



การผลิตสตาร์ชทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์จากแป้งข้าวด้วยวิธีการย่อยแป้ง
ด้วยการหมักทางธรรมชาติร่วมกับการให้ความร้อนและความชื้น

Production of Resistant Starch from Rice Flour by Fermentation
and Hydrothermal Treatment

ศันสนีย์ อุดมระติ^{1*} ประจเวท สาตมาลี¹ และ วิภา สุโรจนะเมธากุล¹

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการย่อยแป้งด้วยการหมักทางธรรมชาติร่วมกับการให้ความร้อนและความชื้น (FHMT) ต่อปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ (resistant starch: RS) ในแป้งข้าว โดยหมักแป้งข้าวพันธุ์เหลืองประทิวที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 1 2 3 และ 4 วัน จากนั้นนำแป้งมาปรับปริมาณความชื้นเป็น 20 หรือ 25% และผ่านกระบวนการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 105 หรือ 115 องศาเซลเซียสนาน 1 ชั่วโมง แป้งข้าวที่ผ่านกระบวนการ FHMT มีปริมาณสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์อยู่ในช่วง 1.95-5.92% ขึ้นอยู่กับระยะเวลาในการหมักและสภาวะในการให้ความร้อนและความชื้น โดยแป้งที่ผ่านการหมัก 1 วันและผ่านกระบวนการให้ความร้อนร่วมกับความชื้นที่ระดับความชื้น 25% และอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส มีปริมาณ RS สูงที่สุด จากการศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ของแป้งข้าวที่ผ่านกระบวนการ FHMT พบว่ากระบวนการ FHMT ทำให้แป้งข้าวมีค่าความหนืดสูงสุด ความหนืดต่ำสุด ความหนืดลดลง ความหนืดสุดท้ายและค่าเซตแบคคอลลลงและทำให้เจลแป้งมีความแข็งแรงลดลงเมื่อเทียบกับเจลแป้งดั้งเดิม จากการตรวจวัดการเกิดเจลที่ไโนเซชันและรีโทรเกรเดชันด้วยเครื่องดิฟเฟอเรนเชียล สแกนนิ่ง แคลอริมิเตอร์ พบว่ากระบวนการ FHMT ทำให้ค่าอุณหภูมิเริ่มต้นอุณหภูมิที่จุดสูงสุด และอุณหภูมิสิ้นสุดท้ายของการเกิดเจลที่ไโนเซชันมีค่าสูงขึ้น และช่วงอุณหภูมิดังกล่าวกว้างขึ้น แต่ค่าพลังงานในการเกิดเจลที่ไโนเซชันมีค่าลดลง กระบวนการ FHMT มีแนวโน้มทำให้แป้งเกิดรีโทรเกรเดชันของแอมิโลเพกทินลดลง

¹ฝ่ายเคมีและกายภาพอาหาร สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จตุจักร กทม.10900

*Corresponding Author, E-mail: ifrsnu@ku.ac.th

ABSTRACT

The objectives of this research were to investigate the effect of fermentation and heat-moisture treatment (FHMT) on resistant starch (RS) content and physicochemical properties of rice flour. Rice flour (LuengPratil variety), fermented at room temperature for 1, 2, 3 and 4 days followed by heat-moisture treatment (HMT), were heated at 105 or 115°C for 1 hour after adjusting the moisture content to 20 or 25%. RS content of FHMT flour ranged from 1.95-5.92% depending on type of treatment. FHMT flour with the highest RS content 5.92% was prepared at fermentation time of 1 day and HMT condition at moisture content of 25% and 105°C. The viscosity of FHMT flour was analyzed by using RVA. The peak viscosity, trough, breakdown, final viscosity and set back were decreased, compared with native flour. The hardness of FHMT gel was also decreased. The thermal properties of FHMT flour, gelatinization and retrogradation, were determined by Differential scanning calorimetry. The onset temperature, peak temperature and conclusion temperature of gelatinization of FHMT flour were increased and the gelatinization temperature range was broader, whereas enthalpy of gelatinization was decreased compared with native flour. FHMT tended to decrease retrogradation of amylopectin.

คำสำคัญ: ข้าว สตาร์ชที่ทนการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ การหมัก การให้ความร้อนร่วมกับความชื้น

Key words: Rice, Resistant starch, Fermentation, Heat-moisture treatment

บทนำ

ประเทศไทยส่งออกข้าวเป็นปริมาณมากข้าวจึงนับว่าเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญอย่างหนึ่งของประเทศแต่รายได้จากการส่งออกข้าวกลับมีมูลค่าต่ำจึงควรมีการส่งเสริมการนำข้าวมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่าและเนื่องจากในปัจจุบันมนุษย์เรากำลังประสบปัญหาโรคภัยต่าง ๆ มากมาย เช่น โรคเบาหวาน โรคอ้วน และโรคมะเร็ง เป็นต้น ดังนั้นอาหารเพื่อสุขภาพจึงได้รับความสนใจเพิ่มขึ้นเป็นอย่างมาก และการนำข้าวมาผลิตเป็นอาหารเพื่อสุขภาพจึงเป็นทางเลือกที่ดีอีกทางหนึ่ง ซึ่งเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับผลผลิตทางการเกษตรที่มีมูลค่าต่ำและยังช่วยส่งเสริมสุขภาพของประชากร การผลิตสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ (resistant starch: RS) กำลัง

ได้รับความสนใจอย่างกว้างขวางและมีงานวิจัยยืนยันว่า RS มีประโยชน์ต่อร่างกาย เนื่องจาก RS เป็นพรีไบโอติกและใยอาหาร (dietary fibre) ไม่ถูกย่อยในลำไส้เล็กแต่สามารถถูกย่อยด้วยจุลินทรีย์ที่อยู่ในลำไส้ใหญ่เกิดเป็นกรดไขมันสายสั้น ๆ ซึ่งจะไปยังยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค RS ยังช่วยเพิ่มปริมาณของเหลวและปรับสภาวะการเป็นกรด-ด่างภายในลำไส้ใหญ่ให้ต่ำลงยับยั้งการเจริญของ transformed cell ในสิ่งมีชีวิตจึงช่วยในการป้องกันมะเร็งลำไส้ใหญ่ได้ (กล้าณรงค์และเกื้อกุล, 2543) RS ยังช่วยลดความเสี่ยงของการเป็นโรคหัวใจและหลอดเลือด โรคอ้วน โรคเบาหวาน และโรคท้องผูกอีกด้วย (Champ et al., 1999) ในปัจจุบันมีการนำ RS ไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารอย่างแพร่หลายโดยนำไปเป็น

ส่วนผสมในผลิตภัณฑ์อาหารและเครื่องดื่มเพื่อช่วยเพิ่มปริมาณใยอาหารและลดปริมาณพลังงาน ได้เป็นผลิตภัณฑ์อาหารที่ให้พลังงานต่ำและมีใยอาหารสูงซึ่งมักนิยมใช้กับผลิตภัณฑ์ขนมอบ เช่น ขนมปัง แครกเกอร์ คุกกี้ เค้ก และมัฟฟิน เป็นต้น (Yue and Waring, 1998)

แบคทีเรียกรดแล็กติกเป็นแบคทีเรียที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการหมักแป้งทางธรรมชาติ โดยผลิตเอนไซม์แอลฟา-แอมิเลส เบต้า-แอมิเลส และแอมิโลกลูโคซิเดสย่อยโมเลกุลแป้งเพื่อใช้ในการดำรงชีวิตทำให้เกิดสารเมแทบอไลต์ต่าง ๆ เช่น กรดแล็กติก เอทานอล คาร์บอนไดออกไซด์ ไดอะซิติล เป็นต้น ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะและกลิ่นรสที่เฉพาะ (สุพัตรา, 2548) โดยเอนไซม์แอลฟา-แอมิเลสเข้าทำปฏิกิริยากับโมเลกุลของแป้งตรงตำแหน่งพันธะแอลฟา 1,4 ไกลโคสิติกแบบสุมจากภายใน ส่วนเอนไซม์เบต้า-แอมิเลสย่อยตรงตำแหน่งพันธะแอลฟา 1,4 ไกลโคสิติกจากตำแหน่ง non-reducing end โดยเอนไซม์ทั้งสองไม่สามารถย่อยพันธะแอลฟา 1,6 ไกลโคสิติกที่ตำแหน่งกิ่งของแป้งได้ ส่วนเอนไซม์แอมิโลกลูโคซิเดสเข้าทำปฏิกิริยากับโมเลกุลของแป้งตรงตำแหน่งพันธะแอลฟา 1,4 ไกลโคสิติก และพันธะแอลฟา 1,6 ไกลโคสิติกของโมเลกุลสตาร์ชที่ละหน่วยกลูโคสส่วนกรดแล็กติกที่เกิดขึ้นสามารถย่อยโมเลกุลแป้งโดยเข้าทำปฏิกิริยาตรงพันธะแอลฟา 1,4 และ 1,6 ไกลโคสิติกทำให้โมเลกุลของแป้งสั้นลง โดยที่พันธะแอลฟา 1,4 ไกลโคสิติกถูกไฮโดรไลซิง่ายกว่าพันธะแอลฟา 1,6 ไกลโคสิติก (Kainuma and French, 1972)

กระบวนการให้ความร้อนร่วมกับความชื้น (heat-moisture treatment: HMT) คือกระบวนการตัดแปรแป้งหรือสตาร์ชทางกายภาพที่สามารถเพิ่มปริมาณ RS ในแป้งหรือสตาร์ช โดยการให้ความร้อนที่

