คุณสมบัติของแป้งมันสำปะหลังดัดแปรด้วยเอนไซม์อะมิเลสและออกเทนนิลซัคซินิคแอนไฮไดรด์

Properties of Modified Cassava Starch Using Amylase Enzyme and Octenyl Succinic Anhydride

ภาวิณี ศิลาเกษ*

Pawinee Silaket*

สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

Program in Biology, Faculty of Science, Buriram Rajabhat University

Received : 17 October 2016

Accepted : 28 December 2016

Published online : 30 January 2017

บทคัดย่อ

ศึกษาการดัดแปรแป้งมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์และสารเคมีเพื่อให้แป้งมีคุณสมบัติเหมาะสมกับการใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร ด้วยการใช้เอนไซม์แอลฟาอะมิเลสร่วมกับอะมิโลกลูโคซิเดสที่ระดับความเข้มข้นรวมร้อยละ 0.139 (ต่อน้ำหนักแป้งแห้ง) และใช้สารเคมีโดยการดัดแปรแป้งมันสำปะหลังด้วยออกเทนนิลซัคซินิคแอนไฮไดรด์ นำสภาวะที่ให้สมบัติที่ดีที่สุดของการดัดแปรแป้งทั้งด้วยเอนไซม์และสารเคมีเพื่อดัดแปรร่วมให้เป็นแป้งมันสำปะหลังออกเทนนิลซัคซิเนตจากแป้งที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ โดยพบว่าการใช้สภาวะย่อยแป้งมันสำปะหลังเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมงและดัดแปรร่วมด้วยการใช้ออกเทนนิลซัคซินิคแอนไฮไดรด์ที่ระดับร้อยละ 3 (โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักแป้งแห้ง) มีความเหมาะสมที่สุด ลักษณะพื้นผิวแป้งออกเทนนิลซัคซิเนตจากแป้งที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์มีการย่อยเกิดขึ้นที่บริเวณภายนอกพื้นผิวและภายในส่วนกลางของเม็ดแป้ง อุณหภูมิการเกิดเจลาติไนเซชั่นของแป้งออกเทนนิลซัคซิเนตจากแป้งที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์มีค่าอุณหภูมิเริ่มต้นและอุณหภูมิที่จุดสูงสุดสูงกว่าแป้งมันสำปะหลังและแป้งออกเทนนิลซัคซิเนต ($p<0.05$) และพบว่าแป้งมันสำปะหลัง แป้งที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ แป้งออกเทนนิลซัคซิเนต และแป้งออกเทนนิลซัคซิเนตจากแป้งที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์มีค่าร้อยละการคืนตัวเท่ากับ 18.99, 23.65, 10.26 และ 7.62 ตามลำดับ

คำสำคัญ : แป้งมันสำปะหลัง, แป้งออกเทนนิลซัคซิเนตจากแป้งที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์, แป้งที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์, แป้งออกเทนนิลซัคซิเนต

*Corresponding author. E-mail : spawinee@yahoo.com

Abstract

Modification of starch using enzymes and chemical were conducted in order to make it possible for food product .Cassava starch was hydrolyzed by a mixture of α-amylase and amyloglucosidase at the total concentration of 0.139% (dry starch basis). Then, esterification of octenyl succinic anhydride were applied. Modification condition (with enzymes or chemical) that giving the best starch properties were then selected to produce hydrolyzed octenyl succinylated cassava starch. The results showed that the most proper condition for cassava starch modification in this study was enzymatic digestion for 24 hours followed by esterification of octenyl succinic anhydride at 3% (w/w) (Hydrolyzed octenyl succinylated cassava starch). Hydrolyzed octenyl succinylated cassava starch granules with sponge-like and shells with the interior hydrolyzed was produced. The gelatinization temperature of hydrolyzed octenyl succinylated cassava starch was significantly higher than native and octenyl succinylated cassava starch (p<0.05) The retrogradation of native, hydrolyzed, octenyl succinylated and hydrolyzed octenyl succinylated cassava starch were 18.99, 23.65, 10.26 and 7.62 %, respectively.

Keywords: Native cassava starch, Hydrolyzed octenyl succinylated cassava starch, Hydrolyzed cassava starch, Octenyl succinylated cassava starch

บทนำ

แป้งมันสำปะหลังส่วนใหญ่นำไปใช้เพื่อการบริโภคของมนุษย์และบางส่วนใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ แต่การใช้ประโยชน์จากแป้งธรรมชาติยังมีข้อจำกัด เนื่องจากสมบัติบางประการของแป้งธรรมชาติไม่เหมาะสมในการเป็นสารให้ความข้นหนืดและเนื้อสัมผัสที่ดี นอกจากนี้ยังเกิดการคืนตัวและเกิดการสูญเสียน้ำของเจลแป้งเปียก (Betancur *et al.*, 1997) แป้งธรรมชาติจึงไม่เป็นที่ต้องการใช้ในระดับอุตสาหกรรม การดัดแปรแป้งด้วยออกเทนิลซัคซินิคแอนไฮไดรด์ (OSA) นั้น (Caldwell & Wurzburg, 1953) ได้ค้นพบวิธีการดัดแปรและจดสิทธิบัตรโดยแป้งจะถูกดัดแปรโดยวิธีเอสเทอริฟิเคชั่นด้วยสารละลายออกเทนิลซัคซินิคแอนไฮไดรด์ในสภาวะที่มีด่างเป็นน้ำ ซึ่งองค์การอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกาอนุญาตให้ใช้แป้งออกเทนนิลซัคซิเนตในอาหารได้โดยต้องใช้สารออกเทนิลซัคซินิคแอนไฮไดรด์ไม่เกินร้อยละ 3 หรือมีระดับการแทนที่ (Degree of substitution; DS) เท่ากับหรือน้อยกว่า 0.020 แป้งออกเทนนิลซัคซิเนตมีสมบัติที่ดีกว่าแป้งที่ไม่ผ่านการดัดแปร คือในสภาวะที่เป็นของเหลวจะให้ความหนืดที่สูง มีความใสของเจลแป้งและมีแนวโน้มที่จะเกิดการคืนตัวของแป้งน้อยกว่าแป้งที่ไม่ผ่านการดัดแปร (Song *et al.*, 2006) นอกจากนี้ยังมีสมบัติเป็นอิมัลซิฟายเออร์ที่ดี จึงมักใช้ข้อดีของสมบัติดังกล่าวในการเป็นสารอิมัลซิฟายเออร์ระหว่างน้ำกับน้ำมันในผลิตภัณฑ์น้ำสลัด (salad dressing) หรือแทนเนยในผลิตภัณฑ์เบเกอรี่เป็นต้น (Sweedman *et al.*, 2013)

การย่อยแป้งด้วยเอนไซม์เป็นหนึ่งในวิธีการดัดแปรแป้งที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในกระบวนการผลิตระดับอุตสาหกรรมที่มีการใช้แป้งเป็นวัตถุดิบ เอนไซม์ในกลุ่มของอะมิโลไลติกไลติกเอนไซม์ ได้แก่เอนไซม์อะมิโลกลูโคซิเดส (amyloglucosidase) และเอนไซม์แอลฟาอะมิเลส (α-amylases) มีความสำคัญเป็นอย่างมากในกระบวนการผลิตโดยเอนไซม์อะมิโลกลูโคซิเดสเป็นเอนไซม์ที่ย่อยโมเลกุลของแป้งจากภายนอก (exo-acting enzymes) ได้ผลิตภัณฑ์เป็นกลูโคส

(D-glucose) ส่วนเอนไซม์แอลฟาอะมิเลสทำหน้าที่เป็นเอนไซม์ที่ย่อยโมเลกุลของแป้งจากภายใน (endo-acting enzymes) นอกจากนี้การใช้เอนไซม์ผสมระหว่างเอนไซม์อะมิโลกลูโคซิเดสและเอนไซม์แอลฟาอะมิเลสนั้น มีการทำงานที่ส่งเสริมกันเมื่อนำมาใช้ร่วมกัน (Zhang *et al*., 2010) ทำให้ประสิทธิภาพการย่อยเกิดดีกว่าการใช้เอนไซม์ตัวใดตัวหนึ่งเพียงอย่างเดียว จากการศึกษาลักษณะเม็ดแป้งข้าวโพดและแป้งมันสำปะหลังของ (Uthumporn *et al*., 2010) ด้วย SEM พบว่าเม็ดแป้งข้าวโพดมีรูพรุนบนผิวหน้าโดยธรรมชาติ ในขณะที่เม็ดแป้งมันสำปะหลังนั้นไม่ปรากฏรูพรุน แป้งข้าวโพดจึงมีความไวต่อการทำปฏิกิริยาต่าง ๆ มากกว่าแป้งมันสำปะหลัง เนื่องจากสารเคมีสามารถแพร่ผ่านทางรูพรุนเพื่อเข้าทำปฏิกิริยาภายในได้ดีกว่าและพื้นที่ในการทำปฏิกิริยายังมีมากกว่า และเมื่อนำแป้งทั้งสองไปย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะมิเลสและเอนไซม์อะมิโลกลูโคซิเดส พบว่าแป้งทั้งสองมีความเป็นรูพรุนมากขึ้นและมีความว่องไวในการเกิดปฏิกิริยากับสารเคมีได้ดีกว่าแป้งที่ไม่ผ่านการย่อย สอดคล้องกับการศึกษาของ (Chen *et al*., 2011) ซึ่งใช้เอนไซม์แอลฟาอะมิเลสและเอนไซม์อะมิโลกลูโคซิเดสย่อยแป้งมันสำปะหลังเพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวให้มากขึ้น ซึ่งการทำให้แป้งมีรูพรุนจะทำให้เพิ่มความสามารถ และคุณสมบัติทางกายภาพต่าง ๆได้

