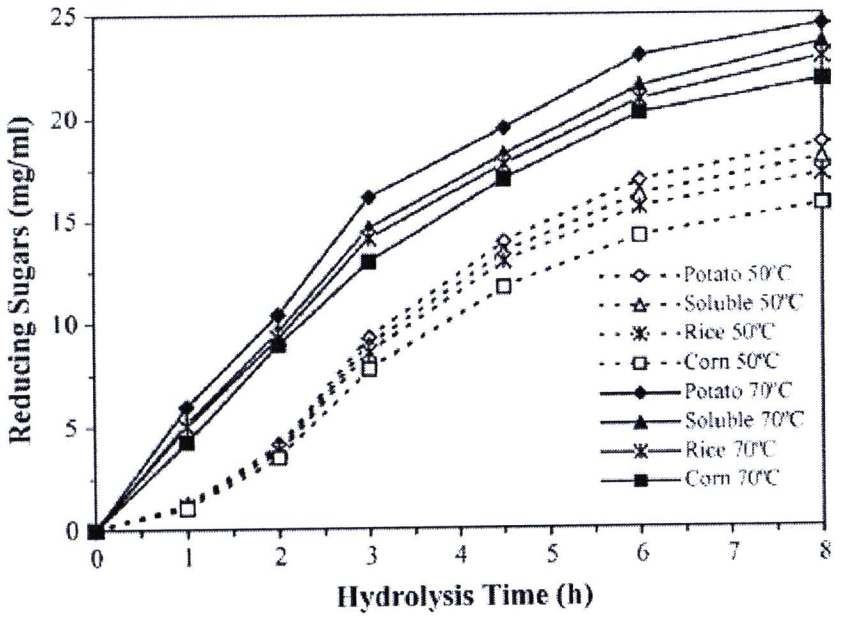
บทที่ 3
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

บทนี้จะแบ่งงานวิจัยที่เกี่ยวข้องออกเป็น 2 ส่วน ดังนี้ ส่วนแรกเป็นงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการย่อยแป้งโดยใช้เอนไซม์และความร้อน ส่วนที่สองเป็นงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับระบบการย่อยแป้ง

3.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการย่อยแป้งโดยใช้เอนไซม์และความร้อน

ปี ค.ศ.2005 Zoe Konsoula [12] ได้ทำการศึกษาการย่อยแป้งจาก ข้าว, มันฝรั่ง และข้าวโพด ด้วยเอนไซม์ประภท α-amylase ที่ถูกตรึงอยู่ใน Calcium alginate gel แคปซูล โดยใช้ระบบการต้มแบบกะปฏิกิริยาเกิดที่อุณหภูมิ 50 และ 70 องศาเซลเซียส พบว่าทั้งที่ 2 อุณหภูมิ แป้งมันฝรั่งสามารถย่อยแป้งไปเป็นน้ำตาลได้สูงที่สุด โดยวัดจากค่า Reducing Sugar รองลงมาเป็นแป้งข้าวจ้าว และ แป้งข้าวโพด และที่ 70 องศาเซลเซียสพบว่ามีการเกิดปฏิกิริยาการย่อยสูงกว่าที่ 50 องศาเซลเซียส และเอนไซม์ที่ถูกตรึงใน Calcium alginate gel แคปซูล ทำให้เกิดการย่อยน้อยกว่าการใช้เอนไซม์แบบอิสระ แสดงดังรูป 20



รูปที่ 20 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่การย่อย 50 และ 70 องศาเซลเซียส ของแป้งชนิดต่างๆ [12]

ปี ค.ศ.2007 Stephen O'Brien [13] ศึกษาการแช่แป้งที่อุณหภูมิมากกว่า Tg แต่ต่ำกว่าอุณหภูมิการเกิดเจลของแป้ง ที่เวลาต่างๆ ก่อนนำมาทำการย่อย จากการศึกษาพบว่าการแช่แป้งในน้ำที่มีการแช่ในลักษณะนี้จะเกิดการเรียงตัวของโครงสร้างโมเลกุลใหม่ และในการย่อยใช้เอนไซม์ α-amylolysis และ Glucoamylolysis พบว่า เปอร์เซ็นต์การย่อยแป้งได้ผลตามตารางที่ 3

