

ศศิธร บุญเกิด: การห่อหุ้มปาเปนด้วยแป้งโดยใช้วิธีการตกตะกอนด้วยตัวทำละลาย
(PAPAIN ENCAPSULATION WITHIN STARCH BY ANTI-SOLVENT PRECIPITATION)
อาจารย์ที่ปรึกษา: รองศาสตราจารย์ ดร. เล็ก วันทา, 141 หน้า.

คำสำคัญ: เอนไซม์ปาเปน/การห่อหุ้ม/การตกตะกอนด้วยตัวทำละลาย

ปัจจุบันมีการใช้ปาเปนในหลากหลายอุตสาหกรรม อย่างไรก็ตาม ปาเปนมีความไวและเสถียรภาพต่ำในสภาวะแวดล้อมที่ไม่พึงประสงค์ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องห่อหุ้มปาเปนด้วยวัสดุเคลือบเพื่อปกป้องมันจากสภาวะที่ไม่พึงประสงค์และเพื่อเพิ่มความเสถียร ในงานวิจัยนี้เลือกใช้วัสดุเคลือบเป็นไบโอโพลีเมอร์คือแป้งดัดแปลงที่มีชื่อว่า “แป้งมันสำปะหลังแอซิทิลเลต (Acetylated cassava starch: ACS)” ซึ่งมีค่าระดับการแทนที่ (Degree of Substitution: DS) เท่ากับ 0.037 ซึ่งเป็นค่าที่โรงงานส่วนใหญ่ในประเทศไทยสามารถผลิตได้ สำหรับกระบวนการห่อหุ้มใช้วิธีการตกตะกอนด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอน (Stepwise anti-solvent precipitation method) โดยปาเปนจะตกตะกอนก่อนแล้วจึงถูกห่อหุ้มด้วยแป้ง การศึกษานี้มีเป้าหมายเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมโดยการตรวจสอบผลของประเภทของตัวทำละลาย ความเข้มข้นของปาเปน และอัตราส่วนปริมาตรของตัวทำละลายต่อตัวทำละลายสำหรับกระบวนการตกตะกอนของปาเปน นอกจากนี้ยังตรวจสอบผลของความเข้มข้นของแป้ง ปริมาตรของสารละลายแป้ง และประเภทและความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวสำหรับกระบวนการห่อหุ้มปาเปน

จากการศึกษาการตกตะกอนปาเปนเพื่อสร้างอนุภาคนาโนของปาเปน พบว่าเอทานอลเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการเตรียมอนุภาคนาโนของปาเปน เนื่องจากเอทานอลส่งผลต่อกิจกรรมของปาเปนน้อยที่สุด นอกจากนี้ยังทำให้เกิดตะกอนเหนียวของปาเปนเกิดขึ้นน้อยกว่าอะซิโตนและอะซิโตนไตรัล สำหรับผลของอัตราส่วนตัวทำละลายต่อตัวทำละลายและความเข้มข้นของปาเปน พบว่าอัตราส่วนตัวทำละลายต่อตัวทำละลายมีผลต่อขนาดของอนุภาค การกระจายขนาด ศักยภาพของซีตา และผลได้การตกตะกอน ซึ่งสภาวะที่เหมาะสมและเพียงพอต่อการสร้างอนุภาคนาโนโดยไม่จำเป็นต้องใช้ตัวทำละลายที่มากเกินไปอยู่ที่ 1:4 เนื่องจากสภาวะนี้ให้อนุภาคที่มีขนาดเล็กที่สุดและการกระจายขนาดแคบที่สุด อีกทั้งอนุภาคที่ได้อังมีความเสถียรที่ดีอีกด้วย และความเข้มข้นของปาเปนส่งผลต่อขนาดของอนุภาคและศักยภาพของซีตา ในขณะที่ส่งผลต่อผลได้เฉพาะในช่วงความเข้มข้นต่ำคือ 10 ถึง 15 mg/ml แต่ไม่ส่งผลต่อการกระจายขนาดของอนุภาค สภาวะที่เหมาะสมที่สุดที่ได้จากงานวิจัยนี้อยู่ที่ 30 mg/ml เนื่องจากเป็นสภาวะที่ให้อนุภาคมีความเสถียรที่สุดและยังคงสามารถกักกิจกรรมไว้ได้ 100% ดังนั้น ณ จุดที่กล่าวไปนี้ให้อนุภาคปาเปนที่มีขนาด 207.6 nm และการกระจายขนาดที่แคบ ผลได้การตกตะกอนอยู่ที่ 80.89% ซึ่งเพียงพอต่อการสร้างอนุภาคนาโนของปาเปนที่เสถียรและยังคงกักกิจกรรมไว้ได้ ในขณะที่ถ้าหากนำไปใช้งานต่อในกระบวนการห่อหุ้มโดยวิธีการตกตะกอนด้วยตัวทำละลายแบบขั้นตอนแล้วนั้น การเพิ่มปริมาตรของเอทานอลเป็น 1:8 จะทำให้ตะกอนมีความเสถียรและมีตะกอนขนาดเล็กมากขึ้น

รวมทั้งลดการเกาะตัวกันของอนุภาคได้ดีขึ้น บ่งบอกว่าตะกอนมีความเสถียรและเหมาะสมสำหรับการห่อหุ้มด้วยแป้ง ดังนั้นในการทดลองการห่อหุ้มได้เลือกใช้ความเข้มข้นของสารละลายปาเปนที่ 30 mg/ml และอัตราส่วนปริมาตรของตัวทำละลายต่อตัวต้านการละลายที่ 1:8 ในการตกตะกอนปาเปนในขั้นต้นแรก

จากการศึกษาการห่อหุ้มตะกอนปาเปนด้วยแป้งเพื่อสร้างคอมโพสิตของปาเปนและแป้ง (ACS/Papain composites) พบว่าความเข้มข้นของแป้งที่สูงขึ้นโดยทั่วไปจะช่วยปรับปรุงประสิทธิภาพการห่อหุ้มและความสามารถในการบรรจุ แต่ความเข้มข้นที่มากเกินไปจะทำให้ประสิทธิภาพลดลงเนื่องจากการจับตัวของแป้ง ในขณะที่ปริมาตรของสารละลายแป้งมีผลต่อความสามารถในการบรรจุ การใช้สารลดแรงตึงผิวช่วยกระจายอนุภาคเพื่อป้องกันการเกาะตัวกันระหว่างการห่อหุ้ม แต่ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวที่สูงขึ้น โดยเฉพาะ Tween 80 ช่วยปรับปรุงประสิทธิภาพการห่อหุ้มและความสามารถในการบรรจุ แต่ลดกิจกรรมของปาเปน สภาวะที่เหมาะสมที่สุดที่ได้จากงานวิจัยนี้คือความเข้มข้นของแป้ง 30 mg/ml ปริมาตรแป้ง 7 ml และความเข้มข้นของ Tween 80 ที่ 3% v/v ให้ประสิทธิภาพการห่อหุ้มที่ 96.23% และความสามารถในการบรรจุที่ 12.40% อย่างไรก็ตามภายใต้เงื่อนไขเหล่านี้กิจกรรมของปาเปนลดลงเหลือประมาณ 56% ในขณะที่ Tween 20 ที่ความเข้มข้น 1%v/v สามารถคงกิจกรรมของปาเปนได้สูงกว่า (ประมาณ 87%) แต่ให้ประสิทธิภาพการห่อหุ้มและความสามารถในการบรรจุเพียง 69.87% และ 9.32% ตามลำดับ การวิเคราะห์ยืนยันด้วยสเปกตรัมฟลูออเรสเซนส์และ FTIR ยืนยันได้ว่าปาเปนถูกห่อหุ้มภายในแป้งแอสซิติลเลตที่มีค่าดีกรีของการแทนที่ต่ำได้

สาขาวิชา วิศวกรรมเคมี
ปีการศึกษา 2566

ลายชื่อนักศึกษา พิศิธร
ลายชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา อ. อ.
.....

SASITORN BOONKRD: PAPAIN ENCAPSULATION WITHIN STARCH BY ANTI-SOLVENT PRECIPITATION

THESIS ADVISOR: ASSOC. PROF. LEK WANTHA, Ph.D., 141 PP.

Keyword: PAPIIN/ENCAPSULATION/ANTI-SOLVENT PRECIPITATION


Currently, papain is utilized across a wide range of industries. However, it is sensitive and destabilizes in adverse environmental conditions. Therefore, it is necessary to encapsulate papain with a coating material to protect it from these harsh conditions and improve its stability. In this research, acetylated cassava starch (ACS), a biopolymer, was chosen as the coating material. Acetylated cassava starch with Degree of Substitution (DS) of 0.037 was used, a value that is commonly produced by factories in Thailand. For the encapsulation process, a stepwise anti-solvent precipitation method was employed, where papain was first precipitated and then encapsulated with the starch. The study aims to determine the optimal conditions by investigating the effects of the type of anti-solvent, papain concentration, and solvent to anti-solvent volume ratios on the papain precipitation process. Additionally, it examines the impact of starch concentration, volume of the starch solution, and the type and concentration of surfactant on the papain encapsulation process.

From the investigation of the precipitation of papain to create nanoparticles, the results showed that ethanol was the most suitable anti-solvent for preparing papain nanoparticles. Ethanol had the least impact on papain activity and produced fewer sticky precipitates compared to acetone and acetonitrile (ACN). Regarding the effects of solvent-to-anti-solvent volume ratios and papain concentration, it was observed that these ratios influenced particle size, size distribution, zeta potential, and precipitation yield. An optimal solvent-to-anti-solvent ratio of 1:4 was sufficient for nanoparticle formation without excessive use of anti-solvent and can produce particles with the smallest average size and narrowest size distribution. Moreover, the resulting particles have good stability. Papain concentration affected particle size and zeta potential, with a significant impact on yield only at low concentrations (10 to 15 mg/ml) but did not affect size distribution. The ideal concentration was found to be 30 mg/ml, which produced the most stable particles while retaining 100% activity. Under these conditions, the papain nanoparticles had an average size of 207.6 nm and a narrow size distribution, with a precipitation yield of 80.89%, ensuring stable and active

nanoparticles. For further encapsulation using the stepwise anti-solvent precipitation method, increasing the ethanol volume ratio to 1:8 produced smaller size, more stable precipitates with reduced aggregation, indicating suitability for encapsulation with starch. Thus, for encapsulation experiments, a papain solution concentration of 30 mg/ml and a solvent-to-anti-solvent volume ratio of 1:8 were selected for the initial precipitation step.

In the encapsulation study of papain precipitates with starch to create ACS/Papain composites, higher starch concentrations generally improved encapsulation efficiency and loading capacity, but excessive concentrations led to decrease performance due to starch aggregation, while starch solution volume primarily influenced loading capacity. Employing surfactants aided in dispersing particles to prevent aggregation during encapsulation. However, higher surfactant concentrations, particularly Tween 80, improved encapsulation efficiency and loading capacity but reduced papain activity. The optimal conditions achieved were a starch concentration of 30 mg/ml, a starch volume of 7 ml, and a 3% v/v Tween 80 concentration, yielding an encapsulation efficiency of 96.23% and a loading capacity of 12.40%. However, residual papain activity under these conditions dropped to approximately 56%. In contrast, Tween 20 at 1% v/v preserved higher papain activity (~87%), although it yielded a lower encapsulation efficiency of 69.87% and loading capacity of 9.32%. Confirmatory analyses via fluorescent spectra and FTIR confirmed successful papain entrapment within acetylated starch with a lower degree of substitution.

School of Chemical Engineering
Academic Year 2023

Student's Signature 

Advisor's Signature 