

ผลของไคโตซานต่อการเจริญเติบโตของคะน้า

Effects of Chitosan on Chinese Kale Growth

นวลใจ โคตรแสง¹ และพงษกร ชมภูแสน²

Nualchai Kotsaeng¹ and Pongsakorn Chompusaen²

บทคัดย่อ

ผลของไคโตซานที่มีต่อการเจริญเติบโตของคะน้า มีวัตถุประสงค์เพื่อที่จะศึกษาผลของการสกัดสารไคซานจากเปลือกกุ้งด้วยเครื่อง FT-IR เพื่อหาปริมาณของไคตินและไคโตซานที่สกัดได้จากเปลือกกุ้ง และศึกษาผลของไคโตซานที่มีต่อการเจริญเติบโตของต้นคะน้า โดยมีชุดการทดลองได้แก่ ปลูกในดินธรรมชาติ (ชุดควบคุม) ปลูกในดินที่ผสมปุ๋ยคอกอัตราส่วน 7:1 ปลูกโดยมีการฉีดพ่นสารละลายไคซาน ความเข้มข้น 40 ppm และปลูกโดยมีทั้งการใส่ปุ๋ยคอกอัตราส่วน 7:1 และมีการฉีดพ่นไคโตซานความเข้มข้น 40 ppm เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของคะน้าโดยการวัดความสูงต้น ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง ความกว้างใบ ความยาวใบ และจำนวนใบ ผลการสกัดไคตินจากเปลือกกุ้ง 50 กรัมพบว่าได้ปริมาณไคติน 4.96 กรัมคิดเป็น 9.92 %โดยน้ำหนัก ปริมาณสารไคโตซานที่กำจัดหมู่อะซิติล 1 ครั้งและ 2 ครั้งจะได้ปริมาณไคโตซาน 9.44 % และ 7.78 %โดยน้ำหนัก ตามลำดับ และมีเปอร์เซ็นต์ DD เป็น 88 % และ 92 % ตามลำดับ จากการนำไคโตซานมาใช้ในการทดสอบการเจริญเติบโตของคะน้า พบว่าคะน้าที่ฉีดพ่นด้วยไคโตซานความเข้มข้น 40 ppmและใส่ปุ๋ยคอกอัตราส่วน 7:1 จะมีการเจริญเติบโตดีที่สุด ทั้งทางด้านความสูงต้น ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง ความกว้างใบ ความยาวใบ และจำนวนใบ

คำสำคัญ: ไคติน, ไคโตซาน, คะน้า, ปุ๋ยคอก

Abstract

Effects of chitosan on Chinese kale growth was studied. The aims of this study was to find both the amount of chitin and chitosan extracted from shrimp shells by using FTIR Spectrophotometer, and the effects of chitosan on the kale's growth. The experiment composed of four treatments; grown in natural soil (control), grown in soil mixed with manure at rate of 7:1, grown with the spraying of chitosan solution at concentration of 40 ppm and grown with both manure at rate of 7:1 and spraying of chitosan solution at concentration of 40 ppm. Comparison the growth of kale in terms of plant height, stem diameter, leaf width,

¹อาจารย์ประจำ, คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏกาฬสินธุ์ โทรศัพท์ 043-602058 E-mail address:

kotsaeng@gmail.com

¹Lecturer, Faculty of Liberal Arts and Science, Kalasin Rajabhat University. Tel. 043-602058, E-mail address:

kotsaeng@gmail.com

²นักศึกษา, คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏกาฬสินธุ์ โทรศัพท์ 043-602058

²Student, Faculty of Liberal Arts and Science, Kalasin Rajabhat University Tel. 043-602058

leaf length and number of leaves were recorded. The amount of chitin extracted from shrimp shells 50 grams was 4.96 grams, equivalent to 9.92% by weight. While the amount of chitosan with deacetylation process 1 and 2 times are 9.44% and 7.78% by weight, and DD percentage were 88% and 92% respectively. For kale's growth characteristics applied with chitosan solution at concentration of 40 ppm and manure at rate of 7:1 gave the best growth in term of height, diameter size, leaf width, leaf length and number of leaves

Keywords: chitin, chitosan, chinese kale, manure

บทนำ

ปัจจุบันมีการศึกษาวิจัยกันอย่างกว้างขวางในเรื่องการผลิตโคตินและโคโตซานทั้งทางชีวภาพและเคมีเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์โคตินและโคโตซานที่มีคุณสมบัติตามต้องการ โดยเฉพาะทางด้านวงการเกษตร เส้นใย สิ่งทอ และอาหาร ตามธรรมชาติโคตินและโคโตซานจัดอยู่ในกลุ่มคาร์โบไฮเดรตผสมที่ประกอบด้วยอนุพันธ์ของน้ำตาลกลูโคสที่มีธาตุไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ โคตินและโคโตซานพบอยู่ในเปลือกนอกของสัตว์พวกกุ้ง ปู แมลง และเชื้อรา เป็นสารธรรมชาติที่มีลักษณะโดดเด่นเฉพาะตัวคือเป็นวัสดุชีวภาพ (Biomaterials) มีความปลอดภัยในการนำมาใช้กับมนุษย์ สัตว์ และไม่ก่อให้เกิดผลเสียต่อสิ่งแวดล้อม ไม่เกิดการแพ้ ไม่ไวไฟ และไม่เป็นพิษ (non-phytotoxic) ต่อพืช นอกจากนี้ยังส่งเสริมการเพิ่มปริมาณสิ่งมีชีวิตที่มีประโยชน์และย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ สารโคตินและโคโตซานมีลักษณะพิเศษในการนำมาใช้ดูดซับและจับตะกอนต่างๆในสารละลายแล้วนำสารกลับมาใช้ใหม่ได้ซึ่งเป็นการหมุนเวียนตามระบบธรรมชาติและสามารถยับยั้งเชื้อสาเหตุของโรคพืช ได้แก่ เชื้อไวรัส แบคทีเรีย และเชื้อราบางชนิด โดยโคโตซานจะซึมผ่านเข้าทางผิวใบและลำต้นพืช ช่วยยับยั้งการเกิดโรคพืชในกรณีที่เกิดเชื้อโรคพืชแล้ว และสร้างความต้านทานโรคให้กับพืช โดยโคโตซานมีคุณสมบัติเป็นตัวกระตุ้นระบบป้องกันตัวเองของพืช ทำให้พืชผลิตเอนไซม์และสารเคมีเพื่อป้องกันตนเองหลายชนิด พืชจึงลดความเสี่ยงที่จะถูกคุกคามโดยเชื้อสาเหตุโรคพืช ดังนั้นการใช้โคโตซาน

ในการเกษตรจึงนำไปสู่ปริมาณการใช้สารเคมีลดลง ปัญหาต่างๆที่พบในพืชลดน้อยลง ซึ่งจะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่เกษตรกรจะสามารถนำเอาไปใช้เพื่อลดปริมาณสารเคมีตกค้างและเป็นการป้องกันโรคระบาดที่อาจเกิดขึ้น ซึ่งจะส่งผลเสียต่อผลผลิตทางการเกษตร และมีความปลอดภัยต่อเกษตรกรผู้ใช้ และผู้บริโภค²

สารโคติน (Chitin) เป็นพอลิแซ็กคาไรด์ (Polysaccharide) และเป็นโพลิเมอร์ชีวภาพ (Biopolymers) มีชื่อทางเคมีคือ poly β -(1-4)-2-acetamido-2-deoxy-D-glucose (Figure 1a) ส่วนโคโตซาน (Chitosan) คือสารโคตินในรูปที่มีปริมาณหมู่อะซิทิลต่ำที่เกิดจากปฏิกิริยากำจัดหมู่อะซิทิล (Degree of Deacetylation, DD) ของสารโคตินด้วยต่างเข้มข้น เมื่อมีการกำจัดหมู่อะซิทิลประมาณ 60% จะสามารถละลายในกรดเจือจางได้ การกำจัดหมู่อะซิทิลจะใช้วิธีทางเคมี ทำให้โครงสร้างทางเคมีของสารโคตินเปลี่ยนไป โดยหมู่อะเซทิลไมด์ (NH-CO-CH_3) เปลี่ยนเป็นหมู่อะมิโน (-NH_2) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 ดังนั้นสารโคโตซานคือโพลิเมอร์ของ D-glucosamine (2-amino-deoxy-D-glucose) (Figure 1b)³

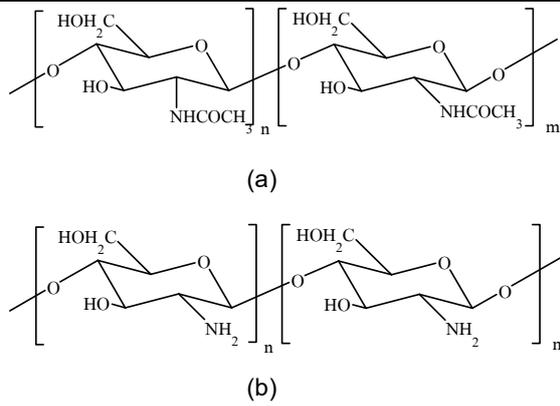


Figure 1 Chemical structure of (a) chitin (b) chitosan

วัตถุประสงค์

- 1) เพื่อศึกษาการแยกไคตินและไคโตซานจากเปลือกกุ้ง
- 2) เพื่อศึกษาผลของไคโตซานที่มีต่อการเจริญเติบโตของคะน้า

วิธีการศึกษา

การเตรียมวัสดุดิบ

- 1) นำเปลือกกุ้งมาล้างแล้วตากแดดให้แห้ง ใช้เวลาประมาณ 2-3 วัน
- 2) บดเปลือกกุ้งที่ได้ให้มีขนาดประมาณ 0.1-0.5 ตารางเซนติเมตร

การเตรียมไคตินจากเปลือกกุ้ง

1) แช่เปลือกกุ้งที่บดแล้วในสารละลายกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 1 โมลาร์ โดยใช้อัตราส่วนระหว่างเปลือกกุ้งบดต่อสารละลายกรด 1: 10 (น้ำหนักต่อปริมาตร) คนให้เข้ากัน และตั้งทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 คืน เนื่องจากจะมีก๊าซเกิดขึ้นจากการทำปฏิกิริยา ดังนั้นจึงควรทำการคนเป็นระยะๆ ในช่วงแรกของปฏิกิริยา

2) หลังจากแช่เปลือกกุ้งบดในสารละลายกรดไว้ 1 คืน ให้กรองเอาส่วนที่เป็นสารละลายทิ้ง และเติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 1 โมลาร์ แช่อีก 1 คืน หลังจากนั้นล้างเปลือกกุ้งด้วยน้ำสะอาด

หลายๆครั้งจนน้ำที่ล้างเป็นกลางต่อกระดาษวัดค่า pH จากนั้นกรองน้ำออกและอบให้แห้งที่อุณหภูมิประมาณ 60 องศาเซลเซียส ขั้นตอนนี้เป็นกรทำการกำจัดแคลเซียมคาร์บอเนต

3) เปลือกกุ้งที่ได้กำจัดเอาแคลเซียมคาร์บอเนตแล้วจะถูกนำมาผ่านขั้นตอนการกำจัดโปรตีน โดยนำเปลือกกุ้งมาผสมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ ในอัตราส่วนเปลือกกุ้งต่อสารละลายต่าง 1: 20 คนให้เข้ากัน แช่ทิ้งไว้ 1 คืน

4) หลังจากแช่ทิ้งไว้ 1 คืน ให้กรองเอาสารละลายทิ้ง และเติมสารละลาย โซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ คนให้เข้ากัน นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิประมาณ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

5) ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วกรองเอาสารละลายออก ล้างด้วยน้ำสะอาดหลายๆครั้ง จนน้ำที่ล้างเป็นกลางต่อกระดาษวัดค่า pH แล้วนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิประมาณ 60 องศาเซลเซียส สารที่ได้คือ สารไคติน

การเตรียมสารไคโตซานจากสารไคติน

1) นำสารไคตินมาทำการแยกหมู่อะซิติลออกโดยแช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ความเข้มข้น 50% (w/v) ในอัตราส่วนระหว่างสารไคตินและสารละลายต่าง 1:15 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

2) หลังจากให้ความร้อนเป็นเวลา 2 ชั่วโมงแล้ว รอให้เย็น จากนั้นกรองและล้างด้วยน้ำจนกระทั่งน้ำที่ล้างเป็นกลางต่อกระดาษวัดค่า pH แล้วอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส สารที่ได้คือ สารไคโตซาน

3) เตรียมไคโตซานที่มีระดับดีอะซีทิลเลขชั้นสูงๆ โดยทำการดึงหมู่ acetyl ออกด้วย 50% NaOH

(w/v) ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ซ้ำอีกครั้งหนึ่ง จากนั้นทำการกรองและล้างด้วยน้ำจนกระทั่งน้ำล้างเป็นกลางต่อกระดาษวัดค่า pH แล้วอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ได้สารโคโคซาน

การหาระดับการเกิดอะเซทิลเลชัน (degree of deacetylation) ด้วยเทคนิค FT-IR

1) ซังสารโคโคซานที่ทำการ deacetylation 1 ครั้ง มา 0.05 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร เติมน้ำละลายกรดอะซิติก ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 20 มิลลิลิตร คนจนกระทั่งสารโคโคซานละลาย ทิ้งไว้ให้หมดฟองอากาศเป็นเวลา 1 คืน แล้วเทลงในจานเพาะเชื้อ ทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง ทำการลอกฟิล์มออกโดยทำให้เปียกน้ำเล็กน้อย แล้วลอกออกอย่างระมัดระวัง ล้างด้วยน้ำกลั่น ผึ่งให้แห้ง นำฟิล์มไปวัดค่า absorbance ด้วยเครื่อง FT-IR spectrometer

2) นำโคโคซานที่ทำการ deacetylation 2 ครั้ง มาทำเหมือนข้อ 1

3) หาอัตราส่วนระหว่างพื้นที่ใต้พีคที่ wave number 1655 cm^{-1} ต่อ 2867 cm^{-1} แล้วหา %DD จาก calibration curve จากการอ้างอิงกับปริมาณ %DD ที่ได้จากการตรวจสอบด้วยเทคนิคที่ให้ค่าโดยตรง ได้แก่ เทคนิค NMR

การทดสอบประสิทธิภาพของโคโคซานที่มีต่อการเจริญเติบโตของต้นคะน้า

1. การเตรียมกระถางปลูก โดยนำดินธรรมชาติ มาใส่ในกระถางขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 17 นิ้ว แบ่งเป็นชุดการทดลอง 4 ชุด ดังนี้ ชุดควบคุม ชุดปุ๋ยคอกที่ได้จากมูลวัว ใช้อัตราดินต่อปุ๋ยคอก 7:1 ชุด สารละลายโคโคซานที่ความเข้มข้น 40 ppm ให้ในรูปการฉีดพ่นทางใบ และชุดสารละลายโคโคซานผสมปุ๋ยคอกอัตราส่วน 7:1

2. ขั้นตอนการปลูกพืช

1) ทำการเพาะกล้าคะน้า โดยใช้ระยะเวลาในการเพาะกล้าเป็นเวลา 20 วัน โดยเพาะกล้าคะน้าในแปลงเดียวกันหมดแล้วจึงทำการแยกคะน้าออกปลูกในแต่ละชุดการทดลอง

2) ทำการเลือกต้นกล้าคะน้าที่มีขนาดเท่ากันมาปลูกกระถางละ 3 ต้น จำนวน 3 กระถาง นำไปตั้งไว้ในระยะนี้ใช้เวลาในการปลูก 35 วัน โดยให้น้ำวันละ 2 ครั้ง คือในช่วงเช้า และช่วงเย็น

3) ทำการฉีดพ่นสารละลายโคโคซาน ดังชุดการทดลองที่ได้กำหนดไว้และวัดการเจริญเติบโตของคะน้า ทุกๆ 7 วัน จนครบกำหนดระยะเวลา โดยการวัดการเจริญเติบโตของคะน้า 5 ลักษณะ คือ ความสูง เส้นรอบวงโคนต้น ความยาวของใบ ความกว้างของใบ และจำนวนใบ

ผลการศึกษา

ผลการสกัดสารโคโคซานและสารโคโคซานจากเปลือกกุ้ง

ผลการสกัดสารโคโคซานและสารโคโคซานจากเปลือกกุ้ง โดยนำเปลือกกุ้งสดมาทำการตากแดดเป็นระยะเวลา 2-3 วัน แล้วนำมาบด จากนั้นนำมาผ่านกระบวนการสกัดแร่ธาตุและโปรตีนออก และทำการดึงหมู่อะซิติกออก เพื่อให้ได้สารโคโคซานและสารโคโคซาน ได้ผลการสกัดดังตารางที่ 1

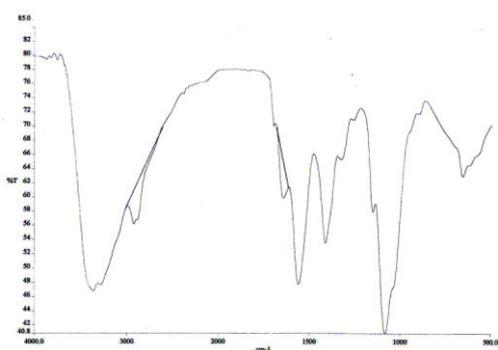
Table 1 The amount of chitin and chitosan extracted from shrimp shells

ปริมาณเปลือกกุ้ง (กรัม)	ปริมาณสารไคตินที่สกัดได้		ปริมาณสารไคโตซานที่สกัดได้ครั้งที่ 1 จากสารไคติน			ปริมาณสารไคโตซานที่สกัดได้ครั้งที่ 2 จากสารไคโตซานที่สกัดได้ครั้งที่ 1		
	น้ำหนัก (กรัม)	%โดยน้ำหนัก	น้ำหนัก (กรัม)	%โดยน้ำหนัก	*%DD	น้ำหนัก (กรัม)	%โดยน้ำหนัก	*%DD
50	4.96	9.92	4.72	9.44	88	3.89	7.78	92

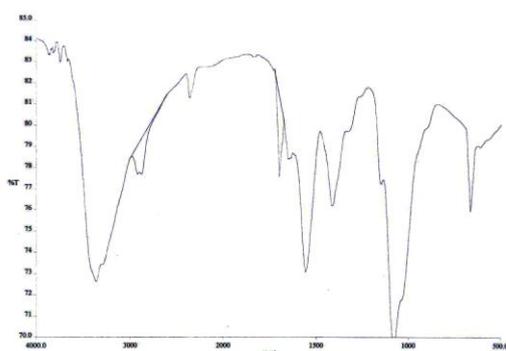
*%DD = ระดับการกำจัดหมู่อะซีทิล

ผลการหาระดับการเกิดอะซีทิลเลชัน ด้วยเทคนิค

FT-IR



(a)



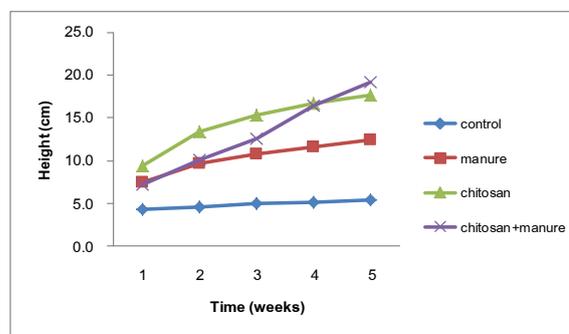
(b)

Figure 2 FT-IR spectrum of chitosan (a)

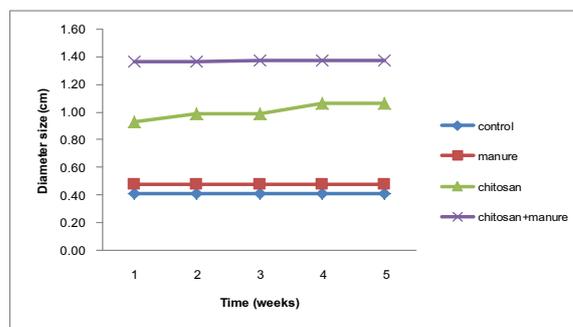
deacetylation 1 time and (b) deacetylation 2 time

ผลการทดสอบประสิทธิภาพไคโตซานที่มี

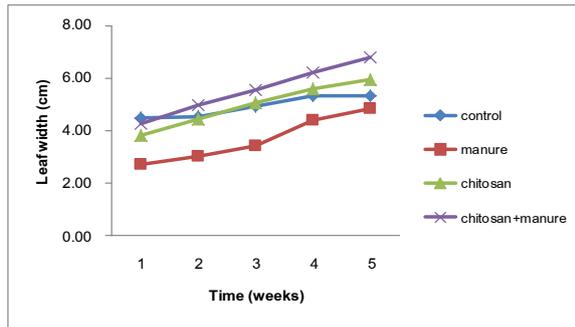
ต่อการเจริญเติบโตของคะน้า



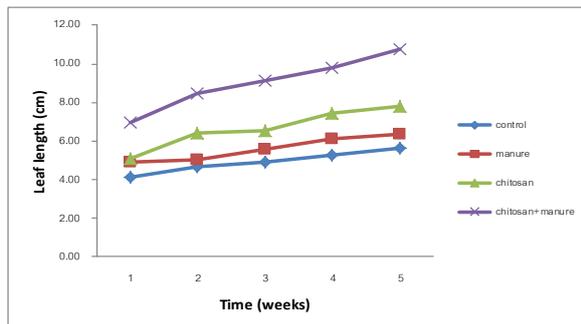
(a)



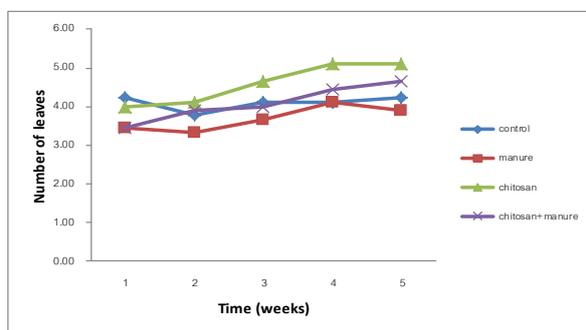
(b)



(c)



(d)



(e)

Figure 3 The growth of kale's in term of (a) height (b) diameter size (c) leaf width (d) leaf length and (e) number of leaves

วิจารณ์และสรุปผล

เปลือกกุ้งเมื่อนำมาทำจัดแคลเซียมคาร์บอเนต (deminerlization) โดยทำปฏิกิริยากับ 1 M HCl ในอัตราส่วน 1:10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 วัน ทุกๆวันจะเปลี่ยนกรดที่ใช้ในการทำ

ปฏิกิริยาจากนั้นทำการกำจัดโปรตีน (deproteinization) โดยทำปฏิกิริยากับ 4%(w/v) NaOH โดยน้ำหนักต่อปริมาตรที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 วันและที่อุณหภูมิ 85 °c เป็นเวลา 4 ชั่วโมงได้ปริมาณไคตินเป็น 9.92 %โดยน้ำหนัก นำไคตินที่ได้มากำจัดหมู่อะซิติล (deacetylation) ได้เป็นไคโตซานโดยการทำปฏิกิริยากับ 50% (w/v) NaOH ในอัตราส่วน 1:10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรที่อุณหภูมิ 95 °c เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เมื่อนำไคโตซานที่กำจัดหมู่อะซิติลแล้ว 1 ครั้ง มาทำการกำจัดหมู่อะซิติลอีกครั้ง ไคโตซานที่กำจัดหมู่อะซิติล 1 ครั้งและ 2 ครั้งจะได้ปริมาณไคโตซานเป็น 9.44 %โดยน้ำหนัก และ 7.78 %โดยน้ำหนัก ตามลำดับ และมีเปอร์เซ็นต์ DD เป็น 88 % และ 92 % ตามลำดับ แสดงว่าไคโตซานที่ทำปฏิกิริยา deacetylation 2 ครั้งจะกำจัดหมู่อะซิติลออกได้มากกว่าไคโตซานที่ทำ deacetylation 1 ครั้ง

จากการนำไคโตซานมาใช้ในการทดสอบการเจริญเติบโตของคะน้า เมื่อผลการทดลองมาวิเคราะห์ทางสถิติ โดยใช้ค่าเฉลี่ยและ one way anova พบว่าคะน้าที่ฉีดพ่นด้วยไคโตซานและใส่ปุ๋ยคอกจะส่งผลต่อเจริญเติบโตของคะน้าดีที่สุด ซึ่งสามารถอธิบายได้จากสมบัติของไคโตซานซึ่งเป็นพอลิเมอร์ประจุบวกและธาตุอาหารจำเป็นสำหรับพืชส่วนใหญ่จะเป็นประจุลบ จึงทำให้ไคโตซานที่มีประจุบวกสร้างพันธะไฮดรอกซิลกับธาตุอาหารเอาไว้แล้วค่อยปลดปล่อยออกมาให้แก่คะน้า ธาตุอาหารจากปุ๋ยและธาตุอาหารในดินจึงไม่ถูกชะหรือซึ่มลงสู่พื้นดินที่ลึกกว่ารากคะน้ายังถึงและสำหรับกระถางที่ฉีดพ่นเฉพาะไคโตซานนั้นมีการเจริญเติบโตน้อยกว่ากระถางที่ฉีดพ่นไคโตซานและใส่ปุ๋ยคอกแสดงว่าในดินนั้นมีธาตุอาหารที่จำเป็นน้อยกว่ากระถางที่ใส่ทั้งปุ๋ยและไคโตซาน และอีกสมบัติหนึ่งของไคโตซานจะเป็นพอลิเมอร์ที่แตกสลายได้ทางชีวภาพ โดยเอนไซม์ในธรรมชาติทำให้สารโซพอลิเมอร์นั้นอยู่ในรูป N-acetyl-D-glucosamine และ D-

glucosamine เมื่อเอนไซม์ทำงานได้ดีก็ทำให้รากพืชมีอัตราการหายใจและการแลกเปลี่ยนก๊าซออกซิเจนได้ดี จึงทำให้คะน้าเจริญเติบโตได้ดี เนื่องจากไคโตซานทำให้ดินร่วนซุยและมีช่องว่างในดินมากขึ้น¹ จากการศึกษาสามารถสกัดไคตินจากเปลือกกุ้งและทำการปรับปรุงหมู่อะซิติลโดยการทำ deacetylation สารไคตินและไคโตซานมีประโยชน์อย่างมากต่อภาคการเกษตร สามารถช่วยให้คะน้าเจริญเติบโตได้ดีกว่าการใส่ปุ๋ยคอกอย่างเดียว

กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgements)

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสาขาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏกาฬสินธุ์ ที่เอื้อเฟื้อวัสดุอุปกรณ์และห้องปฏิบัติการในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

1. สุวบุญ จิระชาญชัย, รั้งรอง ยกถ่าน, โกสุม สมัครรัตน์. การประชุมเชิงปฏิบัติการไคตินและไคโตซานจากวัตถุดิบธรรมชาติสู่การประยุกต์ใช้ 30-31 สิงหาคม 2544 : กรุงเทพมหานคร : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย13.
2. Chandkrachang, S. The applications of chitin and chitosan in agriculture in Thailand. *Advances in Chitin Science* 2002;5: 458-462.
3. Win, K. K. N., P. Jitareerat, S. Kanlayanarat, and S. Sangchote. Effect of cinnamon extract, chitosan coating, hot water treatment and their combinations on crown rot disease and quality of banana fruit. *Postharvest Biology and Technology* 2007;45: 333-340.