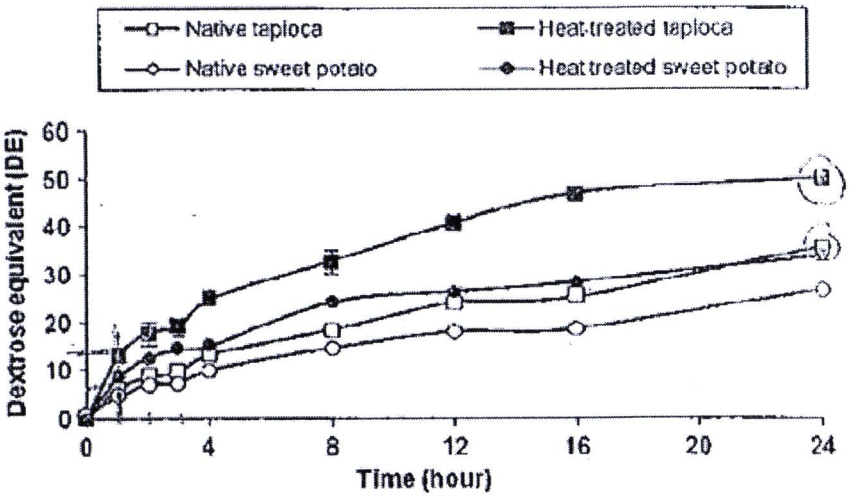
ตารางที่ 3 แสดง %การย่อยของแป้ง และแป้งที่ผ่านการแช่ที่อุณหภูมิสูงกว่า Tg ของแป้ง [13]

Degree of hydrolysis (%) of native and annealed starches by α-amylase and glucoamylase*

	Duration (h)	α-Amylolysis		Glucoamylolysis	
		Native	Annealed	Native	Annealed
Waxy corn	5	13.6^{c}	18.6^{b}	39.7^{a}	44.8^{a}
	15	21.1^{c}	22.5^{b}	56.2^{a}	59.2^{a}
	36	30.0^{b}	30.6^{b}	66.7^{a}	67.6^{a}
Common corn	5	12.5^{c}	18.7^{b}	25.6^{a}	29.0^{a}
	15	21.6^{b}	24.9^{b}	39.0^{a}	42.9^{a}
	36	26.9^{d}	27.7^{c}	48.7^{b}	52.6^{a}
Hylon V	5	8.2^{b}	13.2^{a}	11.3^{ab}	11.9^{ab}
	15	12.0^{c}	15.3^{b}	20.9^{a}	21.2^{a}
	36	13.6^{c}	16.0^{b}	26.3^{a}	26.3^{a}
Hylon VII	5	5.9^{b}	8.7^{a}	7.2^{a}	8.5^{a}
	15	9.3^{c}	11.9^{b}	15.3^{a}	15.8^{a}
	36	11.1^{d}	13.3^{c}	21.1^{a}	20.2^{b}
Potato	5	3.3^{b}	10.2^{a}	1.8^{b}	11.2^{a}
	15	7.7^{b}	14.2^{a}	4.7^{c}	14.1^{a}
	36	12.2^{b}	15.9^{a}	11.3^{b}	15.6^{a}

* Means of two measurements followed by a common letter in the same row are not significantly different ($p < .05$).

