



ไมโครเอนแคปซูเลชันของเบต้าแคโรทีนโดยคอมเพล็กซ์โคเอเซอร์เวชัน
ระหว่างเจลาติน และโพลีแซคคาไรด์

โดย

นางสาวณัชชา นีรันตร์รุ่งเรือง

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร)
ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
ปีการศึกษา 2559
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

ไมโครเอนแคปซูเลชันของเบต้าแคโรทีนโดยคอมเพล็กซ์โคเอเซอร์เวชัน
ระหว่างเจลาติน และโพลีแซคคาไรด์

โดย

นางสาวณัชชา นีรันตร์รุ่งเรือง



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร)
ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
ปีการศึกษา 2559
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

Microencapsulation of Beta-carotene by Complex Coacervation
between Gelatin and Polysaccharides

BY

Miss Nujja Nirunrungraung



A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS
FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE (FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY)
DEPARTMENT OF FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY
FACULTY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY
THAMMASAT UNIVERSITY
ACADEMIC YEAR 2016
COPYRIGHT OF THAMMASAT UNIVERSITY

มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

วิทยานิพนธ์

ของ

นางสาวณัชชา นรินทร์รุ่งเรือง

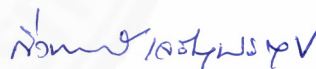
เรื่อง

ไมโครเอนแคปซูเลชันของเบต้าแคโรทีนโดยคอมเพล็กซ์โคเอเซอร์เวชัน
ระหว่างเจลาติน และโพลีแซคคาไรด์

ได้รับการตรวจสอบและอนุมัติ ให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร)

เมื่อ วันที่ 24 กรกฎาคม พ.ศ. 2560

ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์



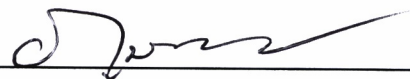
(รองศาสตราจารย์ ดร.กิงแก้ว เจริญพรสุข)

กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก



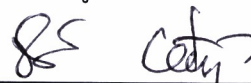
(รองศาสตราจารย์ ดร.จารุณี โลกสุวรรณ)

กรรมการสอบวิทยานิพนธ์



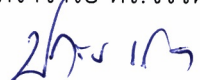
(ดร.ภูมินาถ ชื่นชมรัตน์)

กรรมการสอบวิทยานิพนธ์



(รองศาสตราจารย์ ดร.จิรวัดน์ ยงสวัสดิกุล)

คณบดี



(รองศาสตราจารย์ ปกรณ์ เสริมสุข)

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ไมโครเอนแคปซูลชั้นของเบต้าแคโรทีนโดยคอมเพล็กซ์ โคเอเซอร์เวชันระหว่างเจลาติน และโพลีแซคคาไรด์
ชื่อผู้เขียน	นางสาวณัชชา นรินทร์รุ่งเรือง
ชื่อปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร)
สาขาวิชา/คณะ/มหาวิทยาลัย	ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รองศาสตราจารย์ ดร.จารุณี โลกสุวรรณ
ปีการศึกษา	2559

บทคัดย่อ

คอมเพล็กซ์โคเอเซอร์เวชันเป็นวิธีหนึ่งในการทำไมโครเอนแคปซูลชั้นโดยใช้หลักการเกิดพันธะ electrostatic ของสารที่มีประจุตรงข้ามกันเพื่อห่อหุ้มสารที่ไวต่อการสลายตัวให้มีความคงตัวมากขึ้น งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการห่อหุ้มเบต้าแคโรทีนด้วยเจลาติน (GE) ร่วมกับโพลีแซคคาไรด์ (กัมอะราบิก, GA; กัมจากกากข้าวโพด, CFG; และคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส, CMC) ด้วยเทคนิคคอมเพล็กซ์โคเอเซอร์เวชัน ในขั้นตอนแรกศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเกิดโคเอเซอร์เวชันระหว่าง GE และโพลีแซคคาไรด์ โดยใช้โพลีแซคคาไรด์ 3 ชนิด (GA, CFG และ CMC) แปรอัตราส่วน GE ต่อโพลีแซคคาไรด์ 3 ระดับ (2:1, 1:1 และ 1:2) และแปรพีเอช 2-7 ประเมินผลโดยการวัดค่าความขุ่น ผลการศึกษาพบว่าชนิดของโพลีแซคคาไรด์ อัตราส่วน และพีเอช มีผลต่อค่าความขุ่น เมื่อพิจารณาอัตราส่วนของสารผสมพบว่า เมื่อปริมาณของโพลีแซคคาไรด์เพิ่มขึ้น ค่าความขุ่นสูงสุดจะเกิดที่ค่าพีเอชลดลง โดย GE:GA ที่อัตราส่วน 2:1, 1:1 และ 1:2 มีค่าความขุ่นสูงสุดที่พีเอช 4.3, 3.9 และ 3.6 ตามลำดับ GE:CFG ที่อัตราส่วน 2:1, 1:1 และ 1:2 มีค่าความขุ่นสูงสุดที่พีเอช 4.5, 4.4 และ 4.2 ตามลำดับ ส่วน GE:CMC ที่อัตราส่วน 2:1, 1:1 และ 1:2 มีค่าความขุ่นสูงสุดที่พีเอช 3.7, 3.1 และ 2.6 ตามลำดับ เมื่อนำสารผสมที่ให้ค่าความขุ่นสูงสุดดังกล่าวมาศึกษาการห่อหุ้มเบต้าแคโรทีน ประเมินผลโดยการวิเคราะห์ปริมาณเบต้าแคโรทีนที่ถูกห่อหุ้ม และปริมาณเบต้าแคโรทีนคงเหลือตัวในระหว่างการเก็บรักษา 7 วัน พบว่า GE:CMC ทุกอัตราส่วนจะมีปริมาณเบต้าแคโรทีนทั้งหมดสูงสุด รองลงมาเป็น GE:GA และ GE:CFG ตามลำดับ ในการศึกษาต่อไปจะทำการคัดเลือกอัตราส่วนของสารผสมแต่ละชนิดที่ให้ปริมาณของเบต้าแคโรทีนทั้งหมดสูงสุดมาศึกษา

zeta-potential และการกระจายตัวของขนาดอนุภาคของโคเอเซอร์เวตในช่วงพีเอชที่ครอบคลุมช่วงพีเอชที่ให้ค่าความขุ่นสูงสุด จากการศึกษาพบว่าค่าพีเอชที่ทำให้ค่า zeta-potential เข้าใกล้ศูนย์มีค่าใกล้เคียงกับค่าพีเอชที่เกิดความขุ่นสูงสุด และการกระจายตัวของขนาดอนุภาคที่พีเอชที่ให้ค่าความขุ่นสูงสุดมีการกระจายตัวของขนาดในช่วงแคบเมื่อเทียบกับพีเอชค่าอื่นๆ โดยสารผสม GE:CFG มีขนาดเล็กที่สุด (เฉลี่ย 8.02 μm) และมีการกระจายตัวของขนาดอนุภาคในช่วงแคบ GE:GA มีขนาดอนุภาคใหญ่ที่สุด (เฉลี่ย 69.15 μm) และมีการกระจายตัวของขนาดอนุภาคในช่วงกว้างกว่า GE:CFG ส่วน GE:CMC มีขนาดอนุภาคปานกลาง (เฉลี่ย 32.88 μm) และมีการกระจายตัวของขนาดอนุภาคกว้างกว่า GE:GA และเมื่อนำสารผสม GE:GA ที่อัตราส่วน 2:1, GE:CFG ที่อัตราส่วน 1:1 และ GE:CMC ที่อัตราส่วน 1:1 มาห่อหุ้มเบต้าแคโรทีนเปรียบเทียบกับสารห่อหุ้ม GA 6% พบว่า GA 6%, GE:GA, GE:CFG และ GE:CMC มีประสิทธิภาพในการห่อหุ้ม 65.87, 87.33, 80.57 และ 70.81 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมี spray dry yield 70.93, 45.72, 55.59 และ 20.10% ตามลำดับ ไมโครแคปซูล GA 6%, GE:GA, GE:CFG และ GE:CMC มีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 5.50, 5.94, 7.03 และ 2.57 μm ตามลำดับ ความสามารถในการละลายน้ำของ GA 6%, GE:GA, GE:CFG และ GE:CMC มีค่าเป็น 87.52, 54.20, 51.20 และ 79.29 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ จากการศึกษาสัณฐานวิทยาของไมโครแคปซูลพบว่าไมโครแคปซูลทั้ง 4 ชนิดมีลักษณะทรงกลมที่มีรอยบุ๋ม ผิวเรียบ ไม่พบรอยแตกที่ผิว และเมื่อนำไมโครแคปซูลมาประเมินความคงตัวในการห่อหุ้มเบต้าแคโรทีนพบว่า เมื่อระยะเวลาเพิ่มมากขึ้น ปริมาณเบต้าแคโรทีนคงเหลือจะลดลง การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสจะมีความคงตัวของไมโครแคปซูลมากกว่าที่ 37 องศาเซลเซียส และการเก็บรักษาในถุงลามิเนตพอยด์จะมีความคงตัวของไมโครแคปซูลมากกว่าการเก็บในถุงซิโพลีเอทิลีน

คำสำคัญ: โคเอเซอร์เวชัน, การห่อหุ้มสารสำคัญ, ไมโครแคปซูล, เบต้าแคโรทีน

Thesis Title	MICROENCAPSULATION OF BETA-CAROTENE BY COMPLEX COACERVATION BETWEEN GELATIN AND POLYSACCHARIDES
Author	Miss Nujja Nirunrungraung
Degree	Master of Science (Food Science and Technology)
Major Field/Faculty/University	Department of Food Science and Technology Faculty of Science and Technology Thammasat University
Thesis Advisor	Associate Professor Jarunee Loksuan, Ph.D.
Academic Years	2016

ABSTRACT

Complex coacervation is one of the methods for microencapsulation by using the electrostatic interaction between opposite charge polyelectrolytes to enhance the stability of active ingredients. The objective of this study was to identify the optimum condition to encapsulate beta-carotene using gelatin (GE) and polysaccharides (gum Arabic, GA; corn fiber gum, CFG; carboxymethyl cellulose, CMC) as a wall materials with complex coacervation technique. For primary study, the optimum condition of coacervates between GE and 3 types of polysaccharides (GA, CFG and CMC) at 3 levels of GE:polysaccharides ratio (2:1, 1:1 and 1:2) in the pH range 2-7 was evaluated by turbidity (OD600) analysis. The results showed that type of polysaccharides, ratio and pH affected the turbidity of the mixture. It was found that when the amount of polysaccharides increased, maximum turbidity value shifted to lower pH. GE:GA at ratio 2:1, 1:1 และ 1:2 had the highest turbidity at pH 4.3, 3.9 and 3.6, respectively. GE:CFG at ratio 2:1, 1:1 and 1:2 had the highest turbidity at pH 4.5, 4.4 and 4.2, respectively. GE:CMC at ratio 2:1, 1:1 และ 1:2 had the highest turbidity at pH 3.7, 3.1 and 2.6, respectively. The highest turbidity of those mentioned above were studied for encapsulating beta-carotene and retention of beta-carotene during storage time. The results showed that GE:CMC at every ratio

had higher total beta-carotene than GE:GA and GE:CMC, respectively. For further study, the optimal ratio of each mixture with high beta-carotene content was chosen for evaluating zeta-potential and particle size distribution of coacervates in the range of pH which covered the pH with maximum turbidity. The result showed that the pH that gave zeta-potential value nearby zero was correlated with the pH that gave a highest turbidity. At this pH also showed narrow particle size distribution when comparing with the other pH. GE:CFG showed the smallest size of coacervates (mean size 8.02 μm) with narrow size distribution. GE:GA gave the largest size of coacervates (mean size 69.15 μm) with a wider range of particle size than GE:CFG. Size of coacervates of GE:CMC was larger than GE:CFG but smaller than GE:GA (mean size 32.88 μm) with a wider range of particle size than GE:GA. The mixture of GE:GA at a ratio 2:1, GE:CFG at a ratio 1:1 and GE:CMC at a ratio 1:1 were used for encapsulated beta-carotene compared with GA 6% as a wall material. The result showed that microcapsules of GA 6%, GE:GA, GE:CFG and GE:CMC had 65.87, 87.33, 80.57 and 70.81% microencapsulation efficiency, respectively and the spray dry yield were 70.93, 45.72, 55.59 and 20.10%, respectively. Average size of microcapsules GA 6%, GE:GA, GE:CFG and GE:CMC were 5.50, 5.94, 7.03, 2.57 μm . The solubility of microcapsules GA 6%, GE:GA, GE:CFG and GE:CMC were 87.52, 54.20, 51.20 and 79.29%, respectively. From the study of microcapsules morphology found that four types of microcapsules were spherical with curvature and smooth surface without cracks or pores. The microcapsules was evaluated the stability of beta-carotene. It was discovered that along with the increasing storage time, encapsulated beta-carotene content was decreased. The microcapsules kept at 4°C were more stable than kept at 37°C. Also the microcapsules kept in laminated foil bag were more stable than in polyethylene zip lock bag.

Keywords: complex coacervation, microencapsulation, microcapsules, beta-carotene

กิตติกรรมประกาศ

การทำวิทยานิพนธ์สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความช่วยเหลือจากคณาจารย์ ความอนุเคราะห์ด้านทุนวิจัย การอำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือ และสถานที่จากศูนย์เครื่องมือคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี กำลังใจจากครอบครัว และความช่วยเหลือจากบุคลากรหลายท่าน ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.จารุณี โลกสุวรรณ ที่คอยให้คำชี้แนะสั่งสอนตลอดการทำวิทยานิพนธ์ และช่วยเหลือตรวจทาน แก้ไขวิทยานิพนธ์เล่มนี้อย่างเหมาะสม

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.กิงแก้ว เจริญพรสุข ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ รวมถึงอาจารย์ ดร.ภูมินาด ชื่นชมรัตน์ และรองศาสตราจารย์ ดร.จิรวัดน์ ยงสวัสดิกุล กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ที่ให้การพิจารณา และให้คำแนะนำในการทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้

ขอขอบคุณทุนสนับสนุนงานวิจัย จากกองทุนวิจัยมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ประเภททุนวิจัยทั่วไปสำหรับนักศึกษาบัณฑิตศึกษา ประจำปีงบประมาณ 2558 ในการสนับสนุนค่าใช้จ่ายเพื่อให้ได้งานวิจัยที่มีคุณภาพ

ขอขอบคุณ คุณภัทรเดช ขวัญอยู่ เจ้าหน้าที่ประจำศูนย์เครื่องมือกลางที่ให้ความร่วมมือให้ความช่วยเหลือ และอำนวยความสะดวกทั้งด้านสถานที่ เครื่องมืออุปกรณ์ในการทดลอง และให้คำแนะนำในการทดลองอย่างเหมาะสม

ขอขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ และพี่น้องทุกคนที่ให้กำลังใจ และสนับสนุนตลอดการทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้จนประสบความสำเร็จ

ขอขอบคุณคุณ ขวัญรักษ์ จันทร์ส่องศรี เจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการเคมีอาหารที่ช่วยเหลือในการทำวิจัยเป็นอย่างมาก

ขอขอบคุณนายเฉลิม จันทร์สม นักวิจัยชำนาญการ งานบริหารการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ อุปกรณ์เครื่องมือ อีกทั้งยังให้คำแนะนำ และช่วยเหลือตลอดการทำวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณอาจารย์ประจำภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร เพื่อน รุ่นพี่ และรุ่นน้องในภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหารที่ให้ความช่วยเหลือ ให้คำแนะนำ และเป็นกำลังใจให้ตลอดการทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้

นางสาวณัชชา นรินทร์รุ่งเรือง

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	(1)
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	(3)
กิตติกรรมประกาศ	(5)
สารบัญตาราง	(10)
สารบัญภาพ	(11)
รายการสัญลักษณ์และคำย่อ	(12)
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 บทนำ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	2
บทที่ 2 วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 Microencapsulation	3
2.2 Complex coacervation	3
2.2.1 ปัจจัยที่ส่งผลต่อการทำ complex coacervation	4
2.2.1.1 ชนิดของสารห่อหุ้ม	4
(1) Gum arabic	4
(2) Corn fiber gum	5
(3) Carboxymethyl cellulose	5
(4) Gelatin	6

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.2.1.2 อัตราส่วนของสารห่อหุ้ม และ pH	7
2.2.1.3 Ionic strength	7
2.3 สารสำคัญ	8
2.3.1 Beta-carotene	8
บทที่ 3 วิธีการวิจัย	9
3.1 วัตถุดิบ และสารเคมี	9
3.1.1 วัตถุดิบ	9
3.1.2 สารเคมี	9
3.2 อุปกรณ์ และเครื่องมือ	10
3.2.1 อุปกรณ์ และเครื่องมือสกัด corn fiber gum	10
3.3 วิธีการวิจัย และการวิเคราะห์ข้อมูล	11
3.3.1 การสกัด corn fiber gum (CFG)	11
3.3.1.1 การเตรียม de-starch corn fiber	11
3.3.1.2 การสกัด corn fiber gum	11
3.3.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเกิด coacervates ระหว่าง gelatin และ polysaccharides	12
3.3.2.1 ปัจจัยที่ศึกษา	12
(1) ชนิดของสาร	12
(2) อัตราส่วนของสาร	12
(3) pH	12
3.3.2.2 การเตรียมสารผสมเพื่อศึกษาอิทธิพลของ pH	12
(1) การเตรียมสารผสม	12
3.3.2.3 การคัดเลือกสารผสมแต่ละชนิดที่เหมาะสมเพื่อใช้ในการศึกษาการห่อหุ้ม beta-carotene	13
(1) การเตรียมอิมัลชัน	13
(2) การทำแห้งไมโครแคปซูล	13

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.3.2.4 การศึกษาการคัดเลือกสารผสมที่เหมาะสมเพื่อใช้เป็น สารห่อหุ้ม	13
(1) การเตรียมสารผสม	13
3.3.2.5 การประเมินผล	13
(1) การประเมินความขุ่น (Turbidity Test)	14
(2) ปริมาณ beta-carotene ที่ถูกห่อหุ้ม และความคงตัวในการห่อหุ้มสาร	14
(3) การประเมินค่า zeta-potential	14
(4) การวัดการกระจายตัวของขนาดอนุภาค coacervates	14
(5) สถิติที่ใช้ในการประเมินผล	15
3.3.3 การศึกษาคุณลักษณะของ beta-carotene microcapsules ที่เตรียมโดยใช้สภาวะที่เหมาะสม	15
3.3.3.1 ปัจจัยที่ศึกษา	15
(1) ชนิดของสารห่อหุ้ม	15
3.3.3.2 การเตรียมไมโครแคปซูล	15
3.3.3.3 การประเมินผล	15
(1) Microencapsulation efficiency (%ME) และ Spray dry yield (%)	15
(2) การกระจายตัวของขนาดอนุภาคไมโครแคปซูล	16
(3) ความสามารถในการละลายน้ำ (Solubility)	16
(4) สัณฐานวิทยาของไมโครแคปซูล	16
(5) ความคงตัวของ beta-carotene ระหว่างการเก็บรักษา	17
(6) สถิติที่ใช้ในการประเมินผล	17
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล	18
4.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเกิด coacervates ระหว่าง gelatin และ polysaccharides	18

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.1.1 การประเมินความขุ่น (Turbidity Test)	18
4.1.2 ปริมาณ beta-carotene ที่ถูกห่อหุ้ม และความคงตัวในการห่อหุ้มสาร	21
4.1.3 การประเมินค่า zeta-potential	25
4.1.4 การวัดการกระจายตัวของขนาดอนุภาค coacervates	27
4.2 การศึกษาคุณลักษณะของ beta-carotene microcapsules ที่เตรียมโดยใช้สภาวะที่เหมาะสม	32
4.2.1 %Microencapsulation efficiency (%ME) และ Spray dry yield (%)	32
4.2.2 การกระจายตัวของขนาดอนุภาคไมโครแคปซูล	35
4.2.3 ความสามารถในการละลายน้ำ (Solubility)	35
4.2.4 สัณฐานวิทยาของไมโครแคปซูล	36
4.2.5 ความคงตัวของ beta-carotene ระหว่างการเก็บรักษา	40
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	45
5.1 สรุปผลการวิจัย	45
5.1.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเกิด coacervates ระหว่าง gelatin และ polysaccharides	45
5.1.2 การศึกษาคุณลักษณะของ beta-carotene microcapsules ที่เตรียมโดยใช้สภาวะที่เหมาะสม	45
5.2 ข้อเสนอแนะ	46
รายการอ้างอิง	47
ประวัติผู้เขียน	51

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 สารผสมที่คัดเลือกไปศึกษาปริมาณ beta-carotene ที่ถูกห่อหุ้ม และความคงตัวในการห่อหุ้มสาร	21
4.2 ปริมาณ beta-carotene ทั้งหมด, ที่ผิว และที่ถูกห่อหุ้มของไมโครแคปซูล ชนิดต่างๆ	23
4.3 Microencapsulation efficiency และ Spray dry yield (%) ของ ไมโครแคปซูล	33
4.4 ปริมาณ beta-carotene ของไมโครแคปซูล GA 6%, GE:GA, GE:CFG และ GE:CMC	34
4.5 เปอร์เซ็นต์การละลายน้ำของไมโครแคปซูล	36
4.6 การเปลี่ยนแปลงปริมาณ beta-carotene ที่ถูกห่อหุ้มเฉลี่ยของ ไมโครแคปซูลในระหว่างการเก็บรักษาด้วยสมการ first order kinetic	44

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 การทำ complex coacervation	4
2.2 โครงสร้างโมเลกุลของ gum arabic	5
2.3 โครงสร้างโมเลกุลของ carboxymethyl cellulose	6
2.4 โครงสร้างโมเลกุลของ collagen และ gelatin	6
2.5 โครงสร้างโมเลกุลของ beta-carotene	8
4.1 ค่าความขุ่นของสารผสม GE:GA ที่อัตราส่วน 2:1, 1:1 และ 1:2 ที่ pH 2-7	19
4.2 ค่าความขุ่นของสารผสม GE:CFG ที่อัตราส่วน 2:1, 1:1 และ 1:2 ที่ pH 2-7	19
4.3 ค่าความขุ่นของสารผสม GE:CMC ที่อัตราส่วน 2:1, 1:1 และ 1:2 ที่ pH 1-7	20
4.4 ปริมาณ beta-carotene ที่ถูกห่อหุ้มคงเหลือในไมโครแคปซูล GE:GA	24
4.5 ปริมาณ beta-carotene ที่ถูกห่อหุ้มคงเหลือในไมโครแคปซูล GE:CFG	24
4.6 ปริมาณ beta-carotene ที่ถูกห่อหุ้มคงเหลือในไมโครแคปซูล GE:CMC	25
4.7 ค่า zeta-potential ของสารละลาย GE, GA, CFG และ CMC	26
4.8 ค่า zeta-potential ของสารผสม GE:GA, GE:CFG และ GE:CMC	27
4.9 การกระจายตัวของขนาดอนุภาคสารผสม GE:GA ที่อัตราส่วน 2:1	29
4.10 การกระจายตัวของขนาดอนุภาคสารผสม GE:CFG ที่อัตราส่วน 1:1	30
4.11 การกระจายตัวของขนาดอนุภาคสารผสม GE:CMC อัตราส่วน 1:1	31
4.12 การกระจายตัวของขนาดอนุภาคไมโครแคปซูล	35
4.13 ภาพถ่ายไมโครแคปซูล GA 6% จาก SEM	37
4.14 ภาพถ่ายไมโครแคปซูล GE:GA จาก SEM	38
4.15 ภาพถ่ายไมโครแคปซูล GE:CFG จาก SEM	39
4.16 ภาพถ่ายไมโครแคปซูล GE:CMC จาก SEM	40
4.17 ปริมาณ beta-carotene คงเหลือที่ถูกห่อหุ้มด้วย GA 6%	42
4.18 ปริมาณ beta-carotene คงเหลือที่ถูกห่อหุ้มด้วย GE:GA	42
4.19 ปริมาณ beta-carotene คงเหลือที่ถูกห่อหุ้มด้วย GE:CFG	43
4.20 ปริมาณ beta-carotene คงเหลือที่ถูกห่อหุ้มด้วย GE:CMC	43

