลิตจากแป้งข้าวพันธุ์สุรินทร์ 1 มีความยืดหยุ่นใกล้เคียงกับแผ่นเมี่ยงทางการค้ามากกว่าแป้งข้าวพันธุ์เหลือง 11 และชัยนาท 1 ตามลำดับ ดังนั้นจากการทดลองนี้แป้งข้าวทั้ง 3 พันธุ์ที่นำมาผลิตแผ่นเมี่ยงจึงมีความเหมาะสมในการนำมาผลิตทั้ง 3 พันธุ์เนื่องจากเป็นข้าวที่จัดอยู่ในกลุ่มข้าวที่มีปริมาณอะมิโลสสูง แต่พันธุ์ที่เหมาะสมที่สุดและมีลักษณะใกล้เคียงกับแผ่นเมี่ยงทางการค้าคือแป้งข้าวพันธุ์สุรินทร์ 1

บทที่ 5
สรุปผลและข้อเสนอแนะ

การเปลี่ยนแปลงทางเคมี จุลินทรีย์ และเคมีกายภาพ ระหว่างกระบวนการหมักน้ำแป้ง และเปรียบเทียบคุณภาพของแผ่นเมี่ยงที่ผลิตจากข้าว 3 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ชัยนาท 1 เหลือง 11 และสุรินทร์ 1 ที่มีองค์ประกอบทางเคมี คือ ปริมาณอะมิโลส ไขมัน โปรตีน และความชื้นต่างกัน จากกระบวนการหมักน้ำแป้ง จะเห็นได้ว่าเมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้นจุลินทรีย์ธรรมชาติในน้ำแป้งมีการเจริญ และเกิดเมทาบอไลท์จากกระบวนการเมทาบอลิซึมของเซลล์ ส่งผลให้ปริมาณกรดทั้งหมดเทียบเป็นกรด-แลคติกเพิ่มขึ้น และพีเอชของน้ำแป้งลดลงอย่างต่อเนื่อง ทำให้เกิดกระบวนการย่อยแป้งโดยกรดส่งผลให้รูปร่างของเม็ดแป้งเปลี่ยนไปจากเดิม เห็นได้จากปริมาณอะมิโลสลดลง และเม็ดแป้งมีอัตราส่วนของผลึกต่ออสัณฐานเพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญต่ออุณหภูมิในการเกิดเจลติไนซ์ที่สูงขึ้น ดัชนีการละลาย ค่ากำลังการพองตัว และความหนืดของน้ำแป้งลดลง ตั้งแต่เริ่มต้นกระบวนการหมักจนสิ้นสุดกระบวนการ และเกิดขึ้นในลักษณะเดียวกันในน้ำแป้งข้าวทั้ง 3 พันธุ์ โดยพบการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวในน้ำแป้งข้าวพันธุ์สุรินทร์ 1 มากที่สุด รองลงมาคือ เหลือง 11 และชัยนาท 1 สอดคล้องกับผลการเปรียบเทียบคุณภาพแผ่นเมี่ยงที่ผลิตได้กับแผ่นเมี่ยงทางการค้า โดยจะเห็นได้จากค่า Yong modulus และ Elongation ของแผ่นเมี่ยงที่ผลิตจากแป้งข้าวพันธุ์สุรินทร์ 1 ใกล้เคียงกับแผ่นเมี่ยงทางการค้าที่นิยมรับประทานมากกว่าแผ่นเมี่ยงที่ผลิตจากแป้งข้าวพันธุ์เหลือง 11 และชัยนาท 1 ดังนั้นการทดลองนี้แป้งข้าวพันธุ์สุรินทร์ 1 จึงเหมาะสมสำหรับนำมาผลิตแผ่นเมี่ยงมากที่สุด และผลการศึกษาครั้งนี้สามารถเป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์ และเป็นแนวทางในการพัฒนาต่อยอดผลิตภัณฑ์จากแป้งให้มีคุณค่าทางโภชนาการที่สูงขึ้น หรือการนำไปปรับใช้เพื่อพัฒนาให้เข้ากับเทคโนโลยีที่มีในปัจจุบันเพื่อลดต้นทุนและระยะเวลาในการผลิตให้มีระยะเวลาในการผลิตที่สั้นลง

เอกสารอ้างอิง

เอกสารอ้างอิง

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. **มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมแป้งแผ่น: ข้าวเจ้า**. มอก. ที่ 933, 2533.

กล้าณรงค์ ศรีรอต. **เกลือ: คุณสมบัติและการใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร**. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2521.

กล้าณรงค์ ศรีรอต และเกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ. **เทคโนโลยีของแป้ง**. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2546.

งามชื่น คงเสรี. “การผลิตเส้นก๋วยเตี๋ยว”, **วารสารกสิกร**. 66(2): 188-190; มีนาคม-เมษายน, 2536.

จารุวรรณ มณีศรี. **เทคโนโลยีการหมัก**. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: โฟร์เพซ, 2551.

ณรงค์ นิยมวิทย์. **แป้ง**. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2540.

ณรงค์ นิยมวิทย์ และอัญชนีย์ อุทัยพัฒนาชีพ. **วิทยาศาสตร์การประกอบอาหาร**. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2535.

ดุษฎี อุตภาพ และน้องนุช เจริญกูล. (2548). **เคมีและสมบัติของแป้ง**. http://eu.lib.kmutt.ac.th/ elearning/Courseware/ BCT611/contact.html. ธันวาคม, 2557.

ทรงศิลป์ พจน์ชนะชัย. **เอกสารการสอน Chemical Properties of Grain**. http://slideplayer.in.th /slide/2100770/. พฤษภาคม, 2558.

นิธิยา รัตนาปนนท์. **เคมีอาหาร**. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์, 2545.

ปราโมทย์ ศิริโรจน์ และคณะ. **การเปลี่ยนแปลงของปริมาณจุลินทรีย์และความสัมพันธ์ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลและกรดในกระบวนการหมักขนมจีน.** กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2534.

มนต์ราม อินทรศิริ. **การปรับปรุงเส้นขนมจีนเพื่อพัฒนาเป็นขนมจีนหมักเพื่อบริโภค**. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2550.

รุ่งนภา พงสวัสดิ์มานิต และคณะ**. รายงานการวิจัยการศึกษาคุณสมบัติของแป้งข้าวพันธุ์ต่างๆในประเทศไทยเพื่อเป็นกลยุทธ์ในการสร้างผลิตภัณฑ์มูลค่าเพิ่ม**. กรุงเทพฯ: สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, 2546.

สุภรัตน์ ชวนะ และคณะ. “การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีของแป้งขนมจีนในกระบวนการผลิต”, **การประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 29**. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์, 2534.

อริยาภรณ์ พงษ์รัตน์. **การศึกษาความเป็นไปได้ในการพัฒนาข้าวเพื่อการอุตสาหกรรมขนาดย่อม (SMEs): กรณีข้าวแผ่น.** คณะเกษตรศาสตร์: มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, 2546.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

อรพิน ภูมิภมร. **เทคโนโลยีของแป้ง: เคมีของแป้งและเทคโนโลยีผลิตภัณฑ์จากแป้งบางชนิดที่ผลิตในประเทศไทย**. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2533.

อรอนงค์ นัยวิกุล. **ข้าว: วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี**. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2555.

_____. **ข้าวสาลี: วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี**. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2540.

_____. **เคมีธัญญาหาร**. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2532ก.

อำพร ทับปลา. **การพัฒนาวิธีการผลิตแป้งแผ่น**. วิทยานิพนธ์ปริญญาคหกรรมศาสตรมหาบัณฑิต: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2544.

Aggarwall, P. and Dollimore, D. "A thermal analysis investigation of partially hydrolyzed starch", **Thermochimica Acta**. 319: 17-25, 1998.

AOAC. **Approved methods of analysis**. St Paul, MN: The Association of Official Analytical Chemists, 2002.

Aziz, N. A. A. and et al. "Chemical and functional properties of the native banana (*Musa acuminate balbisianaColla cv*. Awak) pseudo-stem and pseudo-stem tender core flours", **Journal of Food Chemistry**. 128: 748-753, 2011.

Bertolini, A. C., Mestres, C., and Colona, P. "Rheological properties of acidified and UV-irradiated starches", **Starch/Starke**. 52: 340–344, 2000.

