

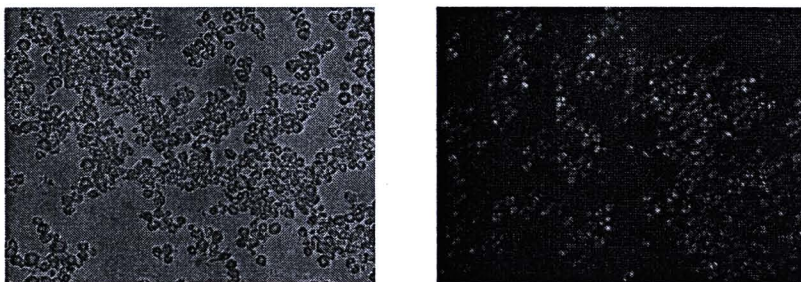
บทที่ 4

ผลการทดลองและการอภิปรายผล

4.1 ลักษณะโครงสร้างของแป้งข้าวเหนียว

4.1.1 ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์

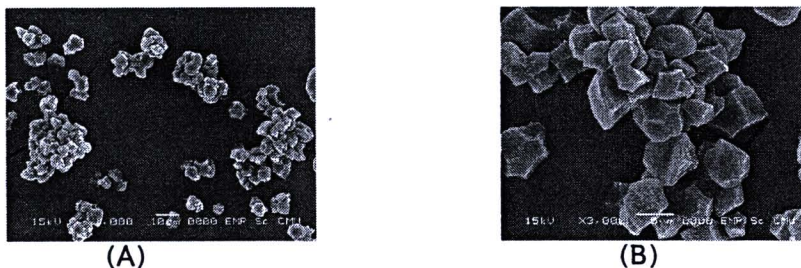
ลักษณะของแป้งข้าวเหนียวที่ส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดาจะมีลักษณะเป็นเม็ด รูปร่างเป็นเหลี่ยม ๆ ขนาดเล็ก และเกาะกันเป็นกลุ่ม มีขนาดประมาณ 3 – 5 ไมครอน และเมื่อส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงโพลาไรซ์พบว่าเม็ดแป้งจะมีคุณสมบัติการบิดระนาบแสงโพลาไรซ์ (Birefringence) เห็นเป็นรูปกากบาท (Maltese cross) ได้อย่างชัดเจน ดังแสดงในรูปที่ 4.1



รูปที่ 4.1 ลักษณะแป้งข้าวเหนียวภายใต้กล้องจุลทรรศน์ธรรมดา (ซ้าย) และกล้องจุลทรรศน์ที่ใช้แสงโพลาไรซ์ (ขวา) ที่กำลังขยาย $\times 40$

4.1.2 ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

ผลการทดลองพบว่าแป้งข้าวเหนียวจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ส่วนใหญ่จะมีขนาดเล็กและเกาะกลุ่มกันเป็นก้อน มีลักษณะหลายเหลี่ยม พื้นผิวค่อนข้างเรียบ (รูปที่ 4.2)



รูปที่ 4.2 ลักษณะเม็ดแป้งข้าวเหนียวภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน
(A) $\times 1000$ (B) $\times 3000$

4.2 ประเมินคุณสมบัติของแกรนูล

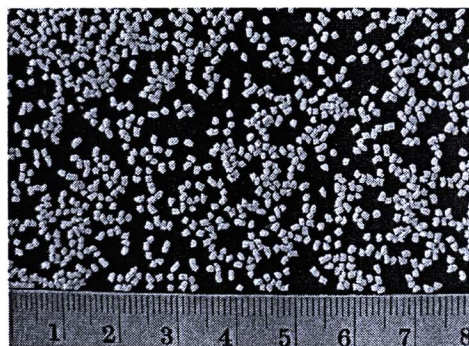
หลังจากที่มีการนำแป้งข้าวเหนียวที่มีผลการศึกษาในเบื้องต้นว่า *L. amylovorus* สามารถใช้เป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อใช้ในการเจริญเติบโตและสามารถย่อยได้ด้วย ซึ่งเตรียมในรูปของแกรนูลเพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อส่งเสริมสุขภาพต่อไป ได้มีการตรวจสอบคุณสมบัติของแกรนูลที่เตรียมขึ้นได้ผลดังนี้

4.2.1 ลักษณะภายนอกของแกรนูล

ขนาดของแกรนูลแป้งข้าวเหนียวที่เตรียมขึ้นโดยใช้ PVP K-90 เป็นสารช่วยยึดเกาะในรูปของสารละลาย 10 % w/v เพื่อให้ได้ก้อนผสมที่เปียกพอเหมาะและนำไปกดผ่านแรงเบอร์ 16 และนำไปอบแห้งจะได้แกรนูลที่มีขนาดความยาวมากกว่าแกรนูลที่ผ่านการลดขนาดด้วยแรงเบอร์ 20 ประมาณ 5-6 เท่า (รูปที่ 4.3)



ก่อนลดขนาด



หลังลดขนาด

รูปที่ 4.3 ลักษณะและขนาดของแกรนูลแป้งข้าวเหนียวก่อนและหลังการลดขนาดด้วยแรงเบอร์ 20

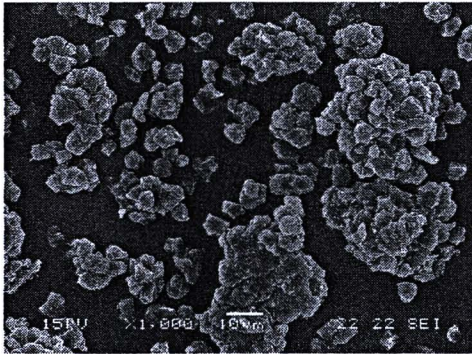
4.2.2 ลักษณะของแป้งในแกรนูลภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

ในการดูลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนได้นำแกรนูลขนาด 20 mesh ไปบดให้มีขนาดเล็กลงแล้วจึงนำไปส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบว่าโดยทั่วไปลักษณะรูปร่างและโครงสร้างของเม็ดแป้งจะเหมือนกับของแป้งข้าวเหนียวดิบ แต่จะมีลักษณะที่ต่างไปจากเดิมคือมีลักษณะของการเกาะกลุ่มกันของเม็ดแป้งเป็นจำนวนมากและมีขนาดของกลุ่มที่ใหญ่ (รูปที่ 4.4)

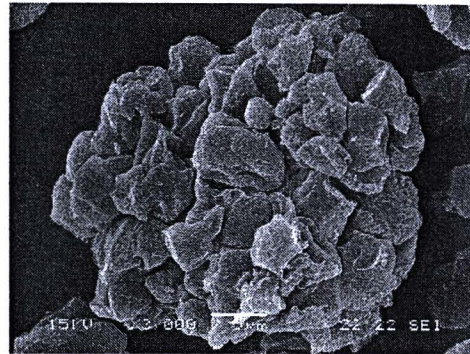
4.2.3 ความแข็งของแกรนูล

จากการวัดความแข็งของแกรนูลแป้งข้าวเหนียวที่คัดขนาด 20 mesh โดยความแข็งของแกรนูลที่วัดได้จากการวางตุ้มน้ำหนักบนแกรนูลเริ่มตั้งแต่ตุ้มน้ำหนักน้อยไปจนถึงตุ้มน้ำหนักมากที่ทำให้

แกรนูลนั้นแตกออก โดยใช้ตัวอย่างรวมทั้งสิ้น 50 แกรนูล จากการศึกษพบว่า แกรนูลขนาด 20 mesh ที่เตรียมได้ในครั้งนี้มีค่าความแข็งเท่ากับ 289.45 ± 21.24 กรัม เป็นระดับความแข็งของแกรนูลแบ่งที่ใช้ PVP K-90 (10% w/w) เป็นสารช่วยยึดเกาะโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย นอกจากได้แกรนูลที่มีความแข็งและเมื่อทดสอบในเบื้องต้นพบว่าสามารถแตกตัวได้ดีด้วย PVP นอกจากช่วยในการยึดเกาะยังมีคุณสมบัติที่สามารถดูดน้ำเข้าหาตัวได้ดีทำให้ส่งเสริมการแตกตัวของแกรนูลได้ในเวลาที่เหมาะสมอีกด้วย



(A)



(B)

รูปที่ 4.4 ลักษณะของแกรนูลแบ่งข้าวเหนียวภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

(A) x1000 (B) x3000

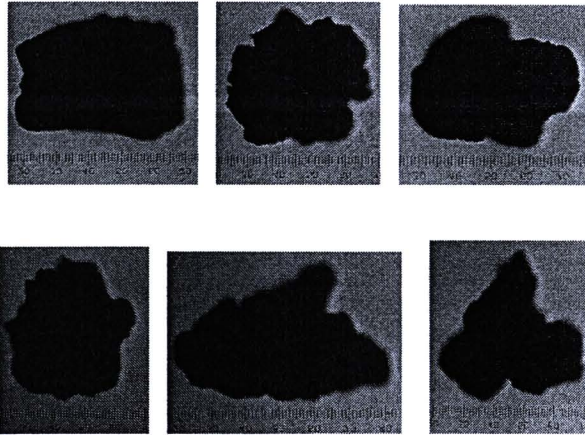
4.2.4 ความกรอบของแกรนูล

หลังจากนำแกรนูลจำนวน 50 เม็ด มาทดสอบหาเปอร์เซ็นต์ความกรอบ ผลการทดลองพบว่าแกรนูลมีค่าความกรอบเฉลี่ยอยู่ที่ 0.37 % โดยทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง ค่าความกรอบที่ได้มีค่าไม่เกินกว่าเกณฑ์ที่กำหนดไว้โดยไม่เกิน 0.8% ตาม BP 1993 ซึ่งคาดว่ามีความเหมาะสมที่จะนำไปเคลือบในขั้นตอนต่อไป

4.3 การเคลือบแกรนูลแบ่งข้าวเหนียว

หลังจากที่ได้มีการศึกษาถึงความเหมาะสมของแกรนูลที่เตรียมขึ้นโดยศึกษาคุณสมบัติในด้านต่างๆ โดยเฉพาะทางด้านความแข็งและความกรอบของตัวแกรนูลซึ่งมีความเหมาะสมที่จะนำไปเคลือบโดยเฉพาะมีความกรอบต่ำ เพื่อนำไปศึกษาและพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ทางส่งเสริมสุขภาพต่อไป นอกจากนั้นเพื่อให้การเตรียมมีความสม่ำเสมอจึงทำการคัดเลือกให้ได้แกรนูลที่มีขนาดใกล้เคียงกันมากขึ้นอีกครั้งหนึ่งจากแกรนูลที่เตรียมได้ทั้งหมดหลังการลดขนาดโดยเครื่อง oscillating granulator โดยทำการคัดเอาเฉพาะแกรนูลที่ค้างอยู่บนร่อนขนาด 20 mesh เท่านั้นเก็บไว้ศึกษาสำหรับการเคลือบในขั้นตอนต่อไปโดยการเคลือบแกรนูล

ด้วยเทคนิค ลักษณะและรูปร่างของแกรนูลก่อนการเคลือบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (รูปที่ 4.5) จะมีลักษณะที่ไม่กลม ขรุขระ และรูปร่างที่แตกต่างกันออกไป



รูปที่ 4.5 ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของแกรนูลก่อนการเคลือบ

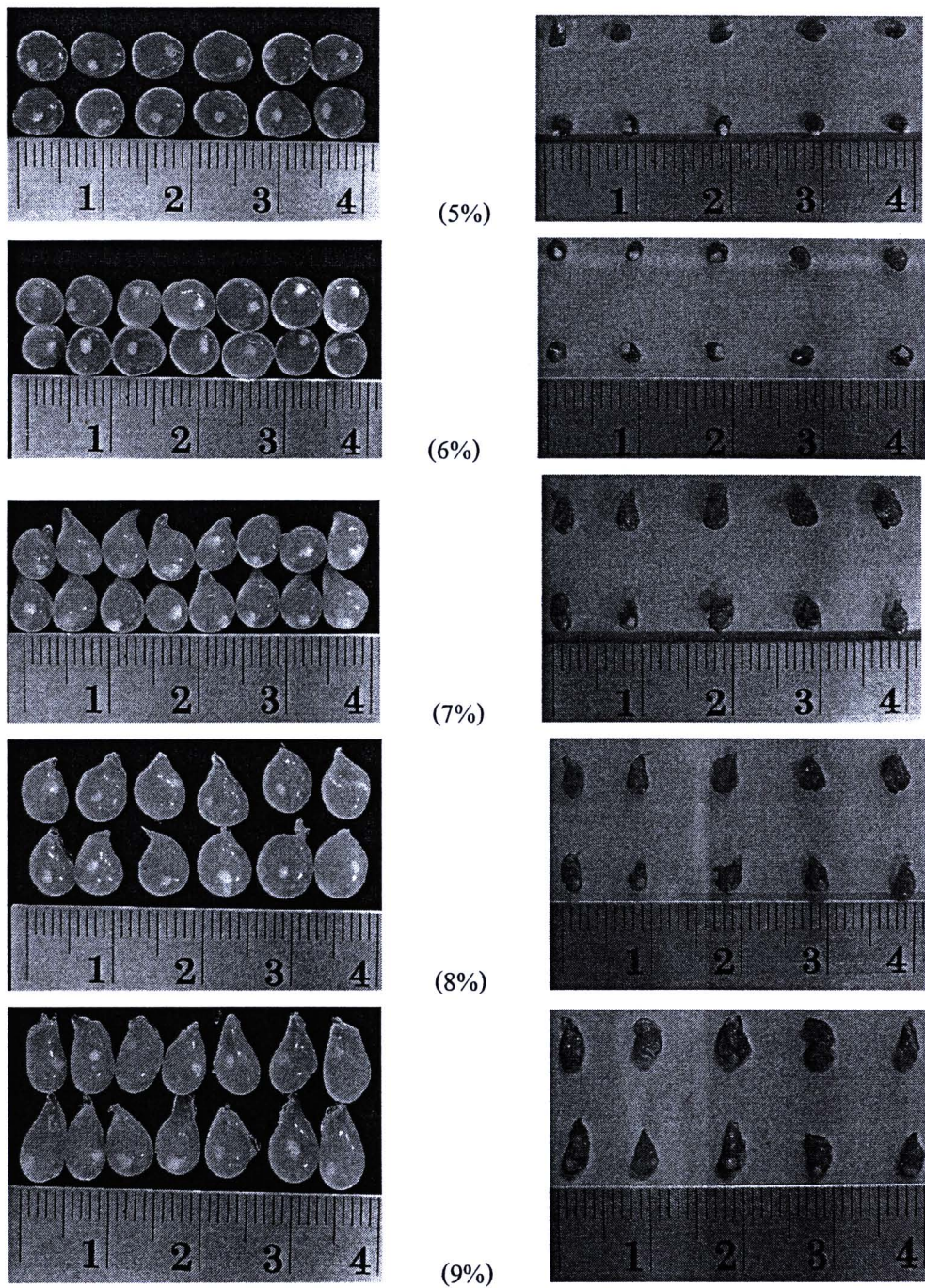
4.3.1 การเคลือบแกรนูลด้วยวิธี ionotropic gelation technique

แกรนูลที่ทำการเคลือบด้วยเทคนิคโดยอาศัยวิธี ionotropic gelation technique มีการนำไปตรวจสอบด้านต่างๆ ได้ผลเป็นดังนี้

4.3.1.1 ลักษณะทางกายภาพของแกรนูลแบ่งที่เคลือบด้วยเทคนิค

แกรนูลแบ่งข้าวเหนียวที่เคลือบด้วยเทคนิคชนิด low ester, LC - 710 ที่เตรียมจากสารละลายความเข้มข้นของพอลิเมอร์ที่มีความเข้มข้น 5, 6, 7, 8 และ 9% จะมีรูปร่างและลักษณะภายนอกที่มองเห็นได้ด้วยตาเปล่าแตกต่างกัน (รูปที่ 4.6)

รูปร่างและขนาดของแกรนูลที่เตรียมได้จากสารละลายพอลิเมอร์ความเข้มข้น 5 และ 6% มีลักษณะที่คล้ายคลึงกันโดยมีลักษณะรูปกลมและแบนเล็กน้อย โดยมีแกรนูลแบ่งอยู่ภายในจำนวน 1 แกรนูลของแต่ละเม็ดที่เคลือบได้ โดยแกรนูลแบ่งที่บรรจุอยู่ภายในจะอยู่ในตำแหน่งที่แตกต่างกันออกไป สำหรับเม็ดเคลือบที่เตรียมได้จากสารละลายพอลิเมอร์ที่มีความเข้มข้น 7, 8 และ 9% มีรูปร่างที่คล้ายคลึงกันภายในกลุ่มนี้ โดยมีรูปร่างใกล้เคียงรูปทรงกลมในส่วนฐานแต่ส่วนหัวจะค่อนข้างเรียวกว่าส่วนฐานซึ่งโดยส่วนรวมจะมีรูปร่างคล้ายรูปหยดน้ำ แกรนูลแบ่งอยู่ในตำแหน่งที่แตกต่างกันเช่นกัน ในตารางที่ 4. 1 แสดงถึงน้ำหนักเปียก (wet weight) น้ำหนักแห้ง (dry weight) พร้อมทั้งแสดงค่า % น้ำหนักที่ลดลงของแกรนูลหลังผ่านการทำให้แห้ง การทดลองได้จากค่าเฉลี่ยของแกรนูลจำนวน 50 แกรนูลซึ่งได้จากการสุ่ม



รูปที่ 4.6 ลักษณะแกรนูลที่เคลือบด้วยเพคตินที่ระดับความเข้มข้น 5, 6, 7, 8 และ 9 %

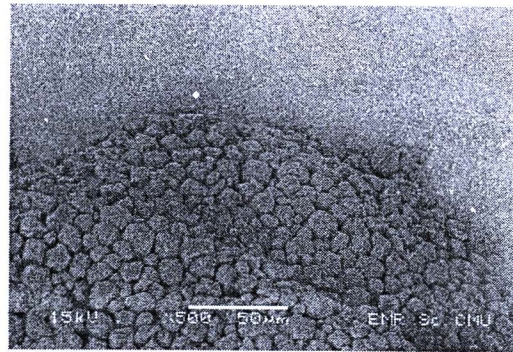
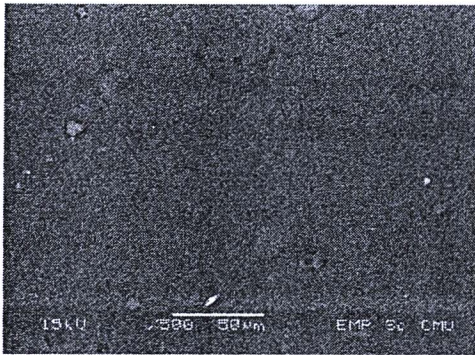
หลังการเตรียมขึ้นใหม่ (ภาพซ้าย) และหลังการอบแห้งที่อุณหภูมิ 37 °ซ นาน 12 ชั่วโมง (ภาพขวา)

ตารางที่ 4. 1 น้ำหนักเปียก น้ำหนักแห้ง และน้ำหนักที่ลดลงของแกรนูลเคลือบเพคติน (n = 50)

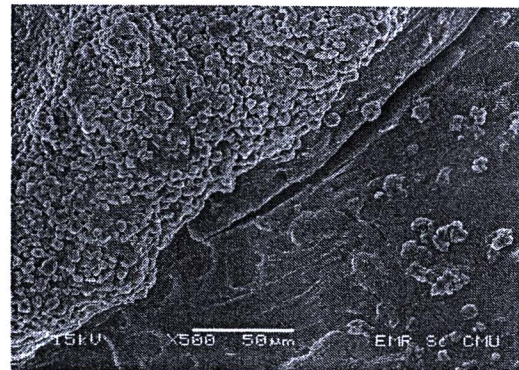
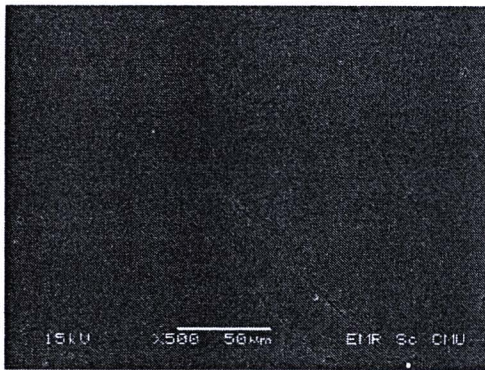
ความเข้มข้นเพคติน (w/w)	น้ำหนักเปียก (กรัม)	น้ำหนักแห้ง (กรัม)	% น้ำหนักที่ลดลง
5%	3.2149 ± 0.0201	0.1974 ± 0.0308	93.85%±6.17
6%	3.3398 ± 0.0272	0.2664 ± 0.0407	92.02%±9.08
7%	4.1553 ± 0.0340	0.4594 ± 0.0292	88.94%±20.04
8%	5.1295 ± 0.0142	0.5757 ± 0.0202	88.77%±7.23
9%	5.4529 ± 0.0109	0.6164 ± 0.0598	88.69%±19.85

จากตารางแสดงให้เห็นว่าน้ำหนักแกรนูลเคลือบเพคตินไม่ว่าน้ำหนักเปียกหรือน้ำหนักแห้งที่เพิ่มขึ้นจะแปรผันตรงกับปริมาณเพคตินที่ใช้ในการเตรียม โดยเรียงลำดับความเข้มข้นของเพคตินจากมากไปหาน้อยดังนี้คือ 9% > 8% > 7% > 6% > 5% ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับน้ำหนักที่ลดลงหลังทำให้แห้งที่เป็นไปในทางตรงข้ามกับเปอร์เซ็นต์เพคตินที่เพิ่มขึ้นคือมีลำดับตรงข้ามกัน โดยมีลำดับดังนี้ 5% > 6% > 7% > 8% > 9% สารละลายเพคตินที่มีความเข้มข้นที่สูงจะมีความหนืดที่สูงตามขึ้นไปด้วย เมื่อผ่านการ Cross-link ในสารละลาย CaCl_2 พบว่าเม็ดเคลือบที่ได้จากสารละลาย 5 % และ 6% จะมีเนื้อผิวสัมผัสที่นุ่มกว่าเม็ดเคลือบที่เตรียมได้จากสารละลาย 7%, 8% และ 9% ซึ่งเป็นไปได้ว่าความเข้มข้นของเพคตินและเม็ดเคลือบที่เตรียมได้อาจจะมีคุณสมบัติในการทนต่อการกด-เบสของน้ำยาเสมือนของทางเดินอาหาร ซึ่งจะได้ทำการทดสอบในขั้นตอนต่อไป

ผลการศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบว่าเม็ดเคลือบเพคตินที่เตรียมได้จากสารละลายเพคติน 5% และ 9% มีลักษณะผิวที่ค่อนข้างเรียบ เมื่อทำการศึกษาโดยตัดแบ่งครึ่งทางขวาง (Cross section) พบว่ามีเนื้อเพคตินหุ้มอยู่โดยรอบแกรนูลและภายในมีเม็ดแบ่งเกาะกันเป็นกลุ่มก้อนอย่างแน่น (รูปที่ 4.7-4.8) แสดงว่าการเตรียมแกรนูลแบ่งเคลือบด้วยเพคตินในครั้งนี้ เพคตินสามารถห่อหุ้มอยู่โดยรอบแกรนูลแบ่ง 1 เม็ดได้เป็นอย่างดี มีความหนาของชั้นเคลือบที่หนาและไม่พบร่องรอยของช่องหรือความเป็นรูพรุนของชั้นเคลือบ โดยคาดว่าจะสามารถที่จะทำหน้าที่ในการป้องกันแบ่งที่อยู่ภายในให้สามารถทนต่อสภาวะกรด-เบสที่มีสภาวะเหมือนในระบบทางเดินอาหารได้ โดยไม่เห็นความแตกต่างของโครงสร้างของแกรนูลแบ่งเคลือบไม่ว่าจะศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนใน mode ของ low vacuum mode ที่ศึกษาตัวอย่างที่อยู่ในลักษณะที่ยังมีน้ำอยู่เมื่อเปรียบเทียบกับ high vacuum mode ซึ่งต้องมีการเตรียมตัวอย่างให้แห้งก่อนที่จะนำมาศึกษาซึ่งก็ยังคงแสดงโครงสร้างที่สามารถจะป้องกันแบ่งที่อยู่ภายในได้



Low vacuum mode



High vacuum mode

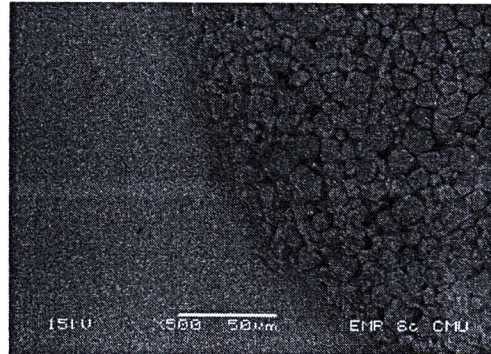
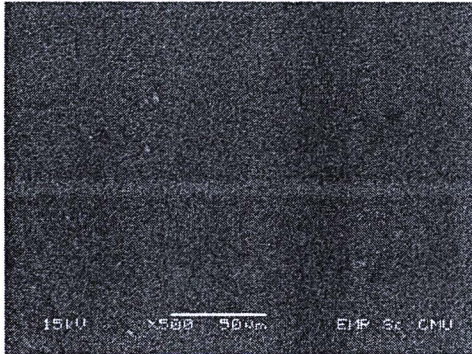
รูปที่ 4.7 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแสดงลักษณะพื้นผิวภายนอก (ซ้าย) และภาคตัดขวาง (ขวา) ของเม็ดเคลือบเพคตินจากสารละลายเพคตินความเข้มข้น 5% ที่กำลังขยาย $\times 500$ ที่ low และ high vacuum mode

4.3.1.2 การทดสอบการรั่วออกของน้ำจากเม็ดเคลือบเพคติน

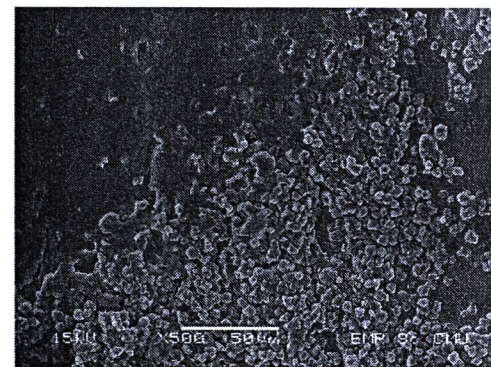
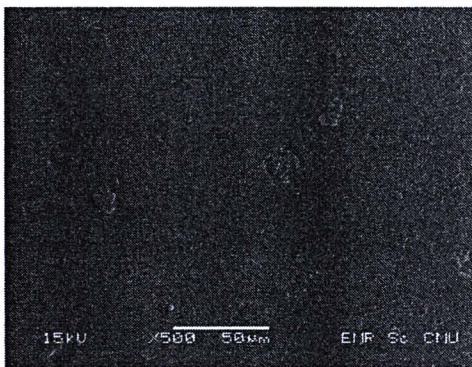
การทดลองใน *in vitro* ครั้งนี้ได้ดัดแปรโดยอ้างอิงการทดลองสภาพเสมือนในสภาวะกรด-เบสของระบบทางเดินอาหารจากการทดลองของ Mura และคณะ (2003) และวิธีการทดสอบการปลดปล่อยยาของ Das และ Ng (2010) โดยการนำแกรนูลเคลือบจำนวน 100 เม็ดมาทดสอบความสามารถในการทนต่อน้ำย่อยเสมือนของทางเดินอาหาร ตรวจสอบการรั่วออกของน้ำออกมาโดยทดสอบด้วยการหยดสารละลายไฮโดรคลอริกที่มีการเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินเข้ม จนถึงดำ แสดงถึงการที่มีน้ำอยู่ในน้ำยาที่ถูกทดสอบและมีการรั่วออกมาของน้ำเป็นจำนวนมาก โดยทดสอบในน้ำย่อยสภาพเสมือนกระเพาะอาหารตามเวลาที่กำหนด ต่อมา



ทดสอบในน้ำย่อยสภาพเสมือนของลำไส้เล็ก และชั้นสุดท้ายทดสอบความต้านทานการปลดปล่อยแบ่งออกจากเม็ดยาเคลือบในน้ำย่อยเสมือนในลำไส้ใหญ่



Low vacuum mode



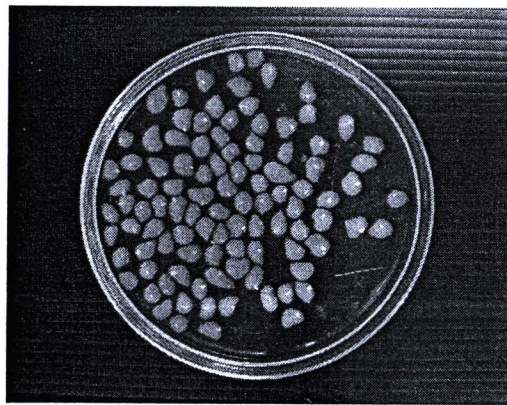
High vacuum mode

รูปที่ 4.8 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแสดงลักษณะพื้นผิวภายนอก (ซ้าย) และภาคตัดขวาง (ขวา) ของเม็ดยาเคลือบเพคตินจากสารละลายเพคตินความเข้มข้น 9% ที่กำลังขยาย $\times 500$ ที่ low และ high vacuum mode

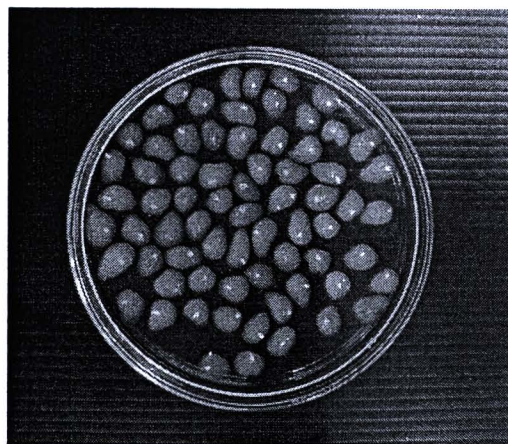
ผลการทดสอบพบว่าในตัวอย่างที่มีภาวะกรด (0.1 N. HCl pH 1.2) เมื่อนำเม็ดยาเคลือบเพคตินในรูปแท่งที่เตรียมได้จากสารละลายเพคติน 5, 6, 7, 8 และ 9% ไปแช่และมีการเขย่าตลอดเวลาในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 37 ± 0.2 °C นานเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ซึ่งเป็นสภาพเสมือนที่กระเพาะอาหาร เมื่อครบเวลาและนำมาตรวจสอบพบว่าระดับการถูกทำลายของผิวเม็ดยาเคลือบที่เป็นเพคตินจะสัมพันธ์กับเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของเพคตินที่ใช้เคลือบ โดยเม็ดยาเคลือบที่ได้จากสารละลาย 5% เม็ดยาเคลือบมีระดับการถูกทำลายและมีการรั่ว

ออกของแบ่งจากเม็ดเคลือบเพคตินในปริมาณที่ใกล้เคียงกับที่ได้จากสารละลาย 6% แต่จะมากกว่าของเม็ดเคลือบที่เตรียมจากสารละลาย 7%, 8% และ 9% โดยพบว่าผิวเพคตินที่เตรียมจากสารละลาย 5% และ 6% จะบางลงและมีลักษณะเป็นชั้นใสที่เกิดจากการพองตัวเมื่อแช่ในสารละลายที่ใช้ทดสอบ และพบมีการรั่วออกของแบ่งออกมาส่วนหนึ่งจากเม็ดเคลือบเพคติน แสดงว่าการเคลือบที่มีการใช้สารละลายเพคตินในความเข้มข้น 5% และ 6% อาจมีเนื้อเพคตินที่ไม่มากพอจนไม่สามารถทนทานต่อกรดได้นาน 2 ชั่วโมง โดยพบการรั่วออกของแบ่งในสภาวะกรดจากเม็ดเคลือบในจำนวน 57.66 ± 2.51 และ 40 ± 9.16 เม็ด จากแกรนูลเคลือบที่ใช้ทดสอบทั้งหมด 100 เม็ดที่ใช้ในการทดลองตามลำดับ แต่เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของสารละลายเพคตินที่ใช้เป็น 7%, 8% และ 9% พบว่าเม็ดเคลือบเพคตินมีความทนทานในสภาวะกรดได้นานขึ้น โดยพบจำนวนเม็ดเคลือบเพคตินที่แบ่งรั่วออกมาได้ลดลงเป็น 34.66 ± 14.74 และ 10.00 ± 2.00 สำหรับเม็ดเคลือบเพคตินที่เตรียมจากสารละลายเพคติน 7% และ 8% ตามลำดับ และที่เตรียมจากความเข้มข้นของสารละลาย 9% ไม่พบเม็ดเคลือบใดที่มีการรั่วออกของแบ่งจากเม็ดเคลือบที่ใช้ทดสอบ 100 เม็ด ซึ่งเป็นผลจากมีเนื้อเพคตินที่ไปหุ้มแกรนูลเพิ่มขึ้นทำให้เกิดเจลชั้นที่หนาขึ้น จึงทำให้มีความสามารถปกป้องแกรนูลแบ่งและมีความทนทานต่อกรดได้มากกว่าโดยเฉพาะที่มีการใช้สารละลายเพคตินความเข้มข้น 9% ที่ไม่พบการรั่วออกของแบ่งเลย

เมื่อนำเม็ดเคลือบที่ผ่านการทดสอบในขั้นตอนการแช่ในสภาวะกรดและนำมาทำการทดสอบต่อในสารละลายที่มีสภาพเสมือนในลำไส้เล็ก ที่ใช้ phosphate buffer pH 6.8 อีกเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ผลการทดลองพบว่าเม็ดเคลือบที่เตรียมจากสารละลายเพคติน 5, 6 และ 7% ไม่สามารถทนต่อสภาวะนั้นได้ต่อไป มีการแตกตัวกลายเป็นเจลใสชิ้นเล็ก ๆ และในบางส่วนยังพบแบ่งติดอยู่บ้าง โดยตรวจพบจำนวนเม็ดเคลือบที่มีการรั่วออกของแบ่งเป็นจำนวน 42.33 ± 2.51 , 60 ± 9.16 และ 45.33 ± 14.74 เม็ดตามลำดับ สำหรับเม็ดเคลือบที่ได้จากสารละลายเพคติน 8% และ 9% จะทนต่อ phosphate buffer pH 6.8 ได้มากกว่า มีระดับการถูกทำลายที่แตกต่างกันโดยพบว่าที่ 8% จะมีจำนวนเม็ดเคลือบที่แตกและสลายและเกิดการรั่วออกของแบ่งมากกว่าที่ 9% โดยมีเม็ดเคลือบที่ปล่อยแบ่งออกมาจำนวน 56.00 ± 8.00 และ 38.66 ± 8.08 เม็ดตามลำดับ ซึ่งเป็นผลจากความหนาของชั้นเจลที่เกิดขึ้น เมื่อนำเม็ดแบ่งที่ยังสามารถทนต่อ phosphate buffer pH 6.8 ได้อยู่ คือในส่วนของเม็ดเคลือบเพคตินที่ 8% และ 9% พบว่ามีการปล่อยแบ่งออกมาหมดเมื่อทดสอบใน phosphate buffer pH 7.4 ที่มีสภาพเสมือนในลำไส้ใหญ่ รูปที่ 4.9 แสดงตัวอย่างลักษณะของเม็ดเคลือบเพคตินที่ผ่านการทดสอบในสภาวะกรดและ phosphate buffer pH 6.8



(ก)



(ข)

รูปที่ 4.9 ลักษณะเม็ดเคลือบเพคตินที่ผ่านการทดสอบ (ก) 0.1 N. HCl : pH 1.2

(ข) PBS : pH 6.8 นาน 2 ชั่วโมง

เมื่อนำเม็ดเคลือบเพคตินที่เตรียมได้จากสารละลายเพคติน 8% และ 9 % และผ่านการทดสอบในน้ำย่อยเสมือนในลำไส้เล็ก ซึ่งเป็นสภาวะกรด-เบส 6.8 ไปทำการทดสอบต่อในน้ำย่อยเสมือนของลำไส้ใหญ่โดยแช่ใน PBS (pH 7.4) นานเป็นเวลา 4 ชั่วโมง ผลการทดลองพบว่าเม็ดเคลือบเพคตินทั้งหมดที่นำมาทดสอบเพคตินที่ล้อมรอบมีการถูกทำลายและมีการรั่วออกของมาของแป้งที่อยู่ภายใน ดังแสดงในแต่ละสภาวะที่ใช้ในการทดสอบในรูปที่ 4.10 - 4.14

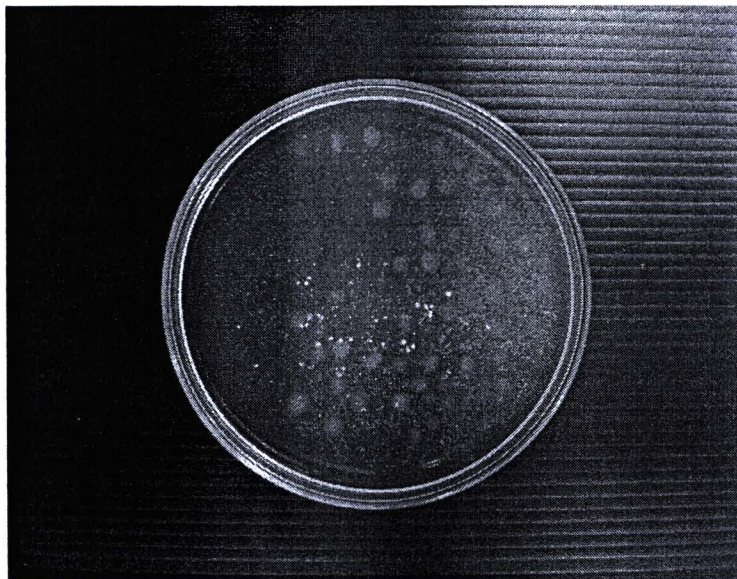


(ก)



(ข)

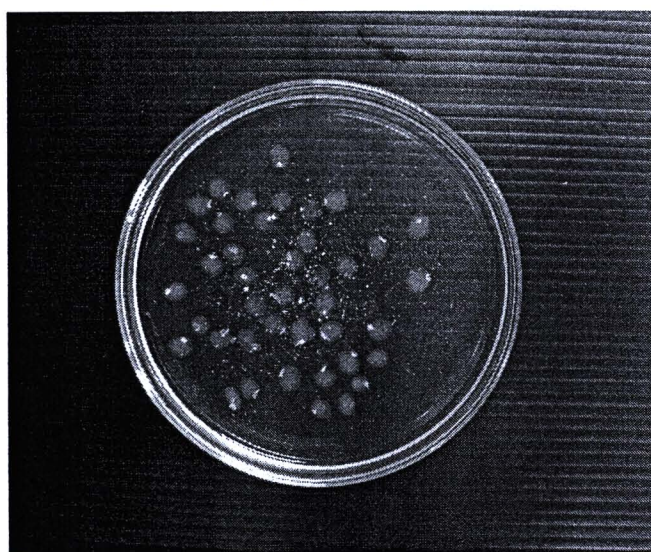
รูปที่ 4.10 ลักษณะเม็ดเคลือบเพคติน (5%) ที่ผ่านการทดสอบใน (ก) 0.1 N. HCl :
pH 1.2 และตามด้วย (ข) PBS : pH 6.8 นาน 2 ชั่วโมง



รูปที่ 4.11 ลักษณะเม็ดเคลือบเพคติน (6%) ที่ผ่านการทดสอบใน (ก) 0.1 N. HCl :
pH 1.2 และตามด้วย (ข) PBS : pH 6.8 นาน 2 ชั่วโมง



(ก)

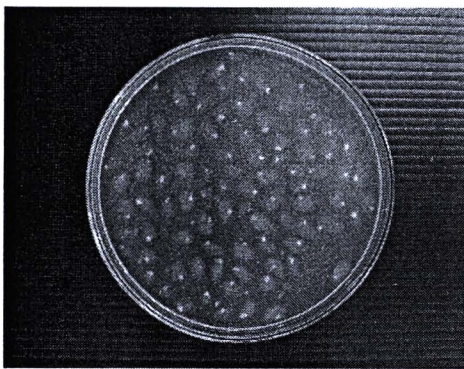


(ข)

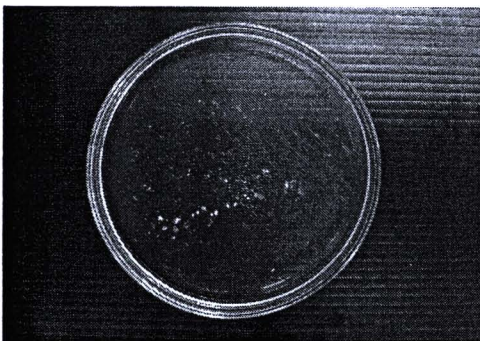
รูปที่ 4.12 ลักษณะเม็ดเคลือบพอลิเมอร์ (7%) ที่ผ่านการทดสอบใน (ก) 0.1 N. HCl :
pH 1.2 และตามด้วย (ข) PBS : pH 6.8 นาน 2 ชั่วโมง



(ก)

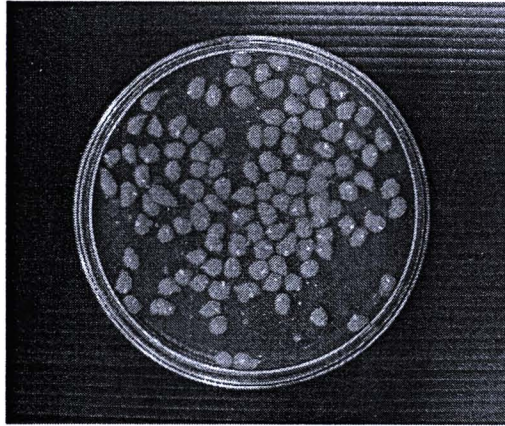


(ข)

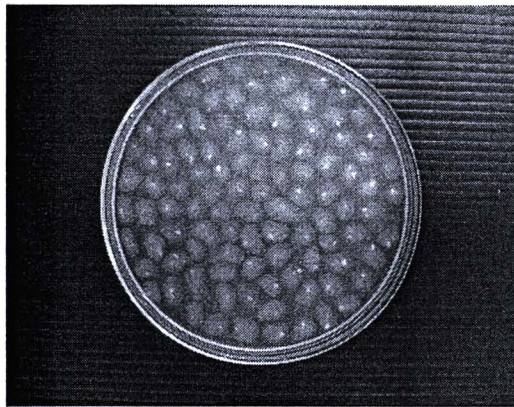


(ค)

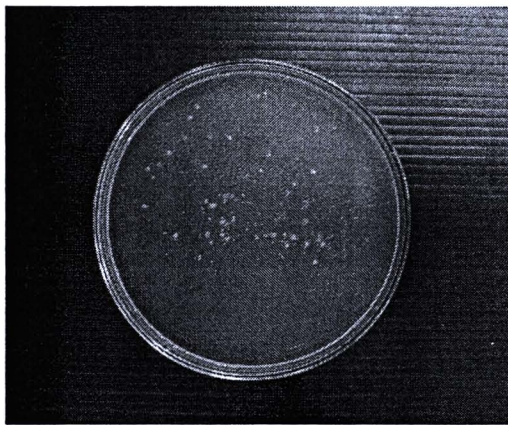
รูปที่ 4.13 ลักษณะเม็ดเคลือบเพคติน (8%) ที่ทดสอบใน (ก) 0.1 N. HCl : pH 1.2 และตามด้วย (ข) PBS : pH 6.8 นาน 2 ชั่วโมง และ(ค) PBS : pH 7.4 นาน 4 ชั่วโมง



(ก)



(ข)



(ค)

รูปที่ 4.14 ลักษณะเม็ดเคลือบเพคติน (9%) ที่ทดสอบใน (ก) 0.1 N. HCl : pH 1.2
และตามด้วย (ข) PBS : pH 6.8 นาน 2 ชั่วโมง และ(ค) PBS : pH 7.4
นาน 4 ชั่วโมง

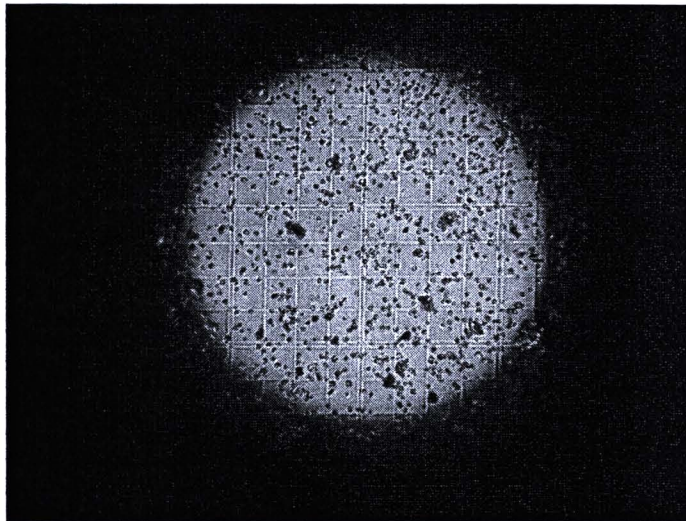
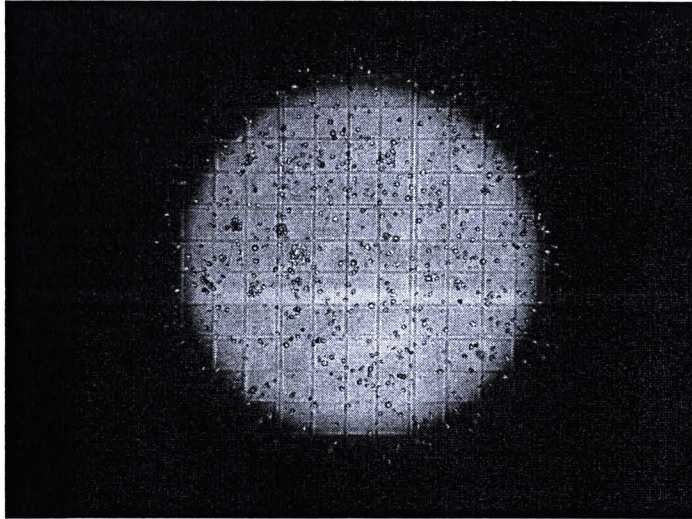
เมื่อนำเศษผงที่ร่วออกมาในแต่ละสภาวะของการทดสอบไปทำการล้างให้สะอาดด้วยน้ำกลั่นและนำไปหยดด้วยสารละลายไอโอดีนเพื่อทดสอบแป้ง ผลการทดลองพบว่าเกิดเป็นสีน้ำเงินจากการทำปฏิกิริยาของแป้งกับไอโอดีนซึ่งแสดงถึงการร่วออกมาของแป้ง ความเข้มของสีขึ้นอยู่กับปริมาณของแป้งที่ร่วออกมา ดังสรุปไว้ในตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 แสดงความเข้มของสีจากการทำปฏิกิริยาของไอโอดีนกับแป้งที่ร่วออกมาในแต่ละสภาวะ

เม็ดเคลือบเพคตินที่ % ความเข้มข้น	0.1 N. HCl: pH 1.2 (2 ชั่วโมง)	PBS : pH 6.8 (2 ชั่วโมง)	PBS : pH 7.4 (4 ชั่วโมง)
5	++	++	0
6	++	++	0
7	+	++	0
8	+	++	++
9	-	+	+++

หมายเหตุ - ไม่เกิดสีน้ำเงิน
+ เกิดสีน้ำเงินน้อย
++ เกิดสีน้ำเงินปานกลาง
+++ เกิดสีน้ำเงินมาก
0 ไม่ได้ทำการทดสอบต่อ

เมื่อนำเอาตะกอนแป้งในแต่ละสภาวะไปตรวจดูลักษณะโครงสร้างและการกระจายตัวพบได้ว่า การกระจายตัวของแป้งสัมพันธ์กับปริมาณแป้งที่ร่วออกมา ถ้าปริมาณแป้งที่ร่วออกมาน้อยสอดคล้องกับการกระจายที่บางตัว กรณีที่มีแป้งร่วออกมามากก็จะพบจำนวนแป้งมาก และมีการกระจายตัวหนาแน่น ตลอดจนเม็ดแป้งมีการเกาะกลุ่มกันในลักษณะต่างๆ กัน (รูปที่ 4.15)



รูปที่ 4.15 การกระจายตัวของแบ่งที่ตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ธรรมดา ($\times 10$)

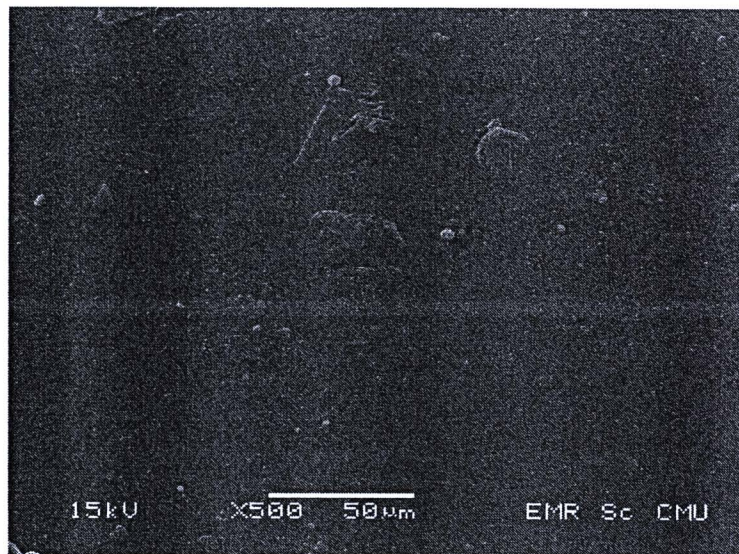
(บน) การรื้อของแบ่งปริมาณน้อย

(ล่าง) การรื้อของแบ่งปริมาณมาก

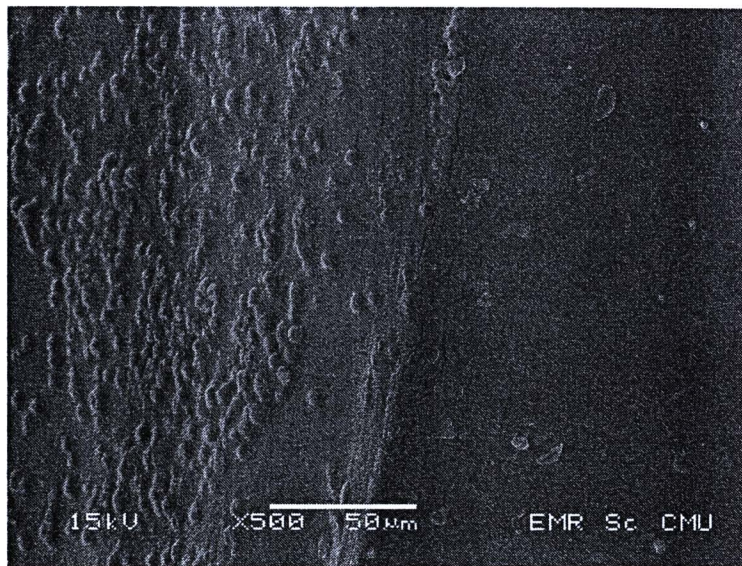
4.3.1.3 ลักษณะทางกายภาพของเม็ดเคลือบเพคติน (9 %) หลังการทดลองใน *in vitro* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

จากการศึกษาลักษณะโครงสร้างทางกายภาพของแกรนูลเคลือบเพคติน 9% หลังมีการแช่ในกรด HCl 0.1 N, pH 1.2 และ PBS pH 6.8 พบว่าที่สภาวะกรดนั้นผิวเพคตินมีร่องรอยของการยุบของผิวเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับผิวเพคตินก่อนการทดลอง เมื่อศึกษาในลักษณะภาคตัดขวางพบว่าการแช่อยู่ในกรด 2 ชั่วโมง ผิวเพคตินยังคงสภาพเดิมและสามารถทนทานต่อการถูกทำลายโดยกรดโดยดูจากภาพถ่ายพบว่าเพคตินยังคงหุ้มแบ่งไว้ได้อย่างหนาแน่นโดยไม่พบว่ามีแบ่งหลุดลอกออกมาจากแกรนูลเคลือบ หลังการนำเม็ดเคลือบเพคตินที่ผ่านการทดสอบในสภาวะกรดและนำไปทดสอบในสภาวะเบสที่ pH 6.8 จะสังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลงที่เด่นชัดคือ พื้นผิวที่ถูกกระทำโดยกรด 2 ชั่วโมงและทดสอบต่อในสภาพ pH 6.8 อีก 2 ชั่วโมง พบการบางตัวลง พื้นผิวจะมีรอยแยกและรอยกัดเซาะเพิ่มขึ้นและสิ่งที่เห็นเด่นชัดยิ่งขึ้นคือจากการศึกษาในแนวภาคตัดขวาง พบว่าเม็ดเคลือบมีร่องรอยของการถูกแทรกซึมโดยสารละลายจากการที่ส่วนเคลือบที่เป็นเพคตินบางตัวลง ทำให้แกรนูลที่เกาะกันเป็นกลุ่มเริ่มแตกกระจายและมีการเปลี่ยนรูปร่างจากเม็ดกลมเป็นรูปรียาวเป็นแฉก ๆ คล้ายๆ รูปดาวหรือปะการังเล็ก ๆ การเปลี่ยนแปลงในขั้นตอนนี้อาจสอดคล้องกับการศึกษาด้วยตาเปล่าที่พบว่า เจลเพคตินที่เกิดขึ้นหลังผ่านการแช่ใน PBS, pH 6.8 จะมีการพองตัวเพิ่มขึ้นพร้อม ๆ กับการพองตัวขยายขนาดของแกรนูลแบ่งที่บรรจุอยู่เพิ่มขึ้น ซึ่งแสดงว่าแบ่งเริ่มมีการแตกตัวออกมาจากแกรนูลแบ่งในรูปเม็ดแบ่งเล็กๆ แต่เนื่องจากเพคตินมีคุณสมบัติที่ดีในการกักเจลจึงทำให้มีการค่อย ๆ ปล่อยผงแบ่งออกจากแกรนูลและเม็ดเพคตินที่เคลือบ ทำให้การนำส่งแบ่งไปสู่เป้าหมายสามารถดำเนินต่อไปได้ (รูปที่ 4.16–4.17) เพคตินสามารถที่จะทำปฏิกิริยาได้กับแคลเซียมไอออนได้เป็น calcium pectinate และนำไปใช้เคลือบเป็นฟิล์มที่ชอบน้ำแต่ไม่ละลายในน้ำโดยอาศัยกระบวนการ interfacial complexation โดยเฉพาะในเพคตินพวก low ester จะได้ ionic bridges ระหว่าง calcium ions และ ionised carboxyl groups ของ galacturonic acid ที่มีอยู่ในเพคตินซึ่งเป็นโมเดลที่เรียกว่า “egg box-model” และเพคตินที่มีการทำให้เกิดเป็นเอสเตอร์ในบางส่วนและมีค่าดีกรีที่ต่ำจะทำให้ได้ bead ที่กลมและเหมาะสม (Sriamornsak, 1998)

การศึกษาทดลองในครั้งนี้จึงมีความเป็นไปได้ในการนำผลการศึกษาไปพัฒนาต่อยอดโดยการเคลือบแกรนูลแบ่งด้วยเพคตินซึ่งสามารถป้องกันแบ่งไม่ให้รั่วออกมาในน้ำย่อยในกระเพาะอาหารหรือน้ำย่อยในส่วนของลำไส้เล็กแต่สามารถที่จะปล่อยให้แบ่งออกมาได้เมื่อแกรนูลเคลื่อนตัวเข้าไปถึงบริเวณลำไส้ใหญ่ เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาแบ่งให้อยู่ในรูปแบบอาหารเสริมสุขภาพต่อไปในอนาคต



(ก)

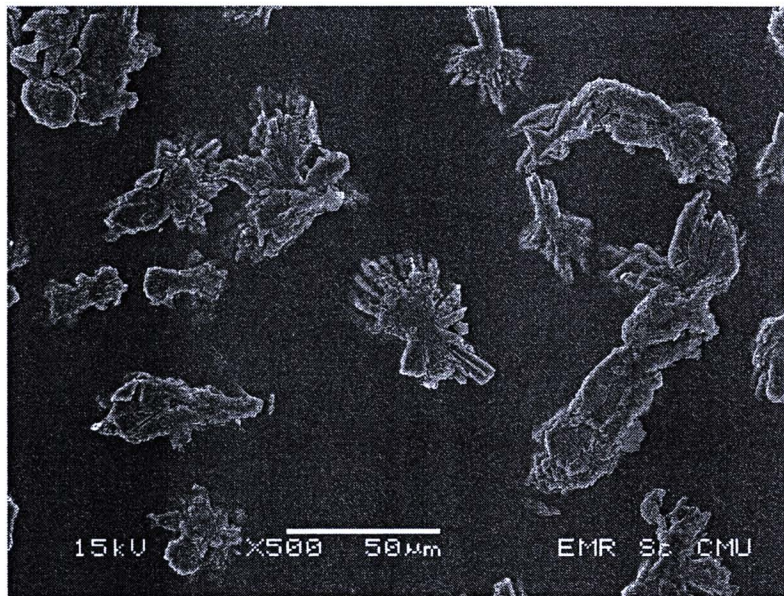
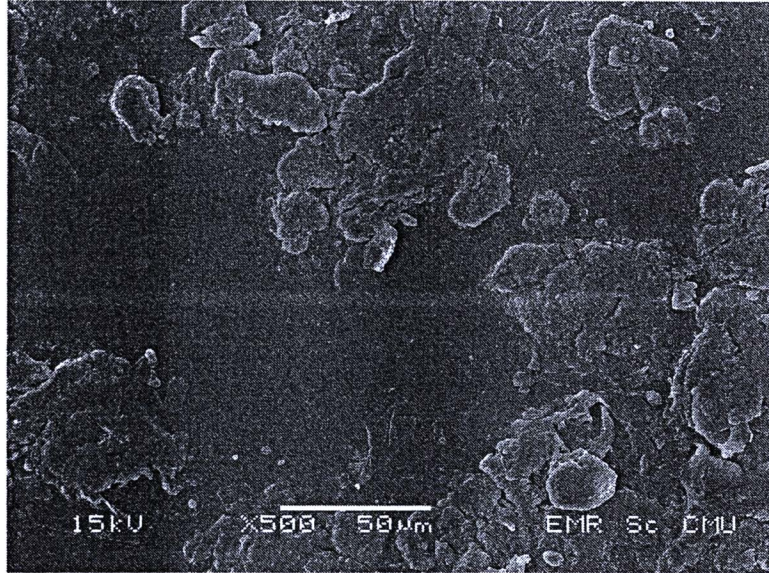


(ข)

รูปที่ 4.16 การเปลี่ยนแปลงลักษณะพื้นผิวของเมดเคลือบพดติน 9% ใน 0.1 N. HCl pH 1.2 นาน 2 ชั่วโมง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Low vacuum mode)

(ก) พื้นผิวส่วนนอก

(ข) ภาพตัดขวาง



รูปที่ 4.17 การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของเมมเบรนเคลือบเพคติน 9% หลังจากทดสอบใน 0.1 N. HCl pH 1.2 ต่อด้วย PBS : pH 6.8 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Low vacuum mode)
 (บน) พื้นผิวส่วนนอก
 (ล่าง) ภาควัดขวาง