แป้งพุทธรักษากินได้ *(Canna edulis)* ดัดแปรด้วยวิธีแอซิทิเลชัน

สิริรัตน์ สอาดรัตน์ [1] **ดุษฎี อุตภาพ** [2]
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี บางขุนเทียน กรุงเทพฯ 10150
จุรีรัตน์ พุดตาลเล็ก [3]
มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตพระราชวังสนามจันทร์ นครปฐม 73000
และ วิไล รังสาดทอง [4]
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ บางซื่อ กรุงเทพฯ 10800

รับเมื่อ 23 มิถุนายน 2547 ตอบรับเมื่อ 3 พฤศจิกายน 2547

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาการดัดแปรแป้งที่สกัดจากเหง้าพุทธรักษากินได้ *(Canna edulis)* พันธุ์ญี่ปุ่นเขียว ด้วยวิธีแอซิทิเลชัน โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อลดการคืนตัวและเพิ่มความคงตัวของเจลแป้ง จากการดัดแปรแป้งพุทธรักษากินได้ด้วยแอซิติกแอนไฮไดรด์ร้อยละ 5, 7 และ 9 โดยน้ำหนักแป้งแห้ง ที่อุณหภูมิ 25 °ซ และควบคุม pH ให้อยู่ในช่วง 8.0-8.5 พบว่า แป้งดัดแปรที่ได้มีปริมาณหมู่แอซิทิลร้อยละ 1.53, 2.09 และ 2.53 เมื่อตรวจสอบลักษณะเม็ดแป้งด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบแสงส่องกราด แป้งดัดแปรมีขนาดและรูปร่างเหมือนกับแป้งที่ไม่ผ่านการดัดแปร การศึกษาพฤติกรรมความหนืดของเจลแป้งด้วยเครื่อง Rapid Visco Analyzer ที่ความเข้มข้นของน้ำแป้งร้อยละ 6 พบว่าแป้งดัดแปรมีอุณหภูมิเริ่มเกิดความหนืดลดลง 6 องศาเซลเซียส ความหนืดสูงสุดลดลงเล็กน้อย และค่า set-back มีค่าลดลงร้อยละ 35-43 เมื่อเทียบกับแป้งที่ไม่ผ่านการดัดแปร รูปแบบการเปลี่ยนแปลงความหนืดของแป้งดัดแปรในช่วงความเร็วรอบในการกวน 160-480 รอบต่อนาที และ pH 2.6-6.8 มีลักษณะที่คล้ายคลึงกับแป้งที่ไม่ผ่านการดัดแปร นอกจากนี้พบว่าแป้งดัดแปรมีค่าความแข็งลดลงอย่างมากจาก 2,392 กรัม เป็น 197, 192 และ 205 กรัม เมื่อมีปริมาณหมู่แอซิทิลเป็นร้อยละ 1.53, 2.09 และ 2.53 ตามลำดับ ผลการทดลองที่ได้จากการวัดค่าร้อยละการแยกตัวจากเจลแป้งในช่วงการแช่เยือกแข็งและการละลายสนับสนุนว่า การดัดแปรแป้งพุทธรักษากินได้ด้วยวิธีแอซิทิเลชันสามารถลดการคืนตัวของแป้งได้

คำสำคัญ : แป้งพุทธรักษากินได้ / การดัดแปรแป้ง / แอซิทิเลชัน / ความหนืด / เจล

---

[1] *นักศึกษาระดับบัณฑิตศึกษา สายวิชาเทคโนโลยีชีวเคมี คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี*
[2] *รองศาสตราจารย์ สายวิชาเทคโนโลยีชีวเคมี คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี*
[3] *อาจารย์ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม*
[4] *ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์*

Edible Canna *(Canna edulis)* Starch Modified by Acetylation

Sirirat Saartrat [1], Dudsadee Uttapap [2]
King Mongkut's University of Technology Thonburi, Bangkhuntian, Bangkok 10150
Chureerat Puttarnlek [3]
Silapakorn University, Sanam Chandra Palace Campus, Nakorn Pathom 73000
and Vilai Rungsardthong [4]
King Mongkut's Institute of Technology North Bangkok, Bangsue, Bangkok 10800

Received 23 June 2004 ; accepted 3 November 2004

Abstract

Starch isolated from rhizomes of edible canna (Japanese-green cultivar) was modified by acetylation in order to reduce retrogradation and increase gel stability. Acetylation was carried out by treating the starches with 5, 7 and 9 % (w/w) of acetic anhydride at 25°C and pH between 8.0 - 8.5. The extent of acetylation increased proportionally with concentration of acetic anhydride used. The percentages of acetyl group determined by titration method were 1.53, 2.09 and 2.53. Examining under scanning electron microscope revealed that all of modified starches were still in intact granular form and there was no difference between native and modified starches. The viscoamylographs of 6% starch determined by Rapid Visco Analyzer at 160 rpm showed that acetylation decreased the pasting temperatures and slightly decreased the hot paste viscosity. The setback values of acetylated starches were approximately 35-43 % lower than those of native starches. This indicated that the retrogradation of canna starch was substantially reduced by acetylation. Pasting profiles of acetylated starches analyzed at agitation rates and pHs in ranges of 160-480 rpm and 2.6-6.8 were similar to those of native starch. The firmness (hardness) of canna starch gel was analyzed by texture analyzer using a 20 mm diameter-cylindrical plunger. With 6% starch solids in water at pH 6.8, all acetylated canna starches gave gels that were much less firm than that of native starch (197, 192, 205 and 2,392 g for 1.53, 2.09, 2.53% acetyl groups and native Japanese-green starches, respectively). The result of %syneresis values obtained from freeze-thaw stability confirmed that the retrogradation of canna starch could be reduced by acetylation.

Keywords : Edible Canna Starch / Starch Modification / Acetylation / Viscosity / Gel

---

[1] *Graduated Student, Division of Biochemical Technology, School of Bioresources and Technology.*
[2] *Associate Professor, Division of Biochemical Technology, School of Bioresources and Technology.*
[3] *Lecturer, Department of Biotechnology, Faculty of Engineering and Industrial Technology.*
[4] *Assistant Professor, Department of Agro-Industrial Technology, Faculty of Applied Science.*

1. บทนำ

การใช้ประโยชน์จากแป้งในอุตสาหกรรมอาหารมีมาเป็นเวลานานแล้ว โดยเฉพาะการใช้แป้งเพื่อให้ความหนืดและเพิ่มความคงตัวแก่ผลิตภัณฑ์ เช่น ซอสปรุงรส ซุป อาหารเด็กอ่อน เป็นต้น อย่างไรก็ตาม แป้งที่ได้จากแหล่งแป้งธรรมชาติ (native starch) อาจมีข้อจำกัดเช่น แป้งไม่คงตัวที่อุณหภูมิต่ำ ไม่ทนต่อสภาพเป็นกรด ความร้อนสูง และแรงเฉือน เป็นต้น ดังนั้นจึงต้องมีการปรับปรุงสมบัติของแป้งโดยนำแป้งที่ได้จากแหล่งธรรมชาติไปผ่านกรรมวิธีที่เหมาะสม เพื่อให้ได้แป้งที่มีสมบัติตรงตามความต้องการมากขึ้น

