บทที่ 3

ผลและวิจารณ์

1. สมบัติของไคโตแซนจากเปลือกกุ้งกุลาดำ

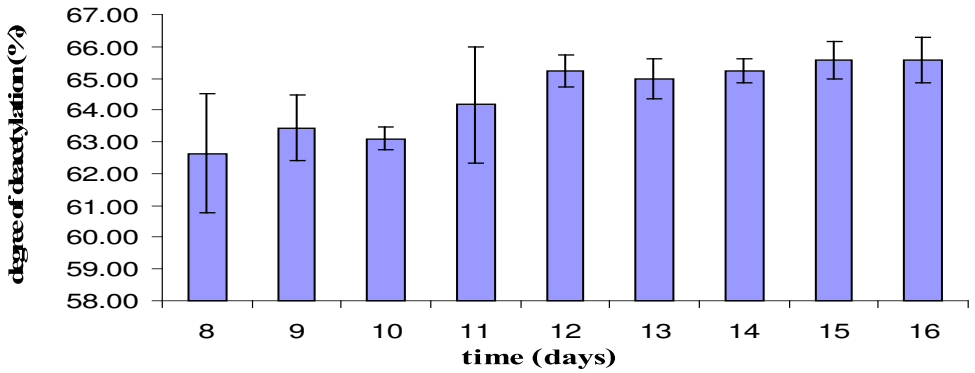
ไคโตแซนมีสมบัติแตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับปัจจัยที่ใช้ในกระบวนการผลิต ไม่ว่าจะเป็นลำดับขั้นตอนการผลิต ชนิดและความเข้มข้นของสารเคมี ระยะเวลา อุณหภูมิ และความดันที่ใช้ในแต่ละขั้นตอนการผลิต จึงต้องทำการคัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไคโตแซนให้มีสมบัติตามที่ต้องการ ในการทดลองนี้ได้ผลิตไคโตแซนจากเปลือกกุ้งกุลาดำ ภายใต้ปัจจัยการผลิตที่แตกต่างกัน ส่งผลต่อสมบัติของไคโตแซน ดังนี้

1.1 ระดับการกำจัดหมู่อะซิทิล (degree of deacetylation)

ในการทดลองผลิตไคโตแซน โดยทำการกำจัดหมู่อะซิทิลของไคโตแซนด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 50 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลาแตกต่างกันคือ 8 9 10 11 12 13 14 15 และ16 วัน พบว่าเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลเพิ่มขึ้น โดยไคโตแซนที่ผลิตได้มีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลอยู่ในช่วงร้อยละ 62.65-65.59 (ภาพที่ 4) ซึ่งค่าดังกล่าวยังไม่อยู่ในช่วงระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลที่ต้องการ อาจเนื่องจากการกำจัดหมู่อะซิทิลให้มีค่าสูงกว่าร้อยละ 80 นั้นทำได้ยากในขั้นตอนเดียว โดยเฉพาะปฏิกิริยาที่ขนาดวัตถุดิบไม่เป็นเนื้อเดียวกัน จะมีผลต่อความสามารถของสารเคมีในการแทรกตัวเข้าไปทำปฏิกิริยา จึงส่งผลต่อเนื่องต่อคุณภาพของไคโตแซนที่ผลิตได้ (Kurita *et al.,* 1993) ถ้าต้องการผลิตไคโตแซนที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลสูง ให้ใช้สภาวะในการทำปฏิกิริยาที่รุนแรงขึ้นคือ เพิ่มความเข้มข้นของด่าง การใช้อุณหภูมิสูงในการทำปฏิกิริยา หรือการทำปฏิกิริยากับด่างซ้ำหลายๆ ครั้ง (จิราภรณ์ เชาวลิตสุขุมาวสี, 2544)

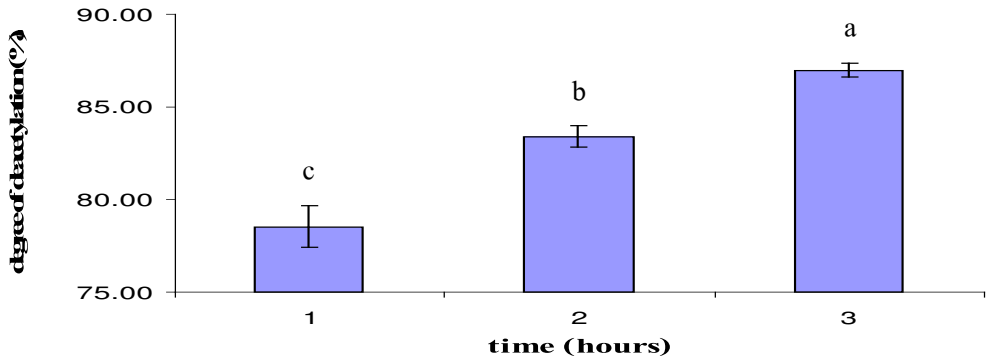
ในการทดลองครั้งนี้เลือกใช้วิธีการทำปฏิกิริยากับด่างซ้ำอีกครั้งและเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้น โดยเลือกไคโตแซนที่ผ่านการกำจัดหมู่อะซิทิลเป็นระยะเวลา 10 วัน แช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 50 (น้ำหนักต่อปริมาตร) และเพิ่มอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาเป็น 60 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลาแตกต่างกันคือ 1 2 และ 3 ชั่วโมง พบว่าเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลเพิ่มขึ้น โดยไคโตแซนที่ผลิตได้มีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลเท่ากับร้อยละ 78.55 83.41 และ 86.98 ตามลำดับ ($p<0.05$) (ตารางภาคผนวกที่ 1) (ภาพที่ 5) ซึ่งอธิบายได้ว่าเมื่อใช้ระยะเวลาในการกำจัดหมู่อะซิทิลเพิ่มขึ้น ปริมาณอะซิเตทที่ถูกกำจัดออกไปก็มากขึ้น ส่งผลให้ระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลมีค่าเพิ่มขึ้น (Muzzarelli, 1977) และมีความสามารถในการ

ละลายในสารละลายกรดได้ เพราะเมื่อหมู่อะซิทิลถูกกำจัดออกไปมากกว่าร้อยละ 60 ไคโตแซนสามารถละลายได้ในกรดอินทรีย์หลายชนิด เช่น กรดอะซิติก กรดแลคติก กรดบิวทีริก เนื่องจากมีหมู่อะมิโนอิสระซึ่งเป็นประจุบวก ทำให้ความสามารถในการละลายเพิ่มขึ้น (Robert, 1997) ผลที่ได้สามารถแบ่งไคโตแซนตามระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลออกเป็น 3 กลุ่ม คือ ระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลระดับต่ำ ระดับปานกลาง และระดับสูง โดยมีค่าดังกล่าวร้อยละ 78.55 83.41 และ 86.98 ตามลำดับ



ภาพที่ 4 ผลของระยะเวลาที่ใช้ในการกำจัดหมู่อะซิทิลที่อุณหภูมิห้องต่อระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลของไคโตแซน บาร์=ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ

Figure 4. Effect of deacetylation time at room temperature on degree of deacetylation of chitosan
Bars represent S.D. (n=3)



ภาพที่ 5 ผลของระยะเวลาที่ใช้ในการกำจัดหมู่อะซิทิลครั้งที่ 2 ที่อุณหภูมิ 60^{O}ซ ต่อระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลของไคโตแซน บาร์=ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ
ตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

Figure 5. Effect of the redeacetylation time at 60^{O}C on degree of deacetylation of chitosan
Bars represent S.D. (n=3)
Different letters on the bars indicate the significant differences ($p<0.05$)

1.2 ความหนืด (viscosity)

เมื่อนำไคโตแซนจากข้อ 1.1 ซึ่งมีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลแตกต่างกัน 3 ระดับ คือ ร้อยละ 78.55 83.41 และ 86.98 มาเตรียมเป็นสารละลายที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันคือ ร้อยละ 1.5 และ 2.0 ในสารละลายกรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 1.0 แล้ววัดค่าความหนืด ผลการทดลองพบว่าเมื่อความเข้มข้นของไคโตแซนเพิ่มขึ้นส่งผลให้ความหนืดของสารละลายไคโตแซนมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทุกระดับการกำจัดหมู่อะซิทิล ($p<0.05$) (ตารางภาคผนวกที่ 2) (ตารางที่ 5) เนื่องจากที่ระดับความเข้มข้นสูง มีปริมาณไคโตแซนละลายอยู่ในสารละลายมาก ทำให้เกิดพันธะและการประสานตัวระหว่างโมเลกุลหรืออนุภาคจำนวนมาก ส่งผลให้ความหนืดของสารละลายไคโตแซนมีค่าเพิ่มขึ้น (Rodriguez *et al.,* 2000; Hosokawa *et al.,* 1990)

นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลของไคโตแซนมีค่าเพิ่มขึ้น ความหนืดของสารละลายไคโตแซนมีแนวโน้มลดลง (ตารางที่ 5) เนื่องจากในกระบวนการผลิตไคโตแซนที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลสูง ต้องใช้ความเข้มข้นด่าง และระยะเวลาในการกำจัดหมู่อะซิทิลเพิ่มขึ้น ส่งผลให้สมบัติของไคโตแซนเปลี่ยนแปลงไป ทำให้ความหนืดของสารละลายไคโตแซนมีค่าลดลง (No *et al.,* 2000; Bough *et al.,* 1978; Wu and Bough, 1978; Muzzarelli, 1977) โดยที่ระดับความเข้มข้นของไคโตแซนร้อยละ 1.5 ที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลร้อยละ 78.55 มีความหนืดของสารละลายไคโตแซนแตกต่างกับที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลร้อยละ 83.41 และ 86.98 เนื่องจากที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลต่ำ ไคโตแซนสามารถละลายในสารละลายกรดได้น้อย ประกอบกับการใช้ความเข้มข้นของไคโตแซนต่ำ ทำให้ความหนืดที่ได้มีค่าแตกต่างจากความหนืดของสารละลายไคโตแซนที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลสูง (Rodriguez *et al.,* 2000) นอกจากนี้พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของไคโตแซนร้อยละ 2 ที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลต่างกัน ค่าความหนืดของสารละลายไคโตแซนไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางภาคผนวกที่ 2) เนื่องจากความเข้มข้นของไคโตแซนสูงมากเกินพอ มีไคโตแซนละลายอยู่ในสารละลายมาก ส่งผลให้ความหนืดของสารละลายไคโตแซนมีค่าไม่แตกต่างกัน

ตารางที่ 5 ความหนืดของสารละลายไคโตแซนที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลต่างกัน

Table 5. Viscosity of chitosan solution with different degree of deacetylation

Degree of deacetylation (%)	Viscosity (cps)*	
	1.5 % chitosan concentration	2.0 % chitosan concentration
78.55	140.00 ± 0.73^{aB}	189.72 ± 0.79^{aA}
83.41	137.44 ± 1.23^{bB}	188.13 ± 0.75^{aA}
86.98	135.72 ± 1.67^{bB}	184.69 ± 4.84^{aA}

อักษรตัวพิมพ์เล็กที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)
อักษรตัวพิมพ์ใหญ่ที่ต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)
* ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ * Mean ± standard deviation (n=3)
Different small letters in the same column indicate the significant differences ($p<0.05$)
Different capital letters in the same row indicate the significant differences ($p<0.05$)

1.3 ความสามารถในการจับน้ำ (water binding capacity) และความสามารถในการจับไขมัน (fat binding capacity)