อุณหภูมิสูงกว่าอุณหภูมิในการเกิดเจลลาทีนเซชันและควบคุมระดับความชื้นให้อยู่ในช่วง 18-27% (Collado and Corke, 1999) จากการทดลองของ Chung et al. (2009) พบว่ากระบวนการ HMT ทำให้ปริมาณ RS ในสตาร์ชข้าวโพดและสตาร์ชถั่วเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Li et al. (2011) ซึ่งรายงานว่สตาร์ชถั่วเขียวมีปริมาณ RS เพิ่มขึ้นหลังผ่านกระบวนการ HMT

ข้าวมีปริมาณ RS น้อย จากการทดลองของ Hu et al. (2004) พบว่าหลังจากสตาร์ชข้าวเหนียวและสตาร์ชข้าวที่มีปริมาณแอมิโลส 1.1 13.2 21.3 และ 25.9% เกิดเจลลาทีนเซชันมีปริมาณ RS อยู่ 0.1 0.2 0.9 และ 2.9% ตามลำดับ ในขณะที่ข้าวสุกที่มีแอมิโลสอยู่ในช่วง 17-27% มี RS 0.7-2.5% (Walter et al., 2005) และจากการทดลองของ Chung et al. (2006) พบว่าสตาร์ชข้าวเหนียวดิบมี RS 9.3% หลังจากเกิดเจลลาทีนเซชันแล้ว มีปริมาณ RS เหลืออยู่เพียง 2.9% และเมื่อเก็บเจลสตาร์ชที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน พบว่า ปริมาณ RS เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย (RS = 3.8%) เนื่องจากแป้งหรือสตาร์ชข้าวมีปริมาณ RS น้อย ดังนั้นจึงไม่นิยมนำมาเป็นวัตถุดิบในการตัดแปรเพื่อผลิตแป้งที่มีปริมาณ RS สูงซึ่งการผลิตแป้งข้าวให้มีปริมาณ RS เพิ่มสูงขึ้นนั้นจำเป็นต้องทำให้โมเลกุลสตาร์ชในแป้งข้าวเกิดการเปลี่ยนแปลง และปรับเปลี่ยนการจัดเรียงตัวของโมเลกุลสตาร์ชให้เป็นโครงสร้างแบบซับซ้อน (complex structure) ที่สามารถทนทานต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหาร

ในงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาวิธีการผลิต RS จากแป้งข้าว เพื่อทำให้แป้งข้าวมีปริมาณ RS เพิ่มสูงขึ้น โดยใช้กระบวนการย่อยแป้งด้วยการหมักทางธรรมชาติ ร่วมกับการให้ความร้อนร่วมกับความชื้น (fermentation and heat-moisture treatment:

FHMT) กระบวนการเหล่านี้มีผลต่อส่วนของอณูฐาน และโครงสร้างผลึกภายในเม็ดแป้ง ซึ่งน่าจะมีผลต่อ ปริมาณ RS เนื่องจากการหมักแป้งเป็นการย่อยแป้ง ด้วยกรดแล็กติกจากจุลินทรีย์ตามธรรมชาติ โดยกรดจะ ไปย่อยโมเลกุลแป้งทำให้ได้โมเลกุลแป้งที่มีลักษณะเป็น ตรงสายสั้น ๆ (Colonna et al., 1987; Weihong et al., 2003) ทำให้เคลื่อนที่ได้ง่าย (Shin et al., 2004) พร้อมทั้งจะจับกันเป็นเกลียวคู่ซึ่งโมเลกุลเหล่านี้จะจับ เรียงตัวกันเกิดโครงสร้างผลึกได้ดี (Chung et al., 2003) จึงน่าจะเกิด RS ได้มากขึ้นเมื่อผ่านการจัดเรียงตัวใหม่ ในระหว่างกระบวนการ HMT งานวิจัยนี้ได้ศึกษา สภาวะ FHMT ที่เหมาะสมในการผลิตแป้งข้าว FHMT ที่มีปริมาณ RS สูง และศึกษาคุณสมบัติทางเคมีเชิง ฟิสิกส์ของแป้งข้าว FHMT เพื่อเป็นข้อมูลในการนำไป ประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารที่เหมาะสมต่อไป เนื่องจากแป้งข้าว FHMT ให้กลิ่นเฉพาะตัวจึงเหมาะที่ จะนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ที่ต้องการกลิ่นหมัก โดยงานวิจัยลำดับถัดไปได้มีการนำแป้งข้าว FHMT ที่มี ปริมาณ RS สูงไปประยุกต์ใช้ผลิตเป็นเส้นขนมจีน

วิธีการดำเนินการวิจัย

วัตถุดิบ

ปลายข้าวเก่าพันธุ์เหลืองประทิวที่มีอายุการ เก็บมากกว่า 4 เดือน เอนไซม์แอลฟา-แอมิเลส (α -amylase) เอนไซม์แอมิโลกลูโคซิเดส (amylglucosidase) และ เอนไซม์โปรติเอส (protease) จากบริษัท Sigma-Aldrich สารเคมี ทั้งหมดที่ใช้ในการวิเคราะห์เป็น analytical grade

1. การผลิตแป้งข้าวหมัก

นำปลายข้าวมาล้างด้วยน้ำสะอาดเพื่อให้ ปราศจากฝุ่นและสิ่งเจือปนไม่แป้งด้วยเครื่องโม่หิน อัตราส่วนข้าว : น้ำ เท่ากับ 1:2 หมักน้ำแป้งที่ อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 2 3 และ 4 วัน ในระหว่างการ

หมักจะล้างแป้งข้าวทุกวันเมื่อถึงระยะเวลาการหมัก ตามที่กำหนด นำน้ำแป้งมาวัด pH และกรองผ่านผ้า ขาวบาง เหยียงแยกแป้งและน้ำด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง ล้างแป้งด้วยน้ำสะอาด 2 ครั้ง นำแป้งมาทำแห้งโดย การล้างด้วยเอทานอล 85% 2 ครั้ง ตั้งทิ้งไว้ให้แห้งที่ อุณหภูมิห้องนำแป้งหมักที่ได้ไปวิเคราะห์ความชื้น แอมิโลส โพรตีน และตรวจสอบสมบัติทางเคมีเชิง ฟิสิกส์

2. การให้ความร้อนร่วมกับความชื้นแก่แป้งข้าว

ซึ่งแป้งข้าวที่ทราบปริมาณความชื้นเริ่มต้น จำนวน 60 กรัม ใส่ลงในโถเครื่องปั่นผสม ปรับความชื้น สุดท้ายของแป้งข้าวเป็น 20 และ 25% โดยการพรมน้ำ บรรจุแป้งข้าวลงในกระป๋องเบอร์ 307x113 ปิดผนึกฝา นำไปให้ความร้อนในหม้อความดัน โดยกำหนดอุณหภูมิ ที่ 105 และ 120 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการให้ ความร้อนนาน 60 นาที นำแป้งไปอบแห้งด้วยตู้อบลม ร้อนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง และนำไปบดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 100 เมช

3. การวิเคราะห์ปริมาณ RS ในแป้งข้าว

วิเคราะห์ปริมาณ RS ในแป้งข้าวตามวิธี Shin et al. (2004) ซึ่งแป้ง 0.5 กรัม ลงในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 6.0) 25 มิลลิลิตร และ 0.2 มิลลิลิตร Termamyl บ่มในอ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 95 องศา เซลเซียส นาน 30 นาที ทำให้เย็น ปรับ pH ให้เท่ากับ 4.5 ด้วย สารละลายไฮโดรคลอริก 0.275 N เติม เอนไซม์แอมิโลกลูโคซิเดส (0.5 มิลลิลิตร) บ่มในอ่างน้ำ ร้อนควบคุมอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ทำให้เย็น และปรับ pH เท่ากับ 7.5 ด้วย สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.375 N เติม สารละลายเอนไซม์โปรติเอส (ละลายเอนไซม์โปรติเอส 40 มิลลิกรัม ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 50 มิลลิลิตร) บ่มใน อ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที นำไปเหยียงแยกที่ 3,000g นาน 10 นาที ล้าง

ตะกอน 2 ครั้ง ด้วยเอทานอล 85% และน้ำกลั่น ตามลำดับ กรองผ่าน glass filtering crucible คำนวณหาปริมาณ RS หาได้จากสมการซึ่งแสดงอยู่ด้านล่าง

$$RS (\%) = \frac{\text{น้ำหนักของส่วนที่ไม่ละลายน้ำที่เหลืออยู่ (g)}}{\text{น้ำหนักของตัวอย่าง (g)}} \times 100$$

4. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของแป้งข้าวตั้งเดิมและแป้งข้าวที่ผ่านการหมัก

4.1. ปริมาณความชื้นตามวิธีการของ AOAC (2000)

4.2. ปริมาณโปรตีนตามวิธีการของ AOAC (2000)

4.3. ปริมาณแอมิโลสตามวิธีการของ Juliano (1971)

4.4. พีเอชวัดด้วยเครื่อง pH-meter ตามวิธีการของ AOAC (2000)

5. การวิเคราะห์สมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ของแป้งข้าวที่ผ่านการหมักร่วมกับการให้ความร้อนและความชื้น (FHMT)

5.1. ความหนืด ตรวจสอบด้วยเครื่องวิเคราะห์ความหนืดแบบรวดเร็ว (rapid visco analyzer) ตามวิธีการของ AACCC (2000) เพื่อวิเคราะห์อุณหภูมิที่เริ่มเกิดความหนืด (pasting temperature) ความหนืดสูงสุด (peak viscosity) ความหนืดต่ำสุด (trough) ความหนืดสุดท้าย (final viscosity) ค่าความหนืดลดลง (breakdown) และค่าเซตแบค (setback)

