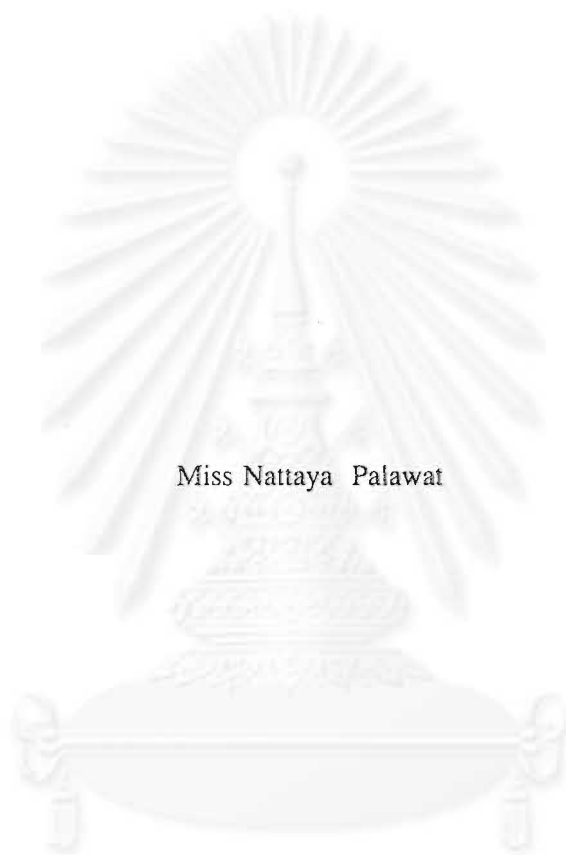


อิทธิพลของอุณหภูมิ เวลา และการบดย่อยต่อสมบัติทางกายภาพของเม็ดแป้งมันสำปะหลัง  
และอัตราการสังเคราะห์ไซโคลเด็กซ์ทริน

นางสาวณัฐญา ปาลวัฒน์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี ภาควิชาวิศวกรรมเคมี  
คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
ปีการศึกษา 2545  
ISBN 974-17-1034-8  
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

INFLUENCES OF TEMPERATURE, TIME AND ATTRITION ON PHYSICAL  
PROPERTIES OF TAPIOCA STARCH PARTICLES AND CYCLODEXTRIN  
SYSTHESIS RATE.



Miss Nattaya Palawat

A Thesis Submitted in partial Fulfillment of The Requirements  
for the Degree of Master of Engineering in Chemical Engineering

Department of Chemical Engineering

Faculty of Engineering

Chulalongkorn University


Academic year 2002

ISBN 974-17-1034-8

หัวข้อวิทยานิพนธ์ อธิพลของอุณหภูมิ เวลา และการบดย่อยต่อสมบัติทางกายภาพ  
ของเม็ดแป้งมันสำปะหลัง และอัตราการสังเคราะห์ไซโคลเด็กซ์ทริน  
โดย นางสาวณัฐญา ปาลวัฒน์  
สาขาวิชา วิศวกรรมเคมี  
อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สีรุ้ง ปรีชานนท์  
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม รองศาสตราจารย์ ดร.ธวัชชัย ชรินพานิชกุล


---


คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง  
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

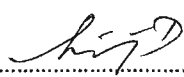
  
..... คณบดีคณะวิศวกรรมศาสตร์  
(ศาสตราจารย์ ดร.สมศักดิ์ ปัญญาแก้ว)

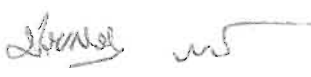
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

  
..... ประธานกรรมการ  
(ศาสตราจารย์ ดร.วิวัฒน์ ตันทะพานิชกุล)

  
..... อาจารย์ที่ปรึกษา  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สีรุ้ง ปรีชานนท์)

  
..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม  
(รองศาสตราจารย์ ดร.ธวัชชัย ชรินพานิชกุล)

  
..... กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศิริพร ดำรงค์ศักดิ์กุล)

  
..... กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ประเสริฐ ภูวสันต์)

ณัฐญา ปาลวัฒน์ : อิทธิพลของอุณหภูมิ, เวลา และการบดย่อย ต่อสมบัติทางกายภาพของเม็ด  
แป้งมันสำปะหลัง และอัตราการสังเคราะห์ไซโคลเด็กซ์ทริน

(Influences of temperature, time and attrition on physical properties of tapioca starch  
particles and cyclodextrin synthesis rate)

อาจารย์ที่ปรึกษา : ผศ.ดร.สีรุ้ง ปรีชานนท์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : รศ.ดร.ธวัชชัย ชรินพานิช  
กุล, 136 หน้า. ISBN 974-17-1034-8

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิ เวลา และการบดย่อย ต่อสมบัติทางกายภาพของ  
เม็ดแป้งมันสำปะหลังและต่ออัตราการผลิตเบต้า-ไซโคลเด็กซ์ทริน ( $\beta$ -CD) แรกเริ่ม โดยใช้เอนไซม์ไซโคลเด็กซ์ท  
รินไกลโคซิลทรานสเฟอเรส (CGTase) จากเชื้อ *Bacillus circulans* ATCC9995 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา การทดลองใน  
งานวิจัยนี้จึงถูกแบ่งออกเป็นสองส่วนใหญ่ ๆ คือ ส่วนแรกเป็นการศึกษาถึงอิทธิพลของอุณหภูมิ ( $60^{\circ}$ - $80^{\circ}$ ซ) เวลา  
(0-24 ชม.) และการบดย่อย ต่อลักษณะทางกายภาพของเม็ดแป้งมันสำปะหลัง ซึ่งได้แก่ กำลังการพองตัว ร้อยละ  
การละลาย ความหนืด และขนาดของอนุภาคเม็ดแป้ง และส่วนที่สองเป็นการศึกษาถึงอัตราการผลิต  $\beta$ -CD  
แรกเริ่ม (initial rate) โดยใช้สารตั้งต้นคือแป้งที่ผ่านสภาวะการปฏิบัติต่างกัน จากการทดลองพบว่า ลักษณะทางกาย  
ภาพของเม็ดแป้งที่ผ่านการเตรียมโดยวิธีการบ่ม จะมีการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจนในช่วงระยะเวลาการบ่ม 4 ชม.  
แรก โดยกำลังการพองตัวและร้อยละการละลายที่อุณหภูมิบ่ม  $60^{\circ}$ ซ จะมีแนวโน้มเข้าสู่ค่าคงที่ภายหลัง 4 ชม. และ  
มีค่าต่ำกว่าที่อุณหภูมิ  $65^{\circ}$ ซ ประมาณ 50% (ที่ระยะเวลาบ่ม 4 ชม.) และ 20% (ที่ระยะเวลาบ่ม 24ชม.) ตาม  
ลำดับ การเพิ่มอุณหภูมิในการบ่มเป็น  $65^{\circ}$ ,  $70^{\circ}$ ,  $75^{\circ}$  และ  $80^{\circ}$ ซ จะทำให้ค่าความหนืดเริ่มต้นของสารละลายแป้ง  
เพิ่มขึ้นประมาณ 40-80% ในทุก  $5^{\circ}$ ซ ที่เพิ่มขึ้น แต่ค่าความหนืดจะเริ่มเข้าสู่ค่าคงที่ภายหลังการบ่ม 4 ชม. ในทุก  
อุณหภูมิบ่ม การบ่มแป้งที่อุณหภูมิตั้งแต่  $65^{\circ}$ ซ เป็นต้นไป จะให้ขนาดเม็ดแป้งลดลงตามระยะเวลาบ่ม ที่อุณหภูมิ  
บ่ม  $80^{\circ}$ ซ ขนาดเม็ดแป้งจะลดลงจนมีขนาดเท่ากับเม็ดแป้งดิบก่อนทำการบ่ม ดังนั้นขนาดเม็ดแป้งที่วัดได้จึงเป็น  
ขนาดของเม็ดแป้งที่หลงเหลือจากการแตกเนื่องจากการได้รับพลังงานความร้อนและแรงทางกลจากการกวน ระยะเวลา  
ในการบ่มจะมีผลต่อสมบัติทางกายภาพของเม็ดแป้งก็ต่อเมื่ออุณหภูมิบ่มมีค่าตั้งแต่  $65^{\circ}$ ซ เป็นต้นไป โดยพบว่า  
อนุภาคของแป้งมันสำปะหลังเมื่อได้รับความร้อนเป็นระยะเวลาหนึ่งจะพองตัวขึ้นเรื่อยๆ จนมีค่าสูงสุดประมาณ 43  
ไมครอน ซึ่งหากยังคงให้พลังงานความร้อนต่อไปอนุภาคจะเริ่มแตกออก ทำให้ความสามารถในการละลายเพิ่มขึ้น  
และความหนืดลดลงตามลำดับ

การบดสารละลายแป้งสามารถทำได้ที่อุณหภูมิสูงสุดเพียง  $60^{\circ}$ ซ เนื่องจากอุณหภูมิต่ำกว่านี้จะมีผลทำ  
ให้สารละลายแป้งมีลักษณะคล้ายเจลทำการบดได้ยาก แต่อย่างไรก็ตามผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการบดโดยใช้  
ความร้อนร่วมด้วย จะให้ร้อยละการละลายใกล้เคียงกับการบ่มด้วยความร้อนแต่เพียงอย่างเดียว (พิจารณาที่  $60^{\circ}$ ซ)  
แต่จะมีค่ากำลังการพองตัว ความหนืด และขนาดของเม็ดแป้ง เพิ่มขึ้นประมาณ 55%, 95% และ 25% ตามลำดับ  
เมื่อเปรียบเทียบกับบ่มด้วยความร้อนแต่เพียงอย่างเดียว ผลการทดลองในส่วนที่สองแสดงให้เห็นว่าลักษณะทาง  
กายภาพของเม็ดแป้งเป็นปัจจัยสำคัญต่ออัตราการผลิต  $\beta$ -CD โดยแป้งที่ผ่านการบ่มด้วยความร้อนเป็นระยะเวลา  
หนึ่งจนอนุภาคแตกออก เป็นสารตั้งต้นที่เหมาะสมต่อการผลิต  $\beta$ -CD ภาวะการเตรียมสารละลายแป้งที่เหมาะสมที่  
สุดต่อการเกิดปฏิกิริยา คือ การบ่มแป้งที่อุณหภูมิ  $75^{\circ}$ ซ เป็นเวลา 4 ชม. ซึ่งที่ภาวะนี้แป้งมีค่าความหนืดประมาณ  
900 เซ็นติพอยส์ และเม็ดแป้งที่หลงเหลือจากการแตกมีขนาดประมาณ 30 ไมครอน โดยให้อัตราการผลิต  $\beta$ -CD  
เท่ากับ 0.29 มิลลิกรัมต่อลิตร.นาทียูนิตเอนไซม์

ภาควิชา.....วิศวกรรมเคมี.....ลายมือชื่อนิสิต.....

สาขาวิชา.....วิศวกรรมเคมี.....ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ปีการศึกษา.....2545.....ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....



KEYWORD : Cyclodextrin/Tapioca Starch/Attrition

NATTAYA PALAWAT : INFLUENCES OF TEMPERATURE, TIME AND ATTRITION ON PHYSICAL PROPERTIES OF TAPIOCA STARCH PARTICLES AND CYCLODEXTRIN SYSTHESIS RATE. THESIS ADVISOR : ASSIST.PROF. SEERONG PRICHARNONT, Ph.D. THESIS COADVISOR : ASSOC.PROF. TAWATCHAI CHARINPANITCHAKUL, Ph.D., 136 pp., ISBN 974-17-1034-8

The overall aim of this research was to study influences of temperature time and attrition on physical properties of tapioca starch particles and beta-cyclodextrin (β-CD) initial synthesis rate by cyclodextrin glycosyltransferase (CGTase), from *Bacillus circulans* ATCC9995. The study consists of two main parts. The first part was to study influences of temperature (60° - 80 °C), time (0-24 hrs.) and attrition on physical properties of tapioca starch such as swelling power, percentage of solubility, viscosity, and size of starch particles. The second part, consequently, was to study β-CD initial synthesis rate from starch obtained from different treatment processes. From the experiments, physical properties of starch particles after heat treatment process were obviously changed after four hour incubation time. For 60 °C incubation temperature, swelling power and starch solubility did not appear to change with incubation time after four hours, and were found to be 50% (at 4<sup>th</sup> hr) and 20% (at 24<sup>th</sup> hr), respectively, less than those treated at 65 °C with the same incubation time. Increasing temperature to 65°,70°,75° and 80 °C resulted in increasing initial starch viscosity to about 40-80% for each 5 °C increased considered at every incubation time. At incubation temperature higher than 65 °C, starch particle sizes were found to decrease with increasing incubation time. For starch solution treated at 80 °C, particle sizes were discovered to decrease with time until almost the same sizes as raw starch particles were achieved. This final particle sizes measured were believed to be obtained from particles that were strong enough hot to be broken down by thermal or mechanical energy added. Effect of incubation time was noticeable only when starch solution was treated at 65 °C or higher. It was revealed that starch particles would swell up to around the maximum size of 43 μm after some incubation time . These particles were then broken up if further energy was given. Increasing in solubility and decreasing in viscosity were, therefore, resulted.

Attrition of starch solution was possible only up to 60°C, this was because higher temperature could turn starch solution into gel. However, results showed that attrition together with heat treatment did not cause noticeable solubility change incomparison to heat treated solution (60 °C) without attrition. On the other hand, swelling power, viscosity, and particle sizes were found to increase respectively, 55%, 95% and 25% incomparison to solution without attrition. Experimental results obtained in the second part demonstrated that starch physical properties played important roles in determining β-CD production rate. Starch solution which was heat treated until particles were broken were found to be suitable substrate for β-CD production. Suitable treatment conditions found were 75 °C with 4 hr incubation time which resulted in solution viscosity of 900 cP, residual particle sizes of 3 μm, and 0.29 mg/l-min-unit enzyme β-CD production rate.

Department.....Chemical Engineering.....Student's signature.....  
Field of study.....Chemical Engineering.....Advisor's signature.....  
Academic year.....2002.....Co-Advisor's signature.....

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความช่วยเหลือจากหลายท่าน ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สิริรุ่ง ปรีชานนท์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และรองศาสตราจารย์ ดร.ธวัชชัย ชรินพานิชกุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม เป็นอย่างสูงสำหรับการให้คำปรึกษาที่มีคุณค่าต่อการพัฒนางานวิจัย การตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ดร.วิวัฒน์ ตัณฑะพานิชกุล ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ประเสริฐ ภาวนันต์ และ รองศาสตราจารย์ ดร.ศิริพร ดำรงค์ศักดิ์กุล กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ซึ่งได้เสนอข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์และแก้ไขเพิ่มเติมส่วนที่บกพร่องของงานวิจัยนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณ บริษัท พี พี แอนด์ที เคมิคอล จำกัด สำหรับความอนุเคราะห์ลูกแก้ว และ บริษัท อีสเอเชียติก จำกัด สำหรับความอนุเคราะห์เอนไซม์ ขอขอบคุณน้องพิชญา ที่ให้ความช่วยเหลือเรื่องเอนไซม์ น้องนิภาวดี ที่ให้ความเอื้อเฟื้อด้านข้อมูลข่าวสารและเป็นธุระด้านเอกสาร และน้องๆในห้องวิจัยวิศวกรรมชีวเคมี ที่ให้ความช่วยเหลือการทำงานวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณ สถาบันเทคโนโลยีปทุมวัน ที่ให้โอกาสได้มาศึกษาต่อในระดับปริญญาโท ขอขอบคุณเพื่อนร่วมงานในภาควิชาเคมีอุตสาหกรรม และทุกคนในครอบครัวที่ให้ความสนับสนุนช่วยเหลือจนผู้วิจัยสามารถทำงานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

# สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฌ
สารบัญรูป.....	ฎ
สัญลักษณ์.....	ฅ

## บทที่

1. บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย.....	1
1.2 วัตถุประสงค์.....	2
1.3 ขอบเขตงานวิจัย.....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
2. ทฤษฎี.....	3
2.1 ไชโคลเด็กซ์ทริน.....	3
2.2 กลไกการทำงานของเอนไซม์ไชโคลเด็กซ์ทริน ไกลโคซิลทรานสเฟอเรส (CGTase).....	9
2.3 องค์ประกอบและโครงสร้างของแป้ง.....	10
2.4 คุณสมบัติของแป้ง.....	16
2.5 แป้งมันสำปะหลัง.....	24
2.6 การตัดแปรแป้งทางกายภาพ.....	25
3. ตรวจเอกสาร.....	28
3.1 แหล่งจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์ CGTase.....	28
3.2 กลไกการทำงานของเอนไซม์ CGTase.....	29
3.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตไชโคลเด็กซ์ทริน.....	31
3.4 ปัญหาและอุปสรรคในการผลิตไชโคลเด็กซ์ทริน.....	35
4. อุปกรณ์ เคมีภัณฑ์ และวิธีดำเนินการทดลอง.....	41
4.1 อุปกรณ์และเคมีภัณฑ์.....	41
4.2 การเตรียมสารเคมีสำหรับการทดลอง.....	42
4.3 การเตรียมเอนไซม์ CGTase เพื่อใช้ในการทดลอง.....	43
4.4 การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ CGTase.....	43

บทที่	หน้า
4.5 การเตรียมแป้งโดยวิธีการบ่ม.....	44
4.6 การเตรียมแป้งโดยวิธีการบด.....	45
4.7 การทดลองเพื่อทดสอบการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของ เม็ดแป้งมันสำปะหลัง.....	45
4.8 การทดลองเพื่อหาอัตราการผลิตไซโคลเด็กซ์ทริน.....	47
4.9 การวิเคราะห์หาปริมาณ $\beta$ -CD .....	47
4.10 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ .....	48
5. ผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลอง.....	49
5.1 การเตรียมแป้งโดยวิธีการบ่ม.....	51
5.2 การเตรียมแป้งโดยวิธีการบด.....	69
5.3 ผลของอุณหภูมิและระยะเวลาในการเตรียมแป้งต่อปริมาณ น้ำตาลกลูโคส.....	81
5.4 ผลของการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของเม็ดแป้ง มันสำปะหลังต่ออัตราการผลิตไซโคลเด็กซ์ทรินแรกเริ่ม.....	85
5.5 ผลของการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของเม็ดแป้งมันสำปะหลัง ต่ออัตราส่วนชนิดของไซโคลเด็กซ์ทริน.....	95
5.6 บทสรุปการวิเคราะห์.....	97
6. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....	101
6.1 สรุปผลการทดลอง.....	101
6.2 ข้อเสนอแนะ.....	103
รายการอ้างอิง.....	104
ภาคผนวก.....	108
ภาคผนวก ก.....	109
ภาคผนวก ข.....	116
ภาคผนวก ค.....	132
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	136

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 สมบัติของไฮโคลเด็กซ์ทรินแต่ละชนิด.....	4
2.2 การประยุกต์ใช้ เบต้า-ไฮโคลเด็กซ์ทรินในอุตสาหกรรม.....	8
2.3 สัดส่วนของอะมิโลสและอะมิโลเพกทินในแป้งแต่ละชนิด.....	11
2.4 สมบัติทางกายภาพและเคมีของเม็ดแป้ง.....	22
3.1 สมบัติที่แตกต่างกันของเอนไซม์ CGTaseที่ได้จากเชื้อจุลินทรีย์ต่างชนิดกัน.....	28
3.2 อัตราส่วนชนิดของไฮโคลเด็กซ์ทรินที่ได้จากเอนไซม์ CGTase ที่มีคุณสมบัติต่างกัน	29
3.3 เปรียบเทียบการผลิตเบต้า-ไฮโคลเด็กซ์ทรินจากเอนไซม์บริสุทธิ์และไม่บริสุทธิ์....	35
5.1 ช่วงระยะเวลาในการให้ความร้อนที่อุณหภูมิบ่มต่าง ๆ กัน.....	51
5.2 สรุปผลของอุณหภูมิและเวลาต่อสมบัติทางกายภาพของเม็ดแป้งที่ผ่านการปฏิบัติ ด้วยวิธีต่าง ๆ.....	83
5.3 สัดส่วนชนิดของเบต้า-ไฮโคลเด็กซ์ทรินจากแป้งที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 60° และ 80° ซ ที่ระยะเวลาบ่มต่าง ๆ.....	95
5.4 ตารางแสดงค่าอัตราการผลิต เบต้า-ไฮโคลเด็กซ์ทริน จากสารละลายแป้งที่ถูกบ่ม ที่อุณหภูมิ 70°, 75° และ 80° ซ ตั้งแต่ระยะเวลาบ่มที่ 4 ชม. เป็นต้นไป.....	98
5.5 เปรียบเทียบอัตราการผลิต $\beta$ -CD แรกเริ่ม กับงานวิจัยอื่น ๆ.....	100
ข.1 ผลการทดลองผลิต $\beta$ -CD จากแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% ที่ผ่านการ บ่มที่อุณหภูมิ 60° ซ ความเร็วรอบในการบ่มแป้ง 450 รอบต่อนาที.....	116
ข.2 ผลการทดลองผลิต $\beta$ -CD จากแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% ที่ผ่านการ บ่มที่อุณหภูมิ 65° ซ ความเร็วรอบในการบ่มแป้ง 450 รอบต่อนาที.....	117
ข.3 ผลการทดลองผลิต $\beta$ -CD จากแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% ที่ผ่านการ บ่มที่อุณหภูมิ 70° ซ ความเร็วรอบในการบ่มแป้ง 450 รอบต่อนาที.....	118
ข.4 ผลการทดลองผลิต $\beta$ -CD จากแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% ที่ผ่านการ บ่มที่อุณหภูมิ 75° ซ ความเร็วรอบในการบ่มแป้ง 450 รอบต่อนาที.....	119
ข.5 ผลการทดลองผลิต $\beta$ -CD จากแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% ที่ผ่านการ บ่มที่อุณหภูมิ 80° ซ ความเร็วรอบในการบ่มแป้ง 450 รอบต่อนาที.....	120
ข.6 ผลการทดลองผลิต $\beta$ -CD จากแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% ที่ผ่านการ บ่มที่อุณหภูมิ 60° ซ ความเร็วรอบในการบ่มแป้ง 100 รอบต่อนาที.....	121
ข.7 ผลการทดลองผลิต $\beta$ -CD จากแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% ที่ผ่านการ บ่มที่อุณหภูมิ 30° ซ ความเร็วรอบในการบดแป้ง 450 รอบต่อนาที.....	122
ข.8 ผลการทดลองผลิต $\beta$ -CD จากแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% ที่ผ่านการ บ่มที่อุณหภูมิ 45° ซ ความเร็วรอบในการบดแป้ง 450 รอบต่อนาที.....	123

ตารางที่	หน้า
ข.9 ผลการทดลองผลิต $\beta$ -CD จากแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% ที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 60° ซ ความเร็วรอบในการบดแป้ง 450 รอบต่อนาที.....	124
ข.10 ผลของสมบัติทางกายภาพของแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% ที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 60°ซ ความเร็วรอบในการบ่มแป้ง 450 รอบต่อนาที.....	25
ข.11 ผลของสมบัติทางกายภาพของแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% ที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 65°ซ ความเร็วรอบในการบ่มแป้ง 450 รอบต่อนาที.....	125
ข.12 ผลของสมบัติทางกายภาพของแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% ที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 70°ซ ความเร็วรอบในการบ่มแป้ง 450 รอบต่อนาที.....	126
ข.13 ผลของสมบัติทางกายภาพของแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% ที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 75°ซ ความเร็วรอบในการบ่มแป้ง 450 รอบต่อนาที.....	126
ข.14 ผลของสมบัติทางกายภาพของแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% ที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 80°ซ ความเร็วรอบในการบ่มแป้ง 450 รอบต่อนาที.....	127
ข.15 ผลของสมบัติทางกายภาพของแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% ที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 60°ซ ความเร็วรอบในการบ่มแป้ง 100 รอบต่อนาที.....	127
ข.16 ผลของสมบัติทางกายภาพของแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% ที่ผ่านการบดที่อุณหภูมิ 30°ซ .....	128
ข.17 ผลของสมบัติทางกายภาพของแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% ที่ผ่านการบดที่อุณหภูมิ 45°ซ .....	128
ข.18 ผลของสมบัติทางกายภาพของแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% ที่ผ่านการบดที่อุณหภูมิ 60°ซ .....	129
ข.19 ผลการทดลองบ่มแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% เพื่อวัดปริมาณน้ำตาลกลูโคสในน้ำแป้งก่อนทำปฏิกิริยาเอนไซม์ CGTase .....	130
ข.20 ผลการทดลองบดแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% เพื่อวัดปริมาณน้ำตาลกลูโคสในน้ำแป้งก่อนทำปฏิกิริยาเอนไซม์ CGTase .....	130
ข.21 ผลการทดลองผลิต $\beta$ -CD จากแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% ที่อุณหภูมิ 30°ซ จนถึง อุณหภูมิ 80 °ซ .....	131
ข.22 ผลการทดลองผลิต $\beta$ -CD จากแป้งมันสำปะหลังต้มสุก เข้มข้น 7% ในสภาวะเริ่มที่มีปริมาณน้ำตาลกลูโคสต่าง ๆ กัน .....	131

## สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 ขนาดโพรงของไซโคลเด็กซ์ทรินแต่ละชนิด.....	3
2.2 การเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของโมเลกุลไซโคลเด็กซ์ทริน.....	7
2.3 อัตราการผลิตไซโคลเด็กซ์ทรินและราคาตลอดระยะเวลา 25 ปี.....	.....
2.4 โครงสร้างของอะมิโลส.....	12
2.5 ลักษณะเกลียวของอะมิโลส.....	12
2.6 โครงสร้างอะมิโลเพกทิน.....	13
2.7 รูปร่างของเม็ดแป้งชนิดต่าง ๆ เมื่อส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 500 เท่า.....	14
2.8 โครงสร้างส่วนผลึกและส่วนอสัณฐานในเม็ดแป้ง.....	15
2.9 แบบจำลองพื้นผิวของเม็ดแป้ง.....	17
2.10 ลักษณะการเกิดช่องว่างในส่วนผลึก.....	20
2.11 การชะโมเลกุลของอะมิโลสและอะมิโลเพกทินออกจากเม็ดแป้งที่พองตัว.....	20
2.12 การพองตัวของเม็ดแป้งเนื่องจากการดูดน้ำเข้าไปทำให้ความหนืดลดลง.....	20
2.13 ระยะในการเกิดเจลลาตินเซชันของแป้ง.....	21
2.14 การเปลี่ยนแปลงความหนืดระหว่างกระบวนการให้ความร้อน ของแป้งชนิดต่าง ๆ.....	23
2.15 กลไกการคืนตัวของแป้ง.....	24
2.16 ลักษณะเม็ดแป้งที่ถูกย่อยโดยเอนไซม์ glucoamylase (AMG) และ $\alpha$ - amylase (Thermyl) .....	27
3.1 ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเข้าทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ CGTase .....	30
3.2 แผนภาพปฏิกิริยา Cyclization ของเอนไซม์ CGTase (Alkalophilic <i>Bacillus</i> sp. สายพันธุ์ A2-5a) กับโมเลกุลของอะมิโลส.....	30
3.3 อิทธิพลชนิดของแป้งต่ออัตราส่วนของชนิด CD เมื่อแป้งทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ CGTase จากเชื้อ <i>Clostridium</i> pH 5.0 อุณหภูมิ 90 ° ซ เป็นเวลา 24 ชม. ....	31
3.4 อิทธิพลของความเข้มข้นของแป้งต่ออัตราส่วนของชนิด CD.....	32
3.5 อิทธิพลของปริมาณเอนไซม์ต่อผลได้ของ CD.....	33
3.6 อิทธิพลของระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาต่ออัตราส่วนชนิดของ CD.....	34

รูปที่	หน้า
3.7 ถึงปฏิกรณ์แบบบดย่อย.....	38
5.1 แสดงช่วงอุณหภูมิที่เริ่มจับเวลาในการบ่มสารละลายแป้งมันสำปะหลัง.....	50
5.2 โครงสร้างการวิเคราะห์ผลการทดลองในงานวิจัยนี้.....	52
5.3 ความสัมพันธ์ระหว่างกำลังการพองตัวและร้อยละการละลายของแป้งชนิดต่าง ๆ...	53
5.4 กำลังการพองตัวและร้อยละการละลายของแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 ที่อุณหภูมิบ่ม 60° และ 65° ซ ความเร็วรอบในการกวน 450 รอบต่อนาที.....	55
5.5 ความหนืดของน้ำแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 ที่อุณหภูมิและเวลาบ่มต่าง ๆ กัน .....	56
5.6 ขนาดเฉลี่ยของเม็ดแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 ที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 60 และ 65 ° ซ ความเร็วรอบ 450 รอบต่อนาที จากการวัดด้วยเครื่อง Particle Analyzer.....	58
5.7 ขนาดเฉลี่ยของเม็ดแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 ที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 70°, 75° และ 80° ซ ความเร็วรอบ 450 รอบต่อนาที จากการวัดด้วยเครื่อง Particle Analyzer.....	59
5.8 ขนาดเฉลี่ยของเม็ดแป้งมันสำปะหลังที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อให้ความร้อนแก่สารละลายแป้งจากอุณหภูมิ 30° ซ ต่อเนื่องไปจนถึง 80 ° ซ จากการวัดด้วยเครื่อง Particle Analyzer.....	60
5.9 ลักษณะการกระจายตัวของขนาดเม็ดแป้งมันสำปะหลัง 7% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 ความเร็วรอบ 450 รอบต่อนาที ที่ระยะเวลาในการบ่ม 0 ชม. และอุณหภูมิบ่มต่างกัน ที่วัดจากเครื่อง Particle Analyzer.....	62
5.10 ภาพถ่ายเม็ดแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 ความเร็วรอบ 450 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิบ่ม 60°ซ และ 65°ซ จากกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า.....	65
5.11 ภาพถ่ายเม็ดแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 ความเร็วรอบ 450 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิบ่ม 60°ซ ระยะเวลาในการบ่ม 1 ชั่วโมง จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน กำลังขยาย 2,000 เท่า.....	66
5.12 ภาพถ่ายเม็ดแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 ความเร็วรอบ 450 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิบ่ม 80°ซ ระยะเวลาบ่ม 4 ชั่วโมง กำลังขยาย 400 เท่า .....	67

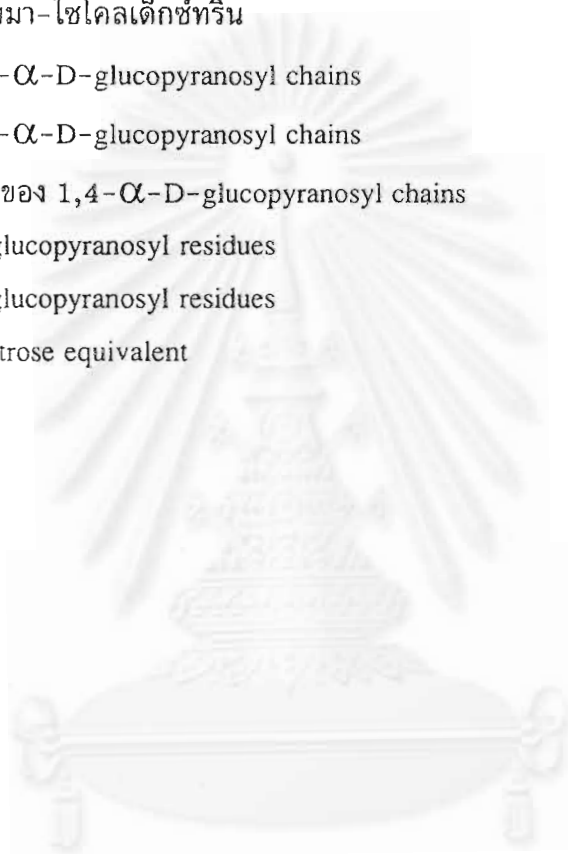


5.13	ภาพถ่ายเม็ดแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 ความเร็วรอบ 450 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 80 <sup>o</sup> ซ จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน.....	68
5.14	ร้อยละการละลายของแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 ความเร็วรอบ 450 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิต 30 <sup>o</sup> , 45 <sup>o</sup> และ 60 <sup>o</sup> ซ และระยะเวลาในการบด 0-24 ชม. ....	70
5.15	กำลังการพองตัวของแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 ที่อุณหภูมิต 30 <sup>o</sup> 45 <sup>o</sup> และ 60 <sup>o</sup> ซ ระยะเวลาในการบด 0-24 ชม. ความเร็วรอบ 450 รอบต่อนาที.....	71
5.16	ค่าความหนืดของแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% % (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 ความเร็วรอบ 450 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 <sup>o</sup> 45 <sup>o</sup> และ 60 <sup>o</sup> ซ ระยะเวลาในการบด 0-24 ชม. ....	73
5.17	ขนาดเม็ดแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 ความเร็วรอบ 450 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 <sup>o</sup> 45 <sup>o</sup> และ 60 <sup>o</sup> ซ ระยะเวลาในการบด 0-24 ชม. ....	74
5.18	ภาพถ่ายเม็ดแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 ความเร็วรอบ 450 รอบต่อนาที ที่ผ่านการเตรียมโดยวิธีการบ่มและบดที่อุณหภูมิ 60 <sup>o</sup> ซ เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน กำลังขยาย 3,500 เท่า .....	75
5.19	เปรียบเทียบร้อยละการละลายของแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 ความเร็วรอบ 450 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 60 <sup>o</sup> ซ ในสภาวะที่มีและไม่มี การบด.....	77
5.20	เปรียบเทียบกำลังการพองตัวของเม็ดแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 ความเร็วรอบ 450 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 60 <sup>o</sup> ซ ในสภาวะที่มีและไม่มี การบด.....	78
5.21	เปรียบเทียบค่าความหนืดของเม็ดแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 ความเร็วรอบ 450 รอบต่อนาที ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 ที่อุณหภูมิ 60 <sup>o</sup> ซ ในสภาวะที่มีและไม่มี การบด.....	80
5.22	เปรียบเทียบขนาดของเม็ดแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 ความเร็วรอบ 450 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 60 <sup>o</sup> ซ ระยะเวลาในการบด 0-24 ชม. ในสภาวะที่มี การบดและไม่มี การบด.....	82

รูปที่	หน้า
5.23 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่อุณหภูมิและระยะเวลาในการบ่มแป้งต่าง ๆ.....	84
5.24 อัตราการผลิตเบต้า-ไซโคลเด็กซ์ทรินจากแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH7 ความเร็วรอบ 450 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ บด 60° , 65° และ 70° ซ ที่ระยะเวลาในการบ่ม 0-24 ชม. ....	86
5.25 อัตราการผลิตเบต้า-ไซโคลเด็กซ์ทรินจากแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH7 ความเร็วรอบ 450 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ บ่ม 75° , 80° และ 70° ซ ที่ระยะเวลาในการบ่ม 0-24 ชม. ....	87
5.26 ผลของขนาดอนุภาคเม็ดแป้งมันสำปะหลังเมื่อได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 80 °ซ ที่มีผลต่ออัตราการการผลิตเบต้า - ไซโคลเด็กซ์ทรินแรกเริ่ม .....	89
5.27 ลักษณะของเม็ดแป้งมันสำปะหลัง ก่อนและหลังถูกเร่งปฏิกิริยาด้วยเอนไซม์ CGTase.....	90
5.28 ผลของปริมาณน้ำตาลกลูโคสต่ออัตราการการผลิตเบต้า-ไซโคลเด็กซ์ทริน ที่ความเข้มข้น แป้ง 7% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 ความเร็วรอบ 300 รอบต่อนาที .....	92
5.29 อัตราการผลิตเบต้า - ไซโคลเด็กซ์ทรินจากแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 ความเร็วรอบ 450 รอบต่อนาที ที่ผ่านการบดที่อุณหภูมิ 30° , 45° และ 60° ซ.....	93
5.30 เปรียบเทียบอัตราการการผลิตเบต้า - ไซโคลเด็กซ์ทรินจากแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 ความเร็วรอบ 450 รอบต่อนาทีที่ผ่านการบดหรือบ่ม ที่อุณหภูมิ 60°ซ.....	94
ก 1 กราฟมาตรฐานในการหาปริมาณเบต้า - ไซโคลเด็กซ์ทริน โดยวิธี Phenolphthalein .....	110
ก 2 กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณกลูโคส .....	111
ก 3 กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณของแอลฟา - ไซโคลเด็กซ์ทริน โดยวิธี HPLC.....	112
ก 4 กราฟมาตรฐานสำหรับหาความเข้มข้นของ เบต้า - ไซโคลเด็กซ์ทริน โดยวิธี HPLC.....	113
ก 5 กราฟมาตรฐานสำหรับหาความเข้มข้นของ แกมมา - ไซโคลเด็กซ์ทริน โดยวิธี HPLC.....	114

## สัญลักษณ์

CD	ไซโคลเดกซ์ทริน
$\alpha$ -CD	แอลฟา-ไซโคลเดกซ์ทริน
$\beta$ -CD	เบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน
$\gamma$ -CD	แกมมา-ไซโคลเดกซ์ทริน
Glc <sub>n</sub>	1,4- $\alpha$ -D-glucopyranosyl chains
Glc <sub>m</sub>	1,4- $\alpha$ -D-glucopyranosyl chains
x	ส่วนของ 1,4- $\alpha$ -D-glucopyranosyl chains
m	D-glucopyranosyl residues
n	D-glucopyranosyl residues
DE	Dextrose equivalent



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย

แป้งเป็นผลผลิตทางการเกษตรที่มีคุณสมบัติเฉพาะตัวจึงถูกนำมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ มากมาย เช่น อุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมกระดาษ อุตสาหกรรมสิ่งทอ เป็นต้น ประเทศไทยจัดเป็นประเทศที่ผลิตแป้งมันสำปะหลังมากเป็นอันดับหนึ่งของโลก ทำให้ราคาของแป้งมันสำปะหลังภายในประเทศค่อนข้างต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับแป้งชนิดอื่น การแปรเปลี่ยนผลผลิตที่ทำได้ง่ายและมีอยู่เป็นจำนวนมากในประเทศให้เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีคุณค่า มีราคา และเป็นประโยชน์สืบเนื่องไปยังอุตสาหกรรมอื่น ๆ ได้มากขึ้นนั้น จะช่วยลดปัญหาราคาผลผลิตตกต่ำและเป็นการเพิ่มคุณค่าของผลิตภัณฑ์ ซึ่งเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการพัฒนาประเทศเชิงอุตสาหกรรม

ไซโคลเด็กซ์ทรินเป็นผลผลิตอย่างหนึ่งที่สังเคราะห์ได้จากการทำปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์ไซโคลเด็กซ์ทรินไกลโคซิลทรานสเฟอเรส (Cyclodextrin Glycosyltransferase, CGTase) และแป้ง โครงสร้างโมเลกุลมีลักษณะเป็นวงแหวนปิด มีโพรงตรงกลาง สามารถรวมตัวกับสารอินทรีย์หรืออนินทรีย์เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนได้ ด้วยสมบัติดังกล่าวไซโคลเด็กซ์ทรินจึงถูกนำมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหาร ยาและเครื่องสำอางค์ เป็นต้น กระบวนการสังเคราะห์ไซโคลเด็กซ์ทรินประกอบไปด้วย 2 ขั้นตอนที่สำคัญ ได้แก่ ขั้นตอนการเตรียมสารตั้งต้นให้เหมาะสมต่อการเข้าทำปฏิกิริยาของเอนไซม์และขั้นตอนการสังเคราะห์ไซโคลเด็กซ์ทรินจากเอนไซม์ CGTase วิธีการเตรียมแป้งซึ่งใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ไซโคลเด็กซ์ทรินนั้นโดยทั่วไปมี 2 วิธี คือ การเตรียมแป้งโดยใช้เอนไซม์ย่อยโมเลกุลแป้งให้มีขนาดเล็กลง แต่วิธีการนี้จะทำให้ได้น้ำตาลโมเลกุลเล็ก เช่น กลูโคส มอลโตส เกิดขึ้นด้วย น้ำตาลโมเลกุลเล็กๆ เหล่านี้จะมีผลเร่งปฏิกิริยาการสลายตัวของไซโคลเด็กซ์ทริน ทำให้อัตราการผลิตไซโคลเด็กซ์ทรินลดลง ดังนั้นการเตรียมแป้งด้วยวิธีนี้จึงต้องควบคุมการย่อยของเอนไซม์ให้เหมาะสม โดยแป้งที่ผ่านการย่อยควรมีค่า DE (Dextrose equivalent คือ การวัดค่าการย่อยแป้งจากปริมาณน้ำตาลโมเลกุลเล็ก) อยู่ระหว่าง 6-16 (ทิพย์สุภา, 2537)

ส่วนการเตรียมแป้งอีกวิธีหนึ่งคือการเตรียมแป้งโดยวิธีทางกายภาพ เช่น การบด การรีด หรือการใช้ความร้อน การเตรียมแป้งด้วยวิธีทางกายภาพจะพบปริมาณน้ำตาลโมเลกุลเล็กในปริมาณที่น้อยมาก การเตรียมแป้งโดยการให้ความร้อนสามารถทำได้ง่ายกว่าการบดหรือการรีดแป้ง โดยไม่จำเป็นต้องใช้เครื่องมือหรืออุปกรณ์อื่นใดเพิ่มเติม การให้ความร้อนจะทำให้เม็ดแป้งเกิดการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพ เช่น เกิดการพองตัวมีขนาดใหญ่ขึ้น โครงสร้างภายในส่วนเปลือกและส่วนอณูฐานเปลี่ยนแปลงไป เอนไซม์สามารถเข้าทำปฏิกิริยาได้ดีขึ้น

สำหรับงานวิจัยนี้สนใจศึกษาการสังเคราะห์ไซโคลเด็กซ์ทรินด้วยเอนไซม์ CGTase ที่ได้จากเชื้อ *Bacillus circulans* (ATCC 9995) โดยสารตั้งต้นที่ใช้คือแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการเตรียมโดยวิธีทางกายภาพ 2 วิธี ได้แก่ การเตรียมแป้งด้วยความร้อนและการเตรียมแป้งโดยการบดร่วมกับความร้อน เพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิ เวลา และการบดย่อยในขั้นตอนการเตรียมแป้งที่มี

ต่อสมบัติทางกายภาพของเม็ดแป้งมันสำปะหลังและอัตราการสังเคราะห์ไซโคลเด็กซ์ทรินในถึง  
ปฏิกรณ์ชนิดกวนแบบกะ

## 1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 เพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิ เวลา และการบดย่อยที่ใช้ในการเตรียมแป้งที่มีต่อ  
สมบัติทางกายภาพของเม็ดแป้งมันสำปะหลัง อันได้แก่ ขนาดเม็ดแป้ง กำลังการพองตัว ร้อยละ  
การละลาย ความหนืด และการเปลี่ยนรูปร่างของเม็ดแป้ง

1.2.2 เพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิ เวลา และการบดย่อยที่ใช้ในการเตรียมแป้งซึ่งมีต่อ  
อัตราการสังเคราะห์แรกเริ่มของไซโคลเด็กซ์ทริน

## 1.3 ขอบเขตงานวิจัย

1.3.1 ศึกษาผลของอุณหภูมิที่ใช้ในการเตรียมแป้งโดยวิธีให้ความร้อนในช่วง 60-80  
องศาเซลเซียส ที่มีต่อสมบัติทางกายภาพของเม็ดแป้งมันสำปะหลังและอัตราการสังเคราะห์แรก  
เริ่มของไซโคลเด็กซ์ทริน ที่ความเข้มข้นแป้งประมาณ 7%

1.3.2 ศึกษาผลของอุณหภูมิที่ใช้ในการเตรียมแป้งโดยวิธีการบดในช่วง 30-60 องศา  
เซลเซียส ที่มีต่อสมบัติทางกายภาพของเม็ดแป้งมันสำปะหลังและอัตราการสังเคราะห์แรกเริ่มของ  
ไซโคลเด็กซ์ทริน ที่ความเข้มข้นแป้งประมาณ 7%

1.3.3 ศึกษาผลของระยะเวลาในการเตรียมแป้งโดยวิธีการให้ความร้อนและวิธีการบด  
ในช่วงประมาณ 0-24 ชั่วโมง ที่มีต่อสมบัติทางกายภาพของเม็ดแป้งมันสำปะหลังและอัตราการ  
สังเคราะห์แรกเริ่มของไซโคลเด็กซ์ทริน ที่ความเข้มข้นแป้งประมาณ 7%

1.3.4 ศึกษาเปรียบเทียบผลของการเตรียมแป้งโดยวิธีการให้ความร้อนกับวิธีการบดร่วม  
กับการให้ความร้อน ที่มีต่อสมบัติทางกายภาพของเม็ดแป้งและอัตราการสังเคราะห์เบต้า-ไซโคล  
เด็กซ์ทรินแรกเริ่ม โดยวิธีการบดร่วมกับการให้ความร้อนจะใช้สภาวะที่เหมาะสมที่รายงานไว้ใน  
งานวิจัยของ Lee Y.D. และ Kim H.S. (1991)

## 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ได้รับความรู้ความเข้าใจถึงอิทธิพลของสมบัติทางกายภาพของเม็ดแป้งมัน  
สำปะหลังต่อการสังเคราะห์ไซโคลเด็กซ์ทรินจากเอนไซม์ CGTase

1.4.2 เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการปรับปรุงกระบวนการการสังเคราะห์ไซโคลเด็กซ์ทรินจาก  
แป้งมันสำปะหลัง

## บทที่ 2

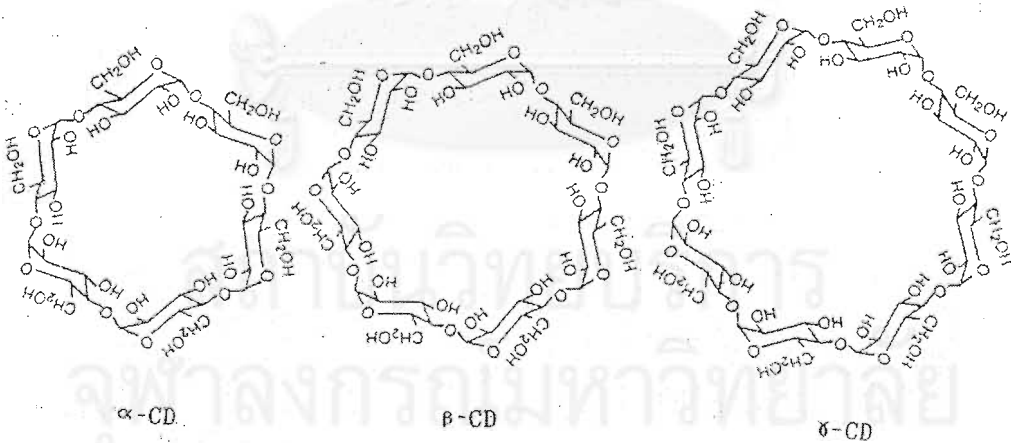
### ทฤษฎี

#### 2.1 ไซโคลเด็กซ์ทริน

ไซโคลเด็กซ์ทริน เป็นโอลิโกแซคคาไรด์ชนิดวงปิด ประกอบไปด้วยหน่วยย่อยของกลูโคสที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ  $\alpha$ -1,4-glucosidic ลักษณะโครงสร้างโมเลกุลของ CD มีลักษณะเป็นวงแหวนปิด มีโพรงตรงกลางคล้ายโดนัท ผนังรอบนอกของโมเลกุลแสดงสมบัติเป็นไฮโดรฟิลิก (Hydrophilic) จึงทำให้ CD ละลายน้ำได้ ส่วนโพรงด้านในแสดงสมบัติเป็นไฮโดรโฟบิก (Hydrophobic) จึงสามารถจับโมเลกุลของสารอินทรีย์หรืออนินทรีย์ที่มีขนาดเหมาะสมไว้ในโพรงได้ด้วยพันธะไฮโดรเจน ไฮโดรโฟบิก และแรงแวนเดอร์วาลส์ โดยการรวมตัวกันเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนซึ่งทำให้คุณสมบัติทางกายภาพหรือทางเคมีของสารอินทรีย์หรืออนินทรีย์เปลี่ยนไป

##### 2.1.1 ชนิดของไซโคลเด็กซ์ทริน

ไซโคลเด็กซ์ทรินแบ่งได้เป็น 3 ชนิด ตามจำนวนหน่วยย่อยของกลูโคส ได้แก่ แอลฟา ( $\alpha$ -) เบต้า ( $\beta$ -) และแกมมา ( $\gamma$ -) ไซโคลเด็กซ์ทริน ซึ่งประกอบด้วยกลูโคสจำนวน 6, 7 และ 8 หน่วยตามลำดับ CD แต่ละชนิดจึงมีขนาดของโพรงต่างกัน (รูปที่ 2.1) ทำให้คุณสมบัติของ CD แต่ละชนิดแตกต่างกันออกไป (ดูตารางที่ 2.1)



รูปที่ 2.1 ขนาดโพรงของไซโคลเด็กซ์ทรินแต่ละชนิด (Szejtli, 1999)

ตารางที่ 2.1 สมบัติของไซโคลเดกซ์ทรินแต่ละชนิด (Horikoshi , 1979)

คุณสมบัติ	$\alpha$ -CD	$\beta$ -CD	$\gamma$ -CD
จำนวนหน่วยของกลูโคส	6	7	8
น้ำหนักโมเลกุล	973	1135	1297
เส้นผ่าศูนย์กลางของโพรง	5-6 Å <sup>o</sup>	7-8 Å <sup>o</sup>	9-10 Å <sup>o</sup>
ขนาดความลึกของโพรง	7-8 Å <sup>o</sup>	7-8 Å <sup>o</sup>	7-8 Å <sup>o</sup>
ความสามารถในการละลาย (กรัมต่อปริมาณน้ำ 100 มิลลิลิตร ที่ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส)	14.5	1.85	23.2
ราคาของ CD (ดอลลาร์สหรัฐ/กรัม) ราคาอ้างอิงจากบริษัท CYCLOLAB จำกัด	24	24	59

### 2.1.2 ประโยชน์ของไซโคลเดกซ์ทริน

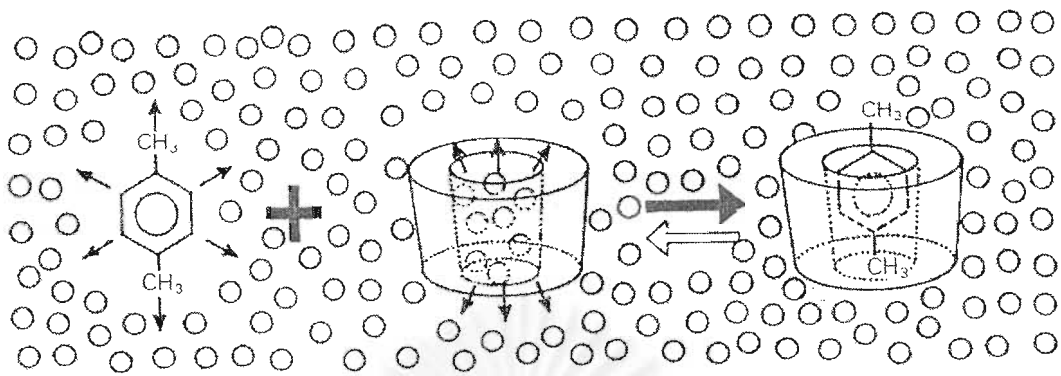
เมื่อ CD ละลายน้ำ โมเลกุลของน้ำจะถูกผลักออกจากโพรง หากมีการเติมโมเลกุลไม่มีขั้วของสารอินทรีย์หรืออนินทรีย์ที่มีขนาดพอเหมาะกับขนาดโพรง CD ลงไป จะเกิดการรวมตัวกันเป็นสารประกอบเชิงซ้อน (Inclusion complex) แยกตัวออกจากน้ำในรูปของของแข็งหรือผลึกขนาดเล็ก สมบัติทางกายภาพของโมเลกุลที่ถูกห่อหุ้มภายในโพรงของ CD จะเปลี่ยนแปลงไป ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมโมเลกุลทั้งสองสามารถแยกออกจากกันได้ และโมเลกุลไม่มีขั้วของสารอินทรีย์หรืออนินทรีย์ที่แยกได้นั้น จะได้สมบัติทางกายภาพกลับคืนมาอย่างเดิม

ความสามารถในการจับกับโมเลกุลของสารอินทรีย์และอนินทรีย์แต่ละชนิดจะแตกต่างกันไปตามชนิดของ CD เช่น  $\alpha$ -CD ซึ่งมีขนาดโพรงเล็กที่สุดสามารถจับกับโมเลกุลของเบนซีนได้ดี ในขณะที่  $\beta$ -CD จับกับโมเลกุลของเนพทาลีนได้ดี (รูปที่ 2.2) เป็นต้น ด้วยเหตุนี้ CD จึงถูกนำไปใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมต่างๆ มากมาย โดยแบ่งตามประเภทของการใช้งานได้ดังนี้

#### 1) ใช้เพิ่มความสามารถในการละลาย

ในอุตสาหกรรมยาส่วนใหญ่มักจะใช้ CD เพื่อเพิ่มความสามารถในการละลายของตัวยาบางชนิดทำได้โดยการเติม CD ลงไปหรือการทำให้เกิดการรวมตัวเป็นสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างตัวยาที่ละลายน้ำได้ยากกับ CD ซึ่งวิธีนี้จะช่วยเพิ่มความสามารถในการละลายได้มากกว่า เช่น สไปโรโนแลกโตนบิริสทุธิ์ (Spironolactone) ละลายน้ำได้ 46 มิลลิกรัม/ลิตร ที่อุณหภูมิ 37 °ซ เมื่อเติม  $\beta$ -CD ลงไป ความสามารถในการละลายจะเพิ่มขึ้นเป็น 115 มิลลิกรัม/ลิตร (เพิ่มขึ้น 2.5 เท่า) แต่เมื่อทำให้เกิดการรวมตัวเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับ  $\beta$ -CD ความสามารถในการละลายจะเพิ่มขึ้นเป็น 351 มิลลิกรัม/ลิตร (เพิ่มขึ้น 7.5 เท่า) [Duchene, 1988]





รูปที่ 2.2 การเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของโมเลกุลไซโคลเด็กซ์ทริน  
(Szejtli, 1999)

## 2) ลดการระเหยของผลิตภัณฑ์

ผลิตภัณฑ์ในอุตสาหกรรมบางประเภทเป็นสารระเหยง่าย เช่น ผลิตภัณฑ์ประเภทน้ำมันหอมระเหย เมื่อถูกเปลี่ยนรูปเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับ CD จะทำให้จุดเดือด อุณหภูมิในการระเหย และอุณหภูมิในการระเหิดสูงขึ้น นอกจากนี้ยังช่วยยับยั้งการตกผลึกกลับได้ (Recrystallization)

## 3) ใช้ในการปรับปรุงกลิ่นและรส

การที่ CD สามารถลดการระเหยของสารที่ระเหยง่ายได้ เป็นผลให้ CD สามารถช่วยลดหรือเก็บรักษากลิ่นและรสชาติในผลิตภัณฑ์ได้ โดยการรวมตัวเป็นสารประกอบเชิงซ้อน เช่น ช่วยลดความขมในน้ำผลไม้ตระกูลส้ม ลดกลิ่นคาวในอาหารจำพวกปลา ลดกลิ่นจุนของกระเทียม กำจัดกลิ่นที่ไม่ต้องการในส่วนผสมของเครื่องสำอางค์ประเภททาอาบแดด เก็บรักษากลิ่นของเครื่องเทศและเปลือกมะนาว เป็นต้น

## 4) ใช้ในการเพิ่มเสถียรภาพของผลิตภัณฑ์ [Szejtli, 1999]

ในการรวมตัวเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนนั้น โมเลกุลสารอินทรีย์หรืออนินทรีย์จะถูกห่อหุ้มด้วยโมเลกุลของ CD จึงทำให้สารอินทรีย์หรืออนินทรีย์ถูกทำลายโดยสารอื่นๆ ได้ยากขึ้น เช่น ช่วยเพิ่มความคงตัวของอาหารเสริมประเภทวิตามิน รักษาความคงตัวของสีที่ได้จากธรรมชาติ เป็นต้น

นอกจากนี้ CD ยังถูกใช้ประโยชน์ในรูปแบบอื่นๆ ได้อีกมากมาย เช่น การตรึง CD บนเส้นใยที่ใช้ทำเป็นกันกรองของบุหรีเพื่อจับนิโคตินและทาร์ในควันบุหรี เนื่องจาก CD สามารถยึดจับกับเส้นใยได้อย่างเหนียวแน่นพอๆ กับสีย้อม จึงมีการใช้ CD ในอุตสาหกรรมเสื้อผ้า ทำหน้าที่จับกับโมเลกุลของสารที่ทำให้เกิดกลิ่น รวมตัวกันเพื่อทำให้สารที่มีกลิ่นถูกกำจัดออกด้วยการซักล้างโดย CD ไม่หลุดออกมาด้วยเนื่องจากจับยึดติดกับเส้นใยผ้าอย่างถาวร



### 2.1.3 วิธีการรวมเป็นสารประกอบเชิงซ้อน

ไซโคลเด็กซ์ทรินสามารถรวมตัวกับสารอินทรีย์และอนินทรีย์เป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่มีคุณสมบัติแตกต่างกันไป ขึ้นกับชนิดของสารอินทรีย์หรืออนินทรีย์ การรวมเป็นสารประกอบเชิงซ้อนชนิดต่าง ๆ มีขั้นตอนและวิธีการ ดังนี้

#### (1) สารประกอบเชิงซ้อนที่ละลายน้ำได้

ละลาย CD ในน้ำ เติมสารอินทรีย์หรืออนินทรีย์ในปริมาณมากเกินไป ตั้งของผสมที่ได้ทิ้งไว้จนกระทั่งสารประกอบเชิงซ้อนตกตะกอนอย่างสมบูรณ์ กรองสารประกอบเชิงซ้อนและล้างด้วยน้ำเย็น ตามด้วยอะซีโตนและอีเทอร์ อบตะกอนที่ได้ในสุญญากาศ ในกรณีที่สารประกอบเชิงซ้อนไม่ตกตะกอนสามารถใช้เทคนิค Lyophilization ได้

#### (2) สารประกอบเชิงซ้อนที่เป็นของเหลวไม่ละลายน้ำ

ละลาย CD ในน้ำ จากนั้นเติมสารอินทรีย์หรืออนินทรีย์ที่เป็นของเหลวไม่ละลายน้ำ ผสมของผสมทั้งหมดเข้าด้วยกันจนกระทั่งเกิดการตกผลึกของสารประกอบเชิงซ้อน กรองตะกอนที่ได้และล้างตะกอนด้วยน้ำเย็น อะซีโตนและอีเทอร์ ตามลำดับ

#### (3) สารประกอบเชิงซ้อนที่เป็นของแข็งไม่ละลายน้ำ

ละลายสารอินทรีย์หรืออนินทรีย์ในอีเทอร์ และเติมสารละลาย CD ผสมของผสมทั้งหมดเข้าด้วยกันจนเกิดตะกอนของสารประกอบเชิงซ้อน กรองตะกอนที่ได้ ล้างตะกอนด้วยน้ำเย็น อะซีโตนและอีเทอร์ ตามลำดับ

#### (4) การรวมเป็นสารประกอบเชิงซ้อนในระดับอุตสาหกรรม

การทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนในระดับอุตสาหกรรมใช้วิธีการเดียวกับที่ได้กล่าวไว้แล้วข้างต้น โดยเตรียม CD 1 ส่วนต่อน้ำ 5 ส่วน เนื่องจาก  $\beta$ -CD ละลายน้ำได้น้อย สารละลายที่ได้จึงมีลักษณะขุ่น จากนั้นจึงเติมสารอินทรีย์หรืออนินทรีย์ กวนผสมเป็นเวลา 2-5 ชั่วโมง กรองและล้างตะกอนที่ได้ด้วยน้ำเย็น อะซีโตนและอีเทอร์ ตามลำดับ

#### (5) การรวมเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับแก๊ส

นอกเหนือจากแก๊สเอทิลีนแล้ว ยังไม่มีผลงานวิจัยใดรายงานถึงการรวมเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของ CD กับแก๊สอื่น ๆ อีก

### 2.1.4 วิธีการแยกสารอินทรีย์และอนินทรีย์ออกจากสารประกอบเชิงซ้อน

การรวมเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับ CD ด้วยวิธีการข้างต้น ทำให้สมบัติของสารอินทรีย์และอนินทรีย์เปลี่ยนแปลงไป แต่เมื่อต้องการสมบัติของสารกลับคืนมาต้องทำการแยกสารประกอบเชิงซ้อนเหล่านั้นด้วยวิธีการที่เหมาะสมดังนี้

#### (1) การต้ม

สารอินทรีย์และอนินทรีย์ส่วนใหญ่ที่รวมเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับ CD จะเป็นสารที่ระเหยได้ง่าย ซึ่งสามารถแยกออกได้โดยใช้วิธีการต้มหรือการกลั่นแยกด้วยไอน้ำ สารประกอบเชิงซ้อนจะแยกออกจากกันเมื่อสารละลายเย็นตัวลง

