สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การผลิตแผ่นฟิล์มไคโตซานสำหรับปิดแผล

นางสาวณัฐกานต์ เจริญทรัพย์
นางสาววิสา บินมะหะหมัด
นางสาวสุวิตตรา แช่มชื่น

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2548

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 67297
วัน,เดือน,ปี 22 พ.ย. 2549
b 11kr30kk
i.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Production of Chitosan Film for Wound Dressing

Miss Natthakarn Chalearnsub

Miss Visa Binmahamad

Miss Suwittra Chaemchuen

A Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement for the Degree of Bachelor of Science

Department of Biotechnology

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

Academic Year 2005

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษเรื่อง การผลิตแผ่นฟิล์มไคโตซานสำหรับปิดแผล

นักศึกษา นางสาวณัฐกานต์ เจริญทรัพย์
นางสาววิสา บินมะหะหมัด
นางสาวสุวิตตรา แช่มชื่น

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์
สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษา รศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผศ.ดร.อุ่นเรือน เพชราวัลย์

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะกรรมการตรวจสอบ	ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ รศ. ดวงใจ โอชัยกุล กรรมการ รศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง กรรมการ ผศ.ดร.อุ่นเรือน เพชราวัลย์	

.....

(รศ.ดร. นวลพรรณ ณ ระนอง)
หัวหน้าภาควิชา

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การผลิตแผ่นฟิล์มไคโตซานสำหรับปิดแผล Production of Chitosan Film for Wound Dressing
นักศึกษา	นางสาวณัฐกานต์ เจริญทรัพย์ นางสาววิสา บินมะหะหมัด นางสาวสุวิตตรา แซ่มชื่น
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา	2548
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผศ.ดร.อุ่นเรือน เพชรวัลย์

บทคัดย่อ

ปัจจุบันมีการนำไคโตซานมาประยุกต์ใช้ในงานด้านเกษตร อุตสาหกรรมอาหาร และเภสัชกรรม ไคโตซานละลายได้ในกรดอินทรีย์และนำมาขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มได้ จากคุณสมบัติในการสมานแผลและช่วยทำให้เซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมมีการเกาะยึดกันจึงนำมาใช้เป็นวัสดุปิดแผล ดังนั้นจึงมีการศึกษาการเตรียมแผ่นฟิล์มไคโตซานโดยละลายไคโตซาน 2 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ในสารละลายที่ผันแปรอัตราส่วนระหว่างกรดแอซิติกเข้มข้น 1% (ปริมาตร/ปริมาตร) และกรดแลกติกเข้มข้น 1% (ปริมาตร/ปริมาตร) พบว่า แผ่นฟิล์มที่ได้จากการละลายไคโตซาน 2 % ในกรดแอซิติกความเข้มข้น 1% มีคุณสมบัติเชิงกลที่เหมาะสม แผ่นฟิล์มที่ได้มีลักษณะเรียบใส สีค่อนข้างเหลืองเล็กน้อย มีความหนาประมาณ 15 ไมโครเมตร ค่าการต้านทานแรงดึงและค่าความยืดหยุ่น ณ จุดขาด 33.13 N/mm^2 และ 76.06 % ตามลำดับ เมื่อทดสอบการพองตัวของแผ่นฟิล์มพบว่ามีค่าสูงสุดเท่ากับ 76.36 % ในอาหาร RPMI แผ่นฟิล์มที่ได้ไม่ถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์ไลโซไซม์ เมื่อทดสอบการย่อยสลายและการผ่านเข้าแผ่นฟิล์มโดยแบคทีเรีย 6 ชนิด พบว่าแบคทีเรียที่นำมาทดสอบไม่สามารถย่อยสลายและผ่านแผ่นฟิล์มได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special project title	Production of Chitosan Film for Wound Dressing
Name	Miss Natthakan Chaleamsub
	Miss Visa Binmahamad
	Miss Suwittra Chaemchuen
Department	Applied biology
Program	Biotechnology
Academic	Year 2005
Special Project Advisor	Asso.Prof.Dr Nuanphan Na Ranong
Special Project Co-Advisor	Asst.Prof.Dr Ounruan Petcharawan

ABSTRACT

At present, there are a lot of chitosan applications in agriculture, food industry and pharmacy. Chitosan can be dissolved in organic acid and being casted into films. Because of chitosan properties in wound healing and promoting mammalian cells to bond, the film was made to be wound dressing. In this study, chitosan films were prepared by dissolving 2 % (w/v) chitosan in 1 % (v/v) acetic acid and 1 % (v/v) lactic acid at various ratios. From the results, it was found that the film from 2 % (w/v) chitosan in 1 % (v/v) acetic acid possessed optimum mechanical properties. This film was smooth yellowish and transparent and the thickness was approximately 15 μm. Tensile strength and elongation at break of the film were 33.13 N/mm^2 and 76.06 %, respectively. The highest swelling value of the chitosan film was 76.36 % in RPMI medium and it was not hydrolyzed by lysozyme. In addition, 6 strains of bacteria were tested for degradation and penetration of the film. The results showed that all bacterial strains could not degrade and penetrate across the chitosan film.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร. นวลพรรณ ณ ระนอง อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษที่ให้คำแนะนำและคำปรึกษาตลอดการดำเนินงานรวมถึงการแก้ไขรูปเล่มของโครงงานพิเศษให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณ รศ. ดวงใจ โอชัยกุล ประธานกรรมการ และ รศ.ดร. อุ่นเรือน เพชราวัลย์ กรรมการที่กรุณาเสียสละเวลาแก้ไขรูปเล่มโครงงานพิเศษนี้ให้ถูกต้องยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านที่กรุณาอบรมสั่งสอน ให้คำแนะนำและปรึกษาในด้านต่างๆ ประกอบขึ้นมาเป็นองค์ความรู้และแนวทางปฏิบัติเพื่อให้บรรลุเป้าหมาย รวมทั้งเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติงานและห้องธุรการของภาคชีววิทยาที่ช่วยอำนวยความสะดวกในการดำเนินงาน

ขอขอบใจพี่ๆ และเพื่อนๆ ที่คอยเป็นกำลังใจ แนะนำ และช่วยเหลือระหว่างที่ดำเนินงาน

นอกจากนี้ยังมีบิดา มารดา และผู้มีพระคุณที่กรุณาอบรมสั่งสอนและอุปการะให้ผู้จัดทำศึกษาจนประสบความสำเร็จ

นางสาวณัฐกานต์ เจริญทรัพย์
นางสาววิสา บินมะหะหมัด
นางสาวสุวิตตรา แช่มชื่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....ก

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....ข

กิตติกรรมประกาศ.....ค

สารบัญ.....ง

สารบัญตาราง.....ช

สารบัญรูป.....ฌ

บทที่ 1 บทนำ.....1

1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงงงานพิเศษ.....1

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ.....2

1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ.....2

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....2

1.5 ขั้นตอนในการดำเนินงาน.....2

บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ.....3

2.1 ไคติน-ไคโตซาน.....3

2.2 สมบัติทางกายภาพและทางเคมีของไคโตซาน.....6

2.3 การผลิตไคตินและไคโตซาน.....9

2.4 แหล่งวัตถุดิบในธรรมชาติและเชิงพาณิชย์.....11

2.5 กลไกการต่อต้านจุลินทรีย์.....12

2.6 การนำไคโตซานมาประยุกต์ในด้านต่างๆ.....13

2.7 ชนิดของพลาสติไซเซอร์.....21

2.8 กลไกการเกิดฟิล์ม.....22

2.9 วิธีการขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์ม.....23

2.10รายงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

บทที่ 3 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีดำเนินงาน.....25
3.1 วัสดุ อุปกรณ์.....25
3.2 การเตรียมแผ่นฟิล์มไคโตซาน.....27
3.3 ศึกษาการดูดน้ำและการพองตัวของฟิล์ม.....28
3.4 ทดสอบการย่อยแผ่นฟิล์มไคโตซานโดยใช้เอนไซม์ไลโซไซม์.....28
3.5 ทดสอบการย่อยแผ่นฟิล์มไคโตซานโดยแบคทีเรีย.....28
3.6 ทดสอบการป้องกันการผ่านเข้าของแบคทีเรีย.....29
3.7 การวิเคราะห์.....29

บทที่ 4 ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล.....30
4.1 ผลของอัตราส่วนของกรดแอซิติกต่อกรดแลกติก
ในการเตรียมแผ่นฟิล์มไคโตซาน.....30
4.2 ผลของกลีเซอรอลต่อการเตรียมแผ่นฟิล์มไคโตซาน.....33
4.3 การศึกษาการพองตัวของแผ่นฟิล์ม.....35
4.4 การทดสอบการย่อยแผ่นฟิล์มไคโตซานโดยใช้เอนไซม์ไลโซไซม์.....38
4.5 การทดสอบการย่อยสลายแผ่นฟิล์มไคโตซานโดยแบคทีเรีย.....39
4.6 การทดสอบการป้องกันการผ่านเข้าของแบคทีเรีย.....40

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....42

เอกสารอ้างอิง.....43

ภาคผนวก ก.....46

ภาคผนวก ข.....50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

ภาคผนวก ค.....52
ภาคผนวก ง.....53
ภาคผนวก จ.....54
ภาคผนวก ฉ.....56

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 สมบัติบางประการของไคตินและไคโตซาน....8
2.2 แหล่งวัตถุดิบสำคัญของไคติน....11
2.3 ปริมาณไคตินที่มีในสิ่งมีชีวิตต่างๆ....12
2.4 เชื้อแบคทีเรียและเชื้อราที่ไคโตซานมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโต....15
2.5 แสดงประโยชน์ของไคโตซานด้านการเกษตร....16
2.6 การนำไคโตซานไปใช้ประโยชน์ด้านต่างๆ....19
4.1 ค่าความหนา ค่าต้านทานแรงดึงและค่าความยืด ณ จุดขาดของแผ่นฟิล์มไคโตซาน ที่ได้จากการผันแปรอัตราส่วนระหว่างกรดแอซิติกและกรดแลกติก....31
4.2 ค่าความหนา ค่าต้านทานแรงดึงและค่าความยืด ณ จุดขาดของแผ่นฟิล์มไคโตซาน ที่ได้จากสูตรกรดแอซิติกผสมกับกลีเซอรอล....33
4.3 ค่าการพองตัวเฉลี่ยของแผ่นฟิล์มไคโตซาน....36
4.4 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ของการทดสอบ การย่อยสลายโดยเอนไซม์ไลโซไซม์....39
4.5 ผลการทดสอบการย่อยสลายแผ่นฟิล์มไคโตซานโดยแบคทีเรีย....40
4.6 การทดสอบการผ่านเข้าของแบคทีเรียผ่านแผ่นฟิล์มไคโตซาน....41
ก.1 ค่าความหนา ค่าการต้านทานแรงดึง และค่าความยืด ณ จุดขาดของแผ่นฟิล์มสูตร ไคโตซาน 2 กรัม ละลายในกรดแอซิติก และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร....46
ก.2 ค่าความหนา ค่าการต้านทานแรงดึง และค่าความยืด ณ จุดขาดของแผ่นฟิล์มสูตร ไคโตซาน 2 กรัม ละลายในกรดแอซิติก : กรดแลคติก (7:3) และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร....46
ก.3 ค่าความหนา ค่าการต้านทานแรงดึง และค่าความยืด ณ จุดขาดของแผ่นฟิล์มสูตร ไคโตซาน 2 กรัม ละลายในกรดแอซิติก : กรดแลคติก (1:1) และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร....47

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่ หน้า

ก.4 ค่าความหนา ค่าการต้านทานแรงดึง และค่าความยืด ณ จุดขาดของแผ่นฟิล์มสูตร ไคโตซาน 2 กรัม ละลายในกรดแอซิติก : กรดแลคติก (3:7) และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร 47
ก.5 ค่าความหนา ค่าการต้านทานแรงดึง และค่าความยืด ณ จุดขาดของแผ่นฟิล์มสูตร ไคโตซาน 2 กรัม ละลายในกรดแอซิติก : กลีเซอรอล(10:1) และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร 48
ก.6 ค่าความหนา ค่าการต้านทานแรงดึง และค่าความยืด ณ จุดขาดของแผ่นฟิล์มสูตร ไคโตซาน 2 กรัม ละลายในกรดแอซิติก : กลีเซอรอล(10:1.5) และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร 48
ก.7 ค่าความหนา ค่าการต้านทานแรงดึง และค่าความยืด ณ จุดขาดของแผ่นฟิล์มสูตร ไคโตซาน 2 กรัม ละลายในกรดแอซิติก : กลีเซอรอล(10:2) และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร 49
ข.1 การเตรียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่พีเอชต่างๆ 51

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

2.1 แหล่งไคโตซาน....3
2.2 โครงสร้างทางเคมีของไคติน....3
2.3 การตัดหมู่อะซิทิลออกจากไคติน....5
2.4 โครงสร้างทางเคมีของไคโตซาน....5
2.5 แสดงแผนผังขั้นตอนการผลิตไคโตซาน....11
2.6 แสดงโครงสร้างของกลีเซอรอล....21
2.7 โครงสร้างโมเลกุลของซอร์บิทอล....22
4.1 แสดงลักษณะแผ่นฟิล์มไคโตซานแบบเปียกที่ได้....30
4.2 กราฟแสดงค่าต้านทานแรงดึงของแผ่นฟิล์มไคโตซานแบบเปียก....32
4.3 กราฟแสดงค่าความยืด ณ จุดขาดของแผ่นฟิล์มไคโตซานแบบเปียก....32
4.4 กราฟแสดงค่าต้านทานแรงดึงของแผ่นฟิล์มไคโตซานผสมกลีเซอรอล เปรียบเทียบกับสูตรที่ดีที่สุด....34
4.5 กราฟแสดงค่าความยืด ณ จุดขาดของแผ่นฟิล์มไคโตซานผสมกลีเซอรอล เปรียบเทียบกับสูตรที่ดีที่สุด....34
4.6 กราฟแสดงค่าการพองตัวเฉลี่ยของแผ่นฟิล์มไคโตซานในสารอาหาร RPMI....37
4.7 กราฟแสดงค่าการพองตัวเฉลี่ยของแผ่นฟิล์มไคโตซานในสารละลาย PBS....37
4.8 กราฟแสดงค่าการพองตัวเฉลี่ยของแผ่นฟิล์มไคโตซานในน้ำกลั่น....38
ง.1 เครื่อง Texture Analyser รุ่น TA Plus : Nexygen Batch Document Program....53
ง.2 ลักษณะการตัดแผ่นฟิล์มที่ใช้ในการวัดค่าต้านทานแรงดึง....53
จ.1 กราฟมาตรฐานสารละลายกลูโคซามีน....55
ฉ.1 ไมโครมิเตอร์....56

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1. ความสำคัญและที่มาของโครงงานพิเศษ

ในปัจจุบันได้มีการนำผลิตภัณฑ์ที่ได้จากไคโตซานมาใช้ประโยชน์กันอย่างแพร่หลาย สามารถแยกออกเป็นหลายประเภท ได้แก่ ทางด้านอาหาร เภสัชกรรมและเครื่องสำอาง ตัวอย่างเช่น ใช้เป็นส่วนประกอบในอาหารเพื่อสุขภาพ (Food Health) ลดไขมันและควบคุมน้ำหนัก ใช้บำบัดโรคไขข้อเสื่อม (Osteoarthristis) เป็นสารควบคุมการออกฤทธิ์ของยา ช่วยให้เลือดแข็งตัว (Hirano และคณะ, 1978) ใช้เป็นสารกันบูด (Preservative) และเป็นสารคงตัว (Stabilizer) ในอาหาร ด้านการบำบัดน้ำเสีย ใช้เป็นตัวดูดซับในการแยกสารกัมมันตรังสีและโลหะหนัก (Hirano และคณะ, 1978) ด้านเทคโนโลยีชีวภาพ ใช้ในการตรึงเซลล์แบบห่อหุ้ม (Entrapmentation) และแบบแคปซูล (Encapsulation) และมีบทบาทอย่างมากในด้านการเกษตร เช่น ใช้เคลือบเมล็ดพันธุ์ (Seed Coating) เป็นสารยับยั้งไวรัสพืชบางชนิดได้ (Plant antivirus prepavate) (Struszczylet และคณะ, 1988) เนื่องมาจากมีคุณสมบัติในการกระตุ้น(Elicitor) ให้พืชสร้างสาร pisatin เพื่อใช้ป้องกันตัวเอง และมีผลต้านเชื้อราบางชนิดที่ก่อให้เกิดโรคพืชได้

ประเทศไทยเป็นผู้ผลิตกุ้งรายใหญ่ของโลก ในปี พ.ศ.2533 มีรายงานว่าประเทศไทยสามารถผลิตกุ้งได้มากติดอันดับ 1 ใน 4 ของโลก ส่งผลให้มีเปลือกกุ้งเหลือมากมายและมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นทุกปี มีรายงานว่าประเทศไทยมีปริมาณเปลือกกุ้ง เปลือกปู และแกนปลาหมึกเหลือทิ้งเพิ่มมากขึ้นทุกปี กล่าวคือ 60,000 ตัน/ปี ในปี 2511 110,000 ตัน/ปี ในปี 2519 (Muzzarelli, 1997) แสดงให้เห็นว่าประเทศไทยมีศักยภาพพอที่จะผลิตไคโตซานที่มีคุณภาพ และสามารถนำไคโตซานที่ผลิตได้มาสร้างผลิตภัณฑ์ต่างๆ เป็นการลดต้นทุนการนำเข้าสินค้าจากต่างประเทศ

ด้วยเหตุนี้จึงเกิดแนวความคิดที่จะพัฒนาเภสัชภัณฑ์ในรูปฟิล์มของไคโตซานจากเปลือกกุ้งที่มีคุณสมบัติยึดติดกับผิวหนังได้ดี ซึ่งน่าจะได้ฟิล์มที่ปิดแผลได้ง่ายและติดได้นาน โดยทำหน้าที่ป้องกันการสัมผัสระหว่างแผลกับสิ่งที่จะมากระทบกับแผลแล้วทำให้เจ็บปวดหรือมีอาการติดเชื้อ ซึ่งทำให้แผลหายช้า โดยคาดว่าจะได้เภสัชภัณฑ์ที่ดีมีประสิทธิภาพในการปกป้องแผล มีความปลอดภัยในการใช้ และสามารถเพิ่มกำลังการผลิตในระดับอุตสาหกรรมในอนาคตได้ นอกจากนี้ยังเป็นการส่งเสริมการใช้ประโยชน์จากวัสดุธรรมชาติที่มีอยู่ภายในประเทศเพื่อก่อให้เกิดประโยชน์กับประเทศชาติและประชากรสูงสุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1. ผลิตแผ่นฟิล์มปิดแผลจากวัสดุธรรมชาติ เพื่อป้องกันบาดแผล

2. นำไคโตซานที่ผลิตจากเปลือกกุ้งที่เป็นของเหลือทิ้งมาใช้ประโยชน์ ทดแทนการนำเข้าวัสดุจากต่างประเทศ

3. ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

1.หาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างกรดแอซิติกและกรดแลกติกที่ใช้ในการละลายไคโต-ซาน เพื่อขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มไคโตซาน

2. หาอัตราส่วนที่เหมาะสมในการขึ้นแผ่นฟิล์มไคโตซานโดยผสมกลีเซอรอล

3. นำแผ่นฟิล์มไคโตซานที่ขึ้นรูปได้แล้วมาทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพต่างๆ เพื่อคัดเลือกแผ่นฟิล์มที่มีคุณสมบัติดีที่สุด

4. นำแผ่นฟิล์มไคโตซานที่คัดเลือกแล้วมาทดสอบคุณสมบัติทางด้านชีวภาพ

4. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถผลิตแผ่นฟิล์มไคโตซานที่มีคุณภาพและประสิทธิภาพในการป้องกันบาดแผล และมีราคาถูก

2. แผ่นฟิล์มที่ผลิตได้สามารถย่อยสลายได้เองตามธรรมชาติ ไม่ก่อให้เกิดมลภาวะ

3. เป็นการเพิ่มมูลค่าของไคโตซาน

5. ขั้นตอนในการดำเนินงาน

1. การเตรียมแผ่นฟิล์มไคโตซาน (Preparation of Chitosan Film)

2. การศึกษาคุณสมบัติของแผ่นฟิล์มไคโตซาน

3. ทดสอบการย่อยสลาย (Biodegradation) โดยใช้ไลโซไซม์

4. ทดสอบการย่อยสลายโดยแบคทีเรีย

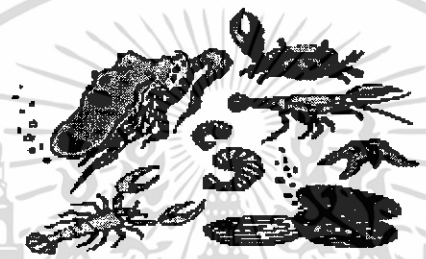
5. ทดสอบการป้องกันการผ่านเข้าของแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและหลักการ

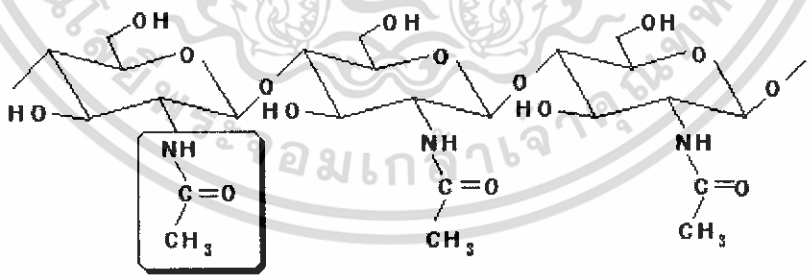
2.1 ไคติน-ไคโตซาน

ไคตินเป็นพอลิเมอร์ธรรมชาติ จัดอยู่ในกลุ่มคาร์โบไฮเดรตประเภทโครงสร้างที่เป็นเส้นใย คล้ายคลึงกับเซลลูโลสจากพืชและมีปริมาณมากเป็นอันดับสองรองจากเซลลูโลส ไคตินพบได้ในเปลือกของสัตว์ เช่น กุ้ง ปู แกนหมึก แมลง ตัวไหม หอยมุก และผนังเซลล์ของพวกรา ยีสต์ และจุลินทรีย์อีกหลายชนิด



รูปที่ 2.1 แหล่งไคโตซาน
(ที่มา : http://www.frankpasternak.com)

ไคตินประกอบขึ้นจากน้ำตาลหน่วยย่อย คือ N-acetyl-D-glucosamine มาเรียงต่อกันเป็นสาย ลักษณะเป็นของแข็ง ละลายได้ในกรดอนินทรีย์ เช่น กรดเกลือ กรดกำมะถัน กรดฟอสฟอริก และกรดฟอร์มิกที่ปราศจากน้ำ แต่ไม่ละลายในด่างเจือจาง แอลกอฮอล์ และตัวทำละลายอินทรีย์อื่นๆ



โครงสร้างทางเคมีของไคติน

รูปที่ 2.2 โครงสร้างทางเคมีของไคติน
(ที่มา: http://www.gpo.or.th/rdi/html/chitin.html)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไคตินที่ได้จากแต่ละแหล่ง มีโครงสร้างและสมบัติแตกต่างกันโดยแบ่งตามลักษณะการเรียงตัวของเส้นใยได้ 3 กลุ่ม คือ

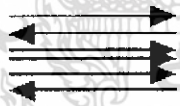
1. แบบแอลฟา

มีการเรียงตัวของสายโซ่โมเลกุลในลักษณะสวนทางกัน มีความแข็งแรงสูง ได้แก่ ไคตินจากเปลือกกุ้ง และกระดองปู

2. แบบเบตา

มีการเรียงตัวของสายโซ่โมเลกุลในทิศทางเดียวกัน จึงจับกันได้ไม่ค่อยแข็งแรง มีความไวต่อปฏิกิริยาเคมีมากกว่าแบบอัลฟา ได้แก่ ไคตินจากแกนและกระดองปลาหมึก

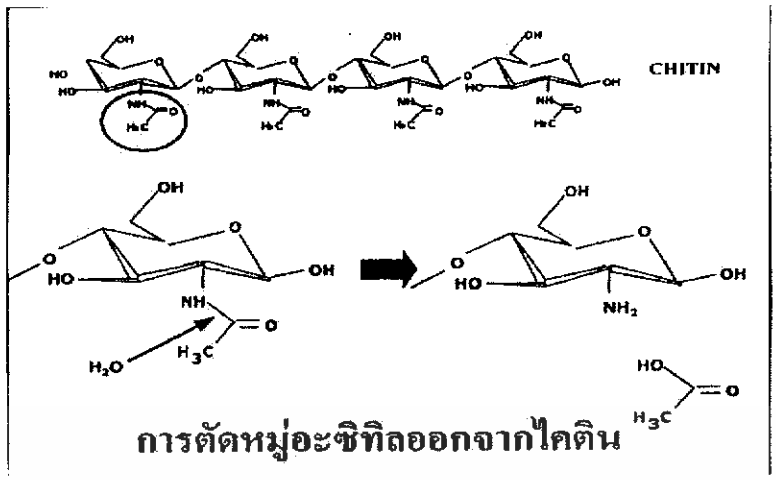
3. แบบแกมมา



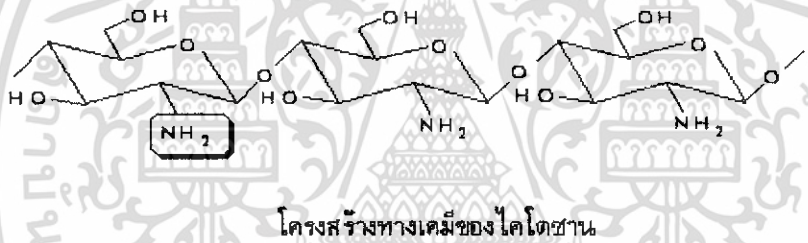
มีการเรียงตัวของสายโซ่โมเลกุลในลักษณะที่ไม่แน่นอน (สวนทางกันสลับทิศทางเดียวกัน) มีความแข็งแรงรองจากแบบอัลฟา ได้แก่ ไคตินจากเห็ด รา และพืชชั้นต่ำ (ภาวดี และคณะ , 2543)

ไคตินในธรรมชาติอยู่รวมกับโปรตีนและเกลือแร่ ต้องนำมากำจัดเกลือแร่ออก (demineralization) โดยใช้กรดจะได้แผ่นเหนียวหนืดคล้ายพลาสติก แล้วนำไปกำจัดโปรตีนออก (deproteinization) โดยใช้ด่างจะได้ไคติน หากเป็นไคตินที่ได้จากเปลือกกุ้งหรือปู จะมีสีส้มปนอยู่ นำไปแช่ในเอทานอลเพื่อละลายสีออก ส่วนไคโตซาน คือ อนุพันธ์ของไคตินที่ตัดเอาหมู่ acetyl ของน้ำตาล N-acetyl-D-glucosamine (เรียกว่า deacetylation คือ เปลี่ยนน้ำตาล N-acetyl-D-glucosamine เป็น glucosamine) ออกตั้งแต่ 50 % ขึ้นไป และมีสมบัติละลายได้ในกรดอ่อนแต่ไม่สามารถละลายในน้ำได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.3 การตัดหมู่อะซิทิลออกจากไคติน
(ที่มา: http://www.gpo.or.th/rdi/html/chitin.html)



รูปที่ 2.4 โครงสร้างทางเคมีของไคโตซาน
(ที่มา: http://www.gpo.or.th/rdi/html/chitin.html)

เนื่องจากไคตินและไคโตซานพบในเปลือกสัตว์ทะเล เช่น เปลือกกุ้ง กระดองปู ฯลฯ ไคตินและไคโตซานจึงเป็นพอลิเมอร์ธรรมชาติที่ผลิตได้จากของเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมประมงเป็นส่วนใหญ่ พบว่าในเปลือกสัตว์ทะเลประกอบด้วย

- โปรตีน 30-40%
- แคลเซียมคาร์บอเนต 30-50%
- ไคติน 20-30%

อัตราส่วนนี้ไม่แน่นอน ขึ้นกับพันธุ์สัตว์ทะเลและฤดูกาล นอกจากนี้ยังขึ้นกับกรรมวิธีหรือกระบวนการแยกไคตินจากเปลือกสัตว์ ดังนั้นสมบัติต่างๆของไคตินและไคโตซานจึงหลากหลายและไม่แน่นอน เช่น น้ำหนักโมเลกุล (Molecular weight, MW) องศาการดีอะซิติเลชั่น ความ-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หนาแน่น ความสามารถในการดูดจับน้ำ (Dye binding capacity, DBC) และความสามารถในการดูดจับไขมัน (Water and fat binding, WBC, FBC)

ปกติแล้วไคโตซานที่ได้จะมีส่วนผสมของน้ำตาล N-acetyl-D-glucosamine และ glucosamine อยู่ในสายพอลิเมอร์เดียวกัน ซึ่งระดับการกำจัดหมู่ acetyl (หรือเปอร์เซนต์การเกิด deacetylation) นี้มีผลต่อสมบัติและการทำงานของไคโตซาน นอกจากนี้น้ำหนักโมเลกุลของไคโต-ซานบอกถึงความยาวของสายไคโตซาน ซึ่งมีผลต่อความหนืด เช่น ไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง จะมีสายยาวและสารละลายมีความหนืดมากกว่าไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ เป็นต้น ดังนั้น การนำไคโตซานไปใช้ประโยชน์จะต้องพิจารณาทั้งเปอร์เซนต์การเกิด deacetylation และน้ำหนักโมเลกุล

ไคโตซาน มีสมบัติพื้นฐานที่เข้ากับธรรมชาติได้ดี มีขั้วที่ชอบน้ำ (Hydrophilicity) ว่องไวต่อสารเคมี ละลายได้ดีในสารละลายกรดเจืองาง (ฟอร์มิก กรดแอซิติก ฯลฯ) แต่ไม่ละลายในสารละลายด่าง สามารถหล่อแบบ (Casting) ทำเป็นฟิล์มหรือเยื่อเลือกผ่านได้ง่าย ไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะอย่างยิ่งไคโตซานมีหมู่อะมิโนที่แสดงสมบัติพิเศษหลายประการที่ต่างจากเซลลูโลส เช่น การจับกับอิออนของโลหะได้ดี ฟิล์มมีสมบัติเชิงกลที่ดี สามารถยึดเกาะได้ดีกับประจุลบ ไม่มีพิษ (Nontoxicity) และเข้าได้ดีกับสารชีวภาพ (Biocompatibility)
(ที่มา : www.mtec.or.th)

2.2 สมบัติทางกายภาพและทางเคมีของไคโตซาน

2.2.1 การละลาย (Solubility)

กรดแอซิติกและกรดฟอร์มิกเป็นกรดที่นิยมใช้ในการละลายไคโตซาน กรดอนินทรีย์บางชนิดเช่น กรดไนตริกเข้มข้น กรดไฮโดรคลอริก กรดเปอร์คลอริกและกรดฟอสฟอริก สามารถละลายไคโตซานได้เช่นเดียวกัน ภายใต้การคนโดยทำการละลายที่อุณหภูมิสูงปานกลาง อย่างไรก็ตามในบางครั้งอาจมีตะกอนขาวคล้ายเจลเกิดขึ้นได้บ้าง สารละลายไคโตซานมีความเหนียวใสมีพฤติกรรมแบบนอนนิวโตเนียน ในสารละลายหมู่อะมิโนของไคโตซานจะแตกตัวโดยมีค่าสัมประสิทธิ์การแตกตัว (pK_a) ขึ้นกับความหนาแน่นของประจุของพอลิเมอร์โดยมีค่าในช่วง 6.2-6.8 (Ishihara และคณะ, 2001)

2.2.2 องศาการดีแอซิติเลชัน (Degree of deacetylation, DD)

เป็นตัวบ่งชี้ความเป็นไคตินและไคโตซาน เนื่องจากเป็นโคพอลิเมอร์ระหว่างสองมอนอเมอร์ของ N-acetyl-D-glucosamine และ D-glucosamine ถ้าสัดส่วนที่อยู่ร่วมกันของมอนอเมอร์แรกมากกว่าคือมีค่า Degree of deacetylation ต่ำ จะแสดงสมบัติเด่นของไคติน แต่สัดส่วนของมอนอ-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมอร์ที่สองมากกว่าคือมีค่า Degree of deacetylation สูง จะแสดงสมบัติเด่นของไคโตซาน (Ishihara และคณะ, 2001)

2.2.3 ความหนืด (Viscosity)

ความหนืดของสารละลายขึ้นกับปัจจัยหลายอย่างซึ่งที่พบมาก เช่น องศาการดีแอซิติเลชั่น (DD) น้ำหนักโมเลกุล ความแรงของพันธะไอออนิก (Ionic strength) ความเป็นกรดด่าง และอุณหภูมิ โดยทั่วไปแล้วความหนืดของสารละลายพอลิเมอร์จะลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น แต่ชนิดของกรดที่ใช้และการเปลี่ยนแปลง pH ของสารละลายพอลิเมอร์จะให้ผลความหนืดที่แตกต่างกัน เช่น ความหนืดของไคโตซานในกรดแอซิติกจะเพิ่มขึ้นเมื่อสารละลายมีค่าความเป็นกรดด่างลดลงในขณะที่ความหนืดของไคโตซานในกรดไฮโดรคลอริกจะเพิ่มขึ้นเมื่อค่ากรดด่างของสารละลายเพิ่มขึ้น (Ishihara และคณะ, 2001)

2.2.4 ความสามารถในการตกตะกอน (Coagulating ability)

ไคโตซานเป็นตัวสร้างตะกอนและตัวตกตะกอนที่ดีเนื่องจากมีหมู่อะมิโนจำนวนมากที่สามารถแตกตัวเป็นประจุบวกและจับกับสารประจุลบได้ เช่น โปรตีน สีย้อมและพอลิเมอร์อื่นๆ จากงานวิจัยประสิทธิภาพของไคโตซานในการแยกโปรตีนออกจาก Cheese whey พบว่าความสามารถในการจับโปรตีนเป็นสัดส่วนผกผันกับน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซาน นอกจากนี้ไคโตซานยังสามารถจับโลหะหนักได้ โดยไนโตรเจนในหมู่อะมิโนของไคโตซานจะทำหน้าที่โดยเป็นตัวให้อิเล็กตรอน ทำให้ไอออนของโลหะสามารถสร้างพันธะเชิงซ้อนกับหมู่อะมิโนได้ นอกจากนี้ยังพบว่าหมู่อะมิโนในไคโตซานมีประสิทธิภาพในการจับไอออนของโลหะได้ดีกว่าหมู่แอซิติลในไคติน ดังนั้นไคโตซานที่มี Degree of deacetylation สูง จะมีอัตราการดูดซับหรือความสามารถในการจับไอออนของโลหะสูง ความสามารถในการดูดซับไอออนของไคโตซานยังขึ้นกับปัจจัยหลายอย่าง เช่น ความเป็นผลึกและความสามารถในการดึงดูดน้ำของไคโตซาน (Ishihara และคณะ, 2001)

2.2.5 การเสื่อมสลาย (Degradation)

ไคโตซานเป็นเหมือนกับพอลิเมอร์หรือพอลิแซคคาร์ไรด์อื่นทั่วไป คือ เมื่อเกิดการเสื่อมสลายจะให้สายโซ่โมเลกุลที่สั้นลงเป็นโอลิโกเมอร์หรือโอลิโกแซคคาร์ไรด์ และเป็นหน่วยย่อยที่เล็กที่สุดเรียกว่ามอนอเมอร์หรือมอนอแซคคาร์ไรด์ของไคโตซาน คือ N-acetyl-D-glucosamine และ D-glucosamine ตามลำดับ (Ishihara และคณะ, 2001)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.5.1 การเสื่อมสลายโดยกรด (Acid hydrolysis) และด่าง (Alkaline degradation)

การเสื่อมสลายของสายโซ่โมเลกุลของไคโตซานเนื่องจากกรดเป็นแบบสุ่ม ผลิตภัณฑ์ที่ได้คือโอลิโกเมอร์ขนาดต่างๆ และมอนอเมอร์ขึ้นกับสภาวะที่ใช้ เช่น เวลา ชนิดของกรด อุณหภูมิ ชนิดพันธะของสายโซ่โมเลกุล ชนิดของพอลิเมอร์ โดยไคตินจะสามารถต้านทานต่อการเสื่อมสลายโดยกรดได้ดีกว่าไคโตซานในด่างจะเริ่มจากปลายสุดของสายโซ่โมเลกุลการเสื่อมสลายแบบนี้เรียกว่า Peeling reaction

2.2.5.2 การเสื่อมสลายโดยความร้อน (Thermal degradation)

ความร้อนมีผลต่อสมบัติทางกายภาพของไคโตซานจากการวิจัยพบว่า ความร้อนจากเตาอบซึ่งเป็นความร้อนแบบแห้งที่อุณหภูมิน้อยกว่าหรือเท่ากับ 80 องศาเซลเซียส มีผลทำให้สายโซ่โมเลกุลมีความยืดหยุ่นมากขึ้น ค่าอุณหภูมิที่สภาวะคล้ายแก้ว (Glass transition temperature) (T_g) ลดลง ความสามารถในการละลายเพิ่มขึ้น ส่วนความร้อนแบบแห้งที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส ความสามารถในการละลายของไคโตซานจะลดลงที่อุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียส เวลานานกว่าหรือเท่ากับ 2 ชั่วโมง สำหรับการอบแห้งแบบใช้ความร้อนไคโตซานจะไม่สามารถละลายได้หลังการอบที่อุณหภูมิ 115 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และหลังการอบที่อุณหภูมิมากกว่าหรือเท่ากับ 120 องศาเซลเซียส ไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพของไคโตซาน

ตารางที่ 2.1 สมบัติบางประการของไคตินและไคโตซาน

Specification	ไคติน	ไคโตซาน
น้ำหนักโมเลกุล	$>10^6$ $(1\text{-}5)\times10^5$)	$(1\text{-}5)\times10^5$)
% ความชื้น	2-10	2-10
% ไนโตรเจน	6-7	7-8.4
Deactylation, %	10	60
ปริมาณเถ้าที่ 900 องศา-เซลเซียส, (%)	<1.0	<1.0
Dissocation constant, K_a	6.0-7.0	6.0-7.0
X-ray diffraction, peaks	$8^0$58-$10^0$26 $19^0$58-$20^0$00	$19^0$58-$20^0$00 $8^0$58-$10^0$26
Transition metals	<5.0	<5.0

(ที่มา : http://www.gpo.or.th/rdi/html/chitin.html)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัจจัยทางเคมีและกายภาพที่สำคัญของไคโตซาน

สรุปได้ว่าสมบัติต่างๆของไคโตซานนั้นจะขึ้นกับ Degree of deacetylation (%) ความชื้น (%) ปริมารเถ้า (Ash content %) ปริมาณโปรตีน ความหนืดและน้ำหนักโมเลกุล

2.3 การผลิตไคตินและไคโตซาน (www.mtec.or.th)

ประกอบด้วยหลักการที่สำคัญดังต่อไปนี้

2.3.1 กระบวนการกำจัดโปรตีน (deproteination) โดยการทำปฏิกิริยากับสารละลายด่าง โซดาไฟ (NaOH) ในกระบวนการนี้โปรตีนส่วนใหญ่จะถูกขจัดออกไปจากวัตถุดิบ ซึ่งทำให้ไขมันบางส่วนและรงควัตถุบางชนิดมีโอกาสถูกขจัดออกไปด้วย อย่างไรก็ตาม การพิจารณาใช้กระบวนการนี้ขึ้นอยู่กับประเภทของวัตถุดิบที่จะนำมาใช้

2.3.2 กระบวนการกำจัดเกลือแร่ (demineralization)

โดยการนำวัตถุดิบหรือวัตถุดิบซึ่งผ่าน กระบวนการกำจัดโปรตีนมาแล้ว มาทำปฏิกริยากับสารละลายกรด ซึ่งส่วนมากใช้กรดเกลือ (HCl) ทำให้เกลือแร่ส่วนใหญ่ ได้แก่ หินปูน ($CaCo_3$) ซึ่งจะถูกกำจัดออกไปโดยเปลี่ยนเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ทำให้บางส่วนของรงควัตถุและโปรตีนที่ละลายได้ในกรดย่อมถูกกำจัดออกไปด้วยในขั้นตอนนี้ด้วยเช่นกัน วัสดุที่ได้คือ ไคติน

2.3.3 กระบวนการกำจัดหรือลดหมู่อะซีติล (deacetylation)

เป็นการเปลี่ยนแปลงทางเคมีที่ใช้ในการกำจัดหรือลดหมู่อะซีติล (CH_3CO-) เพื่อให้เกิดเป็นไคโตซาน (chitosan) ซึ่งเป็นการเพิ่มขึ้นของหมู่อะมิโน (-NH_2) บนโมเลกุลของไคติน และหมู่อะมิโนนี้มีความสามารถในการรับโปรตอนจากสารละลาย ซึ่งช่วยให้การละลายดีขึ้นเพราะมีสมบัติเป็นประจุบวก (cation) ส่วนใหญ่เมื่อปริมาณของหมู่อะซีติล ถูกกำจัดไปมากกว่า 60% ขึ้นไป เมื่ออุณหภูมิสูงทำให้เปอร์เซ็นต์การดึงหมู่แอซิทิลเพิ่มขึ้น แต่ขนาดโมเลกุลจะลดลง

ในอุตสาหกรรมปัจจุบันการผลิตสารไคตินและไคโตซานจากเปลือกกุ้งทำโดยการใช้สารเคมีและความร้อน (thermochemistry) นับว่าเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่จะช่วยลดปัญหามลภาวะและพิทักษ์รักษาคุณภาพสิ่งแวดล้อมในการกำจัดกากของเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมอาหารทะเล และช่วยเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์ (value-added products)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขั้นตอนการผลิตไคติน – ไคโตซาน

รูปที่ 2.5 แสดงแผนผังขั้นตอนการผลิตไคโตซาน

(ที่มา : http://www.eastlothian.gov.uk)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 แหล่งวัตถุดิบในธรรมชาติและเชิงพาณิชย์

ไคติน (chitin) เป็นพอลิแซคคาไรด์จากสัตว์ สามารถแยกสกัดได้จากเปลือกสัตว์ เช่น กระดองปู เปลือกกุ้ง และแกนปลาหมึก เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบเป็นองค์ประกอบในโครงสร้างหลักของแมลง รา และยีสต์ โดยปริมาณที่พบในสัตว์ต่างๆ มีปริมาณต่ำ ตั้งแต่ 0.01% จนพบในพบในปริมาณสูงถึง 40% เมื่อเทียบกับน้ำหนักตัวแห้งของสัตว์เหล่านั้น

ตารางที่ 2.2 แหล่งวัตถุดิบสำคัญของไคติน

สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังประเภทมีข้อปล้อง (Arthropods)	แมลง (insect)	จุลินทรีย์ (Microorganisms)
หอย (Molluska)	แมงมุม	ยีสต์ (β-type)
Coelentera	Brachiopods	เชื้อรา (ผนังเซลล์)**
Crustaceans	มด	ก้านชูสปอร์ของ pennicilium**
กุ้ง (shrimp)*	แมลงปีกแข็ง	สปอร์
กุ้งนาง (prawn)*		Chytridiaceae
Krill		Blastocladiaceae
ปู (crab)*		Ascomydes

*แหล่งวัตถุดิบในปัจจุบัน

**แหล่งวัตถุดิบในอนาคตเมื่อความต้องการมากขึ้น

(ที่มา : http://www.iboro.ac.uk/departments/cg/project/2002)

องค์ประกอบของโครงสร้างต่อน้ำหนักแห้งในกุ้ง และปู คิดเป็นประมาณ 15-20% ซึ่งไคตินที่เป็นองค์ประกอบของโครงสร้างต่อน้ำหนักตัวแห้งของสัตว์ต่างๆเหล่านี้ มีต่างๆ กันไป ซึ่งได้แสดงไว้ในตารางที่ 2.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.3 ปริมาณไคตินที่มีในสิ่งมีชีวิตต่างๆ

แหล่งวัตถุดิบ	ปริมาณที่พบ (%)
เชื้อรา	5-20
หนอน	20-38
ปลาหมึก	3-20
แมงป่อง	30
แมงมุม	38
แมลงสาบ	35
แมลงปีกแข็ง	37
กุ้ง	40
หนอนไหม	44
ปูเสฉวน	69
ปูหิน	70

(ที่มา : http://www.wind.ne.jp/mazmoto/zeti/training/shrimp.htm)

2.5 กลไกการต่อต้านจุลินทรีย์

2.5.1 โดยการเกิดปฏิกิริยาระหว่างประจุบวกบนโมเลกุลของไคโตซานกับประจุลบบนผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ ซึ่งทำให้เกิดการแตกและการรั่วออกมาของสารโปรตีนและสารอื่นๆจากภายในเซลล์ของจุลินทรีย์

2.5.2 เป็นสารคีเลต (chelating agent) ที่จำเพาะกับพวกจุลธาตุ(trace element)บางชนิด และทำให้เกิดการยับยั้งการผลิตสารพิษจากจุลินทรีย์และขัดขวางการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ด้วย

2.5.3 กระตุ้นกระบวนการป้องกันตัวเองของเซลล์เจ้าบ้าน (host cell) ของพืช โดยไปกระตุ้นยีนของพืชให้เพิ่มการสร้างเอนไซม์ที่สำคัญ เช่น กลูคาเนส (glucanase) ไคติเนส(chitinase) และไฟโตอะเล็กซิน (phytoalexins) ทำให้พืชมีความต้านทานต่อโรคที่มาจากเชื้อราบางชนิดได้ ซึ่งถือได้ว่าเป็น elicitor ชนิดหนึ่ง

2.5.4 เป็นสารจับตัวกับโมเลกุลของน้ำได้ดี ซึ่งอาจทำให้เกิดกระบวนการขัดขวางการทำงานของเอนไซม์หลายชนิดในจุลินทรีย์ได้

2.5.5 เมื่อมีการซึมเข้าไปของพวกไคโตซานโมเลกุลเล็ก (oligomers) เข้าสู่ในนิวเคลียสของเซลล์จุลินทรีย์และราบางชนิด พบว่ามีการจับตัวกันของไคโตซานกับ DNA ทำให้เกิดกระบวนการยับยั้งการสังเคราะห์ mRNA ซึ่งทำให้ขัดขวางการสังเคราะห์โปรตีนตามมาในเซลล์ของจุลินทรีย์นั้นเอง (Marchessault และคณะ, 1992)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 การนำไคโตซานมาประยุกต์ในด้านต่างๆ

2.6.1 ด้านอาหาร

ในหลายประเทศได้ขึ้นทะเบียนไคโตซานให้เป็นสารที่ใช้เติมในอาหารได้ เนื่องจากมีคุณสมบัติเด่นคือไม่มีปฏิกิริยาต่อต้านจากร่างกาย เป็นคาร์โบไฮเดรต จะสลายตัวอย่างช้า และถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย จึงไม่ส่งผลใดๆที่เป็นอันตรายต่อผู้อุปโภคบริโภคโดยนำไปใช้เป็นสารกันบูด สารถนอมอาหาร สารช่วยรักษากลิ่น รส และสารให้ความข้น ใช้เป็นสารเคลือบอาหาร ผัก และผลไม้เพื่อรักษาความสดหรือผลิตในรูปฟิล์มที่รับประทานได้ (edible film) สำหรับบรรจุอาหาร ได้มีการทดลองใช้ไคโตซานในกระบวนการผลิตน้ำแอปเปิ้ล และน้ำองุ่น พบว่ามีประสิทธิภาพในการเป็น fining agent ที่ดี (Hosokawa และคณะ, 1990)ใช้ในการตกตะกอนไวน์ขาวและไวน์แดง เนื่องจากไม่มีผลต่อสีของไวน์ และลดสารที่ไม่ต้องการบางชนิดในอาหาร เช่น แทนนินได้ และสามารถใช้ในการควบคุมความเป็นกรดของน้ำผลไม้อีกด้วย นอกจากนี้ไคโตซานยังทำให้ไวน์ขาวในตอนเริ่มต้นที่มีสีเหลืองฟางข้าวเปลี่ยนเป็นสีเหลืองทองสวยงาม และได้นำไคโตซานไปผสมในผลิตภัณฑ์น้ำผลไม้เพื่อให้เป็นเนื้อเดียวกัน ไม่ตกตะกอน จากการวิจัยในสัตว์หลายชนิดพบว่าการบริโภคไคโตซานสามารถลดปริมาณคอเลสเตอรอลในเลือดได้ ในประเทศญี่ปุ่นจึงมีการผลิตขนมคุกกี้ควบคุมน้ำหนักและบะหมี่สำเร็จรูปซึ่งมีส่วนผสมไคโตซานออกมาจำหน่าย นอกจากนี้แล้วยังมีน้ำส้มสายชูที่มีไคโตซานผสมอยู่ออกมาจำหน่ายอีกด้วย

2.6.2 ด้านอาหารเสริม

มีรายงานว่า ไคโตซานช่วยลดคอเลสเตอรอล และไขมันในเส้นเลือด โดยไคโตซานไปจับกับคอเลสเตอรอล ทำให้ร่างกายไม่สามารถดูดซึมไปใช้หรือดูดซึมได้น้อยลง จึงมีการโฆษณาเป็นผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก ทั้งนี้ต้องใช้ด้วยความระมัดระวัง เนื่องจากไคโตซานสามารถจับวิตามินที่ละลายได้ดีในไขมัน (วิตามินเอ ดี อี เค) อาจทำให้ขาดวิตามินเหล่านี้ได้ สำหรับประเทศไทยได้มีการจำหน่ายผลิตภัณฑ์ไคโตซานแคปซูลเพื่อลดคอเลสเตอรอลและควบคุมน้ำหนัก ซึ่งใช้กันอย่างแพร่หลายในรูปอาหารเสริม (http://www.gpo.or.th/rdi/html/chitin.html)

2.6.3 ด้านการแพทย์

ไคโตซานเป็นสารธรรมชาติที่มีความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อและเซลล์ของร่างกายสามารถรับประทานได้และย่อยสลายได้ตามธรรมชาติโดยไม่เป็นพิษต่อร่างกาย จึงมีงานวิจัยจำนวนมากที่ศึกษาการนำไคโตซานมาประยุกต์ใช้ทางด้านการแพทย์และเภสัชกรรมดังตัวอย่างต่อไปนี้

2.6.3.1 ใช้ในวัสดุทดแทนกระดูก (Guan และคณะ, 1998)

2.6.3.2 ใช้ทางด้าน Tissue Engineering

2.6.3.3 ใช้เป็นวัสดุปิดแผล (Guan และคณะ, 1998)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.3.4 ใช้ทางด้านระบบการนำส่งเข้ายา (drug delivery system)

2.6.3.5 ใช้เป็นสารป้องกันการจับตัวเป็นก้อนของเลือด (blood anticoaglulant) และสารห้ามเลือด (hemostatic) (Malette และคณะ, 1983 อ้างอิงใน Hirano, 1978)

2.6.4 ด้านการเกษตร

เนื่องจากไคโตซานมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบไนโตรเจนจะถูกปลดปล่อยออกจากโมเลกุลอย่างช้าๆ รวมทั้งช่วยตรึงไนโตรเจนจากอากาศและดิน จึงใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพ นอกจากนี้ยังใช้เป็นสารเร่งการเจริญเติบโตในพืชและสัตว์แลกเนื้อต่างๆ เช่น สุกร กุ้ง เป็ด ไก่ อีกทั้งเป็นสารธรรมชาติที่มีลักษณะโดดเด่นเฉพาะตัว คือ ที่เป็นวัสดุชีวภาพ (Biomcterials) ย่อยสลายตามธรรมชาติ มีความปลอดภัยในการนำมาใช้กับมนุษย์ ไม่เกิดผลเสียและปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม ไม่เกิดการแพ้ ไม่ไวไฟและไม่เป็นพิษ (non – phytotoxic) ต่อพืช

ได้มีการนำไคโตซานมาเคลือบผลผลิตทางการเกษตร ซึ่งมีประสิทธิภาพดีกว่ายาฆ่าเชื้อราบางชนิด และปลอดภัยมากกว่า เพื่อยืดอายุและป้องกันการเน่าเสีย สามารถลดอัตราการหายใจ ลดการสูญเสียน้ำจากการคายน้ำ และลดอัตราการผลิตก๊าซเอธีลีนที่ทำให้ผลไม้สุกเร็ว (Biagini และคณะ, 1991) รวมทั้งเป็นฟิล์มกั้นการไหลออกของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ทำให้ผัก ผลไม้คงความกรอบ ผิวไม่เหี่ยวย่น สีผิวไม่เปลี่ยนแปลง (Patent Abstracts of Japan, 1998)

ไคโตซานถูกใช้ผสมในปุ๋ยน้ำสำหรับพืชไม้ดอก มีข้อดีหลายอย่าง เช่น สามารถยึดติดกับผิวของพืช ผิวดินได้ดี และทนต่อการถูกชะล้าง ลดการระเหยของน้ำ สามารถเป็นตัวควบคุมการปลดปล่อยสารอาหารและยาให้กับพืช ทำให้การกระจายตัวของปุ๋ยน้ำดีขึ้นและมีความคงตัวสูง และลด phytotoxic effect (Struszczyk และคณะ, 1988)

2.6.4.1 ไคโตซานกับการเกษตรด้านการควบคุมศัตรูพืช

2.6.4.1.1 ยับยั้งและสร้างความต้านทานโรคให้กับพืช

การยับยั้งเชื้อสาเหตุของโรคพืช ได้แก่ เชื้อไวรัส แบคทีเรีย และเชื้อราบางชนิด โดยไคโตซานจะซึมผ่านเข้าทางผิวใบ ลำต้นพืช ช่วยยับยั้งการเกิดโรคพืชในกรณีที่เกิดเชื้อโรคพืชแล้ว (รักษาโรคพืช) และสร้างความต้านทานโรคให้กับพืชที่ไม่ติดเชื้อ โดยไคโตซานมีคุณสมบัติที่สามารถออกฤทธิ์เป็นตัวกระตุ้น (elicitor) ต่อพืชได้ จะกระตุ้นระบบป้องกันตัวเองของพืช ทำให้พืชผลิตเอนไซม์และสารเคมีเพื่อป้องกันตนเองหลายชนิด พืชจึงลดโอกาสที่จะถูกคุกคามโดยเชื้อสาเหตุโรคพืชได้ (Balassa และ Pruden, 1984)

2.6.4.1.2ทำให้เกิดโอกาสการสร้างความต้านทานของพืชต่อแมลงศัตรูพืช

ไคโตซานจะกระตุ้นให้มีการผลิตสารลิกนินและแทนนินของพืชมากขึ้น พืชสามารถป้องกันตัวเองจากการกัด – ดูด ทำลายของแมลงศัตรูพืช จะสังเกตว่าต้นพืชที่ได้รับไคโตซานจะมีแวกซ์เคลือบที่ผิวใบ (Hosokawa และคณะ, 1990)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.4.1.3 ช่วยเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในดิน

ไคโตซานสามารถส่งเสริมการเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในดิน เช่น เชื้อ *Actiomycetes* sp. *Trichoderma* spp. ทำให้เกิดการลดปริมาณของจุลินทรีย์ที่เป็นเชื้อโรคพืช เช่น เชื้อ *Furarium Phythophthora* spp. ฯลฯ (Schiraldi และคณะ, 2004)

ไคโตซานสามารถละลายและมีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดีกว่าไคติน เนื่องจากประจุบวกตรงคาร์บอนตำแหน่งที่ 2 ของกลูโคซามีน (glucosamine) ซึ่งเป็นหน่วยย่อยที่เล็กที่สุดของไคโตซาน สามารถเกิดinteractionกับเยื่อหุ้มเซลล์(cell membrane)ของจุลินทรีย์ที่มีประจุลบ ทำให้เกิดการรั่วไหลของโปรตีนและสารอื่นของเซลล์ หรือการที่ไคโตซานเป็น chelating agent ซึ่งสามารถเลือกจับโลหะแม้ในปริมาณน้อยๆได้ ทำให้เกิดการยับยั้งการผลิตสารพิษ (toxin) และยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (www.rpc.co.th/newsroom_sub_01.html)

ตารางที่ 2.4 เชื้อแบคทีเรียและเชื้อราที่ไคโตซานมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโต

แบคทีเรีย		รา
Gram positive	**Gram negative**	
Staphylococcus aureus	*Escherichia coli*	*Botrytis cinerea*
Listeria monocylogenes	*Vibrio parahaemolyticus*	*Rhizopus stolonifer*
Bacillus cereus	*Pseudomonas aeruginosa*	*Aspergillus niger*
	Shigella dysenteriae	*Aspergillus paraciticus*
	Vibrio cholerae	
	Aeromanas hydrophila YMI	
	Aeromanas hydrophila CCRC 13881	
	Salmonella tyhlmurium	

ที่มา : Schiraldi และคณะ (2004)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.5 แสดงประโยชน์ของไคโตซานด้านการเกษตร

คุณสมบัติ	วิธีการใช้	อัตรา
1. แมลง : กระตุ้นให้พืชสร้างความภูมิคุ้มกัน โดยผลิตพืชเอนไซม์และสารเคมีป้องกันตนเอง เช่น สร้างลิกนิน แทนนิน และกระตุ้นให้สร้างไคติเนส ซึ่งจะย่อยผนังเปลือกหุ้มตัวแมลงศัตรูพืช เช่น หนอนใย หนอนคืบ	พ่นทางใบ	10 – 20 ซีซี / น้ำ 20 ลิตร
2. โรค : ยับยั้ง การเจริญเติบโตเชื้อสาเหตุของโรคพืชรักษาและสร้างภูมิต้านทานโรค - ไวรัสโรคพืช - แบคทีเรีย เช่น แคงเคอร์ ใบจุด - เชื้อรา เช่น *Phythoptora pithium* *Botrytis cineres* *Rhizopus stolonifer* แอนแทรคโนส เมลาโนส รา น้ำค้าง ใบติดราขาว รากเน่า -โคนเน่า โรคใบจุด โรคใบสีส้มข้าว ใบลาย	พ่นทางใบ	10 – 50 ซีซี / น้ำ 20 ลิตร
3. ใช้ควบคุมไส้เดือนฝอย (รวมทั้งเชื้อรา เช่น *Furarium* spp.) (ในฝ้าย พืชผัก กล้วยไม้ ผลไม้ ฯลฯ) * วิธีการนี้ยังใช้ต้นทุนสูงไม่คุ้มการลงทุน	ใช้เป็นรูปผง ใส่ลงดินแล้วไถกลบลึก 6-8 นิ้ว 2-4 สัปดาห์ก่อนปลูกพืช	1 กรัม / ตารางวา (1 ตัน / Acre) (3% ปริมาตร / ปริมาตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.5 (ต่อ) แสดงประโยชน์ของไคโตซานด้านการเกษตร

คุณสมบัติ	วิธีการใช้	อัตรา
4.ช่วยเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ เช่น *Actiomycetes* sp. *Trichoderma* spp. ในดิน ลดจุลินทรีย์ที่เป็นเชื้อโรค เช่น *Furarium* sp. *Phythozhthora* spp.		
5. เพิ่มความเจริญเติบโตในพืชผัก ได้แก่ คะน้า หอม หน่อไม้ฝรั่ง ผักต่าง ๆ (ผลดีกว่าไม่พ่น 20% และน้ำหนักมากกว่า 20-40%)	ฉีดพ่นทุก ๆ 7วัน (3-4 ครั้ง)	10-15 ซีซี

(ที่มา : http://www.frankpasternak.com)

2.6.5 ด้านการปศุสัตว์

ใช้เป็นส่วนผสมในอาหารสัตว์เพื่อกระตุ้นภูมิคุ้มกัน และลดการติดเชื้อ ทำให้น้ำหนักตัวของสัตว์เพิ่มขึ้น (สุวบุญ, 2544)

2.6.6 การบำบัดน้ำเสีย

2.6.6.1 ไคโตซานมีประสิทธิภาพในการใช้เป็นสารตกตะกอนชีวภาพ (bioflocculant) ในการบำบัดน้ำเสียจากอุตสาหกรรมอาหาร นอกจากนี้เมื่อนำไคโตซานไปใช้เป็นสารตกตะกอนชีวภาพในบ่อเลี้ยงกุ้ง ยังพบว่าสามารถลดความขุ่น ปริมาณตะกอนแขวนลอย ตลอดจนค่า BOD และ COD ลงได้

2.6.6.2 การกำจัดสีน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมสิ่งทอนั้นได้เตรียมตัวดูดซับ (absorbent) สำหรับดูดซับสีย้อมจากน้ำทิ้งโดยเตรียมขึ้นจากการผสมระหว่างไคโตซานกับเส้นใยเซลลูโลส นอกจากนี้ การใช้ cross-linked chitosan bead ในการดูดซับ สีรีแอคทีฟในน้ำสีสามารถกำจัดได้ 63%

67297
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.7 ด้านเส้นใยและสิ่งทอ

2.6.7.1 ใช้ผลิตเป็นเส้นใยและเส้นด้าย (Hiranoและคณะ 1978)

2.6.7.2 ใช้เป็นสารตกแต่งสำเร็จสิ่งทอ (Textile finishing agent)

2.6.7.3 ใช้เป็นสารช่วยในกระบวนการสิ่งทอ (Textile Auxiliaries)

2.6.8 ด้านอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง

ไคโตซานเป็นสารประเภท non-toxic polyelectrolyte ที่มีประโยชน์ต่อการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง ทั้งนี้เพราะประจุบวกของแอมโมเนียม ($-NH_3^+$) ที่เรียงรายต่อกันอยู่บนสายไคโตซานจะมีความว่องไวต่อการจับผิวหนังและเส้นผมที่ประกอบด้วยสาร mucopolysaccharides โปรตีน และไขมัน ที่มีประจุลบเป็นอย่างดี ไคโตซานที่เคลือบอยู่นี้จะก่อตัวเป็นฟิล์มบางๆ พร้อมกับดูดซับความชื้นและไขมันเอาไว้ จึงช่วยรักษาความชุ่มชื่นและความยืดหยุ่นให้แก่ผิวหนังและเส้นผม (http://naturalbiopolymer.com/cosmetic.html) และมีคุณสมบัติในการช่วยยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและลดอาการคันศีรษะได้ด้วยปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างpolysaccharides ยังมีส่วนเพิ่มความเงางามให้แก่เส้นผมอีกด้วย (Muzzarelli, 1997)

ปัจจุบันผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่มีส่วนผสมของสารไคตินและไคโตซาน ได้แก่ ครีมและโลชั่นบำรุงผิว แชมพู โลชั่นบำรุงผม แป้งแต่งหน้า ยาทาเล็บ ยาสีฟัน และมอยส์เจอไรเซอร์ เป็นต้น

2.6.9 ด้านเทคโนโลยีชีวภาพ

จากสมบัติการเป็นเส้นใยและพลาสติกที่ย่อยสลายได้ตามธรรมชาติของไคติน-ไคโตซาน ทำให้ไคติน-ไคโตซานถูกนำมาใช้เพื่อทำเป็นสารห่อหุ้มเอนไซม์และเซลล์ต่างๆได้ด้วยเทคนิคอิมโมบิลไลเซชั่น การใช้เป็นตัวแยกสารโดยวิธีโครมาโทรกราฟี การใช้ทำขั้วไฟฟ้าทางชีวภาพเพื่อการวิเคราะห์และตรวจสอบสารต่างๆ การใช้สารไคติน-ไคโตซานในกระบวนการแยกทางชีวภาพสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ทั้งสารที่ถูกแยกและสารที่ใช้แยก จึงเป็นกระบวนการที่เกิดการหมุนเวียนทางชีวภาพ ซึ่งนำไปสู่การพิทักษ์รักษาคุณภาพชีวิตและสิ่งแวดล้อม เพื่อการพัฒนาแบบยั่งยืน (Biagini และคณะ, 1991)

2.6.10 ด้านอุตสาหกรรมกระดาษ

ไคโตซานได้ถูกใช้เพื่อเป็นสารช่วยการยึดติดโดยใช้เพียง 1%โดยน้ำหนัก กระดาษที่ได้จะมีความทนทานเพิ่มขึ้นโดยเฉพาะขณะเปียกซึ่งเหมาะสำหรับทำผ้าอ้อมแบบใช้แล้วทิ้งหรือทำกระดาษเช็ดมือ (Marchessault และคณะ, 1992)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.6 การนำไคโตซานไปใช้ประโยชน์ด้านต่างๆ

สมบัติและหน้าที่	การประยุกต์ใช้และผลิตภัณฑ์ที่ได้นำไปใช้แล้ว
1. โพลีอิเลกโตรไลท์และคีเลต (B)	1. ตัวรวมตะกอนและตัวตกตะกอน และการทำหน้าที่เป็นแคทอิออนิกสำหรับบำบัดน้ำเสีย 2. ตัวตกตะกอนโปรตีนที่เป็นกรด และตัวตกตะกอนเพื่อแยกยูเรเนียม และโลหะจำเพาะบางชนิด ตลอดจนโลหะกัมมันตภาพรังสี
2. การขึ้นรูปเป็นลักษณะต่างๆ (A, B)	1. ขึ้นรูปเป็นเส้นใย สิ่งทอ 2. ขึ้นรูปเป็นแผ่นเยื่อบาง เพื่อใช้ในการกรองแยก เช่น แยกน้ำออกจากแอลกอฮอล์ 3. ขึ้นรูปเป็นเม็ด เป็นแคปซูลเพื่อการเพาะเซลล์
3. การเป็นเจลที่อุ้มน้ำ (B)	1. การใช้หุ้มเซลล์ และหุ้มเอนไซม์ 2. เป็นตัวกลางสำหรับการแยกด้วยวิธีโครมาโตกราฟฟีแบบเจล 3. การขึ้นรูปเป็นรูพรุนแบบฟองน้ำ 4. เซอโรเจล
4. การตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ (A, B)	1. ตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ในบรรยากาศ 2. การทำวัสดุผสมกับคาร์บอนไดออกไซด์
5. การย่อยสลายด้วยน้ำ (A, B)	ผลิตสารกลูโคซามีน และโอลิโกเมอร์ของน้ำตาลต่างๆ (โดยทางเคมีและเอนไซม์)
6. สารเหนียวและอุ้มน้ำ (B)	เป็นส่วนผสมในเครื่องสำอาง สำหรับบำรุงรักษาผิวและผม
7. ปฏิกิริยาเคมี (A, B)	1. การสร้างกลิ่น รส 2. การขจัดกลิ่นของฟอร์มาลดีไฮด์ 3. การสังเคราะห์สารอนุพันธ์ต่างๆ เป็นสารต่อเนื่อง
8. การนำไฟฟ้า (B)	การนำแผ่นเยื่อบางไคโตซานผสมลิเธียม ไตรเฟลท ที่ใช้เป็นอีเลกโตรไลท์ในแบตเตอรี่ ที่ปราศจากมลพิษ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.6(ต่อ) การนำไคโตซานไปใช้ประโยชน์ด้านต่างๆ

สมบัติและหน้าที่	การประยุกต์ใช้และผลิตภัณฑ์ที่ได้นำไปใช้แล้ว
9. การเคลือบ (B)	1. การทำสีในการพิมพ์ การย้อมและสารเติมแต่งต่างๆ 2. การทำสีทา การทำลำโพง ทำเครื่องดนตรี 3. เป็นสารเติมแต่งในอุตสาหกรรมกระดาษ 4. เคลือบผิวผลไม้ ผัก เพื่อยืดอายุการเก็บรักษา 5. เคลือบรักษาเมล็ดพันธุ์พืช
10. ตัวดึงออกมา (A, B, C)	1. เป็นตัวเหนี่ยวนำของโปรตีนที่ก่อให้เกิดโรคได้ 2. สารที่ใช้ในการเกษตร เช่น การเคลือบเมล็ด การพ่นเคลือบใบ
11. ตัวต้านจุลินทรีย์ (B)	ใช้ในการเก็บรักษาอาหารและผลไม้
12. ส่งเสริมพวกจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ (A, B)	ช่วยในการปรับปรุงจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ เช่น 1. ในดินและในน้ำ 2. ในสัตว์และในลำไส้คน
14. สมานแผล (A, B, C)	1. ใช้เป็นตัวรักษาแผล โดยเฉพาะไฟไหม้ และแผลที่ผิวหนังสำหรับคน สัตว์ และต้นไม้ (ทำผิวหนังเทียม) 2. รักษากระดูก เอ็น และซ่อมแซมพวกเอ็นยึดอวัยวะต่างๆ
15. ย่อยสลายได้ในธรรมชาติ (A, B, C)	1. ทำไหมเย็บแผลที่ละลายได้
16. ลดโคเลสเตอรอล (B)	1. ใช้เป็นอาหารเสริมสุขภาพ และใช้เติมแต่งในอาหารสัตว์ 2. ลดความดันเลือด
17. ห้ามเลือดต่อต้านการเกิดลิ่มเลือด (C)	1. ทำยาห้ามเลือด 2. ใช้ทำเส้นเลือด ใช้ทำคอนแทคเลนซ์ตา

หมายเหตุ * A คือ สารไคติน B คือ สารไคโตซาน C คือ อนุพันธ์ของสารไคตินและสารไคโตซาน

** ที่ขีดเส้นใต้ คือ ผลิตภัณฑ์ที่ออกมาจำหน่ายแล้วในตลาด

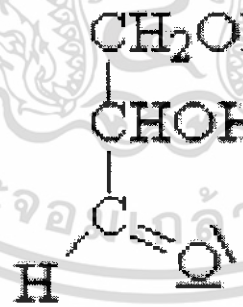
(ที่มา: http://www.kmutt.ac.th/organization/Research/Intellect/best.32htm)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7 ชนิดของพลาสติไซเซอร์

พอลิออล (Polyols) หรือ พอลิไฮดริกแอลกอฮอล์ เป็นอนุพันธ์ของน้ำตาลซึ่งหมู่คีโตนหรือแอลดีไฮด์ถูกแทนที่ด้วยหมู่ไฮดรอกซิล พอลิออลบางชนิดพบในผลไม้โดยเฉพาะพวกที่มีคาร์บอน 6 อะตอม เช่น ซอร์บิทอล หรือสามารถผลิตจากปฏิกิริยาการเติมไฮโดรเจนให้กับน้ำตาล (Hydrogenetion) พอลิออลมีคุณสมบัติคงทนต่อสารเคมีและความร้อนได้ดีจึงไม่สลายตัวง่าย ดูดซับและเก็บความชื้นได้ดี ละลายน้ำได้ มีความหวานน้อยกว่าน้ำตาล มีแคลอรีเพียง 2.4 กิโลแคลอรีต่อกรัม เนื่องจากถูกดูดซับได้ช้ามากจึงสามารถใช้กับผู้ป่วยโรคเบาหวานได้ นอกจากนี้ยังไม่ทำให้ฟันผุเนื่องจากแบคทีเรียภายในช่องปากไม่สามารถใช้ได้ JECFA (Joint Expert Committee on Food Additives) กำหนดปริมาณการบริโภคต่อวัน (ADI) ของพอลิออลเป็น "not specified" หมายถึงสามารถใช้ได้ในระดับที่จำเป็นต่อกระบวนการแปรรูปเพื่อให้ได้อาหารที่มีคุณลักษณะที่ต้องการ อย่างไรก็ตามพอลิออลมีผลทำให้ระบายท้อง ดังนั้นผู้ใหญ่ไม่ควรบริโภคเกิน 60-80 กรัมต่อวัน และเด็กอายุไม่เกิน 5-16 ปี ไม่ควรบริโภคเกิน 30-40 กรัมต่อวัน

กลีเซอรอล (Glyceral) หรือกลีเซอรีน (Glycerine) เป็นพอลิออลที่มีคาร์บอน 3 อะตอม มีสูตรโมเลกุล $C_3H_6O_3$ โครงสร้างโมเลกุลดังแสดงในรูปที่ 6 มีน้ำหนักโมเลกุล 92 เป็นผลพลอยได้ในการผลิตสบู่และกรดไขมัน มีคุณสมบัติเป็นของเหลวที่มีความหนืด รสหวาน 0.6 เท่าของน้ำตาล ผสมเป็นเนื้อเดียวกับน้ำและแอลกอฮอล์ได้ดีมาก เป็นสารที่ละลายในน้ำมันได้ดีพอสมควร ดูดความชื้นจากอากาศได้ปานกลาง ฟิล์มบริโภคได้หลายชนิดใช้กลีเซอรอลเป็นพลาสติไซเซอร์

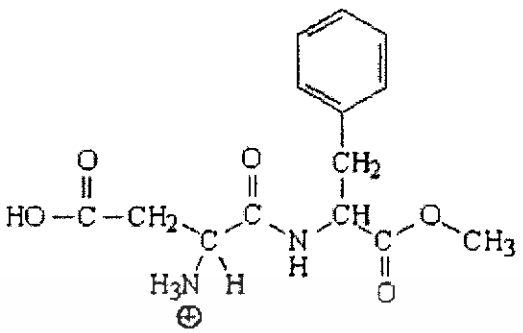


รูปที่ 2.6 แสดงโครงสร้างของกลีเซอรอล

(ที่มา: www.jergym.hiedu.cz)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซอร์บิทอล (Sorbitol) เป็นพอลิออลที่มีคาร์บอน 6 อะตอม น้ำหนักโมเลกุล 182



รูปที่ 2.7 โครงสร้างโมเลกุลของซอร์บิทอล
(ที่มา: www.apsu.edu)

2.8 กลไกการเกิดฟิล์ม

กลไกการเกิดฟิล์มทั่วไปสามารถทำได้ 2 วิธี

2.8.1 การเกิดฟิล์มโดยการใช้ความร้อน

ฟิล์มจะเกิดขึ้นได้เมื่อมีการให้ความร้อนแก่สารละลายผสมโดยเฉพาะส่วนของโกบูลล่าร์โปรตีน (Globular protein) ที่มีหมู่ไฮโดรโฟบิค (Hydrophobic) ซึ่งไม่สามารถที่จะละลายได้ในน้ำ จะฝังตัวอยู่ด้านในของโมเลกุล เมื่อให้ความร้อนแก่โปรตีนในปริมาณที่พอเหมาะจะทำให้โปรตีนเกิดการสูญเสียสภาพธรรมชาติบางส่วน (Partially denature) เป็นผลให้หมู่ไฮโดรโฟบิค เคลื่อนตัวออกมาอยู่ด้านนอกของโมเลกุล ซึ่งมีผลให้โปรตีนละลายได้น้อยลงและเกิดการรวมตัวของพันธะไฮโดรเจน พันธะไดซัลไฟด์ เกิดการรวมตัวเป็นกลุ่มโปรตีน (Aggregate) ขณะที่ส่วนผสมอื่นๆ เช่น คาร์โบไฮเดรตจะเกิดการเจลาติไนส์ (Gelatnization) และเกิดการสร้างเป็นร่างแหของโพลิเมอร์ทั้งโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตด้วยพันธะข้าม (cross link) โดยกลีเซอรอลที่ใช้เป็นพลาสติไซเซอร์จะแทรกตัวอยู่ระหว่างสายของโพลิเมอร์ ส่งผลให้ฟิล์มเกิดความยืดหยุ่นและอ่อนตัวได้

2.8.2 การเกิดแผ่นฟิล์มโดยการใช้เอนไซม์

เอนไซม์ที่ใช้ได้แก่ เอนไซม์ทรานกลูตามิเนส (transglutamiase) เช่น ฟิล์มที่เกิดจากโปรตีนเคซีน (casein) ในน้ำนม ซึ่งมีส่วนประกอบของกลูตามิเนส (glutaminase) และไลซีน (lysine) เมื่อทำปฏิกิริยากับเอนไซม์จะเกิดการสร้างพันธะ ε-(γ-glutamyl)-lysyl-sopeptide bond เกิดโครงสร้างร่างแห่ทำให้เกิดแผ่นฟิล์มดังสมการ คือ

(Glutamine+ lysine) + Transglutaminase ⟶ ε-(γ-glutamyl) – Lysyl isopeptide bond + NH_3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.9 วิธีการขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์ม

สำหรับกรรมวิธีในการขึ้นรูปฟิล์มนั้น สามารถทำได้หลายวิธี ดังนี้

2.9.1 การขึ้นรูปโดยใช้ตัวทำละลาย (solvent casting)

เป็นการทำให้เกิดแผ่นฟิล์มโดยการนำสารผสมของแผ่นฟิล์มที่เตรียมได้เทแผ่ลงเป็นแผ่นบางลงบนถาด หรือภาชนะเฉพาะที่ใช้ในการเตรียมฟิล์ม โดยใช้อุณหภูมิที่เหมาะสมเพื่อทำให้แห้ง แล้วลอกออกเป็นแผ่นฟิล์มตามต้องการ อาจมีการเคลือบฟิล์มซ้ำด้วยสารที่มีคุณสมบัติด้านการปรับปรุงคุณภาพของแผ่นฟิล์ม เช่น การเคลือบทับด้วยไขพาราฟินอีกชั้นหนึ่ง เพื่อช่วยให้ฟิล์มมีคุณสมบัติในการป้องกันการซึมผ่านของน้ำได้ดี เป็นต้น

2.9.2 การขึ้นรูปเป็นแผ่นบางด้วยเอ็กซ์ทรูดเดอร์ (Extruder)

เป็นการทำให้เกิดเป็นแผ่นฟิล์มโดยใช้เครื่องมือในการทำให้ฟิล์มขึ้นรูปเป็นแผ่นบาง โดยการผสมทำแห้ง พร้อมทั้งฉีดพ่นออกมาเป็นแผ่นจากเครื่องเอ็กซ์ทรูดเดอร์ คล้ายกับวิธีการผลิตฟิล์มพลาสติกทั่วไป การขึ้นรูปบนลูกกลิ้ง (Calenderling) เป็นวิธีที่ทำให้เกิดแผ่นฟิล์มด้วยลูกกลิ้งโดยผ่านแผ่นฟิล์มเข้าไปยังลูกกลิ้งร้อน เพื่อรีดให้ฟิล์มเรียบและแห้ง ได้แผ่นฟิล์มที่มีความหนาตามต้องการ ทั้งนี้ขึ้นกับแรงกดอัดของลูกกลิ้งบนแผ่ฟิล์มและระยะห่างระหว่างลูกกลิ้ง 2 ลูกที่ฟิล์มผ่านเข้าไป

สารที่ใช้ทำฟิล์มมีหลายชนิด โดยฟิล์มอาจใช้สารชนิดเดียว หรือหลายชนิดรวมกันโดยนำคุณลักษณะเด่นของสารแต่ละชนิดมาใช้ประโยชน์ ซึ่งประสิทธิภาพของแผ่นฟิล์มแต่ละชนิดขึ้นอยู่กับกรรมวิธีการผลิต ที่ต้องมีการควบคุมเทคนิคและวิธีการผลิตที่เหมาะสม

การเพิ่มความร้อนหรืออัตราการระเหยของสารละลายที่ใช้ทำฟิล์ม และความเข้มข้นของตัวกลางที่ใช้จะมีผลในการเกาะตัวกันของแผ่นฟิล์ม ซึ่งทำให้เกิดแผ่นฟิล์มที่มีลักษณะไม่เกาะตัวหรือทำให้เกิดรูพรุนในฟิล์ม นอกจากนี้แรงการเกาะตัวกันของแผ่นฟิล์มทั้งแรงโคฮิชั่น (cohesion) และแอทฮิชั่น (adhesion) มีผลต่อคุณภาพของแผ่นฟิล์ม โดยแรงนี้จะขึ้นอยู่กับโครงสร้างและคุณสมบัติทางเคมีของสารพอลิเมอร์ที่ผลิตได้ เช่น ค่าของมวลโมเลกุล ความมีขั้ว (polarity) และความแข็งแรงของฟิล์ม ลำดับและการแตกสาขาของสายพอลิเมอร์เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.10 รายงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Larena และคณะ (2004) ทำการเตรียมแผ่นฟิล์มไคโตซานโดยละลายไคโตซานในสารละลายกรดอะซิติกความเข้มข้น 1.5% ปริมาตร 20 มิลลิลิตร เติมกลีเซอรีนความเข้มข้น 5% ปริมาตร 1.6 มิลลิลิตร ทำละลายให้เป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้น เทลงเพลท ทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิที่ 23 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 60 % จะได้แผ่นฟิล์มแห้งสีเหลืองใส

Khan และคณะ (2000) เตรียมแผ่นฟิล์มไคโตซานโดยใช้ผงไคโตซาน 1.4% ละลายในสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 1 % น้ำหนัก/ปริมาตร และกรดอะซิติกความเข้มข้น 2 % น้ำหนัก/ปริมาตร ผสมให้เข้ากันโดยใช้ Magnetic Stirrer โดยกวนผสมทิ้งข้ามคืน เมื่อได้สารละลายเนื้อเดียวแล้ว นำมากรองโดยใช้ sintered glass จากนั้นนำสารละลายไคโตซานที่ได้เทลงเพลท และอบที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อแผ่นฟิล์มแห้ง ลอกแผ่นออกฟิล์มออก และเก็บไว้ใน air tight glass container ที่ความชื้นสัมพัทธ์ 60-65 % พบว่า แผ่นฟิล์มที่ได้จากการละลายในกรดแลกติก จะนุ่ม ยืดหยุ่น ม้วนงอ ไม่ทำให้เกิดผื่นแดงบริเวณผิวหนัง และไม่เกิดสารพิษ ซึ่งดีกว่าแผ่นฟิล์มที่ได้จากการละลายในกรดแอซิติก

Huey-Min Kam และคณะ (1999) เตรียมแผ่นฟิล์มไคโตซานโดยละลายไคโตซาน 1 % น้ำหนัก/น้ำหนัก ในสารละลายกรดอะซิติกที่ผันแปรความเข้มข้นตั้งแต่ 0.5-5% ปริมาตร/ปริมาตร ทำละลายให้เป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นกรองสารละลายไคโตซาน เทสารละลายที่ผ่านการกรองน้ำหนักประมาณ 40 กรัมลงในเพลท ทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิ 27 ± 0.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 ชั่วโมง เมื่อได้แผ่นฟิล์มแห้งลอกแผ่นฟิล์มออก นำแผ่นฟิล์มที่ได้มาแช่ในในสารละลายโซเดียมไฮดรอกด์ความเข้มข้น 2% น้ำหนัก/ปริมาตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่น และแช่ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จะได้แผ่นฟิล์มไคโตซานแบบเปียก

พิเชษฐ และคณะ (2002) ทำการศึกษาเพื่อหาตำรับเตรียมแผ่นฟิล์มไคโตซานของสารสกัดขมิ้นเพื่อรักษาแผลร้อนใน โดยใช้ไคโตซานจากกุ้ง ไคโตซานจากหมึก ใช้ไคโตซาน 2 % ละลายในกรดแอซิติกความเข้มข้น 1 % หรือกรดแลกติกความเข้มข้น 1 % หรือกรดซิตริกความเข้มข้น 1 % ผสมให้เข้ากันโดยใช้ Magnetic Stirrer นำสารละลายไคโตซานที่ได้ไปรองด้วยผ้าขาวบางเพื่อเอาสิ่งแปลกปลอมออก เก็บสารละลายไคโตซานที่ได้ปิดด้วยแผ่นอะลูมิเนียม นำไปแช่ตู้เย็นเพื่อกำจัดฟองอากาศออก จากนั้นนำสารละลายเทลงเบ้าเทฟลอน อบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ลอกแผ่นฟิล์มแห้งออก จากนั้นน้ำไปเก็บในเดซิเคเตอร์

Mi และคณะ (2001) ได้ศึกษาการเตรียมแผ่นฟิล์มไคโตซานแบบไม่สมมาตรในลักษณะเป็นรูพรุนขนาดใหญ่คล้ายฟองน้ำ (spong- like asymmetric chitosan) โดยชั้นบนสุดเป็นชั้นผิวที่มีเนื้อแน่น จากการทดสอบพบว่า ออกซิเจนสามารถซึมผ่านแผ่นฟิล์มได้ดี ช่วยป้องกันการสูญเสียน้ำ และป้องกันเชื้อจุลินทรีย์ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วัสดุ อุปกรณ์และวิธีดำเนินงาน

3.1 วัสดุ อุปกรณ์

3.1.1 จุลินทรีย์

1. *Bacillus subtilis*
2. *Pseudomonas fluorescens*
3. *Escherichia coli*
4. *Micrococcus luteus*
5. *Serratia* sp.
6. *Staphylococcus aureus*

3.1.2 สารเคมี

1. กรดแอซิติก (Acetic acid glacial) ของบริษัท Merck, Germany
2. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide) ของบริษัท Merck, Germany
3. ไคโตซานอบแห้ง (Chitosan)เปอร์เซ็นต์การกำจัดหมู่อะซิทิล 85 % ของบริษัท สยามไบโอเน็ท จำกัด
4. เมทานอล (Methanol) ของบริษัท Carlo, USA.
5. โพแทสเซียมโซเดียมทาร์เทรต (Potassium sodium tartrate) ของบริษัท Merck, Germany
6. ฟีนอล (Phenol) ของบริษัท Merck, Germany
7. โซเดียมซัลไฟต์ (Sodium sulphite) ของบริษัท Merck, Germany
8. ไดไนโตรซาลิไซลิกแอซิด (3,5-Dinitrosalicylic acid) ของบริษัท Sigma, USA.
9. เอนไซม์ไลโซไซม์ ของบริษัท Fluka Biochemical, Germany
10. โพแทสเซียมคลอไรด์ (Potassium chloride) ของบริษัท Carlo, USA.
11. โพแทสเซียมฟอสเฟตโมโนเบสิค (Potassium phosphate monobasic) ของบริษัท Merck, Germany
12. โซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride) ของบริษัท Merck, Germany
13. โซเดียมฟอสเฟตไดเบสิค (Sodium phosphate dibasic) ของบริษัท Merck, German
14. กลีเซอรอล ความเข้มข้น 98. 97 % ของบริษัท Ajex Chemical, Autralia

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

15. อาหาร RPMI พีเอช 7.4

3.1.3 อุปกรณ์

1. ตู้ถ่ายเชื้อ (Laminar air flow) รุ่น UV-126 ของบริษัท International Scientific, Supply, Thailand
2. ตู้บ่มเชื้อ 30 องศาเซลเซียส (Incubator) รุ่น Modell 600 ของบริษัท Memmert Germany
3. ตู้อบฆ่าเชื้อลมร้อน (Hot air oven) รุ่น ULE 600 ของบริษัท Memmert , Germany
4. เครื่องชั่งหยาบทศนิยม 2 ตำแหน่ง รุ่น BA 610 ของบริษัท Sartorius, Germany
5. เครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 3 ตำแหน่ง รุ่น 518 ของบริษัท Sartorius, Germany
6. เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) รุ่น UV-1601 ของบริษัท Shimadzu, Japan
7. เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง รุ่น Innolab lavel 2 ของบริษัท WTW, Germany
8. หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave) รุ่น SS325 ของบริษัท Tommy, Japan
9. คิวเวท (Cuvett) ชนิด S-10M ของบริษัท Sigma, USA.
10. เครื่อง Texture analyzer รุ่น TA Plus ของบริษัท Lloyd, Japan
11. ไมโครมิเตอร์ (Micrometer) ของบริษัท Mitutoyo
12. Megnetic stirrer
13. Magnetic bar
14. Beaker
15. Volumetric flask
16. Plate
17. แท่งแก้วคน
18. ปิเปต
19. จุกยาง
20. ฟลอยด์อะลูมิเนียม
21. แผ่นพลาสติก
22. ถาดสแตนเลส
23. ผ้าขาวบาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

24. เครื่องปั่น
25. กระบอกตวง
26. แผ่นดิสก์ขนาด 6 มิลลิเมตร ของบริษัท Whatman Ltd, England
27. ถาด 24 well plate ของบริษัท Nunc, Denmark
28. ภาชนะอลูมิเนียม (moisture can)
29. กระดาษวัดค่าพีเอช ของบริษัท Whatman Ltd, England

3.2 การเตรียมแผ่นฟิล์มไคโตซาน (Preparation of Chitosan Film)

3.2.1 การเตรียมแผ่นฟิล์มไคโตซานโดยแปรผันอัตราส่วนของกรดแอซิติกและกรดแลกติก

นำไคโตซานมาบดเพื่อลดขนาดด้วยเครื่องปั่น จะได้เป็นผงไคโตซานที่นำมาเตรียมสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 2 % โดยเตรียมสารละลายกรด 100 มิลลิลิตร ที่แปรผันอัตราส่วนของกรดแอซิติกเข้มข้น 1% และกรดแลกติกเข้มข้น 1 % ทั้งหมด 4 สูตร ดังนี้ กรดแอซิติก : กรดแลกติก ในอัตราส่วน 100:0 70:30 50:50 และ 30: 70 จากนั้นชั่งผงไคโตซาน 2 กรัมมาละลายในสารละลายกรดโดยใช้เครื่อง Magnetic Stirrer พร้อมให้ความร้อนประมาณ 50 องศาเซลเซียส จนกระทั่งได้เป็นสารละลายเนื้อเดียว กรองสารละลายไคโตซานที่ได้ด้วยผ้าขาวบางเพื่อนำเศษผงที่อาจหลงเหลือออก เก็บสารละลายที่ได้ในภาชนะที่ปิดปากด้วยอะลูมิเนียมฟลอยด์แช่ในตู้เย็นเพื่อกำจัดฟองอากาศในสารละลาย จนกระทั่งฟองอากาศหมดไป (ประมาณ 1-2 วัน) เทสารละลายไคโตซานปริมาตร 25 มิลลิลิตร ลงในแบบพิมพ์ ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนกระทั่งแผ่นฟิล์มแห้ง ซึ่งใช้เวลาประมาณ 7 วัน เมื่อแห้งสนิทแล้วลอกแผ่นฟิล์มไคโตซานออกจากแบบพิมพ์ จะได้แผ่นฟิล์มไคโตซานแบบแห้ง จากนั้นนำแผ่นฟิล์มไคโตซานแบบแห้งที่ได้ไปแช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.5 % เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ล้างแผ่นฟิล์มด้วยน้ำกลั่นหลายๆครั้งเพื่อทำให้ค่าพีเอชเป็นกลาง วัดค่าพีเอชในน้ำกลั่นที่ล้างจนเป็นกลางโดยใช้กระดาษวัดค่าพีเอช นำแผ่นฟิล์มไคโตซานที่ได้มาตรวจสอบลักษณะทั้งแบบแห้งและแบบเปียก จากนั้นนำมาทดสอบคุณสมบัติเชิงกลของแผ่นฟิล์มที่ได้ ดังนี้ วัดความหนาโดยใช้ไมโครมิเตอร์ หาค่าการต้านทานแรงดึง (Tensile strength) และค่าความยืด ณ จุดขาด (% Elongation at break) (Khan และคณะ, 2000) โดยใช้เครื่อง Texture analyzer ทำการทดสอบสูตรละ 3 ซ้ำ หาค่าเฉลี่ย และเปรียบเทียบเพื่อคัดเลือกแผ่นฟิล์มที่คุณสมบัติดีที่สุด

3.2.2 การเตรียมแผ่นฟิล์มไคโตซานโดยเติมกลีเซอรอล

นำสูตรที่ให้แผ่นฟิล์มที่ดีที่สุดจากข้อ 3.2.1 นำสูตรที่ได้มาผสมกับกลีเซอรอล ทำการเตรียมแผ่นฟิล์มไคโตซานโดยผสมกลีเซอรอล ในปริมาณที่แตกต่างกัน ดังนี้ 1 % 1.5 % และ 2 % (ปริมาตร/ปริมาตร) โดยเติมกลีเซอรอลลงไประหว่างการทำสารละลายผงไคโตซาน กวนผสมจน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้เป็นสารละลายเนื้อเดียว หลังจากไล่อากาศจนหมดแล้ว นำไปเตรียมแผ่นฟิล์มตามขั้นตอนในข้อ 3.2.1 ทำการศึกษาลักษณะและคุณสมบัติเช่นเดียวกันกับข้อ 3.2.1

3.3 ศึกษาการพองตัวของฟิล์ม (Swelling measurement) (Schiraldi และคณะ, 2004)

นำแผ่นฟิล์มที่มีคุณสมบัติดีที่สุดมาใช้ในการทดลอง โดยใช้แผ่นฟิล์มไคโตซานแบบเปียกที่มีค่าความชื้นประมาณ 75 % มาตัดให้มีขนาด 1 X 1 ตารางเซนติเมตร ชั่งน้ำหนักแผ่นฟิล์มและบันทึกค่า นำไปใส่ในเพลท 24 หลุม (24 wells plate) ที่มีอาหาร RPMI มีค่าพีเอช 7.4 สารละลาย PBS มีค่าพีเอช 7.4 และน้ำกลั่น หลุมละ 1 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จากนั้นตรวจสอบการพองตัวที่ 30 นาที ชั่วโมงที่ 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 24 48 และ 72 ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยนำออกมาชั่งน้ำหนักเมื่อครบกำหนดเวลา เพื่อคำนวณหาค่าการดูดน้ำและการพองตัว

3.4 ทดสอบการย่อยแผ่นฟิล์มไคโตซานโดยเอนไซม์ไลโซไซม์

นำแผ่นฟิล์มที่มีคุณสมบัติดีที่สุดมาใช้ในการทดลอง โดยใช้แผ่นฟิล์มไคโตซานแบบแห้งมาตัดให้มีขนาด 1 x 3 ตารางเซนติเมตร แช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.5 % เป็นเวลา 1 คืน ล้างด้วยน้ำกลั่นกระทั่งเป็นกลาง ทำการนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว นาน 15 นาที นำแผ่นฟิล์มที่ผ่านการฆ่าเชื้อใส่ลงในหลอดทดลองที่มีสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7.0 ที่มีเอนไซม์ไลโซไซม์ 1000 หน่วย/มิลลิลิตร (U/ml) ในหลอดทดลอง บ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์เพื่อดูการย่อยแผ่นฟิล์มไคโตซาน โดยหาปริมาณน้ำตาลกลูโคซามีนในสารละลายเอนไซม์ ด้วยวิธี Dinitrosalicylic acid (DNS) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

3.5 ทดสอบการย่อยแผ่นฟิล์มไคโตซานโดยแบคทีเรีย

นำแผ่นฟิล์มที่มีคุณสมบัติดีที่สุดมาใช้ในการทดลอง โดยใช้แผ่นฟิล์มไคโตซานแบบแห้งมาตัดให้มีขนาด 1 x 5 ตารางเซนติเมตร แช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.5% เป็นเวลา 1 คืน ล้างด้วยน้ำกลั่นกระทั่งเป็นกลาง นำแผ่นฟิล์มแบบเปียกที่ได้ใส่ลงในอาหารดัดแปลง M-9 สูตร 1 เติมแอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$) และสูตรที่ 2 เติมสารสกัดยีสต์ (Yeast Extract) จากนั้นทำการนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว นาน 15 นาที เตรียมสารละลายแบคทีเรียโดยนำแบคทีเรียที่เลี้ยงบนอาหาร NA ผิวเอียง บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง มาทำละลายในน้ำกลั่น วัดค่าความขุ่นของเชื้อแบคทีเรียที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร และปรับให้มีค่าเท่ากับ 0.2 เติมสารละลายแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบลงไปในอาหารหลอดละ 0.1 มิลลิลิตร หลังจากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตรวจสอบการย่อยของแผ่นฟิล์ม โดยหาปริมาณน้ำตาลกลูโคซามีนในอาหารดัดแปลง M-9 ทั้งสองสูตรด้วยวิธี DNS วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

แบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ ได้แก่ *B. subtilis, P. fluorescens, E. coli, M. luteus, Serratia* sp., และ *S. aureus*

3.6 ทดสอบการป้องกันการผ่านเข้าของแบคทีเรีย (Bacteria penetration)

นำแผ่นฟิล์มที่มีคุณสมบัติดีที่สุดมาใช้ในการทดลอง ตัดแผ่นฟิล์มไคโตซานแบบแห้งให้มีขนาด 3 x 3 ตารางเซนติเมตร แช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.5% เป็นเวลา 1 คืน ล้างด้วยน้ำกลั่นกระทั่งเป็นกลาง ทำการนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว นาน 15 นาที นำแผ่นฟิล์มที่ผ่านการฆ่าเชื้อวางบนอาหารแข็ง NA นำแผ่นดิสก์ขนาด 6 มิลลิเมตรที่หยดสารละลายแบคทีเรียที่ใช้ในข้อ 3.5 จำนวน 0.2 มิลลิลิตร โดยใช้เชื้อแบคทีเรียที่มีความขุ่นเท่ากับ 0.2 วางลงบนตรงจุดกึ่งกลางของแผ่นฟิล์มไคโตซาน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลา สังเกตการเจริญของแบคทีเรียและลักษณะของแผ่นฟิล์ม ทดสอบความสามารถในการผ่านแผ่นฟิล์มไคโตซาน โดยใช้ลวดเขี่ยเชื้อแตะบริเวณใต้แผ่นฟิล์มมาลาก (streak) บนอาหาร NA ที่อยู่ในจานเพาะเชื้อ นำจานเพาะเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ถ้ามีโคโลนีเจริญตามรอยลากและมีลักษณะเหมือนเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบแสดงว่า แบคทีเรียนั้นสามารถผ่านรูของแผ่นฟิล์มไคโตซานได้

3.7 การวิเคราะห์

3.7.1 ค่าการต้านทานแรงดึง (ภาคผนวก ง)

3.7.2 ค่าความยืด ณ จุดขาด (ภาคผนวก ง)

3.7.3 หาปริมาณน้ำตาลกลูโคซามีน ด้วยวิธี Dinitrosalicylic acid (DNS) (Miller, 1959) (ภาคผนวก จ)

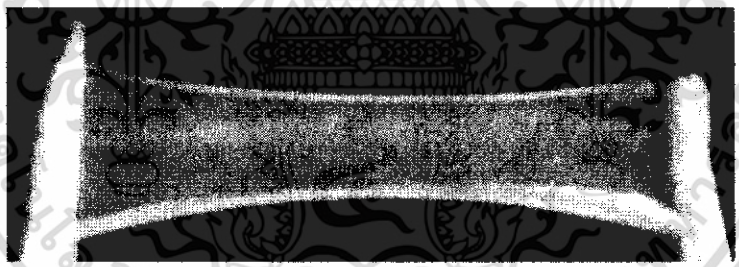
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

4.1 ผลของอัตราส่วนของกรดแอซิติกต่อกรดแลกติกในการเตรียมแผ่นฟิล์มไคโตซาน

จากการทดลองเตรียมแผ่นฟิล์มไคโตซานความเข้มข้น 2 % ในสารละลายกรดแอซิติก และกรดแลกติดที่แปรผันสัดส่วนทั้ง 4 สูตร ทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง จะได้แผ่นฟิล์มไคโตซานแบบแห้ง ซึ่งมีลักษณะเป็นแผ่นฟิล์มบาง ผิวเรียบ สีเหลืองใส มีความยืดหยุ่นต่ำ โดยแผ่นฟิล์มไคโตซานแบบแห้งทั้ง 4 สูตร มีลักษณะไม่แตกต่างกัน เมื่อนำแผ่นฟิล์มไคโตซานแบบแห้งไปแช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ล้างแผ่นฟิล์มให้มีพีเอชเป็นกลาง เมื่อตรวจสอบลักษณะของแผ่นฟิล์มไคโตซานแบบเปียกที่ได้ พบว่า แผ่นฟิล์มที่ได้มีสีเหลืองใส ผิวหน้าเรียบ ผิวสัมผัสนุ่ม มีความชื้นและสามารถยืดหยุ่นได้พอสมควร ดังแสดงในรูปที่ 4.1 ถ้า.ใช้ปริมาณกรดแลกติกมากขึ้น จะได้แผ่นฟิล์มที่มีความหนามากขึ้น เมื่อลองสัมผัสแผ่นฟิล์มไคโตซานแบบเปียกที่ได้ พบว่ามีความยืดหยุ่นและอ่อนนุ่มมากขึ้น ซึ่งแผ่นฟิล์มที่เตรียมในสารละลายกรดแลกติกจะมีความอ่อนนุ่ม ยืดหยุ่นดี (เมธา และคณะ ,2004) ทั้งนี้เพราะกรดแลกติกมีคุณสมบัติในการเป็นพลาสติไซเซอร์ (plasticizer) โดยใช้ในการทดลองผลิตแผ่นฟิล์มจากโปรตีนข้าวโพด (Khan และคณะ, 2000)



รูปที่4.1 แสดงลักษณะแผ่นฟิล์มไคโตซานแบบเปียกที่ได้

ทำการศึกษาลักษณะเชิงกลของแผ่นฟิล์มไคโตซานแบบเปียกที่ได้จากการเตรียมแผ่นฟิล์มไคโตซาน 2 % ในสารละลายกรดแอซิติกและกรดแลกติกที่ผันแปรอัตราส่วน โดยวัดค่าความหนา ค่าต้านทานแรงดึงและค่าความยืด ณ จุดขาด การวัดค่าเหล่านี้เพื่อคัดเลือกแผ่นฟิล์มที่ดีที่สุด พบว่าแผ่นฟิล์มไคโตซานที่ได้จากสารละลายกรดแอซิติกชนิดเดียว มีความหนา 15.63 μm มีค่าการต้านทานแรงดึง คือ 33.73 N/mm^2 มีค่าความยืด ณ จุดขาด 76.06 % แผ่นฟิล์มไคโตซานที่จากสารละลายผสมระหว่างกรดแอซิติกและกรดแลกติกเท่ากับ 70 : 30 จะให้แผ่นฟิล์มที่มีความหนา 16.12 μm มีค่าการต้านทานแรงดึง คือ 22.70 N/mm^2 มีค่าความยืด ณ จุดขาด 59.22 % สำหรับแผ่นฟิล์มไคโตซานที่จาก

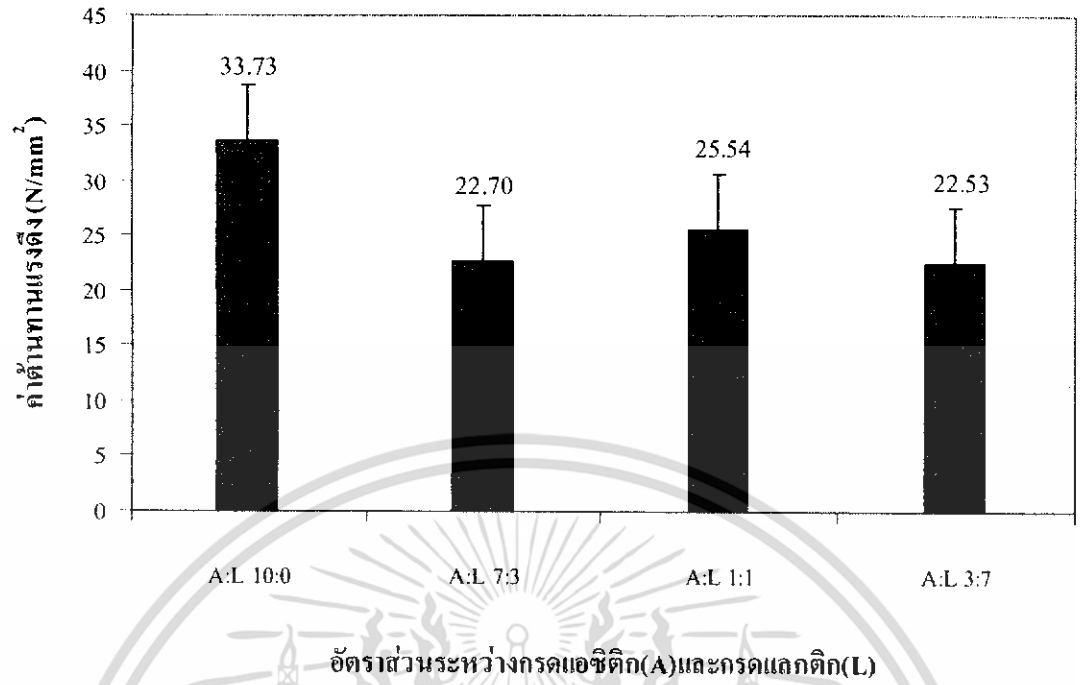
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารละลายผสมระหว่างกรดแอซิติกและกรดแลกติกเท่ากับ 50:50 ให้แผ่นฟิล์มที่มีความหนา 18.21 μm มีค่าการต้านทานแรงดึง 25.54 N/mm^2 และค่าความยืด ณ จุดขาดเท่ากับ 78.48 % ดังแสดงในตารางที่ 4.1 และแผ่นฟิล์มไคโตซานที่จากสารละลายผสมระหว่างกรดแอซิติกและกรดแลกติกเท่ากับ 30 : 70 ให้แผ่นฟิล์มที่มีความหนา 17.92 μm มีค่าการต้านทานแรงดึง และค่าความยืด ณ จุดขาดเท่ากับ 22.53 N/mm^2 และ 66.16 % ตามลำดับ ค่าคุณสมบัติที่ได้จากการทดสอบเลือกใช้แผ่นฟิล์มไคโตซานที่ละลายในกรดแอซิติก 1 % อย่างเดียว เนื่องจากมีค่าการต้านทานแรงดึงสูงสุด และค่าความยืด ณ จุดขาดใกล้เคียงกับแผ่นฟิล์มไคโตซานที่ได้จากสารละลายผสมระหว่างกรดแอซิติกและกรดแลกติกเท่ากับ 50:50 ซึ่งให้ค่าสูงสุด จากผลการทดลอง พบว่า ค่าการต้านทานแรงดึงที่ได้มีค่าใกล้เคียงกับแผ่นฟิล์มไคโตซานจากการศึกษาของ Caner และคณะ (1998) ต่อมา นายพิเชษฐ์และคณะ (2002) แสดงให้เห็นว่า สารละลายกรดที่นำมาใช้ในการเตรียมแผ่นฟิล์มมีผลต่อคุณสมบัติเชิงกลของแผ่นฟิล์ม พบว่า แผ่นฟิล์มที่ได้จากสารละลายกรดแอซิติกให้แผ่นฟิล์มที่เหนียวและแข็งแรงดีกว่า แต่การยึดติดของแผ่นฟิล์มต่ำกว่า แผ่นฟิล์มที่ได้จากกรดแลกติก ซึ่งการยึดติดของแผ่นฟิล์มดีแต่ฉีกขาดง่าย

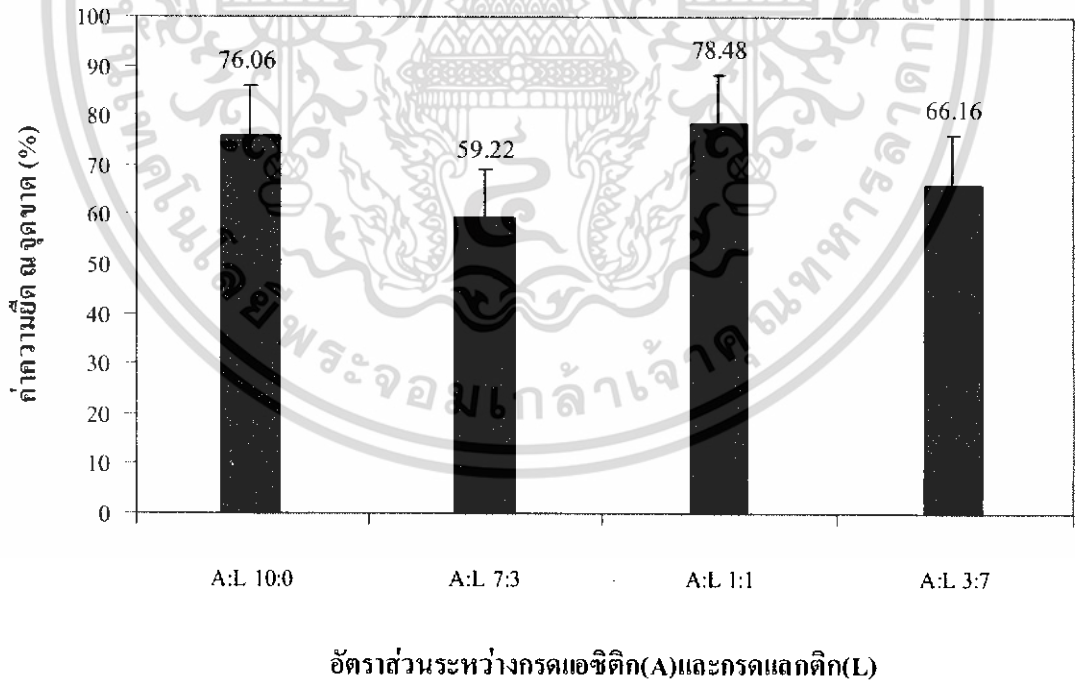
ตารางที่4.1 ค่าความหนา ค่าต้านทานแรงดึงและค่าความยืด ณ จุดขาดของแผ่นฟิล์มไคโตซานที่ได้จากการผันแปรอัตราส่วนระหว่างกรดแอซิติกและกรดแลกติก

อัตราส่วน กรดแอซิติก : กรดแลกติก	ค่าความหนา (μm)	ค่าต้านทานแรงดึง (N/mm^2)	ค่าความยืด ณ จุดขาด (%)
100: 0	15.63	33.73	76.06
70: 30	16.12	22.70	59.22
50: 50	18.21	25.54	78.48
30 : 70	17.92	22.53	66.16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่4.2 กราฟแสดงค่าต้านทานแรงดึงของแผ่นฟิล์มไคโตซานแบบเปียก



รูปที่4.3 กราฟแสดงค่าความยืด ณ จุดขาดของแผ่นฟิล์มไคโตซานแบบเปียก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลของกลีเซอรอลต่อการเตรียมแผ่นฟิล์มไคโตซาน

จากผลการทดลองในข้อ 4.1 คัดเลือกแผ่นฟิล์มที่ดีที่สุด คือ แผ่นฟิล์มที่ได้จากการละลายไคโตซาน 2 กรัมในกรดแอซิติกความเข้มข้น 1 % นำสูตรที่ได้มาเตรียมแผ่นฟิล์มไคโตซานโดยเติมกลีเซอรอล ซึ่งทำหน้าที่เป็นพลาสติไซเซอร์เพื่อเพิ่มความยืดหยุ่น ทำการเตรียมแผ่นฟิล์มไคโตซานผสมกลีเซอรอลลงไประหว่างการทำละลายผงไคโตซาน ในเปอร์เซนต์ที่แตกต่างกัน เมื่อได้แผ่นฟิล์มไคโตซานแบบแห้งเรียบ ตรวจสอบลักษณะของแผ่นฟิล์ม พบว่า แผ่นฟิล์มที่ได้จากการเติมกลีเซอรอลในเปอร์เซนต์ที่แตกต่างกัน มีลักษณะคล้ายกัน คือ แผ่นฟิล์มบางสีเหลืองใส ความยืดหยุ่นต่ำ เมื่อทำเป็นแผ่นฟิล์มไคโตซานแบบเปียก แผ่นฟิล์มมีลักษณะเป็นแผ่นฟิล์มสีเหลืองใส ผิวสัมผัสนุ่ม มีความชื้นและมีความยืดหยุ่นพอสมควร

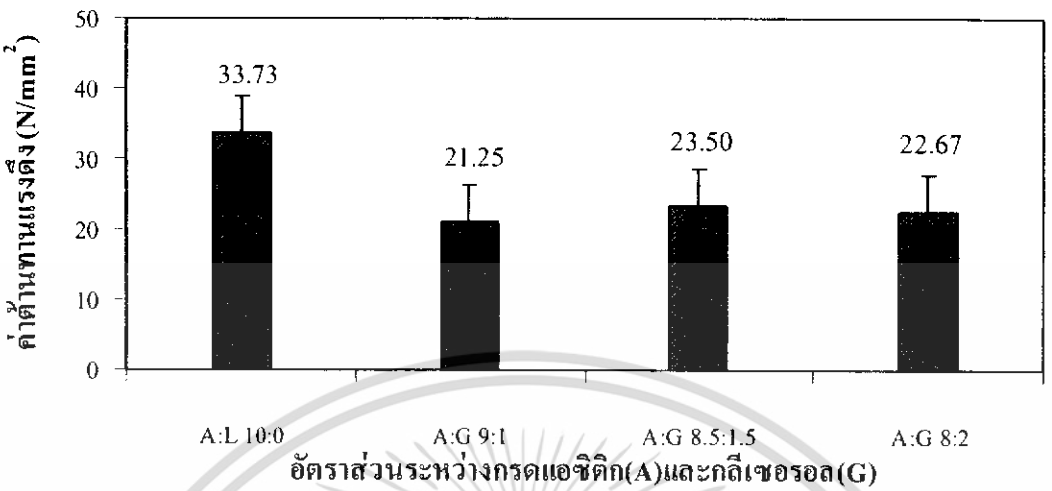
เมื่อเปรียบเทียบแผ่นฟิล์มไคโตซานปกติกับแผ่นฟิล์มไคโตซานผสมกลีเซอรอล พบว่า แผ่นฟิล์มไคโตซานผสมกลีเซอรอลมีลักษณะแตกต่างจากสูตรแผ่นฟิล์มไคโตซานปกติ โดยแผ่นฟิล์มที่ได้จะใสกว่า ผิวหน้าเรียบกว่า อ่อนนุ่มกว่า มีความชื้นมากกว่า แต่แผ่นฟิล์มที่ได้มีสีเหลืองอ่อนเหมือนกัน

จากนั้นทำการศึกษาลักษณะเชิงกลของแผ่นฟิล์มไคโตซานแบบเปียก เช่นเดียวกับแผ่นฟิล์มปกติ พบว่า เมื่อเปอร์เซนต์กลีเซอรอลเพิ่มขึ้นจะทำให้ค่าความหนาเพิ่มขึ้นด้วย แผ่นฟิล์มไคโตซานที่ได้จากการเติมกลีเซอรอล 1 % มีค่าความหนา 18.48 μm ค่าการต้านทานแรงดึง 21.25 N/mm^2 และค่าความยืด ณ จุดขาด 64.81% สำหรับแผ่นฟิล์มไคโตซานที่ได้จากการเติมกลีเซอรอล 1.5 % มีค่าความหนา 20.26 μm ค่าการต้านทานแรงดึง 23.50 N/mm^2 และค่าความยืด ณ จุดขาด 71.74 % และแผ่นฟิล์มไคโตซานที่ได้จากการเติมกลีเซอรอล 2 % มีค่าความหนา 23.16 μm ค่าการต้านทานแรงดึง 22.67 N/mm^2 และค่าความยืด ณ จุดขาด 81.01 % จากค่าคุณสมบัติที่ได้ พบว่า ค่าความยืด ณ จุดขาดจะเพิ่มขึ้นสัมพันธ์กับปริมาณกลีเซอรอลที่เพิ่มขึ้น ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าการเติมพลาสติไซเซอร์จะช่วยเพิ่มความยืดหยุ่นให้กับแผ่นฟิล์ม ดังแสดงในตารางที่ 4.2

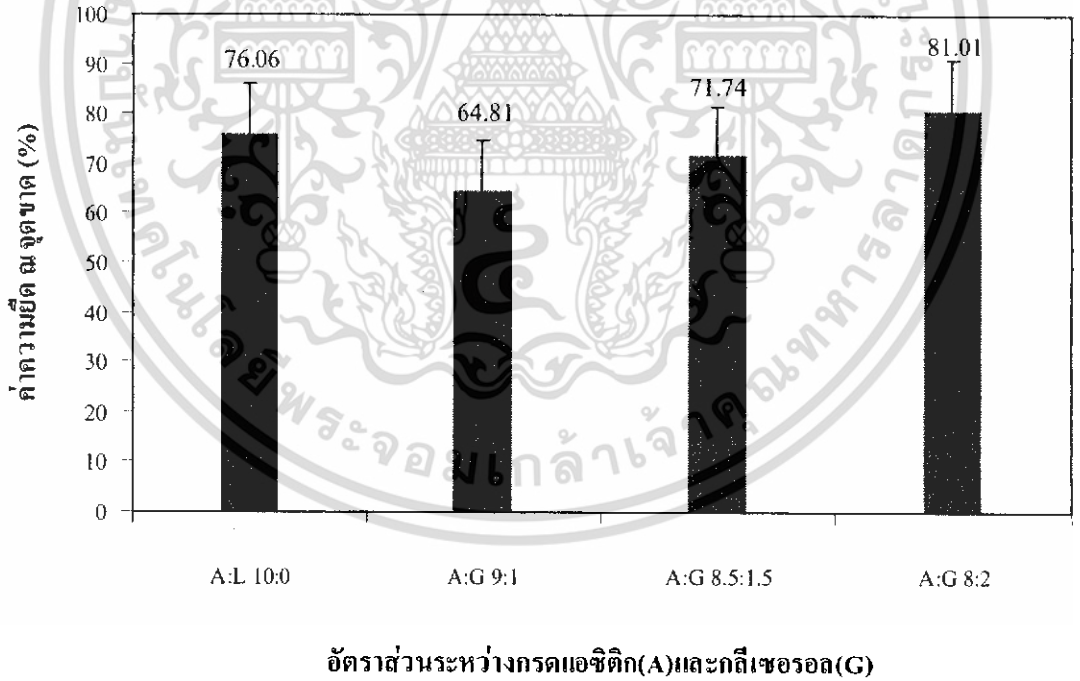
ตารางที่4.2 ค่าความหนา ค่าการต้านทานแรงดึงและค่าความยืด ณ จุดขาดของแผ่นฟิล์มไคโตซานที่ได้จากสูตรกรดแอซิติกผสมกับกลีเซอรอล

เปอร์เซนต์กลีเซอรอล (% v/v)	ค่าความหนา (μm)	ค่าการต้านทานแรงดึง (N/mm^2)	ค่าความยืด ณ จุดขาด (%)
1	18.48	21.25	64.81
1.5	20.26	23.50	71.74
2	23.16	22.67	81.01

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่4.4 กราฟแสดงค่าต้านทานแรงดึงของแผ่นฟิล์มไคโตซานผสมกลีเซอรอลเปรียบเทียบกับสูตรที่ดีที่สุด



รูปที่4.5 กราฟแสดงค่าความยืด ณ จุดขาดของแผ่นฟิล์มไคโตซานผสมกลีเซอรอลเปรียบเทียบกับสูตรที่ดีที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลังจากทดสอบคุณสมบัติเชิงกลทั้ง 3 วิธี นำค่าคุณสมบัติเชิงกลในข้อ 4.2 มาเปรียบเทียบกับแผ่นฟิล์มที่ดีที่สุดจากข้อ 4.1 ดังแสดงในรูปที่ 4.4 และ 4.5 พบว่า แผ่นฟิล์มที่ได้จากการละลายผงไคโตซาน 2 กรัมในกรดแอซิติกความเข้มข้น 1 % ที่ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร มีความหนาน้อยที่สุด ค่าต้านทานแรงดึงสูงสุด และค่าความยืด ณ จุดขาด มีค่าสูงใกล้เคียงกับค่าสูงสุดที่ได้จากการละลายผงไคโตซาน 2 กรัมในกรดแอซิติกความเข้มข้น 1 % เติมกลีเซอรอล 2 % จึงเลือกใช้เป็นสูตรแผ่นฟิล์มที่จะใช้ทดสอบคุณสมบัติในขั้นตอนต่อไป

4.3 การศึกษาการพองตัวของแผ่นฟิล์ม (Swelling measurement)

ศึกษาการพองตัวของแผ่นฟิล์มไคโตซานแบบเปียก (ได้จากการละลายผงไคโตซาน 2 กรัมในกรดแอซิติกความเข้มข้น 1 %) ทำการศึกษาใน 3 สภาวะ คือ อาหาร RPMI สารละลาย PBS และน้ำกลั่น คำนวณหาค่าการพองตัว พบว่า ค่าการพองตัวในทั้ง 3 สภาวะในช่วง 10 ชั่วโมงแรกค่อนข้างแปรผัน โดยในอาหาร RPMI มีค่าเริ่มต้นสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับในสารละลาย PBS และน้ำกลั่น คือ 30.087 % ค่าการพองตัวในอาหาร RPMI จะสูงสุดในชั่วโมงที่ 9 มีค่า 76.359 % จากนั้นจะลดลงจนสิ้นสุดการทดลองชั่วโมงที่ 72 สำหรับในสารละลาย PBS ค่าการพองตัวสูงสุดในชั่วโมงที่ 72 และในน้ำกลั่นพบว่า ค่าการพองตัวสูงสุดในชั่วโมงที่ 72 เช่นกัน โดยมีค่า 67.962 % และ 75.582 % ตามลำดับ เมื่อพิจารณาเวลาที่ใช้ในการดูดน้ำและการพองตัวของแผ่นฟิล์ม พบว่า ในน้ำกลั่นจะมีค่าดูดน้ำและการพองตัวของแผ่นฟิล์มเพิ่มขึ้นเร็วที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับ อาหาร RPMI และสารละลาย PBS ดังแสดงในตารางที่ 4.3 และรูปที่ 4.6-4.8

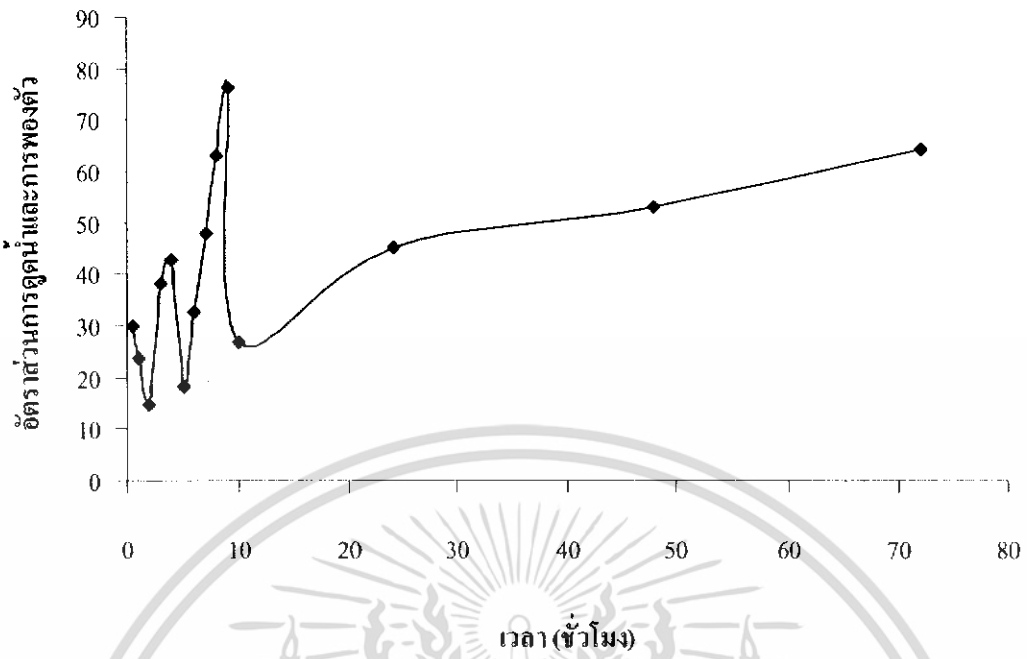
เมื่อเปรียบเทียบการดูดน้ำและการพองตัวสูงสุด ในสารละลายทั้ง 3 ชนิด พบว่า RPMI และน้ำกลั่นใกล้เคียงกัน คือ 76.359 % และ 75.582 % ตามลำดับ สำหรับค่าการพองตัวในสารละลาย PBS มีค่าต่ำที่สุดเท่ากับ 67.962 % จากการศึกษาของ Dong (2002) พบว่า ไคโตซานจะพองตัวได้มากขึ้นถ้าพีเอชของสารละลายต่ำลง โดยอาหาร RPMI มีค่า พีเอช 7.4 สารละลาย PBS มีค่าพีเอช 7.4 และในน้ำกลั่นมีค่าพีเอชประมาณ 6 ทั้งนี้ การที่อาหาร RPMI มีค่าการดูดน้ำและการพองตัวสูงสุด ทั้งที่มีค่าพีเอชสูง เป็นเพราะอาหาร RPMI มีการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชโดยค่าพีเอชจะลดลง ซึ่งสังเกตได้จากสีของอาหารซึ่งเติมฟีนอลเรด (phenol red) โดยเปลี่ยนจากสีชมพูเป็นสีชมพูออกส้ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

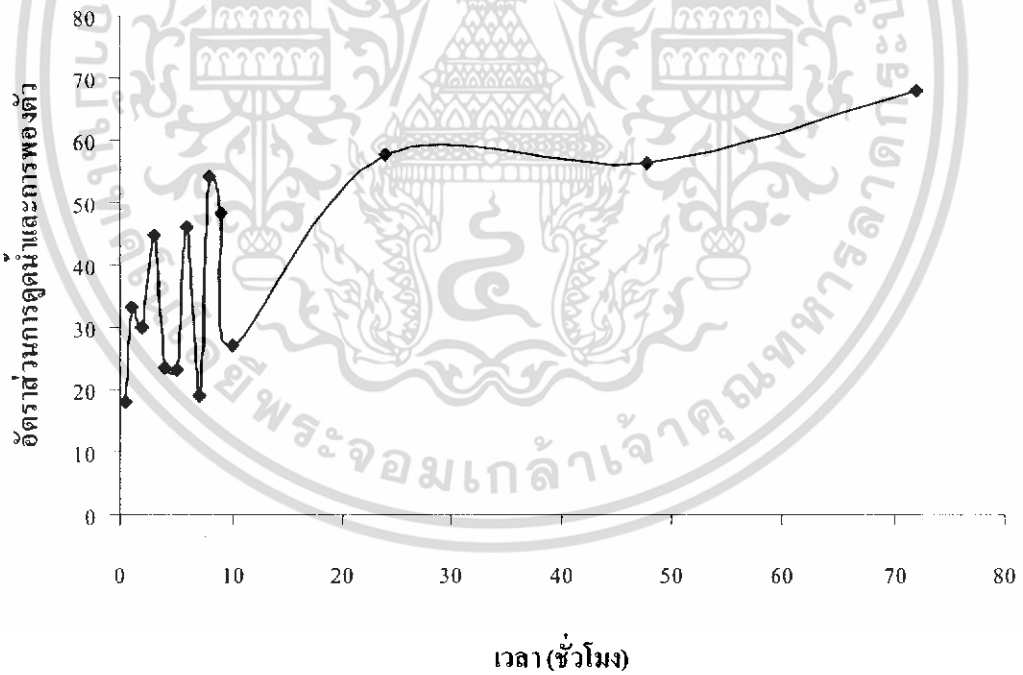
ตารางที่4.3 ค่าการดูดน้ำและการพองตัวเฉลี่ยของแผ่นฟิล์มไคโตซาน

เวลา	ค่าการดูดน้ำและการพองตัว (%)		
	RPMI	**PBS**	**น้ำกลั่น**
30 นาที	30.088	17.907	19.927
1 ชั่วโมง	23.611	33.323	47.961
2 ชั่วโมง	14.992	30.047	63.077
3ชั่วโมง	38.016	44.722	36.828
4 ชั่วโมง	42.795	23.664	32.695
5 ชั่วโมง	18.383	23.211	63.459
6 ชั่วโมง	32.589	46.168	21.241
7 ชั่วโมง	48.051	19.039	37.021
8 ชั่วโมง	63.047	54.061	32.809
9 ชั่วโมง	76.359	48.291	14.449
10 ชั่วโมง	26.725	27	31.657
24 ชั่วโมง	45.019	57.785	59.368
48 ชั่วโมง	52.991	56.563	67.069
72 ชั่วโมง	64.437	67.962	75.582

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

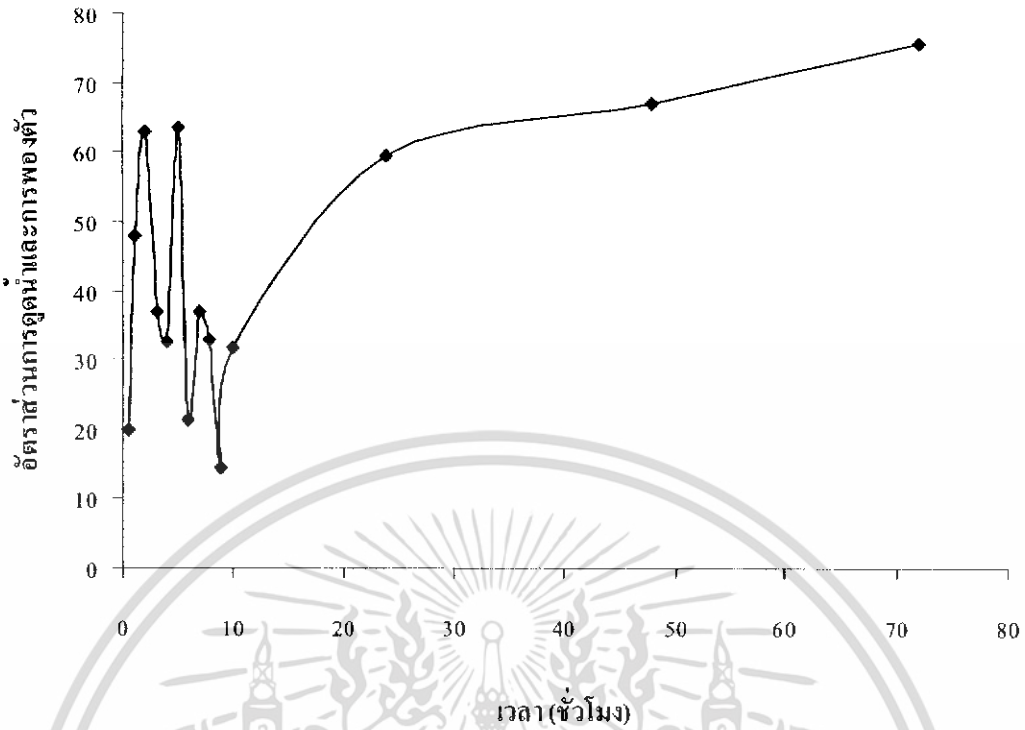


รูปที่4.6 กราฟแสดงค่าการพองตัวเฉลี่ยของแผ่นฟิล์มไคโตซานในอาหาร RPMI



รูปที่4.7 กราฟแสดงค่าการพองตัวเฉลี่ยของแผ่นฟิล์มไคโตซานในสารละลาย PBS

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่4.8 กราฟแสดงค่าการพองตัวเฉลี่ยของแผ่นฟิล์มไคโตซานในน้ำกลั่น

4.4 การทดสอบการย่อยแผ่นฟิล์มไคโตซานโดยใช้เอนไซม์ไลโซไซม์

นำแผ่นฟิล์มไคโตซานที่มีคุณสมบัติที่ดีสุด (ได้จากการละลายผงไคโตซาน 2 กรัมในกรดแอซิติกความเข้มข้น 1 %) มาทดสอบการย่อยแผ่นฟิล์มไคโตซานโดยใช้เอนไซม์ไลโซไซม์ ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่พบในแบคทีเรียทั่วไป ทำงานในสภาวะที่เป็นกรด คือช่วงพีเอช 5-6 วิเคราะห์ปริมาณกลูโคซามีน (glucosamine) เมื่อครบกำหนดเวลา โดยวิธี DNS วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร พบว่า ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ต่ำมาก ซึ่งไม่อยู่ในช่วงมาตรฐานคือ 0.2-0.8 ทำให้ไม่สามารถหาปริมาณน้ำตาลกลูโคซามีนได้ โดยค่าการดูดกลืนแสงของแผ่นฟิล์มไคโตซานในสารละลายเอนไซม์ไลโซไซม์ เท่ากับ 0.021 ดังค่าที่แสดงในตารางที่ 4.4 ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าเอนไซม์ไลโซไซม์ไม่สามารถย่อยสลายแผ่นฟิล์มไคโตซานในระยะเวลาการบ่ม 5 วัน Dong (2002) ศึกษาการย่อยสลายของไคโตซานที่เติมโพลีอะคริลิคแอซิด (polyacrylic acid) เปรียบเทียบกับไคโตซานบริสุทธิ์ พบว่า ไคโตซานที่เติมโพลีอะคริลิคแอซิดถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไลโซไซม์น้อยกว่าไคโตซานบริสุทธิ์ภายหลังการบ่มเป็นเวลา 6 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่4.4 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ของการทดสอบการย่อยสลายโดยเอนไซม์ไลโซไซม์

ตัวอย่าง	ค่าการดูดกลืนแสง (A_{540})
บัฟเฟอร์	0.019
เอนไซม์ไลโซไซม์ที่ไม่ใส่แผ่นฟิล์ม	0.016
เอนไซม์ไลโซไซม์ที่ใส่แผ่นฟิล์ม	0.021

4.5 การทดสอบการย่อยสลายแผ่นฟิล์มไคโตซานโดยแบคทีเรีย

นำแผ่นฟิล์มไคโตซานที่มีคุณสมบัติที่ดีสุด (ได้จากการละลายผงไคโตซาน 2 กรัมในกรดแอซิติกความเข้มข้น 1 %) มาทดสอบการย่อยสลายโดยแบคทีเรีย เพื่อศึกษาความสามารถในการย่อยสลายแผ่นฟิล์มของแบคทีเรีย จึงทำการในอาหารดัดแปลง M-9 2 สูตร ตรวจสอบปริมาณน้ำตาลกลูโคซามีน โดยวิธี DNS วัดค่าการดูดกลืนแสง ในการทดสอบนี้ใช้ไคโตซานเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบทั้ง 6 ชนิด คือ *S. aureus B. subtilis M. luteus Serratia* sp. *E.coli P. fluorescens* มีค่าการดูดกลืนแสงต่ำกว่าช่วงมาตรฐาน คือ 0.2 -0.8 ทำให้ไม่สามารถหาปริมาณน้ำตาลกลูโคซามีนจากกราฟมาตรฐานได้ ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลองไม่สามารถย่อยสลายแผ่นฟิล์มไคโตซานได้ จากผลสรุปแสดงว่าไคโตซานมีกลไกการต่อต้านแบคทีเรีย เมื่อเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงระหว่างอาหารทั้งสองสูตร พบว่า อาหารสูตร 1 ที่ใช้ยีสต์สกัดเป็นแหล่งคาร์บอนมีค่าการดูดกลืนแสงสูงกว่าอาหารสูตร 2 ที่ใช้แอมโมเนียมซัลเฟต แสดงว่าแบคทีเรียเจริญบนอาหารสูตร 1 ได้ดีกว่า ทั้งนี้เพราะยีสต์สกัดเป็นแหล่งไนโตรเจนอินทรีย์และมีส่วนประกอบหลากหลาย แบคทีเรียจึงสามารถนำไปใช้เพื่อการเจริญเติบโตได้ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่4.5 ผลการทดสอบการย่อยสลายแผ่นฟิล์มไคโตซานโดยแบคทีเรีย

จุลินทรีย์ที่ใช้	อาหารดัดแปลง M-9 สูตรที่ 1	อาหารดัดแปลง M-9สูตรที่ 2
Control	-	-
S. aureus	-	-
B. subtilis	-	-
M. luteus	-	-
Serratia sp.	-	-
E.coli	-	-
P. fluorescens	-	-

หมายเหตุ + หมายถึง แบคทีเรียสามารถย่อยแผ่นฟิล์มไคโตซานได้

\- หมายถึง แบคทีเรียไม่สามารถย่อยแผ่นฟิล์มไคโตซานได้

4.6 การทดสอบการป้องกันการผ่านเข้าของแบคทีเรีย (Bacteria penetration)

นำแผ่นฟิล์มไคโตซานที่มีคุณสมบัติที่ดีสุด (ได้จากการละลายผงไคโตซาน 2 กรัมในกรดแอซิติกความเข้มข้น 1 %) มาทดสอบการป้องกันการผ่านเข้าของแบคทีเรีย เพื่อศึกษาความสามารถในการผ่านเข้าของแบคทีเรีย พบว่า แบคทีเรียสามารถเจริญบนแผ่นฟิล์มไคโตซานได้ โดยสังเกตเห็นเป็นโคโลนีของแบคทีเรียบนแผ่นฟิล์ม การที่แบคทีเรียสามารถเจริญบนแผ่นฟิล์มได้เพราะใช้สารอาหารที่ซึมผ่านแผ่นฟิล์มขึ้นมา แต่แบคทีเรียไม่สามารถผ่านแผ่นฟิล์มไปเจริญบนอาหาร NA ได้ โดยเมื่อใช้ลวดเขี่ยเชื้อจากใต้แผ่นฟิล์มมาลากบนอาหาร NA ไม่พบการเจริญของแบคทีเรีย ผลการทดลองที่ปรากฏสอดคล้องกับการศึกษาของ Mi และคณะ (2000) แผ่นฟิล์มไคโตซานที่ผ่านขั้นตอนกำจัดกรดออกโดยแช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์และโซเดียมคาร์บอเนต พบว่า *S. aureus* และ *P.aeruginosa* ไม่สามารถผ่านแผ่นฟิล์มได้เนื่องจากขนาดของรูพรุนแผ่นฟิล์มเล็กกว่าขนาดของแบคทีเรีย มีการศึกษาการใช้ไคโตซานในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย โดยใช้แบคทีเรีย 4 ชนิด คือ *E. coli* *S. aureus* *Vibrio cholerae* และ *Salmonella weltevreden* สรุปได้ว่า ไคโตซานมีผลต่อการเจริญของเชื้อ *S. aureus* มากที่สุด รองลงมาคือ คือ *V. cholerae* *S. weltevreden* และ *E. coli* ตามลำดับ ประสิทธิผลของไคโตซานต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ คือ ไคโตซานลดการเจริญของแบคทีเรียเป้าหมายและยืดช่วงระยะเวลา lag phase ให้นานขึ้น (สิริรัตน์ และคณะ, 2546)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่4.6 การทดสอบการผ่านเข้าของแบคทีเรียผ่านแผ่นฟิล์มไคโตซาน

แบคทีเรีย	ผลการทดลอง
จานคุม	-
S. aureus	-
E. coli	-
P. fluorescens	-
B. subtilis	-
Serratia sp.	-
M. luteus	-

หมายเหตุ + แบคทีเรียสามารถผ่านแผ่นฟิล์มได้

\- แบคทีเรียไม่สามารถผ่านแผ่นฟิล์มได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

สูตรของแผ่นฟิล์มไคโตซานที่มีคุณสมบัติที่ดีที่สุด คือ ไคโตซาน 2 % ละลายในกรดแอซิติกความเข้มข้น 1 % ซึ่งลักษณะของแผ่นฟิล์มไคโตซานที่ได้ จะมีสีเหลือง ใส แผ่นเรียบ บาง มีความเหนียวพอสมควร เมื่อนำแผ่นฟิล์มไคโตซานที่ได้มาวัดค่าต้านทานแรงดึงมีค่า 33.73 N/mm^2 และมีค่าความยืด ณ จุดขาด 76.06 % และเมื่อผสมกับกลีเซอรอลที่ระดับ 1 % 1.5 % และ 2 % ปริมาตร/ปริมาตร พบว่าที่ระดับ 1.5 % ปริมาตร/ปริมาตร มีค่าต้านทานแรงดึงมากที่สุดคือ 23.50 N/mm^2 รองลงมาคือที่ระดับ 2 % ปริมาตร/ปริมาตร มีค่าต้านทานแรงดึง 22.67 N/mm^2 และที่ระดับ 1 % ปริมาตร/ปริมาตร มีค่าต้านทานแรงดึง 21.25 N/mm^2 ส่วนค่าความยืดหยุ่น ณ จุดขาดมากที่สุดที่ระดับ 2 % ปริมาตร/ปริมาตร คือ 81.01 % และที่ระดับ 1 % และ 1.5 % ปริมาตร/ปริมาตร มีค่าเท่ากับ 64.81 % และ 71.74 % ตามลำดับ

การศึกษาการพองตัวของแผ่นฟิล์ม พบว่าแผ่นฟิล์มไคโตซานมีแนวโน้มการพองตัวเพิ่มขึ้นในสารละลายทั้ง 3 ชนิด ซึ่งแผ่นฟิล์มไคโตซานมีค่าการพองตัวในอาหาร RPMI สูงสุดในชั่วโมงที่ 9 เท่ากับ 76.359 % สำหรับในสารละลาย PBS และน้ำกลั่นแผ่นฟิล์มมีค่าการพองตัว คือ 67.962 % ในชั่วโมงที่ 72 และ 75.582 % ในชั่วโมงที่ 48 ตามลำดับ

การทดสอบการย่อยสลายโดยเอนไซม์ไลโซไซม์ พบว่าเอนไซม์ไลโซไซม์ (lyzozyme) ไม่สามารถย่อยแผ่นฟิล์มไคโตซานได้

การทดสอบการย่อยสลายโดยแบคทีเรีย พบว่าแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบทั้ง 6 ชนิดไม่สามารถย่อยแผ่นฟิล์มไคโตซานได้

การทดสอบการป้องกันการผ่านของแบคทีเรียของแผ่นฟิล์มไคโตซาน พบว่าแบคทีเรียทั้ง 6 ชนิดไม่สามารถซึมผ่านแผ่นฟิล์มไคโตซานได้

5.2 ข้อเสนอแนะ

ในการทดสอบคุณสมบัติของแผ่นฟิล์มไคโตซานสำหรับปิดแผล ควรมีการทดสอบคุณสมบัติการผ่านเข้าออกของออกซิเจน เนื่องจากแผ่นปิดแผลควรมีคุณสมบัติในการถ่ายเทอากาศที่ดี และในขั้นตอนการขึ้นรูปแผ่นฟิล์มไคโตซาน ควรมีการควบคุมอุณหภูมิห้องให้คงที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

พิเชษฐ์ พิพัฒน์สมุทร, อภิรดี อภิวัฒนากร, ภาณี ศิริสอาด,สุพตรา แสงอินทร์, สมพงษ์ คำสาร และ ภูริวัฒน์ ลี้สวัสดิ์. *การตั้งตำรับฟิล์มไคโตซานของสารสกัดขมิ้นเพื่อรักษาแผลชั้นใน.* มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 305-317.

ภาวดี เมธะคานนท์,อศิรา เฟื่องฟูชาติ และ ก้องเกียรติ คงสุวรรณ. 2543. *ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับไคติน-ไคโตซาน.* MTECH เมษายน-มิถุนายน: 69-75.

เมธา รัตนากรพิทักษ์, ชลธิชา เหล็กกล้า, ดวงเดือน จรโคกกรวด และ พิเชฐ เชื้อแพ่ง. 2004. *การศึกษาผลของสารละลายกรดที่ใช้ในการเตรียมแผ่นไคโตซานต่อการบวมน้ำและการผ่านของไอน้ำ.* มหาวิทยาลัยนเรศวร. 17-26.

สุวบุญ จิรชาญชัย. 2544. การผลิตไคติน-ไคโตซาน. *เอกสารประกอบการบรรยาย การประชุมเชิงปฏิบัติการไคตินและไคโตซานจากวัตถุดิบธรรมชาติ สู่การประยุกต์ใช้.* กรุงเทพฯ : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ; 11-40.

A.O.A.C. 1984. Official Method of Analysis of the Association of Analytical Chemists. 14ed. *Association of Analytical Chemists, Inc., USA.*

Balassa L.L. and Prudden J.F. 1984. Application of chitin and chitosan in wound healing acceleration, in chitin, chitosan and Related nzymes, *Academic Press*, San Diego: 296-305

Biagini G., Bertani A. and Muzzarelli R. 1991. *Biomaterials.* 12, 281-286

Butler, B.L., Vergano, P.J., Testin, R.F., Bunn, J.M. and Wiles, J.L. 1996. Mechanical and barrier properties of edible chitosan films as affected by composition and storage. *J. Food Sci.* 61, 953–955.

Guan, Y.L., Liu, X.F., Zhang, Y.P. and Yao, K.D. 1998. Study of phase behavior on chitosan/viscose rayon blend film. J. *Appl. Polym. Sci.* 67, 1965–1972.

Hirano, S., Mizutani, C., Yamaguchi, R. and Miura. 1978. Formation of the polyelectrolyte complexs of some acidic glycosaminoglycans with partially N- acrylated chitosans. *Biopolymer.* 17, 805.

Hosokawa, J., Nishiyama, M., Yoshihara, K. and Kubo, T. 1990. Biodegradable film derived from chitosan and homogenized cellulose. *Ind. Eng. Chem. Res.* 29, 800–805.

Ishihara, M., Ono, K., Sato, M., Nakanishi , K., Saito. Y., Yura, H., Matsui, T., Hattori, H., Uenoyama, M. and Kurita, A. 2001. *Wound Repair Regen.* 513-521.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Khan, T.A., Peh, K. K. and Ch'ng H. S. 2000. Mechanical, Bioadhesive strength and Biological Evaluation of chitosan film for wound dressing. *University of science Malasia*. 303-311.

Kim, D.H., Na, S.K. and Park, J.S. 2003. Preparation and characterization of modified starch-based plastic film reinforced with short pulp fiber. I. Structural properties. *J. Appl. Polym. Sci.* 88, 2100–2107.

Knorr, D. 1984. Use of chitinous polymer in food. *food technol.* 38, 85-97.

Marchessault R.H., Rioux P. and Raymond L. 1992. *Polymer*. 4024.

Martin, B.M. 1994. Tissue Culture Techniques. *An Introduction*. Birkhauser, Boston. 205

Martino, A. 1996. Immobilization of β – Glucosidase from a Commercial Preparation. Part 1.A Comparative Study of Natural Support. *Process Biochemistry* 31 (3). Page 281 – 285.

Muzzarelli, R.A.A. 1997. Chitin. *Pergamon press*. New York : 55-181.

Patent Abstracts of Japan. 1998.

Schiraldi, C., D'Agostino, A., Oliva, A., Flamma, F., De Rose, A., Apicella, A., Aversa, R. and De Rose, M. 2004. Development of hybrid materials based on hydroxyethylmethacrylate as supports for improving cell adhesion and proliferation. *Biomaterials*. 25, 3645-3653

Shahidi F., J. K. V. Arachechi and Y-J Jeon. 1999. Food application of chitosan. *Trend in Food Sci. Tech*. 10, 37-51.

Struszczyk, H., Pospieszny H. and Kotlinski S. 1988. Some new applications of chitosan in agriculture, chitin and chitosan. *Elsevier Applied Science*. London. 733-742.

http://www.apsu.edu

http://www.bsrungsiam.co.th/web/product.html

http://www.eastlothian.gov.uk

http://www.frankpasternak.com

http://www.gpo.or.th/rdi/html/chitin.html

http://www.iboro.ac.uk/departments/cg/project/2002

http://www.jergym.hiedu.cz

http://www.kmutt.ac.th/organization/Research/Intellect/best32.htm

http://www.life.umd.edu

http://www.magma.ca

http://www.microscopyconsulting.com

http://www.mtec.or.th

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

http://www.naturalbiopolymer.com/cosmetic.html

http://www.rpc.co.th/newsroom_sub_01.html

http://www.slic2.wsu.edu

http://www.wind.ne.jp/mazmoto/zeti/training/shrimp.htm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

ค่าความหนา ค่าการต้านทานแรงดึง และค่าความยืด ณ จุดขาด ของแผ่นฟิล์มสูตรต่างๆ

1. ไคโตซาน 2 กรัม ละลายในกรดแอซิติก ปรับปริมาตรสารละลายให้เป็น 100 มิลลิลิตร

ผลการวัดค่าความหนา ค่าการต้านทานแรงดึง และค่าความยืด ณ จุดขาด โดยทำการวัดแผ่นไคโตซาน 3 แผ่น จากนั้นหาค่าเฉลี่ย พบว่า แผ่นฟิล์มที่ได้มีความหนา 15.63 μm ค่าการต้านทานแรงดึง เท่ากับ 33.73 N/mm^2 และค่าความยืด ณ จุดขาด 76.06 % ดังแสดงในตารางที่ก.1

ตารางที่ก.1 ค่าความหนา ค่าการต้านทานแรงดึง และค่าความยืด ณ จุดขาดของแผ่นฟิล์มสูตรไคโตซาน 2 กรัม ละลายในกรดแอซิติก และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

	1	2	3	ค่าเฉลี่ย
ค่าความหนา (μm)	20.79	10.1	16	15.63
ค่าการต้านทานแรงดึง (N/mm^2)	36.30	25.35	39.55	33.73
ค่าความยืด ณ จุดขาด (%)	101.28	46.73	80.17	76.06

2. ไคโตซาน 2 กรัม ละลายในกรดแอซิติก : กรดแลคติก (7:3) และปรับปริมาตรเป็น100 มิลลิลิตร

ผลการวัดค่าความหนา ค่าการต้านทานแรงดึง และค่าความยืด ณ จุดขาด โดยทำการวัดแผ่นไคโตซาน 3 แผ่น จากนั้นหาค่าเฉลี่ย พบว่า แผ่นฟิล์มที่ได้มีความหนา 16.12 μm ค่าการต้านทานแรงดึง เท่ากับ 22.70 N/mm^2 และค่าความยืด ณ จุดขาด 59.22 % ดังแสดงในตารางที่ก.2

ตารางที่ก.2 ค่าความหนา ค่าการต้านทานแรงดึง และค่าความยืด ณ จุดขาด ของแผ่นฟิล์มสูตรไคโตซาน 2 กรัม ละลายในกรดแอซิติก : กรดแลคติก (7:3) และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

	1	**2**	**3**	ค่าเฉลี่ย
ค่าความหนา (μm)	18.16	13.08	17.12	16.12
ค่าการต้านทานแรงดึง (N/mm^2)	17.87	15.71	34.51	22.70
ค่าความยืด ณ จุดขาด (%)	51.52	40.85	85.30	59.22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ไคโตซาน 2 กรัม ละลายในกรดแอซิติก : กรดแลคติก (1:1) และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

ผลการวัดค่าความหนา ค่าการต้านทานแรงดึง และค่าความยืด ณ จุดขาด โดยทำการวัดแผ่นไคโตซาน 3 แผ่น จากนั้นหาค่าเฉลี่ย พบว่า แผ่นฟิล์มที่ได้มีความหนา 18.21 μm ค่าการต้านทานแรงดึง เท่ากับ 25.54 N/mm^2 และค่าความยืด ณ จุดขาด 78.48 % ดังแสดงในตารางที่ก.3

ตารางที่ก.3 ค่าความหนา ค่าการต้านทานแรงดึง และค่าความยืด ณ จุดขาด ของแผ่นฟิล์มสูตรไคโตซาน 2 กรัม ละลายในกรดแอซิติก : กรดแลคติก (1:1) และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

	1	2	3	ค่าเฉลี่ย
ค่าความหนา (μm)	19.84	13.64	21.16	18.21
ค่าการต้านทานแรงดึง (N/mm^2)	27.40	13.85	35.39	25.54
ค่าความยืด ณ จุดขาด (%)	89.26	32.70	113.48	78.48

4. ไคโตซาน 2 กรัม ละลายในกรดแอซิติก : กรดแลคติก (3:7) และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

ผลการวัดค่าความหนา ค่าการต้านทานแรงดึง และค่าความยืด ณ จุดขาด โดยทำการวัดแผ่นไคโตซาน 3 แผ่น จากนั้นหาค่าเฉลี่ย พบว่า แผ่นฟิล์มที่ได้มีความหนา 17.92 μm ค่าการต้านทานแรงดึง เท่ากับ 22.53 N/mm^2 และค่าความยืด ณ จุดขาด 66.16 % ดังแสดงในตารางที่ก.4

ตารางที่ก.4 ค่าความหนา ค่าการต้านทานแรงดึง และค่าความยืด ณ จุดขาด ของแผ่นฟิล์มสูตรไคโตซาน 2 กรัม ละลายในกรดแอซิติก : กรดแลคติก (3:7) และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

	1	2	3	ค่าเฉลี่ย
ค่าความหนา (μm)	19.92	11.02	22.82	17.92
ค่าการต้านทานแรงดึง (N/mm^2)	22.49	19.51	25.59	22.53
ค่าความยืด ณ จุดขาด (%)	72.51	32.57	93.38	66.16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. ไคโตซาน 2 กรัม ละลายในกรดแอซิติก : กลีเซอรอล (10:1) และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

ผลการวัดค่าความหนา ค่าการต้านทานแรงดึง และค่าความยืด ณ จุดขาด โดยทำการวัดแผ่นไคโตซาน 3 แผ่น จากนั้นหาค่าเฉลี่ย พบว่า แผ่นฟิล์มที่ได้มีความหนา 18.48 μm ค่าการต้านทานแรงดึง เท่ากับ 21.25 N/mm^2 และค่าความยืด ณ จุดขาด 64.81 % ดังแสดงในตารางที่ก.5

ตารางที่ก.5 ค่าความหนา ค่าการต้านทานแรงดึง และค่าความยืด ณ จุดขาด ของแผ่นฟิล์มสูตรไคโตซาน 2 กรัม ละลายในกรดแอซิติก : กลีเซอรอล (10:1) และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

	1	2	3	ค่าเฉลี่ย
ค่าความหนา (μm)	19.54	18.86	17.06	18.48
ค่าการต้านทานแรงดึง (N/mm^2)	21.14	17.30	25.32	21.25
ค่าความยืด ณ จุดขาด (%)	75.95	54.56	63.92	64.81

6. ไคโตซาน 2 กรัม ละลายในกรดแอซิติก : กลีเซอรอล (10:1.5) และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

ผลการวัดค่าความหนา ค่าการต้านทานแรงดึง และค่าความยืด ณ จุดขาด โดยทำการวัดแผ่นไคโตซาน 3 แผ่น จากนั้นหาค่าเฉลี่ย พบว่า แผ่นฟิล์มที่ได้มีความหนา 20.26 μm ค่าการต้านทานแรงดึง เท่ากับ 23.50 N/mm^2 และค่าความยืด ณ จุดขาด 71.74 % ดังแสดงในตารางที่ก.6

ตารางที่ก.6 ค่าความหนา ค่าการต้านทานแรงดึง และค่าความยืด ณ จุดขาดของแผ่นฟิล์มสูตรไคโตซาน 2 กรัม ละลายในกรดแอซิติก : กลีเซอรอล (10:1.5) และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

	1	2	3	ค่าเฉลี่ย
ค่าความหนา (μm)	20.84	21.56	18.4	20.26
ค่าการต้านทานแรงดึง (N/mm^2)	19.95	24.74	25.81	23.50
ค่าความยืด ณ จุดขาด (%)	61.15	80.96	73.09	71.74

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. ไคโตซาน 2 กรัม ละลายในกรดแอซิติก : กลีเซอรอล (10: 2) และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

ผลการวัดค่าความหนา ค่าการต้านทานแรงดึง และค่าความยืด ณ จุดขาด โดยทำการวัดแผ่นไคโตซาน 3 แผ่น จากนั้นหาค่าเฉลี่ย พบว่า แผ่นฟิล์มที่ได้มีความหนา 23.16 μm ค่าการต้านทานแรงดึง เท่ากับ 22.67 N/mm^2 และค่าความยืด ณ จุดขาด 81.01 % ดังแสดงในตารางที่ก.7

ตารางที่ก.7 ค่าความหนา ค่าการต้านทานแรงดึง และค่าความยืด ณ จุดขาด ของแผ่นฟิล์มสูตรไคโตซาน 2 กรัม ละลายในกรดแอซิติก : กลีเซอรอล (10: 2) และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

	1	2	3	ค่าเฉลี่ย
ค่าความหนา (μm)	24.5	23.96	21.04	23.16
ค่าการต้านทานแรงดึง (N/mm^2)	17.56	25.53	24.92	22.67
ค่าความยืด ณ จุดขาด (%)	67.55	95.41	80.07	81.01

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

1. Nutrient agar (NA)

Nutrient broth (NB)	13.0	กรัม
วุ้น (Agar)	30.0	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

2. อาหารดัดแปลง M-9 (สูตร 1)

Na_2HPO_4	1.3	กรัม
KH_2PO_4	3.0	กรัม
NaCl	1.0	กรัม
$MgSO_4$	0.24	กรัม
$CaCl_2$	0.01	กรัม
$(NH_4)_2SO_4$	3.0	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

ปรับ pH 7.0

3. อาหารดัดแปลง M-9 (สูตร 2)

Na_2HPO_4	1.3	กรัม
KH_2PO_4	3.0	กรัม
NaCl	1.0	กรัม
$MgSO_4$	0.24	กรัม
$CaCl_2$	0.01	กรัม
Yeast extract	2.0	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

ปรับ pH 7.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์

ทำการเตรียมสารละลาย ก และข โดยทำการเจือจางให้ได้ความเข้มข้นที่ต้องการและนำมาผสมกันให้ได้พีเอชที่ต้องการใช้

สารละลาย ก : สารละลายของโมโนเบสิก โซเดียมฟอสเฟต (ทำการละลาย NaH_2PO_4 27. กรัมในน้ำกลั่น 1 ลิตร)

สารละลาย ข : สารละลายของไดเบสิก โซเดียมฟอสเฟต (ทำการละลาย $Na_2HPO_4 .7H_2O$ 53.65 กรัมในน้ำกลั่น 1 ลิตร)

จำนวนมิลลิลิตรของสารละลาย ก (X) ผสมกับจำนวนมิลลิลิตรของสารละลาย ข (y) และทำการเจือจางด้วยน้ำกลั่นเป็น 200 มิลลิลิตร

ตารางที่ ข.1 การเตรียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่พีเอชต่างๆ

X	Y	พีเอช	X	Y	พีเอช
93.5	6.5	5.7	45.0	55.0	6.9
92.0	8.0	5.8	39.0	61.0	7.0
90.0	10.0	5.9	33.0	67.0	7.1
87.7	12.3	6.0	28.0	72.0	7.2
85.0	15.0	6.1	23.0	77.0	7.3
81.5	18.5	6.2	19.0	81.0	7.4
77.5	22.5	6.3	16.0	84.0	7.5
73.5	26.5	6.4	13.0	87.0	7.6
68.5	31.5	6.5	10.5	90.5	7.7
62.5	37.5	6.6	8.5	91.5	7.8
56.5	43.5	6.7	7.0	93.0	7.9
51.0	49.5	6.8	5.3	94.7	8.0

ที่มา : Stoll and Blanchard (1990)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

การทดสอบการพองตัวของแผ่นฟิล์มไคโตซาน

1. สารเคมี

1. อาหาร RPMI pH 7.4
2. เตรียม Dulbecco's Phosphate-Buffered Saline (DPBS) 1x
3. น้ำกลั่น

2. วิธีเตรียม DPBS

Inorganic salts	g. / l. (Freshney, 1994)
KCl (Potassium chloride)	0.20
KH_2PO_4 (Potassium phosphate monobasic)	0.20
NaCl (Sodium chloride)	8.00
$Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ (Sodium phosphate dibasic)	1.15

ปรับความเป็นกรดด่างให้ได้ pH 7.4

(without Ca++, Mg++)

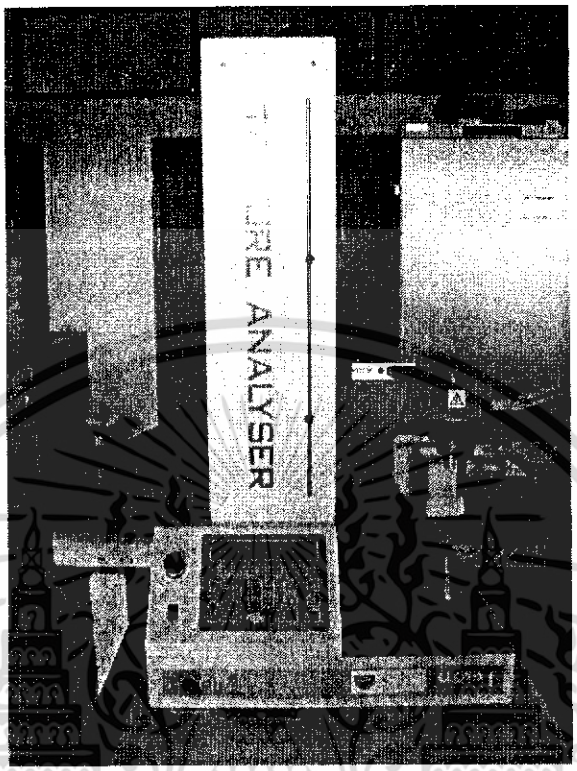
3. วิธีทดลองการพองตัว (Swelling measurements) (Schiraldi และคณะ, 2004)

สูตรการหาค่าอัตราการพองตัว (Swelling ratio)

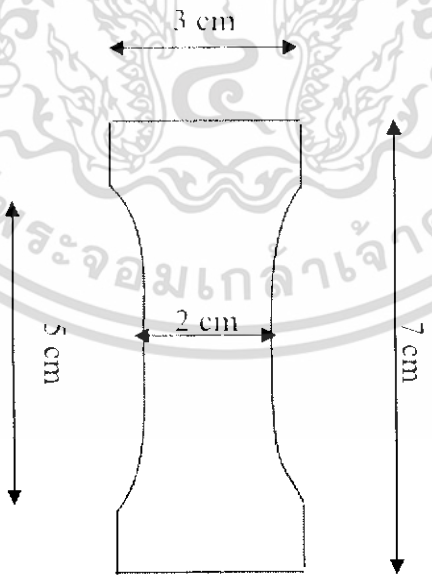
$$\text{ค่าอัตราการพองตัว} = \frac{\text{น้ำหนักเปียกของตัวอย่าง - น้ำหนักแห้งของตัวอย่าง}}{\text{น้ำหนักแห้งของตัวอย่าง}} \times 100$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง



รูปที่ ง.1 เครื่อง Texture Analyser รุ่น TA Plus : Nexygen Batch Doctument Program



รูปที่ ง.2 ลักษณะการตัดแผ่นฟิล์มที่ใช้ในการวัดค่า Tensile Stength

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

การตรวจสอบปริมาณน้ำตาลรีดิวส์โดยวิธี DNS

1. วิธีเตรียม DNS

1.1 สารเคมี

Potassiumsodiumtartrate	200	กรัม
NaOH	10	กรัม
Phenol	0.2	กรัม
Na_2SO_3	0.5	กรัม
3,5-dinitrosalicylic acid	10	กรัม

1.2 การเตรียม

ละลาย NaOH 10 กรัม ในน้ำกลั่นปริมาณหนึ่ง (ไม่เกิน 1,500 มิลลิลิตร) ละลายจนหมด จากนั้นค่อยๆเติม Potassiumsodiumtartrate 200 กรัม เติม Phenol 0.2 กรัม เติม Na_2SO_3 0.5 กรัม และ 3,5-dinitrosalicylic acid 10 กรัม โดยค่อยๆละลายสารเคมีแต่ละตัวจนหมด จึงค่อยเติมสารเคมีตัวต่อไปตามลำดับ จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตรด้วยฟลาสก์ปรับปริมาตร

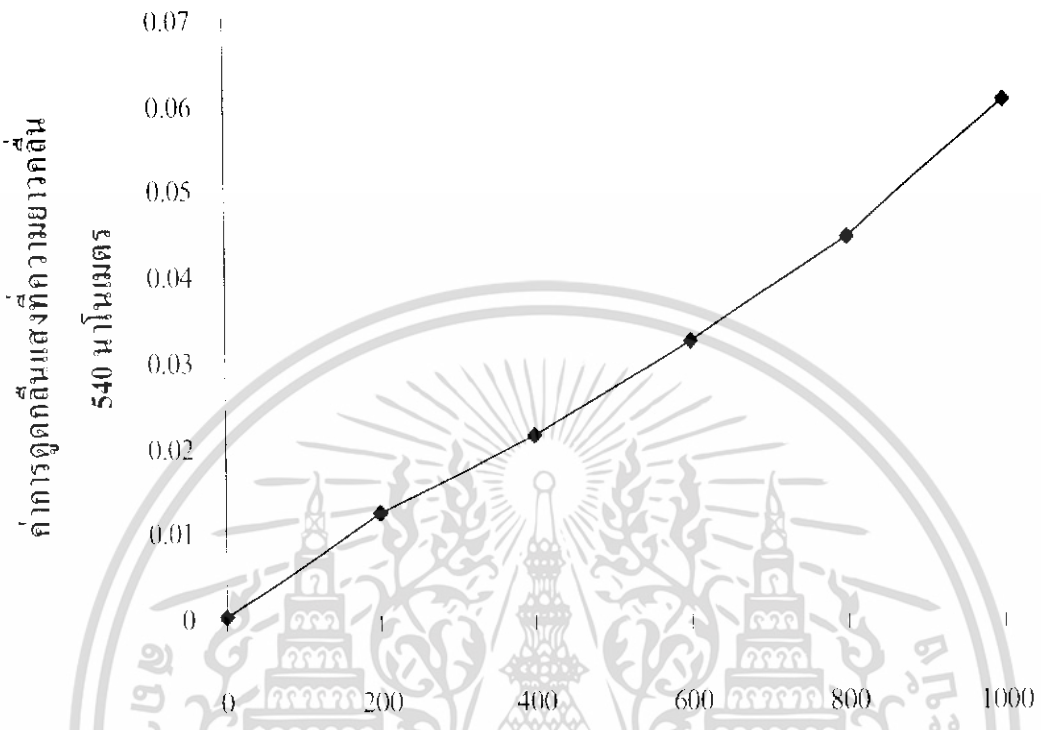
2. วิธีตรวจสอบปริมาณน้ำตาลรีดิวส์

1. ปิเปตสารละลายตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง
2. ใส่สารละลาย DNS ลงในหลอดทดลอง ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน
3. ต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
4. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร
5. นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้เทียบกับกราฟมาตรฐาน เพื่อหาปริมาณน้ำตาลรีดิวส์

3. วิธีเตรียมสารละลายน้ำตาลกลูโคซามีน มาตรฐาน

เตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคซามีน 200, 400, 600, 800 และ 1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (µg/ml) โดยชั่งกลูโคซามีน 0.05 กรัม ละลายในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร จะได้สารละลายกลูโคซามีน 1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



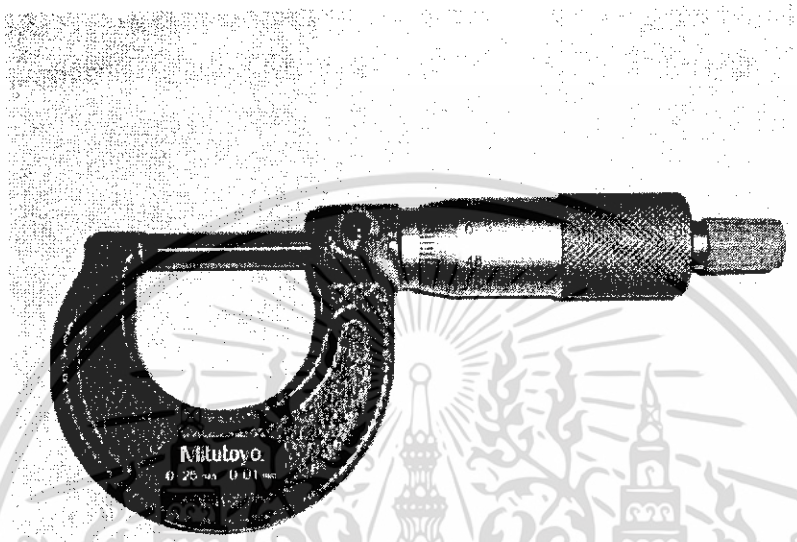
รูปที่ จ.1 กราฟมาตรฐานสารละลายกลูโคซามีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ฉ

การวิเคราะห์คุณสมบัติของแผ่นฟิล์มไคโตซาน

1. ความหนาของกระดาษ เครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์ คือ ไมโครมิเตอร์



รูปที่ ฉ.1 ไมโครมิเตอร์

2. การหาปริมาณความชื้น (A.O.A.C. 1984)

วิธีการ

1.1 นำภาชนะอลูมิเนียมพร้อมฝาไปอบในตู้อบ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา30 นาที ทำให้เย็นในเดสิเคเตอร์ ชั่งน้ำหนักของภาชนะพร้อมฝา

1.2 ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักแน่นอน (ประมาณ 2.0 กรัม) ใส่ในภาชนะที่ชั่งน้ำหนักแล้วเฉลี่ยให้กระจาย ปิดฝาและชั่งน้ำหนัก

1.3 นำไปอบในตู้อบโดยเปิดฝาไว้บางส่วนที่ 105 องศาเซลเซียส ข้ามคืน (16 ชั่วโมง)

1.4 นำออกจากตู้อบ ปิดฝาและนำไปใส่ในเดสิเคเตอร์จนเย็น ชั่งน้ำหนัก

การคำนวณ

ความชื้น (ร้อยละ) = $\frac{\text{น้ำหนัก (กรัม) ของตัวอย่างก่อนอบ - น้ำหนัก (กรัม) ของตัวอย่างหลังอบ}}{\text{น้ำหนัก (กรัม) ของตัวอย่างก่อนอบ}}$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้