บทที่ 4
ผลการทดลองและอภิปรายผล

การศึกษาการสกัดไคโตซานจากเกล็ดปลานิลเพื่อการผลิตแผ่นฟิล์มที่บริโภคได้ ผลของการทดลองมี 3 ตอน ดังต่อไปนี้

ตอนที่ 1 การศึกษาวิธีการสกัดไคโตซานตามเกณฑ์มาตรฐานที่ใช้ในกลุ่มผลิตอาหารจากเกล็ดปลานิล

การทดลองที่ 1.1 การศึกษาการกำจัดโปรตีนออกจากตัวอย่างเกล็ดปลานิล

เนื่องจากในส่วนของเกล็ดปลานิลมีปริมาณของโปรตีนเป็นส่วนประกอบซึ่งจะมีผลต่อการสกัดไคติน ดังนั้นจึงจำเป็นต้องผ่านขั้นตอนการกำจัดโปรตีนออกจากเกล็ดปลานิล โดยนำเกล็ดปลานิลที่ผ่านการล้างทำความสะอาดจำนวน 100 กรัม และอบให้แห้งโดยใช้ตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 12 ชั่วโมง แล้วนำเกล็ดปลามาทำการกำจัดโปรตีนในสารละลายด่างอ่อน โดยวางแผนการทดลองแบบ Central Composite Design ที่มีการผันแปรตัวแปรในการกำจัดโปรตีน 2 ตัวแปร คือ โซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 2-8 โดยน้ำหนัก และอุณหภูมิในการสกัด 60-80 องศาเซลเซียส ซึ่งในแต่ละสิ่งทดลองจะใช้อัตราส่วนของเกล็ดปลานิลต่อโซเดียมไฮดรอกไซด์มีค่าเท่ากับ 1 : 6 และใช้เครื่องกวนแม่เหล็กตลอดเวลาที่ความเร็ว 180 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 ชั่วโมง จึงปรับส่วนผสมให้เป็นกลางด้วยกรด ทำการทดสอบด้วย pH meter แล้วชั่งเกล็ดปลาที่ได้ วิเคราะห์ร้อยละของการกำจัดโปรตีนออก ดังผลซึ่งแสดงดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ผลการศึกษาการกำจัดโปรตีนออกจากตัวอย่างเกล็ดปลานิลโดยการผันแปรปัจจัยโซเดียมไฮดรอกไซด์ และอุณหภูมิ

ร้อยละความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) : X_1	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) : X_2	น้ำหนักเกล็ดปลานิลหลังจากการ กำจัดโปรตีน (กรัม)	การกำจัดโปรตีน (ร้อยละ)
2.00 (-1)	60.00 (-1)	40.88 ± 0.13	59.14 ± 0.13
8.00 (+1)	60.00 (-1)	32.90 ± 0.14	67.13 ± 0.14
2.00 (-1)	80.00 (+1)	32.05 ± 0.08	67.97 ± 0.08
8.00 (+1)	80.00 (+1)	34.45 ± 0.07	65.58 ± 0.07
0.76 (-1.414)	70.00 (0)	49.22 ± 0.25	50.80 ± 0.25
9.24 (+1.414)	70.00 (0)	33.57 ± 0.08	66.47 ± 0.08
5.00 (0)	55.86 (-1.414)	32.56 ± 0.16	67.47 ± 0.16
5.00 (0)	84.14 (+1.414)	31.10 ± 0.13	68.92 ± 0.13
5.00 (0)	70.00 (0)	33.14 ± 0.10	66.88 ± 0.10
5.00 (0)	70.00 (0)	32.64 ± 0.04	67.38 ± 0.04

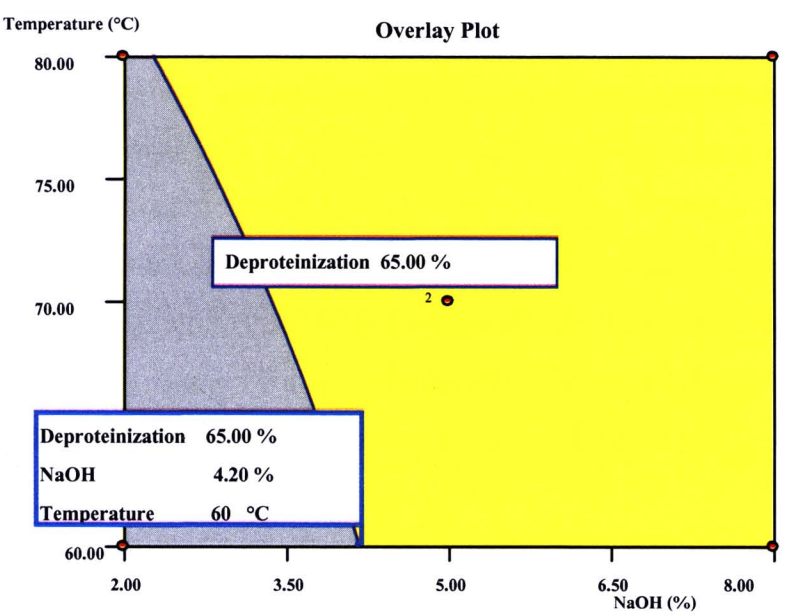
การศึกษาผลของโซเดียมไฮดรอกไซด์ และอุณหภูมิที่มีผลต่อค่าการกำจัดโปรตีนจากเกล็ดปลานิลพบว่า ค่าการกำจัดโปรตีนที่ได้อยู่ในช่วงร้อยละ 50.80-68.92 (ตารางที่ 4.1) ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P \leq 0.05$ (ตารางที่ 4.2) ซึ่งโซเดียมไฮดรอกไซด์และอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดช่วงที่ทำการศึกษามีผลต่อค่าการกำจัดโปรตีนจากเกล็ดปลานิล โดยเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ และอุณหภูมิที่ใช้จะส่งผลต่อค่าการกำจัดโปรตีนเพิ่มมากขึ้น และมีอิทธิพลร่วมระหว่างโซเดียมไฮดรอกไซด์กับอุณหภูมิต่อการกำจัดโปรตีนออกจากเกล็ดปลานิลด้วย โดยสามารถแสดงสมการความสัมพันธ์ของปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อค่าการกำจัดโปรตีนดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 สมการถดถอยแสดงความสัมพันธ์ระหว่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ และอุณหภูมิต่อค่าการกำจัดโปรตีนออกจากตัวอย่างเกล็ดปลานิล

	สมการถดถอย	R^2	ระดับนัยสำคัญ (p)
การกำจัดโปรตีนออกจากตัวอย่างเกล็ดปลานิล (ร้อยละ)	$=+12.14+11.94\ (X_1) +0.55\ (X_2) - 0.47(X_1)^2-0.07\ (X_1)\ (X_2)$	0.8355	0.0339

หมายเหตุ X_1 คือ ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) มีหน่วยเป็นร้อยละ
X_2 คือ อุณหภูมิ มีหน่วยเป็นองศาเซลเซียส

ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ No and Meyers (1997) พบว่า โดยทั่วไปในขั้นตอนการกำจัดโปรตีนในเปลือกกุ้ง กระดองปู และแกนปลาหมึกจะใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ร้อยละ 1-10 โดยน้ำหนัก และอุณหภูมิที่ใช้ประมาณ 65-100 องศาเซลเซียส แต่ขัดแย้งกับการกำจัดโปรตีนในงานวิจัยของ Domard and Chaussard (2002) ที่ใช้วัตถุดิบเป็นแกนปลาหมึก พบว่า ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ไม่ทำให้ปริมาณโปรตีนที่เหลือในไคตินแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ



ภาพที่ 4.1 กระบวนการผลิตที่ดีที่สุด (Optimization) สำหรับการศึกษาผลของโซเดียมไฮดรอกไซด์ และอุณหภูมิในการกำจัดโปรตีน

นำผลการทดลองดังกล่าว (ตารางที่ 4.1) มาทำการวิเคราะห์ผลทางสถิตินำค่าตอบสนองที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) (ตารางที่ 4.2) เพื่อนำมาหาสภาวะกระบวนการผลิตที่ดีที่สุด (Optimization) สำหรับกระบวนการกำจัดโปรตีนจากเกล็ดปลานิล โดยวิธีการสร้างพื้นที่ตอบสนอง (Response surface methodology) ของค่าตอบสนองที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) (ตารางที่ 4.2) ได้แก่ผลการหาสภาวะกระบวนการผลิตที่ดีที่สุดสำหรับกระบวนการการกำจัดโปรตีนจากเกล็ดปลานิลโดยวิธีการสร้างพื้นที่ตอบสนองดังแสดงในภาพที่ 4.1 โดยจะเลือกพื้นที่ตอบสนองที่ให้ค่าของการใช้อุณหภูมิในการกำจัดโปรตีนต่ำที่สุด เนื่องจากในขั้นตอนนี้ใช้เวลาในการกำจัดโปรตีนนานถึง 5 ชั่วโมง ซึ่งเมื่อเลือกใช้อุณหภูมิที่ต่ำจะช่วยลดค่าใช้จ่ายในขั้นตอนการกำจัดโปรตีนจากเกล็ดปลานิลได้ จากการทดลองในขั้นตอนการกำจัดโปรตีนจะได้สภาวะที่เหมาะสม คือ ใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (X_1) ร้อยละ 4.2 โดยน้ำหนัก และอุณหภูมิ (X_2) 60 องศาเซลเซียส ได้ค่าการกำจัดโปรตีนร้อยละ 65.09

การทดลองที่ 1.2 การศึกษาการกำจัดแร่ธาตุออกจากตัวอย่างเกล็ดปลานิล

จากสมมุติฐานที่ว่าในเกล็ดปลานิลมีปริมาณของแคลเซียมคาร์บอเนตเป็นส่วนประกอบซึ่งจะมีผลต่อการสกัดไคติน ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีขั้นตอนการกำจัดแร่ธาตุออกจากเกล็ดปลานิลโดยใช้เกล็ดปลานิลที่ผ่านการอบแห้ง และกำจัดโปรตีนออกแล้ว (การทดลองที่ 1.1) จำนวน 30 กรัม เพื่อทำการกำจัดแร่ธาตุออก โดยวางแผนการทดลองแบบ Central Composite Design ที่มีการผันแปรตัวแปรในการกำจัดแร่ธาตุ 2 ตัวแปร คือ กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 2 นอมัล ในช่วงร้อยละ 30-60 โดยปริมาตร และใช้เวลากำจัดแร่ธาตุในช่วง 6-15 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง ในแต่ละสิ่งทดลองจะใช้อัตราส่วนของเกล็ดปลานิลต่อกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 2 นอมัล มีค่าเท่ากับ 1 : 6 คนด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กตลอดเวลาที่ความเร็ว 180 รอบต่อนาที แล้วปรับส่วนผสมให้เป็นกลางด้วยด่างทำการทดสอบด้วย pH meter ทำการชั่งเกล็ดปลาที่ได้หลังจากการกำจัดแร่ธาตุ แล้วหาค่าร้อยละของการกำจัดแร่ธาตุออก ผลการกำจัดแร่ธาตุแสดงดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 ผลการศึกษาการกำจัดแร่ธาตุออกจากตัวอย่างเกล็ดปลานิลโดยการผันแปรปัจจัยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 2 นอมัล และเวลา

ร้อยละความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 2 นอมัล (ปริมาตรต่อปริมาตร) : X_1	เวลา (ชั่วโมง) : X_2	ระดับของการกำจัดแร่ธาตุ (ร้อยละ)
30.00 (-1)	6.00 (-1)	20.39± 0.04
60.00 (+1)	6.00 (-1)	23.40± 0.04
30.00 (-1)	15.00 (+1)	16.35± 0.18
60.00 (+1)	15.00 (+1)	19.51± 0.51
23.79 (-1.414)	10.50 (0)	16.48± 0.10
66.21 (+1.414)	10.50 (0)	28.13± 0.63
45.00 (0)	4.14 (-1.414)	18.27± 0.19
45.00 (0)	16.86 (+1.414)	15.60± 0.08
45.00 (0)	10.50 (0)	5.07± 0.06
45.00 (0)	10.50 (0)	4.93± 0.02

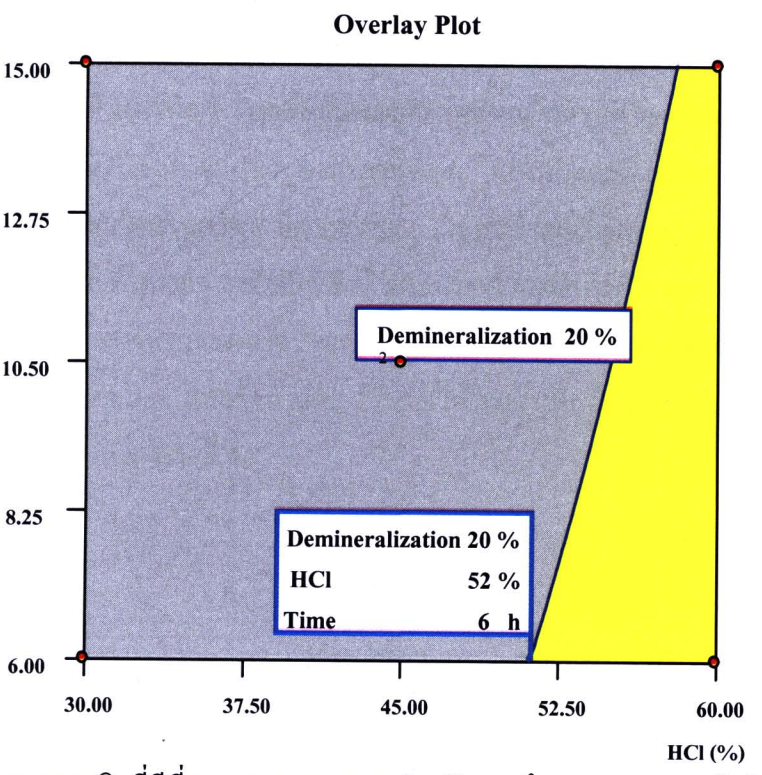
จากตารางที่ 4.3 พบว่า ค่าการกำจัดแร่ธาตุจะอยู่ในช่วงร้อยละ 15.60-28.13 ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P \leq 0.05$ (ตารางที่ 4.4) คือกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 2 นอมัล ในช่วงที่ทำการศึกษามีผลต่อค่าการกำจัดแร่ธาตุจากเกล็ดปลานิล เมื่อเพิ่มปริมาณร้อยละความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 2 นอมัล จะส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของค่าการกำจัดแร่ธาตุ เมื่อเปรียบเทียบกับการกำจัดแร่ธาตุของ Iqbal *et al.* (2005) ที่ใช้วัตถุดิบเป็นเกล็ดปลายี่สกเทศ โดยใช้ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก 1 นอมัล และเวลาในการกำจัดแร่ธาตุ 24 ชั่วโมง จากการทดลองนี้ใช้ความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริกสูงกว่าแต่เวลาในการกำจัดแร่ธาตุน้อยกว่า

ผลการหาสภาวะกระบวนการผลิตที่ดีที่สุดสำหรับการกำจัดแร่ธาตุจากเกล็ดปลานิลโดยวิธีการสร้างพื้นที่ตอบสนองแสดงดัง ภาพที่ 4.2 โดยสามารถแสดงเป็นสมการความสัมพันธ์ของปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อค่าการกำจัดแร่ธาตุได้ดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 สมการถดถอยแสดงความสัมพันธ์ระหว่างกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 2 นอมัล และเวลาต่อค่าการกำจัดแร่ธาตุออกจากตัวอย่างเกลือปลานิล

	สมการถดถอย	R^2	ระดับนัยสำคัญ (p)
การกำจัดแร่ธาตุออกจากตัวอย่างเกลือปลานิล(ร้อยละ)	$=+37.10 - 0.94 (X_1) - 0.33 (X_2) + 0.01 (X_1)^2$	0.8871	0.0030

หมายเหตุ X_1 ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 2 นอมัล (ปริมาตรต่อปริมาตร) มีหน่วยเป็นร้อยละ
X_2 คือ เวลา มีหน่วยเป็นชั่วโมง



ภาพที่ 4.2 กระบวนการผลิตที่ดีที่สุด (Optimization) สำหรับการศึกษาผลของกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 2 นอมัล และเวลาในการกำจัดแร่ธาตุ

จากผลการทดลองดังกล่าว (ตารางที่ 4.3) ทำการวิเคราะห์ผลทางสถิติ นำค่าตอบสนองที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) (ตารางที่ 4.4) เพื่อนำไปทำการหาสภาวะกระบวนการผลิตที่ดีที่สุด (Optimization) สำหรับกระบวนการกำจัดแร่ธาตุ โดยวิธีการสร้างพื้นที่ตอบสนอง (Response surface methodology) ของค่าตอบสนองที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) (ตารางที่ 4.4) ได้แก่ ค่าการกำจัดแร่ธาตุสำหรับค่าที่ใช้กำหนดระดับในการหาสภาวะการที่ดีที่สุดดังนี้ คือใช้กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 2 นอมัล (X_1) ที่ร้อยละ 52 โดยปริมาตร เวลาในการสกัด (X_2) 6 ชั่วโมงโดยจะมีปริมาณแร่ธาตุที่ถูกกำจัดร้อยละ 20.29

การทดลองที่ 1.3 การผลิตไคโตซานจากไคตินที่สกัดมาจากเกล็ดปลานิล

นำไคตินที่ได้จากเกล็ดปลานิลที่ผ่านขั้นตอนการกำจัดโปรตีน (การทดลองที่ 1.1) และขั้นตอนการกำจัดแร่ธาตุ (การทดลองที่ 1.2) มาผลิตไคโตซาน โดยแช่ในสารละลายโซเดียม-ไฮดรอกไซด์ ซึ่งมีการวางแผนการทดลองแบบ Central Composite Design ที่มีการผันแปรตัวแปรในการผลิตไคโตซาน 2 ตัวแปรคือ ความเข้มข้นของด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ในช่วงร้อยละ 45-60 โดยน้ำหนัก และอุณหภูมิในช่วง 80-120 องศาเซลเซียส โดยในแต่ละสิ่งทดลองจะใช้อัตราส่วนของเกล็ดปลานิลต่อโซเดียมไฮดรอกไซด์ มีค่าเท่ากับ 1 : 6 คนด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กตลอดเวลาที่ความเร็ว 180 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จึงทำการปรับส่วนผสมให้เป็นกลางด้วยกรด ทำการทดสอบด้วย pH มิเตอร์ ทำการตรวจสอบค่าร้อยละการกำจัดหมู่อะซีทิลของไคโตซานที่สกัดได้ด้วยเครื่อง UV Spectrophotometer และคำนวณหาปริมาณไคโตซานที่สกัดได้ (Tao and Svetlana, 2008) ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.5

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

ตารางที่ 4.5 ปริมาณของไคโตซานที่ผลิตจากไคตินจากเกล็ดปลานิลที่ผลิตจากการผันแปรปัจจัยโซเดียมไฮดรอกไซด์ และอุณหภูมิ

ร้อยละความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) : X_1	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) : X_2	ระดับของการกำจัดหมู่อะซีทิล (ร้อยละ)	ไคโตซาน (กรัม)
45.00 (-1)	80.00 (-1)	99.64± 0.02	15.46± 0.24
60.00 (+1)	80.00 (-1)	99.82± 0.01	17.72± 0.12
45.00 (-1)	120.00 (+1)	99.77± 0.01	15.41± 0.34
60.00 (+1)	120.00 (+1)	99.82± 0.01	18.59± 0.48
41.89 (-1.414)	100.00 (0)	99.62± 0.01	15.31± 0.29
63.11 (+1.414)	100.00 (0)	99.82± 0.01	19.11± 0.42
52.50 (0)	71.76 (-1.414)	99.80± 0.01	16.15± 0.46
52.50 (0)	128.28 (+1.414)	99.80± 0.01	16.93± 0.22
52.50 (0)	100.00 (0)	99.78± 0.01	16.83± 0.18
52.50 (0)	100.00 (0)	99.78± 0.01	15.91± 0.09

จากการศึกษาผลของโซเดียมไฮดรอกไซด์ และอุณหภูมิที่มีผลต่อการผลิตไคโตซาน พบว่า ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีระดับของการกำจัดหมู่อะซีติล และปริมาณไคโตซานอยู่ในช่วงร้อยละ 99.62-99.82 และ 15.31-19.11 กรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 4.5) โดยที่ระดับของการกำจัดหมู่อะซีทิล และปริมาณไคโตซานแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P \leq 0.05$ (ตารางที่ 4.6) คือเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ และอุณหภูมิในช่วงที่ทำการศึกษาจะส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของค่าการผลิตไคโตซาน และระดับของการกำจัดหมู่อะซีทิลจากเกล็ดปลานิล โดยในขั้นตอนการผลิตไคโตซานของ Iqbal *et al.* (2005) วัตถุดิบเป็นเกล็ดปลายี่สกเทศใช้ความเข้มข้นของโซเดียม-ไฮดรอกไซด์ 1 นอมัล และอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เวลาสกัด 30 นาที ซึ่งได้ระดับของการกำจัดหมู่อะซีทิลร้อยละ 52 อย่างไรก็ตาม ปฏิกิริยาการกำจัดหมู่อะซิทิลโดยใช้ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ต่ำเกินไปจะมีผลต่อการละลายของไคโตซานในสารละลายกรดอ่อน โดย

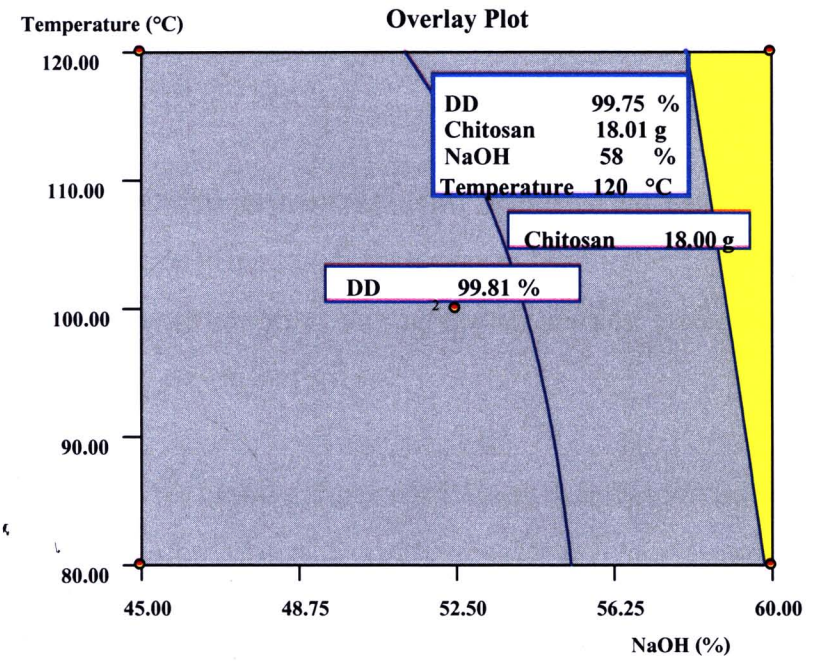
No and Meyers (1997) พบว่า ไคโตซานที่ผลิตได้จากกระบวนการที่ใช้สารละลายโซเดียม-ไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้นต่ำกว่าร้อยละ 45 โดยน้ำหนักไม่สามารถละลายได้ในกรดอ่อน

ผลการหาสภาวะกระบวนการผลิตที่ดีที่สุดสำหรับกระบวนการผลิตไคโตซานจากเกล็ดปลานิลโดยวิธีการสร้างพื้นที่ตอบสนองแสดงดังภาพที่ 4.3 สามารถแสดงเป็นสมการความสัมพันธ์ของปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อค่าการกำจัดแร่ธาตุได้ดังตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 สมการถดถอยแสดงความสัมพันธ์ระหว่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ และอุณหภูมิต่อค่าคุณภาพของไคโตซานในกระบวนการผลิตไคโตซานจากไคตินที่สกัดมาจากเกล็ดปลานิล

สมการถดถอย		R^2	ระดับนัยสำคัญ (p)
ระดับของการกำจัดหมู่อะซีทิล (ร้อยละ)	$=+96.49 + 0.09\ (X_1) + 0.01\ (X_2) - 5.95 \times 10^{-4}(X_1)^2 - 2.14 \times 10^{-4}\ (X_1)(X_2)$	0.9407	0.0029
ปริมาณไคโตซาน (กรัม)	$=+23.80-0.51(X_1) +0.01(X_2) + 6.54 \times 10^{-3}\ (X_1)^2$	0.9601	0.0001

หมายเหตุ X_1 คือ ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) มีหน่วยเป็นร้อยละ
X_2 คือ อุณหภูมิ มีหน่วยเป็นองศาเซลเซียส



ภาพที่ 4.3 กระบวนการผลิตที่ดีที่สุด (Optimization) สำหรับการศึกษาผลของการผันแปรโซเดียมไฮดรอกไซด์ และอุณหภูมิ ในการสกัดไคโตซานจากไคตินในเกล็ดปลานิล

ผลการทดลองดังกล่าว (ตารางที่ 4.5) เมื่อทำการวิเคราะห์ผลทางสถิติ นำค่าตอบสนองที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) (ตารางที่ 4.6) เพื่อนำหากระบวนการผลิตที่ดีที่สุด (Optimization) สำหรับกระบวนการสกัดไคโตซาน โดยวิธีการสร้างพื้นที่ตอบสนอง (Response surface methodology) ของค่าตอบสนองที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) (ตารางที่ 4.6) ได้แก่ระดับของการกำจัดหมู่อะซีทิล และปริมาณไคโตซาน สำหรับค่าที่ใช้กำหนดระดับในการหาสภาวะในการสกัดที่ดีที่สุดที่เป็นช่วงที่เหมาะสมในการผลิตไคโตซานคือจะใช้ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ (X_1) ร้อยละ 58 โดยน้ำหนัก และอุณหภูมิ (X_2) 120 องศาเซลเซียส เวลาสกัด 2 ชั่วโมงจึงทำให้ได้ระดับของการกำจัดหมู่อะซีทิลเท่ากับ ร้อยละ 99.81 และปริมาณไคโตซาน 18.01 กรัม ซึ่งระดับของการกำจัดหมู่อะซีทิลที่ได้จากการทดลองอยู่ในเกณฑ์อุตสาหกรรมอาหารที่ระบุไว้ว่าระดับของการกำจัดหมู่อะซีทิลต้องไม่น้อยกว่าร้อยละ 70 เมื่อทดสอบหาปริมาณโปรตีนที่เหลือ และปริมาณความชื้น พบว่า มีค่าเท่ากับร้อยละ 1.61 และร้อยละ 2.42 ตามลำดับ โดยที่ค่าปริมาณความชื้นที่ได้อยู่ในเกณฑ์ของมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมไคโตซาน ที่มีค่าน้อยกว่าร้อยละ 10 แต่ปริมาณโปรตีนที่เหลือมีมากกว่าเกณฑ์ของมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม

ไคโตซานที่ต้องมีค่าไม่เกินร้อยละ 1 (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม:มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมไคโตซาน, 2550)

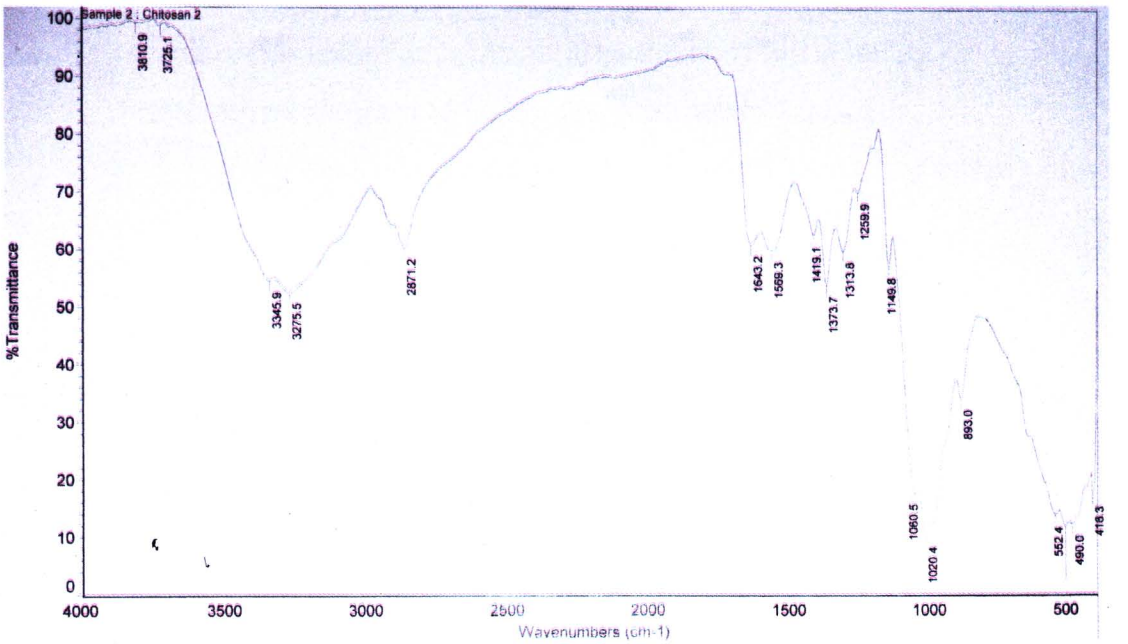
เมื่อเปรียบเทียบ ค่าร้อยละการกำจัดโปรตีน ค่าร้อยละการกำจัดแร่ธาตุ ระดับของการกำจัดหมู่อะซีทิล และปริมาณไคโตซาน ที่ผลิตได้จริงตามสูตรที่เหมาะสม และค่าที่ได้จากการทำนายโดยวิธีการหาพื้นที่ตอบสนอง พบว่า มีความแตกต่างกันเล็กน้อย โดยมีค่าความคลาดเคลื่อนอยู่ระหว่างร้อยละ 0.00-1.45 แสดงดังตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 ค่าร้อยละการกำจัดโปรตีน ค่าร้อยละการกำจัดแร่ธาตุ ระดับของการกำจัดหมู่อะซีทิล และปริมาณไคโต๊ซาน ที่ได้จากการทำนายและจากการผลิตจริงและร้อยละความคลาดเคลื่อน

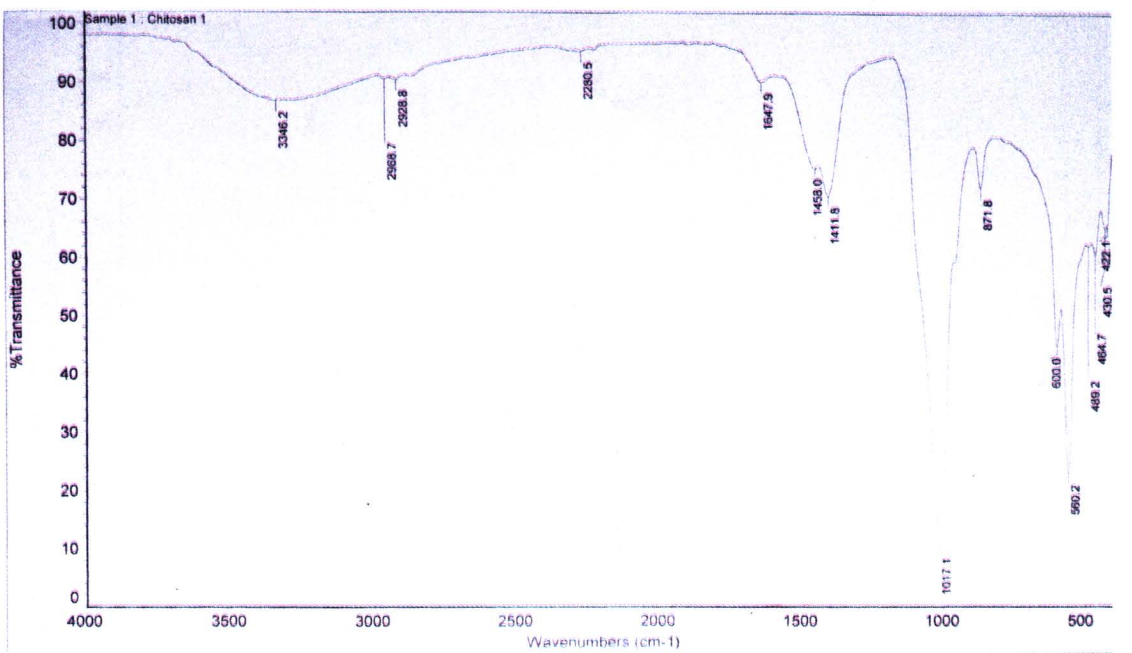
	ค่าที่ได้จากการทำนาย	ค่าที่ได้จากการทดสอบจริง	ความคลาดเคลื่อน* (%)
ค่าร้อยละการกำจัดโปรตีน	65.00	65.09	0.14
ค่าร้อยละการกำจัดแร่ธาตุ	20.00	20.29	1.45
ระดับของการกำจัดหมู่อะซีทิล(ร้อยละ)	99.75	99.81	0.06
ปริมาณไคโตซาน(กรัม)	18.01	18.01	0.00

* ค่าความคลาดเคลื่อน (%) = $\left|$(ค่าจากการทดสอบจริง - ค่าจากการทำนาย)/ค่าจากการทดสอบจริง$\right|$ x 100

ผลการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของไคโตซานด้วยเครื่อง FTIR ของไคโตซานที่ผลิตได้จากเกล็ดปลานิล เปรียบเทียบกับไคโตซานมาตรฐานจากบริษัท ต้าหมิง เอ็นเตอร์ไพรส์ จำกัด โดยมีผลการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของไคโตซาน ดังกราฟอินฟราเรดสเปกตรัม ดังภาพที่ 4.4 และภาพที่ 4.5 ซึ่งกราฟแสดงค่าการTransmittance ของไคโตซานมาตรฐาน และไคโตซานที่ผลิตได้ พบว่าไคโตซานที่ผลิตได้มีหมู่ฟังก์ชันใกล้เคียงกับไคโตซานมาตรฐาน โดยมีหมู่ฟังก์ชันที่สำคัญดังนี้ พีคของหมู่ C = O Stretching ของหมู่ Amide ที่ประมาณ 1642 - 1650 cm^{-1} พีกของหมู่ Amide anion , Aminestretching (NH_2) ที่ประมาณ 1568 – 1603 cm^{-1} พีคของหมู่ C – O ของ Alcohol stretching ที่ ประมาณ1149 - 1159 cm^{-1} พีคของหมู่ C-O-C ใน Memberedring stretching ที่ประมาณ 1017 - 1061 cm^{-1} พีคของหมู่ OH และ NH Stretching ที่ประมาณ 3345 – 3447 cm^{-1}เมื่อเปรียบเทียบกราฟอินฟราเรดสเปกตรัมดังภาพที่ 4.4 และภาพที่ 4.5 พบว่าลักษณะการ Stretching ของหมู่ฟังก์ชันต่าง ๆคล้ายคลึงกัน แสดงว่าสารที่ผลิตได้เป็นไคโตซาน



ภาพที่ 4.4 กราฟแสดงค่าการ Transmittance ของไคโตซานมาตรฐานจากบริษัท ต้าหมิง เอ็นเตอร์ไพรส์ จำกัด



ภาพที่ 4.5 กราฟแสดงค่าการ Transmittance ของไคโตซานที่ผลิตได้จากเกล็ดปลานิล

ตอนที่ 2 การศึกษาวิธีการผลิตฟิล์มไคโตซานและคุณสมบัติของฟิล์มไคโตซาน

วางแผนการทดลองแบบ Mixture design ผันแปรปัจจัย 3 ปัจจัยดังนี้

- สารละลายไคโตซานร้อยละ 1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ในกรดแลคติกร้อยละ 1
  ปริมาณที่ใช้ร้อยละ 40 ถึงร้อยละ 50 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก)
- กลีเซอรีน ปริมาณที่ใช้ร้อยละ 1 ถึงร้อยละ5 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก)
- สารป้องกันการเจริญของเชื้อจากธรรมชาติ ปริมาณที่ใช้ร้อยละ 0 ถึงร้อยละ 5 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก)

ส่วนผสมที่คงที่ได้แก่

- เจลาติน ปริมาณที่ใช้ร้อยละ 15 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก)
- น้ำกลั่น ปริมาณที่ใช้ร้อยละ 35 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก)

นำสารละลายไปให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียส เพื่อให้สารทั้งหมดละลายเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วจึงนำแต่ละสิ่งทดลองที่ได้ไปกรองด้วย Silk Screen Cloth เพื่อกรองเอาสิ่งแปลกปลอมที่หลงเหลือออก จึงนำสารละลายฟิล์มไคโตซานที่ได้ไปเทลงในเบ้าให้ฟิล์มมีความหนา 0.06 มิลลิเมตร อบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำเบ้าออกจากตู้อบแล้วลอกแผ่นฟิล์มไคโตซานออกมาจากเบ้า นำไปทดสอบคุณสมบัติซึ่งผลแสดงดังตารางที่ 4.8

ตารางที่ 4.8 ค่าคุณภาพของฟิล์มไคโตซานเมื่อผันแปรปัจจัยสารละลายไคโตซานร้อยละ 1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ในกรดแลคติกร้อยละ 1 ความเข้มข้นของกลีเซอรีน และความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้ในขั้นตอนการผลิตฟิล์มไคโตซาน

น้ำหนักสารละลายไคโตซาน (กรัม) : X_1*	น้ำหนักกลีเซอรีน (กรัม) : X_2	น้ำหนักน้ำมันตะไคร้ (กรัม) : X_3	การยืดตัว (ร้อยละ)	ความทนแรงดึง (เมกะปาสคาล)	อัตราการแพร่ผ่านของก๊าซออกซิเจน (ลูกบาศก์เซนติเมตร/ตารางเมตร/24 ชั่วโมง)	อัตราการซึมผ่านของไอน้ำ (กรัม/ตารางเมตร.24 ชั่วโมง)
44	1	5	1.33	23.89	6.1	19.57
42	3	5	18.55	24.46	8.77	13.51
49	1	0	1.56	56.68	3.23	26.22
42.5	5	2.5	53.22	4.89	7.39	11.00
40	5	5	70.33	8.19	11.11	8.70
45	5	0	52.89	7.62	6.53	11.91
46.5	1	2.5	1.22	54.56	3.62	21.92
47	3	0	13.78	17.23	6.37	17.51
44.5	3	2.5	24.78	32.15	5.54	13.98
45.75	3	1.25	20.11	17.66	5.72	15.41
49	1	0	45.22	37.87	3.53	27.56
45	5	0	50	7.01	6.74	12.52

หมายเหตุ * ไคโตซานร้อยละ 1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ในกรดแลคติกร้อยละ 1

จากการศึกษาผลของสารละลายไคโตซานร้อยละ 1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ในกรดแลคติกร้อยละ 1 ความเข้มข้นของกลีเซอรีน และความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้ในขั้นตอนการผลิตฟิล์มไคโตซาน พบว่า ฟิล์มที่ได้มีค่าของการยืดตัว และความทนแรงดึง ที่ได้อยู่ในช่วงร้อยละ 1.22-70.33 และ7.01-56.68 เมกะปาสคาล ตามลำดับ (ตารางที่ 4.8) โดยที่ของการยืดตัว และความทนแรงดึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P \leq 0.05$ (ตารางที่ 4.9) คือเมื่อเพิ่มปริมาณสารละลายไคโตซานร้อยละ 1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ในกรดแลคติกร้อยละ 1 ในช่วงที่ทำการศึกษาจะส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของค่าการยืดตัว และความทนแรงดึงของฟิล์มไคโตซาน แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกลีเซอรีนในช่วงที่ทำการศึกษามีผลต่อการเพิ่มขึ้นของค่าการยืดตัวของฟิล์มไคโตซาน แต่ทำให้ค่า

ความทนแรงดึงของฟิล์มไคโตซานลดลง ในส่วนของความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้ในช่วงที่ทำการศึกษา เมื่อเพิ่มความเข้มข้นจะมีผลทำให้ค่าของการยืดตัวของฟิล์มไคโตซานลดลง แต่มีผลทำให้ค่าความทนแรงดึงของฟิล์มไคโตซานเพิ่มขึ้น (ตารางที่ 4.9) งานวิจัยของ Zhong and Xia (2008) กล่าวว่ากลีเซอรีน เป็น Plasticizer ที่ทำให้ฟิล์มยืดหยุ่น ซึ่งจะไปลดพันธะระหว่างสายพอลิเมอร์ ส่งผลให้ค่าการยืดตัวของฟิล์มเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกลีเซอรีน และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Mali *et al.* (2006) ในการใช้ กลีเซอรีน เป็น Plasticizer ในฟิล์มแป้งด้วย และเมื่อค่าการยืดตัวของฟิล์มเพิ่มขึ้นจะส่งผลให้ค่าความทนแรงดึงของฟิล์มลดลง (Bangyekan *et al.*, 2006)

อัตราการแพร่ผ่านของก๊าซออกซิเจน และอัตราการซึมผ่านของไอน้ำจากการศึกษาผลของสารละลายไคโตซานร้อยละ 1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ในกรดแลคติกร้อยละ 1 ความเข้มข้นของกลีเซอรีน และความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้ในขั้นตอนการผลิตฟิล์มไคโตซาน พบว่า ฟิล์มที่ได้มีอัตราการแพร่ผ่านของก๊าซออกซิเจน และอัตราการซึมผ่านของไอน้ำอยู่ในช่วง 3.23-11.11 ลูกบาศก์เซนติเมตร/ตารางเมตร/24 ชั่วโมง และ8.70 – 27.56 กรัม/ตารางเมตร.24 ชั่วโมง ตามลำดับ (ตารางที่ 4.8) โดยที่อัตราการแพร่ผ่านของก๊าซออกซิเจน และอัตราการซึมผ่านของไอน้ำแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P \leq 0.05$ (ตารางที่ 4.9) คือสารละลายไคโตซานร้อยละ 1 (น้ำหนักต่อปริมาตร)ในกรดแลคติกร้อยละ 1 ในช่วงที่ทำการศึกษาเมื่อเพิ่มปริมาณจะมีผลต่ออัตราการแพร่ผ่านของก๊าซออกซิเจน และอัตราการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มไคโตซานเพิ่มขึ้น ในส่วนของความเข้มข้นของกลีเซอรีน และความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้ช่วงที่ทำการศึกษาเมื่อเพิ่มความเข้มข้นจะมีผลต่ออัตราการแพร่ผ่านของก๊าซออกซิเจนของฟิล์มไคโตซานเพิ่มขึ้น แต่มีผลทำให้อัตราการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มไคโตซานลดลง (ตารางที่ 4.9) ตามหลักการแล้วการเพิ่ม Plasticizer ในฟิล์มพอลิแซ็กคาไรด์ จะส่งผลให้อัตราการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มเพิ่มขึ้น (Kolodziejska and Piotrowska, 2007 ; Pereda *et al.*, 2007) Butler *et al.* (1996) รายงานไว้ว่าฟิล์มไคโตซานมีความสามารถป้องกันการแพร่ผ่านของก๊าซออกซิเจนได้ดี แต่จะมีผลในการป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำลดลงเมื่อเพิ่ม Plasticizer และสอดคล้องกับ Bangyekan *et al.* (2006) รายงานว่าอัตราการซึมผ่านของไอน้ำเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกลีเซอรีนในฟิล์มที่ทำจากแป้งมัน

สำปะหลัง

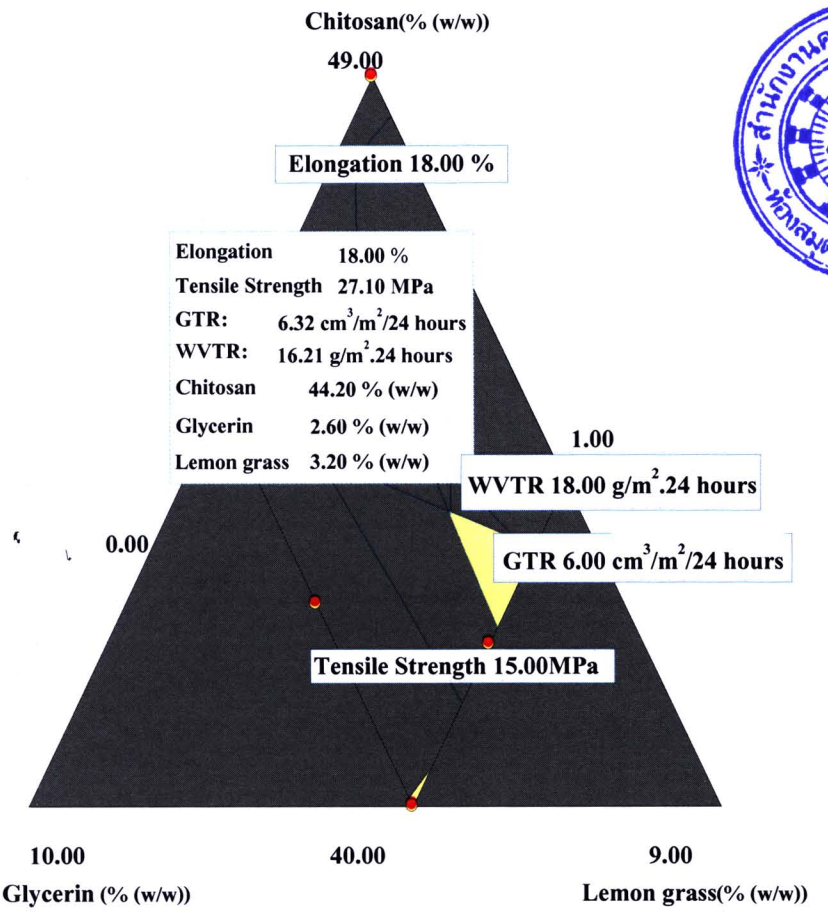
จากการวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อให้ได้สมการถดถอยที่เหมาะสม ซึ่งสมการดังกล่าวจะอธิบายความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระ (ความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานร้อยละ 1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ในกรดแลคติกร้อยละ 1 ความเข้มข้นของกลีเซอรีน และความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้) และตัวแปรตาม (คุณภาพด้านต่างๆ ของผลิตภัณฑ์แผ่นฟิล์มไคโตซาน) ทำการเลือกตัวแปรอิสระเข้ามาในโครงสร้างของสมการ แล้วคัดเลือกเฉพาะตัวแปรอิสระที่มีผลต่อตัวแปรตาม

อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเท่านั้น ซึ่งตัวแปรอิสระที่ไม่มีผลต่อตัวแปรตามจะถูกตัดออกไป เพื่อให้ได้สมการที่มีนัยสำคัญทางสถิติ ที่สามารถอธิบายความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระและตัวแปรตามได้อย่างถูกต้อง และมีค่า R^2 (Coefficient of determination) สูง ซึ่งเป็นค่าที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระและตัวแปรตามที่ศึกษา ทั้งนี้ เพื่อให้ผลลัพธ์ที่น่าเชื่อถือมากที่สุด และจากการวิเคราะห์หาสมการถดถอย พบว่า ความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานร้อยละ 1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ในกรดแลคติกร้อยละ 1 ความเข้มข้นของกลีเซอรีน และความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้ที่ใช้มีความสัมพันธ์กับบางคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์ ดังนี้

ตารางที่ 4.9 ความสัมพันธ์ของสมการถดถอยกับค่าคุณภาพของฟิล์มไคโตซาน

	สมการถดถอย	R^2	ระดับนัยสำคัญ (p)
การยืดตัว (ร้อยละ)	$=+0.53\ (X_1) + 116.00\ (X_2) - 7.24\ (X_3) - 2.48\ (X_1)(X_2)$	0.8003	0.0036
ความทนแรงดึง (เมกะปาสคาล)	$=+1.07\ (X_1) - 8.01\ (X_2) + 0.15\ (X_3)$	0.7618	0.0016
อัตราการแพร่ผ่านของก๊าซออกซิเจน (ลูกบาศก์เซนติเมตร/ตารางเมตร/24 ชั่วโมง)	$=+0.04\ (X_1) + 1.00\ (X_2) + 0.68\ (X_3)$	0.8724	<0.0001
อัตราการซึมผ่านของไอน้ำ (กรัม/ตารางเมตร.24 ชั่วโมง)	$=+0.57\ (X_1) - 2.63\ (X_2) - 0.47\ (X_3)$	0.9450	<0.0001

หมายเหตุ X_1 คือ ความเข้มข้นสารละลายไคโตซานร้อยละ 1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ในกรดแลคติกร้อยละ 1 มีหน่วยเป็นร้อยละ
X_2 คือ ความเข้มข้นของกลีเซอรีน มีหน่วยเป็นร้อยละ
X_3 คือ ความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้ มีหน่วยเป็นร้อยละ



สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

ภาพที่ 4.6 กราฟการซ้อนทับของส่วนผสมในการผลิตผลิตภัณฑ์แผ่นฟิล์มไคโตซาน จากการศึกษาทั้ง 12 สิ่งทดลองที่ได้จากการวางแผนแบบ Mixture design

จากการศึกษาทั้ง 12 สิ่งทดลองที่ได้จากการวางแผนแบบ Mixture design เมื่อนำสมการถดถอยของตัวแปรค่าของการยืดตัว ความทนแรงดึง อัตราการแพร่ผ่านของก๊าซออกซิเจน และอัตราการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มไคโตซาน ซึ่งนำไปสร้างกราฟพื้นที่ตอบสนองของส่วนผสม (Mixture Response Surface) ที่ผันแปรความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานร้อยละ 1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ในกรดแลคติกร้อยละ 1 ความเข้มข้นของกลีเซอรีน และความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้ (ภาพที่ 4.6) ทำนายสูตรที่เหมาะสม พบว่า ความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานร้อยละ 1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ในกรดแลคติกร้อยละ 1 ความเข้มข้นของกลีเซอรีน และความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้ในปริมาณร้อยละ 44.20, 2.60 และ 3.20 ตามลำดับ ดังภาพที่ 4.6 แสดงช่วงที่เหมาะสม (บริเวณพื้นที่สีเหลือง) ของส่วนผสมที่ใช้ในการทำฟิล์มไคโตซาน

ฟิล์มไคโตซานที่ได้มีค่าของการยืดตัว ความทนแรงดึง อัตราการแพร่ของก๊าซออกซิเจน และอัตราการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มไคโตซานที่ได้เท่ากับร้อยละ 17.12, 27.03 เมกะปาสคาล, 6.53 ลูกบาศก์เซนติเมตร/ตารางเมตร/24 ชั่วโมง และ 16.21 กรัม/ตารางเมตร.24 ชั่วโมง ตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบค่าคุณสมบัติของแผ่นฟิล์มไคโตซานที่ผลิตได้จริงตามสูตรที่เหมาะสม และค่าที่ได้จากการทำนายโดยวิธีการหาพื้นที่ตอบสนอง พบว่า มีความแตกต่างกันเล็กน้อย โดยมีค่าความคลาดเคลื่อนอยู่ระหว่างร้อยละ 0.00-4.89 แสดงดังตารางที่ 4.10

ตารางที่ 4.10 ผลการเปรียบเทียบค่าคุณสมบัติของแผ่นฟิล์มไคโตซานที่ได้จากการทำนายและจากการผลิตจริงและร้อยละความคลาดเคลื่อน

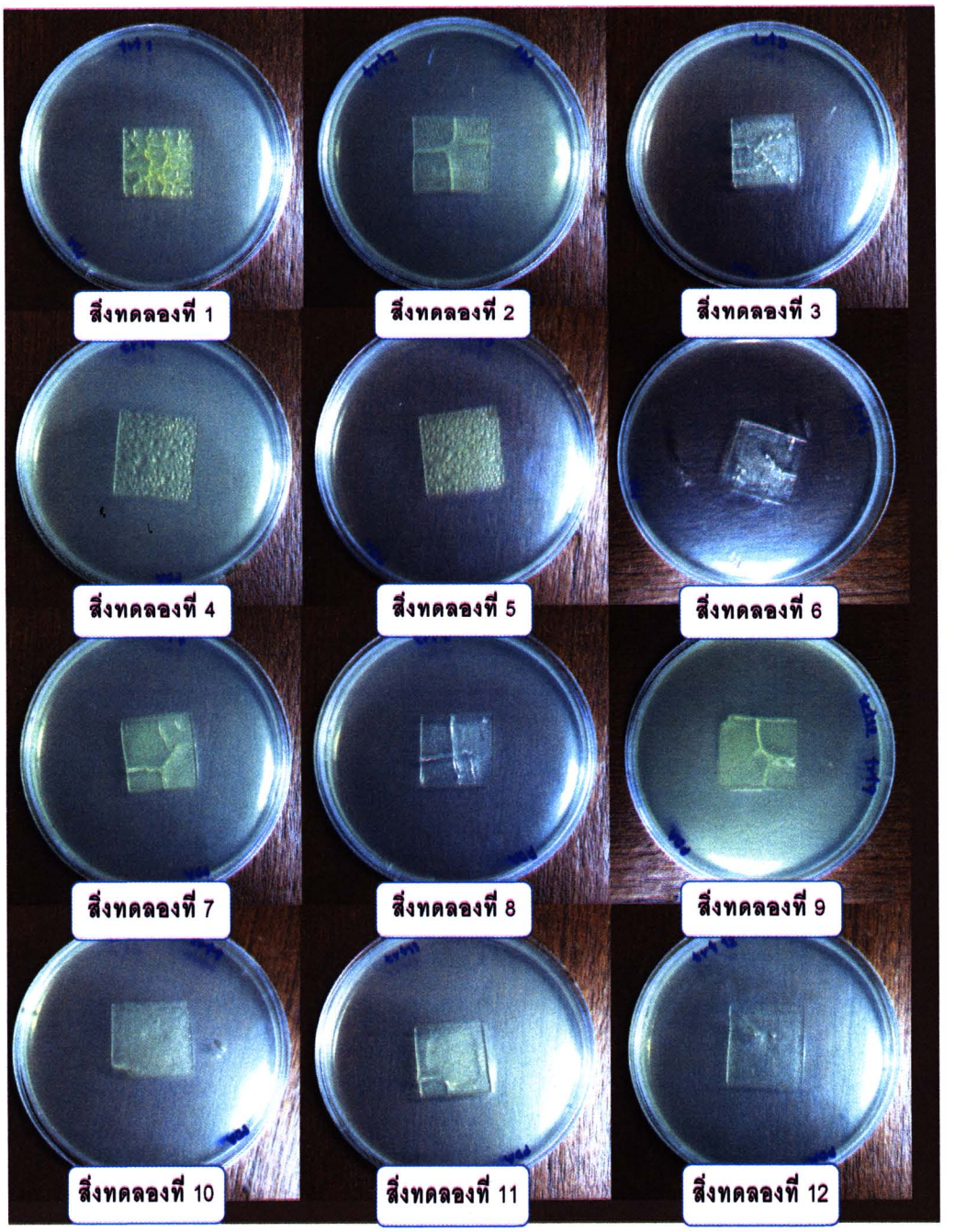
ค่าคุณสมบัติของแผ่นฟิล์มไคโตซาน	ค่าที่ได้จากการทำนาย	ค่าที่ได้จากการทดสอบจริง	ความคลาดเคลื่อน* (%)
การยืดตัว (ร้อยละ)	18	17.12	4.89
ความทนแรงดึง (เมกะปาสคาล)	27.01	27.03	0.07
อัตราการแพร่ผ่านของก๊าซออกซิเจน (ลูกบาศก์เซนติเมตร/ตารางเมตร/24 ชั่วโมง)	6.32	6.53	3.32
อัตราการซึมผ่านของไอน้ำ(กรัม/ตารางเมตร.24 ชั่วโมง)	16.21	16.21	0

* ค่าความคลาดเคลื่อน (%) = |(ค่าจากการทดสอบจริง - ค่าจากการทำนาย)/ค่าจากการทดสอบจริง| x 100

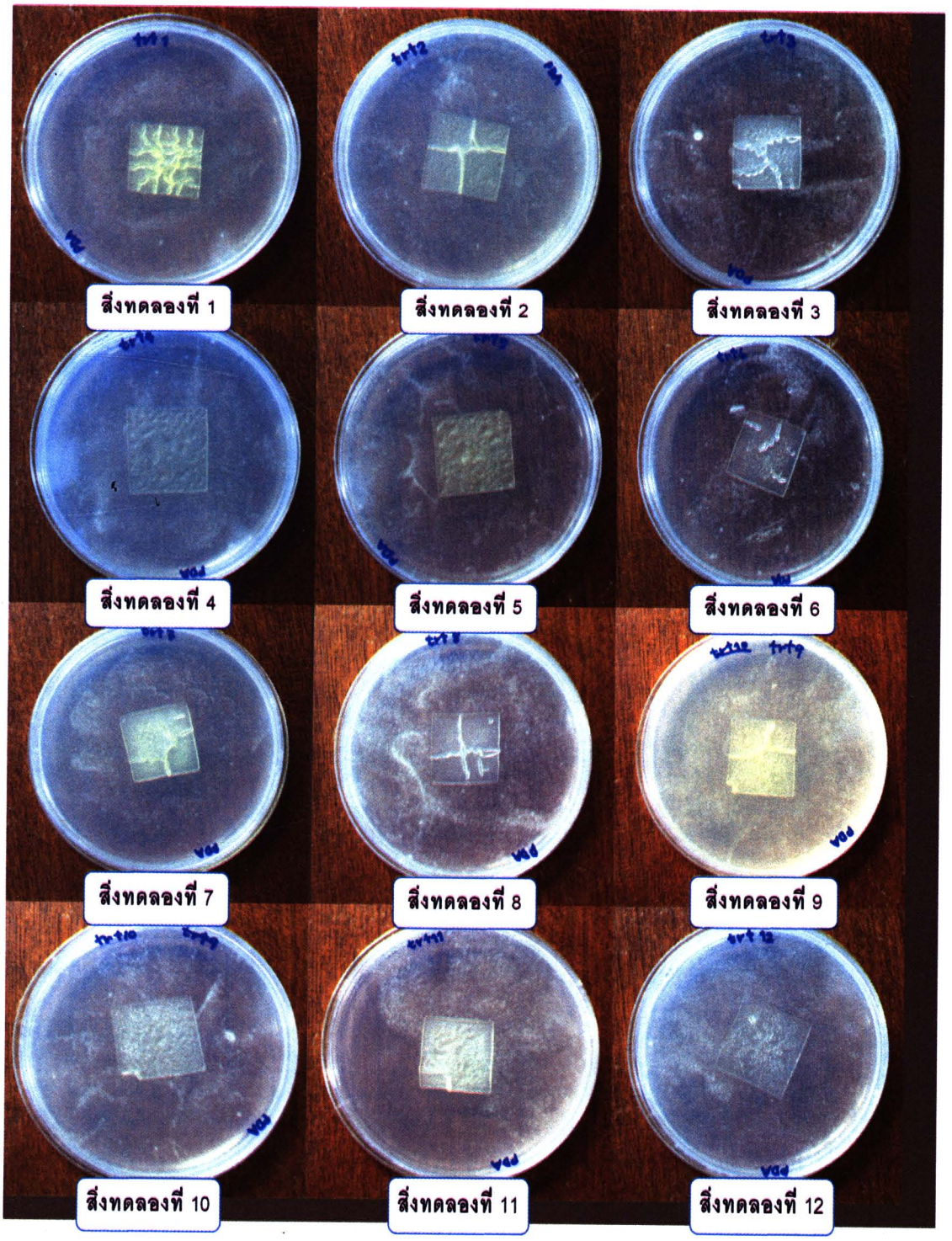
นอกจากนี้ การศึกษาผลของสารละลายไคโตซานร้อยละ 1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ในกรดแลคติกร้อยละ 1 ความเข้มข้นของกลีเซอรีน และความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้ในขั้นตอนการผลิตฟิล์มไคโตซานต่อค่าการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Penicillium* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA) พบว่า ฟิล์มทั้ง 12 สิ่งทดลองไม่พบการเจริญของเชื้อ *Penicillium* ในวันที่ 1 (ภาพที่ 4.7) และมีเชื้อเริ่มขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อทุกสิ่งทดลองในวันที่ 2 (ภาพที่ 4.8) ในวันที่ 3 สิ่งทดลองที่ 1, 2, 5, 7, และ9 พบเชื้อเจริญมาถึงขอบของแผ่นฟิล์ม สิ่งทดลองที่ 4, 10, 11 และ12 มีเชื้อขึ้นบนแผ่นฟิล์มประมาณร้อยละ 25 ของแผ่นฟิล์ม แต่ในสิ่งทดลองที่ 6 พบเชื้อเจริญบนแผ่นฟิล์มประมาณร้อยละ 50 ของแผ่นฟิล์ม ส่วนสิ่งทดลองที่ 3 และ8 พบเชื้อเจริญบนแผ่นฟิล์มมากกว่าร้อยละ 50 ของแผ่นฟิล์ม (ภาพที่ 4.9) ในวันที่ 4 สิ่งทดลองที่ 2 และ12 พบเชื้อเจริญบน

แผ่นฟิล์มเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 50 ของแผ่นฟิล์ม สิ่งทดลองที่ 4, 6, 10 และ11 มีการเจริญของเชื้อบนแผ่นฟิล์มเพิ่มขึ้นเป็นมากกว่าร้อยละ 50 ของแผ่นฟิล์ม สิ่งทดลองที่ 9 มีเชื้อขึ้นบนแผ่นฟิล์มเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 25 ของแผ่นฟิล์ม แต่ในสิ่งทดลองที่ 1, 5 และ7 พบเชื้อเจริญถึงแค่ขอบของแผ่นฟิล์ม (ภาพที่ 4.10) ในวันที่ 5 สิ่งทดลองที่ 1 และ7 พบเชื้อเจริญอยู่แค่ขอบของแผ่นฟิล์ม ส่วนสิ่งทดลองที่ 5 และ9 มีเชื้อขึ้นบนแผ่นฟิล์มเป็นร้อยละ 25 ของแผ่นฟิล์ม (ภาพที่ 4.11)

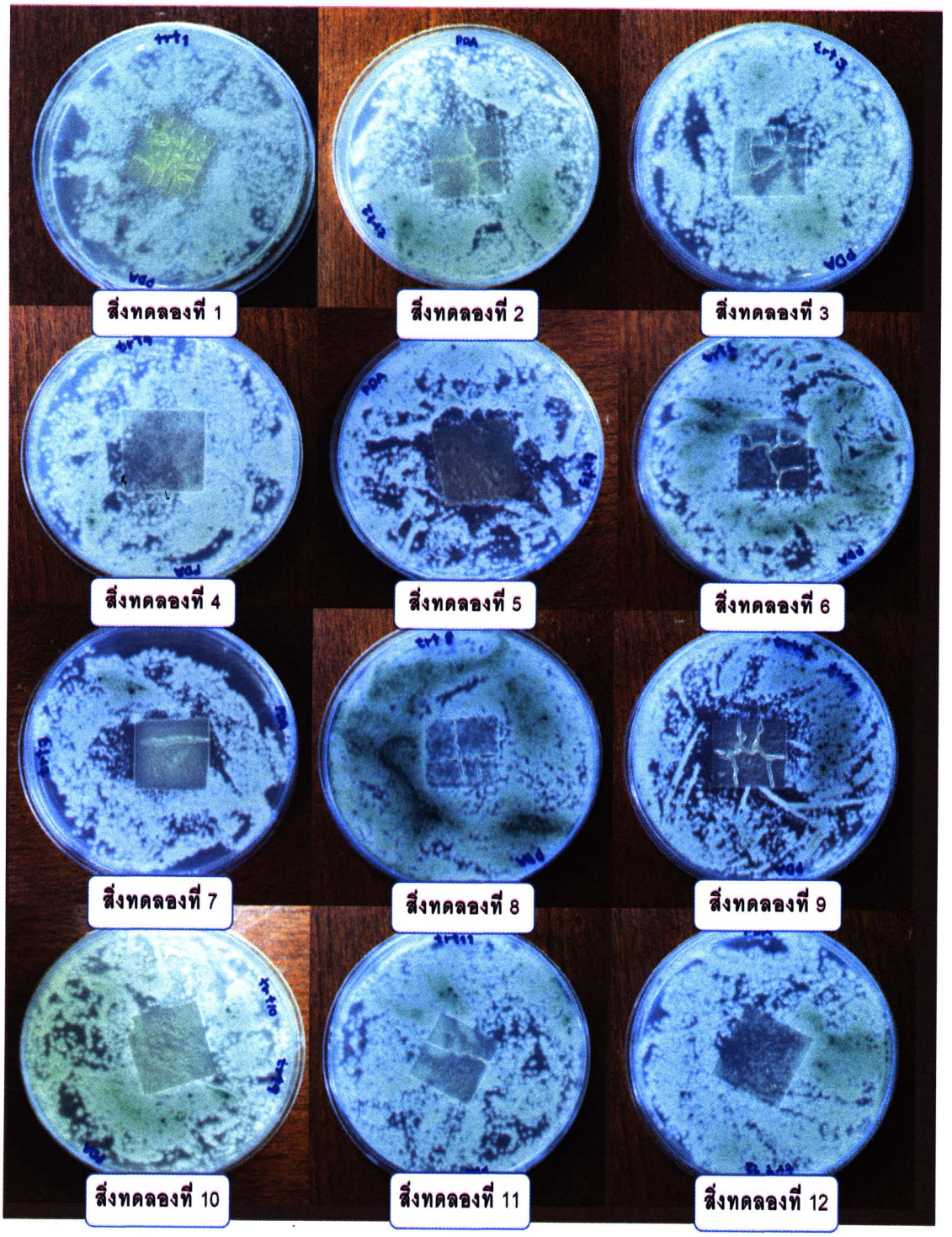
จากผลการทดลองพบว่า สารละลายไคโตซานร้อยละ 1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ในกรดแลคติกร้อยละ 1 และความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้ มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Penicillium* แต่สิ่งทดลองที่มีแต่สารละลายไคโตซานร้อยละ 1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ในกรดแลคติกร้อยละ 1 อย่างเดียวจะสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Penicillium* บนแผ่นฟิล์มไม่ให้เพิ่มขึ้นเป็นมากกว่าร้อยละ 50 ได้แค่วันที่ 4 สอดคล้องกับงานวิจัยของ Adegoke and Odesola (1996) ที่ใช้น้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ยับยั้งการเจริญเติบโตของราในกลุ่ม *Aspergillus flavus, A. fumigatus, Microphomina phaseoli* และ *Penicillium chrysogenum* ได้



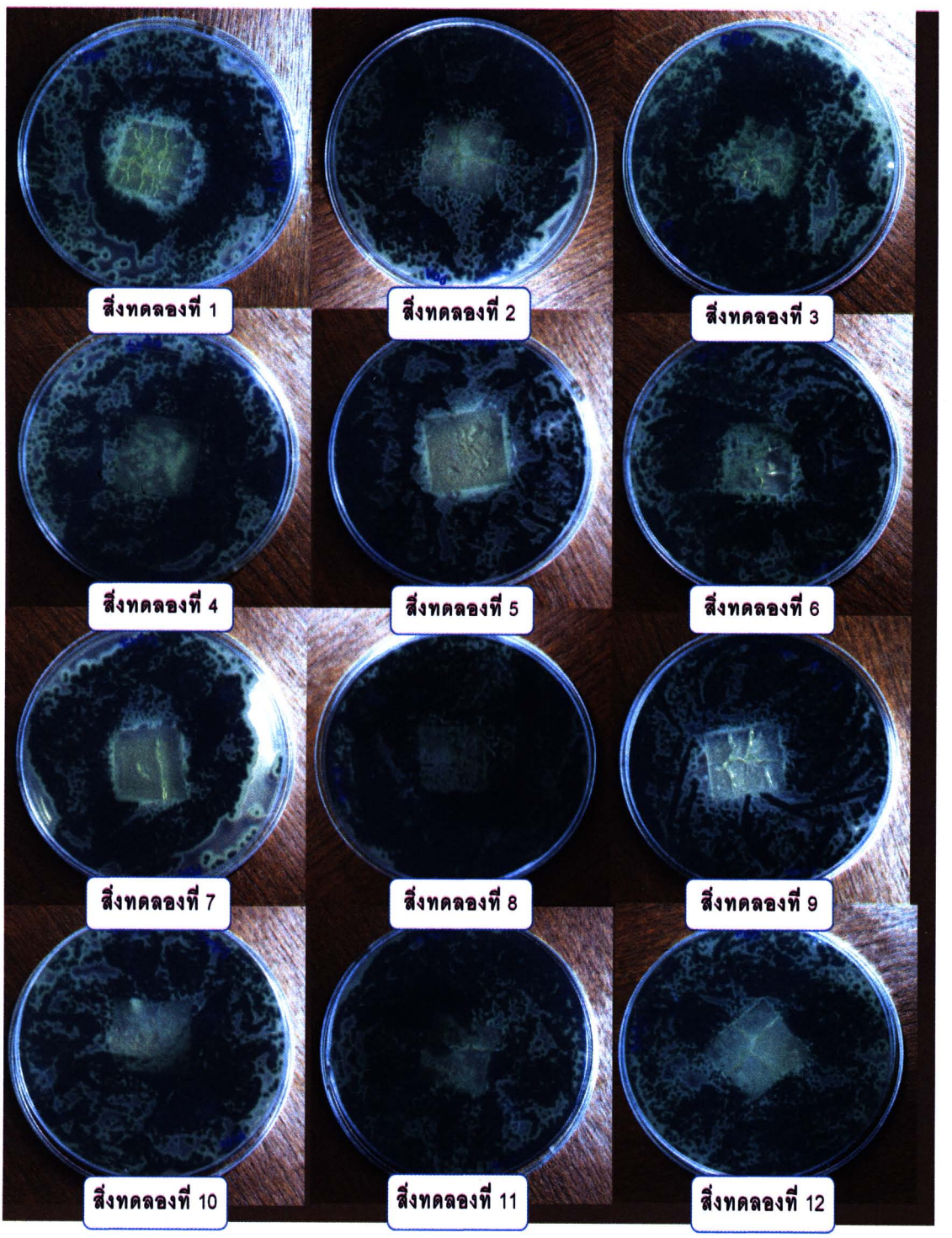
ภาพที่ 4.7 ผลของฟิล์มไคโตซานทั้ง 12 สูตรต่อค่าการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Penicillium* จากการผันแปรปริมาณความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานร้อยละ 1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ในกรดแลคติกร้อยละ 1 ความเข้มข้นของกลีเซอรีน และความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้ วันที่ 1



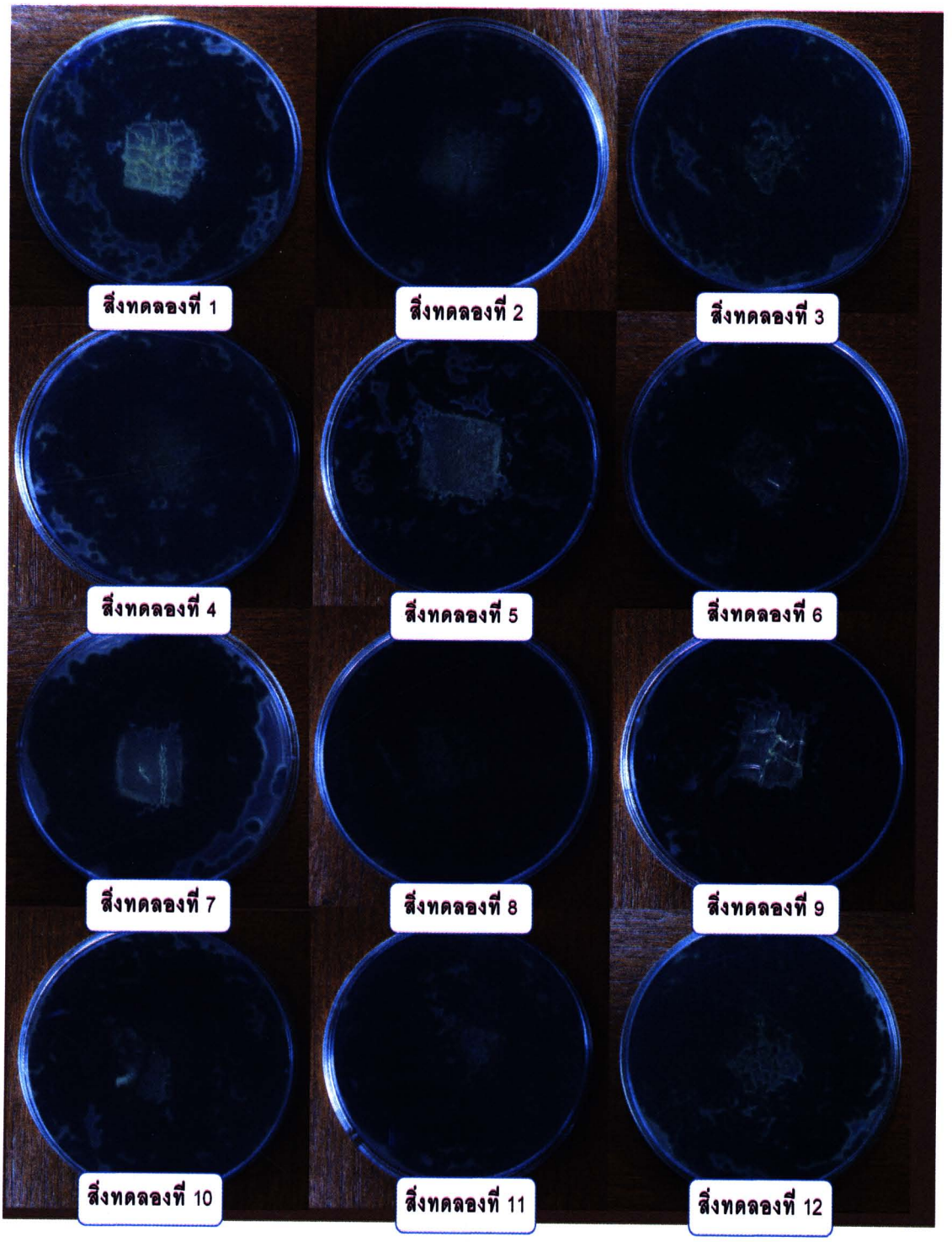
ภาพที่ 4.8 ผลของฟิล์มไคโตซานทั้ง 12 สูตรต่อค่าการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Penicillium* จากการผันแปรปริมาณความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานร้อยละ 1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ในกรดแลคติกร้อยละ 1 ความเข้มข้นของกลีเซอรีน และความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้ วันที่ 2



ภาพที่ 4.9 ผลของฟิล์มไคโตซานทั้ง 12 สูตรต่อค่าการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Penicillium* จากการผันแปรปริมาณความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานร้อยละ 1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ในกรดแลคติกร้อยละ 1 ความเข้มข้นของกลีเซอรีน และความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้ วันที่ 3



ภาพที่ 4.10 ผลของฟิล์มไคโตซานทั้ง 12 สูตรต่อค่าการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Penicillium* จากการผันแปรปริมาณความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานร้อยละ 1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ในกรดแลคติกร้อยละ 1 ความเข้มข้นของกลีเซอรีน และความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้ วันที่ 4



ภาพที่ 4.11 ผลของฟิล์มไคโตซานทั้ง 12 สูตรต่อค่าการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Penicillium* จากการผันแปรปริมาณความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานร้อยละ 1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ในกรดแลคติกร้อยละ 1 ความเข้มข้นของกลีเซอรีน และความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้ วันที่ 5

ตอนที่ 3 การศึกษาผลของฟิล์มไคโตซานที่มีต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อยีสต์และราในผลิตภัณฑ์กาละแม

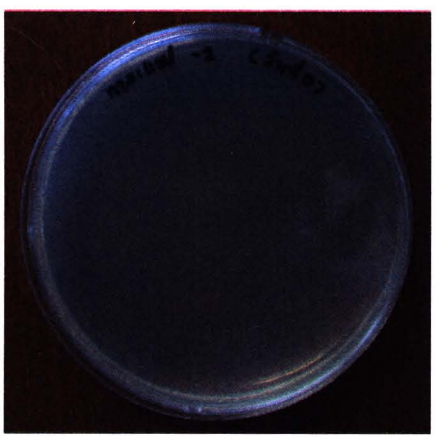
เตรียมกาละแม ขนาด กว้าง 2 เซนติเมตร ยาว 5 เซนติเมตร หนา 1 เซนติเมตร นำมาห่อด้วยฟิล์มไคโตซาน เปรียบเทียบกับกาละแมที่ไม่ได้ห่อด้วยฟิล์มไคโตซานเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วันทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเชื้อยีสต์ และราทุก 3 วัน ผลการศึกษาแสดงดังตารางที่ 4.11

ตารางที่ 4.11 ผลของการศึกษาผลของฟิล์มไคโตซานที่มีต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อยีสต์และราในผลิตภัณฑ์กาละแม

วันที่	จำนวนเชื้อยีสต์และราในกาละแมที่ไม่ได้ห่อฟิล์มไคโตซาน (โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม)	จำนวนเชื้อยีสต์และราในกาละแมที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตซาน (โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม)
0	0	0
3	300	0
6	1600	0
9	2000	0
12	3300	500
15	มากกว่า 5000	1200

จากการศึกษาผลของการประยุกต์ใช้ฟิล์มไคโตซานกับผลิตภัณฑ์กาละแม โดยนำกาละแมที่ทำการศึกษามาห่อด้วยฟิล์มไคโตซาน เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ทำการชักตัวอย่างมาทดสอบจำนวนเชื้อยีสต์ และราในกาละแมในอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA) เปรียบเทียบกับตัวอย่างของกาละแมที่ไม่ได้ห่อด้วยฟิล์มไคโตซาน พบว่า ในตัวอย่างของกาละแมที่ไม่ได้ห่อด้วยฟิล์มไคโตซานมีจำนวนเชื้อยีสต์ และรา 300 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัมในวันที่ 3 และตัวอย่างของกาละแมที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตซานมีจำนวนเชื้อยีสต์ และรา 500 โคโลนี ต่อตัวอย่าง 1 กรัมในวันที่ 12 (ตารางที่ 4.11)

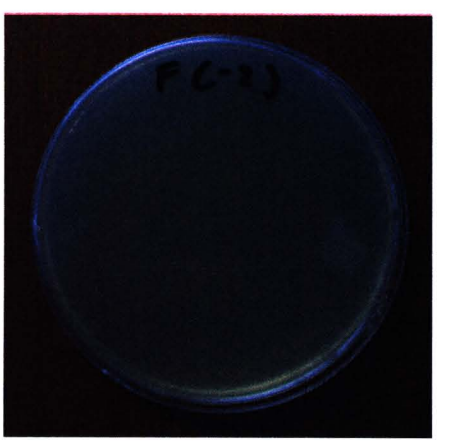
ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนกาละแมระบุไว้ว่าเชื้อราต้องพบไม่เกิน 100 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม (มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนกาละแม, 2548) ซึ่งในตัวอย่างของกาละแมที่ห่อและไม่ได้ห่อด้วยฟิล์มไคโตซานมีจำนวนเชื้อยีสต์ และราเกินมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนกาละแม ในวันที่ 12 และ3 ตามลำดับ ทำให้เห็นว่าการห่อกาละแมด้วยฟิล์มไคโตซานสามารถยืดอายุการเก็บกาละแมได้เพิ่มขึ้น 9 วันเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างของกาละแมที่ไม่ได้ห่อด้วยฟิล์มไคโตซาน



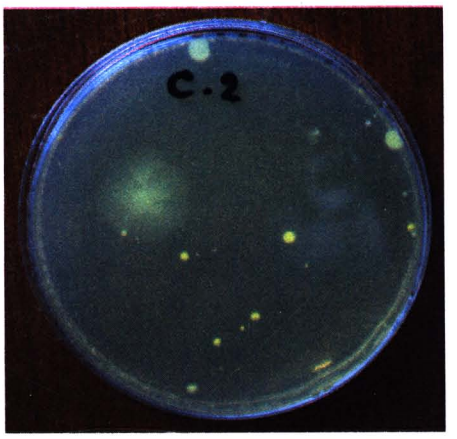
สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

ภาพที่ 4.12 เชื้อยีสต์และราในกาละแม วันที่ 0

ภาพที่ 4.13 เชื้อยีสต์และราในกาละแมที่ไม่ได้ห่อฟิล์มไคโตซานวันที่ 3

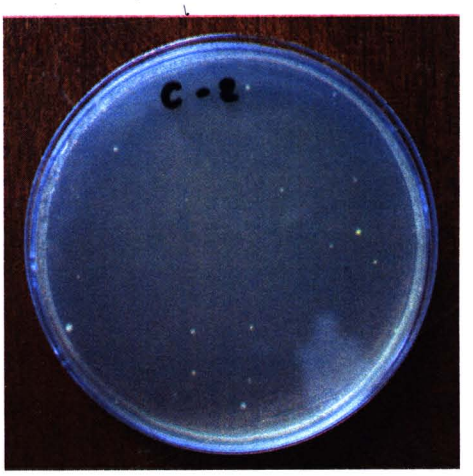


ภาพที่ 4.14 เชื้อยีสต์และราในกาละแมที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตซานวันที่ 3

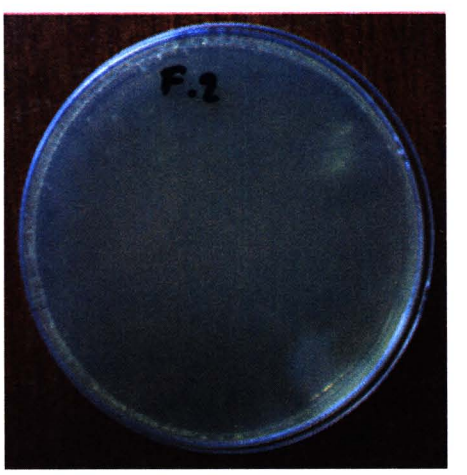


ภาพที่ 4.15 เชื้อยีสต์และราในกาละแมที่ไม่ได้ห่อฟิล์มไคโตซานวันที่ 6

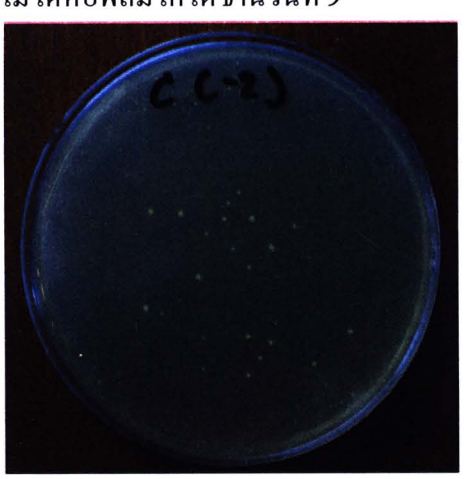
ภาพที่ 4.16 เชื้อยีสต์และราในกาละแมที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตซานวันที่ 6



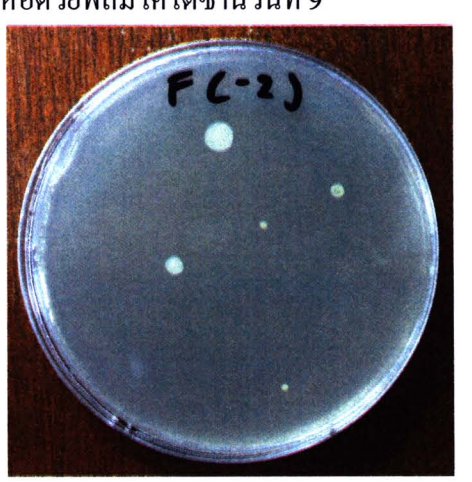
ภาพที่ 4.17 เชื้อยีสต์และราในกาละแมที่ไม่ได้ห่อฟิล์มไคโตซานวันที่ 9



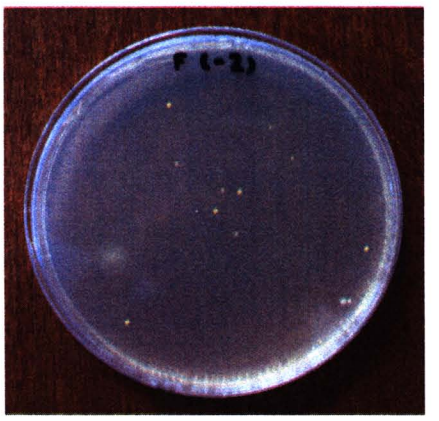
ภาพที่ 4.18 เชื้อยีสต์และราในกาละแมที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตซานวันที่ 9



ภาพที่ 4.19 เชื้อยีสต์และราในกาละแมที่ไม่ได้ห่อฟิล์มไคโตซานวันที่ 12



ภาพที่ 4.20 เชื้อยีสต์และราในกาละแมที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตซานวันที่ 12



ภาพที่ 4.21 เชื้อยีสต์และราในกาละแมที่ไม่ได้ห่อฟิล์มไคโตซานวันที่ 15

ต้นทุนที่เกิดจากวัตถุดิบ สารเคมี อุปกรณ์ และเครื่องมือในการผลิตไคโตซานที่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานที่ใช้ในกลุ่มผลิตอาหารจากเกล็ดปลานิลต่อเกล็ดปลานิล 100 กรัมต่อกระบวนการผลิต 1 ครั้ง แสดงไว้ดังตารางที่ 4.12

ตารางที่ 4.12 ต้นทุนจากการสกัดไคโตซานที่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานที่ใช้ในกลุ่มผลิตอาหารจากเกล็ดปลานิลต่อเกล็ดปลานิล 100 กรัม

รายการ	ต้นทุนต่อหน่วย/ชั่วโมง (บาท)	ระยะเวลา/ปริมาณที่ใช้ (นาที/กรัม/มิลลิลิตร)	ต้นทุนต่อกระบวนการผลิต (บาท)
วัตถุดิบ			
- เกล็ดปลา 100 กรัม	-	-	0
สารเคมีทั้งหมด			
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ 1000 กรัม	266	94.80	25.21
- กรดไฮโดรคลอริก	350	15.52	2.17
อุปกรณ์/เครื่องมือ			
- Hot Plate Stirrer (ค่าไฟฟ้า)	4.32	420	30.24
- ตู้อบลมร้อน (ค่าไฟฟ้า)	22.14	1860	686.34
ค่าดำเนินการ	25	180	75
รวมต้นทุนต่อกระบวนการผลิต 1 ครั้ง			**818.96**

หมายเหตุ โซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 หน่วย เท่ากับ 1000 กรัม

กรดไฮโดรคลอริก1 หน่วย เท่ากับ 2500 มิลลิลิตร

จากเกล็ดปลานิล 100 กรัม สามารถผลิตไคโตซานที่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานที่ใช้ในกลุ่มผลิตอาหารได้ประมาณ 18 กรัม ซึ่งจะใช้ต้นทุนรวมทั้งหมด 818.96 บาท เปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์ไคโตซานเกณฑ์มาตรฐานที่ใช้ในกลุ่มผลิตอาหารที่วางจำหน่ายตามท้องตลาด พบว่าผลิตภัณฑ์ไคโตซานจากเกล็ดปลานิลที่ได้มีราคาแพงกว่าผลิตภัณฑ์ไคโตซานที่วางจำหน่ายตามท้องตลาด เนื่องจากในการทดลองพัฒนาผลิตภัณฑ์ไคโตซานจากเกล็ดปลานิลเป็นการผลิตในระดับการทดลอง ซึ่งมีการผลิตต่อครั้งทำในปริมาณที่ไม่มากทำให้ต้นทุนจากสารเคมี อุปกรณ์ และเครื่องมือต่างๆมีราคาเฉลี่ยต่อหน่วยค่อนข้างสูง เนื่องจากเป็นการคิดค่าใช้จ่ายต่อระยะเวลาที่ใช้ไม่ได้คิดต่อปริมาณการผลิต หากต้องการลดต้นทุนในส่วนนี้จะต้องทำการผลิตต่อครั้งให้มากขึ้นจะทำให้ต้นทุนส่วนนี้ลดลงเมื่อนำมาเฉลี่ยต่อหน่วยผลิตภัณฑ์ อีกทั้งผลิตภัณฑ์ไคโตซานจากเกล็ดปลานิลที่ได้ทำการพัฒนาขึ้นมีค่าการกำจัดหมู่อะซีทิลได้ถึงร้อยละ 99.81 โดยข้อกำหนดของค่าการกำจัดหมู่อะซีทิลของไคโตซานที่จะสามารถใช้สำหรับอุตสาหกรรมอาหารต้องมากกว่าร้อยละ 70 (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม:มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมไคโตซาน, 2550) หากต้องการลดราคาต้นทุนการผลิตควรผลิตผลิตภัณฑ์ไคโตซานจากเกล็ดปลานิลให้มีค่าการกำจัดหมู่อะซีทิลให้ตรงตามข้อกำหนด แต่ทั้งนี้ผู้ผลิตควรคำนึงถึงคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์ไคโตซานจากเกล็ดปลานิลที่ได้ อาจมีการทดลองศึกษาต่อเพื่อทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ไคโตซานจากเกล็ดปลานิลที่มีความเหมาะสม และมีต้นทุนในการผลิตต่ำที่สุด