

การลดความขมในน้ำส้มโดยใช้ไคโตซาน



นางสาวสุพัตรา รักษาพรต

สถาบันวิทยบริการ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเคมีเทคนิค ภาควิชาเคมีเทคนิค


คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2547

ISBN 974-17-6859-1

ลิขสิทธิ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

REDUCTION OF BITTERNESS IN ORANGE JUICE USING CHITOSAN



Miss Supattra Raksaphort

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

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

Department of Chemical Technology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2004

ISBN 974-17-6859-1

สุภัทรา รักษาพรต : การลดความขมในน้ำส้มโดยใช้ไคโตซาน. (REDUCTION OF BITTERNESS IN ORANGE JUICE USING CHITOSAN) อ. ที่ปรึกษา ผศ. ชันทอง สุนทรภา, 94 หน้า. ISBN 974-17-6859-1.

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประยุกต์ใช้ไคโตซานจากเปลือกกุ้งในการลดความขมเนื่องจาก ลิโมนินในน้ำส้มเขียวหวาน ผลการสกัด ได้สมบัติร้อยละการกำจัดหมู่แอสีทิลเท่ากับ 74.4 ± 1.0 มวล โมเลกุลเฉลี่ยเท่ากับ 1.3×10^6 ดอลตัน พื้นที่ผิวในการดูดซับเท่ากับ 6.0 ตารางเมตรต่อกรัม และมีขนาดรูเฉลี่ยเท่ากับ 44.7 อังสตรอม ผลการทดสอบ การลดความขมด้วยไคโตซานใน 3 ลักษณะ คือ เมมเบรน, ชั้นเกลืออัดแน่น และการกวนผสมของเกลือไคโตซานในน้ำส้ม พบว่า วิธีการกวนผสมด้วยเกลือไคโตซานเหมาะสมที่สุด โดยมีสภาวะที่เหมาะสม คือ ใช้เกลือไคโตซานขนาด 500-850 ไมโครเมตร กวนผสมกับน้ำส้มด้วยอัตราส่วนปริมาณเกลือไคโตซานต่อปริมาตรน้ำส้มเท่ากับ 1 ต่อ 20 กวนที่ความเร็ว 40 รอบต่อนาที (เมื่อคิดเป็นหมายเลขเรย์โนลด์ มีค่าเท่ากับ 148) เป็นเวลา 10 นาที ให้ประสิทธิภาพในการลดปริมาณลิโมนินจาก 4.1 ± 0.2 เหลือ 2.7 ± 0.3 ส่วนในล้านส่วน คิดเป็นร้อยละการลดลงของปริมาณลิโมนินเท่ากับ 32.7 ± 8.9 โดยไม่มีผลต่อค่าความแตกต่างของสี (ΔE), ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (องศาบริกซ์) และปริมาณวิตามินซี (กรดแอสคอร์บิก) แต่มีผลต่อค่าพีเอช และปริมาณกรด (ร้อยละกรดซิตริก) โดยเกลือไคโตซานสามารถลดปริมาณกรดซิตริกในน้ำส้มจาก 0.5 ± 0.0 เหลือ 0.2 ± 0.0 (คิดเป็นร้อยละการลดลง 66.7 ± 3.0) และทำให้ค่าพีเอชของน้ำส้มเพิ่มขึ้นจาก 4.3 ± 0.0 เป็น 5.5 ± 0.5 เมื่อแปรเปลี่ยนสมบัติของเกลือไคโตซานที่ใช้ในการลดความขมในน้ำส้ม พบว่าค่าร้อยละการกำจัดหมู่แอสีทิลของเกลือไคโตซานมีผลต่อการลดปริมาณลิโมนิน โดยเมื่อใช้เกลือไคโตซานที่มีค่าร้อยละการกำจัดหมู่แอสีทิลเพิ่มขึ้นเป็น 83.4 ± 1.2 จะทำให้ร้อยละการลดลงของปริมาณลิโมนินเพิ่มขึ้นร้อยละ 29.5 ± 15.4 แต่การใช้เกลือไคโตซานที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยกรดซัลฟิวริกทำให้ประสิทธิภาพในการกำจัดลิโมนินในน้ำส้มลดลง แสดงว่าไคโตซานสามารถกำจัดลิโมนินได้โดยการเกิดพันธะไฮโดรเจนของหมู่แอมิโนของไคโตซานกับกลุ่มแลคโตนของลิโมนินเป็นพันธะระหว่างแอมิโน-ไฮโดรเจน

ภาควิชาเคมีเทคนิค..... ลายมือชื่อนิสิต.....
 สาขาวิชา.....เคมีเทคนิค..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....
 ปีการศึกษา.....2547.....

4572548023 : MAJOR CHEMICAL TECHNOLOGY

KEY WORD: LIMONIN / ORANGE JUICE / CHITOSAN

SUPATTRA RAKSAPHORT : REDUCTION OF BITTERNESS IN ORANGE JUICE USING CHITOSAN. THESIS ADVISOR : ASSIST. PROF. KHANTONG SOONTARAPA, Ph.D., 94 pp. ISBN 974-17-6859-1.

Chitosan prepared from shrimp shells were used to remove the bitter limonin in mandarin orange juice. The degree of deacetylation, average molecular weight, surface area and average pore diameter of prepared chitosan were $74.4 \pm 1.0\%$, 1.3×10^6 Dalton, $6.0 \text{ m}^2/\text{g}$. and 44.7 \AA , respectively. They were tested for debittering in 3 different processes, i.e., membrane, packed bed and stirred tank. It was found that stirred tank was the most appropriate process. The chitosan was sized in the range of $500\text{-}850 \text{ }\mu\text{m}$. The optimum conditions were at 40 rpm. ($Re = 148$) for 10 mins., and the chitosan flakes/orange juice ratio of 1:20 by w/v. It could reduce the limonin content from 4.1 ± 0.2 to 2.7 ± 0.3 ppm. or $32.7 \pm 8.9\%$. There were no significant changes in colour (ΔE), the total soluble solids ($^\circ\text{Brix}$) and vitamin C (ascorbic acid). But the acid content (%citric acid) was decreased from 0.5 ± 0.0 to 0.2 ± 0.0 or $66.7 \pm 3.0\%$, and the pH of orange juice was increased from 4.3 ± 0.0 to 5.5 ± 0.5 . It was also found that with an increase in the degree of deacetylation of chitosan from 74.4 ± 1.0 to $83.4 \pm 1.2\%$, the limonin reduction was increased $29.5 \pm 15.4\%$. By crosslinking the chitosan flakes with sulfuric acid, limonin reduction was deteriorated. The mechanism of debittering was due to hydrogen bond between amino group of chitosan and lactone group of limonin.

Department.....Chemical Technology..... Student's signature.....

Field of study...Chemical Technology..... Advisor's signature.....

Academic year.....2004.....

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชันทอง สุนทรภา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่กรุณาให้คำปรึกษา และความช่วยเหลือให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี และขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านในภาควิชาเคมีเทคนิคที่ได้ให้คำแนะนำในงานวิจัยนี้

ขอขอบคุณกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ได้แก่ ศาสตราจารย์ ดร. ภัทรพรธน์ ประศาสน์สารกิจ ประธานกรรมการ อาจารย์ ดร. เพ็ญพรศร ทศกร และเรืออากาศเอก ศรีศักดิ์ ตรังวัชรกุล (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย) ที่กรุณาตรวจทานและให้คำแนะนำ อีกทั้งสละเวลาในการสอบวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ขอขอบคุณบริษัท ทิปโก้ฟูดส์ จำกัด ที่กรุณาให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่างน้ำส้มเชื่อมหวาน และบริษัท แกลง จำกัด ที่กรุณาให้ความอนุเคราะห์เปลือกกุ้ง เพื่อใช้ในการวิจัยนี้

ขอขอบพระคุณ เจ้าหน้าที่ภาควิชาเคมีเทคนิคทุกท่านที่ได้ให้ความช่วยเหลือ และอำนวยความสะดวกตลอดการทำการวิจัย

ขอขอบพระคุณ เพื่อน ๆ พี่ ๆ น้อง ๆ ในภาควิชาเคมีเทคนิคทุกท่านที่ได้ให้ความช่วยเหลือ และให้กำลังใจ ทำให้การทำงานวิจัยลุล่วงไปได้ด้วยดี

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ บิดา-มารดา และทุกคนในครอบครัวที่ให้กำลังใจ, ความช่วยเหลือ และให้การสนับสนุนที่ดีเสมอมาจนสำเร็จการศึกษา

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฅ
สารบัญภาพ.....	ญ
บทที่	
1. บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย.....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
2. เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.1 สัมเขี้ยวหวาน.....	3
2.2 ส่วนประกอบทางกายภาพของผลส้ม.....	3
2.3 องค์ประกอบทางเคมีของผลส้ม.....	4
2.4 วิธีการควบคุมรสขมในน้ำส้ม.....	9
2.5 ไคติน และไคโตซาน.....	14
2.6 กระบวนการเตรียมไคติน และไคโตซาน.....	17
2.7 สมบัติของไคติน และไคโตซาน.....	19
2.8 การประยุกต์ใช้ไคติน และไคโตซาน.....	22
2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	24

3. วิธีดำเนินงานวิจัย.....	27
3.1 สารเคมีที่ใช้.....	27
3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์.....	28
3.3 เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์.....	30
3.4 วิธีดำเนินการวิจัย.....	31
4. ผลการวิจัย และอภิปรายผลการวิจัย.....	41
4.1 ผลการเตรียมโคโตซานจากเปลือกกุ้ง.....	41
4.2 ผลการวิเคราะห์ลักษณะสมบัติของน้ำส้มส่วนใส.....	42
4.3 ผลการทดสอบเบื้องต้นความเหมาะสมสำหรับวิธีการลดความขมในน้ำส้มด้วยโคโตซาน.....	43
4.4 ผลการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อความสามารถในการลดความขมในน้ำส้มของเกล็ดโคโตซาน.....	45
4.5 ผลการศึกษาจลนพลศาสตร์การลดความขมในน้ำส้มด้วยเกล็ดโคโตซาน.....	53
4.6 ผลการศึกษาสมบัติของเกล็ดโคโตซานที่มีต่อความสามารถในการลดความขมในน้ำส้ม.....	55
4.7 กลไกการลดความขมเนื่องจากลิโมนินด้วยเกล็ดโคโตซาน.....	64
5. สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ.....	69
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	69
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	70
รายการอ้างอิง.....	71
ภาคผนวก.....	76
ภาคผนวก ก ข้อมูลผลการทดลอง.....	77
ภาคผนวก ข การวิเคราะห์ลักษณะสมบัติของน้ำส้ม.....	83
ภาคผนวก ค ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติของโคโตซาน.....	88
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	94

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 2.1 การลดความขมในน้ำผลไม้ตระกูลส้มด้วยตัวดูดซับชนิดต่างๆ.....	12
ตารางที่ 2.2 การละลายของไคโตซานในสารละลายกรดชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน.....	20
ตารางที่ 2.3 การประยุกต์ใช้ไคติน และไคโตซาน (Application of chitin and chitosan).....	22
ตารางที่ 3.1 การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อความสามารถในการลดความขมในน้ำส้มของเกล็ดไคโตซาน ด้วยเครื่องจาร์เทส.....	38
ตารางที่ 3.2 การศึกษาจลนพลศาสตร์การลดความขมในน้ำส้มด้วยเกล็ดไคโตซาน ณ เวลาการกวนผสมต่างๆ กัน ตั้งแต่ เริ่มต้น จนถึงภาวะสมดุล (Equilibrium).....	39
ตารางที่ 4.1 ร้อยละผลได้ของไคโตซาน.....	41
ตารางที่ 4.2 สมบัติของไคโตซาน.....	42
ตารางที่ 4.3 ลักษณะสมบัติของน้ำส้มส่วนใน.....	42
ตารางที่ 4.4 ลักษณะสมบัติของน้ำส้ม เปรียบเทียบระหว่างการใช้กระบวนการเมมเบรน และการกวนผสมด้วยเกล็ดไคโตซาน.....	44
ตารางที่ 4.5 ลักษณะสมบัติของน้ำส้ม เปรียบเทียบระหว่างการใช้วิธีแบบชั้นเกล็ดอัดแน่น และการกวนผสมด้วยเกล็ดไคโตซาน.....	45
ตารางที่ 4.6 ผลของความเร็รรอบ (หมายเลขเรย์โนลด์) และปริมาณไคโตซานต่อการลดความขมด้วยวิธีการกวนผสม.....	52
ตารางที่ 4.7 อัตราเร็วของการเกิดปฏิกิริยาในการกำจัดลิโมนิน.....	54
ตารางที่ 4.8 หมู่ฟังก์ชันของไคโตซานที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวาง และเชื่อมขวางด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 1 และ 5.....	65
ตารางที่ 4.9 หมู่ฟังก์ชันของไคโตซานก่อน และหลังผ่านการใช้บำบัดความขมในน้ำส้ม.....	67
ตารางที่ ก.1 การสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายลิโมนิน.....	77

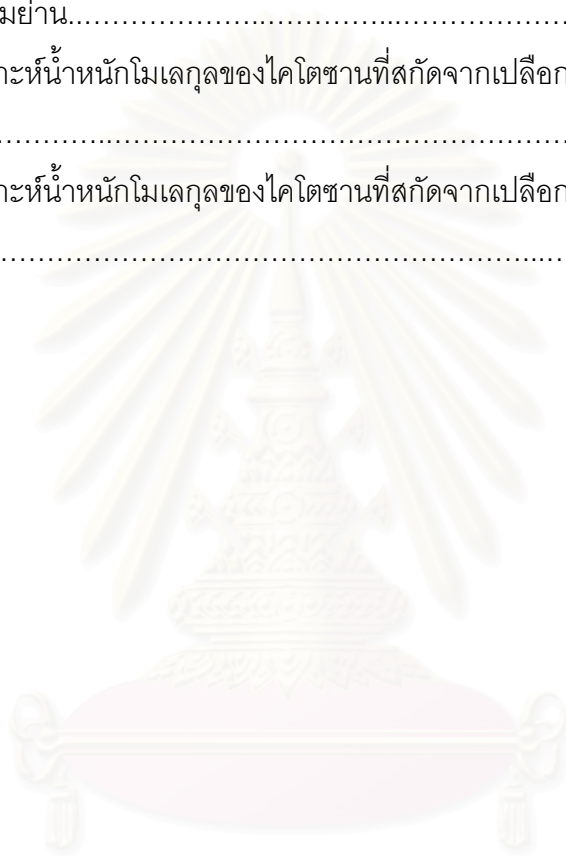
สารบัญภาพ

	หน้า
รูปที่ 2.1 ภาคตัดขวางของผลส้ม.....	4
รูปที่ 2.2 โครงสร้างทางเคมีของนารินจิน.....	7
รูปที่ 2.3 โครงสร้างทางเคมีของลิโมนิน.....	8
รูปที่ 2.4 กลไกการเกิดความขมเนื่องจากลิโมนินในน้ำผลไม้ตระกูลส้ม.....	9
รูปที่ 2.5 การเรียงตัวของสายโคตินที่ได้ในธรรมชาติ.....	15
รูปที่ 2.6 โครงสร้างโมเลกุลของโคติน	16
รูปที่ 2.7 โครงสร้างโมเลกุลของโคโตซาน	17
รูปที่ 2.8 ขั้นตอนทั่วไปของกระบวนการเตรียมโคติน และโคโตซาน.....	18
รูปที่ 3.1 ขั้นตอนการเตรียมโคโตซานจากเปลือกกุ้ง.....	32
รูปที่ 3.2 การเตรียมเมมเบรน.....	35
รูปที่ 3.3 ชุดการทดลองการลดความขมในน้ำส้มด้วยกระบวนการเมมเบรน.....	36
รูปที่ 3.4 ชุดการทดลองแบบบรรจุเกล็ดโคโตซานในคอล์มน์.....	37
รูปที่ 3.5 แผนภาพการทดสอบเบื้องต้นความเหมาะสมสำหรับวิธีการลดความขมในน้ำส้มด้วยโคโตซาน.....	37
รูปที่ 3.6 แผนภาพขั้นตอนการดัดแปลงโครงสร้างทางเคมีของเกล็ดโคโตซาน.....	40
รูปที่ 4.1 ค่าความแตกต่างของสี (ΔE) ของน้ำส้มที่ผ่านกระบวนการลดความขมด้วยวิธีการกวนผสมของเกล็ดโคโตซานกับน้ำส้ม (A) อัตราส่วนของปริมาณเกล็ดโคโตซาน (กรัม) ต่อปริมาตรน้ำส้ม (มิลลิลิตร) เท่ากับ 1:15 (B) อัตราส่วนของปริมาณเกล็ดโคโตซาน (กรัม) ต่อปริมาตรน้ำส้ม (มิลลิลิตร) เท่ากับ 1:20.....	46
รูปที่ 4.2 ค่าองศาบริกซ์ ($^{\circ}$ Brix) ของน้ำส้มที่ผ่านกระบวนการลดความขมด้วยวิธีการกวนผสมของเกล็ดโคโตซานกับน้ำส้ม (A) อัตราส่วนของปริมาณเกล็ดโคโตซาน (กรัม) ต่อปริมาตรน้ำส้ม (มิลลิลิตร) เท่ากับ 1:15 (B) อัตราส่วนของปริมาณเกล็ดโคโตซาน (กรัม) ต่อปริมาตรน้ำส้ม (มิลลิลิตร) เท่ากับ 1:20.....	47
รูปที่ 4.3 ค่าร้อยละปริมาณวิตามินซีที่ลดลงของน้ำส้มที่ผ่านกระบวนการลดความขมด้วยวิธีการกวนผสมของเกล็ดโคโตซานกับน้ำส้ม (A) อัตราส่วนของปริมาณเกล็ดโคโตซาน (กรัม) ต่อปริมาตรน้ำส้ม (มิลลิลิตร) เท่ากับ 1:15 (B) อัตราส่วนของปริมาณเกล็ดโคโตซาน (กรัม) ต่อปริมาตรน้ำส้ม (มิลลิลิตร) เท่ากับ 1:20.....	48

รูปที่ 4.4	ค่าพีเอช (pH) ของน้ำส้มที่ผ่านกระบวนการลดความขมด้วยวิธีการกวนผสมของ เกล็ดโคโคซาน (A) อัตราส่วนของปริมาณเกล็ดโคโคซาน (กรัม) ต่อปริมาณน้ำส้ม (มิลลิลิตร) เท่ากับ 1:15 (B) อัตราส่วนของปริมาณเกล็ดโคโคซาน (กรัม) ต่อปริมาตร น้ำส้ม (มิลลิลิตร) เท่ากับ 1:20.....	49
รูปที่ 4.5	ค่าร้อยละปริมาณกรดซิตริกที่ลดลงของน้ำส้มที่ผ่านกระบวนการลดความขมด้วยวิธี การกวนผสมเกล็ดโคโคซาน (A) อัตราส่วนของปริมาณเกล็ดโคโคซาน (กรัม) ต่อ ปริมาตรน้ำส้ม (มิลลิลิตร) เท่ากับ 1:15 (B) อัตราส่วนของปริมาณเกล็ดโคโคซาน (กรัม) ต่อปริมาตร น้ำส้ม (มิลลิลิตร) เท่ากับ 1:20.....	50
รูปที่ 4.6	ความสัมพันธ์ของหมายเลขเรย์โนลด์กับร้อยละการลดลงของลิโมนิน.....	52
รูปที่ 4.7	ค่าร้อยละปริมาณลิโมนินที่ลดลงของน้ำส้มที่ผ่านกระบวนการลดความขมด้วยวิธีการ กวนผสมของเกล็ดโคโคซานกับน้ำส้ม ณ เวลาการกวนผสมต่างๆ ตั้งแต่เริ่มต้น จนถึง ภาวะสมดุล (A) อัตราส่วนของปริมาณเกล็ดโคโคซาน (กรัม) ต่อปริมาตรน้ำส้ม (มิลลิลิตร) เท่ากับ 1:15 (B) อัตราส่วนของปริมาณเกล็ดโคโคซาน (กรัม) ต่อปริมาตร น้ำส้ม (มิลลิลิตร) เท่ากับ 1:20.....	54
รูปที่ 4.8	ค่าความแตกต่างของสี (ΔE) ของน้ำส้มที่ผ่านกระบวนการลดความขมด้วยเกล็ด โคโคซาน เมื่อแปรเปลี่ยนระดับการกำจัดหมู่อะเซทิลของเกล็ดโคโคซาน.....	57
รูปที่ 4.9	ค่าองศาบริกซ์ ($^{\circ}$ Brix) ของน้ำส้มที่ผ่านกระบวนการลดความขมด้วยเกล็ดโคโคซาน เมื่อแปรเปลี่ยนระดับการกำจัดหมู่อะเซทิลของเกล็ดโคโคซาน.....	57
รูปที่ 4.10	ค่าร้อยละปริมาณวิตามินซีที่ลดลงของน้ำส้มที่ผ่านกระบวนการลดความขมด้วย เกล็ดโคโคซาน เมื่อแปรเปลี่ยนระดับการกำจัดหมู่อะเซทิลของเกล็ดโคโคซาน.....	58
รูปที่ 4.11	ค่าพีเอช (pH) ของน้ำส้มที่ผ่านกระบวนการลดความขมด้วยเกล็ดโคโคซาน เมื่อแปร เปลี่ยนระดับการกำจัดหมู่อะเซทิลของเกล็ดโคโคซาน.....	58
รูปที่ 4.12	ค่าร้อยละปริมาณกรดซิตริกที่ลดลงของน้ำส้มที่ผ่านกระบวนการลดความขมด้วย เกล็ดโคโคซาน เมื่อแปรเปลี่ยนระดับการกำจัดหมู่อะเซทิลของเกล็ดโคโคซาน.....	59
รูปที่ 4.13	ค่าร้อยละปริมาณลิโมนินที่ลดลงของน้ำส้มที่ผ่านกระบวนการลดความขมด้วย เกล็ดโคโคซาน เมื่อแปรเปลี่ยนระดับการกำจัดหมู่อะเซทิลของเกล็ดโคโคซาน.....	59
รูปที่ 4.14	ค่าความแตกต่างของสี (ΔE) ของน้ำส้มที่ผ่านกระบวนการลดความขมด้วยเกล็ด โคโคซาน เมื่อมีการตัดแปลงโครงสร้างทางเคมีของเกล็ดโคโคซาน.....	62
รูปที่ 4.15	ค่าองศาบริกซ์ ($^{\circ}$ Brix) ของน้ำส้มที่ผ่านกระบวนการลดความขมด้วยเกล็ดโคโคซาน เมื่อมีการตัดแปลงโครงสร้างทางเคมีของเกล็ดโคโคซาน.....	62

รูปที่ 4.16	ค่าร้อยละปริมาณวิตามินซีที่ลดลงของน้ำส้มที่ผ่านกระบวนการลดความขมด้วย เกล็ดไคโตซาน เมื่อมีการดัดแปลงโครงสร้างทางเคมีของเกล็ดไคโตซาน.....	63
รูปที่ 4.17	ค่าพีเอช (pH) ของน้ำส้มที่ผ่านกระบวนการลดความขมด้วยเกล็ดไคโตซาน เมื่อมี การดัดแปลงโครงสร้างทางเคมีของเกล็ดไคโตซาน.....	63
รูปที่ 4.18	ค่าร้อยละปริมาณกรดซิตริกที่ลดลงของน้ำส้มที่ผ่านกระบวนการลดความขมด้วย เกล็ดไคโตซาน เมื่อมีการดัดแปลงโครงสร้างทางเคมีของเกล็ดไคโตซาน.....	64
รูปที่ 4.19	ค่าร้อยละปริมาณลิโมนินที่ลดลงของน้ำส้มที่ผ่านกระบวนการลดความขมด้วย เกล็ดไคโตซาน เมื่อมีการดัดแปลงโครงสร้างทางเคมีของเกล็ดไคโตซาน.....	64
รูปที่ 4.20	หมู่ฟังก์ชันบนพื้นผิวของเกล็ดไคโตซานเมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่อง FTIR (A) เกล็ดไคโต ซานที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวาง (B) เกล็ดไคโตซานที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยสารละลาย กรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 1 (C) เกล็ดไคโตซานที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยสารละลาย กรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 5.....	66
รูปที่ 4.21	โครงสร้างทางเคมีของไคโตซานที่มีการเชื่อมขวางด้วยกรดซัลฟิวริก.....	66
รูปที่ 4.22	หมู่ฟังก์ชันบนพื้นผิวของเกล็ดไคโตซานเมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่อง FTIR (A) เกล็ดไคโต ซานที่ยังไม่ผ่านการใช้งาน (B) เกล็ดไคโตซานหลังผ่านการใช้บำบัดความขมในน้ำส้ม (C) เกล็ดไคโตซานที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 5 ก่อนผ่านการใช้บำบัดความขมในน้ำส้ม (D) เกล็ดไคโตซานที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วย สารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 5 หลังผ่านการใช้บำบัดความขมในน้ำส้ม.....	67
รูปที่ ก.1	กราฟมาตรฐานของสารละลายลิโมนิน.....	78
รูปที่ ก.2	ตัวอย่างโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานลิโมนิน จากเครื่อง HPLC (A) สาร ละลายมาตรฐานลิโมนินเข้มข้น 7.5 ppm. (B) สารละลายมาตรฐานลิโมนินเข้มข้น 25 ppm.....	78
รูปที่ ก.3	ผลการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของเกล็ดไคโตซานที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวาง.....	80
รูปที่ ก.4	ผลการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของเกล็ดไคโตซานที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยสารละลาย กรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 1.....	81
รูปที่ ก.5	ผลการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของเกล็ดไคโตซานที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยสารละลาย กรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 5.....	81
รูปที่ ก.6	ผลการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของเกล็ดไคโตซานที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวาง หลังผ่านการ ใช้บำบัดความขมในน้ำส้ม.....	82

รูปที่ ก.7 ผลการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของเกล็ดไคโตซานที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 5 หลังผ่านการใช้บำบัดความขมในน้ำส้ม.....	82
รูปที่ ค.1 ผลการวิเคราะห์ระดับการกำจัดหมู่อะเซทิลของไคโตซานที่สกัดจากเปลือกกุ้ง จากบริษัท แกลง จำกัด.....	88
รูปที่ ค.2 ผลการวิเคราะห์ระดับการกำจัดหมู่อะเซทิลของไคโตซานที่สกัดจากเปลือกกุ้งจากตลาดสดสามย่าน.....	89
รูปที่ ค.3 ผลการวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานที่สกัดจากเปลือกกุ้ง จากบริษัท แกลง จำกัด.....	93
รูปที่ ค.4 ผลการวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานที่สกัดจากเปลือกกุ้งจากตลาดสดสามย่าน.....	93



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ส้มเขียวหวาน มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Citrus reticulata* Blanco เป็นผลไม้ที่นิยมบริโภคกันทั่วไป ปัจจุบันมีการพัฒนานำเทคโนโลยีใหม่ๆ มาใช้ในการเพาะปลูกส้มมากขึ้น จึงทำให้มีส้มเขียวหวานบริโภคได้ตลอดปี เมื่อถึงฤดูกาลที่มีผลผลิตส้มเขียวหวานมาก ราคาจะตกต่ำและรับประทานส้มสดไม่ทัน ทำให้เน่าเสียไป เพื่อบรรเทาปัญหาส้มสดล้นตลาด และช่วยยืดอายุการเก็บรักษาให้แก่ผลผลิตส้ม จึงมีการแปรรูปส้มเขียวหวานสดเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์น้ำส้มพร้อมดื่ม ปัญหาสำคัญของอุตสาหกรรมการผลิตน้ำส้ม คือ รสชาติของน้ำส้มคั้นเข้มข้นโดยเฉพาะน้ำส้มคั้นที่ผลิตขึ้นมาแล้วถูกเก็บรักษาไว้เพื่อรอการจำหน่าย จะปรากฏรสขมขึ้นอย่างเด่นชัด ขณะที่น้ำส้มที่คั้นสดๆ จะมีรสขมเพียงเล็กน้อย หรืออาจไม่มีเลย แสดงว่ามีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นในส่วนผสมของน้ำส้มคั้นเข้มข้น ปัญหาด้านรสขมถ้ามีมากเกินไปอาจทำให้คุณภาพน้ำส้มไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ซึ่งรสขมที่เกิดขึ้น มีสาเหตุมาจากสารประกอบลิโมนิน (limonin) และนารินจิน (naringin) (1) จากรายงานการวิจัยที่นักวิทยาศาสตร์หลายท่าน ได้พยายามหาวิธีกำจัดรสขมในส้มทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยวหลายวิธี เช่น การสกัดด้วยสารเคมี การใช้เอนไซม์และจุลินทรีย์ รวมทั้งการใช้ตัวดูดซับสังเคราะห์ชนิดต่างๆ ซึ่งวิธีการเหล่านี้สามารถลดความขมในน้ำส้มได้ แต่ยังมีข้อจำกัดอีกหลายประการ จึงมีผู้สนใจหาวิธีการใหม่ๆ มาใช้ในการลดความขมในน้ำส้ม ในงานวิจัยนี้มุ่งที่จะใช้โคโคซานในการลดความขม ซึ่งโคโคซาน เป็นพอลิเมอร์ชีวภาพ สามารถดูดซับสารอินทรีย์ และไอออนโลหะได้ดี และย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ จึงไม่เกิดผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตเมื่อรับประทานเข้าไป และไม่มีผลเสียต่อสิ่งแวดล้อมเมื่อดื่มลงในน้ำหรือในดินเพื่อการเกษตร (2)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อลดความขมเนื่องจากลิโมนินในน้ำส้มเขียวหวาน ด้วยไคโตซาน

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

1. เตรียมไคโตซานจากเปลือกกุ้ง ภายใต้สภาวะสุญญากาศ
2. ทดสอบเบื้องต้นความเหมาะสมการใช้วิธีการกวนผสม (stirred tank) ในการลดความขมในน้ำส้มด้วยไคโตซาน เทียบกับ กระบวนการเมมเบรน และแบบชั้นเกล็ดอัดแน่น (packed column)
3. วิเคราะห์ลักษณะสมบัติของน้ำส้มส่วนใส ทั้งก่อนและหลังผ่านกระบวนการลดความขมด้วยไคโตซาน ดังต่อไปนี้
 - 1) วัดค่าสีของน้ำส้มคั้น ด้วยเครื่องวัดสี
 - 2) ปริมาณคาร์โบไฮเดรต ซึ่งรวมถึงสารที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด ได้แก่ ค่ากรดอินทรีย์, เกลือ, สารไนโตรเจน และเพคติน โดยวิเคราะห์เป็นค่าองศาบริกซ์ ($^{\circ}$ Brix) ด้วยเครื่องรีแฟรคโตมิเตอร์ (3)
 - 3) วิเคราะห์ปริมาณวิตามินซี โดยการไทเทรต ตามวิธีของ AOAC (4)
 - 4) วัดค่าพีเอชของน้ำส้มคั้น
 - 5) วิเคราะห์ปริมาณกรด คำนวณเป็นร้อยละ โดยการไทเทรต (5)
 - 6) วิเคราะห์ปริมาณลิโมนิน ด้วยเครื่อง High-performance liquid chromatography (HPLC) (6)

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

สามารถลดความขมในน้ำส้มคั้นได้ ด้วยไคโตซาน โดยที่ลักษณะสมบัติของน้ำส้มคั้นอยู่ในระดับที่ผู้บริโภคยอมรับได้

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

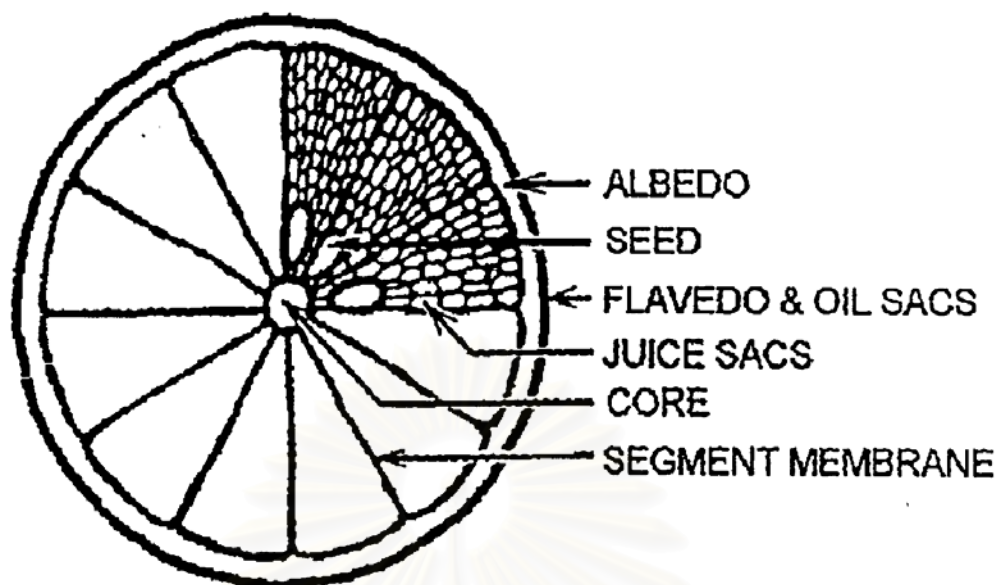
2.1 ส้มเขียวหวาน

ส้มเขียวหวาน อยู่ในกลุ่มส้มแมนดาริน มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Citrus reticulata* Blanco มีถิ่นกำเนิดในแถบเอเชียอาคเนย์ ในประเทศไทยมีการปลูกส้มเขียวหวานมากในภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคใต้ ส้มเขียวหวานเจริญเติบโตได้ดีในเขตร้อน และกึ่งร้อน ชอบสภาพดินร่วนปนทราย มีการระบายน้ำได้ดี การขยายพันธุ์นิยมใช้กิ่งพันธุ์ที่ได้จากการตอน และการติดต้ามากกว่าการปลูกด้วยเมล็ด อายุเริ่มตั้งแต่ออกดอกจนกระทั่งเก็บเกี่ยวได้ใช้เวลาประมาณ 8-9 เดือน เป็นผลไม้ที่มีลักษณะทรงผลแบน เปลือกบาง ล่อน ปอกง่าย ไร้ตรงกลาง กลวง กลีบแยกออกจากกันได้ง่าย

2.2 ส่วนประกอบทางกายภาพของผลส้ม

ผลของผลไม้ตระกูลส้มมีส่วนประกอบทางกายภาพ ที่สำคัญ 3 ส่วน ดังแสดงภาพภาคตัดขวางรูปที่ 2.1 คือ

1. ส่วนผิวนอก เรียก ฟลาเวโด (flavedo) เป็นชั้นที่มีทั้งสีเขียว สีเหลือง หรือสีส้ม และมีต่อมน้ำมัน (oil sacs) กระจุกกระจายอยู่ทั่วทั้งผิว
2. ส่วนผิวใน เรียก อัลเบโด (albedo) มีสีขาว ประกอบด้วยเพคติน และสารพวกเฮมิเซลลูโลส (hemicelluloses)
3. ส่วนชั้นในสุด เรียก เอนโดคาร์ป (endocarp) เป็นส่วนที่กินได้แบ่งออกเป็นกลีบ ซึ่งแต่ละกลีบมีเมล็ด (seed) และถุงส้ม (juice sacs) ซึ่งติดอยู่กับผนังกลีบส้ม (segment membrane) บรรจุอยู่เป็นจำนวนมาก



รูปที่ 2.1 ภาคตัดขวางของผลส้ม (7)

2.3 องค์ประกอบทางเคมีของผลส้ม

องค์ประกอบหลักของผลไม้ตระกูลส้มมีหลายชนิด ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

2.3.1 สี (Colour)

สีของผลไม้ตระกูลส้มเกิดจากรงควัตถุ ซึ่งอยู่ตามส่วนต่างๆ ของผล พบในส่วนเปลือกชั้นนอก และในถุงส้ม (8) ขณะที่ผลส้มยังอ่อนอยู่ สีของเปลือกเป็นสีเขียวของคลอโรฟิลล์ เอ และบี สามารถตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ใช้ในการสังเคราะห์แสงให้ผลิตผลเช่นเดียวกับการสังเคราะห์แสงที่ใบ ในช่วงการเจริญของผล คลอโรฟิลล์จะสลายตัว และมีปริมาณคาโรทีนอยด์เพิ่มขึ้น ทำให้เปลือกเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลือง หรือส้ม (9) รงควัตถุที่สำคัญที่ทำให้เกิดสีส้มในน้ำส้มแมนดาริน และทันเจริน คือ α -carotene, β -carotene, zeta-antheraxanthin (สีเหลือง) violaxanthin (สีเหลือง), β -citraurin (สีส้มแดง) และ β -cryptoxanthin (สีส้ม) ซึ่ง β -cryptoxanthin เป็นสารหลักที่ให้สีส้มแก่น้ำส้มสด (5)

2.3.2 สารประกอบไนโตรเจน (Nitrogenous compounds)

สารประกอบไนโตรเจนในผลไม้ตระกูลส้มจะอยู่ในรูปของกรดแอมิโน เช่น แอลาanine (alanine), แอสปาราจีน (asparagine), กรดแอสปาร์ติก (aspartic acid), กรดกลูตามิก (glutamic acid), โพรลีน (proline) และ เซรีน (serine) (10) เอมีน (amines), เปปไทด์ (peptides) และโปรตีน (proteins) โดยคุณค่าทางโภชนาการของโปรตีนขึ้นอยู่กับสัดส่วนการใช้โปรตีน (Protein Efficiency Ratio, PER) ในอาหารที่เป็นแหล่งโปรตีนที่ดีนั้นมีค่า PER ของเคซีนอย่างน้อยร้อยละ 20 แต่ผลิตภัณฑ์น้ำส้มมีค่า PER ต่ำ ดังนั้นน้ำส้มจึงเป็นแหล่งโปรตีนที่ไม่ดี (5)

2.3.3 คาร์โบไฮเดรต (Carbohydrate)

คาร์โบไฮเดรต มีอยู่ในน้ำผลไม้ตระกูลส้มเป็นปริมาณมากประมาณร้อยละ 80-90 ของปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ในน้ำผลไม้ตระกูลส้ม โดยจะอยู่ในรูปของน้ำตาล ซึ่งประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคส (D-glucose), ฟรุคโตส (D-fructose) และซูโครส (sucrose) อัตราส่วนโดยประมาณเท่ากับ 1:1:2 เมื่อผลส้มโตเต็มที่ปริมาณน้ำตาลจะเพิ่มขึ้น ในขณะที่ปริมาณของกรดลดลง (5) ผลไม้ตระกูลส้มพวกแมนดาริน ทันเจรีน และเกรฟฟรุท มีของแข็งที่ละลายน้ำได้ส่วนใหญ่เป็นน้ำตาล แต่ในมะนาวจะเป็นกรดซิตริก (citric acid) ส่วนคาร์โบไฮเดรตที่มีมวลโมเลกุลสูง และที่มีปริมาณเล็กน้อยในน้ำส้ม ได้แก่ เซลลูโลส, แป้ง, เฮมิเซลลูโลส, เพนโตแซน และ เพคติน เมื่อถูกไฮโดรไลซ์จะให้น้ำตาล และอนุพันธ์ของน้ำตาล (8)

การวิเคราะห์คาร์โบไฮเดรต วิเคราะห์เป็นค่าองศาบริกซ์ ($^{\circ}\text{Brix}$) ซึ่งค่าองศาบริกซ์จะรวมถึงสารที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด ได้แก่ ค่ากรดอินทรีย์, เกลือ, สารไนโตรเจน และ เพคติน (5)

2.3.4 กรดอินทรีย์ (Organic acids)

กรดอินทรีย์ที่พบมากที่สุดคือน้ำผลไม้ตระกูลส้มคือ กรดซิตริก รองลงมาคือ กรดมาลิก (malic acid) เมื่อผลส้มโตเต็มที่ปริมาณกรดซิตริกจะลดลง ในขณะที่ปริมาณของกรดมาลิกค่อนข้างคงที่ตลอดช่วงการเจริญเติบโต (11) ปริมาณกรดอินทรีย์ในน้ำผลไม้ตระกูลส้มขึ้นกับ ภูมิอากาศ, สภาพแวดล้อม, สายพันธุ์, สารอาหารในดิน และวิธีการปฏิบัติดูแล เนื่องจากกรดซิตริก

และกรดมาลิกเหล่านี้ มีบางส่วนอยู่ในรูปของเกลือ ซึ่งเมื่อกรดมรวมอยู่กับเกลือของมันจะสามารถเป็นบัฟเฟอร์ ช่วยป้องกันการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชอย่างรวดเร็วของน้ำส้ม จึงทำให้น้ำส้มที่คั้นจากส้มที่เจริญเติบโตเต็มที่ที่มีค่าพีเอชค่อนข้างคงที่อยู่ในช่วง 3.2 และ 3.8 (12)

ความเป็นกรดของน้ำส้ม สามารถบอกได้จากค่าพีเอช และความเข้มข้นของกรด ซึ่งเป็นความเข้มข้นรวมของกรดซิตริก และกรดมาลิก

2.3.5 วิตามินซี (Ascorbic acids)

กรดแอสคอร์บิก หรือวิตามินซี เป็นวิตามินที่พบมากที่สุดในผลไม้ตระกูลส้ม ในน้ำส้มมีปริมาณวิตามินซี 30-70 มก./100 มล. และจะมีปริมาณแตกต่างกันในส้มแต่ละชนิด ในน้ำเกรฟฟรุทมี 45 มก./100 มล. ส้มแมนดาริน 50 มก./100 มล. น้ำมะนาวเลมอน 60 มก./100 มล. น้ำส้มทันเจริน และมะนาวไทย (lime) 30 มก./100 มล. ปริมาณวิตามินซีในผลไม้ตระกูลส้มขึ้นกับภูมิอากาศ, สภาพแวดล้อม, สายพันธุ์, สารอาหารในดิน และวิธีการปฏิบัติดูแล ส้มผลอ่อนจะมีปริมาณวิตามินซีสูง แต่จะลดลงเมื่อผลส้มเจริญเติบโตเต็มที่ (5)

จากงานวิจัยต่างๆ ที่ศึกษาเกี่ยวกับปริมาณวิตามินซีในน้ำผลไม้ตระกูลส้ม สรุปได้ว่า (13)

1. ปริมาณวิตามินซีจะสูญเสียเล็กน้อยในระหว่างกระบวนการผลิต
2. วิตามินซีจะเสถียรที่สุดเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ
3. เสถียรภาพของวิตามินซีขึ้นกับภาชนะที่บรรจุ เช่น กระจก > ขวด > กล่อง เนื่องจากภาชนะบรรจุที่เป็นพอลิเมอร์ ยอมให้ออกซิเจน และแสงผ่านได้ ซึ่งมีผลทำลายวิตามินซี
4. ที่อุณหภูมิการเก็บรักษาเดียวกัน วิตามินซีในน้ำส้มคั้นสดจะมีเสถียรภาพสูงกว่าในน้ำส้มเข้มข้นที่ผ่านการแช่แข็งไว้

2.3.6 สารประกอบที่ให้กลิ่นรสที่ระเหยได้ (Volatile compounds)

ในน้ำส้มคั้นสารประกอบที่ให้กลิ่นรสที่ระเหยได้ อยู่ในรูปของน้ำมัน ซึ่งน้ำมันเหล่านี้มาจากต่อมน้ำมันที่เปลือกชั้นนอกถูกทำลายในช่วงการคั้น สารประกอบที่ระเหยได้ที่พบในน้ำส้มมากกว่าร้อยละ 90 คือ ดี-ลิโมนีน (d-limonene) นอกนั้นจะมีปริมาณแตกต่างกันในส้มแต่ละ

ชนิด เช่น ในส้มตันเจรินมีทันเจเรทินที่ไม่ระเหย (nonvolatile tangeretin) ร้อยละ 4, แอลกอฮอล์ 24 ชนิด, แอลดีไฮด์ 11 ชนิด, เอสเทอร์ 4 ชนิด, คีโตน 2 ชนิด, กรด 7 ชนิด, ไฮโดรคาร์บอน 24 ชนิด และอีเทอร์ 2 ชนิด (5)

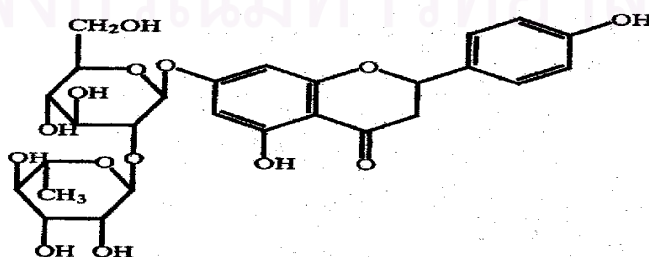
2.3.7 สารประกอบอนินทรีย์ (Inorganic constituents)

สารประกอบอนินทรีย์ที่พบในผลไม้ตระกูลส้มจะอยู่ในรูปของเถ้า ปริมาณเถ้าจะพบมากที่สุดในขณะที่ผลไม้ยังเป็นผลอ่อนอยู่ และจะลดลงในระหว่างการเจริญเติบโตของผลส้ม โพแทสเซียมเป็นสารประกอบอนินทรีย์ที่พบมากที่สุดในน้ำผลไม้ตระกูลส้ม ซึ่งมีปริมาณร้อยละ 60-70 ของไอออนบวกทั้งหมดในน้ำส้มคั้น นอกจากนี้ยังมีธาตุอื่นๆ ที่มีปริมาณน้อย ได้แก่ เหล็ก, แมงกานีส, ทองแดง, สังกะสี, โบรอน, สฟรอนเทียม, แบริียม, อะลูมิเนียม, โทเทเนียม, ตะกั่ว, ดีบุก, นิกเกิล, เงิน, โครเมียม และไอออนลบ เช่น ฟอสเฟต, ซัลเฟต และคลอไรด์

2.3.8 สารให้รสขม (Bitterness compounds)

รสขมที่เกิดขึ้นในน้ำผลไม้ตระกูลส้ม มีสาเหตุมาจากสารประกอบฟลาโวนอยด์ (flavonoid) และลิโมนอยด์ (limonoid)

ฟลาโวนอยด์หลักในผลไม้ตระกูลส้มมี 3 ชนิด คือ แอนโทไซยานิน (anthocyanin), ฟลาโวน (flavone) และฟลาโวนอล (flavonol) หรือฟลาวานอน (flavanone) แอนโทไซยานิน เป็นรงควัตถุในดอก และผล พบในส้มสีแดง (blood orange) ส่วนฟลาวานอน เป็นฟลาโวนอยด์ที่มีปริมาณมากที่สุดในน้ำผลไม้ตระกูลส้ม ตัวสำคัญ คือ นารินจิน ซึ่งประกอบด้วยกลุ่มฟลาโวนอยด์ 1 กลุ่มต่อกับไดแซคคาไรด์ ดังรูปที่ 2.2



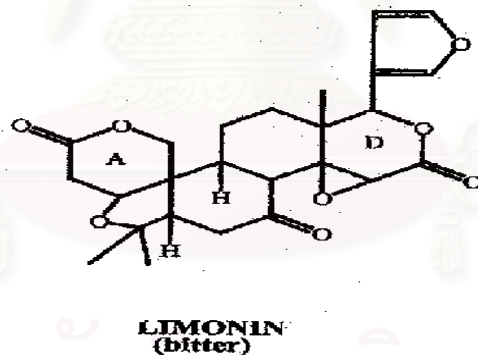
NARINGIN
(bitter)

รูปที่ 2.2 โครงสร้างทางเคมีของนารินจิน (14)

นารินจิน มีสูตรอย่างง่าย $C_{27}H_{32}O_{14}$ มวลโมเลกุล 580 ดอลตัน ละลายในน้ำได้เล็กน้อย ละลายได้ดีในแอซีโตน (acetone), อีลกอฮอล์ และกรดแอซีติก มีจุดหลอมเหลว 81-83 องศาเซลเซียส (15) พบมากที่สุดในส่วนเปลือกชั้นใน รองลงมาคือส่วนถุง ที่อัดแน่นอยู่ภายในผนังกลีบส้ม นารินจินพบน้อยในส้มหวาน (*Citrus sinensis*), เลมอน (*Citrus limon*), มะนาวไทย (*Citrus aurantifolia*) และส้มทันเจริน (*Citrus reticulata*) (16) ถ้าในน้ำส้มมีปริมาณนารินจิน 600 ส่วนในล้านส่วน จะให้รสขมที่ผู้บริโภครับรู้ได้ (17)

การวิเคราะห์ปริมาณนารินจินสามารถวิเคราะห์ได้หลายวิธี อย่างไรก็ตาม การวิเคราะห์ด้วยสเปกโตรโฟโตเมตริก (spectrophotometric) ตามวิธีของ Davis (Davis test) เป็นวิธีที่นิยมใช้กันมากที่สุดทั่วไป รองลงมาคือ วิธีไฮเพอร์ฟอร์แมนซีลิดิวิด โครมาโตกราฟี (high performance liquid chromatography, HPLC) (5)

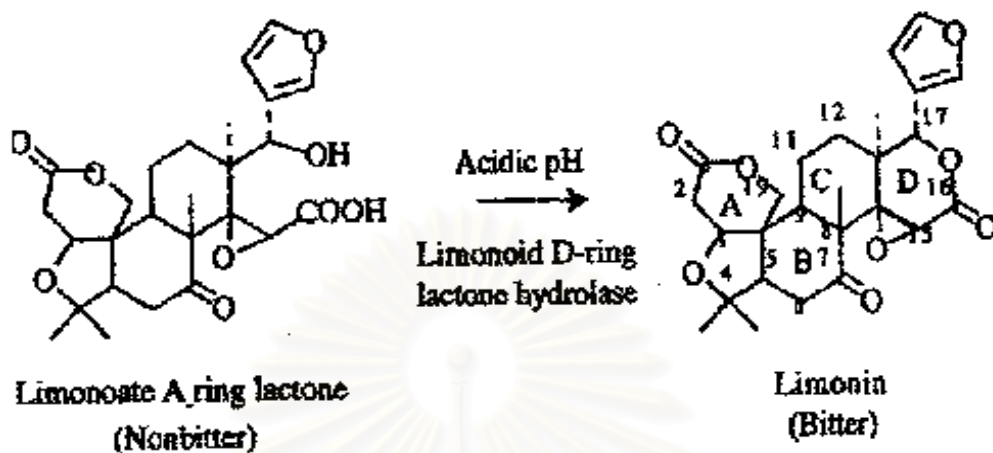
ลิโมนอยด์ที่พบมากที่สุด คือ ลิโมนิน เป็นอนุพันธ์ของไตรเทอร์ปีน (triterpene derivative) ประกอบด้วยอีพอกไซด์ (epoxide) 1 หมู่, วงแหวนแลคโตน 2 วง, วงแหวนอีเทอร์ และฟูแรนอย่างละ 1 วง ดังรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 โครงสร้างทางเคมีของลิโมนิน (14)

ลิโมนิน มีสูตรอย่างง่าย $C_{26}H_{30}O_8$ มวลโมเลกุล 470.5 ดอลตัน ไม่ละลายน้ำ ละลายได้ในอีลกอฮอล์, แอซีโตน, คลอโรฟอร์ม (chloroform) และเบนซีน (benzene) (18) มีจุดหลอมเหลว 298 องศาเซลเซียส พบมากในส่วนเปลือกชั้นใน ผนังกลีบส้มและเมล็ด โดยจะอยู่ในรูป ลิโมนิเอท เอ-ริง แลคโตน (limonoate A-ring lactone, LARL) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของลิโมนินที่ไม่มีรสขม ในช่วงการคั้นน้ำส้มเมล็ดจะฉีกขาด และอนุภาคเล็กๆ ของเปลือกชั้นในปะปนลงในน้ำคั้น เมื่อถูกกระตุ้นด้วยความร้อน อยู่ในสภาวะที่เป็นกรด และมีเอนไซม์ลิโมนิเอท ดี-ริง แลคโตน

ไฮโดรเลส (limonoate D-ring lactone hydrolase) ซึ่งมีอยู่ในเนื้อเยื่อส้ม จะทำให้สารตั้งต้นของลิโมนินเปลี่ยนไปเป็น ลิโมนิน อย่างช้าๆ ดังรูปที่ 2.4



รูปที่ 2.4 กลไกการเกิดความขมเนื่องจากลิโมนินในน้ำผลไม้ตระกูลส้ม (14)

จากรายงานการวิจัย พบว่าผู้บริโภคส่วนใหญ่สามารถรับรู้รสขมในน้ำส้มที่มีลิโมนิน 5 ส่วนในล้านส่วน (17) ขณะที่ผู้บริโภคประมาณร้อยละ 20 รู้รสขมจากลิโมนินที่ความเข้มข้น 2 ส่วนในล้านส่วน จึงจัดได้ว่า ลิโมนิน เป็นสารก่อรสขมตัวที่สำคัญที่สุดในน้ำส้มเขียวหวาน (19)

วิธีการวิเคราะห์ปริมาณลิโมนินในน้ำส้มมีหลายวิธี ได้แก่ สเปกโตรสโคปี (spectroscopy), ทินเลเยอร์โครมาโตกราฟี (thin-layer chromatography, TLC), แก๊สโครมาโตกราฟี (gas chromatography, GC), เรดิโออิมมูโนแอสเสย์ (radio immunoassay, RIA), เอนไซม์ลิงค์อิมมูโนแอสเสย์ (enzyme-linked immunoassay, EIA) และ HPLC ซึ่งวิธี HPLC เป็นวิธีที่นิยมใช้หาปริมาณลิโมนินกันอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมการผลิตน้ำผลไม้ตระกูลส้ม (5)

2.4 วิธีการควบคุมรสขมในน้ำส้ม

รสขม เป็นปัญหาสำคัญของอุตสาหกรรมการผลิตน้ำผลไม้ตระกูลส้มที่มีมานานแล้ว ซึ่งมียุทธศาสตร์การวิจัยที่ได้พยายามหาวิธีการลด และกำจัดรสขมในส้มทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว เพื่อควบคุมรสขมให้มีปริมาณเหมาะสมไม่ทำลายคุณภาพผลิตภัณฑ์น้ำส้ม ไว้หลายวิธีดังสรุปได้ดังนี้

2.4.1 การควบคุมระยะเวลาการเก็บเกี่ยว (Time of harvest)

ระยะเวลาในการเก็บเกี่ยวผลส้ม เป็นปัจจัยสำคัญต่อปริมาณลิโมนีนในน้ำผลไม้ตระกูลส้ม ส้มที่เก็บในช่วงต้นฤดูก่อนผลส้มสุกเต็มที่จะมีปริมาณลิโมนีนสูง และจะลดลงเมื่อเวลาผ่านไป

2.4.2 การควบคุมกระบวนการผลิต (Process control)

รสขมในน้ำผลไม้ตระกูลส้มขึ้นอยู่กับปริมาณเปลือกชั้นใน เนื้อเยื่อชั้นกลาง และเนื้อเยื่อบางกั้น (capillary membranes) ที่ปนลงในน้ำคั้น และระยะเวลาที่เนื้อเยื่อต่างๆ อยู่ในน้ำคั้น (18) การตัดส่วนหัว และท้ายของผลส้มออกจะช่วยลดแรงคั้น การแยกเนื้อออกจากน้ำ โดยให้น้ำคั้นไหลผ่านตะแกรงสั่น (vibrating screen) ขนาดรู 20 เมช และการปอกเปลือกส้มโดยแช่ด้วยด่าง วิธีเหล่านี้เป็นวิธีที่สามารถลดรสขมได้ ส่วนการคั้นน้ำผลไม้ตระกูลส้มด้วยเครื่อง Taglith press จะทำให้ขาดรสชาติของน้ำส้ม ในอุตสาหกรรมการผลิตน้ำผลไม้กระป๋อง การใช้แรงดันในการสกัดน้ำผลไม้ตระกูลส้มเพื่อเพิ่มผลผลิตปริมาณน้ำคั้นแบบไม่รุนแรง พบว่าในน้ำคั้นมีปริมาณลิโมนีนน้อยกว่าการใช้แรงดันสูง แต่การใช้แรงดันต่ำ จะให้ปริมาณน้ำคั้นต่ำด้วย

2.4.3 การใช้สารเคมี

นักวิทยาศาสตร์หลายท่านได้พยายามศึกษาทดลองเพื่อยับยั้งรสขมของผลไม้ตระกูลส้มด้วยสารเคมีหลายวิธีด้วยกัน เช่น การฉีดพ่นผลส้มหลังการเก็บเกี่ยวด้วยแก๊สเอทิลีน (ethylene) 20 ส่วนในล้านส่วน (20 $\mu\text{g/ml.}$) เป็นเวลา 3 ชั่วโมง และเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน พบว่าระดับลิโมนีนในน้ำคั้นลดลงจาก 19.4 เหลือ 13.2 ส่วนในล้านส่วน (20) หรือการใช้อนุพันธ์ของไตรเอทิลเอมีน (triethylamine derivative) ยับยั้งการสังเคราะห์ลิโมนอยด์ในปุ๋ยที่ใช้ปลูกผลไม้ (21) นอกจากนี้ มีการใช้ supercritical carbon dioxide เพื่อลดความขมในน้ำผลไม้ตระกูลส้ม โดยใช้ความดันช่วง 3000-6000 psi ที่ช่วงอุณหภูมิ 30-60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ซึ่งพบว่าสามารถลดปริมาณลิโมนีนลงได้ร้อยละ 25 และสามารถลดได้ถึงร้อยละ 60 เมื่อเพิ่มเวลาเป็น 4 ชั่วโมง (22)

ถึงแม้ว่า การใช้สารเคมีจะสามารถลดความขมในน้ำผลไม้ตระกูลส้มได้ก็ตาม แต่การใช้สารเคมีนั้นควบคุมได้ยาก, อาจมีการปนเปื้อนของสารเคมี, เกิดสารพิษ และไม่สามารถนำสารเคมีกลับมาใช้ได้ ซึ่งอาจมีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

2.4.4 การใช้เอนไซม์ (Enzyme) และจุลินทรีย์ (1)

การใช้เอนไซม์ และจุลินทรีย์กำจัดรสขมในน้ำผลไม้ตระกูลส้มสามารถทำได้ 2 วิธี คือ

- 1) การใช้เอนไซม์เข้าทำปฏิกิริยากับองค์ประกอบในน้ำผลไม้ตระกูลส้ม ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของน้ำผลไม้ตระกูลส้ม เกิดการตกตะกอนของสารให้รสขม ดังเช่น น้ำตาล และเพคติน เป็นองค์ประกอบในน้ำผลไม้ตระกูลส้มที่มีอิทธิพลต่อการละลาย และตกผลึกของลิโมนิน เมื่อใช้เอนไซม์เพคติเนส (pectinase) ไปย่อยสารประกอบเพคตินในน้ำผลไม้ตระกูลส้มทำให้สารที่แขวนลอยอยู่ตกตะกอน และดึงเอาสารให้รสขมตกตะกอนลงมาด้วย
- 2) การใช้เอนไซม์เข้าทำปฏิกิริยากับสารให้รสขมที่มีอยู่ในน้ำผลไม้ตระกูลส้ม แล้วเปลี่ยนเป็นสารที่ไม่ให้รสขม หรือรสขมน้อยลง แต่ดังที่ทราบกันแล้วว่า สารที่ให้รสขมในน้ำผลไม้ตระกูลส้มมีอยู่หลายตัว และเอนไซม์มีความจำเพาะเจาะจงกับสับสเตรท (substrate) ดังนั้นการใช้เอนไซม์เพื่อกำจัดรสขมจึงมีเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องหลายตัว

ข้อได้เปรียบของการใช้เอนไซม์กำจัดรสขม คือ เอนไซม์สามารถกำจัดรสขมได้โดยที่ไม่ส่งผลกระทบต่อปริมาณกรดอินทรีย์ทั้งหมด และปริมาณเนื้อเยื่อ (pulp content) ในน้ำผลไม้ตระกูลส้ม อย่างไรก็ตาม การใช้เอนไซม์กำจัดรสขมในทางการค้าทำได้ยาก เพราะสารที่ให้รสขมมีหลายตัว และเอนไซม์มีความจำเพาะต่อสับสเตรท ดังนั้นจำเป็นจะต้องใช้เอนไซม์มากกว่าหนึ่งชนิดในการกำจัดรสขม และเอนไซม์แต่ละชนิดต้องการสภาวะที่เหมาะสมในการทำงาน คือ อุณหภูมิ, พีเอช และตัวเร่งการทำงาน หรือโคแฟกเตอร์แตกต่างกันออกไป นอกจากนี้ยังมีปัญหาเกี่ยวกับตัวยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติในน้ำผลไม้ตระกูลส้ม ใช้เวลานานในการกำจัดรสขม เสี่ยงต่อการเกิดสารพิษ ค่าใช้จ่ายสูง ควบคุมการทำงานของเอนไซม์ได้ยาก และบางครั้งอาจทำให้ลักษณะปรากฏของน้ำผลไม้ตระกูลส้ม เช่น ความขุ่น เปลี่ยนแปลง

2.4.5 การใช้ตัวดูดซับ (Adsorbent)

หลักการการใช้ตัวดูดซับในการกำจัดรสขม คือ ใช้ตัวดูดซับดูดจับสารให้รสขมในน้ำผลไม้ตระกูลส้มไว้ทำให้รสขมลดน้อยลง หรือหมดไป นักวิทยาศาสตร์หลายท่าน ได้พยายามใช้ตัวดูดซับชนิดต่างๆ ในการกำจัดรสขม ซึ่งให้ผล และมีประสิทธิภาพต่างๆ กัน ดังตาราง ที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 การลดความขมในน้ำผลไม้ตระกูลส้มด้วยตัวดูดซับชนิดต่างๆ

ตัวดูดซับ	รายงานการวิจัย	คณะผู้วิจัย
ผงถ่านกัมมันต์ (23) (activated carbon)	ดูดซับลิโมนิน และสารตั้งต้นของลิโมนินได้โดยที่น้ำส้มไม่สูญเสียกลิ่นรสน้ำส้ม แต่ทำให้มีกลิ่นกำมะถัน และสีของน้ำส้มเปลี่ยน บางครั้งอาจมีผงคาร์บอนเข้าปะปนในน้ำส้ม	McColloch (1950)
พอลิเอไมด์ (polyamide) (24)	กำจัดลิโมนิน และนารินจินได้ แต่มีความจำเพาะในการดูดซับนารินจินได้ดีกว่าลิโมนิน และยังคงดูดซับกรดแอสคอร์บิกทำให้สูญเสียถึงร้อยละ 30	Chandler และคณะ (1968)
เซลลูโลส เอสเทอร์ (21) (cellulose ester)	กำจัดลิโมนินได้ร้อยละ 44-70 ในเวลาไม่เกิน 1 ชั่วโมง	Chandler (1977)
เซลลูโลส แอซีเทต (25) (cellulose acetate)	ดูดซับลิโมนินได้ประสิทธิภาพสูงกว่าพอลิเอไมด์ถึง 3 เท่า และจะดูดซับกรดแอสคอร์บิกเล็กน้อย	Chandler และ Johnson (1977)
พอลิไวนิลไพโรลิโดน (21) (polyvinylpyrrolidone, PVP)	ดูดซับลิโมนิน และนารินจินได้ถึงร้อยละ 78.1 และ 17.5 ตามลำดับใน 1 ชั่วโมง	Nisperose และคณะ (1982)

ตารางที่ 2.1 การลดความขมในน้ำผลไม้ตระกูลส้มด้วยตัวดูดซับชนิดต่างๆ (ต่อ)

ตัวดูดซับ	รายงานการวิจัย	คณะผู้วิจัย
<p>เรซินแลกเปลี่ยนประจุ (15) (Ion exchange resin) และ เรซินดูดซับ (adsorbent resin)</p>	<p>- เรซินแลกเปลี่ยนประจุลบ (anion exchange resin) เช่น Amberlite IRA 401S และ Duolite A 378 สามารถลดกรดซิตริกได้ดี และสามารถดูดซับได้ทั้งนารินจิน ลิโมนิน และกรด</p> <p>- เรซินแลกเปลี่ยนประจุบวก (cation exchange resin) เช่น Amberlite XAD-1, XAD-2, XAD-4, XAD-16, Duolite S-861, S-866 ดูดซับทั้งนารินจิน และลิโมนิน</p> <p>อย่างไรก็ตามยังต้องพิจารณาการอนุญาตให้ใช้ตัวดูดซับสังเคราะห์กับอาหาร ตามกฎของ USFDA* ด้วย</p>	<p>Johnson และ Chandler (1982, 1985)</p>
<p>เบต้าไซโคลเดกซ์ทรีน พอลิเมอร์ (β-cyclodextrin polymer) (26, 27 และ 28)</p>	<p>- ใช้เบต้าไซโคลเดกซ์ทรีน พอลิเมอร์ที่ไม่ละลาย ดูดซับนารินจิน และลิโมนินทั้งในกระบวนการต่อเนื่อง และไม่ต่อเนื่องได้มากกว่าร้อยละ 50 และไม่มีการสูญเสียวิตามินซี</p> <p>- ใช้เบต้าไซโคลเดกซ์ทรีน พอลิเมอร์ ดูดซับลิโมนิน นารินจิน และโนมิลิน ในน้ำผลไม้ตระกูลส้มทั้งในกระบวนการต่อเนื่องแบบฟลูอิดซ์ หรือในกระบวนการไม่ต่อเนื่อง ซึ่งทำให้น้ำส้มมีรสชาติเป็นที่ยอมรับ</p> <p>- นำเบต้าไซโคลเดกซ์ทรีน พอลิเมอร์ใช้กับระดับไพลอตโดยใช้คอลัมน์แบบฟลูอิดซ์ในการลดปริมาณลิโมนิน และนารินจินในเกรฟฟรุต (grapefruit)</p>	<p>Shaw และ Wilson (1983)</p> <p>Shaw, Tatum และ Wilson (1984)</p> <p>Wagner, Wilson และ Shaw (1988)</p>

ตารางที่ 2.1 การลดความขมในน้ำผลไม้ตระกูลส้มด้วยตัวดูดซับชนิดต่างๆ (ต่อ)

ตัวดูดซับ	รายงานการวิจัย	คณะผู้วิจัย
เรซินพวกอโนพีนส์ไตรีน (29) (crosslinked divinyl benzene-styrene adsorbent resin)	ดูดซับปริมาณลิโมนิน และนารินจินในเกรฟฟรุทได้ร้อยละ 90 และ 80 ตามลำดับ	Puri (1984)
ฟลอริซิล (Florisol) หรือ activated magnesium silicate (30)	สามารถดูดซับลิโมนิน และนารินจินได้จนผลิตภัณฑ์เป็นที่ยอมรับ รวมทั้งไม่ทำให้เกิดการสูญเสียวิตามินซี และของแข็งที่ละลายได้ และไม่ทำให้เกิดกลิ่นรสแปลกปลอม แต่ปัจจุบันกฎหมายไม่อนุญาตให้น้ำผลไม้ตระกูลส้มที่ผ่านการดูดซับด้วยฟลอริซิลวางจำหน่ายตามท้องตลาด	Barmore, Fisher และ Rouseff (1986)
เปลือกไข่ (15)	สามารถลดลิโมนินได้ถึงร้อยละ 30 กรดซิตริกร้อยละ 70 ประสิทธิภาพการดูดซับสารรสขมต่ำกว่าสารดูดซับสังเคราะห์ แต่มีความปลอดภัยในการใช้งาน	ณัฐฐา, ปราณี และ สุหร่าย (1997)

* USFDA คือ US Food and Drug Administration

การใช้ตัวดูดซับสามารถลดทั้งปริมาณนารินจิน ลิโมนิน และกรดที่มากเกินไปได้พร้อมกันในเวลาเดียวกัน โดยใช้สภาวะการผลิตที่อุณหภูมิห้อง ซึ่งไม่ต้องควบคุมอุณหภูมิ หรือปรับพีเอชเหมือนกับการกำจัดรสขมโดยวิธีอื่น มีการปนเปื้อนของสารเคมีน้อย, องค์ประกอบของน้ำผลไม้ตระกูลส้มไม่เปลี่ยนแปลง, วิธีการไม่ยุ่งยาก, ใช้เวลาน้อย และต้นทุนต่ำเนื่องจากสามารถนำตัวดูดซับกลับใช้ซ้ำได้

2.5 ไคติน และไคโตซาน

ไคติน และไคโตซานเป็นพอลิเมอร์ธรรมชาติที่พบมากเป็นอันดับสองรองจากเซลลูโลส จัดเป็นสารประกอบจำพวกคาร์โบไฮเดรต ที่ประกอบด้วยอนุพันธ์ของน้ำตาลกลูโคส ซึ่งมีไนโตรเจน

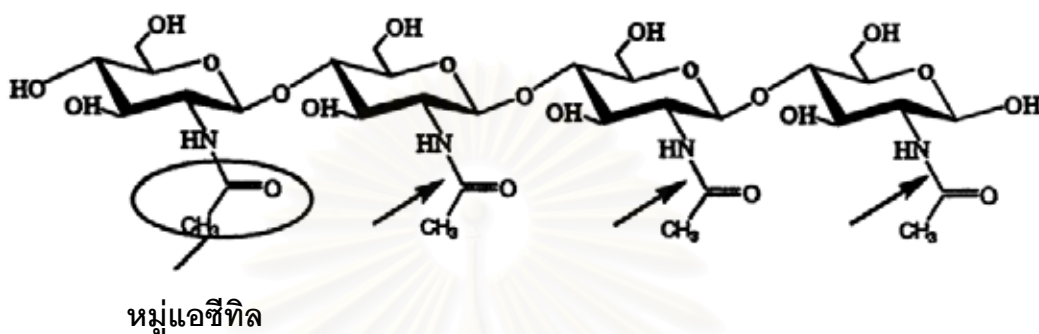
ติดอยู่ด้วยทำให้มีคุณสมบัติที่โดดเด่น และหลากหลาย มีประสิทธิภาพสูงในกิจกรรมชีวภาพ และยังย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ ดังนั้นจึงเป็นสารที่มีความปลอดภัยในการใช้กับมนุษย์ สัตว์ และสิ่งแวดล้อม

ไคตินมีชื่อทางเคมีว่า Poly- β -(1,4)-2-acetamino-2-deoxy-D-glucose หรือ Poly N-acetyl-glucosamine พบมากในเปลือก และโครงสร้างแข็งที่หุ้มร่างกายของสัตว์จำพวกกุ้ง ปู และแมลง และยังพบในส่วนประกอบของผนังเซลล์ของเห็ด รา และยีสต์บางชนิด ซึ่งมีหน้าที่ปกป้องและให้ความแข็งแรง ไคตินเป็นพอลิเมอร์อินทรีย์โมเลกุลยาวที่มีโครงสร้างคล้ายเซลลูโลส ต่างกันที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 เป็นหมู่ acetylated amino ($-\text{NH}-\text{CO}-\text{CH}_3$) แทนที่จะเป็นหมู่ไฮดรอกซิล ($-\text{OH}$) ดังในเซลลูโลส ไคตินมีสูตรทั่วไปเป็น $(\text{C}_8\text{H}_{13}\text{NO}_5)_n$ ประกอบด้วย คาร์บอนร้อยละ 47.29 ไฮโดรเจนร้อยละ 6.45 ไนโตรเจนร้อยละ 6.89 และออกซิเจนร้อยละ 39.37 (31) สามารถจัดลักษณะโครงสร้างของไคตินในธรรมชาติออกเป็น 3 แบบ ได้แก่ แบบอัลฟา (α -chitin), แบบเบตา (β -chitin) และแบบแกมมา (γ -chitin) แสดงดังรูปที่ 2.5 โครงสร้างของไคตินส่วนใหญ่ที่นำมาใช้ได้แก่ แบบอัลฟา พบในเปลือกกุ้ง และปู และแบบเบตา พบในแกนในของปลาหมึก สารไคตินที่ได้จากธรรมชาติจะอยู่ร่วมกับโปรตีน เกลือแร่ และหินปูนที่เป็นองค์ประกอบของเปลือกของสัตว์พวกกุ้ง และปู เมื่อนำมาใช้จึงต้องนำมาผ่านกระบวนการในการกำจัดสารเจือปนเหล่านั้นทิ้งไปเสียก่อน



รูปที่ 2.5 การเรียงตัวของสายไคตินที่ได้ในธรรมชาติ (32)

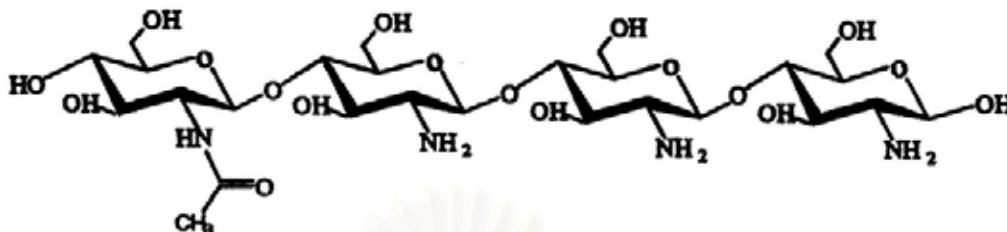
เมื่อพิจารณาจากสูตรโครงสร้างของไคติน พบว่าไคตินเป็นสารโมเลกุลยาวที่ไร้ประจุ (non-electrolytic polymer) ดังแสดงในรูปที่ 2.6 ซึ่งทำให้ไคตินไม่ละลายในสารละลายต่างๆ ไปด้วย การใช้ประโยชน์จากไคตินจึงไม่แพร่หลายนัก อย่างไรก็ตามสามารถดัดแปลงไคตินโดยวิธีการทางเคมีเพื่อเพิ่มประโยชน์ในการใช้งานมากขึ้นคือการเตรียมเป็นไคโตซาน



รูปที่ 2.6 โครงสร้างโมเลกุลของไคติน (32)

ไคโตซานเป็นอนุพันธ์ของไคติน มีชื่อทางเคมีว่า Poly- β -(1,4)-2-amino-2-deoxy-D-glucose สูตรทั่วไป คือ $(C_8H_{11}O_4N)_n$ เกิดจากการกำจัด หรือลดหมู่แอซีทิล ($-CO-CH_3$) ในไคติน (deacetylation) เหลือเป็นหมู่เอมิโนอิสระ ($-NH_2$) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่สอง ทำให้ไคโตซานมีส่วนของโมเลกุลที่พร้อมจะทำปฏิกิริยาอย่างว่องไวอยู่หลายหมู่ ซึ่งรวมถึงหมู่ไฮดรอกซิลที่คาร์บอนตำแหน่งที่สาม และหกด้วย ดังแสดงในรูปที่ 2.7 โดยทั่วไปถ้าหมู่แอซีทิลถูกตัด หรือหลุดไปประมาณร้อยละ 60 ไคตินจะถูกเรียกว่าไคโตซาน แต่โดยทั่วไปแล้ว ไคโตซานจะมีค่าร้อยละการกำจัดหมู่แอซีทิลอยู่ในช่วงร้อยละ 70-90 ซึ่งก็คือ ยังมีหมู่นอร์มัล-แอซีทิล (N-Acetyl) เหลืออยู่ในโครงสร้างประมาณร้อยละ 10-30 และถ้าหมู่แอซีทิลถูกตัด หรือหลุดไปประมาณร้อยละ 90-100 จะเรียกว่าการกำจัดแอซีทิลออกจากไคโตซานได้อย่างสมบูรณ์ (fully deacetylated chitosan) (33) เมื่อพิจารณาสูตรโครงสร้างของไคติน และไคโตซาน พบว่าการกำจัด หรือลดหมู่แอซีทิลที่มีอยู่บนโมเลกุลของไคตินเป็นการเพิ่มขึ้นของหมู่เอมิโน ซึ่งหมู่เอมิโนนี้มีความสามารถในการจับโปรตอนจึงอาจพิจารณาว่าเป็นการเพิ่มสมบัติการเป็นแคทไอออนพอลิเมอร์ สมบัติพอลิอิเล็กโทรไลต์ของไคโตซานมีสมบัติในการดูดซับสารจำพวกอินทรีย์ รวมถึงพอลิคลอริเนต ไบฟีนิล (polychlorinated biphenyls) โปรตีน และกรดนิวคลีอิก (nucleic acid) รวมถึงไอออนโลหะ นอกจากนี้มีสมบัติในการละลายในตัวทำละลายกรดอินทรีย์หลายชนิด เช่น สารละลายกรดฟอร์มิก

สารละลายกรดแอสซิติค เป็นต้น และละลายได้เล็กน้อยในกรดอินทรีย์ที่เจือจาง เช่น กรดเกลือ เป็นต้น จึงเป็นเหตุผลที่สำคัญซึ่งทำให้การใช้ประโยชน์จากไคโตซานมีสูงกว่าไคติน



รูปที่ 2.7 โครงสร้างโมเลกุลของไคโตซาน (32)

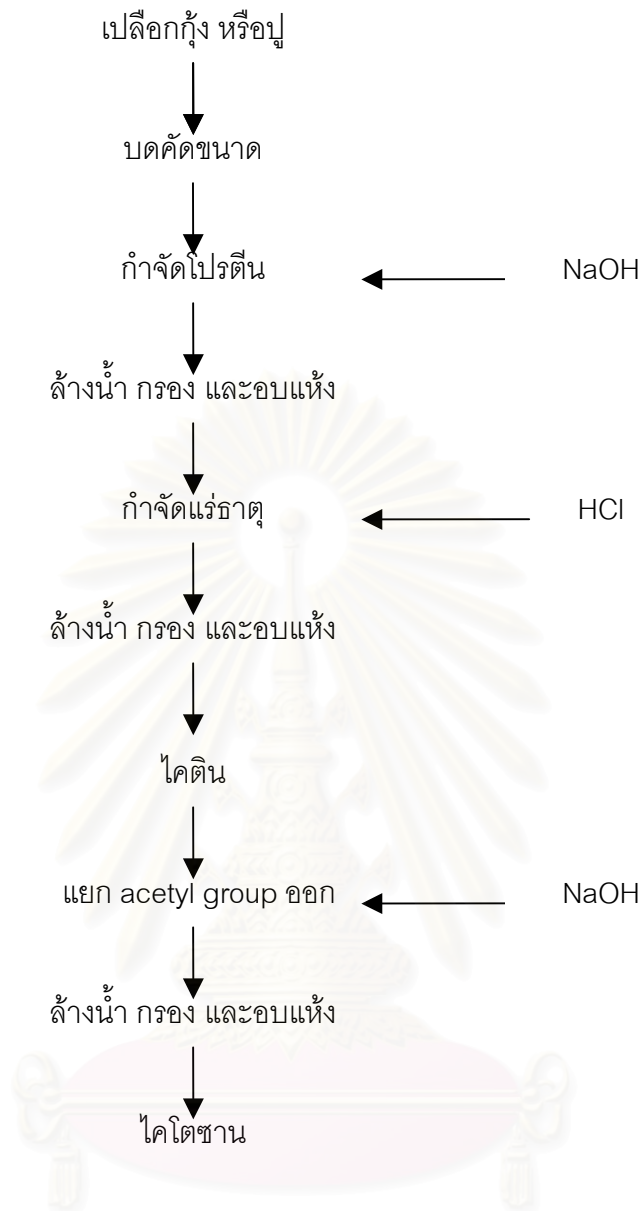
2.6 กระบวนการเตรียมไคติน และไคโตซาน

การเตรียมไคติน และไคโตซานขึ้นกับวัตถุดิบ และสารประกอบที่มีอยู่ในวัตถุดิบนั้น ซึ่งส่วนใหญ่ผลิตจากเปลือกกุ้ง และกระดองปูที่เป็นของเหลือทิ้ง องค์ประกอบของวัตถุดิบส่วนใหญ่เป็นโปรตีน และแคลเซียมคาร์บอเนต นอกจากนี้ยังมีพวกรงควัตถุต่างๆ โปรตีนสามารถแยกออกได้โดยการต้มกับสารละลายไฮเดรอกไซด์ แคลเซียมคาร์บอเนตสามารถแยกออกได้โดยการต้มกับกรดไฮโดรคลอริก หรือกรดไนตริก

ขั้นตอนทั่วไปของการเตรียมไคติน และไคโตซาน แสดงได้ดังรูปที่ 2.8

2.6.1 การเตรียมวัตถุดิบ

การเตรียมวัตถุดิบเพื่อแยกไคติน เริ่มจากการนำวัตถุดิบ ได้แก่ เปลือกกุ้ง กระดองปูล้างน้ำให้สะอาด สำหรับกรณีที่ต้องเก็บสะสมวัตถุดิบไว้ระยะหนึ่งก่อน นำเปลือกที่ล้างสะอาดแล้วไปต้ม และล้างด้วยสารละลายต้านออกซิเดชัน (antioxidant solution) แล้วนำไปตากหรืออบให้แห้ง เพื่อให้สามารถเก็บสะสมไว้ที่อุณหภูมิห้องได้ และสะดวกต่อการขนส่ง หลังจากนั้นอาจมีการลดขนาด เช่น บดละเอียด



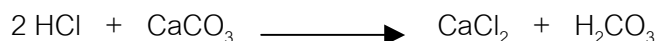
รูปที่ 2.8 ขั้นตอนทั่วไปของกระบวนการเตรียมโคดีน และโคโดซาน

2.6.2 การกำจัดโปรตีน (Deproteinization)

ขั้นตอนการกำจัดโปรตีนโดยการใช้สารละลายต่าง ส่วนมากนิยมใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ในขั้นตอนนี้โปรตีนส่วนใหญ่จะถูกกำจัดออกไปจากวัตถุพร้อมกับบางส่วนของไขมัน และรงควัตถุบางชนิดด้วย นอกจากนี้พบว่า การลดขนาดของวัตถุบมีผลต่อเวลาที่ใช้ในการกำจัดโปรตีน และนอกจากการใช้สารละลายต่างในการกำจัดโปรตีนแล้ว ยังมีการใช้เอนไซม์ในการกำจัดโปรตีนอีกด้วย ซึ่งจะทำให้ความหนืดของสารละลายโคโดซานลดลง

2.6.3 การกำจัดแร่ธาตุ (Demineralization)

ขั้นตอนการกำจัดแร่ธาตุโดยการใช้น้ำสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเจือจางเป็นตัวละลายแร่ธาตุ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นเกลือแคลเซียมคาร์บอเนต โดยมีกลไกของปฏิกิริยาดังนี้



นอกจากนี้ยังมีการใช้กรดซัลฟูริก (H_2SO_4) ในการกำจัดแร่ธาตุสำหรับกระบวนการเตรียมไคตินในระดับอุตสาหกรรม ซึ่งมีข้อได้เปรียบ คือ ลดปฏิกิริยาการสูญเสียสภาพธรรมชาติของไคติน เนื่องจากกรดซัลฟูริกเป็นกรดอ่อน และสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้อีก

2.6.4 การกำจัด หรือลดหมู่แอซีทิล (Deacetylation)

ขั้นตอนนี้เป็นการเปลี่ยนแปลงทางเคมีที่ใช้ในการกำจัด หรือลดหมู่แอซีทิลที่มีอยู่บนโมเลกุลของไคตินด้วยสารละลายต่างร้อนที่ความเข้มข้นสูงตั้งแต่ร้อยละ 40 ขึ้นไป เพื่อให้เกิดเป็นไคโตซาน

2.7 สมบัติของไคติน และไคโตซาน

2.7.1 การละลาย (Solubility)

ไคตินเป็นพอลิเมอร์ที่ไร้ประจุทำให้ไม่สามารถละลายได้ในน้ำ, กรดอ่อน และต่าง แต่ไคตินสามารถละลายได้ในกรดแก่ เช่น กรดซัลฟูริกเข้มข้น, กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น, กรดฟอสฟอริกความเข้มข้นร้อยละ 78-79 โดยน้ำหนัก, กรดคาร์บอริกซิลิก และกรดซัลโฟนิก แต่การละลายของไคตินในกรดแก่จะทำให้สายโซ่พอลิเมอร์เกิดการสลายตัวได้ (degrade) และพบว่าตัวทำละลายประเภท tertiary amide (R-CO-N-R_2) ที่มีลิเทียม คลอไรด์ (lithium chloride, LiCl) ในปริมาณอย่างน้อยร้อยละ 5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร สามารถที่จะละลายไคตินได้ดีโดยไม่ส่งผลทำให้ไคตินเกิดการสลายตัว ซึ่งความยากในการละลายของไคตินในตัวทำละลายต่างๆ เป็นผลมาจากสายโซ่โมเลกุลที่อยู่กันอย่างหนาแน่น มีพันธะเกิดขึ้นทั้งภายใน และระหว่างโมเลกุล เนื่องจากฟังก์ชันที่ต่างกัน (หมู่ไฮดรอกซิล และหมู่แอซีตามิโด) (34)

ไคโตซานไม่ละลายในน้ำ, ด่าง และตัวทำละลายอินทรีย์ แต่สามารถละลายได้ในสารละลายกรดอินทรีย์เจือจางที่มีค่าพีเอชน้อยกว่า 6 เกือบทุกชนิด เช่น กรดแอสซิติค, กรดซิตริก และกรดฟอร์มิก นอกจากนี้ไคโตซานยังสามารถละลายได้ในตัวทำละลายกรดอินทรีย์เจือจางบางชนิด เช่น กรดไฮโดรคลอริก, กรดไนตริก, กรดเปอร์คลอริก และละลายได้เล็กน้อยในสารละลายกรดฟอสฟอริกเข้มข้นร้อยละ 5 โดยปริมาตร ความสามารถในการละลายของไคโตซานในสารละลายกรดชนิดต่างๆ แสดงดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 การละลายของไคโตซานในสารละลายกรดชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน (35)

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

2.7.2 ความหนืด (Viscosity)

ความหนืดของสารละลายไคติน และไคโตซานขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น ระยะเวลา, ความเข้มข้น, ค่าพีเอช, อุณหภูมิ, น้ำหนักโมเลกุล และระดับการกำจัดหมู่แอสซิติล โดย

ทั่วไปแล้วความหนืดของสารละลายพอลิเมอร์จะลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น แต่ชนิดของกรดที่ใช้และการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของสารละลายพอลิเมอร์ให้ผลความหนืดที่แตกต่างกัน เช่น ความหนืดของสารละลายไคโตซานในกรดแอสติก จะเพิ่มขึ้นเมื่อสารละลายมีค่าพีเอชลดลง ในขณะที่ความหนืดของสารละลายไคโตซานในกรดไฮโดรคลอริกเพิ่มขึ้นเมื่อค่าพีเอชของสารละลายเพิ่มขึ้น

2.7.3 สมบัติพอลิอิเล็กโทรไลต์ (Polyelectrolyte properties)

ไคโตซานเป็นสายพอลิเมอร์ของแอนไฮโดรกลูโคซามีน (anhydroglucosamine) และเป็นสายพอลิอิเล็กโทรไลต์ที่สภาวะเป็นกรด มีค่าพีเอชเท่ากับ 6.5 ไคโตซานในสารละลายมีประจุเป็นบวก เนื่องจากไคโตซานเป็นพอลิเมอร์มีความหนาแน่นของประจุบวกสูง ไฮโดรคอลลอยด์ (hydrocolloids) โมเลกุลสูง หรือพวคพอลิแซ็กคาไรด์ ส่วนใหญ่มีประจุเป็นกลาง หรือเป็นประจุลบ แต่ไคโตซานเป็นหนึ่งในพวคแคทไอออนิกพอลิอิเล็กโทรไลต์ (cationic polyelectrolyte) จึงมีศักยภาพในการประยุกต์ใช้ได้มากกว่า เนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิตส่วนใหญ่มีประจุลบ ดังนั้นประจุบวกของไคโตซานจึงจับกับผิวที่เป็นประจุลบได้แน่นทำให้เกิดความเป็นกลางบริเวณผิวของจุลินทรีย์ ดังนั้นการจับของไคโตซานกับเซลล์สิ่งมีชีวิตเป็นสมบัติที่สำคัญมากในการนำไปใช้ในด้านการแพทย์

2.7.4 มวลโมเลกุล (Molecular weight)

ความยาวของสายโซ่ของโมเลกุลมีความสำคัญในการพิจารณาสมบัติของพอลิเมอร์ ซึ่งพอลิเมอร์ทั่วไปมีสายขนาดใหญ่แต่ไม่จำเป็นต้องมีขนาดยาวเท่ากัน การนำไคโตซานไปใช้ประโยชน์ต่างๆ มีความสัมพันธ์กับมวลโมเลกุล ระดับการกำจัดหมู่แอสีทิล ซึ่งมีผลต่อกลไกการทำงาน และสมบัติทางเคมี มวลโมเลกุลสามารถวิเคราะห์ได้ทั้งทางตรง และทางอ้อม ซึ่งมวลโมเลกุลเฉลี่ยของไคติน คือ $1.03 \times 10^6 - 2.5 \times 10^6$ ดอลตัน และมวลโมเลกุลของคาร์บอกซีเมทิลไคติน (carboxymethylchitin) ประมาณ 1.33×10^6 ดอลตัน (36) โดยทั่วไปมวลโมเลกุลเฉลี่ยโดยน้ำหนักของการกำจัดแอสีทิลออกจากไคโตซานได้อย่างสมบูรณ์ (fully deacetylation chitosan) ที่สกัดได้จากกุ้งมีค่าประมาณ $440,000 \pm 50,000$ กรัม/โมล และของปูมีค่าประมาณ 500,000-850,000 กรัม/โมล (37)

2.7.5 ระดับการกำจัดหมู่แอสีทิล (Degree of deacetylation)

สิ่งที่ต้องคำนึงถึงในการใช้ประโยชน์จากไคโตซาน คือ ระดับการกำจัดหมู่แอสีทิล ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ถึงคุณภาพของไคโตซาน ดังนั้นจึงมีการวัดระดับแอสีทิลของไคโตซานเพื่อพิจารณาถึงการใช้งาน ซึ่งการวิเคราะห์มีหลายวิธี ได้แก่ Infrared spectroscopy (IR), Circular dichroism (CD), Elemental analysis (EA), Titration และ First derivation ultraviolet (UV) spectroscopy ลักษณะของ IR ยากในการวิเคราะห์ และผลที่ได้มีแนวโน้มที่คลาดเคลื่อน การศึกษาแบบ CD มีข้อจำกัดในการละลายของผลิตภัณฑ์ ดังนั้นจึงไม่สามารถวิเคราะห์พวกที่ไม่ละลาย และพวกสารประกอบพอลิเมอร์ที่มีหมู่แอสีทิลสูงมาก (highly acetylated polymeric compound) ได้ วิธีไทเทรตมีความยุ่งยาก และใช้เวลานาน ส่วนผลที่ได้จากการวิเคราะห์โดย EA ไม่มีความแตกต่างกันทางนัยสำคัญ โดยเฉพาะถ้ามีการปนเปื้อนของผลิตภัณฑ์พลอยได้ (by-product) แต่วิธีนี้ใช้ในการหาไคโตซานซึ่งเป็นโคพอลิเมอร์ของ glucosamine/N-acetylglucosamine ส่วนการตรวจสอบพวกกลุ่มแอมิโนอิสระโดยใช้ฟลูออเรสเซนซ์ (Fluorescence) มีการตอบสนองเมื่อมีการเพิ่มความเข้มข้นของกลูโคซามีนแบบไม่เป็นเส้นตรง และการวัดตัวอย่างอาจมีการเจือจางขึ้นอยู่กับค่าที่ต้องการวัด (38)

2.8 การประยุกต์ใช้ไคติน และไคโตซาน (Application of chitin and chitosan)

การประยุกต์ใช้ไคติน และไคโตซานในด้านต่างๆ แสดงดังตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 การประยุกต์ใช้ไคติน และไคโตซาน (39)

การประยุกต์ใช้	ตัวอย่างการใช้งาน
การบำบัดน้ำ	<ul style="list-style-type: none"> ● การกำจัดโลหะหนัก ● ตัวสร้างตะกอน/ตกตะกอน: โพรตีน สี และกรดแอมิโน ● ใช้เป็นตัวกรอง (filtration)
อุตสาหกรรมสิ่งทอและกระดาษ	<ul style="list-style-type: none"> ● เคลือบหน้ากระดาษเพิ่มความแข็งแรง และทำให้เยื่อกระดาษรวมตัวและเกิดฟิล์มที่ต้านน้ำ ● เคลือบเส้นใยผ้าเพิ่มการต้านทานน้ำ

ตารางที่ 2.3 การประยุกต์ใช้ไคติน และไคโตซาน (39) (ต่อ)

การประยุกต์ใช้	ตัวอย่างการใช้งาน
ด้านการแพทย์ และ เภสัช	<ul style="list-style-type: none"> • ผ้าพันแผล (bandages) • ป้องกันเส้นเลือดอุดตัน ควบคุมระดับคลอเลสเทอรอลในเลือด • ผลิตเมมเบรน (membrane) • ใช้ด้านทันตกรรม/ยับยั้งการเกิดหินปูน • รักษาผิวหนังใหม่/ทำผิวหนังเทียม (artificial skin) • ตกตะกอนยา และใช้เป็น drug carrier
เครื่องสำอาง	<ul style="list-style-type: none"> • แป้งแต่งหน้า (make-up powder) • ผลิตภัณฑ์เคลือบเงาเล็บ (nail polish) • เพิ่มความชุ่มชื้น (moisturizer) เป็นส่วนผสมในสบู่น้ำ (bath lotion) • ยาสีฟัน • Foam enhancing
เทคโนโลยีชีวภาพ	<ul style="list-style-type: none"> • Enzyme immobilization and cell immobilization • Protein separation • Chromatography • Cell recovery • Glucose electrode
การเกษตร	<ul style="list-style-type: none"> • เคลือบเมล็ดพันธุ์พืช • Hydroponic/fertilizer • Controlled agrochemical release
อาหาร	<ul style="list-style-type: none"> • Removal of dyes, solid and acids • เป็นสารกันเน่าเสีย (preservatives) • เพิ่มความคงทนของสี (color stabilization) • ส่วนผสมในอาหารสัตว์ (animal feed additive)
เมมเบรน	<ul style="list-style-type: none"> • Reverse osmosis • Permeability control • Solvent separation

2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Shaw และ Wilson (1983) (26) ศึกษาการนำเบต้าไซโคลเดกซ์ทรีนพอลิเมอร์ มาใช้ในการกำจัดความขมเนื่องจาก ลิโมนิน และนารินจินออกจากน้ำส้ม และน้ำเกรพฟรุท ด้วยกระบวนการแบบกะ และแบบต่อเนื่อง พบว่าวิธีนี้สามารถลดปริมาณลิโมนิน และนารินจินได้ โดยที่ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด ปริมาณกรด และกรดแอสคอร์บิกของน้ำผลไม้ไม่เปลี่ยนแปลง และยังสามารถนำพอลิเมอร์กลับมาใช้ใหม่ได้ โดยการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์

Shaw และคณะ (1984) (27) ใช้เบต้าไซโคลเดกซ์ทรีนพอลิเมอร์กำจัดความขมออกจากน้ำส้มพันธุ์นาเวล และน้ำเกรพฟรุท โดยใช้อัตราส่วนของพอลิเมอร์ต่อน้ำผลไม้ เท่ากับ 1 กรัมต่อ 50 มิลลิลิตร ทั้งในกระบวนการต่อเนื่องแบบฟลูอิดซ์ หรือในกระบวนการแบบกะ พบว่าวิธีนี้สามารถลดปริมาณลิโมนิน โนมิลิน และนารินจินในน้ำเกรพฟรุท และลดปริมาณลิโมนิน และโนมิลินในน้ำส้มพันธุ์นาเวลได้ประมาณร้อยละ 50 ซึ่งพอลิเมอร์ที่ใช้แล้วสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ โดยล้างด้วยสารละลายต่างเจือจาง หรือเอทานอล โดยน้ำผลไม้ตระกูลส้มที่ผ่านกระบวนการมีรสชาติเป็นที่ยอมรับเมื่อเทียบกับน้ำผลไม้ตระกูลส้มที่ไม่ผ่านกระบวนการดูดซับ และการบำบัดด้วยพอลิเมอร์นี้ไม่มีผลกระทบต่อปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ, กรด หรือปริมาณกรดแอสคอร์บิกในน้ำผลไม้ตระกูลส้ม

Barmore และคณะ (1986) (40) ศึกษาการนำฟลอริซิล มาใช้ลดความขมในน้ำเกรพฟรุท พบว่าฟลอริซิลสามารถลดปริมาณลิโมนิน, นารินจิน และกรดซิตริกได้ในเวลาเดียวกัน โดยที่ปริมาณกรดแอสคอร์บิก และปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดไม่เปลี่ยนแปลง และทำให้น้ำเกรพฟรุทมีรสชาติเป็นที่ยอมรับ

Kimball (1987) (22) ศึกษาการนำ Supercritical carbon dioxide มาใช้ในการกำจัดลิโมนินออกจากน้ำส้ม ที่ความดันระหว่าง 3000-6000 psi และอุณหภูมิ 30-60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที สามารถลดปริมาณลิโมนินในน้ำส้มได้ร้อยละ 25 แต่ถ้าใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 4 ชั่วโมง จะลดปริมาณลิโมนินได้ร้อยละ 60 โดยที่ปริมาณกรดแอสคอร์บิก, เนื้อเยื่อส้ม, ปริมาณกรดทั้งหมด และกรดแอมิโน ไม่เปลี่ยนแปลง แต่วิธีนี้มีข้อด้อยเนื่องจาก ไม่สามารถนำสารเคมีกลับมาใช้ใหม่ได้ อีกทั้งต้องควบคุมเรื่องผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมด้วย ที่สำคัญต้องใช้ความดันสูงในการทดลอง จึงยากแก่การควบคุมและเสียค่าใช้จ่ายสูง

Wagner และคณะ (1988) (28) นำเบต้าไซโคลเดกซ์ทรินพอลิเมอร์ใช้กับระดับไหลอด โดยใช้คอลัมน์แบบฟลูอิดไอซีในการลดปริมาณลิโมนิน และนารินจินในน้ำเกรพฟรุต พบว่าพอลิเมอร์นี้สามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ถึง 21 ครั้งโดยไม่ทำให้สูญเสียความสามารถในการลดความขม และสามารถลดปริมาณลิโมนิน และนารินจินได้อยู่ในช่วงร้อยละ 30-59 และ 33-48 ตามลำดับ ซึ่งทำให้กลิ่นรสของน้ำผลไม้ตระกูลส้มเป็นที่ยอมรับ

Manlan และคณะ (1990) (41) ศึกษาอิทธิพลของสมบัติทางกายภาพของตัวดูดซับพอลิสไตรีน ไดไวนิลเบนซีน (polystyrene divinylbenzene adsorbents) ที่มีต่อการลดความขมในน้ำเกรพฟรุต ด้วยกระบวนการแบบกะ พบว่าความสามารถในการลดความขมของพอลิเมอร์ดังกล่าวจะเพิ่มขึ้นตามระดับการเชื่อมขวาง (degree of crosslinkage) และพื้นที่ผิวของตัวดูดซับพอลิเมอร์ ซึ่งมีความหนาแน่นของของแข็งสูงกว่า 1.2 กรัม/มิลลิลิตร (น้ำหนักแห้ง) การนำพอลิเมอร์กลับมาใช้ใหม่โดยล้างด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 ทำให้พอลิเมอร์มีประสิทธิภาพในการใช้งานสูงกว่าล้างด้วยน้ำอุ่น และเมื่อประเมินผลทางด้านรสชาติด้วยประสาทสัมผัส พบว่าผู้ประเมินกว่าร้อยละ 65 กล่าวว่าน้ำเกรพฟรุตที่ผ่านกระบวนการบำบัดความขมมีรสขมน้อยกว่าน้ำเกรพฟรุตที่ไม่ผ่านกระบวนการบำบัด

Van Beek และ Blaakmeer (1991) (42) ศึกษาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณลิโมนินในน้ำเกรพฟรุต และน้ำส้ม โดยทำน้ำผลไม้ให้ใสด้วยการเหวี่ยงด้วยความเร็วสูง (centrifugation) และการกรอง แล้วจึงนำไปสกัดลิโมนิน ด้วย C_2 solid-phase extraction column (SPE) ก่อนนำไปวิเคราะห์ปริมาณด้วย reverse phase HPLC โดยใช้ C_{18} column และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 210 นาโนเมตร ซึ่งปริมาณน้อยที่สุดที่สามารถนำมาวัดได้ คือ 2 นาโนกรัม และวิเคราะห์ความเข้มข้นได้ต่ำสุดถึง 0.1 ส่วนในล้านส่วน

Lee และ Kim (2003) (43) ศึกษาผลกระทบของการกำจัดความขม ที่มีต่อองค์ประกอบทางเคมีของน้ำเกรพฟรุตแดง (red grapefruit) โดยทำน้ำเกรพฟรุตให้ใสด้วยการกรองด้วยเมมเบรน กำจัดความขมด้วยเรซินสังเคราะห์ Amberlite XAD-16 แล้วทำให้เข้มข้นขึ้นด้วยกระบวนการระเหย พบว่า XAD-16 สามารถกำจัดความขมเนื่องจากนารินจิน ได้มากกว่าร้อยละ 78 และกำจัดลิโมนินได้หมด โดยที่ค่าอื่นๆ เช่น ปริมาณวิตามินซี และฟีนอลลดลงเล็กน้อย ซึ่งปริมาณวิตามินซีที่สูญเสียไปนั้น อาจเนื่องมาจากกระบวนการผลิตน้ำผลไม้ และสีของน้ำผลไม้เข้มข้นที่ผ่านกระบวนการกำจัดความขมแล้วจะซีดจางกว่าน้ำผลไม้ควบคุมเล็กน้อย

Chatterjee และคณะ (2004) (44) ศึกษาการเตรียมโคโตซานละลายน้ำ เพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในการทำน้ำผลไม้ให้ใส โดยเติมสารละลายโคโตซานในน้ำ ซึ่งเตรียมได้จากการไฮโดรไลซ์ (hydrolyze) โคโตซานด้วยกรดแอสติคเข้มข้นร้อยละ 7 ลงในน้ำผลไม้ชนิดต่างๆ เพื่อใช้เป็นตัวช่วยทำให้น้ำผลไม้ใสขึ้น (clarifying aids) พบว่า การใช้สารละลายโคโตซานในน้ำ ไม่มีผลกระทบต่อปัจจัยทางชีวเคมี เช่น ปริมาณกรด และปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ของน้ำผลไม้



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 สารเคมีที่ใช้

3.1.1 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมโคติน และโคโตซาน

1. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้นร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก (commercial grade) ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท ไทยอซาฮิ เคมีภัณฑ์ จำกัด
2. กรดไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้นร้อยละ 37 โดยน้ำหนัก (commercial grade) ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท ไทยอซาฮิ เคมีภัณฑ์ จำกัด

3.1.2 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีในน้ำส้ม

1. กรดเมทาฟอสฟอริก (HPO_3) (AR grade): BDH
2. กรดแอสซิติค (CH_3COOH) ความเข้มข้นร้อยละ 100 โดยน้ำหนัก (AR grade): BDH, Germany
3. สารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้นมากกว่าร้อยละ 99.7 โดยน้ำหนัก (AR grade): RdH
4. โซเดียม 2,6-ไดคลอโรฟีโนลินโดฟีนอล ความเข้มข้นมากกว่าร้อยละ 95 โดยน้ำหนัก (AR grade): Fluka
5. โซเดียมไบคาร์บอเนต (NaHCO_3) ความเข้มข้นร้อยละ 99.5-101.0 โดยน้ำหนัก (AR grade): APS Ajax Finechem

3.1.3 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณกรดในน้ำส้ม

โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้นร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก (commercial grade) ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท ไทยอซาฮิ เคมีภัณฑ์ จำกัด

3.1.4 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณลิโมนีนในน้ำส้ม

1. สารมาตรฐานลิโมนีน ความเข้มข้นร้อยละ 75 โดยน้ำหนัก: Sigma
2. เมทานอล (CH₃OH) ความเข้มข้นร้อยละ 99.8 โดยปริมาตร (HPLC grade): BDH
3. แอซีโทไนไตรล์ (CH₃CN) ความเข้มข้นร้อยละ 99.99 โดยปริมาตร (HPLC grade): Fisher Scientific

3.1.5 สารเคมีที่ใช้ในการดัดแปลงโครงสร้างทางเคมีของโคโคซาน

กรดซัลฟิวริก (H₂SO₄) ความเข้มข้นร้อยละ 96 โดยน้ำหนัก (AR grade): Carlo erba

3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

3.2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมโคโคซาน และโคโคซาน

1. ชุดเครื่องกวนชนิดปรับความเร็วรอบ และใบกวนเทพลอน: IKLABOR TECHNIK รุ่น RW 20n
2. เครื่องให้ความร้อน (Heating mantle): FALC รุ่น MF-1000
3. ชุดปฏิกรณ์เคมีแบบ 5 คอ (Reactor) ขนาด 1000 มิลลิลิตร
4. เทอร์โมมิเตอร์ (Thermometer) ช่วงอุณหภูมิ 0-200 องศาเซลเซียส
5. ตู้อบ (Hot air oven): BINDER รุ่น ED 115
6. เครื่องสูบลมสุญญากาศ (Vacuum pump): EDWARDS รุ่น RV3
7. เครื่องชั่ง (Analytical balance): METTLER TOLEDO รุ่น PB 3002-S
8. โถดูดความชื้น (Desiccator): SANPLATEC รุ่น C-3W No.0031
9. เครื่องร่อน (Sieve shaker): Retsch รุ่น AS200
10. ตะแกรงร่อน (Sieve) ขนาด 20 และ 35 mesh
11. เครื่องแก้วอื่นๆ ในห้องปฏิบัติการ

3.2.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในกระบวนการลดความขมในน้ำส้มด้วยโคโคซาน

1. เครื่องจาร์เทส (Jar test): VELP รุ่น JLT 6
2. เครื่องชั่ง (Analytical balance): METTLER TOLEDO รุ่น PB 3002-S

3.2.3 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมน้ำส้มคั้น

1. แผ่นความร้อนพร้อมเครื่องกวนระบบแม่เหล็กหมุน (Hot plate and Magnetic stirrer): PNP รุ่น HS-2
2. เครื่องปั่นเหวี่ยงหนีศูนย์กลางชนิดควบคุมอุณหภูมิ (Centrifuge): ALC รุ่น PM-180R
3. เทอร์โมมิเตอร์ (Thermometer) ช่วงอุณหภูมิ 0-100 องศาเซลเซียส
4. ตู้แช่แข็ง (Freezer -40°C): CTL รุ่น CTL 407

3.2.4 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวัดค่าสีของน้ำส้ม

เครื่องวัดสี (Minolta chroma meter series CR-300) ได้รับความอนุเคราะห์จากภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.2.5 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ค่าองศาบริกซ์ ($^{\circ}\text{Brix}$) ของน้ำส้ม

เครื่องรีแฟรกโตมิเตอร์แบบมือถือ (Hand Refractometer): $^{\circ}\text{Brix}$, 0-32% รุ่น 507-I

3.2.6 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวัดค่าพีเอชของน้ำส้ม

เครื่องวัดพีเอช (pH meter): Precisa รุ่น pH 900 EU

3.2.7 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณลิโมนินในน้ำส้ม

1. คอลัมน์สกัดแบบ Solid Phase Extraction (SPE column): Chromabond C-18 ec. 6 ml./500 mg.
2. SPE vacuum manifolds, 12 ports: Restek
3. เครื่อง High-performance liquid chromatography (HPLC): SHIMADZU รุ่น LC-10 ADvp

3.3 เครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์

3.3.1 เครื่องวิเคราะห์ที่มีในภาควิชาเคมีเทคนิค จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เครื่องวัดความหนืด (Viscometer): Brookfield รุ่น LVDV-I+

3.3.2 เครื่องวิเคราะห์ที่ได้รับความอนุเคราะห์

1. เครื่อง Gel Permeation Chromatography: PL 110 จากศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ
2. เครื่อง Scanning Electron Microscopy: Jeol JSM 6400 จากศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
3. เครื่อง Fourier Transform Infrared Spectroscopy: Perkin Elmer รุ่น 1760x การแยกชัด (resolution) ของเครื่องเท่ากับ 4 หมายเลขคลื่น จากภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
4. เครื่อง Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy จากศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ
5. เครื่อง Surface Area Analyzer จากวิทยาลัยปิโตรเลียม และปิโตรเคมี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.4 วิธีดำเนินการวิจัย

3.4.1 การเตรียมโคโตซานจากเปลือกกุ้ง (45) แสดงดังรูปที่ 3.1

การเตรียมวัตถุดิบ

ล้างเปลือกกุ้งให้สะอาด ทิ้งให้สะเด็ดน้ำ แล้วนำไปอบให้แห้งในตู้อบ จากนั้นบดเปลือกกุ้งอบแห้งด้วยเครื่องบด แล้วใช้ตะแกรงร่อนเพื่อคัดขนาดให้มีขนาด 500-850 ไมโครเมตร หรือ 20-35 mesh เก็บเปลือกกุ้งบดไว้ที่อุณหภูมิห้อง

การกำจัดโปรตีน (Deproteinization)

กวนเปลือกกุ้งในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 3 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนเปลือกกุ้งต่อสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เท่ากับ 1:10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร แล้วนำมาล้างน้ำจนเป็นกลาง จากนั้นนำไปอบในตู้อบ (Oven) ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส จนแห้ง

การกำจัดแร่ธาตุ (Demineralization)

นำเปลือกกุ้งที่ผ่านการกำจัดโปรตีนแล้วกวนในสารละลายกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 1.25 นอร์มอล เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง โดยใช้อัตราส่วนเปลือกกุ้งต่อสารละลายไฮโดรคลอริก เท่ากับ 1:10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร แล้วนำมาล้างน้ำจนเป็นกลาง จากนั้นนำไปอบในตู้อบ (Oven) ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส จนแห้ง ผลิตภัณฑ์ที่ได้คือ โคติน

การกำจัดหมู่แอซิติล (Deacetylation)

กวนโคตินในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 50 เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ในสภาวะสูญญากาศ โดยใช้อัตราส่วนโคตินต่อสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เท่ากับ 1:15 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร แล้วนำมาล้างน้ำจนเป็นกลาง จากนั้นนำไปอบในตู้อบ (Oven) ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส จนแห้ง ผลิตภัณฑ์ที่ได้คือ โคโตซาน

ในงานวิจัยนี้ เปลือกกุ้งที่ใช้สำหรับเตรียมโคโตซานนำมาจาก 2 แหล่ง ได้แก่ ตลาดสดสามย่าน กรุงเทพมหานคร และบริษัท แกลง จำกัด จังหวัดระยอง



รูปที่ 3.1 ขั้นตอนการเตรียมไคโตซานจากเปลือกกุ้ง

3.4.2 การวิเคราะห์สมบัติของไคโตซาน

ไคโตซานที่เตรียมได้นำมาวิเคราะห์สมบัติต่างๆ ดังต่อไปนี้

1. ระดับการกำจัดหมู่แอสีทิล (Degree of deacetylation) วิเคราะห์โดยวิธี colloidal titration (amino residue analysis) (46) ดังแสดงในภาคผนวก ค

2. ความหนืด (Viscosity) ของสารละลายโคโคซานความเข้มข้นร้อยละ 1 ในกรดแอสซิติคเข้มข้นร้อยละ 1 โดยใช้เครื่อง Brookfield Viscometer: spindle No.2 ความเร็ว 12 รอบ/นาที เป็นเวลา 2 นาที

3. น้ำหนักโมเลกุล (Molecular weight) โดยใช้เครื่อง Gel Permeation Chromatography (GPC): วิเคราะห์โดยศูนย์เทคโนโลยีโลหะ และวัสดุแห่งชาติ (MTEC)

4. พื้นที่ผิว (Surface Area) ของเกล็ดโคโคซาน โดยใช้เครื่อง Surface Area Analyzer: วิเคราะห์โดยวิทยาลัยปิโตรเลียม และปิโตรเคมี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

5. ขนาดรูเฉลี่ย (Average pore diameter) ของเกล็ดโคโคซาน โดยใช้เครื่อง Surface Area Analyzer: วิเคราะห์โดยวิทยาลัยปิโตรเลียม และปิโตรเคมี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.4.3 การเตรียมน้ำส้มคั้น

1. นำน้ำส้มคั้นที่ได้จากบริษัท ทิปโก้ฟู้ดส์ จำกัด มาให้ความร้อนที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เพื่อเปลี่ยน ลิโมนีนเอทเอ-ริง แลคโตนให้เป็นลิโมนิน (42)

2. นำน้ำส้มที่ผ่านการให้ความร้อนแล้วมาทำให้ใส ด้วยเครื่องเหี่ยงความเร็วสูงที่ความเร็ว 10,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที

3. ทำให้น้ำส้มคั้นส่วนใสจากข้อ 2. เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส

3.4.4 การวิเคราะห์ลักษณะสมบัติของน้ำส้มส่วนใส

นำน้ำส้มส่วนใสมาวิเคราะห์ลักษณะสมบัติ ทั้งก่อนและหลังผ่านกระบวนการลดความขมด้วยโคโคซาน ดังต่อไปนี้

1. วัดค่าสีของน้ำส้มคั้น ด้วยเครื่องวัดสี โดยคำนวณเป็นค่าความแตกต่างของสี (ΔE) ดังแสดงในภาคผนวก ข

2. ปริมาณคาร์โบไฮเดรต ซึ่งรวมถึงสารที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด ได้แก่ คาร์โบไดไฮดรเอต, เกลือ, สารไนโตรเจน และเพคติน โดยวิเคราะห์เป็นค่าองศาบริกซ์ ($^{\circ}\text{Brix}$) ด้วยเครื่องรีแฟรกโตมิเตอร์แบบมือถือ (3)
3. วิเคราะห์ปริมาณวิตามินซี โดยการไทเทรต ตามวิธีของ The Association of Analytical Communities (AOAC) (4) ดังแสดงในภาคผนวก ข
4. วัดค่าพีเอชของน้ำส้มคั้น ด้วยเครื่องวัดพีเอช
5. วิเคราะห์ปริมาณกรด คำนวณเป็นร้อยละกรดซิตริก โดยการไทเทรต (5) ดังแสดงในภาคผนวก ข
6. วิเคราะห์ปริมาณลิโมนีน ด้วยเครื่อง High-performance liquid chromatography (HPLC) (42) ดังแสดงในภาคผนวก ข

3.4.5 การทดสอบเพื่อหาความเหมาะสมของกระบวนการลดความขม

เพื่อหาวิธีการที่เหมาะสมในการลดความขมในน้ำส้มด้วยไคโตซาน จึงทำการทดสอบเบื้องต้นโดยการใช้วิธีการกวนผสม (Stirred tank) เทียบกับ กระบวนการเมมเบรน และแบบชั้นเกล็ดอัดแน่น (Packed column) ในการลดความขมในน้ำส้ม และนำวิธีการที่เหมาะสมที่ได้จากการทดสอบเบื้องต้นนี้มาใช้ในการศึกษาในส่วนตัวต่อไป ดังนี้

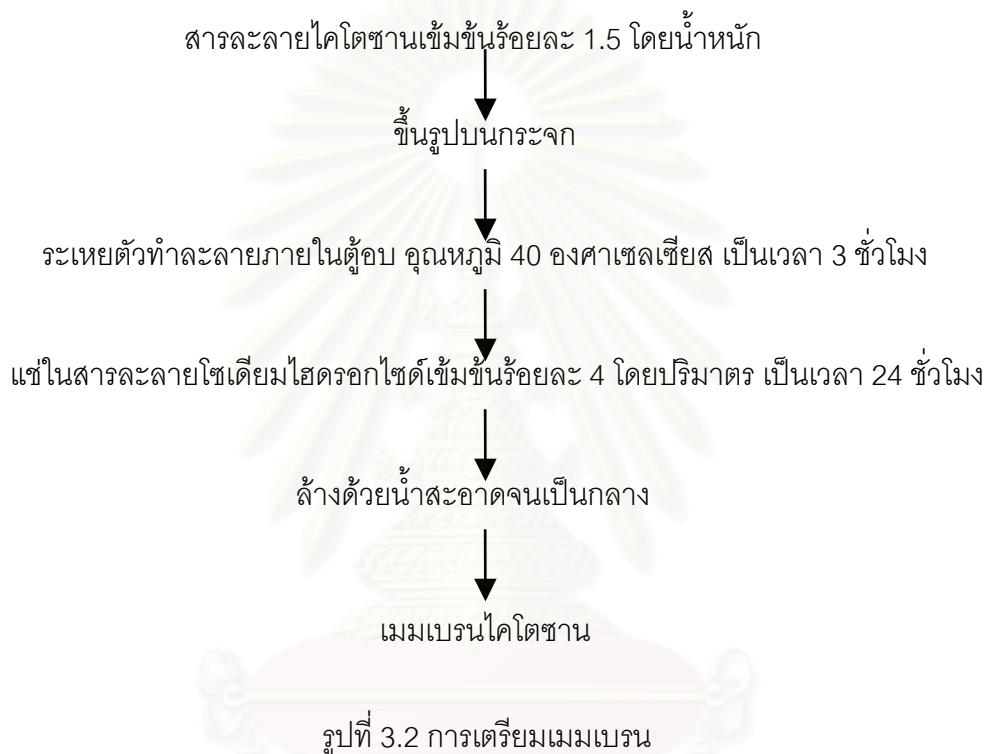
1. เปรียบเทียบระหว่างการใช้กระบวนการเมมเบรน และการกวนผสมด้วยเกล็ดไคโตซานในการลดความขมในน้ำส้ม

1.1 กระบวนการเมมเบรน โดยเตรียมเมมเบรนไคโตซานด้วยวิธีการเปลี่ยนเฟส (Phase inversion) ดังนี้

1.1.1 เตรียมสารละลายไคโตซานเข้มข้นร้อยละ 1.5 โดยน้ำหนัก โดยละลายไคโตซานด้วยสารละลายกรดแอสติกเข้มข้นร้อยละ 1 โดยปริมาตร

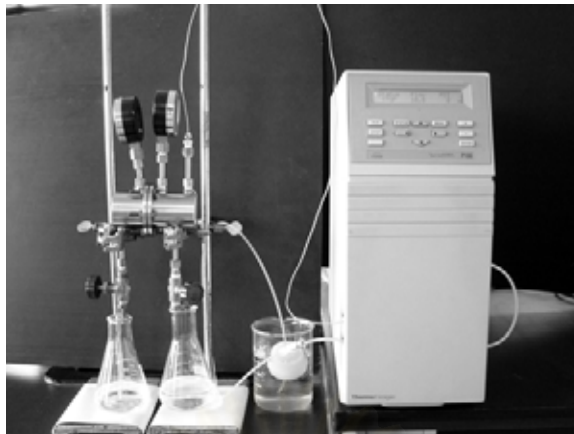
1.1.2 เตรียมเมมเบรนภายใต้สภาวะ และขั้นตอน แสดงดังรูปที่ 3.2 ดังนี้

- ระเหยตัวทำละลายภายในตู้อบ (oven) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง
- เมมเบรนที่ผ่านการระเหยตัวทำละลายแล้ว นำมาแช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 4 โดยปริมาตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- ล้างเมมเบรนด้วยน้ำสะอาดให้มีสภาพเป็นกลางก่อนนำไปใช้



ดำเนินการลดความชื้นด้วยไมคูลบแบบแผ่นและกรอบ แสดงชุดการทดลองดังรูปที่ 3.3 ภายใต้ความดัน 250 psi ซึ่งเป็นความดันต่ำสุดที่สามารถใช้ได้กับชุดทดลองนี้ ด้วยอัตราการไหลของน้ำส้ม 10 มิลลิลิตร/นาที โดยเป็นอัตราการไหลสูงสุดของเครื่องสูบความดันสูงที่ใช้ เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

1.2 การกวนด้วยเครื่องจาร์เทส โดยใช้อัตราส่วนของเกล็ดไคโตซานต่อปริมาตรน้ำส้ม เท่ากับ 1 ต่อ 25 และ 1 ต่อ 50 กวนด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วกรองเกล็ดไคโตซานออกจากน้ำส้ม โดยกำหนดอัตราส่วน และความเร็วรอบที่ใช้ในการกวนดังกล่าวจากการสุ่ม และกำหนดเวลาที่ใช้ให้สอดคล้องกับกระบวนการเมมเบรน



รูปที่ 3.3 ชุดการทดลองการลดความขมในน้ำส้มด้วยกระบวนการเมมเบรน

2. เปรียบเทียบระหว่างการใช้วิธีแบบชั้นเกล็ดอัดแน่น และการกวนผสมด้วยเกล็ดโคไตซานในการลดความขมในน้ำส้ม

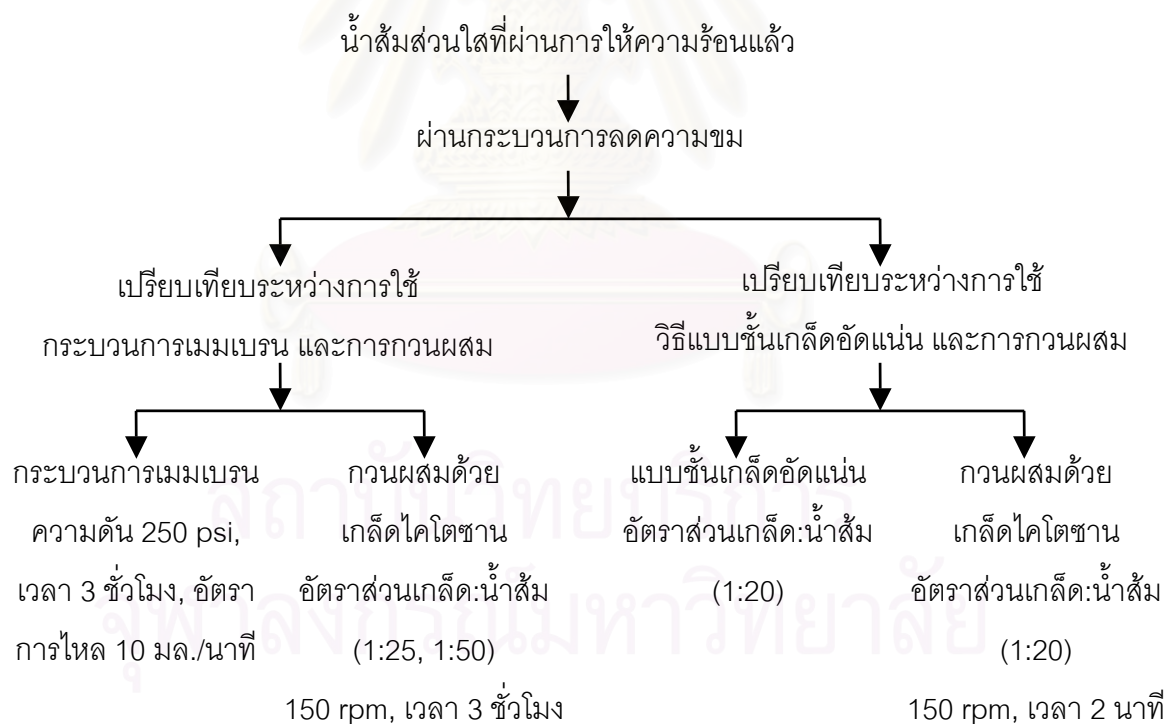
2.1 การใช้วิธีแบบชั้นเกล็ดอัดแน่น โดยบรรจุเกล็ดโคไตซานขนาด 500-800 ไมโครเมตร ปริมาณ 4 กรัม ลงในคอลัมน์ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 เซนติเมตร และบรรจุเกล็ดโคไตซานอัดแน่นสูง 3 เซนติเมตร แสดงภาพชุดการทดลองดังรูปที่ 3.4 กำหนดปริมาณน้ำส้มให้ไหลผ่านชั้นเกล็ดอัดแน่นเท่ากับ 80 มิลลิลิตร ทำให้ได้อัตราส่วนของเกล็ดโคไตซานต่อปริมาตรน้ำส้ม เท่ากับ 1 ต่อ 20 และมีน้ำส้มหยดแรกไหลออกจากคอลัมน์ที่เวลา 2 นาที โดยอัตราส่วนของเกล็ดโคไตซานต่อปริมาตรน้ำส้มที่ใช้ในการศึกษากำหนดจากการสุ่มขึ้นเอง

2.2 การกวนด้วยเครื่องจาร์เทส โดยใช้อัตราส่วนของเกล็ดโคไตซานต่อปริมาตรน้ำส้ม เท่ากับ 1 ต่อ 20 กวนด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที แล้วกรองเกล็ดโคไตซานออกจากน้ำส้ม โดยกำหนดอัตราส่วน และเวลาที่ใช้ในการกวนให้สอดคล้องกับวิธีแบบชั้นเกล็ดอัดแน่น และกำหนดความเร็วรอบที่ใช้ในการกวนดังกล่าวจากการสุ่ม



รูปที่ 3.4 ชุดการทดลองแบบบรรจุเกล็ดโคโตซานในคอลัมน์

แผนภาพการทดสอบเบื้องต้นความเหมาะสมสำหรับวิธีการลดความขมน้ำส้มด้วยโคโตซาน แสดงดังรูปที่ 3.5



รูปที่ 3.5 แผนภาพการทดสอบเบื้องต้นความเหมาะสมสำหรับวิธีการลดความขมน้ำส้มด้วยโคโตซาน

3.4.6 ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อความสามารถในการลดความขมในน้ำส้มของเกล็ดไคโตซาน

ผลการทดสอบเบื้องต้น ซึ่งจะกล่าวโดยละเอียดในบทที่ 4 แสดงว่า วิธีการกวนผสมเป็นวิธีการลดความขมในน้ำส้มที่เหมาะสมที่สุด ดังนั้นในส่วนนี้จึงดำเนินการศึกษาปัจจัยต่อการลดความขมของน้ำส้มด้วยวิธีการกวนผสม ตามตารางที่ 3.1 โดยการทดสอบด้วยเครื่องจาร์เทส ดังนี้

1. แปรเปลี่ยนปริมาณเกล็ดไคโตซาน โดยใช้อัตราส่วนของเกล็ดไคโตซานต่อปริมาณน้ำส้ม เท่ากับ 1 ต่อ 15 และ 1 ต่อ 20 ซึ่งเป็นอัตราส่วนที่ได้ทดลองมาแล้วในส่วนของ การทดสอบเบื้องต้น และสันนิษฐานว่า หากเพิ่มปริมาณเกล็ดไคโตซานขึ้น จะสามารถลดปริมาณลิโมนินในน้ำส้มได้มากขึ้น จึงเลือกทำการทดลองที่อัตราส่วน 1 ต่อ 15 ด้วย

2. แปรเปลี่ยนความเร็วรอบที่ใช้ในการกวน เท่ากับ 40, 75 และ 150 รอบต่อนาที จากผลการทดสอบเบื้องต้น สันนิษฐานว่า หากลดความเร็วรอบที่ใช้ในการกวนลง จะทำให้เกล็ดไคโตซานมีเวลาสัมผัสกับสารต่างๆ ในน้ำส้มได้มากขึ้น ซึ่งอาจจะทำให้ประสิทธิภาพในการกำจัดความขมเพิ่มขึ้นด้วย

ตารางที่ 3.1 การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อความสามารถในการลดความขมในน้ำส้มของเกล็ดไคโตซาน ด้วยเครื่องจาร์เทส

ปริมาณเกล็ดไคโตซาน (เกล็ดไคโตซาน:น้ำส้ม)	อัตราเร็วในการกวน (รอบ/นาที)	เวลาที่ใช้ในการกวน (นาที)					
		15	30	60	120	180	300
1:15	40	15	30	60	120	180	300
	75						
	150						
1:20	40	15	30	60	120	180	300
	75						
	150						

3.4.7 การศึกษาจลนพลศาสตร์การลดความขมในน้ำส้มด้วยเกลือโคโคโตซาน

เพื่อศึกษาจลนพลศาสตร์การลดความขมในน้ำส้มด้วยเกลือโคโคโตซาน โดยการกวนผสมด้วยเครื่องจาร์เทส ณ เวลาการกวนผสมต่างๆ กัน ตั้งแต่เริ่มต้นจนถึงภาวะสมดุล (Equilibrium) แสดงดังตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 การศึกษาจลนพลศาสตร์การลดความขมในน้ำส้มด้วยเกลือโคโคโตซาน ณ เวลาการกวนผสมต่างๆ กัน ตั้งแต่ เริ่มต้น จนถึงภาวะสมดุล (Equilibrium)

ปริมาณเกลือโคโคโตซาน (เกลือโคโคโตซาน:น้ำส้ม)	อัตราเร็วในการกวน (รอบ/นาที)	เวลาที่ใช้ในการกวน (นาที)										
		2	4	6	8	10	13	15	30	60	120	180
1:15	40	2	4	6	8	10	13	15	30	60	120	180
	75											
	150											
1:20	40	2	4	6	8	10	13	15	30	60	120	180
	75											
	150											

3.4.8 ผลของสมบัติโคโคโตซานต่อความสามารถในการลดความขมในน้ำส้ม

จากข้อสันนิษฐานที่ว่าความสามารถในการกำจัดความขมเนื่องจากลิโมนินของโคโคโตซานนั้น อาจเกิดจากความสามารถของหมู่แอมิโนของโคโคโตซานในการเกิดพันธะกับสารต่างๆ หรือ อาจเกิดจากการแลกเปลี่ยนประจุ (ion exchange) ของโคโคโตซานกับลิโมนิน ดังนั้นจึงทำการแปรเปลี่ยนสมบัติของโคโคโตซาน เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัดลิโมนินของเกลือโคโคโตซาน โดยกำหนดอัตราส่วนปริมาณเกลือโคโคโตซานต่อปริมาตรน้ำส้ม เวลา และความเร็วรอบที่ใช้ในการกวนด้วยเครื่องจาร์เทส ตามผลการทดลองที่ดีที่สุดจากการทดลองในหัวข้อก่อนหน้า ดังนี้

1. แปรเปลี่ยนระดับการกำจัดหมู่แอสีทิลของเกลือโคโคโตซาน โดยใช้เกลือโคโคโตซานที่มีระดับการกำจัดหมู่แอสีทิลสูงขึ้น ซึ่งเป็นการเพิ่มหมู่แอมิโนของเกลือโคโคโตซาน

2. การดัดแปลงโครงสร้างทางเคมี (chemical modification) ของเกล็ดโคโคโตซาน เพื่อเตรียมเกล็ดโคโคโตซานให้มีประจุลบเพิ่มขึ้น โดยนำเกล็ดโคโคโตซานแช่ด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 1 และ 5 โดยใช้อัตราส่วนเกล็ดโคโคโตซานต่อสารละลายกรดซัลฟิวริก เท่ากับ 1 ต่อ 50 ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ล้างน้ำจนเป็นกลาง แล้วอบให้แห้ง แสดงดังรูปที่ 3.6 จากนั้นนำเกล็ดโคโคโตซานที่เตรียมได้มาใช้ในการกระบวนการลดความขมในน้ำส้ม

แช่เกล็ดโคโคโตซานด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 1 และ 5

อัตราส่วนเกล็ดโคโคโตซาน:สารละลายกรดซัลฟิวริก เท่ากับ 1:50

↓
กวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

↓
ล้างน้ำจนเป็นกลาง แล้วอบแห้ง

↓
เกล็ดโคโคโตซานที่ถูกดัดแปลงโครงสร้างทางเคมี

รูปที่ 3.6 แผนภาพขั้นตอนการดัดแปลงโครงสร้างทางเคมีของเกล็ดโคโคโตซาน

บทที่ 4

ผลการวิจัย และอภิปรายผลการทดลอง

4.1 ผลการเตรียมโคโตซานจากเปลือกกุ้ง

4.1.1 ผลการสกัดโคโตซาน

ร้อยละผลได้ของโคโตซานที่เตรียมได้จากงานวิจัยนี้ แสดงดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ร้อยละผลได้ของโคโตซาน

แหล่งเปลือกกุ้ง	ร้อยละผลได้เฉลี่ยของโคโตซาน (%)	
	เทียบกับไคติน	เทียบกับเปลือกกุ้ง
ตลาดสดสามย่าน	82.2±2.8	26.6±1.9
บริษัท แกลง จำกัด	81.7±4.1	28.2±0.6

4.1.2 สมบัติของโคโตซาน

สมบัติของโคโตซานที่เตรียมได้จากงานวิจัยนี้ ได้แก่ ความหนืด, มวลโมเลกุล, ระดับการกำจัดหมู่แอสีทิล, พื้นที่ผิว และขนาดรูเฉลี่ยของเกล็ดโคโตซาน ได้ผลคือ ความหนืดมีค่าเท่ากับ 346.5 ± 15.9 และ 1619.4 ± 133.7 เซนติพอยส์ มวลโมเลกุลเฉลี่ยมีค่าเท่ากับ 1.0×10^6 และ 1.3×10^6 ดอลตัน ระดับการกำจัดหมู่แอสีทิลมีค่าเท่ากับร้อยละ 83.4±1.2 และ 74.4±1.0 พื้นที่ผิวของเกล็ดโคโตซานมีค่าเท่ากับ 13.3 และ 6.0 ตารางเมตร/กรัม และขนาดรูเฉลี่ยของเกล็ดโคโตซานมีค่าเท่ากับ 37.0 และ 44.7 อังสตรอม ของเกล็ดโคโตซานจากตลาดสดสามย่าน และบริษัท แกลง จำกัด ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 สมบัติของโคโตซาน

สมบัติ	วิธีวิเคราะห์	หน่วย	โคโตซานที่เตรียมได้	
			ตลาดสดสามย่าน	บริษัท แกล่ง จำกัด
ความหนืด	Brookfield	เซนติพอยส์	346.5±15.9	1619.4±133.7
มวลโมเลกุล	GPC	ดอลตัน	1.0×10 ⁶	1.3×10 ⁶
ระดับการกำจัด	Colloidal titration	%	83.4±1.2	74.4±1.0
หมู่แอสซิติล	NMR		92	87
พื้นที่ผิว	BET	ตารางเมตร/กรัม	13.3	6.0
ขนาดรูเฉลี่ย	BET	อังสตรอม	37.0	44.7

4.2 ผลการวิเคราะห์ลักษณะสมบัติของน้ำส้มส่วนใส

ลักษณะสมบัติของน้ำส้มก่อนนำไปผ่านกระบวนการบำบัดความขม แต่ได้ผ่านกระบวนการเปลี่ยนลิโมนิโนเทอเอ-ริง แลคโตนให้เป็นลิโมนิน แสดงดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 ลักษณะสมบัติของน้ำส้มส่วนใส

องศาบริกซ์ (°Brix)	วิตามินซี (มก./100 มล.)	pH	กรดซิตริก (%)	ลิโมนิน (ppm)
11.6±0.2	4.0±0.4	4.3±0.0	0.5±0.0	4.1±0.2

ในน้ำส้มคั้นมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด ส่วนมากเป็นน้ำตาลมีค่าองศาบริกซ์เฉลี่ยเท่ากับ 11.6±0.2 ซึ่งค่าองศาบริกซ์มีความสัมพันธ์กับปริมาณกรด สามารถแสดงเป็นอัตราส่วนระหว่างค่าองศาบริกซ์ต่อกรด จากการวิเคราะห์ พบว่าค่าองศาบริกซ์ต่อกรดมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 24.7 ซึ่งมาตรฐานของ USFDA กำหนดว่า น้ำส้มคั้นกระป๋องเกรดเอของน้ำผลไม้ตระกูลส้มทันเจรินต้องมีอัตราส่วนค่าองศาบริกซ์ต่อกรด 11.5-19.0 (5) เห็นว่าค่าองศาบริกซ์ต่อกรดของน้ำส้มเขียวหวานที่ใช้ในงานวิจัยนี้มีค่าสูงกว่ามาตรฐาน เนื่องจากปริมาณกรดที่วิเคราะห์ได้มีค่าต่ำ ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณวิตามินซี (กรดแอสคอร์บิก) ที่วิเคราะห์ได้ โดยทั่วไปในน้ำส้มจะมีปริมาณวิตามินซี 30-70 มก./100 มล.ของน้ำส้ม แต่จากการวิเคราะห์น้ำส้มเขียวหวานคั้นที่ผ่านการให้ความร้อนแล้ว มีปริมาณวิตามินซีเพียง 4.0±0.4 มก./100 มล.ของน้ำส้ม ทั้งนี้เนื่องจากความร้อน

เป็นตัวการสำคัญทำให้วิตามินซีในน้ำส้มเกิดการสลายตัว ซึ่งการสูญเสียวิตามินซีนั้นจะเกิดพร้อมกับการลดลงของปริมาณกรดทั้งหมดในน้ำส้ม (3) เมื่อพิจารณาค่าพีเอชในน้ำส้มเขียวหวานคั้นมีค่าพีเอชเท่ากับ 4.3 ± 0.0 ซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณกรดในน้ำส้มที่มีปริมาณน้อย ในอุตสาหกรรมการผลิตน้ำส้มคั้นสด ส่วนใหญ่ น้ำส้มจะมีปริมาณกรดอยู่ในช่วงร้อยละ 0.5-1.5 (5)

น้ำส้มเขียวหวานคั้นที่ได้จากบริษัท ทิปโก้ฟู้ดส์ จำกัด และผ่านการให้ความร้อนแล้วมีปริมาณลิโมนิน 4.1 ± 0.2 ส่วนในล้านส่วน ซึ่งปริมาณลิโมนินที่วิเคราะห์ได้นี้มีปริมาณค่อนข้างต่ำ แต่ยังสามารถทำให้ผู้บริโภครับรู้รสขมของน้ำส้มได้ จึงทำการทดลองศึกษาการลดความขมในน้ำส้ม เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์แปรรูปต่อไป

4.3 ผลการทดสอบเบื้องต้นความเหมาะสมสำหรับวิธีการลดความขมในน้ำส้มด้วยไคโตซาน

4.3.1 เปรียบเทียบระหว่างการใช้กระบวนการหมักเบรณ และการกวนผสมด้วยเกล็ดไคโตซานในการลดความขมในน้ำส้ม

ผลการศึกษา แสดงในตารางที่ 4.4 วิเคราะห์ได้ว่า ด้วยวิธีการกวนผสมไคโตซานสามารถดึงลิโมนินออกจากน้ำส้มได้ โดยไม่ทำให้ค่าความแตกต่างของสี (ΔE) ของน้ำส้ม ก่อน และหลังการบำบัดเปลี่ยนแปลงไปมากนัก (ค่า ΔE ควรน้อยกว่า 2 จึงจะสามารถยอมรับได้) (47) ที่ความเร็วรอบในการกวน 150 รอบต่อนาที เมื่อเพิ่มปริมาณเกล็ดไคโตซาน จากอัตราส่วน 1 ต่อ 50 เป็น 1 ต่อ 25 มีผลทำให้สามารถลดปริมาณลิโมนินได้เพิ่มขึ้นจากร้อยละ 32.7 ± 0.3 เป็น 59.5 ± 0.4 อธิบายได้ว่า การเพิ่มปริมาณไคโตซาน นอกเหนือจากเป็นการเพิ่มปริมาณตัวจับลิโมนินแล้วยังมีผลทำให้หมายเลขเรย์โนลด์ที่คำนวณตามสมการ ก.1 ในภาคผนวก ก เพิ่มขึ้นจาก 222 เป็น 443 ตามลำดับ ความปั่นป่วนที่เพิ่มขึ้นทำให้น้ำส้มมีโอกาสสัมผัสกับไคโตซานทั่วตลอด ทั้งเกล็ดมากขึ้นอีกด้วย

ส่วนการลดความขมด้วยกระบวนการหมักเบรณ สามารถลดปริมาณลิโมนินได้มากกว่าโดยลดได้ร้อยละ 68.7 ± 0.5 แต่ขณะเดียวกัน รงควัตถุที่ทำให้เกิดสีในน้ำส้มก็ถูกกักไว้ไม่ให้ผ่านเมมเบรนไปด้วยเช่นกัน ทำให้สีของน้ำส้มที่ผ่านเมมเบรนออกมาซีดจางอย่างเห็นได้ชัดด้วยตาเปล่า และฟลักซ์น้ำส้มที่ผ่านเมมเบรนต่ำมาก โดยการดำเนินการเป็นเวลา 3 ชั่วโมง

ให้ฟลักซ์เพียง 5 มิลลิลิตร เท่านั้น ซึ่งเป็นปริมาณที่ไม่เพียงพอต่อการนำไปวัดด้วยเครื่องวัดสี ซึ่งต้องใช้ครั้งละ 15-20 มิลลิลิตร

การลดความขมทั้งวิธีการกวนผสม และด้วยกระบวนการเมมเบรน ไม่มีผลต่อค่าองศาบริกซ์ของน้ำส้ม ด้วยเหตุผลดังกล่าวข้างต้นจึงสรุปได้ว่า วิธีการลดความขมด้วยกระบวนการเมมเบรนไม่เหมาะสม

ตารางที่ 4.4 ลักษณะสมบัติของน้ำส้ม เปรียบเทียบระหว่างการใช้กระบวนการเมมเบรน และการผสมด้วยเกลือโคโคซาน