## (2) การสกัด

การสกัดเป็นอีกวิธีหนึ่งซึ่งสามารถแยกสารประกอบเชิงซ้อนออกจากกันได้ โดยการเลือกใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสม เช่น เมททิลแอลกอฮอล์ หรือแยกโดยใช้ลิควิดโครมาโตกราฟีซึ่งมีโคมเททิลซัลฟอกไซด์ถูกใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่

## (3) การย่อยด้วยกรด

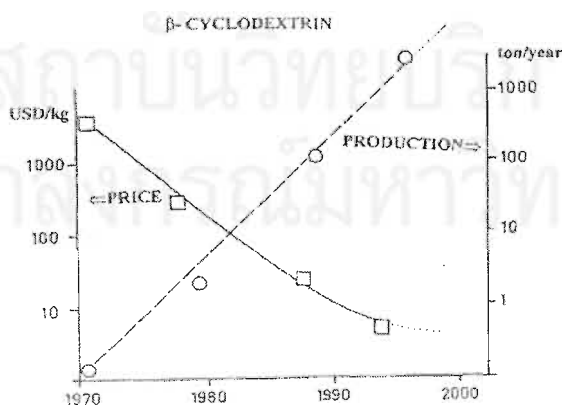
กรดหลายชนิดสามารถย่อยสลาย CD ได้ เมื่อโครงสร้างของ CD ถูกทำลาย สารอินทรีย์หรืออนินทรีย์ที่ถูกห่อหุ้มไว้ภายในจะหลุดออกมา

## (4) การย่อยด้วยเอนไซม์

ไซโคลเด็กซ์ทรินสามารถถูกย่อยโดยเอนไซม์และเชื้อจุลินทรีย์บางชนิด เช่น  $\beta$ -CD ต้านทานต่อการย่อยสลายของเอนไซม์แอลฟา-อะมิเลส ได้ดีกว่าเด็กซ์-ทรินสายตรง แต่ถูกย่อยโดยเอนไซม์ *Aspergillus oryzae* amylase, *Pseudomonas* amylase, *B. marcerans* amylase (CGTase) และ *Bacillus* No 38-2 CGTase แต่เอนไซม์ อะมิเลสในน้ำลายไม่สามารถย่อยสลาย  $\beta$ -CD ได้ เชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถย่อย  $\beta$ -CD ได้แก่ *Bacillus macerans*, *Bacillus polymixa*, *Bacillus* No 38-2 และบางสายพันธุ์ของ *Klebsiella*

## 2.1.5 การผลิตไซโคลเด็กซ์ทรินในระดับอุตสาหกรรม

การผลิต CD ในระดับอุตสาหกรรมเริ่มได้รับความสนใจมากขึ้นในปี ค.ศ. 1970 [Szejtli, 1970] เนื่องจากอุตสาหกรรมยาขนาดใหญ่ประสบปัญหาในการผลิตตัวยาบางชนิด ซึ่งมีส่วนผสมเป็นสารประเภทคาร์โบไฮเดรต เช่น แป้ง แลคโตส และเซลลูโลสตัดแปรร CD จึงถูกนำมาใช้ในการแก้ปัญหา แต่ในขณะนั้น CD ผลิตได้ปริมาณน้อยและมีราคาแพงมาก จึงเป็นจุดเริ่มต้นของการพัฒนากระบวนการผลิต CD ในระดับ อุตสาหกรรมอย่างต่อเนื่อง ทำให้อัตราการผลิตเพิ่มขึ้น ราคาจึงลดลงตามลำดับ (รูปที่ 2.3)



รูปที่ 2.3 อัตราการผลิตไซโคลเด็กซ์ทรินและราคาตลอดระยะเวลา 25 ปี [Szejtli, 1999]

### 2.1.6 การประยุกต์ใช้ไฮโคลเด็กซ์ทรินในอุตสาหกรรม

ไฮโคลเด็กซ์ทรินถูกนำมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมต่างๆ (ตารางที่ 2.2) เนื่องจากการรวมตัวเป็นสารประกอบเชิงซ้อนจะช่วยปรับปรุงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ได้ เช่น เพิ่มเสถียรภาพ ป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน เพิ่มการละลาย เป็นต้น

ตารางที่ 2.2 การประยุกต์ใช้ เบต้า-ไฮโคลเด็กซ์ทรินในอุตสาหกรรม [Horikashi, 1979]

ประเภทของอุตสาหกรรม	การใช้ประโยชน์	ผลิตภัณฑ์หรือสารที่ร่วมเกิดสารประกอบ
อุตสาหกรรมอาหาร	1) Emulsification 2) เพิ่มการเกิดฟอง 3) เพิ่มความคงตัวในน้ำหอม และเครื่องปรุงรส 4) ปรับปรุงรสชาติ	มายองเนส วิปป์ครีม ไซขาวแซ่แข็ง ส่วนผสมของ Hotcake หมากฝรั่ง แป้งหอม บะหมี่กึ่งสำเร็จรูป Meat paste
อุตสาหกรรมเครื่องสำอางค์	1) ปรับแต่งสีของผลิตภัณฑ์ 2) เพิ่มความคงตัวของกลิ่นหอม 3) เพิ่มเสถียรภาพ	Fluorescein, Bath agen Menthol Chalcone, Dihydrochalcone (ในยาลีฟีน)
อุตสาหกรรมเวชภัณฑ์	1) เพิ่มการละลาย 2) ปรับปรุงรสชาติ 3) ลดการระเหยในผลิตภัณฑ์ที่เป็นผง 4) เพิ่มความคงตัวต่อแสง UV และความร้อน 5) ลดการระคายเคือง	Prostaglandin, Phenobarbital, Chloramphenicol Prostaglandin Nitroglycerin, Clofibrat Prostaglandin, Vitamins Cu-Alcanolamine complex
อุตสาหกรรมยาฆ่าแมลง	1) เพิ่มความคงตัวต่อแสง UV และความร้อน 2) ลดการระเหยในผลิตภัณฑ์ที่เป็นผง	Pyrethrins และ Pyrethroids, Isoprenoid DDVP และสารประเภทฟอสฟอรัส
อุตสาหกรรมพลาสติก	เพิ่มความคงตัวของสีและกลิ่น	สี และกลิ่นหอม
อุตสาหกรรมอื่นๆ	-	สารยึดติด

### 2.1.7 ความเป็นพิษของไฮโคลเด็กซ์ทริน

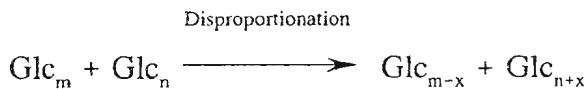
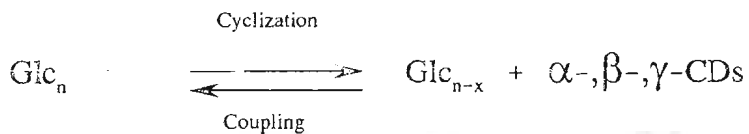
การใช้ประโยชน์จาก CD ในอุตสาหกรรมต่างๆอย่างมากมายนั้น ทำให้นักวิทยาศาสตร์เริ่มคำนึงถึงความเป็นพิษที่จะเกิดขึ้นกับมนุษย์ สัตว์ และสิ่งแวดล้อมมากยิ่งขึ้น จากการศึกษาพบว่า CD ไม่เป็นอันตรายต่อช่องปาก เนื่องจากโครงสร้างที่เป็นวงแหวนจึงไม่มีกลุ่มปลาย (End group) เอนไซม์เบต้า-อะไมเลสไม่สามารถย่อยทำลายโครงสร้างที่เป็นวงแหวนได้หรือแม้แต่แอลฟา-อะไมเลสก็ย่อย CD ได้ช้ากว่าการย่อยแป้งมาก ในร่างกายมนุษย์ไม่มีเอนไซม์ที่จะสามารถเผาผลาญ CD ได้ CD จะถูกดูดซึมในลำไส้เล็กได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น

แต่ที่บริเวณลำไส้ใหญ่โครงสร้างวงแหวนจะเปิดออก CD จะถูกเผาผลาญที่บริเวณนี้ในลักษณะเดียวกับการเผาผลาญแป้งและน้ำตาลได้เป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ มีเพียง  $\gamma$ -CD เท่านั้นที่ถูกขับถ่ายออกมาในรูปของสารประกอบหลากหลายชนิด ดังนั้น เพียง  $\gamma$ -CD จึงไม่เป็นพิษต่อร่างกายเมื่อบริโภคเข้าไปปริมาณมากๆ [Szejtli, 1999]

กรณีของ  $\beta$ -CD นั้นสามารถรวมตัวกับคลอเลสเทอรอลเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่ไม่ละลายน้ำ สะสมอยู่ในไตและเป็นอันตรายต่อไต ด้วยคุณสมบัติข้อนี้จึงใช้ CD ในการผลิตเนยคลอเลสเทอรอลต่ำ โดยการผสม  $\beta$ -CD กับเนยเหลว เพื่อให้เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างคลอเลสเทอรอลกับเบต้า-ไซโคลเด็กซ์-ทริน ที่แยกออกได้โดยง่าย เป็นการกำจัดคลอเลสเทอรอลออกจากเนยเหลว การผลิตไซโคลเลสเทอรอลต่ำก็สามารถทำได้ในทำนองเดียวกัน โดยใช้ CD ดึงคลอเลสเทอรอลออกจากไขมัน [Szejtli, 1999] ความเป็นพิษของ CD ได้รับความศึกษามาเป็นเวลานาน แต่ยังไม่มีการตีพิมพ์เผยแพร่มากนัก และไม่มีรายงานถึงปริมาณของ CD ที่ทำอันตรายต่อช่องปาก แต่ปริมาณสูงสุดที่เป็นไปได้ที่ทำให้เกิดการตายในสุนัขและหนู คือ ปริมาณมากกว่า 5 กรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัว และ 18.8 กรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัว ตามลำดับ และปริมาณที่ทำให้เกิดการตายในมนุษย์ คือ 350 กรัม ถึง 1.5 กิโลกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัว [Duchene, 1988]

## 2.2 กลไกการทำงานของเอนไซม์ไซโคลเด็กซ์ทรินไกลโคซิลทรานสเฟอเรส (CGTase)

ไซโคลเด็กซ์ทรินสังเคราะห์ได้จากการทำปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์ CGTase และ แป้งหรือคาร์โบไฮเดรตที่มีองค์ประกอบคล้ายแป้ง เช่น อะมิโลส อะมิโลเพกทิน ไกลโคเจน และ มอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ เอนไซม์ CGTase มีกลไกการเกิดปฏิกิริยาสังเคราะห์ CD ได้ 3 แบบ คือ Cyclization, Coupling และ Disproportionation ดังต่อไปนี้



เมื่อ	$\text{Glc}_n$	คือ สายของ 1,4- $\alpha$ -D-glucopyranose ประกอบด้วยโมเลกุลของ $\alpha$ -D-glucose อยู่ในสายจำนวน n หน่วย
	$\text{Glc}_m$	คือ สายของ 1,4- $\alpha$ -D-glucopyranose ประกอบด้วยโมเลกุลของ $\alpha$ -D-glucose อยู่ในสายจำนวน m หน่วย
	$\text{Glc}_{m-x}$	คือ สายของ 1,4- $\alpha$ -D-glucopyranose ประกอบด้วยโมเลกุลของ $\alpha$ -D-glucose อยู่ในสายจำนวน n-x หน่วย
	$\text{Glc}_{n+x}$	คือ สายของ 1,4- $\alpha$ -D-glucopyranose ประกอบด้วยโมเลกุลของ $\alpha$ -D-glucose อยู่ในสายจำนวน n+x หน่วย
n และ m		คือ สายของ D-glucopyranose residues
x		คือ ส่วนของสาย 1,4- $\alpha$ -D-glucopyranos

**Cyclization** เป็นขั้นตอนการสังเคราะห์ห่วงแหวนปิดของ CD จากสายโอลิโกหรือพอลิแซคคาไรด์ปลายเปิด โดยปลายข้างหนึ่งของสาย D-glucopyranosyl จะถูกไฮโดรไลซ์ ส่วนปลายอีกข้างหนึ่งของสาย D-glucopyranosyl ซึ่งเป็นปลายด้าน Non-reducing จะถูกขดเข้าทำปฏิกิริยากับปลายด้านที่ถูกไฮโดรไลซ์นั้นได้เป็นโมเลกุลของ CD ปฏิกิริยานี้จะเกิดได้ดีเมื่อมีสารตั้งต้นที่เป็นสายโอลิโกหรือพอลิแซคคาไรด์ที่มีจำนวนหน่วยย่อยของกลูโคสในสายต่อกัน 16-18 หน่วย

**Coupling** เป็นปฏิกิริยาย้อนกลับของ cyclization เป็นการสลาย CD เพื่อนำไปต่อกับสายโอลิโกหรือพอลิแซคคาไรด์ เกิดเป็นสายโอลิโกหรือพอลิแซคคาไรด์ปลายเปิดที่มีความยาวขึ้น ปฏิกิริยา coupling จะเกิดได้ดีเมื่อสารตั้งต้นเป็นโอลิโกหรือพอลิแซคคาไรด์สายสั้นหรือน้ำตาลโมเลกุลเล็ก

**Disproportionation** เป็นปฏิกิริยาการย้ายหมู่ Glycosyl ระหว่างโอลิโกหรือพอลิแซคคาไรด์ โดยปฏิกิริยา Disproportionation จะมีผลต่อปฏิกิริยาการสังเคราะห์ CD ก็ต่อเมื่อได้สายโอลิโกหรือพอลิแซคคาไรด์ที่มีขนาดเหมาะสมที่จะเป็นสารตั้งต้นในการเกิดปฏิกิริยา Cyclization

### 2.3 องค์ประกอบและโครงสร้างของแป้ง

แป้งเป็นคาร์โบไฮเดรตที่ประกอบไปด้วยคาร์บอน ไฮโดรเจนและออกซิเจน ในอัตราส่วน 6:10:5 [กล้าณรงค์ ศรีรอด และเกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ, 2543] มีสิ่งเจือปนอื่นๆ เช่น โปรตีน ไขมัน เกลือแร่ น้อยมาก มีสูตรเคมีโดยทั่วไป ของแป้งคือ  $(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_n$  แป้งที่ผ่านกระบวนการผลิตและยังมีส่วนประกอบอย่างอื่นอยู่มาก จะเรียกว่า ฟลาว์ เช่น แป้งข้าวเจ้าที่มีโปรตีน 7-8% เรียกว่า Rice Flour แต่ถ้าสิ่งเจือปนเหล่านั้นถูกกำจัดออกไป จนเหลือแป้ง

บริสุทธิ์เป็นส่วนใหญ่ จะเรียกว่าเป็นแป้งสตาร์ช เนื่องจากแป้ง สตาร์ชมีความบริสุทธิ์สูงจึงถูกนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมต่าง ๆ มากมาย

### 2.3.1 องค์ประกอบของแป้ง

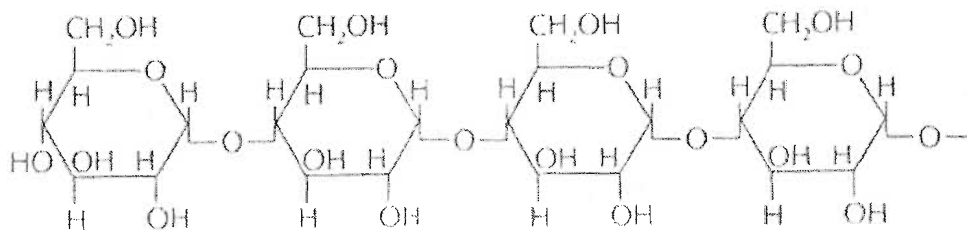
แป้งประกอบไปด้วยพอลิเมอร์ของกลูโคส 2 ชนิด คือ พอลิเมอร์เชิงเส้น เรียกว่า อะมิโลส และพอลิเมอร์เชิงกิ่ง เรียกว่า อะมิโลเพกทิน แป้งโดยทั่วไปจะมีสัดส่วนของอะมิโลเพกทินมากกว่าอะมิโลสมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งแป้งที่ได้จากรากและหัวจะมีสัดส่วนของอะมิโลเพกทินมากกว่าอะมิโลสถึง 4 เท่า [McWilliams, 1997] แป้งจากแหล่งที่ต่างกันจะมีอัตราส่วนของอะมิโลสและอะมิโลเพกทิน แตกต่างกัน (ตารางที่ 2.3) ทำให้คุณสมบัติของแป้งแต่ละชนิดแตกต่างกันไป

ตารางที่ 2.3 สัดส่วนของอะมิโลสและอะมิโลเพกทินในแป้งแต่ละชนิด [Swinkels, 1985a อ้างถึงใน กล้าณรงค์ ศรีรอด และเกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ, 2543]

	แป้งจากรากและหัว		แป้งจากธัญพืช		
	แป้งมันฝรั่ง	แป้งมันสำปะหลัง	แป้งสาลี	แป้งข้าวโพด	แป้งข้าวโพดข้าวเหนียว
อะมิโลส (% น้ำหนักแห้ง)	21	17	28	28	0
อะมิโลเพกทิน (% น้ำหนักแห้ง)	79	83	72	72	100

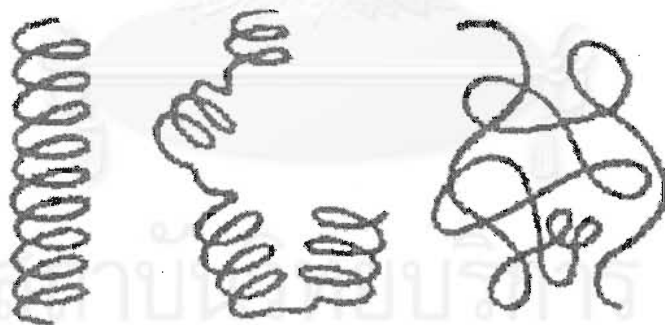
#### 1) อะมิโลส

อะมิโลสเป็นพอลิเมอร์เชิงเส้นประกอบด้วยกลูโคสประมาณ 2,000 หน่วยเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ  $\alpha$ -1,4-glucosidic linkage (รูปที่ 2.3) น้ำหนักโมเลกุลของอะมิโลสจะอยู่ในช่วงประมาณ 1,000-150,000 ซึ่งแตกต่างกันไปตามชนิดของแป้ง แป้งจากธัญพืช เช่น แป้งข้าวโพด แป้งสาลี แป้งข้าวฟ่าง จะมีปริมาณอะมิโลส ประมาณ 28% ซึ่งสูงกว่าแป้งจากรากและหัว เช่น แป้งมันสำปะหลัง แป้งมันฝรั่ง แป้งสาคุ จะมีปริมาณอะมิโลสประมาณ 20%



รูปที่ 2.4 โครงสร้างของอะมิโลส [Charley, 1982]

อะมิโลสสามารถรวมกับไอโอดีนและให้สีน้ำเงิน ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะที่บ่งบอกว่าแป้งมีอะมิโลสเป็นองค์ประกอบ นอกจากนี้ยังสามารถรวมตัวเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่ไม่ละลายน้ำ โดยการพันเป็นเกลียวล้อมรอบสารประกอบอินทรีย์ เช่น บิวทานอล กรดไขมัน ฟีนอล และไฮโดรคาร์บอน เป็นต้น โครงสร้างของอะมิโลสเมื่ออยู่ในสารละลายจะมีหลายรูปแบบ คือ มีลักษณะเป็นเกลียวม้วน เกลียวคลายตัว หรือม้วนอิสระ (รูปที่ 2.5) ในสารละลายที่อุณหภูมิห้อง อะมิโลสจะอยู่ในลักษณะเป็นเกลียวม้วนหรือเกลียวที่คลายตัว อะมิโลสที่มีน้ำหนักโมเลกุลตั้งแต่ 6,500 ถึง 160,000 ลักษณะของโมเลกุลจะม้วนเป็นอิสระและจะไม่ละลายในสารละลาย สำหรับอะมิโลสที่มีน้ำหนักโมเลกุลน้อยกว่า 6,500 โมเลกุลจะอยู่ในลักษณะเกลียวคู่ที่แข็งแรงและอาจจะมีบางส่วนละลายได้

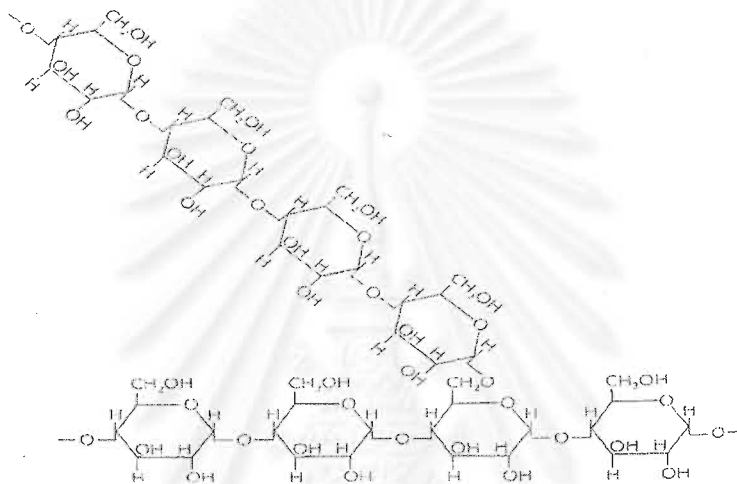


เกลียวม้วน เกลียวคลายตัว ม้วนอิสระ

รูปที่ 2.5 ลักษณะเกลียวของอะมิโลส [Whistler และ Daniel, 1984 อ้างถึงใน กล้าณรงค์ ศรีรอด และเกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ, 2543]

## 2) อะมิโลเพกทิน

อะมิโลเพกทินเป็นพอลิเมอร์เชิงกิ่งของกลูโคส ส่วนที่เป็นเส้นตรงเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ  $\alpha$ -1,4-glucosidic linkage และส่วนของกิ่งที่เป็นพอลิเมอร์สายสั้น เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ  $\alpha$ -1,6-glucosidic linkage (รูปที่ 2.6) หน่วยของกลูโคสที่มีพันธะ  $\alpha$ -1,6-glucosidic linkage จะมีอยู่ประมาณ 5% ของปริมาณหน่วยกลูโคสในอะมิโลเพกทินทั้งหมด ด้วยโครงสร้างที่เป็นแบบกิ่งก้าน อะมิโลเพกทินจึงจับกันเป็นกลุ่มทำให้เกิดเป็นเกลียวคู่ ซึ่งช่วยให้เม็ดแป้งมีความคงทนต่อการทำปฏิกิริยาด้วยกรดและเอนไซม์

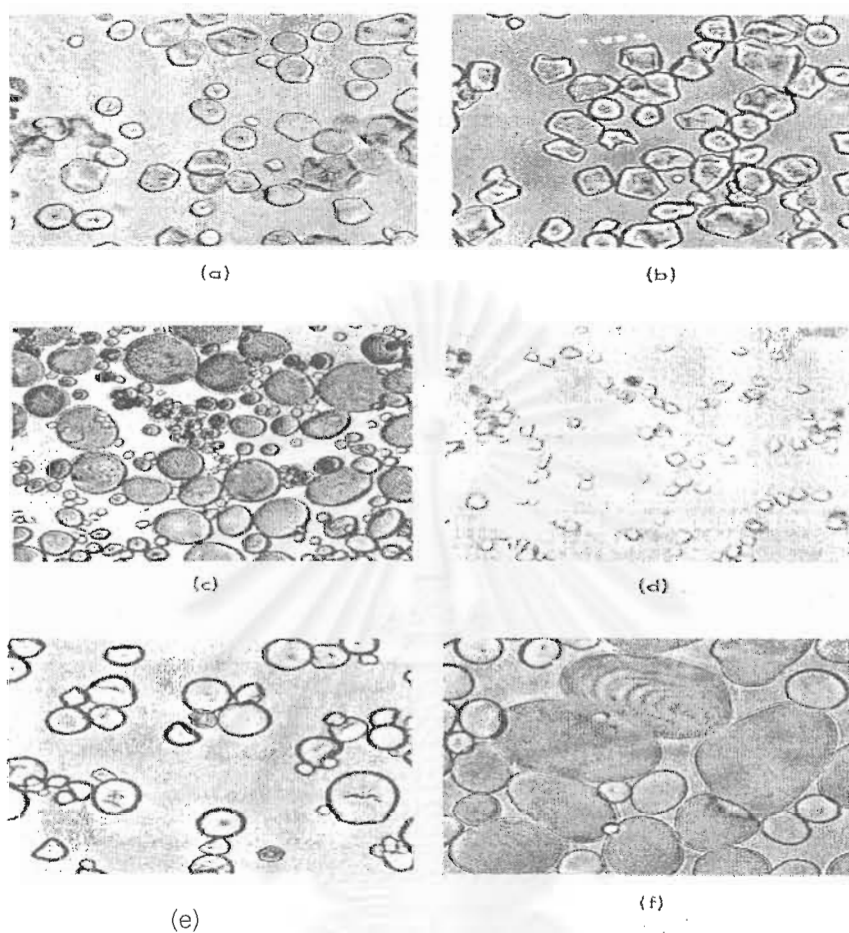


รูปที่ 2.6 โครงสร้างอะมิโลเพกทิน [Chraley, 1982]

### 2.3.2 โครงสร้างของเม็ดแป้ง

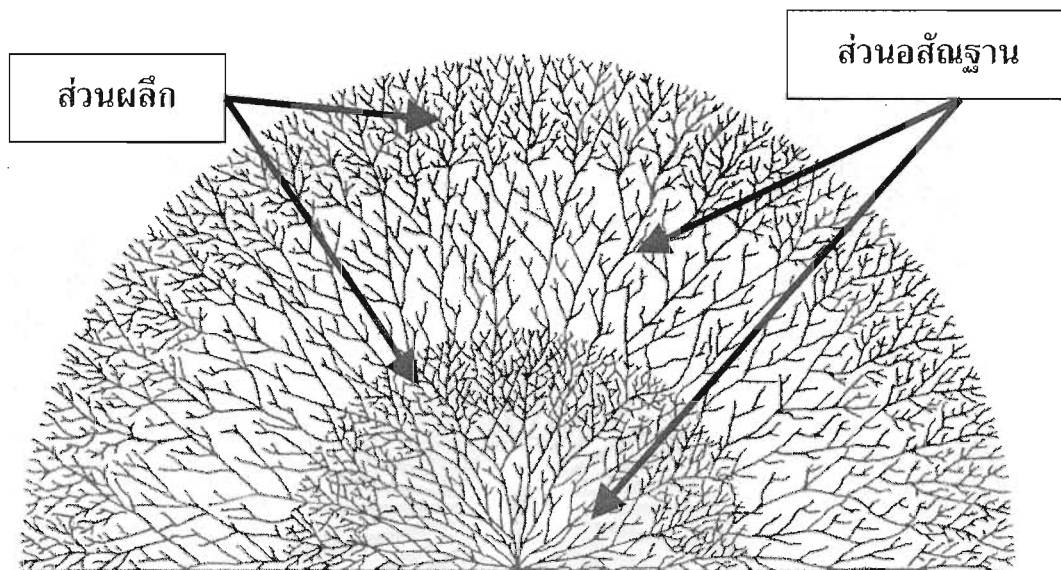
แป้งที่พบโดยทั่วไปในธรรมชาติพบในรูปของเม็ดแป้งขนาดเล็ก ขนาดและรูปร่างของเม็ดแป้งขึ้นอยู่กับชนิดของแป้ง (รูปที่ 2.7) โครงสร้างภายในเม็ดแป้งมีลักษณะเป็นแบบกึ่งผลึก (Semi-crystalline) ประกอบด้วย 2 ส่วน คือ ส่วนที่เป็นผลึก (Crystallites หรือ Micelles) และส่วนอสัณฐาน (Amorphous หรือ Gel phase) ส่วนของสายโซ่สั้น ๆ ของอะมิโลเพกทินจะจัดเรียงตัวในลักษณะเกลียวคู่ซึ่งบางส่วนทำให้เกิดเป็นโครงสร้างผลึก ส่วนอสัณฐานจะประกอบไปด้วยโมเลกุลของอะมิโลสและสายโซ่ยาวของอะมิโลเพกทิน (รูปที่ 2.8) แต่ละส่วนผลึกภายในเม็ดแป้ง จะเชื่อมกันเป็นร่างแหสามมิติด้วยพันธะไฮโดรเจน ซึ่งความแข็งแรงของร่างแหขึ้นอยู่กับจำนวนโมเลกุลที่มาเชื่อมต่อกันและการจัดเรียงโมเลกุลของเม็ดแป้ง





รูปที่ 2.7 รูปร่างของเม็ดไขมันชนิดต่างๆเมื่อส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 500 เท่า  
 (a) ไขมันโพด (b) ไขมันโพดขาวเหนียว (c) ไขมันสาสี (d) ไขมันขาวเจ้า  
 (e) ไขมันลำปะหลัง (f) ไขมันฝรั่ง [Charley, 1982]

สถาบันวิทยบริการ  
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 2.8 โครงสร้างส่วนผลึกและส่วนอสัณฐานในเม็ดแป้ง [Charley, 1982]

เม็ดแป้งจะมีลักษณะโครงสร้างผลึก 3 แบบ ขึ้นอยู่กับความหนาแน่นในการจัดเรียงตัวของเกลียวคู่ ถ้าการจัดเรียงตัวหนาแน่นมาก จะเกิดผลึกแบบ A ได้แก่ แป้งจากธัญพืชต่าง ๆ ถ้าจัดเรียงตัวกันหลวม ๆ จะเกิดผลึกแบบ B ได้แก่ แป้งจากพืชหัว ถ้าการจัดเรียงตัวเป็นทั้งแบบ A และ B รวมกันจะเกิดผลึกแบบ C โครงสร้างผลึกที่ต่างกัน จะให้ลักษณะการกระจายตัวของแสงต่างกัน จากการตรวจสอบชนิดของโครงสร้างผลึกโดยเทคนิค wide angle x-ray diffraction (WAXS) พบว่าแป้งบางชนิดอาจให้ลักษณะของผลึกมากกว่า 1 ชนิด เช่นแป้งมันสำปะหลังสามารถตรวจพบลักษณะผลึกทั้งแบบ A และ C [Rickard และคณะ, 1991 อ้างถึงใน กล้าณรงค์ ศรีรอด และเกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ, 2543] โครงสร้างผลึกของเม็ดแป้งดิบในธรรมชาติอาจเปลี่ยนแปลงได้ ขึ้นกับการปฏิบัติ (treatment) ต่อเม็ดแป้ง เช่น แป้งมันฝรั่งชั้นที่ถูกบ่มไว้นาน 30 นาที ที่อุณหภูมิ 110 °ซ ชนิดของผลึกจะเปลี่ยนจากชนิด B ไปเป็นชนิด A [Kawabota และคณะ, 1994 อ้างถึงใน กล้าณรงค์ ศรีรอด และเกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ, 2543]

เม็ดแป้งโดยทั่วไปมีโครงสร้างที่เป็นผลึกอยู่ 25-50% [กล้าณรงค์ ศรีรอด และเกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ, 2543] ในเม็ดแป้งที่ได้จากหัวหรือราก ส่วนของอะมิโลเพกทินจะมีโครงสร้างบางส่วนเป็นผลึก และส่วนอะมิโลสจะอยู่ในส่วนอสัณฐาน สำหรับแป้งจากธัญพืชส่วนอะมิโลเพกทินจะรวมกันเป็นผลึก ส่วนอะมิโลสจะรวมกับไขมันเป็น amylose-lipid complex เกิดเป็นโครงสร้างผลึกอย่างอ่อนที่ช่วยเสริมความแข็งแรงให้กับเม็ดแป้ง ทำให้เม็ดแป้งจากธัญพืชพองตัวได้ช้า

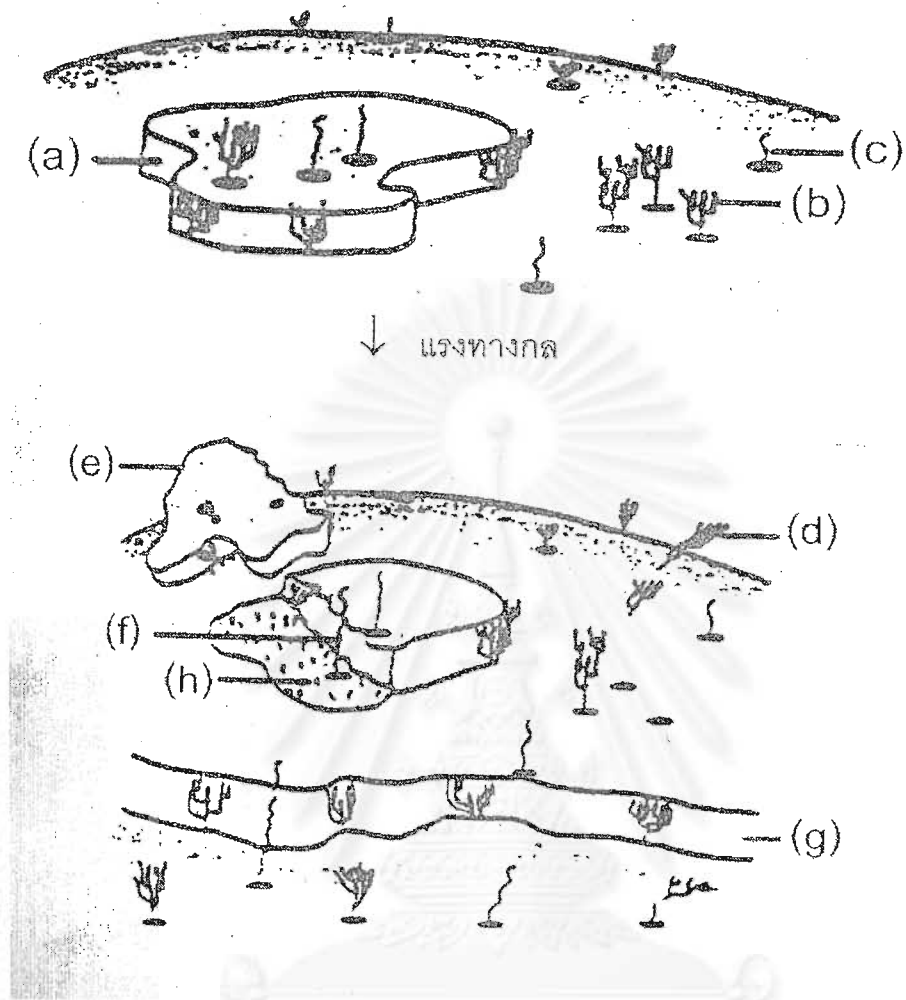
โครงสร้างของเม็ดแป้งมีพื้นผิวไม่เรียบ มีบางส่วนของสายยื่นออกไป ดังแบบจำลอง Lineback's 'hairy billiard ball' [Lineback, 1986 อ้างถึงใน กล้าณรงค์ ศรีรอด และ เกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ, 2543] พื้นผิวของเม็ดแป้งมีส่วนของปลายสายอะมิโลส และอะมิโล-เพกทินยื่นออกไปเป็นจุดเริ่มต้นของชั้นที่จะเจริญต่อไป (รูปที่ 2.9) จากการศึกษาโครงสร้างของเม็ดแป้ง รูบริเวณพื้นผิวของเม็ดแป้งที่สามารถให้น้ำและโมเลกุลขนาดเล็กไม่เกิน 1,000 ดาลตันสามารถผ่านได้เป็นส่วนของอัสติฐานที่อยู่ระหว่างช่องของส่วนผลึกที่ขนานกัน ภาพจาก Transmission Electron Microscopy (TEM) พบว่าช่องเปิดบนพื้นผิวเม็ดแป้งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.1 - 0.3 ไมครอน และมีช่องภายในขนาด 0.07 - 0.1 ไมครอน [Oates, 1997 อ้างถึงใน กล้าณรงค์ ศรีรอด และ เกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ, 2543]

## 2.4 คุณสมบัติของแป้ง

### 2.4.1 การพองตัวและความสามารถในการละลาย

การจัดเรียงตัวของเม็ดแป้งในลักษณะร่างแหสามมิติทำให้เม็ดแป้งไม่สามารถละลายในน้ำเย็นได้ ทั้ง ๆ ที่โมเลกุลของแป้งมีหมู่ไฮดรอกซิลจำนวนมากและมีคุณสมบัติเป็น Hydrophilic เมื่อตั้งแป้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเม็ดแป้งจะดูดซึมน้ำจากบรรยากาศ จนเกิดสมดุลระหว่างความชื้นภายในเม็ดแป้งกับความชื้นในบรรยากาศ ปริมาณน้ำที่ถูกดูดซึมจะขึ้นกับอุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ และชนิดของแป้ง แป้งส่วนใหญ่เมื่อเกิดสมดุลภายใต้บรรยากาศปกติจะมีความชื้น 10-17 % [กล้าณรงค์ ศรีรอด และ เกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ, 2543] จากการส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบว่าเม็ดแป้งประกอบด้วยรูพรุนจำนวนมากซึ่งทำหน้าที่เป็น molecular sieve รูพรุนเหล่านี้เกิดขึ้นในขั้นตอนการทำแห้งในกระบวนการผลิตแป้ง หรืออาจจะมีอยู่แล้วในแป้งธรรมชาติแต่ขยายขนาดใหญ่ขึ้นเมื่อผ่านกระบวนการผลิต ทำให้น้ำหรือของเหลวชนิดอื่น ๆ สามารถแพร่เข้าไปในร่างแหสามมิติภายในเม็ดแป้ง เมื่อแขวนลอยเม็ดแป้งในน้ำที่อุณหภูมิห้อง เม็ดแป้งจะดูดซึมน้ำเข้าไปในปริมาณที่จำกัดค่าหนึ่ง เนื่องจากโครงสร้างแบบร่างแหมีความยืดหยุ่นจำกัด การพองตัวของเม็ดแป้งที่เกิดขึ้นจึงเป็นการพองตัวแบบผันกลับได้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 2.9 แบบจำลองพื้นผิวของเมดแบ่ง [Stark และ Lynn, 1992 อ้างถึงใน  
กล้าณรงค์ ศรีรอด และเกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ, 2543]

- a) การสร้างพื้นผิวใหม่ขึ้นมา
- b) กลุ่มอะมิโลเพกทินที่ยื่นออกมา
- c) ส่วนปลายของสายอะมิโลส
- d) ส่วนของอะมิโลเพกทินที่หลุดออกเนื่องจากการทำลายอย่างอ่อน
- e) ส่วนพื้นผิวที่หลุด เนื่องจากการทำลายอย่างอ่อน
- f) ส่วนปลายของอะมิโลสที่ยื่นออกมาจากพื้นผิวส่วนล่าง
- g) ส่วนอัสติฐานที่เปิดออก
- h) พื้นผิวของเมดแบ่งที่เกิดจากการทำลายอย่างรุนแรง

ที่อุณหภูมิห้องหรือที่อุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิเจลาติไนซ์แข็งดิบจะละลายได้น้อยมาก เนื่องจากมีพันธะไฮโดรเจนซึ่งเกิดจากหมู่ไฮดรอกซิลของโมเลกุลแป้งที่อยู่ใกล้ๆ กัน แต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิให้แก่แป้งสูงกว่าช่วงการเกิดเจลาติไนซ์ พันธะไฮโดรเจนจะอ่อนตัวลง โมเลกุลของน้ำจะแพร่เข้ามาจับกับหมู่ไฮดรอกซิลที่เป็นอิสระ เม็ดแป้งเกิดการพองตัวทำให้การละลาย ความหนืดและความใสเพิ่มขึ้น คุณสมบัติในการบิเตรนาบโพลาริซ์ที่เรียกว่า birefringence จะหมดไป กำลังการพองตัวของแป้งจะแสดงเป็นปริมาตรหรือน้ำหนักของเม็ดแป้งที่เพิ่มขึ้นมากที่สุดเมื่อเม็ดแป้งพองตัวได้อย่างอิสระในน้ำ และความสามารถในการละลายจะแสดงเป็นน้ำหนักของแข็งทั้งหมดในสารละลายที่สามารถละลายได้

ปัจจัยที่มีผลต่อการพองตัวและความสามารถในการละลาย

### 1) ชนิดของแป้ง

แป้งแต่ละชนิดจะมีรูปแบบการพองตัวและการละลายแตกต่างกัน สามารถแบ่งตามความสามารถในการพองตัวและการละลายได้เป็น 3 กลุ่ม คือ แป้งจากธัญพืช แป้งจากส่วนราก และแป้งจากส่วนหัว

- แป้งจากธัญพืช เช่น แป้งข้าวโพด แป้งข้าวเจ้า

แป้งจำพวกนี้จะมีปริมาณอะมิโลสสูง ทำให้โครงสร้างร่างแหในเม็ดแป้งแข็งแรงขึ้นการพองตัวและการละลายจึงต่ำ จะมีรูปแบบการพองตัวและการละลายเป็น 2 ชั้น

- แป้งจากส่วนราก เช่น แป้งมันสำปะหลัง

มีการพองตัวเป็นแบบชั้นเดียว กำลังการพองตัวและการละลายจะสูงกว่าแป้งจากธัญพืช และอุณหภูมิจนในการเกิดเจลาติไนซ์จะต่ำกว่าแป้งจากธัญพืช

- แป้งจากส่วนหัว เช่น แป้งมันฝรั่ง

มีการพองตัวสูงเนื่องจากพันธะภายในร่างแหอ่อนแอ นอกจากนี้หมู่ฟอสเฟตภายในแป้งมันฝรั่งยังทำให้เกิดการพองตัวสูงขึ้นด้วย การพองตัวจะเกิดเพียงชั้นเดียว และเกิดที่อุณหภูมิต่ำ

### 2) ความแข็งแรงและลักษณะของร่างแหภายในเม็ดแป้ง

ความแข็งแรงและลักษณะของร่างแหภายในเม็ดแป้ง คือ จำนวนและชนิดของพันธะภายในเม็ดแป้ง โดยสิ่งที่มีผลต่อจำนวนพันธะ ได้แก่ ขนาด รูปร่าง ส่วนประกอบและการกระจายตัวของร่างแหภายในเม็ดแป้ง อัตราส่วนของอะมิโลส อะมิโลเพกทิน น้ำหนักโมเลกุล การกระจายตัวของโมเลกุล จำนวนกิ่งก้านสาขา การจัดเรียงตัว และความยาวของสาขาในอะมิโลเพกทิน

### 3) สิ่งเจือปนในเม็ดแป้ง

สิ่งเจือปนในเม็ดแป้งบางชนิดมีผลยับยั้งการพองตัวของเม็ดแป้ง และบางชนิดมีผลต่อการเพิ่มกำลังการพองตัวของเม็ดแป้ง เช่น กรดไขมันในธรรมชาติสามารถรวมตัวกับอะมิโลสเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน การใส่สารลดแรงตึงผิว การเติม Potassium palmitate

และ Stearate จะลดกำลังการฟองตัวของแป้งมันสำปะหลัง ในขณะที่ใส่ Sodium sulfate และ Cetyl trimethyl ammonium bromide จะเพิ่มกำลังการฟองตัวของเม็ดแป้ง

#### 4) การตัดแปรทางเคมี

คุณสมบัติการฟองตัวและการละลายของแป้งจะเปลี่ยนแปลงไปเมื่อมีการตัดแปรทางเคมี การตัดแปรด้วยกรด หรือการเกิดออกซิเดชันด้วย Hypochlorite จะทำให้เกิดการแตกออกของพันธะภายในรวงแห่ ทำให้เม็ดแป้งแตกออกเป็นชิ้นเล็กๆ การฟองตัวและความสามารถในการละลายจะสูงขึ้น

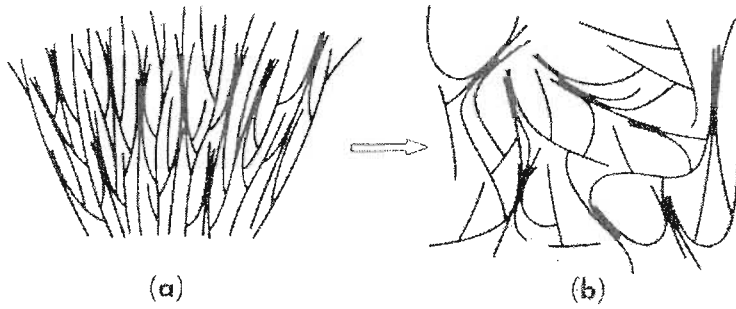
#### 5) ปริมาณน้ำในสภาวะที่เกิดการฟองตัว

การฟองตัวอย่างอิสระและการละลายที่สูงขึ้นจะถูกยับยั้งในสภาพที่สารละลายมีปริมาณน้ำน้อย สารละลายที่มีปริมาณแป้งต่ำกว่า 20% ค่าการละลายจะสูงกว่าเมื่อมีปริมาณแป้งสูงกว่า 20% [กล้านรงค์ ศรีรอด และเกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ, 2543]

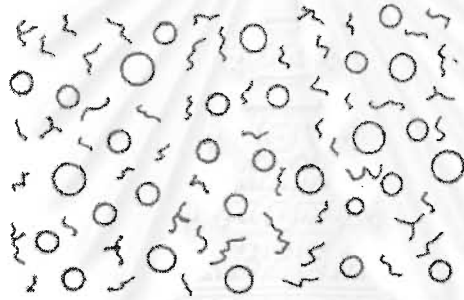
### 2.4.2 การเกิดเจลาตินในเซชัน

การเกิดเจลาตินในเซชันเป็นลักษณะเฉพาะของกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพซึ่งเกิดขึ้นกับแป้ง การเปลี่ยนแปลงจะเกิดขึ้นเมื่อน้ำแป้งได้รับความร้อน พลังงานความร้อนจะเป็นสาเหตุให้พันธะไฮโดรเจนระหว่างพอลิเมอร์สายตรงของอะมิโลสกับพอลิเมอร์สายตรงของอะมิโลเพกทินในส่วนผลึกของเม็ดแป้งถูกทำลาย โมเลกุลของน้ำจึงสามารถแทรกเข้าไปในส่วนของผลึก และสร้างพันธะไฮโดรเจนกับอะมิโลสและอะมิโลเพกทินแทน ทำให้โครงสร้างร่างแหขยายตัวเกิดช่องว่างขึ้น (รูปที่ 2.10) โมเลกุลของอะมิโลสบางส่วนถูกชะออกมาละลายในน้ำที่อยู่รอบๆเม็ดแป้ง (รูปที่ 2.11) การที่โมเลกุลของแป้งดูดซับน้ำเข้าไปทำให้เม็ดแป้งมีขนาดใหญ่ขึ้น ปริมาณน้ำอิสระที่อยู่รอบๆเม็ดแป้งลดลง (รูปที่ 2.12) เม็ดแป้งจึงเคลื่อนไหวได้ยากขึ้นเป็นผลให้น้ำแป้งมีความหนืดเพิ่มมากขึ้น การที่โครงสร้างร่างแหภายในเม็ดแป้งถูกทำลายในระหว่างกระบวนการเกิดเจลาตินในเซชันจะมีผลทำให้สมบัติของการเกิด birefringence หดไป และความใสของสารละลายจะเพิ่มขึ้น เนื่องจากค่าดัชนีการหักเหของแสง (Refractive index) มีค่าใกล้เคียงกับน้ำ

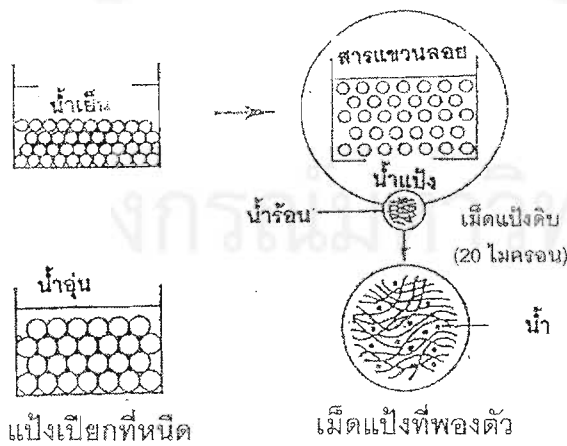
การเกิดเจลาตินในเซชันของเม็ดแป้งแบ่งได้เป็น 3 ระยะ (รูปที่ 2.13) คือ ระยะแรกเม็ดแป้งจะดูดซึมน้ำเย็นได้อย่างจำกัดและเกิดการฟองตัวแบบผันกลับได้ ความหนืดของน้ำแป้งเพิ่มขึ้นเล็กน้อย เม็ดแป้งยังคงรักษารูปร่างและโครงสร้างแบบ birefringence เมื่อเพิ่มอุณหภูมิกับน้ำแป้งจนถึงอุณหภูมิเริ่มเกิดเจลาตินในเซชัน (ขึ้นกับชนิดของแป้ง) จะเข้าสู่ระยะที่ 2 เม็ดแป้งจะฟองตัวอย่างรวดเร็ว โครงสร้างร่างแหจะอ่อนแอลง เนื่องจากพันธะไฮโดรเจนถูกทำลาย เม็ดแป้งดูดซึมน้ำเข้าไปมากและเกิดการฟองตัวแบบผันกลับไม่ได้ เม็ดแป้งมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและโครงสร้าง birefringence หดไป ความหนืดของน้ำแป้งจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วโมเลกุลของอะมิโลสจะละลายออกมา เมื่อเพิ่มอุณหภูมิต่อไปจะเข้าสู่ระยะที่ 3 การละลายของแป้งจะเพิ่มขึ้น เมื่อนำไปทำให้เย็นจะเกิดเจล การเกิดเจลาตินในเซชันของแป้งจะทำให้หมู่ไฮดรอกซิลของแป้งสามารถทำปฏิกิริยากับสารอื่น ๆ รวมทั้งเอนไซม์ได้ดีขึ้น



รูปที่ 2.10 ลักษณะการเกิดช่องว่างในส่วนผลึก (a) ส่วนผลึกก่อนได้รับความร้อน (b) โมเลกุลของน้ำแทรกเข้าไปทำให้เกิดช่องว่าง [Schoch, 1962 อ้างถึงใน Charley, 1982]

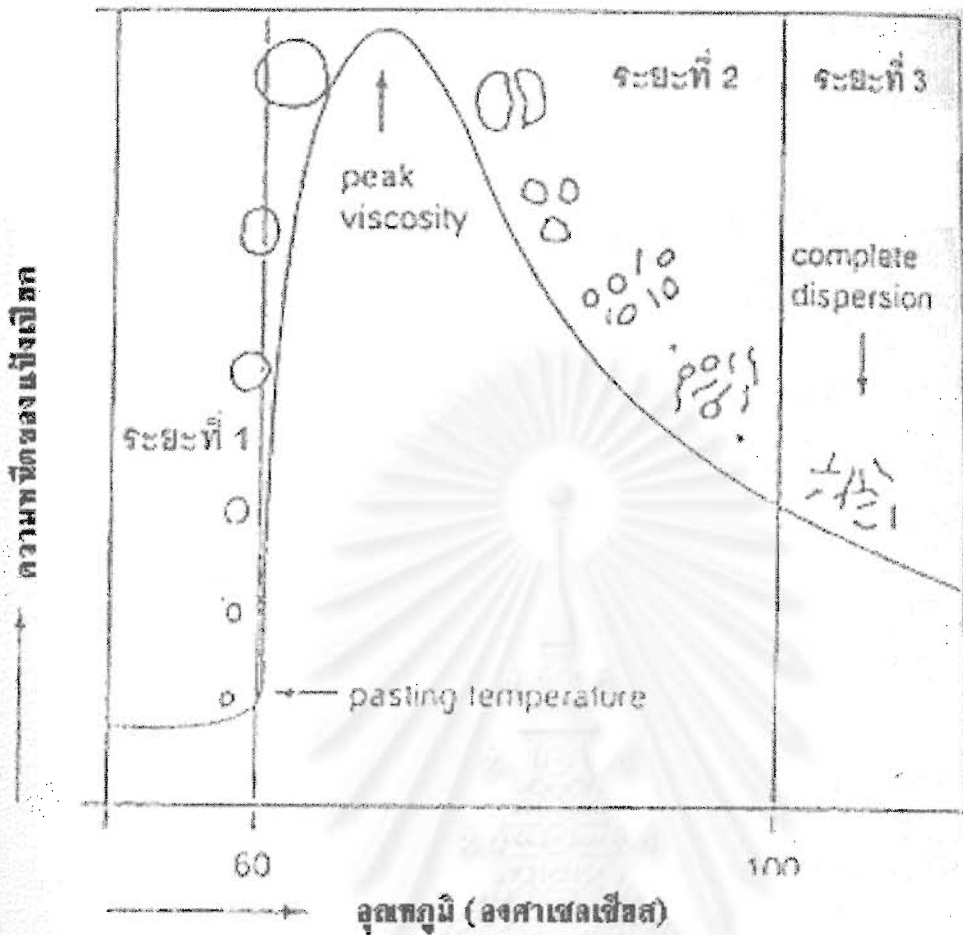


รูปที่ 2.11 การชะโมเลกุลของอะมิโลสและอะมิโลเพกทินออกจากเม็ดแป้งที่พองตัว [กล้าณรงค์ ศรีรอด และเกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ, 2543]



รูปที่ 2.12 การพองตัวของเม็ดแป้งเนื่องจากการตุน้ำเข้าไป ทำให้ความหนืดลดลง

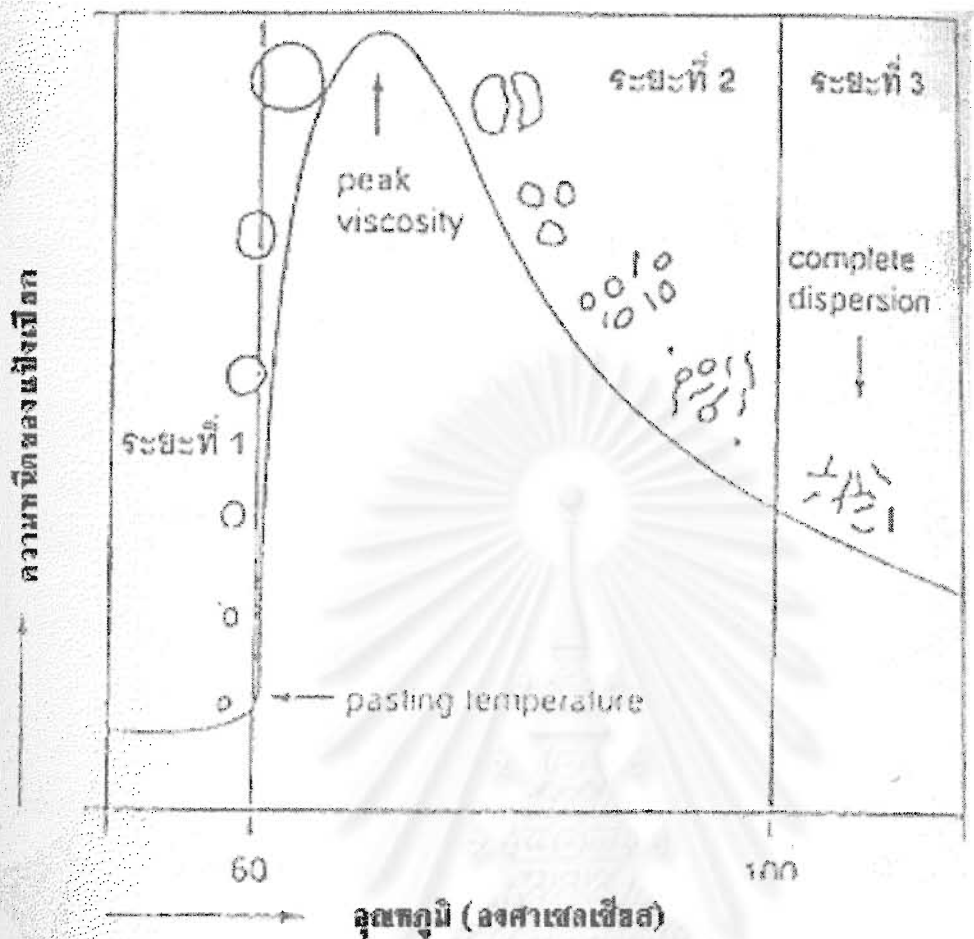




รูปที่ 2.13 ระยะในการเกิดเจลาตินในเซชันของแป้ง [Sander, 1996 อ้างถึงใน  
กล้าณรงค์ ศรีรอด และเกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ, 2543]

การเกิดเจลาตินในซีไม่ได้เกิดเฉพาะอุณหภูมิใดอุณหภูมิหนึ่ง แต่เกิดเป็นช่วงอุณหภูมิประมาณ 8 °ซ ถึง 12 °ซ [Schoch และ Mayward, 1968 อ้างถึงใน กล้าณรงค์ ศรีรอด และ เกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ, 2543] (ตารางที่ 2.4) การตรวจสอบกระบวนการเจลาตินในเซชันทำได้โดยการสังเกตการเปลี่ยนโครงสร้าง birefringence ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ หรือตรวจสอบโดยเครื่องมือที่วัดและบันทึกปริมาณความร้อนที่เปลี่ยนแปลงระหว่างกระบวนการด้วยเครื่อง Differential Scanning Calorimeter (DSC) ซึ่งจะวัดการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางกายภาพหรือทางเคมีของวัสดุในรูปฟังก์ชันกับอุณหภูมิ





รูปที่ 2.13 ระยะในการเกิดเจลาตินในเซชันของแป้ง [Sander, 1996 อ้างถึงใน  
กล้าณรงค์ ศรีรอด และเกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ, 2543]

การเกิดเจลาตินในซีไม่ได้อาศัยเฉพาะอุณหภูมิใดอุณหภูมิหนึ่ง แต่เกิดเป็นช่วงอุณหภูมิประมาณ 8 °ซ ถึง 12 °ซ [Schoch และ Mayward, 1968 อ้างถึงใน กล้าณรงค์ ศรีรอด และ เกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ, 2543] (ตารางที่ 2.4) การตรวจสอบกระบวนการเจลาตินในเซชันทำได้โดยการสังเกตการเปลี่ยนโครงสร้าง birefringence ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ หรือตรวจสอบโดยเครื่องมือที่วัดและบันทึกปริมาณความร้อนที่เปลี่ยนแปลงระหว่างกระบวนการด้วยเครื่อง Differential Scanning Calorimeter (DSC) ซึ่งจะวัดการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางกายภาพหรือทางเคมีของวัสดุในรูปฟังก์ชันกับอุณหภูมิ

ตารางที่ 2.4 สมบัติทางกายภาพและเคมีของเม็ดแป้ง

[Smith, 1982 อ้างถึงใน ทิพย์สุภา มาลัย, 2537]

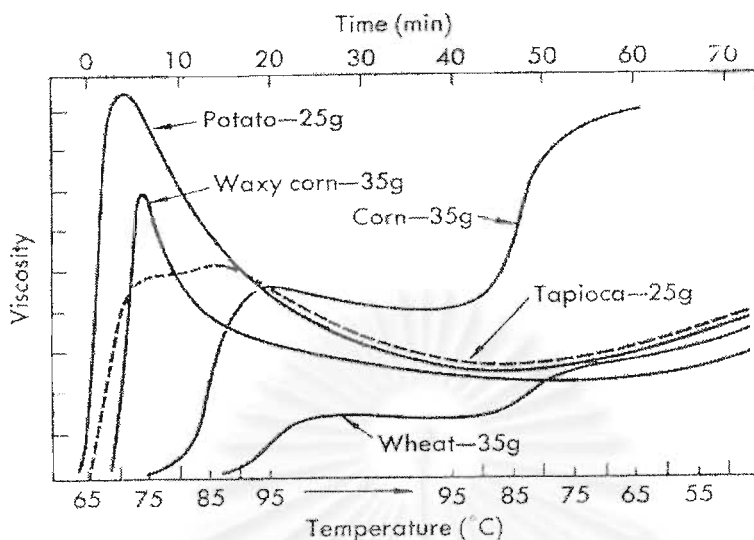
ชนิดของแป้ง	ขนาดอนุภาค (ไมครอน)	รูปร่างของเม็ดแป้ง	อุณหภูมิในการเกิดเจล (°C)
แป้งมันสำปะหลัง	5-35	กลม คล้ายไข่ที่มีรอยตัด	52-64
แป้งมันฝรั่ง	15-121	กลม รูปไข่มีวงคล้าย เปลือกหอย	56-69
แป้งข้าวเจ้า	3-5	แบน มีหลายเหลี่ยม	61-78
แป้งสาลี	2-35	กลม ค่อนข้างรี	62-75
แป้งข้าวโพด	5-25	กลมแบน มีหลายเหลี่ยม รูปร่างคล้ายแท่ง	62-72

2.4.3 ความหนืด

ความหนืดเป็นสมบัติเฉพาะตัวที่สำคัญของแป้ง เกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ ปัจจัยที่มีผลกระทบต่อการศึกษาความหนืดของน้ำแป้ง มีดังนี้

1) ชนิดของแป้ง

แป้งแต่ละชนิดมีคุณสมบัติความหนืดแตกต่างกันไป เมื่อให้ความร้อนน้ำแป้งและกวนอย่างสม่ำเสมอ จากอุณหภูมิ 50 °C ไปถึง 95 °C และคงที่ที่ 95 °C เป็นเวลา 20 นาที จึงลดอุณหภูมิลงเป็น 50 °C อีกครั้ง แป้งแต่ละชนิดจะให้ลักษณะกราฟ (Profile) ของความหนืดแตกต่างกัน (รูปที่ 2.14) ความหนืดของแป้งมันฝรั่ง แป้งข้าวโพดข้าวเหนียวและแป้งมันสำปะหลัง จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อถึงอุณหภูมิประมาณ 63 °C โดยแป้งมันฝรั่งและแป้งข้าวโพดข้าวเหนียวจะให้ค่าความหนืดสูงสุดที่อุณหภูมิประมาณ 70 °C และ 75 °C ตามลำดับ หลังจากนั้นเมื่อเพิ่มอุณหภูมิต่อไปค่าความหนืดจะลดลงอย่างรวดเร็ว ในขณะที่แป้งมันสำปะหลังไม่แสดงค่าความหนืดสูงสุดอย่างชัดเจนเหมือนแป้งมันฝรั่ง โดยค่าความหนืดสูงสุดที่วัดได้จะอยู่ที่อุณหภูมิประมาณ 85 °C และลดลงเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นเช่นกัน แป้งสาลีและแป้งข้าวโพด ซึ่งเป็นแป้งจากธัญพืช ค่าความหนืดสูงสุดจะเกิดขึ้นที่อุณหภูมิสูงคือ อุณหภูมิสูงกว่า 90 °C ค่าความหนืดจะคงที่อยู่นานหนึ่งและสูงขึ้นอีกครั้ง ลักษณะเช่นนี้สันนิษฐานได้ว่าเกิดจากพันธะ 2 ชนิดที่อยู่ภายในเม็ดแป้งจากธัญพืช อุณหภูมิในการเกิดเจลลาดิโนเซชันอย่างสมบูรณ์ของแป้งโดยทั่วไปจะไม่เกิน 95 °C เช่น แป้งมันสำปะหลังจะเกิดเจลลาดิโนเซชันอย่างสมบูรณ์ที่อุณหภูมิประมาณ 85 °C [Langley และ Miller, 1971 อ้างถึงใน กล้านรงค์ ศรีรอด และ เกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ, 2543]



รูปที่ 2.14 การเปลี่ยนแปลงความหนืดระหว่างกระบวนการให้ความร้อนของแป้งชนิดต่าง ๆ (ความเข้มข้นของแป้ง คือ น้ำหนักแป้ง (กรัม) ในน้ำ 450 มิลลิลิตร) [Schoch และ Elder, 1955 อ้างถึงใน Charley, 1982]

## 2) ความเข้มข้นของแป้ง

ความเข้มข้นของแป้งที่แตกต่างกัน จะทำให้จุดที่น้ำแป้งมีความหนืดสูงสุดแตกต่างกัน เนื่องจากการลดหรือเพิ่มค่าความหนืดสูงสุดไม่ได้เป็นสัดส่วนกับน้ำหนัก ดังนั้นในการเปรียบเทียบต้องคิดน้ำหนักแห้งของแป้งให้เท่ากัน

## 3) การกวนระหว่างเกิดเจล

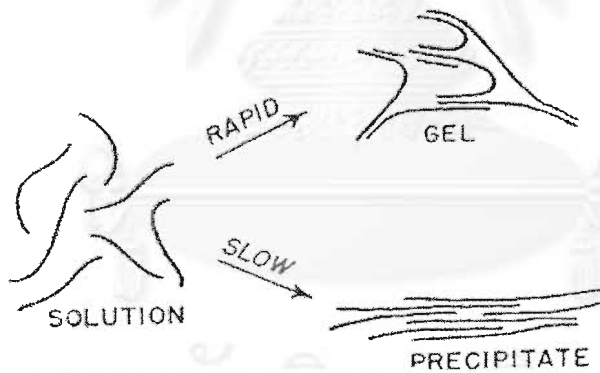
ภายหลังจากที่น้ำแป้งเกิดเจลาติไนเซชันแล้ว จะได้ของเหลวแบบ Non-newtonian ซึ่งมีการไหลแบบ Pseudoplastic การกวนจะทำให้เจลอ่อนตัวลง ความหนืดลดลง ดังนั้นลักษณะการกวน เช่น ชนิดของใบกวน ความเร็วในการกวน จึงมีผลทำให้ความหนืดไปถึงจุดต่ำสุด (Trough viscosity) แตกต่างกัน

## 4) ความเข้มข้นของประจุหรือเกลือแร่อื่นๆ

ความเข้มข้นของประจุ การเปลี่ยนแปลงระดับ pH และการมีสารประกอบอื่นๆอยู่ในแป้งจะทำให้ค่าความหนืดของแป้งแตกต่างกันไป ในสภาพที่เป็นกรด พบว่ากรดหรือประจุจะไปทำลายโครงสร้างของอะมิโลเพกทินในเม็ดแป้งทำให้ค่าความหนืดสูงสุดต่ำลง

#### 2.4.4 การเกิด Retrogradation

เมื่อแป้งได้รับความร้อนจนถึงอุณหภูมิที่เกิดเจลลาติโนเซชันแล้วให้ความร้อนต่อไป จะทำให้เม็ดแป้งพองตัวเพิ่มขึ้นจนถึงจุดที่พองตัวเต็มที่และแตกออก โมเลกุลของอะมิโลสขนาดเล็กจะกระจัดกระจายออกมาทำให้ความหนืดลดลง เมื่อปล่อยให้เย็นตัวโมเลกุลของอะมิโลสที่อยู่ใกล้กันจะเกิดการจับเรียงตัวใหม่สร้างพันธะระหว่างโมเลกุลเกิดเป็นร่างแหสามมิติ โครงสร้างใหม่ที่สามารถอุ้มน้ำและไม่มีการดูดน้ำเข้ามาอีก เกิดเป็นลักษณะเจลเหนียวคล้ายผลึก เรียกปรากฏการณ์นี้ว่าการคืนตัวหรือการเกิดรีโทรเกรดชันของแป้ง เมื่อลดอุณหภูมิให้ต่ำลงไปอีกการจัดเรียงโครงสร้างจะเหนียวแน่นมากขึ้น โมเลกุลอิสระของน้ำที่อยู่ภายในจะถูกบีบออกมานอกเจล เรียกว่า Syneresis ปรากฏการณ์ทั้งสองนี้จะทำให้เจลมีลักษณะขุ่นขาวและความหนืดเพิ่มขึ้น ในการทำให้โมเลกุลของอะมิโลสกลับมาละลายได้อีกครั้งต้องใช้อุณหภูมิสูงถึง 100-160 °C [กล้าณรงค์ ศรีรอด และเกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ, 2543] การคืนตัวของสารละลายแป้งทำให้สารละลายมีลักษณะขุ่น ทึบแสงและความหนืดเพิ่มขึ้น ถ้าการคืนตัวเกิดขึ้นอย่างช้า ๆ จะเกิดการตกตะกอน แต่ถ้าเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วจะทำให้เกิดเจลขุ่น (รูปที่ 2.15) ปริมาณและขนาดของอะมิโลสมีความสำคัญต่อการคืนตัวของแป้ง แป้งที่มีปริมาณอะมิโลสสูงจะเกิดการคืนตัวได้มากและเร็วกว่าแป้งที่มีปริมาณอะมิโลเพกทินสูง



รูปที่ 2.15 กลไกการคืนตัวของแป้ง [Schoch, 1955]

#### 2.5 แป้งมันสำปะหลัง

แป้งมันสำปะหลังมีลักษณะเป็นผงละเอียด สีขาว ลักษณะเด่นของแป้งมันสำปะหลังคือมีความบริสุทธิ์สูง มีสิ่งปนเปื้อนต่ำ โดยมีแป้งอยู่มากกว่าร้อยละ 95 และมีปริมาณโปรตีนและไขมันอยู่ค่อนข้างต่ำ (น้อยกว่า 1%) มีฟอสฟอรัสน้อยกว่า 0.04% [Davies และคณะ, 1980 อ้างถึงใน กล้าณรงค์ ศรีรอด และเกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ, 2543] ลักษณะของเม็ดแป้งเมื่อตรวจดู

ด้วยกล้องจุลทรรศน์จะมีรูปร่างเป็นเม็ดกลมหรือรูปไข่ และอาจมีรอยบวมที่ปลายด้านหนึ่งของเม็ด เม็ดแป้งโดยส่วนใหญ่จะมีขนาดปานกลางคืออยู่ในช่วง 3-40 ไมครอน และมีขนาดโดยเฉลี่ยประมาณ 12-15 ไมครอน ซึ่งมีขนาดเล็กกว่าเม็ดแป้งมันฝรั่ง 5-10 ไมครอน(ขนาดของแป้งมันฝรั่ง 15-121 ไมครอน) แต่ใหญ่กว่าแป้งข้าวเจ้า แป้งมันสำปะหลังจัดเป็นแป้งที่มีปริมาณอะมิโลสค่อนข้างต่ำคือ 18-23% [Defloor และคณะ, 1998a อ้างถึงใน กล้าณรงค์ ศรีรอด และเกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ, 2543] โครงสร้างของอะมิโลสจะประกอบด้วยส่วนที่เป็นเส้นตรงและส่วนที่เป็นกิ่งในอัตราส่วนเท่ากับ 0.58 : 0.42 ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับแป้งข้าวโพด (0.56 : 0.44) [Takeda และคณะ, 1987 อ้างถึงใน กล้าณรงค์ ศรีรอด และเกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ, 2543]

คุณสมบัติในการเกิดปฏิกิริยากับน้ำเป็นคุณสมบัติที่สำคัญในการนำไปใช้ประโยชน์ แป้งที่มีอะมิโลสสูงจะมีกำลังการพองตัวต่ำกว่าแป้งที่มีอะมิโลสต่ำ ทั้งนี้เนื่องจากลักษณะโครงสร้างของอะมิโลสที่เป็นเส้นตรงจะทำให้เกิดพันธะระหว่างโมเลกุลได้ดี และอะมิโลสอาจจับตัวกับไขมันทำให้ขัดขวางการพองตัวของเม็ดแป้งได้ แป้งมันสำปะหลังจัดเป็นแป้งที่มีอะมิโลสต่ำ จึงมีกำลังการพองตัวสูง ลักษณะการพองตัวของแป้งมันสำปะหลังจะเป็นแบบขั้นตอนเดียว (Single stage swelling) ซึ่งแตกต่างจากแป้งธัญพืชที่มีการพองตัวเป็นแบบสองขั้น (Two stage swelling) แสดงให้เห็นว่าแป้งจากธัญพืชมีแรงภายในเม็ดแป้งมากกว่า 1 ชนิดและมีกำลังการพองตัวต่ำกว่าพืชหัว

แป้งมันสำปะหลังเมื่อได้รับความร้อนจะมีค่ากำลังการพองตัวสูงจึงให้ความหนืดสูง แต่เมื่อแป้งเปียกยังคงได้รับความร้อนและแรงกลอย่างต่อเนืองจะมีความหนืดลดลงอย่างรวดเร็ว ดังนั้นแป้งเปียกของแป้งมันสำปะหลังจะไม่คงตัวมากนัก เมื่อแป้งเปียกของแป้งมันสำปะหลังเย็นตัวลงความหนืดจะเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยเท่านั้น เนื่องจากแป้งมันสำปะหลังมีอะมิโลสค่อนข้างต่ำทำให้เกิดการจับกันของหมู่ไฮดรอกซิลของอะมิโลสในระหว่างเย็นตัวต่ำ แป้งมันสำปะหลังจึงเป็นแป้งที่เกิดการคืนตัวต่ำและให้ลักษณะของแป้งเปียกที่ใส ไม่ทึบแสง

## 2.6 การตัดแปรแป้งทางกายภาพ

แป้งดิบโดยทั่วไปมีสมบัติบางประการไม่เหมาะสมกับการผลิตในอุตสาหกรรม ดังนั้นจึงมีการตัดแปรคุณสมบัติบางประการของแป้งดิบเพื่อให้เหมาะสมต่อการใช้งาน แป้งมันสำปะหลังเป็นแป้งที่มีความบริสุทธิ์สูง มีการปนเปื้อนของสารประกอบเคมีอื่น ๆ ต่ำ เหมาะต่อการนำมาทำปฏิกิริยาเคมี ส่วนอสัณฐานของอะมิโลเพกทินจะเป็นส่วนที่ทำปฏิกิริยาเคมีได้ดีที่สุด การตัดแปรแป้งทางกายภาพสามารถทำได้ดังนี้

### 2.6.1 แป้งพรีเจลาติไนซ์ (Pregelatinized starch)

ทำได้โดยให้ความร้อนแก่แป้ง ทำให้แป้งสุก หรือเกิดเจลาติไนซ์แล้วทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้ง เช่น เครื่องทำแห้งแบบลูกกลิ้ง เครื่องทำแห้งแบบสเปรย์ หรือเครื่องเอ็กซ์ทรูดเดอร์และบดให้ละเอียด จะได้แป้งตัดแปรที่สามารถละลายได้ในน้ำเย็น ให้ความหนืดได้ทันทีและไม่เกิดเจล

### 2.6.2 แป้งละลายน้ำเย็น (Granular-cold-water-soluble starch)

ผลิตได้จากการปรับสภาพแป้งด้วยแอลกอฮอล์และต่าง มีเนื้อสัมผัสเรียบ มีความยืดหยุ่น ความมันเงา และความแข็งแรงสูงกว่าแป้งพรีเจล เนื่องจากเมื่อให้ความร้อนแก่แป้งพรีเจล จะทำให้แป้งพรีเจลเสียรูปลักษณะของเม็ดแป้ง และมีความแข็งแรงน้อยลงเมื่อนำไปอบแห้ง แต่แป้งละลายน้ำเย็นยังคงสภาพเม็ดแป้งอยู่

### 2.6.3 การลดขนาดเม็ดแป้งโดยทางกล (Ball milling)

ขนาดเม็ดแป้งมีผลต่อคุณสมบัติหลายอย่างของแป้ง เช่น การพองตัว การละลาย การที่เม็ดแป้งถูกทำให้แตกหรือเล็กลงโดยกระบวนการทางกลที่สามารถควบคุมปัจจัยที่สำคัญเช่น อุณหภูมิได้ จะทำให้ได้เม็ดแป้งที่มีขนาดเล็กลง และมีสมบัติแตกต่างไปจากเดิมโดยเฉพาะหมู่ไฮดรอกซิล (OH-group) ที่สามารถทำปฏิกิริยาจะมีมากขึ้น

การลดขนาดเม็ดแป้งทำได้โดยการบดด้วย Ball mill ที่ใช้เม็ดแก้วขนาดเล็ก (0.1 มิลลิเมตร) บดโม้โดยใช้สารตัวกลาง เช่น แอลกอฮอล์หรือน้ำบริสุทธิ์ [Jane และคณะ, 1992 อ้างถึงใน กล้าณรงค์ ศรีรอด และเกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ, 2543] สำหรับแป้งมันสำปะหลังสามารถลดขนาดลงจาก 18-25 ไมครอน เหลือ 3-5 ไมครอน โดยการบดด้วย Ball mill (ควบคุมอุณหภูมิ) เป็นเวลา 20 นาที ความเร็วรอบ 2,200 รอบต่อนาที และขนาดเม็ดแก้วเท่ากับ 0.4 มิลลิเมตร [Piyachomkwan และคณะ, 1998 อ้างถึงใน กล้าณรงค์ ศรีรอด และเกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ, 2543]

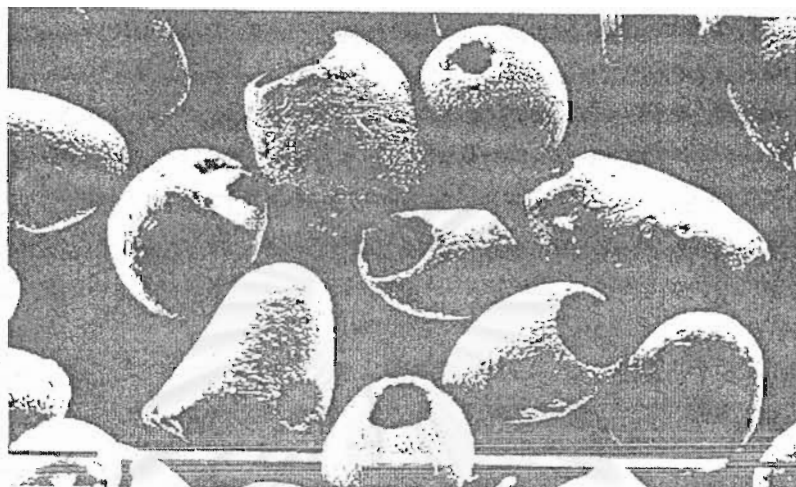
### 2.6.4 การหลอมด้วยความร้อน (Annealing)

คือการแปรรูปทางกายภาพโดยการใช้ความร้อนในขณะที่เม็ดแป้งอยู่ในอุณหภูมิต่ำกว่าจุดเจลาติไนเซชัน ปกติจะปฏิบัติกันที่ 50 °C เป็นเวลานาน (เช่น 72 ชั่วโมง) เม็ดแป้งจะมีการเปลี่ยนแปลงภายในระดับของผลึก แรงจับตัวระหว่างผลึกกับอสัณฐานจะเปลี่ยนไปเช่นกัน ลักษณะของผลึกถ้าตรวจสอบโดย X-ray จะไม่เปลี่ยน แต่อุณหภูมิเจลาติไนเซชันจะเปลี่ยนแปลงอย่างมาก แป้งที่ถูกแปรรูปโดยการหลอมด้วยความร้อนจะถูกย่อยโดยเอนไซม์จะเข้าไปย่อยแป้งภายในเม็ดแป้งมากกว่าที่ผิวทำให้เม็ดแป้งที่ถูกย่อยมีลักษณะกลวง ส่วนเม็ดแป้งที่ไม่ถูกหลอมด้วยความร้อนเอนไซม์จะย่อยได้ช้ากว่าและจะเข้าย่อยตามบริเวณพื้นผิวเท่านั้น (รูปที่ 2.16)

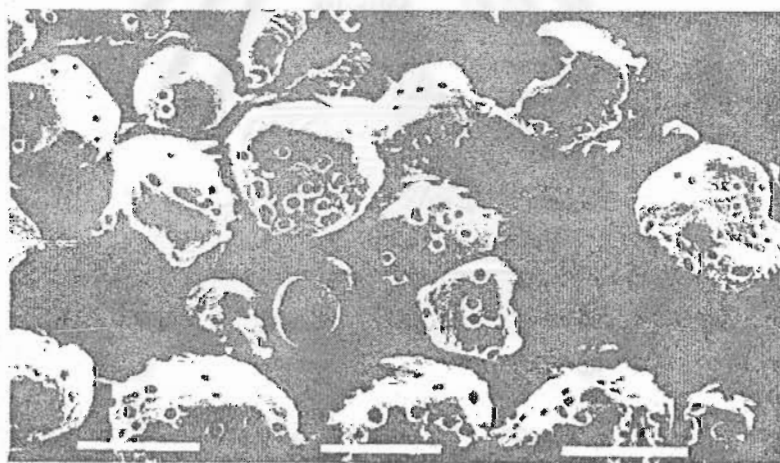
### 2.6.5 การแปรรูปด้วยความร้อนชื้น (Heat moisture treatment)

คือการใช้ความร้อนแก่แป้ง มากกว่า 100 °C โดยที่แป้งมีความชื้นมากกว่าปกติเล็กน้อย คือประมาณ 18-27% และเวลานาน ๆ ซึ่งเวลาจะแปรผันกับอุณหภูมิ สารที่ใช้แป้งที่ผ่านการแปรรูปด้วยความร้อนชื้น การแปรรูปด้วยความร้อนชื้นจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในโครงสร้างของผลึกในเม็ดแป้ง





(A)



(B)

รูปที่ 2.16 ลักษณะเมมเบรนที่ถูกละลายโดยเอนไซม์ glucoamylase (AMG) และ  $\alpha$ -amylase (Thermyl) [Wang,1996 อ้างถึงใน กล้าณรงค์ ศรีรอด และเกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ, 2543]

(A) เมมเบรนที่ผ่านการ annealing

(B) เมมเบรนที่ไม่ผ่านการ annealing

### บทที่ 3

#### ตรวจเอกสาร

#### 3.1 แหล่งจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์ CGTase

แหล่งที่มาของเอนไซม์ไซโคลเดกซ์ทรินไกลโคซิลทรานสเฟอเรส (Cyclodextrin glycosyltransferase , CGTase ) ส่วนใหญ่ได้จากจุลินทรีย์ในกลุ่ม *Bacillus* เช่น *Bacillus marcerans*, *Bacillus circulans*, *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus megaterium*, *Alkalophilic bacillus* sp. *Bacillus ohbensis* และ *Bacillus subtilis* (Pongsawasdi และ Yagisawa, 1987) ซึ่งส่วนใหญ่ให้ผลิตภัณฑ์เป็น extracellular enzymes นอกจากนี้จุลินทรีย์ในกลุ่มอื่นที่สามารถผลิตเอนไซม์ CGTase ได้แก่ *Klebsiella*, *Pseudomonas Brevibacterium*, *Thermoanaerobacterium*, *Corynebacterium*, *Micrococcus*, *Clostridium* และอื่นๆ (Gawande และคณะ, 1999) เอนไซม์ CGTase ที่ได้จากจุลินทรีย์ต่างชนิดกันจะมีคุณสมบัติและสภาวะการทำงานที่เหมาะสมแตกต่างกัน (ตารางที่ 3.1) ทำให้ผลิตไซโคลเดกซ์ทรินแต่ละชนิดได้ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน (ตารางที่ 3.2)

ตารางที่ 3.1 สมบัติที่แตกต่างกันของเอนไซม์ CGTase ที่ได้จากเชื้อจุลินทรีย์ต่างชนิดกัน (ทิพย์สุภา, 2537 และ Sabioni และ Park, 1992)

ชนิดของจุลินทรีย์	ผลิตภัณฑ์หลัก	น้ำหนักโมเลกุล	สภาวะการทำงานที่เหมาะสม	
			ค่า pH	อุณหภูมิ (c°)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> M 5 al	$\alpha$ -CD	68,000	6.0-7.2	-
<i>Alkalophilic Bacillus</i> 38-2	$\beta$ -CD	88,000	1) 4.6 2) 7.0 3) 9.5	45-50
<i>Alkalophilic Bacillus</i> 17-1	$\beta$ -CD	74,000	6.0	-
<i>B. Amylolyquefaciens</i>	$\alpha$ -CD	-	4.0-7.0	70
<i>Bacillus macerans</i> IFO 3490	$\alpha$ -CD	65,000	5.0-5.7	55
<i>Bacillus megaterium</i>	$\beta$ -CD	-	5.0-5.7	55
<i>Bacillus stearothermophilus</i>	$\alpha$ -CD	68,000	6.0	-
<i>Bacillus macerans</i> IAM 1243	$\alpha$ -CD	145,000	5.5-7.5	60
<i>B. macerans</i> ATCC 8514	$\alpha$ -CD	139,300	6.2	-
<i>Bacillus circulans</i>	$\beta$ -CD	-	5.5	60
<i>Micrococcus</i> sp.	$\beta$ -CD	88,000	5.8	55-65
<i>Bacillus lentus</i>	$\beta$ -CD	-	6.5-7.5	55
<i>B. fermus/lentus</i> 290-3	$\gamma$ -CD	75,000	6-8	50



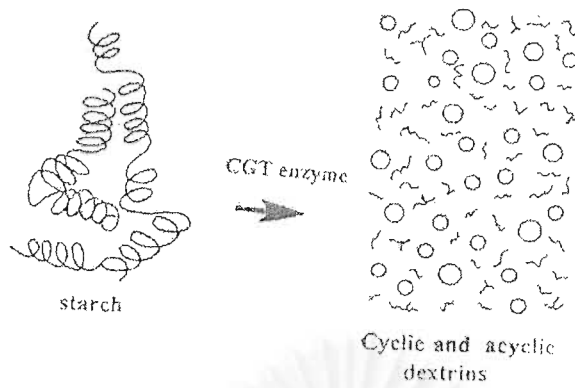
ตารางที่ 3.2 อัตราส่วนชนิดของไซโคลเด็กซ์ทรินที่ได้จากเอนไซม์ CGTase ที่มีคุณสมบัติต่างกัน

แหล่งที่มาของเอนไซม์	อัตราส่วน $\alpha:\beta:\gamma$ -CD	เอกสารอ้างอิง
<i>Bacillus macerans</i>	2.7 : 1 : 1	Pongsawasdi และ Yagasawa , 1987
<i>Bacillus megaterium</i>	1 : 2.4 : 1	
Alkalophilic <i>Bacillus</i> sp.no.38-2	1 : 11.5 : 1.5	
<i>Bacillus circulans</i> ATCC 9995	1 : 2.3 : 0.8	Pongsawasdi และ Yagasawa , 1988
<i>Bacillus circulans</i> C31	1 : 10.5 : 0	
<i>Bacillus lentus</i>	1 : 67 : 1.6	Sabioni และ Park,1992
<i>B. Amyloliquefaciens</i>	$\alpha$ -CD 95%	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1 : 1.86 : 0.56	

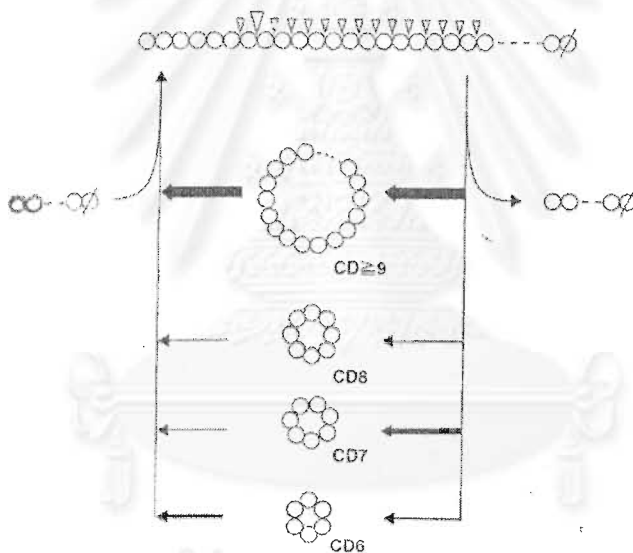
### 3.2 กลไกการทำงานของเอนไซม์ CGTase

เอนไซม์ CGTase (EC2.4.1.19) จะเข้าทำปฏิกิริยากับโมเลกุลของแป้งที่ตำแหน่ง  $\alpha$ -1,4-linkage ซึ่งอยู่ในโมเลกุลของ glucan ทำให้เกิดโมเลกุลใหม่ที่มีปลายรีดิวซ์ซึ่งสามารถถูกเปลี่ยนไปเป็น CD ได้ และมีกลไกการทำงาน 3 แบบ คือ Cyclization, Disproportionation, และ Coupling ผลิตภัณฑ์ที่ได้จึงประกอบไปด้วยเด็กซ์ทรินที่เป็นวงแหวนและเด็กซ์ทรินที่ไม่เป็นวงแหวน (รูปที่ 3.1)

Terada และคณะ (2001) ศึกษากลไกในปฏิกิริยา Cyclization ของเอนไซม์ CGTase จากสายพันธุ์แบคทีเรีย 3 ชนิด ได้แก่ Alkalophilic *Bacillus* sp. สายพันธุ์ A2-5a (ผลิต  $\alpha$ -CD เป็นผลิตภัณฑ์หลัก), *Bacillus macerans* (ผลิต  $\beta$ -CD เป็นผลิตภัณฑ์หลัก) และ *Bacillus stearothermophilus* (ผลิต  $\alpha$ -,  $\beta$ -CD เป็นผลิตภัณฑ์หลัก) โดยใช้อะมิโลสเป็นสารตั้งต้น พบว่า ไซโคลอะมิโลสขนาดใหญ่ (เป็นวงแหวนที่ประกอบไปด้วยหน่วยของกลูโคสตั้งแต่ 8-31 หน่วย) จะถูกผลิตในช่วงเริ่มต้นของปฏิกิริยา จากนั้นจะถูกเปลี่ยนให้เป็นไซโคลอะมิโลสที่มีขนาดเล็กลงโดยการเกิดปฏิกิริยา Coupling หรือปฏิกิริยา Hydrolytic และปฏิกิริยา Cyclization ซ้ำๆกัน (รูปที่ 3.2) จนกระทั่งถึงภาวะสมดุลผลิตภัณฑ์ส่วนใหญ่ที่ได้จะเป็นวงแหวนซึ่งประกอบไปด้วยกลูโคส 6, 7 และ 8 หน่วย เนื่องจากไซโคลอะมิโลสขนาดเล็กเหล่านี้ไม่สามารถเกิดปฏิกิริยา Coupling หรือ Cyclization ต่อไปได้อีก



รูปที่ 3.1 ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเข้าทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ CGTase [Szejtli, 1999]



รูปที่ 3.2 แผนภาพปฏิกิริยา Cyclization ของเอนไซม์ CGTase (*Alkalophilic Bacillus* sp. สายพันธุ์ A2-5a) กับโมเลกุลของอะมิโลส [Terada และคณะ, 2001]

ลูกศรทางขวา แทน การเกิดปฏิกิริยา Cyclization

ลูกศรทางซ้าย แทน การเกิดปฏิกิริยา Coupling

ความหนาของลูกศร แทน อัตราการเกิดปฏิกิริยาสัมพันธ์

▽ แทน ตำแหน่งพันธะ  $\alpha$ -1,4 linkages ที่เอนไซม์ CGTase เข้าทำปฏิกิริยา

○ แทน glycosyl residue

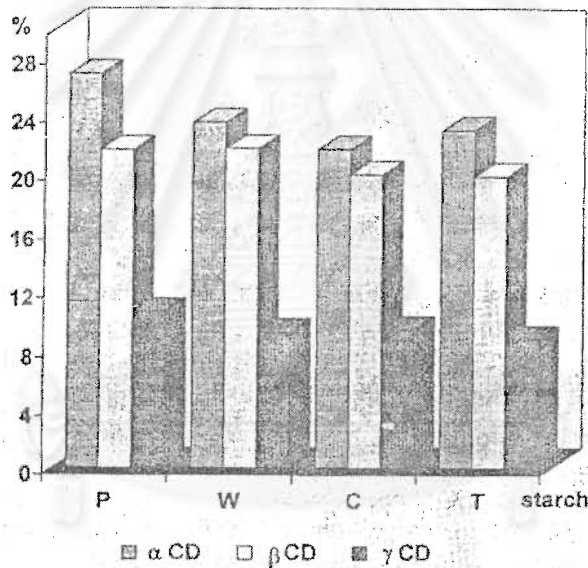
⊗ แทน glycosyl residue ที่มีปลายรีดิวัซ

### 3.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตไซโคลเดกซ์ทริน

ในการสังเคราะห์ CD เพื่อให้ได้ชนิดของผลิตภัณฑ์ที่ต้องการมากที่สุดนั้น มีปัจจัยเกี่ยวข้องหลายประการ จำแนกได้ดังนี้

#### 3.3.1 ชนิดและความเข้มข้นของแป้ง

แป้งเป็นพอลิเมอร์ที่ประกอบด้วยอะมิโลสและอะมิโลเพกตินในอัตราส่วนที่แตกต่างกันตามชนิดของแป้ง แป้งแต่ละชนิดมีลักษณะทางกายภาพและทางเคมีแตกต่างกัน จึงมีความจำเพาะต่อเอนไซม์ CGTase ในการผลิต CD แตกต่างกันไป Slominska และ Sobkowiak, 1997 ศึกษาการผลิต CD จากแป้ง 4 ชนิด คือ แป้งมันฝรั่ง แป้งข้าวสาลี แป้งข้าวโพด และแป้งมันสำปะหลัง พบว่าแป้งแต่ละชนิดจะให้สัดส่วนชนิดของ CD แตกต่างกัน (รูปที่ 3.3)

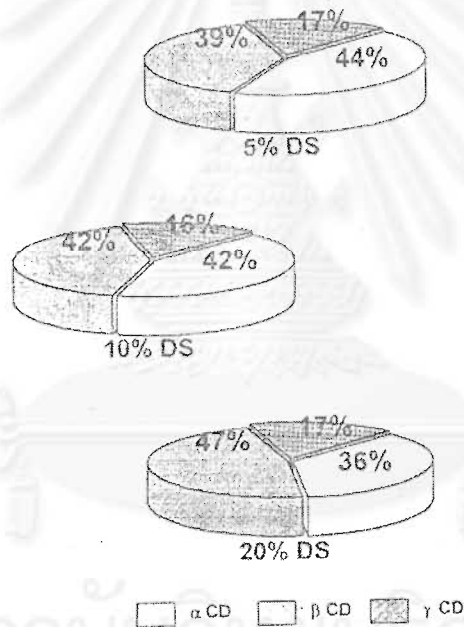


รูปที่ 3.3 อิทธิพลชนิดของแป้งต่ออัตราส่วนของชนิด CD เมื่อแป้งทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ CGTase จากเชื้อ *Clostridium*, pH 5.0, อุณหภูมิ 90 °ซ เป็นเวลา 24 ชม. [Slominska และ Sobkowiak, 1997]

เมื่อ	P	คือ	แป้งมันฝรั่ง
	W	คือ	แป้งข้าวสาลี
	C	คือ	แป้งข้าวโพด
	T	คือ	แป้งมันสำปะหลัง

ในงานวิจัยของ Grull (2001) ใช้แป้งมันฝรั่งที่มีอะมิโลเพคตินสูง (90%) ซึ่งได้จากการดัดแปลงพันธุกรรม เป็นสารตั้งต้นในการผลิต CD เนื่องจาก Szejtli และ Ose (1996) รายงานว่าอะมิโลเพคตินเป็นสารตั้งต้นที่ดีกว่าอะมิโลสในการผลิต CD เพราะเอนไซม์ CGTase จะเริ่มเข้าทำปฏิกิริยาที่ปลาย non-reducing ของโมเลกุลแป้ง ซึ่งในอะมิโลเพคตินมีมากกว่าอะมิโลส แป้งมันฝรั่งที่มีอะมิโลเพคตินสูงจะให้ผลได้ (yield) สูงถึง 25.1% ในขณะที่แป้งมันฝรั่งโดยทั่วไปซึ่งมีปริมาณอะมิโลเพคติน 79% จะให้ผลได้เพียง 18.9%

การใช้แป้งชนิดเดียวกันที่ความเข้มข้นต่างกันจะให้อัตราส่วนชนิดของ CD ที่แตกต่างกัน Slominska และ Sobkowiak (1997) ทดลองใช้ soluble starch ที่มีความเข้มข้น 5%, 10% และ 20% ในการผลิต CD โดยใช้เวลาในการทำปฏิกิริยา 24 ชั่วโมง พบว่าอัตราส่วนของ  $\alpha$ -,  $\beta$ - และ  $\gamma$ -CD เป็น 44:39:17, 42:42:16 และ 36, 47, 17 ตามลำดับ (รูปที่ 3.4)



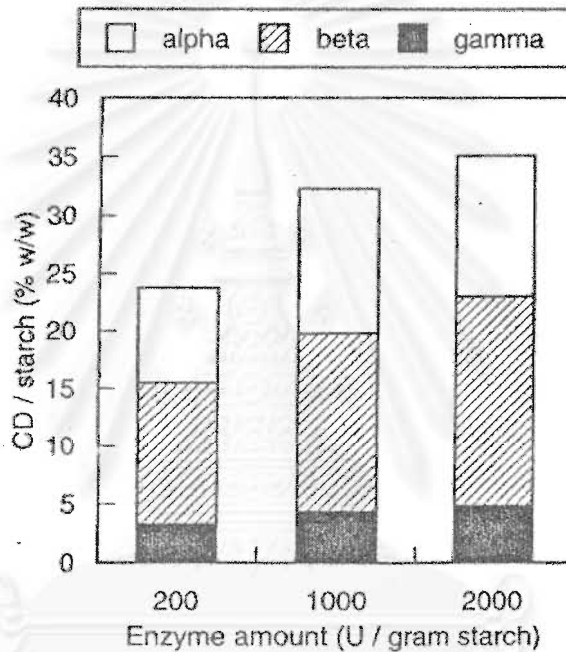
รูปที่ 3.4 อิทธิพลของความเข้มข้นของแป้งต่ออัตราส่วนของชนิด CD [Slominska และ Sobkowiak, 1997]

### 3.3.2 ชนิดและความเข้มข้นของเอนไซม์

เอนไซม์ CGTase จากเชื้อต่างชนิดกันจะให้ผลิตภัณฑ์หลักและอัตราส่วนของ  $\alpha$ -,  $\beta$ - และ  $\gamma$ -CD แตกต่างกัน Terada และคณะ, 2001 ได้ศึกษากลไกการเกิดปฏิกิริยา cyclization โดยใช้เอนไซม์จากเชื้อ 3 ชนิด ซึ่งพบว่าเอนไซม์จากเชื้อ *B. macerans* และ *Alkalophilic Bacillus* sp. strain A2-5a ให้ผลิตภัณฑ์หลักเป็น  $\alpha$ - และ  $\beta$ - CD ตามลำดับ

ในขณะที่เอนไซม์จากเชื้อ *B. stearothermophilus* ให้ผลิตภัณฑ์หลักเป็น  $\alpha$ - และ  $\beta$ -CD ในอัตราส่วนที่ใกล้เคียงกัน

ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ใช้ในการผลิต CD ที่แตกต่างกัน จะทำให้อัตราส่วนของชนิด CD เปลี่ยนแปลงไป จากการศึกษาของ Yamamoto และคณะ, 2000 ถึงอิทธิพลของปริมาณเอนไซม์ต่อผลได้ (yield) ของ CD และพบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณเอนไซม์เป็น 10 เท่า จะทำให้ผลได้เพิ่มขึ้นเป็น 35.1% (รูปที่ 3.5) แต่ทั้งนี้การเพิ่มปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมสำหรับการผลิตจำเป็นต้องคำนึงถึงราคาของเอนไซม์ด้วย

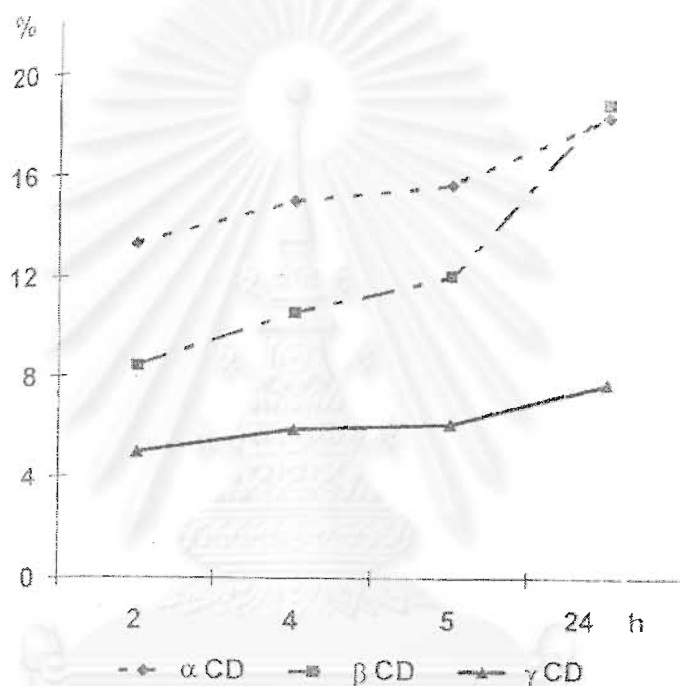


รูปที่ 3.5 อิทธิพลของปริมาณเอนไซม์ต่อผลได้ของ CD [Yamamoto และคณะ, 2000]  
(ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา 120 ชั่วโมง)

ตามรายงานของ Goel และ Nene (1995) พบว่าเอนไซม์ CGTase จากเชื้อ *B. firmus* ปริมาณ 0.6 ยูนิตต่อกรัมของแป้ง ไม่สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับแป้งข้าวโพดดิบ เพื่อผลิต CD ได้ แต่เมื่อ Gawande และคณะ (1998) ทดลองเพิ่มปริมาณเอนไซม์เป็น 10 ยูนิตต่อกรัมของแป้ง พบว่าเอนไซม์สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับแป้งข้าวโพดดิบและผลิต CD ได้ แต่ผลิตได้ในปริมาณที่น้อยมาก (แป้งข้าวโพดดิบผลิต  $\beta$ -CD ได้ 0.372 กรัมต่อลิตรในขณะที่ แป้งข้าวโพดที่เจลาติไนซ์ ผลิต  $\beta$ -CD ได้ 4.329 กรัมต่อลิตร)

### 3.3.3 ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา

ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์ CGTase และแป้ง มีผลต่ออัตราส่วนชนิดของ CD ซึ่งปรากฏอย่างชัดเจนในงานวิจัยของ Slominska และ Sobkowiak (1997) สัดส่วนของ  $\alpha$ -CD ที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นในช่วงแรกจะสูงกว่าการสังเคราะห์  $\beta$ - และ  $\gamma$ -CD แต่เมื่อเพิ่มระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาให้ยาวนานขึ้น อัตราส่วนของ  $\beta$ -CD จะมีปริมาณสูงสุด (รูปที่ 3.6)



รูปที่ 3.6 อิทธิพลของระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาต่ออัตราส่วนชนิดของไซโคลเดกซ์ทริน [Slominska และ Sobkowiak, 1997]

นอกเหนือจากปัจจัยดังกล่าวข้างต้นยังมีปัจจัยอื่น ๆ ที่มีผลต่อการผลิต CD เช่น ความบริสุทธิ์ของเอนไซม์ สภาวะในการทำงานของเอนไซม์ ซึ่งได้แก่ อุณหภูมิ สภาวะความเป็นกรด-ด่าง หรือ ความเร็วรอบในการกวน Pongsawasdi และ Yagisawa (1987) ศึกษาเปรียบเทียบการใช้เอนไซม์บริสุทธิ์และไม่บริสุทธิ์จากเชื้อ *B. circulans* C31 เพื่อผลิต  $\beta$ -CD โดยมี soluble starch เป็นสารตั้งต้น เอนไซม์บริสุทธิ์สามารถสังเคราะห์ CD ในช่วงแรกของ การผลิตได้มากกว่าเอนไซม์ที่ไม่บริสุทธิ์ถึง 12% (ตารางที่ 3.3)

ตารางที่ 3.3 เปรียบเทียบการผลิต เบต้า-ไซโคลเด็กซ์ทรินจากเอนไซม์บริสุทธิ์และไม่บริสุทธิ์  
[Pongsawasdi และ Yagisawa, 1987]

ประเภทของเอนไซม์	ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา (ชั่วโมง)	เปอร์เซ็นต์ $\beta$ -CD ที่ผลิตได้
เอนไซม์ไม่บริสุทธิ์	1	16.2
	2	17.2
	3	21.5
เอนไซม์บริสุทธิ์	1	27.5
	2	29.5
	3	32.0

### 3.4 ปัญหาและอุปสรรคในการผลิตไซโคลเด็กซ์ทริน

กระบวนการการสังเคราะห์ CD ได้ถูกศึกษาและปรับปรุงอย่างต่อเนื่อง โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อลดต้นทุนการผลิตด้วยการเพิ่มผลได้ (Production yield) ให้มากที่สุด ด้วยวิธีการต่าง ๆ หรือการปรับปรุงกระบวนการผลิตด้วยการลดจำนวนหน่วยการผลิต เป็นการประหยัดพลังงานและลดระยะเวลาในการผลิต การศึกษากลไกการทำงานของเอนไซม์ CGTase และข้อจำกัดต่าง ๆ ในการสังเคราะห์ CD ทำให้ทราบถึงปัญหาที่อาจเกิดขึ้นในกระบวนการผลิต การศึกษาหาแนวทางแก้ไขปัญหาและอุปสรรคต่าง ๆ ในกระบวนการสังเคราะห์ CD จะช่วยให้ผลได้จาก การสังเคราะห์ CD เพิ่มขึ้น จากการศึกษางานวิจัยที่ผ่านมาสามารถสรุปปัญหาที่เกิดขึ้นจากการสังเคราะห์ CD รวมทั้งแนวทางแก้ไขได้ดังนี้

#### 3.4.1 การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ CGTase โดย CD (Product Inhibition)

อัตราการสังเคราะห์ CD จะเริ่มลดลงเมื่อปริมาณของไซโคลเด็กซ์-ทรินซึ่งเป็นสารผลิตภัณฑ์สะสมในถังปฏิกรณ์มากขึ้น CD นี้จะมีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ทำให้เอนไซม์ผลิต CD ได้ลดลง จากการศึกษาของ Kim และคณะ (1993) พบว่า  $\alpha$ - และ  $\gamma$ -CD มีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์รุนแรงที่สุด ด้วยความเข้มข้นเพียง 2 กรัม/ลิตร จะทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ลดลงครึ่งหนึ่ง ส่วน  $\beta$ -CD มีผลให้กิจกรรมของเอนไซม์ลดลงครึ่งหนึ่งที่ความเข้มข้น 6 กรัม/ลิตร ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับแบคทีเรียแต่ละชนิดจะให้เอนไซม์ CGTase ที่ผลิต CD ชนิดใดเป็นหลัก CD ชนิดนั้นก็จะมีผลยับยั้งรุนแรงกว่าชนิดอื่นเนื่องจากมีปริมาณมากกว่า ในงานวิจัยของ Lee และ Tao (1995) ได้ศึกษาจลนศาสตร์ของเอนไซม์ CGTase ซึ่งถูกยับยั้งการทำงานโดยสารตั้งต้นและผลิตภัณฑ์ พบว่าเอนไซม์ CGTase จากเชื้อ *Bacillus macerans* จะถูกยับยั้งการทำงานโดย  $\alpha$ -CD ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์หลัก ด้วยความเข้มข้นเพียง 0.1 มิลลิกรัม

ต่อมล. สามารถลดกิจกรรมเอนไซม์ได้ถึง 50 % แนวทางในการแก้ปัญหาการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โดย CD สรุปได้ดังนี้

(1) การใช้ถังปฏิกรณ์ที่สามารถแยกผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นออกไปได้ตลอดเวลา

Kim TJ และคณะ (1992) ได้ทดลองใช้ถังปฏิกรณ์แบบเยื่อเลือกผ่าน (Ultrafiltration membrane bioreactor) ในการผลิต CD โดย CD ที่สังเคราะห์ได้จะถูกแยกโดยผ่านเมมเบรนออกไปซึ่งในการผลิตแบบกะ พบว่ามีปริมาณของ  $\beta$ -CD อยู่ในระดับที่ต่ำกว่า 4 กรัม/ลิตร ทำให้ผลิตผลเพิ่มขึ้นจากกรณีที่ไม่ใช้ Ultrafiltration จาก 35% เป็น 55% แต่ข้อจำกัดของถังปฏิกรณ์ชนิดนี้คือ การเพิ่มความเข้มข้นของแป้งหรือการเพิ่มอัตราการป้อนสารตั้งต้น จะทำให้เมมเบรนเกิดการอุดตันเนื่องจากปริมาณของแป้งส่วนที่เหลือจากการทำปฏิกิริยา เป็นผลให้อัตราการไหลผ่านเมมเบรนลดลง ดังนั้นปริมาณของ  $\beta$ -CD จึงสะสมในถังปฏิกรณ์มากขึ้นซึ่งอาจทำให้มีผลต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้

(2) การใช้ตัวทำละลายอินทรีย์

เป็นการใช้คุณสมบัติเฉพาะตัวของ CD ซึ่งสามารถจับกับสารอินทรีย์เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน ทำให้ CD มีลักษณะโครงสร้างที่เปลี่ยนแปลงไป ไม่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้ ผลิตผลจึงเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ข้อดีอีกอย่างหนึ่งของวิธีนี้คือ เมื่อ CD รวมเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับตัวทำละลายอินทรีย์แล้ว สารประกอบเชิงซ้อนนี้จะตกตะกอนแยกตัวออกมาทำให้แยกออกจากปฏิกิริยาได้ง่าย แต่อย่างไรก็ตามการแยก CD ออกจากตัวทำละลายอินทรีย์อาจเป็นผลให้ต้นทุนในการผลิตสูงขึ้น เนื่องจากต้องเพิ่มขั้นตอนการแยกสารอินทรีย์ออกจาก CD ด้วย นอกจากนี้การใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่เป็นพิษจะทำให้ CD ที่ผลิตได้ไม่สามารถใช้ใน อุตสาหกรรมอาหารและยาได้ ซึ่งเป็นข้อเสียของวิธีการนี้

Yang และ Su (1989) ได้ใช้เอทานอลซึ่งเป็นตัวทำละลายอินทรีย์เพื่อเพิ่มผลิตผลในการสังเคราะห์ CD โดยการตรึงเอนไซม์บนโคโตซานทำให้ได้ผลิตผลเพิ่มจาก 46% เป็น 58.3% ต่อมา Lee และ Kim (1991) ได้ทำการศึกษาผลของการเติม ตัวทำละลายอินทรีย์ 4 ชนิด ได้แก่ อะซีโตน เอทานอล กลีเซอรอล และโพรพานอล เพื่อเพิ่มปริมาณการสังเคราะห์ CD และพบว่า การเติมเอทานอลจะให้ผลิตผลสูงกว่าตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดอื่น ๆ และได้ศึกษาผลกระทบของการเติมเอทานอลไว้ดังนี้

- เอทานอลช่วยเพิ่มอัตราการย่อยแป้งของเอนไซม์ CGTase มากถึง 70% ซึ่งคาดว่าทำให้ผลิตผลสูงขึ้นด้วย
- การเติมเอทานอลทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ลดลงในอัตราที่สูงกว่าสภาวะที่ไม่มีเอทานอล



### 3.4.2 การสลายตัวของไซโคลเด็กซ์ทรินเนื่องจากปริมาณของน้ำตาลโมเลกุลเล็ก

#### (Substrate Inhibition)

เอนไซม์ CGTase ทำหน้าที่เปลี่ยนแป้งให้เป็น CD ด้วยการเกิดปฏิกิริยา cyclization แต่ในขณะเดียวกันเอนไซม์ CGTase ยังสามารถย่อยสลายไซโคลเด็กซ์ทรินได้โดยเกิดปฏิกิริยา coupling ซึ่งเป็นปฏิกิริยาย้อนกลับของปฏิกิริยาการสังเคราะห์ไซโคลเด็กซ์ทริน และปฏิกิริยา coupling จะเกิดได้ดีถ้าในระบบมีน้ำตาลโมเลกุลเล็ก เช่น กลูโคส มอลโตส มอลโตไตรโอส ปะปนอยู่ในปริมาณที่มากพอ

Kim และคณะ, 1995 ศึกษาผลของน้ำตาลโมเลกุลเล็กที่มีต่อการย่อยสลาย CD และรายงานว่ น้ำตาลกลูโคสสามารถเร่งปฏิกิริยา coupling ได้ดีที่สุด โดยในสภาวะที่มีน้ำตาลกลูโคสปะปนอยู่ 50 มิลลิโมลาร์ ตอนเริ่มต้นของปฏิกิริยา เอนไซม์ CGTase จะสามารถย่อยสลาย CD เข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ได้หมดภายในเวลา 2 ชั่วโมง ส่วนน้ำตาลมอลโตสและมอลโตไตรโอส มีผลทำให้เอนไซม์ CGTase ย่อย CD ได้ 83% และ 62% ตามลำดับ

เนื่องจากเอนไซม์ CGTase ไม่สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับแป้งดิบเพื่อผลิต CD ได้ หรือการผลิต CD จากแป้งดิบต้องใช้เอนไซม์ปริมาณมาก ซึ่งเป็นผลทำให้ต้นทุนการผลิตสูงขึ้น ดังนั้นจึงต้องทำการเตรียมสารละลายแป้งให้มีความเหมาะสมต่อการเข้าทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ CGTase ก่อนที่จะนำไปผลิต CD ต่อไป การเตรียมแป้งโดยการทำให้เกิดเจลาตีไนซ์จะมีข้อจำกัดในเรื่องของความหนืด ส่วนการย่อยโมเลกุลแป้งให้มีขนาดเล็กลงโดยใช้เอนไซม์อะมิเลสจะทำให้เกิดน้ำตาลโมเลกุลเล็กจำนวนมากหากควบคุมการย่อยไม่เหมาะสม เพื่อแก้ไขปัญหาดังกล่าวเหล่านี้จึงได้มีการปรับปรุงขั้นตอนการเตรียมแป้งด้วยวิธีการต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

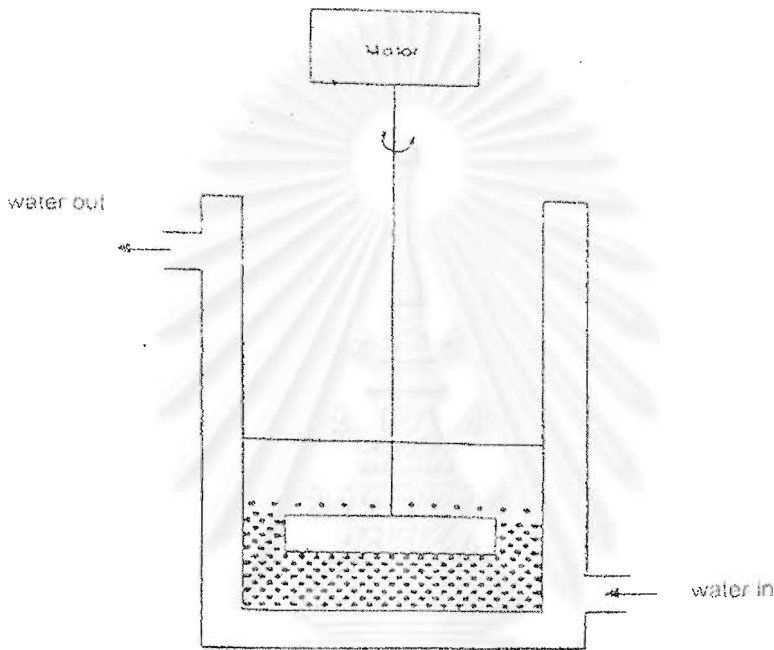
#### (1) ใช้เอนไซม์ CGTase ในการย่อยแป้ง

เอนไซม์ CGTase จะถูกใช้ในการย่อยแป้งดิบก่อนจะนำไปผลิต CD Nakamura และ Horikoshi, 1977 ผลิต CD จากแป้งที่ย่อยโดยเอนไซม์ CGTase ซึ่งวิธีนี้ให้ค่า DE ประมาณ 0.02 เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Yang และ Su, 1989 ซึ่งได้ค่า DE ประมาณ 0.37 เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้เอนไซม์แอลฟาอะมิเลสซึ่งให้ค่า DE ถึง 3.0 แสดงให้เห็นว่าการใช้เอนไซม์ CGTase ในการย่อยแป้งจะให้ค่า DE ค่อนข้างต่ำ

#### (2) ใช้การเตรียมแป้งโดยวิธีทางกายภาพ

การเตรียมแป้งด้วยวิธีทางกายภาพได้แก่ การบด การรีด หรือการให้ความร้อน เป็นต้น การบดเป็นอีกวิธีการหนึ่งที่สามารถทำได้ง่ายโดยใช้ถังปฏิกรณ์แบบบดย่อย (Attrition bioreactor) (รูปที่ 3.8) ซึ่งเป็นการรวมขั้นตอนการเตรียมแป้งและการทำปฏิกิริยาโดยเอนไซม์ CGTase เพื่อผลิต CD ไว้ในหน่วยเดียวกัน ถึงปฏิกรณ์แบบบดย่อยนี้พัฒนามาจากงานวิจัยของ Jones และ Lee, 1998 ซึ่งใช้ถังปฏิกรณ์ชนิดนี้ศึกษาการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์เซลลูเลสโดยใช้เซลลูโลสซึ่งได้จากกระดาษหนังสือพิมพ์เป็นสารตั้งต้น ภายในถังปฏิกรณ์บรรจุลูกบอลสแตนเลสซึ่งทำหน้าที่ในการบดกระดาษหนังสือพิมพ์ไปพร้อม ๆ กับการเข้าทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ และพบว่าอัตราการย่อยสารตั้งต้นโดยเอนไซม์ในถังปฏิกรณ์ชนิดนี้สูงกว่าอัตราการย่อยในถังกวนธรรมดา

Lee และ Kim, 1991 ได้ประยุกต์ใช้ถังปฏิกรณ์แบบบดย่อยในการผลิต CD การบดย่อยแป้งข้าวโพดด้วยลูกแก้วจะทำให้เม็ดแป้งเกิดการพองตัว เป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวในการเข้าทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ วิธีการนี้ไม่พบปริมาณของน้ำตาลโมเลกุลเล็กอยู่แล้ว การผลิตด้วยวิธีนี้สามารถใช้แป้งข้าวโพดที่มีความเข้มข้นได้สูงถึง 15% ผลได้จากกระบวนการผลิตมีค่าเท่ากับ 35% โดยใช้ระยะเวลาในการผลิต 24 ชั่วโมง การผลิตแบบรวมเป็นหน่วยเดียวนี้ทำให้ใช้พลังงานไปเพียง 25% ของพลังงานที่ใช้ในการผลิตแบบดั้งเดิม



รูปที่ 3.7 ถังปฏิกรณ์แบบบดย่อย

Kim และคณะ (1995) ได้ปรับปรุงกระบวนการผลิต CD โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อลดปัญหาการสลายตัวของ CD อันเนื่องมาจากน้ำตาลโมเลกุลเล็ก ด้วยการเตรียมแป้งโดยใช้ความร้อนปานกลาง คือใช้อุณหภูมิประมาณ 65 °ซ ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่ต่ำกว่าอุณหภูมิที่เกิดเจลลิตไนซอย่างสมบูรณ์ของแป้งข้าวโพด ให้ความร้อนเป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง ความร้อนจะทำให้เม็ดแป้งเกิดการพองตัว มีขนาดใหญ่ขึ้น จึงมีพื้นที่ผิวสัมผัสต่อการเข้าทำปฏิกิริยาของเอนไซม์เพิ่มขึ้น และพบว่า การเตรียมแป้งด้วยวิธีนี้ไม่ทำให้เกิดน้ำตาลโมเลกุลเล็กเลย เมื่อทำการเปรียบเทียบกับสารตั้งต้นที่เป็นแป้งข้าวโพดต้มสุกพบว่าแป้งที่เตรียมโดยการให้ความร้อนปานกลางจะให้ CD ที่มีความบริสุทธิ์สูงกว่าแป้งข้าวโพดต้มสุก ทั้งนี้เป็นเพราะโครงสร้างของเม็ดแป้งที่ถูกต้มจะแตกออกเป็นส่วน ๆ ไม่สามารถแยกออกจากผลิตภัณฑ์ได้ด้วยการเหวี่ยงให้ตกตะกอน ในขณะที่แป้งที่เตรียมจากการให้ความร้อนปานกลาง เม็ดแป้งยังคงสภาพของอนุภาคไว้ทำให้สามารถแยกเม็ดแป้งที่เหลือจากการทำปฏิกิริยาออกจาก CD ได้ด้วยการเหวี่ยง

ให้ตกตะกอน CD ที่ได้จึงมีความบริสุทธิ์มากกว่า ปริมาณ CD ในสารละลายภายหลังการเหวี่ยง แยกอนุภาคแป้งออกมีค่าเท่ากับ 50% และเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนสารตั้งต้นไปเป็นผลิตภัณฑ์ (conversion yield) เท่ากับ 25% อาจสรุปได้ว่าวิธีการเตรียมแป้งด้วยการให้ความร้อนมีข้อดีหลายประการดังนี้

- CD ที่ผลิตได้ไม่สลายตัว เนื่องจากปริมาณของน้ำตาลโมเลกุลเล็กเกิดขึ้นน้อยมาก
- แป้งส่วนที่เหลือจากการทำปฏิกิริยาสามารถแยกออกได้ง่ายโดยใช้การกรองหรือการเหวี่ยงให้ตกตะกอน
- ใช้ปริมาณเอนไซม์ในการผลิตน้อยกว่าวิธีแบบดั้งเดิม
- การเตรียมแป้งทำได้ง่ายโดยไม่ต้องใช้เอนไซม์หรือเครื่องมืออื่นใด
- แป้งที่เหลือจากการทำปฏิกิริยาสามารถใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตสารประกอบชนิดอื่นได้

ในปี 1997 Kim และคณะ ได้ปรับปรุงการสังเคราะห์ไซโคลเด็กซ์ทรินแบบการเตรียมแป้งโดยวิธีให้ความร้อนโดยใช้เอนไซม์ CGTase จากเชื้อ *Thermoanaerobacter* sp. ซึ่งสามารถทนอุณหภูมิได้สูงถึง 90 °C ทำให้ขั้นตอนในการเตรียมแป้งด้วยความร้อนสามารถทำไปพร้อมๆกับการสังเคราะห์ CD ได้ จากการศึกษาพบว่าที่อุณหภูมิต่ำกว่า 55 °C โครงสร้างของแป้งทุกชนิดยกเว้นแป้งที่ละลายน้ำได้ (soluble starch) ยังไม่ถูกเปลี่ยนให้อยู่ในรูปที่จะทำปฏิกิริยาได้ (reactive structure) และที่อุณหภูมิสูงกว่า 75 °C โครงสร้างของแป้งทุกชนิดจะถูกทำลาย ทำให้ไม่สามารถแยกได้ด้วยการเหวี่ยง สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตคือใช้ความเข้มข้นของแป้งข้าวโพด 7.5% ทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ 22 หน่วยต่อกรัมของแป้ง ที่อุณหภูมิ 65 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนสารตั้งต้นไปเป็นผลิตภัณฑ์มีค่าเท่ากับ 27.9%

