



### วิธีการทดลอง

#### วัตถุดิบ

- แป้งถั่วเขียว (บริษัท สิทธิพันธ์ จำกัด (มหาชน), กรุงเทพฯ) สกัดได้จากถั่วเขียวผิวมัน และไม่ผ่านการฟอกสี
- แอลฟา-อะไมเลส (Termamyl 120L<sup>®</sup>; Novo Nordisk Co., Bagsvaerd, Denmark) สกัดจากแบคทีเรีย *Bacillus licheniformis* เป็นเอนไซม์ที่ทนอุณหภูมิสูงประมาณ 85 ถึง 95 องศาเซลเซียส และมีแอกติวิตี 120 Kilo Novo alpha-amylase Unit (KNU)\* ต่อกรัม
- บีต้า-อะไมเลส (Sigma Chemical Co., MO., USA) สกัดจากมันเทศผ่านการทำให้บริสุทธิ์แล้วเพื่อกำจัดแอลฟา-อะไมเลสและกลูโคอะไมเลส (แอลฟา-อะไมเลสและกลูโคอะไมเลส น้อยกว่าร้อยละ 0.001) และมีแอกติวิตี 965 Kilo Unit (KU)\*\* ต่อกรัม

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- 
- \* 1 KNU คือ ปริมาณเอนไซม์ที่ข่อยแป้ง 5.26 กรัมต่อชั่วโมง ตามวิธีมาตรฐานของบริษัท Novo Nordisk ที่ภาวะดังนี้ แป้งอยู่ในรูปของสารละลายซึ่งมีแคลเซียม 0.0043 มิลลิโมลาร์ ค่าความเป็นกรด-ด่าง 5.6 และอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และเวลาของการข่อยในช่วงระหว่าง 7 ถึง 20 นาที
- \*\* 1 KU คือ ปริมาณเอนไซม์ที่ข่อยแป้งให้ได้มอลโตส 1 มิลลิกรัม ในเวลา 3 นาที ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง 4.8 และอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

## ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย

### 1. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและสมบัติทางกายภาพของแป้งข้าวเจ้า

#### 1.1 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของแป้งข้าวเจ้า ดังต่อไปนี้

1.1.1 ความชื้น ตามวิธี AOAC.925.10 (1990) (ภาคผนวก ก)

1.1.2 โปรตีน ตามวิธี AOAC. 920.87 (ภาคผนวก ก)

1.1.3 เส้นใย ตามวิธี AOAC.962.09 (1990) (ภาคผนวก ก)

1.1.4 ไนมัน ตามวิธี AOAC.920.39 (1990) (ภาคผนวก ก)

1.1.5 เถ้า ตามวิธี AOAC.923.03 (1990) (ภาคผนวก ก)

#### 1.2 คำนวณปริมาณคาร์โบไฮเดรต ตามสมการต่อไปนี้

ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (ร้อยละ) =

100 - (ผลรวมของปริมาณร้อยละขององค์ประกอบอื่น)

#### 1.3 วัดค่าความเป็นกรด-ด่างของแป้งข้าวเจ้า ตามวิธี AOAC. 943.02

(1990)

1.4 วัดหาอุณหภูมิที่ทำให้แป้งข้าวเจ้าละลายในน้ำเป็นแป้งเปียก (pasting temperature) ด้วย Brabender visco-amylograph โดยใช้ความเข้มข้นของแป้ง 6 กรัมต่อเดซิลิตร

### 2. การศึกษาภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการผลิต บั๊ตา-ลิมิต เดกซ์ทริน

การทดลองนี้ผลิตบั๊ตา-ลิมิต เดกซ์ทรินจากแป้งข้าวเจ้า โดยวิธีการย่อยแป้งข้าวเจ้าด้วยแอลฟา-อะไมเลสและบั๊ตา-อะไมเลส ซึ่งดัดแปลงมาจากวิธีของ Kaper และคณะ (1987) และ Nebesny (1990b) ดังนั้นการวิจัยนี้จึงศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่างและอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดในการย่อยแป้งข้าวเจ้าด้วยแอลฟา-อะไมเลสเพื่อใช้เป็นภาวะสำหรับลิเคอแฟคชัน และศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ และอัตราส่วนของเอนไซม์ต่อแป้งแห้งที่เหมาะสมที่สุดในการย่อยแป้งข้าวเจ้าด้วยบั๊ตา-อะไมเลสและเวลาที่บั๊ตา-อะไมเลสย่อยลิเคอไฟสตาไรซ์อย่างสมบูรณ์เพื่อใช้เป็นภาวะสำหรับแซคคาริฟิเคชัน

ออกแบบการทดลองโดยใช้ Completely randomized design (CRD)

ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

## 2.1 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการย่อยแป้งข้าวเจ้าด้วยแอลฟา-อะไมเลส

### 2.1.1 ค่าความเป็นกรด-ด่าง

แปรค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลายปฏิกิริยา 8 ระดับ คือ 3.5, 4.0, 4.5, 5.0 และ 5.5 ด้วยอะซิเตตบัฟเฟอร์ และ 6.0, 7.0 และ 8.0 ด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ในการย่อยสารละลายแป้งข้าวเจ้าซึ่งมีความเข้มข้น 1 กรัมต่อเดซิลิตร ของบัฟเฟอร์ ด้วยแอลฟา-อะไมเลส เป็นเวลานาน 1 นาที โดยใช้อัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งแห้ง 1.66 KNU ต่อ 100 กรัม และอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ปริมาตรสุทธิของสารละลายปฏิกิริยาเท่ากับ 5 มิลลิลิตร หยุดการทำงานของแอลฟา-อะไมเลสตามวิธีการของวรัญญู (วรัญญู ศรีเดช, 2537) โดยปรับค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลายปฏิกิริยาเป็น 3.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก 0.1 นอร์มอล จากนั้นทำให้ร้อนในอ่างน้ำเดือดที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 10 นาที วิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ตามวิธีของ Miller (1959) (ภาคผนวก ข) และคำนวณเป็นปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เกิดขึ้นต่อนาที

ประเมินผลจากความเร็วของปฏิกิริยาที่ค่าความเป็นกรด-ด่างข้างต้น วิเคราะห์ข้อมูลโดยการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (One-way analysis of variance) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้ Multiple range test

### 2.1.2 อุณหภูมิ

ย่อยสารละลายแป้งข้าวเจ้าความเข้มข้น 1 กรัมต่อเดซิลิตร ของบัฟเฟอร์ ด้วยแอลฟา-อะไมเลสเป็นเวลานาน 1 นาที โดยแปรอุณหภูมิของสารละลายปฏิกิริยา 5 ระดับ คือ 75, 80, 85, 90 และ 95 องศาเซลเซียส และใช้อัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งแห้ง 1.66 KNU ต่อ 100 กรัม และค่าความเป็นกรด-ด่างที่ได้จากข้อ 2.1 ปริมาตรสุทธิของสารละลายปฏิกิริยาเท่ากับ 5 มิลลิลิตร หยุดการทำงานของแอลฟา-อะไมเลส โดยปรับค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลายปฏิกิริยาเป็น 3.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก 0.1 นอร์มอล จากนั้นทำให้ร้อนในอ่างน้ำเดือดที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 10 นาที การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ตามวิธีของ Miller (1959) (ภาคผนวก ข) และคำนวณเป็นปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เกิดขึ้นต่อนาที

ประเมินผลและวิเคราะห์ข้อมูลเช่นเดียวกับข้อ 2.1.1

## 2.2 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการย่อยแป้งข้าวเจ้าด้วยบีต้า-อะไมเลส

### 2.2.1 ค่าความเป็นกรด-ด่าง

แปรค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลายปฏิกิริยา 8 ระดับ คือ 3.5, 4.0, 4.5 และ 5.0 ด้วยอะซิเตตบัฟเฟอร์ และ 5.5, 6.0, 7.0 และ 8.0

ด้วยฟอสเฟตบัพเฟออร์ ในการย่อยสลายละลายแป้งถั่วเขียวความเข้มข้น 1 กรัมต่อเดซิลิตร ของบัพเฟออร์ ด้วยบิต้า-อะไมเลสเป็นเวลานาน 1 นาที โดยใช้อัตราส่วนของบิต้า-อะไมเลส ต่อแป้งแห้ง 10 KU ต่อ 100 กรัม และอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ปริมาตรสุทธิของสารละลายปฏิกิริยาเท่ากับ 5 มิลลิลิตร หยุดการทำงานของบิต้า-อะไมเลส โดยทำให้ร้อนในอ่างน้ำเดือดที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 10 นาที การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ตามวิธีของ Miller (1959) (ภาคผนวก ข) และคำนวณเป็นปริมาณน้ำตาลมอลโตสที่เกิดขึ้นต่อนาที

ประเมินผลและวิเคราะห์ข้อมูลเช่นเดียวกับข้อ 2.1.1

### 2.2.2 อุณหภูมิ

ย่อยสลายละลายแป้งถั่วเขียวความเข้มข้น 1 กรัมต่อเดซิลิตร ของบัพเฟออร์ ด้วยบิต้า-อะไมเลส เป็นเวลานาน 1 นาที โดยแปรอุณหภูมิของสารละลายปฏิกิริยา 7 ระดับ คือ 40, 50, 55, 60, 65, 70 และ 80 องศาเซลเซียส และอัตราส่วนของบิต้า-อะไมเลสต่อแป้งแห้ง 10 KU ต่อ 100 กรัม และค่าความเป็นกรด-ด่างที่ได้จากข้อ 2.2.1 ปริมาตรสุทธิของสารละลายปฏิกิริยาเท่ากับ 5 มิลลิลิตร หยุดการทำงานของบิต้า-อะไมเลส โดยทำให้ร้อนในอ่างน้ำเดือดที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 10 นาที การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ตามวิธีของ Miller (1959) (ภาคผนวก ข) และคำนวณเป็นปริมาณน้ำตาลมอลโตสที่เกิดขึ้นต่อนาที

ประเมินผลและวิเคราะห์ข้อมูลเช่นเดียวกับข้อ 2.1.1

### 2.2.3 อัตราส่วนของบิต้า-อะไมเลสต่อแป้งถั่วเขียว

แปรอัตราส่วนของบิต้า-อะไมเลสต่อแป้งแห้ง ในช่วง 6.60 ถึง 98.96 KU ต่อ 100 กรัม (แปรความเข้มข้นของสารละลายแป้งถั่วเขียวในช่วงระหว่าง 0.1 ถึง 1.5 กรัมต่อเดซิลิตร และความเข้มข้นของบิต้า-อะไมเลสคงที่ 88.78 U ต่อเดซิลิตร) ในการย่อยสลายละลายแป้งถั่วเขียวด้วยบิต้า-อะไมเลส เวลาในการย่อยนาน 1 นาที โดยใช้ค่าความเป็นกรด-ด่างที่ได้จากข้อ 2.2.1 และอุณหภูมิที่ได้จากข้อ 2.2.2 ปริมาตรสุทธิของสารละลายปฏิกิริยาเท่ากับ 5 มิลลิลิตร หยุดการทำงานของบิต้า-อะไมเลสโดยทำให้ร้อนในอ่างน้ำเดือดที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 10 นาที

ประเมินผลโดยการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ตามวิธีของ Miller (1959) (ภาคผนวก ข) และคำนวณเป็นปริมาณน้ำตาลมอลโตสที่เกิดขึ้นต่อนาที วิเคราะห์ข้อมูลโดยเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเร็วของปฏิกิริยาการย่อยแป้งถั่วเขียว ด้วยบิต้า-อะไมเลสและความเข้มข้นของสารละลายแป้งถั่วเขียว

### 2.2.4 เวลาที่ใช้ในการย่อยลิเคอไฟสตา์ชด้วยบีต้า-อะไมเลส

เตรียมลิเคอไฟสตา์ชโดยการย่อยสารแขวนลอยแป้งข้าวเหนียวซึ่งมีความเข้มข้น 20 กรัมต่อเดซิลิตร ด้วยแอลฟา-อะไมเลส เป็นเวลานาน 30 นาที ที่ภาวะจากข้อ 2.1 โดยใช้อัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งข้าวเหนียวแห้งเป็น 3.32 และ 16.6 KNU ต่อ 100 กรัม เมื่อหยุดการทำงานของแอลฟา-อะไมเลส เก็บลิเคอไฟสตา์ชส่วนหนึ่งเพื่อเป็นตัวอย่างสำหรับเวลาในการย่อย 0 ชั่วโมง นำลิเคอไฟสตา์ชส่วนที่เหลือมาย่อยต่อด้วยบีต้า-อะไมเลส ที่ภาวะจากข้อ 2.2.1 ถึง 2.2.3 โดยแปรเวลาที่ใช้ในการย่อยลิเคอไฟสตา์ชด้วยบีต้า-อะไมเลสเป็น 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างเคกซ์ทรินผสมแบบสุ่มและหยุดการทำงานของบีต้า-อะไมเลส จากนั้นนำตัวอย่างมาปั่นแยกตะกอนที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลานาน 30 นาทีและวิเคราะห์ตัวอย่างทันที

ประเมินผลโดยการวิเคราะห์ค่าสมมูลเคกซ์โตรินของเคกซ์ทรินผสมตามวิธีของ Somogyi-Nelson (Nelson, 1944) (ภาคผนวก ข) วิเคราะห์ข้อมูลโดยการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (One-way analysis of variance) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้ Multiple range test

### 3. การผลิตบีต้า-ลิมิต เคกซ์ทริน

การศึกษาวีธีผลิตบีต้า-ลิมิต เคกซ์ทรินให้มีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยต่างกัน โดยการแปรน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยของลิเคอไฟสตา์ช หรือ hydrolyzed amylopectin นั้นเอง การผลิตบีต้า-ลิมิต เคกซ์ทรินแบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอนดังนี้ ลิเคอแฟคชัน แชคคาริไฟเคชัน และการทำให้บริสุทธิ์ (ภาพที่ 7)

#### 3.1 ลิเคอแฟคชัน

แปรอัตราส่วนของแอลฟา-อะไมเลสต่อแป้งข้าวเหนียวแห้งเป็น 3.32, 6.64, 9.96, 13.28 และ 16.60 KNU ต่อ 100 กรัม ในการย่อยสารแขวนลอยแป้งข้าวเหนียว 20 กรัมต่อเดซิลิตร ด้วยแอลฟา-อะไมเลส เป็นเวลานาน 30 นาที ที่ภาวะจากข้อ 2.1 เมื่อหยุดการทำงานของแอลฟา-อะไมเลส จะได้ลิเคอไฟสตา์ชซึ่งมีตะกอนของเอนไซม์ที่เสถียรสภาพธรรมชาติและแป้งที่เหลือ เมื่อนำมาปั่นแยกตะกอนที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลานาน 30 นาที จะได้ส่วนใสคือลิเคอไฟสตา์ช

#### 3.2 แชคคาริไฟเคชัน

หลังจากหยุดการทำงานของแอลฟา-อะไมเลส บีต้า-อะไมเลสย่อยลิเคอไฟสตา์ชที่ไม่ปั่นแยกตะกอน ที่ภาวะจากข้อ 2.2 เมื่อหยุดการทำงานของบีต้า-อะไมเลส

จะได้เดกซ์ทรินผสมซึ่งมีตะกอนของเอนไซม์ที่เสียดสภาพธรรมชาติและแข็งที่เหลือ

### 3.3 การทำให้บริสุทธิ์

หลังจากหยุดการทำงานของบีต้า-อะไมเลส เก็บเดกซ์ทรินผสมที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสเป็นเวลานาน 14 ชั่วโมง เพื่อตกตะกอนอะไมโลส จากนั้นปั่นแยกตะกอนที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลานาน 30 นาที จะได้ส่วนใสคือเดกซ์ทรินผสม จากนั้นนำเดกซ์ทรินผสมมาไดแอลลิซิส ด้วยถุงไดแอลลิซิสที่มี molecular weight cut off 12,000 โดยนำถุงไดแอลลิซิสที่มีเดกซ์ทรินผสม ในน้ำกลั่นปริมาณมากกว่าตัวอย่าง 10 เท่าเป็นเวลานาน 12 ชั่วโมง จะได้บีต้า-ลิมิต เดกซ์ทรินอยู่ภายในถุงไดแอลลิซิส ซึ่งน้ำหนักโมเลกุลสูงกว่า 12,000 และโพลิโกลแซคคาไรด์อยู่ภายนอกถุงไดแอลลิซิส ซึ่งน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่า 12,000 บีต้า-ลิมิต เดกซ์ทรินผ่านการทำให้แห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบสุญญากาศ ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ความดันสุญญากาศ 5 นิ้วปรอท เป็นเวลาประมาณ 6 ชั่วโมง และเก็บตัวอย่างในเดซิเคเตอร์ที่มีสารดูดความชื้น โพลิโกลแซคคาไรด์ผ่านการทำให้เข้มข้นขึ้นด้วย Rotary vacuum evaporator ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสจนกระทั่งความเข้มข้นประมาณ 5 กรัมต่อเดซิลิตร

ออกแบบการทดลองโดยใช้ CRD ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ประเมินผลโดยการวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด ตามวิธี modified anthrone (Brooks and Griffin, 1987) เพื่อคำนวณร้อยละของผลผลิต ค่าสมมูลเดกซ์โตรสตามวิธี Somogyi-Nelson (Nelson, 1944) และความหนืดปรากฏที่ความเข้มข้น 5 กรัมต่อเดซิลิตร อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส shear rate  $1,000 \text{ วินาที}^{-1}$  โดยใช้ Brookfield viscometer (สำหรับลิเคอไฟสตาร์ช) หรือ shear rate  $300 \text{ วินาที}^{-1}$  โดยใช้ Cannon-Fenske viscometer (สำหรับเดกซ์ทรินผสม และบีต้า-ลิมิต เดกซ์ทริน) วิเคราะห์ข้อมูลโดยการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (One-way analysis of variance) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้ Multiple range test

## 4. การศึกษาสมบัติทางกายภาพของบีต้า-ลิมิต เดกซ์ทริน

เตรียมสารละลายบีต้า-ลิมิต เดกซ์ทรินในน้ำกลั่น ความเข้มข้น 10 กรัมต่อเดซิลิตร แล้วนำมาวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ ดังนี้

4.1 น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย โดยวิธีวัด freezing point depression (Stevens, 1975) ของสารละลายบีต้า-ลิมิต เดกซ์ทรินซึ่งมีความเข้มข้นในช่วง 2.5 ถึง 10 กรัมต่อเดซิลิตรและคำนวณน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย (ภาคผนวก ค) ตามสมการต่อไปนี้

$$(\Delta T_c / C)_{c=0} = \frac{R \cdot T^2}{\rho \cdot \Delta H_c \cdot \bar{M}_n} \quad (A)$$

- เมื่อ  $\Delta T_c$  คือ อุณหภูมิที่ลดลงของสารละลายตัวอย่างเมื่อเทียบกับน้ำ  
 C คือ ความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง  
 R คือ ค่าคงที่ของกาซ  
 T คือ จุดเยือกแข็งของน้ำ (อุณหภูมิสัมบูรณ์)  
 $\rho$  คือ ความหนาแน่นของน้ำ  
 $\Delta H_c$  คือ ความร้อนแฝงของการหลอมเหลว  
 $\bar{M}_n$  คือ น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย (Number average molecular weight)

4.2 intrinsic viscosity ( $[\eta]$ ) โดยวัดความหนืดปรากฏที่ความเข้มข้นในช่วงระหว่าง 1 ถึง 10 กรัมต่อเดซิลิตร อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสและ shear rate 300 วินาที<sup>-1</sup> ด้วย Cannon-Fenske viscometer และวิเคราะห์หา  $[\eta]$  (ภาคผนวก ค) ตามสมการ Huggins (Rha and Pradipasena, 1986) ดังต่อไปนี้

$$\eta_{red} = [\eta] + k' [\eta]^2 C \quad (B)$$

- เมื่อ  $\eta_{red}$  คือ reduced viscosity  
 C คือ ความเข้มข้น  
 k' คือ ค่าคงที่สำหรับพอลิเมอร์ในสารละลายหนึ่ง  
 $[\eta]$  คือ intrinsic viscosity

4.3 สมบัติทางการไหล โดยวัดความหนืดปรากฏของสารละลายบีต้า-ลิมิต เดกซ์ทรินซึ่งมีความเข้มข้น 10 กรัมต่อเดซิลิตร ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสโดยใช้ shear rate ในช่วงระหว่าง 350 ถึง 1,000 วินาที<sup>-1</sup> ด้วย HAAKE viscometer และวิเคราะห์หาลักษณะการไหลของสารละลายบีต้า-ลิมิต เดกซ์ทริน (ภาคผนวก ค) ตามสมการ power law (Stevens, 1975) ดังต่อไปนี้

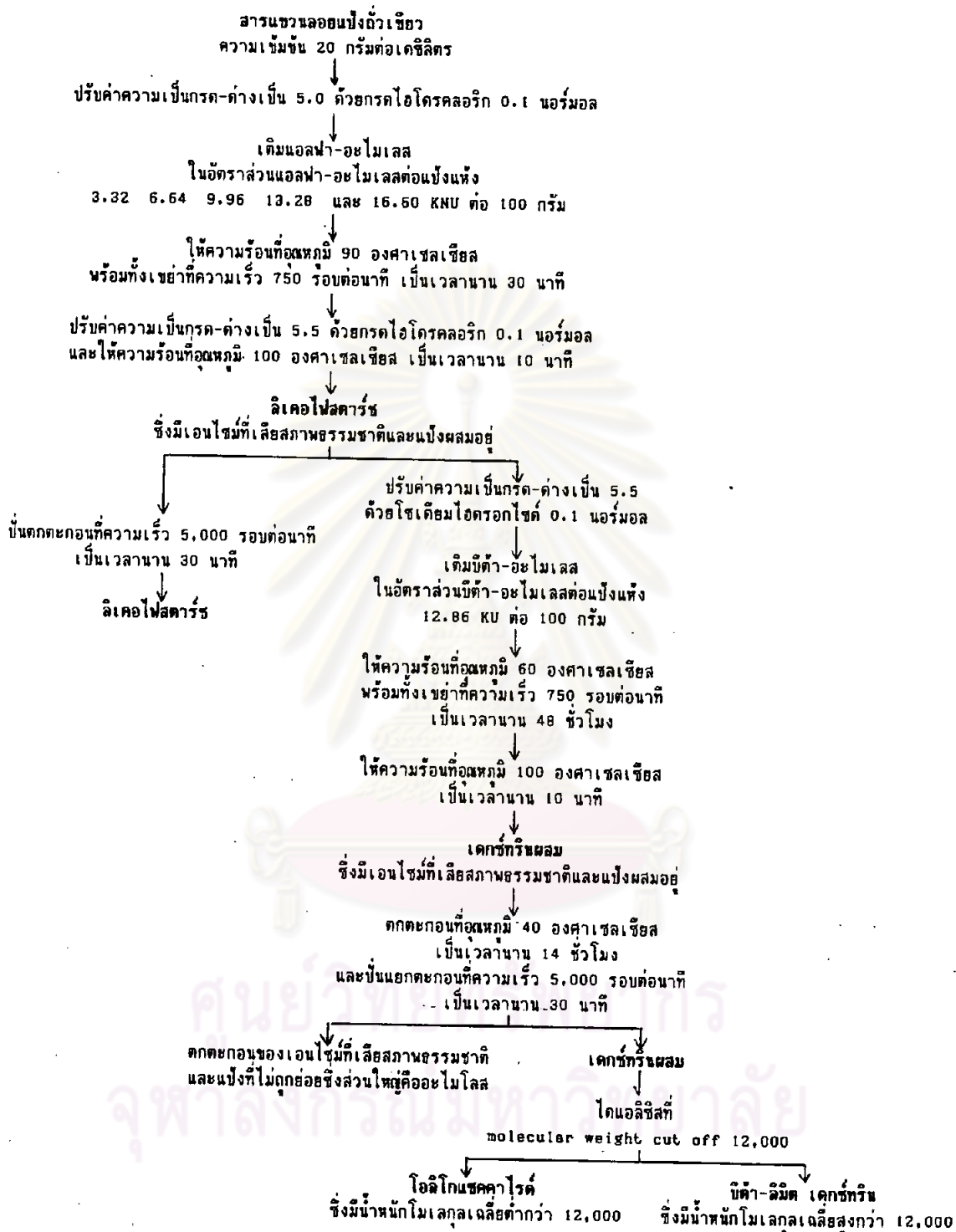
$$\tau = b.D^s + \tau_0 \quad (C)$$

- เมื่อ  $\tau$  คือ shear stress  
D คือ shear rate  
b คือ ดรรชนีความหนืด  
s คือ flow-behavior index  
 $\tau_0$  คือ ค่า yield stress



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย





ภาพที่ 3 การผลิตบีต้า-ลิมิต เคกซ์ทรินด้วยวิธีการย่อยแป้งข้าวเหนียวด้วยแอลฟา-อะไมเลสและบีต้า-อะไมเลสซึ่งดัดแปลงมาจากวิธีของ Kaper และคณะ (1987) และ Nebesny (1990b)