	สี (ΔE)	องศาบริกซ์ ($^{\circ}$ Brix)	ลิโมนิน	
			ความเข้มข้น (ppm)	ร้อยละที่ลดลง (%)
น้ำส้มตั้งต้น	0.0 ± 0.0	11.6 ± 0.2	5.4 ± 0.0	0.0 ± 0.0
การกวนผสม: ^a				
- 1:50	0.4 ± 0.1	11.6 ± 0.0	4.4 ± 0.0	32.7 ± 0.3
- 1:25	0.5 ± 0.2	11.6 ± 0.1	2.7 ± 0.0	59.5 ± 0.4
กระบวนการเมมเบรน	-	11.4 ± 0.1	2.1 ± 0.0	68.7 ± 0.5

หมายเหตุ: ^aอัตราส่วนระหว่างปริมาณเกลือโคโคซาน (กรัม) ต่อปริมาตรน้ำส้ม (มิลลิลิตร)

4.3.2 เปรียบเทียบระหว่างการใช้วิธีแบบชั้นเกล็ดอัดแน่น และการกวนผสมด้วยเกลือโคโคซานในการลดความขมในน้ำส้ม

พบว่าการใช้วิธีแบบชั้นเกล็ดอัดแน่น และการกวนผสมสามารถลดปริมาณลิโมนินได้ร้อยละ 37.2 ± 0.5 และ 35.3 ± 1.0 ตามลำดับ โดยไม่มีผลต่อค่าความแตกต่างของสี และค่าองศาบริกซ์ของน้ำส้ม แสดงผลดังตารางที่ 4.5 วิธีการแบบชั้นเกล็ดอัดแน่นด้วยเกลือโคโคซาน สามารถลดปริมาณลิโมนินได้มากกว่าวิธีการกวนผสมเพียงเล็กน้อยเท่านั้น เนื่องจากวิธีการแบบชั้นเกล็ดอัดแน่นเป็นวิธีที่ยู่ยากกว่า และมักจะเกิดปัญหาจากการบรรจุเกลือโคโคซานไม่สม่ำเสมอ ดังนั้นวิธีการกวนผสมจึงน่าจะเหมาะสมกว่า

สรุปผลการทดสอบเบื้องต้น ถึงวิธีการลดความขมในน้ำส้มด้วยโคโคซานได้ว่า วิธีการกวนผสมเกลือโคโคซานกับน้ำส้ม เป็นวิธีการที่เหมาะสมที่สุดใน 3 วิธีที่ศึกษา ในส่วน

ต่อไป จึงสนใจปัจจัยที่มีผลต่อความสามารถในการลดความขมด้วยวิธีการกวนผสม เพื่อประยุกต์ใช้งานจริงในเชิงอุตสาหกรรมต่อไป

ตารางที่ 4.5 ลักษณะสมบัติของน้ำส้ม เปรียบเทียบระหว่างการใช้วิธีแบบชั้นเกล็ดอัดแน่น และการกวนผสมด้วยเกล็ดโคโคซาน

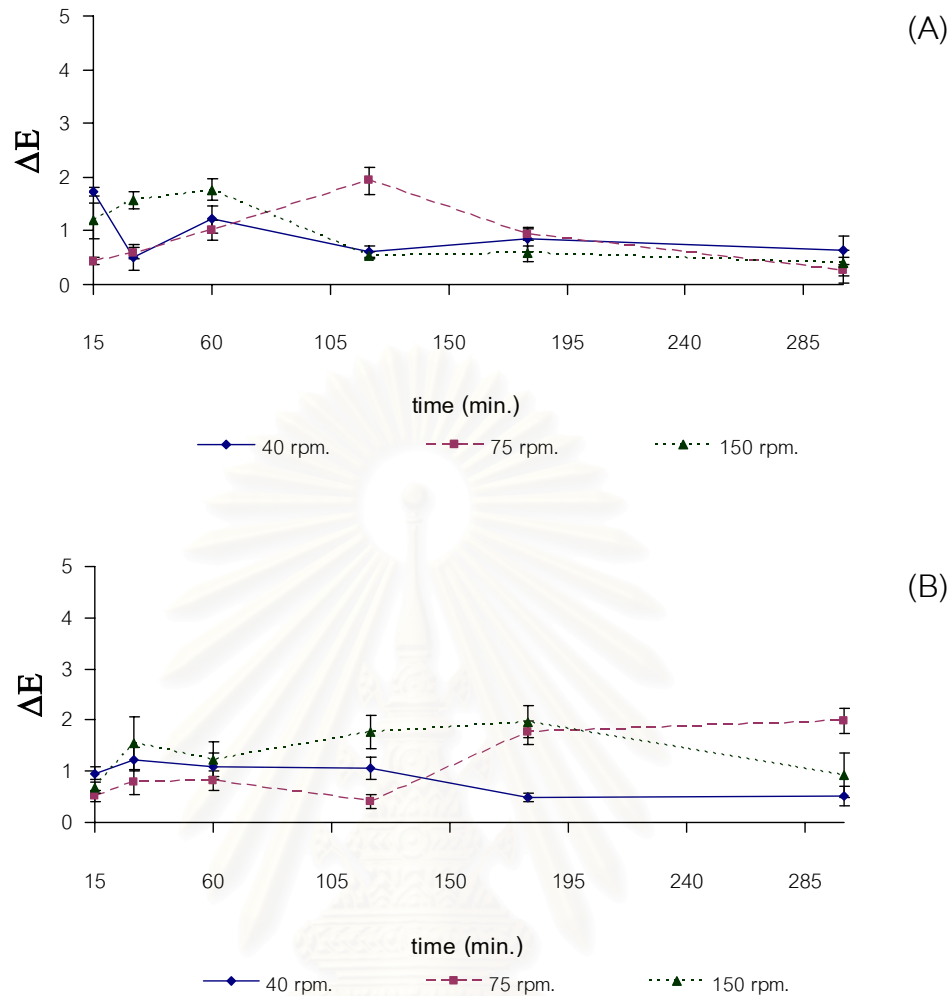
	สี (ΔE)	องศาบริกซ์ (°Brix)	ลิโมนิน	
			ความเข้มข้น (ppm)	ร้อยละที่ลดลง (%)
น้ำส้มตั้งต้น	0.0 ± 0.0	11.6 ± 0.0	3.8 ± 0.0	0.0 ± 0.0
ชั้นเกล็ดอัดแน่น	1.1 ± 0.1	11.6 ± 0.0	2.8 ± 0.0	37.2 ± 0.5
การกวนผสม ^a	1.1 ± 0.1	11.6 ± 0.1	2.9 ± 0.0	35.3 ± 1.0

หมายเหตุ: ^aอัตราส่วนระหว่างปริมาณเกล็ดโคโคซาน (กรัม) ต่อปริมาตรน้ำส้ม (มิลลิลิตร) เท่ากับ 1 ต่อ 20

4.4 ผลการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อความสามารถในการลดความขมในน้ำส้มของเกล็ดโคโคซาน

การเปลี่ยนแปลงของอัตราส่วนระหว่างปริมาณเกล็ดโคโคซานต่อปริมาตรน้ำส้มเท่ากับ 1 ต่อ 15 และ 1 ต่อ 20 และการเปลี่ยนความเร็วรอบที่ใช้ในการกวนผสมเกล็ดโคโคซานกับน้ำส้ม คือ 40, 75 และ 150 รอบต่อนาที พบว่าไม่มีผลต่อค่าความแตกต่างของสี (ΔE), ค่าองศาบริกซ์ และ ปริมาณวิตามินซีของน้ำส้ม ดังนี้

ค่าความแตกต่างของสี (ΔE) ของน้ำส้ม แสดงผลดังรูปที่ 4.1 พบว่าค่าความแตกต่างของสีของแต่ละตัวอย่างน้ำส้มจะมีค่าเฉลี่ยใกล้เคียงกันมาก คืออยู่ระหว่าง 0.3 ± 0.2 ถึง 2.0 ± 0.3 (ค่า ΔE ที่สามารถยอมรับได้ ควรน้อยกว่า 2) โดยค่าความแตกต่างของสี (ΔE) ที่เกิดขึ้น อาจเกิดจากโคโคซานสามารถดูดซับสี ซึ่งเป็นรงควัตถุที่มีอยู่ตามธรรมชาติในน้ำส้มได้บ้าง แต่ดูดซับได้ในปริมาณเล็กน้อย



รูปที่ 4.1 ค่าความแตกต่างของสี (ΔE) ของน้ำส้มที่ผ่านกระบวนการลดความขมด้วยวิธีการกวนผสมของเกล็ดโคโคซานกับน้ำส้ม

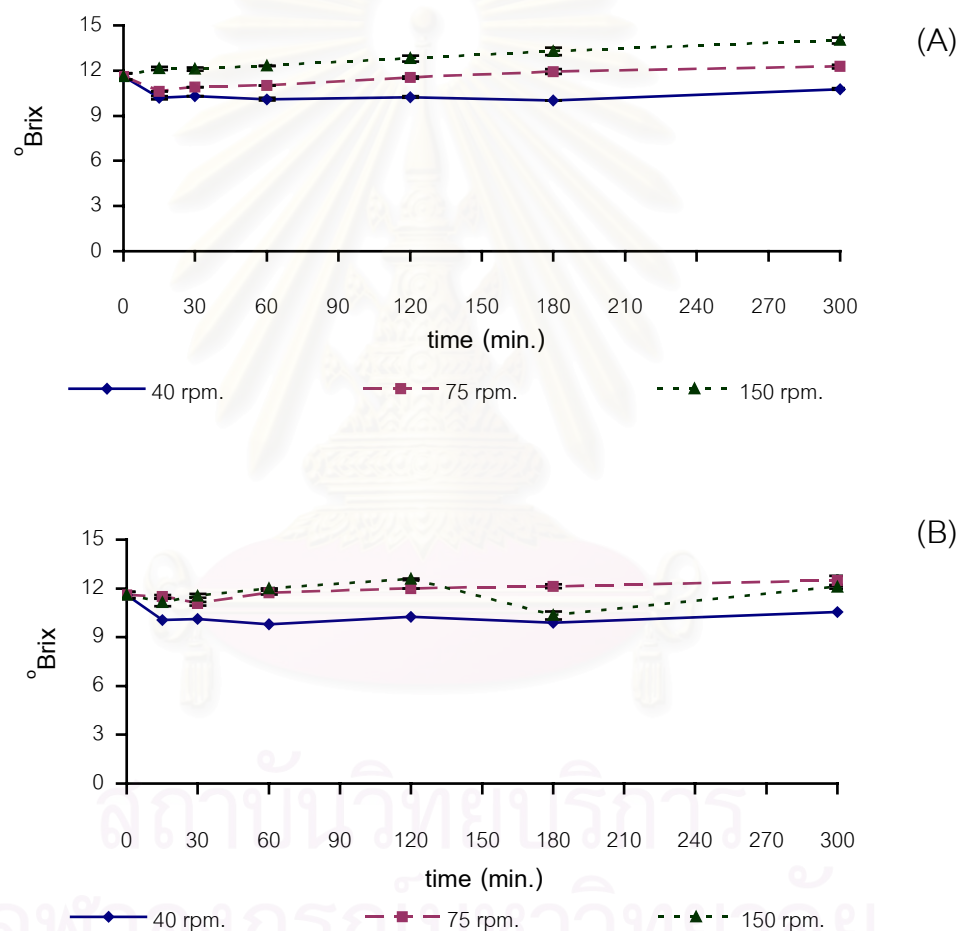
(A) อัตราส่วนของปริมาณเกล็ดโคโคซาน (กรัม) ต่อปริมาณน้ำส้ม (มิลลิลิตร) เท่ากับ 1:15

(B) อัตราส่วนของปริมาณเกล็ดโคโคซาน (กรัม) ต่อปริมาณน้ำส้ม (มิลลิลิตร) เท่ากับ 1:20

ส่วนค่าองศาบริกซ์จะเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย ดังรูปที่ 4.2 อาจเนื่องมาจากความผิดพลาดในการอ่านค่าจากเครื่องมือของผู้ทำการวิจัย โดยค่าองศาบริกซ์เฉลี่ยของทุกตัวอย่างน้ำส้มมีค่าเท่ากับ 11.3 ± 1.1

จากผลการศึกษาในงานวิจัยนี้ พบว่าปริมาณวิตามินซี (กรดแอสคอร์บิก) ในน้ำส้มมีปริมาณน้อย ทั้งนี้เนื่องจากความร้อนที่ให้แก่ น้ำส้มก่อนนำมาทำการทดลอง เป็นตัวการสำคัญทำให้เกิดการสลายตัวของวิตามินซีในน้ำส้ม ดังนั้นจึงวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีเฉลี่ยได้เพียง

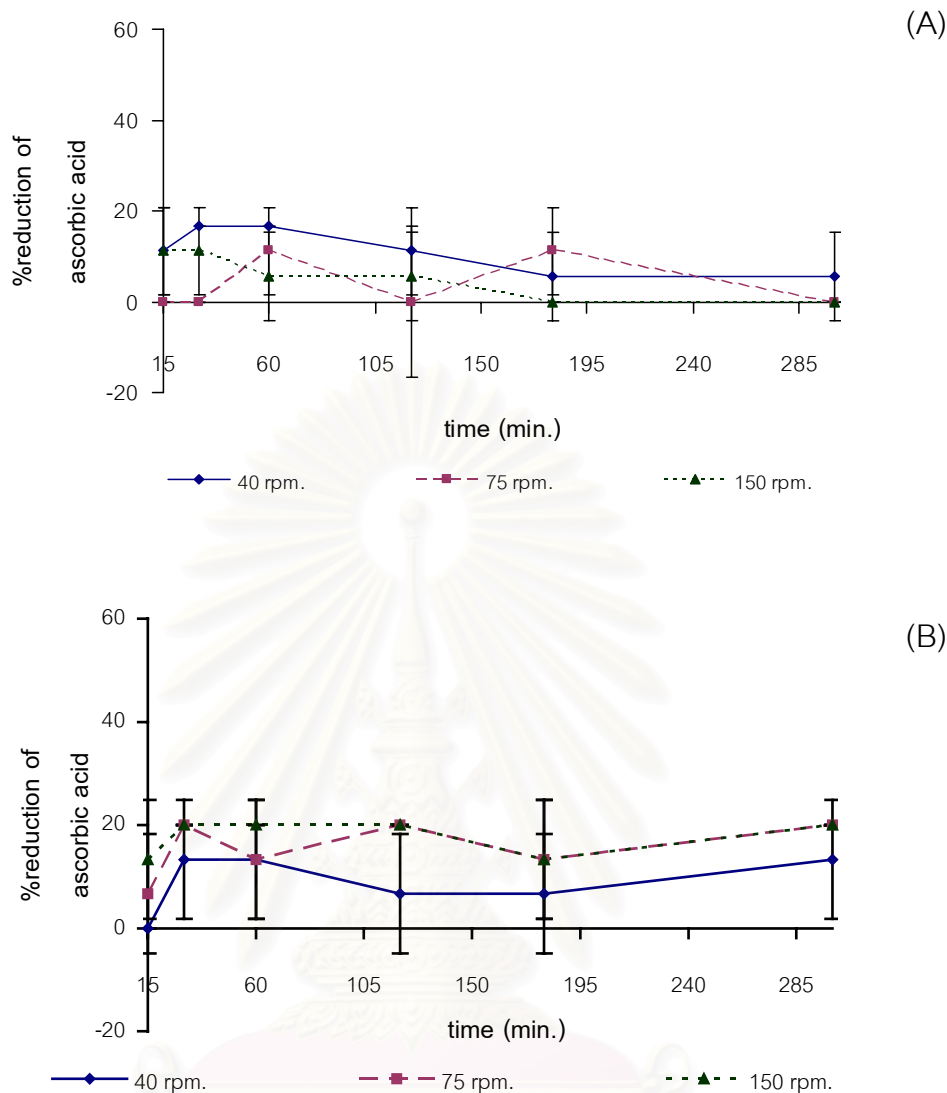
3.5±0.5 มก./100 มล.ของน้ำส้ม แต่เมื่อคำนวณเป็นค่าร้อยละการลดลงของปริมาณวิตามินซีในน้ำส้มดังรูปที่ 4.3 จะเห็นว่าสูญเสียปริมาณวิตามินซีเฉลี่ยร้อยละ 10.6±6.8 เท่านั้น เมื่อเปรียบเทียบกับรายงานการวิจัยของ Lee และ Kim (2003) ซึ่งใช้เรซิน XAD-16 พบว่าสูญเสียวิตามินซีร้อยละ 26.1 และจากงานวิจัยของ Chandler และคณะ (1968) ซึ่งใช้พอลิเอไมด์ สูญเสียวิตามินซีร้อยละ 30 แสดงว่า การลดความขมด้วยโคโคซาน ไม่ทำให้วิตามินซีในน้ำส้มสูญเสียไปมากนัก เป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภค และโคโคซานยังเป็นพอลิเมอร์ชีวภาพที่ไม่เป็นอันตรายต่อชีวิตมนุษย์ หากมีการหลุดลอดไปกับน้ำส้มเพื่อการบริโภค



รูปที่ 4.2 ค่าองศาบริกซ์ (°Brix) ของน้ำส้มที่ผ่านกระบวนการลดความขมด้วยวิธีการกวนผสมของเกล็ดโคโคซานกับน้ำส้ม

(A) อัตราส่วนของปริมาณเกล็ดโคโคซาน (กรัม) ต่อปริมาณน้ำส้ม (มิลลิลิตร) เท่ากับ 1:15

(B) อัตราส่วนของปริมาณเกล็ดโคโคซาน (กรัม) ต่อปริมาณน้ำส้ม (มิลลิลิตร) เท่ากับ 1:20

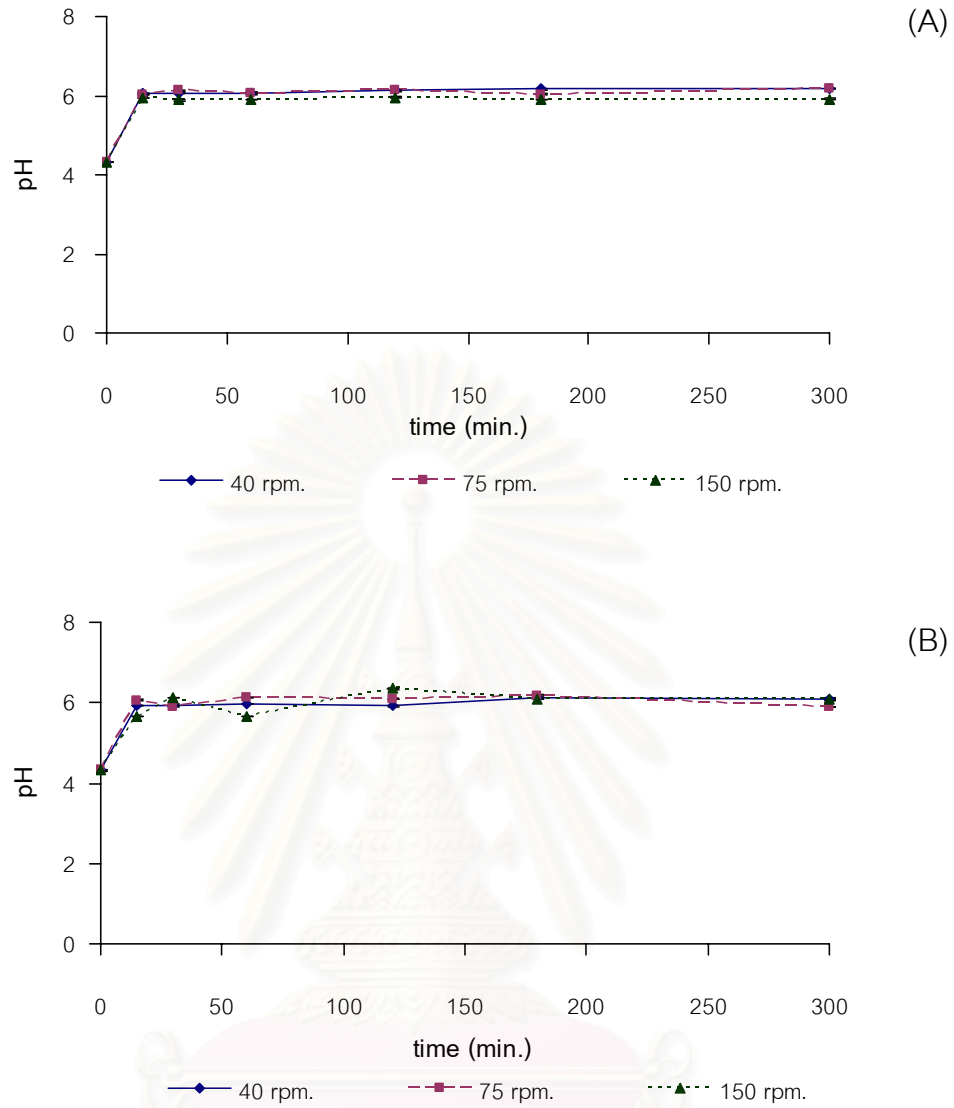


รูปที่ 4.3 ค่าร้อยละปริมาณวิตามินซีที่ลดลงของน้ำส้มที่ผ่านกระบวนการลดความขมด้วยวิธีการกวนผสมของเกล็ดโคโคซานกับน้ำส้ม

(A) อัตราส่วนของปริมาณเกล็ดโคโคซาน (กรัม) ต่อปริมาณน้ำส้ม (มิลลิลิตร) เท่ากับ 1:15

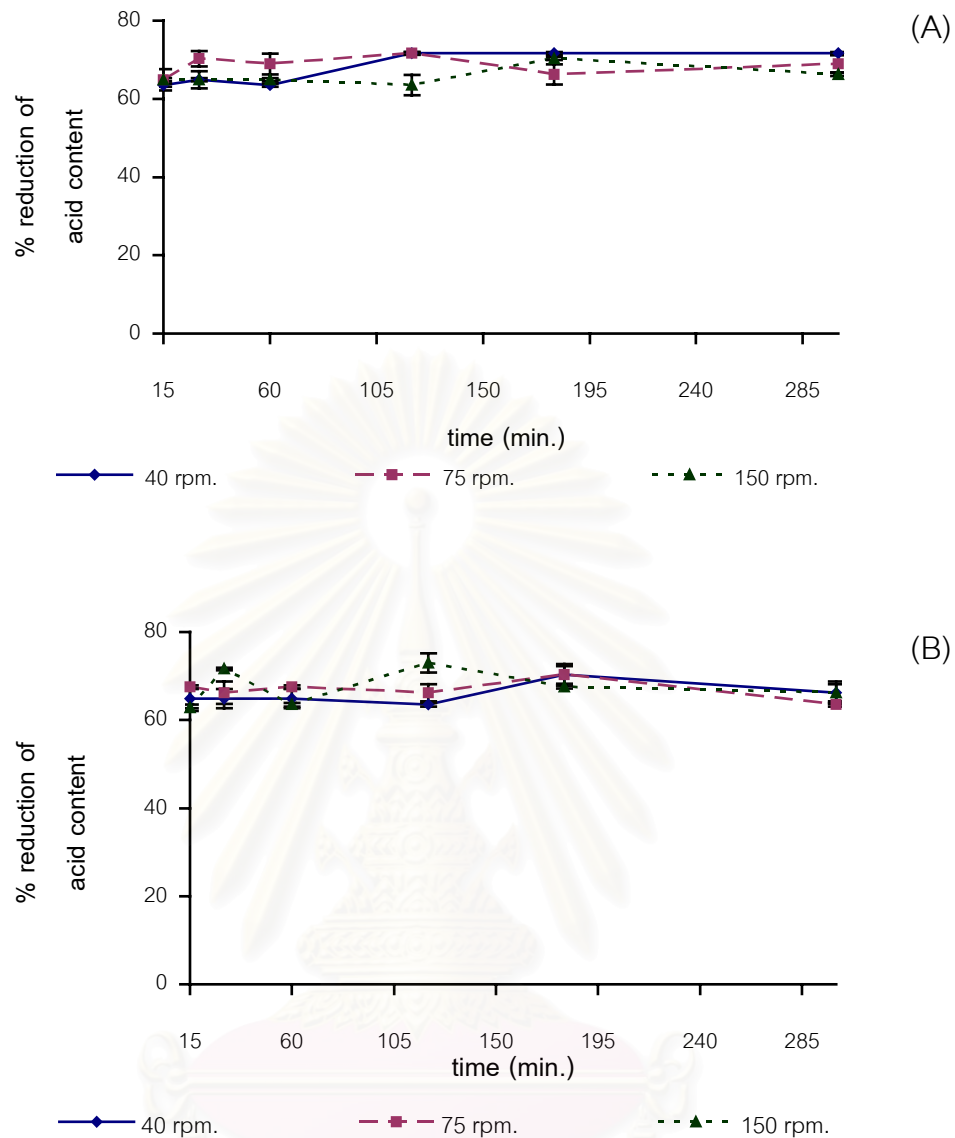
(B) อัตราส่วนของปริมาณเกล็ดโคโคซาน (กรัม) ต่อปริมาณน้ำส้ม (มิลลิลิตร) เท่ากับ 1:20

ค่าพีเอชของน้ำส้มแสดงผลดังรูปที่ 4.4 พบว่าที่ทุกภาวะของการทดลอง น้ำส้มที่ผ่านการลดความขมมีค่าพีเอชเฉลี่ยเพิ่มขึ้นจาก 4.3 ± 0.0 เป็น 5.6 ± 0.4 ซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณกรดซิตริกในน้ำส้มที่มีปริมาณลดลงจาก 0.5 ± 0.0 เหลือ 0.2 ± 0.0 แสดงเป็นค่าร้อยละการลดลงของปริมาณกรดซิตริกได้ 66.7 ± 3.1 ดังรูปที่ 4.5 โดยการลดลงของปริมาณกรดซิตริก อาจเนื่องมาจากหมู่เอมีโนของโคโคซานเกิดการแลกเปลี่ยนประจุกับสารอินทรีย์



รูปที่ 4.4 ค่าพีเอช (pH) ของน้ำส้มที่ผ่านกระบวนการลดความขมด้วยวิธีการกวนผสมของเกล็ดไคโตซานกับน้ำส้ม

- (A) อัตราส่วนของปริมาณเกล็ดไคโตซาน (กรัม) ต่อปริมาณน้ำส้ม (มิลลิลิตร) เท่ากับ 1:15
 (B) อัตราส่วนของปริมาณเกล็ดไคโตซาน (กรัม) ต่อปริมาณน้ำส้ม (มิลลิลิตร) เท่ากับ 1:20



รูปที่ 4.5 ค่าร้อยละปริมาณกรดซิตริกที่ลดลงของน้ำส้มที่ผ่านกระบวนการลดความขมด้วยวิธีการกวนผสมของเกล็ดโคโคซานกับน้ำส้ม

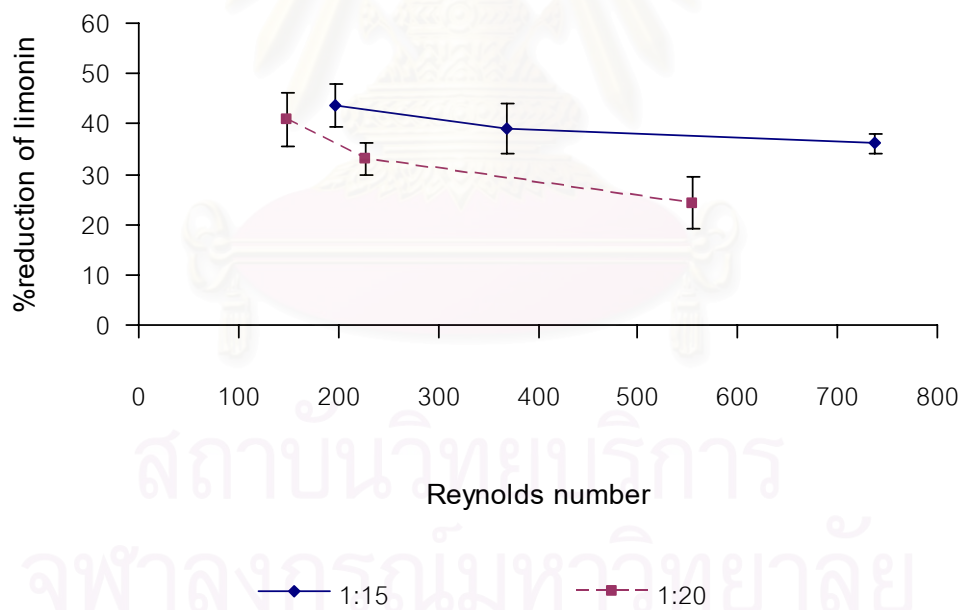
- (A) อัตราส่วนของปริมาณเกล็ดโคโคซาน (กรัม) ต่อปริมาณน้ำส้ม (มิลลิลิตร) เท่ากับ 1:15
 (B) อัตราส่วนของปริมาณเกล็ดโคโคซาน (กรัม) ต่อปริมาณน้ำส้ม (มิลลิลิตร) เท่ากับ 1:20

จากตารางที่ 4.6 แสดงหมายเลขเรย์โนลด์์จากการคำนวณตามสมการ ก.1 ในภาคผนวก ก ของการกวนผสมระหว่างเกล็ดโคโตซานกับน้ำส้มที่อัตราส่วนปริมาณเกล็ดโคโตซานต่อปริมาตรน้ำส้มเท่ากับ 1 ต่อ 15 และ 1 ต่อ 20 ที่ความเร็วรอบ 40, 75 และ 150 รอบต่อนาที โดยหมายเลขเรย์โนลด์์บ่งบอกถึงความปั่นป่วนของของผสมในถังกวน ในที่นี้คือ โคโตซานกับน้ำส้ม เมื่อพิจารณาประกอบกับการลดลงของปริมาณลิโมนิน พบว่าที่ความเร็วรอบเดียวกันเมื่อใช้ปริมาณเกล็ดโคโตซานในการลดความขมมากขึ้น (ที่อัตราส่วน 1 ต่อ 15) ได้ร้อยละการลดลงของลิโมนินมากขึ้นที่ทุกๆ ความเร็วรอบ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากผลของปริมาณโคโตซาน และ/หรือ ผลของความปั่นป่วนที่มากขึ้น (ซึ่งทำให้มีการสัมผัสของน้ำส้มทั่วตลอดทั้งเกล็ดโคโตซานมากขึ้น) จึงวิเคราะห์ต่อไปด้วยกราฟความสัมพันธ์ของหมายเลขเรย์โนลด์์กับร้อยละการลดลงของลิโมนิน ดังรูปที่ 4.6 เห็นได้ว่าตลอดช่วงหมายเลขเรย์โนลด์์ที่เกิดขึ้นในงานวิจัยนี้ ทำให้ได้ร้อยละการลดลงของลิโมนินแกว่งแคบๆ อยู่ในช่วง 33.1-43.7 หรือมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 36.2 ± 4.2 ขณะที่เห็นความแตกต่างในร้อยละการลดลงของลิโมนินมากขึ้น เมื่อลดปริมาณการใช้โคโตซานลงจาก 1 ต่อ 15 เป็น 1 ต่อ 20 แต่เพิ่มความเร็วรอบในการกวนผสม แสดงว่าทั้งปริมาณโคโตซาน และความเร็วรอบมีผลต่อร้อยละการลดลงของลิโมนิน โดยที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ปริมาณโคโตซานมีผลต่อร้อยละการลดลงของลิโมนินอย่างมาก (36.1 ± 1.9 และ 24.3 ± 5.3 ตามลำดับ) เพราะที่ความเร็วรอบนี้มีการปั่นป่วนมากเกินไป ทำให้มีเวลาสัมผัสของน้ำส้มต่อแต่ละเกล็ดสั้น ดังนั้นการเพิ่มปริมาณโคโตซาน เป็นวิธีเดียวที่ทำให้ลิโมนินถูกดึงออกจากน้ำส้มได้มากขึ้น แต่เมื่อลดความเร็วรอบลงเหลือ 40 รอบต่อนาที ซึ่งคาดว่าให้ความปั่นป่วนในการสัมผัสของเกล็ดโคโตซานกับน้ำส้มทั่วถึงตลอดแต่ละเกล็ดเหมาะสมดี จึงทำให้ได้ร้อยละการลดลงของลิโมนินสูงขึ้นเพียงเล็กน้อยจาก 40.7 ± 5.3 เป็น 43.7 ± 4.3 เมื่อเพิ่มปริมาณเกล็ดโคโตซานจากที่อัตราส่วน 1 ต่อ 20 เป็น 1 ต่อ 15

จากผลการทดลองในส่วนนี้ สรุปได้ว่าที่ความเร็วรอบที่ใช้ในการกวน 40 รอบต่อนาที และอัตราส่วนปริมาณเกล็ดโคโตซานต่อปริมาตรน้ำส้มเท่ากับ 1 ต่อ 15 สามารถลดปริมาณลิโมนินในน้ำส้มได้สูงที่สุด แต่เนื่องจากที่อัตราส่วน 1 ต่อ 15 มีค่าร้อยละการลดลงของปริมาณลิโมนินเฉลี่ยมากกว่าที่อัตราส่วน 1 ต่อ 20 เพียงร้อยละ 7 โดยประมาณ จึงเลือกใช้อัตราส่วนของปริมาณเกล็ดโคโตซานต่อปริมาตรน้ำส้มเท่ากับ 1 ต่อ 20 ที่ความเร็วรอบที่ใช้ในการกวน 40 รอบต่อนาที เป็นภาวะที่เหมาะสมในการทดลองศึกษาในส่วนต่อไป

ตารางที่ 4.6 ผลของความเร็วยวรอบ (หมายเลขเรย์โนลด์) และปริมาณไคโตซานต่อการลดความขม ด้วยวิธีการกวนผสม

ปริมาณเกล็ด ไคโตซานต่อ ปริมาณน้ำส้ม	ความเร็วยวรอบที่ใช้ ในการกวน (รอบต่อนาที)	หมายเลขเรย์โนลด์ (Reynolds number)	ปริมาณลิโมนิน		
			ความเข้มข้น (ppm.)		ร้อยละการลดลง
			ตั้งต้น	หลังบำบัด	
1:15	40	198	4.2±0.3	2.3±0.1	43.7±4.3
	75	369	4.2±0.0	2.5±0.2	39.0±5.0
	150	739	4.2±0.3	2.7±0.1	36.1±1.9
1:20	40	148	4.2±0.3	2.5±0.1	40.7±5.3
	75	227	4.2±0.0	2.8±0.1	33.1±3.1
	150	554	3.8±0.0	2.9±0.2	24.3±5.3



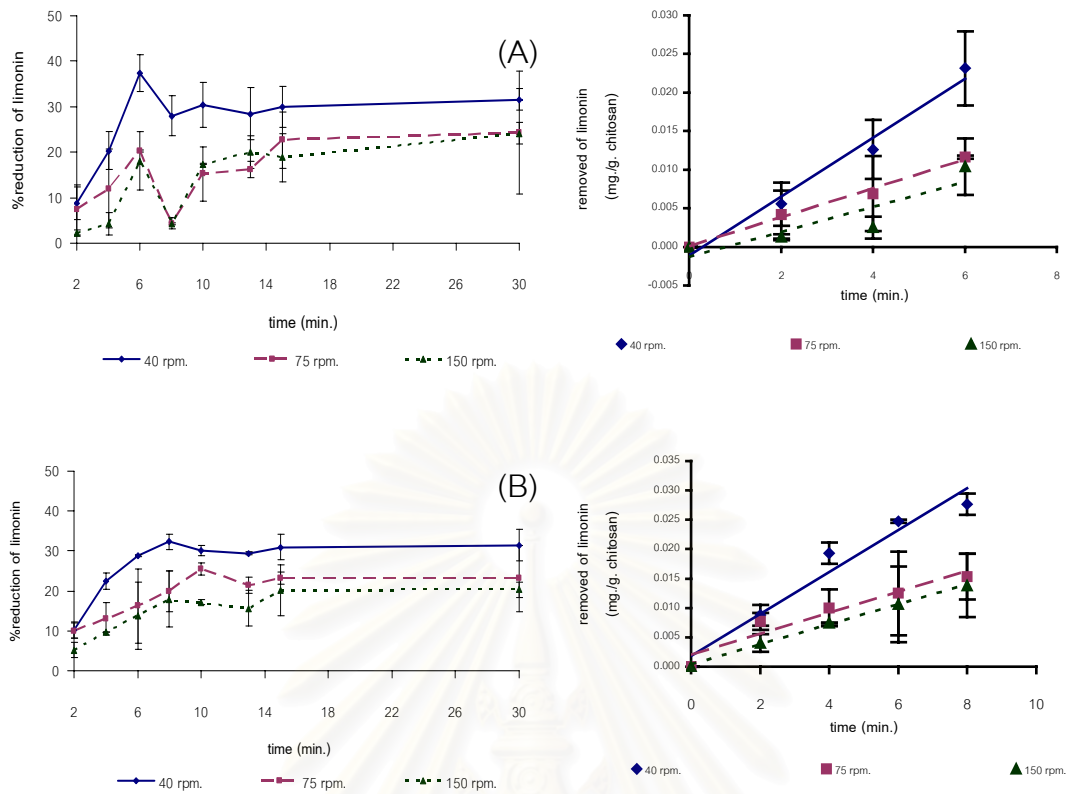
รูปที่ 4.6 ความสัมพันธ์ของหมายเลขเรย์โนลด์กับร้อยละการลดลงของลิโมนิน

4.5 ผลการศึกษาจลนพลศาสตร์การลดความขมในน้ำส้มด้วยเกลือโคโคโตซาน

ในหัวข้อนี้มีเป้าหมายในการศึกษาหาอัตราเร็ว และจลนพลศาสตร์ของการลดความขมในน้ำส้มด้วยเกลือโคโคโตซาน เพื่อกำหนดเวลาสัมผัส ซึ่งเท่ากับเป็นการกำหนดขนาดถังบำบัด เพื่อการประยุกต์ใช้ในงานจริงเชิงอุตสาหกรรมต่อไป ได้ผลดังนี้

รูปที่ 4.7 (ซ้ายมือ) แสดงจลนพลศาสตร์การลดความขมในน้ำส้ม ทั้งที่อัตราส่วนปริมาณเกลือโคโคโตซานต่อปริมาตรน้ำส้มเท่ากับ 1 ต่อ 15 (A) และ 1 ต่อ 20 (B) ตามลำดับ พบว่าทั้งอัตราส่วน 1 ต่อ 15 และ 1 ต่อ 20 การกำจัดความขมเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงเริ่มต้น จากนั้นค่อยๆ คงที่ในเวลา 8 และ 10 นาที ตามลำดับ ซึ่งแสดงว่าการลดความขมเข้าสู่สภาวะสมดุลที่เวลาดังกล่าวนอกจากนี้ ยังแสดงว่าการกำจัดลิโมนินในน้ำส้มด้วยเกลือโคโคโตซานเข้าสู่สภาวะสมดุลภายใน 10 นาทีเท่านั้น ดังนั้นเวลาในการกวนหลังจาก 10 นาที จนถึง 300 นาที ตามผลการศึกษาในตอนต้น เป็นเวลาที่นานเกินไปโดยไม่ส่งผลให้ประสิทธิภาพในการกำจัดลิโมนินเพิ่มมากขึ้น และเป็นการสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายในการบำบัดด้วย

รูปที่ 4.7 (ขวามือ) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่ใช้ในการกวน (นาที) กับปริมาณลิโมนินที่ถูกกำจัด (มิลลิกรัม) ต่อปริมาณโคโคโตซานที่ใช้ (กรัม) ได้เป็นกราฟเส้นตรง แสดงว่าการกำจัดความขมด้วยโคโคโตซานเป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง พบว่าที่อัตราส่วนของปริมาณเกลือโคโคโตซานต่อปริมาตรน้ำส้มเดียวกัน ความเร็วรอบเท่ากับ 40 รอบต่อนาที สามารถกำจัดปริมาณลิโมนินได้สูงที่สุด โดยพิจารณาจากความชันของกราฟ (k_1) แสดงดังตารางที่ 4.7 โดยค่า k_1 ของความเร็วรอบที่ใช้ในการกวน 40 รอบต่อนาที มีค่าสูงกว่าที่ความเร็วรอบ 75 รอบต่อนาที ถึง 2 เท่า ส่วนที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที มีค่า k_1 ใกล้เคียงกับที่ความเร็วรอบ 75 รอบต่อนาที ซึ่งแสดงว่าความสามารถในการกำจัดลิโมนินของเกลือโคโคโตซานเกิดได้ดีที่สุดที่ความเร็วรอบที่ใช้ในการกวน 40 รอบต่อนาที เมื่อพิจารณาที่ความเร็วรอบที่ใช้ในการกวน 40 รอบต่อนาทีเท่ากัน การใช้ปริมาณเกลือโคโคโตซานต่อปริมาตรน้ำส้มที่อัตราส่วน 1 ต่อ 15 สามารถลดปริมาณลิโมนินได้มากกว่าที่อัตราส่วน 1 ต่อ 20 เล็กน้อย โดยที่อัตราส่วน 1 ต่อ 15 มีค่า $k_1 = 0.0038$ mg./g.-min. สูงกว่าที่อัตราส่วน 1 ต่อ 20 ซึ่งมีค่า $k_1 = 0.0036$ mg./g.-min. เพียงเล็กน้อยเท่านั้น ดังนั้นการใช้ปริมาณเกลือโคโคโตซานต่อปริมาตรน้ำส้มเท่ากับ 1 ต่อ 15 เป็นการสิ้นเปลืองโคโคโตซานเกินไปโดยไม่ส่งผลให้ประสิทธิภาพในการลดความขมเนื่องจากลิโมนินเพิ่มขึ้นมากนัก สอดคล้องกับผลการศึกษาในหัวข้อ 4.4 และสนับสนุนเหตุผลในการเลือกใช้อัตราส่วนของปริมาณเกลือโคโคโตซานต่อปริมาตรน้ำส้มเท่ากับ 1 ต่อ 20 ที่ความเร็วรอบที่ใช้ในการกวน 40 รอบต่อนาที เป็นภาวะที่เหมาะสมที่สุด



รูปที่ 4.7 ค่าร้อยละปริมาณลิโมนินที่ลดลงของน้ำส้มที่ผ่านกระบวนการลดความขมด้วยวิธีการกวนผสมของเกล็ดไคโตซานกับน้ำส้ม ณ เวลาการกวนผสมต่างๆ ตั้งแต่เริ่มต้น จนถึงภาวะสมดุล

(A) อัตราส่วนของปริมาณเกล็ดไคโตซาน (กรัม) ต่อปริมาตรน้ำส้ม (มิลลิลิตร) เท่ากับ 1:15

(B) อัตราส่วนของปริมาณเกล็ดไคโตซาน (กรัม) ต่อปริมาตรน้ำส้ม (มิลลิลิตร) เท่ากับ 1:20

ตารางที่ 4.7 อัตราเร็วของการเกิดปฏิกิริยาในการกำจัดลิโมนิน

ปริมาณเกล็ดไคโตซาน ต่อปริมาตรน้ำส้ม	ความเร็วรอบที่ใช้ในการกวน (รอบต่อนาที)	k_1 (mg./g.-min.)	t_{min} (min.)	R^2
1:15	40	0.0038	6	0.9788
	75	0.0019	6	0.9901
	150	0.0016	6	0.7987
1:20	40	0.0036	8	0.9562
	75	0.0018	8	0.9244
	150	0.0017	8	0.9976

4.6 ผลการศึกษาสมบัติของเกลือโคโคซานที่มีต่อความสามารถในการลดความขมในน้ำส้ม

ในหัวข้อนี้กำหนดให้สภาวะที่เหมาะสมของการลดความขมในน้ำส้มด้วยจากหัวข้อ 4.4 คือ ใช้ปริมาณเกลือโคโคซานต่อปริมาตรน้ำส้มเท่ากับ 1 ต่อ 20 กวนผสมด้วยความเร็วรอบ 40 รอบต่อนาที หรือด้วยหมายเลขเรย์โนลด์เท่ากับ 150 เป็นเวลา 10 นาที ในการศึกษาสมบัติของเกลือโคโคซานที่มีต่อความสามารถในการลดความขมในน้ำส้ม เมื่อเปลี่ยนระดับการกำจัดหมู่แอซีทิลของเกลือโคโคซาน และดัดแปลงโครงสร้างทางเคมีของเกลือโคโคซานโดยการเชื่อมขวางด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 1 และ 5 ได้ผลดังนี้

4.6.1 ผลของระดับการกำจัดหมู่แอซีทิลของเกลือโคโคซาน

จากการใช้เกลือโคโคซานที่มีระดับการกำจัดหมู่แอซีทิล (%DD) สูงขึ้น ซึ่งเป็นโคโคซานที่สังเคราะห์จากเปลือกกุ้งที่ได้จากตลาดสดสามย่านจาก 74.4 ± 1.0 เป็น 83.4 ± 1.2 ในการลดความขมในน้ำส้ม เมื่อวิเคราะห์ลักษณะสมบัติของน้ำส้มหลังผ่านการบำบัดความขมแล้ว พบว่าการใช้เกลือโคโคซานที่มี %DD สูงขึ้น ไม่ทำให้สี, ค่าองค์ประกอบ, ปริมาณวิตามินซี, ค่าพีเอช และปริมาณกรดในน้ำส้มแตกต่างจากการใช้เกลือโคโคซานที่มี %DD ต่ำกว่า แต่มีผลต่อปริมาณลิโมนินที่เหลืออยู่ในน้ำส้มดังนี้

จากการคำนวณค่าความแตกต่างของสี (ΔE) ของน้ำส้ม พบว่าการใช้เกลือโคโคซานที่มี %DD ต่ำ และสูงมีค่าความแตกต่างของสีใกล้เคียงกันมาก คือ 1.1 ± 0.8 และ 0.8 ± 0.5 ตามลำดับ ดังรูปที่ 4.8

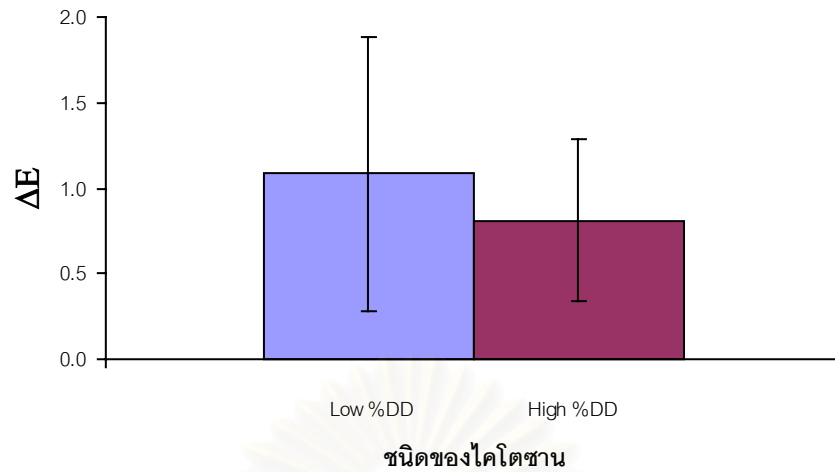
ส่วนค่าองค์ประกอบของน้ำส้มที่ผ่านการบำบัดความขมด้วยเกลือโคโคซานทั้ง 2 ชนิด มีค่าเท่ากัน คือ 10.7 ± 0.1 ดังรูปที่ 4.9

ค่าร้อยละการลดลงของปริมาณวิตามินซีของน้ำส้มที่ผ่านการบำบัดความขมด้วยเกลือโคโคซานทั้ง 2 ชนิด มีค่าเท่ากัน คือ 25.0 ± 0.0 โดยมีปริมาณวิตามินซีที่เหลืออยู่ในน้ำส้ม 2.1 ± 0.0 มก./100 มล. ของน้ำส้ม ดังรูปที่ 4.10 การที่ปริมาณวิตามินซีในน้ำส้มเหลืออยู่ในปริมาณน้อย อาจเนื่องมาจากระยะเวลาในการเก็บรักษาน้ำส้มนานเกินไปมีผลทำให้มีการสูญเสียวิตามินซี

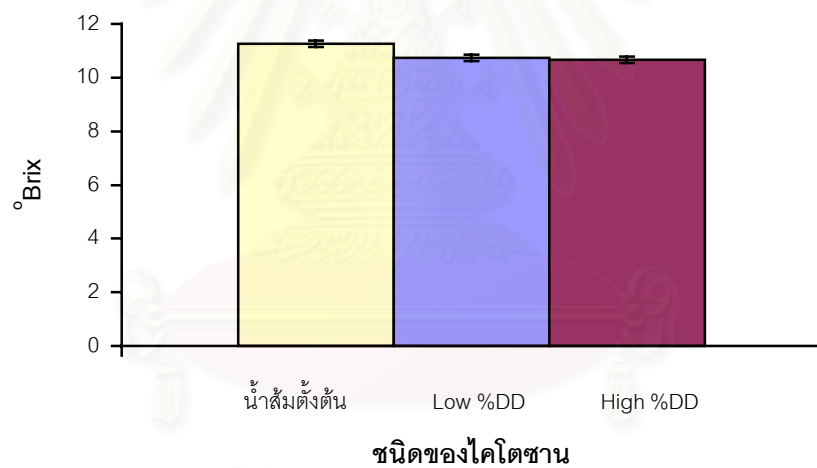
เช่นเดียวกัน ค่าพีเอชของน้ำส้มที่ผ่านการบำบัดความขมด้วยเกล็ดไคโตซานที่มี %DD สูง มีค่าเท่ากับ 5.6 ± 0.0 ซึ่งใกล้เคียงกับของน้ำส้มที่ผ่านการบำบัดความขมด้วยไคโตซานที่มี %DD ต่ำ ที่มีค่าพีเอช เท่ากับ 5.4 ± 0.0 ดังรูปที่ 4.11

สำหรับปริมาณกรดซิตริกที่เหลืออยู่ในน้ำส้มที่ผ่านการบำบัดความขมด้วยเกล็ดไคโตซานที่มี %DD ต่ำ และสูง มีปริมาณเท่ากัน คือ ร้อยละ 0.2 ± 0.0 คิดเป็นร้อยละการลดลงของปริมาณกรด เท่ากับ 65.4 ± 0.7 และ 65.4 ± 2.6 ตามลำดับ ดังรูปที่ 4.12

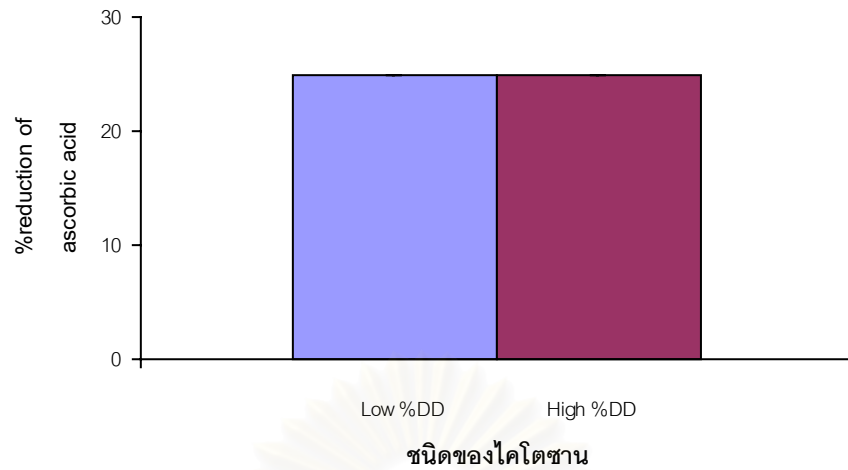
เมื่อพิจารณาปริมาณลิโมนิน น้ำส้มที่ผ่านการบำบัดความขมด้วยเกล็ดไคโตซานที่มี %DD สูงกว่า สามารถลดปริมาณลิโมนินจาก 3.9 ± 0.1 เหลือ 2.6 ± 0.2 ส่วนในล้านส่วน ซึ่งลดได้มากกว่าในน้ำส้มที่ผ่านการบำบัดความขมด้วยเกล็ดไคโตซานที่มี %DD ต่ำ ที่มีปริมาณลิโมนินเหลืออยู่ 3.0 ± 0.0 ส่วนในล้านส่วน โดยคิดเป็นร้อยละการลดลงของปริมาณลิโมนินได้ 33.8 ± 2.2 และ 23.7 ± 3.6 ตามลำดับ ดังรูปที่ 4.13 จากผลการทดลองดังกล่าว สันนิษฐานว่าอาจเป็นผลมาจากหมู่แอมิโนของเกล็ดไคโตซานสามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนกับกลุ่มแลคโตนของลิโมนินเป็นพันธะระหว่างแอมิโน-ไฮโดรเจน เช่นเดียวกับพอลิเอไมด์ ซึ่งมีกลุ่มเอไมด์ เนื่องจากเกล็ดไคโตซานที่มี %DD สูงกว่าจะมีหมู่แอมิโนอิสระมากกว่าเกล็ดไคโตซานที่มี %DD ต่ำกว่า แต่จากการวิเคราะห์พื้นที่ผิวในการดูดซับ และขนาดรูเฉลี่ยของเกล็ดไคโตซาน พบว่าเกล็ดไคโตซานที่มี %DD ต่ำ และสูง มีค่าพื้นที่ผิวเท่ากับ 6.0 และ 13.3 ตารางเมตร/กรัม และมีขนาดรูเฉลี่ยเท่ากับ 44.7 และ 37.0 อังสตรอม ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.2 เห็นได้ว่าไคโตซานที่มี %DD สูงกว่า มีพื้นที่ผิวในการดูดซับมากกว่า ดังนั้นผลการทดลองในส่วนนี้จึงยังไม่อาจสรุปแน่ชัดได้ว่า กลไกการจับลิโมนินของไคโตซาน สืบเนื่องจากการเกิดพันธะที่หมู่แอมิโน หรือเป็นเพียงการดูดซับทางกายภาพ



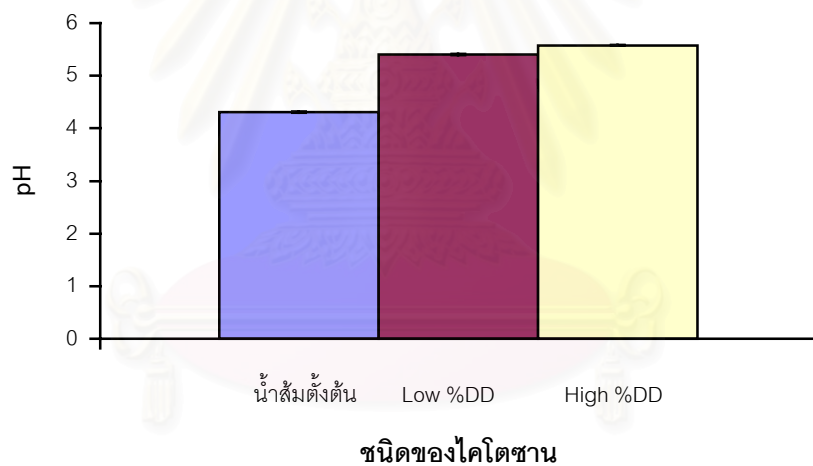
รูปที่ 4.8 ค่าความแตกต่างของดี (ΔE) ของน้ำส้มที่ผ่านกระบวนการลดความขมด้วยเกล็ดไคโตซาน เมื่อแปรเปลี่ยนระดับการกำจัดหมู่แอซีทิลของเกล็ดไคโตซาน



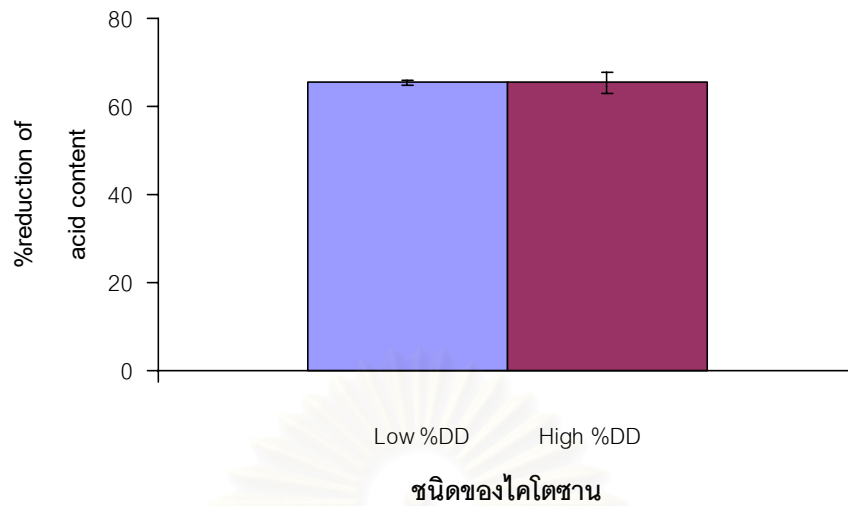
รูปที่ 4.9 ค่าองศาบริกซ์ ($^{\circ}$ Brix) ของน้ำส้มที่ผ่านกระบวนการลดความขมด้วยเกล็ดไคโตซาน เมื่อแปรเปลี่ยนระดับการกำจัดหมู่แอซีทิลของเกล็ดไคโตซาน



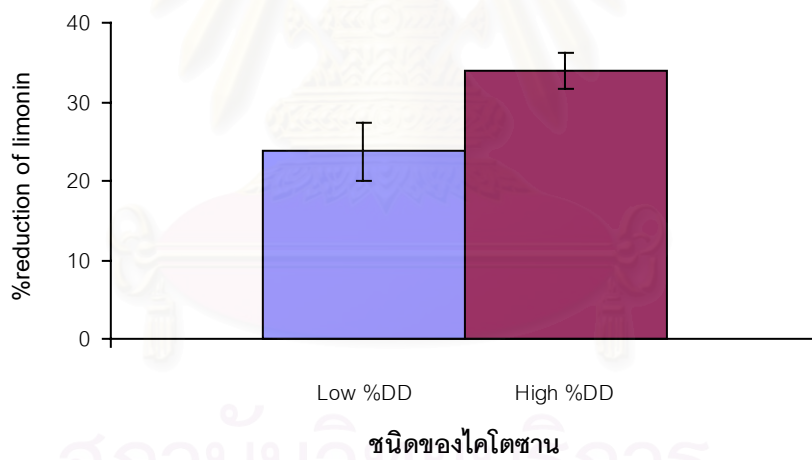
รูปที่ 4.10 ค่าร้อยละปริมาณวิตามินซีที่ลดลงของน้ำส้มที่ผ่านกระบวนการลดความขมด้วยเกล็ดโคโตซาน เมื่อแปรเปลี่ยนระดับการกำจัดหมู่เอซีทิลของเกล็ดโคโตซาน



รูปที่ 4.11 ค่าพีเอช (pH) ของน้ำส้มที่ผ่านกระบวนการลดความขมด้วยเกล็ดโคโตซาน เมื่อแปรเปลี่ยนระดับการกำจัดหมู่เอซีทิลของเกล็ดโคโตซาน



รูปที่ 4.12 ค่าร้อยละปริมาณกรดซิตริกที่ลดลงของน้ำส้มที่ผ่านกระบวนการลดความขมด้วยเกล็ดไคโตซาน เมื่อแปรเปลี่ยนระดับการกำจัดหมู่แอซีทิลของเกล็ดไคโตซาน



รูปที่ 4.13 ค่าร้อยละปริมาณลิโมนินที่ลดลงของน้ำส้มที่ผ่านกระบวนการลดความขมด้วยเกล็ดไคโตซาน เมื่อแปรเปลี่ยนระดับการกำจัดหมู่แอซีทิลของเกล็ดไคโตซาน

4.6.2 ผลของการเชื่อมขวางด้วยกรดซัลฟิวริก

พบว่าการใช้เกล็ดโคโตซานที่มีการดัดแปลงโครงสร้างทางเคมีจากการเชื่อมขวางด้วยกรดซัลฟิวริก ไม่มีผลต่อสี, ค่าองศาบริกซ์ และปริมาณวิตามินซีของน้ำส้ม แต่มีผลต่อค่าพีเอช ปริมาณกรด และปริมาณลิโมนีนในน้ำส้ม ดังนี้

จากการคำนวณค่าความแตกต่างของสี (ΔE) ของน้ำส้มที่ผ่านการบำบัดความขมด้วยเกล็ดโคโตซานที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวาง และเชื่อมขวางด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 1 และ 5 มีค่าความแตกต่างของสี (ΔE) ใกล้เคียงกัน คือ 1.1 ± 0.8 , 2.0 ± 0.2 และ 0.9 ± 0.3 ตามลำดับ ดังรูปที่ 4.14

จากรูปที่ 4.15 แสดงว่าน้ำส้มที่ผ่านการบำบัดความขมด้วยเกล็ดโคโตซานที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 1 และ 5 มีค่าองศาบริกซ์เท่ากับ 11.0 ± 0.0 เท่ากัน ซึ่งมีค่าไม่แตกต่างจากน้ำส้มที่ผ่านการบำบัดความขมด้วยเกล็ดโคโตซานที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวางที่มีค่าองศาบริกซ์เท่ากับ 10.7 ± 0.1

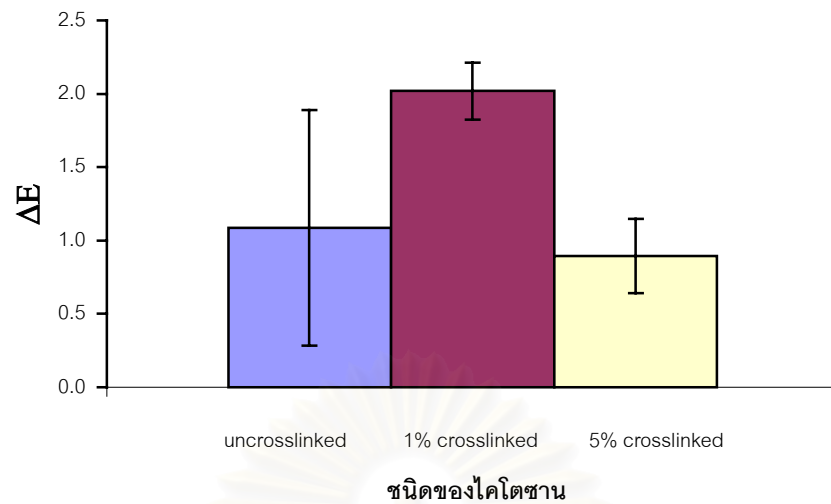
ส่วนปริมาณวิตามินซีที่เหลืออยู่ในน้ำส้มที่ผ่านการบำบัดความขมด้วยเกล็ดโคโตซานทั้ง 3 ชนิด มีปริมาณใกล้เคียงกัน โดยน้ำส้มที่บำบัดความขมด้วยเกล็ดโคโตซานที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวางมีปริมาณวิตามินซี 2.1 ± 0.0 มก./100 มล. ของน้ำส้ม และน้ำส้มที่ผ่านการบำบัดความขมด้วยเกล็ดโคโตซานที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 1 และ 5 มีปริมาณวิตามินซี 1.4 ± 0.4 และ 2.1 ± 0.0 มก./100 มล. ของน้ำส้ม ตามลำดับ เมื่อเทียบกับน้ำส้มที่ไม่ผ่านการบำบัดความขมสามารถคำนวณเป็นค่าร้อยละการลดลงของปริมาณวิตามินซีได้เท่ากับ 25.0 ± 0.0 , 33.3 ± 14.4 และ 25.0 ± 0.0 ตามลำดับ ดังรูปที่ 4.16 ซึ่งค่าที่วิเคราะห์ได้นี้อาจเกิดการคลาดเคลื่อนไปบ้าง เนื่องจากความผิดพลาดจากการอ่านค่าในการไทเทรตของผู้ทำการวิจัยขณะทำการทดลอง

สำหรับค่าพีเอชของน้ำส้มที่ผ่านการบำบัดความขมด้วยเกล็ดโคโตซานที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 1 และ 5 มีค่าพีเอชเท่ากับ 4.9 ± 0.0 และ 4.8 ± 0.0 ตามลำดับ ซึ่งต่ำกว่าค่าพีเอชของน้ำส้มที่ผ่านการบำบัดความขมด้วยเกล็ดโคโตซานที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวางที่มีค่าพีเอชเท่ากับ 5.4 ± 0.0 ดังรูปที่ 4.17 สอดคล้องกับปริมาณกรดซัลฟิวริกที่

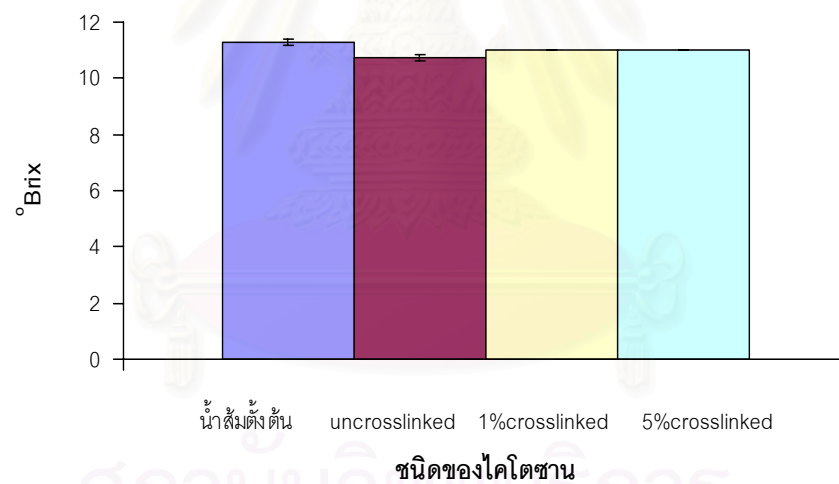
เหลืออยู่ในน้ำส้ม โดยน้ำส้มที่ผ่านการบำบัดความขมด้วยเกลือโคโคซานที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 1 และ 5 มีปริมาณกรดซิตริกเหลืออยู่มากกว่าน้ำส้มที่ผ่านการบำบัดความขมด้วยเกลือโคโคซานที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวาง โดยมีปริมาณกรดซิตริกร้อยละ 0.2 ± 0.0 , 0.3 ± 0.0 และ 0.2 ± 0.0 ตามลำดับ คิดเป็นค่าร้อยละการลดลงของปริมาณกรดเมื่อเทียบกับน้ำส้มก่อนการบำบัดความขมได้เท่ากับ 53.8 ± 0.9 , 50.0 ± 1.0 และ 65.4 ± 0.7 ตามลำดับ ดังรูปที่ 4.18 อาจเนื่องมาจากการเชื่อมขวางเกลือโคโคซานด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกทำให้หมู่แอมิโนของเกลือโคโคซานลดลง จึงทำให้เกลือโคโคซานไม่สามารถแลกเปลี่ยนกับกรดซิตริกซึ่งเป็นสารอินทรีย์ได้ ดังนั้นน้ำส้มที่ผ่านการบำบัดความขมด้วยเกลือโคโคซานที่มีการเชื่อมขวางด้วยกรดซัลฟิวริก จึงมีปริมาณกรดซิตริกเหลืออยู่ในน้ำส้มมากกว่าน้ำส้มที่บำบัดความขมด้วยเกลือโคโคซานที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวาง

จากการพิจารณาปริมาณลิโมนีนในน้ำส้ม พบว่าน้ำส้มที่ผ่านการบำบัดความขมด้วยเกลือโคโคซานที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยกรดซัลฟิวริก มีประสิทธิภาพในการกำจัดความขมน้อยกว่าเกลือโคโคซานที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยกรดซัลฟิวริก โดยเกลือโคโคซานที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 1 และ 5 ลดปริมาณลิโมนีนได้เพียงร้อยละ 15.1 ± 2.5 และ 13.8 ± 0.0 ตามลำดับ ในขณะที่น้ำส้มที่ผ่านการบำบัดความขมด้วยเกลือโคโคซานที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวางสามารถลดปริมาณลิโมนีนได้ร้อยละ 23.7 ± 3.6 ดังรูปที่ 4.19 จากผลการศึกษานี้ทำให้ข้อสันนิษฐานในกลไกการลดความขมโดยเกลือโคโคซาน เป็นผลมาจากหมู่แอมิโนของโคโคซานเกิดพันธะไฮโดรเจนกับกลุ่มแลคโตนของลิโมนีนเป็นพันธะระหว่างแอมิโน-ไฮโดรเจนมีน้ำหนักมากขึ้น เนื่องจากเกลือโคโคซานที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยกรดซัลฟิวริก จะทำให้หมู่แอมิโนของโคโคซานลดลง

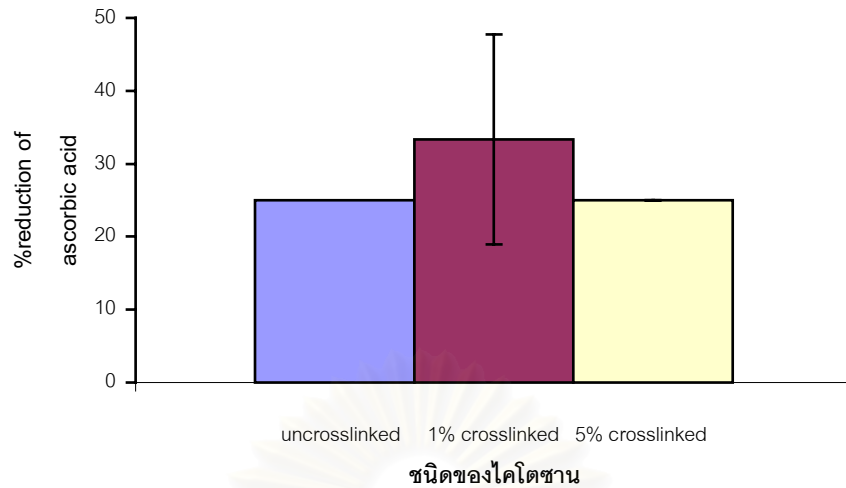
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



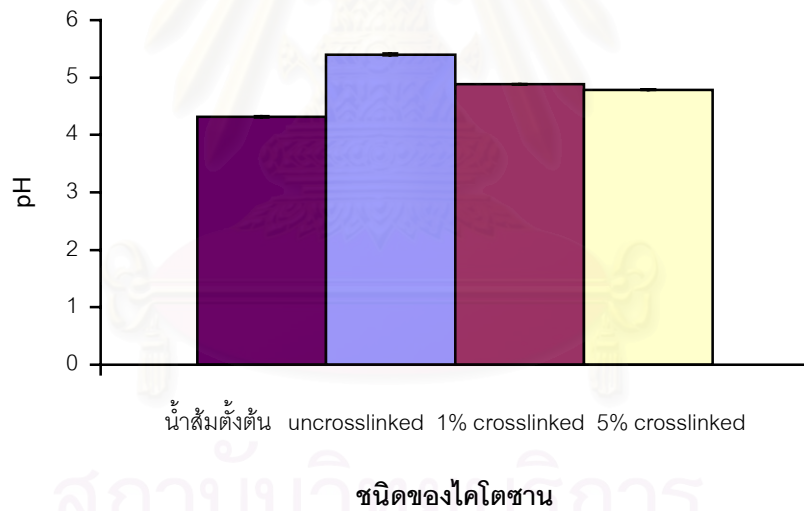
รูปที่ 4.14 ค่าความแตกต่างของสี (ΔE) ของน้ำส้มที่ผ่านกระบวนการลดความขมด้วยเกล็ดไคโตซาน เมื่อมีการดัดแปลงโครงสร้างทางเคมีของเกล็ดไคโตซาน