จะเห็นได้ว่าการเตรียมแป้งโดยวิธีให้ความร้อนจะทำให้เม็ดแป้งมีลักษณะทางกายภาพและโครงสร้างภายในเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม เอนไซม์สามารถเข้าทำปฏิกิริยาได้ดีขึ้น จากผลการวิจัยของ Kim และคณะ (1997) แสดงให้เห็นว่าการเปลี่ยนแปลงลักษณะของเม็ดแป้งนั้นมีผลต่ออัตราการผลิต CD ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมุ่งประเด็นศึกษาไปที่การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของเม็ดแป้งอันเนื่องมาจากกระบวนการให้ความร้อนต่ออัตราการผลิต CD แรกเริ่ม ชนิดของแป้งที่ใช้คือแป้งมันสำปะหลัง เพราะเป็นวัตถุดิบที่หาได้ง่ายในประเทศและมีราคาถูก ช่วงอุณหภูมิในการศึกษาจะเป็นช่วงอุณหภูมิตั้งแต่เริ่มเกิดการเจลาติไนซ์ของแป้งมันสำปะหลัง ไปจนถึงเกิดการเจลาติไนซ์อย่างสมบูรณ์ คือ ในช่วงอุณหภูมิ 60-80 °C ซึ่งแตกต่างกับงานวิจัยของ Kim และคณะ ที่ศึกษาที่อุณหภูมิ 65 °C ซึ่งเป็นอุณหภูมิในช่วงต้นของการเกิดเริ่มเกิดเจลาติไนซ์ของแป้งข้าวโพด (อุณหภูมิเจลาติไนซ์ของแป้งข้าวโพด คือ 62-72 °C) เนื่องจากในช่วงอุณหภูมิเริ่มเกิดเจลาติไนซ์ เม็ดแป้งมันสำปะหลังจะ

มีลักษณะทางกายภาพที่แตกต่างไปจากแป้งดิบมาก การละลาย การพองตัวและการแตกของเม็ดแป้งส่งผลให้เอนไซม์เข้าทำปฏิกิริยาได้ง่ายขึ้น อัตราการผลิต CD จึงน่าจะสูงขึ้นด้วย งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นที่จะอธิบายอัตราการผลิต CD จากเม็ดแป้งที่มีลักษณะทางกายภาพแตกต่างกัน ด้วยผลของสมบัติทางกายภาพที่เปลี่ยนแปลงไป ซึ่งได้แก่ ร้อยละการละลาย กำลังการพองตัว ขนาด และความหนืด ซึ่งในงานวิจัยของ Kim และคณะ ยังไม่ได้ทำการศึกษารายละเอียดในส่วนนี้ นอกจากนี้ ยังได้ศึกษาเพิ่มเติมในส่วนของ การเตรียมแป้งโดยการบดที่อุณหภูมิต่างๆ เพื่อเปรียบเทียบอัตราการผลิต CD และลักษณะทางกายภาพที่เปลี่ยนแปลงไปของแป้งที่เตรียมโดยวิธีให้ความร้อนเพียงอย่างเดียว



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## บทที่ 4

### อุปกรณ์ เคมีภัณฑ์ และวิธีดำเนินการทดลอง

#### 4.1 อุปกรณ์และเคมีภัณฑ์

##### 4.1.1 อุปกรณ์

1. เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge) รุ่น 7820 KUBOTA CORPORATION, Japan.
2. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) รุ่น Spectronic 20 Genesys บริษัท Spectronic Instruments, USA.
3. กล้องจุลทรรศน์ รุ่น BH-2 บริษัท OLYMPUS MICROSCOPE, Japan.
4. ตู้ควบคุมอุณหภูมิ (Hot air oven) รุ่น ULM 500 บริษัท Memmert, Germany.
5. อ่างควบคุมอุณหภูมิ รุ่น HC-2/8 บริษัท Julabo Laboratechnik GMBH, Germany.
6. ปั๊มรีด (Peristaltic pump) ยี่ห้อ Master Flex model 7518-10
7. Capillary Viscometer ยี่ห้อ Technico
8. เครื่อง Scanning Electron Microscopy (SEM) รุ่น JSM-5410LV ยี่ห้อ JEOL จากประเทศญี่ปุ่น
9. ลูกแก้วสำหรับบด ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 มม. ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท พีพีแอนด์ที เคมีคอล จำกัด

##### 4.1.2 สารเคมี

1. แป้งมันสำปะหลัง ตรา กาญจนชูศักดิ์
2. โซเดียมคาร์บอเนต [ $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ] ของบริษัท AJAX Chemical, Australia.<sup>AL</sup>
3. เอทานอล 99.8% ของบริษัท Merck, Germany.<sup>AL</sup>
4. Phenolphthalein ของบริษัท AJAX Chemical, Australia.<sup>LB</sup>
5. Soluble starch ของบริษัท Merck, Germany.<sup>AL</sup>
6. ไดโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต [ $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ] ของบริษัท AJAX Chemical, Australia.<sup>AL</sup>
7. โมโนโปแตสเซียมไฮโดรเจนออร์โทฟอสเฟต [ $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ] ของบริษัท AJAX Chemical, Australia.<sup>AL</sup>
8. โซเดียมไฮดรอกไซด์ [ $\text{NaOH}$ ] ของบริษัท Merck, Germany.<sup>LB</sup>
9. Dinitrosalicylic acid ของบริษัท AJAX Chemical, Australia.<sup>AL</sup>

10. Sodium Potassium tartrate [Rochelle salt] ของบริษัท AJAX Chemical, Australia.<sup>AL</sup>
11. น้ำที่ใช้ในการทดลองเป็นน้ำที่ผ่านไส้กรองเรซิน และเยื่อแผ่นเซรามิก ขนาด 0.2 ไมครอน
12. ไอโอดีน ของบริษัท AJAX Chemical, Australia.<sup>AL</sup>
13. โปแตสเซียมไอโอดेट (KI) ของบริษัท AJAX Chemical, Australia.<sup>AL</sup>
14. กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (HCl) ของบริษัท AJAX Chemical, Australia.<sup>AL</sup>
15. เอนไซม์แอลฟา-อะมิเลส ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัทอีสเอเซียติก จำกัด

หมายเหตุ :	ความบริสุทธิ์ของสารเคมี <sup>AL</sup>	ระดับ Analytical grade
	ความบริสุทธิ์ของสารเคมี <sup>LB</sup>	ระดับ Laboratory grade
	ความบริสุทธิ์ของสารเคมี <sup>CM</sup>	ระดับ Commercial grade

#### 4.2 การเตรียมสารเคมีสำหรับการทดลอง

##### 4.2.1 การเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.2 M pH 7

ซึ่งโปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 18.28 กรัม และไดโปแตสเซียมไฮโดรเจนอโทฟอสเฟต 46.33 กรัม ละลายในน้ำกรอง ปรับ pH โดยใช้กรด HCl 0.5 M หรือ NaOH 0.5 M และปรับปริมาตรให้เป็น 2 ลิตร สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ต้องเตรียมใหม่ทุกครั้งที่ทำทดลอง

##### 4.2.2 การเตรียม Dinitrosalicylic acid reagent

ซึ่ง Dinitrosalicylic acid จำนวน 1 กรัม ละลายในน้ำ 30 มล. จากนั้นเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 2 N ปริมาตร 20 มล. อย่างช้าๆ นำสารละลายที่ได้ไปตั้งในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ตั้งอุณหภูมิไว้ 70 °ซ ค่อยๆเติม Sodium Potassium tartrate จำนวน 30 กรัม ปรับปริมาตรเป็น 100 มล. และเก็บในขวดสีชาที่อุณหภูมิห้อง สามารถเก็บไว้ได้นานประมาณ 4-5 เดือน

##### 4.2.3 การเตรียมสารละลาย working phenolphthalein

ปีเปตสารละลาย phenolphthalein เข้มข้น 4 mM ในเอทานอล จำนวน 0.25 มล. ใส่ในขวดวัดปริมาตร ขนาด 50 มล. เติมเอทานอล จำนวน 1 มล. และปรับปริมาตรให้เป็น 50 มล. ด้วยสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) เข้มข้น 125 mM เก็บสารละลายที่เตรียมได้ในขวดสีชา ในการวัดกิจกรรมเอนไซม์หรือการวิเคราะห์หาปริมาณ CD นั้น สารละลาย working phenolphthalein ที่ใช้ต้องเตรียมใหม่ทุกครั้ง

#### 4.2.4 การเตรียมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.2 M

ปีเปตสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น จำนวน 0.85 มล. ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มล. แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 50 มล. ด้วยน้ำกรอง ผสมให้เข้ากัน เก็บสารละลายที่เตรียมได้ในขวดแก้ว ที่อุณหภูมิห้อง

#### 4.2.5 การเตรียม iodine reagent

ละลายไอโอดีน 0.2 กรัม และโปแตสเซียมไอโอไดด์ 2 กรัม ในน้ำกรอง เทลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มล. ปรับปริมาตรสุดท้ายให้เป็น 100 มล. เก็บสารละลาย iodine reagent ในขวดสีชา ที่อุณหภูมิห้อง สามารถเก็บไว้ได้นานประมาณ 2-3 เดือน

#### 4.3 การเตรียมเอนไซม์ CGTase เพื่อใช้ในการทดลอง

เอนไซม์ CGTase ที่ใช้ในงานวิจัยนี้เป็น curde เอนไซม์ที่ได้จากเชื้อ *Bacillus circulans* ATCC9995 จากงานวิจัยของ พิษญา ภูพนิตพันธ์ (2544) ซึ่งใช้อาหารเลี้ยงเชื้อจากแหล่งไนโตรเจน คือ corn steep liquor crude เอนไซม์ CGTase ได้จากการเหวี่ยงแยกตะกอนเซลล์ออกจากน้ำหมักที่อุณหภูมิ 4 °ซ และความเร็รรอบ 3000 รอบต่อนาที เก็บส่วนใสของสารละลาย crude เอนไซม์ที่ได้ไว้ที่อุณหภูมิ -10 °ซ และตรวจวัดกิจกรรมเอนไซม์ทุกครั้งก่อนทำการทดลอง

#### 4.4 การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ CGTase

##### 4.4.1 การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ CGTase โดยวิธี Phenolphthalein

[Goel และ Nene, 1995]

การวิเคราะห์ด้วยวิธี Phenolphthalein เป็นการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์จากความสามารถในการผลิต  $\beta$ -CD ของเอนไซม์ CGTase เพราะ  $\beta$ -CD สามารถรวมเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับ Phenolphthalein แล้วทำให้สีชมพูของ Phenolphthalein จางลง และเนื่องจากเอนไซม์ CGTase ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ผลิต  $\beta$ -CD เป็นผลิตภัณฑ์หลัก ดังนั้นจึงสามารถใช้วิธี Phenolphthalein ในการวัดกิจกรรมเอนไซม์ได้โดยปีเปตสารละลายเอนไซม์ (น้ำหมักที่ปั่นแยกเซลล์ออกแล้ว) จำนวน 10 ไมโครลิตร ลงในน้ำแป้ง (soluble starch เข้มข้น 0.2% น้ำหนักโดยปริมาตร ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7) ปริมาตร 1 มล. นำไปบ่มในอ่างความคุมอุณหภูมิ 40 °ซ เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นหยุดปฏิกิริยาทันทีในน้ำแข็ง เติมสารละลาย working phenolphthalein จำนวน 4 มล. ผสมให้เข้ากันด้วย Vortex mixer และวัดค่าการดูดกลืนแสงทันทีที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร นำค่าดูดกลืนแสงที่วัดได้หักลบกับค่าการดูดกลืนแสงของหลอดควบคุม ซึ่งใส่ทุกอย่างเช่นเดียวกัน การวัดตัวอย่างจะทำซ้ำกัน 3 ครั้ง เพื่อหาค่าเฉลี่ย และมีค่า Coefficient of variation เท่ากับ  $\pm 6.05\%$

#### 4.4.2 การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ CGTase โดยวิธี Dextrinizing (Iodine method) ดัดแปลงจากวิธีของ Fuwa, 1954 อ้างถึงใน วรรณรัตน์ คุดดีอาชีวะ, 2537

เติมสารละลายเอนไซม์ 10 ไมโครลิตร ลงในสารละลายแป้ง (soluble starch เข้มข้น 0.2% น้ำหนักโดยปริมาตร ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7) ปริมาตร 0.3 มล. เขย่าให้เข้ากัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 40 °ซ เป็นเวลา 10 นาที หยุดปฏิกิริยาด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.2 M จำนวน 4 มล. ผสมให้เข้ากัน จากนั้นเติม iodine reagent จำนวน 0.5 มล. ปรับปริมาตรสุดท้ายให้เป็น 10 มล. ด้วยน้ำกรอง นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร การวัดตัวอย่างจะทำซ้ำกัน 3 ครั้ง เพื่อหาค่าเฉลี่ย โดยมีค่า Coefficient of variation เท่ากับ  $\pm 3.2\%$

สำหรับในงานวิจัยนี้จะใช้วิธี Phenolphthalein ในการหากิจกรรมของเอนไซม์ CGTase ส่วนการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์โดยวิธี Dextrinizing จะวัดเพื่อใช้เปรียบเทียบกับงานวิจัยอื่นๆเท่านั้น

#### 4.5 การเตรียมแป้งโดยวิธีการบ่ม

เตรียมแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7 % (น้ำหนักโดยปริมาตร) (อบแป้งมันสำปะหลังก่อนนำไปใช้ทุกครั้ง ที่อุณหภูมิ 80 °ซ เป็นเวลา 20 นาที ) ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.2 M pH 7 ปริมาตร 2000 มล. นำสารละลายแป้งมันสำปะหลังที่ได้ไปบ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยกวนตลอดเวลาที่ความเร็วรอบ 450 รอบต่อนาที เริ่มจับเวลาเป็นชั่วโมงบ่มที่ 0 เมื่ออุณหภูมิของสารละลายแป้งมันสำปะหลังเท่ากับอุณหภูมิในอ่างควบคุมที่ตั้งไว้ สุ่มตัวอย่างสารละลายที่ผ่านการบ่มที่ระยะเวลาต่างๆ ทุก 4 ชั่วโมง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ CGTase และทดสอบสมบัติทางกายภาพของเม็ดแป้ง

ทำการทดลองซ้ำโดยเปลี่ยนอุณหภูมิในอ่างควบคุมที่ใช้ในการบ่มสารละลายแป้งเป็น 65°, 70°, 75° และ 80 °ซ ตามลำดับ กำหนดให้ความเข้มข้นของสารละลายแป้งมันสำปะหลัง ความเร็วรอบในถังปฏิกรณ์ที่ใช้ในการบ่มคงที่ในทุกอุณหภูมิและระยะเวลาในการบ่ม ความเร็วรอบในถังปฏิกรณ์ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ และปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาคงที่



#### 4.6 การเตรียมแป้งโดยวิธีการบด

เตรียมแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7 % (น้ำหนักโดยปริมาตร) (อบแป้งมันสำปะหลังก่อนนำไปใช้ทุกครั้ง ที่อุณหภูมิ 80 °ซ เป็นเวลา 20 นาที ) ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.2 M pH 7 ปริมาตร 1300 มล. ซึ่งน้ำหนักลูกแก้วขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 มม. จำนวน 1028 กรัม (ประมาณ 30 % โดยปริมาตร) ใส่ลงในสารละลายแป้งมันสำปะหลัง นำไปบ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 60 °ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยปั่นกวนตลอดเวลาที่ความเร็วรอบ 450 รอบต่อนาที เริ่มจับเวลาเป็นชั่วโมงบ่มที่ 0 เมื่ออุณหภูมิของสารละลายแป้งมันสำปะหลังเท่ากับอุณหภูมิในอ่างควบคุมที่ตั้งไว้ สุ่มตัวอย่างสารละลายที่ผ่านการบ่มที่ระยะเวลาต่าง ๆ ทุก 4 ชั่วโมง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ CGTase และทดสอบสมบัติทางกายภาพของเม็ดแป้ง

ทำการทดลองซ้ำโดยเปลี่ยนอุณหภูมิในอ่างควบคุมที่ใช้ในการบดสารละลายแป้งเป็น 45° และ 30° (อุณหภูมิห้อง) ตามลำดับ กำหนดให้ความเข้มข้นของสารละลายแป้งมันสำปะหลัง ความเร็วรอบในถังปฏิกรณ์ที่ใช้ในการบดคงที่ในทุกอุณหภูมิและระยะเวลาในการบด

#### 4.7 การทดลองเพื่อทดสอบการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของเม็ดแป้งมันสำปะหลัง

สุ่มตัวอย่างสารละลายที่ผ่านการเตรียมโดยการบ่มหรือบด ที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่าง ๆ ทุก 4 ชั่วโมง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อทำการวัดสมบัติทางกายภาพของเม็ดแป้ง ได้แก่ กำลังการพองตัว ร้อยละการละลาย ความหนืด ขนาดอนุภาคเม็ดแป้ง และการถ่ายภาพเม็ดแป้งโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ และถ่ายภาพ SEM

##### 4.7.1 วิธีวัดค่าร้อยละการละลายและกำลังการพองตัว [ดัดแปลงจากวิธีของ Schoech, 1964 อ้างถึงใน กล้าณรงค์ ศรีรอด และ เกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ, 2543]

ปิเปตตัวอย่างสารละลายแป้งจำนวน 10 มล. ลงในหลอดทดลอง ปั่นแยกตะกอนที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที ดูดน้ำตอนบนให้มากที่สุดเท่าที่จะมากได้ลงในภาชนะที่ทราบน้ำหนัก แล้วนำสารละลายนี้ไปอบที่อุณหภูมิ 100 °ซ เป็นเวลา 4 ชั่วโมง นำไปชั่งน้ำหนักซึ่งเป็นน้ำหนักของแป้งส่วนที่ละลายน้ำ ส่วนของตะกอนแป้งที่เหลืออยู่ในหลอดทดลอง นำมาชั่งเป็นน้ำหนักแป้งที่พองตัว ซึ่งร้อยละการละลายและกำลังการพองตัวหาได้จาก

$$\text{ร้อยละการละลาย} = \frac{\text{น้ำหนักส่วนที่ละลายน้ำ} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างแห้ง}}$$

$$\text{กำลังการพองตัว} = \frac{\text{น้ำหนักแป้งที่พองตัวแล้ว} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างแห้ง} \times (100 - \text{ร้อยละการละลาย})}$$

น้ำหนักตัวอย่างทั้งหมดถึง น้ำหนักของแป้งในสารละลายแป้งเข้มข้น 7 % จำนวน 10 มล.

ค่า Coefficient of variation จากการวัดค่าร้อยละการละลายและกำลังการพองตัวมีค่าเท่ากับ  $\pm 3.6\%$  และ  $\pm 1.7\%$  ตามลำดับ

#### 4.7.2 วิธีวัดค่าความหนืด

ปีเปตสารละลายตัวอย่างที่อุณหภูมิและเวลาบ่มต่าง ๆ จำนวน 70 มล. ใส่ลงใน Capillary Viscometer ซึ่งจุ่มอยู่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่มีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิที่บ่มแป้ง ขณะนั้น จับเวลาการไหลของสารละลายแป้งมันสำปะหลังผ่านขีดที่กำหนด ทำซ้ำกัน 3 ครั้ง เพื่อหาค่าเฉลี่ย ค่าความหนืดที่รายงานเป็นค่าความหนืดเฉลี่ยจากการวัดตัวอย่างเดียวกันซ้ำ 3 ครั้ง โดยมีค่า Coefficient of variation เท่ากับ  $\pm 2.24\%$

#### 4.7.3 วิธีวัดขนาดของอนุภาคเม็ดแป้ง

การวัดขนาดอนุภาคเม็ดแป้งมันสำปะหลังวัดโดยใช้เครื่อง Coulter รุ่น LS230 โดยหยดตัวอย่างน้ำแป้งเข้มข้น 7% ลงในโมดูลสำหรับใส่ตัวอย่างจนกว่าปริมาณที่เติมลงไปจะเพียงพอสำหรับการวัดขนาด ซึ่งเครื่องจะแสดงสถานะความพร้อมบจนจอภาพและคำนวณขนาดเฉลี่ยของอนุภาคภายหลังการวัดทุกครั้ง ซึ่งการรายงานผลของขนาดอนุภาคเป็นแบบร้อยละโดยปริมาตร (หมายถึง อนุภาคขนาดนั้น ๆ มีปริมาตรคิดเป็นร้อยละเท่าใดของปริมาตรทั้งหมด) ขนาดเม็ดแป้งที่รายงานเป็นค่าเฉลี่ยจากการสุ่มตัวอย่างที่สภาวะเดียวกัน 3 ตัวอย่างและนำมาวัดด้วยเครื่อง Coulter ตัวอย่างละ 1 ครั้ง โดยมีค่า Coefficient of variation เท่ากับ  $\pm 2.47\%$

#### 4.7.4 วิธีการถ่ายภาพเม็ดแป้ง [Yamamoto และคณะ, 2000]

หยดสารละลายตัวอย่างลงบนแผ่นสไลด์ที่แห้งและสะอาด ปิดทับด้วยแผ่นปิดสไลด์โดยระวังไม่ให้เกิดฟองอากาศ นำแผ่นสไลด์ไปส่องดูลักษณะของเม็ดแป้งด้วยกล้องจุลทรรศน์ กว้างขยาย 400 เท่า และถ่ายภาพเม็ดแป้งจากกล้องที่ติดตั้งไว้กับกล้องจุลทรรศน์ สำหรับกรณีถ่ายภาพ SEM ให้นำตัวอย่างของสารละลายแป้งมาปั่นแยกตะกอน เติสารละลายส่วนบนทิ้งไป นำส่วนตะกอนมาอบที่อุณหภูมิ 45 °C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง นำผงตัวอย่างที่ได้มาวางบนเพลท แล้วนำไปเคลือบด้วยทองคำประมาณ 20 นาโนเมตร นำไปส่องด้วยเครื่อง SEM ที่ค่าความต่างศักย์ 15 kV. เพื่อดูลักษณะของอนุภาคและถ่ายภาพ

#### 4.8 การทดลองเพื่อหาอัตราการผลิตไซโคลเด็กซ์ทริน

เก็บสารละลายแป้งมันสำปะหลังตัวอย่างที่ผ่านการเตรียมโดยวิธีการบ่มหรืออบที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่าง ๆ ทุก 4 ชั่วโมง (ในข้อ 4.5 หรือ 4.6) ปริมาตร 130 มล. มาทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ CGTase ในถังปฏิกรณ์ขนาด 500 มล. ที่อุณหภูมิ 50 °ซ ความเร็วรอบในการกวนเท่ากับ 300 รอบต่อนาที หากอุณหภูมิของสารละลายแป้งมันสำปะหลังสูงกว่า 50 °ซ ต้องรอให้อุณหภูมิของสารละลายแป้งลดลงเป็น 50 °ซ ก่อน จากนั้นจึงเติมเอนไซม์ CGTase จำนวน 3 ยูนิตต่อกรัมของแป้ง (เอนไซม์ CGTases ที่ใช้ในการทดลองเป็น Crude Enzyme ที่ปั่นแยกส่วนเซลล์ออก และวัดกิจกรรมเอนไซม์โดยวิธี Phenolphthalein ก่อนทำการทดลองทุกครั้ง) จับเวลาและเก็บตัวอย่างทุก ๆ 5-10 นาที เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำตัวอย่างที่เก็บได้แช่ในน้ำแข็งทันทีเพื่อหยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์ (อุณหภูมิน้ำแข็งไม่สูงกว่า 4 °ซ) ปั่นแยกสารละลายตัวอย่างที่อุณหภูมิ 4 °ซ เพื่อแยกตะกอนแป้งออก นำเฉพาะส่วนใสไปวิเคราะห์หาปริมาณ  $\beta$ -CD ที่ผลิตได้ โดยการประยุกต์จากวิธี Phenolphthalein

กำหนดให้ ความเร็วรอบในถังปฏิกรณ์ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ CGTase และปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาคงที่ตลอดการทดลอง

อัตราการผลิต  $\beta$ -CD แรกเริ่มหาได้จากการพล็อตกราฟระหว่างปริมาณ  $\beta$ -CD ที่ผลิตได้ (กรัมต่อลิตร) กับระยะเวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา (นาที) ค่าความชันของกราฟ คือ อัตราการผลิต  $\beta$ -CD แรกเริ่ม (กรัมต่อลิตร.นาที) ที่อุณหภูมิและเวลาบ่มต่าง ๆ กัน

#### 4.9 การวิเคราะห์หาปริมาณ $\beta$ -CD

##### 4.9.1 การวิเคราะห์หาปริมาณ $\beta$ -CD โดยประยุกต์จากวิธี Phenolphthalein

[ดัดแปลงจากวิธีของ Goel และ Nene, 1995]

การวิเคราะห์หาปริมาณ  $\beta$ -CD จะประยุกต์จากการวัดกิจกรรมเอนไซม์โดยใช้วิธี Phenolphthalein โดยปีเปตสารละลายตัวอย่างจำนวน 1 มล. ลงในหลอดทดลอง เติมสารละลาย working phenolphthalein จำนวน 4 มล. วัดค่าการดูดกลืนแสงทันทีที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร นำค่าดูดกลืนแสงที่วัดได้หักลบกับค่าการดูดกลืนแสงของหลอดควบคุมซึ่งใส่น้ำกรองแทนสารละลายตัวอย่าง ผลต่างของค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างกับหลอดควบคุมสามารถนำไปคำนวณหาปริมาณของ CD ได้โดยใช้กราฟมาตรฐานของ  $\beta$ -CD และมีค่า Coefficient of variation เท่ากับ  $\pm 8.02\%$

##### 4.9.2 การวิเคราะห์หาปริมาณไซโคลเด็กซ์ทรินโดยวิธี High performance liquid

Chromatography [HPLC] [ดัดแปลงจากวิธีของ Yang และ Su, 1989]

นำสารละลายตัวอย่างจำนวน 2 มล. ทำปฏิกิริยากับเอนไซม์  $\alpha$ -อะมิเลส 40 ยูนิต ที่อุณหภูมิ 55 °ซ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เพื่อย่อยแป้งที่เหลือจากการทำปฏิกิริยาไปเป็นกลูโคส นำส่วนใสที่ได้จากการปั่นแยกตะกอนไปวิเคราะห์ด้วย HPLC โดยใช้คอลัมน์

Lichrospher 100 NH<sub>2</sub> (250 มม. × 4 มม.) detector เป็นชนิด Refractive index และเฟสเคลื่อนที่เป็นสารละลายผสมระหว่าง อะซีโตรไนไตรล์ (CH<sub>3</sub>CN) และน้ำ ในอัตราส่วน 70:30 อัตราการไหล 1.5 มล.ต่อนาที มีดสารละลายตัวอย่างปริมาตร 20 ไมโครลิตร การวิเคราะห์ชนิดของ CD ในสารละลายตัวอย่าง โดยเปรียบเทียบเวลาที่อยู่ในคอลัมน์ (Retention time) กับสารละลาย CD มาตรฐานแต่ละชนิด และหาปริมาณ CD จากกราฟมาตรฐานของสารละลาย CD แต่ละชนิด

การวิเคราะห์โดยวิธี HPLC จะใช้ในการหาอัตราส่วนชนิดของ CD เพื่อเปรียบเทียบกันเฉพาะบางสภาวะเท่านั้น

#### 4.10 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวิซ์ [Yang และ Su, 1989]

การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวิซ์จะวัดในรูปของน้ำตาลกลูโคส การเก็บตัวอย่างจะเก็บในช่วงระยะเวลาเดียวกับการเก็บตัวอย่างเพื่อวัดสมบัติทางกายภาพ โดยนำสารละลายตัวอย่างจำนวน 0.5 มล. ผสมกับ Dinitrosalicylic acid reagent แล้วนำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นในน้ำเย็นเป็นเวลา 5 นาที ปรับปริมาตรสุดท้ายให้เป็น 5 มล. ด้วยน้ำกรองผสมให้เข้ากัน และวัดค่าการดูดกลืนแสงทันทีที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร ปริมาณของน้ำตาลกลูโคสหาได้จากกราฟมาตรฐานของกลูโคส โดยมีค่า Coefficient of variation เท่ากับ  $\pm 5.1\%$

## บทที่ 5

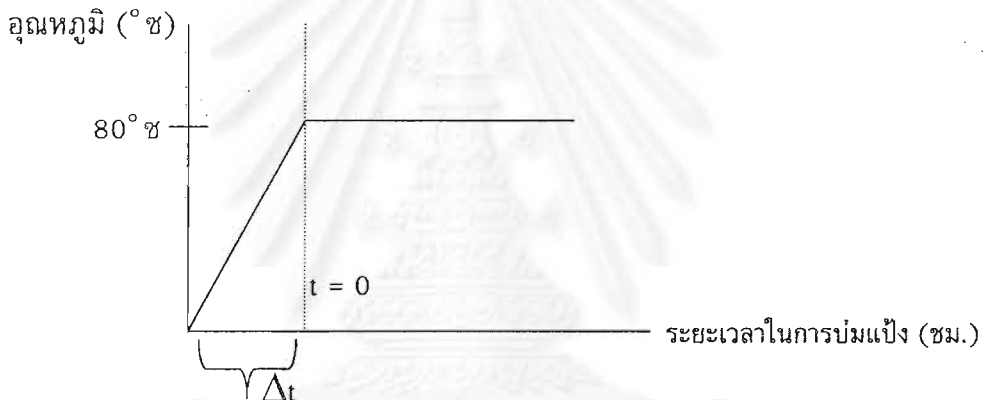
### ผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลอง

ดังที่ได้กล่าวไว้แล้วในบทที่ 2 ถึงการปฏิบัติ (treatment) ต่อเม็ดแป้งทั้งทางเคมี และทางกายภาพทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างภายในเม็ดแป้ง เป็นผลให้เม็ดแป้งแสดงสมบัติทางกายภาพที่ต่างไปจากเดิมซึ่งเป็นเม็ดแป้งดิบ จากการศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการผลิต CD จากแป้งที่ผ่านการเตรียมโดยวิธีทางกายภาพในรูปแบบต่างๆ เช่น การให้ความร้อนหรือการบดย่อยพบว่าขนาดของเม็ดแป้งและโครงสร้างภายในที่อ่อนตัวลงทำให้เอนไซม์ CGTase สามารถเข้าทำปฏิกิริยาได้ดีขึ้น จากการศึกษาการผลิต CD ในถังปฏิกรณ์แบบบดย่อยของ Lee และ Kim (1992) ที่ใช้การบดย่อยด้วยลูกแก้วไปพร้อมๆกับการผลิต CD รายงานว่า การบดย่อยด้วยลูกแก้วเป็นเวลา 12 ชม. ที่อุณหภูมิ  $45^{\circ}\text{C}$  ทำให้เม็ดแป้งข้าวโพดมีขนาดใหญ่ขึ้นประมาณเกือบ 2 เท่าของเม็ดแป้งข้าวโพดดิบ (ไม่ได้รายงานขนาดที่แน่นอนไว้) ซึ่งเป็นที่ทราบกันดีว่าในกรณีที่สารตั้งต้นไม่ละลายน้ำ อัตราการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์จะเพิ่มขึ้นตามพื้นที่ผิวของสารตั้งต้นที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากโมเลกุลของเอนไซม์สามารถเข้าทำปฏิกิริยาได้มากขึ้น แป้งที่เตรียมโดยใช้การบดรวมด้วยจึงสามารถผลิต CD ได้สูงกว่าแป้งข้าวโพดดิบที่ไม่มีการบดถึง 5 เท่า ที่ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา 30 ชม.

การให้ความร้อนแก่เม็ดแป้งเป็นอีกวิธีหนึ่งที่ทำให้เม็ดแป้งมีขนาดใหญ่ขึ้น Kim และคณะ (1995) ได้ทดลองผลิต CD จากแป้งข้าวโพดที่ผ่านการบ่มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ  $65^{\circ}\text{C}$  (ช่วงอุณหภูมิในการเกิดเจลลิตไนซ์ของแป้งข้าวโพด คือ  $62^{\circ}-72^{\circ}\text{C}$ ) พบว่าความร้อนจะทำให้เม็ดแป้งข้าวโพดดิบเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างเป็นแบบ reactive (โครงสร้างที่เหมาะสมสำหรับการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์) ซึ่งเอนไซม์สามารถเข้าทำปฏิกิริยาได้ การเปลี่ยนไปเป็นโครงสร้าง reactive นี้จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับระยะเวลาในการบ่มแป้ง การอ้างถึงโครงสร้าง reactive ในงานวิจัยของ Kim และคณะ เป็นเพียงการคาดเดาจากผลของอัตราการผลิต CD แรกเริ่ม (initial rate) ที่เพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการบ่มแป้งนานขึ้น โดยไม่ได้อธิบายว่าโครงสร้าง reactive คือการเปลี่ยนแปลงลักษณะของกายภาพของเม็ดแป้งในรูปแบบใด และโครงสร้าง reactive ทำให้อัตราการผลิตเพิ่มขึ้นได้อย่างไร

ดังนั้น เพื่อให้สามารถเข้าใจและอธิบายลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของเม็ดแป้ง ที่ส่งผลต่ออัตราการผลิต CD แรกเริ่มได้ งานวิจัยนี้จึงมุ่งประเด็นศึกษาไปที่ผลของการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของเม็ดแป้งที่มีต่ออัตราการผลิต CD แรกเริ่ม โดยการเตรียมแป้งมันสำปะหลังด้วยวิธีบ่มและบดที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ ซึ่งช่วงอุณหภูมิที่สนใจศึกษาจะเป็นช่วงอุณหภูมิในการเกิดเจลลิตไนซ์ของแป้งมันสำปะหลัง (ช่วงอุณหภูมิในการเกิดเจลลิตไนซ์ของแป้งมันสำปะหลังคือ  $59^{\circ}-69^{\circ}\text{C}$ ) คือระหว่าง  $60^{\circ}$  ถึง  $80^{\circ}\text{C}$  เนื่องจาก Gawande และคณะ (1999) รายงานว่าแป้งมันสำปะหลังเป็นสารตั้งต้นที่ดีที่สุดในการผลิต CD ในสถานะที่ถูกเจลลิตไนซ์เมื่อเทียบกับแป้งชนิดอื่นๆ ในงานวิจัยนี้จึงแบ่งการทดลองออก

เป็น 2 ส่วน คือ ส่วนแรกเป็นการเตรียมแป้งโดยวิธีการบ่มที่อุณหภูมิ  $60-80^{\circ}\text{C}$  เป็นระยะเวลา  $0-24$  ชม. และส่วนที่สองจะเป็นการเตรียมแป้งโดยวิธีการบด โดยช่วงอุณหภูมิที่ศึกษา คือ  $30-60^{\circ}\text{C}$  และระยะเวลาในการบดเป็น  $0-24$  ชม. การจับเวลาเริ่มบ่มหรือบดของการทดลองทั้ง 2 ส่วน กำหนดเวลาที่  $0$  ชม. เมื่อสารละลายแป้งมีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิที่ต้องการศึกษา ทำการทดลองโดยละลายแป้งมันสำปะหลังในสารละลายบัฟเฟอร์ที่อุณหภูมิห้อง แล้วจึงนำไปบ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิ รอให้สารแขวนลอยมีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิในอ่างควบคุมก่อนจึงจะเริ่มจับเวลาในการบ่ม ทั้งนี้เนื่องจากการผสมแป้งมันสำปะหลังในสารละลายบัฟเฟอร์ที่ร้อน (ที่อุณหภูมิที่ต้องการศึกษา) ในทันที จะทำให้เม็ดแป้งจับตัวกันเป็นก้อนและไม่สามารถควนผสมให้เข้ากันได้ ดังนั้นจะมีช่วงระยะเวลาประมาณ  $\Delta t$  นาที ที่ใช้ในการเพิ่มอุณหภูมิของสารละลายแป้งจากอุณหภูมิห้องจนถึงอุณหภูมิที่ต้องการศึกษา (ดูรูป 5.1 ประกอบ) ก่อนที่จะเริ่มจับเวลาการบ่มหรือบด



รูปที่ 5.1 แสดงช่วงอุณหภูมิที่เริ่มจับเวลาในการบ่มสารละลายแป้งมันสำปะหลัง

ดังนั้น ในช่วงเวลา  $\Delta t$  จึงเป็นช่วงเวลาในการให้ความร้อนแก่น้ำแป้ง ในช่วงเวลานี้ น้ำแป้งจะมีอุณหภูมิเพิ่มขึ้นตลอดเวลา เม็ดแป้งจะมีขนาดใหญ่ขึ้นตามอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น (ดูอัตราการเพิ่มขนาดตามอุณหภูมิในรูปที่ 5.8) อุณหภูมิบ่มที่แตกต่างกันจะทำให้อัตราการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิแตกต่างกันออกไป ซึ่งเป็นผลให้ช่วงเวลา  $\Delta t$  ของแต่ละอุณหภูมิบ่มแตกต่างกันด้วย ซึ่งเป็นผลให้ลักษณะทางกายภาพของเม็ดแป้งแตกต่างกันที่เวลาเริ่มต้น (ระยะเวลาบ่ม  $0$  ชม.) เช่น เม็ดแป้งที่ถูกบ่มที่อุณหภูมิ  $80^{\circ}\text{C}$  สารละลายจะมีอุณหภูมิเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ทำให้เม็ดแป้งจะพองตัวอย่างรวดเร็วและแตกออกภายในเวลา  $30$  นาที ก่อนถึงอุณหภูมิบ่ม ในขณะที่อุณหภูมิบ่ม  $60^{\circ}\text{C}$  จะไม่มีการแตกของเม็ดแป้งก่อนถึงอุณหภูมิบ่มเลย ระยะเวลาในการให้ความร้อนแก่น้ำแป้งที่อุณหภูมิบ่มต่าง ๆ แสดงไว้ตามตารางที่ 5.1 ซึ่งจะเห็นได้ว่าน้ำแป้งที่อุณหภูมิบ่มต่างกัน จะใช้ระยะเวลาในช่วงให้ความร้อนต่างกัน ดังนั้นลักษณะของเม็ดแป้งที่ภาวะเริ่มต้นบ่ม (ที่ระยะเวลาบ่ม  $0$  ชม.) จึงแตกต่างกันด้วย

ตารางที่ 5.1 ช่วงระยะเวลาในการให้ความร้อนที่อุณหภูมิบ่มต่าง ๆ กัน

อุณหภูมิที่ศึกษา (°ซ)	ระยะเวลาที่ใช้ในการให้ความร้อน (นาที)	อัตราการให้ความร้อน (heating rate) (°ซ/นาที)
60	20	1.5
65	30	1.2
70	40	1.0
75	50	0.9
80	60	0.8

สำหรับงานวิจัยนี้เป็นการศึกษาเพิ่มเติมจากงานวิจัยของ Kim และคณะ (1995) เพื่ออธิบายลักษณะโครงสร้าง reactive ให้ชัดเจนยิ่งขึ้น ด้วยการเก็บข้อมูลทางกายภาพของเม็ดแป้งมันสำปะหลัง ได้แก่ ร้อยละการละลาย กำลังการพองตัว ขนาดอนุภาคของเม็ดแป้ง ค่าความหนืดและสังเกตการเปลี่ยนแปลงลักษณะของเม็ดแป้งจากภาพถ่ายกล้องจุลทรรศน์และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ทั้งนี้ได้ทำการทดลองเพื่อเปรียบเทียบผลของลักษณะทางกายภาพและอัตราการผลิต CD ระหว่างการเตรียมแป้งโดยการบ่มและการบด

ฉะนั้น การวิเคราะห์ผลการทดลองในบทนี้ จะแยกวิเคราะห์เป็น 2 ส่วนหลัก ๆ คือ ส่วนของการบ่มแป้งและส่วนของการบดแป้ง ในแต่ละส่วนจะวิเคราะห์ผลของอุณหภูมิและเวลา ต่อลักษณะทางกายภาพของเม็ดแป้ง จากนั้นจะนำผลของลักษณะทางกายภาพของเม็ดแป้งในแต่ละสภาวะมาวิเคราะห์ร่วมกับผลของอัตราการผลิต CD ต่อไป โครงสร้างการวิเคราะห์ผลการทดลองในงานวิจัยนี้แสดงไว้ในรูปที่ 5.2

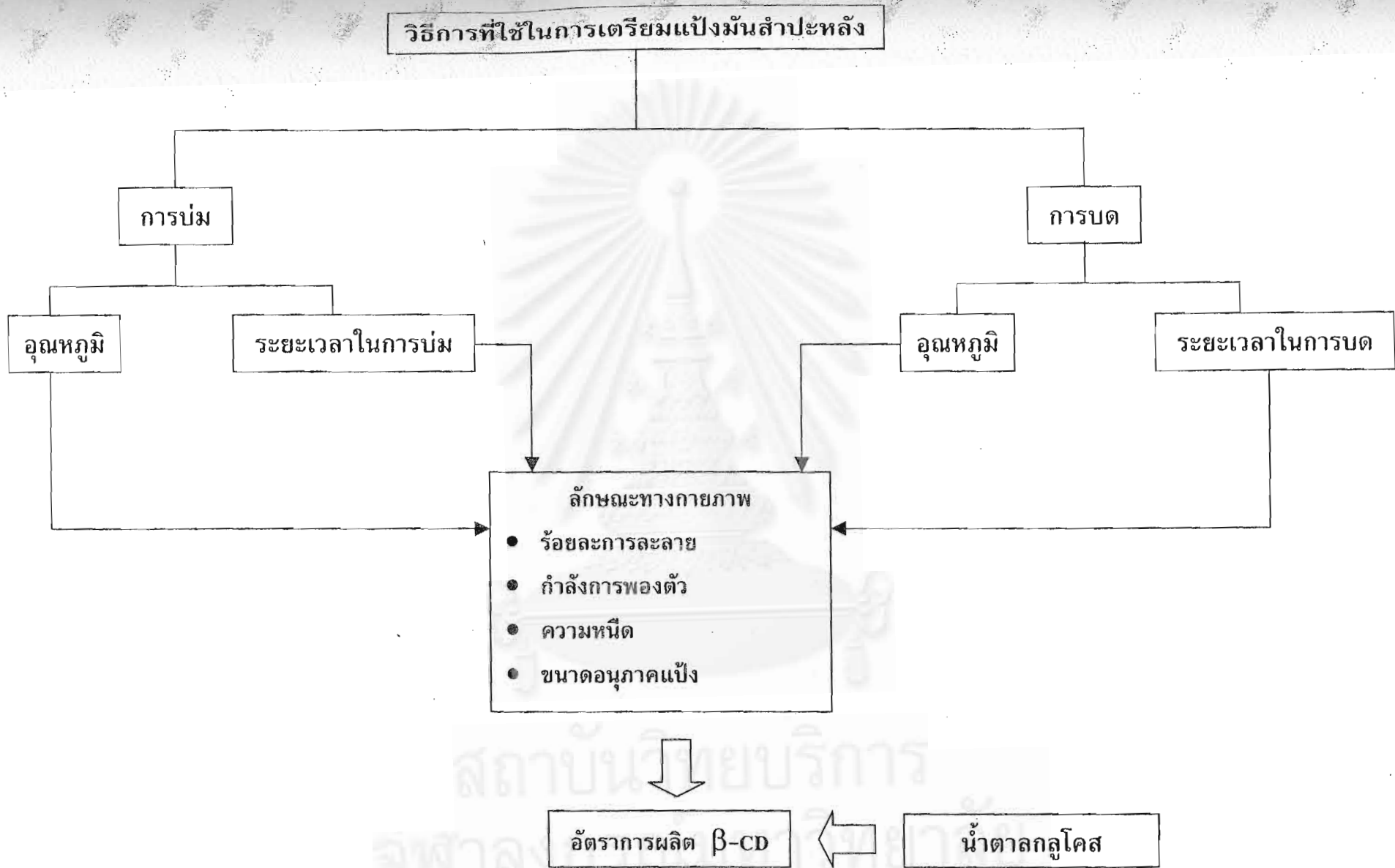
## 5.1 การเตรียมแป้งโดยวิธีการบ่ม

### 5.1.1 ผลของอุณหภูมิต่อสมบัติทางกายภาพของเม็ดแป้งมันสำปะหลัง

- ผลต่อกำลังการพองตัวและร้อยละการละลาย

ร้อยละการละลาย คือ ร้อยละของน้ำหนักของแป้งที่ละลายเมื่อเทียบกับน้ำหนักของแป้งแห้งที่อยู่ในตัวอย่างทั้งหมด ส่วนกำลังการพองตัว จะคิดเป็นจำนวนเท่าของน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับน้ำหนักของแป้งแห้งที่อยู่ในตัวอย่างซึ่งห้กน้ำหนักส่วนที่ละลายออกไปแล้ว แสดงเป็นสมการได้ดังนี้ [กล้าณรงค์ ศรีรอด และเกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ, 2543]

$$\text{ร้อยละการละลาย} = \frac{\text{น้ำหนักส่วนที่ละลาย} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างแห้ง}}$$

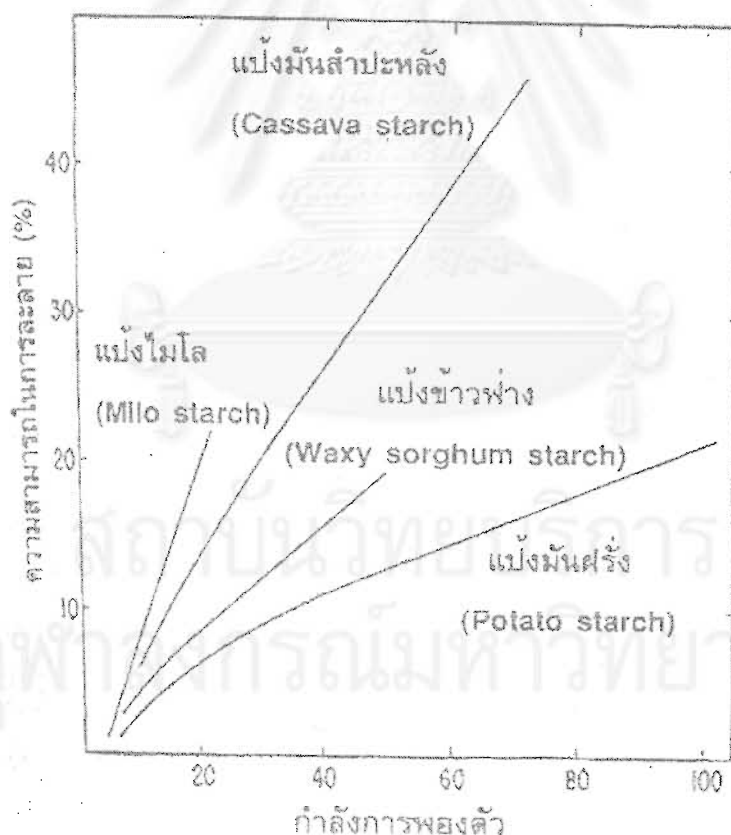


รูปที่ 5.2 โครงสร้างการวิเคราะห์ผลการทดลองในงานวิจัยนี้



$$\text{กำลังการพองตัว} = \frac{\text{น้ำหนักแป้งที่พองตัวแล้ว} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างแห้ง} \times (100 - \text{ร้อยละการละลาย})}$$

จากสมการจะพบว่าค่ากำลังการพองตัวและร้อยละการละลายมีความสัมพันธ์กัน เมื่อร้อยละการละลายเพิ่มขึ้นจะทำให้ค่ากำลังการพองตัวมากขึ้นตามไปด้วย แต่ความสัมพันธ์นี้จะจริงได้ก็ต่อเมื่อสภาวะที่ใช้ในการวัดค่าต้องไม่ทำให้เกิดการแตกของเม็ดแป้งระหว่างการบ่ม [กล้านรงค์ ศรีรอด และ เกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ, 2543] จากงานวิจัยของ Leach และคณะ (1959) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างกำลังการพองตัวและร้อยละการละลายโดยใช้ความเข้มข้นของแป้งมันสำปะหลังเท่ากับ 1% (โดยน้ำหนัก) บ่มที่อุณหภูมิ 65°, 75° และ 95° ซ เป็นเวลา 30 นาที กวนเบาๆตลอดระยะเวลาบ่ม (ความเร็วรอบไม่ได้ระบุไว้ชัดเจน) โดยพบว่าอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นทำให้กำลังการพองตัวและร้อยละการละลายเพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่ากำลังการพองตัวและร้อยละการละลายมีความสัมพันธ์กัน คือ เมื่อกำลังการพองตัวเพิ่มขึ้น ร้อยละการละลายจะมากขึ้นด้วย แสดงความสัมพันธ์ดัง รูปที่ 5.3



รูปที่ 5.3 ความสัมพันธ์ระหว่างกำลังการพองตัวและร้อยละการละลายของแป้งชนิดต่าง ๆ [Leach และคณะ (1959)]

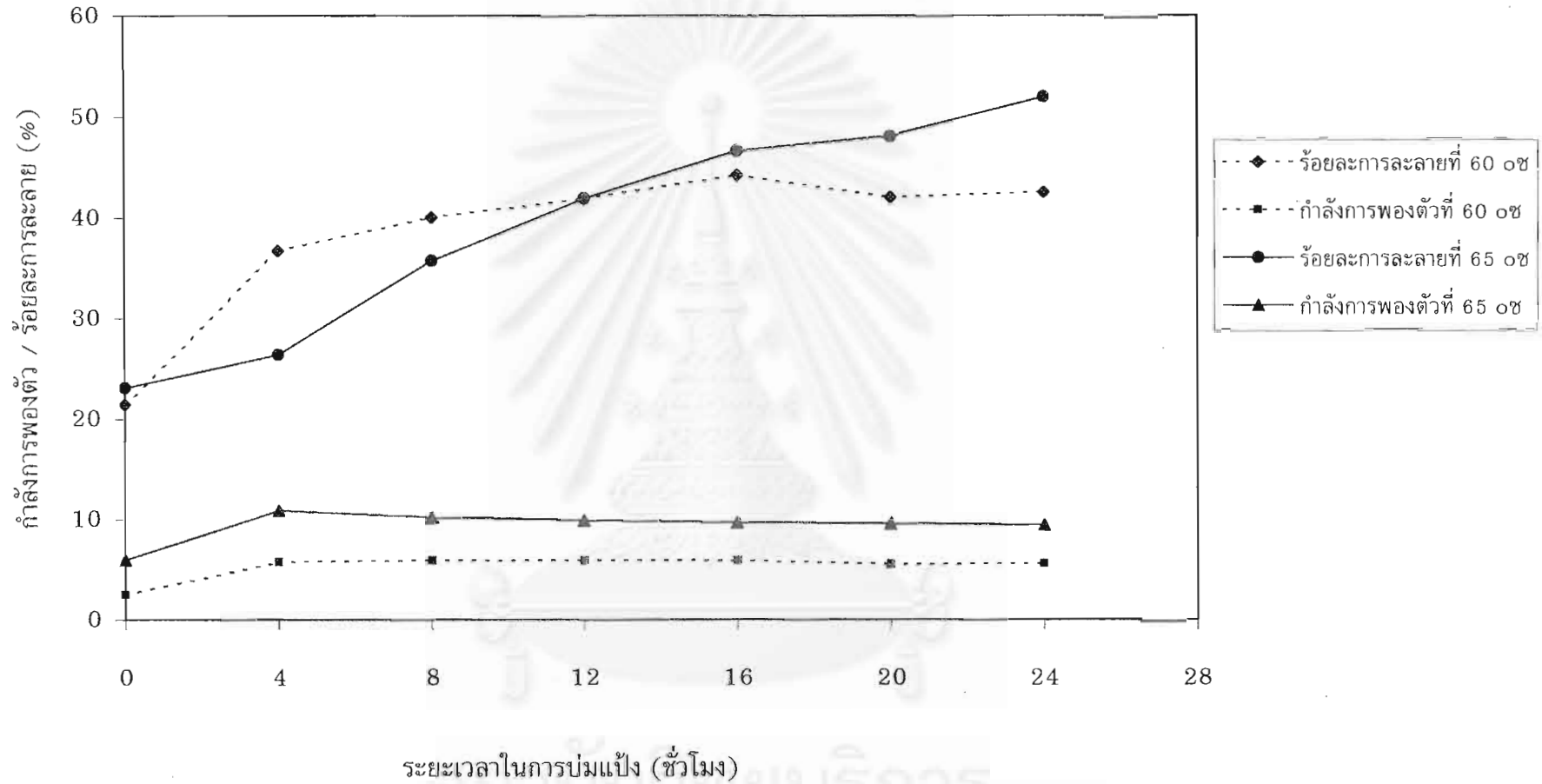
สำหรับในงานวิจัยนี้การวัดค่ากำลังการพองตัวและร้อยละการละลายของสารละลายแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% จะวัดค่าได้เฉพาะที่อุณหภูมิ 60 ° และ 65 °ซ เท่านั้น เนื่องจากสารละลายแป้งที่ถูกบ่มที่อุณหภูมิ 70 °, 75 ° และ 80 °ซ เป็นระยะเวลาเกินกว่า 30 นาที สารละลายแป้งจะแปรสภาพเป็นเจล มีลักษณะข้นและเหนียวเป็นเนื้อเดียวกัน จึงไม่สามารถปั่นแยกส่วนเม็ดแป้งที่ละลายและไม่ละลายได้ ดังนั้นจะทำการวิเคราะห์ค่ากำลังการพองตัวและร้อยละการละลายเฉพาะที่อุณหภูมิ 60 ° และ 65 °ซ เท่านั้น จากผลการทดลอง (รูปที่ 5.4) พบว่าเมื่อเปรียบเทียบที่ระยะเวลาในการบ่มเท่ากันการเพิ่มอุณหภูมิบ่มจาก 60° เป็น 65 °ซ ค่ากำลังการพองตัวจะเพิ่มขึ้นประมาณ 1.8 เท่า แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นทำให้เม็ดแป้งพองตัวและดูดน้ำเข้าไปภายในโมเลกุลได้ดีขึ้น จึงวัดค่ากำลังการพองตัวได้มากขึ้น ลักษณะเส้นกราฟของกำลังการพองตัวที่อุณหภูมิ 60° และ 65 °ซ มีลักษณะคล้ายๆกันคือจะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ดูตัวอย่างวิธีการคำนวณการตรวจสอบนัยสำคัญทางสถิติในภาคผนวก ค) ในช่วงการบ่มที่ 4 ชม.แรกและจะค่อนข้างคงที่หลังจากนั้น

เมื่อเปรียบเทียบร้อยละการละลายที่อุณหภูมิ 60° และ 65 °ซ จะเห็นได้ว่าในช่วง 12 ชม. แรกของการบ่ม ที่อุณหภูมิบ่ม 65 °ซ จะให้ร้อยละการละลายต่ำกว่าที่อุณหภูมิ 60 °ซ แต่เมื่อระยะเวลาในการบ่มมากกว่า 12 ชม. ที่อุณหภูมิบ่ม 65 °ซ จะให้ร้อยละการละลายต่ำกว่าที่อุณหภูมิ 60 °ซ จากผลดังกล่าวจึงไม่สามารถระบุได้ว่าการเพิ่มอุณหภูมิจะมีแนวโน้มทำให้ร้อยละการละลายเพิ่มขึ้นหรือลดลง ทั้งนี้เนื่องจากลักษณะของสารละลายแป้งที่อุณหภูมิทั้งสองนี้มีความแตกต่างกัน อนุภาคเม็ดแป้งที่บ่มที่อุณหภูมิ 60 °ซ ยังไม่มีการแตกของอนุภาคหรือมีการแตกของอนุภาคน้อยมาก (ดูรูปที่ 5.6 ขนาดเม็ดแป้งที่อุณหภูมิ 60 °ซ จะลดลงเล็กน้อย คือประมาณ 10%) ทำให้การเปรียบเทียบกันทำได้ยาก

#### ● ผลต่อค่าความหนืด

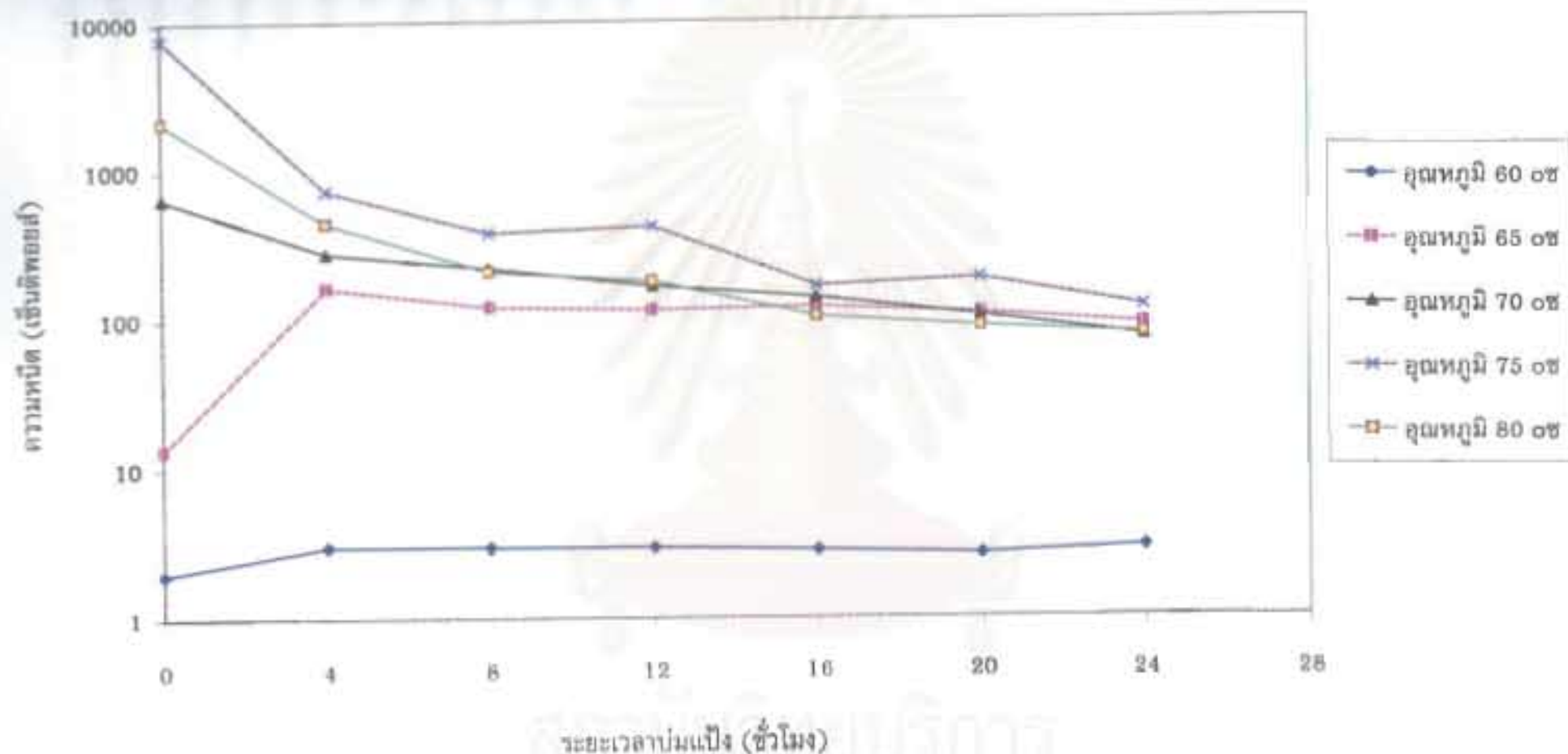
ในการวัดค่าความหนืดของสารละลายแป้งมันสำปะหลังที่อุณหภูมิบ่มต่างๆ เมื่อเปรียบเทียบค่าความหนืดที่ระยะเวลาการบ่มเท่ากันจะพบว่าอุณหภูมิบ่มที่สูงกว่าจะให้ค่าความหนืดสูงกว่าด้วย (รูปที่ 5.5) ที่อุณหภูมิบ่ม 60 °ซ จะให้ค่าความหนืดน้อยที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับที่อุณหภูมิ 65 °, 70 °, 75 ° และ 80 °ซ โดยที่ระยะเวลาบ่ม 0 ชม. จะวัดค่าความหนืดได้เท่ากับ 1.9 เซ็นติพอยส์ ในขณะที่อุณหภูมิ 75 °ซ จะให้ค่าความหนืดสูงที่สุดถึง 7,700 เซ็นติพอยส์ ที่ระยะเวลาบ่ม 0 ชม. (มากกว่าที่อุณหภูมิ 60 °ซ ถึง 3,000 เท่า) ซึ่งค่าความหนืดสูงกว่าที่อุณหภูมิ 80 °ซ ทั้งนี้เนื่องจากแป้งมันสำปะหลังจะให้ค่าความหนืดสูงสุดในสภาวะที่เป็นเจลที่อุณหภูมิ 71 °ซ (ที่ความเข้มข้น 5%) [McWilliams, 1997] แต่ในการทดลองใช้แป้งที่มีความเข้มข้น 7% ซึ่งอาจจะเป็นผลให้ความหนืดสูงสุดวัดได้อยู่ที่อุณหภูมิ 75 °ซ

ค่าความหนืดจะมีความแตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัดที่ระยะเวลาในการบ่ม 0 ชม. แต่เมื่อระยะเวลาในการบ่มเพิ่มเป็น 4 ชม. แป้งที่ถูกบ่มที่อุณหภูมิตั้งแต่ 65 °ซ ขึ้นไป จะมีความแตกต่างของค่าความหนืดลดลง โดยเมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าความหนืดที่อุณหภูมิ 65 °ซ กับ 75 °ซ ที่ระยะเวลาบ่ม 0 ชม. จะมีค่าความหนืดแตกต่างกัน



รูปที่ 5.4 กำลังการพองตัวและร้อยละการละลายของแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร)

ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 ที่อุณหภูมิบ่ม 60° และ 65°ซ ความเร็วรอบในการกวน 450 รอบต่อนาที



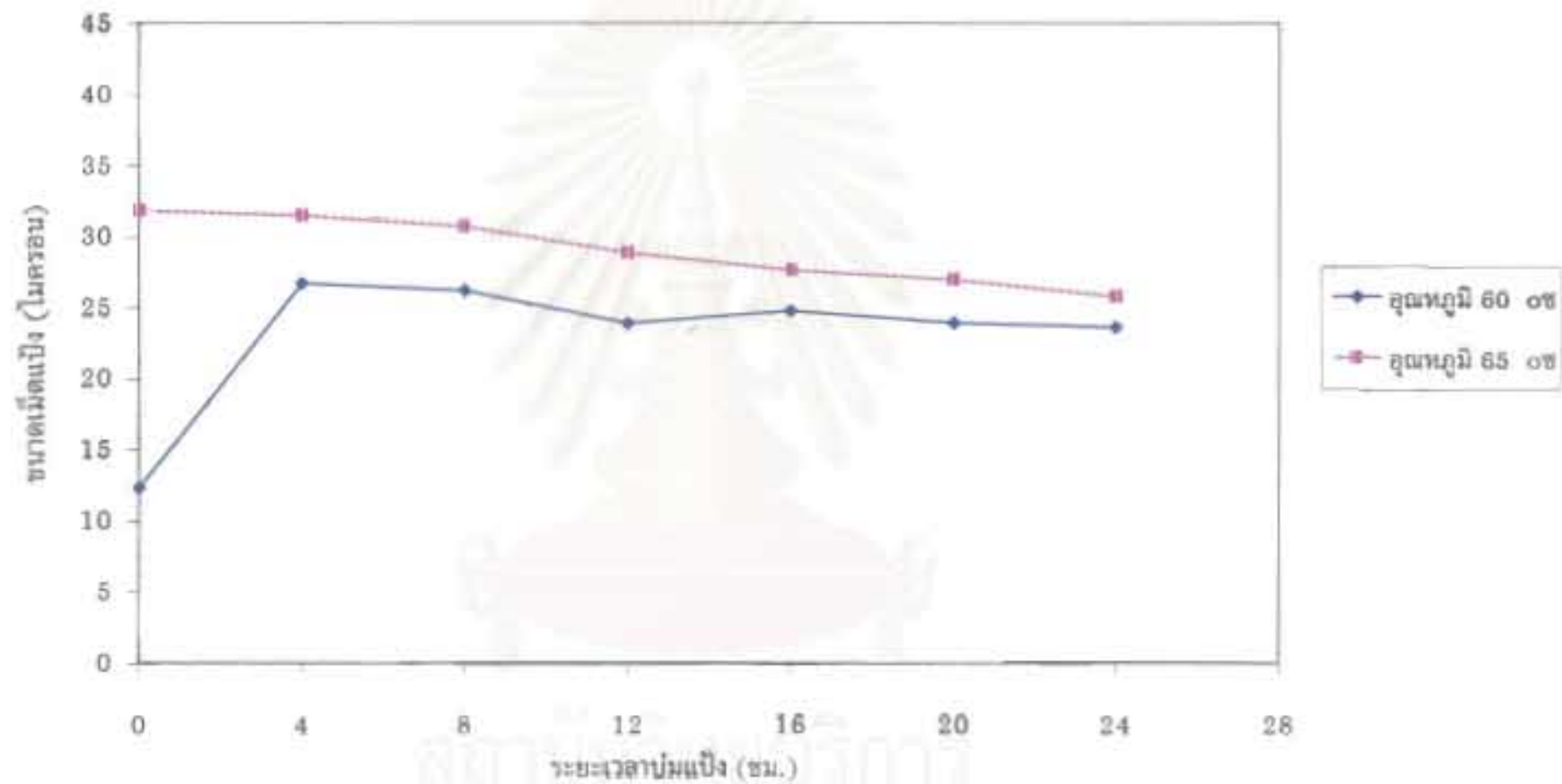
รูปที่ 5.5 ความหนืดของน้ำเบิ่งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร)  
 ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 ที่อุณหภูมิและเวลาบ่มต่างๆกัน

ประมาณ 7000 เซ็นติพอยส์ แต่เมื่อระยะเวลาบ่มผ่านไป 4 ชม. ความแตกต่างของค่าความหนืดจะลดลงเป็น 560 เซ็นติพอยส์ ซึ่งลดลงประมาณ 92% ของค่าความหนืดแตกต่างที่เวลาบ่ม 0 ชม. ค่าความหนืดที่อุณหภูมิบ่มตั้งแต่ 65 °ซ ขึ้นไป จะมีความแตกต่างกันน้อยที่สุดเมื่อระยะเวลาบ่มเป็น 24 ชม. โดยมีค่าความแตกต่างของความหนืดลดลงประมาณ 97% ของค่าความหนืดแตกต่างที่เวลาบ่ม 0 ชม. แม้ว่าค่าความหนืดจะเพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิที่บ่ม แต่การแตกของเม็ดแป้งที่พองตัวในระหว่างการบ่มจะทำให้ค่าความหนืดลดลงเมื่อระยะเวลาบ่มนานขึ้นและเป็นผลให้ค่าความแตกต่างของความหนืดที่อุณหภูมิต่างๆลดลงด้วย ลักษณะการลดลงของความหนืดจะคล้ายรูปที่ 2.14

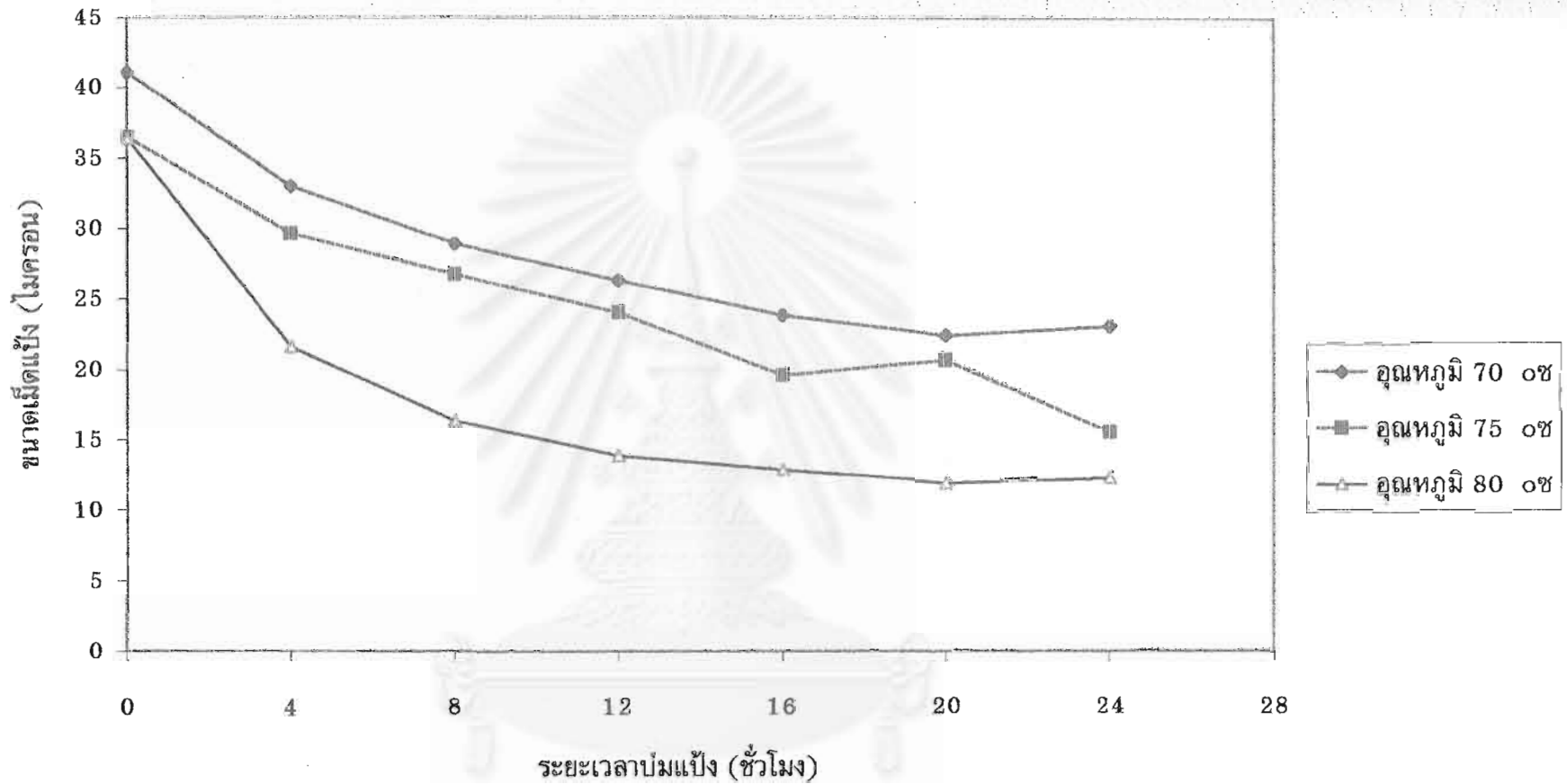
● ผลต่อขนาดของเม็ดแป้งมันสำปะหลัง

โดยทั่วไปอนุภาคแป้งมันสำปะหลังมีขนาดตั้งแต่ 5-35 ไมครอน [Manigat และ Sebi, 1992 อ้างถึงใน กล้านรงค์ ศรีรอต และ เกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ, 2543] สำหรับเม็ดแป้งมันสำปะหลังดิบที่ใช้ในงานวิจัยนี้วัดขนาดเฉลี่ยได้ประมาณ 10.5 ไมครอน การเพิ่มอุณหภูมิในการบ่มจะทำให้เม็ดแป้งพองตัวมีขนาดใหญ่ขึ้นกว่าเดิมหลายเท่า ที่อุณหภูมิบ่ม 60 °ซ และระยะเวลาบ่ม 0 ชม. เม็ดแป้งจะตัวพองมีขนาดใหญ่ขึ้น (รูปที่ 5.6) กว่าเม็ดแป้งดิบประมาณ 1.2 เท่า แต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิบ่มเป็น 65 °ซ ขนาดของเม็ดแป้งจะใหญ่กว่าเม็ดแป้งดิบมากถึง 3 เท่า

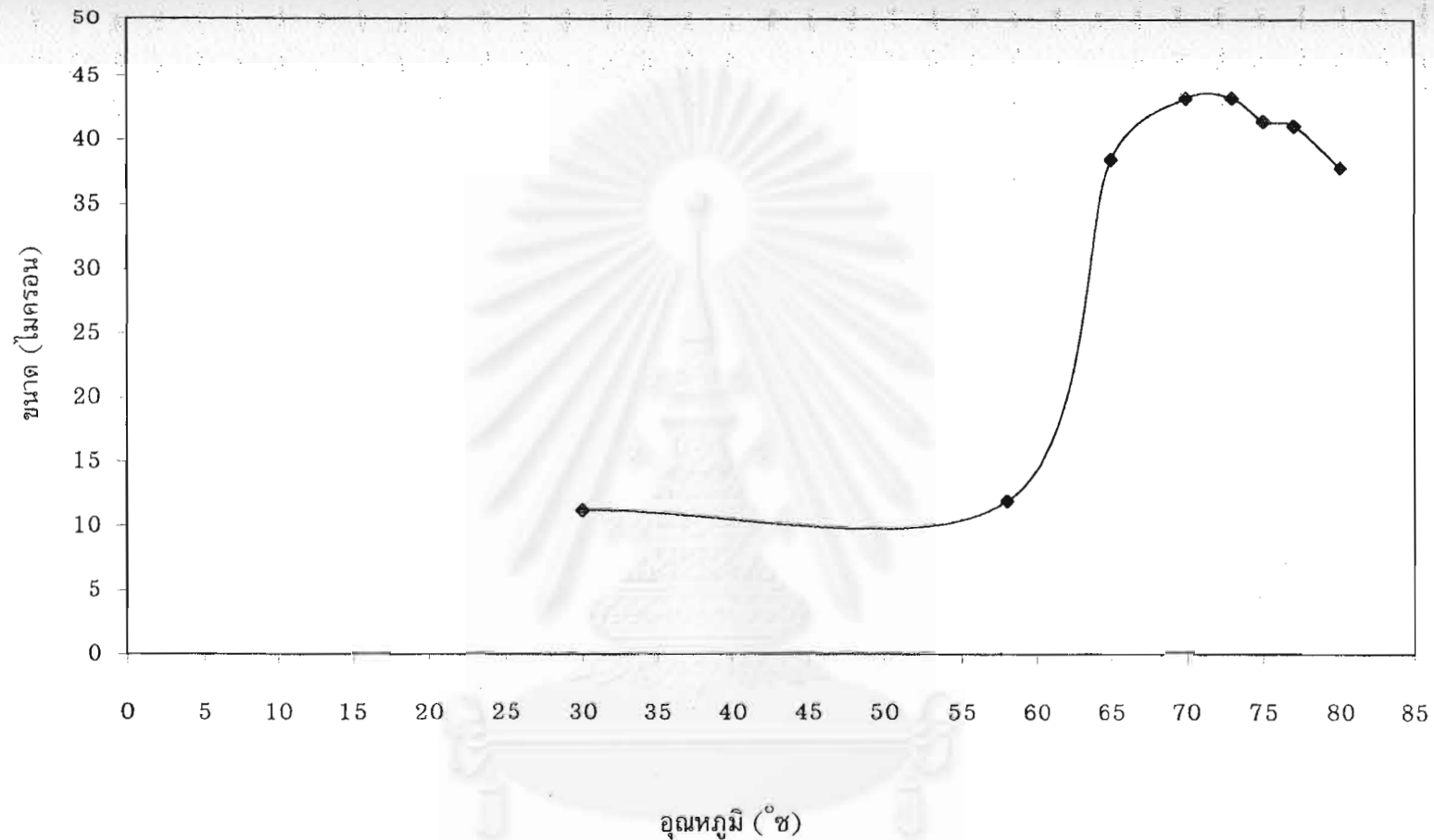
ในทางกลับกัน ที่อุณหภูมิบ่ม 70°, 75° และ 80 °ซ (รูปที่ 5.7) กลับให้ผลของขนาดที่ระยะเวลาบ่มเท่ากันตรงกันข้ามกับผลของที่อุณหภูมิ 60 °ซ และ 65 °ซ โดยขนาดของเม็ดแป้งที่ระยะเวลาบ่ม 0 ชม. และอุณหภูมิบ่ม 70 °ซ จะมีขนาดประมาณ 41 ไมครอน ในขณะที่อุณหภูมิบ่มเป็น 75° และ 80°ซ เม็ดแป้งมีขนาดเฉลี่ยที่ค่าเดียวกันคือประมาณ 36 ไมครอน แต่เนื่องจากในการทดลองจะเริ่มจับเวลาบ่มก็ต่อเมื่อน้ำแป้งมีอุณหภูมิเท่ากับอ่างควบคุม โดยไม่ได้วัดขนาดในช่วงก่อนถึงอุณหภูมิบ่ม จึงสันนิษฐานว่าขนาดของเม็ดแป้งที่ถูกบ่มที่อุณหภูมิ 75° และ 80°ซ จะมีขนาดเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วและแตกออกเนื่องจากแรงเฉือนและพลังงานความร้อนก่อนถึงระยะเวลาบ่ม 0 ชม. ขนาดที่วัดได้จึงเล็กกว่าที่อุณหภูมิบ่ม 70 °ซ เพื่อตรวจสอบข้อสันนิษฐานนี้ จึงได้ทำการทดลองบ่มแป้งที่อุณหภูมิ 80°ซ และทำการวัดขนาดทันทีเมื่อเริ่มบ่ม พบว่าขนาดของเม็ดแป้งเปลี่ยนแปลงน้อยมากเมื่อเพิ่มอุณหภูมิจาก 30 °ซ ไปที่ 57 °ซ (ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ) โดยเม็ดแป้งมีขนาดประมาณ 10-10.5 ไมครอน (รูปที่ 5.8) แต่เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นจาก 55 °ซ เป็น 65 °ซ ขนาดของเม็ดแป้งจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจนมีขนาดประมาณ 40 ไมครอน เม็ดแป้งจะมีขนาดใหญ่ที่สุดเมื่ออุณหภูมิบ่มถึง 70 °ซ คือมีขนาดประมาณ 43 ไมครอน จากนั้นขนาดของเม็ดแป้งจะลดลงอย่างต่อเนื่องจนถึงอุณหภูมิ 80 °ซ เม็ดแป้งจะมีขนาดเฉลี่ยประมาณ 38 ไมครอน ซึ่งเป็นขนาดที่ใกล้เคียงกับที่วัดได้ที่ระยะเวลาบ่ม 0 ชม. ทำให้แน่ใจได้ว่าเม็ดแป้งมีการแตกก่อนถึงอุณหภูมิบ่ม 75° และ 80°ซ จริง



รูปที่ 5.6 ขนาดเฉลี่ยของเม็ดแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 ที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 60° และ 65 °ซ ความเร็วรอบ 450 รอบต่อนาที จากการวัดด้วยเครื่อง Particle Analyzer



รูปที่ 5.7 ขนาดเฉลี่ยของเม็ดแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 ที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 70, 75 และ 80 °ซ ความเร็วรอบ 450 รอบต่อนาที จากการวัดด้วยเครื่อง Particle Analyzer



รูปที่ 5.8 ขนาดเฉลี่ยของเม็ดแอสฟัลต์สำหรับเปลี่ยนไปเมื่อให้ความร้อนแก่สารละลาย  
 แอสฟัลต์จากอุณหภูมิ 30 °C ต่อเนื่องไปจนถึง 80 °C จากการวัดด้วยเครื่อง Particle analyzer

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

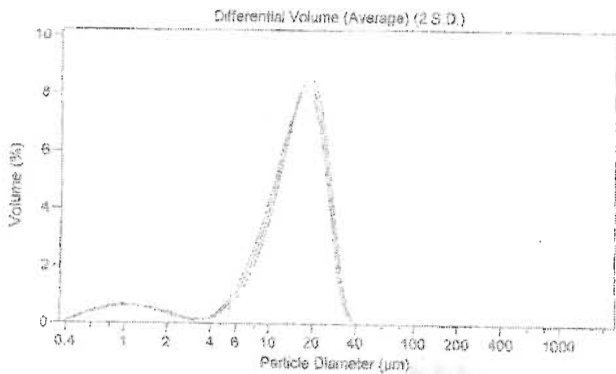


จากการสังเกตลักษณะการเปลี่ยนแปลงของขนาดที่วัดได้จากเครื่อง Particle Analyzer (รูปที่ 5.9) ซึ่งรายงานผลของขนาดอนุภาคเป็นแบบร้อยละโดยปริมาตร (หมายถึง อนุภาคขนาดนั้น ๆ มีปริมาตรคิดเป็นร้อยละเท่าใดของปริมาตรทั้งหมด) พบว่าเม็ดแป้งดิบที่อุณหภูมิห้องจะปรากฏเป็นสองขนาด (ให้กราฟลักษณะเป็นสองยอด) แต่เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นเป็น  $60^{\circ}\text{C}$  พบว่าขนาดเม็ดแป้งเปลี่ยนแปลงน้อยมาก (วัดขนาดได้ประมาณ 12 ไมครอน) และยังมีสองขนาดเช่นเดิม เมื่อเพิ่มอุณหภูมิต่อไปจนถึง  $70^{\circ}\text{C}$  ขนาดของเม็ดแป้งที่วัดได้จะมีขนาดเฉลี่ยประมาณ 43 ไมครอน และปรากฏเพียงขนาดเดียว แสดงว่าอนุภาคขนาดเล็กที่พบในตอนแรก เกิดการพองตัวมีขนาดใหญ่ขึ้น ดังนั้นขนาดที่วัดจึงไม่ปรากฏอนุภาคขนาดเล็กอยู่แล้ว ขนาดเม็ดแป้งที่รายงานในงานวิจัยนี้เป็นค่าเฉลี่ยของขนาดอนุภาคที่ได้จากการคำนวณของเครื่อง Particle Analyzer

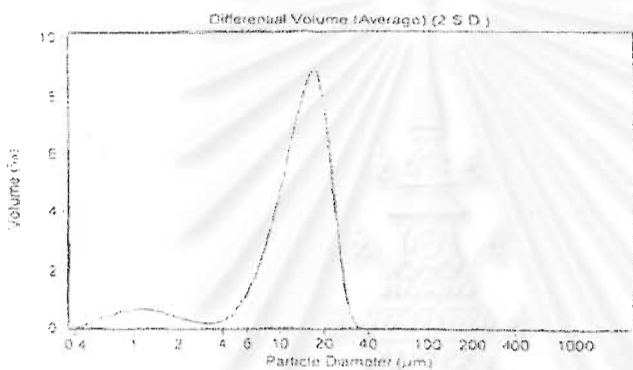
### 5.1.2 ผลของระยะเวลาในการบ่มต่อสมบัติทางกายภาพของเม็ดแป้งมันสำปะหลัง

- ผลต่อกำลังการพองตัวและร้อยละการละลาย

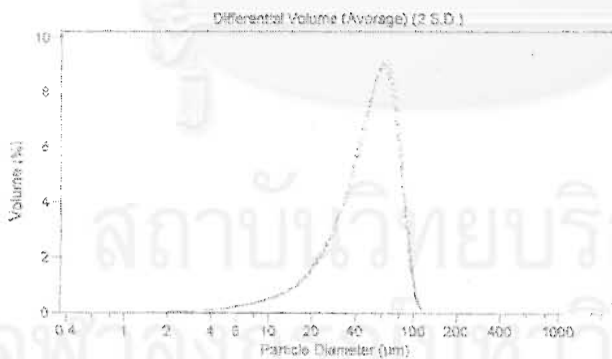
จากรูปที่ 5.4 เมื่อเปรียบเทียบกำลังการพองตัวที่อุณหภูมิ  $60^{\circ}\text{C}$  จะเห็นได้ว่ากำลังการพองตัวจะเพิ่มขึ้นจาก 2 เป็น 5 ในช่วง 4 ชม. แรก เป็นการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ดูตัวอย่างวิธีการคำนวณการตรวจสอบนัยสำคัญทางสถิติในภาคผนวก ค) และหลังจากชั่วโมงบ่มที่ 4 จะมีค่าค่อนข้างคงที่ แนวโน้มของกำลังการพองตัวตามระยะเวลาบ่มที่อุณหภูมิบ่ม  $60^{\circ}\text{C}$  และ  $65^{\circ}\text{C}$  จะมีลักษณะคล้ายกันเฉพาะในช่วง 4 ชม. แรก เพราะหลังจากนั้นการบ่มที่อุณหภูมิ  $60^{\circ}\text{C}$  จะค่อนข้างคงที่ แต่การบ่มที่  $65^{\circ}\text{C}$  จะค่อย ๆ ลดลงที่ละน้อยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อพิจารณาร้อยละการละลายที่อุณหภูมิ  $60^{\circ}\text{C}$  จะพบว่าเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนถึงอุณหภูมิบ่มที่ 8 ชม. และหลังจากนั้นจะค่อนข้างคงที่ (ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ) ส่วนร้อยละการละลายที่อุณหภูมิ  $65^{\circ}\text{C}$  จะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องตามระยะเวลาการบ่มที่เพิ่มขึ้น จะเห็นได้ว่ากำลังการพองและร้อยละการละลายที่อุณหภูมิบ่ม  $60^{\circ}\text{C}$  นั้นยังคงมีความสอดคล้องกัน ตามที่ Leach และคณะ (1959) รายงานไว้ แต่เมื่ออุณหภูมิบ่มเพิ่มเป็น  $65^{\circ}\text{C}$  การลดลงของกำลังการพองตัวไม่มีผลทำให้ร้อยละการละลายลดลงไปด้วย แต่ร้อยละการละลายกลับเพิ่มขึ้นตามเวลาบ่ม เพราะที่อุณหภูมิ  $65^{\circ}\text{C}$  เม็ดแป้งมีการแตกทำให้วัดค่ากำลังการพองตัวได้น้อยกว่าความเป็นจริง [กล้าณรงค์ ศรีรอด และเกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ, 2543] ข้อมูลที่ยืนยันการแตกของอนุภาคได้ดีนั้นคือข้อมูลการลดลงของขนาดเม็ดแป้งที่อุณหภูมิบ่ม  $65^{\circ}\text{C}$  (ดูรูปที่ 5.6 ประกอบ) ซึ่งการแตกของเม็ดแป้งทำให้โมเลกุลของอะมิโลสและอะมิโลเพกทินที่อยู่ในเม็ดแป้งละลายออกมาได้มากขึ้น



(ก)



(ข)



(ค)

รูปที่ 5.9 ลักษณะการกระจายตัวของขนาดเม็ดแป้งมันสำปะหลัง 7% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 ความเร็วรอบ 450 รอบต่อนาที ที่ระยะเวลาในการบ่ม 0 ชม. และอุณหภูมิบ่มต่างกัน ที่วัดจากเครื่อง Particle Analyzer

- (ก) เม็ดแป้งมันสำปะหลังดิบที่อุณหภูมิห้อง (30 °ซ)
- (ข) เม็ดแป้งมันสำปะหลังที่อุณหภูมิบ่ม 60 °ซ
- (ค) เม็ดแป้งมันสำปะหลังที่อุณหภูมิบ่ม 70 °ซ

- ผลต่อค่าความหนืด

การบ่มสารละลายแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% ในอ่างควบคุมอุณหภูมิพบว่า ที่อุณหภูมิ 60 °ซ (รูปที่ 5.5) ค่าความหนืดที่วัดได้ตามระยะเวลาที่บ่มมีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก เนื่องจากอุณหภูมิบ่มที่ค่อนข้างต่ำ เม็ดแป้งจึงพองตัวได้ไม่มากนัก ปริมาณน้ำที่อยู่รอบๆเม็ดแป้งยังคงเหลืออยู่จำนวนมากเมื่อเทียบกับปริมาณน้ำที่เม็ดแป้งดูดเข้าไปเพื่อใช้ในการพองตัว แต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการบ่มแป้งเป็น 65 °ซ ค่าความหนืดจะเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัดในช่วง 4 ชม. แรกของการบ่ม ซึ่งสัมพันธ์กับกำลังการพองตัวที่เพิ่มขึ้นในช่วงระยะเวลาบ่ม 4 ชม. แรก แสดงให้เห็นว่าเม็ดแป้งดูดน้ำจำนวนมากเข้าไปเพื่อใช้ในการพองตัว ปริมาณน้ำที่อยู่รอบๆเม็ดแป้งลดลง (ดูรูปที่ 2.12 ประกอบ) ความหนืดจึงเพิ่มขึ้น การแตกของเม็ดแป้งภายหลัง 4 ชม. ทำให้ความหนืดลดลงเล็กน้อย

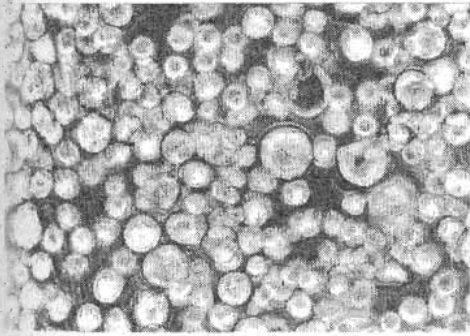
สำหรับที่อุณหภูมิบ่ม 70 °, 75 ° และ 80 °ซ ซึ่งเป็นอุณหภูมิบ่มที่ค่อนข้างสูงน้ำแป้งจะแปรสภาพเป็นเจลเมื่อถูกให้ความร้อนจนถึงอุณหภูมิบ่มที่ตั้งไว้ จากการสังเกตพบว่าความหนืดของสารละลายแป้งจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงเวลา ก่อนถึงอุณหภูมิบ่ม เมื่อเม็ดแป้งพองตัวเต็มที่ จะให้ค่าความหนืดสูงสุด (Peak viscosity) การเพิ่มอุณหภูมิหรือระยะเวลาในการบ่มต่อไปจะทำให้เม็ดแป้งแตกออก ความหนืดจึงเริ่มลดลงตามระยะเวลาบ่มและมีแนวโน้มเข้าสู่ค่าคงที่เมื่อระยะเวลาในการบ่มนานเกิน 4 ชม.

- ผลต่อขนาดของเม็ดแป้งมันสำปะหลัง

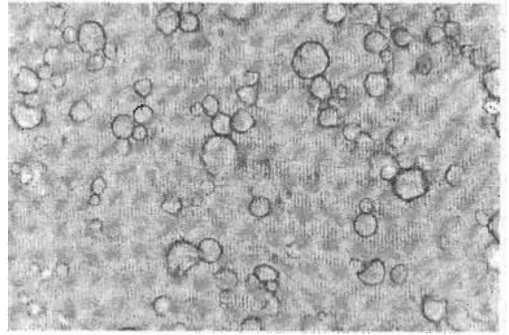
ลักษณะของเส้นกราฟที่ได้จากการบ่มที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่าง ๆ สามารถแบ่งพิจารณาได้ 2 ลักษณะ คือที่อุณหภูมิบ่ม 60 °ซ และที่อุณหภูมิบ่มสูงกว่า 60 °ซ สำหรับที่อุณหภูมิบ่ม 60 °ซ การเปลี่ยนแปลงของขนาดจะแตกต่างกับที่อุณหภูมิสูง เนื่องจากที่อุณหภูมินี้เม็ดแป้งจะพองตัวได้เต็มที่และมีขนาดสูงสุด 27 ไมครอน ที่ระยะเวลาบ่ม 4 ชม. และจะลดลงอย่างต่อเนื่องตามระยะเวลาบ่ม ขนาดจะเริ่มคงที่ที่ระยะเวลาบ่มเป็น 12 ชม. ซึ่งวัดขนาดอนุภาคเฉลี่ยได้ประมาณ 23.5 ไมครอน ลดลงจากขนาดสูงสุดประมาณ 10% จากข้อมูลของขนาดทำให้ทราบว่าที่อุณหภูมิบ่ม 60 °ซ ก็มีการแตกของอนุภาคเม็ดแป้งเช่นกัน แต่การลดลงของขนาดจะมีแนวโน้มเข้าสู่ค่าคงที่ค่าหนึ่ง แสดงว่าเม็ดแป้งจะไม่แตกเพิ่มอีกแม้จะเพิ่มระยะเวลาบ่มต่อไป ทั้งนี้อาจเป็นเพราะขนาดที่เข้าสู่ค่าคงที่นี้เล็กเกินกว่าที่แรงเฉือนหรือพลังงานความร้อนจะมีผลทำให้อนุภาคเม็ดแป้งแตกได้ ส่วนแนวโน้มของขนาดเม็ดแป้งมันสำปะหลังที่อุณหภูมิบ่มตั้งแต่ 65 °ซ เป็นต้นไป จะมีลักษณะคล้ายกันคือขนาดจะลดลงตามระยะเวลาบ่ม โดยที่อุณหภูมิบ่มที่สูงกว่าจะมีแนวโน้มการลดลงของขนาดสูงกว่า เนื่องจากที่อุณหภูมิสูงเม็ดแป้งจะขยายขนาดอย่างรวดเร็ว ทำให้เกิดการแตกของเม็ดแป้งเนื่องจากพลังงานความร้อนและแรงเฉือนของใบกวนมากกว่าที่อุณหภูมิต่ำ

Garcia และคณะ (1997) รายงานว่าที่อุณหภูมิ 88 °ซ สารละลายแป้งมันสำปะหลังจะแปรสภาพเป็นเจล มีความเป็นเนื้อเดียวกันมากขึ้น เนื่องจากเม็ดแป้งที่พองตัวถูกทำลายเกือบทั้งหมดทำให้การสังเกตลักษณะของแต่ละอนุภาคทำได้ยาก แต่ยังคงพบอนุภาคของเม็ดแป้งดิบขนาดเล็กอยู่บ้างเล็กน้อย (ประมาณ 9%) โดยเม็ดแป้งขนาดใหญ่ที่สุดที่พบมีขนาดเฉลี่ยประมาณ 7 ไมครอน ดังนั้นขนาดของอนุภาคที่วัดได้จากการบ่มสารละลายแป้งมันสำปะหลังที่อุณหภูมิ 70°, 75° และ 80°ซ ที่ระยะเวลาบ่มต่างๆ จึงน่าจะเป็นขนาดของเม็ดแป้งที่หลงเหลือจากการถูกทำให้แตกโดยความร้อนและแรงเฉือน เนื่องจากขนาดเม็ดแป้งที่วัดได้ที่อุณหภูมิบ่ม 80 °ซ และระยะเวลาบ่ม 24 ชม. มีขนาดประมาณ 12 ไมครอน ซึ่งใกล้เคียงกับเม็ดแป้งมันสำปะหลังดิบมาก (แป้งดิบมีขนาด 10.5 ไมครอน)หรือกล่าวได้ว่าเป็นเม็ดแป้งที่หลงเหลือจากการเจลาติไนซ์ที่ไม่สมบูรณ์มากกว่าที่จะเป็นขนาดของเศษชิ้นส่วนของเม็ดแป้งที่แตกออก

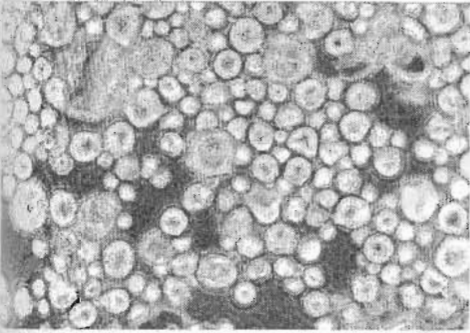
การแตกของเม็ดแป้งที่อุณหภูมิ 60°ซ จะแตกต่างกับการแตกของอนุภาคเม็ดแป้งที่อุณหภูมิสูงอย่างมาก เนื่องจากที่อุณหภูมิต่ำมีการเปลี่ยนแปลงของขนาดน้อยมาก ภาพถ่ายเม็ดแป้งจากกล้องจุลทรรศน์ที่ระยะเวลาบ่มต่างๆจึงมีขนาดและลักษณะใกล้เคียงกัน (รูปที่ 5.10) เมื่อเพิ่มอุณหภูมิบ่มให้สูงขึ้นเป็น 65 °ซ จะพบอนุภาคเม็ดแป้งในจำนวนน้อยลงตามระยะเวลาบ่มที่เพิ่มขึ้นเนื่องจากเม็ดแป้งบางส่วนถูกเจลาติไนซ์กลายเป็นเจลที่มีเนื้อเดียวกัน จากการตรวจสอบคุณภาพเม็ดแป้งที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 60°ซ จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนพบว่าเม็ดแป้งบางส่วนที่ถูกตัดทำลายเนื่องจากการกวน การแตกของเม็ดแป้งจะมีลักษณะเป็นเศษชิ้นส่วนเล็กๆ (รูปที่ 5.11) อยู่อย่างอิสระไม่รวมกันเป็นกลุ่มก้อน ขนาดที่วัดได้จึงน่าจะเป็นขนาดที่เกิดจากการแตกของอนุภาคเม็ดแป้งเป็นชิ้นเล็กๆ ส่วนอนุภาคเม็ดแป้งที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิสูงกว่า 60 °ซ สารละลายแป้งจะเริ่มแปรสภาพมีลักษณะเป็นเจล และเป็นเนื้อเดียวกันมากขึ้น ทำให้การสังเกตลักษณะของเม็ดแป้งที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิสูงไม่สามารถเห็นรายละเอียดได้จากกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา (รูปที่ 5.12) จึงต้องอาศัยการสังเกตจากภาพถ่ายกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน จากการสังเกตลักษณะการแตกของเม็ดแป้งที่อุณหภูมิ 80°ซ (รูปที่ 5.13) พบว่าภายในเวลาเพียง 15 นาที เม็ดแป้งจะพองตัวอย่างรวดเร็วและเริ่มหลอมรวมกันเป็นกลุ่มก้อน และเมื่อระยะเวลาบ่มผ่านไป 1 ชม. เม็ดแป้งส่วนใหญ่แตกออกและหลอมรวมเป็นเนื้อเดียวกัน เม็ดแป้งที่อยู่อย่างอิสระและยังคงลักษณะของอนุภาคไว้ได้จะพบน้อยมาก ด้วยเหตุนี้การบ่มแป้งที่อุณหภูมิสูงเป็นเวลานานๆจึงพบจำนวนของอนุภาคเม็ดแป้งน้อยลงเรื่อยๆจนเกือบจะไม่พบอนุภาคเม็ดแป้งเลยถ้ากระบวนการเจลาติไนซ์เกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ ดังนั้นขนาดที่วัดได้จากการทดลองบ่มแป้งที่อุณหภูมิสูงจึงน่าจะเป็นขนาดของอนุภาคแป้งที่หลงเหลือจากการเจลาติไนซ์ไม่สมบูรณ์



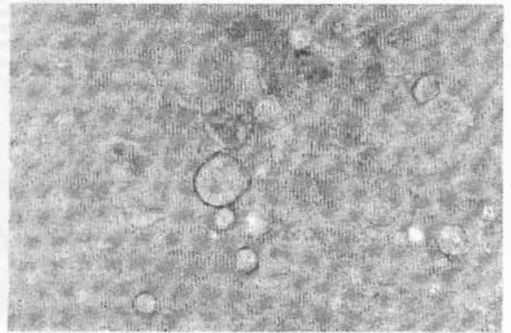
(ก1)



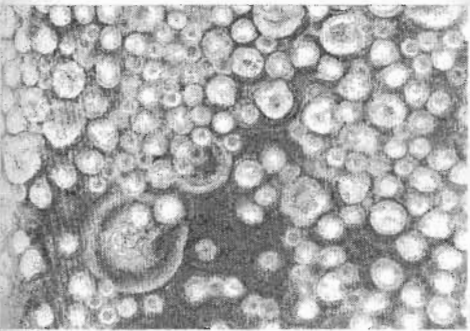
(ข1)



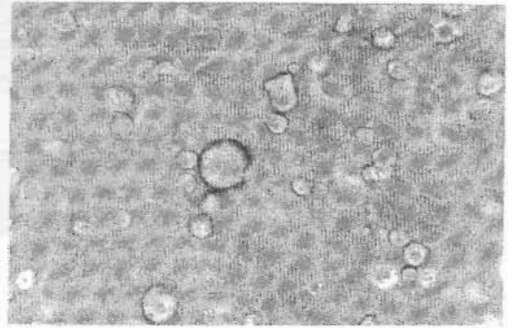
(ก2)



(ข2)



(ก3)



(ข3)

รูปที่ 5.10 ภาพถ่ายเม็ดแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 ความเร็วรอบ 450 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 60 ° และ 65 ° จากกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า

(ก1) อุณหภูมิ 60 ° ระยะเวลา 0 ชั่วโมง

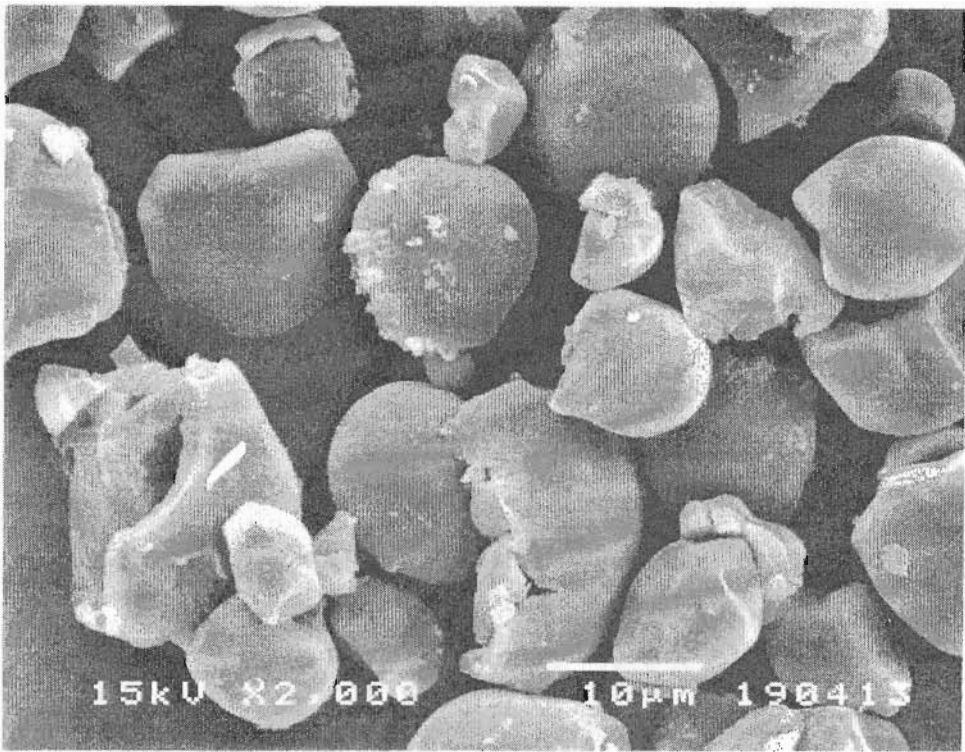
(ข1) อุณหภูมิ 65 ° ระยะเวลา 0 ชั่วโมง

(ก2) อุณหภูมิ 60 ° ระยะเวลา 12 ชั่วโมง

(ข2) อุณหภูมิ 65 ° ระยะเวลา 12 ชั่วโมง

(ก3) อุณหภูมิ 60 ° ระยะเวลา 20 ชั่วโมง

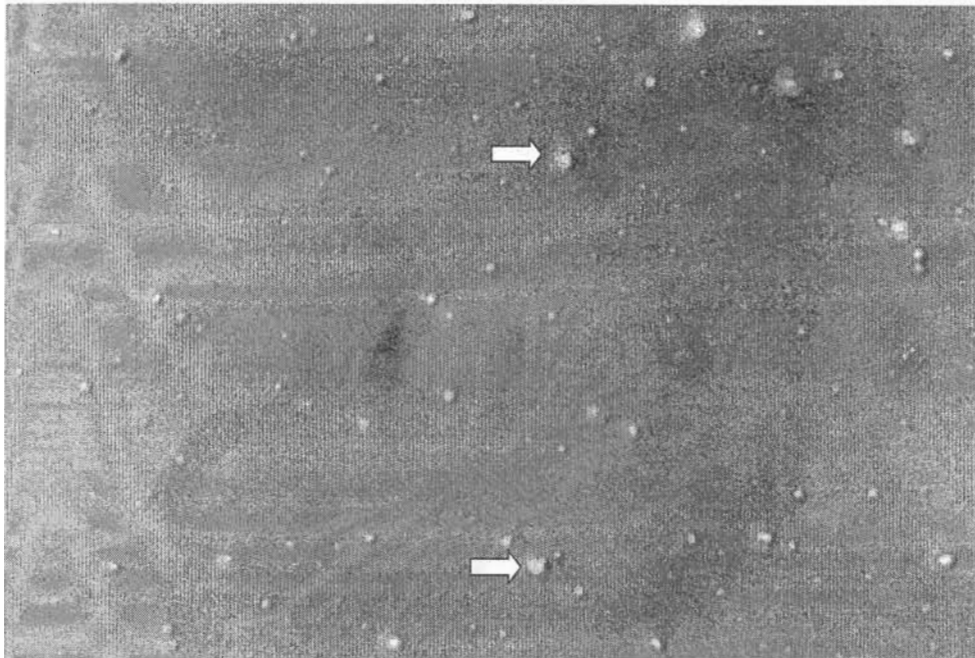
(ข3) อุณหภูมิ 65 ° ระยะเวลา 20 ชั่วโมง



รูปที่ 5.11 ภาพถ่ายเม็ดแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร)  
 ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 ความเร็วรอบ 450 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิบ่ม  
 60 °ซ ระยะเวลาในการบ่ม 1 ชั่วโมง จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน  
 กำลังขยาย 2,000 เท่า

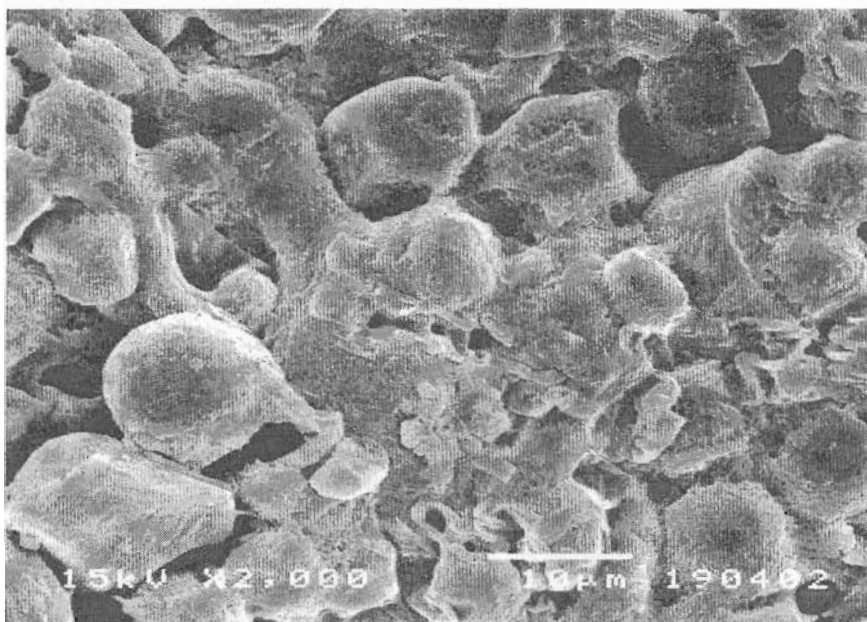
สถาบันวิทยบริการ  
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



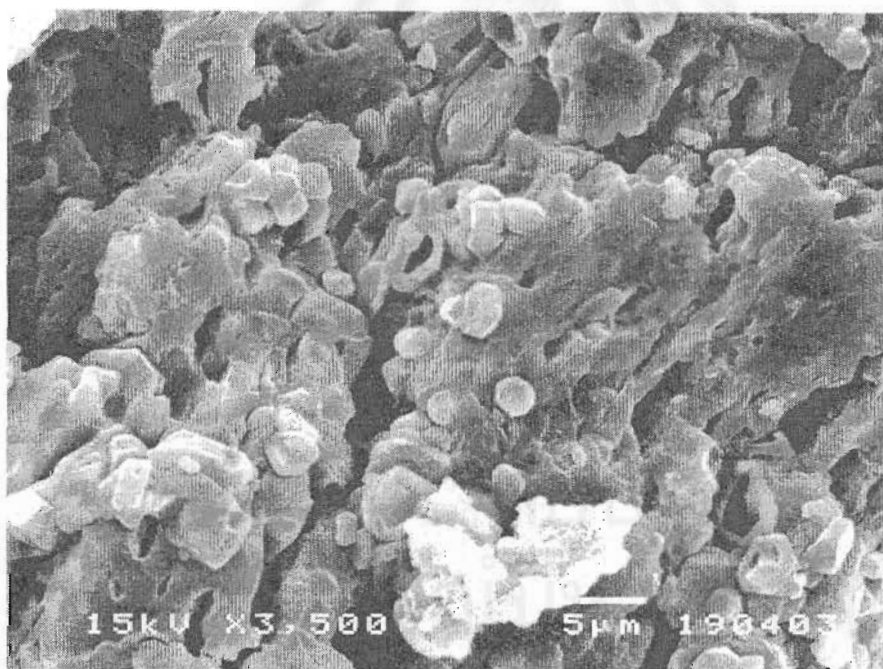


รูปที่ 5.12 ภาพถ่ายเม็ดแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร)  
 ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 ความเร็วรอบ 450 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 80 °ซ ระยะเวลาบ่ม 4 ชั่วโมง กำลังขยาย 400 เท่า  
 จุดกลม ๆ ที่ถูกชี้ คือ เม็ดแป้งที่หลงเหลือจากการเจลาติไนซ์  
 ส่วนที่เห็นเป็นเนื้อเดียวกันคือ แป้งอยู่ในสภาพเจล

สถาบันวิทยบริการ  
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



(ก)



(ข)

รูปที่ 5.13 ภาพถ่ายเม็ดแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร)  
 ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 ความเร็วรอบ 450 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิบ่ม  
 80 °ซ จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

(ก) ระยะเวลาในการบ่ม 15 นาที กำลังขยาย 2,000 เท่า

(ข) ระยะเวลาในการบ่ม 60 นาที กำลังขยาย 3,500 เท่า



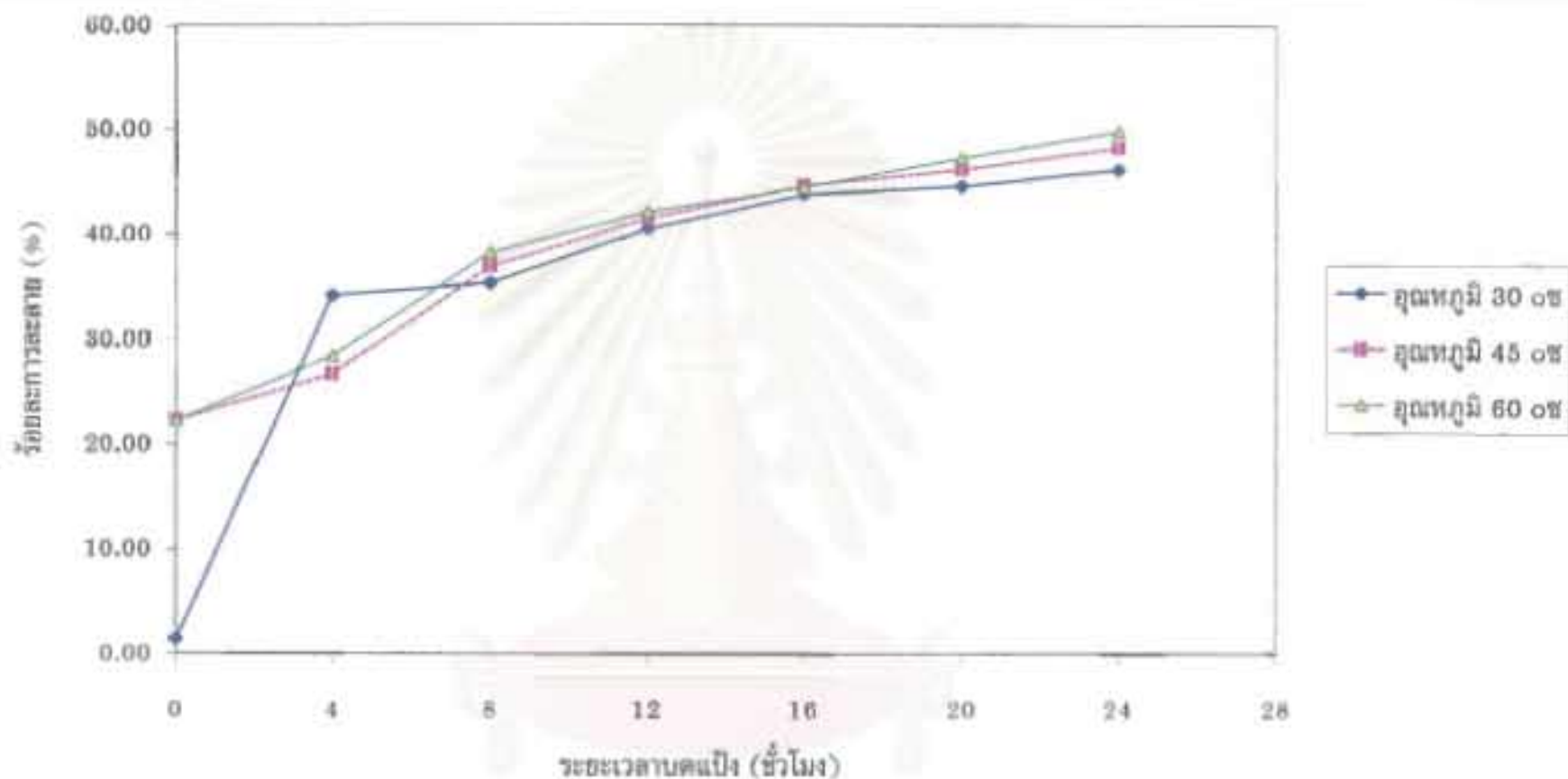
## 5.2 การเตรียมแป้งโดยวิธีการบด

### 5.2.1 ผลของอุณหภูมิต่อสมบัติทางกายภาพของเม็ดแป้งมันสำปะหลัง

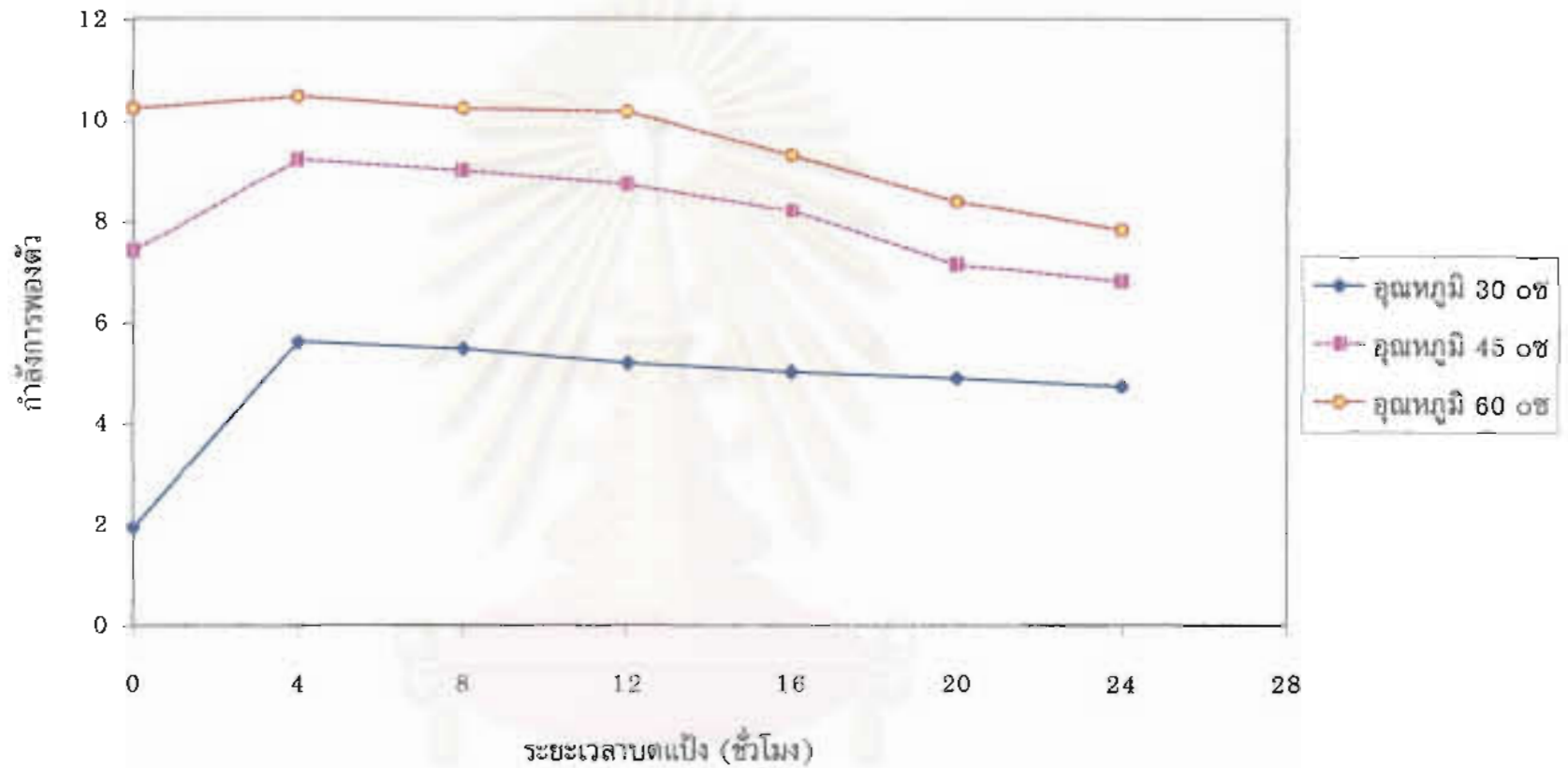
- ผลต่อกำล้างการพองตัวและร้อยละการละลาย

จากงานวิจัยของ Lee และ Kim (1991) ใช้ลูกแก้วขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร ในการบดแป้งข้าวโพดดิบเข้มข้น 7.5% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ที่อุณหภูมิ 45 °ซ ไปพร้อมๆกับการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์เพื่อผลิต CD ในถังปฏิกรณ์แบบบดย่อย (Attrition bioreactor) ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงใช้ลูกแก้วขนาดเดียวกันในการบดสารละลายแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ที่อุณหภูมิ 30 ° (อุณหภูมิห้อง), 45 ° และ 60 °ซ (รูปที่ 5.14) จากผลการทดลองบดแป้งมันสำปะหลังที่อุณหภูมิต่างๆกัน พบว่าการบดที่อุณหภูมิ 45° และ 60 °ซ ไม่ทำให้ร้อยละการละลายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่ที่อุณหภูมิ 30 °ซ ซึ่งเป็นอุณหภูมิห้อง จะทำการเก็บตัวอย่างทันทีที่เริ่มกระบวนการละลาย ร้อยละการละลายที่วัดได้ที่ระยะเวลาบ่ม 0 ชม. จึงเทียบเท่ากับร้อยละการละลายของแป้งดิบที่ไม่ผ่านกระบวนการใดๆ ส่วนที่อุณหภูมิ 45 ° และ 60 °ซ จะเก็บตัวอย่างแรกที่เวลาบ่ม 0 ชม. เมื่อสารละลายมีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิบ่มที่กำหนดไว้ ดังนั้นเม็ดแป้งจึงพองตัวไปแล้วบางส่วน ทำให้ร้อยละการละลายที่วัดได้สูงกว่าที่อุณหภูมิ 30 °ซ มากถึง 15 เท่า แต่อย่างไรก็ตามเมื่อระยะเวลาในการบดเป็น 4 ชม. ร้อยละการละลายของแป้งที่อุณหภูมิห้องจะเพิ่มขึ้นสูงกว่าที่อุณหภูมิ 45 ° และ 60 °ซ ประมาณ 1.2 เท่า ซึ่งลักษณะในการทำงานเดียวกันนี้ก็พบในการเตรียมแป้งโดยวิธีการบ่มด้วยความร้อน คือ ร้อยละการละลายของแป้งที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 60 °ซ จะสูงกว่าที่อุณหภูมิ 65 °ซ ผลการทดลองที่ได้นี้จึงขัดแย้งกับผลของขนาดซึ่งจะได้กล่าวถึงต่อไป แต่เมื่อเพิ่มระยะเวลาในการบดให้นานขึ้น (นานกว่า 4 ชม.) แนวโน้มของร้อยละการละลายที่อุณหภูมิบด 30°, 45° และ 60 °ซ จะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ จึงสรุปได้ว่าการเพิ่มอุณหภูมิ ในการบดที่แตกต่างกัน 15 °ซ ร้อยละการละลายจะไม่แตกต่างกัน หากบ่มเป็นระยะเวลาเวลานานกว่า 8 ชม. เป็นต้นไปโดยให้ค่าความแตกต่างสูงสุดไม่เกิน 8%

เมื่อพิจารณาค่ากำล้างการพองตัวจะพบว่าการเพิ่มอุณหภูมิจะทำให้ค่ากำล้างการพองตัวเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 5.15) โดยการบดแป้งที่อุณหภูมิ 30 °ซ จะให้ค่ากำล้างการพองตัวสูงสุดที่ระยะเวลาในการบดเป็น 4 ชม. และมีค่าประมาณ 5.7 ส่วนที่อุณหภูมิ 60 °ซ จะให้ค่ากำล้างการพองตัวสูงสุดตั้งแต่เวลาเริ่มต้นบด โดยมีค่าประมาณ 10.5 ซึ่งสูงกว่าที่อุณหภูมิห้องถึง 2 เท่า แต่เปอร์เซ็นต์การละลายกลับมีค่าใกล้เคียงกัน แสดงให้เห็นว่าในสภาวะที่มีทั้งการบ่มด้วยความร้อนและการบดนั้น เปอร์เซ็นต์การละลายและกำล้างการพองตัวจะไม่มีความสัมพันธ์กันตามที่ Leach และคณะ, 1959 อ้างถึง ซึ่งการบ่มด้วยความร้อนแต่เพียงอย่างเดียวก็ให้ผลในการทำงานนี้เช่นกัน จึงสรุปได้ว่าเมื่อมีการแตกของเม็ดแป้ง ร้อยละการละลายจะเพิ่มขึ้น เนื่องจากส่วนของอะมิโลสและอะมิโลเพกทินภายในเม็ดแป้งจะกระจัดกระจายออกมา จึงวัดค่าร้อยละการละลายได้มากขึ้น แต่จะวัดค่ากำล้างการพองตัวได้ลดลง เพราะเม็ดแป้งสูญเสียโครงสร้างที่มีลักษณะเป็นอนุภาคไปเนื่องจากการแตก เม็ดแป้งซึ่งเดิม



รูปที่ 5.14 ร้อยละการละลายของเบิงมันสำปะหลังเข้มข้น 7% (โดยน้ำหนักต่อปริมาณ) ในสารละลาย บัฟเฟอร์ pH 7 ความเร็วรอบ 450 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30° 45° และ 60 °ซ ที่ระยะเวลาในการบด 0-24 ชม.