จากสมบัติของแป้งออกเทนนิลซัคซิเนตที่มีสมบัติการเป็นอิมัลซิฟายเออร์ และจากการดัดแปรแป้งด้วยเอนไซม์ซึ่งทำให้เม็ดแป้งมีรูพรุนเพิ่มมากขึ้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการดัดแปรแป้งมันสำปะหลังด้วยวิธีดัดแปรร่วมโดยการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะมิเลสและอะมิโลกลูโคซิเดส จากนั้นทำปฏิกิริยาเอสเทอร์ริฟิเคชั่นด้วยการใช้ออกเทนนิลซัคซินิคแอนไฮไดรด์ ได้เป็นแป้งออกเทนนิลซัคซิเนตจากแป้งที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ โดยศึกษาผลของการย่อยแป้งด้วยเอนไซม์ดังกล่าวก่อนการทำปฏิกิริยาเอสเทอร์ริฟิเคชั่นต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติต่าง ๆของแป้ง ทั้งทางด้านโครงสร้าง สมบัติทางเคมีฟิสิกส์ของแป้ง เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการนำแป้งออกเทนนิลซัคซิเนตจากแป้งที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1.วัตถุดิบ

แป้งมันสำปะหลังทางการค้าจากบริษัทสงวนวงษ์ อุตสาหกรรม จำกัด จังหวัดนครราชสีมา (Native cassava starch; NCS), เอนไซม์แอลฟาอะมิเลส (α-Amylase from *Bacillus licheniformis*) E.C. 3.2.1.1 และเอนไซม์อะมิโลกลูโคซิเดส (Amyloglucosidase from *Aspergillus niger*) E.C. 3.2.1.3 จำหน่ายโดยบริษัท Sigma- Aldrich, Co., St. Louis, ประเทศสหรัฐอเมริกา, สารเคมี 2-octen-1-ylsuccinic anhydride, mixture of cis and trans($C_{12}H_{18}O_3$) จำหน่ายโดยบริษัท Sigma- Aldrich, Co., St. Louis, ประเทศสหรัฐอเมริกา

2.การดัดแปรแป้ง

2.1 การเตรียมแป้งที่ย่อยด้วยเอนไซม์ (Hydrolyzed cassava starch; HCS)

แป้งที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์เตรียมด้วยวิธีที่ดัดแปลงจาก Chen *et al*. (2010) เตรียมน้ำแป้งมันสำปะหลังความเข้มข้นร้อยละ 35 (โดยน้ำหนัก) ในสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมอะซิเตท (pH 5.0) ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ที่มีแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 40 ppm ทำการย่อยโดยใช้เอนไซม์แอลฟาอะมิเลสและเอนไซม์อะมิโลกลูโคซิเดสร้อยละ 0.139 (ต่อน้ำหนักแป้งแห้ง) ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียสที่ระยะเวลาการย่อยต่างๆ กัน (6, 12 และ 24 ชั่วโมง) เมื่อครบเวลานำน้ำแป้งไปกรองด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ ล้างแป้งโดยเติมน้ำกลั่นประมาณ 3-4 เท่าของน้ำหนักแป้ง กวนให้เข้ากันแล้ว

กรองทำการล้างเช่นนี้จนกระทั่งทดสอบน้ำที่ผ่านการกรองแล้วว่าไม่เกิดปฏิกิริยากับซิลเวอร์ไนเตรตเข้มข้น 0.1 นอร์มอล กรองสารละลายแป้งที่ได้และอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2.2 การเตรียมแป้งออกเทนนิลซัคซิเนต (Octenyl succinylated cassava starch; OSCS)

ดัดแปลงจาก Song *et al.* (2010) เตรียมน้ำแป้งมันสำปะหลังความเข้มข้นร้อยละ 35 (โดยน้ำหนัก) ควบคุมอุณหภูมิที่ 35 องศาเซลเซียส กวนน้ำแป้งด้วยอัตราเร็ว 200 รอบต่อนาที ปรับ pH ของน้ำแป้งให้อยู่ในช่วง 8.0-8.5 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 3 ให้ค่า pH อยู่ในช่วงดังกล่าวเป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นเติมสารละลายออกเทนนิลซัคซินิคแอนไฮไดร์ลงในน้ำแป้งอย่างช้าๆ (ร้อยละ 1, 2 และ 3 (โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักแป้งแห้ง)) หลังจากเติมสารละลายออกเทนนิลซัคซินิคแอนไฮไดร์แล้ว จึงเริ่มจับเวลาในการทำปฏิกิริยาโดยใช้เวลาในการทำปฏิกิริยาที่ 180 นาที เมื่อครบเวลาแล้วจึงแล้วปรับ pH เป็น 6.5 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.5 โมลาร์ นำน้ำแป้งไปกรองด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ ล้างและอบแป้งตามวิธีที่ได้กล่าวมาแล้วในข้อ 2.1

2.3 การเตรียมแป้งออกเทนนิลซัคซินตจากแป้งที่ถูกย่อยด้วยแอนไซม์ (Hydrolyzed octenyl succinylated cassava starch; HOCS)

นำแป้งมันสำปะหลังที่ถูกย่อยด้วยแอนไซม์ที่มีระยะเวลาการย่อยที่ 24 ชั่วโมง (ให้สมบัติของแป้งที่ดีที่สุด โดยพิจาณาจากผลของลักษณะพื้นผิวเม็ดแป้งที่มีลักษณะสึกกร่อนที่บริเวณผิวนอกและมีการย่อยลงไปภายในเม็ดแป้ง และขนาดอนุภาคเฉลี่ย (D50) ซึ่งมีขนาดน้อยกว่าแป้งมันสำปะหลัง) ซึ่งเตรียมได้จากหัวข้อ 2.1 มาทำปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันด้วยออกเทนนิลซัคซินิคแอนไฮไดร์ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 3 (โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักแป้งแห้ง) (ให้สมบัติของแป้งที่ดีที่สุดโดยพิจารณาจากระดับการแทนที่ (ระดับการแทนที่สูงที่สุดแต่ไม่เกิน 0.020) ค่ากำลังการพองตัวที่สูงที่สุดและขนาดอนุภาคเฉลี่ย (D50) ที่มีค่าน้อยที่สุด) โดยใช้สภาวะการทำปฏิกิริยาเหมือนการเตรียมแป้งออกเทนนิลซัคซิเนตในหัวข้อ 2.2 เมื่อครบเวลาแล้วจึงแล้วปรับ pH เป็น 6.5 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ล้างและอบแป้งตามวิธีที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น

3. การวิเคราะห์คุณลักษณะของแป้ง

3.1 ร้อยละของหมู่แทนที่ ระดับการแทนที่และร้อยละของประสิทธิภาพในการทำปฏิกิริยา

วิเคราะห์หาร้อยละของหมู่แทนที่ ระดับการแทนที่และร้อยละของประสิทธิภาพในการทำปฏิกิริยาด้วยวิธีที่ดัดแปลงจาก FAO, 1997) โดยชั่งน้ำหนักแป้งออกเทนนิลซัคซิเนต 5 กรัม มาทำให้กระจายตัวในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 2.5 นอร์มอล จากนั้นกวนให้เป็นเนื้อเดียวกันที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที เติมไอโซโพรพานอลเข้มข้นร้อยละ 90 ปริมาณ 100 มิลลิลิตร และกวนต่อไปอีก 10 นาที กรองและล้างแป้งด้วยน้ำกลั่น จากนั้นล้างครั้งสุดท้ายด้วยไอโซโพรพานอลเข้มข้นร้อยละ 90 นำเข้าอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 ชั่วโมง และชั่งแป้ง 1.0 กรัม เติมน้ำ 100 มิลลิลิตร นำไปต้มจนกระทั่งสารละลายใส และทำการไทเทรตขณะร้อนด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์มาตรฐานเข้มข้น 0.1 นอร์มอลแล้วคำนวณค่าโดยร้อยละของหมู่ออกเทนนิลซัคซินิล (% OSA) = $(B - S) \times N \times 0.021 \times 100 / W$

โดย N คือ ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์มาตรฐาน 0.1 นอร์มอล

W คือ น้ำหนักของตัวอย่างแป้ง (กรัมโดยน้ำหนักแป้งแห้ง)

S คือ ปริมาตรของสารละลายสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์มาตรฐานเมื่อไตเตรทตัวอย่างแป้ง (มิลลิลิตร)

B คือ ปริมาตรของสารละลายสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์มาตรฐานเมื่อไตเตรทแป้งมันสำปะหลัง (มิลลิลิตร)

$$\text{ระดับการแทนที่ (DS)} = \frac{162 \times \%OSA}{21000 - 209\ (\%OSA)}$$

เมื่อ A คือ ร้อยละของหมู่ออกเทนนิลซัคซินิล(ต่อน้ำหนักแป้งแห้ง)

ร้อยละของประสิทธิภาพในการทำปฏิกิริยา (% Efficiency) คำนวณจาก

$$\text{ประสิทธิภาพปฏิกิริยา (\%RE)} = \frac{\text{Actual DS} \times 100}{\text{Theoretical DS}}$$

เมื่อ Actual DS คือ ระดับการแทนที่ที่ได้จากการทดลอง

Theoretical DS คือ ระดับการแทนที่ที่ได้จากทฤษฎี

3.2 รูปร่างลักษณะของเม็ดแป้งตรวจสอบโดยวิธีกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (scanning electron microscopy)

นำแป้งตัวอย่างปริมาณเล็กน้อยมาโรยบนเทปกาวสองหน้าที่ติดอยู่บนแท่ง aluminium stub นำแท่ง aluminium stub ที่ติดแป้งตัวอย่างแล้วเข้าเครื่องเคลือบทองที่ผิวของแป้งตัวอย่าง ส่องดูตัวอย่างโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (JEOL รุ่น JSM-6010 LV ประเทศญี่ปุ่น) โดยควบคุมสภาวะในการทดลองดังนี้ ค่าอัตราเร่งความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ 5 kV ใช้กำลังขยายที่ 3,000 เท่า และ 5,000 เท่า

3.3 การวิเคราะห์ขนาดอนุภาคเฉลี่ย

วิเคราะห์ค่าการกระจายตัวของขนาดอนุภาคเฉลี่ย (D50; ขนาดอนุภาคของเม็ดแป้งโดยเฉลี่ยเมื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณเม็ดแป้งร้อยละ 50) ของแป้งมันสำปะหลังก่อนและหลังดัดแปรด้วยเครื่อง Laser diffraction particle size analyzer (HORIBA LA-950, HORIBA Ltd., ประเทศญี่ปุ่น) อาศัยหลักการเลี้ยวเบนของแสง โดยใช้เลเซอร์ชนิดแก๊สฮีเลียม-นีออน (He-Ne gas laser) เป็นแหล่งกำเนิดแสง ทำสอบแบบเปียก โดยใช้ค่าดัชนีหักเหของน้ำกลั่นเท่ากับ 1.33

3.4 ค่ากำลังการพองตัว

วิเคราะห์ค่ากำลังการพองตัวของแป้ง (0.500 กรัมในน้ำ 25 มิลลิลิตร) ที่บ่มที่อุณหภูมิ 35, 65 และ 85 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ด้วยวิธีที่ดัดแปลงจาก Leach *et al.*, 1959

3.5 ลักษณะการเกิดเจลาติไนเซชัน

วิเคราะห์สมบัติการเกิดเจลาติไนเซชั่นด้วยเครื่อง Differential Scanning Calorimeter (DSC 7 Perkin Elmer, USA) (Sriroth *et al.*, 1999) โดยเตรียมน้ำแป้งเข้มข้นร้อยละ 50 (โดยน้ำหนักแห้ง) (Intermediate water content) ทำการวิเคราะห์สมบัติการเกิดเจลาติไนเซชั่นของตัวอย่างในช่วงอุณหภูมิ 0 ถึง 150 องศาเซลเซียส โดยมีอัตราการให้ความร้อน 10 องศาเซลเซียสต่อนาที ตรวจวัดค่าอุณหภูมิที่จุดเริ่มต้น (onset temperature; T_{OG}) อุณหภูมิที่จุดสูงสุด (peak temperature; T_{PG}) และอุณหภูมิที่จุดสิ้นสุด (conclusion temperature; T_{CG}) ของการเจลาติไนเซชั่น และพลังงานเอนทัลปีที่ใช้ในการสลายโครงร่างผลึกของแป้ง (enthalpy of gelatinization; ΔH_G)

3.6 ลักษณะการเกิดรีโทรเกรเดชั่น

วิเคราะห์ตามวิธีของ Sriroth *et al.* (1999) โดยนำตัวอย่างแป้งดัดแปรที่ผ่านการเจลาติไนเซชั่นแล้ว (จากข้อ 3.5) ไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน แล้วจึงนำตัวอย่างมาตรวจวัดสมบัติการเกิดรีโทรเกรเดชั่นโดยทำการวิเคราะห์ในช่วงอุณหภูมิ 0 ถึง 100 องศาเซลเซียสโดยมีอัตราการให้ความร้อน 10 องศาเซลเซียสต่อนาที ตรวจวัดค่าอุณหภูมิเริ่มสลายผลึกแป้งรีโทรเกรด (onset temperature: T_{OR}) อุณหภูมิที่จุดสูงสุด (peak temperature: T_{PR}) และค่าอุณหภูมิสุดท้ายของการสลายโครงร่างผลึกแป้งรีโทรเกรด (conclusion temperature: T_{CR}) และค่าพลังงานที่ใช้สลายโครงสร้างผลึกแป้งรีโทรเกรด (ΔH_R)

4. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล Analysis of Variance (ANOVA) ด้วยโปรแกรม SPSS 17.0 (SPSS Inc., Illinois, USA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

1. ร้อยละของหมู่แทนที่ ระดับการแทนที่และร้อยละของประสิทธิภาพในการทำปฏิกิริยาของ OSCS และ HOCS

ผลการทดลองบ่งชี้ว่าปริมาณหมู่ออกเทนนิลซัคซินิลและระดับการแทนที่ (DS) จะแปรผันโดยตรงกับปริมาณออกเทนนิลซัคซินิคแอนไฮไดรด์ที่เติมลงไปอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 1) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Noppaporn (2007) ที่กล่าวว่าเมื่อเพิ่มปริมาณออกเทนนิลซัคซินิคแอนไฮไดรด์จะทำให้เพิ่มอัตราการซึมผ่านของหมู่ออกเทนนิลซัคซินิลเข้าไปในโมเลกุลของแป้งทำให้ระดับการแทนที่ของหมู่ออกเทนนิลซัคซินิลมีค่าสูงขึ้น และเมื่อพิจารณาระหว่าง OSCS กับ HOCS พบว่าร้อยละของหมู่แทนที่ ระดับการแทนที่และร้อยละของประสิทธิภาพในการทำปฏิกิริยาของ HOCS มีค่าสูงกว่า OSCS ($p < 0.05$) สาเหตุที่เป็นเช่นนี้เพราะเมื่อทำการย่อยแป้งด้วยเอนไซม์แอลฟาอะมิเลสร่วมกับอะมิโลกลูโคซิเดสร้อยละ 0.139 (ต่อน้ำหนักแป้งแห้ง) ที่เวลาการย่อย 24 ชั่วโมงจะทำให้ผิวเม็ดแป้งมีการผุกร่อนและมีลักษณะขรุขระและมีรูพรุนไปทั่วทั้งเม็ด ทำให้สารเคมีออกเทนนิลซัคซินิคแอนไฮไดรด์สามารถแทรกตัวผ่านรูพรุนบนผิวเม็ดและเข้าไปทำปฏิกิริยาในส่วนอสัณฐานของเม็ดแป้งได้ดีขึ้น

มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์ BURIRAM RAJABHAT UNIVERSITY

ตารางที่ 1 ร้อยละหมู่แทนที่ ระดับการแทนที่ และประสิทธิภาพในการทำปฏิกิริยาของ OSCS และ HOCS

ชนิดของแป้ง	ปริมาณ OSA ที่ทำปฏิกิริยา (ร้อยละต่อน้ำหนักแป้งแห้ง)	ปริมาณ OSA (โมลสารเคมี/โมลกลูโคส)	หมู่ออกเทนนิลซัคซินิล (ร้อยละ)	ระดับการแทนที่ (DS)	ประสิทธิภาพในการทำปฏิกิริยา (ร้อยละ)
OSCS	1	0.007	0.75±0.01^{d}	0.005±0.001^{d}	76.74±1.40^{b}
	2	0.014	1.37±0.00^{c}	0.010±0.005^{c}	70.49±0.00^{c}
	3	0.021	1.99±0.05^{b}	0.015±0.004^{b}	68.86±1.95^{c}
HOCS	3	0.021	2.32±0.001^{a}	0.018±0.001^{a}	80.15±0.06^{a}

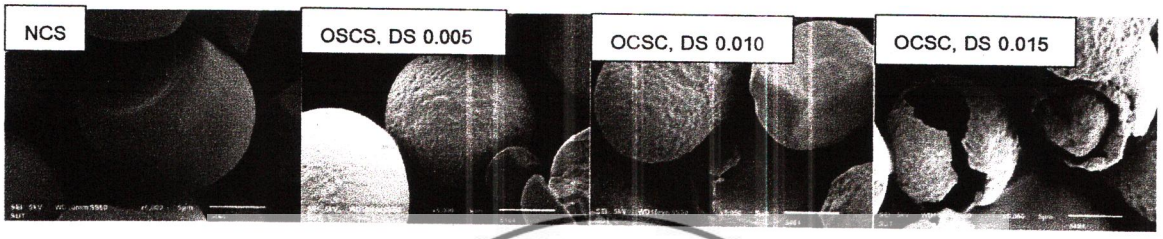
แป้งออกเทนนิลซัคซิเนต (OSCS); แป้งออกเทนนิลซัคซินตจากแป้งที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ (HOCS)

ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับที่ แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ95 ($p < 0.05$)

2. ผลของลักษณะพื้นผิวเม็ดแป้งดัดแปรชนิดต่างๆ

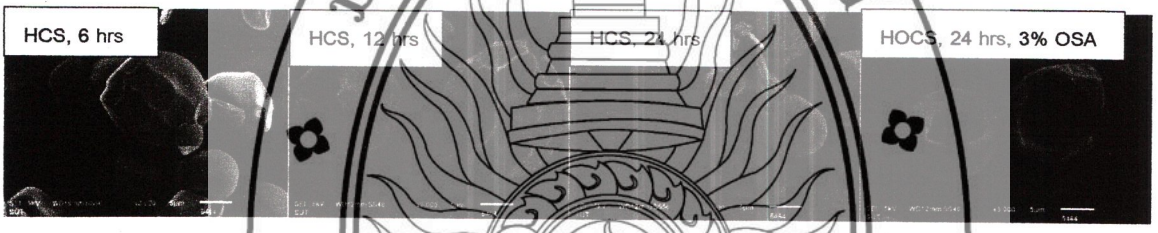
ผลการทดลองพบว่า NCS มีลักษณะพื้นผิวเรียบเป็นรูปไข่ที่ปลายด้านหนึ่งถูกตัดออก และผิวตรงส่วนที่ตัดออกมีลักษณะเว้าเข้าด้านใน บางเม็ดอาจมีรอยบุ๋มด้านหนึ่งโค้งส่วนอีกด้านหนึ่งแบนไม่สม่ำเสมอกัน โดยแสดงให้เห็นรอยบุ๋มอย่างชัดเจน (eccentric helium) เมื่อทำการส่องดู OSCS ที่มีระดับการแทนที่ที่ทำกับ 0.005, 0.010 และ 0.015 เห็นได้ว่าพื้นผิวเม็ดแป้งจะขรุขระและเกิดรูเล็กๆเพิ่มขึ้นและเพิ่มมากขึ้นเมื่อระดับการแทนที่สูงขึ้นซึ่งแตกต่างจากพื้นผิวของ NCS (ภาพที่ 1) ทั้งนี้อาจเนื่องจากแป้งที่ผ่านการดัดแปรนั้นถูกกัดกร่อนด้วยสารเคมีที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาที่ผิวของเม็ดแป้ง (Napaporn & Saiyavit, 2003; Segura & Sira, 2003) ซึ่งสารเคมีส่วนใหญ่สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับเม็ดแป้งบริเวณพื้นผิวของเม็ดแป้งในส่วนอสัณฐาน ซึ่งอาจเป็นส่วนปลายสายของหมู่ออกเทนนิลซัคซินิลที่เกาะกับพื้นผิวของเม็ดแป้ง (Song *et al*., 2006) และเมื่อย่อยแป้งมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์แอลฟาอะมิเลสและอะมิโลกลูโคซิเดส จะทำให้ผิวเม็ดแป้งมีการผุกร่อนและมีลักษณะขรุขระไปทั่วทั้งเม็ด แต่เมื่อระดับการย่อยเพิ่มมากขึ้นไปถึงที่เวลาการย่อย 12 ชั่วโมง (ภาพที่ 2) รูปแบบการถูกย่อยของเม็ดแป้งจะเปลี่ยนแปลงไปจากมีการสึกกร่อนที่บริเวณผิวนอกไปเป็นการย่อยลงไปบริเวณภายในเม็ดแป้ง เนื่องจากเอนไซม์สามารถแทรกตัวผ่านรูพรุนบนผิวเม็ดแป้งผ่านช่องอสัณฐาน ทำให้เกิดรูที่เปิดกว้างอย่างเห็นได้ชัดเจน และเมื่อทำการย่อยด้วยเอนไซม์เป็นเวลานานจนระดับการย่อยเกิดเต็มที่คือที่ 24 ชั่วโมง เม็ดแป้งบางเม็ดจะเกิดการสึกกร่อนภายในเม็ดแป้งเป็นบริเวณกว้างโดยเฉพาะบริเวณรอบส่วน hilum ของเม็ด เหลือไว้เพียงเปลือกนอกของเม็ดแป้งเพียงอย่างเดียวที่ทนทานต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองย่อยเม็ดแป้งสาคูด้วยเอนไซม์ (Wang *et al*., 1995) สำหรับพื้นผิว HOCS (แป้งออกเทนนิลซัคซิเนตจากแป้งที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ที่สภาวะการย่อยเป็นเวลา 24 ชั่วโมงและดัดแปรด้วยออกเทนนิลซัคซินิคแอนไฮไดรด์ร้อยละ 3 (โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักแป้งแห้ง)) พื้นผิวแป้งจะขรุขระและเกิดรูเล็กๆเพิ่มขึ้นและเพิ่มมากขึ้นมากกว่าพื้นผิวของ OSCS ระดับการแทนที่ 0.015 และ HCS 24 ชั่วโมง ทั้งนี้อาจเนื่องจากแป้งที่ผ่านการดัดแปรด้วยการย่อยด้วยเอนไซม์ทำให้

เม็ดแป้งเกิดรูเล็กๆ ที่บริเวณพื้นผิวและหมู่ไฮดรอกซิลในโมเลกุลแป้งง่ายต่อการทำปฏิกิริยากับสารออกเทนนิลซัคซิเนต (Zhang *et al*., 2010) ทำให้เกิดการทำปฏิกิริยาที่ผิวของเม็ดแป้งได้ดีขึ้น พื้นผิวของเม็ดแป้งจึงมีลักษณะขรุขระมากยิ่งขึ้น



แป้งมันสำปะหลัง (NCS); แป้งออกเทนนิลซัคซิเนต (OSCS)

ภาพที่ 1 ลักษณะพื้นผิวของ NCSและ OCSC ระดับการแทนที่ต่างๆ เมื่อมองผ่านกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) ที่กำลังขยาย 5,000 เท่า



แป้งที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ (HCS) ; แป้งออกเทนนิลซัคซิเนตจากแป้งที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ (HOCS)

ภาพที่ 2 ลักษณะพื้นผิวของ HCS โดยใช้ระยะเวลาย่อยแตกต่างกันและ HOCS เมื่อมองผ่านกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) ที่กำลังขยาย 3,000 เท่า

3. ลักษณะการกระจายตัวของขนาดอนุภาคแป้งมันสำปะหลังและมันสำปะหลังดัดแปร

พบว่าแป้งมันสำปะหลังมีขนาดเม็ดแป้งอยู่ในช่วง 3-30 ไมครอน โดยมีร้อยละการกระจายตัวเฉลี่ยของเม็ดแป้งอยู่ที่ 12-15 ไมครอน (ตารางที่ 2) ซึ่งเมื่อเพิ่มระดับการแทนที่พบว่าขนาด OSCS เฉลี่ยมีค่าน้อยกว่า NCS (p <0.05) สาเหตุน่าจะเกิดจากเม็ดแป้งมันสำปะหลังถูกสารออกเทนนิลซัคซินิคแอนไฮไดรด์ทำปฏิกิริยาที่บริเวณพื้นผิว ทำให้เกิดการกัดกร่อนลงไป เมื่อวัดขนาดอนุภาคเฉลี่ยจึงมีขนาดเล็กลงเมื่อเพิ่มระดับการแทนที่ ซึ่งขัดแย้งกับงานวิจัยของ (Timgren *et al*., 2013) ที่กล่าวว่าขนาดของ OSCS ที่เพิ่มระดับการแทนที่ให้มากขึ้นจะมีขนาดอนุภาคแป้งเฉลี่ยเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากมีการเพิ่มของหมู่ไฮโดรโฟบิกในเม็ดแป้ง เหตุเนื่องจากในการทดลองครั้งนี้มีการดัดแปร OSCS ในระดับค่อนข้างต่ำ (DS 0.005-0.015) จึงเห็นผลของหมู่ไฮโดรโฟบิกที่เพิ่มขึ้นไม่ชัดเจน ส่วน HCS ที่เวลาการย่อยแตกต่างกันเปรียบเทียบกับ NCS พบว่าขนาดของ HCS ที่เวลาการย่อยต่างๆมีขนาดลดลงจาก NCS เล็กน้อย โดย HCS มีขนาดเล็กลงตั้งแต่ระยะแรกของการย่อย (ประมาณ 6 ชั่วโมง) และเริ่มคงที่เมื่อทำการย่อยเป็นเวลานานขึ้น สาเหตุเกิดจากการย่อยแป้งด้วยเอนไซม์ในระยะแรกเอนไซม์จะเข้าทำปฏิกิริยาบนผิวเม็ดแป้งก่อน พื้นที่ผิวเม็ดแป้งจะถูกย่อยออกไปเล็กน้อย มีผลทำให้ขนาดของเม็ดแป้งเล็กลงได้ตั้งแต่ระยะแรกของการย่อย หลังจากนั้นเอนไซม์จะเข้าทำปฏิกิริยาภายในเม็ดแป้งซึ่งการย่อยจะเริ่มเกิดขึ้นจากส่วนกลางเม็ดออกมา เม็ดแป้ง

