

การเกิดโคเอเซอร์เวตระหว่างเจลาตินและโพลีแซคคาไรด์ (กัมอะราบิก, กัมจากกากข้าวโพด และคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส) ที่พีเอชต่าง ๆ

Formation of Coacervates between Gelatin and Polysaccharides (Gum Arabic, Corn Fiber Gum, Carboxymethyl Cellulose) as a Function of pH

ณัชชา นีรันดร์รุ่งเรือง* และจารุณี โลกสุวรรณ

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

Nujja Nirunrungraung* and Jarunee Loksuwan

Department of Food Science and Technology, Faculty of Science and Technology, Thammasat
University, Rangsit Centre, Khlong Neung, Khlong Luang, Pathum Thani 12120

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาการเกิดโคเอเซอร์เวตระหว่างสารเจลาติน (GE) และโพลีแซคคาไรด์ (กัมอะราบิก, GA; กัมจากกากข้าวโพด, CFG; คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส, CMC) โดยเตรียมสารผสม GE:GA (อัตราส่วน 2:1), GE:CFG (อัตราส่วน 1:1) และ GE:CMC (อัตราส่วน 1:1) ที่พีเอช 2-7 ประเมินผลโดยวัดค่าความขุ่นของสารผสมที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร และค่า zeta-potential นำสารผสมที่ให้ค่าความขุ่นสูงสุดมาวัดการกระจายตัวของขนาดอนุภาคโคเอเซอร์เวต พบว่าที่พีเอชสูง สารผสมมีค่าความขุ่นต่ำ และเมื่อพีเอชลดลงค่าความขุ่นเพิ่มขึ้นจนถึงจุดที่เกิดความขุ่นสูงสุด แล้วความขุ่นลดลง จนกระทั่งพีเอช 2 ได้สารละลายใส พีเอชที่ให้ค่าความขุ่นสูงสุด (เกิดโคเอเซอร์เวตสูงสุด) ขึ้นกับชนิดของสารผสม โดยพีเอชที่ให้ค่าความขุ่นสูงสุดของ GE:GA, GE:CFG และ GE:CMC มีค่าเป็น 4.3, 4.4 และ 3.1 ตามลำดับ จากการวัดค่า zeta-potential พบว่าค่าพีเอชที่ให้ค่า zeta-potential เข้าใกล้ศูนย์มีค่าใกล้เคียงกับค่าพีเอชที่เกิดโคเอเซอร์เวตสูงสุดของสารแต่ละชนิด สารผสม GE:CFG มีขนาดเล็กที่สุด (เฉลี่ย 8.02 μm) และมีการกระจายตัวของขนาดอนุภาคในช่วงแคบ GE:GA มีขนาดอนุภาคใหญ่ที่สุด (เฉลี่ย 69.15 μm) และมีการกระจายตัวของขนาดอนุภาคในช่วงกว้าง ส่วน GE:CMC มีการกระจายตัวของขนาดอนุภาคกว้างกว่าสารผสมชนิดอื่น และมีขนาดอนุภาคเล็กกว่า GE:GA แต่ใหญ่กว่า GE:CFG (เฉลี่ย 32.88 μm)

คำสำคัญ : โคเอเซอร์เวต; เจลาติน; กัมอะราบิก; กัมจากกากข้าวโพด; คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส

Abstract

Formation of coacervates gelatin (GE) and polysaccharides (gum arabic, GA; corn fiber gum, CFG; carboxymethyl cellulose, CMC) was studied. The mixtures of GE:GA (ratio 2:1), GE:CFG (ratio

*ผู้รับผิดชอบบทความ : nattyujja@hotmail.com

1:1) and GE:CMC (ratio 1:1) at pH 2-7 was prepared. The formation of coacervates was investigated by measurements of turbidity at 600 nm and zeta-potential. The particle size distribution of coacervates at the highest turbidity value was also analyzed. The results showed that at high pH the turbidity of the mixtures were very low. As the pH decreased the turbidity was increased until it reached a maximum turbidity, after that decreased again to very low value and became transparent at pH 2. The pH that gave maximum coacervates was depended on types of mixture. The maximum coacervates occurred at pH 4.3, 4.4 and 3.1 for GE:GA, GE:CFG and GE:CMC, respectively and coacervates occurred at these pH were found to have zeta-potential value close to zero. GE:CFG showed the small size of coacervates (mean size 8.02 μm) of narrow size distribution. GE:GA gave the largest size of coacervates (mean size 69.15 μm) with a wide range of particle size. GE:CMC showed a wider range of particle size with a larger size than GE:CFG but smaller than GE:GA (mean size 32.88 μm).

Keywords: coacervate; gelatin; gum arabic; corn fiber gum; carboxymethyl cellulose

1. บทนำ

Coacervates เป็นสารเชิงซ้อนซึ่งเกิดจากอันตรกิริยาระหว่างสารที่มีประจุตรงข้ามกัน เช่น โปรตีนและโพลีแซคคาไรด์ [1] โปรตีนเป็นไบโอโพลิเมอร์ที่มีประจุเป็นบวกที่ pH ต่ำกว่า isoelectric point (pI) ส่วนโพลีแซคคาไรด์เป็นไบโอโพลิเมอร์ที่ส่วนใหญ่จะมีประจุเป็นลบซึ่งเกิดจากหมู่คาร์บอกซิล (-COOH) ในโมเลกุลทำให้สามารถเกิดพันธะ electrostatic ระหว่างโปรตีนและโพลีแซคคาไรด์ พันธะ electrostatic เป็นพันธะหลักในการเกิด coacervate มีงานวิจัยที่ศึกษาการเกิด coacervate จาก whey protein และ carrageenan โดยแปรอัตราส่วน 1:1-150:1 พบว่าอัตราส่วน 30:1 เกิด coacervate มากที่สุด [2] และมีงานวิจัยที่ศึกษาผลของ pH ต่อการเกิด coacervate ระหว่าง gum tragacanth และ sodium caseinate ที่อัตราส่วน 1:1, 2:1 และ 3:1 และแปร pH ช่วง 2.5-7 พบว่าอัตราส่วน gum tragacanth : sodium caseinate ที่ 3:1 pH 4.15 เกิด coacervate มากที่สุด [3] ปัจจุบันที่

มีผลต่อการเกิด coacervate ได้แก่ ชนิดของสาร อัตราส่วนของสาร และ pH จุดที่เกิดพันธะ electrostatic มากที่สุดจะเป็นจุดที่มีประจุบวก และลบสมดุลกัน [1]

โปรตีนที่นิยมนำมาศึกษาการเกิด coacervate คือ gelatin (GE) ซึ่งเป็นโปรตีนที่ได้จากกระดูก และหนังสัตว์ นิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและยา [4] โครงสร้างของ GE เป็นสายยาวของโพลีเปปไทด์ที่มีกรดอะมิโน 50-1,000 หน่วย มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 95 kDa [5] มีกรดอะมิโนหลัก คือ glycine, proline และ hydroxyproline โดย GE มีค่า pI ประมาณ 4.8 [6] ซึ่งจะมีประจุรวมเป็นศูนย์ เมื่อ pH สูงกว่า pI GE จะมีประจุเป็นลบ และเมื่อ pH ต่ำกว่า pI จะมีประจุ เป็นบวก GE มีสมบัติในการเกิดเจล และเป็นอิมัลซิไฟเออร์ จึงมีการนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและยาอย่างกว้างขวาง มีรายงานการศึกษานำ GE และโพลีแซคคาไรด์ใช้ในการห่อหุ้ม β -carotene โดยแปร pH เป็น 3.1, 4.0 และ 4.7 พบว่าการห่อหุ้มที่สภาวะ pH 4.7 จะเกิดไมโครแคปซูลที่มี

ผนังหนา สามารถเพิ่มความคงตัว และควบคุมการปลดปล่อย β -carotene ได้ [7] มีงานวิจัยที่นำ GE และโพลีแซคคาไรด์มาห่อหุ้ม ascorbic acid (AA) โดยแปรอัตราส่วน GE : polysaccharide : AA เป็น 1:1:0.5, 1:1:0.75 และ 1:1:1 ที่ความเข้มข้นไปโอโพลีเมอร์ 0.025, 0.05 และ 0.075 g/mL ตามลำดับพบว่าอัตราส่วน GE : polysaccharide : AA ที่ 1:1:0.75 ความเข้มข้นไปโอโพลีเมอร์ 0.025 g/mL สามารถนำมาห่อหุ้ม AA และเพิ่มความคงตัวของ AA ในระหว่างการเก็บรักษาได้ [8]

โพลีแซคคาไรด์ที่นิยมใช้ คือ gum arabic (GA) โดย GA เป็นโพลีแซคคาไรด์ที่มาจากยางของต้นไม้ตระกูล acacia ซึ่งเจริญเติบโตในแถบประเทศตะวันออกกลาง [9] มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 300 kDa [10] โครงสร้างโมเลกุลของ GA มีหมู่คาร์บอกซิลจำนวนมากจึงทำให้ GA มีประจุเป็นลบ GA มีสมบัติเป็นอิมัลซิไฟเออร์ และเป็นสารให้ความข้นหนืดต่ำ [11] จึงมีการนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร มีงานวิจัยที่ศึกษาการเกิด coacervate ระหว่าง β -lactoglobulin และ GA ที่อัตราส่วน 50 : 1 - 1 : 20 และ pH 3.6-5 พบว่าการเกิด coacervate และพันธะ electrostatic มากที่สุดที่อัตราส่วน 2:1 ที่ pH 4.2 [12] เนื่องจาก GA มีข้อจำกัดด้านพื้นที่เพาะปลูกสภาพอากาศ และสภาวะทางการเมืองในพื้นที่เพาะปลูก ส่งผลให้ GA มีราคาแพง [9] จึงมีการพยายามทดแทนการใช้ GA ด้วยสารอื่น เช่น corn fiber gum (CFG), carboxymethyl cellulose (CMC), gum tragacanth หรือ flaxseed gum