รูปที่ 5.15 กำลังการงอกตัวของแป้งสาลีหลังเข้มข้น 7% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 ที่อุณหภูมิต 30°, 45° และ 60 °ซ ระยะเวลาในการบด 0-24 ชม. ความเร็วรอบ 450 รอบต่อนาที

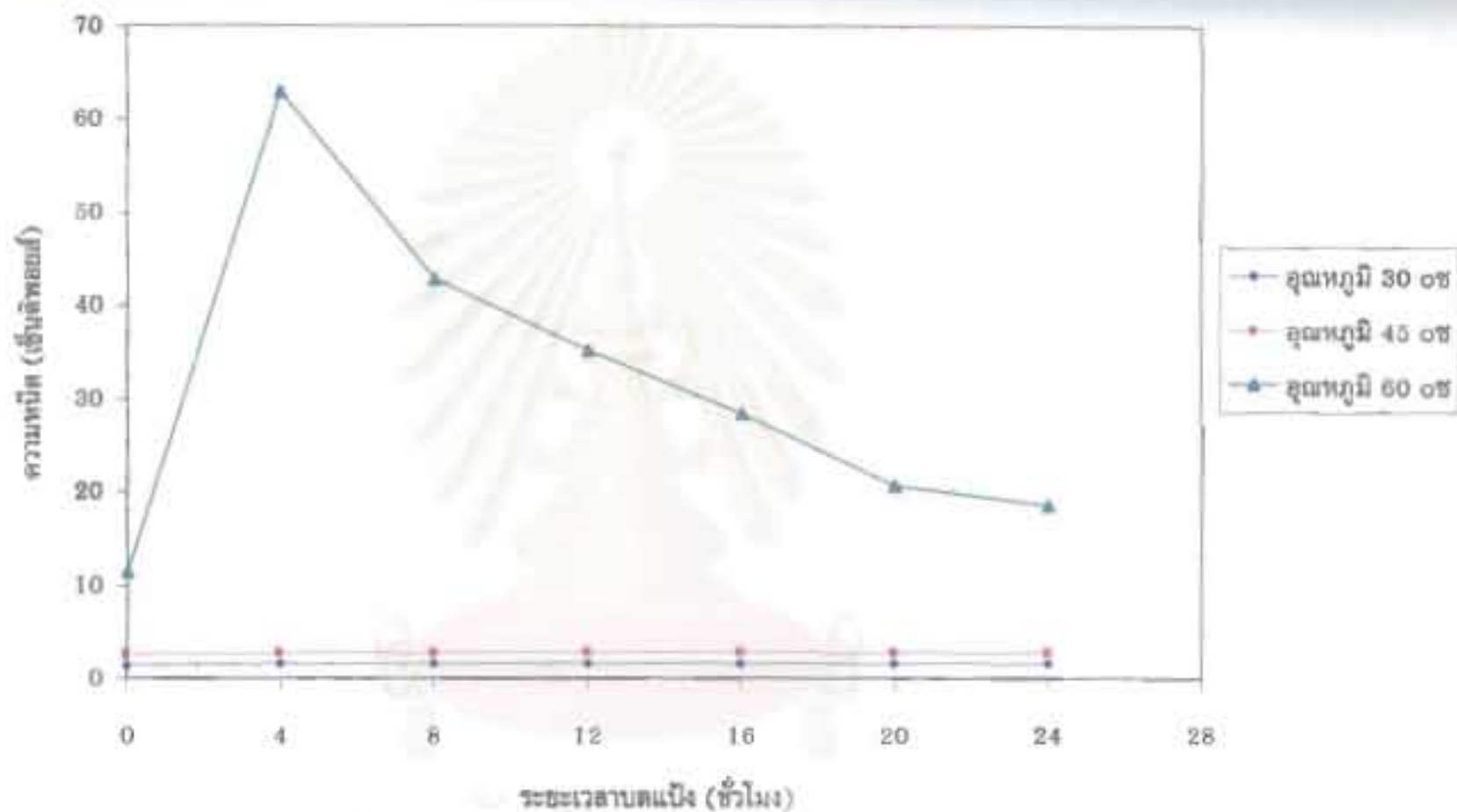
ดูดซับน้ำไว้ภายในเพื่อการพองตัว (มีน้ำหนักเพิ่มขึ้น) จะสูญเสียโครงสร้างที่มีลักษณะเป็นอนุภาคไปเนื่องจากการแตก ปริมาณน้ำที่แทรกอยู่ภายในโมเลกุลแป้งจึงลดลง ทำให้วัดค่ากำลังการพองตัวได้ต่ำกว่าความเป็นจริง

- ผลต่อค่าความหนืด

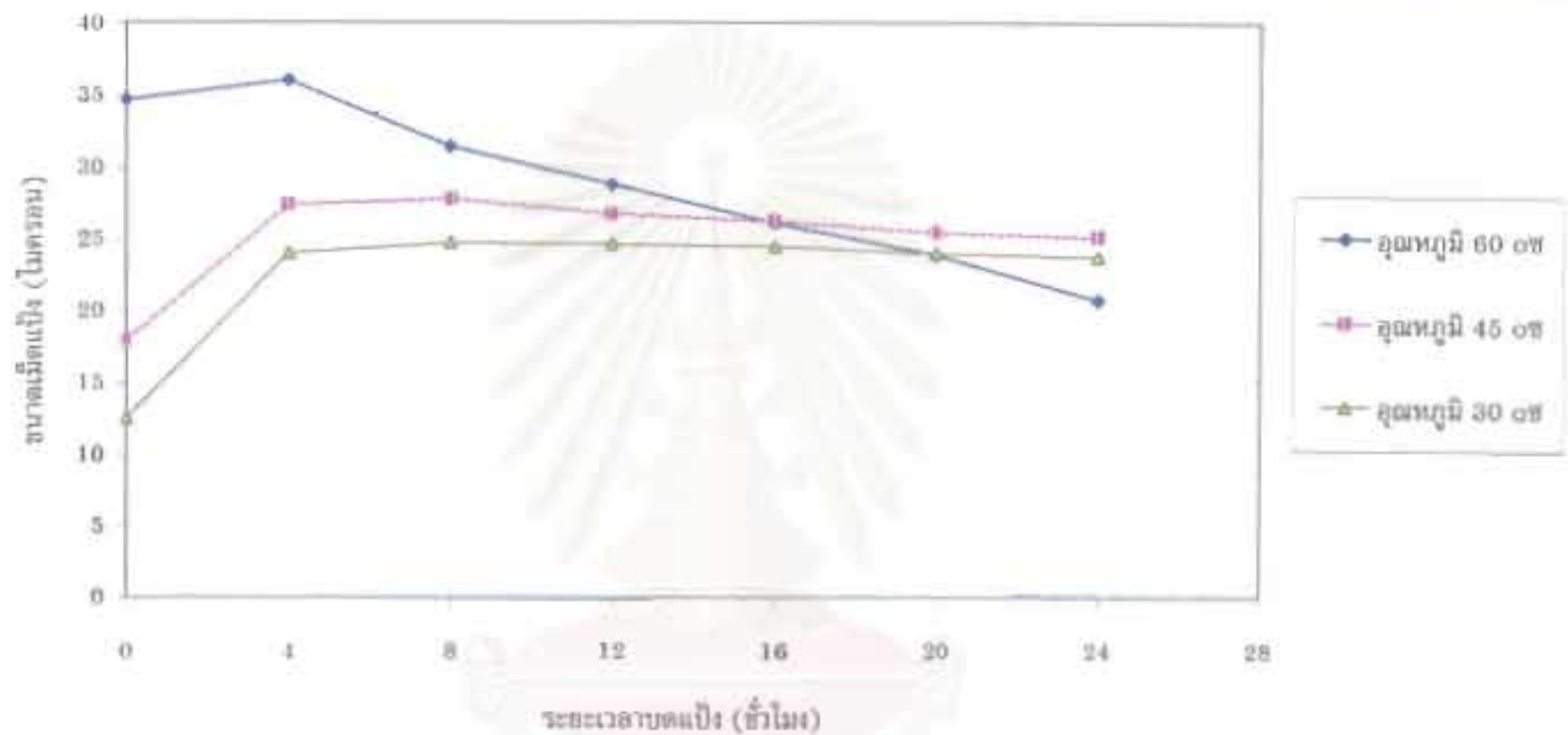
การบดแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ที่อุณหภูมิ 30 °, 45 ° และ 60 °ซ เป็นเวลา 24 ชม. พบว่าที่อุณหภูมิตัด 60 °ซ จะให้ค่าความหนืดสูงสุดเมื่อระยะเวลาบดครบ 4 ชม. มีค่าเท่ากับ 60 เซ็นติพอยส์ และสูงกว่าที่อุณหภูมิตัด 30 ° และ 45 °ซ มาก ซึ่งที่อุณหภูมิตัด 30 ° และ 45 °ซ นั้น ค่าความหนืดจะแตกต่างกันเล็กน้อย (ประมาณ 1.7%) ทั้งนี้เนื่องจากที่อุณหภูมิตัด 60 °ซ เป็นอุณหภูมิเริ่มต้นของการเกิดเจลาตินไนซ์ของแป้งมันสำปะหลัง การเพิ่มแรงทางกล (การบด) จะยิ่งช่วยให้เม็ดแป้งพองตัวได้ดียิ่งขึ้นเป็นผลให้ความหนืดเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว (รูปที่ 5.16) ส่วนการบดที่อุณหภูมิตัด 30 ° และ 45 °ซ ซึ่งเป็นอุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิเจลาตินไนซ์ของแป้งมันสำปะหลังมาก การพองตัวในช่วงอุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิเจลาตินไนซ์นี้ค่าความหนืดจะเปลี่ยนแปลงน้อยมากเนื่องจากพลังงานความร้อนที่สารถลายแป้งมันสำปะหลังได้รับไม่มากพอที่จะทำให้เม็ดแป้งพองตัวจนสังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลงความหนืดได้ ดังนั้น การเพิ่มอุณหภูมิในการบดจาก 30 ° เป็น 45 ° และ 60 °ซ นั้นมีช่วงการเพิ่มของอุณหภูมิต่ำกันคือ 15 °ซ แต่พบว่าการเพิ่มอุณหภูมิจาก 30 ° เป็น 45 °ซ ไม่ทำให้ความหนืดเปลี่ยนแปลงมากนัก ในขณะที่เมื่ออุณหภูมิเพิ่มจาก 45 ° เป็น 60 °ซ ความหนืดจะเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน แสดงให้เห็นว่าหากอุณหภูมิการบดที่เพิ่มสูงขึ้นนั้นไม่ใกล้เคียงหรืออยู่ในช่วงเจลาตินไนซ์ของแป้งมันสำปะหลังแล้ว การเพิ่มอุณหภูมิจะส่งผลต่อค่าความหนืดน้อยมากแม้ว่าจะมีพลังงานจากการบดช่วยเสริมด้วยก็ตาม

- ผลต่อขนาดของเม็ดแป้งมันสำปะหลัง

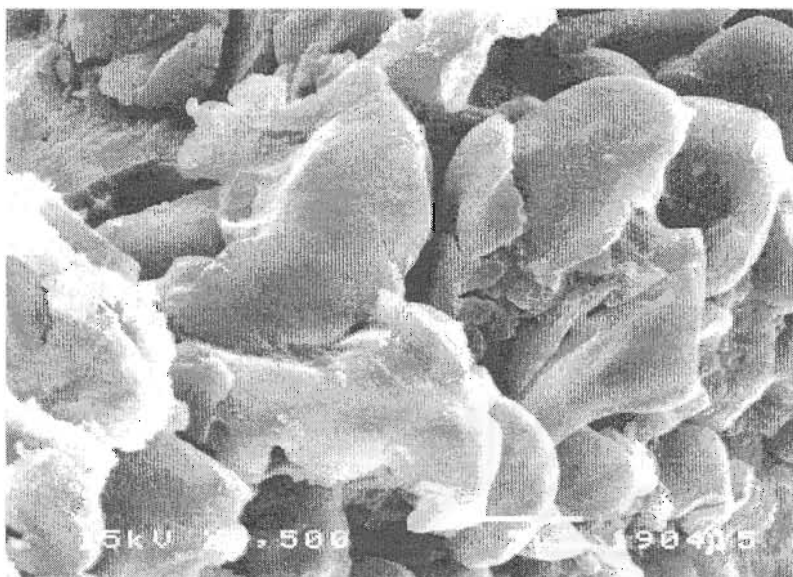
การวัดขนาดของเม็ดแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ในสภาวะที่มีการบดที่อุณหภูมิ 30 °, 45 ° และ 60 °ซ (รูปที่ 5.17) พบว่าขนาดของเม็ดแป้งจะเพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิตัดที่เพิ่มขึ้น เม็ดแป้งมันสำปะหลังจะมีขนาดสูงสุดที่ระยะเวลาบด 4 ชม. ในทุกอุณหภูมิตัดที่ศึกษาโดยที่อุณหภูมิตัด 60 °ซ เม็ดแป้งจะมีขนาดสูงสุดประมาณ 36 ไมครอน ส่วนที่อุณหภูมิตัด 30 ° และ 45 °ซ จะมีขนาดสูงสุดประมาณ 25 และ 28 ไมครอน ตามลำดับ ลักษณะของเม็ดแป้งที่ถูกทำลายโดยความร้อนและการบดย่อยสามารถสังเกตได้จากภาพถ่ายกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน เมื่อเปรียบเทียบลักษณะของเม็ดแป้งที่ถูกแรงกระทำในสภาวะที่มีและไม่มี การบด ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 4 ชม. พบว่าลักษณะของเม็ดแป้งจะแตกต่างกันมาก ในสภาวะที่มีการบด (รูปที่ 5.18) รูปร่างของเม็ดแป้งจะไม่มีรูปร่างที่แน่นอนเนื่องจากถูกแรงกระทำอย่างรุนแรง ส่วนในสภาวะที่ไม่มี การบดเม็ดแป้งยังคงรูปร่างของอนุภาคไว้ได้ มีขนาดใหญ่ขึ้นมากและการแตกของอนุภาคมีน้อยกว่า



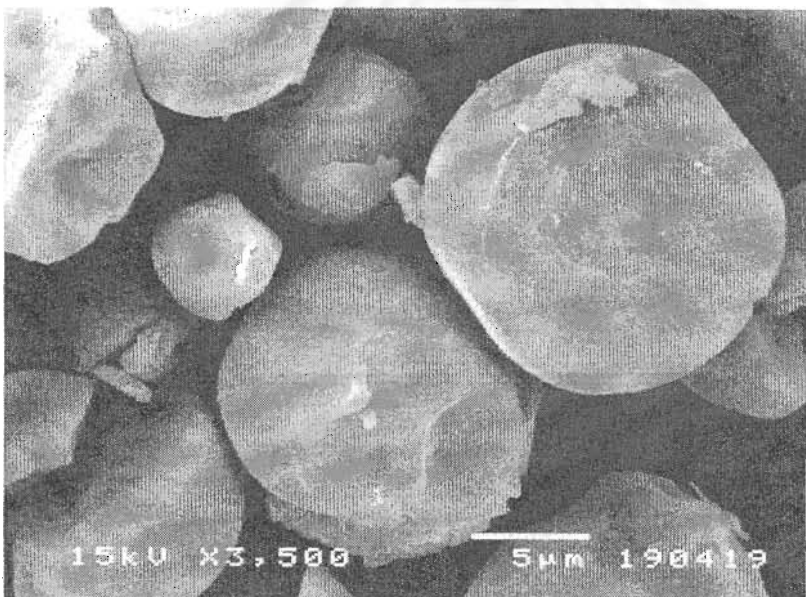
รูปที่ 5.16 ค่าความหนืดของแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 ความเร็วรอบ 450 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30°, 45° และ 60 °ซ ระยะเวลาในการต้ม 0-24 ชม.



รูปที่ 5.17 ขนาดเม็ดแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ที่ในสารอะลาจินบัพเฟอร์ pH 7 ความเร็วรอบ 450 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30°, 45° และ 60 °C ระยะเวลาบดแป้ง 0-24 ชม.



(ก)



(ข)

รูปที่ 5.18 ภาพถ่ายเม็ดแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 ความเร็วรอบ 450 รอบต่อนาที ที่ผ่านการเตรียมโดยวิธีการบ่มและบดที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนกำลังขยาย 3,500 เท่า

(ก) แป้งมันสำปะหลังในสถานะที่มีการบด

(ข) แป้งมันสำปะหลังในสถานะที่ไม่มีการบด



เมื่อเปรียบเทียบขนาดของเม็ดแป้งที่อุณหภูมิบ่ม 60 °ซ ระยะเวลาบ่ม 4 ชม. ที่ประมาณจากภาพถ่ายในรูปที่ 5.18 (ข) จะพบว่าเม็ดแป้งมีขนาดเฉลี่ยประมาณ 10 ไมครอน ซึ่งแตกต่างอย่างมากกับขนาดเม็ดแป้งที่วัดได้จากเครื่อง Particle Analyzer (ขนาดเฉลี่ยที่วัดได้ประมาณ 26 ไมครอน) ทั้งนี้เนื่องจากการวัดทั้งสองวิธีนั้นใช้หลักการที่แตกต่างกัน โดยการวัดด้วยเครื่อง Particle Analyzer จะใช้การวัดการกระเจิงของแสง อนุภาคขนาดต่างกันจะให้ค่าการกระเจิงของแสงไม่เท่ากัน ในขณะที่การวัดขนาดจากการถ่ายภาพจะใช้วิธีการเฉลี่ยขนาดอนุภาคจากภาพถ่ายหลาย ๆ ภาพ ทำให้ค่าที่ได้มีความแตกต่างกันมาก ซึ่งในงานวิจัยนี้จะสนใจขนาดของอนุภาคเม็ดแป้งที่วัดจากเครื่อง Particle Analyzer เท่านั้น

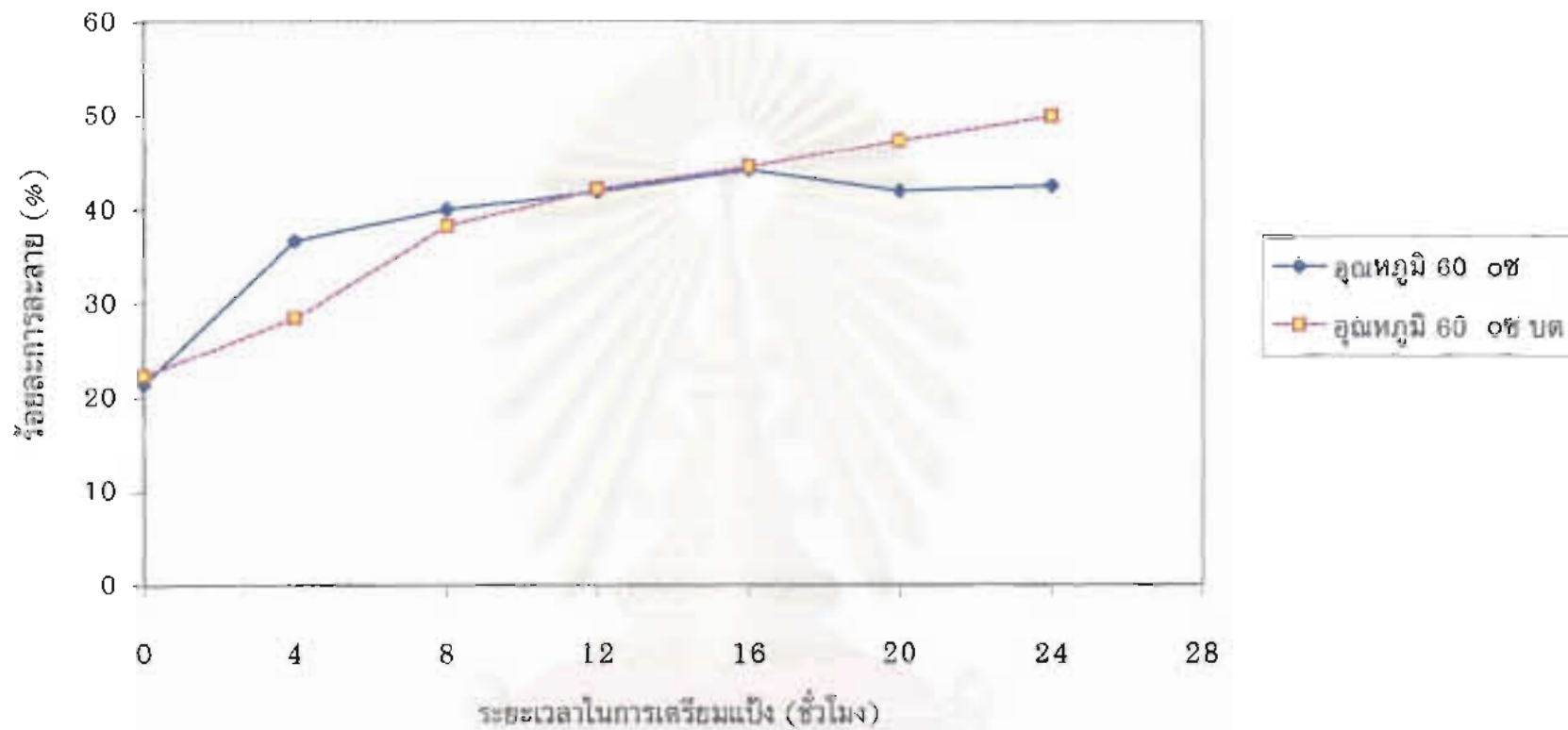
### 5.2.2 ผลของระยะเวลาในการบดต่อสมบัติทางกายภาพของเม็ดแป้งมันสำปะหลัง

#### ● ผลต่อกำลังการพองตัวและร้อยละการละลาย

จากการทดลองพบว่าร้อยละการละลายของสารละลายแป้งมันสำปะหลัง 7% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ในสภาวะที่มีการบดจะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตลอดระยะเวลา 24 ชม. ของการบด (รูปที่ 5.14) โดยที่อุณหภูมิต่ำ 30°, 45° และ 60 °ซ จะให้ร้อยละการละลายใกล้เคียงกันมากภายหลังการบด 8 ชม. โดยค่าร้อยละการละลายที่ 24 ชม. ที่อุณหภูมิต่ำ 30°, 45° และ 60 °ซ จะมีค่าเป็น 45%, 48% และ 49% ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบร้อยละการละลายของแป้งมันสำปะหลังที่อุณหภูมิ 60 °ซ ในสภาวะที่มีและไม่มีการบด (รูปที่ 5.19) พบว่าร้อยละการละลายจะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่ใช้ในการบด แต่ในสภาวะที่มีการบด จะสังเกตได้ว่ามีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน โดยร้อยละการละลายที่ระยะเวลาบด 24 ชม. มีค่าประมาณ 50% ซึ่งมากกว่าที่ระยะเวลาเริ่มต้นประมาณ 2.2 เท่า ในขณะที่ร้อยละการละลายในสภาวะที่ไม่มีการบดจะมีค่าประมาณ 40% ที่ระยะเวลาบ่ม 24 ชม. และมากกว่าที่ระยะเวลาเริ่มต้นประมาณ 1.7 เท่า การที่ร้อยละการละลายของแป้งที่ถูกบดที่อุณหภูมิ 30 °ซ สูงกว่าที่อุณหภูมิ 45 °ซ และ 60 °ซ (ที่ระยะเวลาการบด 4 ชม.) นั้น ไม่สามารถอธิบายได้เนื่องจากไม่ทราบกลไกการละลายของเม็ดแป้งมันสำปะหลังอย่างแน่ชัด

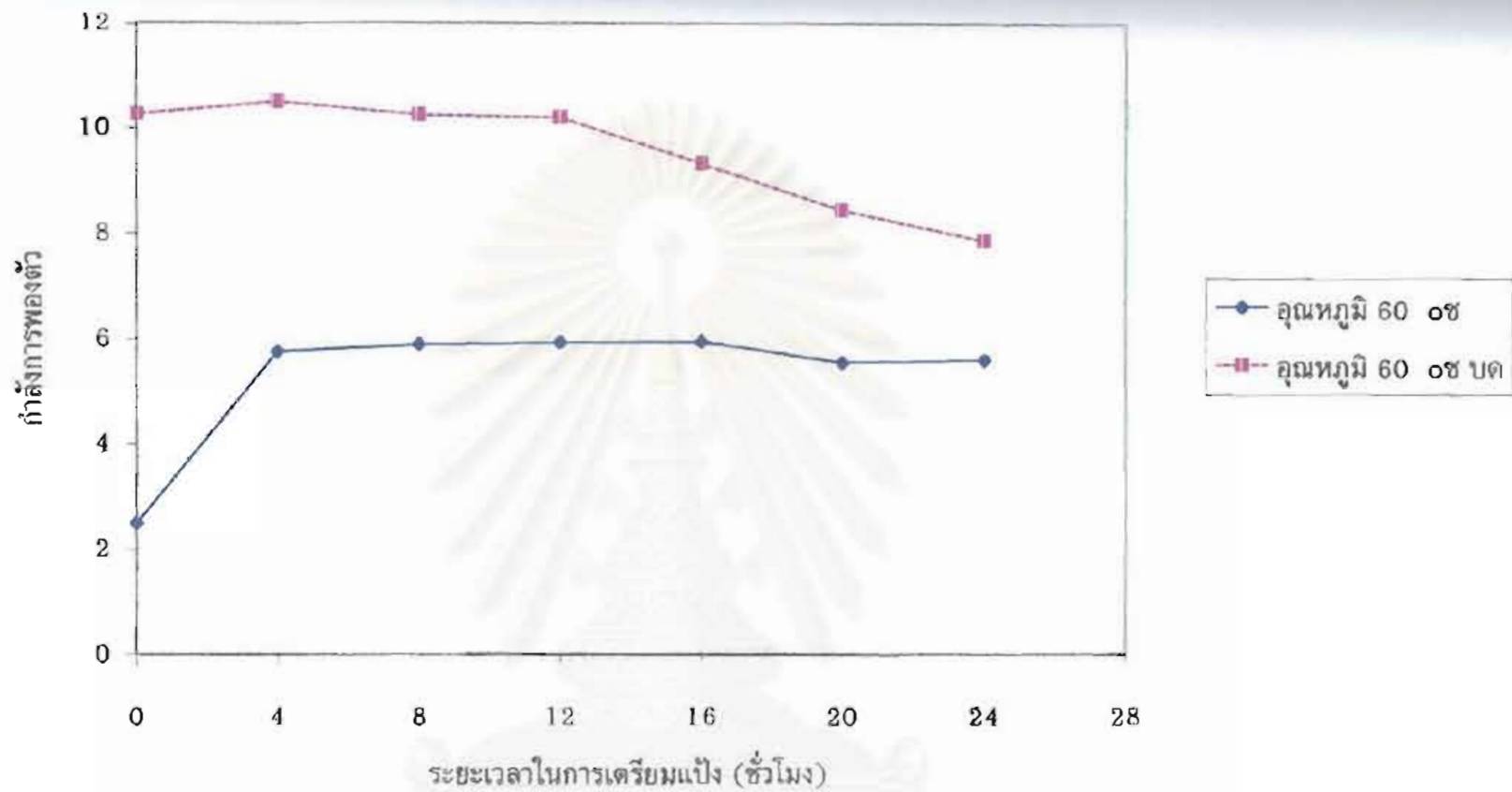
พิจารณากำลังการพองตัวที่อุณหภูมิต่ำ 30°, 45° และ 60 °ซ (รูปที่ 5.15) จะเห็นได้ว่ามีแนวโน้มของค่ากำลังการพองตัวคล้ายคลึงกัน คือเพิ่มขึ้นในช่วง 4 ชม. แรกของการบด และลดลงหลังจากนั้นตามระยะเวลาในการบดที่เพิ่มขึ้น โดยอัตราการลดลงที่อุณหภูมิต่ำ 45 °ซ และ 60 °ซ จะสูงกว่าที่อุณหภูมิต่ำ 30 °ซ โดยที่อุณหภูมิต่ำ 30 °ซ จะลดลงประมาณ 17% เมื่อเทียบกับกำลังการพองตัวสูงสุดที่ 4 ชม. ส่วนที่อุณหภูมิต่ำ 45 °ซ และ 60 °ซ จะลดลงประมาณ 25% และ 24% ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกำลังการพองตัวในสภาวะที่มีและไม่มีการบด (รูปที่ 5.20) จะพบว่ากำลังการพองตัวสูงสุดในสภาวะที่มีการบดจะมีค่าประมาณ 10.6 ส่วนในสภาวะที่ไม่มีการบดจะให้ค่ากำลังการพองตัวสูงสุดเพียง 5.8 ซึ่งน้อยกว่าสภาวะที่มีการบดประมาณ 55% แสดงว่าการบดจะช่วยทำให้เม็ดแป้งพองตัวได้ดีกว่าเนื่องจากมีแรงกลจากลูกแก้วเสริมเข้ามา และเอาชนะแรงยึดเหนี่ยวของพันธะไฮโดรเจนภายใน





รูปที่ 5.19 เปรียบเทียบร้อยละการละลายของแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร)

ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 ความเร็วรอบ 450 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 60 °ซ  
 ในสภาวะที่มีและไม่มีสารบต



รูปที่ 5.20 เปรียบเทียบกำลังการพองตัวของเม็ดแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร)

ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 ความเร็วรอบ 450 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 60 °C

ในสภาวะที่มีและไม่มีการบด

โมเลกุลแป้งทำให้โครงสร้างภายในอ่อนตัวลง เม็ดแป้งจึงพองตัวได้ดีกว่าในสถานะที่ไม่มีการบด แต่อย่างไรก็ตามกำลังการพองตัวที่วัดได้จะมีค่าลดลงตามระยะเวลาบ่ม ด้วยเหตุผลเดียวกับที่อ้างไว้ในหัวข้อ 5.1.1 (เรื่องการพองตัว)

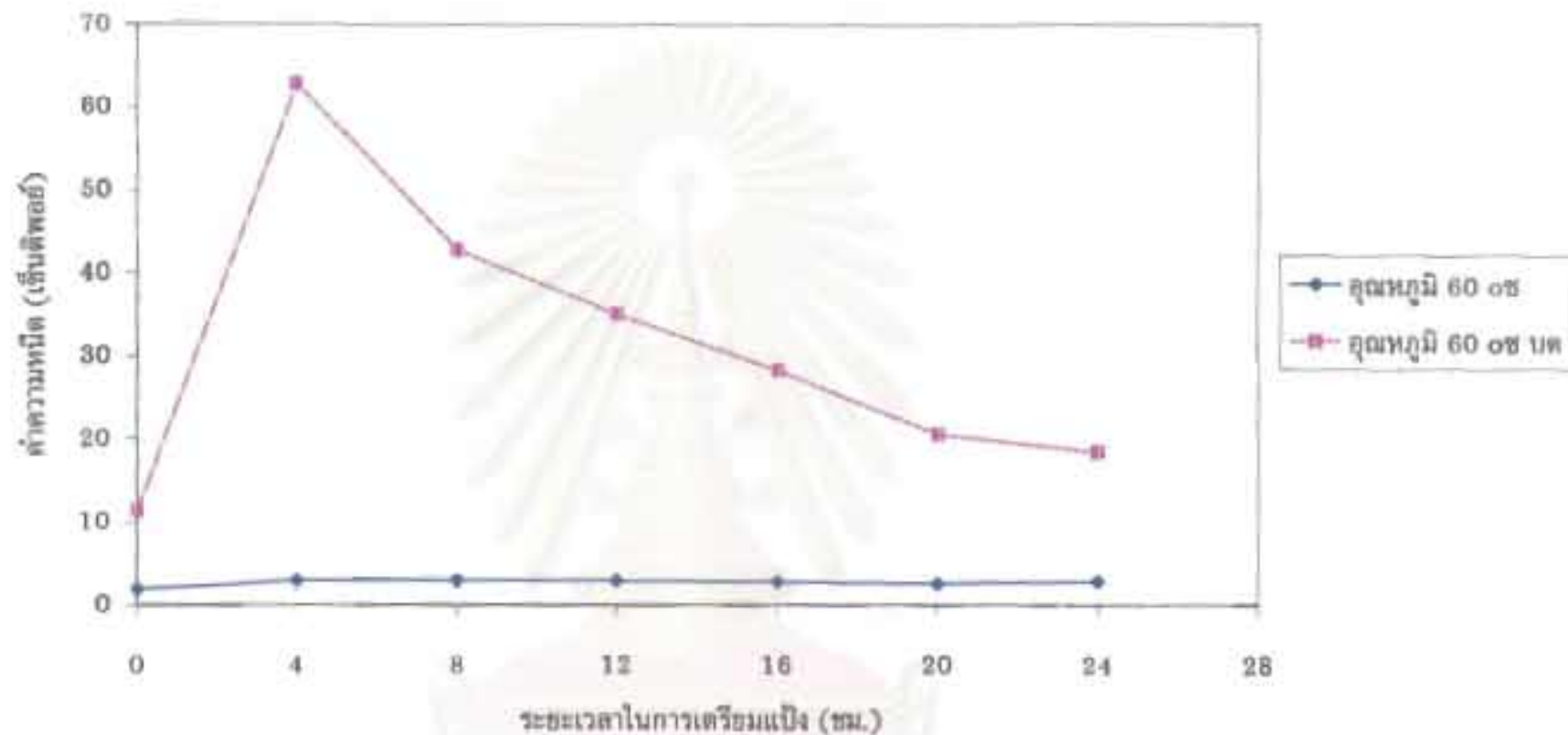
- ผลต่อค่าความหนืด

การติดตามผลของความหนืดของเม็ดแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ที่ผ่านการบดที่อุณหภูมิ 30 °, 45 ° และ 60 °ซ (รูปที่ 5.16) พบว่าค่าความหนืดที่วัดได้จะค่อนข้างคงที่ตามระยะเวลาบด (ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ) เมื่ออุณหภูมิในการบดเป็น 30 °ซ และ 45 °ซ ส่วนที่อุณหภูมิบด 60 °ซ จะให้ค่าความหนืดสูงสุดที่ 4 ซม. แรกของการบด และจะลดลงอย่างรวดเร็วหลังจากนั้นเนื่องจากอนุภาคเม็ดแป้งเกิดการแตก (ดูผลของขนาดที่ลดลงจากรูปที่ 5.17) ความหนืดของสารละลายแป้งจะลดลงจนมีค่าประมาณ 17 เซ็นติพอยส์ ซึ่งลดลงจากค่าความหนืดสูงสุดประมาณ 73%

เมื่อพิจารณาที่อุณหภูมิ 60 °ซ ในสถานะที่มีและไม่มีการบด จะพบว่าในสถานะที่มีการบดค่าความหนืดสูงสุดจะเพิ่มขึ้นสูงมาก และมีค่ามากกว่าในสถานะที่ไม่มีการบดประมาณ 15 เท่า (ดูรูปที่ 5.21) ภายหลังจากที่ความหนืดเพิ่มขึ้นจนมีค่าสูงสุดแล้ว ในสถานะที่มีการบดความหนืดจะลดลงอย่างรวดเร็วตามระยะเวลาในการบด เนื่องจากเกิดการแตกของเม็ดแป้งเพิ่มมากขึ้น ในขณะที่สถานะที่ไม่มีการบดความหนืดจะค่อนข้างคงที่ที่ค่าความหนืดสูงสุดตลอดระยะเวลาในการบ่ม 24 ชม.

- ผลต่อขนาดของเม็ดแป้งมันสำปะหลัง

ในช่วง 4 ชม. แรกแนวโน้มของขนาดเม็ดแป้งมันสำปะหลังจะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาบดที่อุณหภูมิเดียวกัน แต่หลังจาก 4 ชม. ไปแล้ว ที่ภาวะอุณหภูมิบด 30 °ซ และ 45 °ซ การเปลี่ยนแปลงขนาดตามระยะเวลาในการบดไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และมีขนาดคงที่เฉลี่ยประมาณ 25 และ 28 ไมครอน ตามลำดับ ในขณะที่อุณหภูมิบด 60 °ซ จะมีแนวโน้มของขนาดลดลงภายหลังชั่วโมงบดที่ 4 โดยไม่มีแนวโน้มจะเข้าสู่ค่าคงที่ ขนาดเล็กที่สุดที่วัดได้ที่ระยะเวลาบด 24 ชม. คือ 20 ไมครอน จะเห็นได้ว่ากราฟของขนาดเม็ดแป้งจะมีลักษณะคล้ายคลึงและสัมพันธ์กับกราฟของกำลังการพองตัว (รูป 5.15) ในช่วง 4 ชม. แรก กล่าวคือ เมื่อกำลังการพองตัวเพิ่มขึ้น ขนาดเม็ดแป้งที่วัดได้จะเพิ่มขึ้นด้วย แต่เมื่อกำลังการพองตัวลดลง ภายหลัง 4 ชม. ในทุกอุณหภูมิต่ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กลับพบว่าขนาดเม็ดแป้งที่อุณหภูมิบด 30 °ซ และ 45 °ซ ค่อนข้างคงที่ (ขนาดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ) ส่วนที่อุณหภูมิบด 60 °ซ ขนาดเม็ดแป้งจะลดลงอย่างรวดเร็ว ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับกำลังการพองตัวแล้วลดลงในอัตราที่แตกต่างกัน แนวโน้มที่แตกต่างกันนี้อาจเนื่องมาจากวิธีที่ใช้ในการวัดค่ากำลังการพองตัวนั้นเป็นวิธีการประมาณค่าอย่างหยาบ เนื่องจากใช้น้ำหนักของตะกอนที่แยกส่วนที่ละลายได้ออกไป แล้วมาคำนวณ (สูตรการคำนวณดูหัวข้อ



รูปที่ 5.21 เปรียบเทียบค่าความร้อนของแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ในสภาวะซาซบัพเฟอร์ pH 7 ความเร็วรอบ 450 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 60 °ซ ในสภาวะที่มีและไม่มีคาร์บอ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

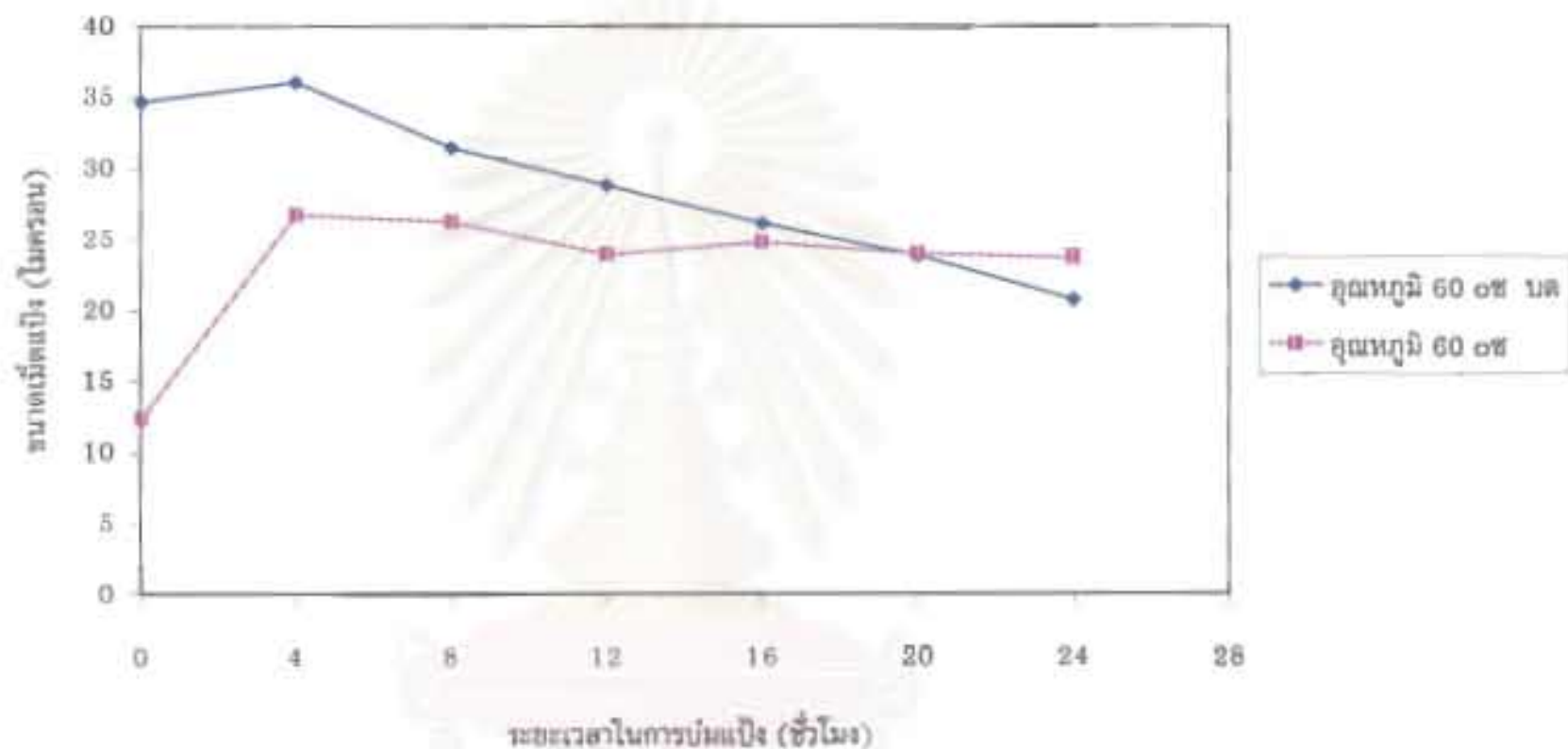
5.1.1) ในขณะที่การวัดขนาดวัดได้โดยตรงโดยใช้เครื่อง Particle Analyzer ซึ่งมีความแม่นยำมากกว่า ดังนั้น แนวโน้มที่ได้จึงแตกต่างกันพอสมควร

เมื่อพิจารณาแนวโน้มของความหนืดร่วมด้วยจะพบว่าแตกต่างกับแนวโน้มของขนาดอย่างมาก เนื่องจากขนาดที่เพิ่มขึ้นในช่วงระยะเวลาบด 4 ชม.แรก ที่อุณหภูมิ 30 °ซ และ 45 °ซ จะเพิ่มขึ้นประมาณ 46% และ 36% ตามลำดับ (เทียบกับขนาดที่ระยะเวลาบ่ม 0 ชม.) แต่ค่าความหนืดที่วัดได้มีค่าน้อยมากและคงที่ตลอดระยะเวลาบด 24 ชม. ในขณะที่อุณหภูมิบด 60 °ซ ขนาดอนุภาคเม็ดแป้งจะเพิ่มจากขนาดตอนเริ่มต้นเพียง 3% แต่ค่าความหนืดที่วัดได้เพิ่มขึ้นประมาณ 82% อย่างไรก็ตามจะพบว่าขนาดเม็ดแป้งที่เวลาเริ่มต้นของอุณหภูมิบด 60 °ซ จะมีขนาดเม็ดแป้งใกล้เคียงกับขนาดเริ่มต้นที่อุณหภูมิบ่ม 70 °ซ และมีแนวโน้มลดลงเช่นเดียวกัน เพียงแต่ที่อุณหภูมิบ่ม 70 °ซ ขนาดเม็ดแป้งจะเริ่มคงที่ที่ระยะเวลาบ่ม 20 ชม. ส่วนที่อุณหภูมิบด 60 °ซ ขนาดเม็ดแป้งยังมีแนวโน้มลดลงตลอดไป เมื่อเปรียบเทียบขนาดของเม็ดแป้งที่อุณหภูมิ 60 °ซ ในสภาวะที่มีและไม่มีการบด (รูปที่ 5.22) จะพบว่าสภาวะที่มีการบดจะทำให้ขนาดของเม็ดแป้งลดลงอย่างรวดเร็วกว่าในสภาวะที่ไม่มีการบด ทั้งนี้เพราะแรงเฉือนที่เกิดจากการบด และพลังงานความร้อนที่เม็ดแป้งได้รับจะทำลายพันธะที่ยึดเหนี่ยวภายในเม็ดแป้ง จึงเกิดการแตกของเม็ดแป้ง แสดงให้เห็นว่าที่อุณหภูมิเท่ากัน การเพิ่มพลังงานกลจะมีผลทำให้อัตราการลดลงของขนาดมากขึ้น

จากการศึกษาการเตรียมแป้งด้วยวิธีการบ่มและการบดนั้นทำให้ทราบถึงสมบัติทางกายภาพที่เปลี่ยนแปลงไปของเม็ดแป้งสรุปได้ดังตารางที่ 5.1

### 5.3 ผลของอุณหภูมิและระยะเวลาในการเตรียมแป้งต่อปริมาณน้ำตาลกลูโคส

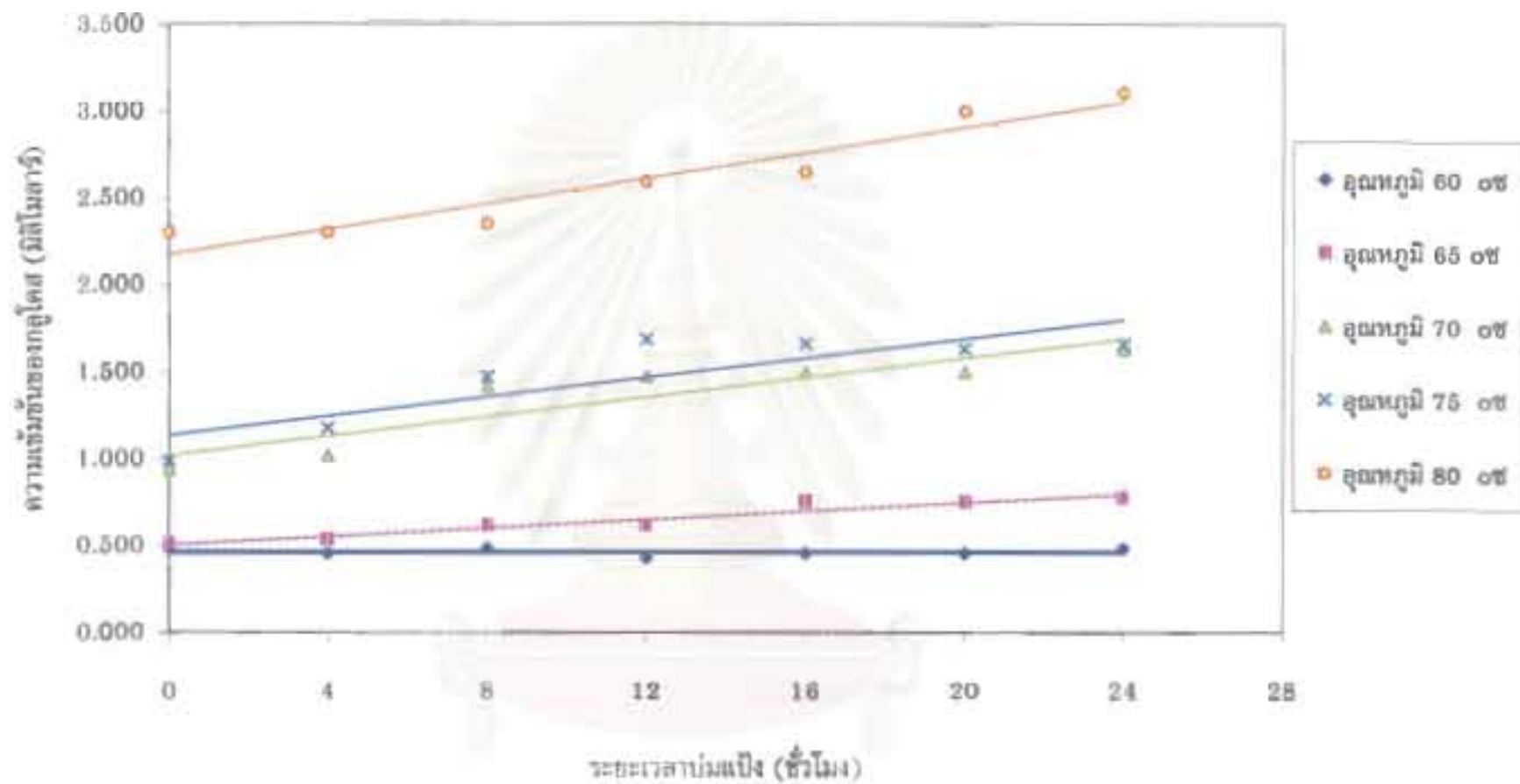
ในการผลิต CD นั้นน้ำตาลรีดิวิซ์เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการเร่งปฏิกิริยา Coupling ซึ่งเป็นปฏิกิริยาการสลายตัวของ CD Kim และคณะ, 1995 รายงานว่า ในสภาวะเริ่มต้นของปฏิกิริยาที่มีน้ำตาลรีดิวิซ์ปะปนอยู่ จะช่วยให้ปฏิกิริยา Coupling เกิดได้ดี และกลูโคสเป็นน้ำตาลรีดิวิซ์ที่เร่งปฏิกิริยา Coupling ได้ดีที่สุดในด้วยปริมาณเพียง 50 มิลลิโมลาร์ สามารถย่อยสลาย  $\beta$ -CD เข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ได้หมดภายในเวลา 2 ชม. ส่วนน้ำตาลรีดิวิซ์ชนิดอื่น ได้แก่ มอลโตส และมอลโตไตรโอส สามารถย่อยสลาย  $\beta$ -CD (10 มิลลิโมลาร์) ได้ 83% และ 62% ภายในเวลา 2 ชม. ตามลำดับ ดังนั้นก่อนที่จะนำสารละลายแป้งซึ่งผ่านการบ่มที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆมาทำปฏิกิริยากับเอนไซม์เพื่อผลิต CD ต่อไปนั้น จึงต้องวัดปริมาณของน้ำตาลกลูโคสในสารละลายแป้งก่อนเพื่อตรวจสอบว่าการบ่มด้วยความร้อนหรือการบดแป้งจะมีผลทำให้มีน้ำตาลกลูโคสเกิดขึ้นและมีผลต่อการผลิตไซโคลเด็กซ์ทรินหรือไม่ โดยใช้วิธี Dinitrosalicylic acid ซึ่งเป็นวิธีการวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวิซ์ในรูปของความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส จากผลการทดลองที่ได้พบว่าปริมาณน้ำตาลกลูโคสเพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิและระยะเวลาที่บ่ม (รูปที่ 5.23) ที่อุณหภูมิ 80 °ซ และระยะเวลาบ่ม 24 ชม. ให้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสสูงสุด คือประมาณ 3.0 มิลลิโมลาร์ ในขณะที่การบดแป้งที่อุณหภูมิ 30° และ 45°ซ ไม่พบ



รูปที่ 5.22 เปรียบเทียบขนาดของเม็ดแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% (โดยน้ำหนักต่อปริมาณ)  
 ในสภาวะสายบัฟเฟอร์ pH 7 ความเร็วรอบ 450 รอบต่อนาที ที่จุดอุณหภูมิ 60 °ซ  
 ระยะเวลาในการบด 0-24 ชม. ในสภาวะที่มีการบดและไม่มีการบด

ตารางที่ 5.2 สรุปผลของอุณหภูมิและเวลา ต่อสมบัติทางกายภาพของเม็ดแป้งที่ผ่านการปฏิบัติด้วยวิธีต่าง ๆ

วิธีการเตรียมแป้ง	อุณหภูมิ				เวลา			
	ร้อยละการละลาย	กำลังการพองตัว	ขนาด	ความหนืด	ร้อยละการละลาย	กำลังการพองตัว	ขนาด	ความหนืด
การบ่ม	- หลัง 12 ชม. บ่มเพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิ	- เพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิ	- เพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิ	- เพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิ	- ที่อุณหภูมิบ่ม 65 °ซ เพิ่มขึ้นตามเวลา - ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เพิ่มขึ้นตามเวลาและคงที่หลัง 8 ชม.	- เพิ่มขึ้นตามเวลาและคงที่หลัง 4 ชม. บ่ม	- ที่อุณหภูมิบ่ม 60 °ซ เพิ่มขึ้นตามเวลาและคงที่หลัง 4 ชม. บ่ม - ที่อุณหภูมิบ่ม 65 °ซ เป็นต้นไป ขนาดจะสูงสุดที่ชั่วโมงบ่มเริ่มต้น และลดลงตามเวลาบ่ม	- ที่อุณหภูมิ 60 °ซ และ 65 °ซ เพิ่มขึ้นตามเวลาและคงที่หลัง 4 ชม. บ่ม - ที่อุณหภูมิบ่ม 70 °ซ เป็นต้นไป ความหนืดจะลดลงตามเวลาบ่ม
การบด	- เพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิบดเพิ่มขึ้น เว้นแต่ที่อุณหภูมิบด 45 °ซ และ 60 °ซ จะให้ค่าไม่แตกต่างกัน - ภายหลัง 8 ชม. ที่อุณหภูมิบด 30 °ซ, 45 °ซ จะให้ค่าไม่แตกต่างกัน	- เพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิและมีแนวโน้มลดลงหลัง 4 ชม. บด	- เพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิ	- เพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิ เว้นแต่ที่อุณหภูมิ 30 °ซ และ 45 °ซ มีค่าใกล้เคียงกัน	- เพิ่มขึ้นตามเวลา	- เพิ่มขึ้นตามเวลาใน 4 ชม. แรก และลดลงหลังจากนั้น	- เพิ่มขึ้นตามเวลาใน 4 ชม. แรก และ 45 °ซ ขนาดจะคงที่หลัง 4 ชม. - ที่อุณหภูมิ 60 °ซ ลดลงภายหลัง 4 ชม. บด	- ที่อุณหภูมิ 30 °ซ และ 45 °ซ เปลี่ยนแปลงน้อยมากตามเวลา - ที่อุณหภูมิ 60 °ซ ให้ความหนืดสูงสุดที่ 4 ชม. แรก และลดลงหลังจากนั้น



รูปที่ 5.23 ปริมาณน้ำตาของไอน้ำที่อุณหภูมิและระยะเวลาในการบ่มแป้งต่างๆ



ปริมาณน้ำตาลกลูโคสอยู่เลย ส่วนที่อุณหภูมิ 60 °ซ จะมีปริมาณน้ำตาลกลูโคสโดยเฉลี่ยประมาณ 0.02 มิลลิโมลาร์

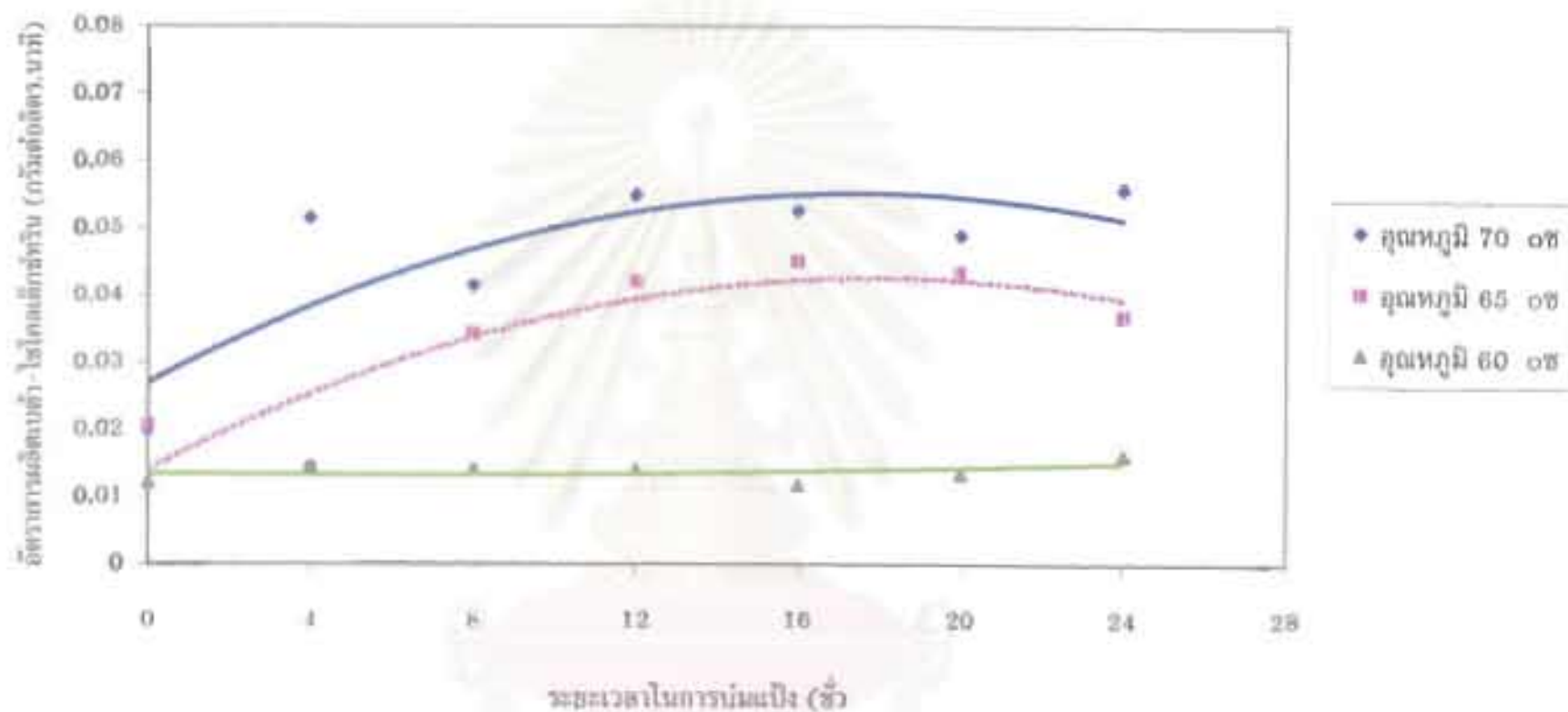
อย่างไรก็ดีปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่พบทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีคาร์บอนไดออกไซด์ ปริมาณน้อยมากเมื่อเทียบกับปริมาณที่ Kim และคณะรายงานไว้ ซึ่งอาจจะมีส่วนน้อยมากต่อการเกิดปฏิกิริยา Coupling ในการผลิต CD

#### 5.4 ผลของการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของเม็ดแป้งมันสำปะหลังต่ออัตราการผลิตไซโคลเดกซ์ทรินแรกเริ่ม

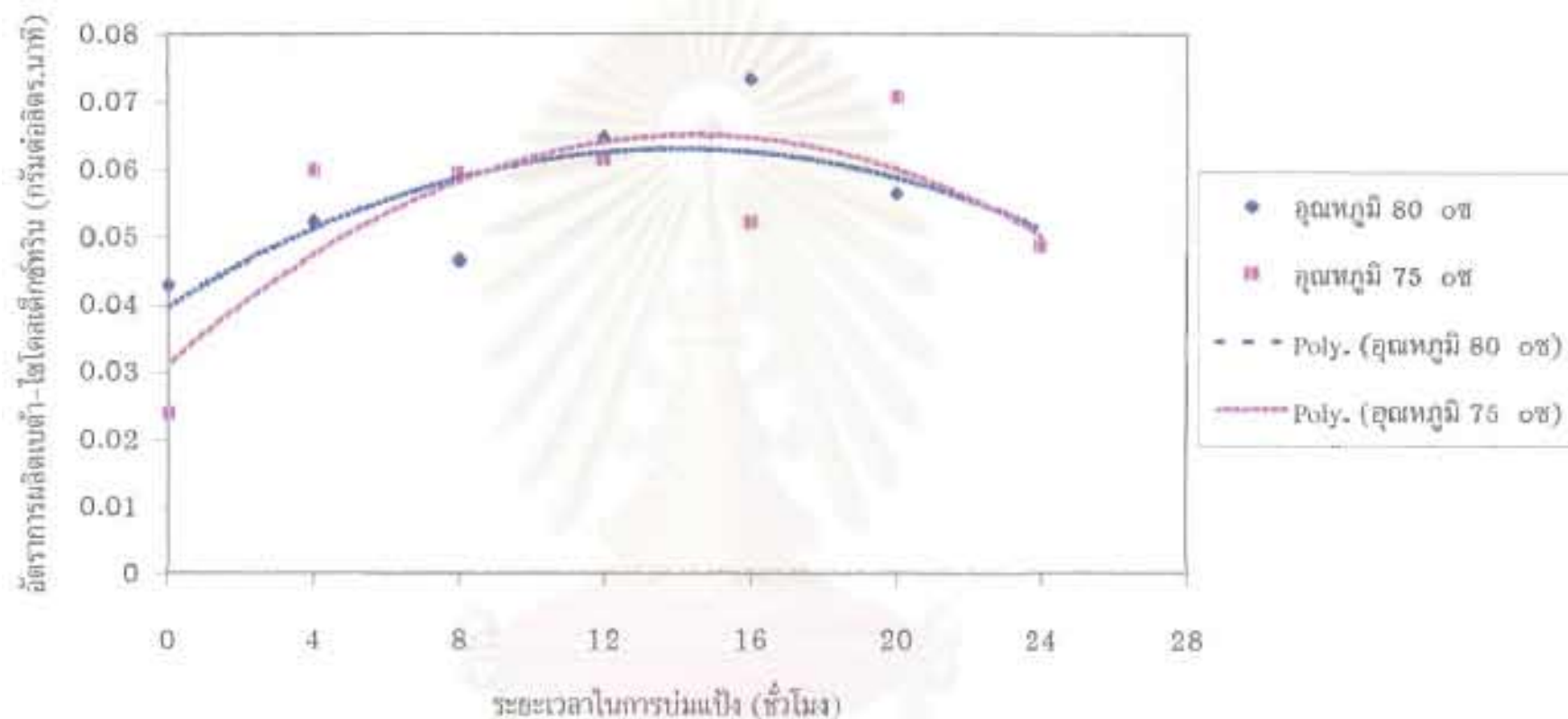
ดังที่ได้กล่าวมาแล้วว่าอัตราการผลิต CD ขึ้นกับปัจจัยหลายประการ ได้แก่สภาวะที่ใช้ในการผลิต ชนิดของสารตั้งต้น และความเข้มข้นของสารตั้งต้นและเอนไซม์ เหล่านี้เป็นต้น แต่ในงานวิจัยนี้สนใจศึกษาสมบัติทางกายภาพที่เปลี่ยนแปลงไปของสารตั้งต้นชนิดเดียวกันที่มีต่ออัตราการผลิต CD โดยเลือกใช้แป้งมันสำปะหลังเป็นสารตั้งต้น และใช้เอนไซม์ CGTase จากเชื้อ *Bacillus circulans* ATCC 9995 ในการทำปฏิกิริยาเปลี่ยนแป้งมันสำปะหลังให้เป็น CD โดยสภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์ คือที่อุณหภูมิ 50 °ซ, pH 7 ซึ่งสารละลายแป้งที่ถูกนำมาใช้ในการผลิต CD นั้น จะผ่านขั้นตอนการเตรียมโดยวิธีการบ่มด้วยความร้อนและวิธีการบดโดยใช้ความร้อนร่วมด้วยเป็นระยะเวลา 0-24 ชม. ก่อนนำมาทำปฏิกิริยากับเอนไซม์

พิจารณาการเตรียมแป้งโดยวิธีการบ่มด้วยความร้อน พบว่าการเพิ่มอุณหภูมิในการบ่มจะทำให้อัตราการผลิต CD เพิ่มขึ้น เมื่อพิจารณาจากเส้นแนวโน้มพบว่าในเกือบทุกอุณหภูมิบ่ม (ยกเว้นที่อุณหภูมิ 60 °ซ) จะได้อัตราการผลิตสูงสุดที่ระยะเวลาในการบ่มประมาณ 16 ชม. แต่เมื่อพิจารณาการกระจายของจุดข้อมูลจะให้ผลที่ต่างออกไป โดยพบว่าที่อุณหภูมิบ่ม 60 °ซ อัตราการผลิต CD จะค่อนข้างคงที่ตามระยะเวลาบ่ม (รูปที่ 5.24) ส่วนที่อุณหภูมิบ่ม 65 °ซ อัตราการผลิตจะเริ่มคงที่ตั้งแต่ระยะเวลาในการบ่ม 8 ชม. เป็นต้นไป ส่วนที่อุณหภูมิ 70 ° - 75 °ซ (รูปที่ 5.25) อัตราการผลิตจะเริ่มคงที่ตั้งแต่ระยะเวลาในการบ่ม 4 ชม. เป็นต้นไป ในขณะที่อุณหภูมิ 80 °ซ อัตราการผลิตที่ระยะเวลาบ่มต่างๆจะมีค่าใกล้เคียงกันตั้งแต่ชั่วโมงบ่มเริ่มต้น นอกจากนี้ยังพบว่าอัตราการผลิตที่สภาวะสมดุล (อัตราการผลิตคงที่) ของอุณหภูมิบ่ม 70°, 75 ° และ 80 °ซ จะให้ค่าอัตราการผลิตใกล้เคียงกัน (แตกต่างกันไม่เกิน 10-13%) ดังนั้นการพิจารณาอัตราการผลิต  $\beta$ -CD แรกเริ่ม ตามระยะเวลาบ่มจากเส้นแนวโน้มเพียงอย่างเดียวจึงไม่เพียงพอ และจำเป็นต้องพิจารณาการกระจายของจุดข้อมูลร่วมด้วย

จะเห็นได้ว่าการบ่มแป้งที่อุณหภูมิสูง (ตั้งแต่ 70 °ซ เป็นต้นไป) จะให้อัตราการผลิตสูงกว่าที่อุณหภูมิต่ำ (60 °ซ) ประมาณ 80% ทั้งนี้เนื่องจากการบ่มด้วยความร้อนสูงจะทำให้เม็ดแป้งพองตัวและแตกออกอย่างรวดเร็ว ขนาดที่วัดได้จึงเล็กลงตามระยะเวลาบ่ม การลดลงของขนาดเม็ดแป้งหมายถึงสารละลายแป้งเกิดเจลาติโนซีได้สมบูรณ์ขึ้น การแตกของเม็ดแป้งที่พองตัวจะทำให้สารละลายมีความเป็นเนื้อเดียวกันมากขึ้น (หมายถึงละลายได้มากขึ้น)



รูปที่ 5.24 อัตราการผลิตเบต้า-ไฮโดลแล็กซทรินจากแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 ความเร็วรอบ 450 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิบด 60°, 65° และ 70°ซ ที่ระยะเวลาในการบ่ม 0-24 ชม.



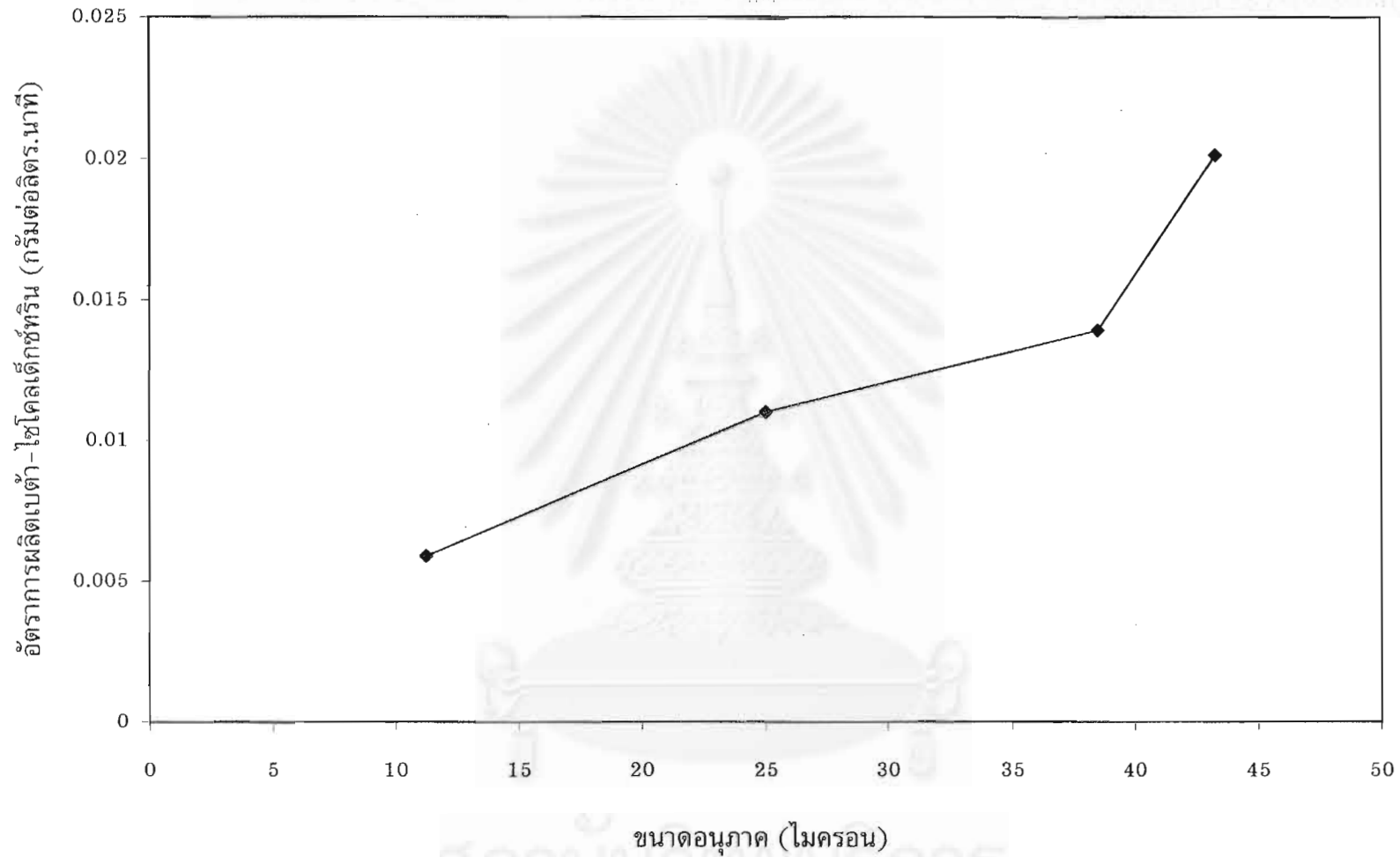
รูปที่ 5.25 อัตราการผลิตเบต้า-ไฮโดลดีเกกซ์ทรินจากแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 ความเร็วรอบ 450 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิบ่ม 75 °, 80 °C และ 70 °C ที่ระยะเวลาในการบ่ม 0-24 ชม.

ตั้งที่ได้กล่าวไว้แล้วในหัวข้อ 5.1.2 (ในผลต่อขนาดของเม็ดแป้งมันสำปะหลัง) ซึ่งขนาดที่วัดได้ที่อุณหภูมิ 80 °C และระยะเวลาบ่ม 24 ชม. คือ ขนาดของเม็ดแป้งที่หลงเหลือจากการเจลาติไนซ์ แสดงว่าอัตราการผลิตจะเพิ่มขึ้นเมื่อแป้งถูกเจลาติไนซ์ไปมากขึ้น

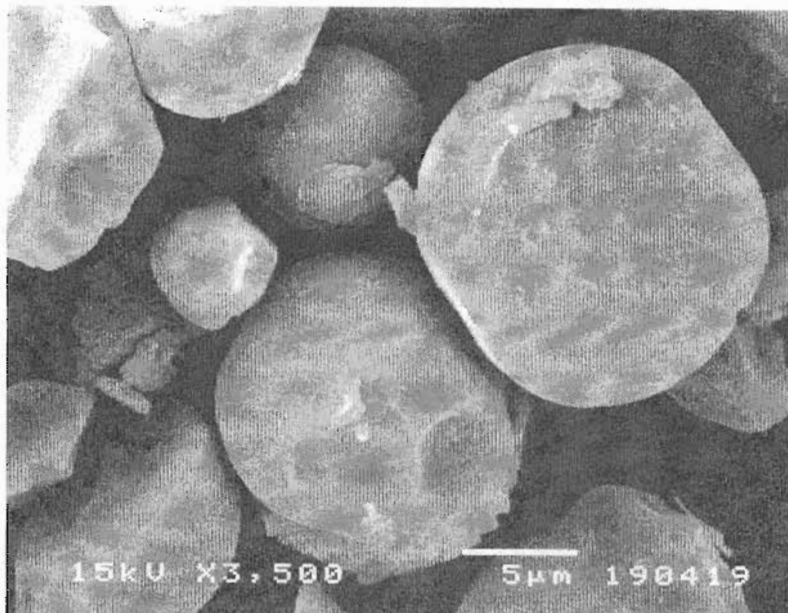
เมื่อพิจารณาถึงลักษณะกายภาพที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อมีการเพิ่มอุณหภูมิในการบ่ม จะเห็นได้ว่าสมบัติทางกายภาพของเม็ดแป้งอันได้แก่ ร้อยละการละลาย กำลังการพองตัว ขนาดและความหนืด จะเพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิ โดยปกติกำลังการพองตัวและขนาดจะมีความสัมพันธ์กันคือ เมื่อกำลังการพองตัวเพิ่มขึ้นขนาดที่วัดได้ควรจะมากขึ้นด้วย แต่ในงานวิจัยนี้มีผลของการแตกของเม็ดแป้งและการเกิดเจลาติไนซ์ของแป้งทำให้ความสัมพันธ์ของกำลังการพองตัวและขนาดเปลี่ยนไป สรุปได้ว่าที่อุณหภูมิในช่วงต้นของการเกิดเจลาติไนซ์ (60 °C) เม็ดแป้งจะพองตัวเพิ่มขึ้นเล็กน้อยและคงที่ตลอดระยะเวลาในการบ่ม กำลังการพองตัวและขนาดที่วัดได้จึงสัมพันธ์กัน แต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการบ่มให้สูงขึ้น พลังงานความร้อนและแรงเฉือนจะทำให้เม็ดแป้งเกิดการแตก กำลังการพองตัวที่วัดได้จะลดลงตามเวลา ในขณะที่ขนาดที่วัดได้ก็ลดลงตามเวลาบ่มเช่นกัน ดังนั้นในการวิเคราะห์อัตราการผลิต CD เมื่ออ้างถึงขนาดจะหมายความรวมถึงกำลังการพองตัวของเม็ดแป้งด้วย

การเพิ่มอุณหภูมิในการบ่มทำให้เม็ดแป้งพองตัวได้มากขึ้น มีขนาดใหญ่ขึ้น การพองตัวของเม็ดแป้งเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวของสารตั้งต้น ทำให้เอนไซม์เข้าทำได้ง่ายขึ้น [Lee และ Kim, 1992] ดังนั้นการบ่มแป้งที่อุณหภูมิสูงกว่าจึงให้อัตราการผลิตแรกเริ่มสูงกว่า แต่ในงานวิจัยนี้จะสังเกตผลของขนาดต่ออัตราการผลิต CD ได้ยาก เนื่องจากอนุภาคเม็ดแป้งเกิดการแตกในทุกอุณหภูมิบ่มที่ศึกษา ดังนั้น เพื่อตรวจสอบว่าขนาดที่เพิ่มขึ้น (กรณีไม่มีการแตก) จะมีผลให้อัตราการผลิตเพิ่มขึ้นหรือไม่ จึงทำการทดลองบ่มสารละลายแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 ที่อุณหภูมิ 80 °C และเก็บตัวอย่างเพื่อทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ CGTase ทุก 5-10 นาที รวมทั้งวัดขนาดเม็ดแป้งที่เปลี่ยนแปลงไปเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของเม็ดแป้งกับอัตราการผลิต (รูปที่ 5.26) จะพบว่าอัตราการผลิตเพิ่มขึ้นตามขนาดของเม็ดแป้งที่เพิ่มขึ้น โดยเม็ดแป้งพองตัวมีขนาดใหญ่กว่าตอนเริ่มต้นประมาณ 3.5 เท่า ภายในเวลา 30 นาที และให้อัตราการผลิตสูงกว่าขนาดเม็ดแป้งที่เริ่มต้นประมาณ 3.3 เท่า

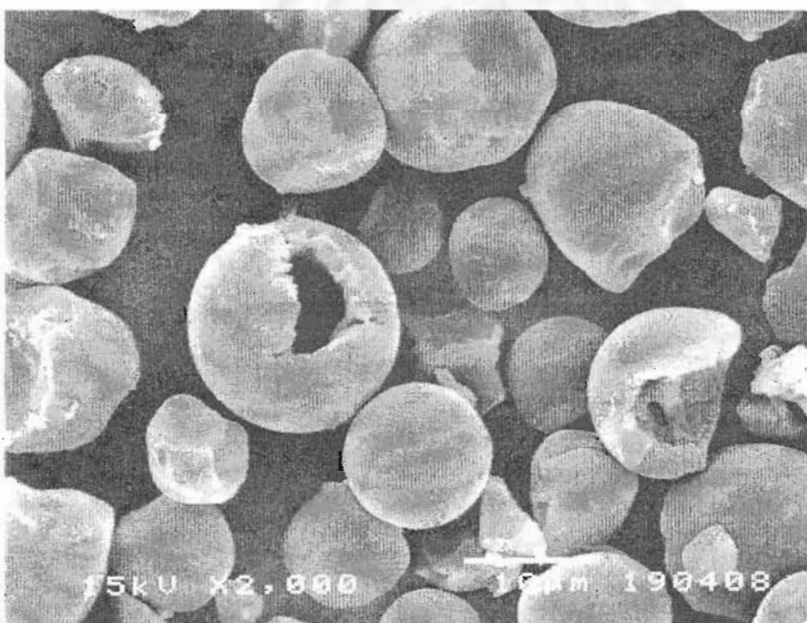
จากการสังเกตการเข้าทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ด้วยภาพถ่ายกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (รูปที่ 5.27) พบว่าเอนไซม์จะเข้าทำปฏิกิริยากับเม็ดแป้งมันสำปะหลังดิบที่พองตัวโดยการย่อยเม็ดแป้งให้เกิดเป็นรู เพื่อที่เอนไซม์จะสามารถเข้าไปย่อยภายในเม็ดแป้งได้ ลักษณะการย่อยเม็ดแป้งมันฝรั่งของเอนไซม์ CGTase ที่รายงานไว้ในงานวิจัยของ Yamamoto และคณะ (2000) ก็ให้ผลคล้ายคลึงกัน คือ ลักษณะของเม็ดแป้งที่ได้จากการย่อยของเอนไซม์จะมีลักษณะโดยทั่วไป 2 แบบคือ คล้ายเปลือกไข่ที่ถูกกระแทะเป็นรู และคล้ายฟองน้ำที่ถูกกัดเซาะ



รูปที่ 5.26 ผลของขนาดอนุภาคเม็ดแป้งมันสำปะหลังเมื่อได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 80 °ซ ที่มีผลต่ออัตราการการผลิตเบต้า-ไซโคลเด็กซ์ทรินแรกเริ่ม



(ก)



(ข)

รูปที่ 5.27 ลักษณะของเม็ดแป้งมันสำปะหลังก่อนและหลังถูกแรงปฏิบัติการด้วยเอนไซม์ CGTase

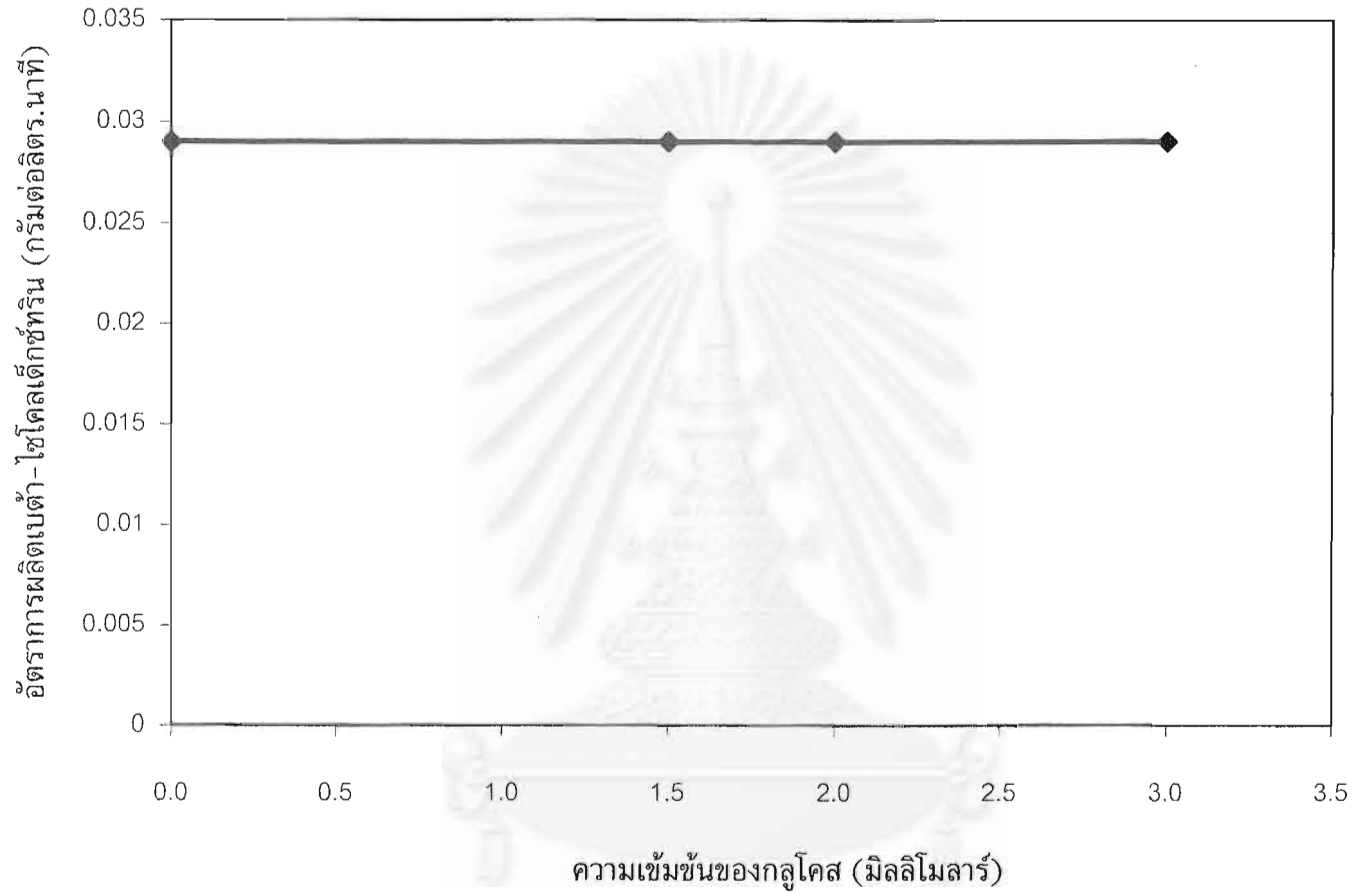
(ก) เม็ดแป้งที่ถูกบ่มที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 4 ชม.

(ข) เม็ดแป้งที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 4 ชม. และถูกย่อยโดยเอนไซม์ CGTase

สำหรับในงานวิจัยนี้ซึ่งอนุภาคเม็ดแป้งเกิดการแตกนั้น พบว่าอัตราการผลิตจะยิ่งเพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากการแตกทำให้เอนไซม์สามารถเข้าไปย่อยภายในเม็ดแป้งได้ง่ายขึ้น Kim และคณะ (1992) รายงานว่าเมื่อเม็ดแป้งพองตัว เอนไซม์จะเข้าทำปฏิกิริยากับอะมิโลสและอะมิโลแพกทินที่ละลายออกมา และทำปฏิกิริยาที่ผิวของเม็ดแป้งเพื่อผลิต CD ดังนั้นหากเม็ดแป้งเกิดการแตก โมเลกุลของอะมิโลสและอะมิโลแพกทินจะละลายออกมาได้มากขึ้น โครงสร้างภายในที่อ่อนตัวลงของเม็ดแป้งทำให้เอนไซม์ทำปฏิกิริยาได้ดียิ่งขึ้น

อนึ่ง อุณหภูมิบ่มที่สูงขึ้นจะทำให้สารละลายแป้งมีความหนืดมากขึ้น แต่ค่าความหนืดจะลดลงตามเวลาการบ่มเนื่องจากการแตกออกของอนุภาคเม็ดแป้ง และค่าความหนืดที่วัดได้ที่อุณหภูมิ 65 °C เป็นต้นไป จะมีแนวโน้มเข้าสู่ค่าคงที่ภายหลังระยะเวลาบ่มผ่านไป 4 ชม. และมีค่าสูงกว่าที่อุณหภูมิบ่ม 60 °C ประมาณ 95-98% อย่างไรก็ตามค่าความหนืดที่เพิ่มมากขึ้นจะไม่ส่งผลต่ออัตราการผลิตไซโคลเด็กซ์ทรินเริ่มต้น เช่นเดียวกับปริมาณน้ำตาลกลูโคสซึ่งพบว่าเพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิและระยะเวลาในการบ่มหรือบดแป้ง และพบปริมาณสูงสุด 3 มิลลิโมลาร์ ที่อุณหภูมิบ่ม 80 °C และระยะเวลาบ่ม 24 ชม. แต่จากการตรวจสอบผลของน้ำตาลกลูโคสที่มีต่ออัตราการผลิต  $\beta$ -CD แรกเริ่ม โดยทำการทดลองผลิต  $\beta$ -CD จากน้ำแป้งที่มีน้ำตาลกลูโคสผสมอยู่จำนวน 3, 2 และ 1.5 มิลลิโมลาร์ พบว่ากรณีที่มีและไม่มีน้ำตาลกลูโคสผสมอยู่จะให้อัตราการผลิตไม่แตกต่างกัน (ดูรูปที่ 5.28) จึงสรุปได้ว่าปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เกิดขึ้นจากการเตรียมแป้งโดยวิธีการบ่มหรือการบดในงานวิจัยนี้ถือได้ว่ามีปริมาณน้อยมากและไม่มีผลต่อการเร่งปฏิกิริยา coupling ของเอนไซม์ CGTase

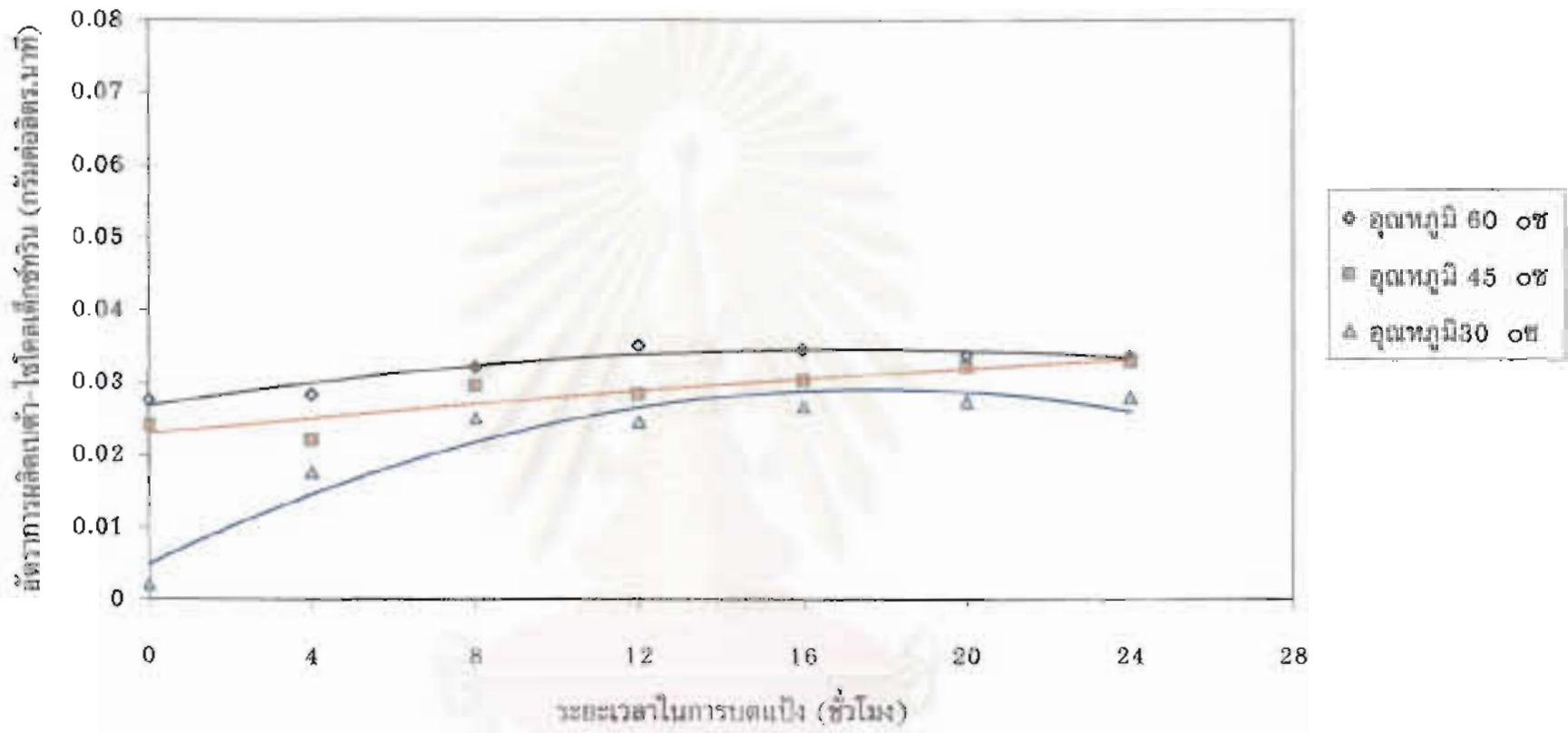
เมื่อพิจารณาในสถานะที่มีการบดโดยใช้ความร้อนร่วมด้วยที่อุณหภูมิต่ำกว่าเจลาตินไนซ์ และที่อุณหภูมิเริ่มเจลาตินไนซ์ คือ 30°, 45° และ 60 °C (รูปที่ 5.29) จะพบว่าการเพิ่มอุณหภูมิในการบดทำให้อัตราการผลิตเพิ่มขึ้น โดยที่อุณหภูมิ 60 °C จะทำให้อัตราการผลิต CD สูงสุดประมาณ 0.027 กรัมต่อลิตร.นาที่ ที่ระยะเวลาบด 0 ชม. และสูงกว่าการบดที่อุณหภูมิห้องประมาณ 5.4 เท่า แต่เมื่อระยะเวลาในการบดเพิ่มมากขึ้น จะเห็นได้ว่าอัตราการผลิตของที่อุณหภูมิบด 30°, 45° และ 60 °C จะแตกต่างกัน ที่ระยะเวลาบด 16 ชม. โดยมีความแตกต่างสูงสุดไม่เกิน 15% การบดที่อุณหภูมิ 45° และ 60 °C เป็นการบดร่วมกับการให้พลังงานความร้อนแก่สารละลายแป้ง แต่การบดที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นการบดที่อุณหภูมิห้อง โดยไม่มีการให้พลังงานความร้อนแก่สารละลาย จากผลทางกายภาพพบว่าการบดจะช่วยให้เม็ดแป้งพองตัวมีขนาดใหญ่ขึ้นกว่ากรณีที่ไม่บดมากถึง 2.5 เท่า ที่ระยะเวลา 0 ชม. (รูปที่ 5.17) (เปรียบเทียบกับเวลา 0 ชม. เนื่องจาก ณ เวลานี้เม็ดแป้งยังไม่มีการแตก) และให้อัตราการผลิตสูงกว่ากรณีไม่มีการบดถึง 2.4 เท่า (รูปที่ 5.30)



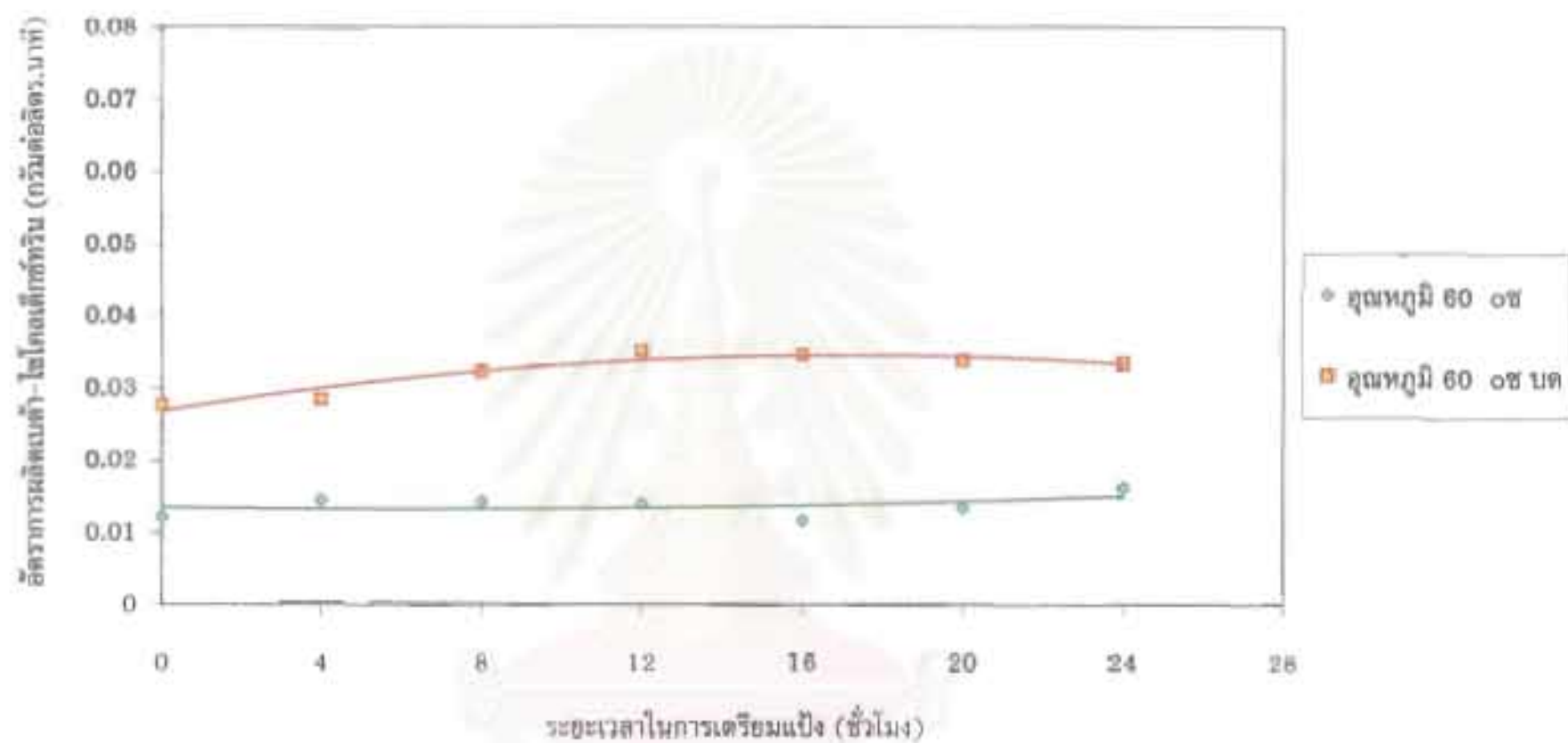
รูปที่ 5.28 ผลของปริมาณน้ำตาลกลูโคสต่ออัตราการผลิต เบต้า-ไซโคลเด็คซที่ความเข้มข้นแป้ง 7% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 ความเร็วรอบ 300 รอบต่อนาที

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย





รูปที่ 5.29 อัตราการผลิตเบต้า- ไซโตลเด็กซ์ทรีนจากแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7 % (ไคยน้ำหนักต่อปริมาตร) ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 ความเร็วรอบ 450 รอบต่อนาที ที่ผ่านการบดที่อุณหภูมิ 30°, 45° และ 60 °ซ



รูปที่ 5.30 เปรียบเทียบอัตราการผลิตแลคตา-ไซโคลเด็กซ์ทรินจากแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 ความเร็วรอบ 450 รอบต่อนาที ที่ผ่านการบดหรือการบ่มที่อุณหภูมิ 60 °C

ปัจจัยสำคัญที่ทำให้เม็ดแป้งเกิดการพองตัวและแตกออกได้แก่ พลังงานความร้อน แรงทางกลจากใบกวนหรือการบดของลูกแก้ว ดังนั้นที่สภาวะการบดที่อุณหภูมิห้องที่ระยะเวลาบด 0 ชม. จึงให้อัตราการผลิตต่ำกว่าที่อุณหภูมิ 45° และ 60° ซ มาก เนื่องจากขาดปัจจัยด้านพลังงานความร้อน การบดเป็นระยะเวลานานๆ น่าจะทำให้การแตกของเม็ดแป้งเพิ่มมากขึ้นแต่จากข้อมูลของขนาดพบว่า การแตกของเม็ดแป้งจะเพิ่มขึ้นเฉพาะกรณีที่บดที่อุณหภูมิเจลาติโนสเท่านั้น การบดที่อุณหภูมิต่ำกว่านี้ขนาดของเม็ดแป้งจะค่อนข้างคงที่แสดงว่าไม่มีการแตกของเม็ดแป้ง ดังนั้นอัตราการผลิตที่อุณหภูมิบด 30°, 45° และ 60° ซ จึงใกล้เคียงกันมาก เมื่อระยะเวลาในการบดเป็น 16 ชม. อาจเนื่องมาจากความร้อนและแรงทางกลทำให้โครงสร้างภายในของเม็ดแป้งอ่อนตัวลง(แต่ไม่แตก)จนเอนไซม์สามารถเข้าทำปฏิกิริยาได้

### 5.5 ผลของการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของเม็ดแป้งมันสำปะหลังต่ออัตราส่วนชนิดของไซโคลเด็กซ์ทริน

อัตราส่วนชนิดของ CD ขึ้นกับปัจจัยหลายประการ เช่น ชนิดและปริมาณของเอนไซม์ ชนิดและความเข้มข้นของสารตั้งต้น [Slominska และ Sobkowiak, 1997] สารตั้งต้นที่ถูกใช้ในการผลิต CD สำหรับงานวิจัยนี้ คือแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% ที่มีสมบัติทางกายภาพแตกต่างกัน เนื่องจากได้รับพลังงานความร้อนหรือแรงทางกลที่แตกต่างกัน จึงให้สัดส่วนชนิดของไซโคลเด็กซ์ทรินแตกต่างกันด้วย (ตารางที่ 5.3)

ตารางที่ 5.3 สัดส่วนชนิดของไซโคลเด็กซ์ทรินจากแป้งที่ผ่านการบดที่อุณหภูมิ 60° และ 80° ซ ที่ระยะเวลาบดต่างๆ วิเคราะห์โดยใช้เครื่อง HPLC

ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา (นาที)	อัตราส่วนชนิดของไซโคลเด็กซ์ทริน $\alpha:\beta:\gamma$			
	อุณหภูมิ 60° ซ			อุณหภูมิ 80° ซ
	บ่มแป้ง 0 ชม.	บ่มแป้ง 8 ชม.	บ่มแป้ง 12 ชม.	บ่มแป้ง 0 ชม.
0	1 : 0.5 : 0	1 : 2.7 : 0	1 : 3.8 : 0	1 : 27 : 1.7
10	1 : 2 : 0	1 : 2.2 : 0	-	1 : 22 : 2.7
20	1 : 1.4 : 0	-	1 : 3.6 : 0	1 : 4.2 : 0.4
30	1 : 2 : 0	1 : 2.3 : 0	1 : 3.6 : 0	1 : 3.8 : 0.48
40	1 : 1 : 0	1 : 2.2 : 0	1 : 13 : 0	-

พิจารณาที่อุณหภูมิบ่ม 60 °ซ จะพบว่าอัตราส่วนของ  $\beta$ -CD ที่ผลิตได้จะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการบ่มแ่งและระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา เนื่องจากเอนไซม์ CGTase ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ได้จากเชื้อ *Bacillus circulans* ATCC9995 ซึ่งผลิต  $\beta$ -CD เป็นผลิตภัณฑ์หลัก จึงสังเกตได้ว่าสัดส่วนของ  $\beta$ -CD จะสูงกว่า  $\alpha$ -CD และ  $\gamma$ -CD มาก โดยเฉพาะอย่างยิ่ง  $\gamma$ -CD จะไม่ถูกผลิตเลยที่อุณหภูมิบ่ม 60 °ซ ทั้งนี้หากพิจารณาลักษณะทางกายภาพของเม็ดแ่งที่อุณหภูมิบ่ม 60 °ซ จะพบว่า เม็ดแ่งมีขนาดค่อนข้างคงที่ตลอดระยะเวลาบ่ม 24 ชม. ในขณะที่เดียวกันร้อยละการละลายก็มีแนวโน้มคงที่เช่นกัน เพราะอุณหภูมิบ่มที่ค่อนข้างต่ำทำให้อุณหภูมิเม็ดแ่งพองตัวได้ไม่มาก การแตกของเม็ดแ่งจึงเกิดขึ้นน้อยมาก (สังเกตจากรูปที่ 5.6 ขนาดจะค่อย ๆ ลดลงทีละน้อย) แสดงว่าเม็ดแ่งยังมีโครงสร้างที่เป็นอนุภาคอยู่ ดังนั้น เอนไซม์จึงเข้าทำปฏิกิริยาได้น้อยเมื่อเทียบกับสถานะที่เม็ดแ่งแตก ฉะนั้น ชนิดของ CD ที่ไม่ใช่ผลิตภัณฑ์หลักจึงถูกผลิตน้อยลงตามสัดส่วน

เมื่อเพิ่มอุณหภูมิบ่มเป็น 80 °ซ พบว่าอัตราส่วนชนิดของ  $\beta$ -CD จะเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนและให้อัตราส่วนของ  $\beta$ -CD สูงกว่าที่อุณหภูมิบ่ม 60 °ซ ถึง 54 เท่า (เทียบกับระยะเวลาบ่ม 0 ชม. เท่ากัน) ในขณะเดียวกันยังพบว่ามี  $\gamma$ -CD ถูกผลิตขึ้นด้วย ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากลักษณะทางกายภาพของเม็ดแ่งที่แตกต่างกันระหว่างที่อุณหภูมิบ่ม 60 °ซ และ 80 °ซ สำหรับที่อุณหภูมิ 80 °ซ นั้น สารละลายแ่งจะแปรสภาพเป็นเจล ซึ่งหมายถึงอุณหภูมิเม็ดแ่งเกิดการแตกและละลายเป็นเนื้อเดียวกัน ส่วนที่อุณหภูมิบ่ม 60 °ซ ความเป็นอนุภาคของเม็ดแ่งยังคงอยู่และแยกเฟสกับสารละลายบัฟเฟอร์อย่างชัดเจน เอนไซม์จึงเข้าทำปฏิกิริยาได้เฉพาะที่ผิวของเม็ดแ่งที่พองตัวและส่วนที่ละลายออกมาบางส่วนเท่านั้น ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าหากสารละลายแ่งอยู่ในสภาพที่เหมาะสมหรือง่ายต่อการเข้าทำปฏิกิริยาของเอนไซม์มากกว่า เอนไซม์จะสามารถผลิต CD ชนิดอื่นๆเป็นผลิตภัณฑ์รองลงมาได้มากขึ้น ซึ่งถือเป็นข้อได้เปรียบอีกประการหนึ่งของการผลิต CD จากเม็ดแ่งที่บ่มที่อุณหภูมิสูงเนื่องจาก  $\gamma$ -CD เป็นชนิดของ CD ที่มีราคาแพงที่สุด (59 ดอลลาร์สหรัฐต่อกรัม, ราคาจากบริษัท CYCLOLAB จำกัด)

การวัดสัดส่วนของชนิดของ CD ที่ปฏิกิริยาแรกเริ่ม (initial rate) พบว่า  $\alpha$ -CD จะถูกผลิตขึ้นได้แม้ว่าจะเป็นการบ่มแ่งที่อุณหภูมิ 60 °ซ โดยใช้ระยะเวลาบ่มเพียง 0 ชม. ก็ตาม ทั้งนี้อาจเป็นเพราะกลไกการทำงานของเอนไซม์ CGTase ซึ่งจะทำการย่อยแ่งและผลิต CD โดยเกิดปฏิกิริยา Cyclization ด้วยการผลิต CD ที่มีขนาดใหญ่ก่อน (cycloamylose) จากนั้นจึงเกิดปฏิกิริยา Disproportionation เพื่อให้ได้ไซโคลเด็กซ์ทรินที่มีขนาดเล็กลง โดยการเกิดปฏิกิริยาซ้ำ ๆ จนกว่าจะถึงสภาวะสมดุลซึ่งให้ผลิตภัณฑ์หลักสูงสุด

## 5.6 บทสรุปการวิเคราะห์

จากการศึกษาการเตรียมแบ่งให้เหมาะสมต่อการเข้าทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ ด้วยการศึกษาสมบัติทางกายภาพของเม็ดแบ่งที่เปลี่ยนไปเมื่อผ่านกระบวนการในการบ่มด้วยความร้อนหรือการบด จากข้อมูลการทดลองที่ได้ พบว่าลักษณะทางกายภาพของเม็ดแบ่งมีผลต่ออัตราการผลิต  $\beta$ -CD เริ่มต้น การเพิ่มอุณหภูมิ แรงเฉือนจากใบกวน หรือการบดจะทำให้เม็ดแบ่งเปลี่ยนสภาพจากเดิมซึ่งเป็นอนุภาคที่มีโครงสร้างภายในยึดเหนี่ยวกันด้วยพันธะไฮโดรเจน แปรสภาพเป็นอนุภาคที่แตกเป็นชิ้นส่วนเมื่อถูกแรงทางกลกระทำ (แรงจากใบกวนหรือแรงจากการบด) หรือฟองตัวและแตกออกเมื่อได้รับพลังงานความร้อนและแรงทางกลเพียงพอ การแตกออกของอนุภาคที่อุณหภูมิในการบ่มหรือบดสูง ๆ เม็ดแบ่งจะแปรสภาพเป็นเจล การแตกทำให้โครงสร้างภายในถูกเปิดออก ส่วนที่ละลายน้ำได้ เช่น โมเลกุลของอะมิโลสและอะมิโลเพกทินจะละลายออกมา เอนไซม์จะสามารถเข้าทำปฏิกิริยาได้ทั้งส่วนที่ละลายและส่วนของโครงสร้างภายในเม็ดแบ่ง

ดังนั้นหากโครงสร้างของเม็ดแบ่งมีลักษณะที่เอนไซม์จะเข้าทำปฏิกิริยาได้ง่ายหรือที่เรียกว่าโครงสร้าง Reactive จะส่งผลให้อัตราการผลิต CD แรกเริ่มเพิ่มขึ้น จากผลการทดลองพบว่า ในสภาวะการเตรียมแบ่งโดยการบ่มด้วยความร้อน ที่อุณหภูมิ 75 และ 80 °C จะให้ผลของอัตราการผลิต  $\beta$ -CD สูงสุดเท่ากับ 0.066 กรัมต่อลิตร.นาที่ เมื่อเปรียบเทียบกับสภาวะที่มีการบดที่อุณหภูมิ 60 °C (ซึ่งเป็นอุณหภูมิสูงสุดที่จะสามารถบ่มสารละลายแบ่งได้ เนื่องจากที่อุณหภูมิสูงกว่านี้เม็ดแบ่งจะแปรสภาพเป็นเจล ทำให้ไม่สามารถบดได้) จะให้อัตราการผลิตสูงสุดเพียง 0.034 กรัมต่อลิตร.นาที่ ซึ่งต่ำกว่าอัตราการผลิตที่ได้จากการบ่มด้วยความร้อนถึงประมาณ 2 เท่า ดังนั้น หากต้องการอัตราการผลิต CD แรกเริ่มสูงสุด จึงควรเลือกวิธีการบ่มสารละลายแบ่งด้วยความร้อน

เมื่อพิจารณาจากการกระจายของจุดข้อมูลที่อุณหภูมิบ่ม 70, 75 และ 80 °C (ดูรูป 5.24 และ 5.25) จะพบว่าภายหลังระยะเวลาบ่ม 4 ชม. อัตราการผลิตที่ได้เกือบจะไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 5.4) จากตารางจะเห็นว่าที่อุณหภูมิ 70°, 75° และ 80 °C ให้ค่าเฉลี่ยที่มีค่าใกล้เคียงกัน โดยอัตราการผลิตที่อุณหภูมิบ่ม 70 °C น้อยกว่าที่อุณหภูมิบ่ม 75 และ 80° ประมาณ 13.5% และ 10.5% ตามลำดับ ในขณะที่อุณหภูมิบ่ม 75 และ 80 °C จะแตกต่างกันเพียง 3.4% ดังนั้นจึงควรเลือกอุณหภูมิในการบ่มที่ 75 °C และระยะเวลาในการบ่มเพียง 4 ชม. ซึ่งให้อัตราการผลิตประมาณ 0.06 กรัมต่อลิตร.นาที่ และประหยัดพลังงานในการให้ความร้อนได้มากกว่าการบ่มที่อุณหภูมิ 80 °C โดยระยะเวลาในการบ่มที่นานขึ้นไม่ได้ทำให้อัตราการผลิตมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบกับการบ่มแบ่งที่อุณหภูมิ 60 °C ซึ่งเป็นอุณหภูมิต่ำที่สุดของการบ่มด้วยความร้อน พบว่าอัตราการผลิตที่อุณหภูมิบ่ม 75 °C ระยะเวลาบ่ม 4 ชม. จะให้อัตราการผลิตสูงกว่าประมาณ 76% การที่อัตราการผลิตที่อุณหภูมิบ่ม 75 °C สูงกว่ามากแสดงให้เห็นว่าลักษณะทางกายภาพของเม็ดแบ่งมีการเปลี่ยนแปลงไปจากเดิมมาก จากข้อมูลของขนาด (รูปที่ 5.6 และรูปที่ 5.7) เมื่ออุณหภูมิบ่มเป็น

60 °ซ ระยะเวลาบ่ม 4 ชม. เม็ดแป้งจะพองตัวได้สูงสุดและมีขนาดประมาณ 27 ไมครอน ส่วนที่อุณหภูมิบ่ม 75 °ซ ระยะเวลาบ่ม 4 ชม. เม็ดแป้งมีขนาดประมาณ 30 ไมครอน ซึ่งเป็นขนาดของเม็ดแป้งที่แตกแล้ว ดังนั้น เอนไซม์จึงเข้าทำปฏิกิริยาได้ดีกว่า อัตราการผลิตแรกเริ่มจึงสูงกว่าเม็ดแป้งที่พองตัวโดยไม่มีการแตก

ตารางที่ 5.4 ตารางแสดงค่าอัตราการผลิต  $\beta$ -CD จากสารละลายแป้งที่ถูกบ่มที่อุณหภูมิ 70°, 75° และ 80 °ซ ตั้งแต่ระยะเวลาบ่มที่ 4 ชม. เป็นต้นไป

ระยะเวลาบ่มแป้ง (ชม.)	อัตราการผลิต (กรัมต่อลิตร.นาที่)		
	อุณหภูมิบ่ม 70 °ซ	อุณหภูมิบ่ม 75 °ซ	อุณหภูมิบ่ม 80 °ซ
4	0.0515	0.0598	0.0523
8	0.0415	0.0596	0.0465
12	0.0549	0.0616	0.0648
16	0.0526	0.0522	0.0734
20	0.049	0.0707	0.0566
24	0.0557	0.0489	0.049
ค่าเฉลี่ย	0.051	0.059	0.057

อัตราการผลิต  $\beta$ -CD แรกเริ่มในงานวิจัยนี้ ให้สภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการเตรียมแป้งโดยวิธีทางกายภาพ คือ การบ่มสารละลายแป้งเข้มข้น 7% ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7 ที่อุณหภูมิ 75 °ซ เป็นระยะเวลา 4 ชม. และทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ CGTase จากเชื้อ *Bacillus circulans* ATCC9995 จำนวน 3 ยูนิตต่อกรัมของแป้ง วัดโดยวิธี Phenolphthalein (หรือ 209 ยูนิตต่อกรัมของแป้ง วัดโดยวิธี Dextrinizing) เมื่อ จะให้อัตราการผลิตสูงสุดประมาณ 0.06 กรัมต่อลิตร.นาที่ (ค่าเฉลี่ยจากตารางที่ 5.2) หรือเท่ากับ 0.29 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อนาที่ต่อยูนิตเอนไซม์ (เทียบกับการวัดกิจกรรมเอนไซม์โดยวิธี Dextrinizing) เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Kim และคณะ (1995) ซึ่งผลิต  $\beta$ -CD โดยใช้เอนไซม์ CGTase ที่ได้จากเชื้อ *Bacillus macerans* จำนวน 48 ยูนิตต่อกรัมของแป้ง ด้วยการบ่มสารละลายแป้งข้าวโพดเข้มข้น 7.5% และใช้ที่อุณหภูมิ 65 °ซ เป็นเวลา 1 ชม. (สภาวะที่เหมาะสมที่สุด) พบว่าให้อัตราการผลิตเริ่มต้นเท่ากับ 0.32 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อนาที่ต่อยูนิตเอนไซม์

ส่วนการผลิต  $\beta$ -CD จากแป้งที่ผ่านการบดในถังปฏิกรณ์แบบบดย่อยของ Lee และ Kim (1991) โดยใช้เอนไซม์ CGTase จากเชื้อ *Bacillus* sp. BE101 จำนวน 500 ยูนิตต่อกรัมของแป้ง และใช้ความเข้มข้นของแป้งข้าวโพดเป็น 15% การผลิต  $\beta$ -CD จะทำไปพร้อม ๆ กับการบดสารละลายแป้ง และพบว่าให้อัตราการผลิต  $\beta$ -CD แรกเริ่มเท่ากับ 0.58 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อเวลาที่ต่อยูนิตเอนไซม์ ซึ่งจะเห็นได้ว่าในงานวิจัยนี้ให้อัตราการผลิต  $\beta$ -CD แรกเริ่มต่ำกว่างานวิจัยของ Kim และคณะ (1995) ประมาณ 9% และต่ำกว่างานวิจัยของ Lee และ Kim (1991) ประมาณ 50% ซึ่งอาจจะเป็นเพราะ

- (1) เอนไซม์ที่ใช้ในงานวิจัยได้จากเชื้อแบคทีเรียต่างชนิดกัน
- (2) crude เอนไซม์ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ อาจมีเอนไซม์ชนิดอื่น ๆ ปะปนอยู่และย่อยโมเลกุลของแป้งให้มีลักษณะที่ไม่เหมาะสมต่อการเข้าทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ CGTase หรือสามารถย่อยสลาย CD ได้
- (3) ความเข้มข้นของน้ำแป้งที่ใช้ในการสังเคราะห์ไซโคลเด็กซ์ทรินในงานวิจัยของ Lee และ Kim (1991) สูงกว่าความเข้มข้นของน้ำแป้งที่ใช้ในงานวิจัยนี้มากถึง 2 เท่า

การเปรียบเทียบอัตราการผลิต  $\beta$ -CD แรกเริ่มของงานวิจัยนี้กับงานวิจัยของ Lee และ Kim (1991) และงานวิจัยของ Kim และคณะ (1995) สรุปได้ดังตารางที่ 5.5

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 5.5 เปรียบเทียบอัตราการผลิต เบต้า-ไฮโดรลิกซ์ทรินแรกเริ่ม กับงานวิจัยอื่นๆ

การผลิต beta-CD	ชนิดของแป้ง	ชนิดของเอนไซม์ / แหล่งที่มา	ปริมาณของเอนไซม์ที่ใช้ (หน่วยต่อกรัมของแป้ง)	อัตราการผลิต beta-CD แรกเริ่ม (มิลลิกรัมต่อลิตรต่อเวลาที่ต่อหน่วยเอนไซม์)
ผลิตโดยใช้ถังปฏิกรณ์แบบบดย่อย Lee และ Kim, 1991	แป้งข้าวโพด 15%	Crude/ Bacillus sp. BE101	500	0.58
ผลิตจากแป้งที่ผ่านการบ่ม Kim และคณะ, 1995	แป้งข้าวโพด 7.50%	Purified/ Bacillus macerans	48	0.32
ผลิตจากแป้งที่ผ่านการบ่ม (งานวิจัยนี้)	แป้งมันสำปะหลัง 7%	Crude/ Bacillus circulans ATCC9995	209	0.29



## บทที่ 6

### สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

#### 6.1 สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิ เวลา และการบดย่อย ที่มีต่อสมบัติทางกายภาพของเม็ดแป้งมันสำปะหลังและต่ออัตราการผลิตเบต้า-ไซโคลเด็กซ์ทรินแรกเริ่ม โดยใช้เอนไซม์ CGTase จากเชื้อ *Bacillus circulans* ATCC9995 ที่ความเข้มข้นของแป้งมันสำปะหลังเท่ากับ 7% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร โดยวิธีการเตรียมแป้งให้เหมาะสมต่อการเข้าทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ 2 วิธี คือ การบ่มด้วยความร้อน และการบด ได้ผลสรุปดังต่อไปนี้

##### 1. ผลของอุณหภูมิและระยะเวลาในการบ่มต่อสมบัติทางกายภาพของเม็ดแป้งมันสำปะหลัง

- การบ่มแป้งที่อุณหภูมิ 60 °ซ ซึ่งเป็นอุณหภูมิเริ่มต้นการเกิดเจลลิตไนซ์ของแป้งมันสำปะหลัง เม็ดแป้งจะพองตัวได้น้อยมาก และให้ค่ากำลังการพองตัวคงที่ตามระยะเวลาบ่ม การเพิ่มอุณหภูมิบ่มให้สูงขึ้นเป็น 65 °ซ กำลังการพองตัวจะเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า และมีค่าประมาณ 10
- ร้อยละการละลายของสารละลายแป้งที่อุณหภูมิ 60 °ซ จะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาบ่ม และมีแนวโน้มเข้าสู่ค่าคงที่ ในขณะที่อุณหภูมิ 65 °ซ แนวโน้มของร้อยละการละลายจะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาบ่มอย่างต่อเนื่อง
- ค่าความหนืดของสารละลายแป้งจะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิในการบ่มสูงขึ้น และจะลดลงตามระยะเวลาบ่มที่นานขึ้น โดยที่อุณหภูมิ 75 °ซ จะให้ค่าความหนืดสูงสุด ที่ระยะเวลาบ่ม 0 ชม. มีค่าเท่ากับ 7,000 เซ็นติพอยส์ ส่วนที่อุณหภูมิบ่ม 60 และ 65 °ซ จะให้ค่าความหนืดสูงสุดที่ระยะเวลาในการบ่ม 4 ชม. เท่ากับ 1.9 และ 13.5 เซ็นติพอยส์ ตามลำดับ โดยค่าความหนืดที่อุณหภูมิบ่ม 60 °ซ จะมีค่าต่ำที่สุดและมีค่าคงที่ตามระยะเวลาบ่ม
- เม็ดแป้งจะมีขนาดเพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิบ่มที่เพิ่มขึ้น ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เม็ดแป้งจะมีขนาดลดลงภายหลังระยะเวลาบ่ม 4 ชม. ส่วนอุณหภูมิบ่มตั้งแต่ 65 °ซ เป็นต้นไป อนุภาคจะเกิดการแตกและมีบางส่วนเกิดเจลลิตไนซ์ตั้งแต่เริ่มบ่ม ดังนั้นขนาดที่วัดได้จึงเป็นขนาดของเม็ดแป้งที่หลงเหลือจากการเจลลิตไนซ์ จึงมีขนาดลดลงตามระยะเวลาบ่ม โดยที่อุณหภูมิบ่มสูง ๆ ขนาดเม็ดแป้งจะลดลงด้วยอัตราที่เร็วกว่า

## 2. ผลของอุณหภูมิและระยะเวลาในการบดต่อสมบัติทางกายภาพของเม็ดแป้งมันสำปะหลัง

- กำลังการพองตัวของเม็ดแป้งที่อยู่ในสภาวะที่มีการบด จะเพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิที่ใช้ในการบด และมีแนวโน้มลดลงตามระยะเวลาบดที่นานขึ้น ที่อุณหภูมิ 60 °ซ จะให้ค่ากำลังการพองตัวสูงกว่าการบดที่อุณหภูมิห้องประมาณ 2 เท่า
- ร้อยละการละลายของแป้งที่ถูกบดที่อุณหภูมิ 45 และ 60 °ซ จะมีค่าใกล้เคียงกันและเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาบด ที่อุณหภูมิ 30 °ซ จะมีค่าใกล้เคียงกับ ที่อุณหภูมิ 45 และ 60 °ซ เมื่อเวลาบดผ่านไปประมาณ 8 ชม.
- การเพิ่มอุณหภูมิจาก 30 °ซ เป็น 45 °ซ ค่าความหนืดจะเปลี่ยนแปลงน้อยมาก แต่การเพิ่มอุณหภูมิจาก 30 ° และ 45 °ซ เป็น 60 °ซ ค่าความหนืดจะเปลี่ยนแปลงไปอย่างมาก โดยให้ค่าสูงสุดที่ระยะเวลาบดเป็น 4 ชม. มีค่าประมาณ 63 เซ็นติพอยส์
- การบดแป้งที่อุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิเจลาติไนซ์ของแป้งมาก ๆ (การบดที่อุณหภูมิ 30 และ 45 °ซ) เม็ดแป้งจะพองตัวได้ใน 4 ชม.แรก และจะมีขนาดคงที่ตลอดระยะเวลาบด ในขณะที่ 60 °ซ เม็ดแป้งจะพองตัวมีขนาดใหญ่กว่าเม็ดแป้งดิบประมาณ 3 เท่า ในตอนเริ่มต้นของการบด และจะลดลงตามเวลาบด

## 3. ผลของลักษณะทางกายภาพต่ออัตราการผลิตเบต้า-ไซโคลเด็กซ์ทริน

- อัตราการผลิตเบต้า-ไซโคลเด็กซ์ทรินแรกเริ่มโดยวิธีการบ่มจะให้อัตราการผลิตแรกเริ่มสูงสุดที่อุณหภูมิในการบ่ม 75°-80 °ซ และระยะเวลาในการบ่มประมาณ 16 ชม. โดยมีค่าประมาณ 0.066 กรัมต่อลิตร.นาที่
- อัตราการผลิตเบต้า-ไซโคลเด็กซ์ทรินแรกเริ่มโดยวิธีการบดจะให้อัตราการผลิตแรกเริ่มสูงสุดที่อุณหภูมิในการบ่ม 60 °ซ และระยะเวลาในการบ่มประมาณ 16 ชม. โดยมีค่าประมาณ 0.034 กรัมต่อลิตร.นาที่
- เมื่อเปรียบเทียบอัตราการผลิตเบต้า-ไซโคลเด็กซ์ทรินโดยวิธีการบ่มและบด วิธีการบ่มจะให้อัตราการผลิตสูงกว่าการบดประมาณ 2 เท่า
- อนุภาคที่พองตัวโดยไม่มีการแตกจะให้อัตราการผลิตต่ำกว่าอนุภาคเม็ดแป้งที่มีการแตกประมาณ 2 เท่า พิจารณาเปรียบเทียบที่อุณหภูมิ 60 °ซ ที่ระยะเวลา 8 ชม. ในสภาวะที่ไม่มีการบดจะให้อัตราการผลิตเท่ากับ 0.014 กรัมต่อลิตร.นาที่ ในขณะที่สภาวะที่มีการบดอัตราการผลิตจะเท่ากับ 0.032 กรัมต่อลิตร.นาที่

## 4. ผลของน้ำตาลกลูโคสต่ออัตราการผลิตเบต้า-ไซโคลเด็กซ์ทริน

ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่พบในงานวิจัยนี้ พบสูงสุดที่ความเข้มข้น 3 มิลลิโมลาร์ ที่อุณหภูมิบ่ม 80 °ซ ระยะเวลาบ่ม 24 ชม. แต่ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่พบไม่มีผลต่อการลดอัตราการผลิตไซโคลเด็กซ์ทริน

## 6.2 ข้อเสนอแนะ

- เพื่อให้ลักษณะทางกายภาพของเม็ดแป้งเหมาะสมต่อการเข้าทำปฏิกิริยาของเอนไซม์และให้อัตราการผลิตเบต้า-ไซโคลเด็กซ์ทรินแรกเริ่มสูงสุด ควรเลือกเตรียมแป้งโดยใช้วิธีการบ่มที่อุณหภูมิ 75 °ซ เป็นเวลา 4 ชั่วโมง
- ควรทำการทดลองเพิ่มเติมในส่วนของการเตรียมแป้งโดยวิธีการบ่มที่อุณหภูมิ 75 °ซ และในช่วงระยะเวลาการบ่มไม่เกิน 4 ชม. เพื่อศึกษาผลของอัตราการผลิต เบต้า-ไซโคลเด็กซ์ทรินแรกเริ่มในช่วงอุณหภูมิบ่มต่ำกว่า 4 ชม. เปรียบเทียบกับอัตราการผลิตที่ระยะเวลาบ่ม 4 ชม. ที่ได้ในงานวิจัยนี้ ซึ่งหากอัตราการผลิตเบต้า-ไซโคลเด็กซ์ทรินแรกเริ่มใกล้เคียงกัน การบ่มแป้งที่อุณหภูมิ 75 °ซ อาจไม่มีความจำเป็นต้องบ่มเป็นเวลานานถึง 4 ชม.
- ควรศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับการเตรียมแป้งด้วยวิธีทางกายภาพวิธีอื่นเพิ่มเติม เช่น การทำแป้งพรีเจลลาติไนซ์ หรือการลดขนาดเม็ดแป้งโดยการบดโม้ เป็นต้น เพื่อให้เป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับการเตรียมแป้งให้มีความเหมาะสมต่อการเข้าทำปฏิกิริยาของเอนไซม์

## รายการอ้างอิง

### ภาษาไทย

- กล้าณรงค์ ศรีรอด. 2541. คุณสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ของแป้ง. เอกสารประกอบการประชุมเชิงปฏิบัติการ เรื่อง คุณสมบัติและการใช้ประโยชน์ของแป้งมันสำปะหลัง สมาคมวิทยาศาสตร์การเกษตรแห่งประเทศไทย ในพระบรมราชูปถัมภ์ วันที่ 2-3 เมษายน 2541, หน้า 1-18.
- กล้าณรงค์ ศรีรอด และ เกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ. 2543. เทคโนโลยีของแป้ง. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ณัฐพงษ์ บวรเรืองโรจน์. 2535. การผลิตน้ำเชื่อมฟรักโทสจากแป้งมันสำปะหลังในฟลูอิด์-เบด. วิทยานิพนธ์ปริญญา มหาบัณฑิต สาขาชีวเคมี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ทิพย์สุภา มาลัย. 2537. การผลิตไซโคลเดกซ์ทรินจากแป้งข้าวเจ้า. วิทยานิพนธ์ปริญญา มหาบัณฑิต สาขาชีวเคมี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- อนงค์ เจษฎาญาณเมธา. 2534. แป้งมันสำปะหลังดัดแปร : การแทนที่และการเชื่อมขวาง. วิทยานิพนธ์ปริญญา มหาบัณฑิต สาขาชีวเคมี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- อรุณี ตริศิริโรจน์. 2537. การผลิตเอนไซม์ Cyclodextrin Glycosyltransferase โดยเชื้อ *Bacillus sp.* วิทยานิพนธ์ปริญญา มหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

### ภาษาอังกฤษ

- Charley, H. 1982. Starch and Vegetable Gums . Food Science. 2<sup>nd</sup> edition. John Wiley&Sons, Inc. New York.
- Fu, B.X., Kovacs, M.I., and Wang, C. 1998. A simple Wheat Flour Swelling Test. *Cereal Chemistry*. 566-567.
- Gawande, B.N., Goel, A., Patkar, A.Y., and Nene, S.N. 1999. Purification and properties of a novel raw starch degrading cyclomaltodextrin glucoamylase from *Bacillus firmus*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 51 : 504-509.
- Goel , A., and Nene , S.N. 1995. A Novel Cyclomaltodextrin Glucoamylase from *Bacillus firmus* that Degrades Raw Starch. *Biotechnology Letters*. 17(4): 411-416.
- Goel , A., and Nene , S.N. 1995. Modifications in the Phenolphthalein Method for Spectrophotometric Estimation of Beta Cyclodextrin. *Starch/starke*. 47(10) :399-400.