ปัญหาอย่างหนึ่งที่พบในการนำแป้งไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารคือ การคืนตัวของแป้ง (รีโทรเกรเดชัน; retrogradation) ซึ่งเกิดขึ้นหลังจากแป้งเกิดเจลาติไนเซชัน เมื่ออุณหภูมิต่ำลงโมเลกุลของอะมิโลสและสายโซ่ด้านนอกที่เป็นเส้นตรงของอะมิโลเพคตินจะเกิดการจัดเรียงตัวกัน โดยโมเลกุลของอะมิโลสซึ่งมีลักษณะเป็นเส้นตรงจะเกิดการเคลื่อนที่และจัดเรียงตัวในแนวขนานกับโมเลกุลของอะมิโลสด้วยกันเองหรือกับส่วนที่เป็นเส้นตรงในโมเลกุลของอะมิโลเพคติน และเมื่อโมเลกุลเข้าใกล้กันมากพอก็จะทำให้เกิดการยึดเกาะกันด้วยพันธะไฮโดรเจน ทำให้แป้งที่เกิดการเจลาติไนเซชันแล้วมีลักษณะปรากฏเปลี่ยนไป เช่น มีความขุ่นเพิ่มขึ้น มีการจับตัวกันเป็นก้อนหรือเกิดตะกอน เกิดซินเนอรีซิส (syneresis) คือการที่ของเหลวแยกตัวออกจากแป้งสุก ทำให้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพลดลง [1]

ในการลดการคืนตัวเพื่อเพิ่มความคงตัวของแป้ง อาจทำได้โดยการดัดแปรโครงสร้างของแป้งโดยการเติมหมู่แทนที่ลงไปในโมเลกุลแป้ง เช่น หมู่เอสเทอร์โดยการทำเอสเทอริฟิเคชัน (esterification) หรือหมู่อีเทอร์โดยการทำอีเทอริฟิเคชัน (etherification) แป้งเอสเทอร์ที่นิยมผลิตในทางการค้าและอนุญาตให้ใช้ในอาหาร ได้แก่ แป้งแอซิเทต (starch acetate) และ แป้งฟอสเฟตโมโนเอสเทอร์ (starch phosphate monoester) [1] แป้งแอซิเทตได้จากการทำปฏิกิริยาแอซิทิเลชัน (acetylation) ระหว่างสตาร์ชกับแอซิติกแอนไฮไดรด์หรือไวนิลแอซิเทต โดยระดับการแทนที่ที่ผลิตเป็นการค้าเพื่อใช้ในอาหารจะมีค่าน้อยกว่า 0.1 [2]

โดยทั่วไปพบว่าแป้งที่ผ่านการดัดแปรโดยวิธีแอซิทิเลชันจะมีค่าอุณหภูมิเริ่มเกิดความหนืด (pasting temperature) ลดลง [3-8] เมื่อศึกษารูปแบบความหนืดของแป้งโดย Brabender viscoamylograph หรือ Rapid Visco Analyser (RVA) ส่วนใหญ่รายงานว่าแป้งแอซิเทตมีความหนืดสูงขึ้น [3-5, 7, 9] ส่วนค่า setback มีทั้งที่รายงานว่ามีค่าเพิ่มขึ้นและลดลง [4, 6-7, 9] ทั้งนี้ขึ้นกับชนิดของแป้งและปริมาณอะมิโลสในแป้ง เมื่อวิเคราะห์การคืนตัวของแป้งแอซิเทตโดยวิธีการอื่นๆ เช่น การศึกษาความคงตัวของแป้งต่อการแช่แข็ง-ละลาย (freeze-thaw stability) [3-4, 9] การวิเคราะห์โดย Differential Scanning Calorimeter [8] ผลที่ได้สนับสนุนว่าการดัดแปรโดยวิธีแอซิทิเลชันทำให้แป้งมีการคืนตัวลดลง

พุทธรักษากินได้ (edible canna : *Canna edulis* Ker.) เป็นพืชเก่าแก่ชนิดหนึ่งของโลก มีถิ่นกำเนิดในแถบ Andes ทวีปอเมริกาใต้ ส่วนการนำมาปลูกในประเทศไทย ไม่ปรากฏหลักฐานอ้างอิงชัดเจน ทราบแต่เพียงว่าเป็นพืชที่คุ้นเคยกันในชื่อสาคูจีน พุทธรักษากินได้มีการสะสมแป้งในส่วนเหง้าใต้ดิน แป้งที่สกัดได้พบว่ามีองค์ประกอบอื่นๆ ในปริมาณต่ำ (ไขมัน < ร้อยละ 0.1, โปรตีน < ร้อยละ 0.5) เมื่อให้ความร้อนกับสารแขวนลอยของแป้งในน้ำ

จะได้แป้งสุกที่ใสและมีความหนืดสูง [10] ซึ่งน่าจะนำไปใช้เป็นสารให้ความข้นหนืดในผลิตภัณฑ์ต่างๆ ได้ อย่างไรก็ตาม จากการศึกษาของวัชรินทร์ จันทร์สุวรรณ [10] และ Thitipraphunkul และคณะ [11] พบว่าแป้งจากพุทธรักษามีความคงตัวต่อการแช่แข็ง-ละลายต่ำ (%syneresis สูง) อีกทั้งความรู้ที่ได้จากภูมิปัญญาท้องถิ่นในประเทศเวียดนาม ที่นำแป้งพุทธรักษาไปใช้ในการทำแผ่นก๋วยเตี๋ยว บ่งชี้ว่าแป้งพุทธรักษาน่าจะเป็นแป้งที่มีการคืนตัวของแป้งสูง ในกรณีที่ต้องการนำแป้งไปใช้เป็นสารให้ความข้นหนืด ต้องการแป้งที่มีการคืนตัวต่ำเพื่อให้แป้งสามารถแขวนลอยอยู่ในผลิตภัณฑ์โดยไม่แยกตัวหรือตกตะกอนออกมา ดังนั้นจึงต้องปรับปรุงคุณสมบัติของแป้งพุทธรักษาให้เกิดการคืนตัวน้อยลง การดัดแปรแป้งด้วยวิธีเอสเทอริฟิเคชันช่วยให้โมเลกุลของแป้งจับตัวกันใหม่ยากขึ้น จึงเป็นวิธีหนึ่งที่นิยมในการลดการคืนตัวของแป้ง

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาการดัดแปรแป้งพุทธรักษากินได้สายพันธุ์ญี่ปุ่นเขียวด้วยวิธีแอซิทิเลชันให้มีระดับการแทนที่ต่ำกว่า 0.1 เพื่อให้แป้งเกิดการคืนตัวน้อยลง ได้แป้งที่มีความคงตัวมากขึ้น และสามารถนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารได้

2. วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

2.1 วัตถุดิบ

แป้งพุทธรักษากินได้ *(Canna edulis)* พันธุ์ญี่ปุ่นเขียวปลูกที่ศูนย์วิจัยข้าวโพดข้าวฟ่างแห่งชาติ อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา เก็บเกี่ยวเหง้าหลังจากเพาะปลูกประมาณ 10 เดือน และนำมาสกัดแป้งที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง จังหวัดระยอง

2.2 วิธีการทดลอง

การเตรียมแป้งแอซิเทต [12, 13]

นำแป้งพุทธรักษากินได้มาดัดแปรโดยวิธีการแอซิทิเลชันด้วยแอซิติกแอนไฮไดรด์ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยใช้แอซิติกแอนไฮไดรด์ปริมาณร้อยละ 5, 7 และ 9 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักแป้งแห้ง และควบคุม pH ให้อยู่ในช่วง 8 - 8.5 โดยมีขั้นตอนการเตรียมดังนี้ ชั่งแป้ง 170 กรัม โดยน้ำหนักแป้งแห้ง ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 600 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นลงไป 225 กรัม กวนให้เข้ากัน ปรับ pH ของน้ำแป้งเป็น 8.0 - 8.5 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 3 เติมแอซิติกแอนไฮไดรด์จากบิวเรตผ่านสายยาง โดยปรับให้ค่อยๆ หยดลงในน้ำแป้ง เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 3 เป็นระยะๆ เพื่อรักษา pH ให้อยู่ในระดับที่ต้องการ หลังจากเติมแอซิติกแอนไฮไดรด์หมดแล้ว กวนน้ำแป้งต่อไปอีก 1 นาที หรือจนกว่า pH จะคงที่ แล้วปรับ pH เป็น 6.5 ด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.5 นอร์มอล นำน้ำแป้งไปกรองด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ ล้างแป้งโดยเติมน้ำกลั่นประมาณ 500 มิลลิลิตร กวนให้เข้ากันแล้วกรอง โดยทำการล้างแป้ง 3 ครั้ง นำแป้งไปอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสประมาณ 20 ชั่วโมง จนมีความชื้นในช่วงร้อยละ 7 - 9 บดแป้งให้ละเอียดด้วยเครื่องบดอาหาร แล้วนำไปร่อนด้วยตะแกรงขนาด 140 mesh