Corn fiber gum (CFG) ได้จากการสกัดกากข้าวโพดซึ่งเป็นของเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรม CFG มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 278-394 kDa [13] โครงสร้างของ CFG มีทั้งส่วนที่เป็นโพลีแซคคาไรด์ซึ่งมีหมู่คาร์บอกซิลจำนวนมาก และส่วนที่เป็นโปรตีนใน

ปริมาณเล็กน้อย จึงมีความคล้ายคลึงกับโครงสร้างของ GA ในอุตสาหกรรมอาหารจึงมีการนำมาใช้ โดยใช้เป็นอิมัลซิไฟเออร์ และสารให้ความข้นหนืดต่ำในอาหาร [14] และยังไม่เคยมีการนำ CFG มาศึกษาการเกิด coacervate โดย CMC เป็นอนุพันธ์ของ cellulose หมู่ไฮดรอกซิลที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 6 บนโมเลกุลกลูโคสในโครงสร้างของ cellulose จะถูกแทนที่ด้วยหมู่คาร์บอกซิล CMC มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 90 kDa [15] โครงสร้างของ CMC มีหมู่คาร์บอกซิลจำนวนมากซึ่งสามารถให้ประจุลบได้เช่นกัน [16] อีกทั้งยังมีสมบัติในการให้ความข้นหนืด ละลายน้ำได้ดี และยังไม่เคยมีการนำ CMC มาศึกษาการเกิด coacervate

ดังนั้นการวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเกิด coacervate ของ GE:GA, GE:CFG และ GE:CMC ที่ pH ต่าง ๆ เพื่อนำสภาวะที่เหมาะสมในการเกิด coacervate ไปใช้ประโยชน์ในการห่อหุ้มสารที่ไวต่อการสลายตัวในการเพิ่มความคงตัวของสาร และนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารต่อไป

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 วัตถุดิบ

Gelatin 250 bloom (GE), gum arabic (GA), carboxymethyl cellulose (CMC) ซื้อมาจากบริษัท เคมีภัณฑ์ คอร์ปอเรชั่น จำกัด กากข้าวโพดได้รับความอนุเคราะห์จาก Friendship Corn Starch Co., Ltd. กรุงเทพฯ ประเทศไทย

2.2 การสกัด corn fiber gum

การสกัด corn fiber gum (CFG) จากกากข้าวโพดดัดแปลงมาจากวิธีของ Kokubun และคณะ [14] โดยนำกากข้าวโพดมาปั่น และร่อนผ่านตะแกรงรูพรุนขนาด 20 mesh จากนั้นนำกากข้าวโพดปั่น 50 กรัมมาเติมน้ำกลั่น 400 มิลลิลิตรแล้วปรับ pH ให้ได้

6.5 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ (50 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) จากนั้นเติม α -amylase (EC 3.2.1.1, Siam Technomic Co., Ltd.) 2 มิลลิลิตร แล้วนำไปต้มพร้อมเขย่าที่ 85 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง แยกส่วนตะกอนกากข้าวโพดมาล้างน้ำกลั่น 3 ครั้ง ล้างด้วยเอทานอล 1 ครั้ง นำไปอบในตู้อบสุญญากาศที่ 60 องศาเซลเซียส นำ de-starch corn fiber ที่ได้ 50 กรัมมาเติมน้ำกลั่น 1 ลิตร โซเดียมไฮดรอกไซด์ (50 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) 24 มิลลิลิตร และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (30 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) 42 มิลลิลิตร แล้วนำไปต้มนาน 1 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง นำมาหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 6,000g เป็นเวลา 20 นาที นำส่วนใสมาปรับ pH ให้ได้ 4.0-4.5 ด้วยไฮโดรคลอริกแอซิด ตั้งทิ้งไว้ 10-15 นาที จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงที่ 10,000g เป็นเวลา 30 นาที นำส่วนใสไปตกตะกอนด้วย 99.9 % เอทานอลปริมาตร 2 เท่าของสารละลาย ตั้งทิ้งไว้ 10-15 นาที แยกตะกอนมาล้างด้วย 99.9 % เอทานอล นำตะกอนที่ได้ไปอบในตู้อบสุญญากาศที่ 50 องศาเซลเซียส นาน 18 ชั่วโมง จะได้ corn fiber gum

