

บทที่ 5

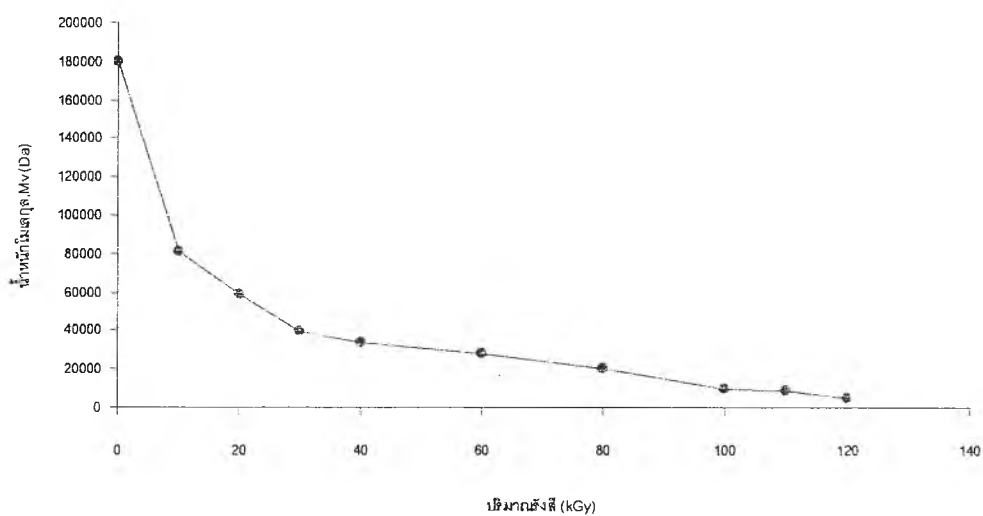
สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

5.1 ผลของรังสีที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซาน

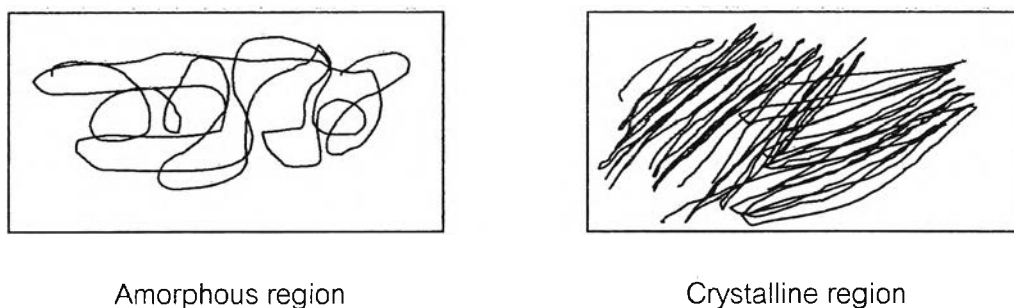
เมื่อนำไคโตซานไปฉายรังสีแกมมาจะทำให้ไคโตซานเกิดการเสื่อมสลาย (degradation) ซึ่งนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักโมเลกุล ซึ่งน้ำหนักโมเลกุลประเมินค่าได้ โดยผ่านการวิเคราะห์จาก Intrinsic Viscosity จากการทดลองพบว่าไคโตซานซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุล เริ่มต้นประมาณ 8×10^5 ถึง 1×10^6 ดอลตัน เมื่อนำมาฉายรังสีที่สภาวะของแข็ง 60 กิโลเกรย์ พบว่าไคโตซานมีน้ำหนักโมเลกุล (M_v) ลดลงเหลือประมาณ 180,269 ดอลตัน จากตารางที่ 5.1 และเมื่อนำไคโตซานที่ผ่านการฉายรังสีที่สภาวะของแข็ง 60 กิโลเกรย์ ดังกล่าวมาฉายรังสีต่อใน สารละลายกรดอะซิติก 2.5 เปอร์เซ็นต์โดยมีความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานเท่ากับ 10 เปอร์เซ็นต์ โดยฉายรังสีที่ปริมาณต่าง ๆ กัน คือ 10, 20, 30, 40, 60, 80, 100, 110 และ 120 กิโลเกรย์และนำไปหาน้ำหนักโมเลกุล (M_v) ของไคโตซานโดย Dilute Solution Viscosity พบว่าน้ำหนักโมเลกุลลดลงตามปริมาณรังสีที่เพิ่มขึ้น ดังตารางที่ 5.1 โดยน้ำหนักโมเลกุลจะลดลงอย่างรวดเร็ว ในช่วงปริมาณรังสีที่ฉายในสภาวะสารละลายต่ำ ๆ คือช่วงประมาณ 0-30 กิโลเกรย์ และค่อย ๆ ลดลงอย่างช้า ๆ เมื่อปริมาณรังสีเพิ่มขึ้นในช่วงประมาณ 30-120 กิโลเกรย์ ดังรูปที่ 5.1 การลดลงของน้ำหนักโมเลกุลอาจอธิบายได้จากโครงสร้างของไคโตซาน แสดงดังรูปที่ 5.2 ซึ่งเมื่อเริ่มต้นฉายรังสีแกมมา รังสีอาจไปมีผลต่อบริเวณ amorphous region ซึ่งเป็นบริเวณที่มีการวางตัวกันอย่างหลวม ๆ และไม่เป็นระเบียบ นำไปสู่การลดลงของน้ำหนักโมเลกุลอย่างมีนัยสำคัญเมื่อ amorphous region ถูกทำลายไปแล้ว พลังงานของรังสีก็จะเริ่มไปสลายตรงบริเวณ crystalline region แต่อย่างไรก็ตามเมื่อปริมาณรังสีสูง ๆ ขึ้น ผลของการฉายรังสีบนส่วนของ crystalline region จะน้อยลง เนื่องจากเป็นการยากที่ทำให้เกิดการแตกตรงบริเวณซึ่งมีการยึดเกาะกันอย่างเหนียวแน่นและแข็งแรง

ตารางที่ 5.1 แสดงผลการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานที่ผ่านการฉายรังสีในสถานะของแข็ง 60 กิโลเกรย์ และนำมาฉายรังสีต่อในสถานะสารละลายกรดอะซิติก 2.5 เปอร์เซ็นต์ที่ปริมาณต่าง ๆ

ปริมาณรังสี (กิโลเกรย์)	น้ำหนักโมเลกุล (M_v) (ดอลตัน)
60 (ของแข็ง)	180,269
60 (ของแข็ง) + 10 (สารละลาย)	80,896
60 (ของแข็ง) + 20 (สารละลาย)	59,003
60 (ของแข็ง) + 30 (สารละลาย)	39,394
60 (ของแข็ง) + 40 (สารละลาย)	33,406
60 (ของแข็ง) + 60 (สารละลาย)	27,853
60 (ของแข็ง) + 80 (สารละลาย)	20,660
60 (ของแข็ง) + 100 (สารละลาย)	9,460
60 (ของแข็ง) + 110 (สารละลาย)	8,388
60 (ของแข็ง) + 120 (สารละลาย)	4,682



รูปที่ 5.1 แสดงผลการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานที่ผ่านการฉายรังสีในสถานะของแข็ง 60 กิโลเกรย์ และนำมาฉายรังสีต่อในสถานะสารละลายกรดอะซิติก 2.5 เปอร์เซ็นต์ที่ปริมาณต่าง ๆ



รูปที่ 5.1 แสดงโครงสร้างของโคโตะซานบริเวณ Amorphous region และ Crystalline

จากการทดลองหาผลของปริมาณรังสีที่ฉายให้กับโคโตะซานในสภาวะสารละลาย ดังกล่าวข้างต้นสามารถเลือกสภาวะสำหรับการฉายรังสีที่เหมาะสมในการเตรียมสารละลายโคโตะซานเพื่อนำไปแยกโมเลกุลลำดับส่วน เพื่อให้ได้น้ำหนักโมเลกุลประมาณ 40,000 และ 8,000 ดอลตันได้ คือ และเมื่อฉายรังสีที่ปริมาณรังสี 60 กิโลเกรย์ ในสภาวะของแข็ง และฉายรังสีต่ออีก 30 กิโลเกรย์ ในสภาวะสารละลายกรดอะซิติก 2.5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 39,394 ดอลตัน เพื่อเตรียมโคโตะซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 40,000 ดอลตัน และเมื่อฉายรังสีที่ปริมาณรังสี 60 กิโลเกรย์ ในสภาวะของแข็ง และฉายรังสีต่ออีก 110 กิโลเกรย์ ในสภาวะสารละลายกรดอะซิติก 2.5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยประมาณ 8,388 ดอลตัน เพื่อเตรียมโคโตะซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 8,000 ดอลตัน ตามลำดับ

5.2 การแยกโมเลกุลลำดับส่วนโคโตะซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 40,000 ดอลตัน โดยควบคุมความเข้มข้นของสารละลายไซเดียมไฮดรอกไซด์

การแยกโมเลกุลลำดับส่วนโดยการตกตะกอนโคโตะซานพิจารณาจากผลของความเข้มข้นของไซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีผลต่อการตกตะกอนโคโตะซานตามสภาวะการทดลองจากตารางที่ 3.1 และผลที่ได้จากการทดลองตามตารางที่ 4.14 และ 4.17 เมื่อนำมาเขียนตารางแสดงข้อมูลของตะกอนที่ได้, %yield, น้ำหนักโมเลกุล (M_n) ของตะกอน และสีของสารละลายส่วนบนตามสภาวะต่าง ๆ ที่ความเข้มข้นของไซเดียมไฮดรอกไซด์ต่าง ๆ กัน ดังตารางที่ 5.2 จากตารางแสดงให้เห็นว่าในสภาวะ U คือ เมื่อใช้สารละลายไซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ ในการแยกครั้งที่ 1 พบว่าปริมาณตะกอนที่เกิดขึ้นจะมีน้อยที่สุด คือ 27.95 เปอร์เซ็นต์

และสัมพันธ์กับสีของสารละลายส่วนบน คือยังมีสีเข้มอยู่เมื่อเทียบกับสถานะอื่น ๆ เนื่องจากยังมีไคโตซานที่ยังไม่ตกตะกอนออกมาละลายอยู่อีกมาก และสอดคล้องกับค่าน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยที่หาได้ซึ่งมีค่าสูงกว่าในสถานะที่ใช้ไซโตเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 1, 2 และ 4 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากน้ำหนักโมเลกุลส่วนใหญ่ที่ตกตะกอนลงมามีค่าสูง และน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ๆ ยังไม่ตกตะกอนออกมา ทำให้ค่าน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยที่หาได้มีค่าสูงกว่าสถานะอื่น ๆ สำหรับสถานะ X, Y และ Z คือที่ใช้สารละลายไซโตเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 1, 2 และ 4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ พบว่ามีการตกตะกอนออกมาในการแยกครั้งที่ 1 สูง คือ 57.70, 50.60 และ 48.80 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และสอดคล้องกับสีของสารละลายส่วนบนคือ สีของสถานะ Y และ Z มีสีเข้มกว่าที่สถานะ X เล็กน้อยเนื่องจากการตกตะกอนออกมาน้อยกว่าเล็กน้อย นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับค่าน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยที่ได้คือ ตะกอน W_{v1} ($M_v = 47,776$) และตะกอน W_{z1} ($M_v = 49,683$) มีค่าน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยสูงกว่าตะกอน W_{x1} ($M_v = 45,939$) เนื่องจากน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ๆ ยังตกออกมาไม่หมดหรือตกออกมาน้อยกว่าตะกอน W_{x1} ทำให้ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักโมเลกุลที่ได้สูงกว่า

สำหรับที่สถานะ U เมื่อลองนำสารละลายส่วนบนมาตกตะกอนอีกครั้งโดยใช้สารละลายไซโตเดียมไฮดรอกไซด์ 1 เปอร์เซ็นต์ พบว่าได้ %yield ของตะกอน W_{x2} อีก 16.50 เปอร์เซ็นต์ และมีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยเท่ากับ 43,910 ซึ่งลดลงจากการตกตะกอนครั้งที่ 1 เนื่องจากน้ำหนักโมเลกุลสูง ๆ ได้ถูกแยกออกไปแล้วจากการแยกครั้งที่ 1

จากการศึกษาข้างต้นแสดงให้เห็นว่าที่ความเข้มข้นของไซโตเดียมไฮดรอกไซด์ต่ำ ๆ ตะกอนจะตกออกมาได้น้อยกว่าที่ความเข้มข้นสูง ๆ แต่ทั้งนี้ที่ความเข้มข้นของไซโตเดียมไฮดรอกไซด์สูงมากขึ้นก็ไม่ได้ช่วยให้เกิดการตกตะกอนมากขึ้นสังเกตจากการใช้ไซโตเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 1, 2 และ 4 เปอร์เซ็นต์ ในการตกตะกอน คือที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ จะมีการตกตะกอนมากที่สุด แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 2 และ 4 เปอร์เซ็นต์ จะเห็นว่าการตกตะกอนไม่เพิ่มขึ้นอีกและยังมีแนวโน้มที่ลดลงเล็กน้อยอีกด้วย และจากสถานะต่าง ๆ ข้างต้นเพื่อทำการแยกน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานประมาณ 40,000 ดอลตันยังพบว่ายังไม่มีสถานะใดเหมาะสม เนื่องจากยังไม่มีสถานะใดที่ให้ค่าน้ำหนักโมเลกุลใกล้เคียง 40,000 ดอลตัน ประกอบกับข้อมูลการหาน้ำหนักโมเลกุลที่ได้ยังมีความแปรปรวนสูง

ตารางที่ 5.2 แสดงข้อมูลของ ตะกอนที่ได้, %yield, น้ำหนักโมเลกุล (M_v) ของตะกอน และสีของสารละลายส่วนบน ตามสภาวะต่าง ๆ ที่ความเข้มข้นของ โซเดียมไฮดรอกไซด์ต่าง ๆ

แยกครั้งที่ 1					แยกครั้งที่ 2				
ความเข้มข้น NaOH (%)	ตะกอน	% yield	น้ำหนักโมเลกุล (M_v) (ดอลตัน)	สีของสารละลายส่วนบน	ความเข้มข้น NaOH (%)	ตะกอน	% yield	น้ำหนักโมเลกุล (M_v) (ดอลตัน)	สีของสารละลายส่วนบน
0.75	W_{U1}	27.95	$60,138 \pm 2,133$	S_{U1} = น้ำตาลเข้ม (++++)	1.00	W_{U2}	16.50	$43,910 \pm 9,729$	S_{U1} = เหลืองเข้ม (++)
1.00	W_{X1}	57.70	$45,939 \pm 6,670$	S_{X1} = เหลืองอ่อนใส (+)	-	-	-	-	-
2.00	W_{Y1}	50.60	$47,776 \pm 5,724$	S_{Y1} = เหลืองเข้ม (++)	-	-	-	-	-
4.00	W_{Z1}	48.80	$49,683 \pm 6,867$	S_{Z1} = เหลืองเข้ม (++)	-	-	-	-	-

หมายเหตุ เฉพาะที่สภาวะ U ทำการตกตะกอนครั้งที่ 2 ด้วย 1%NaOH ได้ตะกอน W_{U2}

5.3 การแยกโมเลกุลลำดับส่วนโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 40,000 ดอลตัน โดยควบคุมปริมาตรของสารละลายไซโตเดียมไฮดรอกไซด์