รายการสัญลักษณ์และคำย่อ

สัญลักษณ์/คำย่อ

คำเต็ม/คำจำกัดความ

GE

Gelatin

GA

Gum arabic

CFG

Corn fiber gum

CMC

Carboxymethyl cellulose



บทที่ 1

บทนำ

1.1 บทนำ

เทคโนโลยี microencapsulation ได้มีการนำมาใช้อย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรมอาหาร เพื่อป้องกันส่วนประกอบของอาหารที่ไวต่อการเสื่อมสลาย การสูญเสียเนื่องจากการระเหย หรือการเกิดอันตรกิริยากับสารอื่นๆ กระบวนการทำ microencapsulation จะเกี่ยวข้องกับการห่อหุ้มสารชนิดหนึ่งด้วยสารอีกชนิดหนึ่ง โดยไมโครแคปซูลที่ได้จะมีขนาดอนุภาค 1-800 μm สารที่ทำหน้าที่ห่อหุ้มจะเรียกว่า สารห่อหุ้ม (wall material) และสารที่ถูกห่อหุ้มจะเรียกว่า สารสำคัญ (core material) ซึ่งอาจเป็นของแข็ง ของเหลว หรือก๊าซ เช่น สารให้สี กลิ่นรส วิตามิน การทำ microencapsulation มีหลายวิธี โดยหนึ่งในวิธีที่ได้รับความนิยมคือ complex coacervation (Schmitt และ Turgeon 2011; Kwak 2014)

Complex coacervation เป็นการแยกเฟสของ complex (coacervate phase) ที่เกิดจากพันธะ electrostatic ระหว่างสาร 2 ชนิดที่มีประจุต่างกันออกจากตัวทำละลาย (colloidal phase) (Kruif และคณะ, 2004) โดยสาร polyelectrolyte ส่วนใหญ่จะเป็นโปรตีน (ซึ่งมีประจุบวก) เช่น gelatin, sodium caseinate, chitosan และ soybean protein isolate และโพลีแซคคาไรด์ (ซึ่งมีประจุลบ) เช่น gum arabic, carboxymethyl cellulose และ gum tragacanth และที่นิยมใช้จะเป็น gum arabic ร่วมกับ gelatin (Kwak, 2014) เนื่องจากให้ประสิทธิภาพในการห่อหุ้มสูง ได้ไมโครแคปซูลที่มีลักษณะทรงกลม ผิวเรียบ และมีการเปลี่ยนแปลงน้อยหลังการเก็บรักษาทำให้สารสำคัญมีความคงตัวสูง gum arabic เป็นโพลีแซคคาไรด์ที่ได้มาจากยางของต้นไม้สกุล *Acacia* เช่น *Acacia senegal* และ *Acacia seyal* ซึ่งปลูกได้เฉพาะประเทศแถบตะวันออกกลาง ทำให้ gum arabic มีปริมาณที่จำกัด มีราคาแพง และไม่เพียงพอต่อความต้องการ (Gomez-estaca และคณะ, 2016) จึงมีการศึกษาการใช้โพลีแซคคาไรด์ชนิดอื่นที่มีราคาถูก และมาจากผลผลิตที่มีอยู่ทั่วไป เพื่อแก้ไขปัญหาดังกล่าว

กระบวนการ complex coacervation จะขึ้นกับปัจจัยต่างๆ เช่น ชนิดของสารห่อหุ้ม อัตราส่วนของสารห่อหุ้ม pH และ ionic strength (Schmitt และคณะ, 1998) Jun-Xia และคณะ (2011) ศึกษาการห่อหุ้ม sweet orange oil ด้วย soybean protein isolate ร่วมกับ gum arabic โดยแปร pH เป็น 2, 2.5, 3.5, 4 และ 4.5 แปร ionic strength เป็น 0, 0.5, 1, 1.5 และ 2 mM และอัตราส่วน soybean protein isolate ต่อ gum arabic เป็น 2:5, 4:5, 5:5, 7:5 และ 9:5 พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการเกิด coacervates คือที่ pH 4.0 อัตราส่วนของสารห่อหุ้มเป็น 1:1 และที่ ionic strength สูงจะยับยั้งการเกิด complex coacervation

Beta-carotene เป็นสารให้สีชนิดหนึ่งที่พบได้ตามธรรมชาติ อีกทั้งยังให้คุณค่าทางสารอาหารในการเป็นสารตั้งต้นของวิตามินเอ (provitamin A) และมีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Donhowe และคณะ, 2014) เนื่องจากโครงสร้างมีพันธะคู่จำนวนมากทำให้ไวต่อการเกิดออกซิเดชันต่อ แสง ออกซิเจน และความชื้น ดังนั้นการห่อหุ้ม beta-carotene ด้วยการทำ microencapsulation สามารถช่วยป้องกันการสลายตัวของสารได้

ปัจจุบันมีรายงานการใช้ maltodextrin ในการห่อหุ้ม beta-carotene โดยใช้เทคนิค spray drying (Loksuwan 2007; Donhowe และคณะ 2014) การห่อหุ้ม beta-carotene ด้วย maltodextrin ร่วมกับ hydroxypropyl cellulose โดยใช้เทคนิค fluidized bed coating (Coronel-Aguilera และ Martin-González, 2015) แต่ยังไม่พบรายงานการใช้ gelatin ร่วมกับ corn fiber gum และ carboxymethyl cellulose ในการห่อหุ้ม beta-carotene ด้วยเทคนิค complex coacervation

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

- (1) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเกิด complex coacervation ระหว่าง gelatin กับโพลีแซคคาไรด์ 3 ชนิด (gum arabic, corn fiber gum และ carboxymethyl cellulose)
- (2) ศึกษาคุณลักษณะของ beta-carotene microcapsules ที่เตรียมโดยใช้สภาวะที่เหมาะสมจากข้อ (1)

บทที่ 2

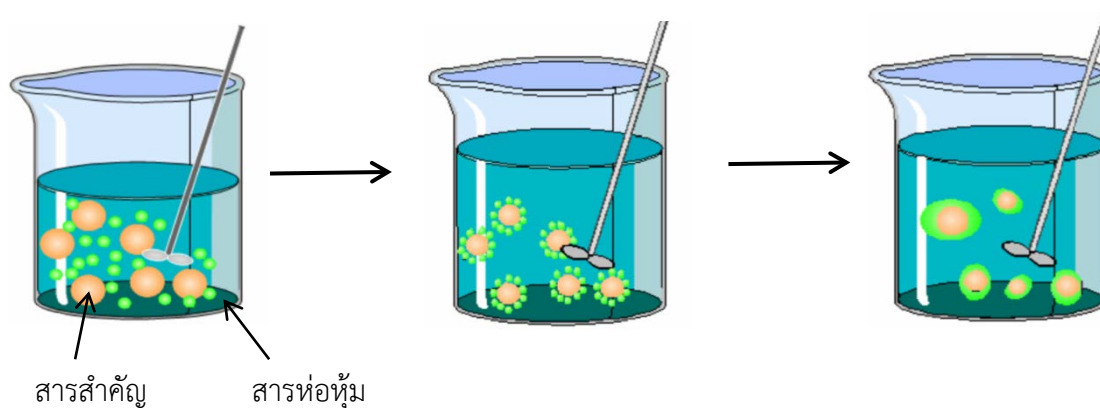
วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 Microencapsulation

การทำ microencapsulation เป็นกระบวนการห่อหุ้มอนุภาคของของแข็ง หรือหยดของเหลว หรือก๊าซด้วยสารอีกชนิดหนึ่ง ซึ่งสามารถป้องกันสารสำคัญจากสภาวะแวดล้อมภายนอกได้ (Thiess, 2005) ในอุตสาหกรรมอาหารมีการใช้เทคนิคนี้ในการห่อหุ้มสารให้สี กลิ่นรส และน้ำมันหอมระเหย เพื่อเพิ่มความคงตัวของสารต่อแสง ออกซิเจน และความชื้น สารที่นิยมนำมาใช้ในการห่อหุ้มมักเป็นโพลีแซคคาไรด์ (gum arabic, carboxymethyl cellulose และ alginate) และโปรตีน (gelatin, chitosan, sodiumcaseinate และ soybean protein isolate) โดยการเลือกใช้สารห่อหุ้มอาจเลือกใช้เพียงชนิดเดียว หรือมากกว่า 1 ชนิดก็ได้ ซึ่งส่วนใหญ่มักเลือกใช้โพลีแซคคาไรด์ร่วมกับโปรตีน (Kwak, 2014) การทำ microencapsulation สามารถทำได้หลายวิธี ซึ่งหนึ่งในวิธีนั้นคือ complex coacervation

2.2 Complex coacervation

การทำ complex coacervation อาศัยหลักการเกิดพันธะ electrostatic ระหว่างสาร polyelectrolyte 2 ชนิดซึ่งมีประจุตรงข้ามกัน เกิดเป็น complex ซึ่งจะเข้าไปดูดซับที่ผิวหรือห่อหุ้มสารสำคัญไว้ภายใน โดยวิธีการทำ complex coacervation จะเตรียมสารละลายของสารห่อหุ้มแต่ละชนิด โดยนำสารละลายของสารห่อหุ้มชนิดหนึ่งมาผสมกับสารสำคัญจนเกิดอิมัลชันขึ้น จากนั้นเติมสารละลายของสารห่อหุ้มอีกชนิดหนึ่งแล้วนำมาผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน สารห่อหุ้มที่มีประจุตรงข้ามกันจะเกิดพันธะ electrostatic ต่อกัน เกิดเป็น coacervates ซึ่งจะห่อหุ้มสารสำคัญไว้ภายใน และแยกออกเป็น 2 เฟส คือ เฟสของ coacervates (coacervate phase) และเฟสสารละลายที่เป็นคอลลอยด์ (colloidal phase) (Kruif และคณะ, 2004) (รูปที่ 2.1) โดยสาร polyelectrolyte ที่นำมาใช้ในการทำ complex coacervation ส่วนใหญ่จะเป็นโปรตีน และโพลีแซคคาไรด์ และที่นิยมใช้ คือ gum arabic ซึ่งมีประจุเป็นลบร่วมกับ gelatin (Dubey และคณะ, 2009)



รูปที่ 2.1 การทำ complex coacervation

การเกิด coacervates จะขึ้นกับหลายปัจจัย เช่น ชนิดของสารห่อหุ้ม อัตราส่วนของสารห่อหุ้ม pH และ ionic strength (Jones และคณะ, 2011)

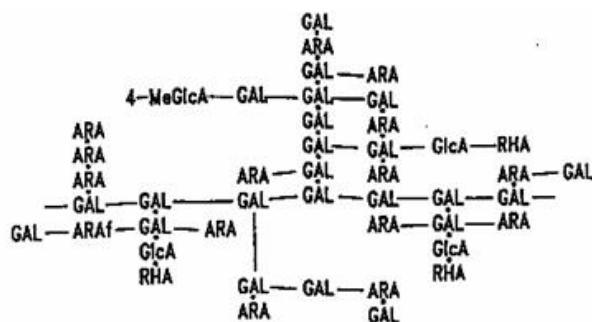
2.2.1 ปัจจัยที่ส่งผลต่อการทำ complex coacervation

2.2.1.1 ชนิดของสารห่อหุ้ม

(1) Gum Arabic (GA)

Gum arabic เป็น heteropolysaccharides ที่ได้มาจากยางของต้นไม้สกุล Acacia (*Acacia senegal* และ *Acacia seyal*) ซึ่งเป็นพืชที่เจริญเติบโตในแถบประเทศตะวันออกกลาง gum arabic เป็นสารจำพวก arabinogalactan มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 300 kDa (Dror และคณะ, 2006) มีสายโซ่หลักเป็น β -D-galactopyranose เชื่อมกันด้วยพันธะ 3, 6 และที่ตำแหน่งที่ 6 จะมี α -L-arabinofuranose มาเชื่อมด้วยพันธะ 3, 6 (รูปที่ 2.2) gum arabic ประกอบด้วย monomer ของน้ำตาลเป็น galactose (44%), arabinose (27%) และ rhamnose (13%) อีกทั้งยังมี glucuronic acid และ 4-O-methyl glucuronic acid (16%) นอกจากนี้ในโครงสร้างยังมีโปรตีนอยู่ 2-3% ทำให้มีสมบัติในการเป็นทั้งสารให้ความข้นหนืดต่ำ และมีสมบัติเป็นอิมัลซิไฟเออร์ (Al-Assaf และคณะ, 2009) และจากการที่โครงสร้างของ gum arabic มีหมู่คาร์บอกซิล (carboxyl group) จำนวนมากทำให้ gum arabic เป็นโพลีแซคคาไรด์ที่มีประจุลบ

Gum arabic เป็นโพลีแซคคาไรด์ชนิดหนึ่งที่นิยมใช้มากในการทำ microencapsulation แต่มีปริมาณผลผลิตที่จำกัด เนื่องจากพื้นที่เพาะปลูกจำกัด มีสภาพอากาศที่แปรปรวน และมีปัญหาทางการเมืองในแถบประเทศที่ทำการเพาะปลูก ทำให้ปริมาณมี gum arabic ไม่เพียงพอต่อความต้องการ และมีราคาแพง (Gomez-estaca และคณะ, 2016) จึงมีการศึกษาการใช้โพลีแซคคาไรด์ชนิดอื่นที่มีราคาถูก และมาจากผลผลิตที่มีอยู่ทั่วไปเพื่อแก้ไขปัญหาดังกล่าว



รูปที่ 2.2 โครงสร้างโมเลกุลของ gum arabic

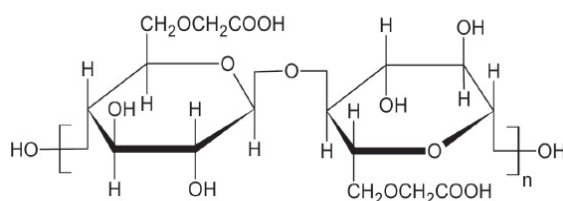
(2) Corn fiber gum (CFG)

Corn fiber gum ได้จากการสกัดกากข้าวโพด ซึ่งเป็นของเหลือทิ้งจากการเตรียมแป้งข้าวโพดทั้งแบบไม่เปียก และแบบไม่แห้ง ปัจจุบันการสกัด CFG จะใช้ alkaline hydrogen peroxide (Doner และคณะ, 1998)

CFG มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 278-394 kDa (Doner และคณะ, 1998) และเป็น hemicellulose ที่มีโครงสร้างส่วนใหญ่เป็น arabinoxylan ซึ่งประกอบด้วยสายโซ่หลัก คือ xylopyranoxyl เชื่อมด้วยพันธะ β -1,4 และมี α -L-arabinofuranosyl มาเกาะที่ตำแหน่งที่ 2 หรือ 3 มี glucuronic acid มาเกาะที่ตำแหน่งที่ 2 และมี ferulic acid และ hydroxyl cinnamic acid มาเกาะที่ตำแหน่งที่ 5 ของ arabinose นอกจากนี้ในโครงสร้างยังมีโปรตีน 2-3% จึงทำให้ CFG มีสมบัติในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ โครงสร้าง CFG ยังมีหมู่คาร์บอกซิลจำนวนมากจึงเป็นโพลีแซคคาไรด์ที่มีประจุลบ และมีโครงสร้างที่คล้ายคลึงกับ gum arabic (Doner และคณะ, 1998; Kokubun และคณะ, 2014) และในปัจจุบันนี้ยังไม่มียางานการใช้ CFG เป็นสารห่อหุ้มในการทำ microencapsulation

(3) Carboxymethyl cellulose (CMC)

Carboxymethyl cellulose เป็นอนุพันธ์ของ cellulose โดยหมู่ไฮดรอกซิลที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 6 บนโมเลกุลกลูโคสในโครงสร้างของ cellulose จะถูกแทนที่ด้วยหมู่คาร์บอกซิล CMC มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 90 kDa (He และคณะ, 2007) (รูปที่ 2.3) CMC ส่วนใหญ่จะใช้ในการเป็นสารให้ความข้นหนืดในอาหาร หรือเป็นสารเคลือบผิวอาหาร มีสมบัติละลายน้ำได้ดี เมื่อนำมาเตรียมอิมัลชันซึ่งเป็นขั้นตอนหนึ่งในการทำ complex coacervation จะมีขนาดของหยดอิมัลชันที่สม่ำเสมอ (Hayati และคณะ, 2016) และมีหมู่คาร์บอกซิลบนโมเลกุลจำนวนมาก ทำให้มีประจุลบซึ่งเหมาะที่จะนำมาใช้ในการทำ complex coacervation

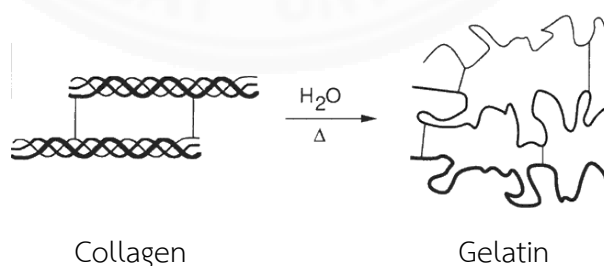


รูปที่ 2.3 โครงสร้างโมเลกุลของ carboxymethyl cellulose

(4) Gelatin (GE)

Gelatin เป็นโปรตีนจากธรรมชาติที่มีอยู่ในกระดูก หนังสัตว์ และเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่ได้จากการเสียสภาพบางส่วนของ collagen ด้วยความร้อน ต่าง หรือกรด ทำให้เกิดการคลายเกลียวสามสาย (super helix) ของ collagen ออกเป็นสายเกลียวแอลฟา (รูปที่ 2.4) gelatin ที่มาจากหมู และปลาจะผ่านการย่อยด้วยกรด เรียกว่า gelatin type A ส่วน gelatin ที่มาจากวัวจะผ่านการย่อยด้วยด่าง เรียกว่า gelatin type B (Zayas, 1997) gelatin ที่ได้มาจากแหล่งที่แตกต่างกันจะมีชนิดของกรดอะมิโนที่แตกต่างกัน ส่งผลให้มีสมบัติทางเคมีกายภาพที่แตกต่างกัน (Dupont, 2002)

Gelatin มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 95 kDa และเป็นสายยาวของโพลีเปปไทด์ที่มีกรดอะมิโน 50-1000 หน่วย (Cosgrove และคณะ, 1998) ประกอบด้วยกรดอะมิโนหลัก คือ glycine (ทุกๆ กรดอะมิโน 3 ตัว) proline และ 4-hydroxyproline ซึ่งมีโครงสร้างทั่วไปของ gelatin คือ -Ala-Gly-Pro-Arg-Gly-Glu-Hyp-Gly-Pro- และ gelatin มีค่า isoelectric point (pI) ประมาณ 4.8 เมื่ออยู่ในสภาวะที่ pH ต่ำกว่า pI จะมีประจุเป็นบวก (Lv และคณะ, 2014)



รูปที่ 2.4 โครงสร้างโมเลกุลของ collagen และ gelatin

การศึกษาอิทธิพลของชนิดของสารห่อหุ้มในการทำ complex coacervation มีงานวิจัยของ Calderon-Oliver และคณะ (2017) ที่ศึกษาเปรียบเทียบชนิดของสารห่อหุ้มคือ pectin-collagen และ alginate-collagen ในการห่อหุ้ม nisin ผสมกับ avocado peel extract

โดยทำการห่อหุ้มด้วยเทคนิค complex coacervation และทำแห้งโดยใช้ spray dry พบว่าการใช้เทคนิค complex coacervation สามารถห่อหุ้ม avocado peel extract ได้โดยขึ้นกับอันตรกิริยาระหว่างสารห่อหุ้ม 2 ชนิด pectin-collagen และ alginate-collagen ซึ่งส่งผลให้ลักษณะไมโครแคปซูลที่ได้แตกต่างกัน และมีประสิทธิภาพในการห่อหุ้มสูงอีกด้วย

2.2.1.2 อัตราส่วนของสารห่อหุ้ม และ pH

Huang และคณะ (2012) ทำการศึกษาการเกิด coacervates ของ soybean protein isolate และ chitosan โดยแปรอัตราส่วนของสารห่อหุ้ม soybean protein isolate ต่อ chitosan เป็น 1:1 2:1 3:1 4:1 และ 5:1 และแปร pH ช่วง 5-7.5 พบว่าที่ pH 6.0-6.5 และอัตราส่วน soybean protein isolate ต่อ chitosan เป็น 4:1 จะเกิด coacervates มากที่สุด อีกทั้งยังมีลักษณะเป็นรูพรุน ซึ่งแสดงให้เห็นถึงแนวโน้มในการห่อหุ้มสารสำคัญอีกด้วย

Lv และคณะ (2014) ได้ศึกษาการทำ complex coacervation โดยใช้สารห่อหุ้มเป็น gum arabic ร่วมกับ gelatin ในการห่อหุ้ม jasmine essential oil โดยแปรอัตราส่วนของ gum arabic ต่อ gelatin เป็น 1:2 1:1 และ 2:1 และแปร pH ช่วง 4-5.5 พบว่าที่อัตราส่วน 1:1 และที่ pH 4.8 เป็นสภาวะที่เหมาะสมในการเกิดไมโครแคปซูล เนื่องจากให้ค่าความขุ่นของสารผสมของสารห่อหุ้มมีค่ามากกว่าที่สภาวะอื่น มีการกระจายตัวของขนาดอนุภาคที่มีความสม่ำเสมอ และสามารถเพิ่มความคงตัวให้กับ jasmine essential oil ได้

2.2.1.3 Ionic strength

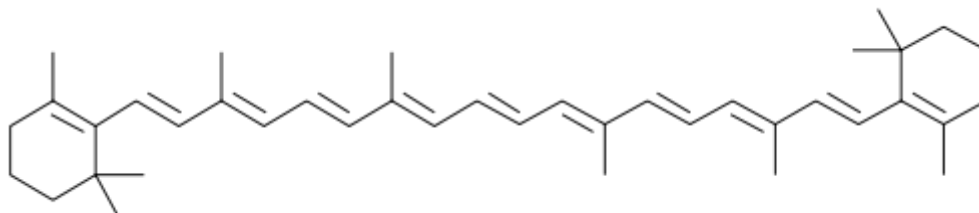
Priftis และคณะ (2013) ศึกษาอิทธิพลของ ionic strength ต่อการเกิด coacervates ของ branched poly(ethylene-imine) และ polypeptide โดยแปรความเข้มข้น NaCl 0-4,000 mM พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ NaCl มากขึ้นจะเกิด screening effect ซึ่งปรากฏการณ์นี้จะส่งผลต่อการเกิดพันธะ electrostatic ระหว่าง branched poly(ethylene-imine) และ polypeptide ทำให้เกิด coacervates ลดลง

2.3 สารสำคัญ

2.3.1 Beta-carotene

Beta-carotene เป็นสารให้สีชนิดหนึ่งซึ่งพบมากในผัก และผลไม้ที่มีสีเหลือง ส้ม และแดง ในอุตสาหกรรมอาหารจะใช้ beta-carotene เป็นสารให้สี นอกจากนี้ beta-carotene ยังมีคุณค่าทางโภชนาการโดยเป็นสารตั้งต้นของวิตามินเอ (provitamin A) มีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ สารต้านมะเร็ง และยังสามารถลดความเสี่ยงในการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ

(Kohno และคณะ, 2016; Ma และคณะ, 2016) จึงนิยมนำมาเป็นส่วนผสมใน functional food (Phan-Thi และคณะ, 2016)



รูปที่ 2.5 โครงสร้างโมเลกุลของ beta-carotene

Beta-carotene เป็นสารไฮโดรคาร์บอนที่มีจำนวนพันธะคู่เป็นจำนวนมากในโมเลกุล ซึ่งในธรรมชาติจะจัดเรียงตัวเป็นแบบ trans-isomer (รูปที่ 2.5) มีสูตรทางเคมีคือ $C_{40}H_{65}$ มีสมบัติที่ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น hexane จากการที่โมเลกุลของ beta-carotene มีพันธะคู่เป็นจำนวนมากทำให้ไวต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันต่อ แสง ออกซิเจน และความชื้น (Kwak 2014; Phan-Thi และคณะ, 2016) การทำ microencapsulation จึงเป็นแนวทางหนึ่งในการเพิ่มความคงตัวให้กับ beta-carotene

Nakagawa และ Nagao (2012) ทำการศึกษาโดยใช้ gelatin ร่วมกับ gum arabic ในการห่อหุ้ม beta-carotene ด้วยเทคนิค complex coacervation ที่เหนี่ยวนำให้เกิด coacervates โดยการ freezing พบว่าที่อัตราการทำ freezing เป็น $-1^{\circ}C/min$ จะให้ประสิทธิภาพในการห่อหุ้มสูงสุด และให้ไมโครแคปซูลที่เป็นทรงกลม

Donhowe และคณะ (2014) ได้ศึกษางานวิจัยเกี่ยวกับการนำ beta-carotene มาห่อหุ้มด้วย maltodextrin โดยเทคนิค spray drying เทียบกับ beta-carotene ที่ห่อหุ้มด้วย alginate และ chitosan พบว่าการใช้สารห่อหุ้ม alginate ร่วมกับ chitosan ให้ไมโครแคปซูลที่มีขนาดสม่ำเสมอ และเป็นทรงกลม อีกทั้งยังให้ประสิทธิภาพการห่อหุ้มที่มากกว่าการห่อหุ้มด้วย maltodextrin เพียงอย่างเดียว

Coronel-Aguilera และ Martín-González (2015) ทำการห่อหุ้ม beta-carotene โดยใช้ maltodextrin ร่วมกับ hydroxypropyl cellulose โดยใช้เทคนิค fluidized bed coating พบว่าการใช้อุณหภูมิในการห่อหุ้มต่ำ และอัตราเร็วในการใส่ตัวอย่างต่ำจะทำให้ประสิทธิภาพในการห่อหุ้มเพิ่มขึ้น และเกิดการเปลี่ยนแปลงสีของ beta-carotene น้อยลง

บทที่ 3

วิธีการวิจัย

3.1 วัตถุดิบ และสารเคมี

3.1.1 วัตถุดิบ

- (1) Gelatin (Nitta Gelatin Inc.)
- (2) Gum arabic (Jumbo Trading Co., Ltd)
- (3) กากข้าวโพด (Friendship Corn Starch Co., Ltd.)
- (4) Sodium carboxymethyl cellulose (Changshu Wealthy Science&Technology Co., Ltd)
- (5) Beta-carotene (บริษัท Sigma-Aldrich)

3.1.2 สารเคมี

- (1) Sodium Hydroxide (ยี่ห้อ QReC บริษัท QReC ประเทศนิวซีแลนด์)
- (2) alpha-amylase (EC 3.2.1.1, Siam Technomic Co., Ltd.)
- (3) Ethanol 99.9% (ยี่ห้อ QReC บริษัท QReC ประเทศนิวซีแลนด์)
- (4) Hydrogen Peroxide (30% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร, ยี่ห้อ QReC บริษัท QReC ประเทศนิวซีแลนด์)
- (5) Hydrochloric 37% (ยี่ห้อ QReC บริษัท QReC ประเทศนิวซีแลนด์)
- (6) Acetic acid Glacial (ยี่ห้อ QReC บริษัท QReC ประเทศนิวซีแลนด์)
- (7) n-Hexane (ยี่ห้อ QReC บริษัท QReC ประเทศนิวซีแลนด์)

3.2 อุปกรณ์ และเครื่องมือ

3.2.1 อุปกรณ์ และเครื่องมือสกัด corn fiber gum

- (1) pH meter (ยี่ห้อ Satorius รุ่น PB-20 ประเทศเยอรมัน)
- (2) Water bath shaker (ยี่ห้อ Heto รุ่น SBD50 ประเทศเดนมาร์ก)
- (3) เครื่องปั่นเหวี่ยง (ยี่ห้อ Hettich รุ่น Universal/16R ประเทศเยอรมัน)
- (4) เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (ยี่ห้อ Satorius รุ่น BSA224S-CW ประเทศเยอรมัน)
- (5) เครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศ (ยี่ห้อ WTC binder รุ่น 78532 ประเทศเยอรมัน)
- (6) เครื่องปั่น (ยี่ห้อ Philip รุ่น HR2118/02 ประเทศเนเธอร์แลนด์)
- (7) เครื่องกรองแบบสุญญากาศ (ยี่ห้อ GAST รุ่น 1023-101Q-G608NGX ประเทศสหรัฐอเมริกา)
- (8) เครื่องบรรจุสุญญากาศ (ยี่ห้อ VAC-STAR รุ่น S210PX ประเทศสวิตเซอร์แลนด์)
- (9) Homogenizer (ยี่ห้อ Ystral รุ่น D-79282 ประเทศเยอรมัน)
- (10) Mini spray dryer (ยี่ห้อ BUCHI รุ่น B-290 ประเทศสวิตเซอร์แลนด์)
- (11) UV-Vis spectrophotometer (ยี่ห้อ UNICAM รุ่น UV2-100 ประเทศอังกฤษ)
- (12) Particle size analyzer (ยี่ห้อ HORIBA รุ่น Partica LA-950V2 ประเทศญี่ปุ่น)
- (13) Particle size analyzer (ยี่ห้อ HORIBA รุ่น Nanopartica SZ-100 ประเทศญี่ปุ่น)
- (14) Particle size analyzer แบบแห้ง (ยี่ห้อ MALVERN รุ่น Mastersizer 3000 ประเทศอังกฤษ)
- (15) Field Emission Scanning Electron Microscope (ยี่ห้อ JEOL รุ่น JSM-7800F ประเทศสหรัฐอเมริกา)

- (16) Shaker (ยี่ห้อ Lab Companion รุ่น SK300 ประเทศสหรัฐอเมริกา)
- (17) ตู้อบลมร้อน (ยี่ห้อ WTB binder รุ่น ED400 ประเทศเยอรมัน)
- (18) ตู้บ่ม (ยี่ห้อ BINDER รุ่น D-78532 ประเทศเยอรมัน)
- (19) ตู้เย็น (ยี่ห้อ SHARP รุ่น SJ51H ประเทศอังกฤษ)

3.3 วิธีการวิจัย และการวิเคราะห์ข้อมูล

3.3.1 การสกัด corn fiber gum (CFG)

3.3.1.1 การเตรียม de-starch corn fiber

การเตรียม de-starch corn fiber ดัดแปลงมาจากวิธีของ Doner และคณะ (1998) โดยนำกากข้าวโพดมาปั่น และร่อนผ่านตะแกรง (ขนาดรูพรุน 20 mesh) จะได้กากข้าวโพดปั่น นำกากข้าวโพดปั่น 50 กรัมมาผสมกับน้ำกลั่น 400 มิลลิลิตร จากนั้นปรับ pH เป็น 6.5 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ (50% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) เติม alpha-amylase 2 มิลลิลิตร นำไปต้มพร้อมกับเขย่าด้วย water bath shaker ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 ชั่วโมง แยกส่วนตะกอนกากข้าวโพดออก แล้วนำกากข้าวโพดที่ได้มาล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง และล้างกากข้าวโพดด้วยเอทานอล 1 ครั้ง กรองผ่านผ้าขาว นำไปอบด้วยตู้อบสุญญากาศ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสจะได้ de-starch corn fiber

3.3.1.2 การสกัด corn fiber gum

การเตรียม corn fiber gum ดัดแปลงมาจากวิธีของ Doner และคณะ (1998) โดยนำ de-starch corn fiber 50 กรัม มาเติมน้ำกลั่น 1 ลิตร เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ (50% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) 24 มิลลิลิตร และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (30% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) 42 มิลลิลิตร นำไปต้มจนเดือดเป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง และทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 6,000g เป็นเวลา 20 นาทีที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นำส่วนใสมาปรับ pH 4.0-4.5 ด้วยไฮโดรคลอริกเข้มข้น ตั้งทิ้งไว้ 10-15 นาที แล้วนำมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000g เป็นเวลา 30 นาทีที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นำส่วนใสที่ได้ไปตกตะกอนด้วยเอทานอล 99.9% ปริมาตร 2 เท่าของสารละลาย ตั้งทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 10-15 นาที เทเอทานอลด้านบนออก แล้วล้างตะกอนด้วยเอทานอล 99.9% 2-3 ครั้ง แยกตะกอนออกด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ แล้วนำตะกอนไปอบด้วยตู้อบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมงจะได้ corn fiber gum (CFG)

3.3.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเกิด coacervates ระหว่าง gelatin และ polysaccharides

3.3.2.1 ปัจจัยที่ศึกษา

(1) ชนิดของสาร

สาร gelatin ร่วมกับโพลีแซคคาไรด์ 3 ชนิดดังนี้ gelatin : gum arabic (GE:GA), gelatin : corn fiber gum (GE:CFG), gelatin : carboxymethyl cellulose (GE:CMC)

(2) อัตราส่วนของสาร

ทำการแปรอัตราส่วน gelatin : polysaccharides 3 อัตราส่วน คือ 2:1, 1:1 และ 1:2

(3) pH

การประเมินผลความขุ่นจะทำการแปร pH ในช่วง 2-7 ของสารผสม GE:GA และ GE:CFG ที่อัตราส่วน 2:1, 1:1 และ 1:2 สำหรับสารผสม GE:CMC ที่อัตราส่วน 2:1, 1:1 และ 1:2 จะประเมินผลความขุ่นโดยแปร pH ในช่วง 1-7

การประเมินผล zeta-potential และการกระจายตัวของขนาดอนุภาคจะทำการแปร pH ให้ครอบคลุมช่วง pH ที่ให้ค่าความขุ่นสูงสุดของสารผสมแต่ละชนิดที่อัตราส่วนที่ผ่านการคัดเลือกจากการประเมินค่าความขุ่นร่วมกับประสิทธิภาพ และความคงตัวในการห่อหุ้มสาร

3.3.2.2 การเตรียมสารผสมเพื่อศึกษาอิทธิพลของ pH

(1) การเตรียมสารผสม

การเตรียมสารผสม GE:GA และ GE:CFG ที่อัตราส่วน 2:1, 1:1 และ 1:2 ปริมาตร 100 มิลลิลิตรสามารถเตรียมได้โดยการนำ GE 2 กรัมมาเติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร ละลายน้ำที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียสจนได้เป็นสารละลาย GE จากนั้นเตรียมสารละลาย GA หรือ CFG ที่น้ำหนัก 1, 2 หรือ 4 กรัมมาละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 70 มิลลิลิตรที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส นำสารละลาย GE และสารละลาย GA หรือ CFG ที่ได้มาผสมจนเป็นเนื้อเดียวกันด้วย stirrer จะได้ GE:GA และ GE:CFG จากนั้นนำไปปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร

การเตรียมสารผสม GE:CMC ที่อัตราส่วน 2:1, 1:1 และ 1:2 ปริมาตร 100 มิลลิลิตรสามารถเตรียมได้จากการนำ GE 0.1 กรัมมาเติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร ละลายที่ 65 องศาเซลเซียส และละลาย CMC น้ำหนัก 0.05, 0.1 และ 0.2 กรัมด้วยน้ำกลั่น 70 มิลลิลิตรที่

อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส นำสารละลาย GE และสารละลาย CMC มาผสมจนเป็นเนื้อเดียวกันด้วย stirrer แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

3.3.2.3 การคัดเลือกสารผสมแต่ละชนิดที่เหมาะสมเพื่อใช้ในการศึกษาการห่อหุ้ม beta-carotene

(1) การเตรียมอิมัลชัน

การเตรียมอิมัลชันด้วยเทคนิค complex coacervation ดัดแปลงมาจากวิธีของ Nagawaka และ Nagao (2012) ดังนี้ การเตรียมอิมัลชันของ GE:GA, GE:CFG และ GE:CMC จะนำสารละลาย GE มาเติม beta-carotene (ความเข้มข้น 1000 ppm) ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้ homogenizer ที่ความเร็ว 1600 รอบต่อนาที เป็นเวลา 3 นาที จากนั้นนำไปเติมสารละลาย GA หรือ CFG หรือ CMC ผสมให้เข้ากันโดยใช้ stirrer นำอิมัลชันที่ได้ไปปรับ pH ด้วยกรดอะซิติกจนได้ pH ที่เหมาะสม

(2) การทำแห้งไมโครแคปซูล

นำอิมัลชันที่เตรียมได้จากข้อ (1) มาทำแห้งโดยใช้ spray dryer ที่ (อุณหภูมิขาเข้า 160 ± 5 องศาเซลเซียส, อุณหภูมิขาออก 95 ± 5 องศาเซลเซียส, อัตราการไหลของอากาศ 601 ลิตรต่อนาที การทำงานของปั๊มในการ feed 30%) จนได้เป็นผงแห้งของไมโครแคปซูล และนำไมโครแคปซูลที่ได้มาประเมินปริมาณ beta-carotene ทั้งหมด และความคงตัวในการห่อหุ้มสารระหว่างการเก็บรักษา

3.3.2.4 การศึกษาการคัดเลือกสารผสมที่เหมาะสมเพื่อใช้เป็นสารห่อหุ้ม

(1) การเตรียมสารผสม

การเตรียมสารผสมเตรียมตามข้อ 3.3.2.2 (1)

3.3.2.5 การประเมินผล

(1) การประเมินความขุ่น (Turbidity Test)

การประเมินค่าความขุ่นของสารผสม gelatin/polysaccharides จะนำสารผสมมาปรับ pH ด้วยกรดอะซิติก และโซเดียมไฮดรอกไซด์ ในช่วง pH 2-7 ประเมินค่าความขุ่นโดยใช้ UV-Vis spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร (Lv และคณะ, 2014) โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ

(2) ปริมาณ beta-carotene ทั้งหมด และความคงตัวในการห่อหุ้ม

ทำการประเมินโดยนำไมโครแคปซูล GE:GA, GE:CFG, GE:CMC ที่ให้ค่าความขุ่นสูงสุดของแต่ละอัตราส่วนไปประเมินผลในระหว่างการเก็บรักษา 7 วันที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยบรรจุไมโครแคปซูลในถุงซิปลิโพลีเอทิลีน และถุง laminated foil แบบสุญญากาศ และที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสจะบรรจุไมโครแคปซูลลงในถุงซิปลิโพลีเอทิลีน และถุง laminated foil แบบสุญญากาศ แล้วนำไปบรรจุในกล่อง Lock&Lock ที่มีวัตถุกันชื้นอยู่ภายในกล่อง เพื่อลดอิทธิพลของความชื้นจากการเก็บรักษา ก่อนนำไปบรรจุในตู้เย็น เพื่อคัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมของสารแต่ละชนิดโดยทำการทดลอง 2 ซ้ำ คัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมของสารแต่ละชนิดโดยวิเคราะห์ปริมาณ beta-carotene ด้วยวิธีที่ดัดแปลงมาจากวิธีของ Loksuwan (2007) ดังนี้

ปริมาณ beta-carotene ทั้งหมดหาได้จากการนำไมโครแคปซูลที่ทราบน้ำหนักแน่นอน (0.02-0.05 กรัม) ใส่ลงใน flask ขนาด 125 มิลลิลิตร นำมาสกัดด้วย hexane 25 มิลลิลิตร นำไปเขย่าที่ความเร็ว 500 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 30 นาทีที่อุณหภูมิห้อง แยกส่วนของ hexane ออกมาโดยการกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 นำส่วนใสที่ได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย UV-Vis spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 454 นาโนเมตรเทียบกับกราฟมาตรฐาน สำหรับปริมาณ beta-carotene ที่ผิวได้จากการนำไมโครแคปซูลที่ทราบน้ำหนักแน่นอน (0.02-0.05 กรัม) ใส่ลงใน flask ขนาด 125 มิลลิลิตร สกัดด้วย hexane 25 มิลลิลิตร นำไปเขย่าที่ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 15 วินาที นำสารละลายที่ได้มากรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 แล้วนำส่วนใสที่ได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย UV-Vis spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 454 นาโนเมตรเทียบกับกราฟมาตรฐาน ทำการทดลอง 2 ซ้ำ

(3) การประเมินค่า zeta-potential

ทำการประเมินค่า zeta-potential (mV) โดยทำการทดลองในช่วง pH 2-7 ของสารละลายเดี่ยว GE 0.1, 2%, GA 1%, CFG 2% และ CMC 0.1% โดยระดับความเข้มข้นของสารจะมีความสอดคล้องกับความเข้มข้นของสารผสมที่คัดเลือกจากข้อ 3.3.2.5 (1) และ (2) และทำการทดลองในช่วง pH ที่ให้ค่าความขุ่นสูงสุดของสารผสมแต่ละชนิด ด้วยเครื่อง Particle size analyzer (ยี่ห้อ HORIBA รุ่น Nanopartica SZ-100 ประเทศญี่ปุ่น) ทำการทดลอง 2 ซ้ำ

(4) การวัดการกระจายตัวของขนาดอนุภาค coacervates

ทำการประเมินโดยนำสารผสมทั้ง 3 ชนิดที่ได้จากข้อ 3.2.2.3 (1) ที่ค่า pH ที่ให้ค่าความขุ่นสูงสุดมาวัดการกระเจิงแสงด้วยวิธี dynamic light scattering โดยใช้

scattering angle 173° โดยใช้เครื่อง Particle size analyzer (ยี่ห้อ HORIBA รุ่น Partica LA-950V2 ประเทศญี่ปุ่น) ทำการทดลอง 2 ซ้ำ

(5) สถิติที่ใช้ในการประเมินผล

การประเมินผลปริมาณ beta-carotene ของไมโครแคปซูลทั้งหมดใช้แผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) และความคงตัวในการห่อหุ้มสาร ใช้แผนการทดลองแบบ Full Factorial in Completely Randomized Design ในการประเมินความแตกต่างระหว่างตัวอย่างในวันเดียวกัน และใช้แผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ในการประเมินความแตกต่างของตัวอย่างระหว่างวันที่เก็บรักษาที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$) วิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ Analysis of Variance (ANOVA) วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan's Multiple Range test และวิเคราะห์ผลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS for window version 17

3.3.3 การศึกษาคุณลักษณะของ beta-carotene microcapsules ที่เตรียมโดยใช้สภาวะที่เหมาะสม

3.3.3.1 ปัจจัยที่ศึกษา

(1) ชนิดของสารห่อหุ้ม

ศึกษา coacervates 3 ชนิด (GE:GA, GE:CFG และ GE:CMC) เทียบกับการใช้ GA 6% ในการห่อหุ้ม beta-carotene ด้วยวิธี spray drying

3.3.3.2 การเตรียมไมโครแคปซูล

การห่อหุ้มสารสำคัญด้วยเทคนิค complex coacervation การเตรียมไมโครแคปซูล GA 6%, GE:GA, GE:CFG และ GE:CMC การเตรียมอิมัลชัน และการเตรียมไมโครแคปซูลทำตามวิธีในข้อ 3.3.2.3

3.3.3.3 การประเมินผล

(1) Microencapsulation efficiency (%ME) ปริมาณ beta-carotene ทั้งหมด ปริมาณ beta-carotene ที่ผิว และ Spray dry yield (%)

การคำนวณประสิทธิภาพในการห่อหุ้ม และ Spray dry yield (%) คำนวณจากสูตรดังต่อไปนี้

$$\%ME = \frac{\text{ปริมาณ beta-carotene ทั้งหมด} - \text{ปริมาณ beta-carotene ที่ผิว}}{\text{ปริมาณ beta-carotene ทั้งหมด}} \times 100 \dots\dots(1)$$

$$\% \text{Spray dry yield} = \frac{\text{น้ำหนักของไมโครแคปซูลทั้งหมด}}{\text{น้ำหนักของแข็งทั้งหมดในอิมัลชัน}} \times 100 \quad \dots\dots\dots(2)$$

โดยปริมาณ beta-carotene ทั้งหมดหาได้จากการนำไมโครแคปซูลที่ทราบน้ำหนักแน่นอน (0.02-0.05 กรัม) ใส่ลงใน flask ขนาด 125 มิลลิลิตร นำมาสกัดด้วย hexane 25 มิลลิลิตร นำไปเขย่าที่ความเร็ว 250 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 1.5 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง แยกส่วนของ hexane ออกโดยการกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 นำส่วนใสที่ได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย UV-Vis spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 454 นาโนเมตรเทียบกับกราฟมาตรฐาน ทำการทดลอง 2 ซ้ำ และการประเมินปริมาณ beta-carotene ที่ผิวทำตามวิธีในข้อ 3.3.2.5 (2)

(2) การกระจายตัวของขนาดอนุภาคไมโครแคปซูล

ทำการประเมินโดยการนำไมโครแคปซูลที่ได้ 3-5 กรัมมาวัดการกระเจิงแสงด้วยวิธี laser scattering ด้วยเครื่อง particle size analyzer (ยี่ห้อ MALVERN รุ่น Master Sizer 3000 ประเทศอังกฤษ) สภาวะการวิเคราะห์ dry mode, ความดัน 2.5 bar, feed rate 80% และ gap range 2 mm

(3) ความสามารถในการละลายน้ำ (Solubility)

วิธีการประเมินผลการละลายน้ำดัดแปลงมาจาก Loksuan (2007) โดยนำไมโครแคปซูล 0.05 กรัม ผสมกับน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตรโดยนำไปเขย่าที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาทีที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที กรองแยกส่วนที่ละลายน้ำได้ และละลายน้ำไม่ได้ออกจากกันด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 จากนั้นนำแบ่งสารละลายที่ได้มา 15 มิลลิลิตร ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 500g เป็นเวลา 15 นาที นำส่วนใสมาชั่งน้ำหนักที่แน่นอน แล้วนำไปปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 110°C เป็นเวลา 18 ชั่วโมง และชั่งน้ำหนักหลังการทำแห้ง ทำการทดลอง 4 ซ้ำ โดยจะคำนวณเปอร์เซ็นต์การละลายจากสมการดังต่อไปนี้

$$\% \text{Solubility} = \frac{\text{น้ำหนักสารหลังทำแห้ง} \times 100 \times 50}{\text{น้ำหนักไมโครแคปซูล} \times 15} \quad \dots\dots\dots(3)$$

(4) สัณฐานวิทยาของไมโครแคปซูล

ทำการประเมินสัณฐานวิทยาของไมโครแคปซูลโดยใช้เครื่อง Field Emission Scanning Electron Microscope โดยนำไมโครแคปซูล ติดด้วยเทปคาร์บอน เคลือบด้วยแผ่นทองคำหนา 15 นาโนเมตรนาน 250 วินาที ทำการส่องกล้อง และถ่ายภาพโดยใช้ค่าความต่างศักย์ 15 kV

(5) ความคงตัวของ beta-carotene ระหว่างการเก็บรักษา

ทำการประเมินโดยเก็บรักษาไมโครแคปซูลเป็นระยะเวลา 31 วันที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสจะบรรจุไมโครแคปซูลในถุงซิปล็อกโพลีเอทิลีน และถุง laminated foil แบบสุญญากาศ และที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสจะบรรจุไมโครแคปซูลลงในถุงซิปล็อกโพลีเอทิลีน และถุง laminated foil แบบสุญญากาศ แล้วนำไปบรรจุในกล่อง Lock&Lock ที่มีวัตถุกันชื้นอยู่ภายในกล่อง ก่อนนำไปบรรจุในตู้เย็น จากนั้นสุ่มตัวอย่างมาวิเคราะห์ปริมาณ beta-carotene คงเหลือทุกๆ 2 วัน โดยใช้ UV-Vis spectrophotometer ความยาวคลื่น 454 นาโนเมตรเทียบกับกราฟมาตรฐาน ทำการทดลอง 2 ซ้ำ

(6) สถิติที่ใช้ในการประเมินผล

การประเมินผล %ME ปริมาณ beta-carotene ทั้งหมด ปริมาณ beta-carotene ที่ผิว spray dry yield (%) และความสามารถในการละลายน้ำจะใช้แผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ส่วนความคงตัวของ beta-carotene ระหว่างการเก็บรักษาจะใช้แผนการทดลองแบบ Full Factorial in Completely Randomized Design ในการประเมินความแตกต่างระหว่างตัวอย่างในวันเดียวกัน และใช้แผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ในการประเมินความแตกต่างของตัวอย่างระหว่างวันที่เก็บรักษาที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$) วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลโดยใช้ Analysis of Variance (ANOVA) วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan's Multiple Range test และวิเคราะห์ผลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS for window version 17

บทที่ 4

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเกิด coacervates ระหว่าง gelatin และ polysaccharides

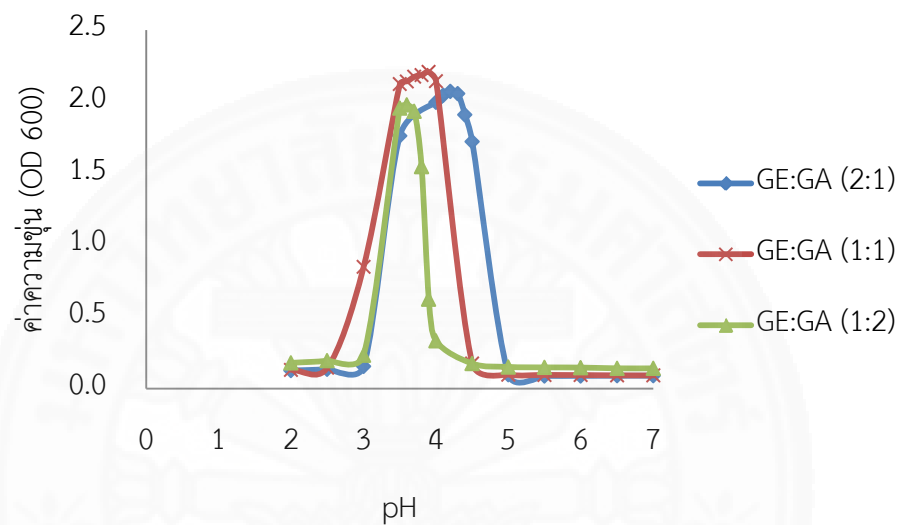
4.1.1 การประเมินความขุ่น (Turbidity Test)

การประเมินค่าความขุ่นจะบ่งบอกการเกิด coacervates ของสารผสมที่เกิดจากพันธะ electrostatic (Amara และคณะ, 2016) จากการประเมินค่าความขุ่นของสารผสม GE:GA, GE:CFG และ GE:CMC ที่อัตราส่วน 2:1, 1:1 และ 1:2 และที่ pH 2-7 พบว่าชนิด อัตราส่วน และ pH มีผลต่อค่าความขุ่น จากรูปที่ 4.1, 4.2 และ 4.3 จะเห็นว่าสารผสมทั้ง 3 ชนิดจะให้ค่าความขุ่นต่ำที่ pH สูง (6-7) และความขุ่นจะเพิ่มขึ้นจนถึงค่าสูงสุดเมื่อ pH ลดต่ำลง จากนั้นค่าความขุ่นจะลดลงอีกครั้งจนได้สารละลายใสเมื่อ pH ลดต่ำลงอีก โดยการที่ค่าความขุ่นเปลี่ยนแปลงเมื่อ pH เปลี่ยนอาจเกิดจากการเปลี่ยนแปลงอันตรกิริยาระหว่าง GE และโพลีแซคคาไรด์ (Lui และคณะ, 2015)

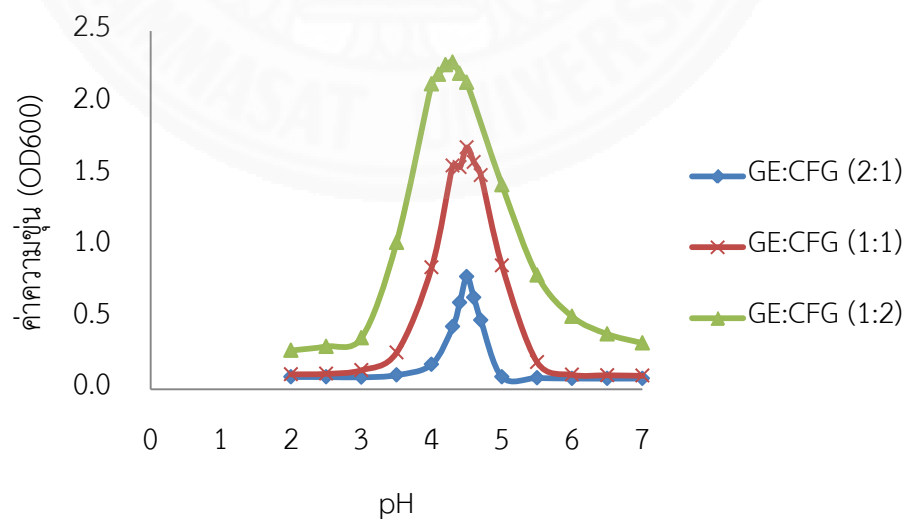
ในช่วง pH 6-7 เป็นช่วงที่ pH มีค่ามากกว่า pI ของ GE ซึ่งเป็นโปรตีน ทำให้โมเลกุลของ GE มีประจุเป็นลบ และโพลีแซคคาไรด์จะมีประจุเป็นลบจากหมู่คาร์บอกซิล จึงเกิดแรงผลักระหว่างโมเลกุลที่มีประจุเหมือนกัน และเมื่อ pH ต่ำกว่า 6 ค่าความขุ่นของสารผสมทั้ง 3 ชนิดมีค่าเพิ่มขึ้น เนื่องจากกรดอะมิโนบางส่วนของ GE และหมู่คาร์บอกซิลบางส่วนของ GA, CFG และ CMC เกิดการ protonate ทำให้ประจุลบของโปรตีน และโพลีแซคคาไรด์ลดลง ในขณะเดียวกันประจุบวกของโปรตีนเพิ่มขึ้น แรงผลักระหว่างโมเลกุลจึงลดลง ทำให้เกิดพันธะ electrostatic แบบอ่อน ทำให้เกิดเป็น soluble coacervates และเมื่อ pH ลดต่ำลงไปอีก ค่าความขุ่นจะเพิ่มขึ้นจนมีค่าสูงสุด ซึ่งจุดนี้จะเกิดเป็น insoluble coacervates มากที่สุดเนื่องจากเกิดพันธะ electrostatic มากที่สุด (De Kruif และคณะ, 2001; Turgeon และคณะ, 2003) และเป็นจุดที่มีประจุของสารผสมสมดุลกัน (Lui และคณะ, 2015) ผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับงานวิจัยของ Lui และคณะ (2015) ที่ศึกษาการเกิด coacervates ของสารผสม bovine serum albumin และ flaxseed gum ที่อัตราส่วน 1:1 พบว่าค่าความขุ่นมีการเปลี่ยนแปลงเมื่อปรับ pH โดยสารผสมมีความขุ่นเพิ่มขึ้นเมื่อ pH ลดลงถึงจุดที่ทำให้มีประจุของสารผสมสมดุลกัน

เมื่อ pH ลดต่ำลงไปอีก ค่าความขุ่นจะลดลงอีกครั้ง ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องจากที่ pH ต่ำกว่า pI ของ GE โมเลกุลของ GE เกิดการ protonate มากขึ้นทำให้มีประจุเป็นบวกมากขึ้น และหมู่คาร์บอกซิลบนโมเลกุล GA, CFG และ CMC เกิดการ protonate ทำให้มีประจุลบลดลง

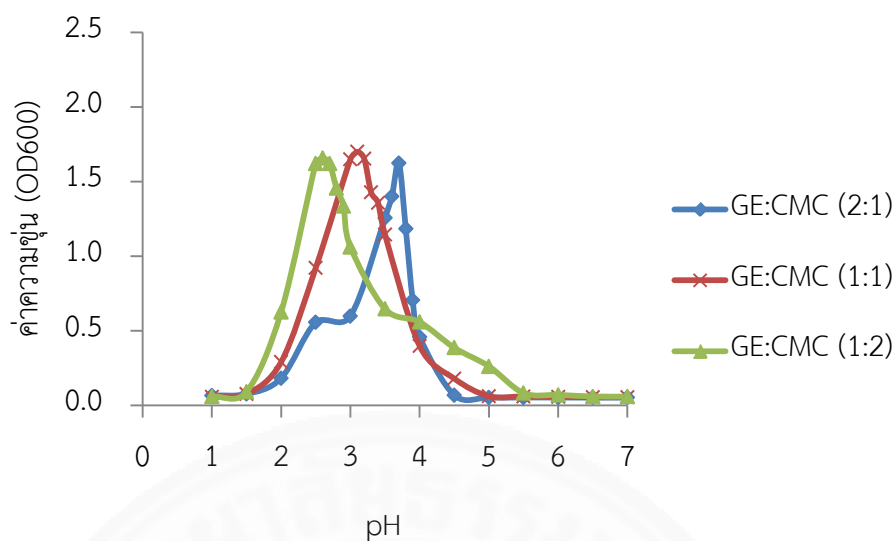
จึงทำให้แรงดึงดูดของพันธะ electrostatic อ่อนลง เนื่องจากประจุบวก และลบไม่สมดุลกัน และเกิดการเปลี่ยนแปลงจาก insoluble coacervates เป็น soluble coacervates และที่ pH 2 สารผสมทุกชนิดจะมีค่าความขุ่นที่ต่ำมาก จนได้เป็นสารละลายจะใส สอดคล้องกับงานวิจัยของ Lui และคณะ (2015) ที่พบว่าเมื่อ pH ลดต่ำลงจากค่า pH ที่ให้ค่าความขุ่นสูงสุด ค่าความขุ่นของสารผสม bovine serum albumin และ flaxseed gum จะลดลงจนกระทั่งได้เป็นสารละลายใส



รูปที่ 4.1 ค่าความขุ่นของสารผสม GE:GA ที่อัตราส่วน 2:1, 1:1 และ 1:2 ที่ pH 2-7



รูปที่ 4.2 ค่าความขุ่นของสารผสม GE:CFG ที่อัตราส่วน 2:1, 1:1 และ 1:2 ที่ pH 2-7



รูปที่ 4.3 ค่าความขุ่นของสารผสม GE:CMC ที่อัตราส่วน 2:1, 1:1 และ 1:2 ที่ pH 1-7

เมื่อพิจารณาอัตราส่วนของสารผสมพบว่า สารผสมทุกชนิดที่ค่าความขุ่นสูงสุดจะเกิดที่ pH ต่ำลงเมื่อสัดส่วนของโพลีแซคคาไรด์เพิ่มขึ้น จากผลการทดลองพบว่าสารผสม GE:GA ที่อัตราส่วน 2:1, 1:1 และ 1:2 ให้ค่าความขุ่นสูงสุดที่ pH 4.3, 3.9 และ 3.6 ตามลำดับ (รูปที่ 4.1) สารผสม GE:CFG ที่อัตราส่วน 2:1, 1:1 และ 1:2 ให้ค่าความขุ่นสูงสุดที่ pH 4.2, 4.4 และ 4.5 ตามลำดับ (รูปที่ 4.2) และสารผสม GE:CMC ที่อัตราส่วน 2:1, 1:1 และ 1:2 ให้ค่าความขุ่นสูงสุดที่ pH 3.7, 3.1 และ 2.6 ตามลำดับ (รูปที่ 4.3) ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากมีสัดส่วนของโพลีแซคคาไรด์มากขึ้น ทำให้มีประจุลบมากขึ้นจึงต้องมีการปรับ pH ให้ต่ำลง เพื่อให้เกิดการ protonate มากขึ้นจนมีความสมดุลของประจุบวกบนโมเลกุล GE และประจุลบบนโมเลกุล GA, CFG และ CMC สำหรับสารผสม GE:CMC (รูปที่ 4.3) มี CMC ซึ่งมีประจุลบมากกว่า GA และ CFG (รูปที่ 4.7) จึงทำให้ต้องมีการปรับ pH ลดลงมากกว่าสารผสมชนิดอื่นๆเพื่อให้มีประจุลบที่สมดุลกับประจุบวกบนโมเลกุล GE สอดคล้องกับงานวิจัยของ Lui และคณะ (2015) ที่ศึกษาการแปรอัตราส่วน bovine serum albumin ต่อ flaxseed gum ตั้งแต่ 1:15 ถึง 15:1 พบว่าค่าความขุ่นสูงสุดเปลี่ยนแปลงไปตามอัตราส่วนของสาร และค่า pH ที่ให้ค่าความขุ่นสูงสุดจะมีค่าต่ำลงเมื่อมีสัดส่วนของ flaxseed gum เพิ่มมากขึ้น

จากการที่ค่าความขุ่นบ่งบอกการเกิด coacervates ของสารผสมจึงได้คัดเลือกสารผสมในแต่ละอัตราส่วนที่ pH ที่ให้ค่าความขุ่นสูงสุดมาศึกษาปริมาณ beta-carotene ทั้งหมด และความคงตัวในการห่อหุ้มสารต่อไปที่สภาวะดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 สารผสมที่คัดเลือกไปศึกษาปริมาณ beta-carotene ทั้งหมด และความคงตัวในการ
ห่อหุ้มสาร

สารผสม	อัตราส่วน	pH	ค่าความขุ่น
GE:GA	2:1	4.3	2.073
GE:GA	1:1	3.9	2.209
GE:GA	1:2	3.6	1.978
GE:CFG	2:1	4.5	0.787
GE:CFG	1:1	4.4	1.688
GE:CFG	1:2	4.2	2.283
GE:CMC	2:1	3.7	1.623
GE:CMC	1:1	3.1	1.700
GE:CMC	1:2	2.6	1.657

4.1.2 ปริมาณ beta-carotene ทั้งหมด และความคงตัวในการห่อหุ้มสาร

จากการศึกษาการห่อหุ้ม beta-carotene ด้วยสารผสม GE:GA, GE:CFG และ GE:CMC ที่ค่า pH ที่ให้ค่าความขุ่นสูงสุด โดยประเมินปริมาณ beta-carotene ทั้งหมด (ตารางที่ 4.2) พบว่า GE:CMC มีปริมาณ beta-carotene ทั้งหมด และที่ถูกห่อหุ้มสูงที่สุด รองลงมาคือ GE:GA และ GE:CFG ตามลำดับ ทั้งนี้อาจเกิดจากการที่ CMC มีความหนืดมากกว่า GA และ CFG

จากการศึกษาความคงตัวของ beta-carotene พบว่าชนิดและอัตราส่วนมีผลต่อความคงตัวของ beta-carotene (รูปที่ 4.4, 4.5 และ 4.6) เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาไมโครแคปซูลเพิ่มขึ้น ปริมาณ beta-carotene ลดลง เมื่อเปรียบเทียบชนิดของสารผสมพบว่า GE:CMC มีความคงตัว beta-carotene ดีกว่า GE:GA และ GE:CFG ตามลำดับทั้งที่เก็บรักษาที่ 4 และ 37 องศาเซลเซียส เป็นผลมาจากความหนืดช่วยการฟอร์มตัวของผนังห่อหุ้มมีความแข็งแรงมากกว่า ทำให้มีการสลายตัวของ beta-carotene น้อยกว่า จึงมีความคงตัวสูงกว่า GE:GA และ GE:CFG ที่เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษามากขึ้นอาจมีแรงของพันธะ electrostatic ที่อ่อนกว่า GE:CMC จึงทำให้ผนัง

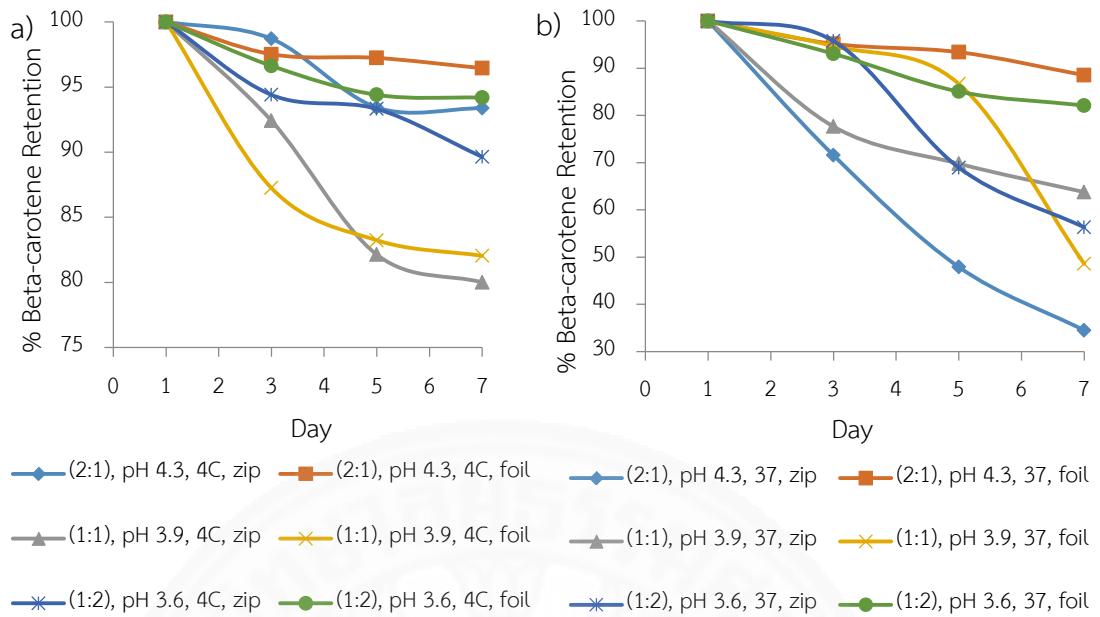
ห่อหุ้มแข็งแรงน้อยลง โดย GE:GA ให้ความคงตัวของ beta-carotene สูงสุดที่อัตราส่วน 2:1, GE:CFG ให้ความ คงตัวของ beta-carotene สูงสุดที่อัตราส่วน 1:1 และ GE:CMC ให้ความคงตัว ของ beta-carotene สูงสุดที่อัตราส่วน 1:1 จะเห็นว่าอัตราส่วนที่ให้ความคงตัวสูงสุดจะไม่สอดคล้อง กับความขุ่นสูงสุดในกรณีของ GE:GA และ GE:CFG เนื่องจาก coacervates ของ GE:GA ที่อัตราส่วน 1:1 และ coacervates ของ GE:CFG ที่อัตราส่วน 1:2 ที่ pH ให้ค่าความขุ่นสูงสุดมีลักษณะ coacervates ที่จับตัวกันหนาแน่น เมื่อตั้งทิ้งไว้ coacervates จะตกตะกอน และเกิดเป็นเจลที่แพค ตัวค่อนข้างแน่นได้ในระยะเวลาสั้น โดยเฉพาะ GE:GA ส่งผลให้เมื่อนำมาห่อหุ้ม beta-carotene อาจ เกิดจากการที่พันธะ electrostatic ของ coacervates เกิดมากกว่าอันตรกิริยาระหว่าง GE และ beta-carotene ทำให้มีปริมาณของ beta-carotene ที่ห่อหุ้มได้น้อยกว่า GE:GA ที่อัตราส่วน 2:1 และ GE:CFG ที่อัตราส่วน 1:1 ส่วน GE:CMC ที่อัตราส่วน 1:1 มีปริมาณ beta-carotene ที่ถูก ห่อหุ้มมากที่สุด และมีความคงตัวในการเก็บรักษา สอดคล้องกับผลค่าความขุ่นอาจเนื่องมาจาก coacervates ของ GE:CMC ที่อัตราส่วน 1:1 ไม่ตกตะกอนเกิดเป็นเจลเมื่อตั้งทิ้งไว้ซึ่งแตกต่างจาก GE:GA ที่อัตราส่วน 1:1 และ GE:CFG ที่อัตราส่วน 1:2 อีกทั้ง GE:CMC ที่อัตราส่วน 1:1 สามารถ ห่อหุ้ม beta-carotene ไว้ได้มากกว่าที่อัตราส่วนอื่นๆ อาจเกิดจากปริมาณของโพลีแซคคาไรด์ที่ แตกต่างกันในแต่ละอัตราส่วน ทำให้เกิดสมมูลของประจุที่ pH ต่างกันส่งผลให้พันธะ electrostatic มีความแข็งแรงที่แตกต่างกัน

จากผลการห่อหุ้ม beta-carotene และความคงตัวในระหว่างการเก็บรักษาจะทำการคัดเลือกสารผสมแต่ละชนิดที่อัตราส่วนที่ให้ค่า beta-carotene ทั้งหมดสูงที่สุด และมีคงตัวของ beta-carotene มากที่สุดไปศึกษาค่า zeta-potential และการกระจายตัวของขนาดอนุภาค coacervates ต่อไป โดยสารผสม GE:GA จะคัดเลือกที่อัตราส่วน 2:1 สารผสม GE:CFG จะคัดเลือก ที่อัตราส่วน 1:1 และสารผสม GE:CMC จะคัดเลือกที่อัตราส่วน 1:1

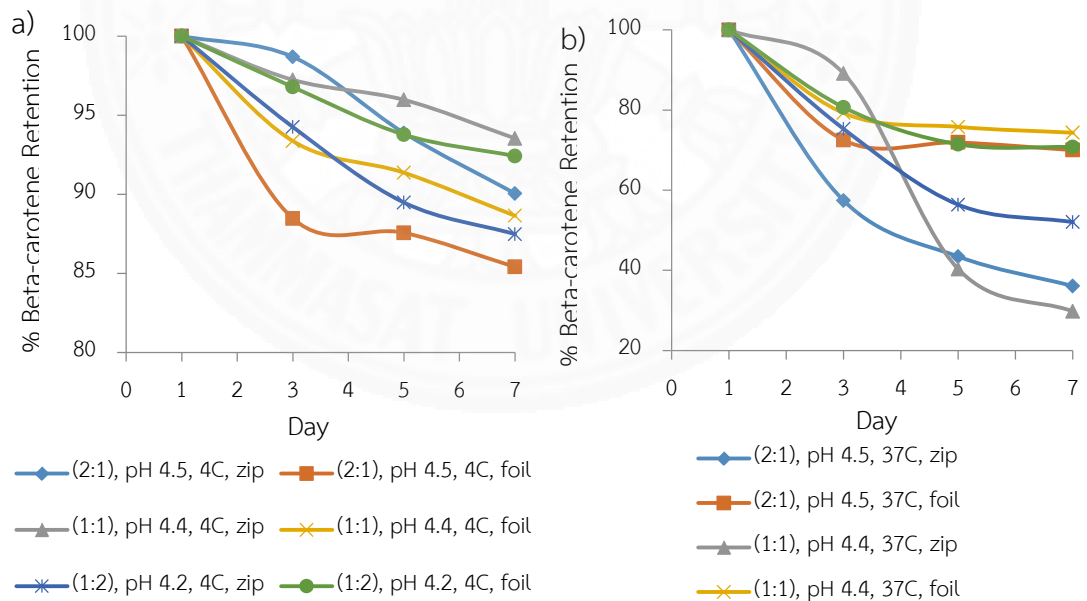
ตารางที่ 4.2 ปริมาณ beta-carotene ทั้งหมด, ที่ผิว และที่ถูกห่อหุ้มของไมโครแคปซูลชนิดต่างๆ

สารผสม	อัตราส่วน	pH	Total beta-carotene (g/g sample)	Surface beta-carotene (g/g sample)	Encapsulated beta-carotene (g/g sample)
GE:GA	2:1	4.3	0.015±0.0014 ^d	0.002±0.0004 ^d	0.013±0.0012 ^c
GE:GA	1:1	3.9	0.009±0.0006 ^f	0.001±0.0002 ^e	0.008±0.0005 ^{de}
GE:GA	1:2	3.6	0.008±0.0003 ^f	0.001±0.0001 ^e	0.007±0.0002 ^{ef}
GE:CFG	2:1	4.5	0.008±0.0005 ^f	0.002±0.0003 ^{cd}	0.006±0.0001 ^f
GE:CFG	1:1	4.4	0.011±0.0008 ^e	0.001±0.0001 ^d	0.008±0.0007 ^d
GE:CFG	1:2	4.2	0.006±0.0005 ^g	0.001±0.0001 ^e	0.005±0.0005 ^g
GE:CMC	2:1	3.7	0.021±0.0008 ^b	0.004±0.0002 ^b	0.017±0.0006 ^b
GE:CMC	1:1	3.1	0.024±0.0021 ^a	0.005±0.0002 ^a	0.018±0.0019 ^a
GE:CMC	1:2	2.6	0.018±0.0006 ^c	0.002±0.0002 ^c	0.016±0.0005 ^b

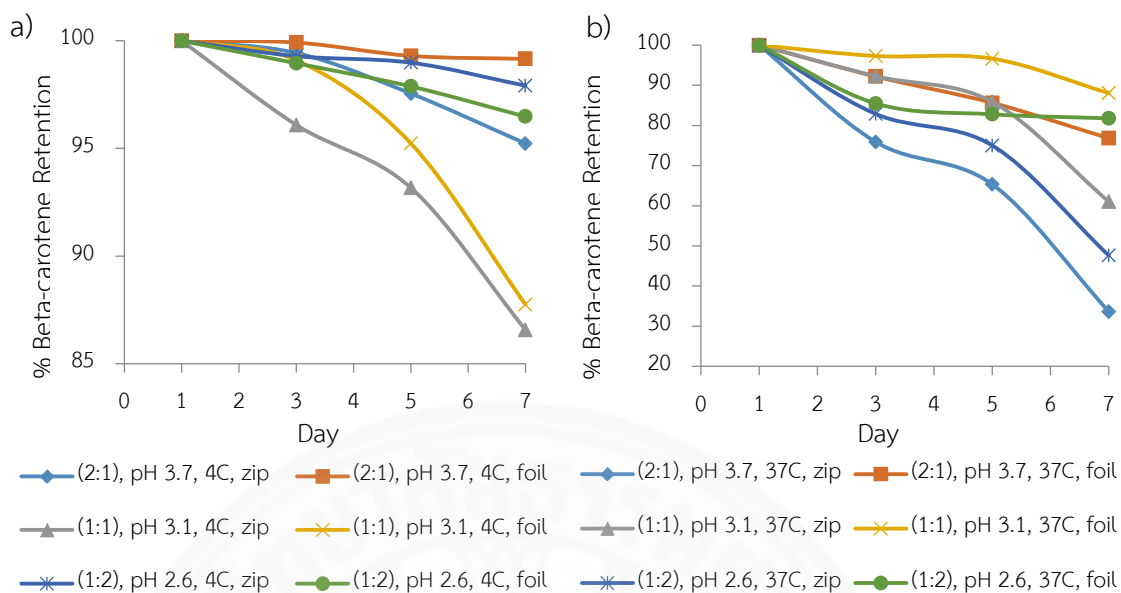
ตัวเลขที่มีตัวหนังสือพิมพ์เล็กกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในแถวแนวนั่ง ($p < 0.05$)



รูปที่ 4.4 ปริมาณ beta-carotene ที่ถูกห่อหุ้มคงเหลือในไมโครแคปซูล GE:GA ตลอดการเก็บรักษา 7 วัน a) เก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส และ b) เก็บรักษาที่ 37 องศาเซลเซียส



รูปที่ 4.5 ปริมาณ beta-carotene ที่ถูกห่อหุ้มคงเหลือในไมโครแคปซูล GE:CFG ตลอดการเก็บรักษา 7 วัน a) เก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส และ b) เก็บรักษาที่ 37 องศาเซลเซียส

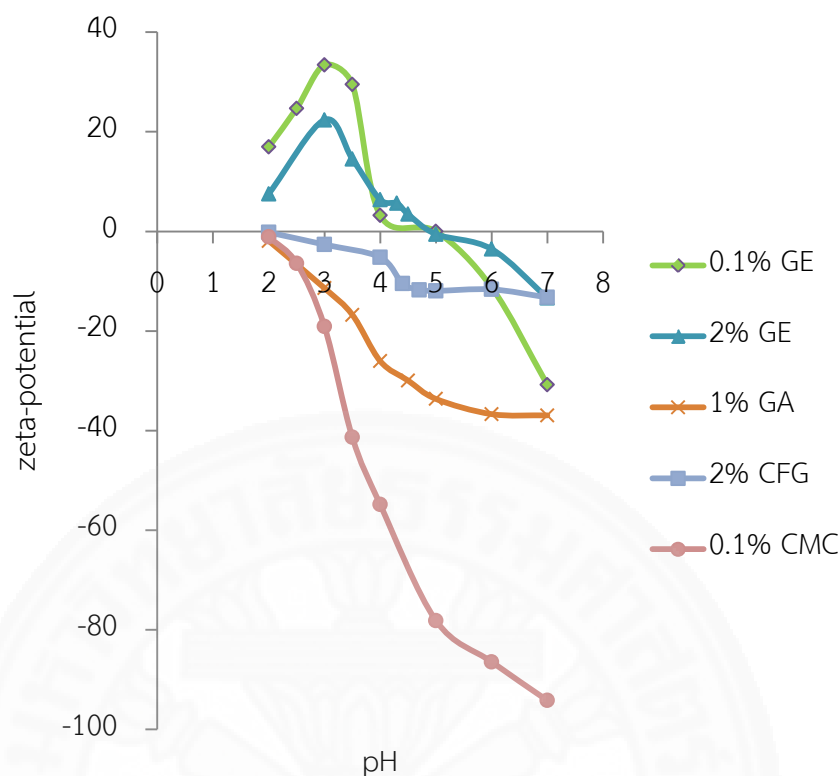


รูปที่ 4.6 ปริมาณ beta-carotene ที่ถูกห่อหุ้มคงเหลือในไมโครแคปซูล GE:CMC ตลอดการเก็บรักษา 7 วัน a) เก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส และ b) เก็บรักษาที่ 37 องศาเซลเซียส

4.1.3 การประเมินค่า zeta-potential

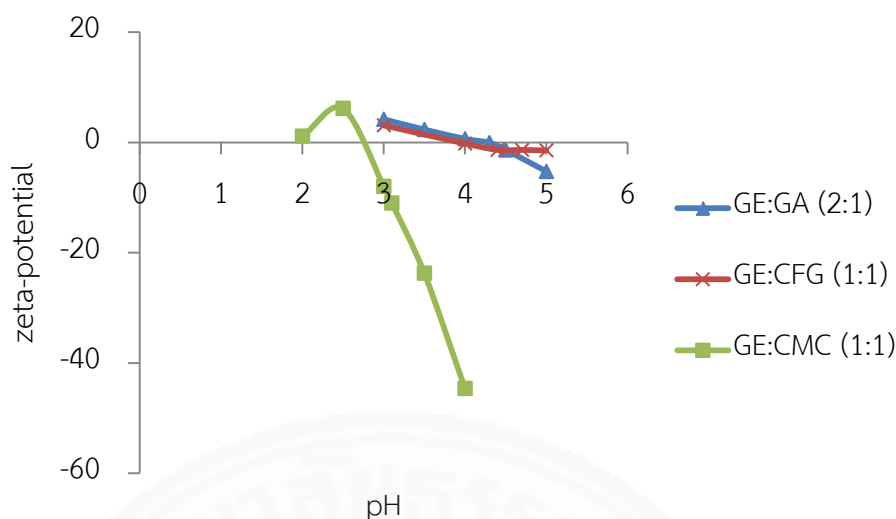
จากการประเมินค่า zeta-potential จะบ่งบอกประจุรวมที่ผิวโมเลกุล (De Kruif และคณะ, 2001) จากรูปที่ 4.7 แสดงค่า zeta-potential ของสารละลายเดี่ยว GE 0.1 และ 2%, GA 1%, CFG 2% และ CMC 0.1% ที่ pH 2-7 โดยพบว่า GE 0.1% และ 2% มีค่าประจุสุทธิบนโมเลกุลเป็นลบเมื่อ pH สูงกว่า pI (pI \approx 4.8) และมีประจุเป็นบวกที่ pH มีค่าต่ำกว่า pI ส่วน GA 1%, CFG 2% และ CMC 0.1% จะมีประจุเป็นลบในช่วง pH 2-7 เนื่องจากการมีประจุลบจากหมู่คาร์บอกซิลบนโมเลกุลที่มากเกินไป ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Jain และคณะ (2016) ที่ศึกษาค่า zeta-potential ของ casein และ gum tragacanth ที่ pH ต่างๆ พบว่าสารละลาย casein มีค่า zeta-potential เป็นบวกที่ค่า pH 2.5-4.5 และเป็นลบที่ pH 5-10.5 (ค่า pI ของ casein ประมาณ 4.6) ส่วนสารละลาย gum tragacanth มีค่า zeta-potential เป็นลบตลอดช่วง pH 2.5-7

จากผลการทดลองพบว่า CMC มีประจุที่เป็นลบมากกว่า GA และ CFG ส่งผลให้ค่า pH ที่ให้ค่าความขุ่นสูงสุดของสารผสม GE:CMC (รูปที่ 4.3) มีค่าต่ำกว่า GE:GA (รูปที่ 4.1) และ GE:CFG (รูปที่ 4.2) และเนื่องจาก GA มีประจุลบมากกว่า CFG ส่งผลให้ค่า pH ที่ให้ค่าความขุ่นสูงสุดของ GE:CFG สูงกว่า GE:GA



รูปที่ 4.7 ค่า zeta-potential ของสารละลายเดี่ยว 0.1% GE, 2% GE, 1% GA, 2% CFG และ 0.1% CMC ที่ pH 2-7

รูปที่ 4.8 แสดงค่า zeta-potential ของสารผสมที่ปรับ pH ในช่วงที่ให้ค่าความขุ่นสูงสุดของสารแต่ละชนิด โดย GE:GA และ GE:CFG วัดค่า zeta-potential ที่ pH 3-5 ซึ่งครอบคลุมค่า pH ที่ให้ค่าความขุ่นสูงสุดคือ 4.3 และ 4.4 ตามลำดับ และ GE:CMC จะวัดค่า zeta-potential ที่ pH 2-4 ซึ่งครอบคลุมค่า pH ที่ให้ค่าความขุ่นสูงสุดคือ 3.1 จะเห็นว่าค่า pH ที่ให้ค่าความขุ่นสูงสุดมีค่าใกล้เคียงกับค่า pH ที่ให้ค่า zeta-potential เข้าใกล้ศูนย์ แสดงให้เห็นว่าจุดที่เกิดความขุ่นสูงสุดมีอันตรกิริยาระหว่างประจุที่ทำให้ประจุสุทธิเป็นศูนย์ (รูปที่ 4.8) ซึ่งสอดคล้องกันกับงานวิจัยของ Jain และคณะ (2016) ในการศึกษาการเกิด coacervates ระหว่าง casein และ gum tragacanth ที่แปรของสารผสมในช่วง pH 2-10.5 พบว่าค่า pH 4.4 จะให้ค่าความขุ่นสูงสุด และที่ pH นี้จะให้ค่า zeta-potential เข้าใกล้ศูนย์เช่นกัน อีกทั้งยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Lv และคณะ (2012) ที่ศึกษาการเกิด coacervates ระหว่าง GE และ GA ที่อัตราส่วน 2:1, 1:1, และ 1:2 พบว่าค่า pH ที่ให้ค่า zeta-potential เข้าใกล้ศูนย์มีค่าสอดคล้องกับค่า pH ที่ให้ค่าความขุ่นสูงสุดเช่นกัน



รูปที่ 4.8 ค่า zeta-potential ของสารผสม GE:GA (2:1) และ GE:CFG (1:1) ที่ช่วง pH 3-5 และสารผสม GE:CMC (1:1) ที่ช่วง pH 2-4

4.1.4 การวัดการกระจายตัวของขนาดอนุภาค coacervates

รูปที่ 4.9-4.11 แสดงผลการกระจายตัวของขนาดอนุภาค coacervates ของสารผสม GE:GA (2:1), GE:CFG (1:1) และ GE:CMC (1:1) โดยทำการประเมินผลที่ค่า pH ที่ให้ค่าความขุ่นสูงสุด และที่ pH ใกล้เคียง พบว่าค่า pH ที่ให้ค่าความขุ่นสูงสุดของสารผสมจะมีการกระจายตัวของขนาดอนุภาค coacervates ในช่วงแคบ ในขณะที่ pH อื่นๆจะมีการกระจายตัวของขนาดอนุภาคในช่วงที่กว้าง หรือเกิดการแยกกันของฟีด โดย GE:GA, GE:CFG มีการกระจายตัวของขนาดอนุภาค coacervates ค่อนข้างกว้างที่ pH สูง และที่ pH ต่ำจะมีการแยกกันของฟีด ส่วน GE:CMC จะมีการแยกของฟีดที่ pH สูง และที่ pH ต่ำจะมีการกระจายตัวของขนาดอนุภาค coacervates ในช่วงกว้าง

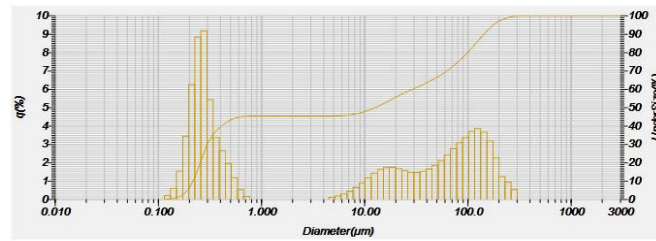
การกระจายตัวของขนาดอนุภาค coacervates ที่ pH ที่สูงกว่าค่า pH ที่ให้ค่าความขุ่นสูงสุดจะเกิดการแยกกันของฟีด อาจเกิดจากอันตรกิริยาระหว่างสารผสมที่เป็นแรงผลักระหว่างประจุลบของสาร 2 ชนิดที่ละลายอยู่ด้วยกัน หรืออาจมีสารผสมบางส่วนที่เกิดอันตรกิริยาระหว่างสารชนิดเดียวกันจนเกิดเป็นอนุภาคที่มีขนาดแตกต่าง และไม่สม่ำเสมอ ผลการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัยของ Lui และคณะ (2015) ที่ทำการศึกษาการกระจายตัวของขนาดอนุภาค coacervates ของสารผสม bovine serum albumin และ flaxseed gum เพื่อป้องกันเกิดอันตรกิริยาระหว่างสารผสม โดยการแยกกันของฟีดที่ค่า pH มากกว่าค่า pH ที่ให้ค่าความขุ่นสูงสุด เกิดจากการที่โมเลกุลของ bovine serum albumin และ flaxseed gum เกิดแรงผลักระหว่างประจุเดียว หรือไม่มีแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุล และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Lv และคณะ (2014) ที่

ศึกษาการกระจายตัวของ coacervates ระหว่าง GE และ GA พบว่าช่วงที่ pH สูงจะมีการกระจายตัวของขนาดอนุภาค coacervates ที่กว้าง หรือมีการแยกกันของฟิสิก

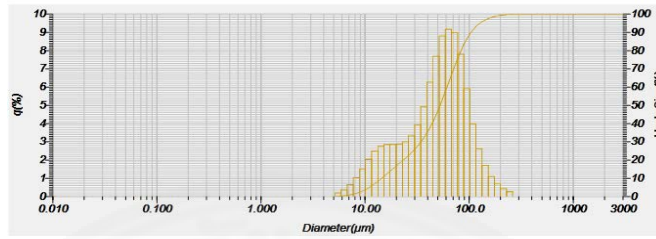
เมื่อมีค่า pH ลดลงจนเข้าใกล้ค่า pH ที่ทำให้เกิดความขุ่นสูงสุดจะเริ่มมีการรวมกันเป็นฟิสิกเดียว แต่ยังคงมีการกระจายตัวของขนาดอนุภาคในช่วงกว้าง อาจเกิดจากการที่ประจุบางส่วน of GE เกิด protonate ส่งผลให้ประจุบวกมากขึ้นสามารถจับกับประจุลบของโมเลกุล GA หรือ CFG หรือ CMC ได้จึงเกิดพันธะ electrostatic บางส่วน เมื่อค่า pH เท่ากับค่า pH ที่ให้ค่าความขุ่นสูงสุดจะมีการกระจายตัวของขนาดในช่วงแคบเมื่อเทียบกับที่ pH อื่นๆ และมีฟิสิกเดียว อาจเกิดจากการที่มีความสมดุลของประจุบวกของโมเลกุล GE และประจุลบของโมเลกุล GA หรือ CFG หรือ CMC ทำให้สามารถเกิดพันธะ electrostatic ได้มากที่สุด สอดคล้องกับงานวิจัยของ Lui และคณะ (2015) ที่พบว่าเมื่อปรับ pH ลดลงจนถึงค่า pH ที่ให้ค่าความขุ่นสูงสุด ฟิสิกจะเริ่มมีการซ้อนทับกันจนกระทั่งรวมกันเป็นฟิสิกเดียว และมีการกระจายตัวของขนาดอนุภาคในช่วงแคบ แสดงถึงการเกิดพันธะ electrostatic ระหว่างประจุบวกของ bovine serum albumin และประจุลบของโมเลกุล flaxseed gum มากที่สุด และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Lv และคณะ (2014) ที่พบว่า การกระจายตัวของขนาดอนุภาค GE:GA แคบลงเมื่อ pH เข้าใกล้ค่า pH ที่ให้ค่าความขุ่นสูงสุด

เมื่อปรับ pH ลดต่ำลงอีกจะทำให้ขนาดของ coacervates มีการกระจายตัวของขนาดอนุภาคในช่วงที่กว้างขึ้น หรืออาจเกิดฟิสิกที่ซ้อนทับกัน และมีการแยกตัวของฟิสิกในที่สุด ที่เป็นเช่นนี้อาจเกิดแรงผลักของประจุบวกระหว่าง GE กับ GA และ GE กับ CFG เนื่องจากโมเลกุลของ GA และ CFG มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบ 2-3% เมื่อโปรตีนเกิด protonate จะมีประจุเป็นบวกจึงเกิดแรงผลักกับประจุบวกของโมเลกุล GE และในขณะเดียวกัน GA กับ CFG เกิดการ protonate ของหมู่ COOH ทำให้ประจุลบลดลงด้วย ส่วน CMC อาจเกิดการ protonate ของหมู่คาร์บอกซิลจนมีประจุลบลดลงจนเป็นมีประจุเป็นกลางทำให้ไม่มีอันตรกิริยากับ GE อีกต่อไป ผลการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัยของ Lui และคณะ (2015) ที่พบว่าเมื่อปรับ pH ลดลงอีก จะเริ่มมีการกระจายตัวของขนาดอนุภาคในช่วงที่กว้างขึ้น และมีการแยกกันของฟิสิกในที่สุด บ่งบอกถึงการเกิดแรงผลักระหว่างโมเลกุลของสารทั้ง 2 ชนิดที่มีประจุบวกเหมือนกัน และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Lv และคณะ (2014) ที่พบว่าเมื่อปรับ pH ลดลงอีกการกระจายตัวของขนาดอนุภาคจะเพิ่มขึ้นและเกิดการแยกตัวกันของฟิสิก

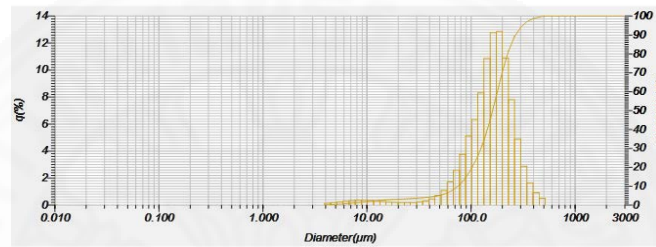
a) pH 3



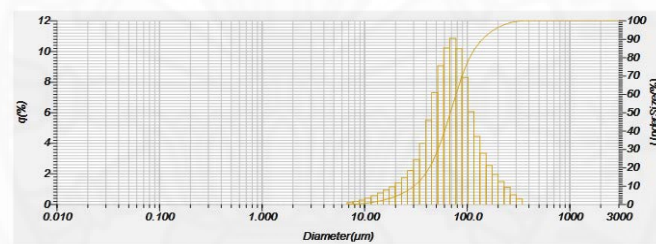
b) pH 3.5



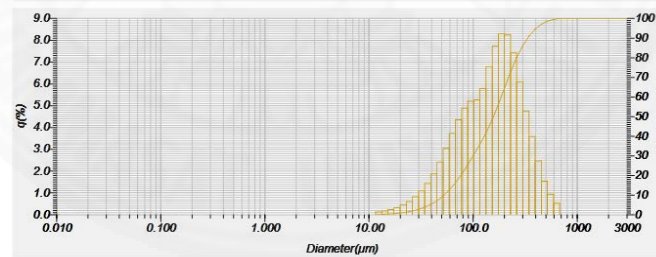
c) pH 4



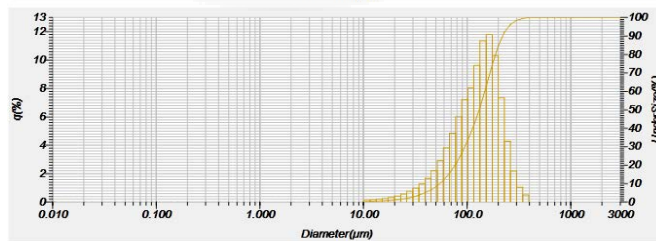
d) pH 4.3



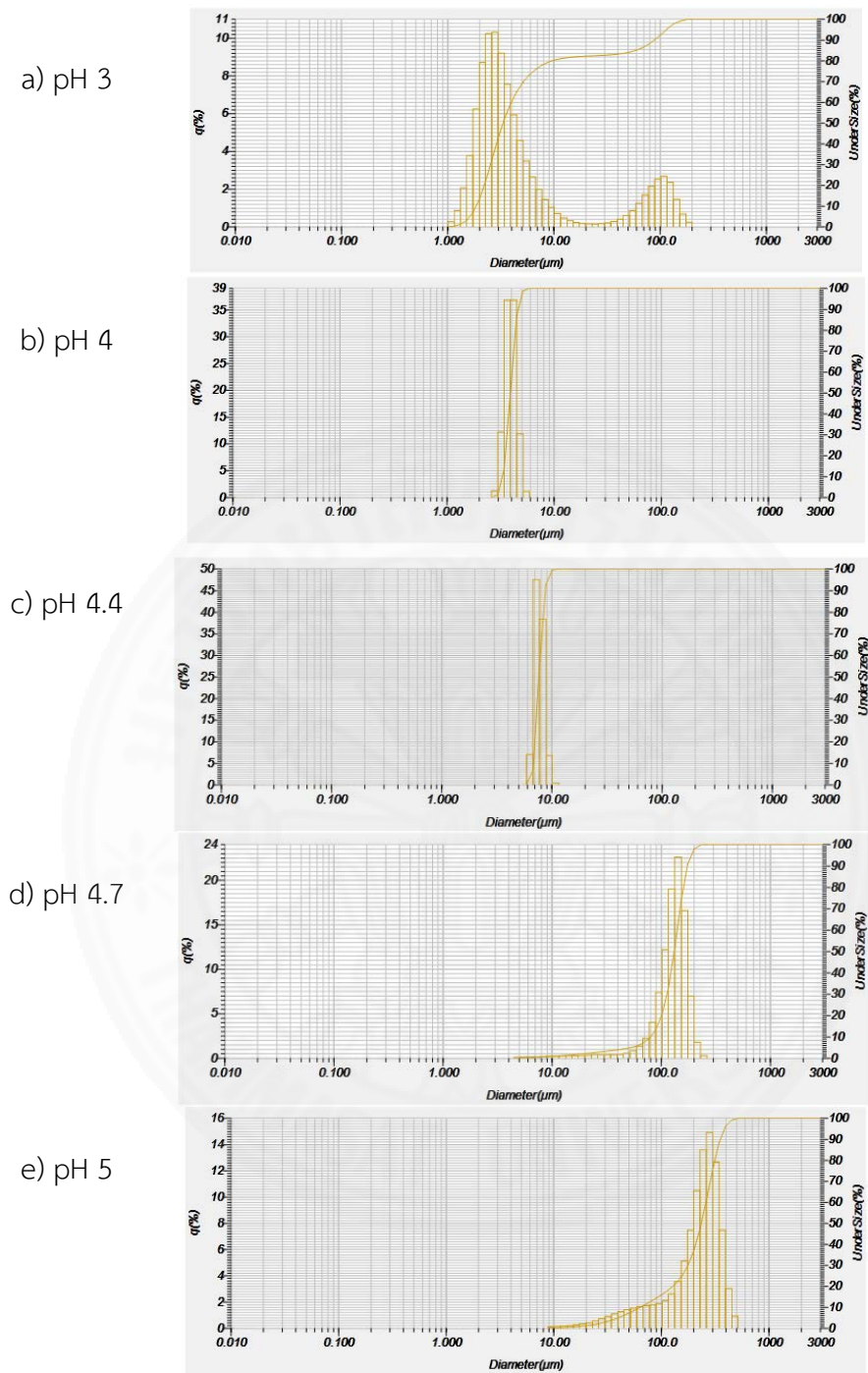
e) pH 4.5



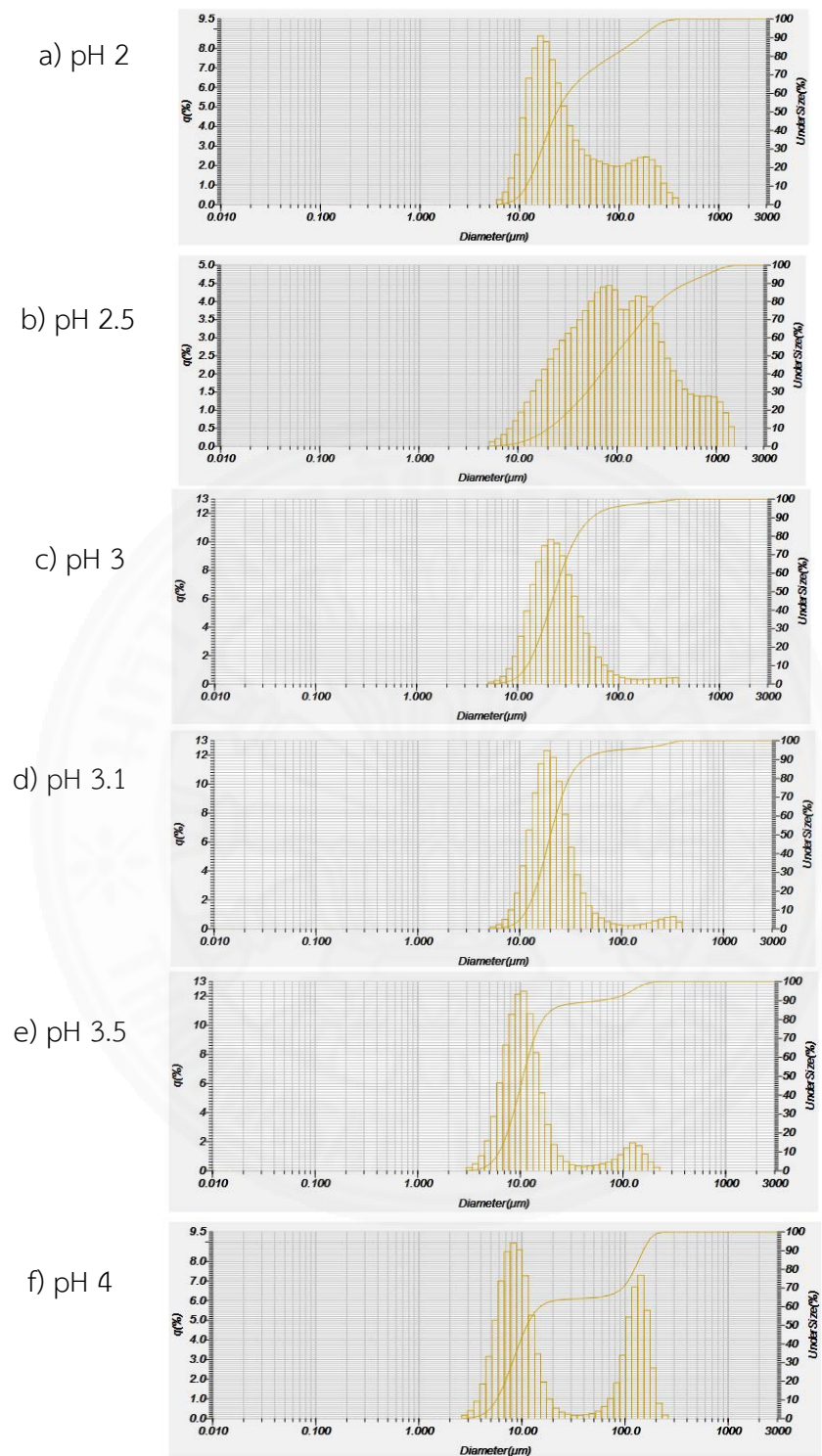
f) pH 5



รูปที่ 4.9 การกระจายตัวของขนาดอนุภาคสารผสม GE:GA ที่อัตราส่วน 2:1 (a) ที่ pH 3 (b) ที่ pH 3.5 (c) ที่ pH 4 (d) ที่ pH 4.3 (e) ที่ pH 4.5 (f) ที่ pH 5



รูปที่ 4.10 การกระจายตัวของขนาดอนุภาคสารผสม GE:CFG ที่อัตราส่วน 1:1 (a) ที่ pH 3 (b) ที่ pH 4 (c) ที่ pH 4.4 (d) ที่ pH 4.7 (e) ที่ pH 5



รูปที่ 4.11 การกระจายตัวของขนาดอนุภาคสารผสม GE:CMC ที่อัตราส่วน 1:1 (a) ที่ pH 2 (b) ที่ pH 2.5 (c) ที่ pH 3 (d) ที่ pH 3.1 (e) ที่ pH 3.5 (f) ที่ pH 4

ที่ค่า pH ที่ให้ค่าความขุ่นสูงสุดของสารผสม GE:GA (pH 4.3) มีขนาดอนุภาคอยู่ในช่วง 10.10-262.38 μm และมีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 69.15 μm (รูปที่ 4.9d) สารผสม GE:CFG (pH 4.4) มีขนาดอนุภาคอยู่ในช่วง 7.70-11.57 μm และมีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 8.02 μm (รูปที่ 4.10c) และสารผสม GE:CMC (pH 3.1) มีขนาดอนุภาคอยู่ในช่วง 5.87-394.24 μm และมีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 32.88 μm (รูปที่ 4.11d) จากผลการทดลองพบว่า GE:CFG มีขนาดอนุภาคของ coacervates เล็กที่สุด และมีการกระจายตัวของขนาดอนุภาคของ coacervates ในช่วงแคบ ซึ่งจากการมองเห็นพบว่าตะกอนมีลักษณะละเอียดกว่าสารผสมชนิดอื่นๆ

สารผสม GE:GA มีอนุภาค coacervates ขนาดใหญ่ และมีการกระจายตัวของขนาดที่มากกว่า GE:CFG ส่วน GE:CMC มีขนาดอนุภาคปานกลาง แต่มีการกระจายตัวของขนาดที่มากกว่า GE:GA และ GE:CFG ที่เป็นเช่นนี้อาจเป็นเพราะว่า CMC มีประจุลบที่มากกว่า GA และ CFG และ CMC มีความหนืดสูงทำให้การเกิด coacervates มีความซับซ้อนมากกว่า

4.2 การศึกษาคุณลักษณะของ beta-carotene microcapsules ที่เตรียมโดยใช้สภาวะที่เหมาะสม

4.2.1 Microencapsulation efficiency (%ME) และ Spray dry yield (%)

จากการศึกษาประสิทธิภาพในการห่อหุ้ม (ตารางที่ 4.3) พบว่าสารผสม GE:GA, GE:CFG และ GE:CMC มีประสิทธิภาพในการห่อหุ้มสูงกว่า GA 6% อาจเกิดจากในขั้นตอนการเตรียมอิมัลชันของสารผสม และ beta-carotene ชั้นแรกจะนำสารละลาย GE ผสมเข้ากับ beta-carotene จนเป็นเนื้อเดียวกัน ในขั้นตอนนี้จะเกิดอันตรกิริยาระหว่าง beta-carotene กับส่วนของ GE ในกลุ่มของกรดอะมิโนที่ไม่มีขั้ว เช่น glycine ซึ่งเป็นกรดอะมิโนหลักในโครงสร้างโพลีเปปไทด์ของ GE และเมื่อนำมาผสมกับสารละลาย GA หรือ CFG หรือ CMC จะเกิดพันธะ electrostatic ที่มีความแข็งแรง ทำให้ผนังมีความหนาแน่นกว่า GA 6% และเนื่องจากปริมาณของ GA ที่ใช้ในการห่อหุ้มอาจไม่เพียงพอกับปริมาณของ beta-carotene ซึ่งโดยทั่วไปแล้วหากจะนำ GA มาห่อหุ้มและต้องการประสิทธิภาพสูงต้องใช้ถึง 20% โดยมีงานวิจัยของ Montero และคณะ (2016) ที่ศึกษาการห่อหุ้ม astaxanthin จากเปลือกกุ้งโดยใช้สารห่อหุ้มเป็น GA 20% พบว่ามีประสิทธิภาพในการห่อหุ้ม 94% และงานวิจัยของ Frascareli และคณะ (2012) ที่ศึกษาการห่อหุ้ม coffee oil ด้วย GA 26% พบว่ามีประสิทธิภาพในการห่อหุ้ม 81.99% แต่สาเหตุที่เลือกใช้ GA เพียง 6% เนื่องจากต้องการควบคุมปริมาณของสารห่อหุ้มให้เท่ากับ total solid สูงสุดของสารผสมคือสารผสม GE:GA ที่มี total solid 6% เช่นเดียวกัน

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการห่อหุ้มระหว่างสารผสมพบว่า GE:GA และ GE:CFG จะมีประสิทธิภาพในการห่อหุ้มมากกว่า GE:CMC ตามลำดับ โดย GA 6%, GE:GA, GE:CFG และ GE:CMC มีประสิทธิภาพในการห่อหุ้ม 65.87, 87.33, 80.57 และ 70.81% ตามลำดับ ซึ่งประสิทธิภาพในการห่อหุ้มของ GE:GA จะมีค่าใกล้เคียงกับการศึกษาวิจัยของ Leclercq และคณะ (2008) ที่ศึกษาการห่อหุ้ม limonene ด้วยเทคนิค complex coacervation โดยใช้สารห่อหุ้มเป็น GE:GA (1.5:1) พบว่าประสิทธิภาพในการห่อหุ้ม limonene 85.3% จากการที่ GA และ CFG มีโปรตีนอยู่ในโครงสร้าง 2-3% ทำให้มีสมบัติในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ เมื่อเติมสารละลาย GA หรือ CFG ลงไปในขั้นตอนการเตรียมจะมีกรดอะมิโนชนิดที่ไม่มีซัลฟ์ที่สามารถไปเกิดอันตรกิริยากับ beta-carotene ส่งผลให้มีประสิทธิภาพในการห่อหุ้มมากกว่า GE:CMC และเมื่อเปรียบเทียบระหว่าง GE:GA และ GE:CFG พบว่า GE:GA จะมีประสิทธิภาพในการห่อหุ้มที่สูงกว่า GE:CFG อาจเกิดจากการที่ CFG มีประจุลบที่น้อยกว่า GA (รูปที่ 4.7) ทำให้ CFG เกิดพันธะ electrostatic กับ GE ได้ไม่มากเท่ากับ GA จึงอาจทำให้ผนังห่อหุ้มไม่แข็งแรง และห่อหุ้มได้ไม่ดี และอาจเกิดจากความเกาะกะของโครงสร้างโมเลกุล เนื่องจากโครงสร้างของ CFG ที่มีขนาดใหญ่กว่า GA (Doner และ คณะ, 1998; Dror และคณะ, 2006) ทำให้การเกิดอันตรกิริยากับ beta-carotene เป็นไปได้ยากกว่า

ตารางที่ 4.3 Microencapsulation efficiency (%ME) และ Spray dry yield (%) ของไมโครแคปซูล GA 6%, GE:GA, GE:CFG และ GE:CMC

สารผสม	อัตราส่วน	%ME	%Spray dry yield
GA 6%	-	65.87±2.32 ^d	70.93±1.45 ^a
GE:GA	2:1	87.33±1.28 ^a	45.72±1.08 ^c
GE:CFG	1:1	80.57±1.25 ^b	55.59±1.72 ^b
GE:CMC	1:1	70.81±6.61 ^c	20.10±2.86 ^d

ตัวเลขที่มีตัวหนังสือกำกับต่างกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในแถวแนวนตั้ง ($p < 0.05$)

ตารางที่ 4.4 ปริมาณ beta-carotene ทั้งหมด, ที่ผิว และที่ถูกห่อหุ้มของไมโครแคปซูล GA 6%, GE:GA, GE:CFG และ GE:CMC

ไมโครแคปซูล	Surface beta-carotene (g/g dry)	Total beta-carotene (g/g dry)	Encapsulated beta-carotene (g/g dry)
GA 6%	0.0108±0.0006 ^c	0.0021±0.0002 ^b	0.0086±0.0007 ^d
GE:GA	0.0115±0.0010 ^c	0.0010±0.0002 ^c	0.0106±0.0009 ^c
GE:CFG	0.0164±0.0011 ^b	0.0025±0.0003 ^b	0.0139±0.0011 ^b
GE:CMC	0.0431±0.0035 ^a	0.0086±0.0021 ^a	0.0344±0.0026 ^a

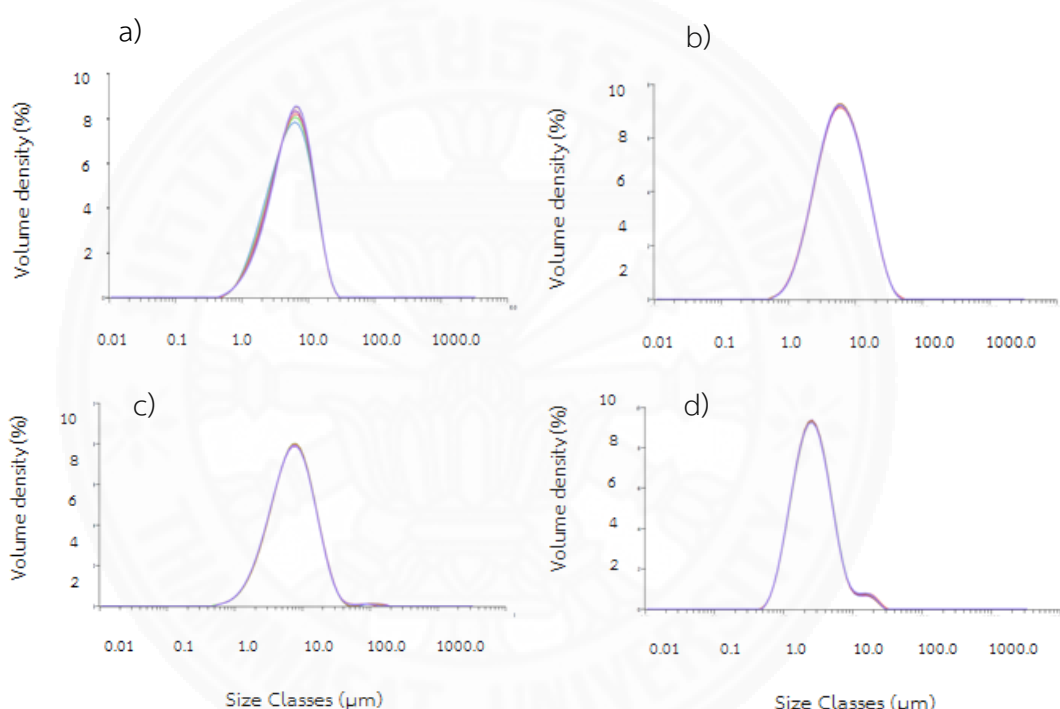
ตัวเลขที่มีตัวหนังสือกำกับต่างกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในแถวแนวนิ่ง ($p < 0.05$)

จากการประเมินปริมาณ beta-carotene ทั้งหมด, ที่ผิว และที่ถูกห่อหุ้มของไมโครแคปซูลชนิดต่างๆ (ตารางที่ 4.4) พบว่าไมโครแคปซูลชนิดที่เตรียมมาด้วยเทคนิค complex coacervation มีปริมาณของ beta-carotene ที่ถูกห่อหุ้มมากกว่าไมโครแคปซูล GA 6% เนื่องจาก GE:GA, GE:CFG และ GE:CMC มี GE ซึ่งเป็นโปรตีนช่วยในการเกิดอันตรกิริยากับ beta-carotene จากผลการทดลองพบว่า GE:CMC มีปริมาณ beta-carotene ที่ถูกห่อหุ้มสูงสุด รองลงมาคือ GE:CFG และ GE:GA ตามลำดับ ทั้งนี้อาจเกิดจากการที่ GE:CMC มีความหนืดสูงกว่าสารชนิดอื่นซึ่งอาจมีส่วนช่วยในการห่อหุ้ม beta-carotene ถึงแม้ว่า GE:GA และ GE:CFG จะมีโปรตีนอยู่ในโครงสร้าง GA และ CFG ก็ไม่สามารถช่วยในการเกิดอันตรกิริยากับ beta-carotene และห่อหุ้มไว้ได้มากเท่า GE:CMC

จากการประเมินผล Spray dry yield ของไมโครแคปซูลแต่ละชนิด พบว่าไมโครแคปซูล GA 6% มี yield สูงที่สุด และไมโครแคปซูล GE:CMC มี yield ต่ำที่สุด (ตารางที่ 4.3) การที่ไมโครแคปซูลมี yield ที่แตกต่างกันเนื่องมาจากชนิดของสาร และลักษณะของอิมัลชันก่อนนำไปทำแห้งด้วย spray dry ไมโครแคปซูล GA 6% มี yield สูงกว่าไมโครแคปซูลที่เตรียมจาก GE:GA, GE:CFG และ GE:CMC ทั้งนี้อาจเนื่องจาก GA เป็นสารให้ความข้นหนืดต่ำเมื่อเตรียมจะได้อิมัลชันที่มีความข้นหนืดต่ำ สามารถทำแห้งเป็นละอองได้ง่ายจึงได้ปริมาณของไมโครแคปซูลที่มากกว่า ส่วน GE:GA, GE:CFG และ GE:CMC เนื่องจาก coacervates ซึ่งเป็นแบบ insoluble ทำให้การฉีดผ่านยากขึ้น และอาจเป็นผลมาจากความหนืดของอิมัลชันที่มากกว่า GA 6% ทำให้ spray dry ได้ยากกว่าทำให้ไมโครแคปซูลติดอยู่ภายใน chamber ของเครื่อง spray dry ค่อนข้างมาก

4.2.2 การกระจายตัวของขนาดอนุภาคไมโครแคปซูล

จากการวัดการกระจายตัวของขนาดอนุภาคไมโครแคปซูล ดังรูปที่ 4.12 พบว่า ไมโครแคปซูล GA 6% มีขนาดอนุภาคตั้งแต่ 0.523-24.1 μm (เฉลี่ย 5.50 μm) ไมโครแคปซูล GE:GA มีขนาดอนุภาคตั้งแต่ 0.594-40.1 μm (เฉลี่ย 5.94 μm) ไมโครแคปซูล GE:CFG มีขนาดอนุภาคตั้งแต่ 0.523-111 μm (เฉลี่ย 7.03 μm) และไมโครแคปซูล GE:CMC มีขนาดอนุภาคตั้งแต่ 0.523-24.1 μm (เฉลี่ย 2.57 μm) ขนาดของไมโครแคปซูล GA 6% มีขนาดที่ใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Montero และคณะ (2016)



รูปที่ 4.12 การกระจายตัวของไมโครแคปซูล a) GA 6%, b) GE:GA, c) GE:CFG และ d) GE:CMC

4.2.3 ความสามารถในการละลายน้ำ (Solubility)

คุณสมบัติในด้านการละลายน้ำของไมโครแคปซูลเป็นปัจจัยสำคัญในการนำมาใช้ประโยชน์ในการเตรียมผลิตภัณฑ์อาหารจำพวกเครื่องดื่มสำเร็จรูป ซึ่งต้องผลิตภัณ์ที่ละลายในน้ำได้ทันที จึงได้ศึกษาการละลายน้ำของไมโครแคปซูล (ตารางที่ 4.5) ผลการศึกษาพบว่า ไมโครแคปซูลที่ได้จากการเตรียมด้วยเทคนิค complex coacervation (GE:GA, GE:CFG และ GE:CMC) จะมีความสามารถในการละลายน้ำต่ำกว่า GA 6% อาจเกิดเนื่องจากพันธะ electrostatic ที่เกิดขึ้นในกระบวนการเตรียมไมโครแคปซูลทำให้ได้ผนังไมโครแคปซูลมีความแข็งแรง น้ำซึมผ่านได้ยากกว่า GA 6% เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการละลายน้ำของสารผสมชนิดต่างๆพบว่า GE:CMC ละลายน้ำ

ได้สูงกว่า GE:CFG และ GE:GA ตามลำดับ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากขนาดอนุภาคของไมโครแคปซูลที่แตกต่างกัน (รูปที่ 4.12) โดยทั่วไปแล้วอนุภาคขนาดเล็กจะมีผิวสัมผัสกับน้ำมากที่สุดส่งผลให้มีความสามารถในการละลายน้ำได้ดี โดยขนาดของไมโครแคปซูล GE:CFG มีขนาดใหญ่ที่สุด (เฉลี่ย $7.03 \mu\text{m}$) ทำให้มีพื้นที่ผิวสัมผัสกับน้ำน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับไมโครแคปซูล GE:GA (เฉลี่ย $5.94 \mu\text{m}$) และ GE:CMC (เฉลี่ย $2.57 \mu\text{m}$) และเนื่องจาก GE:CMC มีขนาดไมโครแคปซูลเล็กที่สุด ทำให้มีพื้นที่ผิวสัมผัสกับน้ำได้มากที่สุดส่งผลให้มีความสามารถในการละลายน้ำมากที่สุด นอกจากนี้อันตรกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่าง GE และโพลีแซคคาไรด์ที่แตกต่างกัน ทำให้มีความแข็งแรงของอันตรกิริยาที่แตกต่างกัน และในระหว่างการทำแห้งด้วยวิธี spray dry อาจช่วยให้โครงสร้างของไมโครแคปซูล GE:CMC เกิด agglomeration ช่วยให้การละลายน้ำได้ดีขึ้น

ตารางที่ 4.5 เปอร์เซ็นต์การละลายน้ำของไมโครแคปซูล

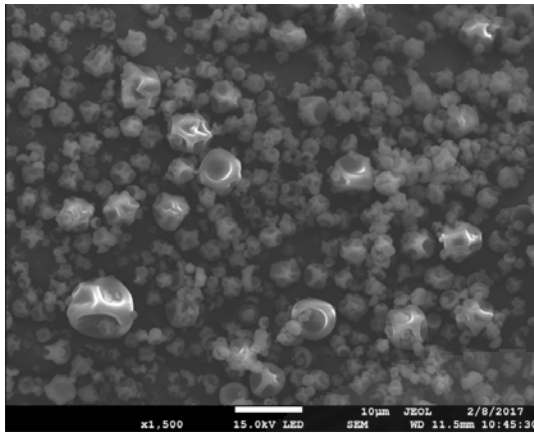
สารผสม	% การละลายน้ำ
GA 6%	87.52 ± 3.499^a
GE:GA	54.20 ± 10.143^b
GE:CFG	51.02 ± 5.573^b
GE:CMC	79.29 ± 7.806^a

ตัวเลขที่ตัวอักษรกำกับแตกต่างกัน แสดงค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในแถวแนวตั้งเดียวกัน ($p < 0.05$)

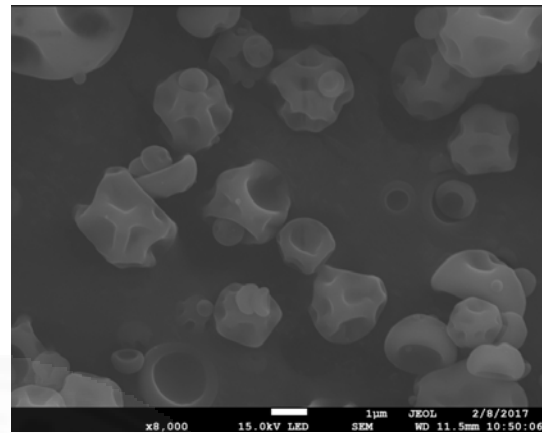
4.2.4 สัณฐานวิทยาของไมโครแคปซูล

จากการศึกษาสัณฐานวิทยาของไมโครแคปซูลด้วย SEM แสดงผลดังรูปที่ 4.13-4.16 ไมโครแคปซูลทั้ง 4 ชนิดคือ GA 6%, GE:GA, GE:CFG และ GE:CMC มีลักษณะคล้ายคลึงกัน เนื่องจากกระบวนการทำแห้งด้วยวิธี spray dryer ทำให้ไมโครแคปซูลมีลักษณะทรงกลม มีรอยบุ๋มจากการระเหยของน้ำออกจากตัวอย่างอย่างรวดเร็ว (Frascareli และคณะ, 2012) มีผิวเรียบ ไม่พบรอยแตกหรือรูพรุน ซึ่งสามารถบ่งบอกได้ถึงความสามารถในการป้องกันการผ่านเข้าออกของก๊าซ และมีความสามารถในการกักเก็บ และปกป้องสารสำคัญ (Molina Ortiz และคณะ, 2009) โดยไมโครแคปซูลของ GE:CFG มีขนาดใหญ่ที่สุด GE:CMC มีขนาดเล็กที่สุด ส่วน GE:GA และ GA 6% มีขนาดปานกลาง และใกล้เคียงกันซึ่งสอดคล้องกับรูปที่ 4.12

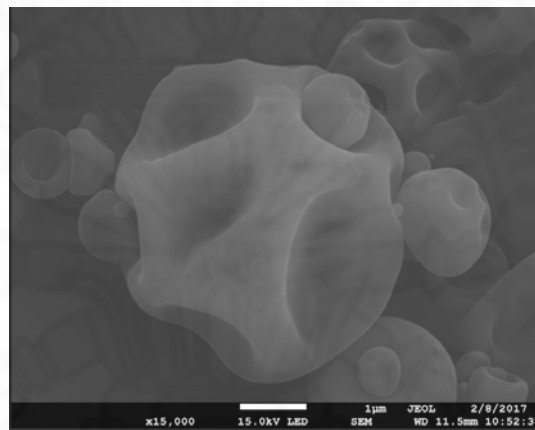
a)



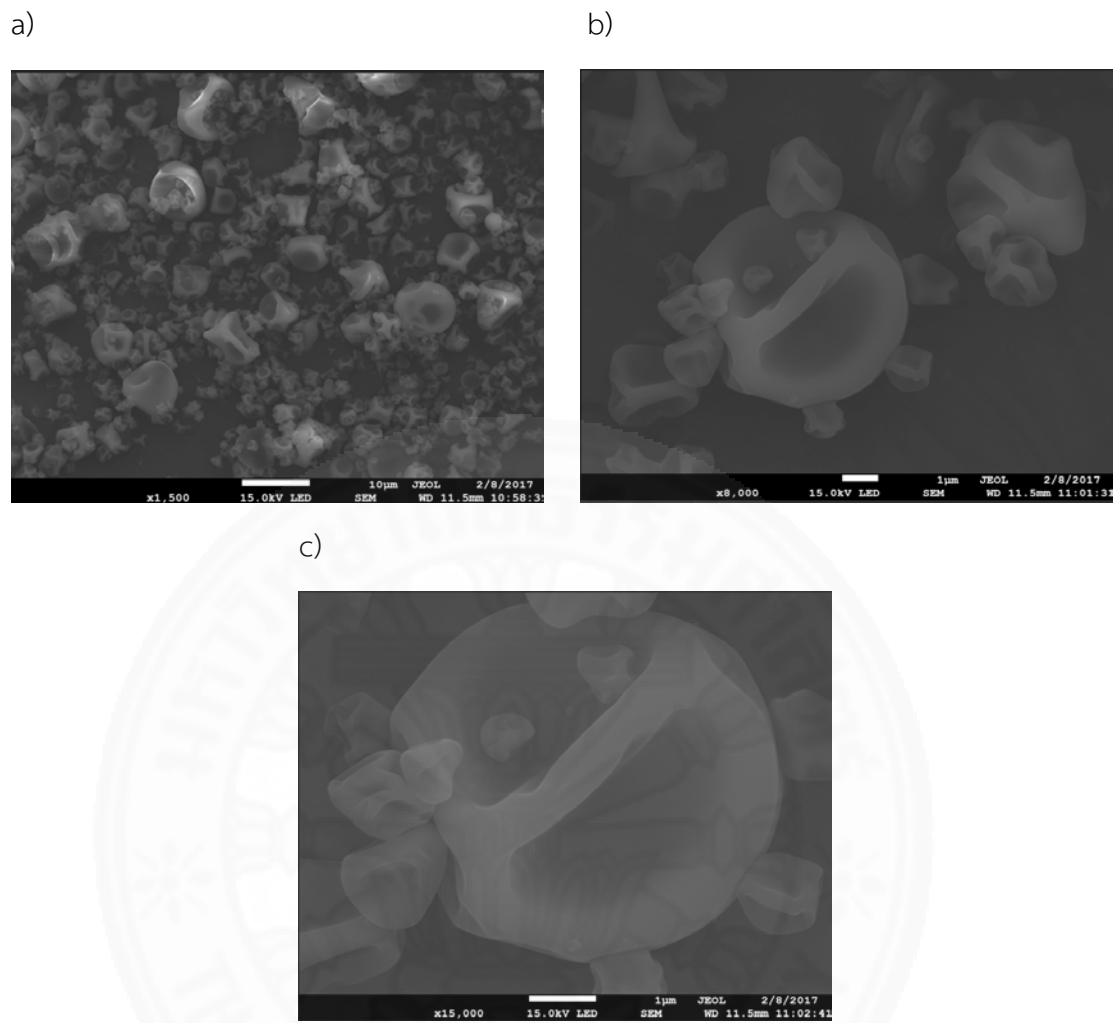
b)



c)

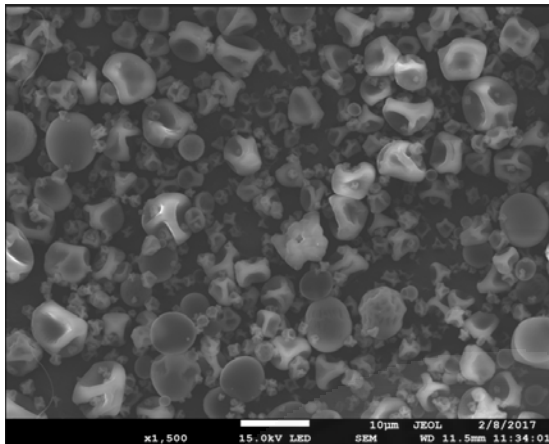


รูปที่ 4.13 ภาพถ่ายไมโครแคปซูล GA 6% จาก SEM ที่กำลังขยาย a) 1,500, b) 8,000 และ c) 15,000 เท่า

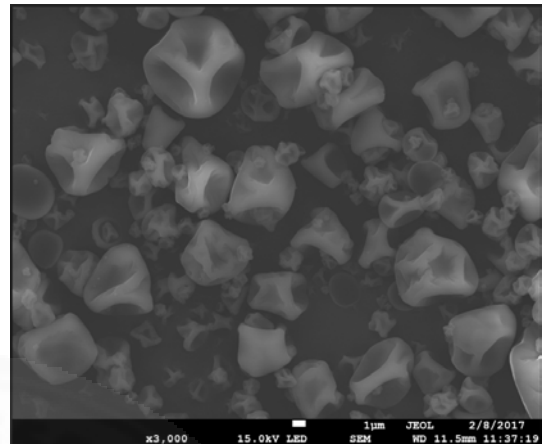


รูปที่ 4.14 ภาพถ่ายไมโครแคปซูล GE:GA จาก SEM ที่กำลังขยาย a) 1,500, b) 8,000 และ c) 15,000 เท่า

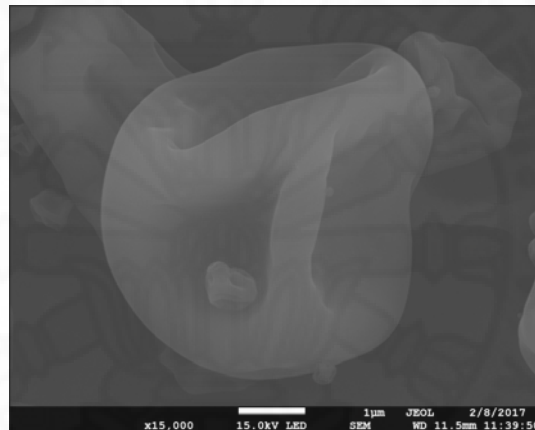
a)



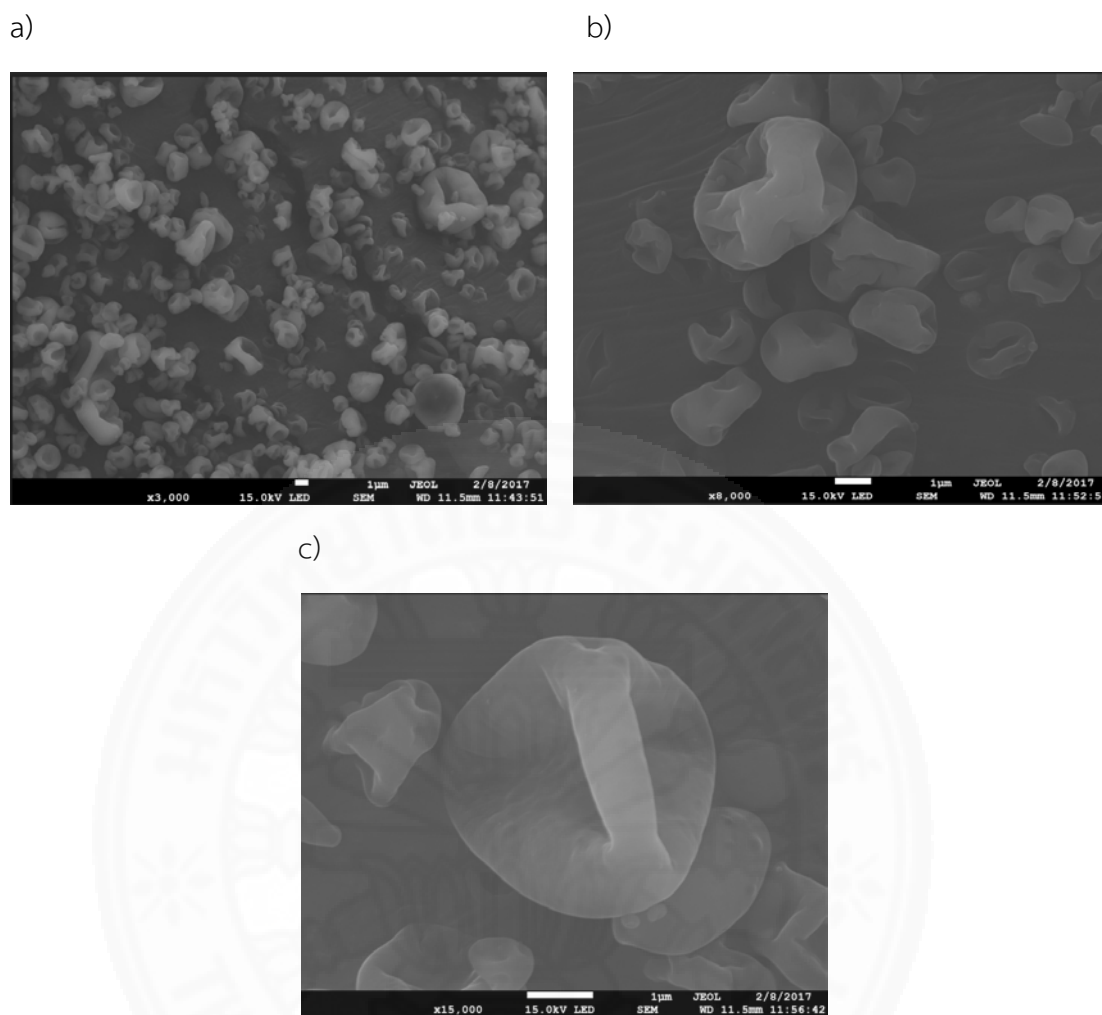
b)



c)



รูปที่ 4.15 ภาพถ่ายไมโครแคปซูล GE:CFG จาก SEM ที่กำลังขยาย a) 1,500, b) 3,000 และ c) 15,000 เท่า



รูปที่ 4.16 ภาพถ่ายไมโครแคปซูล GE:CMC จาก SEM ที่กำลังขยาย a) 3,000, b) 8,000 และ c) 15,000 เท่า

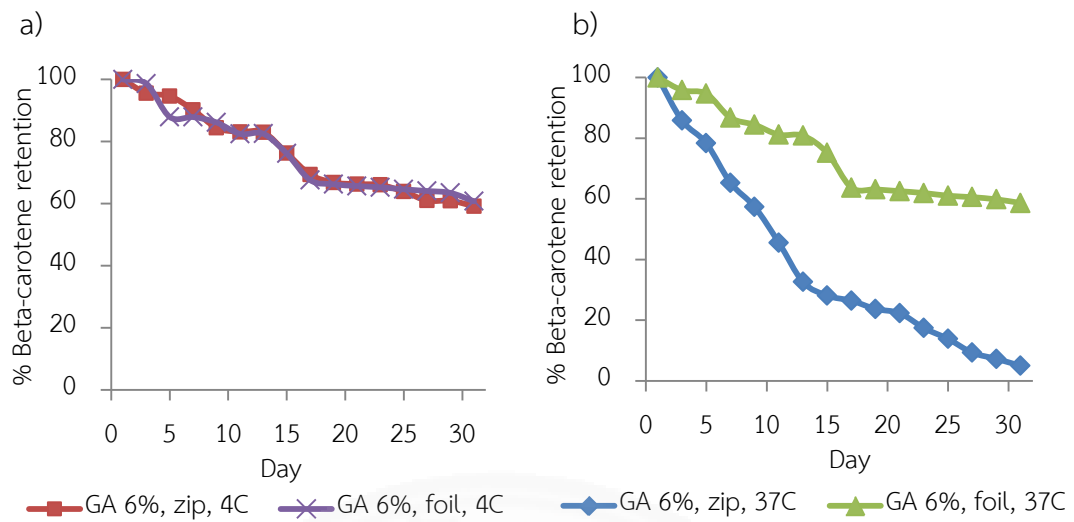
4.2.5 ความคงตัวของ beta-carotene ระหว่างการเก็บรักษา

จากการศึกษาความคงตัวของ beta-carotene ที่ถูกห่อหุ้มด้วย GA 6%, GE:GA, GE:CFG และ GE:CMC ระหว่างการเก็บรักษา 31 วัน (รูปที่ 4.17-4.20) พบว่าปริมาณ beta-carotene ลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มมากขึ้น ซึ่งอัตราการลดลงของ beta-carotene ขึ้นกับอุณหภูมิ และบรรจุภัณฑ์ เมื่อพิจารณาอุณหภูมิในการเก็บรักษาพบว่าที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส beta-carotene จะมีความคงตัวมากกว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เนื่องจากอิทธิพลของความร้อนจะทำให้ beta-carotene สลายตัวได้เร็ว เมื่อพิจารณาบรรจุภัณฑ์พบว่า ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสไมโครแคปซูลที่เก็บในถุง laminated foil จะมีการสลายตัวของ beta-carotene ที่ช้ากว่าการเก็บรักษาในถุงซิปลิโพลีเอทิลีน เนื่องจากถุง laminated foil มี

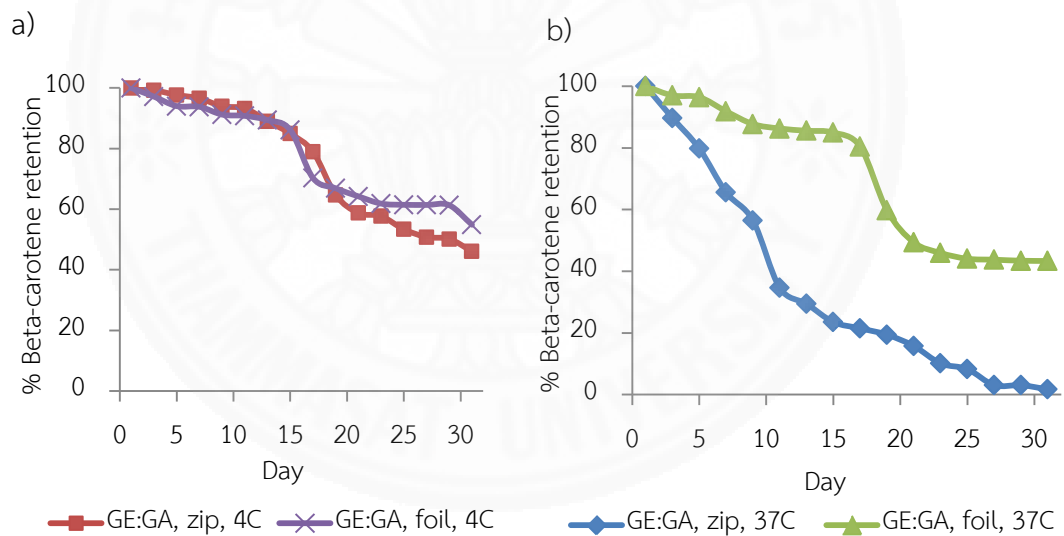
ความสามารถในการป้องกันแสง และการซึมผ่านของออกซิเจน แต่ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสพบว่า ชนิดของบรรจุภัณฑ์จะไม่มีผลต่อการสลายตัวของ beta-carotene ในช่วง 20 วันแรก เนื่องจากการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ แต่หลังจากการเก็บรักษา 20 วันจะเริ่มเห็นการสลายตัวของ beta-carotene ในถุงซิปลึ้นที่เร็วกว่าในถุง laminated foil โดย GE:GA (รูปที่ 4.18) และ GE:CMC (รูปที่ 4.20) จะเห็นความแตกต่างของ beta-carotene ที่เก็บในถุงซิปลึ้นโพลีเอทิลีนและ laminated foil เนื่องจากอิทธิพลของถุงซิปลึ้นโพลีเอทิลีนที่ทั้งแสง ความชื้น และออกซิเจนสามารถซึมผ่านได้ ส่วน GA 6% (รูปที่ 4.17) และ GE:CFG (รูปที่ 4.19) ในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียสพบว่า การสลายตัวของ beta-carotene ไม่ขึ้นกับบรรจุภัณฑ์ ซึ่งอาจเกิดจากอิทธิพลของความแข็งแรงของสารห่อหุ้มที่ทำให้มีความคงตัวของ beta-carotene มากกว่า GE:GA และ GE:CMC

เมื่อเปรียบเทียบไมโครแคปซูลของสารผสมกับ GA 6% พบว่า GA 6% มีปริมาณ beta-carotene คงเหลือมากกว่าไมโครแคปซูลที่เตรียมด้วยวิธี complex coacervation อาจเกิดจากผนังไมโครแคปซูล GE:GA, GE:CFG และ GE:CMC อาจเกิดการอ่อนตัว หรือเกิดรูพรุน หรือรอยแตกที่ผิวไมโครแคปซูลในระหว่างการเก็บรักษา ทำให้น้ำ และออกซิเจนแทรกเข้าไปได้ (Shen และ Quek, 2014) และเมื่อเปรียบเทียบไมโครแคปซูลของสารผสมพบว่า ไมโครแคปซูล GE:GA, GE:CFG และ GE:CMC มีปริมาณ beta-carotene คงเหลือใกล้เคียงกัน แต่ GE:CMC (รูปที่ 4.20) หลังจากเก็บรักษา 20 วันที่บรรจุในถุงซิปลึ้นโพลีเอทิลีนที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสจะเกิดการเกาะตัวกันของไมโครแคปซูลจากอิทธิพลของความชื้น

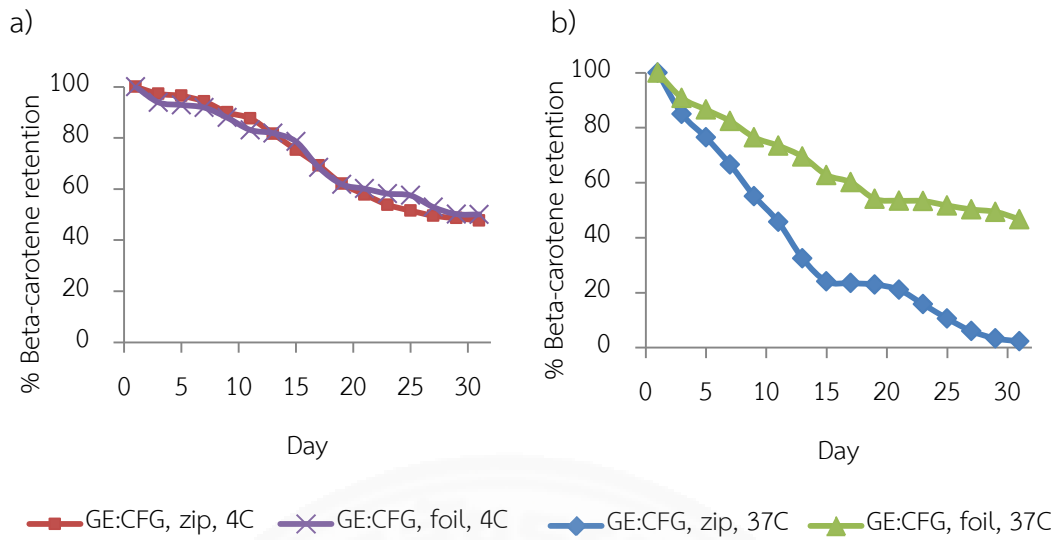
เมื่อเปรียบเทียบการเก็บรักษาในกล่อง Lock&Lock กับการเก็บรักษาแบบไม่ใส่กล่อง Lock&Lock ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสพบว่า การเก็บรักษาในกล่อง Lock&Lock จะมีการสลายตัวของ beta-carotene ที่ช้ากว่าการเก็บรักษาแบบไม่ใส่กล่อง เนื่องจากอิทธิพลของความชื้น จะเร่งให้ beta-carotene สลายตัวเร็วขึ้น และไมโครแคปซูลเกิดการเกาะตัวกันในระยะเวลาที่สั้นกว่าการเก็บในกล่อง Lock&Lock



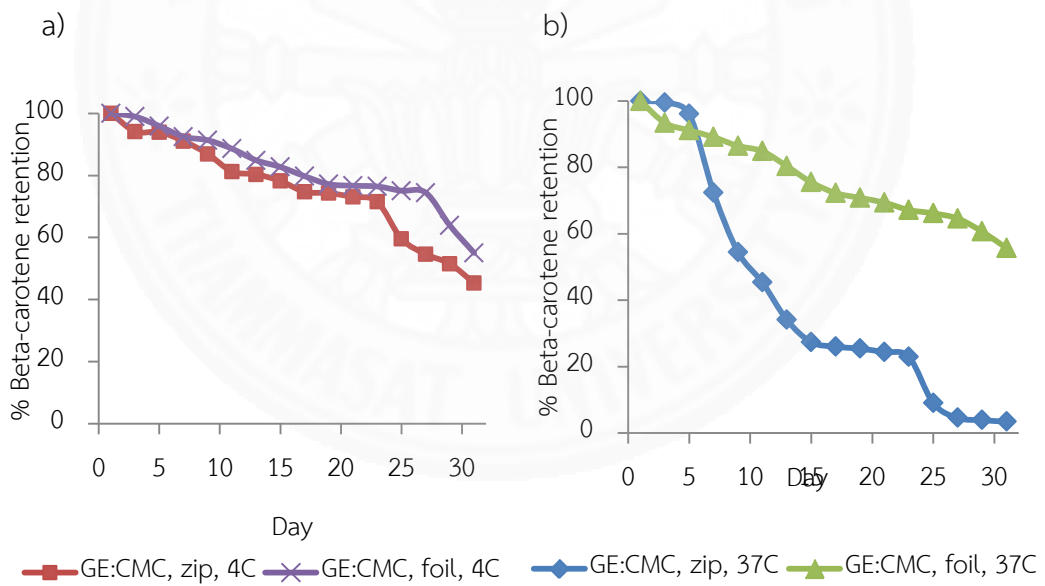
รูปที่ 4.17 ปริมาณ beta-carotene คงเหลือของไมโครแคปซูล GA 6% ในระหว่างการเก็บรักษา 31 วัน a) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ b) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส



รูปที่ 4.18 ปริมาณ beta-carotene คงเหลือของไมโครแคปซูล GE:GA ในระหว่างการเก็บรักษา 31 วัน a) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ b) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส



รูปที่ 4.19 ปริมาณ beta-carotene คงเหลือของไมโครแคปซูล GE:CFG ในระหว่างการเก็บรักษา 31 วัน a) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ b) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส



รูปที่ 4.20 ปริมาณ beta-carotene คงเหลือของไมโครแคปซูล GE:CMC ในระหว่างการเก็บรักษา 31 วัน a) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ b) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 4.6 การเปลี่ยนแปลงปริมาณ beta-carotene คงเหลือในระหว่างการเก็บรักษาด้วยสมการ kinetic (first order) ของไมโครแคปซูล GA 6%, GE:GA, GE:CFG และ GE:CMC

สภาวะการเก็บรักษา	k (day ⁻¹)	R ²
GA 6%, zip, 37°C	0.0814	0.9751
GA 6%, zip, 4°C	0.0161	0.9703
GA 6%, foil, 37°C	0.0170	0.9296
GA 6%, foil, 4°C	0.0149	0.9337
GE:GA, zip, 37°C	0.1127	0.9526
GE:GA, zip, 4°C	0.0254	0.9323
GE:GA, foil, 37°C	0.0298	0.8933
GE:GA, foil, 4°C	0.0185	0.9257
GE:CFG, zip, 37°C	0.1002	0.9341
GE:CFG, zip, 4°C	0.0252	0.9683
GE:CFG, foil, 37°C	0.0220	0.9658
GE:CFG, foil, 4°C	0.0220	0.972
GE:CMC, zip, 37°C	0.0992	0.9217
GE:CMC, zip, 4°C	0.0202	0.9158
GE:CMC, foil, 37°C	0.0154	0.9847
GE:CMC, foil, 4°C	0.0138	0.8954

จากผลสมการ kinetic จะบ่งบอกการเปลี่ยนแปลงปริมาณ beta-carotene ที่ถูกห่อหุ้มคงเหลือในระหว่างการเก็บรักษา 31 วันพบว่า ไมโครแคปซูล GA 6%, GE:GA, GE:CFG และ GE:CMC มีการสลายตัวของ beta-carotene เป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง (ตารางที่ 4.6) แสดงให้เห็นว่าการสลายตัวของ beta-carotene ขึ้นกับความเข้มข้นของ beta-carotene ตั้งต้น เมื่อพิจารณาค่า k จากสมการ kinetic โดยที่ค่า k จะบ่งบอกอัตราการสลายตัวของ beta-carotene พบว่าถ้าค่า k สูง แสดงว่ามีอัตราการสลายตัวของ beta-carotene มาก โดยค่า k (ตารางที่ 4.6) มีความสอดคล้องกับการสลายตัวของ beta-carotene ของไมโครแคปซูลระหว่างการเก็บรักษาที่สภาวะต่างๆ (รูปที่ 4.17-4.20)

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

5.1.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมไมโครแคปซูลโดย complex coacervation ระหว่างเจลาติน และโพลีแซคคาไรด์

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเกิด coacervates ระหว่าง GE และโพลีแซคคาไรด์ 3 ชนิดคือ GA, CFG และ CMC โดยการประเมินความขุ่นพบว่า GE:CFG ที่อัตราส่วน 1:2 ให้ค่าความขุ่นสูงสุด และ GE:CFG ที่อัตราส่วน 2:1 ให้ค่าความขุ่นสูงสุดต่ำที่สุด โดยอัตราส่วนมีผลต่อค่า pH ที่ให้ค่าความขุ่นสูงสุด สารผสม GE:GA, GE:CFG และ GE:CMC มีค่าความขุ่นสูงสุดที่อัตราส่วน 1:1, 1:2 และ 1:1 ตามลำดับ จากการวัดค่า zeta พบว่าค่า pH ที่ให้ค่า zeta-potential เข้าใกล้ศูนย์มีค่าใกล้เคียงกับค่า pH ที่ให้ค่าความขุ่นสูงสุด และการกระจายตัวของขนาดอนุภาค coacervates ที่ pH ที่ให้ค่าความขุ่นสูงสุดจะมีการกระจายตัวของขนาดในช่วงแคบ และที่ pH สูงกว่าหรือต่ำกว่าจะมีการแยกของฟีด หรือการกระจายตัวของขนาด coacervates ในช่วงกว้าง

5.1.2 การศึกษาคุณลักษณะของ beta-carotene microcapsule ที่เตรียมโดยใช้สภาวะที่เหมาะสม

จากการศึกษาคุณลักษณะของไมโครแคปซูล GA 6%, GE:GA, GE:CFG และ GE:CMC ที่เตรียมโดยคัดเลือกจากสภาวะที่เหมาะสมพบว่า GA 6% มีประสิทธิภาพในการห่อหุ้ม 65.87% มี spray dry yield 70.93% และมีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 5.50 μm ไมโครแคปซูล GE:GA มีประสิทธิภาพในการห่อหุ้ม 87.33% มี spray dry yield 45.72% และมีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 5.94 μm ไมโครแคปซูล GE:CFG มีประสิทธิภาพในการห่อหุ้ม 80.57% มี spray dry yield 55.59% และมีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 7.03 μm และไมโครแคปซูล GE:CMC มีประสิทธิภาพในการห่อหุ้ม 70.81% มี spray dry yield 20.10% และมีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 2.57 μm ไมโครแคปซูลที่เตรียมด้วยเทคนิค complex coacervation มีความสามารถในการละลายน้ำต่ำกว่าไมโครแคปซูล GA 6%

จากการศึกษาสัณฐานวิทยาของไมโครแคปซูลพบว่า ไมโครแคปซูลทั้ง 4 ชนิดมีลักษณะทรงกลม มีรอยบวม ผิวเรียบและไม่พรอยแตก เมื่อนำไมโครแคปซูลทั้ง 4 ชนิดมาศึกษาความคงตัวของ beta-carotene ในระหว่างการเก็บรักษา 31 วันพบว่า เมื่ออายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นมีการสลายตัวของ beta-carotene มากขึ้น โดยที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสมีการสลายตัวของ beta-

carotene ที่เร็วกว่าที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสการเก็บรักษาในถุงชิปจะมีการสลายตัวของ beta-carotene ที่เร็วกว่าในถุง laminated foil ส่วนที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสในช่วงแรกบรรจุภัณฑ์ไม่มีผลต่อการสลายตัวของ beta-carotene แต่หลังจากเก็บรักษา 20 วันพบว่า GE:GA และ GE:CMC ในถุง aluminum foil จะมีการสลายตัวของ beta-carotene ที่ช้ากว่าในถุงชิป ส่วนอีก GA 6% และ GE:CFG ไม่มีอิทธิพลของบรรจุภัณฑ์ในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

เมื่อพิจารณาผลการทดลองทั้งหมดพบว่าไมโครแคปซูล GE:CMC ที่เตรียมด้วยวิธี complex coacervation มีความคงตัวของ beta-carotene สูงที่สุดเมื่อพิจารณาผลของความคงตัวในระหว่างการเก็บรักษา และความสามารถในการละลายน้ำ แต่เนื่องจาก GE:CMC มี %Spray dry yield ต่ำเนื่องจากอิทธิพลของความหนืด ในการนำไปใช้ในระดับอุตสาหกรรมอาจต้องเตรียมอิมัลชันที่ %total solid ต่ำลงเพื่อให้มีความหนืดต่ำลง

5.2 ข้อเสนอแนะ

- (1) หากต้องการเพิ่มความสามารถในการห่อหุ้มด้วยวิธี complex coacervation อาจใช้สาร crosslink เพื่อเพิ่มความแข็งแรงให้กับไมโครแคปซูล
- (2) การศึกษาการห่อหุ้มด้วยสาร 3 ชนิดอาจสามารถเพิ่มความคงตัวให้กับ beta-carotene ในระหว่างการเก็บรักษาได้
- (3) ควรทำการทดลองเปรียบเทียบวิธีการทำแห้งไมโครแคปซูลทั้ง freeze dry และ spray dry เนื่องจากการทำแห้งด้วยวิธี spray dry จะมี %Spray dry yield ต่ำ

รายการอ้างอิง

- Al-Assaf, S., Sakata, E., McKenna, C., Aoki, H. and Phillips, G. O. 2009. Molecular associations in acacia gums. *Structural Chemistry* 20: 325-336.
- Amara, C.B., Eghbal, N., Degraeve, P. and Gharsallaoui, A. 2016. Using complex coacervation for lysozyme encapsulation by spray-drying. *Journal of Food Engineering* 183: 50-57.
- Calderon-Oliver, M., Pedroza-Islas, R., Escalona-Buendía, H. B., Pedraza-Chaverri, J. and Ponce-Alquicira, E. 2017. Comparative study of the microencapsulation by complex coacervation of nisin in combination with an avocado antioxidant extract. *Food Hydrocolloids* 62: 49-57.
- Coronel-Aguilera, C. P. and Martín-González, M. F. S. 2015. Encapsulation of spray dried β -carotene emulsion by fluidized bed coating technology. *LWT - Food Science and Technology* 62: 187-193.
- Cosgrove, T., Hone, J.H.E., Howe, A.M. and Heenan, R.K. 1998. A Small-Angle Neutron Scattering Study of the Structure of Gelatin at the Surface of Polystyrene Latex Particles. *Langmuir* 14: 5376-5382.
- De Kruif, C.G. and Tuineir, R. 2001. Polysaccharide protein interactions. *Food Hydrocolloids* 15: 555-563.
- Doner, L. W., Chau, H. K., Fishman, M. L. and Hicks, K. B. 1998. An improved process for isolation of corn fiber gum. *Cereal Chemistry* 75(4): 408-411.
- Donhowe, E. G., Flores, F. P., Kerr, W. L., Wicker, L. and Kong, F. 2014. Characterization and in vitro bioavailability of β -carotene: Effects of microencapsulation method and food matrix. *LWT - Food Science and Technology* 57: 42-48.
- Dror, Y., Cohen, Y. and Yerushalmi-Rozen, R. 2006. Structure of Gum Arabic in Aqueous Solution. *Journal of Polymer Science: Part B: Polymer Physics* 44: 3265-3271.
- Dubey, R., Shami, T. C. and Rao, K. U. B. 2009. Microencapsulation technology and applications. *Defence Science Journal* 59: 82-95.

- Dupont, A. L. 2002. Study of the degradation of gelatin in paper upon aging using aqueous size-exclusion chromatography. *Journal of Chromatography A* (1-2): 113-124.
- Gomez-Estaca, J., Comunian, T.A., Montero, P. and Ferro-Furtado, R. 2016. Encapsulation of an astaxanthin-containing lipid extract from shrimp waste by complex coacervation using a novel gelatin-cashew gum complex. *Food Hydrocolloids* 61: 155-162.
- Frascareli, E.C., Silva, V.M., Tonon, R.V. and Hubinger, M.D. 2012. Effect of process conditions on the microencapsulation of coffee oil by spray drying. *Food and Bioproducts Processing* 90: 413-424.
- Hayati, I. N., Chinga, C. W. and Rozaini, M. Z. H. 2016. Flow properties of o/w emulsions as affected by xanthan gum, guar gum and carboxymethyl cellulose interactions studied by a mixture regression modeling. *Food Hydrocolloids* 53: 119-208.
- He, F., Zhao, D., Liu, J. and Roberts, C.B.. 2007. Stabilization of Fe-Pd Nanoparticles with Sodium Carboxymethyl Cellulose for Enhanced Transport and Dechlorination of Trichloroethylene in Soil and Groundwater. *Industrial & Engineering Chemistry Research* 46: 29-34.
- Huang, G. Q., Sun, Y. T., Xiao, J. X. and Yang, J. 2012. Complex coacervation of soybean protein isolate and chitosan. *Food Chemistry* 135: 534-539.
- Jain, A., Thakur, D., Ghoshal, G., Katare, O.P. and Shivhare, U.S. 2016. Characterization of microcapsulated β -carotene formed by complex coacervation using casein and gum tragacanth. *International Journal of Biological Macromolecules* 87: 101-113.
- Jones, O. G. and McClements, D. J. 2011. Recent progress in biopolymer nanoparticle and microparticle formation by heat-treating electrostatic protein-polysaccharide complexes. *Advances in Colloid and Interface Science* 167: 49-62.

- Kohno, Y., Kato, Y., Shibata, M., Fukuhara, C., Maeda, Y., Tomita, Y. and Kobayashi, K. 2016. Fixation and stability enhancement of beta-carotene by organo-modified mesoporous silica. *Microporous and Mesoporous Materials* 220: 1-6.
- Kokubun, S., Yadav, M. P., Moreau, R. A. and Williams, P. A. 2014. Components responsible for the emulsification properties of corn fibre gum. *Food Hydrocolloids* 41: 164-168.
- Kruif, C. G., Weinbreck, F. and Vries, R. 2004. Complex coacervation of protein and anionic polysaccharides. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* 9: 340-349.
- Kwak, S. H. 2014. *Nano- and microencapsulation for foods*. 1st ed. South Korea: WILEY Blackwell.
- Leclercq, S., Harlander, K.R. and Reineccius, G.A. 2009. Formation and characterization of microcapsules by complex coacervation with liquid or solid cores. *Flavour and Fragrance Journal* 24: 17-24.
- Liu, J., Shim, Y.Y., Wang, Y. and Reaney, M. J.T. 2015. Intermolecular interaction and complex coacervation between bovine serum albumin and gum from whole flaxseed (*Linum usitatissimum* L.). *Food Hydrocolloids* 49: 95-103.
- Loksuwan, J. 2007. Characteristics of microencapsulated β -carotene formed by spray drying with modified tapioca starch, native tapioca starch and maltodextrin. *Food Hydrocolloids* 21: 928-935.
- Lv, Y., Yang, F., Li, X., Zhang, X. and Abbas, S. 2014. Formation of heat-resistant nanocapsules of jasmine essential oil via gelatin/gum arabic based complex coacervation. *Food Hydrocolloids* 35: 305-314.
- Ma, Y., Liu, J., Ye, F. and Zhao, G. 2016. Solubilization of b-carotene with oat β -glucan octenylsuccinate micelles and their freeze-thaw, thermal and storage stability. *LWT - Food Science and Technology* 65: 845-851.
- Molina Ortiz, S.E., Mauri, A., Monterrey-Quintero, E.S., Trindade, M.A., Santana, A.S. and Favaro-Trindade, C.S. 2009. Production and properties of casein hydrolysate by spray dry drying with soybean protein isolate. *LWT – Food Science and Technology* 42: 919-923.

- Montero, P., Calvo, M.M., Gómez-Guillén, M.C. and Gómez-Estaca, J. Microcapsules containing astaxanthin from shrimp waste as potential food coloring and functional ingredient: Characterization, stability and bioaccessibility. *LWT-Food Science and Technology* 70: 229-236.
- Nakagawa, K. and Nagao, H. 2012. Microencapsulation of oil droplets using freezing-induced gelatin–acacia complex coacervation. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 411: 129-139.
- Phan-Thi, H., Durand, P., Prost, M., Prost, E. and Waché, Y. 2016. Effect of heat-processing on the antioxidant and prooxidant activities of β -carotene from natural and synthetic origins on red blood cells. *Food Chemistry* 190: 1137–1144.
- Priftis, D., Megley, K., Laugel, N. and Tirrell, M. 2013. Complex coacervation of poly(ethylene-imine)/polypeptide aqueous solutions: Thermodynamic and rheological characterization. *Journal of Colloid and Interface Science* 398: 39-50.
- Schmitt, C., Sanchez, C., Desobry-Banon, S. and Hardy, J. 1998. Structure and technofunctional properties of protein–polysaccharide complexes: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 38: 689–753.
- Schmitt, C. and Turgeon, S. L. 2011. Protein/polysaccharide complexes and coacervates in food systems. *Advances in Colloid and Interface Science* 167(1): 63–70.
- Shen, Q. and Quek, S.Y. 2014. Microencapsulation of astaxanthin with blends of milk protein and fiber by spray drying. *Journal of Food Engineering* 123: 165-171.
- Thiess, C. 2005. A Survey of microencapsulation processes. *Microencapsulation and Industrial Applications (Chapter 1)*: 1-20.
- Turgeon, S.L., Beaulieu, M., Schmitt, C. and Sanchez, C. 2003. Protein–polysaccharide interactions: phase-ordering kinetics, thermodynamic and structural aspects. *Current Opinion in Colloid and Interface Science* 8: 401–414.
- Zayas, J. F. 1997. *Functionality of Proteins in Food*. 1st ed. Berlin: Springer.

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นางสาวณัชชา นรินทร์รุ่งเรือง
วันเดือนปีเกิด	6 ธันวาคม 2534
วุฒิการศึกษา	ปีการศึกษา 2556: วิทยาศาสตร์บัณฑิต (วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร) มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
ทุนการศึกษา	ปีการศึกษา 2557: ทุนบัณฑิตเรียนดี คณะวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ปีการศึกษา 2558: ทุนสนับสนุนงานวิจัย ประเภททุนวิจัยทั่วไปสำหรับนักศึกษาระดับบัณฑิตศึกษา กองทุนวิจัย มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