ปี ค.ศ.2008 Y.N.Shariffa [14] ศึกษาการย่อยแป้งด้วยการใช้เอนไซม์ร่วมกัน 2 ตัว คือ Fungal α-amylase และ glucoamylase และปรับสภาพแป้งที่ 35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากการศึกษาพบว่าค่า Dextrose equivalent (DE) ของแป้งที่ผ่านการปรับสภาพมีค่าสูงกว่าแป้งธรรมชาติ เนื่องมาจากการปรับสภาพแป้งที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ดังรูปที่ 21 ทำให้แป้งมีความอ่อนตัวง่ายต่อการทำปฏิกิริยา



รูปที่ 21 แสดงค่า DE ของแป้งธรรมชาติ และแป้งที่ผ่านการปรับสภาพ [14]

ปี ค.ศ.2009 Sakina Khatoon [15] ศึกษาการย่อยแป้งด้วยเอนไซม์ ที่สภาวะต่างๆ โดยศึกษาแป้งข้าวโพด, แป้งมันสำปะหลัง, แป้งข้าวจ้าว ที่ 10% 15% 20% solid โดยต้มด้วยระบบการต้มแบบกะที่อุณหภูมิ 95 องสาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากการศึกษาพบว่าเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น จะพบปริมารน้ำตาลสูงขึ้น แต่เมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 95 องศาเซลเซียสการเปลี่ยนรูปไปเป็นน้ำตาลมีอัตราลดลง 95 องศาเซลเซียส จึงเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมในการย่อยแป้งโดยใช้เอนไซม์ และในส่วนของการหาค่า DE พบว่าแป้งมันสำปะหลังให้ค่า DE สูงที่สุด โดยที่ความเข้มข้นแป้ง 10% 15% และ 20% ให้ค่า DE อยู่ที่ 10.2, 8.2, 5.2

ปี ค.ศ.1999 Zhang, Oates [16] ได้รายงานว่า การใช้เอนไซม์ในการย่อยแป้ง ต้องคำนึงถึงอัตราส่วนระหว่างอะไมโลสกับอะไมโลเพคติน,โครงสร้างผลึก และขนาดอนุภาคของแป้ง ในปัจจัยต่างๆที่กล่าวมาข้างต้น จะพบว่าโครงสร้างผลึกมีความสำคัญมากที่สุด และการให้ความร้อนจะทำให้โครงสร้างภายในที่มีรูปร่างไม่แน่นอนของแป้งเกิดการย่อยได้ดีกว่า โครงสร้างที่เป็นผลึก

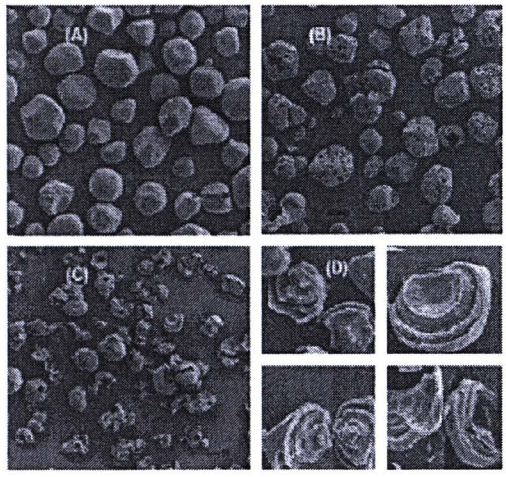
ปี ค.ศ.2002 Gunaratne and Hoover [17] ได้ทำการศึกษาพบว่าการให้ความร้อนและความชื้นจะช่วยให้ส่วนโครงสร้างที่เป็นผลึกของแป้งแยกออกจากส่วนที่มีรูปร่างไม่แน่นอน ทำให้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส เข้าไปย่อยได้ดีขึ้น โดยได้ทำการทดลองที่ ความชื้นของแป้ง 30%,อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ,เวลา 10 ชั่วโมงเพื่อปรับโครงสร้างของแป้ง และแป้งที่ทำการทดลอง คือ แป้งเผือก,แป้งมันสำปะหลัง