Bett-Garber, K. L. and et al. "Influence of water-to-rice ratio on cooked rice flavor and texture", **Cereal Chemistry**. 84(6): 614-619, 2007. Cited Pamsakhom, S and Langkapin, J. "The effect of amylose content on water absorption characteristics of brown rice during soaking process", **Khonkaen Journal**. 43(1): 121-130, 2015.

Biocham1362. (2013). "Confusion: The polysaccharides", **Biochemistry.** https://biochem1362.wordpress.com. May, 2014**.**

Blandino, A. and et al. "Cereal-based fermented foods and beverages", **Food Research International**. 36: 527–543, 2003.

Cagampang, G.B. and et al. "Studies on the extraction and composition of rich proteins", **Cereal Chem**. 43(2): 145-155, 1966.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Chung, H.J. et al. "Effects of steeping and anaerobic treatment on GABA (g-aminobutyric acid) content in germinated waxy hull-less barley", **LWT-Food Science and Technology.** 42(10): 1712-1716, 2009. Cited Pamsakhom, S and Langkapin, J. "The effect of amylose content on water absorption characteristics of brown rice during soaking process", **Khonkaen Journal.** 43(1): 121-130, 2015.

Davies, T., Miller, D.C. and Procter, A.A. **Starke**. 32. 149, 1980.

Fari and et al. "Quality characteristics of noodles made from selected varieties of Sri Lankan rice with different physicochemical characteristics", **Natn. Sci. Foundation Sri Lanka Journal.** 39(1): 53-60, 2010**.**

Galliard, T. and Bowler, P. "Morphology and Composition of Starch", In **Gailliard T., (ed.) Starch: properties and Potential**. New York: John wiley and Sons, 1987.

Garrido-Franco. M and et al. "Structure and Function of threonine synthase from yeast", **BioChem Journal**. 227(14): 396-405; December, 2002.

Gunaratne, A., and Hoover, R. "Effect of heat-moisture treatment on the structure and physicochemical properties of tuber and root starches", **Carbohydrate Polymers Journal**. 49: 425-437; September, 2002.

Hizukuri, S. "Analytical aspects", In **Carbohydrates in food**. Edited by Ann-Charlotte. Eliasson Marcel Dekker. New York. Basel Inc, 1995.

Juliano, B. O. "A simplified assay for milled-rice amylose", **Cereal Science Today**. 16: 334-340, 1971.

Kerr, R. W. **Chemistry and Industry of starch**. 2nded. New York: Acedemic Press, 1950.

Kim, S.Y., Park, H.J., and S.J. Byun. **Method for preparing germinated brown rice having improved texture and cookability without microbial contamination and a germinated brown rice obtained therefrom**. U.S Patent no. US 7, 217, 436 B2, June 2004. Cited Pamsakhom, S and Langkapin, J. "The effect of amylose content on water absorption characteristics of brown rice during soaking process", **Khonkaen Journal.** 43(1): 121-130, 2015.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Koide, S., Tako, T., and Y. Nishiyama. "Open crack formation in rice with cracked endosperm and cracked surface during soaking", **(In Japanese with English abstract) J. Jpn. Soc. Food Sci. Technol.** 48(1): 69-72. 2001. Cited Pamsakhom,S and Langkapin, J. "The effect of amylose content on water absorption characteristics of brown rice during soaking process", **Khonkaen Journal**. 43(1): 121-130, 2015.

Lu, Z. and et al. "Influence of natural fermentation on physicochemical characteristics of rice noodles", **Journal of Food Science and Technology International**. 38: 505–510, 2002.

Moorthy, S. N. "Physicochemical and functional properties of tropical tuber starch: A review", **Journal of Starch Starke**. 54: 559-592, 2002.

Phothiset, S and Charoenrein, S. "Morphology and physicochemical changes in rice flour during rice paper production", **Journal of Food Research international**. 40: 266–272, 2007.

Rani, M. R. and Bhattacharya, K. R. "Rheology of rice flour pastes: effect of variety, concentration, and temperature and time of cooking", **Journal of Texture Studies**. 20: 127-137, 1989.

Ratnayake, W. S., Hoover, R., and Warkentin, T. "Pea starch: composition, structure and properties-a review", **Journal of Starch/Starke**. 54: 217-234, 2002.

Sandhu K.S., Singh N. "Some properties of corn starches II: Physicochemical, gelatinization, retrogradation, pasting and gel textural properties", **Food Chemistry Journal**. 101(4), 2007.

Thakur, A. K., and A.K. Gupta. "Water absorption characteristics of paddy, brown rice and husk during soaking", **Journal of Food Engineering**. 75(2): 252-257, 2006. Cited Pamsakhom, S and Langkapin, J. "The effect of amylose content on water absorption characteristics of brown rice during soaking process", **Khonkaen Journal**. 43(1): 121-130, 2015.

U.S. Food and DRUG administration **BAM: Aerobic Plate Count**. http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm063346.htm. December, 2014.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Wang, L. and et al. “Physicochemical properties and structure of starches from Chinese rice cultivars”, **Journal of Food Hydrocolloids.** 24: 208-216, 2010.

Yamakura, M. et al. “Effects of soaking and high-pressure treatment on the qualities of cooked rice”, **Journal of Appl. Glycosci**. 52(2): 85-93, 2005. Cited Pamsakhom, S and Langkapin, J. “The effect of amylose content on water absorption characteristics of brown rice during soaking process”, **Khonkaen Journal**. 43(1): 121-130, 2015.

Zhan-Hui Lu and et al. “Effect of amylose content and rice type on dynamic viscoelasticity of a composite rice starch gel”, **Journal of Food Hydrocolloids.** 23: 1712-1719, 2009.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
การวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์

ภาคผนวก ก.1 การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทังหมด (AOAC, 2000)

1. Plate count Agar	23.5 กรัม
2. น้ำกลั่น	1.0 ลิตร

1. ขั้นตอนการเตรียม

1.1 ละลาย Plate count Agar 23.5 กรัมในน้ำกลั่น 1 ลิตร ใช้แท่งแก้วคนสักระยะหนึ่ง แล้วนำบิกเกอร์ข้างต้นมาคลุมด้วยซีนบริเวณด้านบน มีรูเหลือบ้างเล็กน้อย จากนั้นนำเข้าตู้ไมโครเวฟ โดยเฉลี่ย 9-10 นาที จนอาหารเลี้ยงเชื้อมีสีเหลืองใส แต่ระวังไม่ให้อาหารเลี้ยงเชื้อทะลักออกมา ซึ่งอาจปนเปื้อนได้และจะทำให้ผลการทดลองผิดพลาดได้

1.2 บรรจุลงขวดอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีขนาด 500 มิลลิลิตร โดยเทอาหารเลี้ยงเชื้อลงไป 250 มิลลิลิตร ปิดฝาแต่ไม่สนิท เพื่อป้องกันการทะลักออกมา จากนั้นนำอาหารเลี้ยงเชื้อไปฆ่าเชื้อในเครื่องอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ประมาณ 1.5 ชั่วโมง (1 ชั่วโมงครึ่ง) หลังจากฆ่าเชื้อเสร็จแล้วควรปิดฝาขวดอาหารให้แน่นเพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากภายนอก

1.3 นำไปแช่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ประมาณ 30 นาที เพื่อให้อาหารเลี้ยงเชื้อไม่ร้อนจนเกินไป

1.4 เทลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยการอบที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส เทอาหารเลี้ยงเชื้อประมาณ 15-20 มิลลิลิตร โดยวางซ้อนกัน 3-4 เพลท เพื่อป้องกันการเกิดไอน้ำที่ฝาเพลท

1.5 ทิ้งไว้จนอาหารเลี้ยงเชื้อกลายเป็นวุ้น บรรจุภาชนะปิดสนิทและปลอดเชื้อ แล้วนำไปแช่ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ก่อนนำมาใช้ 1 วัน

2. ขั้นตอนการทำ Total Plate Count

2.1 การเตรียมสารละลายเปปโตน 0.1% เพื่อเจือจางตัวอย่าง โดยการชั่งตัวอย่างเปปโตน 1 กรัม ในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร

2.2 ใช้ออโต้ปิเปตดูดสารละลายเปปโตนใส่หลอดแก้ว 9 มิลลิลิตร ปิดฝาไม่สนิทแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ประมาณ 1.5 ชั่วโมง (1 ชั่วโมงครึ่ง) หลังจากฆ่าเชื้อเสร็จแล้วควรปิดฝาขวดอาหารให้แน่นเพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากภายนอก

3. การเตรียมตัวอย่าง

3.1 ดูดตัวอย่างน้ำแป้งมา 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดที่มีสารละลายเปปโตน 9 มิลลิลิตร แล้วเขย่ากับเครื่องเขย่าสาร (จะได้สารละลายตัวอย่างเจือจาง $1:10^{-1}$) เจือจางไปเรื่อย ๆ จนถึงความความเจือจางที่ต้องการ

3.2 ดูดตัวอย่างที่มีความเจือจางที่เหมาะสม 3 ระดับการเจือจางที่ใกล้เคียงกันหลอดละ 1 มิลลิลิตร แล้วหยดลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ แล้วทำการ pour plate

3.3 นำไปบ่มที่ตู้บ่มเชื้อ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

4. การนับจำนวนโคโลนี

4.1 นับจำนวนโคโลนีของจุลินทรีย์ทั้งหมด โดยใช้แว่นขยายและปากกาเคมี ซึ่งทำโดยการจุดด้านหลังของจานเลี้ยงเชื้อตามจำนวนโคโลนีที่ปรากฏ โดยถือว่า 1 จุด เท่ากับ 1 โคโลนี และทำในห้องที่มีแสงสว่างเพียงพอ

4.2 จำนวนโคโลนีควรอยู่ในช่วง 30-300 โคโลนีจึงสามารถใช้ได้ และคำนวณให้อยู่ในหน่วย CFU/g

4.3 โดยมีสูตรคำนวณ ดังนี้

4.3.1 กรณีที่พบโคโลนีบนเพลทอยู่ในช่วง 30-300 โคโลนี เลือกระดับการเจือจางติดกันเพียง 2 ระดับ

$$TVC = \frac{\sum c}{[(1\times n_1)+(0.1\times n_2)]\times d} \quad (1)$$

TVC คือ จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่นับได้ (Total Viable Count)

∑c คือ ผลรวมจำนวนโคโลนีทั้งหมดจากทุกเพลทที่สามารถนับจำนวนได้

n1 คือ จำนวนเพลทที่สามารถนับได้เมื่อใช้สารละลายตัวอย่างที่มีการเจือจางน้อย

n2 คือ จำนวนเพลทที่สามารถนับได้เมื่อใช้สารละลายตัวอย่างที่มีการเจือมากขึ้น

d คือ ระดับการเจืองจางของสารละลายตัวแรก (n1)

4.3.2 กรณีที่พบโคโลนีบนเพลทอยู่ในช่วง 30-300 โคโลนี เพียง 1 ระดับการเจือจาง

$$TVC = \frac{\sum c}{n\times d} \quad (2)$$

∑c คือ ผลรวมจำนวนโคโลนีทั้งหมดจากทุกเพลทที่สามารถนับจำนวนได้

n คือ จำนวนเพลทที่สามารถนับจำนวนโคโลนีได้

d คือ ระดับการเจือจางของสารละลายตัวแรก (n)

ภาคผนวก ก.2 การวิเคราะห์ปริมาณยีสต์และรา (BAM, 1998)

1. Potato dextrose agar	39.0 กรัม
2. Tartaric acid	ร้อยละ 10
3. น้ำกลั่น	1.0 ลิตร

1. ขั้นตอนการเตรียม

1.1 ละลาย Potato dextrose agar 39.0 กรัมในน้ำกลั่น 1 ลิตร ใช้แท่งแก้วคนสักระยะหนึ่ง แล้วนำบิกเกอร์ข้างต้นมาคลุมด้วยซีนบริเวณด้านบน มีรูเหลือบ้างเล็กน้อย จากนั้นนำเข้าตู้ไมโครเวฟโดยเฉลี่ย 9-10 นาที จนอาหารเลี้ยงเชื้อมีสีเหลืองใส แต่ระวังไม่ให้อาหารเลี้ยงเชื้อทะลักออกมา ซึ่งอาจปนเปื้อนได้และจะทำให้ผลการทดลองผิดพลาดได้

1.2 บรรจุลงขวดอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีขนาด 100 มิลลิลิตร โดยเทอาหารเลี้ยงเชื้อลงไป 250 มิลลิลิตร ปิดฝาแต่ไม่สนิท เพื่อป้องกันการทะลักออกมา จากนั้นนำอาหารเลี้ยงเชื้อไปฆ่าเชื้อในเครื่องอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ประมาณ 1.5 ชั่วโมง (1 ชั่วโมงครึ่ง) จากนั้นปรับพีเอชด้วย tartaric acid ที่ปลอดเชื้อ (ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 1.6 มิลลิลิตร ต่อ potato dextrose agar 100 มิลลิลิตร จะได้พีเอช 3.7-4.0) หลังจากฆ่าเชื้อเสร็จแล้วควรปิดฝาขวดอาหารให้แน่นเพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากภายนอก

1.3. นำไปแช่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ประมาณ 30 นาที เพื่อให้อาหารเลี้ยงเชื้อไม่ร้อนจนเกินไป

1.4. เทลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยการอบที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส เทอาหารเลี้ยงเชื้อประมาณ 15-20 มิลลิลิตร โดยวางซ้อนกัน 3-4 เพลท เพื่อป้องกันการเกิดไอน้ำที่ฝาเพลท

1.5. ทิ้งไว้จนอาหารเลี้ยงเชื้อกลายเป็นวุ้น บรรจุภาชนะปิดสนิทและปลอดเชื้อ แล้วนำไปแช่ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ก่อนนำมาใช้ 1 วัน

2. ขั้นตอนการทำ Total Plate Count

2.1 การเตรียมสารละลายเปปโตน 0.1% เพื่อเจือจางตัวอย่าง โดยการชั่งตัวอย่างเปปโตน 0.1 กรัม ในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร

2.2 ใช้ออโต้ปิเปตดูดสารละลายเปปโตนใส่หลอดแก้ว 9 มิลลิลิตร ปิดฝาไม่สนิทแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ประมาณ 1.5 ชั่วโมง (1 ชั่วโมงครึ่ง) หลังจากฆ่าเชื้อเสร็จแล้วควรปิดฝาขวดอาหารให้แน่นเพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากภายนอก

3. การเตรียมตัวอย่าง

3.1 ดูดตัวอย่างน้ำแป้งมา 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดที่มีสารละลายเปปโตน 9 มิลลิลิตร แล้วเขย่ากับเครื่องเขย่าสาร (จะได้สารละลายตัวอย่างเจือจาง $1:10^{-1}$) เจือจางไปเรื่อยๆจนถึงความความเจือจางที่ต้องการ

3.2 ดูดตัวอย่างที่มีความเจือจางที่เหมาะสม 3 ระดับการเจือจางที่ใกล้เคียงกันหลอดละ 0.1 มิลลิลิตร แล้วหยดลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ แล้วทำการ spread plate โดยใช้ หลอดแก้วรูปตัวแอลเกลี่ยให้ทั่ววุ้นอาหารเลี้ยงเชื้อ

3.3 นำไปบ่มที่ตู้บ่มเชื้อโดยไม่ต้องกลับเพลท ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง

4. การนับจำนวนโคโลนี

4.1 นับจำนวนโคโลนีของจุลินทรีย์ทั้งหมด โดยใช้แว่นขยายและปากกาเคมี ซึ่งทำโดยการจุดด้านหลังของจานเลี้ยงเชื้อตามจำนวนโคโลนีที่ปรากฏ โดยถือว่า 1 จุด เท่ากับ 1 โคโลนี และทำในห้องที่มีแสงสว่างเพียงพอ

4.2 จำนวนโคโลนีควรอยู่ในช่วง 10-150 โคโลนี จึงสามารถใช้ได้ และคำนวณให้อยู่ในหน่วย CFU/g โดยมีสูตรคำนวณ ดังนี้

กรณีที่พบโคโลนีบนเพลทอยู่ในช่วง 15-150 โคโลนี เลือกระดับการเจือจางติดกันเพียง 2 ระดับ

$$YMC = \frac{\sum c}{3 \times d} \times 10 \quad (3)$$

YMC คือ จำนวนยีสต์ราที่นับได้ (Yeast and Mold Count)

$\sum c$ คือ ผลรวมจำนวนโคโลนีทั้งหมดจากทุกเพลทที่สามารถนับจำนวนได้

d คือ ระดับการเจืองจางของสารละลายตัวแรก (n)