จึงยังมีขนาดใกล้เคียงเดิมเมื่อทำการย่อยนานขึ้น จากผลการทดลองพบว่าขนาดของอนุภาคเฉลี่ย HOCS มีค่าสูงกว่าแป้งที่ดัดแปรชนิดอื่นๆ (p<0.05) เนื่องจากอาจเริ่มมีผลของหมู่ไฮโดรโฟบิกในเม็ดแป้งเนื่องจากระดับการแทนที่สูงขึ้น (DS เท่ากับ 0.018) แต่อย่างไรก็ตามขนาดของอนุภาคเฉลี่ย HOCS ไม่มีความแตกต่างจากแป้งมันสำปะหลัง (NCS) (p >0.05)

ตารางที่ 2 ขนาดอนุภาคเฉลี่ย (D50) ของแป้งมันสำปะหลังและแป้งมันสำปะหลังดัดแปรชนิดต่างๆ

ชนิดของแป้ง	ขนาดอนุภาคเฉลี่ย(D50) (ไมโครเมตร)
NCS	15.17 ± 0.015[a]
OSCS, DS 0.005	14.96 ± 0.01[b]
OSCS, DS 0.010	14.80 ± 0.05[c]
OSCS, DS 0.015	14.68 ± 0.02[d]
HCS, 6 ชั่วโมง	14.52 ± 0.02[f]
HCS, 12 ชั่วโมง	14.62 ± 0.03[e]
HCS, 24 ชั่วโมง	14.52 ± 0.04[f]
HOCS, 24 ชั่วโมง, 3% OSA	15.20 ± 0.05[a]

แป้งมันสำปะหลัง (NCS); แป้งที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ (HCS); แป้งออกเทนิลซัคซิเนต (OSCS); แป้งออกเทนิลซัคซิเนตจากแป้งที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ (HOCS)

ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (p < 0.05)

4. ค่ากำลังการพองตัว

กำลังการพองตัวของ NCS, OSCS และ HOCS ที่อุณหภูมิ 35, 65 และ 85 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 3) โดยมีค่าระหว่างร้อยละ 2.36-35.72 พบว่ากำลังการพองตัวของ OSCS เมื่อเพิ่มระดับการแทนที่มีค่าเพิ่มมากขึ้นทุกอุณหภูมิทดสอบ ซึ่งเกิดจากพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุลแป้งอ่อนแอลงเนื่องจากการแทนที่ของหมู่ออกเทนิลซัคซินิล สอดคล้องกับงานวิจัยของการทำแป้งถั่วพร้าซัคซิเนต (Betancur *et al.*, 2002) และแป้งข้าวโพด (Bhandari & Singhal, 2002) สาเหตุเนื่องจากส่วนอสัณฐานของโมเลกุลแป้งมีความสามารถในการดูดซับน้ำได้มากยิ่งขึ้น และพันธะระหว่างโมเลกุลในส่วนที่เป็นผลึกคลายความหนาแน่นลง โมเลกุลในส่วนที่คลายตัวจะมีการดูดซับน้ำได้มากขึ้น ทำให้เม็ดแป้งมีการพองตัว ซึ่งกำลังการพองตัวที่เพิ่มขึ้นของ OSCS เป็นข้อดีในการนำแป้งไปใช้เป็นสารให้ความข้นหนืดแก่ผลิตภัณฑ์

ค่ากำลังการพองตัวทุกอุณหภูมิของ OSCS ที่ระดับการแทนที่ 0.015 มีค่าเท่ากับหรือสูงกว่าของ HCS ทุกเวลาการย่อยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เนื่องจาก OSCS เมื่อเพิ่มระดับการแทนที่จะทำให้พันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุลแป้งอ่อนแอลงเนื่องจากการแทนที่ของหมู่ออกเทนิลซัคซินิล ซึ่งโมเลกุลในส่วนที่อ่อนแอลงนี้จะมีการดูดซับน้ำได้มากขึ้น ทำให้เม็ดแป้งมีการพองตัวเพิ่มมากขึ้น ในขณะที่ HCS มีค่ากำลังการพองตัวน้อยกว่าแป้งมันสำปะหลังและจะเห็นผลชัดเจนเมื่อมีอุณหภูมิทดสอบเป็น 65 และ 85 องศาเซลเซียสที่ระยะเวลาในการย่อย 24 ชั่วโมง

เนื่องจากการใช้เอนไซม์ทำให้แป้งมีโครงสร้างที่สั้นลง การดูดซับน้ำของแป้งจึงลดลง (Zherebtsov *et al.*, 1995) ค่ากำลังพองตัวของ HCS จึงมีค่าน้อยกว่าแป้งมันสำปะหลัง

ค่ากำลังการพองตัวของ HOCS จะมีค่ากำลังการพองตัวที่ทุกอุณหภูมิทดสอบ ต่ำกว่า OSCS ระดับการแทนที่ 0.015 เพียงเล็กน้อย แต่สูงกว่า HCS 24 ชั่วโมงมาก อาจเนื่องจากได้รับอิทธิพลของปฏิกิริยาการแทนที่ด้วยออกเทนนิลซัคซินิคแอนไฮไดรด์มากกว่าอิทธิพลจากการย่อยด้วยเอนไซม์ นอกจากนี้ออกเทนนิลซัคซินิคแอนไฮไดรด์ทำปฏิกิริยาส่วนใหญ่ที่ส่วนอสัณฐาน (Seow & Thevamalar,1993) ทำให้โครงสร้างผลึกยังคงมีความเป็นระเบียบ จึงทำให้แป้งยังคงมีค่ากำลังการพองตัวที่สูง เมื่อพิจารณาจากค่ากำลังการพองตัวของ HOCS พบว่ามีค่าสูงกว่า NCS จึงมีความเหมาะสมที่จะนำแป้งดัดแปรชนิดนี้มาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อน เนื่องจากให้ความข้นหนืดได้เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น โดยอาจนำมาใช้เป็นสารช่วยเพิ่มความหนืดกับซอสมะเขือเทศ ซอสหอยนางรม และมายองเนส เป็นต้น

ตารางที่ 3 กำลังการพองตัวที่อุณหภูมิ 35, 65 และ 85 องศาเซลเซียส ของ NCS, HCS ที่เวลาย่อย 6, 12 และ 24 ชั่วโมง, OSCS ที่มีระดับการแทนที่ 0.005, 0.010, 0.015 และ HOCS ที่มีระดับการแทนที่ 0.018

ชนิดของแป้ง	กำลังการพองตัวของแป้งที่อุณหภูมิต่างๆ (ร้อยละ)		
	อุณหภูมิ 35 °C	อุณหภูมิ 65 °C	อุณหภูมิ 85 °C
NCS	$2.48 \pm 0.02^{C,b}$	$9.57 \pm 0.05^{B,a}$	$24.13 \pm 0.03^{A,c}$
OSCS, DS 0.005	$2.35 \pm 0.14^{C,b}$	$8.13 \pm 0.12^{B,b}$	$32.39 \pm 1.30^{A,b}$
OSCS, DS 0.010	$5.08 \pm 1.02^{B,a}$	$8.85 \pm 0.20^{B,ab}$	$31.55 \pm 1.85^{A,b}$
OSCS, DS 0.015	$6.12 \pm 1.06^{C,a}$	$9.71 \pm 0.11^{B,a}$	$35.72 \pm 0.26^{A,a}$
HCS, 6 ชั่วโมง	$2.39 \pm 0.07^{C,b}$	$8.86 \pm 0.98^{B,ab}$	$24.46 \pm 0.09^{A,c}$
HCS, 12 ชั่วโมง	$2.50 \pm 0.19^{C,b}$	$6.09 \pm 1.02^{B,c}$	$24.65 \pm 1.54^{A,c}$
HCS, 24 ชั่วโมง	$3.67 \pm 0.03^{B,b}$	$4.93 \pm 0.07^{B,c}$	$20.79 \pm 1.45^{A,d}$
HOCS, 24 ชั่วโมง, 3%OSA	$5.77 \pm 1.62^{B,a}$	$7.79 \pm 0.13^{B,b}$	$35.24 \pm 1.45^{A,a}$