ปี ค.ศ. 1996 สุนีย์ โชตินีรนารถ [20] ได้ทำการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 4 ชนิด Tenase, Kleistase, Amano และ Termamyl ในการย่อยแป้งมันสำปะหลังสุก โดยใช้แป้งที่ความเข้มข้น 30% และเอนไซม์ 0.02 ไมโครลิตร ย่อยเป็นเวลา 15 นาที พบว่า pH ที่เหมาะสม คือ 6 และอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุด คือ 70 องศาเซลเซียส เมื่อใช้เอนไซม์ Tenase และ Kleistase ส่วน เอนไซม์ Amano และ Termamyl อุณหภูมิที่เหมาะสมในการย่อยอยู่ที่ 85 องศาเซลเซียส และ 90 องศาเซลเซียส ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงผลการศึกษาของกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส 4 ชนิด [20]

Types of enzyme	Temperature (°C)	K_m (g starch/100 ml)	V_{max} (µg reducing sugar/min)
Tenase	70	0.28	88.50
Kleistase	70	0.93	344.83
Amano	85	0.14	106.38
Termamyl	90	0.09	62.11

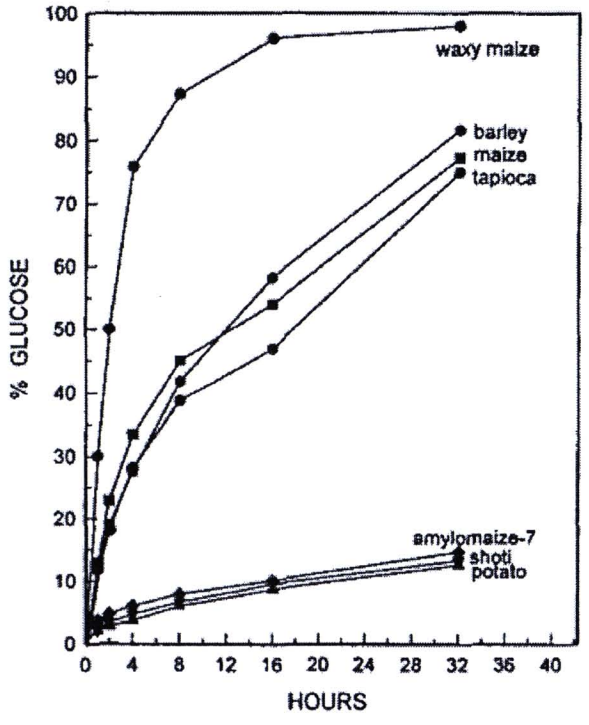
ปี ค.ศ. 2010 Anthony C. Dona [22] ได้ทำการศึกษาและรวบรวมวิธีการตรวจสอบโครงสร้างภายในของแป้งที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์และความร้อน พบว่า สามารถมองเห็นโครงสร้างภายในของแป้งที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ตามวิธีดังนี้ light microscopy, laser scanning microscopy, SEM ซึ่งวิธีต่างๆนั้นจะทำให้มองเห็นรูเล็กๆ,การกร่อน และ รูขนาดใหญ่ที่เกิดกับเม็ดแป้ง ส่วนแป้งที่มีส่วนของอะไมโลสจำนวนมากบริเวณที่โครงสร้างไม่มีรูปแบบจะถูกย่อยด้วยเอนไซม์เหลือไว้แต่ส่วนที่เป็นผลึก จะศึกษาโครงสร้างด้วย SEM, Small angle X-ray scattering (SAXS), infrared spectroscopy, NMR,XRD ดังรูปที่ 22 เป็นการส่องอนุภาคของแป้งด้วย SEM



รูปที่ 22 โครงสร้างภายในของแป้งที่ถ่ายภาพด้วย SEM [22]