5.2. การเกิดเจลลิตินในเซชันและรีโทรเกรเดชัน วิเคราะห์ด้วยเครื่องดิฟเฟอเรนเชียลสแกนนิ่งแคลอริมิเตอร์ (differential scanning calorimeter: DSC) ชั่งแป้งลงในถ้วยใส่ตัวอย่างแบบสแตนเลสสตีล (stainless steel) และเติมน้ำกลั่นด้วยไมโครไซริงค์ (microsyringe) ให้มีอัตราส่วนแป้งต่อน้ำโดยน้ำหนัก

เท่ากับ 30:70 ผนึ่งผ่าและวางตัวอย่างที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ในการวัดเกิดเจลลิตินในเซชัน ให้ความร้อนแก่ตัวอย่างที่อุณหภูมิ 25 ถึง 110 องศาเซลเซียส อัตราเร็วในการเพิ่มอุณหภูมิคือ 10 องศาเซลเซียสต่อนาที ใช้ถ้วยใส่ตัวอย่างเปล่าเป็นตัวอ้างอิง จากนั้นนำตัวอย่างไปเก็บรักษาในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน นำไปวิเคราะห์การเกิดรีโทรเกรเดชันโดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 25 ถึง 110 องศาเซลเซียส และอัตราการเพิ่มของอุณหภูมิคือ 10 องศาเซลเซียสต่อนาที ค่าที่ตรวจวัดได้จากการเกิดเจลลิตินในเซชันและรีโทรเกรเดชันคืออุณหภูมิเริ่มต้น (onset temperature, To) อุณหภูมิที่จุดสูงสุด (peak temperature, Tp) อุณหภูมิสุดท้าย (conclusion temperature, Tc) และพลังงานเอนทัลปี (enthalpy, ΔH) โดย ΔH สามารถคำนวณได้จากพื้นที่ใต้กราฟ ดูดกลืนความร้อนที่ได้จาก DSC มีหน่วยเป็นจูล/กรัม ตัวอย่าง

5.3. เนื้อสัมผัสของเจลแป้ง เตรียมเจลแป้งโดยการให้ความร้อนกับน้ำแป้งที่มีความเข้มข้นของแป้งเท่ากับ 14% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) บนเตาให้ความร้อน (hot plate stirrer) ในระหว่างการให้ความร้อนมีการกวนน้ำแป้งตลอดเวลาจนน้ำแป้งมีอุณหภูมิประมาณ 60-65 องศาเซลเซียส เทลงในถ้วยสังกะสีทรงกระบอกนำไปนึ่งด้วยไอน้ำเป็นเวลา 25 นาที ตั้งเจลแป้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง นำเจลแป้งไปวิเคราะห์ลักษณะเนื้อสัมผัสด้วยเครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (texture analyzer รุ่น TA-XT2i, UK) โดยใช้หัววัดทรงกระบอกขนาด P/6 กำหนดระยะทางที่กดเท่ากับ 10 มิลลิเมตร ใช้ความเร็วของหัววัดขณะกดและขณะยกขึ้นเท่ากับ 1 มิลลิเมตรต่อวินาที กำหนดการวัดเป็นแบบ return to start (พินทิพย์, 2547)

6. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ใช้แผนการทดลองตามแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (complete randomize design: CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ด้วยโปรแกรม SPSS ถ้ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จะนำมาเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan's new multiple's range test (DMRT)

ผลและวิจารณ์ผลการวิจัย

1. ผลของการหมักต่อองค์ประกอบทางเคมีของแป้งข้าว

แป้งเหลืองประทิวดั้งเดิม (native flour) ที่ผ่านการโม่เปียกมีปริมาณแอมิโลส 36.76% (ตารางที่ 1) เมื่อนำแป้งที่ผ่านการหมักมาวิเคราะห์หาปริมาณแอมิโลสพบว่าปริมาณแอมิโลสของแป้งหมักมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการหมักนานขึ้น เนื่องจากกรด

อินทรีย์ที่จุลินทรีย์ผลิตขึ้นเข้าไปตัดโมเลกุลแอมิโลเพกทินตรงบริเวณระหว่างโครงสร้างผลึก (intercrystalline region) ได้เป็นโมเลกุลสายตรงที่มีสายสั้น ๆ (Biliaderis et al., 1981) ทำให้แป้งที่ผ่านการหมักมีปริมาณแอมิโลสเพิ่มสูงขึ้น ส่วนโปรตีนมีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) สอดคล้องกับการทดลองของสุพัตรา (2548) อาจเนื่องจากจุลินทรีย์ใช้โปรตีนเป็นแหล่งของไนโตรเจนในการเจริญเติบโต และอาจเป็นเพราะเมื่อระยะเวลาในการหมักเพิ่มขึ้นค่าพีเอชของน้ำแป้งมีแนวโน้มลดลง (ตารางที่ 1) ทำให้โปรตีนกลูเทลินซึ่งเป็นโปรตีนส่วนใหญ่ในข้าวที่สามารถละลายได้ที่พีเอชต่ำละลายออกไปกับน้ำได้มากขึ้นและถูกทิ้งไปในขั้นตอนการเหวี่ยงแยก ทำให้ปริมาณโปรตีนในแป้งลดลง (ภักดิ์วัฒน์และอรอนงค์, 2548) ปริมาณความชื้นในแป้งทุกตัวอย่างมีค่าไม่แตกต่างกัน

ตารางที่ 1 Composition of native flour and fermented flours

Sample	Amylose content (% dry basis)	Protein content (% dry basis)	pH	Moisture content (%)
Native	36.76 ^b ±0.50	5.61 ^b ±0.08	5.80 ^a ±0.01	13.44 ^a ±0.50
F_1d	38.27 ^b ±0.97	5.98 ^b ±0.12	4.81 ^b ±0.03	13.47 ^a ±0.97
F_2d	39.38 ^b ±0.53	5.36 ^c ±0.14	4.60 ^c ±0.01	13.50 ^a ±0.53
F_3d	42.66 ^a ±1.14	4.38 ^d ±0.08	4.55 ^c ±0.05	13.43 ^a ±1.14
F_4d	43.36 ^a ±1.88	2.75 ^e ±0.07	4.48 ^c ±0.03	13.20 ^a ±1.88

หมายเหตุ: F_1d = Flour fermented for 1 day; F_2d = Flour fermented for 2 days; F_3d = Flour fermented for 3 days; F_4d = Flour fermented for 4 days; ^{a,b,c,d,e} means in same column with different letters are significantly different ($P \leq 0.05$)

2. ผลของการหมักและการให้ความร้อนร่วมกับความชื้นต่อปริมาณ RS ของแป้งข้าว

แป้งข้าวดั้งเดิมมีปริมาณ RS เท่ากับ 3.26% ในขณะที่แป้ง FHMT มีปริมาณ RS ในช่วง 1.95-5.92% (ตารางที่ 2) โดยแป้ง FHMT ที่ผ่านการหมัก 1 วัน และผ่านขั้นตอน HMT ที่ระดับความชื้น 25% และอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสมีปริมาณ RS สูงที่สุด

เมื่อพิจารณาแป้งที่ไม่ผ่านการหมัก (0 วัน) พบว่ากระบวนการ HMT ทำให้แป้งมีปริมาณ RS

เพิ่มขึ้น เมื่อเทียบกับแป้งดั้งเดิมเนื่องจากกระบวนการ HMT ทำให้โมเลกุลสตาร์ชเกิดการจัดเรียงตัวใหม่ (rearrangement) เหนียวน่าให้เกิดอันตรกิริยา (interaction) ระหว่างโมเลกุลแอมิโลสด้วยกันเองและระหว่างโมเลกุลแอมิโลสกับโมเลกุลแอมิโลเพกทินเพิ่มขึ้นทำให้โครงสร้างภายในเม็ดสตาร์ชแข็งแรงขึ้น (Franco et al., 1995) จึงทำให้เอนไซม์เข้าไปย่อยสตาร์ชได้น้อยลงซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Brumovsky and Thompson (2001) ที่พบว่า การ

ย่อยแป้งข้าวโพดที่มีปริมาณแอมิโลสสูงก่อนการ annealing หรือ HMT จะทำให้แป้งมีปริมาณ RS เพิ่มขึ้น และสอดคล้องกับ Shin et al. (2004) ที่ศึกษาในแป้งมันเทศ และมันฝรั่ง ซึ่งพบว่าการใช้กรดย่อยสลายร่วมกับการ autoclave-cooling cycle และกระบวนการ HMT ทำให้แป้งมี RS สูงถึง 25% ในขณะที่ตัวอย่างที่ไม่ถูกย่อยด้วยกรดก่อนมี RS เพียง 7% แป้ง FHMT ที่ผ่านการหมัก 1 2 และ 3 วัน ทุกตัวอย่างมีปริมาณ RS สูงกว่าแป้งดั้งเดิม อาจเนื่องมาจากการที่ปริมาณแอมิโลสเพิ่มขึ้นหลังจากผ่านกระบวนการหมัก (ตารางที่ 1) น่าจะทำให้ปริมาณ RS ในแป้ง FHMT เพิ่มขึ้นหลังจากผ่านกระบวนการ HMT เนื่องจากโมเลกุลสายตรงสามารถพันกันเกิดเป็น RS ได้ดี ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Amadou et al. (2014) ที่รายงานว่าแป้งข้าวฟ่างดิบที่ผ่านการหมักร่วมกับการให้ความร้อนและความชื้นมีปริมาณ RS

เท่ากับ 22.68% ซึ่งเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับแป้งดิบดั้งเดิม (RS = 7.61%) ส่วนแป้ง FHMT ที่ผ่านการหมัก 4 วัน มีปริมาณ RS น้อยกว่าแป้งดั้งเดิมและแป้ง FHMT ที่ผ่านการหมัก 1 2 และ 3 วัน อาจเนื่องมาจากเมื่อระยะเวลาหมักนานขึ้นโมเลกุลแอมิโลสและแอมิโลเพกทินถูกย่อยจนเป็นโมเลกุลสายสั้นเกินไป จึงไม่สามารถเกิดอันตรกิริยาระหว่างสายโมเลกุลเกิดเป็นโครงร่างผลึก RS ได้ โดยโมเลกุลสายสั้นเหล่านี้ยังสามารถขัดขวางการเกิดอันตรกิริยาระหว่างสายโมเลกุลสตาร์ชซึ่งทำให้ปริมาณ RS ลดลง

จากการทดลองยังพบว่ากระบวนการ HMT ในสภาวะที่รุนแรง (ความชื้นสูงหรืออุณหภูมิสูง) มีแนวโน้มทำให้ปริมาณ RS ลดลง น่าจะเป็นเพราะในโครงร่างผลึกบริเวณผิวของเม็ดสตาร์ชถูกทำลายในระหว่างการ HMT และถูกทำลายมากขึ้นในสภาวะ HMT ที่มีความชื้นสูงและอุณหภูมิสูง

ตารางที่ 2 Resistant starch content (%) of native flour and fermented-heat moisture treated flours

Sample	Temperature (°C)	Moisture content (%)	Fermentation time (days)				
			0	1	2	3	4
Native	-	-	3.26±0.67	-	-	-	-
		20	5.63 ^{abA} ±0.17	5.27 ^{bb} ±0.09	4.42 ^{bc} ±0.04	4.12 ^{ad} ±0.01	3.06 ^{ae} ±0.16
FHMT	105	25	5.86 ^{ab} ±0.26	5.92 ^{ab} ±0.16	4.84 ^{ab} ±0.05	4.40 ^{ac} ±0.07	1.95 ^{cd} ±0.03
		20	5.09 ^{abA} ±0.61	5.11 ^{ba} ±0.04	4.26 ^{baB} ±0.05	3.92 ^{ab} ±0.39	2.63 ^{bc} ±0.06
FHMT	115	25	4.43 ^{baB} ±0.64	5.18 ^{ba} ±0.32	4.01 ^{cb} ±0.09	3.76 ^{abc} ±0.22	3.03 ^{ac} ±0.06

^{a,b,c,d} means in same column with different small letters are significantly different ($P \leq 0.05$)

^{A,B,C,D} means in same row with different capital letters are significantly different ($P \leq 0.05$)

3. ผลของการหมักและการให้ความร้อนร่วมกับความชื้นต่อสมบัติด้านความหนืดของแป้งข้าว

เมื่อพิจารณาผลของระยะเวลาในการหมักพบว่าเมื่อระยะเวลาในการหมักนานขึ้น ค่าความหนืดสูงสุด ความหนืดต่ำสุด ความหนืดลดลง ความหนืดสุดท้าย และค่าเซตแบคของแป้ง FHMT มีแนวโน้มลดลง (ตารางที่ 3) ส่วนอุณหภูมิเริ่มเกิดความหนืดไม่แตกต่างกัน สอดคล้องกับผลการทดลองของ Singh et

al. (1999) ซึ่งพบว่า การแช่แป้งข้าวโพดในสารละลายกรดเล็กน้อยทำให้ค่าความหนืดสูงสุด ค่าความหนืดลดลงและค่าเซตแบคของแป้งลดลง และสอดคล้องกับการทดลองของ Chung et al. (2003) ซึ่งพบว่า การย่อยแป้งข้าวโพดแอมิโลสสูงด้วยกรดไฮโดรคลอริกทำให้แป้งมีความหนืดลดลง เนื่องจากกรดอินทรีย์เข้าไปย่อยแป้งทำให้โมเลกุลของสายสตาร์ชสั้นลง โดยพบว่า แป้งธัญพืชหรือพืชหัวที่ประกอบด้วยสตาร์ชที่มีน้ำหนัก

โมเลกุลสูงจะมีความหนืดลดลงมากกว่าสสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำหลังจากถูกย่อยด้วยกรด (Singh and Ali, 2000) Betancur and Chel (1997) รายงานว่ากระบวนการหมักทำให้เม็ดแป้งพองตัวได้น้อยลง อาจเนื่องมาจากการที่เม็ดแป้งถูกกรดและเอนไซม์ย่อยตรงโครงสร้างอสังฐาน ซึ่งเป็นส่วนที่ยืดหยุ่นและทำปฏิกิริยากับน้ำได้ดี ทำให้ส่วนอสังฐานถูกกำจัดออกไป จึงทำให้เม็ดแป้งดูดน้ำและพองตัวได้น้อย การที่เม็ดแป้งพองตัวได้น้อยลงน่าจะเป็นอีกหนึ่งสาเหตุที่ทำให้แป้ง FHMT ที่ผ่านการหมักมีความหนืดสูงสุดลดลง

เมื่อพิจารณาสมบัติด้านความหนืดของแป้ง FHMT ที่ไม่ผ่านการหมัก (0 วัน) พบว่ากระบวนการ HMT ทำให้ค่าความหนืดสูงสุด ความหนืดต่ำสุด ความหนืดลดลง ความหนืดสุดท้าย และค่าเซตแบคลดลง ส่วนอุณหภูมิเริ่มเกิดความหนืดสูงขึ้น โดยกระบวนการ HMT ที่สภาวะรุนแรงขึ้น (ความชื้นสูงหรืออุณหภูมิสูง) ทำให้การเปลี่ยนแปลงสมบัติด้านความหนืดลดลงมากขึ้น (ยกเว้นอุณหภูมิเริ่มเกิดความหนืด) อาจเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างผลึกในเม็ดแป้ง ซึ่งทำให้เม็ดแป้งแข็งแรงขึ้นและสามารถทนต่ออุณหภูมิและแรงเฉือน

แป้งข้าวที่ผ่านกระบวนการ FHMT มีสมบัติด้านความหนืดแตกต่างจากแป้งข้าวดั้งเดิมดังนี้คือ อุณหภูมิเริ่มเกิดความหนืดสูงขึ้น ส่วนค่าความหนืดสูงสุด ความหนืดต่ำสุด ความหนืดลดลง ความหนืดสุดท้าย และค่าเซตแบคมีแนวโน้มลดลงสาเหตุที่แป้ง FHMT มีอุณหภูมิเริ่มเกิดความหนืดสูงขึ้นเมื่อเทียบกับแป้งดั้งเดิม น่าจะเป็นเพราะในกระบวนการหมักเม็ดแป้งถูกย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ ซึ่งกรดและเอนไซม์เหล่านี้เข้าไปย่อยโมเลกุลสสารตรงส่วนอสังฐานก่อนเนื่องจากการย่อยส่วนของอสังฐานจะถูกย่อยอย่างได้

ง่ายและรวดเร็วกว่าในส่วนของโครงสร้างผลึก (Biliaderis et al., 1981) ทำให้ส่วนที่เหลือเป็นส่วน

ของโครงสร้างผลึกซึ่งเป็นส่วนที่มีความแข็งแรง และในระหว่างกระบวนการ HMT โมเลกุลสสารสามารถเคลื่อนเข้ามาจัดเรียงตัวเป็นระเบียบมากขึ้น โครงสร้างผลึกจึงมีความแข็งแรงเพิ่มขึ้น จึงต้องใช้อุณหภูมิสูงขึ้นในการทำลายโครงสร้างผลึกเพื่อเกิดการเจลาทีไนเซชัน ซึ่งสอดคล้องกับค่าอุณหภูมิในการเกิดเจลาทีไนเซชันที่ตรวจวัดด้วยเครื่อง DSC ที่มีค่าเพิ่มสูงขึ้นในแป้งผ่านกระบวนการ FHMT (ตารางที่ 4)

เมื่อเม็ดแป้งมีการพองตัวเต็มที่ทำให้เกิดความหนืดสูงสุด กระบวนการ FHMT ทำให้ความหนืดสูงสุดลดลง อาจเนื่องจากกระบวนการหมักทำให้เม็ดแป้งพองตัวลดลง และกระบวนการ HMT ซึ่งทำให้เม็ดแป้งมีการพองตัวลดลงเช่นกัน เนื่องจากมีการยึดเกาะระหว่างสายแอมิโลสด้วยกันเพิ่มขึ้น (พิณทิพย์, 2547) และค่าความหนืดสูงสุดที่ลดลงยังอาจมาจากการที่แป้ง FHMT เกิดเจลาทีไนเซชันบางส่วนในระหว่างกระบวนการ HMT เมื่อมีการให้แรงเฉือนอย่างต่อเนื่อง แก่น้ำแป้งคดควบคุมอุณหภูมิอยู่ที่ 95 องศาเซลเซียส ในที่สุดเม็ดแป้งแตกออกทำให้ความหนืดลดลงโดยค่าความหนืดลดลงเป็นค่าที่ใช้บอกความทนต่อแรงเฉือนของเม็ดแป้งซึ่งขึ้นอยู่กับอันตรกิริยาระหว่างสายโมเลกุลภายในเม็ดแป้ง (Chung et al., 2003) ค่าความหนืดลดลงยังใช้บ่งบอกความแข็งแรงหรือความอ่อนแอของเม็ดสสารที่พองตัว (Han and Hamaker, 2001) ค่าความหนืดลดลงของแป้ง FHMT น้อยกว่าแป้งดั้งเดิมแสดงให้เห็นว่าเม็ดแป้ง FHMT มีความแข็งแรงต่อแรงเฉือนเพิ่มขึ้นเนื่องจากมีโครงสร้างผลึกที่แข็งแรงเพิ่มขึ้น ทำให้เม็ดแป้ง FHMT ทนต่ออุณหภูมิและแรงเฉือนได้ดี

ส่วนค่าเซตแบคเป็นค่าที่แสดงถึงการเกิดรีโทรเกรเดชันของโมเลกุลแอมิโลสที่เกิดการจัดเรียงตัวกันใหม่ด้วยพันธะไฮโดรเจนเกิดเป็นโครงสร้างร่างแห

สามมิติ จากการทดลองพบว่าค่าความหนืดสุดท้ายและค่าเซตแบคของแป้ง FHMT มีค่าลดลงเมื่อเทียบกับแป้งดั้งเดิมและมีแนวโน้มลดลงเมื่อระยะเวลาในการหมักนานขึ้น และ/หรือ ในสภาวะ HMT ที่รุนแรงขึ้น (ความชื้นสูงหรืออุณหภูมิสูง) น่าจะเป็นเพราะแป้งที่ผ่านการหมักนานขึ้นโมเลกุลแอมิโลสที่อยู่ในส่วน

ชั้น ทำให้สายโมเลกุลแอมิโลสมีขนาดสั้นลง จึงจัดเรียงตัวเกิดเป็นโครงร่างผลึกที่มีความแข็งแรงลดลงและอาจเป็นเพราะเม็ดแป้งมีความแข็งแรงต่อความร้อนและแรงเฉือน เม็ดแป้งจึงไม่แตกออก ทำให้โมเลกุลแอมิโลสซึ่งเป็นปัจจัยหลักในการจัดเรียงตัวใหม่ออกมา นอกเม็ดแป้งปริมาณน้อย โครงสร้างร่างแหที่เกิดขึ้นจึงไม่แข็งแรง

ตารางที่ 3 Pasting properties of native flour and fermented-heat moisture treated flours

Fermentation time (days)	Temperature (°C)	Moisture content (%)	Pasting temperature (°C)	Peak viscosity (RVU)	Trough (RVU)	Breakdown (RVU)	Final viscosity (RVU)	Setback (RVU)
0	-	-	80.30±0.64	347.09±2.24	271.55±1.24	75.54±1.00	448.75±0.11	177.21±1.12
		20	84.58±0.11	252.50±6.12	223.59±3.66	28.92±2.47	318.29±1.47	94.71±5.13
	105	25	86.10±0.07	173.59±0.59	157.59±0.23	16.00±0.35	205.29±1.36	47.71±1.59
		20	86.95±0.00	193.46±1.24	182.71±0.06	10.75±1.30	246.33±0.35	63.63±0.29
	115	25	88.63±0.04	138.00±2.83	128.00±2.36	10.00±0.47	149.55±2.65	21.54±0.30
		20	85.90±0.57	226.54±1.47	205.00±0.00	21.54±1.47	252.17±0.59	47.17±0.59
2	105	25	87.10±0.07	185.96±2.88	163.00±2.83	22.96±0.06	181.04±3.13	18.04±0.30
		20	87.38±0.53	194.46±0.06	179.50±2.12	14.96±2.18	210.75±8.73	21.25±6.60
	115	25	89.45±0.00	107.96±0.53	103.46±0.76	4.50±0.24	113.79±1.12	10.33±0.35
		20	84.73±0.04	207.63±0.64	193.96±0.41	13.67±0.23	214.05±0.18	20.09±0.23
	4	25	86.58±0.60	183.25±2.12	164.63±3.47	18.63±1.35	177.50±3.07	12.88±0.42
		20	87.35±0.57	190.21±7.13	184.21±4.42	6.00±2.72	199.46±1.82	15.25±2.59
4	115	25	88.20±0.64	105.04±0.06	103.79±0.06	1.25±0.00	112.75±0.47	8.96±0.53

a,b,c,d for each fermentation time, means in same column with different letters are significantly different (P<0.05)

4. ผลของการหมักและการให้ความร้อนร่วมกับความชื้นต่อการเกิดเจลลาทีโนเซชันของแป้งข้าว

ในการทดลองใช้เครื่อง DSC วัดพลังงานและอุณหภูมิในการสลายโครงร่างผลึกของเม็ดแป้งในการเกิดเจลลาทีโนเซชัน ค่าที่ได้จากเส้นกราฟดูดกลืนความร้อน (endothermic thermogram) จากเครื่อง DSC คือค่าอุณหภูมิเริ่มต้นในการเกิดเจลลาทีโนเซชัน (onset temperature: $T_{o_{gel}}$) อุณหภูมิที่จุดสูงสุด (peak temperature: $T_{p_{gel}}$) และอุณหภูมิสุดท้ายของการเกิดเจลลาทีโนเซชัน (conclusion temperature: $T_{c_{gel}}$)

และพลังงานในการเกิดเจลลาทีโนเซชัน (enthalpy: ΔH_{gel})

เส้นกราฟดูดกลืนความร้อนของแป้งดั้งเดิมและแป้ง FHMT (รูปที่ 1) ปรากฏเป็นพีคดูดกลืนความร้อนที่ 2 ช่วงอุณหภูมิ โดยพีคแรกเกิดขึ้นในช่วงอุณหภูมิ 72–93 องศาเซลเซียส เป็นพีคของการเกิดเจลลาทีโนเซชัน ซึ่งค่าอุณหภูมิและพลังงานในการเกิดเจลลาทีโนเซชันแสดงในตารางที่ 4 พีคที่สองเกิดขึ้นในช่วงอุณหภูมิ 93–106 องศาเซลเซียส เป็นพีคของการสลายสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างโมเลกุลแอมิโลสและไขมัน (amylose lipid complex) โดย

สารประกอบเชิงซ้อนระหว่างโมเลกุลแอมิโลสและไขมัน
ในแป้งข้าวจะถูกทำลายที่ช่วงอุณหภูมิ 96-104 องศา
เซลเซียส (Vandeputte et al., 2003)

ΔH_{gel} ใช้บ่งบอกถึงปริมาณหรือคุณภาพของ
ผลึก (Ward et al., 1994) ปริมาณเกลียวคู่ของ
โมเลกุลแอมิโลเพกทินและจำนวนพันธะไฮโดรเจน
 ΔH_{gel} เป็นพลังงานรวมที่ใช้ในการทำลายพันธะ
ไฮโดรเจนและอาจมีแรงวนเตอร์วัลส์ร่วมด้วยเล็กน้อย
(Tester, 1997) ค่า $T_{o_{gel}}$ และ $T_{p_{gel}}$ บ่งบอกความ
เสถียรความสมบูรณ์และขนาดของโครงร่างผลึก (Shi
and Seib, 1992; Maaruf et al., 2001) แป้งดั้งเดิม
ใช้พลังงานในการเกิดเจลที่ในเซชัน 15.67 จูล/กรัม
แป้งแห้ง และมีอุณหภูมิเริ่มต้น อุณหภูมิที่จุดสูงสุด
และอุณหภูมิต้ายในการเกิดเจลที่ในเซชันเท่ากับ
72.19 77.12 และ 82.48 องศาเซลเซียส ตามลำดับ
(ตารางที่ 4) ใกล้เคียงกับการทดลองของคันสนีย์
(2548) ซึ่งพบว่าในระบบที่มีปริมาณน้ำ 70% แป้งข้าว
ที่มีแอมิโลสสูงมีช่วงอุณหภูมิในการเกิดเจลที่ในเซชันที่
69-79 องศาเซลเซียส และใช้พลังงานในการเกิด
เจลที่ในเซชันประมาณ 13 จูล/กรัมแป้งแห้ง

ระยะเวลาในการหมักไม่แสดงผลอย่างชัดเจน
ต่อ $T_{o_{gel}}$ $T_{p_{gel}}$ และ $T_{c_{gel}}$ ของแป้ง FHMT ส่วน
 ΔH_{gel} ของแป้ง FHMT มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อ
ระยะเวลาในการหมักเพิ่มขึ้นอาจเป็นเพราะ
กระบวนการหมักทำให้ส่วนอสัณฐานถูกกำจัดออกจาก
เม็ดแป้งเหลือส่วนโครงร่างผลึกทำให้โครงสร้างของเม็ด
แป้งมีความเสถียร น้ำจึงเข้าทำปฏิกิริยายากขึ้นจึงทำให้
ต้องใช้พลังงานเกิดเจลที่ในเซชันเพิ่มขึ้น (สุพัตรา,
2548)

เมื่อพิจารณาแป้ง FHMT ที่ไม่ผ่านการหมัก
(0 วัน) พบว่ากระบวนการ HMT ทำให้แป้งมี $T_{o_{gel}}$
 $T_{p_{gel}}$ และ $T_{c_{gel}}$ สูงกว่าแป้งดั้งเดิม และอุณหภูมิในการ

เกิดเจลที่ในเซชันมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเมื่อแป้งผ่าน
กระบวนการ HMT ในสภาวะความชื้นสูงหรืออุณหภูมิ
สูง น่าจะเป็นเพราะกระบวนการ HMT ยังทำให้
โมเลกุลสตาร์ชจัดเรียงตัวเป็นระเบียบมากขึ้น โครงร่าง
ผลึกจึงมีความแข็งแรงเพิ่มขึ้น ทำให้เม็ดแป้งดูดน้ำและ
พองตัวยากขึ้นจึงเกิดการเจลที่ในเซชันได้ยากขึ้น
ในขณะที่ค่า ΔH_{gel} มีค่าน้อยกว่าแป้งดั้งเดิม และมี
แนวโน้มลดลงเมื่อผ่านกระบวนการ HMT ในสภาวะที่
รุนแรงมากขึ้น (ความชื้นสูงหรืออุณหภูมิสูง) น่าจะเป็น
เพราะสายเกลียวคู่บางส่วนที่อยู่ในบริเวณโครงร่างผลึก
และ non-crystalline ของเม็ดสตาร์ชน่าจะถูกทำลาย
ภายใต้สภาวะ HMT (Gunaratne and Hoover,
2002) กล่าวคือแป้งเกิดการเจลที่ในเซชันบางส่วนใน
ระหว่างกระบวนการ HMT จึงทำให้พลังงานในการเกิด
เจลที่ในเซชันลดลง

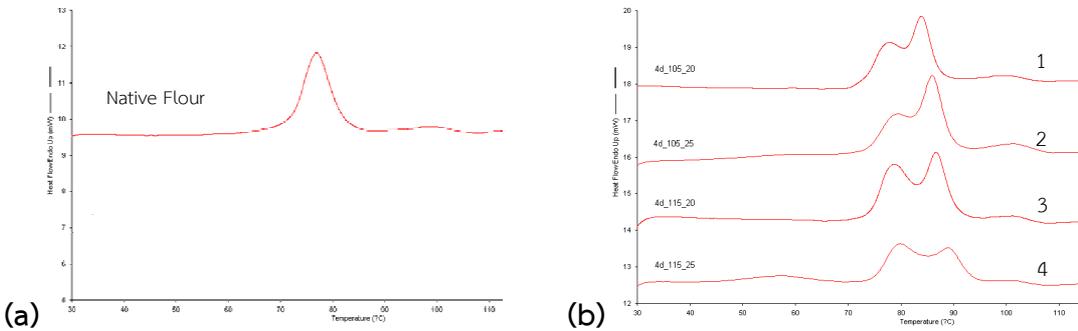
แป้งดั้งเดิมมีช่วงอุณหภูมิในการเกิดเจลที่-
ในเซชันอยู่ในช่วง 72-83 องศาเซลเซียส ในขณะที่แป้ง
FHMT แสดงช่วงอุณหภูมิในการเกิดเจลที่ในเซชัน
กว้างกว่าแป้งดั้งเดิมคือที่ช่วงอุณหภูมิ 73-93 องศา
เซลเซียส น่าจะเป็นเพราะโครงร่างผลึกภายในเม็ดแป้ง
FHMT มีลักษณะหลากหลายและความแข็งแรงที่
แตกต่างกันมากกว่าโครงร่างผลึกของแป้งดั้งเดิม

พิศการดูคลื่นพลังงานในการเกิดเจลที่-
ในเซชันของแป้งดั้งเดิมมีลักษณะแตกต่างจากแป้ง
FHMT ที่ผ่านการหมักนาน 4 วัน (รูปที่ 1a และ 1b)
กล่าวคือพิศของแป้งดั้งเดิมมีลักษณะเป็นพิศเดี่ยว
ในขณะที่แป้ง FHMT ที่ผ่านการหมักนาน 4 วันมี
ลักษณะเป็นสองพิศเชื่อมติดกัน และมีกว้างขึ้น ซึ่งมี
ลักษณะคล้ายคลึงกับแป้ง FHMT ที่ผ่านการหมักนาน
0 1 2 และ 3 วัน อาจเนื่องจากกระบวนการ FHMT
ทำให้ลักษณะและความแข็งแรงของโครงร่างผลึก
ภายในเม็ดแป้งเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม

ตารางที่ 4 Thermal properties of gelatinized of native flour and fermented-heat moisture treated flours

Fermentation time (days)	Temperature (°C)	Moisture content (%)	Gelatinization temperature (°C)			ΔH_{gel} (J/g dry basis)
			$T_{O_{gel}}$	$T_{P_{gel}}$	$T_{C_{gel}}$	
native	-	-	72.19±0.15	77.12±0.34	82.48±0.57	15.67±0.52
0	105	20	73.28 ^{bc} ±0.47	84.83 ^a ±0.49	88.81 ^c ±0.69	13.12 ^a ±0.06
		25	74.18 ^b ±0.54	86.37 ^a ±0.12	90.76 ^b ±0.35	10.60 ^c ±0.60
	115	20	73.13 ^c ±0.06	86.01 ^b ±0.06	89.85 ^{bc} ±0.13	11.71 ^b ±0.05
		25	75.34 ^a ±0.17	80.63 ^c ±0.11	93.50 ^a ±0.07	7.86 ^d ±0.03
2	105	20	74.22 ^{ab} ±0.40	84.90 ^b ±0.33	88.71 ^c ±0.58	13.19 ^a ±0.21
		25	73.41 ^b ±0.66	86.15 ^a ±0.44	89.97 ^b ±0.41	10.41 ^c ±0.31
	115	20	73.40 ^b ±0.28	86.12 ^a ±0.21	89.67 ^{bc} ±0.28	12.47 ^b ±0.17
		25	74.93 ^a ±0.34	79.88 ^c ±0.24	93.43 ^a ±0.18	7.53 ^d ±0.14
4	105	20	72.56 ^c ±0.21	83.89 ^b ±0.01	87.25 ^d ±0.01	15.94 ^a ±0.09
		25	73.48 ^b ±0.23	85.93 ^b ±0.01	89.68 ^c ±0.06	11.40 ^b ±0.09
	115	20	74.21 ^a ±0.05	86.63 ^b ±0.02	90.45 ^b ±0.06	13.02 ^b ±0.07
		25	74.68 ^a ±0.41	79.61 ^d ±0.37	93.14 ^a ±0.39	8.66 ^d ±0.04

a,b,c,d for each fermentation time, means in same column with different letters are significantly different ($P \leq 0.05$)



รูปที่ 1 Gelatinization endotherms of native flour (a), and fermented 4 days FHMT flours (b); heated 105°C at moisture content of 20% (1), heated 105°C at moisture content of 25% (2), heated 115°C at moisture content of 20% (3), and heated 115°C at moisture content of 25% (4).

5. ผลของการหมักและการให้ความร้อนร่วมกับความชื้นต่อการเกิดรีโทรเกรดชันของแป้งข้าว

เมื่อแป้งเกิดเจลจากทีโนเซนโมเลกุลสตาร์ชอยู่กันอย่างอิสระ (Kaletunc and Breslauer, 2003) และเมื่อเจลแป้งให้เย็นตัวลง หรือในระหว่างการเก็บรักษาโมเลกุลของแอมิโลสและแอมิโลเพกทินที่

แขวนลอยอยู่ไม่เสถียรเพื่อทำให้ระบบมีความเสถียรมากขึ้นโมเลกุลสตาร์ชจึงพยายามจัดเรียงตัวกันใหม่ด้วยพันธะไฮโดรเจน (Hoseney, 1998) โดยการพันกันเป็นเกลียวคู่ (double-helix) สายเกลียวคู่สามารถรวมตัวกันจนเป็นโครงร่างผลึกสามมิติเรียกปรากฏการณ์นี้เหล่านี้ว่ารีโทรเกรดชัน ในการทดลองนี้

ศึกษาการเกิดรีโทรเกรเดชันของแอมิโลเพกทิน โดยวิเคราะห์ด้วยเครื่อง DSC เพื่อวัดค่าพลังงานที่ใช้ในการสลายผลึกแอมิโลเพกทินรีโทรเกรด (ΔH_{retro}) ค่าอุณหภูมิเริ่มต้นในการสลายผลึกแอมิโลเพกทินรีโทรเกรด (onset temperature: T_{Oretro}) อุณหภูมิที่จุดสูงสุด (peak temperature: T_{Pretro}) และอุณหภูมิสุดท้ายของการสลายผลึกแอมิโลเพกทินรีโทรเกรด (conclusion temperature: T_{Cretro})

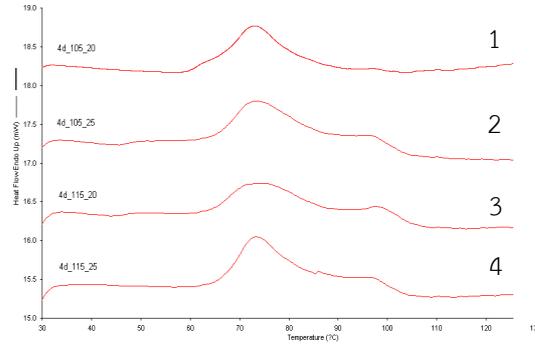
ระยะเวลาในการหมักมีผลต่อ ΔH_{retro} ของแป้ง FHMT โดย ΔH_{retro} ของแป้ง FHMT มีแนวโน้มลดลงเมื่อระยะเวลาในการหมักเพิ่มขึ้นอาจเป็นเพราะโมเลกุลสตาร์ชสายสั้นทำให้เกิดรีโทรเกรเดชันน้อยลงโดยโมเลกุลสายสั้นเหล่านี้สามารถเคลื่อนที่แบบบราวน์ (Brownian motion) อย่างรวดเร็วทำให้ขัดขวางการจัดเรียงตัวใหม่ของโครงร่างผลึกรีโทรเกรด (Thirathumthavorn and Charoenrein, 2005) ในขณะที่ T_{Oretro} T_{Pretro} และ T_{Cretro} มีแนวโน้มสูงขึ้นเมื่อระยะเวลาในการหมักนานขึ้นน่าจะเป็นเพราะผลึกรีโทรเกรดที่เกิดขึ้นมีความเสถียร และสมบูรณ์เพิ่มขึ้นถึงแม้ว่าจะมีปริมาณผลึกรีโทรเกรดลดลง (ΔH_{retro} ลดลง)

สภาวะ HMT ไม่แสดงผลอย่างชัดเจนต่อค่า ΔH_{retro} T_{Oretro} T_{Pretro} และ T_{Cretro} ในทั้งเจลแป้ง FHMT ที่ผ่านและไม่ผ่านการหมัก (ตารางที่ 5) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะโครงสร้างของแอมิโลเพกทินที่ถูกทำให้แตก

ออกหรือเปลี่ยนแปลงไปในระหว่างการทำ HMT ในสภาวะต่าง ๆ ไม่มีผลทำให้การกลับมารวมตัวกันเป็นโครงร่างผลึกรีโทรเกรดแตกต่างกันมากนัก (พิณทิพย์, 2547)

ค่า ΔH_{retro} ของแป้ง FHMT มีแนวโน้มน้อยกว่าแป้งดั้งเดิม น่าจะเป็นผลเนื่องจากผลจากการหมักที่ทำให้โมเลกุลแป้งเป็นสายตรงสั้น ๆ โดยโมเลกุลสายสั้นเหล่านี้อาจไปขัดขวางการเกิดรีโทรเกรเดชัน ในขณะที่ T_{Ogel} T_{Pgel} และ T_{Cgel} มีแนวโน้มสูงกว่าแป้งดั้งเดิม น่าจะเป็นเพราะผลึกรีโทรเกรดที่เกิดขึ้นมีความเสถียร และสมบูรณ์เนื่องจากมีโมเลกุลสายตรงเพิ่มขึ้น

เส้นกราฟการดูดกลืนความร้อนของการสลายโครงร่างผลึกที่เกิดจากรีโทรเกรเดชันของแอมิโลเพกทิน (รูปที่ 2) มีลักษณะและช่วงอุณหภูมิในการเกิดพีคแตกต่างจากเส้นกราฟการดูดกลืนความร้อนของการเกิดเจลไโนเซชัน (รูปที่ 1) เนื่องจากโครงร่างของผลึกรีโทรเกรดของแอมิโลเพกทินแตกต่างจากโครงร่างผลึกที่มีอยู่ในสตาร์ชดั้งเดิม (Karim et al., 2000) โดยพีคการสลายโครงร่างผลึกรีโทรเกรดของแอมิโลเพกทินเกิดขึ้นในช่วงอุณหภูมิต่ำกว่าพีคของการเกิดเจลไโนเซชัน อาจเป็นเพราะผลึกรีโทรเกรดเกิดจากการเรียงตัวกันของโมเลกุลเป็นระเบียบน้อยกว่า ทำให้ความเป็นผลึกลดลง ไม่แข็งแรงและมีความเสถียรลดลงจึงสลายตัวที่อุณหภูมิต่ำกว่า (Ward et al., 1994)



รูปที่ 2 Retrogradation endotherms of fermented 4 days FHMT flours; heated 105°C at moisture content of 20% (1), heated 105°C at moisture content of 25% (2), heated 115°C at moisture content of 20% (3), and heated 115°C at moisture content of 25% (4).

ตารางที่ 5 Thermal properties of retrograded native flour and fermented-heat moisture treated flours

Fermentation time (days)	Temperature (°C)	Moisture content (%)	Transition temperature (°C)			ΔH_{retro} (J/g dry basis)
			T_{Oretro}	T_{Pretro}	T_{Cretro}	
native	-	-	61.84±0.41	68.20±0.77	75.56±3.61	4.50±0.40
0	105	20	62.72 ^a ±0.33	68.98 ^a ±0.23	77.21 ^a ±0.35	4.46 ^a ±0.22
		25	62.71 ^a ±1.35	71.29 ^b ±0.08	85.73 ^a ±0.66	4.43 ^a ±1.20
	115	20	64.42 ^a ±2.70	71.82 ^a ±4.06	81.94 ^a ±6.20	4.52 ^a ±0.66
		25	62.56 ^a ±0.45	71.31 ^b ±0.22	84.68 ^a ±1.25	4.85 ^a ±0.54
2	105	20	64.05 ^a ±0.54	70.71 ^a ±1.32	83.19 ^a ±2.33	3.23 ^a ±0.13
		25	63.77 ^a ±0.11	71.52 ^b ±0.21	85.51 ^a ±0.39	3.77 ^a ±0.36
	115	20	63.92 ^a ±0.45	71.30 ^b ±0.24	84.55 ^a ±0.67	3.60 ^a ±0.28
		25	63.89 ^a ±0.19	72.88 ^b ±0.83	85.50 ^a ±0.34	4.08 ^a ±0.49
4	105	20	64.89 ^b ±0.38	73.19 ^b ±0.23	82.16 ^b ±1.34	3.80 ^a ±0.45
		25	65.51 ^b ±0.34	73.14 ^b ±0.23	85.11 ^a ±0.69	4.38 ^a ±0.22
	115	20	64.03 ^b ±0.11	72.48 ^b ±1.44	85.79 ^b ±0.21	3.78 ^a ±0.19
		25	66.56 ^a ±0.11	73.47 ^a ±0.25	82.80 ^b ±0.23	4.25 ^a ±0.11

a,b,c,d for each fermentation time, means in same column with different letters are significantly different ($P \leq 0.05$)

6. ผลของการหมักและการให้ความร้อนร่วมกับความชื้นต่อเนื้อสัมผัสของเจลแป้งข้าว

จากการทดสอบเนื้อสัมผัสพบว่าค่าแรงสูงสุดของเจลแป้งดั้งเดิมมีค่าเท่ากับ 198 กรัม (ตารางที่ 6) ข้าวพันธุ์เหลืองประทิวจัดเป็นข้าวในกลุ่มที่มีปริมาณแอมิโลสสูง แป้งที่มีปริมาณแอมิโลสสูงให้เจลแป้งที่มีลักษณะเนื้อสัมผัสที่ค่อนข้างแข็ง (Collado and

Corke, 1999) จากการทดลองพบว่าเจลแป้ง FHMT มีแนวโน้มให้ค่าแรงสูงสุดต่ำกว่าเจลแป้งดั้งเดิม ซึ่งแสดงว่าเจลแป้ง FHMT มีความแข็งน้อยกว่าเจลแป้งดั้งเดิม โดยแป้ง FHMT ที่ผ่านสภาวะ HMT ที่รุนแรง (ความชื้นสูงหรืออุณหภูมิสูง) มีแนวโน้มให้ค่าแรงสูงสุดของเจลแป้งลดต่ำลง น่าจะเป็นเพราะเม็ดแป้งมีการพองตัวน้อยลงหลังผ่านกระบวนการหมัก (สุพัตรา,

2548) และผ่านกระบวนการ HMT (Collado and Corke, 1999) เม็ดแป้งจึงดูดน้ำได้น้อย ทำให้ในเจลแป้งมีน้ำอิสระที่ไม่อยู่ในโครงสร้างของเจลปริมาณมาก เจลแป้งจึงมีลักษณะนิ่มและ หรืออาจเป็นผลจากการที่โครงสร้างโมเลกุลสตาร์ชถูกเอนไซม์และกรดอินทรีย์จากจุลินทรีย์ในกระบวนการหมักย่อยให้โมเลกุลสายสั้นลง ทำให้เกิดเจลที่มีความแข็งแรงลดลง ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับค่าเซกเบคที่ลดลง (ตารางที่ 3) จากการทดลองของพิณทิพย์ (2547) พบว่าเจลแป้งที่ผ่านกระบวนการ HMT มีค่าแรงสูงสุด

สูงกว่าเจลแป้งดั้งเดิม เนื่องจากการที่แอมิโลเพกทินถูกทำลายหรือถูกทำให้เปลี่ยนแปลงไประหว่างการทำ HMT ทำให้เจลแป้งสามารถเกิดการสานตัวเป็นโครงสร้างตาข่ายได้เพิ่มขึ้น ซึ่งไม่สอดคล้องกับผลการทดลองของผู้วิจัย น่าจะเป็นเพราะข้าวที่ใช้เป็นวัตถุดิบมีความแตกต่างทางองค์ประกอบทางเคมีเช่น ปริมาณแอมิโลสและขนาดโมเลกุลแอมิโลสและแอมิโลเพกทิน เป็นต้น หรืออาจเป็นเพราะสภาวะ HMT ที่ทดลองแตกต่างกัน

ตารางที่ 6 Maximum force (g) of native flour gel and fermented-heat moisture treated flour gels

Flour	Temp. (°C)	mc (%)	Fermentation time (days)				
			0	1	2	3	4
native	-	-	198.35±28.68	-	-	-	-
		20	173.25 ^{ab} ±6.67	176.78 ^{ab} ±17.67	183.90 ^{ab} ±5.70	199.57 ^{ab} ±9.03	202.18 ^{ab} ±10.76
FHMT	105	25	99.16 ^{cd} ±8.11	158.36 ^{bb} ±6.32	147.34 ^{bc} ±1.40	174.91 ^{ba} ±5.13	152.49 ^{bbc} ±6.17
		20	183.20 ^{aab} ±16.07	187.65 ^{aa} ±20.47	159.02 ^{bbc} ±24.62	151.99 ^{cc} ±32.12	195.12 ^{aa} ±10.91
	115	25	125.93 ^{bb} ±14.61	150.06 ^{ba} ±5.85	107.95 ^{cd} ±6.28	104.45 ^{dd} ±3.70	116.60 ^{cbb} ±5.89
		20	183.20 ^{aab} ±16.07	187.65 ^{aa} ±20.47	159.02 ^{bbc} ±24.62	151.99 ^{cc} ±32.12	195.12 ^{aa} ±10.91

a,b,c,d for each fermentation time, means in same column with different letters are significantly different (P<0.05)

A,B,C,D for each heat-moisture treatment, means in same row with different letters are significantly different (P<0.05)

สรุปผลการวิจัย

การย่อยแป้งด้วยการหมักทางธรรมชาติเป็นเวลา 1 และ 3 วัน ร่วมกับกระบวนการให้ความร้อนและความชื้นมีแนวโน้มทำให้แป้งข้าวมีปริมาณ RS เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับแป้งดั้งเดิม โดยแป้งที่ผ่านการหมัก 1 วันและผ่านกระบวนการให้ความร้อนร่วมกับความชื้นที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสและความชื้น 25% มีปริมาณ RS สูงที่สุด เมื่อระยะเวลาในการหมักนานขึ้นมีแนวโน้มทำให้ปริมาณ RS ลดลง และกระบวนการ HMT ที่ระดับความชื้นและความร้อนสูงมีแนวโน้มทำให้ปริมาณ RS ลดลงเช่นกัน กระบวนการ FHMT ทำให้แป้งมีความหนืดลดลง เม็ดแป้งแข็งแรงขึ้นและพองตัวน้อยลง อุณหภูมิในการเกิดเจลที่ในเซชันเพิ่มขึ้น และการเกิดรีโทรเกรเดชันของแอมิโลเพกทิน

ลดลง การที่แป้ง FHMT มีคุณสมบัติทางเคมี-ฟิสิกส์แตกต่างจากแป้งดั้งเดิมจึงเป็นการเพิ่มความหลากหลายของคุณสมบัติของแป้งข้าวเพื่อสามารถนำแป้งข้าวไปใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารได้หลากหลายเพิ่มมากขึ้น อีกทั้งแป้ง FHMT ยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพ

เอกสารอ้างอิง

- กล้าณรงค์ ศรีรอด และ เกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ. (2543). เทคโนโลยีของแป้ง. พิมพ์ครั้งที่ 2. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ: 292 หน้า
- ภควัฒน์ เดชชีวะ และ อรอนงค์ นัยวิกุล. (2547). การเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของข้าวในระหว่างกระบวนการหมักขนมจีน, ในเรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่

- 43 (สาขาอุตสาหกรรมเกษตร).มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. น. 387-394.
- พิณทิพย์ รัสมภักกรณ. (2547). การดัดแปรแป้งข้าวโดยการให้ความร้อนร่วมกับความชื้น.วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ: 131 หน้า
- สุพัตราโพธิเศษ. (2548). การเปลี่ยนแปลงทางเคมี ภายภาคและเคมีเชิงฟิสิกส์ของแป้งข้าวในการผลิตแป้งแผ่น. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ: 145 หน้า
- ศันสนีย์ อุดมระติ. (2548). การเกิดเจลที่โนเซชันและรีโทรเกรเดชันของสตาร์ชข้าว 4 พันธุ์. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ: 162 หน้า
- A.A.C.C. (2000). Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists. 10th ed., American Association of cereal Chemists, St. Paul, MN.
- Amadou, I., Gounga, M.E., Shi, Y.H. and Le, G.W. (2014). Fermentation and heat-moisture treatment induced changes on the physicochemical properties of foxtail millet (*Setaria italica*) flour. Food and Bioproducts Processing 9: 38-45
- A.O.A.C. (2000). Official Methods of Analysis. 20th ed. The Association of Official Analytical Chemists, Arlington, Virginia.
- Betancur, A.D. and Chel, G.L. (1997). Acid hydrolysis and characterization of Canacaliaensiformis starch. J. Agr. Food Chem. 45: 4237-4241.
- Biliaderis, C.G., Grant, D.R. and Vose, J.R. (1981). Structural characterization of legume starches. II. Study on acid-treated starches. Cereal Chem. 58: 502-507.
- Brumovsky, J.O. and Thompson, D.B. (2001). Production of boiling-stable granular resistant starch by partial acid hydrolysis and hydrothermal treatments of high-amylose maize starch. Cereal Chem. 78: 680-689.
- Champ, M., Martin, L., Noah, L. and Gratas, M. (1999). Analytical methods for resistant starch, In Complex Carbohydrates in Foods, Sungsoo, C.S.; L. Prosky and M. Dreher, (eds.) New York: Marcel Dekker Inc., 169-187.
- Chung, H.J., Jeong, H.Y. and Lim, S.T. (2003). Effects of acid hydrolysis and defatting on crystallinity and pasting properties of freeze-thawed high amylose corn starch. Carbohydrpolym. 54: 449-455.
- Chung, H.J., Lim, H.S. and Lim, S.T. (2006). Effect of partial gelatinization and retrogradation on the enzymatic digestion of waxy rice starch. J. Cereal Sci. 43: 353-359.
- Chung, H.J., Liu, Q. and Hoover, R. (2009). Impact of annealing and heat-moisture treatment on rapidly digestible, slowly digestible and resistant starch levels in native and gelatinized corn, pea and lentil starches. Carbohydrpolym. 75: 436-447.
- Collado, L.S. and Corke, H. (1999). Heat-moisture treatment effects on sweetpotato starches differing in amylose content. Food Chem. 65: 339-346.
- Colonna, P., Buleon, A. and Lemarie, F. (1987). Action of *Bacillus subtilis* α -amylase on native wheat starch. Biotech and Bioeng. 31: 895-904.
- Franco, C.M.S., Ciacco, C.F. and Tavares, D.Q. (1995). Effect of the heat-moisture treatment on the enzymatic susceptibility of corn starch granules. Starch/Stärke. 47: 223-228.
- Gunaratne, A. and Hoover, R. (2002). Effect of heat-moisture on the structure and physicochemical properties of tuber and root starches. CarbohydrPolym. 49: 425-437.

- Han, X.Z. and Hamaker, B.R. (2001). Amylopectin fine structure and rice starch paste breakdown. *J. Cereal Sci.* 34: 279-284.
- Hoseney, C.R. (1998). *Cereal Science and Technology*. 2nd Ed. Minnesota, USA: American association of cereal chemists, Inc. 378p.
- Hu, P., Zhao, H., Duan, Z., Linlin, Z. and Wu, D. (2004). Starch digestibility and the estimated glycemic score of different types of rice differing in amylose contents. *J. Cereal Sci.* 40: 231-237.
- Juliano, B.O. (1971). A simplified essay for milled-rice amylase. *Cereal Sci. Today.* 16: 334-360.
- Kaletunc, G. and Breslauer, K.J. (2003). *Characterization of Cereals and Flour*. New York: Marcel Dekker, Inc., 523p.
- Kainuma, K. and French, D. (1972). Nageliamylopectin and its relationship to starch granule structure. II. Role of water in crystallization of B-starch. *Biopolymers.* 11: 2241-2250.
- Karim, A.A., Norziah, M.H. and Seow, C.C. (2000). Methods for the study of starch retrogradation. *Food Chem.* 71: 9-36.
- Li, S., Ward, R. and Gao, Q. (2011). Effect of heat-moisture treatment on the formation and physicochemical properties of resistant starch from mung bean (*Phaseolus radiatus*) starch. *Food Hydrocolloids.* 25: 1702-1709.
- Maaruf, G.A., Che-Man, Y.B., Asbi, B.A., Junainah, A.H. and Kennedy, J.F. (2001). Effect of water content on the gelatinization temperature of sago starch. *CarbohydrPolym.* 46: 331-337.
- Singh, V., Haken, A.E., Dowd, M.K., Niu, Y.X., Zou, S.H. and Eckhoff, S.R. (1999). Batch Steeping of Corn: Effect of Adding Lactic Acid and Sulfur Dioxide at Different Times on Starch Yields, Protein Contents, and Starch Pasting Properties. *Cereal Chem.* 76: 600-605.
- Singh, V. and Ali, S.Z. (2000). Acid degradation of starch. The effect of acid and starch type. *CarbohydrPolym.* 41:191-195.
- Shin, S., Byun, J., Park, K.H. and Moon, T.W. (2004). Effect of partial acid hydrolysis and heat-moisture treatment on formation of resistant tuber starch. *Cereal Chem.* 81: 194-198.
- Shi, C.Y. and Seib, P.A. (1994). Fine structure of maize starches from four wx-containing genotypes of the W64A inbred line in relation to gelatinization and retrogradation. *CarbohydrPolym.* 26: 141-147.
- Tester, F.R. (1997). Starch: the polysaccharide fractions, Pages 163-147. In *Starch Structure and Functionality*. P.L. Frazier; A.M. Donald and P. Richmond, (eds). The Royal Society of Chemistry, U.K.
- Thirathumthavorn, D. and Charoenrein, S. (2005). Thermal and Pasting Properties of Acid-treated Rice Starches. *Starch/Stärke* 57: 217-222.
- Vandeputte, E.G., Vermeylen, R., Geeroms, J. and Delcour, J.A. (2003). Rice starch. I. structural aspects provide insight into crystallinity characteristics and gelatinization behavior. *J. Cereal Sci.* 38: 43-52.
- Walter, M., Silva, L.P. and Denardin, C.C. (2005). Rice and resistant starch: different content depending on chosen methodology. *J. Food Comp & Anal.* 18: 279-285.
- Ward, J.E.K., Hoseney, R.C. and Seiv, P.A. (1994). Retrogradation of amylopectin from maize and wheat starches. *Cereal Chem.* 71: 150-155.
- Weihong, M., Lite, L., Zhanhui, L., Hubing, L. and Tatsumi, E. (2003). Mechanism of improving

eating quality of rice noodles by lactic acid bacteria fermentation. Food Ferment Ind. 29: 5-9.

Yue, P. and Waring, S. (1998). Resistant starch in food applications. Cereal Foods World. 43: 690-695.