การวิเคราะห์ปริมาณของหมู่แอซิทิลของแป้งแอซิเทต ระดับการแทนที่ และประสิทธิภาพการเกิดปฏิกิริยา [14]

วิเคราะห์ปริมาณของหมู่แอซิทิลในแป้งแอซิเทต โดยวิธีการไตเตรตมีขั้นตอนการวิเคราะห์และคำนวณดังนี้ ละลายแป้งแอซิเทต 5 กรัม ลงในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตรที่มีจุกปิด ใช้ phenolphthalein เป็นอินดิเคเตอร์ เติม 0.1 M NaOH ให้สารละลายมีชมพู เติม 0.4 M NaOH 25 มิลลิลิตร ลงในสารละลาย คนของผสมที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที ปิดจุก flask เพื่อป้องกันการระเหยขณะเกิดปฏิกิริยา saponification หลังจากนั้นสะเทินด่างที่เหลือจากปฏิกิริยาในตัวอย่างด้วย 0.2 M HCl

ร้อยละของหมู่แอซิทิล (%acetyl group) ระดับการแทนที่ (Degree of substitution; DS) และประสิทธิภาพของการเกิดปฏิกิริยา (reaction efficiency) คำนวณได้จากสมการดังนี้

$$\text{ร้อยละของหมู่แอซิทิล} = \frac{(\text{value for blank - value for sample}) \text{ ml x normality of HCl x } 0.043 \text{ x } 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

$$\text{ระดับการแทนที่} = \frac{162 \text{ x (ร้อยละของหมู่แอซิทิล)}}{4{,}300 - \{42 \text{ x (ร้อยละของหมู่แอซิทิล)}\}}$$

$$\text{ประสิทธิภาพของการเกิดปฏิกิริยา (\%)} = \frac{\text{ระดับการแทนที่}}{\text{จำนวนโมลของแอซิทิล / จำนวนโมลของแอนไฮโดร - D - glucose unit}}$$

การวิเคราะห์ลักษณะของเม็ดแป้งที่ผ่านกระบวนการแอซิทิเลชัน

- ด้านลักษณะทางสัณฐานวิทยาและขนาดของเม็ดแป้งด้วยเครื่อง Scanning Electron Microscope (JSM-5800, JEOL, Japan) [15]

- ด้านการสูญเสียสมบัติ birefringence ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงโพลาไรซ์ (polarized light) [16]

การวิเคราะห์สมบัติทางเคมีกายภาพของแป้งพุทธรักษากินได้ดัดแปร

- ด้านพฤติกรรมการเปลี่ยนแปลงความหนืดของแป้งโดยเครื่อง Rapid Visco Analyzer (RVA-4 SA, Newport Scientific PYT Ltd., NSW, Australia) ตามวิธีการของ Thitipraphunkul และคณะ [11]

- ด้านความคงตัวของแป้งดัดแปรต่อแรงเฉือนและความเป็นกรดโดยใช้ Rapid Visco Analyzer การศึกษาความคงตัวของแป้งต่อแรงเฉือน โดยแปรความเร็วรอบการหมุนของใบกวนเป็น 3 ระดับ คือ 240, 320 และ 480 รอบต่อนาที การศึกษาความคงตัวของแป้งต่อความเป็นกรด โดยเติมบัฟเฟอร์ citrate - phosphate ลงไปใน aluminium canister เพื่อควบคุม pH ให้อยู่ในระดับ 2.6, 3.0 และ 4.0

- ด้านความคงตัวของแป้งดัดแปรต่อการแช่แข็งและการละลาย (Freeze-thaw stability) [11] เตรียมสารละลายแป้งร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก มาทำให้เป็นเจลในอ่างน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส

เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นจึงถ่ายเจลแป้งปริมาตร 8 มิลลิลิตร ลงใน centrifuge tube ขนาด 15 มิลลิลิตร ที่ทราบน้ำหนักแล้วปิดฝา เช็ดหลอดทดลองทั้งหมดให้แห้งและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนเย็น แล้วจึงนำหลอดทดลองที่มีเจลแป้งบรรจุอยู่ไปชั่งน้ำหนักเริ่มต้นก่อนทำการแช่แข็งและการละลาย (Wi) นำหลอดทดลองเข้าตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 ชั่วโมง จึงนำถาดโฟมออกมาละลายโดยนำมาแช่ในอ่างน้ำร้อนที่ควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 25-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง เมื่อครบตามเวลาที่กำหนด นำเฉพาะหลอดทดลองที่ต้องการทดสอบ cycle แรกออกมาเท่านั้น ส่วนที่เหลือจะนำเข้าตู้แช่แข็งอีกครั้ง นำหลอดทดลองมาหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นให้ถ่ายน้ำที่บริเวณผิวหน้าเจลแป้งออก นำหลอดทดลองที่ถ่ายน้ำออกแล้วมาชั่งน้ำหนักสุดท้าย (Wf) เพื่อนำมาคำนวณหาค่า % syneresis จากสูตร

$$\%\text{syneresis} = \left(\frac{Wi - Wf}{Wi}\right) \times 100$$

นำหลอดทดลองที่เหลือออกมาละลายที่อุณหภูมิห้องในวันที่ 2, 4 และ 7 ก่อนจะนำไปวัด % syneresis โดยทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ

- ด้านลักษณะเนื้อสัมผัสของเจลแป้งสุกโดยเครื่อง Texture Analyzer ประกอบหัววัดรูปทรงกระบอกรุ่น SMS P/20 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20 มิลลิเมตร เข้ากับเครื่อง Texture Analyzer (TA-XT2i, Stable Micro System Co., Ltd., UK) ทำการ calibrate force โดยใช้ตุ้มน้ำหนักมาตรฐาน 5,000 กรัม calibrate probe โดยตั้งระยะหัววัดให้ห่างจากแท่นวางตัวอย่าง 40 มิลลิเมตร เลือกรูปแบบการวัดเป็นแบบ compression force นำเจลที่ได้จากการวิเคราะห์ความหนืดด้วยเครื่อง RVA ซึ่งเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง มาวัดเนื้อสัมผัสด้านความแข็ง (hardness)

3. ผลการทดลองและวิจารณ์

3.1 การดัดแปรแป้งพุทธรักษาด้วยแอซิติกแอนไฮไดรด์ร้อยละ 5, 7 และ 9 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักแป้ง

ผลการวิเคราะห์ปริมาณหมู่แอซิทิล ระดับการแทนที่ และประสิทธิภาพของการทำปฏิกิริยาแสดงดังตารางที่ 1 พบว่าปริมาณหมู่แอซิทิลที่ได้ใกล้เคียงกับที่ได้คาดคะเนไว้ก่อนทำการทดลอง คือ คาดว่าจะได้หมู่แอซิทิลที่ร้อยละ 1.5, 2.0 และ 2.5 ตามลำดับ แสดงว่าการดัดแปรแป้งพุทธรักษาด้วยวิธีแอซิทิเลชันที่ระดับการแทนที่ต่ำเป็นกระบวนการที่ควบคุมได้ง่ายและให้ผลที่มีความแน่นอนสูง ประสิทธิภาพการเกิดปฏิกิริยาที่ได้ใกล้เคียงกับที่ Wurzburg [12] ได้รายงานไว้ว่าการดัดแปรแป้งโดยการแอซิทิเลชันด้วยแอซิติกแอนไฮไดรด์ที่ระดับการแทนที่ต่ำ (DS < 0.1) จะมีประสิทธิภาพในการเกิดปฏิกิริยาที่ประมาณร้อยละ 70 เนื่องจากในระหว่างกระบวนการดัดแปรจะมีการสูญเสียแอซิติกแอนไฮไดรด์บางส่วนจากการเกิดไฮโดรไลซิส เมื่อนำค่าร้อยละของหมู่แอซิทิลที่แทนที่ในแป้งดัดแปรมาเขียนกราฟความสัมพันธ์กับปริมาณแอซิติกแอนไฮไดรด์ที่ใช้ในการดัดแปรแป้ง (ไม่ได้แสดงกราฟ) พบว่าในช่วงความเข้มข้น แอซิติกแอนไฮไดรด์ที่ร้อยละ 5-9 ปริมาณหมู่แอซิทิลจะแปรผันโดยตรงกับปริมาณของแอซิติกแอนไฮไดรด์ที่เติมลงไป โดยมีค่า regression coefficient (r^2) เท่ากับ 0.995 ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ

เอกพันธุ์ แก้วมณีชัย [13] ที่ทำการดัดแปรแป้งมันสำปะหลัง แป้งข้าวเจ้าและแป้งข้าวเหนียวด้วยวิธีแอซิทิเลชัน และพบว่าปริมาณหมู่แอซิทิลของแป้งดัดแปรทั้งสามชนิดจะแปรผันตรงกับปริมาณแอซิติกแอนไฮไดรด์ที่ใช้ทำปฏิกิริยาเช่นเดียวกัน แป้งพุทธรักษากินได้ดัดแปรด้วยวิธีการแอซิทิเลชันที่มีปริมาณของหมู่แอซิทิล 1.5 -2.5 นี้ จัดเป็นแป้งชนิดที่มีระดับการแทนที่ต่ำ (DS 0.1) ซึ่งเป็นแป้งที่อนุญาตให้นำไปใช้ในอาหารได้ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม [17]

ตารางที่ 1 ปริมาณร้อยละของหมู่แอซิทิล ระดับการแทนที่ และประสิทธิภาพของการทำปฏิกิริยาจากการดัดแปรแป้งพุทธรักษาด้วยวิธีแอซิทิเลชัน

ปริมาณแอซิติก แอนไฮไดรด์ (ร้อยละต่อน้ำหนักแป้งแห้ง)	ร้อยละของหมู่แอซิทิล	ระดับการแทนที่	ประสิทธิภาพของการทำปฏิกิริยา (%)
5	1.53	0.06	75.57
7	2.09	0.08	71.94
9	2.53	0.10	69.97

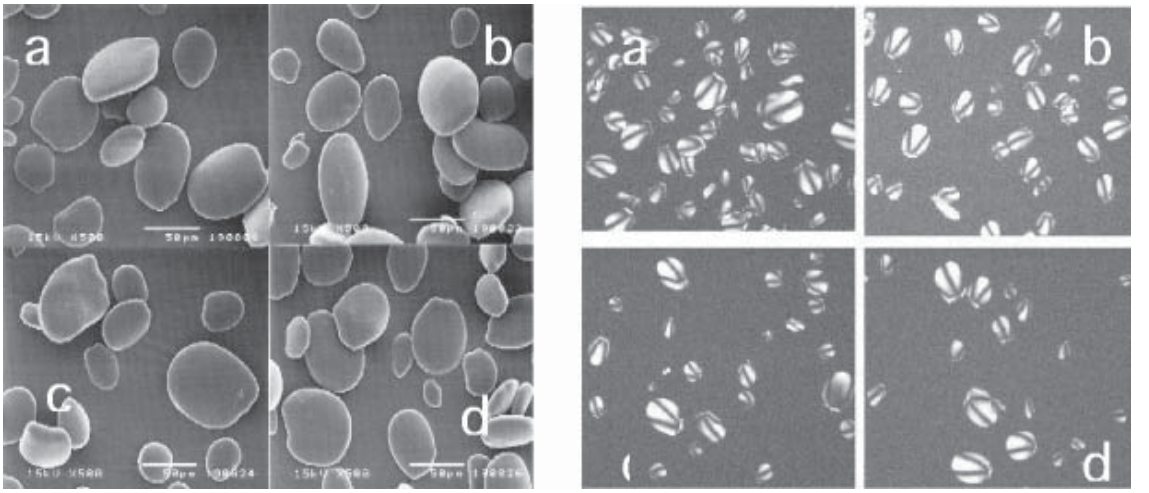
3.2 ลักษณะของเม็ดแป้งแอซิเทต

ลักษณะเม็ดแป้งโดย Scanning Electron Microscope

ผลที่ได้แสดงดังรูปที่ 1 (ก) พบว่า เม็ดแป้งพุทธรักษาที่ผ่านการดัดแปรที่มีปริมาณของหมู่แอซิทิลร้อยละ 1.5, 2.0 และ 2.5 เม็ดแป้งไม่เสียสภาพและยังคงมีลักษณะเป็นรูปไข่ กลม ผิวของเม็ดแป้งแอซิเทตค่อนข้างเรียบ รูปร่างและขนาดของเม็ดแป้งไม่เปลี่ยนแปลง Jarowenko [18] รายงานว่า เมื่อศึกษาลักษณะของเม็ดแป้งที่ดัดแปรโดยวิธีแอซิทิเลชันที่ระดับการแทนที่ต่ำ ถึง 0.5 ด้วย SEM พบว่าผิวของเม็ดแป้งจะเรียบมีรอยบ้าง รอยแตกหรือรูอาจเกิดจากการอบแป้ง อย่างไรก็ตาม งานวิจัยส่วนใหญ่ที่เกี่ยวข้องกับการดัดแปรแป้งโดยการเติมหมู่แอซิทิลที่ระดับการแทนที่ต่ำ พบว่าลักษณะของเม็ดแป้งหลังการดัดแปรไม่มีความแตกต่างจากแป้งที่ไม่ผ่านการดัดแปร [16, 19]

ลักษณะผลึกด้านไบรีฟรินเจนซ์ของเม็ดแป้งโดยกล้องจุลทรรศน์ภายใต้แสงโพลาไรซ์

ผลที่ได้แสดงดังรูปที่ 1 (ข) พบว่าแป้งที่ผ่านและไม่ผ่านการดัดแปรมีลักษณะไบรีฟรินเจนซ์ที่ไม่แตกต่างกัน แสดงว่าโครงสร้างผลึกของแป้งไม่ถูกทำลายไป ดังนั้นการแทนที่ด้วยหมู่แอซิทิลจึงน่าจะเกิดในส่วนอสัณฐานซึ่งเป็นส่วนที่สารเคมีเข้าไปทำปฏิกิริยาได้ง่าย ทำให้เม็ดแป้งยังรักษาโครงสร้างผลึกไว้ได้ [4, 18]



(ก) (ข)

รูปที่ 1 ภาพลักษณะของเม็ดแป้งพุทธรักษาจาก Scanning Electron Microscopy (SEM) กำลังขยาย 500 เท่า (ก) และกล้องจุลทรรศน์ภายใต้แสงโพลาไรซ์ (ข)

(a) เม็ดแป้งที่ไม่ผ่านการดัดแปร

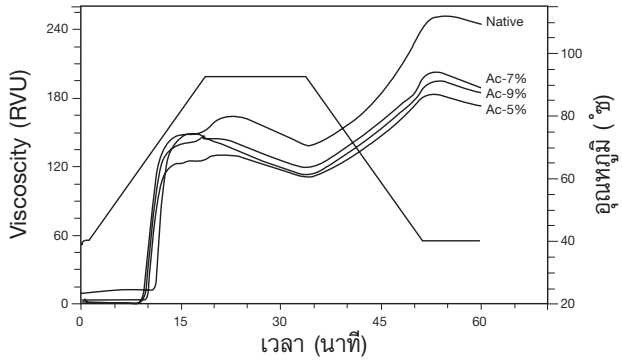
(b) เม็ดแป้งที่ผ่านการดัดแปรโดยมีหมู่แอซิทิลร้อยละ 1.53

(c) เม็ดแป้งที่ผ่านการดัดแปรโดยมีหมู่แอซิทิลร้อยละ 2.09

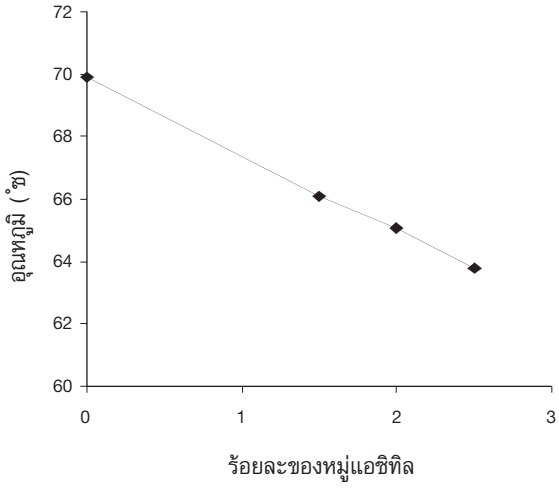
(d) เม็ดแป้งที่ผ่านการดัดแปรโดยมีหมู่แอซิทิลร้อยละ 2.53

3.3 พฤติกรรมความหนืดของแป้งพุทธรักษากินได้ที่มีหมู่แอซิทิลร้อยละ 0 - 2.5

อะมิโลแกรมและรูปแบบการลดลงของอุณหภูมิเริ่มเกิดความหนืดของแป้ง (pasting temperature) ของแป้งพุทธรักษากินได้ที่มีหมู่แอซิทิลร้อยละ 0 - 2.5 แสดงดังรูปที่ 2 และ 3 ตามลำดับ จะเห็นว่าอุณหภูมิเริ่มเกิดความหนืดของแป้งแอซิเทตจะต่ำกว่าแป้งที่ไม่ผ่านการดัดแปร และอุณหภูมิเริ่มเกิดความหนืดของแป้งแอซิเทตจะลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ตามปริมาณของหมู่แอซิทิลที่เพิ่มขึ้น แป้งพุทธรักษากินได้ซึ่งมีอุณหภูมิเริ่มเกิดความหนืดเป็น 70 องศาเซลเซียส จะมีอุณหภูมิเริ่มเกิดความหนืดลดลงเป็น 64 องศาเซลเซียส เมื่อผ่านการดัดแปรให้มีปริมาณหมู่แอซิทิลร้อยละ 2.5 การลดลงของอุณหภูมิเริ่มเกิดความหนืด เป็นผลจากการที่หมู่แอซิทิลที่เข้าไปแทนที่ในโมเลกุลของแป้งโดยเฉพาะในส่วนอสัณฐานของเม็ดแป้ง ทำให้การยึดเกาะระหว่างโมเลกุลของแป้งมีความแข็งแรงลดลง เนื่องจากหมู่แอซิทิลไปขัดขวางการยึดเกาะกันด้วยพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุล [20] ส่งผลให้บริเวณอสัณฐานของเม็ดแป้งมีความแข็งแรงลดลง ดังนั้นเมื่อให้ความร้อนแป้งแอซิเทตจะพองตัวได้เร็วกว่าแป้งที่ไม่ผ่านการดัดแปร [1] การลดลงของอุณหภูมิเริ่มเกิดความหนืดพบได้ในแป้งทั่วไปที่ผ่านการดัดแปรโดยวิธีแอซิทิเลชันที่ระดับการแทนที่ต่ำ โดยมีรายงานว่าแป้งดัดแปรจะมีอุณหภูมิเริ่มเกิดความหนืดลดลงในช่วง 5-12 องศาเซลเซียส [3, 4, 8]



รูปที่ 2 อะมิโลแกรมของแป้งพุทธรักษากินได้
และแป้งพุทธรักษาที่ผ่านการดัดแปรด้วยแอซิติกแอนไฮไดรด์ระดับต่างๆ



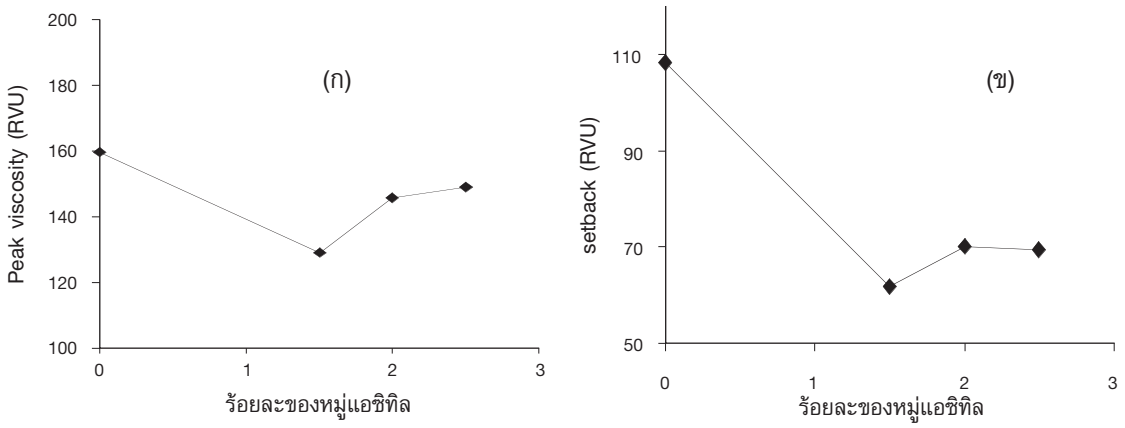
รูปที่ 3 รูปแบบการลดลงของอุณหภูมิเริ่มเกิดความหนืดของแป้งพุทธรักษา
ที่มีหมู่แอซิทิลระหว่างร้อยละ 0 - 2.5

รูปแบบการเปลี่ยนแปลงค่าความหนืดสูงสุด (peak viscosity) และค่า setback ของแป้งพุทธรักษากินได้ที่มีหมู่แอซิทิลร้อยละ 0 - 2.5 แสดงดังรูปที่ 4 แป้งพุทธรักษาที่ไม่ผ่านการดัดแปรมีความหนืดสูงกว่าแป้งพุทธรักษาที่ผ่านการดัดแปร (รูปที่ 4 ก) ผลการทดลองที่ได้ค่อนข้างขัดแย้งกับรายงานส่วนใหญ่ที่พบว่า แป้งที่ผ่านการดัดแปรโดยการเติมหมู่แอซิทิลที่ระดับการแทนที่ต่ำ จะมีความหนืดของแป้งสูงกว่าแป้งที่ไม่ผ่านการดัดแปร [4 ,7, 9] แม้ว่าจะมีบางงานวิจัยที่รายงานว่าแป้งดัดแปรมีความหนืดลดลงเล็กน้อยหรือไม่เปลี่ยนแปลง [6, 16] การที่ความหนืดของแป้งพุทธรักษาไม่เพิ่มขึ้นอาจเกี่ยวข้องกับองค์ประกอบทางเคมีของแป้งพุทธรักษา จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของแป้งพุทธรักษากินได้โดย Thitipraphunkul และคณะ [21] พบว่าแป้งพุทธรักษากินได้มีหมู่ฟอสเฟต (ฟอสเฟตโมโนเอสเทอร์) และแคลเซียมในปริมาณที่สูงเมื่อเทียบกับแป้งชนิดอื่นๆ หมู่ฟอสเฟตและแคลเซียมนี้จะยึดเหนี่ยวกันทำให้แป้งพุทธรักษามีสมบัติคล้ายกับแป้งครอสลิง ทำให้เม็ดแป้งมีความแข็งแรง การเติมหมู่แอซิทิลจึงไม่มีผลทำให้ความหนืดสูงขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าแป้งมีความหนืดลดลงจากเดิมด้วย ซึ่งอาจ

อธิบายได้จากสมบัติของหมู่แอซิทิลที่เติมเข้าไป โดยหมู่แอซิทิลเป็นหมู่ที่มีสมบัติไม่ชอบน้ำ [2] ทำให้โมเลกุลน้ำแทรกเข้าไปในเม็ดแป้งได้น้อยลง การพองตัวและความหนืดของแป้งจึงลดลงด้วย

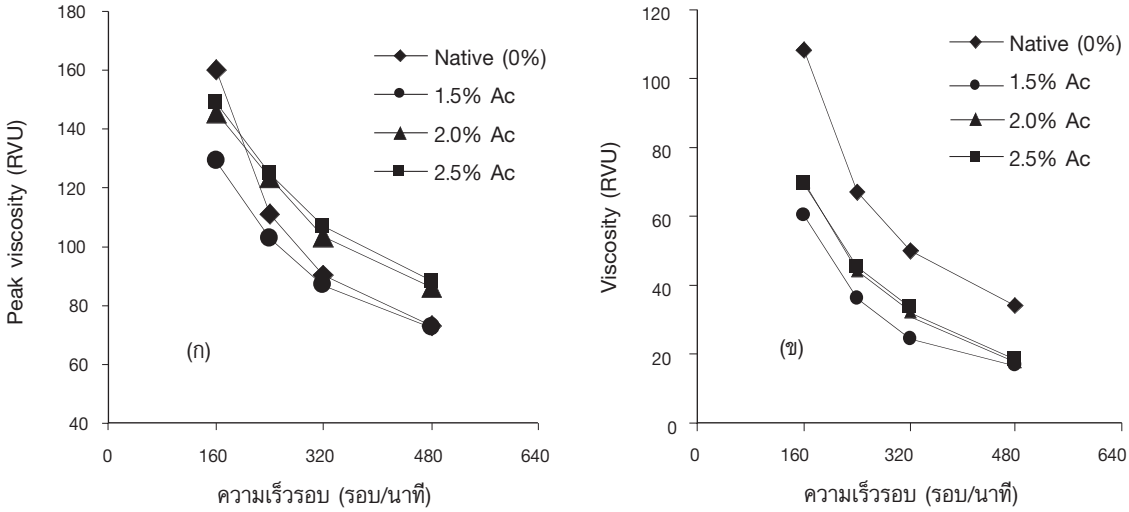
แป้งดัดแปรมีค่า setback ลดลงร้อยละ 35 - 43 (รูปที่ 4 ข) คือจาก 108 เป็น 62, 70 และ 70 RVU เมื่อมีปริมาณหมู่แอซิทิลร้อยละ 1.5, 2.0 และ 2.5 ตามลำดับ เนื่องจากหมู่แทนที่ไปยับยั้งการจับกันใหม่ของโมเลกุลอะมิโลสและโซ่ที่เป็นสายตรงของอะมิโลเพคติน ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่าการดัดแปรแป้งพุทธรักษากินได้โดยวิธีแอซิทิเลชันสามารถลดการคืนตัวของแป้งได้

3.4 ความคงตัวของแป้งดัดแปรต่อการกวน



รูปที่ 4 รูปแบบการเปลี่ยนค่าความหนืดสูงสุด (ก) และค่า setback (ข) ของแป้งพุทธรักษากินได้ ที่มีหมู่แอซิทิลร้อยละ 0 - 2.5

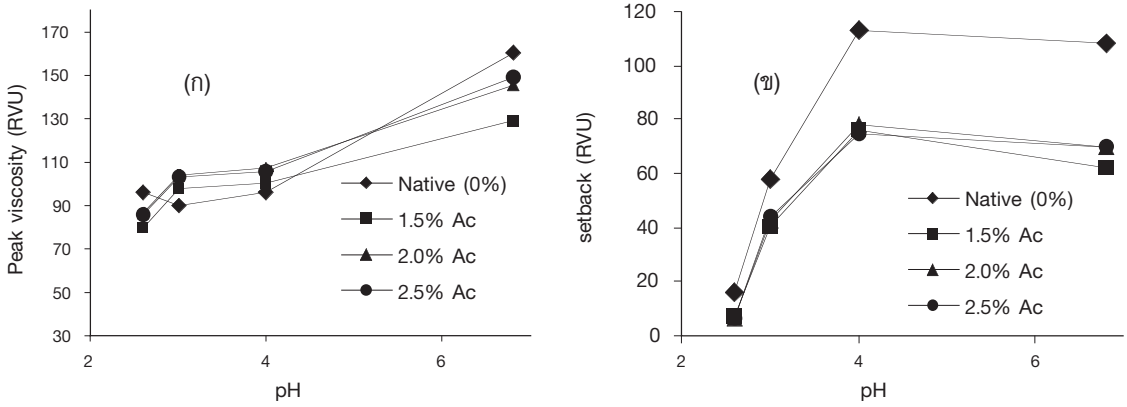
รูปที่ 5 แสดงผลของความเร็วรอบในการกวนต่อค่าความหนืดสูงสุดและค่า setback ของแป้งพุทธรักษา พบว่า ความหนืดสูงสุด (รูปที่ 5 ก) ของทั้งแป้งดัดแปรและไม่ผ่านการดัดแปรจะลดลงในระดับที่ใกล้เคียงกันเมื่อเพิ่มความเร็วรอบในการกวน เนื่องจากแรงเฉือนจากการกวนจะทำให้เม็ดแป้งที่พองตัวและโมเลกุลแป้งกระจายตัวได้มากขึ้นส่งผลให้ความหนืดของแป้งเปียกลดลง สำหรับค่า setback (รูปที่ 5 ข) พบว่ามีค่าลดลงเมื่อเพิ่มความเร็วรอบในการกวน แป้งดัดแปรที่ทุกระดับการแทนที่ มีค่า setback ที่ความเร็วในการกวนต่างๆ ใกล้เคียงกันและต่ำกว่าแป้งที่ไม่ผ่านการดัดแปร



รูปที่ 5 ผลของความเร็วรอบในการกวนต่อความหนืดสูงสุด (ก) และค่า setback (ข) ของแป้งพุทธรักษากินได้ ที่มีหมู่แอซิทิลร้อยละ 0 - 2.5

3.5 ความคงตัวของแป้งดัดแปรต่อสภาพความเป็นกรด

รูปที่ 6 ก แสดงผลของ pH ที่ 2.6, 3.0 และ 4.0 ต่อค่าความหนืดสูงสุดของแป้งพุทธรักษากินได้ที่มีหมู่แอซิทิลร้อยละ 0 - 2.5 พบว่าเมื่อ pH ลดลงจาก 6.8 เป็น 4.0 ความหนืดสูงสุดของแป้งพุทธรักษาจะลดลงอย่างชัดเจน แต่เมื่อลด pH ลงไปอีกจนถึง 2.6 ค่าความหนืดสูงสุดไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก การที่แป้งมีความหนืดสูงสุดลดลงเมื่อ pH เป็นกรดมากขึ้น เนื่องจากในสภาพกรดพันธะกลูโคซิดิกจะถูกไฮโดรไลซ์ทำให้สายแป้งมีขนาดสั้นลง ดังนั้นความหนืดของแป้งจึงลดลง ที่ pH ต่ำๆ (2.6-4.0) ความหนืดสูงสุดของแป้งดัดแปรจะมีค่าใกล้เคียงกับแป้งที่ไม่ผ่านการดัดแปรมากขึ้น

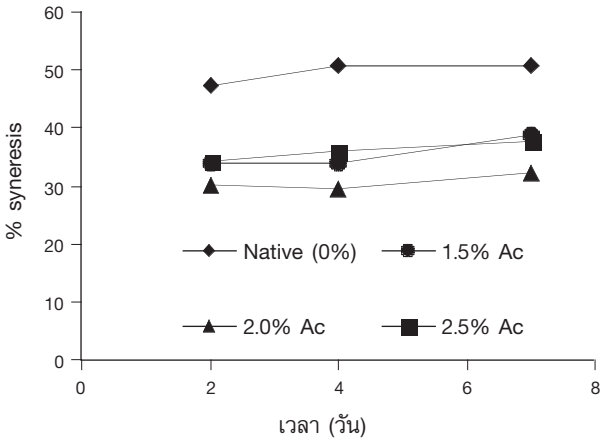


รูปที่ 6 ผลของ pH ต่อความหนืดสูงสุด (ก) และค่า setback (ข) ของแป้งพุทธรักษากินได้ ที่มีหมู่แอซิทิลร้อยละ 0 - 2.5

ผลของ pH ต่อการเปลี่ยนแปลงของค่า setback (รูปที่ 6 ข) พบว่าเมื่อลด pH ลงจาก 6.8 เป็น 4.0 ค่า setback มีค่าใกล้เคียงกัน แต่เมื่อลด pH จาก 4.0 ลงไปจนถึง 3.0 และ 2.6 ค่า setback มีค่าลดลงอย่างเห็นได้ชัดที่สภาพความเป็นกรดมากขึ้น โมเลกุลแป้งถูกไฮโดรไลซ์ซึ่งจะทำให้โมเลกุลของทั้งอะมิโลสและอะมิโลเพคตินกระจัดกระจายออกมามาก เมื่อลดอุณหภูมิน่าจะเกิดรีโทรเกรเดชันได้ดี (นั่นคือ setback ควรมีค่าสูง) แต่ผลการทดลองพบว่า เมื่อเป็นกรดมากขึ้น setback กลับมีค่าลดลงอย่างชัดเจน ทั้งนี้อาจเนื่องจากในสภาพที่เป็นกรดโมเลกุลน้ำจะเข้าไปแทรกอยู่ระหว่างสายพอลิเมอร์ของแป้งมากขึ้นหรือสายของอะมิโลสที่สั้นลงทำให้โมเลกุลว่องไวมากขึ้น ทำให้โอกาสที่อะมิโลสจะกลับมาสร้างพันธะไฮโดรเจนระหว่างสายพอลิเมอร์ลดลง ดังนั้นค่า setback จึงลดลง

3.6 ความคงตัวของแป้งดัดแปรต่อการแช่เยือกแข็ง-ละลาย

ผลการทดสอบความคงตัวต่อการแช่เยือกแข็ง-ละลายของเจลแป้งพุทธรักษาและแป้งพุทธรักษาดัดแปรแสดงในรูปของปริมาณของเหลวที่แยกได้จากเจลแป้งสุกที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ละลาย (% syneresis) ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 7 พบว่าการเกิด syneresis ของเจลแป้งเพิ่มขึ้นเมื่อผ่านการแช่เยือกแข็ง-ละลายจำนวนรอบมากขึ้น แป้งพุทธรักษากินได้ที่ไม่ผ่านการดัดแปรจะมีปริมาณของเหลวออกมาจากเจลมากกว่าแป้งพุทธรักษากินได้ที่ผ่านการดัดแปรแล้ว ผลการทดลองที่ได้นี้สนับสนุนผลที่ได้จาก RVA ซึ่งพบว่าแป้งดัดแปรเกิดรีโทรเกรเดชันลดลง เมื่อแช่เยือกแข็งนานขึ้นพบว่าเจลของแป้งพุทธรักษากินได้ที่ไม่ผ่านการดัดแปรมีน้ำออกมามากขึ้นและเจลมีลักษณะคล้ายฟองน้ำที่มีรูพรุน ส่วนเจลของแป้งที่ผ่านการดัดแปรนั้นจะมีลักษณะเป็นเจลอ่อนนุ่มและยังคงมีลักษณะเป็นของไหล



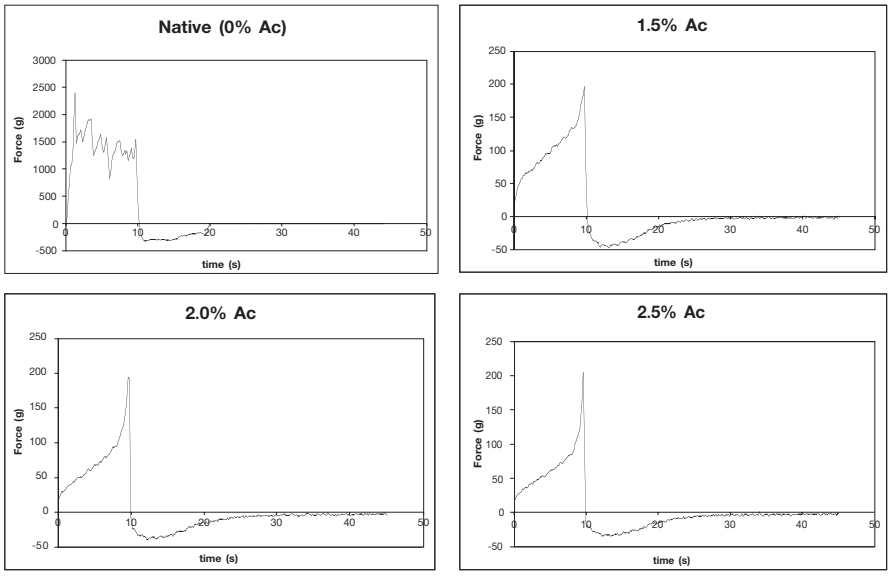
รูปที่ 7 ผลของการแช่เยือกแข็ง-ละลายต่อ % syneresis ของแป้งพุทธรักษากินได้ ที่มีหมู่แอซิทิลร้อยละ 0 - 2.5

ตารางที่ 2 ความแข็งของเจลแป้งที่ได้จากการด้วยเครื่อง Texture analyzer

ชนิดแป้ง	ค่าความแข็ง (กรัม)
Native	2,392.12
1.5 % Acetyl	196.59
2.0 % Acetyl	191.69
2.5 % Acetyl	204.62

3.7 ความแข็งของเจลแป้งสุก

รูปที่ 8 แสดงรูปแบบของลักษณะเนื้อสัมผัสของเจลแป้งพุทธรักษากินได้และตารางที่ 2 สรุปค่าความแข็งของเจลของแป้งพุทธรักษาที่ผ่านและไม่ผ่านการดัดแปร พบว่าแป้งที่ไม่ผ่านการดัดแปรจะมีค่าความแข็งของเจลสูงสุด (2,392 กรัม) ส่วนแป้งพุทธรักษากินได้ที่ผ่านการดัดแปรแล้วมีค่าความแข็งของเจลต่ำกว่าแป้งที่ไม่ผ่านการดัดแปรมาก (205 กรัม ในแป้งที่มีปริมาณหมู่แอซิทิลร้อยละ 2.5) ความแข็งของเจลนี้เป็นดัชนีซึ่งสามารถบ่งชี้ความสามารถในการคืนตัวของแป้งได้ [22] ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับรายงานของ Liu และคณะ [6] ที่ดัดแปรแป้งข้าวโพดด้วยวิธีแอซิทิเลชันทำให้เจลของแป้งดัดแปรมีความแข็งลดลง จากรูปจะสังเกตเห็นว่าในช่วงที่ดึงหัววัดขึ้นมาเส้นกราฟของแป้งที่ผ่านการดัดแปรมีหางยาว ทั้งนี้เนื่องจากแป้งมี adhesiveness เพิ่มขึ้น



รูปที่ 8 รูปแบบของลักษณะเนื้อสัมผัสของแป้งเปียกจากแป้งพุทธรักษากินได้ ที่มีหมู่แอซิทิลร้อยละ 0 - 2.5

4. สรุปผลการวิจัย

แป้งพุทธรักษาดัดแปรโดยวิธีแอซิทิเลชันที่ได้จากงานวิจัยนี้มีระดับการแทนที่ 0.06-0.1 ซึ่งอยู่ในระดับที่มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม [17] อนุญาตให้ใช้ได้ในผลิตภัณฑ์อาหาร (ระดับการแทนที่ไม่เกิน 0.1) แป้งดัดแปรที่มีหมู่แอซิทิลทั้งสามระดับมีสมบัติทางเคมีกายภาพที่ใกล้เคียงกัน ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาพฤติกรรมความหนืดของแป้ง การทดสอบความคงตัวต่อการแช่แข็งและการทดสอบสมบัติของเจลแป้งที่ได้ บ่งชี้ว่าแป้งดัดแปรมีการคืนตัวลดลงอย่างชัดเจนแม้ว่าแป้งจะมีความหนืดลดลงเล็กน้อย แป้งดัดแปรมีความคงตัวต่อการกวนและ pH ในระดับที่ใกล้เคียงกับแป้งที่ไม่ผ่านการดัดแปร จากสมบัติของแป้งที่ได้แสดงให้เห็นว่าแป้งพุทธรักษาดัดแปรมีศักยภาพที่จะนำไปใช้เป็นสารให้ความข้นหนืดในผลิตภัณฑ์อาหารได้

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ

6. เอกสารอ้างอิง

1. Rutenburg, M. W. and Solarek, D., 1984, “Starch Derivatives: Production and Uses,” In R. L. Whistler, J. N. Bemiller, and E. F. Paschall (Eds.), *Starch: Chemistry and Technology*, 2nd Ed., Academic Press Inc., Florida. pp. 311-388.

2. Fleche, G., 1985, “Chemical Modification and Degradation of Starch,” in Van Beynum, G. M. A. and Roels, J. A. (eds), *Starch Conversion Technology*, Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 73 -99.

3. Biliaderis, C. G., 1982, “Physical Characteristics, Enzymatic Digestibility, and Structure of Chemically Modified Smooth Pea and Waxy Maize Starches,” *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 30, No. 5, pp. 925-930.

4. Hoover, R. and Sosulski, F., 1985, “A Comparative Study of the Effect of Acetylation on Starches of *Phaseolus vulgaris* Biotypes,” *Starch/Starke*, Vol. 37, No. 12, pp. 397-404.

5. Betancur, A. D., Chel, G. L., and Canizares, H. E., 1997, “Acetylation and Characterization of *Canavalia ensiformis* Starch,” *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 45, No. 2, pp. 378-382.

6. Liu, H., Ramsden, L., and Corke, H., 1997, “Physical Properties and Enzymatic Digestibility of Acetylated Ae, Wx, and Normal Maize Starch,” *Carbohydrate Polymers*, Vol. 34, No. 4, pp. 283-289.

7. Gonzalez, Z. and Perez, E., 2002, "Effect of Acetylation on Some Properties of Rice Starch," *Starch/Starke*, Vol. 54, No. 3-4, pp. 148-154.

8. Adebowale, K. O. and Lawal O. S., 2003, "Functional Properties and Retrogradation Behavior of Native and Chemically Modified Starch of Mucuna Bean *(Mucuna pruriens)*," *Journal of the Science of Food and Agriculture*, Vol. 83, No. 15, pp. 1541-1546.

9. Agboola, S. O., Akingbala J. O., and Oguntimein, G. B., 1991, "Physicochemical and Functional Properties of Low DS Cassava Starch Acetates and Citrates," *Starch/Starke*, Vol. 43, No. 2, pp. 62-66.

10. วัชรินทร์ จันทร์สุวรรณ, 2544, "การศึกษาคุณลักษณะของแป้งที่แยกได้จากเหง้าพุทธรักษากินได้ *(Canna edulis)*," *วิทยานิพนธ์ปริญญาโท*, สายวิชาเทคโนโลยีชีวเคมี, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี, กรุงเทพฯ, หน้า 113.

11. Thitipraphunkul, K., Uttapap, D., Piyachomkwan, K., and Takeda, Y., 2003, "A Comparative Study of Edible Canna *(Canna edulis)* Starch from Cutivars. Part I. Chemical Composition and Physicochemical Properties," *Carbohydrate Polymer*, Vol. 53, No. 3, pp. 317-324.

12. Wurzburg, O. B., 1964, "Acetylation," in R. L. Whistler (Ed.), *Methods in Carbohydrate Chemistry: Starch* IV, Orlando, FL: Academic Press. pp. 286-288.

13. เอกพันธ์ แก้วมณีชัย, 2538, "การดัดแปรสตาร์ชในแป้งมันสำปะหลังและข้าวด้วยวิธีแอซีทิลเลชัน," *วิทยานิพนธ์ปริญญาโท*, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ, หน้า 171.

14. Ogawa, K., Hirai, I., Shimasaki, C., Yoshimura, T., Ono, S., Rengakuji, S., Nakamura, Y., and Yamazaki, I., 1999, "Simple Determination Method of Degree of Sustitution for Starch Acetate," *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, Vol. 72, No. 12, pp. 2785 - 2790.

15. Sahai, D. and Javkson, D. S., 1996, "Structural and Chemical Properties of Native Corn Starch Granules," *Starch/Starke*, Vol. 48, No. 7-8, pp. 249 - 255.

16. Kerr, R. W., 1950, "Chemistry and Industry of Starch," 2nd ed., Academic Press Inc., New York, 719 p.

17. กระทรวงอุตสาหกรรม, 2535, "มาตรฐานผลิตภัณฑ์แป้งดัดแปรสำหรับอุตสาหกรรมอาหาร", *เอกสาร มอก.ที่ 1073-2535*, สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, กรุงเทพฯ, หน้า 11.

18. Jarowenko, W., 1986, “Acetyletd Starch and Miscellaneous Organic Esters,” In O. B. Wurzburg, 1986, *Modified Starches: Properties and Uses*, CRC Press Inc., Florida, p. 277.

19. Singh, N., Chawla, D., and Singh, J., 2004, “Influence of Acetic Anhydride on Physico-chemical, Morphological and Thermal Properties of Corn and Potato Starch,” *Food Chemistry*, Vol. 86, No. 4, pp. 601-608.

20. Rutenburg, M. W., 1980, “Starch and Its Modification”, In R. L. Davidson, *Handbook of Water-soluble Gums and Resins*,” McGraw-Hill Book Company, New York.

21. Thitipraphunkul , K., Uttapap, D., Piyachomkwan, K., and Takeda, Y., 2003, “A Comparative Study of Edible Canna *(Canna edulis)* Starch from Cutivars. Part II. Molecular Structure of Amylose and Amylopectin,” *Carbohydrate Polymer*, Vol. 54, No. 4, pp. 489-498.

22. Karim, A. A., Norziah, M. H., and Seow, C. C., 2000, “Method for Study of Starch Retrogradation,” *Food Chemistry*, Vol. 71, No. 1, pp. 9-36.