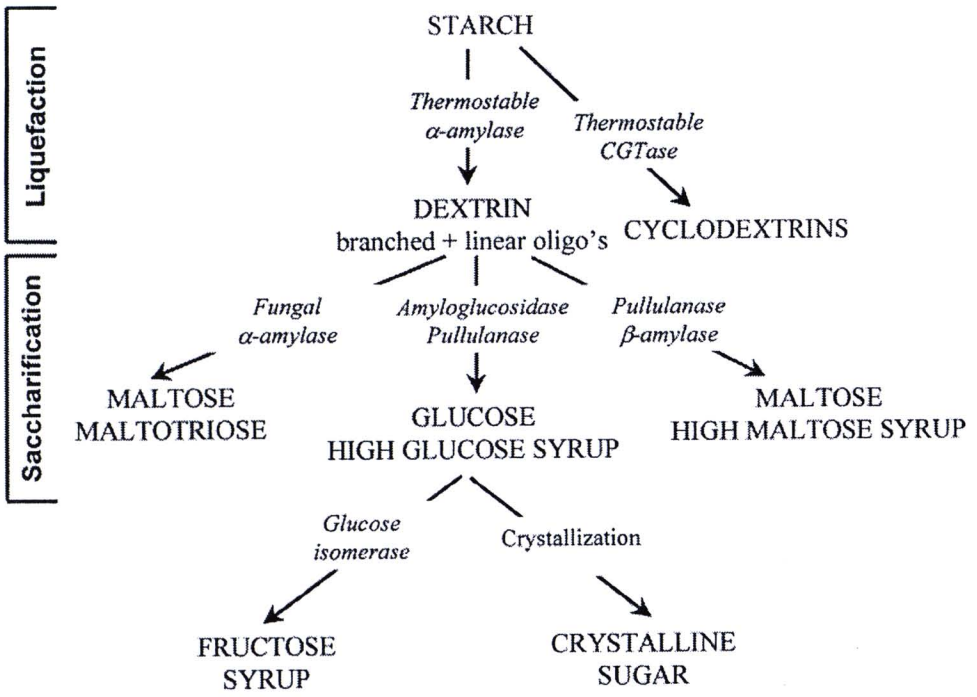
ปี ค.ศ.2008 Vieira and Sarmento [24] ได้ทำการศึกษาผลของการให้ความร้อนและความชื้นกับแป้งที่ได้จากแครอท, แป้งมันสำปะหลัง และแป้งที่ได้จากขิง ซึ่งได้ทำการรายงานออกมาเป็นเปอร์เซ็นต์ของการย่อยใช้เวลาในการย่อย 24 hr ด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส จากการศึกษาพบว่าเปอร์เซ็นต์การย่อยที่ได้ คือ 29%, 5% และ 22% ตามลำดับ

ปี 1995 Atsuo Kimura [25] ทำการศึกษาปฏิกิริยาระหว่างแป้งกับเอนไซม์ กลูโคสอะไมเลส ที่ความเข้มข้น 2,20,200 units/ml โดยทำการทดลองกับแป้งข้าวโพด, บาเลย์,มันสำปะหลัง,มันฝรั่ง ใช้เวลาในการศึกษาตั้งแต่ 1 ชั่วโมงถึง 32 ชั่วโมง อุณหภูมิประมาณ 37 องศาเซลเซียส และวัดค่าน้ำตาลที่เกิดขึ้นด้วยวิธีฟีนอล-ซัลฟูริก จากการทดลองพบว่าแป้งที่ผ่านการปรับสภาพตามสภาวะข้างต้น จะให้ปริมาณน้ำตาลที่เพิ่งขึ้นเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น โดยแป้งมันสำปะหลังจะให้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสสูงที่สุดอยู่ที่ 75-80% ที่การใช้ปริมาณเอนไซม์ 200 units/ml ดังแสดงตามรูปที่ 23 และศึกษาอนุภาคของแป้งด้วย SEM (Scanning electron microscopy)



รูปที่ 23 แสดงปริมาณน้ำตาลที่เกิดขึ้นจากแป้งชนิดต่างๆ เมื่อใช้ปริมาณเอนไซม์ 200 units/ml ที่เวลาต่างต่างๆ [25]

ปี 2001 Marc J.E.C. [26] ทำการศึกษาคุณสมบัติและการนำไปใช้งานของแป้งที่ถูกดัดแปลงด้วยเอนไซม์ในกลุ่มแอลฟาอะไมเลส จากผลการวิจัยต่างๆ พบว่า กลุ่มเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส เป็นกลุ่มที่มีความหลากหลาย การใช้งานแตกต่างกัน พบว่ามีมากกว่า 21 ตัว แต่จะสามารถจำแนกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ ใช้ในการย่อยแป้ง และใช้ในการปรับคุณสมบัติของแป้ง และในปัจจุบันพบว่าการย่อยแป้งด้วยกรดแทนเอนไซม์กลุ่มนี้เป็นที่นิยมมากขึ้น ส่วนการใช้งานของเอนไซม์ที่ได้รับการศึกษาขึ้นใหม่นั้นเป็นการใช้เอนไซม์เพื่อป้องกันการคืนตัวของแป้งในการทำขนม และชนิดของเอนไซม์ที่นิยมในการปรับคุณสมบัติของแป้งนั้น คือ clodextrin glycosyltransferase สำหรับใช้กับผลิตภัณฑ์ที่ไม่เกี่ยวข้องกับอาหาร และจากการศึกษาการใช้งานของเอนไซม์กลุ่มแอลฟาอะไมเลสในอุตสาหกรรมต่างๆ สามารถจำแนกได้แสดงดังรูปที่ 24



รูปที่ 24 แสดงสารตั้งต้นและผลิตภัณฑ์ที่ได้จากเอนไซม์ชนิดต่างๆ [26]

ปี 1996 Atsuo Kimura [27] ศึกษาปฏิกิริยาของเอนไซม์ประเภท isoamylase กับอนุภาคของแป้ง native และแป้งที่เริ่มเกิดเจล (เตรียมที่อุณหภูมิการเกิดเจลของแป้งแต่ละชนิดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง) โดยศึกษากับแป้งหลากหลายชนิด เช่น แป้งข้าวโพด, แป้งมันเทศ ฯลฯ พบว่า เอนไซม์ amyloderamasa isoamylase จะทำการย่อยแป้งที่ตำแหน่งพันธะ 1,6 ของอะไมโลเพคติน ซึ่งเหมือนกับเอนไซม์ glucoamylase ศึกษาปฏิกิริยาของเอนไซม์ isoamylase กับแป้งปกติ ที่ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 32 ชั่วโมง พบความแตกต่างตามตารางที่ 5 จะเห็นว่าแป้ง Shoti และ Amylomaize-7 มีเปอร์เซ็นต์การย่อยมากที่สุดเนื่องจากมีมวลโมกุลต่ำ และมีโครงสร้างสั้นกว่าแป้งชนิดอื่น ส่วนแป้งมันสำปะหลังมีเปอร์เซ็นต์การย่อยอยู่ที่ 3.6 และจากการศึกษาการย่อยแป้งปกติและแป้งที่ผ่านการเตรียมที่อุณหภูมิที่ทำให้เกิดเจลเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 144 ชั่วโมง พบว่าเปอร์เซ็นต์การย่อยของแป้งที่ที่ถูกทำให้เกิดเจลนั้นจะมีเปอร์เซ็นต์การย่อยสูงกว่าแป้งปกติ ดังตารางที่ 6

ตารางที่ 5 แสดงเปอร์เซ็นต์การย่อยของแป้งด้วยเอนไซม์ 10 IU/mL ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 32 ชั่วโมง [27]

Reaction of native starch granules with 10 IU/mL isoamylase at 37 °C for 32 h

Starch	% In supern. [a,b]	% In granule [a,b]	% Total reaction [b,c]
Tapioca	61.1	38.9	3.6
Potato	68.2	31.8	3.7
Barley	75.8	24.2	6.2
Maize	43.8	56.2	7.3
Waxymaize	64.1	35.9	7.8
Shoti	47.4	52.6	11.6
Amylomaize-7	56.3	43.7	11.9

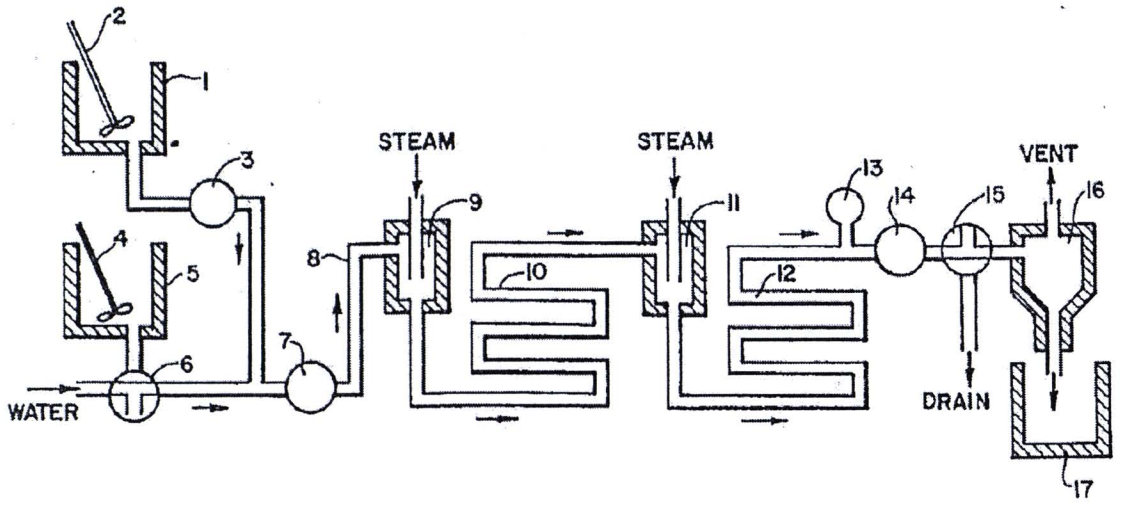
ตารางที่ 6 แสดงแสดงเปอร์เซ็นต์การย่อยของแป้งด้วยเอนไซม์ 10 IU/mL ที่ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 144 ชั่วโมง [27]

Reaction of gelatinized starch granules with 10 IU/mL isoamylase at 45 °C for 144 h

Starch	% Reaction of gelatinized granules [a,b]	% Reaction of native granules [a,b,c]
Potato	56.2	3.7
Amylomaize-7	36.4	11.9
Shoti	21.8	11.6
Waxymaize	36.4	7.8

3.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับระบบการย่อยแป้ง

ปี ค.ศ. 1990 T.L.Gallaher et al. [21] ระบบการต้มแป้งที่ทำการศึกษานี้เป็นแบบต่อเนื่องใช้เอนไซม์และเพิ่มความร้อนให้กับระบบเพื่อให้เม็ดแป้งเกิดลักษณะเป็นเจลและกักเก็บไว้จนได้ความหนืดของแป้งตามที่ต้องการ แล้วจะเพิ่มอุณหภูมิสูงขึ้นเพื่อหยุดการทำงานของเอนไซม์ T.L.Gallaher ได้ศึกษาปรับปรุงระบบให้มีขนาดเล็ก ต่อเนื่อง และใช้อุปกรณ์น้อยลง และรวมถึงเปลี่ยนแปลงขนาดท่อในการส่งน้ำแป้งและท่อส่งเอนไซม์ เพื่อให้เกิดการย่อยแป้งที่ดีที่สุด โดยระบบแสดงดังรูปที่ 25



รูปที่ 25 แสดงระบบต้มแป้งแบบต่อเนื่อง [21]