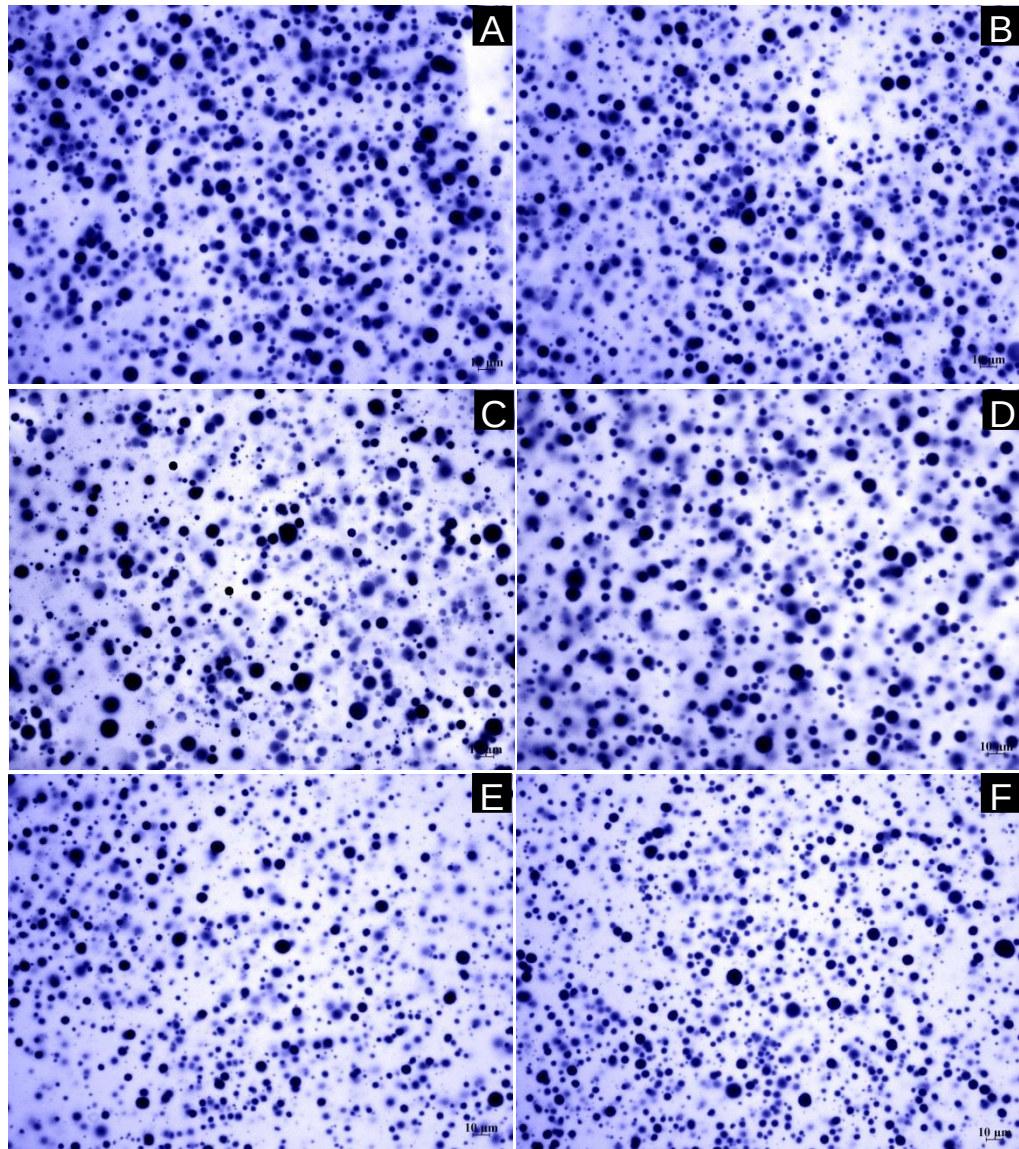


บทที่ 4

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 ผลของสถานะในการเจลาตีไนซ์ อัตราในการทำให้เย็น และอุณหภูมิในการเก็บต่อปริมาณและขนาดของสเฟียรูไลต์

เมื่อนำแป้งมันสำปะหลังไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 psi เป็นเวลา 30 และ 60 นาที จากนั้นทำให้แป้งเย็นตัวลงด้วยอัตราต่างๆ ประกอบด้วยการทำให้เย็นอย่างช้า ทำโดยเก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิห้องจนกระทั่งอุณหภูมิลดลงถึง 46 °C เก็บไว้เป็นเวลา 22 ชั่วโมง และการทำให้เย็นอย่างรวดเร็ว โดยเก็บที่อุณหภูมิ -15 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเก็บไว้ในอ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิที่ 30 °C และ 50 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำตัวอย่างที่ได้ไปศึกษาลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าในทุกสถานะการทดลองพบอนุภาคที่มีลักษณะกลมมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางตั้งแต่ 1 ถึง 20 μm โดยส่วนใหญ่มีขนาดอยู่ในช่วง 1-5 μm เมื่อย้อมด้วยสารละลายไอโอดีนมีสีน้ำเงินเข้ม (รูปที่ 4.1) จากลักษณะดังกล่าวทำให้สรุปได้ว่ามี “สเฟียรูไลต์” เกิดขึ้น โดยสเฟียรูไลต์ที่ได้จากการเตรียมโดยการ autoclave เป็นเวลา 60 นาที จะมีขนาดเล็กกว่าเมื่อเทียบกับการเตรียมสเฟียรูไลต์โดยการ autoclave เป็นเวลา 30 นาที สเฟียรูไลต์ที่ได้ไม่แสดงลักษณะ “Maltese cross” เมื่อนำไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงโพลาไรซ์ ซึ่งในงานวิจัยของ Ziegler และคณะ (2003) ได้เตรียมสเฟียรูไลต์จากแป้งมันสำปะหลังพบว่าสเฟียรูไลต์เกิดขึ้นน้อยมากและส่วนมากไม่แสดงลักษณะ “Maltese cross” เช่นเดียวกัน เนื่องจากแป้งมันสำปะหลังมีปริมาณอะไมโลสอยู่ในระดับปานกลาง (15-18%) ทำให้เกิดการคั่นตัวได้ไม่ดี ซึ่งงานวิจัยก่อนหน้านี้รายงานว่า การเตรียมสเฟียรูไลต์จากแป้งที่มีปริมาณอะไมโลสสูงจะทำให้เกิดสเฟียรูไลต์ได้ดี (Creek และคณะ, 2006; Nordmark และ Ziegler, 2002a, 2002b) ทั้งนี้แป้งที่มีปริมาณอะไมโลสสูงจะเกิดการคั่นตัวได้มากและเร็วกว่าแป้งที่มีปริมาณอะไมโลสต่ำ เนื่องจากโครงสร้างโมเลกุลของอะไมโลสที่มียอดกิ่งก้านทำให้เกาะก่อก้อนที่โมเลกุลจะเคลื่อนที่เข้ามาจับกันใหม่ได้ ส่งผลให้ไม่สามารถรวมตัวเกิดสเฟียรูไลต์ได้ (Chowdhury และคณะ, 1998; Phillips, 1994)



รูปที่ 4.1 ลักษณะของสเฟียรูไลต์จากแป้งมันสำปะหลัง (กำลังขยาย 400 เท่า) เตรียมโดย

- (A) autoclave เป็นเวลา 30 นาที, ทำให้เย็นอย่างช้า
- (B) autoclave เป็นเวลา 60 นาที, ทำให้เย็นอย่างช้า
- (C) autoclave เป็นเวลา 30 นาที, ทำให้เย็นอย่างรวดเร็วและเก็บที่อุณหภูมิ 30 °C
- (D) autoclave เป็นเวลา 30 นาที, ทำให้เย็นอย่างรวดเร็วและเก็บที่อุณหภูมิ 50 °C
- (E) autoclave เป็นเวลา 60 นาที, ทำให้เย็นอย่างรวดเร็วและเก็บที่อุณหภูมิ 30 °C
- (F) autoclave เป็นเวลา 60 นาที, ทำให้เย็นอย่างรวดเร็วและเก็บที่อุณหภูมิ 50 °C

สำหรับการนับจำนวนสเฟียรูไลต์ที่ได้โดยใช้ Hemacytometer พบว่าการเตรียมสเฟียรูไลต์โดยวิธี autoclave เป็นเวลา 30 นาที จะได้จำนวนสเฟียรูไลต์ทั้งหมดน้อยกว่าวิธีการ autoclave เป็นเวลา 60 นาที อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งในการเตรียมสเฟียรูไลต์จะต้องทำลายโครงสร้างของเม็ดแป้งเพื่อให้

โมเลกุลแป้งกระจายตัวออกมาได้อย่างสมบูรณ์ เพื่อให้โมเลกุลแป้งสามารถกลับมาจัดเรียงตัวกันใหม่ได้ดี เมื่อทำให้เย็นตัวลงภายใต้สภาวะที่ควบคุม ซึ่งวิธีการ autoclave เป็นเวลา 60 นาที ทำให้โมเลกุลแป้งกระจายตัวได้สมบูรณ์ จึงเกิดสเฟียรูไลต์ได้ดีกว่าในขณะที่วิธีการ autoclave เป็นเวลา 30 นาที ยังพบว่ามีชิ้นส่วนของเม็ดแป้งหลงเหลืออยู่ Ziegler และคณะ (2003) กล่าวว่า การเตรียมสเฟียรูไลต์ต้องใช้อุณหภูมิในการทำแป้งกระจายตัวสูงกว่า 170°C ซึ่ง Vesterinen และคณะ (2001) เสนอว่าที่อุณหภูมิสูงกว่า 150°C สามารถทำให้เม็ดแป้งเกิดการกระจายตัวได้อย่างสมบูรณ์ การเตรียมโดยวิธี autoclave เป็นเวลา 60 นาที และทำให้เย็นอย่างช้า กับวิธี autoclave เป็นเวลา 30 นาที และทำให้เย็นอย่างรวดเร็ว พบว่าปริมาณสเฟียรูไลต์ทั้งหมดที่ได้ใกล้เคียงกัน จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเวลาในการเจลาติไนซ์และสภาวะในการทำเย็นมีผลต่อการเกิดสเฟียรูไลต์ สำหรับอุณหภูมิการเก็บที่ 30°C และ 50°C ไม่มีผลต่อปริมาณของสเฟียรูไลต์ที่ได้ (ตารางที่ 4.1) การเตรียมโดยวิธี autoclave เป็นเวลา 60 นาที จะได้ปริมาณสเฟียรูไลต์มากกว่าการเตรียมภายใต้สภาวะอื่นๆ เนื่องจากโมเลกุลแป้งมีการกระจายตัวอย่างสมบูรณ์ ทำให้ง่ายต่อการเกิดนิวเคลียสและเกิดสเฟียรูไลต์ภายใต้สภาวะการทำให้เย็นอย่างรวดเร็ว เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Nordmark และ Ziegler (2002a) การกลับมาจัดเรียงตัวใหม่ของโมเลกุลแป้งนั้น ในขั้นแรกจะเกิดการรวมตัวของโมเลกุลแป้งที่กระจายออกมามากลายเป็นจุดเริ่มต้น (nuclei) ในการเกิดเป็นผลึก ซึ่งจะเกิดได้ดีที่อุณหภูมิใกล้ glass transition temperature (T_g) ของแป้ง โดยทั่วไป T_g ของแป้งอยู่ที่อุณหภูมิประมาณ -5°C จากนั้นโมเลกุลแป้งจะเคลื่อนที่มารวมตัวกับผลึกเริ่มต้นทำให้ผลึกเติบโต (propagation) โดยที่อุณหภูมิใกล้ melting temperature (T_m) จะส่งเสริมให้ผลึกเติบโตได้ดี (Eerlingen และ Delcour, 1995) ดังนั้นการทำให้เย็นอย่างรวดเร็วโดยเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -15°C น่าจะช่วยส่งเสริมให้มีการสร้าง nuclei ใหม่ (nucleation) และการนำมาเก็บต่อที่อุณหภูมิ 30°C หรือ 50°C ทำให้ผลึกเติบโตได้ดี

จากการเตรียมสเฟียรูไลต์ภายใต้สภาวะต่างๆ พบว่าสเฟียรูไลต์ส่วนใหญ่ (64-83% ของปริมาณสเฟียรูไลต์ทั้งหมด) มีขนาดอยู่ในช่วง $1-5\ \mu\text{m}$ ตามด้วยสเฟียรูไลต์ขนาด $5-10\ \mu\text{m}$ (10-33%) โดยสเฟียรูไลต์ที่มีขนาดเล็ก ($< 1\ \mu\text{m}$) และสเฟียรูไลต์ที่มีขนาดใหญ่ ($> 10\ \mu\text{m}$) มีปริมาณรวมกันไม่ถึง 10% นอกจากนี้ยังพบว่าการทำให้เย็นอย่างรวดเร็วจะได้สเฟียรูไลต์ที่มีขนาดเล็ก ($1-5\ \mu\text{m}$) มากกว่าการทำให้เย็นอย่างช้า และเมื่อเปรียบเทียบการทำให้เย็นอย่างรวดเร็วระหว่างแป้งที่เจลาติไนซ์เป็นเวลา 30 นาที กับ 60 นาที พบว่าการเจลาติไนซ์เป็นเวลา 60 นาที จะได้สเฟียรูไลต์ที่มีขนาดใกล้เคียงกันมากกว่า โดยการเจลาติไนซ์เป็นเวลา 30 นาที ได้สเฟียรูไลต์ขนาด $< 1\ \mu\text{m}$ ปริมาณ 8% ของสเฟียรูไลต์ทั้งหมด ในขณะที่การเจลาติไนซ์เป็นเวลา 60 นาที พบสเฟียรูไลต์ขนาด $< 1\ \mu\text{m}$ น้อยกว่า 3% ของปริมาณสเฟียรูไลต์ทั้งหมด

ตารางที่ 4.1 ปริมาณของสเฟียรูไลต์โดยแบ่งตามขนาด (คิดเป็นเปอร์เซ็นต์) และจำนวนสเฟียรูไลต์ทั้งหมดที่เตรียมจากแป้งมันสำปะหลังภายใต้สภาวะต่างๆ

วิธีการเตรียม	เวลาในการ autoclave (นาที)	อุณหภูมิในการเก็บ (°C)	ปริมาณสเฟียรูไลต์ (%)				จำนวนสเฟียรูไลต์ทั้งหมด (เม็ด/ลบ.มม.)
			<1 μm	1-5 μm	5-10 μm	10-20 μm^{ns}	
ทำให้เย็นอย่างช้า	30	46	2.3 $\pm 0.3^{\text{bc}}$	64.3 $\pm 1.8^{\text{c}}$	32.9 $\pm 1.9^{\text{a}}$	0.7 ± 0.6	5.1×10^6 $\pm 6.0 \times 10^{5\text{b}}$
	60		5.6 $\pm 2.3^{\text{ba}}$	65.9 $\pm 3.8^{\text{c}}$	26.0 $\pm 7.0^{\text{a}}$	2.5 ± 2.8	5.9×10^6 $\pm 9.2 \times 10^{5\text{ab}}$
ทำให้เย็นอย่างรวดเร็ว	30	30	7.9 $\pm 1.6^{\text{a}}$	82.0 $\pm 0.6^{\text{a}}$	9.9 $\pm 2.1^{\text{b}}$	0.3 ± 0.5	5.7×10^6 $\pm 6.5 \times 10^{5\text{ab}}$
		50	8.7 $\pm 4.3^{\text{a}}$	73.7 $\pm 3.6^{\text{b}}$	16.2 $\pm 5.7^{\text{b}}$	1.5 ± 1.0	5.7×10^6 $\pm 6.7 \times 10^{5\text{ab}}$
	60	30	2.8 $\pm 0.9^{\text{bc}}$	80.4 $\pm 3.3^{\text{a}}$	16.8 $\pm 3.0^{\text{b}}$	-	6.6×10^6 $\pm 8.7 \times 10^{4\text{a}}$
		50	0.8 $\pm 0.0^{\text{c}}$	82.6 $\pm 5.6^{\text{a}}$	16.1 $\pm 5.6^{\text{b}}$	0.5 ± 0.9	6.5×10^6 $\pm 7.6 \times 10^{4\text{a}}$

หมายเหตุ : แต่ละตัวอย่างทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ns แสดงถึงความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

a, b, c ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวดิ่ง แสดงถึงความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

จากผลการทดลองสรุปได้ว่าสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมสเฟียรูไลต์คือ การให้ความร้อนแป้งมันสำปะหลังด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 psi เป็นเวลา 60 นาที จากนั้นทำให้แป้งเย็นตัวลงอย่างรวดเร็ว โดยเก็บที่อุณหภูมิ -15 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และนำไปเก็บต่อในอ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิที่ 30 °C หรือ 50 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งจะทำให้ได้สเฟียรูไลต์ที่มีขนาดสม่ำเสมอและมีปริมาณมากที่สุด ดังนั้นในการทดลองต่อไปจะใช้สภาวะเหล่านี้ (โดยเลือกเก็บที่อุณหภูมิ 50 °C ซึ่งเป็นอุณหภูมิใกล้อุณหภูมิหลอมเหลวของแป้ง) ในการเตรียมสเฟียรูไลต์จากแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการดัดแปรแบบต่างๆ และจากสารประกอบเชิงซ้อนของแป้งมันสำปะหลังกับกรดไขมัน

4.2 ลักษณะและปริมาณของสเฟียรูไลต์ที่เตรียมจากแป้งมันสำปะหลังดัดแปร

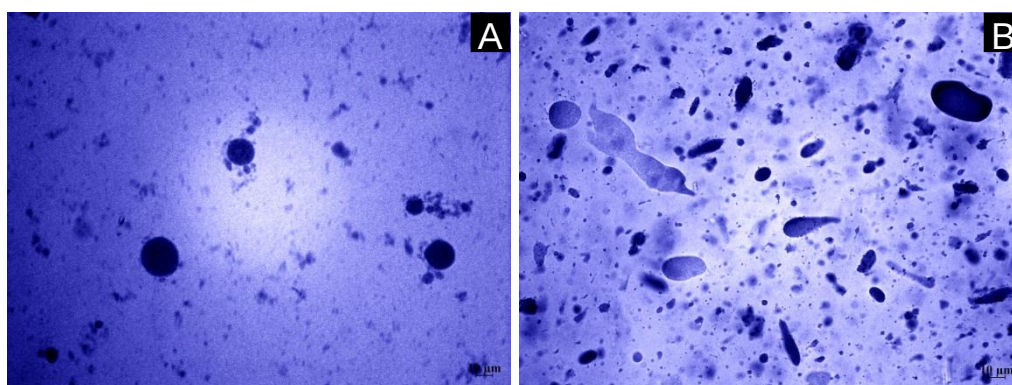
ทำการเตรียมสเฟียรูไลต์จากแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการดัดแปรแบบต่างๆ โดยใช้สภาวะดังนี้ให้ความร้อนแป้งมันสำปะหลังด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 psi เป็นเวลา 60 นาที จากนั้นทำให้แป้งเย็นตัวลงอย่างรวดเร็ว โดยเก็บที่อุณหภูมิ -15 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และนำไปเก็บต่อในอ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิที่ 50 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

4.2.1 แป้งอะเซททิลเลต

เมื่อนำแป้งอะเซททิลเลตที่มีค่าระดับการแทนที่เท่ากับ 0.162 เป็นวัตถุดิบในการเตรียมสเฟียรูไลต์ พบว่ามีสเฟียรูไลต์เกิดขึ้นน้อยมาก (รูปที่ 4.2 A) โดยทั่วไปการดัดแปรแป้งโดยวิธีแอซิติเลชัน ทำให้ได้แป้งอะเซททิลเลตที่มีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำ แต่ทั้งนี้แป้งอะเซททิลเลตที่เตรียมได้ในการทดลองนี้อาจมีความเป็น hydrophobic ไม่เพียงพอที่จะทำให้เกิดการแยกตัวออกจากน้ำ และกลับมารวมตัวใหม่ได้ อีกทั้งการที่มีหมู่อะเซททิลที่เข้าไปแทนที่หมู่ไฮดรอกซิลบนโมเลกุลของแป้ง ยังทำให้เกิดความเกาะก่ส่งผลให้เกิดการคืนตัวได้ยาก

4.2.2 แป้งออกทิลนัลซัคซิเนต

เมื่อใช้แป้งออกทิลนัลซัคซิเนตที่มีค่าระดับการแทนที่เท่ากับ 0.0154 เป็นวัตถุดิบในการเตรียมสเฟียรูไลต์ พบว่ามีอนุภาคเกิดขึ้นในปริมาณไม่มากนัก โดยส่วนใหญ่มีรูปร่างยาวรี แต่มีบางส่วนที่มีลักษณะกลมและมีขนาดเล็ก ทั้งนี้อาจเนื่องจากหมู่ออกทิลนัลซัคซิเนตที่เข้าไปแทนที่นั้น ขัดขวางการกลับมารวมตัวกันของโมเลกุลแป้งและทำให้ได้ลักษณะที่มีรูปร่างไม่แน่นอน (รูปที่ 4.2 B)



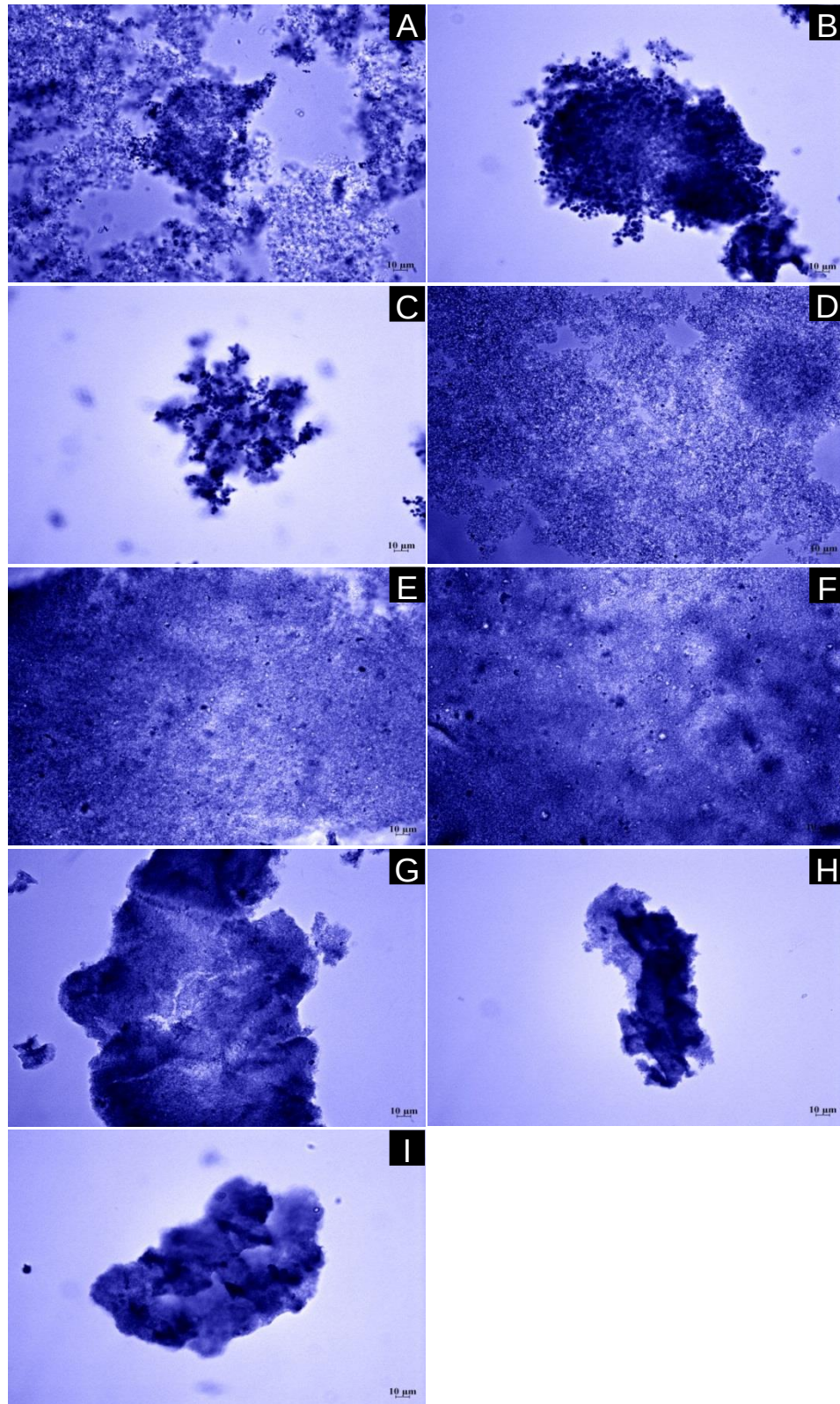
รูปที่ 4.2 ลักษณะของสเฟียรูไลต์ (กำลังขยาย 400 เท่า) ที่เตรียมจากแป้งมันสำปะหลังดัดแปร (A) แป้งอะเซททิลเลต (B) แป้งออกทิลนัลซัคซิเนต

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าแป้งมันสำปะหลังดัดแปรด้วยวิธีการแทนที่หมู่ไฮดรอกซิล (แป้งอะเซทาทิลเลตและแป้งออกทิลลัคซิเนต) ไม่เหมาะกับการใช้เตรียมสเฟียรูไลต์

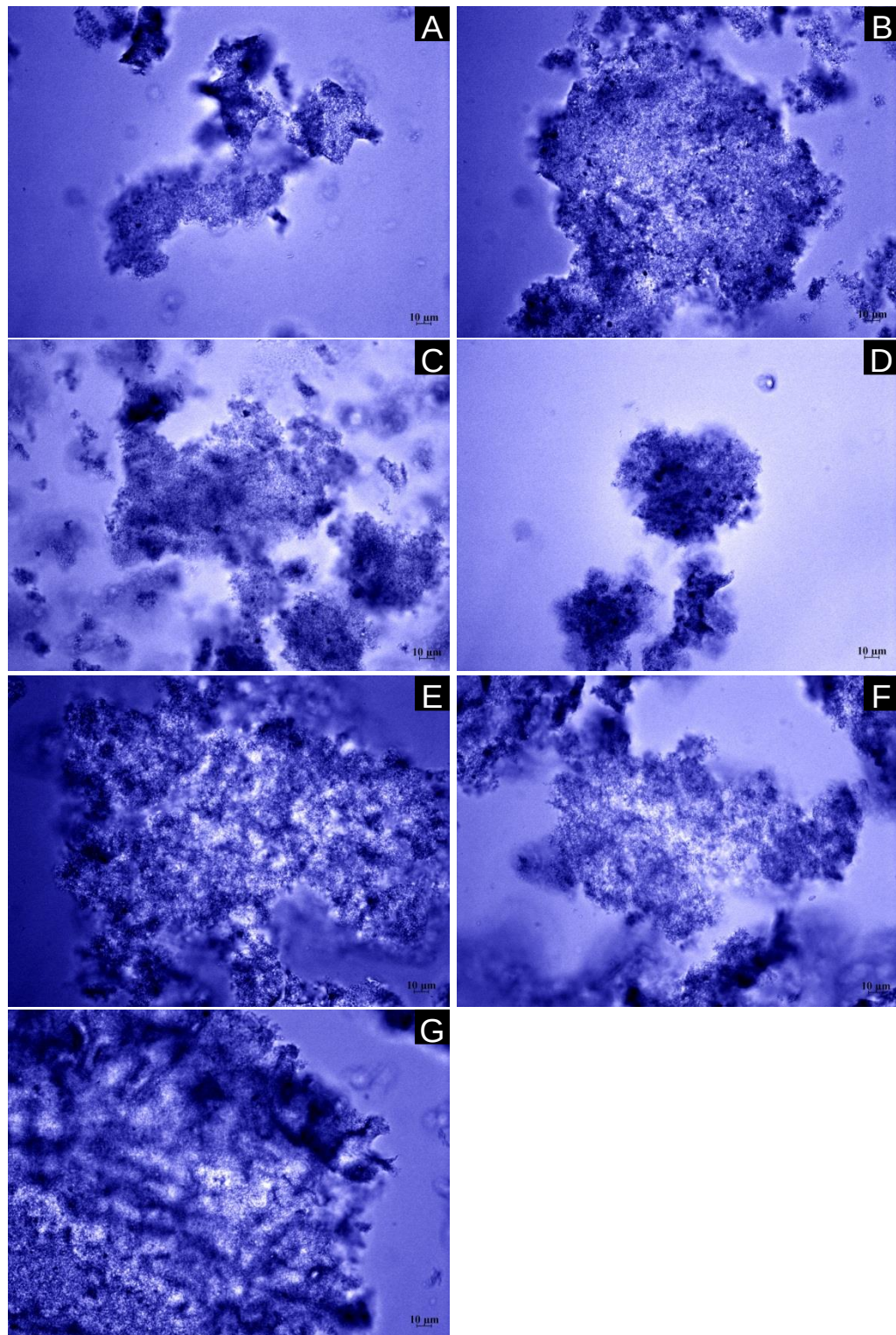
4.2.3 แป้งที่ผ่านการย่อยด้วยกรด

การเตรียมสเฟียรูไลต์จากแป้งที่ผ่านการย่อยด้วยกรด HCl ความเข้มข้น 2.2 M เป็นเวลา 3, 15, 30, 45, 60, 120, 180 นาที พบว่ามีอนุภาคที่มีขนาดเล็ก (น้อยกว่า $1\ \mu\text{m}$) เกิดขึ้นจำนวนมาก ซึ่งยังไม่สามารถระบุได้ว่าเป็นสเฟียรูไลต์หรือไม่ (รูปที่ 4.3 A, D-I) เช่นเดียวกับการเตรียมสเฟียรูไลต์จากแป้งที่ผ่านการย่อยด้วยกรด HCl ความเข้มข้น 1.0 M เป็นเวลา 5, 10, 20, 30, 40, 50 และ 60 นาที (รูปที่ 4.4) ในขณะที่การเตรียมสเฟียรูไลต์จากแป้งที่ผ่านการย่อยด้วยกรด HCl ความเข้มข้น 2.2 M เป็นเวลา 5 นาทีและ 10 นาที มีสเฟียรูไลต์ขนาด $2-4\ \mu\text{m}$ เกิดขึ้นจำนวนมาก มีลักษณะกลมและขนาดสม่ำเสมอ (รูปที่ 4.3 B-C) ทั้งนี้การย่อยแป้งด้วยกรดจะทำให้ได้แป้งที่มีขนาดโมเลกุลเล็กลง ซึ่งส่งผลต่อการกินตัวของแป้ง การย่อยแป้งด้วยกรด HCl ความเข้มข้น 2.2 M เป็นเวลา 15, 30, 45, 60, 120, 180 นาที อาจทำให้ได้โมเลกุลที่มีขนาดเล็กเกินไปส่งผลให้เกิดการเคลื่อนไหวอยู่ตลอดเวลา (Brownian movement) ทำให้จับกันได้ยาก หรือการย่อยแป้งด้วยกรด HCl ความเข้มข้น 1.0 M เป็นเวลา 5, 10, 20, 30, 40, 50 และ 60 นาที ซึ่งกรดที่ใช้อาจมีความเข้มข้นไม่เพียงพอ โมเลกุลที่ได้ยังคงมีขนาดใหญ่เกินไป ทำให้เคลื่อนที่เข้ามาจับกันได้ยากอัตราการกินตัวจึงลดลง โดยที่โมเลกุลอะไมโลสที่มีขนาดพอเหมาะในการเคลื่อนที่มาจับกัน คือ ในช่วง 100-200 หน่วยกลูโคส (Whistler และ Johnson, 1948) ในขณะที่ Ziegler และคณะ (2003) ได้เตรียมสเฟียรูไลต์จากแป้งข้าวโพดที่ผ่านการย่อยด้วยกรดที่ได้จากทางการค้า พบว่ามีสเฟียรูไลต์เกิดขึ้นจำนวนมาก มีลักษณะกลมขนาด $10-20\ \mu\text{m}$ และแสดงลักษณะ “Maltese cross” อย่างชัดเจน Wang และ Wang (2001) กล่าวว่ากรดชอบย่อยโมเลกุลอะไมโลเพกตินและอาจย่อยบริเวณจุดแตกกิ่ง ทำให้ได้โมเลกุลที่มีขนาดเล็กลง และโมเลกุลเส้นตรง รวมทั้งโมเลกุลสายสั้น ($DP < 63$) เพิ่มขึ้น (Myllarinen และคณะ, 2002; Radley, 1976) ซึ่งทำให้รวมตัวเกิดสเฟียรูไลต์ได้ดี

เมื่อนับจำนวนสเฟียรูไลต์ด้วย Hemacytometer พบว่าเมื่อใช้แป้งที่ผ่านการย่อยด้วยกรดเป็นเวลา 5 นาที และ 10 นาที มีสเฟียรูไลต์ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง $1-5\ \mu\text{m}$ เกิดขึ้นจำนวนมาก (92-97% ของปริมาณสเฟียรูไลต์ทั้งหมด) และมีสเฟียรูไลต์ขนาดเล็ก ($<1\ \mu\text{m}$) ไม่เกิน 10% ของปริมาณสเฟียรูไลต์ทั้งหมด (ตารางที่ 4.2) โดยแป้งที่ผ่านการย่อยด้วยกรดเป็นเวลา 5 นาที มีปริมาณสเฟียรูไลต์เกิดขึ้นมากกว่าการเตรียมจากแป้งที่ผ่านการย่อยด้วยกรดเป็นเวลา 10 นาที จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเวลาที่ใช้ในการย่อยมีผลต่อปริมาณสเฟียรูไลต์ที่ได้ แต่ไม่มีผลกับขนาดของสเฟียรูไลต์ที่เกิดขึ้น



รูปที่ 4.3 ลักษณะของสเฟียรูไลต์ (กำลังขยาย 400 เท่า) ที่เตรียมจากแป้งที่ผ่านการย่อยด้วยกรด HCl ความเข้มข้น 2.2 M เป็นเวลา (A) 3 นาที (B) 5 นาที (C) 10 นาที (D) 15 นาที (E) 30 นาที (F) 45 นาที (G) 60 นาที (H) 120 นาที และ (I) 180 นาที



รูปที่ 4.4 ลักษณะของสเฟียรูไลต์ (กำลังขย 400 เท) ที่เตรียมจากแป้งที่ผ่านการย่อยด้วยกรด HCl ความเข้มข้น 1.0 M เป็นเวลา : (A) 5 นาที (B) 10 นาที (C) 20 นาที (D) 30 นาที (E) 40 นาที (F) 50 นาที และ (G) 60 นาที

ตารางที่ 4.2 ปริมาณของสเฟียรูไลต์โดยแบ่งตามขนาด (คิดเป็นเปอร์เซ็นต์) และจำนวนสเฟียรูไลต์ทั้งหมดที่เตรียมจากแป้งที่ผ่านการย่อยด้วยกรด HCl ความเข้มข้น 2.2 M ที่เวลา 5 และ 10 นาที

วิธีการเตรียม	เวลาที่ใช้ในการย่อย (นาที)	ปริมาณสเฟียรูไลต์ (%)		จำนวนสเฟียรูไลต์ทั้งหมด (เม็ด/ลบ.มม.)
		<1 μm^{ns}	1-5 μm^{ns}	
autoclave 60 นาที ทำให้เย็นอย่างรวดเร็ว และเก็บที่อุณหภูมิ 50 °C	5	3.3 $\pm$ 1.4	96.7 $\pm$ 1.4	6.0 $\times 10^6 \pm 5.8 \times 10^{4\text{p}}$
	10	7.0 $\pm$ 3.0	93.0 $\pm$ 3.0	4.5 $\times 10^6 \pm 8.9 \times 10^{5\text{q}}$

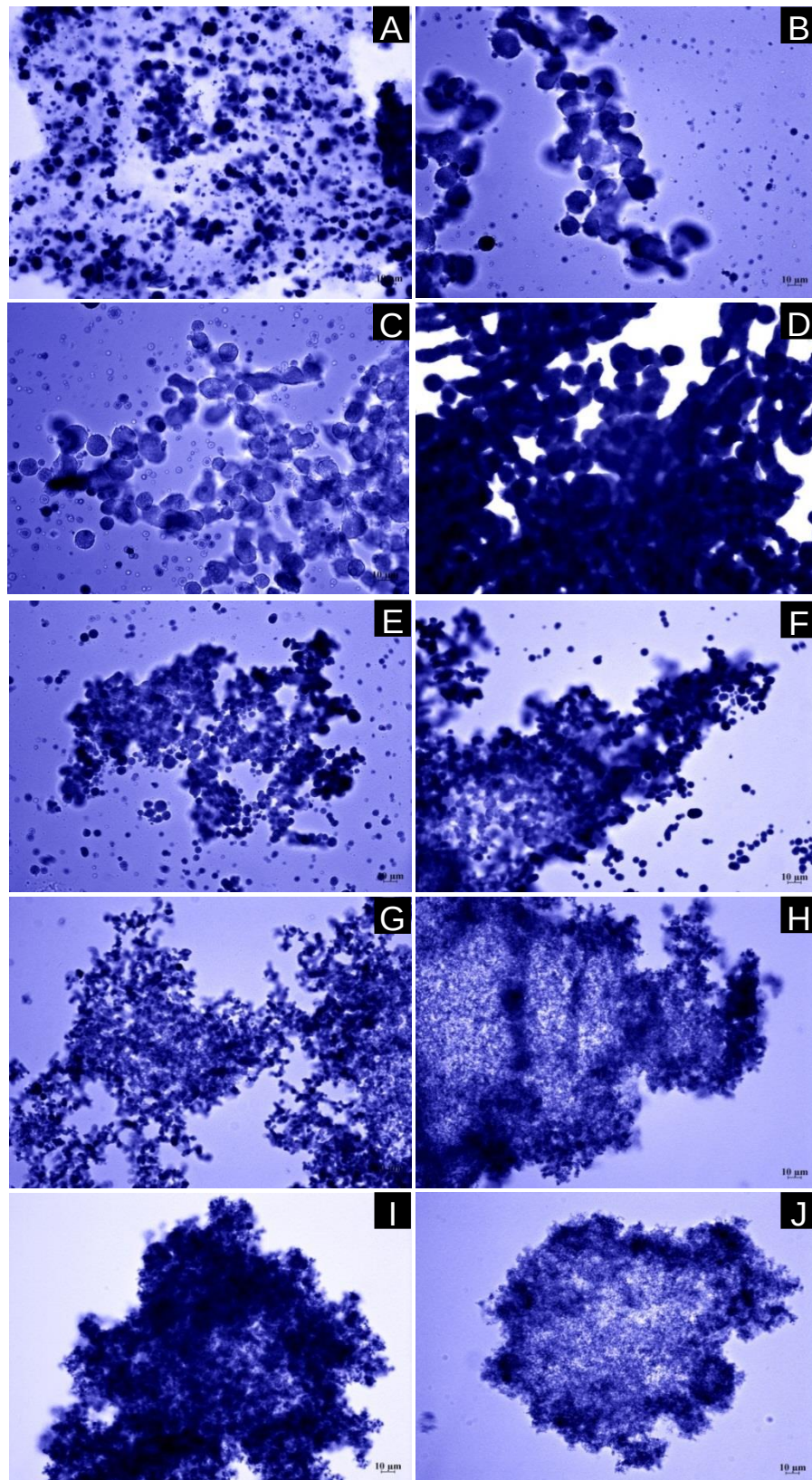
หมายเหตุ : แต่ละตัวอย่างทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ns แสดงถึงความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

p และ q ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวดิ่ง แสดงถึงความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

4.2.4 แป้งตัดกิ่งด้วยเอนไซม์

ในการเตรียมสเฟียรูไลต์จากแป้งตัดกิ่งด้วยเอนไซม์พุลูลานเนส พบว่าสเฟียรูไลต์ที่ได้มีลักษณะกลมและมีรูปร่างสม่ำเสมอ โดยขนาดของสเฟียรูไลต์ที่เตรียมจากแป้งที่ผ่านการตัดกิ่งด้วยเอนไซม์จะลดลงตามระยะเวลาที่ใช้ในการย่อย (รูปที่ 4.5) เนื่องจากอะไมโลสและอะไมโลเพกตินถูกเอนไซม์ย่อยพันธะกิ่งหรือพันธะ α -1,6 ของอะไมโลเพกตินทำให้ได้ส่วนที่เป็นพอลิเมอร์เชิงเส้นเพิ่มขึ้นและมีสายโซ่สั้นลง (Manners และ Matheson, 1981; Yokobayashi และคณะ, 1973) ซึ่งพอลิเมอร์เชิงเส้นที่ได้จะมีขนาดโมเลกุล (degrees of polymerization; DP) ไม่สม่ำเสมอ (Hizukuri และคณะ, 2006; Manners, 1989) ทั้งนี้แป้งที่ผ่านการย่อยเป็นเวลานานอาจมีพอลิเมอร์เชิงเส้นที่มี DP ต่ำจำนวนมาก ทำให้เกิดการจับเรียงตัวเป็นผลึกที่แน่นมีลักษณะเป็นอนุภาคขนาดเล็กเกาะกลุ่มกันเป็นตะกอน สอดคล้องกับ Gidley (1987) ที่กล่าวว่าสายโซ่ที่มี DP 80-100 สามารถเกิดการกั้นตัวได้สูง และสามารถเกิดโครงสร้างร่างแหเป็นเจล (gelation network) ส่วนสายโซ่ที่มี DP ต่ำนั้น จะเกิดการจับเรียงตัวของเกลียวคู่และตกตะกอน โดยสเฟียรูไลต์ที่เตรียมจากแป้งที่ผ่านการตัดกิ่งด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 5, 10, 15, 20, 25, 30 และ 40 นาที มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 10-25, 10-25, 10-20, 5-8, 3-5, 2-4 และ 1 μm ตามลำดับ สำหรับการเตรียมสเฟียรูไลต์จากแป้งตัดกิ่งด้วยเอนไซม์ที่ใช้เวลาในการย่อย 50 นาทีและ 60 นาที สเฟียรูไลต์ที่ได้จะมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า 1 μm ในขณะที่การเตรียมจากแป้งที่ไม่ผ่านการย่อยจะได้สเฟียรูไลต์ขนาด 3-8 μm



รูปที่ 4.5 ลักษณะของสเฟียรูไลต์ (กำลังขยาย 400 เท่า) ที่เตรียมจากแป้งตัดกิ่งด้วยเอนไซม์พุลูลานเนส เป็นเวลา : (A) 0 นาที, (B) 5 นาที, (C) 10 นาที, (D) 15 นาที, (E) 20 นาที, (F) 25 นาที, (G) 30 นาที, (H) 40 นาที, (I) 50 นาที และ (J) 60 นาที

อย่างไรก็ตามยังไม่พบรายงานเกี่ยวกับการนำแป้งตัดกึ่งด้วยเอนไซม์มาใช้ในการเตรียมสเฟียรูไลต์ แต่จากรายงานของ Lay Ma และคณะ (2011) พบว่าการเตรียมสเฟียรูไลต์จากแป้งที่มีปริมาณอะไมโลสสูงจะทำให้สเฟียรูไลต์เกิดได้ดี ในขณะที่การเตรียมจากอะไมโลเพคตินของแป้งข้าวโพด หรือ อะไมโลเพคตินของแป้งมันฝรั่งไม่สามารถทำให้เกิดสเฟียรูไลต์ได้ เนื่องจากการที่มีพอลิเมอร์เชิงเส้นมาก (อะไมโลส) จะช่วยให้เกิดการกลับมาจัดเรียงตัวเป็นผลึกได้ง่ายและเกิดสเฟียรูไลต์ได้ดี ส่วนอะไมโลเพคตินเป็นโมเลกุลที่มีกิ่งก้านที่เกาะก่ ซึ่งจะขัดขวางการกลับมาจัดเรียงตัวจึงไม่สามารถเกิดสเฟียรูไลต์ได้ (Nordmark และ Ziegler, 2002a)

ตารางที่ 4.3 ปริมาณของสเฟียรูไลต์โดยแบ่งตามขนาด (คิดเป็นเปอร์เซ็นต์) และจำนวนสเฟียรูไลต์ทั้งหมดที่เตรียมจากแป้งตัดกึ่งด้วยเอนไซม์พุลูลูแลนสที่เวลาต่างๆ

วิธีการเตรียม	เวลาที่ใช้ในการย่อย (นาทิจ)	ปริมาณสเฟียรูไลต์ (%)				จำนวนสเฟียรูไลต์ทั้งหมด (เม็ด/ลบ.มม.)
		<1 μm	1-5 μm^{ns}	5-10 μm^{ns}	10-15 μm^{ns}	
autoclave 60 นาที ทำให้เย็นอย่างรวดเร็ว และเก็บที่อุณหภูมิ 50 °C	15	6.7 $\pm 1.3^{\text{a}}$	80.9 ± 3.2	11.6 ± 3.5	0.8 ± 1.0	1.6×10^6 $\pm 1.53 \times 10^{4\text{a}}$
	20	3.0 $\pm 4.2^{\text{ab}}$	80.4 ± 3.8	16.6 ± 2.1	-	8.2×10^5 $\pm 7.2 \times 10^{4\text{b}}$
	25	0.8 $\pm 1.5^{\text{b}}$	81.0 ± 4.6	17.3 ± 3.7	0.8 ± 1.5	7.9×10^5 $\pm 0.0^{\text{b}}$

หมายเหตุ : แต่ละตัวอย่างทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ns แสดงถึงความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

a, b, c ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวดิ่ง แสดงถึงความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

สำหรับการหาเวลาในการย่อยที่เหมาะสมซึ่งทำให้ได้แป้งตัดกึ่งที่สามารถเตรียมสเฟียรูไลต์ได้ในปริมาณมาก จะเลือกตัวอย่างที่เตรียมจากแป้งตัดกึ่งด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 15, 20, และ 25 นาที ซึ่งได้สเฟียรูไลต์ที่มีลักษณะกลมและมีขนาดสม่ำเสมอตามจำนวนสเฟียรูไลต์เปรียบเทียบกับกันโดยใช้ Hemacytometer ผลที่ได้แสดงดังตารางที่ 4.3 พบว่าการเตรียมสเฟียรูไลต์จากแป้งที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ที่เวลาต่างๆ จะได้สเฟียรูไลต์ที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1-15 μm โดยส่วนใหญ่ 80-82% ของปริมาณสเฟียรูไลต์ทั้งหมดมีขนาด 1-5 μm การเตรียมสเฟียรูไลต์จากแป้งที่ผ่านการย่อยเป็นเวลา 15 นาที มีปริมาณสเฟียรูไลต์ทั้งหมดเกิดขึ้นมากกว่าการเตรียมจากแป้งที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์เป็น

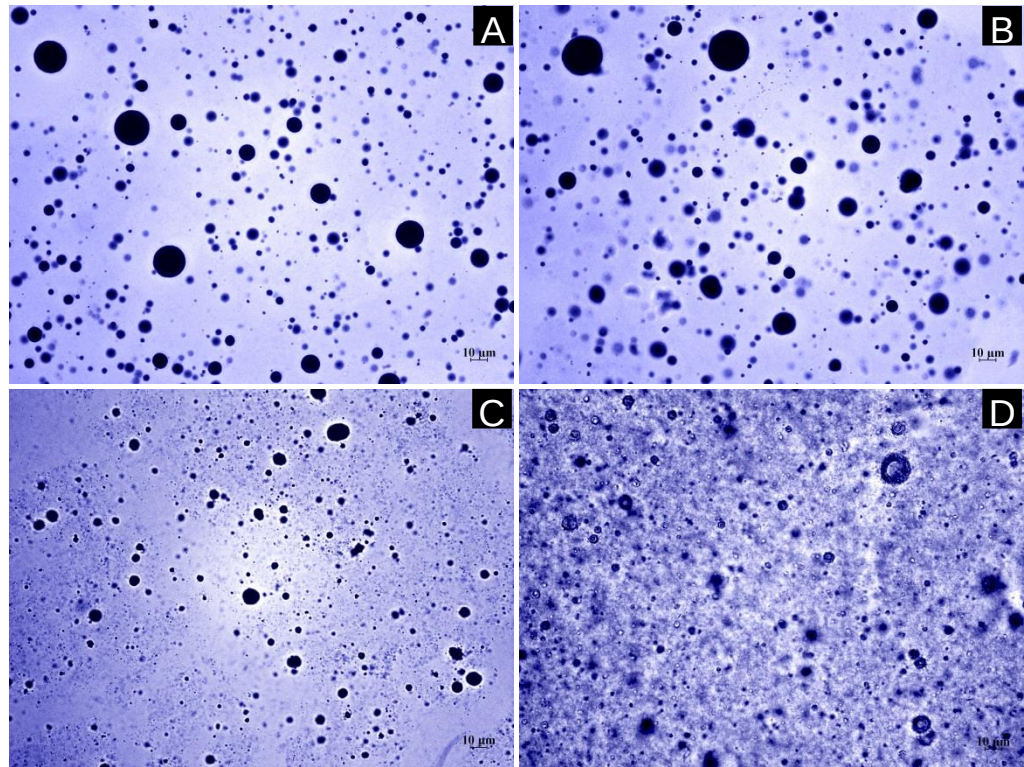
เวลา 20 นาทีและ 25 นาที ตามลำดับ โดยที่การเตรียมจากแป้งที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 15 นาที จะมีปริมาณสเฟียรูไลด์ขนาดเล็ก ($< 1 \mu\text{m}$) เกิดขึ้นมากกว่าการเตรียมจากแป้งที่ผ่านการย่อยเป็นเวลา 20 นาทีและ 25 นาที

จากผลการทดลองสรุปได้ว่าเวลาที่ใช้ในการย่อยมีผลต่อปริมาณสเฟียรูไลด์ทั้งหมดและปริมาณของสเฟียรูไลด์ที่มีขนาดเล็ก แต่ไม่มีผลต่อขนาดโดยรวมของสเฟียรูไลด์

4.2.5 ลักษณะและปริมาณของสเฟียรูไลด์ที่เตรียมจากสารประกอบเชิงซ้อนของแป้งมันสำปะหลังกับกรดไขมันชนิดต่างๆ

จากการทดลองเตรียมสเฟียรูไลด์จากสารประกอบเชิงซ้อนของแป้งมันสำปะหลังกับกรดไขมันชนิดต่างๆ พบว่าสเฟียรูไลด์ที่ได้จากสารประกอบเชิงซ้อนของแป้งมันสำปะหลังกับกรดอะซิติกและกรดบิวทิริกมีลักษณะกลม ประกอบไปด้วยสเฟียรูไลด์ขนาดใหญ่ ($5\text{--}20 \mu\text{m}$) และสเฟียรูไลด์ขนาดเล็ก ($1\text{--}5 \mu\text{m}$) จำนวนมาก (รูปที่ 4.6 A-B) ส่วนสเฟียรูไลด์ที่ได้จากสารประกอบเชิงซ้อนของแป้งมันสำปะหลังกับกรดปาล์มมิกมีขนาด $1\text{--}10 \mu\text{m}$ ปะปนอยู่กับอนุภาคขนาดเล็ก ($< 1 \mu\text{m}$) จำนวนมาก (รูปที่ 4.6 C) ซึ่งยังไม่สามารถระบุได้ว่าเป็นสเฟียรูไลด์หรือไม่ ในขณะที่การเตรียมจากสารประกอบเชิงซ้อนของแป้งมันสำปะหลังกับกรดโอเลอิก พบว่าอนุภาคที่ได้มีรูปร่างคล้ายโดนัท ปะปนอยู่กับอนุภาคขนาดเล็ก (รูปที่ 4.6 D) ซึ่งจากการศึกษาลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์นั้น ยังไม่สามารถระบุได้ว่าเป็นสเฟียรูไลด์ จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าชนิดของกรดไขมันที่ใช้มีผลต่อรูปร่างลักษณะและขนาดของสเฟียรูไลด์ที่ได้ Fanta และคณะ (2006) ได้เตรียมสเฟียรูไลด์จากสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างแป้งข้าวโพดที่กำจัดไขมันออกกับกรดไขมันชนิดต่างๆ (กรดปาล์มมิก กรดไลโนเลอิก กรดโอเลอิก กรดสเตียริก กรดไมริสติก) ด้วยการทำให้เย็นอย่างช้าโดยเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 22 ชั่วโมง พบว่าทำให้ได้สเฟียรูไลด์ที่มีทั้งลักษณะกลมและเป็น torus ซึ่งลักษณะที่ได้จะขึ้นอยู่กับชนิดของกรดไขมันที่ใช้และมีสเฟียรูไลด์เกิดขึ้น 7-12 % ของปริมาณแป้งเริ่มต้น ในขณะที่การเตรียมสเฟียรูไลด์จากสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างแป้งข้าวโพดที่มีปริมาณอะไมโลสสูง (amylomaize) กับกรดปาล์มมิกและกรดโอเลอิก ด้วยการทำให้เย็นอย่างช้าและทำให้เย็นอย่างรวดเร็วโดยลดอุณหภูมิลงเป็น 25°C ภายในเวลา 7-12 นาทีพบว่าสเฟียรูไลด์เกิดขึ้นมากถึง 60 % ของปริมาณแป้งเริ่มต้น (Fanta และคณะ, 2008) เนื่องจากแป้งข้าวโพดอะไมโลสสูงมีปริมาณอะไมโลสมากกว่าแป้งข้าวโพดมาก ทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนในปริมาณมาก ซึ่งสารประกอบเชิงซ้อนเหล่านี้สามารถกลับมาจัดเรียงตัวเป็นโครงสร้างผลึกเกิดเป็นสเฟียรูไลด์ได้ง่ายกว่าอะไมโลสอิสระ เนื่องจากมีความเป็น hydrophobic มากทำให้เกิดการแยกตัวออกจากน้ำ และกลับมารวมตัวใหม่ได้ดี ดังนั้นการเตรียมสเฟียรูไลด์จากสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างแป้งที่มีปริมาณอะไมโลสสูงกับกรดไขมันจะทำให้ได้สเฟียรูไลด์ในปริมาณมาก ซึ่งในงานวิจัยนี้ได้เตรียมสเฟียรูไลด์จาก

สารประกอบเชิงซ้อนระหว่างแป้งมันสำปะหลังกับกรดไขมัน ซึ่งแป้งมันสำปะหลังมีปริมาณอะไมโลสเพียง 15-20 % ของปริมาณแป้งทั้งหมด จึงเกิดสเฟียรูไลต์ได้ไม่ดี



รูปที่ 4.6 ลักษณะของสเฟียรูไลต์ (กำลังขยาย 400 เท่า) ที่เตรียมจากสารประกอบเชิงซ้อนของแป้งมันสำปะหลังกับกรดไขมันชนิดต่างๆ : (A) กรดอะซิติค, (B) กรดบิวทิริก, (C) กรดปาล์มมิติก และ (D) กรดโอเลอิก

เนื่องจากสเฟียรูไลต์ที่ได้จากสารประกอบเชิงซ้อนของแป้งมันสำปะหลังกับกรดปาล์มมิติก ส่วนใหญ่มีขนาดเล็ก ($< 1 \mu\text{m}$) ส่วนสเฟียรูไลต์จากสารประกอบเชิงซ้อนของแป้งมันสำปะหลังกับกรดโอเลอิกมีลักษณะเป็นอนุภาคทรงกลมขนาดเล็กเกาะกลุ่มกัน ซึ่งอาจทำให้การนับจำนวนสเฟียรูไลต์ด้วย Hemacytometer มีความผิดพลาดสูง ดังนั้นจึงไม่ได้ทำการนับจำนวนสเฟียรูไลต์ในตัวอย่างดังกล่าว ตารางที่ 4.4 จึงแสดงเฉพาะจำนวนสเฟียรูไลต์จากสารประกอบเชิงซ้อนของแป้งมันสำปะหลังกับกรดอะซิติคและกรดบิวทิริก พบว่าสเฟียรูไลต์จากสารประกอบเชิงซ้อนของแป้งมันสำปะหลังกับกรดอะซิติคและกรดบิวทิริกมีปริมาณที่ใกล้เคียงกัน โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1-20 μm สเฟียรูไลต์ส่วนใหญ่ (76-83% ของปริมาณสเฟียรูไลต์ทั้งหมด) มีขนาด 1-5 μm และมีสเฟียรูไลต์ขนาดเล็ก ($< 1 \mu\text{m}$) ปริมาณ 3-6% ของปริมาณสเฟียรูไลต์ทั้งหมดปะปนอยู่ด้วย โดยที่การเตรียมจากสารประกอบเชิงซ้อนของแป้งมันสำปะหลังกับกรดอะซิติคมีปริมาณสเฟียรูไลต์ขนาด 5-10 μm มากกว่าการเตรียมจากสารประกอบเชิงซ้อนของแป้งมันสำปะหลังกับกรดบิวทิริก สำหรับ

สเฟียรูไลต์ที่มีขนาดใหญ่ (10-20 μm) พบว่ามีเพียง 3% ของปริมาณสเฟียรูไลต์ทั้งหมด ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนสเฟียรูไลต์ที่เตรียมได้จากแป้งมันสำปะหลัง พบว่าสเฟียรูไลต์ที่เตรียมได้จากสารประกอบเชิงซ้อนของแป้งมันสำปะหลังกับกรดอะซิติกและกรดบิวทิริกยังมีจำนวนที่น้อยกว่า

ตารางที่ 4.4 ปริมาณของสเฟียรูไลต์โดยแบ่งตามขนาด (คิดเป็นเปอร์เซ็นต์) และจำนวนสเฟียรูไลต์ทั้งหมดที่เตรียมจากสารประกอบเชิงซ้อนของแป้งมันสำปะหลังกับกรดไขมันชนิดต่างๆ

วิธีการเตรียม	ชนิดกรดไขมัน	ปริมาณสเฟียรูไลต์ (%)					จำนวนสเฟียรูไลต์ทั้งหมด (เม็ด/ลบ.มม.) ^{ns}
		<1 μm ^{ns}	1-5 μm ^{ns}	5-10 μm	10-15 μm ^{ns}	15-20 μm ^{ns}	
autoclave 60 นาที ทำให้เย็นอย่างรวดเร็ว และเก็บที่อุณหภูมิ 50 °C	กรดอะซิติก	6.2 ± 1.3	76.7 ± 3.6	15.5 $\pm 3.2^p$	1.5 ± 0.8	0.2 ± 0.3	1.7×10^6 $\pm 1.5 \times 10^5$
	กรดบิวทิริก	3.4 ± 1.8	82.5 ± 1.4	12.9 $\pm 0.4^q$	0.8 ± 0.9	0.4 ± 0.7	1.7×10^6 $\pm 5.5 \times 10^4$

หมายเหตุ : แต่ละตัวอย่างทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ns แสดงถึงความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

p และ q ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้ง แสดงถึงความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

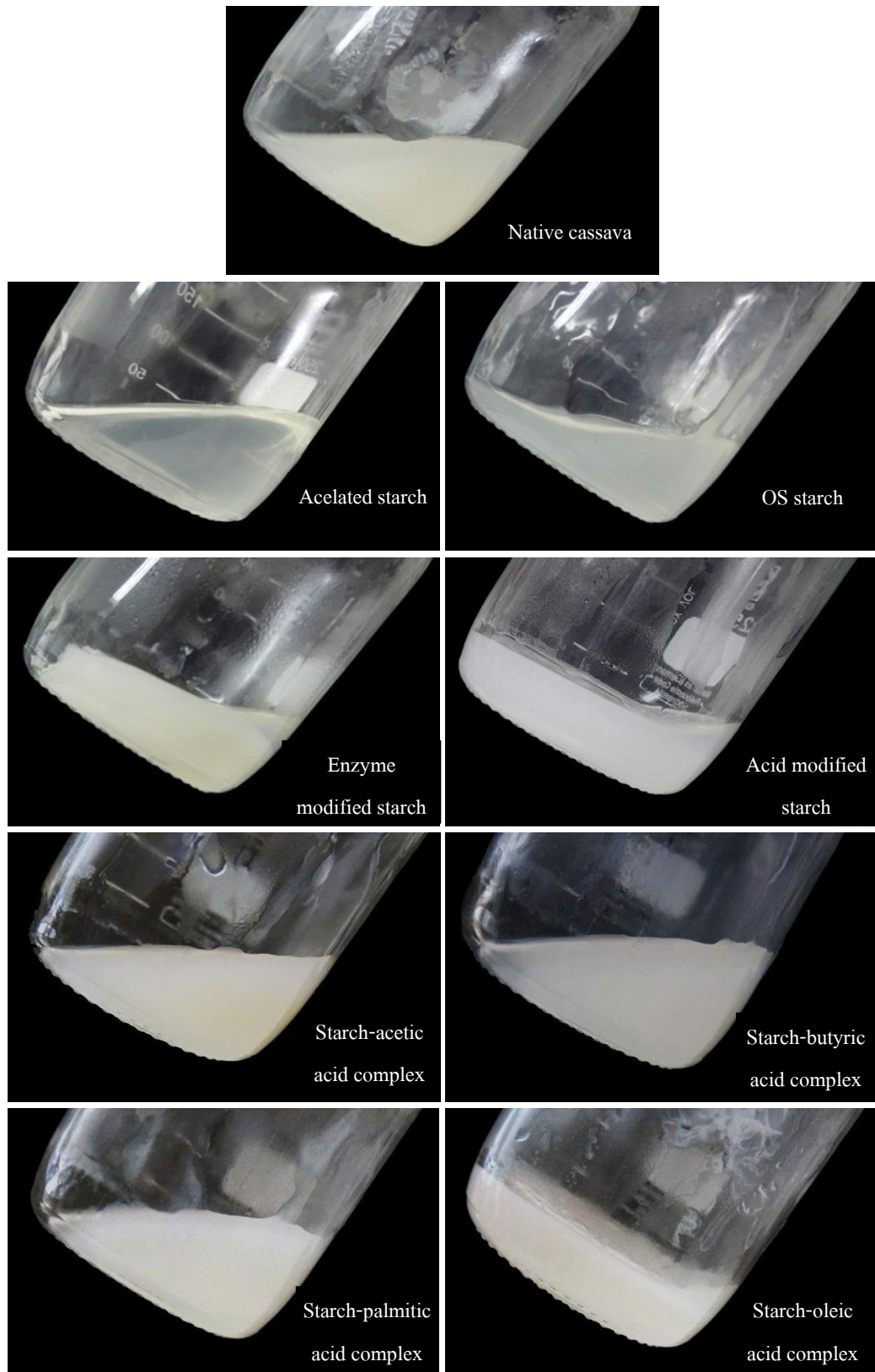
ที่ผ่านมามีรายงานว่า การเตรียมสเฟียรูไลต์จากสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างแป้งกับกรดไขมันสายยาวที่มีจำนวนคาร์บอนตั้งแต่ 14-18 อะตอม ทำให้ได้สเฟียรูไลต์ในปริมาณมากกว่าการเตรียมจากแป้งเพียงอย่างเดียว (Bhosale และ Ziegler, 2010; Fanta และคณะ, 2006, 2008; Peterson และคณะ, 2005) ซึ่งจากการเตรียมโดยใช้กรดอะซิติกและกรดบิวทิริกพบว่าสเฟียรูไลต์เกิดขึ้นได้ไม่ดี อาจเนื่องจากการอะซิติกและกรดบิวทิริกเป็นกรดไขมันสายสั้นที่มีจำนวนคาร์บอน 2 และ 4 อะตอมตามลำดับ ซึ่งมีรายงานว่ากรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอนน้อยกว่า 10 อะตอมไม่สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนแบบอินคลูชันได้ (Godet และคณะ, 1995; Karkalas และ Raphaelides, 1986; Lebail และคณะ, 2000; Tufvesson และคณะ, 2003) เนื่องจากกรดไขมันสายสั้นมีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) น้อย ทำให้ไม่มีแรงผลักดันเพียงพอเพื่อแยกตัวออกจากส่วนน้ำและเข้าไปอยู่ภายในโพรงของเกลียวอะไมโลสได้ (Karkalas และ Raphaelides, 1986) จึงเกิดสารประกอบเชิงซ้อนแบบอินคลูชันได้น้อย ส่งผลให้มีการรวมตัวเกิดเป็นสเฟียรูไลต์ได้ไม่ดี ซึ่งมีความเป็นไปได้ว่าสเฟียรูไลต์ที่เตรียมจากสารประกอบเชิงซ้อนของแป้งมันสำปะหลังกับกรดอะซิติกและกรดบิวทิริก

น่าจะเกิดจากการกลับมาจัดเรียงตัวกันใหม่ของโมเลกุลแป้งที่กระจายตัวอยู่เช่นเดียวกับการเตรียมจากแป้งมันสำปะหลัง

จากการทดลองเตรียมสเฟียรูไลต์จากตัวอย่างแป้งแบบต่างๆ พบว่าการเตรียมสเฟียรูไลต์จากแป้งที่ผ่านการย่อยด้วยกรดเป็นเวลา 5 นาที ได้ปริมาณสเฟียรูไลต์ไม่แตกต่างจากการเตรียมจากแป้งมันสำปะหลัง แต่จะพบว่าสเฟียรูไลต์จากแป้งที่ผ่านการย่อยด้วยกรดเป็นเวลา 5 นาที มีขนาดไม่เกิน 5 μm ในขณะที่สเฟียรูไลต์จากแป้งมันสำปะหลังมีขนาดใหญ่ถึง 20 μm นอกจากนี้ยังพบว่าการเตรียมสเฟียรูไลต์จากแป้งที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์พุลูลาเนสเป็นเวลา 15 นาที มีปริมาณสเฟียรูไลต์เกิดขึ้นใกล้เคียงกันกับการเตรียมจากสารประกอบเชิงซ้อนของแป้งมันสำปะหลังกับกรดไขมัน (กรดเอซิดิกและกรดบิวทริก) ซึ่งจำนวนสเฟียรูไลต์ที่ได้นั้นยังพบน้อยกว่าจำนวนสเฟียรูไลต์ที่เตรียมได้จากแป้งมันสำปะหลัง

4.3 ลักษณะของเจลแป้งจากการเตรียมสเฟียรูไลต์

ตัวอย่างแป้งชนิดต่างๆ เมื่อผ่านการ autoclave เป็นเวลา 60 นาที และทำให้เย็นอย่างรวดเร็ว จากนั้นนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อสังเกตลักษณะของเจลแป้งที่ได้ (รูปที่ 4.7) พบว่าเจลแป้งจากแป้งมันสำปะหลังมีความหนืดเล็กน้อยและค่อนข้างข้น ในขณะที่เจลแป้งจากแป้งอะเซทิลเลตมีลักษณะใสและไม่หนืด ส่วนเจลแป้งจากแป้งออกทิลนัลซัคซิเนต สารประกอบเชิงซ้อนของแป้งมันสำปะหลังกับกรดอะซิดิก กรดบิวทริก และกรดปาล์มมิก มีลักษณะค่อนข้างข้นและมีความหนืดเล็กน้อยเช่นเดียวกับเจลแป้งจากแป้งมันสำปะหลัง สำหรับเจลแป้งจากแป้งที่ผ่านการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ รวมทั้งจากสารประกอบเชิงซ้อนของแป้งมันสำปะหลังกับกรดโอเลอิกนั้น มีลักษณะเกาะตัวกันเป็นก้อนวุ้น ไม่มีความหนืด โดยที่เจลแป้งจากแป้งที่ผ่านการย่อยด้วยกรดมีความขาวกว่า ซึ่งลักษณะของเจลแป้งแสดงให้เห็นว่าโมเลกุลแป้งเกิดการรวมตัวกันในรูปแบบที่แตกต่างกัน นอกจากนี้ลักษณะที่ได้ยังมีผลต่อการแยกสเฟียรูไลต์จากเจลแป้ง โดยในขั้นตอนการล้างเจลและเก็บสเฟียรูไลต์ เจลของแป้งสเฟียรูไลต์ที่มีลักษณะเกาะตัวกันเป็นก้อนวุ้น (เจลแป้งจากแป้งที่ผ่านการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ และสารประกอบเชิงซ้อนของแป้งมันสำปะหลังกับกรดโอเลอิก) สามารถล้างเจลและเก็บสเฟียรูไลต์ได้ง่ายกว่าเจลแป้งที่มีความหนืด (เจลแป้งจากแป้งมันสำปะหลัง แป้งออกทิลนัลซัคซิเนต สารประกอบเชิงซ้อนของแป้งมันสำปะหลังกับกรดอะซิดิก กรดบิวทริก และกรดปาล์มมิก) (ตารางที่ 4.5)



รูปที่ 4.7 ลักษณะของเจลแป้งจากตัวอย่างแป้งชนิดต่างๆ

ตารางที่ 4.5 จำนวนครั้งในการปั่นเหวี่ยงล้างเจลแข็งของสเฟียรูไลด์ที่เตรียมจากแป้งชนิดต่างๆ

ตัวอย่างเจลแข็งสเฟียรูไลด์ที่เตรียมจากแป้งชนิดต่างๆ	จำนวนครั้งในการล้างเจลแข็ง
แป้งมันสำปะหลัง	3
แป้งออกทินิลซัคซิเนต	3
แป้งที่ผ่านการย่อยด้วยกรด	2
แป้งที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์	2
สารประกอบระหว่างแป้งกับกรดอะซิติก	3
สารประกอบระหว่างแป้งกับกรดบิวทิริก	3
สารประกอบระหว่างแป้งกับกรดปาล์มมิก	3
สารประกอบระหว่างแป้งกับกรดโอเลอิก	2

หมายเหตุ : ความเร็วรอบที่ใช้ในการปั่นเหวี่ยงเท่ากับ 2000 g และเปลี่ยนถ่ายน้ำใหม่ทุกครั้ง

จากการทดลองเตรียมสเฟียรูไลด์จากตัวอย่างแป้งชนิดต่างๆ พบว่าการเตรียมสเฟียรูไลด์จากแป้งที่ผ่านการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์มีปริมาณสเฟียรูไลด์เกิดขึ้นทั้งหมดน้อยกว่าเมื่อเทียบกับการเตรียมจากแป้งมันสำปะหลัง แต่เจลแป้งที่ได้มีลักษณะที่ทำให้สามารถล้างเจลและเก็บสเฟียรูไลด์ได้ง่ายกว่าการเตรียมสเฟียรูไลด์จากแป้งมันสำปะหลังมาก

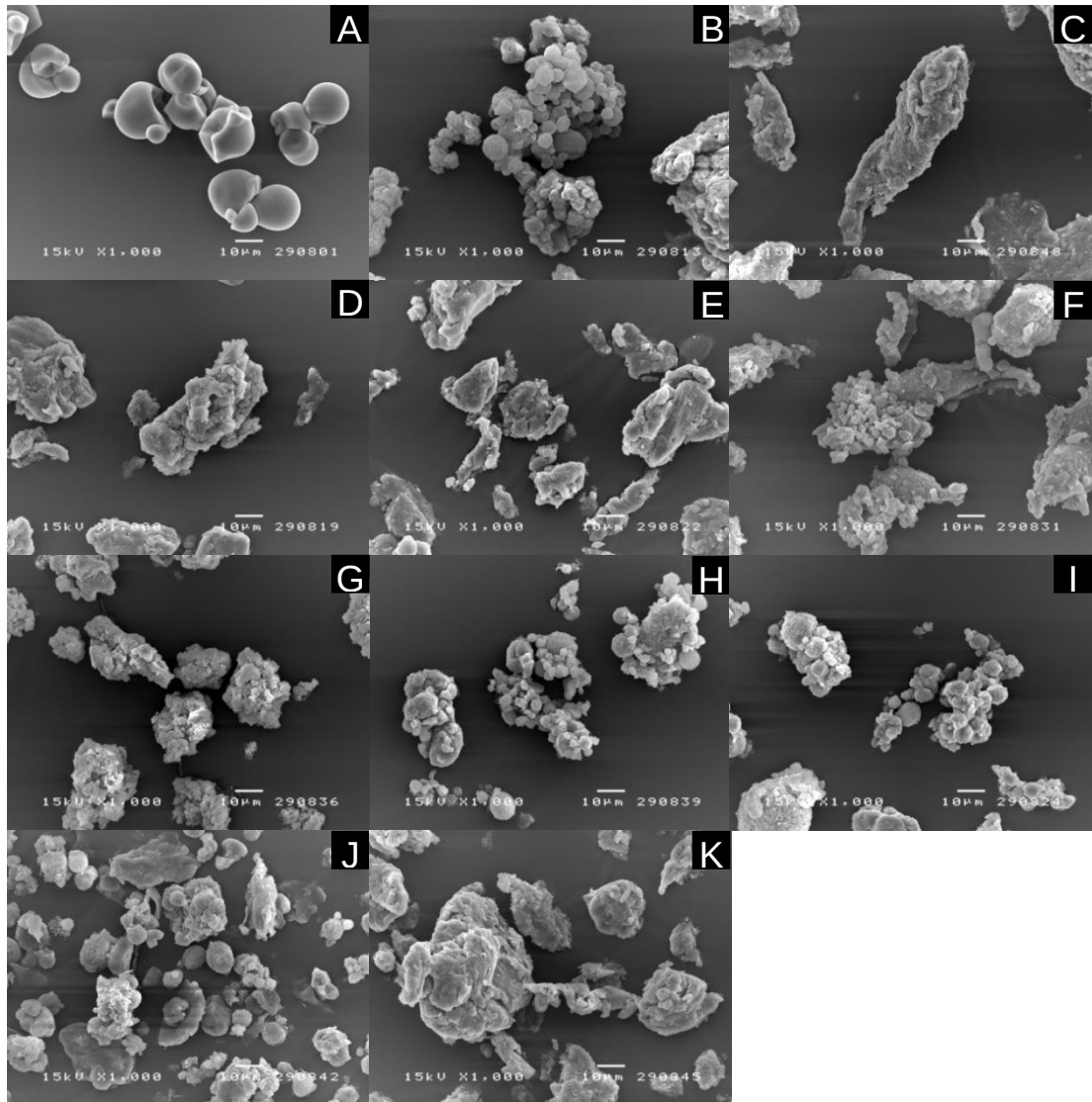
4.4 ลักษณะทางกายภาพและสมบัติทางเคมีกายภาพ

4.4.1 ลักษณะของเม็ดแป้งศึกษาโดย scanning electron microscope

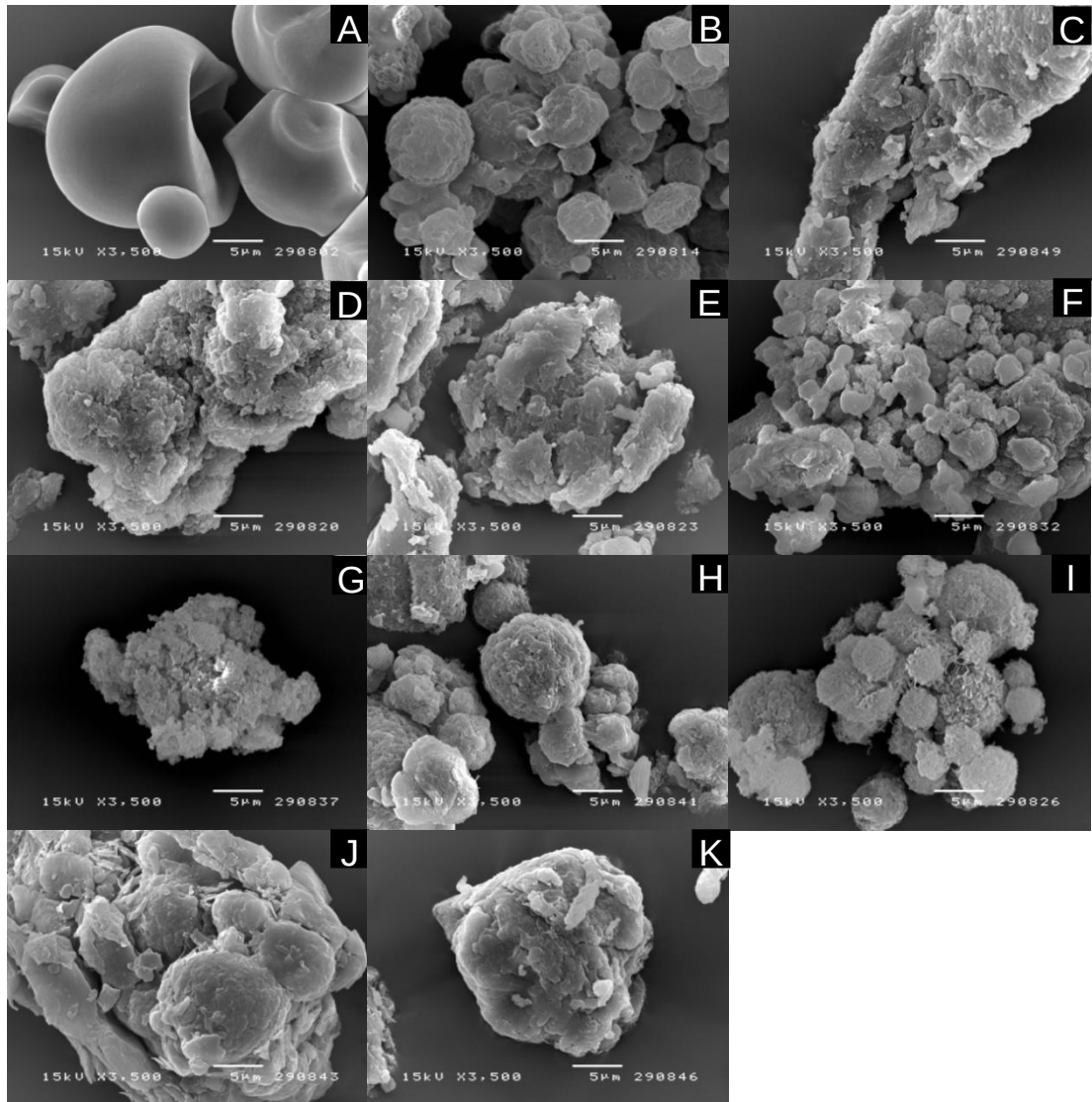
เมื่อนำแป้งมันสำปะหลัง, สเฟียรูไลด์จากแป้งมันสำปะหลัง สเฟียรูไลด์จากแป้งออกทินิลซัคซิเนต สเฟียรูไลด์จากแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ และสเฟียรูไลด์จากสารประกอบเชิงซ้อนของแป้งมันสำปะหลังกับกรดไขมันชนิดต่างๆ ไปศึกษาลักษณะเม็ดแป้งด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope: SEM) ที่กำลังขยาย 1,000 และ 3,500 เท่า ผลที่ได้แสดงดังรูปที่ 4.8-4.9 พบว่าแป้งมันสำปะหลังมีลักษณะกลม คล้ายไข่ที่มีรอยตัด มีขนาดอยู่ในช่วง 10-20 μm พื้นผิวเรียบ ในขณะที่สเฟียรูไลด์จากแป้งมันสำปะหลังมีลักษณะเปลี่ยนไปจากแป้งมันสำปะหลังและมีขนาดเล็กลง โดยส่วนมากมีลักษณะกลม เกาะกลุ่มกัน พื้นผิวไม่เรียบ มีขนาด 3-8 μm ส่วนสเฟียรูไลด์จากแป้งออกทินิลซัคซิเนตมีลักษณะเป็นอนุภาควงรีขนาดใหญ่ พื้นผิวไม่เรียบ สเฟียรูไลด์จากแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยด้วยกรดเป็นเวลา 5 นาที มีลักษณะเป็นอนุภาคที่มีรูปร่างไม่แน่นอนขนาด 20-70 μm เช่นเดียวกับสเฟียรูไลด์จากแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยด้วยกรดเป็นเวลา 60 นาที สำหรับสเฟียรูไลด์จากแป้งที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 15 นาที

พบว่าส่วนมากมีลักษณะกลม เกาะกลุ่มกัน พื้นผิวไม่เรียบ มีขนาดไม่เกิน 5 μm และมีบางส่วนที่มีรูปร่างไม่แน่นอนปะปนอยู่ สเฟียรูไลด์จากแป้งที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 60 นาที พบว่ามีลักษณะเป็นอนุภาคทรงกลมขนาดเล็กกว่า 1 μm ที่เกาะกลุ่มกันเป็นอนุภาคขนาดใหญ่ สเฟียรูไลด์จากสารประกอบเชิงซ้อนของแป้งมันสำปะหลังกับกรดอะซิติก พบว่ามีลักษณะกลม พื้นผิวไม่เรียบ มีความพรุน มีขนาดตั้งแต่ 2-10 μm เช่นเดียวกับสเฟียรูไลด์จากสารประกอบเชิงซ้อนของแป้งมันสำปะหลังกับกรดบิวทิริก ที่มีลักษณะกลม พื้นผิวไม่เรียบมีลักษณะเหมือนเส้นใยที่ห่อหุ้ม มีความพรุน มีขนาดตั้งแต่ 2-10 μm สเฟียรูไลด์จากสารประกอบเชิงซ้อนของแป้งมันสำปะหลังกับกรดปาล์มมิก พบว่ามีทั้งอนุภาคทรงกลมขนาด 2-15 μm และอนุภาคที่มีรูปร่างไม่แน่นอนปะปนอยู่รวมกัน ในขณะที่สเฟียรูไลด์จากสารประกอบเชิงซ้อนของแป้งมันสำปะหลังกับกรดโอเลอิกมีลักษณะรูปร่างไม่แน่นอน พื้นผิวไม่เรียบ

จากผลการทดลองเตรียมสเฟียรูไลด์จากตัวอย่างแป้งต่างๆพบว่าได้สเฟียรูไลด์ที่มีลักษณะเป็นอนุภาคทรงกลม (spherical particles) ในขณะที่งานวิจัยก่อนหน้านี้พบว่าสเฟียรูไลด์มี 2 ลักษณะ คือ ทรงกลม (spherical/lobed particles) และรูปโดนัท (torus/disc particles) (Bhosale และ Ziegler, 2010; Fanta และคณะ, 2002; Fanta และคณะ, 2005; Fanta และคณะ, 2006, 2008) โดยสเฟียรูไลด์ที่เตรียมจากแป้งข้าวโพด แป้งข้าวโพดที่มีปริมาณอะไมโลสสูง และแป้งข้าวมีลักษณะเป็นอนุภาคทรงกลมและรูปโดนัทปะปนอยู่รวมกัน (Fanta และคณะ, 2002) เช่นเดียวกับการเตรียมสเฟียรูไลด์จากสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างแป้งข้าวโพดที่กำจัดไขมันออกกับกรดไขมันชนิดต่างๆ พบว่าการใช้กรดปาล์มมิกกับกรดไมริสติกทำให้ได้สเฟียรูไลด์ที่มีลักษณะเป็น torus หรือ disc และมีสเฟียรูไลด์ลักษณะ sphere หรือ lobe ไม่เกิน 3 % ของปริมาณสเฟียรูไลด์ที่ได้ทั้งหมด ในขณะที่การใช้กรดกรดไลโนเลอิก กรดโอเลอิก พบว่าสเฟียรูไลด์ที่ได้ส่วนใหญ่มีลักษณะกลมและมีสเฟียรูไลด์ลักษณะรูปโดนัทปะปนอยู่ไม่เกิน 2 % ของปริมาณสเฟียรูไลด์ทั้งหมด สำหรับการใช้กรดสเตียริกพบว่ามีสเฟียรูไลด์ที่มีลักษณะเป็นรูปโดนัทปะปนอยู่ 20 % ของปริมาณสเฟียรูไลด์ทั้งหมด (Fanta และคณะ, 2006)



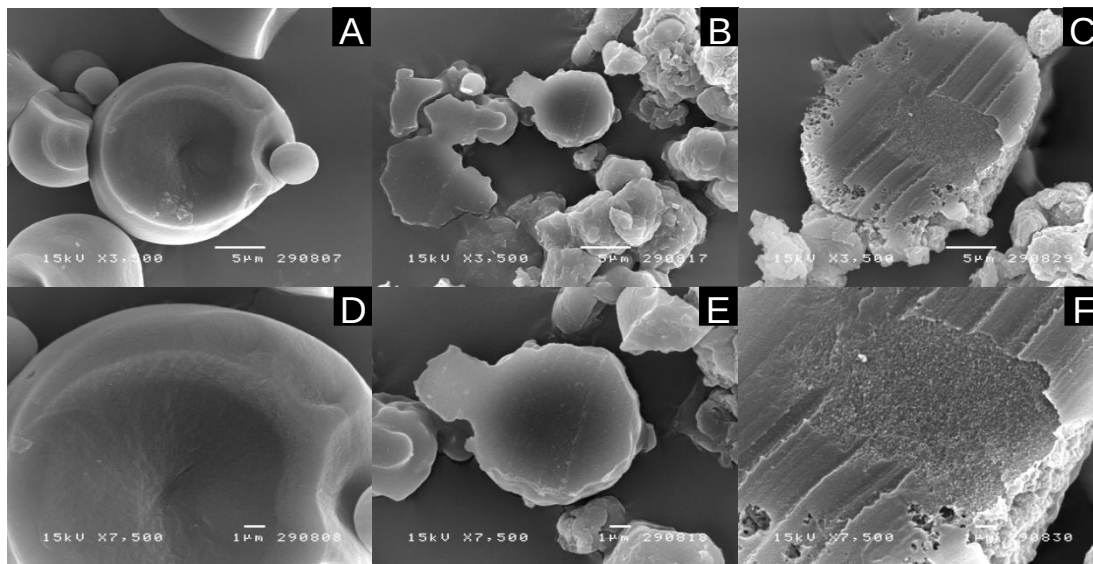
รูปที่ 4.8 ลักษณะของเม็ดแยม้ำมันสำปะหลัง (A) และสเฟียรูไลต์จากแยม้ำมันสำปะหลังในรูปแบบต่างๆ (B) แยม้ำมันสำปะหลัง (C) แยมออกทินิลซัคซิเนต แยมที่ผ่านการย่อยด้วยกรดเป็นเวลา (D) 5 นาที และ (E) 60 นาที แยมที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์เป็นเวลา (F) 15 นาที และ (G) 60 นาที และสารประกอบเชิงซ้อนของแยมกับ (H) กรดอะซิติก (I) กรดบิวทริก (J) กรดปาล์มมิติก และ (K) กรดโอเลอิก ที่กำลังขยาย 1,000 เท่า



รูปที่ 4.9 ลักษณะของเม็ดแป้งมันสำปะหลัง (A) และสเฟียรูไลต์จากแป้งมันสำปะหลังในรูปแบบต่างๆ (B) แป้งมันสำปะหลัง (C) แป้งออกทินิลซัคซินเนต แป้งที่ผ่านการย่อยด้วยกรดเป็นเวลา (D) 5 นาที และ (E) 60 นาที แป้งที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์เป็นเวลา (F) 15 นาที และ (G) 60 นาที และสารประกอบเชิงซ้อนของแป้งกับ (H) กรดอะซิติก (I) กรดบิวทริก (J) กรดปาล์มมิติก และ (K) กรดโอเลอิก ที่กำลังขยาย 3,500 เท่า

นอกจากนี้ยังศึกษาลักษณะเม็ดแป้งที่ถูกตัดตามขวางด้วย SEM ที่กำลังขยาย 3,500 และ 7,500 เท่า ผลที่ได้แสดงดังรูปที่ 4.10 พบว่าแป้งมันสำปะหลังที่ถูกตัดตามขวาง (รูปที่ 4.10 A และ D) ภายในมีลักษณะพื้นผิวเรียบและอาจมีลักษณะเหมือนเป็นรูพรุนขนาดเล็ก ทั้งนี้ที่กำลังขยาย 7,500 เท่า ยังไม่สามารถทำให้เห็นลักษณะรูพรุนได้ชัดเจน สำหรับสเฟียรูไลต์จากแป้งมันสำปะหลังที่ถูกตัดตามขวาง (รูปที่ 4.10 B และ E) พบว่าภายในมีพื้นผิวเรียบ ทั้งนี้อาจเกิดจากการใช้ใบมีดสับตัด ทำให้ผิวหน้าที่อาจมีรูพรุนถูกทำลายไป ในขณะที่สเฟียรูไลต์จากสารประกอบเชิงซ้อนของแป้งมันสำปะหลังกับกรด

บิวทริกที่ถูกตัดตามขวาง (รูปที่ 4.10 C และ F) พบว่าภายในมีลักษณะเป็นรูพรุนขนาดเล็ก โดยที่รอบนอกของเม็คนั้นจะมีรูพรุนขนาดใหญ่กว่า ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับแป้งมันสำปะหลังที่ถูกตัดตามขวาง พบว่าสเฟียรูไลต์จากสารประกอบเชิงซ้อนของแป้งมันสำปะหลังกับกรดบิวทริก ภายในมีรูพรุนขนาดใหญ่กว่า จากผลที่ได้จึงสันนิษฐานได้ว่า ภายในของสเฟียรูไลต์มีลักษณะเป็นรูพรุน



รูปที่ 4.10 ลักษณะของเม็ดแป้งที่ถูกตัดตามขวาง:

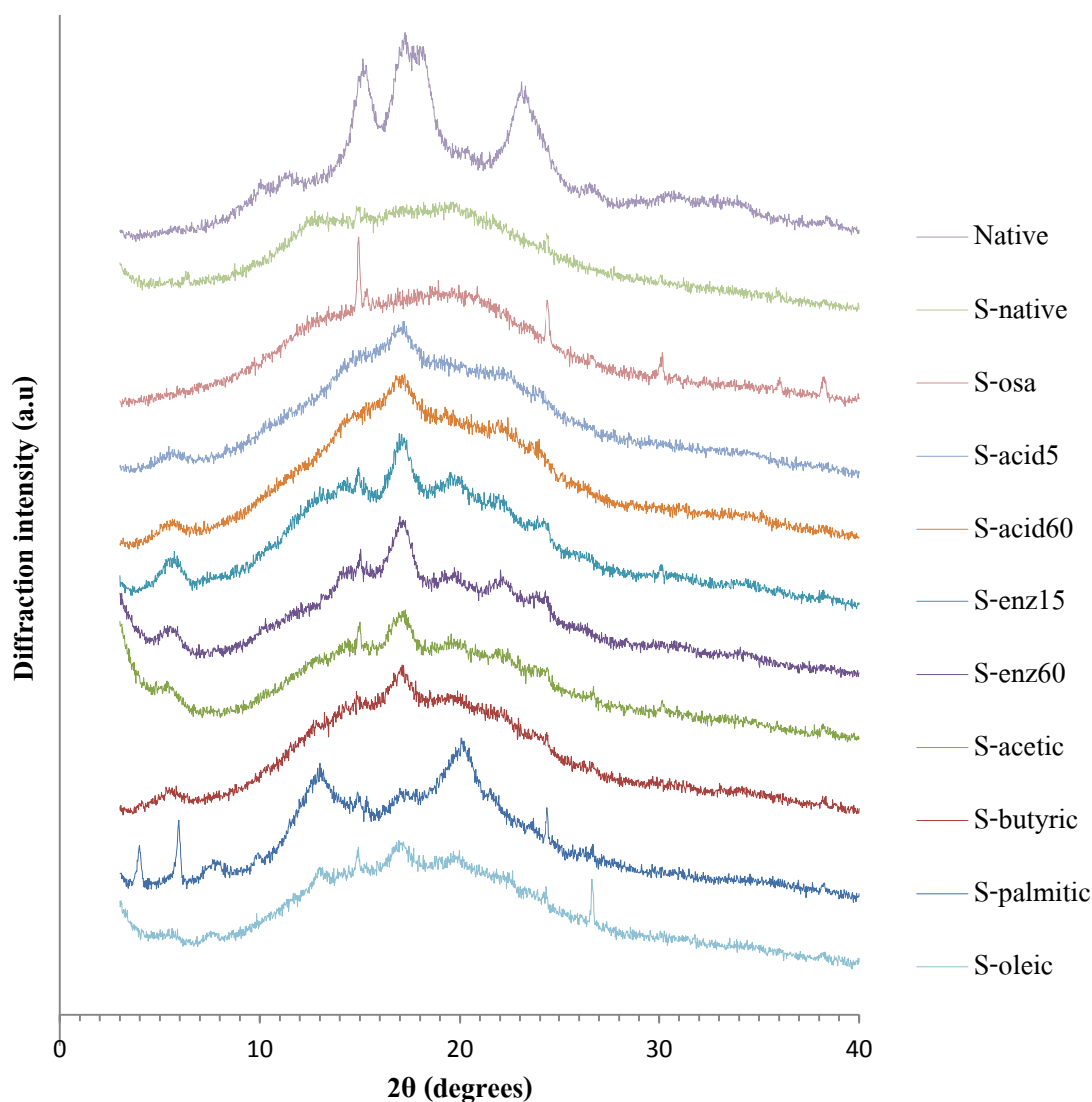
เม็ดแป้งมันสำปะหลังที่กำลังขยาย (A) 3,500 เท่า (D) 7,500 เท่า

สเฟียรูไลต์จากแป้งมันสำปะหลังที่กำลังขยาย (B) 3,500 เท่า (E) 7,500 เท่า

สเฟียรูไลต์จากสารประกอบเชิงซ้อนของแป้งมันสำปะหลังกับกรดบิวทริกที่กำลังขยาย (C) 3,500 เท่า (F) 7,500 เท่า

4.4.2 ลักษณะโครงสร้างผลึกศึกษาด้วย X-ray diffractometer

เมื่อนำแป้งมันสำปะหลัง สเฟียรูไลต์จากแป้งมันสำปะหลัง สเฟียรูไลต์จากแป้งออกทินิลซัคซิเนต สเฟียรูไลต์จากแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ สเฟียรูไลต์จากสารประกอบเชิงซ้อนของแป้งมันสำปะหลังกับกรดไขมันชนิดต่างๆ ไปศึกษาลักษณะโครงสร้างผลึกด้วย X-ray diffractometer ผลที่ได้แสดงดังรูปที่ 4.11 โดยแป้งมันสำปะหลังพบพิกขนาดเล็กที่ตำแหน่ง 10° , 11° และ 26.8° พิกเดี่ยวที่ 15° และ 23° และพิกคู่ที่ 17° และ 18° (2 θ) ซึ่งเป็นลักษณะของแป้งที่มีโครงสร้างผลึกแบบ C_A (มีลักษณะ X-ray pattern ที่ผสมระหว่างแบบ A และแบบ B) ผลที่ได้สอดคล้องกับรายงานของ Zobel (1964) และ Carvalho (2008) ที่กล่าวไว้ว่าแป้งมันสำปะหลังมีโครงสร้างผลึกแบบ C



รูปที่ 4.11 ลักษณะโครงสร้างผลึกของเป็งมันสำปะหลังและสเฟียรูไลด์จากเป็งชนิดต่างๆ

Native	คือ เม็ดเป็งมันสำปะหลัง
S-native	คือ สเฟียรูไลด์จากเป็งมันสำปะหลัง
S-osa	คือ สเฟียรูไลด์จากเป็งออกทินิลซัคซินेट
S-acid5	คือ สเฟียรูไลด์จากเป็งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยด้วยกรดเป็นเวลา 5 นาที
S-acid60	คือ สเฟียรูไลด์จากเป็งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยด้วยกรดเป็นเวลา 60 นาที
S-enz15	คือ สเฟียรูไลด์จากเป็งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 15 นาที
S-enz60	คือ สเฟียรูไลด์จากเป็งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 60 นาที
S-acetic	คือ สเฟียรูไลด์จากสารประกอบเชิงซ้อนของเป็งมันสำปะหลังกับกรดอะซิติก
S-butyric	คือ สเฟียรูไลด์จากสารประกอบเชิงซ้อนของเป็งมันสำปะหลังกับกรดบิวทริก
S-palmitic	คือ สเฟียรูไลด์จากสารประกอบเชิงซ้อนของเป็งมันสำปะหลังกับกรดปาล์มมิก
S-oleic	คือ สเฟียรูไลด์จากสารประกอบเชิงซ้อนของเป็งมันสำปะหลังกับกรดโอเลอิก

สำหรับสเฟียรูไลต์ที่เตรียมจากแป้งมันสำปะหลังพบว่ามีความเป็นผลึกต่ำ โดยพบพิคขนาดเล็กลงที่ตำแหน่ง 6.5° , 15° และ 24.5° (2 θ) เนื่องจากในขั้นตอนการเตรียมสเฟียรูไลต์ได้ทำลายโครงสร้างภายในของเม็ดแป้งด้วยการ autoclave และเมื่อทำให้แป้งเจลาติไนซ์เย็นตัวลง โมเลกุลแป้งที่กระจายตัวจะกลับมาจัดเรียงโครงสร้างใหม่ แต่เนื่องจากแป้งมันสำปะหลังมีปริมาณอะไมโลสไม่สูงมาก (16-18%) ดังนั้น โมเลกุลที่กระจายออกมาส่วนใหญ่จะเป็นอะไมโลเพคตินซึ่งมีกิ่งก้านมาก จึงทำให้การกลับมาจัดเรียงตัวใหม่เกิดได้ยาก ดังนั้นสเฟียรูไลต์ที่ได้จึงมีความเป็นผลึกต่ำและไม่สามารถระบุชนิดของผลึกได้ เช่นเดียวกับสเฟียรูไลต์จากแป้งออกทินิลซัคซินเนตที่พบพิคที่มีขนาดเล็กมากเช่นกัน โดยพบที่ตำแหน่ง 15° , 15.5° , 24.5° และ 30° (2 θ) ทั้งนี้ Shogren และคณะ (2000) รายงานว่าการดัดแปรแป้งด้วยวิธีการแทนที่ด้วยหมู่ออกทินิลซัคซินิล (OS) หมู่แทนที่จะกระจายอยู่ในส่วนอสัณฐาน (amorphous domains) ของอะไมโลเพคติน แต่ไม่สามารถเข้าไปเกิดปฏิกิริยากับสายโซ่อะไมโลเพคตินที่มีการจัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบ (crystalline domains) นอกจากนี้ He และคณะ (2006) ยังพบว่าแป้งข้าวที่มีปริมาณอะไมโลสสูงเมื่อดัดแปรด้วย OSA จะมีระดับการแทนที่ที่สูงกว่าแป้งข้าวอะไมโลสต่ำ เนื่องจากอะไมโลสอยู่ในส่วนอสัณฐานของเม็ดแป้งทำให้เกิดการแทนที่ได้ง่าย ดังนั้นในกรณีของแป้งมันสำปะหลังดัดแปรจึงสันนิษฐานได้ว่าการแทนที่ส่วนใหญ่จะเกิดที่โมเลกุลของอะไมโลส เมื่อทำลายโครงสร้างของเม็ดแป้งออกทินิลซัคซินเนตด้วยความร้อน อะไมโลสที่กระจายตัวออกมามีหมู่แทนที่อยู่ด้วยทำให้ขัดขวางการกลับมาจัดเรียงตัวกันใหม่จึงเกิดโครงสร้างที่เป็นผลึกต่ำ

ในขณะที่สเฟียรูไลต์จากแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยด้วยกรดเป็นเวลา 5 และ 60 นาที พบว่ามีลักษณะโครงสร้างผลึกที่ชัดเจนขึ้น โดยพบพิคเดี่ยวที่ 5.6° , 15° , 17° และพิคคู่ขนาดเล็กที่ 22° และ 24° ซึ่งเป็นลักษณะพิคของแป้งที่มีการจัดเรียงโครงสร้างผลึกแบบ B เนื่องจากการย่อยแป้งด้วยกรดทำให้ขนาดโมเลกุลเล็กลง ส่งผลให้เกิดการคั่นตัวได้ดีและจัดเรียงตัวเป็น crystallite ซึ่งจากงานวิจัยก่อนหน้านี้พบว่าการย่อยแป้งด้วยกรดจะช่วยเร่งให้เกิดการคั่นตัว (Jacobs และคณะ, 1998; Kikumoto และ French, 1983; Kitahara และคณะ, 1997) การย่อยด้วยกรดจะเพิ่มปริมาณเกลียวคู่อะไมโลส ซึ่งช่วยเพิ่มความเป็นผลึกมากขึ้น เช่นเดียวกับ Chung และคณะ (2003) ที่พบว่าการย่อยแป้งด้วยกรด ทำให้อะไมโลสมีขนาดเล็กลง ซึ่งช่วยให้เกิดการฟอร์มตัวเป็นเกลียวคู่อะไมโลส และเกิดการคั่นตัวได้ดีขึ้น ดังนั้นการเตรียมสเฟียรูไลต์จากแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยด้วยกรดจึงทำให้ได้สเฟียรูไลต์ที่มีโครงสร้างผลึกแบบ B ซึ่งเป็นผลึกที่มีความแข็งแรง ส่วนสเฟียรูไลต์จากแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 15 และ 60 นาที พบว่ามีโครงสร้างที่เป็นผลึกแบบ B เช่นเดียวกัน โดยมีพิคที่ 5.6° , 15° , 17° , 22° และ 24° ซึ่งสามารถสังเกตเห็นพิคได้ชัดเจนกว่าสเฟียรูไลต์จากแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยด้วยกรด เนื่องจากการย่อยแป้งด้วยเอนไซม์นั้นมีความจำเพาะมากกว่า โดยเอนไซม์ฟูลลูตานสจะย่อยโมเลกุลแป้งที่พันธะกิ่งหรือพันธะ α -1,6 ของอะไมโลเพคติน ทำให้ได้ส่วนที่เป็นพอลิเมอร์เชิงเส้นเพิ่มขึ้น และมีสายโซ่สั้นลง (Manners และ

Matheson, 1981; Yokobayashi และคณะ, 1973) ซึ่งต่างจากการย่อยแป้งด้วยกรด ซึ่งเป็นการสุมย่อย ดังนั้นการย่อยแป้งด้วยเอนไซม์ทำให้ได้พอลิเมอร์เชิงเส้นในจำนวนมากส่งผลให้เกิดการจัดเรียงตัวเป็นผลึกและแสดงลักษณะโครงสร้างผลึกอย่างชัดเจน

สำหรับสเฟียรูไลต์จากสารประกอบเชิงซ้อนของแป้งมันสำปะหลังกับกรดอะซิติกและกรดบิวทริก พบฟิสิกส์ที่ตำแหน่ง 5.6° , 15° และ 17° แต่ฟิสิกส์ที่ 22° และ 24° ไม่ชัดเจนและไม่พบฟิสิกส์ที่ 20° จึงอาจกล่าวได้ว่าสเฟียรูไลต์ที่ได้มีลักษณะโครงสร้างผลึกเป็นแบบ B โดยทั่วไปผลึกจากสารประกอบเชิงซ้อนของแป้งกับกรดไขมันจะเป็นแบบ V โดยมีฟิสิกส์ที่ตำแหน่ง 20° ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าการรวมตัวของแป้งกับกรดอะซิติกและกรดบิวทริกน่าจะเกิดได้น้อย เนื่องจากกรดอะซิติกและกรดบิวทริกเป็นกรดไขมันสายสั้น (จำนวนคาร์บอน 2 และ 4 อะตอมตามลำดับ) ซึ่งมีความเป็น hydrophobic ต่ำ จึงไม่สามารถแยกตัวออกจากส่วนน้ำ และเข้าไปอยู่ภายในโพรงของเกลียวอะไมโลสได้ (Karkalas และ Raphaelides, 1986) ในขณะที่สเฟียรูไลต์จากสารประกอบเชิงซ้อนของแป้งมันสำปะหลังกับกรดปาล์มมิติกพบฟิสิกส์ที่ตำแหน่ง 6.8° , 13° , 18° และ 20° (2 θ) ซึ่งเป็นลักษณะโครงสร้างผลึกแบบ V_7 -amylose (V_7 -amylose มีฟิสิกส์ที่ตำแหน่ง 6.8° , 11.7° , 12.9° , 18° และ 20° (2 θ) (Takeo และคณะ, 1973; Yamashita และคณะ, 1973; Yamashita และ Hirai, 1966) โดยเป็นโครงสร้างผลึกที่เกิดจากการรวมตัวของอะไมโลสที่ประกอบไปด้วยกลูโคส 7 หน่วยต่อรอบกับกรดไขมันเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนแบบอินคลูชัน เนื่องจากกรดปาล์มมิติกเป็นกรดไขมันสายยาว (จำนวนคาร์บอน 16 อะตอม) ทำให้มีความเป็น hydrophobic สูง จึงสามารถแยกตัวออกจากส่วนน้ำและเข้าไปอยู่ภายในโพรงของเกลียวอะไมโลสได้ง่าย (Fanta และคณะ, 1999; Putseys และคณะ, 2009) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Krog (1971) และ Lagendijk และ Pennings (1970) ที่รายงานว่ากรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอน 16 อะตอม มีความยาวเหมาะสมที่ช่วยเหนี่ยวนำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนได้ดี

สำหรับสเฟียรูไลต์จากสารประกอบเชิงซ้อนของแป้งมันสำปะหลังกับกรดโอเลอิกพบว่ามีลักษณะโครงสร้างผลึกแบบ V_7 -amylose เช่นกัน แต่ระดับความเป็นผลึกจะต่ำกว่าสเฟียรูไลต์จากสารประกอบเชิงซ้อนของแป้งมันสำปะหลังกับกรดปาล์มมิติกมาก แสดงว่าการรวมตัวเป็นสารประกอบเชิงซ้อนแบบอินคลูชันเกิดได้ไม่ดี อาจเนื่องจากกรดโอเลอิกเป็นกรดไขมันสายยาว (จำนวนคาร์บอน 18 อะตอม พันธะคู่ 1 ตำแหน่ง) ที่มีพันธะคู่แบบ *cis* ซึ่งการที่มีพันธะคู่แบบ *cis* จะทำให้โครงสร้างของกรดไขมันมีส่วนที่เป็นข้องอ ส่งผลให้เกิดการกีดขวางเนื่องจากขนาด (steric hindrance) ภายในโพรงของเกลียวอะไมโลส จึงเกิดการรวมตัวได้ไม่ดี (Lagendijk และ Pennings, 1970) จากรายงานก่อนหน้านี้พบว่ากรดเตรียมสเฟียรูไลต์จากแป้งชนิดต่างๆ (แป้งข้าวโพด แป้งข้าวโพดที่มีปริมาณอะไมโลสสูง แป้งข้าว แป้งสาลี) สเฟียรูไลต์ที่ได้จะมีทั้งลักษณะกลมและรูปโดนัทที่มีขนาดเล็กกว่า โดยที่สเฟียรูไลต์ที่มีลักษณะกลมจะแสดงลักษณะโครงสร้างผลึกแบบ V_7 -amylose ในขณะที่สเฟียรูไลต์ที่มีลักษณะรูปโดนัทจะแสดงลักษณะโครงสร้างผลึกแบบ V_6 -amylose (Fanta และคณะ, 2002) เช่นเดียวกับการเตรียมสเฟียรูไลต์จากสารประกอบเชิงซ้อนของแป้งกับกรด

ไขมันชนิดต่างๆ (กรดปาล์มมิติก กรดไลโนเลอิก กรดโอเลอิก กรดสเตียริก กรดไมริสติก) พบว่าสเฟียรูไลต์ที่ได้มีโครงสร้างผลึกแบบ V₇-amylose (อนุภาคกลมขนาดใหญ่) และ V₆-amylose (อนุภาคขนาดเล็กรูปโดนัท) (Bhosale และ Ziegler, 2010; Fanta และคณะ, 2005; Fanta และคณะ, 2006, 2008)

ตารางที่ 4.6 ความเป็นผลึกของแป้งมันสำปะหลังและสเฟียรูไลต์ที่เตรียมจากแป้งชนิดต่างๆ

ตัวอย่าง	ความเป็นผลึก (%)
Native	26.0
S-native	4.8
S-osa	7.4
S-acid5	7.1
S-acid60	6.8
S-enz15	13.8
S-enz60	13.8
S-acetic	8.0
S-butyric	7.3
S-palmitic	19.9
S-oleic	11.1

เมื่อกำหนดระดับความเป็นผลึกของสเฟียรูไลต์ที่เตรียมจากตัวอย่างแป้งต่างๆ จาก X-ray diffractogram ผลที่ได้แสดงดังตารางที่ 4.6 พบว่าสเฟียรูไลต์จากตัวอย่างแป้งทุกชนิดมีความเป็นผลึกลดลงเมื่อเทียบกับแป้งมันสำปะหลัง (26%) เมื่อเปรียบเทียบในกลุ่มของสเฟียรูไลต์ พบว่าสเฟียรูไลต์จากสารประกอบเชิงซ้อนของแป้งมันสำปะหลังกับกรดปาล์มมิติกมีความเป็นผลึกสูงสุด (19.9 %) ในขณะที่สเฟียรูไลต์จากแป้งมันสำปะหลังมีความเป็นผลึกต่ำที่สุด (4.8 %)

4.5 ความสามารถในการทนย่อยของสเฟียรูไลต์

จากผลการทดลองที่ 4.2 พบว่าการเตรียมสเฟียรูไลต์โดยใช้แป้งมันสำปะหลังดัดแปร (แป้งอะเซททีเลตและแป้งออกทีนิลซัคซิเนต) มีสเฟียรูไลต์เกิดขึ้นน้อยมาก จึงไม่ได้ทดสอบความสามารถในการทนย่อย ส่วนการเตรียมโดยใช้แป้งที่ผ่านการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ พบว่าการเตรียมจากแป้งที่ผ่านการย่อยด้วยกรด HCl ความเข้มข้น 2.2 M เป็นเวลา 5 นาที ได้ปริมาณสเฟียรูไลต์มากกว่าการเตรียมจากแป้งที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์พุลลูลานาส และการใช้สารประกอบระหว่างแป้งมันสำปะหลังกับกรดไขมันชนิดต่างๆ พบว่าการเตรียมจากสารประกอบระหว่างแป้งมันสำปะหลังกับกรดอะซิติก มีปริมาณสเฟียรูไลต์เกิดขึ้นไม่แตกต่างกับการเตรียมจากสารประกอบระหว่างแป้งมันสำปะหลังกับกรดบิวทิริก สำหรับสเฟียรูไลต์จากสารประกอบระหว่างแป้งมันสำปะหลังกับกรดปาล์มมิกและกรดโอเลอิกไม่ได้ทำการนับจำนวนสเฟียรูไลต์ในตัวอย่างดังกล่าว ดังนั้นในการทดสอบความสามารถในการทนย่อยของสเฟียรูไลต์ จะทดสอบโดยเลือกสเฟียรูไลต์ที่เป็นตัวแทนกลุ่ม ดังนี้ แป้งที่ผ่านการย่อยด้วยกรด HCl ความเข้มข้น 2.2 M เป็นเวลา 5 นาที สารประกอบระหว่างแป้งมันสำปะหลังกับกรดบิวทิริก (กรดไขมันสายสั้น) และกรดปาล์มมิก (กรดไขมันสายยาว) เปรียบเทียบกับสเฟียรูไลต์ที่เตรียมจากแป้งมันสำปะหลัง

4.5.1 ความสามารถในการทนย่อยต่อกรด

การทดสอบความสามารถในการทนย่อยต่อกรดของสเฟียรูไลต์ ทำโดยบ่มในกรด HCl ความเข้มข้น 0.1 M (pH 1.2) ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ผลที่ได้แสดงดังตารางที่ 4.8 พบว่าที่เวลา 10, 30, 60, 90 และ 120 นาที แป้งมันสำปะหลังและสเฟียรูไลต์จากตัวอย่างแป้งทั้ง 4 ชนิด มีแป้งคงเหลืออยู่ถึง 99% ของปริมาณแป้งเริ่มต้น แสดงให้เห็นว่าสเฟียรูไลต์มีความสามารถในการทนย่อยต่อกรดเช่นเดียวกับแป้งมันสำปะหลัง

ตารางที่ 4.7 เปอร์เซ็นต์แป้งคงเหลือของแป้งมันสำปะหลังและสเฟียรูไลต์ที่เตรียมจากตัวอย่างแป้งชนิดต่างๆ หลังจากการย่อยต่อกรด HCl ที่เวลาต่างๆ

เวลาที่ใช้ในการย่อย (นาทีก)	แป้งคงเหลือ (%)				
	Native	S-native	S-acid	S-butyric	S-palmitic
^{ns} 0	100±0.00	100±0.00	100±0.00	100±0.00	100±0.00
^{ns} 10	99.97±0.03	99.98±0.02	99.99±0.02	99.99±0.01	99.99±0.02
^{ns} 30	99.94±0.02	99.95±0.02	99.94±0.02	99.93±0.02	99.95±0.02
^{ns} 60	99.92±0.02	99.92±0.02	99.91±0.02	99.91±0.03	99.91±0.02
^{ns} 90	99.86±0.03	99.90±0.01	99.88±0.02	99.88±0.04	99.88±0.03
^{ns} 120	99.84±0.02	99.83±0.01	99.83±0.02	99.85±0.06	99.86±0.05

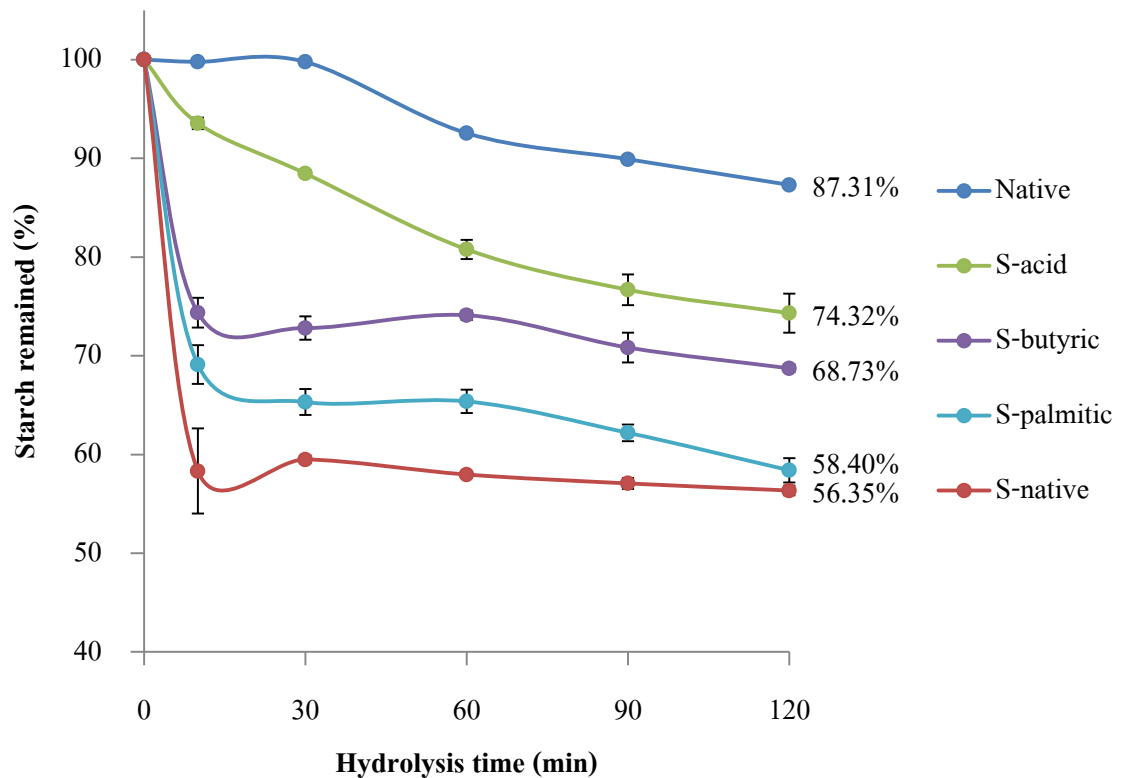
หมายเหตุ : แต่ละตัวอย่างทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ns แสดงถึงความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

4.5.2 ความสามารถในการทนย่อยต่อเอนไซม์

การทดสอบความสามารถในการทนย่อยต่อเอนไซม์ของสเฟียรูไลต์ทำโดยการบ่มกับเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (10U/100 มิลลิกรัมแป้ง) ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ผลที่ได้แสดงดังรูปที่ 4.12 พบว่าแป้งมันสำปะหลังมีปริมาณแป้งคงเหลือลดลงเพียงเล็กน้อยจากแป้งเริ่มต้นในช่วงแรก (0-30 นาที) และลดลงมากขึ้นในช่วงเวลา 30-60 นาที จากนั้นจะลดลงอย่างช้าๆ จนที่เวลา 120 นาที มีปริมาณแป้งคงเหลือ 87% สำหรับสเฟียรูไลต์พบว่าถูกย่อยได้ง่ายกว่าเมล็ดแป้งมันสำปะหลัง สเฟียรูไลต์จากแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยด้วยกรดมีความสามารถในการทนย่อยสูงกว่าสเฟียรูไลต์แบบอื่นๆ โดยพบว่าปริมาณแป้งลดลงในอัตราคงที่ในช่วงแรก (0-60 นาที) จากนั้นจะลดลงอย่างช้าๆ ที่เวลา 120 นาที มีปริมาณแป้งคงเหลือ 74% ส่วนสเฟียรูไลต์จากแป้งมันสำปะหลังและสารประกอบเชิงซ้อนของแป้งมันสำปะหลังกับกรดบิวทริกและกรดปาล์มมิกมีรูปแบบการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแป้งที่คล้ายกันคือ ตั้งแต่เริ่มแรกจนถึงที่เวลา 10 นาที ปริมาณแป้งลดลงอย่างรวดเร็วจากแป้งเริ่มต้น จากนั้นปริมาณแป้งจะลดลงอีกเพียงเล็กน้อยจนถึงที่เวลา 120 นาที โดยสเฟียรูไลต์จากแป้งมันสำปะหลังมีปริมาณแป้งคงเหลือต่ำสุด (56%) รองลงมาคือ สเฟียรูไลต์จาก

สารประกอบเชิงซ้อนของแป้งมันสำปะหลังกับกรดปาล์มมิก (58%) และสเฟียรูไลด์จากสารประกอบเชิงซ้อนของแป้งมันสำปะหลังกับกรดบิวทริก (69%) ตามลำดับ



รูปที่ 4.12 เปอร์เซ็นต์แป้งคงเหลือของแป้งมันสำปะหลังและสเฟียรูไลด์จากตัวอย่างแป้งชนิดต่างๆ หลังจากการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสที่เวลาต่างๆ

โดยปกติแป้งจะมีโครงสร้างเป็นแบบกิ่งผลึก คือ มีส่วนที่เป็นผลึกและส่วนที่เป็นอสัณฐาน ซึ่งเอนไซม์จะทำงานในโครงสร้างส่วนที่เป็นอสัณฐานที่มีความแข็งแรงน้อยได้ดีกว่าส่วนที่เป็นผลึก การที่ปริมาณแป้งลดลงอย่างรวดเร็วจากแป้งเริ่มต้นในช่วงแรก เกิดจากเอนไซม์ย่อยสลายโครงสร้างส่วนที่เป็นอสัณฐานทำให้มีปริมาณแป้งลดลง และเมื่อเวลานานขึ้นปริมาณแป้งคงเหลือเริ่มคงที่ เนื่องจากเอนไซม์ไม่สามารถย่อยสลายโครงสร้างส่วนที่เป็นผลึกได้หรือย่อยได้ช้า จากการทดลองจะเห็นว่าสเฟียรูไลด์จากตัวอย่างแป้งต่างๆจะถูกเอนไซม์ย่อยสลายได้ง่ายกว่าเม็ดแป้งมันสำปะหลัง เนื่องจากโครงสร้างของสเฟียรูไลด์ที่มีการกลับมาจัดเรียงตัวใหม่ พบว่ามีส่วนที่เป็นผลึกน้อยลง สังเกตได้จากผลการศึกษาลักษณะโครงสร้างผลึกด้วย X-ray diffractometer (ตารางที่ 4.6) ซึ่งมีความเป็นผลึกลดลงเมื่อเทียบกับแป้งมันสำปะหลัง ทำให้สเฟียรูไลด์ที่ได้ถูกเอนไซม์ย่อยสลายได้ง่าย และเมื่อเปรียบเทียบเพียงสเฟียรูไลด์จากแป้งแบบต่างๆ จะเห็นว่าสเฟียรูไลด์จากแป้งที่ผ่านการย่อยด้วยกรดสามารถทนย่อยด้วยเอนไซม์ได้มากกว่าสเฟียรูไลด์จากตัวอย่างแป้งอื่นๆ เนื่องจากสเฟียรูไลด์จาก

แป้งที่ผ่านการย่อยด้วยกรดมีการจัดเรียงตัวของโครงสร้างผลึกแบบ B ซึ่งประกอบด้วยสายเกลียวคู่ที่มีการเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบ จึงทำให้เอนไซม์เข้าไปย่อยได้ยากกว่า (Jane และคณะ, 2003) ในขณะที่สเฟียรูไลต์จากสารประกอบเชิงซ้อนของแป้งมันสำปะหลังกับกรดบิวทริกและกรดปาล์มมิติกทนย่อยได้มากกว่าสเฟียรูไลต์จากแป้งมันสำปะหลัง เนื่องจากสเฟียรูไลต์จากสารประกอบเชิงซ้อนของแป้งมันสำปะหลังกับกรดไขมัน มีโครงสร้างที่เกิดจากการจัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบของสารประกอบเชิงซ้อนแบบอินคลูชันของแป้งกับกรดไขมัน ทำให้มีความแข็งแรงมากกว่าจึงถูกย่อยได้ยาก และยังพบว่าสเฟียรูไลต์จากสารประกอบเชิงซ้อนของแป้งมันสำปะหลังกับกรดบิวทริกถูกย่อยได้ยากกว่าสเฟียรูไลต์จากสารประกอบเชิงซ้อนของแป้งมันสำปะหลังกับกรดปาล์มมิติก ซึ่งยังไม่สามารถให้เหตุผลหรืออธิบายผลที่เกิดขึ้นได้และยังไม่พบรายงานเกี่ยวกับการย่อยสารประกอบเชิงซ้อนแบบอินคลูชันของแป้งกับกรดไขมันชนิดต่างๆ

4.6 แนวทางการนำสเฟียรูไลต์ไปประยุกต์ใช้

จากการศึกษาคุณสมบัติของสตาร์ช สเฟียรูไลต์ พบว่าสตาร์ช สเฟียรูไลต์ที่ได้มีลักษณะเป็นรูพรุน มีขนาดในระดับไมครอน มีความทนต่อความร้อนและการย่อยด้วยกรดสูง ถูกย่อยได้ด้วยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสโดยระดับการย่อยขึ้นกับรูปแบบของแป้งที่ใช้ในการเตรียม จากสมบัติเหล่านี้สามารถประเมินได้ว่าสตาร์ช สเฟียรูไลต์น่าจะมีศักยภาพในการนำไปใช้เป็นตัวดูดซับ (adsorbent) หรือเป็นสารตัวพา (carrier) สารต่างๆ ได้ โดยพิจารณาจากคุณสมบัติที่สำคัญคือ วัสดุที่ใช้คือ แป้งซึ่งเป็นพอลิเมอร์จากธรรมชาติ (biopolymer) ที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพ (biodegradable) มีราคาถูก หาได้ง่าย บริโภคได้ มีความปลอดภัยสูง สตาร์ช สเฟียรูไลต์ที่ได้มีความพรุนจึงน่าจะมีพื้นที่ผิวในการดูดซับสารได้มาก การทนต่อความร้อนทำให้เก็บรักษาได้ง่าย สำหรับสมบัติในการทนต่อกรดและถูกย่อยสลายได้ด้วยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส อาจส่งผลดีหรือส่งผลทางลบขึ้นกับการนำไปใช้ ซึ่งสมบัติเหล่านี้อาจต้องผ่านการปรับปรุงเพื่อให้เหมาะกับการนำไปใช้กับสารแต่ละชนิด ตัวอย่างการนำสตาร์ช สเฟียรูไลต์ไปใช้ เช่น ใช้เป็นตัวพาสำหรับตัวยาชนิดต่างๆ โดยปรับให้สามารถควบคุมการปลดปล่อยยาอย่างช้าๆ ได้ หรือใช้เป็นตัวนำส่งยาในกลุ่มโปรตีนและเปปไทด์ที่เสถียรภาพได้ง่าย ใช้เป็นตัวพาสำหรับสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive compounds) สารเคมีทางการเกษตร สารให้กลิ่นรส สารอาหารเพื่อสุขภาพ เช่น ไขมันไม่อิ่มตัว วิตามิน สารต้านอนุมูลอิสระ ยาฆ่าเชื้อฟรีไบโอติก โปรไบโอติก เป็นต้น นอกจากนี้อาจใช้เป็นตัวดูดซับสาร เช่น ใช้ในการบำบัดน้ำเสีย การทำให้สารบริสุทธิ์ โดยอาจทำการปรับสภาพ/ดัดแปรสตาร์ช สเฟียรูไลต์ก่อน เพื่อให้เหมาะสมกับการดูดซับสารแต่ละประเภท

เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบ “สตาร์ช สเฟียรูไลต์” กับ “สตาร์ช ไมโครสเฟียร์” ซึ่งเป็นวัสดุชีวภาพจากแป้งที่มีขนาดในระดับไมครอนที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในทางการแพทย์ เช่น ใช้เป็นตัว

นำส่งยาสำหรับรักษาทางโพรงจมูก (Bjork และ Edman, 1988, 1990; Pereswetoff-Morath, 1998) นำส่งยาชนิดต่างๆ (Fang และคณะ, 2008; Li และคณะ, 2009; Shirui และคณะ, 2012; Surini และคณะ, 2009) นำส่งโปรตีนและเปปไทด์ (Elfstrand และคณะ, 2007; Pareta และ Edirisinghe, 2006) นอกจากนี้ก็มีรายงานการวิจัยในการใช้เพื่อดูดซับโลหะหนัก (Sancey และคณะ, 2011; Yang และคณะ, 2010) และกักเก็บน้ำมันจากพืช (Glenn และคณะ, 2010) พบว่าสตาร์ช สเฟียรูไลด์มีทั้งสมบัติที่ใกล้เคียงและแตกต่างจากสตาร์ช ไมโครสเฟียร์ โดยส่วนที่แตกต่างอย่างชัดเจนคือ สตาร์ช สเฟียรูไลด์มีโครงสร้างกิ่งผลึกในขณะที่สตาร์ช ไมโครสเฟียร์มีโครงสร้างแบบอสัณฐาน สตาร์ช สเฟียรูไลด์มีความพรุนมากกว่าและสามารถทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์อะไมเลสได้ดีกว่าสตาร์ช ไมโครสเฟียร์ ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำสตาร์ช สเฟียรูไลด์ไปประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์และอื่นๆ ได้ เช่นเดียวกับสตาร์ช ไมโครสเฟียร์ โดยสมบัติการทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์อะไมเลสของสตาร์ช สเฟียรูไลด์อาจเหมาะกับการใช้เป็นตัวนำส่งยาและควบคุมการปล่อยยาอย่างช้าๆ ด้วยการย่อยของเอนไซม์ จุดเด่นที่สำคัญของสตาร์ช สเฟียรูไลด์ อีกประการหนึ่งคือ กระบวนการผลิตซึ่งไม่มีการใช้สารเคมีอื่นๆ นอกจากแป้ง ทำให้สตาร์ช สเฟียรูไลด์มีความบริสุทธิ์สูงและไม่จำเป็นต้องมีกระบวนการบำบัดสารเคมี ใดๆ ก็ตามยิลด์ (yield) ของสตาร์ช สเฟียรูไลด์ที่ได้ยังต่ำเมื่อเทียบกับการเตรียมสตาร์ช ไมโครสเฟียร์ จึงต้องมีการศึกษาวิจัยเพื่อให้ได้วิธีการผลิตที่เหมาะสมต่อไป