

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

ภาคผนวก

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

ภาคผนวก ก

การเตรียมไคตินไคโตซานและวิธีวิเคราะห์สมบัติทางเคมีกายภาพ ของไคโตซาน

ก-1 การเตรียมไคตินจากเปลือกกุ้งและเปลือกปู

เตรียมไคตินจากเปลือกกุ้งและเปลือกปูโดยวิธีของนันทิยา เกือบแหลม (2548) มีขั้นตอนการเตรียมดังนี้

1. วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

1.1 วัสดุอุปกรณ์

- เครื่องศึกษาถังปฏิกรณ์เคมี
- ตู้อบลมร้อนแบบถาด
- เครื่องแก้วต่าง ๆ เช่น บีกเกอร์ ขวดปรับปริมาตร แท่งแก้วคน

1.2 สารเคมี

- เปลือกกุ้งขาว (*Litopenaeus Vannamai*)
- เปลือกปู (*Portunus pelagicus*)
- กรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 1 โมลาร์
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 2 โมลาร์

2. ขั้นตอนการวิเคราะห์

2.1 กำจัดแร่ธาตุโดยนำเปลือกกุ้งขาวตากแห้งน้ำหนักแห้ง 22 กิโลกรัม มาสกัดด้วยสารละลาย กรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 1 โมลาร์ อัตราส่วนเปลือกกุ้งต่อสารละลายกรด (น้ำหนักต่อปริมาตร) เป็น 1:20 กวนเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง ล้างด้วยน้ำกลั่นจนหมดกรด แล้วนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 ± 2 องศาเซลเซียสเป็นเวลาประมาณ 10 ชั่วโมง และชั่งน้ำหนัก

2.2 กำจัดโปรตีน โดยนำเปลือกกุ้งที่ผ่านกระบวนการกำจัดแร่ธาตุแล้วมาสกัดด้วยสารละลาย โซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 2 โมลาร์ อัตราส่วนเปลือกกุ้งต่อสารละลายด่าง (น้ำหนักต่อปริมาตร) เป็น 1:20 กวนเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 55 ± 2 องศาเซลเซียส ล้างด้วยน้ำกลั่นจนหมดด่าง แล้วนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 ± 2 องศาเซลเซียสเป็นเวลาประมาณ 10 ชั่วโมง และชั่งน้ำหนักสรุปขั้นตอนการเตรียมไคติน แสดงได้ดังภาพที่ ก-1

ก-2 การเตรียมไคโตซาน

เตรียมไคโตซานโดยวิธีของนันทียา เจียบแหลม (2548) โดยมีขั้นตอนการเตรียมดังนี้

1. วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

1.1 อุปกรณ์

- เครื่องศึกษาถึงปฏิกิริยาเคมี
- ตู้อบลมร้อนแบบถาด
- หม้อน้ำความดันไอน้ำ
- ขวดพลาสติกปากกว้างขนาด 1000 มิลลิลิตร
- เครื่องแก้วต่าง ๆ เช่น บีกเกอร์ ขวดปริมาตร แท่งแก้วคน

1.2 สารเคมี

- ไคติน
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 50

2. ขั้นตอนการวิเคราะห์

ชั่งไคตินน้ำหนัก 20 กรัม ใส่ในขวดพลาสติกขนาด 1 ลิตร เติมน้ำละลาย

โซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 50 อัตราส่วนไคตินต่อสารละลาย 1:20 ใส่ในหม้อน้ำความดันไอน้ำตั้งอุณหภูมิที่ 110 ± 2 และ 120 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 2 และ 3 ชั่วโมง ดังตารางภาคผนวก ก-1 นำไคโตซานที่ได้ล้างด้วยน้ำกลั่นจนเป็นกลาง จากนั้นอบแห้งที่ 60 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง แล้วชั่งน้ำหนักไคโตซานที่ได้ สรุปขั้นตอนการเตรียมไคโตซานแสดงได้ดังภาพภาคผนวก ก-1

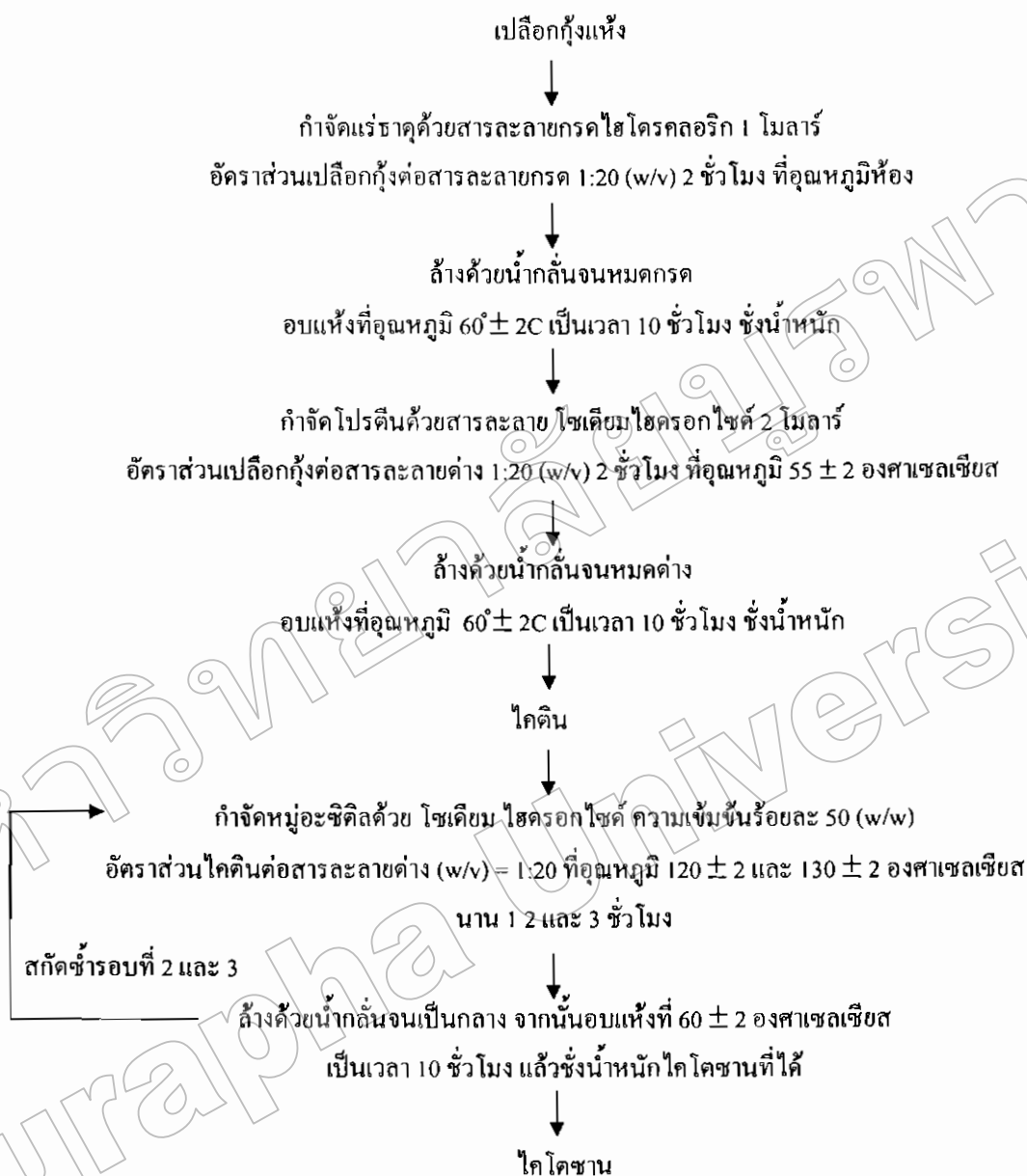
3. การคำนวณ

คำนวณหาค่าปริมาณไคโตซานที่ผลิตได้ (% Yield) ดังสมการ (ก-1)

$$\text{ปริมาณไคโตซานที่ผลิตได้ (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักของไคโตซานที่ได้}}{\text{น้ำหนักของไคตินที่ใช้}} \times 100 \quad (\text{ก-1})$$

ตารางภาคผนวกที่ ก-1 แสดงสถานะในการผลิตไคโตซาน

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	จำนวนซ้ำ (รอบ)	ระดับการกำจัด หมู่อะซิด (%)	น้ำหนักโมเลกุล*
110	1	1	77	1.53×10^6
120	2	1	85	1.25×10^6
120	3	3	95	1.30×10^6



ภาพที่ ก-1 ขั้นตอนการเตรียมโคตินโคโคซาน (นันทิยา เญียบแหลม, 2548)

ก-3 การเตรียมโคตินจากแกนหมัก

เตรียมโคติน โดยวิธี Chandumpai et al. (2004) โดยมีขั้นตอนการเตรียมดังนี้

1. วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

1.1 วัสดุอุปกรณ์

- ตู้อบลมร้อนแบบถาด
- เครื่องแก้วต่าง ๆ เช่น ปีกเกอร์ ขวดปรับปริมาตร แท่งแก้วคน

1.2 สารเคมี

- แแกนหมึก (*Loligo lessoniana*)
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 โมลาร์

2. ขั้นตอนการวิเคราะห์

กำจัดโปรตีนโดยนำแแกนหมึกที่ผ่านการล้างและอบแห้งแล้วมาสกัดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 โมลาร์ อัตราส่วนแแกนหมึกต่อสารละลายต่าง (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) เป็น 1:13 กวนเป็นเวลา 5 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 50 ± 2 องศาเซลเซียส ล้างด้วยน้ำกลั่นจนหมดต่าง แล้วนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 ± 2 องศาเซลเซียสเป็นเวลาประมาณ 10 ชั่วโมง และชั่งน้ำหนักสรุปขั้นตอนการเตรียมโคติน แสดงได้ดังภาพที่ ก-2

ก-4 การเตรียมโคโตซานจากแแกนหมึก

เตรียมโค โตซาน โดยวิธีของ Chandumpai et al. (2004) โดยมีขั้นตอนการเตรียมดังนี้

1. วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

1.1 อุปกรณ์

- เครื่องศึกษาถึงปฏิกรณ์เคมี
- ตู้อบลมร้อนแบบถาด
- หม้อน้ำความดันไอน้ำ
- ขวดพลาสติกปากกว้างขนาด 1000 มิลลิลิตร
- เครื่องแก้วต่าง ๆ เช่น บีกเกอร์ ขวดปรับปริมาตร แท่งแก้วคน

1.2 สารเคมี

- โคติน
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 50

2. ขั้นตอนการวิเคราะห์

ชั่งโคตินน้ำหนัก 20 กรัม ใส่ในขวดพลาสติกขนาด 1 ลิตร เติมสารละลาย

โซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 50 อัตราส่วนโคตินต่อสารละลาย 1:15 ใส่ในหม้อน้ำความดันไอน้ำตั้งอุณหภูมิที่ 100 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 4 และ 6 ชั่วโมง ดังตารางภาคผนวก ก-2 นำโคโตซานที่ได้มาล้างด้วยน้ำกลั่นจนเป็นกลาง จากนั้นอบแห้งที่ 60 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง แล้วชั่งน้ำหนักโคโตซานที่ได้ สรุปขั้นตอนการเตรียมโคโตซานแสดงได้ดังภาพภาคผนวก ก-2

3. การคำนวณ

คำนวณหาค่าปริมาณไคโดซานที่ผลิตได้ (% Yield) เช่นเดียวกับสมการ (ก-1)

ตารางภาคผนวกที่ ก-2 แสดงสถานะในการผลิตไคโดซานจากแกนหมึก

ชนิดของไคโดซาน	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา (ชั่วโมง)	จำนวนรอบการสกัด (รอบ)	ระดับการกำจัด หมู่อะซิติล
DD1	100 ± 2	2	1	62
DD2	100 ± 2	4	1	80
DD3	100 ± 2	6	1	92

แกนหมึกแห้ง



กำจัดโปรตีนด้วยสารละลาย โซเดียม ไฮดรอกไซด์ 1 โมลาร์

อัตราส่วนแกนหมึกต่อสารละลายต่าง 1:13 (w/v) 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ $50 \pm 2^{\circ}\text{C}$



ล้างด้วยน้ำกลั่นจนหมดค่าของบัพที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 10 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนัก



ไคติน



กำจัดหมู่อะซิติลด้วย โซเดียม ไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ (w/w)

อัตราส่วนไคตินต่อสารละลายต่าง (w/v) = 1:15 ที่อุณหภูมิ 100°C นาน 2 และ 6 ชั่วโมง



ล้างด้วยน้ำกลั่นจนเป็นกลาง จากนั้นอบแห้งที่ 60°C เป็นเวลา 10 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักไคโดซานที่ได้



ไคโดซาน

ภาพที่ ก-2 ขั้นตอนการเตรียมไคตินไคโดซานจากแกนหมึก Chandumpai et al. (2004)

ก-5 ระดับการกำจัดหมู่อะซีลิล

วิธีวิเคราะห์ระดับการกำจัดหมู่อะซีลิลของโคโคซานโดยวิธี Colliod Titration ของ มงคล สุขวัฒนาสินิทธิ์ (2544) มีรายละเอียดดังนี้

1. วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

1.1 อุปกรณ์

- ขวดรูปชมพู่ขนาด 25 และ 100 มิลลิลิตร
- กระบอกควงขนาด 50 มิลลิลิตร
- บิวเรตขนาด 25 มิลลิลิตร
- บีเปตขนาด 5 มิลลิลิตร
- หลอดหยด
- ขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร

1.2 สารเคมี

- อะซีติกแอซิด 0.1 โมลาร์
- สารละลายโคโคซาน ความเข้มข้นร้อยละ 1
- สารละลาย 1 เอน – เฮกซะเดซิลไพริเดียม คลอไรด์ โมโนไฮเดรต
- สารละลาย เอน/400 โพแทสเซียม โพลีไวนิล ซัลเฟต
- สารละลาย โทลูไดอิน บลู ความเข้มข้นร้อยละ 1

3. ขั้นตอนการวิเคราะห์

3.1 ทำแบบตงค์ไทเทรชัน โดยบีเปต อะซีติก แอซิด 0.1 โมลาร์ 5 มิลลิลิตร เติมในขวดรูปชมพู่ขนาด 25 มิลลิลิตร หยดสารละลาย โทลูไดอิน บลูร้อยละ 0.1 (ภาคผนวก ข-9) ลงไป 1-2 หยด ทำการไทเทรตด้วยสารละลาย เอน/400 โพแทสเซียม โพลีไวนิล ซัลเฟต (ภาคผนวก ข-10) และกวนสารละลายในขวดอยู่เสมอจนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนจากสีฟ้าเป็นสีม่วงแดงและมีตะกอนปรากฏขึ้น บันทึกปริมาณ เอน/400 โพแทสเซียม โพลีไวนิล ซัลเฟต ที่ใช้ในการไทเทรตทำการไทเทรตอีก 2 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ยจากค่าปริมาตรที่ต่างกันไม่เกิน 0.1 มิลลิลิตร

3.2 หาความเข้มข้นของ เอน/400 โพแทสเซียม โพลีไวนิล ซัลเฟต โดยบีเปต สารละลาย 1 เอน – เฮกซะเดซิลไพริเดียม คลอไรด์ โมโนไฮเดรต 5 มิลลิลิตร (ภาคผนวก ข-11) เติมลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 25 มิลลิลิตร หยดสารละลาย โทลูไดอิน บลูร้อยละ 0.1 ลงไป 1-2 หยด ทำการไทเทรตด้วยสารละลาย เอน/400 โพแทสเซียม โพลีไวนิล ซัลเฟต เช่นเดียวกับข้อ 1. แล้วนำค่าเฉลี่ยปริมาตรมาคำนวณหาความเข้มข้นของ เอน/400 โพแทสเซียม โพลีไวนิล ซัลเฟต ดังสมการ (ก-2)

3.3 ทำการไทเทรตสารละลายไคโตซานตัวอย่าง โดยปิเปตสารละลายไคโตซาน 5 มิลลิลิตร เติมนลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 25 มิลลิลิตร หยดสารละลาย โทลูไดอิน บลู ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ลงไป 1-2 หยด ทำการไทเทรตด้วยสารละลาย เอน/400 โพแทสเซียม โพลีไวนิล ซัลเฟต เช่นเดิม นำค่าเฉลี่ยปริมาตรมาคำนวณหาค่าระดับการกำจัดหมู่อะซีติลของไคโตซานตัวอย่าง ดังสมการ (ก-3)

4. การคำนวณ

4.1 การคำนวณหาค่าความเข้มข้นของ เอน/400 โพแทสเซียม โพลีไวนิล ซัลเฟต ที่ใช้ในการทดลอง

$$N = (50 \times C') / (358D) \quad (\text{ก-2})$$

เมื่อ N = ความเข้มข้นของ เอน/400 โพแทสเซียม โพลีไวนิล ซัลเฟต (นอร์มอล)

C' = ความเข้มข้นของ 1 เอน – เฮกซะเดซิลไพริเดียมคลอไรด์โมโนไฮเดรต(%)

D = ผลต่างของปริมาตรที่ได้จากการไทเทรต 1 เอน – เฮกซะเดซิลไพริเดียม คลอไรด์โมโนไฮเดรต และแบลงค์

4.2 การคำนวณหาค่าระดับหมู่อะซีติลของไคโตซาน

$$\% DA = 100 \times (50C - 161ND) / (42ND + 50C) \quad (\text{ก-3})$$

เมื่อ N = ความเข้มข้นของ เอน/400 โพแทสเซียม โพลีไวนิล ซัลเฟต (นอร์มอล)

C = ความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานตัวอย่าง (%)

D = ผลต่างของปริมาตรที่ได้จากการไทเทรตสารละลายไคโตซานตัวอย่างและแบลงค์

4.3 การคำนวณหาค่าระดับการกำจัดหมู่อะซีติล (เปอร์เซ็นต์DD) ของไคโตซาน

$$\% DD = 100 - \% DA \quad (\text{ก-4})$$

เมื่อ $\% DD$ = ระดับการกำจัดหมู่อะซีติล

$\% DA$ = ระดับหมู่อะซีติล

5. ตัวอย่างการคำนวณ

ความเข้มข้นของสารละลาย 1 เอน – เฮกซะเดซิลไพริเดียม คลอไรด์ โมโนไฮเดรต และสารละลายโคโคซานใน กรดอะซิติก ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 25 มิลลิลิตร แสดงได้ดังตารางภาคผนวก ก-2

ตารางภาคผนวก ก-3 ตัวอย่างความเข้มข้นของสารละลาย 1 เอน – เฮกซะเดซิลไพริเดียม คลอไรด์ โมโนไฮเดรต และสารละลายโคโคซาน

สารเคมี	น้ำหนัก (มิลลิกรัม)	ปริมาตร (มิลลิลิตร)	ความเข้มข้น (ร้อยละโดยน้ำหนักต่อปริมาตร)
1 เอน – เฮกซะเดซิลไพริเดียม คลอไรด์ โมโนไฮเดรต	13.1	25	0.0524(C')
ตัวอย่างโคโคซานซ้ำ1	1.1	25	0.0404(C')
ตัวอย่างโคโคซานซ้ำ2	10.0	25	0.0400(C')
ตัวอย่างโคโคซานซ้ำ3	9.9	25	0.0396(C')

ความเข้มข้นของ เอน/400 โพแทสเซียม โพลีไวนิล ซัลเฟต หาได้จากการไทเทรตสารละลาย 1 เอน – เฮกซะเดซิลไพริเดียม คลอไรด์ โมโนไฮเดรต ปริมาตรของ เอน/400 โพแทสเซียม โพลีไวนิล ซัลเฟต ที่ใช้ในการไทเทรตแสดงได้ดังตารางภาคผนวก ก-3

ตารางภาคผนวก ก-4 ตัวอย่างปริมาตรของ เอน/400 โพแทสเซียม โพลีไวนิล ซัลเฟต ที่ใช้ในการไทเทรตเบลงค์และสารละลาย 1 เอน – เฮกซะเดซิลไพริเดียม คลอไรด์ โมโนไฮเดรต

ครั้งที่	ปริมาตร เอน/400 โพแทสเซียม โพลีไวนิล ซัลเฟต ที่ใช้ในการไทเทรต (มิลลิลิตร)	
	เบลงค์ไทเทรชัน	1 เอน – เฮกซะเดซิลไพริเดียม คลอไรด์ โมโนไฮเดรต ไทเทรชัน
1	0.15	3.85
2	0.15	3.85
3	0.15	3.90
เฉลี่ย	0.15	3.87

$$\begin{aligned}
 \text{ความเข้มข้นของ เอน/400 โฟแทสเซียม โพลีไวนิลซัลเฟต (นอร์มอล)} &= (50 \times C') / (358D) \\
 &= (50 \times 0.0524) / (358 \times 3.72) \\
 &= 1.97 \times 10^{-3} \text{ นอร์มอล}
 \end{aligned}$$

ถ้าระดับอะซิติลเลชันของโคโคซานที่ได้จากการไทเทรตสารละลายโคโคซานด้วย เอน/400 โฟแทสเซียม โพลีไวนิล ซัลเฟต ที่ทราบความเข้มข้นแน่นอน ปริมาตรของ เอน/400 โฟแทสเซียม โพลีไวนิล ซัลเฟต แสดงได้ดังตารางภาคผนวกที่ ก-5

ตารางภาคผนวก ก-5 ตัวอย่างปริมาตรของ เอน/400 โฟแทสเซียม โพลีไวนิล ซัลเฟต ที่ใช้ในการไทเทรตสารละลายโคโคซาน

ครั้งที่	ปริมาตร เอน/400 โฟแทสเซียม โพลีไวนิล ซัลเฟต ที่ใช้ในการไทเทรต (มิลลิลิตร)		
	ตัวอย่างโคโคซานซ้ำ1	ตัวอย่างโคโคซานซ้ำ2	ตัวอย่างโคโคซานซ้ำ3
1	5.00	4.80	4.75
2	4.95	4.75	4.70
3	5.00	4.80	4.70
เฉลี่ย	4.98	4.78	4.72

ระดับหมู่อะซิติลของตัวอย่างโคโคซานซ้ำ1

$$\% DA = 100 \times (50C - 161ND) / (42ND + 50C)$$

$$\begin{aligned}
 &= 100 \times (50 \times 0.0404 - 161 \times 1.97 \times 10^{-3} \times 4.83) / (42 \times 1.97 \times 10^{-3} + 50 \times 0.0404) \\
 &= 10.46
 \end{aligned}$$

$$\% DD = 100 - \% DA$$

$$= 100 - 10.46 = 89.54$$

ระดับหมู่อะซิติลของตัวอย่างโคโคซานซ้ำ2

$$\begin{aligned}
 \% DA &= 100 \times (50 \times 0.0400 - 161 \times 1.97 \times 10^{-3} \times 4.63) / (42 \times 1.97 \times 10^{-3} + 50 \times 0.0400) \\
 &= 13.27
 \end{aligned}$$

$$\% DD = 100 - 13.27 = 86.73$$

ระดับหมู่อะซิติลของตัวอย่างโคโคซานซ้ำ3

$$\begin{aligned}
 \% DA &= 100 \times (50 \times 0.0396 - 161 \times 1.97 \times 10^{-3} \times 4.57) / (42 \times 1.97 \times 10^{-3} + 50 \times 0.0396) \\
 &= 13.64
 \end{aligned}$$

$$\% DD = 100 - 13.64 = 86.36$$

ก-6 น้ำหนักโมเลกุล

วิธีวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานโดยวิธี Intrinsic Viscosity ของ วิภาวี โสვნ (2544) และ Maghami and Robert (1988) โดยมีรายละเอียดดังนี้

1. วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

1.1 วัสดุอุปกรณ์

- เครื่องแก้ววัดความหนืด (Ubbelohde Viscometer ขนาด 0B)
- เครื่องกวนแม่เหล็ก
- ปิเปตขนาด 10 มิลลิลิตร
- ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร
- กระบอกตวงขนาด 100 มิลลิลิตร
- บีกเกอร์ขนาด 150 มิลลิลิตร
- จุกยาง
- นาฬิกาจับเวลา

1.2 สารเคมี

- ไคโตซาน
- กรดอะซิติก ความเข้มข้น 0.1 และ 1 โมลาร์
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.2 และ 1 โมลาร์
- น้ำกลั่น

2. การเตรียมสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์

2.1 เตรียมสารละลายผสมที่ประกอบด้วย กรดอะซิติก 0.1 โมลาร์และ

โซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.2 โมลาร์ อัตราส่วน 1:1

2.2 Stock Solution ของไคโตซานตัวอย่าง มีวิธีการเตรียมดังนี้

2.2.1 เตรียม Stock Solution ของไคโตซานความเข้มข้น 7.6×10^{-4} กรัมต่อ

มิลลิลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร (C_1) โดยชั่งไคโตซานตัวอย่าง 0.076 กรัม ละลายในกรดอะซิติก 1 โมลาร์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 60 มิลลิลิตร แล้วกวนด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นเติม โซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 โมลาร์ ปริมาตร 20 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรรวมเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น กวนต่อไปอีกเป็นเวลา 1 ชั่วโมง

2.2.2 เตรียม Stock Solution ของไคโตซานความเข้มข้น 2.53×10^{-4} กรัมต่อ

มิลลิลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร (C_2) โดยปิเปต Stock Solution จากข้อ 2.1 มา 15 มิลลิลิตร แล้วเติมตัวทำละลายผสมในข้อ 1 ปริมาตร 30 มิลลิลิตร (ปริมาตรรวมเป็น 45 มิลลิลิตร)

3. ขั้นตอนการวิเคราะห์

3.1 ปิเปตตัวทำละลายผสม 14 มิลลิลิตร (C_0) เติมลงใน Ubbelohde Viscometer โดยควบคุมอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส ใช้จุกยางดูดสารละลายขึ้นมาให้อยู่เหนือจุด a เล็กน้อย แล้วปล่อยจุกยาง บันทึกเวลาที่สารละลายเคลื่อนที่จากจุด a ถึง b 3 ครั้ง จากนั้นนำช่วงเวลา 2 ครั้งที่ใกล้เคียงกันมากที่สุดมาหาค่าเฉลี่ย

3.2 ปิเปตสารละลาย C_1 ปริมาตร 14 มิลลิลิตร เติมลงใน Ubbelohde Viscometer แล้วดำเนินการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 1

3.3 เตรียมสารละลายโคโคซานความเข้มข้น 5.43×10^{-4} กรัมต่อมิลลิลิตร (C_2) โดยปิเปต สารละลาย C_1 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เติมลงใน Ubbelohde Viscometer และเติมตัวทำละลายผสมในปริมาตร 4 มิลลิลิตร แล้วดำเนินการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 1

3.4 เตรียมสารละลายโคโคซานความเข้มข้น 3.80×10^{-4} กรัมต่อมิลลิลิตร (C_3) โดยปิเปต สารละลาย C_1 ปริมาตร 7 มิลลิลิตร เติมลงใน Ubbelohde Viscometer และเติมตัวทำละลายผสมในปริมาตร 7 มิลลิลิตร แล้วดำเนินการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 1

3.5 ปิเปตสารละลาย C_4 ปริมาตร 14 มิลลิลิตร เติมลงใน Ubbelohde Viscometer แล้วดำเนินการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 1

3.6 เตรียมสารละลายโคโคซานความเข้มข้น 1.81×10^{-4} กรัมต่อมิลลิลิตร (C_5) โดยปิเปต สารละลาย C_4 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เติมลงใน Ubbelohde Viscometer และเติมตัวทำละลายผสมในปริมาตร 4 มิลลิลิตร แล้วดำเนินการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 1

3.7 เตรียมสารละลายโคโคซานความเข้มข้น 1.44×10^{-4} กรัมต่อมิลลิลิตร (C_6) โดยปิเปต สารละลาย C_4 ปริมาตร 8 มิลลิลิตร เติมลงใน Ubbelohde Viscometer และเติมตัวทำละลายผสมในปริมาตร 6 มิลลิลิตร แล้วดำเนินการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 1

3.8 นำข้อมูลที่ได้ไปเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง η_{sp}/C กับความเข้มข้นของโคโคซาน (C) นำจุดตัดแกน Y มาคำนวณหาน้ำหนักโมเลกุลโดยใช้สมการของ Mark-Houwink แสดงได้ดังสมการ (ก-5)

4. การคำนวณ

$$[\eta] = KM_v^a \quad (\text{ก-5})$$

เมื่อ $[\eta]$ = Intrinsic Viscosity
 M_v = Viscosity Average Molecular Weight
 K และ a = ค่าคงที่ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของพอลิเมอร์ ตัวทำละลายและอุณหภูมิ

ก-7 ความหนืด

วิธีวิเคราะห์ความหนืดของไคโตซานโดยวิธีที่ดัดแปลงจาก No et al. (2000) มีรายละเอียดดังนี้

1. วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

1.1 วัสดุอุปกรณ์

- เครื่องวัดความหนืด (Brookfield Viscometer)
- เครื่องทำน้ำเย็น (Cooler)
- ชุด Small sample adapter
- Spindle No. SC4-18 Model LV

1.2 สารเคมี

- ไคโตซาน
- กรดอะซิติก ความเข้มข้นร้อยละ 1

2. ขั้นตอนการวิเคราะห์

2.1. เตรียมสารละลายไคโตซานความเข้มข้นร้อยละ 1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ในกรดอะซิติก ความเข้มข้นร้อยละ 1 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ใช้เวลาในการผสม 30 นาที โดยใช้เครื่องกวนแม่เหล็กที่ความเร็วเบอร์ 10

2.2 ต่อสายยางหมุนเวียนน้ำระหว่างชุด Small sample adapter กับเครื่องทำน้ำเย็น โดยตั้งที่อุณหภูมิของเครื่องทำน้ำเย็นที่ 25 ± 2 องศาเซลเซียส

2.3 เติมหตัวอย่างสารละลายไคโตซานที่เตรียมได้ปริมาตร 8 มิลลิลิตรลงในช่องใส่ตัวอย่างของชุด Small Sample Adapter แล้วต่อเข้ากับแกนของเครื่องวัดความหนืด

2.4 วัดค่าความหนืดโดยใช้ Rheocalc Software ตั้งโปรแกรมให้เครื่องเริ่มทำงานเมื่ออุณหภูมิของตัวอย่างเป็น 37 ± 2 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 45 รอบต่อนาที ทุก ๆ 10 วินาที

2.5 เลือกอ่านค่าความหนืดที่ความเร็วรอบ 45 รอบต่อนาที (รายงานผลเป็นหน่วยเซนติพอยด์) เนื่องจากเป็นความเร็วรอบที่สามารถอ่านค่าความหนืดได้ทุกตัวอย่างและสามารถใช้เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าความหนืดระหว่างตัวอย่างได้

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

ภาคผนวก ข

วิธีวิเคราะห์สมบัติทางเคมีกายภาพของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์

ข-1 การวิเคราะห์ความหนืด

วิธีวิเคราะห์ความหนืดของไคโตซาน โดยวิธีที่ดัดแปลงจากวิธีของ No et al. (2000) มีรายละเอียดดังนี้

1. อุปกรณ์และสารเคมี

- เครื่องวัดความหนืด (Brookfield Viscometer)
- ชุด Small sample adapter
- Spindle No. SC4-18 Model LV
- เครื่องทำน้ำเย็น (Cooler)
- สารละลายไคโตซานความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์
- เอนไซม์เซลลูเลส จากเชื้อ *Trichoderma reesei* (Cellulase 1.5L)
- กรดอะซิติก ความเข้มข้น 0.5 นอร์มอล

2. วิธีการ

2.1 เตรียมสารละลายไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ใช้เวลาในการผสม 30 นาที โดยใช้เครื่องกวนแม่เหล็กที่ความเร็วเบอร์ 10

2.2 ต่อสายยางหมุนเวียนน้ำระหว่างชุด Small sample adapter กับเครื่องทำน้ำเย็น โดยตั้งที่อุณหภูมิของเครื่องทำน้ำเย็นที่ 25 องศาเซลเซียส

2.3 เติมตัวอย่างสารละลายไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่เตรียมได้ปริมาตร 8 มิลลิลิตรลงในช่องใส่ตัวอย่างของชุด Small Sample Adapter แล้วต่อเข้ากับแกนของเครื่องวัดความหนืด

2.4 วัดค่าความหนืดโดยใช้ Rheocalc Softwaer ตั้งโปรแกรมให้เครื่องเริ่มทำงานเมื่ออุณหภูมิของตัวอย่างเป็น 25 องศาเซลเซียส เพิ่มความเร็วรอบ 45 รอบต่อนาที วัดทุก ๆ 10 วินาที

ข-2 การวิเคราะห์ปริมาณโคโคซานที่เหลืออยู่

วิธีวิเคราะห์ปริมาณโคโคซานที่เหลืออยู่โดยวิธีที่ดัดแปลงจากวิธีของ Lee et al. (1999) มีรายละเอียดดังนี้

1. อุปกรณ์และสารเคมี

- เครื่องบ่มเขย่า (Shaker Incubator)
- ตู้อบลมร้อน (Hot Air Oven)
- สารละลายโคโคซานความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์
- เอนไซม์เซลลูเลส จากเชื้อ *Trichoderma reesei* (Cellulase 1.5L)
- บีกเกอร์และเครื่องแก้ว
- กรดอะซิติก ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.5 นอร์มอล

2. วิธีการ

2.1 เตรียมสารละลายโคโคซานจากเปลือกกุ้ง เปลือกปูและแกนหมึก 1 เปอร์เซ็นต์ในกรดอะซิติก 1 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) จากโคโคซานที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิดิลของโคโคซานในช่วง 77-95 เปอร์เซ็นต์ ปรับค่าความเป็นกรดต่างเป็นค่าที่ 6.5 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร เติมเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า โดยใช้อัตราส่วนของเอนไซม์ต่อโคโคซานเป็น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส บ่มเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 rpm เก็บตัวอย่างทุก 5 นาที เป็นเวลา 120 นาที หยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์ด้วยการให้ความร้อนที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เติม โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.5 นอร์มอล จนได้ค่าความเป็นกรดต่าง 7.0 นำตัวอย่างไปหมุนเหวี่ยงที่ 10,000 g อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

2.2 แยกส่วนที่เป็นตะกอนและอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนและชั่งน้ำหนักส่วนที่เป็นตะกอนเหลวและแห้ง

ข-3 การวิเคราะห์ห้วงมวลโมเลกุลโดย GPC (Gel Permeation Chromatography)

การวิเคราะห์ห้วงมวลโมเลกุลโดย GPC โดยวิธี ของนริสา เหลลคหวิ และคณะ (2547) มีรายละเอียดดังนี้

1. อุปกรณ์และสารเคมี

- GPC (Gel permeation Chromatography) รุ่น PL-GPC 110
- ขวดรูปชมพู่
- กระบอกตวง
- บีกเกอร์
- กระดาษกรองขนาด 0.45µm
- สารละลายไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์
- Acetic Acid ความเข้มข้น 1 M
- สารละลาย Sodium acetate solution ความเข้มข้น 1 M

2. วิธีการ

เตรียมสารละลายไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) โดย นำไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ได้ Freeze Dry เป็นเวลา 3-4 วัน เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 20 มิลลิกรัม ละลายใน Acetic Acid ความเข้มข้น 1 M ปริมาณเป็น 100 มิลลิลิตร พร้อมกับปั่นจนสารละลายเป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นนำสารละลายไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่เตรียมได้มา 2.5 มิลลิลิตร เติมด้วยสารละลาย Sodium Acetate ความเข้มข้น 1 M 2.5 มิลลิลิตร ปั่นจนสารละลายเป็นเวลา 4 ชั่วโมง นำสารละลายที่ได้กรอง และ นำไปวิเคราะห์ห้วงมวลโมเลกุล

3. ขั้นตอนการวิเคราะห์

การวิเคราะห์ห้วงมวลโมเลกุลโดย GPC รุ่น PL-GPC 110 ทำได้โดยการชั่งไคโตซาน 0.01 กรัม ละลายในกรดอะซิติกเข้มข้น 1 โมลาร์ 2.5 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมอะซิเตทเข้มข้น 1 โมลาร์ 2.5 มิลลิลิตร กรองสารละลายที่ผ่าน Disposal Membrane Filter (0.45µm) สภาวะที่ใช้ในการทดลองมีดังนี้

Injection volume: 20 µl

Eluent : 0.5 M Acetic acid + 0.5 M Sodium Acetate (1:1)

Column : Ultraliner Hydrogel
(Molecular Weight Resolving Rangel, 1,000-20,000,000)

Detector : Differential Refractometer (RI)

Temperature	: 30° C
Flow rate	: 0.600 ml/min
Standard	: Pullulan (Molecular Weight Range 5,800-1,660,000)

ข-4 การวิเคราะห์ระดับชั้นพอลิเมอร์น้ำตาลในสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์

การวิเคราะห์น้ำตาลในสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ โดยวิธีของ Tsai et al. (2000) มีรายละเอียดดังนี้

1. วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

1.1 วัสดุอุปกรณ์

- เครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC)
- เครื่องหมุนเหวี่ยงชนิดตั้งโต๊ะ
- คอลัมน์ HPLC
- ขวดรูปชมพู่ขนาด มิลลิลิตร
- กระบอกตวงขนาด มิลลิลิตร
- บีกเกอร์ขนาด มิลลิลิตร
- Eppendorf
- กระดวยกรอง 0.45 ไมโครเมตร

1.2 สารเคมี

- Acetonitrile
- ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์มาตรฐาน DP 1-7
- น้ำ Deionize

2. วิธีการ

การเตรียมตัวอย่างเพื่อหาระดับชั้นโพลิเมอร์ ด้วย HPLC

การเตรียมตัวอย่างสารละลายไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ดัดแปลงจากวิธีของ เอกกมล กล้ายเกิด (2545) มีขั้นตอนดังนี้

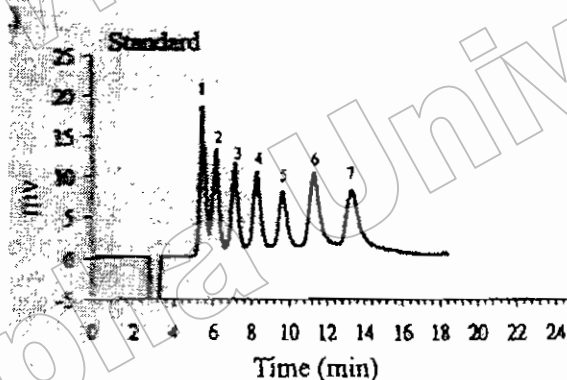
นำสารละลายไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 100 ไมโครลิตร ใน Eppendorf ขนาด 1.5 มิลลิลิตร เติมน้ำ Deionize 900 ไมโครลิตร ต้มในน้ำเดือดนาน 15 นาที หมุนเหวี่ยงที่ 10,000 g อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที นำส่วนใส 300 ไมโครลิตร ผสมกับ Acetonitrile 700 ไมโครลิตร กรองด้วยกระดวยกรอง 0.45 ไมโครเมตร นำไปวิเคราะห์หาระดับชั้นโพลิเมอร์ด้วย HPLC

3. ขั้นตอนการวิเคราะห์

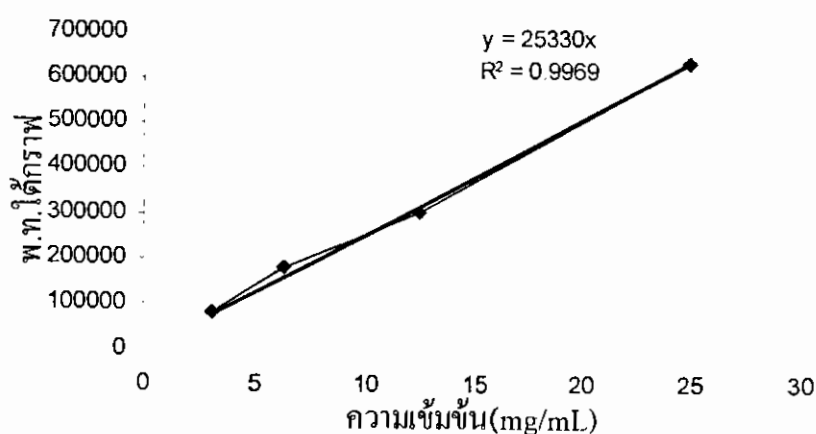
วิเคราะห์องค์ประกอบของ โคลิโพลิโกแซคคาไรด์ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้คอลัมน์ Asahipak NH₂P-50 และใช้ตัวอย่างสารผสมโคลิโพลิโกแซคคาไรด์ 20 ไมโครลิตร ฉีดเข้าไปในเครื่อง HPLC โดยใช้ Acetonitrile-Water Mixture อัตราส่วน 70:30 (ปริมาตรต่อปริมาตร) เป็น Mobile Phase ด้วยอัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที และวัดค่า Absorbance ที่ 210 nm โดยใช้ UV Spectrophotometer เปรียบเทียบกับเวลาแต่ละช่วงของตัวอย่างกับ Peak Phase ของโคลิโพลิโกแซคคาไรด์ มาตรฐานที่มี DP 1-7 ความเข้มข้นน้ำตาลมาตรฐานที่ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถคำนวณได้จากสมการ (ง-1)

4. การคำนวณ

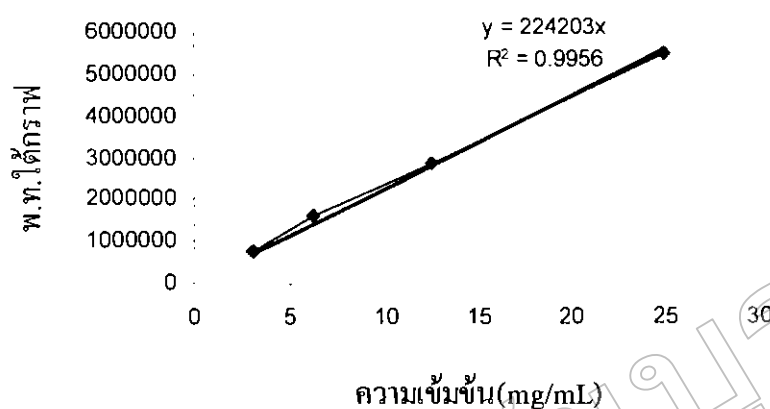
$$\text{ความเข้มข้นน้ำตาลในตัวอย่าง} = \frac{(\text{ความเข้มข้นน้ำตาลมาตรฐาน}) \times (\text{พื้นที่ใต้พีคของตัวอย่างน้ำตาล})}{(\text{พื้นที่ใต้พีคของน้ำตาลมาตรฐาน})} \quad (\text{ง-1})$$



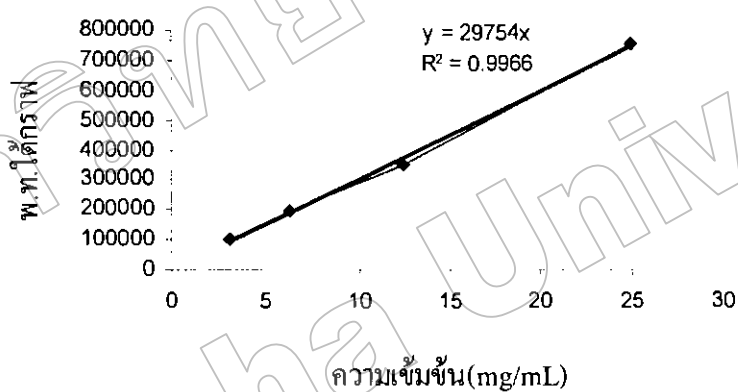
ภาพที่ ข-1 แสดง Peak ของโคลิโพลิโกแซคคาไรด์มาตรฐาน (Tsai et al., 2000)



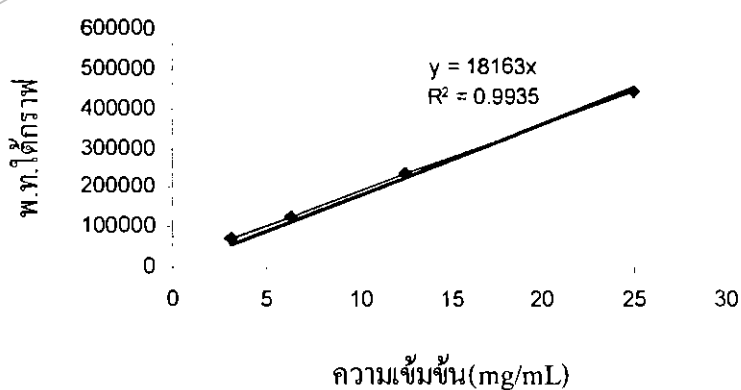
ภาพที่ ข-2 กราฟมาตรฐาน Degree of polymerization, DP-1



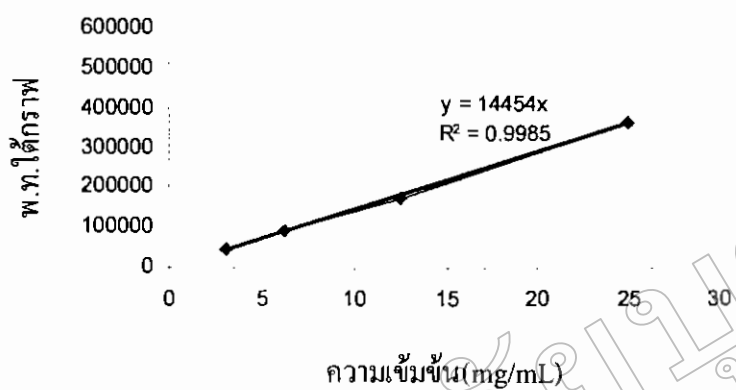
ภาพที่ ข-3 กราฟมาตรฐาน Degree of polymerization, DP-2



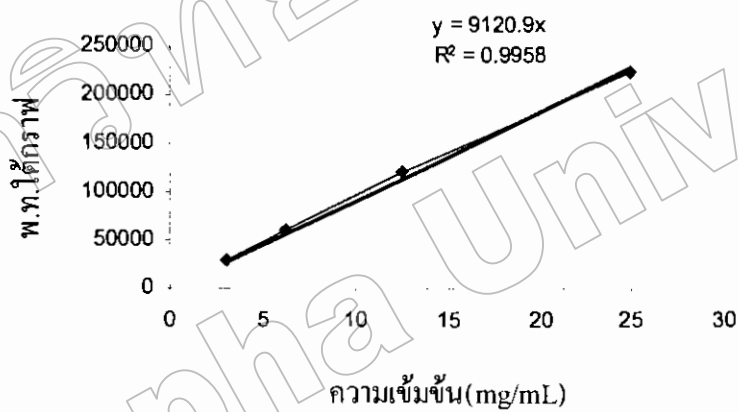
ภาพที่ ค-4 กราฟมาตรฐาน Degree of polymerization, DP-3



ภาพที่ ข-5 กราฟมาตรฐาน Degree of polymerization, DP-4



ภาพที่ ข-6 กราฟมาตรฐาน Degree of polymerization, DP-5



ภาพที่ ข-7 กราฟมาตรฐาน Degree of polymerization, DP-6

ข-5 การวิเคราะห์ปริมาณสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์

วิธีวิเคราะห์สารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์โดยวิธีที่ดัดแปลงจากวิธีของ Lee et al. (1999) มีรายละเอียดดังนี้

1. อุปกรณ์และสารเคมี

- เครื่องบ่มเขย่า (Shaker Incubator)
- เครื่องทำแห้งแบบระเหิด (Freeze Dryer)
- ตู้อบลมร้อน (Hot Air Oven)
- สารละลายไคโตซานความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์
- เอนไซม์เซลลูเลส จากเชื้อ *Trichoderma reesei* (Cellulase 1.5L)
- บีกเกอร์และเครื่องแก้ว
- กรดอะซิติก ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.5 นอร์มอล

2. วิธีการ

2.1 เตรียมสารละลายไคโตซานจากเปลือกกุ้ง เปลือกปูและแกนหมึก 1 เปอร์เซ็นต์ในกรดอะซิติก 1 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) จากไคโตซานที่มีระดับการกำจัดหมู่ะซิติลของไคโตซานในช่วง 77-95 เปอร์เซ็นต์ ปรับค่าความเป็นกรดต่างเป็นค่าที่ 6.5 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร เติมเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า โดยใช้อัตราส่วนของเอนไซม์ต่อไคโตซานเป็น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส บ่มเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 rpm เก็บตัวอย่างทุก 5 นาที เป็นเวลา 120 นาที หยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์ด้วยการให้ความร้อนที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เติม โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.5 นอร์มอล จนได้ค่าความเป็นกรดต่าง 7.0 นำตัวอย่างไปหมุนเหวี่ยงที่ 10,000 g อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

2.2 แยกส่วนที่เป็นของเหลววัดปริมาตร และอบแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบระเหิด และชั่งน้ำหนัก

3. การคำนวณ

การคำนวณร้อยละผลผลิต

$$\text{ร้อยละผลผลิต} = (\text{สารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์} \times 100) / \text{ปริมาณไคโตซานที่เหลืออยู่} \quad (\text{ข-1})$$

ข-6 การเตรียมสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์

เตรียมสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ โดยมีขั้นตอนดังนี้

1. อุปกรณ์และสารเคมี

- ขวดปรับปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร
- เครื่องชั่งชนิดละเอียด
- กรดอะซิติก
- ไคโตซาน
- ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ผลิตเชิงการค้า
- ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ผลิตโดยเอนไซม์เซลลูเลส จากเชื้อ *Trichoderma*

reesei (Cellulase 1.5L)

2. วิธีการ

ชั่งตัวอย่างสารแต่ละชนิดตามน้ำหนักที่คำนวณได้ เพื่อเตรียมให้มีความเข้มข้นเป็น

เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) (stock)

3. การคำนวณ

การคำนวณความเข้มข้นของสารละลาย

mg/mL	mg/L (ppm)	% w/v
2	2000	0.2
1	1000	0.1
0.5	500	0.05
0.25	250	0.025
0.100	100	0.0100

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์การยับยั้งจุลินทรีย์

ก-1 การเตรียมเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* และ *V. cholerae*

นำเชื้อ *V. parahaemolyticus* และ *V. cholerae* บริสุทธิ์จาก ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา มาเตรียมเป็นกล้าเชื้อ โดยวิธีของ Chaiyakosa, Charernjiratragul, Umsakul, and Vuddhakul (2007) มีรายละเอียดดังนี้

1. วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

1.1 วัสดุอุปกรณ์

- เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์
- ตู้ Laminar Air Flow Biosafety Cabinet
- ตู้บ่มควบคุมอุณหภูมิ
- หม้อนึ่งความดัน
- เครื่องชั่งละเอียด
- บีกเกอร์สเตนเลส 1,000 มิลลิลิตร
- งานเพาะเชื้อ หลอดทดลอง แท่งแก้วคน เข็มเขี่ยเชื้อและตะเกียงแอลกอฮอล์

1.2 สารเคมี

- อาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase Soy Agar ที่เติมด้วยโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 1
- อาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase Soy Broth ที่เติมด้วยโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 1
- โซเดียมคลอไรด์
- เอทานอล

2. ขั้นตอนการเตรียม

นำเชื้อ *V. parahaemolyticus* และ *V. cholerae* ถ่ายเชื้อลงบนอาหาร Trypticase Soy Agar ในตู้ Laminar Air Flow Biosafety Cabinet บ่มที่อุณหภูมิ 37 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12-14 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อ 1 ลูบ ลงอาหาร Trypticase Soy Broth 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ± 2 ชั่วโมง นำไปวัดค่าความขุ่นเพื่อหาความเข้มข้นของเซลล์

ค-2 การเตรียมเชื้อ *Listeria Monocytogenes*

นำเชื้อ *L. Monocytogenes* บริสุทธิ์จาก ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา มีรายละเอียดดังนี้

1. วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

1.1 วัสดุอุปกรณ์

- ตู้ Laminar Air Flow Biosafety Cabinet
- ตู้บ่มควบคุมอุณหภูมิ
- หม้อน้ำความดัน
- เครื่องชั่งละเอียด
- บีกเกอร์สเตนเลส 1,000 มิลลิลิตร
- จานเพาะเชื้อและแท่งแก้วคน Cork Borrer เข็มเขี่ยเชื้อและตะเกียงแอลกอฮอล์

1.2 สารเคมี

- อาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase Soy Broth
- อาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase Soy Agar
- เอทานอล

2. ขั้นตอนการเตรียม

นำเชื้อ *L. Monocytogenes* ถ่ายเชื้อลงบนอาหาร Trypticase Soy Agar ในตู้ Laminar Air Flow Biosafety Cabinet บ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ± 2 ชั่วโมง ในตู้บ่มควบคุมอุณหภูมิโดยโคโลนีของ *L. Monocytogenes* จะเป็นสีเขียวเข้มอมเทาถึงดำ จากนั้นนำโคโลนีเคียวย้ายไปเลี้ยงในอาหาร Trypticase Soy Broth 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ± 2 ชั่วโมง นำไปวัดค่าความขุ่นเพื่อหาความเข้มข้นของเซลล์

ค-3 การเตรียมเชื้อ *S. aureus*

นำเชื้อ *S. aureus* บริสุทธิ์จากภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา มาเตรียมเป็นกล้าเชื้อ มีรายละเอียดดังนี้

1. วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

1.1 วัสดุอุปกรณ์

- ตู้ Laminar Air Flow Biosafety Cabinet
- ตู้บ่มควบคุมอุณหภูมิ

- หม้อนึ่งความดัน
- เครื่องชั่งละเอียด
- ตะเกียงแอลกอฮอล์
- บีกเกอร์สแตนเลส 1,000 มิลลิลิตร
- จานเพาะเชื้อและแท่งแก้วคน
- Cork Borer และเข็มเย็บเชื้อ

1.2 สารเคมี

- อาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase Soy Broth
- อาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase Soy Agar
- โซเดียมคลอไรด์
- เอทานอล

2. ขั้นตอนการเตรียม

นำเชื้อ *S. aureus* ถ่ายเชื้อลงบนอาหาร Trypticase Soy Agar ในตู้ Laminar Air Flow Biosafety Cabinet บ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ± 2 ชั่วโมง ในตู้บ่มควบคุมอุณหภูมิ นำโคโลนีเดี่ยวย้ายไปเลี้ยงในอาหาร Trypticase Soy Broth 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ± 2 ชั่วโมง จากนั้น นำไปวัดค่าความขุ่นเพื่อหาความเข้มข้นของเซลล์

ก-4 การเตรียมเชื้อ *E. coli*

นำเชื้อ *E. coli* บริสุทธิ์จากภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา มาเตรียมเป็นกล้าเชื้อ มีรายละเอียดดังนี้

1. วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

1.1 วัสดุอุปกรณ์

- ตู้ Laminar Air Flow Biosafety Cabinet
- ตู้บ่มควบคุมอุณหภูมิ
- หม้อนึ่งความดัน
- เครื่องชั่งละเอียด
- ตะเกียงแอลกอฮอล์
- บีกเกอร์สแตนเลส 1,000 มิลลิลิตร

- จานเพาะเชื้อและแท่งแก้วคน
- Cork Borrer และเข็มเขี่ยเชื้อ

1.2 สารเคมี

- อาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase Soy Broth
- อาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase Soy Agar
- โซเดียมคลอไรด์
- เอทานอล

2. ขั้นตอนการเตรียม

นำเชื้อ *E.coli* ถ่ายเชื้อลงบนอาหาร Trypticase Soy Agar ในตู้ Laminar Air Flow

Biosafety Cabinet บ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ± 2 ชั่วโมง ในตู้บ่มควบคุมอุณหภูมิ นำโคโลนีเดี่ยวย้ายไปเลี้ยงในอาหาร Trypticase Soy Broth 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ± 2 ชั่วโมง จากนั้น นำไปวัดค่าความขุ่นเพื่อหาความเข้มข้นของเซลล์

ก-5 การวิเคราะห์ประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์

วิเคราะห์ประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ โดยวิธี Paper Disc Diffusion ดังนี้

1. อุปกรณ์และสารเคมี

1.1 อุปกรณ์

- ตู้บ่มเพาะเชื้อ (Incubator)
- Vortex mixture
- จานอาหารเลี้ยงเชื้อ
- หลอดอาหารฝาเกลียว
- บีเปิด ปากคืบ
- ตะเกียงแอลกอฮอล์
- บีเปิดขนาด 5 และ 10 มิลลิลิตร
- ขวดปรับปริมาตรขนาด 100 และ 500 มิลลิลิตร
- จุกยางคูด
- กระดาษกลม

1.2 สารเคมี

- อาหาร Tryptic Soy Agar

- อาหาร Tryptic Soy Broth

2. วิธีการ

ปลูกเชื้อที่ใช้ทดสอบแต่ละตัวลงในอาหาร Tryptic Soy Agar บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ค่อยจากนั้นถ่ายเชื้อลงในอาหาร Tryptic Soy Broth บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตรที่ฆ่าเชื้อแล้วดูดสารละลายเชื้อ 0.1 มิลลิลิตร หลดลงในอาหาร Tryptic Soy Agar ทำการ Swab ทิ้งไว้ให้ผิวหน้าแห้ง จึงใช้ปากกิบฆ่าเชื้อที่แผ่นกระดาษวงกลมที่ฆ่าเชื้อแล้ว แตะลงในสารละลายสารผสมโคโคโอลิโกแซคคาไรด์ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ นำไปวางบนอาหารที่ผิวหน้าแห้ง บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจสอบผลโดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส ที่เกิดรอบกระดาษกลม

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

ภาคผนวก ง

ผลการวิเคราะห์

ตารางภาคผนวก ง-1 ตารางสรุปร้อยละการผลิตในกระบวนการผลิต ไคติน จากเปลือกกุ้ง เปลือกปู และแกนหมึก

ขั้นตอน	นน. เปลือกสด (กรัม)	นน.เปลือก แห้ง (กรัม)	นน.ไคติน (กรัม)	นน.ไคโตซาน (กรัม)	%Yield (นน. สด)	%Yield (นน. แห้ง)	%Yield (ไคติน)
1. การผลิตไคโตซาน 110 C° 1 ชม.							
ไคติน	8,533.33	1,028.26	320.00	-	-	-	-
↓							
ข่อยด้วยด่าง 110 C° 1 ชม.				235.00	2.7539	22.8540	73.4375
↓							
ไคโตซาน				235.00	2.7539	22.8540	73.4400
2. การผลิตไคโตซาน 120 C° 2 ชม.							
ไคติน	6,400.00	771.20	240.00				
↓							
ข่อยด้วยด่าง 120 C° 2 ชม.				180.00	2.81	23.34	75.00
↓							
ไคโตซาน				180.00	0.88	23.34	75.00
3. การผลิตไคโตซาน 120 C° 3 ชม. 3 รอบ							
ไคติน	8,533.33	1,028.27	320.00				
↓							
ข่อยด้วยด่าง 120 C° 3 ชม. รอบที่ 1				230.00	2.70	22.37	71.88
↓							
ข่อยด้วยด่าง 120 C° 3 ชม. รอบที่ 2				215.00	2.52	20.91	67.19
↓							
ข่อยด้วยด่าง 120 C° 3 ชม. รอบที่ 3				190.00	2.23	18.48	59.38
↓							
ไคโตซาน				190.00	0.69	18.48	59.38

ตารางภาคผนวก ง-2 ตารางผลการวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของโคโคซานที่ผลิตในสภาวะต่าง ๆ
กันจากเปลือกกุ้ง เปลือกปู และแกนหมึก

ชนิดของ โคโคซาน	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	การสกัด (รอบ)	เวลา (ชั่วโมง)	น้ำหนักโมเลกุลของโคโคซาน (คาลตัน)					
				ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย		
เปลือกกุ้ง	110	1	1	2.12E+06	1.92E+06	2.13E+06	2.05E+06	±	1.19E+05
เปลือกกุ้ง	120	1	2	1.59E+06	1.60E+06	1.68E+06	1.62E+06	±	4.66E+04
เปลือกกุ้ง	120	3	3	5.61E+05	4.50E+05	5.13E+05	5.08E+05	±	5.56E+04
เปลือกปู	110	1	1	1.17E+06	1.12E+06	1.14E+06	1.15E+06	±	2.67E+04
เปลือกปู	120	1	2	1.00E+06	1.00E+06	1.00E+06	1.00E+06	±	0.00E+00
เปลือกปู	120	3	3	4.47E+05	4.37E+05	4.47E+05	4.43E+05	±	5.87E+03
แกนหมึก	100	1	2	5.01E+05	5.13E+05	5.01E+05	5.05E+05	±	6.74E+03
แกนหมึก	100	1	4	3.47E+05	2.75E+05	3.47E+05	3.23E+05	±	4.12E+04
แกนหมึก	100	1	6	1.58E+05	1.55E+05	1.62E+05	1.62E+05	±	3.65E+03

ตารางภาคผนวก ง-3 ตารางผลการวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของโคโคซานที่ผลิตในสภาวะต่าง ๆ
กันจากเปลือกกุ้ง เปลือกปู และแกนหมึก

ชนิดของ โคโคซาน	อุณหภูมิ	การสกัด (รอบ)	เวลา (ชั่วโมง)	น้ำหนักโมเลกุลของโคโคซาน ($\times 10^6$ คาลตัน)					
				ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย		
เปลือกกุ้ง	110	1	1	2.12	1.92	2.13	2.06	±	0.12
เปลือกกุ้ง	120	1	2	1.59	1.60	1.68	1.62	±	0.05
เปลือกกุ้ง	120	3	3	0.56	0.45	0.51	0.51	±	0.06
เปลือกปู	110	1	1	1.17	1.12	1.14	1.14	±	0.03
เปลือกปู	120	1	2	1.00	1.00	1.00	1.00	±	0.00
เปลือกปู	120	3	3	0.45	0.44	0.45	0.45	±	0.01
แกนหมึก	100	1	2	0.50	0.51	0.50	0.50	±	0.01
แกนหมึก	100	1	4	0.35	0.28	0.35	0.33	±	0.04
แกนหมึก	100	1	6	0.16	0.16	0.16	0.16	±	0.00

ตารางภาคผนวก ง-2 ตารางผลการวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานที่ผลิตในสภาวะต่าง ๆ
กันจากเปลือกกุ้ง เปลือกปู และแกนหมึก

ชนิดของ ไคโตซาน	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	การสกัด (รอบ)	เวลา (ชั่วโมง)	น้ำหนักโมเลกุลของไคโตซาน (ดาลตัน)				
				ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย	
เปลือกกุ้ง	110	1	1	2.12E+06	1.92E+06	2.13E+06	2.05E+06	± 1.19E+05
เปลือกกุ้ง	120	1	2	1.59E+06	1.60E+06	1.68E+06	1.62E+06	± 4.66E+04
เปลือกกุ้ง	120	3	3	5.61E+05	4.50E+05	5.13E+05	5.08E+05	± 5.56E+04
เปลือกปู	110	1	1	1.17E+06	1.12E+06	1.14E+06	1.15E+06	± 2.67E+04
เปลือกปู	120	1	2	1.00E+06	1.00E+06	1.00E+06	1.00E+06	± 0.00E+00
เปลือกปู	120	3	3	4.47E+05	4.37E+05	4.47E+05	4.43E+05	± 5.87E+03
แกนหมึก	100	1	2	5.01E+05	5.13E+05	5.01E+05	5.05E+05	± 6.74E+03
แกนหมึก	100	1	4	3.47E+05	2.75E+05	3.47E+05	3.23E+05	± 4.12E+04
แกนหมึก	100	1	6	1.58E+05	1.55E+05	1.62E+05	1.62E+05	± 3.65E+03

ตารางภาคผนวก ง-3 ตารางผลการวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานที่ผลิตในสภาวะต่าง ๆ
กันจากเปลือกกุ้ง เปลือกปู และแกนหมึก

ชนิดของ ไคโตซาน	อุณหภูมิ	การสกัด (รอบ)	เวลา (ชั่วโมง)	น้ำหนักโมเลกุลของไคโตซาน ($\times 10^6$ ดาลตัน)				
				ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย	
เปลือกกุ้ง	110	1	1	2.12	1.92	2.13	2.06	± 0.12
เปลือกกุ้ง	120	1	2	1.59	1.60	1.68	1.62	± 0.05
เปลือกกุ้ง	120	3	3	0.56	0.45	0.51	0.51	± 0.06
เปลือกปู	110	1	1	1.17	1.12	1.14	1.14	± 0.03
เปลือกปู	120	1	2	1.00	1.00	1.00	1.00	± 0.00
เปลือกปู	120	3	3	0.45	0.44	0.45	0.45	± 0.01
แกนหมึก	100	1	2	0.50	0.51	0.50	0.50	± 0.01
แกนหมึก	100	1	4	0.35	0.28	0.35	0.33	± 0.04
แกนหมึก	100	1	6	0.16	0.16	0.16	0.16	± 0.00

ตารางภาคผนวก ง-7 ตารางผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของ
โคโคซานจากแกนหมึก ที่ผลิตในสภาวะต่าง ๆ กัน

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: MW

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	9.935 ^a	8	1.242	511.944	.000
Intercept	20.107	1	20.107	8288.397	.000
CT	9.935	8	1.242	511.944	.000
Error	.044	18	.002		
Total	30.086	27			
Corrected Total	9.979	26			

a. R Squared = .996 (Adjusted R Squared = .994)

ตารางภาคผนวก ง-8 ตารางผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของน้ำหนักโมเลกุลของโคโคซาน
เปลือกกุ้ง ที่ผลิตในสภาวะต่าง ๆ กัน

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: MW

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	9.959 ^a	8	1.245	509.175	.000
Intercept	20.071	1	20.071	8209.293	.000
CONDITIO	9.959	8	1.245	509.175	.000
Error	.044	18	.002		
Total	30.074	27			
Corrected Total	10.003	26			

a. R Squared = .996 (Adjusted R Squared = .994)

ตารางภาคผนวก ง-9 ตารางผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของน้ำหนักโมเลกุลของโคโคซาน
เปลือกกุ้ง ที่ผลิตในสภาวะต่าง ๆ กัน

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: MW

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	3.839 ^a	2	1.920	294.568	.000
Intercept	17.525	1	17.525	2689.455	.000
CONDITIO	3.839	2	1.920	294.568	.000
Error	.039	6	.007		
Total	21.403	9			
Corrected Total	3.878	8			

a. R Squared = .990 (Adjusted R Squared = .987)

ตารางภาคผนวก ง-10 ตารางผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของน้ำหนักโมเลกุลของโคโคซาน
เปลือกปู ที่ผลิตในสภาวะต่าง ๆ กัน

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: MW

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.820 ^a	2	.410	1844.066	.000
Intercept	6.693	1	6.693	30116.56	.000
CONDITIO	.820	2	.410	1844.066	.000
Error	.001	6	.000		
Total	7.513	9			
Corrected Total	.821	8			

a. R Squared = .998 (Adjusted R Squared = .998)

ตารางภาคผนวก ง-11 ตารางผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของน้ำหนักโมเลกุลของโคโคซาน
แกนหมึกที่ผลิตในสภาวะต่าง ๆ กัน

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: MW

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.177 ^a	2	.088	159.180	.000
Intercept	.980	1	.980	1764.180	.000
CONDITIO	.177	2	.088	159.180	.000
Error	.003	6	.001		
Total	1.160	9			
Corrected Total	.180	8			

a. R Squared = .982 (Adjusted R Squared = .975)

ตารางภาคผนวก ง-12 ตารางผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความหนืด ของสารผสม

โคโคโพลิโกแซคคาไรด์จากโคโคซานเปลือกกุ้งที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติล
ร้อยละ 76.25 โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: VISCOS

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	19801.151 ^a	12	1650.096	428.897	.000
Intercept	12488.831	1	12488.831	3246.129	.000
TIME	19801.151	12	1650.096	428.897	.000
Error	100.030	26	3.847		
Total	32390.011	39			
Corrected Total	19901.180	38			

a. R Squared = .995 (Adjusted R Squared = .993)

ตารางภาคผนวก ง-13 ตารางผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความหนืด ของสารผสม
โคโตะโพลิโกแซคคาไรด์จากโคโคซานเปลือกกุ้งที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติล
ร้อยละ 84.77 โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: VISCOS

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	5082.746 ^a	12	423.562	78.325	.000
Intercept	19450.100	1	19450.100	3596.720	.000
TIME	5082.746	12	423.562	78.325	.000
Error	140.601	26	5.408		
Total	24673.447	39			
Corrected Total	5223.347	38			

a. R Squared = .973 (Adjusted R Squared = .961)

ตารางภาคผนวก ง-14 ตารางผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความหนืด ของสารผสม
โคโตะโพลิโกแซคคาไรด์จากโคโคซานเปลือกกุ้งที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติล
ร้อยละ 95.68 โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: VISCOS

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	23.936 ^a	12	1.995	13.102	.000
Intercept	2312.002	1	2312.002	15187.23	.000
TIME	23.936	12	1.995	13.102	.000
Error	3.958	26	.152		
Total	2339.896	39			
Corrected Total	27.894	38			

a. R Squared = .858 (Adjusted R Squared = .793)

ตารางภาคผนวก ง-15 ตารางผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความหนืด ของสารผสม
โคโตะโพลิโกแซคคาไรด์จากโคโคซานเปลือกกุ้งที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติล
ร้อยละ 61.81 โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: VISCOS

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	22438.328 ^a	24	934.930	230.155	.000
Intercept	49528.012	1	49528.012	12192.46	.000
TIME	22438.328	24	934.930	230.155	.000
Error	203.109	50	4.062		
Total	72169.450	75			
Corrected Total	22641.438	74			

a. R Squared = .991 (Adjusted R Squared = .987)

ตารางภาคผนวก ง-16 ตารางผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความหนืด ของสารผสม

โคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากโคโตซานเปลือกกุ้งที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติล
ร้อยละ 71.67 โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: VISCOS

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	471.694 ^a	10	47.169	17.578	.000
Intercept	6568.064	1	6568.064	2447.585	.000
TIME	471.694	10	47.169	17.578	.000
Error	59.037	22	2.683		
Total	7098.795	33			
Corrected Total	530.731	32			

a. R Squared = .889 (Adjusted R Squared = .838)

ตารางภาคผนวก ง-17 ตารางผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความหนืด ของสารผสม

โคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากโคโตซานเปลือกกุ้งที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติล
ร้อยละ 95.35 โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: VISCOS

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	64.149 ^a	7	9.164	30.899	.000
Intercept	3069.534	1	3069.534	10349.51	.000
TIME	64.149	7	9.164	30.899	.000
Error	4.745	16	.297		
Total	3138.428	24			
Corrected Total	68.894	23			

a. R Squared = .931 (Adjusted R Squared = .901)

ตารางภาคผนวก ง-18 ตารางผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความหนืด ของสารผสม

โคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากโคโตซานแกนหมึกที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติล
ร้อยละ 81.44 โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: VISCOS

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	6401.286 ^a	8	800.161	86.697	.000
Intercept	5935.115	1	5935.115	643.069	.000
TIME	6401.286	8	800.161	86.697	.000
Error	166.128	18	9.229		
Total	12502.529	27			
Corrected Total	6567.415	26			

a. R Squared = .975 (Adjusted R Squared = .963)

ตารางภาคผนวก ง-19 ตารางผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความหนืด ของสารผสม
ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากไคโตซานแกนหมึกที่ระดับการกำจัดหุ้ะซิติล
ร้อยละ 85.87 โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: VISCOS

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	4373.197 ^a	6	728.866	169.469	.000
Intercept	2088.416	1	2088.416	485.578	.000
TIME	4373.197	6	728.866	169.469	.000
Error	60.212	14	4.301		
Total	6521.825	21			
Corrected Total	4433.409	20			

a. R Squared = .986 (Adjusted R Squared = .981)

ตารางภาคผนวก ง-20 ตารางผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความหนืด ของสารผสม
ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากไคโตซานแกนหมึกที่ระดับการกำจัดหุ้ะซิติล
ร้อยละ 89.69 โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: VISCOS

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2140.720 ^a	6	356.787	977.791	.000
Intercept	769.984	1	769.984	2110.179	.000
TIME	2140.720	6	356.787	977.791	.000
Error	5.108	14	.365		
Total	2915.813	21			
Corrected Total	2145.829	20			

a. R Squared = .998 (Adjusted R Squared = .997)

ตารางภาคผนวก ง-21 ตารางผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าปริมาณไคโตซานที่เหลือจาก
การย่อยโดยเอนไซม์จากไคโตซานเปลือกกุ้งที่ระดับการกำจัดหุ้ะซิติล
ร้อยละ 76.25 โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: CT

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.267 ^a	12	.022	1.732	.117
Intercept	14.843	1	14.843	1156.842	.000
TIME	.267	12	.022	1.732	.117
Error	.334	26	.013		
Total	15.443	39			
Corrected Total	.600	38			

a. R Squared = .444 (Adjusted R Squared = .188)

ตารางภาคผนวก ง-22 ตารางผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าปริมาณไคโตซานที่เหลือจากการย่อยโดยเอนไซม์จากไคโตซานเปลือกกุ้งที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติล ร้อยละ 84.77 โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: CT

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.089 ^a	12	.007	93.237	.000
Intercept	12.230	1	12.230	153866.3	.000
TIME	.089	12	.007	93.237	.000
Error	.002	26	7.949E-05		
Total	12.321	39			
Corrected Total	.091	38			

a. R Squared = .977 (Adjusted R Squared = .967)

ตารางภาคผนวก ง-23 ตารางผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าปริมาณไคโตซานที่เหลือจากการย่อยโดยเอนไซม์จากไคโตซานเปลือกกุ้งที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติล ร้อยละ 95.68 โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: CT

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.001 ^a	12	4.786E-05	.026	1.000
Intercept	18.651	1	18.651	9950.491	.000
TIME	.001	12	4.786E-05	.026	1.000
Error	.049	26	.002		
Total	18.700	39			
Corrected Total	.049	38			

a. R Squared = .012 (Adjusted R Squared = -.445)

ตารางภาคผนวก ง-24 ตารางผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าปริมาณสารผสม ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากไคโตซานเปลือกกุ้งที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติล ร้อยละ 76.25 โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: COS

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.339 ^a	12	.028	204.170	.000
Intercept	1.246	1	1.246	8996.463	.000
TIME	.339	12	.028	204.170	.000
Error	.004	26	.000		
Total	1.589	39			
Corrected Total	.343	38			

a. R Squared = .989 (Adjusted R Squared = .985)

ตารางภาคผนวก ง-25 ตารางผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าปริมาณสารผสม

โคโคโอลิโกแซคคาไรด์จากโคโคซานเปลือกกุ้งที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติล
ร้อยละ 84.77 โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: COS

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.152 ^a	12	.013	247.017	.000
Intercept	2.689	1	2.689	52428.80	.000
TIME	.152	12	.013	247.017	.000
Error	.001	26	5.128E-05		
Total	2.842	39			
Corrected Total	.153	38			

a. R Squared = .991 (Adjusted R Squared = .987)

ตารางภาคผนวก ง-26 ตารางผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าปริมาณสารผสม

โคโคโอลิโกแซคคาไรด์จากโคโคซานเปลือกกุ้งที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติล
ร้อยละ 95.68 โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: COS

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.000 ^a	12	2.862E-05	.016	1.000
Intercept	18.623	1	18.623	10346.36	.000
TIME	.000	12	2.862E-05	.016	1.000
Error	.047	26	.002		
Total	18.670	39			
Corrected Total	.047	38			

a. R Squared = .007 (Adjusted R Squared = -.451)

ตารางภาคผนวก ง-27 ตารางผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าปริมาณโคโคซานที่เหลือจาก

การย่อยโดยเอนไซม์จากโคโคซานเปลือกกุ้งที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติล
ร้อยละ 61.81 โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: CT

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1.383 ^a	24	.058	10.345	.000
Intercept	40.102	1	40.102	7200.319	.000
TIME	1.383	24	.058	10.345	.000
Error	.273	49	.006		
Total	42.102	74			
Corrected Total	1.656	73			

a. R Squared = .835 (Adjusted R Squared = .754)

ตารางภาคผนวก ง-28 ตารางผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าปริมาณสารผสม

โคโคโพลิโกแซคคาไรด์จากโคโคซานเปลือกปูที่ระดับการกำจัดหุ้มอะซิติก
ร้อยละ 61.81 โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: CT

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.027 ^a	24	.001	9.926	.000
Intercept	.274	1	.274	2420.597	.000
TIME	.027	24	.001	9.926	.000
Error	.006	49	.000		
Total	.309	74			
Corrected Total	.033	73			

a. R Squared = .829 (Adjusted R Squared = .746)

ตารางภาคผนวก ง-29 ตารางผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าร้อยละผลผลิตของสารผสม

โคโคโพลิโกแซคคาไรด์จากโคโคซานเปลือกปูที่ระดับการกำจัดหุ้มอะซิติก
ร้อยละ 61.81 โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: YIELD

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	7392.259 ^a	24	308.011	10.787	.000
Intercept	72574.342	1	72574.342	2541.672	.000
TIME	7392.259	24	308.011	10.787	.000
Error	1427.689	50	28.554		
Total	81394.290	75			
Corrected Total	8819.948	74			

a. R Squared = .838 (Adjusted R Squared = .760)

ตารางภาคผนวก ง-30 ตารางผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าปริมาณโคโคซานที่เหลือจาก

การย่อยโดยเอนไซม์จากโคโคซานเปลือกปูที่ระดับการกำจัดหุ้มอะซิติก
ร้อยละ 71.67 โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: CT

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.027 ^a	24	.001	9.926	.000
Intercept	.274	1	.274	2420.597	.000
TIME	.027	24	.001	9.926	.000
Error	.006	49	.000		
Total	.309	74			
Corrected Total	.033	73			

a. R Squared = .829 (Adjusted R Squared = .746)

ตารางภาคผนวก ง-31 ตารางผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าปริมาณสารผสม

โคโคโอลิโกแซคคาไรด์จากโคโคซานเปลือกปูที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติล
ร้อยละ 71.67 โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: COS

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.006 ^a	10	.001	14.952	.000
Intercept	.244	1	.244	5709.519	.000
TIME	.006	10	.001	14.952	.000
Error	.001	22	4.274E-05		
Total	.251	33			
Corrected Total	.007	32			

a. R Squared = .872 (Adjusted R Squared = .813)

ตารางภาคผนวก ง-32 ตารางผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าร้อยละผลผลิตของสารผสม

โคโคโอลิโกแซคคาไรด์จากโคโคซานเปลือกปูที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติล
ร้อยละ 71.67 โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: COS

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.006 ^a	10	.001	14.952	.000
Intercept	.244	1	.244	5709.519	.000
TIME	.006	10	.001	14.952	.000
Error	.001	22	4.274E-05		
Total	.251	33			
Corrected Total	.007	32			

a. R Squared = .872 (Adjusted R Squared = .813)

ตารางภาคผนวก ง-33 ตารางผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าปริมาณโคโคซานที่เหลือจาก

การย่อยโดยเอนไซม์จากโคโคซานเปลือกปูที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติล
ร้อยละ 95.35 โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: CT

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.055 ^a	7	.008	6.679	.001
Intercept	3.820	1	3.820	3271.787	.000
TIME	.055	7	.008	6.679	.001
Error	.019	16	.001		
Total	3.894	24			
Corrected Total	.073	23			

a. R Squared = .745 (Adjusted R Squared = .633)

ตารางภาคผนวก ง-34 ตารางผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าปริมาณสารผสมโคโตโอลิโก
แซคคาไรด์จากโคโตซานเปลือกปูที่ระดับการกำจัดหุ้ชะติลร้อยละ 95.35
โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: COS

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.023 ^a	7	.003	3.123	.028
Intercept	5.956	1	5.956	5728.702	.000
TIME	.023	7	.003	3.123	.028
Error	.017	16	.001		
Total	5.995	24			
Corrected Total	.039	23			

a. R Squared = .577 (Adjusted R Squared = .392)

ตารางภาคผนวก ง-35 ตารางผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าร้อยละผลผลิตของสารผสม
โคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากโคโตซานเปลือกปูที่ระดับการกำจัดหุ้ชะติล
ร้อยละ 95.35 โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: CT

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	5.569E-05 ^a	8	6.961E-06	1.271	.317
Intercept	.227	1	.227	41550.88	.000
TIME	5.569E-05	8	6.961E-06	1.271	.317
Error	9.855E-05	18	5.475E-06		
Total	.228	27			
Corrected Total	.000	26			

a. R Squared = .361 (Adjusted R Squared = .077)

ตารางภาคผนวก ง-36 ตารางผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าปริมาณโคโตซานที่เหลือจาก
การย่อยโดยเอนไซม์จากโคโตซานแกนหมึกที่ระดับการกำจัดหุ้ชะติล
ร้อยละ 81.44 โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: CT

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	5.569E-05 ^a	8	6.961E-06	1.271	.317
Intercept	.227	1	.227	41550.88	.000
TIME	5.569E-05	8	6.961E-06	1.271	.317
Error	9.855E-05	18	5.475E-06		
Total	.228	27			
Corrected Total	.000	26			

a. R Squared = .361 (Adjusted R Squared = .077)

ตารางภาคผนวก ง-37 ตารางผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าปริมาณสารผสม

โคโคโอลิโกแซคคาไรด์จากโคโคซานแกนหมึกที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติล
ร้อยละ 81.44 โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: CT

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1.903E-05 ^a	5	3.805E-06	1.795	.188
Intercept	.161	1	.161	76063.78	.000
TIME	1.903E-05	5	3.805E-06	1.795	.188
Error	2.544E-05	12	2.120E-06		
Total	.161	18			
Corrected Total	4.447E-05	17			

a. R Squared = .428 (Adjusted R Squared = .189)

ตารางภาคผนวก ง-38 ตารางผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าร้อยละผลผลิตของสารผสม

โคโคโอลิโกแซคคาไรด์จากโคโคซานแกนหมึกที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติล
ร้อยละ 81.44 โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: YIELD

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	797.592 ^a	8	99.699	2.420	.057
Intercept	29591.401	1	29591.401	718.311	.000
TIME	797.592	8	99.699	2.420	.057
Error	741.525	18	41.196		
Total	31130.517	27			
Corrected Total	1539.116	26			

a. R Squared = .518 (Adjusted R Squared = .304)

ตารางภาคผนวก ง-39 ตารางผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าปริมาณโคโคซานที่เหลือจาก

การย่อยโดยเอนไซม์จากโคโคซานเปลือกปูที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติล
ร้อยละ 85.87 โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: CT

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	4.241E-05 ^a	6	7.068E-06	1.928	.146
Intercept	.192	1	.192	52472.02	.000
TIME	4.241E-05	6	7.068E-06	1.928	.146
Error	5.132E-05	14	3.666E-06		
Total	.192	21			
Corrected Total	9.373E-05	20			

a. R Squared = .452 (Adjusted R Squared = .218)

ตารางภาคผนวก ง-37 ตารางผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าปริมาณสารผสม

โคโคโอลิโกแซคคาไรด์จากโคโคซานแกนหมึกที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติล
ร้อยละ 81.44 โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: CT

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1.903E-05 ^a	5	3.805E-06	1.795	.188
Intercept	.161	1	.161	76063.78	.000
TIME	1.903E-05	5	3.805E-06	1.795	.188
Error	2.544E-05	12	2.120E-06		
Total	.161	18			
Corrected Total	4.447E-05	17			

a. R Squared = .428 (Adjusted R Squared = .189)

ตารางภาคผนวก ง-38 ตารางผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าร้อยละผลผลิตของสารผสม

โคโคโอลิโกแซคคาไรด์จากโคโคซานแกนหมึกที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติล
ร้อยละ 81.44 โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: YIELD

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	797.592 ^a	8	99.699	2.420	.057
Intercept	29591.401	1	29591.401	718.311	.000
TIME	797.592	8	99.699	2.420	.057
Error	741.525	18	41.196		
Total	31130.517	27			
Corrected Total	1539.116	26			

a. R Squared = .518 (Adjusted R Squared = .304)

ตารางภาคผนวก ง-39 ตารางผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าปริมาณโคโคซานที่เหลือจาก

การย่อยโดยเอนไซม์จากโคโคซานเปลือกปูที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติล
ร้อยละ 85.87 โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: CT

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	4.241E-05 ^a	6	7.068E-06	1.928	.146
Intercept	.192	1	.192	52472.02	.000
TIME	4.241E-05	6	7.068E-06	1.928	.146
Error	5.132E-05	14	3.666E-06		
Total	.192	21			
Corrected Total	9.373E-05	20			

a. R Squared = .452 (Adjusted R Squared = .218)

ตารางภาคผนวก ง-43 ตารางผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าร้อยละผลผลิตของสารผสม

ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากไคโตซานแกนหมึกที่ระดับการกำจัดหุ้ชะติล

ร้อยละ 81.44 โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: YIELD

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	19.212 ^a	6	3.202	2.550	.070
Intercept	1585.664	1	1585.664	1262.553	.000
TIME	19.212	6	3.202	2.550	.070
Error	17.583	14	1.256		
Total	1622.459	21			
Corrected Total	36.795	20			

a. R Squared = .522 (Adjusted R Squared = .317)

ตารางภาคผนวก ง-44 ผลการวิเคราะห์ความหนืด ปริมาณโคไโดซานที่เหลือ ร้อยละผลผลิตของสารผสมโคไโดโอลิโกแซคคาไรด์จากโคไโดซานเปลือกกุ้งที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 76.25, 84.77 และ 95.68 โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า + ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ชนิดโคไโดซาน	Min	Viscosity (cPs)		Chitosan Substrate (g)		COS (g)		ร้อยละผลผลิต			
กุ้ง DD 76.25 %	0	72.32	± 0.00 ^g	0.8080	± 0.0732 ^b	0.0443	± 0.0115 ^a	4.43	± 1.15 ^a		
	5	67.83	± 2.96 ^f	0.8001	± 0.0754 ^b	0.0433	± 0.0125 ^a	4.33	± 1.25 ^a		
	10	17.73	± 2.48 ^e	0.6626	± 0.0098 ^b	0.0579	± 0.0056 ^a	5.79	± 0.56 ^a		
	15	12.71	± 1.19 ^d	0.5924	± 0.1189 ^a	0.0914	± 0.0030 ^b	9.14	± 0.30 ^b		
	20	10.64	± 3.19 ^{cd}	0.5915	± 0.1268 ^a	0.1189	± 0.0137 ^c	11.89	± 1.37 ^c		
	25	8.91	± 2.33 ^{abc}	0.5810	± 0.1242 ^a	0.1720	± 0.0163 ^d	17.20	± 1.63 ^d		
	30	7.27	± 1.60 ^{abc}	0.5725	± 0.1272 ^a	0.2004	± 0.0030 ^c	20.04	± 0.30 ^c		
	35	7.29	± 2.68 ^{ab}	0.5737	± 0.1243 ^a	0.2262	± 0.0017 ^f	22.62	± 0.17 ^f		
	40	6.29	± 1.36 ^{ab}	0.5721	± 0.1274 ^a	0.2508	± 0.0061 ^g	25.08	± 0.61 ^g		
	45	6.07	± 1.67 ^{ab}	0.5682	± 0.1297 ^a	0.2712	± 0.0108 ^h	27.12	± 1.08 ^h		
	50	5.73	± 1.35 ^{ab}	0.5651	± 0.1318 ^a	0.2739	± 0.0113 ^h	27.39	± 1.13 ^h		
	55	4.78	± 0.81 ^a	0.5657	± 0.1289 ^a	0.2742	± 0.0079 ^h	28.42	± 1.74 ^h		
	60	5.07	± 1.13 ^a	0.5647	± 0.1283 ^a	0.2778	± 0.0066 ^h	29.11	± 1.77 ^h		
กุ้ง DD 84.77 %	0	47.57	± 3.63 ^g	0.6518	± 0.0099 ^g	0.1568	± 0.0038 ^d	24.06	± 0.38 ^a		
	5	45.86	± 4.71 ^g	0.6268	± 0.0075 ^f	0.1599	± 0.0076 ^a	25.52	± 0.76 ^b		
	10	29.08	± 1.99 ^f	0.6156	± 0.0090 ^{ef}	0.1829	± 0.0083 ^b	29.71	± 0.83 ^c		
	15	24.71	± 2.04 ^c	0.6074	± 0.0125 ^c	0.2087	± 0.0026 ^c	34.36	± 0.26 ^d		
	20	21.62	± 2.14 ^{dc}	0.5758	± 0.0069 ^d	0.2602	± 0.0083 ^d	45.18	± 0.83 ^c		
	25	19.46	± 1.54 ^{cd}	0.5579	± 0.0110 ^c	0.2939	± 0.0076 ^c	52.68	± 0.76 ^f		
	30	17.80	± 1.95 ^{bcd}	0.5364	± 0.0067 ^b	0.3023	± 0.0054 ^f	56.36	± 0.54 ^{f,g}		
	35	16.22	± 1.62 ^{abc}	0.5249	± 0.0117 ^{ab}	0.3107	± 0.0063 ^f	59.19	± 0.63 ^g		
	40	15.17	± 1.60 ^{ab}	0.5252	± 0.0090 ^{ab}	0.3120	± 0.0052 ^f	59.40	± 0.52 ^g		
	45	14.06	± 1.68 ^{ab}	0.5223	± 0.0085 ^{ab}	0.3054	± 0.0050 ^f	58.47	± 0.50 ^g		
	50	13.69	± 1.67 ^{ab}	0.5144	± 0.0066 ^d	0.3084	± 0.0044 ^f	59.95	± 0.44 ^g		
	55	12.78	± 1.63 ^a	0.5116	± 0.0081 ^a	0.3086	± 0.0037 ^f	60.32	± 0.37 ^g		
	60	12.31	± 1.63 ^a	0.5147	± 0.0064 ^a	0.3117	± 0.0056 ^f	60.56	± 0.56 ^g		

ตารางภาคผนวก ง-45 ผลการวิเคราะห์ความหนืด ปริมาณไคโตซานที่เหลือ ร้อยละผลผลิตของ สารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากไคโตซานเปลือกกุ้งที่ระดับการกำจัด หมู่อะซิติกร้อยละ 76.25, 84.77 และ 95.68 โดยเอนไซม์เซลลูเลสทาง การค้า± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (ต่อ)

ชนิดไคโตซาน	Min	Viscosity (cPs)		Chitosan Substrate (g)		COS (g)		ร้อยละผลผลิต		
กุ้ง DD 95.68 %	0	9.71	± 0.39 ^c	0.6913	± 0.0404 ^{ns}	0.0521	± 0.0049 ^{ns}	7.54	±	0.60 ^a
	5	9.00	± 0.57 ^d	0.6914	± 0.0472 ^{ns}	0.0524	± 0.0052 ^{ns}	7.57	±	0.60 ^a
	10	8.00	± 0.25 ^c	0.6990	± 0.0424 ^{ns}	0.0512	± 0.0048 ^{ns}	7.33	±	0.23 ^a
	15	7.71	± 0.23 ^c	0.6920	± 0.0375 ^{ns}	0.0551	± 0.0065 ^{ns}	7.96	±	0.37 ^b
	20	7.78	± 0.43 ^{bc}	0.6906	± 0.0477 ^{ns}	0.0560	± 0.0056 ^{ns}	8.11	±	0.86 ^{bc}
	25	7.53	± 0.48 ^{bc}	0.6908	± 0.0430 ^{ns}	0.0617	± 0.0037 ^{ns}	8.93	±	0.25 ^b
	30	7.33	± 0.36 ^{abc}	0.6918	± 0.0428 ^{ns}	0.0590	± 0.0044 ^{ns}	8.53	±	0.72 ^{bc}
	35	7.64	± 0.40 ^{abc}	0.6917	± 0.0395 ^{ns}	0.0586	± 0.0054 ^{ns}	8.47	±	0.48 ^{bcd}
	40	7.20	± 0.37 ^{ab}	0.6860	± 0.0458 ^{ns}	0.0614	± 0.0058 ^{ns}	8.96	±	0.75 ^{bc}
	45	7.11	± 0.49 ^{ab}	0.6888	± 0.0395 ^{ns}	0.0632	± 0.0038 ^{ns}	9.17	±	0.73 ^{cde}
	50	7.18	± 0.35 ^{ab}	0.6916	± 0.0420 ^{ns}	0.0596	± 0.0089 ^{ns}	8.62	±	0.08 ^{cde}
	55	7.07	± 0.32 ^{ab}	0.6914	± 0.0427 ^{ns}	0.0614	± 0.0027 ^{ns}	8.88	±	0.60 ^{de}
	60	6.84	± 0.31 ^a	0.6868	± 0.0395 ^{ns}	0.0621	± 0.0064 ^{ns}	9.04	±	0.97 ^{de}

a,b,... หมายถึง ตัวอักษรต่างกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ (p<0.05) ในแนวนอน

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ (p<0.05) ในแนวนอน

ตารางภาคผนวก ง-46 ผลการวิเคราะห์ความหนืด ปริมาณไคโตซานที่เหลือ ร้อยละผลผลิตของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากไคโตซานเปลือกปูที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ชนิดไคโตซาน	Min	Viscosity (cPs)		Chitosan Substrate (g)		COS (g)		ร้อยละผลผลิต	
ปู DD 61.81 %	0	72.74	± 0.62 ⁿ	0.9758	± 0.0299 ^j	0.0565	± 0.0102 ^a	5.65	± 1.02 ^a
	5	72.58	± 0.90 ⁿ	0.9620	± 0.0851 ^j	0.0717	± 0.0106 ^a	7.17	± 1.06 ^a
	10	48.55	± 2.65 ⁿ	0.9670	± 0.0652 ^j	0.1897	± 0.0451 ^b	18.97	± 4.51 ^b
	15	42.90	± 2.84 ^m	0.9238	± 0.0784 ^{ij}	0.2523	± 0.0420 ^b	25.23	± 4.20 ^{bc}
	20	38.64	± 3.01 ^l	0.9088	± 0.0818 ^{hij}	0.2683	± 0.0426 ^{bc}	26.83	± 4.26 ^{bc}
	25	35.62	± 3.37 ^l	0.8613	± 0.0878 ^{ghij}	0.2753	± 0.0736 ^{bc}	27.53	± 7.36 ^{bc}
	30	31.28	± 2.35 ^k	0.8540	± 0.1123 ^{ghij}	0.2927	± 0.0492 ^{bcd}	29.27	± 4.92 ^c
	35	28.79	± 1.53 ^{jk}	0.8162	± 0.1073 ^{fghi}	0.2638	± 0.0971 ^{bcd}	26.38	± 9.71 ^{bc}
	40	26.51	± 0.73 ^j	0.7928	± 0.0935 ^{efghi}	0.2693	± 0.0664 ^{bcd}	26.93	± 6.64 ^{bc}
	45	23.71	± 1.11 ^{hi}	0.7785	± 0.0985 ^{defgh}	0.2828	± 0.0745 ^{cd}	28.28	± 7.45 ^{bc}
	50	20.84	± 1.15 ^{gh}	0.7738	± 0.0916 ^{defgh}	0.2823	± 0.1004 ^{cd}	28.23	± 10.04 ^{bc}
	55	19.13	± 0.93 ^{fg}	0.7220	± 0.0725 ^{cdefgh}	0.3068	± 0.0550 ^{cde}	30.68	± 5.50 ^{cd}
	60	17.95	± 1.37 ^{efg}	0.6997	± 0.0840 ^{abcde}	0.3102	± 0.0733 ^{bcd}	31.02	± 7.33 ^{cd}
	65	16.89	± 1.43 ^{def}	0.6913	± 0.0556 ^{bcd}	0.3167	± 0.0692 ^{cde}	31.67	± 6.92 ^{cd}
	70	16.02	± 1.32 ^{cde}	0.6720	± 0.0557 ^{abvde}	0.3147	± 0.0817 ^{cde}	31.47	± 8.17 ^{cd}
	75	15.24	± 1.53 ^{bcde}	0.6727	± 0.0359 ^{abcde}	0.3555	± 0.0503 ^{cde}	35.55	± 5.03 ^{dcc}
	80	14.57	± 1.78 ^{abcde}	0.6390	± 0.0784 ^{abcde}	0.3422	± 0.0385 ^{cdefg}	34.22	± 3.85 ^{cde}
	85	13.97	± 2.06 ^{abcd}	0.6420	± 0.0441 ^{abcd}	0.3957	± 0.0328 ^{de}	39.57	± 3.28 ^{deg}
	90	13.44	± 2.52 ^{abcd}	0.6235	± 0.0580 ^{abcd}	0.4220	± 0.0183 ^{cig}	42.20	± 1.83 ^{eg}
	95	13.46	± 2.20 ^{abc}	0.6078	± 0.0658 ^{abc}	0.4187	± 0.0041 ^{cig}	41.87	± 0.41 ^{cig}
	100	12.51	± 2.26 ^{abc}	0.6032	± 0.0547 ^{abc}	0.4169	± 0.0185 ^{cig}	41.69	± 1.85 ^{cig}
	105	12.13	± 2.47 ^{ab}	0.5663	± 0.0423 ^{ab}	0.4172	± 0.0147 ^{ig}	38.38	± 1.47 ^{og}
	110	12.15	± 2.55 ^{ab}	0.5580	± 0.0590 ^{ab}	0.4145	± 0.0056 ^{ig}	39.78	± 0.56 ^{eg}
	115	11.46	± 2.40 ^{ab}	0.5680	± 0.0714 ^a	0.4458	± 0.0400 ^g	39.58	± 4.00 ^g
	120	11.02	± 2.24 ^a	0.5510	± 0.0578 ^{ab}	0.4273	± 0.0276 ^{ig}	39.40	± 2.76 ^{cig}

ตารางภาคผนวก ง-46 ผลการวิเคราะห์ความหนืด ปริมาณโคโตซานที่เหลือ ร้อยละผลผลิตของสารผสมโคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากโคโตซานเปลือกปูที่ระดับการก้ำจัดหมักอะซิติกร้อยละ โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (ต่อ)

ชนิดโคโตซาน	Min	Viscosity (cPs)			Chitosan Substrate (g)			COS (g)			ร้อยละผลผลิต		
ปู DD 71.67 %	0	21.93	±	1.50 ^c	0.6622	±	0.0182 ^f	0.2670	±	0.0050 ^a	26.70	±	2.50 ^d
	5	21.66	±	1.15 ^c	0.6387	±	0.0447 ^{ef}	0.3795	±	0.0111 ^b	37.95	±	5.57 ^b
	10	14.75	±	2.05 ^b	0.6097	±	0.0114 ^{ef}	0.3808	±	0.0063 ^b	38.08	±	3.15 ^b
	15	13.60	±	1.92 ^{ab}	0.5898	±	0.0490 ^{de}	0.3952	±	0.0079 ^{bc}	39.52	±	3.93 ^{bc}
	20	13.17	±	1.95 ^{ab}	0.5373	±	0.0409 ^d	0.4117	±	0.0018 ^{bcd}	41.17	±	0.91 ^{bc}
	25	12.82	±	1.70 ^{ab}	0.5307	±	0.0516 ^{cd}	0.4491	±	0.0082 ^{cde}	44.91	±	4.09 ^d
	30	12.11	±	1.48 ^{ab}	0.4967	±	0.0616 ^{bc}	0.4560	±	0.0068 ^{def}	45.60	±	3.40 ^{cd}
	35	12.13	±	1.68 ^{ab}	0.4735	±	0.0208 ^{abc}	0.4865	±	0.0066 ^{ef}	48.65	±	3.29 ^d
	40	11.64	±	1.30 ^{ab}	0.4305	±	0.0258 ^{ab}	0.4930	±	0.0037 ^{ef}	52.63	±	1.04 ^d
	45	11.11	±	1.02 ^{ab}	0.4267	±	0.0173 ^a	0.5175	±	0.0066 ^f	56.75	±	3.29 ^c
	50	10.78	±	1.85 ^a	0.4092	±	0.0323 ^a	0.5013	±	0.0059 ^{ef}	55.13	±	2.96 ^d
ปู DD 95.35 %	0	14.37	±	0.77 ^b	0.4847	±	0.0199 ^b	0.0886	±	0.0076 ^a	44.28	±	3.81 ^a
	5	13.86	±	0.12 ^b	0.4580	±	0.0136 ^{cb}	0.0922	±	0.0030 ^a	46.08	±	1.51 ^{ab}
	10	10.60	±	0.81 ^a	0.4202	±	0.0428 ^{bc}	0.1023	±	0.0025 ^b	51.17	±	1.23 ^b
	15	10.58	±	0.31 ^a	0.3963	±	0.0307 ^a	0.0975	±	0.0055 ^a	48.75	±	2.77 ^a
	20	10.46	±	0.47 ^a	0.3685	±	0.0547 ^a	0.1020	±	0.0023 ^{bc}	51.00	±	1.13 ^{bc}
	25	10.33	±	0.55 ^a	0.3547	±	0.0456 ^a	0.1015	±	0.0125 ^{bc}	50.73	±	6.27 ^{bc}
	30	10.13	±	0.42 ^a	0.3622	±	0.0109 ^a	0.1043	±	0.0050 ^{bc}	52.15	±	2.51 ^{bc}
	35	9.91	±	0.65 ^a	0.3473	±	0.0282 ^a	0.1087	±	0.0064 ^c	54.35	±	3.20 ^c

a,b,... หมายถึง ตัวอักษรต่างกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (p<0.05) ในแนวนอน

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (p≤0.05) ในแนวนอน

ตารางภาคผนวก ง-47 ผลการวิเคราะห์ความหนืด ปริมาณไคโตซานที่เหลือ ร้อยละผลผลิตของสาร
ผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากไคโตซานแกนหมึกที่ระดับการกำจัดหมู่
อะซิติลร้อยละ 81.44 85.87 และ 89.69 โดยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า± ค่า
เบี่ยงเบนมาตรฐาน

ชนิดไคโตซาน	Min	Viscosity (cPs)			Chitosan Substrate (g)			COS (g)		ร้อยละผลผลิต			
หมึก DD 81.44 %	0	39.41	±	0.04 ^c	0.9420	±	0.0011 ^b	0.2201	±	0.0054 ^a	22.01	±	5.41 ^a
	5	39.37	±	0.04 ^c	0.9257	±	0.0007 ^{a b}	0.2731	±	0.0091 ^{a b}	27.31	±	9.11 ^a
	10	25.88	±	4.88 ^d	0.9077	±	0.0011 ^{a b}	0.2900	±	0.0060 ^{a b}	29.00	±	5.97 ^a
	15	15.62	±	5.49 ^c	0.8880	±	0.0012 ^{a b}	0.3423	±	0.0070 ^{a b}	34.23	±	6.96 ^b
	20	9.00	±	4.27 ^b	0.8803	±	0.0006 ^{a b}	0.3870	±	0.0073 ^{b c}	38.70	±	7.27 ^b
	25	3.73	±	3.28 ^a	0.8653	±	0.0027 ^a	0.3757	±	0.0050 ^{b c}	37.57	±	4.99 ^b
	30	0.42	±	0.37 ^a	0.8737	±	0.0011 ^{a b}	0.3490	±	0.0040 ^{b c}	34.90	±	4.01 ^b
	35	0.00	±	0.00 ^a	0.8783	±	0.0014 ^{a b}	0.3563	±	0.0066 ^{b c}	35.63	±	6.63 ^b
	40	0.00	±	0.00 ^a	0.8660	±	0.0025 ^a	0.3860	±	0.0061 ^{b c}	38.60	±	6.06 ^b
หมึก DD 85.87 %	0	35.68	±	1.10 ^d	0.9570	±	0.0012 ^{ns}	0.1282	±	0.0006 ^a	12.82	±	0.63 ^a
	5	29.28	±	4.63 ^c	0.9477	±	0.0006 ^{ns}	0.1329	±	0.0005 ^a	13.29	±	0.50 ^a
	10	4.84	±	2.73 ^b	0.9413	±	0.0022 ^{ns}	0.1404	±	0.0003 ^a	14.04	±	0.25 ^a
	15	0.20	±	0.35 ^a	0.9480	±	0.0030 ^{ns}	0.1478	±	0.0006 ^a	14.78	±	0.57 ^a
	20	0.00	±	0.00 ^a	0.9513	±	0.0021 ^{ns}	0.1953	±	0.0016 ^b	19.53	±	1.61 ^b
	25	0.00	±	0.00 ^a	0.9420	±	0.0012 ^{ns}	0.1999	±	0.0013 ^b	19.99	±	1.28 ^b
	30	0.00	±	0.00 ^a	0.9263	±	0.0008 ^{ns}	0.2775	±	0.0039 ^c	30.75	±	2.91 ^c
	35	0.00	±	0.00 ^a	0.9263	±	0.0008 ^{ns}	0.2775	±	0.0039 ^c	30.75	±	2.91 ^c
หมึก DD 89.69 %	0	27.19	±	0.00 ^c	0.9703	±	0.0019 ^b	0.0773	±	0.0011 ^a	7.73	±	1.10 ^a
	5	15.20	±	1.60 ^b	0.9490	±	0.0024 ^{a b}	0.0800	±	0.0011 ^a	8.00	±	1.07 ^a
	10	0.00	±	0.00 ^a	0.9653	±	0.0022 ^{a b}	0.0795	±	0.0010 ^a	7.95	±	1.04 ^a
	15	0.00	±	0.00 ^a	0.9727	±	0.0015 ^{a b}	0.0837	±	0.0011 ^{a b}	8.37	±	1.06 ^{a b}
	20	0.00	±	0.00 ^a	0.9393	±	0.0012 ^a	0.0887	±	0.0008 ^{a b}	8.87	±	0.82 ^{a b}
	25	0.00	±	0.00 ^a	0.9427	±	0.0033 ^a	0.0920	±	0.0007 ^{a b}	9.20	±	0.73 ^{a b}
	30	0.00	±	0.00 ^a	0.9433	±	0.0038 ^a	0.1071	±	0.0017 ^b	10.71	±	1.74 ^b
	35	0.00	±	0.00 ^a	0.9433	±	0.0038 ^a	0.1071	±	0.0017 ^b	10.71	±	1.74 ^b

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

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p > 0.05$)

ตารางภาคผนวก ง-48 ระดับขึ้นของพอลิเมอร์สารผสมไคโตโอลิโกแซคคารไรด์ของไคโตซานกึ่งระดับการกำจัดหมู่อะซิติล ร้อยละ 76.25

ทั้ง DD	≥10	ความเข้มข้น	ความเข้มข้น	10 - 1	ความเข้มข้น	ความเข้มข้น	ความเข้มข้น	≤1	ความเข้มข้น	ความเข้มข้น	ค่าเฉลี่ย	SD	kDa	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย	SD	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย	SD
76.25 %		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	SD	ค่าเฉลี่ย	ค่าเฉลี่ย	ค่าเฉลี่ย		(mg/mL)	(mg/mL)	(mg/mL)	(mg/mL)		(mg/mL)	(mg/mL)	(mg/mL)	(mg/mL)	(mg/mL)	(mg/mL)	(mg/mL)
25330	DP1	2771964	109.4340	2769451	109.3348	109.3844	0.0701	DP1	4620503	182.4122	175.9657	179.1890	4.5583	DP1	5355311	211.4216	5347925	211.1300	211.2758	0.2061
224203	DP2	4434855	19.7805	4465128	19.9155	19.8480	0.0954	DP2	11468211	51.1510	55.3564	53.2537	2.9737	DP2	18427642	82.1917	18649335	83.1805	82.6861	0.6991
29754	DP3	388816	13.0676	384561	12.9246	12.9961	0.1011	DP3	829787	27.8882	27.7164	27.8023	0.1214	DP3	7983265	254.8654	7563254	254.1928	254.5291	0.4755
18163	DP4	471598	25.9647	475912	26.2022	26.0835	0.1679	DP4	74912	4.1244	4.1155	4.1199	0.0062	DP4	94532	5.2046	94567	5.2065	5.2056	0.0013
14454	DP5	17564	1.21516	19534	1.3514	1.2833	0.0963	DP5	14245	0.9855	1.0199	1.0027	0.0243	DP5	56322	3.8966	55673	3.8517	3.8741	0.0317
9120.9	DP6							DP6						DP6						

ตารางภาคผนวก ง-49 ระดับขึ้นของพอลิเมอร์สารผสมไคโตโอลิโกแซคคารไรด์ของไคโตซานกึ่งระดับการกำจัดหมู่อะซิติล ร้อยละ 84.77

ทั้ง DD 84.77 %	≥ 10 kDa	ความเข้มข้น				ความเข้มข้น				ความเข้มข้น				≤ 1 kDa	ความเข้มข้น				ค่าเฉลี่ย (mg/mL)	SD	
		ครั้งที่ 1 (mg/mL)	ครั้งที่ 2 (mg/mL)	ค่าเฉลี่ย (mg/mL)	SD	10 - 1 kDa	ครั้งที่ 1 (mg/mL)	ครั้งที่ 2 (mg/mL)	ค่าเฉลี่ย (mg/mL)	SD	ครั้งที่ 1 (mg/mL)	ครั้งที่ 2 (mg/mL)	ค่าเฉลี่ย (mg/mL)		SD	ครั้งที่ 1 (mg/mL)	ครั้งที่ 2 (mg/mL)	ค่าเฉลี่ย (mg/mL)			SD
25330	DP1	2971964	117.3298	2969451	117.2306	117.2802	0.0702	DP1	3275602	129.3171	3294561	130.0656	129.6913	0.3293	DP1	6163838	243.3414	6159478	243.1693	243.2553	0.1217
224203	DP2	4434855	19.7805	4465128	19.9156	19.8480	0.0955	DP2	15588169	69.5270	15697246	70.0135	69.7703	0.3440	DP2	36734536	163.8450	36798382	164.1297	163.9874	0.2014
29754	DP3	388816	13.0677	384561	12.9247	12.9962	0.1011	DP3	903396	30.3622	906524	30.4673	30.4147	0.0743	DP3	3664958	123.1753	3654972	122.8397	123.0075	0.2373
18163	DP4	471598	25.9648	475912	26.2023	26.0835	0.1679	DP4	469135	25.8292	459431	25.2949	25.5620	0.3778	DP4	496513	27.3365	465821	25.6467	26.4916	1.1949
14454	DP5	17564	1.2152	19534	1.3515	1.2833	0.0964	DP5	19465	1.3467	19562	1.3534	1.3500	0.0047	DP5	18756	1.2976	18655	1.2906	1.2941	0.0049
9120.9	DP6							DP6							DP6						

ตารางภาคผนวก ง-50 ระดับขึ้นของพอลิเมอร์สารผสมไคโตโอลิโกแซคคารไรด์ของไคโตซานกึ่งระดับการกำจัดหมู่อะซิติล ร้อยละ 95.68

โปรตีน DD	ความเข้มข้น				ความเข้มข้น				ความเข้มข้น				ความเข้มข้น						
	≥ 10 kDa	ครั้งที่ 1	(mg/mL)	ครั้งที่ 2	10 kDa - 1 kDa	ครั้งที่ 1	(mg/mL)	ครั้งที่ 2	ความเข้มข้น (mg/mL)	ค่าเฉลี่ย	SD	kDa	ครั้งที่ 1	(mg/mL)	ครั้งที่ 2	ความเข้มข้น (mg/mL)	ค่าเฉลี่ย	SD	
25330	DP1	2844368	112.2924	2874845	113.4956	112.8940	0.8507	DP1	976544	38.5528	38.5706	38.5617	0.0125	DP1	1424333	56.2310	1413643	55.8090	0.2984
224203	DP2	87544	0.3904	7316952	32.6353	16.5129	22.8006	DP2	12050106	53.7464	54.2231	53.9847	0.3370	DP2	51516904	229.8671	51624975	230.2599	0.2777
29754	DP3	939493	31.5753	993546	33.3920	32.4836	1.2845	DP3	2325855	78.1694	77.2176	77.6935	0.6730	DP3	598760	188.1683	5513649	185.3078	2.0226
18163	DP4	469156	25.8303	463879	25.5397	25.6850	0.2054	DP4	483691	26.6305	27.2706	26.9505	0.4525	DP4	492987	27.1423	496975	27.3619	0.1552
14454	DP5	20168	1.3953	20	0.0013	0.6983	0.9856	DP5	16975	1.17441	1.2408	1.2076	0.0469	DP5	17652	1.2212	18346	1.2692	0.0339
9120.9	DP6							DP6						DP6					

ตารางภาคผนวก ง-54 ระดับขึ้นของพอลิเมอร์สารผสมโคโพลิเอสเตอร์คาร์โบไดออกไซด์ของโคโตนามิก ระดับการกำจัดหมู่เอซิดิล ร้อยละ 81.44

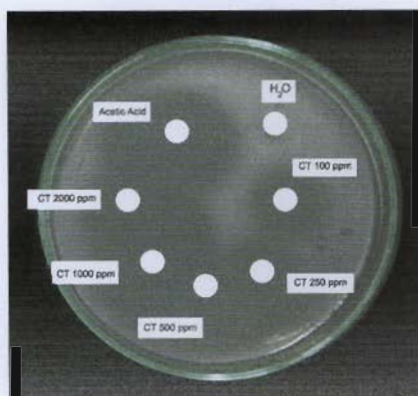
หมัก DD 81.44 %	≥ 10	ความเข้มข้น		ความเข้มข้น		10 - 1		ความเข้มข้น		ความเข้มข้น		≤ 1		ความเข้มข้น		ความเข้มข้น	
	kDa	ครั้งที่ 1	(mg/mL)	ครั้งที่ 2	(mg/mL)	SD	kDa	ครั้งที่ 1	(mg/mL)	ครั้งที่ 2	(mg/mL)	SD	kDa	ครั้งที่ 1	(mg/mL)	ครั้งที่ 2	(mg/mL)
25330	DP1	101345	4.0010	101975	4.0259	0.0176	DP1	218432	8.6235	218934	8.6433	0.0140	DP1	526125	20.7708	536462	21.1789
224203	DP2	1942285	8.6631	1924679	8.5845	0.0555	DP2	2153464	9.6050	2156326	9.6177	0.0090	DP2	2913375	12.9944	2918586	13.0176
29754	DP3	66427	2.2325	66247	2.2265	0.0043	DP3	194236	6.5281	194578	6.5396	0.0081	DP3	163766	5.5040	1639724	55.1094
18163	DP4	51574	2.8395	51321	2.8256	0.0098	DP4	61455	3.3835	61394	3.3802	0.0024	DP4	66848	3.6804	66846	3.6803
14454	DP5	21853	1.5119	21648	1.4977	0.0100	DP5	27476	1.9009	27474	1.9008	0.0001	DP5	27954	1.9340	28003	1.9374
9120.9	DP6	28254	3.0977	28345	3.1077	0.0071	DP6	32799	3.5960	32748	3.5904	0.0040	DP6	33961	3.7234	33645	3.6888

ตารางภาคผนวก ง-55 ระดับขึ้นของพอลิเมอร์สารผสมโคโพลิเอสเตอร์คาร์โบไดออกไซด์ของโคโตนามิก ระดับการกำจัดหมู่เอซิดิล ร้อยละ 85.87

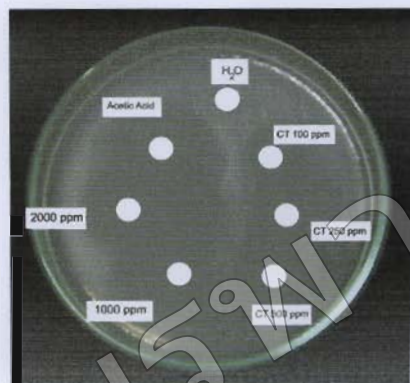
หมัก DD 85.87 %	≥ 10	ความเข้มข้น			ความเข้มข้น			10 - 1	ความเข้มข้น			ความเข้มข้น			ความเข้มข้น						
	kDa	ครั้งที่ 1	(mg/mL)	ครั้งที่ 2	(mg/mL)	ค่าเฉลี่ย	SD	kDa	ครั้งที่ 1	(mg/mL)	ครั้งที่ 2	(mg/mL)	ค่าเฉลี่ย	SD	kDa	ครั้งที่ 1	(mg/mL)	ครั้งที่ 2	(mg/mL)	ค่าเฉลี่ย	SD
25330	DP1	125257	4.9450	127854	5.0475	4.9963	0.0725	DP1	131619	5.1962	139456	5.5056	5.3309	0.2188	DP1	171689	6.7781	175948	6.9462	6.8622	0.1189
224203	DP2	1137508	5.0736	1137546	5.0737	5.0736	0.0001	DP2	276532	1.2334	276568	1.2336	1.2335	0.0001	DP2	541860	2.4168	542783	2.4209	2.4189	0.0029
29754	DP3	163895	5.5083	163462	5.4938	5.5011	0.0103	DP3	210433	7.0724	215487	7.2423	7.1574	0.1201	DP3	342301	11.5044	342546	11.5126	11.5085	0.0038
18163	DP4	30456	1.6768	30954	1.7042	1.6905	0.0194	DP4	35845	1.9735	35647	1.9626	1.9681	0.0077	DP4	37126	2.0440	37451	2.0619	2.0530	0.0127
14454	DP5	19845	1.3730	19267	1.3330	1.3530	0.0283	DP5	24135	1.6698	24138	1.6700	1.6699	0.0001	DP5	29431	2.0362	29763	2.0592	2.0477	0.0162
9120.9	DP6	49527	5.4301	49373	5.4132	5.4216	0.0119	DP6	52268	5.7306	52247	5.7283	5.7294	0.0016	DP6	57422	6.2957	57913	6.1495	6.3226	0.0381

ตารางภาคผนวก ง-56 ระดับขึ้นของพอลิเมอร์สารผสมโคโพลิเอสเตอร์คาร์โบไดออกไซด์ของโคโตนามิก ระดับการกำจัดหมู่เอซิดิล ร้อยละ 89.69

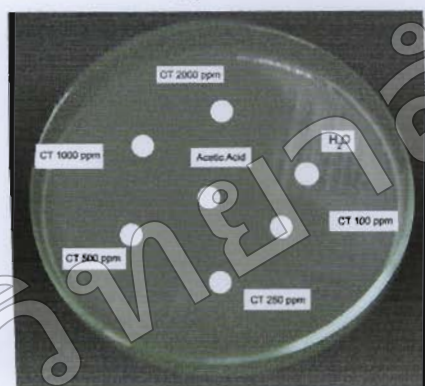
หมัก DD	≥ 10	ความเข้มข้น	ความเข้มข้น	ความเข้มข้น	10 - 1	ความเข้มข้น	ความเข้มข้น	≤ 1	ความเข้มข้น	ความเข้มข้น	ความเข้มข้น	ความเข้มข้น						
89.69 %	kDa	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	(mg/mL)	SD	kDa	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	(mg/mL)	ค่าเฉลี่ย	SD	kDa	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	(mg/mL)	ค่าเฉลี่ย	SD	
25330	DP1	139969	5.5258	136945	5.4064	DP1	138475	5.4668	139546	5.5091	0.0295	DP1	224027	8.8443	226482	8.9413	8.8928	0.0685
224203	DP2	1277566	5.6983	1275419	5.6887	DP2	1337177	5.9641	1339542	5.9747	0.0075	DP2	1445976	6.4494	1449615	6.4656	6.4575	0.0115
29754	DP3	207542	6.9753	206482	6.9396	DP3	254276	8.5459	257461	8.6530	0.0755	DP3	314869	10.5824	319458	10.7366	10.6595	0.1091
18163	DP4	47813	2.6324	47825	2.6331	DP4	51394	2.8296	51794	2.8516	0.0156	DP4	59462	3.2738	59647	3.2840	3.2789	0.0072
14454	DP5	19131	1.3236	19145	1.3245	DP5	20946	1.4491	20649	1.4286	0.0145	DP5	28865	1.9970	28649	1.9821	1.9896	0.0106
9120.9	DP6	53169	5.8294	53154	5.8277	DP6	38471	4.2179	38196	4.1877	0.0212	DP6	40506	4.4410	40681	4.4602	4.4506	0.0136



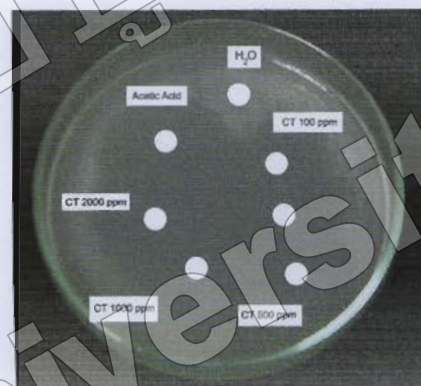
(a)



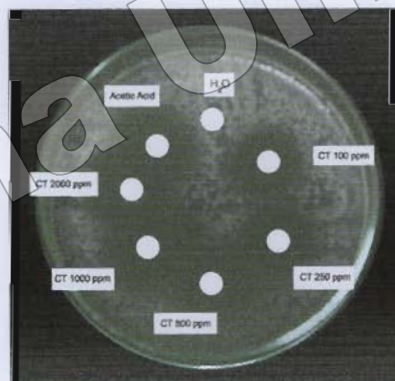
(b)



(c)



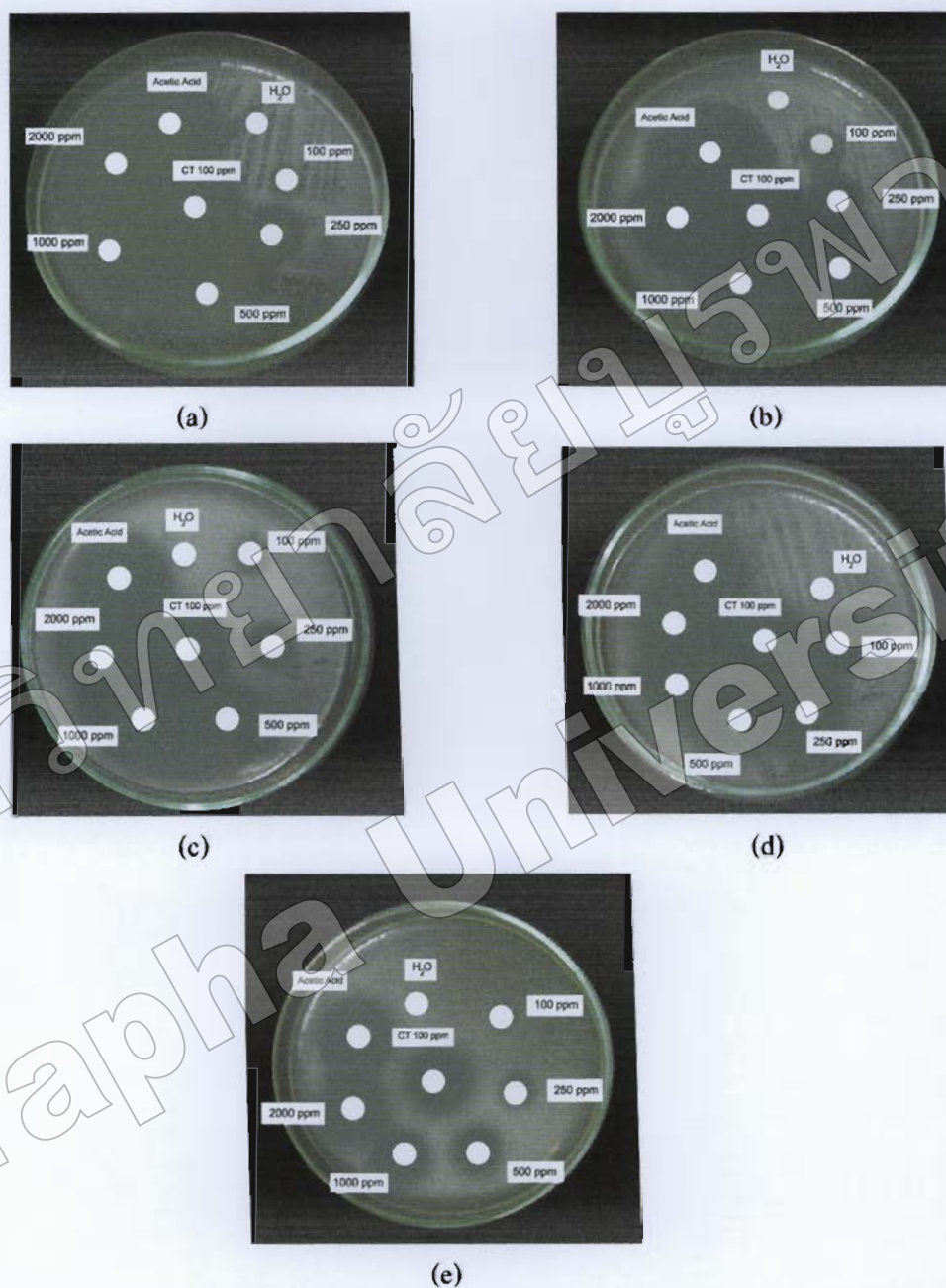
(d)



(e)

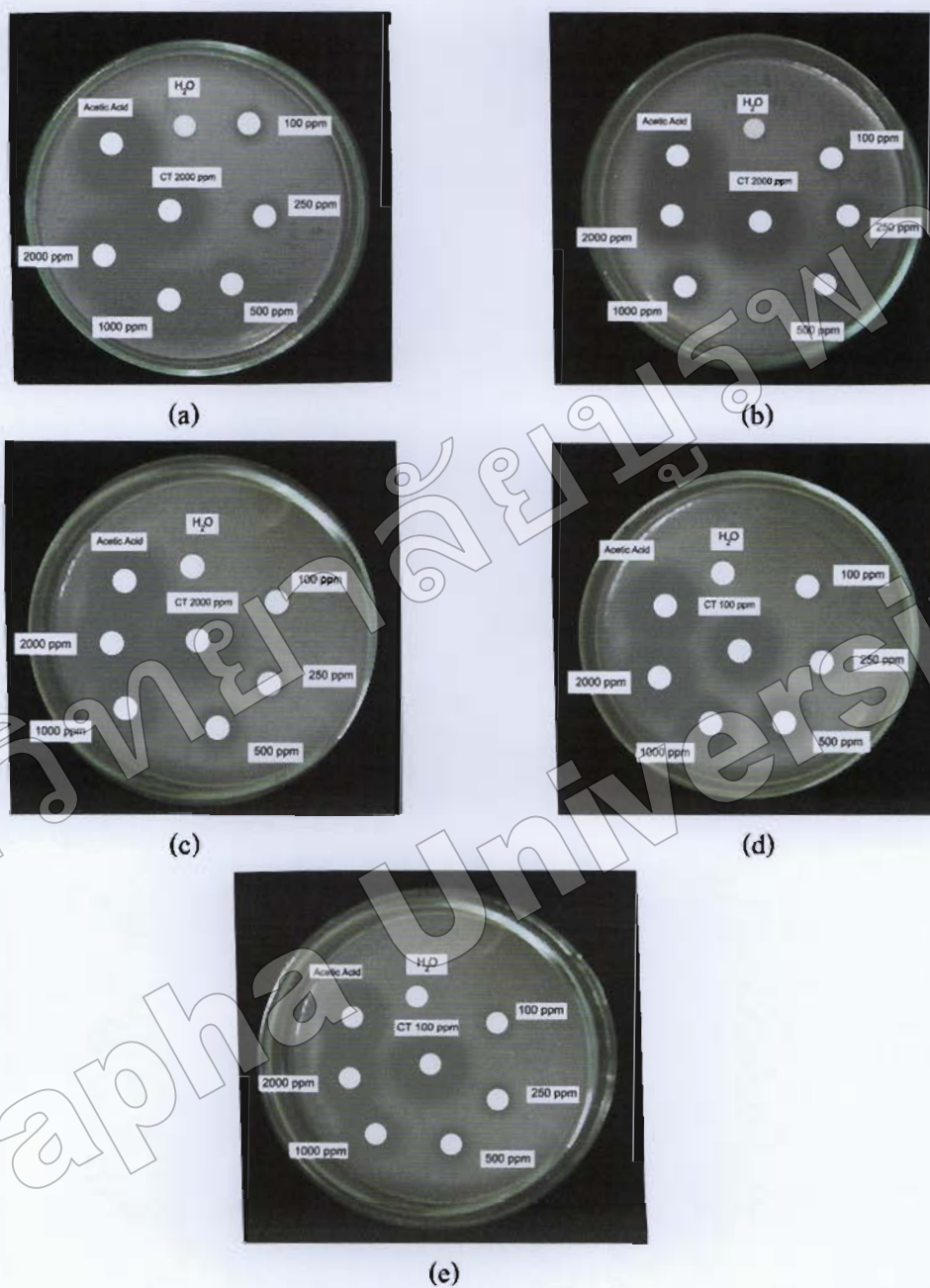
ภาพภาคผนวกที่ ๓-1 วงใสที่เกิดจากการยับยั้งแบคทีเรียของโคโตซานจากเปลือกกุ้ง ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

- (a) แสดงสมบัตินิการยับยั้ง *V. paraheamolyticus*
- (b) แสดงสมบัตินิการยับยั้ง *V. cholerae*
- (c) แสดงสมบัตินิการยับยั้ง *E. coli*
- (d) แสดงสมบัตินิการยับยั้ง *S. aureus*
- (e) แสดงสมบัตินิการยับยั้ง *L. monocytogenes*



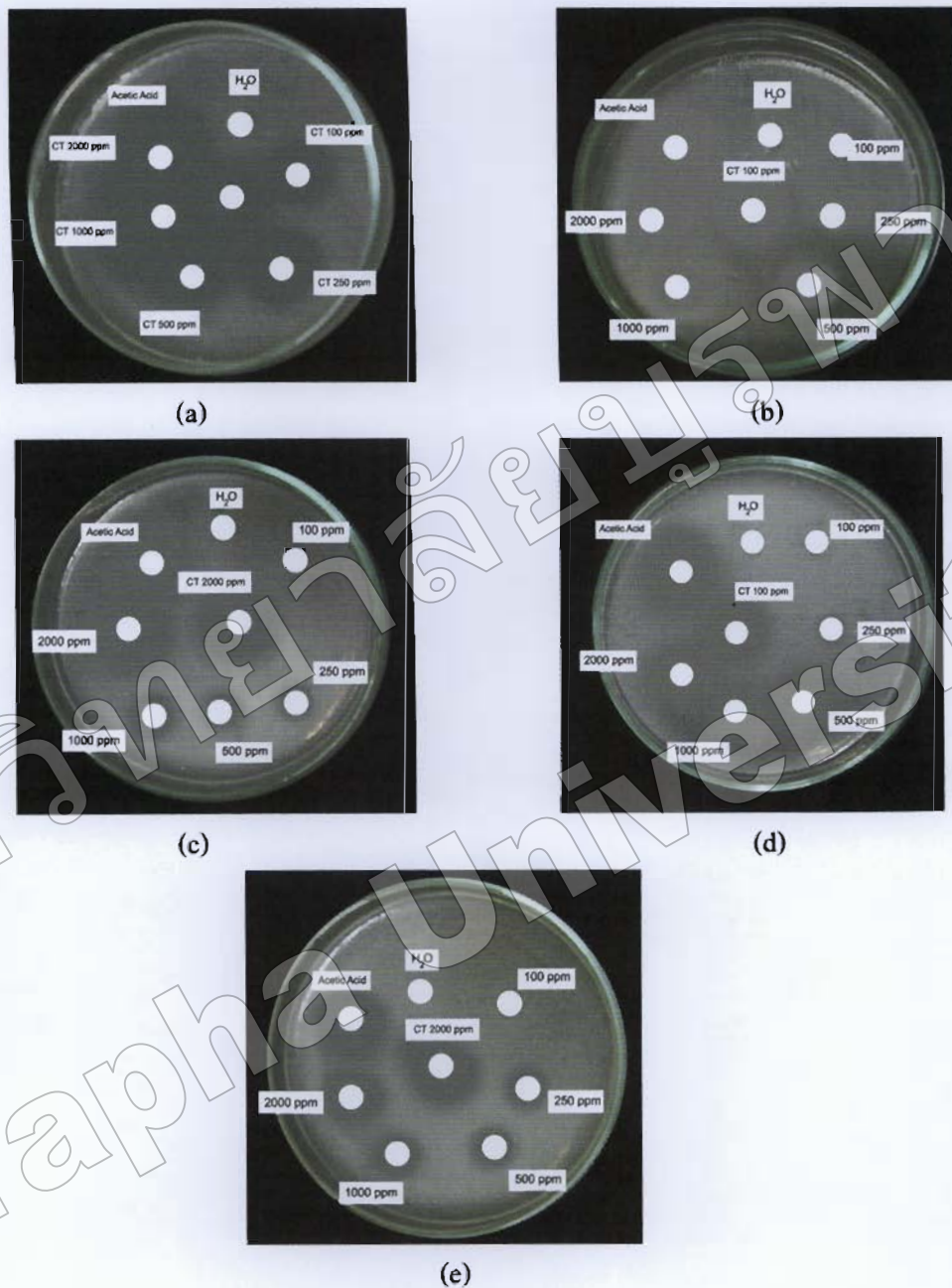
ภาพภาคผนวกที่ 2-2 วงใสที่เกิดจากการยับยั้งแบคทีเรียของสารผสมโคโคโพลิโกแซคคาไรด์เปลือกกุ้ง น้ำหนักโมเลกุล ≥ 10 kDa ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

- (a) แสดงสมบัตินิการยับยั้ง *V. paraheamolyticus*
- (b) แสดงสมบัตินิการยับยั้ง *V. cholerae*
- (c) แสดงสมบัตินิการยับยั้ง *E. coli*
- (d) แสดงสมบัตินิการยับยั้ง *S. aureus*
- (e) แสดงสมบัตินิการยับยั้ง *L. monocytogenes*



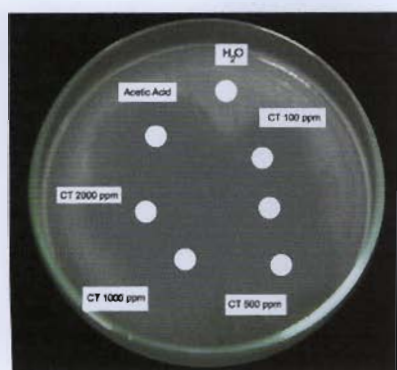
ภาพภาคผนวกที่ 3-3 วงใสที่เกิดจากการยับยั้งแบคทีเรียของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์เปลือกกุ้ง น้ำหนักโมเลกุล 10 kDa - 1 kDa ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

- (a) แสดงสมบัตินิการยับยั้ง *V. parahaemolyticus*
- (b) แสดงสมบัตินิการยับยั้ง *V. cholerae*
- (c) แสดงสมบัตินิการยับยั้ง *E. coli*
- (d) แสดงสมบัตินิการยับยั้ง *S. aureus*
- (e) แสดงสมบัตินิการยับยั้ง *L. monocytogenes*

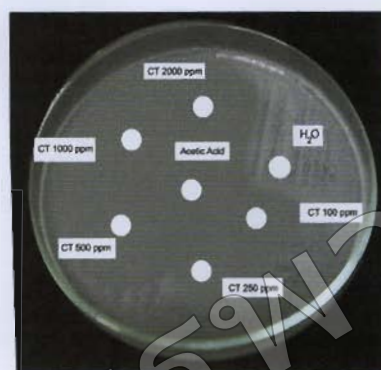


ภาพภาคผนวกที่ 4-4 วงใสที่เกิดจากการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์เปลือกกุ้ง น้ำหนักโมเลกุล ≤ 1 kDa ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

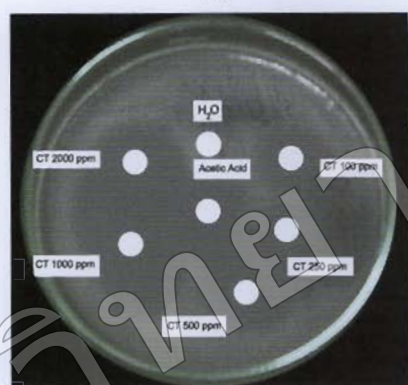
- (a) แสดงสมบัตินิการยับยั้ง *V. parahaemolyticus*
- (b) แสดงสมบัตินิการยับยั้ง *V. cholerae*
- (c) แสดงสมบัตินิการยับยั้ง *E. coli*
- (d) แสดงสมบัตินิการยับยั้ง *S. aureus*
- (e) แสดงสมบัตินิการยับยั้ง *L. Monocytogenes*



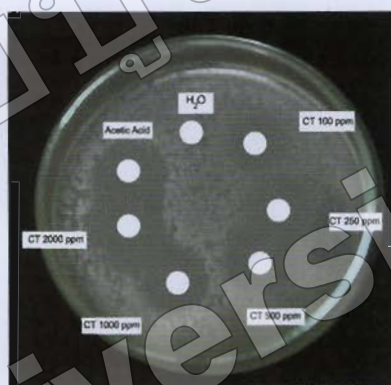
(a)



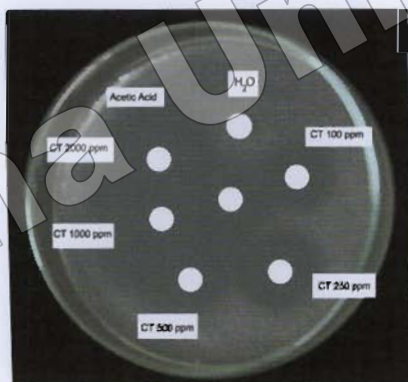
(b)



(c)



(d)



(e)

ภาพภาคผนวกที่ 5-5 วงใสที่เกิดจากการยับยั้งแบคทีเรียของโคโตซานเปลือกปู ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

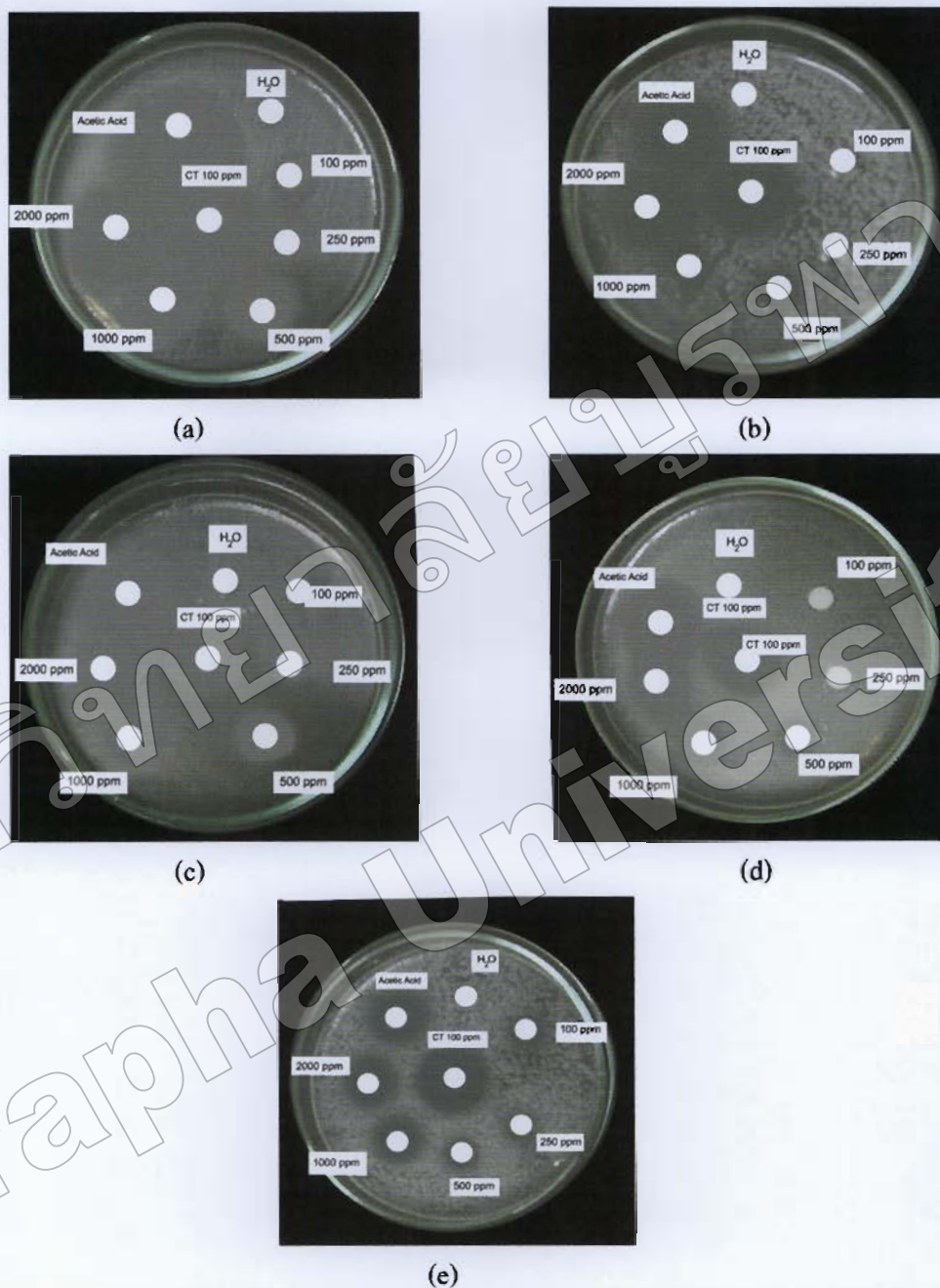
(a) แสดงสมบัติการยับยั้ง *V. parahaemolyticus*

(b) แสดงสมบัติการยับยั้ง *V. cholerae*

(c) แสดงสมบัติการยับยั้ง *E. coli*

(d) แสดงสมบัติการยับยั้ง *S. aureus*

(e) แสดงสมบัติการยับยั้ง *L. monocytogenes*



ภาพภาคผนวกที่ ๖-6 วงใสที่เกิดจากการยับยั้งแบคทีเรียของสารผสมไดโอดิโอลิโกแซคคาไรด์เปลือก

ปู น้ำหนักโมเลกุล ≥ 10 kDa ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

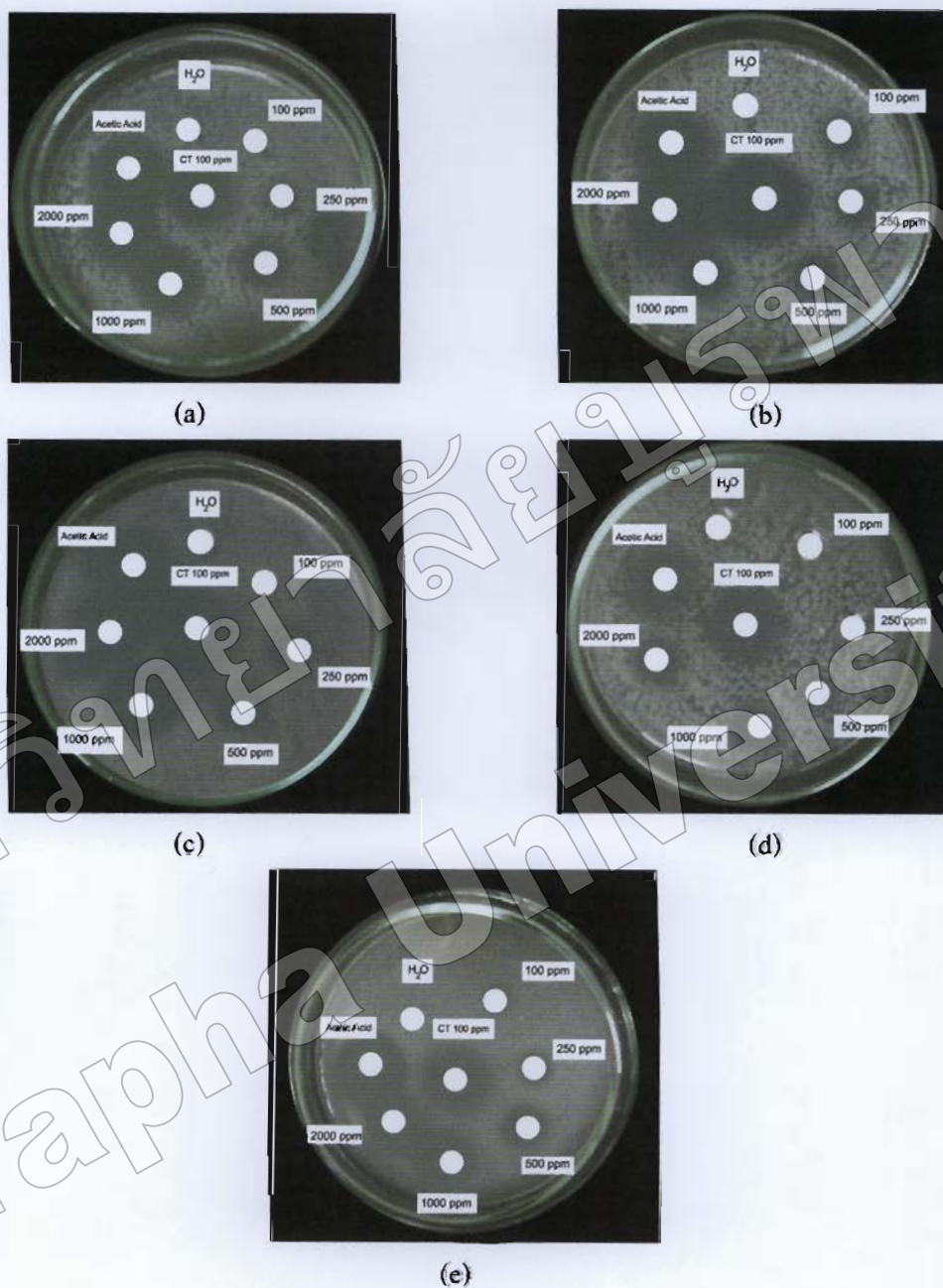
(a) แสดงสมบัตินิการยับยั้ง *V. paraheamolyticus*

(b) แสดงสมบัตินิการยับยั้ง *V. cholerae*

(c) แสดงสมบัตินิการยับยั้ง *E. coli*

(d) แสดงสมบัตินิการยับยั้ง *S. aureus*

(e) แสดงสมบัตินิการยับยั้ง *L. monocytogenes*



ภาพภาคผนวกที่ 7-7 วงใสที่เกิดจากการยับยั้งแบคทีเรียของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์เปลือกปู น้ำหนักโมเลกุล 10 kDa - 1 kDa ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

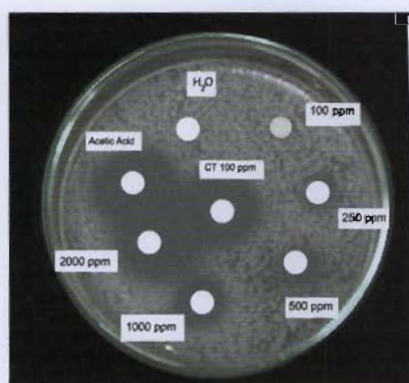
(a) แสดงสมบัติการยับยั้ง *V. parahaemolyticus*

(b) แสดงสมบัติการยับยั้ง *V. cholerae*

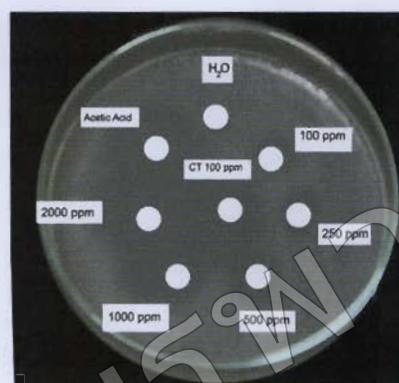
(c) แสดงสมบัติการยับยั้ง *E. coli*

(d) แสดงสมบัติการยับยั้ง *S. aureus*

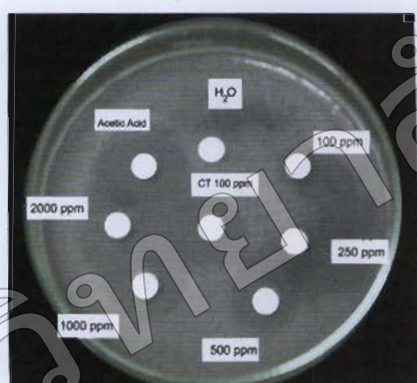
(e) แสดงสมบัติการยับยั้ง *L. monocytogenes*



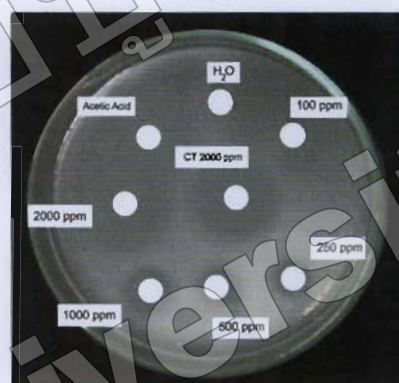
(a)



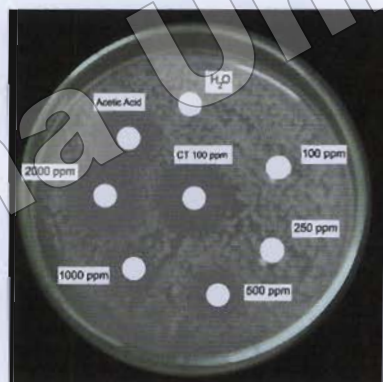
(b)



(c)



(d)



(e)

ภาพภาคผนวกที่ ๓-8 วงใสที่เกิดจากการยับยั้งแบคทีเรียของสารผสมโคโคโพลิโกลิแซคาไรด์
เปลี่ยนรูป น้ำหนักโมเลกุล ≤ 1 kDa ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

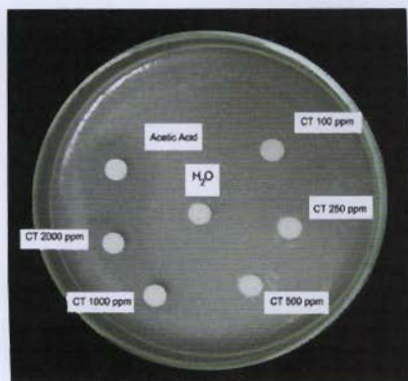
(a) แสดงสมบัติการยับยั้ง *V. paraheamolyticus*

(b) แสดงสมบัติการยับยั้ง *V. cholerae*

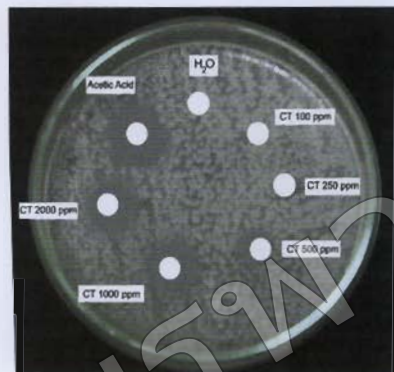
(c) แสดงสมบัติการยับยั้ง *E. coli*

(d) แสดงสมบัติการยับยั้ง *S. aureus*

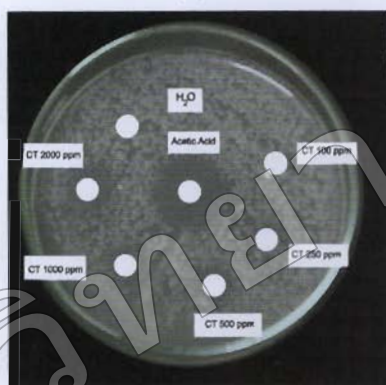
(e) แสดงสมบัติการยับยั้ง *L. monocytogenes*



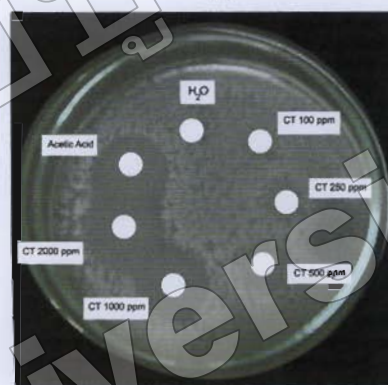
(a)



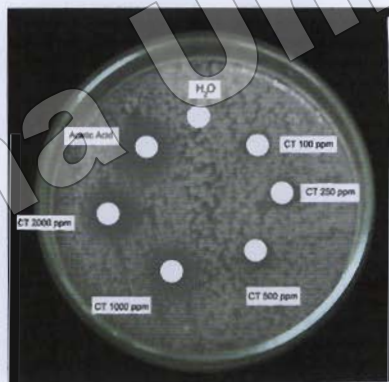
(b)



(c)



(d)



(e)

ภาพภาคผนวกที่ 9 วงใสที่เกิดจากการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบของไคลโตซานแกนหมึก น้ำหนัก

โมเลกุล ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

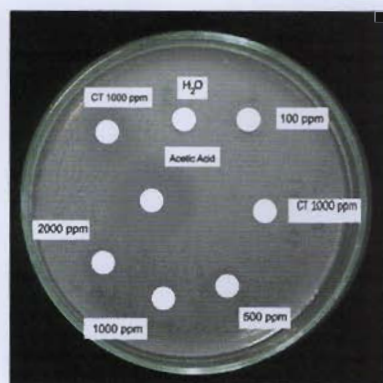
(a) แสดงสมบัตินิการยับยั้ง *V. parahaemolyticus*

(b) แสดงสมบัตินิการยับยั้ง *V. cholerae*

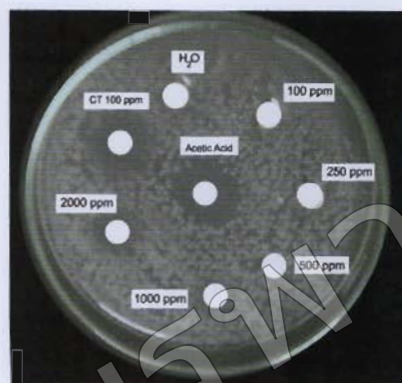
(c) แสดงสมบัตินิการยับยั้ง *E. coli*

(d) แสดงสมบัตินิการยับยั้ง *S. aureus*

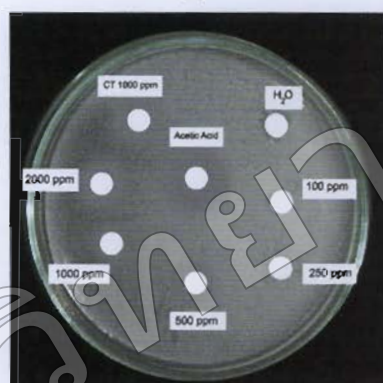
(e) แสดงสมบัตินิการยับยั้ง *L. monocytogenes*



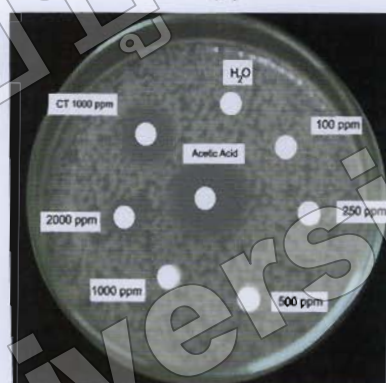
(a)



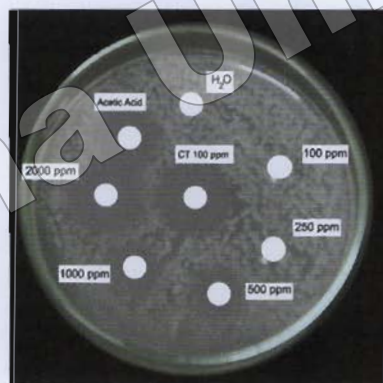
(b)



(c)



(d)



(e)

ภาพภาคผนวกที่ 4-10 วงใสที่เกิดจากการยับยั้งแบคทีเรียของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ เปลือกแกนหมึก น้ำหนักโมเลกุล ≥ 1 kDa ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

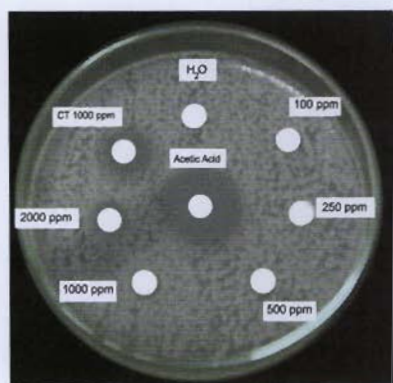
(a) แสดงสมบัตินิการยับยั้ง *V. parahaemolyticus*

(b) แสดงสมบัตินิการยับยั้ง *V. cholerae*

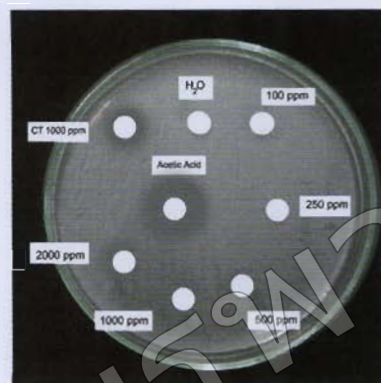
(c) แสดงสมบัตินิการยับยั้ง *E. coli*

(d) แสดงสมบัตินิการยับยั้ง *S. aureus*

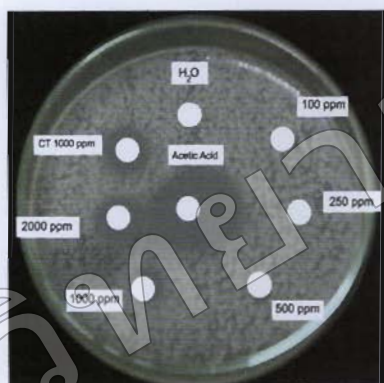
(e) แสดงสมบัตินิการยับยั้ง *L. monocytogenes*



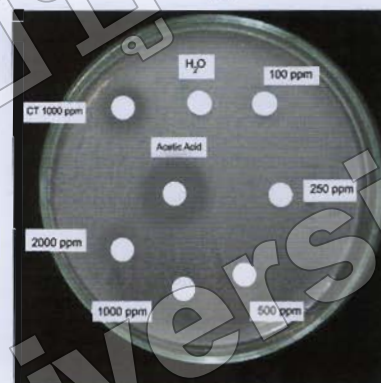
(a)



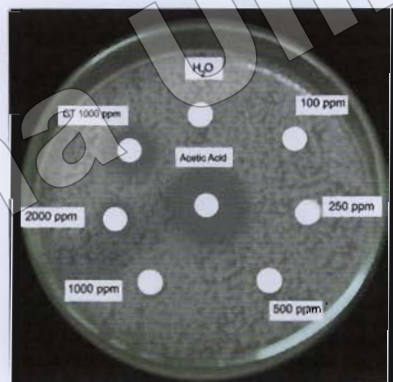
(b)



(c)



(d)



(e)

ภาพภาคผนวกที่ ง-11 วงใสที่เกิดจากการยับยั้งแบคทีเรียของสารผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์
เปลือกแกนหมึก น้ำหนักโมเลกุล 10 kDa – 1kDa ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

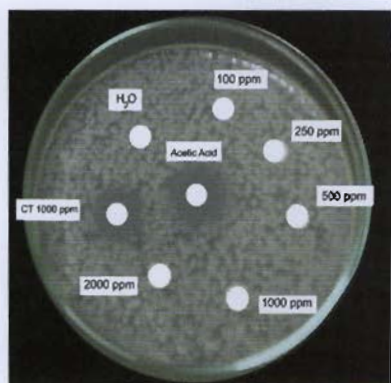
(a) แสดงสมบัติการยับยั้ง *V. parahaemolyticus*

(b) แสดงสมบัติการยับยั้ง *V. cholerae*

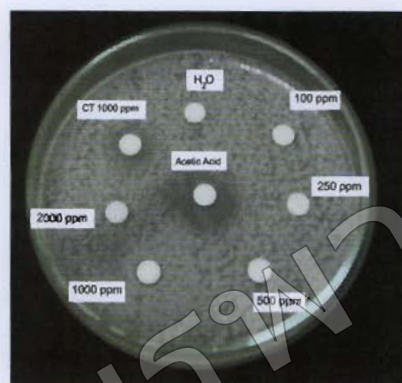
(c) แสดงสมบัติการยับยั้ง *E. coli*

(d) แสดงสมบัติการยับยั้ง *S. aureus*

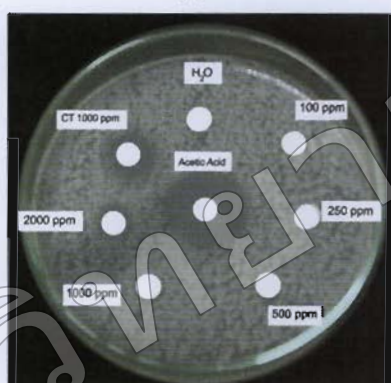
(e) แสดงสมบัติการยับยั้ง *L. monocytogenes*



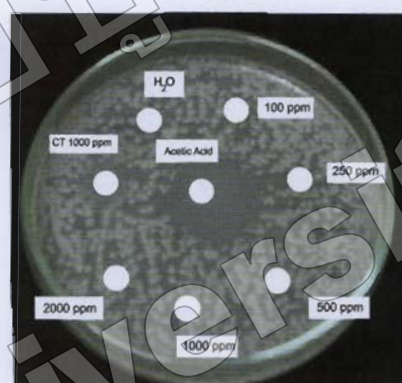
(a)



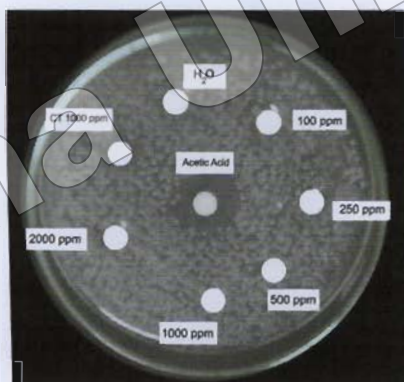
(b)



(c)



(d)



(e)

ภาพภาคผนวกที่ ง-12 วงใสที่เกิดจากการยับยั้งแบคทีเรียของสารผสมโคโคอิลิกแอซิดคาร์ดิ
 เปลือกแกนหมึก น้ำหนักโมเลกุล $\leq 1\text{kDa}$ ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

(a) แสดงสมบัตินิการยับยั้ง *V. paraheamolyticus*

(b) แสดงสมบัตินิการยับยั้ง *V. cholerae*

(c) แสดงสมบัตินิการยับยั้ง *E. coli*

(d) แสดงสมบัตินิการยับยั้ง *S. aureus*

(e) แสดงสมบัตินิการยับยั้ง *L. monocytogenes*