รายงานผลวิจัยเรื่องเต็ม

การศึกษาเทคโนโลยีการผลิตไคโตซานอย่างง่ายและประหยัด

Studies on Simple and Economical Chitosan Production Technology

พรรณีกา อัตตนนท์ มัทนา ศรีหัตถกรรม อมรา หาญจวณิช
ภัสชญภณ หมื่นแจ้ง วรรณรัตน์ ชุติบุตร ปรียาภรณ์ บุญขจาย
ธนิตา ค่ำอำนวย พีระวรรณ พัฒนวิภาส อัมพิกา ปุนนจิต
สัจจะ ประสงค์ทรัพย์ ทิพย์ดรุณี สิทธินาม ปรางค์ทอง กวานห้อง
อุทัยวรรณ ทรัพย์แก้ว กรรณิการ์ เพ็งคุ้ม วรรษมน มงคล
ศิวกร เกียรติมณีรัตน์ อำนาจ เอี่ยมวิจารณ์ จิตรา เกาะแก้ว
มนต์ชัย มนัสสิลา กัลยกร โปร่งจันทึก

สนับสนุนโดย
เงินรายได้จากการดำเนินงานวิจัยด้านการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

กรกฎาคม ๒๕๕๘

การศึกษาเทคโนโลยีการผลิตไคโตซานอย่างง่ายและประหยัด
Studies on Simple and Economical Chitosan Production Technology

คณะผู้ดำเนินงาน

พรรณีกา อัตตนนท์[1/] มัทนา ศรีหัตถกรรม[2/] อมรา หาญจวณิช[1/] ภัสชญภณ หมื่นแจ้ง[1/]
วรรณรัตน์ ชุติบุตร[1/] ปรียาภรณ์ บุญขจาย[1/] ธนิตา ค่ำอำนวย[1/] พีระวรรณ พัฒนวิภาส[3/]
อัมพิกา ปุนนจิต[4/] สัจจะ ประสงค์ทรัพย์[4/] ทิพย์ดรุณี สิทธินาม[5/] ปรางค์ทอง กวานห้อง[6/]
อุทัยวรรณ ทรัพย์แก้ว[4/] กรรณิการ์ เพ็งคุ้ม[6/] วรรษมน มงคล[7/] ศิวกร เกียรติมณีรัตน์[1/]
อำนาจ เอี่ยมวิจารณ์[1/] จิตรา เกาะแก้[1/] มนต์ชัย มนัสสิลา[1/] กัลยกร โปร่งจันทึก[1/]

บทคัดย่อ

โครงการศึกษาหาเทคโนโลยีการผลิตไคโตซานอย่างง่ายและประหยัดนี้ จัดทำขึ้นตามนโยบายของกรมวิชาการเกษตรเพื่อหาวิธีตรวจสอบคุณสมบัติของไคโตซานและหาเทคโนโลยีการผลิตอย่างง่ายและประหยัด เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ไคโตซานที่มีคุณสมบัติต่างๆ กันหลายชนิด สามารถนำไปทดสอบหาแผนการใช้ให้เหมาะกับพืชแต่ละชนิด พร้อมกับศึกษาประสิทธิภาพของไคโตซานที่มีต่อการเพิ่มผลผลิต การควบคุมโรคและแมลง การยืดอายุการเก็บรักษา ในพืชเศรษฐกิจของประเทศไทย ดำเนินงานวิจัยโดยจัดทำเป็นกิจกรรม 5 กิจกรรม และสร้างเครือข่ายนักวิชาการของกรมวิชาการเกษตรที่มีความชำนาญด้านต่างๆ เข้ามาร่วมโครงการ ในระยะแรกของการดำเนินงาน ทำการศึกษาวิธีวิเคราะห์ตรวจสอบคุณสมบัติของไคโตซานที่ถูกต้องแม่นยำ และได้พบวิธีวิเคราะห์มวลโมเลกุล (Mw) และระดับดีอะซิทิลเลชัน (%DD) ที่ถูกต้อง รวดเร็ว เป็นที่ยอมรับ และได้เทคนิคการตกตะกอนไคโตซานจากสารละลายไคโตซานโดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) สามารถใช้ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ไคโตซานในท้องตลาดที่สงสัยว่าเป็นไคโตซานจริงหรือไม่ ทั้งนี้ต้องมีการตรวจสอบคุณสมบัติเบื้องต้นด้านอื่นๆ ประกอบด้วยผลการศึกษาเทคโนโลยีการผลิตไคโตซานอย่างง่ายและประหยัด โดยใช้รังสีแกมมา วิธีทางเคมี และโดยใช้เอ็นไซม์ สามารถเตรียมผลิตภัณฑ์ได้ 5 ผลิตภัณฑ์ ที่มีโมเลกุลต่างๆ ตั้งแต่ 3,000-100,000 ดาลตัน เมื่อนำผลิตภัณฑ์ทั้ง 5 ชนิดไปทดสอบประสิทธิภาพด้านต่างๆ พบว่าไคโตซานเพิ่มประสิทธิภาพในการป้องกันการเกิดโรคเน่าดำของกล้วยไม้ที่มีสาเหตุจากเชื้อ *Phytophthora palmivora* แต่ไม่สามารถ

(สังกัด) [1/] กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
[2/] สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
[3/] สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[4/] สถาบันวิจัยพืชสวน
[5/] ศูนย์วิจัยพัฒนาการเกษตรกาญจนบุรี
[6/] กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร
[7/] ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท

ยับยั้งการลุกลามของโรคที่เกิดขึ้นแล้ว ผลิตภัณฑ์ไคโตซานทุกชนิดไม่มีผลในการกำจัดแมลงด้วงงวง ข้าวโพด ด้วงถั่วเขียว ด้วงถั่วเหลืองโดยวิธีคลุกเมล็ด ไคโตซานสามารถช่วยลดการใช้ปุ๋ยเคมีลงอย่างน้อย 25 เปอร์เซ็นต์ ในข้าวปทุมธานี 1 การลดปุ๋ยลงและใช้ไคโตซานด้วยจะทำให้ประสิทธิภาพการใช้ปุ๋ยไนโตรเจน โพแทสเซียม และแคลเซียม สูงขึ้นกว่าการใช้ปุ๋ยเคมีเต็มอัตรา 100 เปอร์เซ็นต์ การทดลองในกระถางสำหรับ ข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริกซ์3 แสดงให้เห็นว่าไคโตซานไม่ใช่ปุ๋ย ถ้าไม่มีปุ๋ย ฉีดไคโตซานอย่างเดียวจะไม่เห็นความแตกต่างกับไม่ได้ฉีดไคโตซาน และการฉีดไคโตซานในแปลงที่ไม่ใช้ปุ๋ยเลยจะมีผลดีกว่าไม่ฉีด เนื่องจากในแปลงทดลองจะมีผลตกค้างของปุ๋ยอยู่มากพอ เมื่อฉีดไคโตซานไคโตซานจะเพิ่มประสิทธิภาพการดูดใช้ปุ๋ยในดินทำให้ได้ผลที่ดีกว่าไม่ฉีด ในพริกหยวกไคโตซานสามารถช่วยลดการใช้ปุ๋ยลงได้อย่างน้อย 25 เปอร์เซ็นต์ การใช้ไคโตซานกับมะเขือเทศพันธุ์ท้อไม่ทำให้ผลผลิตมีความแตกต่างทางสถิติ ถั่วเหลืองฝักสดและถั่วลิสงที่คลุกเมล็ดก่อนปลูกด้วยปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมแล้ว ไคโตซานไม่ช่วยทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้น การใช้ไคโตซานในการผลิตกล้วยไม้หวายพันธุ์เอียสกุลช่วยเพิ่มจำนวนช่อดอกทั้งหมดและจำนวนช่อดอกเกรดส่งออก แต่ไม่ช่วยลดปัญหาดอกฝ่อ และไม่สามารถยืดอายุการปักแจกันของกล้วยไม้ได้ การใช้ไคโตซานร่วมกับสูตรอาหารที่เพิ่มสารเร่งการเจริญเติบโตจะช่วยให้การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหน่อไม้ฝรั่งได้รากจำนวนมากและสมบูรณ์มากขึ้นเหมาะกับการย้ายปลูก

ไคโตซานช่วยเพิ่มผลผลิตและสารสำคัญ (active ingredient) อย่างมีนัยสำคัญในสมุนไพรฟ้าทะลายโจรไม่มีผลในการช่วยยืดอายุการเก็บรักษาสับปะรดพันธุ์ภูแล มังคุดชมพู่พันธุ์ทองสามสีหน่อไม้ฝรั่ง มะม่วงมหาชนกและลำไย แต่มีแนวโน้มช่วยลดการสูญเสียน้ำหนักและชะลอการเปลี่ยนสีในสับปะรดพันธุ์ภูแลมังคุดและชมพู่พันธุ์ทองสามสี การทดสอบผลของไคโตซานที่มีต่อคุณภาพการเก็บรักษาผักผลไม้ไม่ได้ผลอาจเนื่องมาจากความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ไคโตซานที่เตรียมขึ้นค่อนข้างต่ำแค่ 1 เปอร์เซ็นต์ (10,000 มิลลิกรัมต่อลิตร) เท่านั้น คณะผู้วิจัยเสนอแนะว่า ควรพัฒนาผลิตภัณฑ์ให้มีความเข้มข้นสูงขึ้น เพื่อการทดสอบกับการเคลือบเมล็ดป้องกันแมลง และการยืดอายุการเก็บรักษาผักผลไม้ การเพิ่มความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ให้สูงขึ้นจะทำให้การขนย้ายไคโตซานไปใช้ในแปลงทดลองสะดวกขึ้นด้วย และการนำไคโตซานไปใช้ต้องคำนึงถึงความคุ้มทุนด้วยว่ามูลค่าของผลผลิตที่เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับค่าแรงงานและค่าไคโตซานที่เพิ่มขึ้นจะคุ้มกันหรือไม่

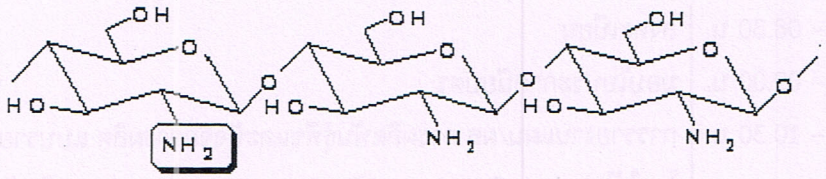
คำนำ

ปัจจุบันมีการใช้สารเคมีอย่างมากในการเกษตร ผลที่ตามมาคือการเกิดสารตกค้างในผลผลิตและมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อม นำไปสู่ปัญหาในการส่งออก สารตกค้างเป็นปัญหาอย่างยิ่งในการกีดกันทางการค้าระดับโลก เกษตรกรจึงหันมาหาทางเลือกใหม่ โดยใช้สารธรรมชาติที่มีการย่อยสลายไปตามห่วงโซ่อาหารในการเพาะปลูกพืช ไคโตซานเป็นทางเลือกหนึ่งของการใช้เกษตรธรรมชาติ มีการนำเอาไคโตซานมาใช้ในการเกษตรอย่างแพร่หลาย ผลที่ออกมามีทั้งดีและไม่ดีตามที่โฆษณา มีการร้องเรียนจากเกษตรกรจำนวนมากเกี่ยวกับการใช้ที่ไม่ได้ผลตามที่โฆษณา การใช้ที่ไม่ได้ผลตามที่โฆษณาน่าจะเป็นผลจากความต้องการใช้ไคโตซานของพืชแต่ละชนิดไม่เหมือนกัน ควรมีการศึกษาวิจัยว่าพืชแต่ละชนิดต้องการไคโตซานอย่างไร เช่น ความยาวของสายไคโตซาน การกำจัดหมู่อะเซ็ดทิล ความเข้มข้น ความถี่และระยะเวลาในการใส่ ฯลฯ

กรมวิชาการเกษตรจึงจัดตั้งโครงการวิจัยนี้ขึ้น เพื่อหาเทคโนโลยีการผลิตไคโตซานอย่างง่ายและประหยัดเพื่อให้ได้ไคโตซานที่มีคุณสมบัติต่างๆ กัน ศึกษาวิธีตรวจสอบคุณสมบัติของไคโตซานเพื่อใช้ตรวจสอบคุณสมบัติของไคซานที่ผลิตขึ้นและสามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลประกอบการตรวจสอบการปนปลอมของผลิตภัณฑ์ไคโตซานที่ถูกร้องเรียน นำผลิตภัณฑ์ไคโตซานที่ผลิตได้ไปทดสอบหาแผนการใช้ที่เหมาะกับพืชแต่ละชนิด พร้อมกับศึกษาประสิทธิภาพของไคโตซานที่มีต่อการเพิ่มผลผลิต การควบคุมโรคและแมลง การยืดอายุการเก็บรักษา ในพืชเศรษฐกิจของประเทศไทย

การตรวจเอกสาร

ไคโตซาน คือ อนุพันธ์ของไคตินที่ตัดเอาหมู่ acetyl ของน้ำตาล N-acetyl-D- glucosamine (เรียกว่า deacetylation คือ เปลี่ยนน้ำตาล N-acetyl-D-glucosamine เป็น glucosamine ออกตั้งแต่ 50 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไป และมีสมบัติละลายได้ในกรดอ่อน



โครงสร้างทางเคมีของไคโตซาน

ในธรรมชาติไม่พบว่ามีองค์ประกอบของไคตินหรือไคโตซานทั้ง 100 เปอร์เซ็นต์ ลักษณะทางเคมีที่โดดเด่นของไคโตซานคือสามารถละลายได้ในกรดอินทรีย์หรือกรดอ่อน ในขณะที่ไคตินไม่ละลายในกรดอ่อน แต่ละลายในกรดและเกลือที่เข้มข้นมาก อย่างไรก็ตามทั้งไคตินและไคโตซานไม่ละลายน้ำ เพราะเป็นพอลิเมอร์ยาว นอกจากตัดขนาดของพอลิเมอร์ให้สั้นลงเหลือเพียงหน่วยย่อยพื้นฐาน เพียง 2-3 หน่วยย่อย จึงสามารถละลายน้ำได้ ไคติน/ ไคโตซาน เป็นพอลิเมอร์ที่มีโมเลกุลยาวประมาณ 7 แสน – 1 ล้านดาลตันโดยไคโตซานโมเลกุลใหญ่ เมื่อละลายในสารละลายจะมีความหนืดมากกว่าไคโตซานโมเลกุลเล็ก จึงไม่เหมาะสมที่จะนำไปใช้ประโยชน์ (Chung *et al.*, 2006; Shin *et al.*, 2001;

Izume and Ohtakara, 1987) ส่วนไคโตซานโมเลกุลเล็กละลายในสารละลายที่เป็นกลางดีกว่าไคโตซานโมเลกุลใหญ่ จึงถูกนำไปใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวางโดยทั่วไปการผลิตไคโตซานโมเลกุลขนาดต่างๆ สามารถกระทำได้โดยวิธีทางเคมี การฉายรังสี และโดยใช้เอ็นไซม์ในกลุ่มไคติเนสและไคโตซานเนส(Shin *et al.*, 2001; Izume and Ohtakara, 1987; Shadia *et al.*, 2008; Zamani and Taherzadeh, 2010; Qin *et al.*, 2002)

ในการผลิตไคโตซานเป็นการค้านั้น ผู้ผลิตส่วนใหญ่ผลิตจากเปลือกกุ้ง เปลือกปู และกระดองปลาหมึกโดยนำเปลือกกุ้ง/ เปลือกปู/ กระดองปลาหมึก มาบดคัดขนาด ต้มกับด่าง 4-8 เปอร์เซ็นต์ เพื่อแยกโปรตีนออกล้างน้ำให้หมดด่าง ต้มกับกรด 4-8 เปอร์เซ็นต์เพื่อแยกเกลือแร่ออก ล้างน้ำแล้วทำแห้งจะได้ไคตินทำการลดหมู่อะซีติล โดยใช้ด่างเข้มข้น 40-50 เปอร์เซ็นต์ภายใต้อุณหภูมิสูง ล้างน้ำทำให้แห้งจะได้ไคโตซาน

ปกติแล้วไคโตซานที่ได้จะมีส่วนผสมของ น้ำตาล N-acetyl-D-glucosamine และ glucosamine อยู่ในสายโพลิเมอร์เดียวกัน ซึ่งระดับการกำจัดหมู่ acetyl (หรือเปอร์เซ็นต์การเกิด deacetylation) นี้ มีผลต่อสมบัติและการทำงานของไคโตซาน นอกจากนี้ น้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานบอกถึงความยาวของสายไคโตซาน ซึ่งมีผลต่อความหนืด เช่น ไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง จะมีสายยาวและสารละลายมีความหนืดมากกว่าไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ เป็นต้น ดังนั้นการนำไคโตซานไปใช้ประโยชน์จะต้องพิจารณาทั้งเปอร์เซ็นต์การเกิด deacetylation และน้ำหนักโมเลกุล

ในธรรมชาติ ไคติน/ ไคโตซาน เป็นองค์ประกอบในโครงสร้างภายนอกของสัตว์ที่มีปล้องมีข้อ (crustacean) เช่น แมลง กุ้ง ปู ปลาหมึก หอย ฯลฯ และเป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์ของเห็ดรา และจุลินทรีย์ ความเกี่ยวข้องของ ไคติน/ ไคโตซาน กับสิ่งมีชีวิตได้มีผลจากการศึกษามากมายพบว่า ไคติน/ ไคโตซาน มีประสิทธิภาพในการทำงานในสิ่งมีชีวิต โดยมีผลในยีนของสิ่งมีชีวิตทั้งพืชและสัตว์ อาทิเช่น เป็นตัวกระตุ้นการสร้างไลโซไซม์ (lysozyme) ในสัตว์และคน และมีผลในการกระตุ้นการสร้างเอ็นไซม์ ไคติเนส (Chitinase) ไคโตซานเนส (Chitosanase) และเบต้ากลูแคนเนส (β - glucanase) ในพืช ซึ่งเป็นตัวส่งผลต่อการสร้างไฟโตอะเลกซิน (phytoalexine) ซึ่งมีบทบาทต่อการเกิด lignificatrion ฉะนั้นเมื่อใช้ไคโตซานฉีดพ่นบนใบพืช จะมีการกระตุ้นให้มีปริมาณของเอ็นไซม์ดังกล่าวเพิ่มสูงขึ้น ผลที่ตามมาพบว่าพืชมีใบหนาและเป็นมันเงา มีสีเขียวสดขึ้น จากการเกิดกระบวนการ lignification เพิ่มขึ้นได้อย่างเด่นชัด (Hadwiger *et al.*, 1986; Hiroko and Hidyero, 2000)

Kume and Yoshin (2002) ได้สรุปผลของการใช้รังสีตัดพอลิเมอร์ในสารธรรมชาติ ได้แก่ คาราจีแนน ไคติน/ ไคโตซาน ในประเทศญี่ปุ่น พบว่าการใช้รังสีช่วยทำให้มีการหมุนเวียนการใช้ Biosources และช่วยลดมลภาวะทางสิ่งแวดล้อมดีกว่าวิธีอื่น มีการศึกษาพบว่า Chitosan ที่ตัดพอลิเมอร์ด้วยรังสีแกมมาสามารถลดประสิทธิภาพและยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่เป็นโรคได้ Chitosan ที่ตัดพอลิเมอร์โดยรังสียังแสดงผลในการเร่งการเจริญเติบโตในพืชด้วย มีการทดลองใส่ Chitosan ที่ผ่านการฉายรังสีกับ *Limonium latifolium, Eustoma grandiflorum* และ *Chrysanthemum morifolium* ใน tissue culture พบว่าความยาวต้น ความยาวราก และน้ำหนักสดของพืชเหล่านี้สูงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้ใส่

Chyagrit (2002) ทำการทดลองใส่ไคโตซานที่ผ่านการฉายรังสีที่ 75 และ 100 kGy ในอาหารเลี้ยง Protocorm – like body ของ Dendrobium พบว่าที่ความเข้มข้น 50-75 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้การเจริญเติบโตของรากและน้ำหนักดีกว่าในกลุ่มที่ไม่ใส่ไคโตซานเลย

Hiroko Chiber and Hidejirs Shibayama (2000) ทำการทดลองโดยผสม Chitosan ที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 100,000 (ผลิตภัณฑ์ของ Kyushre Chitosan Co., Ltd.) ปริมาณ 0.1 เปอร์เซ็นต์ และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ในดิน แล้วทำการปลูกถั่วเหลือง ข้าวไร่ มะเขือเทศ ผักกาดหอม หัวผักกาด หลังงอก 14-25 วัน ทำการเก็บเกี่ยว พบว่าทุกพืชมีการเจริญเติบโตดีขึ้นทั้งความสูงต้น ความกว้างใบ น้ำหนักแห้งทั้งหมดดีกว่าในกลุ่มที่ไม่ได้ใส่ Chitosan

- สารโอลิโกแซ็กคาไรด์สามารถนำมาใช้เป็นสารป้องกันกำจัดแมลงได้ โดยสารโอลิโกแซ็กคาไรด์ที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถฆ่าหนอนกระทู้ตายมากถึง 80 เปอร์เซ็นต์ และที่ 15 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้หนอนตายถึง 26.67 เปอร์เซ็นต์ (นิรนาม, 2553)

- การใช้ไคโตซานได้ผลดีในการต่อต้านและลดการแพร่กระจายของเชื้อรา แบคทีเรีย และไวรัส ช่วยกระตุ้นการทำงานของเซลล์พืช ให้เพิ่มศักยภาพในการต้านทานต่อเชื้อโรคเพราะช่วยกระตุ้นกลไกระบบภูมิต้านทานของพืช ทำให้พืชเพิ่มการขับเอ็นไซม์ที่ทำให้พืชสร้างภูมิต้านทาน และมีบทบาทในการเป็นสาร chelate ช่วยยึดจับแร่ธาตุอาหารทำให้แร่ธาตุอาหารเพิ่มความเป็นประโยชน์กับพืช (Hadrami *et al.*, 2010) และเป็นแหล่งคาร์บอนของจุลินทรีย์ดิน ช่วยเร่งกระบวนการแปรสภาพอินทรียวัตถุเป็นอนินทรีย์สารซึ่งเป็นรูปที่พืชใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ จึงพบว่าเมื่อมีการใช้ไคโตซานช่วยทำให้ประชากรของจุลินทรีย์เพิ่มขึ้น (Boonlertnirun *et al.*, 2008)

- Yaemrakchat and Thammasiri (2009) ได้นำไคโตซานมาใช้ในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เพื่อชักนำให้เกิดยอดหรือเพิ่มจำนวนยอด

- ไคโตซานชนิดที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำมีการนำมาใช้ในการวิจัยด้านวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการยืดอายุการเก็บรักษา รักษาความสด ชะลอความผิดปกติจากความเย็น และการเน่าเสียของผักหลายชนิด สามารถใช้ได้ทั้งความเข้มข้นสูง 1-2 เปอร์เซ็นต์ และความเข้มข้นต่ำกว่า 100 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยที่ประสิทธิภาพของไคโตซานในการรักษาคุณภาพของผลิตผลสดจะขึ้นกับชนิดและความเข้มข้นของไคโตซาน รวมทั้งชนิดของผลิตผลสดด้วย (Devlieghere *et al.*, 2004; Badawy and Rabea, 2009)

พีรวรรณและคณะ (2546-2548) ศึกษาการใช้สารไคโตซานในการควบคุมโรคราน้ำค้างข้าวโพด พบว่าข้าวโพดทดสอบพันธุ์การค้าที่คลุกสาร ApronXL350ES และพ่นสารไคโตซาน จำนวน 4 ครั้ง สามารถป้องกันการเกิดโรคได้ไม่แตกต่างทางสถิติกับข้าวโพดทดสอบพันธุ์การค้า ที่คลุกสาร ApronXL350ES อย่างเดียว โดยข้าวโพดทดสอบพันธุ์การค้าที่คลุกสาร ApronXL350ES อย่างเดียว มีเปอร์เซ็นต์ต้นเป็นโรค 1.2 เปอร์เซ็นต์ และข้าวโพดทดสอบพันธุ์การค้าที่คลุกสาร ApronXL350ES และพ่นสารไคโตซานจำนวน 4 ครั้ง ไม่มีต้นเป็นโรค

วิธีดำเนินการ

1. หัวหน้าโครงการจัดทำโครงการเรื่องศึกษาหาเทคโนโลยีการผลิตไคโตซานอย่างง่ายและประหยัดเพื่อขอรับทุนสนับสนุนการวิจัยจากเงินรายได้การดำเนินงานวิจัยด้านการเกษตรงานวิจัยด้านการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

2. โครงการนี้จัดทำเป็น 5 กิจกรรม
   - 2.1 กิจกรรมที่ 1 การตรวจสอบคุณสมบัติของไคโตซาน
   - 2.2 กิจกรรมที่ 2 ศึกษาหาเทคโนโลยีการผลิตไคโตซานอย่างง่ายและประหยัด
   - 2.3 กิจกรรมที่ 3 ตรวจสอบประสิทธิภาพของไคโตซานที่มีต่อการป้องกันโรคและแมลง
   - 2.4 กิจกรรมที่ 4 ศึกษาแผนการใช้ไคโตซานที่ผลิตขึ้นสำหรับพืชเศรษฐกิจแต่ละชนิด
   - 2.5 กิจกรรมที่ 5 ผลของไคโตซานที่มีต่อการควบคุมคุณภาพการเก็บรักษาพืชเศรษฐกิจ

3. ในระยะแรกของการดำเนินงาน ต้องทำกิจกรรมที่ 1 และ 2 จนได้ผลิตภัณฑ์ไคโตซานก่อน จึงจะนำผลิตภัณฑ์ไคโตซานที่ได้ไปทดสอบในกิจกรรมที่ 3-5

4. การดำเนินงานของกิจกรรมที่ 1 และ 2 เริ่มจากส่งนักวิชาการที่ร่วมโครงการเข้ารับการฝึกอบรม ดังนี้
   - 4.1 อบรมเชิงปฏิบัติการเรื่อง ไคโตซาน : จากความรู้พื้นฐานสู่แนวทางการประยุกต์
   - 4.2 ฝึกอบรมที่คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และดูงานที่โรงงานผลิตไคโตซาน

5. สร้างเครือข่ายนักวิชาการด้านพืชสาขาต่าง ๆ เพื่อมาร่วมทดสอบผลิตภัณฑ์ไคโตซานที่ผลิตขึ้นในกิจกรรมที่ 3-5 ซึ่งมีทั้งนักวิชาการด้านโรคพืชและแมลง ปัจจัยการผลิต พืชสวน พืชไร่ และวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว

6. เชิญนักวิชาการที่เข้าร่วมโครงการทั้งหมดเข้าฟังการบรรยายพิเศษเรื่อง ผลของไคโตซานที่มีต่อพืช จัดโดยคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

7. นักวิชาการทุกท่านจัดทำ ว1ก ของการทดลองส่งมาที่หัวหน้าโครงการทั้งหมด 22 การทดลอง รายละเอียดการทดลองทั้งหมดอยู่ใน ตารางที่ 1

8. จัดประชุมนักวิชาการที่ร่วมโครงการทั้งหมดเพื่อเสนอผลสำเร็จของโครงการในกิจกรรมที่ 1-2 และแนวทางการดำเนินการทดสอบที่จะทำต่อไป โดยมีอธิบดีกรมวิชาการเกษตร (นายดำรง จิระสุทัศน์) เป็นประธานพร้อมทั้งแจกผลิตภัณฑ์ให้นักวิชาการนำกลับไปทดสอบ

9. ที่ปรึกษากรมวิชาการเกษตรที่ดูแลโครงการวิจัยและที่ปรึกษาโครงการวิจัย พร้อมกับหัวหน้าโครงการวิจัย เดินทางไปติดตามงานทดลอง ณ สถานที่ทำการทดลองทั้งหมด 2 ครั้ง

10. เมื่อการทดลองในกิจกรรมที่ 3-5 สิ้นสุดลง ในปี 2556 หัวหน้าการทดลองส่งรายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็ม หัวหน้าโครงการรวบรวมผลงานวิจัย และนำเสนอในการประชุมติดตามผลงานของโครงการวิจัยที่ได้รับทุนสนับสนุนจากเงินรายได้การดำเนินงานวิจัยด้านการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

11. มีการทดลอง 12 การทดลองที่ขอทำการทดลองซ้ำและปรับกรรมวิธีเพื่อให้ผลการทดลองที่ดีขึ้น ในปี 2557

12. ทุกการทดลองหัวหน้าการทดลองรับผิดชอบดำเนินการทดลองและเขียนรายงานการทดลองเรื่องเต็ม

13. เมื่อโครงการสิ้นสุดลง หัวหน้าโครงการสรุปงานทดลองทั้งหมดโดยนำเฉพาะผลที่สำคัญของแต่ละการทดลองมาเขียนรายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็มของโครงการ

14. งบประมาณของโครงการ

งบประมาณที่ได้รับ 3,930,600 บาท

แหล่งทุน : เงินรายได้จากการดำเนินงานวิจัยด้านการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

15. รายละเอียดวิธีดำเนินการของการทดลองในแต่ละกิจกรรม (ตารางที่ 1) ดังนี้

ตารางที่ 1 ชื่อการทดลอง หัวหน้าการทดลองและหน่วยงาน

กิจกรรมที่	การทดลอง	หัวหน้าการทดลอง	หน่วยงาน
1	**การตรวจสอบคุณสมบัติของไคโตซาน**		
	1.1 ศึกษาวิธีการตรวจสอบคุณสมบัติของไคโตซาน	ปรียาภรณ์ บุญขจาย	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
2	**ศึกษาหาเทคโนโลยีการผลิตไคโตซานอย่างง่ายและประหยัด**		
	2.1 ศึกษาหาเทคโนโลยีการผลิตไคโตซานอย่างง่ายและประหยัดโดยรังสีแกมมา	ปรียาภรณ์ บุญขจาย	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
	2.2 ศึกษาหาเทคโนโลยีการผลิตไคโตซานอย่างง่ายและประหยัดโดยสารเคมี	ธนิตา ค่ำอำนวย	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
	2.3 ศึกษาหาเทคโนโลยีการผลิตไคโตซานอย่างง่ายและประหยัดโดยเอ็นไซม์	มัทนา ศรีหัตถกรรม	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
3	**ตรวจสอบประสิทธิภาพของไคโตซานที่มีต่อการป้องกันโรคและแมลง**		
	3.1 การศึกษาประสิทธิภาพของสารไคโตซานในการป้องกันกำจัดโรคเน่าดำของกล้วยไม้ที่มีสาเหตุจากเชื้อ *Phytophthora palmivora* (Butler) Butler	พีระวรรณ พัฒนวิภาส	สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
	3.2 ทดสอบประสิทธิภาพไคโตซานในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูผลิตผลเกษตรในเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดและถั่วเขียว	กรรณิการ์ เพ็งคุ้ม	กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร
4	**ศึกษาแผนการใช้ไคโตซานที่ผลิตขึ้นสำหรับพืชเศรษฐกิจบางชนิด**		
	4.1 ผลกระทบจากการใช้ไคโตซานร่วมกับปุ๋ยชีวภาพในการผลิตข้าวโพดหวาน ข้าว พริก มะเขือเทศ และกะหล่ำปลี	ภัสชญภณ หมื่นแจ้ง	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
	4.1.1 ผลการใช้ไคโตซานร่วมกับปุ๋ยชีวภาพเพื่อลดปุ๋ยเคมีในการผลิตข้าว	ภัสชญภณ หมื่นแจ้ง	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ตารางที่ 1 (ต่อ)

กิจกรรมที่	การทดลอง	หัวหน้าการทดลอง	หน่วยงาน
	4.1.2 ผลการใช้ไคโตซานร่วมกับปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์เพื่อลดปุ๋ยเคมีในการผลิตข้าวโพดหวาน	ภัสชญภณ หมื่นแจ้ง	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
	4.1.3 ผลการใช้ไคโตซานร่วมกับปุ๋ยชีวภาพเพื่อลดปุ๋ยเคมีในการผลิตพริกหยวก	ศิวกร เกียรติมณีรัตน์	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
	4.1.4 ผลการใช้ไคโตซานร่วมกับปุ๋ยชีวภาพเพื่อลดปุ๋ยเคมีในการผลิตมะเขือเทศ	อำนาจ เอี่ยมวิจารณ์	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
	4.1.5 ประสิทธิภาพของไคโตซาน และเชื้อไรโซเบียมต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของถั่วเหลืองฝักสด	จิตรา เกาะแก้ว	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
	4.1.6 ผลการใช้ไคโตซานร่วมกับปุ๋ยชีวภาพเพื่อลดปุ๋ยเคมีในการผลิตถั่วลิสง	มนต์ชัย มนัสสิลา	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
	4.2 ศึกษาวิธีการใช้ และประสิทธิภาพของไคโตซานต่อการเจริญเติบโต ผลผลิต และคุณภาพผลผลิตของข้าวโพดหวาน	วรรษมน มงคล	ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท
	4.3 การใช้ไคโตซานในพืชตระกูลแตง	ทิพย์ดรุณี สิทธินาม	ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรกาญจนบุรี
	4.4 ผลของไคโตซานในการลดปัญหาดอกฝ่อในกล้วยไม้สกุลหวาย	อัมพิกา ปุนนจิต	สถาบันวิจัยพืชสวน
	4.5 ผลของสารไคโตซานที่มีต่อการเจริญเติบโต ผลผลิต และสารสำคัญในพืชสมุนไพรฟ้าทะลายโจร	สัจจะ ประสงค์ทรัพย์	สถาบันวิจัยพืชสวน
	4.6 ผลของสารไคโตซานต่อการเจริญและพัฒนารากของหน่อไม้ฝรั่งโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	อุทัยวรรณ ทรัพย์แก้ว	สถาบันวิจัยพืชสวน
5	**ผลของไคโตซานที่มีต่อการควบคุมคุณภาพการเก็บรักษาพืชเศรษฐกิจ**		
	5.1 ผลของไคโตซานความเข้มข้นต่ำต่อคุณภาพการเก็บรักษาผลไม้บางชนิด	เบญจมาส รัตนชินกร ปรางค์ทอง กวานห้อง	กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร
	5.2 การใช้ไคโตซานความเข้มข้นต่ำในการรักษาคุณภาพหน่อไม้ฝรั่ง	เบญจมาส รัตนชินกร ปรางค์ทอง กวานห้อง	กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร
	5.3 ผลของไคโตซานที่มีต่อคุณภาพหลังการเก็บรักษามะม่วงพันธุ์มหาชนก	อัมพิกา ปุนนจิต	สถาบันวิจัยพืชสวน
	5.4 ผลของไคโตซานต่อผลผลิตและคุณภาพของลำไย	อัมพิกา ปุนนจิต	สถาบันวิจัยพืชสวน

กิจกรรมที่ 1. การตรวจสอบคุณสมบัติของไคโตซาน

1.1 การศึกษาวิธีการตรวจสอบคุณสมบัติของไคโตซาน

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์วิทยาศาสตร์ เช่น เครื่องชั่งไฟฟ้า โถแก้ว อุปกรณ์ทำความร้อน Thermometer Ubbelohde Viscometer Magnetic Stirrer เป็นต้น
2. เครื่องแก้ว เช่น Volumetric flask Volumetric pipette กระบอกตวงขนาดต่างๆ เป็นต้น
3. เครื่องมือวิทยาศาสตร์ เช่น UV Spectrophotometer (Perkin Elmer Lambda 15)
4. สารเคมี เช่น Acetic acid Sodium acetate Hydrochloric acid เป็นต้น
5. วัสดุทดลองไคโตซาน
   - ไคโตซานสั่งซื้อจากบริษัท ต้าหมิง เอ็นเตอร์ไพรส์ จำกัด (Degree of deacetylation 94.42%)
   - Coarse ground flakes and powder (Sigma-Aldrich) (Degree of deacetylation เท่ากับ 78.0%)
   - Chitosan from shrimp shells & practical (Sigma-Aldrich) (Degree of deacetylation เท่ากับ 88%)

วิธีการ

1. ศึกษาวิธีวิเคราะห์หาน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซาน

1.1 ศึกษาความแม่น (accuracy) ของการหาน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซาน โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย (Paired t-test) ของ วิธี Intrinsic Viscosity โดยใช้ Ubbelohde Viscometer และวิธี GPC (Gel Permeation Chromatography) แล้วนำมาเทียบกับเกณฑ์มาตรฐาน

1.2 พิสูจน์ความเที่ยง (precision) ของการหาน้ำหนักโมเลกุลด้วย วิธี Intrinsic Viscosity โดยใช้ Ubbelohde Viscometer ที่น้ำหนักโมเลกุล $5.3x10^4$, $9.9x10^4$, $22.0x10^4$, $50.0x10^4$ และ $100.0x10^4$ ดาลตัน ตัวอย่างละ 7-10 ซ้ำ เกณฑ์การประเมิน : ใช้ HorRat(Horwitz' Ratio) (AOAC : 2012) เกณฑ์การยอมรับ : Horrat ≤ 2

$$\text{HorRat(Horwitz' Ratio)} = \frac{\%\text{RSD}}{\text{Predicted RSD}}$$

$$\text{Predicted RSD} = 2C^{-0.15}$$

2. ศึกษาวิธีการวิเคราะห์หาระดับดีอะซิทิลเลชัน (Degree of deacetylation : %DD)

2.1 ศึกษาความแม่น (accuracy) ของการหาระดับดีอะซิทิลเลชัน (%DD) โดยใช้เครื่อง UV Spectrophotometer และวิธีไทเทรต (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2550) หาเปอร์เซ็นต์ Recovery ของไคโตซานต้าหมิง (ไม่ฉายรังสี), Coarse ground flakes and powder และ Chitosan from shrimp shells & practical นำมาเทียบกับเกณฑ์มาตรฐาน (90-110 เปอร์เซ็นต์)

$$\%\ \text{Recovery} = \frac{\text{ค่าที่วิเคราะห์ได้}}{\text{ค่าที่แท้จริง}} X100$$

2.2. พิสูจน์ความเที่ยง (precision) ของการวิเคราะห์หาระดับดีอะซิทิลเลชัน (%DD) โดยวิธีไทเทรต (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์ อุตสาหกรรม, 2550) จำนวน 3 ตัวอย่าง คือ ต้าหมิง (ไม่ฉายรังสี), Coarse ground flakes and powder และ Chitosan from shrimp shells & practical ตัวอย่างละ 7-10 ซ้ำ เกณฑ์การประเมิน : ใช้ HorRat(Horwitz' Ratio) (AOAC : 2012) เกณฑ์การยอมรับ : Horrat ≤ 2

$$\text{HorRat(Horwitz' Ratio)} = \frac{\%\text{RSD}}{\text{Predicted RSD}}$$

$$\text{Predicted RSD} = 2C^{-0.15}$$

2.3 พิสูจน์ความเที่ยง (precision) ของวิธีการวิเคราะห์หาระดับดีอะซิทิลเลชัน (%DD) โดยใช้เครื่อง UV Spectrophotometer (ศูนย์วัสดุชีวภาพไคติน-ไคโตซาน จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2545 ดัดแปลงจาก Ricardo A.A. Muzzarelli and Roberto Rocchetti, 1985) จำนวน 3 ตัวอย่าง คือ ต้าหมิง (ไม่ฉายรังสี), Coarse ground flakes and powder และChitosan from shrimp shells & practical ตัวอย่างละ 7-10 ซ้ำ เกณฑ์การประเมิน : ใช้ HorRat (Horwitz' Ratio) (AOAC : 2012) เกณฑ์การยอมรับ : Horrat ≤ 2

$$\text{HorRat (Horwitz' Ratio)} = \frac{\%\text{RSD}}{\text{Predicted RSD}}$$

$$\text{Predicted RSD} = 2C^{-0.15}$$

3. ศึกษาความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานที่ตกตะกอนด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)

3.1. ศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดของสารละลายไคโตซานที่ตกตะกอนด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)

3.1.1) เตรียมสารลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 เปอร์เซ็นต์

3.1.2) เตรียมสารละลายไคโตซานน้ำหนักโมเลกุล 53,000 ดาลตัน ความเข้มข้น 0, 0.05, 0.1, 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ ในสารละลายกรดอะซิติก 1 เปอร์เซ็นต์ ดังนี้

ความเข้มข้น	0 %	0.05 %	0.1 %	0.5 %	1 %
สารละลายไคโตซาน 1 % (ml)	-	1	2	10	20
1 % acetic acid (ml)	20	19	18	10	-
1 % โซเดียมไฮดรอกไซด์ (ml)	20	20	20	20	20
รวม	40	40	40	40	40

3.1.3) เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ จะเกิดตะกอนไคโตซานสีขาวขุ่นเกิดขึ้นจนกระทั่ง pH ของสารละลายไคโตซานเป็นกลาง ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 1 ชั่วโมง บันทึกผลความเข้มข้นสารละลายไคโตซานสามารถมองเห็นตะกอนไคโตซานได้

3.2. ทดสอบตกตะกอนไคโตซานจากสารละลายไคโตซานที่ความเข้มข้น 0.05 และ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ในสารละลายกรดอะซิติก 1 เปอร์เซ็นต์

3.2.1) เตรียมสารละลายเตรียมสารละลายไคโตซานน้ำหนักโมเลกุล 53,000 ดาลตัน ความเข้มข้น 0.05 และ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ในสารละลายกรดอะซิติก 1 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

3.2.2) เตรียมสารละลายเตรียมสารละลายไคโตซานน้ำหนักโมเลกุล 1,000,000 ดาลตัน ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ในสารละลายกรดอะซิติก 1 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

3.2.3) เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ จะเกิดตะกอนไคโตซานสีขาวขุ่นเกิดขึ้น จนกระทั่ง pH ของสารละลายไคโตซานเป็นกลาง ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

3.2.4) นำสารละลายไคโตซานที่ตกตะกอนกรองผ่านกระดาษกรอง (what man เบอร์ 1) ให้เหลือเพียงตะกอนไคโตซาน

3.2.5) ล้างตะกอนให้สะอาดด้วยน้ำเปล่าหลายๆ ครั้ง

3.2.6) นำตะกอนไคโตซานที่ล้างน้ำสะอาดแล้ว ไปอบไล่ความชื้นที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส

3.2.7) ทิ้งไว้ให้เย็น ชั่งน้ำหนัก บันทึกข้อมูล คำนวณผล

เวลาและสถานที่

1 ตุลาคม 2554 - 30 กันยายน 2556
กลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี
กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

กิจกรรมที่ 2. ศึกษาหาเทคโนโลยีการผลิตไคโตซานอย่างง่ายและประหยัด

ประกอบด้วย 3 การทดลอง ดังนี้

2.1 ศึกษาหาเทคโนโลยีการผลิตไคโตซานอย่างง่ายและประหยัดโดยรังสีแกมมา

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์วิทยาศาสตร์ เช่น เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง กระบอกตวงขนาด 250 และ 2,000 มิลลิลิตร

2. สารเคมี เช่น Acetic acid (CH_3COOH), AR grade

3. วัสดุทดลองไคโตซานสั่งซื้อจากบริษัท ต้าหมิง เอ็นเตอร์ไพรส์ จำกัด นำไปฉายรังสีที่ ณ ศูนย์รังสีและเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (สทน.)

4. อุปกรณ์อื่นๆ เช่น ถังพลาสติกขนาด 20 ลิตร แกลลอนพลาสติกขนาด 1 ลิตร (สำหรับการบรรจุผลิตภัณฑ์สารละลายไคโตซาน)

วิธีการ

1. ศึกษาการลดลงของขนาดมวลโมเลกุลของไคโตซานที่ฉายรังสีแกมมา

1.1 ไคโตซาน (ของแข็ง) ฉายรังสีแกมมาที่ 0, 5, 10, 20, 40, 60, 80, 100 และ 150 กิโลเกรย์ ณ ศูนย์รังสีและเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (สทน.) เพื่อลดขนาดโมเลกุลให้ได้ขนาดต่างๆ

1.2 วิเคราะห์หาขนาดมวลโมเลกุลไคโตซานที่ผ่านการฉายรังสี ให้ค่าขนาดมวลโมเลกุลด้วยวิธี GPC: Gel Permeation Chromatography โดยศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ หรือ MTEC)

2. เตรียมสารละลายไคโตซานจากไคโตซานที่ผ่านการฉายรังสีแกมมา

2.1 สารละลายไคโตซานขนาดมวลโมเลกุล 100,000 ดาลตัน

2.1.1) ชั่งไคโตซานที่ฉายรังสีแกมมาที่ 80 กิโลเกรย์ ประมาณ 10.xx กรัม ละลายในสารละลายกรดอะซิติก 1 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 10 ลิตร

2.1.2) บรรจุสารละลายไคโตซานในแกลลอนพลาสติกขนาด 1 ลิตร

2.2 สารละลายไคโตซานขนาดมวลโมเลกุล 50,000 ดาลตัน

2.2.1) ชั่งไคโตซานที่ฉายรังสีแกมมาที่ 150 กิโลเกรย์ ประมาณ 10.xx กรัม ละลายในสารละลายกรดอะซิติก 1 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 10 ลิตร

2.2.2) บรรจุสารละลายไคโตซานในแกลลอนพลาสติกขนาด 1 ลิตร

เวลาและสถานที่

1 ตุลาคม 2554 - 30 กันยายน 2556

กลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

2.2 ศึกษาหาเทคโนโลยีการผลิตไคโตซานอย่างง่ายและประหยัดโดยสารเคมี

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์วิทยาศาสตร์ เช่น เครื่องปั่นย่อยขนาดตัวอย่าง ตู้อบ (Oven) เครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 2 ตำแหน่ง เตาหลุมให้ความร้อน hotplate & steirer เป็นต้น

2. เครื่องแก้ว เช่น กระบอกตวง ชุดย่อย (reflux) ขวดปรับปริมาตร เป็นต้น

3. สารเคมีชนิดต่างๆ เช่น ไอโซโปรพิลแอลกอฮอล์ (Isopropyl alcohol) กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid) เป็นต้น

4. อุปกรณ์อื่นๆ เช่น ถังพลาสติก แกลอนพลาสติก เป็นต้น

5. วัสดุทดลองไคโตซานสั่งซื้อจากบริษัท ต้าหมิง เอ็นเตอร์ไพรส์ จำกัด

วิธีการ

1. ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมเบื้องต้น

1.1 ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำการย่อยตัวอย่างไคโตซาน

ทำการย่อย (reflux) ไคโตซานผงในสารละลายกรด 1.0 N HCl in Isopropyl alcohol/water 70:30 เป็นเวลา 60 นาที โดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และ 90 องศาเซลเซียส ทิ้งให้เย็น นำตัวอย่างที่ได้มาปรับพีเอชให้ได้ 7 ด้วย Na_2CO_3 กรองตะกอนที่ได้แล้วล้างตะกอนด้วย Isopropyl alcohol/water 70:30 นำตะกอนที่กรองได้ไปอบไล่ความชื้น ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นำตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์หามวลโมเลกุลของไคโตซาน

1.2 ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการทำการย่อยตัวอย่างไคโตซาน

ทำการย่อย (reflux) ไคโตซานผงในสารละลายกรด 1.0 N HCl in Isopropyl alcohol/water 70:30 โดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30, 60 และ 120 นาที ทิ้งให้เย็น นำตัวอย่างที่ได้มาปรับให้ได้ pH 7 ด้วย Na_2CO_3 กรองตะกอนที่ได้แล้วล้างตะกอนด้วย Isopropyl alcohol/water 70:30 นำตะกอนที่กรองได้ไปอบไล่ความชื้น ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นำตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์หามวลโมเลกุลของไคโตซาน

1.3 ศึกษาความเข้มข้นของกรดที่เหมาะสมในการทำการย่อยตัวอย่างไคโตซาน

ทำการย่อย (reflux) ไคโตซานผงในสารละลายกรด 0.5 และ 1.0 N HCl in Isopropyl alcohol/water 70:30 ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ทิ้งให้เย็น นำตัวอย่างที่ได้มาปรับพีเอชให้ได้ 7 ด้วย Na_2CO_3 กรองตะกอนที่ได้แล้วล้างตะกอนด้วย Isopropyl alcohol/water 70:30 นำตะกอนที่กรองได้ไปอบไล่ความชื้น ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นำตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์หามวลโมเลกุลของไคโตซาน

2. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยไคโตซานเพื่อลดขนาดให้ได้ขนาดมวลโมเลกุลต่างๆ

จากข้อมูลที่ได้ในการทดสอบเบื้องต้น ทำการศึกษาเปรียบเทียบความเข้มข้นของกรดที่ใช้และระยะเวลาในการย่อย ที่มีผลต่อการลดขนาดมวลโมเลกุลของไคโตซาน โดยใช้สภาวะดังนี้

2.1 ความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริก 0.5 นอร์มัล ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 30 นาที

2.2 ความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริก 0.5 นอร์มัล ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 60 นาที

2.3 ความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริก 1.0 นอร์มัล ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 30 นาที

2.4 ความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริก 1.0 นอร์มัล ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 60 นาที

เมื่อได้ไคโตซานที่ผ่านการย่อยแต่ละสภาวะแล้ว นำไคโตซานที่ได้ไปตรวจวิเคราะห์หามวลโมเลกุลต่อไป

3. เตรียมผลิตภัณฑ์ไคโตซานพร้อมใช้ 1 เปอร์เซ็นต์

3.1 นำไคโตซานผงมาทำการรย่อย (reflux) ในสภาวะตามข้อ 2.3 (มวลโมเลกุลไคโตซานขนาด 1.1 x105)

3.2 นำไคโตซานที่ได้จากข้อ 3.1 มาละลายด้วยกรดอะซิติก ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ในอัตราส่วนไคโตซาน 1 กรัมต่อกรดอะซิติก 1 เปอร์เซ็นต์ 100 มิลลิลิตร เพื่อเตรียมเป็นผลิตภัณฑ์ บรรจุในแกลลอนพลาสติกขนาด 1 ลิตร

เวลาและสถานที่

1 ตุลาคม 2554 – 30 กันยายน 2556

กลุ่มงานวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตรจากสารธรรมชาติ กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

2.3 ศึกษาหาเทคโนโลยีการผลิตไคโตซานอย่างง่ายและประหยัดโดยเอ็นไซม์

ประกอบด้วย 3 การทดลอง ดังนี้

1. การศึกษาหาเทคโนโลยีการผลิตไคโตซานอย่างง่ายและประหยัดโดยแบคทีเรีย
2. การศึกษาหาเทคโนโลยีการผลิตไคโตซานอย่างง่ายและประหยัดโดยเอ็นไซม์
3. การศึกษาหาเทคโนโลยีการผลิตไคโตซานอย่างง่ายและประหยัดในถังหมัก