ภาคผนวก ก.3 การวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียแลคติก (AOAC, 2000)

1. De Man Rogosa and Sharpe (MRS)	67.15	กรัม
2. น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

1. ขั้นตอนการเตรียม

1.1 ละลาย De Man Rogosa and Sharpe (MRS) 67.15 กรัมในน้ำกลั่น 1 ลิตร ใช้แท่งแก้วคนสักระยะหนึ่ง แล้วนำบิกเกอร์ข้างต้นมาคลุมด้วยซีนบริเวณด้านบน มีรูเหลือบ้างเล็กน้อย จากนั้นนำเข้าตู้ไมโครเวฟ โดยเฉลี่ย 9-10 นาที จนอาหารเลี้ยงเชื้อมีสีเหลืองใส แต่ระวังไม่ให้อาหารเลี้ยงเชื้อทะลักออกมา ซึ่งอาจปนเปื้อนได้และจำทำให้ผลการทดลองผิดพลาดได้

1.2 บรรจุลงขวดอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีขนาด 500 มิลลิลิตร โดยเทอาหารเลี้ยงเชื้อลงไป 250 มิลลิลิตร ปิดฝาแต่ไม่สนิท เพื่อป้องกันการทะลักออกมา จากนั้นนำอาหารเลี้ยงเชื้อไปฆ่าเชื้อในเครื่องอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ประมาณ 1.5 ชั่วโมง (1 ชั่วโมงครึ่ง) หลังจากฆ่าเชื้อเสร็จแล้วควรปิดฝาขวดอาหารให้แน่นเพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากภายนอก

1.3 นำไปแช่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ประมาณ 30 นาที เพื่อให้อาหารเลี้ยงเชื้อไม่ร้อนจนเกินไป

1.4 เทลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยการอบที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส เทอาหารเลี้ยงเชื้อประมาณ 15-20 มิลลิลิตร โดยวางซ้อนกัน 3-4 เพลท เพื่อป้องกันการเกิดไอน้ำที่ฝาเพลท

1.5 ทิ้งไว้จนอาหารเลี้ยงเชื้อกลายเป็นวุ้น บรรจุภาชนะปิดสนิทและปลอดเชื้อ แล้วนำไปแช่ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ก่อนนำมาใช้ 1 วัน

2. ขั้นตอนการทำ Total Plate Count

2.1 การเตรียมสารละลายเปปโตน 0.1% เพื่อเจือจางตัวอย่าง โดยการชั่งตัวอย่างเปปโตน 1 กรัม ในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร

2.2 ใช้ออโต้ปิเปตดูดสารละลายเปปโตนใส่หลอดแก้ว 9 มิลลิลิตร ปิดฝาไม่สนิทแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ประมาณ 1.5 ชั่วโมง (1 ชั่วโมงครึ่ง) หลังจากฆ่าเชื้อเสร็จแล้วควรปิดฝาขวดอาหารให้แน่นเพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากภายนอก

3. การเตรียมตัวอย่าง

3.1 ดูดตัวอย่างน้ำแป้งมา 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดที่มีสารละลายเปปโตน 9 มิลลิลิตร แล้วเขย่ากับเครื่องเขย่าสาร (จะได้สารละลายตัวอย่างเจือจาง $1:10^{-1}$) เจือจางไปเรื่อยๆ จนถึงความความเจือจางที่ต้องการ

3.2 ดูดตัวอย่างที่มีความเจือจางที่เหมาะสม 3 ระดับการเจือจางที่ใกล้เคียงกันหลอดละ 1 มิลลิลิตร แล้วหยดลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ แล้วทำการ pour plate

3.3 นำไปบ่มที่ตู้บ่มเชื้อ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

4. การนับจำนวนโคโลนี

4.1 นับจำนวนโคโลนีของจุลินทรีย์ทั้งหมด โดยใช้แว่นขยายและปากกาเคมี ซึ่งทำโดยการจุดด้านหลังของจานเลี้ยงเชื้อตามจำนวนโคโลนีที่ปรากฏ โดยถือว่า 1 จุด เท่ากับ 1 โคโลนี และทำในห้องที่มีแสงสว่างเพียงพอ

4.2 จำนวนโคโลนีควรอยู่ในช่วง 30-300 โคโลนีจึงสามารถใช้ได้ และคำนวณให้อยู่ในหน่วย CFU/g โดยมีสูตรคำนวณดังสมการที่ (1) และ (2)

ภาคผนวก ข
การวิเคราะห์สมบัติทางเคมี

ภาคผนวก ข.1 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี (AOAC, 1995)

1. ปริมาณความชื้น (Moisture) โดยวิธี Air oven method

อบถ้วยอะลูมิเนียมสำหรับใส่ตัวอย่างที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักถ้วยอะลูมิเนียม และชั่งน้ำหนักตัวอย่างประมาณ 3-5 กรัม ใส่ลงในถ้วยอะลูมิเนียมแล้วบันทึกน้ำหนักที่แน่นนอน จากนั้นนำตัวอย่างไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4-8 ชั่วโมง หรือจนน้ำหนักคงที่ คำนวณร้อยละของความชื้นได้จากสมการที่ (1)

$$\text{ความชื้น (\%)} = \frac{(\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้นก่อนการอบ-น้ำหนักตัวอย่างหลังการอบ})}{\text{น้ำหนักเริ่มต้นก่อนการอบ}} \times 100 \qquad (4)$$

2. ปริมาณไขมัน (Crude lipid) โดยวิธี Ether extract

ชั่งตัวอย่างแป้งประมาณ 3-5 กรัม และชั่งน้ำหนัก Thimble ที่อบแห้งแล้ว ชั่งตัวอย่างที่เตรียมไว้ใส่ใน Thimble ประมาณ 3-5 กรัม บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน ใช้สำลีปิด Thimble เพื่อป้องกันตัวอย่างลอย ชั่งและบันทึกน้ำหนักกระบอกแก้วที่อบแห้งที่เก็บไว้ในโถดูดความชื้นจากนั้นเท Petroleum ether ลงในกระบอกแก้วปริมาตร 60 มิลลิลิตร นำ Thimble และกระบอกแก้วไปประกอบใส่เครื่องสกัดไขมัน Soxhlet ที่เปิดน้ำเข้าระบบ Condenser แล้วเดินเครื่องเพื่อสกัดไขมันเป็นเวลา 6 ชั่วโมง เพื่อให้ไขมันถูกสกัดออกหมด หยุดสกัดโดยการ กดปุ่ม Recovery เพื่อให้อีเทอร์ระเหยออกจากกระบอกแก้วควบแน่นและหยดลงถังเก็บจนเหลือในกระบอกแก้วประมาณ 2-3 มิลลิลิตร (ระวังอย่าให้แห้งเพราะจะไหม้) แล้วนำกระบอกแก้วพร้อมไขมันเข้าอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง เพื่อให้อีเทอร์ระเหยออกหมด และนำกระบอกแก้วพร้อมไขมันมาเก็บในโถดูดความชื้นปล่อยให้เย็น ชั่งและบันทึกน้ำหนัก คำนวณหาไขมัน จากสมการที่ (5)

$$\text{ไขมัน (ร้อยละ)} = \frac{(\text{น้ำหนักกระบอกแก้วและไขมันหลังอบ-น้ำหนักกระบอกแก้ว})}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100 \qquad (5)$$

3. ปริมาณโปรตีน (Crude protein) โดยวิธี Kjeldahl method

ชั่งน้ำหนักตัวอย่างแป้งให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอนใส่กระดาษที่ปราศจากไนโตรเจนประมาณ 2-3 กรัม พับกระดาษเพื่อห่อตัวอย่างใส่ลงใน Kjedahl Digestion flask เตรียม Blank ควบคู่ไปด้วย โดยใส่เฉพาะกระดาษชั่งสารไม่ต้องใส่ตัวอย่าง เติม Catalyst Mixture จำนวน 2 กรัม และลูกแก้ว 2 เม็ด จากนั้นเทกรดซัลฟูริกเข้มข้น 25 มิลลิลิตร โดยค่อยๆเทล้างตัวอย่าง ที่ติดข้าง Flask ลงไปด้วย เขย่าอย่างระมัดระวังให้ผสมเข้ากัน นำไปย่อยบนเครื่องสำหรับย่อย โดยวาง Kjedahl Flask ให้เอียงเล็กน้อย พร้อมทั้งเปิดระบบดูดไอกรดให้เรียบร้อยก่อนจึงเปิดสวิตซ์ให้ความร้อน ต้มให้เดือดเบาๆ จนกระทั่งไม่มีฟองจึงเพิ่มความร้อนให้สูงขึ้น เขย่าเป็นครั้งคราว ย่อยจนส่วนผสมใส (ประมาณ 2 ชั่วโมง) จากนั้นหยุดให้ความร้อนและปล่อยทิ้งไว้ให้เย็นเพื่อรอการกลั่นอีกต่อไป

เตรียมขวดบรรจุกรดบอริก โดยปิเปตสารละลายกรดบอริกความเข้มข้นร้อยละ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ปริมาตร 75 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เติม Screen Methyl Red

Indicator 4 หยด นำไปต่อเข้ากับชุดเครื่องกลั่นโปรตีน โดยให้ด้านปลาย Condenser จุ่มลงในขวดรูปชมพู่และอยู่ใต้ระดับสารละลายกรดบอริก เปิด Cooling เพื่อให้น้ำไหลผ่าน Condenser ในชุดเครื่องกลั่นโปรตีน เติมน้ำกลั่น 400 มิลลิลิตรลงใน Flask หลังจากทิ้งให้เย็นอย่างระมัดระวัง พยายามชะล้างสารที่ติดอยู่ข้างหลอดให้หมด จากนั้นเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 50 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรปริมาตร 80 มิลลิลิตร แล้วต่อ Flask เข้ากับ Condenser ทันที เปิดสวิตซ์ให้ความร้อน ทำการกลั่นให้ได้ Distillate ประมาณ 300 มิลลิลิตรของปริมาตรขวดรูปชมพู่ จึงหยุดให้ความร้อน เลื่อน Flask ออกมาเล็กน้อย ปล่อยทิ้งไว้สักครู่ เพื่อให้ตัวอย่างที่ตกค้างในปลายท่อไหลออกมาให้หมด ฉีดน้ำกลั่นล้างปลายท่อก่อนนำ Flask ออกมา นำไปไตเตรตหาปริมาณไนโตรเจนกับกรดซัลฟูริก 0.1 N จะได้ จุดยุติสีชมพู (ใช้ Blank เป็นตัวเทียบสี) คำนวณหาร้อยละไนโตรเจนและร้อยละโปรตีน จาก สมการที่ (6)

$$\text{ไนโตรเจน (ร้อยละ)} = \frac{(S-B) \times 0.014 \times N \times 100}{W} \qquad (6)$$

S = ปริมารกรดที่ใช้ไตเตรทตัวอย่าง (ml)

B = ปริมารกรดที่ใช้ไตเตรทBlank (ml)

N = ความเข้มข้นของสารละลายกรดมาตรฐาน (Normal)

W = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

โปรตีน (ร้อยละ) = ไนโตรเจน (ร้อยละ) x ค่าคงที่ (Factor)

ค่าคงที่ = 6.25 (ธาตุไนโตรเจน 1 หน่วย มีค่าเทียบเท่ากับโปรตีน 6.25 หน่วย)

ภาคผนวก ข.2 ปริมาณอะมิโลส (ร้อยละ) ตามวิธีของ Juliano (1971)

ชั่งตัวอย่างแป้ง 0.1000 กรัมใส่ใน flask ขนาด 50 มิลลิลิตรที่แห้งสนิท เติมเอทธิล-แอลกอฮอล์ 1 มิลลิลิตรเขย่าเบาๆ เพื่อเกลี่ยแป้งให้กระจายออกระวังอย่าให้แป้งขึ้นมาเกาะตามผนังขวด จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 N จำนวน 9 มิลลิลิตร พร้อมทั้งล้างแป้งที่เกาะอยู่ตามผนังขวด นำแป้งไปให้ความร้อนในอ่างน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที แล้วทิ้งไว้ให้เย็น แล้วถ่ายแป้งลงในขวดกำหนดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตรโดยใช้น้ำล้าง 2-3 ครั้ง เติมน้ำกลั่นเพื่อปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร และผสมให้เข้ากัน ดูดน้ำแป้งปริมาณ 5 มิลลิลิตร ลงในขวดกำหนดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร เติมกรดแอซีติกล้วน (Glacial acetic acid) ความเข้มข้น 1 N จำนวน 1 มิลลิลิตร และสารละลายไอโอดีนจำนวน 2 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่นเพื่อปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร เขย่าและตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 20 นาที ทำ Blank โดยนำขวดกำหนดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร มาเติมกรดแอซีติกล้วนความเข้มข้น 1 N ปริมาตร 2 มิลลิลิตร และเติมสารละลายไอโอดีน 2 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ด้วยเครื่องสเปคโทรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร โดยปรับค่าของ Blank เป็น 0 นำค่าการดูดกลืนแสงไปคำนวณหาค่าปริมาณอะมิโลสโดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน

การเขียนกราฟมาตรฐาน (Standard curve) โดยชั่งอะมิโลสบริสุทธิ์จาก สตาร์ชมันฝรั่งมาตรฐานจำนวน 0.0400 กรัม ใส่ในขวดกำหนดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 N จำนวน 9 มิลลิลิตร พร้อมทั้งล้างแป้งที่เกาะอยู่ตามผนังขวด นำแป้งไปให้ความร้อนในอ่างน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ใช้เป็นสารละลาย

มาตรฐาน จากนั้นปิเปตแบ่งสารละลายมาตรฐาน 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิลิตร ใส่ในขวดปริมาตร 100 มิลลิลิตร เติมกรดแอซีติกล้วนความเข้มข้น 1 N ปริมาณ 0.2, 0.4,0.6, 0.8 และ 1.0 มิลลิลิตร ลงในขวดแก้วที่มีสารละลายมาตรฐานตามลำดับ เติมสารละลายไอโอดีน 2.0 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตรด้วยการเติมน้ำกลั่น เขย่าและตั้งทิ้งไว้นาน 20 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ด้วยเครื่องสเปคโทรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร เขียนกราฟระหว่างค่าความเข้มข้นของสารละลาย อะมิโลสมาตรฐาน (แกน X) และค่าการดูด กลืนแสง (แกน Y) เพื่อหาความเข้มข้นอะมิโลสจากกราฟมาตรฐาน แล้วนำค่าที่ได้มาคำนวณจากสมการที่ (7)

$$\text{ปริมาณอะมิโลส (ร้อยละ)} = \frac{\text{ความเข้มข้นที่อ่านได้จากสารละลายอะมิโลสมาตรฐาน (มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร)} \times 100}{5 \times \text{น้ำหนักแป้งแห้ง (กรัม)}} \qquad (7)$$

ภาคผนวก ข.3 ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้เทียบเป็นกรดแลคติก

1. สารเคมี

2. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 N โดยการชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ประมาณ 4 กรัม ละลายในน้ำกลั่นล้วปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร โดยน้ำกลั่น

3. สารละลายฟีนอฟทาลีน โดยการชั่งฟีนอฟทาลีนจำนวน 1 กรัม ละลายในแอลกอฮอล์ปริมาตร 70 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร แล้วปรับริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตรโดยน้ำกลั่น

2. การหาปริมาณกรดทั้งหมด

1. ปิเปตน้ำแป้ง 10-20 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร

2. หยดฟีนอฟทาลีนร้อยละ 1 ลงไป 5 หยด

3. ไตเทรตด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.1 N จนกระทั่งกลายเป็นสีชมพูอ่อนถาวร (ณ จุดยุติ)

4. คำนวณปริมาตรกรดทั้งหมดในรูปกรดแลคติกดังสมการที่ (8)

$$\text{ปริมาณกรดทั้งหมด(ร้อยละ)} = \frac{N \times V\,(NaOH) \times 90 \times 100}{1000 \times V\,(sample)} \qquad (8)$$

เมื่อ N คือ ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

V (NaOH) คือ ปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการไตเทรต

V (sample) คือ ปริมาตรของตัวอย่างที่ใช้ (มิลลิลิตร)

น้ำหนักกรัมสมมูลของกรดแลคติก เท่ากับ 9

ภาคผนวก ข.4 พีเอช (pH)