แป้งมันสำปะหลัง (NCS); แป้งที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ (HCS); แป้งออกเทนนิลซัคซิเนต (OSCS); แป้งออกเทนนิลซัคซิเนตจากแป้งที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ (HOCS)

ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับที่แตกต่างกันในแถวและคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ95 ($p < 0.05$)

5. **ลักษณะการเกิดเจลาติไนเซชั่น**

พบว่าอุณหภูมิที่จุดสูงสุด (peak temperature) ในการเกิดเจลาติไนเซชั่นของแป้งมันสำปะหลังออกเทนนิลซัคซิเนตไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับแป้งมันสำปะหลัง แสดงว่าหมู่ไฮโดรโฟบิกของแป้งออกเทนนิลซัคซิเนตมีผลต่อค่าสมบัติการเกิดเจลาติไนเซชั่นไม่เด่นชัด เนื่องจากการทดลองนี้แป้งดัดแปรที่ได้มีระดับการแทนที่ค่อนข้างต่ำคือประมาณ 0.015 ทำให้อาจไม่เห็นผลการลดลงของค่า T_{OG}, T_{PG}, T_{CG} และค่า ΔH_G (ภาพที่ 3 และตารางที่ 4) สอดคล้องกับ

งานวิจัยของ (Singh *et al*., 2004) ที่ได้กล่าวว่าเฉพาะแป้งแอซีเทตที่มีระดับการแทนที่ที่สูง จึงจะเห็นการลดลงของสมบัติการเกิดเจลาติไนเซชั่นและพลังงานเอนทาลปี แสดงให้เห็นว่าการดัดแปรแป้งด้วยวิธีเอสเทอริฟิเคชั่นทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในส่วนอสัณฐานเป็นส่วนใหญ่ (Seow & Thevamalar,1993) การวัดค่าอุณหภูมิการเกิดเจลาติไนเซชั่น เป็นการวัดอุณหภูมิในส่วนของโครงสร้างผลึกของเม็ดแป้งทำให้ปัจจัยจากหมู่แทนที่มีผลต่อสมบัติการเกิดเจลาติไนเซชั่นค่อนข้างน้อย

เมื่อเม็ดแป้งผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าค่าอุณหภูมิเริ่มต้นและอุณหภูมิที่จุดสูงสุดที่ใช้ในการเกิดเจลาติไนเซชั่นของ HCS มีค่าสูงกว่าของ NCS ($p<0.05$) เกิดจากเอนไซม์เข้าไปย่อยบริเวณอสัณฐานจนเหลือแต่บริเวณที่เป็นผลึกไว้มากจึงทำให้เกิดเจลาติไนซ์ที่อุณหภูมิสูงขึ้น (Zherebtsov *et al*., 1995) ร่วมกับการ annealing ที่เกิดขึ้นระหว่างการทำแห้งแป้งที่อุณหภูมิต่ำทำให้มีความเป็นผลึกมากขึ้น และผลึกมีการจัดเรียงตัวกันอย่างเป็นระเบียบมากขึ้นด้วย จึงทำให้ช่วงอุณหภูมิการเกิดเจลาติไนเซชั่นมีลักษณะแคบลง (Larsson & Eliasson, 1991; Jacobs *et al*., 1995) HOCS มีค่าอุณหภูมิเริ่มต้นและอุณหภูมิที่จุดสูงสุดที่ใช้ในการเกิดเจลาติไนเซชั่นสูงกว่า NCS และ OSCS ($p<0.05$) เนื่องจาก HOCS มีการจัดระเบียบโครงสร้างผลึกในเม็ดแป้งมากขึ้นอุณหภูมิในการเกิดเจลาติไนเซชั่นจึงสูงขึ้น และเนื่องจากการดัดแปรแป้งด้วยออกเทนนิลซัคซินิค แอนไฮไดรด์ส่วนใหญ่จะเกิดบริเวณอสัณฐานมากกว่าบริเวณผลึก ทำให้ไม่เห็นผลการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิการเกิดเจลาติไนเซชั่นมากนัก (Seow & Thevamalar,1993) การย่อยด้วยเอนไซม์จึงมีผลต่ออุณหภูมิเจลาติไนเซชั่นมากกว่าการแทนที่ของหมู่ออกเทนนิลซัคซินิล

6. **ลักษณะการเกิดเรโทรกราเดชั่น**

จากการศึกษาสมบัติทางความร้อนของแป้งรีโทรเกรดได้แก่ ค่าพลังงานที่ใช้สลายโครงสร้างผลึกแป้งรีโทรเกรด (ΔH) ค่าอุณหภูมิเริ่มสลายผลึกแป้งรีโทรเกรด (onset temperature: T_{OR}) อุณหภูมิที่จุดสูงสุด (peak temperature: T_{PR}) และค่าอุณหภูมิสุดท้ายของการสลายโครงร่างผลึกแป้งรีโทรเกรด (conclusion temperature: T_{CR}) เห็นได้ว่าเส้นกราฟการดูดกลืนความร้อนของการสลายโครงสร้างผลึกที่เกิดจากรีโทรเกรเดชั่นของอะมิโลเพคทินมีลักษณะและช่วงอุณหภูมิในการเกิดพีคแตกต่างจากเส้นกราฟการดูดกลืนความร้อนของการเกิดเจลาติไนเซชั่นของเม็ดแป้ง (ภาพที่ 4 และตารางที่ 5) เนื่องจากโครงสร้างผลึกที่เกิดขึ้นจากการเกิดรีโทรเกรเดชั่นของอะมิโลเพคทินแตกต่างจากโครงสร้างผลึกที่มีอยู่ในแป้งดั้งเดิม (Karim, 2000) โดยพีคที่เกิดจากการสลายโครงสร้างผลึกที่เกิดจากการรีโทรเกรเดชั่นของอะมิโลเพคทินมีลักษณะที่กว้างกว่าพีคที่เกิดจากการเจลาติไนเซชั่น อาจเป็นเพราะผลึกที่เกิดขึ้นใหม่มีความสมบูรณ์ ความแข็งแรง ความเป็นเนื้อเดียวกันและขนาดแตกต่างกันจึงทำให้พีคมีลักษณะกว้างมากขึ้น (Liu & Thompson, 1998) และเกิดขึ้นที่อุณหภูมิต่ำกว่า เนื่องจากผลึกที่เกิดขึ้นใหม่มีโครงสร้างผลึกที่เกิดจากการเรียงตัวกันของโมเลกุลที่เป็นระเบียบน้อยกว่า ทำให้ความเป็นผลึกลดลง ไม่แข็งแรงและมีความเสถียรลดลงจึงทำให้สลายตัวที่อุณหภูมิต่ำกว่า (Ward *et al*., 1994; Sasaki *et al*., 2000)

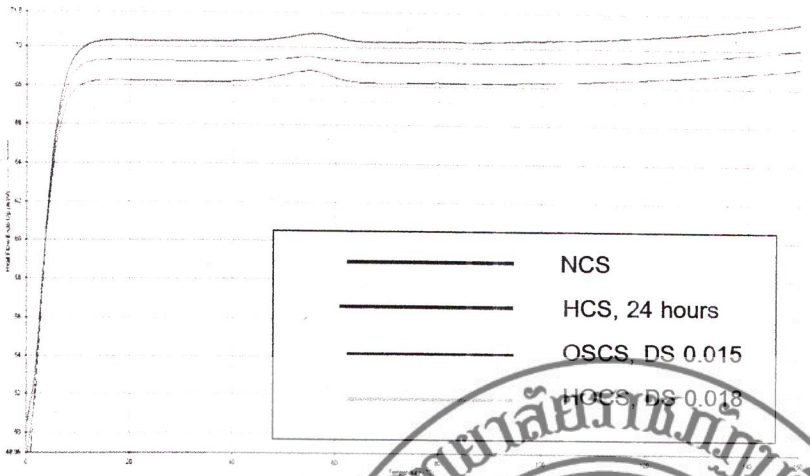
เมื่อพิจารณาสมบัติการคืนตัวของ NCS, HCS, OSCS ที่มีระดับการแทนที่ 0.015 และ HOCS ที่มีระดับการแทนที่ 0.018 พบว่าค่าร้อยละการคืนตัวของแป้งดังกล่าวข้างต้นมีค่าเท่ากับร้อยละ 18.99, 23.65, 10.26 และ 7.62 ตามลำดับ โดยพบว่าใน HOCS จะปรากฏพีคของการหลอมละลายโครงสร้างผลึกของโมเลกุลอะมิโลเพคทินที่น้อยมาก เนื่องจาก HOCS มีหมู่ออกเทนนิลซัคซินิลมากที่สุด (ร้อยละ 2.94) จึงสามารถทำหน้าที่ในการขัดขวางการกลับมาจัดเรียงตัวกันของโมเลกุลของแป้งได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้พบว่าที่สภาวะเจลแป้งเปียกที่มีปริมาณน้ำร้อยละ 50 หลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 7 วัน ค่าพลังงานความร้อนที่ใช้ในการทำลายโครงสร้างผลึกของเจล NCS, HCS,

OSCS ระดับการแทนที่ 0.015 และ HOCS ที่มีระดับการแทนที่ 0.018 มีค่าเท่ากับ 3.39, 4.03, 1.85 และ 1.17 จูลต่อกรัมของแป้งตามลำดับ ซึ่งค่าพลังงานที่ใช้สลายโครงร่างผลึกแป้งรีโทรเกรด (ΔH_R) ซึ่งวิเคราะห์จากเครื่อง DSC เป็นค่าที่แสดงระดับของการกลับมาจัดเรียงตัวกันใหม่ของโมเลกุลอะมิโลเพคทินในตัวอย่างแป้ง ผลจากการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัยของ Doungjai & Charoenrein. (2006) ที่พบว่าค่าพลังงานความร้อนของแป้งออกเทนนิลซัคซิเนตมีค่าต่ำกว่าแป้งมันสำปะหลัง บ่งชี้ว่า OSCS มีหมู่ออกเทลนิลซัคซินิลซึ่งมีลักษณะเป็นหมู่ใหญ่เข้ามาแทนหมู่ไฮดรอกซิลภายในโมเลกุลแป้งโดยหมู่ออกเทนนิลซัคซินิลนั้นจะอยู่บริเวณกิ่งของอะมิโลเพคทินเป็นส่วนใหญ่ (Shogren, 2000) และทำหน้าที่ในการขัดขวางการกลับมาจัดเรียงตัวกันใหม่ของอะมิโลสและอะมิโลเพคทินทำให้แป้งมีสมบัติมีความคงตัวต่อการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ(Wurzburg, 1987) ส่วน HCS นั้นเกิดการ Annealing เม็ดแป้งควบคู่ขณะที่ทำการย่อย มีผลทำให้โครงสร้างผลึกของเม็ดแป้งมีความเสถียรเพิ่มมากขึ้นกว่า NCS เจลแป้งจึงเกิดการคืนตัวได้ง่ายกว่าเจล NCS ดังนั้นค่าพลังงานที่ใช้สลายโครงร่างผลึกแป้งรีโทรเกรดจึงสูงกว่า NCS เมื่อพิจารณาสมบัติการคืนตัวของ OSCS จะพบว่าเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำจะมีการคืนตัวที่ต่ำ ซึ่งมีความเหมาะสมอย่างยิ่งที่จะนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารแช่แข็ง

แป้งมันสำปะหลัง (NCS); แป้งที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ (HCS); แป้งออกเทนนิลซัคซิเนต (OSCS); แป้งออกเทนนิลซัคซิเนตจากแป้งที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ (HOCS)

ภาพที่ 3 Gelatinization endotherms ของแป้งมันสำปะหลังและแป้งดัดแปรชนิดต่างๆ ในสภาวะน้ำแป้งร้อยละ 50

มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์ BURIRAM RAJABHAT UNIVERSITY



แป้งมันสำปะหลัง (NCS); แป้งที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ (HCS); แป้งออกเทนนิลซัคซิเนต (OSCS); แป้งออกเทนนิลซัคซิเนตจากแป้งที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ (HOCS)

ภาพที่ 4 Retrogradation endotherms ของแป้งมันสำปะหลังและแป้งดัดแปรชนิดต่างๆ ในสภาวะน้ำแป้งร้อยละ 50 หลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 7 วัน

ตารางที่ 4 สมบัติการเกิดเจลาติไนซ์ของ NCS, OSCS,DS 0.015, HCS 24 ชั่วโมง และ HOCS,DS 0.018

ตัวอย่างแป้ง	อุณหภูมิเริ่มต้น (T_{OG}, °C)	อุณหภูมิที่จุดสูงสุด (T_{PG}, °C)	อุณหภูมิที่จุดสิ้นสุด (T_{CG}, °C)	ความแตกต่างของอุณหภูมิที่จุดสิ้นสุดกับอุณหภูมิเริ่มต้น ($T_{CG} - T_{OG}$, °C)	พลังงานเอนทาลปี (ΔH_G, J/g)
NCS	62.21±0.16^{b}	67.58±0.35^{b}	78.27±0.58^{b}	16.06±0.43^{b}	18.18±0.29^{ns}
OSCS, DS 0.015	62.55±0.35^{b}	67.25±0.11^{c}	76.18±0.02^{c}	13.63±0.325^{c}	19.25±1.73^{ns}
HCS, 24 hours	65.53±0.28^{a}	68.89±0.35^{b}	76.40±0.51^{c}	10.87±0.530^{d}	17.73±0.69^{ns}
HOCS, DS 0.018	52.41±0.46^{c}	70.09±0.12^{a}	102.94±0.82^{a}	50.53±0.438^{a}	18.43±0.26^{ns}

แป้งมันสำปะหลัง (NCS); แป้งที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ (HCS); แป้งออกเทนนิลซัคซิเนต (OSCS); แป้งออกเทนนิลซัคซิเนตจากแป้งที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ (HOCS)

ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$); ns- ไม่มีความแตกต่างทางสถิติระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \geq 0.05$)

ตารางที่ 5 สมบัติการเกิดการคืนตัวของ NCS, OSCS ระดับการแทนที่ 0.015, HCS 24 ชั่วโมง และ HOCS ระดับการแทนที่ 0.018

ตัวอย่างแป้ง	อุณหภูมิเริ่มสลายผลึก แป้งรีโทรเกรด T_{OR} (°C)	ความแตกต่างของอุณหภูมิสุดท้ายของการสลายโครงร่างผลึกแป้งรีโทรเกรดกับอุณหภูมิเริ่มสลายโครงร่างผลึกแป้งรีโทรเกรด (T_{CR}-T_{OR})(°C)	ค่าพลังงานที่ใช้สลายโครงสร้างผลึกแป้งรีโทรเกรด $\triangle H_R$ (J/g)	ร้อยละการคืนตัว (ร้อยละ)
NCS	43.42±0.14^{b}	19.93±0.32^{a}	3.39±0.11^{b}	18.99±0.11^{b}
OSCS, DS 0.015	43.55±0.14^{b}	19.28±0.03^{a}	1.85±0.08^{c}	10.26±0.08^{c}
HCS, 24 hours	43.62±0.26^{b}	18.40±3.91^{b}	4.08±0.21^{a}	23.65±0.21^{a}
HOCS, DS 0.018	45.55±0.08^{a}	15.96±0.45^{c}	1.17±0.03^{d}	7.62±0.03^{d}

แป้งมันสำปะหลัง (NCS); แป้งที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ (HCS); แป้งออกเทนนิลซัคซิเนต (OSCS); แป้งออกเทนนิลซัคซิเนตจากแป้งที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ (HOCS)

ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$)

สรุปผลการวิจัย

การดัดแปรร่วมโดยการย่อยแป้งมันสำปะหลังเป็นเวลา 24 ชั่วโมงด้วยเอนไซม์ผสมระหว่างแอลฟาอะมิเลสและอะมิโลกลูโคซิเดสร่วมกันร้อยละ 0.139 (ต่อน้ำหนักแป้งแห้ง) หลังจากนั้นทำปฏิกิริยาเอสเทอร์ริฟิเคชั่นกับออกเทนนิลซัคซินิคแอนไฮไดรด์ร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักแป้งแห้ง (ลักษณะการดัดแปรดังกล่าวพิจารณาจากผลของลักษณะพื้นผิวเม็ดแป้ง ขนาดอนุภาคเฉลี่ย (D50) ระดับการแทนที่ และค่ากำลังการพองตัว) ได้เป็นแป้งมันสำปะหลังออกเทนนิลซัคซิเนตจากแป้งที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ (HOCS) พบว่าพื้นผิวเม็ดแป้งมีการย่อยทั้งภายนอกพื้นผิวและภายในส่วนกลางของเม็ดแป้ง และค่าระดับการแทนที่มีค่ามากกว่าการใช้ออกเทนนิลซัคซินิคแอนไฮไดรด์ดัดแปรเพียงอย่างเดียว ขนาดอนุภาคเฉลี่ยของแป้งออกเทนนิลซัคซิเนตจากแป้งที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์กับแป้งมันสำปะหลังไม่มีความแตกต่างกัน อุณหภูมิการเกิดเจลาติไนซ์เซชั่นของแป้งออกเทนนิลซัคซิเนตจากแป้งที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์จะมีค่าสูงกว่าแป้งที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์และแป้งออกเทนนิลซัคซิเนต และมีร้อยละการคืนตัวต่ำที่สุดคือเท่ากับร้อยละ 7.62 ($p<0.05$) จากผลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าแป้งออกเทนนิลซัคซิเนตจากแป้งที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์มีแนวโน้มในการใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารได้ เนื่องจากมีค่ากำลังการพองตัวสูงเมื่อได้รับความร้อนซึ่งเหมาะสำหรับนำไปใช้เพื่อเพิ่มความข้นหนืดในผลิตภัณฑ์อาหาร เช่น ซอสมะเขือเทศ และมายองเนส นอกจากนี้ยังมีการคืนตัวที่ต่ำเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำ ซึ่งมีความเหมาะสมอย่างยิ่งที่จะนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารแช่เย็นหรือแช่แข็ง และหากต้องการนำไปใช้เป็นสารทดแทนไขมัน (fat replacer) ในอาหาร อาจต้องดัดแปรแป้งด้วยวิธีอื่นๆ เพิ่มเติมเนื่องจาก ในการใช้แป้งทดแทนไขมันนั้นแป้งต้องมีขนาดอนุภาคที่เล็กจนมีขนาดใกล้เคียงกับไมเซลล์ของไขมัน (2-3 ไมครอน) ในอาหารจึงจะสามารถนำมาใช้ทดแทนเม็ดไขมันในอาหารได้อย่างมีประสิทธิภาพ เนื่องจากขนาดที่เล็กใกล้เคียงกันให้ความรู้สึกต่อเนื้อสัมผัส

(texture) และความรู้สึกเมื่ออยู่ในปาก (mouthfeel) ใกล้เคียงกับไขมันในอาหาร (Chun, 1997) แต่แป้งออกเทนนิลซัคซิเนตจากแป้งที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ (HOCS) ที่ได้จากการทดลองครั้งนี้ยังมีขนาดไม่แตกต่างจากแป้งมันสำปะหลังและใหญ่กว่าไมเซลล์ของไขมัน ดังนั้นในอนาคตอาจต้องมีการดัดแปรแป้งด้วยวิธีดัดแปรอื่นร่วมกับการใช้ออกเทนนิลซัคซินิค แอนไฮไดรด์เช่น การบดด้วยวิธี Ball milling หรือการใช้เอนไซม์ชนิดอื่นที่มีความเหมาะสมที่จะทำให้เม็ดแป้งที่ผ่านการย่อยมีขนาดเล็กลงได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์ที่ได้มอบทุนสนับสนุนการวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

Betancur, A.B., Cervera, E.G., Hernández, E.C., & Guerrero, L.H. (2002). Chemical Modification of Jack Bean (Canavalia ensiformis) Starch by Succinylation. *Starch/Stärke, 54*, 540-546.

Betancur, A.B., Chel, G.L., & Cañizares, H.E. (1997). Acetylation and Characterization of Canavalia ensiformis Starch. *Journal of Agricultural Food Chemistry, 45*, 378-382.

Bhandari, P.N., & Singhal, R.S. (2002). Effect of Succinylation on the Corn and Amaranth Starch Pastes. *Carbohydrate Polymer, 48*, 233-240.

Caldwell, C.G., & Wurzburg, O.B. (1953). *Modification of Starch with Octenyl Succinic Anhydride*. U.S. Pat. 2,661,349

Chen, Y. S., Huang, S. R., Tang, Z. F., Chen, X. W., & Zhang, Z. F. (2011). Structural Changes of Cassava Starch Granules Hydrolyzed by a Mixture of Alpha-Amylase and Glucoamylase. *Carbohydrate Polymers*, *85* (1), 272-275.

Chun, J., Lim, S.,Takeda, Y., & Shoki, M. (1997). Properties of High Crystalline Rice Amylodextrins Prepare in Acid-Alcohol Media as Fat Replacer. *Cereal Food World, 42*, 813-8.

Doungjai, T., & Charoenrein, S. (2006). Thermal and Pasting Properties of Native and Acid-Treated Starches Derivatized by 1-Octenyl Succinic Anhydride. *Carbohydrate Polymers, 66*, 258-265.

FAO. (1997). *Compendium of Food Additive Specification, Addendum 5, FAO Food and Nutrition Paper – 52 addenum 5*. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives 49th, Rome

Jacobs, H., Eerlingen, R.C., Clauwaert, W., & Delcour, J.A. (1995). Influence of Annealing on the Pasting Properties of Starches from Varying Botanical sources. *Cereal Chemistry, 72*, 480-487.

Karim, A. A., Norziah, M.H., & Seow, C.C. (2000). Method of Starch Retrogradation. *Food Chemistry, 71*, 9.

Larsson, L., & Eliasson, A.C. (1991). Annealing of Starch at an Intermediate Water Content. *Starch/Stärke, 43*(6), 227-231.

Leach, HW., Mc Cowen, L. D., & Schoch, T. J. (1959). Structure of the Starch Granule. I. Swelling and Solubility Patterns of Various Starches. *Cereal Chemistry, 36*, 534–544.

Liu, Q., & Thompson, D.B. (1998). Effects of Moisture Content and Different Gelatinization Heating Temperature on Retrogradation of Waxy – Type Maize Starch. *Carbohydrate Research, 314*, 221-235.

Napaporn, A., & Saiyavit, V. (2003). Characterization and Utilization of Acid –Modified Crosslinked Tapioca Starch in Phamacecal Tablets. *Carbohydrate Polymers, 53*, 263-270.

Noppaporn, P. (2007). *Modification of Amphoteric Tapioca Starch Containing Different Anionic Groups*. Master Thesis, Suranaree University, 97 p. (in Thai)

Sasaki, T., Yasui, T., & Maisaki, J. (2000). Effect of Amylase Content on Gelatinization, Retrogradation and Pasting Properties of Starch from Waxy and Non-Waxy Wheat and Their F1 Seed. *Cereal chemistry, 77*, 58-63.

Segura, E. M., & Sira, E. E. P. (2003). Characterization of Native and Modified Cassava Starches by Scanning Electro Microscopy and X-ray DiffractionTechniques. *Cereal World, 48*(2), 78-81.

Seow, C. C., & Thevamalar, K. (1993). Internal Plasticization of Granular Rice Starch by Hydroxypropylation: Effects on Phase Transitions Associated with Gelatinization. *Starch/Stärke, 45*(3), 85–88.

Shogren, R.L., Viswanathan, A., Felker, F., & Gross, R.A. (2000). Distribution of Octenyl Succinate Groups in Octenyl Succinic Anhydride Modified Waxy Maize Starch. *Starch/Stärke, 52*,196-204.

Singh, N., Chawla, D., & Singh, J. (2004). Influence of Acetic Anhydride on Physicochemical, Morphological and Thermal Properties of Corn and Potato Starch. *Food Chemistry, 86*, 601-608.

Song, X., He, G., Ruan, H., & Chen, Q. (2006). Preparation and Properties of Octenyl Succinic Anhydride Modified Early Indica Rice Starch. *Starch/Stärke, 58*,109-117.

Sriroth, K., Santisopasri, V., Petchalanuwat, C., Kurotjanawong, K., Piyachomkwan, K., & Oates, C.G. (1999). Cassava Starch Granule Structure – Function Properties: Influence of Time and Condition at Harvest on Four Cultivars of Cassava Starch. *Carbohydrate Polymer, 38*(2), 161-170.

Sweedman, M. C., Tizzotti, M. J., Schäfer, C., & Gilbert, R. G. (2013). Structure and Physicochemical Properties of Octenyl Succinic Anhydride Modified Starches: A Review. *Carbohydrate Polymer, 92*, 905–920.

Timgren, A., Marilyn, R., Petr, D., Diana, M., & Malin, S. (2013). Emulsion Stabilizing Capacity of Intact Starch Granules Modified by Heat Treatment of Octenyl Succinic Anhydride. *Food Science and Nutrition, 1*(2), 157-171.

Uthumporn, U., Zaidul, I. S.M., & Karim, A. A. (2010). Hydrolysis of Granular Starch at Sub Gelatinization Temperature Using a Mixture of Amylolytic Enzymes. *Food and Bioproducts Processing, 88*, 47-54.

Wang, W.J., Powell, A.D., & Otes, C.G. (1995). Pattern of Enzyme Hydrolysis in Row Sago Starch: Effects of Processing History. *Carbohydrate Polymer,26*, 91-97.

Ward, J.E.K., Hoseney, R.C., & Seiv, P.A. (1994). Retrogradation of Amylopectin from Maize and Wheat Starch. *Cereal chemistry*. *71*, 71-150.

Wurzburg, O.B. (1987). Introduction. In Wurzburg, O.B, ed. *Modified Starches: Properties and Uses*. CRC Press, Boca Raton, Florida

Zhang, Z., Siming, Z., & Shanbai, X. (2010). Synthesis of Octenyl Succinic Derivative of Mechanically Activated Indica Rice Starch. *Starch/Stärke*. *62*, 78-85.

Zherebtsov, N. A., Ruadze, I.D., & Yakovlev, A.N. (1995). Mechanism of Acid-Catalyzed and Enzymatic Hydrolysis of Starch. Applied Biochemical and Microbiology, *31*, 511-514.

มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์
BURIRAM RAJABHAT UNIVERSITY