จากการทดลองแยกน้ำหนักโมเลกุลวิธีนี้ โดยการตัดน้ำหนักโมเลกุลส่วนที่สูง ๆ และส่วนที่ต่ำ ๆ ออกไป โดยการแยกน้ำหนักโมเลกุลสูง ๆ ออกมาก่อน และทำการตกตะกอนโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลที่ต้องการออกมา โดยจำกัดไม่ให้น้ำหนักโมเลกุลต่ำ ๆ ตกออกมากด้วย โดยจะควบคุมปริมาตรของสารละลายไซโตเดียมไฮดรอกไซด์ 1 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการตกตะกอนครั้งที่ 1 ให้เป็น 10 และ 15 มิลลิลิตร เพื่อกำจัดโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ๆ ออกไปก่อน และทำการตกตะกอนครั้งที่ 2 โดยกำหนดให้ปริมาตรของสารละลายไซโตเดียมไฮดรอกไซด์ 1 เปอร์เซ็นต์ ให้เป็น 5, 10, 20 และ 30 มิลลิลิตร จากผลการทดลองตามตารางที่ 4.15 และ 4.16 พบว่าจากการตกตะกอนครั้งที่ 1 โดยใช้สารละลายไซโตเดียมไฮดรอกไซด์ 10 มิลลิลิตร มี % yield ของตะกอนน้อยกว่าเมื่อใช้ไซโตเดียมไฮดรอกไซด์ 15 มิลลิลิตร ในทุก ๆ สภาวะ แสดงว่าในชุดของสภาวะที่ใช้ปริมาตรของสารละลายไซโตเดียมไฮดรอกไซด์ 15 มิลลิลิตร ตกเอาตะกอนที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ๆ ออกมาได้มากกว่าในสภาวะชุดที่ใช้ปริมาตรของสารละลายไซโตเดียมไฮดรอกไซด์ 10 มิลลิลิตร ดังตารางที่ 5.3

สำหรับตะกอนที่ได้จากการตกตะกอนครั้งที่ 2 ตามตารางที่ 5.4 คือใช้สารละลายไซโตเดียมไฮดรอกไซด์ในการตกตะกอนครั้งที่ 1 จำนวน 10 มิลลิลิตร ที่สภาวะ a b c และ d พบว่าเมื่อใช้สารละลายไซโตเดียมไฮดรอกไซด์จำนวน 5 มิลลิลิตรตกตะกอนครั้งที่ 2 (สภาวะ a) ตะกอนที่ได้มี %yield น้อยที่สุด คือ 21.40 เปอร์เซ็นต์ และสอดคล้องกับค่าน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยที่ได้ ซึ่งมีค่ามากที่สุดคือ 65,134 ดอลตัน เนื่องจากปริมาตรของสารละลายไซโตเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการตกตะกอนครั้งที่ 2 น้อยที่สุดคือ 5 มิลลิลิตร ทำให้ปริมาณตะกอนที่ตกออกมาน้อย อีกทั้งยังเป็นตะกอนที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ๆ ตกออกมาก่อน เมื่อเพิ่มปริมาตรของสารละลายไซโตเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ตกตะกอนในครั้งที่ 2 เป็น 10 มิลลิลิตร (สภาวะ b) พบว่าตะกอนที่ได้มี %yield เพิ่มขึ้น และสอดคล้องกับค่าน้ำหนักโมเลกุลที่ได้ คือมีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยลดลง เป็น 58,777 ดอลตัน และเมื่อเพิ่มปริมาตรของสารละลายไซโตเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ตกตะกอนในครั้งที่ 2 เป็น 20 มิลลิลิตร (สภาวะ c) จะเห็นว่ามีลักษณะเช่นเดียวกันคือ ตะกอนที่ได้มี %yield เพิ่มขึ้น คือ 58.40 เปอร์เซ็นต์ และน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยที่ได้ลดลงเป็น 42,835 ดอลตัน ซึ่งอธิบายได้ในลักษณะเช่นเดียวกัน แต่เมื่อเพิ่มปริมาตรสารละลายไซโตเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ตกตะกอนในครั้งที่ 2 เป็น 30 มิลลิลิตร (สภาวะ d) ตะกอนที่ได้มี %yield ลดลง เป็น 53.45 เปอร์เซ็นต์ และน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยเพิ่มขึ้นสูงกว่าที่สภาวะ c เป็น 46,759 ดอลตัน แต่ใกล้เคียงกับที่สภาวะ c ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ปริมาณของสารละลายไซโตเดียมไฮดรอกไซด์มีผลต่อการตกตะกอนของโคโตซานในระดับหนึ่งแต่

เมื่อเพิ่มปริมาณของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ให้สูงขึ้นอีกจะไม่มีผลต่อการตกตะกอน ซึ่งผลที่เกิดขึ้นมีลักษณะเช่นเดียวกับที่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์สำหรับการตกตะกอนโคโคซานตามตารางที่ 5.2 ข้างต้น

สำหรับตะกอนที่ได้จากการตกตะกอนครั้งที่ 2 ตามตารางที่ 5.5คือใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ในการตกตะกอนครั้งที่ 1 จำนวน 15 มิลลิลิตร ที่สภาวะ A B C และ D พบว่าให้ผลที่มีแนวโน้มเช่นเดียวกับเมื่อใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ในการตกตะกอนครั้งที่ 1 จำนวน 10 มิลลิลิตร ตามสภาวะ a b c และ d ดังกล่าวข้างต้น

ตารางที่ 5.3 แสดงข้อมูลปริมาณตะกอน และ %yield ของตะกอนที่ได้จากการแยกครั้งที่ 1 เปรียบเทียบ ระหว่างเมื่อใช้ 1%NaOH ในการแยกครั้งที่ 1 เท่ากับ 10 และ 15 มิลลิลิตร

10 มิลลิลิตร			15 มิลลิลิตร		
ตะกอน	น้ำหนัก ตะกอน (กรัม)	% yield	ตะกอน	น้ำหนัก ตะกอน (กรัม)	% yield
W_{a1}	0.048	2.40	W_{A1}	0.132	6.60
W_{b1}	0.044	2.20	W_{B1}	0.125	6.25
W_{c1}	0.052	2.60	W_{C1}	0.110	5.50
W_{d1}	0.039	1.95	W_{D1}	0.128	6.40

ตารางที่ 5.4 แสดงข้อมูลของตะกอนที่ได้, %yield, น้ำหนักโมเลกุล (M_v) ของตะกอน และสีของสารละลายส่วนบน ของตะกอนโคโคซานที่ได้จากการแยกครั้งที่ 2 จากการเติม 1%NaOH ที่สภาวะ a, b, c และ d ให้เท่ากับ 5, 10, 20 และ 30 มิลลิลิตร ตามลำดับ และควบคุมปริมาตร 1%NaOH ในการแยกครั้งที่ 1 เท่ากับ 10 มิลลิลิตร ที่ทุกสภาวะ

ตะกอน	ปริมาตร 1%NaOH (ml)	% yield	น้ำหนักโมเลกุล (M_v) เฉลี่ย (ดอลตัน)	สีของสารละลายส่วนบน หลังการแยกครั้งที่ 2
W_{a2}	5	21.40	65,134	S_{a2} = เหลืองส้ม (+ + + +)
W_{b2}	10	47.20	58,777	S_{b2} = เหลืองเข้มมาก (+ + +)
W_{c2}	20	58.40	42,835	S_{c2} = เหลืองอ่อนใส (+)
W_{d2}	30	53.45	46,759	S_{d2} = เหลืองอ่อนใส (+)

ตารางที่ 5.5 แสดงข้อมูลของตะกอนที่ได้, %yield, น้ำหนักโมเลกุล (M_v) ของตะกอน และสีของสารละลายส่วนบน ของตะกอนโคโคซานที่ได้จากการแยกครั้งที่ 2 จากการเติม 1%NaOH ที่สภาวะ A, B, C และ D ให้เท่ากับ 5, 10, 20 และ 30 มิลลิลิตร ตามลำดับ และควบคุมปริมาตร 1%NaOH ในการแยกครั้งที่ 1 เท่ากับ 15 มิลลิลิตร ที่ทุกสภาวะ

ตะกอน	ปริมาตร 1%NaOH (ml)	% yield	น้ำหนักโมเลกุล (M_v) เฉลี่ย (ดอลตัน)	สีของสารละลายส่วนบน หลังการแยกครั้งที่ 2
W_{A2}	5	19.45	60,468	S_{A2} = เหลืองส้ม (+ + +)
W_{B2}	10	44.10	50,239	S_{B2} = เหลืองเข้มมาก (+ + +)
W_{C2}	20	59.95	37,100	S_{C2} = เหลืองใส (+)
W_{D2}	30	54.35	44,540	S_{D2} = เหลืองใส (+)

สำหรับ % yield และ คำน้่านักโมเลกุลที่ได้เมื่อใช้สารละลายไฮดรอกไซด์ในการตกตะกอนครั้งที่ 1 จำนวน 10 มิลลิลิตร และ 15 มิลลิลิตร มีค่าเปลี่ยนแปลงไปซึ่งเปรียบเทียบได้ดังตารางที่ 5.6

ตารางที่ 5.6 แสดงข้อมูล %yield และค่าน้ำหนักโมเลกุลของตะกอนที่ได้จากการแยกครั้งที่ 2 เปรียบเทียบระหว่างเมื่อควบคุมปริมาตรของ 1%NaOH ที่ใช้ในการตกตะกอนครั้งที่ 1 เท่ากับ 10 และ 15 มิลลิลิตร ที่สภาวะเดียวกัน

ปริมาตร 1% NaOH ที่ใช้ในการตกตะกอนครั้งที่ 2 (ml)	ปริมาตร 1 % NaOH ที่ใช้ในการตกตะกอนครั้งที่ 1(ml)					
	10 ml.			15 ml.		
	สภาวะ	% yield	น้ำหนักโมเลกุล(M_v)เฉลี่ย(ดอลตัน)	สภาวะ	% yield	น้ำหนักโมเลกุล (M_v)เฉลี่ย (ดอลตัน)
5	a	21.40	65,134	A	19.45	60,468
10	b	47.20	58,777	B	44.10	50,239
20	c	58.40	42,835	C	59.95	37,100
30	d	53.45	46,759	D	54.35	44,540

จากตารางที่ 5.6 จะเห็นว่าที่สภาวะ a b c และ d มีค่าน้ำหนักโมเลกุลของตะกอนสูงกว่าที่สภาวะ A B C และ D ตามลำดับ เนื่องจากสาเหตุที่กล่าวข้างต้นคือ ที่ สภาวะ a b c และ d ผ่านการตกตะกอนครั้งที่ 1 เพื่อแยกเอาโคโคซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงออก โดยใช้สารละลายไฮดรอกไซด์ปริมาณน้อยกว่าคือ 10 มิลลิลิตร ทำให้น้ำหนักโมเลกุลสูง ๆ ตกออกมาน้อยกว่า ส่งผลให้น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยที่ตกออกมาในการแยกครั้งที่ 2 มีค่ามากกว่าที่ สภาวะ A B C และ D ซึ่งใช้ปริมาตรสารละลายไฮดรอกไซด์จำนวน 15 มิลลิลิตร

จากที่กล่าวมาข้างต้นสามารถสรุปผลของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีผลต่อการตกตะกอนของโคโคซานได้ดังนี้

- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์สามารถใช้เป็นตัวลดอำนาจการละลาย หรือตัวช่วยให้ตกตะกอน (Precipitant) ของโคโคซานในสารละลายกรดอะซิติกได้
- เมื่อควบคุมปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ให้เท่ากันและสภาวะที่ทำการทดลองเดียวกัน พบว่าความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีผลต่อการตกตะกอนของโคโคซาน คือเมื่อความเข้มข้นสูงขึ้นโคโคซานจะตกตะกอนเพิ่มขึ้น จนถึงความเข้มข้นระดับหนึ่งโคโคซานจะไม่ตกตะกอนเพิ่มขึ้นอีก
- เมื่อควบคุมความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ให้เท่ากับ 1 เปอร์เซ็นต์ และทำการทดลองที่สภาวะเดียวกันพบว่า ปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เติมลงไปช่วยให้ตกตะกอน มีผลต่อการตกตะกอนของโคโคซาน คือเมื่อปริมาตรที่เติมสูงขึ้นโคโคซานจะตกตะกอนเพิ่มขึ้น จนถึงปริมาตรระดับหนึ่งโคโคซานจะไม่ตกตะกอนเพิ่มขึ้นอีก
- เราสามารถควบคุมการตกตะกอนของโคโคซานให้น้ำหนักโมเลกุลในช่วงที่เราต้องการได้ โดยควบคุมความเข้มข้น หรือ ปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ อุณหภูมิ เวลาที่ใช้ในการตกตะกอน และสภาวะต่าง ๆ ให้เหมาะสม
- จากการหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการตกตะกอนโคโคซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 40,000 ดอลตัน จากสารละลายโคโคซานที่ฉายรังสีที่สภาวะของแข็ง 60 กิโลเกรย์ และฉายรังสีต่อที่สภาวะสารละลายกรดอะซิติก 2.5 เปอร์เซ็นต์ (โคโคซาน 10 %w/v) อีก 30 กิโลเกรย์ แล้วนำมาตกตะกอนด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสภาวะที่เหมาะสมที่สุดสำหรับตกตะกอนโคโคซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 40,000 ดอลตัน คือสภาวะ c ดังตารางที่ 3.2 ซึ่งได้ตะกอนที่มีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยประมาณ 42,835 ดอลตัน ซึ่งใกล้เคียงกับ 40,000 ดอลตัน มากที่สุด และเมื่อทำการทดลองซ้ำที่สภาวะดังกล่าวพบว่าได้ค่าน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยดังตารางที่ 4.23 คือ 41,737 ดอลตัน จึงสรุปได้ว่าสภาวะที่เหมาะสมที่สุดจากการทดลองนี้เพื่อแยกน้ำหนักโมเลกุลโคโคซานประมาณ 40,000 ดอลตัน คือ สภาวะ c (ตารางที่ 3.2) คือมีอัตราส่วนของสารละลายโคโคซาน ต่อ น้ำกลั่น ต่อ 1%NaOH ในการแยกครั้งที่ 1 เท่ากับ 20:50:10 มิลลิลิตร และทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อทำการแยกตะกอนและสารละลายส่วนบนออกแล้ว นำสารละลายส่วนบนมาตกตะกอนครั้งที่ 2 โดยเติม 1%NaOH จำนวน 20 มิลลิลิตร ทิ้งไว้เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทำการแยกเอาสารละลายส่วนบนออก ตะกอนที่ได้นำมาล้างปรับค่า pH ให้เป็นกลาง ทำให้แห้ง จะได้โคโคซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 40,000 ดอลตัน

5.4 การแยกโมเลกุลลำดับส่วนโคโคซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 8,000 ดอลตัน

การแยกโคโคซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 8,000 ดอลตัน ค่อนข้างจะยุ่งยาก และต้องใช้เวลาในการแยกมากกว่าน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 40,000 ดอลตัน เนื่องจากโคโคซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล 8,000 ดอลตัน ถือว่ามีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ดังนั้นการแยกหรือการตกตะกอนโคโคซานจึงเป็นไปได้ยากและช้ากว่าโคโคซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ๆ เนื่องจากโคโคซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ๆ จะมีค่าดีกรีออฟโพลิเมอไรเซชัน (DP) สูง หรือมีจำนวนโมเลกุลในสายโซ่สูงนั่นเอง ทำให้โคโคซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงหนักและตกตะกอนลงมาได้ง่ายและมองเห็นได้ชัดเจนกว่าโคโคซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ๆ

จากการทดลองตกตะกอนแยกโคโคซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 8,000 ดอลตัน โดยเลือกสารละลายตัวอย่างโคโคซานที่ผ่านการฉายรังสีที่สภาวะของแข็ง 60 กิโลเกรย์ และนำมาฉายรังสีต่อที่สภาวะสารละลายกรดอะซิติก 2.5 เปอร์เซ็นต์ (โคโคซาน 10 %w/v) อีก 110 กิโลเกรย์ ตามตารางที่ 4.13 และรูปที่ 4.1 ซึ่งหาค่าน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยได้ประมาณ 8,388 ดอลตัน สำหรับการแยกโมเลกุลนี้ได้ใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ โดยทำการแยกโคโคซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ๆ ออกมาก่อนเช่นเดียวกับการแยกโคโคซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล 40,000 ดอลตัน การทดลองจะทำที่สภาวะที่ 1, 2, 3 และ 4 ตามตารางที่ 3.4 โดยจะควบคุมปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 เปอร์เซ็นต์ ในการแยกครั้งที่ 1 ให้มีปริมาตรต่าง ๆ กัน คือ 40, 45, 50 และ 60 มิลลิลิตร ตามลำดับ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อแยกโคโคซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ๆ ออกในปริมาณที่ต่างกัน และหลังจากนั้นจึงทำการแยกครั้งที่ 2 โดยควบคุมให้ปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ให้เท่ากันคือ 40 มิลลิลิตร ในทุก ๆ สภาวะ และทิ้งไว้เพื่อให้โคโคซานน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ๆ ที่ยังคงอยู่ในสารละลายส่วนบนหลังจากการตกตะกอนครั้งที่ 1 ให้ตกตะกอนออกมาโดยเพิ่มระยะเวลาเพื่อให้โคโคซานตกตะกอนเป็นเวลา 10 วัน เนื่องจากสาเหตุที่กล่าวข้างต้นในข้อจำกัดของความหนักของตะกอนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ๆ ทำให้ตกตะกอนช้า

จากผลการทดลองดังตารางที่ 4.2 พบว่าปริมาณตะกอนที่ได้จากการตกตะกอนครั้งที่ 1 มีมากขึ้นเมื่อเพิ่มปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ จาก 40, 45, 50 และ 60 มิลลิลิตร ตามลำดับ และสอดคล้องกับสีของสารละลายส่วนบนหลังจากตกตะกอนซึ่งมีทิศทางในทางตรงกันข้ามกับปริมาณตะกอน คือเมื่อมีปริมาณตะกอนมาก สีของสารละลายส่วนบนจะอ่อนกว่าเมื่อมีปริมาณการตกตะกอนต่ำ จึงเป็นผลส่วนหนึ่งที่สังเกตได้และอาจช่วยแสดงได้ถึงปริมาณโคโคซานที่ยังคงเหลืออยู่ในสารละลายส่วนบนและยังไม่ได้ตกตะกอนออกมา

ตารางที่ 5.7 แสดงข้อมูลของตะกอนที่ได้, %yield, น้ำหนักโมเลกุล (M_v) ของตะกอน และสีของสารละลายส่วนบน ของตะกอนโคโคซานที่ได้จากการแยกครั้งที่ 1 โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ปริมาณต่าง ๆ กัน

ตะกอน	ปริมาตร 1%NaOH (ml)	% yield	น้ำหนักโมเลกุล (M_v) เฉลี่ย (ดอลตัน)	สีของสารละลายส่วนบน หลังจากการแยกครั้งที่ 1
W ₁₁	40	0.450	72,690	S ₁₁ = สีน้ำตาลเข้มมาก (+ + + + + + + +)
W ₂₁	45	10.32	27,372	S ₂₁ = สีน้ำตาลเข้ม (+ + + + + + + +)
W ₃₁	50	27.45	25,243	S ₃₁ = สีน้ำตาลแดงเข้ม (+ + + + + + + +)
W ₄₁	60	27.55	21,885	S ₄₁ = สีน้ำตาลแดง (+ + + + + + + +)

ตารางที่ 5.8 แสดงข้อมูลของตะกอนที่ได้, %yield, น้ำหนักโมเลกุล (M_v) ของตะกอน และสีของสารละลายส่วนบน ของตะกอนโคโคซานที่ได้จากการแยกครั้งที่ 2 จากสภาวะที่ใช้สารละลายไซเดียมไฮดรอกไซด์ปริมาตรต่าง ๆ กัน ในการแยกครั้งที่ 1

ตะกอน	ปริมาตร 1%NaOH (ml)	% yield	น้ำหนักโมเลกุล (M_v) เฉลี่ย (ดอลตัน)	สีของสารละลายส่วนบน หลังจากการแยกครั้งที่ 2
W_{12}	40	28.58	15,862	$S_{12} =$ สีน้ำตาลแดงอ่อน (+ + +)
W_{22}	45	11.82	13,625	$S_{12} =$ สีน้ำตาลแดงอ่อน (+ + +)
W_{32}	50	6.20	7,915	$S_{12} =$ สีน้ำตาลแดงอ่อน (+ + +)
W_{42}	60	4.65	4,938	$S_{12} =$ สีน้ำตาลแดงอ่อน (+ + +)

ส่วนน้ำหนักโมเลกุลที่ได้ในการแยกครั้งที่ 1 พบว่ามีน้ำหนักโมเลกุลสูงในสภาวะที่ 1 (เมื่อเติมสารละลาย NaOH 40 ml.) และลดลงเมื่อเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เพิ่มขึ้น ซึ่งก็คือมีทิศทางเดียวกับปริมาณตะกอนที่ได้ แสดงดังตารางที่ 5.7 เนื่องจากเมื่อเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ปริมาณน้อยในสภาวะที่ 1 ตะกอนที่ตกออกมาส่วนมากจะมีน้ำหนักโมเลกุลสูง ๆ ทำให้ค่าน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยที่หาได้มีค่าสูง และเมื่อเพิ่มปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ลงไป ในสภาวะที่ 2, 3 และ 4 มีผลทำให้โคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลที่ต่ำกว่า ตกลงมาเพิ่มขึ้นทำให้น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยที่หาได้มีค่าลดลง

เมื่อทำการแยกครั้งที่ 2 จากตารางที่ 4.2 พบว่าปริมาณตะกอนที่ได้ให้ผลเช่นเดียวกัน คือตะกอนมีปริมาณสูงในสภาวะที่ 1 และลดลงเรื่อย ๆ ตามสภาวะที่ 2, 3 และ 4 ตามลำดับโดยที่สารละลายส่วนบนภายหลังการตกตะกอนมีสีใกล้เคียงกันทุกสภาวะ เนื่องจากมีการควบคุมปริมาตรสารละลายของโซเดียมไฮดรอกไซด์ และ เวลาให้เท่ากันในการตกตะกอนครั้งที่ 2 ส่วนน้ำหนักโมเลกุลที่หาได้มีค่ามากในสภาวะที่ 1 และลดลงเรื่อย ๆ ตามสภาวะที่ 2, 3 และ 4 ตามลำดับ ดังตารางที่ 5.8 ซึ่งอธิบายได้เช่นเดียวกับที่กล่าวข้างต้น

เมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักโมเลกุลของโคโตซานที่ได้จากการตกตะกอนครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ตามตารางที่ 5.9 จะเห็นว่า น้ำหนักโมเลกุลของโคโตซานจากการแยกครั้งที่ 1 มีค่ามากกว่าตะกอนของโคโตซานที่ได้จากการแยกครั้งที่ 2 ที่สภาวะเดียวกัน ซึ่งถูกต้องตามหลักการคือน้ำหนักโมเลกุลสูง ๆ จะตกตะกอนออกมาก่อน

ตารางที่ 5.9 แสดงข้อมูล %yield และน้ำหนักโมเลกุลเปรียบเทียบระหว่างตะกอนที่ได้จากการตกตะกอนครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ที่สภาวะต่าง ๆ

สภาวะ	แยกครั้งที่ 1			แยกครั้งที่ 2		
	ตะกอน	% yield	น้ำหนักโมเลกุล (M_v) เฉลี่ย (ดอลตัน)	ตะกอน	% yield	น้ำหนักโมเลกุล (M_v) เฉลี่ย (ดอลตัน)
1	W_{11}	0.450	72,690	W_{12}	28.58	15,862
2	W_{21}	10.32	27,372	W_{22}	11.82	13,625
3	W_{31}	27.45	25,243	W_{32}	6.20	7,915
4	W_{41}	27.55	21,885	W_{42}	4.65	4,938

จากที่กล่าวมาข้างต้นสามารถสรุปผลของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีต่อการตกตะกอนของโคโคซาน เพื่อแยกโคโคซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 8,000 ดอลตัน ได้ดังนี้

- โคโคซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ๆ จะตกตะกอนได้ง่ายและรวดเร็วกว่าโคโคซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ดังนั้นโคโคซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงจะใช้เวลาในการตกตะกอนน้อยกว่าโคโคซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ๆ
- สามารถควบคุมการตกตะกอนของโคโคซานให้ได้น้ำหนักโมเลกุลในช่วงที่ต้องการได้ โดยควบคุมปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ และเวลาที่ใช้ในการตกตะกอน รวมทั้งสภาวะต่าง ๆ ให้เหมาะสม
- จากการทดลองข้างต้นพบว่าสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการตกตะกอนโคโคซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 8,000 ดอลตัน จากสารละลายโคโคซานที่ฉายรังสีที่สภาวะของแข็ง 60 กิโลเกรย์ และฉายรังสีต่อที่สภาวะสารละลายกรดอะซิติก 2.5 เปอร์เซ็นต์ (โคโคซาน 10 %w/v) อีก 110 กิโลเกรย์ แล้วนำมาตกตะกอนด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ พบว่าสภาวะที่เหมาะสมที่สุดสำหรับตกตะกอนโคโคซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 8,000 ดอลตัน คือสภาวะที่ 3 ดังตารางที่ 3.4 ซึ่งได้ตะกอนที่มีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยประมาณ 7,915 ดอลตัน และ %yield เท่ากับ 6.20% ซึ่งค่าน้ำหนักโมเลกุลที่ได้ใกล้เคียงกับ 8,000 ดอลตัน มากที่สุด และเมื่อทำการทดลองซ้ำที่สภาวะดังกล่าวพบว่าได้ค่าน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยดังตารางที่ 4.23 คือ 8,416 ดอลตัน และ %yield เท่ากับ 5.65% จึงสรุปได้ว่าสภาวะที่เหมาะสมที่สุดจากการทดลองนี้เพื่อแยกน้ำหนักโมเลกุลโคโคซานประมาณ 8,000 ดอลตัน คือ สภาวะที่ 3 (ตามตารางที่ 3.4) คือ มีอัตราส่วนของสารละลายโคโคซาน ต่อ น้ำกลั่น ต่อ 1%NaOH ในการแยกครั้งที่ 1 เท่ากับ 40:100:50 มิลลิลิตร ทิ้งไว้เป็นเวลา 1 วัน ทำการแยกตะกอนออกจากสารละลายส่วนบน นำสารละลายส่วนบนมาตกตะกอนอีกเป็นครั้งที่ 2 โดยเติม 1%NaOH จำนวน 40 มิลลิลิตร ทิ้งไว้เป็นเวลา 10 วัน แยกเอาตะกอนออก ล้างตะกอนที่ได้ปรับให้ pH เป็นกลาง ทำตะกอนให้แห้ง จะได้โคโคซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 8,000 ดอลตัน

5.5 ข้อเสนอนแนะ

การแยกโมเลกุลโคโคซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 8,000 พบว่า %yield ที่ได้มีค่าต่ำ เนื่องจากข้อจำกัดของวิธีทางรังสีที่มีต่อการเสื่อมสลายโคโคซาน คือจะลดน้ำหนักโมเลกุลได้ดีในช่วงน้ำหนักโมเลกุลสูง ๆ และถ้าน้ำหนักโมเลกุลที่ต้องการต่ำกว่า 10,000 น้ำหนักโมเลกุลจะลดลงได้ยาก ซึ่งอาจจะพิจารณาวิธีทางเคมีหรือวิธีทางอื่น ๆ ที่เหมาะสมเพื่อช่วยในการเสื่อมสลายของโคโคซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ๆ