2.3 การเตรียมสารผสม

การทดลองก่อนหน้าได้มีการคัดเลือกอัตราส่วนที่เหมาะสมของสารแต่ละชนิด พบว่าอัตราส่วนที่เหมาะสมของ GE:GA, GE:CFG และ GE:CMC คือ 2:1, 1:1 และ 1:1 การเตรียมสารผสม GE:GA (2:1), GE:CFG (1:1) และ GE:CMC (1:1) 100 มิลลิลิตรจะละลาย GE 2, 2 และ 0.1 กรัมด้วยน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตรที่ 65 องศาเซลเซียส จากนั้นละลาย GA, CFG และ CMC ปริมาณ 1, 2 และ 0.1 กรัมตามลำดับด้วยน้ำกลั่น 70 มิลลิลิตร เติมสารละลาย GA, CFG และ CMC ลงไปในสารละลาย GE ที่เตรียมไว้ก่อนหน้าตามอัตราส่วนที่กล่าวมาข้างต้นผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน แล้วนำมาปรับปริมาตรจนได้ 100

มิลลิลิตรจะได้สารผสม GE:GA (2:1), GE:CFG (1:1) และ GE:CMC (1:1)

2.4 การประเมินความขุ่น

นำสารผสมที่เตรียมจากข้อ 2.3 มา 20 มิลลิลิตร นำมาปรับ pH ด้วยกรดอะซิติก และโซเดียมไฮดรอกไซด์พร้อมกับคนอย่างต่อเนื่อง วัด pH ด้วย pH meter (Satorius รุ่น PB-20 ประเทศเยอรมัน) ให้ได้ pH 2-7 เมื่อปรับ pH ได้ตามที่ต้องการในแต่ละตัวอย่างจะนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย UV/Vis spectrophotometer (Unicam รุ่น UV2-100 ประเทศอังกฤษ) ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตรทันที [1] วัดค่า 3 ซ้ำ โดยค่าการดูดกลืนแสงจะบ่งบอกถึงความขุ่นของ coacervate หากมีค่าการดูดกลืนแสงมากจะแสดงถึงความขุ่นจากการที่เกิด coacervate มาก

2.5 การวัดค่า zeta-potential

นำสารละลายเดี่ยว GE 0.1 และ 2 %, GA 1 %, CFG 2 % และ CMC 0.1 % มาปรับ pH ช่วง 2-7 และสารผสม GE:GA (2:1), GE:CFG (1:1) และ GE:CMC (1:1) มาปรับ pH ด้วยกรดอะซิติก และโซเดียมไฮดรอกไซด์ในช่วงที่ครอบคลุมค่า pH ที่ให้ความขุ่นสูงสุด โดย GE:GA (2:1) และ GE:CFG (1:1) มี pH ที่ให้ค่าความขุ่นสูงสุดที่ pH 4.3 และ 4.4 จึงปรับ pH ช่วง 3-5 และ GE:CMC (1:1) มี pH ที่ให้ค่าความขุ่นสูงสุดที่ pH 3.1 จึงปรับ pH 2-4 จากนั้นนำไปวัดค่า zeta-potential ด้วยเครื่อง Nano particle size analyzer (HORIBA รุ่น SZ-100 ประเทศญี่ปุ่น) วัดค่า 2 ซ้ำ

2.6 การกระจายตัวของขนาดอนุภาค

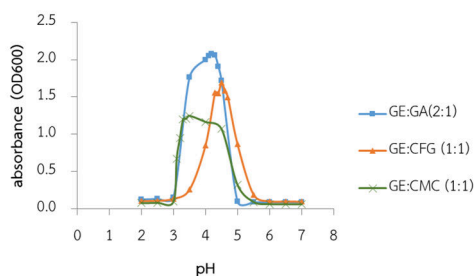
นำสารผสมจากข้อ 2.4 ที่ให้ค่าความขุ่นสูงสุด มาปรับ pH จากนั้นนำไปวัดการกระจายตัวของขนาดอนุภาคด้วยเครื่อง Laser scattering particle size distribution analyzer (ยี่ห้อ HORIBA รุ่น LA-