การศึกษาความสามารถในการจับน้ำ (water binding capacity) และความสามารถในการจับไขมัน (fat binding capacity) ของไคโตแซนจากข้อ 1.1 ซึ่งมีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิล แตกต่างกัน 3 ระดับ คือร้อยละ 78.55 83.41 และ 86.98 พบว่าเมื่อระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลของ ไคโตแซนมีค่าเพิ่มขึ้น ส่งผลให้มีความสามารถในการจับน้ำเพิ่มขึ้น (ตารางที่ 6) โดยที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลร้อยละ 86.98 มีความสามารถในการจับน้ำแตกต่างจากที่ระดับการกำจัดหมู่ อะซิทิลร้อยละ 78.55 และ 83.41 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางภาคผนวกที่ 3) เนื่องจากไคโตแซนที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลสูง มีหมู่ที่มีประจุจากหมู่อะมิโนอิสระ (NH_2) จำนวนมาก ซึ่งเป็นส่วนที่สามารถจับกับน้ำ จึงมีความสามารถในการจับน้ำเพิ่มขึ้น (No *et al.,* 2000; Winterowd and Sandford, 1995)

ในการทดลองนี้ยังพบว่าเมื่อระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลของไคโตแซนมีค่าเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ความสามารถในการจับไขมันมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ($p>0.05$) (ตารางภาคผนวกที่ 3) ทั้งนี้อาจเนื่องจากตัวอย่างไคโตแซนในการทดลองนี้มีลักษณะโครงสร้างที่มีผลต่อความสามารถในการจับไขมันคือส่วนที่ไม่มีประจุไม่มากพอ ดังนั้นระดับการกำจัดหมู่ อะซิทิลของไคโตแซนจึงไม่ส่งผลต่อความสามารถในการจับไขมัน (No *et al.,* 2000) อย่างไรก็ตามแม้

ว่าค่าความสามารถในการจับไขมันจะไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลเพิ่มขึ้น อาจเนื่องจากในการผลิตไคโตแซน เพื่อให้ได้ระดับการกำจัดหมู่ อะซิทิลสูง ต้องใช้ความเข้มข้นด่าง และระยะเวลาในการกำจัดหมู่อะซิทิลเพิ่มขึ้น ส่งผลให้สมบัติของไคโตแซนเปลี่ยนแปลงไป ความสามารถในการจับไขมันจึงมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น (No *et al.,* 2000; Bough *et al.,* 1978; Wu and Bough, 1978; Muzzarelli, 1977)

ตารางที่ 6 ความสามารถในการจับน้ำและความสามารถในการจับไขมันของไคโตแซนที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลต่างกัน

Table 6. Water binding capacity and fat binding capacity of chitosan with different degree of deacetylation

Degree of deacetylation (%)	Water binding capacity (%)*	Fat binding capacity (%)*
78.55	267.25±9.18^{b}	152.53±6.86^{a}
83.41	281.18±4.44^{b}	149.81±4.40^{a}
86.98	493.88±10.58^{a}	162.09±9.95^{a}

ตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

* ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ * Mean ± standard deviation (n=3)

Different letters in the same column indicate the significant differences ($p<0.05$)

1.4 ค่าสมดุลของหมู่ที่ชอบน้ำกับหมู่ที่ชอบไขมัน (hydrophilic liphophilic balance, HLB)

การวิเคราะห์ค่า HLB ของไคโตแซน ซึ่งมีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลแตกต่างกัน 3 ระดับ คือร้อยละ 78.55 83.41 และ 86.98 โดยการคำนวณค่า HLB จากสมการของกราฟมาตรฐานคือ $y = 1.261x + 5.0159$ (ภาคผนวก ก ข้อ 5) ผลการทดลองพบว่าเมื่อระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลของ ไคโตแซนมีค่าเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ค่า HLB มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางภาคผนวกที่ 3) (ตารางที่ 7) โดยทั่วไปสารที่มีคุณสมบัติลดแรงตึงผิว และมีค่า HLB สูง บ่งบอกถึงความสามารถในการจับกับน้ำได้ดี และใช้ในการเตรียมอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ (McClements, 2000) เนื่องจากเมื่อระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลสูง โครงสร้างโมเลกุลของไคโตแซนมีหมู่อะมิโนอิสระ (NH_2) เพิ่มสูงขึ้น สามารถรับโปรตอน และทำให้พอลิเมอร์ที่ได้มีประจุเป็นบวก จึงมีความสามารถในการจับน้ำได้ดี ค่า HLB จึงมีค่าสูงขึ้น (Rodriguez *et al.,* 2002) ในการศึกษานี้พบว่าไคโตแซนมีค่า HLB อยู่ในช่วง 25-44 ซึ่งใกล้เคียงกับการทดลองอื่นที่พบว่าไคโตแซนมีค่า HLB เท่ากับ 34 และ 36.7 (Rodriguez *et al.,* 2002; Schulz *et al.,* 1998)

ตารางที่ 7 ค่าสมดุลของหมู่ที่ชอบน้ำกับหมู่ที่ชอบไขมันของไคโตแซนที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลต่างกัน

Table 7. Hydrophilic liphophilic balance (HLB) of chitosan with different degree of deacetylation

Degree of deacetylation (%)	HLB*
78.55	24.57 ± 0.84^{c}
83.41	35.07 ± 0.74^{b}
86.98	43.13 ± 1.01^{a}

ตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

* ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ * Mean ± standard deviation (n=3)

Different letters in the same column indicate the significant differences ($p<0.05$)

2. การเตรียมและศึกษาสมบัติของไคโตแซนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่างกัน

การนำไคโตแซนไปใช้ให้เกิดประโยชน์ จำเป็นต้องศึกษาถึงสมบัติพื้นฐานของไคโตแซน โดยเฉพาะน้ำหนักโมเลกุลของไคโตแซน ซึ่งสามารถบ่งบอกถึง คุณสมบัติด้านความหนืด ความสามารถในการจับน้ำ และจับไขมัน รวมทั้งค่าสมดุลของหมู่ที่ชอบน้ำกับหมู่ที่ชอบไขมันของไคโตแซน จึงทำการศึกษาสมบัติของไคโตแซนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่างกัน โดย ไฮโดรไลส์ไคโตแซนที่สภาวะแตกต่างกัน และนำไคโตแซนดังกล่าวไปวิเคราะห์สมบัติของ ไคโตแซนได้ผลดังนี้

2.1 สภาวะที่ใช้ในการไฮโดรไลส์ไคโตแซน

การไฮโดรไลส์ไคโตแซนให้มีน้ำหนักโมเลกุล 3 ระดับคือ น้ำหนักโมเลกุลต่ำ (100-500 กิโลดาลตัน) น้ำหนักโมเลกุลปานกลาง (600-1000 กิโลดาลตัน) และน้ำหนักโมเลกุลสูง (1100-1500 กิโลดาลตัน) โดยนำไคโตแซนที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลร้อยละ 78.55 (ข้อ 1.1) มาเป็นตัวแทนในการหาสภาวะที่เหมาะสมในการไฮโดรไลส์ไคโตแซนด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 2 นอร์มอล เป็นระยะเวลา 0.5 และ 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง (25-28 องศาเซลเซียส) และอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส พบว่าไคโตแซนที่ไม่ผ่านการไฮโดรไลส์มีค่าน้ำหนักโมเลกุล 1326.74 กิโลดาลตัน ซึ่งจัดได้ว่ามีน้ำหนักโมเลกุลสูง ส่วนไคโตแซนที่ผ่านการไฮโดรไลส์มีค่าน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับสภาวะที่ใช้ในการไฮโดรไลส์ เมื่อระยะเวลา และอุณหภูมิในการไฮโดรไลส์มีค่าเพิ่มขึ้น ส่งผลให้น้ำหนักโมเลกุลมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางภาคผนวกที่ 4) (ตารางที่ 8) เนื่องจากในสภาวะที่เป็นกรด พอลิเมอร์ของไคโตแซนอาจถูกตัด

ที่พันธะ β-glycosidic ทำให้พอลิเมอร์มีขนาดเล็กลง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาวะที่ใช้ในการไฮโดรไลส์ การเพิ่มอุณหภูมิและเวลาในการไฮโดรไลส์ เป็นการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสจึงส่งผลให้ไคโตแซนที่ได้มีน้ำหนักโมเลกุลลดลง (ภาวดี เมธะคานนท์ และคณะ, 2542; Winterowd and Sandford, 1995) จากผลการทดลองสามารถคัดเลือกสภาวะที่ใช้ในการไฮโดรไลส์ไคโตแซนให้มีน้ำหนักโมเลกุลตามที่ต้องการดังแสดงในตารางที่ 9 ทำการผลิตไคโตแซนภายใต้สภาวะที่ผ่านการคัดเลือก ทำให้ได้ไคโตแซนทั้งหมด 9 ชนิด ซึ่งมีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลและน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน เพื่อใช้ในการศึกษาสมบัติของไคโตแซนต่อไป

ตารางที่ 8 น้ำหนักโมเลกุลของไคโตแซนที่ผ่านการไฮโดรไลส์ที่สภาวะแตกต่างกัน

Table 8. Molecular weight of chitosan hydrolysed at different conditions

Hydrolysis temperature (°C)	Molecular weight (kDa)*	
	Hydrolysis time (h)	
	0.5	1
25-28	1299.76±78.82^{aA}	943.54±30.86^{aB}
60	1026.74±67.33^{bA}	419.22±79.19^{bB}

อักษรตัวพิมพ์เล็กที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)
อักษรตัวพิมพ์ใหญ่ที่ต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)
* ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ * Mean ± standard deviation (n=3)
Different small letters in the same column indicate the significant differences ($p<0.05$)
Different capital letters in the same row indicate the significant differences ($p<0.05$)

ตารางที่ 9 สมบัติของไคโตแซนที่สภาวะการไฮโดรไลส์แตกต่างกัน

Table 9. Characteristics of chitosan with different hydrolysis conditions

Chitosan product	Degree of deacetylation (%) (actual value)	Molecular weight (KDa) (actual value)	Hydrolysis conditions	
			Time (h)	Temperature ($^{\circ}$C)
1	75-80 (79.96)	100-500 (419.22)	1	60
2	75-80 (78.63)	600-1000 (943.54)	1	25-28
3*	75-80 (78.55)	1100-1500 (1326.74)	-	-
4	81-85 (84.87)	100-500 (213.32)	1	60
5	81-85 (83.92)	600-1000 (768.48)	1	25-28
6*	81-85 (83.41)	1100-1500 (1208.34)	-	-
7	86-90 (87.12)	100-500 (219.57)	1	60
8	86-90 (87.04)	600-1000 (672.96)	1	25-28
9*	86-90 (86.98)	1100-1500 (1230.31)	-	-

* = ไม่ผ่านการไฮโดรไลส์ (non hydrolyzed)

2.2 ความหนืด (viscosity)

นำไคโตแซนทั้ง 9 ชนิดจากข้อ 2.1 (ตารางที่ 9) มาเตรียมเป็นสารละลายที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน คือ ร้อยละ 1.5 และ 2.0 ในสารละลายกรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 1.0 แล้ววัดค่าความหนืด พบว่าเมื่อความเข้มข้นของไคโตแซนเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ความหนืดของสารละลายไคโตแซนเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางภาคผนวกที่ 5) (ตารางที่ 10) เนื่องจากที่ระดับความเข้มข้นสูง มีปริมาณไคโตแซนละลายอยู่ในสารละลายมาก ทำให้เกิดพันธะและการประสานตัวระหว่างโมเลกุลหรืออนุภาคจำนวนมาก ส่งผลให้ความหนืดของสารละลายไคโตแซนมีค่าเพิ่มขึ้น (Rodriguez *et al.,* 2000; Hosokawa *et al.,* 1990)

นอกจากนี้พบว่าไคโตแซนที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลเท่ากัน เมื่อน้ำหนักโมเลกุลของไคโตแซนเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ความหนืดของสารละลายไคโตแซนเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางภาคผนวกที่ 5) (ตารางที่ 10) เนื่องจากไคโตแซนที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงมีโครงสร้างพอลิเมอร์ขนาดใหญ่ (ภาวดี เมธะคานนท์ และคณะ, 2542; Winterowd and Sandford, 1995) เมื่อละลายในสารละลายกรด ทำให้เกิดพันธะและเกิดการประสานตัวระหว่าง

โมเลกุลหรืออนุภาคของโครงสร้างพอลิเมอร์ขนาดใหญ่ จึงส่งผลให้ความหนืดของสารละลายไคโตแซนมีค่าเพิ่มขึ้น (No *et al.,* 2000; Hosokawa *et al.,* 1990; Muzzarelli, 1977)

ตารางที่ 10 ความหนืดของสารละลายไคโตแซนที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน

Table 10. Viscosity of chitosan solution with different molecular weight

Degree of deacetylation (%) (actual value)	Molecular weight (kDa) (actual value)	Viscosity (cps)*	
		1.5% chitosan solution	2.0% chitosan solution
75-80 (79.96)	100-500 (419.22)	49.61±0.10 ^{gB}	93.50±0.83 ^{dA}
75-80 (78.63)	600-1000 (943.54)	73.56±0.96 ^{dB}	130.94±1.68 ^{cA}
75-80 (78.55)	1100-1500 (1326.74)	140.00±0.73 ^{aB}	189.72±0.79 ^{aA}
81-85 (84.87)	100-500 (213.32)	49.00±0.17 ^{gA}	90.83±0.73 ^{dA}
81-85 (83.92)	600-1000 (768.48)	68.28±0.10 ^{eB}	128.56±1.08 ^{cA}
81-85 (83.41)	1100-1500 (1208.34)	137.44±1.23 ^{bB}	188.13±0.75 ^{aA}
86-90 (87.12)	100-500 (219.57)	46.50±0.44 ^{hB}	91.39±0.10 ^{dA}
86-90 (87.04)	600-1000 (672.96)	66.61±0.48 ^{fB}	127.78±0.25 ^{cA}
86-90 (86.98)	1100-1500 (1230.31)	135.72±1.67 ^{cB}	184.69±4.84 ^{bA}

อักษรตัวพิมพ์เล็กที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)
อักษรตัวพิมพ์ใหญ่ที่ต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)
* ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ * Mean ± standard deviation (n=3)
Different small letters in the same column indicate the significant differences ($p<0.05$)
Different capital letters in the same row indicate the significant differences ($p<0.05$)

2.3 ความสามารถในการจับน้ำ (water binding capacity) และความสามารถในการจับไขมัน (fat binding capacity)

การศึกษาความสามารถในการจับน้ำ (water binding capacity) และความสามารถในการจับไขมัน (fat binding capacity) ของไคโตแซนทั้ง 9 ชนิดจากข้อ 2.1 (ตารางที่ 9) พบว่าไคโตแซนที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลเดียวกัน เมื่อน้ำหนักโมเลกุลของไคโตแซนเพิ่มขึ้น ส่งผลให้มีความสามารถในการจับน้ำลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางภาคผนวกที่ 6) (ตารางที่ 11) เนื่องจากไคโตแซนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำมีโครงสร้างเป็นพอลิเมอร์ขนาดเล็ก จึงมีพื้นที่

ในการสัมผัสกับน้ำได้มากขึ้น (ภาวดี เมธะคานนท์ และคณะ, 2542; No *et al.,* 2000; Winterowd and Sandford, 1995) นอกจากนี้พบว่าในขั้นตอนการผลิตไคโตแซนมีผลต่อสมบัติของไคโตแซน โดยไคโตแซนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำมักเป็นกลุ่มไคโตแซนที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลสูง จึงมีกลุ่มอะมิโนอิสระ (NH_2) ซึ่งมีประจุบวกจำนวนมาก ส่งผลให้มีความสามารถในการจับน้ำได้สูงขึ้น (Kurita, 1993; Muzzarelli, 1977)

ในการทดลองนี้ยังพบว่าไคโตแซนที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลเดียวกัน เมื่อน้ำหนักโมเลกุลของไคโตแซนเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ความสามารถในการจับไขมันลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางภาคผนวกที่ 7) เนื่องจากโครงสร้างของไคโตแซนที่มีผลต่อความสามารถในการจับไขมันคือส่วนที่ไม่มีประจุ ดังนั้นไคโตแซนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ มีโครงสร้างเป็น พอลิเมอร์ขนาดเล็ก ทำให้มีพื้นที่ในการสัมผัสกับไขมันได้มากขึ้น จึงมีความสามารถในการจับไขมันได้ดีขึ้น (ภาวดี เมธะคานนท์ และคณะ, 2542; No *et al.,* 2000; Winterowd and Sandford, 1995)

ตารางที่ 11 ความสามารถในการจับน้ำและความสามารถในการจับไขมันของไคโตแซนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่างกัน

Table 11. Water binding capacity and fat binding capacity of chitosan with different molecular weight

Degree of deacetylation (%) (actual value)	Molecular weight (kDa) (actual value)	Water binding capacity* (%)	Fat binding capacity* (%)
75-80 (79.96)	100-500 (419.22)	548.25±5.20^{e}	553.91±8.60^{b}
75-80 (78.63)	600-1000 (943.54)	353.55±5.48^{g}	190.45±8.43^{d}
75-80 (78.55)	1100-1500(1326.74)	267.25±9.18^{i}	152.53±6.86^{e}
81-85 (84.87)	100-500 (213.32)	628.23±6.11^{b}	580.88±6.76^{a}
81-85 (83.92)	600-1000 (768.48)	572.02±6.01^{d}	197.59±1.78^{d}
81-85 (83.41)	1100-1500(1208.34)	281.18±4.44^{h}	149.81±4.40^{e}
86-90 (87.12)	100-500 (219.57)	688.25±10.62^{a}	590.23±12.44^{a}
86-90 (87.04)	600-1000 (672.96)	608.42± 5.97^{c}	223.80±9.65^{c}
86-90 (86.98)	1100-1500(1230.31)	493.88±10.58^{f}	162.09±9.95^{e}

ตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

* ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ * Mean ± standard deviation (n=3)

Different letters in the same column indicate the significant differences ($p<0.05$)

2.4 ค่าสมดุลของหมู่ที่ชอบน้ำกับหมู่ที่ชอบไขมัน (hydrophilic liphophilic balance, HLB)

การวิเคราะห์ค่า HLB ของไคโตแซนทั้ง 9 ชนิดจากข้อ 2.1 (ตารางที่ 9) โดยคำนวณค่า HLB จากสมการของกราฟมาตรฐานคือ y = 1.261x + 5.0159 (ภาคผนวก ก ข้อ 5) ผลการทดลองพบว่าไคโตแซนที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลเดียวกัน เมื่อน้ำหนักโมเลกุลของไคโตแซนมีค่าเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ค่า HLB มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางภาคผนวกที่ 8) (ตารางที่ 12) เนื่องจากไคโตแซนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำมีโครงสร้างเป็นพอลิเมอร์ขนาดเล็ก จึงมีพื้นที่ในการสัมผัสกับน้ำได้มากขึ้น ส่งผลให้ค่า HLB มีค่าสูงขึ้น (ภาวดี เมธะคานนท์ และคณะ, 2542; Rodriguez *et al.,* 2002; Winterowd and Sandford, 1995) นอกจากนี้พบว่าในขั้นตอนการผลิต ไคโตแซนมีผลต่อสมบัติของไคโตแซน โดยไคโตแซนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำมักเป็นกลุ่มไคโตแซนซึ่งมีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลสูง จึงมีกลุ่มอะมิโนอิสระ(NH_2) ซึ่งมีประจุบวกจำนวนมาก ประจุบวกที่เกิดขึ้นจะจับกับน้ำ ส่งผลให้ค่า HLB มีค่าสูงขึ้น (Kurita, 1993; Muzzarelli, 1977) โดยทั่วไปสารที่มีคุณสมบัติลดแรงตึงผิวและมีค่า HLB สูง บ่งบอกถึงความสามารถในการจับกับน้ำได้ดี และใช้ในการเตรียมอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ (McClements, 2000)

ตารางที่ 12 ค่าสมดุลของหมู่ที่ชอบน้ำกับหมู่ที่ชอบไขมันของไคโตแซนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่างกัน

Table 12. Hydrophilic liphophilic balance (HLB) of chitosan with different molecular weight

Degree of deacetylation (%) (actual value)	Molecular weight (kDa) (actual value)	HLB*
75-80 (79.96)	100-500 (419.22)	29.75±0.61 [g]
75-80 (78.63)	600-1000 (943.54)	26.79±0.71 [h]
75-80 (78.55)	1100-1500 (1326.74)	24.57±0.84 [i]
81-85 (84.87)	100-500 (213.32)	44.40±0.96 [c]
81-85 (83.92)	600-1000 (768.48)	40.09±0.37 [e]
81-85 (83.41)	1100-1500 (1208.34)	35.07±0.74 [f]
86-90 (87.12)	100-500 (219.57)	50.71±0.48 [a]
86-90 (87.04)	600-1000 (672.96)	47.60±0.40 [b]
86-90 (86.98)	1100-1500 (1230.31)	43.13±1.01 [d]

ตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

* ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ * Mean ± standard deviation (n=3)

Different letters in the same column indicate the significant differences ($p<0.05$)

3. การศึกษาผลของไคโตแซนต่อสมบัติการเกิดอิมัลชัน

การทำหน้าที่ของไคโตแซนในผลิตภัณฑ์อิมัลชันขึ้นอยู่กับสมบัติทางเคมีและ กายภาพของไคโตแซน อาทิเช่น ระดับการกำจัดหมู่อะซิทิล น้ำหนักโมเลกุล รวมทั้งปริมาณของ ไคโตแซนที่ใช้ในการเตรียมอิมัลชัน ในการทดลองนี้ได้นำไคโตแซนซึ่งมีระดับการกำจัดหมู่ อะซิทิล และน้ำหนักโมเลกุลต่างกัน มาศึกษาผลของไคโตแซนต่อสมบัติการเกิดอิมัลชัน ประกอบด้วย ความหนืด ความสามารถในการเกิดอิมัลชัน ความคงตัวของอิมัลชัน ขนาดอนุภาคและการกระจายตัวของเม็ดไขมัน ได้ผลดังนี้

3.1 ผลของปริมาณไคโตแซนต่อสมบัติการเกิดอิมัลชัน

ในการเตรียมอิมัลชัน จำเป็นต้องศึกษาถึงปริมาณไคโตแซนที่ใช้ เพื่อให้มีปริมาณเพียงพอในการทำหน้าที่เป็นตัวทำอิมัลชัน ซึ่งจะส่งผลให้อิมัลชันเกิดความคงตัว ในการทดลองนี้ได้ศึกษาผลของปริมาณไคโตแซนต่อสมบัติการเกิดอิมัลชัน ประกอบด้วย ความหนืด ความสามารถในการเกิดอิมัลชันและความคงตัวของอิมัลชัน เพื่อคัดเลือกปริมาณไคโตแซนที่เหมาะสมในการเตรียมอิมัลชัน ได้ผลดังนี้

