บทที่ 5

อภิปรายและข้อเสนอแนะ

อภิปราย

ผลการเตรียมไคติน ไคโตซานจากเปลือกกุ้ง เปลือกปูและแกนหมึก สามารถอภิปรายผลได้ดังนี้

การเตรียมไคตินจากเปลือกกุ้ง เปลือกปูและแกนหมึก

ผลการเตรียมไคติน โดยนำเปลือกกุ้ง เปลือกปูและแกนหมึก มาสกัดเป็นไคติน พบว่าไคตินที่สกัดได้จากเปลือกกุ้งและเปลือกปูมีค่าร้อยละการผลิตที่ 31.12 และ 13.23 (หนักเปลือกแห้ง) ตามลำดับ ซึ่งมีค่าสอดคล้องกับรายงานของ เยาวภา ไหวพริบ (2534), Atchareeya Chomchai (2004), Abdou, Nagy and Elsabee (2007) ซึ่งพบว่าปริมาณของไคตินที่เตรียมได้จาก กุ้งขาว ให้ปริมาณผลผลิตคิดเป็นร้อยละ 22 - 32.78 (น้ำหนักเปลือกแห้ง) และ Blue Crab Crabs Shells ให้ปริมาณผลผลิตคิดเป็นร้อยละ 14 - 16.73 (น้ำหนักเปลือกแห้ง) ส่วนไคตินที่สกัดได้จากแกนหมึกมีค่าร้อยละการผลิตที่ 34.94 (น้ำหนักเปลือกแห้ง) ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับ Chandumpai et al. (2004) โดยรายงานว่าปริมาณของไคตินที่เตรียมได้จาก Squid (*Loligo lessoniana*) ให้ปริมาณผลผลิตคิดเป็นร้อยละ 36.06 - 36.55 (น้ำหนักปลือกแห้ง) ดังตารางที่ 5 - 1

จากการศึกษาพบว่าปริมาณไคตินจากเปลือกปูมีปริมาณค่อนข้างต่ำ เนื่องจากเปลือกปูมีปริมาณของแคลเซียมคาร์บอเนตสูง เมื่อเปรียบเทียบจากปริมาณของแคลเซียมคาร์บอเนตที่พบในเปลือกกุ้งคือมีอยู่ประมาณ ร้อยละ 42 – 49 เปลือกปูคือมีอยู่ประมาณ ร้อยละ 64 – 67 ส่วนในแกนหมึกมีองค์ประกอบของแคลเซียมคาร์บอเนตค่อนข้างต่ำคือมีอยู่ที่ร้อยละ 4.7 ซึ่งมีผลต่อปริมาณของไคตินที่ผลิตได้ (Abdou, Nagy, & Elsabee, 2007) ส่วนการสกัดไคตินจากแกนหมึกให้ค่าร้อยละการผลิตที่สูงเนื่องจากแกนหมึกมีส่วนของแคลเซียมคาร์บอเนตต่ำในกระบวนการผลิตจึงไม่ต้องทำการกำจัดแร่ธาตุ (Chandumpai et al., 2004)โดยในกระบวนการกำจัดโปรตีนจากแกนหมึกนั้นทำให้ไคตินจากแกนหมึกมีลักษณะหดตัวเป็นก้อน ซึ่งเป็นผลจากการที่บีต้าไคตินทำปฏิกิริยากับกรดทำให้มีการเสียสภาพอย่างง่ายกว่า อัลฟาไคติน จึงไม่มีการสูญเสียไปในขั้นตอนการล้าง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 5-1 สรุปปริมาณไคตินจากวัตถุดิบต่าง ๆ

วัตถุดิบ	ไคติน(%)	แคลเซียมคาร์บอเนต (%)	Chitin From	เอกสารอ้างอิง
กุ้งกุลาดำ	30.50	-	α	Atchareeya Chomchoei (2004)
กุ้งโอคัก	27.82	-	α	
กุ้งลายน้ำตาล	32.78	-	α	
กุ้งขาว	29.33	-	α	
กุ้งลายหิน	28.61	-	α	
Blue Crab	14.00	-	α	
Red Crab	1.3-1.8	-	α	
Brown Shrimp (*Penaeus* aztecus) Shells (BS)	21.53	48.97	α	Abdou, Nagy and Elsabee (2007)
Pink Shrimp (*Penaeus durarum*) Shells (PS)	23.72	42.26	α	
Cuttlefish Pens (CT)	5.40	88.48	β	
Squid Pens (SQ)	49.00	4.74	β	
Crabs Shells (CR)	16.73	66.58	α	
Marbled Crab (*Grapsus marmoratus*)	10.00	-	α	Tolaimate, Desbrieres and Alagui (2003)
Red Crab (*Portunus puber*)	10.00	-	α	
Spider Crab (*Maia squinado*)	16.00	-	α	
Shrimp (*Palamon fabricius*)	22.00	-	α	
Squid (*Loligo vulgaris*)	40.00	-	β	
Squid (Loligo lessoniana)	36.06	-	β	Chandumpai et al. (2004)
Squid (Loligo formosana)	36.55	-	β	
Prawn shells (P. monodon)	22.18	-	α	
เปลือกกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamai*)	31.12	-	α	เปรมกมล ภูแก้ว (2552)
เปลือกปู (*Portunus pelagicus*)	13.23	-	α	
แกนหมึก (*Loligo lessoniana*)	34.94	-	β	

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

การเตรียมไคโตซานจากเปลือกกุ้ง เปลือกปูและแกนหมึก

ผลการเตรียมไคโตซาน โดยนำไคตินจากเปลือกกุ้ง เปลือกปูและแกนหมึก มาสกัดเป็นไคโตซาน พบว่า ร้อยละการผลิตของไคโตซานจากเปลือกกุ้งมีค่าที่ 73.54, 75.11 และ 59.30 (โดยน้ำหนักไคติน) ตามลำดับ ซึ่งมีค่าสอดคล้องกับรายงานของ นันทิยา เฉียบแหลม (2548) พบว่าปริมาณของไคโตซานที่เตรียมได้จากกุ้งขาว ให้ร้อยละการผลิตคิดเป็นร้อยละ 67.72 – 79.91 (โดยน้ำหนักเปลือกแห้ง) นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับรายงานของ Chamnanmanoontham (1999) ซึ่งพบว่าปริมาณของไคโตซานซึ่งเตรียมโดยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 50 ทำปฏิกิริยาที่ 110 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส เวลา 1 ชั่วโมง และเติมสารโซเดียมโบโรไฮดรายด์ 0.5 กรัมต่อปริมาณไคติน 10 กรัม ให้ร้อยละการผลิตคิดเป็นร้อยละ 78 - 85 (โดยน้ำหนักไคติน)

ร้อยละการผลิตของไคโตซานเปลือกปูที่ภาวะต่าง ๆ มีร้อยละการผลิตที่ 97.41, 59.29 และ 48.39 (โดยน้ำหนักไคติน) 30.32 , 18.44 และ 15.06 (โดยน้ำหนักเปลือกแห้ง) ตามลำดับ ซึ่งมีค่าสอดคล้องกับรายงานของ Yen et al. (2009) ซึ่งมีค่าร้อยละการผลิตที่ 30.5 – 32.2 (โดยน้ำหนักเปลือกแห้ง)

ร้อยละการผลิตไคโตซานจากเปลือกแกนหมึกที่ภาวะต่าง ๆ มีร้อยละการผลิตที่ 33.1294.79 (โดยน้ำหนักไคติน) ร้อยละการผลิตที่ภาวะ อุณหภูมิ 100 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส 1 รอบในการสกัด และเวลาที่ใช้ในการสกัด 4 ชั่วโมง มีร้อยละการผลิตที่ 28.96 (โดยน้ำหนักเปลือกแห้ง) และ ร้อยละการผลิตที่ 82.88 (โดยน้ำหนักไคติน) และร้อยละการผลิตที่ภาวะ อุณหภูมิ 100 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส 1 รอบการสกัด เวลาที่ใช้ในการสกัด 6 ชั่วโมง มีร้อยละการผลิตที่ 26.59 (โดยน้ำหนักเปลือกแห้ง) และร้อยละการผลิตที่ 76.08 (โดยน้ำหนักไคติน) ตามลำดับ ซึ่งมีค่าสอดคล้องกับรายงานของ ซึ่งมีค่าสอดคล้องกับ Chandumpai et al. (2004) ซึ่งรายงานว่าปริมาณของไคโตซานที่เตรียมได้จาก Squid (*Loligo lessoniana*) ให้ปริมาณผลผลิตคิดเป็นร้อยละ 27.59 (โดยน้ำหนักเปลือกแห้ง) 77.55 (โดยน้ำหนักไคติน)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 5-2 สรุปภาวะการผลิตไคโตซานจากวัตถุดิบต่าง ๆ และร้อยละการผลิตไคโตซาน

วัตถุดิบ	ภาวะ	ร้อยละการผลิตไคโตซาน		เอกสารอ้างอิง
		โดยน้ำหนักแห้งไคติน	โดยน้ำหนักแห้งเปลือกแห้ง	
เปลือกกุ้งขาว	NaOH 50% อุณหภูมิ 110 ± 2 C° 1 ครั้ง	79.80 ± 0.10		นันทิยา เฉียบแหลม (2548)
	NaOH 50% อุณหภูมิ 120 ± 2 C° 1 ครั้ง	78.39 ± 0.22		
	NaOH 50% อุณหภูมิ 120 ± 2 C° 3 ครั้ง	72.81 ± 0.81		
เปลือกกุ้งขาว	NaOH 50% อุณหภูมิ 110 ± 2C° 1 ครั้ง และเติมสารโซเดียมโบโรไฮดรายด์ 0.5 กรัมต่อปริมาณไคติน 10 ภรัม	78 - 85		
เปลือกปู	NaOH 40% อุณหภูมิ 105 ± 2C° 60, 90 และ 120 นาที		30.5 – 32.2	Yen et al. (2009)
Squid(*Loligo lessoniana*)	NaOH 50% อุณหภูมิ 100 ± 2 C° 2, 4, 6 และ 8 ชม.	77.55	27.59	Chandumpai, et al. (2004)
Squid (*Loligo formosana*)	NaOH 50% อุณหภูมิ 100 ± 2 C° 2, 4, 6 และ 8 ชม.	77.21	28.21	
Prawn shells (*P. monodon*)		78.23	17.35	
เปลือกกุ้งขาว(*Litopenaeus vannamai*)	NaOH 50% อุณหภูมิ 110 ± 2C° 1 ชม. 1 ครั้ง	73.54	22.89	เปรมภมล ภูแก้ว (2552)
	NaOH 50% อุณหภูมิ 120 ± 2 C° 2 ชม. 1 ครั้ง	75.11	23.37	
	NaOH 50% อุณหภูมิ 120 ± 2 C° 3 ชม. 3 ครั้ง	59.30	18.45	
เปลือกปู(*Portunus pelagicus*)	NaOH 50% อุณหภูมิ 110 ± 2C° 1 ชม. 1 ครั้ง	97.41	30.32	
	NaOH 50% อุณหภูมิ 120 ± 2 C° 2 ชม. 1 ครั้ง	59.25	18.44	
	NaOH 50% อุณหภูมิ 120 ± 2 C° 3 ชม. 3 ครั้ง	48.39	15.06	
แกนหมึก (*Loligo lessoniana*)	NaOH 50% อุณหภูมิ 100 ± 2 C° 2 ชม.	94.79	33.12	
	NaOH 50% อุณหภูมิ 100 ± 2 C° 4 ชม.	82.88	28.96	
	NaOH 50% อุณหภูมิ 100 ± 2 C° 6 ชม.	76.08	26.59	

จากผลการทดลองพบว่าการเพิ่มเวลาที่ใช้ในการสกัด รอบการสกัด และอุณหภูมิ ส่งผลให้ได้ร้อยละการผลิตที่ต่ำลง เนื่องจากการเพิ่มอุณหภูมิจะไปมีผลต่อการทำปฏิกิริยาการกำจัดหมู่อะซิติลสูงขึ้น รวมทั้งเวลาและรอบการสกัดซึ่งจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการกำจัดหมู่อะซิติลออกจากโครงสร้างไคโตซาน นอกจากนี้การเพิ่มรอบการสกัดยังมีผลทำให้ร้อยละการผลิตต่ำลง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

เนื่องจากอาจมีการสูญเสียปริมาณไคโตซานในขั้นตอนของการล้างด้วยน้ำกลั่นให้มีค่าความเป็นกรดด่างเป็นกลาง

การวิเคราะห์สมบัติทางเคมีกายภาพของไคโตซาน

ผลการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีกายภาพของไคโตซาน ได้แก่ การวิเคราะห์ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซาน และการวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของไคโตซาน มีรายละเอียดดังนี้

1. ผลการวิเคราะห์ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซาน

ผลการวิเคราะห์ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานเปลือกกุ้งที่ผลิตในภาวะต่าง ๆ กัน โดยระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานจากเปลือกกุ้งที่ภาวะ อุณหภูมิ 110 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส 1 รอบการสกัด เวลาที่ใช้ในการสกัด 2 ชั่วโมง มีค่าร้อยละ 76.25 $\pm$ 0.75 ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลที่ภาวะ อุณหภูมิ 120 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส 1 รอบการสกัด เวลาที่ใช้ในการสกัด 2 ชั่วโมง มีค่าร้อยละ 84.77 $\pm$ 1.49 และระดับการกำจัดหมู่อะซิติลที่ภาวะ อุณหภูมิ 120 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส 3 รอบการสกัด เวลาที่ใช้ในการสกัด 3 ชั่วโมง มีร้อยละ 95.68 $\pm$ 1.70

ผลการวิเคราะห์ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานเปลือกปูที่ผลิตในภาวะต่าง ๆ กัน โดยระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานจากเปลือกปูที่ภาวะ อุณหภูมิ 110 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส 1 รอบการสกัด เวลาที่ใช้ในการสกัด 2 ชั่วโมง มีค่าร้อยละ 68.81 $\pm$ 2.22 ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลที่ภาวะ อุณหภูมิ 120 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส 1 รอบการสกัด เวลาที่ใช้ในการสกัด 2 ชั่วโมง มีค่าร้อยละ 71.67 $\pm$ 1.63 และระดับการกำจัดหมู่อะซิติลที่ภาวะ อุณหภูมิ 120 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส 3 รอบการสกัด เวลาที่ใช้ในการสกัด 3 ชั่วโมง มีร้อยละ 95.35 $\pm$ 1.31

จากผลการวิเคราะห์ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานเปลือกกุ้ง และเปลือกปู พบว่า มีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 76.25 – 95.68 และ 61.81 – 95.35 ซึ่งมีค่าสอดคล้องกับ นันทิยา เฉียบแหลม (2548) โดยพบว่า การเตรียมไคโตซาน ที่ภาวะ อุณหภูมิ 110, 120 และ 130 องศาเซลเซียส จำนวนรอบการสกัด 1, 2 และ 3 และเวลาที่ใช้ในการสกัด 1, 2 และ 3 ชั่วโมง ให้ค่าระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานอยู่ในช่วงร้อยละ 77.56 – 95.54 และยังมีค่าสอดคล้องกับการรายงานผลของ จิราภรณ์ เชาวลิตสุขุมาวาสี (2544) ซึ่งรายงานว่าโดยทั่วไปค่าระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานมีค่าประมาณร้อยละ 75 – 85 ขึ้นอยู่กับโครงสร้างของไคตินซึ่งทำให้หมู่อะซิตาไมด์ที่เหลือไม่สามารถเข้าทำปฏิกิริยาได้โดยง่าย จึงต้องใช้ภาวะที่รุนแรงในการทำปฏิกิริยาเพื่อให้ได้ไคโตซานที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิติลสูงกว่าร้อยละ 90 นอกจากนี้ Chinadit, Wanichpongpan, How, Stevens, and Chandrkrachang (1998) ศึกษาการผลิตไคโตซานเชิงพาณิชย์

เพื่อให้ได้ไคโตซานที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิติลที่ต้องการ โดยพบว่า การสกัดไคติน 1, 2 และ 3 รอบให้ค่าระดับการกำจัดหมู่อะซิติลในช่วงร้อยละ 72 – 76, 81 – 86 และ 88 – 95 ตามลำดับ

จากผลการทดลองพบว่าระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานเปลือกกุ้ง และเปลือกปูที่ผลิตได้ มีค่าขึ้นอยู่กับภาวะที่ใช้ในการผลิต โดยเมื่ออุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการสกัดเพิ่มขึ้น ทำให้ค่าระดับการกำจัดหมู่อะซิติลสูงขึ้น เนื่องจากอุณหภูมิและเวลาที่สูงขึ้นเป็นการเพิ่มภาวะการผลิตให้รุนแรงขึ้น และการล้างไคโตซานให้เป็นกลางและการเปลี่ยนสารละลายด่างที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาใหม่ของทุกรอบการสกัด เป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการซึมผ่านของสารละลายด่างและเข้าไปทำปฏิกิริยากับไคโตซานได้ดีขึ้น (จิราภรณ์ เชาวลิตสุขุมาวาสี, 2544)

ผลการวิเคราะห์ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานแกนหมึกที่ผลิตในภาวะต่าง ๆ กัน โดยระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานจากเปลือกปูที่ภาวะ อุณหภูมิ 100 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส 1 รอบการสกัด เวลาที่ใช้ในการสกัด 2 ชั่วโมง มีค่าร้อยละ 81.44 $\pm$ 0.46 ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลที่ภาวะ อุณหภูมิ 100 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส 1 รอบการสกัด เวลาที่ใช้ในการสกัด 4 ชั่วโมง มีค่าร้อยละ 85.87 $\pm$ 0.44 และระดับการกำจัดหมู่อะซิติลที่ภาวะ อุณหภูมิ 100 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส 1 รอบในการสกัด และเวลาที่ใช้ในการสกัด 6 ชั่วโมง มีร้อยละ 89.69 $\pm$ 0.44

จากผลการวิเคราะห์ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานแกนหมึก พบว่า มีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 81.44 – 89.69 ซึ่งมีค่าสอดคล้องกับ Chandumpai et al. (2004) โดยพบว่า การเตรียมไคโตซาน ที่ภาวะ อุณหภูมิ 100 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส 1 รอบการสกัด เวลาที่ใช้ในการสกัด 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง พบว่าระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานที่แยกได้จากแกนหมึก 75.54 – 93.16 ซึ่งระยะเวลาในขั้นตอนการกำจัดโปรตีนมีผลต่อระดับการกำจัดหมู่อะซิติล แต่ถ้าช่วงเวลาการย่อยสูงกว่า 2 – 4 ชั่วโมง พบว่าระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานที่แยกได้จากแกนหมึกมีค่าสูงกว่าร้อยละ 75 – 88 โดยพบว่าในช่วงเวลานี้เป็นช่วงที่สารละลายด่างเข้าไปทำปฏิกิริยากับพันธะไฮโดรเจนในสายโมเลกุลของไคโตซานได้ดี แต่เมื่อเวลาการย่อยสูงกว่า 6 ชั่วโมง พบว่าระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานที่แยกได้จากแกนหมึกมีค่าสูงกว่าร้อยละ 90 อย่างไรก็ตามเมื่อเพิ่มเวลา เป็น 8 ชั่วโมง พบว่าระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานที่แยกได้จากแกนหมึกมีค่าร้อยละ 93 ให้ค่าไม่แตกต่างกัน ซึ่งเป็นช่วงที่พันธะไฮโดรเจนในสายโมเลกุลของไคโตซานได้ทำปฏิกิริยาจนหมดแล้ว และยังใกล้เคียงกับ Methacanona, Prasitsilpa, Pothsreea, and Pattaraarchachaib (2003) พบว่าการเตรียมไคโตซานจากแกนหมึกโดย ที่ภาวะ การใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 40 และ 60 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 100 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส 1 รอบการสกัด เวลาที่ใช้ในการสกัด 60 และ 120 นาที พบว่าน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานที่แยกได้จากแกนหมึกมีค่า 73.60 – 97.30

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

2. ผลการวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของไคโตซาน

ผลการวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานเปลือกกุ้งที่ผลิตในภาวะต่าง ๆ กัน โดยน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานจากเปลือกกุ้งที่ภาวะ อุณหภูมิ 110 ± 2 องศาเซลเซียส 1 รอบการสกัด เวลาที่ใช้ในการสกัด 2 ชั่วโมง มีค่า 2.06 ± 0.12 × 10^6ดาลตัน น้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานที่ภาวะ อุณหภูมิ 120 ± 2 องศาเซลเซียส 1 รอบการสกัด เวลาที่ใช้ในการสกัด 2 ชั่วโมง มีค่า 1.62 ± 0.05 × 10^6ดาลตัน และน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานที่ภาวะ อุณหภูมิ 120 ± 2 องศาเซลเซียส 3 รอบการสกัด เวลาที่ใช้ในการสกัด 3 ชั่วโมง มีร้อยละ 0.51 ± 0.06× 10^6ดาลตัน

ผลการวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานเปลือกปูที่ผลิตในภาวะต่าง ๆ กัน โดยน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานจากเปลือกกุ้งที่ภาวะ อุณหภูมิ 110 ± 2 องศาเซลเซียส 1 รอบการสกัด เวลาที่ใช้ในการสกัด 2 ชั่วโมง มีค่า 1.14 ± 0.03× 10^6ดาลตัน น้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานที่ภาวะ อุณหภูมิ 120 ± 2 องศาเซลเซียส 1 รอบการสกัด เวลาที่ใช้ในการสกัด 2 ชั่วโมง มีค่า 1.00 ± 0.00 × 10^6 ดาลตัน และน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานที่ภาวะ อุณหภูมิ 120 ± 2 องศาเซลเซียส 3 รอบการสกัด เวลาที่ใช้ในการสกัด 3 ชั่วโมง มีร้อยละ 0.45 ± 0.01 × 10^6ดาลตัน

ผลการวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานแกนหมึกที่ผลิตในภาวะต่าง ๆ กัน โดยน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานจากเปลือกกุ้งที่ภาวะ อุณหภูมิ 100 ± 2 องศาเซลเซียส 1 รอบการสกัด เวลาที่ใช้ในการสกัด 2 ชั่วโมง มีค่า 0.50 ± 0.01 × 10^6ดาลตัน น้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานที่ภาวะ อุณหภูมิ 100 ± 2 องศาเซลเซียส 1 รอบการสกัด เวลาที่ใช้ในการสกัด 4 ชั่วโมง มีค่า 0.33 ± 0.04 × 10^6 ดาลตัน และน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานที่ภาวะ อุณหภูมิ 100 ± 2 องศาเซลเซียส 1 รอบการสกัด เวลาที่ใช้ในการสกัด 6 ชั่วโมง มีร้อยละ 0.16 ± 0.00 × 10^6ดาลตัน

จากผลการวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานเปลือกกุ้ง เปลือกปู และแกนหมึก พบว่า มีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 0.51 - 2.06 × 10^6 0.45 - 1.14 × 10^6 และ 0.16 - 0.50 × 10^6ดาลดัน ซึ่งมีค่าสอดคล้องกับ นันทิยา เฉียบแหลม (2548) พบว่า การเตรียมไคโตซาน ที่ภาวะ อุณหภูมิ 110 ± 2 องศาเซลเซียส 1 รอบการสกัด เวลาที่ใช้ในการสกัด 1 ชั่วโมง พบว่าน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานเปลือกกุ้งมีค่า 2.22 × 10^6 ดาลตัน ที่ภาวะ อุณหภูมิ 120 ± 2 องศาเซลเซียส 1 รอบการสกัด เวลาที่ใช้ในการสกัด 2 ชั่วโมง พบว่าน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานเปลือกกุ้งมีค่า 1.53 × 10^6 ดาลดัน ที่ภาวะ อุณหภูมิ 120 ± 2 องศาเซลเซียส 3 รอบการสกัด เวลาที่ใช้ในการสกัด 3 ชั่วโมง พบว่าน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานเปลือกกุ้งมีค่า 5.54 × 10^5 ดาลตัน และ Chandumpai et al. (2004) โดยการเตรียม ไคโตซาน ที่ภาวะ อุณหภูมิ 100 ± 2 องศาเซลเซียส 1 รอบการสกัด เวลาที่ใช้ในการสกัด 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง พบว่าน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานที่แยกได้จากแกนหมึกมีค่า 0.16 - 0.50 × 10^6 ดาลตัน และยังใกล้เคียงกับ Methacanona, Prasitsilpa, Pothsreea, and Pattaraarchachaib (2003)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

พบว่าการเตรียมไคโตซานจากแกนหมึกโดย ที่ภาวะ การใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 40 และ 60 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 100 ± 2 องศาเซลเซียส 1 รอบการสกัด เวลาที่ใช้ในการสกัด 60 และ 120 นาที พบว่าน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานที่แยกได้จากแกนหมึกมีค่า 3.22 - 10.9 × 10^6 ดาลตัน

จากผลการทดลองพบว่าน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานเปลือกกุ้ง และเปลือกปูที่ผลิตได้มีค่าขึ้นอยู่กับภาวะที่ใช้ในการผลิต โดยเมื่ออุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการสกัดเพิ่มขึ้น ทำให้น้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานลดลง นอกจากนี้การทำปฏิกิริยาซ้ำยังส่งผลให้เกิดการเสื่อมสลายของพอลิเมอร์ จึงทำให้สายพอลิเมอร์สั้นลง โดย นันทิยา เฉียบแหลม (2548) พบว่า กระบวนการผลิตไคโตซานโดยการเพิ่มรอบการสกัด และอุณหภูมิ ส่งผลให้น้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานลดลงมากกว่าผลของการเพิ่มเวลาการสกัด ดังนั้นการผลิตไคโตซานเพื่อให้มีน้ำหนักโมเลกุลตามความต้องการจึงไม่ควรสกัดไคโตซานซ้ำหลายรอบ และไม่ควรใช้อุณหภูมิสูงเกินไป

การเตรียมสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

การวิเคราะห์ความหนืด

ผลการวิเคราะห์ความหนืดของการย่อยสารละลายไคโตซานเปลือกกุ้งที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 76.25 จากค่าความหนืดเริ่มต้น 73.32 เซนติพอยด์ จนสิ้นสุดกระบวนการย่อยมีค่าความหนืดสุดท้าย 4.49 เซนติพอยด์ ค่าความหนืดสารละลายไคโตซานเปลือกกุ้งที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 84.77 จากค่าความหนืดเริ่มต้น 48.43 เซนติพอยด์ และค่าความหนืดสุดท้าย 10.78 เซนติพอยด์ และค่าความหนืดสารละลายไคโตซานเปลือกกุ้ง ที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานร้อยละ 95.68 จากค่าความหนืดเริ่มต้น 9.71 เซนติพอยด์ จนสิ้นสุดกระบวนการย่อยมีค่าความหนืดสุดท้าย 6.89 เซนติพอยด์

ผลการวิเคราะห์ความหนืดของกสารละลายไคโตซานที่ผลิตจากเปลือกปู ที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 61.81 จากค่าความหนืดเริ่มต้น 72.74 เซนติพอยด์ และค่าความหนืดสุดท้าย 11.44 เซนติพอยด์ ค่าความหนืดสารละลายไคโตซานเปลือกปูที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 71.67 จากค่าความหนืดเริ่มต้น 21.92 เซนติพอยด์ และค่าความหนืดสุดท้าย 10.53 เซนติพอยด์ และค่าความหนืดสารละลายไคโตซานเปลือกปูที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 95.68 จากค่าความหนืดเริ่มต้น 14.37 เซนติพอยด์ และค่าความหนืดสุดท้าย 9.86 เซนติพอยด์

ผลการวิเคราะห์หนืดสารละลายไคโตซานแกนหมึก ที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 81.44 มี จากค่าความหนืดเริ่มต้น 39.39 เซนติพอยด์ และค่าความหนืดสุดท้าย 0 เซนติพอยด์ ค่าความหนืดสารละลายไคโตซานแกนหมึก ที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 85.87 จากค่าความหนืดเริ่มต้น 35.68 เซนติพอยด์ และค่าความหนืดสุดท้าย 0 เซนติพอยด์ และค่าความหนืด

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารละลายไคโตซานแกนหมึก ที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 89.69 จากค่าความหนืดเริ่มต้น 27.19 เซนติพอยด์ และค่าความหนืดสุดท้าย 0 เซนติพอยด์

จากค่าความหนืดของสารละลายไคโตซานลดลงตามระดับการกำจัดหมู่อะซิติล ของไคโตซาน ซึ่งสอดคล้องกับ No et al. (2000) พบว่าความหนืดของสารละลายไคโตซานที่ผลิตเชิงการค้า มีค่าอยู่ระหว่าง 26 – 360 เซนติพอยด์ เช่นเดียวกับ Cho et al. (1998) พบว่าความหนืดของสารละลายไคโตซานที่ผลิตเชิงการค้า มีค่าอยู่ระหว่าง 72 – 1,928 เซนติพอยด์ และ Chen et al. (2005) พบว่าค่าความหนืดของสารละลายไคโตซานย่อยด้วยเอนไซม์ไคโตซาเนส 2 ชนิด คือ ChiA และ ChiB จาก *Aspergillu* sp. CJ22-326 ให้ผลดังนี้ ChiA ความหนืดสุดท้ายของสารละลายไคโตซานลดลงจากความหนืดเริ่มต้นเพียงเล็กน้อย ส่วน ChiB ความหนืดของสารละลายไคโตซานลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 1-4 ชั่วโมง และเริ่มคงที่ นอกจากนี้ Kittur, Kumar, and Tharanathan (2003) พบว่า ค่าความหนืดของสารละลายไคโตซานย่อยด้วยเอนไซม์เพคติเนสลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 2 ชั่วโมงแรก และจากการศึกษาของ Roncal et al. (2007) พบว่าค่าความหนืดของสารละลายไคโตซานย่อยด้วยเอนไซม์ โบรมิเลน ไลโซไซม์ เซลลูเลส เปปซิน ไลเปสเอ ปาเปน ไคโตซาเนสและเอนไซม์อื่น ๆ พบว่า แนวโน้มการลดลงของความหนืดของสารละลายไคโตซานในช่วง 20 นาที แรกมีการลดลงอย่างรวดเร็วและในช่วง 20 – 70 นาที ค่าความหนืดมีการลดลงอย่างช้า ๆ และคงที่

ลักษณะความหนืดของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ลดลงอย่างรวดเร็วใน 1 ชั่วโมงแรก ซึ่งจำแนกชนิดของเอนไซม์ด้วยความหนืดได้ 2 ชนิดคือ เอนไซม์ที่ย่อยสารละลายไคโตซานโดยมีการลดลงของความหนืดอย่างช้า ๆ จนกระทั่งคงที่ ค่าความหนืดไม่แตกต่างจากค่าความหนืดเริ่มต้น เรียกว่า Exo-Type เนื่องจากเอนไซม์ย่อยสายโพลิเมอร์ของไคตินหรือไคโตซานจากปลายสายเข้ามาทีละหนึ่งโมเลกุลได้ผลิตภัณฑ์เป็นเอ็นอะซิติลกลูโคซามีน หรือ ดีกลูโคซามีนเท่านั้น ทำให้ความหนืดไม่มีความแตกต่าง ส่วนเอนไซม์ที่ย่อยสารละลายไคโตซานโดยมีการลดลงของความหนืดอย่างรวดเร็วในชั่วโมงแรก และค่อย ๆ คงที่ หรือมีความหนืดต่ำจนเกือบเท่าความหนืดของน้ำ เรียกว่า Edo-Type เนื่องจากเอนไซม์ย่อยสายโพลิเมอร์ของไคตินหรือไคโตซานจากภายในสายโพลิเมอร์ได้ผลิตภัณฑ์แบบ Multimeter ของเอ็นอะซิติลกลูโคซามีน หรือ ดีกลูโคซามีนที่ละลายน้ำได้ ซึ่งมีความหลากหลายของระดับขั้นโพลิเมอร์ทำให้ค่าความหนืดมีความแตกต่างอย่างชัดเจน (Chen et al., 2005; Cheng & Li, 2000; Kittur, Acharya, Kumar, Varadarajb, & Tharanathan, 2005) การลดลงของค่าความหนืดส่งผลให้น้ำหนักโมเลกุลและความหนืดลดลงเพราะความหนืดของสารละลายไคโตซานแปรผันตามน้ำหนักโมเลกุล (No et al. 2000)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ปริมาณไคโตซานที่เหลือจากการย่อยโดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

ผลการศึกษาการย่อยไคโตซานจากเปลือกกุ้งที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 76.25, 84.77 และ 95.68 โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า พบว่าปริมาณไคโตซานที่เหลืออยู่ของสารละลายไคโตซานที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 76.25 มีค่าลดลงในช่วง 15 นาทีแรก จากไคโตซานเริ่มต้น 1 กรัม ลดลงเป็น 0.5924 กรัม และลดลงอย่าง ช้า ๆ และคงที่ในช่วง 20 - 60 นาที จาก 0.5915 กรัม เป็น 0.5647 กรัม ในช่วง 20 60 นาที เช่นเดียวกับไคโตซานที่เหลืออยู่ของสารละลายไคโตซานที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 84.77 ที่มีค่าลดลงจากไคโตซานเริ่มต้น 1 กรัมไคโตซานเริ่มต้น ลดลงเป็น 0.5252 กรัม ในช่วง 40 นาทีแรก และลดลงจาก 0.5223 เป็น 0.5147 ในช่วง 45 – 60 นาที และไคโตซานที่เหลืออยู่ของสารละลายไคโตซานที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 95.68 68 มีค่าลดลงจากไคโตซานเริ่มต้น 1 กรัมไคโตซานเริ่มต้น ลดลงเป็น 0.6912 กรัม เป็น 0.6868 เซนติพอยด์ แต่มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<5$)

ผลการศึกษาการย่อยไคโตซานจากเปลือกปูที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 61.81, 71.67 และ 95.35 โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า พบว่าปริมาณไคโตซานที่เหลืออยู่ของสารละลายไคโตซานที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 61.81 โดยมีค่าลดลงในช่วง 40 นาทีแรก จากไคโตซานเริ่มต้น 1 กรัม ลดลงเป็น 0.7928 กรัม และลดลงอย่างช้า ๆ และคงที่ในช่วง 45 - 120 นาที จาก 0.5510 กรัม เช่นเดียวกับปริมาณไคโตซานที่เหลืออยู่ของสารละลายไคโตซานที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 71.67 โดยมีค่าลดลงจากไคโตซานเริ่มต้น 1 กรัม ลดลงเป็น 0.5898 กรัม ในช่วง 15 นาทีแรก และลดลงจาก 0.5373 กรัม เป็น 0.4092 กรัม ในช่วง 20 - 50 นาที และปริมาณไคโตซานที่เหลืออยู่ของสารละลายไคโตซานที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 95. โดย มีค่าลดลงจากไคโตซานเริ่มต้น 1 กรัม ลดลงเป็น 0.4847 กรัม เป็น 0.3473 กรัม

ผลการศึกษาการย่อยไคโตซานจากแกนหมึกที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 81.44, 85.87 และ 89.69 โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า พบว่าปริมาณไคโตซานที่เหลืออยู่ของสารละลายไคโตซานที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 81.44 โดยมีค่าลดลงจากไคโตซานเริ่มต้น 1 กรัม ลดลงเป็น 0.8660 กรัม เช่นเดียวกับปริมาณไคโตซานที่เหลืออยู่ของสารละลายไคโตซานที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 84.77 มีค่าลดลงจากไคโตซานเริ่มต้น 1 กรัม ในช่วง 0-20 นาทีแรก และลดลงจาก 0.9570 กรัม เป็น 0.9263 กรัม และปริมาณไคโตซานที่เหลืออยู่ของสารละลายไคโตซานที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 95.68 มีค่าลดลงจากไคโตซานเริ่มต้น 1 กรัม ในช่วง 0-20 นาทีแรก และลดลงจาก 0.9703 กรัม เป็น 0.9727 กรัม

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

จากผลการทดลองพบว่าค่าปริมาณไคโตซานที่เหลืออยู่ของไคโตซานจากเปลือกกุ้ง เปลือกปูและแกนหมึก มีค่าสัมพันธ์กับสมบัติของไคโตซาน เช่น ระดับการกำจัดหมู่อะซิติล น้ำหนักโมเลกุล และค่าความหนืด ซึ่งพบว่าปริมาณของไคโตซานที่เหลืออยู่หรือ ไคโดซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ (Low Molecular Weight Chitosan; LMWC) นั้นสำหรับไคโดซานที่มีค่าระดับการกำจัดหมู่อะซิติลในช่วงร้อยละ 70 – 85 ค่าปริมาณของไคโตซานที่เหลืออยู่จะลดลง โดยเฉพาะค่าระดับการกำจัดหมู่อะซิติลต่ำปริมาณของไคโตซานที่เหลืออยู่จะลดลงอย่างรวดเร็ว ซึ่งเป็นผลจากการย่อยสลายพันธะ β1,4-Glycosidic Linkage ในสายโมเลกุลของไคโตซานเพราะสายโมเลกุลของไคโดซานที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิติลต่ำสายโมเลกุลยังคงต่อกันด้วยพันธะ β1,4-Glycosidic Linkage ยาวกว่า ไคโดซานที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิติลสูง ซึ่งในช่วงแรกเอนไซม์จะเข้าไปตัดพันธะ β1,4-Glycosidic Linkage ได้ดีกว่า ซึ่งปริมาณของไคโตซานที่เหลืออยู่ของสารละลายไคโตซานย่อยด้วยเอนไซม์ เซลลูเลส เปปซิน ไลเปสเอ และไคโตซาเนสมีที่ย่อยเวลา 20 ชั่วโมง มีค่าอยู่ที่ร้อยละ 49.3, 47.8, 50.4 และ 44.6 ตามลำดับ เช่นเดียวกับ Qin et al. (2002) พบว่าปริมาณของไคโตซานที่เหลืออยู่ของสารละลายไคโตซานย่อยด้วยเอนไซม์เฮมิเซลลูเลส มีค่าอยู่ที่ร้อยละ 81

ปริมาณสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์และร้อยละการผลิต

ผลการศึกษาการย่อยไคโตซานจากเปลือกกุ้งที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 76.25, 84.77 และ 95.68 โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า พบว่าปริมาณสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ของการย่อยสารละลายไคโตซานที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 76.25 โดยมีค่า 0.0443 ที่เวลา 0 นาที คิดเป็นร้อยละ 4.43 และเพิ่มขึ้นเป็น 0.2778 ที่เวลา 60 นาที คิดเป็นร้อยละ 29.11 และปริมาณสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ของการย่อยสารละลายไคโตซานที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 84.77 โดยมีค่า 0.0521ที่เวลา 0 นาที คิดเป็นร้อยละ 24.06 และเพิ่มขึ้นเป็น 0.3117 ที่เวลา 60 นาที คิดเป็นร้อยละ 60.56 และ ปริมาณสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ของการย่อยสารละลายไคโตซานที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 95.68 โดยมีค่า 0.0443 ที่เวลา 0 นาที คิดเป็นร้อยละ 7.54 และเพิ่มขึ้นเป็น 0.0621ที่เวลา 60 นาที คิดเป็นร้อยละ 9.04

ผลการศึกษาการย่อยไคโตซานจากเปลือกปูที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 61.81, 71.67 และ 95.35 โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า พบว่าปริมาณสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ของการย่อยสารละลายไคโตซานที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 61.81 โดยมีค่า 0.0565 ที่เวลา 0 นาที คิดเป็นร้อยละ 5.65 และเพิ่มขึ้นเป็น 0.4273 ที่เวลา 120 นาที คิดเป็นร้อยละ 39.40 และปริมาณสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ของการย่อยสารละลายไคโตซานที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 71.67 โดยมีค่า 0.2670 ที่เวลา 0 นาที คิดเป็นร้อยละ 26.70 และเพิ่มขึ้นเป็น

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

0.5013 ที่เวลา 50 นาที คิดเป็นร้อยละ 55.13 และ ปริมาณสารผสมไดโตโอลิโกแซคคาไรด์ของการย่อยสารละลายไคโตซานที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 95.35 โดยมีค่า 0.0886 ที่เวลา 0 นาที คิดเป็นร้อยละ 44.28 และเพิ่มขึ้นเป็น 0.1087 ที่เวลา 35 นาที คิดเป็นร้อยละ 54.35

ผลการศึกษาการย่อยไคโตซานจากแกนหมึกที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 81.44, 85.87 และ 89.69 โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า พบว่าปริมาณสารผสมไดโตโอลิโกแซคคาไรด์ของการย่อยสารละลายไคโตซานที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 81.44 โดยมีค่า 0.2201 ที่เวลา 0 นาที คิดเป็นร้อยละ 22.01และเพิ่มขึ้นเป็น 0.3860 ที่เวลา 40 นาที คิดเป็นร้อยละ 38.60 และปริมาณสารผสมไดโตโอลิโกแซคคาไรด์ของการย่อยสารละลายไคโตซานที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 85.87 โดยมีค่า 0.1282 ที่เวลา 0 นาที คิดเป็นร้อยละ 12.82 และเพิ่มขึ้นเป็น 0.2775 ที่เวลา 30 นาที คิดเป็นร้อยละ 30.75 และ ปริมาณสารผสมไดโตโอลิโกแซคคาไรด์ของการย่อยสารละลายไคโตซานที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 89.69 โดยมีค่า 0.0773 ที่เวลา 0 นาที คิดเป็นร้อยละ 7.73 และเพิ่มขึ้นเป็น 0.1071 ที่เวลา 30 นาที คิดเป็นร้อยละ 10.71

ซึ่งสอดคล้องกับ Roncal et al. (2007)) พบว่าปริมาณของสารผสมไดโตโอลิโกแซคคาไรด์ของสารละลายไคโตซานย่อยด้วยเอนไซม์ เซลลูเลส เปปซิน ไลเปสเอ และไคโตซาเนส มีที่ย่อยเวลา 20 ชั่วโมง มีค่าอยู่ที่ร้อยละ 46.1, 52.2, 42.5 และ 46.3 ตามลำดับใกล้เคียงกับรายงานของ Kumar and Tharanathan (2004) จากการเตรียมไคโตซานน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ด้วยเอนไซม์เปปซิน เอนไซม์ปาเปน และเอนไซม์โปรเนส พบว่าร้อยละของผลผลิตของไคโตซานน้ำหนักโมเลกุลต่ำที่เตรียมด้วยเอนไซม์เปปซิน เอนไซม์ปาเปน และเอนไซม์โปรเนส อยู่ในช่วงร้อยละ 78.00-84.00, 75.00-82.00 และ 74.00-80.00 (โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักแห้งของไคโตซาน) ตามลำดับ และจากรายงานของ Jeon et al. (2001) พบว่าการเตรียมไคโตซานน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ด้วยเอนไซม์ไคโตซาเนส จาก *Bacillus pumilus* BN-262 ได้ร้อยละของผลผลิตของไคโตซานน้ำหนักโมเลกุลต่ำที่เตรียมด้วยเอนไซม์ไคโตซาเนส มีค่าเท่ากับร้อยละ 78.00 (โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักแห้งของไคโตซาน) เนื่องจากมีระยะเวลาการเตรียมสารผสมไดโตโอลิโกแซคคาไรด์เพิ่มขึ้นเอนไซม์สามารถย่อยสลายสายโพลิเมอร์ของไคโตซานให้สั้นลงได้เพิ่มขึ้น ทำให้น้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานต่ำลง และส่งผลให้ร้อยละของผลผลิตของไคโตซานน้ำหนักโมเลกุลต่ำมีปริมาณเพิ่มขึ้นด้วย

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

การเลือกช่วงเวลาการย่อยสารละลายไคโตซานจากเปลือกกุ้ง ในการผลิตสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ด้วย Ultrafiltration Membrane

ผลการศึกษาสมบัติของไคโตซานที่ผลิตจากเปลือกกุ้ง เปลือกปู และแกนหมึกในการเตรียมสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า ได้แก่ ความหนืดและจลนศาสตร์การย่อยไคโตซานโดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า พบว่าไคโตซานจากเปลือกกุ้งที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิติล 76.25 และ 84.77 ที่ย่อยด้วยระยะเวลา 40 นาทีและ 10 นาที สามารถนำมาผลิตเป็นสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ได้สมบัติที่เหมาะสมในการนำมากรองด้วย Ultrafiltration Membrane เพื่อให้มีน้ำหนักโมเลกุลในช่วง ≥ 10 kDa, 10 kDa-1 kDa และ ≤ 1 kDa ได้ดี โดยมีค่าระดับขั้นของพอลิเมอร์อยู่ช่วง 1-4 โดยให้ผลการทดลองใกล้เคียงกับของ Zhang et al., 1999; Qin et al., 2004 ได้สารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีค่าน้ำหนักโมเลกุล $3.2x10^{-3}$ - 16 kDa มีค่าระดับขั้นพอลิเมอร์อยู่ในช่วง 1-10 ส่วนไคโตซานจากเปลือกกุ้งที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิติล9 5.68 ไม่เหมาะสมในการนำมาผลิตเป็นสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์เนื่องจากไคโตซานที่ผลิตได้มีน้ำหนักโมเลกุลที่ต่ำเกินไปไม่เหมาะสมสำหรับการกรองผ่าน Ultrafiltration Membrane ได้

ไคโตซานจากเปลือกปูมาเตรียมไคโตซานที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิติล 61.81 และ 71.67 ที่ย่อยด้วยระยะเวลา 40 นาทีและ 10 นาที สามารถนำมาผลิตเป็นสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ได้สมบัติที่เหมาะสมในการนำมากรองด้วย Ultrafiltration Membrane เพื่อให้มีน้ำหนักโมเลกุลในช่วง ≥ 10 kDa, 10 kDa-1 kDa และ ≤1 kDa ได้ดีส่วนไคโตซานจากเปลือกปูที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 95.35 ไม่เหมาะสมในการนำมาผลิตเป็นสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์

ไคโตซานจากแกนหมึกมาเตรียมไคโตซานที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิติล 81.44 และ 85.87 ที่ย่อยด้วยระยะเวลา 10 นาทีและ 5 นาที สามารถนำมาผลิตเป็นสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ได้สมบัติที่เหมาะสมในการนำมากรองด้วย Ultrafiltration Membrane แต่ไม่เหมาะสมในการนำมาผลิตเป็นสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์เนื่องจากแกนหมึกเป็นไคตินที่มีโครงสร้างแบบบีต้าซึ่งเมื่อถูกย่อยด้วยสารเคมีหรือเอ็นไซม์ได้ง่ายกว่าเปลือกกุ้งและเปลือกปูที่มีโครงสร้างไคตินแบบแอลฟา ทำให้ได้สารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีค่าระดับพอลิเมอร์ ที่ 1

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สมบัติทางเคมีกายภาพของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่เตรียมโดยเอนไซม์จากเซลลูเลสทางการค้า

น้ำหนักโมเลกุลของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาร์ไรด์

จากผลการทดลองเตรียมสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า พบว่าน้ำหนักโมเลกุลของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากเปลือกกุ้งที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 76.25 มีค่าอยู่ในช่วง 9.04×10^{5} - 1.4×10^{2} กิโลดาลตัน น้ำหนักโมเลกุลของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากเปลือกกุ้งที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 84.77 มีค่าอยู่ในช่วง 6.45×10^{5} - 1.9×10^{2} กิโลดาลตันน้ำหนักโมเลกุลของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากเปลือกกุ้งที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 95.68 มีค่าอยู่ในช่วง 2.95×10^{5} - 1.4×10^{2} กิโลดาลตัน

น้ำหนักโมเลกุลของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากเปลือกปูที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 61.81 มีค่าอยู่ในช่วง 10.23×10^{5} – 6.63×10^{2} กิโลดาลตัน น้ำหนักโมเลกุลของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากเปลือกปูที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 71.67 มีค่าอยู่ในช่วง 7.83×10^{5} – 5.42×10^{2} กิโลดาลตันน้ำหนักโมเลกุลของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากเปลือกปูที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 95.35 มีค่าอยู่ในช่วง 5.39×10^{5} – 2.31×10^{2} กิโลดาลตัน

น้ำหนักโมเลกุลของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากแกนหมึกที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 81.44 มีค่าอยู่ในช่วง 2.47×10^{5} – 1.20×10^{2} กิโลดาลตัน น้ำหนักโมเลกุลของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากแกนหมึกที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 85.87 มีค่าอยู่ในช่วง 1.94×10^{5} – 1.20×10^{2} กิโลดาลตันน้ำหนักโมเลกุลของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากแกนหมึกที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 89.69 มีค่าอยู่ในช่วง 1.08×10^{5} – 1.2×10^{2} กิโลดาลตัน

น้ำหนักโมเลกุลของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่เตรียมได้ลดลง ใกล้เคียงกับรายงานของ นริศา เหละดุหวิ และคณะ (2547) ศึกษาการใช้เอนไซม์เฮมิเซลลูเลส ในการย่อยไคโตซาน ที่มีการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 80 และมีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 529 กิโลดาลตัน พบว่าได้สารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีค่าน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 16-16.8, 5-8 และ 2-4 กิโลดาลตัน เช่นเดียวกับ Qin et al. (2004) ศึกษาการใช้เอนไซม์เซลลูเลส ย่อยสารละลายไคโตซาน พบว่าสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์มีค่าน้ำหนักโมเลกุล 3.2×10^{-3} กิโลดาลตัน และ Liu et al. (2006) รายงานการเตรียมสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ด้วย Acetic Acid พบว่าน้ำหนักโมเลกุลของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์อยู่ในช่วง 5.5×10^{4} - 15.5×10^{4} ดาลตัน โดยเมื่อเวลาการเตรียมเพิ่มขึ้นมวลโมเลกุลของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์มีค่าลดลง และนอกจากนี้ Muzzarelli (1990) รายงานว่าการยืดระยะเวลา และการใช้อุณหภูมิสูง ทำให้ไคโตซานมีขนาดโมเลกุลเล็กลง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

และเกิดการเสื่อมสลายของสายโพลิเมอร์ไคโตซานให้มีขนาดสั้นลง ส่งผลให้น้ำหนักโมเลกุลลดลงเช่นกัน

ระดับขั้นโพลิเมอร์ของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาร์ไรด์

จากผลการทดลองเตรียมสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า พบว่าสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์มีระดับขั้นโพลิเมอร์ อยู่ในช่วง 1 - 6 สอดคล้องกับรายงานของ Kumar et al. (2005) พบว่าการเตรียมสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ด้วยเอนไซม์ปาเปน และเอนไซม์โปรเนส ให้ระดับขั้นโพลิเมอร์อยู่ในช่วง 2 – 6 ซึ่งใกล้เคียงกับรายงานของ Tsai et al. (2000) พบว่าการเตรียมสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ด้วยเอนไซม์เซลลูเลส ให้ระดับขั้นโพลิเมอร์อยู่ในช่วง 1 – 8

การศึกษาสมบัติของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ต่อการยับยั้งแบคทีเรีย

สารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากเปลือกกุ้งที่มี Molecular Weight ≥ 10 kDa, 10 kDa-1 kDa และ ≥10 kDa และไคโตซาน สามารถยับยั้งเชื้อ *V. paraheamolyticus, V. cholerea, E. coli, S. aureus* และ *L. monocytogenes* ได้ โดยไคโตซานและสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ≥ 10 kDa ทุกระดับความเข้มข้นสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ทุกระดับความเข้มข้น ส่วนสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 10 kDa -1 kDa สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ได้ที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm ขึ้นไปและสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ≤ 1 kDa สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm ขึ้นไป

สารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากเปลือกปูที่มี Molecular Weight ≥ 10 kDa, 10 kDa -1 kDa, ≤ 1 kDa และไคโตซาน สามารถยับยั้งเชื้อ *V. paraheamolyticus*, *V. cholerea, E. coli, S. aureus* และ *L. monocytogenes* ได้โดยไคโตซานและสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ≥ 10 kDa ทุกระดับความเข้มข้นสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ทุกระดับความเข้มข้น และสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 10 kDa-1 kDa สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ทุกระดับความเข้มข้น ยกเว้นเชื้อ *E. coli* กับ *V. cholerea* สามารถยับยั้งได้ที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm ขึ้นไปและสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากเปลือกปู ≤ 1 kDa สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ขึ้นไป ยกเว้น *E. coli* สามารถยับยั้งได้ที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm

ส่วนสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากแกนหมึกที่มี Molecular Weight ≥ 10 kDa, 10 kDa-1 kDa, ≤1 kDa และไคโตซานสามารถยับยั้งเชื้อ *V. paraheamolyticus*, *V. cholerea, E. coli, S. aureus* และ *L. Monocytogenes* แต่ไม่เหมาะสมเนื่องจากมีประสิทธิภาพการยับยั้งได้

ต่ำ หรือไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ ซึ่งอาจเป็นเพราะไคโตซานที่ผลิตจากแกนหมึกมีความไวต่อการทำปฏิกิริยามากเนื่องจากเป็นไคตินชนิด บีต้าไคติน

สมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์พบว่าน้ำหนักโมเลกุลของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์มีผลต่อสมบัติการยับยั้ง โดย Fernandes, tavaria, Soares, Ramos, Monteiro, Pintado, and Malcate (2008) พบว่าสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุล < 3kDa ให้ค่าการยับยั้งเชื้อ *E. coli* และที่ร้อยละ 0.1 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) และสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุล < 5kDa ให้ค่าการยับยั้งเชื้อ *E. coli* และที่ร้อยละ 0.1 (โดยน้ำหนักปริมาตร) แต่มีความสามารถในการยับยั้งได้ดีกว่า < 3kDa และเมื่อเปรียบเทียบตามน้ำหนักโมเลกุล พบว่าสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำให้ค่าการยับยั้งดีกว่า สารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลกลาง และสูง ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Jeon et al. (2001) ที่พบว่าสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ร้อยละ 0.1 สามารถยับยั้ง *E. coli* ได้และ Tsai et al. (2000) ที่พบว่าสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ร้อยละ 0.005, 0.008 และ 0.016 สามารถยับยั้ง *V. cholerae* CCRC 13860, *V. parahaemolyticus* CCRC 10806 และ *E. coli* CCRC10674 ได้ สอดคล้องกับรายงานของ No et al. (2002) ซึ่งใช้ไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลในช่วง 1-1671 กิโลดาลตัน พบว่ายับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบโดยความเข้มข้นเท่ากับ ร้อยละ 0.1 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) การยับยั้งเชื้อ *E.coli* ATCC27850 และ *Salmonella* group B_1 และ C_2 ของไคโตซานโดยวิธี Agar Disk Diffusion Method โดยพบว่า ไคโตซานสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ที่ความเข้มข้น 5, 10 และ 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานที่ระดับต่างกันให้ค่าเฉลี่ยของวงใสรอบโคโลนี แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) สอดคล้องกับรายงานของ No et al. (2002) พบว่าค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญ ที่ใช้ยับยั้งแบคทีเรียได้อยู่ในช่วง ร้อยละ 0.05 ถึงมากกว่า ร้อยละ 0.1 โดยพบว่ายับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ Liu et al. (2006) รายงานว่า เมื่อใช้ไคโตซานที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลเท่ากันแต่มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 5.5×10^4-15.5×10^4 พบว่า น้ำหนักโมเลกุล 5.5×10^4 สามารถยับยั้ง *E. coli* ได้ดีที่สุด

นอกจากน้ำหนักโมเลกุลแล้ว พบว่า ระดับขั้นโพลิเมอร์และระดับการกำจัดหมู่อะซิติลมีผลต่อการยับยั้งจุลินทรีย์เช่นกัน Kumar et al. (2005) รายงานว่า ที่ระดับขั้นโพลิเมอร์ที่ 6 ซึ่งมี Probable Sequence GlcN-GlcNAc-$(GlcN)_4$ สามารถยับยั้งแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบได้ดีกว่า ระดับขั้นโพลิเมอร์ที่ 2 ซึ่งมี Probable Sequence เป็น GlcN-GlcN เนื่องจากมีหมู่อะมิโนอิสระที่มากกว่า

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University