950V2 ประเทศญี่ปุ่น) วัดค่า 2 ชั่วโมง

3. ผลการวิจัย

3.1 ผลการประเมินความขุ่น

รูปที่ 1 จะเห็นว่าสารผสมทั้ง 3 ชนิด จะให้ค่าความขุ่นต่ำที่ pH 6-7 ที่เป็นเช่นนี้เป็นเพราะว่าเป็นช่วงที่ pH มีค่ามากกว่า pI ของ GE โมเลกุลของ GE จึงมีประจุเป็นลบ จึงทำให้เกิดแรงผลักกันระหว่างโมเลกุลของ GE และโมเลกุลของ GA, CFG และ CMC ซึ่งมีประจุเป็นลบ และเมื่อ pH ต่ำกว่า 6 ค่าความขุ่นของสารผสมทั้ง 3 ชนิดมีค่าเพิ่มขึ้น เนื่องจากกรดอะมิโนบางส่วนของ GE และหมู่คาร์บอกซิลบางส่วนของ GA, CFG และ CMC เกิด protonate ทำให้เกิดแรงผลักกันระหว่างโมเลกุลลดลง และเกิดพันธะ electrostatic แบบอ่อน เกิดเป็น soluble coacervate และเมื่อ pH ลดต่ำลงไปอีก ค่าความขุ่นเพิ่มขึ้นจนมีค่าสูงสุด ซึ่งจุดนี้จะเกิดเป็น insoluble coacervate มากที่สุด โดยค่า pH ที่ทำให้เกิดความขุ่นสูงสุดจะขึ้นกับชนิดของสารผสม โดยจากรูปพบว่า GE:GA, GE:CFG และ GE:CMC มีค่าความขุ่นสูงสุดที่ pH 4.3, 4.4 และ 3.1 ตามลำดับ เนื่องจากความสมดุลของประจุบวกบนโมเลกุล GE และประจุลบบนโมเลกุล GA, CFG และ CMC จะเกิดที่ pH ต่างกัน จุดที่มีความสมดุลของประจุบวก และลบเป็นจุดที่เกิดพันธะ electrostatic มากที่สุด จึงให้ค่าความขุ่นสูงสุด [1] จากผลการทดลองพบว่าค่า pH ที่ให้ค่าความขุ่นสูงสุดของ GE:GA และ GE:CFG มีค่าใกล้เคียงกัน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก GA และ CFG มีโครงสร้างคล้ายกัน [14] แต่พบว่า GE:CMC มีค่า pH ที่ให้ค่าความขุ่นสูงสุดเป็น 3.1 ต่ำกว่า GE:GA และ GE:CFG อาจเนื่องมาจาก CMC เป็นโมเลกุลที่มีประจุลบจำนวนมาก จึงต้องปรับ pH ให้ต่ำลงเพื่อให้มีประจุลบที่สมดุลกับประจุบวกบนโมเลกุล GE



รูปที่ 1 กราฟความขุ่นของสารผสม GE:GA (2:1), GE:CFG (1:1) และ GE:CMC (1:1) ในช่วง pH 2-7

เมื่อ pH ลดต่ำลงไปอีก ค่าความขุ่นลดลงอีกครั้ง เนื่องจากโมเลกุลเกิดการ protonate มากขึ้น ทำให้ประจุของ GE เป็นบวกมากขึ้น และประจุลบของ GA, CFG และ CMC ลดลง จึงทำให้แรงดึงดูดของพันธะ electrostatic อ่อนลง และเกิดการเปลี่ยนแปลงจาก insoluble coacervates เป็น soluble coacervate และที่ pH 2 ได้สารละลายใส [17,18] อาจเกิดได้จากอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลลดลง GE กับ GA และ GE กับ CFG เกิดแรงผลักกัน เพราะทั้ง GA และ CFG มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบในโครงสร้างจึงเกิด protonate จนมีประจุเป็นบวก ทำให้เกิดแรงผลักกับประจุบวกบนโมเลกุล GE สำหรับ CMC อาจเกิดจากการที่ถูก protonate จนมีประจุเป็นกลาง ทำให้แรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลลดลงจนกระทั่งไม่เกิดอันตรกิริยาระหว่าง GE และ CMC ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Weinbreck และคณะ [19] ที่ศึกษาการเกิด coacervates ของสารผสม bovine serum albumin และ flaxseed gum ที่อัตราส่วน 1:1 พบว่าค่าความขุ่นมีการเปลี่ยนแปลงเมื่อปรับ pH โดยสารผสมมีความขุ่นเพิ่มขึ้นเมื่อ pH ลดลง เมื่อ pH ลดลงถึงจุดที่ทำให้ประจุของสารผสมสมดุลกันจะส่งผลให้มีค่าความขุ่นสูงสุด (insoluble coacervates) เมื่อ pH ลดต่ำลงอีก ค่าความขุ่นลดลงจนกระทั่งได้สารละลายใส

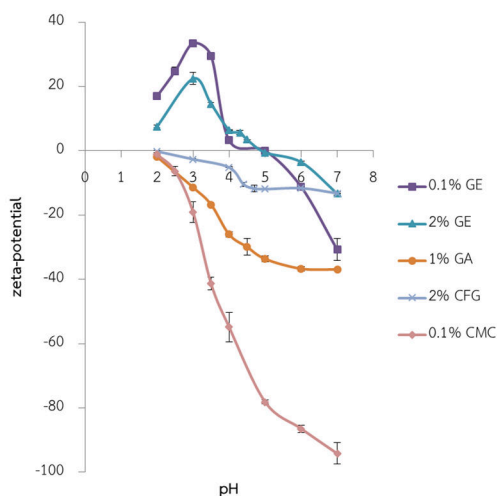
3.2 ผลการวัดค่า zeta-potential

ค่า zeta-potential จะบ่งบอกประจุรวมที่ผิวโมเลกุล [17] จากรูปที่ 2 แสดงค่า zeta-potential ของสารละลายเดี่ยวที่ pH 2-7 โดยพบว่า GE 0.1 %, 2 % มีค่าประจุสุทธิบนโมเลกุลเป็นบวกเมื่อ pH สูงกว่า pI ($pI \approx 4.8$) และมีประจุเป็นลบที่ pH มีค่าต่ำกว่า pI ส่วน GA 1 %, CFG 2 % และ CMC 0.1 % จะมีประจุเป็นลบในช่วง pH 2-7 เนื่องจากการมีประจุลบจากหมู่คาร์บอกซิลที่มากเกินไป ที่สอดคล้องกับการศึกษาของ Jain และคณะ (2016) ศึกษาค่า zeta-potential ของเคซีน และ gum tragacanth ที่ pH ต่างๆ พบว่า สารละลายเคซีนมีค่า zeta-potential เป็นบวกที่ค่า pH 2.5-4.5 และเป็นลบที่ pH 5-10.5 (ค่า pI ของเคซีนประมาณ 4.6) ส่วนสารละลาย gum tragacanth มีค่า zeta-potential เป็นลบตลอดช่วง pH 2.5-7 [16] รูปที่ 3 แสดงค่า zeta ของสารผสมที่ปรับ pH ในช่วงที่ให้ค่าความขุ่นสูงสุดของสารแต่ละชนิด โดย GE:GA และ GE:CFG วัดค่า zeta-potential ที่ pH 3-5 และ GE:CMC จะวัดค่า zeta-potential ที่ pH 2-4 จะเห็นได้ว่าค่า pH ที่ให้ค่าความขุ่นสูงสุดมีค่าใกล้เคียงกับค่า pH ที่ให้ค่า zeta-potential เข้าใกล้ศูนย์ แสดงให้เห็นว่าจุดที่เกิดความขุ่นสูงสุดมีอันตรกิริยาระหว่างประจุที่ทำให้ประจุสุทธิเป็นศูนย์ (รูปที่ 1) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Jain และคณะ (2016) ในการศึกษาการเกิด coacervate ระหว่างเคซีนและ gum tragacanth ที่แปร pH 2-10.5 พบว่าค่า pH 4.4 ให้ค่าความขุ่นสูงสุด และที่ pH นี้ให้ค่า zeta-potential เข้าใกล้ศูนย์เช่นกัน [16]

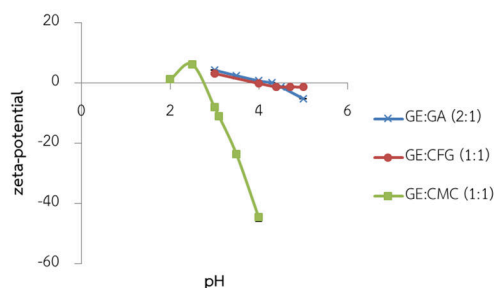
3.3 ผลการกระจายตัวของขนาดอนุภาค

รูปที่ 4 แสดงการกระจายตัวของขนาดอนุภาคของ coacervate ของสารผสมแต่ละชนิดที่ pH 4.3, 4.4 และ 3.1 ซึ่งเป็น pH ที่เกิด coacervate มากที่สุด GE:GA มีขนาดอนุภาคอยู่ในช่วง 10.10-262.38 μm

และมีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 69.15 μm ส่วน GE:CFG มีขนาดอนุภาคอยู่ในช่วง 7.70-11.57 μm และมีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 8.02 μm และ GE:CMC มีขนาดอนุภาคอยู่ในช่วง 5.87-394.24 μm และมีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 32.88 μm จากผลการศึกษาพบว่า GE:CFG มีขนาดอนุภาคของ coacervate เล็กที่สุด และมีการกระจายตัวของขนาดอนุภาคของ coacervate ในช่วงแคบ โดยมีตะกอนละเอียดกว่าสารผสมชนิดอื่น



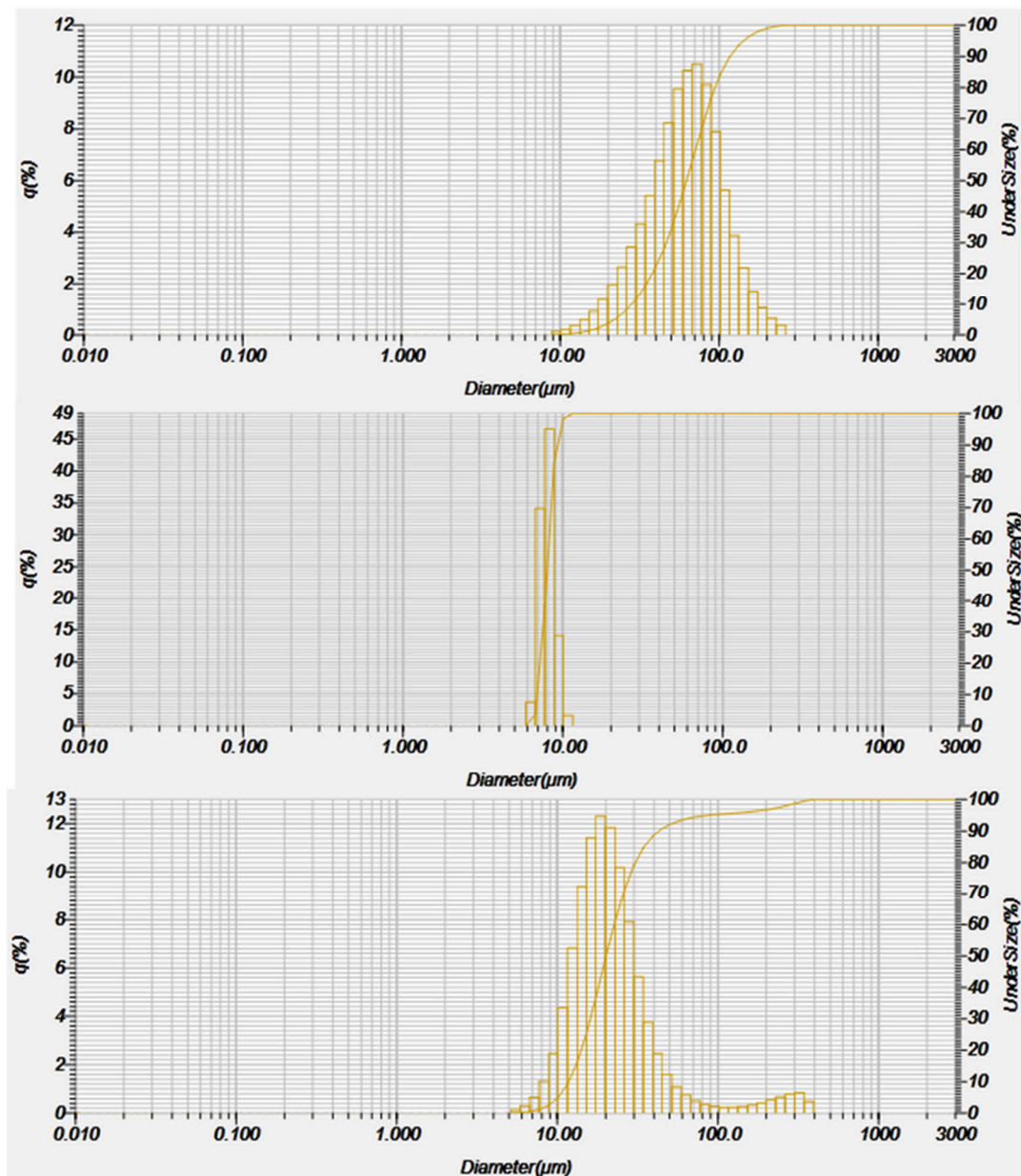
รูปที่ 2 zeta-potential ของสารละลาย 0.1, 2 % GE, 1 % GA, 2 % CFG และ 0.1 % CMC ที่ช่วง pH 2-7



รูปที่ 3 zeta-potential ของสารผสม GE:GA (2:1), GE:CFG (1:1) และ GE:CMC (1:1)

GE:GA มีอนุภาค coacervate ขนาดใหญ่ และมีการกระจายตัวของขนาดที่มากกว่า GE:CFG ส่วน GE:CMC มีขนาดอนุภาคปานกลาง แต่มีการกระจายตัวของขนาดที่มากกว่า GE:GA และ GE:CFG

เนื่องจาก CMC มีประจุลบที่มากกว่า GA และ CFG รวมถึงมีความหนืดสูงทำให้เกิด coacervate มีความซับซ้อนมากกว่า



รูปที่ 4 การกระจายตัวของขนาดอนุภาคของสารผสม (a) GE:GA (2:1), (b) GE:CFG (1:1) และ (c) GE:CMC (1:1) ที่ pH 4.3, 4.4 และ 3.1 ตามลำดับ

4. สรุป

การศึกษากลไกของ pH ต่อการเกิด coacervate ของสารผสม 3 ชนิด คือ GE:GA (2:1), GE:CFG (1:1) และ GE:CMC (1:1) พบว่าชนิดของสารและ pH มีผลต่อการเกิด coacervate โดย GE:GA (2:1) มีค่า pH ที่เกิด coacervate มากสุดที่ 4.3 มีขนาดอนุภาค coacervate เฉลี่ย 69.15 μm ส่วน GE:CFG (1:1) มีค่า pH ที่เกิด coacervate สูงสุดที่ 4.4 มีขนาดอนุภาค coacervate เฉลี่ย 8.02 μm และ GE:CMC (1:1) มีค่า pH ที่เกิด coacervate มากสุดที่ 3.1 มีขนาดอนุภาค coacervate เฉลี่ย 32.88 μm

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ กองทุนวิจัยมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ที่จัดสรรทุนสนับสนุนงานวิจัย ประเภทกองทุนวิจัยทั่วไป ปีงบประมาณ 2559 เพื่อสนับสนุนค่าใช้จ่ายในการวิจัยครั้งนี้ และขอขอบคุณ ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้เครื่องมือและสถานที่

6. รายการอ้างอิง

- [1] 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 Hydrocoll. 49: 95-103.
- [2] Weinbreck, F., Nieuwenhuijse, H., Robijn, G. and De Kruif, C.G., 2004, Complexation of Whey Proteins with Carrageenan, J. Agric. Food Chem. 52: 3550-3555.
- [3] Gorji, S.G., Gorji, E.G. and Mohammadifar, M.A., 2014, Characteristic of gum tragacanth (*Astragalus gossypinus*)/sodium caseinate complex coacervation as a function of pH in an aqueous medium, Food Hydrocoll. 34: 161-168.
- [4] Anvari, M. and Chung, D., 2016, Effect of cooling-heating rate on sol-gel transformation of fish gelatin-gum arabic complex coacervates phase, Int. J. Biol. Macromol. 91: 450-456.
- [5] 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.
- [6] 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 Hydrocoll. 35: 305-314.
- [7] Nakagawa, K. and Nagao, H., 2012, Microencapsulation of oil droplets using freezing-induced gelatin-acacia complex coacervation, Coll. Surf. A: Physicochem. Eng. Aspect. 411: 129-139.
- [8] Comunian, T.A., Thomazini, M., Alves, A.J.G., De Matos Junior, F.E., De Carvalho Balieiro, J.C. and Favaro-Trindade, C.S., 2013, Microencapsulation of ascorbic acid by complex coacervation: Protection and controlled release, Food Res. Inte. 52: 373-379.

- [9] 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 Hydrocoll.* 61: 155-162.
- [10] Dror, Y., Cohen, Y. and Yerushalmi-Rozen, R., 2006, Structure of gum arabic in aqueous solution, *J. Polym. Sci. B: Polym. Phys.* 44: 3265-3271.
- [11] Yang, Y., Anvari, M., Pan, C.H. and Chung, D., 2012, Characterisation of interactions between fish gelatin and gum arabic in aqueous solutions, *Food Chem.* 135: 555-561.
- [12] Schmitt, C., Sanchez, C., Thomas, F and Hardy, J., 1999, Complex coacervation between β -lactoglobulin and acacia gum in aqueous medium, *Food Hydrocoll.* 13: 483-496.
- [13] Doner, L.W., Chau, H.K., Fishman, M.L. and Hicks, K.B., 1998, An improves process for isolation of corn fiber gum, *Cereal Chem.* 75: 408-411.
- [14] Kokubun, S., Yadav, M.P., Moreau, R.A. and Williams, P.A., 2014, Components responsible for the emulsification properties of corn fibre gum, *Food Hydrocoll.* 41: 164-168.
- [15] 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, *Indust. Eng. Chem. Res.* 46: 29-34.
- [16] 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, *Int. J. Biol. Macromol.* 87: 101-113.
- [17] De Kruif, C.G. and Tuineir, R., 2001, Polysaccharide protein interactions, *Food Hydrocoll.* 15: 555-563.
- [18] Turgeon, S.L., Beaulieu, M., Schmitt, C. and Sanchez, C., 2003, Protein-polysaccharide interactions: Phase-ordering kinetics, thermodynamic and structural aspects, *Curr. Opin. Coll. Interf. Sci.* 8: 401-414.
- [19] Weinbreck, F., Nieuwenhuijse, H., Robijn, G.W. and De Kruif, C.G., 2003, Complex formation of whey proteins: Exocellular polysaccharide EPS B40, *Langmuir* 19: 9404-9410.