

บทที่ 2

ทฤษฎี

2.1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับไคติน-ไคโตซาน

ประเทศไทยเป็นประเทศที่ร่ำรวยทางแหล่งทรัพยากรธรรมชาติ โดยเฉพาะทางด้านผลผลิตทางการเกษตร ไคติน-ไคโตซานเป็นโพลีเมอร์ชีวภาพ ที่ได้มาจากของเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมส่งออกกุ้งแช่แข็งของไทย ไคติน-ไคโตซานเป็นโพลีเมอร์ซึ่งเป็นที่น่าสนใจอย่างยิ่ง เนื่องจากลักษณะและคุณสมบัติต่างๆ ที่ทำให้ไคติน-ไคโตซานสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้อย่างมากมายหลายด้าน ไคตินเริ่มมีการค้นพบจากงานวิจัยตั้งแต่ปี ค.ศ 1799 ซึ่งเป็นงานวิจัยของนักวิจัยชาวอังกฤษ^[15] แต่ยังไม่ได้ค้นพบอย่างชัดเจน การทำวิจัยมีเรื่อยมาจนถึงปี ค.ศ.1823 โดยนักวิทยาศาสตร์ชาวฝรั่งเศสชื่อ A.Odier สามารถแยกไคตินได้เป็นครั้งแรก ปี ค.ศ. 1859 C.Rouget นักวิจัยชาวอังกฤษ สามารถสกัดไคโตซานได้โดยให้ชื่อว่า "modified chitin" ซึ่งต่อมาในปี ค.ศ. 1894 F.Hoppe-Seyler ได้ตั้งชื่อใหม่เป็น "ไคโตซาน" ไคติน-ไคโตซานโดยปกติแล้วโครงสร้างจะอยู่ในลักษณะที่เป็นโคโพลีเมอร์ ที่ประกอบกันขึ้นด้วยโมโนเมอร์ 2 ชนิด คือ ไคตินโมโนเมอร์ และไคโตซานโมโนเมอร์^[16] และมีค่าของหน่วยการทำดีอะเซทิลเลท (Degree of deacetylation) ที่แตกต่างกันออกไปเพื่อเป็นการบอกถึงคุณสมบัติของความเป็นไคตินและไคโตซาน^[16]

2.1.1 ลักษณะและคุณสมบัติของไคติน

2.1.1.1 แหล่งที่พบไคติน

ไคตินเป็นโพลีเมอร์ชีวภาพชนิดหนึ่งที่เป็นโพลีแซคคาไรด์ ซึ่งพบอยู่ทั่วไปในธรรมชาติโดยจะพบไคตินอยู่ร่วมกับโปรตีน (mucopolysaccharide) ไคตินจัดเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่พบมากเป็นอันดับสองของโลก^[2] ในปี ค.ศ. 1969 Rudall รายงานว่า จะพบไคตินที่ผนังเซลล์ของพืช โดยอยู่แทนที่เซลลูโลสหรืออยู่ร่วมกับเซลลูโลสและพบมากในเปลือกของสัตว์ทะเลที่ไม่มีกระดูกสันหลัง (marine invertebrates) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในสัตว์ซึ่งจะพบไคตินมากบริเวณโครงร่างแข็งภายนอก (Exoskeleton) ของสัตว์ในไฟลัม Arthropoda จะพบถึงร้อยละ 85 โดยเฉพาะอย่างยิ่งใน Class Crustacean เช่น กุ้ง กั้ง ปู ตลอดจนใน Class Insecta ได้แก่ ผึ้ง

แมลงสาบ เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบใน เห็ด รา และยีสต์ อีกด้วย ไคตินที่พบในแหล่งต่าง ๆ ข้างต้นจะพบในปริมาณที่ต่างกัน^[2]

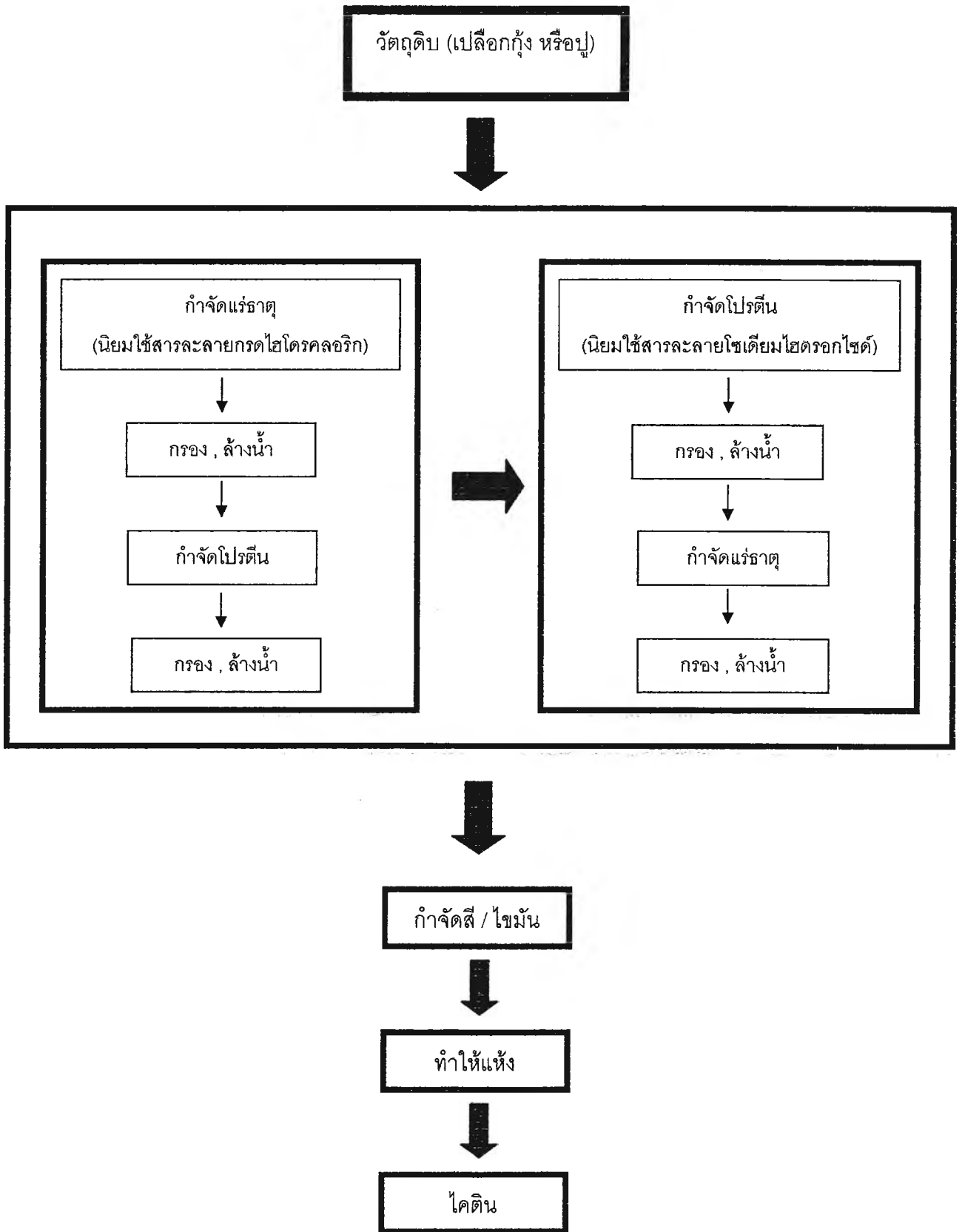
แหล่งสำคัญของไคตินที่ใช้ในการผลิตในอุตสาหกรรมคือเปลือกกุ้งและปู ซึ่งเป็นของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปอาหารทะเล โดยพบว่าจะมีไคตินในปริมาณร้อยละ 10-15^[17] เมื่อคิดเป็นปริมาณต่อปีของสิ่งเหลือทิ้งจากการผลิตและแปรรูปกุ้งและปูทั่วโลกจะให้ไคตินถึง 150 ล้านกิโลกรัม^[2]

2.1.1.2 กระบวนการแยกไคติน

การสกัดไคติน โดยทั่วไปประกอบด้วย 2 ขั้นตอนหลักคือ ขั้นตอนการกำจัดแร่ธาตุ (demineralization) และขั้นตอนการกำจัดโปรตีน (deproteinization) ทั้งสองขั้นตอนนี้สามารถทำอย่างใดอย่างหนึ่งก่อนหรือหลังก็ได้ดังแสดงในรูปที่ 2.1 โดยในขั้นตอนการสกัดแร่ธาตุ จะเป็นการกำจัดแคลเซียมคาร์บอเนตเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งนิยมใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเจือจาง อาจมีความเข้มข้นถึงร้อยละ 10 เพื่อเปลี่ยนแคลเซียมคาร์บอเนตให้เป็นแคลเซียมคลอไรด์ และในขั้นตอนการกำจัดโปรตีนนิยมใช้ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์^[18] คุณภาพของไคตินจะมีผลต่อคุณภาพของไคโตซานที่ผลิตได้ เนื่องจากไคตินเป็นสารตั้งต้นในการผลิตไคโตซาน Bough และคณะ^[19] รายงานว่า สมบัติของไคตินที่มีผลต่อการกำจัดหมู่ Acetyl ที่สำคัญ ได้แก่ ขนาดอนุภาคของไคติน (Particle size) และความหนาแน่น (density) ของไคติน โดยทั่วไปสมบัติและคุณภาพของไคติน จะขึ้นอยู่กับปัจจัยสำคัญ 2 อย่าง คือ แหล่งของไคตินหรือวัตถุดิบที่นำมาแยกไคติน และกรรมวิธีที่ใช้ในการแยกไคติน

2.1.1.3 สูตรโครงสร้างและคุณสมบัติของไคติน

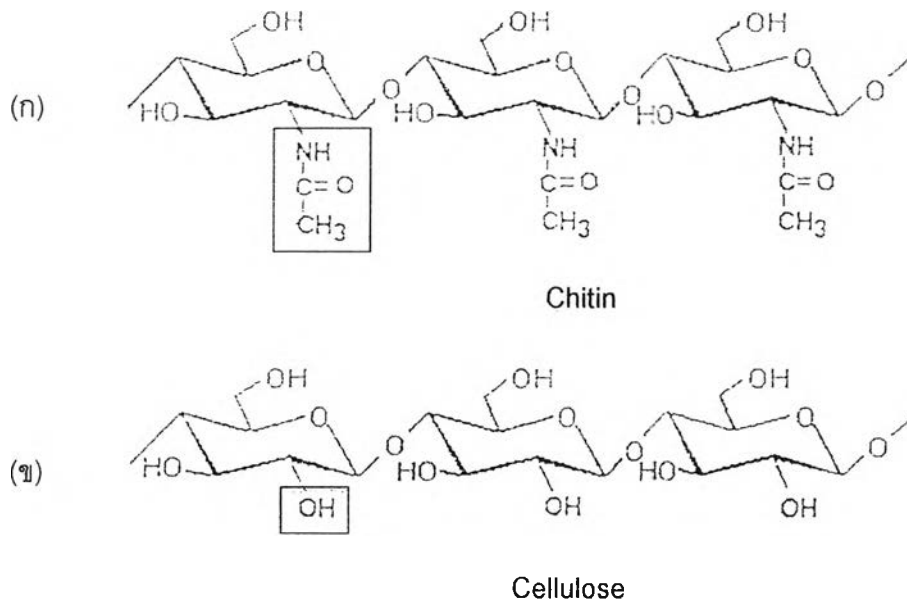
ไคตินมีชื่อทางเคมีว่า Poly- β -(1,4)-2-acetamido-2-deoxy-D-glucose มีสูตรโครงสร้างทางเคมีแสดงในรูปที่ 2.2^[20] ไคตินมีโครงสร้างคล้ายคลึงกับเซลลูโลส ซึ่งไคตินต่างจากเซลลูโลส คือที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 ของวงแหวนน้ำตาลของเซลลูโลสเป็นหมู่ hydroxyl (-OH) ในขณะที่ในไคตินเป็นหมู่ acetamido (-NHCOCH₃) นอกจากนี้คุณสมบัติทางเคมียังแตกต่างกันด้วย ในไคตินจึงเป็นโพลีเมอร์ของ N-acetylglucosamines นับพันหน่วย^[21] ซึ่งเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ β -(1,4) อย่างไรก็ตาม ไคตินในธรรมชาติ จะมีบางหน่วยที่ไม่มีหมู่ acetyl (-COCH₃) Muzzarelli^[22] รายงานว่าโดยเฉลี่ยมีประมาณร้อยละ 10 ในสายโพลีเมอร์



รูปที่ 2.1 ขั้นตอนทั่วไปของกระบวนการแยกไคติน

สูตรอย่างง่ายของไคติน คือ $(C_6H_{13}O_5N)_n$ โดยที่ n มักจะมีค่าอยู่ในช่วง 100-10,000^[17] ไคตินประกอบด้วยคาร์บอนร้อยละ 47.29 ไฮโดรเจนร้อยละ 6.45 ไนโตรเจนร้อยละ 6.89 และออกซิเจนร้อยละ 39.37^[23] และองค์ประกอบของไนโตรเจนในไคตินสามารถเปลี่ยนแปลงได้อยู่ในช่วง 5-8 เปอร์เซ็นต์^[24] ไคตินมีลักษณะเป็นสีขาว แข็ง ไม่ยืดหยุ่น

ไคติน เป็นของแข็งที่มีคุณสมบัติเป็น hydrophobic ที่สูงมาก^[25] จึงไม่สามารถละลายน้ำ ไม่ว่าจะเป็ กรดเจ็จจาง ต่างทั้งเจ็จจางและเข้มข้น อัลกอฮอล์ และตัวทำละลายอินทรีย์อื่น ๆ ทั้งนี้เนื่องจากไคตินเป็นสารโมเลกุลยาวที่ไร้ประจุ (non-electrolytic polymer) แต่สามารถละลายได้ในกรดแก่ เช่น กรดไฮโดรคลอริก กรดซัลฟูริก กรดฟอสฟอริก ความเข้มข้นร้อยละ 85 กรดไนตริกความเข้มข้นร้อยละ 50 และกรดฟอสฟอริกปราศจากน้ำ^{[23][25]} และสารละลายฟลูออไรด์อัลกอฮอล์^{[2][26]} อย่างไรก็ตาม Knorr^[2] Austin และคณะ^[26] รายงานว่า ตัวทำละลายเหล่านี้มีผลทำให้โมเลกุลของไคตินเกิดปฏิกิริยาการเสื่อมสลาย (degradation) ได้รวมทั้งการนำตัวทำละลายเหล่านี้ ไปใช้งานก็ค่อนข้างยุ่งยาก ต่อมา Austin^{[17][26]} ได้ค้นพบระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับไคติน คือ N,N-dimethylacetamide และ N-methylpyrrolidone หรือของผสมของตัวทำละลายทั้งสองที่กล่าวมา ร่วมกับ Lithium Chloride (LiCl) ปริมาณเล็กน้อยประมาณร้อยละ 5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ทำให้สามารถนำไคตินไป extrude ในอัลกอฮอล์ หรือ อะซิโตน ได้เป็นเส้นใยที่ต่อเนื่อง นอกจากนี้ยังพบว่าระบบตัวทำละลายดังกล่าวสามารถปรับสภาพของไคตินที่สูญเสียสภาพธรรมชาติ (denature) ไปแล้ว ให้กลับคืนสู่สภาพเดิมได้ โดยมีการทดลองวัดค่า specific rotation ของไคติน ก่อนและหลังละลายใน N,N-dimethylacetamide และ LiCl แล้ว พบว่าสามารถเปลี่ยนค่า specific rotation ของไคติน ให้กลับสู่ค่าเดิมได้



รูปที่ 2.2 สูตรโครงสร้างทางเคมีของ (ก) ไคติน (ข) เซลลูโลส

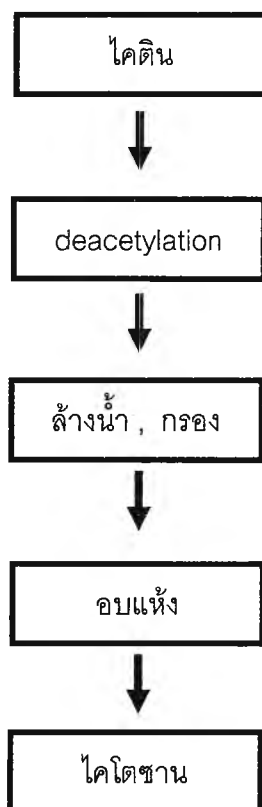
2.1.2 ลักษณะและคุณสมบัติของไคโตซาน

2.1.2.1 กระบวนการเตรียมไคโตซาน

ไคโตซาน เป็นอนุพันธ์ของไคตินที่เตรียมได้จากการตัดแปรรูปไคตินด้วยวิธีการขจัดหมู่อะซิติก ($-\text{CO}-\text{CH}_3$) หรือกระบวนการดีอะเซทิลเลชัน (Deacetylation) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 ของวงแหวนน้ำตาลของไคตินเหลือเป็นหมู่เอมิโนอิสระ ($-\text{NH}_2$) ด้วยสารละลายด่างร้อนภายใต้สภาวะที่กำหนด ซึ่งจะทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีค่าปริมาณการขจัดหมู่อะซิติก (Degree of Deacetylation, DD) เท่ากับค่าคงที่ค่าหนึ่ง บางครั้งเรียกไคโตซานว่า "Deacetylated Chitin" โดยทั่วไปกระบวนการดังกล่าวจะเกิดขึ้นไม่สมบูรณ์คือการขจัดหมู่อะซิติกจะไม่เกิดขึ้น 100 เปอร์เซ็นต์ (Fully deacetylated chitosan)^{[22][24]} โดยทั่วไปถ้าหมู่อะซิติก ถูกตัดหรือหลุดไปประมาณร้อยละ 60 ไคตินจะถูกเรียกว่าไคโตซาน^[22] Shahidi และ Synowiecki^[27] พบว่าร้อยละของผลผลิตไคโตซานที่เตรียมได้จากไคตินจะมีค่าอยู่ระหว่างร้อยละ 72.25-77.00 ขึ้นตอนทั่วไปของกระบวนการผลิตไคโตซาน แสดงดังรูปที่ 2.3

การเตรียมไคโตซานมีหลายวิธีด้วยกัน ซึ่งก็จะทำให้ได้ค่าร้อยละของการขจัดหมู่อะซิติกต่าง ๆ กันทั้งนี้ขึ้นกับชนิดของสารละลายด่างที่ใช้ ความเข้มข้นของสารละลายด่าง อุณหภูมิ และเวลาที่ใช้ โดยทั่วไปสารละลายด่างที่นิยมใช้ในการขจัดหมู่อะซิติกคือ สารละลาย

ไซเดียมไฮดรอกไซด์^[28] และสารละลายโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์^[29] ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 40-60 โดยน้ำหนัก สำหรับผลของเวลาและอุณหภูมิต่อปริมาณหมู่อะมิโนอิสระของไคโตซาน พบว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมในการขจัดหมู่อะซิติลคือ ช่วง 90-110 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียสเมื่อเวลาในการขจัดหมู่อะซิติลมากขึ้น หมู่อะมิโนอิสระจะเพิ่มขึ้นโดยจะมีปริมาณสูงสุดภายหลังจาก 5 ชั่วโมง^[30]

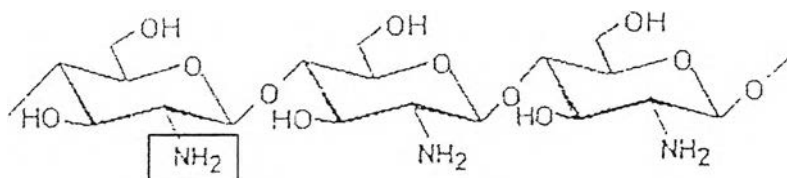


รูปที่ 2.3 ขั้นตอนทั่วไปของกระบวนการผลิตไคโตซาน

2.1.2.2 สูตรโครงสร้างและคุณสมบัติของไคโตซาน

ไคโตซาน มีชื่อทางเคมีว่า Poly- β -(1,4)-2-amino-2-deoxy-D-glucose มีสูตรโครงสร้างทางเคมีดังแสดงในรูปที่ 2.4 ซึ่งมีลักษณะเป็น Linear Polyamine โดยจะเห็นว่าไคโตซานต่างจากไคตินคือ ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 ของวงแหวนน้ำตาลของไคโตซานซึ่งเป็นหมู่ amino ($-NH_2$) ในขณะที่ไคตินเป็นหมู่ acetamido ($-NHCOCH_3$)^[27] และสูตรอย่างง่ายของไคโตซานคือ $(C_6H_{11}O_4N)_n$ ประกอบด้วยคาร์บอนร้อยละ 44.7 ไฮโดรเจนร้อยละ 6.8 และไนโตรเจน

ร้อยละ 8.7^[31] ไคโตซานมีหมู่ amino ($-NH_2$) ตรงบริเวณที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 และหมู่ไฮดรอกซิล ($-OH$) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 6 ที่ไวต่อปฏิกิริยา ไคโตซานมีสมบัติที่แตกต่างจากโพลีแซคคาไรด์ หรือสารไฮโดรคอลลอยด์ ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงอื่น ๆ คือ ไคโตซานมีสมบัติเป็น cationic polyelectrolyte เนื่องจากไคโตซานมีหมู่ amino อิสระ ($-NH_2$) ที่ตำแหน่งคาร์บอนตัวที่ 2 ดังกล่าว ทำให้ไคโตซานสามารถละลายได้ในสารละลายกรด ได้แก่ สารละลายกรดอินทรีย์ต่าง ๆ ซึ่งอ่อนมาก ๆ เช่น กรดอะซิติก (acetic) และกรดฟอร์มิก (formic) เป็นต้น^[24]



Chitosan

รูปที่ 2.4 สูตรโครงสร้างทางเคมีของไคโตซาน

สำหรับกรดไฮโดรคลอริก ไคโตซานสามารถละลายได้เมื่อมีการให้ความร้อน และการกวน^[25] สารละลายกรดอ่อนชนิดอื่น ๆ ที่ไคโตซานสามารถละลายได้มีดังนี้ กรดโพรพิโอนิก (propionic) กรดมาโลนิก (malonic) กรดซัคซินิก (succinic) กรดอะดิพิก (adipic) กรดแลคติก (lactic) กรดไพรูวิก (pyruvic) กรดมาลิก (malic) กรดทาร์ทริก (tartaric) และกรดซิตริก (citric)^[32] Knorr^[2] รายงานว่าตัวทำละลายที่ดีของไคโตซาน คือ สารละลายกรดฟอร์มิก ความเข้มข้นตั้งแต่ร้อยละ 0.2-100 โดยปริมาตร นอกจากนี้ไคโตซานยังสามารถละลายได้ใน สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเจือจาง สารละลายกรดไนตริกเจือจาง และละลายได้เล็กน้อยใน สารละลายกรดฟอสฟอริก ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยปริมาตร แต่ไม่ละลายในตัวทำละลายที่เป็นกลางหรือเป็นด่าง ได้แก่ ตัวทำละลายอินทรีย์โดยทั่วไป เช่น dimethylformamide และ dimethyl sulfoxide รวมทั้งสารละลายกรดซัลฟูริก ไม่ว่าที่ความเข้มข้นใดที่อุณหภูมิห้อง^[2] ไม่สามารถละลายได้ในน้ำที่มี ค่าความเป็นกรดด่าง (pH) สูงกว่า 6.5^[33] เมื่อละลายไคโตซานใน สารละลายกรดอ่อนจะทำให้ได้สารละลายไคโตซานความหนืดต่าง ๆ กันขึ้นกับน้ำหนักโมเลกุล Filar and Wirick^[32] แบ่งความหนืด (viscosity) ของสารละลายไคโตซานไว้ 3 ระดับ คือ

ความหนืดสูง จะมีค่าความหนืดมากกว่าหรือเท่ากับ 1000 เซนติพอยส์ วัดจากสารละลายไคโตซานความเข้มข้นร้อยละ 1 ในกรดอะซิติกความเข้มข้นร้อยละ 1

ความหนืดปานกลาง จะมีค่าความหนืดอยู่ในช่วง 100-250 เซนติพอยส์ วัดจากสารละลายไคโตซานความเข้มข้นร้อยละ 1 ในกรดอะซิติกความเข้มข้นร้อยละ 1

ความหนืดต่ำ จะมีค่าความหนืดอยู่ในช่วง 25-70 เซนติพอยส์ วัดจากสารละลายโคโตซานความเข้มข้นร้อยละ 2 ในกรดอะซิติกความเข้มข้นร้อยละ 2

ซึ่งตัวอย่างของโคโตซานที่มีค่าความหนืดต่างกัน จะมีองค์ประกอบทางเคมีต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 2.1

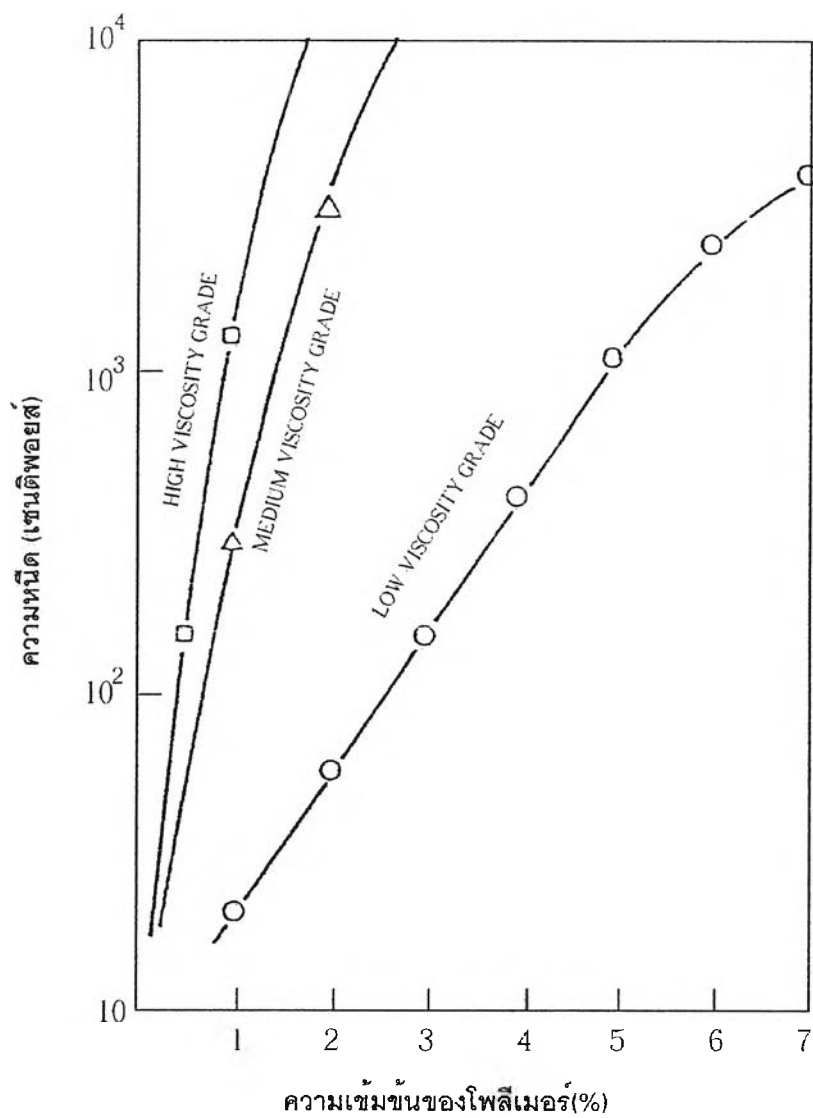
ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบทางเคมีของตัวอย่างโคโตซานที่ระดับความหนืดต่าง ๆ^[32]

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

a 1% โคโตซานในกรดอะซิติกความเข้มข้นร้อยละ 1

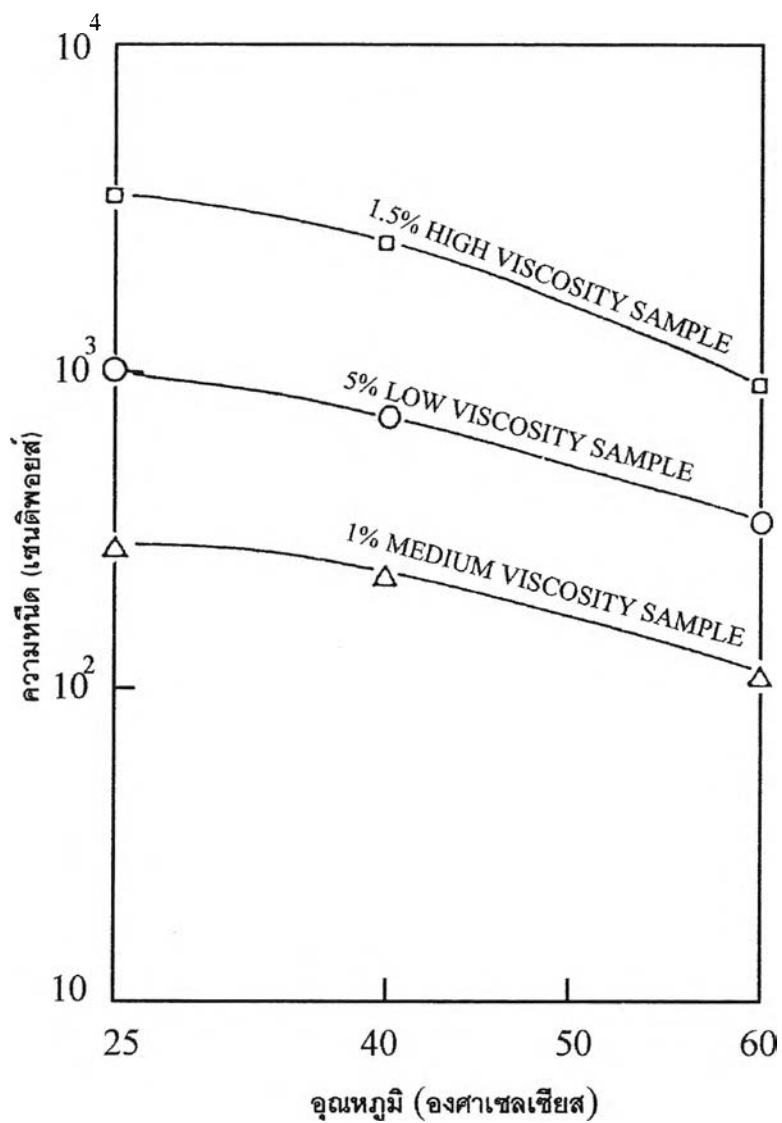
b 2% โคโตซานในกรดอะซิติกความเข้มข้นร้อยละ 2

ค่าความหนืดของโคโตซานทั้ง 3 ชนิด เป็นค่าที่ขึ้นกับความเข้มข้นของโพลีเมอร์และอุณหภูมิ ซึ่ง Filar and Wirick^[32] เสนอผลของความเข้มข้นของโพลีเมอร์และอุณหภูมิต่อค่าความหนืด ดังแสดงในรูปที่ 2.5 และ 2.6 ตามลำดับ ซึ่งพบว่าความหนืดของสารละลายโคโตซานจะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของโพลีเมอร์เพิ่มขึ้น และความหนืดของสารละลายโคโตซานจะลดลงเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น ในโคโตซานทั้ง 3 ชนิด ค่าความหนืดสามารถปรับให้เหมาะสมกับการใช้งานด้านต่าง ๆ ได้ โดยการควบคุมปัจจัยต่าง ๆ สำหรับในกระบวนการต่าง ๆ ช่วงของค่าความหนืดจะอยู่ในช่วง 10-5,000 เซนติพอยส์^[16]



รูปที่ 2.5 ผลของความเข้มข้นของโพลีเมอร์ ต่อค่าความหนืดของสารละลายโคโตซาน 3 ชนิด ที่มีค่าเป็นกรดต่างเท่ากับ 4 และอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส^[32]





รูปที่ 2.6 ผลของอุณหภูมิต่อค่าความหนืดของสารละลายไดโตซาน 3 ชนิด ที่มีความเป็นกรดต่างเท่ากับ 4 และละลายในกรดอะซิติก^[32]

สำหรับคุณสมบัติความเป็นประจุบวกก็เป็นสิ่งที่น่าสนใจมากสำหรับไคโตซาน ซึ่งไคโตซานมีคุณสมบัติความเป็นประจุบวกโดยธรรมชาติในสารละลายกรด ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่มีความเกี่ยวข้องกับโพลีเมอร์อื่น ๆ ซึ่งโดยปกติจะมีสภาพเป็นกลาง หรือมีประจุเป็นลบ ทำให้ไคโตซานสามารถนำไปใช้สำหรับงานด้านการบำบัดน้ำเสีย ประจุบวกของไคโตซานมีปฏิสัมพันธ์กับของแข็งอินทรีย์ และผิวของของแข็ง ซึ่งโดยปกติแล้วจะเป็นประจุลบ ความเป็นประจุบวกยังช่วยในการควบคุมความสามารถในการละลายด้วย การนำไคโตซานไปใช้ประโยชน์นั้นจะพิจารณาจากหัวใจหลักในเรื่องของการละลายน้ำ การควบคุมความสามารถของการละลายจึงมีความสำคัญในอันดับแรกสำหรับการนำไปใช้ประโยชน์ โดยทั่วไปความสามารถในการละลายของ heteroglucans ได้รับอิทธิพลจากข้อไฟฟ้าและขนาดของโมโนเมอร์ การกระจายของโมโนเมอร์ในสายโซ่ ความยืดหยุ่นของสายโซ่ ความเป็นกึ่งก้านสาขาของสายโซ่ ความหนาแน่นของประจุ และน้ำหนักโมเลกุลของโพลีเมอร์

2.2 การเหนี่ยวนำให้เกิดการเสื่อมสลายของไคโตซานด้วยรังสี

เนื่องจากไคโตซานเป็นโพลีเมอร์เชิงเส้นที่ต่อกันเป็นสายโซ่ที่ยาว ส่งผลให้ไคโตซานมีน้ำหนักโมเลกุลสูงซึ่งเป็นปัจจัยที่สำคัญมากสำหรับการนำไคโตซานไปใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ การทำให้เกิดการเสื่อมสลาย (Degradation) ของไคโตซานเป็นหนทางที่จะทำให้ได้ไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำลงรวมทั้งเป็นการเตรียมโอลิโกไคโตซาน (Oligochitosan) ซึ่งเป็นไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ซึ่งมีส่วนของ glucosamine หรือค่า $DP = 8 - 16$ ^[12] กระบวนการเสื่อมสลายของไคโตซานสามารถทำได้ทั้งวิธีทางเคมี โดยใช้ Oxidative agent หรือจะเป็นวิธีทางชีววิทยา โดยการใช้เอนไซม์ แต่ทั้งสองวิธีดังกล่าวมีข้อเสียหลายประการ คือสำหรับการใช้วิธีทางเคมีผลิตที่ได้ต่ำและมีการปนเปื้อนของสารเคมีด้วย ส่วนวิธีทางชีววิทยาเป็นวิธีที่เข้าร่วมทั้งผลิตที่ต่ำ การใช้รังสีในการเหนี่ยวนำให้เกิดการเสื่อมสลาย (Radiation Degradation) จึงเป็นทางเลือกที่น่าสนใจสำหรับการเตรียมไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำตามที่ต้องการ เนื่องจากการใช้รังสีเป็นวิธีที่ช่วยในการประหยัดพลังงาน สะดวกรวดเร็ว ให้ผลที่มีประสิทธิภาพ ไม่มีการปนเปื้อนในสารตัวอย่างไคโตซาน รวมทั้งไม่ส่งผลกระทบต่อสภาวะแวดล้อม

2.2.1 ต้นกำเนิดรังสี

ต้นกำเนิดรังสีที่ใช้สำหรับงานวิจัยในด้านการปรับปรุงคุณสมบัติของโพลีเมอร์มีหลายแบบ ได้แก่ ต้นกำเนิดรังสีแกมมาจากโคบอลต์-60 (Co-60) ซึ่งได้จากการกระตุ้นโคบอลต์-59 (Co-59) ด้วยนิวตรอนในเครื่องปฏิกรณ์ โคบอลต์-60 สลายตัวให้รังสีแกมมา 2 พลังงาน คือ 1.33 และ 1.17 MeV ซีเซียม-137 (Cs-137) ซึ่งได้ผลจากปฏิกิริยาฟิชชันในเครื่องปฏิกรณ์ ซีเซียม-137 สลายตัวให้พลังงานรังสีแกมมา 0.662 MeV ต้นกำเนิดรังสีเอกซ์, Electron Beam จาก Electron Accelerators เป็นต้น สำหรับต้นกำเนิดรังสีแกมมาจากโคบอลต์-60 เป็นต้นกำเนิดรังสีที่นิยมใช้สำหรับงานทางด้านปรับปรุงคุณสมบัติของวัสดุ เนื่องจากมีพลังงานและอำนาจในการทะลุทะลวงสูง^[34]

2.2.2 การเสื่อมสลายของโพลีเมอร์โดยการเหนี่ยวนำโดยรังสี^[5]

พื้นฐานของทฤษฎีการเสื่อมสลายโดยรังสีของโพลีเมอร์ คือการแตกหักของสายโซ่ (degradation) ซึ่งมีลักษณะการเกิดเป็นแบบสุ่ม (random process) ไปตามสายโซ่ของโพลีเมอร์

- ความหนาแน่นของการเสื่อมสลาย (The degradation density, p)

ความหนาแน่นของการเสื่อมสลาย หมายถึง ส่วนของหน่วยโมโนเมอร์รวมที่เสื่อมสลายไปโดยปริมาณรังสีที่ดูดกลืน (radiation absorbed dose) และ

$$p = p_0 D$$

2.1

เมื่อ p_0 คือสัดส่วนของหน่วยของสายโซ่หลักที่เสื่อมสลายไปต่อหน่วยปริมาณรังสี และสำหรับตัวอย่างโพลีเมอร์ที่ประกอบด้วยหน่วยของโมโนเมอร์ เท่ากับ U_0 หน่วย จำนวนหน่วยที่เสื่อมสลายไปจะเท่ากับ pU_0

- ผลที่เกิดจากการเสื่อมสลายของโพลีเมอร์โดยรังสี (Radiation degradation yield, G_d)

Radiation degradation yield (G_d) คือจำนวนหน่วยของสายโซ่หลักที่เสื่อมสลายไปต่อปริมาณพลังงานรังสีที่ดูดกลืนไว้ 100 eV

p_0 สามารถแสดงในรูปของ G_d ได้ ถ้าปริมาณรังสีที่ดูดกลืนแสดงในหน่วย kGy ($1 \text{ kGy} = 0.1 \text{ Mrad} = 6.24 \times 10^{18} \text{ eV/g}$ or $9.24 \times 10^{18} \text{ w} \cdot 1.66 \times 10^{-24} = 1.04 \times 10^{-5} \text{ w eV}$ ต่อ

หน่วยของสายโซ่โพลิเมอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลเป็น w พลังงานที่ถูกดูดกลืนไว้จะทำให้เกิดหน่วยที่เกิดการเสื่อมสลายหรือ p_0 ซึ่งตรงตามคำจำกัดความ ดังนั้นพลังงาน 100 eV จะทำให้เกิดหน่วยที่เสื่อมสลายเท่ากับ $100p_0/1.04 \times 10^{-5} w$ eV จะได้

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

- การคำนวณค่า Radiation degradation yield (G_d)^{[5] [35]}

Radiation degradation yield (G_d) คือจำนวนหน่วยของสายโซ่หลักที่เสื่อมสลายไปต่อปริมาณพลังงานรังสีที่ดูดกลืนไว้ 100 eV ซึ่งสามารถคำนวณได้ตามสมการ

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

เมื่อ M_n คือ น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยของโพลิเมอร์คิดในรูปจำนวน (the number average molecular weight) เริ่มต้น

M_n' คือ น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยของโพลิเมอร์คิดในรูปจำนวน (the number average molecular weight) หลังจากฉายรังสี

D คือ ปริมาณรังสีที่ดูดกลืน (Radiation absorbed dose, kGy)

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

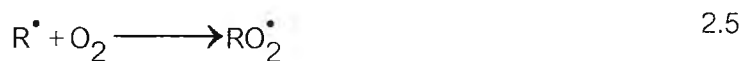
การฉายรังสีในสภาพที่เป็นของแข็งพบว่ามีความสัมพันธ์กับ G_d เท่ากับ 1.10 ^[36] และโคโคซาน 10 เปอร์เซ็นต์ในสารละลายกรดอะซิติก 2.5 เปอร์เซ็นต์ มีค่า G_d เท่ากับ 1.7 ^[11] ค่า G_d ในสารละลายโคโคซานที่สูงขึ้นกว่าในสภาพของแข็งนี้สามารถกำหนดได้โดยการกระจายตัวของอนุมูลที่ว่องไวจากปฏิกิริยา radiolysis ที่เกิดขึ้นเนื่องจากสารละลายที่ใช้

2.2.3 ผลของรังสีที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีของโคโคซาน

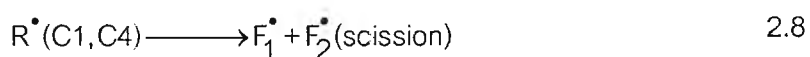
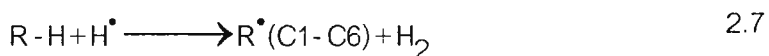
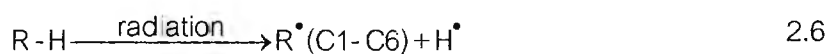
เมื่อฉายรังสีโพลิเมอร์หรือโคโคซานในสภาวะของแข็ง กลไกทางกายภาพมีลักษณะเช่นเดียวกับโมเลกุลอินทรีย์อย่างง่ายทั่วไป คือ เกิดแตกตัวเป็นไอออน (ionization) และเกิดสภาวะกระตุ้น (excitation) ของโมเลกุลโพลิเมอร์ ซึ่งผลที่เกิดขึ้นโดยตรง (direct effect) เกิดขึ้นในช่วงเวลาต่ำกว่า 10^{-2} วินาที ทั้งไอออนและผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากสภาวะกระตุ้น จะทำให้

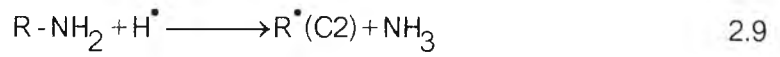
เกิดกลไกการตัดขาดของสายโซ่ (scission) ของพันธะเคมีภายในระยะเวลาสั้น ๆ คือ 10^{-6} วินาที ผลทำให้เกิดอะตอมของไฮโดรเจน และอนุมูลอิสระที่คาร์บอนตำแหน่งกลาง ปฏิริยาเคมีที่เกิดขึ้นนั้นขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย ได้แก่ ธรรมชาติของโพลีเมอร์ สภาวะแวดล้อม และสภาวะของการฉายรังสี เช่น อัตราปริมาณรังสี โดยปกติ การเปลี่ยนแปลงทางเคมีที่สำคัญเนื่องจากการเหนี่ยวนำโดยรังสี คือการเกิดโครงร่างแหสามมิติ (crosslinking) และการเกิดการตัดของสายโซ่หลัก (main chain scission) หรือ degradation ซึ่งการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวจะนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของโพลีเมอร์^[37]

การเกิด degradation โดยการฉายรังสีทำให้เกิดการตัดของสายโซ่แบบสุ่ม ทำให้น้ำหนักโมเลกุลของโคโตะซานลดลง เนื่องจากการแตกออกของสายโซ่ซึ่งเป็นผลจากการเสื่อมสลายโดยทั่วไปของโพลีเมอร์ ในบริเวณ morphology ของโพลีเมอร์จะมีกระบวนการที่ซับซ้อนซึ่งในบริเวณดังกล่าวจะเกิด crosslinking ของโพลีเมอร์ และสำหรับอนุมูลที่มีชีวิตยาวจะเกิดขึ้นในบริเวณ crystalline จะสามารถเปลี่ยนไปเป็นเปอร์ออกไซด์ได้อย่างช้า ๆ เนื่องจากการรวมตัวของออกซิเจนกับอนุมูลอิสระของโพลีเมอร์ ดังปฏิกิริยาที่ 2.4 และ 2.5



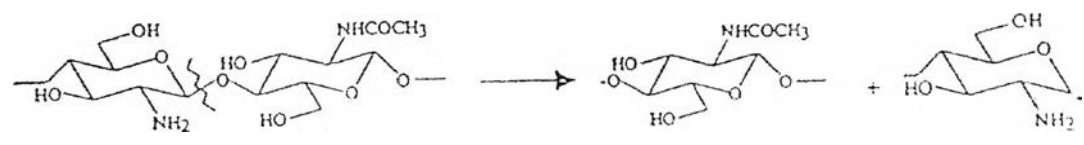
ทำให้เกิดปฏิกิริยาของการเสื่อมสลายขึ้น ดังนั้นการเกิดการเสื่อมสลายของโพลีเมอร์จะเกิดขึ้นในบริเวณที่มี crystalline สูง และฉายรังสีที่อัตราปริมาณรังสีต่ำ โดยฉายรังสีในสภาวะที่มีออกซิเจนหรือในอากาศ^[37] การเสื่อมสลายของโพลีเมอร์ในสภาพของแข็งเกิดขึ้นเนื่องจาก direct และ indirect effect ของปฏิกิริยา oxidation การเสื่อมสลายของโคโตะซานจะกำหนดโดย direct effect ของรังสีมากกว่า indirect effect ของปฏิกิริยา oxidation^[8] กลไกการเสื่อมสลายของโคโตะซานที่ฉายรังสีในสภาวะของแข็ง สามารถแสดงได้ดังนี้^[38]





- R-H และ R-NH₂ คือ chitosan macromolecule
- R[•] (Cn) คือ chitosan macroradical ที่ตำแหน่งอะตอมคาร์บอน Cn
- F₁[•], F₂[•] คือ fragments ของสายโซ่หลัก หลังจากเกิด scission

จากกลไกดังกล่าวมีเพียงส่วนของ macroradical (ซึ่งอยู่ที่ตำแหน่ง C1 และ C4) ที่จะเปลี่ยนรูปและนำไปสู่การเกิดการตัดของสายโซ่ที่ตำแหน่ง 1-4 glycosidic bond ซึ่งถือว่าการตัดของสายโซ่ที่สมบูรณ์ สำหรับปฏิกิริยาของ macroradical อื่น ๆ เช่นการหลุดออกของ amino group ในปฏิกิริยาที่ 6 จะไม่นำไปสู่การเกิดการตัดของสายโซ่ การตัดของสายโซ่ที่พันธะ 1-4 glycosidic bond ของไคตินไคโตซานโคโพลีเมอร์ แสดงดังรูปที่ 2.7 ^[38]



รูปที่ 2.7 แสดงกลไกการเกิดการตัดของสายโซ่หลักของไคติน-ไคโตซาน

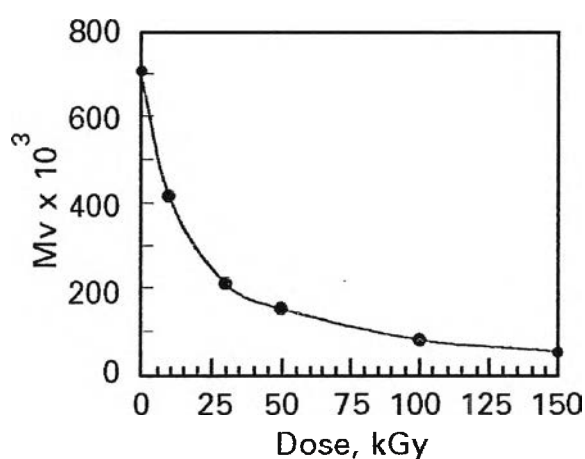
นอกจากนี้ยังมีการเปลี่ยนแปลงสีในไคโตซานที่ผ่านการฉายรังสีอีกด้วย เนื่องจากการเกิดพันธะคู่ขึ้นเนื่องจากการฉายรังสี^[37] จากปกติไคโตซานสีเหลืองจะเปลี่ยนไปเป็นสีเหลืองเข้มขึ้นจนถึงสีส้มหรือสีน้ำตาล ^{[8][37][39]} ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปริมาณรังสีที่ฉายและสภาวะที่ฉายรังสี การฉายรังสีทำให้เกิดการทำลายโครงสร้างบริเวณผิวของไคโตซานแสดงดังรูปที่ 2.8^[39]



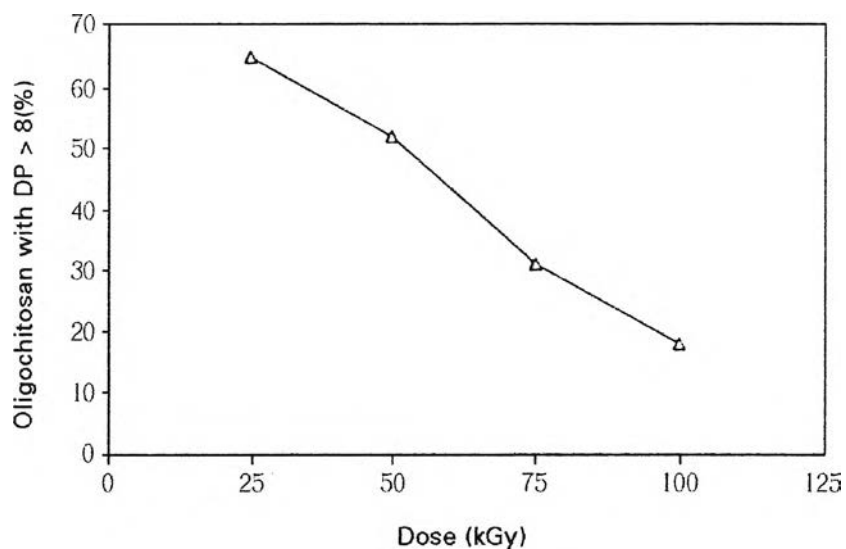
รูปที่ 2.8 ภาพถ่ายด้วย SEM photograph ของไคโตซานที่ไม่ได้ฉายรังสี(ซ้าย)และไคโตซานที่ฉายรังสีแกมมาที่ปริมาณ 50 kGy (ขวา)^[39]

2.2.4 ผลของรังสีที่มีต่อน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซาน

การเกิดกลไกการเสื่อมสลายเนื่องจากรังสีโดยการแตกหักของสายโซ่หลักของไคโตซานดังกล่าวข้างต้น ซึ่งมีลักษณะการเกิดเป็นแบบสุ่ม ทำให้สายโซ่ของไคโตซานสั้นลงส่งผลให้น้ำหนักของโมเลกุลลดลง จากการฉายรังสีไคโตซาน ซึ่งมีค่า%DD เท่ากับ 80% และ Viscosity average molecular weight (M_v) เริ่มต้นเท่ากับ 710,000 ดอลตัน โดยฉายรังสีสารละลายไคโตซาน 10%(w/v) ในสารละลายกรดอะซิติก 5%(w/v) พบว่าน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานลดลงแสดงดังรูปที่ 2.9 และความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโพลิไคโตซานที่มี DP มากกว่า 8 กับปริมาณรังสีที่ฉาย แสดงดังรูปที่ 2.10^[6]

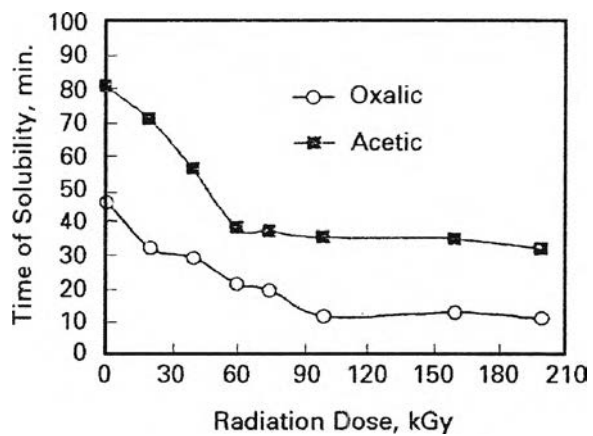


รูปที่ 2.9 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Viscosity average molecular weight (M_v) ของไคโตซานกับปริมาณรังสีที่ฉาย^[6]

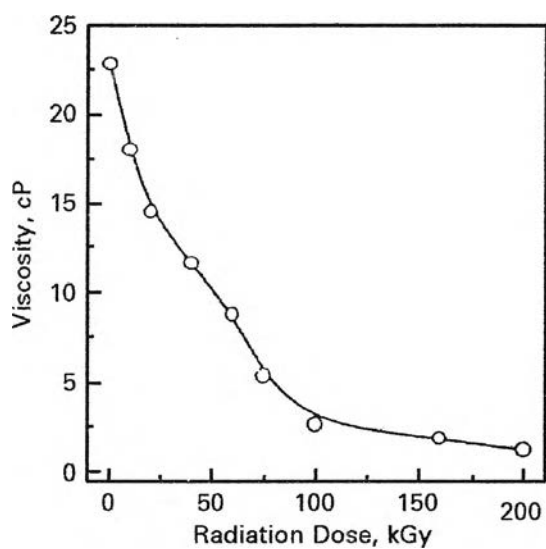


รูปที่ 2.10 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโอลิโกไคโตซานที่มีค่า DP>8 กับปริมาณรังสีที่ฉาย^[6]

เมื่อน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานลดลงส่งผลให้คุณสมบัติการละลายสูงขึ้น ทำให้เวลาที่ใช้ในการละลายไคโตซานในสารละลายกรดอะซิติก และกรดออกซาลิกลดลง^[40] แสดงดังรูปที่ 2.11 นอกจากนี้ปริมาณรังสีที่ฉายยังมีผลต่อความหนืดของสารละลายไคโตซานด้วยการทดสอบไคโตซาน 0.75% ในสารละลายกรดอะซิติก 0.0625 โมลาร์^[40] แสดงดังรูปที่ 2.12



รูปที่ 2.11 แสดงผลของปริมาณรังสีกับความสามารถในการละลายของไคโตซานในกรดอะซิติกและกรดออกซาลิก^[40]



รูปที่ 2.12 แสดงการเปลี่ยนแปลงค่าความหนืดของสารละลายไคโตซานเนื่องจากการฉายรังสีไคโตซานในสถานะของแข็ง^[40]

2.3 น้ำหนักโมเลกุล (Molecular Weight) ของโคโตะซาน

2.3.1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับน้ำหนักโมเลกุลของโพลีเมอร์^{[5] [41]}

ขณะที่น้ำหนักโมเลกุลของโมเลกุลอินทรีย์ทั่วไปสามารถกำหนดได้เป็นค่าน้ำหนักโมเลกุลเดี่ยว แต่สำหรับโพลีเมอร์นั้นไม่สามารถบอกน้ำหนักโมเลกุลเป็นค่าเดี่ยวได้ น้ำหนักโมเลกุลของโพลีเมอร์สามารถแสดงได้ในลักษณะเชิงสถิติ ซึ่งแสดงเป็นค่าเฉลี่ยของการกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุล (Molecular Weight Distribution, MWD)

ขนาดโมเลกุลของโพลีเมอร์ขึ้นอยู่กับ จำนวนหน่วยที่ซ้ำ ๆ กัน ซึ่งแสดงค่าในรูปของดีกรีของโพลีเมอไรเซชัน (Degree of Polymerization , DP) เช่นมีหน่วยที่ซ้ำ ๆ กัน 1,000 หน่วย ในโมเลกุลโพลีเมอร์ ค่า DP จะเท่ากับ 1,000 หรืออีกนัยหนึ่งค่า DP จะเป็นค่าที่สัมพันธ์กับน้ำหนักโมเลกุลของโพลีเมอร์ คือ

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

เมื่อ M = น้ำหนักโมเลกุลของโพลีเมอร์
 DP = Degree of Polymerization
 m = น้ำหนักโมเลกุลของโมโนเมอร์

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

- (1) โพลีเมอร์โมเลกุลเดี่ยวมีหน่วยที่ซ้ำ ๆ กัน คือ i หน่วยในสายโซ่ ซึ่งเรียกว่าค่า DP เท่ากับ i น้ำหนักโมเลกุลของแต่ละสายโซ่เท่ากับ M_i
- (2) จำนวนโมเลกุลรวมที่มีน้ำหนักโมเลกุลเป็น M_i ในตัวอย่างของโพลีเมอร์ กำหนดให้เป็น N_i และ number fraction ของโมเลกุลเรียกว่า n_i ($n_i = N_i / \sum N_i$)
- (3) มวลรวมของโมเลกุลขนาด i ในตัวอย่างให้เป็น W_i และ w_i คือ weight fraction ของโมเลกุลนี้ ($w_i = W_i / \sum W_i$)
- (4) ข้อจำกัดของผลรวมทุกค่าคือ $i = 1$ และ $i = \infty$

น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยของโพลีเมอร์คิดในรูปของจำนวน (Number average molecular weight, M_n) แสดงดังสมการ

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

น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยของโพลีเมอร์คิดในรูปของน้ำหนัก (Weight average molecular weight, M_w) แสดงดังสมการ

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

เมื่อ

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

จะได้

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

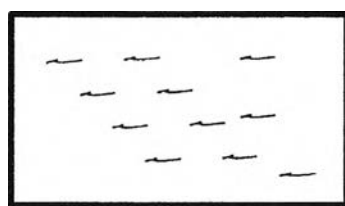
และจะได้

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

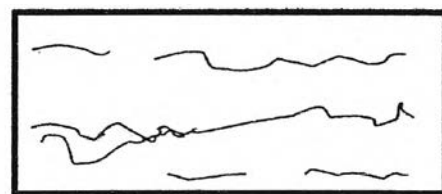
- นอกจากนี้ น้ำหนักโมเลกุลของโพลีเมอร์สามารถหาได้จากค่าความหนืดเฉลี่ย ซึ่งเรียกว่าน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยของโพลีเมอร์คิดในรูปของความหนืด (Viscosity average molecular weight, M_v) แสดงดังสมการ^[42]

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

สารประกอบทางเคมีอย่างง่ายโดยทั่วไปจะมีน้ำหนักโมเลกุลเป็นค่าเดียว เรียกว่า mono-dispersed system สำหรับโพลีเมอร์เป็นโมเลกุลที่ประกอบด้วยน้ำหนักโมเลกุลหลายค่า รวมกันอยู่ เรียกว่า poly-dispersed system ซึ่งแสดงดังรูปที่ 2.13 รูปแบบของการกระจายตัว เป็นความเข้าใจพื้นฐานของน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย ตัวอย่างน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยเท่ากับ 40,000 ซึ่งน้ำหนักโมเลกุลอาจอยู่ในช่วง 30,000-50,000 หรืออยู่ในช่วง 1,000-100,000 ก็ได้ การกระจายของน้ำหนักโมเลกุลเป็นกุญแจสำคัญที่จะเป็นตัวบอกถึงค่าต่ำสุดและค่าสูงสุดของน้ำหนักโมเลกุล การหาการกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุลหาได้จากค่า M_w และ M_n ที่หามาได้จากวิธีที่ต่างกัน 2 วิธี แล้วคำนวณหา M_w/M_n อัตราส่วนนี้คือ Polydispersity index ซึ่งจะเป็นปัจจัยที่บ่งบอกความกว้างของการกระจายตัว คือถ้าน้ำหนักโมเลกุลมีการกระจายกว้าง ค่า M_w/M_n จะเพิ่มขึ้น การกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุลสามารถแสดงได้ในรูปที่ 2.14 ซึ่งเป็นความสัมพันธ์ของน้ำหนักโมเลกุลในแนวแกน x และจำนวนโมเลกุลในแนวแกน y จะเห็นว่า M_w มีค่ามากกว่า M_n และ M_v และ M_v มีค่าอยู่ในช่วงของ M_w และ M_n ซึ่งใกล้เคียงกับ M_w มากกว่า M_n ($M_n < M_v \leq M_w$) และกราฟรูปที่ 2.15 แสดงการกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุลในตัวอย่าง 2 ตัวอย่าง ที่มี M_n เท่ากันแต่การกระจายตัวต่างกัน ค่า M_w/M_n เท่ากับ 2 แสดงว่าโพลีเมอร์มีการกระจายตัวแบบปกติ ถ้า M_w/M_n มีค่าน้อยกว่า 2 แสดงว่าโพลีเมอร์มีการกระจายตัวแคบ และถ้า M_w/M_n มีค่ามากกว่า 2 แสดงว่าโพลีเมอร์มีการกระจายตัวกว้าง^[5]

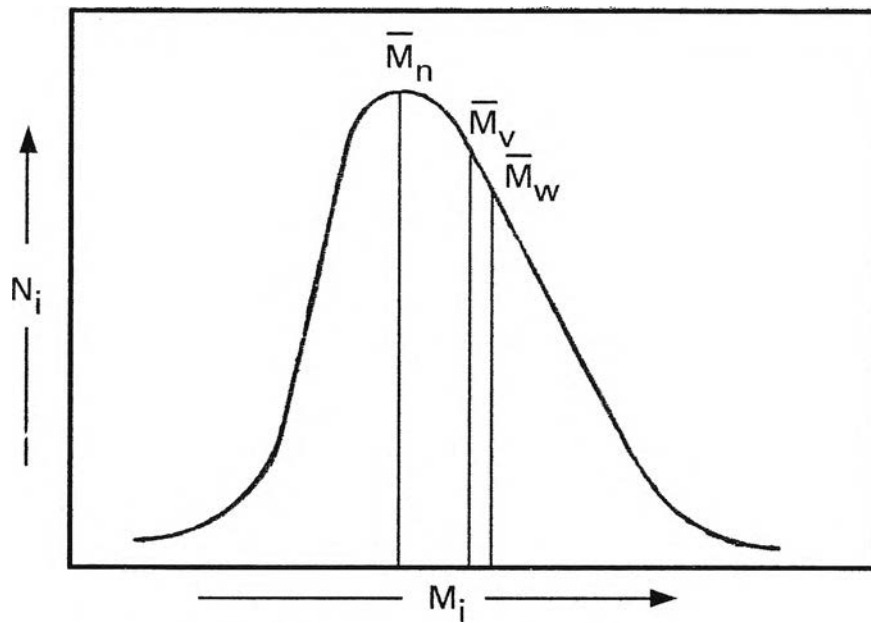


Mono - Dispersed System

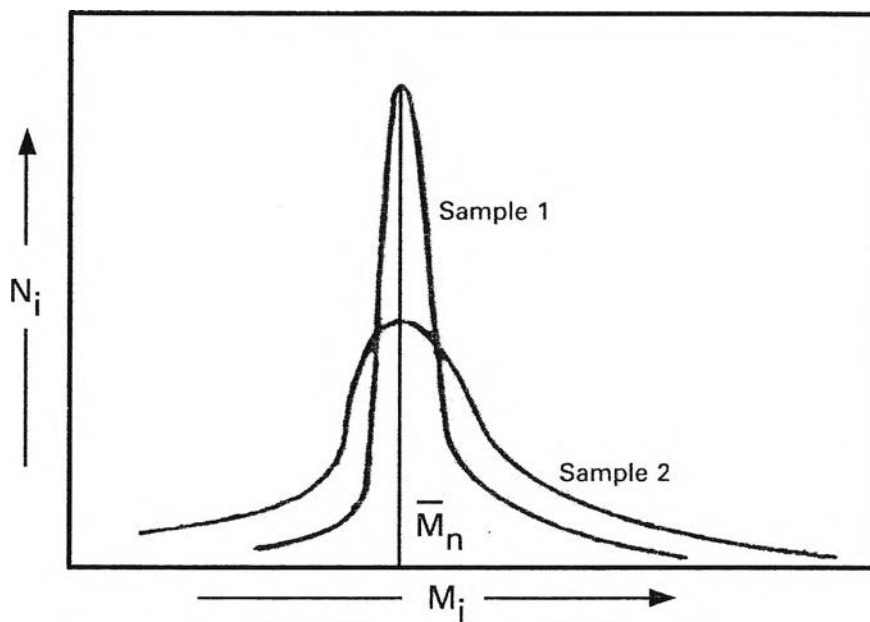


Poly - Dispersed System

รูปที่ 2.13 แสดงความแตกต่างของ mono-dispersed system และ poly-dispersed system



รูปที่ 2.14 การกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุลสำหรับ hypothetical polydispersed sample



รูปที่ 2.15 การกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุลของตัวอย่างโพลีเมอร์ 2 ชนิดที่มีค่า number average molecular weight (M_n) เท่ากันแต่มีการกระจายตัวต่างกัน

2.3.2 ความหนืด (Viscosity) ของสารละลายโพลีเมอร์

ในสารละลายโพลีเมอร์จะมีความหนืด เนื่องจากในสารละลายโพลีเมอร์เคลื่อนที่อย่างช้า ๆ ซึ่งช้ามากกว่าโมเลกุลของตัวทำละลาย แต่การเคลื่อนที่อย่างช้า ๆ ของโพลีเมอร์ทำให้สารละลายทั้งหมดเคลื่อนที่ช้าตามไปด้วยส่งผลให้สารละลายทั้งหมดมีความหนืดมากขึ้น ซึ่งสามารถอธิบายเพื่อให้เข้าใจง่ายคือเมื่อเราขับรถอย่างช้าในช่องทางขวาของถนนทางหลวง ทำให้การจราจรทั้งหมดบนถนนเคลื่อนที่ช้าลงไปด้วย ก็เช่นเดียวกับการเคลื่อนที่อย่างช้า ๆ ของโพลีเมอร์ในทิศทางที่มีการเคลื่อนที่อย่างรวดเร็วของตัวทำละลายที่มีการไหล ดังนั้นสารละลายทั้งหมดจะเคลื่อนที่อย่างช้า ๆ และทำให้เกิดความหนืดนั่นเอง และนอกเหนือไปจากการที่โพลีเมอร์ไปขัดขวางการเคลื่อนที่ของตัวทำละลายดังกล่าวแล้ว โพลีเมอร์ยังไปทำให้แรงภายในโมเลกุล (intermolecular forces) ต่ำลงไปด้วย ถ้ามีการกระทบกันเกิดขึ้นในอันตรกิริยาระดับ 2 (secondary interaction) ระหว่างโพลีเมอร์และโมเลกุลตัวทำละลาย โมเลกุลเล็กๆ ของตัวทำละลายสามารถไปผูกติดร่วมกับโพลีเมอร์ได้ เมื่อเหตุการณ์ดังกล่าวเกิดขึ้น โมเลกุลของตัวทำละลายจะเคลื่อนที่ไปกับโพลีเมอร์ด้วยความเร็วที่ช้าลงเช่นเดียวกับโมเลกุลโพลีเมอร์ ซึ่งเปรียบเทียบกับดาวเคราะห์น้อยที่วิ่งหรือพุ่งผ่านอวกาศ และถูกจับไว้โดยแรงโน้มถ่วงของดาวเคราะห์ดวงใหญ่ ๆ และกลายเป็นบริวารของดาวเคราะห์ดวงใหญ่นั้นเอง

ความข้นหรือความหนืดของสารละลายนี้สามารถช่วยในการประมาณค่าน้ำหนักโมเลกุลได้ โดยอาศัยข้อเท็จจริงที่ว่าน้ำหนักโมเลกุลสูง ทำให้ความหนืดของโพลีเมอร์สูงตามไปด้วย เนื่องจากเมื่อโพลีเมอร์มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ทำให้โพลีเมอร์มี hydrodynamic volume เพิ่มขึ้นด้วยนั่นคือปริมาตรของโพลีเมอร์ที่ขดม้วนตัวอยู่ในสารละลายใหญ่ขึ้น โมเลกุลที่ใหญ่ขึ้นจะมี secondary force ที่แข็งแรง ทำให้สามารถดึงโมเลกุลตัวทำละลายเข้ามารวมกับโพลีเมอร์ทำให้การเคลื่อนที่ของโมเลกุลของตัวทำละลายช้าลง ดังนั้นการตรวจวัดความหนืดของสารละลาย ทำให้เราสามารถหาค่าน้ำหนักโมเลกุลได้

2.3.3 การหาน้ำหนักโมเลกุลของโคโคซานโดยวิธี Dilute Solution Viscosity

น้ำหนักโมเลกุลเป็นสมบัติที่สำคัญในการบอกคุณสมบัติทั้งทางกายภาพ และทางเคมีของโคโคซาน การหาน้ำหนักโมเลกุลสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การศึกษาสมบัติการกระเจิงของแสง การศึกษาสมบัติความหนืด การใช้วิธีทางโครมาโตกราฟี การศึกษาวิธีการวัดความหนืดเป็นเทคนิคที่ทำได้ค่อนข้างง่ายและสะดวกที่สุด ไม่ต้องใช้เครื่องมือราคาแพงและให้ผลเป็นที่ยอมรับได้^{[43] [44]} แม้ว่าจะมีข้อเสียคือเป็นวิธีที่ให้ผลที่ไม่สมบูรณ์ เพราะเป็นวิธีที่ต้อง

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

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

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

ตารางที่ 2.2 ค่าคงที่ K และ a สำหรับสมการ Mark-Houwink สำหรับโคโคซาน⁽⁴³⁾

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

Robert และ Domszy^[45] ได้ใช้เทคนิคหนึ่งซึ่งได้รับการสนับสนุนจาก Charlesby^[46] เพื่อหาค่า a และพบว่าสามารถคำนวณหาค่า K ได้ต่อไปด้วย ซึ่งแสดงโดย Sharples และ Major ผู้ที่ประยุกต์วิธีการโดยใช้ cellulose acetate^[47] วิธีการได้พิจารณาจากคุณสมบัติของการกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุลที่เป็นผลจากการเสื่อมสลายแบบสุ่ม (random degradation) ของสายโซ่โพลีเมอร์ และสมการของ Mark-Houwink

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

เมื่อ

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

พิจารณากการกระจายของน้ำหนักโมเลกุล (MWD) ที่เป็นผลจากการสลายตัวแบบสุ่ม จะได้

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

เมื่อ Γ = gamma function

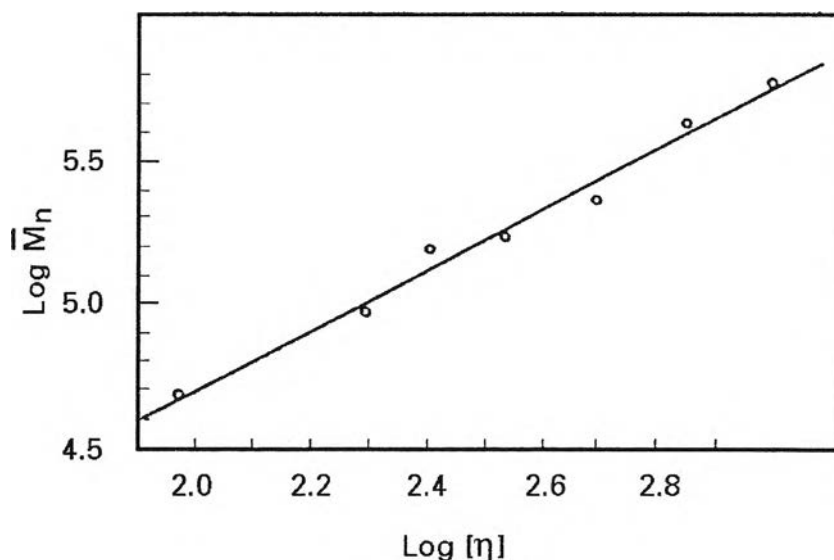
เมื่อรวมสมการ 2.18 และ 2.20 จะได้

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

แสดงในรูปลอการิทึม จะได้

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

เมื่อเขียนกราฟระหว่าง $\log \bar{M}_n$ กับ $\log[\eta]$ จะได้กราฟเส้นตรงที่มีความชันเท่ากับ $(1/a)$ และมาตัดกับแกน y ที่ $\log K' - (1/a)\log[\Gamma(2+a)]$ ดังรูปที่ 2.16



รูปที่ 2.16 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\log \bar{M}_n$ กับ $\log[\eta]$

การสลายตัวแบบสุ่มของไคโตซานจากการทำ homogenous hydrolysis ในกรดอะซิติกความเข้มข้น 1.67 โมลาร์ และค่า \bar{M}_n หาโดยการวิเคราะห์แบบ UV/visible spectroscopic ของ phenylsazone derivative ที่เตรียมโดยปฏิกิริยาการลดหน่วยปลายในแต่ละสายโซ่ โดยใช้ phenylhydrazine ค่า K และ a ที่ได้มาโดยวิธีนี้พบว่าเหมือนกับการรายงาน^{[45][48][49]} ซึ่งมีความสัมพันธ์กับใน β -(1-4)-linked ionic polysaccharide คู่ของค่าคงที่ K และ a สำหรับไคโตซานที่ใช้ในสมการ Mark-Houwink จากตารางที่ 2.2 พบว่ามีเพียงคู่ที่ 3 เท่านั้นที่ให้ค่า \overline{DP}_v อยู่ระหว่าง \overline{DP}_n \overline{DP}_v และ \overline{DP}_w เหมือนกับที่ต้องการตามทฤษฎี คือ $\overline{DP}_n < \overline{DP}_v \leq \overline{DP}_w$ และลงมติว่าค่าคงที่มีความเที่ยงตรงที่สุดในปัจจุบัน และสามารถใช้ได้กับสมการ Mark-Houwink คือ $K = 1.81 \times 10^{-3} \text{ cm}^3/\text{g}$. และ $a = 0.93$ ^[43] ซึ่งเป็นการทดลองของ Robert และ Domszy ซึ่งคำนวณขึ้นสำหรับไคโตซานในระบบตัวทำละลายของสารละลายกรดอะซิติก 0.1 โมลาร์ และโซเดียมคลอไรด์ 0.2 โมลาร์ โดยใช้เทคนิคการเชื่อมสลายแบบสุ่ม^[5] ดังกล่าวข้างต้น การสรุปนี้ได้รับการสนับสนุนจากการทดลองของ Rinaudo และ Domard^[49] ผู้ที่รายงานว่าค่า \bar{M}_v ที่ได้โดยใช้ค่าคงที่ K และ a มีเพียงคู่เดียวดังกล่าวที่ทำให้ค่า \bar{M}_v อยู่ระหว่างค่า \bar{M}_n และค่า \bar{M}_w

การหาน้ำหนักโมเลกุลด้วยวิธี Intrinsic viscosity หรือวิธี Dilute solution viscosity เป็นที่รู้จักกันมาตั้งแต่ก่อนปี 1930 เป็นวิธีที่เป็นพื้นฐานในการตรวจวัดขนาดและการแผ่ขยายของโมเลกุลโพลีเมอร์ วิธีการนี้มีความสัมพันธ์กับเฉพาะโพลีเมอร์เชิงเส้นเท่านั้น การหา

น้ำหนักโมเลกุลโดยวิธีนี้อาศัยหลักการที่ว่าความหนืดของสารละลายโพลีเมอร์จะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารละลายและขนาดโดยเฉลี่ยหรือน้ำหนักโมเลกุลของโพลีเมอร์ โดยเครื่องมือที่นิยมใช้ในการวัดความหนืดของสารละลายมีลักษณะเป็นหลอด เรียกว่า Ubbelohde Viscometer ซึ่งแสดงดังรูปที่ 2.17



รูปที่ 2.17 แสดง Ubbelohde Viscometer

การหาน้ำหนักโมเลกุลด้วยวิธีนี้คือเราจะให้สารละลายโพลีเมอร์เคลื่อนที่ผ่านหลอด แล้วทำการจับเวลาที่สารละลายโพลีเมอร์เคลื่อนที่จากตำแหน่ง D ไปถึงตำแหน่ง F ซึ่งระยะเวลาดังกล่าวเรียกว่า efflux time การหาค่า efflux time ไม่ได้หาแค่เพียงค่าของสารละลายโพลีเมอร์เท่านั้น แต่ต้องหาค่า efflux time ของระบบตัวทำละลายบริสุทธิ์ คือที่ไม่มีโมเลกุลโพลีเมอร์ละลายอยู่เพื่อใช้ในการเปรียบเทียบในการคำนวณด้วย โดยจะให้ efflux time ของตัวทำละลายเป็น t_0 และ efflux time ของสารละลายโพลีเมอร์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ให้เป็น t เราสามารถหาค่าความหนืดสัมพัทธ์หรือ relative viscosity η_r ได้ดังนี้^{[44][51]}

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

เมื่อ t คือ ค่า efflux time ของสารละลายตัวอย่าง

t_0 คือ ค่า efflux time ของตัวทำละลาย

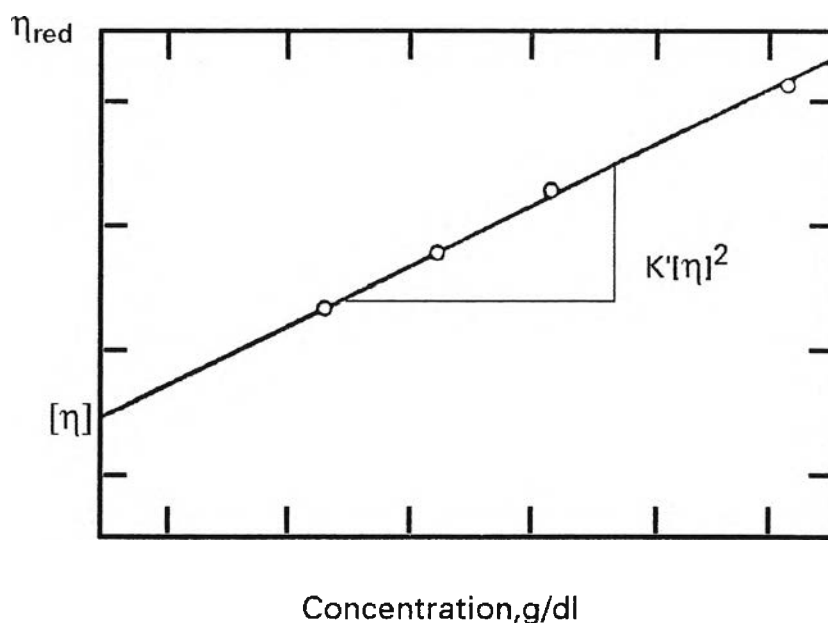
แต่เราจะไม่พิจารณาค่า efflux time ของตัวทำละลาย ดังนั้นเราจึงพิจารณาถึงความแตกต่างของค่า efflux time ของสารละลายโพลีเมอร์กับค่า efflux time ของตัวทำละลาย โดยการหาค่า efflux time ของตัวทำละลาย (t_0) ออกจากค่า efflux time ของสารละลายโพลีเมอร์ (t) ซึ่งจะได้เป็นค่าความหนืดเฉพาะ หรือ specific viscosity (η_{sp}) ดังสมการ

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

เมื่อนำค่าความเข้มข้นของสารละลาย (C) ไปหารค่า specific viscosity (η_{sp}) จะได้ค่า reduced viscosity (η_{red}) ดังสมการ

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

ทำให้ได้ค่า η_{red} ที่แตกต่างกันไปตามความเข้มข้นของสารละลายโพลีเมอร์ ซึ่งปกติจะแสดงหน่วยเป็นกรัมต่อปริมาตรสารละลาย 100 มิลลิลิตร (g/100ml หรือ g/dl) สำหรับการทดลองจะต้องทำการวัดหาค่า η_{red} ที่ความเข้มข้นหลายค่า เมื่อนำค่าความเข้มข้นของสารละลายโพลีเมอร์ (C) มาเขียนกราฟความสัมพันธ์กับค่า η_{red} โดยให้ C เป็นแกน x และ η_{red} เป็นแกน y ดังรูปที่ 2.18



รูปที่ 2.18 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น ของสารละลายโพลีเมอร์ (C) กับค่า reduced viscosity (η_{red})

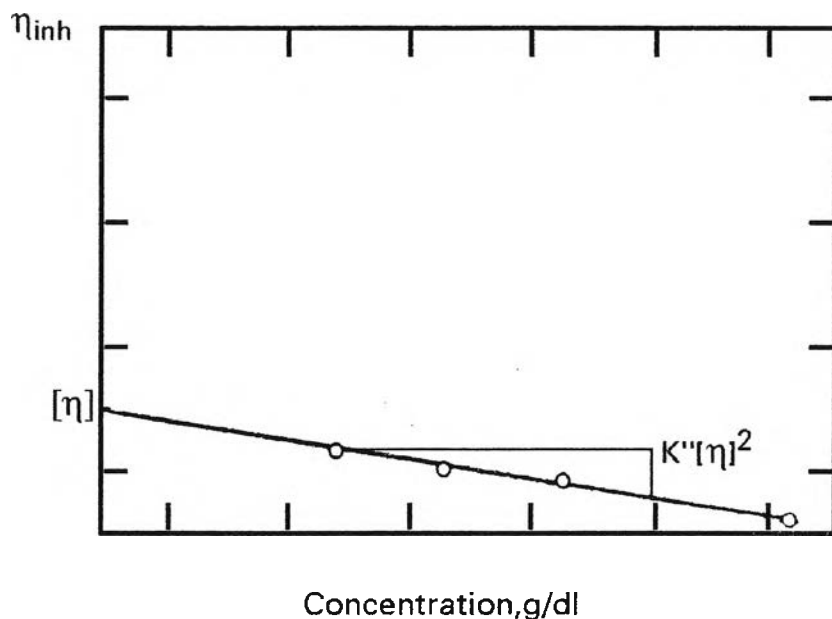
เมื่อทำการสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น ของสารละลายโพลีเมอร์ (C) กับค่า reduced viscosity (η_{red}) ที่คำนวณได้จากการทดลองดังกล่าวข้างต้นจะได้ กราฟเส้นตรง และเมื่อทำการ extrapolate กลับไปที่ความเข้มข้นเท่ากับศูนย์ เส้นกราฟไปตัดที่ แกน y (y-intercept) เราเรียกค่าที่ตัดแกน y นี้ว่า intrinsic viscosity หรือ $[\eta]$ ค่า $[\eta]$ นี้เป็น ค่าที่สร้างขึ้นมาโดยสมมติเมื่อความเข้มข้นของสารละลายเท่ากับศูนย์ ($C=0$) จากกราฟ ความสัมพันธ์จะได้สมการเส้นตรงคือ

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

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

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

และนำไปเขียนกราฟความสัมพันธ์เช่นเดียวกันกับ reduced viscosity โดยเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย (C) ในแนวแกน x และค่า inherent viscosity (η_{inh}) ในแนวแกน y แล้วจะได้กราฟดังรูปที่ 2.19^[52]

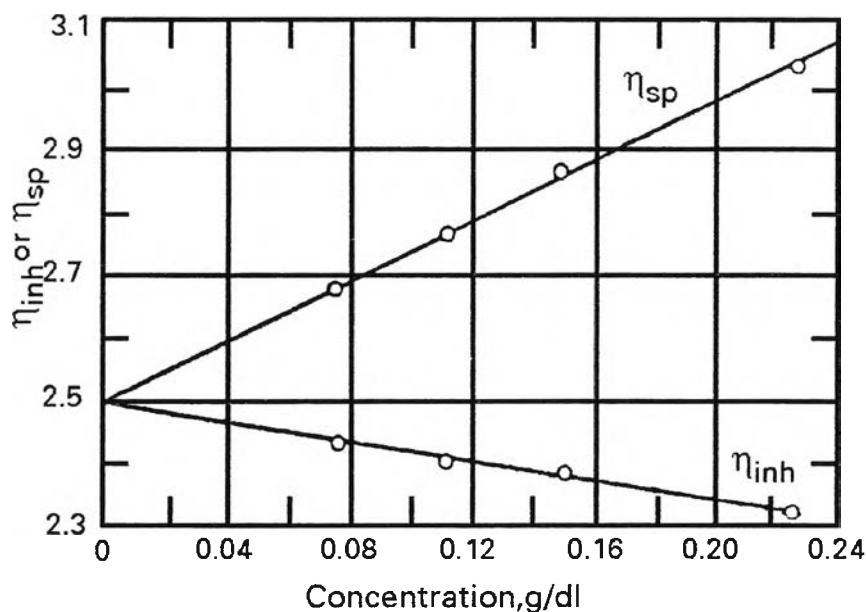


รูปที่ 2.19 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายโพลีเมอร์ (C) และค่า inherent viscosity (η_{inh})

ซึ่งจากกราฟความสัมพันธ์จะได้สมการเส้นตรง

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

ค่า $k''[\eta]^2$ คือค่าความชันกราฟเส้นตรงและค่า $[\eta]$ คือจุดตัดแกน y หรือ intrinsic viscosity ซึ่งค่า $k' - k'' = 1/2$ และสามารถเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ของทั้ง reduced viscosity และ inherent viscosity กับความเข้มข้นของสารละลายโพลีเมอร์ ไปด้วยกัน แสดงดังรูปที่ 2.20



รูปที่ 2.20 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายโพลีเมอร์ (C) กับ reduced viscosity (η_{red}) และ inherent viscosity (η_{inh})

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

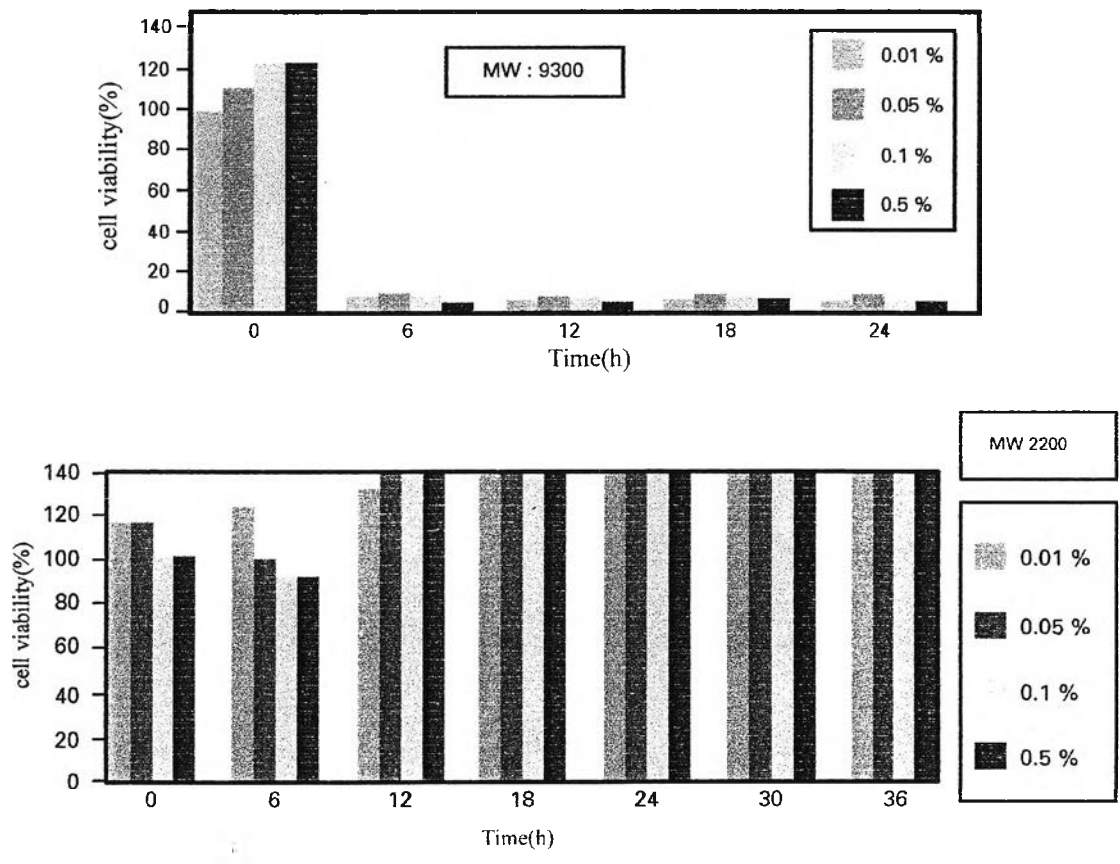
การหาน้ำหนักโมเลกุลด้วยวิธีนี้ต้องใช้สารละลายที่มีความเข้มข้นต่ำเพื่อลดแรงกระทำระหว่างอนุภาคของโพลีเมอร์ ถ้าสารละลายมีความเข้มข้นมากเกินไป โมเลกุลโพลีเมอร์อาจจะเข้าไปใกล้กันเพียงพอที่จะเกิดอันตรกิริยากับโมเลกุลอื่น ๆ ได้ ทำให้ค่าความหนืดสูงขึ้น กรณีเช่นนี้สมการของ Mark-Houwink ไม่สามารถใช้ได้นัก นอกจากนี้ความเข้มข้นสูงอาจไปลดโอกาสที่จะมีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นอันเนื่องมาจากโพลีเมอร์ติดข้างหลอดเครื่องมือ ด้วยเหตุผลดังกล่าวจึงเป็นสาเหตุให้ตั้งชื่อเทคนิคการหาน้ำหนักโมเลกุลนี้ว่า dilute solution viscosity

2.3.4 คุณสมบัติทางน้ำหนักโมเลกุลกับการนำโคโตซานไปใช้ประโยชน์

น้ำหนักโมเลกุลของโคโตซานเป็นคุณสมบัติที่สำคัญสำหรับการนำโคโตซานไปใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ ได้อย่างเหมาะสมและมีประสิทธิภาพสูงสุด มีงานวิจัยมากมายที่แสดงให้เห็นถึงคุณสมบัติในเชิงน้ำหนักโมเลกุลของโคโตซานที่มีความเหมาะสมกับการใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่แสดงถึงวิธีการต่าง ๆ ทั้งทางเคมี ทางชีววิทยา รวมทั้งการใช้รังสี ที่จะนำมาปรับปรุงเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติในเชิงน้ำหนักโมเลกุลและนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างเหมาะสม

ในด้านเกษตรกรรมได้นำโคโตซานมาศึกษาวิจัยเพื่อใช้เป็นสารเร่งอัตราการงอก อัตราการเจริญเติบโต รวมทั้งเพื่อดำหนานเชื้อราและเชื้อแบคทีเรียบางชนิด อย่างกว้างขวาง

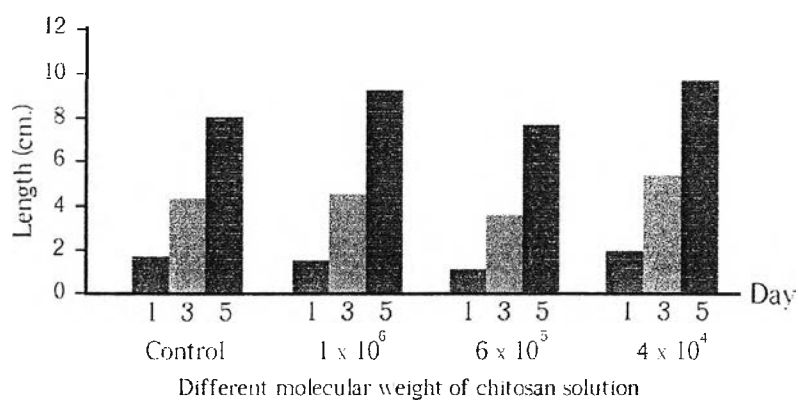
การศึกษาวิจัยว่าโคโตซานสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งขึ้นอยู่กับน้ำหนักโมเลกุลของโคโตซาน^[53] แสดงดังรูปที่ 2.21 จากการทดลองเปรียบเทียบโพลิโกโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วงประมาณ 9,000 Da และโพลิโกโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำอยู่ในช่วงประมาณ 2,000 Da พบว่าโพลิโกโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 9,000 Da สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ E.coli ได้เกือบสมบูรณ์^[8]



รูปที่ 2.21 แสดงผลของความเข้มข้นและน้ำหนักโมเลกุลของโคโตซานที่มีต่อการเจริญเติบโตของ E.coli เป็นสัดส่วนของเวลาที่ใช้ในการบ่ม

Jeon และKim^[54] ศึกษาการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย และการเจริญเติบโตของ *E.coli* โดยเปรียบเทียบน้ำหนักโมเลกุลของโอลิโกไคโตซาน คือ 10 kDa, 5 kDa และ 1 kDa พบว่าโอลิโกไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงคือ 10 kDa มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *E.coli* และเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่น ๆ สูงที่สุด

Suwalee^[7] ศึกษาการนำไคโตซานไปใช้ประโยชน์ทางการเกษตรมากมาย ซึ่งไคโตซานที่ใช้มีน้ำหนักโมเลกุลในช่วง 5,000 ถึง 80,000 Da รวมทั้งทำการทดลองผลของน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานที่มีต่อการงอกของเมล็ดพืชพบว่าไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 40,000 Da มีการงอกของเมล็ดดีที่สุด แสดงดังรูปที่ 2.22



รูปที่ 2.22 ผลของน้ำหนักโมเลกุลที่มีต่อการงอกของเมล็ดพืช

Nguyen Anh Dzung^[12] ศึกษาการใช้ Oligoclucosanmine ที่มี DP = 8-16 เร่งการเจริญเติบโตของถั่วลิสง และยับยั้งเชื้อราได้ รวมทั้งยังเพิ่มปริมาณส่วนที่ตรงในโตรเจนสูงขึ้นด้วย

มีการศึกษาพบว่าโอลิโกไคโตซานที่มีค่า DP อยู่ในช่วง 7-14 โมโนเมอร์ แสดงคุณสมบัติเป็น phytoalexin inducer ซึ่งสามารถป้องกันการติดเชื้อราหลายชนิดในพืช^{[6][55][56]}

2.4 การแยกโมเลกุลลำดับส่วน (Molecular Weight Fractionation)

เนื่องจากโพลีเมอร์ที่ได้จากการสังเคราะห์จะเป็นโพลีเมอร์ที่ผสมโมเลกุลที่มีขนาดแตกต่างกัน น้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันปะปนอยู่ด้วยกัน กรณีเช่นนี้ส่งผลถึงคุณภาพและคุณสมบัติของโพลีเมอร์ ดังนั้นจึงมีความพยายามที่จะแยกโพลีเมอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลใกล้เคียงกันออกเป็นกลุ่มๆ กระบวนการนี้เรียกว่าการแยกลำดับส่วน ซึ่งเป็นกระบวนการที่ยุ่งยากพอสมควร และถ้าเป็นอุตสาหกรรมขนาดใหญ่จะยุ่งยากมากขึ้น พื้นฐานของทฤษฎีการแยกลำดับส่วน อาศัยหลักการที่ว่า ความสามารถการละลายของโพลีเมอร์จะลดลงถ้าน้ำหนักโมเลกุลสูงขึ้น ดังนั้นถ้าค่อย ๆ เพิ่มอำนาจการละลายแก่โพลีเมอร์ ส่วนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ๆ จะถูกแยกออกมาก่อน หรืออีกวิธีหนึ่งอาจละลายโพลีเมอร์ทั้งหมดไปก่อนแล้วค่อย ๆ ลดอำนาจการละลายลง โพลีเมอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงจะตกตะกอนออกมาก่อน วิธีการแยกลำดับส่วนมีหลายวิธีคือ^[57]

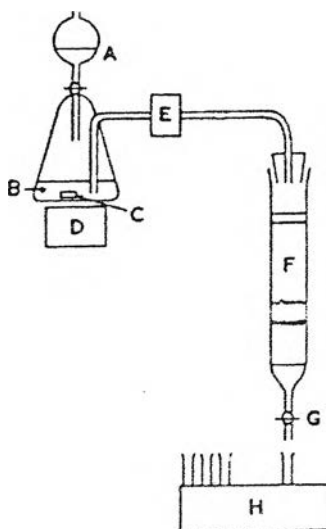
2.4.1 การแยกลำดับส่วนโดยการตกตะกอน (Fractionation Precipitation)

วิธีนี้เริ่มจากละลายสารตัวอย่างโพลีเมอร์ในตัวทำละลายที่เหมาะสม ได้สารละลายโพลีเมอร์ หลังจากนั้นค่อย ๆ เติมสารที่ไม่ใช่ตัวทำละลาย (non-solvent) หรือเรียกว่าตัวที่ทำให้ตกตะกอน (precipitant) ลงไปอย่างช้า ๆ (ทำที่อุณหภูมิคงที่) โพลีเมอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงจะแยกออกมาก่อน เมื่อเพิ่มตัวที่ทำให้ตกตะกอนเข้าไป พวกที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่าจะถูกแยกออกมาเรื่อย ๆ อีกวิธีหนึ่งคือ เลือกตัวทำละลายที่มีอำนาจการละลายขณะที่อุณหภูมิสูงแต่ไม่ละลายเมื่ออุณหภูมิต่ำ ดังนั้น เมื่อเพิ่มอุณหภูมิจะละลายสารตัวอย่างโพลีเมอร์จนสมบูรณ์ หลังจากนั้นลดอุณหภูมิลง โพลีเมอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงจะถูกแยกออกมาก่อน โพลีเมอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่าจะถูกแยกตามมา จากนั้นก็นำสารตัวอย่างแต่ละกลุ่มไปหาน้ำหนักโมเลกุลได้

2.4.2 การแยกลำดับส่วนโดยการอีลูชัน (Elution fractionation)

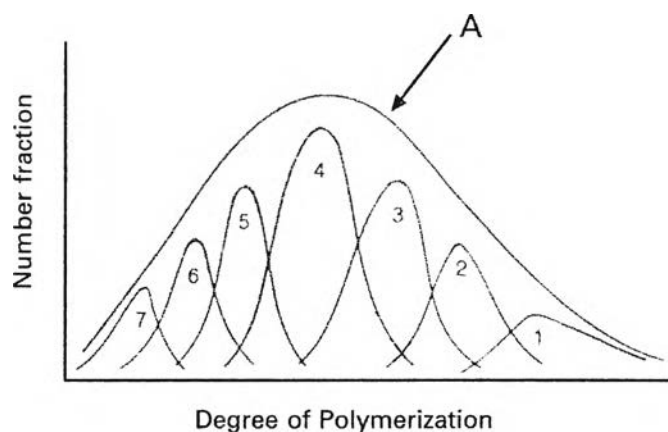
วิธีการนี้เริ่มจากการเพิ่มอำนาจการละลายของตัวทำละลายแก่สารตัวอย่างโพลีเมอร์ กลุ่มที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำสุด สามารถละลายได้ดีและเร็วที่สุดจะถูกแยกออกมาก่อน ส่วนที่เหลือยังเป็นของแข็งอยู่ เมื่อเพิ่มอำนาจการละลายไปเรื่อย ๆ จะได้กลุ่มของโพลีเมอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงขึ้นจะแยกออกมาตามลำดับ การทำโพลีเมอร์ให้มีลักษณะเป็นแผ่นฟิล์มบาง ๆ จะแยกได้ผลดียิ่งขึ้น และการใส่แผ่นฟิล์มโพลีเมอร์นิยมนำใส่ไว้กับเม็ดทรายหรือลูกแก้ว เพื่อแยกแผ่นฟิล์มออกจากกัน พร้อมกับบรรจุลงในคอลัมน์เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3-4 เซนติเมตร สูงประมาณ

60 เซนติเมตร สัดส่วนการใช้เม็ดทรายหรือลูกแก้วกับโพลีเมอร์ ประมาณ 10 กรัมต่อเม็ดทรายหรือลูกแก้ว 1 กิโลกรัม ข้างบนคอลัมน์จะมีภาชนะบรรจุตัวทำละลายและตัวทำให้ตกตะกอน ผสมกันในสัดส่วนที่ควบคุมได้ ปล่อยผ่านคอลัมน์ลงมา ดูรูปที่ 2.23 พวกที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำจะแยกออกมาก่อน ค่อย ๆ เพิ่มตัวทำละลายให้มากขึ้น พวกที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงขึ้น จะแยกออกมาตามลำดับ จากนั้นก็นำแต่ละส่วนไประเหยตัวทำละลาย และตัวที่ทำให้ตกตะกอนออกไป ทำให้แห้ง แล้วนำไปชั่งหาน้ำหนักโมเลกุลต่อไป



รูปที่ 2.23 แสดงแผนภาพเครื่องมือการแยกส่วนโดยการอู้อัน, A-ตัวทำละลาย, B-ของผสมระหว่างตัวทำละลายกับตัวทำให้ตกตะกอน C-ที่กวนแท่งแม่เหล็ก, D-ตัวเครื่องหมุนแท่งแม่เหล็ก, E-บีบดูดของผสมจาก B, F-เม็ดทรายหรือลูกแก้วกับแผ่นฟิล์มโพลีเมอร์, G-จุกปิดเปิด, H-ที่เก็บตัวอย่างที่แยกได้

อย่างไรก็ตามการแยกลำดับส่วนของโพลีเมอร์ที่กล่าวมานี้ ไม่ได้หมายความว่า จะแยกโพลีเมอร์ออกมาได้เป็นโมโนดิสเพอร์ส คือมีโมเลกุลขนาดเดียวกันเท่านั้น แต่จะทำให้ได้โพลีเมอร์ที่มีการกระจายของน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วงแคบลงมากขึ้น ซึ่งถ้าดูตามรูปที่ 2.24 จะเห็นข้อแตกต่างชัดเจน ระหว่างโพลีเมอร์ที่ยังไม่แยกลำดับส่วน กับโพลีเมอร์ที่แยกลำดับส่วนแล้ว



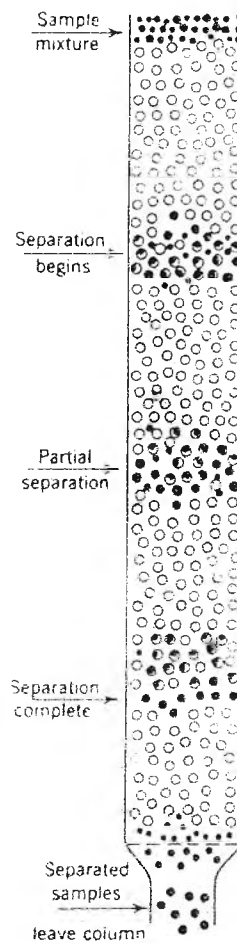
รูปที่ 2.24 กราฟแสดงการเปรียบเทียบโพลีเมอร์ที่แยกลำดับส่วน (1-7) กับโพลีเมอร์ที่ไม่ได้แยกลำดับส่วน (A)

2.4.3 เจลเพอร์มิเอชันโครมาโตกราฟี (Gel Permeation Chromatography)

วิธีการนี้เป็นเทคนิคการแยกสารแบบใหม่ที่มีประสิทธิภาพ นำมาใช้ในการแยกลำดับส่วนกับโพลีเมอร์ โดยใช้หลักการของ molecular sieving เครื่องมือประกอบด้วยคอลัมน์บรรจุเจล ซึ่งมักจะเป็นโพลีสไตรีนแบบร่างตาข่ายอิมมัตว์ด้วยตัวทำละลาย ทำให้มีลักษณะพองเพราะดูดซึมตัวทำละลายไว้ ทำให้เกิดมีช่องว่างภายในที่จะสามารถเก็บกักโมเลกุลของโพลีเมอร์ที่จะผ่านคอลัมน์

สารละลายของโพลีเมอร์ที่จะแยกลำดับส่วน ปล่อยให้ผ่านคอลัมน์ลงไป โมเลกุลของโพลีเมอร์สามารถซึมผ่านเข้าไปภายในเจล แต่ขึ้นกับขนาดโมเลกุลของโพลีเมอร์และขนาดของช่องว่างภายในเจล ส่วนใหญ่แล้วโมเลกุลขนาดใหญ่ ๆ จะมีโอกาสซึมผ่านเข้าไปได้น้อย จึงมักจะผ่านคอลัมน์ออกมาเร็ว โมเลกุลที่มีขนาดเล็กกว่าจะถูกกักเก็บไว้ในเจลได้มากกว่า จึงผ่านคอลัมน์ออกมาทีหลัง ดูรูปที่ 2.25 ดังนั้น ทำให้สามารถแยกโมเลกุลขนาดต่าง ๆ ออกจากกันได้

ความสามารถการพองตัวของโพลีสไตรีนที่ทำเจล จะแปรผกผันกับปริมาณร่างแหในโพลีสไตรีน ซึ่งการเกิดร่างแหนี้เกิดจากไดไวนิลเบนซีน เพราะฉะนั้น ต้องการให้เจลพองตัวมากแค่ไหน ก็ทำได้โดยควบคุมสัดส่วนการใช้ไดไวนิลเบนซีน สำหรับตัวทำละลายที่ใช้ทำให้โพลีสไตรีนพองตัวก็มี เตตระไฮโดรฟูราน (tetrahydrofuran) โทลูอีน และออร์โทไดคลอโรเบนซีน เป็นต้น



รูปที่ 2.25 แสดงการแยกโมเลกุลตามขนาด โดยเจลเพอร์มีเอชันโครมาโตกราฟี

2.5 การแยกโมเลกุลลำดับส่วนโคโคซานโดยวิธีการตกตะกอน (Fractionation Precipitation)

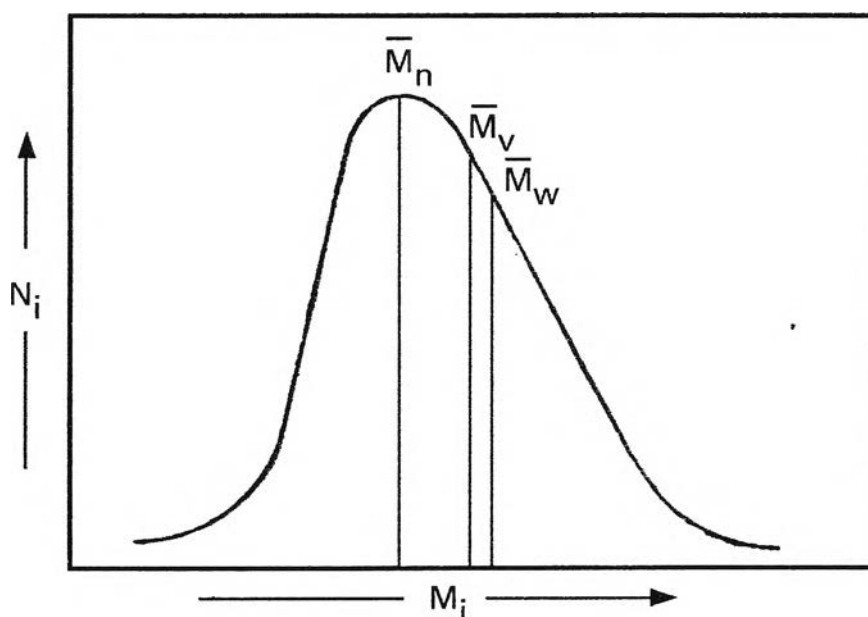
โคโคซานสามารถละลายได้ในตัวทำละลายกรดอินทรีย์และกรดอนินทรีย์ เช่น กรดฟอร์มิก (Formic acid) กรดอะซิติก (Acetic acid) กรดไพรูวิก (Pyruvic acid) และกรดแลคติก (Lactic acid) โดยธรรมชาติของกรดเหล่านี้แสดงกฎที่สำคัญของพฤติกรรมของโคโคซานในสารละลาย มีการศึกษามีการรายงานถึงการทำให้โคโคซานไม่ละลายในกรดอะซิติก และตกตะกอนออกมาได้โดยใช้สารละลายไซเตียมไฮดรอกไซด์ ซึ่งเป็นวิธีการที่ทำให้โคโคซานบริสุทธิ์ (Purification method) การใช้สารละลายไซเตียมไฮดรอกไซด์ทำให้โคโคซานตกตะกอนออกมาพบว่าตะกอนที่ได้มีการเปลี่ยนแปลงน้อยมากหรือเกือบจะเหมือนเดิมในเรื่องของปริมาณเถ้า (Ash content) ,ปริมาณไนโตรเจน (Nitrogen content) ,ความสามารถในการละลาย, ค่าความหนืด, ค่า

ดีกรีอะซีเตชัน (Degree of Deacetylation), ค่าน้ำหนักโมเลกุลคิดในรูปน้ำหนัก (M_w) แต่ค่าความเป็นผลึกของไคโตซานมีค่าสูงขึ้นเล็กน้อย^[14]

ดังนั้นสารละลายไซเดียมไฮดรอกไซด์จึงเป็นตัวที่ทำให้ตกตะกอน (Precipitant) สำหรับไคโตซานที่ละลายในสารละลายกรดอะซิติก เมื่อควบคุมความเข้มข้น ปริมาณ อุณหภูมิ และระยะเวลาเพื่อควบคุมการตกตะกอนของน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานออกเป็นส่วนๆ เนื่องจากสารละลายไคโตซานมีค่าน้ำหนักโมเลกุลหลายค่ารวมอยู่ด้วยกัน จึงต้องมีการแยกไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลใกล้เคียงกันออกเป็นกลุ่ม ๆ เพื่อให้ได้ไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลที่มีค่าใกล้เคียงกับที่ต้องการมากที่สุด และมีการกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุลแคบลง

2.6 ผลของการแยกโมเลกุลลำดับส่วนที่มีค่าน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซาน

น้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานมีการกระจายตัวแบบการแจกแจงปกติ (Normal Distribution) ซึ่งค่าน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานนั้นจะไม่สามารถบอกน้ำหนักโมเลกุลเป็นค่าเดียวได้ น้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานสามารถแสดงได้ในลักษณะเชิงสถิติ โดยแสดงเป็นค่าเฉลี่ยของการกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุล (Molecular Weight Distribution, MWD) ซึ่งไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยค่าหนึ่ง อาจมีการกระจายตัวได้ทั้งกว้างและแคบ เช่น ไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยเท่ากับ 40,000 ดอลตัน ซึ่งน้ำหนักโมเลกุลอาจอยู่ในช่วง 30,000-50,000 หรืออยู่ในช่วง 1,000-100,000 ก็ได้ ขึ้นอยู่กับการกระจายตัวของตัวอย่างไคโตซานนั้น ๆ กราฟการกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุลสามารถแสดงได้ดังรูป 2.26



รูปที่ 2.26 กราฟการกระจายตัวของน้ำหนัก