3.1.1 ความหนืดของอิมัลชัน (emulsion viscosity)

เมื่อนำไคโตแซนตัวอย่างที่ 3 จากตารางที่ 9 ซึ่งมีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลร้อยละ 75-80 น้ำหนักโมเลกุลสูง (1100-1500 กิโลดาลตัน) มาเป็นตัวแทนในการศึกษาผลของปริมาณไคโตแซนต่อสมบัติการเกิดอิมัลชัน โดยเตรียมสารละลายไคโตแซนที่ระดับความเข้มข้นต่างกันคือ ร้อยละ 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 ในสารละลายกรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 1.0 นำสารละลายไคโตแซนดังกล่าวมาเตรียมอิมัลชัน ที่อัตราส่วนระหว่างสารละลายไคโตแซนต่อน้ำมันพืชแตกต่างกันคือ 9:1 8:2 7:3 และ6:4 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) พบว่าเมื่อระดับความเข้มข้นของไคโตแซนเพิ่มขึ้น ความหนืดของอิมัลชันมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางภาคผนวกที่ 9) (ตารางที่ 13) เนื่องจากที่ระดับความเข้มข้นสูง มีปริมาณไคโตแซนละลายอยู่ในสารละลายมาก ทำให้เกิดพันธะและการประสานตัวระหว่างโมเลกุลหรืออนุภาคจำนวนมาก ส่งผลให้ความหนืดของอิมัลชันมีค่าเพิ่มขึ้น (Rodriguez *et al.,* 2000; Hosokawa *et al.,* 1990) นอกจากนี้พบว่าความหนืดของตัวทำกระจาย (continuous phase) ในการทดลองนี้คือสารละลายไคโตแซน เป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อความหนืดของอิมัลชัน ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองอื่นที่พบว่าเมื่อความหนืดของสารละลายไคโตแซนมีค่าเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ความหนืดของอิมัลชันมีค่าเพิ่มขึ้น (Rodriguez *et al.,* 2002; Del *et al.,* 1999)

ในการทดลองครั้งนี้ยังพบว่าเมื่อสัดส่วนของน้ำมันในอิมัลชันมากขึ้น ส่งผลให้ความหนืดของอิมัลชันมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางที่ 13) เนื่องจากความ

หนืดของอิมัลชันเกิดจากความหนืดของสารละลายไคโตแซนร่วมกับความหนืดของน้ำมันพืช โดยน้ำมันพืชที่ศึกษามีค่าความหนืดประมาณ 95-100 เซนติพอยด์ ดังนั้นการที่อัตราส่วนของสารละลายไคโตแซนลดลงในขณะที่มีปริมาณน้ำมันเพิ่มขึ้น ส่งผลให้อิมัลชันมีค่าความหนืดเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 13 ความหนืดของอิมัลชันที่เตรียมจากความเข้มข้นของไคโตแซนและอัตราส่วนระหว่างสารละลายไคโตแซนต่อน้ำมันพืชแตกต่างกัน

Table 13. Emulsion viscosity from different chitosan concentration and ratio of chitosan solution to vegetable oil

Chitosan concentration (%)	Viscosity (cps)* chitosan solution : vegetable oil			
	9:1	8:2	7:3	6:4
0.5	29.28 ± 0.75^{dD}	38.06 ± 0.10^{dC}	62.89 ± 0.25^{dB}	118.50 ± 0.50^{dA}
1.0	41.33 ± 0.73^{cD}	43.39 ± 0.10^{cC}	78.72 ± 0.25^{cB}	127.56 ± 0.25^{cA}
1.5	191.39 ± 0.49^{bD}	213.22 ± 0.25^{bC}	287.28 ± 0.25^{bB}	428.39 ± 0.19^{bA}
2.0	227.94 ± 0.79^{aD}	306.00 ± 0.29^{aC}	325.94 ± 0.10^{aB}	542.06 ± 0.92^{aA}

อักษรตัวพิมพ์เล็กที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)
อักษรตัวพิมพ์ใหญ่ที่ต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)
* ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ * Mean ± standard deviation (n=3)
Different small letters in the same column indicate the significant differences ($p<0.05$)
Different capital letters in the same row indicate the significant differences ($p<0.05$)

3.1.2 ความสามารถในการเกิดอิมัลชันและความคงตัวของอิมัลชัน (emulsion activity and emulsion stability)

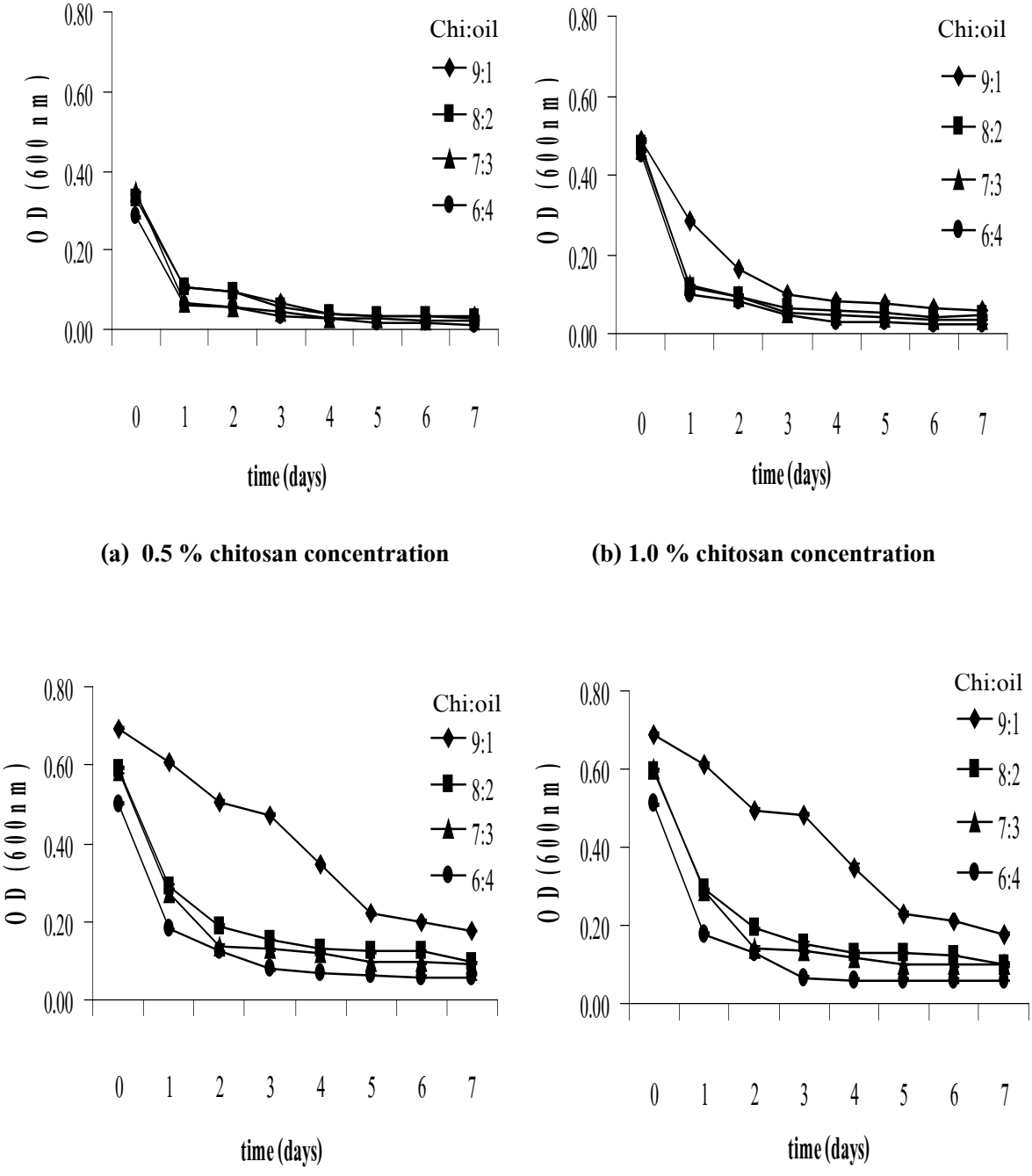
เมื่อนำตัวอย่างอิมัลชันซึ่งเตรียมจากสารละลายไคโตแซนที่มีระดับความเข้มข้นต่างกัน รวมทั้งมีอัตราส่วนระหว่างสารละลายไคโตแซนต่อน้ำมันพืชแตกต่างกัน ไปวิเคราะห์หาค่าความสามารถในการเกิดอิมัลชัน (emulsion activity) และความคงตัวของอิมัลชัน (emulsion stability) โดยศึกษาการเปลี่ยนแปลงความขุ่น (turbidity) ของอิมัลชัน จากค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ทั้งนี้ค่าความสามารถในการเกิดอิมัลชัน ได้จากค่าการดูดกลืนแสงของอิมัลชันที่เตรียมได้ภายใน 5 นาที ส่วนความคงตัวของอิมัลชันได้จากการเปลี่ยนแปลงของค่าการดูดกลืนแสง

ที่วัดทุกๆวัน เป็นเวลา 7 วัน ความขุ่นที่เกิดขึ้นบ่งบอกถึงขนาดอนุภาคของเม็ดไขมัน โดยที่ความขุ่นสูงหมายถึงขนาดอนุภาคของเม็ดไขมันมีขนาดเล็กและอิมัลชันมีความคงตัวดี (Ogawa *et al.,* 2003) จากการทดลองพบว่าเมื่อความเข้มข้นของไคโตแซนเพิ่มขึ้นส่งผลให้ค่าความขุ่นมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางภาคผนวกที่ 10) (ภาพที่ 6) เนื่องจากที่ระดับความเข้มข้นสูงมีปริมาณไคโตแซนอยู่ในตัวอย่างอิมัลชันมาก ทำให้เกิดพันธะและการประสานตัวระหว่างโมเลกุลหรืออนุภาคจำนวนมาก จึงช่วยลดการรวมตัวของอนุภาคเม็ดไขมัน ส่งผลให้มีความสามารถในการเกิดอิมัลชันและมีความคงตัวของอิมัลชันสูงขึ้น (Ogawa *et al.,* 2003; Rodriguez *et al.,* 2000; Hosokawa *et al.,* 1990)

ในการทดลองนี้ยังพบว่าเมื่อสัดส่วนของสารละลายไคโตแซนในอิมัลชันมากขึ้น ส่งผลให้ความขุ่นของอิมัลชันมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางภาคผนวกที่ 10) (ภาพที่ 6) เนื่องจากมีปริมาณไคโตแซนที่มากเพียงพอในการทำหน้าที่เป็นตัวทำอิมัลชัน โดยไคโตแซนจะเคลือบอยู่ที่ผิวของเม็ดไขมัน และมีประจุบวกอยู่โดยรอบ ซึ่งประจุบวกดังกล่าวเกิดแรงผลักระหว่างอนุภาคที่มีประจุเหมือนกัน (electrical repulsion) ส่งผลให้อนุภาคเม็ดไขมันไม่เข้ามารวมตัวกัน ดังนั้นจึงมีความสามารถในการเกิดอิมัลชันสูง และรักษาความคงตัวของระบบอิมัลชันไว้ได้ (Thanasukarn *et al.,* 2006, Mun *et al.,* 2006; Rodriguez *et al.,* 2002; McClements, 1999)

นอกจากนี้พบว่าเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาอิมัลชันเพิ่มขึ้นส่งผลให้ความขุ่นของอิมัลชันที่เตรียมจากความเข้มข้นของไคโตแซนต่างกันมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางภาคผนวกที่ 10) (ภาพที่ 6) เนื่องจากอนุภาคเม็ดไขมันในตัวอย่างอิมัลชันเกิดการเคลื่อนที่เข้ามาจับตัวกันเป็นเม็ดไขมันที่มีขนาดใหญ่ขึ้น (coalescence) และมีเม็ดไขมันบางส่วนลอยขึ้นสู่ผิวหน้า (creaming) ของตัวอย่างอิมัลชัน ทำให้ความคงตัวของอิมัลชันมีค่าลดลง (Ogawa *et al.,* 2003; McClements, 1999) โดยอิมัลชันจากสารละลายไคโตแซนเข้มข้นร้อยละ 1.5 และ 2.0 ที่อัตราส่วนระหว่างสารละลายไคโตแซนต่อน้ำมันพืช 9:1 มีค่าความขุ่นลดลงช้ากว่าตัวอย่างอิมัลชันอื่น (ภาพที่ 6c, 6d) แสดงให้เห็นว่าอิมัลชันดังกล่าวมีปริมาณที่มากเกินพอที่จะเคลือบอยู่ที่ผิวของอนุภาคเม็ดไขมันโดยรอบ สามารถช่วยลดการรวมตัวของอนุภาคเม็ดไขมัน ส่งผลให้มีความคงตัวของอิมัลชันสูงขึ้น (Ogawa *et al.,* 2003; Rodriguez *et al.,* 2000; Hosokawa *et al.,* 1990)

จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่าอิมัลชันที่ใช้สารละลายไคโตแซนเข้มข้นร้อยละ 1.5 และ 2.0 ที่อัตราส่วนระหว่างสารละลายไคโตแซนต่อน้ำมันพืช 9:1 มีความสามารถในการเกิดอิมัลชันและมีความคงตัวของอิมัลชันมากที่สุด ภายหลังการเก็บรักษาอิมัลชันที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 7 วัน (ภาพที่ 6c, 6d) จึงนำสภาวะที่คัดเลือกได้ไปใช้ในการเตรียมอิมัลชันในการทดลองขั้นต่อไป



(a) 0.5 % chitosan concentration **(b) 1.0 % chitosan concentration**

(c) 1.5 % chitosan concentration **(d) 2.0% chitosan concentration**

ภาพที่ 6 ผลของความเข้มข้นของไคโตแซน และอัตราส่วนระหว่างสารละลายไคโตแซนต่อน้ำมันพืช ต่อความสามารถในการเกิดอิมัลชันและความคงตัวของอิมัลชัน

Figure 6. Effect of chitosan concentration and ratio of chitosan solution (chi) with vegetable oil (oil) on emulsion activity and emulsion stability

3.2 ผลของระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลและน้ำหนักโมเลกุลของไคโตแซนต่อสมบัติการเกิดอิมัลชัน

ระดับการกำจัดหมู่อะซิทิล และน้ำหนักโมเลกุลของไคโตแซนสามารถบ่งบอกถึงคุณสมบัติในการทำหน้าที่ของไคโตแซนในหลายด้าน รวมทั้งหน้าที่ในการเป็นตัวทำอิมัลชันของไคโตแซน การศึกษาผลของระดับการกำจัดหมู่อะซิทิล และน้ำหนักโมเลกุลของไคโตแซนทั้ง 9 ชนิด จากตารางที่ 9 ต่อสมบัติการเกิดอิมัลชัน โดยทำการวิเคราะห์สมบัติการเกิดอิมัลชัน ประกอบด้วยความหนืด ความสามารถในการเกิดอิมัลชัน ความคงตัวของอิมัลชัน ขนาดอนุภาคและการกระจายตัวของเม็ดไขมัน ได้ผลดังนี้

3.2.1 ความหนืดของอิมัลชัน (emulsion viscosity)

นำไคโตแซนทั้ง 9 ชนิด (ตารางที่ 9) ซึ่งมีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลและน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน มาเตรียมอิมัลชันภายใต้สภาวะที่ผ่านการคัดเลือกจากข้อ 3.1 คือสารละลายไคโตแซนที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1.5 และ 2.0 โดยมีอัตราส่วนระหว่างสารละลายไคโตแซนต่อน้ำมันพืช 9:1 ทำการเก็บรักษาอิมัลชันที่อุณหภูมิห้อง (25-28 องศาเซลเซียส) เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง แล้ววัดค่าความหนืดของอิมัลชัน พบว่าเมื่อระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลเพิ่มขึ้น น้ำหนักโมเลกุลลดลง ส่งผลให้ความหนืดของอิมัลชันมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางภาคผนวกที่ 11) (ตารางที่ 14) ทั้งนี้อาจเนื่องจากในกระบวนการผลิตไคโตแซนที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลสูง ต้องใช้ความเข้มข้นด่าง และระยะเวลาในการกำจัดหมู่อะซิทิลเพิ่มขึ้น ส่งผลให้สมบัติของไคโตแซนเปลี่ยนแปลงไป โดยไคโตแซนที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลสูงมักเป็นกลุ่มที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ มีโครงสร้างเป็นพอลิเมอร์ขนาดเล็ก เมื่อละลายในสารละลายกรด ทำให้เกิดพันธะ และเกิดการประสานตัวระหว่างโมเลกุลหรืออนุภาคขนาดใหญ่ ส่งผลให้ความหนืดของอิมัลชันมีค่าเพิ่มขึ้น ความหนืดของอิมัลชันจึงมีค่าลดลง (ภาวดี เมธะคานนท์ และคณะ, 2542; Rodriguez *et al.,* 2002; No *et al.,* 2000; Hosokawa *et al.,* 1990; Bough *et al.,* 1978; Wu and Bough, 1978; Muzzarelli, 1977) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองอื่นที่พบว่าอิมัลชันซึ่งเตรียมจากไคโตแซนที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลสูง (ร้อยละ 95) มีความหนืดของอิมัลชันน้อยกว่าที่ระดับการกำจัดหมู่ อะซิทิลต่ำ (ร้อยละ 75) (Rodriguez *et al.,* 2002)

นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อระดับความเข้มข้นของไคโตแซนเพิ่มขึ้น ความหนืดของอิมัลชันมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางภาคผนวกที่ 11) (ตารางที่ 14) เนื่องจากที่ระดับความเข้มข้นสูง มีปริมาณไคโตแซนละลายอยู่ในสารละลายมาก ทำให้เกิดพันธะและการประสานตัวระหว่างโมเลกุลหรืออนุภาคจำนวนมาก ส่งผลให้ความหนืดของอิมัลชันมีค่าเพิ่มขึ้น (Rodriguez *et al.,* 2000; Hosokawa *et al.,* 1990) และยังพบว่าความหนืดของตัวทำกระจาย

(continuous phase) ในการทดลองนี้คือสารละลายไคโตแซน เป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อความหนืดของอิมัลชัน ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองอื่นที่พบว่าเมื่อความหนืดของสารละลายไคโตแซนมีค่าเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ความหนืดของอิมัลชันมีค่าเพิ่มขึ้น (Rodeiguez *et al.,* 2002; Del *et al.,* 1999)

ตารางที่ 14 ความหนืดของอิมัลชันที่เตรียมจากไคโตแซนที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลและน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน

Table 14. Emulsion viscosity from chitosan with different degree of deacetylation and molecular weight

Degree of deacetylation (%) (actual value)	Molecular weight (kDa) (actual value)	Viscosity (cps)*	
		1.5% Chitosan solution	2.0% Chitosan solution
75-80 (79.96)	100-500 (419.22)	77.11 ± 0.10^{gB}	134.06 ± 0.82^{fA}
75-80 (78.63)	600-1000 (943.54)	107.33 ± 0.88^{dB}	180.78 ± 2.01^{dA}
75-80 (78.55)	1100-1500 (1326.74)	192.67 ± 1.45^{aB}	227.83 ± 0.50^{aA}
81-85 (84.87)	100-500 (213.32)	74.89 ± 1.68^{hB}	130.72 ± 1.40^{gA}
81-85 (83.92)	600-1000 (768.48)	103.89 ± 0.79^{eB}	179.06 ± 1.29^{dA}
81-85 (83.41)	1100-1500 (1208.34)	190.94 ± 0.92^{bB}	222.61 ± 1.67^{bA}
86-90 (87.12)	100-500 (219.57)	70.00 ± 0.44^{iB}	126.94 ± 0.54^{hA}
86-90 (87.04)	600-1000 (672.96)	96.83 ± 0.50^{fB}	174.72 ± 0.25^{eA}
86-90 (86.98)	1100-1500 (1230.31)	185.00 ± 0.83^{cB}	216.61 ± 1.78^{cA}

อักษรตัวพิมพ์เล็กที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)
อักษรตัวพิมพ์ใหญ่ที่ต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)
* ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ * Mean ± standard deviation (n=3)
Different small letters in the same column indicate the significant differences ($p<0.05$)
Different capital letters in the same row indicate the significant differences ($p<0.05$)

3.2.2 ความสามารถในการเกิดอิมัลชันและความคงตัวของอิมัลชัน (emulsion activity and emulsion stability)

นำอิมัลชันซึ่งเตรียมจากไคโตแซนทั้ง 9 ชนิด (ตารางที่ 9) ซึ่งมีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลและน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน มาวิเคราะห์ความสามารถในการเกิดอิมัลชันและความคงตัวของอิมัลชันตามวิธีในข้อ 3.1.2 พบว่าเมื่อระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลเพิ่มขึ้น น้ำหนักโมเลกุลลด

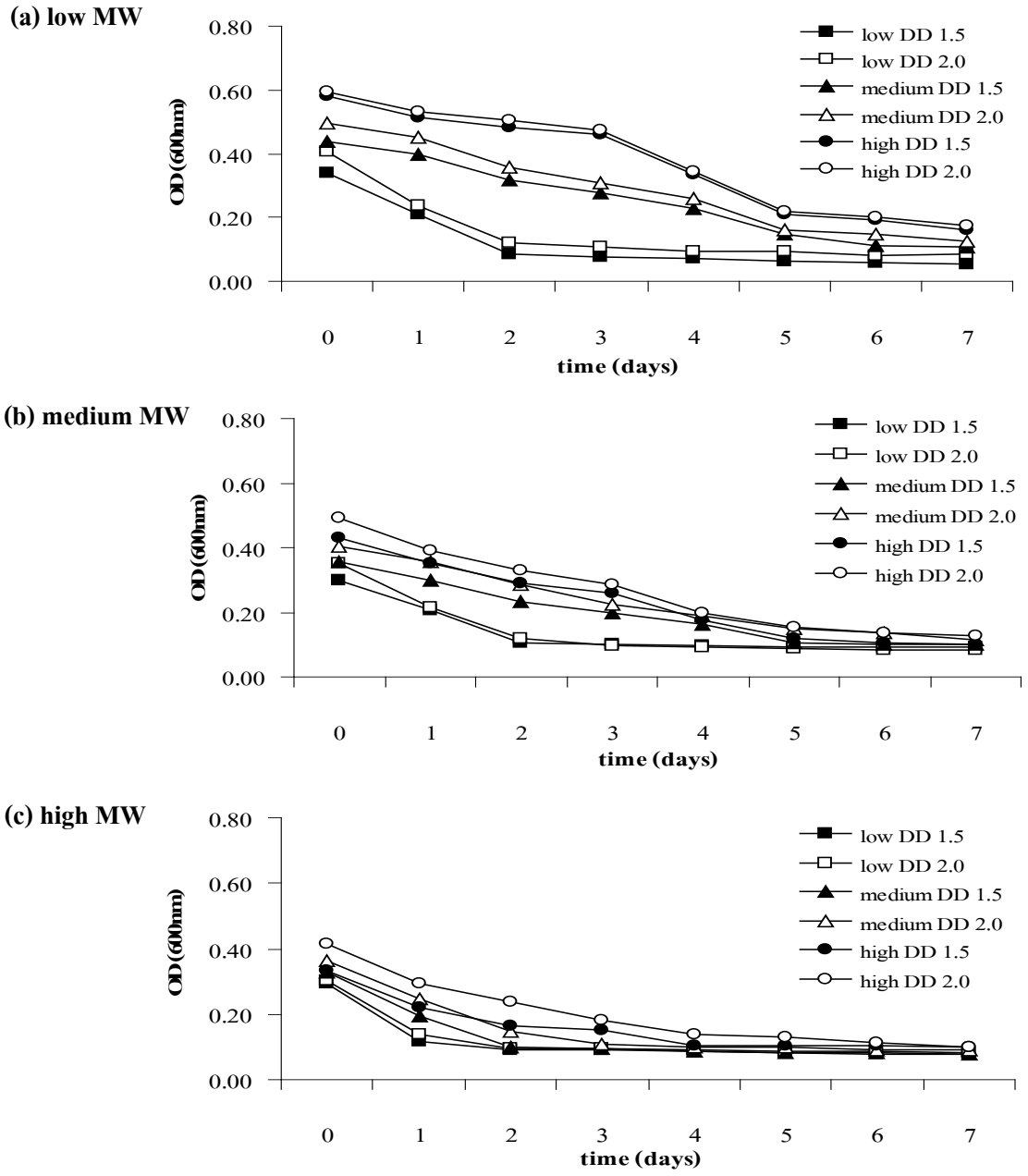
ลง ส่งผลให้ความขุ่นของอิมัลชันเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางภาคผนวกที่ 12) (ภาพที่ 7) เนื่องจากไคโตแซนที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลสูง มีหมู่อะมิโนอิสระ (NH_2) ซึ่งมีประจุบวกอยู่ในโครงสร้างโมเลกุลจำนวนมาก (Kurita, 1993; Muzzarelli, 1977) โดยประจุบวกเหล่านั้นจะเคลือบอยู่ที่ผิวของเม็ดไขมัน และเกิดแรงผลักระหว่างอนุภาคที่มีประจุเหมือนกัน (electrical repulsion) ส่งผลให้อนุภาคเม็ดไขมันไม่เข้ามารวมตัวกัน (Mun *et al.,* 2006; Thanasukarn *et al.,* 2006; Rodriguez *et al.,* 2002; McClements, 1999) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองอื่นที่พบว่าอิมัลชันจากไคโตแซนที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลสูง (ร้อยละ 77 และ 90) มีประจุบวกที่ผิวสัมผัสของอนุภาคเม็ดไขมันมากกว่าอิมัลชันที่เตรียมจากไคโตแซนที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลต่ำ (ร้อยละ 40) (Mun *et al.,* 2006) กล่าวได้ว่าอิมัลชันจากไคโตแซนที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลสูง มีความสามารถในการเกิดอิมัลชันและมีความคงตัวสูง

นอกจากนี้อาจเนื่องจากในกระบวนการผลิตไคโตแซนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ต้องใช้กรดในการไฮโดรไลส์ ทำให้โครงสร้างของไคโตแซนอาจถูกตัดที่พันธะ β-glycosidic กลายเป็นพอลิเมอร์ขนาดเล็กลง พร้อมทั้งส่งผลให้มีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลสูงขึ้น จึงมีหมู่อะมิโนอิสระ (NH_2) ซึ่งเป็นประจุบวกอยู่ในโครงสร้างโมเลกุลจำนวนมาก (ภาวดี เมธะคานนท์ และคณะ, 2542; Winterowd and Sandford, 1995; Kurita, 1993; Muzzarelli, 1977) โดยประจุบวกเหล่านั้นจะเคลือบอยู่ที่ผิวของเม็ดไขมัน และเกิดแรงผลักระหว่างอนุภาคที่มีประจุเหมือนกัน (electrical repulsion) ส่งผลให้อนุภาคเม็ดไขมันไม่เข้ามารวมตัวกัน (Mun *et al.,* 2006; Thanasukarn *et al.,* 2006; Rodriguez *et al.,* 2002; McClements, 1999) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองอื่นที่พบว่าอิมัลชันที่เตรียมจากไคโตแซนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำมีประจุบวกที่ผิวสัมผัสของอนุภาคเม็ดไขมันประมาณ +56.9 มิลลิโวล ซึ่งมีค่ามากกว่าที่น้ำหนักโมเลกุลปานกลาง (+50.7 มิลลิโวล) และที่น้ำหนักโมเลกุลสูง (+50.4 มิลลิโวล) ตามลำดับ (Mun *et al.,* 2006) กล่าวได้ว่าอิมัลชันที่เตรียมจาก ไคโตแซนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ มีความสามารถในการเกิดอิมัลชันและความคงตัวสูง

ในการทดลองนี้ยังพบว่า เมื่อความเข้มข้นของไคโตแซนเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 1.5 เป็น 2.0 มีความขุ่นของอิมัลชันเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางภาคผนวกที่ 12) (ภาพที่ 7) เนื่องจากที่ระดับความเข้มข้นสูงมีปริมาณไคโตแซนอยู่ในตัวอย่างอิมัลชันมาก ทำให้เกิดพันธะและการประสานตัวระหว่างโมเลกุลหรืออนุภาคจำนวนมาก จึงช่วยลดการรวมตัวของอนุภาคเม็ดไขมัน ส่งผลให้อิมัลชันมีความสามารถในการเกิดอิมัลชันและมีความคงตัวสูงขึ้น (Ogawa *et al.,* 2003; Rodriguez *et al.,* 2000; Hosokawa *et al.,* 1990)

จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่าอิมัลชันจากไคโตแซนที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลสูง (ร้อยละ 86-90) มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ (100-500 กิโลดาลตัน) และระดับความเข้มข้นของ

ไคโตแซนร้อยละ 2.0 มีความสามารถในการเกิดอิมัลชันและมีความคงตัวของอิมัลชันมากที่สุด นำอิมัลชันดังกล่าวมาใช้ในการวิเคราะห์ขนาดอนุภาคและการกระจายตัวของเม็ดไขมันในข้อ 3.2.3 ต่อไป



ภาพที่ 7 ผลของระดับการกำจัดหมู่อะซิทิล (DD) และน้ำหนักโมเลกุล (MW) ของไคโตแซนต่อความสามารถในการเกิดอิมัลชันและความคงตัวของอิมัลชัน

Figure 7. Effect of degree of deacetylation (DD) and molecular weight (MW) of chitosan on emulsion activity and emulsion stability

3.2.3 ขนาดอนุภาคและการกระจายตัวของเม็ดไขมันในตัวอย่างอิมัลชัน

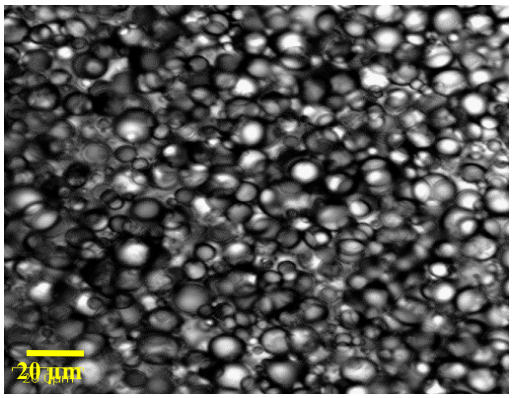
(Droplet size and droplet distribution in emulsion)

การศึกษาขนาดอนุภาคและการกระจายตัวของเม็ดไขมันในตัวอย่างอิมัลชันที่มีความคงตัวของอิมัลชันสูงที่สุด ซึ่งผ่านการคัดเลือกจากข้อ 3.2.2 โดยอิมัลชันดังกล่าวผลิตจากไคโตแซนที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลสูง (ร้อยละ 86-90) มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ (100-500 กิโลดาลตัน) และมีระดับความเข้มข้นของไคโตแซนร้อยละ 2.0 จากการทดลองพบว่าอิมัลชันมีขนาดของอนุภาคเม็ดไขมันอยู่ในช่วง 8-10 ไมโครเมตร จัดได้ว่าอิมัลชันที่ผลิตได้มีขนาดอนุภาคของเม็ดไขมันขนาดเล็กเมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองอื่นที่มีขนาดอนุภาคของเม็ดไขมันอยู่ในช่วง 14 ถึง 120 ไมโครเมตร (Del *et al.,*1999) นอกจากนี้พบว่าตัวอย่างอิมัลชันมีการกระจายตัวของเม็ดไขมันอย่างสม่ำเสมอ (ภาพที่ 8) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองอื่นที่พบว่าอิมัลชันซึ่งเตรียมจากไคโตแซนที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลสูง (ร้อยละ 89 และ 95) มีลักษณะการกระจายตัวของอนุภาคเม็ดไขมันสม่ำเสมอ ในขณะที่อิมัลชันที่เตรียมจากไคโตแซนที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลต่ำ (ร้อยละ 75) มีการกระจายตัวของอนุภาคเม็ดไขมันไม่สม่ำเสมอ และมีขนาดอนุภาคเม็ดไขมันขนาดใหญ่ เนื่องจากเกิดการเคลื่อนที่เข้ามาจับตัวกัน (coalescence) ทำให้อิมัลชันไม่คงตัว (Rodriguez *et al.,* 2002; Del *et al.,*1999; McClements, 1999)

นอกจากนี้ยังมีผลการทดลองอื่นที่พบว่าอิมัลชันจากไคโตแซนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ มีขนาดอนุภาคเม็ดไขมันขนาดเล็ก ในขณะที่อิมัลชันที่เตรียมจากไคโตแซนที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง มีขนาดอนุภาคเม็ดไขมันขนาดใหญ่ (Mun *et al.,* 2006) เนื่องจากไคโตแซนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ มีโครงสร้างเป็นพอลิเมอร์ขนาดเล็ก มีหมู่อะมิโนอิสระ (NH_2) ที่มีประจุบวกอยู่ในโครงสร้างโมเลกุลจำนวนมาก (ภาวดี เมธะคานนท์ และคณะ, 2542; Winterowd and Sandford, 1995; Kurita, 1993; Muzzarelli, 1977) โดยประจุบวกเหล่านั้นจะเคลือบอยู่ที่ผิวของเม็ดไขมัน และเกิดแรงผลักระหว่างอนุภาคที่มีประจุเหมือนกัน (electrical repulsion) ส่งผลให้อนุภาคเม็ดไขมันไม่เข้ามารวมตัวกัน ดังนั้นอนุภาคของเม็ดไขมันที่ได้จึงมีขนาดเล็ก (Mun *et al.,* 2006; Thanasukarn *et al.,* 2006; Rodriguez *et al.,* 2002; Del *et al.,*1999; McClements, 1999)

จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าอิมัลชันที่เตรียมจากไคโตแซนที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลสูง (ร้อยละ 86-90) มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ (100-500 กิโลดาลตัน) และสารละลายไคโตแซนมีความเข้มข้นสูง (ร้อยละ 2.0) มีอนุภาคเม็ดไขมันขนาดเล็ก และมีการกระจายตัวของเม็ดไขมันอย่างสม่ำเสมอ ซึ่งเป็นลักษณะที่ดีของอิมัลชัน ประกอบกับผลการทดลองที่ผ่านมาพบว่าอิมัลชันที่เตรียมจากไคโตแซนดังกล่าวมีความคงตัวของอิมัลชันสูงที่สุด ดังนั้นจึงนำไคโตแซนดัง

กล่าวไปใช้ในการศึกษาผลของการประยุกต์ใช้ไคโตแซนทดแทนไข่แดงในการผลิตผลิตภัณฑ์น้ำสลัดในการทดลองข้อ 4 ต่อไป



ภาพที่ 8 ขนาดอนุภาคและการกระจายตัวของเม็ดไขมันในตัวอย่างอิมัลชัน

Figure 8. Droplet size and droplet distribution of emulsion

4. การประยุกต์ใช้ไคโตแซนทดแทนไข่แดงในการผลิตผลิตภัณฑ์น้ำสลัด

นำไคโตแซนที่ผ่านการคัดเลือกจากข้อ 3.2.2 ซึ่งเป็นชุดการทดลองที่มีความคงตัวของอิมัลชันสูงสุด มาศึกษาผลของการประยุกต์ใช้ไคโตแซนทดแทนไข่แดงในการผลิตผลิตภัณฑ์น้ำสลัด โดยใช้ไคโตแซนที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลร้อยละ 86-90 มีน้ำหนักโมเลกุล 100-500 กิโลดาลตัน และความเข้มข้นของสารละลายไคโตแซนร้อยละ 2.0 ในการเตรียมผลิตภัณฑ์น้ำสลัด โดยมีอัตราส่วนของตัวทำอิมัลชัน (ไข่แดง และสารละลายไคโตแซน) ที่ผสมในน้ำสลัดแตกต่างกัน 3 สูตร คือ สูตรที่ 1 (ไข่แดงร้อยละ 10) สูตรที่ 2 (ไข่แดงร้อยละ 5 และสารละลายไคโตแซนร้อยละ 0.5) สูตรที่ 3 (สารละลายไคโตแซนร้อยละ 1.0) เก็บรักษาน้ำสลัดที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนการวิเคราะห์สมบัติของน้ำสลัด ได้ผลการทดลองดังนี้

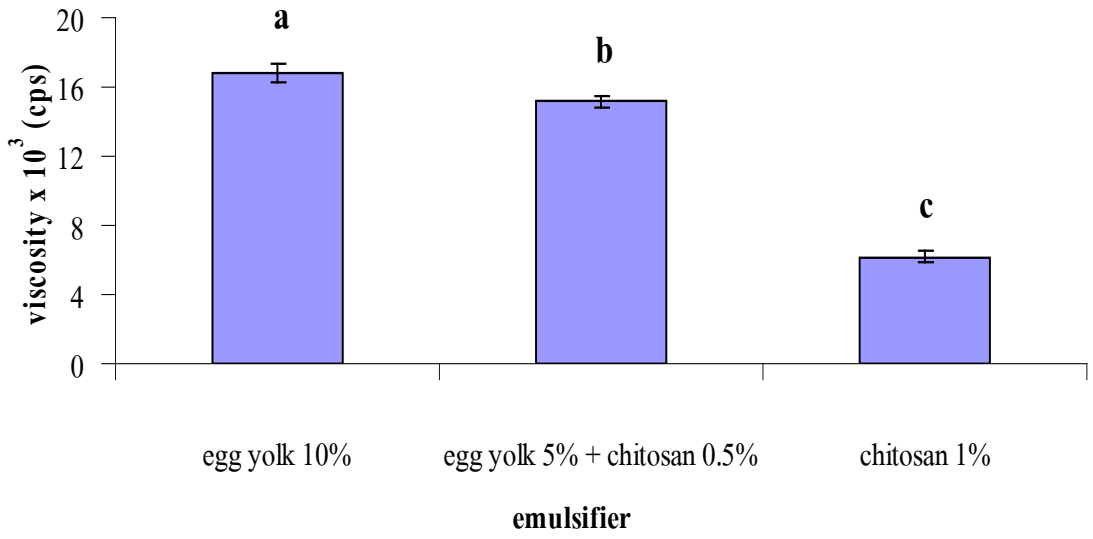
4.1 ความหนืดของน้ำสลัด (viscosity of salad dressing)

เมื่อนำน้ำสลัดที่มีอัตราส่วนของตัวทำอิมัลชันแตกต่างกัน 3 สูตร มาวัดค่าความหนืด พบว่าน้ำสลัดสูตรที่ 1 ซึ่งมีเฉพาะไข่แดงเป็นตัวทำอิมัลชัน มีความหนืดสูงกว่าน้ำสลัดสูตรที่ 2 และ 3 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางภาคผนวกที่ 13) (ภาพที่ 9) เนื่องจากไลโปโปรตีนในไข่แดงมีโครงสร้างโมเลกุลที่มีความสามารถในการจับน้ำ จับไขมันสูง (amphiphilic polyelectrolytes) และจัดได้ว่าเป็นตัวทำอิมัลชันที่มีขนาดใหญ่ ซึ่งทำหน้าที่รักษาความคงตัวของอิมัลชัน (Gulimoneau and Kulozik, 2005)โดยใช้กลไกการเพิ่มประจุบนพื้นผิวของอนุภาคเม็ดไขมัน (charge stabilization) และกลไกการกีดขวางที่พื้นผิวของอนุภาคเม็ดไขมันในระดับโมเลกุลและระดับอนุภาค (steric

stabilization) ทำให้เกิดพันธะและการประสานตัวระหว่างโมเลกุลหรืออนุภาคจำนวนมาก ส่งผลให้น้ำสลัดมีความหนืดสูง (Guilmoneau and Kulozik, 2005; McClement, 1999)

ในขณะเดียวกันกลับพบว่าน้ำสลัดสูตรที่ 2 ซึ่งมีการใช้ไข่แดงร่วมกับสารละลายไคโตแซนในการทำหน้าที่เป็นตัวทำอิมัลชัน มีค่าความหนืดน้อยกว่าน้ำสลัดสูตรที่ 1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางภาคผนวกที่ 13) (ภาพที่ 9) ทั้งที่ไคโตแซนก็มีโครงสร้างโมเลกุลที่มีความสามารถในการจับน้ำและจับไขมันได้เช่นกัน (Amphiphilic polyelectrolytes) (Rodriguez *et al.,* 2002) อาจเป็นเพราะไคโตแซนเป็นอิมัลชันที่มีขนาดเล็ก อีกทั้งมีการลดปริมาณไข่แดงลงเหลือเพียงร้อยละ 5 ทำให้มีปริมาณไลโปโปรตีนในการทำหน้าที่เป็นตัวทำอิมัลชันลดลง ส่งผลให้น้ำสลัดมีค่าความหนืดลดลง

นอกจากนี้พบว่าน้ำสลัดสูตรที่ 3 ซึ่งมีเฉพาะสารละลายไคโตแซนเป็นตัวทำอิมัลชัน เกิดการแยกชั้นระหว่างส่วนของน้ำและไขมันอย่างชัดเจน อาจเนื่องมาจากอัตราส่วนระหว่างสารละลายไคโตแซนและน้ำมันที่ใช้ไม่เหมาะสม ซึ่งผลการทดลองข้อ 3.1 พบว่าอัตราส่วนระหว่างสารละลายไคโตแซนต่อน้ำมันพืชที่เหมาะสมคือ 9:1 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) ในขณะที่ปริมาณน้ำมันพืชในน้ำสลัดที่ทำการผลิตมีสูงถึงร้อยละ 68 ของน้ำหนักส่วนผสมทั้งหมด ส่งผลให้มีปริมาณไคโตแซนไม่เพียงพอในการเคลือบที่ผิวของอนุภาคเม็ดไขมัน ทำให้น้ำสลัดที่ผลิตได้ไม่คงตัว (Mun *et al.,* 2006) ส่งผลให้มีค่าความหนืดต่ำที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำสลัดสูตรอื่น (ภาพที่ 9)



ภาพที่ 9 ความหนืดของน้ำสลัดที่เตรียมจากตัวทำอิมัลชันแตกต่างกัน บาร์=ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ ตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

Figure 9. Viscosity of salad dressing with different emulsifier Bars represent S.D. (n=3) Different letters on the bars indicate the significant differences ($p<0.05$)

4.2 พฤติกรรมการไหลของน้ำสลัด (rheology behavior of salad dressing)

เมื่อนำน้ำสลัดที่มีอัตราส่วนของตัวทำอิมัลชันแตกต่างกัน 3 สูตร มาศึกษาลักษณะพฤติกรรมการไหลของน้ำสลัด โดยทำการพล๊อตกราฟระหว่างค่าแรงเค้นเฉือน (shear stress) กับอัตราเฉือน (shear rate) (ภาพที่ 10) พบว่าน้ำสลัดสูตรที่ 1 (ไข่แดงร้อยละ 10) น้ำสลัดสูตรที่ 2 (ไข่แดงร้อยละ 5 + สารละลายไคโตแซนร้อยละ 0.5) และน้ำสลัดสูตรที่ 3 (สารละลายไคโตแซนร้อยละ 1) ที่ค่าแรงเค้นเฉือนมีค่าต่ำ น้ำสลัดจะไม่มีการเคลื่อนที่แต่อย่างใด ต้องเพิ่มแรงเค้นเฉือนจนน้ำสลัดเกิดการเคลื่อนที่ โดยเรียกค่าแรงเค้นเฉือนที่มีผลทำให้ของไหลเกิดการเคลื่อนที่ ว่าค่า yield stress (วันชัย สุทธินุ่น, 2544; McClement, 1999; Toledo, 1991) น้ำสลัดสูตรที่ 1 มีค่า yield stress สูงกว่าน้ำสลัดสูตรที่ 2 และ 3 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางภาคผนวกที่ 14) (ตารางที่ 15) เนื่องจากไลโปโปรตีนในไข่แดงทำให้เกิดพันธะและการประสานตัวระหว่างโมเลกุลหรืออนุภาคจำนวนมาก ส่งผลให้น้ำสลัดมีความหนืดสูง (Guilmoneau and Kulozik, 2005; McClement, 1999) ทำให้ต้องใช้แรงเค้นเฉือนมากในการทำให้ของไหลเกิดการเคลื่อนที่

ในขณะเดียวกันกลับพบว่าน้ำสลัดสูตรที่ 2 ซึ่งมีการใช้ไข่แดงร่วมกับสารละลายไคโตแซนในการทำหน้าที่เป็นตัวทำอิมัลชัน มีค่า yield stress น้อยกว่าน้ำสลัดสูตรที่ 1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางภาคผนวกที่ 14) อาจเป็นเพราะไคโตแซนเป็นอิมัลชันที่มีขนาดเล็กอีกทั้งมีการลดปริมาณไข่แดง ทำให้มีปริมาณไลโปโปรตีนในการทำหน้าที่เป็นตัวทำอิมัลชันลดลง ส่งผลให้น้ำสลัดมีค่าความหนืดลดลง จึงใช้แรงเค้นเฉือนน้อยในการทำให้ของไหลเกิดการเคลื่อนที่

นอกจากนี้พบว่าน้ำสลัดสูตรที่ 3 ซึ่งมีเฉพาะสารละลายไคโตแซนเป็นตัวทำอิมัลชัน มีค่า yield stress น้อยที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำสลัดสูตรอื่น เนื่องจากมีปริมาณสารละลายไคโตแซนไม่มากพอในการเคลือบที่ผิวของอนุภาคเม็ดไขมัน ทำให้น้ำสลัดไม่คงตัว เกิดการแยกชั้นระหว่างส่วนของน้ำและน้ำมันอย่างชัดเจน (Mun *et al.,* 2006) จึงใช้แรงเค้นเฉือนน้อยในการทำให้ของไหลเกิดการเคลื่อนที่

ตารางที่ 15 ค่าแรงเค้นเฉือนที่ทำให้น้ำสลัดเกิดการเคลื่อนที่

Table 15. Yield stress of salad dressing

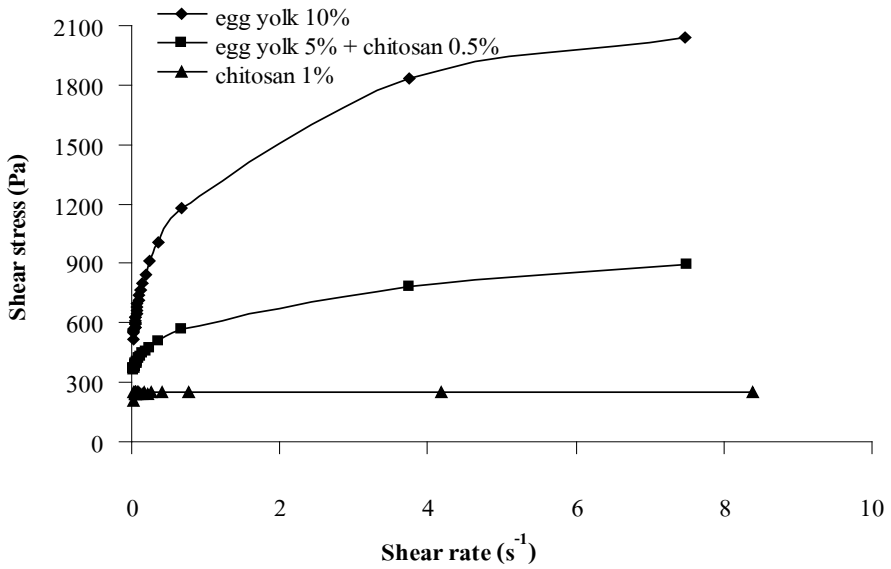
Salad dressing formula	Emulsifier	Yield stress (Pa)*
1	Egg yolk 10%	517.24±13.05[a]
2	Egg yolk 5%+Chitosan 0.5%	361.38±8.50[b]
3	Chitosan 1%	207.21±10.15[c]

ตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

* ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ * Mean ± standard deviation (n=3)

Different letters in the same column indicate the significant differences ($p<0.05$)

จากกราฟระหว่างค่าแรงเค้นเฉือน (shear stress) กับ อัตราเฉือน (shear rate) (ภาพที่ 10) พบว่าน้ำสลัดสูตรที่ 1 และ 2 มีลักษณะของกราฟเป็นเส้นโค้งขึ้น ซึ่งเป็นลักษณะกราฟของไหลที่มีพฤติกรรมการไหลแบบนอน-นิวโตเนียน การที่เกิดลักษณะการไหลประเภทนี้เป็นเพราะภายในของไหลมีขนาดของอนุภาคที่มีขนาดและรูปร่างต่างกัน ส่งผลให้ในระหว่างช่วงการไหลเกิดลักษณะไม่ราบรื่น (วันชัย สุทธินุ่น, 2544; McClement, 1999; Toledo, 1991) นอกจากนี้พบว่าลักษณะทางกายภาพของน้ำสลัดสูตรที่ 3 เกิดการแยกชั้นระหว่างส่วนของน้ำและน้ำมันพืชอย่างชัดเจน เนื่องจากอัตราส่วนระหว่างสารละลายไคโตแซนและน้ำมันพืชที่ใช้ไม่เหมาะสม จึงมีปริมาณไคโตแซนไม่เพียงพอในการเคลือบที่ผิวของอนุภาคเม็ดไขมัน (Mun *et al.,* 2006) ดังนั้นค่าที่วัดได้น่าจะเป็นค่าแรงเค้นเฉือนของน้ำมันซึ่งแยกชั้นอยู่ส่วนบนของน้ำสลัดสูตรที่ 3 ทำให้มีลักษณะของกราฟเป็นเส้นตรง ซึ่งเป็นลักษณะกราฟของไหลที่มีพฤติกรรมการไหลแบบนิวโตเนียน คือค่าแรงเค้นเฉือนมีค่าคงที่เมื่ออัตราเฉือนเพิ่มขึ้น (McClement, 1999; Toledo, 1991)



ภาพที่ 10 พฤติกรรมการไหลของน้ำสลัดที่มีตัวทำอิมัลชันแตกต่างกัน

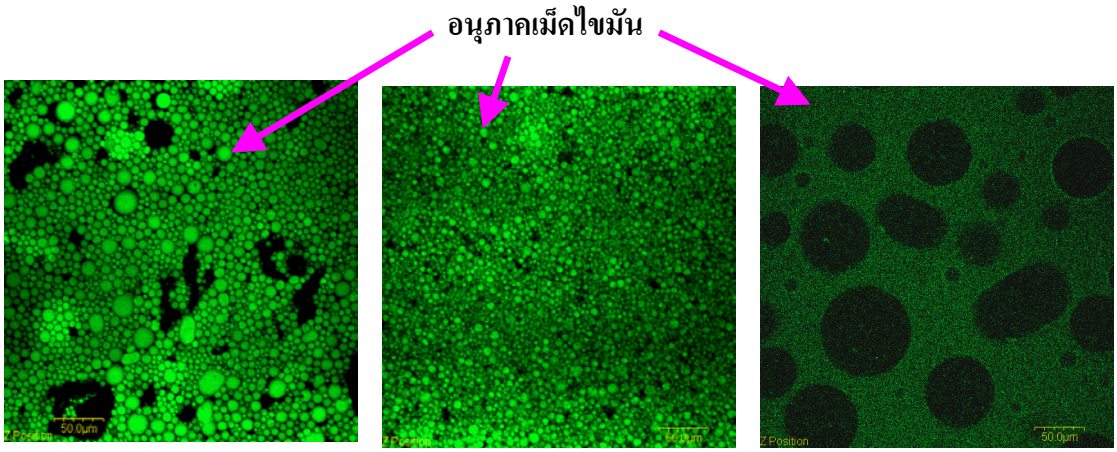
Figure 10. Rheology behavior of salad dressing with different emulsifier

4.3 ขนาดอนุภาคและการกระจายตัวของเม็ดไขมัน (droplet size and droplet distribution of oil droplet)

เมื่อนำน้ำสลัดที่มีอัตราส่วนของตัวทำอิมัลชันแตกต่างกัน 3 สูตร มาเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง แล้ววัดขนาดอนุภาคและการกระจายตัวของเม็ดไขมันของน้ำสลัดโดยวิธี laser scanning confocal microscope (ภาพที่ 11) พบว่าน้ำสลัดสูตรที่ 1 ซึ่งมีไข่แดงเป็นตัวทำอิมัลชัน มีขนาดอนุภาคขนาดเล็กใหญ่ปะปนกันไป อีกทั้งยังมีลักษณะการกระจายตัวไม่สม่ำเสมอเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำสลัดสูตรที่ 2 ซึ่งมีไข่แดงและสารละลายไคโตแซนเป็นตัวทำอิมัลชัน ซึ่งมีอนุภาคของเม็ดไขมันขนาดเล็กและมีการกระจายตัวของเม็ดไขมันสม่ำเสมอ เนื่องจากไคโตแซนเป็นตัวทำอิมัลชันที่มีขนาดเล็ก และสามารถลดแรงตึงผิวได้มาก แต่ไม่มีความสามารถในการรักษาความคงตัวของอิมัลชันในระยะยาว จำเป็นต้องใช้ตัวทำอิมัลชันที่มีขนาดใหญ่ ซึ่งในการทดลองครั้งนี้ คือไลโปโปรตีนในไข่แดง มาทำงานร่วมกันในการรักษาความคงตัวของอิมัลชันโดยใช้กลไกการเพิ่มประจุบนพื้นผิวของอนุภาคเม็ดไขมัน (charge stabilization) และกลไกการกีดขวางที่พื้นผิวของอนุภาคเม็ดไขมันในระดับโมเลกุลและระดับอนุภาค (steric stabilization) ทำให้เกิดพันธะและการประสานตัวระหว่างโมเลกุลหรืออนุภาคจำนวนมาก จึงช่วยลดการเคลื่อนที่เข้าหากันของอนุภาคเม็ดไขมัน ทำให้มีขนาดอนุภาคเม็ดไขมันขนาดเล็ก และมีการกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ น้ำสลัดจึงมีความคงตัวสูง (Guilmoneau and Kulozik, 2005; McClement, 1999) นอกจากนี้มีการ

ศึกษาพบว่าไคโตแซนมีโครงสร้างโมเลกุลที่มีความสามารถในการจับน้ำและไขมัน (amphiphilic polyelectrolytes) และความหนืดของไคโตแซนยังช่วยให้ผลิตภัณฑ์อิมัลชันเกิด ความคงตัวมากขึ้น(Aoki *et al.,* 2005; Marie *et al.,* 2002; Ogawa *et al.,* 2003; Rodriguez *et al.,* 2002; Thanasukarn *et al.,* 2006)

จากการทดลองยังพบว่าน้ำสลัดสูตรที่ 3 ซึ่งมีเฉพาะสารละลายไคโตแซนเป็นตัวทำอิมัลชัน เกิดการแยกชั้นระหว่างส่วนของน้ำและไขมันอย่างชัดเจน อาจเนื่องมาจากอัตราส่วนระหว่างสารละลายไคโตแซนและน้ำมันที่ใช้ไม่เหมาะสม ซึ่งผลการทดลองข้อ 3.1 พบว่าอัตราส่วนระหว่างสารละลายไคโตแซนต่อน้ำมันพืชที่เหมาะสมคือ 9:1 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) ในขณะที่ปริมาณน้ำมันพืชในน้ำสลัดที่ทำการผลิตมีสูงถึงร้อยละ 68 ของน้ำหนักส่วนผสมทั้งหมด ส่งผลให้มีปริมาณไคโตแซนไม่เพียงพอในการเคลือบที่ผิวของอนุภาคเม็ดไขมัน ทำให้น้ำสลัดที่ผลิตได้ไม่คงตัว (Mun *et al.,* 2006) ส่งผลให้ไม่สามารถวัดขนาดอนุภาคของเม็ดไขมันได้



ภาพที่ 11 ขนาดอนุภาคและการกระจายตัวของเม็ดไขมันของน้ำสลัดที่มีตัวทำอิมัลชันแตกต่างกัน โดยกล้องจุลทรรศน์คอนโฟคอลเลเซอร์ กำลังขยาย 20 เท่า

Figure 11. Droplet size and droplet distribution of salad dressing with different emulsifier by laser scanning confocal microscope (20x)