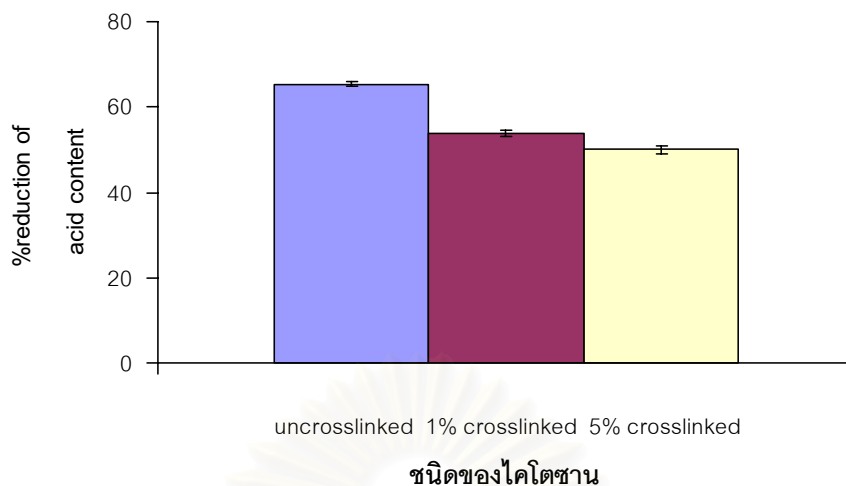
รูปที่ 4.15 ค่าองศาบริกซ์ ($^{\circ}\text{Brix}$) ของน้ำส้มที่ผ่านกระบวนการลดความขมด้วยเกล็ดไคโตซาน เมื่อมีการดัดแปลงโครงสร้างทางเคมีของเกล็ดไคโตซาน



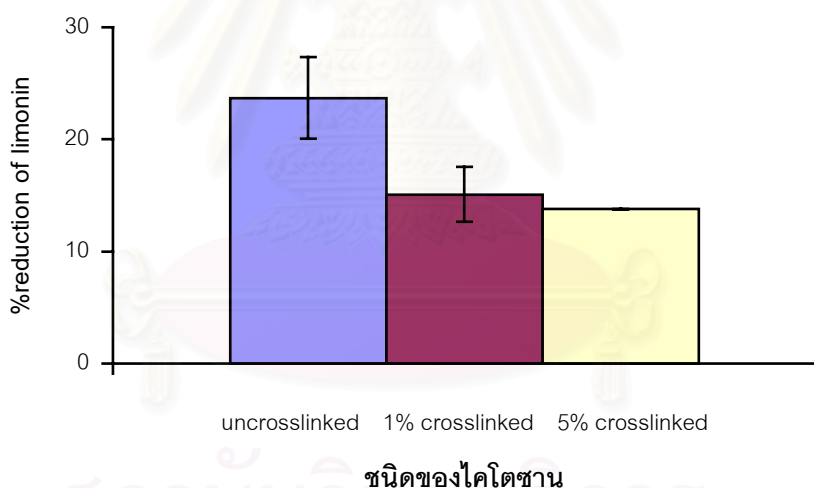
รูปที่ 4.16 ค่าร้อยละปริมาณวิตามินซีที่ลดลงของน้ำส้มที่ผ่านกระบวนการลดความขมด้วยเจลลิตไคโตซาน เมื่อมีการดัดแปลงโครงสร้างทางเคมีของเจลลิตไคโตซาน



รูปที่ 4.17 ค่าพีเอช (pH) ของน้ำส้มที่ผ่านกระบวนการลดความขมด้วยเจลลิตไคโตซาน เมื่อมีการดัดแปลงโครงสร้างทางเคมีของเจลลิตไคโตซาน



รูปที่ 4.18 ค่าร้อยละปริมาณกรดซิตริกที่ลดลงของน้ำส้มที่ผ่านกระบวนการลดความขมด้วยเกลือไคโตซาน เมื่อมีการดัดแปลงโครงสร้างทางเคมีของเกลือไคโตซาน



รูปที่ 4.19 ค่าร้อยละปริมาณลิโมนินที่ลดลงของน้ำส้มที่ผ่านกระบวนการลดความขมด้วยเกลือไคโตซาน เมื่อมีการดัดแปลงโครงสร้างทางเคมีของเกลือไคโตซาน

4.7 กลไกการลดความขมเนื่องจากลิโมนินด้วยเกลือไคโตซาน

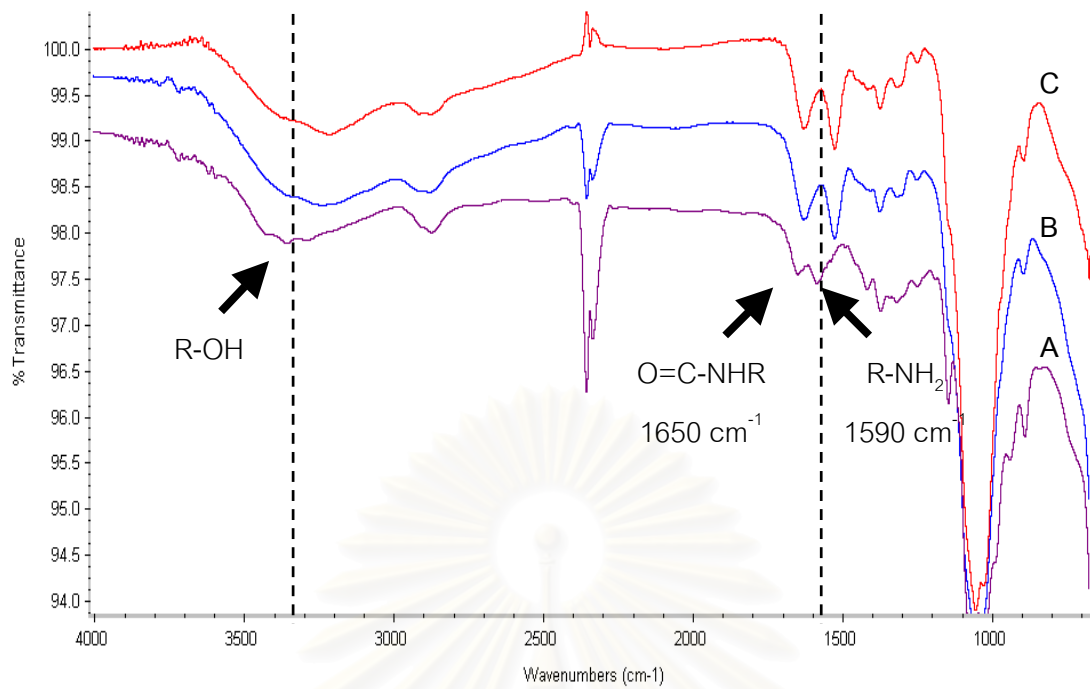
จากรูปที่ 4.20 แสดงให้เห็นถึงหมู่ฟังก์ชันบนพื้นผิวของไคโตซานที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวางและเชื่อมขวางด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 1 และ 5 ซึ่งหมู่ฟังก์ชันที่สำคัญของไคโต

ซานที่สามารถเกิดปฏิกิริยากับสารอื่นได้ คือ หมู่แอมิโน ($-NH_2$) และหมู่ไฮดรอกซิล ($-OH$) เมื่อเปรียบเทียบหมายเลขคลื่นของหมู่ฟังก์ชันแอมิโนบนโคโตซานที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยกรดซัลฟิวริก และที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวาง ตามตารางที่ 4.8 พบว่าหมู่แอมิโนที่ตำแหน่ง 1590 cm^{-1} ของโคโตซานเกิดการเลื่อนไปยังตำแหน่งช่วงคลื่นที่ต่ำลงมากกว่าค่าการแยกชัด (resolution) ของเครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัยนี้ (4 cm^{-1}) แสดงให้เห็นว่ามีการเกิดพันธะที่หมู่ฟังก์ชันนั้น โดยเป็นพันธะระหว่างหมู่แอมิโนและหมู่ซัลโฟนิล มีโครงสร้างทางเคมีดังแสดงในรูปที่ 4.21 สำหรับหมู่ฟังก์ชันไฮดรอกซิลบนโคโตซานไม่สามารถระบุได้ชัดเจนว่ามีการเกิดพันธะหรือไม่ เพราะการเปลี่ยนแปลงของพีกหมู่ไฮดรอกซิล อาจถูกบดเบือนเนื่องจากหมู่ไฮดรอกซิลในโมเลกุลน้ำก็ได้

เมื่อเปรียบเทียบหมายเลขคลื่นของหมู่ฟังก์ชันแอมิโนในเส้น A คู่กับเส้น B และในเส้น C คู่กับเส้น D ของรูปที่ 4.22 ตามตารางที่ 4.9 แสดงให้เห็นว่ามีการเกิดพันธะที่หมู่แอมิโนในโคโตซานที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวางหลังใช้บำบัดความขมเนื่องจากลิโมนินในน้ำส้มเขียวหวาน เพราะหมายเลขคลื่นของหมู่แอมิโนที่ตำแหน่ง 1590 cm^{-1} เกิดการเลื่อนไปยังหมายเลขคลื่นที่ต่ำลงเป็น 1565 cm^{-1} มากกว่าค่าความสามารถในการแยกชัดของเครื่องมือ แต่ในโคโตซานที่ได้ผ่านการเชื่อมขวางด้วยกรดซัลฟิวริกมาแล้ว หลังใช้บำบัดความขมเนื่องจากลิโมนินในน้ำส้มเขียวหวาน พบว่าการเลื่อนในหมายเลขคลื่นของหมู่แอมิโน มีค่าไม่มากกว่าค่าความสามารถในการแยกชัดของเครื่องมือ (1529 cm^{-1} เป็น 1532 cm^{-1}) แสดงว่า ไม่ได้มีการเกิดพันธะระหว่างหมู่แลคโตนของลิโมนินกับหมู่ซัลโฟนิลในโคโตซานที่ได้ผ่านการเชื่อมขวางด้วยกรดซัลฟิวริก ทำให้ยืนยันได้ว่ากลไกการกำจัดความขมเนื่องจากลิโมนินของเกล็ดโคโตซานเกิดขึ้นจากการสร้างพันธะไฮโดรเจนของหมู่แอมิโนของโคโตซานกับหมู่แลคโตนของลิโมนิน

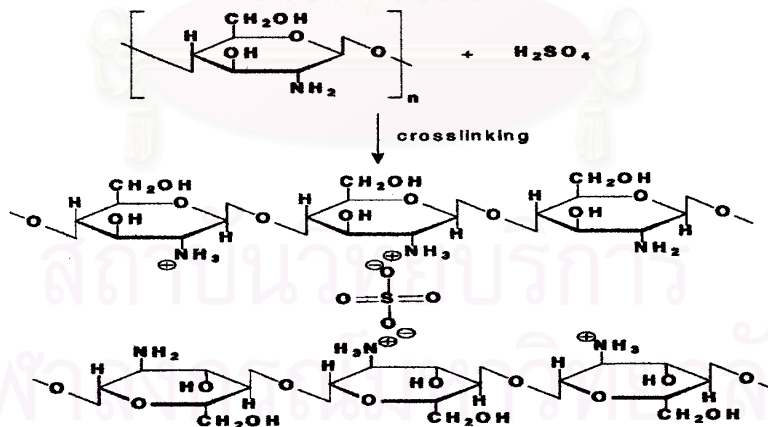
ตารางที่ 4.8 หมู่ฟังก์ชันของโคโตซานที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวาง และเชื่อมขวางด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 1 และ 5

ชนิดของโคโตซาน	หมายเลขคลื่นของหมู่ฟังก์ชันแอมิโน ($R-NH_2$) (cm^{-1})
โคโตซานที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวาง	1589.10
โคโตซานที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 1	1527.81
โคโตซานที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 5	1528.93



รูปที่ 4.20 หมู่ฟังก์ชันบนพื้นผิวของเกล็ดโคโตซานเมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่อง FTIR

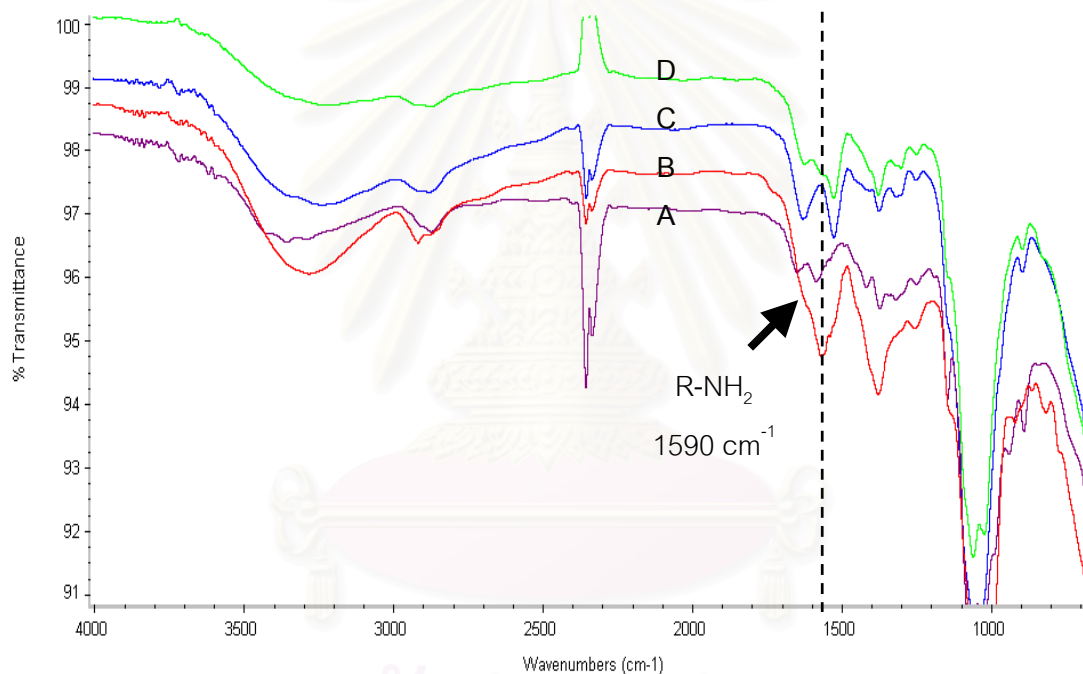
- (A) เกล็ดโคโตซานที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวาง
 (B) เกล็ดโคโตซานที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 1
 (C) เกล็ดโคโตซานที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 5



รูปที่ 4.21 โครงสร้างทางเคมีของโคโตซานที่มีการเชื่อมขวางด้วยกรดซัลฟิวริก (48)

ตารางที่ 4.9 หมู่ฟังก์ชันของโคโตซานก่อน และหลังผ่านการใช้บำบัดความขมในน้ำดื่ม

ชนิดของโคโตซาน	หมายเลขคลื่นของหมู่ฟังก์ชันเอมิโน (R-NH ₂) (cm ⁻¹)
โคโตซานที่ยังไม่ผ่านการใช้งาน	1589.10
โคโตซานหลังผ่านการบำบัดความขม	1565.59
โคโตซานที่ผ่านการเชื่อมขวางก่อนผ่านการบำบัดความขม	1528.93
โคโตซานที่ผ่านการเชื่อมขวางหลังผ่านการบำบัดความขม	1531.90



รูปที่ 4.22 หมู่ฟังก์ชันบนพื้นผิวของเกล็ดโคโตซานเมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่อง FTIR

- (A) เกล็ดโคโตซานที่ยังไม่ผ่านการใช้งาน
- (B) เกล็ดโคโตซานหลังผ่านการบำบัดความขมในน้ำดื่ม
- (C) เกล็ดโคโตซานที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 5 ก่อนผ่านการบำบัดความขมในน้ำดื่ม 5
- (D) เกล็ดโคโตซานที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 5 หลังผ่านการบำบัดความขมในน้ำดื่ม 5

จากการนำเกลือโคโตซานก่อน และหลังผ่านการใช้บำบัดความขมในน้ำส้มไปวิเคราะห์ หมู่ฟังก์ชันด้วยเครื่อง NMR ดังแสดงในภาคผนวก ก พบว่าสเปกตรัมของโคโตซานที่ผ่านการใช้บำบัดความขมในน้ำส้มมีการเปลี่ยนแปลงของหมู่ฟังก์ชันของโคโตซานเกิดขึ้น โดยมีพีคที่ตำแหน่งเคมีคอลชิฟท์ (chemical shift) ขึ้นเพิ่มขึ้นจากสเปกตรัมของโคโตซานที่ไม่ผ่านการใช้บำบัดความขม แสดงให้เห็นว่าสูตรโครงสร้างของโคโตซานเปลี่ยนแปลงไป ซึ่งเป็นการสนับสนุนข้อสันนิษฐานในตอนต้น ที่ว่าเกลือโคโตซานสามารถกำจัดความขมเนื่องจากลิโมนินได้โดยการเกิดพันธะไฮโดรเจนของหมู่แอมิโนของเกลือโคโตซานกับกลุ่มแลคโตนของลิโมนินเป็นพันธะระหว่างแอมิโน-ไฮโดรเจน



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากผลการลดความขมเนื่องจากลิโมนินในน้ำส้มเขียวหวาน ด้วยไคโตซานจากเปลือกกุ้ง สามารถสรุปได้ดังนี้

1. ผลการทดสอบเบื้องต้น ถึงวิธีการลดความขมในน้ำส้มด้วยไคโตซาน พบว่าวิธีการกวนผสมเกล็ดไคโตซานกับน้ำส้ม เป็นวิธีการที่เหมาะสมที่สุดใน 3 วิธีที่ศึกษา คือ กระบวนการเมมเบรน, ชั้นเกล็ดอัดแน่น และการกวนผสมของเกล็ดไคโตซานกับน้ำส้ม
2. ไคโตซานสามารถลดความขมเนื่องจากลิโมนินในน้ำส้มเขียวหวานได้ โดยใช้เกล็ดไคโตซานขนาด 500-850 ไมโครเมตร กวนผสมกับน้ำส้มด้วยเครื่องจาร์เทส ในอัตราส่วนปริมาณเกล็ดไคโตซานต่อปริมาตรน้ำส้มเท่ากับ 1 ต่อ 20 กวนที่ความเร็ว 40 รอบต่อนาที (เมื่อคิดเป็นหมายเลขเรย์โนลด์ มีค่าเท่ากับ 148) เป็นเวลา 10 นาที ให้ประสิทธิภาพในการลดปริมาณลิโมนินเฉลี่ยจาก 4.1 ± 0.2 เหลือ 2.7 ± 0.3 ส่วนในล้านส่วน คิดเป็นร้อยละ 32.7 ± 8.9 ลดปริมาณกรดซิตริกเฉลี่ยจาก 0.5 ± 0.0 เหลือ 0.2 ± 0.0 คิดเป็นร้อยละ 66.7 ± 3.0 ส่วนค่าพีเอชเพิ่มขึ้นสัมพันธ์กับปริมาณกรดที่ลดลง และปริมาณวิตามินซีลดลงเล็กน้อย โดยไม่มีผลต่อสี และค่าองค์ประกอบ
3. กลไกการกำจัดความขมเนื่องจากลิโมนินของเกล็ดไคโตซานเกิดขึ้นจากการสร้างพันธะไฮโดรเจนของหมู่แอมิโนของไคโตซานกับหมู่แลคโตนของลิโมนิน ดังนั้นไคโตซานที่เหมาะสมคือ ไคโตซานที่มีระดับการกำจัดหมู่แอสีทิลสูงๆ (%DD = 90-100)
4. การกำจัดความขมด้วยไคโตซานในงานวิจัยนี้ ยังคงมีประสิทธิภาพต่ำกว่าตัวดูดซับสังเคราะห์ แต่มีข้อดีในแง่ความปลอดภัย เนื่องจากไคโตซานเป็นสารพอลิเมอร์ธรรมชาติ จึงไม่เกิดผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตเมื่อเผลอรับประทานเข้าไป

5.2 ข้อเสนอแนะ

จากผลการทดลองการลดความขมเนื่องจากลิโมนีนในน้ำส้มเขียวหวาน โดยใช้เกล็ดโคโตซานจากเปลือกกุ้ง ควรมีการศึกษาเพิ่มเติม ดังนี้

1. เนื่องจากน้ำส้มที่ใช้ในงานวิจัยนี้มีปริมาณลิโมนีนต่ำ อาจทำให้เห็นประสิทธิผลการลดความขมของโคโตซานไม่ชัดเจน ควรได้มีการศึกษากับน้ำส้มที่มีปริมาณลิโมนีนสูงกว่า 5 ส่วนในล้านส่วน
2. เนื่องจากเกล็ดโคโตซานที่ใช้ในงานวิจัยนี้ เป็นเพียงช่วงขนาดเดียว และคาดว่าถ้าลดขนาดเกล็ดให้เล็กลงอีกด้วยการบดด้วย Ball mill จะทำให้มีพื้นที่ผิวในการเกิดพันธะมากขึ้น น่าจะทำให้ผลการลดลิโมนีนสูงขึ้น
3. วิเคราะห์ต้นทุนในการนำเกล็ดโคโตซานจากเปลือกกุ้งมาใช้ในการกำจัดลิโมนีนในน้ำส้มเขียวหวาน

รายการอ้างอิง

1. อรพิน ชัยประสพ สถาบันคั้นคว่ำและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 2534. การกำจัดรสขมในน้ำผลไม้จากพืชตระกูลส้ม. **อาหาร**. 21, 2 (เมษายน-มิถุนายน) : 87-93.
2. กมลศิริ พันธุ์นิยะ. 2546. **บทความนานาสาระ: ไคติน-ไคโตซาน**[online]. แหล่งที่มา : <http://www.nicaonline.com>[30 ตุลาคม 2546]
3. Kimball, D. 1991. **Citrus processing quality control and technology**. New York. An AVI Book.
4. AOAC. 1990. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 15thed. Washington, D.C.
5. Kimball, D.A. 1999. **Citrus processing: a complete guide**. 2nded. Gaithersburg, Maryland: Aspen Publishers.
6. Kimball, D.A. 1987. Debittering of citrus juice using supercritical carbon dioxide. **J. Food Sci.** 52: 481.
7. Considine, D.M., and Considine, G.D. 1982. **Food and Food Production Encyclopedia**. Van Nostrand Reinhold Company, New York: 415-417. อ้างถึงใน พิริยา รอดอาตม์. **การลดปริมาณลิโมนินในน้ำส้มเขียวหวาน *Citrus reticulata* Blanco ด้วยปิตาไซโคลเดกซ์ทรินพอลิเมอร์**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต. หลักสูตรเทคโนโลยีทางชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2544.
8. Agricultural Research Service. 1962. **Chemistry and technology of citrus, citrus products and by-products**. Washington, D.C.: United State Department of Agriculture.
9. Kefford, J.F., and Chandler, B.V. 1970. **The chemical constituents of citrus fruits**. New York: Academic Press. อ้างถึงใน ญัฐฐา เลหากุลจิตต์. **การลดรสขมและรสเปรี้ยวในน้ำส้มเขียวหวาน *Citrus reticulata* โดยใช้เปลือกไข่**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต. ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2539.
10. Ting, S.V., and Attaway, J.A. 1971c. **The biochemistry of fruits and their products: Food Science and technology**; Hulme, A.C. Vol.2. Academic Press London and New York. อ้างถึงใน พิริยา รอดอาตม์. **การลดปริมาณลิโมนินในน้ำส้มเขียวหวาน**

- Citrus reticulata* Blanco ด้วยปีตาไซโคลเดกซ์ทรินพอลิเมอร์. วิทยานิพนธ์ปริญญา มหาบัณฑิต. หลักสูตรเทคโนโลยีทางชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย , 2544.
11. Shaw, P.E., and Wilson, C.W. 1983. Debittering citrus juices with β -cyclodextrin polymer. *J. Food Sci.* 48: 646.
 12. Sinclair, W.B. 1961. *The Orange: Its biochemistry and physiology*. University of California Press, Berkley. Cited in Nagy, S., Chen, C.S. and Shaw, P.E. *Fruit juice processing technology*. 1993.
 13. Nagy, S., Chen, C.S., and Shaw, P.E. 1993. *Fruit juice processing technology*.
 14. Berhow, M. A., Hasegwa, S., and Manners G.D. 2000. *Citrus Limonoids-Functional Chemicals in Agriculture and Food*. American Chemical Society.
 15. ญัฐา เลากุลจิตต์. 2539. การลดรสขมและรสเปรี้ยวในน้ำส้มเขียวหวาน *Citrus reticulata* โดยใช้เปลือกไข่. วิทยานิพนธ์ปริญญา มหาบัณฑิต. ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
 16. Albach, R.F., and Redman, G.H. 1969. Composition and inheritance of flavanones in citrus fruits. *Phytochemistry*. 8: 127-143.
 17. Florida Department of Citrus. 1999. Office Rules Affecting the Florida Citrus Industry: 20-64. อ้างถึงใน พิริยา รอดอาตม์. การลดปริมาณลิโมนินในน้ำส้มเขียวหวาน *Citrus reticulata* Blanco ด้วยปีตาไซโคลเดกซ์ทรินพอลิเมอร์. วิทยานิพนธ์ปริญญา มหาบัณฑิต. หลักสูตรเทคโนโลยีทางชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย , 2544.
 18. Higby, R.H. 1941. Canning navel orange juice. *Calif. Citrogr.* 26: 360-361. อ้างถึงใน ญัฐา เลากุลจิตต์. การลดรสขมและรสเปรี้ยวในน้ำส้มเขียวหวาน *Citrus reticulata* โดยใช้เปลือกไข่. วิทยานิพนธ์ปริญญา มหาบัณฑิต. ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2539.
 19. Norman, S.I., Stringfield, R.T., and Gopsill, C.C. 1990. Removal of bitterness from citrus juices using a past crosslinked adsorbent resin. *United State Patent*. 4,965,083.
 20. Maier, V.P., Brewster, L.C., and Hsu, A.C. 1973. Ethylene-accelerated limonoid metabolism in citrus fruits: A process for reducing juice bitterness. *J. Agric. Food Chem.* 21 (3): 490-495.

21. ปราณีย์ อ่านเปรื่อง. 2547. **เอนไซม์ทางอาหาร**. พิมพ์ครั้งที่ 4. ฉบับปรับปรุงเพิ่มเติม. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
22. Kimball, D.A. 1987. Debittering of citrus juices using supercritical carbon dioxide. *J. Food Sci.* 52 (2): 481-482.
23. McColloch, R.L. 1950. Preliminary studies on debittering navel orange products. *Calif. Citrogr.* 35: 290. อ้างถึงใน ญัฐสุธา เลหากุลจิตต์. **การลดรสขมและรสเปรี้ยวในน้ำส้มเขียวหวาน *Citrus reticulata* โดยใช้เปลือกไข่**. วิทยานิพนธ์ปริญญา มหาบัณฑิต. ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2539.
24. Chandler, B.V., Kefford, J.F., and Ziemelis, G. 1968. Removal of limonin from bitter orange juice. *J. Sci. Food Agric.* 19: 83-86.
25. Chandler, B.V., and Johnson, R.L. 1977. Cellulose acetate as a selective sorbent for limonin in orange juice. *J. Sci. Food Agric.* 28: 875-884.
26. Shaw, P.E., and Wilson, C.W., III. 1983. Debittering citrus juices with β -cyclodextrin polymer. *J. Food Sci.* 48: 646-647.
27. Shaw, P.E., Tatum, J.H., and Wilson, C.W., III. 1984. Improved flavor of navel orange and grapefruit juices by removal of bitter components with β -cyclodextrin polymer. *J. Agric. Food Chem.* 32: 832-836.
28. Wagner, C.J., Wilson, C.W., III., and Shaw, P.E. 1988. Reduction of grapefruit bitter components in a fluidized β -cyclodextrin polymer bed. *J. Food Sci.* 53: 516-518.
29. Puri, A. 1984. Preparation of citrus juices, concentrates and dried powders which are reduced in bitterness. **United State Patents.** 4,439,458.
30. Charles, R.B., James, F.F., Paul, J.F., and Russell, L.R. 1986. Reduction of bitterness and tartness in grapefruit juice with florisil. *J. Food Sci.* 51 (2): 415.
31. Lee, V. 1974. Solution and Shear properties of chitin and chitosan. *Ann Arbor.* 29: 446. อ้างถึงใน เกษม สีดอกบวบ. **การกำจัดอิมโบลีเซชันในน้ำเสี้ยวโดยไคโตซาน**. วิทยานิพนธ์ปริญญา มหาบัณฑิต. สาขาวิชาเคมีเทคนิค ภาควิชาเคมีเทคนิค คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2543.
32. สมเจตน์ ไสวจั๊ตสตากุล. 2545. **การดัดแปรทางเคมีของไคติน/ไคโตซานเพื่อควบคุมความชอบน้ำ และไม่ชอบน้ำ**. ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

33. Muzzarelli, R.A.A. 1985. *The polysaccharide*. Vol.3. New York: Academic Press.
34. ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ. 2543. ประโยชน์ของไคตินและไคโตซาน. *Chitin Chitosan*. หน้า 5-7. กรุงเทพมหานคร.
35. รามนรี เนตรวิเชียร. 2543. **การกำจัดสารหนูในรูปอาร์ซีนิตในน้ำเสียสังเคราะห์โดยใช้เกล็ดไคโตซานแบบเม็ด**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
36. Muzzarelli, R.A.A. 1977. *Chitin*. Great Britain. Pergamon Press. p.309.
37. เขาวพา ไหวพริบ. 2534. **การผลิตไคตินและไคโตซานจากเปลือกกุ้ง**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต. ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
38. Miyoshi, H., Shimura, K., Watanabe, K., and Kasuki, O. 1992. Characterization of Some Fungal Chitosans. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*. 56 (12): 1901-1905. อ้างถึงใน สุทธิทิรา บัวนาค. **การกำจัดโครเมียม(เฮกซะเวเลนซ์) นิกเกิล และตะกั่วในน้ำเสียอุตสาหกรรมโดยใช้เกล็ดไคโตซานจากเปลือกกุ้ง**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2547.
39. สุทธิทิรา บัวนาค. 2547. **การกำจัดโครเมียม(เฮกซะเวเลนซ์) นิกเกิล และตะกั่วในน้ำเสียอุตสาหกรรมโดยใช้เกล็ดไคโตซานจากเปลือกกุ้ง**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
40. Barmore, C.R., Fisher, J.F., Fellers, P.J., and Rouseff, R.L. 1986. Reduction of bitterness and tartness in grapefruit juice with florisil. *J. Food Sci.* 51 (2): 415.
41. Manlan, M., Matthews, R.L., Rouseff, R.C., Littell, M.R., Marshall, H.A., Moye, and Teixeira, A.A. 1990. Evaluation of the properties of polystyrene divinylbenzene adsorbents for debittering grapefruit juice. *J. Food Sci.* 55 (2): 440-445.
42. Van Beek, T.A., and Blaakmeer, A. 1991. Determination of limonin in grapefruit juice and other citrus juices by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatography A*. 464: 375.
43. Lee, H.S., and Kim, J.G. 2003. Effects of debittering on red grapefruit juice concentrate. *Food Chemistry*. 82: 177-180.
44. Chatterjee, S., Chatterjee, S., Chatterjee, B.P., and Guha, A.K. 2004. Clarification of fruit juice with chitosan. *Process Biochemistry*[online]. Available from:

<http://www.elsevier.com/local/procbio.html>[2004, January 8]

45. นันทชัย ศรีนภาวงศ์. 2543. การบำบัดน้ำเสียชุมชนด้วยระบบร่วมเชื้อแผ่น – ถังโปรยกรอง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต. ภาควิชาเคมีเทคนิค คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
46. Hayes, E.R. 1978. Characterization of chitosan II: The determination of the Degree of Acetylation of Chitosan and Chitin. Cited in Muzzarelli, R.A.A., and Pariser, E.R. Proc.1st Inter.Conf. On chiton/chitosan. pp.406-420.
47. ปราณี อานเป็รื่อง. 2539. เอกสารประกอบการเรียนการสอนวิชา Food and quality control. ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. อ้างถึงใน ณีฐฐา เลาทกุลจิตต์. การลดรสขมและรสเปรี้ยวในน้ำส้มเขียวหวาน *Citrus reticulata* โดยใช้เปลือกไข่. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต. ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2539.
48. ชันทอง สุนทรภา. 2545. รายงานฉบับสมบูรณ์เรื่องการพัฒนาเมมเบรนแลกเปลี่ยนโปรตอนสำหรับเซลล์เชื้อเพลิง. ภาควิชาเคมีเทคนิค คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

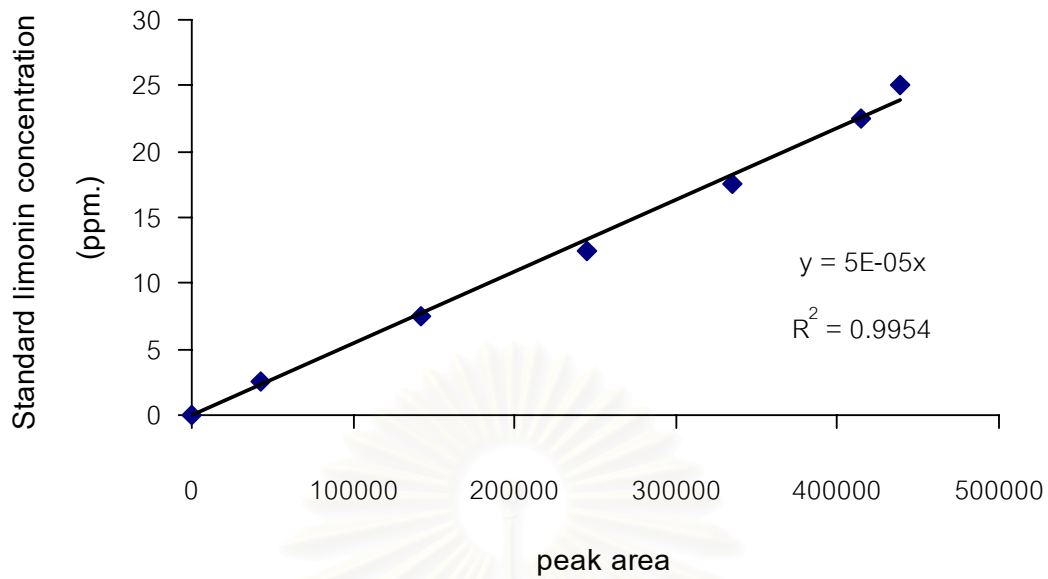
ข้อมูลผลการทดลอง

ก.1 ผลการสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายลิโมนิน (Standard curve)

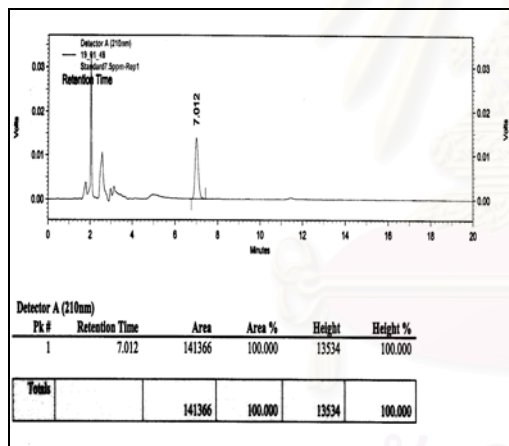
ตารางที่ ก.1 การสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายลิโมนิน

ความเข้มข้นของสาร มาตรฐานลิโมนิน (ppm)	พื้นที่ใต้กราฟ			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย
0.0	0	0	0	0
2.5	40816	46436	42059	43104±2952
7.5	141366	141769	142103	141746±369
12.5	238193	247517	247221	244310±5300
17.5	336740	332328	336512	335193±2484
22.5	416643	413433	414543	414873±1630
25.0	437633	438309	438973	438305±670

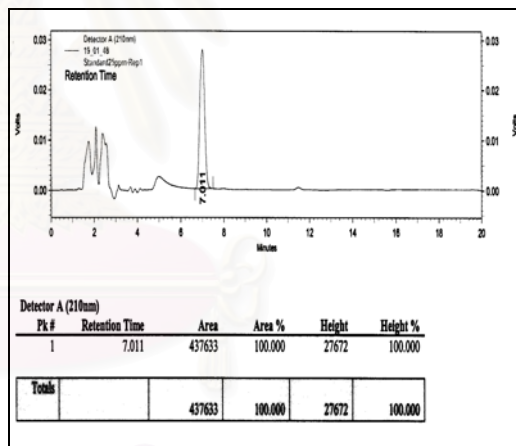
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ ก.1 กราฟมาตรฐานของสารละลายลิโมนิน



(A)



(B)

รูปที่ ก.2 ตัวอย่างโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานลิโมนิน จากเครื่อง HPLC

(A) สารละลายมาตรฐานลิโมนินเข้มข้น 7.5 ppm.

(B) สารละลายมาตรฐานลิโมนินเข้มข้น 25 ppm.

ก.2 ผลการคำนวณหมายเลขเรย์โนลด์ (Reynolds number)

สูตรสำหรับคำนวณหมายเลขเรย์โนลด์ แสดงดังสมการ ก.1

$$Re = \frac{\rho D^2 N}{\mu} \quad (\text{ก.1})$$

เมื่อ ρ คือ ความหนาแน่นของของผสม (kg./m^3)

D คือ เส้นผ่านศูนย์กลางใบกวน (m.)

N คือ ความเร็วรอบที่ใช้ในการกวน (rev/s)

μ คือ ความหนืดของของผสม (kg/m-s)

ก.2.1 ตัวอย่างการคำนวณ

คำนวณหมายเลขเรย์โนลด์ของอัตราส่วน 1:15 ที่ความเร็วรอบ 40 รอบ/นาที

1. ความหนาแน่นของของผสม (kg./m^3)

โคโคซาน 1 g. ต่อน้ำส้ม 15 cm^3 คิดเป็น โคโคซาน 1 kg. ต่อน้ำส้ม $1.5 \times 10^4 \times 10^{-6} \text{ m}^3$

$$\text{ความหนาแน่นของของผสม} = \frac{1 \text{ kg.}}{1.5 \times 10^4 \times 10^{-6} \text{ m}^3} = 66.67 \text{ kg./m}^3$$

2. เส้นผ่านศูนย์กลางใบกวน (m.)

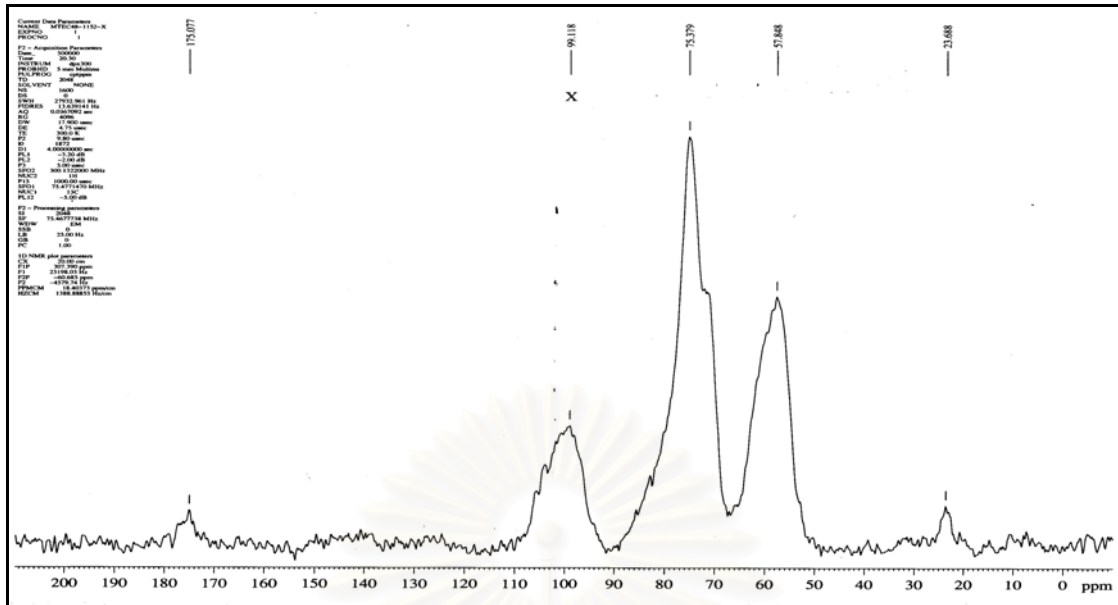
ใบกวนที่ใช้มีเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ $7.45 \times 10^{-2} \text{ m}$.

3. ความเร็วรอบที่ใช้ในการกวน (rev/s)

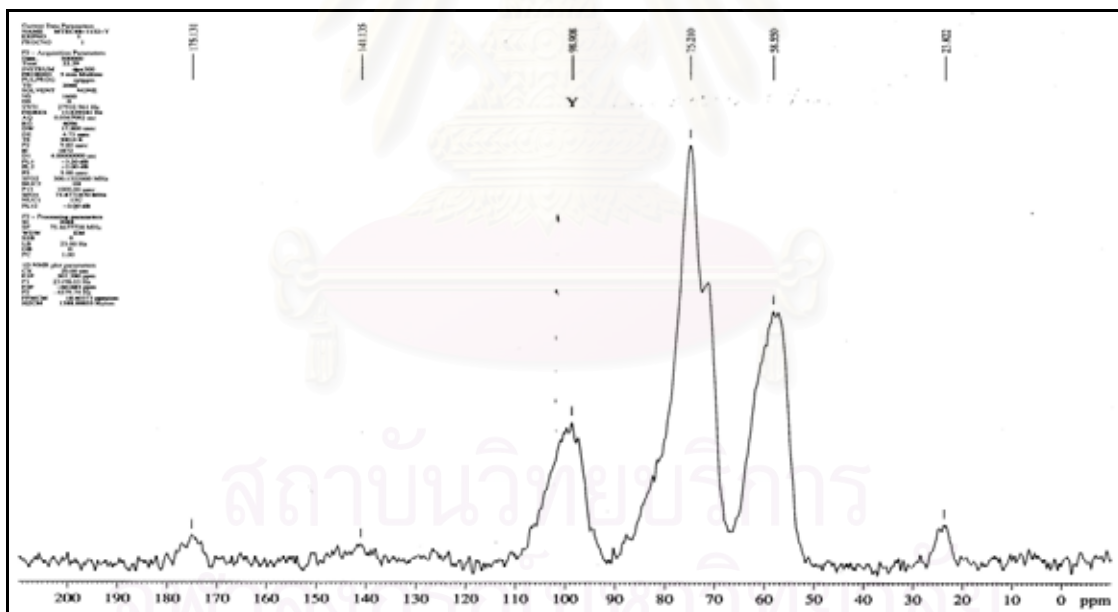
ที่ความเร็วรอบ 40 รอบ/นาที = $40/60$ รอบ/วินาที = 0.67 rev/s

4. ความหนืดของของผสม (kg/m-s)

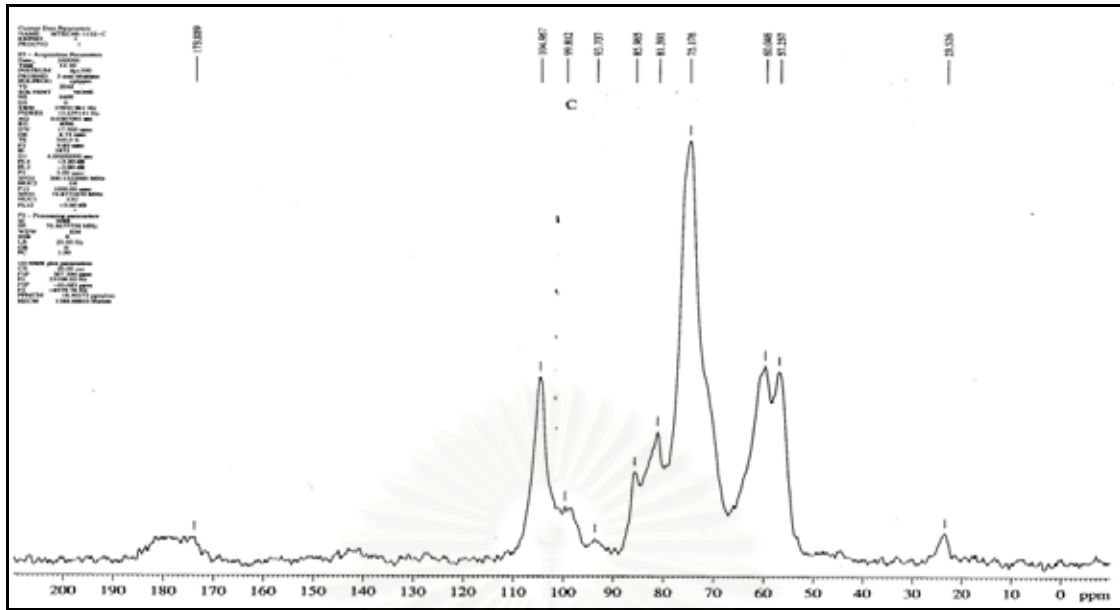
ความหนืดที่วัดได้ = $1.25 \times 10^{-3} \text{ cP} = 1.25 \times 10^{-3} \text{ kg/m-s}$



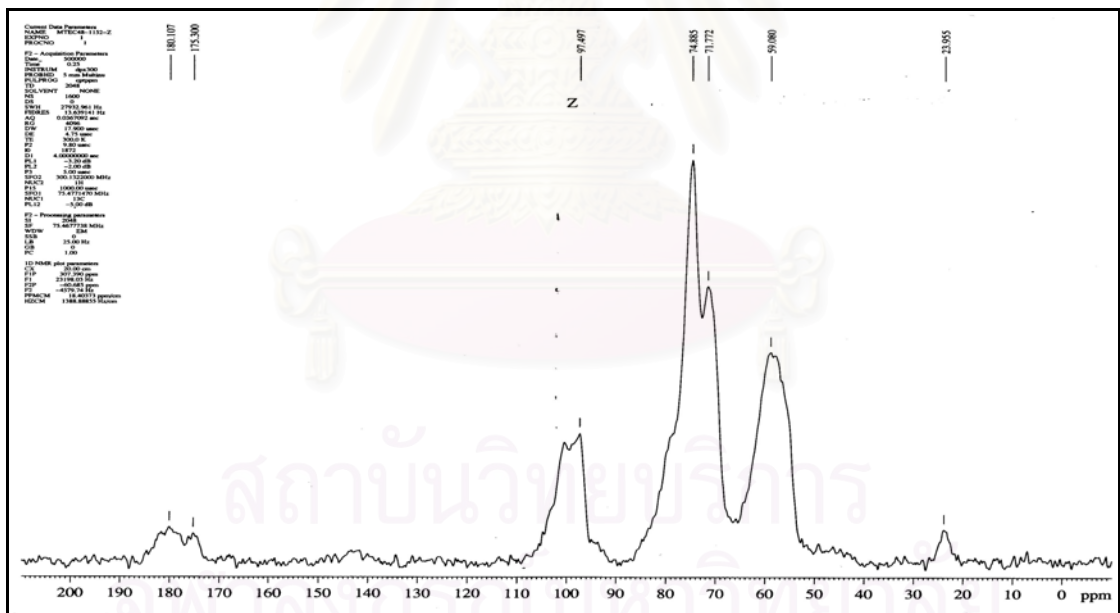
รูปที่ ก.4 ผลการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของเกล็ดโคโตซานที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 1



รูปที่ ก.5 ผลการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของเกล็ดโคโตซานที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 5



รูปที่ ก.6 ผลการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของเกล็ดไคโตซานที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวาง หลังผ่านการใช้
บำบัด ความขมในน้ำส้ม



รูปที่ ก.7 ผลการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของเกล็ดไคโตซานที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยสารละลายกรด
ซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 5 หลังผ่านการใช้บำบัดความขมในน้ำส้ม

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ลักษณะสมบัติของน้ำส้ม

ข.1 การวัดค่าสีของน้ำส้มคั้น

วัดค่าสีของน้ำส้มคั้นส่วนใส ด้วยเครื่องวัดสี (Minolta chroma meter series CR-300) และคำนวณเป็นค่าความแตกต่างของสี (ΔE) โดยใช้น้ำส้มประมาณ 15-20 มิลลิลิตรในการวัด

$$\Delta E = [(L_1 - L_2)^2 + (a_1 - a_2)^2 + (b_1 - b_2)^2]^{1/2} \quad (\text{ข.1})$$

เมื่อ $L_1 - L_2$, $a_1 - a_2$ และ $b_1 - b_2$ เป็นค่าความแตกต่างของ L , a และ b ระบุช่วงสีของน้ำส้มก่อน และหลังผ่านกระบวนการบำบัดความขม

สำหรับกรณีที่ว่า $\Delta E = 1-2$ แสดงว่าสีเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยตามมาตรฐานการวัดสีของผลิตภัณฑ์ (47)

ข.2 การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรต

วิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรต ซึ่งรวมถึงสารที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด ได้แก่ กอร์ดอินทรีย์, เกลือ, สารไนโตรเจน และเพคติน โดยวิเคราะห์เป็นค่าองศาบริกซ์ ($^{\circ}\text{Brix}$) ด้วยเครื่องรีแฟรคโตมิเตอร์แบบมือถือ (Hand refractometer)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ข.3 การวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซี (4)

วิเคราะห์ปริมาณวิตามินซี โดยการไทเทรต ตามวิธีของ AOAC ดังนี้

1. การเตรียมสารเคมี

1.1 Extracting solution (Metaphosphoric acid-acetic acid solution)

ละลายกรดเมทาฟอสฟอริก (HPO_3) 15 กรัม ในน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร เติมกรดแอสติก 40 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 500 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น จากนั้นกรองอย่างรวดเร็ว ถ้าเก็บไว้ในตู้เย็นสารละลายจะอยู่ได้ 7-10 วัน

1.2 สารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก (1มก./มล.)

ละลายสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก 50 มิลลิกรัม ด้วย extracting solution แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 50 มิลลิลิตร เตรียมแล้วใช้ทันที

1.3 Indophenol standard solution (dye reagent)

ละลาย 2,6-dichloroindophenol sodium salt 50 มิลลิกรัม ด้วยน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร และเติมโซเดียมไบคาร์บอเนต 42 มิลลิกรัม เขย่าอย่างรุนแรง แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 200 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น จากนั้นกรองแล้วใส่ขวดปิดฝา เก็บในตู้เย็นอย่าให้โดนแสงแดด (ถ้าสารละลายตัวจะทำให้จุดยุติเปลี่ยน สามารถตรวจสอบได้โดยเติม extracting solution 5 มิลลิลิตรลงใน dye reagent 15 มิลลิลิตร ถ้าสีของ dye reagent ไม่จางหาย แสดงว่าสารละลายตัวแล้ว)

2. การปรับสารละลายมาตรฐานเข้มข้น (Standardization)

2.1 บีบเปิดสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก 2 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ ขนาด 50 มิลลิลิตร และเติม extracting solution 5 มิลลิลิตร

2.2 ไทเทรตทันทีด้วย dye reagent จนกระทั่งเป็นสีชมพูถาวรน้อย 5 วินาที

2.3 ไทเทรตซ้ำอีก 3 ครั้ง

2.4 คำนวณความเข้มข้นของ dye reagent

Dye concentration = (2 mg. ascorbic acid)/ ml. titrated

(ข.2)

3. วิธีการวิเคราะห์

- 3.1 เติมน้ำส้ม 2 มิลลิลิตร ลงใน extracting solution 5 มิลลิลิตร
- 3.2 ไทเทรตทันทีด้วย standardized dye solution
- 3.3 คำนวณปริมาณกรดแอสคอร์บิก หรือ วิตามินซี

$$\text{mg. AA/100 ml.} = \frac{(\text{dye concentration})(\text{ml. titrated-blank})(100 \text{ ml. juice})}{(2 \text{ ml. sample})} \quad (ข.3)$$

ข.4 การวัดค่าพีเอช

วัดค่าพีเอชของน้ำส้มคั้นส่วนใด ด้วยเครื่องวัดพีเอช (pH meter)

ข.5 การวิเคราะห์ปริมาณกรด (5)

วิเคราะห์ปริมาณกรด โดยการไทเทรต และคำนวณเป็นร้อยละกรดซิตริก (% citric acid) ดังนี้

1. สารเคมี

- 1.1 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.1562 นอร์มัล
- 1.2 ฟีนอล์ฟทาลีน อินดิเคเตอร์

2. วิธีการวิเคราะห์

- 2.1 ปิเปิดน้ำส้ม 10 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่
- 2.2 หยดฟีนอล์ฟทาลีน 5 หยด เพื่อเป็นอินดิเคเตอร์
- 2.3 ไทเทรตด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.1562 นอร์มัล จนกระทั่งสีของน้ำส้มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล (สีส้มของน้ำส้มรวมกับสีชมพูของอินดิเคเตอร์ เห็นเป็นสีน้ำตาล) หรือวัดค่าพีเอชได้ 8.2

- 2.4 บันทึกปริมาตร และคำนวณปริมาณกรดเป็นร้อยละกรดซิตริก

$$\% \text{ acid} = \text{ml. titrated} / 10.4 \text{ g.} \quad (\text{ข.4})$$

ข.6 การวิเคราะห์ปริมาณลิโมนิน (42)

1. สารเคมี

- 1.1 สารมาตรฐานลิโมนิน (standard limonin)
- 1.2 แอซีโตนไนไตรล์ (acetonitrile HPLC grade)
- 1.3 เมทานอล (methanol HPLC grade)

2. การสกัดลิโมนินด้วย Solid Phase Extraction (SPE)

- 2.1 ใช้ Chromabond C-18 column ต่อกับ SPE vacuum manifolds
- 2.2 ชะคอแลมันน์ด้วยแอซีโตนไนไตรล์ 4 มิลลิลิตร
- 2.3 ตามด้วยแอซีโตนไนไตรล์เข้มข้นร้อยละ 2 ปริมาตร 4 มิลลิลิตร
- 2.4 นำน้ำส้มส่วนใสที่กรองแล้ว 2 มิลลิลิตร เทผ่านคอแลมันน์ซ้ำๆ
- 2.5 ชะคอแลมันน์ด้วยแอซีโตนไนไตรล์เข้มข้นร้อยละ 30 ปริมาตร 4 มิลลิลิตร
- 2.6 ชะลิโมนินด้วยแอซีโตนไนไตรล์เข้มข้นร้อยละ 60 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เก็บลงในหลอดทดลองที่มีฝาเกลียวทั้ง 2 มิลลิลิตร แล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่น 2 มิลลิลิตร
- 2.7 กรองด้วย 0.45 μm . nylon filter membrane ก่อนนำไปฉีดด้วยเครื่อง

HPLC

- หมายเหตุ: 1. ชะคอแลมันน์ และลิโมนินด้วยอัตราการไหล 2.5 และ 4.7 มล./นาที ตามลำดับ
2. อย่าปล่อยให้คอแลมันน์แห้งขณะทำการสกัด เพราะอากาศจะทำให้คอแลมันน์เสื่อมประสิทธิภาพ โดยการเติมสารละลายต่างๆ ตามขั้นตอนอย่างต่อเนื่อง

3. วิเคราะห์ปริมาณลิโมนินด้วยเครื่อง HPLC

- 3.1 ใช้ C-18 column ขนาด 250 มม.x4.6 มม. เป็นเฟสอยู่กับที่ (stationary phase)

3.2 เฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) เป็นแบบตัวทำละลายระบบเดียว (isocratic solvent) คือ แอซีโทไนไตรล์:เมทานอล:น้ำ เท่ากับ 31.8:22.7:45.5 โดยปริมาตร ด้วยอัตราการไหล 1 มล./นาที

3.3 ฉีดตัวอย่างปริมาตร 20 ไมโครลิตรต่อ 1 ครั้ง ที่อุณหภูมิห้อง (~20 °C) และตรวจวัดสัญญาณด้วย UV/VIS detector ที่ 210 นาโนเมตร

4. การสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายลิโมนิน (standard curve)

4.1 ละลายสารมาตรฐานลิโมนิน 1.25 มิลลิกรัม ในแอซีโทไนไตรล์ 50 มิลลิตร จะได้สารละลายมาตรฐานลิโมนินเข้มข้น 25 ส่วนในล้านส่วน

4.2 เจือจางด้วยเฟสเคลื่อนที่ให้ได้ความเข้มข้น 2.5, 7.5, 12.5, 17.5, 22.5 และ 25 ส่วนในล้านส่วน

5. การคำนวณความเข้มข้นของลิโมนินในน้ำส้ม

คำนวณความเข้มข้นของลิโมนินในน้ำส้มได้จากสมการ (ข.5) ซึ่งได้จากกราฟมาตรฐานของสารละลายลิโมนิน

$$Y = (0.00005) (X) \quad (\text{ข.5})$$

เมื่อ Y คือ ความเข้มข้นของลิโมนิน (ส่วนในล้านส่วน)

X คือ พื้นที่ใต้กราฟ ซึ่งได้จากการวิเคราะห์ด้วย HPLC

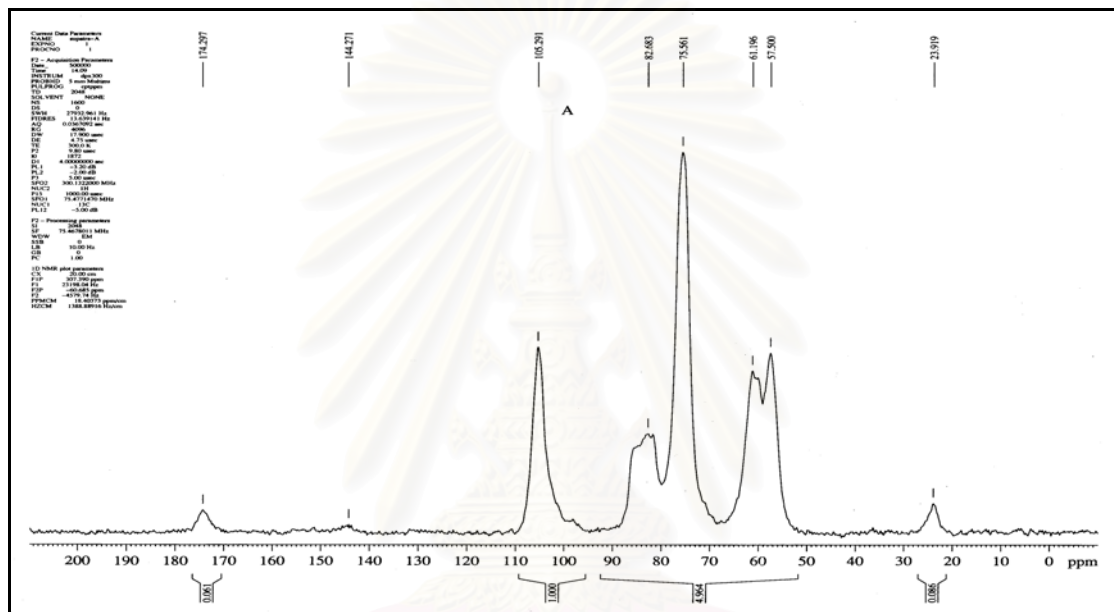
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ค

ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติของโคโตซาน

ค.1 ผลการวิเคราะห์ระดับการกำจัดหมู่แอซีทิล (Degree of deacetylation)

ค.1.1 วิเคราะห์โดยเครื่อง NMR



รูปที่ ค.1 ผลการวิเคราะห์ระดับการกำจัดหมู่แอซีทิลของโคโตซานที่สกัดจากเปลือกกุ้งจากบริษัท แกลง จำกัด

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. วิธีการ

แบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอน ดังนี้

ก) การเตรียมอนุพันธ์โคโตซานคลอไรด์

1. ละลายโคโตซาน 2.5 กรัม ในสารละลายกรดแอสติกเข้มข้นร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก ปริมาตร 200-400 มิลลิลิตร (ขึ้นอยู่กับความหนืดของสารละลาย) กวนด้วยความเร็วรอบสูง เป็นเวลา 15 นาที
2. กรองส่วนที่ไม่ละลายออกด้วยผ้าพอลิเอสเตอร์
3. เติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 18 มิลลิลิตร อย่างช้าๆ และกวนอย่างรุนแรงเพื่อให้เกิดตะกอนมากที่สุด
4. กรองตะกอนด้วยผ้าพอลิเอสเตอร์ นำส่วนที่เป็นสารละลายสีทิ้งไป
5. ล้างตะกอนด้วยเมทานอล ครั้งละประมาณ 100 มิลลิลิตร กรองซ้ำจนไม่มีคลอไรด์อิสระเหลืออยู่ ทดสอบได้โดยหยดสารละลายซิลเวอร์ไนเตรตเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนัก ลงในสารละลายที่กรองได้ ถ้าเกิดตะกอนสีขาวขุ่นให้นำตะกอนที่กรองได้ล้างด้วยเมทานอลอีก จนกว่าจะไม่เกิดตะกอนขาว (ซึ่งการล้างด้วยเมทานอลจะต้องทำประมาณ 5 - 6 ครั้ง)
6. อบตะกอนของอนุพันธ์โคโตซานคลอไรด์ที่ได้ในตู้อบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ผลิตภัณฑ์ที่ได้ คือ อนุพันธ์โคโตซานคลอไรด์ ซึ่งจะมีสีน้ำตาลอ่อน

ข) การไทเทรตอนุพันธ์โคโตซานคลอไรด์

1. ละลายอนุพันธ์โคโตซานคลอไรด์ 1 กรัม ในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตร
2. แบ่งสารละลายอนุพันธ์โคโตซานคลอไรด์ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ ไทเทรตด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.1 โมลาร์ โดยใช้ฟีนอล์ฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์
3. บันทึกปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ นำข้อมูลที่ได้มาคำนวณระดับการกำจัดหมู่แอสีทิล คิดเป็นหน่วยร้อยละ (percentage of degree of deacetylation, %DD)

3. การคำนวณ

3.1 น้ำหนักตัวอย่าง (ไคโตซานไฮโดรคลอไรด์) _____ กรัม

3.2 การไทเทรต

- สารละลายไคโตซานไฮโดรคลอไรด์ที่ใช้ _____ 50 มิลลิลิตร

- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ _____ 0.1 โมลาร์

ที่ใช้ _____ มิลลิลิตร

3.3 การคำนวณ

- ไคโตซานไฮโดรคลอไรด์ 1 โมล (197.61672) = NaOH 1 โมล

- มอนอเมอร์ที่มีหมู่แอสีตาดีไฮด์ (-NHCOCH₃) 1 โมล

มีน้ำหนักโมเลกุล = 203.19296 กรัม

- ปริมาณมอนอเมอร์ที่มีหมู่เอมีน (-NH₂) = $5 \times [\text{NaOH}] \times V_{\text{NaOH}}$
1000

- ปริมาณมอนอเมอร์ที่มีหมู่แอสีตาดีไฮด์

= $\frac{\text{ปริมาณตัวอย่างที่ใช้} - \text{ปริมาณมอนอเมอร์ที่มีหมู่เอมีน}}{203.19296}$

203.19296

- ปริมาณมอนอเมอร์รวม = ปริมาณมอนอเมอร์ที่มีหมู่เอมีน +

ปริมาณมอนอเมอร์ที่มีหมู่แอสีตาดีไฮด์

- ระดับการกำจัดหมู่แอสีทิล = $\frac{\text{ปริมาณมอนอเมอร์ที่มีหมู่เอมีน} \times 100}{\text{ปริมาณมอนอเมอร์รวม}}$

ปริมาณมอนอเมอร์รวม

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4. ตัวอย่างการคำนวณ

4.1 น้ำหนักตัวอย่าง (โคโตซานไฮโดรคลอไรด์) 1.00 กรัม

4.2 การไทเทรต

- สารละลายโคโตซานไฮโดรคลอไรด์ที่ใช้ 50 มิลลิลิตร- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.098 โมลาร์ที่ใช้ 7.65 มิลลิลิตร

4.3 การคำนวณ

- โคโตซานไฮโดรคลอไรด์ 1 โมล (197.61672) = NaOH 1 โมล

- มอนอเมอร์ที่มีหมู่แอสีตาดีไฮด์ (-NHCOCH₃) 1 โมล

มีน้ำหนักโมเลกุล = 203.19296 กรัม

- ปริมาณมอนอเมอร์ที่มีหมู่เอมีน (-NH₂) = $5 \times [\text{NaOH}] \times V_{\text{NaOH}}$
1000= $5 \times 0.098 \times 7.65 = 0.003749$ โมล1000= $0.003749 \times 197.61672 = 0.74087$ กรัม

- ปริมาณมอนอเมอร์ที่มีหมู่แอสีตาดีไฮด์

= ปริมาณตัวอย่างที่ใช้ - ปริมาณมอนอเมอร์ที่มีหมู่เอมีน

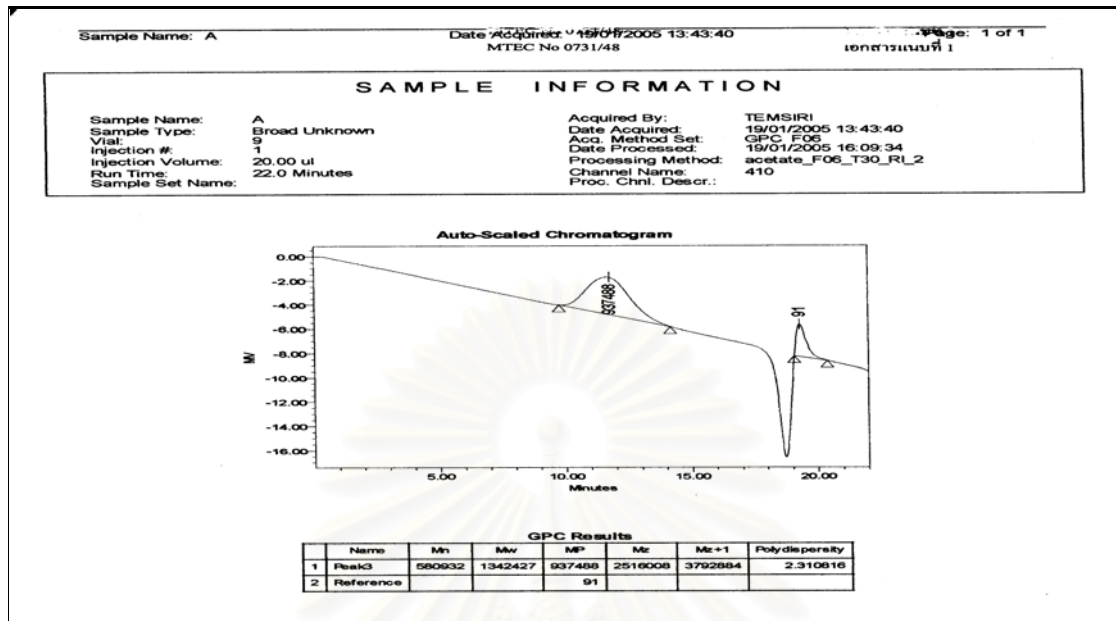
203.19296= $1.00 - 0.74087 = 0.001275$ โมล203.19296

- ปริมาณมอนอเมอร์รวม = ปริมาณมอนอเมอร์ที่มีหมู่เอมีน +

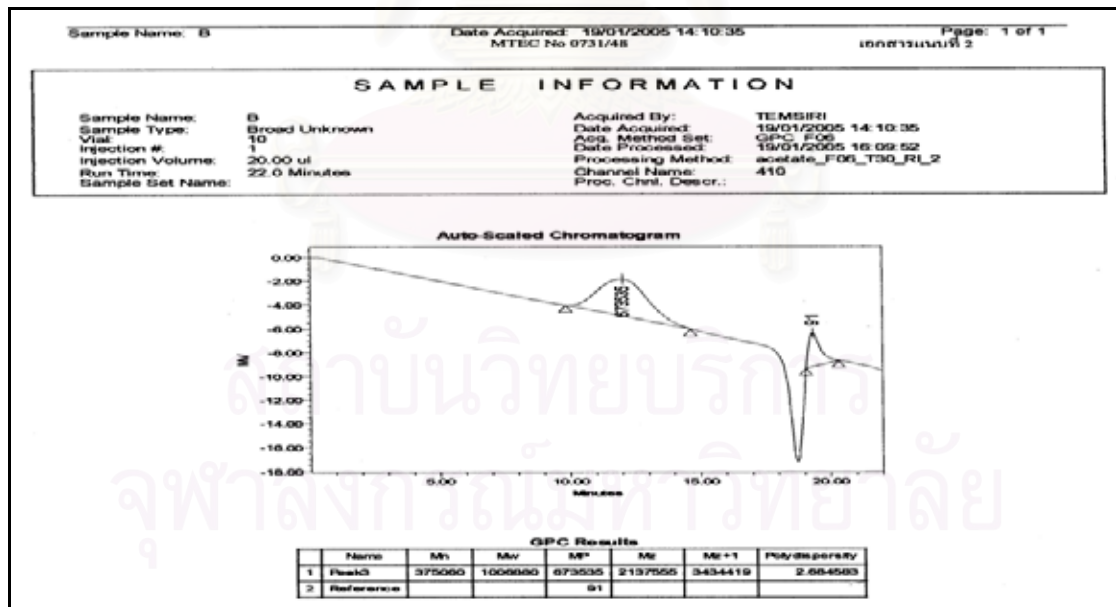
ปริมาณมอนอเมอร์ที่มีหมู่แอสีตาดีไฮด์

= $0.003749 + 0.001275 = 0.005024$ โมล- ระดับการกำจัดหมู่แอสีทิล = $\frac{\text{ปริมาณมอนอเมอร์ที่มีหมู่เอมีน}}{\text{ปริมาณมอนอเมอร์รวม}} \times 100$ ปริมาณมอนอเมอร์รวม= $0.003749 \times 100 = 74.62 \%$ 0.005024

ค.2 ผลการวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุล (Molecular Weight) ด้วยเครื่อง GPC



รูปที่ ค.3 ผลการวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของโคโตะซานที่สกัดจากเปลือกกุ้งจากบริษัท แกลง จำกัด



รูปที่ ค.4 ผลการวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของโคโตะซานที่สกัดจากเปลือกกุ้งจากตลาดสดสามย่าน

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวสุพัตรา รักษาพรต เกิดเมื่อวันที่ 14 พฤศจิกายน พุทธศักราช 2522 ที่จังหวัด
จันทบุรี จบการศึกษาปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเคมีในปีการศึกษา 2544 และเข้า
ศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเคมีเทคนิคในปี 2545 จนสำเร็จการศึกษาใน
ปีการศึกษา 2547



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย