

## บทที่ 4

### ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

#### 4.1 องค์ประกอบทางเคมีของไคติน

ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของไคติน ซึ่งได้จากบริษัท ยูนิคอร์ด จำกัด (มหาชน) ดังต่อไปนี้

4.1.1 ปริมาณความชื้น ตามวิธีของ Austin และ Rutherford (1978)

4.1.2 ปริมาณไขมัน ตามวิธีของ A.O.A.C. ข้อที่ 920.39 (1990)

4.1.3 ปริมาณไนโตรเจน ตามวิธีของ A.O.A.C. ข้อที่ 955.04 (1990)

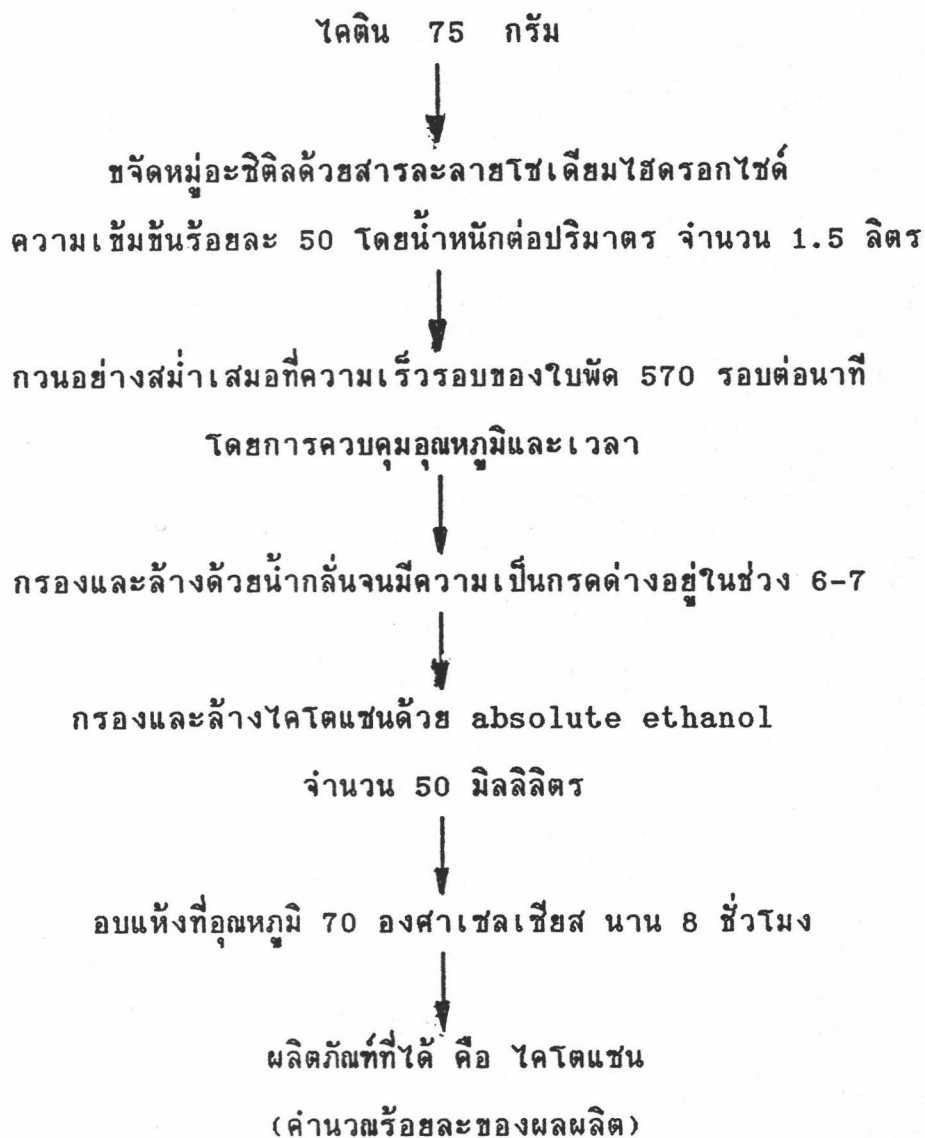
4.1.4 ปริมาณเถ้า ตามวิธีของ Austin และ Rutherford (1978)

4.1.5 ปริมาณเส้นใย ตามวิธีของ A.O.A.C. ข้อที่ 962.09 (1990)

รายละเอียดการวิเคราะห์ทางเคมีข้างต้น แสดงในภาคผนวก ก

#### 4.2 การตัดแปรไคตินด้วยวิธีการขจัดหมู่อะซิติก

ในงานวิจัยนี้ตัดแปรวิธีการเตรียมไคโตแซน จากวิธีของ Yang (1984) ดังแสดงในรูปที่ 4.1 โดยทำการขจัดหมู่อะซิติกที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ ที่ระดับความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์คงที่ที่ร้อยละ 50 วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ Factorial completely randomized design ขนาด 4x4 ทำการทดลอง 2 ซ้ำ แปรค่าอุณหภูมิที่ 60±1, 70±1, 80±1 และ 90±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1, 2, 3 และ 4 ชั่วโมง คำนวณค่าร้อยละผลผลิตไคโตแซนที่ได้ (% yield) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's new multiple range test



รูปที่ 4.1 ขั้นตอนการเตรียมไคโตแซน ดัดแปลงจากวิธีของ Yang (1984)

#### 4.3 องค์ประกอบทางเคมีและค่าความหนืดของไคโตแซน

ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและวัดค่าความหนืดของไคโตแซน โดยนำไคโตแซนที่เตรียมได้จากข้อ 4.2 มาวิเคราะห์ดังต่อไปนี้

4.3.1 ปริมาณความชื้น ตามวิธีของ Austin และ Rutherford (1978) รายละเอียดการวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ก

4.3.2 ปริมาณไนโตรเจน ตามวิธีของ A.O.A.C. ข้อที่ 955.04 (1990) รายละเอียดการวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ก

4.3.3 ปริมาณเถ้า ตามวิธีของ Austin และ Rutherford (1978)

ซึ่งให้ความร้อนแก่ตัวอย่างที่อุณหภูมิ 700 องศาเซลเซียส นาน 6 ชั่วโมง  
รายละเอียดการวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ก

4.3.4 ปริมาณเส้นใย ตามวิธีของ A.O.A.C. ข้อที่ 962.09 (1990)  
รายละเอียดการวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ก

4.3.5 ค่าความหนืด ตามวิธีของ Filar และ Wirick (1978)  
โดยวัดความหนืดของสารละลายไคโตแซน 1 % (น้ำหนักต่อปริมาตร) ในกรด  
อะซิติกความเข้มข้น 1 % ที่ค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 4 และ ที่อุณหภูมิห้อง  
รายละเอียดการวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ก

#### 4.4 ผลของอุณหภูมิและเวลาที่มีต่อค่าการขจัดหมู่อะซิติกของไคโตแซน

วิเคราะห์ปริมาณการขจัดหมู่อะซิติกของไคโตแซนที่ได้จากข้อที่ 4.2 ตามวิธี  
ของ Yang (1984) ซึ่งวัดค่านี้ในเทอมของโมลแอมโมเนียต่อกรัมไคโตแซนไฮโดร  
คลอไรด์ รายละเอียดการวิเคราะห์แสดงในรูปที่ 4.2 และคำนวณร้อยละการขจัด  
หมู่อะซิติกดังแสดงในภาคผนวก ข วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ Factorial  
completely randomized design ขนาด 4x4 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้  
Duncan's new multiple range test

ซึ่งไคโตแซน 2.5 กรัม ให้น้ำหนักแน่นอน ละลายในกรดอะซิติกที่มี  
ความเข้มข้นร้อยละ 10 จำนวน 85 มิลลิลิตร กวนนาน 15 นาที

↓  
กรองส่วนที่ไม่ละลายทิ้ง นำส่วนที่ละลายไปเติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น  
อย่างช้า ๆ กวนทันที เติมจนกระทั่งไม่มีตะกอนของไคโตแซนไฮโดรคลอไรด์  
เกิดขึ้นอีก ใช้กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นประมาณ 18 มิลลิลิตร

↓  
กรองผ่านผ้าโพลิเอสเตอร์

ล้างตะกอนด้วยเมทธานอลร้อยละ 95 จนความเข้มข้นของคลอไรด์ไอออนอยู่  
ในระดับที่ตรวจวัดไม่ได้ (ตรวจวัดโดยใช้สารละลายซิลเวอร์ไนเตรต)

ใช้เมทธานอลร้อยละ 95 ประมาณ 600 มิลลิลิตร

↓

↓  
 อบตะกอนไคโตแซนไฮโดรคลอไรด์ในตูบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส  
 เป็นเวลา 12 ชั่วโมง เก็บในภาชนะที่ควบคุมความชื้น (desiccator)

ที่อุณหภูมิห้อง

↓  
 ชั่งไคโตแซนไฮโดรคลอไรด์ 0.6 กรัม ให้น้ำหนักแน่นอน  
 ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 45 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่องเขย่า  
 (mechanical shaker type LS30) ที่ความเร็วรอบ 135 รอบต่อนาที  
 เป็นเวลา 2.5 ชั่วโมง หรือจนละลายหมด และเจือจางสารละลาย  
 จนมีปริมาตร 50 มิลลิลิตร

↓  
 ไตเตรตสารละลายไคโตแซนไฮโดรคลอไรด์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร  
 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล  
 คำนวณปริมาณการขจัดหมู่อะซิติกในรูปของโมลแอมโมเนียดอกกรัม  
 ไคโตแซนไฮโดรคลอไรด์และร้อยละการขจัดหมู่อะซิติก  
 รายละเอียดการคำนวณแสดงในภาคผนวก ข

รูปที่ 4.2 ขั้นตอนการวิเคราะห์ปริมาณการขจัดหมู่อะซิติก ดัดแปลงจาก  
 วิธีของ Yang (1984)

#### 4.5 อินฟราเรดสเปกตรัม (Infrared Spectrum) ของไคตินและไคโตแซน

ศึกษาอินฟราเรดสเปกตรัมของไคติน จากบริษัท ยูนิคอร์ด จำกัด(มหาชน)  
 และไคโตแซนที่เตรียมได้จากข้อที่ 4.2 ที่มีค่าร้อยละการขจัดหมู่อะซิติกแตกต่าง  
 กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เปรียบเทียบกับไคติน  
 และไคโตแซนจากบริษัทผู้ผลิตซึ่งกล่าวไว้ในบทที่ 3 ข้อที่ 3.3 โดยวัดอินฟราเรด  
 สเปกตรัมด้วยเครื่อง Fourier Transfer Infrared Spectrophotometer  
 รุ่น 1760X ผลิตโดยบริษัท Perkin Elmer ประเทศสหรัฐอเมริกา วัดที่ค่า  
 wavenumber ตั้งแต่ 400 ถึง 4000  $\text{cm}^{-1}$

#### 4.6 สมบัติในการคีเลตเพอร์ริกไอออน (Ferric ion, $Fe^{3+}$ ) ของไคติน และไคโตแซน

ศึกษาสมบัติในการคีเลตเพอร์ริกไอออน (Ferric ion,  $Fe^{3+}$ ) ของไคติน และไคโตแซนที่เตรียมได้จากข้อ 4.2 ที่มีค่าปริมาณการขจัดหมู่อะซิติกแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยดัดแปลงจากวิธีของ Muzzarelli และ Tubertini (1969) ทำการทดลองแบบ Batch โดยเขย่า ผงไคตินหรือไคโตแซนที่มีขนาด 100-200 เมช ปริมาณ 500 มิลลิกรัม ในสารละลายเพอร์ริกไนเตรตที่มีความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 25 มิลลิ- ลิตร ด้วยเครื่องเขย่าชนิดความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาทีที่ค่าความเป็นกรดต่าง เท่ากับ 7 และที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1, 2, 3 และ 4 ชั่วโมงจากนั้นกรองแยก ส่วนของผงไคตินหรือไคโตแซนออกจากสารละลายหลัก โดยใช้กระดาษกรอง whatman no2 และปั๊มสุญญากาศ (vacuum pump) วิเคราะห์ปริมาณเหล็กที่ เหลือในส่วนของสารละลายตามวิธีของ A.O.A.C. ข้อที่ 2.126 (1990) ด้วย เครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 2483 A และใช้ rich air- $C_2H_2$  flame

วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ Factorial completely randomized design ขนาด 4x4 ทำการทดลอง 2 ซ้ำ ตัวแปรที่ศึกษาคือชนิดของตัวอย่างและเวลาที่ใช้ในการเขย่า โดยชนิดของตัวอย่าง ได้แก่ ไคตินและไคโตแซนที่เตรียมได้จากข้อ 4.2 ที่มีค่าปริมาณการขจัดหมู่อะซิติก แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 จำนวน 3 ชนิด แปรค่าเวลาในการเขย่าที่ 1, 2, 3 และ 4 ชั่วโมง เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's new multiple range test และเปรียบเทียบความสามารถใน การคีเลตเพอร์ริกไอออนระหว่างไคตินและไคโตแซนเพื่อเลือกโพลีเมอร์ที่มีความ สามารถในการคีเลตเพอร์ริกไอออนได้ดีที่สุด