บทที่ 4
ผลการวิจัย

การเตรียมไคติน ไคโตซานจากเปลือกกุ้ง เปลือกปูและแกนหมึก

1. การเตรียมไคตินจากแหล่งต่าง ๆ

1.1. การเตรียมไคตินจากเปลือกกุ้งและเปลือกปู

ผลการเตรียมไคติน ไคโตซานจากเปลือกกุ้งและเปลือกปู โดยนำเปลือกกุ้งและเปลือกปูแห้งมาผ่านประบวนการกำจัดแร่ธาตุ ด้วยกรดไฮโดรคลอริก และการกำจัดโปรตีนด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ อบแห้งที่อุณหภูมิ 60 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบว่าไคตินที่แยกได้จากเปลือกกุ้งขาวมีปริมาณร้อยละ 31.12 (น้ำหนักเปลือกแห้ง) และไคตินที่แยกได้จากเปลือกปูมีปริมาณร้อยละ 13.23 (น้ำหนักเปลือกแห้ง) แสดงได้ดังตารางที่ 4-1 โดยไคตินที่แยกได้จากเปลือกกุ้งขาวและเปลือกปู แสดงได้ดังภาพที่ 4-1

1.2 การเตรียมไคตินจากแกนหมึก

ผลการเตรียมไคตินจากแกนหมึก โดยนำแกนหมึกแห้งมากำจัดโปรตีนด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้องแล้วล้างด้วยน้ำกลั่นจนหมดด่าง อบแห้งที่อุณหภูมิ 60 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบว่าไคตินที่แยกได้จากแกนหมึกมีปริมาณร้อยละ 34.94 (น้ำหนักเปลือกแห้ง) โดยไคตินที่แยกได้จากแกนหมึก แสดงได้ดังภาพที่ 4-1

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 4-1 สรุปร้อยละผลผลิตในกระบวนการผลิต ไคติน จากเปลือกกุ้ง เปลือกปู และแกนหมึก

ขั้นตอน	เปลือกกุ้ง				เปลือกปู				แกนหมึก			
	น้ำหนัก (เปลือกสด) กรัม	น้ำหนัก (เปลือกแห้ง) กรัม	ร้อยละผลผลิต (น้ำหนักแห้ง)	ร้อยละผลผลิต (น้ำหนักเปียก)	น้ำหนัก (เปลือกสด) กรัม	น้ำหนัก (เปลือกแห้ง) กรัม	ร้อยละผลผลิต (น้ำหนักแห้ง)	ร้อยละผลผลิต (น้ำหนักเปียก)	น้ำหนัก (เปลือกสด) กรัม	น้ำหนัก (เปลือกแห้ง) กรัม	ร้อยละผลผลิต (น้ำหนักแห้ง)	ร้อยละผลผลิต (น้ำหนักเปียก)
การผลิตไคติน												
เปลือกสด	**200.05**	-	-	-	10.24	-	-	-	**10.89**	-	-	-
↓												
เปลือกแห้ง		24.10	12.05	-		6.65	64.94	-		2.69	24.70	-
↓												
ย่อยด้วยกรด ล้างและอบแห้ง		18.50	9.25	76.76		0.90	9.00	13.53		1.12	10.28	41.64
↓												
ย่อยด้วยด่าง ล้างและอบแห้ง		7.50	31.12	3.75		0.88	13.23	8.59		0.94	34.94	8.63
↓												
ไคติน		**7.50**	**31.12**	**3.75**		**0.88**	**13.23**	**8.59**		**0.88**	**34.94**	**8.63**

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

2. การเตรียมไคตินไคโตซานจากเปลือกกุ้ง เปลือกปู และแกนหมึก

2.1 การเตรียมไคโตซานจากเปลือกกุ้งและเปลือกปู

ผลการเตรียมไคโตซานจากเปลือกกุ้งและเปลือกปู นำไคตินที่เตรียมได้จากข้อ 1.1 มาเตรียมไคโตซานที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิติลต่าง ๆ กัน โดยใช้ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก ที่สภาวะต่างๆ กัน พบว่าไคโตซาน ที่แยกได้จากเปลือกกุ้งขาวที่สภาวะ อุณหภูมิ 110 ± 2 องศาเซลเซียส 1 รอบในการสกัด และเวลาที่ใช้ในการสกัด 1 ชั่วโมง มีปริมาณร้อยละ 73.44 (น้ำหนักเปลือกแห้ง) ที่สภาวะ อุณหภูมิ 120 ± 2 องศาเซลเซียส 1 รอบในการสกัด และเวลาที่ใช้ในการสกัด 2 ชั่วโมง มีปริมาณร้อยละ 75 (น้ำหนักเปลือกแห้ง) และที่ อุณหภูมิ 120 ± 2 องศาเซลเซียส 3 รอบในการสกัด และเวลาที่ใช้ในการสกัด 3 ชั่วโมง มีปริมาณร้อยละ 59.38 (น้ำหนักเปลือกแห้ง) และไคโตซานที่แยกได้จากเปลือกปูที่สภาวะ อุณหภูมิ 110 ± 2 องศาเซลเซียส 1 รอบในการสกัด และเวลาที่ใช้ในการสกัด 1 ชั่วโมง มีปริมาณร้อยละ 97.20 (น้ำหนักเปลือกแห้ง) ที่สภาวะ อุณหภูมิ 120 ± 2 องศาเซลเซียส 1 รอบในการสกัด และเวลาที่ใช้ในการสกัด 2 ชั่วโมง มีปริมาณร้อยละ 59.37 (น้ำหนักเปลือกแห้ง) และที่ อุณหภูมิ 120 ± 2 องศาเซลเซียส 3 รอบในการสกัด และเวลาที่ใช้ในการสกัด 3 ชั่วโมง มีปริมาณร้อยละ 48.13 (น้ำหนักเปลือกแห้ง) แสดงได้ดังตารางที่ 4-2 โดยไคโตซานที่แยกได้จากเปลือกกุ้งขาวและเปลือกปู

2.2 การเตรียมไคโตซานจากแกนหมึก

ผลการเตรียมไคโตซานจากแกนหมึกโดยนำไคตินที่เตรียมได้จากข้อ 1.1 มาเตรียมไคโตซานที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิติลต่าง ๆ กัน โดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก ที่สภาวะต่างๆ กัน พบว่าไคโตซาน ที่แยกได้จากแกนหมึกที่สภาวะ อุณหภูมิ 100 ± 2องศาเซลเซียส 1 รอบในการสกัด และเวลาที่ใช้ในการสกัด 2 ชั่วโมง มีปริมาณร้อยละ 95.00 (น้ำหนักเปลือกแห้ง) อุณหภูมิ 100 ± 2 องศาเซลเซียส 1 รอบในการสกัด และเวลาที่ใช้ในการสกัด 4 ชั่วโมง มีปริมาณร้อยละ 83.00 (น้ำหนักเปลือกแห้ง) และที่อุณหภูมิ 100 ± 2 องศาเซลเซียส 1 รอบในการสกัด และเวลาที่ใช้ในการสกัด 6 ชั่วโมง มีปริมาณร้อยละ 76.00 (น้ำหนักเปลือกแห้ง) แสดงได้ดังตารางที่ 4-3 โดยไคโตซานที่แยกได้จากแกนหมึก

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 4-2 สรุปร้อยละผลผลิตในกระบวนการผลิต ไคโตซาน จากเปลือกกุ้งและเปลือกปู

กระบวนการ	เปลือกกุ้ง		ไคติน	ไคโตซาน	ร้อยละผลผลิต			เปลือกปู		ไคติน	ไคโตซาน	ร้อยละผลผลิต		
	นน.เปียก (เปลือกสด) กรัม	นน.แห้ง (เปลือกแห้ง) กรัม	นน.แห้ง (ก่อน) กรัม	นน.แห้ง (หลัง) กรัม	ร้อยละผลผลิต (นน.เปลือกสด)	ร้อยละผลผลิต (นน.เปลือกแห้ง)	ร้อยละผลผลิต (นน.ไคติน)	นน.เปียก (เปลือสด) กรัม	นน.แห้ง (เปลือกแห้ง) กรัม	นน.แห้ง (ก่อน) กรัม	นน.แห้ง (หลัง) กรัม	ร้อยละผลผลิต (นน.เปลือกสด)	ร้อยละผลผลิต (นน.เปลือกแห้ง)	ร้อยละผลผลิต (นน.ไคติน)
การผลิตไคโตซาน 110 ± 2C° 1 ชม. 1 ครั้ง														
1. ย่อยด้วยด่าง ครั้งที่ 1	853.68	1028.68	320.13	235.42	27.58	22.89	73.54	2843.64	804.10	250.24	243.77	8.57	30.32	97.41
การผลิตไคโตซาน 120 ± 2 C° 2 ชม. 1 ครั้ง														
1. ย่อยด้วยด่าง ครั้งที่ 1	641.39	772.87	240.52	180.65	28.17	23.37	75.11	3643.86	1030.39	320.66	190.02	5.21	18.44	59.25
การผลิตไคโตซาน 120 ± 2 C° 3 ชม. 3 ครั้ง														
1. ย่อยด้วยด่าง ครั้งที่ 1	854.96	1030.23	320.61	230.72	26.99	22.40	71.96	3637.84	1028.68	320.13	216.61	5.95	21.06	67.66
2. ย่อยด้วยด่าง ครั้งที่ 2			230.29	215.85	25.25	20.95	67.32			216.83	190.8	5.24	18.55	59.60
3. ย่อยด้วยด่าง ครั้งที่ 3			215.83	190.11	22.24	18.45	59.30			190.69	154.91	4.26	15.06	48.39

Burapha University

ตารางที่ 4-3 สรุปร้อยละผลผลิตในกระบวนการผลิตไคโตซาน จากแกนหมึก

กระบวนการ	แกนหมึก		ไคติน	ไคโตซาน	ร้อยละผลผลิต		
	นน.เปียก (เปลือกสด) กรัม	นน.แห้ง (เปลือกแห้ง) กรัม	นน.แห้ง(ก่อน) กรัม	นน.แห้ง (หลัง) กรัม	ร้อยละผลผลิต (นน.เปลือกสด)	ร้อยละผลผลิต (นน.เปลือกแห้ง)	ร้อยละผลผลิต (นน.ไคติน)
การผลิตไคโตซาน 100 ± 2 C° 2 ชม.							
1. ย่อยด้วยด่าง	3,483.99	860.60	300.73	285.06	**8.18**	**33.12**	**94.79**
การผลิตไคโตซาน 100 ± 2 C° 4 ชม.							
1. ย่อยด้วยด่าง	3,485.38	860.94	300.85	249.34	**7.15**	**28.96**	**82.88**
การผลิตไคโตซาน 100 ± 2 C° 6 ชม.							
1. ย่อยด้วยด่าง	3,479.70	859.54	300.36	228.51	**6.57**	**26.59**	**76.08**

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

การวิเคราะห์สมบัติทางเคมีกายภาพของไคโตซาน

ผลการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีกายภาพของไคโตซาน ได้แก่ การวิเคราะห์ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซาน และการวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของไคโตซาน มีรายละเอียดดังนี้

1. ผลการวิเคราะห์ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซาน

ผลการวิเคราะห์ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานที่ผลิตในสภาวะต่าง ๆ กัน แสดงได้ดังตารางที่ 4-3 โดยพบว่าระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานที่แยกได้จากเปลือกกุ้งขาวมีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 76.25 – 95.68 ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานที่แยกได้จากเปลือกปูมีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 61.81 – 95.35 และระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานที่แยกได้จากแกนหมึกมีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 81.44 – 89.69 โดยในการผลิตไคโตซานจากเปลือกกุ้งที่สภาวะอุณหภูมิ 110 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส 1 รอบในการสกัด และเวลาที่ใช้ในการสกัด 1 ชั่วโมง มีระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานร้อยละ 76.25 $\pm$ 0.75 ที่สภาวะ อุณหภูมิ 120 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส 1 รอบในการสกัด และเวลาที่ใช้ในการสกัด 2 ชั่วโมง มีระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานร้อยละ 84.77 $\pm$ 1.49 และที่ อุณหภูมิ 120 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส 3 รอบในการสกัด และเวลาที่ใช้ในการสกัด 3 ชั่วโมง มีระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานร้อยละ 95.68 $\pm$ 1.70 และไคโตซานที่แยกได้จากเปลือกปูที่สภาวะ อุณหภูมิ 110 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส 1 รอบในการสกัด และเวลาที่ใช้ในการสกัด 1 ชั่วโมง มีระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานร้อยละ 61.81 $\pm$ 2.22 ที่สภาวะอุณหภูมิ 120 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส 1 รอบในการสกัด และเวลาที่ใช้ในการสกัด 2 ชั่วโมง มีระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานร้อยละ 71.67 $\pm$ 1.63และที่ อุณหภูมิ 120 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส 3 รอบในการสกัด และเวลาที่ใช้ในการสกัด 3 ชั่วโมง มีระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานร้อยละ 95.35 $\pm$ 1.31 และไคโตซานที่แยกได้จากแกนหมึกที่สภาวะ อุณหภูมิ 100 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส 1 รอบในการสกัด และเวลาที่ใช้ในการสกัด 2 ชั่วโมง มีระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานร้อยละ 81.44 $\pm$ 0.46 อุณหภูมิ 100 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส 1 รอบในการสกัด และเวลาที่ใช้ในการสกัด 4 ชั่วโมง ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานร้อยละ 85.87 $\pm$ 0.44 และที่อุณหภูมิ 100 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส 1 รอบในการสกัด และเวลาที่ใช้ในการสกัด 6 ชั่วโมง ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานร้อยละ 89.69 $\pm$ 0.44

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 4-4 ผลของอุณหภูมิ จำนวนรอบการสกัดและเวลาที่ใช้ในการสกัดไคโตซาน ที่ความเข้มข้นสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก ต่อระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซาน แสดงค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ชนิดของไคโตซาน	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา (ชั่วโมง)	จำนวนรอบการสกัด (รอบ)	ระดับการกำจัดหมู่อะซิติล	น้ำหนักโมเลกุล (× 10^6ดาลตัน)
เปลือกกุ้ง	110 ± 2	1	1	76.25 ± 0.75 $^{a\,C}$	2.06 ± 0.12 $^{c\,G}$
เปลือกกุ้ง	120 ± 2	2	1	84.77 ± 1.49 $^{b\,DE}$	1.62 ± 0.0 $^{b\,F}$
เปลือกกุ้ง	120 ± 2	3	3	95.68 ± 1.70 $^{c\,G}$	0.51 ± 0.06 $^{a\,C}$
เปลือกปู	110 ± 2	1	1	61.81 ± 2.22 $^{a\,A}$	1.14 ± 0.03 $^{c\,F}$
เปลือกปู	120 ± 2	2	1	71.67 ± 1.63 $^{b\,B}$	1.00 ± 0.00 $^{b\,D}$
เปลือกปู	120 ± 2	3	3	95.35 ± 1.31 $^{c\,G}$	0.45 ± 0.01 $^{a\,C}$
แกนหมึก	100 ± 2	2	1	81.44 ± 0.46 $^{a\,D}$	0.50 ± 0.01 $^{c\,C}$
แกนหมึก	100 ± 2	4	1	85.87 ± 0.44 $^{b\,DE}$	0.33 ± 0.04 $^{b\,B}$
แกนหมึก	100 ± 2	6	1	89.69 ± 0.44 $^{c\,F}$	0.16 ± 0.00 $^{a\,A}$

a,b,...หมายถึง ตัวอักษรต่างกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p<0.05$)ในกลุ่มตัวอย่างชนิดเดียวกัน

A,B,...หมายถึง ตัวอักษรต่างกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p<0.05$)ในกลุ่มตัวอย่างทั้งหมด

2. ผลการวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของไคโตซาน

ผลการวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานที่ผลิตในสภาวะต่าง ๆ กัน แสดงได้ดังตารางที่ 4-3 โดยพบว่าน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานที่แยกได้จากเปลือกกุ้งขาวมีค่าอยู่ในช่วง 0.51 - 2.06 × 10^6ดาลตัน น้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานที่แยกได้จากเปลือกปูมีค่าอยู่ในช่วง 0.45 - 1.14 × 10^6ดาลตัน และน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานที่แยกได้จากแกนหมึกมีค่าอยู่ในช่วง 0.16 - 0.50 × 10^6ดาลตัน โดยในการผลิตไคโตซานจากเปลือกกุ้งที่สภาวะ อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส 1 รอบในการสกัด และเวลาที่ใช้ในการสกัด 1 ชั่วโมง มีน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซาน 2.06 ± 0.12 × 10^6ดาลตัน ที่สภาวะ อุณหภูมิ 120 ± 2 องศาเซลเซียส 1 รอบในการสกัด และเวลาที่ใช้ในการสกัด 2 ชั่วโมง มีน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซาน 1.62 ± 0.05 × 10^6ดาลตัน และที่ อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส 3 รอบในการสกัด และเวลาที่ใช้ในการสกัด 3 ชั่วโมง มีน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซาน 0.51 ± 0.06× 10^6ดาลตัน และไคโตซานที่แยกได้จากเปลือกปูที่สภาวะ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

อุณหภูมิ 110 ± 2 องศาเซลเซียส 1 รอบในการสกัด และเวลาที่ใช้ในการสกัด 1 ชั่วโมง มีน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซาน 1.14 ± 0.03× 10^6ดาลตัน ที่สภาวะ อุณหภูมิ 120 ± 2 องศาเซลเซียส 1 รอบในการสกัด และเวลาที่ใช้ในการสกัด 2 ชั่วโมง มีน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซาน 1.00 ± 0.00 × 10^6 ดาลตัน และที่ อุณหภูมิ 120 ± 2 องศาเซลเซียส 3 รอบในการสกัด และเวลาที่ใช้ในการสกัด 3 ชั่วโมง มีน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซาน 0.45 ± 0.01 × 10^6ดาลตัน และไคโตซานที่แยกได้จากแกนหมึกที่สภาวะ อุณหภูมิ 100 ± 2 องศาเซลเซียส 1 รอบในการสกัด และเวลาที่ใช้ในการสกัด 2 ชั่วโมง มีน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซาน 0.50 ± 0.01 × 10^6ดาลตัน อุณหภูมิ 100 ± 2 องศาเซลเซียส 1 รอบในการสกัด และเวลาที่ใช้ในการสกัด 4 ชั่วโมง มีน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซาน 0.33 ± 0.04 × 10^6ดาลตัน และที่อุณหภูมิ 100 ± 2 องศาเซลเซียส 1 รอบในการสกัด และเวลาที่ใช้ในการสกัด 6 ชั่วโมง มีน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซาน 0.16 ± 0.00 × 10^6ดาลตัน

การศึกษาสมบัติของไคโตซานที่ผลิตจากเปลือกกุ้ง เปลือกปู และแกนหมึกในการเตรียมสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

ผลการศึกษาสมบัติของไคโตซานที่ผลิตจากเปลือกกุ้ง เปลือกปู และแกนหมึกในการเตรียมสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า ได้แก่ ความหนืดและจลน์ศาสตร์การย่อยไคโตซานโดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า สมบัติทางเคมีกายภาพของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ และสมบัติการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ดังนี้

1. การศึกษาการเตรียมสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้าและจลน์ศาสตร์การย่อยไคโตซานโดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

ผลการศึกษาการเตรียมสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า และจลนศาสตร์การย่อยไคโตซานโดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า โดยเตรียมสารละลายไคโตซานจากเปลือกกุ้ง เปลือกปูและแกนหมึกร้อยละ 1 ในกรดอะซิติกร้อยละ 1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) จากไคโตซานที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของ ไคโตซานในช่วงร้อยละ 77 - 95 ปรับค่าความเป็นกรดเป็นด่างเป็นค่าที่ 6.5 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร เติมเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า โดยใช้อัตราส่วนของเอนไซม์ต่อไคโตซานร้อยละ 0.1 ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส บ่มเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 rpm ติดตามความหนืดสารละลายไคโตซาน และจลนศาสตร์การย่อยไคโตซานโดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า ตั้งแต่นาทีที่ 0 จนหยุดปฏิกิริยา ดังนี้

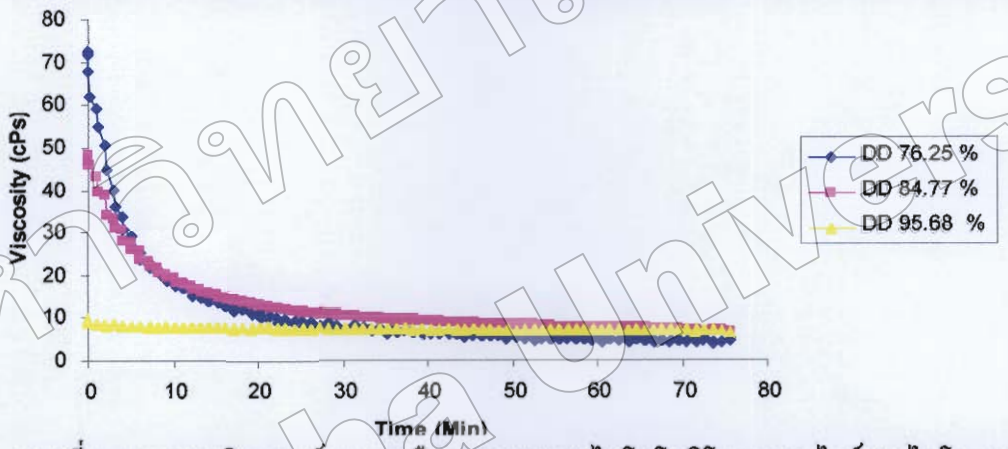
มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

1.1 การศึกษาการเตรียมสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากไคโตซานแหล่งต่าง ๆ โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

ผลการศึกษาการเตรียมสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรดากไคโตซานแหล่งต่าง ๆ โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า ด้วยการวัดค่าความหนืด มีรายละเอียดดังนี้

1.1.1 การศึกษาการเตรียมสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากไคโตซานเปลือกกุ้ง โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

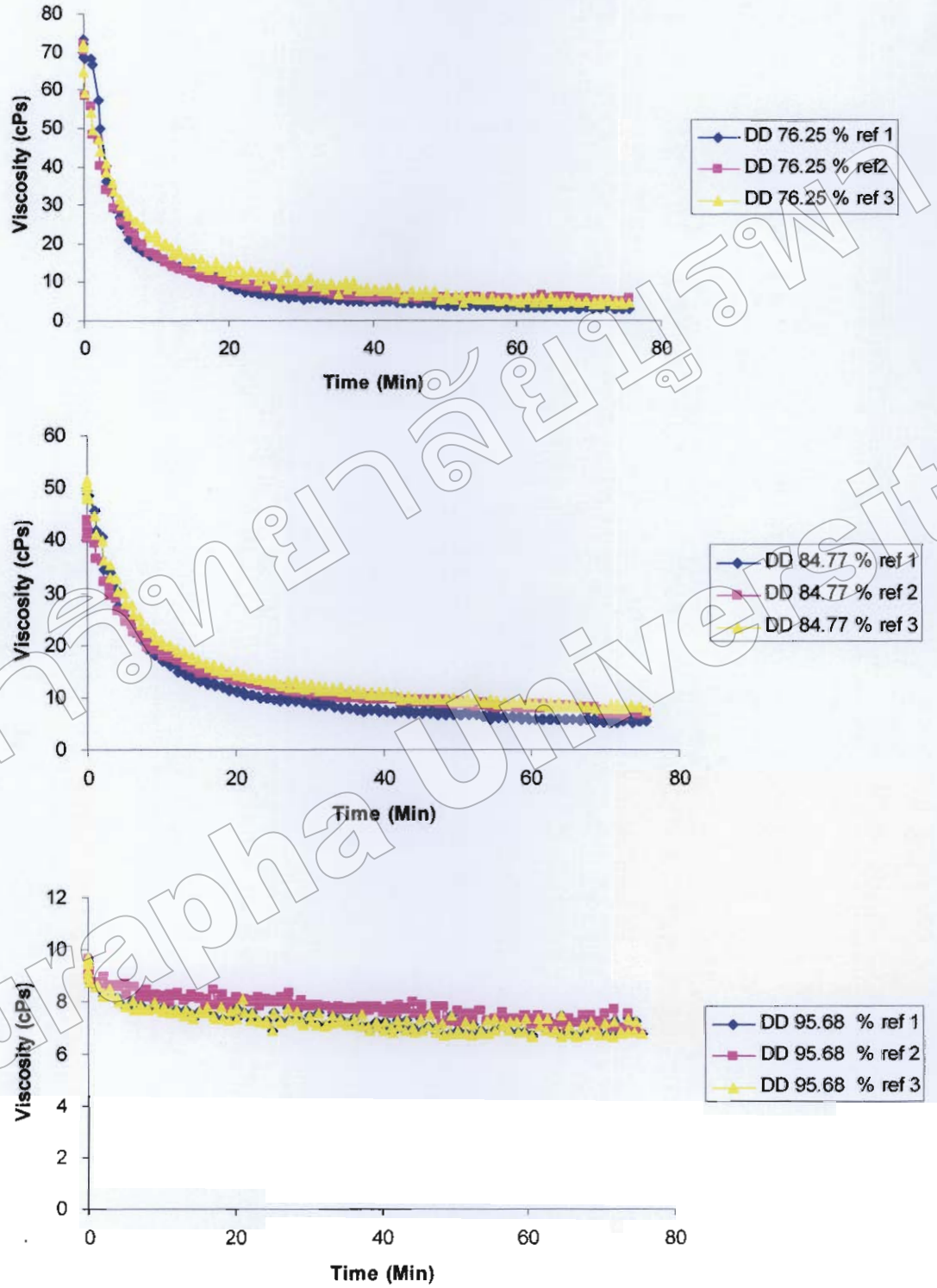
การศึกษาการเตรียมสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากไคโตซานเปลือกกุ้งโดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า พบว่าความหนืดของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ที่เตรียมโดยสารละลายไคโตซานที่ผลิตจากเปลือกกุ้ง ความหนืดของสารละลายไคโตซานลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 30 นาทีแรก และลดลงอย่างช้า ๆ และคงที่ในช่วง 40 – 80 นาที แสดงได้ดังภาพที่ 4-1



ภาพที่ 4-1 ผลการวิเคราะห์ความหนืดของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากไคโตซานเปลือกกุ้ง ที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานต่าง ๆ โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

ความหนืดสารละลายไคโตซานที่ผลิตจากเปลือกกุ้ง ที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานร้อยละ 76.25 มีการลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 15 นาที แรกและลดลงอย่างช้า ๆ และคงที่ในช่วง 20 – 80 นาที จากค่าความหนืดเริ่มต้น 73.32 เซนติพอยด์ จนสิ้นสุดกระบวนการย่อยมีค่าความหนืดสุดท้าย 4.49 เซนติพอยด์ ค่าความหนืดสารละลายไคโตซานที่ผลิตจากเปลือกกุ้ง ที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานร้อยละ 84.77 มีการลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 40 นาที แรกและลดลงอย่างช้า ๆ และคงที่ในช่วง 50 – 80 นาที จากค่าความหนืดเริ่มต้น 48.43 เซนติพอยด์ และค่าความหนืดสุดท้าย 10.78 เซนติพอยด์ และค่าความหนืดสารละลายไคโตซานที่ผลิตจากเปลือกกุ้ง ที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานร้อยละ 95.68 มีการลดลงอย่างช้า ๆ และคงที่ในช่วง 0 – 80 นาที จากค่าความหนืดเริ่มต้น 9.71 เซนติพอยด์ จนสิ้นสุดกระบวนการย่อยมีค่าความหนืดสุดท้าย 6.89 เซนติพอยด์ แสดงได้ดังภาพที่ 4-2 และตารางที่ 4-6

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

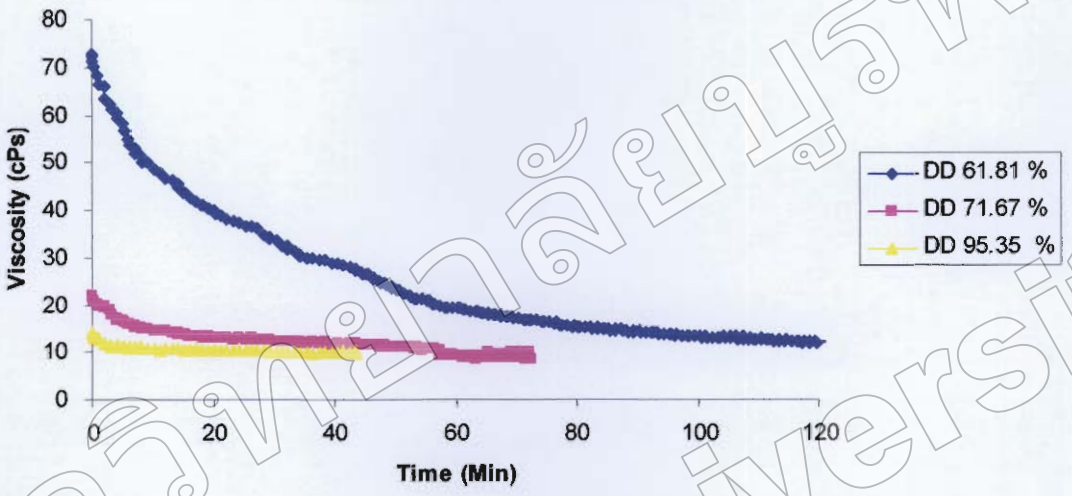


ภาพที่ 4-2 ผลการวิเคราะห์ความหนืดของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากไคโตซานเปลือกกุ้งที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานร้อยละ 76.25, 84.77 และ 95.68 โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

1.1.2 การศึกษาการเตรียมสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากไคโตซานเปลือกปู โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

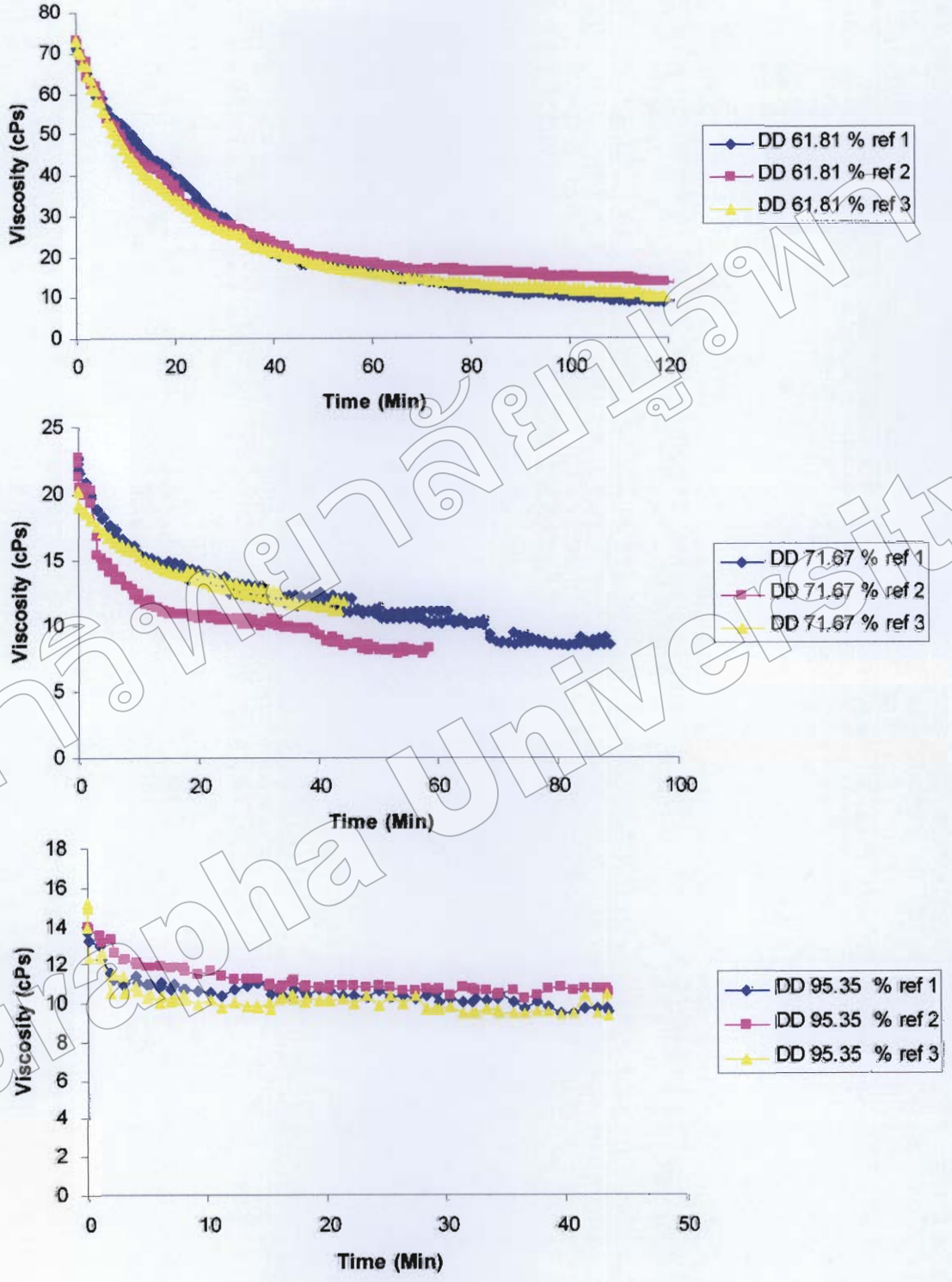
การศึกษาการเตรียมสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากไคโตซานเปลือกปูโดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า พบว่าความหนืดของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ที่เตรียมโดยสารละลายไคโตซานที่ผลิตจากเปลือกปูลดลง แสดงได้ดังภาพที่ 4-3 และตารางที่ 4-7



ภาพที่ 4-3 ผลการวิเคราะห์ความหนืดของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากไคโตซานเปลือกปู ที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานต่าง ๆ โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

ความหนืดสารละลายไคโตซานที่ผลิตจากเปลือกปู ที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานร้อยละ 61.81 มีการลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 60 นาที แรกและลดลงอย่างช้า ๆ และคงที่ในช่วง 70 – 120 นาที จากค่าความหนืดเริ่มต้น 72.74 เซนติพอยด์ และค่าความหนืดสุดท้าย 11.44 เซนติพอยด์ ค่าความหนืดสารละลายไคโตซานที่ผลิตจากเปลือกปู ที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานร้อยละ 71.67 มีการลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 40 นาที แรกและลดลงอย่างช้า ๆ และคงที่ในช่วง 50 – 80 นาที จากค่าความหนืดเริ่มต้น 21.92 เซนติพอยด์ และค่าความหนืดสุดท้าย 10.53 เซนติพอยด์ และค่าความหนืดสารละลายไคโตซานที่ผลิตจากเปลือกปู ที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานร้อยละ 95.68 มีการลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 5 นาที แรกมีการลดลงอย่างช้า ๆ และคงที่ในช่วง 10 – 40 นาที จากค่าความหนืดเริ่มต้น 14.37 เซนติพอยด์ และค่าความหนืดสุดท้าย 9.86 เซนติพอยด์ แสดงได้ดังภาพที่ 4-4 และตารางที่ 4-7

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

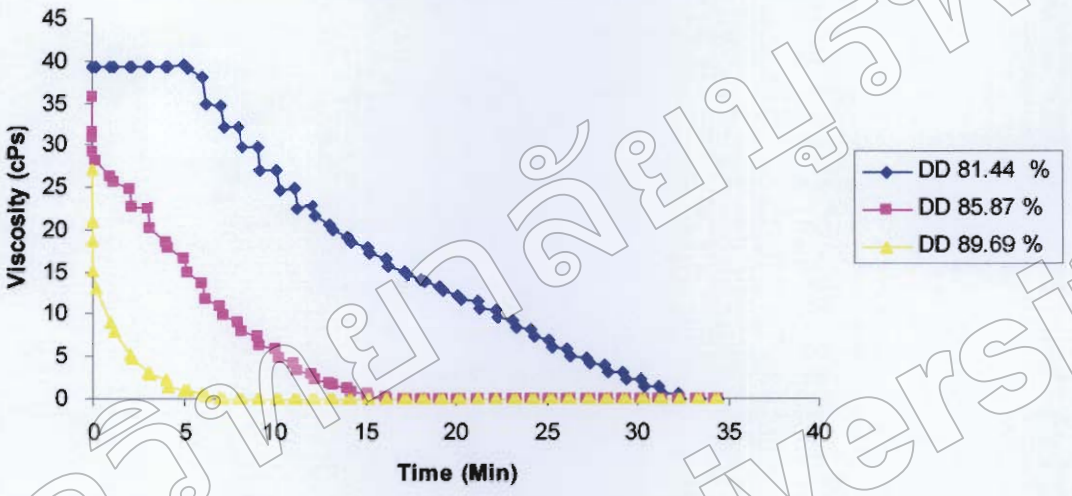


ภาพที่ 4-4 ผลการวิเคราะห์ความหนืดของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากไคโตซานเปลือกปู ที่ ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานร้อยละ 61.81, 71.67 และ 95.35 โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

1.1.3 การศึกษาการเตรียมสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากไคโตซานแกนหมึกโดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

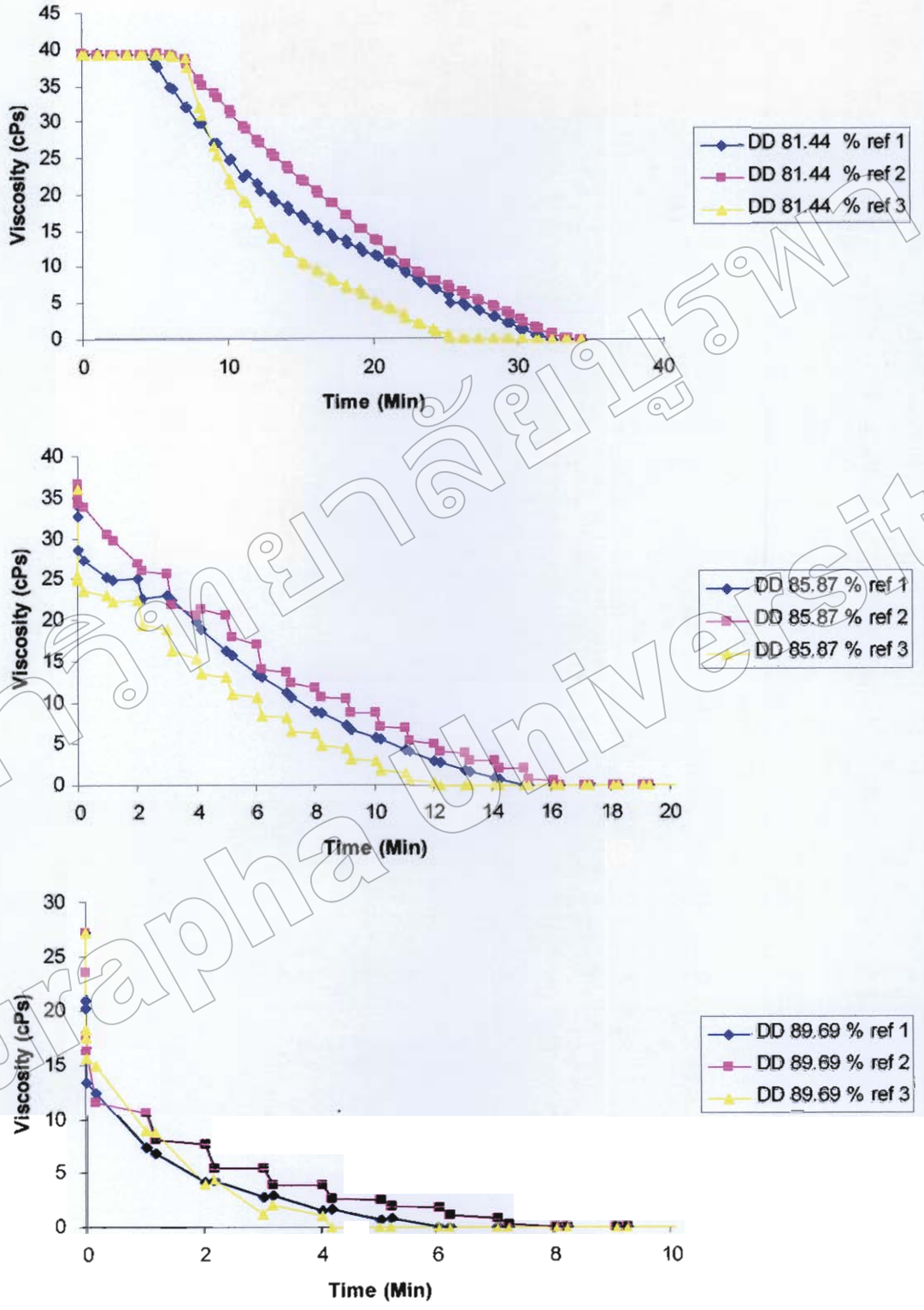
การศึกษาการเตรียมสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากไคโตซานแกนหมึกโดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า พบว่าความหนืดของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ที่เตรียมโดยสารละลายไคโตซานที่ผลิตจากแกนหมึกลดลง แสดงได้ดังภาพที่ 4-5 และตารางที่ 4-8



ภาพที่ 4-5 ผลการวิเคราะห์ความหนืดของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากไคโตซานแกนหมึกที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานต่าง ๆ โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

ความหนืดสารละลายไคโตซานที่ผลิตจากแกนหมึก ที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานร้อยละ 81.44 มีการคงที่ในช่วง 0 – 10 นาทีแรก แล้วจึงลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 10 – 30 นาที จนมีค่าความหนืดเป็น 0 จากค่าความหนืดเริ่มต้น 39.39 เซนติพอยด์ และค่าความหนืดสุดท้าย 0 เซนติพอยด์ ค่าความหนืดสารละลายไคโตซานที่ผลิตจากแกนหมึก ที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานร้อยละ 85.87 มีการลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 20 นาทีแรก และค่าความหนืดสุดท้าย 0 เซนติพอยด์ จากค่าความหนืดเริ่มต้น 35.68 เซนติพอยด์ และค่าความหนืดสุดท้าย 0 เซนติพอยด์ และค่าความหนืดสารละลายไคโตซานที่ผลิตจากแกนหมึก ที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานร้อยละ 89.69 มีการลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 10 นาที แรก และค่าความหนืดสุดท้าย 0 เซนติพอยด์ จากค่าความหนืดเริ่มต้น 27.19 เซนติพอยด์ และค่าความหนืดสุดท้าย 0 เซนติพอยด์ แสดงได้ดังภาพที่ 4-6 และตารางที่ 4-8

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



ภาพที่ 4-6 ผลการวิเคราะห์ความหนืดของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากไคโตซานแกนหมึกที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานร้อยละ 81.44, 85.87 และ 89.69 โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

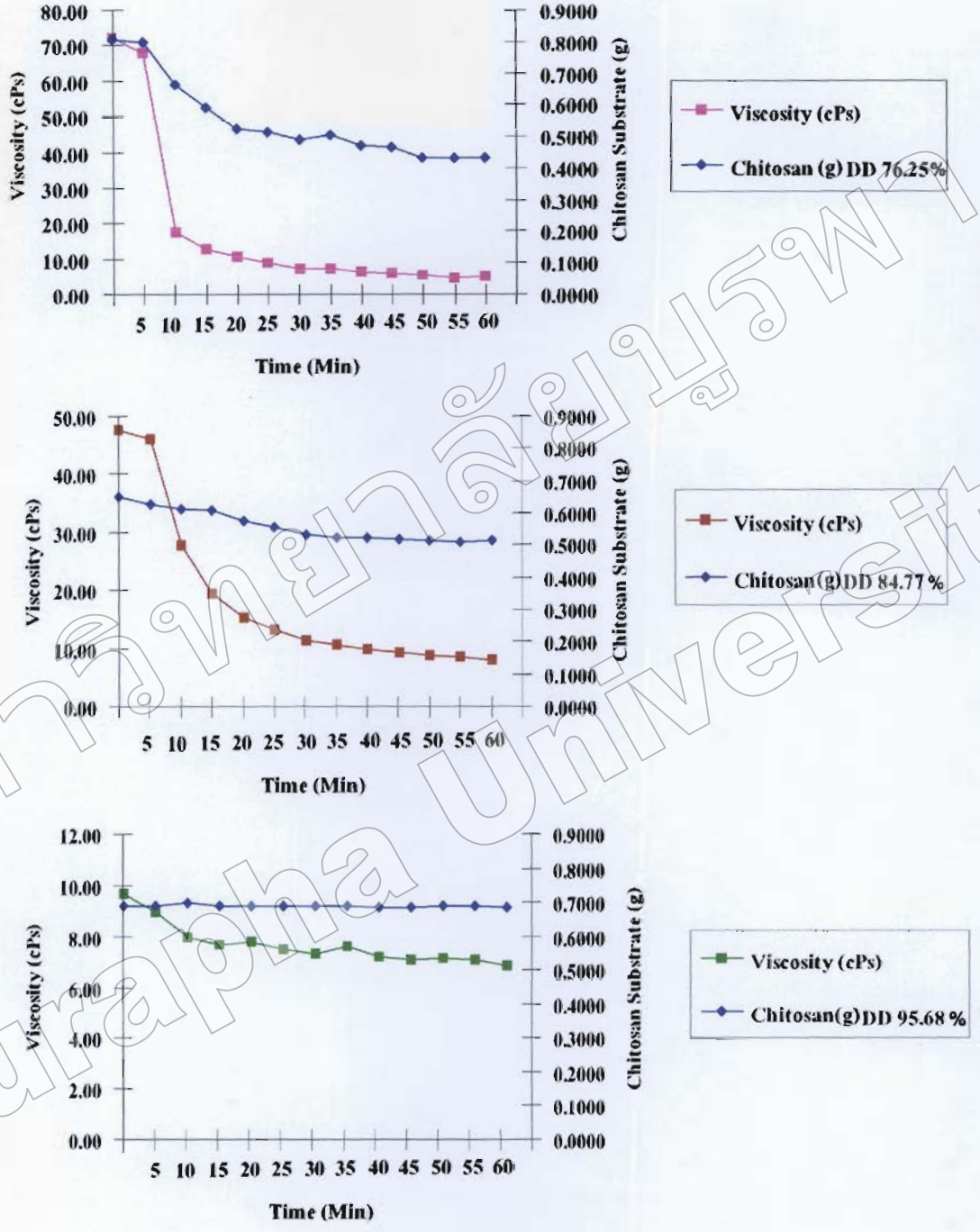
1.2 การศึกษาการย่อยไคโตซานจากเปลือกกุ้ง เปลือกปู และแกนหมึกโดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

ผลการศึกษาการย่อยไคโตซานจากเปลือกกุ้ง เปลือกปู และแกนหมึกโดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า ด้วยการวัดค่าความหนืด ปริมาณไคโตซานที่เหลือจากการย่อยโดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า ปริมาณสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ และร้อยละผลผลิตของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ มีรายละเอียดดังนี้

1.2.1 การศึกษาการย่อยไคโตซานจากเปลือกกุ้ง โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

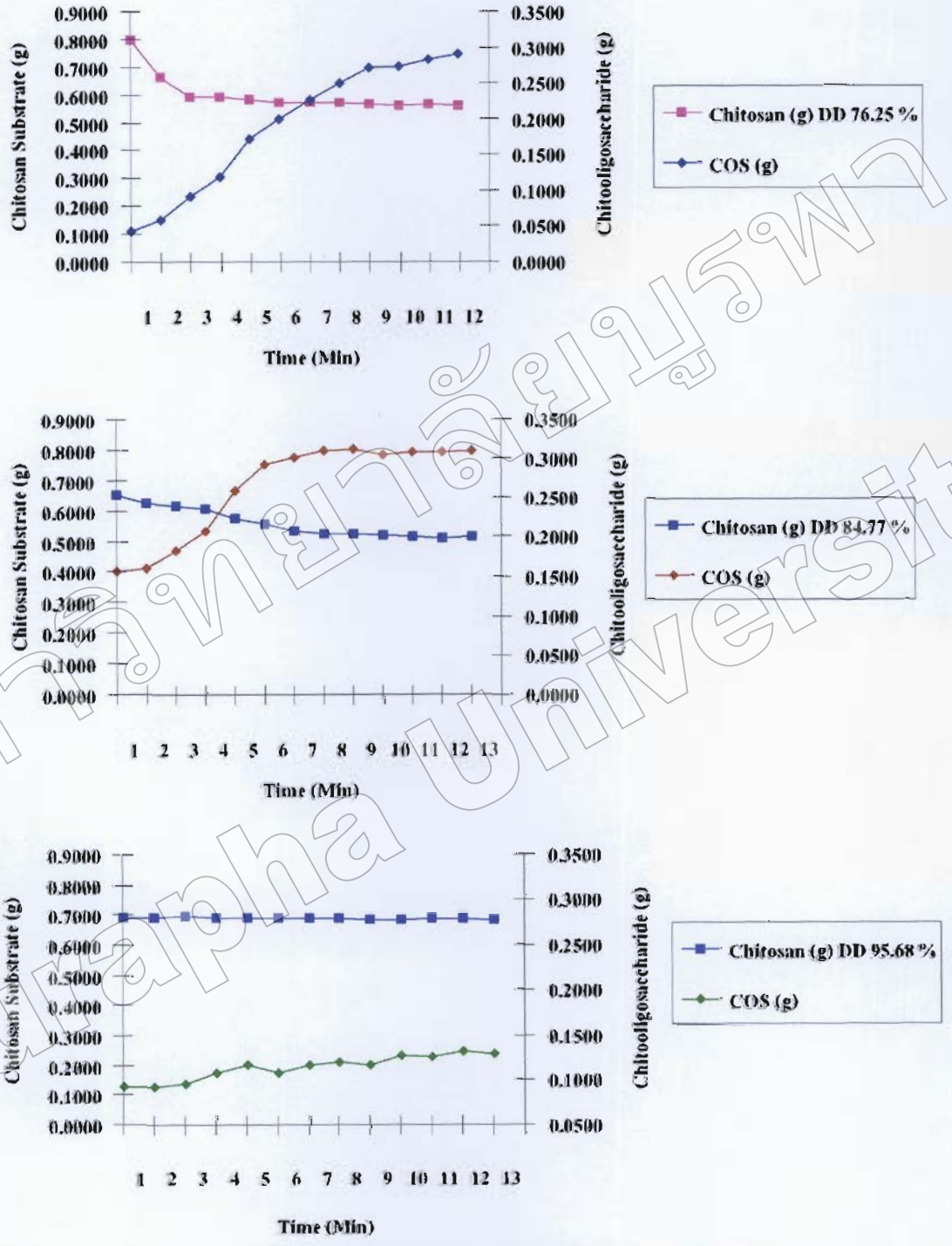
ผลการศึกษาการย่อยไคโตซานจากเปลือกกุ้งที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานร้อยละ 76.25 84.77 และ 95.68 โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า จากตารางที่ 4-6 พบว่าค่าความหนืดของสารละลายไคโตซานที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานร้อยละ 76.25 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<5$) โดยมีค่าลดลงอย่างรวดเร็ว ในช่วง 15 นาทีแรก จาก 72.32 เซนติพอยด์ ลดลงเป็น12.71 เซนติพอยด์ และลดลงอย่าง ช้า ๆ และคงที่ในช่วง 20 - 60 นาที จาก 10.64 เซนติพอยด์ เป็น 5.07 เซนติพอยด์ ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณไคโตซานที่เหลืออยู่ที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<5$) โดยมีค่าลดลงในช่วง 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 เช่นเดียวกับค่าความหนืดของสารละลายไคโตซานที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานร้อยละ 84.77 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<5$) โดยมีค่าลดลงอย่างรวดเร็ว ในช่วง 40 นาทีแรก จาก 47.57 เซนติพอยด์ ลดลงเป็น15.17 เซนติพอยด์ และลดลงอย่างช้า ๆ และคงที่ในช่วง 45 - 60 นาที จาก 14.06 เป็น 12.31 เซนติพอยด์ เช่นเดียวกับปริมาณไคโตซานที่เหลืออยู่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<5$) โดยมีค่าลดลงจากไคโตซานเริ่มต้น 1 กรัมไคโตซานเริ่มต้น ลดลงเป็น 0.5252 กรัม ในช่วง 40 นาทีแรก และลดลงจาก 0.5223 เป็น 0.5147 ในช่วง 45 – 60 นาที และค่าความหนืดของสารละลายไคโตซานที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานร้อยละ 95.68 68 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<5$) โดยมีการลดลงอย่างช้า ๆ และคงที่ในช่วง 0 – 80 นาที จากค่าความหนืดเริ่มต้น 9.71 ลดลงเป็น 6.84 เซนติพอยด์ เช่นเดียวกับปริมาณไคโตซานที่เหลืออยู่ มีค่าลดลงจากไคโตซานเริ่มต้น 1 กรัมไคโตซานเริ่มต้น ลดลงเป็น 0.6912 กรัม เป็น 0.6868 เซนติพอยด์ แต่มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<5$) แสดงได้ดังภาพที่ 4-7 และ 4-8 และตารางที่ 4-6

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



ภาพที่ 4-7 ผลการวิเคราะห์ความหนืดของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากไคโตซานเปลือกกุ้งที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานร้อยละ 76.25, 84.77 และ 95.68 โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า และปริมาณไคโตซานที่เหลือจากการย่อยโดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



ภาพที่ 4-8 ผลการวิเคราะห์ปริมาณไคโตซานเปลือกกุ้งที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซาน ร้อยละ 76.25, 84.77 และ 95.68 ที่เหลือจากการย่อยโดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า และของปริมาณสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

1.2.1 การเลือกช่วงเวลาการย่อยสารละลายไคโตซานจากเปลือกกุ้ง ในการผลิตสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ด้วย Ultrafiltration Membrane

การเลือกช่วงเวลาการย่อยที่เหมาะสมในการย่อสารละลายไคโตซานจากเปลือกกุ้ง ในแยก Molecular Weight สารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ด้วย Ultrafiltration Membrane ทำโดยการเลือกช่วงเวลาจากการติดตามความหนืด จากภาพที่ 4-2 และตารางที่ 4-6 สรุปได้ดังตารางที่ 4-7 โดยเลือกไคโตซานกุ้งระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 76.25 ย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า ที่เวลา 10 นาที ในการกรองด้วย Ultrafiltration Membrane ที่ Molecular Weight Cut Off $\geq$ 10 kDa โดยกรองส่วนที่เป็นไคโตซาน เก็บเป็น Low Molecular Weight Chitosan ได้ 11.78 กรัม และส่วนที่กรองผ่าน Ultrafiltration Membrane ที่ Molecular Weight Cut Off $\geq$ 10 kDa เป็นส่วนของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ Molecular Weight Cut Off 10 kDa - 1 kDa 1.21 กรัม และส่วนที่ไม่สามารถกรองผ่าน Ultrafiltration Membrane เป็น ส่วนของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ Molecular Weight Cut Off $\geq$10 kDa 2.46 กรัม ไคโตซานกุ้งระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 84.77 ย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า ที่เวลา 40 นาที ไปกรองด้วย Ultrafiltration Membrane ที่ Molecular Weight Cut Off $\leq$1 kDa โดยกรองส่วนที่เป็นไคโตซาน เก็บเป็น Low Molecular Weight Chitosan 9.43 กรัม เป็นส่วนของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ Molecular Weight Cut Off $\leq$1 kDa 1.5 กรัม และส่วนของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ Molecular Weight Cut Off 10 kDa - 1 kDa 3.51 กรัม และ ไคโตซานกุ้งระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 95.68 ย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า ที่เวลา 10 นาที กรองเช่นเดียวกับ ไคโตซานกุ้งระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 84.77 เป็นส่วนของ Low Molecular Weight Chitosan 10.53กรัม เป็นส่วนของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ Molecular Weight Cut Off $\leq$1 kDa 0.94 กรัม และส่วนของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ Molecular Weight Cut Off 10 kDa - 1 kDa 2.64 กรัม

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 4-7 การแยก Molecular Weight สารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ด้วย Ultrafiltration Membrane

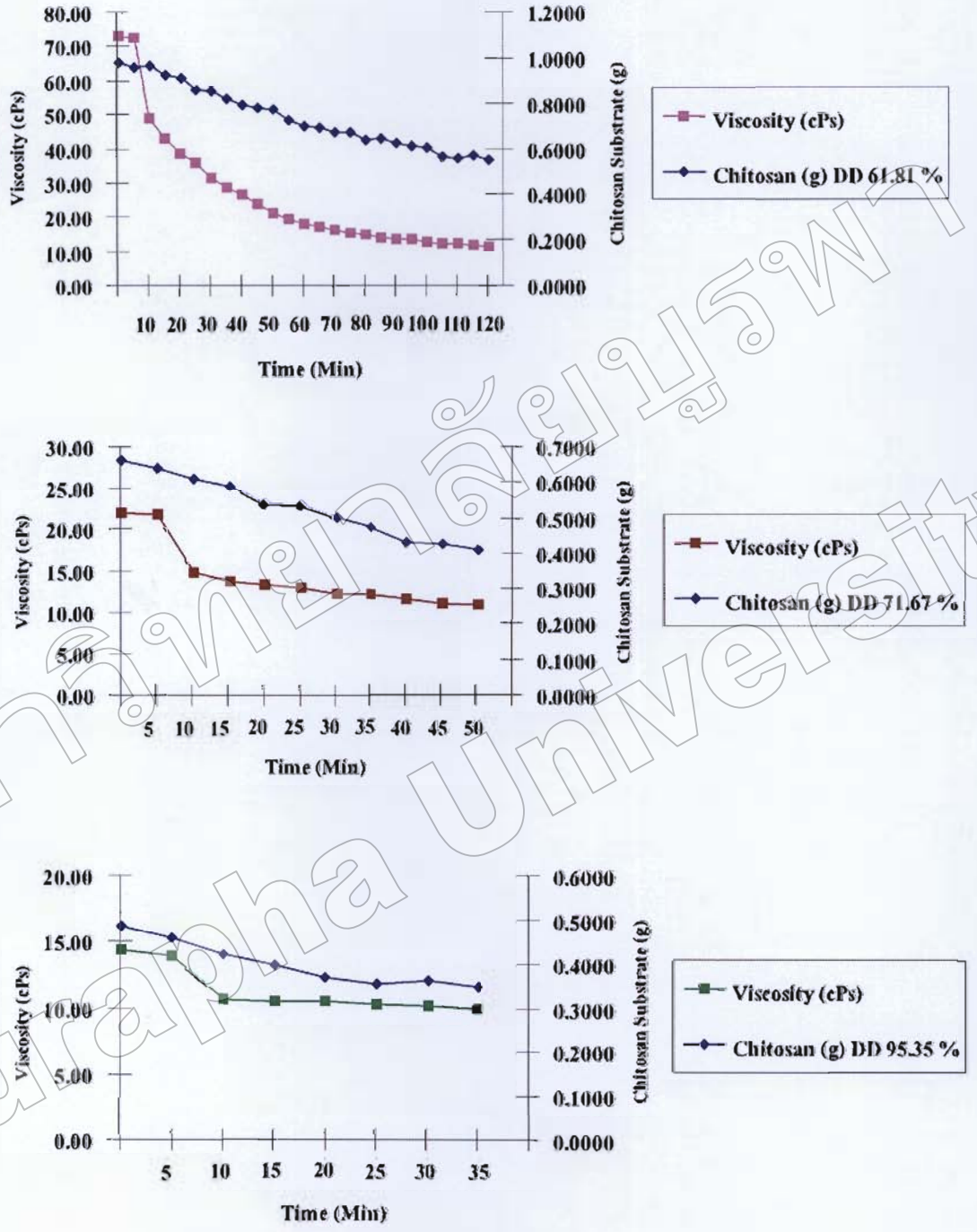
ชนิดไคโตซาน	เวลา (นาที)	Molecular Weight Cut Off	น้ำหนัก COS (กรัม)	น้ำหนัก (mL)
กุ้ง DD 76.25 %	10	Low Molecular Weight Chitosan	11.78	-
	20	$\geq$ 10 kDa	1.85	200
	30	10 kDa - 1 kDa	1.36	140
		$\leq$ 10 kDa	1.21	100
กุ้ง DD 84.77 %	8	Low Molecular Weight Chitosan	9.43	-
	15	$\geq$ 10 kDa	1.74	200
	25	10 kDa - 1 kDa	3.51	200
		$\leq$ 10 kDa	1.5	80
กุ้ง DD 95.68 %	5	Low Molecular Weight Chitosan	6.49	-
		$\geq$ 10 kDa	1.39	200
		10 kDa - 1 kDa	1.45	100
		$\leq$ 10 kDa	1.4	100

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

1.2.2 การศึกษาการย่อยไคโตซานจากเปลือกปู โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

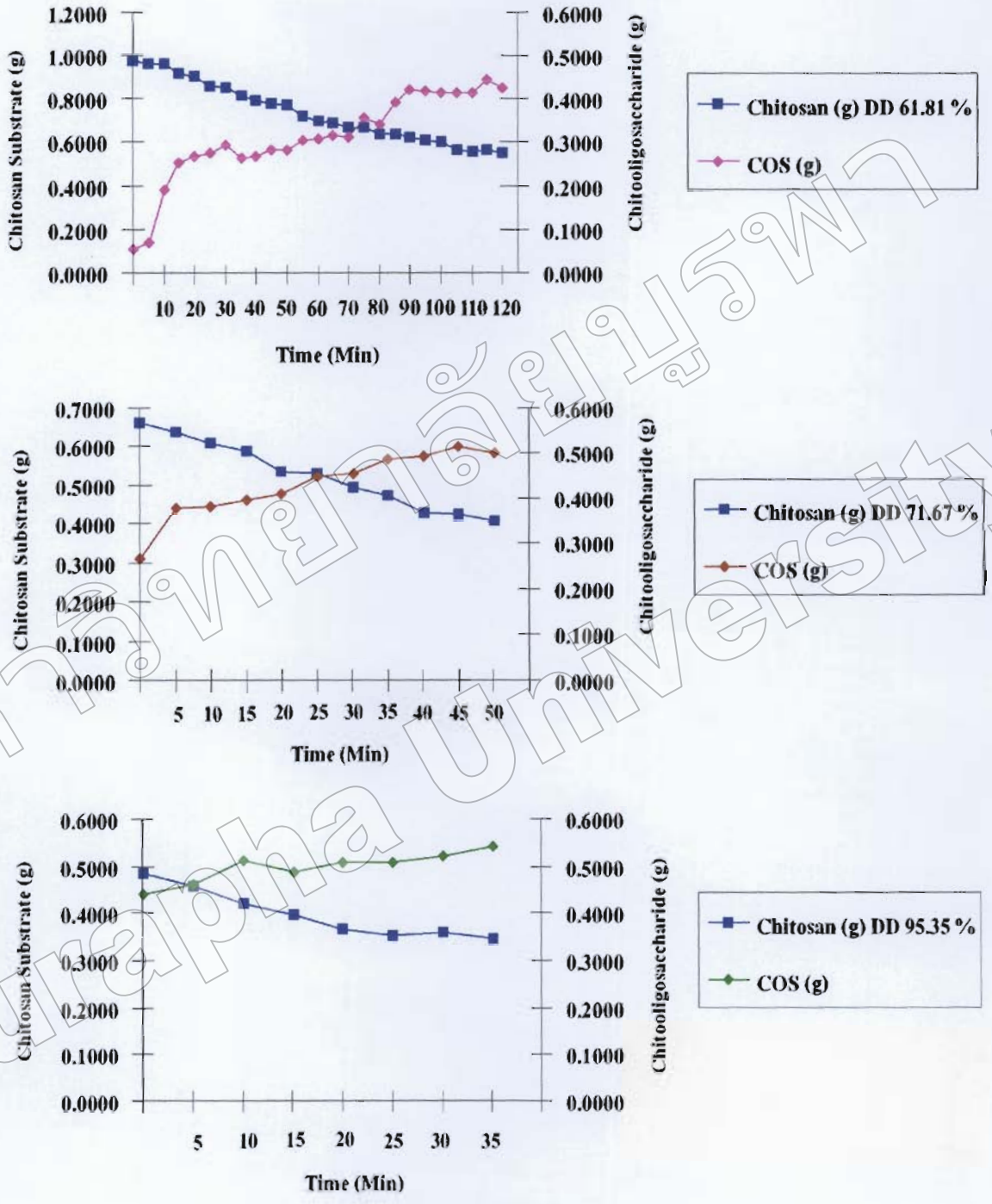
ผลการศึกษาการย่อยไคโตซานจากเปลือกปูที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานร้อยละ 61.81 71.67 และ 95.35 โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า จากตารางที่ 4-7 พบว่าค่าความหนืดของสารละลายไคโตซานที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานร้อยละ 61.81 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<5$) มีค่าลดลงอย่างรวดเร็ว ในช่วง 40 นาทีแรก จาก 72.24 เซนติพอยด์ และลดลงอย่าง ช้า ๆ และคงที่ในช่วง 45 - 120 นาที จาก 23.71 เซนติพอยด์ เป็น 11.02 เซนติพอยด์ ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณไคโตซานที่เหลืออยู่ที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<5$) โดยมีค่าลดลงในช่วง 40 นาทีแรก จากไคโตซานเริ่มต้น 1 กรัม ลดลงเป็น 0.7928 กรัม และลดลงอย่างช้า ๆ และคงที่ในช่วง 45 - 120 นาที จาก 0.5510 กรัม เช่นเดียวกับค่าความหนืดของสารละลายไคโตซานที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานร้อยละ 71.67 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<5$) โดยมีค่าลดลงอย่างรวดเร็ว ในช่วง 15 นาทีแรก จาก 21.93 เซนติพอยด์ ลดลงเป็น13.60 เซนติพอยด์ และลดลงอย่างช้า ๆ และคงที่ในช่วง 20 - 50 นาที จาก 13.17 เป็น 10.78 เซนติพอยด์ เช่นเดียวกับปริมาณไคโตซานที่เหลืออยู่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<5$) โดยมีค่าลดลงจากไคโตซานเริ่มต้น 1 กรัม ลดลงเป็น 0.5898 กรัม ในช่วง 15 นาทีแรก และลดลงจาก 0.5373 กรัม เป็น 0.4092 กรัม ในช่วง 20 - 50 นาที และค่าความหนืดของสารละลายไคโตซานที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานร้อยละ 95.35 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<5$) โดยมีการลดลงอย่างช้า ๆ ในช่วง 0 –35 นาที จากค่าความหนืดเริ่มต้น 14.37 ลดลงเป็น 9.91 เซนติพอยด์ เช่นเดียวกับปริมาณไคโตซานที่เหลืออยู่ มีค่าลดลงจากไคโตซานเริ่มต้น 1 กรัม ลดลงเป็น 0.4847 กรัม เป็น 0.3473 กรัม แสดงได้ดังภาพที่ 4-7 และ 4-8 และตารางที่ 4-7

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



ภาพที่ 4-9 ผลการวิเคราะห์ความหนืดของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากไคโตซานเปลือกปู ที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานร้อยละ 61.81 71.67 และ 95.35 โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า และปริมาณไคโตซานที่เหลือจากการย่อยโดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



ภาพที่ 4-10 ผลการวิเคราะห์ความหนืดของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากไคโตซานเปลือกปู ที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานร้อยละ 61.81, 71.67 และ 95.35 โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า และปริมาณไคโตซานที่เหลือจากการย่อยโดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

1.2.2 การเลือกช่วงเวลาการย่อยสารละลายไคโตซานจากเปลือกปู ในแยก Molecular Weight สารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ด้วย Ultrafiltration Membrane

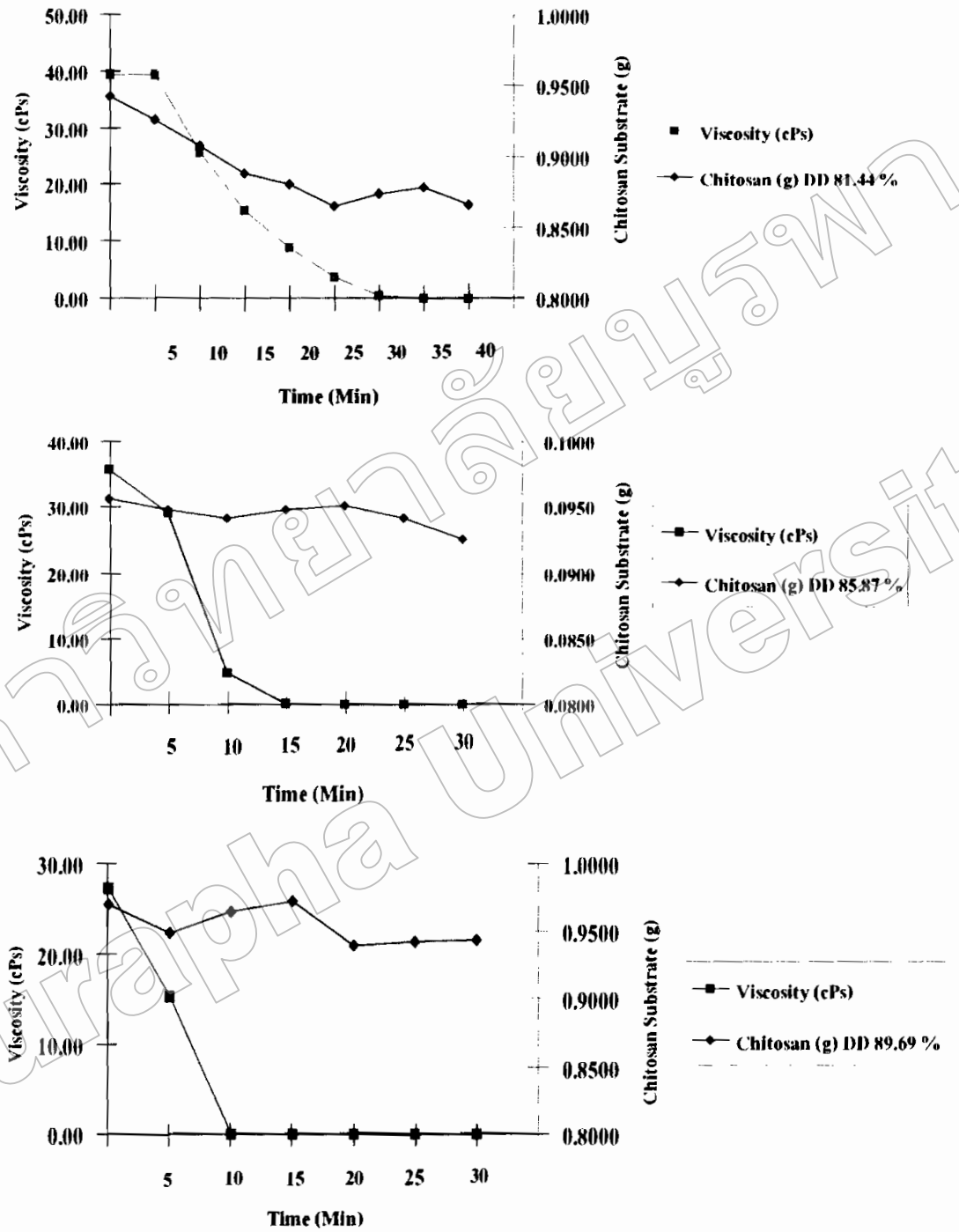
การเลือกช่วงเวลาการย่อยที่เหมาะสมในการย่อสารละลายไคโตซานจากเปลือกปู ในแยก Molecular Weight สารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ด้วย Ultrafiltration Membrane ทำโดยการเลือกช่วงเวลาจากการติดตามความหนืด จากภาพที่ 4-10 สรุปได้ดังตารางที่ 4-9 โดยเลือกไคโตซานปูระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 61.81 ย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า ที่เวลา 40 นาที ในการกรองด้วย Ultrafiltration Membrane ที่ Molecular Weight Cut Off $\geq$ 10 kDa โดยกรองส่วนที่เป็นไคโตซาน เก็บเป็น Low Molecular Weight Chitosan 10.38 กรัม เป็นส่วนของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ Molecular Weight Cut Off 10 kDa - 1 kDa 2.73 กรัม และส่วนที่ไม่สามารถกรองผ่าน Ultrafiltration Membrane เป็น ส่วนของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ Molecular Weight Cut Off $\geq$10 kDa 1.02กรัม ไคโตซานปูระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 71.67 ย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า ที่เวลา 20 นาที ไปกรองด้วย Ultrafiltration Membrane ที่ Molecular Weight Cut Off $\leq$1 kDa โดยกรองส่วนที่เป็นไคโตซาน เก็บเป็น Low Molecular Weight Chitosan 8.49 กรัม เป็นส่วนของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ Molecular Weight Cut Off $\leq$1 kDa 1.24 กรัม และส่วนของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ Molecular Weight Cut Off 10 kDa - 1 kDa 3.36 กรัม และ ไคโตซานปูระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 95.35 ย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า ที่เวลา 10 นาที กรองเช่นเดียวกับ ไคโตซานปูระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 71.67 เป็นส่วนของ Low Molecular Weight Chitosan 10.22 กรัม เป็นส่วนของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ Molecular Weight Cut Off $\leq$1 kDa 1.85 กรัม และส่วนของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ Molecular Weight Cut Off 10 kDa - 1 kDa 2.36 กรัม

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 4-9 ผลการแยก Molecular Weight สารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ด้วย Ultrafiltration Membrane

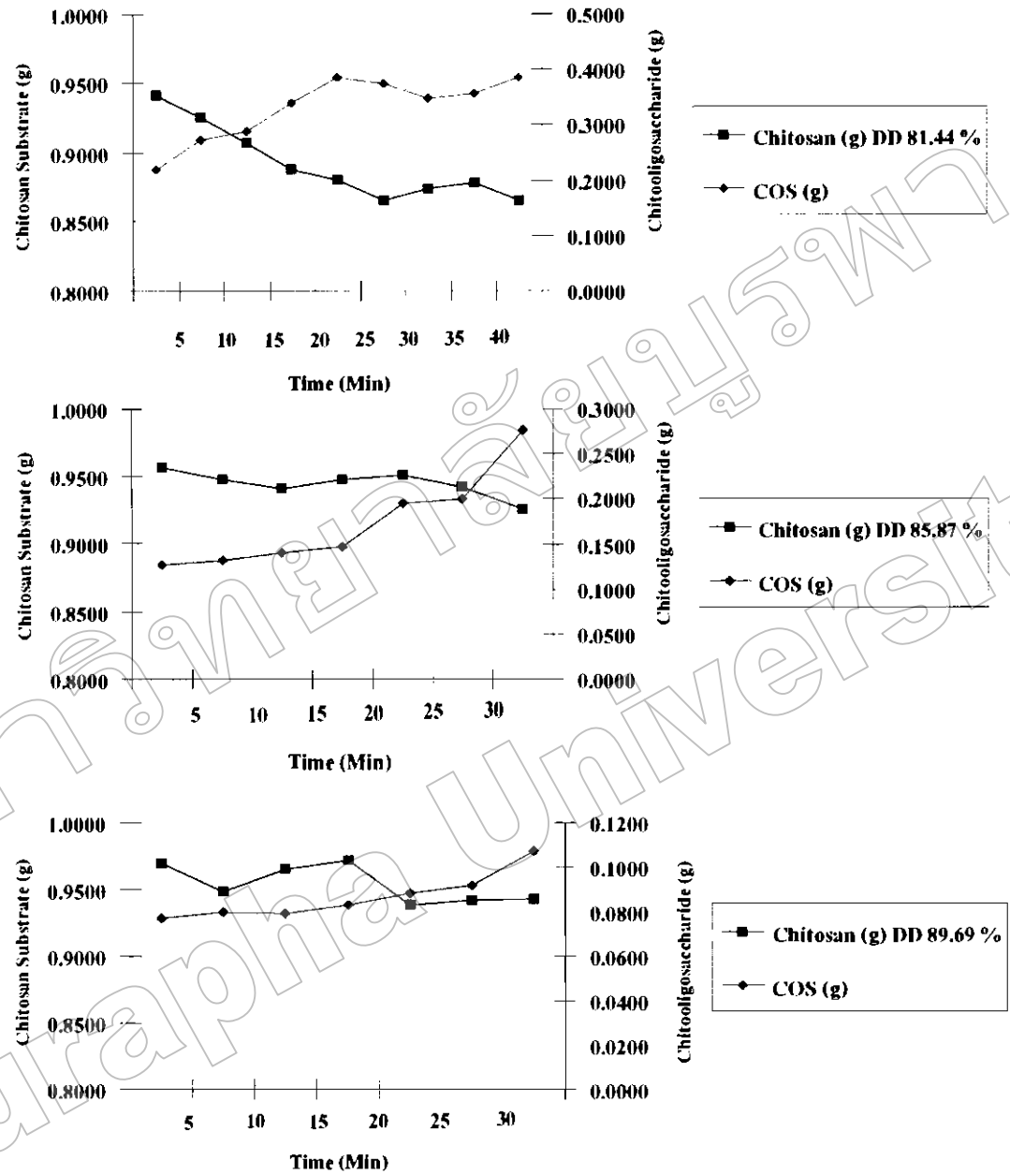
ชนิดไคโตซาน	เวลา (นาที)	Molecular Weight Cut Off	น้ำหนัก COS (กรัม)	น้ำหนัก (mL)
ปู DD 61.81 %		Low Molecular Weight	10.38	-
	20	Chitosan		
	40	≥ 10 kDa	1.29	180
	60	10 kDa - 1 kDa	2.73	200
		≤ 10 kDa	1.02	100
ปู DD 71.67 %		Low Molecular Weight	6.84	-
	15	Chitosan		
	30	≥ 10 kDa	1.38	180
	60	10 kDa - 1 kDa	3.36	200
		≤ 10 kDa	1.24	100
ปู DD 95.35		Low Molecular Weight	5.24	-
	10	Chitosan		
		≥ 10 kDa	1.68	200
		10 kDa - 1 kDa	1.51	150
		≤ 10 kDa	1.1	100

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



ภาพที่ 4-11 ผลการวิเคราะห์ความหนืดของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากไคโตซานแกนหมึกที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานร้อยละ 81.44, 85.87 และ 89.69 โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า และปริมาณไคโตซานที่เหลือจากการย่อยโดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



ภาพที่ 4-12 ผลการวิเคราะห์ความหนืดของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากไคโตซานแกนหมึกที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตซานร้อยละ 81.44, 85.87 และ 89.69 โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า และปริมาณไคโตซานที่เหลือจากการย่อยโดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

1.2.2 การเลือกช่วงเวลาการย่อยที่เหมาะสมในการย่อสารละลายไคโตซานจากแกนหมึกในแยก Molecular Weight สารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ด้วย Ultrafiltration Membrane

การเลือกช่วงเวลาการย่อยที่เหมาะสมในการย่อสารละลายไคโตซานจากแกนหมึก ในแยก Molecular Weight สารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ด้วย Ultrafiltration Membrane ทำโดยการเลือกช่วงเวลาจากการติดตามความหนืด จากภาพที่ 4-11, 4-12 สรุปได้ดังตารางที่ 4-10 โดยเลือกไคโตซานหมึก DD 81.44 เปอร์เซ็นต์ ย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า ที่เวลา 10 นาที ในการกรองด้วย Ultrafiltration Membrane ที่ Molecular Weight Cut Off $\geq$ 10 kDa โดยกรองส่วนที่เป็นไคโตซาน เก็บเป็น Low Molecular Weight Chitosan ได้ 6.49 กรัม และส่วนที่กรองผ่าน Ultrafiltration Membrane ที่ Molecular Weight Cut Off $\geq$ 10 kDa เป็นส่วนของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ Molecular Weight Cut Off 10 kDa - 1 kDa 1.78 กรัม และส่วนที่ไม่สามารถกรองผ่าน Ultrafiltration Membrane เป็น ส่วนของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ Molecular Weight Cut Off $\geq$ 10 kDa 1.09 กรัม ไคโตซานหมึกระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 85.87 ย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า ที่เวลา 5 นาที ไปกรองด้วย Ultrafiltration Membrane ที่ Molecular Weight Cut Off $\leq$1 kDa โดยกรองส่วนที่เป็นไคโตซาน เก็บเป็น Low Molecular Weight Chitosan 5.37 กรัม เป็นส่วนของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ Molecular Weight Cut Off $\leq$1 kDa 1.72 กรัม และส่วนของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ Molecular Weight Cut Off 10 kDa - 1 kDa 0.97 กรัม และ หมึกระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 89.69 ย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า ที่เวลา 10 นาที กรองเช่นเดียวกับ ไคโตซานหมึกระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 85.87 เป็นส่วนของ Low Molecular Weight Chitosan 4.32 กรัม เป็นส่วนของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ Molecular Weight Cut Off $\leq$1 kDa 1.14 กรัม และส่วนของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ Molecular Weight Cut Off 10 kDa - 1 kDa 0.76กรัม

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 4-10 ผลการแยก Molecular Weight สารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ด้วย Ultrafiltration Membrane

ชนิดไคโตซาน	เวลา (นาที)	Molecular Weight Cut Off	น้ำหนัก (กรัม)	น้ำหนัก(mL)
หมึก DD 81.44 %	10	Low Molecular Weight Chitosan	6.49	-
		≥ 10 kDa	1.48	200
		10 kDa - 1 kDa	1.09	150
		≤ 10 kDa	1.78	200
หมึก DD 85.87 %	5	Low Molecular Weight Chitosan	5.37	-
		≥ 10 kDa	1.39	200
		10 kDa - 1 kDa	0.97	100
		≤1 kDa	1.72	200
หมึก DD 89.69 %	1	Low Molecular Weight Chitosan	4.35	-
		≥ 10 kDa	1.52	200
		10 kDa - 1 kDa	0.75	100
		≤1 kDa	0.84	200

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

2. สมบัติทางเคมีกายภาพของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่เตรียมโดยเอนไซม์จากเซลลูเลสทางการค้า

การศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่เตรียมโดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า ได้แก่ ร้อยละของผลผลิต น้ำหนักโมเลกุล และระดับขั้นโพลิเมอร์ ผลได้ดังนี้

2.1 ร้อยละของผลผลิตของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาร์ไรด์

จากผลการทดลองเตรียมสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์โดยเอนไซม์จากราทะเลและเอนไซม์ทางการค้า พบว่าร้อยละของผลผลิตของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ อยู่ในช่วงร้อยละ 33.67 ± 3.51-62.00 ± 2.00 (โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักแห้งของไคโตซาน)

2.2 น้ำหนักโมเลกุลของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาร์ไรด์

จากผลการทดลองเตรียมสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์โดยเอนไซม์จากราทะเลและเอนไซม์ทางการค้า พบว่าน้ำหนักโมเลกุลของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์อยู่ในช่วง 0.201-720 กิโลดาลตัน ทั้งนี้ระยะเวลาในการเตรียมสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์เพิ่มขึ้น น้ำหนักโมเลกุลของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่เตรียมได้ลดลง ใกล้เคียงกับรายงานของนริศา เหละตุหวิ และคณะ (2547) ศึกษาการใช้เอนไซม์เฮมิเซลลูเลส ในการย่อยไคโตซาน ที่มีร้อยละการกำจัดหมู่อะซิติล 80 และมีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 529 กิโลดาลตัน ความเข้มข้นร้อยละ 6.25 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ใน Sodium Acetate Buffer ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ (pH 4.5) ทำปฏิกิริยาที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน พบว่าได้ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีค่าน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 16-16.8, 5-8 และ 2-4 กิโลดาลตัน Qin et al. (2004) ศึกษาการใช้เอนไซม์เซลลูเลส 100 มิลลิลิตรต่อปริมาณไคโตซาน 2000 มิลลิลิตร ซึ่งเตรียมได้จากไคโตซานความเข้มข้นร้อยละ 5 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ใน Acetic Acid ความเข้มข้นร้อยละ 2 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) pH 5.5 ทำปฏิกิริยาที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าไคโตโอลิโกแซคคาไรด์มีค่าน้ำหนักโมเลกุล 3.2×10^{-3} กิโลดาลตัน และ Liu et al. (2006) รายงานการเตรียมสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ด้วย Acetic Acid ความเข้มข้นร้อยละ 1 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 2, 4, 6, 9, 12, 15, 25, 37, 121 และ 145 ชั่วโมง ตามลำดับ พบว่าน้ำหนักโมเลกุลของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์อยู่ในช่วง 5.5×10^{4} - 15.5×10^{4} ดาลตัน โดยเมื่อเวลาการเตรียมเพิ่มขึ้นมวลโมเลกุลของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์มีค่าลดลง และนอกจากนี้ Muzzarelli (1990) รายงานว่าการยืดระยะเวลา และการใช้อุณหภูมิสูง ทำให้ไคโตซานมีขนาดโมเลกุลเล็กลง และเกิดการเสื่อมสลายของสายโพลิเมอร์ไคโตซานให้มีขนาดสั้นลง ส่งผลให้น้ำหนักโมเลกุลลดลงเช่นกัน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

จากผลการทดลองเตรียมสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์โดยเอนไซม์จากราทะเลและเอนไซม์ทางการค้า พบว่าระยะเวลาในการย่อยสารละลายไคโตซานเพิ่มขึ้นน้ำหนักโมเลกุลของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ผลิตได้ลดลง ซึ่งค่าน้ำหนักโมเลกุลลดลงอย่างรวดเร็วในเวลา 1 ชั่วโมงแรก สอดคล้องกับรายงานของ Liu, Bao, Du, Zhou and Kennedy (2006) โดยเตรียมไคโตซานด้วย Ultrasonic ที่เวลา 1 - 99 ชั่วโมง พบว่า น้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานลดลงอย่างรวดเร็วที่เวลา 1 ชั่วโมง เนื่องจากน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานเกี่ยวเนื่องกับความยาวของสายโพลิเมอร์ โดยไคโตซานเริ่มต้นมีสายโพลิเมอร์ที่ยาวการตัดด้วย Ultrasonic ตรงตำแหน่ง 1,4-β-D-Glucosidic และพันธะไฮโดรเจน ได้มาก สอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ความหนืดของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ลดลงอย่างรวดเร็วใน 1 ช่วงโมงแรก

2.3 ระดับขั้นโพลิเมอร์ของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาร์ไรด์

จากผลการทดลองเตรียมสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์โดยเอนไซม์จากราทะเลและเอนไซม์ทางการค้า พบว่าสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์มีระดับขั้นโพลิเมอร์ อยู่ในช่วง 1 - 6 สอดคล้องกับรายงานของ Kumar et al. (2005) พบว่าการเตรียมสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ด้วยเอนไซม์ปาเปน และเอนไซม์โปรเนส ให้ระดับขั้นโพลิเมอร์อยู่ในช่วง 2 – 6 ซึ่งใกล้เคียงกับรายงานของ Tsai et al. (2004) พบว่าการเตรียมสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ด้วยเอนไซม์เซลลูเลส ให้ระดับขั้นโพลิเมอร์อยู่ในช่วง 1 – 8 และ Jung, Souleimanov, Park, and Smith (2007) พบว่าระดับขั้นโพลิเมอร์ของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาร์ไรด์ เตรียมโดยเอนไซม์จาก *Paenibacillus illioisensis* KJA-424 มีดังนี้ 1 - 3 และ 7 - 8 โดยระดับขั้นโพลิเมอร์เป็นลักษณะการทำงานของเอนไซม์แบบ Multi-Chitinolytic Enzyme Complex เนื่องจากมีความหลากหลายของระดับขั้นโพลิเมอร์ นอกจากนี้ Cheng and Li (2000) พบว่าการย่อยไคโตซานด้วยเอนไซม์ไคโตซาเนสจาก *Aspergillus* sp. ได้ระดับขั้นโพลิเมอร์ของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาร์ไรด์อยู่ในช่วง 3 - 6 โดยได้รายงานไว้ว่าเป็นลักษณะการทำงานของเอนไซม์แบบ Endo-Chitosanase และระบุว่าสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาร์ไรด์ที่ผลิตในทางการค้าส่วนใหญ่มีระดับขั้นโพลิเมอร์น้อยว่า 10 เนื่องจากลักษณะการจับตัวกันของสายโพลิเมอร์ของไคโตซานด้วยพันธะ Glycosidic มี 4 รูปแบบดังนี้ –GlcN-GlcN-, –GlcN-GlcNAc-,-GlcNAc-GlcN และ -GlcNAc-GlcNAc- (GlcN = Glucosamine, GlcNAc = N-Acetylated-Glucosamine) เมื่อถูกย่อยด้วยเอนไซม์ซึ่งมีความจำเพาะเจาะจงทำให้มีความหลากหลายของสายโพลิเมอร์ (Kumar & Tharanathan, 2004) รายละเอียดแสดงได้ดังตารางที่ 5-1

ตารางที่ 4-16 น้ำหนักโมเลกุลและระดับขั้นพอลิเมอร์ของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาร์ไรด์ของไคโตซานเปลือกกุ้ง เปลือกปูและแกนหมึก

ชนิดไคโตซาน	Molecular Weight Cut Off	DP	น้ำหนักโมเลกุล(ดาลตัน)
กุ้ง DD 76.25 %	Low Molecular Weight Chitosan	2-6	$9.04X10^5$
	$\geq$ 10 kDa	2-5	$3.61X10^5$
	10 kDa - 1 kDa	1-5	$8.85X10^3$
	$\leq$ 1 kDa	1-4	$7.3X10^2$
กุ้ง DD 84.77 %	Low Molecular Weight Chitosan	2-6	$6.45X10^5$
	$\geq$ 10 kDa	2-5	$6.78X10^4$
	10 kDa - 1 kDa	1-5	$4.19X10^3$
	$\leq$ 10 kDa	1-4	$4.9X10^2$
กุ้ง DD 95.68 %	Low Molecular Weight Chitosan	2-5	$2.95X10^5$
	$\geq$ 10 kDa	2-5	$1.72X10^4$
	10 kDa - 1 kDa	1-4	$1.02X10^3$
	$\leq$ 10 kDa	1-4	$3.4X10^2$
ปู DD 61.81 %	Low Molecular Weight Chitosan	2-6	$10.23X10^5$
	$\geq$ 10 kDa	2-5	$5.39X10^5$
	10 kDa - 1 kDa	1-5	$7.43X10^3$
	$\leq$ 10 kDa	1-4	$6.63X10^2$
ปู DD 71.67 %	Low Molecular Weight Chitosan	2-6	$7.83X10^5$
	$\geq$ 10 kDa	2-4	$2.16X10^5$
	10 kDa - 1 kDa	1-4	$5.38X10^3$
	$\leq$ 10 kDa	1-4	$5.42X10^2$

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 4-16 น้ำหนักโมเลกุลและระดับขั้นพอลิเมอร์ของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาร์ไรด์ของไคโตซานเปลือกกุ้ง เปลือกปูและแกนหมึก **(ต่อ)**

ชนิดไคโตซาน	Molecular Weight Cut Off	DP	น้ำหนักโมเลกุล(ดาลตัน)
ปู DD 95.35%	Low Molecular Weight Chitosan	2-4	$5.39X10^5$
	$\geq$ 10 kDa	1-4	$7.45X10^4$
	10 kDa - 1 kDa	1-4	$3.28X10^3$
	$\leq$ 10 kDa	1-4	$2.31X10^2$
แกนหมึก DD 81.44 %	Low Molecular Weight Chitosan	2-4	$4.47X10^5$
	$\geq$ 10 kDa	1-4	$7.53X10^4$
	10 kDa - 1 kDa	1-4	$2.05X10^3$
	$\leq$ 10 kDa	1-4	$7.2X10^2$
แกนหมึก DD 85.87 %	Low Molecular Weight Chitosan	1-4	$2.94X10^5$
	$\geq$ 10 kDa	1-4	$4.51X10^4$
	10 kDa - 1 kDa	1-4	$1.02X10^3$
	$\leq$ 10 kDa	1-4	$4.2X10^2$
แกนหมึก DD 89.69 %	Low Molecular Weight Chitosan	1-4	$1.08X10^5$
	$\geq$ 10 kDa	1-4	$2.45X10^4$
	10 kDa - 1 kDa	1-4	$1.02X10^3$
	$\leq$ 10 kDa	1-4	$3.2X10^2$

จากผลการวิเคราะห์ระดับขั้นพอลิเมอร์พบว่าระดับขั้นพอลิเมอร์ของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากเปลือกกุ้งที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 76.25 มีค่าตามน้ำหนักโมเลกุลโดยส่วนที่เป็น Low Molecular Weight Chitosan มี ระดับขั้นพอลิเมอร์ อยู่ในช่วง 2- 6 และที่น้ำหนักโมเลกุล $\geq$ 10 kDa มี ระดับขั้นพอลิเมอร์ อยู่ในช่วง 2- 5 ที่น้ำหนักโมเลกุล 10 kDa - 1 kDa มี ระดับขั้นพอลิเมอร์ อยู่ในช่วง 1- 5 และที่น้ำหนักโมเลกุล 10 kDa - 1 kDa มี ระดับขั้นพอลิเมอร์ อยู่ในช่วง 1- 4 ระดับขั้นพอลิเมอร์ของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากเปลือกกุ้งที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 84.77 ส่วนที่เป็น Low Molecular Weight Chitosan มี ระดับขั้นพอลิเมอร์ อยู่ในช่วง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

2- 6 และที่น้ำหนักโมเลกุล $\geq$ 10 kDa มี ระดับขึ้นพอลิเมอร์ อยู่ในช่วง 2- 5 ที่น้ำหนักโมเลกุล 10 kDa - 1 kDa มี ระดับขึ้นพอลิเมอร์ อยู่ในช่วง 1- 5 และที่น้ำหนักโมเลกุล 10 kDa - 1 kDa มี ระดับขึ้นพอลิเมอร์ อยู่ในช่วง 1- 4 ตันระดับขึ้นพอลิเมอร์ของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากเปลือกกุ้งที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 95.68 โดย ส่วนที่เป็น Low Molecular Weight Chitosan มี ระดับขึ้นพอลิเมอร์ อยู่ในช่วง 2- 5 และที่น้ำหนักโมเลกุล $\geq$ 10 kDa มี ระดับขึ้นพอลิเมอร์ อยู่ในช่วง 2- 5 ที่น้ำหนักโมเลกุล 10 kDa - 1 kDa มี ระดับขึ้นพอลิเมอร์ อยู่ในช่วง 1- 4 และที่น้ำหนักโมเลกุล 10 kDa - 1 kDa มี ระดับขึ้นพอลิเมอร์ อยู่ในช่วง 1- 4

ระดับขึ้นพอลิเมอร์ของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากเปลือกปูที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 61.81 มีค่าอยู่ในช่วง $10.23 \times 10^5 - 6.63 \times 10^2$ กิโลดาลตัน ระดับขึ้นพอลิเมอร์ของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากเปลือกปูที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 71.67 มีค่าอยู่ในช่วง $7.83 \times 10^5 - 5.42 \times 10^2$ กิโลดาลตัน ระดับขึ้นพอลิเมอร์ของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากเปลือกปูที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 95.35 มีค่าอยู่ในช่วง $5.39 \times 10^5 - 2.31 \times 10^2$ กิโลดาลตัน

ระดับขึ้นพอลิเมอร์ของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากแกนหมึกที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 81.44 มีค่าอยู่ในช่วง $2.47 \times 10^5 - 1.20 \times 10^2$ กิโลดาลตัน ระดับขึ้นพอลิเมอร์ของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากแกนหมึกที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 85.87 มีค่าอยู่ในช่วง $1.94 \times 10^5 - 1.20 \times 10^2$ กิโลดาลตัน ระดับขึ้นพอลิเมอร์ของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากแกนหมึกที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 89.69 มีค่าอยู่ในช่วง $1.08 \times 10^5 - 1.2 \times 10^2$ กิโลดาลตัน

จากผลการวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุล 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 กิโลตาลตัน

น้ำหนักโมเลกุลของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากเปลือกปูที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 61.81 มีค่าอยู่ในช่วง $10.23 \times 10^5 - 6.63 \times 10^2$ กิโลดาลตัน น้ำหนักโมเลกุลของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากเปลือกปูที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 71.67 มีค่าอยู่ในช่วง $7.83 \times 10^5 - 5.42 \times 10^2$ กิโลดาลตันน้ำหนักโมเลกุลของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากเปลือกปูที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 95.35 มีค่าอยู่ในช่วง $5.39 \times 10^5 - 2.31 \times 10^2$ กิโลดาลตัน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

น้ำหนักโมเลกุลของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากแกนหมึกที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 81.44 มีค่าอยู่ในช่วง $2.47 \times 10^5 - 1.20 \times 10^2$ กิโลดาลตัน น้ำหนักโมเลกุลของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากแกนหมึกที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 85.87 มีค่าอยู่ในช่วง $1.94 \times 10^5 - 1.20 \times 10^2$ กิโลดาลตันน้ำหนักโมเลกุลของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากแกนหมึกที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 89.69 มีค่าอยู่ในช่วง $1.08 \times 10^5 - 1.2 \times 10^2$ กิโลดาลตัน

3. การศึกษาสมบัติของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ต่อการยับยั้งแบคทีเรีย

ศึกษาสมบัติของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ต่อการยับยั้งแบคทีเรียโดยนำสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาร์ไรด์ ซึ่งเตรียมได้จากข้อ 3 แสดงได้ดังตารางที่ 3-2 3-3 และ 3-4 มาเตรียมเป็นสารละลายสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาร์ไรด์ความเข้มข้น 100, 250, 500, 1000 และ 2000 ppm ในน้ำกลั่น และ กรดอะซิติก โดยวิธี Paper Disc Diffusion โดยมีเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการศึกษา คือ *V. paraheamolyticus, V. cholerea, E. coli, S. aureus* และ *L. monocytogenes* ดังนี้

3.1 ผลการยับยั้งการเจริญแบคทีเรียของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากเปลือกกุ้งที่มี Molecular Weight Cut Off ต่างกัน

ผลการยับยั้งการเจริญแบคทีเรียของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากเปลือกกุ้งที่มี Molecular Weight Cut Off ต่างกัน พบว่า การยับยั้งการเจริญแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ แสดงได้ดังตารางที่ 4-16 โดยพบว่าสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ไคโตซาน และกรดอะซิติกสามารถยับยั้งเชื้อ *V. paraheamolyticus, V. cholerea, E. coli, S. aureus* และ *L. monocytogenes* ได้ โดยไคโตซานและสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ $\geq$ 10 kDa ที่ระดับความเข้มข้น100, 250, 500, 1000 และ 2000 ppm สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ทุกระดับความเข้มข้น ส่วนสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 10 kDa -1 kDa สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ทุกระดับความเข้มข้น ยกเว้นสารผสมไคโตโอลิโกแซคไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm ขึ้นไป ถึงสามารถการยับยั้ง *L. monocytogenes* ได้ ส่วน สารผสมไคโตโอลิโกแซคไรด์ $\leq$ 1 kDa สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm ขึ้นไป ยกเว้น *V. paraheamolyticus*, *V. cholerea* และ *L. monocytogenes* ต้องใช้ความเข้มข้นที่ 250 ppm

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 4-16 ผลยับยั้งการเจริญแบคทีเรียของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากไคโตซานเปลือกกุ้งที่ระดับ Molecular Weight Cut Off ต่างกัน และความเข้มข้นต่างกัน± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ชนิด CT/COS	ความเข้มข้น (ppm)	เส้นผ่านศูนย์กลางวงใส(mm)															
		V. paraheamolyticus			*V. cholerae*			*E.coli*			*S. aureus*			*L. monocytogenes*				
Acetic Acid	1%	16.12	±	0.25	16.73	±	0.16	16.76	±	0.16	17.10	±	0.10	14.52	±	0.25	
CT กุ้ง	100	14.32	±	0.28	14.28	±	0.64	12.54	±	0.30	13.48	±	0.15	12.61	±	0.16	
	250	15.34	±	0.06	14.39	±	0.16	14.21	±	0.20	14.24	±	0.33	13.94	±	0.13	
	500	15.48	±	0.09	15.47	±	0.10	14.68	±	0.04	15.67	±	0.22	13.88	±	0.48	
	1000	16.05	±	0.08	15.67	±	0.37	16.01	±	0.13	15.47	±	0.16	14.58	±	0.25	
	2000	16.81	±	0.06	15.84	±	0.03	16.34	±	0.05	15.33	±	0.08	15.94	±	0.21	
COS กุ้ง≥ 10 kDa	100	12.15	±	0.35	11.84	±	0.09	9.21	±	0.13	13.05	±	0.22	8.13	±	0.11	
	250	12.59	±	0.12	12.01	±	0.08	10.43	±	0.09	13.94	±	0.24	10.64	±	0.13	
	500	13.86	±	0.01	13.54	±	0.09	13.51	±	0.18	14.58	±	0.04	12.65	±	0.12	
	1000	14.96	±	0.13	13.62	±	0.06	14.68	±	0.18	14.27	±	0.11	14.68	±	0.14	
	2000	15.03	±	0.31	14.51	±	0.04	15.73	±	0.18	15.06	±	0.03	15.60	±	0.24	
COS กุ้ง 10 kDa - 1 kDa	100	7.04	±	0.06	8.05	±	0.07	8.09	±	0.14	7.46	±	0.28	-	±	-	
	250	8.46	±	0.12	11.47	±	0.08	11.62	±	0.18	12.63	±	0.12	7.28	±	0.18	
	500	10.44	±	0.19	12.12	±	0.18	13.09	±	0.11	3.21	±	0.22	10.50	±	0.02	
	1000	13.61	±	0.05	14.36	±	0.03	14.89.	±	0.37	3.58	±	0.20	13.64	±	0.20	
	2000	14.02	±	0.11	15.32	±	0.13	15.09	±	0.37	14.69	±	0.20	15.15	±	0.10	
COS กุ้ง ≤1 kDa	100	-	±	-	-	±	-	-	±	-	-	±	-	-	±	-	
	250	7.32	±	0.12	6.79	±	0.08	-	±	-	-	±	-	6.24	±	0.21	
	500	8.71	±	0.19	7.54	±	0.18	6.864	±	0.11	7.71	±	0.17	7.93	±	0.16	
	1000	10.35	±	0.05	8.76	±	0.03	7.14	±	0.06	9.97	±	0.08	10.61	±	0.18	
	2000	12.64	±	0.11	9.91	±	0.13	8.12	±	0.16	12..46	±	0.11	11.73	±	0.43	

3.2 ผลการยับยั้งการเจริญแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในอาหารเลี้ยงเชื้อของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากเปลือกปูที่มี Molecular Weight Cut Off ต่างกัน

ผลการยับยั้งการเจริญแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากเปลือกกุ้งที่มี Molecular Weight Cut Off ต่างกัน พบว่า การยับยั้งการเจริญแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ แสดงได้ดัง ตารางที่ 4-17 โดยพบว่าสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากเปลือกปูที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ไคโตซานและกรดอะซิติกสามารถยับยั้งเชื้อ *V. paraheamolyticus*, *V. cholerea*, *E. coli*, *S. aureus* และ *L. monocytogenes* ได้ โดยไคโตซานและสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ มีเปลือกปู ≥ 10 kDa ที่ระดับความเข้มข้น100 250 500 1000 และ 2000 ppm สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ทุกระดับความเข้มข้น และสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากเปลือกปู 10 kDa-1 kDa สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ทุกระดับความเข้มข้น ยกเว้น *V. cholerea* และ *E. coli* สามารถยับยั้งได้ที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm ขึ้นไป ส่วนสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากเปลือกปู ≤ 1 kDa สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้ที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm ขึ้นไป สำหรับเชื้อ *V. paraheamolyticus*, *V. cholerea*, *S. aureus* และ *L. monocytogenes* สามารถยับยั้ง ได้ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ขึ้นไป

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 4-17 ผลยับยั้งการเจริญแบคทีเรียของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากไคโตซานเปลือกปูที่ระดับ Molecular Weight Cut Off ต่างกัน และความเข้มข้นต่างกัน± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ชนิด CT/COS	ความเข้มข้น (ppm)	เส้นผ่านศูนย์กลางวงใส(mm)					
		V. parahaemolyticus	*V. cholerae*	*E.coli*	*S. aureus*	*L. monocytogenes*	
Acctic Acid	1%	18.12 ± 0.25	15.48 ± 0.16	17.59 ± 0.16	18.94 ± 0.10	17.28 ± 0.25	
CT ปู	100	13.32 ± 0.28	12.46 ± 0.64	12.28 ± 0.08	16.37 ± 0.10	13.64 ± 0.14	
	250	14.67 ± 0.06	13.52 ± 0.16	13.64 ± 0.18	16.58 ± 0.04	14.82 ± 0.19	
	500	16.01 ± 0.09	14.73 ± 0.10	15.03 ± 0.19	17.05 ± 0.10	15.92 ± 0.10	
	1000	17.45 ± 0.08	15.61 ± 0.37	18.32 ± 0.06	18.94 ± 0.26	16.65 ± 0.25	
	2000	18.94 ± 0.06	15.49 ± 0.03	18.54 ± 0.09	18.56 ± 0.19	17.52 ± 0.03	
COSปู≥ 10 kDa	100	7.59 ± 0.10	6.67 ± 0.04	7.92 ± 0.28	7.98 ± 0.11	8.04 ± 0.18	
	250	10.58 ± 0.33	8.02 ± 0.05	8.64 ± 0.04	8.24 ± 0.18	11.44 ± 0.13	
	500	13.62 ± 0.19	9.52 ± 0.32	12.06 ± 0.18	11.37 ± 0.01	13.61 ± 0.11	
	1000	14.37 ± 0.56	12.60 ± 0.27	13.45 ± 0.18	12.95 ± 0.37	13.57 ± 0.08	
	2000	15.66 ± 0.08	13.82 ± 0.27	13.92 ± 0.11	14.62 ± 0.08	13.48 ± 0.16	
COSปู 10 kDa - 1 kDa	100	7.59 ± 0.11	- ± -	- ± -	6.51 ± 0.27	6.32 ± 6.49	
	250	8.09 ± 0.23	7.04 ± 0.10	7.53 ± 0.08	7.92 ± 0.16	8.25 ± 3.55	
	500	9.11 ± 0.40	8.55 ± 0.06	9.08 ± 0.13	8.65 ± 0.13	11.40 ± 0.31	
	1000	10.64 ± 0.27	9.61 ± 0.33	10.21 ± 0.21	10.62 ± 0.13	13.05 ± 0.25	
	2000	11.52 ± 0.15	10.59 ± 0.13	12.24 ± 0.09	13.21 ± 0.05	12.68 ± 0.25	
COSปู≤1 kDa	100	- ± -	- ± -	- ± -	- ± -	- ± -	
	250	- ± -	- ± -	6.34 ± 0.15	- ± -	- ± -	
	500	6.57 ± 0.31	6.74 ± 0.68	7.18 ± 0.03	6.99 ± 0.16	6.45 ± 0.11	
	1000	7.83 ± 0.22	8.55 ± 0.94	7.83 ± 0.05	7.61 ± 0.35	8.92 ± 0.19	
	2000	9.86 ± 0.43	8.70 ± 0.28	8.27 ± 0.08	8.59 ± 0.13	11.09 ± 0.30	

3.3 ผลการยับยั้งการเจริญแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากแกนหมึกที่มี Molecular Weight Cut Off ต่างกัน

ผลการยับยั้งการเจริญแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากเปลือกกุ้งที่มี Molecular Weight Cut Off ต่างกัน พบว่า การยับยั้งการเจริญแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ แสดงได้ตารางที่ 4-18 โดยพบว่า กรดอะซิติกสามารถยับยั้งเชื้อ *V. paraheamolyticus*, *V. cholerea*, *E. coli*, *S. aureus* และ *L. monocytogenes* ได้ที่ระดับความเข้มข้น 100, 250, 500, 1000 และ 2000 ppm ส่วนไคโตซานที่ระดับความเข้มข้น 100, 250, 500, 1000 และ 2000 ppm สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *L. monocytogenes* ได้ทุกระดับความเข้มข้น นอกจากนั้นสามารถยับยั้งที่ระดับ 250 ขึ้นไป ส่วนสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ≥ 10 kDa ที่ระดับความเข้มข้น 500, 1000 และ 2000 ppm สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *L. monocytogenes* ได้ ส่วนเชื้ออื่นสามารถยับยั้งที่ระดับ 1000 ppm ขึ้นไป และสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 10 kDa -1 kDa สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ได้ที่ระดับความเข้มข้น 2000 ppm ขึ้นไป ยกเว้น *V. paraheamolyticus* และ *S. aureus* สามารถยับยั้งที่ระดับ 1000 ppm ได้ แต่สารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ < 1 kDa ไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 4-18 ผลยับยั้งการเจริญแบคทีเรียของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากไคโตซานแกนหมึกที่ระดับ Molecular Weight Cut Off ต่างกัน และความเข้มข้นต่างกัน± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ชนิด CT/COS	ความเข้มข้น	เส้นผ่านศูนย์กลางวงใส(mm)															
	(ppm)	*V. parahaemolyticus*			*V. cholerae*			*E.coli*			*S. aureus*			*L. monocytogenes*			
Acetic Acid	1%	15.02	±	0.25	13.91	±	0.16	16.76	±	0.16	16.82	±	0.10	15.46	±	0.25	
CT หมึก	100	-	±	-	-	±	-	-	±	-	6.48	±	0.10	6..96	±	0.02	
	250	7.13	±	0.09	6.51	±	0.04	7.68	±	0.08	7.34	±	0.61	6.54	±	0.17	
	500	8.30	±	0.21	7.65	±	0.06	7.82	±	0.04	8.75	±	0.10	7.59	±	0.16	
	1000	9.68	±	0.04	9.04	±	0.19	8.06	±	0.10	9.61	±	0.04	9.04	±	0.11	
	2000	12.64	±	0.14	9.86	±	0.03	9.64	±	0.35	10.06	±	0.10	9.88	±	0.21	
COS หมึก≥ 10 kDa	100	-	±	-	-	±	-	-	±	-	-	±	-	-	±	-	
	250	-	±	-	-	±	-	-	±	-	-	±	-	-	±	-	
	500	-	±	-	-	±	-	6.26	±	0.06	-	±	-	6.28	±	0.04	
	1000	6.53	±	0.10	6.25	±	0.10	6.94	±	0.01	6.37	±	0.11	6.52	±	0.06	
	2000	7.96	±	0.10	7.22	±	0.04	7.38	±	0.05	7.22	±	0.15	7.26	±	0.11	
COS หมึก10 kDa - 1	100	-	±	-	-	±	-	-	±	-	-	±	-	-	±	-	
	250	-	±	-	-	±	-	-	±	-	-	±	-	-	±	-	
	500	-	±	-	-	±	-	-	±	-	-	±	-	-	±	-	
	1000	6.38	±	0.08	-	±	-	-	±	-	6.43	±	0.12	-	±	-	
	2000	7.64	±	0.07	6.52	±	0.11	6.98	±	0.06	6.83	±	0.18	6.53	±	0.18	
COS หมึก ≤1 kDa	100	-	±	-	-	±	-	-	±	-	-	±	-	-	±	-	
	250	-	±	-	-	±	-	-	±	-	-	±	-	-	±	-	
	500	-	±	-	-	±	-	-	±	-	-	±	-	-	±	-	
	1000	-	±	-	-	±	-	-	±	-	-	±	-	-	±	-	
	2000	-	±	-	-	±	-	-	±	-	-	±	-	-	±	-	

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University