1. เครื่องมือ

pH meter

2. วิธีการ

จะต้องปรับเทียบมาตรฐานก่อนการใช้โดยการปรับเทียบกับสารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน (พีเอช 4 ,7 หรือ 10) อย่างน้อย 2 ค่า ที่มีค่าครอบคลุมในช่วงที่เราต้องการวัด (ในการทดลองนี้ใช้ 4 และ 7) วิธีการวัดทำได้โดยล้างอิเล็กโทรดด้วยน้ำปราศจากไอออน (deionized water) หรือน้ำกลั่น (distilled water) และซับด้วยกระดาษทิชชู แล้วรีบจุ่มอิเล็กโทรดลงในตัวอย่างน้ำแป้ง แล้วบันทึกค่าที่ได้

ภาคผนวก ค
การวิเคราะห์สมบัติเชิงหน้าที่ของแป้ง

ภาคผนวก ค.1 สมบัติทางความร้อนของแป้งโดยใช้เครื่อง (DSC)

ชั่งตัวอย่างน้ำแป้งข้าว 15-16 มิลลิกรัม บรรจุในถาดอลูมิเนียมขนาด 20 µl จากนั้นปิดฝา การวิเคราะห์จะให้ความร้อนแก่น้ำแป้ง ที่อัตราการให้ความร้อน (Scanning rate) 10 องศาเซลเซียสต่อนาที ในช่วงอุณหภูมิ 25-125 องศาเซลเซียสภายใต้บรรยากาศไนโตรเจน จากนั้นปล่อยให้เย็นตัวลงอย่างรวดเร็ว(Quenching) ด้วยอัตราการลดอุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียสต่อนาที แล้ววิเคราะห์ค่าสมบัติทางความร้อนของแป้ง คือ ค่า T_o (Onset temperature), T_p (Peak of gelatinization temperature),T_c (Conclusion temperature) และค่า ΔH_{gel} (Enhal of gelatinization)

ภาคผนวก ค.2 วิเคราะห์ค่ากำลังการพองตัว (Swelling power) และดัชนีการละลายของแป้ง (Solubility index) ดัดแปลงตามวิธีของ Wang et al. (2010)

กวนตัวอย่างน้ำแป้งให้เข้ากันแล้วนำน้ำแป้ง 100 มิลลิลิตร ไปให้ ความร้อน 90 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที จากนั้นนำสารละลายแป้งมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 1510 g เป็นเวลา 15 นาที ชั่งน้ำหนักสารละลายส่วนใสและส่วนตะกอนเปียก และนำส่วนใสไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ และคำนวณหากำลังการพองตัวและดัชนีการละลายจากสมการที่ (9) และสมการที่ (10) ตามลำดับ

$$\text{กำลังการพองตัว (กรัม/กรัม)} = \frac{\text{น้ำหนักตะกอนเปียก (กรัม)}}{[\text{มวลแป้งแห้ง (กรัม)} \times (100\% - \%\ \text{มวลของส่วนใสทั้งหมดที่ผ่านการทำแห้ง (กรัม)})]} \quad (9)$$

$$\text{ดัชนีการละลาย (ร้อยละ)} = \frac{\text{มวลของส่วนใสทั้งหมดที่ผ่านการทำแห้ง(กรัม)} \times 100}{\text{มวลแป้งแห้ง(กรัม)}} \quad (10)$$

ภาคผนวก ค.3 ความหนืด

เครื่องมือที่ใช้วัดความหนืด Brookfield viscometer Model DV-II โดยมีวิธีใช้ดังนี้

1. ปรับลูกน้ำให้อยู่ที่จุดกึ่งกลางของกรอบเพื่อตั้งให้เครื่องสมดุล
2. ก่อนเปิดเครื่องให้ใส่ guard หลังจากนั้นเปิดสวิตซ์ จอจะปรากฏ remove spindle press any key
3. กดปุ่มอะไรก็ได้ 1 ครั้ง รอจนหน้าจอจะปรากฏ replace spindle press any key (ใช้เวลาประมาณ 15 วินาที) แล้วกดปุ่มอะไรก็ได้อีก 1 ครั้ง หน้าจอจะปรากฏ cP 0.00 ---------- C
4. เตรียมตัวอย่างน้ำแป้ง 500 มิลลิลิตร แล้วจุ่มเข็มลงในตัวอย่างจนถึงระดับขีด mark ที่กึ่งกลางเข็ม โดยใช้มือด้านหนึ่งจับแกนของมอเตอร์ให้นิ่ง ต่อเข็มเข้ากับแกนของมอเตอร์ หมุนตามเข็มนาฬิกาจนแน่น

5. กด Select Spindle เพื่อเลือกเบอร์ของเข็มให้ตรงกับเข็มที่นำมาใช้ เช่น 01, 02, 03 (ในการทดลองนี้ใช้เข็มเบอร์ 1) แล้ว กด Select Spindle อีกครั้งเพื่อให้เครื่องบันทึก จากนั้นกดปุ่ม Motor on/off เพื่อเปิดเครื่อง

6. กดปุ่ม Set speed เพื่อกำหนดความเร็วรอบในการหมุน โดยจะต้องกำหนดค่าเริ่มต้นที่ค่าน้อย ๆ ก่อน เช่น 10 rpm แล้วกด Set speed อีกครั้งเพื่อให้เครื่องบันทึก การเลือกความเร็ว รอบในการหมุนควรจะให้มีค่าใกล้ 100 % TORQUE (ความเร็วรอบสูงสุดที่ใช้จะมีค่าไม่เกิน 200 rpm)

7. การเปลี่ยนความเร็วรอบ ให้กลับไปทำตามข้อ 6 ใหม่ การเปลี่ยนความเร็วรอบจะต้องเพิ่มค่าครั้งละน้อยๆ เช่น 10 rpm จนกว่าค่า torque จะมีค่าเข้าใกล้หรือเท่ากับ 100%

- ถ้าค่า TORQUE ขึ้น error แสดงว่าใช้ความเร็วรอบมากเกินไปต้องลดความเร็วรอบลง
- ถ้าค่า TORQUE มีค่าต่ำ ทั้งที่ตั้งค่าความเร็วรอบ (rpm) สูงสุดแล้ว แสดงว่าเข็มที่ใช้ cP 0.00 ---------- C OFF RPM % 0.0 ไม่เหมาะสม ให้เปลี่ยนหัวเข็มใหม่ โดยทำการลดค่าความเร็วรอบลงทีละน้อย จนมีค่าความเร็วรอบถึง 0 แล้วทำการกดปุ่ม motor on/off เพื่อให้ motor off แล้วจึงทำการเปลี่ยนหัวเข็ม หลังจากนั้นกด motor on อีกครั้ง และทำตามขั้นตอนที่ 5 ใหม่ต่อไป

เมื่อวัดค่าเสร็จ ก็ลดความเร็วรอบลงครั้งละน้อยๆ ให้ค่าถึงศูนย์ แล้วกดปุ่ม motor off ให้ motor หยุดทำงาน และปิด switch ทำความสะอาดเครื่องมือและอุปกรณ์ให้เป็นระเบียบ และถูกต้อง

ภาคผนวก ง
การวิเคราะห์ลักษณะทางเคมีกายภาพ

ภาคผนวก ง.1 วิเคราะห์โครงสร้างเม็ดแป้งข้าวและแผ่นเมียง ด้วยเครื่อง SEM ดัดแปลงจากวิธีของ Ayadi et al. (2009)

1. สำหรับตัวอย่างน้ำแป้ง

เก็บตัวอย่างน้ำแป้งที่เก็บทุก 0, 1, 2, 3 วัน และวันที่ 3+1%เกลือ (หลังเปลี่ยนน้ำ) แล้วไปทำแห้งด้วยเครื่อง freez-dry ก่อน จากนั้นนำเม็ดแป้งมาติดบนสตับ แล้วนำไปเคลือบด้วยทองนาน 4 นาที ก่อนนำไปส่องด้วย SEM ที่กำลังขยาย 5000x

2. สำหรับตัวอย่างแผ่นเมี่ยง

เตรียมตัวอย่างแผ่นเมี่ยงโดยหักแผ่นเมี่ยงให้มีขนาดบางประมาณ 1x1 มิลลิเมตร แล้วดึงน้ำออกโดยเอทานอลที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 30 50 70 80 100 และ 100 ตามลำดับ โดยใช้เวลาในแต่ละความเข้มข้น 15 นาที จากนั้นเอาตัวอย่างออกมาแช่ใน absolute ethanol ทันที แล้วนำตัวอย่างเข้าสู่กระบวนการทำแห้งด้วยวิธี Critical point dry (CPD) ซึ่งเป็นวิธีการดึงน้ำที่เหลือภายหลังจากการทำ Dehydration ออกจากแผ่นเมี่ยงโดยการแทนที่น้ำด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหลว แล้วให้ความร้อนจนกระทั่งคาร์บอนไดออกไซด์เหลวเปลี่ยนเป็นแก๊สทั้งหมด จากนั้นนำไปเก็บไว้ในโถดูดความชื้น ขั้นตอนวิเคราะห์นำตัวอย่างมาติดตัวอย่างลงใน Stub จากนั้นนำตัวอย่างไปเคลือบทองนาน 4 นาที จากนั้นนำไปส่องด้วย SEM ที่กำลังขยาย 5000x

หมายเหตุ: ทุกขั้นตอนการเปลี่ยนสารละลายทุกชนิด ต้องทำอย่างรวดเร็วโดยไม่ปล่อยให้ตัวอย่างแห้ง เพราะจะทำให้ตัวอย่างเสียสภาพ

ภาคผนวก จ
การวิเคราะห์ลักษณะทางประสาทสัมผัส

ภาคผนวก จ.1

วิเคราะห์ลักษณะทางประสาทสัมผัสโดยการวัด Stress VS Strain Texture analyzer คำนวณหาค่าความต้านทานต่อแรงดึง (tensile strength)

1. อุปกรที่ต้องเตรียม

- Load cell ขนาด 50 นิวตัน
- ball เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร
- หัว speed 1 มิลลิเมตรต่อวินาที

2. การเตรียมตัวอย่าง

ตัดตัวอย่างแผ่นเมี่ยงให้ได้ขนาด 1×1 เซนติเมตร จำนวน 15 แผ่น ในแต่ละตัวอย่าง จากนั้นก่อนนำไปวัดให้จุ่มน้ำเป็นเวลา 10 วินาที เพื่อทดสอบความเสมือนจริงก่อนการรับประทาทาน

3. การเข้าสู่โปรแกรม

- START ⟶ PROGRAM ⟶ NEXYGEN ⟶ EZ and PLUS (สถานะที่บอกว่าคอมพิวเตอร์ link กับเครื่อง Lloyd คือ จะแสดงคอนโซนสีน้ำเงินขึ้นที่หน้าจอคอมพิวเตอร์)

- เลือก Load cell 50 N

- คลิกขวาที่ control ⟶ Machine Set up

- จะขึ้นหน้าต่างสำหรับให้เลือกน้ำหนักของ load cell จากนั้น กด Save

4. การสร้าง Bate file

- คลิกขวาที่หน้าจอ Desk top ⟶ New ⟶ Nexygen bate Document (จะขึ้นหน้าต่างให้เลือกชนิดของตัวอย่างที่จะทดสอบ) ⟶ เลือก Folder ที่ต้องการ ⟶ Next

- เลือกลักษณะการกดของตัวอย่าง ⟶ Next ⟶ ตั้งชื่อ Bate file ⟶ Finish - Bate file จะปรากฏที่ Desk top

5. การวัดตัวอย่าง

- ดับเบิ้ลคลิกที่ Bate file - การตั้งเงื่อนไขในการกด ให้คลิกที่ รูปกราฟเส้นปะเล็กๆ (กราฟแรก) จะปรากฏ หน้าต่าง 2 หน้าต่าง

- ดับเบิ้ลคลิกที่กรอบสี่เหลี่ยมเพื่อกำหนดค่าต่างๆ เมื่อ set ค่าแล้วให้ตอบตกลง OK (ในกรณีกำหนดลำดับหรือกำหนด lot ของตัวอย่าง ทำได้โดย ดับเบิ้ลคลิกซ้าย ⟶ คลิกขวาที่ กรอบสี่เหลี่ยม อีกครั้งเลือก Extra resource เพื่อตั้งค่า lot ⟶ Add resource ⟶ text resource ⟶ แล้วเปลี่ยนชื่อ)

- จะสังเกตได้ว่า ถ้าเครื่องพร้อมใช้งาน หรือก่อนจะทำการวัดตัวอย่าง ต้องเป็นรูปกรอบสี่เหลี่ยมมีคลิปหนีบ เครื่องจึงจะพร้อมใช้งาน

- ใส่ตัวอย่างเพื่อทดสอบ

- กด Zero ก่อนทุกครั้งเมื่อจะทดสอบ

- กด › เพื่อให้เริ่มทดสอบตัวอย่าง

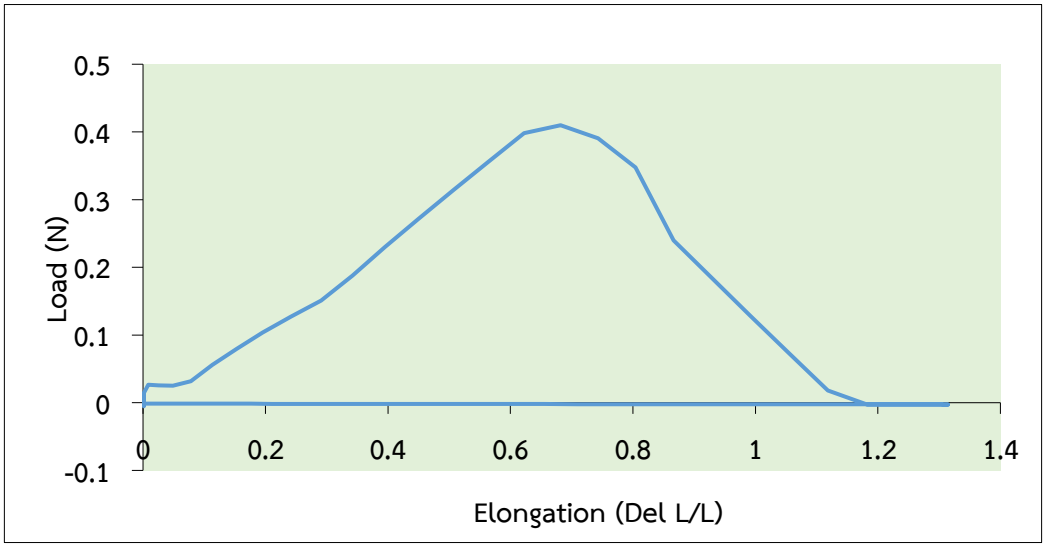
- หลังจากการวัดค่าแล้ว เครื่องจะโชว์ค่าที่วัดได้บรรจุอยู่ในตาราง ให้คัดลอกค่า Time(s), Load (N) และ Extention (mm) ลงใน Microsoft Excel แล้วหาค่า Del L และ Elongation ดัง

สมการที่ (11) และ (12) และทดสอบตัวอย่างถัดไป โดยคลิกที่รูปกราฟเส้นปะเล็กๆ (กราฟแรก) จะปรากฏหน้าต่าง 2 หน้าต่าง ⟶ กด › เพื่อให้เริ่มทดสอบตัวอย่างถัดไป

$$\text{Del L} = \left(\sqrt{(\text{Extention}^2\ (\text{mm}) + 5^2)}\right) - 5 \qquad (11)$$

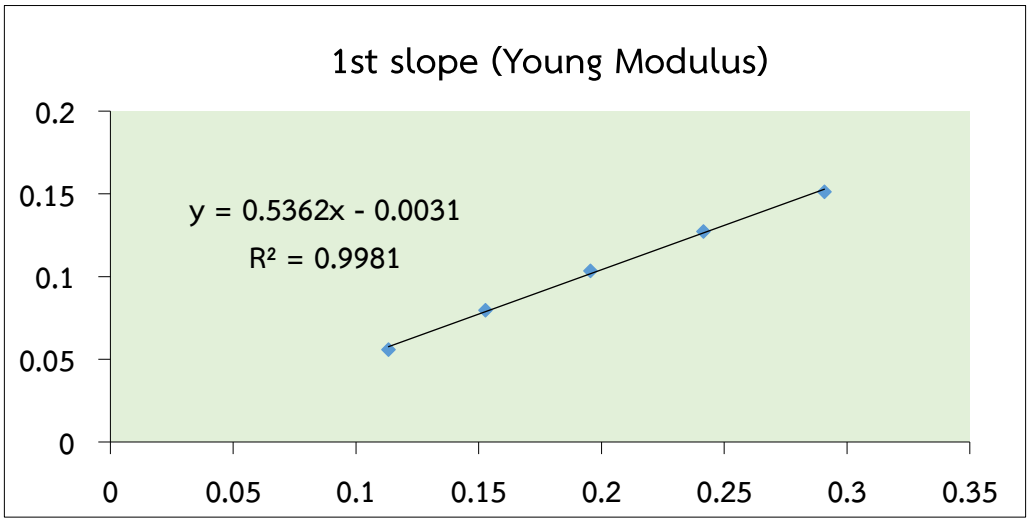
$$\text{Elongation} = \frac{\text{Del L}}{\text{L}} \qquad (12)$$

- นำค่า Del L และ Elongation พล็อตกราฟโดยกำหนดให้ Del L แกน x และ Elongation แกน Y ได้ดังภาพตัวอย่าง

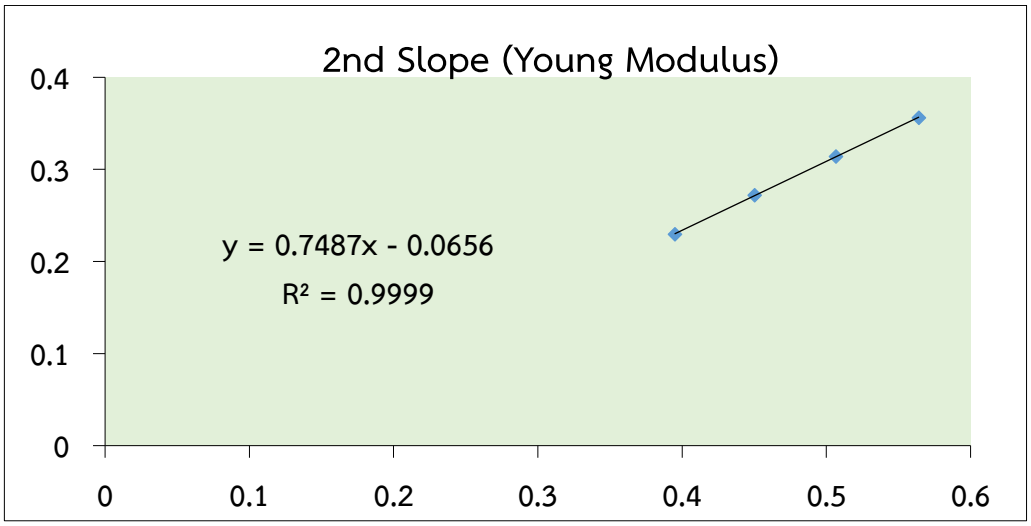


ภาพที่ จ.1 ตัวอย่างระยะของการดึงยืดแผ่นเมี่ยงทางการค้าด้วย Texture analyzer

- หาค่า Slope โดยกำหนดให้เป็นค่า Slope 1 คือ Young Modulus และ Slope 2 คือ Elongation ดังภาพตัวอย่าง



ภาพที่ จ.2 ตัวอย่างระยะของการดึงยืดแผ่นเมี่ยงในช่วงความชันของกราฟระยะแรกของแผ่นเมี่ยงทางการค้า



ภาพที่ จ.3 ตัวอย่างระยะของการดึงยืดแผ่นเมี่ยงในช่วงความชันของกราฟระยะที่สุดท้ายของแผ่นเมี่ยงทางการค้า

- นำค่า Young Modulus และ Elongation ที่จากกราฟทั้ง 15 ซ้ำ มาหาค่าเฉลี่ยของแผ่นเมี่ยงที่ผลิตโดยข้าวแต่ละพันธุ์

ภาคผนวก ฉ
อัตราการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์ รา และแบคทีเรียแลคติก

ตารางที่ ฉ.1 อัตราการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์ รา และแบคทีเรียแลคติก หลังจากการเปลี่ยนน้ำ

จุลินทรีย์	พันธุ์ข้าว	ระยะเวลาในการหมัก (วัน)/ปริมาณจุลินทรีย์ (logCFU/g)				
		วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 3+1%เกลือ
จุลินทรีย์ทั้งหมด	ชัยนาท 1	0.00 ± 0.00^{ns}	1.93 ± 0.86^{NS}	1.82 ± 0.32^{NS}	1.11 ± 0.79^{NS1}	-0.72 ± 0.37^{NS1}
	เหลือง 11	0.00 ± 0.00^{d}	2.95 ± 0.08^{a}	1.28 ± 0.03^{bc}	0.96 ± 0.07^{c1}	-0.06 ± 0.12^{1}
	สุรินทร์ 1	0.00 ± 0.00^{b}	2.29 ± 0.16^{a}	1.35 ± 0.60^{a}	1.25 ± 0.53^{a1}	-0.86 ± 0.73^{2}
ยีสต์ รา	ชัยนาท 1	0.00 ± 0.00^{ns}	1.56 ± 1.10^{NS}	0.82 ± 0.31^{AB}	1.14 ± 0.45^{NS1}	-0.61 ± 0.48^{AB1}
	เหลือง 11	0.00 ± 0.00^{c}	1.31 ± 0.22^{a}	1.28 ± 0.03^{aA}	0.96 ± 0.02^{c1}	-0.13 ± 0.16^{A2}
	สุรินทร์ 1	0.00 ± 0.00^{b}	2.59 ± 0.50^{a}	-0.04 ± 0.62^{bB}	1.31 ± 0.26^{ab1}	$-1.11\pm0.03B^{2}$
แบคทีเรียแลคติก	ชัยนาท 1	0.00 ± 0.00^{c}	2.66 ± 0.62^{aB}	1.47 ± 0.78^{abNS}	0.04 ± 0.22^{cC1}	-0.55 ± 0.41^{N1}
	เหลือง 11	0.00 ± 0.00^{c}	3.37 ± 0.30^{aA}	0.55 ± 0.61^{bc}	0.99 ± 0.16^{bB1}	-0.26 ± 0.47^{1}
	สุรินทร์ 1	0.00 ± 0.00^{c}	4.19 ± 0.84^{aA}	0.85 ± 0.58^{c}	2.53 ± 0.18^{bA1}	-0.18 ± 0.06^{1}

หมายเหตุ: ^{abc} คือตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

^{ABC} คือตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

^{12} คือตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าในตารางคือผลที่ได้จากการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

ภาคผนวก ช
แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดทั้งหมดด้วยการไทเทรตเทียบเป็นกรดแลคติกและพีเอช

ตารางที่ ช.1 แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ทั้งหมดเทียบเป็นกรดแลคติก(%)และพีเอช

ผลต่าง acid/pH	พันธุ์ข้าว	ระยะเวลาในการหมัก (วัน)				
		วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 3+1%เกลือ
ปริมาณกรดทั้งหมด	ชัยนาท 1	0.00 ± 0.00^{ns}	0.13 ± 0.11^{B}	0.13 ± 0.11^{NS}	0.20 ± 0.28^{NS1}	-0.14 ± 0.15^{A1}
	เหลือง 11	0.00 ± 0.00^{b}	0.57 ± 0.26^{aA}	0.10 ± 0.09^{b}	0.06 ± 0.07^{b1}	-0.15 ± 0.09^{A2}
	สุรินทร์ 1	0.00 ± 0.00^{b}	0.48 ± 0.21^{aA}	0.16 ± 0.22^{ab}	0.19 ± 0.15^{ab1}	-0.71 ± 0.08^{B1}
pH	ชัยนาท 1	0.00 ± 0.00^{a}	-1.20 ± 0.07^{cB}	-0.27 ± 0.14^{bAB}	0.06 ± 0.05^{aA2}	0.30 ± 0.01^{B1}
	เหลือง 11	0.00 ± 0.00^{ns}	-1.02 ± 0.02^{A}	-0.65 ± 0.15^{B}	0.36 ± 0.28^{A1}	0.01 ± 0.30^{B1}
	สุรินทร์ 1	0.00 ± 0.00^{a}	-1.03 ± 0.01^{bA}	-0.19 ± 0.27^{aA}	-0.83 ± 0.02^{bB1}	1.09 ± 0.13^{A1}

หมายเหตุ: ^{abc} คือตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

^{ABC} คือตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

^{12} คือตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าในตารางคือผลที่ได้จากการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