

การหาน้ำหนักโมเลกุลที่เหมาะสมของโคโคซานในการเร่งการเจริญเติบโตของพืช  
โดยวิธีฉายรังสีแกมมาร่วมกับวิธีทางเคมี



นางสาวชนิตา เรืองพันธ์

สถาบันวิทยบริการ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชานิวเคลียร์เทคโนโลยี ภาควิชานิวเคลียร์เทคโนโลยี

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2549

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

DETERMINATION OF SUITABLE MOLECULAR WEIGHT OF CHITOSAN FOR PLANT GROWTH  
PROMOTION BY GAMMA IRRADIATION AND CHEMICAL MEANS

Miss Chanita Ruangphan

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science Program in Nuclear Technology

Department of Nuclear Technology

Faculty of Engineering

Chulalongkorn University

Academic Year 2006

Copyright of Chulalongkorn University



ชนิดา เรื่องค้น : การหาน้ำหนักโมเลกุลที่เหมาะสมของไคโตซานในการเร่งการเจริญเติบโตของพืชโดยวิธีฉายรังสีแกมมาพร้อมกับวิธีทางเคมี. (DETERMINATION OF SUITABLE MOLECULAR WEIGHT OF CHITOSAN FOR PLANT GROWTH PROMOTION BY GAMMA IRRADIATION AND CHEMICAL MEANS) อ. ที่ปรึกษา : รศ.ชยากริต ศิริอุบลัมภ์, 99 หน้า.

การวิจัยนี้เป็นการศึกษาเพื่อหาน้ำหนักโมเลกุลไคโตซานที่เหมาะสมในการเร่งการเจริญเติบโตของพืชโดยไคโตซานโมเลกุลเล็กซึ่งเตรียมโดยการย่อยสลายด้วยรังสีแกมมาพร้อมกับการแยกโมเลกุลลำดับส่วนโดยวิธีทางเคมี เมื่อนำผงไคโตซานที่ฉายรังสีแกมมา 100 กิโลเกรย์มาทำให้อยู่ในรูปของสารละลายไคโตซาน 10% ในสารละลายกรดอะซิติก 2.5% แล้วนำไปฉายรังสีอีกครั้งที่ 20, 40, 60, 70 และ 80 กิโลเกรย์ จะได้ไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยความหนืด ( $M_v$ ) 68000, 26000, 12000, 8000 และ 4000 คอลตันตามลำดับ ทำการแยกโมเลกุลลำดับส่วนของสารละลายไคโตซาน 10% ที่ได้จากการฉายรังสีต่อที่ 40 กิโลเกรย์โดยสารละลายที่ใช้ในการตกตะกอนแยกลำดับส่วนคือสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.75% เพื่อแยกโมเลกุลให้อยู่ในช่วง 20000 คอลตัน

จากการนำไคโตซานที่มี  $M_v$  20000, 12000, 8000 และ 4000 คอลตันมาผสมในสารละลายปุ๋ยในปริมาณ 200 ppm ทดสอบการเจริญเติบโตของคะน้า ผักกาดหอม และผักโขม เปรียบเทียบการเจริญเติบโต (ความสูงเฉลี่ย) กับสารละลายปุ๋ยอย่างเดียวยพบว่า ในช่วงระยะเวลาการปลูก 26 วันของการเจริญเติบโตหลังเพาะเมล็ด คะน้าที่ปลูกในสารละลายไคโตซานที่มี  $M_v$  8000 และ 4000 คอลตันมีการเจริญเติบโต (ความสูง) มากที่สุด ผักกาดหอมที่ปลูกในสารละลายไคโตซาน  $M_v$  20000 คอลตันมีการเจริญเติบโตมากที่สุด และในผักโขมที่ปลูกในสารละลายไคโตซานที่มี  $M_v$  12000 และ 8000 คอลตันมีการเจริญเติบโตมากที่สุด

ภาควิชา นิเวศวิทยเทคโนโลยี  
สาขาวิชา นิเวศวิทยเทคโนโลยี  
ปีการศึกษา 2549

ลายมือชื่อนิสิต..... *สลิมา ฮาแวม*  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา..... *สมาน ปันกุล*  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม..... - .....



## 4670277721 : MAJOR NUCLEAR TECHNOLOGY

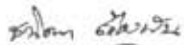
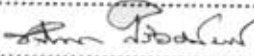
KEY WORD: CHITOSAN / RADIATION DEGRADATION / PLANT GROWTH PROMOTION

CHANITA RUANGPHAN: DETERMINATION OF SUITABLE MOLECULAR WEIGHT OF CHITOSAN FOR PLANT GROWTH PROMOTION BY GAMMA IRRADIATION AND CHEMICAL MEANS. THESIS ADVISOR: ASSOC. PROF. CHYAGRIT SIRI-UPATHUM, 99 pp.

The objective of this research was to determine suitable molecular weight ( $M_v$ ) of chitosan for plant growth promotion. Low molecular weight chitosan was prepared by gamma radiation degradation and molecular weight fractionation. The degradation of chitosan sample was performed by successive gamma irradiation of chitosan powder with radiation dose of 100 kGy and then 10%(w/v) of the chitosan in 2.5% acetic acid was further irradiated at doses of 20, 40, 60, 70 and 80 kGy to obtain 68, 26, 12, 8 and 4 kDa respectively as determined by viscosity method. Chitosan with  $M_v$  of 20 kDa was prepared from selective precipitation of 26 kDa chitosan using 0.75% NaOH solution.

Chitosan at  $M_v$  of 4, 8, 12 and 20 kDa were selected for investigation the effect of chitosan molecular weight on the plant growth promotion. The study was done by measuring the height of three kinds of seedling with 200 ppm chitosan at each molecular weight in a nutrient solution after 26 days. It was found that chitosan at  $M_v$  of 4 and 8 kDa possessed the highest rate of growth for kale (*Brassica alboglabra*). Chitosan of 20 kDa gave the highest growth for lettuce (*Lactuca sativa* Linn) and  $M_v$  of 8 and 12 kDa gave the highest growth for Chinese spinach (*Amaranthus tricolor* Linn).

Department Nuclear Technology  
Field of study Nuclear Technology  
Academic year 2006

Student's signature.....  
Advisor's signature.....  
Co-advisor's signature..... -

## กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ชยากริต ศิริอุปถัมภ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่ได้ให้คำแนะนำ และคำปรึกษาที่ดี ช่วยตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ด้วยความเอาใจใส่ และเป็นกำลังใจอย่างดียิ่งจนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้

ขอขอบพระคุณหัวหน้าและเจ้าหน้าที่หน่วยสภาระเวดล้อม ฝ่ายปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และให้คำแนะนำในการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้เป็นอย่างดี

ขอขอบคุณเพื่อนๆ พี่ๆ และน้องๆ รวมทั้งบุคลากรทุกคน ภาควิชานิเวศเคสียร์เทคโนโลยีที่ให้คำแนะนำ และความช่วยเหลือ พร้อมทั้งกำลังใจที่ดีตลอดมา

ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา พี่น้องๆ และทุกท่านที่ได้ให้ความช่วยเหลือและให้กำลังใจ ตลอดจนให้ความสนับสนุนจนลุล่วงไปได้ด้วยดี

ในท้ายนี้หวังเป็นอย่างยิ่งว่าวิทยานิพนธ์นี้จะเป็นประโยชน์กับผู้สนใจทั่วไป

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

# สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย .....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ .....	จ
กิตติกรรมประกาศ .....	ฉ
สารบัญ .....	ช
สารบัญตาราง .....	ญ
สารบัญภาพ .....	ฐ
บทที่	
1. บทนำ .....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย .....	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย .....	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ .....	3
1.5 วิธีดำเนินการวิจัย .....	3
1.6 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง .....	3
2. แนวคิดและทฤษฎี .....	7
2.1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับไคติน-ไคโตซาน .....	7
2.1.1 ลักษณะและคุณสมบัติของไคติน-ไคโตซาน .....	7
2.1.2 ประโยชน์ของไคตินไคโตซาน.....	15
2.2 การเหนี่ยวนำให้เกิดการเสื่อมสลายของไคโตซานด้วยรังสี.....	15
2.2.1 ต้นกำเนิดรังสี .....	16
2.2.2 การเสื่อมสลายของโพลีเมอร์โดยการเหนี่ยวนำด้วยรังสี .....	16
2.2.3 ผลของรังสีที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีของไคโตซาน .....	18
2.2.4 ผลของรังสีที่มีต่อน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซาน .....	20

บทที่	หน้า
2.3 น้ำหนักโมเลกุล (Molecular weight) ของโคโตซาน .....	22
2.3.1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับน้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์ .....	22
2.3.2 ความหนืด (Viscosity) ของสารละลายพอลิเมอร์ .....	26
2.3.3 การหาน้ำหนักโมเลกุลของโคโตซานโดยวิธี Dilute Solution Viscosity ....	26
2.3.4 คุณสมบัติทางน้ำหนักโมเลกุลกับการนำโคโตซานไปใช้ประโยชน์ .....	34
2.4 การแยกโมเลกุลลำดับส่วน (Molecular Weight Fractionation) .....	35
2.4.1 การแยกลำดับส่วนโดยการตกตะกอน (Fractionation Precipitation).....	35
2.4.2 การแยกลำดับส่วนโดยการอีลูชัน (Elution Fractionation).....	35
2.4.3 เจลเพอร์มีเอชันโครมาโตกราฟี (GPC).....	37
2.5 การแยกโมเลกุลลำดับส่วนโคโตซานโดยวิธีการตกตะกอน.....	38
2.6 ผลของการแยกโมเลกุลลำดับส่วนที่มีต่อน้ำหนักโมเลกุลของโคโตซาน.....	39
3. วิธีดำเนินการวิจัย .....	41
3.1 วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย .....	41
3.2 วิธีดำเนินการวิจัย.....	46
3.3 การวิเคราะห์ข้อมูล .....	52
4. ผลการวิเคราะห์ข้อมูล .....	54
4.1 ผลการวิเคราะห์.....	54
4.1.1 การหาน้ำหนักโมเลกุลของสารโคโตซานตัวอย่าง .....	54
4.1.2 การหาน้ำหนักโมเลกุลของโคโตซานที่ผ่านการฉายรังสีแกมมา.....	54
4.1.3 การแยกโมเลกุลโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 20,000 Da .....	57
4.1.4 การเจริญเติบโตของพืชเมื่อใช้โคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลที่ต่างกัน .....	59



บทที่	หน้า
5. สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ .....	65
5.1 สรุปผลการวิจัย .....	65
5.2 อภิปรายผลการวิจัย.....	71
5.3 ข้อเสนอแนะ.....	73
รายการอ้างอิง .....	74
ภาคผนวก .....	80
ภาคผนวก ก ใบรับรองการปรับเทียบมาตรฐานของ Viscometer.....	81
ภาคผนวก ข ตัวอย่างวิธีการคำนวณน้ำหนักโมเลกุล .....	83
ภาคผนวก ค ผลของค่าทางสถิติ .....	89
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ .....	99

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1	องค์ประกอบทางเคมีของตัวอย่างโคโตซานที่ระดับความหนืดต่างๆ กัน ..... 12
2.2	ค่าคงที่ K และ a สำหรับสมการ Mark-Houwink สำหรับโคโตซาน ..... 27
3.1	สารเคมีที่ใช้เตรียมสารละลายธาตุอาหารเพื่อปลูกพืชไม่ใช้ดินในปริมาตร 100 ลิตร... 46
4.1	ผลการหาน้ำหนักโมเลกุลของสารตัวอย่าง ..... 54
4.2	ผลการหาน้ำหนักโมเลกุลของสารตัวอย่างโคโตซานที่ฉายรังสีที่ 100 kGy..... 54
4.3	ผลการหาน้ำหนักโมเลกุลของสารตัวอย่างโคโตซานที่ฉายรังสีที่ 100+20 kGy..... 55
4.4	ผลการหาน้ำหนักโมเลกุลของสารตัวอย่างโคโตซานที่ฉายรังสีที่ 100+40 kGy..... 55
4.5	ผลการหาน้ำหนักโมเลกุลของสารตัวอย่างโคโตซานที่ฉายรังสีที่ 100+60 kGy..... 55
4.6	ผลการหาน้ำหนักโมเลกุลของสารตัวอย่างโคโตซานที่ฉายรังสีที่ 100+70 kGy..... 55
4.7	ผลการหาน้ำหนักโมเลกุลของสารตัวอย่างโคโตซานที่ฉายรังสีที่ 100+80 kGy..... 55
4.8	แสดงผลการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยเมื่อฉายรังสีที่ปริมาณต่างๆ..... 56
4.9	แสดงน้ำหนักของตะกอนที่ได้, %yield และสีของสารละลายหลังจากตกตะกอน สารละลายโคโตซานที่ฉายรังสีที่ 100+40 kGy (เพื่อแยกโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล 20,000 ดอลตัน) ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ คือ 0.75, 1.00, 2.00 และ 4.00 เปอร์เซ็นต์ ในการแยกครั้งที่ 1..... 57
4.10	แสดงค่าน้ำหนักโมเลกุล ( $M_v$ ) ของตะกอนโคโตซานที่แยกโดยใช้ NaOH ที่ความ เข้มข้นต่าง ๆ คือ 0.75, 1.00, 2.00 และ 4.00 % ตามลำดับ ของโคโตซานที่ฉาย รังสีที่ 100+40 kGy ..... 58
4.11	การเจริญเติบโตของพืชตัวอย่างทั้ง 3 พันธุ์ในสารละลายโคโตซาน 200 ppm ช่วง 4 วันของการปลูก ..... 59
4.12	การเจริญเติบโตของพืชทดลองในสารละลายโคโตซานของวันที่ 16 ของการปลูก..... 60
4.13	การเจริญเติบโตของพืชทดลองในสารละลายโคโตซานของวันที่ 21 ของการปลูก..... 61
4.14	การเจริญเติบโตของพืชทดลองในสารละลายโคโตซานของวันที่ 26 ของการปลูก..... 62

ตารางที่	หน้า
5.1 แสดงผลการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยเมื่อฉายรังสีที่ปริมาณต่างๆ.....	65
5.2 การเจริญเติบโตของพืชตัวอย่างทั้ง 3 พันธุ์ในช่วง 4 วันแรกในการปลูก.....	68
5.3 การเจริญเติบโตเฉลี่ยของพืชทดลองของวันที่ 16 ของการปลูก.....	68
5.4 การเจริญเติบโตเฉลี่ยของพืชทดลองของวันที่ 21 ของการปลูก.....	69
5.4 การเจริญเติบโตเฉลี่ยของพืชทดลองของวันที่ 26 ของการปลูก.....	70
ตารางผนวกที่	
1 ตัวอย่างผลการทดลองหาค่า efflux time ตามความเข้มข้นต่างๆ ของสารโคโคซาน ตัวอย่างในตัวทำละลาย 0.5 M HOAc + 0.5 M NaOAc ด้วย Viscometer No.365 (ครั้งที่1).....	83
2 แสดงค่า reduced viscosity ( $\eta_{red}$ ) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารละลายโคโคซาน ตัวอย่าง.....	84
3 แสดงค่า efflux time, specific viscosity ( $\eta_{sp}$ ) และ reduced viscosity ( $\eta_{red}$ ) ของตัวอย่างโคโคซานที่ผ่านการฉายรังสีที่สภาวะ 100(ของแข็ง)+60(สารละลาย) kGy จากข้อมูลการทดลองครั้งที่ 1 ตามตารางที่ 4.5.....	86
4 ตารางวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของการเจริญเติบโต (ความสูง) ของพืชทดลอง ในช่วงวันที่ 4 ของการปลูก.....	91
5 ตารางเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทริทเมนต์โดยวิธีดินแดนของคะแนนในช่วงวันที่ 16 ของการปลูก.....	91
6 ตารางเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทริทเมนต์โดยวิธีดินแดนของผักกาดหอมในช่วง วันที่ 4 ของการปลูก.....	92
7 ตารางเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทริทเมนต์โดยวิธีดินแดนของผักโขมในช่วงวันที่ 4 ของการปลูก.....	92
8 ตารางวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของการเจริญเติบโต (ความสูง) ของพืชทดลอง ในช่วงวันที่ 16 ของการปลูก.....	93

ตารางผนวกที่	หน้า
9 ตารางเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทริทเมนต์โดยวิธีดินแดนของคะน้ำในช่วงวันที่ 16 ของการปลูก.....	93
10 ตารางเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทริทเมนต์โดยวิธีดินแดนของผักกาดหอมในช่วงวันที่ 16 ของการปลูก.....	94
11 ตารางเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทริทเมนต์โดยวิธีดินแดนของผักโขมในช่วงวันที่ 16 ของการปลูก.....	94
12 ตารางวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของการเจริญเติบโต (ความสูง) ของพืชทดลองในช่วงวันที่ 21 ของการปลูก.....	95
13 ตารางเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทริทเมนต์โดยวิธีดินแดนของคะน้ำในช่วงวันที่ 21 ของการปลูก.....	95
14 ตารางเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทริทเมนต์โดยวิธีดินแดนของผักกาดหอมในช่วงวันที่ 21 ของการปลูก.....	96
15 ตารางเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทริทเมนต์โดยวิธีดินแดนของผักโขมในช่วงวันที่ 21 ของการปลูก.....	96
16 ตารางวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของการเจริญเติบโต (ความสูง) ของพืชทดลองในช่วงวันที่ 26 ของการปลูก.....	97
17 ตารางเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทริทเมนต์โดยวิธีดินแดนของคะน้ำในช่วงวันที่ 26 ของการปลูก.....	97
18 ตารางเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทริทเมนต์โดยวิธีดินแดนของผักกาดหอมในช่วงวันที่ 26 ของการปลูก.....	98
19 ตารางเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทริทเมนต์โดยวิธีดินแดนของผักโขมในช่วงวันที่ 26 ของการปลูก.....	98

## สารบัญภาพ

รูปที่	หน้า
2.3	สูตรโครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลส ไคติน และไคโตซาน..... 10
2.4	ผลของความเข้มข้นของโพลีเมอร์ ต่อค่าความหนืดของสารละลายไคโตซาน 3 ชนิด ที่มีค่าเป็นกรดต่างเท่ากับ 4 และอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ..... 13
2.5	ผลของอุณหภูมิต่อค่าความหนืดของสารละลายไคโตซาน 3 ชนิด ที่มีความเป็นกรด ต่างเท่ากับ 4 และละลายในกรดอะซิติก ..... 14
2.6	แสดงกลไกการเกิดการตัดของสายโซ่หลักของไคติน-ไคโตซาน..... 19
2.7	ภาพถ่ายด้วย SEM Photograph ของไคโตซานที่ไม่ได้ฉายรังสี (ซ้าย) และไคโตซานที่ฉายรังสีแกมมาที่ปริมาณ 50 kGy (ขวา) ..... 20
2.8	แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Viscosity average molecular weight ( $M_v$ ) ของ ไคโตซานกับปริมาณรังสีที่ฉาย ..... 20
2.7	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างประมาณโวลูมิไคโตซานที่มีค่า DP>8 กับปริมาณรังสีที่ฉาย ..... 21
2.8	แสดงผลของปริมาณรังสีกับความสามารถในการละลายของไคโตซานใน กรดอะซิติกและกรดออกซาลิก..... 21
2.9	แสดงการเปลี่ยนแปลงค่าความหนืดของสารละลายไคโตซานเนื่องจากการฉายรังสี ไคโตซานในสถานะของแข็ง..... 22
2.10	แสดงความแตกต่างของ mono-dispersed system และ poly-dispersed system. 24
2.11	การกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุลสำหรับ hypothetical polydispersed sample.. 25
2.12	การกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุลของตัวอย่างโพลีเมอร์ 2 ชนิด ที่มีค่า number average molecular weight ( $M_n$ ) เท่ากันแต่มีการกระจายตัวต่างกัน..... 25
2.13	แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\log M_n$ กับ $\log[\eta]$ ..... 28
2.14	แสดง Ubbelohde Viscometer ..... 30
2.15	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายโพลีเมอร์ (C) กับค่า reduced viscosity ( $\eta_{red}$ )..... 31
2.16	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายโพลีเมอร์ (C) และค่า inherent viscosity ( $\eta_{inh}$ )..... 32



รูปที่	หน้า
2.17 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายโพลีเมอร์ (C) กับ reduced viscosity ( $\eta_{red}$ ) และ inherent viscosity ( $\eta_{inh}$ ) .....	33
2.18 แสดงแผนภาพเครื่องมือการแยกลำดับส่วนโดยการอู้อัน.....	36
2.19 กราฟแสดงการเปรียบเทียบโพลีเมอร์ที่แยกลำดับส่วน (1-7)กับโพลีเมอร์ที่ไม่ได้แยกลำดับส่วน (A).....	37
2.20 แสดงการแยกโมเลกุลตามขนาด โดยเจลเพอร์มีเอชันโครมาโตกราฟี.....	38
2.21 กราฟการกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุล.....	39
3.1 สารโคโตซานตัวอย่างในสภาพของแข็ง.....	41
3.2 แสดงชุดภาชนะบรรจุหลอดสารละลายโคโตซานสำหรับฉายรังสี.....	43
3.3 แสดงเครื่องฉายรังสีแกมมาจากแหล่งกำเนิดรังสีโคบอลต์-60.....	43
3.4 รูปแบบการปลูกพืชที่ใช้ทดลอง .....	45
3.5 แสดงสารละลายโคโตซานที่ความเข้มข้นต่างๆ จากโคโตซานที่ฉายรังสี 100 kGy....	47
3.6 สารละลายโคโตซาน 10% ในสารละลายกรดอะซิติก 2.5%ที่ฉายรังสีปริมาณต่างๆ..	48
3.7 สารละลายโคโตซานที่ความเข้มข้นต่างๆ .....	49
3.8 ตำแหน่งต่าง ๆ ของ Ubbelohde Viscometer .....	50
3.9 วิธีการวัดความสูงของพืชทดลอง.....	51
3.10 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสารละลายโคโตซานและค่า reduced viscosity ( $\eta_{red}$ ).....	52
4.1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณรังสีที่ฉายในสภาวะสารละลายกรดอะซิติกกับน้ำหนักโมเลกุล (Mv) ของโคโตซานโดยที่โคโตซานฉายรังสีในสภาวะของแข็งมาแล้ว 100 kGy และฉายรังสีต่อที่ปริมาณรังสีต่าง ๆ ในสภาวะสารละลายกรดอะซิติก 2.5% ที่ความเข้มข้นของโคโตซาน 10%.....	56
4.2 การเจริญเติบโตของคะน่าของวันที่ 26 ของการปลูก .....	63
4.3 การเจริญเติบโตของผักกาดหอมของวันที่ 26 ของการปลูก .....	64
4.4 การเจริญเติบโตของผักโขมของวันที่ 26 ของการปลูก .....	64

รูปที่	หน้า
5.1 แสดงผลการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักโมเลกุลของโคโตซานที่ผ่านการฉายรังสีใน สภาวะของแข็ง 100 kGy และนำมาฉายรังสีต่อในสภาวะสารละลายกรดอะซิติก 2.5% ที่ปริมาณต่าง ๆ .....	66
5.2 กราฟความสูงเฉลี่ยของฝักคะน้ำในช่วงระยะเวลาที่ปลูก .....	70
5.3 กราฟความสูงเฉลี่ยของฝักกาดหอมในช่วงระยะเวลาที่ปลูก .....	71
5.4 กราฟความสูงเฉลี่ยของฝักโสมในช่วงระยะเวลาที่ปลูก .....	71

รูปผนวกที่

1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายโคโตซานกับค่า reduced viscosity .....	85
2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายโคโตซานกับค่า reduced viscosity ( $\eta_{red}$ ) ของตัวอย่างโคโตซานที่ผ่านการฉายรังสีที่สภาวะ 100 (ของแข็ง)+60(สารละลาย) kGy จากข้อมูลการทดลองครั้งที่ 1 ตามตารางที่ 4.5.....	87
3 กราฟ FT-IR ของสารโคโตซานตัวอย่าง .....	88

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม การใช้ประโยชน์จากสารเคมีเพื่อการผลิตพืชผล นับวันยิ่งมีความสำคัญมากขึ้นตามลำดับ จึงมีความจำเป็นที่จะต้องใช้สารเคมีทางการเกษตรเป็นจำนวนมาก ซึ่งส่วนใหญ่เป็นสารที่ต้องนำเข้าจากต่างประเทศและมีมูลค่าการนำเข้าหลาย พันล้านบาทต่อปี ไม่ว่าจะเป็นฮอร์โมนพืช ปุ๋ย ยากำจัดแมลงศัตรูพืชและโรคพืช และยากำจัด วัชพืช (วรรณวิมล ลิ้มปิวิโรจน์, 2544: 1)

ฮอร์โมนพืชที่เป็นที่รู้จักกันดีนั้นมี 5 ชนิดหลักๆ คือ Auxin, Abscisic acid, Cytokinin, Ethylene และ Gibberellin (Albersheim และ Darvill, 1985) ฮอร์โมนพืชเหล่านี้ส่วนใหญ่เป็น สารนำเข้าจากต่างประเทศและมีราคาสูง จึงได้มีการนำโคโตซานซึ่งเป็นพอลิเมอร์ที่พบได้ในธรรมชาติ ได้จากการไฮโดรไลซ์ไคติน (วรรณวิมล ลิ้มปิวิโรจน์, 2544) ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ชีวภาพที่มีมากเป็นอันดับสองรองจากเซลลูโลส ไคตินพบมากในกระดองสัตว์ที่ไม่มีกระดูกสันหลังพวก เปลือกกุ้ง เปลือกปู แกนของปลาหมึก นอกจากนี้ยังพบในพวกแมลง เชื้อรา และยีสต์ (Knoor, 1984) มาใช้ในการเร่งการเจริญเติบโตของพืชแทน สารโคโตซานนั้นมีผลโดยตรงและโดยอ้อมต่อการเร่งการเจริญเติบโตของพืช ช่วยให้พืชมีระบบรากที่แข็งแรง ทำให้พืชสมบูรณ์และเพิ่มภูมิ ต้านทานในการป้องกันและกำจัดศัตรูพืช ร่นอายุการเก็บเกี่ยวทำให้เก็บเกี่ยวได้เร็วกว่าปกติและ เก็บเกี่ยวได้นานขึ้น

ไคติน-โคโตซานมีโครงสร้างเป็นสายโซ่โคพอลิเมอร์ (Copolymer) ที่ร่วมกันอยู่ในธรรมชาติ ที่มีหน่วยที่เพิ่มขึ้นมาคืออะตอมของไนโตรเจนของหมู่อะเซตาไมด์ (acetamide group) และ หมู่อะมิโน (amino group) ที่ตำแหน่งคาร์บอนตัวที่ 2 (C-2) ตามลำดับ ประกอบรวมเข้ากับ โครงสร้างพื้นฐานของโพลีแซ็กคาไรด์ ซึ่งสายโซ่แกนหลักของไคติน-โคโตซานเป็นหน่วยของ แซ็กคาไรด์ต่อกัน ทำให้ไคติน-โคโตซานมีคุณสมบัติเป็นสารที่ไม่มีพิษและเข้ากันได้กับสิ่งมีชีวิต (Takasaki, 2001) จึงเหมาะกับการนำไปให้ประโยชน์ในด้านต่างๆ มากมาย ไคโตซาน หรือ poly[ $\beta$ -(1,4)-2-amino-deoxy-2-D-glucosamine] เป็นอนุพันธ์ที่สกัดได้จากไคติน หรือ poly[ $\beta$ -(1,4)-2-acetamido-2-deoxy-D-glucosamine] โดยผ่านกระบวนการขจัดหมู่อะซิติล(N-acetyl Deacetylation) ออกจากวงแหวนน้ำตาลของไคติน ไคโตซานเป็นอะมิโนโพลีแซ็กคาไรด์เชิงเส้น (Linear aminopolysaccharide) ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของไคติน ไคโตซานและอนุพันธ์ต่างๆ ได้มีการศึกษากันอย่างกว้างขวางและมีการนำไปใช้ประโยชน์หลายด้าน ได้แก่ ทางด้านการแพทย์

และเภสัชวิทยา อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง อุตสาหกรรมกระดาษ ด้านเกษตรกรรม  
อุตสาหกรรมอาหาร และทางสิ่งแวดล้อม เป็นต้น

การควบคุม และการปรับปรุงคุณสมบัติของพอลิเมอร์เหล่านี้ จึงมีความจำเป็นสำหรับนำไปใช้ประโยชน์ทางด้านต่างๆ ที่กล่าวมาข้างต้นได้อย่างเหมาะสมที่สุด กระบวนการทางรังสีเป็นวิธีการหนึ่งนอกเหนือไปจากวิธีการทางเคมีและทางชีววิทยา (Nguyen Quoc Hien, 2000) การฉายรังสีได้นำมาใช้สำหรับการปรับปรุงคุณสมบัติในเรื่องของน้ำหนักโมเลกุล (Molecular weight) และคุณสมบัติทางกายภาพต่าง ๆ ของพอลิเมอร์เหล่านี้ โคลโตซานสามารถปรับเปลี่ยนคุณสมบัติให้เหมาะสมกับการนำไปใช้ประโยชน์โดยการเหนี่ยวนำให้เกิดการเสื่อมสลาย (Degradation) โดยรังสีจากแหล่งกำเนิดโคบอลต์-60 (Co-60) หรือแหล่งกำเนิดรังสีแบบอื่นๆ เพื่อกำหนดให้มีน้ำหนักโมเลกุลตามต้องการ ซึ่งน้ำหนักโมเลกุลนับว่าเป็นปัจจัยที่สำคัญเพราะมีความสัมพันธ์โดยตรงกับคุณสมบัติหลายอย่างของพอลิเมอร์ (Nguyen Quoc Hien, 2000) การเหนี่ยวนำให้เกิดการเสื่อมสลายหรือการตัดของสายโซ่หลัก (main chain scission) ของโพลีแซ็กคาไรด์หรือโคลโตซาน โดยรังสีทำให้ได้โคลโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลลดลง ซึ่งการตัดดังกล่าวเป็นการตัดแบบสุ่ม (random) โคลโตซานที่ได้จึงมีจำนวนหน่วยของแต่ละสายโซ่ (Degree of Polymerization, DP) ไม่เท่ากันรวมกันอยู่ จากการทดลองของนักวิจัยที่ผ่านมาพบว่าโคลโตซานที่มีค่า DP อยู่ในช่วง 7-14 จะมีคุณสมบัติเป็น Phytoalexin inducer มีประโยชน์สำหรับการป้องกันการติดเชื้อจากเชื้อราหลายชนิดในพืชต่างๆ (Nguyen Quoc Hien et al., 2000) โคลโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วงประมาณ 8 kDa และประมาณ 40 kDa มีประโยชน์ทางการเกษตรอย่างมากในเรื่องของการเร่งอัตราการงอกและการเจริญเติบโตของพืช และใช้ในการยับยั้งเชื้อโรคบางชนิดตามลำดับ (Suwalee, 2002; Seiichi, 1999) โคลโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วงระหว่าง 30-41 kDa พบว่ามีความเหมาะสมที่สุดสำหรับเป็น food additive หรือเป็น functional agent (Seung et al., 2000)

ด้วยเหตุที่กล่าวมาข้างต้น จึงจำเป็นต้องทำการศึกษาเพื่อหาน้ำหนักโมเลกุลของโคลโตซานที่เหมาะสมในการเร่งการเจริญเติบโตของพืช เพื่อใช้ในการผลิตพืชผักทางการเกษตรอย่างมีประสิทธิภาพ รวมถึงยับยั้งอายุการเก็บเกี่ยวผลผลิต

## 1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อหาน้ำหนักโมเลกุลโคลโตซานที่เหมาะสมในการเร่งการเจริญเติบโตของพืชจากโคลโตซานโมเลกุลเล็กโดยการย่อยสลายโดยรังสีแกมมา ร่วมกับการแยกโมเลกุลลำดับส่วนโดยวิธีทางเคมี

### 1.3 ขอบเขตของการวิจัย

1.3.1 ทำการย่อยโมเลกุลของไคโตซานโมเลกุลเล็ก โดยใช้รังสีแกมมาและใช้วิธีการตกตะกอนลำดับส่วน (Selective Precipitation) เพื่อให้ได้น้ำหนักโมเลกุล (MW) ของโอลิโกไคโตซานขนาดเล็กร่างๆ กัน

1.3.2 ทดลองใช้โอลิโกไคโตซานจากข้อ 1.3.1 ที่ปริมาณต่างๆ กับผักบางชนิดโดยวิธีไฮโดรโปนิกส์เพื่อหาขนาดโมเลกุลไคโตซานที่เหมาะสมในการเร่งการเจริญเติบโต

### 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

สามารถแยกโอลิโกไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลขนาดเฉพาะในการเร่งการเจริญเติบโตของพืชเพื่อไปใช้ในด้านการเกษตรกรรมของประเทศ

### 1.5 วิธีดำเนินการวิจัย

1.5.1 ศึกษาค้นคว้าทฤษฎี ข้อมูลและผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1.5.2 ทำการเหนี่ยวนำไคโตซานโมเลกุลเล็กให้เกิดการเสื่อมสลาย (Degradation) โดยรังสีแกมมาเพื่อให้ได้โอลิโกไคโตซาน

1.5.3 ทำการแยกลำดับส่วนโมเลกุล (Molecular Weight Fractionation) ด้วยวิธีเลือกการตกตะกอน (Selective Precipitation) และใช้เครื่องมือวัดความหนืด (Viscometer) หา น้ำหนักโมเลกุลที่แน่นอน

1.5.4 นำโอลิโกไคโตซานที่ทราบน้ำหนักโมเลกุลที่แน่นอนแล้วไปทดสอบกับผักบางชนิด ที่ปลูกโดยวิธีไฮโดรโปนิกส์ เพื่อวัดอัตราการเจริญเติบโตของผักที่ทดลองนั้น

1.5.5 วิเคราะห์ สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

### 1.6 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1.6.1 Nguyen Quoc Hien และคณะ (2000) ได้ทำการวิจัยเรื่อง Study on Degradation of Chitosan and preparation of Oligochitosan by Radiation Technique 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) ในกรดอะซิติกเจือจาง ตรวจวัดหาน้ำหนักโมเลกุลจาก viscositric average molecular weigh โดยไคโตซานมี  $M_v$  เริ่มต้น เท่ากับ 60,000



โพลิโกไคโตซานที่ได้พบว่ามีประสิทธิภาพสูงต่อการต่อต้านเชื้อ ( antifungal effect ) และมีผลต่อการเพิ่มการเจริญเติบโตในพืช ( Growth-promotor effect)

1.6.2 W.S. Choi, Y.S. Park, H.J. Park (2002) ได้ทำการวิจัยเรื่อง Preparation of Chitosan Oligomer by Irradiation ซึ่งทำการศึกษาเกี่ยวกับการใช้รังสีในการเหนี่ยวนำให้เกิดโพลิโกไคโตซานเพื่อให้น้ำหนักโมเลกุลลดลง เนื่องจากรังสีไปทำให้เกิดการเสื่อมสลายของสายโซ่ของโพลิโกไคโตซาน จากการทดลองนำโพลิโกไคโตซาน ( 20 หรือ 100 cp. , 2 % ) ไปฉายรังสีในสารละลายกรดอะซิติก 2 % และนำไปฉายรังสีแกมมาจากแหล่งกำเนิดรังสี Co-60 ที่ปริมาณรังสีต่างกัน คือ 2-200 กิโลเกรย์ พบว่า มีการลดลงของ Viscosity Decrease Rate (VDR) ซึ่งสามารถสังเกตเห็นได้ที่ปริมาณรังสีสูงขึ้นไปถึง 10 กิโลเกรย์ แล้วจึงค่อย ๆ ลดลง เมื่อเพิ่มปริมาณรังสีขึ้น จากการทดลองพบว่าโพลิโกไคโตซานที่ได้เป็น dimer และ trimer สูงที่สุด เมื่อฉายรังสีที่ 100 กิโลเกรย์ และใช้สารละลาย 100 cp

1.6.3 Chyagrit Siri-Upathum (2002) ได้ทำการวิจัยเรื่อง Radiation Degradation of Chitosan and its Application for Young Orchid Plants Growth Promotion โดยการศึกษาผลของรังสีที่เหนี่ยวนำให้เกิด Degradation ของโพลิโกไคโตซานและการนำไปใช้ประโยชน์สำหรับเพื่อช่วยในการเจริญเติบโตของกล้ากล้วยไม้ โดยนำโพลิโกไคโตซานไปฉายรังสีในสภาพของแข็ง (chitosan flake) และฉายรังสีโพลิโกไคโตซานในสารละลายกรดอะซิติก 2.5 % ที่ปริมาณ 25,50,75 และ 100 กิโลเกรย์ ตามลำดับ โพลิโกไคโตซานที่ได้นำมาหาค่าน้ำหนักโมเลกุล (MW) ค่า Degree of Polymerization (DP) โดยใช้ capillary method, spectrophotometric และการตกตะกอนโพลิโกไคโตซานด้วยเมทานอล/กรดไฮโดรคลอริก ตามลำดับ ผลที่ได้พบว่าน้ำหนักโมเลกุลมีค่าเท่ากับ 60-100 kDa, DD>80% และ DP เท่ากับ 8-10 เมื่อทำการ neutralization โพลิโกไคโตซานแล้วจึงนำมา dilute เป็น 25,50,75 และ 100 ppm ผสมในวุ้นสำหรับเพาะกล้ากล้วยไม้ พบว่าโพลิโกไคโตซานที่มีความเข้มข้น 50-75 ppm. มีผลต่อการเพิ่มการเจริญเติบโตของกล้ากล้วยไม้คือทำให้มีการเจริญเติบโตของรากเร็วขึ้น

1.6.4 Suwalee Chandkrachang (2002) ได้ทำการวิจัยเรื่อง The Application of Chitin and Chitosan in Agriculture in Thailand โดยศึกษาการนำไคติน-โพลิโกไคโตซานไปใช้ประโยชน์ในงานเกษตรกรรมในประเทศไทย ซึ่งใช้เป็นสารเร่งทางชีวภาพทำให้ผลผลิตทั้งพืชและสัตว์ให้ผลที่สูงขึ้น เช่นผลผลิตข้าวให้ผลผลิตที่ดีขึ้นเมื่อใส่โพลิโกไคโตซานเป็นส่วนผสมในปุ๋ย พบว่ามีประสิทธิภาพในการป้องกันแมลงสูงขึ้นกว่าผลิตภัณฑ์ทางเคมีแบบเดิม อัตราการงอกของเมล็ดสูงขึ้นหลังจากที่แช่เมล็ดลงในสารละลายโพลิโกไคโตซาน โดยพบว่าน้ำหนักโมเลกุลมีผลต่ออัตราการงอกของเมล็ด โดยที่น้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 40,000 ดอลตัน ทำให้อัตราการงอกสูงที่สุด อัตรา

การเจริญเติบโตของกล้วยไม้ที่ฉีดด้วยสารละลายไคโตซานสูงกว่าที่ไม่ได้ฉีดด้วยสารละลายไคโตซาน ทำให้เห็นว่าไคโตซานมีประโยชน์มากในการเร่งการเจริญเติบโตของพืช

1.6.5 Nguyen Anh Dzung และ Nguyen Quoc Hien (2002) ได้ทำการวิจัยเรื่อง Effect of Oligoglucosamine Prepared by Enzyme Degradation on the Growth of Soybean จากการวิจัยพบว่า Oligoglucosamine ที่มีค่า degree of polymer เฉลี่ยอยู่ในช่วง 8-16 โมโนเมอร์ เมื่อละลายในสารละลายแลคติก 1 เปอร์เซ็นต์ แล้วนำเมล็ดถั่วลิสงไปเคลือบก่อนที่จะนำไปเพาะเป็นเวลา 30 นาที พบว่าอัตราการงอกของเมล็ดและอัตราการเจริญเติบโตสูงขึ้นมาก ปริมาณของส่วนที่จับไนโตรเจนสูงขึ้นกว่าที่ควบคุม และอัตราการลดลงของโรคเชื้อราลดลงอย่างเห็นได้ชัด ผลผลิตของถั่วจากการทดลองสูงกว่าที่ควบคุมไว้ 20-30 เปอร์เซ็นต์

1.6.6 Vo Thi Kim และคณะ (2002) 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 Trung และคณะ (2002) ได้ทำการวิจัยเรื่อง Effect of Dissolution and Precipitation by Various Acid Solvents on Chitosan Properties โดยศึกษาถึงผลของการตกตะกอนไคโตซานที่ละลายในสารละลายกรดชนิดต่าง ๆ ด้วยสารละลายไฮเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีต่อคุณสมบัติของไคโตซาน พบว่าคุณสมบัติของไคโตซานหลังจากตกตะกอนไม่เปลี่ยนแปลงไปมากนัก

1.6.8 Rangrong Yoksan (2000) ได้ทำการวิจัยเรื่อง An Approach for Oligochitosan via  $\gamma$ -Radiation System and the Chemical Modification โดยศึกษาผลของการฉายรังสีแกมมาบนไคโตซานทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักโมเลกุลและโครงสร้างทางเคมี จากการวิเคราะห์ด้วยอุปกรณ์วัดความหนืดอุบเบโลห์เดวิสโคมิเตอร์ จะได้ความหนืดลดลงเมื่อปริมาณรังสีแกมมาเพิ่มขึ้น ในขณะที่ผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคยูวีแสดงการเพิ่มขึ้นของหมู่คาร์บอนิลและคาร์บอกซิลจากการสังเกตที่ความยาวคลื่น 247 และ 290 นาโนเมตรตามลำดับ ผลของ FT-IR และ NMR ได้แสดงว่าหลังจากการฉายรังสีวงไพราโนสในโครงสร้างไม่ถูกทำลาย

1.6.9 Rangrong Yoksan และคณะ (2004) ได้ทำการวิจัยเรื่อง Optimal  $\gamma$ -Ray Dose and Irradiation Conditions for Producing Low-Molecular-Weight Chitosan that Retains its Chemical Structure โดยศึกษาจากการเปรียบเทียบการใช้ไคโตซานทั้ง 3 ชนิดที่มีขนาดโมเลกุล  $10^5$  Da มีระดับดีเอซีทีไอเลขชั้น 0.80 0.85 และ 0.90 หลังจากฉายรังสีความรุนแรงของการเสื่อมสลายของไคโตซานแบ่งเป็น 2 ลักษณะคือ ลักษณะแรกมีการลดลงของน้ำหนักโมเลกุล 80% สำหรับปริมาณรังสี 50 กิโลเกรย์ของไคโตซานในสภาพที่เป็นเกล็ดของแข็ง เกร็ดในน้ำ และเกร็ดในสารละลาย  $K_2S_2O_8$  ที่ความเข้มข้น 0.05%, 0.1% และ 1.0% และที่ 20 กิโลเกรย์ของไคโตซานในสภาพที่เป็นเกล็ดในสารละลาย  $H_2O_2$  ที่ความเข้มข้น 0.5%, 1.0% และ 2.0% ลักษณะที่สองเกิดการเสื่อมสลายอย่างช้าๆ มีสภาพคล้ายกับพลาโตจะพบในไคโตซานในสภาวะเป็นเกล็ดในสารละลาย  $K_2S_2O_8$  ที่ความเข้มข้น 2.0% และในสารละลายกรดไคโตซานอะเซติก

1.6.10 Narisa Lehduwi และคณะ (2002) ได้ทำการวิจัยเรื่อง Study on Utilization of Chitinous Materials โดยศึกษาไคโตโอลิโกแซกคาไรด์ที่ผลิตจากการไฮโดรไลซิสของไคโตซาน 20-30%DA ด้วยเฮมิเซลลูเลสที่  $37^\circ C$  เพื่อดูผลของน้ำหนักโมเลกุลของไคโตโอลิโกแซกคาไรด์ต่อการเจริญเติบโตของพืชโดยวัดการงอกของเมล็ดผักพบว่า ในกลุ่มของเมล็ดที่มีการงอกสูงไคโตซานและไคโตโอลิโกแซกคาไรด์ให้ผลไม่แตกต่างกัน แต่ในกลุ่มของเมล็ดที่มีการงอกปานกลางไคโตโอลิโกแซกคาไรด์ที่น้ำหนักโมเลกุล 19000 ที่ความเข้มข้น 3.75 ppm อัตราการงอกของเมล็ดจะเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ และในกลุ่มของเมล็ดที่มีการงอกช้าไคโตโอลิโกแซกคาไรด์ที่น้ำหนักโมเลกุล 13000 ที่ความเข้มข้น 3.75 ppm ใน chinese parsley จะมีอัตราการเจริญเติบโตของเมล็ดสูงสุด

## บทที่ 2

### แนวคิดและทฤษฎี

#### 2.1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับไคติน-ไคโตซาน

ประเทศไทยเป็นประเทศที่ร่ำรวยทางแหล่งทรัพยากรธรรมชาติ โดยเฉพาะทางด้านผลผลิตทางการเกษตร ไคติน-ไคโตซานเป็นพอลิเมอร์ชีวภาพ ที่ได้มาจากของเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมส่งออกกุ้งแช่แข็งของไทย ไคติน-ไคโตซานเป็นพอลิเมอร์ซึ่งเป็นที่น่าสนใจอย่างยิ่งเนื่องจากลักษณะและคุณสมบัติต่างๆ ที่ทำให้ไคติน-ไคโตซานสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้อย่างมากมายหลายด้าน ไคตินเป็นพอลิเมอร์ชีวภาพที่มีมากเป็นอันดับสองรองจากเซลลูโลส พบได้ในสิ่งมีชีวิตหลายชนิดโดยพบในโครงสร้างเปลือกนอกของสัตว์จำพวกกุ้ง ปู และแกนปลาหมึก นอกจากนี้ยังพบในผนังเซลล์ของเห็ดรา และสาหร่ายบางพันธุ์ (จิราภรณ์ เชาวลิขุมาวาสี, 2544: 13; กลุ่มไคติน/ไคโตซาน, 2545) ไคตินเริ่มมีการค้นพบจากงานวิจัยตั้งแต่ปี ค.ศ 1799 ซึ่งเป็นงานวิจัยของนักวิจัยชาวอังกฤษ (Domard, 1996) แต่ยังไม่ได้ค้นพบอย่างชัดเจน และได้รับการค้นพบเป็นครั้งแรกในปี ค.ศ. 1811 โดย Braconnot (กลุ่มไคติน/ไคโตซาน) การทำวิจัยมีเรื่อยมาจนถึงปี ค.ศ.1823 โดยนักวิทยาศาสตร์ชาวฝรั่งเศสชื่อ A.Odier สามารถแยกไคตินได้เป็นครั้งแรก โดย "ไคติน" มาจากคำว่า "Chiton" ในภาษากรีกซึ่งมีความหมายว่าเกราะหุ้ม ปี ค.ศ. 1859 C.Rouget นักวิจัยชาวอังกฤษ สามารถสกัดไคโตซานได้โดยบังเอิญจากการต้มไคตินในสารละลาย NaOH เข้มข้น และให้ชื่อว่า "modified chitin" ซึ่งต่อมาในปี ค.ศ. 1894 F.Hoppe-Seyler ได้ตั้งชื่อใหม่เป็น "ไคโตซาน" ไคติน-ไคโตซานโดยปกติแล้วโครงสร้างจะอยู่ในลักษณะที่เป็นโคพอลิเมอร์ ที่ประกอบกันขึ้นด้วยมอนอเมอร์ 2 ชนิด คือไคตินมอนอเมอร์ และไคโตซานมอนอเมอร์ และมีค่าของหน่วยการทำดีอะเซทิลเลท (Degree of deacetylation) ที่แตกต่างกันออกไปเพื่อเป็นการบอกถึงคุณสมบัติของความเป็นไคตินและไคโตซาน (Munawwa, 1998)

##### 2.1.1 ลักษณะและคุณสมบัติของไคติน-ไคโตซาน

###### 2.1.1.1 แหล่งที่พบไคติน

ไคตินเป็นพอลิเมอร์ชีวภาพชนิดหนึ่งที่เป็นโพลีแซคคาไรด์ ซึ่งพบอยู่ทั่วไปในธรรมชาติโดยจะพบไคตินอยู่ร่วมกับโปรตีน (mucopolysaccharide) ไคตินจัดเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่พบมากเป็นอันดับสองของโลก (Knoor, 1984) ในปี ค.ศ. 1969 Rudall รายงานว่า จะพบไคตินที่ผนังเซลล์ของพืช โดยอยู่แทนที่เซลลูโลสหรืออยู่ร่วมกับเซลลูโลสและพบมากในเปลือกของสัตว์ทะเลที่ไม่มีกระดูกสันหลัง (marine invertebrates) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในสัตว์ซึ่งจะพบ

ไคตินมากบริเวณโครงร่างแข็งภายนอก (Exoskeleton) ของสัตว์ในไฟลัม Arthropoda จะพบถึงร้อยละ 85 โดยเฉพาะอย่างยิ่งใน Class Crustacean เช่น กุ้ง กั้ง ปู ตลอดจนใน Class Insecta ได้แก่ ผีเสื้อ แมลงสาบ เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบใน เห็ด รา และยีสต์อีกด้วย ไคตินที่พบในแหล่งต่างๆ ข้างต้นจะพบในปริมาณที่ต่างกัน (Knoor, 1984; กลุ่มไคติน/ ไคโตซาน, 2545)

แหล่งสำคัญของไคตินที่ใช้ในการผลิตในอุตสาหกรรมคือเปลือกกุ้งและปู ซึ่งเป็นของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปอาหารทะเล โดยพบว่าจะมีไคตินในปริมาณร้อยละ 10-15 (Austin P.R., 1977) เมื่อคิดเป็นปริมาณต่อปีของสิ่งเหลือทิ้งจากการผลิตและแปรรูปกุ้งและปูทั่วโลกจะให้ไคตินถึง 150 ล้านกิโลกรัม (Knoor, 1984)

### 2.1.1.2 การสกัดแยกไคติน-ไคโตซาน

การสกัดไคติน โดยทั่วไปประกอบด้วย 2 ขั้นตอนหลักคือ ขั้นตอนการกำจัดแร่ธาตุ (demineralization) และขั้นตอนการกำจัดโปรตีน (deproteinization) ทั้งสองขั้นตอนนี้สามารถทำอย่างใดอย่างหนึ่งก่อนหรือหลังก็ได้ โดยในขั้นตอนการสกัดแร่ธาตุ จะเป็นการกำจัดแคลเซียมคาร์บอเนตเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งนิยมใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเจือจาง อาจมีความเข้มข้นถึงร้อยละ 10 เพื่อเปลี่ยนแคลเซียมคาร์บอเนตให้เป็นแคลเซียมคลอไรด์ และในขั้นตอนการกำจัดโปรตีนนิยมใช้ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Whistler R.S. และ BeMiller J.N., 1962) คุณภาพของไคตินจะมีผลต่อคุณภาพของไคโตซานที่ผลิตได้ เนื่องจากไคตินเป็นสารตั้งต้นในการผลิตไคโตซาน Bough และคณะ รายงานว่า สมบัติของไคตินที่มีผลต่อการกำจัดหมู่ Acetyl ที่สำคัญ ได้แก่ ขนาดอนุภาคของไคติน (Particle size) และความหนาแน่น (density) ของไคติน โดยทั่วไปสมบัติและคุณภาพของไคติน จะขึ้นอยู่กับปัจจัยสำคัญ 2 อย่าง คือ แหล่งของไคตินหรือวัตถุดิบที่นำมาแยกไคติน และกรรมวิธีที่ใช้ในการแยกไคติน

ไคโตซาน เป็นอนุพันธ์ของไคตินที่เตรียมได้จากการดัดแปรไคตินด้วยวิธีการกำจัดหมู่อะซิติก ( $-\text{CO}-\text{CH}_3$ ) หรือกระบวนการดีอะเซทิลเลชัน (Deacetylation) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 ของวงแหวนน้ำตาลของไคตินเหลือเป็นหมู่เอมีโนอิสระ ( $-\text{NH}_2$ ) ด้วยสารละลายด่างร้อนภายใต้สภาวะที่กำหนด ซึ่งจะทำได้ผลิตภัณฑ์ที่มีค่าปริมาณการกำจัดหมู่อะซิติก (Degree of Deacetylation, DD) เท่ากับค่าคงที่ค่าหนึ่ง บางครั้งเรียกไคโตซานว่า "Deacetylated Chitin" โดยทั่วไปกระบวนการดังกล่าวจะเกิดขึ้นไม่สมบูรณ์คือการกำจัดหมู่อะซิติกจะไม่เกิดขึ้น 100 เปอร์เซ็นต์ (Fully deacetylated chitosan) (Muzzarelli, 1985; Ravi) โดยทั่วไปถ้าหมู่อะซิติกถูกตัดหรือหลุดไปประมาณร้อยละ 60 ไคตินจะถูกเรียกว่าไคโตซาน Shahidi และ



Synowiecki (1992) พบว่าร้อยละของผลผลิตไคโตซานที่เตรียมได้จากไคตินจะมีค่าอยู่ระหว่างร้อยละ 72.25-77.00

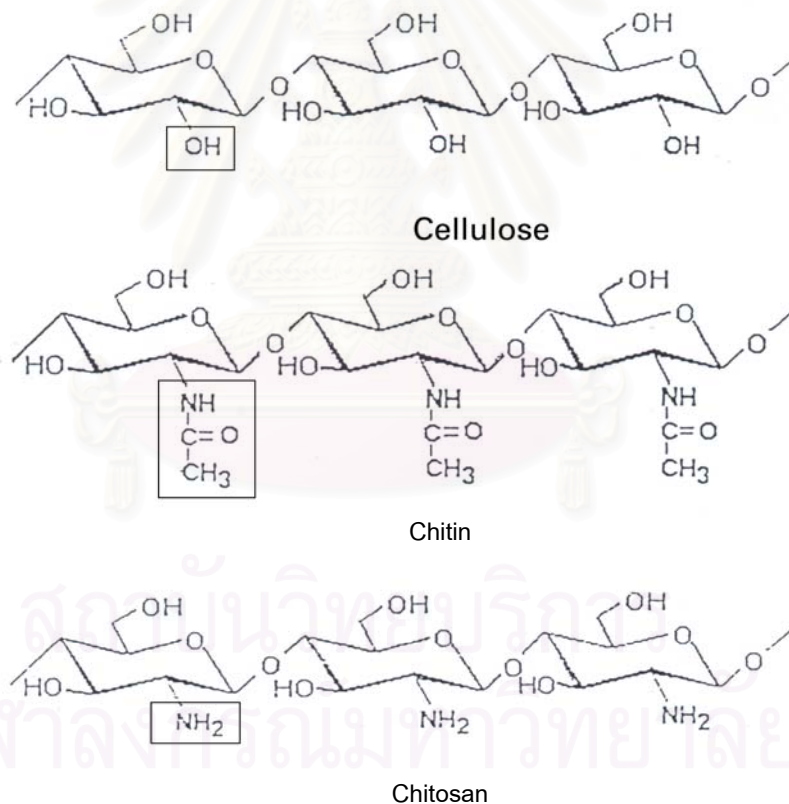
การเตรียมไคโตซานมีหลายวิธีด้วยกัน ซึ่งก็จะทำให้ได้ค่าร้อยละของการขจัดหมู่อะซิทิลต่างๆ กันทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของสารละลายต่างๆ ที่ใช้ ความเข้มข้นของสารละลายต่างๆ อุณหภูมิ และเวลาที่ใช้ โดยทั่วไปสารละลายต่างๆ ที่นิยมใช้ในการขจัดหมู่อะซิทิลคือ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Mima et al., 1983) และสารละลายโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ (Moorjani et al., 1975) ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 40-60 โดยน้ำหนัก สำหรับผลของเวลาและอุณหภูมิต่อปริมาณหมู่อะมิโนอิสระของไคโตซานพบว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมในการขจัดหมู่อะซิทิลคือ ช่วง 90-110 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียสเมื่อเวลาในการขจัดหมู่อะซิทิลมากขึ้น หมู่อะมิโนอิสระจะเพิ่มขึ้นโดยจะมีปริมาณสูงสุดภายหลัง 5 ชั่วโมง (Yang, 1984)

### 2.1.1.3 สูตรโครงสร้างและคุณสมบัติของไคติน-ไคโตซาน

ไคตินมีชื่อทางเคมีว่า Poly- $\beta$ -(1,4)-2-acetamido-2-deoxy-D-glucose มีสูตรโครงสร้างทางเคมีแสดงในรูปที่ 2.1 (Stelmock et al., 1985) ไคตินมีโครงสร้างคล้ายคลึงกับเซลลูโลส ซึ่งไคตินต่างจากเซลลูโลส คือที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 ของวงแหวนน้ำตาลของเซลลูโลสเป็นหมู่ hydroxyl (-OH) ในขณะที่ไคตินเป็นหมู่ acetamido (-NHCOCH<sub>3</sub>) นอกจากนี้คุณสมบัติทางเคมียังแตกต่างกันด้วย ในไคตินจึงเป็นพอลิเมอร์ของ N-acetylglucosamines นับพันหน่วย (Carroad and R.A. Tom, 1978) ซึ่งเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ  $\beta$ -(1,4) อย่างไรก็ตาม ไคตินในธรรมชาติ จะมีบางหน่วยที่ไม่มีหมู่ acetyl (-COCH<sub>3</sub>) Muzzarelli (1985) รายงานว่าโดยเฉลี่ยมีประมาณร้อยละ 10 ในสายพอลิเมอร์

สูตรอย่างง่ายของไคติน คือ (C<sub>6</sub>H<sub>13</sub>O<sub>5</sub>N)<sub>n</sub> โดยที่ n มักจะมีค่าอยู่ในช่วง 100-10,000 (Austin, 1977) ไคตินประกอบด้วยคาร์บอนร้อยละ 47.29 ไฮโดรเจนร้อยละ 6.45 ไนโตรเจนร้อยละ 6.89 และออกซิเจนร้อยละ 39.37 (Budavari, 1976) และองค์ประกอบของไนโตรเจนในไคตินสามารถเปลี่ยนแปลงได้อยู่ในช่วง 5-8 เปอร์เซ็นต์ (Ravi Kumar) ไคตินมีลักษณะเป็นสีขาว แข็ง ไม่ยืดหยุ่น ไคติน เป็นของแข็งที่มีคุณสมบัติเป็น hydrophobic ที่สูงมาก (Muzzarelli, 1973) จึงไม่สามารถละลายน้ำ ไม่ว่าจะ เป็น กรดเจือจาง ต่างทั้งเจือจางและเข้มข้น อัลกอฮอล์ และตัวทำละลายอินทรีย์อื่น ๆ ทั้งนี้เนื่องจากไคตินเป็นสารโมเลกุลยาวที่ไม่มีความเป็นอิเล็กโทรไลต์ (non-electrolytic polymer) แต่สามารถละลายได้ในกรดแก่ เช่น กรดไฮโดรคลอริก กรดซัลฟูริก กรดฟอสฟอริก ความเข้มข้นร้อยละ 85 กรดไนตริกความเข้มข้นร้อยละ 50 และกรดฟอสฟอริกปราศจากน้ำ (Budavari, 1976; Muzzarelli, 1973) และสารละลาย

ฟลูออโรอัลกอฮอล์ (Austin et al., 1981) อย่างไรก็ตาม Knorr (1984) Austin และคณะ (1981) รายงานว่า ตัวทำละลายเหล่านี้มีผลทำให้โมเลกุลของไคตินเกิดปฏิกิริยาการเสื่อมสลาย (degradation) ได้ รวมทั้งการนำตัวทำละลายเหล่านี้ ไปใช้งานก็ค่อนข้างยุ่งยาก ต่อมา Austin (1977; 1981) ได้ค้นพบระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับไคติน คือ N,N-dimethyl acetamide และ N-methyl pyrrolidone หรือของผสมของตัวทำละลายทั้งสองที่กล่าวมา ร่วมกับ Lithium Chloride (LiCl) ปริมาณเล็กน้อยประมาณร้อยละ 5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ทำให้สามารถนำ ไคตินไป extrude ในอัลกอฮอล์หรืออะซิโตนได้เป็นเส้นใยที่ต่อเนื่อง นอกจากนี้ ยังพบว่าระบบตัวทำละลายดังกล่าวสามารถปรับสภาพของไคตินที่สูญเสียสภาพธรรมชาติ (denature) ไปแล้วให้กลับคืนสู่สภาพเดิมได้ โดยมีการทดลองวัดค่า specific rotation ของไคติน ก่อนและหลังละลายใน N,N-dimethyl acetamide และ LiCl แล้ว พบว่าสามารถเปลี่ยนค่า specific rotation ของไคตินให้กลับสู่ค่าเดิมได้



รูปที่ 2.1 สูตรโครงสร้างทางเคมีของ เซลลูโลส ไคติน ไคโตซาน

โคโตซานมีชื่อทางเคมีว่า Poly- $\beta$ -(1,4)-2-amino-2-deoxy-D-glucose มีสูตรโครงสร้างทางเคมีดังแสดงในรูปที่ 2.1 ซึ่งมีลักษณะเป็น Linear Polyamine โดยจะเห็นว่า โคโตซานต่างจากโคตินคือ ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 ของวงแหวนน้ำตาลของโคโตซานซึ่งเป็นหมู่ amino ( $-\text{NH}_2$ ) ในขณะที่โคตินเป็นหมู่ acetamido ( $-\text{NHCOCH}_3$ ) (Shahdi และ Synowiecki, 1992) และสูตรอย่างง่ายของโคโตซานคือ  $(\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_4\text{N})_n$  ประกอบด้วยคาร์บอนร้อยละ 44.7 ไฮโดรเจนร้อยละ 6.8 และไนโตรเจนร้อยละ 8.7 (Muzzarelli, 1977) โคโตซานมีหมู่ amino ( $-\text{NH}_2$ ) ตรงบริเวณที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 และหมู่ไฮดรอกซิล ( $-\text{OH}$ ) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 6 ที่ไวต่อปฏิกิริยา โคโตซานมีสมบัติที่แตกต่างจากโพลีแซคคาไรด์ หรือสารไฮโดรคอลลอยด์ ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงอื่นๆ คือ โคโตซานมีสมบัติเป็น cationic polyelectrolyte เนื่องจากโคโตซานมีหมู่ amino อิสระ ( $-\text{NH}_2$ ) และรับโปรตอนมาได้ง่ายที่ตำแหน่งคาร์บอนตัวที่ 2 ดังกล่าว ทำให้ โคโตซานสามารถละลายได้ในสารละลายกรด ได้แก่ สารละลายกรดอินทรีย์ต่างๆ ซึ่งอ่อนมากๆ เช่น กรดอะซิติก (acetic) และกรดฟอร์มิก (formic) เป็นต้น (Ravi) สำหรับกรดไฮโดรคลอริก โคโตซานสามารถละลายได้เมื่อมีการให้ความร้อน และการกวน (Muzzarelli, 1973) สารละลายกรดอ่อนชนิดอื่นๆ ที่โคโตซานสามารถละลายได้มีดังนี้ กรดโพรพิโอนิก (propionic) กรดมาลินิก (malonic) กรดซัคซินิก (succinic) กรดอะดิพิก (adipic) กรดแลคติก (lactic) กรดไพรูวิก (pyruvic) กรดมาลิก (malic) กรดทาร์ทาริก (tartaric) และกรดซิตริก (citric) (Filar และ Wirick, 1978; พีรพงศ์, 2545) Knorr (1984) รายงานว่า ตัวทำละลายที่ดีที่สุดของโคโตซาน คือ สารละลายกรดฟอร์มิก ความเข้มข้นตั้งแต่ร้อยละ 0.2-100 โดยปริมาตร นอกจากนี้โคโตซานยังสามารถละลายได้ใน สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเจือจาง สารละลายกรดไนตริกเจือจาง และละลายได้เล็กน้อยใน สารละลายกรดฟอสฟอริก ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยปริมาตร แต่ไม่ละลายในตัวทำละลายที่เป็นกลางหรือเป็นด่าง ได้แก่ ตัวทำละลายอินทรีย์โดยทั่วไป เช่น dimethyl formamide และ dimethyl sulfoxide รวมทั้งสารละลายกรดซัลฟูริก ไม่ว่าที่ความเข้มข้นใดที่อุณหภูมิห้อง ไม่สามารถละลายได้ในน้ำที่มี ค่าความเป็นกรดต่าง (pH) สูงกว่า 6.5 (Englewood และ Fort Lee) เมื่อละลายโคโตซานในสารละลายกรดอ่อนจะทำให้ได้สารละลายโคโตซานความหนืดต่างๆ กัน ขึ้นกับน้ำหนัก ซึ่งตัวอย่างของโคโตซานที่มีค่าความหนืดต่างกันจะมีองค์ประกอบทางเคมีต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบทางเคมีของตัวอย่างโคโตซานที่ระดับความหนืดต่าง ๆ (Filar and Wirick, 1978)

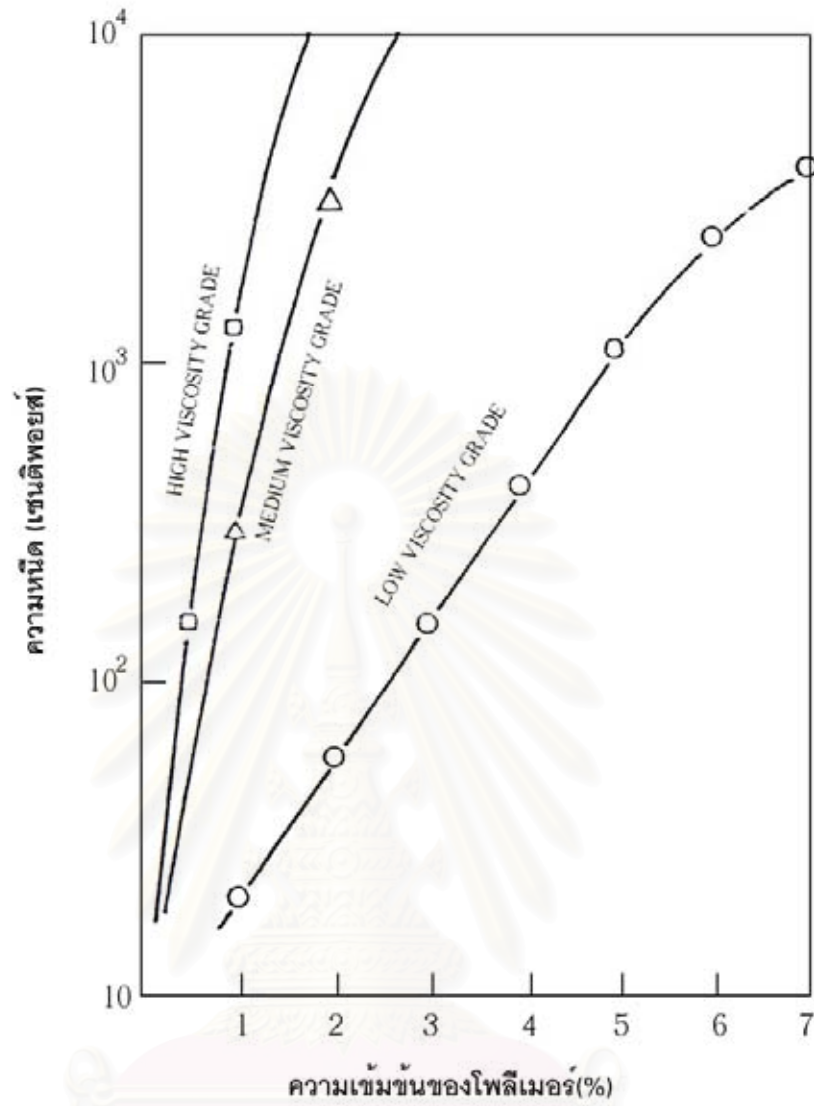
องค์ประกอบทางเคมี	ชนิดของโคโตซาน		
	ความหนืดสูง	ปานกลาง	ความหนืดต่ำ
ปริมาณความชื้น (%)	9.8	2.3	8.1
ปริมาณไนโตรเจน (%)	8.17	7.79	8.41
ปริมาณเถ้า (%)	1.9	0.81	1.2
ปริมาณหมู่อะมิโน (%)	7.34	7.76	8.13
ปริมาณหมู่อะซีติล (%)	4.66	-	3.89
ร้อยละการขจัดหมู่อะซีติล (%)	79.5	82.5	86.0
ความหนืด (เซนติพอยส์)	2780 <sup>a</sup>	180 <sup>a</sup>	50 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> 1% โคโตซานในกรดอะซีติกความเข้มข้นร้อยละ 1

<sup>b</sup> 2% โคโตซานในกรดอะซีติกความเข้มข้นร้อยละ 2

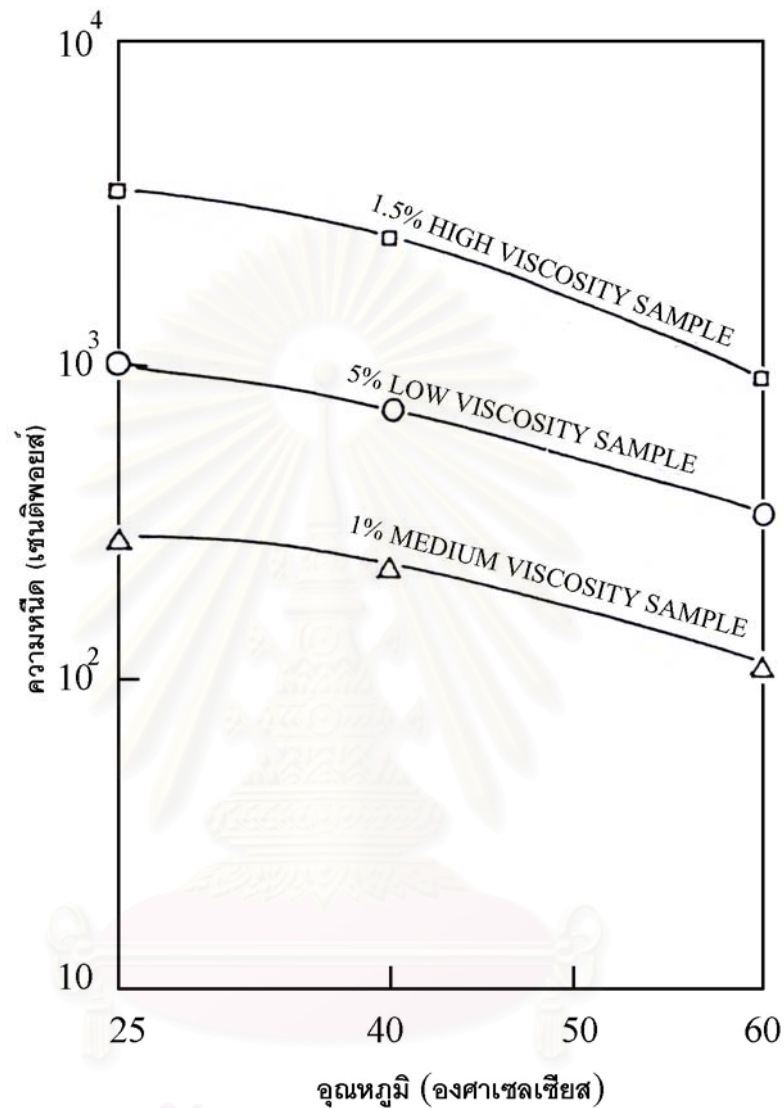
ค่าความหนืดของโคโตซานทั้ง 3 ชนิดเป็นค่าที่ขึ้นกับความเข้มข้นของพอลิเมอร์และอุณหภูมิ ซึ่ง Filar and Wirick (1978) เสนอผลของความเข้มข้นของพอลิเมอร์และอุณหภูมิต่อค่าความหนืด ดังแสดงในรูปที่ 2.2 และ 2.3 ตามลำดับ ซึ่งพบว่าความหนืดของสารละลายโคโตซานจะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของพอลิเมอร์เพิ่มขึ้น และความหนืดของสารละลายโคโตซานจะลดลงเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น ในโคโตซานทั้ง 3 ชนิด ค่าความหนืดสามารถปรับให้เหมาะสมกับการใช้งานด้านต่างๆ ได้โดยการควบคุมปัจจัยต่างๆ สำหรับในกระบวนการต่างๆ ช่วงของค่าความหนืดจะอยู่ในช่วง 10-5,000 เซนติพอยส์ (Munawwar, 1998)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 2.2 ผลของความเข้มข้นของพอลิเมอร์ ต่อค่าความหนืดของสารละลายไคโตซาน 3 ชนิด ที่มีค่าเป็นกรดต่างเท่ากับ 4 และอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส





รูปที่ 2.3 ผลของอุณหภูมิต่อค่าความหนืดของสารละลายโคโคซาน 3 ชนิด ที่มีความเป็นกรดต่างเท่ากับ 4 และละลายในกรดอะซิติก

สำหรับคุณสมบัติความเป็นประจุบวกก็เป็นสิ่งที่น่าสนใจมากสำหรับโคโคซาน ซึ่งโคโคซานมีคุณสมบัติความเป็นประจุบวกโดยธรรมชาติในสารละลายกรด ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่มีความเกี่ยวข้องกับพอลิเมอร์อื่นๆ ซึ่งโดยปกติจะมีสภาพเป็นกลางหรือมีประจุเป็นลบ ทำให้โคโคซานสามารถนำไปใช้สำหรับงานด้านการบำบัดน้ำเสีย ประจุบวกของโคโคซานมีปฏิสัมพันธ์กับของแข็งอินทรีย์และผิวของของแข็ง ซึ่งโดยปกติแล้วจะเป็นประจุลบ ความเป็นประจุบวกยังช่วยในการควบคุมความสามารถในการละลายด้วย การนำโคโคซานไปใช้ประโยชน์นั้นจะ

พิจารณาจากหัวใจหลักในเรื่องของการละลายน้ำ การควบคุมความสามารถของการละลายจึงมีความสำคัญในอันดับแรกสำหรับการนำไปใช้ประโยชน์ โดยทั่วไปความสามารถในการละลายของ heteroglucans ได้รับอิทธิพลจากขั้วไฟฟ้าและขนาดของมอโนเมอร์ การกระจายของมอโนเมอร์ในสายโซ่ ความยืดหยุ่นของสายโซ่ ความเป็นกึ่งก้านสาขาของสายโซ่ ความหนาแน่นของประจุ และน้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์

### 2.1.2 ประโยชน์ของไคติน-ไคโตซาน

ปัจจุบันได้มีการค้นคว้าวิจัยนำไคติน-ไคโตซานไปใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลาย ได้แก่ ทางด้านการแพทย์ (หนังเทียมรักษาแผลไฟไหม้ น้ำร้อนลวก รักษาเหงือกฟัน ควบคุมการละลายของยา) ทางด้านอาหารและเครื่องดื่ม (เป็นสารกันบูด เคลือบอาหารและผักผลไม้เพื่อการเก็บรักษาให้ยาวนานขึ้น) ด้านการเกษตร (การเคลือบเมล็ด ใบ และผล ส่วนผสมในอาหารสัตว์ ยาฆ่าแมลง ยาฆ่าหรือยับยั้งเชื้อราและแบคทีเรีย กระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช ควบคุมการปลดปล่อยของปุ๋ย) เครื่องสำอางและผลิตภัณฑ์บำรุงผิว (โลชั่นบำรุงผิว ครีมบำรุงผิว ครีมกันแดด ครีมถนอมผิวรักษาความชื้น แชมพู ครีมนวดผม สบู่ ครีมอาบน้ำ) การบำบัดน้ำเสีย (ใช้ความสามารถในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับโลหะหนักในอุตสาหกรรมน้ำดื่ม บำบัดน้ำเสียในสระว่ายน้ำและในโรงงานอุตสาหกรรม) อุตสาหกรรมสิ่งทอและเยื่อกระดาษ (นำเส้นใยมาทอเป็นผืนผ้าตัดเย็บเสื้อผ้าด้านทางแบคทีเรีย ผสมเยื่อกระดาษทำให้กระดาษเหนียวและแข็งแรง) ด้านเทคโนโลยีชีวภาพ (ทำสารห่อหุ้มเอนไซม์และเซลล์ต่างๆ ทำขั้วไฟฟ้าทางชีวภาพ และการแยกชีวภาพทำแผ่นเยื่อสำหรับการกรองชั้นสูง) เป็นต้น (กลุ่มไคติน/ไคโตซาน, 2545; จิราภรณ์, 2544; รัฐ พิษณุวงกูร, 2545; Jian et al., 2003; Suchiwa et al., 2002; Le Hai et al., 2003; Majeti and Ravi, 2000; t. Kume et al., 2002; Jun Cai et al., 2006; Khin et al., 2006)

## 2.2 การเหนี่ยวนำให้เกิดการเสื่อมสลายของไคโตซานด้วยรังสี (วรรณวิมล ปาสาณพันธ์, 2546)

เนื่องจากไคโตซานเป็นพอลิเมอร์เชิงเส้นที่ต่อกันเป็นสายโซ่ที่ยาว ส่งผลให้ไคโตซานมีน้ำหนักโมเลกุลสูงซึ่งเป็นปัจจัยที่สำคัญมากสำหรับการนำไคโตซานไปใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ การทำให้เกิดการเสื่อมสลาย (Degradation) ของไคโตซานเป็นหนทางที่จะทำให้ได้ไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำลงรวมทั้งเป็นการเตรียมโอลิโกไคโตซาน (Oligochitosan) ซึ่งเป็นไคโตซานที่น้ำหนักโมเลกุลต่ำ ซึ่งมีหน่วยของ glucosamine หรือค่า DP = 8 -16 (Nguyen, 2002) กระบวนการเสื่อมสลายของไคโตซานสามารถทำได้ทั้งวิธีทางเคมี โดยใช้ Oxidative agent หรือ

จะเป็นวิธีทางชีววิทยาโดยการใช้ออนไซม์ แต่ทั้งสองวิธีดังกล่าวมีของเสียหลายประการ คือ สำหรับการใช่วิธีทางเคมีผลผลิตที่ได้ต่ำและมีการปนเปื้อนของสารเคมีด้วย ส่วนวิธีทางชีววิทยาเป็นวิธีที่ช้า รวมทั้งผลผลิตที่ต่ำ การใช้รังสีในการเหนี่ยวนำให้เกิดการเสื่อมสลาย (Radiation Degradation) จึงเป็นทางเลือกที่น่าสนใจสำหรับการเตรียมโคโคซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำตามที่ต้องการ เนื่องจากการใช้รังสีเป็นวิธีที่ช่วยในการประหยัดพลังงาน สะดวกรวดเร็ว ให้ผลที่มีประสิทธิภาพ ไม่มีการปนเปื้อนในสารตัวอย่างโคโคซาน รวมทั้งไม่ส่งผลกระทบต่อสภาวะแวดล้อม

### 2.2.1 ต้นกำเนิดรังสี

ต้นกำเนิดรังสีที่ใช้สำหรับงานวิจัยในด้านการปรับปรุงคุณสมบัติของพอลิเมอร์มีหลายแบบ ได้แก่ ต้นกำเนิดรังสีแกมมาจากโคบอลต์-60 (Co-60) ซึ่งได้จากการกระตุ้นโคบอลต์-59 (Co-59) ด้วยนิวตรอนในเครื่องปฏิกรณ์ โคบอลต์-60 สลายตัวให้รังสีแกมมา 2 พลังงาน คือ 1.33 และ 1.17 MeV ซีเซียม-137 (Cs-137) ซึ่งได้ผลจากปฏิกิริยาฟิชชันในเครื่องปฏิกรณ์ ซีเซียม-137 สลายตัวให้พลังงานรังสีแกมมา 0.662 MeV ต้นกำเนิดรังสีเอกซ์, Electron Beam จาก Electron Accelerators เป็นต้น สำหรับต้นกำเนิดรังสีแกมมาจากโคบอลต์-60 เป็นต้นกำเนิดรังสีที่นิยมใช้สำหรับงานทางด้านปรับปรุงคุณสมบัติของวัสดุ เนื่องจากมีพลังงานและอำนาจในการทะลุทะลวงสูง (Singh and Silverman, 1992)

### 2.2.2 การเสื่อมสลายของพอลิเมอร์โดยการเหนี่ยวนำโดยรังสี

พื้นฐานของทฤษฎีการเสื่อมสลายโดยรังสีของพอลิเมอร์ คือการแตกหักของสายโซ่ (degradation) ซึ่งมีลักษณะการเกิดเป็นแบบสุ่ม (random process) ไปตามสายโซ่ของพอลิเมอร์

#### 2.2.2.1 ความหนาแน่นของการเสื่อมสลาย (The degradation density, $p$ )

ความหนาแน่นของการเสื่อมสลาย หมายถึง ส่วนของหน่วยมอโนเมอร์รวมที่เสื่อมสลายไปโดยปริมาณรังสีที่ดูดกลืน (radiation absorbed dose) และ

$$p = p_0 D \quad 2.1$$

เมื่อ  $p_0$  คือสัดส่วนของหน่วยของสายโซ่หลักที่เสื่อมสลายไปต่อหน่วยปริมาณรังสี และสำหรับตัวอย่างพอลิเมอร์ที่ประกอบด้วยหน่วยของมอโนเมอร์ เท่ากับ  $U_0$  หน่วย จำนวนหน่วยที่เสื่อมสลายไปจะเท่ากับ  $pU_0$

### 2.2.2.2 ผลที่เกิดจากการเสื่อมสลายของพอลิเมอร์โดยรังสี (Radiation degradation yield, $G_d$ )

Radiation degradation yield ( $G_d$ ) คือจำนวนหน่วยของสายโซ่หลักที่เสื่อมสลายไปต่อปริมาณพลังงานรังสีที่ดูดกลืนไว้ 100 eV

$p_0$  สามารถแสดงในรูปของ  $G_d$  ได้ ถ้าปริมาณรังสีที่ดูดกลืนแสดงในหน่วย kGy (1 kGy = 0.1 Mrad =  $6.24 \times 10^{18}$  eV/g or  $9.24 \times 10^{18}$  w  $1.66 \times 10^{-24}$  =  $1.04 \times 10^{-5}$  w eV ต่อหน่วยของสายโซ่โมโนเมอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลเป็น w พลังงานที่ถูกดูดกลืนไว้จะทำให้เกิดหน่วยที่เกิดการเสื่อมสลายหรือ  $p_0$  ซึ่งตรงตามคำจำกัดความ ดังนั้นพลังงาน 100 eV จะทำให้เกิดหน่วยที่เสื่อมสลายเท่ากับ  $100p_0/1.04 \times 10^{-5}$  w eV จะได้

$$G_d = 0.96 \times 10^7 p_0/w \quad 2.2$$

### 2.2.2.3 การคำนวณค่า Radiation degradation yield ( $G_d$ )

Radiation degradation yield ( $G_d$ ) คือจำนวนหน่วยของสายโซ่หลักที่เสื่อมสลายไปต่อปริมาณพลังงานรังสีที่ดูดกลืนไว้ 100 eV ซึ่งสามารถคำนวณได้ตามสมการ (Pawadee, 2000)

$$1/M_n' - 1/M_n = G_d \times 1.04 \times 10^{-7} \times D \quad 2.3$$

เมื่อ  $M_n$  คือ น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยของพอลิเมอร์คิดในรูปจำนวน (the number average molecular weight) เริ่มต้น

$M_n'$  คือ น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยของพอลิเมอร์คิดในรูปจำนวน (the number average molecular weight) หลังจากฉายรังสี

D คือ ปริมาณรังสีที่ดูดกลืน (Radiation absorbed dose, kGy)

เมื่อหาค่า  $M_n$  และ  $M_n'$  ได้แล้วนำไปเขียนกราฟระหว่าง  $(1/M_n' - 1/M_n)$  กับ ปริมาณรังสี (D) สามารถหาค่า  $G_d$  ได้จากความชันของกราฟ

การฉายรังสีในสภาพที่เป็นของแข็งพบว่ามีความ  $G_d$  เท่ากับ 1.10 (Muraki, 1993) และโคโตะซาน 10 เปอร์เซนต์ในสารละลายกรดอะซิติก 2.5 เปอร์เซนต์ มีค่า  $G_d$  เท่ากับ 1.7 ค่า  $G_d$  ในสารละลายโคโตะซานที่สูงขึ้นกว่าในสภาพของแข็งนี้สามารถกำหนดได้โดยการกระจายตัวของอนุมูลที่ว่องไวจากปฏิกิริยา radiolysis ที่เกิดขึ้นเนื่องจากสารละลายที่ใช้

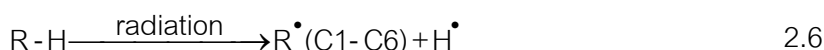
### 2.2.3 ผลของรังสีที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีของไคโตซาน

เมื่อฉายรังสีพอลิเมอร์หรือไคโตซานในสถานะของแข็ง กลไกทางกายภาพมีลักษณะเช่นเดียวกับโมเลกุลอินทรีย์อย่างง่ายทั่วไป คือ เกิดแตกตัวเป็นไอออน (ionization) และเกิดสถานะกระตุ้น (excitation) ของโมเลกุลพอลิเมอร์ ซึ่งผลที่เกิดขึ้นโดยตรง (direct effect) เกิดขึ้นในช่วงเวลาที่ต่ำกว่า  $10^{-2}$  วินาที ทั้งไอออนและผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากสถานะกระตุ้น จะทำให้เกิดกลไกการตัดขาดของสายโซ่ (scission) ของพันธะเคมีภายในระยะเวลาสั้น ๆ คือ  $10^{-6}$  วินาที ผลทำให้เกิดอะตอมของไฮโดรเจน และอนุมูลอิสระที่คาร์บอนตำแหน่งกลาง ปฏิกริยาเคมีที่เกิดขึ้นนั้นขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย ได้แก่ ธรรมชาติของพอลิเมอร์ สถานะแวดล้อม และสถานะของการฉายรังสี เช่น อัตราปริมาณรังสี โดยปกติการเปลี่ยนแปลงทางเคมีที่สำคัญเนื่องจากการเหนี่ยวนำโดยรังสี คือ การเกิดโครงร่างแหสามมิติ (crosslinking) และการเกิดการตัดของสายโซ่หลัก (main chain scission) หรือ degradation ซึ่งการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวจะนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของพอลิเมอร์ (Sanil, 2001)

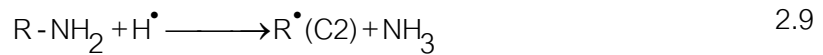
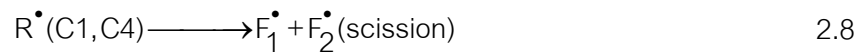
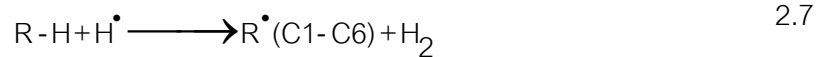
การเกิด degradation โดยการฉายรังสีทำให้เกิดการตัดของสายโซ่แบบสุ่ม ทำให้น้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานลดลง เนื่องจากการแตกออกของสายโซ่ซึ่งเป็นผลจากการเสื่อมสลายโดยทั่วไปของพอลิเมอร์ ใน morphology ของพอลิเมอร์จะทำให้มีกระบวนการที่ซับซ้อนซึ่งในบริเวณดังกล่าวจะเกิด crosslinking ของพอลิเมอร์ และสำหรับอนุมูลที่มีชีวิตยาวจะเกิดขึ้นในบริเวณ crystalline จะสามารถเปลี่ยนไปเป็นเปอร์ออกไซด์ได้อย่างช้าๆ เนื่องจากการรวมตัวของออกซิเจนกับอนุมูลอิสระของพอลิเมอร์ ดังปฏิกิริยาที่ 2.4 และ 2.5



ทำให้เกิดปฏิกิริยาของการเสื่อมสลายขึ้น ดังนั้นการเกิดการเสื่อมสลายของพอลิเมอร์จะเกิดขึ้นในบริเวณที่มี crystalline สูง และฉายรังสีที่อัตราปริมาณรังสีต่ำ โดยฉายรังสีในสถานะที่มีออกซิเจนหรือในอากาศ (Sanil, 2001) การเสื่อมสลายของพอลิเมอร์ในสภาพของแข็งเกิดขึ้นเนื่องจาก direct และ indirect effect ของปฏิกิริยา oxidation การเสื่อมสลายของไคโตซานจะกำหนดโดย direct effect ของรังสีมากกว่า indirect effect ของปฏิกิริยา oxidation (Tokuta and Tamura, 1999) กลไกการเสื่อมสลายของไคโตซานที่ฉายรังสีในสถานะของแข็ง สามารถแสดงได้ดังนี้ (Ulanski and Rosiak, 1992)







R-H และ R-NH<sub>2</sub> คือ chitosan macromolecule

R<sup>•</sup> (Cn) คือ chitosan macroradical ที่ตำแหน่งอะตอมคาร์บอน Cn

F<sub>1</sub><sup>•</sup>, F<sub>2</sub><sup>•</sup> คือ fragments ของสายโซ่หลัก หลังจากเกิด scission

จากกลไกดังกล่าวมีเพียงส่วนของ macroradical (ซึ่งอยู่ที่ตำแหน่ง C1 และ C4) ที่จะเปลี่ยนรูปและนำไปสู่การเกิดการตัดของสายโซ่ที่ตำแหน่ง 1-4 glycosidic bond ซึ่งถือว่าการตัดของสายโซ่ที่สมดุล สำหรับปฏิกิริยาของ macroradical อื่นๆ เช่นการหลุดออกของ amino group ในปฏิกิริยาที่ 6 จะไม่นำไปสู่การเกิดการตัดของสายโซ่ การตัดของของสายโซ่ที่พันธะ 1-4 glycosidic bond ของไคติน-ไคโตซานโคพอลิเมอร์ แสดงดังรูปที่ 2.4



รูปที่ 2.4 แสดงกลไกการเกิดการตัดของสายโซ่หลักของไคติน-ไคโตซาน

นอกจากนี้ยังมีการเปลี่ยนแปลงสีในไคโตซานที่ผ่านการฉายรังสีอีกด้วย เนื่องจากการเกิดพันธะคู่ขึ้นเนื่องจากการฉายรังสี (Sanil, 2001) จากปกติไคโตซานสีเหลืองจะเปลี่ยนไปเป็นสีเหลืองเข้มขึ้นจนถึงสีส้มหรือสีน้ำตาล (Sanil, 2001; Rangrong et al., 2002) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปริมาณรังสีที่ฉายและสภาวะที่ฉายรังสี การฉายรังสีทำให้เกิดการทำลายโครงสร้างบริเวณผิวของไคโตซานแสดงดังรูปที่ 2.5

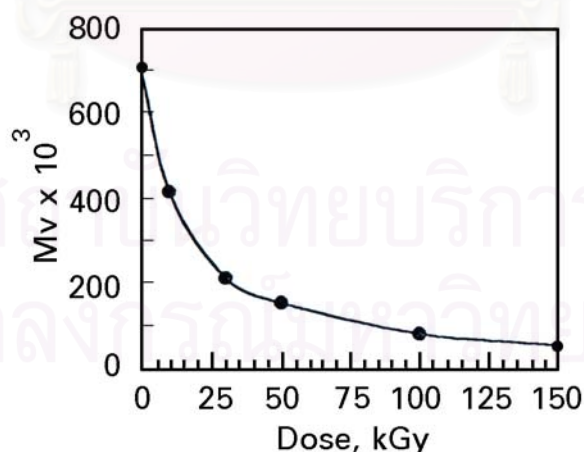




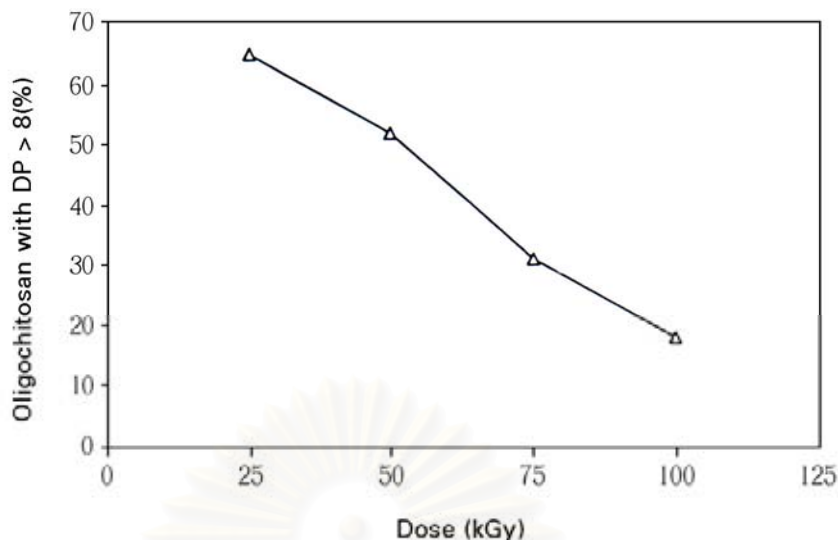
รูปที่ 2.5 ภาพถ่ายด้วย SEM photograph ของไคโตซานที่ไม่ได้ฉายรังสี(ซ้าย) และไคโตซานที่ ฉายรังสี แกมมาที่ปริมาณ 50 kGy (ขวา)

#### 2.2.4 ผลของรังสีที่มีต่อน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซาน

การเกิดกลไกการเสื่อมสลายเนื่องจากรังสีโดยการแตกหักของสายโซ่หลักของไคโตซานดังกล่าวข้างต้น ซึ่งมีลักษณะการเกิดเป็นแบบสุ่ม ทำให้สายโซ่ของไคโตซานสั้นลงส่งผลให้น้ำหนักของโมเลกุลลดลง จากการฉายรังสีไคโตซาน ซึ่งมีค่า%DD เท่ากับ 80% และ Viscosity average molecular weight ( $M_v$ ) เริ่มต้นเท่ากับ 710,000 ดอลตัน โดยฉายรังสีสารละลายไคโตซาน 10%(w/v) ในสารละลายกรดอะซิติก 5%(w/v) พบว่าน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานลดลงแสดงดังรูปที่ 2.6 และความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโวลิวไคโตซานที่มี DP มากกว่า 8 กับปริมาณรังสีที่ฉาย แสดงดังรูปที่ 2.7 (Nguyen Hien, 2000)

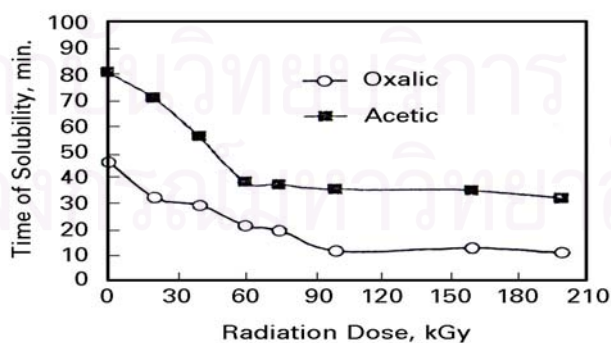


รูปที่ 2.6 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Viscosity average molecular weight ( $M_v$ ) ของไคโตซานกับปริมาณรังสีที่ฉาย

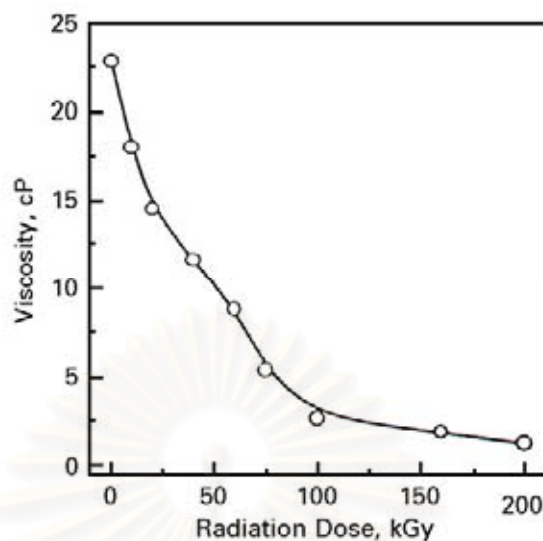


รูปที่ 2.7 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโอลิโกไคโตซานที่มีค่า DP>8 กับปริมาณรังสีที่ฉาย

เมื่อน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานลดลงส่งผลให้คุณสมบัติการละลายสูงขึ้น ทำให้เวลาที่ใช้ในการละลายไคโตซานในสารละลายกรดอะซิติก และกรดออกซาลิกลดลง แสดงดังรูปที่ 2.8 นอกจากนี้ปริมาณรังสีที่ฉายยังมีผลต่อความหนืดของสารละลายไคโตซานด้วยการทดสอบไคโตซาน 0.75% ในสารละลายกรดอะซิติก 0.0625 โมลาร์ (Nguyen Manh Hung et al.,2000) แสดงดังรูปที่ 2.9



รูปที่ 2.8 แสดงผลของปริมาณรังสีกับความสามารถในการละลายของไคโตซานในกรดอะซิติกและกรดออกซาลิก



รูปที่ 2.9 แสดงการเปลี่ยนแปลงค่าความหนืดของสารละลายโคโตซานเนื่องจากการฉายรังสีโคโตซานในสถานะของแข็ง

## 2.3 น้ำหนักโมเลกุล (Molecular Weight) ของโคโตซาน

### 2.3.1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับน้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์ (Yamaoka, 1991)

ขณะที่น้ำหนักโมเลกุลของโมเลกุลอินทรีย์ทั่วไปสามารถกำหนดได้เป็นค่าน้ำหนักโมเลกุลเดี่ยว แต่สำหรับพอลิเมอร์นั้นไม่สามารถบอกน้ำหนักโมเลกุลเป็นค่าเดี่ยวได้ น้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์สามารถแสดงได้ในลักษณะเชิงสถิติ ซึ่งแสดงเป็นค่าเฉลี่ยของการกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุล (Molecular Weight Distribution, MWD)

ขนาดโมเลกุลของพอลิเมอร์ขึ้นอยู่กับจำนวนหน่วยที่ซ้ำๆ กัน ซึ่งแสดงค่าในรูปขององศาของโพลิเมอไรเซชัน (Degree of Polymerization, DP) เช่นมีหน่วยที่ซ้ำๆ กัน 1,000 หน่วย ในโมเลกุลพอลิเมอร์ ค่า DP จะเท่ากับ 1,000 หรืออีกนัยหนึ่งค่า DP จะเป็นค่าที่สัมพันธ์กับน้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์ คือ

$$M = DP \times m \quad 2.10$$

เมื่อ  $M$  = น้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์

$DP$  = Degree of Polymerization

$m$  = น้ำหนักโมเลกุลของมอนอเมอร์

น้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์ซึ่งแสดงเป็นค่าเฉลี่ยของน้ำหนักโมเลกุล มี 2 วิธี คือ วิธีจำนวนเฉลี่ย (Number average) และวิธีน้ำหนักเฉลี่ย (Weight average) โดยพิจารณาจาก

(1) พอลิเมอร์โมเลกุลเดียวมีหน่วยที่ซ้ำ ๆ กัน คือ  $i$  หน่วยในสายโซ่ ซึ่งเรียกว่าค่า DP เท่ากับ  $l$  น้ำหนักโมเลกุลของแต่ละสายโซ่เท่ากับ  $M_i$

(2) จำนวนโมเลกุลรวมที่มีน้ำหนักโมเลกุลเป็น  $M_i$  ในตัวอย่างของพอลิเมอร์ กำหนดให้เป็น  $N_i$  และ number fraction ของโมเลกุลเรียกว่า  $n_i$  ( $n_i = N_i / \sum N_i$ )

(3) มวลรวมของโมเลกุลขนาด  $l$  ในตัวอย่างให้เป็น  $W_i$  และ  $w_i$  คือ weight fraction ของโมเลกุลนี้ ( $w_i = W_i / \sum W_i$ )

(4) ข้อจำกัดของผลรวมทุกค่าคือ  $i = 1$  และ  $i = \infty$

น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยของพอลิเมอร์คิดในรูปของจำนวน (Number average molecular weight,  $M_n$ ) แสดงดังสมการ

$$M_n = \frac{\sum N_i M_i}{\sum N_i} \quad 2.11$$

น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยของพอลิเมอร์คิดในรูปของน้ำหนัก (Weight average molecular weight,  $M_w$ ) แสดงดังสมการ

$$M_w = \frac{\sum W_i M_i}{\sum W_i} \quad 2.12$$

เมื่อ

$$W_i = \frac{\sum N_i M_i}{6.02 \times 10^{23}} \quad 2.13$$

จะได้

$$M_w = \frac{\sum (N_i M_i) M_i}{\sum N_i M_i} \quad 2.14$$

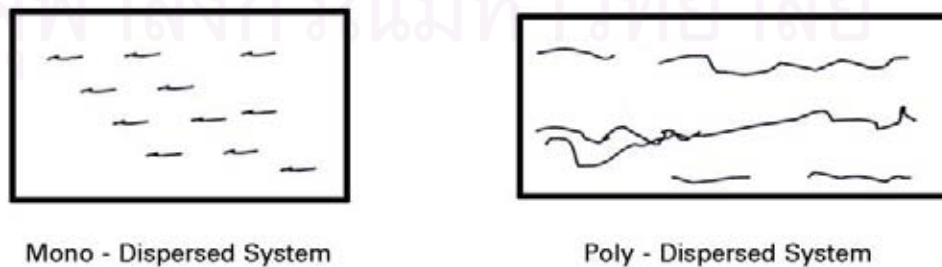
ดังนั้น

$$M_w = \frac{\sum N_i M_i^2}{\sum N_i M_i} \quad 2.15$$

นอกจากนี้น้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์สามารถหาได้จากค่าความหนืดเฉลี่ย ซึ่งเรียกว่าน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยของพอลิเมอร์คิดในรูปของความหนืด (Viscosity average molecular weight,  $M_v$ ) แสดงดังสมการ (Shaefgen et al., 1984)

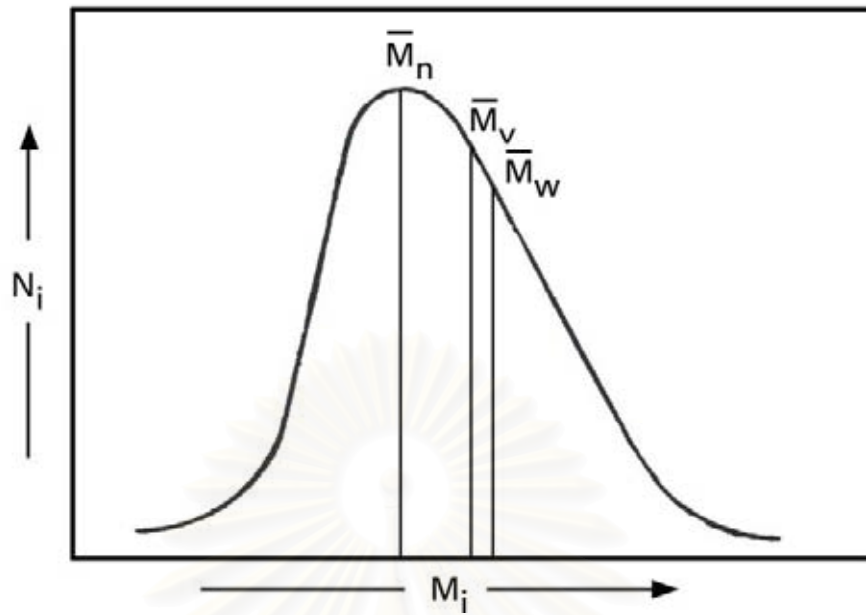
$$M_v = \left[ \frac{\sum N_i M_i^{1+a}}{\sum N_i M_i} \right]^{1/a} \quad 2.16$$

สารประกอบทางเคมีอย่างง่ายโดยทั่วไปจะมีน้ำหนักโมเลกุลเป็นค่าเดียว เรียกว่า mono-dispersed system สำหรับพอลิเมอร์เป็นโมเลกุลที่ประกอบด้วยน้ำหนักโมเลกุลหลายค่า รวมกันอยู่ เรียกว่า poly-dispersed system ซึ่งแสดงดังรูปที่ 2.10 รูปแบบของการกระจายตัวเป็นความเข้าใจพื้นฐานของน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย ตัวอย่างน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยเท่ากับ 40,000 ซึ่งน้ำหนักโมเลกุลอาจอยู่ในช่วง 30,000-50,000 หรืออยู่ในช่วง 1,000-100,000 ก็ได้ การกระจายของน้ำหนักโมเลกุลเป็นกุญแจสำคัญที่จะเป็นตัวบอกถึงค่าต่ำสุดและค่าสูงสุดของน้ำหนักโมเลกุล การหาการกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุลหาได้จากค่า  $M_w$  และ  $M_n$  ที่หามาได้จากวิธีที่ต่างกัน 2 วิธี แล้วคำนวณหา  $M_w/M_n$  อัตราส่วนนี้คือ Polydispersity index ซึ่งจะเป็นปัจจัยที่บ่งบอกความกว้างของการกระจายตัว คือถ้าน้ำหนักโมเลกุลมีการกระจายกว้าง ค่า  $M_w/M_n$  จะเพิ่มขึ้น การกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุลสามารถแสดงได้ในรูปที่ 2.11 ซึ่งเป็นความสัมพันธ์ของน้ำหนักโมเลกุลในแนวแกน x และจำนวนโมเลกุลในแนวแกน y จะเห็นว่า  $M_w$  มีค่ามากกว่า  $M_n$  และ  $M_v$  และ  $M_v$  มีค่าอยู่ในช่วงของ  $M_w$  และ  $M_n$  ซึ่งใกล้เคียงกับ  $M_w$  มากกว่า  $M_n$  ( $M_n < M_v \leq M_w$ ) และกราฟรูปที่ 2.12 แสดงการกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุลในตัวอย่าง 2 ตัวอย่าง ที่มี  $M_n$  เท่ากันแต่การกระจายตัวต่างกัน ค่า  $M_w/M_n$  เท่ากับ 2 แสดงว่าพอลิเมอร์มีการกระจายตัวแบบปกติ ถ้า  $M_w/M_n$  มีค่าน้อยกว่า 2 แสดงว่าพอลิเมอร์มีการกระจายตัวแคบ และถ้า  $M_w/M_n$  มีค่ามากกว่า 2 แสดงว่าพอลิเมอร์มีการกระจายตัวกว้าง (Nguyen Quoc Hien, 2000)

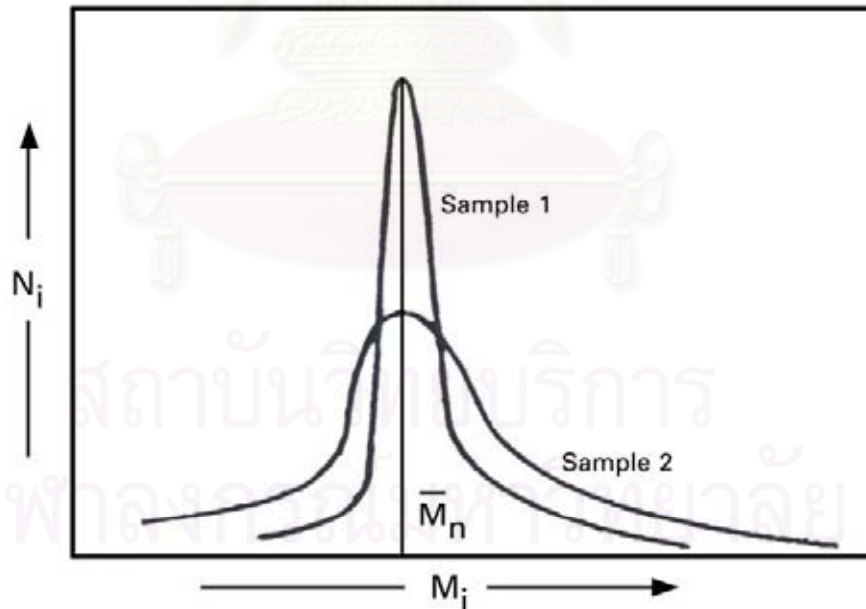


รูปที่ 2.10 แสดงความแตกต่างของ mono-dispersed system และ poly-dispersed system





รูปที่ 2.11 การกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุลสำหรับ hypothetical polydispersed sample



รูปที่ 2.12 การกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุลของตัวอย่างพอลิเมอร์ 2 ชนิดที่มีค่า number average molecular weight ( $M_n$ ) เท่ากันแต่มีการกระจายตัวต่างกัน

### 2.3.2 ความหนืด (Viscosity) ของสารละลายพอลิเมอร์

ในสารละลายพอลิเมอร์จะมีความหนืด เนื่องจากในสารละลายพอลิเมอร์เคลื่อนที่อย่างช้าๆ ซึ่งช้ามากกว่าโมเลกุลของตัวทำละลาย แต่การเคลื่อนที่อย่างช้าๆ ของพอลิเมอร์ทำให้สารละลายทั้งหมดเคลื่อนที่ช้าตามไปด้วยส่งผลให้สารละลายทั้งหมดมีความหนืดมากขึ้น ซึ่งสามารถอธิบายเพื่อให้เข้าใจง่ายคือเมื่อเราขับรถอย่างช้าๆ ในช่องทางขวาของถนนทางหลวง ทำให้การจราจรทั้งหมดบนถนนเคลื่อนที่ช้าลงไปด้วย ก็เช่นเดียวกับการเคลื่อนที่อย่างช้าๆ ของพอลิเมอร์ในทิศทางที่มีการเคลื่อนที่อย่างรวดเร็วของตัวทำละลายที่มีการไหล ดังนั้นสารละลายทั้งหมดจะเคลื่อนที่อย่างช้าๆ และทำให้เกิดความหนืดนั่นเอง และนอกเหนือไปจากการที่พอลิเมอร์ไปขัดขวางการเคลื่อนที่ของตัวทำละลายดังกล่าวแล้ว พอลิเมอร์ยังไปทำให้แรงภายในโมเลกุล (intermolecular forces) ต่ำลงไปด้วย ถ้ามีการกระทบกันเกิดขึ้นในอันตรกิริยาระดับ 2 (secondary interaction) ระหว่างพอลิเมอร์และโมเลกุลตัวทำละลาย โมเลกุลเล็กๆ ของตัวทำละลายสามารถไปผูกติดร่วมกับพอลิเมอร์ได้ เมื่อเหตุการณ์ดังกล่าวเกิดขึ้น โมเลกุลของตัวทำละลายจะเคลื่อนที่ไปกับพอลิเมอร์ด้วยความเร็วที่ช้าลงเช่นเดียวกับโมเลกุลพอลิเมอร์ ซึ่งเปรียบเทียบได้กับดาวเคราะห์น้อยที่วิ่งหรือพุ่งผ่านอวกาศ และถูกจับไว้โดยแรงโน้มถ่วงของดาวเคราะห์ดวงใหญ่ๆ และกลายเป็นบริวารของดาวเคราะห์ดวงใหญ่นั้นเอง

ความข้นหรือความหนืดของสารละลายนี้สามารถช่วยในการประมาณค่าน้ำหนักโมเลกุลได้ โดยอาศัยข้อเท็จจริงที่ว่าน้ำหนักโมเลกุลสูง ทำให้ความหนืดของพอลิเมอร์สูงตามไปด้วย เนื่องจากเมื่อพอลิเมอร์มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ทำให้พอลิเมอร์มี hydrodynamic volume ใหญ่ขึ้นด้วยนั่นคือปริมาตรของพอลิเมอร์ที่ขดม้วนตัวอยู่ในสารละลายใหญ่ขึ้น โมเลกุลที่ใหญ่ขึ้นจะมี secondary force ที่แข็งแรง ทำให้สามารถดึงโมเลกุลตัวทำละลายเข้ามารวมกับพอลิเมอร์ ทำให้การเคลื่อนที่ของโมเลกุลของตัวทำละลายช้าลง ดังนั้นการตรวจวัดความหนืดของสารละลาย ทำให้เราสามารถหาค่าน้ำหนักโมเลกุลได้

### 2.3.3 การหาน้ำหนักโมเลกุลของโคโตะซานโดยวิธี Dilute Solution Viscosity

น้ำหนักโมเลกุลเป็นสมบัติที่สำคัญในการบอกคุณสมบัติทั้งทางกายภาพ และทางเคมีของโคโตะซาน การหาน้ำหนักโมเลกุลสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การศึกษาสมบัติการกระเจิงของแสง การศึกษาสมบัติความหนืด การใช้วิธีทางโครมาโตกราฟี การศึกษาวิธีการวัดความหนืดเป็นเทคนิคที่ทำได้ค่อนข้างง่ายและสะดวกที่สุด ไม่ต้องใช้เครื่องมือราคาแพงและให้ผลเป็นที่ยอมรับได้ (ศุภนิวิชัยออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และคณะ, 2544; George, 1992) แม้ว่าจะมีข้อเสียคือเป็นวิธีที่ให้ผลที่ไม่สมบูรณ์ เพราะเป็นวิธีที่ต้องคำนวณหาค่าคงที่โดยผ่านความสัมพันธ์

ร่วมกับค่า LVN หรือค่า intrinsic viscosity  $[\eta]$  และค่าน้ำหนักโมเลกุลที่ตรวจวัดจากวิธีที่สัมบูรณ์ และสมการที่ใช้ซึ่งสัมพันธ์กับค่า LVN คือ สมการ Mark-Houwink ดังนี้

$$[\eta] = KM_v^a \quad 2.17$$

เมื่อ  $M_v$  คือ Viscosity average molecular weight ค่า  $[\eta]$  คือ intrinsic viscosity ส่วนค่า K และ a คือค่าคงที่ ที่ขึ้นอยู่กับชนิดของพอลิเมอร์ ตัวทำละลาย อุณหภูมิ และในกรณีที่เป็นสารละลาย polyelectrolytes จะขึ้นกับธรรมชาติและความเข้มข้นของ electrolyte ที่มีโมเลกุลต่ำที่เติมลง ค่าคงที่โดยปกติจะประเมินจากการเขียนกราฟของ  $\log [\eta]$  กับ  $\log M_w$  จากชุดการทดลองที่เตรียมตัวอย่างที่ใช้เปรียบเทียบซึ่งมีช่วงของค่า MWD ที่แคบมาก ซึ่งค่า K และ a หลายชุดซึ่งถูกเสนอให้ใช้สำหรับโคโคซานในระบบตัวทำละลายต่าง ๆ แสดงดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 ค่าคงที่ K และ a สำหรับสมการ Mark-Houwink สำหรับโคโคซาน (Shaefgen et al., 1984)

Solvent system	K (cm <sup>3</sup> /g)	a	Molecular Weight range (10 <sup>5</sup> )
1. 0.2M HOAc-0.1M NaCl-4M urea	$8.93 \times 10^{-2}$	0.71	1.13-4.92
2. 0.167M HOAc-0.47M NaCl	111.5	0.147	0.13-1.7
3. 0.1M HOAc-0.2M NaCl	$1.81 \times 10^{-3}$	0.93	0.48-6.3
4. 0.33M HOAc-0.3M NaCl	$3.41 \times 10^{-3}$	1.02	0.13-1.35
5. 0.33M HOAc-0.2M NaOAc- 0.67M Cl <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COOH	$1.28 \times 10^{-2}$	0.85	0.61-1.60
6. 0.50M HOAc-0.50M NaOAc	$1.99 \times 10^{-1}$	0.59	1.15-15.90

Robert และ Domszy (1982) ได้ใช้เทคนิคหนึ่งซึ่งได้รับการสนับสนุนจาก Charlesby (1955) เพื่อหาค่า a และพบว่าสามารถคำนวณหาค่า K ได้ต่อไปด้วย ซึ่งแสดงโดย Sharples และ Major ผู้ที่ประยุกต์วิธีการโดยใช้ cellulose acetate (1958) วิธีการได้พิจารณาจากคุณสมบัติของการกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุลที่เป็นผลจากการเสื่อมสลายแบบสุ่ม (random degradation) ของสายโซ่พอลิเมอร์และสมการของ Mark-Houwink

$$\bar{M}_v = K'[\eta]^{1/a} \quad 2.18$$

เมื่อ

$$K' = \frac{1}{K_m^{1/a}} \quad 2.19$$

พิจารณากการกระจายของน้ำหนักโมเลกุล (MWD) ที่เป็นผลจากการสลายตัวแบบสุ่ม จะได้

$$\bar{M}_v = \bar{M}_n [\Gamma(2+a)] \quad 2.20$$

เมื่อ  $\Gamma$  = gamma function

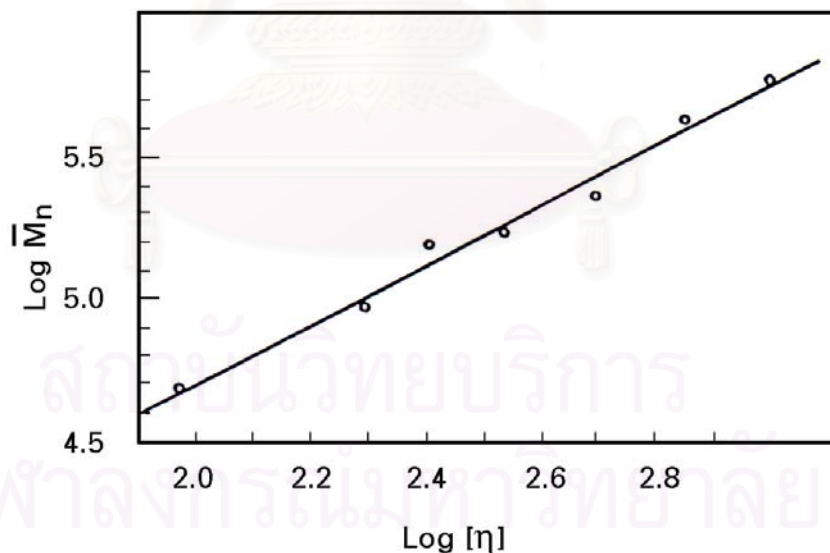
เมื่อรวมสมการ 2.18 และ 2.20 จะได้

$$\bar{M}_n = \frac{K'[\eta]^{1/a}}{[\Gamma(2+a)]^{1/a}} \quad 2.21$$

แสดงในรูปลอการิทึม จะได้

$$\log \bar{M}_n = (1/a) \log[\eta] + \log K' - (1/a) \log[\Gamma(2+a)] \quad 2.22$$

เมื่อเขียนกราฟระหว่าง  $\log \bar{M}_n$  กับ  $\log[\eta]$  จะได้กราฟเส้นตรงที่มีความชันเท่ากับ  $(1/a)$  และมาตัดกับแกน y ที่  $\log K' - (1/a) \log[\Gamma(2+a)]$  ดังรูปที่ 2.13



รูปที่ 2.13 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง  $\log \bar{M}_n$  กับ  $\log[\eta]$

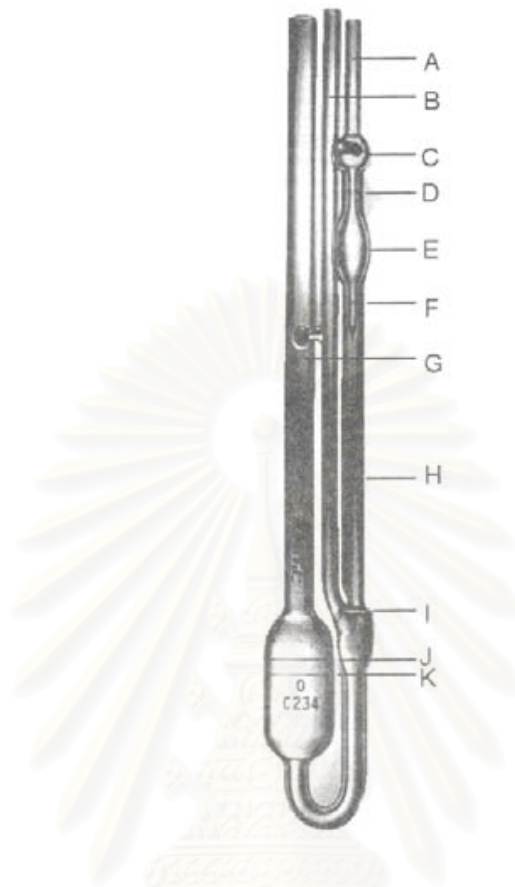
การสลายตัวแบบสุ่มของโคโตซานจากการทำ homogenous hydrolysis ในกรดอะซิติกความเข้มข้น 1.67 โมลาร์ และค่า  $\bar{M}_n$  หาโดยการวิเคราะห์แบบ UV/visible spectroscopic ของ phenyl asazone derivative ที่เตรียมโดยปฏิกิริยาการลดหน่วยปลายในแต่ละสายโซ่ โดยใช้ phenyl hydrazine ค่า K และ a ที่ได้มาโดยวิธีนี้พบว่าเหมือนกับการรายงาน (Roberts และ

Domszy, 1982; G. Sitaramaih และ Goring, 1962; Kamida และ Okajima, 1981) ซึ่งมี ความสัมพันธ์กับใน  $\beta$ -(1-4)-linked ionic polysaccharide คู่ของค่าคงที่ K และ a สำหรับ ไคโตซานที่ใช้ในสมการ Mark-Houwink จากตารางที่ 2.2 พบว่ามีเพียงคู่ที่ 3 เท่านั้นที่ให้ค่า  $\overline{DP}_v$  อยู่ระหว่าง  $\overline{DP}_n$   $\overline{DP}_v$  และ  $\overline{DP}_w$  เหมือนกับที่ต้องการตามทฤษฎี คือ  $\overline{DP}_n < \overline{DP}_v \leq \overline{DP}_w$  และ ลงมติว่าค่าคงที่มีความเที่ยงตรงที่สุดในปัจจุบัน และสามารถใช้ได้กับสมการ Mark-Houwink คือ  $K = 1.81 \times 10^{-3} \text{ cm}^3/\text{g}$ . และ  $a = 0.93$  (Robert, 1992) ซึ่งเป็นกรทดลองของ Robert และ Domszy ซึ่งคำนวณขึ้นสำหรับไคโตซานในระบบตัวทำละลายของสารละลายกรดอะซิติก 0.1 โมลาร์ และโซเดียมคลอไรด์ 0.2 โมลาร์ โดยใช้เทคนิคการเสื่อมสลายแบบสุ่ม ดังกล่าวข้างต้น การสรุปนี้ได้รับการสนับสนุนจากการทดลองของ Rinaudo และ Domard ผู้ที่รายงานว่าค่า  $\overline{M}_v$  ที่ได้โดยใช้ค่าคงที่ K และ a มีเพียงคู่เดียวดังกล่าวที่ทำให้ค่า  $\overline{M}_v$  อยู่ระหว่างค่า  $\overline{M}_n$  และค่า  $\overline{M}_w$

การหาน้ำหนักโมเลกุลด้วยวิธี Intrinsic viscosity หรือวิธี Dilute solution viscosity เป็นที่รู้จักกันมาตั้งแต่ก่อนปี 1930 เป็นวิธีที่เป็นพื้นฐานในการตรวจวัดขนาดและการแผ่ขยายของ โมเลกุลพอลิเมอร์ วิธีการนี้มีความสัมพันธ์กับเฉพะพอลิเมอร์เชิงเส้นเท่านั้น การหาน้ำหนัก โมเลกุลโดยวิธีนี้อาศัยหลักการที่ว่าความหนืดของสารละลายพอลิเมอร์จะขึ้นอยู่กับความเข้มข้น ของสารละลายและขนาดโดยเฉลี่ยหรือน้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์ โดยเครื่องมือที่นิยมใช้ในการ วัดความหนืดของสารละลายมีลักษณะเป็นหลอด เรียกว่า Ubbelohde Viscometer ซึ่งแสดง ดังรูปที่ 2.14

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย





รูปที่ 2.14 แสดง Ubbelohde Viscometer

การหาน้ำหนักโมเลกุลด้วยวิธีนี้คือเราจะให้สารละลายพอลิเมอร์เคลื่อนที่ผ่านหลอด แล้วทำการจับเวลาที่สารละลายพอลิเมอร์เคลื่อนที่จากตำแหน่ง D ไปถึงตำแหน่ง F ซึ่งระยะเวลาดังกล่าวเรียกว่า efflux time การหาค่า efflux time ไม่ได้หาแค่เพียงค่าของสารละลายพอลิเมอร์เท่านั้น แต่ต้องหาค่า efflux time ของระบบตัวทำละลายบริสุทธิ์ คือที่ไม่มีโมเลกุลพอลิเมอร์ละลายอยู่เพื่อใช้ในการเปรียบเทียบในการคำนวณด้วย โดยจะให้ efflux time ของตัวทำละลายเป็น  $t_0$  และ efflux time ของสารละลายพอลิเมอร์ที่ความเข้มข้นต่างๆ ให้เป็น  $t$  เราสามารถหาค่าความหนืดสัมพัทธ์หรือ relative viscosity  $\eta_r$  ได้ดังนี้ (Yamaoka, 1991; Malcolm, 1999)

$$\eta_r = \frac{t}{t_0} \quad 2.23$$

เมื่อ  $t$  คือ ค่า efflux time ของสารละลายตัวอย่าง

$t_0$  คือ ค่า efflux time ของตัวทำละลาย

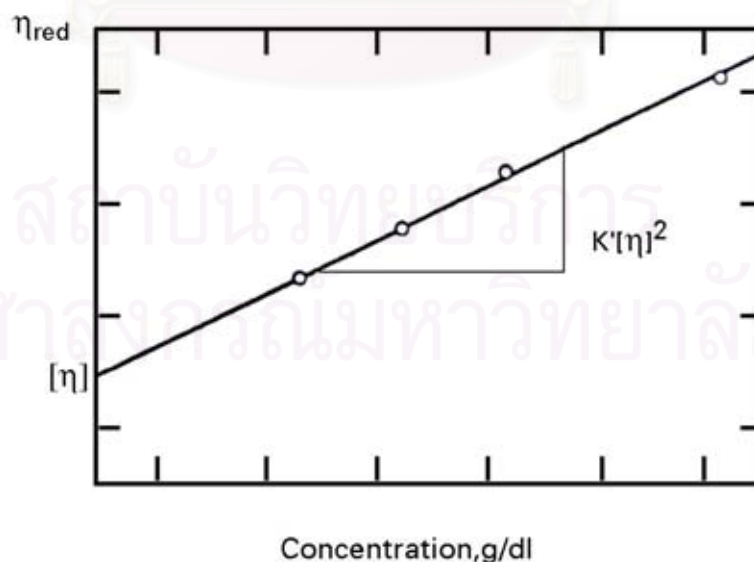
แต่เราจะไม่พิจารณาค่า efflux time ของตัวทำละลาย ดังนั้นเราจึงพิจารณาถึงความแตกต่างของค่า efflux time ของสารละลายพอลิเมอร์กับค่า efflux time ของตัวทำละลาย โดยการหาค่า efflux time ของตัวทำละลาย ( $t_0$ ) ออกจากค่า efflux time ของสารละลายพอลิเมอร์ ( $t$ ) ซึ่งจะได้เป็นค่าความหนืดเฉพาะ หรือ specific viscosity ( $\eta_{sp}$ ) ดังสมการ

$$\eta_{sp} = \frac{t - t_0}{t_0} \quad 2.24$$

เมื่อนำค่าความเข้มข้นของสารละลาย ( $C$ ) ไปหารค่า specific viscosity ( $\eta_{sp}$ ) จะได้ค่า reduced viscosity ( $\eta_{red}$ ) ดังสมการ

$$\eta_{red} = \frac{\eta_{sp}}{C} \quad 2.25$$

ทำให้ได้ค่า  $\eta_{red}$  ที่แตกต่างกันไปตามความเข้มข้นของสารละลายพอลิเมอร์ ซึ่งปกติจะแสดงหน่วยเป็นกรัมต่อปริมาตรสารละลาย 100 มิลลิลิตร ( $g/100$  มิลลิลิตร หรือ  $g/dl$ ) สำหรับการทดลองจะต้องทำการวัดหาค่า  $\eta_{red}$  ที่ความเข้มข้นหลายค่า เมื่อนำค่าความเข้มข้นของสารละลายพอลิเมอร์ ( $C$ ) มาเขียนกราฟความสัมพันธ์กับค่า  $\eta_{red}$  โดยให้  $C$  เป็นแกน  $x$  และ  $\eta_{red}$  เป็นแกน  $y$  ดังรูปที่ 2.15



รูปที่ 2.15 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น ของสารละลายพอลิเมอร์ ( $C$ ) กับค่า reduced viscosity ( $\eta_{red}$ )

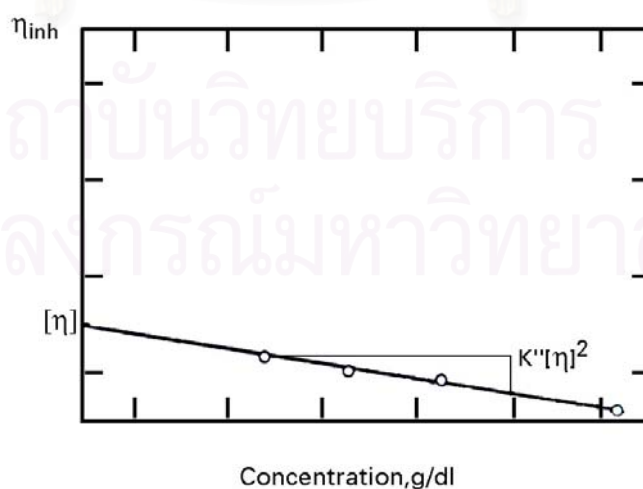
เมื่อทำการสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายพอลิเมอร์ (C) กับค่า reduced viscosity ( $\eta_{red}$ ) ที่คำนวณได้จากการทดลองดังกล่าวข้างต้นจะได้กราฟเส้นตรง และเมื่อทำการ extrapolate กลับไปที่ความเข้มข้นเท่ากับศูนย์ เส้นกราฟไปตัดที่แกน y (y-intercept) เราเรียกค่าที่ตัดแกน y นี้ว่า intrinsic viscosity หรือ  $[\eta]$  ค่า  $[\eta]$  นี้เป็นค่าที่สร้างขึ้นมาโดยสมมติเมื่อความเข้มข้นของสารละลายเท่ากับศูนย์ (C=0) จากกราฟความสัมพันธ์จะได้สมการเส้นตรงคือ

$$\eta_{red} = k'[\eta]^2 C + [\eta] \quad 2.26$$

ค่า  $k'[\eta]^2$  คือค่าความชันของเส้นตรง และค่า  $[\eta]$  คือจุดตัดแกน y ซึ่งค่า intrinsic viscosity นี้เป็นค่าที่มีความสำคัญเนื่องจากจะนำไปใช้สำหรับคำนวณหาน้ำหนักของโมเลกุลตามสมการของ Mark-Houwink สำหรับค่า intrinsic viscosity สามารถหาได้อีกวิธีหนึ่งคือใส่ลอการิทึมฐานธรรมชาติ ln กับค่า relative viscosity และหารด้วยความเข้มข้นจะได้ค่า inherent viscosity ( $\eta_{inh}$ ) ดังสมการ

$$\eta_{inh} = \frac{\ln \eta_r}{C} \quad 2.27$$

และนำไปเขียนกราฟความสัมพันธ์เช่นเดียวกันกับ reduced viscosity โดยเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย (C) ในแนวแกน x และค่า inherent viscosity ( $\eta_{inh}$ ) ในแนวแกน y แล้วจะได้กราฟดังรูปที่ 2.16 (Kraemer and Elmer, 1938)

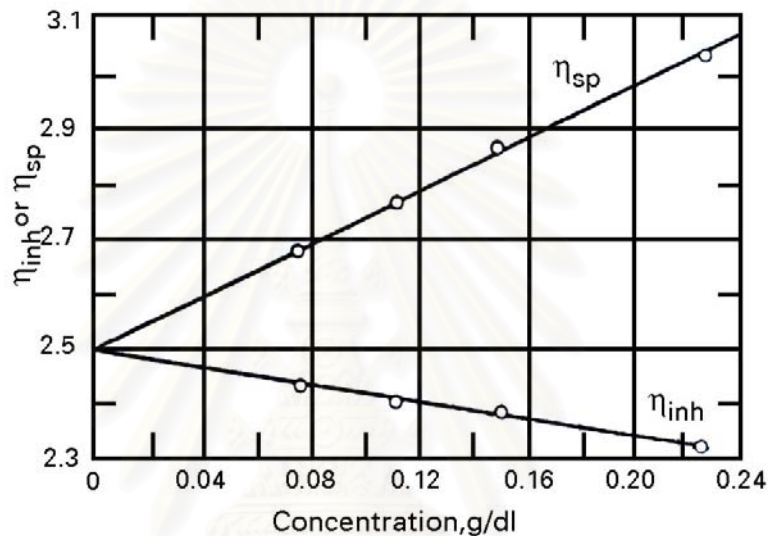


รูปที่ 2.16 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายพอลิเมอร์ (C) และค่า inherent viscosity ( $\eta_{inh}$ )

ซึ่งจากกราฟความสัมพันธ์จะได้สมการเส้นตรง

$$\eta_{inh} = k''[\eta]^2 C + [\eta] \quad 2.28$$

ค่า  $k''[\eta]^2$  คือค่าความชันกราฟเส้นตรงและค่า  $[\eta]$  คือจุดตัดแกน y หรือ intrinsic viscosity ซึ่งค่า  $k' - k'' = 1/2$  และสามารถเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ของทั้ง reduced viscosity และ inherent viscosity กับความเข้มข้นของสารละลายพอลิเมอร์ ไปด้วยกัน แสดงดังรูปที่ 2.17



รูปที่ 2.17 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายพอลิเมอร์ (C) กับ reduced viscosity ( $\eta_{red}$ ) และ inherent viscosity ( $\eta_{inh}$ )

เมื่อเราคำนวณหาค่า intrinsic viscosity  $[\eta]$  ได้จากการทดลองตามขั้นตอนต่าง ๆ ที่กล่าวมาข้างต้น ซึ่งค่า  $[\eta]$  จะนำไปใช้สำหรับการคำนวณหาน้ำหนักโมเลกุลโดยแทนค่าในสมการของ Mark-Houwink ตามสมการที่ 2.17 สำหรับค่าคงที่ K และ a ขึ้นอยู่กับชนิดของพอลิเมอร์และระบบตัวทำละลายที่ใช้ เมื่อแทนค่า  $[\eta]$ , K และ a ลงในสมการที่ 2.17 จะได้ค่า viscosity average molecular weight ( $\bar{M}_v$ )

การหาน้ำหนักโมเลกุลด้วยวิธีนี้ต้องใช้สารละลายที่มีความเข้มข้นต่ำเพื่อลดแรงกระทำระหว่างอนุภาคของพอลิเมอร์ ถ้าสารละลายมีความเข้มข้นมากเกินไป โมเลกุลพอลิเมอร์อาจจะเข้าไปใกล้กันเพียงพอที่จะเกิดอันตรกิริยากับโมเลกุลอื่น ๆ ได้ ทำให้ค่าความหนืดสูงขึ้นกรณีเช่นนี้สมการของ Mark-Houwink ไม่สามารถใช้ได้ดีนัก นอกจากนี้ความเข้มข้นสูงอาจไปลด

โอกาสที่จะมีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นอันเนื่องมาจากพอลิเมอร์ติดข้างหลอดเครื่องมือ ด้วยเหตุผลดังกล่าวจึงเป็นสาเหตุให้ตั้งชื่อเทคนิคการหาน้ำหนักโมเลกุลนี้ว่า dilute solution viscosity

### 2.3.4 คุณสมบัติทางน้ำหนักโมเลกุลกับการนำโคโตซานไปใช้ประโยชน์

น้ำหนักโมเลกุลของโคโตซานเป็นคุณสมบัติที่สำคัญสำหรับการนำโคโตซานไปใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ ได้อย่างเหมาะสมและมีประสิทธิภาพสูงสุด มีงานวิจัยมากมายที่แสดงให้เห็นถึงคุณสมบัติในเชิงน้ำหนักโมเลกุลของโคโตซานที่มีความเหมาะสมกับการใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่แสดงถึงวิธีการต่าง ๆ ทั้งทางเคมี ทางชีววิทยา รวมทั้งการใช้รังสีที่จะนำมาปรับปรุงเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติในเชิงน้ำหนักโมเลกุลและนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างเหมาะสม

ในด้านเกษตรกรรมได้นำโคโตซานมาศึกษาวิจัยเพื่อใช้เป็นสารเร่งอัตราการงอก อัตราการเจริญเติบโต รวมทั้งเพื่อต้านทานเชื้อราและเชื้อแบคทีเรียบางชนิด อย่างกว้างขวาง

การศึกษาวินิจฉัยว่าโคโตซานสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งขึ้นอยู่กับน้ำหนักโมเลกุลของโคโตซาน (Holouitz et al., 1957) จากการทดลองเปรียบเทียบโพลิโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วงประมาณ 9,000 Da และโพลิโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำอยู่ในช่วงประมาณ 2,000 Da พบว่าโพลิโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 9,000 Da สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *E.coli* ได้เกือบสมบูรณ์

Jeon และ Kim (1998) ศึกษาการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย และการเจริญเติบโตของ *E.coli* โดยเปรียบเทียบน้ำหนักโมเลกุลของโพลิโคโตซาน คือ 10 kDa, 5 kDa และ 1 kDa พบว่าโพลิโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงคือ 10 kDa มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *E.coli* และเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นๆ สูงที่สุด

Suwalee (2002) ศึกษาการนำโคโตซานไปใช้ประโยชน์ทางการเกษตรมากมาย ซึ่งโคโตซานที่ใช้มีน้ำหนักโมเลกุลในช่วง 5,000 ถึง 80,000 Da รวมทั้งทำการทดลองผลของน้ำหนักโมเลกุลของโคโตซานที่มีต่อการงอกของเมล็ดพืชพบว่าโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 40,000 Da มีการงอกของเมล็ดดีที่สุด

Nguyen Anh Dzung (2002) ศึกษาการใช้ Oligoclucosanmine ที่มี DP = 8-16 เร่งการเจริญเติบโตของถั่วลิสง และยับยั้งเชื้อราได้ รวมทั้งยังเพิ่มปริมาณส่วนที่ตรงในโตรเจนสูงขึ้นด้วย



มีการศึกษาพบว่าโพลิโกโคโตซานที่มีค่า DP อยู่ในช่วง 7-14 มอนิเมอร์ แสดงคุณสมบัติเป็น phytoalexin inducer ซึ่งสามารถป้องกันการติดเชื้อราหลายชนิดในพืช (Darvill and Albersheim, 1984; C.A. Ryan, 1988)

## 2.4 การแยกโมเลกุลลำดับส่วน (Molecular Weight Fractionation)

เนื่องจากพอลิเมอร์ที่ได้จากการสังเคราะห์จะเป็นพอลิเมอร์ที่ผสมโมเลกุลที่มีขนาดแตกต่างกัน น้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันปะปนอยู่ด้วยกัน กรณีเช่นนี้ส่งผลถึงคุณภาพและคุณสมบัติของพอลิเมอร์ ดังนั้นจึงมีความพยายามที่จะแยกพอลิเมอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลใกล้เคียงกันออกเป็นกลุ่มๆ กระบวนการนี้เรียกว่าการแยกลำดับส่วน ซึ่งเป็นกระบวนการที่ยุ่ยากพอสมควร และถ้าเป็นอุตสาหกรรมขนาดใหญ่จะยุ่งยากมากขึ้น พื้นฐานของทฤษฎีการแยกลำดับส่วน อาศัยหลักการที่ว่า ความสามารถละลายของพอลิเมอร์จะลดลงถ้าน้ำหนักโมเลกุลสูงขึ้น ดังนั้นถ้าค่อย ๆ เพิ่มอำนาจการละลายแก่พอลิเมอร์ ส่วนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำๆ จะถูกแยกออกมาก่อน หรืออีกวิธีหนึ่งอาจละลายพอลิเมอร์ทั้งหมดไปก่อนแล้วค่อยๆ ลดอำนาจการละลายลงพอลิเมอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงจะตกตะกอนออกมาก่อน วิธีการแยกลำดับส่วนมีหลายวิธีคือ (Billmeyer, 1971)

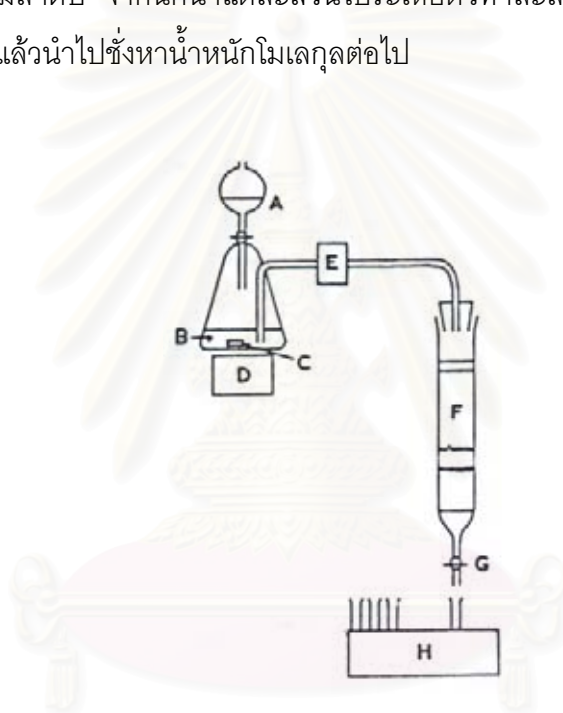
### 2.4.1 การแยกลำดับส่วนโดยการตกตะกอน (Fractionation Precipitation)

วิธีนี้เริ่มจากละลายสารตัวอย่างพอลิเมอร์ในตัวทำละลายที่เหมาะสมได้สารละลายพอลิเมอร์ หลังจากนั้นค่อยๆ เติมสารที่ไม่ใช่ตัวทำละลาย (non-solvent) หรือเรียกว่าตัวที่ทำให้ตกตะกอน (precipitant) ลงไปอย่างช้าๆ (ทำที่อุณหภูมิคงที่) พอลิเมอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงจะแยกออกมาก่อน เมื่อเพิ่มตัวที่ทำให้ตกตะกอนเข้าไป พวกที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่าจะถูกแยกออกมาเรื่อยๆ อีกวิธีหนึ่งคือเลือกตัวทำละลายที่มีอำนาจการละลายขณะที่อุณหภูมิสูง แต่ไม่ละลายเมื่ออุณหภูมิต่ำ ดังนั้น เมื่อเพิ่มอุณหภูมิจะละลายสารตัวอย่างพอลิเมอร์จนสมบูรณ์ หลังจากนั้นลดอุณหภูมิลงพอลิเมอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงจะถูกแยกออกมาก่อน พอลิเมอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่าจะถูกแยกตามมา จากนั้นก็นำสารตัวอย่างแต่ละกลุ่มไปหาน้ำหนักโมเลกุลได้

### 2.4.2 การแยกลำดับส่วนโดยการอีลูชัน (Elution fractionation)

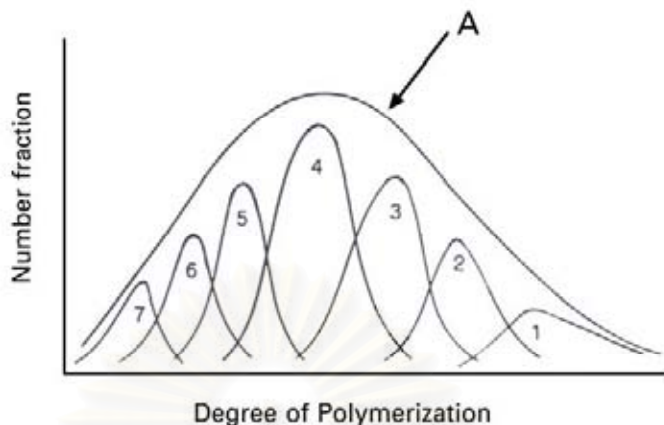
วิธีการนี้เริ่มจากการเพิ่มอำนาจการละลายของตัวทำละลายแก่สารตัวอย่างพอลิเมอร์กลุ่มที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำสุดสามารถละลายได้ดีและเร็วที่สุดจะถูกแยกออกมาก่อน

ส่วนที่เหลือยังเป็นของแข็งอยู่ เมื่อเพิ่มอำนาจการทำละลายไปเรื่อยๆ จะได้กลุ่มของพอลิเมอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงขึ้นจะแยกออกมาตามลำดับ การทำพอลิเมอร์ให้มีลักษณะเป็นแผ่นฟิล์มบางๆ จะแยกได้ผลดียิ่งขึ้น และการใส่แผ่นฟิล์มพอลิเมอร์นิยมใส่ไว้กับเม็ดทรายหรือลูกแก้วเพื่อแยกแผ่นฟิล์มออกจากกัน พร้อมกับบรรจุลงในคอลัมน์เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3-4 เซนติเมตร สูงประมาณ 60 เซนติเมตร สัดส่วนการใช้เม็ดทรายหรือลูกแก้วกับพอลิเมอร์ ประมาณ 10 กรัมต่อเม็ดทรายหรือลูกแก้ว 1 กิโลกรัม ข้างบนคอลัมน์จะมีภาชนะบรรจุตัวทำละลายและตัวทำให้ตกตะกอน ผสมกันในสัดส่วนที่ควบคุมได้ ปล่อยให้ผ่านคอลัมน์ลงมา ดูรูปที่ 2.18 พวกที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำจะแยกออกมาก่อน ค่อยๆ เพิ่มตัวทำละลายให้มากขึ้น พวกที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงขึ้นจะแยกออกมาตามลำดับ จากนั้นก็นำแต่ละส่วนไประเหยตัวทำละลาย และตัวที่ทำให้ตกตะกอนออกไป ทำให้แห้งแล้วนำไปซึ่งหาน้ำหนักโมเลกุลต่อไป



รูปที่ 2.18 แสดงแผนภาพเครื่องมือการแยกส่วนโดยการอึลู่ชัน, A-ตัวทำละลาย, B-ของผสมระหว่างตัวทำละลายกับตัวที่ทำให้ตกตะกอน C-ที่กวนแท่งแม่เหล็ก, D-ตัวเครื่องหมุนแท่งแม่เหล็ก, E-ปั๊มดูดของผสมจาก B, F-เม็ดทรายหรือลูกแก้วกับแผ่นฟิล์มพอลิเมอร์, G-จุดปิดเปิด, H-ที่เก็บตัวอย่างที่แยกได้

อย่างไรก็ตามการแยกลำดับส่วนของพอลิเมอร์ที่กล่าวมานี้ ไม่ได้หมายความว่า จะแยกพอลิเมอร์ออกมาได้เป็นโมโนดิสเพอร์ส คือมีโมเลกุลขนาดเดียวกันเท่านั้น แต่จะทำให้ได้พอลิเมอร์ที่มีการกระจายของน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วงแคบลงมากขึ้น ซึ่งถ้าดูตามรูปที่ 2.19 จะเห็นข้อแตกต่างชัดเจนระหว่างพอลิเมอร์ที่ยังไม่แยกลำดับส่วนกับพอลิเมอร์ที่แยกลำดับส่วนแล้ว



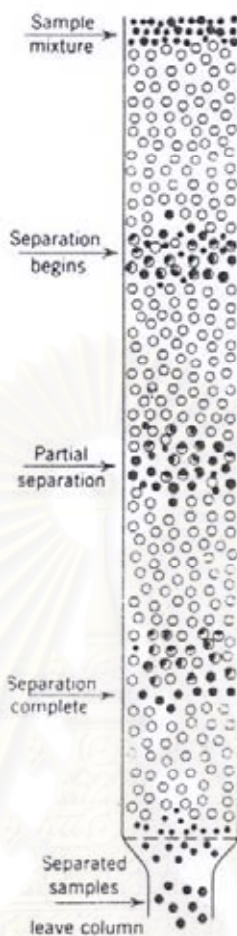
รูปที่ 2.19 กราฟแสดงการเปรียบเทียบพอลิเมอร์ที่แยกลำดับส่วน (1-7) กับพอลิเมอร์ที่ไม่ได้แยกลำดับส่วน (A)

### 2.4.3 เจลเพอร์มีเอชันโครมาโตกราฟี (Gel Permeation Chromatography)

วิธีการนี้เป็นเทคนิคการแยกสารแบบใหม่ที่มีประสิทธิภาพ นำมาใช้ในการแยกลำดับส่วนกับพอลิเมอร์ โดยใช้หลักการของ molecular sieving เครื่องมือประกอบด้วยคอลัมน์บรรจุเจล ซึ่งมักจะเป็นพอลิสไตรีนแบบร่างตาข่ายอิมิตัวด้วยตัวทำละลาย ทำให้มีลักษณะของโพรงแคบๆ ซึ่มีรูปร่างคล้ายรูเข็ม ทำให้เกิดมีช่องว่างภายในที่จะสามารถเก็บกักโมเลกุลของพอลิเมอร์ที่จะผ่านคอลัมน์

สารละลายของพอลิเมอร์ที่จะแยกลำดับส่วน ปล่อยให้ผ่านคอลัมน์ลงไปโมเลกุลของพอลิเมอร์สามารถซึมผ่านเข้าไปภายในเจลแต่ขึ้นกับขนาดโมเลกุลของพอลิเมอร์และขนาดของช่องว่างภายในเจล ส่วนใหญ่แล้วโมเลกุลขนาดใหญ่ๆ จะมีโอกาสซึมผ่านเข้าไปได้น้อยจึงมักจะผ่านคอลัมน์ออกมาเร็ว โมเลกุลที่มีขนาดเล็กกว่าจะถูกกักเก็บไว้ในเจลได้มากกว่าจึงผ่านคอลัมน์ออกมาทีหลัง ดูรูปที่ 2.20 ดังนั้น ทำให้สามารถแยกโมเลกุลขนาดต่างๆ ออกจากกันได้

ความสามารถการพองตัวของพอลิสไตรีนที่ทำเจล จะแปรผกผันกับปริมาณร่างแหในพอลิสไตรีน ซึ่งการเกิดร่างแหนี้เกิดจากไดไวนิลเบนซีน เพราะฉะนั้น ต้องการให้เจลพองตัวมากแค่ไหนก็ทำได้โดยควบคุมสัดส่วนการใช้ไดไวนิลเบนซีน สำหรับตัวทำละลายที่ใช้ทำให้พอลิสไตรีนพองตัวก็มี เตตระไฮโดรฟูราน (tetrahydrofuran) โทลูอีน และออร์โท ไดคลอโรเบนซีน เป็นต้น



รูปที่ 2.20 แสดงการแยกโมเลกุลตามขนาด โดยเจลเพอร์มีเอชันโครมาโตกราฟี

## 2.5 การแยกโมเลกุลลำดับส่วนโคโตซานโดยวิธีการตกตะกอน (Fractionation Precipitation)

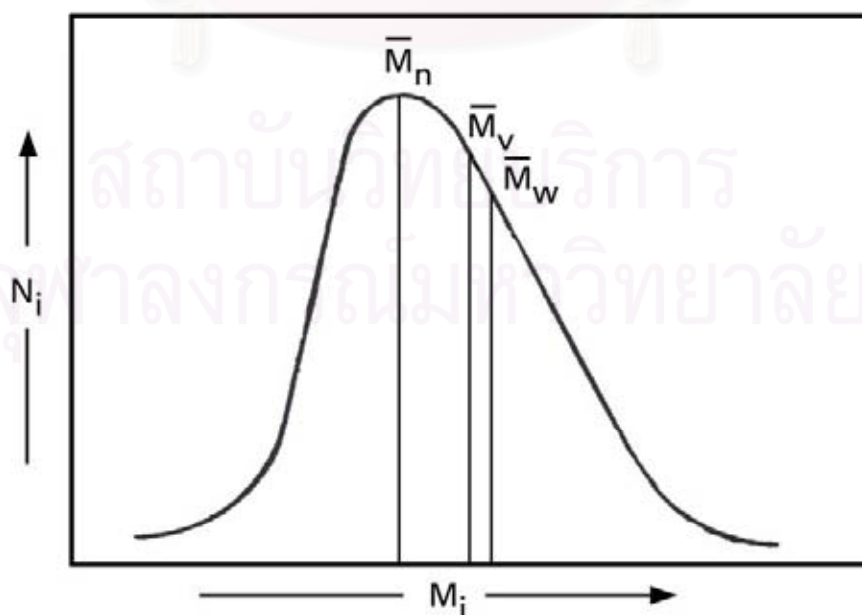
โคโตซานสามารถละลายได้ในตัวทำละลายกรดอินทรีย์และกรดอนินทรีย์ เช่น กรดฟอร์มิก (Formic acid) กรดอะซิติก (Acetic acid) กรดไพรูวิก (Pyruvic acid) และกรดแลคติก (Lactic acid) โดยธรรมชาติของกรดเหล่านี้แสดงกฎที่สำคัญของพฤติกรรมของโคโตซานในสารละลาย มีการศึกษามีการรายงานถึงการทำให้โคโตซานไม่ละลายในกรดอะซิติก และตกตะกอนออกมาได้โดยใช้สารละลายไซเดียมไฮดรอกไซด์ ซึ่งเป็นวิธีการที่ทำให้โคโตซานบริสุทธิ์ (Purification method) การใช้สารละลายไซเดียมไฮดรอกไซด์ทำให้โคโตซานตกตะกอนออกมาพบว่าตะกอนที่ได้มีการเปลี่ยนแปลงน้อยมากหรือเกือบจะเหมือนเดิมในเรื่องของปริมาณเถ้า (Ash content), ปริมาณไนโตรเจน (Nitrogen content), ความสามารถในการละลาย, ค่าความหนืด, ค่าองศาของ

ดีอะเซทิลเลชัน (Degree of Deacetylation), ค่าน้ำหนักโมเลกุลคิดในรูปน้ำหนัก ( $M_w$ ) แต่ค่าความเป็นผลึกของไคโตซานมีค่าสูงขึ้นเล็กน้อย (Trang et al., 2002)

ดังนั้นสารละลายไซเดียมไฮดรอกไซด์จึงเป็นตัวที่ทำให้ตกตะกอน (Precipitant) สำหรับ ไคโตซานที่ละลายในสารละลายกรดอะซิติก เมื่อควบคุมความเข้มข้น ปริมาณ อุณหภูมิและระยะเวลาเพื่อควบคุมการตกตะกอนของน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานออกเป็นส่วนๆ เนื่องจาก สารละลายไคโตซานมีค่าน้ำหนักโมเลกุลหลายค่ารวมอยู่ด้วยกัน จึงต้องมีการแยกไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลใกล้เคียงกันออกเป็นกลุ่มๆ เพื่อให้ได้ไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลที่มีค่าใกล้เคียงกับที่ต้องการมากที่สุด และมีการกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุลแคบลง

## 2.6 ผลของการแยกโมเลกุลลำดับส่วนที่มีต่อน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซาน

น้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานมีการกระจายตัวแบบการแจกแจงปกติ (Normal Distribution) ซึ่งค่าน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานนั้นจะไม่สามารถบอกน้ำหนักโมเลกุลเป็นค่าเดียวได้ น้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานสามารถแสดงได้ในลักษณะเชิงสถิติ โดยแสดงเป็นค่าเฉลี่ยของการกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุล (Molecular Weight Distribution, MWD) ซึ่งไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยค่าหนึ่ง อาจมีการกระจายตัวได้ทั้งกว้างและแคบ เช่น ไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยเท่ากับ 40,000 ดอลตัน ซึ่งน้ำหนักโมเลกุลอาจอยู่ในช่วง 30,000-50,000 หรืออยู่ในช่วง 1,000-100,000 ก็ได้ขึ้นอยู่กับ การกระจายตัวของตัวอย่างไคโตซานนั้นๆ กราฟการกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุลสามารถแสดงได้ดังรูป 2.21



รูปที่ 2.21 กราฟการกระจายตัวของน้ำหนัก



จากรูปจะเห็นได้ว่าค่า  $M_w$  จะมีค่าน้ำหนักโมเลกุลสูงสุด และค่า  $M_n$  จะมีค่าน้ำหนักโมเลกุลน้อยที่สุดแต่มีจำนวนมากที่สุด ส่วน  $M_v$  มีค่าน้ำหนักโมเลกุลใกล้เคียงกับ  $M_w$  แต่น้อยกว่า  $M_w$  ซึ่งหมายความว่า  $M_n < M_v \leq M_w$  และ  $M_n$ ,  $M_v$ , และ  $M_w$  จะเท่ากันก็ต่อเมื่อตัวอย่าง โคลิตซานมีการกระจายตัวแบบยูนิฟอร์ม (Uniform Distribution) ซึ่งจะเกิดเหตุการณ์ดังกล่าวได้เมื่อทำการแยกน้ำหนักโมเลกุล (Molecular Weight Fractionation) เพื่อตัดน้ำหนักโมเลกุลในส่วนที่ไม่ต้องการออกไป เหลือไว้แต่น้ำหนักโมเลกุลเฉพาะที่ต้องการเพียงค่าเดียว



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย

#### 3.1 วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

##### 3.1.1 การหาน้ำหนักโมเลกุลของสารไคโตซานตัวอย่างที่อยู่ในรูปของแข็ง

3.1.1.1 สารตัวอย่างไคโตซานมาตรฐาน CAS 9012-76-4; FW161 จากบริษัท ALDRICH Chemical Company, Inc. สารตัวอย่างไคโตซานแสดงดังรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.1 สารไคโตซานตัวอย่างในสภาพของแข็ง

3.1.1.2 สารละลายกรดอะซิติก ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) AR-grade

3.1.1.3 เกลือโซเดียมอะซิเตท ( $\text{CH}_3\text{COONa}$ ) AR-grade

3.1.1.4 น้ำกลั่น

3.1.1.5 เครื่องชั่งอิเล็กทรอนิกส์ 4 ตำแหน่ง

3.1.1.6 ขวดฝาเกลียวขนาด 50 มิลลิลิตร

3.1.1.7 ปีกเกอร์ขนาด 100, 250 มิลลิลิตร

3.1.1.8 แท่งแก้วกวนสาร

3.1.1.9 Volumetric flask ขนาด 50 และ 1000 มิลลิลิตร

3.1.1.10 Cannon Ubbelohde Viscometer C356 Size 0 มีค่า Approximate Constant เท่ากับ  $0.001 \text{ mm}^2/\text{s}^2$  (cSt/s) และค่า Kinematic Viscosity Range อยู่ในช่วง  $0.3\text{-}1 \text{ mm}^2/\text{s}$  (cSt) จากบริษัท Cannon Instrument Company สำหรับใบรับรองการปรับเทียบมาตรฐานแสดงในภาคผนวก ก

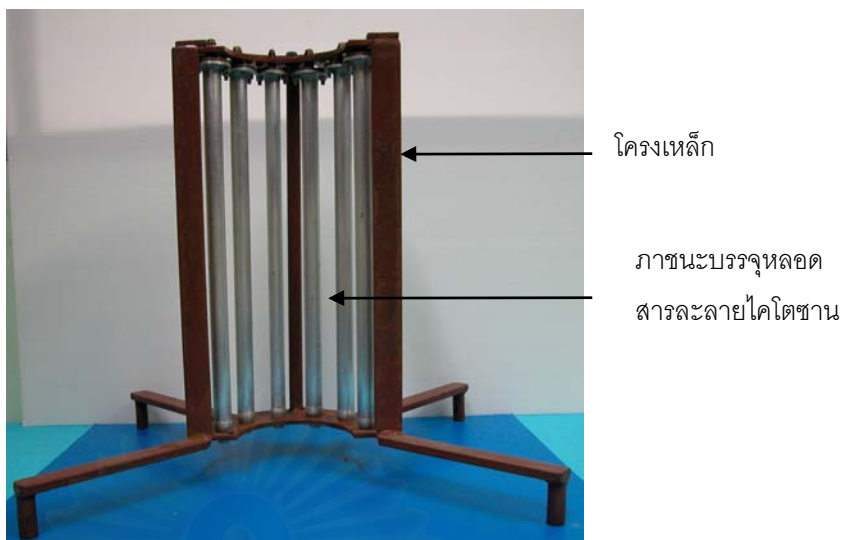
- 3.1.1.11 Water bath สำหรับแช่สารตัวอย่างและ Viscometer
- 3.1.1.12 เทอร์โมมิเตอร์
- 3.1.1.13 ขาดังพร้อมที่จับ
- 3.1.1.14 กระจกตวง ขนาด 10 และ 25 มิลลิลิตร
- 3.1.1.15 ปิเปต ขนาด 0.2 และ 1 มิลลิลิตร
- 3.1.1.16 จุกยางสำหรับดูดสาร
- 3.1.1.17 สารละลายทำความสะอาด Viscometer ( Conc.  $H_2SO_4$  +  $K_2Cr_2O_7$ )

### 3.1.2 การฉายรังสีสารละลายตัวอย่างโคโตซาน 10% ในกรดอะซิติก 2.5%

3.1.2.1 สารตัวอย่างโคโตซานมาตรฐาน CAS 9012-76-4; FW161 จากบริษัท ALDRICH Chemical Company, Inc. ที่ฉายรังสีแกมมาในสภาพของแข็ง 100 กิโลเกรย์

- 3.1.2.2 สารละลายกรดอะซิติก ( $CH_3COOH$ )
- 3.1.2.3 น้ำกลั่น
- 3.1.2.4 แก้ว พร้อมฝาจุกปิด
- 3.1.2.5 เทปกาวใส
- 3.1.2.6 ขวดแก้วขนาดเล็ก สูงประมาณ 2.5 เซนติเมตร
- 3.1.2.7 แท่งพลาสติกยาวประมาณ 2 เซนติเมตร
- 3.1.2.8 บีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร
- 3.1.2.9 กระจกตวง 100 มิลลิลิตร
- 3.1.2.10 แท่งแก้ว
- 3.1.2.11 เครื่องชั่งอิเล็กทรอนิกส์

3.1.2.12 ชุดภาชนะบรรจุหลอดสารละลายโคโตซานสำหรับฉายรังสี ภาชนะบรรจุหลอดสารละลายโคโตซานทำด้วยอะลูมิเนียม มีช่องเปิดเพียงด้านเดียว ซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลางภายในประมาณ 1.6 เซนติเมตร มีความยาวภายนอก 40 เซนติเมตร และความยาวภายใน 36.5 เซนติเมตร จำนวน 6 แท่ง ซึ่งแต่ละแท่งสามารถบรรจุหลอดทดลองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.2 เซนติเมตร ยาว 10.5 เซนติเมตร ได้ 3 หลอด และมีฝาทำจากทองเหลือง โดยเมื่อฉายรังสีจะประกอบเป็นชุด มีโครงทำจากเหล็ก แสดงดังรูปที่ 3.2



รูปที่ 3.2 แสดงชุดภาชนะบรรจุหลอดสารละลายโคโตซานสำหรับฉายรังสี

3.1.2.13 เครื่องฉายรังสีแกมมาจากโคบอลต์-60 จากบริษัท Institute of Isotope ประเทศอังกฤษ รุ่น BSV – 06 ของภาควิชานิวเคลียร์เทคโนโลยี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย แสดงดังรูปที่ 3.3



ภายในห้องเครื่องฉายรังสี

ส่วนควบคุมเครื่องฉายรังสี

รูปที่ 3.3 แสดงเครื่องฉายรังสีแกมมาจากแหล่งกำเนิดรังสีโคบอลต์-60

### 3.1.3 การหาน้ำหนักโมเลกุลของสารละลายตัวอย่างโคโตซาน 10%

3.1.3.1 สารละลายตัวอย่างโคโตซาน 10 เปอร์เซ็นต์ในกรดอะซิติก 2.5 เปอร์เซ็นต์ ที่ผ่านการฉายรังสีที่ปริมาณต่างๆ ที่ต้องการ

3.1.3.2 สารตัวอย่างโคโตซานในสภาพของแข็งที่ผ่านการฉายรังสีที่ 100 kGy

3.1.3.3 กรดอะซิติกเข้มข้น ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) AR-grade

- 3.1.3.4 โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) AR-grade
- 3.1.3.5 น้ำกลั่น
- 3.1.3.6 ปีกเกอร์ ขนาด 100 และ 250 มิลลิลิตร
- 3.1.3.7 กระจกตวง ขนาด 10 และ 25 มิลลิลิตร
- 3.1.3.8 ปิเปต ขนาด 0.2, 1, 5 และ 10 มิลลิลิตร
- 3.1.3.9 Volumetric flask ขนาด 50, 250 และ 1000 มิลลิลิตร
- 3.1.3.10 แท่งแก้วกวนสาร
- 3.1.3.11 ขวดฝาเกลียว ขนาด 60 มิลลิลิตร
- 3.1.3.12 เครื่องชั่งอิเล็กทรอนิกส์ 4 ตำแหน่ง
- 3.1.3.13 สารละลายทำความสะอาด Viscometer ( $H_2SO_4 + K_2Cr_2O_7$ )
- 3.1.3.14 Cannon-Ubbelohde Viscometer
- 3.1.3.15 Water bath สำหรับแช่สารตัวอย่างและ viscometer
- 3.1.3.16 เทอร์โมมิเตอร์
- 3.1.3.17 ขาดังพร้อมที่จับ
- 3.1.3.18 ลูกยางสำหรับดูดสารละลาย

### 3.1.4 การแยกโมเลกุลลำดับส่วนโคโตซานที่ฉายรังสีที่ 100 (ของแข็ง) +40 kGy

- 3.1.4.1 ปีกเกอร์
- 3.1.4.2 กระจกตวง
- 3.1.4.3 ปิเปต
- 3.1.4.4 แท่งแก้ว
- 3.1.4.5 เครื่องเซ็นทริฟิวส์
- 3.1.4.6 หลอดใส่สารสำหรับเซ็นทริฟิวส์
- 3.1.4.7 กระดาษตรวจสอบ pH
- 3.1.4.8 ถาดแก้ว
- 3.1.4.9 เครื่องกวนสารแบบแม่เหล็กไฟฟ้า
- 3.1.4.10 เครื่องชั่งอิเล็กทรอนิกส์ 3 ตำแหน่ง
- 3.1.4.11 ที่ดูดความชื้น (Desiccators)
- 3.1.4.12 น้ำกลั่น
- 3.1.4.13 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)
- 3.1.4.14 อะซิโตน AR Grade



3.1.4.15 สารละลายโคโตซานที่ผ่านการฉายรังสีที่ 100+40 kGy

### 3.1.5 การปลูกพืชทดลองด้วยวิธีไฮโดรโปนิคส์แบบ Float Root System

3.1.5.1 เมล็ดพันธุ์พืชทดลอง ใช้เมล็ดผักกาดหอม (*Lactuca sativa* Linn.) ผักคะน้า (*Brassica alboglabra*) และผักโขม (*Amaranthus tricolor* Linn.) ที่หาได้ตามร้านค้าทั่วไป

3.1.5.2 ภาชนะใส่น้ำและสารละลายธาตุอาหาร

3.1.5.3 เครื่องเติมออกซิเจน

3.1.5.4 โฟม

3.1.5.5 ฟองน้ำ

3.1.5.6 สารละลายโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล 20, 12, 8 และ 4 kDa

3.1.5.7 สารละลายธาตุอาหารดังตารางที่ 3.1

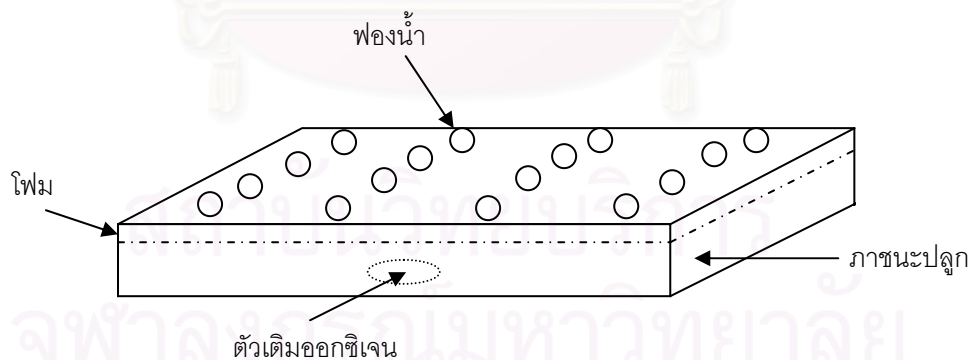
3.1.5.8 กระดาษตรวจสอบ pH

3.1.5.9 เครื่องวัดค่าการนำไฟฟ้า (EC)

3.1.5.10 ไม้บรรทัด

3.1.5.11 กระบอกลงขนาด 10 มิลลิลิตร. และ 1 ลิตร

3.1.5.12 ถังผสมปุ๋ยขนาด 200 ลิตร



รูปที่ 3.4 รูปแบบการปลูกพืชที่ใช้ทดลอง

ตารางที่ 3.1 สารเคมีที่ใช้เตรียมสารละลายธาตุอาหารเพื่อปลูกพืชไม่ใช้ดินในปริมาณ 100 ลิตร (มณูญ ศิรินุพงศ์, 2544)

ปุ๋ย	เปอร์เซ็นต์ธาตุ	ปริมาณปุ๋ยต่อสารละลาย 100 ลิตร	
<b>ปุ๋ย A</b>			
Calcium nitrate	18.8 Ca	12.80	กิโลกรัม
	15.5 N		
Iron chelate	13.2 Fe	560	กรัม
<b>ปุ๋ย B</b>			
Mono-ammonium phosphate (MAP)	12.2 N	870	กรัม
	26.9 P		
Mono-potassium phosphate (MKP)	28.7 K	1.63	กิโลกรัม
	22.8 P		
Potassium nitrate	39.0 K	13.33	กิโลกรัม
	13.0 N		
Magnesium sulphate	9.8 Mg	5.81	กิโลกรัม
	13.0 S		
Boric acid	17.7 B	55.0	กรัม
Zinc sulphate (chelate)	22.7 Zn	20.0	กรัม
Manganese sulphate (chelate)	32.9 Mn	30.0	กรัม
Sodium molybdate	39.7 Mo	1.0	กรัม
Copper sulphate (chelate)	25.6 Cu	3.5	กรัม

### 3.2 วิธีดำเนินการวิจัย

#### 3.2.1 วิธีการหาค่าหนักโมเลกุลโคโตซานตัวอย่างและโคโตซานที่ฉายรังสี 100 kGy ที่อยู่ในรูปของแข็ง

3.2.1.1 เตรียมสารละลายโคโตซานตัวอย่างให้มีความเข้มข้น 10% โดยใช้สารละลายกรดอะซิติก 2.5%(w/v)

3.2.1.2 ปรับความเข้มข้นโคโตซานให้เป็น 1% โดยเติมโซเดียมอะซิเตท 0.5 โมลาร์ และสารละลายของกรดอะซิติก 0.5 โมลาร์ เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 1 คืน

3.2.1.3 เตรียม stock solution ของตัวทำละลายจำนวน 1000 มิลลิลิตร ประกอบด้วย กรดอะซิติก 0.5 โมลาร์ และไฮเดียมอะซิเตท 0.5 โมลาร์

3.2.1.4 เจือจางโคโตซาน 1% ด้วย stock solution ให้ได้ประมาณ 5 ความเข้มข้น (อยู่ในช่วง 0.1-0.01 g/100มิลลิลิตร) ความเข้มข้นละ 20 มิลลิลิตร เขย่าและตั้งทิ้งไว้ 1 คืน



รูปที่ 3.5 สารละลายโคโตซานที่ความเข้มข้นต่างๆ จากโคโตซานที่ฉายรังสี 100 kGy

3.2.1.5 หาน้ำหนักโมเลกุลของโคโตซาน โดยนำ Ubbelohde Viscometer No.C356 ตั้งตรงใน water bath ที่อุณหภูมิ 25°C โดยใช้ขาตั้งยึดไว้จัดให้ตั้งตรงในแนวตั้งฉาก และนำ stock solution 1 ขวดและโคโตซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่เตรียมไว้แช่ลงใน water bath ที่อุณหภูมิ 25°C ประมาณ 20 นาที

3.2.1.6 ใช้นิ้วอุดตรงหลอด B และใช้ลูกยางดูดสารละลายขึ้นทางหลอด A ดูดสารละลายขึ้นมาจนถึงประมาณกึ่งกลางกะเปราะ C เอาลูกยางออก ปล่อยนิ้วที่อุดไว้ สารละลายเริ่มไหลลงมา เมื่อสารละลายไหลมาถึงตำแหน่ง D เริ่มจับเวลา จนกระทั่งสารละลายผ่านมาถึงตำแหน่ง F จึงหยุดเวลา เวลาที่ได้คือ efflux time บันทึกเวลาไว้ และเริ่มทำการทดลองนี้ซ้ำอีก 1 ซ้ำ เป็น efflux time ครั้งที่ 2 บันทึกเวลา คำนวณหาเวลาเฉลี่ยของการทดลอง 2 ซ้ำ

3.2.1.7 เทสารละลายออกจนหมดแล้วทำการทดลองซ้ำ โดยเปลี่ยนสารเป็นสารละลายโคโตซานที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยทดลองจากความเข้มข้นน้อยไปมากจนครบทุกความเข้มข้น

### 3.2.2 วิธีการหาน้ำหนักโมเลกุลของสารละลายโคโตซานที่ฉายรังสีแกมมาในปริมาณต่างๆ

3.2.2.1 เตรียมโซเดียมคลอไรด์ 1 โมลาร์และเตรียมกรดอะซิติก 0.584 โมลาร์

3.2.2.2 ปิเปตดูดสารละลายโคโตซาน 10% ในกรดอะซิติก 2.5% จำนวน 5 มิลลิลิตร ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร

3.2.2.3 เติมกรดอะซิติก 0.584 โมลาร์จำนวน 5 มิลลิลิตร ลงในสารละลายโคโตซาน แล้วเติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร และ โซเดียมคลอไรด์ 1 โมลาร์ จำนวน 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 50 มิลลิลิตร จะได้โคโตซาน 1% ในระบบตัวทำละลาย 0.1 โมลาร์ของกรดอะซิติก และ 0.2 โมลาร์ของโซเดียมคลอไรด์ ตั้งทิ้งไว้ 1 คืน

3.2.2.4 เตรียม stock solution ของตัวทำละลายจำนวน 1000 มิลลิลิตร ประกอบด้วย กรดอะซิติก 0.1 โมลาร์ และโซเดียมคลอไรด์ 0.2 โมลาร์

3.2.2.5 เจือจางโคโตซาน 1% ด้วย stock solution ให้ได้ประมาณ 5 ความเข้มข้น (อยู่ในช่วง 0.1-0.01 g/100 มิลลิลิตร) ความเข้มข้นละ 20 มิลลิลิตร เขย่าและตั้งทิ้งไว้ 1 คืน



รูปที่ 3.6 สารละลายโคโตซาน 10% ในสารละลายกรดอะซิติก 2.5% ที่ฉายรังสีในปริมาณต่างๆ



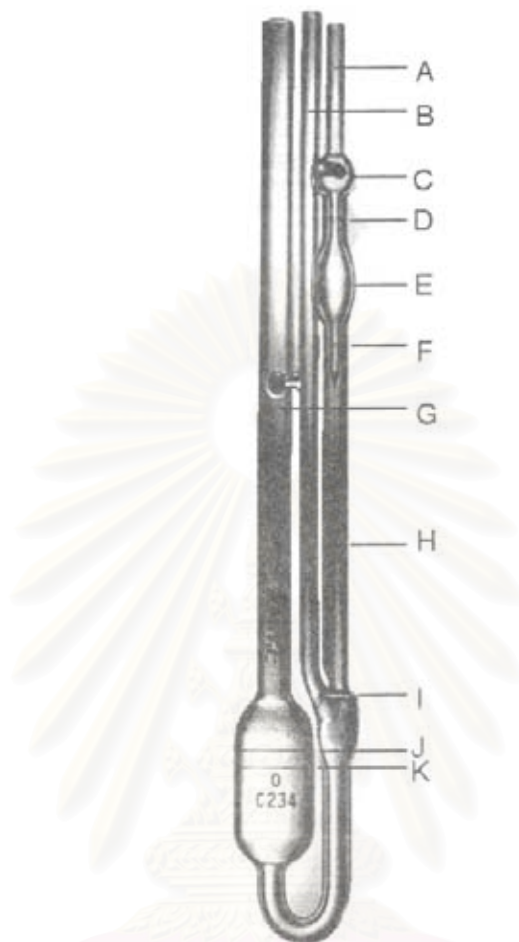
รูปที่ 3.7 สารละลายโคโคซานที่ความเข้มข้นต่างๆ

3.2.2.6 หาน้ำหนักโมเลกุลของโคโคซาน โดยนำ Ubbelohde Viscometer No.C356 ตั้งตรงใน water bath ที่อุณหภูมิ  $25^{\circ}\text{C}$  โดยใช้พลาสติกยึดไว้จัดให้ตั้งตรงในแนวตั้งฉาก และนำ stock solution 1 ขวดและโคโคซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่เตรียมไว้แช่ลงใน water bath ที่อุณหภูมิ  $25^{\circ}\text{C}$  ประมาณ 20 นาที

3.2.2.7 ใช้น้ำวัดตรงหลอด B และใช้ลูกยางดูดสารละลายขึ้นทางหลอด A ดูดสารละลายขึ้นมาจนถึงประมาณกลางกะเปราะ C เอาลูกยางออก ปล่อนิ้วที่อุดไว้ สารละลายเริ่มไหลลงมา เมื่อสารละลายไหลมาถึงตำแหน่ง D เริ่มจับเวลา จนกระทั่งสารละลายผ่านมาถึงตำแหน่ง F จึงหยุดเวลา เวลาที่ได้คือ efflux time บันทึกเวลาไว้ และเริ่มทำการทดลองนี้ซ้ำอีก 1 ซ้ำ เป็น efflux time ครั้งที่ 2 บันทึกเวลา คำนวณหาเวลาเฉลี่ยของการทดลอง 2 ซ้ำ

3.2.2.8 เทสารละลายออกจนหมดแล้วทำการทดลองซ้ำ โดยเปลี่ยนสารเป็นสารละลายโคโคซานที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยทดลองจากความเข้มข้นน้อยไปมากจนครบทุกความเข้มข้น





รูปที่ 3.8 ตำแหน่งต่างๆ ของ Ubbelohde Viscometer

### 3.2.3 วิธีการแยกน้ำหนักรีดโมเลกุลลำดับส่วน

3.2.3.1 ตวงสารละลายโคโคซานที่ฉายรังสี จำนวน 20 มิลลิลิตร ลงในปิ๊กเกอร์ ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นลงไป 50 มิลลิลิตร กวนด้วยเครื่องกวนแบบแม่เหล็กไฟฟ้า

3.2.3.2 ค่อย ๆ เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ (w/v) จำนวน 10 มิลลิลิตร ลงไปในสารละลายโคโคซาน ขณะที่กวนด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้า เป็นเวลาประมาณ 5 นาที และตั้งทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง

3.2.3.3 นำสารละลายโคโคซานที่มีตะกอนเกิดขึ้นไปเซ็นทริฟิวส์เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วรินหรือดูดเอาสารละลายด้านบนออกใส่ในปิ๊กเกอร์เพื่อรอการแยกครั้งที่ 2 ต่อไป

3.2.3.4 สำหรับตะกอนที่ได้จากการแยกครั้งที่ 1 นำมาล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่น 4-5 ครั้ง จนกว่าจะมีค่า pH เป็นกลาง เทตะกอนออกทิ้งไว้ให้แห้ง แล้วนำตะกอนไปใส่ใน

Desiccators เพื่อลดความชื้น ทำการบันทึกน้ำหนักของตะกอนที่ได้ในแต่ละครั้งเพื่อนำไปหา percent yield

3.2.3.5 นำตะกอนที่ได้ไปหาล้างน้ำหนักโมเลกุลโดยใช้ Viscometer โดยใช้ตัวทำละลายกรดอะซิติก 0.1 โมลาร์ และโซเดียมคลอไรด์ 0.2 โมลาร์

3.2.3.6 สำหรับการแยกครั้งที่ 2 นั้นจะเหมือนกับการแยกครั้งแรก โดยนำสารละลายด้านบนนำมาตกตะกอนต่อ โดยเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 เปอร์เซ็นต์จำนวน 40 มิลลิลิตร ลงไปขณะที่กวนด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้า

### 3.2.4 วิธีการวัดการเจริญเติบโตของพืช

เมื่อได้สารละลายโคโตซานที่มีขนาดโมเลกุล 20, 12, 8 และ 4 kDa จึงนำมาทดลองกับพืชทดลองทั้ง 3 ชนิด คือ ผักกาดหอม (*Lactuca sativa* Linn.) ผักคะน้า (*Brassica alboglabra*) และผักโขม (*Amaranthus tricolor* Linn.) โดยใส่สารละลายโคโตซานในปริมาณ 200 ppm (Le Quang Luan et al., 2002) ผสมในสารละลายปุ๋ยในตารางที่ 3.1 ซึ่งสารละลายปุ๋ยจะผสมในอัตราส่วน 4 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตร ปรับค่า pH ให้อยู่ในช่วง 6.0-6.5 และค่า EC อยู่ในช่วง 1.5-2.5 mS/cm และจะเติมสารละลายปุ๋ยเพิ่มเมื่อค่า EC มีค่าต่ำกว่าที่กำหนด ส่วนสารละลายโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่างๆ นั้นจะใส่ผสมในสารละลายปุ๋ยทุกๆ 7 วัน ตัวคอนโทรลคือพืชที่ปลูกในสารละลายปุ๋ยเพียงอย่างเดียว โดยปลูกพืชด้วยระบบไฮโดรโปนิคส์แบบ Float Root System การเก็บข้อมูลของต้นพืชทั้ง 3 ชนิดๆ ละ 10 ต้นซึ่งได้จากการสุ่ม จะทำการบันทึกผลโดยวัดความสูงของต้นในแต่ละช่วงการเจริญเติบโต โดยใช้ไม้บรรทัดวัดตั้งแต่เหนือวัสดุปลูก (ฟองน้ำ) จนถึงปลายใบและในแต่ละช่วงของการเจริญเติบโตจะวัดความสูงของต้นเดิมทุกครั้ง



รูปที่ 3.9 วิธีการวัดความสูงของพืชทดลอง

### 3.3 การวิเคราะห์ข้อมูล

#### 3.3.1 การวิเคราะห์หาน้ำหนักโมเลกุลของโคโตซาน

ค่า Efflux time ที่ได้ในการทดลองด้วย Ubbelohde Viscometer นำมาคำนวณหา ค่า specific viscosity ( $\eta_{sp}$ ) และคำนวณหาค่า  $\eta_{sp}/C$  หรือค่า reduced viscosity ( $\eta_{red}$ ) ตามสมการที่ 3.1 และ 3.2

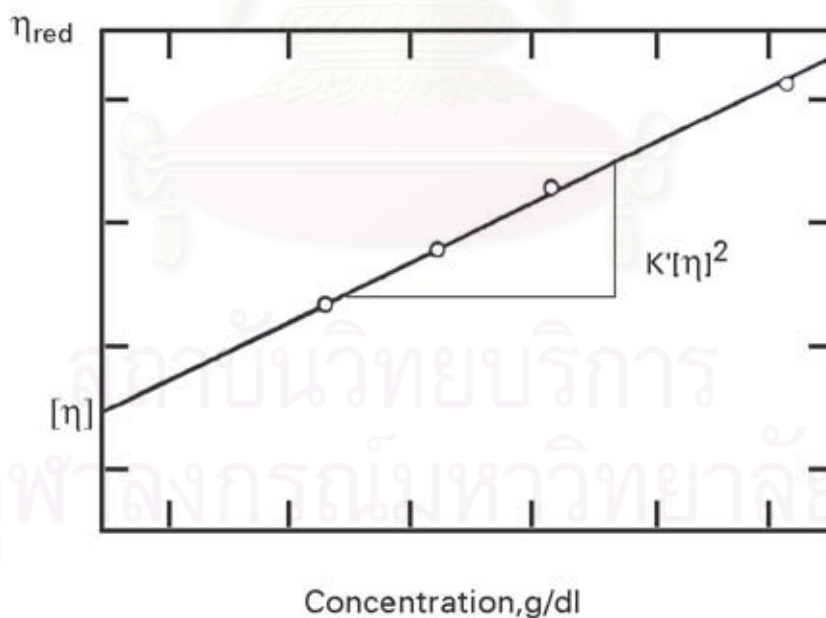
$$\eta_{sp} = \frac{t - t_0}{t_0} \quad 3.1$$

$$\eta_{red} = \frac{\eta_{sp}}{C} \quad 3.2$$

ค่า reduced viscosity ( $\eta_{red}$ ) ที่ได้จากการคำนวณ นำมาเขียนกราฟความสัมพันธ์

รูปที่ 3.10 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสารละลายโคโตซานและค่า reduced viscosity ( $\eta_{red}$ )

กับค่าความเข้มข้นของสารละลายโคโตซาน (C) ตัวอย่างดังรูปที่ 3.10



จากกราฟเส้นตรงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น (C) กับค่า reduced viscosity ( $\eta_{red}$ ) หากจุดตัดแกน y (y-intercept) ค่าจุดตัดที่ได้คือค่า intrinsic viscosity  $[\eta]$  ค่า  $[\eta]$  ที่ได้จากกราฟ นำมาคำนวณหาน้ำหนักโมเลกุลของโคโตซาน จากสมการของ Mark-Houwink ดังสมการที่ 3.3

$$[\eta] = KM_v^a \quad 3.3$$

เมื่อ K และ a เป็นค่าคงที่ ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของระบบตัวทำละลายที่เลือกใช้คือกรดอะซิติก 0.5 โมลาร์ กับโซเดียมอะซิเตท 0.5 โมลาร์ ซึ่งมีค่าเท่ากับ  $1.99 \times 10^{-3}$  (100 มิลลิลิตร/g) และ 0.59 ตามลำดับ และกรดอะซิติก 0.1 โมลาร์ กับโซเดียมคลอไรด์ 0.2 โมลาร์ ซึ่งมีค่าเท่ากับ  $1.81 \times 10^{-5}$  (100 มิลลิลิตร/g) และ 0.93 ตามลำดับ แทนค่า  $[\eta]$ , K และ a ที่ได้ลงในสมการที่ 3.3 สามารถคำนวณหาน้ำหนักโมเลกุล (Mv) หรือ Viscosity average molecular weight ได้

### 3.3.2 การวิเคราะห์ข้อมูลการเจริญเติบโตของพืชตัวอย่าง 3 ชนิด

นำค่าความสูงของพืชทดลองแต่ละทรีทเมนต์ (treatment) มาคำนวณผลโดยใช้ค่าทางสถิติ โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD มี 5 ทรีทเมนต์ได้แก่ คอนโทรล สารละลายโคโคซาน ที่มีน้ำหนักโมเลกุลที่ 20, 12, 8 และ 4 kDa ตามลำดับ แต่ละทรีทเมนต์จะเก็บ ตัวอย่างละ 10 ต้น และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์โดยวิธีดีันแคน (Duncan's New Multiple Range Test, DMRT) แล้ววิเคราะห์ผลที่ได้ด้วยโปรแกรม spss for windows version 13.0

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## บทที่ 4

### ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

#### 4.1 ผลการวิเคราะห์

##### 4.1.1 การหาน้ำหนักโมเลกุลของสารโคโตซานตัวอย่าง

จากการนำโคโตซานตัวอย่างที่มี %DD เท่ากับ 79% มาหาน้ำหนักโมเลกุลคิดในรูปความหนืด (Viscosity average molecular weight,  $M_v$ ) โดย Cannon-Ubbelohde Viscometer No.C356 จะได้ผลดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ผลการหาน้ำหนักโมเลกุลของสารตัวอย่าง

ครั้งที่	$[\eta]$	$M_v$ (Da)	$M_v$ เฉลี่ย (Da)	ช่วงของค่า $M_v$ (Da)
1	5.68	718,877		
2	6.04	798,678	749,129	798,678 - 718,877
3	5.73	729,832		

##### 4.1.2 การหาน้ำหนักโมเลกุลของโคโตซานที่ผ่านการฉายรังสีแกมมา

โคโตซานซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลเริ่มต้น  $7.5 \times 10^6$  ถึง  $7.2 \times 10^6$  ดอลตัน เมื่อนำมาฉายรังสีที่ 100 กิโลเกรย์ในสถานะของแข็ง และนำมาฉายรังสีต่อในสถานะสารละลาย คือสาร โคโตซานความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ในสารละลายกรดอะซิติก 2.5 เปอร์เซ็นต์ ที่ปริมาณรังสี 0, 20, 40, 60, 70 และ 80 กิโลเกรย์ ตามลำดับ และสามารถหาน้ำหนักโมเลกุลของโคโตซานที่ปริมาณรังสีต่างๆ ได้ แสดงดังตารางที่ 4.2 – 4.7 และตารางสรุปผลของปริมาณรังสีที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักโมเลกุลแสดงดังตารางที่ 4.8 และรูปที่ 4.1

ตารางที่ 4.2 ผลการหาน้ำหนักโมเลกุลของสารตัวอย่างโคโตซานที่ฉายรังสีที่ 100 kGy ในสภาพของแข็ง

ครั้งที่	$[\eta]$	$M_v$ (Da)	$M_v$ เฉลี่ย (Da)	ช่วงของค่า $M_v$ (Da)
1	2.5	178,933		
2	1.9	112,377	148,887	178,933 – 112,377
3	2.3	155,351		



ตารางที่ 4.3 ผลการหาน้ำหนักโมเลกุลของสารตัวอย่างโคโตซานที่ฉายรังสีที่ 100+20 kGy

ครั้งที่	[ $\eta$ ]	$M_v$ (Da)	$M_v$ เฉลี่ย (Da)	ช่วงของค่า $M_v$ (Da)
1	0.54	65,063		
2	0.65	79,728	68,146	79,728 – 59,646
3	0.5	59,646		

ตารางที่ 4.4 ผลการหาน้ำหนักโมเลกุลของสารตัวอย่างโคโตซานที่ฉายรังสีที่ 100+40 kGy

ครั้งที่	[ $\eta$ ]	$M_v$ (Da)	$M_v$ เฉลี่ย (Da)	ช่วงของค่า $M_v$ (Da)
1	0.2	22,268		
2	0.3	34,438	25,875	34,438 - 20,918
3	0.19	20,918		

ตารางที่ 4.5 ผลการหาน้ำหนักโมเลกุลของสารตัวอย่างโคโตซานที่ฉายรังสีที่ 100+60 kGy

ครั้งที่	[ $\eta$ ]	$M_v$ (Da)	$M_v$ เฉลี่ย (Da)	ช่วงของค่า $M_v$ (Da)
1	0.12	12,926		
2	0.1	10,568	12,630	14,395 - 10,568
3	0.1330	14,395		

ตารางที่ 4.6 ผลการหาน้ำหนักโมเลกุลของสารตัวอย่างโคโตซานที่ฉายรังสีที่ 100+70 kGy

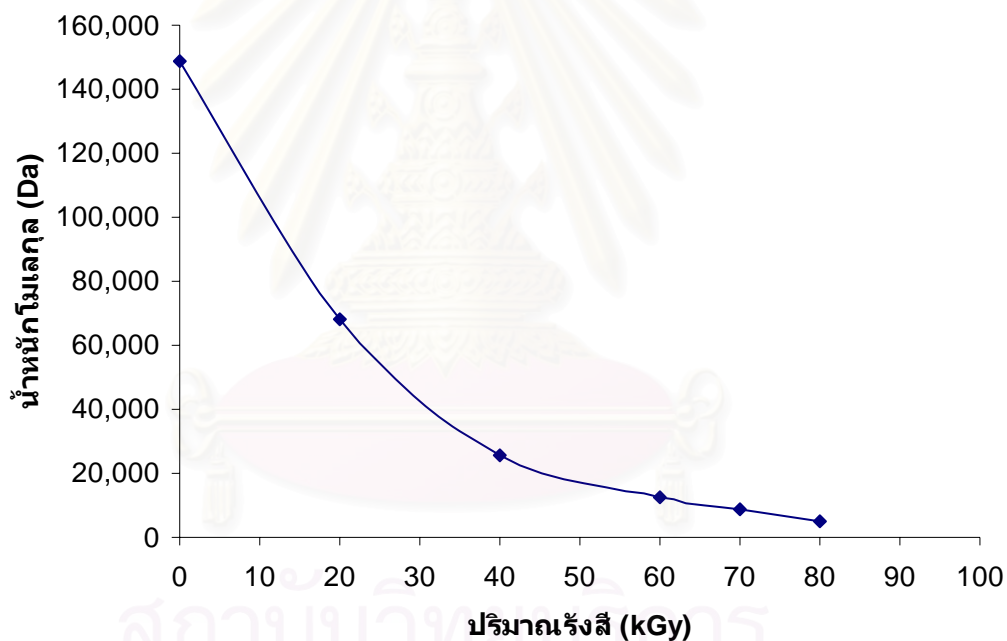
ครั้งที่	[ $\eta$ ]	$M_v$ (Da)	$M_v$ เฉลี่ย (Da)	ช่วงของค่า $M_v$ (Da)
1	0.0920	9,661		
2	0.0765	7,912	8,655	9,661 - 7,912
3	0.0807	8,392		

ตารางที่ 4.7 ผลการหาน้ำหนักโมเลกุลของสารตัวอย่างโคโตซานที่ฉายรังสีที่ 100+80 kGy

ครั้งที่	[ $\eta$ ]	$M_v$ (Da)	$M_v$ เฉลี่ย (Da)	ช่วงของค่า $M_v$ (Da)
1	0.0266	2,544		
2	0.0686	7,047	4,797	2,544 - 7,047
3	0.0480	4,800		

ตารางที่ 4.8 แสดงผลการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยเมื่อฉายรังสีที่ปริมาณต่างๆ

ปริมาณรังสี (kGy)	น้ำหนักโมเลกุล ( $M_v$ ) (Da)
100 (ของแข็ง)	148,887
100 (ของแข็ง) + 20 (สารละลาย)	68,146
100 (ของแข็ง) + 40 (สารละลาย)	25,875
100 (ของแข็ง) + 60 (สารละลาย)	12,630
100 (ของแข็ง) + 70 (สารละลาย)	8,655
100 (ของแข็ง) + 80 (สารละลาย)	4,797



รูปที่ 4.1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณรังสีที่ฉายในสภาวะสารละลายกรดอะซิติกกับน้ำหนักโมเลกุล ( $M_v$ ) ของโคโตซาน โดยที่โคโตซานฉายรังสีในสภาวะของแข็งมาแล้ว 100 kGy และฉายรังสีต่อที่ปริมาณรังสีต่างๆ ในสารละลายกรดอะซิติก 2.5 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้นของโคโตซาน 10 เปอร์เซ็นต์

#### 4.1.3 การแยกโมเลกุลลำดับส่วนโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 20,000 ดอลตัน

การแยกโมเลกุลลำดับส่วนของโคโตซานที่ฉายรังสีที่ 100+40 kGy เพื่อแยกโมเลกุลโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 20,000 ดอลตัน จากการแยก 2 ครั้ง แยกครั้งแรกเพื่อตัดน้ำหนักโมเลกุลที่มีค่าสูงๆ ออกก่อนโดยเปลี่ยนแปลงตามปริมาณของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เติมลงไปทั้ง 4 สภาวะของการทดลอง และทำการตกตะกอนอีกครั้งเพื่อแยกน้ำหนักโมเลกุลในช่วงที่ต้องการออกมา ซึ่งปริมาณตะกอนที่ได้, %yield และสีของสารละลายโคโตซานหลังจากตกตะกอนจากการแยกทั้ง 2 ครั้งแสดงดังตารางที่ 4.9 และเมื่อนำมาหาค่าน้ำหนักโมเลกุลของตะกอนจากการแยกทั้ง 2 ครั้งโดยใช้ Viscometer จะได้น้ำหนักโมเลกุลของตะกอนที่ได้จากการแยกครั้งที่ 1 แสดงดังตารางที่ 4.10

ตารางที่ 4.9 แสดงน้ำหนักของตะกอนที่ได้, % yield และสีของสารละลายหลังจากตกตะกอน

สารละลายโคโตซานที่ฉายรังสีที่ 100+40 kGy (เพื่อแยกโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 20,000 ดอลตัน) ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ คือ 0.75, 1.00, 2.00 และ 4.00 เปอร์เซ็นต์ในการแยกครั้งที่ 1

ความเข้มข้น NaOH (%)	การแยกครั้งที่ 1			
	ตะกอน	น้ำหนักตะกอน (กรัม)	% yield	สีสารละลาย ภายหลังตกตะกอน
0.75	$W_{U1}$	0.56	27.9	$S_{U1}$ = น้ำตาลเข้ม
1.00	$W_{X1}$	1.34	67.0	$S_{X1}$ = เหลืองอ่อนใส
2.00	$W_{Y1}$	1.15	57.5	$S_{Y1}$ = เหลืองเข้ม
4.00	$W_{Z1}$	0.87	43.5	$S_{Z1}$ = เหลืองเข้ม

ความเข้มข้น NaOH (%)	การแยกครั้งที่ 2			
	ตะกอน	น้ำหนักตะกอน (กรัม)	% yield	สีสารละลาย ภายหลังตกตะกอน
0.75	$W_{U2}$	0.39	19.5	$S_{U2}$ = เหลืองเข้ม
1.00	$W_{X2}$	-	-	-
2.00	$W_{Y2}$	-	-	-
4.00	$W_{Z2}$	-	-	-

$W_{U1}$ $W_{X1}$ $W_{Y1}$ $W_{Z1}$	คือ ตะกอนที่ได้จากการแยกครั้งที่ 1
$W_{U2}$	คือ ตะกอนที่ได้จากการแยกครั้งที่ 2 ด้วย 0.75% NaOH
$S_{U1}$ $S_{X1}$ $S_{Y1}$ $S_{Z1}$	คือ สารละลายส่วนบนหลังจากทำการแยกครั้งที่ 1
$S_{U2}$	คือ สารละลายส่วนบนหลังจากทำการแยกครั้งที่ 2

ตารางที่ 4.10 แสดงค่าน้ำหนักโมเลกุล ( $M_v$ ) ของตะกอนโคโตซานที่แยกโดยใช้ NaOH ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ คือ 0.75, 1, 2 และ 4% ตามลำดับ ของโคโตซานที่ฉายรังสีที่ 100+40 kGy

ตะกอน	ครั้งที่	น้ำหนักโมเลกุล ( $M_v$ ) (Da)	ค่าเฉลี่ย (Da)	ช่วงของค่า $M_v$ (Da)
$W_{U1}$	1	42,369		
	2	43,300	47,610	42,369 – 57,161
	3	57,161		
$W_{U2}$	1	32,422		
	2	10,994	22,617	10,994 – 32,422
	3	24,436		
$W_{X1}$	1	21,541		
	2	30,047	23,332	21,541 – 30,047
	3	18,409		
$W_{Y1}$	1	25,218		
	2	38,723	28,384	21,211 – 38,723
	3	21,211		
$W_{Z1}$	1	30,971		
	2	34,781	35,333	30,971 – 40,247
	3	40,247		

#### 4.1.4 การเจริญเติบโตของพืชเมื่อใช้สารละลายโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลที่แตกต่างกัน

จากการทดลองทำการวัดการเจริญเติบโตของเมล็ดพันธุ์ทั้ง 3 ชนิด โดยทำการวัดความสูงในช่วง 4 วันแรกของการเพาะเมล็ดในสารละลายโคโตซาน 200 ppm ที่มีน้ำหนักโมเลกุล 20000, 12000, 8000 และ 4000 ดอลตัน เทียบกับสารละลายปุ๋ยดังตารางที่ 3.1 ซึ่งเป็นตัวคอนโทรล จากจำนวนตัวอย่าง 10 ต้นในแต่ละทรีทเมนต์ ได้ผลดังนี้

ตารางที่ 4.11 การเจริญเติบโตของพืชตัวอย่าง (ความสูงเฉลี่ย) ทั้ง 3 ชนิดในสารละลายโคโตซาน 200 ppm ช่วง 4 วันแรกหลังการเพาะเมล็ด

พืช	คอนโทรล (cm)	20 kDa (cm)	12 kDa (cm)	8 kDa (cm)	4 kDa (cm)	F-test
คะน้า	0.80 <sup>a</sup>	0.85 <sup>ab</sup>	0.90 <sup>bc</sup>	0.90 <sup>bc</sup>	0.95 <sup>c</sup>	6.359*
ผักกาดหอม	0.80 <sup>a</sup>	1.00 <sup>b</sup>	0.97 <sup>b</sup>	0.95 <sup>b</sup>	0.95 <sup>b</sup>	2.884*
ผักโขม	0.90 <sup>a</sup>	0.95 <sup>a</sup>	1.00 <sup>a</sup>	1.20 <sup>b</sup>	0.97 <sup>a</sup>	5.015*

ns ไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

\* แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

a, b, c เป็นการจับกลุ่มด้วยวิธี DMRT โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละคู่ของแต่ละทรีทเมนต์ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ว่าผลที่ได้มีความแตกต่างหรือไม่แตกต่างกันทางสถิติ

จากการทดลองทำการวัดการงอกของเมล็ดพันธุ์ทั้ง 3 ชนิด โดยทำการวัดในช่วง 4 วันแรกของการเพาะเมล็ดในสารละลายโคโตซาน 200 ppm ที่มีน้ำหนักโมเลกุลที่ 20000, 12000, 8000 และ 4000 ดอลตัน เทียบกับสารละลายปุ๋ยตามตารางที่ 3.1 ซึ่งเป็นตัวคอนโทรล ดังแสดงในตารางที่ 4.11 พบว่า คะน้ามีการเจริญเติบโตของทั้ง 5 ทรีทเมนต์มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ และจากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์โดยวิธีดันแคนพบว่า ที่ตัวคอนโทรล และโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล 20000 ดอลตัน ความสูงของพืชโดยเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันโดยในแต่ละทรีทเมนต์จะมีความสูงเฉลี่ย 0.8 และ 0.85 เซนติเมตรตามลำดับ โคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล 20000, 12000 และ 8000 ดอลตัน พบว่าไม่มีความแตกต่างกันโดยในแต่ละทรีทเมนต์จะมีความสูงเฉลี่ย 0.85, 0.9 และ 0.9 เซนติเมตรตามลำดับ ส่วนโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล 12000, 8000 และ 4000 ดอลตัน พบว่าไม่มีความแตกต่างกันโดยในแต่ละทรีทเมนต์จะมีความสูงเฉลี่ย 0.9, 0.9 และ 0.95 เซนติเมตรตามลำดับ ในผักกาดหอมมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และจากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์โดยวิธีดันแคนพบว่า

โคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล 20000, 12000, 8000 และ 4000 ดอลตัน ความสูงของพืชโดยเฉลี่ย ไม่มีความแตกต่างกันโดยในแต่ละทรีทเมนต์จะมีความสูงเฉลี่ย 1.00, 0.97, 0.95 และ 0.95 เซนติเมตรตามลำดับ ส่วนตัวคอนโทรลพบว่ามีความสูงเฉลี่ย 0.80 เซนติเมตร และในผักโขมมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และจากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์โดยวิธีต้นแคนพบว่า ที่ตัวคอนโทรล และโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล 20000, 12000 และ 4000 ดอลตัน ความสูงของพืชโดยเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันโดยในแต่ละทรีทเมนต์จะมีความสูงเฉลี่ย 0.90, 0.95, 1.00 และ 0.97 เซนติเมตรตามลำดับ ส่วนโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล 8000 ดอลตัน พบว่ามีความสูงเฉลี่ย 1.20 เซนติเมตร

ในการทดสอบสารละลายโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่างๆ เมื่อใช้กับพืชทดลองแล้ว มีการเจริญเติบโตดังในตารางที่ 4.12 4.13 และ 4.14 โดยทำการปลูกพืชด้วยวิธีไฮโดรโปนิคส์แบบ Float Root System และสารละลายปุ๋ยจะใส่ในอัตราส่วน 4 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 100 ลิตร ส่วนโคโตซานแต่ละน้ำหนักโมเลกุลจะใส่ในปริมาณ 200 ppm จำนวนตัวอย่าง 10 ต้นในแต่ละทรีทเมนต์ ได้ผลดังนี้

ตารางที่ 4.12 การเจริญเติบโต (ความสูงเฉลี่ย: cm) เฉลี่ยของพืชทดลองในสารละลายโคโตซาน 200 ppm ของวันที่ 16 ของการปลูก

พืช	คอนโทรล	20 kDa	12 kDa	8 kDa	4 kDa	F-test
		(cm)	(cm)	(cm)	(cm)	
คะน้า	1.54 <sup>a</sup>	1.72 <sup>a</sup>	1.96 <sup>ab</sup>	2.18 <sup>b</sup>	2.21 <sup>b</sup>	4.161*
ผักกาดหอม	1.49 <sup>a</sup>	3.48 <sup>d</sup>	2.96 <sup>c</sup>	2.53 <sup>bc</sup>	2.29 <sup>b</sup>	19.584*
ผักโขม	1.58 <sup>a</sup>	2.04 <sup>b</sup>	2.29 <sup>bc</sup>	2.52 <sup>c</sup>	2.15 <sup>bc</sup>	5.831*

ns ไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

\* แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

a, b, c, d เป็นการจับกลุ่มด้วยวิธี DMRT โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละคู่ของแต่ละทรีทเมนต์ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ว่าผลที่ได้มีความแตกต่างหรือไม่แตกต่างกันทางสถิติ

จากตารางที่ 4.12 ความสูงเฉลี่ยของพืชทดลองในวันที่ 16 ของการปลูก พบว่าคะน้ามีการเจริญเติบโตของทั้ง 5 ทรีทเมนต์มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ และจากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์โดยวิธีต้นแคนพบว่า ที่ตัวคอนโทรลและโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล 20000 และ 12000 ดอลตัน ความสูงของพืชโดยเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันโดยในแต่ละทรีทเมนต์จะมีความสูงเฉลี่ย 1.54, 1.72 และ 1.96 เซนติเมตรตามลำดับ ส่วนโคโตซานที่



น้ำหนักโมเลกุล 12000, 8000 และ 4000 ดอลตัน ความสูงของพีชโดยเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกัน โดยแต่ละทรีทเมนต์มีความสูงเฉลี่ย 1.96, 2.18 และ 2.21 เซนติเมตรตามลำดับ ในผักกาดหอมมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และจากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์โดยวิธีดันแคนพบว่า ที่โคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล 8000 และ 4000 ดอลตัน ความสูงของพีชโดยเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันโดยในแต่ละทรีทเมนต์จะมีความสูงเฉลี่ย 2.53 และ 2.29 เซนติเมตรตามลำดับ โคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล 12000 และ 8000 ดอลตัน พบว่ามีความสูงเฉลี่ย 2.96 และ 2.53 เซนติเมตรตามลำดับ ส่วนตัวคอนโทรลพบว่ามีความสูงเฉลี่ย 1.49 เซนติเมตร และโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล 20000 ดอลตันพบว่ามีความสูงเฉลี่ยมากที่สุดคือ 3.48 เซนติเมตร และในผักโขมมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และจากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์โดยวิธีดันแคนพบว่า โคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล 20000, 12000 และ 4000 ดอลตัน ความสูงของพีชโดยเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันโดยในแต่ละทรีทเมนต์จะมีความสูงเฉลี่ย 2.04, 2.29 และ 2.15 เซนติเมตรตามลำดับ โคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล 12000, 8000 และ 4000 ดอลตัน พบว่าความสูงของพีชโดยเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันโดยมีความสูงเฉลี่ย 2.29, 2.52 และ 2.15 เซนติเมตรตามลำดับ ส่วนคอนโทรลพบว่าความสูงของพีชโดยเฉลี่ย 1.58 เซนติเมตร

ตารางที่ 4.13 การเจริญเติบโต (ความสูงเฉลี่ย: cm) เฉลี่ยของพีชทดลองในสารละลายโคโตซาน 200 ppm ของวันที่ 21 ของการปลูก

พีช	คอนโทรล (cm)	20 kDa (cm)	12 kDa (cm)	8 kDa (cm)	4 kDa (cm)	F-test
คะน้า	5.85 <sup>a</sup>	6.56 <sup>ab</sup>	7.24 <sup>bc</sup>	7.97 <sup>c</sup>	8.00 <sup>c</sup>	5.801*
ผักกาดหอม	6.76 <sup>a</sup>	8.45 <sup>b</sup>	8.32 <sup>b</sup>	7.11 <sup>a</sup>	6.88 <sup>a</sup>	5.144*
ผักโขม	7.31 <sup>a</sup>	7.88 <sup>ab</sup>	9.13 <sup>cd</sup>	9.88 <sup>d</sup>	8.67 <sup>bc</sup>	7.020*

ns ไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

\* แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

a, b, c, d เป็นการจับกลุ่มด้วยวิธี DMRT โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละคู่ของแต่ละทรีทเมนต์ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ว่าผลที่ได้มีความแตกต่างหรือไม่แตกต่างกันทางสถิติ

จากตารางที่ 4.13 ความสูงเฉลี่ยของพีชทดลองในวันที่ 21 ของการปลูก พบว่าคะน้ามีการเจริญเติบโตของทั้ง 5 ทรีทเมนต์มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ และจากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์โดยวิธีดันแคนพบว่า ที่ตัวคอนโทรลและโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล 20000 ดอลตัน ความสูงของพีชโดยเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกัน โดยในแต่ละ

ทรีทเมนต์มีความสูงเฉลี่ย 5.85 และ 6.56 เซนติเมตรตามลำดับ ไคโตซานที่น้ำหนักโมเลกุล 20000 และ 12000 ดอลตัน ความสูงของพืชโดยเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันโดยแต่ละทรีทเมนต์มีความสูงเฉลี่ย 6.56 และ 7.24 เซนติเมตรตามลำดับ ส่วนไคโตซานที่น้ำหนักโมเลกุล 12000, 8000 และ 4000 ดอลตัน ความสูงของพืชโดยเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันโดยแต่ละทรีทเมนต์มีความสูงเฉลี่ย 7.24, 7.97 และ 8.00 เซนติเมตรตามลำดับ ในผักกาดหอมมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และจากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์โดยวิธี Duncan พบว่า ที่ตัวคอนโทรลและไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล 8000 และ 4000 ดอลตัน ความสูงของพืชโดยเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันโดยในแต่ละทรีทเมนต์จะมีความสูงเฉลี่ย 6.76, 7.11 และ 6.88 เซนติเมตรตามลำดับ ส่วนไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล 20000 และ 12000 ดอลตัน พบว่ามีความสูงเฉลี่ย 8.45 และ 8.32 เซนติเมตรตามลำดับ และในผักโขมมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และจากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์โดยวิธี Duncan พบว่า ที่ตัวคอนโทรล และไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล 20000 ดอลตัน ความสูงของพืชโดยเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันโดยในแต่ละทรีทเมนต์จะมีความสูงเฉลี่ย 7.31 และ 7.88 เซนติเมตรตามลำดับ ไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล 20000 และ 4000 ดอลตัน พบว่าความสูงของพืชโดยเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันโดยมีความสูงเฉลี่ย 7.88 และ 8.67 เซนติเมตรตามลำดับ ส่วนไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล 12000 และ 4000 ดอลตัน พบว่าความสูงของพืชโดยเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันโดยมีความสูงเฉลี่ย 9.13 และ 8.67 เซนติเมตรตามลำดับ และไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล 12000 และ 8000 ดอลตัน พบว่าความสูงของพืชโดยเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันโดยมีความสูงเฉลี่ย 9.13 และ 9.88 เซนติเมตรตามลำดับ

ตารางที่ 4.14 การเจริญเติบโต (ความสูงเฉลี่ย) ของพืชทดลองในสารละลายไคโตซาน 200 ppm ของวันที่ 26 ของการปลูก

พืช	คอนโทรล (cm)	20 kDa (cm)	12 kDa (cm)	8 kDa (cm)	4 kDa (cm)	F-test
คะน้า	8.95 <sup>a</sup>	9.34 <sup>a</sup>	9.89 <sup>ab</sup>	10.80 <sup>bc</sup>	11.11 <sup>c</sup>	5.788*
ผักกาดหอม	8.55 <sup>a</sup>	13.91 <sup>d</sup>	12.43 <sup>c</sup>	11.83 <sup>c</sup>	10.03 <sup>b</sup>	24.577*
ผักโขม	9.04 <sup>a</sup>	10.00 <sup>ab</sup>	12.57 <sup>c</sup>	13.06 <sup>c</sup>	10.57 <sup>b</sup>	19.938*

ns ไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

\* แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

a, b, c, d เป็นการจับกลุ่มด้วยวิธี DMRT โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละคู่ของแต่ละทรีทเมนต์ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ว่าผลที่ได้มีความแตกต่างหรือไม่แตกต่างกันทางสถิติ

จากตารางที่ 4.14 ความสูงเฉลี่ยของพืชทดลองในวันที่ 26 ของการปลูก พบว่า ค่ะน้ำมีการเจริญเติบโตของทั้ง 5 ทริทเมนต์มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ และจากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทริทเมนต์โดยวิธีด้นแคนพบว่า ที่ตัวคอนโทรลและโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล 20000 และ 12000 ดอลตัน ความสูงของพืชโดยเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกัน โดยในแต่ละทริทเมนต์มีความสูงเฉลี่ย 8.95, 9.34 และ 9.89 เซนติเมตรตามลำดับ โคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล 12000 และ 8000 ดอลตัน ความสูงของพืชโดยเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันโดยแต่ละทริทเมนต์มีความสูงเฉลี่ย 9.89 และ 10.80 เซนติเมตรตามลำดับ ส่วนโคโตซานที่น้ำหนักรโมเลกุล 8000 และ 4000 ดอลตัน ความสูงของพืชโดยเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันโดยแต่ละทริทเมนต์มีความสูงเฉลี่ย 10.80 และ 11.11 เซนติเมตรตามลำดับ ในผักกาดหอมมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และจากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทริทเมนต์โดยวิธีด้นแคนพบว่า โคโตซานที่มีน้ำหนักรโมเลกุล 12000 และ 8000 ดอลตัน ความสูงของพืชโดยเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันโดยในแต่ละทริทเมนต์จะมีความสูงเฉลี่ย 12.43 และ 11.83 เซนติเมตรตามลำดับ ส่วนโคโตซานที่มีน้ำหนักรโมเลกุล 20000 และ 4000 ดอลตันและตัวคอนโทรล พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญโดยมีความสูงเฉลี่ย 13.91, 10.03 และ 8.55 เซนติเมตรตามลำดับ และในผักโขมมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และจากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทริทเมนต์โดยวิธีด้นแคนพบว่า ที่ตัวคอนโทรลและโคโตซานที่มีน้ำหนักรโมเลกุล 20000 ดอลตัน ความสูงของพืชโดยเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันโดยในแต่ละทริทเมนต์จะมีความสูงเฉลี่ย 9.04 และ 10.00 เซนติเมตรตามลำดับ โคโตซานที่มีน้ำหนักรโมเลกุล 20000 และ 4000 ดอลตัน พบว่าความสูงของพืชโดยเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันโดยมีความสูงเฉลี่ย 10.00 และ 10.57 เซนติเมตรตามลำดับ ส่วนโคโตซานที่มีน้ำหนักรโมเลกุล 12000 และ 8000 ดอลตัน พบว่าความสูงของพืชโดยเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันโดยมีความสูงเฉลี่ย 12.57 และ 13.06 เซนติเมตรตามลำดับ การเจริญเติบโตของพืชทั้ง 3 ชนิดของวันที่ 26 หลังจากการปลูกแสดงในรูปที่ 4.2, 4.3 และ 4.4 ตามลำดับ

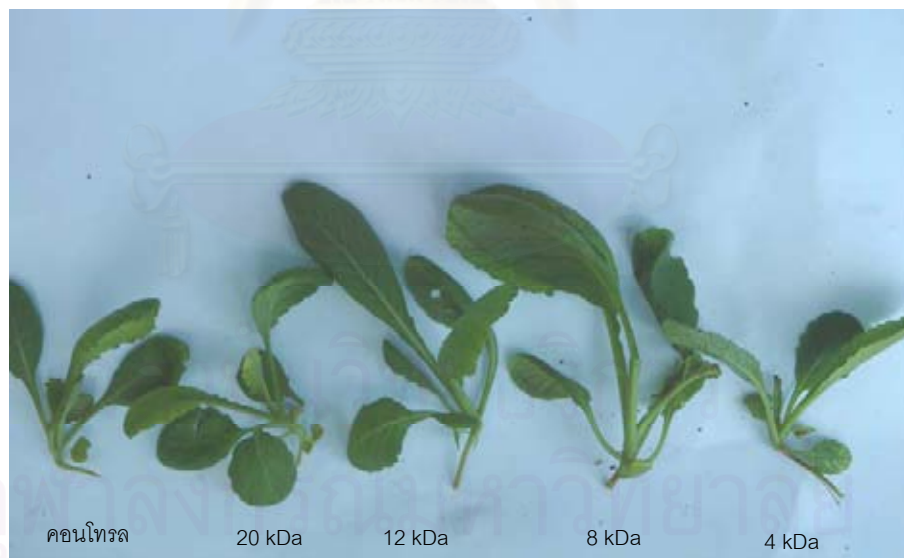


รูปที่ 4.2 การเจริญเติบโตของคะน้ำของวันที่ 26 ของการปลูก



คอนโทรล      20 kDa      12 kDa      8 kDa      4 kDa

รูปที่ 4.3 การเจริญเติบโตของผักกาดหอมของวันที่ 26 ของการปลูก



คอนโทรล      20 kDa      12 kDa      8 kDa      4 kDa

รูปที่ 4.4 การเจริญเติบโตของผักโขมของวันที่ 26 ของการปลูก

## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการวิจัย

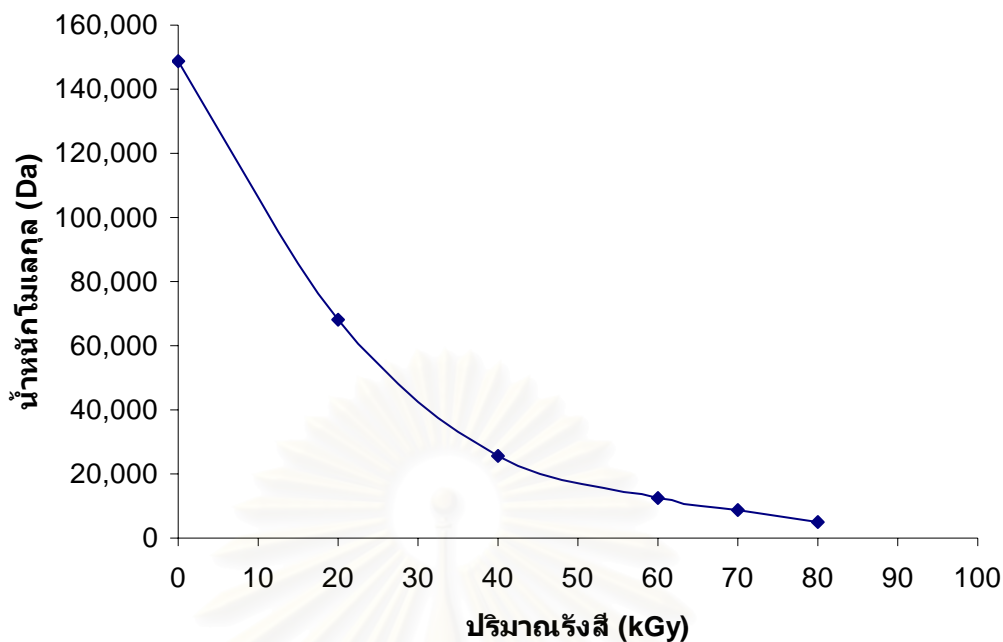
##### 5.1.1 ผลของรังสีที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซาน

เมื่อนำไคโตซานไปฉายรังสีแกมมาจะทำให้ไคโตซานเกิดการเสื่อมสลาย (degradation) ซึ่งนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักโมเลกุล ซึ่งน้ำหนักโมเลกุลประเมินค่าได้ โดยผ่านการวิเคราะห์จาก Intrinsic Viscosity จากการทดลองพบว่าไคโตซานซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลเริ่มต้นประมาณ  $7.5 \times 10^6$  ถึง  $7.2 \times 10^6$  ดอลตัน เมื่อนำมาฉายรังสีที่สภาวะของแข็ง 100 กิโลเกรย์ พบว่าไคโตซานมีน้ำหนักโมเลกุล ( $M_v$ ) ลดลงเหลือประมาณ 148887 ดอลตัน จากตารางที่ 5.1 และเมื่อนำไคโตซานที่ผ่านการฉายรังสีที่สภาวะของแข็ง 100 กิโลเกรย์ ดังกล่าวมาฉายรังสีต่อในสารละลายกรดอะซิติก 2.5 เปอร์เซ็นต์โดยมีความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานเท่ากับ 10 เปอร์เซ็นต์ โดยฉายรังสีที่ปริมาณต่าง ๆ กัน คือ 20, 40, 60, 70 และ 80 กิโลเกรย์และนำไปหาน้ำหนักโมเลกุล ( $M_v$ ) ของไคโตซานโดย Dilute Solution Viscosity พบว่าน้ำหนักโมเลกุลลดลงตามปริมาณรังสีที่เพิ่มขึ้น ดังตารางที่ 5.1 โดยน้ำหนักโมเลกุลจะลดลงอย่างรวดเร็วในช่วงปริมาณรังสีที่ฉายต่ำๆ คือช่วงประมาณ 0-40 กิโลเกรย์ และค่อยๆ ลดลงอย่างช้าๆ เมื่อปริมาณรังสีเพิ่มขึ้นในช่วงประมาณ 40-80 กิโลเกรย์ ดังรูปที่ 5.1

ตารางที่ 5.1 แสดงผลการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยเมื่อฉายรังสีที่ปริมาณต่างๆ

ปริมาณรังสี (kGy)	น้ำหนักโมเลกุล ( $M_v$ ) (Da)
100 (ของแข็ง)	148,887
100 (ของแข็ง) + 20 (สารละลาย)	68,146
100 (ของแข็ง) + 40 (สารละลาย)	25,875
100 (ของแข็ง) + 60 (สารละลาย)	12,630
100 (ของแข็ง) + 70 (สารละลาย)	8,655
100 (ของแข็ง) + 80 (สารละลาย)	4,797





รูปที่ 5.1 แสดงผลของการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานที่ผ่านการฉายรังสีในสถานะของแข็ง 100 กิโลเกรย์ และนำมาฉายรังสีต่อในสภาวะสารละลายกรดอะซิติก 2.5 เปอร์เซ็นต์ที่ปริมาณต่างๆ

จากการทดลองหาผลของปริมาณรังสีที่ฉายให้กับไคโตซานในสภาวะสารละลายดังกล่าวข้างต้นสามารถเลือกสภาวะสำหรับการฉายรังสีที่เหมาะสมในการเตรียมสารละลายไคโตซานเพื่อนำไปแยกโมเลกุลลำดับส่วน เพื่อให้ได้น้ำหนักโมเลกุลประมาณ 20000 ดอลตันได้ และเมื่อฉายรังสีที่ปริมาณรังสี 100 กิโลเกรย์ ในสถานะของแข็ง และฉายรังสีต่ออีก 40 กิโลเกรย์ ในสภาวะสารละลายกรดอะซิติก 2.5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 25875 ดอลตัน เพื่อเตรียมไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 20000 ดอลตัน

### 5.1.2 การแยกโมเลกุลลำดับส่วนไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 20,000 ดอลตันโดยควบคุมความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

การแยกโมเลกุลลำดับส่วนโดยการตกตะกอนไคโตซานพิจารณาจากผลของความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีผลต่อการตกตะกอนไคโตซาน เมื่อนำมาเขียนตารางแสดงข้อมูลของตะกอนที่ได้ % yield น้ำหนักโมเลกุล ( $M_n$ ) ของตะกอน และสีของสารละลายส่วนบนตามสภาวะต่างๆ ที่ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ต่างๆ กัน จากตารางที่ 4.9 แสดงให้เห็นว่าเมื่อใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ ในการแยกครั้งที่ 1 พบว่าปริมาณตะกอนที่เกิดขึ้นจะมีน้อยที่สุด คือ 27.9 เปอร์เซ็นต์ และสัมพันธ์กับสีของสารละลาย



ส่วนบน คือยังมีสีเข้มอยู่เมื่อเทียบกับสภาวะอื่นๆ เนื่องจากยังมีไคโตซานที่ยังไม่ตกตะกอนออกมา ละลายอยู่มาก และสอดคล้องกับค่าน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยที่หาได้ซึ่งมีค่าสูงกว่าในสภาวะที่ใช้ โซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 1, 2 และ 4 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากน้ำหนักโมเลกุลส่วนใหญ่ที่ ตกตะกอนลงมามีค่าสูงและน้ำหนักโมเลกุลต่ำๆ ยังไม่ตกตะกอนออกมา ทำให้ค่าน้ำหนักโมเลกุล เฉลี่ยที่หาได้มีค่าสูงกว่าสภาวะอื่นๆ สำหรับสภาวะที่ใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความ เข้มข้น 1, 2 และ 4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ พบว่ามีการตกตะกอนออกมาในการแยกครั้งที่ 1 สูง คือ 67.0, 57.5 และ 43.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และสอดคล้องกับสีของสารละลายส่วนบนคือ สี ของสภาวะที่ใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 2 และ 4 เปอร์เซ็นต์ มีสีเข้มกว่า สภาวะที่ใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ เล็กน้อย เนื่องจากมีการ ตกตะกอนออกมาน้อยกว่า นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับค่าน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยที่ได้คือ ตะกอนที่ได้ จากสภาวะที่ใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ มี  $M_v$  28384 ดอลตัน และตะกอนที่ได้จากสภาวะที่ใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ มี  $M_v$  35333 ดอลตัน ซึ่งมีค่าน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยสูงกว่าตะกอนที่ได้จากสภาวะที่ใช้สารละลาย โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ มี  $M_v$  23,332 ดอลตัน เนื่องจากน้ำหนักโมเลกุล ต่ำๆ ยังตกตะกอนออกมาไม่หมดหรือตกตะกอนออกมาน้อยกว่าตะกอนที่ได้จากสภาวะที่ใช้ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักโมเลกุลที่ได้ สูงกว่า

สำหรับที่สภาวะที่ใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ เมื่อลองนำสารละลายส่วนบนมาตกตะกอนอีกครั้งโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.75 เปอร์เซ็นต์ พบว่าได้ % yield ของตะกอนอีก 19.5 เปอร์เซ็นต์ และมีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยเท่ากับ 22617 ดอลตัน ซึ่งลดลงจากการตกตะกอนครั้งที่ 1 เนื่องจากน้ำหนักโมเลกุลสูงๆ ได้ถูกแยก ออกไปแล้วจากการแยกครั้งที่ 1

### 5.1.3 การเจริญเติบโตของพืชเมื่อใช้สารละลายไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลที่ แตกต่างกัน

จากการทดลองทำการวัดการงอกของเมล็ดพันธุ์ทั้ง 3 ชนิด โดยทำการวัดในช่วง 4 วันแรกหลังการเพาะเมล็ดในสารละลายไคโตซาน 200 ppm ที่มีน้ำหนักโมเลกุลที่ 20000, 12000, 8000 และ 4000 ดอลตัน เทียบกับสารละลายปุ๋ยตามตารางที่ 3.1 ซึ่งเป็นตัวคอนโทรล พบว่า ค่ะน้ำที่ปลูกในสารละลายไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล 12000, 8000 และ 4000 ดอลตันมีการ เจริญเติบโต (ความสูง) มากที่สุดตามสถิติคือ 0.9, 0.9 และ 0.95 เซนติเมตรตามลำดับ ใน

ผักกาดหอมที่ปลูกในสารละลายโคโตซานทุกน้ำหนักรวมคือ 20000, 12000, 8000 และ 4000 ดอลตัน มีการเจริญเติบโต (ความสูง) มากกว่าคอนโทรล คือ 1.00, 0.97, 0.95 และ 0.95 เซนติเมตรตามลำดับ และในผักโขมที่ปลูกในสารละลายโคโตซานที่มีน้ำหนักรวมคือ 8000 ดอลตัน มีการเจริญเติบโต (ความสูง) มากที่สุดตามสถิติ พบว่ามีความสูงเฉลี่ย 1.20 เซนติเมตร ดังแสดงในตารางที่ 5.2

ตารางที่ 5.2 การเจริญเติบโตของพืชตัวอย่างทั้ง 3 พันธุ์ในช่วง 4 วันแรกของการเพาะเมล็ด

พืช	คอนโทรล (cm)	20 kDa (cm)	12 kDa (cm)	8 kDa (cm)	4 kDa (cm)	F-test
คะน้า	0.80 <sup>a</sup>	0.85 <sup>ab</sup>	0.90 <sup>bc</sup>	0.90 <sup>bc</sup>	0.95 <sup>c</sup>	6.359*
ผักกาดหอม	0.80 <sup>a</sup>	1.00 <sup>b</sup>	0.97 <sup>b</sup>	0.95 <sup>b</sup>	0.95 <sup>b</sup>	2.884*
ผักโขม	0.90 <sup>a</sup>	0.95 <sup>a</sup>	1.00 <sup>a</sup>	1.20 <sup>b</sup>	0.97 <sup>a</sup>	5.015*

ns ไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

\* แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ในการทดสอบโดยการปลูกพืชไฮโดรโปนิคส์แบบ Float Root System โดยควบคุมสภาพแวดล้อมต่างๆ ให้เหมือนกัน ไม่ว่าจะเป็นปริมาณการให้ปุ๋ย อุณหภูมิ และการปลูกเดียวกัน โดยเปรียบเทียบความสูงเฉลี่ยของทั้ง 5 ทริทเมนต์ คือ คอนโทรล (สารละลายปุ๋ยดังตารางที่ 3.1) สารละลายโคโตซานที่มีน้ำหนักรวมคือ 20000, 12000, 8000 และ 4,000 ดอลตัน และใส่โคโตซานที่มีน้ำหนักรวมต่างๆ ที่ความเข้มข้น 200 ppm ในการเจริญเติบโตของพืชทั้ง 3 ชนิด คือ คะน้า ผักกาดหอม และผักโขม แสดงผลดังในตารางที่ 5.3, 5.4 และ 5.5

ตารางที่ 5.3 การเจริญเติบโตเฉลี่ยของพืชทดลองของวันที่ 16 ของการปลูก

พืช	คอนโทรล (cm)	20 kDa (cm)	12 kDa (cm)	8 kDa (cm)	4 kDa (cm)	F-test
คะน้า	1.54 <sup>a</sup>	1.72 <sup>a</sup>	1.96 <sup>ab</sup>	2.18 <sup>b</sup>	2.21 <sup>b</sup>	4.161*
ผักกาดหอม	1.49 <sup>a</sup>	3.48 <sup>d</sup>	2.96 <sup>c</sup>	2.53 <sup>bc</sup>	2.29 <sup>b</sup>	19.584*
ผักโขม	1.58 <sup>a</sup>	2.04 <sup>b</sup>	2.29 <sup>bc</sup>	2.52 <sup>c</sup>	2.15 <sup>bc</sup>	5.831*

ns ไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

\* แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากตารางที่ 5.3 ความสูงเฉลี่ยของพืชทดลองในวันที่ 16 ของการปลูก พบว่า ค่ะน้ำที่ปลูกในสารละลายโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล 12000, 8000 และ 4000 ดอลตันมีการเจริญเติบโต (ความสูง) มากที่สุดตามสถิติคือ 1.96, 2.18 และ 2.21 เซนติเมตรตามลำดับ ในผักกาดหอมที่ปลูกในสารละลายโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล 20000 ดอลตันมีการเจริญเติบโต (ความสูง) มากที่สุด คือ 3.48 เซนติเมตร และในผักโขมที่ปลูกในสารละลายโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล 12000, 8000 และ 4,000 ดอลตันมีการเจริญเติบโต (ความสูง) มากที่สุดตามสถิติ พบว่ามีความสูงเฉลี่ย 2.29, 2.52 และ 2.15 เซนติเมตรตามลำดับ

ตารางที่ 5.4 การเจริญเติบโตเฉลี่ยของพืชทดลองของวันที่ 21 ของการปลูก

พืช	คอนโทรล (cm)	20 kDa (cm)	12 kDa (cm)	8 kDa (cm)	4 kDa (cm)	F-test
คะน้ำ	5.85 <sup>a</sup>	6.56 <sup>ab</sup>	7.24 <sup>bc</sup>	7.97 <sup>c</sup>	8.00 <sup>c</sup>	5.801*
ผักกาดหอม	6.76 <sup>a</sup>	8.45 <sup>b</sup>	8.32 <sup>b</sup>	7.11 <sup>a</sup>	6.88 <sup>a</sup>	5.144*
ผักโขม	7.31 <sup>a</sup>	7.88 <sup>ab</sup>	9.13 <sup>cd</sup>	9.88 <sup>d</sup>	8.67 <sup>bc</sup>	7.020*

ns ไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

\* แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากตารางที่ 5.4 ความสูงเฉลี่ยของพืชทดลองในวันที่ 21 ของการปลูก พบว่า ค่ะน้ำที่ปลูกในสารละลายโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล 12000, 8000 และ 4000 ดอลตันมีการเจริญเติบโต (ความสูง) มากที่สุดตามสถิติคือ 7.24, 7.97 และ 8.00 เซนติเมตรตามลำดับ ในผักกาดหอมที่ปลูกในสารละลายโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล 20000 และ 12000 ดอลตันมีการเจริญเติบโต (ความสูง) มากที่สุด คือ 8.45 และ 8.32 เซนติเมตรตามลำดับ และในผักโขมที่ปลูกในสารละลายโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล 12000 และ 8000 ดอลตันมีการเจริญเติบโต (ความสูง) มากที่สุดตามสถิติ พบว่ามีความสูงเฉลี่ย 9.13 และ 9.88 เซนติเมตรตามลำดับ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 5.5 การเจริญเติบโตเฉลี่ยของพืชทดลองของวันที่ 26 ของการปลูก

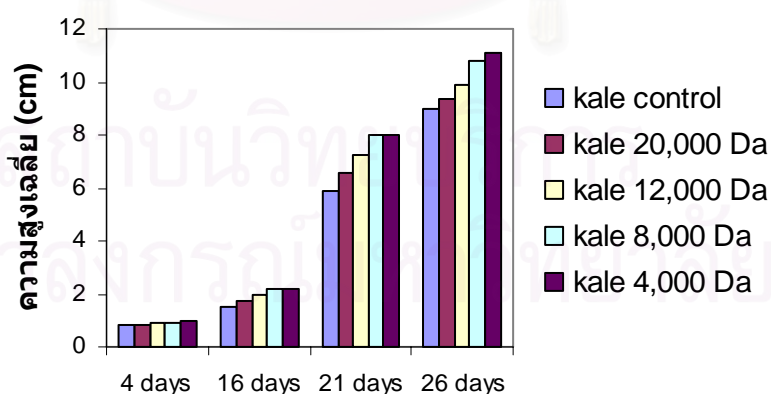
พืช	คอนโทรล (cm)	20 kDa (cm)	12 kDa (cm)	8 kDa (cm)	4 kDa (cm)	F-test
คะน้า	8.95 <sup>a</sup>	9.34 <sup>a</sup>	9.89 <sup>ab</sup>	10.80 <sup>bc</sup>	11.11 <sup>c</sup>	5.788*
ผักกาดหอม	8.55 <sup>a</sup>	13.91 <sup>d</sup>	12.43 <sup>c</sup>	11.83 <sup>c</sup>	10.03 <sup>b</sup>	24.577*
ผักโขม	9.04 <sup>a</sup>	10.00 <sup>ab</sup>	12.57 <sup>c</sup>	13.06 <sup>c</sup>	10.57 <sup>b</sup>	19.938*

ns ไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

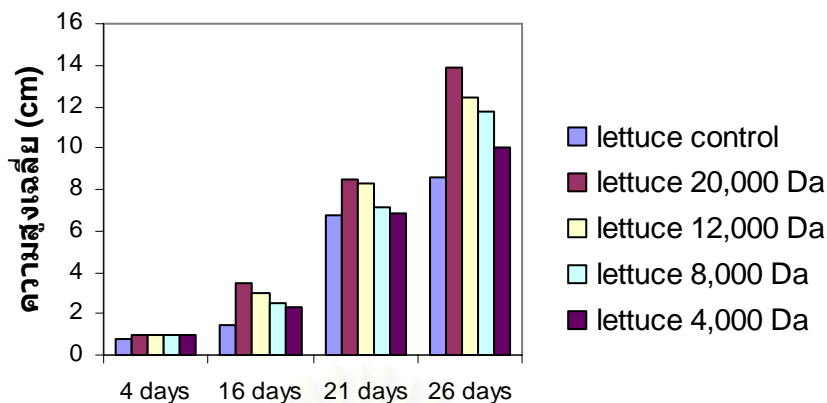
\* แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากตารางที่ 5.5 ความสูงเฉลี่ยของพืชทดลองในวันที่ 26 ของการปลูก พบว่า คะน้าที่ปลูกในสารละลายไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล 8000 และ 4000 ดอลตันมีการเจริญเติบโต (ความสูง) มากที่สุดตามสถิติคือ 10.80 และ 11.11 เซนติเมตรตามลำดับ ในผักกาดหอมที่ปลูกในสารละลายไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล 20000 ดอลตันมีการเจริญเติบโต (ความสูง) มากที่สุดคือ 13.91 เซนติเมตร และในผักโขมที่ปลูกในสารละลายไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล 12000 และ 8000 ดอลตันมีการเจริญเติบโต (ความสูง) มากที่สุดตามสถิติ พบว่ามีความสูงเฉลี่ย 12.57 และ 13.06 เซนติเมตรตามลำดับ

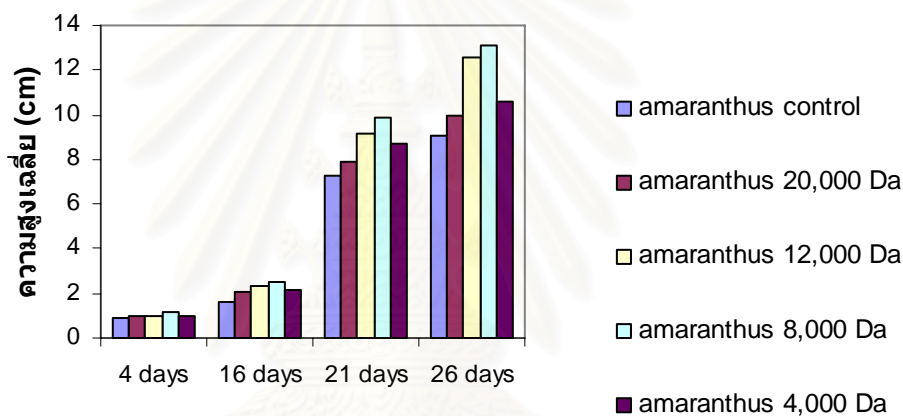
เมื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโต (ความสูงเฉลี่ย) ของพืชทั้ง 3 ชนิดในช่วงระยะเวลาต่างๆ คือ 4, 16, 21 และ 26 วันหลังจากการปลูกกับสารละลายไคโตซานที่น้ำหนักโมเลกุลต่างๆ ดังแสดงกราฟในรูป 5.2, 5.3 และ 5.4 ตามลำดับ



รูปที่ 5.2 กราฟความสูงเฉลี่ย (cm) ของผักคะน้าในช่วงระยะเวลาที่ปลูก



รูปที่ 5.3 กราฟความสูงเฉลี่ย (cm) ของผักกาดหอมในช่วงระยะเวลาที่ปลูก



รูปที่ 5.4 กราฟความสูงเฉลี่ย (cm) ของผักโขมในช่วงระยะเวลาที่ปลูก

## 5.2 อภิปรายผลการวิจัย

### 5.2.1 ผลของรังสีที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักโมเลกุลของโคโตซาน

เมื่อนำโคโตซานที่ผ่านการฉายรังสีที่สภาวะของแข็ง 100 กิโลเกรย์ ดังกล่าวมาฉายรังสีต่อในสารละลายกรดอะซิติก 2.5 เปอร์เซ็นต์โดยมีความเข้มข้นของสารละลายโคโตซานเท่ากับ 10 เปอร์เซ็นต์ โดยฉายรังสีที่ปริมาณต่าง ๆ กัน คือ 20, 40, 60, 70 และ 80 กิโลเกรย์และนำไปหาน้ำหนักโมเลกุล ( $M_w$ ) ของโคโตซานโดย Dilute Solution Viscosity พบว่าน้ำหนักโมเลกุลลดลงตามปริมาณรังสีที่เพิ่มขึ้น ดังตารางที่ 5.1 โดยน้ำหนักโมเลกุลจะลดลงอย่างรวดเร็วในช่วงปริมาณรังสีที่ฉายต่ำๆ คือช่วงประมาณ 0-40 กิโลเกรย์ และค่อยๆ ลดลงอย่างช้าๆ เมื่อปริมาณรังสีเพิ่มขึ้นในช่วงประมาณ 40-80 กิโลเกรย์ ดังรูปที่ 5.1 การลดลงของน้ำหนักโมเลกุลอาจ



อธิบายได้จากโครงสร้างของโคโตซาน ซึ่งเมื่อเริ่มต้นฉายรังสีแกมมารังสีอาจไปมีผลต่อบริเวณ amorphous region ซึ่งเป็นบริเวณที่มีการวางตัวกันอย่างหลวมๆ และไม่เป็นระเบียบ นำไปสู่การลดลงของน้ำหนักโมเลกุลอย่างมีนัยสำคัญเมื่อ amorphous region ถูกทำลายไปแล้ว พลังงานของรังสีก็จะเริ่มไปสลายตรงบริเวณ crystalline region

### 5.2.2 การแยกโมเลกุลลำดับส่วนโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 20,000 ดอลตันโดยควบคุมความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

จากการศึกษาข้างต้นแสดงให้เห็นว่าที่ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ต่ำๆ ตะกอนจะตกออกมาได้น้อยกว่าที่ความเข้มข้นสูงๆ แต่ทั้งนี้ที่ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์สูงมากขึ้นก็ไม่ได้ช่วยให้เกิดการตกตะกอนมากขึ้น สืบเนื่องจากการใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 1, 2 และ 4 เปอร์เซ็นต์ ในการตกตะกอนที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ จะมีการตกตะกอนมากที่สุด แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 2 และ 4 เปอร์เซ็นต์ จะเห็นว่าการตกตะกอนไม่เพิ่มขึ้นและยังมีแนวโน้มที่ลดลงเล็กน้อยอีกด้วย และจากสภาวะต่างๆ ข้างต้นเพื่อทำการแยกน้ำหนักโมเลกุลของโคโตซานประมาณ 20000 ดอลตันยังพบว่ายังไม่ีสภาวะใดเหมาะสมเนื่องจากยังไม่ีสภาวะใดที่ให้น้ำหนักโมเลกุลใกล้เคียง 20000 ดอลตัน ประกอบกับข้อมูลการหาน้ำหนักโมเลกุลที่ได้ยังมีความแปรปรวนสูง

### 5.2.3 การเจริญเติบโตของพืชโดยใช้สารละลายโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลที่ต่างกัน

จากการทดลองจะพบว่าพืชแต่ละชนิดจะมีการเจริญเติบโตในสารละลายโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลที่แตกต่างกันออกไปแล้วแต่ความสามารถในการดูดซึมของราก และจากผลการทดลองจะเห็นได้ว่า สารละลายโคโตซานในช่วงของโอลิโกโคโตซานนั้นมีผลต่อการเพิ่มการเจริญเติบโตของพืชอย่างเห็นได้ชัดเมื่อเทียบกับการปลูกโดยใช้สารละลายปุ๋ยเพียงอย่างเดียว เนื่องจากโคโตซานมีผลทำให้รากพืชแข็งแรงขึ้น เมื่อรากพืชมีความแข็งแรงกลไกการดูดซึมน้ำและอาหารของพืชจึงทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ ทำให้พืชเติบโตได้เร็ว แข็งแรง ย่นระยะเวลาการเก็บเกี่ยว และเนื่องจากโคโตซานมีคุณสมบัติในการยับยั้งแบคทีเรีย เชื้อรา จึงทำให้พืชไม่เป็นโรคอีกด้วย



### 5.3 ข้อเสนอแนะ

ในการหาน้ำหนักโมเลกุลของโคโตซานที่ขายรังสีในปริมาณต่างๆ ควรหา % yield ด้วย

การแยกโมเลกุลโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำๆ พบว่า % yield ที่ได้มีค่าต่ำ เนื่องจากข้อจำกัดของวิธีการรังสีที่มีต่อการเสื่อมสลายโคโตซาน คือจะลดน้ำหนักโมเลกุลได้ดีในช่วงน้ำหนักโมเลกุลสูงๆ และถ้าน้ำหนักโมเลกุลที่ต้องการต่ำกว่า 10,000 ดอลตัน น้ำหนักโมเลกุลจะลดลงได้ยาก ซึ่งอาจจะพิจารณาใช้วิธีการเคมีหรือวิธีอื่นๆ ที่เหมาะสมเพื่อช่วยในการเสื่อมสลายของโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ๆ

ในการทดลองปลูกพืชควรเพิ่มพริทเมนด์ของสารละลายโคโตซานที่เป็นโพลิโกโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลรวมอยู่ในช่วง  $8 \times 10^3 - 1.4 \times 10^4$  ดอลตัน รวมถึงลดปริมาณสารละลายโคโตซานที่ใส่ในสารละลายปุ๋ยจาก 200 ppm เป็น 50 ppm หรือน้อยกว่านั้นเพื่อจะได้เห็นผลการเจริญเติบโตที่ชัดเจนยิ่งขึ้น

ในการทดลองการเจริญเติบโตของพืชควรดูแลน้ำหนักการเจริญเติบโตจนถึงระยะหลังการเก็บเกี่ยวคือประมาณ 40-45 วันและวัดการเจริญเติบโตในทุกด้านได้แก่ ขนาดของต้น (มิลลิเมตร) น้ำหนัก (กรัม) ควรทดสอบกับพืชหลายๆ ชนิด รวมทั้งเพิ่มปริมาณตัวอย่างพืชทดลองให้มากขึ้น และในการปลูกพืชทดลองควรปลูกด้วยวิธีไฮโดรโปนิคส์แบบ Nutrient film technique (NFT) เพราะจะให้ผลดีกว่าการปลูกไฮโดรโปนิคส์แบบอื่นๆ หรืออาจปลูกพืชโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

## รายการอ้างอิง

- กลุ่มไคติน/ไคโตซาน. Chitin-Chitosan Technical Note. กรุงเทพฯ : MTEC, 2545.
- จิราภรณ์ เชาวลิขุมมาวาสี. ไคติน-ไคโตซาน สารมหัศจรรย์จากธรรมชาติ. วารสาร LAB.TODAY (ตุลาคม 2544).
- พีรพงศ์ หาญพิชาญชัย. การควบคุมการปลดปล่อยของเม็ดยาโดยการเคลือบไคโตซาน. งานวิจัยระดับปริญญาตรี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2545.
- มนูญ ศิริบุษย์. การปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินสู่การปฏิบัติในประเทศไทย. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี, 2544.
- รัฐ พิษณุวงกูร. ไคโตซานกับการต้านการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์. ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2545.
- วรรณวิมล ปาสาณพันธ์. การแยกโมเลกุลลำดับส่วนไคโตซานจากการฉายรังสีแกมมาโดยใช้วิธีเลือกการตกตะกอนด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมเทคโนโลยี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2546.
- วรรณวิมล ลิ้มปิวิโรจน์. การใช้ไคโตซานเป็นสารควบคุมการปลดปล่อยออกซิเจน. งานวิจัยระดับปริญญาตรี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2544.
- ศูนย์วิจัยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์, วิทยาลัยปิโตรเลียมและปิโตรเคมี, ศูนย์เชี่ยวชาญด้านเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาชีวเคมี และศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี การประชุมเชิงปฏิบัติการ ไคตินและไคโตซานจากวัตถุดิบธรรมชาติสู่การประยุกต์ใช้ (คู่มือปฏิบัติการ). กรุงเทพมหานคร : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2544.
- A. Charlesby. J. Pol. Sci. 15 (1955) : 263.
- A.G. Darvill and P. Albersheim. Ann. Rev. Plant Physiol. 35 (1984) : 243-375.
- Albersheim P. and Darvill A. G. Sci.Am. 253 (1985) : 44-50.
- A. Sharples and H.M. Major. J. Pol. Sci. 27 (1958) : 433.
- Austin P.R. Chitin Solution. U.S. Patent 4, 059, 457, 1977.
- Austin, P.R., C.J. Brine, J.E. Castle and J.P. Zikakis. Chitin : New Facets of Research. Science 212 (1981) : 749-753.
- Billmeyer, F. W. Textbook of polymer Science. 2<sup>nd</sup> ed. New York : Wiley-Interscience, 1971.

- Bough W.A., A.C.M. Wu and Wm.B. Miller. Effect of time of deacetylation on molecular weight distribution, acetyl content, viscosity and performance of chitosan as a conditioning agent for activated sludge, n.d. (Unpublished Manuscript).
- Budavari, S. The Merck index : an Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biological. New Jersey : Merck, 1976.
- Carroad, P.A. and R.A. Tom. Bioconversion of Shellfish Chitin Waste : Process Conception and Selection of Microorganisms. Journal of Food Science 43 (1978) : 1158-1161.
- C.A. Ryan. Biochemistry 27 (1988) : 8879-8883.
- Chyagrit Siri-Upatham. Radiation Degradation of Chitosan its Application for Young Orchid Plants Growth Promotion. Chitin-Chitosan Symposium and Exhibition 5<sup>th</sup> Asia Pacific. Thailand : MTEC, 2002.
- Choi W.S., Park Y.S. and Park H.J. Preparation of Chitosan Oligomer by Irradiation. Chitin-Chitosan Symposium and Exhibition 5<sup>th</sup> Asia Pacific. Thailand : MTEC, 2002.
- Domard Alain. Some physicochemical and structural basis for applicability of chitin and chitosan. 2<sup>nd</sup> Asia Pacific Chitin Symposium. Bangkok, 1996.
- Englewood and N.J. Fort Lee. (n.d.). Chitin and Chitosan : Speciality Biopolymers for Food, Medicine and Industrial. Technical Insights.
- Filar, L.J. and Wirick, M.G. Bulk and Solution properties of chitosan. In R.A.A. Muzzarelli(ed.), Proceeding of the first international conference on chitin/chitosan, pp. 182-192. Massachusetts Science and Technology Foundation, 1978.
- G.A.F. Roberts and J.G.Domszy. Determination of the Viscometric Constants for Chitosan. Int. J. Biol. Macromol. 4 (1982) : 374-377.
- George A.F. Roberts. Chitin Chemistry. Hong Kong : The Macmillan press, 1992.
- G. Sitaramaih and D.A.I. Goring. J. Pol. Sci. 58 (1962) : 1107.
- Hitoshi Yamaoka. Radiation Chemistry of Polymer. UNDP/IAEA/RCA Regional Training Course on Radiation Chemistry Takasaki Radiation Chemistry Research Establishment. JAERI, 1991.
- Jeon, Y.J., Kim, C.H. and Kim, S.K. The Kor. Soc. For chitin and Chitosan 3 (1998) : 140.

- Jian Shao, Yumin Yang and Qiqing Zhong. Polymer Degradation and Stability. 82 (2003) : 395-398.
- Jun Chi, Jianhong Yang, Yumin Du, Lihong Fan, Yanlin Qiu, Jin Li and John F. Kennedy. Enzymatic preparation of chitosan from the waste *Aspergillus niger* mycelium of citric acid production plant. Carbohydrate Polymers 64 (2006) : 151-157.
- K. Kamida and K. Okajima. Pol. J. 13 (1981) : 163.
- Khin Lay Nge, Nitar New, Suwalee Chandkrachang and Willem F. Stevens. Chitosan as a growth stimulator in orchid tissue culture. Plant Science 170 (2006) : 1185-1190.
- Knorr D. Use of chitinous polymers in food. Food Technol 38 (1984) : 85-97.
- Kraemer and Elmer O. Kraemer. Molecular Weight of Cellulose and Cellose Derivatives. Ind. Eng. Chem. 30 (1938) : 1200-1203.
- Kume T., N. Nagasawa and F. Yoshii. Utilization of carbohydrates by radiation processing. Radiation Physics and Chemistry 63 (2002) : 625-627.
- Le Hai, Tran Bang Diep, Naotsugu Nagasawa, Fumio Yoshii and Tamikazu kume. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B 208 (2003) : 466-470.
- Le Quang Luan, Vo Thi Thu Ha, Le Hai, Nguyen Quoc Hien, Naotsugu Nagasawa, Fumio Yoshii and Tamikazu Kume. Study on the biological effect of irradiated chitosan on plant in tissue culture. Chitin-Chitosan Symposium and Exhibition 5<sup>th</sup> Asia Pacific. Thailand : MTEC, 2002.
- Majeti N.V., Ravi Kumar. A review of chitin and chitosan applications. Reactive & Functional Polymers 46 (2000) : 1-27.
- Malcolm P. Stevens. Polymer Chemistry. Third Edition. New York Oxford : Oxford University press, 1999.
- Mima, s., Miya, M., Ivamoto, R. and Yoshikama, S. Highly Deacetylate Chitosan and its Properties. J. App.Pol.Sci. 28 (1983) : 1909-1917.
- Moorjani, M.N., Achutha, V. and Iman Khasim, D. Parameters affecting the viscosity of chitosan from prawn waste. Journal of Food Science and Technology 12 (1975) : 187-189.
- M. Rinaudo and A. Domard. In ref.46 : p.110.

- Munawwar Ali Khan. Enhanced Functionality of Chitin by Chemical Modification. Master of Science, Research and development, School of Environment, 1998.
- Muraki, E., Yaku, F. and Kejima, H. Preparation and Crystallization of D-glucosamine Oligosaccharides with DP 6-8. Carbohydr.Res. 239 (1993) : 227-237.
- Muzzarelli, R.A.A. Natural Chelating Polymer. New York: Pergamon press, 1973.
- Muzzarelli, R.A.A. Chitin. New York : Pergamon press, 1977.
- Muzzarelli, R.A.A. The Polysaccharide. Vol.3. New York : Academic Press, 1985.
- Narisa Lehduwi, Suriya Sasarakkij, Sei-ichi Aiba, Parichart Laixuthai and Sumalai Srikamlaitong. Study on utilization of chitinous materials. Chitin-Chitosan Symposium and Exhibition 5<sup>th</sup> Asia Pacific. Thailand : MTEC, 2002.
- Nguyen Ahn Dzong and Nguyen Quoc Hien. Effect of Oligoglucosamine Prepared by Enzyme Degradation on the Growth of Soybean. Chitin-Chitosan Symposium and Exhibition 5<sup>th</sup> Asia Pacific. Thailand: MTEC, 2002.
- Nguyen Manh Hung et al. The use of Chitosan as Bioadhesive and its Property Improvement by Radiation Treatment for Waste-Stable Shrimp Feed Product.
- Nguyen Quoc Hien. Irradiation of Chitosan and its Biological Effect (Report of Regional Workshop on Radiation Processing of Polysaccharides). China : International Atomic Energy Agency, 2000.
- Nguyen Quoc Hien. Radiation Modification of Polysaccharides. Radiation Technology Department : Nuclear Research Institute, 2000.
- Nguyen Quoc Hien et al. Study on Degradation of Chitosan and Preparation of Oligochitosan by Radiation Technique. Radiation Technology Department: Nuclear Research Institute, 2000.
- Pawadee Mathacanon. Regional (RCA) Training Course on Radiation Processing of Natural Polysaccharides (Summary Report). Ho Chi Minh City, Vietnam : National Materials Technology Center, Bangkok, Thailand, 2000.
- Rangrong Yoksan, Siriratana Biramontri and Suwabun Chirachanchai. Structural Characterization of  $\gamma$ -ray Irradiated Chitosan. Chitin-Chitosan Symposium and Exhibition 5<sup>th</sup> Asia Pacific. Thailand : MTEC, 2002.

- Ravi Kumar, M.N.V. Property of Chitin and Chitosan. Chitin and Chitosan for Versatile Applications Homepage : An Internet Chitin and Chitosan Applied Research Resource.
- Sanil Sabharwal. Radiation Chemistry of Monomers and Polymers (Radiation Technology Development Section). India : Bhabha Atomic Research Center, 2001.
- Seiichi Tokuta and Hiroshi Tamura. Basic Properties of Chitin and Chitosan. Japan : The Takasaki Workshop on Radiation Processing of Natural Polymer Takasaki Cooperation, 1999.
- Seung S. Shin, Young C. Lee and Chan Lee. The Degradation of Chitosan with the aid of Lipase from *Rhizopus Japonicus* for the Production of Soluble Chitosan (Abstract from Journal of Food Biochemistry). Korea : Department of Food Science and Technology Chung-Ang University, 2000.
- Shaefgen, John R. Schaefgen and Paul J. Flory. Synthesis of Multichain Polymer and Investigation of their Viscosities. J. Am. Chem. Soc. 70 (1984) : 2709-2718.
- Shahdi, F. and Synowiecki, J.. Quality and Compositional characteristics of newfoundland shellfish processing discards. In C.J. Brine, P.A. Sandford and J. P. Zikakis (eds.), Advances in Chitin and Chitosan, pp.617-626. London : Elsevier Science, 1992.
- Singh, A. and Silverman, J. Radiation Processing of Polymers. Progress in Polymer Processing Series. New York : American Chemical Society, 1992.
- Stelmock, R.L., F.M. Husby and A.L. Brundage. Application of Van Soest Acid Detergent Fiber Method for Analysis of Shell fish Chitin. Journal of Dairy Science 68 (1985) : 1502-1506.
- S.T. Holouitz, S. Roseman and H.J. Blumenthal. J. Am. Chem. Soc. 79 (1957) : 5046.
- Suchiva K., S. Chandkrachang, P. Methacanon and M.G. Peter. Advances in Chitin Science. Vol.V. Thailand : MTEC, 2002.
- Suwalee Chandkrachang. The Applications of Chitin and Chitosan in Agriculture in Thailand. Chitin-Chitosan Symposium and Exhibition 5<sup>th</sup> Asia Pacific. Thailand : MTEC, 2002.



- Takasaki. Radiation processing of Natural Polymer for Agro and Agro-chemical Industry (Report of the Regional Workshop). Japan : International Atomic Energy Agency, 2001.
- Trang Si Trung et al. Effect of Dissolution and Precipitation by Various Acid Solvents on Chitosan Properties. Chitin-Chitosan Symposium and Exhibition 5<sup>th</sup> Asia Pacific. Thailand : MTEC, 2002.
- Ulanski, R. and Rosiak, J. Preliminary Studies on Radiation-Induced Changes in Chitosan. J. Radiat. Appl. Instrum. 39 (1992) : 53-57.
- Vo Thi Lang, Le Quang and Nguyen Quoc Hien. Effect of Irradiated Chitosan in Solution State on the Growth-Promotion of Soybean in Germination Period. Chitin-Chitosan Symposium and Exhibition 5<sup>th</sup> Asia Pacific. Thailand : MTEC, 2002.
- Whistler R.S. and BeMiller J.N. Alkaline degradation of amino sugar. Journal of Organic Chemistry 27 (1962) : 1161-1164.
- Yang, T. Removal of heavy metals from liquids using chitosan and its scales. Master's Thesis, Cornell University, 1984.



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก  
ใบรับรองการปรับเทียบมาตรฐาน



## Certificate of Calibration

Viscometer No. <sup>0</sup>C356



1262.01

The inclusion of the A2LA logo does not imply certification/approval of the products calibrated or tested.

UBBELOHDE TYPE

(Standard Test ASTM D 445 and ISO 3104)

Viscometer Constant

0.001032 mm<sup>2</sup>/s<sup>2</sup>, (cSt/s)

The viscometer constant is the same at all temperatures.

To obtain kinematic viscosity in mm<sup>2</sup>/s (cSt) multiply the efflux time in seconds by the viscometer constant. To obtain viscosity in mPa · s, multiply the kinematic viscosity by the density in g/mL.

Kinematic viscosities of the standards used in calibrating were established in Master Viscometers as described in Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. 16, 708(1944), ASTM D2162, and the Journal of Research of the National Bureau of Standards, Vol. 52, No. 3, March 1954, Research Paper 2479.

Kinematic viscosities are based on the primary viscosity standard, water, at 20°C (ITS-90). The internationally accepted value for the viscosity of water at 20°C (ITS-90) is 1.0016 mPa · s or kinematic viscosity is 1.0034 mm<sup>2</sup>/s as listed in ISO 3666. The gravitational constant, g, is 980.1 cm/sec<sup>2</sup> at the Cannon Instrument Company. The gravitational constant varies up to 0.1% in the United States. To make this small correction in the viscometer constant, multiply the above viscometer constant by the factor [g(at your laboratory) / 980.1]. The calibration data below are traceable to the National Institute for Standards and Technology. Temperature measurement is traceable to NIST (Test No. 260470).

### CALIBRATION DATA AT 40°C

Viscosity Standard	Kinematic Viscosity mm <sup>2</sup> /s, (cSt)	Efflux Time Seconds	Constant mm <sup>2</sup> /s <sup>2</sup> , (cSt/s)
0201	0.41040	397.37	0.001033
0203	0.61660	597.80	0.001031

Average = 0.001032

Calibrated by 543094 CSM on 24-Apr-02 under supervision of [Signature]

Please note: This calibration remains valid for 10 years unless (1) the viscometer has been damaged or (2) materials which chemically attack borosilicate glass (e.g., hydrofluoric acid or highly alkaline solutions) have been used. Nonetheless, it is recommended that the calibration be verified with kinematic viscosity standards periodically; if a change in calibration is indicated, carefully examine all sources of error, including especially temperature measurement since most apparent changes in calibration of the viscometer are due to errors in temperature measurement.

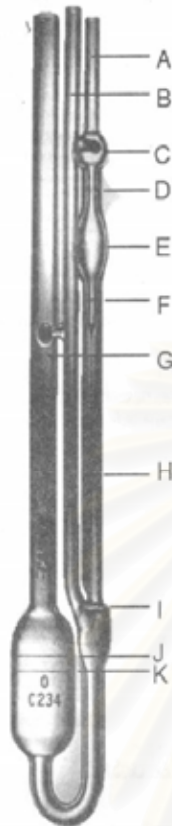
M. R. Hoover, Ph.D. R. E. Manning, Ph.D., P.E.  
K. O. Henderson F. L. Saylor  
Cannon Instrument Co.  
State College, PA 16804, USA

Test No.: 543094 - 5

This certificate shall not be reproduced except in full, without the written approval of Cannon Instrument Company.

The S.I. unit of kinematic viscosity is 1 meter squared per second, and is equal to 10<sup>6</sup> stokes. The S.I. unit of viscosity is 1 pascal second, and is equal to 10 poises. One centistokes is equal to one millimeter squared per second.

## Instructions for the use of The Ubbelohde Viscometer



See also ASTM D 445, D 446 and ISO 3105

1. Clean the viscometer using suitable solvents, and by passing clean, dry, filtered air through the instrument to remove the final traces of solvents. Periodically, traces of organic deposits should be removed with chromic acid or non-chromium cleaning solution.
2. If there is a possibility of lint, dust, or other solid material in the liquid sample, filter the sample through a fritted glass filter or fine mesh screen.
3. Charge the viscometer by introducing sample through tube G into the lower reservoir; introduce enough sample to bring the level between lines J and K.
4. Place the viscometer into the holder, and insert it into the constant temperature bath. Vertically align the viscometer in the bath if a self-aligning holder has not been used.
5. Allow approximately 20 minutes for the sample to come to the bath temperature.
6. Place a finger over tube B and apply suction to tube A until the liquid reaches the center of bulb C. Remove suction from tube A. Remove finger from tube B, and immediately place it over tube A until the sample drops away from the lower end of the capillary into bulb I. Then remove finger and measure the efflux time.
7. To measure the efflux time, allow the liquid sample to flow freely down past mark D, measuring the time for the meniscus to pass from mark D to mark F.
8. Calculate the kinematic viscosity of the sample by multiplying the efflux time by the viscometer constant.
9. Without recharging the viscometer, make check determinations by repeating steps 6 to 8.

### Ubbelohde Type For Transparent Liquids

RECOMMENDED VISCOSITY RANGES FOR THE  
UBBELOHDE VISCOMETER

Size	Kinematic Viscosity Range	
	$\text{mm}^2/\text{s}$ , (cSt)	$\text{mm}^2/\text{s}$ , (cSt)
0	0.001	0.3 to 1
0C	0.003	0.6 to 3
0B	0.005	1 to 5
1	0.01	2 to 10
1C	0.03	6 to 30
1B	0.05	10 to 50
2	0.1	20 to 100
2C	0.3	60 to 300
2B	0.5	100 to 500
3	1.0	200 to 1000
3C	3.0	600 to 3000
3B	5.0	1000 to 5000
4	10	2000 to 10000
4C	30	6000 to 30000
4B	50	10000 to 50000
5	100	20000 to 100000

The expanded uncertainty with 95% confidence of the calibration measurements relative to the primary standard is as follows:

Range of Constants $\text{mm}^2/\text{s}^2$	Expanded Uncertainty
up to 5	$\pm 0.34\%$
5 to 50	$\pm 0.45\%$
Greater than 50	$\pm 0.69\%$

The assigned uncertainty of the primary viscosity standard at 20°C is  $\pm 0.17\%$ . See ISO 3666.

CANNON INSTRUMENT CO. P. O. BOX 16 STATE COLLEGE, PA. 16804

**ภาคผนวก ข**  
**ตัวอย่างวิธีการคำนวณน้ำหนักโมเลกุล**

**1. ตัวอย่างการคำนวณหาค่าน้ำหนักโมเลกุลของโคโตซานที่เป็นของแข็ง**

การหาน้ำหนักโมเลกุลตามวิธี Dilute Solution Viscosity ซึ่งสามารถคำนวณหาค่าน้ำหนักโมเลกุลโดยคิดในรูปความหนืด (Viscosity average molecular weight,  $M_v$ ) ได้ ตามขั้นตอนในบทที่ 3 ซึ่งจากการทดลองจะได้ค่า efflux time ในแต่ละค่าความเข้มข้นของสารละลายโคโตซาน แสดงดังตารางผนวกที่ 1

ตารางผนวกที่ 1 ตัวอย่างผลการทดลองหาค่า efflux time ตามความเข้มข้นต่างๆ ของสารโคโตซานตัวอย่างในตัวทำละลาย 0.5 M HOAc + 0.5 M NaOAc ด้วย Viscometer No.365 (ครั้งที่ 1)

ความเข้มข้นของ สารละลายโคโตซาน (g/100ml.)	efflux time (วินาที)		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	เฉลี่ย
0 (ตัวทำละลาย)	983.98	979.98	981.980
0.015625	1075.50	1062.53	1069.015
0.031250	1152.13	1164.16	1158.145
0.062500	1316.10	1346.48	1331.290
0.125000	1732.13	1646.16	1689.145

จากค่า efflux time ที่ได้นำมาคำนวณหาค่าความหนืดเฉพาะ หรือ specific viscosity ( $\eta_{sp}$ ) ได้ตามสมการ

$$\eta_{sp} = \frac{t - t_0}{t_0} = \frac{t}{t_0} - 1 \quad 1$$

เมื่อ  $t$  คือ efflux time ที่ความเข้มข้นใด ๆ และ  $t_0$  คือ efflux time ของตัวทำละลาย จากตารางผนวกที่ 1 สามารถคำนวณหาค่า specific viscosity ( $\eta_{sp}$ ) ได้ดังนี้

ค่า specific viscosity ( $\eta_{sp}$ ) ที่ความเข้มข้น 0.015625 % จะได้เป็น

$$\eta_{sp} = \frac{1069.015}{981.98} - 1 = 0.0886 \quad 2$$

จากค่า specific viscosity ( $\eta_{sp}$ ) นำมาหาค่า reduced viscosity ( $\eta_{red}$ ) ได้ดังสมการ

$$\eta_{red} = \frac{\eta_{sp}}{C} \quad 3$$

แทนค่า  $\eta_{sp}$  เท่ากับ 0.0886 และค่าความเข้มข้น (C) เท่ากับ 0.015625 ลงในสมการ ง.3 จะได้

$$\eta_{red} = \frac{0.0886}{0.015625} = 5.6725 \quad 4$$

เมื่อคำนวณหาค่า reduced viscosity ( $\eta_{red}$ ) ในทุก ๆ ค่าความเข้มข้นจากข้อมูลตามตาราง  
ผนวกที่ 1 จะได้ผลแสดงดังตารางผนวกที่ 2

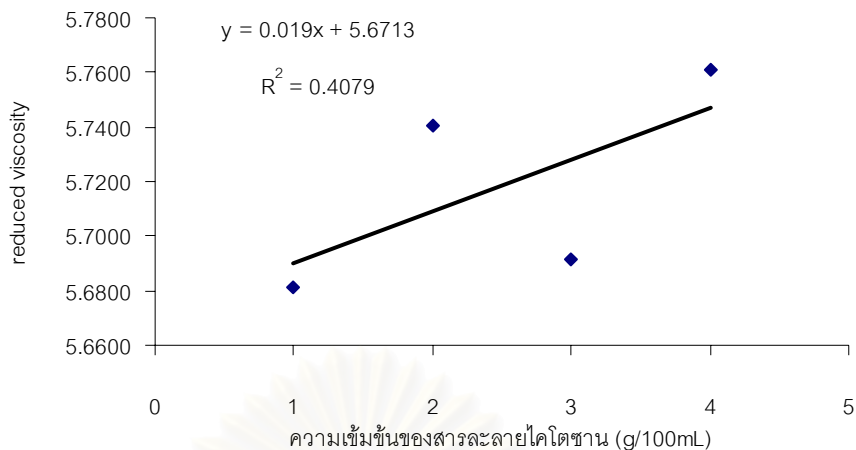
ตารางผนวกที่ 2 แสดงค่า reduced viscosity ( $\eta_{red}$ ) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารละลาย  
โคโคซานตัวอย่าง

ความเข้มข้นของสารละลายโคโคซาน (g/100ml.)	reduced viscosity ( $\eta_{red}$ )
0.015625	5.6725
0.03125	5.7407
0.0625	5.6915
0.125	5.7611

จากข้อมูลตามตารางผนวกที่ 2 สามารถนำมาเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง ความเข้มข้นของ  
สารละลายโคโคซาน (C) และค่า reduced viscosity ( $\eta_{red}$ ) ได้ดังภาพผนวกที่ 1

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย





รูปผนวกที่ 1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานกับค่า reduced viscosity

จากกราฟภาพผนวกที่ 1 เมื่อลากเส้นกราฟมาตัดแกน y โดยสมมติให้ความเข้มข้นของสารละลายมีค่าเท่ากับ 0 พบว่าเส้นกราฟจะตัดแกน y ที่จุด 5.6713 ตามสมการเส้นตรง  $y = 0.019x + 5.6713$  ซึ่งค่าที่เป็นจุดตัดแกน y นี้เรียกว่าค่า intrinsic viscosity  $[\eta]$  ซึ่งนำมาใช้คำนวณหาน้ำหนักโมเลกุล ( $M_v$ ) ตามสมการของ Mark-Houwink

$$[\eta] = KM_v^a \quad 5$$

โดยที่ค่า K และ a คือค่าคงที่ซึ่งขึ้นอยู่กับระบบตัวทำละลายและชนิดของพอลิเมอร์ ซึ่งจากตัวทำละลายที่ใช้คือ 0.5 M HOAc + 0.5 M NaOAc พบว่ามีค่า K เท่ากับ  $1.99 \times 10^{-3}$  dL/g และค่า a เท่ากับ 0.59 แทนค่า  $[\eta]$ , K และ a

$$5.6713 = (1.99 \times 10^{-3}) M_v^{0.59} \quad 6$$

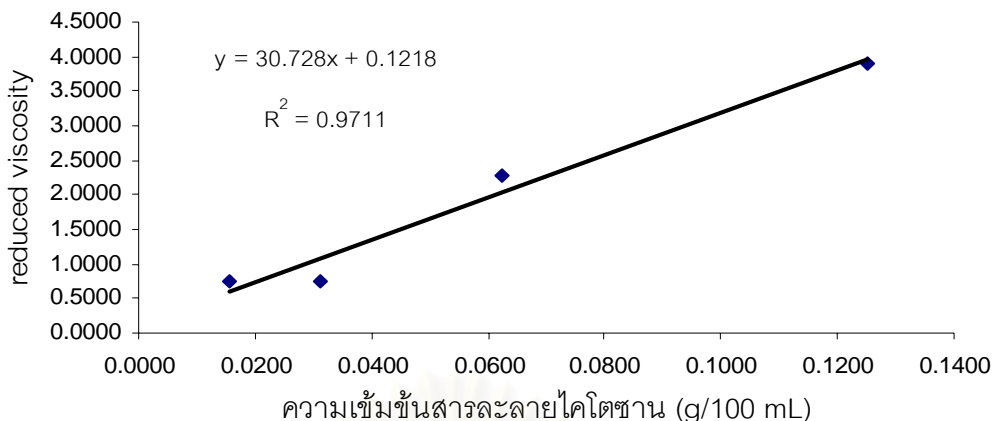
$$M_v = 717,204.98 \text{ ดอลตัน} \quad 7$$

2. ตัวอย่างข้อมูลการหาน้ำหนักโมเลกุลของโคโตซานที่ฉายรังสีที่สภาวะของแข็ง 100 kGy และฉายรังสีต่อที่สภาวะสารละลายกรดอะซิติก 60 kGy

จากข้อมูลตารางที่ 4.5 ข้อมูลการทดลองครั้งที่ 1 ซึ่งผลการทดลองหาค่า efflux time และการคำนวณหาค่า specific viscosity ( $\eta_{sp}$ ) และค่า reduced viscosity ( $\eta_{red}$ ) แสดงดังตารางผนวกที่ 3

ตารางผนวกที่ 3 แสดงค่า efflux time, specific viscosity ( $\eta_{sp}$ ) และ reduced viscosity ( $\eta_{red}$ ) ของตัวอย่างโคโตซานที่ผ่านการฉายรังสีที่สภาวะ 100(ของแข็ง)+60(สารละลาย) kGy จากข้อมูลการทดลองครั้งที่ 1 ตามตารางที่ 4.5

ความเข้มข้นของ สารละลายโคโตซาน (g/100ml.)	Efflux Time (วินาที)			$\eta_{sp}$	$\eta_{red}$
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	เฉลี่ย		
0 (ตัวทำละลาย)	892	896	914.905		
0.015625	925.66	925.78	925.720	0.0118	0.7577
0.03125	942.50	929.78	936.140	0.0232	0.7427
0.0625	1000.03	1090.19	1045.110	0.1423	2.2770
0.125	960.75	1763.53	1362.140	0.4888	3.9107



รูปผนวกที่ 2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานกับค่า reduced viscosity ( $\eta_{red}$ ) ของตัวอย่างไคโตซานที่ผ่านการฉายรังสีที่สภาวะ 100 (ของแข็ง)+60(สารละลาย) kGy จากข้อมูลการทดลองครั้งที่ 1 ตามตารางที่ 4.5

จากภาพผนวกที่ 2 จะได้ค่าจุดตัดแกน y ที่ 0.1218 ซึ่งก็คือ intrinsic viscosity เมื่อนำไปแทนค่าในสมการ Mark-Houwink โดยที่ค่า K และ a คือค่าคงที่ซึ่งขึ้นอยู่กับระบบตัวทำละลายและชนิดของพอลิเมอร์ ซึ่งจากตัวทำละลายที่ใช้คือ 0.1 M HOAc + 0.2 M NaCl พบว่ามีค่า K เท่ากับ  $1.81 \times 10^{-5}$  dL/g และค่า a เท่ากับ 0.93 จะได้ค่า Mv เท่ากับ 12,926 ดอลตัน (ตามตารางที่ 4.5)

### 3. การคำนวณ Degree of Deacetylation ของไคโตซาน

การหา Degree of Deacetylation ของไคโตซานจะคำนวณตามสมการของ Baxter et al. (1992) ได้ดังนี้

$$\%DD = 100 - 115 (A_{1655}/A_{3450}) \quad 8$$

เมื่อ %DD คือ degree of deacetylation (%)

$A_{1655}$  คือ absorbance ที่  $1655 \text{ cm}^{-1}$  (C=O stretching)

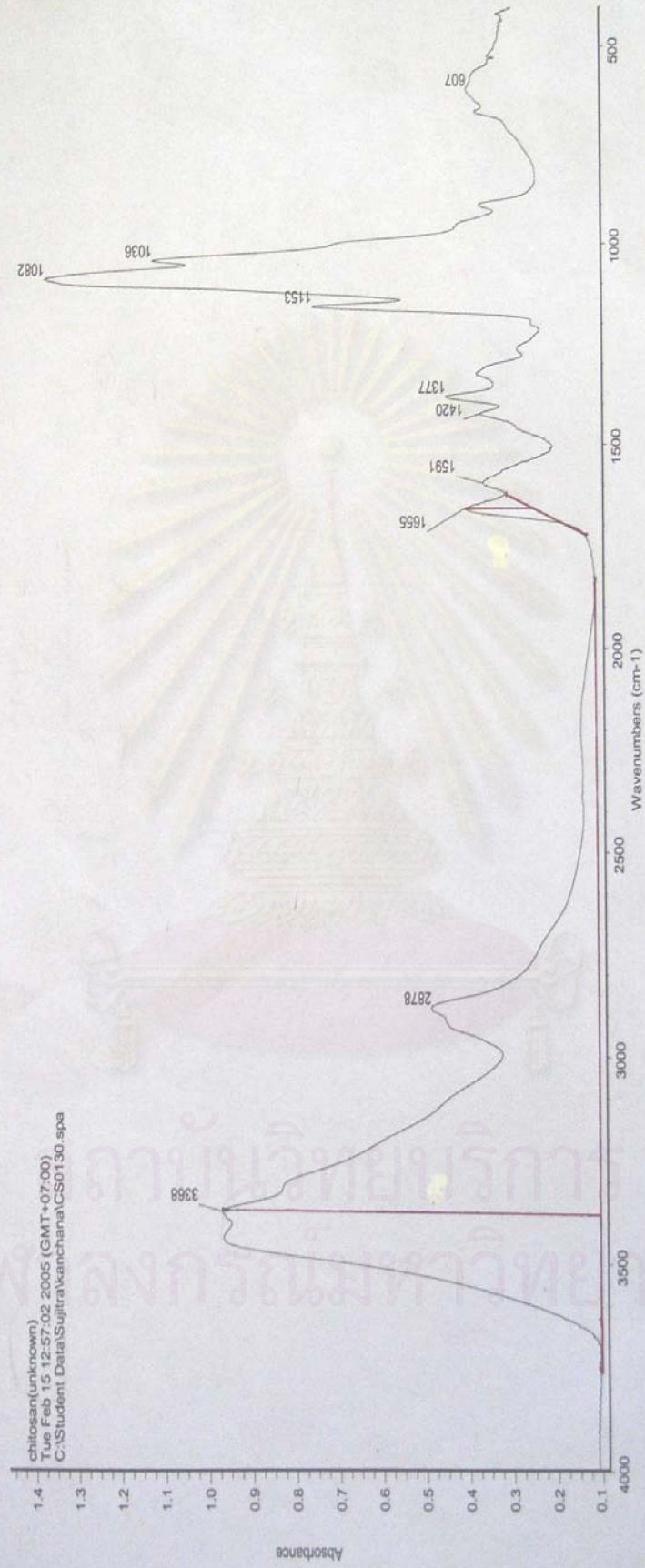
$A_{3450}$  คือ absorbance ที่  $3450 \text{ cm}^{-1}$  (O-H stretching)

จากภาพผนวกที่ 3 สามารถคำนวณค่า Degree of Deacetylation ดังนี้

$$\%DD = 100 - 115 (1.4/7.6) \quad 9$$

$$\%DD = 79\% \quad 10$$

# Thermo Nicolet Nexus 670



chitosan(unknown)  
Tue Feb 15 12:57:02 2005 (GMT+07:00)  
C:\Student Data\Sujitra\kanchana\CS0130.spa

Number of sample scans: 32  
Number of background scans: 32  
Resolution: 4.000  
Sample gain: 1.0  
Mirror velocity: 0.6329  
Aperture: 100.00

รูปผนวกที่ 3 กราฟ FT-IR ของสารไดโตซานตัวอย่าง

## ภาคผนวก ค ผลของค่าทางสถิติ

### การสำรวจด้วยตัวอย่าง (Sampling survey)

การสำรวจข้อมูลด้วยตัวอย่างเป็นการเก็บรวบรวมข้อมูลเพียงบางหน่วยของประชากรไปหาค่าสถิติแล้วนำไปประมาณค่าหรือทดสอบสมมติฐานทางสถิติของพารามิเตอร์ของประชากร

ในการสุ่มตัวอย่างนั้นจะเป็นการสุ่มตัวอย่างแบบง่ายโดยที่ข้อมูลทุกหน่วยของประชากรมีลักษณะคล้ายๆ กัน ทุกหน่วยของประชากรมีโอกาสได้รับเลือกมาเป็นตัวอย่างเท่าๆ กัน ในการทดลองนี้จึงสุ่มตัวอย่างด้วยวิธีการจับฉลาก

### ค่าเฉลี่ยของผลบวกกำลังสองของผลต่าง

ค่าเฉลี่ยของผลบวกกำลังสองของผลต่างระหว่างข้อมูลกับค่าเฉลี่ยในแต่ละกลุ่มตัวอย่าง (Sample variance) สามารถคำนวณได้โดยนำเอาค่าความเป็นอิสระ (Degree of freedom : df หรือ  $V$ ) ของแต่ละกลุ่มตัวอย่างคือ  $n - 1$  มาทำการหารค่าผลบวกกำลังสองของความแตกต่างของข้อมูลกับค่าเฉลี่ยของแต่ละกลุ่มตัวอย่าง

$$S^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n - 1} \quad 11$$

ผลบวกกำลังสอง (Sum of squares : SS)

$SS_t$  คือผลบวกกำลังสองรวม (total sum of squares) =  $\sum_{j=1}^k \sum_{i=1}^n (X_{ij} - \bar{X})^2$

$SS_b$  คือผลบวกกำลังสองระหว่างกลุ่ม (sum of squares between groups) =  $n \sum_{j=1}^k (X_j - \bar{X})^2$

$SS_w$  คือผลบวกกำลังสองภายในกลุ่ม (sum of squares within groups) =  $\sum_{j=1}^k \sum_{i=1}^n (X_{ij} - \bar{X})^2$

ค่าเฉลี่ยกำลังสองของความแตกต่างระหว่างคะแนนกับค่าเฉลี่ยของแต่ละกลุ่ม (Mean squares)

$$MS = \frac{SS}{df} \quad 12$$

### การทดสอบนัยสำคัญของความแตกต่างตามแบบของต้นแคณ (Duncan's multiple range test)

ต้นแคณได้พัฒนาวิธีการทดสอบนัยสำคัญของการเปรียบเทียบพหุคูณโดยใช้อัตราส่วน  $q$  และการกระจายของกลุ่มตัวอย่างของอัตราส่วนดังกล่าว ประกอบด้วยจำนวนความแตกต่างของลำดับที่ค่าเฉลี่ยแต่ละคู่ที่เปรียบเทียบกันเป็นตัวกำหนดค่าวิกฤตของการเปรียบเทียบแต่ละคู่ที่อิสระจากกัน ขึ้นอยู่กับว่าค่าเฉลี่ยคู่ที่นำมาเปรียบเทียบจะมีจำนวนความแตกต่างของลำดับเท่าใด สามารถคำนวณค่าของความเชื่อมั่นของการทดสอบทั้งหมดได้จาก

$$100 (1 - \alpha)^{k-1} \quad 13$$

เมื่อ  $k$  คือจำนวนค่าเฉลี่ยทั้งหมดในชุดของการเปรียบเทียบ

$\alpha$  ระดับนัยสำคัญทางสถิติ

สูตรสำหรับการคำนวณค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยวิกฤตตามวิธีของต้นแคณ กรณีขนาดของกลุ่มตัวอย่างเท่ากัน คือ

$$W_r = q_{\alpha, r, v} \sqrt{\frac{MS_{error}}{n}} \quad 14$$

เมื่อ  $W_r$  คือค่าวิกฤตความแตกต่างของการเปรียบเทียบพหุคูณที่มีความแตกต่างของลำดับค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $r$

$q_{\alpha, r, v}$  คือค่าอัตราส่วน  $q$  จากตารางที่ต้นแคณพัฒนาขึ้นโดยมีระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ  $\alpha$  คู่ที่เปรียบเทียบความแตกต่างของลำดับค่าเฉลี่ยมีค่าเท่ากับ  $r$  และมี  $v$  เท่ากัน

$MS_{error}$  คือความแปรปรวนส่วนที่เป็นเทอมของความคลาดเคลื่อนของการทดสอบรวมโดย  $F$   
 $n$  คือขนาดของกลุ่มตัวอย่าง

สถาบันวิทยบริการ  
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ตารางผนวกที่ 4 ตารางวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของการเจริญเติบโต (ความสูง) ของพืชทดลอง ในช่วงวันที่ 4 ของการปลูก

ANOVA (Analysis of variance)

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
kale	Between Groups	0.130	4	0.033	6.359*	.000
	Within Groups	0.230	45	0.005		
	Total	0.360	49			
lettuce	Between Groups	0.241	4	0.060	2.884*	.033
	Within Groups	0.941	45	0.021		
	Total	1.182	49			
Amaranthus	Between Groups	0.533	4	0.133	5.015*	.002
	Within Groups	1.196	45	0.027		
	Total	1.729	49			

ns ไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

\* แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางผนวกที่ 5 ตารางเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทริทเมนต์โดยวิธีต้นแค่นของคะน้ำในช่วงวันที่ 4 ของการปลูก

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = .05		
		a	b	c
1	10	0.8000		
2	10	0.8500	0.8500	
3	10		0.9000	0.9000
4	10		0.9000	0.9000
5	10			0.9500
Sig.		0.125	0.147	0.147

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

ตารางผนวกที่ 6 ตารางเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์โดยวิธีต้นแคณของผักกาดหอมในช่วงวันที่ 4 ของการปลูก

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = .05	
		a	b
1	10	0.8000	
4	10		0.9500
5	10		0.9500
3	10		0.9700
2	10		1.0000
Sig.		1.000	0.488

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

ตารางผนวกที่ 7 ตารางเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์โดยวิธีต้นแคณของผักโขมในช่วงวันที่ 4 ของการปลูก

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = .05	
		a	b
1	10	0.9000	
2	10	0.9500	
5	10	0.9700	
3	10	1.0000	
4	10		1.2000
Sig.		0.219	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

ตารางผนวกที่ 8 ตารางวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของการเจริญเติบโต (ความสูง) ของพืชทดลอง ในช่วงวันที่ 16 ของการปลูก

## ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
kale	Between Groups	3.377	4	0.844	4.161 <sup>*</sup>	0.006
	Within Groups	9.129	45	0.203		
	Total	12.506	49			
lettuce	Between Groups	22.246	4	5.562	19.584 <sup>*</sup>	0.000
	Within Groups	12.779	45	0.284		
	Total	35.025	49			
Amaranthus	Between Groups	4.877	4	1.219	5.831 <sup>*</sup>	0.001
	Within Groups	9.410	45	0.209		
	Total	14.287	49			

ns ไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

\* แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางผนวกที่ 9 ตารางเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทริทเมนต์โดยวิธีต้นแค่นของคะน้ำในช่วงวันที่ 16 ของการปลูก

## Duncan

treatment	N	Subset for alpha = .05	
		a	b
1	10	1.540	
2	10	1.720	
3	10	1.960	1.960
4	10		2.180
5	10		2.210
Sig.		0.054	0.249

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

ตารางผนวกที่ 10 ตารางเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์โดยวิธีต้นแค้นของผักกาดหอมในช่วงวันที่ 16 ของการปลูก

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = .05			
		a	b	c	d
1	10	1.490			
5	10		2.290		
4	10		2.530	2.530	
3	10			2.960	
2	10				3.480
Sig.		1.000	0.319	0.078	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

ตารางผนวกที่ 11 ตารางเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์โดยวิธีต้นแค้นของผักโขมในช่วงวันที่ 16 ของการปลูก

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = .05		
		a	b	c
1	10	1.580		
2	10		2.040	
5	10		2.150	2.150
3	10		2.290	2.290
4	10			2.520
Sig.		1.000	0.256	0.093

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

ตารางผนวกที่ 12 ตารางวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของการเจริญเติบโต (ความสูง) ของพืชทดลอง ในช่วงวันที่ 21 ของการปลูก

## ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
kale	Between Groups	34.377	4	8.594	5.801 <sup>*</sup>	0.001
	Within Groups	66.674	45	1.482		
	Total	101.051	49			
lettuce	Between Groups	26.589	4	6.647	5.144 <sup>*</sup>	0.002
	Within Groups	58.150	45	1.292		
	Total	84.739	49			
Amaranthus	Between Groups	41.033	4	10.258	7.020 <sup>*</sup>	0.000
	Within Groups	65.763	45	1.461		
	Total	106.796	49			

ns ไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

\* แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางผนวกที่ 13 ตารางเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทริทเมนต์โดยวิธีต้นแค่นของคะน้ำในช่วงวันที่ 21 ของการปลูก

## Duncan

treatment	N	Subset for alpha = .05		
		a	b	c
1	10	5.850		
2	10	6.560	6.560	
3	10		7.240	7.240
4	10			7.970
5	10			8.000
Sig.		0.199	0.218	0.195

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

ตารางผนวกที่ 14 ตารางเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์โดยวิธีต้นแค้นของผักกาดหอมในช่วงวันที่ 21 ของการปลูก

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = .05	
		a	b
1	10	6.760	
5	10	6.880	
4	10	7.110	
3	10		8.320
2	10		8.450
Sig.		0.522	0.799

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

ตารางผนวกที่ 15 ตารางเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์โดยวิธีต้นแค้นของผักโขมในช่วงวันที่ 21 ของการปลูก

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = .05			
		a	b	c	d
1	10	7.310			
2	10	7.880	7.880		
5	10		8.670	8.670	
3	10			9.130	9.130
4	10				9.880
Sig.		0.297	0.151	0.399	0.172

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.



ตารางผนวกที่ 16 ตารางวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของการเจริญเติบโต (ความสูง) ของพืชทดลอง ในช่วงวันที่ 26 ของการปลูก

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
kale	Between Groups	34.207	4	8.552	5.788 <sup>*</sup>	0.001
	Within Groups	66.487	45	1.477		
	Total	100.694	49			
lettuce	Between Groups	175.328	4	43.832	24.577 <sup>*</sup>	0.000
	Within Groups	80.257	45	1.783		
	Total	255.585	49			
amaranthus	Between Groups	117.235	4	29.309	19.938 <sup>*</sup>	0.000
	Within Groups	66.150	45	1.470		
	Total	183.385	49			

ns ไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

\* แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางผนวกที่ 17 ตารางเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทริทเมนต์โดยวิธี Duncan ของคะแนนของคะแนนในช่วงวันที่ 26 ของการปลูก

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = .05		
		a	b	c
1	10	8.9500		
2	10	9.3400		
3	10	9.8900	9.8900	
4	10		10.8000	10.8000
5	10			11.1100
Sig.		.109	.101	.571

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

ตารางผนวกที่ 18 ตารางเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์โดยวิธีต้นแค้นของผักกาดหอมในช่วงวันที่ 26 ของการปลูก

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = .05			
		a	b	c	d
1	10	8.5500			
5	10		10.0300		
4	10			11.8300	
3	10			12.4300	
2	10				13.9100
Sig.		1.000	1.000	.320	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

ตารางผนวกที่ 19 ตารางเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์โดยวิธีต้นแค้นของผักโขมในช่วงวันที่ 26 ของการปลูก

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = .05		
		a	b	c
1	10	9.0400		
2	10	10.0000	10.0000	
5	10		10.5700	
3	10			12.5700
4	10			13.0600
Sig.		.083	.299	.371

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

## ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวชนิตา เรืองฝัน เกิดเมื่อวันที่ 29 มิถุนายน พ.ศ.2524 ที่ ต.ดอนยายหอม อ.เมือง จ.นครปฐม สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาบัณฑิต ภาควิชาเกษตรกลวิธาน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน เมื่อปีการศึกษา 2545 เคยเข้าทำงานในตำแหน่งผู้ช่วยนักวิจัย เมื่อปี พ.ศ. 2548 ของหน่วยสภาวะแวดล้อม ฝ่ายปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ได้เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชานิเวศลิษฐ์เทคโนโลยี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2546 และสำเร็จการศึกษาในปีการศึกษา 2549



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย