

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การผลิตแผ่นฟิล์มไมโครชานผสมแป้งสำหรับปิดแผล



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2548

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Production of Chitosan-starch Composite Film for Wound Dressing



A Special Project Submitted in Partial fulfillment of the Requirement for

the Degree of Bachelor of Science

Department of Applied Biology

Faculty of Science

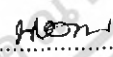

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

Academic Year 2005

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงการพิเศษเรื่อง การผลิตแผ่นฟิล์มโคโตะซานผสมแป้งสำหรับปิดแผล
 นักศึกษา นางสาวมารีสา สัจพันธ์
 นางสาววาทีณี คุณเผือก
 นางสาวสุ โพรธิภา
 ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์
 สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ
 อาจารย์ที่ปรึกษา รศ.ดร. นवलพรรณ ณ ระนอง
 อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผศ.ดร. สุพัตรา โพธิ์เยี่ยม
 ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์
 คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
 อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะกรรมการตรวจสอบ	ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ ผศ.ดร. อุ่นเรือน เพชรวัลย์	
กรรมการ รศ.ดร. นवलพรรณ ณ ระนอง	 
กรรมการ ผศ.ดร. สุพัตรา โพธิ์เยี่ยม	 

 
 (รศ.ดร. นवलพรรณ ณ ระนอง)

หัวหน้าภาควิชา

ลิขสิทธิ์ของภาคชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงการพิเศษเรื่อง	การผลิตแผ่นฟิล์มไคโตซานผสมแป้งสำหรับปิดแผล
นักศึกษา	นางสาวมาริสสา สัจพันธ์ นางสาววาทีณี คุณเผือก นางสาวสุ โพธิบาตร
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา	2548
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผศ.ดร.สุพัตรา โพธิ์เยี่ยม

บทคัดย่อ

ปัจจุบันมีการนำไคโตซานมาประยุกต์ในงานด้านเกษตร อุตสาหกรรม และเภสัชกรรม ไคโตซานละลายได้ในกรดอินทรีย์และนำมาขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มได้ จากคุณสมบัติในการสมานแผลและช่วยทำให้เซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมมีการเกาะยึดกันจึงนำมาใช้เป็นวัสดุปิดแผล สำหรับแป้งเป็นสารที่นำมาผลิตเป็นแผ่นฟิล์มที่ย่อยสลายได้และมีราคาถูก ดังนั้นจึงมีการศึกษาการเตรียมแผ่นฟิล์มไคโตซานผสมแป้งโดยนำสารละลายไคโตซาน 2% ที่ละลายในกรดอะซิติก 1% ผสมกับสารละลายแป้งมันสำปะหลังที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน พบว่าแผ่นฟิล์มที่ได้จากสารละลายไคโตซาน 2% ผสมกับแป้งมันสำปะหลัง 5% ในอัตราส่วน 90:10 จะได้แผ่นฟิล์มที่มีคุณสมบัติเชิงกลเหมาะสมที่สุด แผ่นฟิล์มที่ได้มีลักษณะเรียบใส สีอ่อนขุ่นเหลืองเล็กน้อย มีความหนาประมาณ 17 ไมโครเมตร ค่าการต้านแรงดึงและค่าความยืด ณ จุดขาด เท่ากับ 48.087 MPa และ 84.827% ตามลำดับ มีค่าความชื้นเท่ากับ 79.810% เมื่อทดสอบการพองตัวของแผ่นฟิล์มพบว่ามีค่าสูงสุดเท่ากับ 31.39% ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ แผ่นฟิล์มที่ได้ไม่ถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์ไลโซไซม์ เมื่อทดสอบการย่อยสลายของแผ่นฟิล์มโดยแบคทีเรีย 6 ชนิด พบว่า *Bacillus subtilis* สามารถย่อยสลายแผ่นฟิล์มได้ ผลการศึกษาการผ่านของแบคทีเรียพบว่า *Bacillus subtilis* *Pseudomonas fluorescense* และ *Serratia marcescens* สามารถผ่านแผ่นฟิล์มไคโตซานผสมแป้งได้

Special project title	Production of Chitosan-starch Composite Film for Wound Dressing
Name	Miss Marisa Suthpanroj Miss Watinee Kunpeuk Miss Su Pothibadh
Department	Applied Biology
Program	Biotechnology
Academic year	2005
Special Project Advisor	Assoc.Prof. Dr. Nuanphan Na ranong
Special Project Coadvisor	Asst.Prof. Dr. Supattar Poeaim

Abstract

At present, chitosan has potential applications in agriculture, food industry and pharmacy. Chitosan can be dissolved in organic acid, prior to being casted into film. Because of chitosan properties in wound healing and promoting mammalian cells to bond, the film was made to be wound dressing. Starch has been used to produce biodegradable films because of its low cost. For these reason, this study was to prepare chitosan-starch composite films by combining 2% chitosan in 1% acetic acid at various concentrations of cassava starch solution. From the result, it was found that the film from the mixture of 2% chitosan and 5% cassava starch at the ratio of 90:10 possessed optimum mechanical properties. This film was smooth yellowish and transparent and the thickness was 17 μm . Tensile strength and elongation at break of the film were 48.087 MPa and 84.827%, respectively with 79.810% moisture content. The highest swelling value of the film was 31.39% in Phosphate Buffer Saline and it was not hydrolyzed by lysozyme. In addition, 6 strains of bacteria were tested for degradation of this film. The results showed that it was degraded by *Bacillus subtilis*. Furthermore, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescense* and *Serratia marcescens* could penetrate across the chitosan-starch composite film.

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร. นवलพรรณ ณ ระนอง อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษที่ให้คำแนะนำและคำปรึกษาตลอดการดำเนินงานรวมถึงการแก้ไขรูปเล่มของโครงการพิเศษให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.อุ๋นเรื่อน เพชรวัลย์ ประธานกรรมการ และ ผศ.ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม กรรมการที่กรุณาเสียสละเวลาแก้ไขรูปเล่มโครงการพิเศษนี้ให้ถูกต้องยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านที่กรุณาอบรมสั่งสอน ให้คำแนะนำและปรึกษาในด้านต่างๆ ประกอบขึ้นมาเป็นองค์ความรู้และแนวทางปฏิบัติเพื่อให้บรรลุเป้าหมาย รวมทั้งเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติงานและห้องธุรการของภาคชีววิทยาที่ช่วยอำนวยความสะดวกในการดำเนินงาน

ขอขอบใจเพื่อนๆ และน้องๆ ที่คอยเป็นกำลังใจ แนะนำ และช่วยเหลือระหว่างที่ดำเนินงาน นอกจากนี้ยังมีบิดา มารดา และผู้มีพระคุณที่กรุณาอบรมสั่งสอนและอุปการะให้ผู้จัดทำศึกษาจนประสบความสำเร็จ

นางสาวมาริสา สัจพันธ์
นางสาววาทินี คุณเผือก
นางสาวสุ โพธิบาตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	ฉ
สารบัญรูป.....	ช
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาของโครงการพิเศษ.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการพิเศษ.....	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย.....	2
1.4 ขั้นตอนของการวิจัยและวิธีการดำเนินงาน.....	2
1.5 ผลที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ.....	3
2.1 โครงสร้างทางเคมีของโคโคซาน.....	3
2.2 แหล่งของโคโคตินและโคโคซาน.....	4
2.3 คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของโคโคซาน.....	6
2.4 การผลิตโคโคตินและโคโคซาน.....	9
2.5 ประโยชน์ของโคโคซาน.....	11
2.6 สถานภาพการประยุกต์ใช้งานโคโคตินและโคโคซานในคลาตต่างประเทศ.....	17
2.7 แป้งมันสำปะหลัง.....	19
2.8 การผลิตแผ่นฟิล์มโคโคซาน.....	20
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	22
3.1 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ที่ใช้ในการทดลอง.....	22
3.2 จุลินทรีย์.....	23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ.....	24
3.4 ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย.....	24
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผล.....	27
4.1 การเตรียมแผ่นฟิล์มโคโตซาน.....	27
4.2 การวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์ความชื้นและการพองตัวของแผ่นฟิล์ม.....	31
4.3 ผลการทดสอบการย่อยสลายโดยใช้เอนไซม์ไลโซไซม์.....	34
4.4 ผลการทดสอบการย่อยสลายแผ่นฟิล์มโคโตซานผสมแป้ง โดยแบคทีเรีย.....	35
4.5 ผลการป้องกันการผ่านของแบคทีเรีย.....	36
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง.....	38
เอกสารอ้างอิง.....	39
ภาคผนวก ก.....	44
ภาคผนวก ข.....	45
ภาคผนวก ค.....	46
ภาคผนวก ง.....	47
ภาคผนวก จ.....	49
ภาคผนวก ฉ.....	50
ภาคผนวก ช.....	51

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 แหล่งวัตถุดิบที่สำคัญของไคติน.....	5
2.2 ปริมาณไคตินที่มีอยู่ในสิ่งมีชีวิตชนิดต่างๆ.....	6
2.3 เชื้อแบคทีเรียและเชื้อราที่ไคโตซานมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโต.....	8
2.4 คุณสมบัติและลักษณะเด่นของไคโตซาน.....	15
2.5 ประสิทธิภาพการใช้ไคโตซานในปี 2543.....	18
2.6 องค์ประกอบทางเคมีของแป้งมันสำปะหลังโดยทั่วไป.....	19
4.1 ความหนาของแผ่นฟิล์มไคโตซานผสมแป้งมันสำปะหลัง.....	28
4.2 ค่าการต้านแรงดึงสูงสุดและค่าความยืดหยุ่น จุดขาดของแผ่นฟิล์มไคโตซานผสมแป้งในอัตราส่วนต่างๆ.....	29
4.3 การพองตัวของแผ่นฟิล์มในสารละลาย 3 ชนิดที่ช่วงเวลาต่างๆ.....	32
4.4 ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ภายหลังการย่อยด้วยเอนไซม์ไลโซไซม์.....	34
4.5 การย่อยสลายแผ่นฟิล์มไคโตซานผสมแป้ง โดยแบคทีเรีย 6 ชนิด.....	36
4.6 การทดสอบการผ่านของแบคทีเรียโดยแผ่นฟิล์ม.....	37
ข.1 การเตรียมฟอสเฟตบัพเฟอร์ที่พีเอชต่างๆ.....	45

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 โครงสร้างทางเคมีของโคตินและโคโชนาน.....	3
2.2 การผลิตโคโชนาน.....	10
4.1 กราฟแสดงอัตราส่วนโคโชนานต่อแป้งมันสำปะหลัง และความเข้มข้นของแป้งมัน สำปะหลังที่มีผลต่อค่าการต้านแรงดึงสูงสุด.....	30
4.2 กราฟแสดงอัตราส่วนโคโชนานต่อแป้งมันสำปะหลัง และความเข้มข้นของแป้งมัน สำปะหลังที่มีผลต่อค่าความยืด หยุ่น จุดขาด.....	30
4.3 กราฟแสดงการพองตัวของแผ่นฟิล์มในน้ำกลั่นที่ช่วงเวลาต่างๆ.....	33
4.4 กราฟแสดงการพองตัวของแผ่นฟิล์มในสารละลายฟอสเฟตบัพเฟออร์ ที่ช่วงเวลาต่างๆ.....	33
4.5 กราฟแสดงการพองตัวของแผ่นฟิล์มในอาหาร RPMI ที่ช่วงเวลาต่างๆ.....	34
ก.1 ไมโครมิเตอร์.....	46
ง.1 เครื่อง Texture Analyzer รุ่น TA Plus	47
ง.2 ลักษณะการตัดแผ่นฟิล์มที่ใช้ในการวัดค่าการต้านแรงดึงและค่าความยืด หยุ่น จุดขาด.....	48
ข.1 กราฟมาตรฐานสารละลายกลูโคซามีน.....	52

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของโครงการพิเศษ

เนื่องด้วยประเทศไทยเป็นประเทศที่มีการเพาะเลี้ยงกุ้งมากจนติดอันดับ 1 ใน 4 ของโลก นอกจากนี้ยังมีอุตสาหกรรมอาหารทะเลประเภทปูและปลาหมึก และจากการแปรรูปวัตถุดิบเหล่านี้ ทำให้เกิดวัตถุดิบเหลือทิ้งจำพวกเปลือกกุ้ง เปลือกปู และแกนปลาหมึกจำนวนมาก ซึ่งจัดเป็นแหล่งไคโตซานที่สำคัญ

ไคโตซานเป็นสารโพลีเมอร์จากธรรมชาติ เป็นอนุพันธ์ของไคตินที่เกิดจากการแยกหมู่อะซิทิลออกมาจากไคติน มีราคาไม่แพง ไม่เป็นพิษ จุลินทรีย์สามารถย่อยสลายได้ยาก จึงสามารถนำมาประยุกต์ใช้ทางด้านการเกษตร เช่น ใช้เป็นปุ๋ย ผสมในอาหารสัตว์ ผสมเป็นอาหารอัดเม็ดสำหรับเลี้ยงปลาและกุ้ง ผสมในดินเพื่อปรับคุณภาพของดินเหนียว ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราและแบคทีเรียบางชนิดในดิน ด้านอุตสาหกรรมเคมีวิเคราะห์และเทคโนโลยีชีวภาพ เช่น ใช้เป็นตัวพองในการตรึงเอนไซม์และผสมสารชีวภาพต่างๆ ใช้ช่วยในการตกตะกอนหรือแยกสาร ในระบบที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ เช่น ตกตะกอนโปรตีนในน้ำเสียที่ได้จากอุตสาหกรรมแปรรูปอาหาร เพื่อนำโปรตีนกลับมาใช้ใหม่ หรือเป็นตัวกรองในการผลิตน้ำบริสุทธิ์สำหรับดื่ม ด้านอุตสาหกรรมอาหารและยา เช่น ห่อหุ้มอาหาร เคลือบผักผลไม้ เป็นส่วนผสมในอาหารและเครื่องสำอาง ใช้ทำคอนแทกเลนส์ ยาลดคอเลสเตอรอลในร่างกาย โหมยเย็บแผล และแผ่นฟิล์มปิดแผล (ฉกามาศ, 2529; Martino, 1996)

การทำแผ่นฟิล์มปิดแผลจากไคโตซาน มีผลโดยตรง คือ ช่วยรักษานาบาดแผล ป้องกันการติดเชื้อ และมีผลทางอ้อม คือ ลดปริมาณวัตถุดิบเหลือทิ้งจากเปลือกกุ้ง ปู และปลาหมึก ซึ่งจุลินทรีย์จะสามารถย่อยสลายได้ง่ายกว่าเมื่อเทียบกับแผ่นฟิล์มจากวัสดุสังเคราะห์ จึงเป็นการลดมลภาวะจากขยะเหลือใช้

จากเหตุผลข้างต้น จึงได้นำแนวคิดในการผลิตแผ่นฟิล์มปิดแผลมาพัฒนาเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการนำไปใช้ และเพิ่มมูลค่าของผลิตภัณฑ์ โดยนำมาผสมกับแป้งมันสำปะหลัง ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ในประเทศที่มีอยู่มาก ประกอบกับหาได้ง่าย และมีราคาถูก อีกทั้งยังมีคุณสมบัติที่เหมาะสมกับการนำมาใช้ร่วมกับการผลิตแผ่นฟิล์มไคโตซาน ซึ่งผลที่ได้คาดว่าจะทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีประสิทธิภาพในการปิดแผล มีความปลอดภัย และสามารถนำไปพัฒนาสู่ระดับอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ได้ในอนาคต

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการพิเศษ

1.2.1 เพื่อผลิตแผ่นฟิล์มซึ่งใช้สำหรับการปิดแผลจากโคโนซานและแป้งมันปะหลัง โดยนำมาผสมกันและหาอัตราส่วนที่เหมาะสมสำหรับการนำไปใช้

1.2.2 ทดสอบคุณสมบัติของแผ่นฟิล์มโคโนซานผสมแป้งที่ได้

1.2.3 นำผลิตภัณฑ์ที่ได้จากวัสดุเหลือทิ้งจำพวกเปลือกกุ้ง สร้างเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าเพิ่ม และก่อให้เกิดประโยชน์สูงสุด

1.3 ขอบเขตของโครงการพิเศษ

หาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างโคโนซานและแป้งมันปะหลังในการผลิตแผ่นฟิล์มปิดแผล แล้วจึงนำแผ่นฟิล์มที่ได้มาทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพและการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ เพื่อหาแผ่นฟิล์มที่เหมาะสมสำหรับการนำไปใช้ปิดแผลมากที่สุด

1.4 ขั้นตอนในการดำเนินงาน

1.4.1 ศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างโคโนซานและแป้งมันปะหลังในการผลิตเป็นแผ่นฟิล์ม

1.4.1.1 ศึกษาความหนาของแผ่นฟิล์มที่ได้

1.4.1.2 วิเคราะห์ค่าการต้านแรงดึง (Tensile strength) และค่าความยืดหยุ่น ณ จุดขาด (elongation at break) (Khan และคณะ, 2000)

1.4.3 ศึกษาเปอร์เซ็นต์ความชื้นและการพองตัวของฟิล์มที่ได้

1.4.4 ทดสอบการย่อยสลายโดยใช้เอนไซม์ไลโซไซม์

1.4.5 ทดสอบการย่อยสลายโดยแบคทีเรีย

1.4.6 ทดสอบการป้องกันการผ่านเข้าของแบคทีเรีย

1.5 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1. สามารถผลิตแผ่นฟิล์มโคโนซานซึ่งใช้สำหรับการปิดแผล จากวัสดุดิบภายในประเทศที่มีอยู่จำนวนมาก หาได้ง่าย และเป็นการเพิ่มมูลค่าของวัสดุดิบ อีกทั้งยังเป็นการลดปริมาณวัสดุเหลือทิ้งจำพวกเปลือกกุ้ง

1.5.2. เป็นการวิจัยเบื้องต้นซึ่งจะนำไปสู่การผลิตในระดับอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ต่อไป

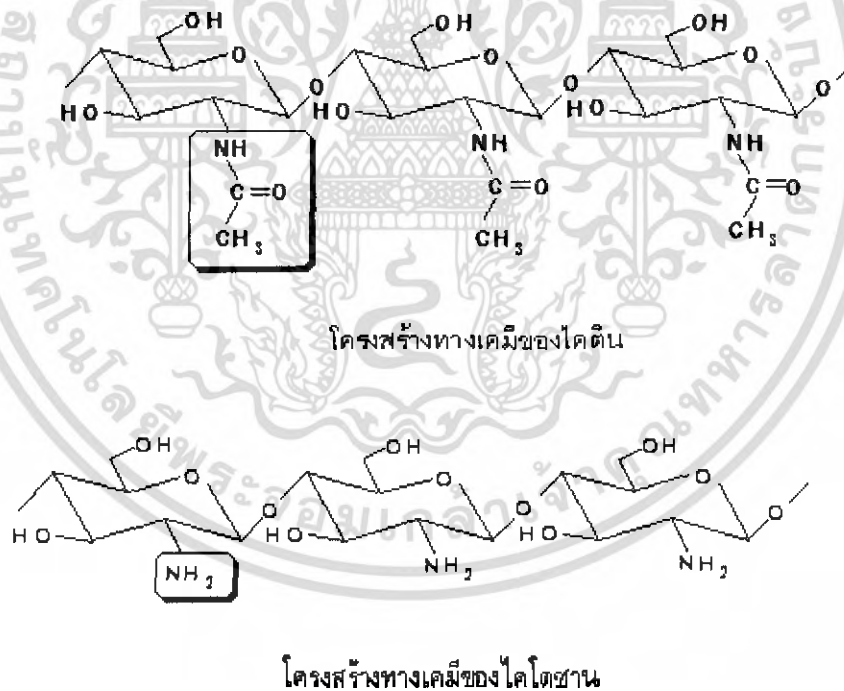
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ

2.1 โครงสร้างทางเคมีของไคโตซาน

ไคโตซานเป็นสารโพลีเมอร์ธรรมชาติโดยเป็นอนุพันธ์ของไคตินได้จากการดึงหมู่อะเซทิลออกจากโพลีเมอร์ของไคติน พบในโครงสร้างเปลือกนอกของกุ้ง ปู แคนปลาหมึก เซลล์ของผนังเห็ดราและสาหร่ายบางชนิด ไคโตซานถูกพบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1859 โดย Rouget จากการต้มไคตินกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น

ไคโตซานมีชื่อทางเคมีว่า พอลิ-เบตา-(1,4)-2-ดีออกซี-ดี-กลูโคส (poly- β -(1,4)-2-deoxy-D-glucose) ดังแสดงไว้ในรูป สมบัติที่ต่างจากโพลีแซคคาไรด์อื่นๆ คือ ไคโตซานมีประจุลบ ทำให้ละลายได้ดีในกรดอินทรีย์ต่างๆ

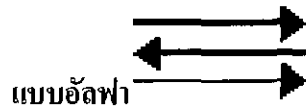


รูปที่ 2.1 โครงสร้างทางเคมีของไคตินและไคโตซาน

ที่มา : Maezaki และคณะ (1993)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไคตินที่ได้จากแต่ละแหล่ง มีโครงสร้างและสมบัติแตกต่างกันโดยแบ่งตามลักษณะการเรียงตัวของเส้นใยได้ 3 กลุ่ม คือ



แบบอัลฟา

มีการเรียงตัวของสายโซ่โมเลกุลในลักษณะสวนทางกัน มีความแข็งแรงสูง ได้แก่ ไคตินจากเปลือกกุ้ง และกระดองปู



แบบเบตา

มีการเรียงตัวของสายโซ่โมเลกุลในทิศทางเดียวกัน จึงจับกันได้ไม่ค่อยแข็งแรง มีความไวต่อปฏิกิริยาเคมีมากกว่าแบบอัลฟา ได้แก่ ไคตินจากแกนหมึก



แบบแกมมา

มีการเรียงตัวของสายโซ่โมเลกุลในลักษณะที่ไม่แน่นอน (สวนทางกันสลับกับทิศทางเดียวกัน) มีความแข็งแรงรองจากแบบอัลฟา ได้แก่ ไคตินจากเห็ด รา และพืชชั้นต่ำ

ไคตินในธรรมชาติอยู่รวมกับโปรตีนและเกลือแร่ ต้องนำมากำจัดเกลือแร่ออก (demineralization) โดยใช้กรดจะได้แผ่นเหนียวหนืดคล้ายพลาสติก แล้วนำไปกำจัดโปรตีนออก (deproteinization) โดยใช้ด่างจะได้ไคติน หากเป็นไคตินที่ได้จากเปลือกกุ้งหรือปู จะมีสีส้มปนอยู่ นำไปแช่ในเอทานอลเพื่อละลายสีออก (<http://www.geocities.com/mnvrk/chitin.html>)

2.2 แหล่งของไคตินและโคโตซาน

ไคตินเป็นสารอินทรีย์ทางชีวภาพที่มีปริมาณเป็นอันดับสองรองจากเซลลูโลส เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติโดยกระบวนการสังเคราะห์ทางชีวภาพของสิ่งมีชีวิตในธรรมชาติ ไคตินเป็นส่วนหนึ่งของผนังเซลล์สิ่งมีชีวิต มีลักษณะเป็นเส้นใยชนิดสานต่างๆ ให้เป็นแผ่นและเป็นเส้น ทำหน้าที่ห่อหุ้มอวัยวะและสร้างความแข็งแรงให้แก่ผนังเซลล์ พบได้ทั่วไปในสิ่งมีชีวิต โดยเฉพาะในสัตว์พวกมีเปลือก เช่น กุ้ง ปู กิ้ง แมลงชนิดต่างๆ หอยเปลือกแข็ง หอยมุก กระดองหมึก รวมไปถึงผนังเซลล์ของเห็ด รา และยีสต์ (Muzzarelli, 1977) ในธรรมชาติจะพบแหล่งโคโตซานน้อยกว่าไคติน

ในสัตว์น้ำพวกที่มีเปลือกหุ้มตัว เช่น กุ้งและปู พบว่ามีไคตินคิดเป็นสัดส่วนดังนี้ ในเปลือกกุ้งจะมีไคตินอยู่ประมาณร้อยละ 14-27 (โดยเทียบกับน้ำหนักแห้ง) และในกระดองปู ขา กระเชียง มีไคตินอยู่ประมาณร้อยละ 13-15 เมื่อเทียบกับน้ำหนักแห้ง (Muzzarelli, 1977)

ตารางที่ 2.1 แหล่งวัตถุดิบที่สำคัญของไคติน

สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง ประเภทมีข้อปล้อง (Arthropods)	แมลง (Insect)	จุลินทรีย์ (Microorganism)
หนอนทะเล	แมลงป่อง	สาหร่ายสีเขียว
หอย	แมงมุม	ยีสต์ (β -type)
Colentera	Brachiopods	เชื้อรา (ผนังเซลล์) ^b
Crustacens	มด	ก้านซีสปอร์ของ penicillin ^b
กุ้งก้ามกราม (Lobster) ^a	แมลงสาบ	สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำตาล
กุ้ง (Shrimp) ^a	แมลงปีกแข็ง	สปอร์
กุ้งนาง (Prawn)		Chytridiaceae
Krill		Blastocladiaceae
ปู		Ascomydes

หมายเหตุ; a แหล่งวัตถุดิบในปัจจุบัน

b แหล่งวัตถุดิบในอนาคตเมื่อความต้องการเพิ่มขึ้น

ที่มา : <http://www.iboro.ac.uk/department/cg/project/2002>

ในธรรมชาติเราจะไม่พบไคตินเป็นโครงสร้างหลักเดี่ยวๆ ในสิ่งมีชีวิต โดยจะพบในรูปแบบที่เป็นสารประกอบที่ปะปนอยู่กับสารอื่น เช่น ในเปลือกกุ้ง หรือกระดองปู จะพบว่ามีหินปูนหรือแคลเซียม และโปรตีนประกอบอยู่ด้วย ในขณะที่เปลือกแข็งหุ้มของแมลงจะประกอบด้วยไคตินในรูปแบบที่เป็นสารเชิงซ้อนของไคตินและโปรตีน (chitin-protein complex) และในผนังเซลล์ของรา ยีสต์หรือจุลินทรีย์ ไคตินจะอยู่ร่วมกับสารอื่นๆ ในบรรดาสัตว์จำพวก arthropods กุ้ง นับเป็นแหล่งสำคัญในการผลิตไคตินเชิงพาณิชย์ เนื่องจากของเสียที่ได้จากการแปรรูปเพื่อไปเป็นอาหารมีจำนวนมาก โดยเฉพาะกุ้งซึ่งถือว่าเป็นสัตว์เศรษฐกิจสำคัญของโลก (Pranee, 2002)

องค์ประกอบที่เป็นไคตินในโครงสร้างของกุ้งและปูต่อน้ำหนักตัวแห้งคิดเป็นประมาณ 15-20% ซึ่งปริมาณไคตินที่เป็นองค์ประกอบโครงสร้างของน้ำหนักตัวแห้งของสัตว์ต่างๆ เหล่านี้มีต่างกันไป ดังแสดงในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 ปริมาณโคลินที่มีอยู่ในสิ่งมีชีวิตชนิดต่างๆ

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

ที่มา : <http://www.iboro.ac.uk/departement/cg/project/2002>

2.3 คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของไคโตซาน (ภาวดี และคณะ, 2543)

2.3.1 การละลาย (Solubility) ไม่ละลายน้ำ ค่าง และตัวทำละลายอินทรีย์ แต่สามารถละลายได้ในสารละลายที่เป็นกรดอินทรีย์เกือบทุกชนิดที่มี pH น้อยกว่า 6 ตัวทำละลายที่ดีของไคโตซานคือ กรดฟอร์มิก ความเข้มข้นร้อยละ 0.2-100 โดยปริมาตร นอกจากนี้ไคโตซานยังสามารถละลายได้ในกรดอินทรีย์ เช่น กรดไฮดรอกลอรริกและกรดไนตริกที่เจือจางและละลายได้น้อยในกรดฟอสฟอริกความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยปริมาตร สารละลายที่ได้มีความเหนียว ใส มีพฤติกรรมแบบนอน-นิวโตเนียน (non-newtonian) ในสารละลายหมู่อะมิโนจะแตกตัว โดยขึ้นอยู่กับสัมประสิทธิ์การแตกตัว (pK_a) จะขึ้นอยู่กับความหนาแน่นของประจุของโพลีเมอร์ pK_a ของไคโตซานอยู่ในช่วง 6.2-6.8

2.3.2 น้ำหนักโมเลกุล (Molecular weight) ไคโตซานมีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 1×10^5 ถึง 1×10^6 ขึ้นอยู่กับขั้นตอนการผลิต

ไคโตซานเป็นตัวสร้างตะกอนและตัวตกตะกอนที่ดี (Coagulating ability) เนื่องจากมีหมู่อะมิโนเป็นจำนวนมากที่สามารถแตกตัวเป็นประจุบวกและสามารถจับกับสารที่มีประจุลบได้ เช่น โปรตีน คีอ้อม และโพลีเมอร์อื่นๆ นอกจากนี้ยังสามารถจับกับโลหะหนักได้โดยไนโตรเจนใน

หมู่อะมิโนของไคโตซานจะทำหน้าที่เป็นตัวให้ออกซิเจน ทำให้ไอออนของโลหะสามารถสร้างพันธะเชิงซ้อน (coordinate) กับหมู่อะมิโนได้

2.3.3 Molecular conformation ไคโตซานจัดเป็น โพลีอิเล็กโตรไลต์ประเภทบวก (cationic polyelectrolyte) อย่างแรงเนื่องจากในสารละลายกรด หมู่อะมิโนในสายโซ่โมเลกุลจะรับโปรตอนแล้วอยู่ในรูป $-NH_3^+$ conformation ของไคโตซานในโมเลกุลสารละลาย

2.3.4 การเสื่อมสภาพโดยกรด (Acid hydrolysis) การเสื่อมสลายของสายโซ่โมเลกุลของไคโตซานเนื่องจากการทำลายของกรดจะเป็นแบบสุ่ม (random) ได้ผลิตภัณฑ์ คือ โอลิโกเมอร์ขนาดต่างๆ และ โมโนเมอร์ ขึ้นอยู่กับสภาวะที่ใช้

2.3.5 การเสื่อมสลายโดยเอนไซม์ จะดีกว่าการใช้สารเคมีโดยตรงเนื่องจากมีความจำเพาะเจาะจงมากกว่า เอนไซม์ที่ใช้ ได้แก่ Chitosanase (E.C. 3 .2 .1. 132) สามารถย่อยสลายไคโตซานแบบสุ่ม ตรงตำแหน่งพันธะ 1,4-linkage ได้เป็น chitooligosaccharide , Lysozyme (E.C. 3. 2. 1. 17) ย่อยสลาย N-acetyl chitooligosaccharide เป็น N-acetylglucosamine โดยเริ่มจากปลายสายโซ่โมเลกุล (Non-reducing end)

2.3.6 การเสื่อมสลายโดยความร้อน การให้ความร้อนแบบอบแห้ง (dry heat) ที่อุณหภูมิ น้อยกว่า 80 องศาเซลเซียส มีผลทำให้สายโซ่โมเลกุลมีความยืดหยุ่นมากขึ้น หากใช้อุณหภูมิสูงจะเกิดสีเหลืองหรือสีน้ำตาลขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ สำหรับการอบแห้งด้วยไอร้อน (saturated steam) จะไม่สามารถละลายหลังจากอบที่อุณหภูมิ 115 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง หากอบที่อุณหภูมิ น้อยกว่า 120 องศาเซลเซียส จะไม่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ ความสามารถในการเกิดปฏิกิริยา คือ หมู่อะมิโน (NH_2) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่สอง หมู่ primary alcohol ($-CH_2OH$) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่หก และหมู่ secondary alcohol ($-CHOH$) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่สาม

ไคโตซานเป็นสารอินทรีย์ที่ย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ ด้วยเหตุนี้จึงสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ทั้งมนุษย์และสัตว์ และไม่เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม ไคโตซานสามารถละลายในกรดอินทรีย์หลายชนิดแล้วเปลี่ยนกลับคืนสู่สภาพเดิมได้ สารละลายไคโตซานมีความเหนียว (viscous) มีความใสและสามารถขึ้นรูปได้หลายแบบ เช่น เป็นเจล เม็ด และเส้นใยได้ ไคโตซานมีหมู่อะมิโนและหมู่ไฮดรอกซิลซึ่งสามารถทำปฏิกิริยาเพื่อเปลี่ยนให้เป็นสารอนุพันธ์ (derivative) อื่นๆ ได้หลายชนิด เช่น เอ็น-คาร์บอกซีบิวทิล ไคโตซาน (N-carboxybutyl chitosan) เป็น โพลีเมอร์ที่ละลายน้ำได้ และใช้เป็นแผ่นฟิล์มหรือแผ่นกรองสารละลายเพื่อช่วยในการดักตะกอนของโลหะหนักและไกลคอกอลไคติน ซึ่งมีคุณสมบัติในการละลายน้ำได้ดีขึ้น เป็นต้น (Muzzarelli, 1977)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไคโตซานสามารถย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไลโซไซม์ (lysozyme) โดยการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (hydrolysis) ในสถานะที่เป็นกรด pH 5-6 ดังนั้นเอนไซม์ไลโซไซม์จึงใช้เป็นเอนไซม์ที่ใช้วัดค่าการเสื่อมสลายจากเอนไซม์ (Enzymatic degradation) ของโพลิเมอร์ชนิดนี้ จุลินทรีย์หลายชนิดสามารถสร้างเอนไซม์ชนิดนี้และย่อยไคโตซานได้ เพื่อนำมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญเติบโต (Dong และคณะ, 2002)

ไคโตซานสามารถละลายและมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีกว่าไคติน (ดังแสดงในตารางที่ 3) เนื่องจากประจุบวกตรงคาร์บอนตำแหน่งที่ 2 ของกลูโคซามีน (glucosamine) ซึ่งเป็นหน่วยย่อยที่เล็กที่สุดของไคโตซานสามารถเกิด interaction กับเยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) ของจุลินทรีย์ที่มีประจุลบ ทำให้เกิดการรั่วไหลของโปรตีน และสารอื่นๆ ของเซลล์ หรือการที่ไคโตซานมีคุณสมบัติเป็น chelating agent จึงสามารถเลือกจับโลหะแม่ในปริมาณน้อยๆ ได้ ทำให้ยับยั้งการผลิตสารพิษ (toxin) และยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์

(www.rpe.co.th/newsroom_sub_01.html)

ตารางที่ 2.3 เชื้อแบคทีเรียและเชื้อราที่ไคโตซานมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโต

แบคทีเรีย		รา
Gram positive	Gram negative	
- <i>Staphylococcus aureus</i>	- <i>Escherichia coli</i>	- <i>Botrytis cinerea</i>
- <i>Listeria monocytogenes</i>	- <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	- <i>Rhizopus stolonifer</i>
- <i>Bacillus cereus</i>	- <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	- <i>Aspergillus niger</i>
	- <i>Shigella dysenteriae</i>	- <i>Aspergillus parasiticus</i>
	- <i>Vibrio cholerae</i>	
	- <i>Aeromonas hydrophila</i> YMI	
	- <i>Aeromonas hydrophila</i> CCRC 13881	
	- <i>Salmonella typhimurium</i>	

ที่มา : Shahidi และคณะ (1999)

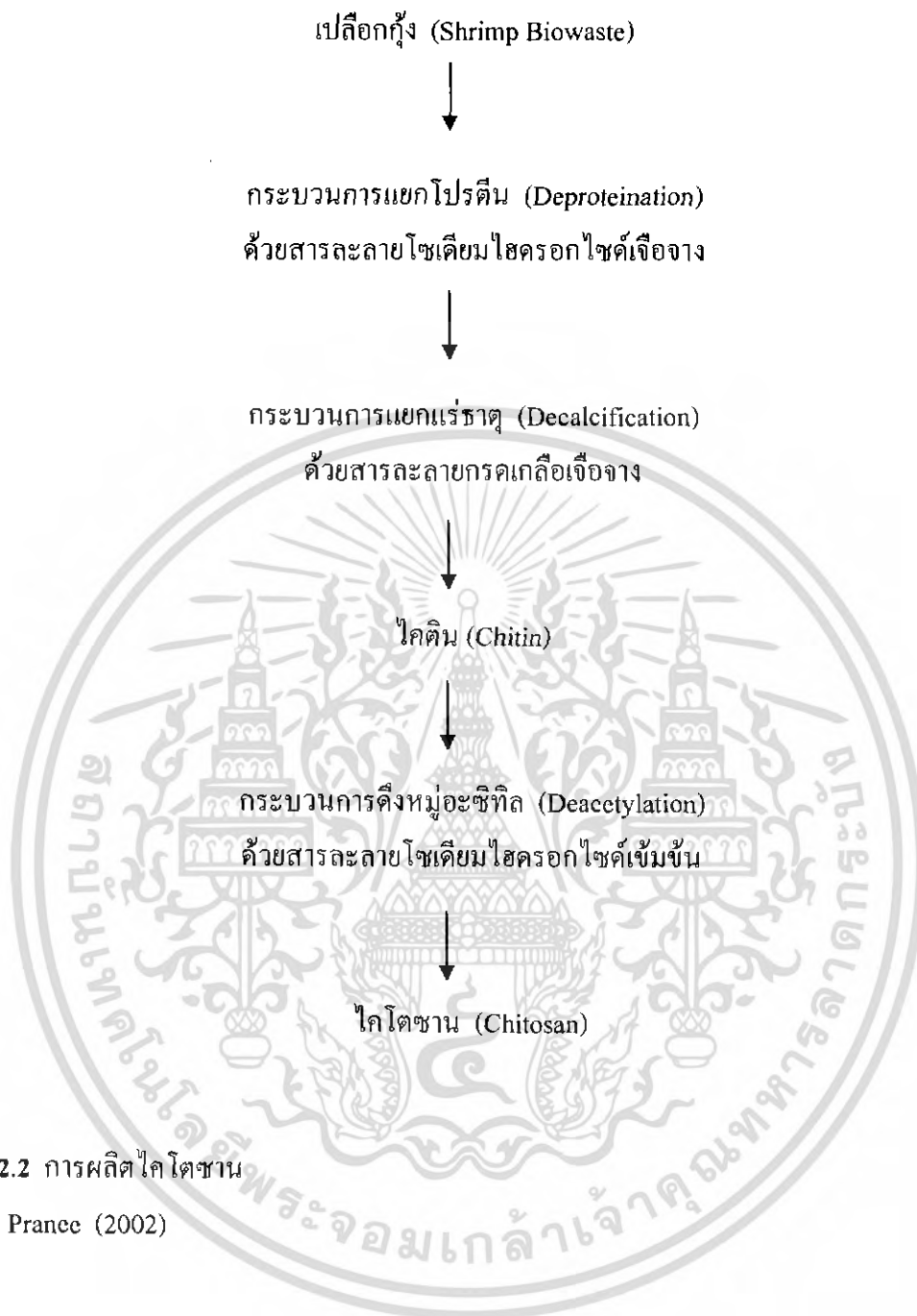
2.4 การผลิตไคตินและไคโตซาน (Pranee, 2002)

การผลิตไคโตซานจากไคตินสามารถทำได้ทั้งวิธีทางเคมีและวิธีทางชีวภาพ แต่วิธีทางชีวภาพโดยการใช้เอ็นไซม์ในการดึงหมู่อะซิทิลออกจากไคตินนั้นยังอยู่ในระดับของห้องปฏิบัติการ ส่วนวิธีทางเคมีเป็นวิธีที่ใช้กันอย่างกว้างขวางในปัจจุบัน แต่ข้อเสียของวิธีทางเคมี ได้แก่ คุณภาพในการผลิตจะควบคุมยาก เครื่องมือที่ใช้ถูกกัดกร่อนอันเนื่องมาจากสารเคมีที่เข้มข้นและประการสำคัญคือเรื่องสิ่งแวดล้อม ดังนั้นนักวิจัยหลายท่านและผู้ประกอบการอุตสาหกรรมการผลิตไคโตซานพยายามที่จะคิดค้นหาวิธีการผลิตที่ใช้สภาวะที่ไม่รุนแรงนัก แต่ให้คุณภาพผลิตภัณฑ์ไคโตซานตามต้องการ

วัตถุดิบที่สามารถนำมาผลิตเป็นไคตินและไคโตซานนั้น ได้มาจากเปลือกของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังที่มีข้อปล้อง อาทิ กุ้ง ปู ปลาหมึก ซึ่งเป็นวัตถุดิบหลักในการผลิตเชิงพาณิชย์ ส่วนการผลิตจากเปลือกของแมลงและผนังเซลล์ของเห็ดรา นั้น ยังอยู่ในระดับห้องปฏิบัติการ การผลิตไคตินและไคโตซานสามารถผลิตได้ด้วยวิธีทางเคมีและชีวภาพ ในที่นี้จะกล่าวเฉพาะวิธีทางเคมีซึ่งเป็นวิธีที่ใช้กันมากในเชิงพาณิชย์ การผลิตจะเริ่มจากการเตรียมวัตถุดิบ ซึ่งอาจจะสับวัตถุดิบเป็นชิ้นเล็กๆ หรือไม่ก็ได้ บางครั้งอาจจะนำมาล้างน้ำเพื่อกำจัดไขมัน โปรตีนและสิ่งสกปรกบางส่วนออกจากวัตถุดิบก่อนการนำมาผ่านกระบวนการแยกโปรตีนด้วยด่างเจือจางและกระบวนการแยกแร่ธาตุด้วยกรดเกลือเจือจาง ซึ่งทั้ง 2 ขั้นตอนนี้ สามารถสับลำดับก่อนหลังได้ ผลิตภัณฑ์ที่ได้นี้เรียกว่า “ไคติน” จากนั้น นำไคตินที่ได้มาเข้าสู่กระบวนการผลิตไคโตซาน โดยการแช่ไคตินในสารละลายด่างเข้มข้น เพื่อดึงหมู่อะซิทิลออกจากไคติน ซึ่งปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตไคโตซาน ได้แก่ อุณหภูมิ ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา ความเข้มข้นของด่าง สภาวะและขั้นตอนในการผลิตไคติน อัตราส่วนของไคตินต่อสารละลายด่างเข้มข้น พบว่า อุณหภูมิสูงทำให้เปอร์เซ็นต์การดึงหมู่อะซิทิลเพิ่มขึ้นแต่ขนาดโมเลกุลจะลดลง นอกจากนี้ Guan และคณะ (1998) อธิบายความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงระหว่างส่วนกลับของอุณหภูมิและลอกการิทึมของอัตราการเกิดปฏิกิริยาของระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาดึงหมู่อะซิทิลและความเข้มข้นของด่าง Wu และ Zhang (2001) ทำการทดลองโดยแช่ไคตินใน 50% NaOH ที่ 100°C และพบว่า ปฏิกิริยากำจัดหมู่อะซิทิลจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 1 ชั่วโมงแรก

จากรายงานวิจัย พบว่า การผลิตไคตินและไคโตซานจากเปลือกกุ้งนั้น สารละลายด่างที่มีความเข้มข้น 4% เหมาะสำหรับการแยกโปรตีน ที่อุณหภูมิห้อง และการแยกแร่ธาตุด้วยกรดเกลือที่มีความเข้มข้น 4% ที่อุณหภูมิห้องนั้น ควรจะแช่วัตถุดิบในกรดเกลืออย่างน้อย 2 ชั่วโมง นอกจากนี้การผลิตไคโตซานที่มีความหนืดสูงๆ จะต้องใช้ไคตินที่ผ่านกระบวนการผลิตด้วยขั้นตอนการแยกแร่ธาตุก่อนการแยกโปรตีน อย่างไรก็ตามการผลิตไคโตซานให้ได้สมบัติจำเพาะตามต้องการและสามารถแข่งขันกับตลาดโลกได้นั้น จำเป็นที่จะต้องอาศัยการพัฒนาเทคโนโลยีที่เหมาะสมและการควบคุมคุณภาพที่ดีเช่นกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.2 การผลิตไคโตซาน

ที่มา : Prance (2002)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 ประโยชน์ของไคโตซาน

2.5.1 ด้านการเกษตร

การศึกษาวิจัยเพื่อนำสารไคตินและไคโตซานมาใช้ในการเพิ่มผลผลิตทางการเกษตรทั้งพืชและสัตว์ได้เกิดขึ้นอย่างแพร่หลาย เนื่องจากการใช้ไคตินและไคโตซานให้ผลดีในแง่ของการเป็นสารธรรมชาติช่วยลดความเสี่ยงของเกษตรกรและผู้บริโภคต่อการได้รับสารพิษจากปุ๋ยและยาปราบศัตรูพืช พร้อมทั้งมีจุดเด่นที่สามารถช่วยเพิ่มผลผลิต ช่วยยืดอายุการเก็บรักษาพืชผลทางการเกษตร รวมถึงสามารถย่อยสลายทางชีวภาพได้และปลอดภัยต่อสภาพแวดล้อม การใช้ประโยชน์จากไคตินและไคโตซานทางการเกษตร สามารถนำไปใช้ได้เกือบทุกขั้นตอนหรือเกือบครบวงจร ดังตัวอย่างการประยุกต์ใช้งานที่สำคัญต่อไปนี้

2.5.1.1 ไคโตซานเป็นสารเร่งการเจริญเติบโตของต้นไม้ โดยให้ผลเช่นเดียวกับฮอร์โมนเร่งราก ใช้กระตุ้นการงอกของกิ่งชำ ไม้ดอกและไม้ประดับชนิดต่างๆ โดยนำส่วนของพืชที่ต้องการชำแช่ในสารละลายเจือจางของไคโตซานประมาณ 2 ชั่วโมง ก่อนนำไปปักชำ (Muzzarelli, 1977)

2.5.1.2 ใช้เป็นสารปรับสภาพดินสำหรับเพาะปลูก ไคตินหรือไคโตซานในแบบผงหรือสารละลายสามารถนำมาใช้ผสมกับดินสำหรับเพาะปลูก หรือผสมกับอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้ การใช้ไคโตซานผสมในปุ๋ยน้ำสำหรับพืชมีข้อดี คือ สามารถยึดเกาะกับพื้นผิวดินได้ดี ทนต่อการถูกชะล้าง ลดการระเหยของน้ำ อีกทั้งยังเป็นตัวควบคุมการปลดปล่อยแร่ธาตุและสารอาหารให้แก่พืชอีกด้วย (ภาวดี และคณะ, 2543)

2.5.1.3 ใช้เป็นสารกระตุ้นการเจริญเติบโต มีรายงานเกี่ยวกับการฉีดพ่นไคโตซานความเข้มข้น 10-15 ppm ในนาข้าวส่งผลให้ผลผลิตข้าวมีปริมาณเพิ่มขึ้น 41.7-91.5% โดยขึ้นอยู่กับพื้นที่ที่ทำการเพาะปลูก และการใช้ไคโตซานความเข้มข้น 10 ppm ฉีดพ่นกล้วยไม้มีผลช่วยเร่งการเจริญเติบโตของใบใหม่ และพบว่า เมื่อนำ oligochitosan ที่เตรียมขึ้นโดยวิธีอาบรังสีมาเติมลงในอาหารสำหรับเพาะกล้วยไม้ด้วยความเข้มข้น 50-75 ppm สามารถช่วยเร่งอัตราการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ได้ดี สำหรับการศึกษากับต้นเยอบีรา (สุวดี, 2544)

2.5.1.4 ไคตินทำให้เกิดปริมาณไนโตรเจนที่เหมาะสมในการเกิดปมรากถั่ว พืชตระกูลถั่วเป็นพืชที่อุดมไปด้วยโปรตีน ดังนั้นจึงมีความต้องการไนโตรเจนสูงกว่าพืชตระกูลอื่น ถ้าปริมาณไนโตรเจนในดินน้อยเกินไป จะไม่ก่อให้เกิดการสร้างปมและการตรึงไนโตรเจน แต่การให้ไนโตรเจนในอัตราที่สูงไป มีผลให้เกิดปม (nodulation) และการตรึงไนโตรเจนของพืชก็ลดลงเช่นกัน (<http://www.geocities.com/mnvrk/chitin.html>)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.2 ด้านอาหาร จากการศึกษาทดลองในสัตว์ พบว่า สัตว์แต่ละชนิดมีความสามารถในการย่อยไคตินและไคโตซานที่แตกต่างกันออกไป

2.5.2.1 การทดลองใช้ไคโตซานในสัตว์เพื่อศึกษาความสามารถในการลดระดับคอเลสเตอรอลนั้นพบว่าให้ผลดี ส่วนงานวิจัยที่ศึกษากับมนุษย์ยังมีอยู่น้อยมาก แต่มีรายงานว่าสามารถลดระดับคอเลสเตอรอลลงได้ 5.8-42.6% ปัจจุบันไคโตซานมีการออกจำหน่ายอย่างแพร่หลายมากขึ้นในรูปของอาหารเสริมเพื่อลดคอเลสเตอรอลและควบคุมน้ำหนัก

(<http://www.material.chula.ac.th/chitosan>)

2.5.2.2 จากสมบัติของไคโตซานในด้านการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ เช่น แบคทีเรีย เชื้อรา นับเป็นจุดเด่นที่สำคัญต่อการนำมาใช้ประโยชน์ในด้านการถนอมอาหาร เช่น ในการเก็บรักษาเนื้อปลา พบว่า ไคโตซานจากเปลือกกุ้งที่มีค่าระดับการกำจัดหมู่อะซีทิลสูงๆ เช่น 95-98% DD มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อแบคทีเรียได้ดี โดยสามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้จาก 5 วัน เป็น 9 วัน นอกจากนี้ยังมีการนำไปใช้ในเครื่องปรุงรสอาหาร เช่น ซีอิ๊ว เป็นต้น (<http://www.material.chula.ac.th/chitosan>)

2.5.2.3 ไคโตซานยังถูกนำมาใช้เป็นสารเติมแต่งในกระบวนการผลิตอาหารและเครื่องดื่มหลายชนิด เช่น Spalding (1979) ได้ศึกษาการใช้ไคโตซานเป็นตัวดูดซับสารประเภท phenolic ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดสีน้ำตาล (browning) ของไวน์ขาว โดยพบว่า ไคโตซานให้ประสิทธิภาพดีเทียบเท่ากับสารดูดซับที่ใช้อยู่เดิมในกระบวนการผลิต นอกจากนี้ ไคโตซานยังสามารถใช้เป็นตัวควบคุมความเป็นกรดในน้ำผลไม้ได้อีกด้วย (Shahidi และคณะ, 1999)

เนื่องจากไคตินและไคโตซานสามารถนำมาขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มได้ จึงมีการผลิตเพื่อนำมาใช้เป็นฟิล์มห่อหุ้มเพื่อถนอมอาหาร โดย Kim และคณะ (2003) พบว่า ฟิล์มไคโตซานที่มีคุณภาพเหมาะสมต่อการนำมาใช้ผลิตบรรจุภัณฑ์สำหรับผลิตภัณฑ์ปลา ควรมีปริมาณถ้าไม่เกิน 1.5% และ DD อยู่ในช่วง 80-90% ซึ่งกลไกของการยืดอายุการถนอมอาหารด้วยแผ่นฟิล์มนี้เกี่ยวข้องกับ การควบคุมการถ่ายเทความชื้นระหว่างอาหารและสภาวะแวดล้อม การควบคุมการปลดปล่อยสารเคมีบางชนิด เช่น สารที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ สาร antioxidant รวมถึงการควบคุมอุณหภูมิและลดอัตราเมตาบอลิซึม เป็นต้น การสร้างฟิล์มที่มีความแข็งแรงขึ้นสามารถทำได้โดยใช้ crosslinking agent เช่น glutaraldehyde หรือ สาร polyelectrolytes เข้าร่วมด้วย นอกจากนี้การผลิตฟิล์มลามิเนทโดยใช้ไคโตซานร่วมกับสารชนิดอื่น เช่น polysaccharides ก็มีการศึกษาวิจัยกันเป็นจำนวนมาก (Shahidi และคณะ, 1999)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.3 ด้านการแพทย์และเภสัชกรรม

ไคติน-ไคโตซานเป็นสารธรรมชาติที่มีความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อและเซลล์ของร่างกาย และย่อยสลายได้ตามธรรมชาติโดยไม่เป็นพิษต่อร่างกาย จึงมีงานวิจัยจำนวนมากที่ให้ความสนใจกับการนำสารไคติน-ไคโตซานมาประยุกต์ใช้ทางการแพทย์และเภสัชกรรมดังตัวอย่างต่อไปนี้

2.5.3.1 ใช้ในวัสดุทดแทนกระดูก Wan และคณะ (1997 อ้างอิงใน Knorr, 1984; Kim และคณะ, 2003) ได้เตรียม hydroxyapatite (HA)-chitin โดยใช้ HA กระจายตัวอยู่ในไคติน จากการทดสอบสมบัติเชิงกลพบว่า เมื่อเติม HA ในปริมาณสูงจะมีผลทำให้วัสดุมีความแข็งแรงลดลงแต่ยังคงแสดง plastic properties อยู่ มีรายงานถึงการศึกษการใช้ phosphoryl chitin (P-chitin) ร่วมกับ monocalcium phosphate และ calcium oxide เพื่อผลิตวัสดุทดแทนกระดูกที่เชื่อมตัวได้รวดเร็วและมีสมบัติเชิงกลที่ดีขึ้น เพื่อใช้เป็น phosphate cement (Wong และคณะ, 2001) และมีการเตรียม HA-chitosan microspheres เพื่อใช้เป็น filling ในกระดูกและฟัน โดยใช้วิธีผสมผง HA กับ สารละลายไคโตซานตามด้วย paraffin oil, hexane และ surfactant แล้วทำการ crosslink ด้วย glutaraldehyde ซึ่งพบว่าสามารถเตรียม microspheres ที่มีขนาดในช่วง 125-1,000 ไมครอน (Knorr, 1984; Kim และคณะ, 2003)

2.5.3.2 ใช้ทางด้าน Tissue Engineering ได้มีการศึกษารเตรียม porous chitin matrixes โดยเริ่มจากการเตรียม chitin gels จากสารละลายไคติน จากนั้นจึงใช้วิธี lyophilization เพื่อทำให้เกิดเป็น porous matrixes พบว่า รูพรุนที่เกิดขึ้นมีขนาดอยู่ในช่วง 100-500 ไมครอน และเมื่อทดลองนำฝังไว้กับ fibroblast cell ของหนูและมนุษย์พบว่า เซลล์เหล่านี้สามารถเจริญเติบโตปกคลุม porous matrixes ได้ (Knorr, 1984; Kim และคณะ, 2003) นอกจากนี้ยังมีการเตรียม macroporous chitosan/calcium phosphate scaffold โดยไคโตซานทำหน้าที่เป็น scaffold ในขณะที่ calcium phosphate ซึ่งมีความโปร่งใทางชีวภาพจะช่วยเสริมการเกาะติดของ osteoblast และให้ความแข็งแรงแก่ scaffold (Knorr, 1984; Kim และคณะ, 2003) ใช้เป็นวัสดุปิดบาดแผล

2.5.3.3 ไคติน-ไคโตซานที่นำมาใช้เป็นวัสดุปิดแผลนั้นอาจเป็นได้ทั้งในรูปแบบของ แผ่นเยื่อบาง(membrane) แผ่นคล้ายฟองน้ำ(sponge) หรือผสมร่วมกับผ้าฝ้าย หรือใช้เป็นผงละเอียด โดยจะมีผลกระตุ้นการสร้างเซลล์ใหม่ และป้องกันการติดเชื้อ จึงช่วยทำให้บาดแผลหายเร็วขึ้นผลิตเป็นแผ่นฟิล์มเพื่อรักษาบาดแผล โดยไคโตซานจะยอมให้อากาศผ่านเข้าออกได้น้อย การแลกเปลี่ยนก๊าซกับบริเวณที่มีบาดแผลมีความสำคัญเพราะความดันของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂) ที่อยู่ภายนอกจะไปเพิ่มความเป็นกรดและทำให้การสมานแผลช้าลง นอกจากนี้ความเข้มข้นของออกซิเจน (O₂) ที่น้อย จะลดประสิทธิภาพในการสมานแผลและอาจทำให้จุลินทรีย์พวกที่ไม่ใช้อากาศ (anaerobe) เจริญ ตัวอย่างเช่น งานวิจัยของ Mitsutomi และคณะ (1998) ได้ศึกษารเตรียม chitosan membrane แบบไม่สมมาตร ในลักษณะเป็นรูพรุนขนาดใหญ่คล้ายฟองน้ำ และมีชั้นบนสุดเป็นชั้นผิวที่มีเนื้อแน่น (dense skin surface) จากการทดสอบพบว่า ออกซิเจนสามารถซึมผ่าน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

membrane ได้ดี ช่วยควบคุมการสูญเสียน้ำ และช่วยป้องกันเชื้อจุลินทรีย์ นอกจากนี้ยังช่วยให้เกิดการสมานแผลโดยเร่งให้เกิดการสังเคราะห์ไฟโบรบลาสติน (fibroblastic synthesis) และส่งเสริมให้มีการสร้างเนื้อเยื่อขึ้นมาทดแทนบริเวณที่มีบาดแผลได้ ปัจจุบันวัสดุปิดแผลหรือผิวหนังเทียมที่ผลิตจากไคตินหรือไคโตซานเพื่อใช้งานด้านการแพทย์ทั้งในมนุษย์และสัตว์มีการผลิตในเชิงพาณิชย์ออกจำหน่ายแล้ว (Maezaki และคณะ, 2003)

2.5.3.4 ใช้ทางด้านระบบนำส่งยา (drug delivery system) Kim และคณะ (2003) ได้ศึกษาการเตรียม chitosan membrane เพื่อใช้ในการปลดปล่อยยา โดยในงานวิจัยนี้ได้แก้ปัญหาการ swell จากการดูดซับน้ำที่รวดเร็วของไคโตซาน โดยใช้วิธีดัดแปลงโครงสร้างด้วย alkyl halides ที่มีขนาดสายโซ่ต่างๆ กัน และใช้ glucose dialdehyde เป็น crosslinking agent แทนการใช้ glutaraldehyde ที่มีความเป็นพิษ จากการทดลองใช้ chitosan membrane ดังกล่าวในการศึกษาการอัตราการปลดปล่อยยาคือ วิตามินบี 2 พบว่า การซึมผ่านและการแพร่ของยาลดลงเมื่อ pH สูงขึ้น

2.5.4 ด้านสิ่งแวดล้อม

2.5.4.1 จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า ไคโตซานมีประสิทธิภาพในการใช้เป็นสารตกตะกอนชีวภาพ (bioflocculant) ในการบำบัดน้ำเสียจากอุตสาหกรรมอาหาร เช่น การนำเอาไคโตซานมาใช้เป็นสารตกตะกอนชีวภาพร่วมกับคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (carboxymethylcellulose, CMC) เพื่อแยกโปรตีนและไขมันออกจากน้ำเสียโดยเฉพาะอย่างยิ่งในโรงงานอุตสาหกรรมการผลิตนมที่มีประสิทธิภาพมาก นั่นคือนอกจากจะเป็นระบบการบำบัดด้วยสารจากธรรมชาติแล้วยังทำให้น้ำเสียสามารถนำไปบำบัดต่อได้ง่ายขึ้น ลดปริมาณการใช้สารเคมีเพื่อปรับ pH และ sludge ที่ตกตะกอนแยกออกมาก็ยังสามารถนำไปใช้เป็นสารเติมแต่งในอาหารได้

(<http://www.material.chula.ac.th/chitosan>)

2.5.4.2 สามารถปรับสภาพน้ำดื่ม น้ำในสระ น้ำในสถานอาบน้ำและน้ำทิ้งต่างๆ ซึ่งจะกำจัดสารอินทรีย์และโลหะหนัก เช่น ตะกั่ว ปรอท และสังกะสี เป็นต้น ปัจจุบันมีการณรงค์ให้ใช้สารที่สามารถย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ ที่เรารู้จักกันในนามของ “สารชีวภาพ” กันมากขึ้น โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อลดปัญหาสิ่งแวดล้อมที่กำลังเกิดขึ้น เช่นเดียวกับอุตสาหกรรมกระดาษที่พยายามจะค้นหาสารชีวภาพที่สามารถใช้ทดแทนสารสังเคราะห์ที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน

(<http://www.material.chula.ac.th/chitosan>)

2.5.4.2 แป้งแปรรูป เป็นสารเพิ่มความแข็งแรงของกระดาษที่ใช้กันมากในปัจจุบันซึ่งมีข้อดี คือ ราคาถูก หาง่าย และย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ อย่างไรก็ตาม แป้งเป็นแหล่งอาหารของจุลินทรีย์ หากมีการตกค้างในกระบวนการผลิตจะทำให้เกิดปัญหาการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ในสายการผลิต ซึ่งจะส่งผลต่อคุณภาพของกระดาษและหากหลุดออกมากับน้ำเสีย จะเป็นสาเหตุหนึ่งของการเพิ่มค่าความสกปรก (BOD) ของน้ำเสียในโรงงานได้ ดังนั้น นักวิจัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พยายามที่จะแก้ปัญหาดังกล่าว โดยการค้นหาสารชีวภาพตัวใหม่ เพื่อทดแทนสารเดิม ซึ่งไคโตซาน น่าจะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของอุตสาหกรรมกระดาษที่คาดว่าจะนำมาใช้ในอนาคต

(<http://www.material.chula.ac.th/chitosan>)

2.5.4.3 การใช้ไคโตซานในปริมาณ 0.25 - 1% สามารถเพิ่มความแข็งแรงของกระดาษได้ดี โดยเฉพาะสภาวะการผลิตที่เป็นกรดและกลาง นอกจากนี้อิทธิพลที่มีผลต่อการใช้ไคโตซานเป็นสารเพิ่มความแข็งแรงของกระดาษนั้น ได้แก่ ปริมาณการใช้และสภาวะการผลิต อย่างไรก็ตาม ไคโตซานมีสมบัติที่เด่นกว่าสารอื่นตรงที่ไคโตซานสามารถใช้ได้ทั้งในสภาวะที่เป็นกรด กลาง และด่าง

ตารางที่ 2.4 คุณสมบัติและลักษณะเด่นของไคโตซาน

สมบัติและหน้าที่	การประยุกต์ใช้และผลิตภัณฑ์ที่ได้นำไปใช้แล้ว
โพลีอิลคโตรไลต์และคีเลต (B)	<ol style="list-style-type: none"> ตัวรวมตะกอนและตัวคกตะกอน และ การทำหน้าที่แคทไออนิกสำหรับบำบัดน้ำเสีย ตัวคกตะกอนโปรตีนที่เป็นกรด และตัวคกตะกอนเพื่อแยกยูเรเนียม และ โลหะจำเพาะบางชนิด ตลอดจนโลหะกัมมันตภาพรังสี
การขึ้นรูปเป็นลักษณะต่างๆ (A, B)	<ol style="list-style-type: none"> ขึ้นรูปเป็นเส้นใยสังทอ ขึ้นรูปเป็นแผ่นเยื่อบาง เพื่อใช้ในการกรองแยก เช่น แยกน้ำออกจากแอลกอฮอล์ ขึ้นรูปเป็นเม็ดเป็นแคปซูลเพื่อการเพาะเซลล์
การเป็นเจลที่อุ้มน้ำ (B)	<ol style="list-style-type: none"> การใช้หุ้มเซลล์ และหุ้มเอนไซม์ หรือ ตรีงเอนไซม์ เป็นตัวกลางสำหรับการแยกด้วยวิธีโครมาโตกราฟีแบบเจล การขึ้นรูปเป็นรูพรุนแบบฟองน้ำ เซอโรเจล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.4 (ต่อ)

สมบัติและหน้าที่	การประยุกต์ใช้และผลิตภัณฑ์ที่นำไปใช้แล้ว
ส่งเสริมพวกจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ (A, B)	1. ช่วยในการปรับปรุงจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ เช่น 1.1 ในดินและในน้ำ 1.2 ในสัตว์และในลำไส้คน
สร้างภูมิคุ้มกันทานได้ (A, B, C)	1. เป็นตัวเหนียวนำไลโซไซม์ และ LPL activities ในเนื้อเยื่อและในเลือด 2.ต่อต้านสารก่อมะเร็ง
สมานแผล (A, B, C)	1. ใช้เป็นตัวรักษาแผล โดยเฉพาะไฟไหม้ และแผลที่ผิวหนังสำหรับคน สัตว์ และต้นไม้ (ทำผิวหนังเทียม) 2. รักษากระดูก เอ็น และข้อต่อของเอ็นยึดอวัยวะต่างๆ
ย่อยสลายได้ในธรรมชาติ (A, B, C)	1. ทำให้หมือบแผลที่ละลายได้ 2. สารปลดปล่อยยาอย่างช้าๆ 3. ควบคุมการย่อยสลายของเอ็นไซม์
ลดคอเลสเตอรอล (B)	1. ใช้เป็นอาหารเสริมสุขภาพ และใช้เติมแต่งในอาหาร สัตว์ 2. ลดความดันเลือด
ห้ามเลือดต่อต้านการเกิดลิ่มเลือด (C)	1. ทำยาห้ามเลือด 2. ใช้ทำเส้นเลือด ใช้ทำคอนแทกเลนซ์ตา
ใช้เป็นฟิล์มเคลือบผลไม้ (B)	1. ช่วยให้ผลไม้ และผักสดอยู่ยาวนาน

หมายเหตุ : * A B คือ ไคตินและไคโตซาน C คือ อนุพันธ์ของสารไคติน

** ที่ขีดเส้นใต้ คือ ผลิตภัณฑ์ที่ออกมาจำหน่ายแล้วในตลาด

ที่มา : www.geocities.com/mnvrk/chitin.html

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 การประยุกต์ใช้งานไคตินและไคโตซานในตลาดต่างประเทศ (Pranee และคณะ, 2002)

ในตลาดต่างประเทศมีการประยุกต์ใช้สารไคตินและไคโตซานในผลิตภัณฑ์หลายชนิด ได้แก่ การใช้เป็นสารช่วยในการตกตะกอนหรือใช้เป็น chelating agents เพื่อจับโลหะหนักในน้ำทิ้ง ตัวอย่างเช่น ผลิตภัณฑ์ ไคโตซานของบริษัท Vanson Halo Source (สหรัฐอเมริกา) ซึ่งมีอยู่หลายชนิด ได้แก่ ผลิตภัณฑ์ Klarify TM สำหรับบำบัดน้ำในอุตสาหกรรมต่างๆ และผลิตภัณฑ์ SEA-KLEAR ที่ใช้กับสระน้ำและสปา เป็นต้น ผลิตภัณฑ์ Filter สำหรับกรองน้ำดื่มที่ผลิตจาก 100% chitosan โดยบริษัท Biosep Technologies (ไต้หวัน)

ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่มีไคโตซานหรืออนุพันธ์ไคโตซานอยู่ในส่วนประกอบ ได้แก่ ผลิตภัณฑ์บำรุง ป้องกันและทำความสะอาดเส้นผมและผิวหนัง เช่น แชมพู ครีมนวดผม ครีมหาบหน้า ครีมแต่งผม โลชั่นบำรุงเส้นผม ตัวอย่างเช่น บริษัท Fran Wilson Creative Cosmetics ประเทศสหรัฐอเมริกา ผลิตภัณฑ์บำรุงผิว Retinol ที่มีส่วนผสมของวิตามิน A, E และไคโตซาน บริษัท Wella ใช้ไคโตซานในส่วนผสมของโฟมและโลชั่นแต่งผม บริษัทผู้ผลิตวัตถุขี้ไคโตซานสำหรับใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง ได้แก่ บริษัท Amerchol ในเครือของ Union Carbide Corporation บริษัท Cognis Care Chemicals (สหรัฐอเมริกา) และ บริษัท Vanson HaloSource (สหรัฐอเมริกา) เป็นต้น ผลิตภัณฑ์อาหารเสริมไคโตซานเพื่อควบคุมน้ำหนักในปัจจุบันมีผู้ผลิตเป็นจำนวนมาก ตัวอย่างเช่น บริษัท Meron Biopolymers (อินเดีย) บริษัท Kunpoong Bio (เกาหลีใต้) และบริษัท Vanson HaloSource (สหรัฐอเมริกา) เป็นต้น

บริษัท Fujibo ประเทศญี่ปุ่นได้ผลิตเส้นใยไคโตซานขึ้นภายใต้ชื่อ "Chitopoly" โดยเส้นใยดังกล่าวมีสมบัติพิเศษ คือ ให้สัมผัสนุ่ม ดูดซับความชื้นได้ดีกว่าผ้าฝ้าย และแสดงสมบัติในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ โดยใช้ในการผลิตถุงเท้ากีฬาและเสื้อผ้าสำหรับใช้ในโรงพยาบาล เสื้อผ้าสำหรับเด็ก ชุดเครื่องนอน ชุดชั้นใน ผ้าเช็ดตัว พรม ผ้าปิดแผล เป็นต้น บริษัท Shanghai Dragon Bioscience ประเทศจีน ได้พัฒนาการผลิตเส้นใยชนิดใหม่ที่ใช้ชื่อว่า Chitinee ซึ่งสามารถใช้ได้กับเส้นใยธรรมชาติและเส้นใยสังเคราะห์ โดยผิวเส้นใยจะถูกห่อหุ้มด้วยไคโตซานอย่างสม่ำเสมอด้วยพันธะที่แข็งแรง ในประเทศเกาหลีมีบริษัท Young Deok Chitosan และบริษัท Korea Chitosan เป็นผู้ผลิตเส้นใยไคโตซาน 100% บริษัท Hyosung Textile ประเทศเกาหลีใต้ ผลิตผลิตภัณฑ์สิ่งทอชื่อ Zibizoa โดยใช้ไคโตซานผสมร่วมกับเส้นใยขนาดเล็ก เพื่อให้มีสมบัติยับยั้งแบคทีเรียและกำจัดกลิ่นทางด้าน บริษัท Pozzie Electa Spa ประเทศอิตาลี ผลิตเส้นใย Crabyon ซึ่งได้จากการผสมไคโตซานเข้ากับวิสโคสเรยอน จึงทำให้เส้นใยมีสมบัติยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ย่อยสลายทางชีวภาพได้ เข้ากันได้ดีทางชีวภาพ ดูดซับความชื้นได้ดี ในขณะที่มีความคงทนต่อการซักและการขัดถู ตัวอย่างการใช้งานทางด้านวัสดุทางการแพทย์ ได้แก่ การผลิตแผ่นปิดแผลสำหรับรักษาบาดแผลต่างๆ เช่น แผลพุพอง แผลไฟไหม้ แผลถลอก บาดแผลสด ตัวอย่างเช่น ผลิตภัณฑ์ Tegisorb™ ที่ผลิตขึ้นโดยบริษัท 3M ผลิตภัณฑ์ Beschitin ของบริษัท UNITIKA (ญี่ปุ่น) ผลิตภัณฑ์ HemCon® Bandage ของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอก 67283 และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บริษัท Hemcon (สหรัฐอเมริกา) และผลิตภัณฑ์แผ่นปิดแผลของบริษัท Vanson Halo Source (สหรัฐอเมริกา) การใช้ในผลิตภัณฑ์ทางการแพทย์ ได้แก่ ผลิตภัณฑ์ Biofarm & Chitoland ของบริษัท Kunpoong Bio ประเทศเกาหลีใต้ มีการใช้ไคโตซานทั้งชนิด High molecular weight (MW 500,000 – 700,000) และ Low molecular weight (MW30,000 – 40,000) และ chitosan oligosaccharide (MW 200 - 2,000) ในผลิตภัณฑ์สำหรับแช่เมล็ดและฉีดพ่นพืชที่เพาะปลูกและมีการใช้ไคโตซานในผลิตภัณฑ์อาหารสัตว์ ภายใต้ชื่อ Biovita-P อีกด้วยตารางที่ 2.5 แสดงปริมาณการใช้ไคโตซานในตลาดโลกของปี พ.ศ. 2543 ซึ่งจะพบว่า ปริมาณการใช้โดยรวมอยู่ที่ 2,000 ตัน โดยพื้นที่ที่มีการใช้มากที่สุด คือ ประเทศในแถบเอเชีย และรองลงมา คือ ประเทศในแถบอเมริกาเหนือนอกจากนี้หากแยกตามประเภทตลาดการนำไปใช้แล้ว พบว่า ไคโตซานถูกนำมาใช้มากในตลาดประเภทอาหารเสริมและสารตกตะกอนในน้ำเสีย ตามลำดับ

ตารางที่ 2.5 ปริมาณการใช้ไคโตซานในปี 2543

ประเภทตลาด	ยุโรป	อเมริกาเหนือ	เอเชีย	อื่นๆ	รวมทั้งสิ้น
อาหารเสริม	500	125	250	125	1,000
สารตกตะกอนในน้ำเสีย	125	25	200	20	400
การถนอมอาหาร	0	0	125	25	150
chito-oligosaccharide	0	0	150	0	150
การเกษตร	25	0	75	25	125
เครื่องสำอาง	25	25	50	0	100
สิ่งทอ (อนามัย)	0	0	50	0	50
เยื่อและกระดาษ	25	0	25	0	50
อาหารสัตว์	10	0	25	10	45
สิ่งประดิษฐ์เพื่อใช้ทางการแพทย์	1	1	1	0	3
รวมทั้งสิ้น (ตัน)	711	176	951	235	2073

ที่มา : <http://www.material.chula.ac.th/chitosan>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7 แป้งมันสำปะหลัง

2.7.1 โครงสร้างของแป้งมันสำปะหลัง

เมล็ดแป้งมันสำปะหลังมีลักษณะคล้ายรูปถ้วย (Spalding, 1979) มีความยาวเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 ถึง 35 ไมครอน เส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยโดยจำนวน (Number average diameter) เท่ากับ 20 ไมครอน (Swinkles, 1983) เมื่อตรวจดูเมล็ดแป้งด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง โพลาริไชน์จะเห็นลักษณะกากบาทสีดำ เรียกว่า Birefringence

ภายในเมล็ดแป้งประกอบด้วยอะไมโลสและอะไมโลเพกติน ซึ่งมีการเรียงตัวต่างกัน แบ่งได้เป็น 2 แบบ แบบแรกสายโพลีเมอร์ของอะไมโลสเรียงตัวขนานกันอย่างเป็นระเบียบ มีอะไมโลสบางส่วนเรียงขนานกับส่วนที่เป็นสายตรงส่วนนอกของอะไมโลเพกติน และยึดติดกันด้วยพันธะไฮโดรเจน ทำให้โมเลกุลบริเวณนั้นจับตัวกันอย่างหนาแน่นและมีแรงยึดเหนี่ยวสูง บริเวณนี้เรียกว่า Crystalline regions หรือ Micelles เป็นส่วนสำคัญที่ทำให้เกิดลักษณะ Birefringence ของเมล็ดแป้งซึ่งเป็นบริเวณที่มีความสามารถในการดูดน้ำและพองตัวต่ำมาก ส่วนแบบที่สองโมเลกุลเรียงตัวอย่างไม่เป็นระเบียบ แรงดึงดูดระหว่างสายโพลีเมอร์ของอะไมโลสและอะไมโลเพกตินต่ำกว่าแบบแรก บริเวณที่มีการจัดเรียงตัวแบบนี้เรียกว่า Amorphous regions เป็นส่วนที่ดูดน้ำได้ดีและพองตัวได้ง่าย (Spalding, 1979)

2.7.2 องค์ประกอบของแป้งมันสำปะหลัง

แป้งมันสำปะหลังมีไขมันต่ำกว่าแป้งจากธัญพืชทั่วไป ส่วนองค์ประกอบอื่นนั้นมีปริมาณใกล้เคียงกับแป้งชนิดอื่น องค์ประกอบของแป้งมันสำปะหลังโดยทั่วไปแสดงในตาราง

ตารางที่ 2.6 องค์ประกอบทางเคมีของแป้งมันสำปะหลัง โดยทั่วไป

องค์ประกอบ	ปริมาณ (%)
ความชื้น	13.0
แป้ง	87.0
ไขมัน	0.1
โปรตีน	0.1
เถ้า	0.2
ฟอสฟอรัส	0.01
สารที่ให้กลิ่นรส	(ต่ำมาก)

ที่มา : Swinkles (1983)

2.8 การผลิตแผ่นฟิล์มไคโตซาน

แผ่นฟิล์มไคโตซานเตรียมได้โดยละลายในสารละลายกรด ไม่ละลายน้ำ ณ pH ที่เป็นกลาง โดยทั่วไปจะใช้กรดแอซิดิกเป็นตัวทำละลายเนื่องจากเป็นกรดอินทรีย์ที่ได้จากธรรมชาติ และเกิดปฏิกิริยาไม่รุนแรงเมื่อเทียบกับกรดอนินทรีย์ชนิดอื่นๆ (Huey-Minkam, 1999) บรรจุลงในแม่พิมพ์ จากนั้นอบให้แห้งที่ความร้อนไม่เกิน 70 องศาเซลเซียสหรือทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้องจนได้แผ่นฟิล์มไคโตซานในการนำไปใช้ Cancer และคณะ (1998) ล้างแผ่นฟิล์มด้วยสารละลายต่างหรือโซเดียมไฮดรอกไซด์ แผ่นฟิล์มที่ได้มีคุณสมบัติที่ย่อยสลายได้ สามารถเกิดเป็นเจลและขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มได้ จึงนำมาประยุกต์ใช้อย่างกว้างขวางในชีวิตประจำวัน เช่น ใช้ในกระบวนการห่อหุ้มด้วยแคปซูล (Encapsulation) ในการขนส่งยา (Yin และคณะ, 1999)

ลักษณะทางกายภาพของแผ่นฟิล์มไคโตซานจะทนต่อแรงดึง มีความทนทานและยืดหยุ่นได้ ป้องกันบาดแผลจากจุลินทรีย์โดยจุลินทรีย์จะไม่สามารถเจริญบนแผ่นฟิล์มและทำลายแผ่นฟิล์มได้ ยอมให้ออน้ำระเหยผ่านเข้าออกได้ แต่จะไม่กักเก็บน้ำไว้ซึ่งจะมีผลต่อการแห้งของบาดแผล มีรายงานว่าแผ่นฟิล์มไคโตซานยอมให้ก๊าซออกซิเจนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ผ่านได้น้อย โดยใช้สารละลายกรดฟอร์มิกเป็นตัวทำละลาย (Hosokawa และคณะ, 1990)

ไคโตซานเหมาะสมสำหรับการใช้เป็นพลาสติกปิดแผล เนื่องจากมีคุณสมบัติทำให้เซลล์ของสัตว์เลื้อยคลานด้วยนมมีการเกาะติดกัน พบว่าในการผลิตแผ่นฟิล์มโดยเติมสารบางอย่างลงไป เช่น กลีเซอรอล ทำให้เกิดแผ่นฟิล์มเร็วขึ้น การเติมกลีเซอรอลซึ่งทำหน้าที่เป็น plasticizer นั้นจะเป็นตัวป้องกันการเสื่อมสภาพของแผ่นฟิล์มไคโตซาน (Butler และคณะ, 1996)

การละลายไคโตซานในสารละลายกรดแอซิดิก แลคติก ฟอร์มิก และโพรไพโอนิกความเข้มข้น 1% ทำให้ได้ค่าความยืด ณ จุดขาด (Elongation at break) อยู่ในช่วงระหว่าง 13.68-51.56 % และมีค่าต้านทานแรงดึงอยู่ในช่วง 18.56-22.67 % นอกจากนี้ได้มีการศึกษาเกี่ยวกับระยะเวลาในการเก็บรักษาแผ่นฟิล์ม พบว่าภายหลัง 3 สัปดาห์ลักษณะทางกายภาพของแผ่นฟิล์มไคโตซาน ได้แก่ อัตราการระเหยน้ำ การผ่านเข้าออกของออกซิเจน ค่าความยืด ณ จุดขาด และค่าการต้านแรงดึงมีอัตราลดลง (Cancer และคณะ, 1998)

ไคโตซานที่ผลิตในทางการค้าจะมี % Deacetylation และมวลโมเลกุลที่แตกต่างกัน ซึ่งจะมีผลต่อการนำไปประยุกต์ใช้ในด้านต่างๆ (Muzzarelli, 1977) มีการใช้แป้งผสมลงในแผ่นฟิล์มไคโตซานเพื่อทดแทนการใส่สาร plastic polymer ซึ่งเป็นการลดต้นทุน แต่พบว่าจะมีผลต่อการละลายน้ำและทำให้เปราะ (Wu และ Zhang, 2001) นอกจากนี้มีการนำแป้งมาผสมกับโปรตีนชนิดต่างๆ และใส่ลงในไคโตซานเพื่อลดอัตราการระเหยของน้ำออกจากแผ่นฟิล์ม (Jagannath และคณะ, 2003)

Xu และคณะ (2005) ทำการทดลองผสมแป้งข้าวโพดกับไคโตซานที่ละลายในกรดแลคติก ในอัตราส่วนต่างๆ และผสมกลีเซอรอล 25% w/w เพื่อทำเป็นแผ่นฟิล์ม พบว่าถ้าผสมแป้งข้าวโพด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และไคโตซานในอัตราส่วน1:1 จะทำให้ได้ค่าการต้านแรงดึงสูงสุด 33.69 MPa และเมื่อเพิ่มอัตราส่วนเป็น 2:1 จะได้ค่าที่ลดลง เนื่องจากในสภาวะที่ทำให้เกิดการรวมตัวกันของพันธะไฮโดรเจนระหว่างหมู่แอมโมเนียมของไคโตซานกับหมู่ไฮดรอกซิลของแป้ง จะเกิดขึ้นโดยหมู่แอมโมเนียมของไคโตซานถูก protonate โดยกรด ในขณะที่โครงสร้างผลึกของแป้งจะถูกทำลายกลายเป็นเจลาตินโดยกระบวนการ gelatinization ทำให้หมู่ไฮดรอกซิลของแป้งพร้อมที่จะเกิดพันธะไฮโดรเจนกับหมู่แอมโมเนียมของไคโตซาน ซึ่งหมู่ไฮดรอกซิลจะเพิ่มขึ้นเมื่อมีการเพิ่มอัตราส่วนของแป้งต่อไคโตซานโดยอาจมีผลต่อการลดค่าการต้านแรงดึงเนื่องจากมีหมู่แอมโมเนียมไม่เพียงพอต่อการเกิดพันธะไฮโดรเจน ทำให้เกิดการแยกชั้นระหว่างแป้งและไคโตซาน



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ใช้ในการทดลอง

3.1.1 อุปกรณ์

1. Magnetic stirrer
2. Magnetic bar
3. Beaker
4. Volumetric flask
5. Plate
6. แท่งแก้วคน
7. ปิเปต
8. จุกยาง
9. อะลูมิเนียม ฟอยล์
10. แผ่นพลาสติก
11. ถาดสแตนเลส
12. ผ้าขาวบาง
13. เครื่องปั่น
14. กระจกตวง
15. ตะแกรงร่อนแป้ง
16. ถังวัด (Cuvett) ชนิด S-10M ของบริษัท Sigma, USA.
17. ถาด 24 well plate
18. แผ่นตาปลา (disc) ของบริษัท Whatman, England
19. ตู้ถ่ายเชื้อ (Laminar air flow) รุ่น UV-126 ของบริษัท International Scientific, Supply, Thailand
20. ตู้บ่มเชื้อ 30 องศาเซลเซียส (Incubator) ของบริษัท
21. ตู้อบฆ่าเชื้อลมร้อน (Hot air oven) รุ่น ULE 600 ของบริษัท Memmert , Germany
22. เครื่องชั่งหยาบทศนิยม 2 ตำแหน่ง รุ่น BA 610 ของบริษัท Sartorius, Germany
23. เครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 3 ตำแหน่ง ของบริษัท Sartorius, Germany

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

24. เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) รุ่น UV-1601 ของบริษัท Shimadzu, Japan
25. เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง รุ่น Innolab level 2 ของบริษัท WTW, Germany
26. หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave) รุ่น SS325 ของบริษัท Tommy, Japan
27. เครื่อง Texture analyzer รุ่น TA Plus : Nexygen Batch Document Program ของบริษัท Lloyo, Japan
28. เครื่องวัดความหนา (Micrometer) ของบริษัท Mitutoyo, Japan

3.1.2 สารเคมี

1. กรดอะซิติก (Acetic acid glacial) ของบริษัท Merck, Germany
2. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide) ของบริษัท Merck, Germany
3. ไคโตซานอบแห้ง (Chitosan) 85% deacetylation ของบริษัท สยามไบโอเน็ท
4. แป้งมันสำปะหลังตรามังกรเหียบโลก ของบริษัท อี.ที.ซี. เอียบคงจัน จำกัด
5. เมทานอล (Methanol) ของบริษัท Carlo, USA.
6. โพแทสเซียมโซเดียมทาร์เตรต (Potassium sodium tartrate) ของบริษัท Merck, Germany
7. ฟีนอล (Phenol) ของบริษัท Merck, Germany
8. โซเดียมซัลไฟต์ (Sodium sulphite) ของบริษัท Merck, Germany
9. ไดไนโตรซาลิไซลิกแอซิด (3,5-Dinitrosalicylic acid) ของบริษัท Sigma, USA.
10. เอนไซม์ไลโซไซม์ ของบริษัท Fluka biochemical, Germany
11. โพแทสเซียมคลอไรด์ (Potassium chloride) ของบริษัท Carlo, USA.
12. โพแทสเซียมฟอสเฟตโมโนเบสิก (Potassium phosphate monobasic) ของบริษัท Merck, Germany
13. โซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride) ของบริษัท Merck, Germany
14. โซเดียมฟอสเฟตไดเบสิก (Sodium phosphate dibasic) ของบริษัท Merck, Germany
15. เบตา-ดี กลูโคซามีน (β ,D-glucosamine) ของบริษัท Sigma, USA.

3.2 จุลินทรีย์

3.2.1 *Bacillus subtilis*

3.2.2 *Pseudomonas fluorescense*

3.2.3 *Escherichia coli*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.4 *Micrococcus luteus*

3.2.5 *Serratia marcescens*

3.2.6 *Staphylococcus aureus*

3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. อาหารแข็ง NA (ภาคผนวก ก)
2. อาหารดัดแปลง M-9 ที่เติมแหล่งไนโตรเจน 2 สูตร (ภาคผนวก ก)
3. อาหาร RPMI (ภาคผนวก ค)

3.4 ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย

3.4.1 การเตรียมแผ่นฟิล์มโคโคซาน

เตรียมสารละลายโคโคซาน 2 % โดยนำผงโคโคซานที่ป่นละเอียดและชั่งจนได้น้ำหนัก 2 กรัม จากนั้นนำผงโคโคซานละลายในสารละลายกรดอะซิติกเข้มข้น 1% ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยให้ความร้อนใช้ Magnetic stirrer คนจนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน เตรียมสารละลายแป้งมันสำปะหลังโดยชั่งแป้งมันตามอัตราส่วนต่างๆ ละลายในน้ำกลั่นจำนวนหนึ่งแล้วนำไปผสมในน้ำกลั่นเดือดให้ได้ปริมาณตามที่คำนวณไว้ คนสารละลายให้เข้ากันจนได้สารละลายที่มีลักษณะคล้ายแป้งเปียก ผสมกับสารละลายโคโคซานและแป้งมันสำปะหลังตามอัตราส่วนดังนี้ 90 : 10 80 : 20 และ 70 : 30 ซึ่งแต่ละอัตราส่วนจะใช้สารละลายแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 3% 5 % และ 7 % ผสมให้เข้ากันโดยใช้ความร้อน เมื่อละลายเป็นเนื้อกันดีแล้ว นำไปกรองด้วยผ้าขาวบางเพื่อแยกส่วนที่ไม่ละลายออก เก็บสารละลายที่กรองแล้วไว้ในภาชนะแล้วปิดด้วยกระดาษฟรอยด์ จากนั้นแช่ในตู้เย็นเพื่อรอให้ฟองอากาศหมดไป

นำสารละลายโคโคซานผสมแป้งมันสำปะหลังที่ได้ปริมาณ 25 มิลลิลิตรเทลงในแม่พิมพ์ ซึ่งในการทดลองนี้ใช้งานเพาะเชื้อพลาสติกที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8.5 เซนติเมตรเป็นแม่พิมพ์ ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง หรือจนแผ่นฟิล์มแห้ง ลอกสารละลายโคโคซานผสมแป้งออกจากแม่พิมพ์ นำแผ่นฟิล์มที่ได้มาแช่ในสารละลาย 0.5 % NaOH จากนั้นล้างแผ่นฟิล์มด้วยน้ำกลั่นหลาย ๆ ครั้งจนพีเอชเป็นกลาง แล้วนำแผ่นฟิล์มที่ได้เก็บไว้ในเคซิเคเตอร์ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 50 % นำแผ่นฟิล์มที่ได้ไปทดสอบคุณสมบัติเชิงกลต่างๆ ได้แก่ ความหนาของแผ่นฟิล์ม วิเคราะห์ค่าการต้านแรงดึง (Tensile strength) และค่าความยืดหยุ่น ณ จุดขาด (Elongation at break) แล้วทำการคัดเลือกแผ่นฟิล์มที่มีคุณสมบัติดีที่สุดมาศึกษาในขั้นตอนต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.2 การวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์ความชื้นและการพองตัวของแผ่นฟิล์ม

หลังจากการคัดเลือกแผ่นฟิล์มที่มีคุณสมบัติดีที่สุด นำแผ่นฟิล์มที่ได้มาคำนวณหาปริมาณความชื้น (ภาคผนวก จ) จากนั้นทำการทดสอบการพองตัวของแผ่นฟิล์ม (ภาคผนวก ฉ) โดยตัดแผ่นฟิล์มไคโตซานสูตรที่เลือกไว้ให้มีขนาด 1x1 เซนติเมตรก่อนนำไปแช่ในโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.5% ล้างในน้ำกลั่นจนเป็นกลาง ชับด้วยกระดาษกรองเพื่อให้แผ่นไม่เปียกชุ่มจนเกินไปและทำอย่างรวดเร็วเพื่อไม่ให้แผ่นฟิล์มแห้ง ชั่งน้ำหนักแผ่นฟิล์มที่ได้ จากนั้นนำมาทำการฆ่าเชื้อโดยแช่ลงในแอลกอฮอล์ 75% เป็นเวลา 5 วินาที นำขึ้นมาซับให้แห้งบนกระดาษกรองแล้วใส่ลงในถาด 24 well plate ทำการแช่แผ่นฟิล์มลงในสาร 3 ชนิดๆ ละ 1 มิลลิลิตร โดยชุดแรกแช่ลงในอาหาร RPMI ชุดที่สองแช่ลงในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ และชุดที่สามแช่ในน้ำกลั่น ชุดละ 3 ซ้ำ บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์หาปริมาณที่เพิ่มขึ้นตามช่วงเวลาดังนี้ 30 นาที 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 24 48 และ 72 ชั่วโมง เมื่อได้เวลาที่กำหนดคืบแผ่นฟิล์มขึ้นมาซับด้วยกระดาษกรอง บันทึกผลและคำนวณหาการพองตัวของแผ่นฟิล์ม (Swelling Ratio)

3.4.3 ทดสอบการย่อยสลายโดยใช้เอนไซม์ไลโซไซม์

เลือกแผ่นฟิล์มที่มีคุณสมบัติดีที่สุดซึ่งผ่านการคัดเลือกจากการทดสอบข้างต้น นำแผ่นฟิล์มไคโตซานมาตัดให้มีขนาด 1x5 เซนติเมตร ทำการฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นใส่ลงในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.0 (ภาคผนวก ข) ที่มีเอนไซม์ไลโซไซม์ 1000 U/ml ในหลอดทดลอง บ่มเป็นเวลา 5 วัน และเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ปริมาณกลูโคซามีนที่เกิดขึ้นจากการย่อยโดยการตรวจหาน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นด้วยวิธี DNS (ภาคผนวก ซ) เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเอนไซม์ไลโซไซม์

3.4.4 ทดสอบการย่อยสลายโดยแบคทีเรีย

แบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ ได้แก่ *Bacillus subtilis* *Pseudomonas fluorescense* *Escherichia coli* *Micrococcus luteus* *Serratia marcescens* และ *Staphylococcus aureus* เลี้ยงเชื้อในอาหารแข็ง NA บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เตรียมสารละลายเชื้อให้มีค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.2 เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการทดสอบ นำแผ่นฟิล์มไคโตซานมาตัดให้มีขนาด 1x5 เซนติเมตร แล้วนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นใส่ลงในอาหารดัดแปลง M-9 ทั้ง 2 สูตร ที่เติมไคโตซานเป็นแหล่งคาร์บอน 0.5 % จากนั้นเติมสารละลายแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบลงในอาหารหลอดละ 0.1 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน ตรวจสอบการย่อยของแผ่นฟิล์มไคโตซาน โดยเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ทำการทดลองเหมือนข้างต้นแต่ไม่มีการเติมสารละลายเชื้อ

3.4.5 ทดสอบการผ่านของแบคทีเรีย

นำแผ่นฟิล์มไคโดซานที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8.5 เซนติเมตร วางบนอาหารแข็ง NA หยดสารละลายแบคทีเรียชนิดเดียวกับข้อ 3.4.4 จำนวน 100 ไมโครลิตรลงบนแผ่นตาปลาที่วางบริเวณจุดกึ่งกลางของแผ่นฟิล์ม บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน ถ้าแบคทีเรียสามารถผ่านแผ่นฟิล์มไคโดซาน จะพบว่าแบคทีเรียเจริญในอาหารวุ้นบริเวณข้างใต้แผ่นฟิล์มนั้น ตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นด้วยตาเปล่าและทำการเขี่ยเชื้อบริเวณใต้แผ่นฟิล์มนั้นแล้ว streak ลงบนอาหารแข็ง NA บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจสอบโดยทำการย้อมสีแบคทีเรียและส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์

3.5 การวิเคราะห์

3.5.1 วิเคราะห์ค่าการต้านแรงดึง (Tensile strength) (ภาคผนวก ง)

3.5.2 วิเคราะห์ค่าความยืด ณ จุดขาด (Elongation at break) (ภาคผนวก ง)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

4.1 การเตรียมแผ่นฟิล์มโคโตะซาน

4.1.1 ลักษณะของแผ่นฟิล์มที่ได้

ลักษณะของแผ่นฟิล์มโคโตะซานที่เตรียมขึ้นมีความแตกต่างกันเพียงเล็กน้อย กล่าวคือ แผ่นโคโตะซานที่เตรียมจากอัตราส่วนของโคโตะซานต่อแป้งมันสำปะหลังเท่ากับ 70:30 โดยมีความเข้มข้นของแป้งมันสำปะหลังเท่ากับ 3% 5% และ 7% มีลักษณะยืดหยุ่นได้ โปร่งใส สีเหลืองอ่อน โดยเฉพาะแผ่นฟิล์มที่ได้จากโคโตะซานผสมแป้งมัน 7% ก่อนข้างขุ่นกว่าอัตราส่วนอื่น แผ่นฟิล์มสามารถหลุดออกจากแม่พิมพ์เมื่อแห้งได้

แผ่นโคโตะซานที่เตรียมจากอัตราส่วนของโคโตะซานต่อแป้งมันสำปะหลังเท่ากับ 80:20 โดยมีความเข้มข้นของแป้งมันสำปะหลังเท่ากับ 3% 5% และ 7% มีลักษณะยืดหยุ่นได้ โปร่งใส สีเหลืองอ่อน ก่อนข้างขุ่นน้อยกว่าอัตราส่วนแรก แผ่นฟิล์มสามารถหลุดออกจากแม่พิมพ์เมื่อแห้งได้

แผ่นโคโตะซานที่เตรียมจากอัตราส่วนของโคโตะซานต่อแป้งมันสำปะหลังเท่ากับ 90:10 โดยมีความเข้มข้นของแป้งมันสำปะหลังเท่ากับ 3% 5% และ 7% มีลักษณะยืดหยุ่นได้ โปร่งใส สีเหลืองอ่อนแต่ก่อนข้างขุ่นกว่าและมีความขุ่นน้อยกว่าอัตราส่วนทั้งสองข้างต้น แผ่นฟิล์มสามารถหลุดออกจากแม่พิมพ์เมื่อแห้งได้

4.1.2 ความหนาของแผ่นฟิล์ม

ผลของการศึกษาความหนาจากแผ่นฟิล์มโคโตะซานที่ผสมแป้งมันสำปะหลังในอัตราส่วนต่างๆ จากการทดสอบละลายที่ได้ลงในแม่พิมพ์เพื่อขึ้นรูปปริมาตร 25 มิลลิลิตร โดยใช้เครื่องมือวัดความหนา (Micrometer) จากนั้นทำการหาค่าเฉลี่ยจากตัวอย่างแผ่นฟิล์มเป็นจำนวน 3 ตัวอย่าง พบว่าเมื่อเพิ่มอัตราส่วนของแป้งมันสำปะหลังมีแนวโน้มทำให้ความหนาของแผ่นฟิล์มเพิ่มขึ้น ขณะเดียวกันเมื่อลดอัตราส่วนของแป้งมันสำปะหลังส่งผลให้ความหนาของแผ่นฟิล์มมีแนวโน้มลดลง นอกจากนี้เมื่อเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของสารละลายแป้งเพิ่มขึ้นในทุกอัตราส่วน ส่งผลให้ความหนาของแผ่นฟิล์มเพิ่มขึ้น โดยอัตราส่วนของโคโตะซานต่อแป้งมันสำปะหลังเท่ากับ 70:30 ที่เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของสารละลายแป้งเท่ากับ 7% แผ่นฟิล์มที่ได้มีความหนามากที่สุดเท่ากับ 21.97 ไมโครเมตร และอัตราส่วนของโคโตะซานต่อแป้งมันสำปะหลังเท่ากับ 80:20 โดยมีเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของสารละลายแป้ง 7% มีค่าความหนาน้อยที่สุดเท่ากับ 16.47 ไมโครเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 ความหนาของแผ่นฟิล์มไคโตซานผสมแป้งมันสำปะหลัง

แป้งมันสำปะหลัง	อัตราส่วนของไคโตซานต่อ แป้งมันสำปะหลัง	ความหนาของแผ่นฟิล์ม (ไมโครเมตร)
3%	70:30	17.60
	80:20	16.47
	90:10	16.60
5%	70:30	18.00
	80:20	17.77
	90:10	17.33
7%	70:30	21.97
	80:20	20.37
	90:10	17.83

4.1.3 การวิเคราะห์ค่าการต้านแรงดึงและค่าความยืด ณ จุดขาด

การศึกษาคุณสมบัติเชิงกลของแผ่นฟิล์มสามารถคำนวณได้จากค่าการต้านแรงดึง โดยใช้เครื่อง Texture analyzer ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความแข็งแรงและความยืดหยุ่นของแผ่นฟิล์มที่นำมาวิเคราะห์ แผ่นฟิล์มที่มีคุณสมบัติเหมาะสมสำหรับปิดแผลควรจะมี ความแข็งแรง ทนทาน และยืดหยุ่นสูง ผลของการศึกษาคุณสมบัติของแผ่นฟิล์มไคโตซานผสมแป้งมันสำปะหลังในอัตราส่วนต่างๆ ได้แก่ 70:30 80:20 และ 90:10 ซึ่งแต่ละอัตราส่วนมีเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของสารละลายแป้งมันสำปะหลังเท่ากับ 3% 5% และ 7% ผลที่ได้ในตารางที่ 4.2 แสดงค่าเฉลี่ยการต้านแรงดึงและค่าความยืด ณ จุดขาดที่ทำการทดลองเป็นจำนวน 3 ตัวอย่าง เห็นได้ว่าถ้าเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของสารละลายแป้งเพิ่มขึ้นจาก 3% เป็น 5% ค่าการต้านแรงดึงจะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นและมีค่ามากที่สุดในแต่ละอัตราส่วนแต่ละจุดลงเมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 7% เมื่ออัตราส่วนของแป้งลดลงค่าการต้านแรงดึงมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเช่นกันในทุกเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของสารละลายแป้ง พบว่าอัตราส่วนไคโตซานต่อแป้งมันสำปะหลัง 90:10 ที่เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของสารละลายแป้ง 5% มีค่าการต้านแรงดึงสูงสุดเท่ากับ 48.087 MPa และมีค่าความยืด ณ จุดขาดเท่ากับ 84.8272% โดยอัตราส่วนไคโตซานต่อแป้งมันสำปะหลัง 70:30 ที่เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของสารละลายแป้ง 3% มีค่าการต้านแรงดึงต่ำที่สุดเท่ากับ 20.4303 MPa และมีค่าความยืด ณ จุดขาดเท่ากับ 42.0286% ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Xu และคณะ (2005) ทำการทดลองผลิตแผ่นฟิล์มไคโตซานผสมแป้งข้าวโพดและมีการศึกษาคุณสมบัติเชิงกลของแผ่นฟิล์มจากค่าการต้านแรงดึง พบว่าถ้าทำการผสมแป้งข้าวโพดและไคโตซานในอัตราส่วน 1:1 จะทำให้ได้ค่าการต้านแรงดึงสูงสุด 33.69

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

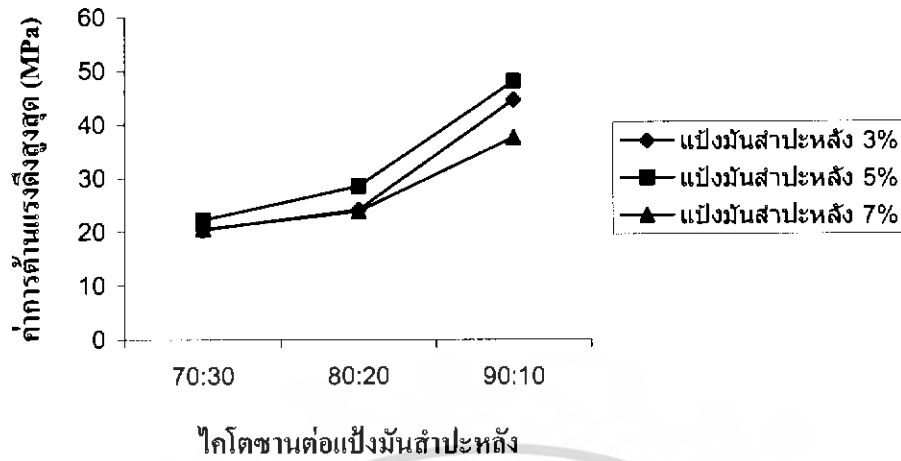
MPa โดยมีค่าความยืด ณ จุดขาดเท่ากับ 61.1% และเมื่อเพิ่มอัตราส่วนเป็น 2:1 ค่าการต้านแรงดึงที่ได้ลดลง เนื่องจากในสภาวะที่ทำให้เกิดการรวมตัวกันของพันธะไฮโดรเจนระหว่างหมู่แอมโมเนียมของไคโตซานกับหมู่ไฮดรอกซิลของแป้งนั้นเกิดจากหมู่แอมโมเนียมของไคโตซานถูก protonate โดยกรด ในขณะที่โครงร่างผลึกของแป้งจะถูกทำลายกลายเป็นเจลาตินโดยกระบวนการเจลาติไนเซชัน (gelatinization) ทำให้หมู่ไฮดรอกซิลของแป้งพร้อมที่จะเกิดพันธะไฮโดรเจนกับหมู่แอมโมเนียมของไคโตซาน ซึ่งหมู่ไฮดรอกซิลจะเพิ่มขึ้นเมื่อมีการเพิ่มอัตราส่วนของแป้งต่อไคโตซาน โดยอาจมีผลต่อการลดค่าการต้านแรงดึงเนื่องจากมีหมู่แอมโมเนียมไม่เพียงพอต่อการเกิดพันธะไฮโดรเจน ทำให้เกิดการแยกชั้นระหว่างแป้งและไคโตซาน นอกจากนี้ชนิดของแป้งที่นำมาใช้ส่งผลต่อค่าการต้านแรงดึงของแผ่นฟิล์มที่เกิดขึ้นด้วย

ดังนั้นอัตราส่วนไคโตซานต่อแป้งมันสำปะหลัง 90:10 โดยมีเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของสารละลายแป้งเท่ากับ 5% เป็นสูตรผลิตแผ่นฟิล์มที่เหมาะสมในการนำไปใช้มากที่สุด เพราะมีค่าการต้านแรงดึงสูงสุดเท่ากับ 48.0870 MPa และมีค่าความยืด ณ จุดขาดเท่ากับ 84.8272% นั่นคือมีการยืดหยุ่นสูง ทนต่อแรงดึงได้มาก จากผลการทดลองข้างต้นแสดงให้เห็นว่าการเพิ่มปริมาณแป้งมันสำปะหลังทำให้ค่าการต้านแรงดึงเพิ่มขึ้น แต่ถ้าเพิ่มปริมาณแป้งมันสำปะหลังมากเกินไปจะส่งผลให้ค่าการต้านแรงดึงลดต่ำลงเช่นกัน

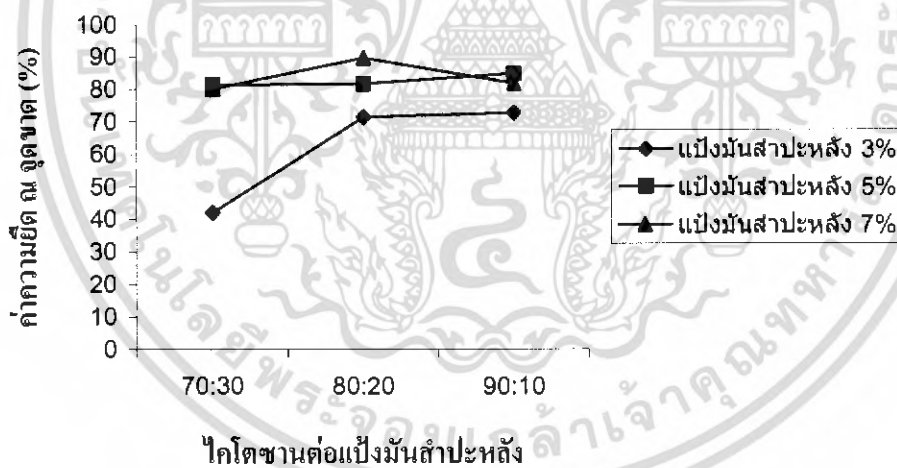
ตารางที่ 4.2 ค่าการต้านแรงดึงสูงสุดและค่าความยืด ณ จุดขาดของแผ่นฟิล์มไคโตซานผสมแป้งในอัตราส่วนต่างๆ

แป้งมันสำปะหลัง	อัตราส่วนของไคโตซานต่อแป้งมันสำปะหลัง	ค่าการต้านแรงดึงสูงสุด (MPa)	ค่าความยืด ณ จุดขาด (%)
3%	70:30	20.4303	42.0286
	80:20	24.1979	71.4518
	90:10	44.6220	72.6824
5%	70:30	22.2509	81.3168
	80:20	28.5589	81.6556
	90:10	48.0870	84.8272
7%	70:30	20.5658	80.1226
	80:20	23.8529	89.7227
	90:10	37.6366	81.7935

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.1 กราฟแสดงอัตราส่วนโคโตซานต่อเป้งมันสำปะหลัง และความเข้มข้นของเป้งมันสำปะหลังที่มีผลต่อค่าการต้านแรงดึงสูงสุด



รูปที่ 4.2 กราฟแสดงอัตราส่วนโคโตซานต่อเป้งมันสำปะหลัง และความเข้มข้นของเป้งมันสำปะหลังที่มีผลต่อค่าความยืดหยุ่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์ความชื้นและการพองตัวของแผ่นฟิล์ม

การคัดเลือกแผ่นฟิล์มที่มีคุณสมบัติที่ดีที่สุด พบว่าแผ่นฟิล์มไคโตซานที่คัดเลือกมีเปอร์เซ็นต์ความชื้นเท่ากับ 79.81 % หลังจากนั้นนำมาศึกษาคุณสมบัติการดูดน้ำและการพองตัวของแผ่นฟิล์มไคโตซานที่อยู่ในลักษณะแผ่นฟิล์มเปียก ดังแสดงในตารางที่ 4.3 เมื่อทำการแช่แผ่นฟิล์มลงในสาร 3 ชนิด ได้แก่ น้ำ สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ และ อาหาร RPMI ซึ่งเป็นสภาวะจำลองเพื่อทดสอบการนำไปได้ใช้จริงในด้านเซลล์สัตว์สำหรับการพัฒนาในลำดับต่อไป พบว่า ในช่วงแรกของการทดลอง การพองตัวของแผ่นฟิล์มไม่มีความแตกต่างกัน จนเมื่อเวลาผ่านไปในช่วงเวลาที่ 2 ค่าการพองตัวของแผ่นฟิล์มในอาหาร RPMI เริ่มสูงขึ้นและอิมตัวโดยมีค่าการพองตัวของแผ่นฟิล์มเท่ากับ 26.90 % และเมื่อเวลาผ่านไปในช่วงเวลาที่ 3 ค่าการพองตัวเริ่มลดลงและกลับมาพองตัวอีกครั้งในช่วงเวลาที่ 9 ซึ่งมีค่าการพองตัวสูงสุดเท่ากับ 26.97% หลังจากนั้นค่าการพองตัวในช่วงเวลาที่ 10 ถึงช่วงเวลาที่ 24 มีการพองตัวเพิ่มขึ้นไม่มากนักและลดลงอีกครั้งในช่วงเวลาที่ 48 และสูงขึ้นเพียงเล็กน้อยในช่วงเวลาที่ 72 (รูปที่ 4.5) ค่าการพองตัวที่ได้อยู่ระหว่าง 17.63-26.97%

สำหรับการพองตัวของแผ่นฟิล์มในน้ำกลั่น พบว่าค่าการพองตัวของแผ่นฟิล์มสูงเกิดในช่วงเวลาที่ 3 เท่ากับ 26.88% และเริ่มคงตัวในช่วงเวลาที่ 4 หลังจากนั้นในช่วงเวลาที่ 5 เป็นต้นมา การพองตัวเริ่มลดลงและกลับมาพองตัวอีกครั้งในช่วงเวลาที่ 48 และ 72 (รูปที่ 4.3) และสูงสุดในช่วงเวลาที่ 48 เท่ากับ 27.46% ค่าการพองตัวที่ได้อยู่ระหว่าง 16.44-27.46%

สำหรับในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ แผ่นฟิล์มมีแนวโน้มในการพองตัวเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จนถึงช่วงเวลาที่ 9 มีค่าการพองตัวสูงสุดเท่ากับ 31.39% หลังจากนั้นการพองตัวมีค่าลดลงและเพิ่มขึ้นเป็น 27.05% ในช่วงเวลาที่ 72 (รูปที่ 5) ค่าการพองตัวที่ได้อยู่ระหว่าง 18.86-31.39%

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าแผ่นฟิล์มที่ได้มีความสามารถพองตัวในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์มากกว่าน้ำกลั่นและอาหาร RPMI ตามลำดับ การพองตัวของแผ่นฟิล์มที่เกิดขึ้นเป็นผลจากความสามารถในการพองตัวของไคโตซานบริสุทธิ์และแป้งมันสำปะหลัง การศึกษาของ Dong และคณะ(2002) พบว่าเมื่อพีเอชของสารละลายต่ำลงไคโตซานจะพองตัวได้มากขึ้นซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่ได้เนื่องจากเมื่อทำการวัดพีเอชของน้ำกลั่นที่นำมาทดสอบพบว่า มีค่าเท่ากับ 5 ส่วนพีเอชของอาหาร RPMI มีค่าเท่ากับ 7.4 ดังนั้นความเป็นกรดอาจมีผลต่อการพองตัวของแผ่นฟิล์ม สำหรับพีเอชของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์มีค่าเท่ากับ 7.4 เช่นกันแต่อาจมีองค์ประกอบอื่นที่ส่งผลให้การพองตัวของแผ่นฟิล์มมีค่าสูงสุด เมธา และคณะ (2544) ศึกษาการพองตัวของแผ่นฟิล์มไคโตซานที่เตรียมขึ้น โดยใช้กรดแอซิดิกเป็นตัวทำละลายที่ความเข้มข้น 0.5 1 และ 2 โมลาร์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เป็นเวลา 100 นาที พบว่า การพองตัวของแผ่นฟิล์มมีค่าอยู่ในช่วง 35-80% แต่เนื่องจากการทดลองครั้งนี้แผ่นฟิล์มที่ผลิตขึ้นมีส่วนของแป้งมันสำปะหลังเป็นส่วนประกอบ ซึ่งแป้งมันสำปะหลังจะมีหน้าที่สายโพลีเมอร์ของอะไมโลสเรียงตัวขนานกันเป็นระเบียบ โดยจะมีอะไมโลสบางส่วนที่เรียงขนานกับสายตรงส่วนนอกของอะไมโลเพคติน

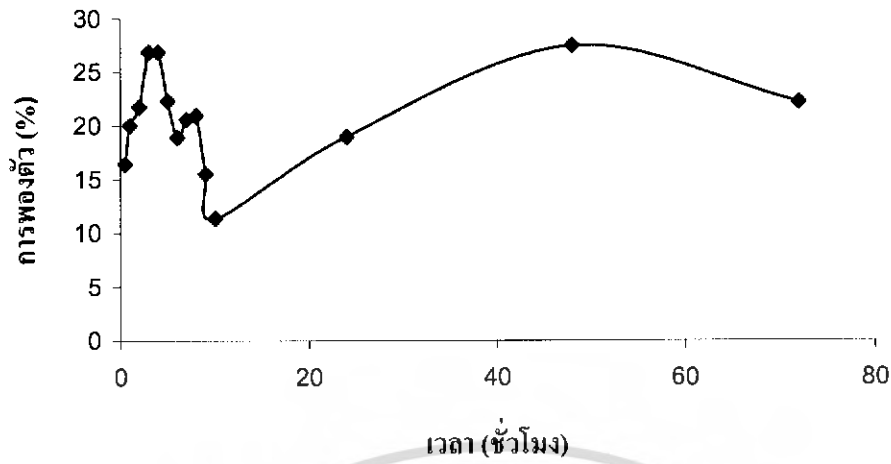
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และยึดติดกันด้วยพันธะไฮโดรเจน ทำให้โมเลกุลบริเวณนั้นจับตัวกันอย่างหนาแน่นและมีแรงยึดเหนี่ยวสูง บริเวณเรียกว่า Crystalline regions หรือ Micelles เป็นส่วนสำคัญที่ทำให้เกิดลักษณะ Birefringence ของเม็ดแป้งซึ่งเป็นบริเวณที่มีความสามารถในการดูดน้ำและพองตัวได้มาก (Spalding, 1979) จึงทำให้การพองตัวของแผ่นฟิล์มต่ำกว่าแผ่นฟิล์มที่เตรียมขึ้นจากโคโคซานเพียงชนิดเดียว

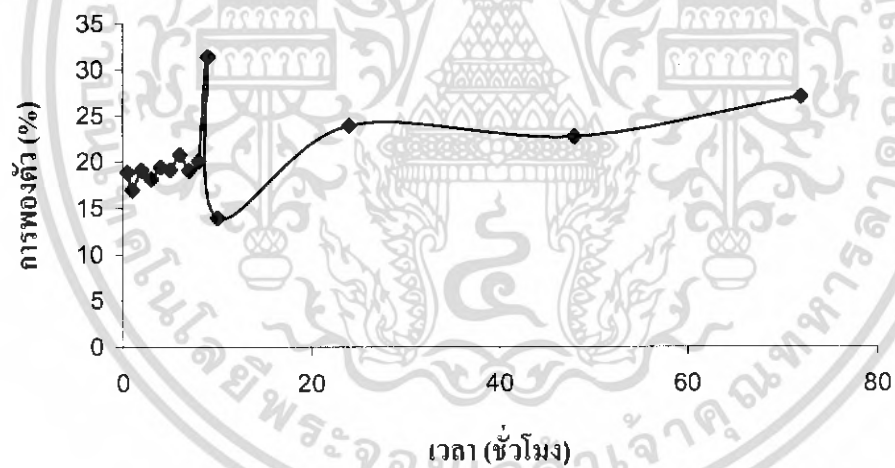
ตารางที่ 4.3 การพองตัวของแผ่นฟิล์มในสารละลาย 3 ชนิดที่ช่วงเวลาต่างๆ

ระยะเวลา ในการแช่	ค่าการพองตัวของแผ่นฟิล์ม (%)		
	น้ำกลั่น	PBS	อาหาร RPMI
30 นาที	16.44	18.86	17.63
1 ชม.	20.02	16.96	18.20
2 ชม.	21.74	19.13	26.90
3 ชม.	26.88	18.16	25.00
4 ชม.	26.89	19.44	15.79
5 ชม.	22.31	19.10	22.88
6 ชม.	18.93	20.77	20.40
7 ชม.	20.61	19.09	19.56
8 ชม.	20.96	20.09	10.05
9 ชม.	15.53	31.39	26.97
10 ชม.	11.39	13.95	23.03
24 ชม.	19.00	23.92	25.92
48 ชม.	27.46	22.70	12.09
72 ชม.	22.22	27.05	15.73

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

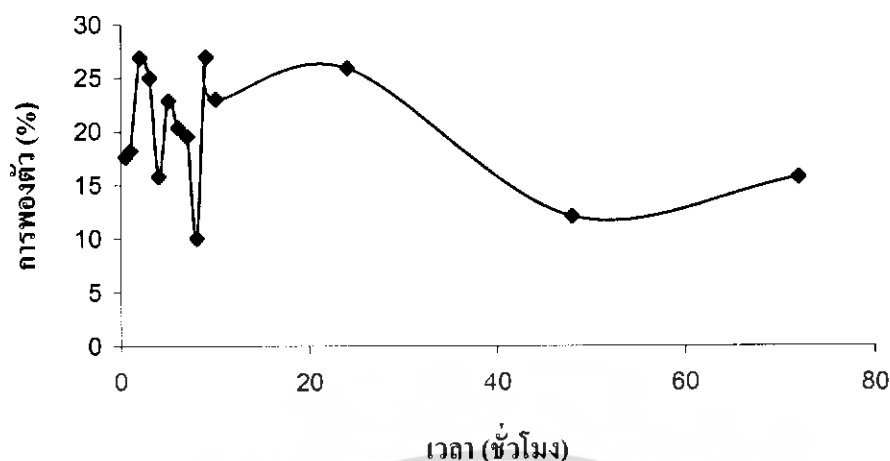


รูปที่ 4.3 กราฟแสดงการพองตัวของแผ่นฟิล์มในน้ำกลั่นที่ช่วงเวลาต่างๆ



รูปที่ 4.4 กราฟแสดงการพองตัวของแผ่นฟิล์มในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ช่วงเวลาต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.5 กราฟแสดงการพองตัวของแผ่นฟิล์มในอาหาร RPMI ที่ช่วงเวลาต่างๆ

4.3 ผลการทดสอบการย่อยสลายโดยใช้เอนไซม์ไลโซไซม์

เอนไซม์ไลโซไซม์สามารถทำปฏิกิริยากับไคโตซานและย่อยสลายไคโตซานได้โดยเฉพาะในสภาวะกรดที่ pH 5-6 เป็นเอนไซม์ที่พบในแบคทีเรียทั่วไป การวิเคราะห์ด้วยเอนไซม์ชนิดนี้จึงเป็นการประมาณค่าผลของการย่อยสลายของไคโตซานและโพลีเมอร์ต่างๆ ผลของการย่อยสลายวิเคราะห์จากปริมาณกลูโคซามีนที่เกิดขึ้นด้วยวิธี DNS จากนั้นทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร พบว่า ค่าการดูดกลืนแสงจากสารละลายฟอสเฟดบัพเฟอร์ (ชุดควบคุม) และเอนไซม์ที่ได้น้อยมาก ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าแผ่นฟิล์มไคโตซานผสมแป้งไม่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ไลโซไซม์ในระยะเวลาการบ่มเป็นเวลา 5 วัน มีรายงานเกี่ยวกับการศึกษาการย่อยสลายของไคโตซานที่เติมโพลิอะคริลิกแอซิด (polyacrylic acid) เปรียบเทียบกับไคโตซานบริสุทธิ์ พบว่าไคโตซานที่เติมโพลิอะคริลิกแอซิดถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไลโซไซม์น้อยกว่าไคโตซานบริสุทธิ์ภายหลังการบ่มเป็นเวลา 6 วัน (Dong และคณะ, 2002) ซึ่งอาจยังไม่สรุปอย่างแน่ชัดว่าแผ่นฟิล์มที่ได้ไม่สามารถย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไลโซไซม์ได้

ตารางที่ 4.4 ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ภายหลังการย่อยด้วยเอนไซม์ไลโซไซม์

สารละลาย	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร
ฟอสเฟดบัพเฟอร์	0.003
เอนไซม์ไลโซไซม์	0.003

4.4 ผลการทดสอบการย่อยสลายแผ่นฟิล์มไคโตซานผสมแป้งโดยแบคทีเรีย

ผลการศึกษาการย่อยสลายแผ่นฟิล์มโดยแบคทีเรียทั้ง 6 ชนิด ในอาหารตัดแปลง M-9 ที่มีแหล่งไนโตรเจน 2 แหล่งด้วยกัน ได้แก่ แอมโมเนียมซัลเฟต ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) และ ยีสต์สกัด (yeast extract) ที่เติมไคโตซานเป็นแหล่งคาร์บอนดังแสดงในตารางที่ 4.5 โดยตรวจหาจากปริมาณกลูโคซามีนที่เกิดขึ้นในสารละลาย ข้อมูลในตารางแสดงให้เห็นค่าการดูดกลืนแสงซึ่งโดยรวมมีค่าน้อยมากและมีค่าต่ำกว่า 0.1 แสดงว่าแบคทีเรียส่วนมากไม่สามารถย่อยสลายแผ่นฟิล์มไคโตซานผสมแป้งได้ ยกเว้น *Bacillus subtilis* เพียงชนิดเดียวเท่านั้นที่สามารถย่อยสลายแผ่นฟิล์มได้เนื่องจากค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้มีค่าสูงถึง 0.508 ในอาหารตัดแปลง M-9 สูตร 2 ที่มียีสต์สกัดเป็นแหล่งไนโตรเจน ซึ่งโดยทั่วไปแบคทีเรียไม่สามารถย่อยสลายไคโตซานได้ แต่เนื่องจากแผ่นฟิล์มที่เตรียมขึ้นมีส่วนผสมของแป้ง และ *Bacillus subtilis* สามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลสที่ย่อยแป้งเป็นน้ำตาลกลูโคสได้ เมื่อนำมาตรวจสอบด้วยวิธี DNS ซึ่งเป็นการตรวจหาปริมาณกลูโคซามีนและน้ำตาลรีดิวซ์ กลูโคสที่เกิดจากการย่อยแป้งเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ชนิดหนึ่งเช่นกัน ดังนั้นค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้อาจเป็นปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เกิดจากการย่อยสลายโดยแบคทีเรีย จึงทำให้ค่าการดูดกลืนแสงมีค่าสูง

สำหรับอาหารตัดแปลง M-9 สูตร 1 ที่มีแอมโมเนียมซัลเฟตเป็นแหล่งไนโตรเจน พบว่า การย่อยสลายแผ่นฟิล์มของ *Bacillus subtilis* เกิดขึ้นน้อยมาก อาจเป็นเพราะแหล่งไนโตรเจนที่ใช้มีผลต่อการเจริญและการผลิตเอนไซม์อะไมเลสได้น้อยกว่าการใช้ยีสต์สกัดเป็นแหล่งไนโตรเจน เนื่องจากยีสต์สกัดอาจเป็นแหล่งไนโตรเจนอินทรีย์ที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย เมื่อเทียบกับแอมโมเนียมซัลเฟตที่เป็นแหล่งไนโตรเจนอนินทรีย์ จึงส่งผลให้ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้น้อยกว่าการใช้ยีสต์สกัดเป็นแหล่งคาร์บอน Aiyer (2002) ทำการศึกษาเกี่ยวกับแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่มีผลต่อการผลิตเอนไซม์อะไมเลสของ *Bacillus licheniformis* SPT 27 โดยเปรียบเทียบการใช้แหล่งไนโตรเจนอินทรีย์และอนินทรีย์ จากผลการทดลองพบว่าการใช้ยีสต์สกัดเป็นแหล่งไนโตรเจนอินทรีย์ ส่งผลให้การผลิตเอนไซม์อะไมเลสมีค่ากิจกรรมเอนไซม์เท่ากับ 224 IU/ml ขณะที่การใช้แอมโมเนียมซัลเฟตเป็นแหล่งไนโตรเจนอนินทรีย์มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์เพียง 94 IU/ml

ตารางที่ 4.5 การย่อยสลายแผ่นฟิล์มโคโคซานผสมแป้ง โดยแบคทีเรีย 6 ชนิด

แบคทีเรีย	อาหารตัดแปลง M-9 สูตร 1	อาหารตัดแปลง M-9 สูตร 2
<i>Micrococcus luteus</i>	-	-
<i>Escherichia coli</i>	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-
<i>Serratia marcescens</i>	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	-	+
<i>Pseudomonas fluorescense</i>	-	-

หมายเหตุ: + แบคทีเรียสามารถย่อยสลายแผ่นฟิล์มได้
- แบคทีเรียไม่สามารถย่อยสลายแผ่นฟิล์มได้

4.5 ผลการป้องกันการผ่านของแบคทีเรีย

การทดสอบการผ่านของแบคทีเรียแสดงให้เห็นถึงความสามารถในการป้องกันแบคทีเรียจากแผ่นฟิล์มที่ผลิตขึ้น โดยทดสอบกับแบคทีเรียจำนวน 6 ชนิดซึ่งพบได้ทั่วไปในบริเวณภาคเหนือ เพื่อนำมาวิเคราะห์ถึงประสิทธิภาพในการนำมาใช้งาน จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าภายหลังการบ่มเป็นเวลา 5 วัน มีแบคทีเรียเพียง 3 ชนิด ได้แก่ *Bacillus subtilis* *Pseudomonas fluorescense* และ *Serratia marcescens* ที่สามารถผ่านแผ่นฟิล์มได้ พบว่า *Bacillus subtilis* มีเอนไซม์อะไมเลส (amylase) จึงสามารถย่อยแป้งที่เป็นส่วนประกอบภายในแผ่นฟิล์มได้ สำหรับ *Pseudomonas fluorescense* และ *Serratia marcescens* อาจมีเอนไซม์ที่สามารถใช้โคโคซานและแป้งเป็นแหล่งคาร์บอนได้

แผ่นฟิล์มโคโคซานที่ผลิตขึ้นสามารถป้องกันการผ่านของแบคทีเรียได้ 3 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus* *Micrococcus luteus* และ *Escherichia coli* ไม่สามารถผ่านแผ่นฟิล์มได้ สอดคล้องกับการศึกษาของ Mi และคณะ (2001) ศึกษาการผลิตแผ่นฟิล์มโคโคซานที่กำจัดกรดออกโดยใช้ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์และโซเดียมคาร์บอเนต พบว่า *Staphylococcus aureus* ไม่สามารถผ่านแผ่นฟิล์มได้เนื่องจากขนาดของรูพรุนแผ่นฟิล์ม (0.5 ไมครอน) เล็กกว่าขนาดของแบคทีเรีย สุวบุญ และคณะ (2544) ศึกษาถึงการใช้โคโคซานในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย โดยทดลองกับเชื้อแบคทีเรีย 4 ชนิด คือ *Escherichia coli* *Staphylococcus aureus* *Vibrio cholerae* และ *Salmonella Weltevreden* และสรุปได้ว่า โคโคซานมีผลต่อการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* มากที่สุด รองลงมาคือ คือ *Vibrio cholerae* *Salmonella weltevreden* และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Escherichia coli ตามลำดับ ประสิทธิภาพของโคโคซานต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ คือ โคโคซานลดการเจริญของแบคทีเรียเป้าหมายและยืดช่วงระยะเวลา lag phase ให้นานขึ้น

อาจกล่าวได้ว่าแบคทีเรียที่สามารถผ่านแผ่นฟิล์มมีความสามารถในการใช้โคโคซานและแป้งเป็นแหล่งคาร์บอน สำหรับแบคทีเรียที่ไม่สามารถผ่านแผ่นฟิล์มนั้นอาจเป็นผลจากโครงสร้างของโคโคซานและแป้งซึ่งแบคทีเรียไม่สามารถนำไปใช้ได้ รวมทั้งขนาดของรูพรุนภายในแผ่นฟิล์มที่อาจเล็กกว่าขนาดของแบคทีเรีย ทำให้แบคทีเรียไม่สามารถผ่านแผ่นฟิล์มได้

ตารางที่ 4.6 การทดสอบการผ่านของแบคทีเรียโดยแผ่นฟิล์ม

<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Pseudomonas fluorescense</i>	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Serratia marcescens</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
+	+	-	-	+	-

หมายเหตุ; + แบคทีเรียสามารถผ่านแผ่นฟิล์มได้

- แบคทีเรียไม่สามารถผ่านแผ่นฟิล์มได้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

ลักษณะของแผ่นฟิล์มไคโตซานที่เตรียมขึ้นมีความแตกต่างกันเพียงเล็กน้อย แผ่นฟิล์มไคโตซานที่เตรียมขึ้นในอัตราส่วน 70:30 โดยเฉพาะแผ่นฟิล์มที่ได้จากไคโตซานผสมแป้งมันสำปะหลังเข้มข้น 7% ก่อนข้างขุ่นกว่าอัตราส่วนอื่น สำหรับแผ่นไคโตซานที่เตรียมขึ้นจากอัตราส่วนของไคโตซานต่อแป้งมันสำปะหลังเท่ากับ 90:10 ในทุกเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของแป้งมันสำปะหลัง พบว่ามีสีเหลืองอ่อนแต่ก่อนข้างขุ่นกว่าและมีความขุ่นน้อยกว่าอัตราส่วนทั้งหมด

การศึกษาอัตราส่วนของไคโตซานต่อแป้งในผลิตแผ่นฟิล์มเพื่อใช้สำหรับปิดแผลพบว่าอัตราส่วนของไคโตซานต่อแป้งเท่ากับ 90:10 โดยมีเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของสารละลายแป้ง 5% เหมาะสมในการผลิตแผ่นฟิล์มมากที่สุด เนื่องจากมีค่าการต้านแรงดึงมากที่สุดเท่ากับ 48.087 MPa และมีค่าความยืดหยุ่น จุดขาดเท่ากับ 84.827% แผ่นฟิล์มที่ได้มีความหนาเท่ากับ 17.33 ไมโครเมตร และมีเปอร์เซ็นต์ความชื้นเท่ากับ 79.81% การศึกษาคุณสมบัติการพองตัวของแผ่นฟิล์มไคโตซานที่อยู่ในลักษณะเปียก พบว่าแผ่นฟิล์มที่ได้สามารถพองตัวสูงสุดในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ในชั่วโมงที่ 9 เท่ากับ 31.39 % มากกว่าน้ำกลั่นที่มีค่าการพองตัวสูงสุดในชั่วโมงที่ 48 เท่ากับ 27.46% และอาหาร RPMI ในชั่วโมงที่ 9 เท่ากับ 26.97 % ตามลำดับ

จากการทดสอบการย่อยสลายโดยใช้เอนไซม์ไลโซไซม์พบว่า แผ่นฟิล์มไม่สามารถย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไลโซไซม์ได้ในระยะเวลาการบ่มเป็นเวลา 5 วัน และไม่สามารถย่อยสลายโดยแบคทีเรียที่นำมาทดสอบยกเว้น *Bacillus subtilis* เพียงชนิดเดียวเท่านั้นที่สามารถย่อยสลายแผ่นฟิล์มเนื่องจากมีเอนไซม์อะไมเลสที่ย่อยแป้งมันสำปะหลังในแผ่นฟิล์มได้ แผ่นฟิล์มไคโตซานที่ผลิตขึ้นสามารถป้องกันการผ่านของแบคทีเรีย 3 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus* และ *Escherichia coli* ยกเว้น *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescense* และ *Serratia marcescens* ที่สามารถผ่านแผ่นฟิล์มได้

ข้อเสนอแนะ

1. ควรทำการทดลองผลิตแผ่นฟิล์มผสมแป้งหลายชนิดที่มีอัตราส่วนและเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของที่หลากหลายขึ้นเพื่อให้ได้อัตราส่วนเหมาะสมและแผ่นฟิล์มมีคุณสมบัติที่ดีในการนำไปใช้งานมากที่สุด
2. แผ่นฟิล์มที่ผ่านการทดสอบการย่อยสลายโดยเอนไซม์ไลโซไซม์และแบคทีเรียอาจเพิ่มขึ้นขั้นตอนการตรวจสอบโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ชนิด Scanning Electron Microscopy (SEM) เพื่อยืนยันผลที่เกิดให้ชัดเจนยิ่งขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

- เกรียงไกร พรวิลาสศิริ, ฉัตรชัย เจริญชอุณห และนพพล บรรลือเขตต์. 2540. *การคัดเลือกแบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์ย่อยไคติน*. หน้า 1-10.
- ฉกามาต ศวศ์ข้าหลวง. 2529. “การใช้ประโยชน์จากไคติน.” *อาหาร*. ฉบับที่ 1 – 4 : หน้า 219 – 221 .
- พิเชษฐ พิพัฒน์สมุทร, อภิรดี อภิวัฒน์นากร, ภาณี ศิริสอาด, สุพัตรา แสงอินทร์, สมพงษ์ คำสาร และ ภูริวัฒน์ ถีสวัสดิ์. 2540. การตั้งตำรับฟิล์มไคโตซานของสารสกัดขมิ้นเพื่อรักษาแผลชั้นใน. *มหาวิทยาลัยเชียงใหม่*. หน้า 305-317.
- ภาวดี เมธะกานนท์, อศิรา เพ็ญพูชาติ และ ก้องเกียรติ คงสุวรรณ. 2543. ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับไคติน-ไคโตซาน. *MTECH เมษายน-มิถุนายน* . หน้า 69-75.
- เมธา รัตนากรพิทักษ์, ชลธิชา เหล็กกล้า, ดวงเดือน จร โศภกรวด และ พิเชษฐ เชื้อแพ่ง. 2544. การศึกษาผลของสารละลายกรดที่ใช้ในการเตรียมแผ่นไคโตซานต่อคุณสมบัติการบวมน้ำและการผ่านเข้าออกของไอน้ำ. *มหาวิทยาลัยนครสวรรค์*. หน้า 17-26
- รัตนา รุจิรวนิช. 2544. การผลิตไคติน-ไคโตซาน. เอกสารประกอบการบรรยายการประชุมเชิงปฏิบัติการไคตินและไคโตซานจากวัตถุดิบธรรมชาติสู่การประยุกต์ใช้. กรุงเทพฯ : *จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย* . หน้า 1-10.
- ศวนัญ จิราชญชัย. 2544. การผลิตไคติน-ไคโตซาน. เอกสารประกอบการบรรยายการประชุมเชิงปฏิบัติการไคตินและไคโตซานจากวัตถุดิบธรรมชาติสู่การประยุกต์ใช้. กรุงเทพฯ : *จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย* . หน้า 11-40.
- สุวดี จันทร์กระจ่าง. 2544. การผลิตไคติน-ไคโตซาน. เอกสารประกอบการบรรยายการประชุมเชิงปฏิบัติการไคตินและไคโตซานจากวัตถุดิบธรรมชาติ สู่การประยุกต์ใช้. กรุงเทพฯ : *จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย* . หน้า 52-58.
- อชยา กังสุวรรณ. 2541. ไคติน: ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติสำหรับศตวรรษที่ 21. *วารสารการประมง* 51(1). หน้า 57-67.
- A.O.A.C. 1984. *Official Method of Analysis of the Association of Analytical Chemists*. 14ed *Association of Official Analytical Chemists, Inc., USA*.
- ASTM, 1995a. Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting. In: *Annual Book of ASTM Standards*, vol. 8.01. *American Society for Testing and Materials, West Conshohocken, PA*, pp. 182–190.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Aiyer, D., P. V. 2002. Effect of C:N ratio on alpha amylase production by *Bacillus licheniformis* SPT 27. *Afr. J. of Biotechnology Vol. 3 (10)*, pp. 519-522,
- Butler, B.L., Vergano, P.J., Testin, R.F., Bunn, J.M. and Wile, J. 1996. Mechanical and barrier properties of edible chitosan films as affected by composition and storage. *J. Food Sci.* 61, 953-955.
- Caner, C., Vergano, P.J. and Wiles, J.L. 1998. Chitosan film mechanical and permeation properties as affected by acid, plasticizer, and storage. *J. Food Sci.* 63, pp.1049-1053. Department of Food Technology and Nutrition Science, Wageningen University, 1997. Starch film properties. Available at <http://www.ftns.wau.nl/agridata/properties.htm> (accessed 3 June 2003).
- Cheng, C.Y. and Li, Y. 2000. An *Aspergillus* chitosanase with potential for large-scale preparation of chitosan oligosaccharides. *Biotechnol. Appl. Biochem.* 32: 197-203
- Cody, R.M. and David, N.D., Lin, J., and Shaw, D. 1990. Screening microorganism for chitin hydrolysis and production of ethanol from amino sugar. *Biomass.* 21:258-295.
- Dong, T.M., Chuang, C.Y. and Chiu, W.Y. 2002. Studies on the Degradation Behavior of Chitosan-g-Poly (acrylic acid) Copolymers. *J. of Science and Engineering.* 5, 235-240.
- Freshney, R.I. 1994. Preparation of Balanced Salt Solutions. *Culture of Animal Cells*, 256
- Gennadios, A., Weller, C.L. and Gooding, C.H. 1994. Measurement errors in water vapor permeability of highly permeable, hydrophilic edible films. *J. Food Eng.* 21, 395-409.
- Gennadios, A., Ghorpade, V.M., Weller, C.L. and Hanna, M.A., 1996. Heat curing of soy protein films. *Trans. ASAE* 39, 575-579.
- Greenwood, C.I. 1978. Observation on the Structure of the Starch Granule Polysaccharides in Food. *Butterworth. London.*
- 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.
- Hoagland, P.D. and Parris, N. 1996. Chitosan/pectin laminated films. *J. Agric. Food Chem.* 44, 1915-1919.
- 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.

- Jagannath, J.H., Nanjappa, C., Das Gupta, D.K. and Bawa, A.S. 2003. Mechanical and barrier properties of edible starch-proteinbased films. *J. Appl. Polym. Sci.* 88, 64–71.
- Khan, T.A., Peh, K.K. and Chang, h.s. 2000. Mechanical, Bioadhesive strength and Biological Evaluation of chitosan film for wound dressing. *University of 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.
- Maczaki., Koniarova, D. and Reis, R.L. 2003. Thermal properties of thermoplastic starch/synthetic polymer blends with potential biomedical applicability. *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* 14, 127–135.
- 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.
- Meenakshi, P., Noorjahan, S.E., Rajini, R., Venkateswarlu, U., Rose, C. and Sastry, T.P., 2002. Mechanical and microstructure studies on the modification of CA films by blending with PS. *Bull. Mater. Sci.* 25, 25–29.
- Mi,F.L., Shyu ,S.S., Wu,Y.B., Lee, S.T., Shyong, J.Y., and Huang, R.N. 2001. Fabrication and characterization of a sponge-like asymmetric chitosanmembrane as a wound dressing. *Biomaterials* 22, 165-173.
- Miller, G.L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar, *Anal. Chem.* 31, 426.
- Mitsutomi, M., Isono, M., Uchiyama ,A., Nikaidou , N., Ikgami ,T, and Watanabe ,T. 1998. Chitosanase activity of the previously reported as β -1,3-1,4-glucanase from *Bacillus circulans* WL-12. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 62(11):2107-2111.
- Muzzarelli, R.A.A. 1977. Chitin. Pergamon Press. New York. *Patent Abstracts of Japan (1998).* 55-181.
- Nunthanid, J., Puttipipatkachorn, S., Yamamoto, K. and Peck, G.E. 2001. Physical properties and molecular behavior of chitosan films. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 27, 143–157.

- Park, S.Y., Marsh, K.S. and Rhim, J.W. 2002. Characteristics of different molecular weight chitosan films affected by the type of organic solvents. *J. Food Sci.* 67, 194–197.
- Pranee Lertsutthiwong. 2002. Chitosan as a dry strength agent for paper. *Appita Journal*.55(3):208-212
- Ritthidej, G.C., Phaechamud, T. and Koizumi, T. 2002. Moist heat treatment on physicochemical change of chitosan salt films. *Int. J. Pharm.* 232, 11–22.
- Schiraldi, C. D., Agostino, A., Oliva, A., Flamma, F., De Rosa, A., Apicells, A., Aversa, R. and De Rosa, M. 2004. Development of hybrid materials based on hydroxyethylmethacrylate as supports for improving cell adhesion and proliferation. *Biomaterial*, 25 : 3645-3653.
- Shahidi F., Arachechi, J. K. V. and Jeon, Y-J. 1999. Food application of chitosan. *Trend in Food Science & Technology*.10:37-51.
- Siriporn T., Malinee P., Somporn S., Boonlon T., Thanawit P. and Rjiporn, P. 2004. Preparation of acrylic grafted chitin for wound dressing application. *Biomaterials*.25: page 1453 – 1460.
- Spalding, S.J. 1979. Native Starches. *Internation Flavors and Food Additive*. 10(1):23-24
- Stoll, V. S. and Blenchasd, J. S. 1990. Buffer : principles and practice. In method in Enzymology. Vol. 182. *Academic Press, New York*, pp. 22-38
- Struszezyk, H., Pospieszny, H. and Kotlinski, S. 1988. Some new application of chitosan in agriculture, Chitin and Chitosan: Proceeding from the 4th International Conference on Chitin and Chitosan. *Elsevier Applied Science*, London. pp. 733-742.
- Swinkles, J.J.M. 1983. Different Between Commercial Native Starches. *International Marketing and Sale. Foxhol.*
- Wiles, J.L., Vergano, P.J., Barron, F.H., Bunn, J.M. and Testin, R.F. 2000. Water vapor transmission rates and sorption behavior of chitosan films. *J. Food Sci.* 65, 1175–1179.
- Wong, D.W.S., Gastineau, F.A., Gregorski, K.S., Tillin, S.J. and Pavlath, A.E. 1992. Chitosan-lipid films: microstructure and surface energy. *J. Agric. Food Chem.* 40, 540–544.
- Wu, Q.X. and Zhang, L.N. 2001. Structure and properties of casting films blended with starch and waterborne polyurethane. *J. Appl. Polym. Sci.* 79, 2006–2013.
- Xu Y. X., K. M. Kim, M. A. Hanna and D. Nag. 2005. Chitosan – starch composit film : preparation and characterization. *Industrial Crops and Product*. 21: page 185 – 192.

Yin, Y.J., Yao, K.D., Cheng, G.X. and Ma, J.B. 1999. Properties of polyelectrolyte complex films of chitosan and gelatin. *Polym. Int.* 48, 429–433.

<http://www2.mf.uni-lj.si/~mil/bakt4/jpeg/35.jpg>

<http://www.anka.livstek.lth.se:2080/Ser-m01w.jpg>

http://www.biology.kenyon.edu/Microbial_Biorealm/bacteria/gram

<http://www.geocities.com/mnvrk/chitin.html>

<http://www.iboro.ac.uk/department/cg/project/2002>

<http://www.material.chula.ac.th/chitosan>

<http://www.res2.agr.ca/lethbridge/emia/images/SEMproj/Ecoli.jpg>

<http://www.ulb.ac.be/sciences/biodic/images/bacterie/staphylococcus3570.JPG>

<http://www.wasser-wissen.de/abwasserlexikon/p/images/pseudomonas.gif>



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar (NA)

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

2. อาหารดัดแปลง M-9 (Cheng and Li, 2000) 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
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	3.0	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

ปรับ pH 7.0

3. อาหารดัดแปลง M-9 (Cheng and Li, 2000) 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
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์

วิธีเตรียม (Stoll และBlanchard, 1990)

ทำการเตรียมสารละลาย ก และข โดยทำการเจือจางให้ได้ความเข้มข้นที่ต้องการและนำมาผสมกันให้ได้พีเอชที่ต้องการใช้

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

สารละลาย ข : สารละลายของไดเบสิก โซเดียมฟอสเฟต (ทำการละลาย $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 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 และBlanchard (1990)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์คุณสมบัติของแผ่นฟิล์มโพลีเอทาน

อุปกรณ์ ไมโครมิเตอร์



รูปที่ ก.1 ไมโครมิเตอร์

วิธีทดลอง

1. นำแผ่นฟิล์มที่ได้จำนวน 5 แผ่น วัดความหนาด้วย micrometer
2. บันทึกผลด้วยทศนิยม 2 ตำแหน่ง และหาค่าเฉลี่ยเพื่อนำไปใช้ในการคำนวณค่าการต้านแรงดึง (Tensile strength) ในลำดับต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

วิเคราะห์ค่าการต้านแรงดึงและค่าความยืด ผน จุดขาด

อุปกรณ์ เครื่อง Texture Analyzer



รูปที่ ง.1 เครื่อง Texture Analyzer รุ่น TA Plus

วิธีทดลอง (Khan และคณะ, 2000)

1. ตัดแผ่นฟิล์มตัวอย่างเป็นรูปคัมเบล (Dumbbell) ให้มีขนาดความกว้าง 2 เซนติเมตร ยาว 5 เซนติเมตร ดังแสดงในรูปที่ ง.1
2. ติดตั้งหัวหนีบ (grip) ชนิดยาง (rubber) เข้ากับเครื่อง โดยใช้ตุ้มน้ำหนัก (load) ขนาด 500 นิวตัน
3. ทำการวัดแผ่นฟิล์มจำนวน 5 ตัวอย่าง โดยใช้โปรแกรม Nexygen Batch Document Program และรายงานผลเป็นค่าเฉลี่ยด้วยทศนิยม 4 ตำแหน่ง
4. คัดเลือกแผ่นฟิล์มที่มีคุณสมบัติดีที่สุดใช้ในการวิเคราะห์ลำดับต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง (ต่อ)

วิเคราะห์ค่าการต้านแรงดึงและค่าความยืด ณ จุดขาด



รูปที่ ง.2 ลักษณะการตัดแผ่นฟิล์มที่ใช้ในการวัดค่าการต้านแรงดึงและค่าความยืด ณ จุดขาด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

การวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์ความชื้นของแผ่นฟิล์ม

1. ความชื้นของแผ่นฟิล์มโคโธซาน (A.O.A.C, 1984)

1.1 วิธีวิเคราะห์

1. นำภาชนะอะลูมิเนียมพร้อมฝาไปอบที่ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาทีทำให้เย็นในเคชิตเตอร์ ชั่งน้ำหนักของภาชนะพร้อมฝา

2. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน ใส่ในภาชนะที่ชั่งน้ำแล้วเฉยให้กระจาย ปิดฝาแล้วชั่งน้ำหนัก

3. นำไปอบในตู้โดยเปิดฝบบางส่วนที่ 105 องศาเซลเซียสข้ามคืน (16 ชั่วโมง)

4. นำออกจากตู้อบ ปิดฝบบและนำไปใส่ในเคชิตเตอร์จนเย็น ชั่งน้ำหนัก

การคำนวณ

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

ภาคผนวก ฉ

การวิเคราะห์การพองตัวของแผ่นฟิล์ม

1.1 การพองตัวของแผ่นฟิล์ม

1.1.1 สารเคมี

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

1.1.2 วิธีเตรียม DPBS

Inorganic salts	g./l. (Freshney,1994)
KCl (Potassium chloride)	0.20
KH ₂ PO ₄ (Potassium phosphate monobasic)	0.20
NaCl (Sodium chloride)	8.00
Na ₂ HPO ₄ · 2H ₂ O (Sodium phosphate dibasic)	1.15
ปรับความเป็นกรดต่างให้ได้ pH 7.4 (without Ca ⁺⁺ , Mg ⁺⁺)	

1.1.3 วิธีทดลอง Swelling measurements (Schiraldi และคณะ,2004)

สูตรการหา Swelling ratio (%)

$$SR = \frac{W1 - W2}{W1} \times 100$$

W1

เมื่อ SR = ค่าการพองตัวของแผ่นฟิล์ม

W1 = น้ำหนักแผ่นฟิล์มหลังแช่สารละลาย (กรัม)

W2 = น้ำหนักแผ่นฟิล์มก่อนแช่สารละลาย (กรัม)

ภาคผนวก ข
วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี
ไดไนโตรซาลิไซลิก แอซิด (DNS)

1. สารเคมี (Miller, 1959)

1.1 สารละลายไดไนโตรซาลิไซลิก แอซิด (Dinitrosalicylic acid, DNS)

วิธีเตรียม

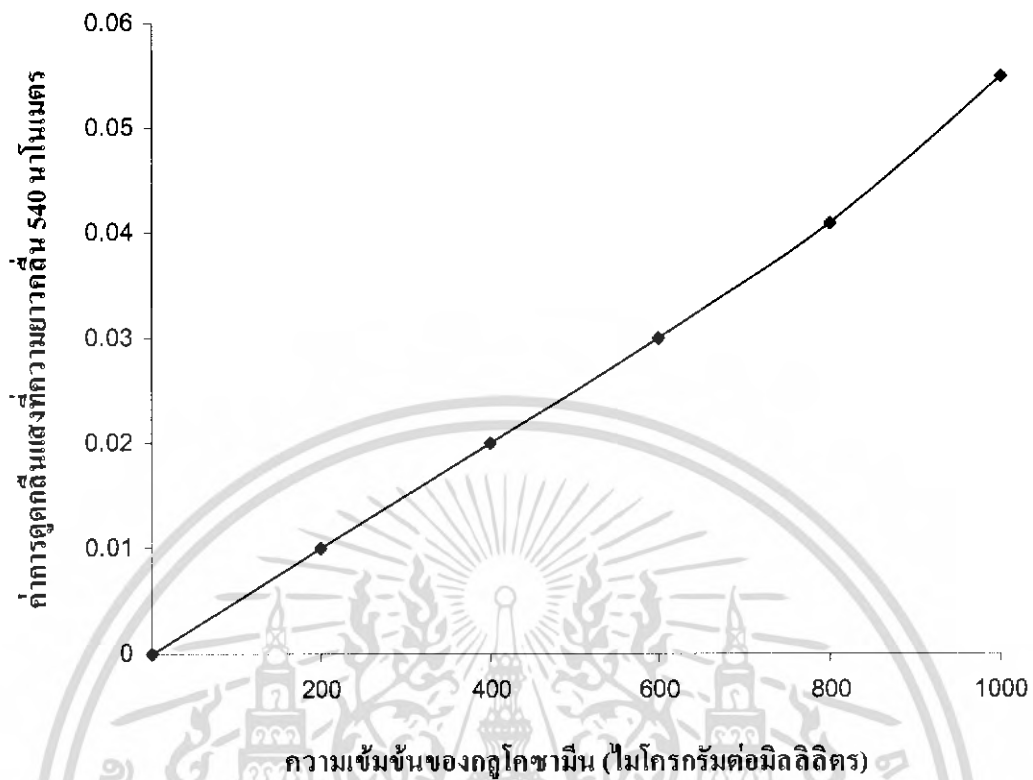
1. ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10 กรัม ในน้ำกลั่นปริมาณหนึ่ง ละลายจนหมด
2. เติมโซเดียมโพแทสเซียมทาร์เทรต (Sodium potassium tartrate) 200 กรัม เติมฟีนอล (Phenol) 0.2 กรัม และโซเดียมซัลไฟต์ (Sodium sulphite) 0.5 กรัม โดยค่อยๆ เติมสารเคมีที่ตะกั่วจนหมด แล้วจึงค่อยเติม 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) จำนวน 10 กรัม
3. ปรับปริมาตรสารละลายเป็น 1 ลิตรด้วยพลาสติกปรับปริมาตร

2. วิธีตรวจสอบปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

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

3. วิธีเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคซามีน

เตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคซามีน 200, 400, 600, 800 และ 1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ($\mu\text{g/ml}$) โดยชั่งกลูโคซามีนจำนวน 0.05 กรัม ละลายในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร จะได้สารละลายกลูโคซามีน 1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร



รูปที่ ช.1 กราฟมาตรฐานสารละลายกลูโคซามีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้