- Hamilton, L.M., Kelly, C.T., and Fogarty, W.M. 1999. Production and properties of the raw starch-digesting  $\alpha$ -amylase of *Bacillus* sp. IMD 435. Process Biochemistry. 35: 27-31.
- Horikoshi, K. 1979. Production and Industrial Applications of  $\beta$ -Cyclodextrin. Process Biochemistry. May : 26-30.
- Jones, E.O., and Lee, J.M. 1988. Kinetic Analysis of Bioconversion of cellulose in Attrition Bioreactor. Biotechnology and Bioengineering, 31: 35-40.
- Kim, T.J., Lee, Y.D., and Kim, H.S. 1993. Enzymatic Production of Cyclodextrins From Milled Corn Starch in an Ultrafiltration Membrane Bioreactor. Biotechnology and Bioengineering. 41:88-94.
- Kim, T.J., Kim, B.C., and Lee, Y.D. 1995. Production of cyclodextrins using moderately heat-treated corn starch. Enzyme and Microbial Technology. 17:1057-1061.
- Kim, T.J., Kim, B.C., and Lee, Y.D. 1997. Production of cyclodextrins using raw corn starch without a pretreatment. Enzyme and Microbial Technology. 20:506-509.
- Kim, Y.K., and Robyt, J.F. 2000. Enzyme modification of starch granules : formation and retention of cyclomaltoextrins inside starch granules reaction of cyclomaltoextrin glucanotransferase with solid granules. Carbohydr Res. 328(4) : 509-515.
- Li, W., and Corke H. 1996. Efficiency of Recrystallization Methods for the Purification of  $\beta$ -Cyclodextrin. Starch/starke. 48 : 382-385.
- Lee, J.H., Choi, K.H., Choi, J.Y., Lee, Y.S., Kwon, I.B., and Yu, J.H. 1992. Enzyme production of  $\alpha$ -cyclodextrin with the cyclomaltoextrin glucanotransferase of *Klebsiella oxytoca* 19-1. Enzyme and Microbial Technology. 14 : 1017-1020.
- Lee, J.J., Syracuse, N.Y., Uebersax, M.A., Zabik, M.E., Steffe, J.F., and Lansing, M.I. 1995. Gelatinization Properties of Navy bean Starch. Starch/starke. 47 : 329-333.
- Lee, K.C.P., and Tao, B.Y. 1995. A kinetic study of cyclodextrin glycosyltransferase : substrate and product inhibitions. Biotechnology and Application Biochemistry. 21 : 111-121.
- Lee, Y.D., and Kim, H.S. 1991. Enhancement of enzymatic production of cyclodextrins by organic solvents. Enzyme Microb. Technol. 13:499-503.

- Lee, Y.D., and Kim, H.S. 1991. Enzymatic Production of Cyclodextrins from Unliquefied Corn Starch in an Attrition Bioreactor. *Biotechnology and Bioengineering*. 37:795-801.
- Lee, Y.D., and Kim, H.S. 1992. Effect of Organic Solvent on Enzymatic Production of Cyclodextrins from Unliquefied Corn Starch in an Attrition Bioreactor. *Biotechnology and Bioengineering*. 39 : 977-983.
- Lichtenthaler, F.W., and Immel S. 1996. Towards Understanding Formation and Stability of Cyclodextrin Inclusion Complexes : Computation and Visualization of their Molecular Lipophilicity Patterns. *Starch/stark*. 48 : 145-154.
- McWilliams, M. 1997. *Starch. Foods : Experimental perspectives* . 3<sup>rd</sup> edition. Prentice-Hall, Inc.
- Nakamura, N., and Horikoshi, K. 1976. Characterization and Some Cultural Conditions of a Cyclodextrin Glycosyltransferase-producing *Alkalophilic Bacillus* sp. *Agricultural Biological Chemistry*. 40(4) : 753-757.
- Nakamura, N., and Horikoshi, K. 1976. Characterization of Acid-Cyclodextrin Glycosyltransferase of an *Alkalophilic Bacillus* sp. *Agricultural Biological Chemistry*. 40(8) : 1647-1648.
- Nakamura, N., and Horikoshi, K. 1975. Purification and Properties of Cyclodextrin Glycosyltransferase of an *Alkalophilic Bacillus* sp. *Agricultural Biological Chemistry*. 40(5) : 935-941.
- Nakamura, N., and Horikoshi, K. 1977. Production of Schardinger  $\beta$ -Dextrin by Soluble and Immobilized Cyclodextrin Glycosyltransferase of an *Alkalophilic Bacillus* sp. *Biotechnology and Bioengineering*. 19:87-99.
- Perry, R.H., and Green, D. 1984. Liquid-Solid Systems. *Perry's Chemical Engineers' Handbook*. 6<sup>th</sup> edition. McGraw-Hill, Inc. Malaysia.
- Pongsawasdi, P., and Yagisawa, M. 1987. Screening and Identification of a Cyclomaltodextrin Glucanotransferase-Producing Bacteria. *Journal of Fermentation technology*. 65(4) : 463-467.
- Pongsawasdi, P., and Yagisawa, M. 1988. Purification and Some Properties of Cyclomaltodextrin Glucanotransferase from *Bacillus circulans*. *Agricultural Biological Chemistry*. 52(5) : 1099-1103.
- Rao, R., and Rewatkar, V.B., Joshi, J.B. 1988. Critical Impeller Speed for Solid Suspension in Mechanically Agitated Contractors. *Aiche Journal*. 34(8): 1332-1340.

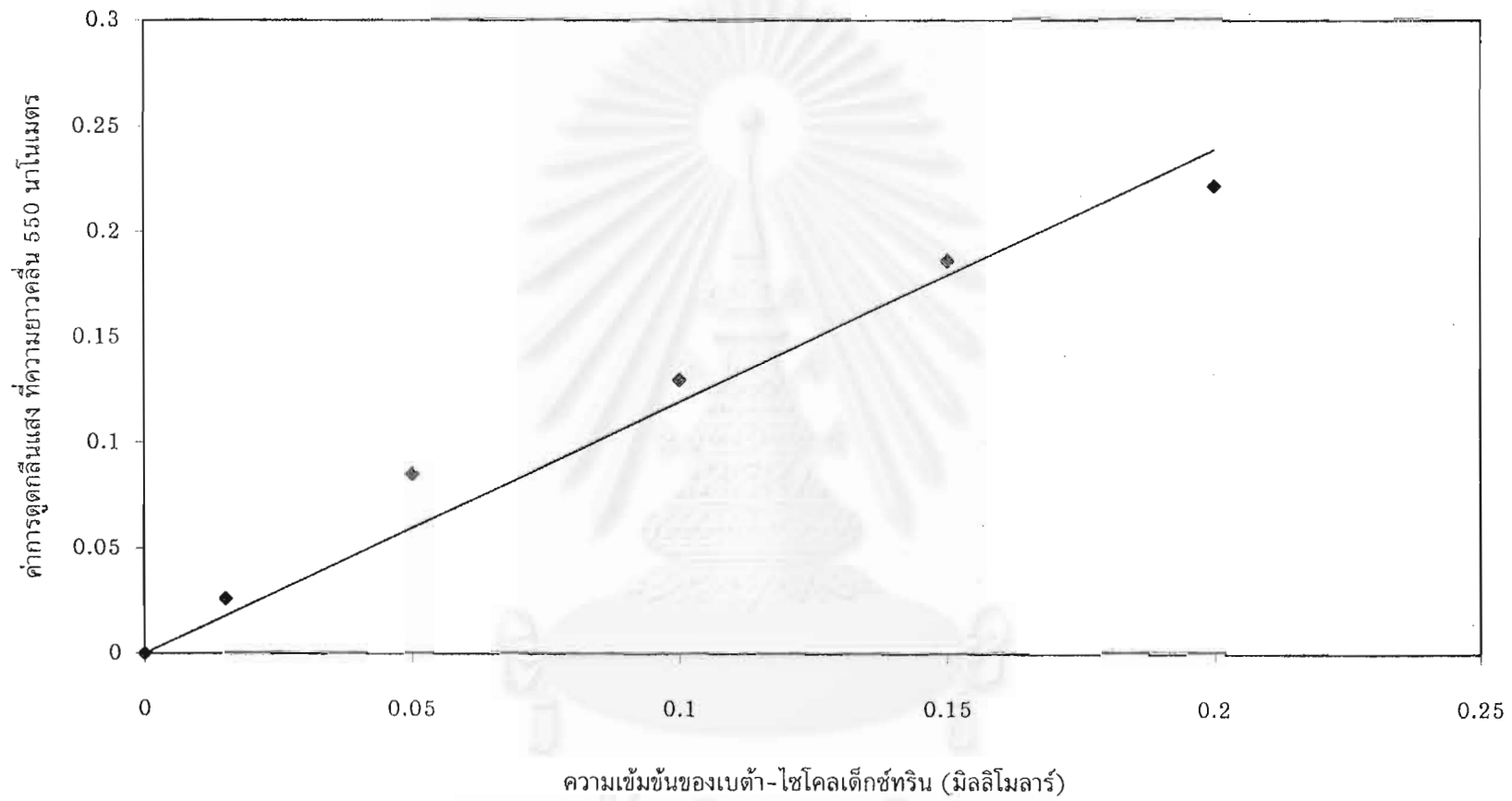
- Rendleman, J.A. 1997. Enhancement of cyclodextrin production through use of debranching enzymes. Biotechnol Appl Biochem. 26 (1) : 51-61.
- Sabioni J.G., and Park Y.K. 1992. Production and Characterization of Cyclodextrin Glycosyltransferase from *Bacillus lentus*. Strach/starke. 44(6) : 225 - 229.
- Slominska, L., and Sobkowiak, B. 1997. Studies on Cyclodextrin Synthesis by Novel Cyclodextrin Glucosyl Transferase. Stardh/starke. 49 : 301-305.
- Szejtli , J. 1999. Ubiquitous cyclodextrins. The chemical intelligence. May:38-45.
- Terada, Y., Sanbe, H., Takaha, T., Kitahata, S., Koizumi, K., and Okada, S. 2001. Comparative Study of the Cyclization Reactions of Three Bacterial Cyclomaltodextrin Glucanotransferases. Applied and Environmental Microbiology. 67(4):1453-1460.
- Tester, R.F., and Morrison, W.R. 1990. Swelling and Gelatinization of Cereal Starches. I. Effects of Amylopectin, Amylose, and Lipids. Ceral Chemistry. 67(6) : 551-557.
- Yamamoto, K., Zhang, Z.Z., and Kobatashi, S. 2000. Cycloamylose (Cyclodextrin) Glucanotransferase Degrades Intact granules of potato raw starch. J. Agric. Food Chem. 48 : 962-966.
- Yang , C.P., and Su , C.S. 1989. Study of Cyclodextrin Production Using Cyclodextrin Glycosyltransferase Immobilized on Chitosan. J. Chem. Tech. Biotechnol. 46:283-294.



ภาคผนวก ก  
กราฟมาตรฐาน

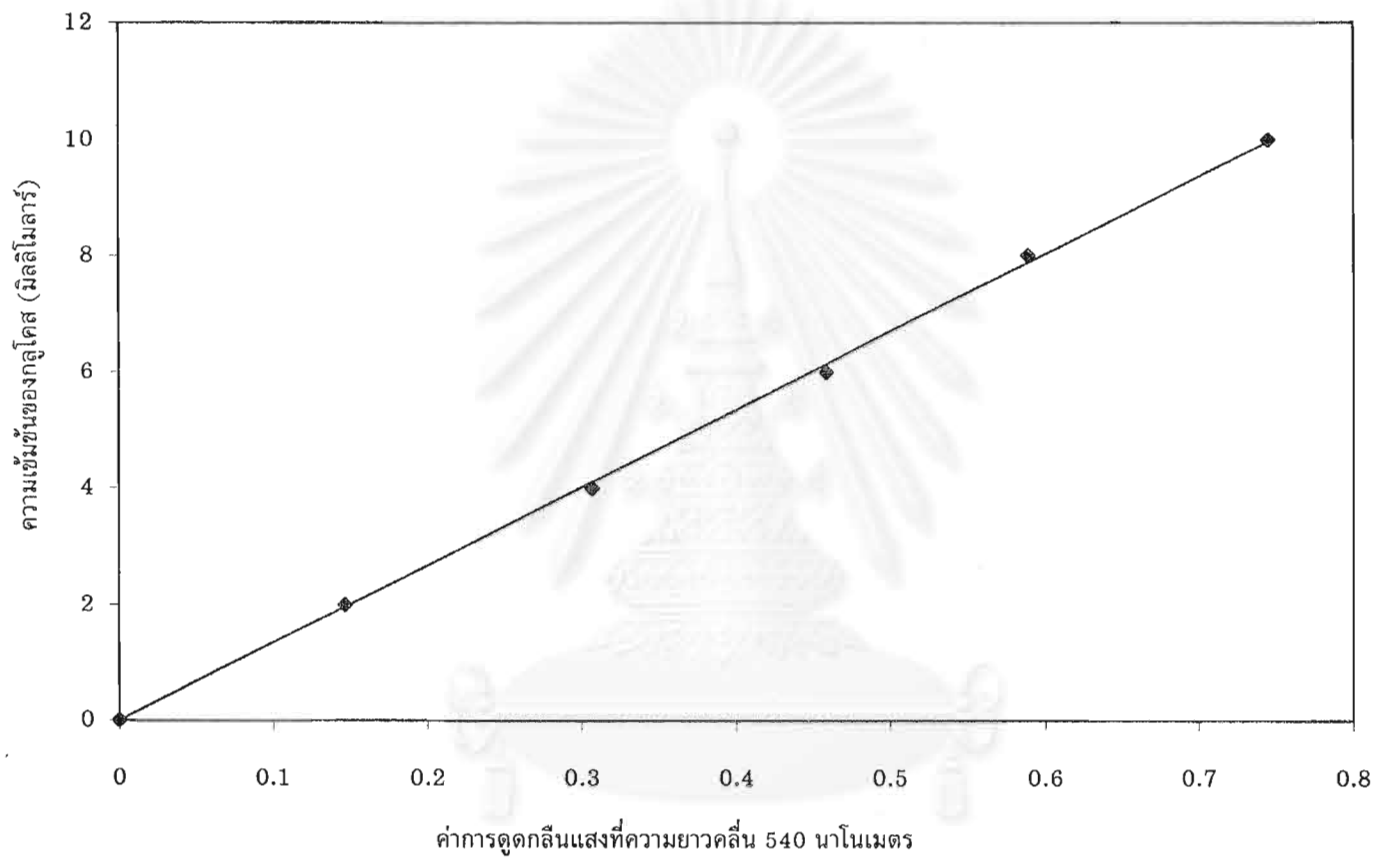
สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย





รูปที่ ก1 กราฟมาตรฐานในการหาปริมาณเบต้า-ไฮโดรเจน โดยวิธี Phenolphthalein

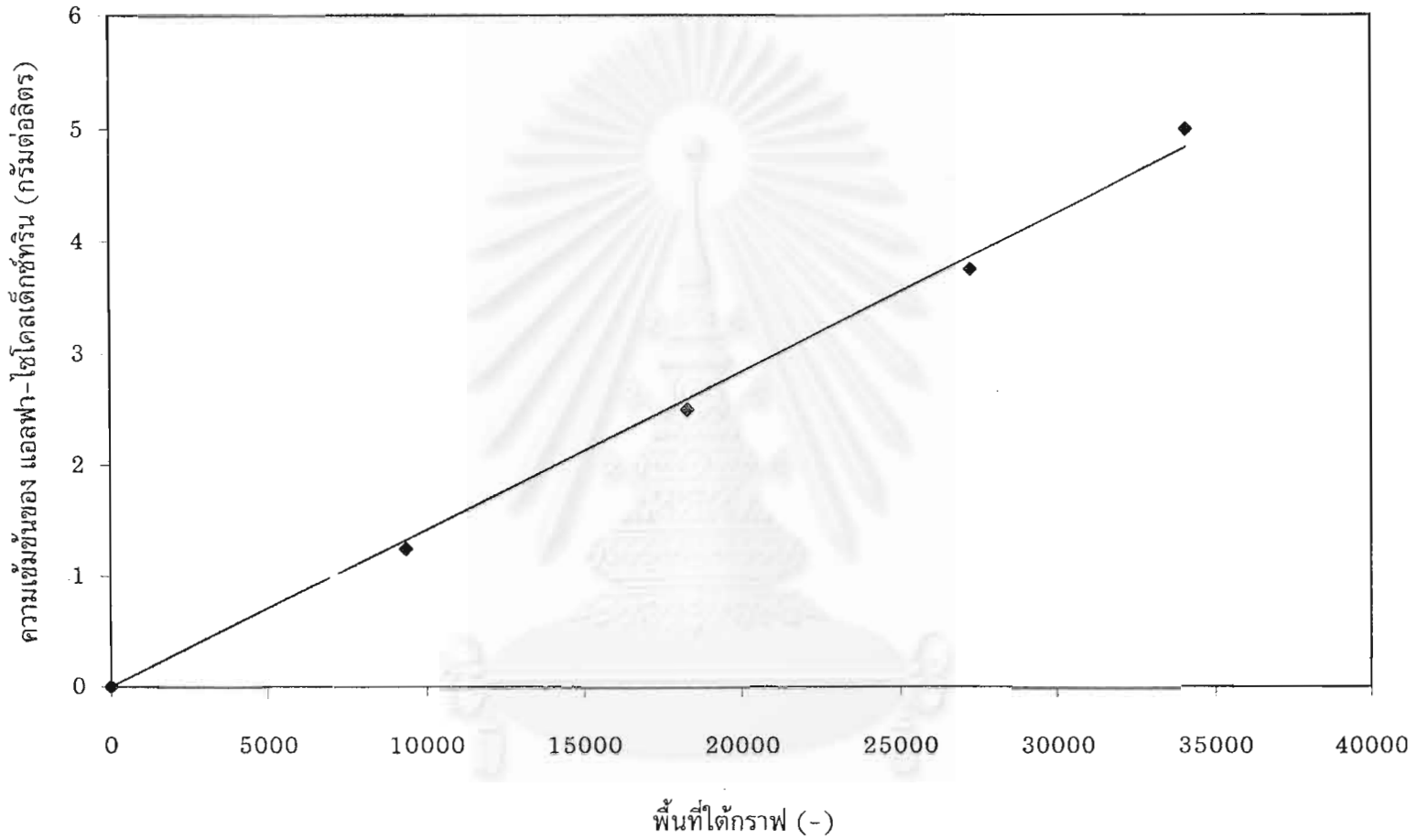
$$y = 1.1956x$$



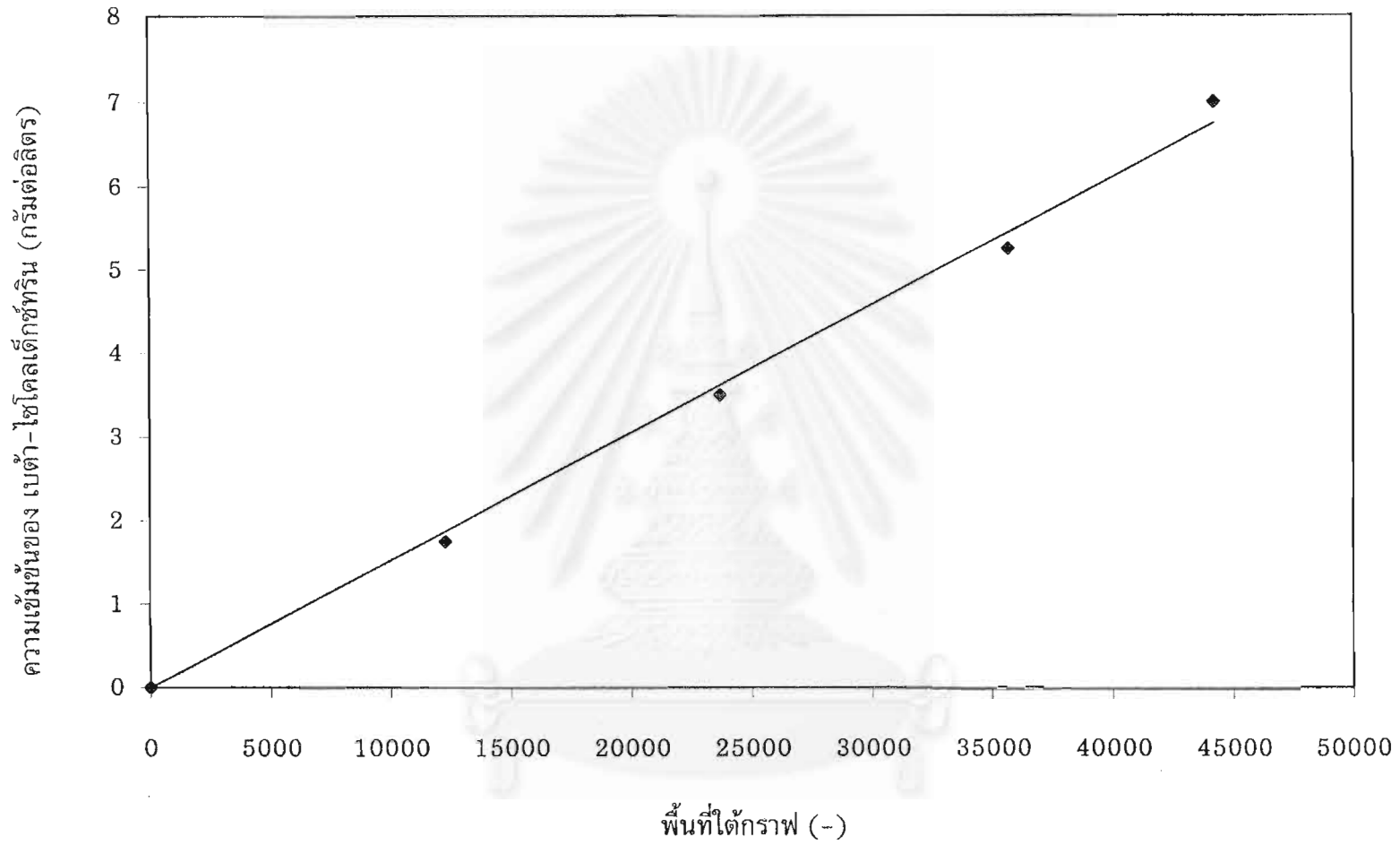
รูปที่ ก2 กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณกลูโคส

$y=13.381x$

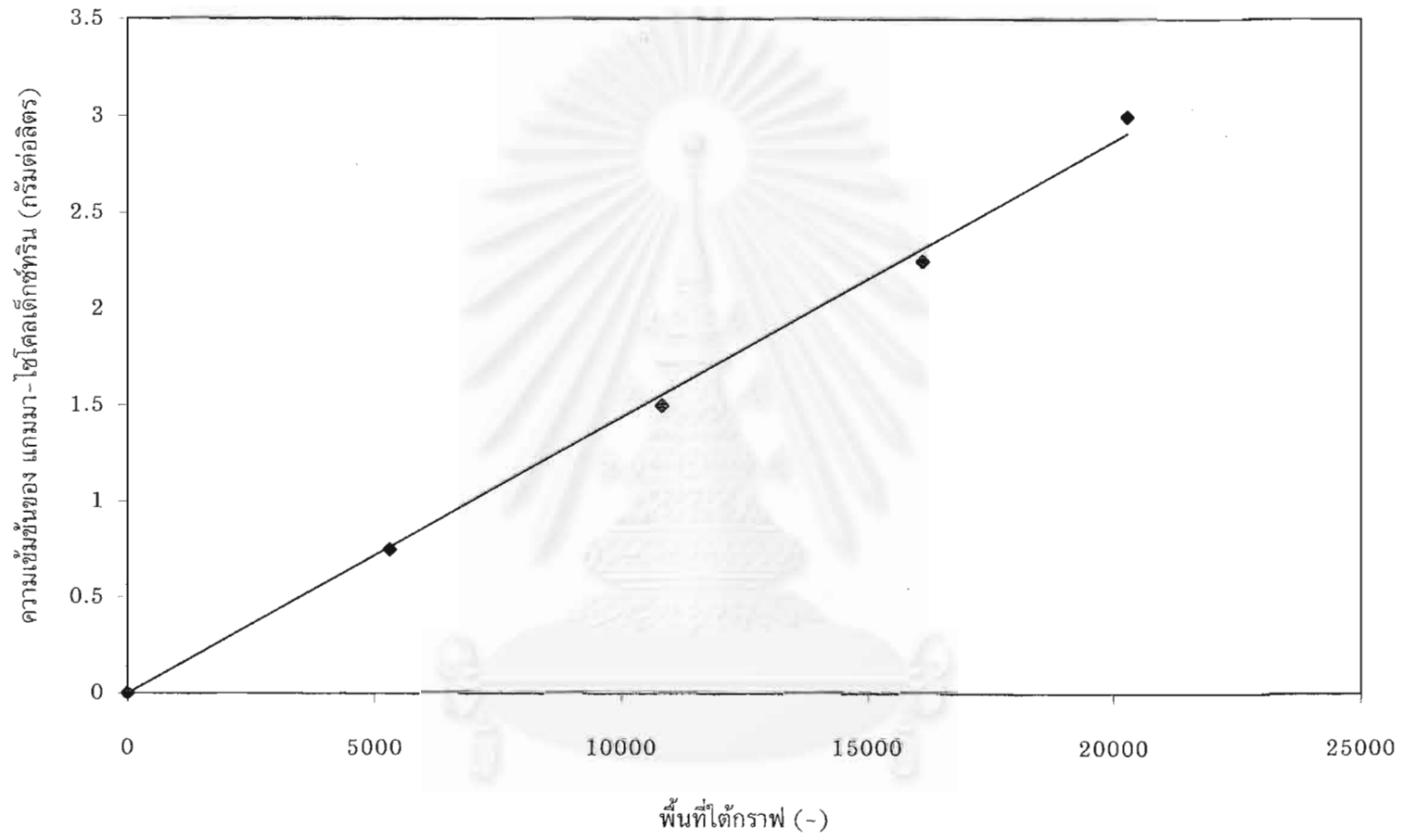
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 33 กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณของแอลฟา-ไซโคลเด็กซ์ทริน โดยวิธี HPLC



รูปที่ ก4 กราฟมาตรฐานสำหรับหาความเข้มข้นของ เบต้า-ไซโคลเด็คซ์ทริน โดยวิธี HPLC



รูปที่ ก5 กราฟมาตรฐานสำหรับหาความเข้มข้นของแกมมา-ไฮโดลเด็กซ์ทริน โดยวิธี HPLC



ภาคผนวก ข  
ข้อมูลสืบจากการทดลอง

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตาราง ข.1 ผลการทดลองผลิต<sup>a</sup>  $\beta$ -CD จากแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% ที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 60 °C ความเร็วรอบในการบ่มแป้ง 450 รอบต่อนาที

ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา (นาที)	ความเข้มข้นของ $\beta$ -CD ที่ผลิตได้ (กรัมต่อลิตร)						
	ระยะเวลาในการบ่มแป้ง (ชม.)						
	0	4	8	12	16	20	24
0	0.000	1.162	1.345	1.361	1.381	1.264	1.329
5	0.153	1.383	1.456	1.400	1.555	1.560	1.492
10	0.196	1.431	1.603	1.650	1.657	1.668	1.577
15	0.257	1.544	1.598	1.600	1.598	1.653	1.565
20	0.290	1.571	1.641	1.650	1.571	1.678	1.720
30	0.398	1.630	1.807	1.790	1.834	1.757	1.850
40	0.478	1.555	1.641	1.725	1.736	1.759	1.791
50	0.539	1.598	1.738	1.768	1.781	1.786	1.759
60	0.574	1.652	1.754	1.829	1.843	1.818	1.813
อัตราเริ่มต้นของการผลิต $\beta$ -CD <sup>b</sup> (กรัมต่อลิตรต่อนาที)	0.0121	0.0145	0.0124	0.014	0.0117	0.0134	0.0162

หมายเหตุ : <sup>a</sup> ความเร็วรอบในถังปฏิกรณ์ 300 รอบต่อนาที

<sup>b</sup> อัตราเริ่มต้นของการผลิต  $\beta$ -CD ในช่วง 30 นาทีแรก

ตาราง ข.2 ผลการทดลองผลิต  $\beta$ -CD จากแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% ที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 65 °ซ  
ความเร็วรอบในการบ่มแป้ง 450 รอบต่อนาที

ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา (นาที)	ความเข้มข้นของ $\beta$ -CD ที่ผลิตได้ (กรัมต่อลิตร)						
	ระยะเวลาในการบ่มแป้ง (ชม.)						
	0	4	8	12	16	20	24
0	1.797	2.200	1.503	1.555	1.341	1.587	1.829
5	2.055	2.427	1.900	1.990	1.845	2.055	2.173
10	2.189	2.641	2.200	2.356	2.232	2.413	2.469
15	2.125	2.399	2.133	2.377	2.695	2.442	2.436
20	2.291	2.538	2.361	2.592	3.076	2.695	2.743
30	2.492	2.738	2.635	2.904	3.200	2.974	2.996
40	2.415	2.771	3.453	2.780	3.377	3.216	3.291
50	2.635	2.951	3.490	3.001	3.513	3.394	3.436
60	2.710	3.019	3.578	3.094	3.603	3.467	3.555
อัตราเริ่มต้นของการผลิต $\beta$ -CD <sup>b</sup> (กรัมต่อลิตรต่อนาที)	0.0205	0.014	0.0343	0.042	0.045	0.0433	0.0369

หมายเหตุ : <sup>a</sup> ความเร็วรอบในตั้งปฏิกรณ์ 300 รอบต่อนาที

<sup>b</sup> อัตราเริ่มต้นของการผลิต  $\beta$ -CD ในช่วง 30 นาทีแรก

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ตาราง ข.3 ผลการทดลองผลิต<sup>a</sup>  $\beta$ -CD จากแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% ที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 70 °C  
ความเร็วรอบในการบ่มแป้ง 450 รอบต่อนาที

ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา (นาที)	ความเข้มข้นของ $\beta$ -CD ที่ผลิตได้ (กรัมต่อลิตร)						
	ระยะเวลาในการบ่มแป้ง (ชม.)						
	0	4	8	12	16	20	24
0	3.475	2.615	2.550	3.680	3.551	3.357	3.142
5	3.787	3.027	3.014	3.658	3.758	3.400	3.379
10	3.841	3.411	3.561	4.016	4.077	3.700	3.636
15	3.497	3.600	3.615	4.511	4.411	4.317	4.024
20	4.009	3.894	3.551	4.894	4.754	4.482	4.550
30	4.185	4.174	3.930	5.088	5.034	4.615	4.658
40	3.708	4.668	4.532	4.346	5.475	4.916	5.281
50	3.959	4.876	4.511	4.744	5.656	5.098	5.496
60	4.368	4.894	4.787	4.898	5.801	5.342	5.507
อัตราเริ่มต้นของการผลิต $\beta$ -CD <sup>b</sup> (กรัมต่อลิตรต่อนาที)	0.0199	0.0515	0.0415	0.0549	0.0526	0.049	0.0557

หมายเหตุ : <sup>a</sup> ความเร็วรอบในถังปฏิกรณ์ 300 รอบต่อนาที

<sup>b</sup> อัตราเริ่มต้นของการผลิต  $\beta$ -CD ในช่วง 30 นาทีแรก

ตาราง ข.4 ผลการทดลองผลิต<sup>a</sup>  $\beta$ -CD จากแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% ที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 75 °C  
ความเร็วรอบในการบ่มแป้ง 450 รอบต่อนาที

ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา (นาที)	ความเข้มข้นของ $\beta$ -CD ที่ผลิตได้ (กรัมต่อลิตร)						
	ระยะเวลาในการบ่มแป้ง (ชม.)						
	0	4	8	12	16	20	24
0	3.564	2.582	2.754	2.658	2.805	2.454	2.604
5	3.422	2.797	3.056	2.981	3.088	2.840	2.959
10	3.478	3.027	3.465	3.464	3.271	3.303	3.357
15	3.465	3.486	3.733	3.819	3.629	3.572	3.421
20	3.822	3.672	4.013	4.131	3.981	4.002	3.819
30	4.217	4.346	4.532	4.432	4.314	4.561	4.077
40	4.059	4.185	4.690	4.658	4.615	4.625	4.396
50	4.421	4.597	4.991	4.962	4.916	5.131	4.754
60	4.589	4.744	5.066	5.099	5.002	5.163	4.819
อัตราเริ่มต้นของการผลิต $\beta$ -CD <sup>b</sup> (กรัมต่อลิตรต่อนาที)	0.0238	0.0598	0.0596	0.0616	0.0522	0.0707	0.0489

หมายเหตุ : <sup>a</sup> ความเร็วรอบในตั้งปฏิกรณ์ 300 รอบต่อนาที

<sup>b</sup> อัตราเริ่มต้นของการผลิต  $\beta$ -CD ในช่วง 30 นาทีแรก

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตาราง ข.5 ผลการทดลองผลิต<sup>a</sup>  $\beta$ -CD จากแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% ที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 80 °C  
ความเร็วรอบในการบ่มแป้ง 450 รอบต่อนาที

ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา (นาที)	ความเข้มข้นของ $\beta$ -CD ที่ผลิตได้ (กรัมต่อลิตร)						
	ระยะเวลาในการบ่มแป้ง (ชม.)						
	0	4	8	12	16	20	24
0	3.104	2.381	2.930	1.736	1.927	2.715	2.978
5	3.261	3.104	3.683	2.566	2.560	3.014	3.516
10	3.677	3.534	4.232	2.906	3.097	3.384	4.029
15	4.000	4.089	3.713	3.420	3.462	3.790	3.790
20	3.390	4.699	4.005	4.161	4.280	3.964	4.579
30	4.125	5.182	4.609	4.447	4.866	4.197	5.129
40	4.645	5.075	5.128	4.830	5.451	5.003	4.949
50	5.320	5.487	5.612	5.511	6.204	5.469	5.881
60	5.737	5.809	6.024	5.869	6.186	6.329	6.060
อัตราเริ่มต้นของการผลิต $\beta$ -CD <sup>b</sup> (กรัมต่อลิตรต่อนาที)	0.0428	0.0523	0.0465	0.0648	0.0734	0.0566	0.049

หมายเหตุ : <sup>a</sup> ความเร็วรอบในดังปฏิกรณ์ 300 รอบต่อนาที

<sup>b</sup> อัตราเริ่มต้นของการผลิต  $\beta$ -CD ในช่วง 30 นาทีแรก

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตาราง ข.6 ผลการทดลองผลิต<sup>a</sup>  $\beta$ -CD จากแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% ที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 60 °C  
ความเร็วรอบในการบ่มแบ่ง 100 รอบต่อนาที

ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา (นาที)	ความเข้มข้นของ $\beta$ -CD ที่ผลิตได้ (กรัมต่อลิตร)						
	ระยะเวลาในการบ่มแบ่ง (ชม.)						
	0	2	4	6	8	12	20
0	3.104	0.163	0.525	0.420	0.635	0.671	0.790
5	3.261	0.261	0.557	0.460	0.678	0.689	0.795
10	3.677	0.279	0.633	0.565	0.726	0.711	0.833
15	4.000	0.297	0.686	0.511	0.743	0.720	0.847
20	3.390	0.355	0.740	0.549	0.802	0.732	0.858
30	4.125	0.439	0.952	0.606	0.857	0.737	0.872
อัตราเริ่มต้นของการผลิต $\beta$ -CD <sup>b</sup> (กรัมต่อลิตรต่อนาที)	0.0000	0.0084	0.0112	0.0054	0.0074	0.0022	0.0030

หมายเหตุ : <sup>a</sup> ความเร็วรอบในตั้งปฏิกรณ์ 300 รอบต่อนาที

<sup>b</sup> อัตราเริ่มต้นของการผลิต  $\beta$ -CD ในช่วง 30. นาทีแรก

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตาราง ข.7 ผลการทดลองผลิต<sup>a</sup>  $\beta$ -CD จากแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% ที่ผ่านการบดที่อุณหภูมิ 30 °ซ ความเร็วรอบในการบดแป้ง 450 รอบต่อนาที

ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา (นาที)	ความเข้มข้นของ $\beta$ -CD ที่ผลิตได้ (กรัมต่อลิตร)						
	ระยะเวลาในการบดแป้ง (ชม.)						
	0	4	8	12	16	20	24
0	0.268	2.909	3.136	2.950	2.914	2.850	2.881
10	0.295	3.216	3.483	3.192	3.081	3.092	3.159
20	0.305	3.264	3.685	3.529	3.348	3.203	3.738
30	0.335	3.479	3.901	3.654	3.715	3.724	3.617
40	0.348	3.578	4.235	4.093	4.083	4.093	3.996
50	0.354	3.452	4.362	4.210	4.249	4.210	4.275
อัตราเริ่มต้นของการผลิต $\beta$ -CD <sup>b</sup> (กรัมต่อลิตรต่อนาที)	0.0021	0.0176	0.0251	0.0245	0.0267	0.0273	0.0279

หมายเหตุ : <sup>a</sup> ลูกแก้วที่ใช้ในการบด 30% โดยปริมาตร ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 มม.

ความหนาแน่น 2.636 กรัมต่อ ลบ.ซม. และความเร็วรอบในถังปฏิกรณ์ 300 รอบต่อนาที

<sup>b</sup> อัตราเริ่มต้นของการผลิต  $\beta$ -CD ในช่วง 30 นาทีแรก

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตาราง ข.8 ผลการทดลองผลิต<sup>a</sup>  $\beta$ -CD จากแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% ที่ผ่านการบดที่อุณหภูมิ 45 °ซ  
ความเร็วรอบในการบดแป้ง 450 รอบต่อนาที

ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา (นาที)	ความเข้มข้นของ $\beta$ -CD ที่ผลิตได้ (กรัมต่อลิตร)						
	ระยะเวลาในการบดแป้ง (ชม.)						
	0	4	8	12	16	20	24
0	0.732	2.872	2.576	2.777	2.940	2.865	3.017
5	0.985	2.904	2.856	3.236	3.195	3.119	3.263
10	1.130	3.098	3.022	3.384	3.505	3.258	3.387
15	1.393	3.226	3.083	3.388	3.590	3.301	3.561
20	1.409	3.331	3.135	3.563	3.643	3.435	3.642
30	1.442	3.490	3.565	3.742	3.894	3.921	4.076
40	1.442	3.141	3.549	3.953	3.500	4.013	4.117
50	1.474	3.094	3.506	4.047	3.594	4.080	4.238
60	1.445	3.254	3.589	4.105	3.621	4.154	4.446
อัตราเริ่มต้นของการผลิต $\beta$ -CD <sup>b</sup> (กรัมต่อลิตรต่อนาที)	0.024	0.022	0.0295	0.0283	0.0303	0.0321	0.033

หมายเหตุ : <sup>a</sup> ลูกแก้วที่ใช้ในการบด 30% โดยปริมาตร ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 มม.  
ความหนาแน่น 2.636 กรัมต่อ ลบ.ซม. และความเร็วรอบในถังปฏิกรณ์ 300 รอบต่อนาที

<sup>b</sup> อัตราเริ่มต้นของการผลิต  $\beta$ -CD ในช่วง 30 นาทีแรก

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตาราง ข.9 ผลการทดลองผลิต<sup>a</sup>  $\beta$ -CD จากแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% ที่ผ่านการบดที่อุณหภูมิ 60 °ซ ความเร็วรอบในการบดแป้ง 450 รอบต่อนาที

ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา (นาที)	ความเข้มข้นของ $\beta$ -CD ที่ผลิตได้ (กรัมต่อลิตร)						
	ระยะเวลาในการบดแป้ง (ชม.)						
	0	4	8	12	16	20	24
0	2.990	3.637	3.738	3.820	3.995	3.273	3.651
5	3.151	3.751	3.791	3.990	4.179	3.711	3.828
10	3.124	3.812	3.845	4.195	4.225	3.926	3.996
15	3.500	4.050	4.056	4.341	4.449	4.116	4.075
20	3.675	4.186	4.138	4.526	4.625	4.126	4.201
30	3.738	4.461	4.720	4.876	5.050	4.379	4.72
40	3.482	4.366	4.205	4.225	4.433	3.887	4.585
50	3.522	4.032	4.302	4.095	4.425	4.056	4.136
60	3.558	3.921	4.348	4.210	4.556	4.149	3.974
อัตราเริ่มต้นของการผลิต $\beta$ -CD <sup>b</sup> (กรัมต่อลิตรต่อนาที)	0.0276	0.0284	0.0322	0.0351	0.0346	0.0338	0.0335

หมายเหตุ : <sup>a</sup> ลูกแก้วที่ใช้ในการบด 30% โดยปริมาตร ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 มม.

ความหนาแน่น 2.636 กรัมต่อ ลบ.ซม. และความเร็วรอบในถังปฏิกรณ์ 300 รอบต่อนาที

<sup>b</sup> อัตราเริ่มต้นของการผลิต  $\beta$ -CD ในช่วง 30 นาทีแรก

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตาราง ข.10 ผลของสมบัติทางกายภาพของแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% ที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 60 °ซ  
ความเร็วรอบในการบ่มแป้ง 450 รอบต่อนาที

ระยะเวลาในการบ่มแป้ง (ชม.)	สมบัติทางกายภาพของแป้ง			
	กำลังการพองตัว (%)	ร้อยละการละลาย (%)	ขนาดเม็ดแป้ง (ไมครอน)	ความหนืด (เซ็นติพอยส์)
0	2.497	21.43	12.31	1.959
4	5.752	36.76	26.7	2.996
8	5.897	40.05	26.23	2.965
12	5.93	41.96	23.91	2.955
16	5.933	44.23	24.79	2.810
20	5.536	42.05	23.96	2.633
24	5.588	42.56	23.65	2.934

ตาราง ข.11 ผลของสมบัติทางกายภาพของแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% ที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 65 °ซ  
ความเร็วรอบในการบ่มแป้ง 450 รอบต่อนาที

ระยะเวลาในการบ่มแป้ง (ชม.)	สมบัติทางกายภาพของแป้ง			
	กำลังการพองตัว (%)	ร้อยละการละลาย (%)	ขนาดเม็ดแป้ง (ไมครอน)	ความหนืด (เซ็นติพอยส์)
0	5.944	23.07	31.85	13.47
4	10.875	26.43	31.50	162.61
8	10.194	35.74	30.70	120.46
12	10.180	41.94	28.89	115.01
16	9.789	46.67	27.63	119.68
20	9.636	48.17	26.97	107.67
24	9.458	51.99	25.80	90.24



ตาราง ข.12 ผลของสมบัติทางกายภาพของแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% ที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 70 °ซ  
ความเร็วรอบในการบ่มแป้ง 450 รอบต่อนาที

ระยะเวลาในการบ่มแป้ง (ชม.)	สมบัติทางกายภาพของแป้ง	
	ขนาดเม็ดแป้ง (ไมครอน)	ความหนืด (เซ็นติพอยส์)
0	41.06	649.65
4	33.04	277.02
8	28.93	221.09
12	26.33	166.31
16	23.84	138.43
20	22.38	103.74
24	23.02	75.01

ตาราง ข.13 ผลของสมบัติทางกายภาพของแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% ที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 75 °ซ  
ความเร็วรอบในการบ่มแป้ง 450 รอบต่อนาที

ระยะเวลาในการบ่มแป้ง (ชม.)	สมบัติทางกายภาพของแป้ง	
	ขนาดเม็ดแป้ง (ไมครอน)	ความหนืด (เซ็นติพอยส์)
0	36.51	7752.85
4	29.67	731.65
8	26.79	380.13
12	24.04	416.69
16	19.58	165.01
20	20.65	184.71
24	15.57	119.21

ตาราง ข.14 ผลของสมบัติทางกายภาพของแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% ที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 80 °ซ  
ความเร็วรอบในการบ่มแป้ง 450 รอบต่อนาที

ระยะเวลาในการบ่มแป้ง (ชม.)	สมบัติทางกายภาพของแป้ง	
	ขนาดเม็ดแป้ง (ไมครอน)	ความหนืด (เซ็นติพอยส์)
0	36.43	2104.69
4	21.66	443.18
8	16.37	207.98
12	13.89	178.12
16	12.86	103.18
20	12.02	87.88
24	12.39	77.87

ตาราง ข.15 ผลของสมบัติทางกายภาพของแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% ที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 60 °ซ  
ความเร็วรอบในการบ่มแป้ง 100 รอบต่อนาที

ระยะเวลาในการบ่มแป้ง (ชม.)	สมบัติทางกายภาพของแป้ง	
	ขนาดเม็ดแป้ง (ไมครอน)	ความหนืด (เซ็นติพอยส์)
0	12.97	1.893
2	16.03	2.86
4	16.34	3.154
6	16.8	3.115
8	16.67	3.075
10	17.15	3.044
12	17.21	2.961
14	17.07	2.862
16	17.18	2.783
18	16.94	2.672
20	16.87	2.542
22	17.06	2.581
24	17.16	2.647

ตาราง ข.16 ผลของสมบัติทางกายภาพของแป้งมันสำปะหลัง เข้มข้น 7% ที่ผ่านการบดที่อุณหภูมิ 30 °ซ

ระยะเวลาในการบ่มแป้ง (ชม.)	สมบัติทางกายภาพของแป้ง	
	ขนาดเม็ดแป้ง (ไมครอน)	ความหนืด (เซ็นติพอยส์)
0	12.493	1.357
4	24.027	1.584
8	24.73	1.593
12	24.62	1.581
16	24.43	1.567
20	23.962	1.585
24	23.728	1.543

ตาราง ข.17 ผลของสมบัติทางกายภาพของแป้งมันสำปะหลัง เข้มข้น 7% ที่ผ่านการบดที่อุณหภูมิ 45 °ซ

ระยะเวลาในการบ่มแป้ง (ชม.)	สมบัติทางกายภาพของแป้ง	
	ขนาดเม็ดแป้ง (ไมครอน)	ความหนืด (เซ็นติพอยส์)
0	17.93	1.532
4	27.383	1.715
8	27.76	1.736
12	26.723	1.755
16	26.213	1.762
20	25.417	1.747
24	25.104	1.752

ตาราง ข.18 ผลของสมบัติทางกายภาพของแป้งมันสำปะหลัง เข้มข้น 7% ที่ผ่านการบดที่อุณหภูมิ 60 °ซ

ระยะเวลาในการบ่มแป้ง (ชม.)	สมบัติทางกายภาพของแป้ง	
	ขนาดเม็ดแป้ง (ไมครอน)	ความหนืด (เซ็นติพอยส์)
0	34.683	11.51
4	36.035	62.95
8	31.42	42.84
12	28.78	35.16
16	26.097	28.38
20	23.853	20.64
24	20.741	18.52

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตาราง ข.19 ผลการทดลองบ่มแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% เพื่อวัดปริมาณน้ำตาลกลูโคสในน้ำแป้งก่อนทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ CGTase

อุณหภูมิในการบ่มแป้ง (°C)	ปริมาณน้ำตาลกลูโคส (มิลลิโมลาร์)						
	ระยะเวลาในการบ่มแป้ง (ชม.)						
	0	4	8	12	16	20	24
60	0.482	0.455	0.482	0.428	0.455	0.455	0.482
65	0.508	0.535	0.616	0.616	0.749	0.749	0.776
70	0.937	1.017	1.418	1.472	1.499	1.499	1.632
75	0.990	1.178	1.472	1.686	1.659	1.632	1.659
80	2.302	2.302	2.355	2.596	2.649	2.997	3.104

ตาราง ข.20 ผลการทดลองบดแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% เพื่อวัดปริมาณน้ำตาลกลูโคสในน้ำแป้งก่อนทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ CGTase

อุณหภูมิในการบ่มแป้ง (°C)	ปริมาณน้ำตาลกลูโคส (มิลลิโมลาร์)						
	ระยะเวลาในการบดแป้ง (ชม.)						
	0	4	8	12	16	20	24
30	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
45	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
60	0.516	0.555	0.784	0.837	0.872	0.886	0.886

ตาราง ข.21 ผลการทดลองผลิต  $\beta$ -CD จากแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% ที่อุณหภูมิ 30 °ซ จนถึง อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ขนาดเม็ดแป้ง (ไมครอน)	อัตราเริ่มต้นของการผลิต $\beta$ -CD (กรัมต่อลิตรต่อนาที)
30	11.21	0.0059
65	38.49	0.0139
73	43.29	0.0201
77	41.07	0.0214
80	37.83	0.0302

ตาราง ข.22 ผลการทดลองผลิต  $\beta$ -CD<sup>a</sup> จากแป้งมันสำปะหลังต้มสุกเข้มข้น 7% ในสภาวะเริ่มต้นที่มีปริมาณน้ำตาลกลูโคสต่าง ๆ กัน

ปริมาณน้ำตาลกลูโคส (มิลลิโมลาร์)	อัตราเริ่มต้นของการผลิต $\beta$ -CD <sup>b</sup> (กรัมต่อลิตรต่อนาที)
0	0.0299
1.5	0.0295
2	0.0294
3	0.0287

หมายเหตุ <sup>a</sup> ใช้เอนไซม์ CGTase เข้มข้น 3 ยูนิตต่อกรัมของแป้ง

<sup>b</sup> อัตราเริ่มต้นของการผลิต  $\beta$ -CD ในช่วง 30 นาทีแรก



ภาคผนวก ค  
วิธีการคำนวณ

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### ค.1 การคำนวณค่า Coefficient of variation

$$\text{Coefficient of variation} = \frac{\text{standard deviation} \times 100}{\text{mean}}$$

ตัวอย่างการคำนวณค่า Coefficient of variation ของการวัดค่ากำลังการพองตัวที่อุณหภูมิ บ่ม 60° ซ ที่ระยะเวลาบ่ม 8 ชม. ผลการทดลองวัดค่ากำลังการพองตัวจากการสุ่มตัวอย่าง 3 ตัวอย่าง

ตัวอย่างที่	ค่ากำลังการพองตัว
1	5.998
2	5.930
3	5.76
ค่าเฉลี่ย	5.897
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	0.1

$$\begin{aligned} \text{ดังนั้น Coefficient of variation} &= \frac{0.1}{5.897} \times 100 \\ &= 1.7 \% \end{aligned}$$

ค่า Coefficient of variation ที่รายงานในบทที่ 4 เป็นค่าเฉลี่ยที่ได้จากการคำนวณที่ สภาวะในการเตรียมแป้งต่าง ๆ กัน

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ค.2 การตรวจสอบความแตกต่างของนัยสำคัญทางสถิติระหว่างข้อมูล 2 ชุดโดยใช้ t-Test

โดยใช้สูตร

$$t = \frac{|\bar{X}_1 - \bar{X}_2|}{s \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}} \dots\dots\dots \text{ค.1}$$

เมื่อ  $\bar{X}_1, \bar{X}_2$  คือ ค่าเฉลี่ยของข้อมูลชุดที่ 1 และ 2 ตามลำดับ

$n_1, n_2$  คือ จำนวนของข้อมูลในชุดที่ 1 และ 2 ตามลำดับ

$S$  คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ซึ่งหาได้จาก

$$S = \sqrt{[(n_1 - 1)S_1^2 + (n_2 - 1)S_2^2] / [(n_1 - 1) + (n_2 - 1)]} \dots\dots\dots \text{ค.2}$$

เมื่อ  $S_1, S_2$  คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของข้อมูลชุดที่ 1 และ 2 ตามลำดับ

คำนวณค่า  $t$  ที่ได้จากสมการ (ค.1) เปรียบเทียบกับค่า  $t$  จากตาราง โดยใช้ degree of freedom เท่ากับ  $(n_1 - 1) + (n_2 - 1)$  ที่ระดับความเชื่อมั่นที่กำหนด

ถ้าค่า  $t$  ที่คำนวณได้ ต่ำกว่าค่า  $t$  จากตาราง แสดงว่าข้อมูลสองชุดนี้ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ค.3 ตัวอย่างการตรวจสอบนัยสำคัญทางสถิติของกำลังการฟองตัวที่อุณหภูมิ 60°ซ และ 65°ซ  
ที่ระยะเวลาบ่มแป้ง 16 ชม.

ตัวอย่างที่	อุณหภูมิ 60°ซ	อุณหภูมิ 65°ซ
1	5.83	9.50
2	6.25	9.75
3	5.71	9.28
ค่าเฉลี่ย	5.93	9.70
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S)	0.23	0.137

คำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานรวมจากสมการ (ค.2)

$$S = \sqrt{[(n_1 - 1)S_1^2 + (n_2 - 1)S_2^2] / [(n_1 - 1) + (n_2 - 1)]}$$

$$S = \sqrt{[(3 - 1)(0.23)^2 + (3 - 1)(0.137)^2] / [(3 - 1) + (3 - 1)]}$$

$$= 0.19$$

คำนวณค่า t จากสมการ (ค.1)

$$t = \frac{|\bar{X}_1 - \bar{X}_2|}{s \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}} = \frac{|5.93 - 9.70|}{0.19 \sqrt{\frac{1}{3} + \frac{1}{3}}} = 24.32$$

ค่า t จากตารางที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และ degree of freedom เท่ากับ 4 จะมีค่าเท่ากับ 2.132

จะเห็นได้ว่า ค่า t จากการคำนวณ มากกว่าค่า t จากตาราง แสดงว่าการเพิ่มอุณหภูมิจาก 60°ซ เป็น 65°ซ ทำให้กำลังการฟองตัวเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

## ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวณัฐญา ปาลวัฒน์ เกิดวันที่ 13 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2515 ที่เขตราชเทวี กรุงเทพมหานคร สำเร็จปริญญาตรีวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ในปีการศึกษา 2540 หลังจากนั้นได้เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2542



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย