

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การเตรียมและศึกษาคุณลักษณะของสเฟียรูไลด์จากแป้งมันสำปะหลัง
หน่วยกิต	12
ผู้เขียน	นางสาวศุภฎี ชาญวรัญญู
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ.ดร.ศุภฎี อุดภาพ ดร.วิวัฒน์ จิรนนทกุล
หลักสูตร	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวเคมี
สายวิชา	เทคโนโลยีชีวเคมี
คณะ	ทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี
ปีการศึกษา	2556

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสภาวะในการเตรียม (เวลาในการให้ความร้อน อัตราการทำให้เย็น และอุณหภูมิในการเก็บ) และชนิดของแป้งมันสำปะหลัง (แป้งอะเซทิลเลต แป้งออกทินิลซัคซิเนต แป้งที่ผ่านการย่อยด้วยกรด/เอนไซม์พุลูลานีส แป้งในรูปสารประกอบเชิงซ้อนกับกรดอะซิติก กรดบิวทิริก กรดปาล์มมิติก และกรดโอเลอิก) ต่อปริมาณและขนาดของสเฟียรูไลด์ รวมถึงศึกษาสมบัติด้านต่างๆของสเฟียรูไลด์ที่ได้ พบว่าการให้ความร้อนในหม้อนึ่งความดันไอนาน 60 นาที ทำให้ได้ปริมาณสเฟียรูไลด์มากกว่าการให้ความร้อนนาน 30 นาที การทำให้เย็นอย่างรวดเร็วช่วยให้เกิดสเฟียรูไลด์ในปริมาณมากกว่าการทำให้เย็นอย่างช้า และการเก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ 30 °C หรือ 50 °C ให้ปริมาณสเฟียรูไลด์ไม่แตกต่างกัน เมื่อเตรียมสเฟียรูไลด์จากตัวอย่างแป้งชนิดต่างๆ พบว่าสเฟียรูไลด์จากแป้งที่ผ่านการย่อยด้วยกรดมีขนาดไม่เกิน 5 μm โดยปริมาณที่ได้ไม่แตกต่างจากที่เตรียมจากแป้งมันสำปะหลังแต่ขนาดต่างกัน (ขนาดไม่เกิน 20 μm) ในขณะที่การเตรียมจากตัวอย่างแป้งชนิดอื่นๆได้ปริมาณสเฟียรูไลด์น้อยกว่า สเฟียรูไลด์ที่ได้มีทั้งรูปร่างกลมและรูปร่างที่ไม่แน่นอน มีพื้นผิวไม่เรียบภายในมีลักษณะเป็นรูพรุน ลักษณะโครงสร้างผลึกและความเป็นผลึกเปลี่ยนแปลงไป (ชนิด B หรือ V_7) จากโครงสร้างผลึกของแป้งสำปะหลัง (ชนิด C_A) ขึ้นกับชนิดของแป้ง สเฟียรูไลด์ทั้งหมดทนต่อการย่อยด้วยกรด (กรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1 M pH 1.2 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง) แต่ถูกย่อยบางส่วนด้วยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส โดยพบว่ามีแป้งคงเหลืออยู่มากกว่า 50% เมื่อผ่านการย่อยเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

คำสำคัญ: แป้งมันสำปะหลัง / สเฟียรูไลด์ / เจลาตินเซชัน / อัตราในการทำให้เย็น / อุณหภูมิในการเก็บ

Thesis Title	Preparation and Characterization of Spherulites from Cassava Starch
Thesis Credits	12
Candidate	Miss Dussadee Chanwarunyu
Thesis Advisors	Assoc. Prof. Dr. Dudsadee Uttapap Dr. Wittawat Jiranuntakul
Program	Master of Science
Field of Study	Biochemical Technology
Division	Biochemical Technology
Faculty	School of Bioresources and Technology
Academic Year	2013

Abstract

Effects of preparation conditions (gelatinization time, cooling rate and storage temperature) and type of cassava starch (acetylated starch, octenyl succinate starch, starch hydrolyzed with acid/pullulanase and complexes of starch with acetic acid, butyric acid, palmitic acid and oleic acid) on yield and size of spherulites were investigated and the spherulites obtained were analyzed for their properties. Gelatinization of cassava starch by autoclaving for 60 min resulted in a higher yield of spherulites than that for 30 min. Rapid cooling gelatinized starch tended to produce greater amounts of spherulites compared to the slow cooling. Storing the gel at 30 °C and 50 °C had no significantly different effect on yield of spherulites. Preparation of spherulites from different types of cassava starch revealed that the size of spherulites made from acid hydrolyzed starch ($\leq 5 \mu\text{m}$ diameter) was smaller than that made from cassava starch ($\leq 20 \mu\text{m}$), while their yields were comparable. Lesser yield was found when other types of cassava starch were used as starting materials. Starch spherulites had spherical and irregular shape, and rough surface with porous structure. The crystalline type of spherulites (B- or V_7 type) was different from that of cassava starch granule (C_A -type) and crystallinities varied depending on starch type. Spherulites exhibited tolerance to acid hydrolysis (0.1 M HCl pH 1.2, 2 h), while more than 50% remained when hydrolyzed by α -amylase for 2 h.

Keywords: Cassava starch / Spherulites / Gelatinization / Cooling rate / Storage temperature

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร.ศุภฤกษ์ อุดมภาพ ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และดร.วิวัฒน์ จิรนนท์กุล ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาให้แนวคิดและคำแนะนำในการดำเนินงานวิจัย ตลอดจนแก้ปัญหาต่างๆ ทั้งยังช่วยเหลืออนุเคราะห์ตำราและเอกสารทางวิชาการอันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่องานวิจัยในครั้งนี้ ซึ่งทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ลงได้

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร.จุริรัตน์ พุดตาลเล็ก รศ.ดร.วิไล รังสาตทอง รศ.ดร.นวลจิรา เวชประสิทธิ์ และดร.สันตชัย ปัญจอนันท์ที่กรุณาให้คำปรึกษาและชี้แนะแนวทางในการดำเนินงานวิจัย ตลอดจนช่วยตรวจแก้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้เรียบร้อยสมบูรณ์ ขอขอบคุณมูลนิธิการศึกษาเขต 100 ปีที่สนับสนุนเงินสำหรับการดำเนินงานวิจัย และขอขอบคุณเพื่อน พี่และน้องทุกคนในสาขาวิชาเทคโนโลยีชีวเคมี ที่มีส่วนช่วยเหลือข้าพเจ้าในการทำวิจัย ให้คำแนะนำและให้กำลังใจเป็นอย่างดีท้ายสุดขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา และทุกคนในครอบครัวที่ให้การอุปการะ สนับสนุนและให้กำลังใจมาโดยตลอด

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
รายการตาราง	ช
รายการรูปประกอบ	ฅ
ประมวลคำย่อ	ณ

บทที่

1. บทนำ	1
1.1 ปัญหาและที่มาของงานวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์	3
1.3 ขอบเขตงานวิจัย	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
2. ทฤษฎีและตรวจเอกสาร	5
2.1 แป้ง (starch)	5
2.1.1 อะไมโลส (amylose)	5
2.1.2 อะไมโลเพคติน (amylopectin)	7
2.2 สมบัติทางเคมีกายภาพของแป้ง	9
2.2.1 ลักษณะของเม็ดแป้ง	9
2.2.2 ลักษณะโครงสร้างผลึกของเม็ดแป้ง	10
2.2.3 เจลาติไนเซชัน	11
2.2.4 รีโทรเกรเดชัน	13
2.3 แป้งคัดแปร	14
2.3.1 แป้งเอสเทอร์	14
2.3.2 แป้งที่ผ่านการย่อยด้วยกรดหรือเอนไซม์	16
2.3.3 สารประกอบเชิงซ้อนแบบอินคลูชันของแป้งกับกรดไขมัน	17

หน้า

2.4	สตาร์ช ไมโครพาร์ทิเคิล (starch microparticles)	19
2.5	สตาร์ช สเฟียรูไลต์ (starch spherulite)	20
2.5.1	การผลิตสตาร์ช สเฟียรูไลต์	20
2.5.2	ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตสเฟียรูไลต์	22
2.6	งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	27
3.	การดำเนินงานวิจัย	31
3.1	วัตถุดิบ สารเคมีและอุปกรณ์	31
3.1.1	วัตถุดิบ	31
3.1.2	สารเคมี	31
3.1.3	เครื่องมือและอุปกรณ์	32
3.2	วิธีการทดลอง	33
3.2.1	การศึกษาผลของสภาวะในการเตรียมสเฟียรูไลต์	33
3.2.3	การเตรียมสารประกอบระหว่างแป้งมันสำปะหลังกับกรดไขมันชนิดต่างๆ	35
3.2.4	การเตรียมแป้งดัดแปร	35
3.2.5	การเตรียมแป้งที่ผ่านการย่อย	38
3.2.6	การศึกษาผลของแป้งมันสำปะหลังในรูปแบบต่างๆ ต่อการเกิดสเฟียรูไลต์	39
3.2.7	การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของแป้งมันสำปะหลัง	39
3.2.8	การทดสอบความสามารถในการทนย่อยต่อกรดหรือเอนไซม์	40
3.2.9	การวิเคราะห์ปริมาณแป้งทั้งหมด (total starch; TS) โดยวิธี Phenol-sulfuric acid	41
3.2.10	การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugar) โดยวิธี DNS	41
3.2.11	การวิเคราะห์เชิงสถิติ (STATISTICAL ANALYSIS)	41
4.	ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	42
4.1	ผลของสภาวะในการเจลาติไนซ์ อัตราในการทำให้เย็น และอุณหภูมิในการเก็บต่อปริมาณและขนาดของสเฟียรูไลต์	42
4.2	ลักษณะและปริมาณของสเฟียรูไลต์ที่เตรียมจากแป้งมันสำปะหลังดัดแปร	46
4.2.1	แป้งอะเซททิลเลต	46

หน้า

4.2.2	แป้งออกทินิลซัคซินेट	46
4.2.3	แป้งที่ผ่านการย่อยด้วยกรด	47
4.2.4	แป้งตัดกิ่งด้วยเอนไซม์	50
4.2.5	ลักษณะและปริมาณของสเฟียรูไลต์ที่เตรียมจากสารประกอบเชิงซ้อนของ แป้งมันสำปะหลังกับกรดไขมันชนิดต่างๆ	53
4.3	ลักษณะของเจลแป้งจากการเตรียมสเฟียรูไลต์	56
4.4	ลักษณะทางกายภาพและสมบัติทางเคมีกายภาพ	58
4.4.1	ลักษณะของเม็ดแป้งศึกษาโดย scanning electron microscope	58
4.4.2	ลักษณะโครงสร้างผลึกศึกษาด้วย X-ray diffractometer	62
4.5	ความสามารถในการทนย่อยของสเฟียรูไลต์	67
4.5.1	ความสามารถในการทนย่อยต่อกรด	67
4.5.2	ความสามารถในการทนย่อยต่อเอนไซม์	68
4.6	แนวทางการนำสเฟียรูไลต์ไปประยุกต์ใช้	70
5.	สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	72
5.1	บทสรุป	72
5.2	ข้อเสนอแนะ	75
	เอกสารอ้างอิง	76
	ประวัติผู้วิจัย	93

รายการตาราง

ตาราง	หน้า
2.1 ขนาดและรูปร่างของเม็ดแป้งชนิดต่างๆ	9
2.2 ชนิดของ V-amylose ขนาดของยูนิตเซลล์และชนิดของลิแกนด์	17
2.3 ผลของอัตราการทำให้เย็นต่อการเกิดสเฟียไรต์ที่เตรียมได้จากวัตถุดิบต่างๆ	24
3.1 ลักษณะโครงสร้างผลึกของเม็ดแป้งที่เป็นแบบ A, B, และ C-type	40
4.1 ปริมาณของสเฟียไรต์โดยแบ่งตามขนาด (คิดเป็นเปอร์เซ็นต์) และจำนวนสเฟียไรต์ทั้งหมดที่เตรียมจากแป้งมันสำปะหลังภายใต้สภาวะต่างๆ	45
4.2 ปริมาณของสเฟียไรต์โดยแบ่งตามขนาด (คิดเป็นเปอร์เซ็นต์) และจำนวนสเฟียไรต์ทั้งหมดที่เตรียมจากแป้งที่ผ่านการย่อยด้วยกรด HCl ความเข้มข้น 2.2 M ที่เวลา 5 และ 10 นาที	50
4.3 ปริมาณของสเฟียไรต์โดยแบ่งตามขนาด (คิดเป็นเปอร์เซ็นต์) และจำนวนสเฟียไรต์ทั้งหมดที่เตรียมจากแป้งคัดกึ่งด้วยเอนไซม์พุลูลูนาเนสที่เวลาต่างๆ	52
4.4 ปริมาณของสเฟียไรต์โดยแบ่งตามขนาด (คิดเป็นเปอร์เซ็นต์) และจำนวนสเฟียไรต์ทั้งหมดที่เตรียมจากสารประกอบเชิงซ้อนของแป้งมันสำปะหลังกับกรดไขมันชนิดต่างๆ	55
4.5 จำนวนครั้งในการปั่นเหวี่ยงล้างเจลแป้งของสเฟียไรต์ที่เตรียมจากแป้งชนิดต่างๆ	58
4.6 ความเป็นผลึกของแป้งมันสำปะหลังและสเฟียไรต์ที่เตรียมจากแป้งชนิดต่างๆ	66
4.7 เปอร์เซ็นต์แป้งคงเหลือของแป้งมันสำปะหลังและสเฟียไรต์ที่เตรียมจากตัวอย่างแป้งชนิดต่างๆ หลังจากการย่อยด้วยกรด HCl ที่เวลาต่างๆ	68

รายการรูปประกอบ

รูป	หน้า
2.1 โครงสร้างของอะไมโลส	5
2.2 ภาพจำลองการจับตัวของอะไมโลสกับสารอินทรีย์	6
2.3 ลักษณะเกลียวของอะไมโลส	7
2.4 โครงสร้างของอะไมโลเพคติน	7
2.5 ลักษณะโครงสร้างอะไมโลเพคตินที่ประกอบด้วยส่วนผลึกและส่วนอสัณฐาน	8
2.6 ลักษณะการบิกระนาบแสงโพลาไรซ์หรือไบริฟรินเจนซ์ของเม็ดแป้งมันสำปะหลัง	10
2.7 ปฏิกริยาแอซิติลเลชันระหว่างแป้งกับไวนิลแอซิท	15
2.8 การเกิดปฏิกริยาเอสเทอริฟิเคชันระหว่างแป้งกับ OSA	16
2.9 ลักษณะของสเฟียรูไลต์	21
3.1 สเกลใน Hemacytometer (Counting chamber)	34
3.2 วิธีการนับจำนวนเม็ดสเฟียรูไลต์	35
4.1 ลักษณะของสเฟียรูไลต์จากแป้งมันสำปะหลัง (กำลังขยาย 400 เท่า)	43
4.2 ลักษณะของสเฟียรูไลต์ (กำลังขยาย 400 เท่า) ที่เตรียมจากแป้งมันสำปะหลังดัดแปร	46
4.3 ลักษณะของสเฟียรูไลต์ (กำลังขยาย 400 เท่า) ที่เตรียมจากแป้งที่ผ่านการย่อยด้วยกรด HCl ความเข้มข้น 2.2 M	48
4.4 ลักษณะของสเฟียรูไลต์ (กำลังขยาย 400 เท่า) ที่เตรียมจากแป้งที่ผ่านการย่อยด้วยกรด HCl ความเข้มข้น 1.0 M	49
4.5 ลักษณะของสเฟียรูไลต์ (กำลังขยาย 400 เท่า) ที่เตรียมจากแป้งตัดกิ่งด้วยเอนไซม์พูลูลานาส	51
4.6 ลักษณะของสเฟียรูไลต์ (กำลังขยาย 400 เท่า) ที่เตรียมจากสารประกอบเชิงซ้อนของแป้งมันสำปะหลังกับกรดไขมันชนิดต่างๆ	54
4.7 ลักษณะของเจลแป้งจากตัวอย่างแป้งชนิดต่างๆ	57
4.8 ลักษณะของเม็ดแป้งที่กำลังขยาย 1000 เท่า	60
4.9 ลักษณะของเม็ดแป้งที่กำลังขยาย 3500 เท่า	61
4.10 ลักษณะของเม็ดแป้งที่ถูกตัดตามขวาง	62
4.11 ลักษณะโครงสร้างผลึกของแป้งมันสำปะหลังและสเฟียรูไลต์จากแป้งชนิดต่างๆ	63
4.12 เปอร์เซ็นต์แป้งคงเหลือของแป้งมันสำปะหลังและสเฟียรูไลต์จากตัวอย่างแป้งชนิดต่างๆ หลังจากการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสที่เวลาต่างๆ	69

ประมวลคำย่อ

°C	=	องศาเซลเซียส
µm	=	ไมโครเมตร (ไมครอน)
DS	=	Degree of substitution
g	=	กรัม
J/g	=	จูลต่อกรัม
M	=	โมลาร์
ml	=	มิลลิลิตร
Native	=	เม็คแปงมันสำปะหลัง
OSA	=	Octenyl succinic anhydride
pH	=	ค่าความเป็นกรด-ด่าง
psi	=	ปอนด์ต่อตารางนิ้ว
rpm	=	Revolutions per minute
S-acetic	=	สเฟียรูไลด์จากสารประกอบเชิงซ้อนของแป้งมันสำปะหลังกับกรดอะซิติก
S-acid5	=	สเฟียรูไลด์จากแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยด้วยกรดเป็นเวลา 5 นาที
S-acid60	=	สเฟียรูไลด์จากแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยด้วยกรดเป็นเวลา 60 นาที
S-butyric	=	สเฟียรูไลด์จากสารประกอบเชิงซ้อนของแป้งมันสำปะหลังกับกรดบิวทริก
SEM	=	Scanning Electron Microscope
S-enz15	=	สเฟียรูไลด์จากแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 15 นาที
S-enz60	=	สเฟียรูไลด์จากแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 60 นาที
S-native	=	สเฟียรูไลด์จากแป้งมันสำปะหลัง
S-oleic	=	สเฟียรูไลด์จากสารประกอบเชิงซ้อนของแป้งมันสำปะหลังกับกรดโอเลอิก
S-osa	=	สเฟียรูไลด์จากแป้งออกทินิลซัคซินเนต
S-palmitic	=	สเฟียรูไลด์จากสารประกอบเชิงซ้อนของแป้งมันสำปะหลังกับกรดปาล์มมิก
U	=	unit