บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาของปัญหา

ปัจจุบันอุตสาหกรรมการส่งออกและแปรรูปสัตว์น้ำของประเทศไทย ได้มีการขยายตัวเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะการผลิตและแปรรูปกุ้งกุลาดำ ซึ่งประเทศไทยเป็นประเทศที่ส่งออกกุ้งแช่แข็งเป็นสินค้าส่งออกในอันดับต้น ๆ ของโลก ซึ่งปัจจุบันพบว่าประเทศไทยสามารถผลิตกุ้งได้มากติดอันดับ 1 ใน 4 ของโลกรองจาก จีน สหรัฐอเมริกาและอินเดีย ซึ่งผลผลิตกุ้งในประเทศไทยได้มาจาก 2 แหล่ง คือโดยการจับประมาณร้อยละ 50 และโดยการเพาะเลี้ยงประมาณร้อยละ 50 และพบว่าผลผลิตรวมกุ้งเพิ่มสูงขึ้นเรื่อย ๆ มากกว่าเท่าตัวใน 4 ปีที่ผ่านมา[1] ทำให้การส่งออกกุ้งแช่แข็งมีแนวโน้มสูงขึ้น ส่งผลให้มีกากของเหลือจากหัวกุ้ง เปลือกกุ้ง จำนวนมากตามไปด้วย เมื่อรวบรวมปริมาณของเหลือทั่วทั้งโลกจะให้ไคตินสูงถึง 150 ล้านกิโลกรัมต่อปี [2] จึงนำกากของเหลือทิ้งเหล่านี้มาใช้ประโยชน์เป็นวัตถุดิบในการผลิตสารไคติน-ไคโตซานซึ่งเป็นโพลีเมอร์ชีวภาพที่มีมากเป็นอันดับสองรองจากเซลลูโลส ไคตินพบมากในกระดองสัตว์ที่ไม่มีกระดูกสันหลัง พวกเปลือกกุ้ง เปลือกปู แกนของปลาหมึก นอกจากนี้ยังพบในพวกแมลง เชื้อรา และยีสต์

ไคติน-ไคโตซานมีโครงสร้างเป็นสายโซ่โคโพลีเมอร์ (Copolymer) ที่ร่วมกันอยู่ในธรรมชาติ ที่มีหน่วยที่เพิ่มขึ้นมาคืออะตอมของไนโตรเจนของหมู่อะเซตาไมด์ (acetamide group) และหมู่อะมิโน (amino group) ที่ตำแหน่งคาร์บอนตัวที่ 2 (C-2) ตามลำดับ ประกอบรวมเข้ากับโครงสร้างพื้นฐานของโพลีแซกคาไรด์ ซึ่งสายโซ่แกนหลักของไคติน-ไคโตซานเป็นหน่วยของแซกคาไรด์ต่อกัน ทำให้ไคติน-ไคโตซานมีคุณสมบัติเป็นสารที่ไม่มีพิษและเข้ากันได้กับสิ่งมีชีวิต[3] จึงเหมาะกับการนำไปให้ประโยชน์ในด้านต่างๆมากมาย ไคโตซาน หรือ poly[β- (1,4)-2-amino-deoxy-2-D-glucosamine] เป็นอนุพันธ์ที่สกัดได้จากไคติน หรือ poly[β- (1,4)-2-acetamido-2-deoxy-D-glucosamine] โดยผ่านกระบวนการขจัดหมู่อะซิติล (N-acetyl Deacetylation) ออกจากวงแหวนน้ำตาลของไคติน ไคโตซานเป็นอะมิโนโพลิแซกคาไรด์เชิงเส้น (Linear aminopolysaccharide) ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของไคติน ไคโตซานและอนุพันธ์ต่าง ๆ ได้มีการศึกษากันอย่างกว้างขวางและมีการนำไปใช้ประโยชน์หลายด้าน ได้แก่ ทางด้านการแพทย์และเภสัชวิทยา อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง อุตสาหกรรมกระดาษ ด้านเกษตรกรรม อุตสาหกรรมอาหาร และทางสิ่งแวดล้อม เป็นต้น

การควบคุม และการปรับปรุงคุณสมบัติของโพลีเมอร์เหล่านี้ จึงมีความจำเป็นสำหรับนำไปใช้ประโยชน์ทางด้านต่าง ๆ ที่กล่าวมาข้างต้นได้อย่างเหมาะสมที่สุด การบวนการทางรังสีเป็นวิธีการหนึ่งนอกเหนือไปจากวิธีการทางเคมีและทางชีววิทยา[4] การฉายรังสีได้นำมาใช้สำหรับการปรับปรุงคุณสมบัติในเรื่องของน้ำหนักโมเลกุล (Molecular weight) และคุณสมบัติทางกายภาพต่าง ๆ ของโพลีเมอร์เหล่านี้ ไคโตซานสามารถปรับเปลี่ยนคุณสมบัติให้เหมาะสมกับการนำไปใช้ประโยชน์โดยการเหนี่ยวนำให้เกิดการเสื่อมสลาย (Degradation)โดยรังสีจากแหล่งกำเนิดโคบอลท์-60 (Co-60) หรือแหล่งกำเนิดรังสีแบบอื่น ๆ เพื่อกำหนดให้มีน้ำหนักโมเลกุลตามต้องการ ซึ่งน้ำหนักโมเลกุลนับว่าเป็นปัจจัยที่สำคัญเพราะมีความสัมพันธ์โดยตรงกับคุณสมบัติหลายอย่างของโพลีเมอร์[5] การเหนี่ยวนำให้เกิดการเสื่อมสลายหรือการตัดของสายโซ่หลัก (main chain scission) ของโพลิแซกคาไรด์หรือไคโตซาน โดยรังสีทำให้ได้ไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลลดลง ซึ่งการตัดดังกล่าวเป็นการตัดแบบสุ่ม (random) ไคโตซานที่ได้จึงมีจำนวนหน่วยของแต่ละสายโซ่ (Degree of Polymerization,DP) ไม่เท่ากันรวมกันอยู่ จากการทดลองของนักวิจัยที่ผ่านมาพบว่าไคโตซานที่มีค่า DP อยู่ในช่วง 7-14 จะมีคุณสมบัติเป็น Phytoalexin inducer มีประโยชน์สำหรับการป้องการการติดเชื้อจากเชื้อราหลายชนิดในพืชต่าง ๆ [6] ไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วงประมาณ 8 kDa และประมาณ 40 kDa มีประโยชน์ทางด้านการเกษตรอย่างมากในเรื่องของการเร่งอัตราการงอกและการเจริญเติบโตของพืช และใช้ในการยับยั้งเชื้อโรคบางชนิด[7][8] ไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วงระหว่าง 30-41 kDa พบว่ามีความเหมาะสมที่สุดสำหรับเป็น food additive หรือเป็น functional agent[9]

ด้วยเหตุที่กล่าวมาข้างต้น จึงจำเป็นต้องทำการศึกษาเพื่อหาวิธีที่จะแยกไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล หรือมีค่า DP ตามต้องการออกมาโดยการแยกลำดับส่วนโมเลกุล (Molecular Weight Fractionation) โดยวิธีเลือกตกตะกอน (Selective Precipitation Method) โดยเลือกใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับการตกตะกอนแยกไคโตซานที่ต้องการออกมา ซึ่งจะทำให้ได้ไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลที่เหมาะสำหรับการนำไปใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ ต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

เพื่อแยกโมเลกุลลำดับส่วนไคโตซานจากการฉายรังสีแกมมาโดยใช้วิธีเลือกการตกตะกอนด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม

1.3 ขอบเขตของวิทยานิพนธ์

1.3.1 ทำการเหนี่ยวนำให้เกิดการเสื่อมสลาย (Degradation) ของไคโตซานโดยรังสีแกมมาที่ปริมาณต่าง ๆ ที่สภาวะของแข็ง และละลายในกรดอะซิติกความเข้มข้นต่าง ๆ ในช่วง 0.5-5% ในสภาวะสารละลาย เพื่อให้ได้ไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลเล็กลงและอยู่ในช่วงที่ต้องการ คือประมาณ 8 และ 40 kDa

1.3.2 ทำการแยกลำดับส่วนโมเลกุล (Molecular Weight Fractionation) โดยการแยกเอาไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล (MW) ที่ต้องการออกมา โดยใช้วิธีเลือกการตกตะกอน (Selective Precipitation) โดยหาสารละลายที่เหมาะสมสำหรับทำการตกตะกอนและ/หรือวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟี ที่มี Stationary Phase ชนิดต่าง ๆ

1.4 ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย

1.4.1 ค้นคว้าหาเอกสารและงานวิจัยต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้อง

1.4.2 เตรียมไคโตซานโมเลกุลโดยการเหนี่ยวนำให้เกิดการเสื่อมสลาย (Degradation) โดยรังสีแกมมาที่ปริมาณต่าง ๆ ที่สภาวะของแข็ง และลายในกรดอะซิติกความเข้มข้นต่าง ๆ ในช่วง 0.5-5% ในสภาวะสารละลาย เพื่อให้ได้ไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลเล็กลงและอยู่ในช่วงที่ต้องการ คือประมาณ 8 และ 40 kDa

1.4.3 ทำการแยกลำดับส่วนโมเลกุล (Molecular Weight Fractionation) โดยการแยกเอาไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล (MW) ที่ต้องการออกมา โดยใช้วิธีเลือกการตกตะกอน (Selective Precipitation) โดยหาสารละลายที่เหมาะสมสำหรับทำการตกตะกอนและ/หรือวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟี ที่มี Stationary Phase ชนิดต่าง ๆ หรือวิธีอื่น ๆ

1.4.4 วิเคราะห์ผลการทดลอง

1.4.5 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัยนี้

สามารถแยกเอาไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลที่ต้องการคือประมาณ 8 และ 40 kDa เพื่อนำไปใช้ในการเร่งการเจริญเติบโตของพืชและการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ตามลำดับ เพื่อการพัฒนาในด้านเกษตรกรรมและอุตสาหกรรมที่เกี่ยวข้องสำหรับประเทศไทยต่อไป

1.6 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1.6.1 Nguyen Quoc Hien[6] ได้ทำการวิจัยเรื่อง Irradiation of Chitosan and Its Biological Effect โดยทำการเตรียมโอลิโกไคโตซานจากการฉายรังสีเพื่อเหนี่ยวนำให้เกิด Degradation ซึ่งใช้แหล่งกำเนิดรังสีแกมมาจาก Co-60 พบว่า Radiation degradation yield (G_d) ของไคโตซานเท่ากับ 1.03 โอลิโกไคโตซาน dp>8 ปริมาณ 50% ได้จากการฉายรังสี 45 กิโลเกรย์ ให้กับสารละลายไคโตซาน 10 % (w/v) ในกรดอะซิตริกเจือจาง ตรวจวัดหาน้ำหนักโมเลกุลจาก viscositric average molecular weigh โดยไคโตซานมี M_v เริ่มต้น เท่ากับ 60,000 โอลิโกไคโตซานที่ได้พบว่ามีประสิทธิภาพสูงต่อการต่อต้านเชื้อ (antifungal effect) และมีผลต่อการเพิ่มการเจริญเติบโตในพืช (Growth-promotor effect)

1.6.2 W.S. Choi, Y.S. Park, H.J. Park [10] ได้ทำการวิจัยเรื่อง Preparation of Chitosan Oligomer by Irradiation ซึ่งทำการศึกษาเกี่ยวกับการใช้รังสีในการเหนี่ยวนำให้เกิดโอลิโกไคโตซานเพื่อให้น้ำหนักโมเลกุลลดลง เนื่องจากรังสีไปทำให้เกิดการเสื่อมสลายของสายโซ่ของไคโตซาน จากการทดลองนำไคโตซาน (20 หรือ 100 cp. , 2 %) ไปฉายรังสีในสารละลายกรดอะซิตริก 2 % และนำไปฉายรังสีแกมมาจากแหล่งกำเนิดรังสี Co-60 ที่ปริมาณรังสีต่างกัน คือ 2-200 กิโลเกรย์ พบว่า มีการลดลงของ Viscosity Decrease Rate (VDR) ซึ่งสามารถสังเกตเห็นได้ที่ปริมาณรังสีสูงขึ้นไปถึง 10 กิโลเกรย์ แล้วจึงค่อย ๆ ลดลง เมื่อเพิ่มปริมาณรังสีขึ้น จากการทดลองพบว่าโอลิโกไคโตซานที่ได้เป็น dimer และ trimer สูงที่สุด เมื่อฉายรังสีที่ 100 กิโลเกรย์ และใช้สารละลาย100 cp

1.6.3 Chyagrit Siri-Upathum[11] ได้ทำการวิจัยเรื่องRadiation Degradation of Chitosan and its Application for Young Orchid Plants Growth Promotion โดยการศึกษาผลของรังสีที่เหนี่ยวนำให้เกิด Degradation ของไคโตซานและการนำไปใช้ประโยชน์สำหรับเพื่อช่วยในการเจริญเติบโตของกล้ากล้วยไม้ โดยนำไคโตซานไปฉายรังสีในสภาพของแข็ง (chitosan flake) และฉายรังสีไคโตซานในสารละลายกรดอะซิติก 2.5 % ที่ปริมาณ 25,50,75 และ 100 กิโลเกรย์ ตามลำดับ โอลิโกไคโตซานที่ได้นำมาหาค่าน้ำหนักโมเลกุล (MW) ค่า Degree of Polymerization (DP) โดยใช้ capillary method, spectrophotometric และการตกตะกอนโอลิโกไคโตซานด้วยเมทานอล/กรดไฮโดรคลอริก ตามลำดับ ผลที่ได้พบว่าน้ำหนักโมเลกุลมีค่าเท่ากับ 60-100 kDa, DD>80% และ DP เท่ากับ 8-10 เมื่อทำการ neutrelization โอลิโกไคโตซานแล้วจึงนำมา dilute เป็น 25,50,75 และ 100 ppm ผสมในวุ้นสำหรับเพาะกล้ากล้วยไม้ พบว่าโอลิ

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โกไคโตซานที่มีความเข้มข้น 50-75 ppm. มีผลต่อการเพิ่มการเจริญเติบโตของกล้ากล้วยไม้คือทำให้มีการเจริญเติบโตของรากเร็วขึ้น

1.6.4 Suwalee Chandrkrachang[7] ได้ทำการวิจัยเรื่อง The Application of Chitin and Chitosan in Agriculture in Thailand โดยศึกษาการนำไคติน-ไคโตซานไปใช้ประโยชน์ในงานเกษตรกรรมในประเทศไทย ซึ่งใช้เป็นสารเร่งทางชีวภาพทำให้ผลผลิตทั้งพืชและสัตว์ให้ผลที่สูงขึ้น เช่นผลผลิตข้าวให้ผลผลิตที่ดีขึ้นเมื่อใส่ไคโตซานเป็นส่วนผสมในปุ๋ย พบว่ามีประสิทธิภาพในการป้องกันแมลงสูงขึ้นกว่าผลิตภัณฑ์ทางเคมีแบบเดิม อัตราการงอกของเมล็ดสูงขึ้นหลังจากที่แช่เมล็ดลงในสารละลายไคโตซาน โดยพบว่าน้ำหนักโมเลกุลมีผลต่ออัตราการงอกของเมล็ด โดยที่น้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 40,000 ดอลตัน ทำให้อัตราการงอกสูงที่สุด อัตราการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ที่ฉีดด้วยสารละลายไคโตซานสูงกว่าที่ไม่ได้ฉีดด้วยสารละลายไคโตซาน ทำให้เห็นว่าไคโตซานมีประโยชน์มากในการเร่งการเจริญเติบโตของพืช

1.6.5 Nguyen Anh Dzung และ Nguyen Quoc Hien[12] ได้ทำการวิจัยเรื่อง Effect of Oligoglucosamine Prepared by Enzyme Degradation on the Growth of Soybean จากการวิจัยพบว่า Oligoglucosamine ที่มีค่า degree of polymer เฉลี่ยอยู่ในช่วง 8-16 โมโนเมอร์ เมื่อละลายในสารละลายแลกติก 1 เปอร์เซ็นต์ แล้วนำเมล็ดถั่วลิสงไปเคลือบก่อนที่จะนำไปเพาะเป็นเวลา 30 นาที พบว่าอัตราการงอกของเมล็ดและอัตราการเจริญเติบโตสูงขึ้นมาก ปริมาณของส่วนที่จับไนโตรเจนสูงขึ้นกว่าที่ควบคุม และอัตราการลดลงของโรคเชื้อราลดลงอย่างเห็นได้ชัด ผลผลิตของถั่วจากการทดลองสูงกว่าที่ควบคุมไว้ 20-30 เปอร์เซ็นต์

1.6.6 Vo Thi Kim และคณะ[13] ได้ทำการวิจัยเรื่อง Effect of Irradiated Chitosan in Solution on the Growth-Promotion of Soy Bean in Germination Period โดยการฉายรังสีไคโตซาน 10 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ในสารละลายกรดอะซิติก 2.5 เปอร์เซ็นต์ แล้วฉายรังสีแกมมาจากแหล่งกำเนิดรังสีโคบอลต์-60 ที่ปริมาณรังสีในช่วง 0-150 กิโลเกรย์ แล้วนำมาละลายที่ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าอัตราการงอกและการเจริญเติบโตของเมล็ดที่ปริมาณรังสี 70 กิโลเกรย์ และความเข้มข้น 50 ppm ให้ผลดีที่สุด

1.6.7 Trang Si Trungv และคณะ[14] ได้ทำการวิจัยเรื่อง Effect of Dissolution and Precipitation by Various Acid Solvents on Chitosan Properties โดยศึกษาถึงผลของการตกตะกอนไคโตซานที่ละลายในสารละลายกรดชนิดต่าง ๆ ด้วยสารละลาย

โซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีต่อคุณสมบัติของไคโตซาน พบว่าคุณสมบัติของไคโตซานหลังจากตกตะกอนไม่เปลี่ยนแปลงไปมากนัก