

ผลของน้ำหนักโมเลกุล ระดับการกำจัดหมู่แอสีทิล และความเข้มข้นของโคโคซานในตัวทำละลาย  
ต่างๆ ต่อสมบัติการไหลและการประยุกต์ในผลิตภัณฑ์น้ำส้มพร้อมดื่ม



นางสาววรรรริดา โสภิสเชื่อนพันธ์

## สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2549

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EFFECT OF MOLECULAR WEIGHT, DEGREE OF DEACETYLATION AND  
CONCENTRATION OF CHITOSAN IN DIFFERENT SOLVENTS ON RHEOLOGICAL  
PROPERTY OF CHITOSAN SOLUTION AND APPLICATION IN ORANGE JUICE

Miss Wantida Sopiskhaunkhan



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science Program in Food Technology

Department of Food Technology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2006

Copyright of Chulalongkorn University


หัวข้อวิทยานิพนธ์ ผลของน้ำหนักโมเลกุล ระดับการกำจัดหมู่แอสีทิล และความเข้มข้นของ  
โคโคซานในตัวทำละลายต่างๆ ต่อสมบัติการไหลและการประยุกต์ใน  
ผลิตภัณฑ์น้ำส้มพร้อมดื่ม

โดย นางสาววรรธิดา โสภิสเชื่อนพันธ์  
สาขาวิชา เทคโนโลยีทางอาหาร  
อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จิรารัตน์ ทัดติยกุล  
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม อาจารย์ ดร. รัฐ พิชญางกูร

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัย  
เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

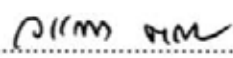
  
..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์  
(ศาสตราจารย์ ดร. เปี่ยมศักดิ์ เมณะเสวด)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

  
..... ประธานกรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ดร. นินนาท ชินประห์ษฐ์)

  
..... อาจารย์ที่ปรึกษา  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จิรารัตน์ ทัดติยกุล)

  
..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม  
(อาจารย์ ดร. รัฐ พิชญางกูร)

  
..... กรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ดร. วรรณฯ ตูลย์ธัญ)

วรรณิตา ไสภิสเชื่อนพันธ์ : ผลของน้ำหนักโมเลกุล ระดับการกำจัดหมู่แอสีทิล และความเข้มข้นของไคโตซานในตัวทำละลายต่างๆ ต่อสมบัติการไหลและการประยุกต์ในผลิตภัณฑ์น้ำส้มพร้อมดื่ม. (EFFECT OF MOLECULAR WEIGHT, DEGREE OF DEACETYLATION AND CONCENTRATION OF CHITOSAN IN DIFFERENT SOLVENTS ON RHEOLOGICAL PROPERTY OF CHITOSAN SOLUTION AND APPLICATION IN ORANGE JUICE) อ. ที่ปรึกษา : ผศ. ดร. จิราวัฒน์ ทัดติยกุล, อ. ที่ปรึกษาร่วม : อ. ดร. รัฐ พิชญางกูร. 102 หน้า.

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาผลของน้ำหนักโมเลกุล ( $M_w = 100 \text{ kDa} - 984 \text{ kDa}$ ) Degree of Deacetylation (%DD = 76 -93) และความเข้มข้นของสารละลายไคโตซาน (1% - 4%) ในตัวทำละลาย 3 ชนิดคือ สารละลายกรดแอสีติก ซิตริก และแลคติกเข้มข้น 0.5 M พบว่าพฤติกรรมกรไหลของสารละลายไคโตซานในกรดทั้งสามชนิดมีลักษณะคล้ายกัน คือ เป็นการไหลหนืดในช่วงความถี่ 0.1-10 Hz และที่ความถี่ช่วง 10-100 Hz แสดงลักษณะแบบ rubbery ทั้งนี้ เมื่อน้ำหนักโมเลกุล %DD และความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ moduli และ complex viscosity ของสารละลายมีค่าสูงขึ้น โดยสารละลายไคโตซานน้ำหนักโมเลกุล 984 และ 375 kDa เข้าสู่ช่วง rubbery ที่ความถี่สูงกว่าสารละลายไคโตซานน้ำหนักโมเลกุล 184 และ 100 kDa ตามลำดับ สารละลายไคโตซานที่มี %DD เท่ากับ 93 และ 88 เข้าสู่ช่วง rubbery ที่ความถี่สูงกว่าสารละลายไคโตซานที่มี %DD เท่ากับ 76 และสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 4% เข้าสู่ช่วง rubbery ที่ความถี่สูงกว่าสารละลายไคโตซาน 3% 2% และ 1% ตามลำดับ นอกจากนี้การเพิ่มน้ำหนักโมเลกุล %DD และความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานยังส่งผลให้สารละลายมีลักษณะ shear thinningเด่นชัดขึ้น เห็นได้จากค่า flow behavior index (n) ที่ลดลง การประยุกต์ไคโตซานที่มี %DD เท่ากับ 92 น้ำหนักโมเลกุล 724 kDa ในน้ำส้ม พบว่าน้ำส้มที่เติมไคโตซาน 0.1% มีความหนืดและเสถียรภาพของความขุ่นมากกว่าน้ำส้มที่ไม่เติมไคโตซาน เมื่อศึกษาอายุการเก็บเป็นเวลา 8 วัน พบว่าน้ำส้มที่เติมไคโตซาน 0.1% มีการลดลงของเสถียรภาพความขุ่นร้อยละ 1.5 และน้ำส้มที่ไม่เติมไคโตซานมีการลดลงของเสถียรภาพความขุ่นร้อยละ 16.9 ตรวจพบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในน้ำส้มที่เติมและไม่เติมไคโตซานเท่ากับ 8 CFU/mL และ 30 CFU/mL ตามลำดับ และปริมาณยีสต์และราในน้ำส้มที่เติมและไม่เติมไคโตซานเท่ากับ 0 CFU/mL และ 15 CFU/mL ตามลำดับ

ภาควิชา...เทคโนโลยีทางอาหาร... ลายมือชื่อนิสิต..... อรรธนา ไสภิสเชื่อนพันธ์.....  
 สาขาวิชา...เทคโนโลยีทางอาหาร... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....  
 ปีการศึกษา.....2549..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....



# # 4672398323 : MAJOR FOOD TECHNOLOGY

KEY WORDS : CHITOSAN/ RHEOLOGICAL PROPERTY/ ORANGE JUICE

WANTIDA SOPISKHAUNKHAN : EFFECT OF MOLECULAR WEIGHT, DEGREE OF DEACETYLATION AND CONCENTRATION OF CHITOSAN IN DIFFERENT SOLVENTS ON RHEOLOGICAL PROPERTY OF CHITOSAN SOLUTION AND APPLICATION IN ORANGE JUICE. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. JIRARAT TATTIYAKUL, Ph. D., THESIS CO-ADVISOR : RATH PICHYANGKURA, Ph. D., 102 pp.

The effects of molecular weight ( $M_v = 100\text{--}984$  kDa), degree of deacetylation (%DD = 76–93), and concentration (1% - 4%) of chitosan on the rheological behavior of chitosan in three solvents; acetic acid, citric acid, and lactic acid, were investigated in this study. The results showed that chitosan solutions have similar flow behavior in all three acid solvents. The solutions showed viscous flow at 0.1-10 Hz and rubbery state at 10-100 Hz. Increasing  $M_v$ , %DD, and concentration resulted in an increase in moduli and complex viscosity of the solution. Chitosans with an  $M_v$  of 375 and 984 kDa entered the rubbery state at higher frequencies than those with an  $M_v$  of 100 and 184 kDa. Likewise, 88 and 93 %DD chitosan entered the rubbery state at higher frequencies than 76%DD chitosan. Further, the solution with higher chitosan concentration showed a rubbery flow at higher frequencies than that at lower concentrations. In addition, increasing  $M_v$ , %DD, and concentration caused an increase in the shear thinning behavior of the solution as can be seen by a reduction in flow behavior index ( $n$ ).

An application of 92%DD chitosan with an  $M_v$  of 724 kDa at 0.1%(w/v) in orange juice resulted in increasing viscosity and cloud stability compared to that without chitosan addition. After 8 days at 4°C storage, the cloud stability of orange juice with and without chitosan addition reduced by 1.5% and 16.9%, respectively. Total plate count of 8 CFU/mL and 30 CFU/mL and yeast and mold count of 0 CFU/mL and 15 CFU/mL were observed in orange juice with and without chitosan addition, respectively.

Department.....Food Technology...

Student's signature.....

*Sopiskhaunkhan W.*

Field of study...Food Technology....

Advisor's signature.....

*Jirarat Tattiyakul*

Academic year.....2006.....

Co-Advisor's signature.....

*Rath Pichyangkura*

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ได้ โดยความกรุณาและความช่วยเหลืออย่างดียิ่งจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จิรารัตน์ ทัดติยกุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ให้กำลังใจ คำแนะนำ เกี่ยวกับแนวทางการวิจัย และคำปรึกษาที่มีประโยชน์อย่างมากกับวิทยานิพนธ์นี้

ขอขอบพระคุณ อาจารย์ ดร. รัฐ พิชญานุกร อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณา ให้คำปรึกษา และคำแนะนำที่เป็นประโยชน์ยิ่ง รวมถึงความอนุเคราะห์สำหรับวัสดุดิบและสารเคมี ที่ใช้ในงานวิจัย

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. นินนาท ชินประหัชชัฐ์ ประธานกรรมการสอบ วิทยานิพนธ์ และ รองศาสตราจารย์ ดร. วรณา ตุลาญัตถ์ คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ท่าน ได้กรุณาให้คำแนะนำและตรวจสอบวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์ตาม หลักสูตรปริญญาามหาบัณฑิต

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พาสวดี ประทีปะเสน ที่ให้คำแนะนำและ คำปรึกษาที่เป็นประโยชน์อย่างมากแก่วิทยานิพนธ์นี้รวมถึงความอนุเคราะห์สำหรับ viscometer ที่ใช้ในงานวิจัย

กราบขอบพระคุณคณาจารย์ในภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ประสิทธิ์ประสาทความรู้ให้แก่ข้าพเจ้า ทั้งในด้านวิชาการ และ จริยธรรม

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย ที่ให้ทุนสนับสนุนการดำเนินงานวิจัยในครั้งนี้

ขอบคุณเจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการ สำหรับการอำนวยความสะดวกในการวิจัย ขอขอบคุณ เพื่อน และพี่-น้อง ระดับปริญญาโท ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย สำหรับกำลังใจ และน้ำใจที่มีให้ ทำให้ช่วงเวลา 4 ปี ในรั้วมหาวิทยาลัยแห่งนี้ เป็น เวลาที่ดี และมีความหมายยิ่งสำหรับข้าพเจ้า

สุดท้ายนี้ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา และขอบคุณพี่น้องทุกคนใน ครอบครัว ที่สนับสนุนด้านการเงิน ให้ความห่วงใย และกำลังใจที่มีค่ายิ่งสำหรับข้าพเจ้า จนสำเร็จ การศึกษา

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ณ
สารบัญรูป.....	ญ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	1
บทที่ 2 ทฤษฎีพื้นฐาน.....	2
2.1 ไคติน.....	2
2.2 ไคโตซาน.....	4
2.3 สมบัติการไหล (Rheological properties).....	8
บทที่ 3 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย.....	19
3.1 สารเคมีและอุปกรณ์.....	19
3.2 วิธีการดำเนินงานวิจัย.....	21
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง.....	29
4.1 %DD ของไคโตซานที่ผลิตได้.....	29
4.2 น้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานที่ผลิตได้.....	29
4.3 Equilibrium time ของสารละลายไคโตซาน.....	30
4.4 Linear Viscoelastic Range (LVR) ของสารละลายไคโตซาน.....	31
4.5 ผลของน้ำหนักโมเลกุลต่อลักษณะการไหลของสารละลายไคโตซานใน สารละลายกรดแอสซิติค ซิตริก และแล็กติก.....	32
4.6 ผลของ degree of deacetylation ต่อลักษณะการไหลของสารละลายไค- โตซานในสารละลายกรดแอสซิติค ซิตริก และ แล็กติก.....	41
4.7 ผลของระดับความเข้มข้นของไคโตซานต่อลักษณะการไหลของสารละลาย ไคโตซานในสารละลายกรดแอสซิติค ซิตริก และแล็กติก.....	50
4.8 ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีและกายภาพของน้ำส้มเขียวหวานและการ ปรับปรุงคุณภาพด้านรสชาติ.....	58

	หน้า
4.9 การคัดเลือกสภาวะของโคโตซานเพื่อประยุกต์ในน้ำส้มเขียวหวาน.....	60
4.10 ผลการใช้โคโตซานในน้ำส้มเขียวหวานพร้อมดื่มต่อคุณภาพของน้ำส้ม.....	63
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	69
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	69
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	70
รายการอ้างอิง.....	71
ภาคผนวก.....	75
ภาคผนวก ก.....	76
ภาคผนวก ข.....	88
ภาคผนวก ค.....	94
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	102



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	การละลายของโคโตซานในสารละลายกรดชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้นต่างกัน.....	6
3.1	ความเข้มข้นและเวลาที่ใช้ในการแช่สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เพื่อแปร %DD.....	22
3.2	ปริมาตรของเอนไซม์ Pectinex Ultra Spl (mL) ที่ใช้ในการแปรน้ำหนักโมเลกุลของโคโตซาน.....	23
4.1	ค่า %DD และน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยของโคโตซานที่ได้จากการทำปฏิกิริยา deacylation.....	29
4.2	%DD เฉลี่ย และน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย ( $M_v$ , kDa) ของโคโตซานที่ผ่านกระบวนการย่อยด้วยเอนไซม์ Pectinex <sup>®</sup> Ultra SP-L.....	30
4.3	ค่า consistency index (K, Pa.s <sup>n</sup> ) และ flow behavior index (n) ของสารละลายโคโตซานเข้มข้น 4% ที่น้ำหนักโมเลกุลต่างกันในสารละลายกรดแอซีติก ซิตริก และแลกติก 0.5 M.....	39
4.4	ค่า consistency index (K, Pa.s <sup>n</sup> ) และ flow behavior index (n) ของสารละลายโคโตซานเข้มข้น 6% ที่ %DD ต่างกันในสารละลายกรดแอซีติก ซิตริก และแลกติก 0.5M.....	49
4.5	ค่า consistency index (K, Pa.s <sup>n</sup> ) และ flow behavior index (n) ของสารละลายโคโตซาน 84%DD น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย 984 kDa ที่ความเข้มข้น 1% – 4 % ในตัวทำละลายต่างๆ.....	57
4.6	คุณภาพทางเคมีและกายภาพของน้ำส้มเขียวหวาน.....	59
4.7	คะแนนความชอบต่อน้ำส้มเขียวหวานที่แปรอัตราส่วนระหว่างปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดต่อปริมาณกรด.....	60
4.8	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของ flow behavior index (n) ของสารละลายโคโตซานในสารละลายกรดซิตริกที่มีน้ำหนักโมเลกุลและ %DD ต่างกัน.....	61
4.9	flow behavior index (n) ของสารละลายโคโตซานในสารละลายกรดซิตริก 0.5 M ที่แปรน้ำหนักโมเลกุลและ %DD.....	61
4.10	ความหนืดและคะแนนความชอบต่อน้ำส้มที่แปรความเข้มข้นของโคโตซาน.....	62

## ตารางที่

## หน้า

4.11	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณกรด pH ความหนืดที่ $100 \text{ s}^{-1}$ เสถียรภาพความขุ่น ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (tss) อัตราส่วนระหว่างปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดต่อปริมาณกรด (brix : acid ratio) และค่าการเปลี่ยนแปลงสี ( $\Delta E$ ) ของน้ำส้มที่เต็มและไม่เต็มโคโตซานและวันที่เก็บต่างกัน.....	64
4.12	ผลของระยะเวลาการเก็บที่อุณหภูมิ $4^\circ\text{C}$ ต่อค่า $\Delta E$ ของน้ำส้ม.....	68
ก.1	การเจือจางสารละลาย N-acetyl-D-glucosamine เพื่อให้เป็นสารละลายมาตรฐาน.....	77
ข.1	ความเข้มข้น ค่า first derivative absorbance และค่า H ของสารละลาย N-acetyl D-glucosamine.....	89
ข.2	ความเข้มข้น เวลาที่ใช้ในการไหลของสารละลายโคโตซานที่ 77%DD ( $t_{\text{solution}}$ ) relative viscosity specific viscosity และ reduce viscosity ที่ความเข้มข้นต่างกันเพื่อใช้เป็นตัวอย่างการคำนวณ.....	91
ข.3	intrinsic viscosity (mL/g) ของโคโตซานที่ผลิตได้ในสารละลาย 0.2 M $\text{CH}_3\text{COOH}/0.1 \text{ M CH}_3\text{COONa}$ ที่อุณหภูมิ $30 \pm 0.1^\circ\text{C}$ .....	93
ค.1	ปริมาณกรดของน้ำส้มที่เต็มและไม่เต็มโคโตซานตลอดอายุการเก็บ 0-8 วัน ที่อุณหภูมิ $4^\circ\text{C}$ .....	94
ค.2	ค่า pH ของน้ำส้มที่เต็มและไม่เต็มโคโตซานตลอดอายุการเก็บ 0-8 วัน ที่อุณหภูมิ $4^\circ\text{C}$ .....	95
ค.3	ความหนืดที่ $100 \text{ s}^{-1}$ ของน้ำส้มที่เต็มและไม่เต็มโคโตซานตลอดอายุการเก็บ 0-8 วัน ที่อุณหภูมิ $4^\circ\text{C}$ .....	96
ค.4	เสถียรภาพความขุ่นของน้ำส้มที่เต็มและไม่เต็มโคโตซานตลอดอายุการเก็บ 0-8 วัน ที่อุณหภูมิ $4^\circ\text{C}$ .....	97
ค.5	ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำส้มที่เต็มและไม่เต็มโคโตซานตลอดอายุการเก็บ 0-8 วัน ที่อุณหภูมิ $4^\circ\text{C}$ .....	98
ค.6	อัตราส่วนระหว่างปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดต่อปริมาณกรดของน้ำส้มที่เต็มและไม่เต็มโคโตซานตลอดอายุการเก็บ 0-8 วัน ที่อุณหภูมิ $4^\circ\text{C}$ .....	99
ค.7	ค่า L a และ b เฉลี่ยของน้ำส้มที่เต็มและไม่เต็มโคโตซานในวันที่ 0.....	100

ตารางที่		หน้า
ค.8	ค่าการเปลี่ยนแปลงเอนทัลปี ( $\Delta E$ ) ของน้ำส้มที่เต็มและไม่เต็มโคโตซานตลอดอายุการเก็บ 0-8 วัน ที่อุณหภูมิ 4°C.....	100
ค.9	จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และราเฉลี่ยที่ตรวจพบในน้ำส้มที่เต็มและไม่เต็มโคโตซานตลอดอายุการเก็บ 0-8 วัน ที่อุณหภูมิ 4°C.....	101



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
2.1	โครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลสและไคติน.....	2
2.2	ลักษณะการจัดเรียงตัวของไคตินแบบ (a) anti-parallel และ (b)parallel.....	3
2.3	โครงสร้างทางเคมีของไคโตซาน.....	4
2.4	Degree of deacetylation ของแอลฟาไคตินและเบตาไคตินเมื่อผ่านกระบวนการ deacetylation ด้วย 30% sodium hydroxide ที่ 100°C ที่เวลาต่าง ๆ.....	7
2.5	ความสัมพันธ์ระหว่าง shear rate และ shear stress ของของไหลแบบ Time-independent non-Newtonian fluid และ Newtonian fluid.....	10
2.6	ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่ให้ shear rate คงที่และ shear stress ของของไหลแบบ Time-dependent และ Time-independent non-Newtonian fluid.....	11
2.7	Moduli spectrum ของสารละลายพอลิเมอร์เมื่อทดสอบลักษณะการไหลแบบ dynamic test.....	12
2.8	การเกิดการพัวพันกันของสายพอลิเมอร์เมื่อความเข้มข้นของพอลิเมอร์เพิ่มขึ้น.....	14
2.9	ลักษณะการพัวพันของพอลิเมอร์ (a) พอลิเมอร์น้ำหนักโมเลกุลต่ำ (b) พอลิเมอร์น้ำหนักโมเลกุลสูง.....	18
3.1	ขั้นตอนการผลิตไคโตซานที่ %DD และน้ำหนักโมเลกุลต่างกัน	24
4.1	Equilibrium time ของสารละลายไคโตซาน 77%DD น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย 1212 kDa ความเข้มข้น 2% (w/v) ในสารละลายกรดแอสซิติค ซิตริก และแลกติก 0.5 M...	31
4.2	Linear viscoelastic range (LVR) ของสารละลายไคโตซาน 77%DD น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย 1212 kDa ความเข้มข้น 4% (w/v) ในสารละลายกรดแอสซิติค 0.5 M.....	32
4.3	ผลของน้ำหนักโมเลกุลไคโตซานเฉลี่ยที่ 984 375 184 และ 100 kDa %DD ในช่วง 80% – 90% ในสารละลายกรดแอสซิติค 0.5 M ในช่วงความถี่ 0.1 ถึง 100 Hz ต่อ (a) ค่า $G'$ (สัญญาณที่เก็บ) และ $G''$ (สัญญาณโปร่ง) (b) ค่า $\eta^*$ .....	34
4.4	ผลของน้ำหนักโมเลกุลไคโตซานเฉลี่ยที่ 984 375 184 และ 100 kDa %DD ในช่วง 80% – 90% ในสารละลายกรดซิตริก 0.5 M ในช่วงความถี่ 0.1 ถึง 100 Hz ต่อ (a) ค่า $G'$ (สัญญาณที่เก็บ) และ $G''$ (สัญญาณโปร่ง) (b) ค่า $\eta^*$ .....	36

รูปที่	หน้า
4.5 ผลของน้ำหนักโมเลกุลโคโตซานเฉลี่ยที่ 984 375 184 และ 100 kDa %DD ในช่วง 80% – 90% ในสารละลายกรดแลกติก 0.5 M ในช่วงความถี่ 0.1 ถึง 100 Hz ต่อ (a) ค่า $G'$ (สัญลักษณ์ทึบ) และ $G''$ (สัญลักษณ์โปร่ง) (b) ค่า $\eta^*$ .....	36
4.6 ผลของน้ำหนักโมเลกุลโคโตซานเฉลี่ยที่ 984 375 184 และ 100 kDa %DD ในช่วง 80% – 90% ในสารละลายกรดแอสซิติค 0.5 M ในช่วง shear rate 1 ถึง 1000 s <sup>-1</sup> ต่อค่าความหนืดปรากฏ.....	38
4.7 ผลของน้ำหนักโมเลกุลโคโตซานเฉลี่ยที่ 984 375 184 และ 100 kDa %DD ในช่วง 80% – 90% ในสารละลายกรดซิตริก 0.5 M ในช่วง shear rate 1 ถึง 1000 s <sup>-1</sup> ต่อค่าความหนืดปรากฏ.....	40
4.8 ผลของน้ำหนักโมเลกุลโคโตซานเฉลี่ยที่ 984 375 184 และ 100 kDa %DD ในช่วง 80% – 90% ในสารละลายกรดแลกติก 0.5 M ในช่วง shear rate 1 ถึง 1000 s <sup>-1</sup> ต่อค่าความหนืดปรากฏ.....	40
4.9 ผลของ %DD ที่ 76% 88% และ 93% ต่อสารละลายโคโตซาน ความเข้มข้น 6% ในสารละลายกรดแอสซิติค 0.5 M ในช่วงความถี่ 0.1 ถึง 100 Hz ต่อ (a) ค่า $G'$ (สัญลักษณ์ทึบ) และ $G''$ (สัญลักษณ์โปร่ง) (b) ค่า $\eta^*$ .....	42
4.10 ผลของ %DD ที่ 76% 88% และ 93% ต่อสารละลายโคโตซาน ความเข้มข้น 6% ในสารละลายกรดซิตริก 0.5 M ในช่วงความถี่ 0.1 ถึง 100 Hz ต่อ (a) ค่า $G'$ (สัญลักษณ์ทึบ) และ $G''$ (สัญลักษณ์โปร่ง) (b) ค่า $\eta^*$ .....	43
4.11 ผลของ %DD ที่ 76% 88% และ 93% ต่อสารละลายโคโตซาน ความเข้มข้น 6% ในสารละลายกรดแลกติก 0.5 M ในช่วงความถี่ 0.1 ถึง 100 Hz ต่อ (a) ค่า $G'$ (สัญลักษณ์ทึบ) และ $G''$ (สัญลักษณ์โปร่ง) (b) ค่า $\eta^*$ .....	45
4.12 การเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุลของ N-acetyl D-glucosamine.....	46
4.13 ผลของ %DD ที่ 76% 88% และ 93% ต่อสารละลายโคโตซาน ความเข้มข้น 6% ในสารละลายกรดแอสซิติค 0.5 M ที่ช่วง shear rate 1 ถึง 1000 s <sup>-1</sup> ต่อค่าความหนืดปรากฏ.....	47
4.14 ผลของ %DD ที่ 76% 88% และ 93% ต่อสารละลายโคโตซาน ความเข้มข้น 6% ในสารละลายกรดซิตริก 0.5 M ที่ช่วง shear rate 1 ถึง 1000 s <sup>-1</sup> ต่อค่าความหนืดปรากฏ.....	48



รูปที่	หน้า
4.15 ผลของ %DD ที่ 76% 88% และ 93% ต่อสารละลายโคโตซาน ความเข้มข้น 6% ในสารละลายกรดแลคติก 0.5 M ที่ช่วง shear rate 1 ถึง 1000 s <sup>-1</sup> ต่อค่าความหนืดปรากฏ.....	49
4.16 ผลของระดับความเข้มข้นของโคโตซาน %DD 84 และ M <sub>v</sub> = 984 kDa ในสารละลายกรดแอซีติก 0.5 M ในช่วงความถี่ 0.1 ถึง 100 Hz ต่อ (a)ค่า G' (สัญลักษณ์ทึบ) และ G'' (สัญลักษณ์โปร่ง) (b) ค่า $\eta^*$ .....	52
4.17 ผลของระดับความเข้มข้นของโคโตซาน %DD 84 และ M <sub>v</sub> = 984 kDa ในสารละลายกรดซิตริก 0.5 M ในช่วงความถี่ 0.1 ถึง 100 Hz ต่อ (a)ค่า G' (สัญลักษณ์ทึบ) และ G'' (สัญลักษณ์โปร่ง) (b) ค่า $\eta^*$ .....	53
4.18 ผลของระดับความเข้มข้นของโคโตซาน %DD 84 และ M <sub>v</sub> = 984 kDa ในสารละลายกรดแลคติก 0.5 M ในช่วงความถี่ 0.1 ถึง 100 Hz ต่อ (a)ค่า G' (สัญลักษณ์ทึบ) และ G'' (สัญลักษณ์โปร่ง) (b) ค่า $\eta^*$ .....	54
4.19 ผลของระดับความเข้มข้นของโคโตซาน %DD 84 และ M <sub>v</sub> = 984 kDa ในสารละลายกรดแอซีติก 0.5 M ในช่วง shear rate 1 ถึง 1000 s <sup>-1</sup> ต่อค่าความหนืดปรากฏ.....	56
4.20 ผลของระดับความเข้มข้นของโคโตซาน %DD 84 และ M <sub>v</sub> = 984 kDa ในสารละลายกรดซิตริก 0.5 M ในช่วง shear rate 1 ถึง 1000 s <sup>-1</sup> ต่อค่าความหนืดปรากฏ.....	56
4.21 ผลของระดับความเข้มข้นของโคโตซาน %DD 84 และ M <sub>v</sub> = 984 kDa ในสารละลายกรดแลคติก 0.5 M ในช่วง shear rate 1 ถึง 1000 s <sup>-1</sup> ต่อค่าความหนืดปรากฏ.....	57
4.22 ปริมาณกรด (%) ในน้ำส้มที่ไม่เติมโคโตซาน (FOJ) และน้ำส้มที่เติมโคโตซาน 0.1% (FOJ+Chi) ตลอดอายุการเก็บ 8 วัน ที่อุณหภูมิ 4°C.....	65
4.23 ค่าความขุ่นของน้ำส้มที่ไม่เติมโคโตซาน (FOJ) และน้ำส้มที่เติมโคโตซาน 0.1% (FOJ+Chi) ตลอดอายุการเก็บ 8 วัน ที่อุณหภูมิ 4°C.....	66
4.24 Total soluble solids ของน้ำส้มที่ไม่เติมโคโตซาน (FOJ) และน้ำส้มที่เติมโคโตซาน 0.1% (FOJ+Chi) ตลอดอายุการเก็บ 8 วัน ที่อุณหภูมิ 4°C.....	67
ก.1 ภาพจำลอง Cannon-Fenske viscometer.....	80

รูปที่	หน้า
ข.1 จุด zcp ของสารละลายกรดแอสีติก 0.01 0.02 และ 0.03 M.....	88
ข.2 กราฟมาตรฐานของสารละลาย N-acetyl D-glucosamine.....	89
ข.3 ความสัมพันธ์ระหว่าง reduced viscosity และความเข้มข้นของสารละลายไคโต- ซาน.....	92



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความสำคัญของปัญหา

โคโตซานเป็นพอลิเมอร์ธรรมชาติ สามารถย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ และเป็นสารที่มีความปลอดภัยในการใช้กับมนุษย์และสิ่งแวดล้อม โคโตซานสามารถผลิตได้จากโคตินซึ่งพบได้มากในเปลือกกุ้ง กระดองปู และแกนของปลาหมึก ที่เป็นของเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมอาหาร ปัจจุบันได้มีการนำโคโตซานมาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ เช่น ด้านอุตสาหกรรมการเกษตร ด้านการแพทย์ และด้านอุตสาหกรรมอาหาร เป็นต้น ในด้านอุตสาหกรรมอาหาร มีการนำโคโตซานมาใช้ในการผลิตบรรจุภัณฑ์สำหรับอาหาร และใช้เป็นส่วนประกอบของอาหารเพื่อหน้าที่ต่างๆ เช่น ทำหน้าที่เป็นสารให้ความหนืดและความคงตัว (stabilizer) สารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (Fereidoon, Janak และ You-Jin, 1999) และสามารถทำหน้าที่คล้ายเส้นใยในอาหาร ลดการดูดซึมไขมันและระดับโคเลสเตอรอลในร่างกายได้ (Muzzarelli, 1996) เป็นต้น

การนำโคโตซานมาประยุกต์ในผลิตภัณฑ์อาหารนั้น ต้องคำนึงถึงสมบัติของโคโตซานในภาวะที่มีองค์ประกอบเหมือนกันกับองค์ประกอบของอาหารเป้าหมาย เนื่องจากสมบัติทางกายภาพของโคโตซานโดยเฉพาะสมบัติทางวิทยากระแสซึ่งมีผลต่อลักษณะทางประสาทสัมผัส นั้นสามารถเปลี่ยนแปลงตามปัจจัยต่างๆ งานวิจัยนี้จึงมีแนวคิดที่จะตรวจสอบลักษณะการไหลและสมบัติด้านความหนืดของโคโตซานที่มี %DD และน้ำหนักโมเลกุลต่างกันในตัวทำละลายที่เป็นกรดอินทรีย์ต่างกัน เพื่อเป็นข้อมูลในการเลือกโคโตซานสำหรับประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร

### 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

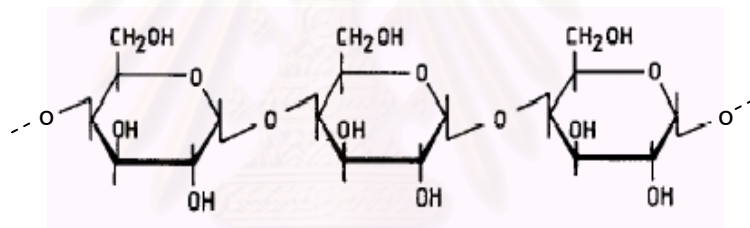
เพื่อศึกษาผลของน้ำหนักโมเลกุล ระดับการกำจัดหมู่แอสีทิล และความเข้มข้นของโคโตซานในสารละลายกรดแอสีติก ซิตริก และแลกติกต่อลักษณะการไหลและการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์น้ำส้มพร้อมดื่ม

## บทที่ 2 วารสารปริทัศน์

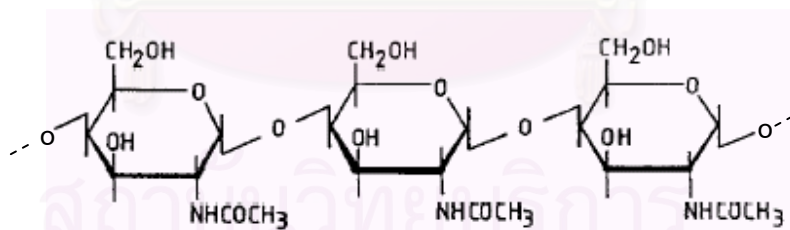
### 2.1. ไคติน

ไคตินเป็นพอลิเมอร์ธรรมชาติสามารถพบได้ในเปลือกกุ้ง กระดองปู แขนในลำตัวของปลาหมึก เปลือกของแมลงบางชนิด และผนังเซลล์ของรา เนื่องจากเป็นองค์ประกอบในเปลือกของสัตว์ จึงทำหน้าที่เป็นโครงสร้างหลักของตัวสัตว์

ไคตินพบมากในธรรมชาติเป็นอันดับที่สองรองจากเซลลูโลสและมีโครงสร้างทางเคมีที่คล้ายคลึงกับเซลลูโลส ดังรูปที่ 2.1 เซลลูโลสเป็นพอลิเมอร์ของกลูโคส เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ  $\beta(1,4)$  (Fereidoon และคณะ, 1999)



เซลลูโลส



ไคติน

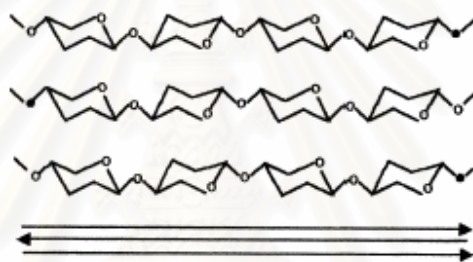
รูปที่ 2.1 โครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลสและไคติน

ที่มา: Ravindra, Kameswara และ Khan (1998)

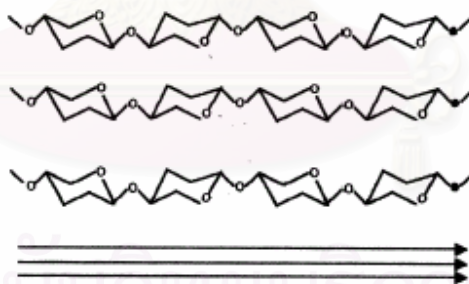
ไคตินมีชื่อทางเคมีว่า poly  $\beta(1,4)$ -2-acetamido-2-deoxy-D-glucose จัดอยู่ในกลุ่มของคาร์โบไฮเดรตผสม ประกอบด้วยมอนอเมอร์คือ 2-acetamido-2-deoxy-D-glucose หรือเรียกว่า

N-acetylglucosamine ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของกลูโคส โดยคาร์บอนอะตอมตำแหน่งที่ 2 ในโมเลกุลของกลูโคสมีหมู่ acetamido (-NH-CO-CH<sub>3</sub>) แทนหมู่ hydroxyl (-OH) และแต่ละหน่วยของ N-acetylglucosamine เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ  $\beta(1,4)$  มีสูตรทางเคมี คือ (C<sub>8</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>5</sub>)<sub>n</sub> ประกอบด้วยคาร์บอนร้อยละ 47.29 ไฮโดรเจนร้อยละ 6.45 ไนโตรเจนร้อยละ 6.89 และออกซิเจนร้อยละ 39.37 โดยน้ำหนัก (เขาวภา ไหวพริบ, 2534) มีโครงสร้างที่แข็งแรง และมีการจัดเรียงตัวของรูปแบบของสายพอลิเมอร์เป็น 3 ลักษณะ (กระทรวงวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม, 2544) ได้แก่

- แอลฟาไคติน มีการเรียงตัวของสายโซ่โมเลกุลในลักษณะที่สวนทางกัน (anti-parallel chain alignment) ดังรูปที่ 2.2(a) ส่วนใหญ่จะพบแอลฟาไคตินในเปลือกของกุ้งและกระดองปู



(a)



(b)

รูปที่ 2.2 ลักษณะการจัดเรียงตัวของไคตินแบบ (a) anti-parallel และ (b) parallel

ที่มา: Rudrapatnam, Tharanathan และ Farooqahmed (2003)

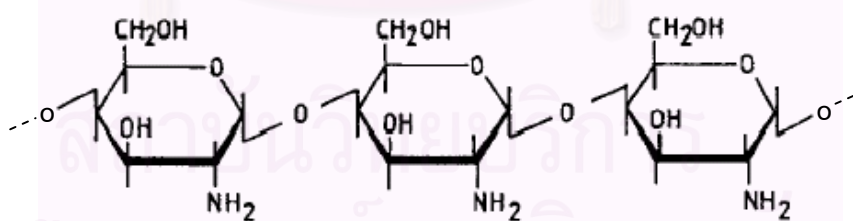


- เบตาไคติน มีการเรียงตัวของสายโซ่โมเลกุลในทิศทางเดียวกัน (parallel chain alignment) ดังรูปที่ 2.2(b) ส่วนใหญ่จะพบเบตาไคตินในแกนปลาหมึก และจากการจัดเรียงตัวของสายโซ่โมเลกุลในทิศทางเดียวกัน ทำให้เบตาไคตินมีเสถียรภาพทางเคมีดีกว่าแอลฟาไคติน
- แกมมาไคติน จะเป็นโครงสร้างผสมระหว่างแอลฟาไคตินและเบตาไคติน

ไคตินมีสถานะเป็นของแข็ง ไม่สามารถละลายได้ในน้ำ สารละลายต่างเจือจาง และตัวทำละลายอินทรีย์ แต่สามารถละลายได้ดีในสารละลายกรดอินทรีย์ เช่น กรดไฮโดรคลอริก กรดฟอสฟอริก เป็นต้น (Muzzarelli, 1977) และสามารถละลายได้ดีใน dimethylacetamide-lithium chloride (Tsaih และ Chen, 1997)

## 2.2. ไคโตซาน

ไคโตซานเป็นอนุพันธ์หนึ่งของไคติน ได้จากการนำไคตินมาผ่านกระบวนการ deacetylation โดยใช้สารละลายต่างเข้มข้น ซึ่งกระบวนการนี้จะเป็นการดึงหมู่ acetyl ( $-\text{CO}-\text{CH}_3$ ) ออกจากโมเลกุลของหน่วยย่อย N-acetylglucosamine ของสายไคติน ได้เป็นมอนอเมอร์ใหม่ที่มีชื่อว่า 2-amino-2-deoxy-glucose หรือเรียกว่า glucosamine ดังนั้น ไคโตซานจึงเป็นพอลิเมอร์ของหน่วยย่อย glucosamine ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ glucose โดยคาร์บอนอะตอมตำแหน่งที่ 2 มีหมู่ amino ( $-\text{NH}_2$ ) มาเกาะแทนหมู่ acetamido (Fereidoon และคณะ, 1999) ดังรูปที่ 2.3



ไคโตซาน

### รูปที่ 2.3 โครงสร้างทางเคมีของไคโตซาน

ที่มา: Ravindra และคณะ (1998)

กระบวนการ deacetylation ไม่สามารถกำจัดหมู่ acetyl ออกจากสายไคตินได้ทุกโมเลกุล ดังนั้น ในสายของไคโตซานจึงยังมีสัดส่วนของ N-acetylglucosamine (หน่วยย่อยของไคติน) และ glucosamine (หน่วยย่อยของไคโตซาน) ต่างๆ กัน กล่าวคือไคตินที่ผ่านกระบวนการ deacetylation ที่ภาวะต่างกัน ย่อมมีปริมาณของ glucosamine ในสายโมเลกุลไม่เท่ากัน ซึ่งการจัดระดับของการ deacetylation มีค่าเป็นร้อยละ เรียกว่า degree of deacetylation หรือ %DD (กมลศิริ พันธนีเยะ, 2546) โดยไคตินที่ผ่านกระบวนการ deacetylation แล้วมีค่า %DD มากกว่า 70% จึงจะเรียกว่า ไคโตซาน (Li และคณะ, 1997) ถ้าไคโตซานมีค่า %DD เท่ากับ 80% ในสายพอลิเมอร์นั้นจะประกอบด้วย glucosamine 80% และ N-acetylglucosamine อีก 20%

การเพิ่มปริมาณ glucosamine ส่งผลให้สายโมเลกุลของไคโตซานมีประจุบวกเพิ่มขึ้น ไคโตซานจึงละลายในสารละลายกรดได้ดีกว่าไคติน เพราะมีความสามารถในการรับโปรตอนจากตัวทำละลายได้ ดังนั้นไคโตซานจึงสามารถละลายได้ในสารละลายกรดอินทรีย์เจือจางที่มีค่า pH น้อยกว่า 6 เช่น กรดแอสติก กรดแลคติก เป็นต้น (Ravindra และคณะ, 1998) นอกจากนี้ยังสามารถละลายได้ในสารละลายกรดอินทรีย์เจือจางบางชนิด เช่น กรดไฮโดรคลอริก กรดไนตริก เป็นต้น ความสามารถในการละลายของไคโตซานในสารละลายกรดชนิดต่างๆ แสดงดังตารางที่ 2.1

ไคโตซานเป็นพอลิเมอร์ที่มีความหนาแน่นของประจุบวกสูง จัดอยู่ในพวกแคทไอออนิกพอลิอิเล็กโทรไลต์ (cationic polyelectrolyte) ที่มีศักยภาพในการนำไปประยุกต์ใช้ได้มากกว่าไฮโดรคอลลอยด์หรือพอลิแซคคาไรด์ที่ไม่มีประจุหรือเป็นประจุลบ เพราะเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิตส่วนใหญ่มีประจุลบ ดังนั้นประจุบวกของไคโตซานจึงจับกับผิวที่เป็นประจุลบได้แน่น จึงเป็นสมบัติสำคัญในการนำไปใช้ด้านการแพทย์

เนื่องจากไคตินมีการจัดเรียงตัว 3 แบบ คือ แอลฟาไคติน เบตาไคติน และแกมมาไคติน ซึ่งเมื่อนำแอลฟาไคติน เบตาไคติน และแกมมาไคติน มาผ่านกระบวนการ deacetylation ที่ภาวะเดียวกัน พบว่าเบตาไคตินหรือไคตินที่ได้จากแกนปลาหมึกนั้น มีค่า % DD สูงกว่าแอลฟาไคตินหรือไคตินที่ได้จากเปลือกกุ้ง เพราะเบตาไคตินมีเสถียรภาพทางเคมีน้อยกว่าแอลฟาไคติน (Li และคณะ, 1997) สามารถแสดงได้ดังรูปที่ 2.4

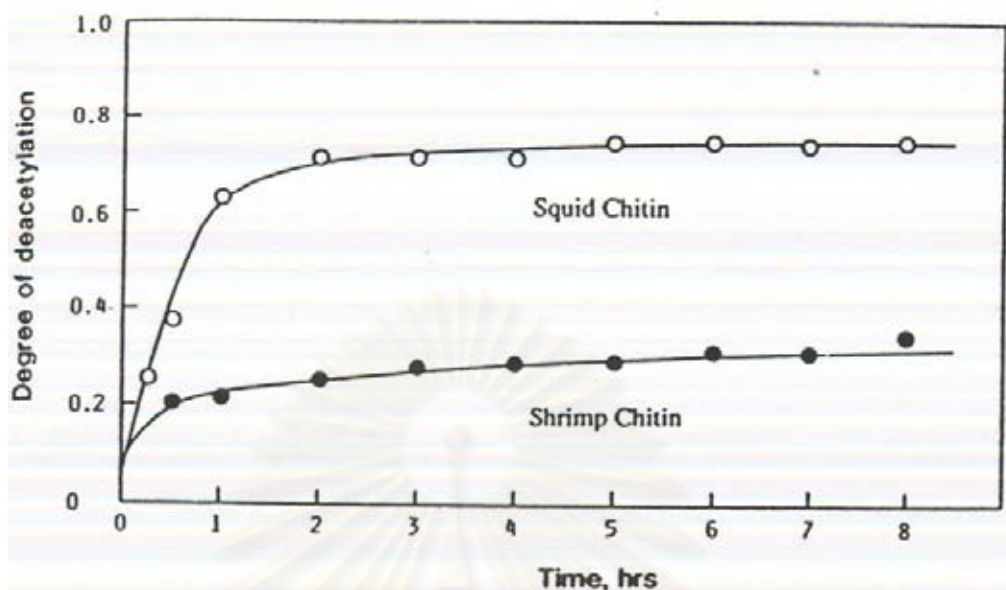
ตารางที่ 2.1 การละลายของโคโคซานในสารละลายกรดชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้นต่างกัน

ชนิดของกรด	ความเข้มข้นของสารละลายกรด (ร้อยละโดยน้ำหนัก)				
	1	5	10	50	>50
formic acid	+	+	+	+	+
acetic acid	+	+	+	+	
lactic acid	+	+	+		
citric acid	+	+	+		
tartaric acid	+	+	+		
malic acid	+	+	+		
oxalic acid	+	+	+		
hydrochloric acid	+				
adipic acid	+				
nitric acid	+				
malonic acid	+				
propionic acid	+				
pyruvic acid	+				
succinic acid	+				

หมายเหตุ: + หมายถึงละลายได้

ที่มา: รามนรี เนตรวิเชียร (2543)

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 2.4 Degree of deacetylation ของแอลฟาไคตินและเบตาไคตินเมื่อผ่านกระบวนการ deacetylation ด้วย 30% sodium hydroxide ที่  $100^{\circ}\text{C}$  ที่เวลาต่าง ๆ  
ที่มา: Li และคณะ (1997)

ในปัจจุบันมีการนำไคโตซาน มาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ อย่างแพร่หลาย ดังนี้ (กระทรวงวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม, 2544)

- ด้านการเกษตร

เนื่องจากไคโตซานมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบทางเคมีอยู่ด้วย จึงสามารถประยุกต์ใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพ สารช่วยในการเจริญเติบโตของพืช และสารเคลือบเมล็ดพันธุ์พืช และผลิตผลทางการเกษตร เพื่อช่วยยืดอายุในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์และผลิตผลทางการเกษตร ได้มีการทดลองเคลือบผิวมังคุดด้วยสารละลายไคโตซานความเข้มข้น  $1.5 \text{ g}/100 \text{ mL}$  และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $13^{\circ}\text{C}$  พบว่าสามารถยืดอายุการเก็บของมังคุดได้ถึง 30 วัน โดยไม่เกิดอาการสะท้อนหนาว (chilling injury) (ชัยรัตน์ นันทภัทร์, ดวงพร สาระมาศ และอนรรณี วิทยาปัญญาพันธ์, 2543)

- ด้านการแพทย์และเภสัชกรรม

มีรายงานทางวิทยาศาสตร์ ที่กล่าวถึงสมบัติของไคโตซานที่ช่วยในการลดไขมันบางชนิด เช่น โคลเลสเตอรอล ไคโตซานจึงมีบทบาทในอาหารเสริมเพื่อสุขภาพ ลดไขมัน ลดน้ำหนัก ทั้งยังสามารถนำมาขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มเพื่อใช้ผลิตเป็นผิวหนังเทียมเพื่อรักษาแผลไฟไหม้ น้ำร้อนลวก และ

นำมาใช้เป็นสารหล่อลื่นในเยื่อเมือก ใช้รักษาเหียงอกและฟัน และช่วยในการทำให้เลือดแข็งตัวเร็วขึ้น เป็นต้น

- ด้านเทคโนโลยีชีวภาพ

จากลักษณะที่โดดเด่นเฉพาะตัวของไคโตซานคือ การเป็นเส้นใยและความสามารถในการขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มได้ ไคโตซานจึงถูกนำมาใช้เป็นสารห่อหุ้มเอนไซม์และเซลล์ต่างๆ ได้ด้วย เทคนิคอิมโมบิไลเซชัน และนำมาขึ้นรูปเป็นแผ่นเยื่อบางเพื่อใช้ในการกรองแยกในเทคนิคไดอะไลซิส และเทคนิคอูลตราฟิลเตรชันได้

- ด้านเทคโนโลยีทางอาหาร

ในบางประเทศได้มีการใช้ไคโตซานเป็นวัตถุเจือปนในอาหาร (food additive) เนื่องจากไคโตซานมีสมบัติยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์และเชื้อราบางชนิด จึงใช้ไคโตซานเป็นสารกันบูด และยังใช้ไคโตซานเป็นสารให้ความคงตัวในอาหารได้เนื่องจากไคโตซานให้ความข้นหนืดเมื่ออยู่ในสารละลาย นอกจากนี้ยังนำไคโตซานมาขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มเพื่อผลิตเป็นบรรจุภัณฑ์สำหรับอาหารที่สามารถย่อยสลายได้ในธรรมชาติ

ไคโตซานยังสามารถใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมด้านอื่นได้อีกมาก อาทิเช่นอุตสาหกรรมที่มีน้ำเสียที่มีโลหะหนักเจือปน เนื่องจากไคโตซานมีหมู่ amine ที่สามารถเกิดพันธะโคเวเลนต์กับไอออนของโลหะ เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนขึ้น จึงสามารถใช้ไคโตซานเป็น chelating agent แยกโลหะออกไปจากน้ำเสียได้ (Li และคณะ, 1997)

### 2.3 สมบัติการไหล(Rheological properties)

สมบัติทางการไหล (rheological properties) หรือสมบัติทางวิทยากระแส คือการไหลและการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของสสารเมื่อได้รับแรงกระทำประเภทใดประเภทหนึ่งใน 3 ประเภทคือ shear, extension และ bulk compression สำหรับของเหลวการเปลี่ยนแปลงรูปร่างจะเกิดจากการได้รับแรงเฉือน (shear force)



## 2.3.1 การแบ่งประเภทของของไหลตามลักษณะการไหล

### 2.3.1.1 Newtonian fluid

เมื่อของไหลชนิดนี้ได้รับแรงเฉือน ค่าความเค้นเฉือน (shear stress) ที่ตอบสนองจะสัมพันธ์กับอัตราเฉือน (shear rate) ที่ได้รับดังสมการที่ (2.1) ดังนั้น ความหนืดของของไหลชนิดนี้จะไม่ขึ้นกับ shear rate แต่ขึ้นกับอุณหภูมิและองค์ประกอบของของไหล

$$\sigma = \eta \dot{\gamma} \quad (2.1)$$

โดย	$\sigma$	=	shear stress	(N/m <sup>2</sup> )
	$\eta$	=	coefficient of viscosity	(N.s/m <sup>2</sup> )
	$\dot{\gamma}$	=	shear rate	(s <sup>-1</sup> )

### 2.3.1.2 Non-Newtonian fluid

เมื่อของไหลชนิดนี้ได้รับแรงเฉือนค่าความหนืดจะแปรตาม shear rate ยกเว้น ของไหลแบบ Bingham plastic ซึ่งสามารถแบ่งได้ 2 แบบคือ

#### (a) Time-independent non-Newtonian fluid

ความหนืดของไหลประเภทนี้จะไม่ขึ้นกับเวลาที่ได้รับ shear force ได้แก่ Bingham plastic ค่า shear stress และ shear rate มีความสัมพันธ์กันตาม Bingham model นั่นคือ

$$\sigma = \sigma_0 + \eta \dot{\gamma} \quad (2.2)$$

โดย  $\sigma_0$  = yield stress หรือ ความเค้นเครียดต่ำสุดที่ทำให้เกิดการไหล (N/m<sup>2</sup>)

ของไหลประเภทนี้จะต้องได้รับ shear stress มากกว่า yield stress จึงจะเกิดการไหล แต่ความหนืดของของไหลจะไม่ขึ้นกับ shear rate

shear thinning fluid หรือ Pseudoplastic fluid ของไหลประเภทนี้จะมีค่าความหนืดลดลง เมื่อได้รับ shear rate เพิ่มขึ้น

shear thickening fluid หรือ Dilatant fluid ของไหลจะมีพฤติกรรมตรงข้ามกับ Pseudoplastic fluid คือเมื่อได้รับ shear rate เพิ่มขึ้น ความหนืดของของไหลจะเพิ่มขึ้น

ทั้งนี้ Pseudoplastic และ Dilatant fluid จะมีความสัมพันธ์ระหว่าง shear rate และ shear stress ตาม Power law model นั่นคือ

$$\sigma = K\dot{\gamma}^n \quad (2.3)$$

และหากของไหลทั้งแบบ Pseudoplastic fluid และ Dilatant fluid มี yield stress หรือเรียกว่า plastic fluid จะมีความสัมพันธ์ระหว่าง shear rate และ shear stress ตาม Herschel-Bulkley model นั่นคือ

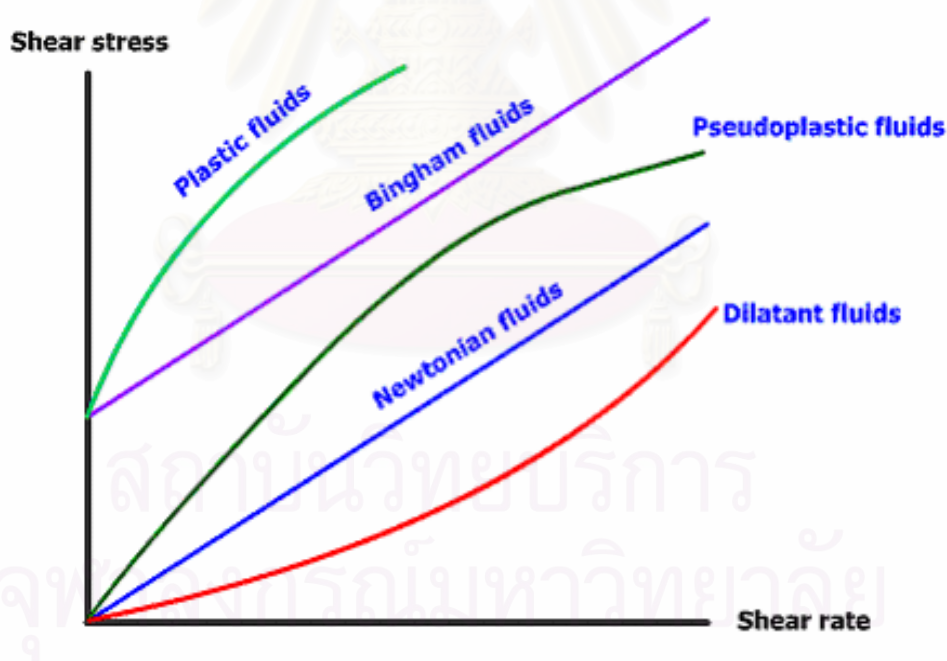
$$\sigma = \sigma_0 + K\dot{\gamma}^n \quad (2.4)$$

โดย  $K$  = consistency index

และ  $n$  = flow behavior index เป็นค่าบ่งชี้ลักษณะการไหล  
เมื่อ  $n > 1$  ของไหลจัดเป็น Dilatant fluid

$n < 1$  ของไหลจัดเป็น Pseudoplastic fluid

ลักษณะการไหลที่กล่าวมานั้นสามารถแสดงได้ดังรูปที่ 2.5



รูปที่ 2.5 ความสัมพันธ์ระหว่าง shear rate และ shear stress ของของไหลแบบ Time-independent non-Newtonian fluid และ Newtonian fluid

ที่มา: ดัดแปลงจาก Steffe (1992)

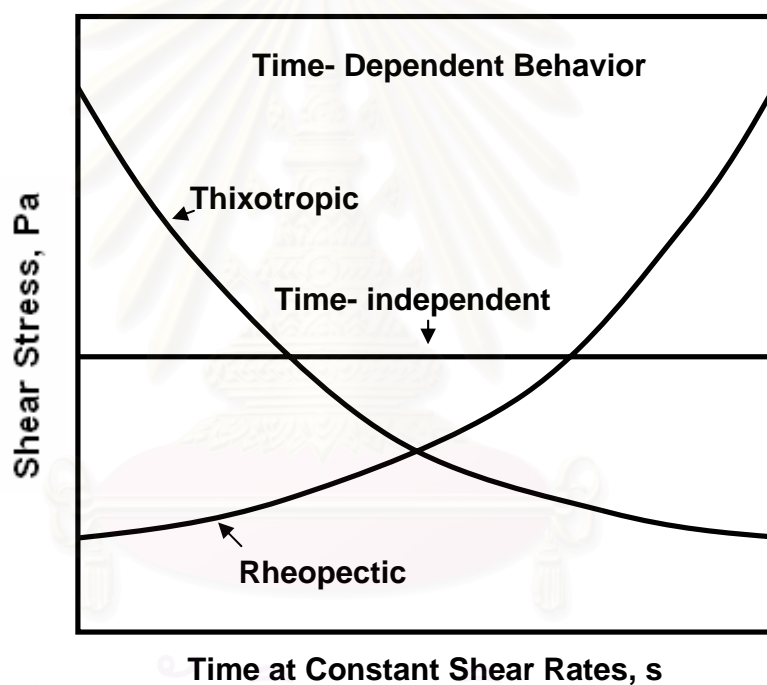
(b) Time-dependent non-Newtonian fluid

ความหนืดของของไหลประเภทนี้จะขึ้นกับเวลาที่ได้รับ shear rate ด้วย ซึ่งได้แก่

Thixotropic fluid โดยความหนืดของของไหลจะมีค่าลดลง เมื่อเวลาในการให้ shear rate เพิ่มขึ้น

Rheopectic fluid โดยความหนืดของของไหลจะมีค่าเพิ่มขึ้น เมื่อเวลาในการให้ shear rate เพิ่มขึ้น

ความแตกต่างระหว่างของไหลแบบ Thixotropic Rheopectic และ Time-independent non-Newtonian fluid สามารถแสดงได้ดังรูปที่ 2.6



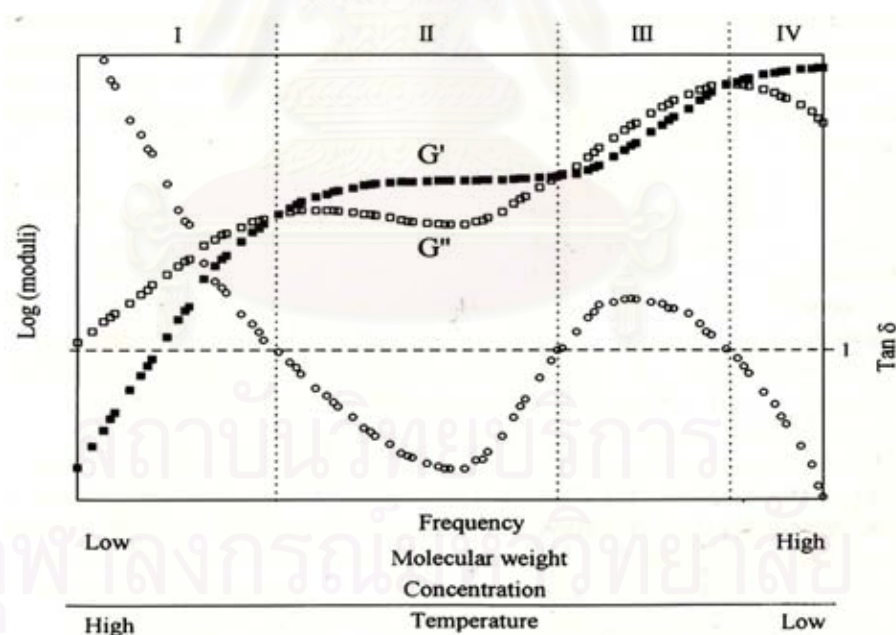
รูปที่ 2.6 ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่ให้ shear rate คงที่และ shear stress ของของไหลแบบ Time-dependent และ Time-independent non-Newtonian fluid

ที่มา: Steffe (1992)

### 2.3.2 การทดสอบลักษณะการไหลแบบ dynamic test

Viscoelasticity คือ พฤติกรรมของวัสดุที่แสดงออกทั้งลักษณะแบบของเหลวและของแข็งพร้อมกัน ซึ่งอาจแสดงพฤติกรรมแบบของเหลวมากกว่าหรือน้อยกว่าพฤติกรรมแบบของแข็งนั้น ขึ้นอยู่กับเวลา อุณหภูมิและแรงที่ให้ ทั้งนี้การทดสอบลักษณะการไหลแบบ dynamic test สามารถบ่งถึงพฤติกรรมของวัสดุแบบ viscoelastic ในช่วงที่ยังไม่สูญเสียโครงสร้างได้ โดยการทดสอบแบบ dynamic test จำเป็นต้องหาช่วง linear viscoelastic range (LVR) ซึ่งเป็นช่วงที่วัสดุสามารถแสดงพฤติกรรมได้โดยไม่สูญเสียโครงสร้างเพื่อใช้ในการทดสอบ

การทดสอบลักษณะการไหลแบบ dynamic test สามารถแบ่งได้ 3 ประเภท คือ frequency sweep test, temperature sweep test และ time sweep test ซึ่งการทดสอบแบบ frequency sweep test สามารถแสดงให้เห็นถึงการตอบสนองต่อความถี่ในการให้แรงของวัสดุต่างชนิดกันได้ รูปที่ 2.7 แสดงค่า elastic modulus (storage modulus,  $G'$ ) และ viscous modulus (loss modulus,  $G''$ ) ของพอลิเมอร์ที่มีความสัมพันธ์กับค่าความถี่ที่ใช้ในการทดสอบ



รูปที่ 2.7 Moduli spectrum ของสารละลายพอลิเมอร์เมื่อทดสอบลักษณะการไหลแบบ dynamic test

ที่มา: Kasapis, 1998

พอลิเมอร์โดยทั่วไปจะตอบสนองต่อความถี่ที่ใช้ในการทดสอบดังแสดงในรูปที่ 2.7 ซึ่งสามารถแบ่งช่วงความสัมพันธ์ระหว่าง moduli และความถี่ที่ใช้ในการทดสอบได้เป็น 4 ช่วง โดยความถี่ที่สารละลายพอลิเมอร์มีการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมในแต่ละช่วงจะแตกต่างกันไปและขึ้นอยู่กับขนาด การกระจายของขนาด และโครงร่างของพอลิเมอร์ นอกจากนี้ยังขึ้นกับความเข้มข้นของสารละลายพอลิเมอร์ด้วย แต่ละช่วงนั้นแบ่งถึงพฤติกรรมของสารละลายพอลิเมอร์ ดังนี้

1. Terminal zone เป็นช่วงการทดสอบที่ใช้ความถี่ต่ำหรือช่วงเวลาที่ใช้ในการสังเกต (observation time) นาน เมื่อให้แรงแกว่งตัวช้าๆ สามารถเห็นการไหลได้ (viscous flow) เนื่องจากการกระจายพลังงานและการคลายตัวของสายโมเลกุล (chain relaxation) เกิดได้เต็มที่ จึงสังเกตเห็นค่า  $G'$  ต่ำกว่า  $G''$  โดยทั้งค่า  $G'$  และ  $G''$  เพิ่มตามความถี่ที่ใช้ในการทดสอบแล้วตัดกันที่จุดสิ้นสุดของช่วง

2. Plateau zone เมื่อให้ความถี่ที่สูงขึ้นหรือเวลาที่ใช้ในการสังเกตการเปลี่ยนแปลงแรงลดลง จะเห็น  $G'$  และ  $G''$  ตัดกันแล้ว  $G'$  สูงกว่า  $G''$  แสดงพฤติกรรมในช่วง rubbery state อันเป็นผลมาจากโครงร่างตาข่าย (network) ที่เกิดขึ้นในวัตถุที่สามารถรับแรงกระทำและไม่กระจายพลังงาน

3. Glass transition zone ในช่วงนี้ค่า  $G'$  มาตัดกับ  $G''$  อีกครั้งและ  $G'$  กลับมีค่าต่ำกว่า  $G''$  เกิดเนื่องจากการคลายตัวของสายโมเลกุลบางส่วน (segment relaxation) ในโครงร่างตาข่ายก่อนที่จะเข้าสู่ glassy zone

4. Glassy zone ในช่วงนี้เวลาในการสังเกตต่ำมาก วัตถุไม่สามารถเกิดการคลายตัวและตอบสนองต่อการเปลี่ยนรูปร่างได้ จะสังเกตเห็น  $G'$  สูงกว่า  $G''$  และ  $G''$  มีค่าลดลง

### 2.3.3 ปัจจัยที่มีผลต่อลักษณะการไหลของสารละลายไคโตซาน

ลักษณะการไหลของสารละลายไคโตซานสามารถเปลี่ยนแปลงได้ตามปัจจัยต่างๆ ซึ่งได้แก่ ความเข้มข้น ระดับการกำจัดหมู่แอซีทิล (degree of deacetylation, %DD) ionic strength น้ำหนักโมเลกุล pH และอุณหภูมิ (Li และคณะ, 1997) นอกจากนี้ ชนิดของตัวทำละลายยังมีผลต่อลักษณะการไหลของไคโตซานเช่นกัน (Hamdine, Heuzey และ Bégin, 2005) ทั้งนี้จะกล่าวถึงปัจจัยบางประการซึ่งได้แก่ ความเข้มข้น ระดับการกำจัดหมู่แอซีทิล และน้ำหนักโมเลกุล ดังนี้



### 2.3.3.1 ความเข้มข้น

เมื่อละลายพอลิเมอร์ลงในตัวทำละลาย โมเลกุลของพอลิเมอร์จะคลายออก ดังนั้นเมื่อความเข้มข้นของสารละลายเพิ่มขึ้น อาจทำให้เกิดการพันกันระหว่างสายโมเลกุล (intermolecule entanglement) มีมากขึ้น (Rao, 1999) ดังแสดงในรูปที่ 2.8 ดังนั้น เมื่อความเข้มข้นของสารละลายเพิ่มขึ้น ย่อมส่งผลต่อลักษณะทางกายภาพของสารละลายโดยเฉพาะความหนืด และลักษณะการไหลของสารละลายของพอลิเมอร์ ที่ความเข้มข้นต่ำ สารละลายพอลิเมอร์แสดงลักษณะการไหลแบบ diluted solution และเปลี่ยนไปเป็น concentrated solution เมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น ซึ่งความเข้มข้นที่ทำให้ลักษณะการไหลเปลี่ยนจาก diluted solution ไปเป็นแบบ concentrated solution เรียกว่า ความเข้มข้นวิกฤต (critical concentration)



รูปที่ 2.8 การเกิดการพันกันของสายพอลิเมอร์เมื่อความเข้มข้นของพอลิเมอร์เพิ่มขึ้น  
ที่มา: Rao (1999)

Mucha (1998) รายงานว่าความเข้มข้นของโคโตซานในสารละลายที่เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ระบบมีความหนืดเพิ่มขึ้น โดยผู้วิจัยได้วัดค่าความหนืดของโคโตซานซึ่งมี %DD เท่ากับ 73.3% และมีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ  $3.2 \times 10^5$  Da ในสารละลายกรดแอสซิติคความเข้มข้น 1% แปรความเข้มข้นของโคโตซานเป็น 1.2 และ 0.5 g/100 mL พบว่าที่อุณหภูมิเท่ากัน สารละลายโคโตซานที่ความเข้มข้น 2 g/100 mL มีความหนืดสูงกว่าสารละลายโคโตซานที่ความเข้มข้น 1 และ 0.5 g/100 mL ตามลำดับ เนื่องจากการเพิ่ม entanglement และทำให้เกิด junction ขึ้นเป็นโครงสร้างคล้ายเจล (gel formation) และได้สรุปว่าการที่ความเข้มข้นของโคโตซานในสารละลายเพิ่มขึ้นนั้น เป็นการทำให้ช่องว่างระหว่างอนุภาคในระบบลดลง เป็นผลให้เกิด interaction ภายในระบบเพิ่มขึ้น จึงเป็นสาเหตุสำคัญ ที่ทำให้มีค่าความหนืด และ activation energy ( $E_a$ ) ของระบบเพิ่มขึ้น

Hwang และ Shin (2000) ทดสอบสมบัติการไหลของสารละลายไคโตซาน 91%DD น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย  $1.71 \times 10^6$  Da ในสารละลาย 0.1 M NaCl/0.1 M  $\text{CH}_3\text{COOH}$  แปรความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานในช่วง 0.25% - 2.5% พบว่าสารละลายไคโตซานที่ความเข้มข้น 2.5% แสดง zero shear viscosity สูงกว่า และเริ่มแสดง Power law region ที่ shear rate ต่ำกว่า สารละลายไคโตซานที่ความเข้มข้นเป็น 2.0 1.5 1.0 0.5 และ 0.25% ตามลำดับ ซึ่งผู้วิจัยได้อธิบายถึงพฤติกรรมของสารละลายไคโตซานที่ shear rate ต่ำๆ ว่าสารละลายยังคงแสดงค่าความหนืดที่คงที่ เนื่องจากอัตราการเกิด disentanglement จากการได้รับแรงเฉือนนั้นเกิดเท่ากับอัตราการเกิด entanglement ใหม่ขึ้น เมื่อเพิ่มแรงเฉือนทำให้อัตราการเกิด disentanglement สูงกว่าอัตราการเกิด entanglement ความหนืดของสารละลายไคโตซานจึงลดลง และเมื่อความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานเพิ่มขึ้น ส่งผลให้การเคลื่อนที่อย่างอิสระของแต่ละสายโมเลกุลเป็นไปอย่างจำกัด เนื่องจากการเพิ่มจำนวน entanglement ทำให้สารละลายไคโตซานที่ความเข้มข้นสูง (2.5%) แสดงลักษณะแบบ Pseudoplastic และให้ความหนืดสูงกว่าสารละลายไคโตซานที่ความเข้มข้นต่ำ (0.25%)

Cho และคณะ (2006) ทดสอบลักษณะการไหลของสารละลายไคโตซาน โดยแปรความเข้มข้นของสารละลายไคโตซาน 93%DD ในสารละลายกรดแอสซิติค 0.5 M เป็น 10.1 20.4 30.9 และ 41.7 g/L พบว่าสารละลายไคโตซานที่ความเข้มข้น 41.7 g/L แสดงค่า moduli สูงกว่า สารละลายไคโตซานที่ความเข้มข้น 30.9 20.4 และ 10.1 g/L ตามลำดับ นอกจากนี้สารละลายไคโตซานที่ความเข้มข้น 10.1 g/L แสดงค่า flow behavior index สูงกว่าสารละลายไคโตซานเข้มข้น 20.4 30.9 และ 41.7 g/L ทั้งนี้ผู้วิจัยได้สรุปว่าการเพิ่มความเข้มข้นเป็นการเพิ่มจำนวน interaction และ entanglement ระหว่างโมเลกุลของไคโตซาน ทำให้การเคลื่อนที่ของแต่ละสายโมเลกุลถูกจำกัด สารละลายไคโตซานจึงแสดงลักษณะ Newtonian น้อยลงและแสดงลักษณะ shear thinning มากขึ้น เมื่อสารละลายมีความเข้มข้นสูงขึ้น

### 2.3.3.2 ระดับการกำจัดหมู่แอสซิติล

ไคโตซานเป็นพอลิเมอร์ระหว่าง N-acetyl glucosamine และ glucosamine จึงมีการจัดระดับของไคโตซานตามสัดส่วนของ glucosamine ที่เกิดจากการกำจัดหมู่แอสซิติลบนสายโมเลกุล ทั้งนี้ค่า %DD มีความสำคัญต่อโครงสร้างของโมเลกุลไคโตซาน เพราะมีผลต่อปริมาณ glucosamine และความหนาแน่นของประจุบนสายโมเลกุล จึงทำให้ไคโตซานมีความสามารถในการละลายได้ดีขึ้น

Wang และคณะ (1991) ศึกษาผลของ %DD ต่อค่าคงที่  $k$  หรือ  $K$  และ  $\alpha$  หรือ  $a$  ในสมการ Mark-Houwink

$$[\eta] = KM_v^a \quad (2.5)$$

โดยที่	$[\eta]$	=	intrinsic viscosity
	$M$	=	molecular weight
	$k, K$	=	the Mark-Houwink constant
	$\alpha, a$	=	the Mark-Houwink exponent

เมื่อแปร %DD เป็น 69 84 91 และ 100% และหา intrinsic viscosity ในสารละลาย 0.2 M  $\text{CH}_3\text{COOH}/0.1$  M  $\text{CH}_3\text{COONa}$  ที่อุณหภูมิ  $30^\circ\text{C}$  พบว่าค่า  $\alpha$  ลดลงจาก 1.12 เป็น 0.81 และค่า  $k$  เพิ่มขึ้นจาก  $0.104 \times 10^{-3}$  เป็น  $16.80 \times 10^{-3}$  mL/g เมื่อไคโตซานมี %DD เพิ่มขึ้นจาก 69% เป็น 100% ซึ่งผู้วิจัยได้สรุปว่า เมื่อ %DD เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ความแข็งเกร็ง (rigidity) ของสายโมเลกุลลดลง เนื่องจากจำนวนพันธะไฮโดรเจนที่เกิดระหว่างหมู่ acetamido ของ N-acetylglucosamine กับหมู่ไฮดรอกซีเมทิลบน glucopyranose ring ลดลง และ glucosamine ซึ่งมีจำนวนหน่วยมากกว่าในไคโตซานที่มี %DD สูง ไม่สามารถสร้างพันธะไฮโดรเจนได้ เพราะอะตอมไนโตรเจนได้รับโปรตอนจากสารละลายกรด จึงทำให้จำนวนประจุบนโมเลกุลเกิดเพิ่มขึ้น ซึ่งมีผลต่อแรง electrostatic repulsion ของแต่ละสายโมเลกุล และแรงนี้สามารถเหนี่ยวนำให้ conformation ของไคโตซานขยายออกได้ จึงเป็นผลให้สารละลาย ไคโตซานที่มี %DD สูง (100%DD) แสดงค่า intrinsic viscosity สูงกว่าไคโตซานที่มี %DD ต่ำ (69%DD) เมื่อเปรียบเทียบในสารละลายไคโตซานที่มี degree of polymerization เท่ากัน

Wang และ Xu (1994) ศึกษาความหนืดและสมบัติการไหลของสารละลายไคโตซาน เมื่อแปร %DD เป็น 75%DD และ 91%DD ในสารละลาย 0.2 M  $\text{CH}_3\text{COOH}$  พบว่าสารละลายไคโตซานที่มี %DD เท่ากับ 75 แสดงค่าความหนืดที่ shear rate  $400 \text{ s}^{-1}$  ต่ำกว่า และแสดงค่า flow behavior index สูงกว่าสารละลายไคโตซานที่มี %DD เท่ากับ 91 โดยผู้วิจัยได้สรุปว่า %DD มีผลต่อความหนืดและลักษณะของสารละลายไคโตซานเนื่องจาก %DD บ่งถึงความหนาแน่นของประจุซึ่งเป็นประจุบวกบนสายโมเลกุลของไคโตซาน และมีผลต่อแรง electrostatic repulsion ทำให้สายโซ่ขยายตัวออก ควบคู่ไปกับการเกิด entanglement ที่เพิ่มขึ้นจากการขยายตัวของสายโมเลกุล จึงทำให้สารละลายไคโตซานแสดงลักษณะแบบ non-Newtonian มากขึ้น

### 2.3.3.3 น้ำหนักโมเลกุล

สารประกอบพอลิเมอร์นั้น เกิดจากการรวมกันของหน่วยย่อยที่เรียกว่ามอนอเมอร์ ซึ่งในพอลิเมอร์ชนิดหนึ่งๆ อาจจะมีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากันหรือไม่ก็ได้ ดังนั้นน้ำหนักโมเลกุลจึงเป็นปัจจัยสำคัญ ที่เป็นตัวกำหนดคุณภาพของพอลิเมอร์นั้นๆ เช่น แป้ง (starch) และเดกซ์ทริน (dextrin) ซึ่งประกอบด้วยมอนอเมอร์เดียวกันคือ กลูโคส แต่มีน้ำหนักโมเลกุลไม่เท่ากัน ส่งผลให้คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพต่างกัน เช่น การละลายของเดกซ์ทรินดีกว่าแป้งเมื่อความเข้มข้นและอุณหภูมิเท่ากัน เป็นต้น (กล้าณรงค์ ศรีรอด และเกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ, 2546)

โคโตซานจัดอยู่ในกลุ่มพอลิเมอร์ น้ำหนักโมเลกุลจึงเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อคุณภาพของโคโตซานเช่นกัน โดยเฉพาะในเรื่องของลักษณะการไหล โดยน้ำหนักโมเลกุลกับค่าความหนืดของของไหลจะมีความสัมพันธ์กันดังแสดงได้โดยสมการของ Mark-Houwink (สมการที่ (2.5)) ซึ่งสามารถบอกได้ว่าเมื่อน้ำหนักโมเลกุลสูงขึ้น ค่า intrinsic viscosity ก็เพิ่มขึ้นด้วย ทั้งนี้ค่า  $a$  ในสมการสามารถบ่งบอก conformation ของพอลิเมอร์ในสารละลายได้ (Tsaih and Chen, 1997)

โดยเมื่อ

$a = 0$  : พอลิเมอร์จะมีรูปร่างเป็นทรงกลม (sphere)

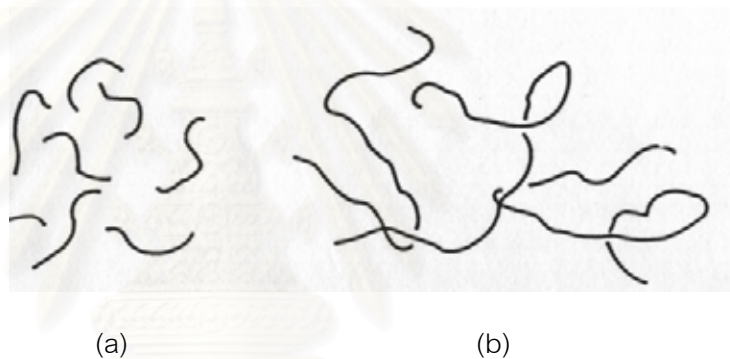
$a = 0.5 - 0.8$  : พอลิเมอร์จะมีรูปร่างเป็น random coil

$a = 1.8$  : พอลิเมอร์จะมีรูปร่างเป็นแท่ง (rod shape)

Tsaih และ Chen (1997) ศึกษาผลของน้ำหนักโมเลกุลของโคโตซานต่อ conformation ของโคโตซานในสารละลาย โดยใช้โคโตซานที่มี %DD เท่ากับ 83% แปรน้ำหนักโมเลกุลของโคโตซานตั้งแต่ 78 – 914 kDa และตัวทำละลายคือ 0.01 N HCl/0.19 N NaCl หาค่า intrinsic viscosity โดยใช้ capillary viscometer กำหนดอุณหภูมิของระบบที่  $30 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$  พบว่าเมื่อน้ำหนักโมเลกุลของโคโตซานในสารละลายลดลง โดยที่สภาวะของโคโตซานในสารละลายมีค่า ionic strength %DD และอุณหภูมิเท่ากันนั้น ค่า intrinsic viscosity ลดลง และค่า  $a$  เพิ่มขึ้น โดยโคโตซานที่น้ำหนักโมเลกุล  $\geq 223$  kDa มี conformation แบบ random coil และโคโตซานที่น้ำหนักโมเลกุล  $\leq 148$  kDa มี conformation แบบ rod ซึ่งผู้วิจัยได้สรุปว่า ขนาดของโมเลกุลที่ไม่เท่ากันทำให้ hydrodynamic volume มีขนาดต่างกัน โดยโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงมี hydrodynamic volume มากกว่าโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ส่งผลให้ค่า intrinsic viscosity ของโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงมากกว่าโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ นอกจากนี้ น้ำหนักโมเลกุลยังมีผลต่อ

conformation ของโคโตซาน เนื่องจากโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงสามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนภายในโมเลกุลมากกว่า และ/หรือมีการกระจายประจุที่สม่ำเสมอกว่าโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ส่งผลให้ conformation ของโคโตซานน้ำหนักโมเลกุลสูง เข้าใกล้แบบ random coil มากขึ้น

จากการที่น้ำหนักโมเลกุลมีผลต่อ conformation ของพอลิเมอร์นั้น ส่งผลให้การเคลื่อนที่อย่างอิสระ (freedom of movement) ของพอลิเมอร์ในสารละลายเปลี่ยนไป โดยพอลิเมอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงมี conformation แบบ random coil ซึ่งมีการบิดขดของสายโมเลกุล จึงมีโอกาสยืดออกยาก ทำให้โมเลกุลเคลื่อนที่ได้ยากกว่า conformation แบบ rod ของพอลิเมอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ จึงมีโอกาสเกิด entanglement สูงกว่า ซึ่ง entanglement ช่วยทำให้วัสดุอยู่ตัวภายใต้แรงเค้น จึงทำให้ความเหนียวเพิ่มขึ้นด้วย (ชลธิชา นุ่มหอม, 2538) ดังแสดงในรูปที่ 2.9



รูปที่ 2.9 ลักษณะการพันของพอลิเมอร์ (a) พอลิเมอร์น้ำหนักโมเลกุลต่ำ (b) พอลิเมอร์น้ำหนักโมเลกุลสูง  
ที่มา: ชลธิชา นุ่มหอม (2538)



## บทที่ 3

### ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

#### 3.1 สารเคมีและอุปกรณ์

##### 3.1.1 วัสดุดิบ

1. ไคติน (บริษัทต้าหมิงเอ็นเตอร์ไพรส์ จำกัด, ประเทศไทย) ได้รับความอนุเคราะห์จากภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
  2. ส้มเขียวหวาน ขนาด 23 – 25 ผลต่อ 1 กิโลกรัม จากตลาดสดพระประแดง
- จ. สมุทรปราการ
3. น้ำตาลทรายตรามิตรผล

##### 3.1.2 สารเคมี

- |  |                    |
|--|--------------------|
| 1. กรดซิตริก ( $\text{COOHCH}_2\text{C}(\text{OH})\text{COOHCH}_2\text{COOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$ ) | (AR grade)         |
| 2. กรดซิตริก   | (food grade)       |
| 3. กรดทาร์ทาริก  | (AR grade)         |
| 4. กรดแลกติก   | (AR grade)         |
| 5. กรดแอสซิติค ความเข้มข้นประมาณร้อยละ 100   | (AR grade)         |
| 6. กรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้นร้อยละ 37   | (AR grade)         |
| 7. โซเดียมคลอไรด์  | (AR grade)         |
| 8. โซเดียมแอสซีเตต ( $\text{CH}_3\text{COONa}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ )                              | (AR grade)         |
| 9. โซเดียมไฮดรอกไซด์   | (commercial grade) |
| 10. โซเดียมไฮดรอกไซด์  | (AR grade)         |
| 11. โพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลต   | (AR grade)         |
| 12. เอนไซม์ Pectinex <sup>®</sup> Ultra SP-L   | (food grade)       |
| 13. แอสซีโตน   | (HPLC grade)       |
| 14. N-acetyl D-glucosamine   | (AR grade)         |



### 3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Plate Count Agar (PCA)
2. Potato Dextrose Agar (PDA)

### 3.1.4 อุปกรณ์

1. กระดาษกรองเบอร์ 1 (Whatman International Ltd., England)
2. เครื่องเขย่า (model GYROTORRY G2, NEW BRUNSWICK SCIENTIFIC Co., Inc., USA.)
3. เครื่องเซนตริฟิวจ์ (model EBA12, Andreas Hettich GmbH & Co. KG., Germany)
4. เครื่องวัดสี (model CR-300 ร่วมกับฐานรอง CR-A71, Minolta Co., Ltd., Japan)
5. ตู้บ่มเชื้อ (model B30, MEMMERT GmbH Co. KG., Germany)
6. ถังสำหรับแช่ไคติน
7. นาฬิกาจับเวลา (model sw01-x008, Alba, Thailand)
8. Autoclave (model SS-320, TOMY SEIKO Co., Ltd., Japan)
9. Blender (32BL80, WARING, USA.)
10. Bohlin rheometer (model C – VOR, Malvern Instruments Ltd., UK.)
11. Cannon-Fenske viscometer เบอร์ 50 (model P478, Kimble Glass, USA.)
12. Dryer (model HP 4812, Philips electronic (Thailand) Ltd., Thailand)
13. Hand homogenizer (model x10/25, ystral gmbh, Germany)
14. Hand refractometer ขนาด 0 – 32% (TAMCO, Japan)
15. pH meter (model Cyberscan pH 1100 Bench, EUTECH Instruments Pte Ltd., Singapore)
16. pH paper (MERCK KGaA, Germany)
17. Quartz cuvette (Starna<sup>®</sup> Brand)
18. Spectrophotometer (model V-530, JASCO Co., Japan)
19. Thermostat (model SP-12R, Taitec Corporation, Japan)
20. Tray dryer (model MICROTEMP TFC-900, YEOHENG Co., Ltd, Thailand)

21. Water bath (type DT-1, Heto Lab Equipment, Denmark)
22. Water bath shaker (model SW23, JULABO Labortechnik GmbH, Germany)

### 3.2 วิธีการดำเนินงานวิจัย

#### 3.2.1 การผลิตโคโคซานที่ %DD และน้ำหนักโมเลกุลต่างกัน

##### 3.2.1.1 การทำความสะอาดโคโคติน

1. ลดขนาดโคโคตินและล้างทำความสะอาดโดยบดโคโคตินกับน้ำในอัตราส่วน 10 g ต่อ 500 mL ด้วย blender ความเร็วต่ำนาน 30 วินาที 2 ครั้ง กรองด้วยตะแกรงและอบแห้งด้วย tray dryer ที่ 40°C ซ้ำมคืน
2. แช่โคโคตินที่บดแล้วกับสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1 M นาน 3 ชั่วโมง ล้างจนน้ำสุดท้ายเป็นกลาง กรองด้วยตะแกรงและอบแห้งด้วย tray dryer ที่ 40°C ซ้ำมคืน
3. แช่โคโคตินที่บดแล้วกับสารละลายกรดโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1 M นาน 3 ชั่วโมง ล้างจนน้ำสุดท้ายเป็นกลาง กรองด้วยตะแกรงและอบแห้งด้วย tray dryer ที่ 40°C ซ้ำมคืน
4. เก็บโคโคตินที่ทำความสะอาดแล้วไว้ในถุง polyethylene แบบมีซิปปิด

##### 3.2.1.2 การผลิตโคโคซานโดยการแปร %DD

1. การแปร %DD จะแปรทั้งหมด 3 ช่วง คือ 70 – 80% 80 – 90% และ 90 – 100% โดยแช่โคโคตินลงในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์โดยใช้อัตราส่วนโคโคติน (g) ต่อสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (mL) เป็น 1 : 30 ที่ความเข้มข้น อุณหภูมิ และเวลาดังตารางที่ 3.1 ทำปฏิกิริยาภายใต้บรรยากาศปกติ (ดัดแปลงจาก Tolaimate และคณะ, 2003)

### ตารางที่ 3.1 ความเข้มข้นและเวลาที่ใช้ในการแช่สารละลายไซโตเดียมไฮดรอกไซด์เพื่อแปร %DD

ช่วง %DD ที่ต้องการ	ความเข้มข้นของสารละลายไซโตเดียมไฮดรอกไซด์	อุณหภูมิ (°C)	เวลาที่ใช้ (ชั่วโมง)
70 - 80%	50% (w/w)	50	16
80 - 90%	50% (w/w)	50	24
90 - 100%	50% (w/v)*	90	24

หมายเหตุ: \* เทียบประมาณ 30% (w/w)

2. ล้างโคโตซานที่ได้จนน้ำสุดท้ายเป็นกลาง กรองและอบแห้งด้วย tray dryer ที่อุณหภูมิ 40°C ซ้ำมคิน เก็บโคโตซานที่ได้ในถุง polyethylene แบบมีซิปปิด

3. วิเคราะห์ค่า %DD ด้วย spectrophotometer ดังวิธีวิเคราะห์ในภาคผนวก ก.1 และตัวอย่างการคำนวณในภาคผนวก ข.1 (วิเคราะห์ 3 ซ้ำ)

4. วิเคราะห์หาน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยใช้การหาค่า intrinsic viscosity ดังวิธีวิเคราะห์ในภาคผนวก ก.2 และตัวอย่างการคำนวณในภาคผนวก ข.2 (วิเคราะห์ 3 ซ้ำ)

#### 3.2.1.3 การแปรน้ำหนักโมเลกุล

1. ละลายโคโตซาน 5 g ลงในสารละลายกรดแอสซิติค 0.2 M 250 mL เขย่าที่ 200 rpm เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เพื่อให้สายโมเลกุลของโคโตซานคลายออก แล้วปรับ pH ให้ได้ 5.5 ด้วยสารละลายไซโตเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 M เดิมเอนไซม์ Pectinex<sup>®</sup> Ultra SP-L (activity เท่ากับ 28636 PolyGalacturonase activity unit/mL ต่อหน้าที่ ที่ pH 3.5 อุณหภูมิ 37°C) ด้วยปริมาณตามตารางที่ 3.2 แล้วปรับปริมาตรของสารละลายให้เป็น 500 mL ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ pH 5.5 ที่เตรียมจากสารละลายกรดแอสซิติค 0.2 M และสารละลายไซโตเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 M (ดัดแปลงจาก Cabrera และ Cutsem, 2005)

ตารางที่ 3.2 ปริมาตรของเอนไซม์ Pectinex<sup>®</sup> Ultra SP-L (mL) ที่ใช้ในการแปรน้ำหนักโมเลกุลของโคโตซาน

ช่วง %DD ที่ต้องการ	ปริมาตรของ Pectinex Ultra Spl ที่ใช้ (mL/1 g โคโตซาน)			
	(1)	(2)	(3)	(4)
70 - 80%	0	1	2	3
80 - 90%	0	0.5	1	2
90 - 100%	0	0.5	1	2

หมายเหตุ: (1) (2) (3) และ (4) หมายถึงช่วงน้ำหนักโมเลกุลที่ต่างกัน

2. บ่มสารละลายโคโตซานที่อุณหภูมิ 37°C และเขย่าที่ 150 rpm ใน water bath shaker เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์โดยการต้มขวดบรรจุสารละลายในน้ำเดือดนาน 10 นาที แล้วกรองสารละลายโคโตซานขณะร้อน ด้วยกระดาษกรอง

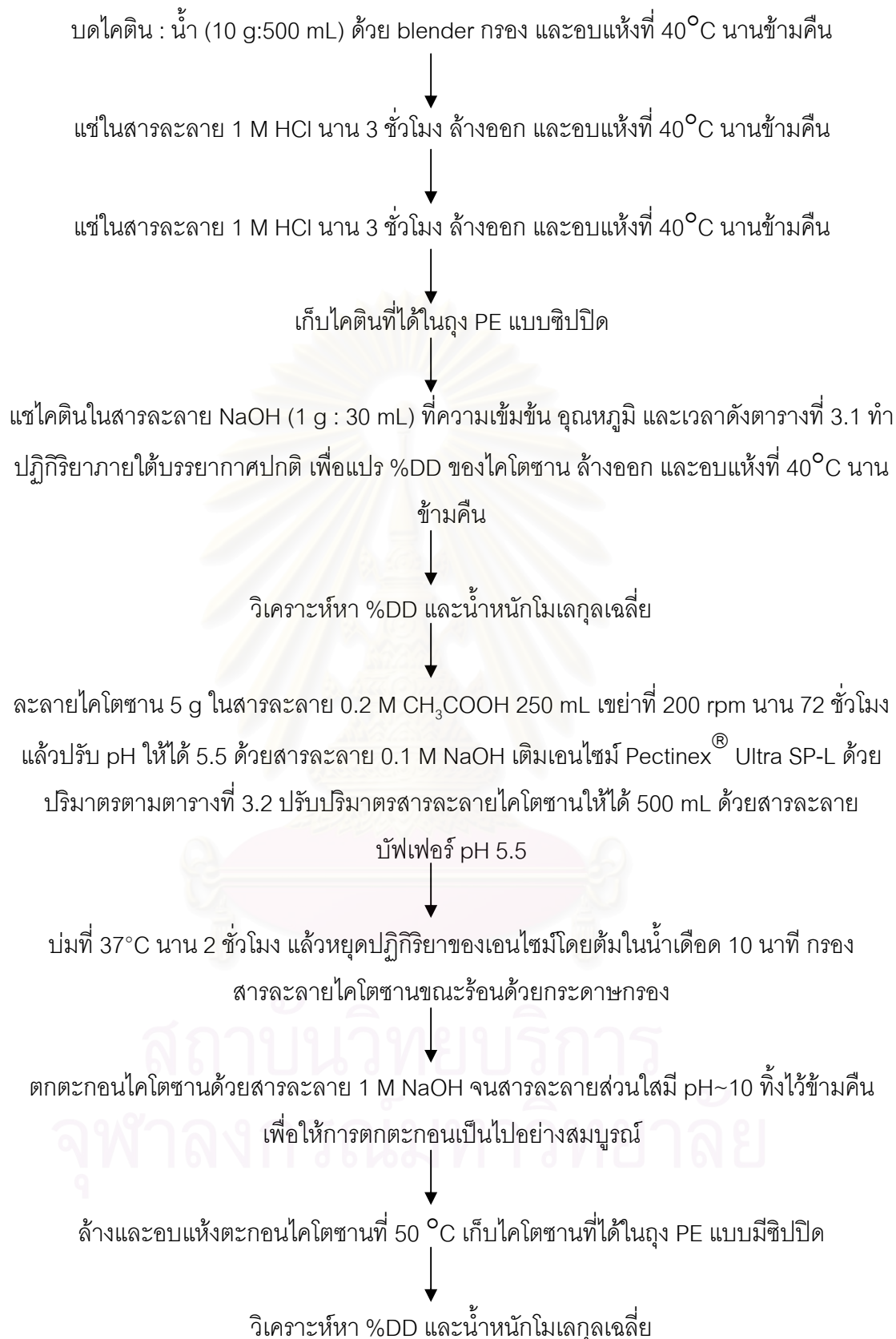
3. ตกตะกอนโคโตซานด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 M จนสารละลายส่วนใสมี pH ประมาณ 10 ทิ้งไว้ข้ามคืนเพื่อให้การตกตะกอนเป็นไปอย่างสมบูรณ์

4. ล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่นจนน้ำล้างสุดท้ายมี pH เท่ากับ 7 แล้วนำตะกอนโคโตซานที่ได้อบแห้งที่อุณหภูมิ 50 °C เก็บโคโตซานที่ได้ในถุง polyethylene แบบมีซิปปิด

5. วิเคราะห์ค่า %DD ด้วย spectrophotometer ดังวิธีวิเคราะห์ในภาคผนวก ก.1 และตัวอย่างการคำนวณในภาคผนวก ข.1 (วิเคราะห์ 3 ซ้ำ)

6. วิเคราะห์หาน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยใช้การหาค่า intrinsic viscosity ดังวิธีวิเคราะห์ในภาคผนวก ก.2 และตัวอย่างการคำนวณในภาคผนวก ข.2 (วิเคราะห์ 3 ซ้ำ)

ขั้นตอนการผลิตโคโตซานที่ %DD และน้ำหนักโมเลกุลต่างกันได้ แสดงดังรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.1 ขั้นตอนการผลิตไคโตซานที่ %DD และน้ำหนักโมเลกุลต่างกัน

### 3.2.2 การทดสอบลักษณะการไหลของสารละลายโคโตซาน

#### 3.2.2.1 การหา equilibrium time ของสารละลายโคโตซาน

เตรียมสารละลายโคโตซาน 77%DD น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย 1212 kDa ที่ความเข้มข้น 2% (w/v) ในสารละลายกรดแอสซิติค 0.5 M สารละลายกรดซิตริก 0.5 M และสารละลายกรดแลกติก 0.5 M ตามลำดับ เขย่าที่ 100 rpm เป็นเวลา 18 ชั่วโมงแล้วบ่มที่ 30°C เป็นเวลา 6 ชั่วโมงเพื่อไล่ฟองอากาศ จากนั้นนำสารละลายโคโตซานในกรด 3 ชนิด มาหาค่าความหนืด ด้วยเครื่อง rheometer ที่ shear rate 272.2 s<sup>-1</sup> (วิเคราะห 3 ซ้ำ)

#### 3.2.2.2 การทดสอบลักษณะการไหลของสารละลายโคโตซานเพื่อหา linear viscoelastic range

เตรียมสารละลายโคโตซาน 77%DD น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย 1212 kDa ความเข้มข้น 4% (w/v) ในสารละลายกรดแอสซิติค 0.5 M สารละลายกรดซิตริก 0.5 M และสารละลายกรดแลกติก 0.5 M บ่มที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 96 ชั่วโมง จากนั้นนำสารละลายโคโตซานมาทดสอบเพื่อหา linear viscoelastic range ด้วยเครื่อง rheometer ดังภาคผนวก ก.3 โดยใช้ amplitude sweep test แบบ control stress ในช่วง 0.02963 – 177.8 Pa และความถี่ 1 Hz ใช้หัววัดแบบ cone and plate (1°, 60 mm) ที่อุณหภูมิ 25°C (วิเคราะห 3 ซ้ำ)

#### 3.2.2.3 การทดสอบลักษณะการไหลของสารละลายโคโตซานเพื่อเปรียบเทียบผลของน้ำหนักโมเลกุล

1. เตรียมสารละลายโคโตซานช่วง 80%DD – 90%DD น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย เป็น 984 375 184 และ 100 kDa ความเข้มข้น 4% (w/v) ในสารละลายกรดแอสซิติค 0.5 M สารละลายกรดซิตริก 0.5 M และสารละลายกรดแลกติก 0.5 M ที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 96 ชั่วโมง

2. ทดสอบลักษณะการไหลของสารละลายโคโตซานด้วยเครื่อง rheometer ใช้หัววัดแบบ cone and plate (1°, 60 mm) ดังภาคผนวก ก.3 ที่อุณหภูมิ 25°C โดยแบ่งเป็น 2 การทดสอบ คือ



- dynamic test แบบ frequency sweep ปรับ control strain เท่ากับ 1% แปรความถี่เป็น 0.1 – 100 Hz
- steady shear test แบบ shear profile แปร shear rate เป็น 1 - 1000 s<sup>-1</sup>

#### 3.2.2.4 การทดสอบลักษณะการไหลของสารละลายไคโตซานเพื่อเปรียบเทียบผลของ %DD

1. เตรียมสารละลายไคโตซาน ช่วงน้ำหนักโมเลกุลเป็น 183 - 189 kDa แปร %DD เป็น 76%DD 88%DD และ 93%DD ความเข้มข้น 6% (w/v) ในสารละลายกรดแอสติก 0.5 M สารละลายกรดซิตริก 0.5 M และสารละลายกรดแลคติก 0.5 M บ่มที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 96 ชั่วโมง
2. ทดสอบลักษณะการไหลของสารละลายไคโตซานตามข้อ 2. ใน 3.2.2.3

#### 3.2.2.5 การทดสอบลักษณะการไหลของสารละลายไคโตซานเพื่อเปรียบเทียบผลของความเข้มข้นของไคโตซาน

1. เตรียมสารละลายไคโตซาน 84%DD น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยเป็น 984 kDa และแปรความเข้มข้นของไคโตซานเป็น 1% 2% 3% และ 4% (w/v) ในสารละลายกรดแอสติก 0.5 M สารละลายกรดซิตริก 0.5 M และสารละลายกรดแลคติก 0.5 M บ่มที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 96 ชั่วโมง
2. ทดสอบลักษณะการไหลของสารละลายไคโตซานตามข้อ 2. ใน 3.2.2.3

### 3.2.3 ศึกษาผลของการใช้ไคโตซานต่อคุณภาพของน้ำส้มเขียวหวานคั้น

#### 3.2.3.1 การเตรียมและวิเคราะห์คุณภาพของน้ำส้มเขียวหวานคั้นสด

1. การเตรียมน้ำส้มเขียวหวาน  
คัดเลือกส้มเขียวหวานสำหรับคั้นน้ำขนาดประมาณ 23 – 25 ผลต่อ 1 กิโลกรัม ล้างน้ำและขัดผิวส้มด้วยแปรงขนนุ่ม ผึ่งแห้ง ผ่าส้มตามขวางของผล คั้นน้ำส้มออกด้วย

เครื่องคั้นโดยกดผลส้มลงไปประมาณ 80% ของผลส้ม แล้วนำน้ำส้มที่คั้นได้กรองเพื่อแยกเศษ เมล็ดออก

2. การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีและกายภาพของน้ำส้มเขียวหวาน  
คุณภาพทางเคมีและกายภาพของน้ำส้มเขียวหวานที่วิเคราะห์ได้แก่
  - ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดด้วย hand refractrometer
  - ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดซิตริก (ภาคผนวก ก.4)
  - ค่า pH ด้วยเครื่อง pH meter
  - ค่าความหนืด ที่ shear rate เท่ากับ  $100 \text{ s}^{-1}$  (ภาคผนวก ก.3)
  - เสถียรภาพความขุ่น (cloud stability) วัดเป็นค่า absorbance (ภาคผนวก ก.5)
  - ค่าสี L a และ b ด้วยเครื่องวัดสี (ภาคผนวก ก.6)

3. การปรับปรุงคุณภาพของน้ำส้มเขียวหวานทางด้านรสชาติ
  - แปรอัตราส่วนระหว่างปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดและปริมาณกรดซิตริก ของน้ำส้มเขียวหวานคั้นสดเป็น 12.95 15.60 และ 18.52
  - ทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยใช้แบบทดสอบชนิดความชอบ (preference test) ด้วยวิธี 7-point hedonic scale (ภาคผนวก ก.9) ผู้ทดสอบ 20 คน วางแผนการทดลองแบบ randomized complete block design เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's new multiple range tests

### 3.2.3.2 การศึกษาผลของการใช้โคโคซานในน้ำส้มเขียวหวานพร้อมดื่มต่อคุณภาพของน้ำส้ม

1. การคัดเลือกโคโคซานจากสมบัติการไหล  
เตรียมสารละลายโคโคซานที่ความเข้มข้น 4% (w/v) ในสารละลายกรดซิตริก 0.5 M โดยแปร %DD (3 ระดับ) และน้ำหนักโมเลกุล (4 ระดับ) ที่งไว้ที่อุณหภูมิ  $30^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 96 ชั่วโมง แล้วทดสอบลักษณะการไหลด้วย steady shear test เพื่อหาค่า flow behavior index วางแผนการทดลองแบบ factorial in completely randomized design ( $3 \times 4$ ) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's new multiple range tests (วิเคราะห์ 2 ซ้ำ)

## 2. การเตรียมสารละลายโคโคซาน

เตรียมสารละลายโคโคซานโดยคัดเลือกโคโคซานที่มี %DD เท่ากับ 92% และมีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย 724 kDa เนื่องจากมีลักษณะการไหลแบบ shear thinning (ดังแสดงในข้อ 4.9.1) ที่ความเข้มข้น 10% (w/v) ในสารละลายกรดซิตริกความเข้มข้น 10% (w/v) นำไปต้มที่ 30°C นาน 96 ชั่วโมง เก็บที่อุณหภูมิ 4°C

## 3. การคัดเลือกความเข้มข้นของโคโคซานในน้ำส้มเขียวหวาน

- แปรความเข้มข้นของโคโคซานในน้ำส้มเขียวหวานเป็น 0% 0.1% 0.25% และ 0.5% (w/v) ด้วยสารละลายโคโคซานที่เตรียมจากข้อ 1 แล้วคนให้ละลายทั่วกัน ปรับอัตราส่วนระหว่างปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดและปริมาณกรดที่ได้จากข้อ 3.2.3.1 โสโม-จิไนซ์ที่ความเร็ว 16000 rpm นาน 1 นาทีต่อปริมาณน้ำส้ม 100 mL

- ทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยใช้แบบทดสอบชนิดความชอบ (preference test) ด้วยวิธี 7-point hedonic scale (ภาคผนวก ก.10) ผู้ทดสอบ 20 คน วางแผนการทดลองแบบ randomized completely block design เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's new multiple range tests

- วัดความหนืดน้ำส้มที่เติมโคโคซานที่ความเข้มข้น 0.1% 0.25% และ 0.5% ที่ shear rate เท่ากับ 100 s<sup>-1</sup> ด้วยเครื่อง rheometer

## 4. การศึกษาผลของการใช้โคโคซานต่อคุณภาพของน้ำส้มเขียวหวานระหว่างการเก็บรักษา

- เตรียมน้ำส้มที่เติมโคโคซานตามความเข้มข้นที่ได้ และตามวิธีจากข้อ 3.2.3.2 แล้วพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 80°C นาน 15 วินาที บรรจุลงในขวดที่ฆ่าเชื้อแล้ว ทำให้เย็น เก็บที่อุณหภูมิ 4°C ตามวิธีของสปีคกัตต์ กลิ่นสอน, รุจิรา สาระอินทร์ และสุภศิริ จิรวัดนพวงศ์ (2546) (ทดลอง 2 ซ้ำ)

- ติดตามคุณภาพของน้ำส้มเขียวหวานตามข้อ 2. ใน 3.2.3.2 โดยคำนวณค่าการเปลี่ยนแปลงสี ( $\Delta E$ ) จากค่าสี (L a และ b) ที่วัดได้ตามวิธีคำนวณในภาคผนวก ก.6 และตรวจปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (ภาคผนวก ก.7) และปริมาณยีสต์และรา (ภาคผนวก ก.8) ที่ 0 1 2 3 5 6 7 และ 8 วัน

## บทที่ 4

### ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

#### 4.1 %DD ของโคโตซานที่ผลิตได้

ค่า %DD และน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยของโคโตซานที่ได้จากการแปรอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ทำปฏิกิริยา deacetylation แสดงดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ค่า %DD และน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยของโคโตซานที่ได้จากการทำปฏิกิริยา deacetylation

ช่วง %DD ที่ต้องการ	อุณหภูมิ (°C)	เวลาที่ใช้ (ชั่วโมง)	ค่า %DD เฉลี่ยที่ผลิตได้*	น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย (kDa)*
70 – 80%DD	50	16	76.58±0.40	1212.41±5.48
80 – 90%DD	50	24	83.56±0.51	984.34±5.00
90 – 100%DD	90	24	91.91±0.22	724.38±4.27

หมายเหตุ: \* หมายถึงค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

จากผลการทดลอง เมื่ออุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา deacetylation เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ %DD มีค่าเพิ่มขึ้น และน้ำหนักโมเลกุลของโคโตซานลดลงเนื่องจากอุณหภูมิและเวลาที่เพิ่มขึ้น ในภาวะที่เป็นต่างสามารถเร่งและทำให้ปฏิกิริยา deacetylation เกิดได้มากขึ้น และทำให้เกิด degradation ของพันธะ glycosidic ในโมเลกุลของโคโตซาน (Wan และคณะ, 2003; Einbu และ Vårum, 2004)

#### 4.2 น้ำหนักโมเลกุลของโคโตซานที่ผลิตได้

โคโตซานที่มี %DD ต่างกันในแต่ละกลุ่มถูกเลือกไปผ่านกระบวนการแปรน้ำหนักโมเลกุลโดยแปรปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อย (Pectinex<sup>®</sup> Ultra SP-L) ซึ่งค่า %DD และน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยของโคโตซานที่ได้จากการแปรน้ำหนักโมเลกุลแสดงดังตารางที่ 4.2 จากผลการทดลอง พบว่าเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์เพิ่มขึ้น น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยของโคโตซานมีค่าลดลงเนื่องจากมีปริมาณเอนไซม์ต่อ substrate เพิ่มขึ้น โคโตซานจึงถูกย่อยได้มากขึ้น

ตารางที่ 4.2 %DD เฉลี่ย และน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย ( $M_v$ , kDa) ของโคโตซานที่ผ่านกระบวนการย่อยด้วยเอนไซม์ Pectinex<sup>®</sup> Ultra SP-L

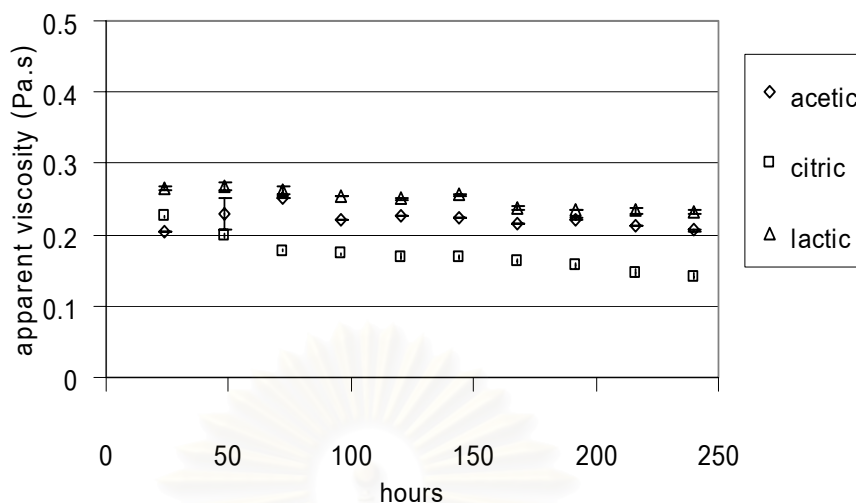
%DD		ช่วงน้ำหนักโมเลกุล (kDa)			
		(1)	(2)	(3)	(4)
70% - 80%	%DD เฉลี่ย*	76.58±0.40	76.20±0.29	76.43±0.66	75.41±0.46
	$M_v$ เฉลี่ย*	1212.41±5.48	435.37±1.89	183.46±1.16	86.27±0.61
80% - 90%	%DD เฉลี่ย*	83.56±0.51	84.16±0.32	88.11±0.57	86.29±0.27
	$M_v$ เฉลี่ย*	984.34±5.00	375.26±4.78	183.99±1.97	99.82±0.45
90% - 100%	%DD เฉลี่ย*	91.91±0.22	96.90±0.08	93.34±0.09	97.21±0.18
	$M_v$ เฉลี่ย*	724.38±4.27	376.03±1.56	188.59±2.45	104.00±0.84

หมายเหตุ: (1) (2) (3) และ (4) หมายถึงช่วงน้ำหนักโมเลกุลที่ต่างกัน

\* หมายถึงค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

#### 4.3 Equilibrium time ของสารละลายโคโตซาน

ความหนืดของสารละลายโคโตซานสามารถลดลงระหว่างการเก็บได้เนื่องจากโมเลกุลของโคโตซานเกิดการคลายสาย โดยความหนืดจะลดลงจนคงที่ในช่วงหนึ่ง หลังจากนั้นความหนืดของสารละลายจะลดลงอีก ซึ่งช่วงเวลาที่สารละลายมีความหนืดคงที่นั้นเรียกว่า equilibrium time การหา equilibrium time ของสารละลายโคโตซาน เป็นการหาช่วงเวลาที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมสารละลายโคโตซานเพื่อนำไปทดสอบลักษณะการไหลของสารละลายต่อไป โดยในการทดลองได้เลือกใช้โคโตซาน 77%DD น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย 1212 kDa ที่ความเข้มข้น 2% (w/v) ในสารละลายกรดแอสซิติค ซิตริก และแลคติก 0.5 M เนื่องจากคาดว่าโคโตซาน 77%DD น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย 1212 kDa นั้นมีความสามารถในการละลายต่ำที่สุด ซึ่งจากผลการทดลอง ได้แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่ใช้ในการละลายที่อุณหภูมิ 30°C กับความหนืดของสารละลายโคโตซาน ดังรูปที่ 4.1 พบว่าสารละลายโคโตซานแสดงค่าความหนืดลดลงในช่วง 24 - 96 ชั่วโมง เนื่องจากสายโมเลกุลเกิดการคลายตัว และมีความหนืดคงที่ในช่วง 96 - 144 ชั่วโมง หลังจากนั้นความหนืดของสารละลายโคโตซานลดลงเมื่อเวลาที่ใช้ในการละลายเพิ่มมากขึ้น ซึ่งการที่ความหนืดของสารละลายโคโตซานลดลงในช่วงหลังนั้นอาจเกิดเนื่องจากการเกิด acidic hydrolysis (No และคณะ, 2006) จึงเลือกใช้เวลาในการละลายโคโตซานในสารละลายกรดทั้ง 3 ชนิดเป็น 96 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30°C



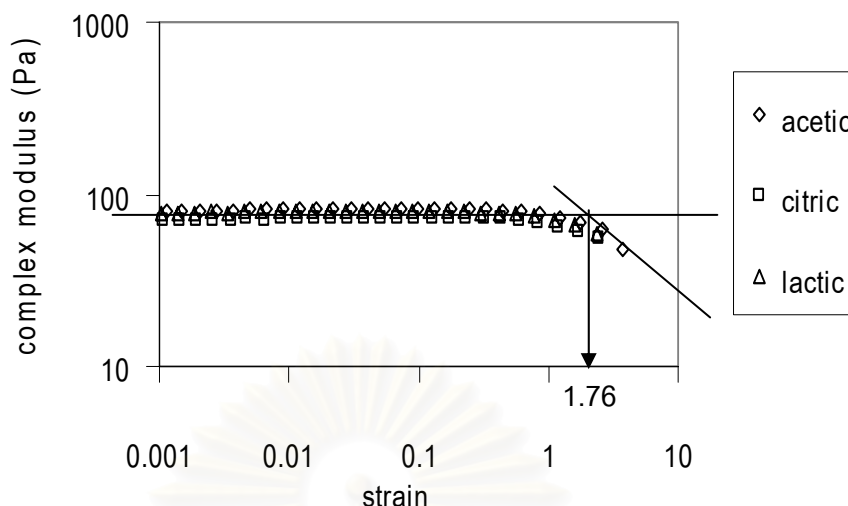
รูปที่ 4.1 Equilibrium time ของสารละลายโคโตซาน 77%DD น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย 1212 kDa ความเข้มข้น 2% (w/v) ในสารละลายกรดแอสซิติค ซิตริก และแลคติก 0.5 M

#### 4.4 Linear Viscoelastic Range (LVR) ของสารละลายโคโตซาน

การหา LVR เป็นการหาช่วง strain ที่ modulus มีค่าคงที่ ก่อนที่จะลดลงเมื่อเกิดการทำลายโครงสร้างของสารละลาย ทั้งนี้เพื่อใช้ในการกำหนด strain สำหรับการทดสอบลักษณะการไหลโดย dynamic test โดยในการทดสอบนี้ได้เลือกใช้สารละลายโคโตซาน 77%DD น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย 1212 kDa ความเข้มข้น 4% (w/v) ในสารละลายกรดแอสซิติค 0.5 M สารละลายกรดซิตริก 0.5 M และสารละลายกรดแลคติก 0.5 M ซึ่งผลการทดสอบได้แสดงความสัมพันธ์ของค่า complex modulus ( $G^*$ ) กับค่า strain ดังแสดงในรูปที่ 4.2 พบว่าสารละลายโคโตซานแสดงค่า  $G^*$  คงที่ตลอดช่วง strain 0.001 – 1.76 และลดลงเมื่อ strain มีค่าสูงขึ้น แสดงว่าการให้การเปลี่ยนรูปร่างในช่วง strain ไม่เกิน 1.76 ไม่มีผลให้สารละลายโคโตซานสูญเสียโครงสร้าง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย





รูปที่ 4.2 Linear viscoelastic range (LVR) ของสารละลายไคโตซาน 77%DD น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย 1212 kDa ความเข้มข้น 4% (w/v) ในสารละลายกรดแอสซิติค ซิตริก และแล็กติก 0.5 M

#### 4.5 ผลของน้ำหนักโมเลกุลต่อลักษณะการไหลของสารละลายไคโตซานในสารละลายกรดแอสซิติค ซิตริก และแล็กติก

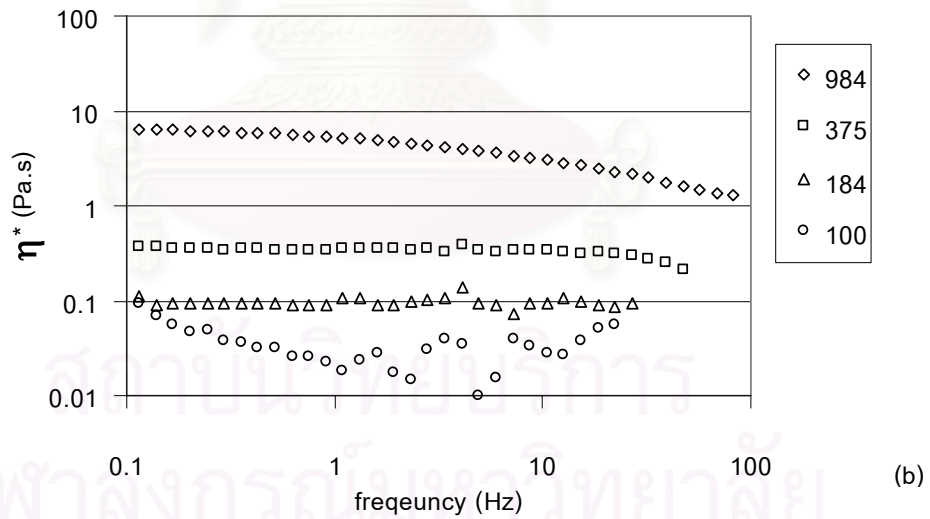
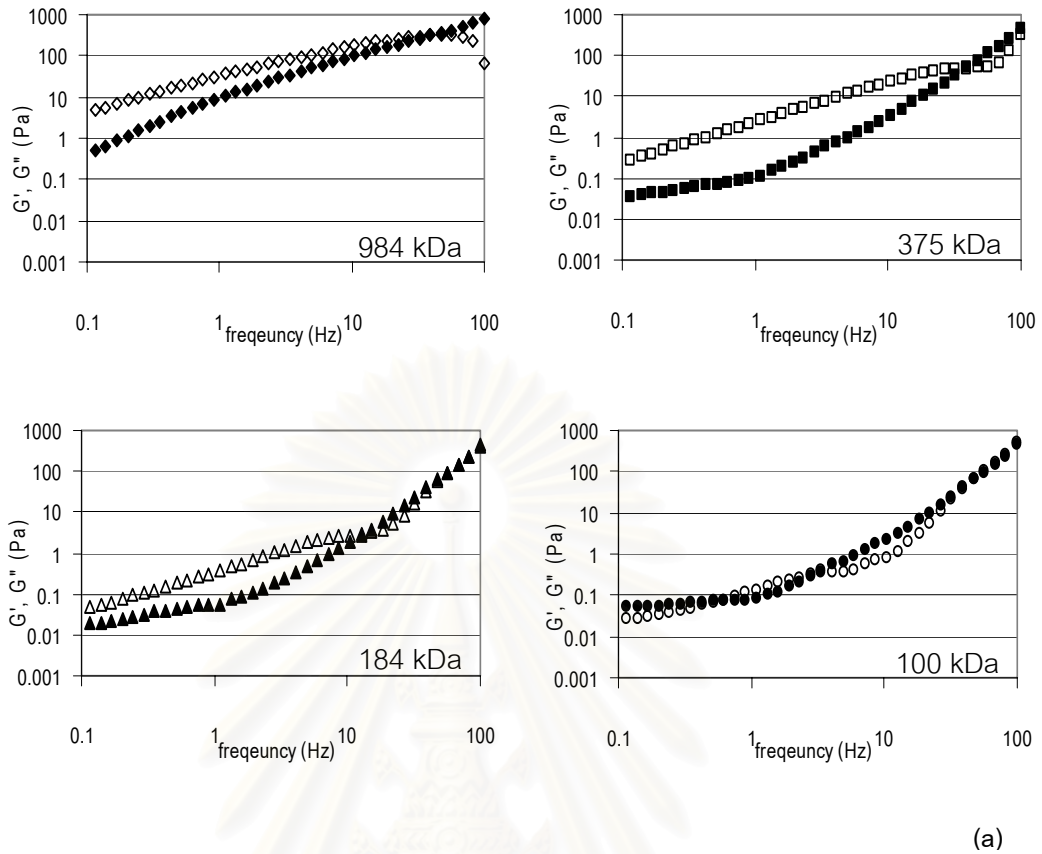
##### 4.5.1 ผลการทดสอบลักษณะการไหลโดย dynamic test

จากการศึกษาผลของน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย (984 375 184 และ 100 kDa) ต่อลักษณะการไหลของสารละลายไคโตซานที่ %DD ในช่วง 80-90% เนื่องจากมี %DD อยู่ในช่วงกลางของไคโตซานที่ผลิตได้ (จากตารางที่ 4.2) ในสารละลายกรดแอสซิติค 0.5 M ความเข้มข้น 4% (w/v) พบว่าไคโตซานที่น้ำหนักโมเลกุล 984 375 และ 184 kDa แสดงพฤติกรรมกรไหลแบบ viscous flow ในช่วงความถี่ 0.1 – 10 Hz โดยที่สารละลายจะแสดงค่า elastic modulus ( $G'$ ) ต่ำกว่าค่า viscous modulus ( $G''$ ) และเข้าสู่ rubbery state ในช่วงความถี่ 10 – 100 Hz ซึ่งตัวแปรทาง viscoelastic ได้แก่  $G'$  และ  $G''$  ตัดกันที่ความถี่ประมาณ 40 Hz สำหรับสารละลายไคโตซานน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย 984 และ 375 kDa และตัดกันที่ความถี่ประมาณ 12 Hz สำหรับสารละลายไคโตซานที่น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย 184 kDa แต่สารละลายไคโตซานน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย 100 kDa แสดงค่า  $G'$  อยู่ในระดับเดียวกับค่า  $G''$  ตลอดช่วงความถี่ 0.1 – 100 Hz ดังรูปที่ 4.3(a) แสดงว่าน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานในช่วงที่ศึกษาไม่มีผลต่อลักษณะการไหลของสารละลายไคโตซานในสารละลายกรดแอสซิติค แต่มีผลต่อระดับของค่า  $G'$  และ  $G''$  โดยที่

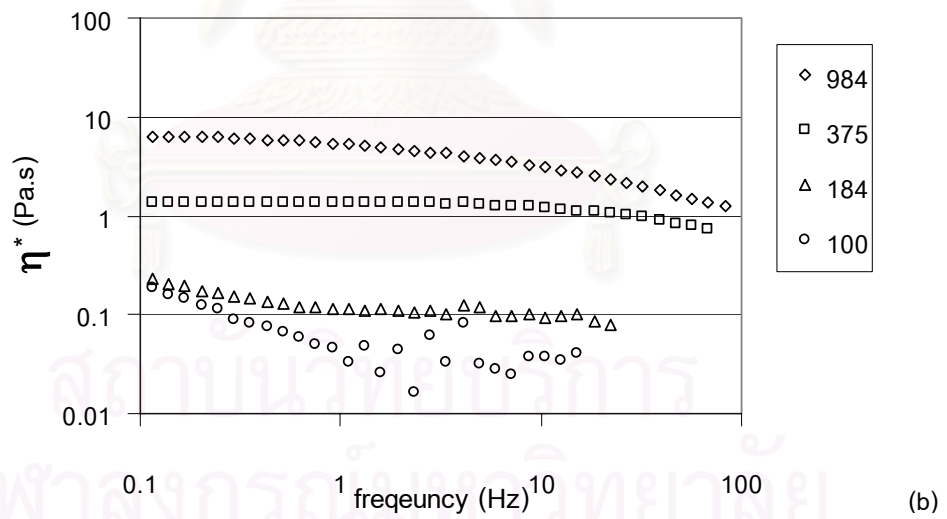
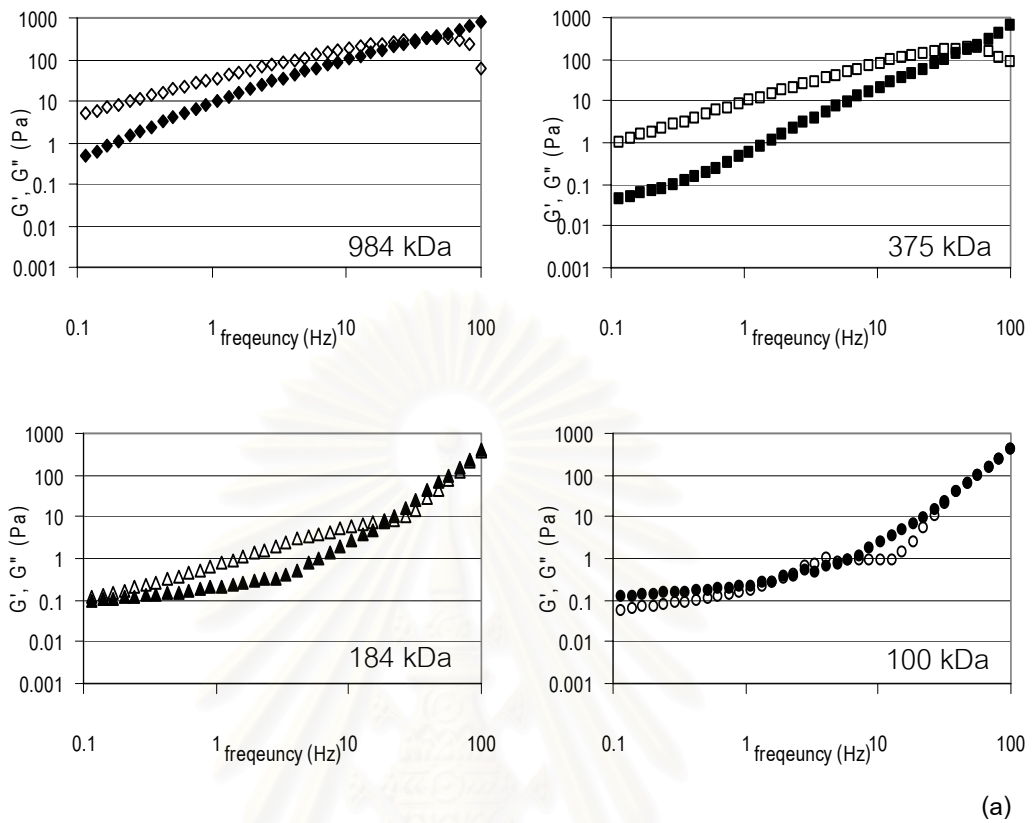
สารละลายโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยสูงจะมีระดับของค่า  $G'$  และ  $G''$  สูงกว่าสารละลายโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยต่ำ เมื่อพิจารณาค่า complex viscosity ( $\eta^*$ ) พบว่าสารละลายโคโตซานที่น้ำหนักโมเลกุล 984 kDa จะแสดงค่า complex viscosity สูงกว่า โคโตซานที่น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย 375 184 และ 100 kDa ตามลำดับ ดังรูปที่ 4.3(b)

เมื่อศึกษาในสารละลายโคโตซานในสารละลายกรดซิตริก 0.5 M ที่ %DD ช่วง 80 – 90% ความเข้มข้น 4% (w/v) โดยแปรน้ำหนักโมเลกุลเป็น 984 375 184 และ 100 kDa ดังแสดงในรูปที่ 4.4 พบว่าสารละลายโคโตซานที่น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย 984 375 และ 184 kDa แสดงลักษณะการไหลของสารละลายแบบ viscous flow ที่ช่วงความถี่ 0.1 - 10 Hz และเข้าสู่ช่วง rubbery state ที่ช่วงความถี่ 10 – 100 Hz โดยที่  $G'$  และ  $G''$  ตัดกันที่ความถี่ประมาณ 40 47 และ 18 Hz สำหรับสารละลายโคโตซานน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย 984 375 และ 184 kDa ตามลำดับ แต่สารละลายโคโตซานที่น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย 100 kDa มีค่า  $G'$  และ  $G''$  ที่ระดับเท่ากันตลอดช่วงความถี่ 0.1 – 100 Hz และสารละลายโคโตซานที่น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย 984 kDa แสดงระดับของค่า  $G'$   $G''$  และ  $\eta^*$  สูงกว่าสารละลายโคโตซานที่น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย 375 184 และ 100 kDa ตามลำดับ (รูปที่ 4.4(a) และ 4.4(b))

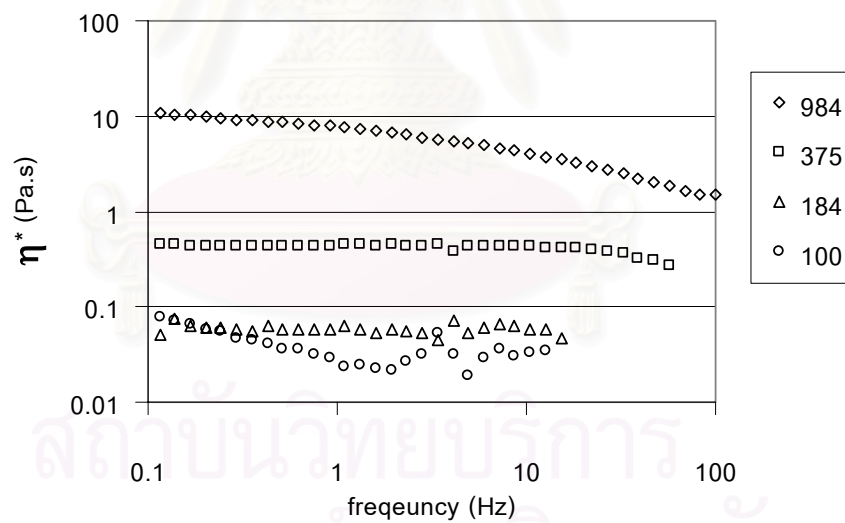
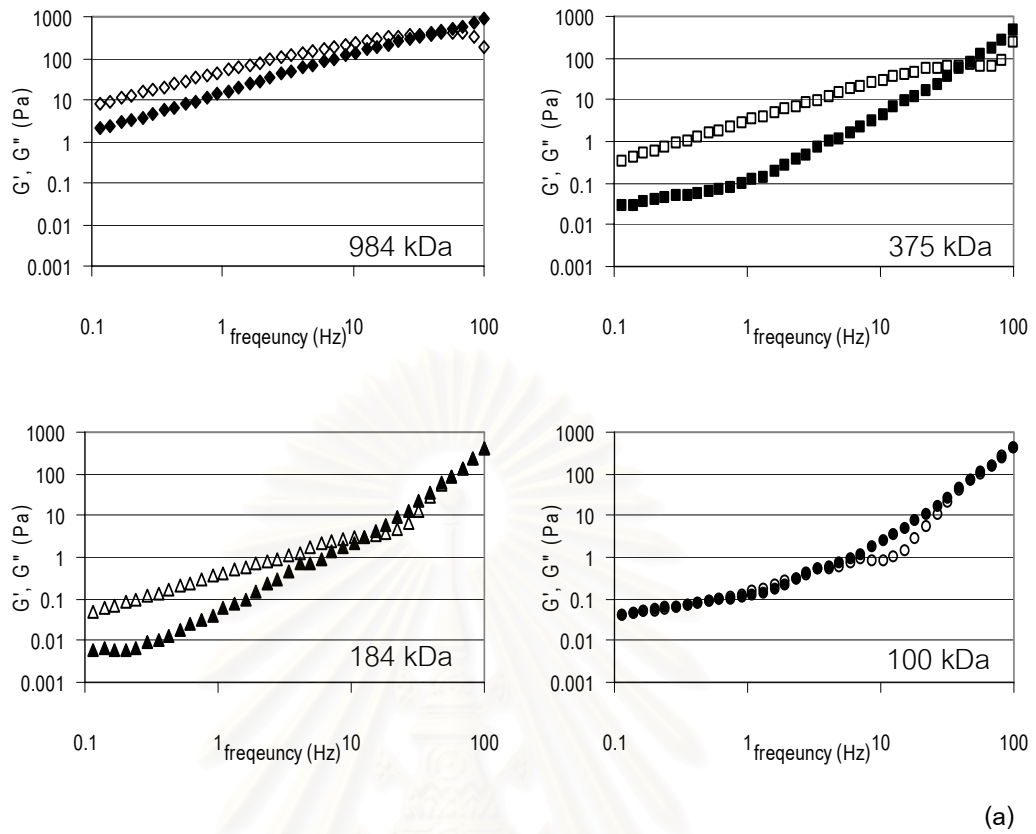
สำหรับสารละลายโคโตซานในสารละลายกรดแลคติก 0.5 M ที่ %DD ในช่วง 80% – 90% ความเข้มข้น 4% (w/v) โดยแปรน้ำหนักโมเลกุลเป็น 984 375 184 และ 100 kDa พบว่า สารละลายโคโตซานที่น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย 984 375 และ 184 kDa แสดงพฤติกรรมของการไหลของสารละลายแบบ viscous flow ที่ช่วงความถี่ 0.1 - 10 Hz และเข้าสู่ rubbery state ที่ช่วงความถี่ 10 – 100 Hz โดยค่า  $G'$  และ  $G''$  ตัดกันที่ความถี่ประมาณ 40 Hz 47 Hz และ 13 Hz สำหรับสารละลายโคโตซานน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย 984 kDa 375 kDa และ 184 kDa ตามลำดับ สำหรับสารละลายโคโตซานที่น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย 100 kDa มีค่า  $G'$  และ  $G''$  ที่ระดับเดียวกันตลอดช่วงความถี่ 0.1 – 100 Hz เช่นเดียวกับสารละลายโคโตซานในสารละลายกรดแอสิตริกและซิตริก 0.5 M และสารละลายโคโตซานที่น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย 984 kDa แสดงระดับของค่า  $G'$   $G''$  และ  $\eta^*$  สูงกว่าสารละลายโคโตซาน ที่น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย 375 184 และ 100 kDa ตามลำดับ (รูปที่ 4.5(a) และ 4.5(b))



รูปที่ 4.3 ผลของน้ำหนักโมเลกุลโคโคซานเฉลี่ยที่ 984 375 184 และ 100 kDa %DD ในช่วง 80% – 90% ในสารละลายกรดแอสซิดิก 0.5 M ในช่วงความถี่ 0.1 ถึง 100 Hz ต่อ (a) ค่า  $G'$  (สัญลักษณ์ที่ป) และ  $G''$  (สัญลักษณ์ที่ปรง) (b) ค่า  $\eta^*$



**รูปที่ 4.4** ผลของน้ำหนักโมเลกุลโคโคซานเฉลี่ยที่ 984 375 184 และ 100 kDa %DD ในช่วง 80% – 90% ในสารละลายกรดซิตริก 0.5 M ในช่วงความถี่ 0.1 ถึง 100 Hz ต่อ (a) ค่า  $G'$  (สัญลักษณ์ที่ป) และ  $G''$  (สัญลักษณ์ที่ปรง) (b) ค่า  $\eta^*$



**รูปที่ 4.5** ผลของน้ำหนักโมเลกุลโคโคซานเฉลี่ยที่ 984 375 184 และ 100 kDa %DD ในที่ (a) 80% – 90% ในสารละลายกรดแลคติก 0.5 M ในช่วงความถี่ 0.1 ถึง 100 Hz ต่อ (a) ค่า  $G'$  (สัญลักษณ์ทึบ) และ  $G''$  (สัญลักษณ์โปร่ง) (b) ค่า  $\eta^*$

เห็นได้ว่าพฤติกรรมการไหลของสารละลายโคโคซานในกรดทั้ง 3 ชนิดมีรูปแบบคล้ายกัน กล่าวคือโคโคซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงกว่าจะมีการตัดกันของ  $G'$  และ  $G''$  ที่

ความถี่สูงกว่าและมี  $\eta^*$  ประกอบกับค่า  $G'$  และ  $G''$  สูงกว่าโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ อาจเกิดเนื่องจากน้ำหนักโมเลกุลซึ่งมีความสัมพันธ์กับขนาดของโมเลกุล ส่งผลต่อ hydrodynamic volume กล่าวคือเมื่อน้ำหนักโมเลกุลสูงขึ้น ทำให้ขนาดและ hydrodynamic volume ของโมเลกุลเพิ่มขึ้น (Tsaih และ Chen, 1997) เป็นผลให้โอกาสในการเกิด polymer-polymer interaction มีมากขึ้น เพราะเมื่อโมเลกุลอยู่ชิดกันอาจเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างสายโมเลกุล และ/หรือภายในสายโมเลกุล จึงทำให้สารละลายโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง (984 kDa) แสดงช่วง rubbery state ในช่วงความถี่ที่ทดสอบได้ เมื่อเปรียบเทียบกับสารละลายโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ (100 kDa) ในความเข้มข้นที่เท่ากัน ซึ่งการเกิด polymer-polymer interaction นี้ยังเป็นผลให้สารละลายโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงแสดงค่าความหนืดสูงกว่าสารละลายโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่าด้วยเช่นกัน และการเคลื่อนที่อย่างอิสระของโมเลกุล (freedom of movement) ก็อาจเป็นสาเหตุหนึ่ง เนื่องจากเมื่อน้ำหนักโมเลกุลของโคโตซานสูงขึ้น การเคลื่อนที่อย่างอิสระจะเกิดได้น้อยกว่าโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ เพราะโมเลกุลขนาดใหญ่มีการบิดขดของ conformation มากกว่าจึงทำให้เกิดการเคลื่อนที่ได้ได้น้อยกว่าโมเลกุลขนาดเล็ก ส่งผลให้สารละลายโคโตซานน้ำหนักโมเลกุลสูงมีความหนืดมากกว่าสารละลายโคโตซานน้ำหนักโมเลกุลต่ำ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Lazaridou, Biliaderis และ Izydorczyk (2003) ที่ศึกษาผลของขนาดโมเลกุลต่อสมบัติการไหลของ  $\beta$ -glucan จากโอ๊ต พบว่า  $\beta$ -glucan จากโอ๊ตที่มีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย 250 kDa มี complex viscosity มากกว่า  $\beta$ -glucan จากโอ๊ตที่มีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย 140 และ 110 kDa ตามลำดับ เมื่อความเข้มข้นของสารละลาย  $\beta$ -glucan เท่ากับ 6% เนื่องจากโมเลกุลที่มีขนาดเล็กกว่าสามารถเคลื่อนที่ได้ง่ายกว่าโมเลกุลที่มีขนาดใหญ่จึงมีค่าความหนืดน้อยกว่า

#### 4.5.2 ผลการทดสอบลักษณะการไหลโดย steady shear test

การศึกษาค่าผลของน้ำหนักโมเลกุลในสารละลายโคโตซาน %DD ช่วง 80% – 90% ความเข้มข้น 4% ในสารละลายกรดแอสซิดิก 0.5 M โดยสารละลายโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย 984 kDa แสดงค่าความหนืดปรากฏที่เฉลี่ย 6.28 Pa.s ในช่วง shear rate ที่ 1 - 6  $s^{-1}$  สารละลายโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย 375 kDa มีค่าความหนืดปรากฏที่เฉลี่ย 0.34 Pa.s ในช่วง shear rate ที่ 1 - 300  $s^{-1}$  ซึ่งการที่ความหนืดคงที่นั้นแสดงให้เห็นว่า สารละลายโคโตซานแสดงพฤติกรรมแบบ Newtonian และเมื่อค่า shear rate เพิ่มขึ้น ค่าความหนืดปรากฏลดลง สารละลายโคโตซานจะแสดงพฤติกรรมแบบ shear thinning เป็นไปตาม Ostward – De Waele equation

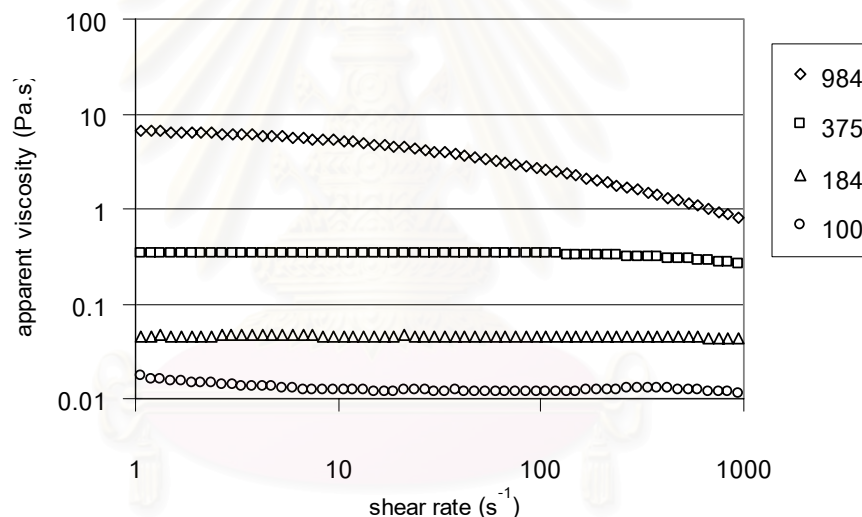


$$\eta = K\dot{\gamma}^{n-1} \quad (4.1)$$

โดย

$\eta$	=	apparent viscosity	(Pa.s)
K	=	consistency index	(Pa.s <sup>n</sup> )
$\dot{\gamma}$	=	shear rate	(s <sup>-1</sup> )
n	=	flow behavior index	

ส่วนสารละลายโคโตซานที่น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย 184 และ 100 kDa มีความหนืดปรากฏที่เฉลี่ย 0.045 Pa.s และ 0.013 Pa.s ตลอดช่วง shear rate ที่ 1 - 1000 s<sup>-1</sup> แสดงว่าสารละลายแสดงความเป็น Newtonian ตลอดช่วง shear rate 1 - 1000 s<sup>-1</sup> ดังแสดงในรูปที่ 4.6 และแสดงค่า consistency index และ flow behavior index ของสารละลายโคโตซาน ดังตารางที่ 4.3



**รูปที่ 4.6** ผลของน้ำหนักโมเลกุลโคโตซานเฉลี่ยที่ 984 375 184 และ 100 kDa %DD ในช่วง 80% - 90% ในสารละลายกรดแอสซิดิก 0.5 M ในช่วง shear rate 1 ถึง 1000 s<sup>-1</sup> ต่อค่าความหนืดปรากฏ

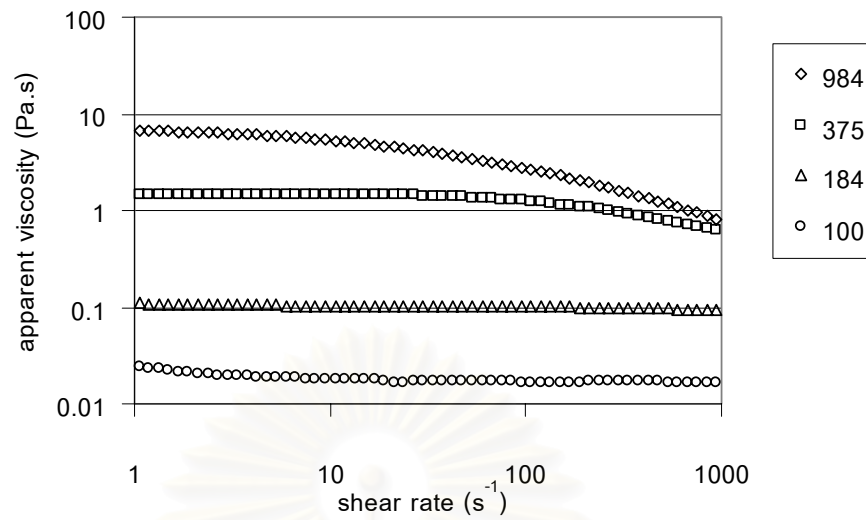
สารละลายโคโตซาน %DD ช่วง 80% - 90% ความเข้มข้น 4% ในสารละลายกรดซิตริก 0.5 M โดยสารละลายโคโตซานที่น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย 984 kDa แสดงค่าความหนืดปรากฏที่เฉลี่ย 6.28 Pa.s ในช่วง shear rate ที่ 1 - 6 s<sup>-1</sup> สารละลายโคโตซานที่น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย 375 kDa มีค่าความหนืดปรากฏที่เฉลี่ย 1.44 Pa.s ในช่วง shear rate ที่ 1 - 95 s<sup>-1</sup> ซึ่งการที่ความหนืดคงที่นั้นแสดงให้เห็นว่า สารละลายโคโตซานแสดงพฤติกรรมแบบ Newtonian และเมื่อค่า shear rate เพิ่มขึ้นจากนี้ ค่าความหนืดปรากฏลดลง ซึ่งแสดงว่า

สารละลายไคโตซานมีพฤติกรรมแบบ shear thinning ส่วนสารละลายไคโตซานที่น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย 184 และ 100 kDa มีค่าความหนืดปรากฏที่เฉลี่ยเป็น 0.102 Pa.s และ 0.018 Pa.s ตลอดช่วง shear rate ที่  $1 - 1000 \text{ s}^{-1}$  นั่นคือ สารละลายแสดงพฤติกรรมแบบ Newtonian ตลอดช่วง shear rate  $1 - 1000 \text{ s}^{-1}$  ดังรูปที่ 4.7 และแสดงค่า consistency index และ flow behavior index ของสารละลายไคโตซาน ดังตารางที่ 4.3

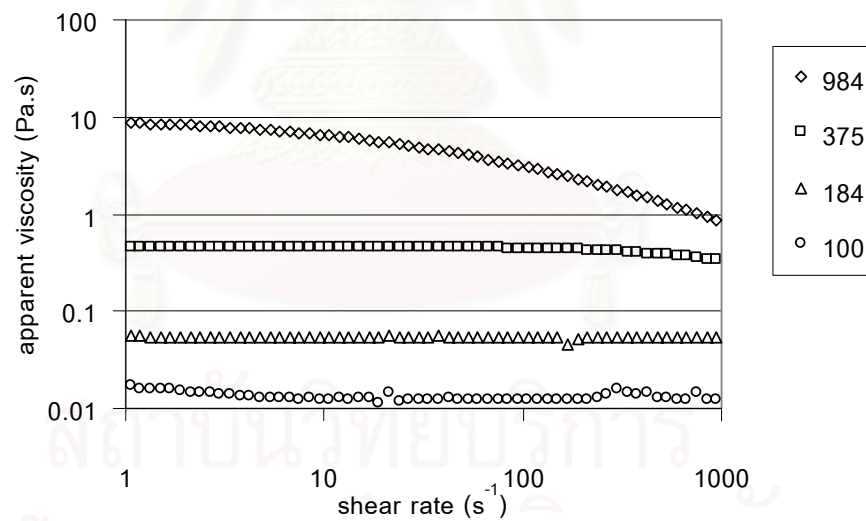
**ตารางที่ 4.3** ค่า consistency index (K, Pa.s<sup>n</sup>) และ flow behavior index (n) ของสารละลายไคโตซานเข้มข้น 4% ที่น้ำหนักโมเลกุลต่างกันในสารละลายกรดแอสซิดิก ซิตริก และ แล็กติก 0.5 M

ตัวทำละลาย	น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย (kDa)							
	984		375		184		100	
	K	n	K	n	K	n	K	n
สารละลายกรดแอสซิดิก 0.5M	7.781	0.771	0.353	0.98	0.046	0.994	0.014	0.964
สารละลายกรดซิตริก 0.5M	7.899	0.774	1.694	0.914	0.108	0.983	0.021	0.957
สารละลายกรดแล็กติก 0.5M	10.164	0.752	0.478	0.974	0.055	0.996	0.014	0.978

สารละลายไคโตซาน %DD ช่วง 80% – 90% ความเข้มข้น 4% (w/v) ในสารละลายกรดแล็กติก 0.5 M โดยสารละลายไคโตซานที่น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย 984 kDa แสดงค่าความหนืดปรากฏที่เฉลี่ย 8.07 Pa.s ในช่วง shear rate ที่  $1 - 6 \text{ s}^{-1}$  สารละลายไคโตซานที่น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย 375 kDa มีค่าความหนืดปรากฏที่เฉลี่ย 0.45 Pa.s ในช่วง shear rate ที่  $1 - 212 \text{ s}^{-1}$  ซึ่งการที่ความหนืดคงที่นั้นแสดงให้เห็นว่า สารละลายไคโตซานแสดงพฤติกรรมแบบ Newtonian และเมื่อค่า shear rate เพิ่มขึ้นจากนี้ ค่าความหนืดปรากฏลดลง สารละลายไคโตซานจะแสดงพฤติกรรมแบบ shear thinning ส่วนสารละลายไคโตซานน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย 184 และ 100 kDa มีค่าความหนืดปรากฏที่เฉลี่ย 0.054 Pa.s และ 0.013 Pa.s ตลอดช่วง shear rate ที่  $1 - 1000 \text{ s}^{-1}$  สารละลายไคโตซานแสดงลักษณะ Newtonian ตลอดช่วง shear rate  $1 - 1000 \text{ s}^{-1}$  ดังรูปที่ 4.8 และแสดงค่า consistency index และ flow behavior index ของสารละลายไคโตซาน ดังตารางที่ 4.3



รูปที่ 4.7 ผลของน้ำหนักโมเลกุลโคโตนานเจลลี่ที่ 984 375 184 และ 100 kDa %DD ในช่วง 80% – 90% ในสารละลายกรดซิตริก 0.5 M ในช่วง shear rate 1 ถึง 1000  $s^{-1}$  ต่อค่าความหนืดปรากฏ



รูปที่ 4.8 ผลของน้ำหนักโมเลกุลโคโตนานเจลลี่ที่ 984 375 184 และ 100 kDa %DD ในช่วง 80% – 90% ในสารละลายกรดแล็กติก 0.5 M ในช่วง shear rate 1 ถึง 1000  $s^{-1}$  ต่อค่าความหนืดปรากฏ

ผลการทดสอบลักษณะการไหลแบบ steady shear test นี้สอดคล้องกับผลการทดสอบจาก dynamic test ในส่วนที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มความหนืดตามน้ำหนักโมเลกุลที่เพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นผลมาจากขนาดของโมเลกุลดังที่ได้กล่าวมาแล้ว นอกจากนี้ steady shear test ยัง

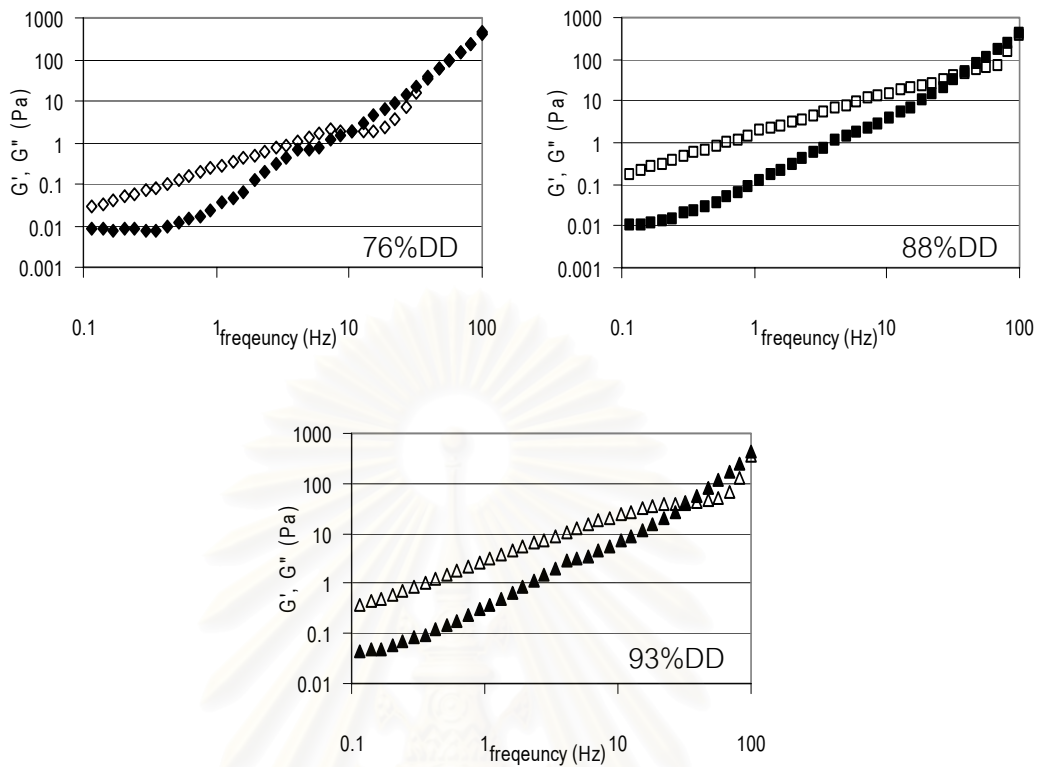
แสดงให้เห็นว่าไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำแสดงลักษณะเข้าใกล้แบบ Newtonian flow และไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงแสดงลักษณะ shear thinning เนื่องจากสารละลายไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำมีโอกาสเกิด entanglement น้อยกว่าไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง จึงมีค่าแรงต้านการไหลหรือความหนืดคงที่กว่าไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงเมื่อสารละลายได้รับแรงเฉือน

#### 4.6 ผลของ degree of deacetylation ต่อลักษณะการไหลของสารละลายไคโตซานในสารละลายกรดแอสซิติค ซิตรีคและ แล็กติก

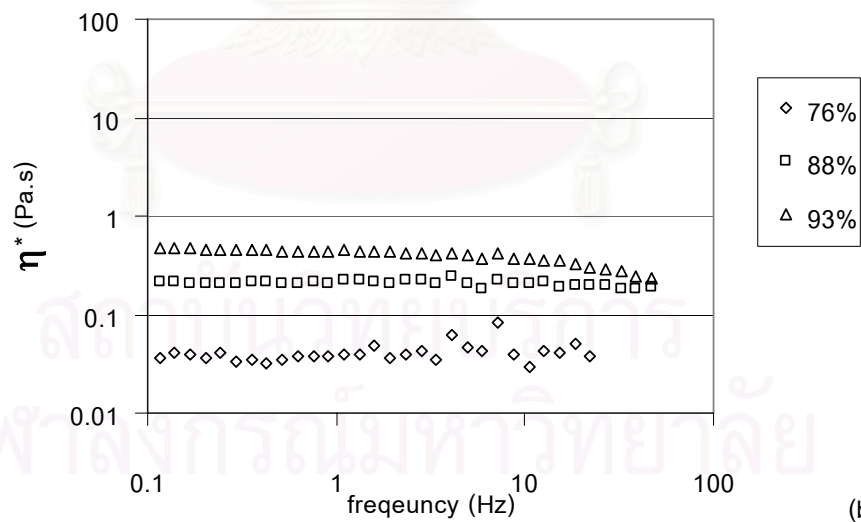
##### 4.6.1 ผลการทดสอบลักษณะการไหลโดย dynamic test

จากการศึกษาผลของ degree of deacetylation (76%DD 88%DD และ 93%DD) โดยใช้ไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย 183 184 และ 189 kDa ตามลำดับ (จากตารางที่ 4.2) เนื่องจากมีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยที่ใกล้เคียงกัน ความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานเท่ากับ 6% (w/v) ในสารละลายกรดแอสซิติค 0.5 M พบว่า สารละลายไคโตซานที่ 88%DD และ 93%DD แสดงลักษณะการไหลของสารละลายแบบ viscous flow ที่ช่วงความถี่ 0.1 – 10 Hz และเข้าสู่ช่วง rubbery โดย  $G'$  และ  $G''$  ตัดกันที่ความถี่ประมาณ 32 Hz แต่สารละลายไคโตซานที่ 76%DD แสดงลักษณะการไหลของสารละลายแบบ viscous flow ที่ช่วงความถี่ 0.1 – 1 Hz และเข้าสู่ช่วง rubbery โดย  $G'$  และ  $G''$  ตัดกันที่ความถี่ประมาณ 10 Hz โดยที่สารละลายไคโตซานที่ 93%DD มีค่า  $G'$  และ  $G''$  สูงกว่าสารละลายไคโตซาน 88%DD และ 76%DD ตามลำดับ (รูปที่ 4.9(a)) จากรูปที่ 4.9(b) ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า  $\eta^*$  กับความถี่ พบว่าสารละลายไคโตซาน 93%DD แสดงค่า  $\eta^*$  สูงกว่าสารละลายไคโตซาน 88%DD และ 76%DD ตามลำดับ

เมื่อศึกษาลักษณะการไหลของสารละลายไคโตซานที่แปร %DD เท่ากับ 76%DD 88%DD และ 93%DD ความเข้มข้น 6% (w/v) ในสารละลายกรดซิตรีค 0.5 M พบว่า สารละลายไคโตซานที่ 76%DD 88%DD และ 93%DD แสดงพฤติกรรมของสารละลายแบบ viscous flow ในช่วงความถี่ 0.1 – 10 Hz และเข้าสู่ช่วง rubbery ที่ช่วงความถี่ 10 – 100 Hz โดย  $G'$  และ  $G''$  ตัดกันที่ความถี่ประมาณ 13 Hz สำหรับสารละลายไคโตซาน 76%DD สารละลายไคโตซาน 88%DD  $G'$  และ  $G''$  ตัดกันที่ความถี่ประมาณ 39 Hz และสารละลายไคโตซาน 93%DD  $G'$  และ  $G''$  ตัดกันที่ความถี่ประมาณ 32 Hz ดังแสดงในรูปที่ 4.10(a) เมื่อพิจารณาว่า  $\eta^*$  พบว่า สารละลายไคโตซานที่ 93%DD แสดงค่า  $\eta^*$  ที่ระดับเดียวกับกับสารละลายไคโตซานที่ 88%DD และสูงกว่าสารละลายไคโตซาน 76%DD ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 4.10(b)

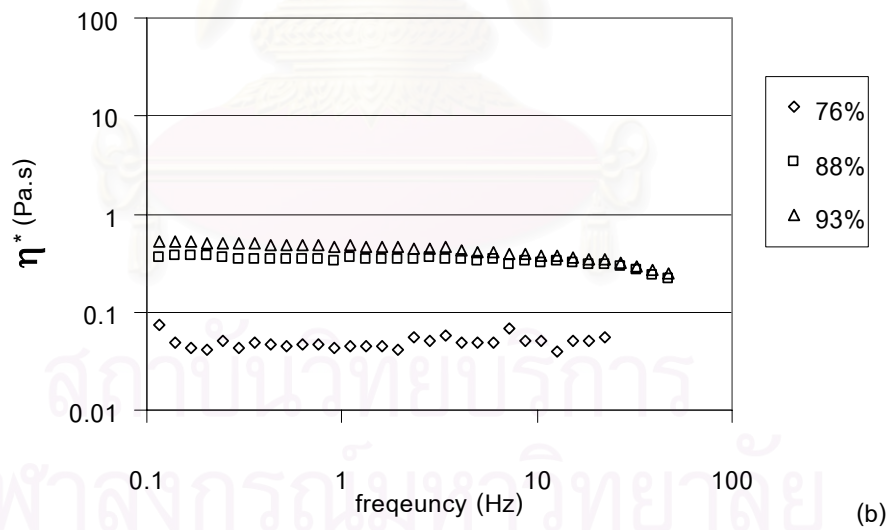
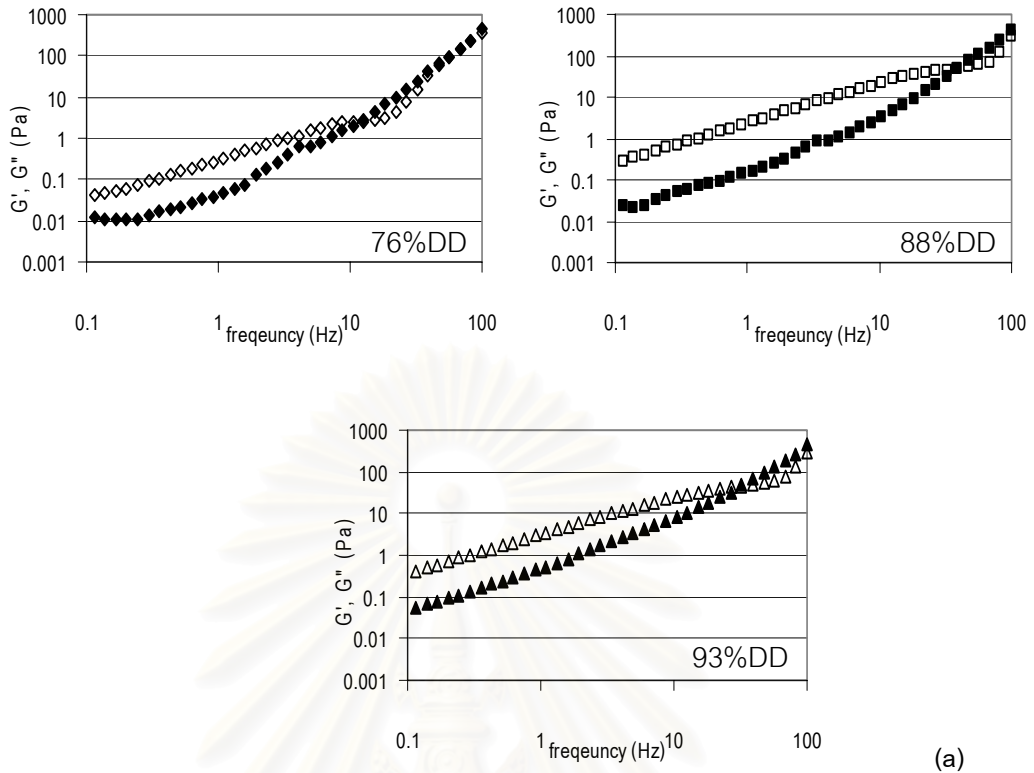


(a)



(b)

รูปที่ 4.9 ผลของ %DD ที่ 76% 88% และ 93% ต่อสารละลายโคโตนาน ความเข้มข้น 6% ในสารละลายกรดแอสซิติค 0.5 M ในช่วงความถี่ 0.1 ถึง 100 Hz ต่อ (a) ค่า  $G'$  (สัญลักษณ์ทึบ) และ  $G''$  (สัญลักษณ์โปร่ง) (b) ค่า  $\eta^*$

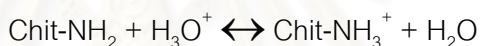


รูปที่ 4.10 ผลของ %DD ที่ 76% 88% และ 93% ต่อสารละลายโคโตซาน ความเข้มข้น 6% ในสารละลายกรดซิตริก 0.5 M ในช่วงความถี่ 0.1 ถึง 100 Hz ต่อ (a) ค่า  $G'$  (สัญลักษณ์ทึบ) และ  $G''$  (สัญลักษณ์โปร่ง) (b) ค่า  $\eta^*$

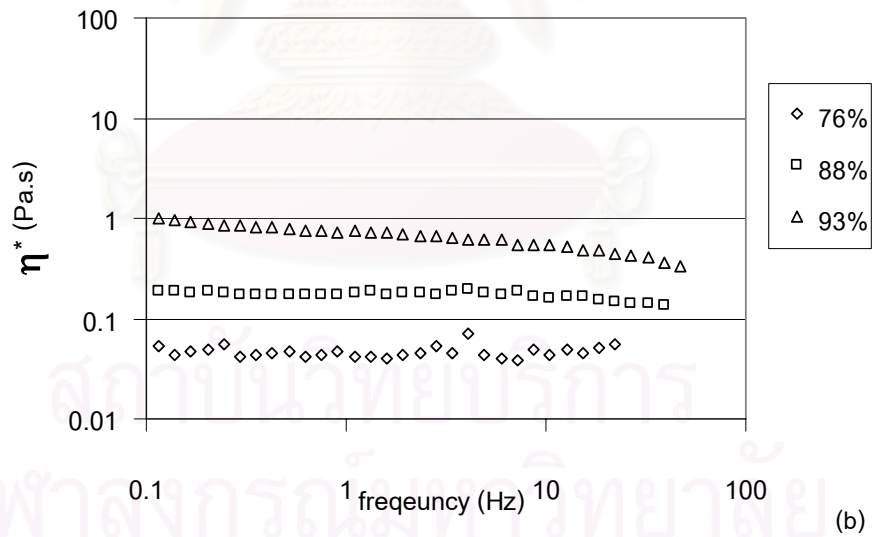
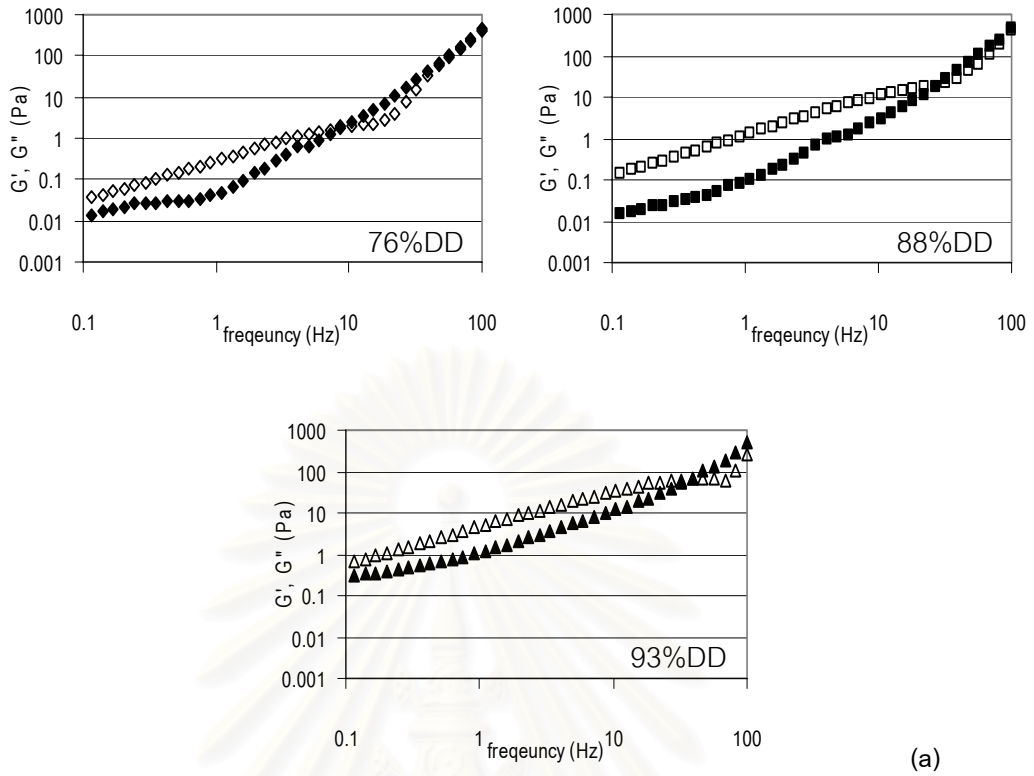


การศึกษาลักษณะการไหลของสารละลายไคโตซานที่แปร %DD เป็น 76%DD 88%DD และ 93%DD ความเข้มข้น 6% (w/v) ในสารละลายกรดแลคติก 0.5 M พบว่า สารละลายไคโตซานที่ 88%DD และ 93%DD แสดงลักษณะการไหลแบบ viscous flow ในช่วงความถี่ 0.1 – 10 Hz และเข้าสู่ช่วง rubbery state ที่ช่วงความถี่ 10 – 100 Hz โดยที่สารละลายไคโตซาน 88%DD  $G'$  และ  $G''$  ตัดกันที่ความถี่ประมาณ 27 Hz และ 39 Hz สำหรับสารละลายไคโตซาน 93%DD ส่วนสารละลายไคโตซาน 76%DD แสดงลักษณะการไหลแบบ viscous flow ที่ช่วงความถี่ 0.1 – 1 Hz จึงเข้าสู่ rubbery state โดย  $G'$  และ  $G''$  ตัดกันที่ความถี่ประมาณ 9 Hz ดังแสดงในรูปที่ 4.11(a) เมื่อพิจารณาค่า  $\eta^*$  พบว่า สารละลายไคโตซานที่ 93%DD แสดงค่า  $\eta^*$  สูงกว่าสารละลายไคโตซานที่ 88%DD และ 76%DD ตามลำดับ ดังรูปที่ 4.11(b)

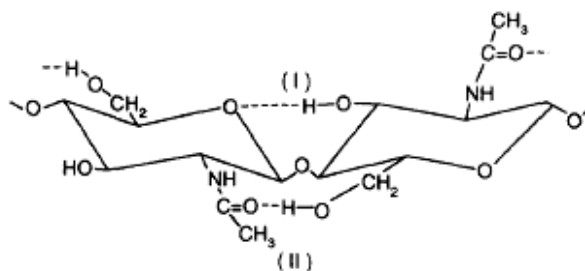
จากผลการทดลอง พบว่าสารละลายไคโตซานมีพฤติกรรมคล้ายกันในสารละลายกรดทั้ง 3 ชนิด โดยสารละลายไคโตซานแสดงลักษณะการไหลหนืด และมีค่า  $G'$   $G''$  และ  $\eta^*$  สูงขึ้นเมื่อ %DD เพิ่มขึ้น อาจเกิดเนื่องจากจำนวนประจุที่เกิดจากการรับโปรตอนจากกรด ดังสมการ



โดยจำนวนประจุที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้เกิดแรง electrostatic repulsion เพิ่มขึ้น จึงเกิดการผลักกันระหว่างสายโมเลกุล สอดคล้องกับงานวิจัยของ Wang และคณะ (1991) ที่ศึกษาการกำหนดสมการ Mark – Houwink สำหรับไคโตซานที่มี %DD ต่างกัน พบว่าเมื่อไคโตซานมีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากันแต่มี %DD เพิ่มขึ้นนั้น ค่า intrinsic viscosity ของสารละลายไคโตซานในตัวทำละลาย 0.2 M  $\text{CH}_3\text{COOH}/0.1$  M  $\text{CH}_3\text{COONa}$  เพิ่มขึ้น โดยผู้วิจัยได้สรุปว่าการเพิ่ม %DD เป็นการเพิ่มจำนวนประจุจากหมู่เอมีนบนสายโมเลกุลของไคโตซาน ซึ่งเป็นการเพิ่มแรง electrostatic repulsion โดยแรงนี้จะทำให้สายโมเลกุลของไคโตซานที่มีลักษณะแบบ coil ขยายขนาดขึ้นจากการผลักกันระหว่างสายโมเลกุล นอกจากนี้ โมเลกุลของไคโตซานยังมี rigidity ต่ำลงเพราะหมู่เอมีนที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 ไม่สามารถสร้างพันธะไฮโดรเจนกับหมู่คาร์บอกซิลได้อย่างโมเลกุลของไคติน ดังรูปที่ 4.12



รูปที่ 4.11 ผลของ %DD ที่ 76% 88% และ 93% ต่อสารละลายโคโตซาน ความเข้มข้น 6% ในสารละลายกรดแลคติก 0.5 M ในช่วงความถี่ 0.1 ถึง 100 Hz ต่อ (a) ค่า  $G'$  (สัญลักษณ์ที่ป) และ  $G''$  (สัญลักษณ์โป่ง) (b) ค่า  $\eta^*$

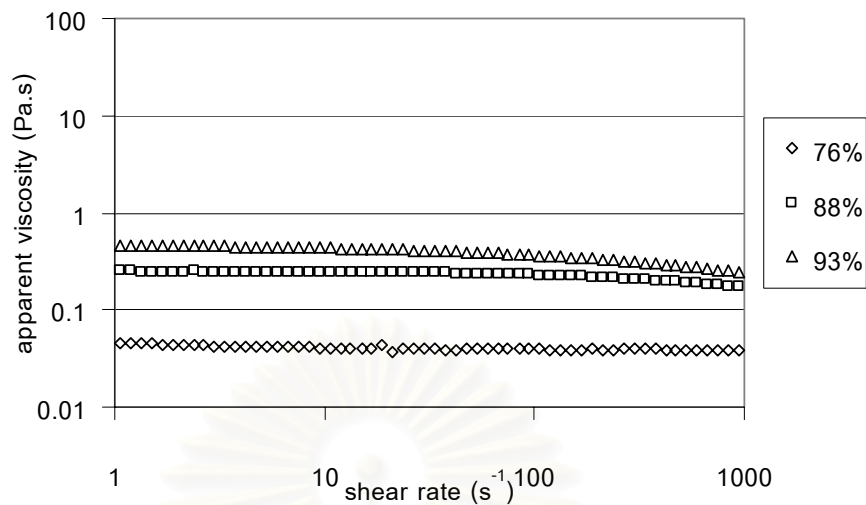


รูปที่ 4.12 การเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุลของ N-acetyl D-glucosamine  
ที่มา: Wang และคณะ (1991)

ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่าประจุที่เพิ่มขึ้น ทำให้เกิดแรง electrostatic repulsion มากขึ้น จึงเกิดการผลักกันภายในโมเลกุลของโคโตซานแล้วทำให้โมเลกุลของโคโตซานมี hydrodynamic volume เพิ่มขึ้น ประกอบกับโอกาสในการเกิด polymer-polymer interaction ที่เพิ่มขึ้น สารละลายโคโตซานที่มี %DD สูงจึงมี  $G'$   $G''$  และ  $\eta^*$  สูงกว่าสารละลายโคโตซานที่มี %DD ต่ำ

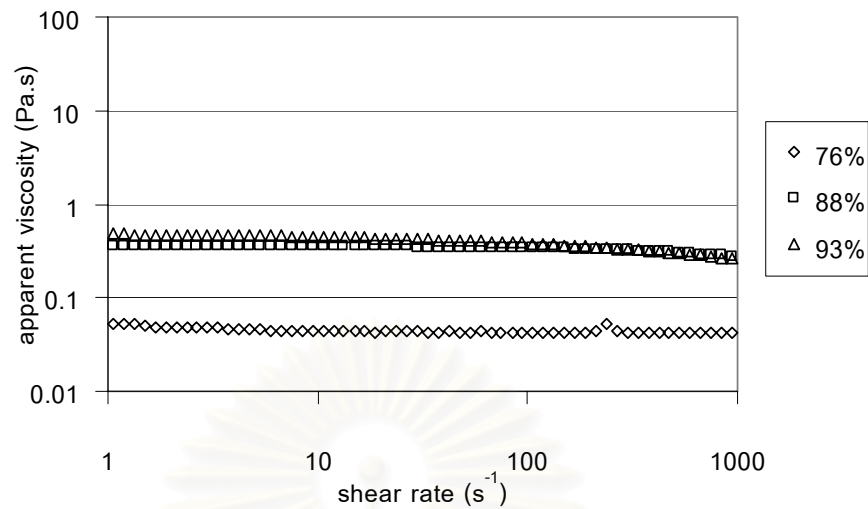
#### 4.6.2 ผลการทดสอบลักษณะการไหลโดย steady shear test

จากผลการทดลองพบว่าสารละลายโคโตซาน 76%DD ความเข้มข้น 6% (w/v) ในสารละลายกรดแอสซิติค 0.5 M มีค่าความหนืดปรากฏคงที่เฉลี่ย 0.04 Pa.s สารละลายโคโตซาน 88%DD มีค่าความหนืดปรากฏคงที่เฉลี่ย 0.24 Pa.s ตลอดช่วง shear rate ที่ 1 - 1000  $s^{-1}$  แสดงว่ามีลักษณะการไหลแบบ Newtonian แต่สารละลายโคโตซาน 93%DD แสดงค่าความหนืดปรากฏคงที่เฉลี่ย 0.44 Pa.s ที่ shear rate ตั้งแต่ 1 - 34  $s^{-1}$  เมื่อ shear rate เพิ่มขึ้นมากกว่า 34  $s^{-1}$  ความหนืดของสารละลายโคโตซานลดลง แสดงว่าสารละลายโคโตซาน 93%DD แสดงพฤติกรรมของสารละลายแบบ shear thinning ดังแสดงในรูปที่ 4.13 และแสดงค่า consistency index และ flow behavior index ของสารละลายโคโตซาน ดังตารางที่ 4.4



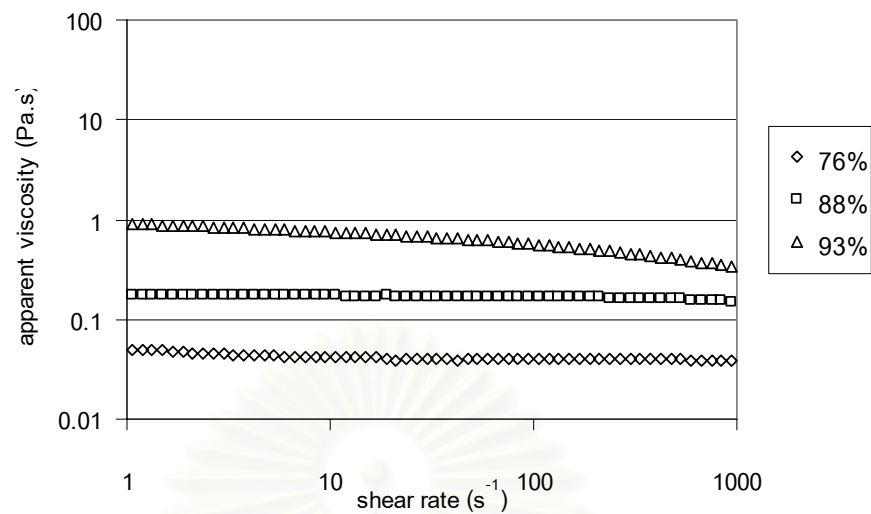
**รูปที่ 4.13** ผลของ %DD ที่ 76% 88% และ 93% ต่อสารละลายโคโตะซาน ความเข้มข้น 6% ใน สารละลายกรดแอสซิติค 0.5 M ที่ช่วง shear rate 1 ถึง 1000  $s^{-1}$  ต่อค่าความหนืดปรากฏ

เมื่อศึกษาลักษณะการไหลของสารละลายโคโตะซานที่แปร %DD ใน สารละลายกรดซัลฟูริก 0.5 M พบว่า สารละลายโคโตะซาน 76%DD แสดงค่าความหนืดปรากฏคงที่เฉลี่ย 0.045 Pa.s และสารละลายโคโตะซาน 88%DD แสดงค่าความหนืดปรากฏคงที่เฉลี่ย 0.341 Pa.s ตลอดช่วง shear rate 1 – 1000  $s^{-1}$  แต่สารละลายโคโตะซานที่ 93%DD แสดงค่าความหนืดปรากฏคงที่ 0.448 Pa.s ที่ shear rate ช่วง 1 – 60  $s^{-1}$  แล้วความหนืดปรากฏลดลงเมื่อ shear rate เพิ่มขึ้น แสดงว่าสารละลายโคโตะซาน 76%DD และ 88%DD ในสารละลายกรดซัลฟูริก 0.5 M มีพฤติกรรมของสารละลายเป็นแบบ Newtonian แต่สารละลายโคโตะซาน 93%DD แสดงพฤติกรรมของสารละลายแบบ shear thinning ดังแสดงในรูปที่ 4.14 และแสดงค่า consistency index และ flow behavior index ของสารละลายโคโตะซาน ดังตารางที่ 4.4



**รูปที่ 4.14** ผลของ %DD ที่ 76% 88% และ 93% ต่อสารละลายโคโตซาน ความเข้มข้น 6% ในสารละลายกรดซัลฟิวริก 0.5 M ที่ช่วง shear rate 1 ถึง 1000  $s^{-1}$  ต่อค่าความหนืดปรากฏ

สารละลายโคโตซานในสารละลายกรดแล็กติก 0.5 M เมื่อแปร %DD มีลักษณะการไหลโดยที่สารละลายโคโตซาน 76%DD และ 88%DD แสดงค่าความหนืดปรากฏคงที่เฉลี่ย 0.042 และ 0.168 Pa.s ตามลำดับ ตลอดช่วง shear rate 1 – 1000  $s^{-1}$  และสารละลายโคโตซาน 93%DD แสดงค่าความหนืดปรากฏคงที่เฉลี่ย 0.773 Pa.s ที่ช่วง shear rate 1 – 48  $s^{-1}$  และความหนืดปรากฏลดลงเมื่อ shear rate เพิ่มขึ้น แสดงว่าสารละลายโคโตซานที่ 76%DD และ 88%DD ในสารละลายกรดแล็กติก 0.5 M แสดงพฤติกรรมของสารละลายแบบ Newtonian แต่สารละลายโคโตซานที่ 93%DD แสดงพฤติกรรมของสารละลายเป็นแบบ shear thinning ดังแสดงในรูปที่ 4.15 และแสดงค่า consistency index และ flow behavior index ของสารละลายโคโตซาน ดังตารางที่ 4.4



**รูปที่ 4.15** ผลของ %DD ที่ 76% 88% และ 93% ต่อสารละลายโคโตซาน ความเข้มข้น 6% ในสารละลายกรดแลกติก 0.5 M ที่ช่วง shear rate 1 ถึง 1000 s<sup>-1</sup> ต่อค่าความหนืดปรากฏ

**ตารางที่ 4.4** ค่า consistency index (K, Pa.s<sup>n</sup>) และ flow behavior index (n) ของสารละลายโคโตซานเข้มข้น 6% ที่ %DD ต่างกันในสารละลายกรดแอสซิติค ซิตริก และแลกติก 0.5M

ตัวทำละลาย	%DD เฉลี่ย					
	76		88		93	
	K	n	K	n	K	n
สารละลายกรดแอสซิติค 0.5 M	0.043	0.979	0.266	0.958	0.501	0.923
สารละลายกรดซิตริก 0.5 M	0.049	0.975	0.372	0.974	0.515	0.926
สารละลายกรดแลกติก 0.5 M	0.046	0.969	0.178	0.985	0.964	0.877

จากผลการทดสอบลักษณะการไหลโดย steady shear test พบว่า %DD มีผลต่อพฤติกรรมของสารละลายโคโตซานคล้ายกันในสารละลายกรดทั้ง 3 ชนิด โดยสารละลายโคโตซาน 76%DD และ 88%DD แสดงพฤติกรรมของสารละลายใกล้เคียงกับลักษณะการไหลแบบ Newtonian เมื่อเปรียบเทียบค่า n เนื่องจากค่า n ของสารละลายโคโตซานทั้ง 76%DD และ 88%DD มีค่าเข้าใกล้ 1 แต่สารละลายโคโตซาน 93%DD แสดงพฤติกรรมของสารละลายแบบ shear thinning และมีค่าความหนืดปรากฏใกล้เคียงกับสารละลายโคโตซาน



88%DD ซึ่งสูงกว่าสารละลายไคโตซาน 76%DD แสดงว่า %DD มีผลต่อพฤติกรรมของสารละลายไคโตซาน เนื่องจาก %DD ที่เพิ่มขึ้น ทำให้โมเลกุลของไคโตซานที่มีลักษณะแบบ coil ขยายขนาด (Wang และคณะ, 1991) และอาจเกิดเนื่องจาก anion ของกรดที่อยู่ในสารละลายสามารถสะท้อนกับประจุบวกบนโมเลกุลของไคโตซานได้ ไคโตซานที่มี %DD ต่ำ จึงมีแรงผลักระหว่างโมเลกุลลดลง อาจเกิดพันธะไฮโดรเจนภายในภายในโมเลกุล ทำให้ hydrodynamic domain หดตัว จึงส่งผลให้สารละลายไคโตซานที่มี %DD สูงมีความหนืดมากกว่าสารละลายไคโตซานที่มี %DD ต่ำ นอกจากนี้ไคโตซานที่มี %DD สูงยังมีโอกาสเกิด entanglement มากกว่าไคโตซานที่มี %DD ต่ำ จึงแสดงลักษณะแบบ shear thinning มากกว่าสอดคล้องกับการวิจัยของ Wang และ Xu (1994) ที่พบว่า เมื่อ %DD ของไคโตซานเพิ่มขึ้นส่งผลให้ความหนืดและสมบัติการไหลแบบ shear thinning ของสารละลายไคโตซานมีมากขึ้น เนื่องจากการเพิ่ม %DD เป็นการเพิ่มความหนาแน่นของประจุบนสายโมเลกุลของไคโตซานเมื่ออยู่ในสารละลายกรด ทำให้สายโมเลกุลของไคโตซานเกิดการขยายออกเนื่องจากจำนวนแรง electrostatic repulsion ระหว่างโมเลกุล ควบคู่ไปกับการเกิด entanglement จึงส่งผลให้ความหนืดและสมบัติการไหลแบบ non-Newtonian เกิดและเด่นชัดขึ้น

#### 4.7 ผลของระดับความเข้มข้นของไคโตซานต่อลักษณะการไหลของสารละลายไคโตซานในสารละลายกรดแอสिटิก ซิตริก และแล็กติก

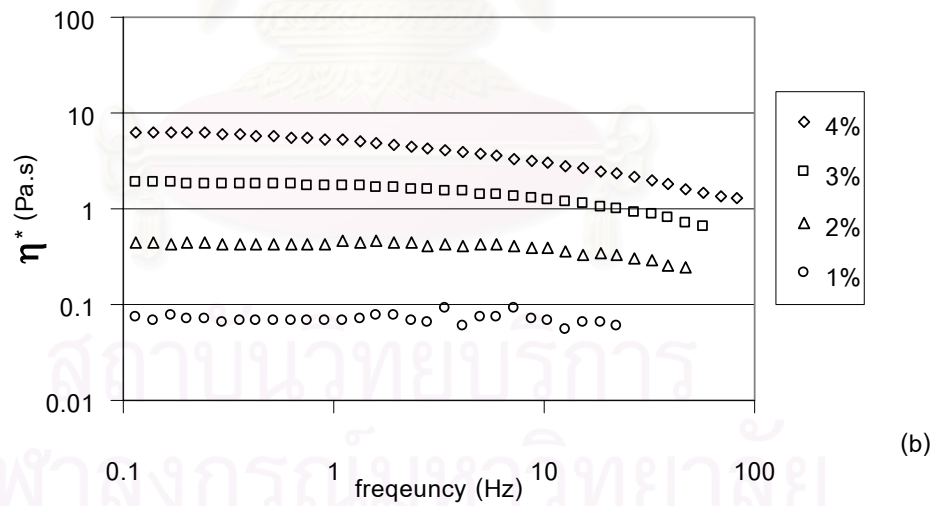
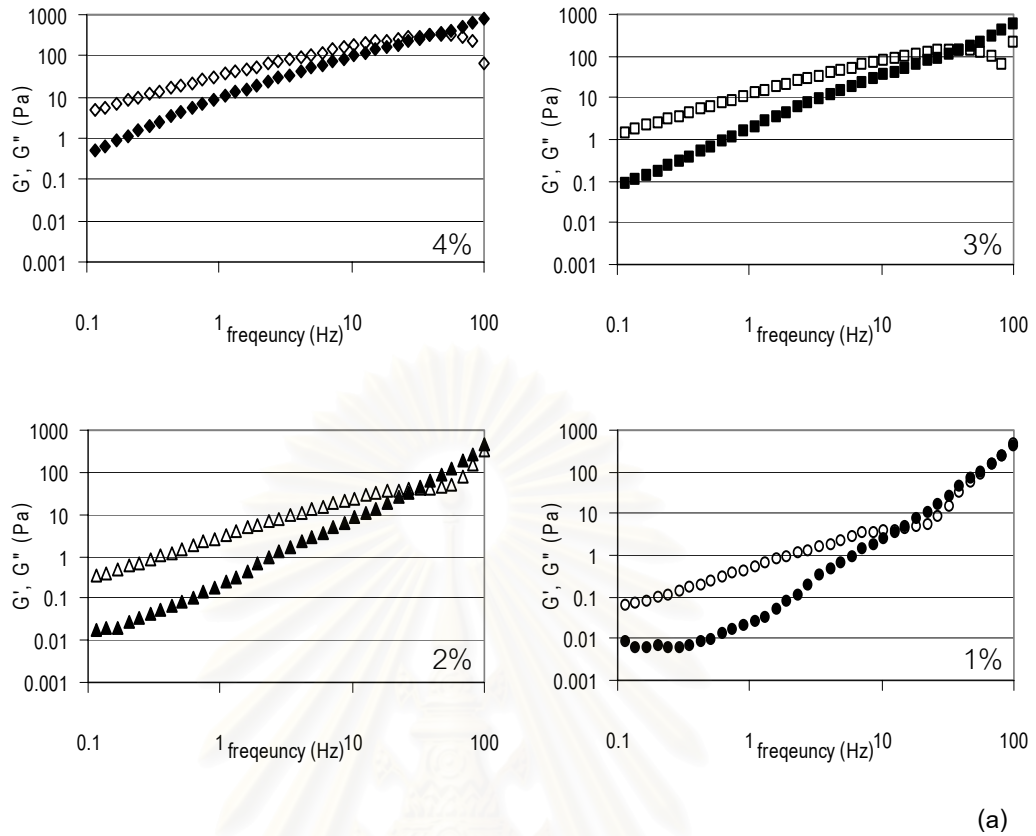
##### 4.7.1 ผลการทดสอบลักษณะการไหลโดย dynamic test

จากการศึกษาสมบัติทางวิทยากระแสของสารละลายไคโตซานที่มี %DD เท่ากับ 84 น้ำหนักโมเลกุล 984 kDa ในสารละลายกรดแอสिटิก 0.5 M โดยแปรความเข้มข้นของไคโตซานในช่วง 1% - 4% (รูปที่ 4.16) พบว่าสารละลายไคโตซานทุกระดับความเข้มข้นในช่วง 1%- 4% แสดงลักษณะการไหลแบบ viscous flow ในช่วงความถี่ตั้งแต่ 0.1 – 10 Hz เนื่องจากมีค่า  $G'$  ต่ำกว่าค่า  $G''$  และเข้าสู่ rubbery state ในช่วงความถี่ตั้งแต่ 10 – 100 Hz คือ  $G'$  และ  $G''$  ตัดกันโดยสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 4% และ 3%  $G'$  และ  $G''$  ตัดกันที่ความถี่ประมาณ 40 Hz สำหรับการตัดกันของ  $G'$  และ  $G''$  ในสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 2% จะเกิดที่ความถี่ประมาณ 30 Hz และสำหรับสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 1% จะเกิดที่ความถี่ประมาณ 15 Hz ดังแสดงในรูปที่ 4.16(a) แสดงว่าความเข้มข้นในช่วงที่ศึกษาไม่มีผลต่อพฤติกรรมของไคโตซานเนื่องจากลักษณะ curve ของค่า  $G'$  และ  $G''$  ยังคงมีลักษณะที่คล้ายกันมาก แต่ความเข้มข้นของไคโตซานมีผลต่อค่า  $G'$  และ  $G''$  เพราะความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น ส่งผลให้

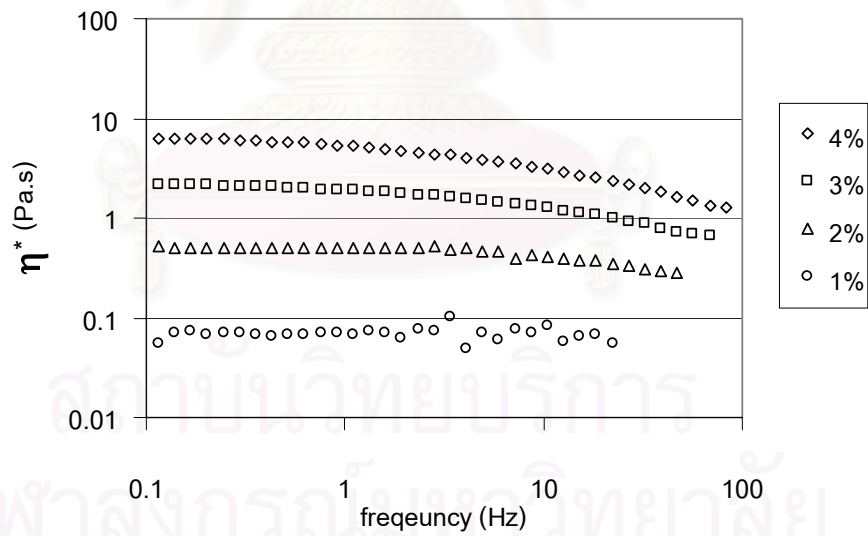
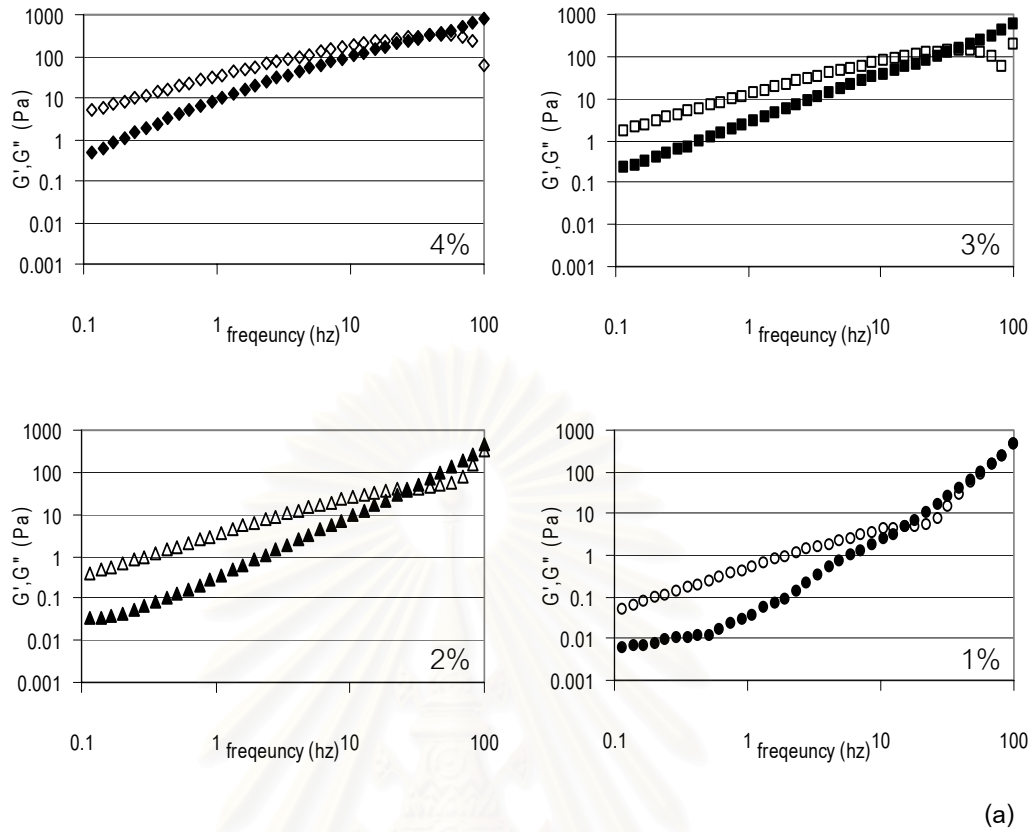
ค่า  $G'$  และ  $G''$  เพิ่มสูงขึ้น อีกทั้งค่า  $\eta^*$  ของสารละลายโคโตซานแต่ละความเข้มข้น (รูปที่ 4.16(b)) ซึ่งสารละลายโคโตซานความเข้มข้น 4% แสดงค่า  $\eta^*$  สูงกว่าสารละลายโคโตซานที่ความเข้มข้น 3% 2% และ 1% ตามลำดับ

เมื่อศึกษาลักษณะการไหลในสารละลายโคโตซานที่มี %DD เท่ากับ 84 น้ำหนักโมเลกุล 984 kDa ในสารละลายกรดซิตริก 0.5 M และแปรความเข้มข้นในช่วง 1% - 4% จะแสดงลักษณะการไหลของสารละลายแบบ viscous flow ในช่วงความถี่ 0.1 – 10 Hz และเข้าสู่ช่วง rubbery state ในช่วงความถี่ 10 – 100 Hz โดยที่ สารละลายโคโตซานความเข้มข้น 4% และ 3% curve ของ  $G'$  และ  $G''$  ตัดกันที่ความถี่ประมาณ 40 Hz สารละลายโคโตซานที่ความเข้มข้น 2% ตัดกันที่ความถี่ประมาณ 30 Hz และสารละลายโคโตซานความเข้มข้น 1% เกิดการตัดกันที่ความถี่ประมาณ 15 Hz เมื่อเปรียบเทียบค่า  $G'$  และ  $G''$  สารละลายโคโตซานที่ความเข้มข้น 4% มีค่า  $G'$  และ  $G''$  สูงกว่าสารละลายโคโตซานที่ความเข้มข้น 3% 2% และ 1% ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 4.17(a) นอกจากนี้ค่า  $\eta^*$  ของสารละลายโคโตซานความเข้มข้น 4% ยังสูงกว่าสารละลายโคโตซานที่ความเข้มข้น 3% 2% และ 1% ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 4.17(b)

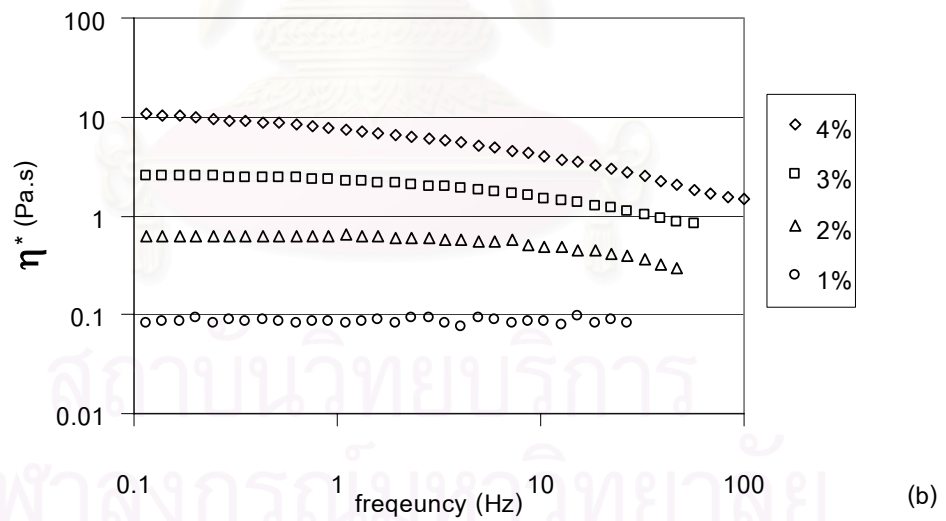
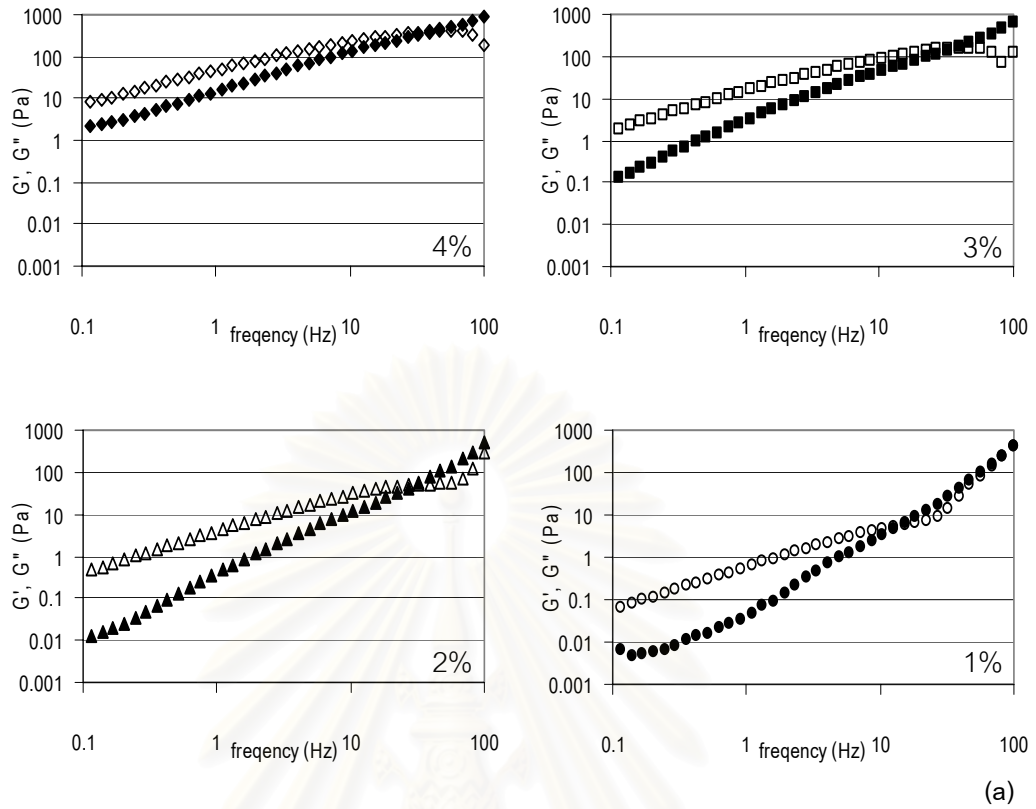
เมื่อศึกษาลักษณะการไหลของสารละลายโคโตซานในสารละลายกรดแลกติก 0.5 M และแปรความเข้มข้นของโคโตซานในช่วง 1% - 4% พบว่าสารละลายโคโตซานแสดงลักษณะการไหลของสารละลายแบบ viscous flow ที่ช่วงความถี่ 0.1 – 10 Hz และเข้าสู่ช่วง rubbery state เมื่อความถี่เข้าสู่ช่วง 10 – 100 Hz โดยที่สารละลายโคโตซานความเข้มข้น 4% และ 3% แสดงการตัดกันของ  $G'$  และ  $G''$  ที่ความถี่ประมาณ 40 Hz สำหรับสารละลายโคโตซานความเข้มข้น 2% การตัดกันของ  $G'$  และ  $G''$  เกิดที่ความถี่ประมาณ 30 Hz และสำหรับสารละลายโคโตซานความเข้มข้น 1% เกิดการตัดกันที่ความถี่ประมาณ 15 Hz โดยที่สารละลายโคโตซานที่ความเข้มข้น 4% จะให้ค่า  $G'$  และ  $G''$  สูงกว่าสารละลายโคโตซานความเข้มข้น 3% 2% และ 1% ตามลำดับ (รูปที่ 4.18(a)) และเมื่อพิจารณาค่า  $\eta^*$  พบว่าสารละลายโคโตซานที่ความเข้มข้น 4% แสดงค่า  $\eta^*$  สูงกว่าสารละลายโคโตซานที่ความเข้มข้น 3% 2% และ 1% ดังแสดงในรูปที่ 4.18(b) ตามลำดับ



รูปที่ 4.16 ผลของระดับความเข้มข้นของโคโตซาน %DD 84 และ  $M_v = 984$  kDa ในสารละลายยกรวดแอสติค 0.5 M ในช่วงความถี่ 0.1 ถึง 100 Hz ต่อ (a) ค่า  $G'$  (สัญลักษณ์ทึบ) และ  $G''$  (สัญลักษณ์โปร่ง) (b) ค่า  $\eta^*$



รูปที่ 4.17 ผลของระดับความเข้มข้นของโคโตซาน %DD 84 และ  $M_v = 984$  kDa ในสารละลายกรดซิตริก 0.5 M ในช่วงความถี่ 0.1 ถึง 100 Hz ต่อ (a) ค่า  $G'$  (สัญลักษณ์ทึบ) และ  $G''$  (สัญลักษณ์โปร่ง) (b) ค่า  $\eta^*$



รูปที่ 4.18 ผลของระดับความเข้มข้นของโคโตซาน %DD 84 และ  $M_v = 984$  kDa ในสารละลายกรดแลคติก 0.5 M ในช่วงความถี่ 0.1 ถึง 100 Hz ต่อ (a) ค่า  $G'$  (สัญลักษณ์ทึบ) และ  $G''$  (สัญลักษณ์โปร่ง) (b) ค่า  $\eta^*$

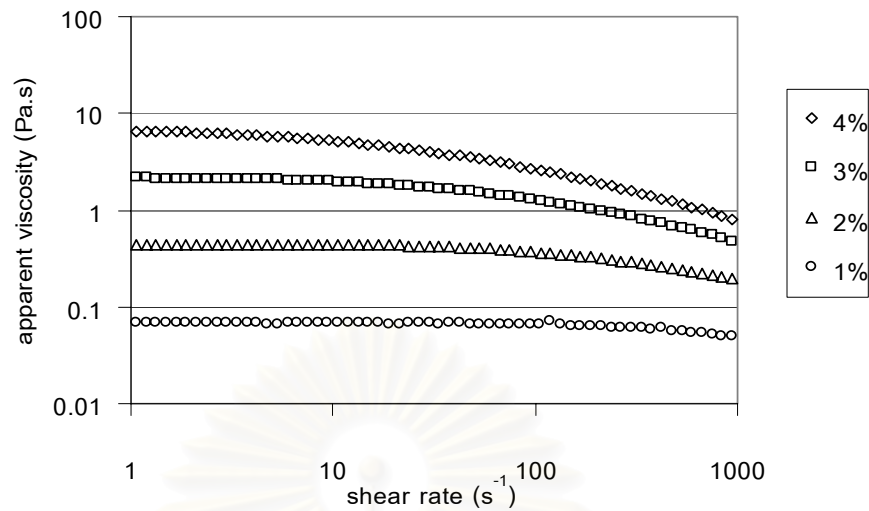
การเพิ่มความเข้มข้นเป็นการเพิ่มจำนวน entanglement ในสารละลาย ส่งผลให้การเคลื่อนที่อย่างอิสระของแต่ละสายโมเลกุลถูกจำกัด (Hwang และ Shin, 2000) Cho และคณะ (2006) รายงานว่าเมื่อความเข้มข้นลดลง สารละลายไคโตซานมีความเป็น elastic ลดลงด้วยเช่นกัน เนื่องจากการเกิด entanglement และ interaction ระหว่างสายโมเลกุลของไคโตซานลดลง การเพิ่มความเข้มข้นของไคโตซานในสารละลาย ทำให้ช่องว่างระหว่างอนุภาคในระบบลดลง เป็นผลให้เกิด interaction ภายในระบบเพิ่มขึ้น จึงทำให้สารละลายไคโตซานมี  $G'$   $G''$  และ  $\eta^*$  สูงขึ้น (Mucha, 1998)

#### 4.7.2 ผลการทดสอบลักษณะการไหลโดย steady shear test

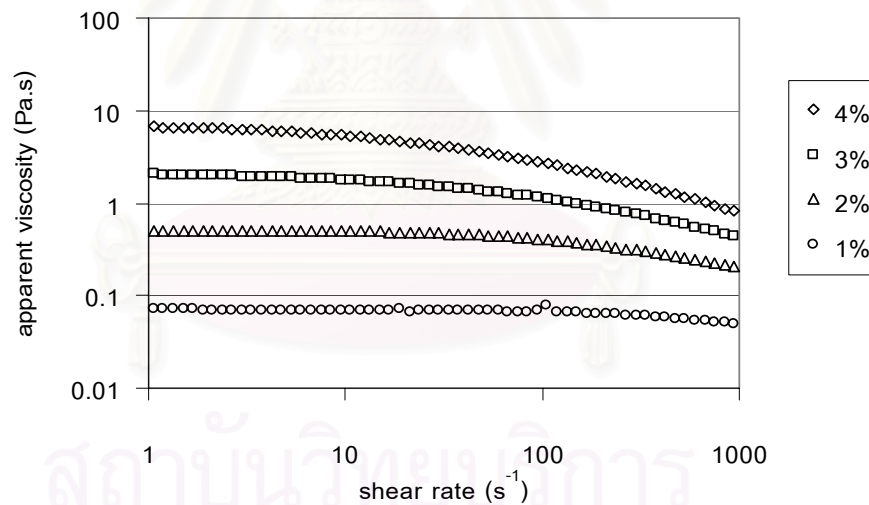
สารละลายไคโตซานในสารละลายกรดแอสซิติค 0.5 M ที่ความเข้มข้น 4% มีความหนืดปรากฏคงที่ ประมาณ 6.28 Pa.s ในช่วง shear rate ที่ 1 - 6 s<sup>-1</sup> สารละลายไคโตซานความเข้มข้น 3% มีความหนืดปรากฏคงที่ประมาณ 2.06 Pa.s ในช่วง shear rate ที่ 1 - 17 s<sup>-1</sup> สารละลายไคโตซานความเข้มข้น 2% มีความหนืดปรากฏคงที่ประมาณ 0.44 Pa.s ในช่วง shear rate ที่ 1 - 48 s<sup>-1</sup> และสารละลายไคโตซานเข้มข้น 1% มีความหนืดปรากฏคงที่ประมาณ 0.07 Pa.s ในช่วง shear rate ที่ 1 - 212 s<sup>-1</sup> ซึ่งการที่ความหนืดคงที่นั้นแสดงให้เห็นว่า สารละลายไคโตซานแสดงลักษณะแบบ Newtonian และจะเกิดช่วง Power law region คือค่าความหนืดปรากฏลดลงเมื่อค่า shear rate เพิ่มขึ้น โดยสารละลายไคโตซานจะแสดงลักษณะแบบ shear thinning ดังแสดงในรูปที่ 4.19 และแสดงค่า consistency index และ flow behavior index ของสารละลาย ไคโตซาน ดังตารางที่ 4.5

สารละลายไคโตซานในสารละลายกรดซิตริก 0.5 M เข้มข้น 4% มีความหนืดปรากฏคงที่ประมาณ 6.28 Pa.s ในช่วง shear rate ที่ 1 - 6 s<sup>-1</sup> สารละลายไคโตซานความเข้มข้น 3% มีความหนืดปรากฏคงที่ประมาณ 1.91 Pa.s ในช่วง shear rate 1 - 14 s<sup>-1</sup> สารละลายไคโตซานความเข้มข้น 2% มีความหนืดปรากฏคงที่ประมาณ 0.49 Pa.s ในช่วง shear rate ที่ 1 - 38 s<sup>-1</sup> และสารละลายไคโตซานเข้มข้น 1% มีความหนืดปรากฏคงที่ประมาณ 0.07 Pa.s ในช่วง shear rate ที่ 1 - 190 s<sup>-1</sup> ดังแสดงในรูปที่ 4.20 และแสดงค่า consistency index และ flow behavior index ของสารละลายไคโตซาน ดังตารางที่ 4.5





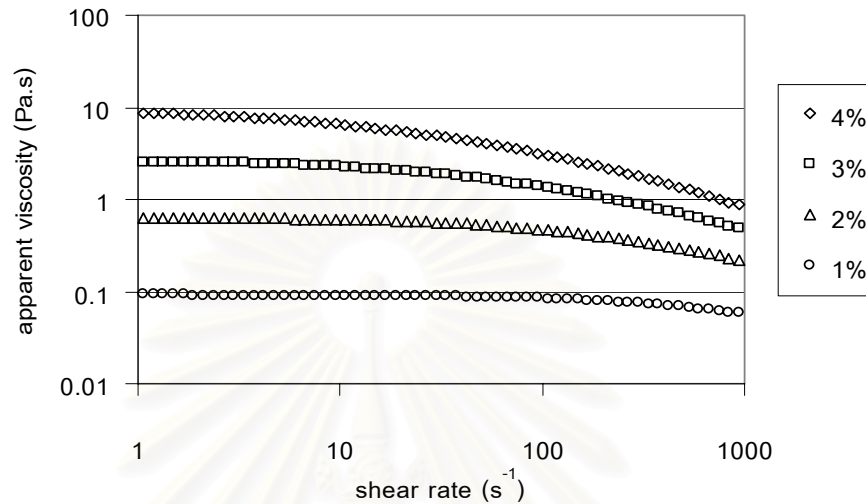
รูปที่ 4.19 ผลของระดับความเข้มข้นของไคโตซาน %DD 84 และ  $M_v = 984$  kDa ในสารละลายยกรดแอสซิติค 0.5 M ในช่วง shear rate 1 ถึง  $1000 \text{ s}^{-1}$  ต่อค่าความหนืดปรากฏ



รูปที่ 4.20 ผลของระดับความเข้มข้นของไคโตซาน %DD 84 และ  $M_v = 984$  kDa ในสารละลายยกรดซิตริก 0.5 M ในช่วง shear rate 1 ถึง  $1000 \text{ s}^{-1}$  ต่อค่าความหนืดปรากฏ

สารละลายไคโตซานในสารละลายแล็กติก 0.5 M เข้มข้น 4% มีความหนืดปรากฏคงที่ ประมาณ  $8.07 \text{ Pa.s}$  ในช่วง shear rate ที่  $1 - 6 \text{ s}^{-1}$  สารละลายไคโตซานเข้มข้น 3% มีความหนืดปรากฏคงที่ประมาณ  $2.46 \text{ Pa.s}$  ในช่วง shear rate ที่  $1 - 11 \text{ s}^{-1}$  สารละลายไคโตซานเข้มข้น 2% มีความหนืดปรากฏคงที่ประมาณ  $0.60 \text{ Pa.s}$  ในช่วง shear rate ที่  $1 - 38 \text{ s}^{-1}$  และสารละลายไคโตซานเข้มข้น 1% มีความหนืดปรากฏคงที่ประมาณ  $0.09 \text{ Pa.s}$  ในช่วง shear

rate ที่  $1 - 212 \text{ s}^{-1}$  ดังแสดงในรูปที่ 4.21 และแสดงค่า consistency index และ flow behavior index ของสารละลายโคโตซาน ดังตารางที่ 4.5



**รูปที่ 4.21** ผลของระดับความเข้มข้นของโคโตซาน %DD 84 และ  $M_v = 984 \text{ kDa}$  ในสารละลายกรดแล็กติก  $0.5 \text{ M}$  ในช่วง shear rate  $1$  ถึง  $1000 \text{ s}^{-1}$  ต่อค่าความหนืดปรากฏ

**ตารางที่ 4.5** ค่า consistency index ( $K, \text{Pa.s}^n$ ) และ flow behavior index ( $n$ ) ของสารละลายโคโตซาน 84%DD น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย  $984 \text{ kDa}$  ที่ความเข้มข้น  $1\% - 4\%$  ในตัวทำละลายต่างๆ

ตัวทำละลาย	ความเข้มข้นของสารละลายโคโตซาน (% w/v)							
	1%		2%		3%		4%	
	K	n	K	n	K	n	K	n
สารละลายกรดแอสซิติค $0.5 \text{ M}$	0.072	0.971	0.506	0.914	2.549	0.841	7.781	0.771
สารละลายกรดซิตริก $0.5 \text{ M}$	0.074	0.967	0.577	0.905	2.371	0.831	7.899	0.774
สารละลายกรดแล็กติก $0.5 \text{ M}$	0.098	0.954	0.719	0.891	3.049	0.820	10.164	0.752

ผลการทดสอบลักษณะการไหลแบบ steady shear test สอดคล้องกับผลจาก dynamic test ที่พบว่า  $G' > G''$  และ  $\eta^*$  ของสารละลายโคโตซานสูงขึ้น เมื่อสารละลายมีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น โดยผลจากการทดสอบแบบ steady shear test แสดงให้เห็นว่าสารละลายโคโตซานมีพฤติกรรมการไหลแบบ shear thinning และความเข้มข้นมีผลต่อความหนืดและช่วง

Power law region กล่าวคือสารละลายไคโตซานที่มีความเข้มข้นต่ำ (1%) มีความหนืดต่ำกว่า และมีช่วง Power law region ที่ shear rate สูงกว่าสารละลายไคโตซานที่มีความเข้มข้นสูง (4%) ทั้งนี้อาจสรุปได้ว่าการเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายไคโตซาน มีผลต่อการเพิ่มจำนวน entanglement และ polymer-polymer interaction รวมถึงการลดลงของการเคลื่อนที่อย่างอิสระของแต่ละสายโมเลกุลและช่องว่างระหว่างอนุภาคภายในระบบของสารละลาย จึงเป็นผลให้สารละลายไคโตซานมีความหนืดและแสดงพฤติกรรมแบบ shear thinning มากขึ้น เมื่อความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานเพิ่มขึ้น

#### 4.8 ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีและกายภาพของน้ำส้มเขียวหวานและการปรับปรุงคุณภาพด้านรสชาติ

ผลิตภัณฑ์น้ำส้มพร้อมดื่มมีลักษณะปรากฏที่สำคัญคือความขุ่นที่สม่ำเสมอในผลิตภัณฑ์ ปัญหาที่พบคือการตกตะกอนของอนุภาคซึ่งเกิดจากเอนไซม์ pectinesterase ที่มีอยู่ในน้ำส้ม การเติมสารให้ความคงตัวเป็นวิธีหนึ่งที่ช่วยรักษาความขุ่นได้ (ประพันธ์ ปิ่นศิริโรดม, 2538) เช่น การเติม xanthan gum 0.1% (w/v) ในเนคต้าส้มแข็ง (เมธารัตน์ จ้างง, 2550) การเติม gellan gum 0.02% (w/v) ในน้ำแครอทที่ได้จากน้ำแครอทเข้มข้น (Liang และคณะ, 2006) เป็นต้น ไคโตซานเป็นไฮโดรคอลลอยด์ชนิดหนึ่งที่สามารถใช้เป็นสารให้ความคงตัวได้เนื่องจากสามารถเพิ่มความหนืดของของเหลวได้ นอกจากนี้ ไคโตซานยังสามารถทำหน้าที่คล้ายเส้นใยในอาหาร ลดการดูดซึมไขมันและระดับโคเลสเตอรอลในร่างกายได้ (Muzzarelli, 1996) เป็นคุณสมบัติที่โดดเด่น จึงมีแนวคิดใช้ไคโตซานเป็นสารให้ความคงตัวในผลิตภัณฑ์น้ำส้มพร้อมดื่ม

##### 4.8.1 คุณภาพทางเคมีและกายภาพของน้ำส้มเขียวหวาน

คุณภาพทางเคมีและกายภาพของน้ำส้มเขียวหวานที่วิเคราะห์ได้แก่ ปริมาณกรดคิดเป็นกรดซิตริกเท่ากับ 0.95 g/100mL pH เท่ากับ 3.44 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ °Brix ค่าสี ได้แก่ ค่า L เท่ากับ 38.43 ค่า a เท่ากับ -1.10 และค่า b เท่ากับ 10.08 โดยสีของผลิตภัณฑ์คือสีส้ม เสถียรภาพความขุ่นเท่ากับ 1.09 และความหนืดที่ 100 s<sup>-1</sup> เท่ากับ 0.003 Pa.s ซึ่งใกล้เคียงกับน้ำที่ 25°C โดยน้ำที่อุณหภูมินี้มีความหนืดเท่ากับ 0.001 Pa.s ดังแสดงในตารางที่ 4.6

#### ตารางที่ 4.6 คุณภาพทางเคมีและกายภาพของน้ำส้มเขียวหวาน

ลักษณะทางกายภาพและเคมี	ค่าที่วิเคราะห์ได้ *
ปริมาณกรด (g/100mL)	0.95±0.20
pH	3.44±0.13
ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (°Brix)	14.11±1.04
ค่าสี	
- L	38.43±1.25
- a	-1.10±0.62
- b	10.08±0.26
เสถียรภาพความขุ่น	1.09±0.02
ความหนืดที่ 100 s <sup>-1</sup> (Pa.s)	0.003±0.001

หมายเหตุ: \* หมายถึงค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

#### 4.8.2 การปรับปรุงคุณภาพด้านรสชาติของน้ำส้มเขียวหวาน

การปรับปรุงคุณภาพด้านรสชาติของน้ำส้มเขียวหวานนั้น มีจุดประสงค์เพื่อหาเกณฑ์ที่ใช้ในการกำหนดคุณภาพของน้ำส้มโดยที่ผู้บริโภคให้การยอมรับ ซึ่งการทดลองนี้ได้แปรอัตราส่วนระหว่างปริมาณของแข็งที่ละลายได้ต่อปริมาณกรดเป็น 12.95 (ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 13.6°Brix และปริมาณกรด 1.05%) 15.60 (ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 15.6°Brix และปริมาณกรด 1%) และ 18.52 (ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 17.6°Brix และปริมาณกรด 0.95%) แล้วทดสอบทางประสาทสัมผัสในด้านรส (รสเปรี้ยวและรสหวาน) สี กลิ่นรส และการยอมรับโดยรวม ด้วยแบบทดสอบความชอบโดยวิธี 7-point hedonic scale (ภาคผนวก ก.9) แสดงคะแนนความชอบดังตารางที่ 4.7

**ตารางที่ 4.7** คะแนนความชอบต่อน้ำส้มเขียวหวานที่แปรอัตราส่วนระหว่างปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดต่อปริมาณกรด

น้ำส้มเขียวหวาน (Brix:acid ratio)	คะแนนความชอบ				
	สี	รสหวาน	รสเปรี้ยว	กลิ่นรส	การยอมรับ โดยรวม
12.95	5.90 <sup>b</sup> ±0.97	4.10 <sup>b</sup> ±1.68	3.60 <sup>b</sup> ±1.47	5.20 <sup>b</sup> ±1.20	4.50 <sup>b</sup> ±1.05
15.60	5.80 <sup>b</sup> ±1.01	5.10 <sup>a</sup> ±1.68	5.00 <sup>a</sup> ±1.65	5.50 <sup>ab</sup> ±1.15	5.60 <sup>a</sup> ±1.23
18.52	6.70 <sup>a</sup> ±0.47	5.50 <sup>a</sup> ±1.32	5.00 <sup>a</sup> ±1.17	6.00 <sup>a</sup> ±1.03	6.10 <sup>a</sup> ±0.85

หมายเหตุ: อักษร a, b,...แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของค่าในสมมติเดียวกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ( $p \leq 0.05$ )

จากผลการประเมินทางประสาทสัมผัส พบว่าน้ำส้มเขียวหวานที่มีอัตราส่วนระหว่างปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดต่อปริมาณกรดเป็น 18.52 ได้รับคะแนนในทุกด้านสูงที่สุด จึงเลือกใช้อัตราส่วนระหว่างปริมาณของแข็งที่ละลายได้ต่อปริมาณกรดที่ 18.52 ในการผลิตน้ำส้มเขียวหวานในงานวิจัยขั้นต้นต่อไป

#### 4.9 การคัดเลือกสภาวะของโคโตซานเพื่อประยุกต์ในน้ำส้มเขียวหวาน

##### 4.9.1 การคัดเลือกโคโตซานเพื่อประยุกต์ในน้ำส้มเขียวหวาน

การประยุกต์ใช้โคโตซานในน้ำส้มพร้อมดื่ม มีวัตถุประสงค์ใช้เป็นสารให้ความคงตัวเพื่อรักษาความชุ่มชื้นของน้ำส้มให้ได้ตลอดอายุการเก็บ โดยที่สารให้ความคงตัวมีผลให้ผลิตภัณฑ์มีความหนืดสูงขึ้น ลักษณะของสารให้ความคงตัวที่ต้องการในผลิตภัณฑ์น้ำส้มคือ ต้องเป็นสารที่ให้ความหนืดสูงสำหรับการรักษาความชุ่มชื้นในระหว่างการเก็บ และลดลงเมื่อได้รับแรงเฉือนที่เกิดขึ้นในช่องปากเมื่อดื่มน้ำส้ม ซึ่งลักษณะดังกล่าวตรงกับพฤติกรรมการไหลแบบ shear-thinning

จากผลการทดสอบลักษณะการไหลของสารละลายโคโตซานความเข้มข้น 4% ในสารละลายกรดซิตริก 0.5 M ที่แปรน้ำหนักโมเลกุล และ %DD พบว่าสารละลายโคโตซานมีพฤติกรรมการไหลแบบ shear-thinning โดยแสดงค่า flow behavior index (n) ต่ำกว่า 1 จากนั้นนำผลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ ดังแสดงในตารางที่ 4.8 พบว่ามีอิทธิพล

ร่วมระหว่างน้ำหนักโมเลกุลและ %DD ต่อค่า flow behavior index อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ( $p \leq 0.01$ ) โดยผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.9

**ตารางที่ 4.8** ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของ flow behavior index (n) ของสารละลายไคโตซานในสารละลายกรดซิตริกที่มีน้ำหนักโมเลกุลและ %DD ต่างกัน

แหล่งความแปรปรวน	n
น้ำหนักโมเลกุล (A)	**
%DD (B)	**
AxB	**

หมายเหตุ: \*\* หมายถึงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ( $p \leq 0.01$ )

**ตารางที่ 4.9** flow behavior index (n) ของสารละลายไคโตซานในสารละลายกรดซิตริก 0.5 M ที่แปรน้ำหนักโมเลกุลและ %DD

ช่วง %DD	ช่วงน้ำหนักโมเลกุล *			
	(1)	(2)	(3)	(4)
70% - 80%	0.651 <sup>f</sup> ±0.020	0.945 <sup>abcd</sup> ±0.011	0.973 <sup>ab</sup> ±0.024	0.941 <sup>bcd</sup> ±0.004
80% - 90%	0.774 <sup>e</sup> ±0.012	0.915 <sup>d</sup> ±0.005	0.981 <sup>a</sup> ±0.007	0.955 <sup>abc</sup> ±0.027
90% - 100%	0.805 <sup>e</sup> ±0.030	0.962 <sup>ab</sup> ±0.003	0.974 <sup>ab</sup> ±0.007	0.919 <sup>cd</sup> ±0.008

หมายเหตุ: อักษร a, b,... แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ( $p \leq 0.05$ )

(1) (2) (3) และ (4) หมายถึงช่วงน้ำหนักโมเลกุลที่ต่างกัน

\* หมายถึงค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ

เห็นได้ว่าไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลในช่วงที่ (1) (1212 984 และ 724 kDa) แสดงค่า flow behavior index อยู่ในช่วง 0.651 - 0.805 ซึ่งต่ำกว่าช่วงน้ำหนักโมเลกุลอื่นที่มี %DD ในช่วงเดียวกัน ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองข้อ 4.5 และเมื่อพิจารณา %DD ของไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลในช่วงที่ (1) พบว่าไคโตซานที่มี %DD เท่ากับ 77% (1212 kDa) แสดงค่า flow behavior index ต่ำกว่าไคโตซานที่มี %DD เท่ากับ 84% (984 kDa) และ 92% (724 kDa) ซึ่งขัดแย้งกับผลการทดลองข้อ 4.6 ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่า ไคโตซาน 77%DD มีน้ำหนักโมเลกุลสูงกว่าไคโตซาน 84 และ 92%DD ส่งผลให้โอกาสเกิด entanglement สูงกว่า จึงแสดง



ลักษณะแบบ shear thinning มากกว่าโคโตซาน 84 และ 92%DD ทั้งนี้การเลือกโคโตซานมาประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ยังต้องคำนึงถึงการละลายของโคโตซาน เนื่องจากต้องเตรียมสารละลายโคโตซานที่ความเข้มข้นสูงเพื่อลดการเจือน้ำในผลิตภัณฑ์ แต่โคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง (1212 kDa 77%DD และ 984 kDa 84%DD) เกิดการการละลายไม่สมบูรณ์ จึงเลือกโคโตซานที่มี %DD สูงคือ 92%DD น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย 724 kDa เพื่อประยุกต์ในน้ำดื่มสำหรับงานวิจัยในขั้นตอนถัดไป

#### 4.9.2 การคัดเลือกความเข้มข้นของโคโตซานในน้ำส้มเขียวหวาน

จากผลการทดสอบลักษณะการไหลของสารละลายโคโตซานที่ความเข้มข้นต่างๆ พบว่าความเข้มข้นมีผลต่อลักษณะการไหลของสารละลายโคโตซานโดยสารละลายโคโตซานแสดงพฤติกรรมการไหลแบบ shear thinning มากขึ้นรวมถึงมีความหนืดสูงขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้น ทั้งนี้ลักษณะปรากฏของน้ำส้มที่ดีนั้นไม่ควรมีความหนืดสูง จึงมีการศึกษาระดับความเข้มข้นของโคโตซานต่อความชอบของผู้บริโภค โดยแปรระดับความเข้มข้นของโคโตซานในน้ำส้มเขียวหวานเป็น 4 ระดับคือ 0% 0.1% 0.25% และ 0.5% (w/v) ของน้ำส้ม แล้วทดสอบทางประสาทสัมผัสด้วยแบบทดสอบความชอบโดยวิธี 7-point hedonic scale (ภาคผนวก ก.9) และวัดความหนืดที่  $100 \text{ s}^{-1}$  เนื่องจาก shear rate ที่เกิดในช่องปากอยู่ในช่วง  $50 - 100 \text{ s}^{-1}$  (Shama, Parkinson และ Sherman, 1973) คะแนนความชอบต่อน้ำส้มที่เติมโคโตซานที่ความเข้มข้นต่างๆ แสดงดังตารางที่ 4.10

ตารางที่ 4.10 ความหนืดและคะแนนความชอบต่อน้ำส้มที่แปรความเข้มข้นของโคโตซาน

ความเข้มข้นของโคโต- ซานในน้ำส้ม (%w/v)	ความหนืดที่ $100 \text{ s}^{-1}$ (Pa.s)*	คะแนนความชอบ		
		สี	ความหนืด	การยอมรับโดยรวม
0	$0.0030 \pm 0.0010$	$5.95^{ab} \pm 0.69$	$6.20^a \pm 0.77$	$6.05^a \pm 0.51$
0.10	$0.0037 \pm 0.0003$	$6.35^a \pm 0.49$	$6.00^a \pm 0.86$	$6.25^a \pm 0.55$
0.25	$0.0062 \pm 0.0003$	$6.05^{ab} \pm 0.39$	$5.10^b \pm 1.29$	$5.20^b \pm 0.95$
0.50	$0.0134 \pm 0.0006$	$5.70^b \pm 0.98$	$4.80^b \pm 1.15$	$4.95^b \pm 1.00$

หมายเหตุ: อักษร a, b,...แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของค่าในสมมติเดียวกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ( $p \leq 0.05$ )

\* หมายถึงค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

จากตารางที่ 4.10 พบว่าน้ำส้มที่เติมโคโตซาน 0.1% มีคะแนนความชอบด้านการยอมรับโดยรวมและด้านสีสูงที่สุดและมีคะแนนความชอบด้านความหนืดรองจากน้ำส้มเขียวหวานที่ไม่เติมโคโตซาน เนื่องจากการเติมโคโตซานลงในน้ำส้มทำให้น้ำส้มมีความหนืดที่  $100 \text{ s}^{-1}$  สูงขึ้น โดยความเข้มข้นของโคโตซานที่เพิ่มขึ้นยังส่งผลให้ความหนืดของน้ำส้มสูงขึ้น สอดคล้องกับผลการทดสอบลักษณะการไหลของสารละลายโคโตซานดังข้อ 4.7 จึงเลือกระดับความเข้มข้นของโคโตซานในน้ำส้มเขียวหวานที่ 0.1% (w/v) เพื่อศึกษาผลของโคโตซานต่อคุณภาพของน้ำส้มเขียวหวาน ทั้งนี้ การทดลองเติมโคโตซานในน้ำส้มมีผลต่อรสชาติของน้ำส้มโดยทำให้รสชาติขม ตกค้าง อาจเกิดเนื่องจากหมู่เอมีนบนโคโตซานสามารถจับกับหมู่แอลกอฮอล์ของลิโมนีน ซึ่งเป็นสารให้รสขมในน้ำส้มได้ (สุพัตรา รักษาพรต, 2547) และประจุบางส่วนที่เหลืออาจจับกับเนื้อเยื่อบนลิ้น จึงทำให้รสขมตกค้าง

#### 4.10 ผลการใช้โคโตซานในน้ำส้มเขียวหวานพร้อมดื่มต่อคุณภาพของน้ำส้ม

ในขั้นตอนนี้ได้ผลิตน้ำส้มเขียวหวานที่มีอัตราส่วนระหว่างปริมาณของแข็งที่ละลายได้ต่อปริมาณกรดเป็น 18.52 และเติมโคโตซาน 0.1 % (w/v) จากการตรวจวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดคิดเป็นกรดซิตริก pH ความหนืดที่  $100 \text{ s}^{-1}$  เสถียรภาพความขุ่น ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ค่าการเปลี่ยนแปลงสี ( $\Delta E$ ) เปรียบเทียบกับน้ำส้มที่ไม่เติมโคโตซาน จากนั้นนำผลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ ดังแสดงในตารางที่ 4.11 และตรวจคุณภาพทางจุลินทรีย์ได้แก่ ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและปริมาณยีสต์และราเปรียบเทียบกับน้ำส้มที่ไม่เติมโคโตซานระยะเวลาการเก็บ 8 วัน ยกเว้นวันที่ 4 ที่อุณหภูมิ  $4^{\circ}\text{C}$

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**ตารางที่ 4.11** ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณกรด pH ความหนืดที่  $100 \text{ s}^{-1}$  เสถียรภาพความขุ่น ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (tss) อัตราส่วนระหว่างปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดต่อปริมาณกรด (brix : acid ratio) และค่าการเปลี่ยนแปลงสี ( $\Delta E$ ) ของน้ำส้มที่เติมและไม่เติมโคโคซานและวันที่เก็บต่างกัน

แหล่งความแปรปรวน	ปริมาณกรด	pH	ความหนืดที่ $100 \text{ s}^{-1}$	เสถียรภาพความขุ่น	tss	brix : acid ratio	$\Delta E^n$
การเติมโคโคซาน (A)	ns	*	**	**	**	ns	ns
วันที่เก็บ (B)	ns	ns	ns	**	ns	ns	*
AxB	ns	ns	ns	**	**	ns	ns

หมายเหตุ: \*\* หมายถึงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ( $p \leq 0.01$ )

\* หมายถึงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

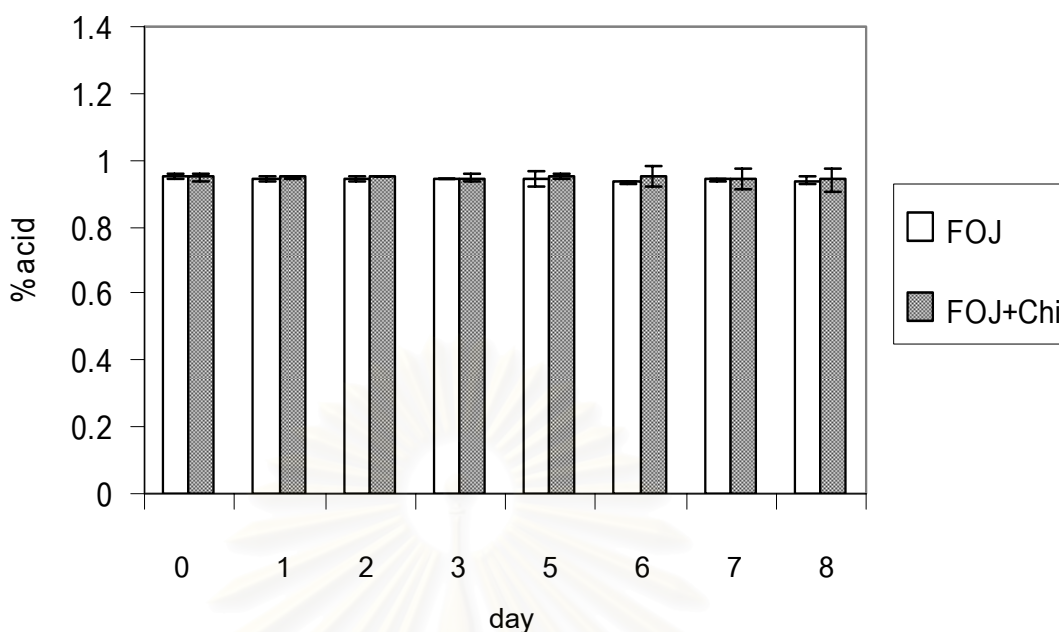
ns หมายถึงไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ )

ก แสดงถึงจำนวนวันที่เก็บของน้ำส้มเป็น 7 วัน

#### ปริมาณกรด

สำหรับปริมาณกรดเริ่มต้นที่กำหนดในการผลิตน้ำส้มเขียวหวานที่ไม่เติมโคโคซานและเติมโคโคซานคือ 0.95% เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ  $4^\circ\text{C}$  เป็นระยะเวลา 8 วัน พบว่าการเติมโคโคซาน ระยะเวลาการเก็บ และอิทธิพลร่วมระหว่างการเติมโคโคซานและระยะเวลาการเก็บมีผลต่อปริมาณกรดอย่างไม่มีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) โดยน้ำส้มที่ไม่เติมโคโคซานและเติมโคโคซาน 0.1% (w/v) มีปริมาณกรดในช่วง  $0.94 \pm 0.01$  และ  $0.95 \pm 0.02$  % (w/v) ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 4.22

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.22 ปริมาณกรด (%) ในน้ำส้มที่ไม่เติมไคโตซาน (FOJ) และน้ำส้มที่เติมไคโตซาน 0.1% (FOJ+Chi) ตลอดอายุการเก็บ 8 วัน ที่อุณหภูมิ 4°C

#### ค่า pH

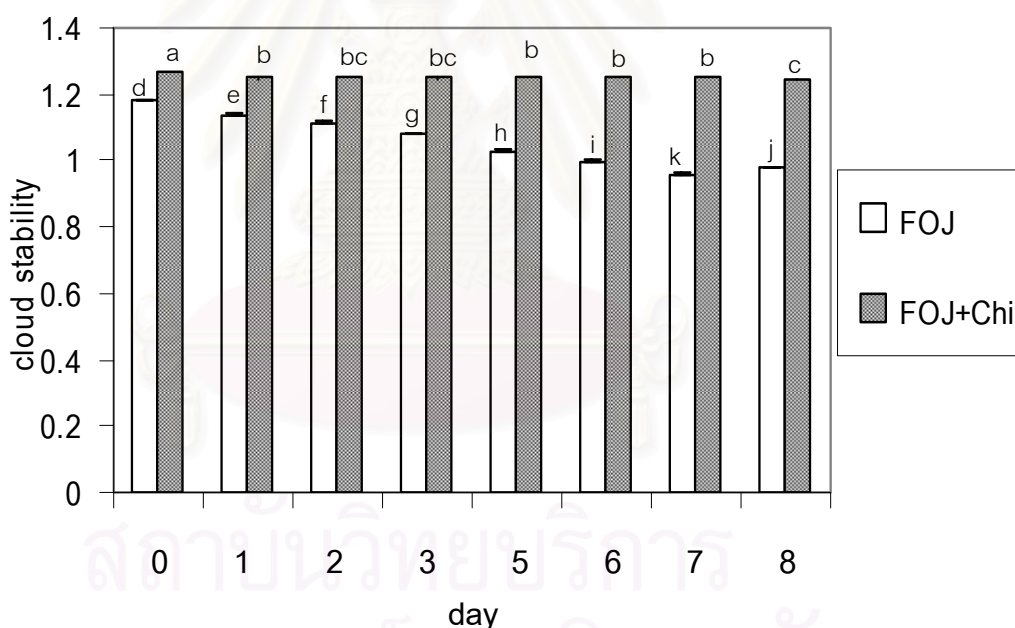
จากการตารางที่ 4.11 เมื่อพิจารณาค่า pH ของน้ำส้มพบว่า ระยะเวลาการเก็บและอิทธิพลร่วมระหว่างระยะเวลาการเก็บและการเติมไคโตซานไม่มีผลต่อค่า pH อย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) แต่การเติมไคโตซานมีผลต่อ pH อย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) โดยน้ำส้มที่ไม่เติมและเติมไคโตซาน 0.1% มีค่า pH เฉลี่ย  $3.62 \pm 0.02$  และ  $3.66 \pm 0.05$  ตามลำดับ เห็นได้ว่าน้ำส้มที่เติมไคโตซานมีค่า pH สูงกว่าน้ำส้มที่ไม่เติมไคโตซาน ทั้งที่ปริมาณกรดใกล้เคียงกัน เนื่องจากไคโตซานในน้ำส้มสามารถรับโปรตอนจากกรด (Hamdine และคณะ, 2005) จึงทำให้ค่า pH สูงกว่าน้ำส้มที่ไม่เติมไคโตซาน

#### ความหนืด

เมื่อพิจารณาคุณภาพด้านความหนืดของน้ำส้มพบว่า ระยะเวลาการเก็บและอิทธิพลร่วมระหว่างระยะเวลาการเก็บและการเติมไคโตซานไม่มีผลต่อค่าความหนืดที่  $100 \text{ s}^{-1}$  ( $p > 0.05$ ) แต่การเติมไคโตซานมีผลต่อความหนืดที่  $100 \text{ s}^{-1}$  อย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) โดยน้ำส้มที่ไม่เติมและเติมไคโตซาน 0.1% มีความหนืดที่  $100 \text{ s}^{-1}$  เฉลี่ย  $0.0024 \pm 0.0005$  และ  $0.0036 \pm 0.0004 \text{ Pa.s}$  ตามลำดับ

### เสถียรภาพความขุ่น

จากตารางที่ 4.11 พบว่าอิทธิพลร่วมระหว่างการเติมโคโตซานและระยะเวลาการเก็บน้ำส้มมีผลต่อเสถียรภาพความขุ่นของน้ำส้มอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ( $p \leq 0.01$ ) ซึ่งเสถียรภาพความขุ่นเป็นคุณภาพที่สำคัญสำหรับน้ำส้ม โดยน้ำส้มที่เติมโคโตซานจะมีเสถียรภาพความขุ่นสูงกว่าน้ำส้มที่ไม่เติมโคโตซานอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ( $p \leq 0.01$ ) และเมื่อระยะเวลาการเก็บเพิ่มขึ้นส่งผลให้เสถียรภาพความขุ่นของน้ำส้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ( $p \leq 0.01$ ) เช่นกัน เสถียรภาพความขุ่นของน้ำส้มแสดงดังรูปที่ 4.23 แสดงว่าโคโตซานสามารถรักษาความคงตัวของน้ำส้มได้ ทั้งนี้อาจเกิดเนื่องจากโคโตซานมีผลให้ความหนืดของน้ำส้มเพิ่มขึ้น และอาจเป็นเพราะโคโตซานสามารถเกิด interaction กับเพกตินที่มีอยู่ในน้ำส้ม ด้วยแรง electrostatic พันธะไฮโดรเจน และ hydrophobic interaction ทำให้โมเลกุลมีขนาดใหญ่ขึ้น (Rashidova และคณะ, 2004) เมื่อน้ำส้มผ่านกระบวนการโฮโมจีไนซ์แล้วจึงทำให้น้ำส้มมีเสถียรภาพความขุ่นเพิ่มขึ้น



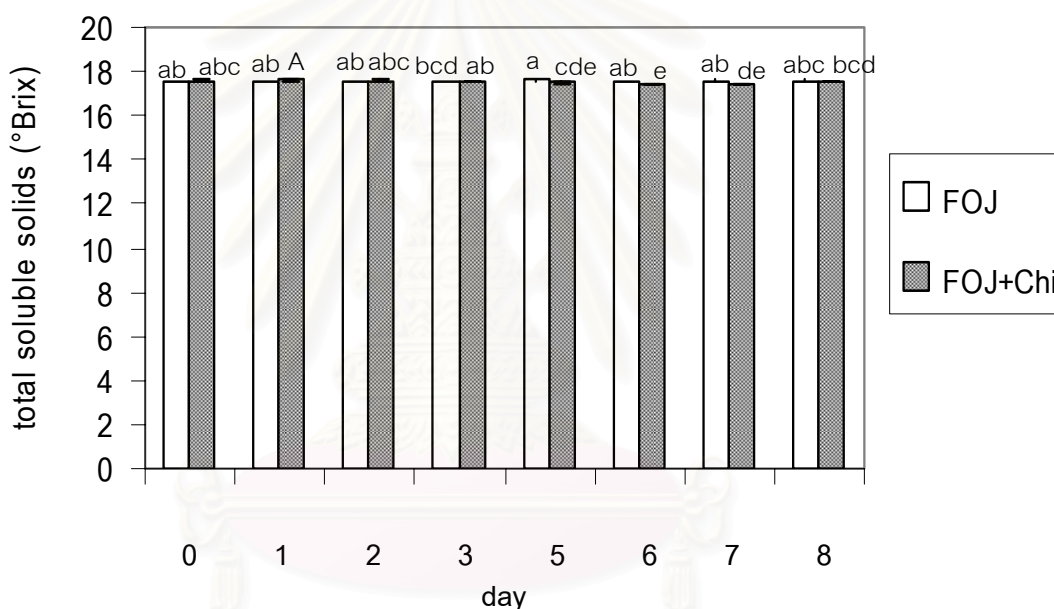
รูปที่ 4.23 เสถียรภาพความขุ่นของน้ำส้มที่ไม่เติมโคโตซาน (FOJ) และน้ำส้มที่เติมโคโตซาน 0.1% (FOJ+Chi) ตลอดอายุการเก็บ 8 วัน ที่อุณหภูมิ 4°C

### ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด

จากตารางที่ 4.11 พบว่ามีอิทธิพลร่วมระหว่างการเติมโคโตซานและอายุการเก็บต่อปริมาณของแข็งที่ละลายได้อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ( $p \leq 0.01$ ) ดังแสดงในรูปที่ 4.24 โดยการผลิตน้ำส้มเพื่อทดสอบผลของโคโตซานได้กำหนดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ของน้ำส้มก่อนฆ่าเชื้อ



เป็น  $17.6^{\circ}\text{Brix}$  และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $4^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 8 วัน พบว่าน้ำส้มที่ไม่เติมโคโคซานที่ระยะเวลาการเก็บ 8 วันมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดไม่แตกต่างจากวันที่ 0 และน้ำส้มที่เติมโคโคซาน 0.1% ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดมีแนวโน้มลดลงในวันที่ 6 และเมื่อเปรียบเทียบน้ำส้มทั้ง 2 ชนิดในแต่ละวันพบว่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำส้มที่เติมโคโคซานมีแนวโน้มที่แตกต่างจากน้ำส้มที่ไม่เติมโคโคซานในวันที่ 5 ทั้งนี้เมื่อพิจารณาเป็นอัตราส่วนระหว่างปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดต่อปริมาณกรดแล้วพบว่าการเติมโคโคซานระยะเวลาในการเก็บและอิทธิพลร่วมระหว่างการผลิตโคโคซานและระยะเวลาการเก็บ ไม่มีผลต่ออัตราส่วนระหว่างปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดต่อปริมาณกรด ( $p>0.05$ ) (ตารางที่ 4.11)



รูปที่ 4.24 Total soluble solids ของน้ำส้มที่ไม่เติมโคโคซาน (FOJ) และน้ำส้มที่เติมโคโคซาน 0.1% (FOJ+Chi) ตลอดอายุการเก็บ 8 วัน ที่อุณหภูมิ  $4^{\circ}\text{C}$

#### ค่าการเปลี่ยนแปลงสี ( $\Delta E$ )

การวัดค่าสีได้ค่า L a และ b แต่คำนวณเป็นค่าการเปลี่ยนแปลงค่าสี ( $\Delta E$ ) ดังภาคผนวก ก.6 เพื่อดูแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงสีของผลิตภัณฑ์ เมื่อค่า  $\Delta E$  น้อยกว่า 1 แสดงว่าการเปลี่ยนแปลงสีของผลิตภัณฑ์ไม่สามารถสังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่า (Hunt, 1998) จากตารางที่ 4.11 พบว่าการเติมโคโคซานและอิทธิพลร่วมของการเติมโคโคซานและระยะเวลาการเก็บไม่มีผลต่อค่า  $\Delta E$  ( $p>0.05$ ) แต่ระยะเวลาการเก็บมีผลต่อค่า  $\Delta E$  อย่างมีนัยสำคัญ ( $p\leq 0.05$ ) โดยน้ำส้ม



ที่ไม่เติมโคโตซานและเติมโคโตซาน 0.1% (w/v) มีค่า  $\Delta E$  ในระยะเวลาการเก็บตั้งแต่วันที่ 1 – 5 ไม่แตกต่างกันแต่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเริ่มแตกต่างในวันที่ 6 แสดงว่าผลิตภัณฑ์มีการเปลี่ยนแปลงสีจากผลิตภัณฑ์เริ่มต้นในวันที่ 6 ดังแสดงในตารางที่ 4.12

ตารางที่ 4.12 ผลของระยะเวลาการเก็บที่อุณหภูมิ 4°C ต่อค่า  $\Delta E$  ของน้ำส้ม

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	$\Delta E$ *
1	0.4325 <sup>c</sup> ±0.1065
2	0.4708 <sup>bc</sup> ±0.1375
3	0.5058 <sup>bc</sup> ±0.1552
5	0.8692 <sup>abc</sup> ±0.5960
6	1.2475 <sup>a</sup> ±0.2801
7	1.1208 <sup>ab</sup> ±0.1700
8	1.1192 <sup>ab</sup> ±0.5109

หมายเหตุ: อักษร a, b,...แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ( $p \leq 0.05$ )

\* หมายถึงค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

#### คุณภาพทางจุลินทรีย์

สำหรับคุณภาพทางจุลินทรีย์ ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนสำหรับผลิตภัณฑ์น้ำส้ม (มผช.275/2547) กำหนดว่าปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดต้องไม่เกิน  $1 \times 10^4$  โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 mL สำหรับน้ำส้มแท้ ปริมาณยีสต์และราต้องไม่เกิน  $1 \times 10^2$  โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 mL เมื่อตรวจคุณภาพทางจุลินทรีย์ โดยตรวจเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และราในน้ำส้มที่ไม่เติมโคโตซานและเติมโคโตซาน 0.1% (w/v) พบว่ามีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดต่ำกว่า 30 และ 40 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 mL ตามลำดับ และปริมาณยีสต์และราต่ำกว่า 15 และ 5 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 mL

## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการวิจัย

จากผลการทดสอบลักษณะการไหลของสารละลายไคโตซานและการประยุกต์ใช้ไคโตซานในน้ำส้มสามารถสรุปได้ดังนี้

1. น้ำหนักโมเลกุล %DD และความเข้มข้นของไคโตซานมีผลต่อลักษณะของการไหลของสารละลายไคโตซานคล้ายกันในสารละลายกรดแอสซิดิก ซิตริก และแลคติก 0.5 M โดยที่สารละลายไคโตซานแสดงสมบัติการไหลเป็นแบบการไหลหนืด (viscous flow) และเมื่อไคโตซานในสารละลายกรดทั้ง 3 ชนิด มีน้ำหนักโมเลกุล %DD และความเข้มข้นเพิ่มขึ้น สารละลายไคโตซานมีค่า storage modulus, viscous modulus และ complex viscosity สูงขึ้น

2. น้ำหนักโมเลกุล %DD และความเข้มข้นของไคโตซานมีผลต่อลักษณะของการไหลของสารละลายไคโตซานคล้ายกันในสารละลายกรดแอสซิดิก ซิตริก และแลคติก 0.5 M โดยที่สารละลายไคโตซานแสดงพฤติกรรมของสารละลายแบบ Newtonian หรือ non-Newtonian ชนิด shear thinning ขึ้นอยู่กับน้ำหนักโมเลกุล %DD และความเข้มข้นของไคโตซานในสารละลาย และเมื่อแนวโน้มของน้ำหนักโมเลกุล %DD และความเข้มข้นของไคโตซานในสารละลายเพิ่มขึ้น สารละลายไคโตซานแสดงพฤติกรรมแบบ shear thinning และมีความหนืดสูงขึ้น

3. การประยุกต์ใช้ไคโตซานในน้ำส้มเพื่อเป็นสารให้ความคงตัว ส่งผลให้น้ำส้มมีความหนืดและความข้นสูงกว่าน้ำส้มที่ไม่เติมไคโตซาน และสามารถรักษาความคงตัวของน้ำส้มภายในระยะเวลาการเก็บ 0 – 8 วัน ที่อุณหภูมิ 4°C ได้ โดยมีการลดลงของค่าความข้นร้อยละ 1.51 ของค่าความข้นเริ่มต้น

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

จากผลการทดลองการประยุกต์โคโตซานในผลิตภัณฑ์น้ำส้ม ควรมีการศึกษาเพิ่มเติม ดังนี้

1. เนื่องจากการเติมโคโตซานลงในน้ำส้ม มีผลต่อรสชาติของผลิตภัณฑ์โดยทำให้รสขมเด่นชัดขึ้น ควรมีการศึกษาการลดปริมาณลิโมนิน และสารที่ทำให้เกิดรสขมชนิดอื่นก่อนเติมโคโตซานลงในน้ำส้ม

2. จากผลการทดสอบลักษณะการไหลในสารละลายกรดซึ่งเป็นกรดอินทรีย์ที่สามารถพบได้ในผลิตภัณฑ์อาหาร ควรมีการศึกษาการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารอื่น เช่น โยเกิร์ต เป็นต้น



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## รายการอ้างอิง

### ภาษาไทย

- กมลศิริ พันธุ์นิยะ. 2546. บทความนานาชาติ: ไคติน-ไคโตซาน[online]. แหล่งที่มา: <http://www.nicaonline.com>[14 พฤศจิกายน 2546].
- กล้าณรงค์ ศรีรอด และเกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ. 2546. เทคโนโลยีของแป้ง. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 303 หน้า.
- ชัยรัตน์ นันทภัทร์, ดวงพร สารมาศ และอนรรณี วิทยานัญญานนท์. 2543. การเคลือบผิวมัง-คุดด้วยไคโตซาน. วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต. ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี. 61หน้า.
- ชลธิชา นุ่มหอม. 2538. โพลีเมอร์. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: พรศิริการพิมพ์. 371 หน้า.
- ประพันธ์ ปันศิริโรดม. 2538. การรักษาความคงตัวของความชุ่มชื้นในน้ำผลไม้จากพืชตระกูลส้ม. วารสารอาหาร. 25(2): 89-94.
- เมธารัตน์ จ้างง. ผลกระทบของสารให้ความคงตัวต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์เนยดำล้นแข็ง [online]. แหล่งที่มา: [http://www.mfu.ac.th/school/agro/p\\_extra/021.doc](http://www.mfu.ac.th/school/agro/p_extra/021.doc)[30 เมษายน 2550].
- เยาวภา ไหวพริบ. 2534. การผลิตไคตินและไคโตแซนจากเปลือกกุ้ง. วิทยานิพนธ์ปริญญา มหาบัณฑิต. ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 71 หน้า.
- รามนรี เนตรวิเชียร. 2543. การกำจัดสารหนูในรูปอาร์ซีเนตในน้ำเสียสังเคราะห์โดยใช้เกลือไคโต-ซานแบบเม็ด. วิทยานิพนธ์ปริญญา มหาบัณฑิต. สหสาขาวิชาวิทยาศาสตร์สภาวะ แวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 114 หน้า.
- วิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม, กระทรวง. ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ สำนักงานวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ, ชมรมไคติน-ไคโตซาน. 2544. เรื่องน้ำรู้ ไคติน-ไคโตซาน. กรุงเทพมหานคร: ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ. 46 หน้า.
- สืบศักดิ์ กลิ่นสอน, รุจิรา สาวะอินทร์ และสุภาศิริ จิรวัดพนพงศ์. 2546. ผลของไคโตซานต่อความ คงตัวของความชุ่มชื้นในน้ำส้ม. รายงานการเสนอผลงานวิจัยในการประชุมวิชาการเพื่อ เผยแพร่ผลงานวิจัย : 221-230.

สุพัตรา รักษาพรต. 2547. การลดความขมในน้ำส้มโดยใช้โคโคซาน. วิทยานิพนธ์ปริญญา  
มหาบัณฑิต. ภาควิชาเคมีเทคนิค คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 94  
หน้า.

อุตสาหกรรม, กระทรวง. 2547. มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน น้ำส้ม มผช. 275/2547.  
กรุงเทพมหานคร: สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม.  
5 หน้า.

## ภาษาอังกฤษ

A.O.A.C. 1995. Official Methods of Analysis. 16<sup>th</sup> ed. Washington, USA: Association of  
Official Analytical Chemists.

Cabrera, J. C., and Cutsem, P. V. 2005. Preparation of chito oligosaccharides with  
degree of polymerization higher than 6 by acid or enzymatic degradation of  
chitosan. Biochemical Engineering Journal. 25: 165–172.

Cho, J., Heuzey, M. C., André, B., and Carreau, P. J. 2006. Viscoelastic properties of  
chitosan solutions: Effect of concentration and ionic strength. Journal of Food  
Engineering. 74: 500-515.

Einbu, A., and Vårum, K. M. 2004. Structure-property relationships in chitosan. In  
Tomasik, P.(ed), Chemical and Functional Properties of Food Saccharides. CRC  
Press, 217-227.

Fereidoon, S., Janak, K. V. A., and You-Jin, J. 1999. Food applications of chitin and  
chitosans. Trends in Food Science and Technology. 10: 37-51.

Hamdine, M., Heuzey, M. C., and Bégin, A. 2005. Effect of organic and inorganic acids  
on concentrated chitosan solutions and gels. International Journal of Biological  
Macromolecules. 37: 134-142.

Hunt, R. W. G. 1998. Measuring Colour. 3<sup>rd</sup> ed. London: Fountain Press. 313 pp.

Hwang, J. K., and Shin, H. H. 2000. Rheological properties of chitosan solutions.  
Korea-Australia Rheology Journal. 12: 175-179.

Kasapis, S. 1998. Structural properties of high solids biopolymer system. In Hill, S. E.,  
Ledward, D. A., and Mitchell, J. R. (ed), Functional of Properties of Food  
Macromolecules. Maryland: Aspend Publishers, Inc., 227-251.

- Lazaridou, A., Biliaderis, C. G., and Izydorczyk, M. S. 2003. Molecular size effects on rheological properties of oat  $\beta$ -glucans in solution and gels. Food Hydrocolloids. 17: 693-712.
- Li, Q., Dunn, E. T., Grandmaison, E. W., and Goosen, M. F. A. 1997. Applications and properties of chitosan. In Goosen, M. F. A. (ed), Applications of Chitin and Chitosan. Lancaster: Technomic Publishing Co., 3-29.
- Liang, C., Hu, X., Ni, Y., Wu, J., Chen, F., and Liao, X. 2006. Effect of hydrocolloids on pulp sediment, white sediment, turbidity and viscosity of reconstituted carrot juice. Food Hydrocolloids. 20: 1190-1197.
- Mucha, M. 1998. Rheological properties of chitosan blends with poly(ethylene oxide) and poly(vinyl alcohol) in solution. Reactive and Functional Polymers. 38: 19-25.
- Muzzarelli, R. A. A. 1977. Chitin. New York: Pergamon Press. 309 pp.
- Muzzarelli, R. A. A. 1996. Chitosan-based dietary foods. Carbohydrate Polymers. 29: 309-316.
- Muzzarelli, R. A. A., and Rocchetti, R. 1985. Determination of the degree of acetylation of chitosan by first derivative ultraviolet spectrophotometry. Carbohydrate Polymers. 5: 461-472.
- No, H. K., Kim, S.H., Lee, S.H., Park, N. Y., and Prinyawiwatkul, W. 2006. Stability and antibacterial activity of chitosan solutions affected by storage temperature and time. Carbohydrate Polymers. 65: 174-178.
- Rao, M. A. 1999. Rheology of Fluid and Semisolid Foods. Maryland: Aspen Publishers, Inc., 433 pp.
- Paragon Scientific Ltd. 2005. [online]. Available from: <http://www.paragon-sci.com/html/p-vicannonroutine.htm>[2007, March 1].
- Rashidova, S. Sh., Milusheva, R. Yu., Semenova, L. N., and Mukhamedjanova, M. Yu. 2004. Characteristics of interactions in the pectin-chitosan system. Chromatographia. 59: 779-782.
- Ravindra, R., Kameswara, R. K., and Khan, A. A. 1998. Solubility parameter of chitin and chitosan. Carbohydrate Polymers. 36: 121-127.



- Rudrapatnam, N. T., and Farooqahmed, S. K. 2003. Chitin-the undisputed biomolecule of great potential. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 43(1): 61-87.
- Shama, F., Parkinson, C., and Sherman, P. 1973. Identification of stimuli controlling the sensory evaluation of viscosity I. Non-oral method. Journal of Texture Studies. 4(1): 102-110.
- Steffe, J.F. 1992. Rheological Methods in Food Process Engineering, East Lansing, Michigan: Freeman Press. 417 pp.
- Tolaimate, A., Desbrieres, J., Rhazi, M., and Alagui, A. 2003. Contribution to the preparation of chitins and chitosans with controlled physico-chemical properties. Polymer. 44: 7939-7952.
- Tsaih, M. L., and Chen, R. H. 1997. Effect of molecular weight and urea on the conformation of chitosan molecules in dilute solutions. International Journal of Biological Macromolecules. 20(3): 233-240.
- Wan, Y., Creber, K. A. M., Preppley, B., and Bui, V. T. 2003. Ionic conductivity of chitosan membranes. Polymer. 44: 1057-1065.
- Wang, W., Bo, S., Li, S., and Qin, W. 1991. Determination of the Mark-Houwink equation for chitosans with different degrees of deacetylation. International Journal of Biological Macromolecules. 13(5): 281-285.
- Wang, W., and Xu, D. 1994. Viscosity and flow properties of concentrated solutions of chitosan with different degree of deacetylation. International Journal of Biological Macromolecules. 16(3): 149-152.
- Xu, F., Wang, Z., Xu, S., and Sun, D. W. 2001. Cryostability of frozen concentrated orange juices produced by enzymatic process. Journal of Food Engineering. 50(4): 217-222.



ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ภาคผนวก ก วิธีการวิเคราะห์

ก.1 วิธีการวิเคราะห์ค่า degree of deacetylation โดยใช้วิธี spectrophotometry (พัฒนาเทคนิคและดัดแปลงมาจาก Muzzarelli และ Rocchetti, 1985)

### สารเคมี

1. กรดแอสีติก (AR grade)
2. N-acetyl-D-glucosamine (AR grade)

### เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องเขย่า (model GYROTORY G2, NEW BRUNSWICK SCIENTIFIC Co., Inc., USA.)
2. Quartz cuvette (Starna<sup>®</sup> Brand)
3. Spectrophotometer (model V-530, JASCO Co., Japan)

### วิธีการ

1. การหา zero crossing point (zcp)
  - 1.1 เตรียมสารละลายกรดแอสีติกความเข้มข้น 1 M จาก กรดแอสีติกเข้มข้น 6 mL ปรับปริมาตรให้เป็น 100 mL ด้วยน้ำกลั่นชนิด deionized
  - 1.2 เตรียมสารละลายกรดแอสีติกความเข้มข้น 0.01 M จากสารละลายกรดแอสีติกความเข้มข้น 1 M 1 mL ปรับปริมาตรให้เป็น 100 mL ด้วยน้ำกลั่นชนิด deionized
  - 1.3 เตรียมสารละลายกรดแอสีติกความเข้มข้น 0.02 M จากสารละลายกรดแอสีติกความเข้มข้น 1 M 2 mL ปรับปริมาตรให้เป็น 100 mL ด้วยน้ำกลั่นชนิด deionized
  - 1.4 เตรียมสารละลายกรดแอสีติกความเข้มข้น 0.03 M จากสารละลายกรดแอสีติกความเข้มข้น 1 M 3 mL ปรับปริมาตรให้เป็น 100 mL ด้วยน้ำกลั่นชนิด deionized
  - 1.5 หาจุด zcp ของสารละลายที่ได้จากข้อ 1.2 - 1.4 โดยเครื่อง spectrophotometer ด้วยวิธี scan method แปรความยาวคลื่นที่ใช้ตั้งแต่ 200 – 240 nm และใช้น้ำกลั่นชนิด deionized เป็น blank

1.6 แปลงกราฟของสารละลายแต่ละความเข้มข้นเป็น first derivative และสร้างกราฟเพื่อหาจุดตัดของกราฟ เรียกจุดตัดนี้ว่า zcp บันทึกค่า first derivative absorbance และความยาวคลื่นที่จุด zcp

2. การสร้างกราฟมาตรฐาน (standard calibration curve) ของสารละลาย N-acetyl-D-glucosamine

2.1 เตรียมสารละลาย N-acetyl-D-glucosamine ความเข้มข้น 0.05 g/L โดยใช้สารละลายกรดแอสิติกความเข้มข้น 0.01 M เป็นตัวทำละลาย และเจือจางให้มีความเข้มข้นระหว่าง 0.000 – 0.035 g/L ดังตารางที่ ก.1

2.2 หาค่า first derivative absorbance โดยเครื่อง spectrophotometer ด้วยวิธี scan method แปรความยาวคลื่นที่ใช้ตั้งแต่ 200 – 240 nm และใช้สารละลายกรดแอสิติกความเข้มข้น 0.01 M เป็น blank แล้วแปลงกราฟของสารละลายแต่ละความเข้มข้นเป็น first derivative อ่านค่า first derivative absorbance ที่ความยาวคลื่นเดียวกับจุด zcp

2.3 หาผลต่างระหว่าง first derivative absorbance (H) ของสารละลายแต่ละความเข้มข้นโดย

$H = \text{first derivative absorbance ของสารละลาย} - \text{first derivative absorbance ที่จุด zcp}$   
สร้างกราฟระหว่างค่า H และความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน จากนั้นหาสมการความสัมพันธ์ที่  $R^2 \geq 0.95$

ตารางที่ ก.1 การเจือจางสารละลาย N-acetyl-D-glucosamine เพื่อใช้เป็นสารละลายมาตรฐาน

	ความเข้มข้น (g/L)							
	0.000	0.005	0.010	0.015	0.020	0.025	0.030	0.035
สารละลาย N-acetyl-D-glucosamine ความเข้มข้น 0.05 g/L (mL)	0	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5
สารละลายกรดแอสิติก ความเข้มข้น 0.01 M (mL)	5.0	4.5	4.0	3.5	3.0	2.5	2.0	1.5
ปริมาตรรวม (mL)	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0

หมายเหตุ: การหา zcp และการทำกราฟมาตรฐานจะทำครั้งแรกและครั้งเดียวสำหรับ spectrophotometer เครื่องนั้นๆ

### 3. การเตรียมสารละลายโคโตซานตัวอย่างเพื่อหาค่า degree of deacetylation

3.1 ละลายตัวอย่างโคโตซาน 0.2 g (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ในสารละลายกรดแอสซีติกเข้มข้น 0.2 M ปริมาตร 100 mL เขย่าที่ 100 rpm เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.2 บีบเอสารละลายโคโตซานจากข้อ 3.1 มา 5 mL ใส่ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นชนิด deionized ความเข้มข้นสุดท้ายของสารละลายโคโตซานเป็น 0.01 g (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) โคโตซานใน 100 mL ของสารละลายกรดแอสซีติกความเข้มข้น 0.01 M บันทึกความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายโคโตซาน

3.3 หาค่า first derivative absorbance โดยเครื่อง spectrophotometer ด้วยวิธี scan method แปรความยาวคลื่นที่ใช้ตั้งแต่ 200 – 240 nm และใช้สารละลายกรดแอสซีติกความเข้มข้น 0.01 M เป็น blank แล้วแปลงกราฟของสารละลายแต่ละความเข้มข้นเป็น first derivative อ่านค่า first derivative absorbance ที่ความยาวคลื่นเดียวกับจุด zcp

3.4 หาค่า H ตามข้อ 2.3 และเทียบกับกราฟมาตรฐานจากข้อ 2 เพื่อหาปริมาณความเข้มข้นของ N-acetyl-D-glucosamine และคำนวณค่า degree of deacetylation ดังสมการ

$$\%DD = \left\{ 1 - \left[ \frac{A}{[(10W - 204A)/161] + A} \right] \right\} \times 100 \quad (\text{ก.1})$$

โดย A = ความเข้มข้นของ N-acetyl-D-glucosamine ที่วัดได้ (g/L) หารด้วย 204

W = น้ำหนักของโคโตซานตัวอย่าง (g) ในสารละลายกรดแอสซีติกความเข้มข้น 0.01 M ปริมาตร 100 mL

204 = น้ำหนักโมเลกุลของ N-acetyl-D-glucosamine

161 = น้ำหนักโมเลกุลของ D-glucosamine

### ก.2 การวิเคราะห์หาน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย (ดัดแปลงจากวิธีของ Wang และคณะ, 1991)

#### สารเคมี

1. กรดแอสซีติก (AR grade)
2. โซเดียมแอสซีเตต ( $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ) (AR grade)
3. แอสซีโตน (HPLC grade)

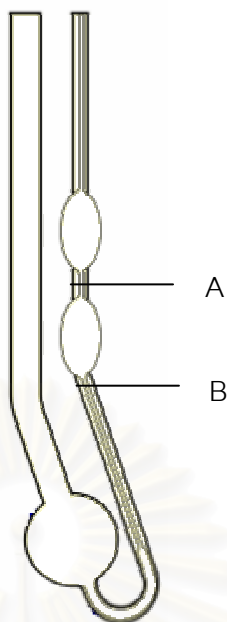
### เครื่องมือและอุปกรณ์

1. กระดาษกรองเบอร์ 1 (Whatman International Ltd., England)
2. เครื่องเขย่า (model GYROTORRY G2, NEW BRUNSWICK SCIENTIFIC Co., Inc., USA.)
3. นาฬิกาจับเวลา (model sw01-x008, Alba, Thailand)
4. Cannon-Fenske viscometer เบอร์ 50 (model P478, Kimble Glass, USA.)
5. Dryer (model HP 4812, Philips electronic (Thailand) Ltd., Thailand)
6. Thermostat (model SP-12R, Taitec Corporation, Japan)

### วิธีการ

1. เตรียมสารละลาย 0.2 M  $\text{CH}_3\text{COOH}$ /0.1 M  $\text{CH}_3\text{COONa}$  โดยชั่ง  $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  13.6080 g ละลายในสารละลาย 0.2 M  $\text{CH}_3\text{COOH}$  1000 mL เพื่อใช้เป็นตัวทำละลาย
2. เตรียมสารละลายโคโตซานเริ่มต้นโดยใช้น้ำหนัก 0.3 g (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) แล้วละลายด้วย 0.2 M  $\text{CH}_3\text{COOH}$ /0.1 M  $\text{CH}_3\text{COONa}$  ปริมาตร 100 mL เขย่าที่ 100 rpm นาน 48 ชั่วโมง และกรองผ่านกระดาษกรอง
3. เจือจางสารละลายโคโตซาน ด้วยสารละลาย 0.2 M  $\text{CH}_3\text{COOH}$ /0.1 M  $\text{CH}_3\text{COONa}$  เพื่อแปรความเข้มข้นของสารละลายโคโตซานเป็น 5 ความเข้มข้น
4. ปิเปตสารละลาย 0.2 M  $\text{CH}_3\text{COOH}$ /0.1 M  $\text{CH}_3\text{COONa}$  10 mL ลงใน Canon-Fenske viscometer ที่ควบคุมอุณหภูมิของระบบด้วยน้ำที่  $30 \pm 0.1$  °C ทิ้งไว้ 20 นาที เพื่อให้สารละลายมีอุณหภูมิเท่ากับระบบ
5. ใช้ลูกยางดูดสารละลายตัวอย่างจนเลยระดับ A และจับเวลาการไหลของสารละลายตั้งแต่ระดับ A ถึง B ดังแสดงในรูปที่ ก.1 และบันทึกเวลา เป็น  $t_{\text{solvent}}$  ทำซ้ำ 3 ครั้ง
6. เทสารละลายตัวอย่างออกกักด้วย 0.2 M  $\text{CH}_3\text{COOH}$  / 0.1 M  $\text{CH}_3\text{COONa}$  แล้วตามด้วยน้ำกลั่นและ acetone ตามลำดับ เป่าลมร้อนเพื่อให้ภายใน viscometerแห้งสนิท
7. ทำซ้ำข้อ 3, 4 และ 5 โดยเปลี่ยนเป็นสารละลายโคโตซานที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน บันทึกเวลาเป็น  $t_{\text{solution}}$





รูปที่ ก.1 ภาพจำลอง Cannon-Ubbelohde viscometer

ที่มา: ดัดแปลงจากบริษัท Paragon Scientific Ltd. (2005)

8. คำนวณผลการทดลอง

8.1 หา relative viscosity ( $\eta_{rel}$ )

$$\eta_{rel} = \frac{t_{solution}}{t_{solvent}} \quad (ก.2)$$

8.2 หา specific viscosity ( $\eta_{sp}$ )

$$\eta_{sp} = 1 - \eta_{rel} \quad (ก.3)$$

8.3 หา reduced viscosity ( $\eta_{red}$ )

$$\eta_{red} = \frac{\eta_{sp}}{\text{ความเข้มข้นของสารละลายโคโตะซาน}} \quad (ก.4)$$

8.4 plot กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายโคโตะซาน และ reduce viscosity และหาจุดตัดบนแกน y ได้ค่า intrinsic viscosity จากความสัมพันธ์ดังสมการ

$$[\eta] = \lim_{C \rightarrow 0} \eta_{red} \quad (ก.5)$$

8.5 คำนวณค่า K และ a ใน Mark-Houwink equation จากสมการ

$$K = 1.64 \times 10^{-30} \times DD^{14} \quad (ก.6)$$

$$a = (-1.02 \times 10^{-2} \times DD) + 1.82 \quad (ก.7)$$

8.6 คำนวณหาหน้าหนักโมเลกุลเฉลี่ยจาก Mark-Houwink equation จาก (2.5)

### ก.3 การวิเคราะห์ลักษณะการไหลด้วยเครื่อง rheometer

#### เครื่องมือและอุปกรณ์

1. Bohlin rheometer (model C – VOR, Malvern Instruments Ltd., UK.) พร้อมชุด Peltier controller
2. หัววัดแบบ cone ขนาดมุม  $1^\circ$  เส้นผ่านศูนย์กลาง 60 mm (CP 1/60)

#### วิธีการ

1. เปิดปั๊มลม cooler และ Peltier controller ให้พร้อมต่อการทำงานแล้วเปิดเครื่อง Bohlin rheometer วางส่วน solvent trap บนหัววัด cone and plate ขนาด 1/60 แล้วล็อกเกลียวที่หัววัด ตั้ง zero และตั้ง gap ที่ 30 ไมโครเมตร

2. เปิดโปรแกรมในหน้าจอกอมพิวเตอร์ แล้วเข้าไปที่ mode ที่ต้องการทดสอบ และตั้งภาวะในการทำงานของเครื่อง

3. การทดสอบลักษณะการไหลโดย dynamic test เลือก mode oscillation

3.1 การทดสอบ amplitude sweep test มีการตั้งภาวะการทดลอง ดังนี้

- pre-shear	off	
- auto-tension	off	
- sweep type	AMP sweep	
range	LOG	
frequency	1	Hz
minimum stress	0.02963	Pa
maximum stress	177.8	Pa

- isothermal  $25^\circ\text{C}$

3.2 การทดสอบ frequency sweep test มีการตั้งภาวะการทดลอง ดังนี้

- oscillation test parameters: frequency sweep

minimum frequency	0.1	Hz
maximum frequency	100	Hz
range	LOG	
strain (%)	1	%

- isothermal  $25^\circ\text{C}$

4. การทดสอบลักษณะการไหลโดย steady shear test เลื่อน mode viscometry มีการตั้งภาวะการทดลอง ดังนี้

- pre conditioning: controlled rate

shear rate	1	$s^{-1}$
apply time	20	s
equilibrium time	5.0	s

- shear profile

up and down		
start shear	1	$s^{-1}$
end shear	1000	$s^{-1}$
range	LOG	

5. เทตัวอย่างลงบนตรงกลางของส่วน fixed lower plate เลื่อนส่วน rotating upper plate ที่ประกอบหัววัดแล้วลงมาสัมผัสกับตัวอย่าง
6. เคลื่อนตัวอย่างที่ล้นออก ปิดฝาครอบ และปลดล็อกที่ส่วน rotating upper plate
7. กด start เพื่อเริ่มการทำงาน

#### ก.4 การวิเคราะห์ปริมาณกรดด้วยวิธีการไทเทรต

##### สารเคมี

1. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (AR grade)
2. โพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลท (AR grade)
3. สารละลายฟีนอล์ฟทาลีนอินดิเคเตอร์

##### วิธีการ

1. เตรียมและหาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)
  - 1.1 เตรียมสารละลายโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลท (KHP) ความเข้มข้น 0.1 M โดยนำ KHP ไปอบที่  $100^{\circ}\text{C}$  แล้วนำมาชั่งน้ำหนักให้ได้ประมาณ 2.04 g (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 mL คำนวณหาความเข้มข้นของสารละลาย KHP ที่แน่นอน ( $C_{\text{KHP}}$ )
  - 1.2 เตรียมสารละลาย NaOH โดยชั่ง NaOH ให้ได้ประมาณ 4.00 g (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นในขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 mL

1.3 หาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลาย NaOH ด้วยการไทเทรต โดยปิเปต สารละลาย KHP 10.0 mL ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ หยดสารละลายฟีนอล์ฟทาลีน 3-4 หยด เขย่าให้ เข้ากัน ไทเทรตกับสารละลาย NaOH บันทึกปริมาตรของสารละลาย NaOH ที่ใช้ไป ( $V_{\text{NaOH}}$ ) และ คำนวณหาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลาย NaOH ( $C_{\text{NaOH}}$ ) จาก

$$C_{\text{NaOH}} \times V_{\text{NaOH}} = C_{\text{KHP}} \times V_{\text{KHP}} \quad (\text{ก.8})$$

2. ไทเทรตหาปริมาณกรดในน้ำส้ม และคิดเทียบให้เป็นปริมาณของกรดซิตริก

2.1 ปิเปตน้ำส้ม 10 mL ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ หยดสารละลายฟีนอล์ฟทาลีน 3-4 หยด เขย่าให้เข้ากัน

2.2 ไทเทรตหาปริมาณกรดในน้ำส้ม ด้วยสารละลาย NaOH บันทึกปริมาตรของ สารละลาย NaOH ที่ใช้ไป ( $V_{\text{NaOH}}$ ) คำนวณหาปริมาณกรดในน้ำส้ม และคิดเทียบให้เป็นปริมาณ ของกรดซิตริกจาก

$$\% \text{ กรดซิตริก (w/v)} = \frac{1 \times [V_{\text{NaOH}} \times C_{\text{NaOH}}] \times 192 \times 1}{3 \times V_{\text{น้ำส้ม}} \times 1000} \times 100 \quad (\text{ก.9})$$

ก.5 การวิเคราะห์เสถียรภาพความขุ่น (ดัดแปลงจาก Xu และคณะ, 2001)

#### เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องเซนตริฟิวจ์ (model EBA12, Andreas Hettich GmbH & Co. KG., Germany) พร้อมหลอดเซนตริฟิวจ์แบบ conical ขนาด 15 mL
2. Spectrophotometer (model V-530, JASCO Co., Japan)

#### วิธีการ

1. ปิเปตน้ำส้ม 10 mL ใส่ลงในหลอด centrifuge ชนิด conical ขนาด 15 mL แล้วหมุน เหวี่ยงที่  $360 \times g$  นาน 10 นาที
2. ปิเปตสารละลายส่วนใสใส่ใน cuvette แล้วนำมาวัดค่า absorbance ที่ความยาวคลื่น 660 nm ด้วยเครื่อง spectrophotometer ใน mode Fixed Wavelength Measurement บันทึก ค่าที่ได้เป็นเสถียรภาพความขุ่น

## ก.6 การวิเคราะห์ค่าสี

### เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องวัดสี (model CR-300 ร่วมกับฐานรอง CR-A71, Minolta Co., Ltd., Japan)

### วิธีการ

1. เลื่อนสวิตช์ power on พร้อมกับกดปุ่ม all data clear
2. กดปุ่ม index set
3. เลือกแหล่งแสง C หรือ D<sub>65</sub> แล้วกดปุ่ม enter
4. กดปุ่ม calibrate เพื่อป้อนค่า Y, x, y ได้จากค่าที่อยู่บนตัวเครื่อง
5. กดปุ่ม measure แล้วรอจนเกิดการ reflect ของแสงครบ 3 ครั้ง
6. กดปุ่ม color space select เพื่อเลือกระบบสีที่ต้องการ คือ L, a, b
7. นำตัวอย่างที่ต้องการวัดสีใส่ cell ให้ปริมาตรพอดีกับขอบของฐานรอง cell
8. กดปุ่ม measure
9. คำนวณค่า  $\Delta E$  จาก

$$\Delta E = [(L_0 - L_1)^2 + (a_0 - a_1)^2 + (b_0 - b_1)^2]^{0.5}$$

โดย  $L_0 - L_1$ ,  $a_0 - a_1$  และ  $b_0 - b_1$  เป็นค่าความแตกต่างของ L, a และ b ระหว่างสีของน้ำส้มในวันที่ 0 และวันที่เก็บตัวอย่าง

## ก.7 การวิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (AOAC, 1995)

### อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Plate Count Agar (PCA)

### เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่อง autoclave (model SS-320, TOMY SEIKO Co., Ltd., Japan)
2. ตู้บ่มเชื้อ (model B30, MEMMERT GmbH Co. KG., Germany)

### วิธีการ

1. ปิเปตตัวอย่าง 1 mL ลงในหลอดทดลองที่มีสารละลาย normal saline 9 mL ผสมให้เข้ากัน ได้สารละลายที่มีความเข้มข้น  $10^{-1}$  จากนั้นเจือจางให้มีระดับการเจือจางเป็น  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  และ  $10^{-4}$  ตามลำดับ
2. ปิเปตสารละลายที่มีระดับการเจือจางอย่างละ 1 mL ใส่ลงในจานเพาะเชื้อ
3. เทอาหารเลี้ยงเชื้อ (PCA) ลงในจานเพาะเชื้อที่มีตัวอย่างแล้ว หมุนจานให้ตัวอย่างกับอาหารเข้ากัน ทิ้งไว้ให้อาหารแข็ง
4. บ่มจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ  $37^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีในจานที่มีเชื้อเจริญอยู่ในช่วง 30-300 โคโลนี คำนวณปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดโดย  
 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (cfu/mL) = จำนวนโคโลนีที่นับได้ x dilution factor

### ก.8 การวิเคราะห์หาปริมาณยีสต์และรา (AOAC, 1995)

#### อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

1. Potato Dextrose Agar (PDA)
2. กรดทาร์ทาริก

#### เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่อง autoclave (model SS-320, TOMY SEIKO Co., Ltd., Japan)
2. ตู้บ่มเชื้อ (model B30, MEMMERT GmbH Co. KG., Germany)

### วิธีการ

1. ปิเปตตัวอย่าง 1 mL ลงในหลอดทดลองที่มีสารละลาย normal saline 9 mL ผสมให้เข้ากัน ได้สารละลายที่มีความเข้มข้น  $10^{-1}$  จากนั้นเจือจางให้มีระดับการเจือจางเป็น  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  และ  $10^{-4}$  ตามลำดับ
2. ปิเปตสารละลายที่มีระดับการเจือจางอย่างละ 0.1 mL ใส่ลงในจานเพาะเชื้อที่มีอาหารแข็ง PDA ที่ปรับ pH เป็น 3.5 ด้วยกรดทาร์ทาริก
3. spread plate ด้วยแท่งแก้วสามเหลี่ยม
4. บ่มจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ  $32^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 5 วันนับจำนวนโคโลนีในจานที่มีเชื้อเจริญอยู่ในช่วง 30-300 โคโลนี คำนวณปริมาณยีสต์และราโดย

$$\text{ปริมาณยีสต์และรา (cfu/mL)} = \text{จำนวนโคโลนีที่นับได้} \times \text{dilution factor}$$



### ก.9 แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสสำหรับการปรับปรุงคุณภาพด้านรสชาติของน้ำส้ม

#### แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส

ผลิตภัณฑ์.....น้ำส้มคั้น.....

ชื่อผู้ทดสอบ.....

วันที่ทดสอบ...../...../.....

**คำชี้แจง** ให้ผู้ทดสอบชิมน้ำส้มคั้นและให้คะแนนแก่ตัวอย่างตามความชอบในด้านต่างๆ โดย

- |       |                |                   |
|-------|----------------|-------------------|
| คะแนน | 1 = ไม่ชอบมาก  | 2 = ไม่ชอบปานกลาง |
|       | 3 = ไม่ชอบน้อย | 4 = เฉยๆ          |
|       | 5 = ชอบน้อย    | 6 = ชอบปานกลาง    |
|       | 7 = ชอบมาก     |                   |

รหัสตัวอย่าง	.....	.....	.....
รส	.....	.....	.....
รสหวาน	.....	.....	.....
รสเปรี้ยว	.....	.....	.....
กลิ่นรส	.....	.....	.....
การยอมรับโดยรวม	.....	.....	.....

**ข้อเสนอแนะ**

.....

.....

.....

ขอบคุณค่ะ

ก.10 แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสสำหรับการคัดเลือกความเข้มข้นของโคโตซานในน้ำส้ม

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส

ผลิตภัณฑ์.....น้ำส้มคั้นเต็มโคโตซาน.....

ชื่อผู้ทดสอบ.....

วันที่ทดสอบ...../...../.....

**คำชี้แจง** ให้ผู้ทดสอบชิมน้ำส้มคั้นเต็มโคโตซานและให้คะแนนแก่ตัวอย่างตามความชอบในด้านต่างๆ โดย

- |       |                |                   |
|-------|----------------|-------------------|
| คะแนน | 1 = ไม่ชอบมาก  | 2 = ไม่ชอบปานกลาง |
|       | 3 = ไม่ชอบน้อย | 4 = เฉยๆ          |
|       | 5 = ชอบน้อย    | 6 = ชอบปานกลาง    |
|       | 7 = ชอบมาก     |                   |

รหัสตัวอย่าง ..... ..

สี ..... ..

ความหนืด ..... ..

การยอมรับโดยรวม ..... ..

**ข้อเสนอแนะ**

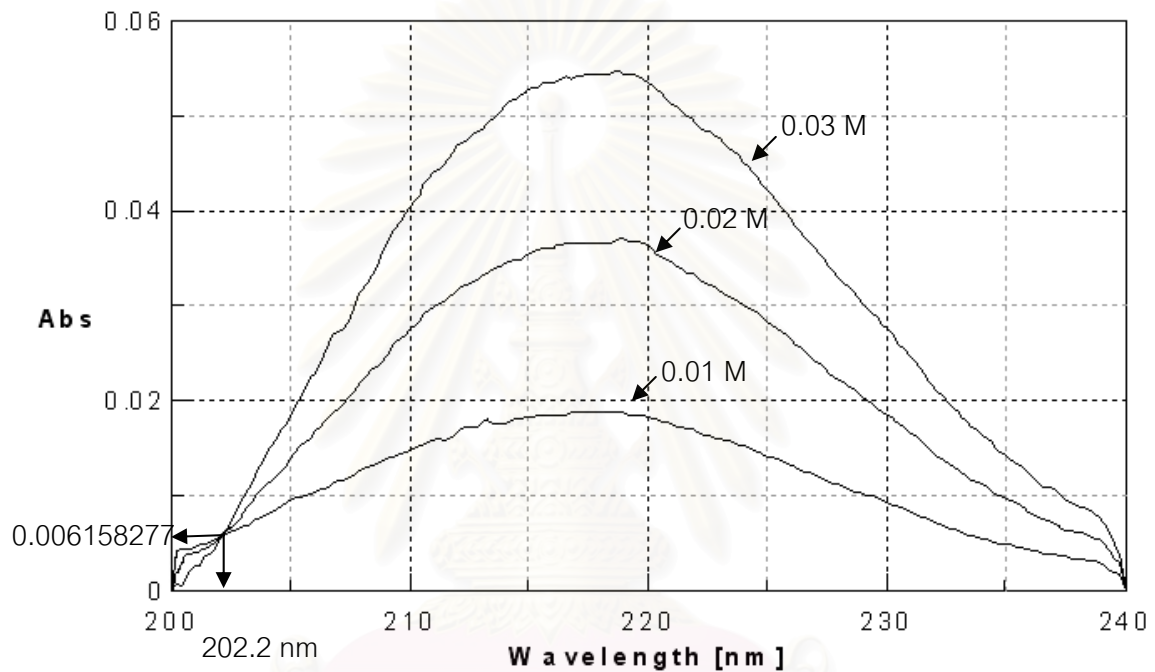
.....  
 .....  
 .....

ขอบคุณค่ะ

ภาคผนวก ข  
ข้อมูลผลการวิเคราะห์คุณสมบัติของโคโตซาน

ข.1 ข้อมูลการวิเคราะห์หา %DD ของโคโตซาน

ส่วนที่ 1 การหา zcp



รูปที่ ข.1 จุด zcp ของสารละลายกรดแอสิติก 0.01 0.02 และ 0.03 M

จากรูปที่ ข.1 ได้ความยาวคลื่นที่จุด zcp เท่ากับ 202.2 nm และค่า first derivative absorbance ของจุด zcp เท่ากับ 0.006158277

ส่วนที่ 2 กราฟมาตรฐานของสารละลาย N-acetyl D-glucosamine

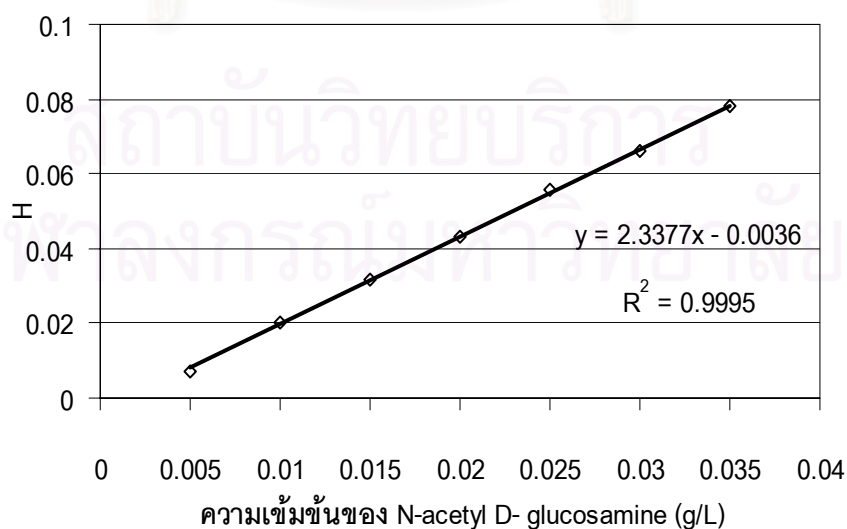
ตารางที่ ข.1 ความเข้มข้น ค่า first derivative absorbance และค่า H ของสารละลาย N-acetyl D-glucosamine

ความเข้มข้นของสารละลาย N-acetyl D-glucosamine (g/L)	absorbance ที่ความยาวคลื่น 202.2 nm	H
0.005	0.0135±0.0000	0.007360
0.01	0.0262±0.0001	0.020054
0.015	0.0381±0.0002	0.031960
0.02	0.0495±0.0006	0.043358
0.025	0.0617±0.0008	0.055590
0.03	0.0721±0.0008	0.065968
0.035	0.0841±0.0014	0.077966

คำนวณค่า H จาก

$$H = \text{ค่า first derivative absorbance ที่ } 202.2 \text{ nm} - 0.006158277 \quad (\text{ข.1})$$

โดย  $0.006158277 = \text{ค่า first derivative absorbance ของจุด zcp}$



รูปที่ ข.2 กราฟมาตรฐานของสารละลาย N-acetyl D-glucosamine

จากรูปที่ ข.2 ได้สมการสำหรับคำนวณหาความเข้มข้นของสารละลาย N-acetyl D-glucosamine ดังสมการ

$$\text{ความเข้มข้นของสารละลาย N-acetyl D-glucosamine} = (H+0.0036)/2.3377 \quad (\text{ข.2})$$

### ส่วนที่ 3 ตัวอย่างการคำนวณค่า %DD

เช่น สารละลายโคโตซานความเข้มข้นเท่ากับ 0.2080 g ในสารละลายกรดแอสซิติค 0.2 M 100 mL

วัดค่า first derivative absorbance ได้เท่ากับ 0.07448

- ค่า H จากสมการ (ข.1)
  - = 0.070448 - 0.006158277
  - = 0.06429
- ความเข้มข้นของสารละลาย N-acetyl D-glucosamine จากสมการ (ข.2)
  - = (0.06429+0.0036)/2.3377
  - = 0.029041 g/L
- ค่า A = ความเข้มข้นของ N-acetyl-D-glucosamine ที่วัดได้ (g/L) หารด้วย 204
  - = 0.029041 (g/L)/204 (g/mol)
  - = 0.000142 mol/L
- ค่า W = น้ำหนักของโคโตซานตัวอย่าง (g) ในสารละลายกรดแอสซิติคความเข้มข้น 0.01 M ปริมาตร 100 mL
  - = (0.2080/100)×5
  - = 0.0104 g/100 mL
- %DD จากสมการ (ก.1)

$$= \left\{ 1 - \left[ \frac{0.000142}{\frac{[(10 \times 0.0104 - 204 \times 0.000142)] + 0.000142}{161}} \right] \right\} \times 100$$

$$= 76.58$$

$$\approx 77\%$$

## ข.2 ข้อมูลการวิเคราะห์หาน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย ( $M_v$ ) ของโคโตซาน

ตัวอย่างการคำนวณหาน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยของโคโตซาน เช่นเวลาที่ใช้ในการไหลของสารละลาย 0.2 M  $\text{CH}_3\text{COOH}/0.1 \text{ M } \text{CH}_3\text{COONa}$  ( $t_{\text{solvent}}$ ) เฉลี่ยเป็น 216.35 วินาที ความเข้มข้นเวลาเฉลี่ยที่ใช้ในการไหลของสารละลายโคโตซานที่ 77%DD ( $t_{\text{solution}}$ ) relative viscosity specific viscosity และ reduce viscosity ที่ความเข้มข้นต่างกัน แสดงดังตาราง ข.3

**ตารางที่ ข.2** ความเข้มข้น เวลาที่ใช้ในการไหลของสารละลายโคโตซานที่ 77%DD ( $t_{\text{solution}}$ ) relative viscosity specific viscosity และ reduced viscosity ที่ความเข้มข้นต่างกัน เพื่อใช้เป็นตัวอย่างการคำนวณ

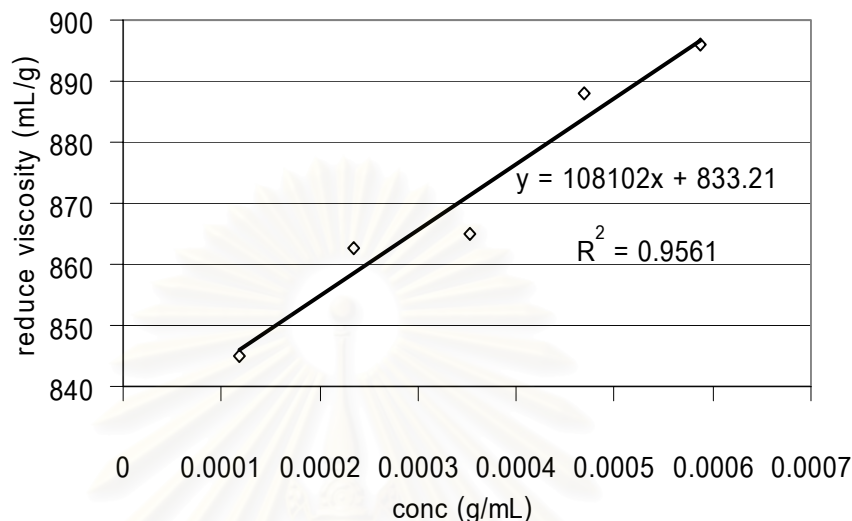
ความเข้มข้นของสารละลายโคโตซาน (g/mL)	$t_{\text{solution}}$ (วินาที)	relative viscosity	specific viscosity	reduced viscosity (mL/g)
0.00011744	$237.82 \pm 0.13$	1.099237	0.099237	845.0047
0.00023488	$260.19 \pm 0.13$	1.202635	0.202635	862.7155
0.00035232	$282.28 \pm 0.06$	1.304738	0.304738	864.9458
0.00046976	$306.59 \pm 0.06$	1.417102	0.417102	887.9043
0.00058742	$330.21 \pm 0.14$	1.526277	0.526277	895.9124

แสดงการคำนวณ relative viscosity specific viscosity และ reduced viscosity ของสารละลายโคโตซานที่ความเข้มข้น 0.00011744 g/mL

- relative viscosity จากสมการ (ก.2)
  - =  $237.82/216.35$
  - = 1.099237
- specific viscosity จากสมการ (ก.3)
  - =  $1.099237 - 1$
  - = 0.099237
- reduced viscosity จากสมการ (ก.4)
  - =  $0.0099237/0.00011744$
  - = 845.0047 (mL/g)



สร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลายโคโตซานและ reduced viscosity ดังแสดงในรูปที่ ๓.3 เพื่อหาค่า intrinsic viscosity ( $[\eta]$ ) ดังสมการ (ก.5)



รูปที่ ๓.3 ความสัมพันธ์ระหว่าง reduced viscosity และความเข้มข้นของสารละลายโคโตซาน

จากรูปที่ ๓.3 ค่า intrinsic viscosity ของสารละลายโคโตซาน 77%DD เท่ากับ 833.21 mL/g นำมาหาหน้าสัมประสิทธิ์จาก Mark-Houwink equation (2.5) โดยคำนวณค่าคงที่ K และ a จากสมการ (ก.6) และ (ก.7)

$$\begin{aligned}
 - \quad K &= 1.64 \times 10^{-30} \times 77^{14} \\
 &\approx 0.000422 \quad (\text{mL/g}) \\
 - \quad a &= (-1.02 \times 10^{-2} \times 77) + 1.82 \\
 &= 1.0346 \\
 - \quad [\eta] &= K M_v^a \\
 833.21 &= 0.000422 M_v^{1.0346} \\
 M_v &= 1214831.969 \quad \text{Da} \\
 &\approx 1214832 \quad \text{Da}
 \end{aligned}$$

intrinsic viscosity ของโคโตซานที่ผลิตได้ในสารละลาย 0.2 M  $\text{CH}_3\text{COOH}/0.1 \text{ M}$   $\text{CH}_3\text{COONa}$  ที่อุณหภูมิ  $30 \pm 0.1^\circ\text{C}$  แสดงดังตารางที่ ๓.4

ตารางที่ ข.3 intrinsic viscosity (mL/g) ของโคโตซานที่ผลิตได้ในสารละลาย 0.2 M  $\text{CH}_3\text{COOH}/0.1$  M  $\text{CH}_3\text{COONa}$  ที่อุณหภูมิ  $30 \pm 0.1^\circ\text{C}$

ช่วง %DD ที่ต้องการ	intrinsic viscosity (mL/g)			
	(1)	(2)	(3)	(4)
70% - 80%	$831.49 \pm 3.89$	$273.98 \pm 1.25$	$111.06 \pm 0.73$	$47.10 \pm 0.35$
80% - 90%	$845.96 \pm 4.14$	$334.16 \pm 4.10$	$196.72 \pm 1.94$	$102.57 \pm 0.43$
90% - 100%	$748.21 \pm 3.89$	$457.55 \pm 1.58$	$234.79 \pm 2.65$	$157.33 \pm 1.06$

หมายเหตุ: (1) (2) (3) และ (4) หมายถึงช่วงน้ำหนักโมเลกุลที่ต่างกัน



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**ภาคผนวก ค**  
**ข้อมูลผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำส้ม**

**ค.1 ปริมาณกรดของน้ำส้มที่เติมและไม่เติมโคโตซาน**

ปริมาณกรดของน้ำส้มที่เติมและไม่เติมโคโตซานตลอดอายุการเก็บ 0-8 วัน ที่อุณหภูมิ 4°C แสดงดังตารางที่ ค.2

**ตารางที่ ค.1** ปริมาณกรดของน้ำส้มที่เติมและไม่เติมโคโตซานตลอดอายุการเก็บ 0-8 วัน ที่อุณหภูมิ 4°C

เวลา (วัน)	ปริมาณกรด (% , w/v)	
	น้ำส้ม	น้ำส้มที่เติมโคโตซาน 0.1%(w/v)
0	0.95±0.01	0.95±0.01
1	0.94±0.02	0.95±0.00
2	0.94±0.01	0.95±0.00
3	0.95±0.01	0.95±0.01
5	0.94±0.02	0.95±0.01
6	0.93±0.02	0.95±0.02
7	0.94±0.01	0.94±0.02
8	0.94±0.01	0.94±0.03

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ค.2 pH ของน้ำส้มที่เติมและไม่เติมโคโตซาน

ค่า pH ของน้ำส้มที่เติมและไม่เติมโคโตซานตลอดอายุการเก็บ 0-8 วัน ที่อุณหภูมิ 4°C แสดงดังตารางที่ ค.3

ตารางที่ ค.2 ค่า pH ของน้ำส้มที่เติมและไม่เติมโคโตซานตลอดอายุการเก็บ 0-8 วัน ที่อุณหภูมิ 4°C

เวลา (วัน)	ค่า pH	
	น้ำส้ม	น้ำส้มที่เติมโคโตซาน 0.1%(w/v)
0	3.61±0.02	3.64±0.05
1	3.61±0.02	3.64±0.06
2	3.61±0.01	3.65±0.06
3	3.62±0.01	3.66±0.06
5	3.62±0.01	3.66±0.04
6	3.64±0.01	3.68±0.05
7	3.63±0.02	3.65±0.05
8	3.64±0.01	3.67±0.04

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### ค.3 ความหนืดที่ $100 \text{ s}^{-1}$ ของน้ำส้มที่เติมและไม่เติมโคโตซาน

ความหนืดที่  $100 \text{ s}^{-1}$  ของน้ำส้มที่เติมและไม่เติมโคโตซานตลอดอายุการเก็บ 0-8 วัน ที่อุณหภูมิ  $4^\circ\text{C}$  แสดงดังตารางที่ ค.4

ตารางที่ ค.3 ความหนืดที่  $100 \text{ s}^{-1}$  ของน้ำส้มที่เติมและไม่เติมโคโตซานตลอดอายุการเก็บ 0-8 วัน ที่อุณหภูมิ  $4^\circ\text{C}$

เวลา (วัน)	ความหนืดที่ $100 \text{ s}^{-1}$ (Pa.s)	
	น้ำส้ม	น้ำส้มที่เติมโคโตซาน 0.1%(w/v)
0	$0.0026 \pm 0.0007$	$0.0034 \pm 0.0008$
1	$0.0027 \pm 0.0005$	$0.0038 \pm 0.0006$
2	$0.0023 \pm 0.0006$	$0.0037 \pm 0.0002$
3	$0.0021 \pm 0.0010$	$0.0035 \pm 0.0004$
5	$0.0023 \pm 0.0006$	$0.0034 \pm 0.0005$
6	$0.0025 \pm 0.0007$	$0.0036 \pm 0.0003$
7	$0.0025 \pm 0.0005$	$0.0037 \pm 0.0006$
8	$0.0024 \pm 0.0004$	$0.0035 \pm 0.0007$

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

#### ค.4 เสถียรภาพความชุ่มของน้ำส้มที่เติมและไม่เติมโคโตซาน

เสถียรภาพความชุ่มของน้ำส้มที่เติมและไม่เติมโคโตซานตลอดอายุการเก็บ 0-8 วัน ที่อุณหภูมิ 4°C แสดงดังตารางที่ ค.5

ตารางที่ ค.4 เสถียรภาพความชุ่มของน้ำส้มที่เติมและไม่เติมโคโตซานตลอดอายุการเก็บ 0-8 วัน ที่อุณหภูมิ 4°C

เวลา (วัน)	เสถียรภาพของความชุ่ม	
	น้ำส้ม	น้ำส้มที่เติมโคโตซาน 0.1%(w/v)
0	1.1789±0.0002	1.2642±0.0003
1	1.1390±0.0019	1.2515±0.0030
2	1.1143±0.0018	1.2489±0.0070
3	1.0790±0.0036	1.2487±0.0011
5	1.0301±0.0032	1.2505±0.0007
6	0.9967±0.0028	1.2494±0.0003
7	0.9595±0.0016	1.2501±0.0012
8	0.9798±0.0014	1.2451±0.0010

ร้อยละการลดลงของเสถียรภาพความชุ่มคำนวณจาก

$$\text{ร้อยละการลดลง} = \frac{(\text{ค่าความชุ่มวันที่ 0} - \text{ค่าความชุ่มวันที่ 8}) \times 100}{\text{ค่าความชุ่มวันที่ 0}} \quad (\text{ค.1})$$

- น้ำส้มที่ไม่เติมโคโตซานมีร้อยละการลดลงของเสถียรภาพความชุ่มเท่ากับ

$$= \frac{(1.1789 - 0.9798) \times 100}{1.1789}$$

$$= 16.9$$

- น้ำส้มที่เติมโคโตซาน 0.1%(w/v) มีร้อยละการลดลงของเสถียรภาพความชุ่มเท่ากับ

$$= \frac{(1.2642 - 1.2451) \times 100}{1.2451}$$

$$= 1.5$$



### ค.5 ปริมาณที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำส้มที่เติมและไม่เติมโคโคซาน

ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำส้มที่เติมและไม่เติมโคโคซานตลอดอายุการเก็บ 0-8 วัน ที่อุณหภูมิ 4°C แสดงดังตารางที่ ค.1

ตารางที่ ค.5 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำส้มที่เติมและไม่เติมโคโคซานตลอดอายุการเก็บ 0-8 วัน ที่อุณหภูมิ 4°C

เวลา (วัน)	ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (°brix)	
	น้ำส้ม	น้ำส้มที่เติมโคโคซาน 0.1%(w/v)
0	17.60±0.00	17.57±0.08
1	17.60±0.00	17.63±0.08
2	17.60±0.00	17.57±0.08
3	17.53±0.10	17.60±0.13
5	17.63±0.08	17.50±0.11
6	17.60±0.00	17.43±0.08
7	17.60±0.13	17.47±0.10
8	17.57±0.08	17.53±0.10

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### ค.6 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำส้มที่เติมและไม่เติมโคโตซาน

ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำส้มที่เติมและไม่เติมโคโตซานตลอดอายุการเก็บ 0-8 วัน ที่อุณหภูมิ 4°C แสดงดังตารางที่ ค.1

**ตารางที่ ค.6** อัตราส่วนระหว่างปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดต่อปริมาณกรดของน้ำส้มที่เติมและไม่เติมโคโตซานตลอดอายุการเก็บ 0-8 วัน ที่อุณหภูมิ 4°C

เวลา (วัน)	อัตราส่วนระหว่างปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดต่อปริมาณกรด	
	น้ำส้ม	น้ำส้มที่เติมโคโตซาน 0.1%(w/v)
0	18.53±0.18	18.53±0.18
1	18.66±0.10	18.59±0.10
2	18.69±0.14	18.46±0.09
3	18.55±0.05	18.59±0.28
5	18.70±0.52	18.36±0.23
6	18.86±0.09	18.39±0.54
7	18.72±0.19	18.53±0.55
8	18.72±0.18	18.63±0.70

### ค.7 ค่าการเปลี่ยนแปลงสี ( $\Delta E$ ) ของน้ำส้มที่เติมและไม่เติมโคโตซาน

ค่า L a และ b เฉลี่ยของน้ำส้มที่เติมและไม่เติมโคโตซานในวันที่ 0 แสดงดังตารางที่ ค.6 และค่าการเปลี่ยนแปลงสี ( $\Delta E$ ) ของน้ำส้มที่เติมและไม่เติมโคโตซานตั้งแต่วันที่ 1 - 8 อุณหภูมิ  $4^{\circ}\text{C}$  แสดงดังตารางที่ ค.7

ตารางที่ ค.7 ค่า L a และ b เฉลี่ยของน้ำส้มที่เติมและไม่เติมโคโตซานในวันที่ 0

ค่าสี	น้ำส้ม	น้ำส้มที่เติมโคโตซาน 0.1%(w/v)
L	$39.35 \pm 0.05$	$39.13 \pm 0.04$
a	$-0.20 \pm 0.04$	$-0.14 \pm 0.02$
b	$11.77 \pm 0.09$	$11.96 \pm 0.04$

ตารางที่ ค.8 ค่าการเปลี่ยนแปลงสี ( $\Delta E$ ) ของน้ำส้มที่เติมและไม่เติมโคโตซานตลอดอายุการเก็บ 0-8 วัน ที่อุณหภูมิ  $4^{\circ}\text{C}$

เวลา (วัน)	ค่าการเปลี่ยนแปลงสี ( $\Delta E$ )	
	น้ำส้ม	น้ำส้มที่เติมโคโตซาน 0.1%(w/v)
1	$0.4038 \pm 0.2139$	$0.4612 \pm 0.1394$
2	$0.4152 \pm 0.1719$	$0.5270 \pm 0.0511$
3	$0.4331 \pm 0.1827$	$0.5795 \pm 0.0668$
5	$0.8736 \pm 0.6296$	$0.8642 \pm 0.4989$
6	$1.3169 \pm 0.0751$	$1.1770 \pm 0.3607$
7	$1.1355 \pm 0.0324$	$1.1061 \pm 0.2370$
8	$1.2260 \pm 0.0504$	$1.0142 \pm 0.6710$

### ค.8 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และราที่ตรวจพบในน้ำส้มที่เติมและไม่เติมโคโคซาน

จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และราที่ตรวจพบในน้ำส้มที่เติมและไม่เติมโคโคซานตลอดอายุการเก็บ 0-8 วัน ที่อุณหภูมิ 4°C แสดงดังตารางที่ ค.8

### ตารางที่ ค.9 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และราเฉลี่ยที่ตรวจพบในน้ำส้มที่เติมและไม่เติมโคโคซานตลอดอายุการเก็บ 0-8 วัน ที่อุณหภูมิ 4°C

เวลา (วัน)	ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (cfu/mL)		ปริมาณยีสต์และรา (cfu/mL)	
	น้ำส้ม	น้ำส้มที่เติมโคโคซาน	น้ำส้ม	น้ำส้มที่เติมโคโคซาน
		0.1%(w/v)		0.1%(w/v)
0	3	10	0	3
1	3	20	0	3
2	3	5	0	0
3	13	40	3	0
5	3	15	0	5
6	15	5	0	0
7	15	8	0	3
8	30	8	15	0

## ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาววรรรธิดา โสภิสเพื่อนชนันท์ เกิดวันที่ 27 มกราคม 2525 ที่จังหวัดสมุทรปราการ สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิตจาก ภาควิชาจุลชีววิทยา สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี เมื่อปีการศึกษา 2545 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ที่ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2546



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย