



รายงานการวิจัย

โครงการวิจัยการยับยั้งการขึ้นของเชื้อราแอสเพอร์จิลลัส
บนถั่วลิสงโดยการเคลือบด้วยไคโตซาน

Inhibition of *Aspergillus* on Peanuts by Coating with Chitosan

โดย

ผศ.ดร. ดุลยพงศ์ วงศ์แสง

นางสาวชฎานิษฐ์ จำปี

นางสาววริภรณ์ รัตนิสสัย

ภาควิชาวิศวกรรมนิเวศลิยร์ คณะวิศวกรรมศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กันยายน พ.ศ. 2556



รายงานการวิจัย

โครงการวิจัยการยับยั้งการขึ้นของเชื้อราแอสเพอร์จิลลัส
บนถั่วลิสงโดยการเคลือบด้วยไคโตซาน

Inhibition of Aspergillus on Peanuts by Coating with Chitosan

โดย

ผศ.ดร. ดุลยพงศ์ วงศ์แสงวง
นางสาวชฎานิษฐ์ จำปี
นางสาววริภรณ์ รัตนิสสัย

ภาควิชาวิศวกรรมนิเวศลิยร์ คณะวิศวกรรมศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กันยายน พ.ศ. 2556

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินอุดหนุนทั่วไปจากรัฐบาล ประจำปีงบประมาณ 2555

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณคณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ให้ความกรุณาสนับสนุนโครงการวิจัยนี้และจัดสรรงบประมาณแผ่นดินให้ได้อย่างเพียงพอ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ รศ. ชยากริต ศิริอุบลัมภ์ ที่ได้ให้ข้อมูลและคำแนะนำต่างๆ เกี่ยวกับโคโตซานตลอดโครงการวิจัยนี้

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณผู้ทรงคุณวุฒิที่ได้ให้คำแนะนำในการปรับปรุงงานวิจัยนี้ให้ดีขึ้นและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณสำนักงานปรมาณูเพื่อสันติ ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ฉายรังสีแกมมาโคโตซาน

เดชนมู

เลขทะเบียน 018046

วัน, เดือน, ปี 20๕.๕.๕1

บทคัดย่อ

ได้ทำการฉายรังสีแกมมาโคโตซานด้วยความแรงรังสี 10, 30, 50, 70 และ 90 kGy ทำการพิสูจน์เอกลักษณ์ของโคโตซานที่ผ่านการฉายรังสีโดยการตรวจสอบหมู่ฟังก์ชันด้วยเทคนิค FTIR ผลที่ได้คือโคโตซานไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างหลักหลังการฉายรังสีแกมมา หลังจากนั้นเตรียมสารละลายโคโตซานเพื่อเคลือบถั่วลิสง โดยนำผงโคโตซานมาละลายในกรดอะซิติก 2 % (v/v) ให้ความเข้มข้นสุดท้ายของสารละลายโคโตซานเป็น 1, 2, 5 และ 10 % (w/v) และปรับค่า pH ให้เป็น 5.6 ด้วย 6 M NaOH หลังจากนั้นจุ่มถั่วลิสงลงในสารละลายและนำขึ้นมาวางในภาชนะบรรจุเพื่อรอการขึ้นของเชื้อรา ผลที่ได้คือการเคลือบถั่วลิสงด้วยโคโตซานสำหรับทุกความเข้มข้นและทุกน้ำหนักโมเลกุล สามารถยืดระยะเวลาการเก็บรักษาถั่วลิสงได้เป็นอย่างดี เนื่องจากเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้เคลือบนั้น สามารถสังเกตเห็นเชื้อราขึ้นได้ใน 16 วันโดยเฉลี่ย แต่ชุดที่เคลือบสามารถยืดระยะเวลาการขึ้นของเชื้อราได้น้อยกว่าประมาณ 22 วันโดยเฉลี่ย และถั่วลิสงที่เคลือบด้วยโคโตซานที่ฉายรังสีที่ 50 kGy และที่ความเข้มข้น 5% สามารถต้านการขึ้นของเชื้อราได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับที่ความเข้มข้นอื่นๆ และที่ผ่านการฉายรังสีที่โดสอื่นๆ (รวมถึงที่ไม่ได้ฉายรังสีด้วย) เพราะสามารถยืดระยะเวลาการขึ้นของเชื้อราได้นานถึง 32 วันโดยเฉลี่ยหรือประมาณ 2 เท่าของถั่วลิสงที่ไม่ได้เคลือบ เมื่อทำการทดสอบที่อุณหภูมิ 30 - 40°C และที่ความชื้นสัมพัทธ์ 70 - 90% โดยใช้ถั่วลิสงที่เคลือบด้วยโคโตซานที่ฉายรังสีที่ 50 kGy และที่ความเข้มข้น 5% พบว่ายิ่งค่าความชื้นสัมพัทธ์สูงขึ้น ราก็จะขึ้นไวขึ้น โดยที่ความชื้นสัมพัทธ์ประมาณ 90% ที่ 30°C ราได้ขึ้นภายใน 5 วัน ดังนั้นนอกจากการเคลือบด้วยโคโตซานอย่างเหมาะสมแล้ว ความชื้นที่ต่ำในสถานที่จัดเก็บก็เป็นสิ่งสำคัญอย่างยิ่งในการป้องกันการขึ้นของเชื้อราบนถั่วลิสง

Abstract

Chitosan was irradiated with gamma ray with the following doses: 10, 30, 50, 70 and 90 kGy. Characteristics of irradiated chitosan were analyzed for its functional groups using FTIR technique. Results indicated that there was no change in the main structure of irradiated chitosan. Chitosan solutions for coating peanut were prepared by dissolving chitosan powder in 2 % (v/v) acetic acid to obtain chitosan concentrations of 1, 2, 5 and 10 % (w/v). The pH of the solutions were adjusted to 5.6 using 6 M NaOH. Peanuts were dipped into chitosan solutions, brought up and placed in containers waiting for *Aspergillus* to become visible. Results revealed that for all chitosan concentrations and molecular weight studied, *Aspergillus* was significantly inhibited, as the fungi became visible in about 15 days on average for the control set without any coating. However, *Aspergillus* wasn't become visible for the chitosan-coated peanuts until at least 22 days on average. Peanuts coated with chitosan irradiated at 50 kGy and at 5% concentration exhibited the best anti-*Aspergillus* ability compared to other concentrations and irradiation doses (including non-irradiated chitosan), as the fungi wasn't become visible for at least 32 days on average, or about 2 times that of uncoated peanuts. When tested at 30 - 40°C and 70 - 90% relative humidity using peanuts coated with chitosan irradiated at 50 kGy and 5% concentration, it was found that the higher the relative humidity, the faster the *Aspergillus* became visible. At 30°C and about 90% relative humidity, the fungi became visible in 5 days. Therefore, besides appropriately coating peanuts with chitosan, low humidity is also very important in preventing *Aspergillus*.

สารบัญเรื่อง

	หน้า
บทนำ	1
เนื้อเรื่อง	8
อภิปรายผลการทดลอง	43
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	48
บรรณานุกรม	50
ภาคผนวก ก	51

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 คุณสมบัติของโคโตซานที่จัดซื้อ	8
ตารางที่ 2 ระยะเวลาเฉลี่ยที่วางถั่วลิสงไว้จนสามารถสังเกตเห็นราขึ้น	34
ตารางที่ 3 ระยะเวลาที่ทำการทดสอบที่อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ต่างๆ โดยใช้ถั่วลิสงที่เคลือบด้วยโคโตซานที่อายุรังสีที่ 50 kGy และที่ความเข้มข้น 5% จนสามารถสังเกตเห็นราขึ้น	41

สารบัญภาพ

		หน้า
รูปที่ 1	เครื่องฉายรังสีแกมมา Gammacell 220 Excel	9
รูปที่ 2	โคโคซานที่ไม่ได้ฉายรังสีและที่ผ่านการฉายรังสีที่ความแรงรังสีต่างๆ	10
รูปที่ 3	Spectrum ที่ได้จากการพิสูจน์เอกลักษณ์โคโคซานด้วยเทคนิค Fourier Transform Infrared Spectrometer (FTIR)	11
รูปที่ 4	ผลการวัดน้ำหนักโมเลกุลของโคโคซานด้วยเทคนิค Gel Permeation Chromatography (GPC)	13
รูปที่ 5	สารละลายโคโคซานที่ความเข้มข้น 1 % (w/v) ที่เตรียมจาก โคโคซานที่ฉายรังสีที่โดสต่างๆ	14
รูปที่ 6	ถั่วลิสงดิบและเปลือกที่ใช้ในการทดลอง	15
รูปที่ 7	การทดลองที่ไม่ได้นำผลมาใช้ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าไม่สามารถใช้ ถั่วลิสงดิบที่ไม่ได้และเปลือกในการทดลองนี้ได้	16
รูปที่ 8	การจัดวางภาชนะบรรจุถั่วลิสงที่เคลือบด้วยโคโคซาน	17
รูปที่ 9	ถั่วลิสงที่ผ่านการเคลือบด้วยโคโคซาน	18 - 21
รูปที่ 10	ตัวอย่างถั่วลิสงที่ขึ้นรา	22 - 25
รูปที่ 11	เปรียบเทียบราที่ขึ้นบนถั่วลิสงในการทดลองนี้กับรา <i>Aspergillus</i>	26 - 33

	หน้า	
รูปที่ 12	กราฟระยะเวลาเฉลี่ยที่วางถั่วลิสงไว้จนสามารถสังเกตเห็นราขึ้น โดยใช้ข้อมูลจากตารางที่ 2	34
รูปที่ 13	ตู้อะคริลิกใสและระบบควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์	36 - 39
รูปที่ 14	ถั่วลิสงที่เคลือบด้วยโคโคซานที่ฉายรังสีที่ 50 kGy และที่ ความเข้มข้น 5% กับถั่วลิสงชุดควบคุมที่วางไว้ด้านข้าง ระหว่างทำการทดสอบที่อุณหภูมิ 30°C และความชื้นสัมพัทธ์ 80%	40
รูปที่ 15	ข้อมูลในตารางที่ 3 โดยแยกแสดงให้เห็นผลของอุณหภูมิและ ผลของความชื้นสัมพัทธ์ต่อระยะเวลาในการสังเกตเห็นราขึ้น	41 - 42

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย

kGy (kilo Grey)

หน่วยวัดความเข้มรังสี โดยปริมาณรังสี 1 เกรย์ (Grey) หมายถึง ปริมาณรังสีที่ถ่ายเทพลังงานจำนวน 1 Joule ให้แก่ตัวกลางซึ่งมีน้ำหนัก 1 กิโลกรัม

FTIR (Fourier Transform Infrared Spectrometer)

เทคนิค FTIR ใช้วิเคราะห์หาหมู่ฟังก์ชันและโครงสร้างทางเคมีของสารตัวอย่าง

GPC (Gel Permeation Chromatography)

เทคนิค GPC ใช้วิเคราะห์หาน้ำหนักโมเลกุลของสารตัวอย่าง

บทนำ

ถั่วลิสง เป็นพืชตระกูลถั่วที่สามารถปลูกได้ตลอดทั้งปีและมีประโยชน์มากมาย อาหารประเภทนี้ให้ทั้งโปรตีน เส้นใยอาหาร สารต้านอนุมูลอิสระและวิตามินต่างๆ มากมาย จึงนิยมนำมาใช้บริโภคได้หลายรูปแบบทั้งการบริโภคสดและการนำไปประกอบอาหารรวมถึงขนมต่างๆ ข้อควรระวังสำหรับการเก็บรักษาถั่วลิสงคือ ควรเก็บในภาชนะปิดสนิทไว้ในที่เย็นและแห้ง และไม่ควรเก็บไว้นานเกิน 1 เดือน ทั้งนี้เพื่อป้องกันการเกิดเชื้อรา *Aspergillus* ที่ผลิตสารอะฟลาทอกซิน (Aflatoxin) (2 สายพันธุ์ที่ผลิตคือ *Aspergillus flavus* และ *Aspergillus parasiticus*) ซึ่งก่อให้เกิดมะเร็งโดยเฉพาะมะเร็งที่ตับ ทำให้มีปัญหานี้ในเรื่องการเก็บรักษา ซึ่งหลังแกะถุงพลาสติกแบบสุญญากาศแล้วอาจเก็บรักษาได้ไม่นาน และถ้าเก็บในที่ชื้นอาจส่งผลให้เกิดสารอะฟลาทอกซิน นอกจากนี้ถั่วลิสงที่เปิดถุงพลาสติกแล้ว อาจมีเชื้อราเกาะอยู่แต่ในปริมาณน้อยที่ไม่อาจสังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่า แต่เชื้อราปริมาณน้อยนี้ถ้ารับประทานต่อเนื่องเป็นระยะเวลาานอาจส่งผลให้เกิดความเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งตับได้เช่นกัน ดังนั้นหากเราสามารถยับยั้งการขึ้นของเชื้อราบนถั่วลิสงได้ จะเป็นการรักษาคุณภาพผลิตผลทางการเกษตรนี้หลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปแล้วได้เป็นอย่างดี ทำให้ลดความสูญเสียทางเศรษฐกิจและเป็นผลดีอย่างยิ่งต่อสุขภาพของผู้ที่นิยมรับประทานถั่วลิสงด้วย

โคโคซาน คือสารพอลิเมอร์ชีวภาพที่สกัดจากไคติน ซึ่งเป็นโครงสร้างของเปลือกกุ้ง กระดองปู แขนปลาหมึก และผนังเซลล์ของเห็ดราบางชนิด ไคติน-โคโคซาน จัดเป็นโคพอลิเมอร์ที่อยู่ร่วมกันในธรรมชาติ มีสมบัติพื้นฐานที่เข้ากับธรรมชาติได้ดี ย่อยสลายง่าย ไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม มีหมู่อะมิโนที่แสดงสมบัติพิเศษหลายประการที่ต่างจากเซลลูโลส เช่น การละลายได้ในกรดอินทรีย์เจือจาง การจับกับอออนของโลหะได้ดีและการมีฤทธิ์ทางชีวภาพ ปัจจุบันมีการนำสารไคติน-โคโคซาน มา

ประยุกต์ใช้จริงทั้งในภาคอุตสาหกรรม ภาคเกษตรกรรม ทางการแพทย์และเภสัชกรรม เช่น สารตกตะกอนในการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม อุตสาหกรรมเส้นใยสิ่งทอ เพื่อป้องกันแบคทีเรียและเชื้อรา ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อคุณภาพในการลดไขมันและคอเลสเตอรอล สารเร่งการเจริญเติบโตในพืชและสัตว์ต่าง ๆ เช่น สุนัข กุ้ง เป็ด ไก่ สารเคลือบผลไม้เพื่อยืดอายุการเก็บรักษา สารถนอมอาหาร และแผ่นฟิล์มปิดแผล ช่วยให้แผลหายเร็วขึ้น

จึงเป็นที่มาของงานวิจัยนี้ ที่จะศึกษาการยับยั้งการขึ้นของเชื้อราแอสเพอร์จิลล์บนถั่วลิสงโดยการเคลือบด้วยไคโตซาน โดยภาพรวมของการวิจัยคือนำถั่วลิสงสดใหม่มาเคลือบผิวด้วยไคโตซานที่ความเข้มข้นและขนาดโมเลกุลที่เหมาะสม แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ต่างๆ กัน เพื่อติดตามการคุกคามของเชื้อรา

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

เพื่อศึกษาการยับยั้งการขึ้นของเชื้อราแอสเพอร์จิลล์บนถั่วลิสงโดยการเคลือบด้วยไคโตซาน

ขอบเขตของโครงการวิจัย

ขอบเขตของโครงการวิจัยนี้ มีดังนี้

1. ฉายรังสีแกมมาไคโตซานในสภาวะที่เหมาะสมที่ปริมาณรังสีในช่วงอย่างน้อย 10 - 70 kGy เพื่อให้ได้ไคโตซานน้ำหนักโมเลกุลขนาดต่างๆ ในช่วงอย่างน้อย 200,000 - 800,000 Dalton
2. ทดสอบตีกรัการยับยั้งเชื้อราแอสเพอร์จิลล์ที่เกิดบนถั่วลิสงโดยไคโตซานน้ำหนักโมเลกุลขนาดต่างๆ โดยใช้วิธี Agar disperse (หรือวิธีอื่นที่เหมาะสม) ที่ความเข้มข้นไคโตซานต่าง ๆ เพื่อหาขนาดโมเลกุลและความเข้มข้นที่เหมาะสม

3. ทดสอบกับเมล็ดถั่วลิสงตามเงื่อนไขที่หาได้จากข้อ 2 โดยการเคลือบด้วยวิธีต่าง ๆ เช่น พ่น, จุ่ม, Peanut curtain in chitosan mist เป็นต้น โดยในแต่ละ Condition ของการทดลอง
 - a. ใช้ถั่วลิสงสดใหม่อย่างน้อย 30 เมล็ด
 - b. ช่วงอุณหภูมิที่ศึกษา อย่างน้อยในช่วง 27 – 40 °C
 - c. ช่วงความชื้นสัมพัทธ์ที่ศึกษา อย่างน้อยในช่วง 60 – 90%
4. ติดตามการคุกคามของเชื้อราโดยการส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ทุก ๆ วัน รวมถึงการสังเกตด้วยตาเปล่า

สมมติฐาน

โคโตซานสามารถป้องกันแบคทีเรียและเชื้อราได้ ดังนั้นหากนำโคโตซานมาเคลือบถั่วลิสงสดใหม่ด้วยความเข้มข้นที่เหมาะสม ควรจะสามารถยับยั้งการขึ้นของเชื้อราแอสเพอร์จิลล์บนถั่วลิสงได้ที่อุณหภูมิและค่าความชื้นสัมพัทธ์ต่าง ๆ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

สามารถนำผลการวิจัยตีพิมพ์เผยแพร่ในวารสารนานาชาติได้ และสามารถจดสิทธิบัตรได้ กลุ่มผู้ที่สามารถนำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์ได้ คือกลุ่มผู้ประกอบการผลิตและบรรจุถั่วลิสงถุง รวมถึงประชาชนทั่วไปด้วย

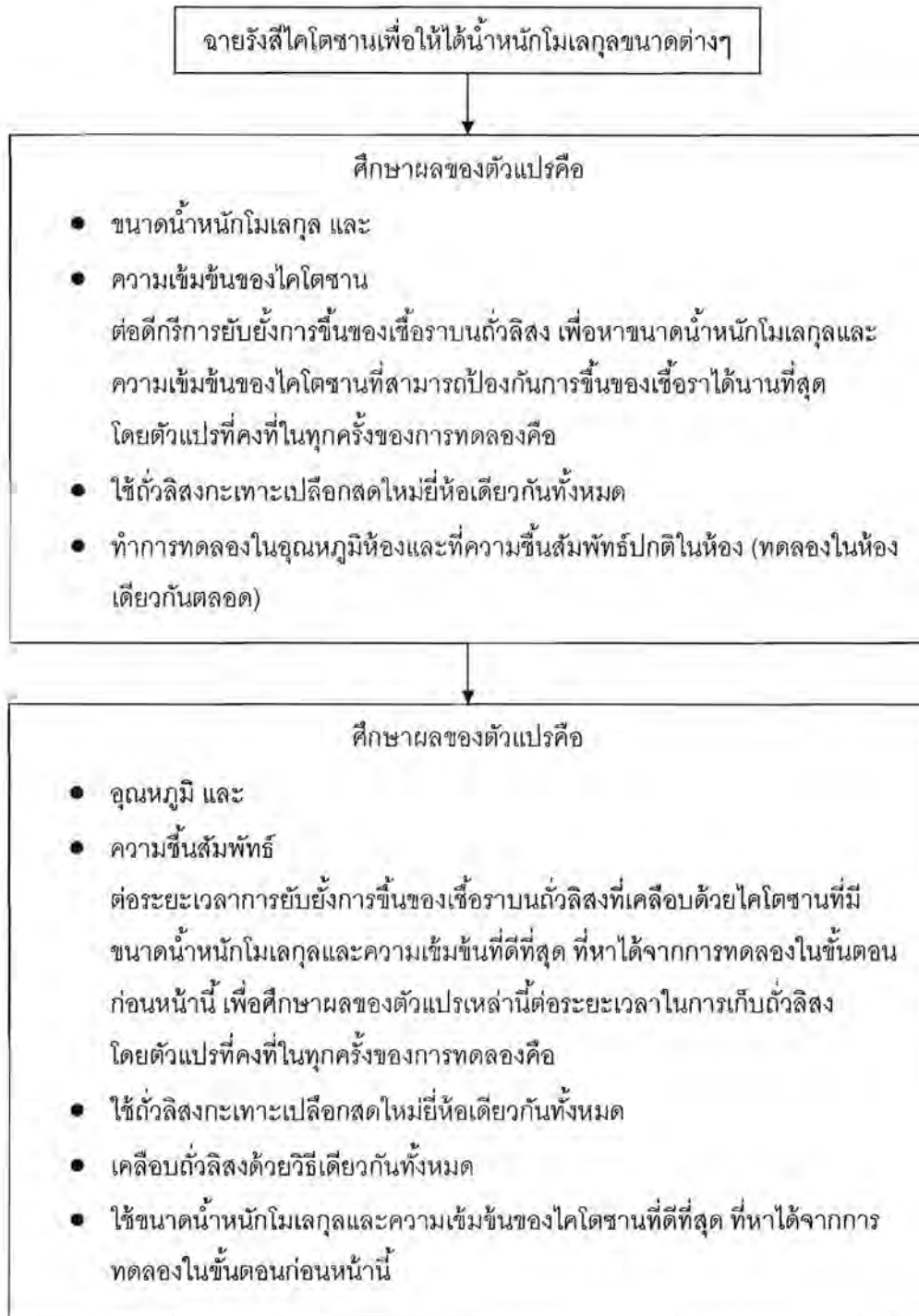
วิธีดำเนินการวิจัยโดยสรุป

งานวิจัยนี้ มีวิธีดำเนินการโดยสรุปดังนี้

1. วางแผนงานและกำหนดขอบข่ายของงานอย่างเป็นขั้นตอน
2. จัดหาวัสดุอุปกรณ์ต่าง ๆ ที่จำเป็นในการทดลอง
3. ออกแบบและสร้างระบบควบคุมอุณหภูมิและความชื้นให้ได้ในช่วงอย่างน้อยที่เสนอในขอบเขตของโครงการวิจัย
4. ฉายรังสีแกมมาโคโตะซานในสภาวะที่เหมาะสมที่ปริมาณรังสีในช่วงอย่างน้อย 10 - 70 kGy เพื่อให้ได้โคโตะซานน้ำหนักโมเลกุลขนาดต่างๆ ในช่วงอย่างน้อย 200,000 - 800,000 Dalton
5. ทดสอบวิธีการยับยั้งเชื้อราแอสเพอร์จิลลัสที่เกิดบนถั่วลิสงโดยโคโตะซานน้ำหนักโมเลกุลขนาดต่างๆ โดยใช้วิธี Agar disperse (หรือวิธีอื่นที่เหมาะสม) ที่ความเข้มข้นโคโตะซานต่างๆ เพื่อหาขนาดโมเลกุลและความเข้มข้นที่เหมาะสม
6. ทดสอบกับเมล็ดถั่วลิสงตามเงื่อนไขที่หาได้จากข้อ 5 โดยการเคลือบด้วยวิธีต่างๆ เช่น ฟัน, จุ่ม, Peanut curtain in chitosan mist เป็นต้น โดยในแต่ละ Condition ของการทดลอง
 - a. ใช้ถั่วลิสงสดใหม่อย่างน้อย 30 เมล็ด
 - b. ช่วงอุณหภูมิที่ศึกษา อย่างน้อยในช่วง 27 - 40 °C
 - c. ช่วงความชื้นสัมพัทธ์ที่ศึกษา อย่างน้อยในช่วง 60 - 90%
7. ติดตามการคุกคามของเชื้อราโดยการส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ทุกๆ วัน รวมถึงการสังเกตด้วยตาเปล่า
8. วิเคราะห์ สรุป วิจารณ์ผลงานวิจัย และเขียนรายงานวิจัย พร้อมทั้งให้ข้อเสนอแนะ (ถ้ามี)

แผนภูมิต่อไปนี้แสดงลำดับขั้นตอนการดำเนินการทดลอง และตัวแปรต่างๆ ที่ศึกษาและควบคุม

ในแต่ละขั้นตอน



การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศที่เกี่ยวข้อง

1. ธนาภรณ์ ศรีศิริพันธุ์, จันทน์ อุตัญบุตร และ กอบเกียรติ แสงนิล [1] ได้ทำการศึกษามลภาวะเคลือบผิวด้วยไคโตซานต่อการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีระหว่างการเก็บรักษาผลพริกหวาน (*Capsicum annuum* L.) โดยนำผลแก่จัดของพริกหวานสองพันธุ์ คือ พันธุ์ Torcal และพันธุ์ Gold Frame มาเคลือบผิวด้วยไคโตซานความเข้มข้น 0.5, 1.0 และ 1.5% เปรียบเทียบกับชุดไม่เคลือบผิว แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 82% เป็นเวลา 15 วัน พบว่า ผลที่เคลือบผิวด้วยไคโตซาน 1.0% และ 1.5% มีประสิทธิภาพในการลดการสูญเสียน้ำหนัก การเหี่ยว และการเข้าทำลายของเชื้อรา เมื่อเปรียบเทียบกับชุดที่ไม่เคลือบผิวและชุดที่เคลือบผิวด้วยไคโตซาน 0.5% ในผลพริกหวานทั้งสองพันธุ์ ทั้งนี้ชุดที่เคลือบผิวด้วยไคโตซาน 1.0% และ 1.5% ให้ผลไม่แตกต่างกันในการลดการสูญเสียน้ำหนัก การเหี่ยว และการเข้าทำลายของเชื้อรา อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างในเรื่องการเปลี่ยนแปลงสีผิวของผลในทุกชุดการทดลองในระหว่างการเก็บรักษา
2. อธิยา กังสุวรรณ [2] ได้ทดลองใช้ไคโตซานฉีดพ่นเคลือบผิวมังคุด ปรากฏว่าไคโตซานทำปฏิกิริยาปกป้องและรักษาสีส้มเปลือกมังคุดไว้ได้นานประมาณ 1 เดือน หรือ 30 วัน โดยมังคุดเปลือกแข็งเพียงร้อยละ 12 เมื่อเปรียบเทียบกับมังคุดที่ไม่ได้ฉีดพ่นเคลือบไคโตซาน มีการแข็งตัวของเปลือกสูงถึง 22% (ในตู้เย็น) และถึง 90% ในอุณหภูมิห้อง ส่วนผลมังคุดที่ไม่ได้เคลือบไคโตซาน ซีดจาง กลีบเลี้ยงสีซีด เหี่ยวเฉา กลายเป็นลักษณะ ไม่เป็นที่ต้องการของตลาด โดยเฉพาะตลาดญี่ปุ่นและฮ่องกง ถือว่าเป็นตลาดส่งออกขนาดใหญ่ จะยึดหลักสีส้มลักษณะภายนอก ในการตัดสินใจซื้อมังคุดของไทย เมื่อทดลองผ่าผลมังคุดชิมเนื้อด้านในดู ปรากฏว่ายังมีรสชาติอร่อยไม่เน่าเสียก่อน 30 วัน ตรงกันข้ามผลมังคุด ที่ไม่ได้ฉีดพ่นเคลือบไคโตซาน เน่าเสียอย่างเห็นได้ชัดเจน

3. Jiang, Y., Li, J. และ Jiang, W. [3] ได้ทำการศึกษาทดลองเคลือบผิวลีนี่พันธุ์ Huaizhi ด้วยไคโตซาน พบว่าที่ความเข้มข้นไคโตซาน 2.0% สามารถชะลอการเจริญเติบโตของเชื้อราและแบคทีเรียได้ 92% รวมถึงมีอายุการเก็บได้นานถึง 20 วัน
4. ข้อมูลจากนิตยสารหมอชาวบ้าน เล่มที่ 248 เดือนธันวาคม ปี 2542 [4] แสดงให้เห็นว่าไคโตซานสามารถบริโภคได้โดยไม่เป็นอันตรายต่อมนุษย์ โดยสามารถสรุปความจากบทความได้ว่า ไคโตซานมีคุณสมบัติในการดักจับไขมันบางชนิด จึงมีการนำมาบรรจุแคปซูลเพื่อช่วยลดไขมันส่วนเกิน โดยไคโตซานจะไปเกาะกับไขมันบางตัวทำให้เกิดการรวมกลุ่มและไม่ถูกย่อยสลายและถูกขับถ่ายออกมาในที่สุด โดยไม่เป็นอันตรายหรือมีผลข้างเคียงต่อร่างกายมนุษย์แต่อย่างใด

เนื้อเรื่อง

การขายรังสีแกมมาโคโตซาน

ได้จัดซื้อโคโตซานผงความบริสุทธิ์สูงแบบ Food grade จากบริษัทโบนาฟิเดสมาเก็ตติ้ง จำกัด โดยมีคุณสมบัติต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 1

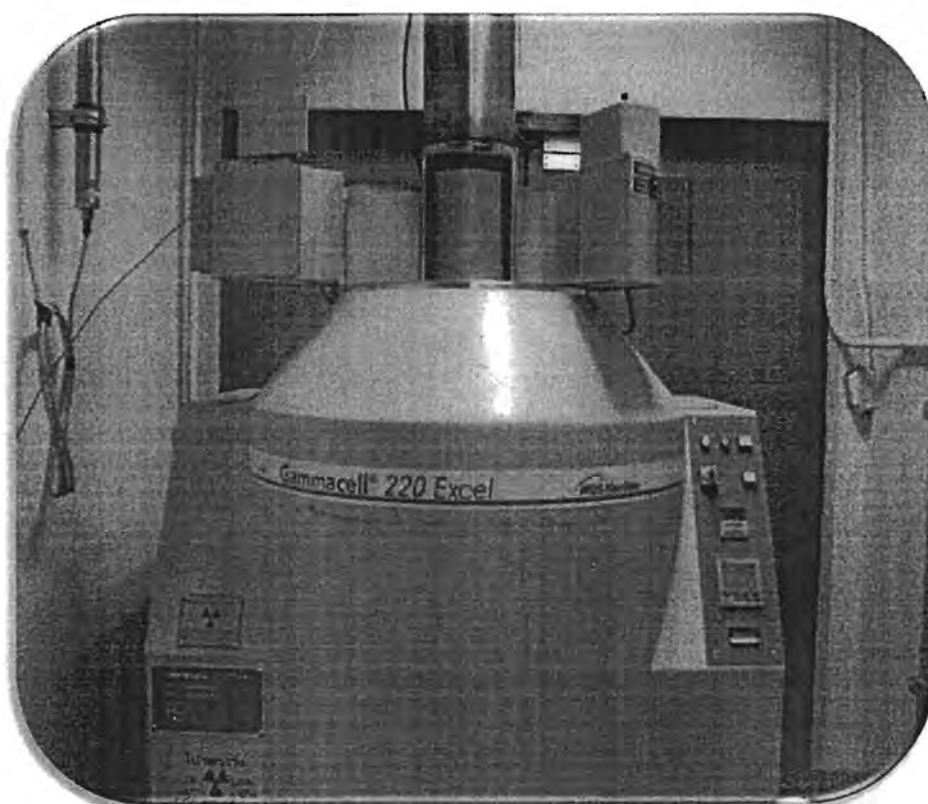
ตารางที่ 1 คุณสมบัติของโคโตซานที่จัดซื้อ

คุณสมบัติ	ค่า
Appearance	White to Yellow
Moisture content	Less than 10%
Ash content	Less than 1.0%
Solution (1% in 1% acetic acid)	Clear
Solubility	More than 99.9%
Insolubility (%)	Less than 1.0%
Turbidity	Less than 50 NTUs
Viscosity	500 – 1,000 (mPa.S(cPs))*
Molecular weight	500,000 – 1,000,000
Deacetylation	95% Min
Particle size	30 Mesh
Heavy metal	Less than 10 PPM
Microbial content	
Total Plate Count	Less than 100 Cfu/g
Yeast & Mold	Less than 50 Cfu/g
E.coli	-
Salmonella	-
Coliform	-

ที่มา: http://bonafidesmarketing.com/wizContent.asp?wizConID=33&txtmMenu_ID=7 เข้าถึง

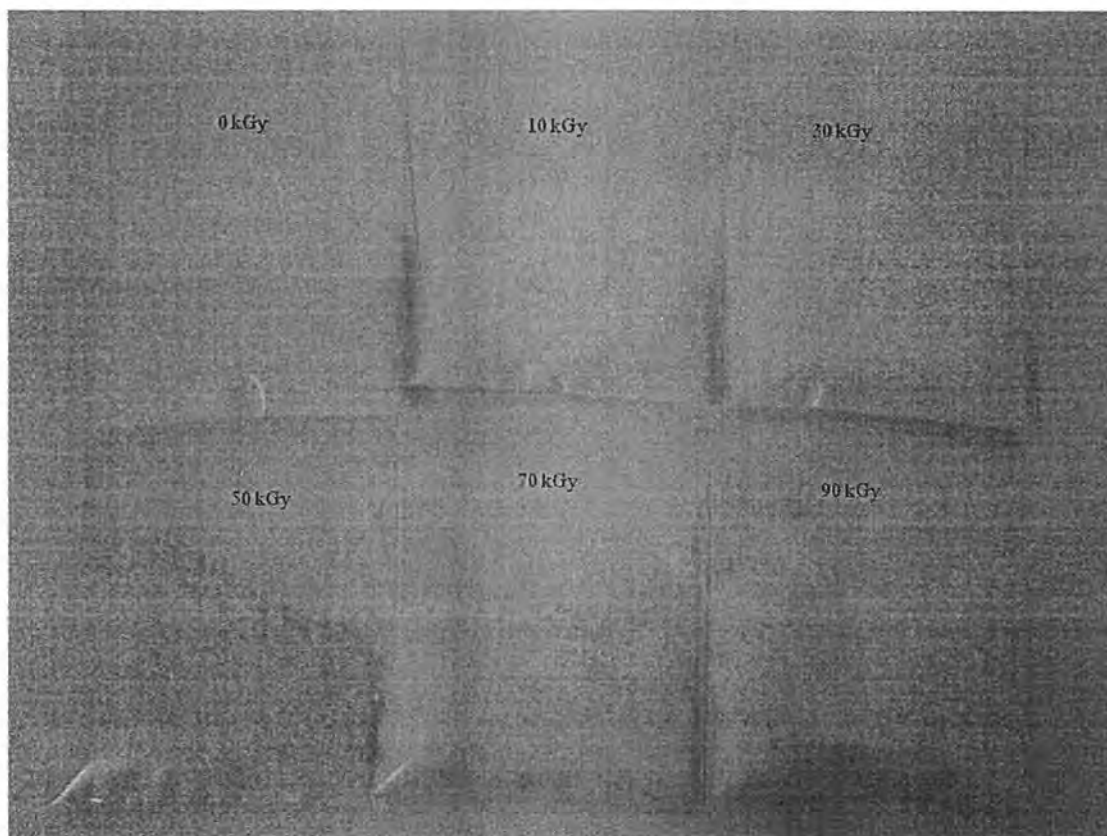
วันที่ 1 สิงหาคม 2555

ในการฉายรังสีแกมมาโคโตซานเพื่อลดน้ำหนักโมเลกุลนั้น ได้ทำการบรรจุผงโคโตซานในถุง Polystyrene ที่ปิดปากถุงได้ โดยบรรจุถุงละ 10 กรัมจำนวน 6 ถุง การที่ใช้ถุง Polystyrene เพราะไม่เกิดการเสื่อมสลายเมื่อถูกฉายรังสีในช่วงที่ทำการวิจัย หลังจากนั้นนำไปฉายรังสีแกมมาที่ได้จาก โคบอลต์-60 ด้วยเครื่อง Gamma cell (Gammacell 220 Excel) ที่สำนักงานปรมาณูเพื่อสันติ กรุงเทพฯ ดังแสดงในรูปที่ 1 โดยฉายรังสีที่ความแรงรังสี 10, 30, 50, 70 และ 90 กิโลเกรย์ (kGy) ในสถานะโคโตซานผงตามที่ขอมา



รูปที่ 1 เครื่องฉายรังสีแกมมา Gammacell 220 Excel

รูปที่ 2 แสดงโคโตซานที่ผ่านการฉายรังสีที่ความแรงรังสีต่างๆ และที่ไม่ได้ฉายรังสี ซึ่งลักษณะทางกายภาพยังคงเป็นผงแต่จะมีสีเข้มขึ้นเล็กน้อยตามปริมาณโดสการฉายรังสีที่เพิ่มขึ้น

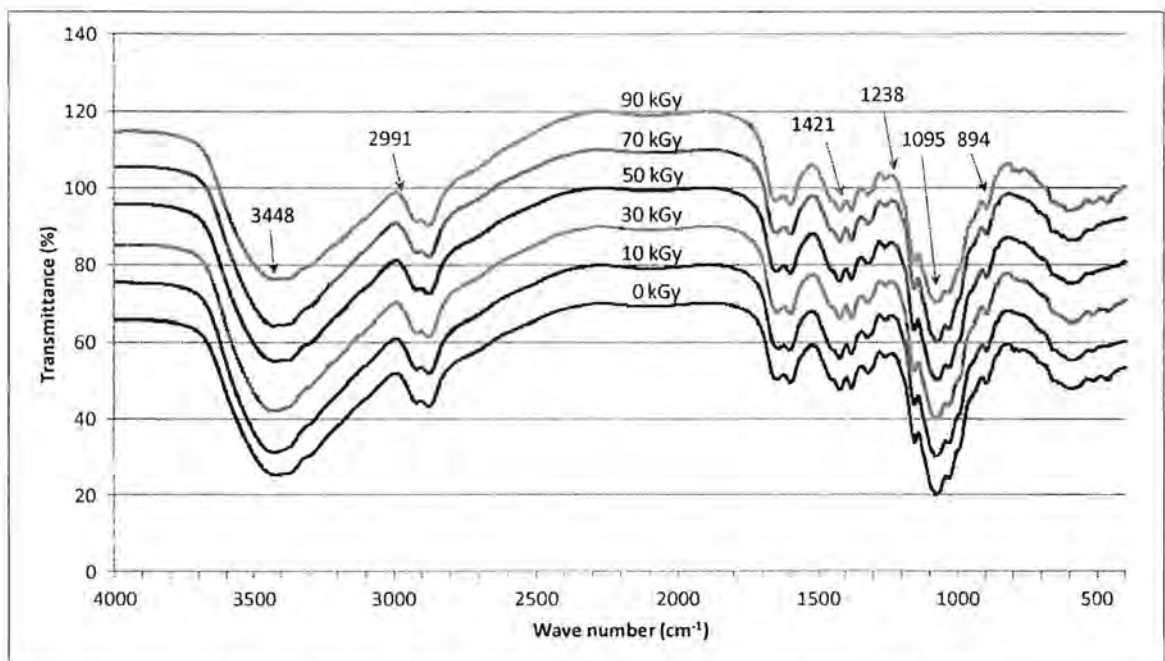


รูปที่ 2 โคโตซานที่ไม่ได้ฉายรังสีและที่ผ่านการฉายรังสีที่ความแรงรังสีต่างๆ

การพิสูจน์เอกลักษณ์ของโคโตซานที่ผ่านการฉายรังสีแกมมา

เนื่องจากมีความสำคัญอย่างยิ่งที่รังสีแกมมาในช่วงที่ฉายจะไม่ทำให้โคโตซานเปลี่ยนเอกลักษณ์และสูญเสียคุณสมบัติความเป็นโคโตซานไป จึงจำเป็นต้องทำการพิสูจน์เอกลักษณ์ของโคโตซานที่ผ่านการฉายรังสีแกมมา โดยทำการตรวจสอบหมู่ฟังก์ชันด้วยเครื่องฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรมิเตอร์ (Fourier Transform Infrared Spectrometer, FTIR) ที่ศูนย์เครื่องมือวิจัย

วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ซึ่งเทคนิค FTIR spectroscopy นี้ใช้วิเคราะห์หาหมู่ฟังก์ชันและโครงสร้างทางเคมีของสารตัวอย่าง โดยสามารถวิเคราะห์ได้ทั้งเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ โดยอาศัยหลักการดูดกลืนคลื่นแสงในช่วง Infrared ทำให้เกิดการสั่นของพันธะเคมีภายในโมเลกุล ค่าความถี่ต่างๆ ของการสั่นในสเปกตรัมสามารถให้ข้อมูลเกี่ยวกับโมเลกุลของสารที่แน่นอนได้ การวิเคราะห์ทำโดยนำโคโคซานที่ฉายรังสีแกมมาแล้ว (และที่ยังไม่ได้ฉาย) มาวัดคุณลักษณะในรูปของผงละเอียดในช่วงความยาวคลื่น $400 - 4000 \text{ cm}^{-1}$ รูปที่ 3 แสดง Spectrum ที่ได้จากการวิเคราะห์



รูปที่ 3 Spectrum ที่ได้จากการพิสูจน์เอกลักษณ์โคโคซานด้วยเทคนิค Fourier Transform Infrared

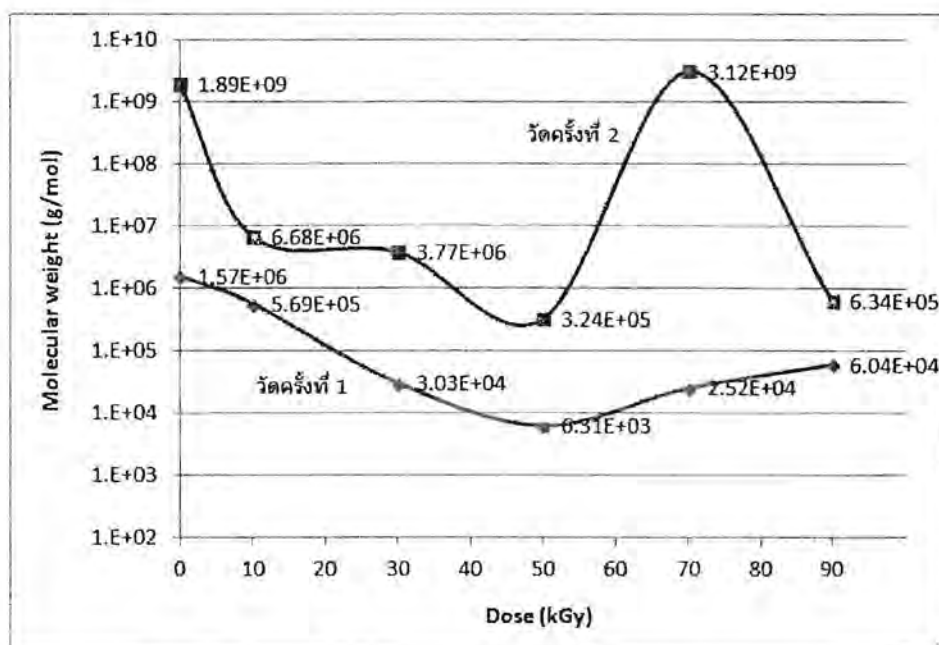
Spectrometer (FTIR)

(เนื่องจากต้องการแสดงกราฟในรูปเดียวกันทั้งหมด ทำให้ต้องเลื่อนกราฟของแต่ละโดสขึ้นเพื่อให้

เห็นแต่ละกราฟชัดเจน)

การหาน้ำหนักโมเลกุลของโคโตซาน

โคโตซานที่ฉายรังสีแกมมาจะมีน้ำหนักโมเลกุลลดลงตามโดสที่ฉายที่สูงขึ้น เนื่องจากรังสีแกมมาไปทำลายพันธะของสายโซ่โมเลกุลโคโตซาน ทำให้พันธะถูกตัดทอนสั้นลง งานวิจัยนี้วิเคราะห์หาน้ำหนักโมเลกุลของโคโตซานโดยใช้เทคนิค Gel Permeation Chromatography (GPC) โดยดำเนินการที่ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์เพื่อมาตรฐานและอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี โดยได้เตรียมตัวอย่างสารละลายโคโตซานด้วย 2% กรดอะซิติก (v/v) ให้มีความเข้มข้นประมาณ 0.1 % (w/v) และปรับ pH ให้เป็น 5.6 ด้วย 6 M NaOH ส่วนปริมาณสารละลายตัวอย่างที่ใช้ในการวัดแต่ละครั้งคือ 20 mL การหาน้ำหนักโมเลกุลทำโดยเปรียบเทียบกับ Polystyrene standard ที่ทราบน้ำหนักโมเลกุลที่แน่นอน รูปที่ 4 แสดงผลการวัดน้ำหนักโมเลกุลของโคโตซาน จำนวน 2 ครั้ง เหตุผลที่ทำการวัด 2 ครั้งเนื่องจากการวัดครั้งแรก ผลที่ค่าโดสที่ 70 และ 90 kGy ไม่เป็นไปตามแนวโน้มที่ควรจะเป็น จึงเตรียมสารละลายโคโตซานใหม่ และส่งไปวัดอีกครั้ง ภาคผนวก ก แสดงรายงานผลการวิเคราะห์ทั้ง 2 ครั้งและ Spectrum ของ Molar mass ที่ได้จากการวัดครั้งที่ 2

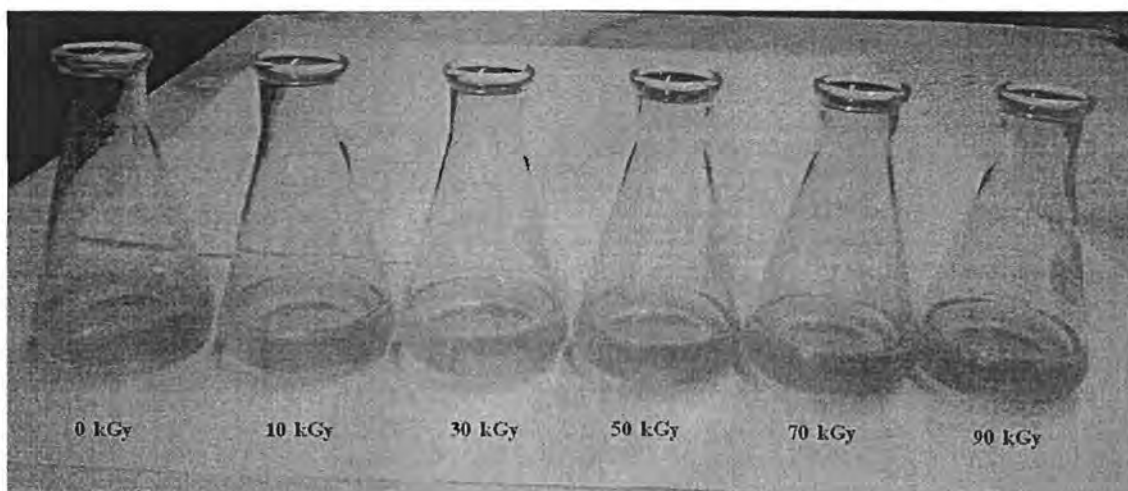


รูปที่ 4 ผลการวัดน้ำหนักโมเลกุลของโคโตซานด้วยเทคนิค Gel Permeation Chromatography (GPC) ทั้ง 2 ครั้ง

การเตรียมสารละลายโคโตซานเพื่อเคลือบถั่วลิสง

นำโคโตซานปริมาณเหมาะสมที่ได้จากการฉายรังสีแกมมาที่โดสต่างๆ (รวมถึงที่ไม่ได้ฉายด้วย) มาละลายในกรดอะซิติก 2 % (v/v) ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายของสารละลายโคโตซานเป็น 1, 2, 5 และ 10 % (w/v) หลังจากนั้นปรับค่า pH ให้มีค่าเป็น 5.6 ด้วย 6 M NaOH โดยในการค่อยๆ หยด NaOH ลงในสารละลายโคโตซานนั้น พบว่า NaOH กลายเป็นเจล และต้องกวนด้วย Magnetic bar บน Hot plate stirrer (ที่อุณหภูมิห้อง) เป็นเวลานานจึงจะละลายหมด นอกจากนี้ ที่ความเข้มข้นโคโตซานที่มากขึ้นและที่โดสการฉายรังสีที่ต่ำ (น้ำหนักโมเลกุลสูง) สารละลายโคโตซานที่เตรียมได้ก็จะมีความเข้มข้นมากขึ้น (และมีสีเข้มขึ้น) เนื่องจากมีปริมาณโคโตซานที่มากขึ้นและ

เนื่องจากมี Molecular chain ที่ยาวขึ้น สารละลายจึงข้นขึ้น รูปที่ 5 แสดงสารละลายโคโตซานที่ความเข้มข้น 1 % (w/v) ที่เตรียมจากโคโตซานที่ฉายรังสีที่โดสต่างๆ



รูปที่ 5 สารละลายโคโตซานที่ความเข้มข้น 1 % (w/v) ที่เตรียมจากโคโตซานที่ฉายรังสีที่โดสต่างๆ

การเคลือบถั่วลิสง

ได้ซื้อถั่วลิสงดิบเลาะเปลือกสดใหม่บรรจุถุงจากบริษัท เอก-ชัย ดีสทริบิวชั่น ซิสเต็ม จำกัด (หรือที่รู้จักกันในนาม Tesco Lotus) สาขาจตุรัสจามจุรี ดังแสดงในรูปที่ 6

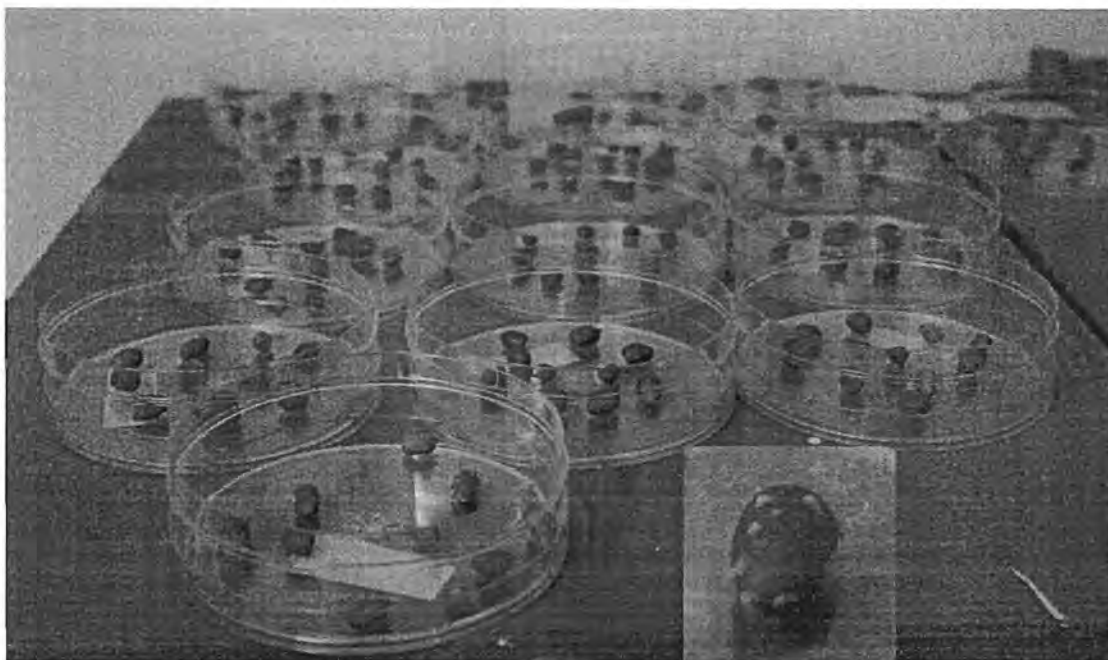


6(a)

6(b)

รูปที่ 6(a) - 6(b) ถั่วลิสงดิบเลาะเปลือกที่ใช้ในการทดลอง

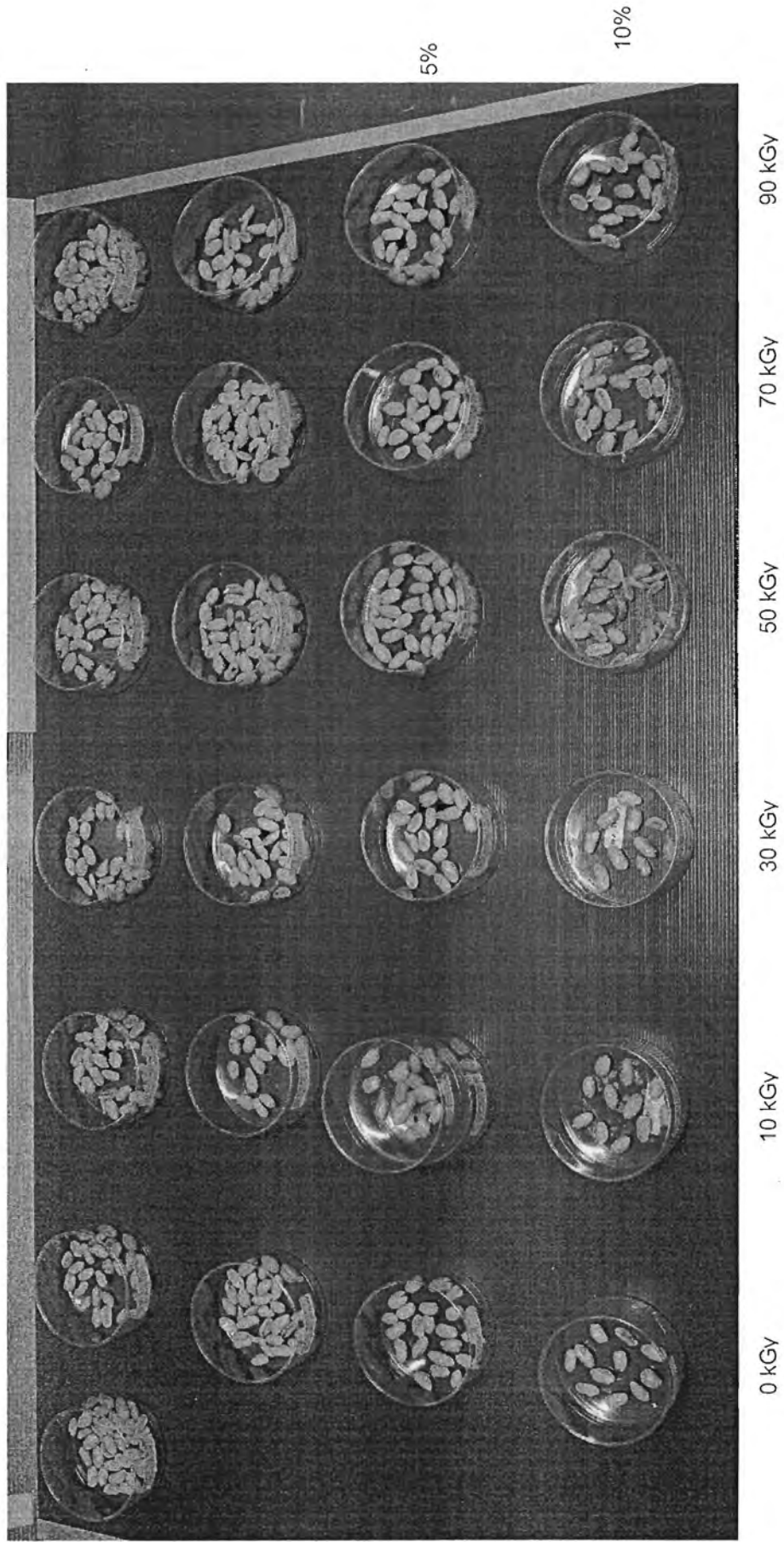
เหตุผลที่ใช้ถั่วลิสงดิบเลาะเปลือกแทนที่จะใช้ถั่วลิสงดิบไม่เลาะเปลือก เนื่องจากได้ทำการทดลองโดยใช้ถั่วลิสงดิบที่ไม่ได้เลาะเปลือก และหลังจากทำการเคลือบหลายอาทิตย์ก็พบว่ามีราขึ้นบนเมล็ดถั่ว โดยลักษณะราได้ขึ้นจากข้างในเปลือกและแทรกเปลือกออกมาสู่ภายนอก ทำให้ในทางปฏิบัติไม่สามารถใช้ถั่วลิสงดิบที่ไม่ได้เลาะเปลือกในการทดลองนี้ได้ เนื่องจากจะไม่สามารถทราบว่าร่าได้ขึ้นบนเมล็ดถั่วด้านในแล้วหรือยัง รูปที่ 7 แสดงการทดลองที่กล่าวถึงนี้ที่ไม่ได้นำผลมาใช้



รูปที่ 7 การทดลองที่ไม่ได้นำผลมาใช้ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าไม่สามารถใช้ถั่วลิสงดิบที่ไม่ได้เลาะเปลือก

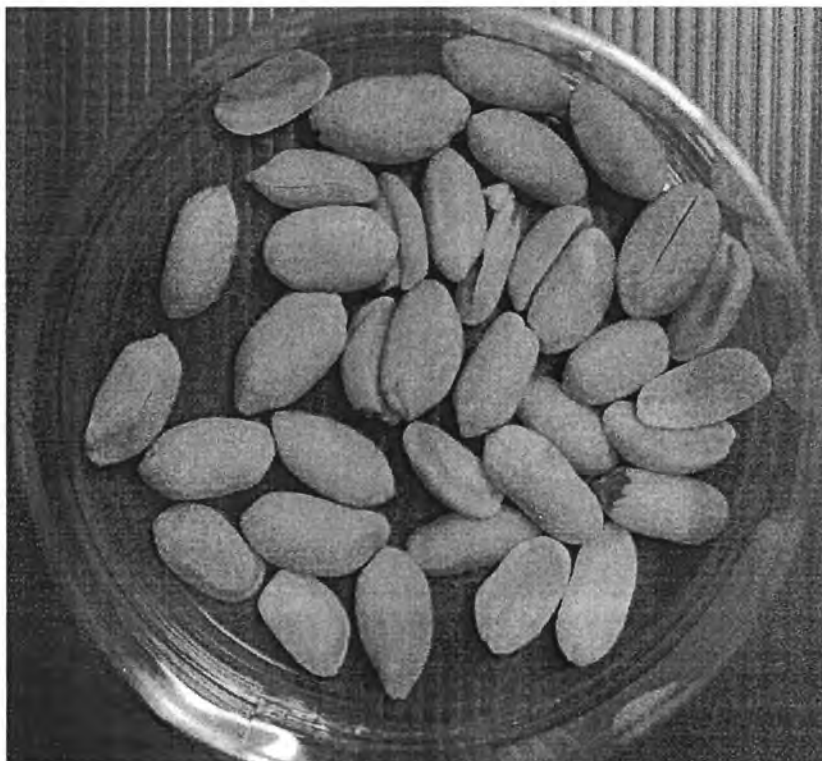
ในการทดลองนี้ได้

ได้ทำการเคลือบถั่วลิสงด้วยสารละลายโคโคซาน โดยหย่อนถั่วลิสงปริมาณที่เหมาะสมลงในบีกเกอร์ที่บรรจุสารละลายโคโคซานและเอียงไปมาเป็นเวลา 10 วินาที หลังจากนั้นคีบถั่วลิสงแต่ละเม็ดออกมาและวางลงในภาชนะบรรจุที่ทำจากพลาสติกใส และวางภาชนะบรรจุทั้งหมดในห้องทดลองในสภาวะอากาศปกติและไม่ได้เปิดเครื่องปรับอากาศ รูปที่ 8 แสดงการจัดวางภาชนะบรรจุบนแผ่น Future board โดยแบ่งเป็นตาราง แนวนอนแต่ละแถวสำหรับแต่ละความเข้มข้นของโคโคซานและแนวตั้งแต่ละแถวสำหรับแต่ละโดสการฉายรังสี

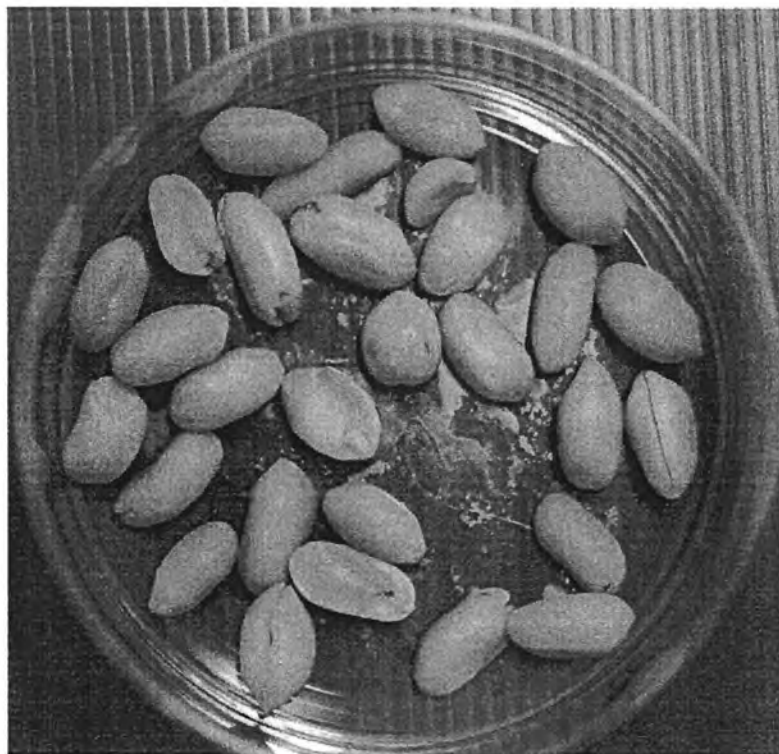


รูปที่ 8 การจัดวางภาชนะบรรจุถั่วลิสงที่เคลือบด้วยไคโตซาน

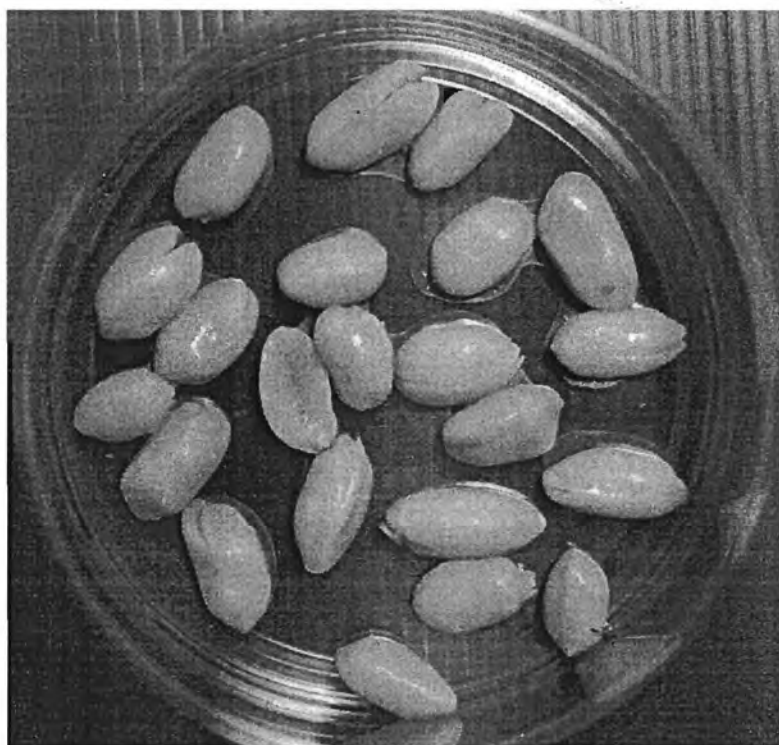
รูปที่ 9(a) - 9(j) แสดงถั่วลิสงที่ผ่านการเคลือบด้วยโคโตซาน โดยได้เลือกแสดงบางสภาวะของการทดลอง (Condition) เท่านั้นเนื่องจากมีทั้งหมด 25 Condition



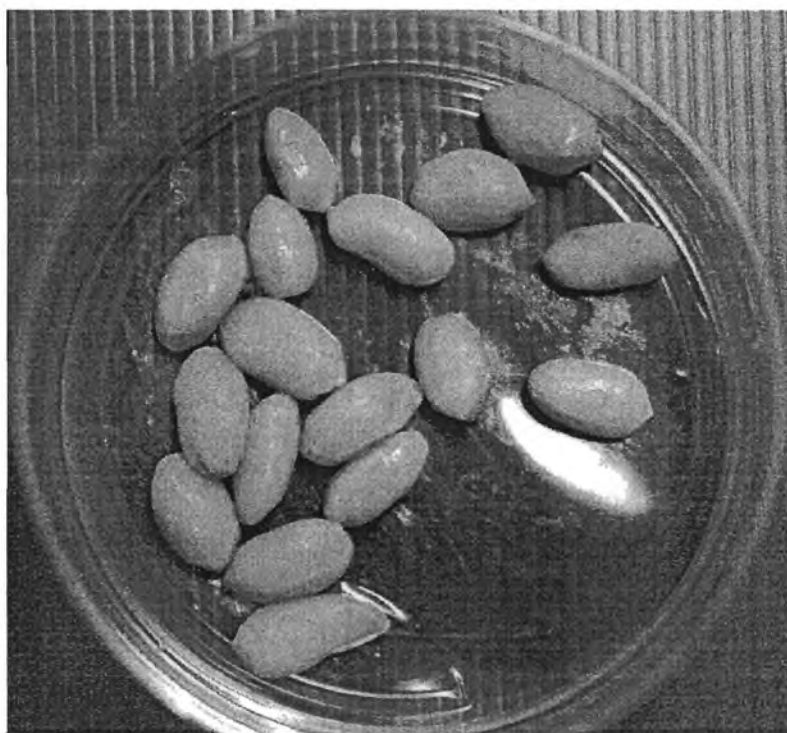
9(a) ไม่ได้เคลือบ (Control)



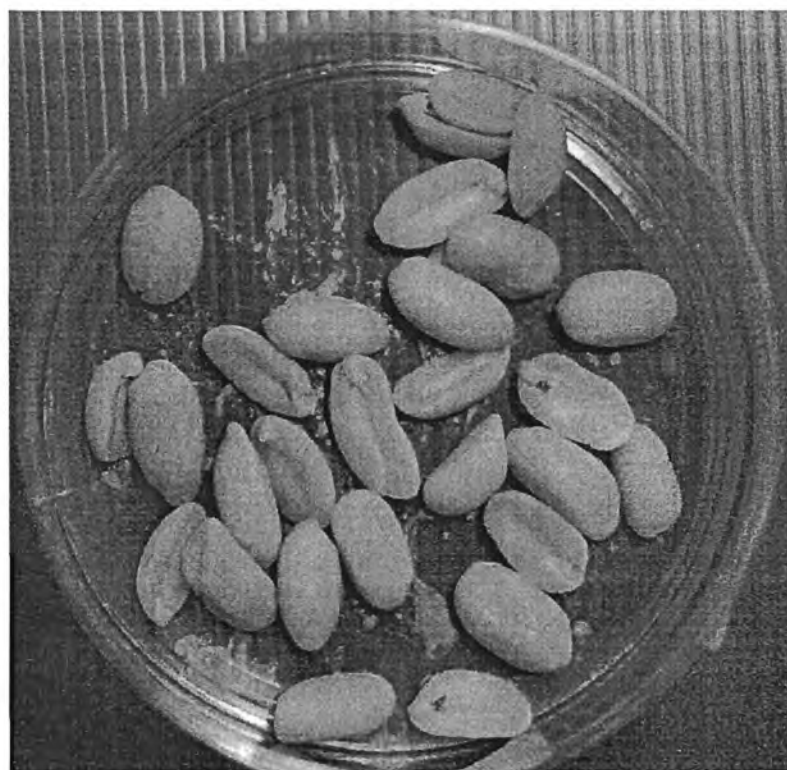
9(b) 1% Chitosan, 0 kGy



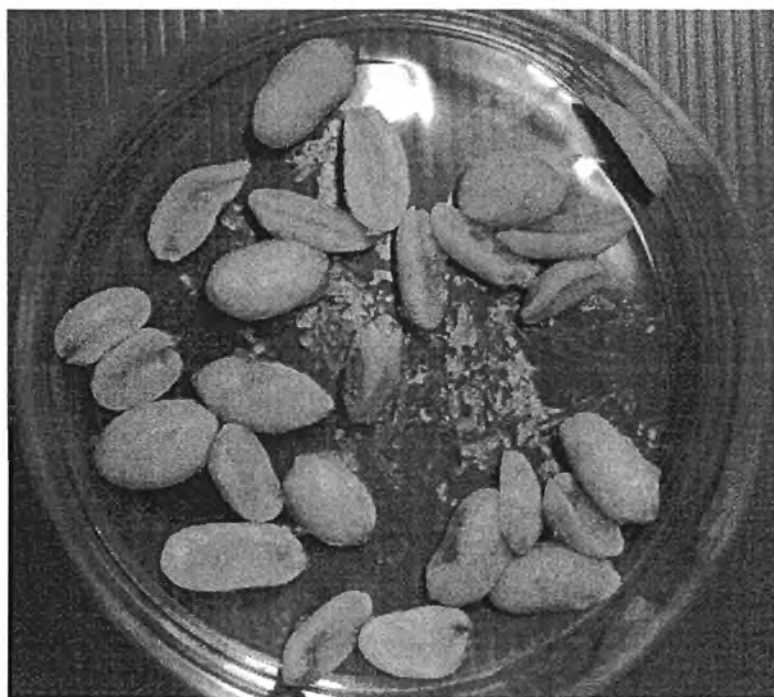
9(d) 5% Chitosan, 0 kGy



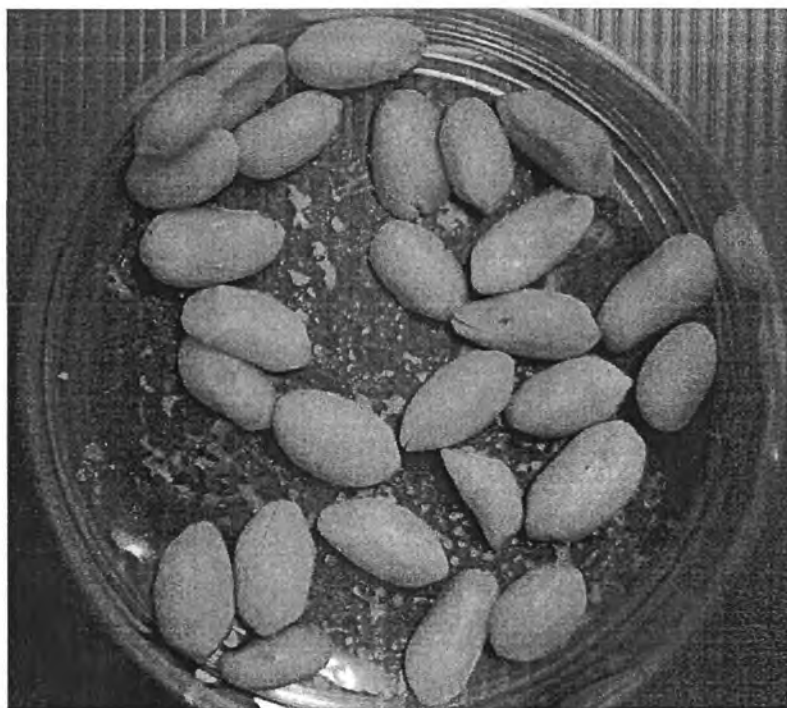
9(e) 5% Chitosan, 10 kGy



9(f) 2% Chitosan, 30 kGy



9(g) 10% Chitosan, 50 kGy

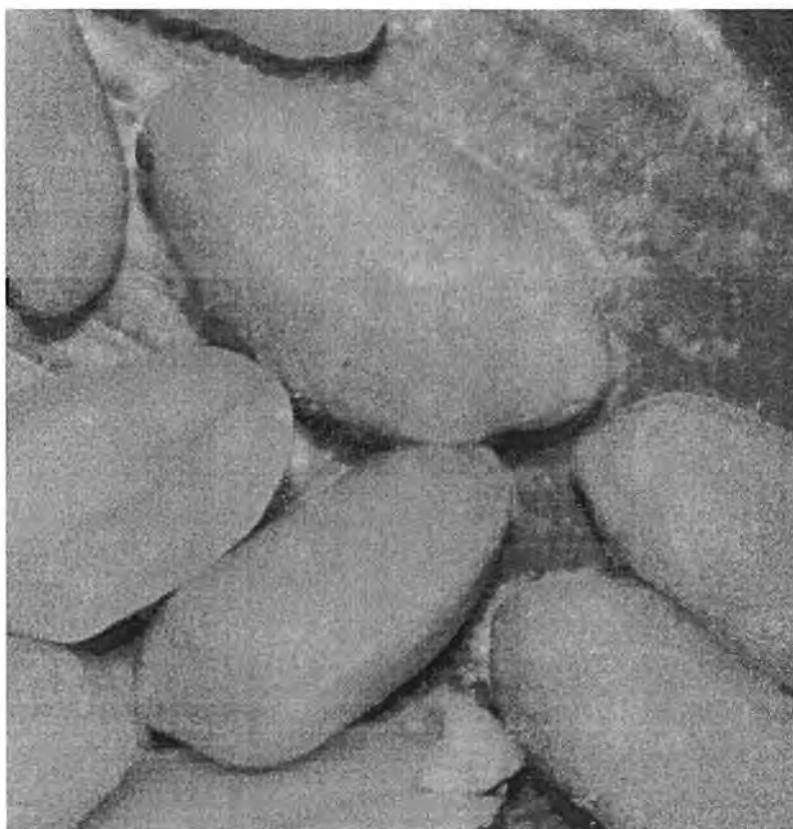


9(j) 5% Chitosan, 90 kGy

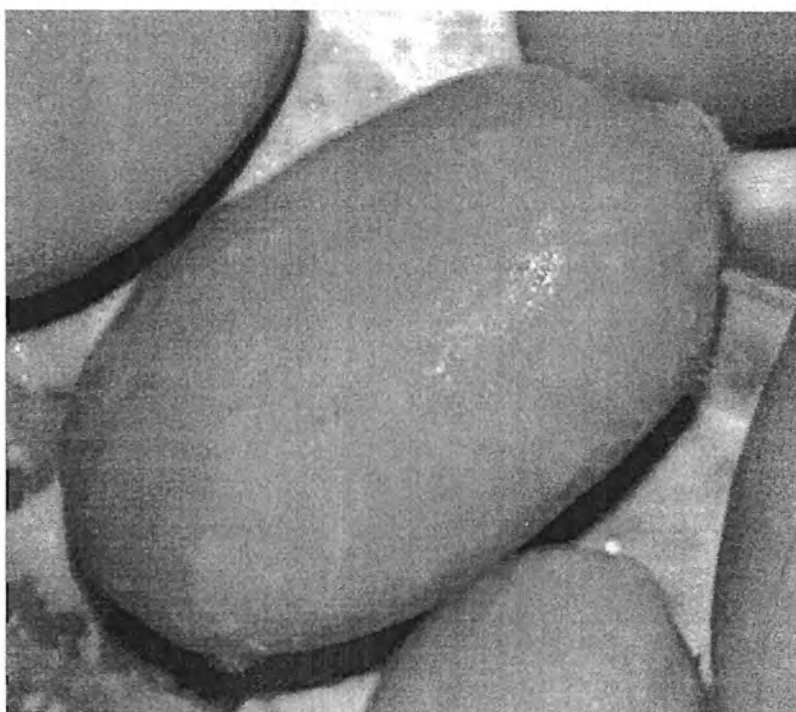
รูปที่ 9(a) - 9(j) ถั่วลิสงที่ผ่านการเคลือบด้วยไคโตซาน

การขึ้นของเชื้อราบนถั่วลิสง

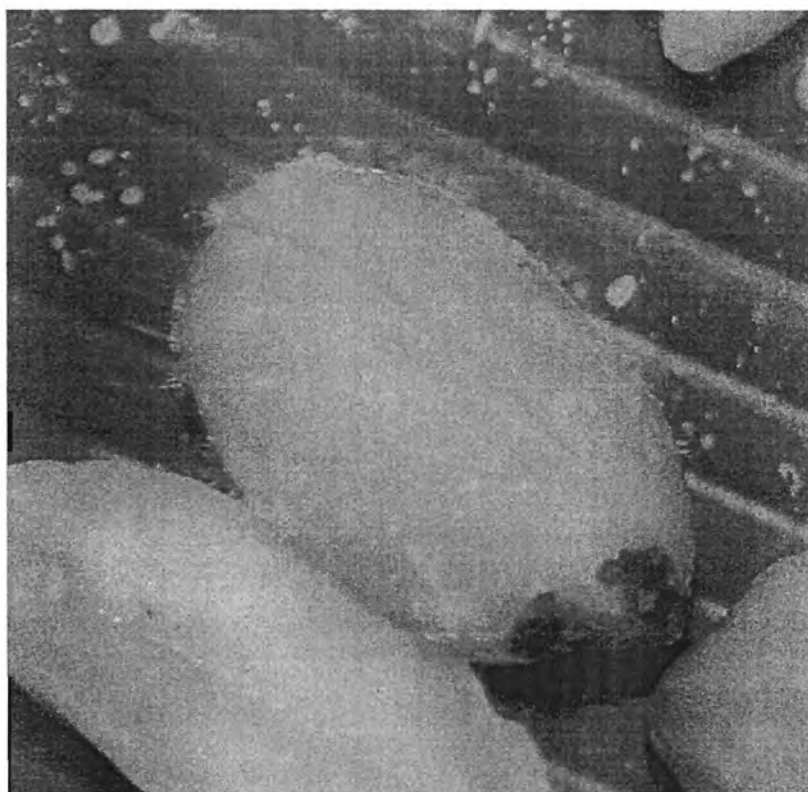
ได้ติดตามการขึ้นของเชื้อราบนถั่วลิสงทุกวัน (ยกเว้นวันเสาร์ อาทิตย์ และวันหยุดนักขัตฤกษ์ บางวัน) และพบว่าได้เกิดการขึ้นของเชื้อราดังแสดงในรูปที่ 10(a) - 10(f) ซึ่งแสดงการขึ้นของรา สำหรับบาง Condition ของการทดลอง ส่วนตารางที่ 2 แสดงระยะเวลาที่วางถั่วลิสงไว้ในห้องตั้งแต่ วันที่ทำการเคลือบจนถึงวันที่สามารถสังเกตเห็นราขึ้น โดยหากสังเกตเห็นราขึ้นแม้แต่บริเวณเล็กๆ ก็ ถือว่าได้เกิดการขึ้นของเชื้อราแล้ว



10(a) ไม่ได้เคลือบ (Control)



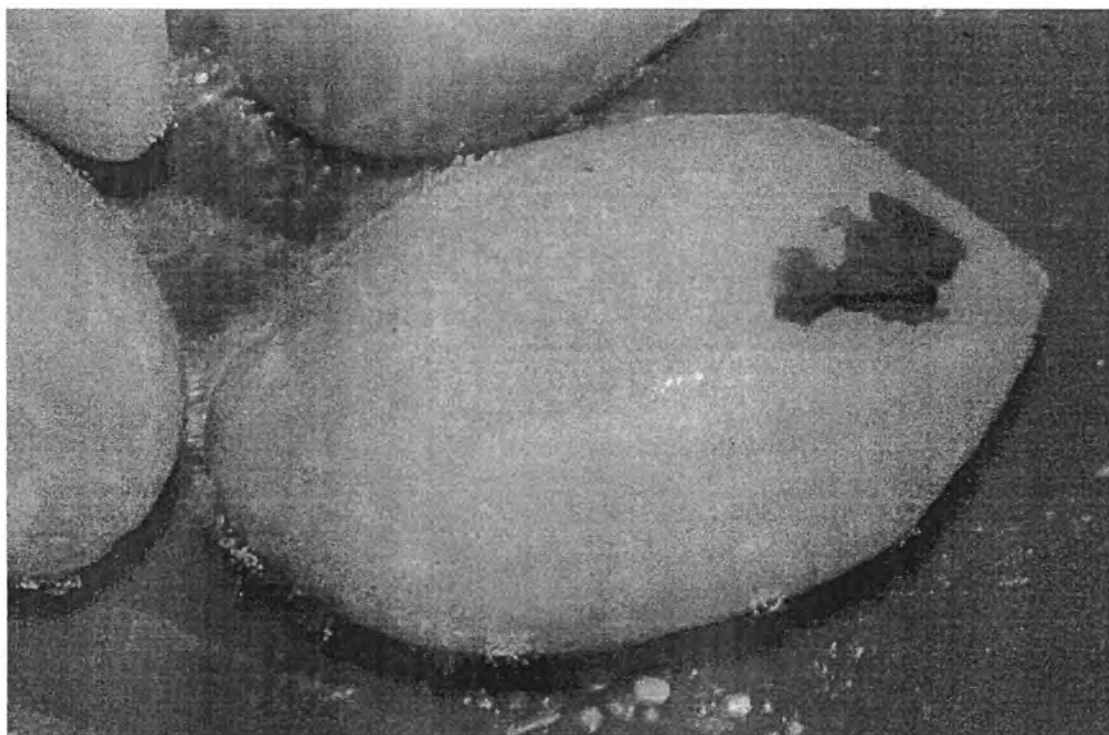
10(b) 1% Chitosan 10 kGy



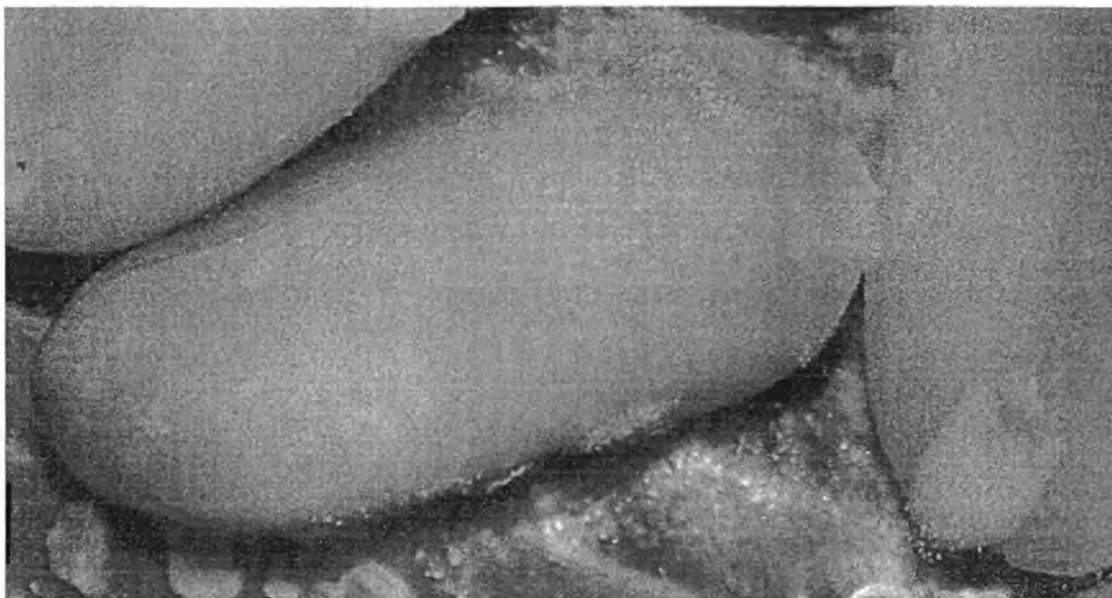
10(c) 1% Chitosan 50 kGy



10(d) 2% Chitosan 50 kGy



10(e) 1% Chitosan 70 kGy

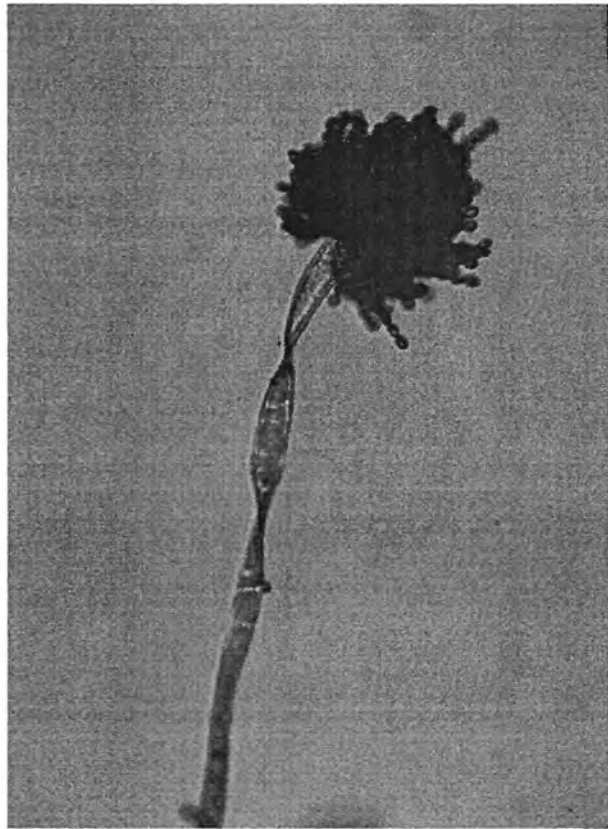


10(f) 1% Chitosan 90 kGy

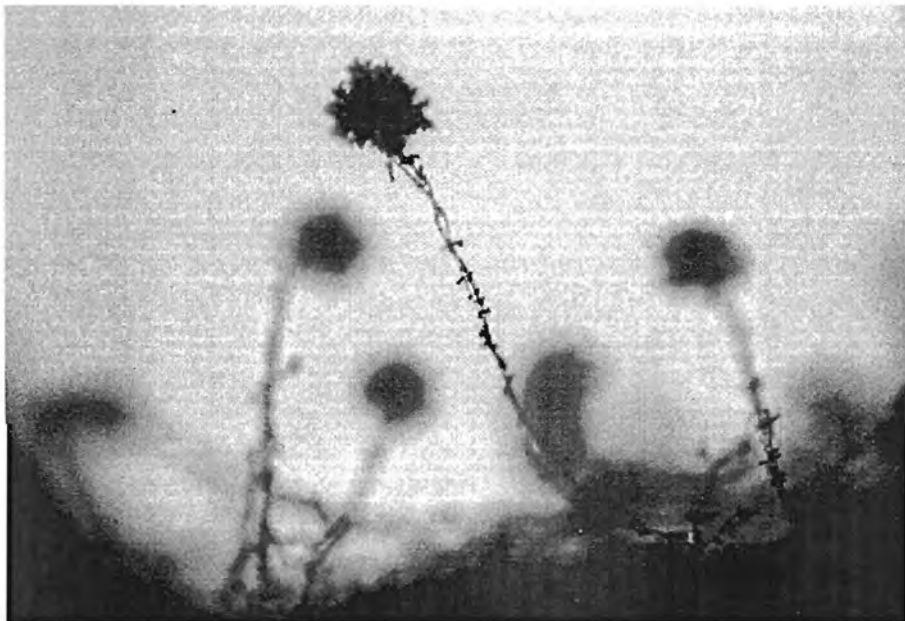
รูปที่ 10(a) - 10(f) ตัวอย่างถั่วลิสงที่ขึ้นรา

รูปที่ 11(a) - 11(m) แสดงตัวอย่างภาพจากการส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ของเชื้อราที่ขึ้นบน

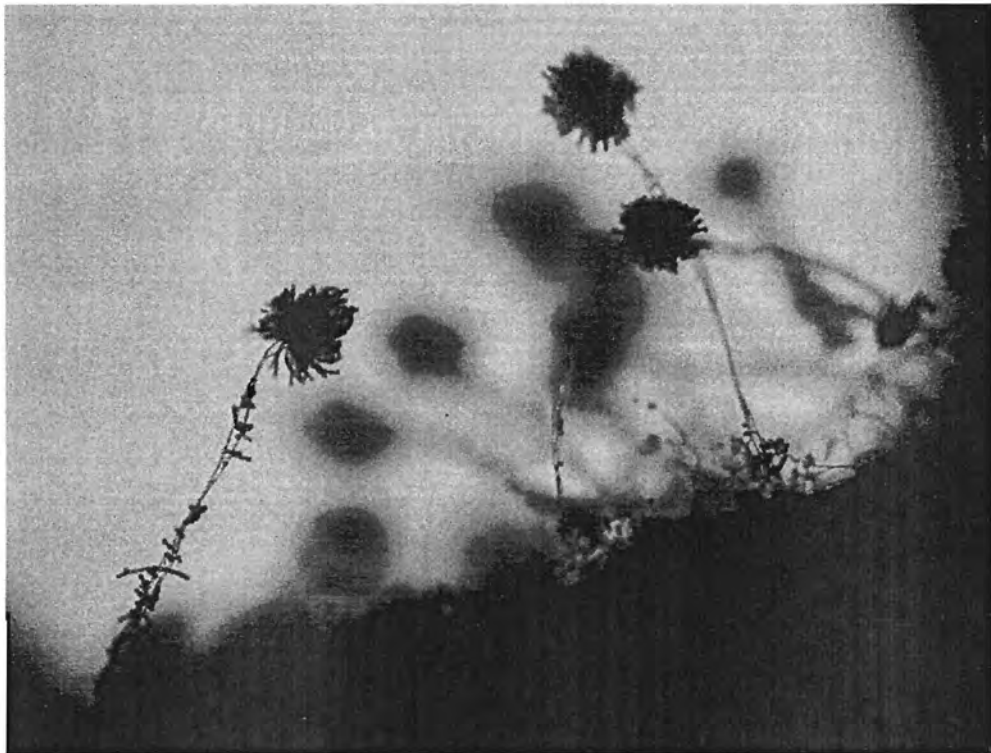
ถั่วลิสงในการทดลองนี้ และรูปที่ 11(n) - 11(o) แสดงภาพรา Aspergillus



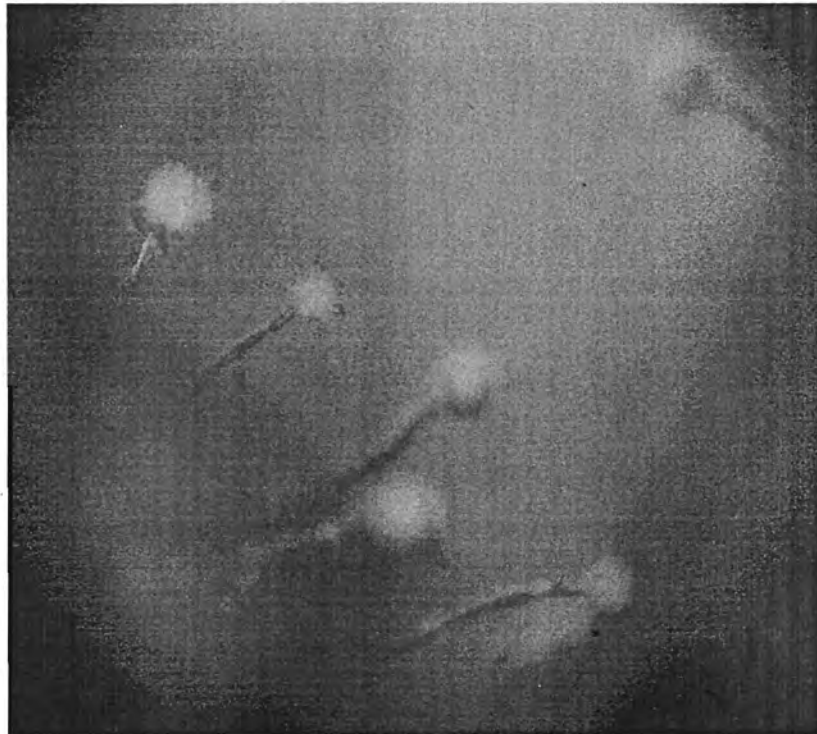
รูปที่ 11(a)



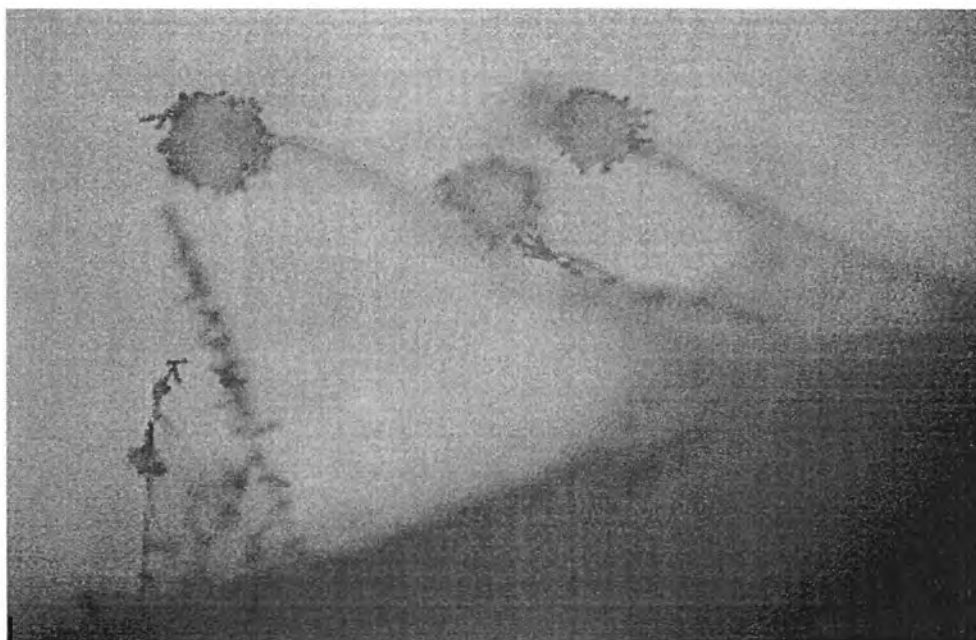
รูปที่ 11(b)



รูปที่ 11(c)



รูปที่ 11(d) (Bright field)



รูปที่ 11(e) (Bright field)



รูปที่ 11(f)



รูปที่ 11(g)



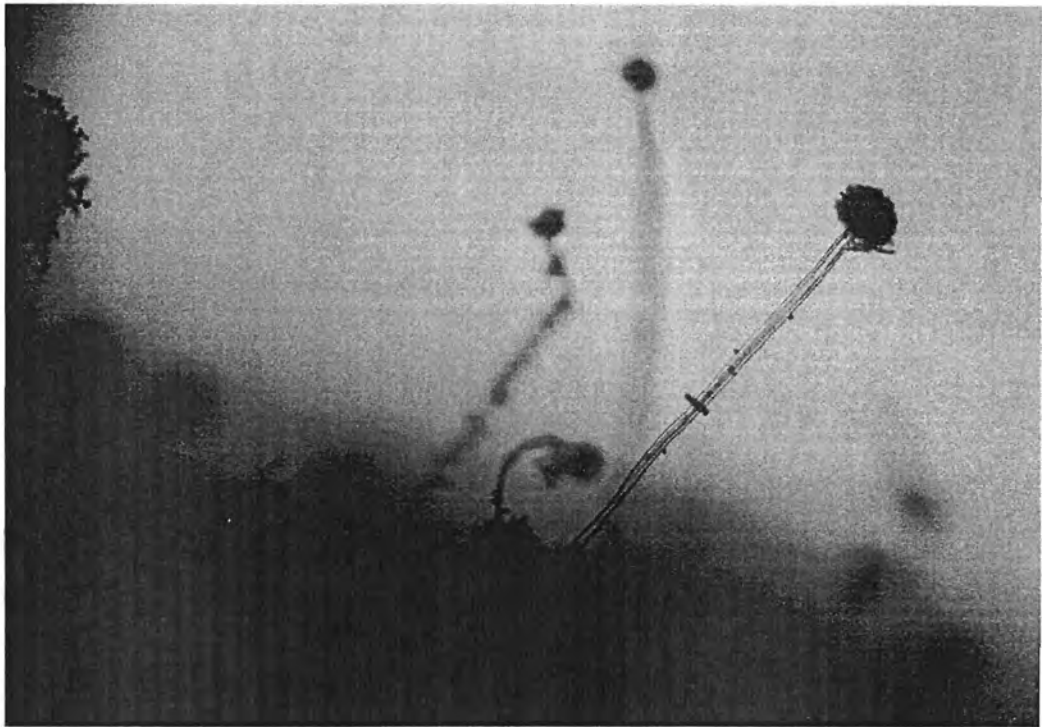
รูปที่ 11(h)



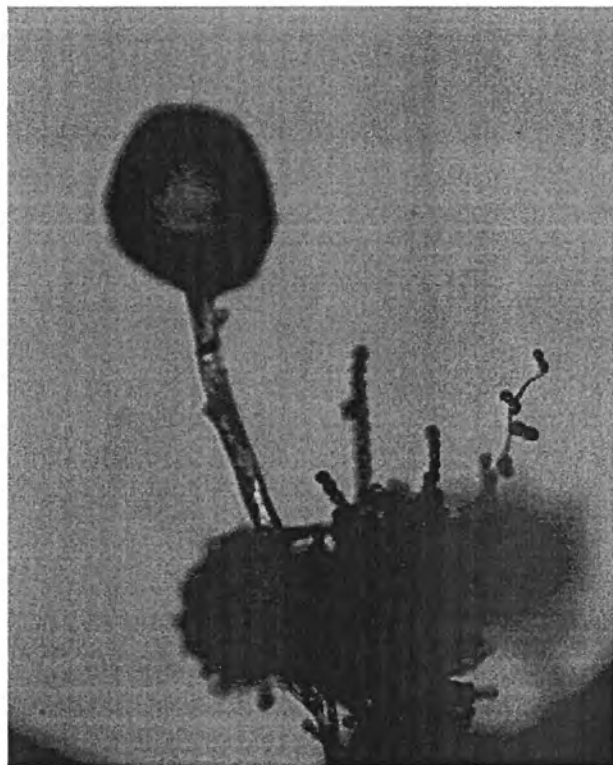
รูปที่ 11(i)



รูปที่ 11(j)



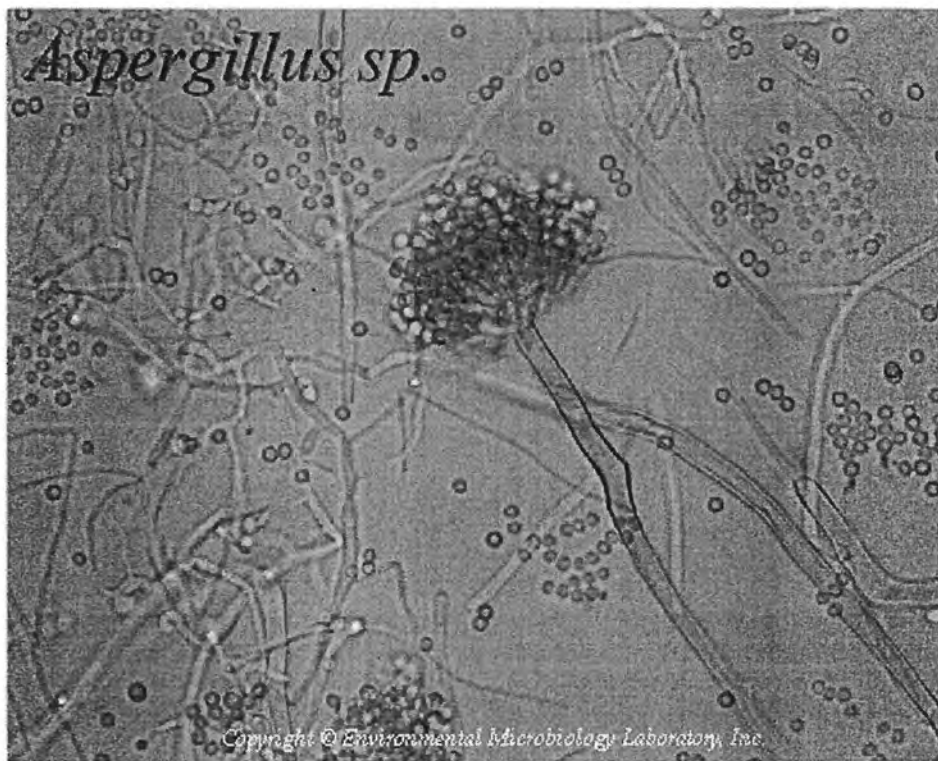
รูปที่ 11(k)



รูปที่ 11(l)

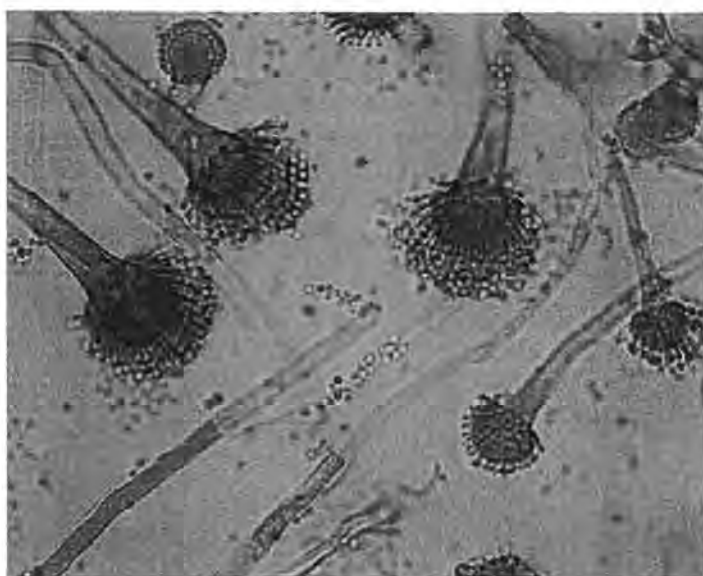


รูปที่ 11(m)



รูปที่ 11(n) ภาพรวม Aspergillus

ที่มา: <http://www.emlab.com/s/sampling/env-report-09-2006.html>



รูปที่ 11(o) ภาพรา Aspergillus

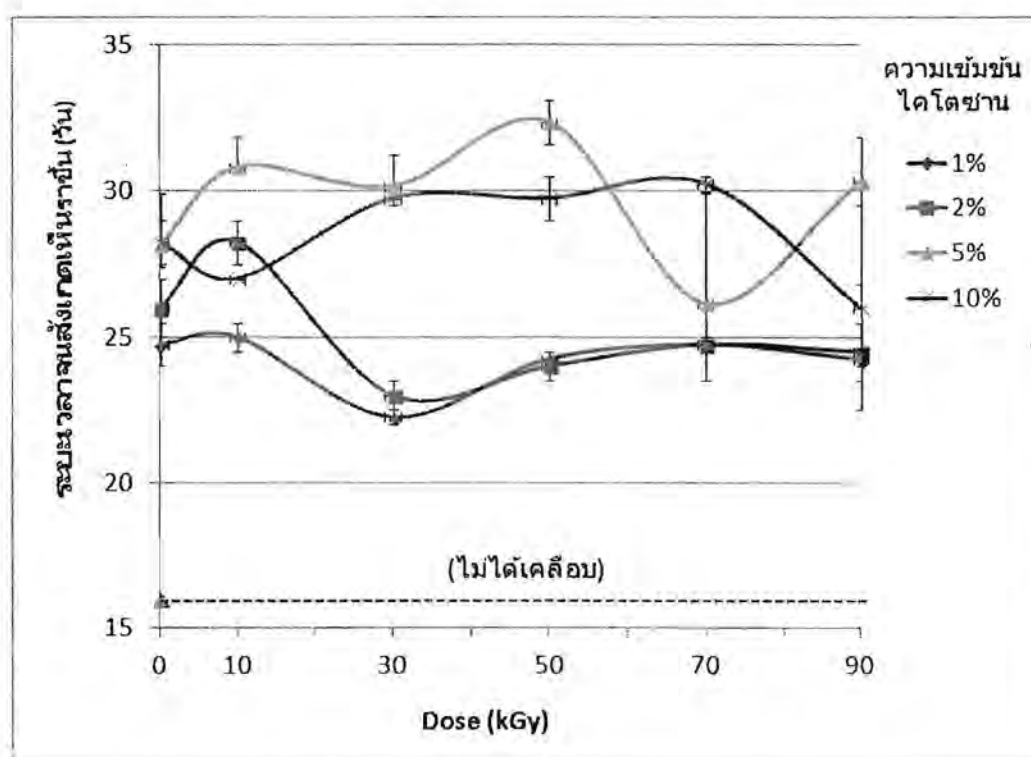
ที่มา: <http://www.eapcri.eu>

รูปที่ 11(a) - 11(o) เปรียบเทียบราที่ขึ้นบนถั่วลิสงในการทดลองนี้กับรา Aspergillus

ตารางที่ 2 แสดงระยะเวลาเฉลี่ยที่วางถั่วลิสงไว้จนสามารถสังเกตเห็นราขึ้น โดยได้ทำการทดลอง 2 ครั้งและหาค่าเฉลี่ย (ค่าวันที่ลงท้ายด้วย 0.3 (ปัดขึ้นจาก 0.25) หรือ 0.8 (ปัดขึ้นจาก 0.75) เกิดจากการที่ไม่ทราบอย่างชัดเจนว่าราได้ขึ้นเมื่อวันใด จึงระบุเป็นช่วงเวลาเช่น 27-28 วัน ทำให้ได้ค่าเฉลี่ยของการทดลองครั้งที่ 1 นี้ที่ 27.5 วัน และเมื่อนำไปเฉลี่ยกับการทดลองครั้งที่ 2 ก็จะทำให้สามารถมีค่าหลังจุดทศนิยมเป็น 0.25 หรือ 0.75 ได้) และสำหรับค่าที่ความเข้มข้นโคโคซาน 5% เนื่องจากเป็นความเข้มข้นที่ยับยั้งการขึ้นของเชื้อราได้ดีที่สุดของเกือบทุกๆ โดสของการฉายรังสี จึงทำการทดลองเฉพาะความเข้มข้นนี้อีกครั้ง ดังนั้นค่าที่ความเข้มข้นโคโคซาน 5% จึงเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ครั้ง รูปที่ 12 แสดงกราฟระยะเวลาเฉลี่ยที่วางถั่วลิสงไว้จนสามารถสังเกตเห็นราขึ้น โดยใช้ข้อมูลจากตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ระยะเวลาเฉลี่ยที่วางตัวลิสงไว้นสามารถสังเกตเห็นราขึ้น (หน่วยเป็นวัน)

โดส (kGy)		0	10	30	50	70	90
ความเข้มข้น (%)							
1%	16	24.8 ± 0.8	25.0 ± 0.5	22.3 ± 0.3	24.3 ± 0.3	24.8 ± 0.3	24.3 ± 0.3
2%	± 1	26.0 ± 1.0	28.3 ± 0.8	23.0 ± 0.5	24.0 ± 0.5	24.8 ± 1.3	24.5 ± 1.0
5%	(ไม่ได้)	28.2 ± 1.8	30.8 ± 1.0	30.2 ± 1.0	32.3 ± 0.8	26.2 ± 3.8	30.3 ± 1.5
10%	เคลือบ	28.3 ± 0.8	27.0 ± 0.0	29.8 ± 0.3	29.8 ± 0.8	30.3 ± 0.3	26.0 ± 3.5



รูปที่ 12 กราฟระยะเวลาเฉลี่ยที่วางตัวลิสงไว้นสามารถสังเกตเห็นราขึ้น โดยใช้ข้อมูลจากตารางที่ 2

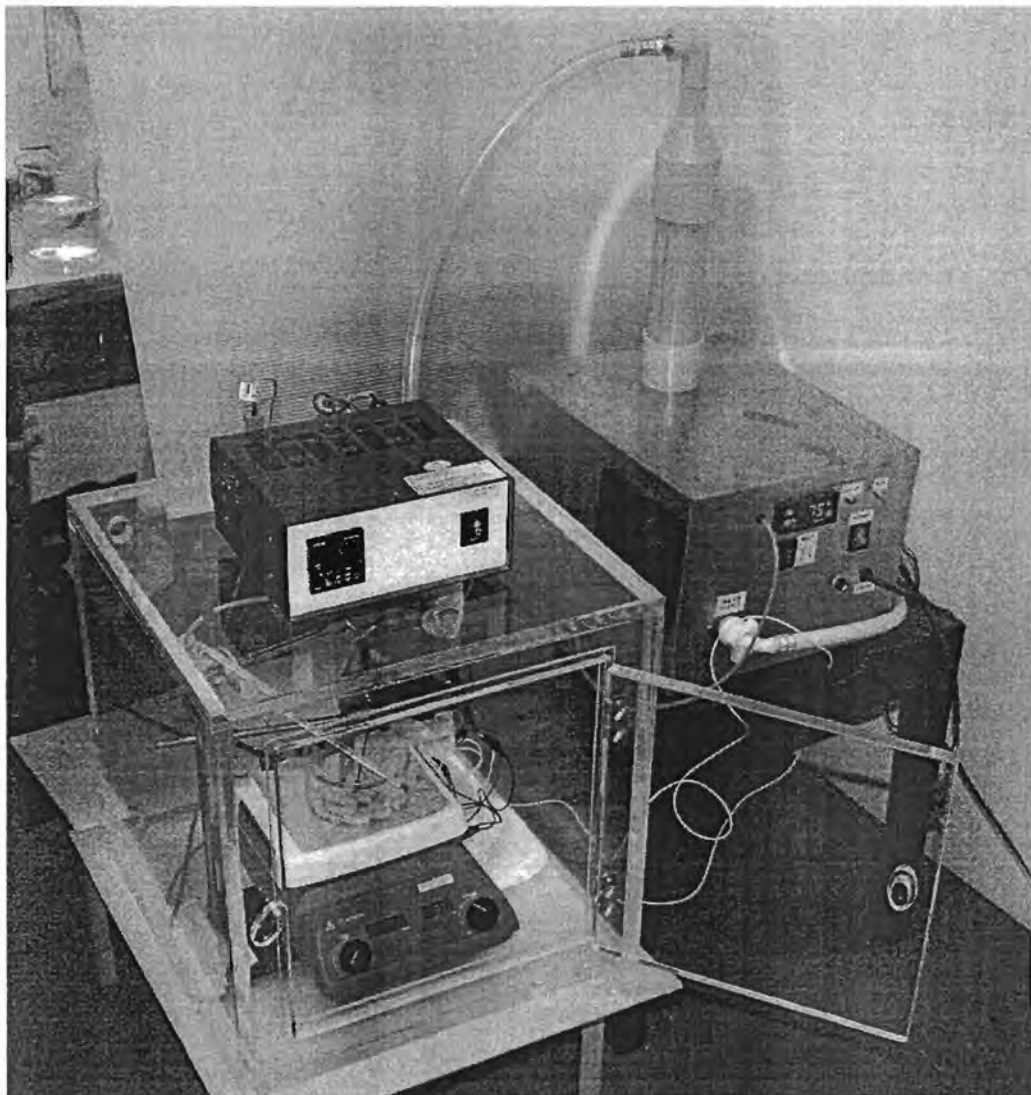
ส่วนการทำ Agar disperse นั้น ได้ทดลองด้วยโดยนำเม็ดถั่ว 2 เม็ดจากแต่ละ Condition ไปวางลงบนจานเพาะเชื้อที่มีสารอาหารสำหรับราอยู่ ผลปรากฏว่าภายใน 1 - 2 วัน ได้เกิดราขึ้นในทุก Condition ดังนั้นวิธีนี้จึงไม่สามารถใช้ในการหาระยะเวลาที่ราจะขึ้นได้ ทั้งนี้การที่ราขึ้นอย่างรวดเร็วเนื่องจากในความเป็นจริงแล้วมีเชื้อราและสปอร์ของราอยู่ทุกหนทุกแห่ง รวมถึงที่เกาะอยู่บนถั่วลิสงที่เคลือบด้วย และเมื่อนำไปใส่ในอาหารสำหรับเลี้ยงราโดยเฉพาะ ราที่อยู่ในอากาศและที่เกาะอยู่บนถั่ว จึงเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว

การสร้างระบบควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์

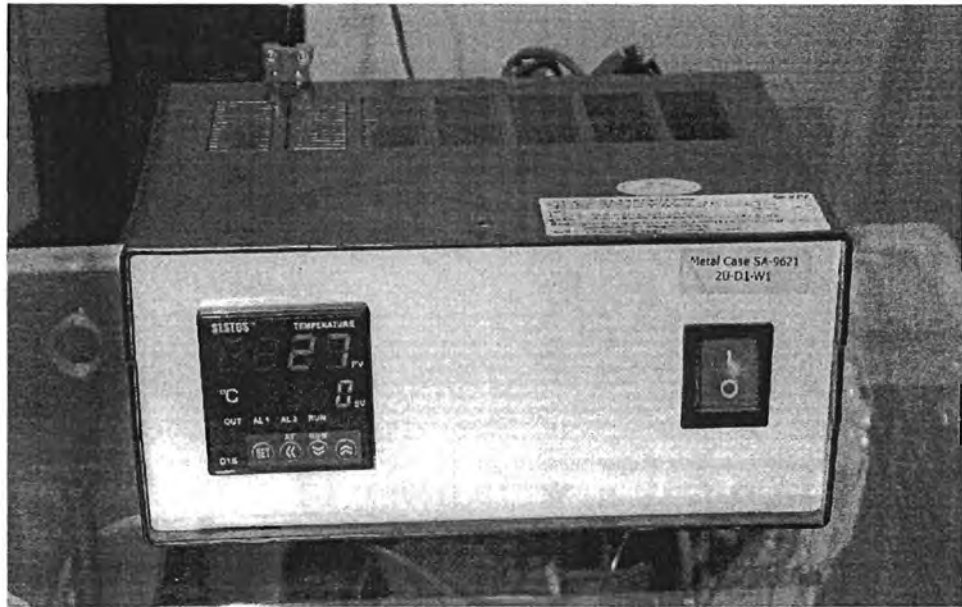
ในการสร้างระบบที่สามารถควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ได้นั้น จะต้องมีตัวจ่ายไอน้ำและตัวทำความร้อนให้กับระบบ ซึ่งทางที่วิจัยได้ทำการศึกษาและทดสอบหลายวิธีและได้ข้อสรุปสำหรับวิธีที่ดีที่สุดคือใช้เครื่องกำเนิดไอน้ำแบบ Ultrasonic ส่วนตัวให้ความร้อนกับระบบเป็น Hot plate stirrer (โดยไม่ใช้ระบบ Stirrer) โดยวางภาชนะบรรจุบนเครื่องนี้และปรับอุณหภูมิบนเครื่อง (ซึ่งจะแสดงอุณหภูมิของตัวแท่นวาง) และอ่านอุณหภูมิจาก Thermocouple probe ที่ปลายสัมผัสกับฐานของภาชนะบรรจุและต่อสัญญาณเข้ากับเครื่องอ่านอุณหภูมิ นอกจากนี้มีแท่น Thermometer วางบนฐานของภาชนะบรรจุด้วยเพื่อเป็นการยืนยันอุณหภูมิที่อ่านได้จากเครื่องอ่านอุณหภูมิ

ในการควบคุมความชื้นสัมพัทธ์จะต้องมีพัดลมเป่าไอน้ำมาสู่ภาชนะบรรจุถั่วลิสงโดยตรง เพราะหากปล่อยให้ไอน้ำเข้ามาในตู้ทดลองโดยที่ไม่ได้ทำการเป่าสู่ภาชนะบรรจุโดยตรง เมื่อถึงค่าความชื้นสัมพัทธ์ที่ต้องการและเครื่องกำเนิดไอน้ำทำการตัดการผลิตไอน้ำแล้ว จะยังมีไอน้ำหลงเหลืออยู่ในตู้ทดลองมาก ทำให้ความชื้นสัมพัทธ์บริเวณภาชนะบรรจุเพิ่มขึ้นอีกมากและเป็นเวลานาน

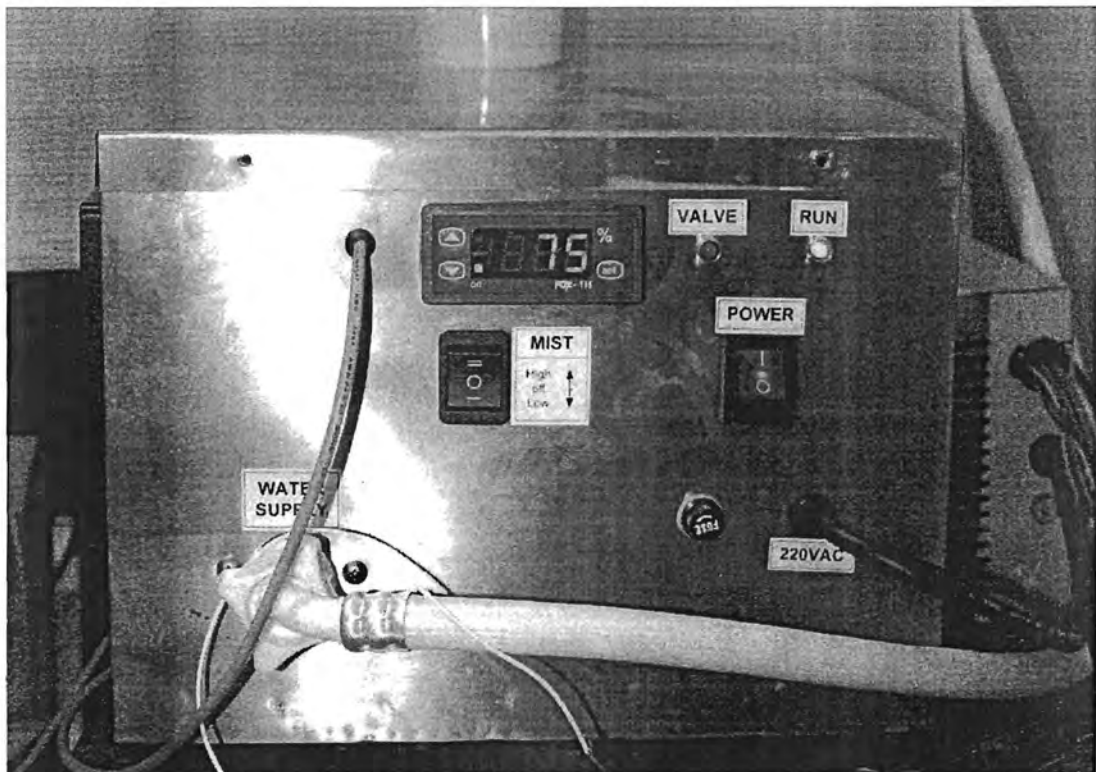
จนกว่าจะลดลง ซึ่งหากใช้พัดลมเป่าไอน้ำลงสู่ภาชนะบรรจุแก้วลิสงโดยตรง ความชื้นสัมพัทธ์ที่วัดได้ จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วและจะมีไอน้ำหลงเหลืออยู่ในตู้้นน้อยกว่าหลังจากเครื่องกำเนิดไอน้ำตัดการ ผลิตไอน้ำแล้ว ทำให้ความชื้นสัมพัทธ์เพิ่มขึ้นสูงกว่าค่าที่ตั้งไว้เป็นเวลาไม่นาน และจะลดลงจนถึงค่า ที่ตั้งไว้ รูปที่ 13(a) - 13(e) แสดงตู้อะครีลิคใสหนา 1.5 ซม. และระบบควบคุมอุณหภูมิและความชื้น สัมพัทธ์



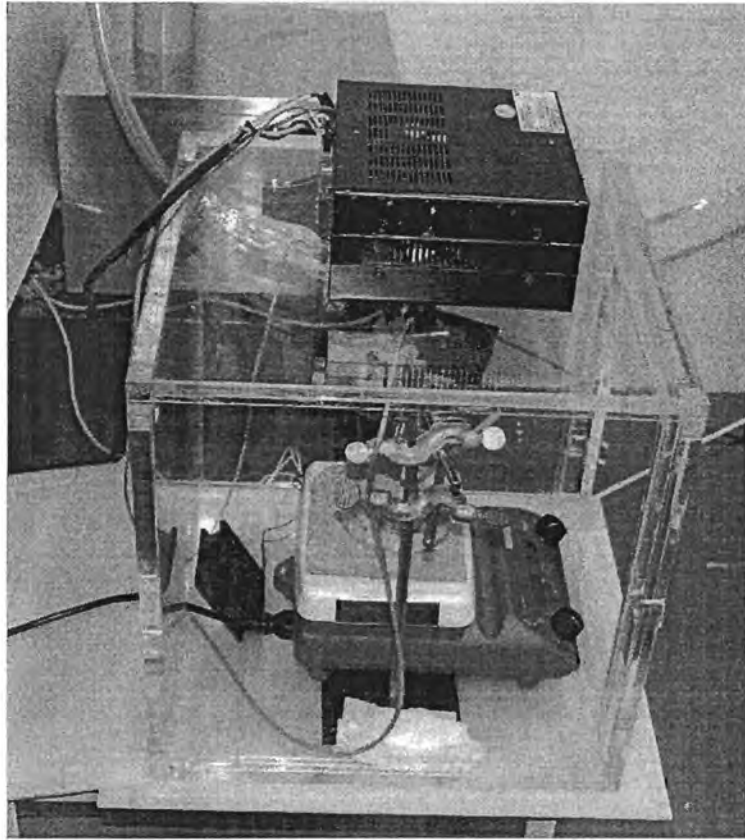
รูปที่ 13(a) ตู้อะครีลิคใสและระบบควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์



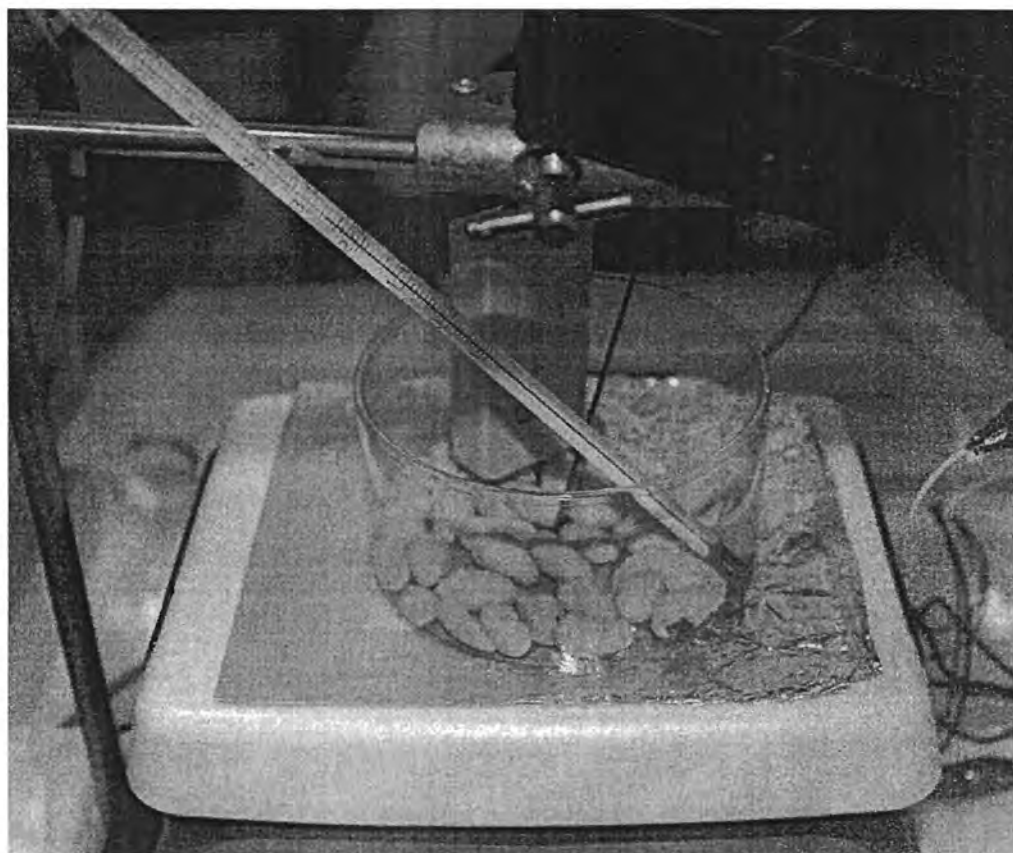
รูปที่ 13(b) เครื่องอ่านอุณหภูมิ



รูปที่ 13(c) เครื่องผลิตไอน้ำ



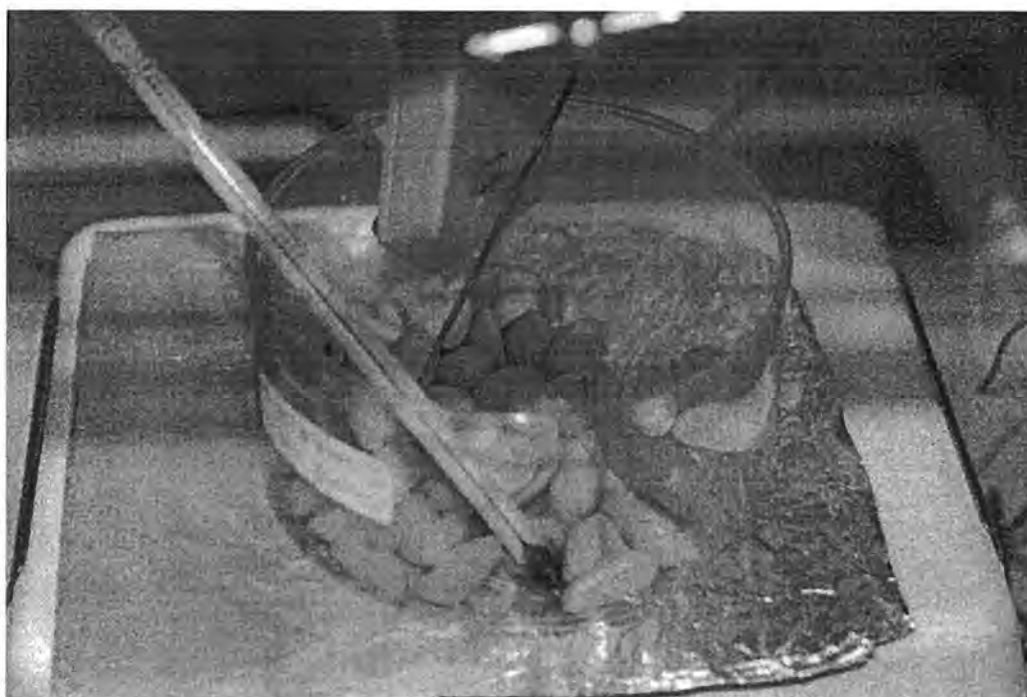
รูปที่ 13(d) ด้านข้างของตู้อะคริลิกแสดงท่อนำไอน้ำที่ต่อจากเครื่องผลิตไอน้ำ



รูปที่ 13(e) การจัดวางระบบภายในตู้อะครีลิคบริเวณภาชนะบรรจุถั่วลิสง

รูปที่ 13(a) - 13(e) ตู้อะครีลิคใสและระบบควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์

รูปที่ 14 แสดงถั่วลิสงที่เคลือบด้วยโคโตซานที่ฉายรังสีที่ 50 kGy และที่ความเข้มข้น 5% กับ ถั่วลิสงชุดควบคุมที่ไม่ได้เคลือบด้วยโคโตซานที่วางไว้ด้านข้าง ระหว่างทำการทดสอบที่อุณหภูมิ 30°C และความชื้นสัมพัทธ์ที่ตั้งไว้ที่ 80%



รูปที่ 14 ถั่วลิสงที่เคลือบด้วยโคโคซานที่ฉายรังสีที่ 50 kGy และที่ความเข้มข้น 5% กับถั่วลิสงชุดควบคุมที่วางไว้ด้านข้าง ระหว่างทำการทดสอบที่อุณหภูมิ 30°C และความชื้นสัมพัทธ์ 80%

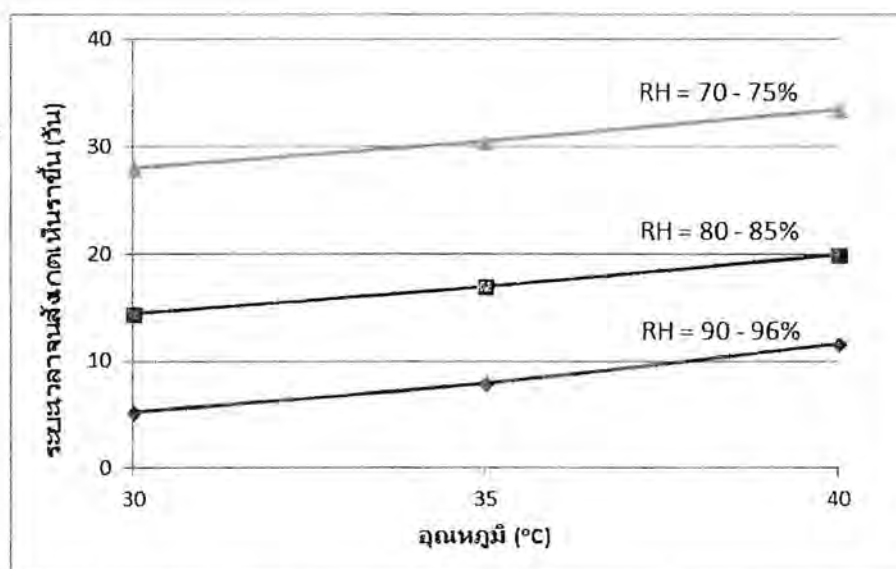
ตารางที่ 3 แสดงระยะเวลาที่ทำการทดสอบที่อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ต่างๆ โดยใช้ถั่วลิสงที่เคลือบด้วยโคโคซานที่ฉายรังสีที่ 50 kGy และที่ความเข้มข้น 5% จนสามารถสังเกตเห็นราขึ้น โดยข้อมูลในตารางเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 2 ครั้ง แต่สำหรับที่ความชื้นสัมพัทธ์ 90% ได้ทำการทดลองทั้งหมดถึง 3 ครั้ง (เพราะใช้เวลาไม่นานนัก) นอกจากนี้เนื่องจากเมื่อเครื่องผลิตไอน้ำตัดการทำงานเมื่อความชื้นสัมพัทธ์ในตัวเพิ่มถึงค่าที่ต้องการแล้ว ยังมีไอน้ำหลงเหลืออยู่ในตู้จำนวนหนึ่ง ทำให้ความชื้นสัมพัทธ์เพิ่มขึ้นต่อไปอีกเป็นเวลาหนึ่งและลดลงจนถึงค่าที่ตั้งไว้ในที่สุด ดังนั้นในตารางนี้จึงให้ค่าช่วงความชื้นสัมพัทธ์โดยประมาณที่เครื่องอ่านได้ (ค่า 70, 80 และ 90% เป็นค่าที่ตั้งไว้) รูปที่ 15(a) และ 15(b) แสดง

ข้อมูลในตารางที่ 3 โดยแยกแสดงให้เห็นผลของอุณหภูมิและผลของความชื้นสัมพัทธ์ต่อระยะเวลาในการสังเกตเห็นราขึ้น

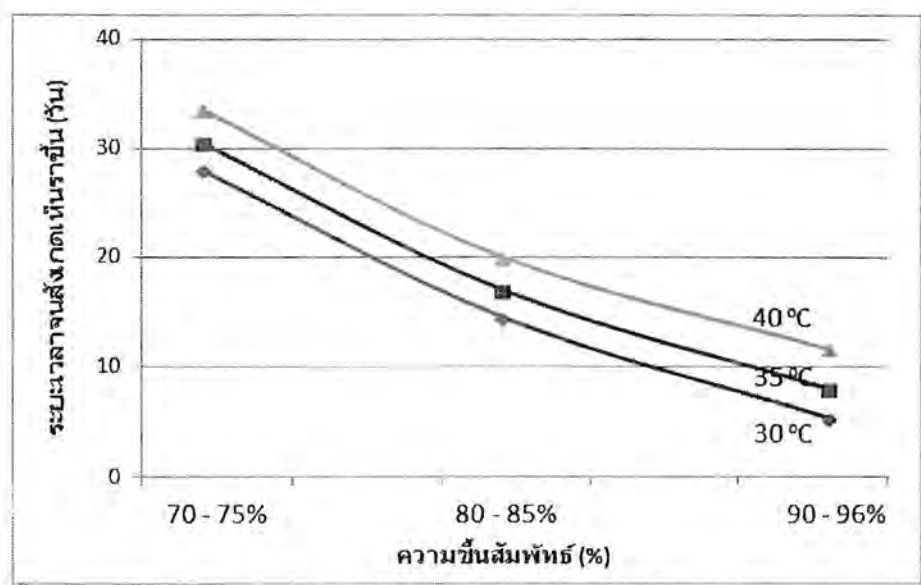
ตารางที่ 3 ระยะเวลาที่ทำการทดสอบที่อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ต่างๆ โดยใช้ถั่วลิสงที่เคลือบด้วยโคโคซานที่ฉายรังสีที่ 50 kGy และที่ความเข้มข้น 5% จนสามารถสังเกตเห็นราขึ้น

(หน่วยเป็นวัน)

ความชื้นสัมพัทธ์ และอุณหภูมิ	30°C	35°C	40°C
70 - 75%	28 ± 1	30.5 ± 0.5	33.5 ± 0.5
80 - 85%	14.5 ± 0.5	17 ± 0	20 ± 1
90 - 96%	5.3 ± 0.6	8 ± 1	11.7 ± 1.2



รูปที่ 15(a) ข้อมูลในตารางที่ 3 โดยแยกแสดงให้เห็นผลของอุณหภูมิและผลของความชื้นสัมพัทธ์ต่อระยะเวลาในการสังเกตเห็นราขึ้น



รูปที่ 15(b) ข้อมูลในตารางที่ 3 โดยแยกแสดงให้เห็นผลของอุณหภูมิและผลของความชื้นสัมพัทธ์ต่อระยะเวลาในการสังเกตเห็นราขึ้น

นอกจากนี้ในช่วงความชื้นสัมพัทธ์ 80 - 85% และ 90 - 96% ในทุกอุณหภูมิที่ทำการทดลอง ได้ทำการใส่ถั่วลิสงที่ไม่ได้เคลือบโคโคซานไว้ด้วย ผลที่ได้คือทั้งถั่วลิสงที่ไม่ได้เคลือบและที่เคลือบ เกิดราขึ้นพร้อมกัน

อภิปรายผลการทดลอง

การพิสูจน์เอกลักษณ์ของโคโตซานที่ผ่านการฉายรังสีแกมมา

จาก Spectrum ที่ได้จากการพิสูจน์เอกลักษณ์โคโตซานด้วยเทคนิค Fourier Transform Infrared Spectrometer (FTIR) ในรูปที่ 3 สามารถสรุปได้ว่าโครงสร้างหลักของโคโตซานที่ฉายรังสีแกมมาทุกๆ โดสไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงไปจากโคโตซานที่ไม่ได้ฉายรังสีแต่อย่างใด โดยยังพบหมู่หลักๆ ของโครงสร้างโคโตซานที่เลขคลื่น (Wave number) 894 (หมู่วงแหวนไพราโนล), 1095 (กลูโคไซด์), 1421 (อะเซตาไมด์) และ 3448 (หมู่ไฮดรอกซี) cm^{-1} ในทุกโดสของการฉายรังสี แต่สำหรับที่เลขคลื่น 1238 (อะมิโน) และ 2991 (คาร์บอนิล) cm^{-1} ซึ่งควรจะพบเช่นกันกลับไม่พบ อย่างไรก็ตาม Spectrum ของโคโตซานที่ไม่ได้ฉายรังสีก็ไม่มีพบ 2 หมู่นี้เช่นกันและพบ 4 หมู่ที่เหลือเหมือน Spectrum ของโคโตซานที่ฉายรังสี ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่าโคโตซานไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างหลักหลังการฉายรังสีแกมมาทุกๆ โดส

การหาน้ำหนักโมเลกุลของโคโตซาน

ตามทฤษฎีแล้ว น้ำหนักโมเลกุลของโคโตซานควรจะลดลงในลักษณะเส้นตรงตามปริมาณรังสีที่ฉายเพิ่มขึ้น ซึ่งผลจากการวัดครั้งที่ 1 ในรูปที่ 4 น้ำหนักโมเลกุลก็ได้ลดลงในลักษณะเส้นตรงตามปริมาณรังสีที่ฉายเพิ่มขึ้นจนถึง 50 kGy แต่เมื่อปริมาณรังสีที่ฉายเพิ่มขึ้นมากกว่านี้ น้ำหนักโมเลกุลที่วัดได้กลับมีค่าสูงขึ้น ซึ่งไม่ควรจะเป็นไปได้เนื่องจากได้รับการฉายรังสีที่โดสสูงขึ้นจริงและโคโตซานก็มีสีเข้มมากขึ้นด้วย จากการสอบถามเจ้าหน้าที่ที่ศูนย์เครื่องมือฯ เกี่ยวกับผลที่วัดได้นี้ได้รับคำตอบว่าตัวอย่างที่ส่งไปให้ทำการวัดอาจผสมมาไม่สะอาด จึงทำให้ผลที่ได้เป็นเช่นนี้ (อย่างไร

ก็ตามผลการวัดน้ำหนักโมเลกุลของโคโคซานที่ฉายรังสีปริมาณมากกว่า 50 kGy ไม่มีผลแต่อย่างใด เนื่องจากผลการทดลองที่ได้คือโคโคซานที่ฉายรังสีที่ 50 kGy ที่ความเข้มข้น 5% สามารถยืดอายุการเก็บถั่วลิสงได้นานที่สุด)

และเนื่องจากการวัดครั้งแรก ผลที่ค่าโคสที่ 70 และ 90 kGy ไม่เป็นไปตามแนวโน้มที่ควรจะเป็น จึงเตรียมสารละลายโคโคซานใหม่และส่งไปวัดอีกครั้ง ผลการวัดครั้งที่ 2 นี้ น้ำหนักโมเลกุลของโคโคซาลดลงตามปริมาณรังสีที่ฉายมากขึ้นในช่วง 0 - 50 kGy แต่ที่ 70 และ 90 kGy กลับมีค่าเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะที่ 70 kGy ค่าน้ำหนักโมเลกุลสูงกว่าโคโคซานที่ไม่ได้ฉายรังสีเสียอีก ซึ่งเป็นไปไม่ได้ (นอกจากจะเกิดการ Cross-link ของ Molecular chain ขึ้น แต่ถ้าเกิด ก็ควรจะเกิดที่โคสอื่นๆ ด้วย) นอกจากนี้ทุกๆ ค่าที่วัดได้ก็สูงกว่าค่าที่วัดได้ครั้งแรกทั้งหมด ดังนั้นผลการวัดครั้งที่ 2 นี้จึงไม่สามารถนำมาวิเคราะห์หาข้อสรุปเรื่องน้ำหนักโมเลกุลของโคโคซานที่ฉายรังสีปริมาณต่างๆ ได้

การขึ้นของเชื้อราบนถั่วลิสง

จากการวิเคราะห์เชื้อราที่ขึ้นด้วยการส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ดังแสดงในรูปที่ 11(a) - 11(m) สามารถสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจนว่าเป็นราประเภท *Aspergillus* ที่ขึ้นบนถั่วลิสงโดยทั่วไป เนื่องจากมีก้านที่ยาวและมีลักษณะเป็นข้อสปอร์บริเวณปลายก้าน รวมถึงเม็ดสปอร์ก็มีลักษณะเป็นทรงกลม ซึ่งผลนี้ก็เป็นที่ไปตามที่ได้คาดหมายไว้

จากข้อมูลในตารางที่ 2 และรูปที่ 12 สามารถวิเคราะห์ประเด็นที่น่าสนใจได้หลายประเด็น ดังนี้

1. การเคลือบถั่วลิสงด้วยโคโคซานสำหรับทุกความเข้มข้นและทุกน้ำหนักโมเลกุล สามารถยืดระยะเวลาการเก็บรักษาถั่วลิสงได้เป็นอย่างดี เนื่องจากเมื่อเปรียบเทียบกับชุด

ควบคุมที่ไม่ได้เคลือบนั้น สามารถสังเกตเห็นเชื้อราขึ้นได้ใน 16 วันโดยเฉลี่ย แต่ชุดที่เคลือบสามารถยืดระยะเวลาการขึ้นของเชื้อราได้นานถึง 22 - 32 วัน หรือยืดระยะเวลาการเก็บรักษาได้นานขึ้น 38 - 100% ในสภาวะการเก็บที่อุณหภูมิห้องและที่ความชื้นสัมพัทธ์ปกติ (ประมาณ 68%)

2. ที่ความเข้มข้นของโคโตซานที่ต่ำ (1% และ 2%) ความสามารถในการป้องกันการขึ้นของเชื้อราจะต่ำและจะใกล้เคียงกันมากเกือบทุกๆ ปริมาณรังสี (โดส) เหตุผลที่เป็นไปได้มากที่สุดคือการเคลือบโคโตซานที่ความเข้มข้น 1% และ 2% ยังมีโคโตซานปริมาณน้อย ไม่เพียงพอต่อการยับยั้งการขึ้นของเชื้อรา เชื้อราจึงขึ้นง่าย และที่น่าสนใจคือโคโตซานที่ฉายรังสีที่ 0, 10 และ 30 kGy ที่ความเข้มข้น 2% จะสามารถต้านทานการขึ้นของเชื้อราได้ดีกว่าที่ความเข้มข้น 1% เล็กน้อย ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่าที่ความเข้มข้นของโคโตซานที่ 2% โคโตซานที่ฉายรังสีปริมาณ 0 - 30 kGy จะกันเชื้อราได้ดี ส่วนที่ฉายรังสีปริมาณสูงกว่านี้ ความสามารถในการป้องกันเชื้อราจะลดลงและจะค่อนข้างคงที่ไม่แปรผันตามปริมาณรังสีที่ฉาย
3. ที่ความเข้มข้นของโคโตซานที่สูง (5% และ 10%) จะกันเชื้อราได้ดีกว่าที่ความเข้มข้นต่ำในเกือบทุกๆ โดส และในภาพรวมแล้ว โคโตซานที่ความเข้มข้น 5% จะป้องกันเชื้อราได้ดีกว่าที่ความเข้มข้น 10% ทั้งนี้เนื่องจากที่ความเข้มข้น 10% โคโตซานไม่สามารถละลายได้หมดในสารละลายกรดอะซิติก 2 % (v/v) เพราะเกิดการอิมิตัวของสารละลาย ทำให้เวลาเคลือบเกิดเป็นก้อนโคโตซานเคลือบอยู่ด้วย และโคโตซานที่ไม่ละลายนี้อาจดูดจับความชื้นในอากาศไว้ ทำให้เมื่อนำมาเคลือบจะก่อให้เกิดเชื้อราขึ้นได้ไวกว่าโคโต

ชานที่ละลายได้หมดในละลายกรดอะซิติก และโคโคซานความเข้มข้น 5% ที่ฉายรังสีที่ 50 kGy จะป้องกันเชื้อราได้ดีที่สุดเพราะสามารถยืดระยะเวลาการขึ้นของเชื้อราได้นานถึง 32 วันโดยเฉลี่ย หรือประมาณ 2 เท่าของถั่วลิสงที่ไม่ได้เคลือบด้วยโคโคซาน

4. สำหรับทุกๆ ความเข้มข้นของโคโคซานที่ศึกษา ความสามารถในการยับยั้งการขึ้นของเชื้อราจะไม่แปรผันตรง (หรือแปรผกผัน) กับปริมาณรังสีที่ฉายแต่อย่างใด ดังนั้นจึงไม่สามารถแปลความได้ว่าโคโคซานขนาดที่มีน้ำหนักโมเลกุลน้อยจะกันเชื้อราได้ดีกว่าโคโคซานขนาดน้ำหนักโมเลกุลสูง (หรือในทางกลับกัน) โดยจะมีช่วงน้ำหนักโมเลกุล (หรือปริมาณรังสีที่ฉาย) ช่วงหนึ่งเท่านั้นที่จะกันเชื้อราได้ดีที่สุด และช่วงนี้จะต่างกันไปตามความเข้มข้นของโคโคซาน โดยสำหรับที่ความเข้มข้น 1% และ 2% โคโคซานน้ำหนักโมเลกุลสูง (0, 10 kGy) จะป้องกันเชื้อราได้ดี ส่วนที่ความเข้มข้น 5% โคโคซานน้ำหนักโมเลกุลปานกลาง (50 kGy) จะป้องกันเชื้อราได้ดี ส่วนที่ความเข้มข้น 10% โคโคซานน้ำหนักโมเลกุลปานกลาง (30 - 70 kGy) จะป้องกันเชื้อราได้ดี (อย่างไรก็ตามที่ความเข้มข้น 10% นี้ บางส่วนของโคโคซานไม่ละลาย ทำให้ในความเป็นจริงแล้วความเข้มข้นจะไม่ถึง 10%)

จากข้อมูลในตารางที่ 3 และรูปที่ 15(a) และ 15(b) สามารถวิเคราะห์ประเด็นที่น่าสนใจได้

ดังนี้

1. ที่อุณหภูมิเท่ากัน เมื่อค่าความชื้นสัมพัทธ์สูงขึ้น เชื้อราจะขึ้นไวขึ้นมาก เช่นที่ความชื้นสัมพัทธ์ประมาณ 90% ที่ 30°C ราได้ขึ้นภายในประมาณ 5 วันเท่านั้น เนื่องจากเชื้อราจะขึ้นได้ดีในสภาพสิ่งแวดล้อมที่ชื้น

2. ที่ความชื้นสัมพัทธ์เท่ากัน เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น เชื้อราจะขึ้นช้าลง ทั้งนี้เนื่องจากสิ่งมีชีวิตทุกชนิดจะมีช่วงอุณหภูมิที่เจริญเติบโตได้ดีที่สุด และถ้าต้องอยู่ในช่วงอุณหภูมิที่สูงหรือต่ำกว่านี้ การเติบโตหรือการรอดชีวิตก็จะลดลง โดยรา *Aspergillus* ในทุก Species สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิในช่วง 30 - 35 °C หากเก็บไว้ในอุณหภูมิที่สูงกว่านี้จะทำให้การเจริญเติบโตของเชื้อราเกิดขึ้นได้น้อยลง (K Shehu และ MT Bello, 2001 [5])

ดังนั้นนอกจากการเคลือบด้วยโคโตซานอย่างเหมาะสมแล้ว ความชื้นที่ต่ำในสถานที่จัดเก็บก็เป็นสิ่งสำคัญอย่างยิ่งในการป้องกันการขึ้นของเชื้อราบนถั่วลิสง และถ้าเป็นไปได้ก็ควรเก็บในที่ที่อุณหภูมิสูงกว่า (หรือต่ำกว่า) อุณหภูมิห้อง ซึ่งจะช่วยให้เชื้อราขึ้นได้ช้าลงด้วย

นอกจากนี้จากกราฟในช่วงความชื้นสัมพัทธ์ 80 - 85% และ 90 - 96% ในทุกอุณหภูมิที่ทำการทดลองนั้น ทั้งถั่วลิสงที่ไม่ได้เคลือบและที่เคลือบโคโตซานเกิดราขึ้นพร้อมกัน แสดงว่าโคโตซานไม่สามารถช่วยยับยั้งการขึ้นของเชื้อราในสภาวะความชื้นสัมพัทธ์สูงได้

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

ได้ทำการฉายรังสีแกมมาโคโตซานด้วยความแรงรังสี 10, 30, 50, 70 และ 90 kGy ทำการพิสูจน์เอกลักษณ์ของโคโตซานที่ผ่านการฉายรังสีโดยการตรวจสอบหมู่ฟังก์ชันด้วยเทคนิค FTIR ผลที่ได้คือโคโตซานไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างหลักหลังการฉายรังสีแกมมา ทำการวัดน้ำหนักโมเลกุลโคโตซานด้วยเทคนิค GPC หลังจากนั้นเตรียมสารละลายโคโตซานเพื่อเคลือบถั่วลิสง โดยนำผงโคโตซานมาละลายในกรดอะซิติก 2 % (v/v) ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายของสารละลายโคโตซานเป็น 1, 2, 5 และ 10 % (w/v) และปรับค่า pH ให้เป็น 5.6 ด้วย 6 M NaOH หลังจากนั้นจุ่มถั่วลิสงลงในสารละลายและนำขึ้นมาวางในภาชนะบรรจุเพื่อรอการขึ้นของเชื้อรา ผลที่ได้คือการเคลือบถั่วลิสงด้วยโคโตซานสำหรับทุกความเข้มข้นและทุกน้ำหนักโมเลกุล สามารถยืดระยะเวลาการเก็บรักษาถั่วลิสงได้เป็นอย่างดี เนื่องจากเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้เคลือบนั้น สามารถสังเกตเห็นเชื้อราขึ้นได้ใน 16 วันโดยเฉลี่ย แต่ชุดที่เคลือบสามารถยืดระยะเวลาการขึ้นของเชื้อราได้อย่างน้อยประมาณ 22 วันโดยเฉลี่ย และถั่วลิสงที่เคลือบด้วยโคโตซานที่ฉายรังสีที่ 50 kGy และที่ความเข้มข้น 5% สามารถต้านการขึ้นของเชื้อราได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับที่ความเข้มข้นอื่นๆ และที่ผ่านการฉายรังสีที่โดสอื่นๆ (รวมถึงที่ไม่ได้ฉายรังสีด้วย) เพราะสามารถยืดระยะเวลาการขึ้นของเชื้อราได้นานถึง 32 วันโดยเฉลี่ย หรือประมาณ 2 เท่าของถั่วลิสงที่ไม่ได้เคลือบ เมื่อทำการทดสอบที่อุณหภูมิ 30 - 40°C และที่ความชื้นสัมพัทธ์ 70 - 90% โดยใช้ถั่วลิสงที่เคลือบด้วยโคโตซานที่ฉายรังสีที่ 50 kGy และที่ความเข้มข้น 5% พบว่ายิ่งค่าความชื้นสัมพัทธ์สูงขึ้น ราก็จะขึ้นไวขึ้น โดยที่ความชื้นสัมพัทธ์ประมาณ 90% ที่ 30°C ราได้ขึ้นภายใน 5 วัน ดังนั้นนอกจากการเคลือบด้วยโคโตซานอย่างเหมาะสมแล้ว ความชื้นที่ต่ำในสถานที่จัดเก็บก็เป็นสิ่งสำคัญอย่างยิ่งในการป้องกันการขึ้นของเชื้อราบนถั่วลิสง

ผลการทดลองที่ได้เป็นที่น่าพึงพอใจมาก และที่สำคัญสามารถนำไปใช้ให้เกิดประโยชน์ได้จริง เนื่องจากการเคลือบด้วยโคโตซานอย่างเหมาะสม สามารถเก็บรักษาด้วลิสงได้นานขึ้นถึงประมาณ 2 เท่า ในสภาวะการเก็บที่อุณหภูมิห้องและที่ความชื้นสัมพัทธ์ปกติ (ประมาณ 68%) ซึ่งข้อมูลนี้เป็นสิ่งที่ต้องการ ได้คำตอบจากงานวิจัยนี้เป็นหลัก ส่วนการต้านทานเชื้อราในการเก็บที่อุณหภูมิสูงชันและ/หรือที่ความชื้นสัมพัทธ์สูงชันนั้น เป็นการทำการทดลองเพื่อให้ทราบผลของตัวแปรเหล่านี้ต่อระยะเวลาในการเก็บเท่านั้น

จากข้อผิดพลาดต่างๆ ที่เกิดขึ้นในงานวิจัย ข้อเสนอแนะเกี่ยวกับการวิจัยในขั้นต่อไปคือควร ทำการศึกษาโดยใช้โคโตซานความเข้มข้นในช่วง 4% ถึงน้อยกว่า 10% เช่นที่ 4, 6, 7, และ 8% รวมถึงใช้โคโตซานที่ฉายรังสีแกมมาในช่วง 50 - 70 kGy ด้วย เนื่องจากอาจสามารถป้องกันการขึ้นของเชื้อราบนด้วลิสงได้นานขึ้น ควรออกแบบระบบควบคุมความชื้นให้ความชื้นสัมพัทธ์เพิ่มขึ้นเล็กน้อยเท่านั้นหลังจากถึงค่าที่ต้องการ และควรออกแบบระบบควบคุมอุณหภูมิโดยใช้พัดลมร้อนเป่าอากาศร้อนเข้ามาในตู้ แทนที่จะวางภาชนะทดลองบน Hot plate เพื่อให้อุณหภูมิในทุกตำแหน่งของด้วลิสงมีค่าใกล้เคียงกันมากขึ้น นอกจากนี้ควรทำการทดลองซ้ำกันหลายๆ รอบ รวมถึงใช้ด้วลิสงยี่ห้อต่างๆ ด้วย เนื่องจากการทดสอบเกี่ยวกับการขึ้นของเชื้อราอาจมีความแปรปรวนได้มาก

บรรณานุกรม

- [1] ธนาภรณ์ ศรีศิริพันธุ์, จำนงค์ อุทัยบุตร และ กอบเกียรติ แสงนิล, "ผลของการเคลือบผิวด้วยไคโตซานต่อคุณภาพทางกายภาพหลังการเก็บเกี่ยวของผลพริกหวาน," ว. วิทย์. กษ. 38 : 5 (พิเศษ) : 87-90 (2550)
- [2] อธิยา กังสุวรรณ, ประโยชน์จากเปลือกสัตว์น้ำผลิตไคโตซานพ่นเคลือบคงความสดผลไม้, หนังสือพิมพ์ไทยรัฐ ฉบับวันที่ 3 มีนาคม 2546
- [3] Jiang, Y., Li, J. and Jiang, "Effect of chitosan coating on shelf life of cold-store litchi fruit at ambient temperature," LWT. 38 : 757-761.
- [4] <http://www.doctor.or.th/node/2348>
- [5] K Shehu, MT Bello, "Effect of Environmental Factors on the Growth of Aspergillus Species Associated with Stored Millet Grains in Sokoto," Nigerian Journal of basic and applied science, 19(2) : 218-223 (2011).

ภาคผนวก ก



คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

1. ชื่อหน่วยงาน : คณะวิทยาศาสตร์
2. ชื่อหน่วยงานย่อย : ภาควิชาวิศวกรรมนิวเคลียร์
3. ชื่อโครงการ : การศึกษาสมบัติของโพลีเมอร์
4. ชื่อผู้วิจัย : ดร. เพลินพิช บุษกรธรรม
5. ปีที่ : 2555

ห้องปฏิบัติการภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

ใบแจ้งผลการทดสอบ

หมายเลข : 083 - 55 - 2
วันที่รายงานผล : 22 สิงหาคม 2555
แหล่งตัวอย่าง : ภาควิชาวิศวกรรมนิวเคลียร์ คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ชนิดตัวอย่าง : โคลโตซาน
จำนวน : 6 ตัวอย่าง
เครื่องมือที่ใช้ : Gel Permeation Chromatography (GPC)
ผลการวิเคราะห์

No.	Samples	\bar{M}_n (g/mol)	\bar{M}_w (g/mol)	\bar{D}
1	1	1.1619×10^6	1.5660×10^6	1.35
2	2	4.5355×10^4	5.6852×10^5	1.25
3	3	1.0123×10^5	3.0291×10^5	2.99
		1.1254×10^5	2.6695×10^5	2.37
		8.7871×10^4	1.7377×10^5	1.98
4	4	6.7799×10^7	9.9474×10^7	1.47
		4.4425×10^7	6.3061×10^7	1.42
5	5	1.2001×10^6	1.3156×10^6	1.10
		1.2671×10^6	2.5166×10^6	2.08
6	6	3.4047×10^6	2.7015×10^7	7.93
		3.1552×10^6	6.0362×10^7	1.91

จึงเรียนมาเพื่อโปรดทราบ

นางเพ็ญทิพย์ เด็กชื่น
ผู้ทำการวิเคราะห์

(รศ. ดร. เพลินพิช บุษกรธรรม)

อาจารย์ผู้ควบคุมและตรวจสอบคุณภาพ

รายงาน - รับรองเฉพาะวัตถุประสงค์ที่ได้ตรวจ วิเคราะห์ ทดสอบเท่านั้น
- ไม่รับรองวัตถุหรือสินค้าที่ใช้รายงานนี้ในการโฆษณาหรืออ้างถึง

ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ฯ
โทร 02 470-8907 โทรสาร 02 470-8900

ก(1) ผลการวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของโคลโตซานด้วยเทคนิค Gel Permeation Chromatography

(GPC) ครั้งที่ 1



คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

King Mongkut's Institute of Technology Rajabhat Burapha
10700 Burapha Bldg. 10100 Bangkok
Tel: 02-470-8907 Fax: 02-470-8903
www.kmitgbr.ac.th

ห้องปฏิบัติการภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

ใบแจ้งผลการทดสอบ

หมายเลข : 077-56-2
วันที่รายงานผล : 24 มิถุนายน 2556
แหล่งตัวอย่าง : ภาควิชาวิศวกรรมนิวเคลียร์ คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ชนิดตัวอย่าง : โคลโคตาบ
จำนวน : 6 ตัวอย่าง
เครื่องมือที่ใช้ : Gel Permeation Chromatography (GPC)
ผลการวิเคราะห์

No.	Samples	\bar{M}_n (g/mol)	\bar{M}_w (g/mol)	\bar{D}
1	1	1.2465×10^3	1.8886×10^3	1.52
		6.8297×10^3	9.3130×10^3	1.36
2	2	2.8630×10^3	6.6768×10^3	2.33
3	3	1.5598×10^3	3.7745×10^3	2.42
4	4	1.1429×10^3	4.7128×10^3	4.12
		2.8947×10^3	3.2371×10^3	1.12
5	5	1.5879×10^3	3.1204×10^3	1.96
6	6	1.3891×10^3	6.3443×10^3	4.57

จึงเรียนมาเพื่อโปรดทราบ

นางเพ็ญทิพย์ เต็กจีน
ผู้ทำการวิเคราะห์

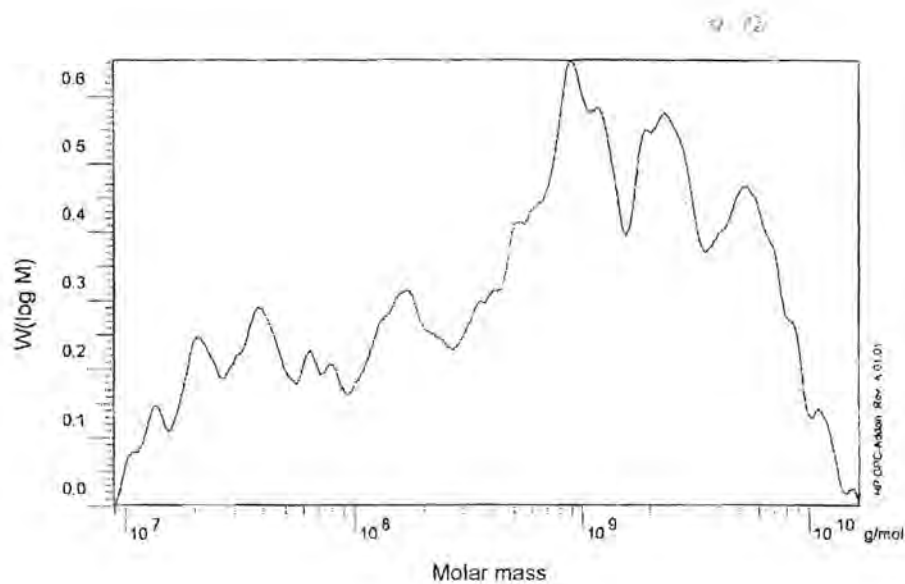
(รศ. ดร. เพ็ญทิพย์ บุญธรรม)
อาจารย์ผู้ควบคุมและตรวจสอบคุณภาพ

รายงาน - รับรองเฉพาะวัตถุประสงค์ตัวอย่างที่ได้ตรวจ วิเคราะห์ ทดสอบเท่านั้น
- ไม่รับรองวัสดุหรือสินค้าที่ใช้รายงานนี้ในการโฆษณาหรืออ้างอิง

ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ฯ
โทร. 02-470-8907 โทรสาร 02-470-8903

ก(2) ผลการวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของโคลโคตาบด้วยเทคนิค Gel Permeation Chromatography

(GPC) ครั้งที่ 2



Sample :	1	Integration to :	4.211 ml
Calibration file :	VA3B-4750.CAL	MHK - K (Cal.):	0.000E+0 ml/g
Integration from:	0.867 ml	Flowrate :	1.000 ml/min
MHK - A (Cal.):	1.000E+0	Inject volume :	20.000 μ l
Eluent :	...?	Temperature :	23.000 C
Concentration :	1.000 g/l	Delay volume :	0.000 ml
Column 1 :	...?	Acquisition Interval:	0.430 sec
Detector 1 :	RIID A, Refractive Index Signal		
Operator :	scientist		

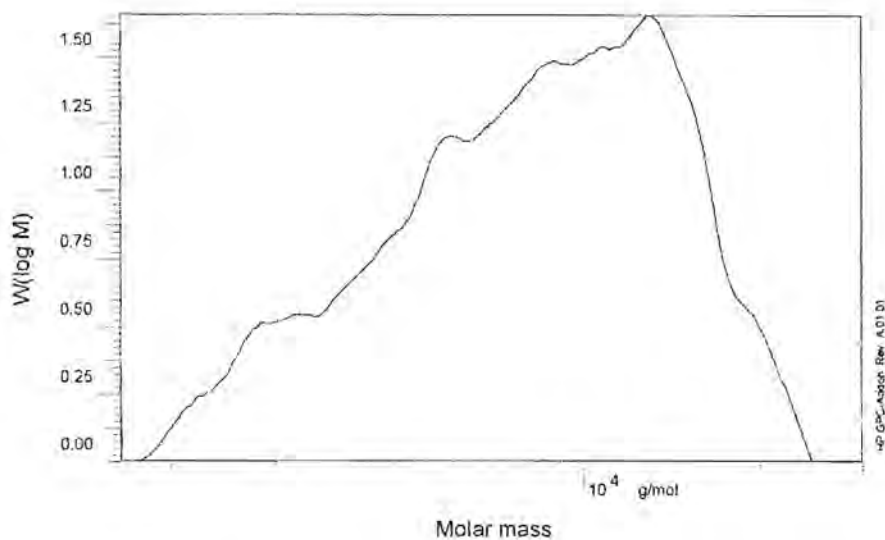
rid1A

Mn :	1.2465e8	g/mol
Mw :	1.8886e9	g/mol
Mz :	5.1965e9	g/mol
Mv :	1.8886e9	g/mol
D :	1.5151e1	
[η]:	0.00000	ml/g
Vp :	2.1672e0	ml
Mp :	8.8939e8	g/mol
A :	1.6836e1	ml ² /V
< 88942 :	0.00	
w% :	100.00	
> -5257 :	0.00	

Path : D:\HPCHEM\DATA\TEST\RID01556.D
Date : Friday 08/07/13 15:49:41

Sign :

n(3) Spectrum ของ Molar mass ที่ได้จากการวัดครั้งที่ 2 (0 kGy)



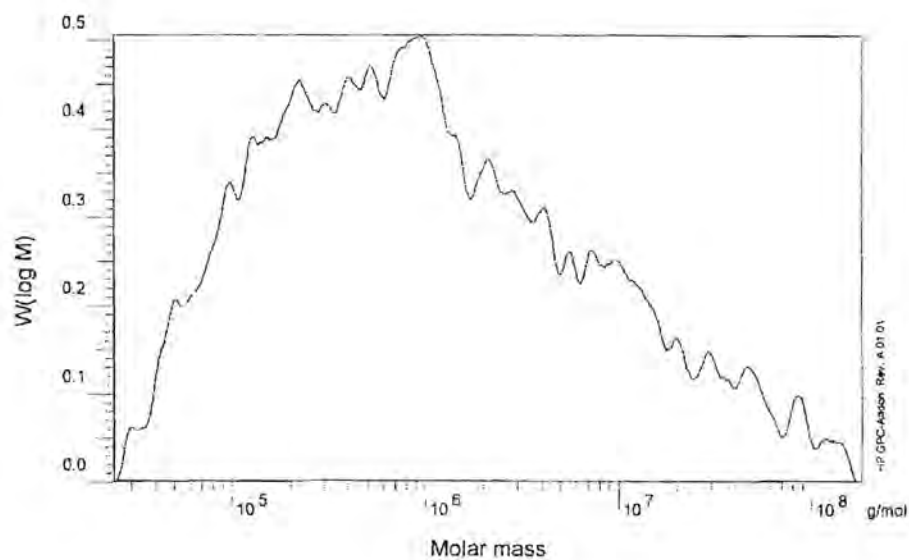
Sample :	1	Integration to :	8.025 ml
Calibration file :	VA3B-4750.CAL	MHK - K (Cal.):	0.000E+0 ml/g
Integration from:	5.737 ml	Flowrate :	1.000 ml/min
MHK - A (Cal.):	1.000E+0	Inject volume :	20.000 μ l
Eluent :	...?	Temperature :	23.000 C
Concentration :	1.000 g/l	Delay volume :	0.000 ml
Column 1 :	...?	Acquisition interval :	0.430 sec
Detector 1 :	RID A, Refractive Index Signal		
Operator :	scientist		

<u>rid1A</u>		
Mn :	6.8297e3	g/mol
Mw :	9.3130e3	g/mol
Mz :	1.1706e4	g/mol
Mv :	9.3130e3	g/mol
D :	1.3636e0	
[η] :	0.000000	ml/g
Vp :	7.1135e0	ml
Mp :	1.2839e4	g/mol
A :	6.8270e0	ml ² /V
< 1644 :	0.00	
w% :	100.00	
> 29965 :	0.00	

Path : D:\HPCHEM\1\DATA\TEST\RID01556.D
Date : Friday 08/07/13 15:50:19

Sign :

ก(4) Spectrum ของ Molar mass ที่ได้จากการวัดครั้งที่ 2 (0 kGy)



Sample :	2	Integration to :	6.831 ml
Calibration file :	VA3B-4750 CAL	MHK - K (Cal.):	0.000E+0 ml/g
Integration from:	2.871 ml	Flowrate :	1.000 ml/min
MHK - A (Cal.):	1.000E+0	Inject volume :	20.000 μ l
Eluent :	...?	Temperature :	23.000 C
Concentration :	1.000 g/l	Delay volume :	0.000 ml
Column 1 :	...?	Acquisition Interval :	0.430 sec
Detector 1 :	RID A, Refractive Index Signal		
Operator :	scientis:		

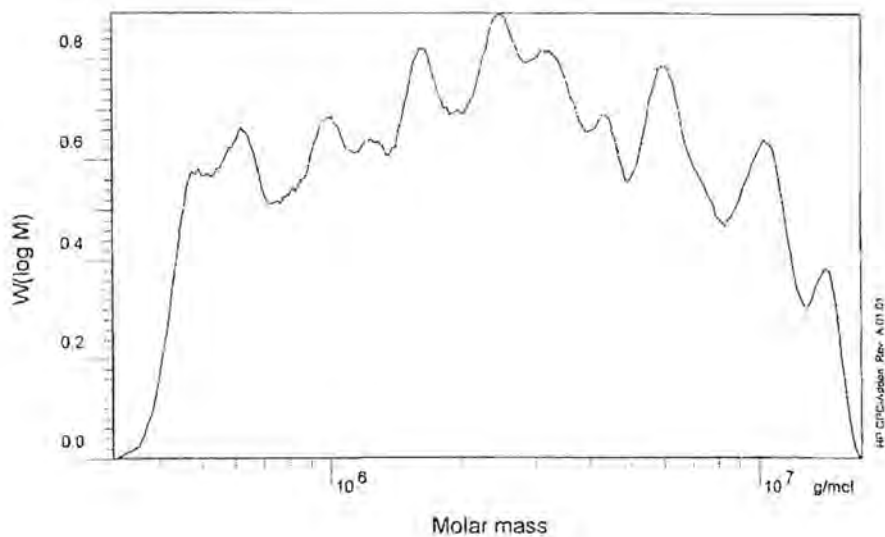
rid1A

Mn :	2.8680e5	g/mol
Mw :	6.6768e6	g/mol
Mz :	5.2356e7	g/mol
Mv :	6.6768e6	g/mol
D :	2.3281e1	
[n] :	0.000000	ml/g
Vp :	5.1983e0	ml
Mp :	9.6103e5	g/mol
A :	2.7268e1	ml*V
< 24284	0.00	
w% :	100.00	
> 18216	0.00	

Path : D:\HPCHEM1\DATA\TEST\RID01563.D
Date : Friday 06/07/13 15:09:29

Sign :

ก(5) Spectrum ของ Molar mass ที่ได้จากการวัดครั้งที่ 2 (10 kGy)



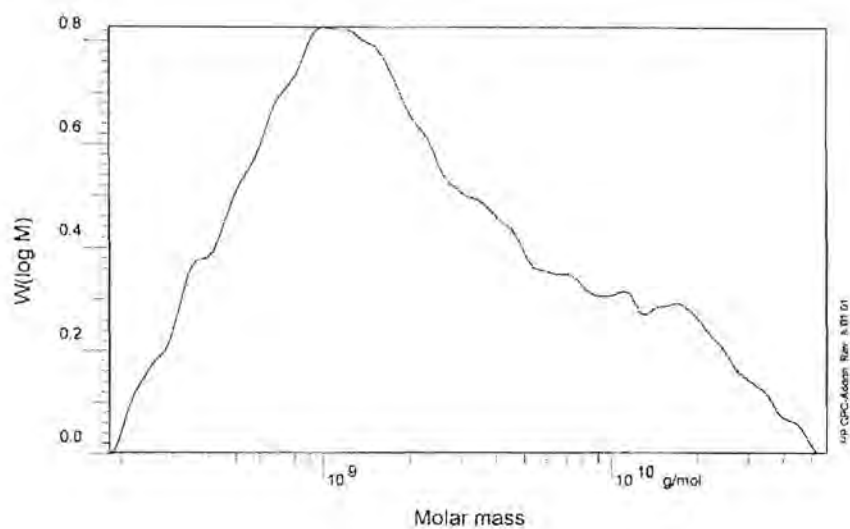
Sample :	3	Integration to :	5.697 ml
Calibration file :	VA3B-4750.CAL	MHK - K (Cal.):	0.000E+0 ml/g
Integration from:	3.814 ml	Flowrate :	1.000 ml/min
MHK - A (Cal.):	1.000E+0	Inject volume :	20.000 μ l
Eluent :	...?	Temperature :	23.000 C
Concentration :	1.000 g/l	Delay volume :	0.000 ml
Column 1 :	...?	Acquisition interval :	0.430 sec
Detector 1 :	RID A, Refractive Index Signal		
Operator :	scientist		

<u>rid1A</u>		
Mn :	1.5598e6	g/mol
Mw :	3.7745e6	g/mol
Mz :	7.1049e6	g/mol
Mv :	3.7745e6	g/mol
D :	2.4109e0	
[η]:	0.000000	ml/g
Vp :	4.7735e0	ml
Mp :	2.5031e6	g/mol
A :	6.3598e0	ml ² /V
< 31239	0.00	
w% :	100.00	
> 17377	0.00	

Path : D:\HPCHEM\1\DATA\TEST\RID01562.D
Date : Friday 06/07/13 18:10:36

Sign :

n(6) Spectrum ของ Molar mass ที่ได้จากการวัดครั้งที่ 2 (30 kGy)



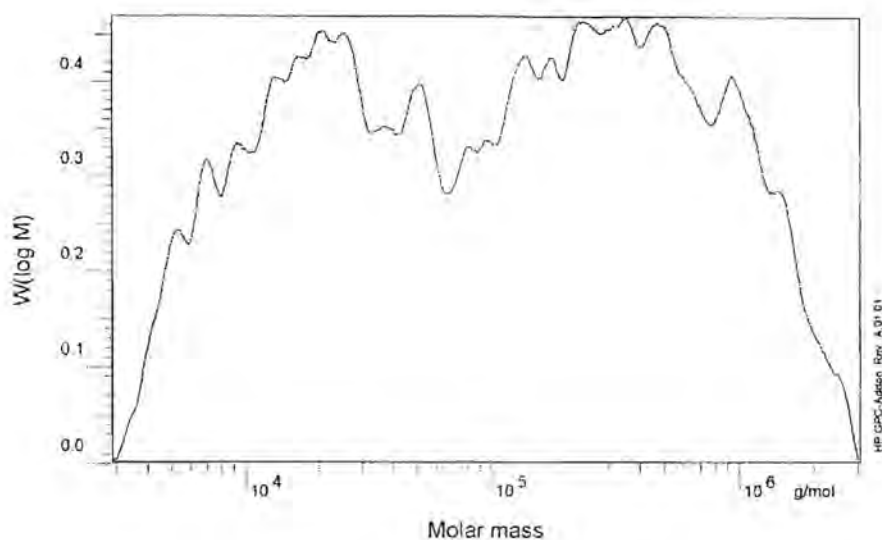
Sample :	4	Integration to :	2.873 m
Calibration file :	VA3B-4750.CAL	MHK - K (Cal.):	0.000E+0 m/g
Integration from:	0.322 ml	Flowrate :	1.000 ml/min
MHK - A (Cal.):	1.000E+0	Inject volume :	20.000 ul
Eluent :	...?	Temperature :	23.000 C
Concentration :	1.000 g/l	Delay volume :	0.000 ml
Column 1 :	...?	Acquisition interval :	0.430 sec
Detector 1 :	RID A, Refractive Index Signal		
Operator :	scientist		

rid1A		
Mn :	1.1429e9	g/mol
Mw :	4.7128e9	g/mol
Mz :	1.575e10	g/mol
Mv :	4.7128e9	g/mol
D :	4.1237e0	
[n] :	0.000000	ml/g
Vp :	2.1023e0	ml
Mp :	1.0293e9	g/mol
A :	4.2396e1	ml*V
< 18118	0.00	
w% :	100.00	
> 10250	0.00	

Path : D:\HPCHEM\1\DATA\TEST\RID01561.D
Date : Friday 08/07/13 15:41:59

Sign :

n(7) Spectrum ของ Molar mass ที่ได้จากการวัดครั้งที่ 2 (50 kGy)



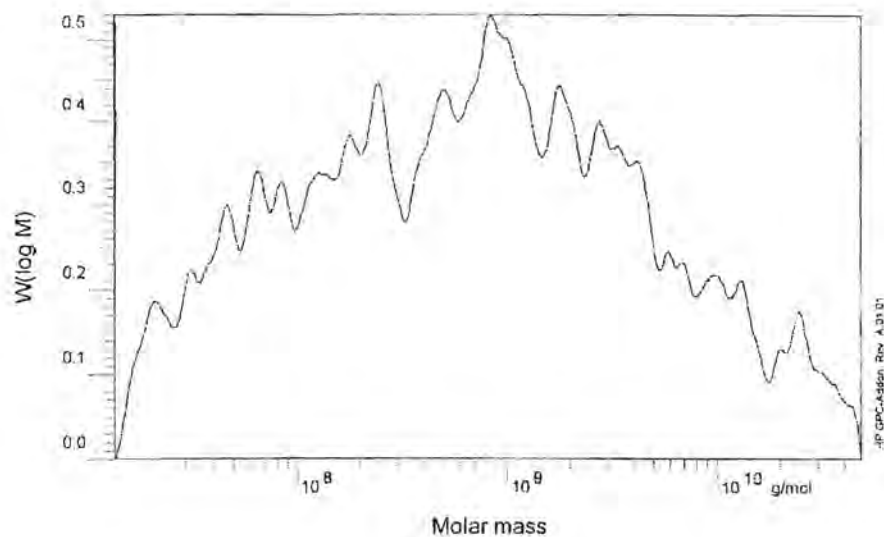
Sample :	4	Integration to :	7.778 ml
Calibration file :	VA3B-4750.CAL	MHK - K (Cal.):	0.000E+0 ml/g
Integration from:	4.681 ml	Flowrate :	1.000 ml/min
MHK - A (Cal.):	1.000E+0	Inject volume :	20.000 μ l
Eluent :	...?	Temperature :	23.000 C
Concentration :	1.000 g/l	Delay volume :	0.000 ml
Column 1 :	...?	Acquisition Interval :	0.430 sec
Detector 1 :	RID A, Refractive Index Signal		
Operator :	scientist		

rid1A		
Mn :	2.8947e4	g/mol
Mw :	3.2371e5	g/mol
Mz :	1.0210e6	g/mol
Mv :	3.2371e5	g/mol
D :	1.1183e1	
[η] :	0.000000	ml/g
Vp :	5.6447e0	ml
Mp :	3.5152e5	g/mol
A :	2.1976e1	ml ² V
< 2874	0.00	
w% :	100.00	
> 30798	0.00	

Path : D:\HPCHEM1\DATA\TEST\RID01561.D
Date : Friday 06/07/13 15:52:03

Sign :

ก(8) Spectrum ของ Molar mass ที่ได้จากการวัดครั้งที่ 2 (50 kGy)



Sample :	5	Integration to :	4.013 ml
Calibration file :	VA3B-4750.CAL	MHK - K (Cal.):	0.000E+0 ml/g
Integration from :	0.396 ml	Flowrate :	1.000 ml/min
MHK - A (Cal.):	1.000E+0	Inject volume :	20.000 μ l
Eluent :	...?	Temperature :	23.000 C
Concentration :	1.000 g/l	Delay volume :	0.000 ml
Column 1 :	...?	Acquisition interval :	0.430 sec
Detector 1 :	RID A, Refractive Index Signal		
Operator :	scientist		

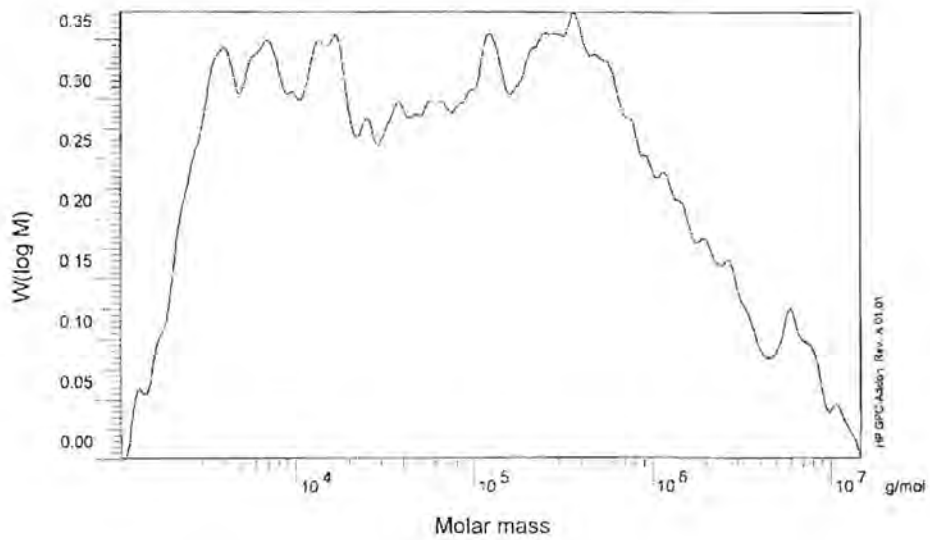
rid1A

Mn :	1.5879e8	g/mol
Mw :	3.1204e9	g/mol
Mz :	1.630e10	g/mol
Mv :	3.1204e9	g/mol
D :	1.9652e1	
[n] :	0.000000	ml/g
Vp :	2.1887e0	ml
Mp :	8.4733e8	g/mol
A :	1.9246e1	ml ² /V
< 13900	0.00	
w% :	100.00	
> 84857	0.00	

Path : D:\HPCHEM\1\DATA\TEST\RID01560.D
Date : Friday 06/07/13 15:43:07

Sign :

ก(9) Spectrum ของ Molar mass ที่ได้จากการวัดครั้งที่ 2 (70 kGy)



Sample :	6	Integration to :	8.217 ml
Calibration file :	VA3B-4750.CAL	MHK - K (Cal.):	0.000E+0 ml/g
Integration from:	3.985 ml	Flowrate :	1.000 ml/min
MHK - A (Cal.):	1.000E+0	Inject volume :	20.000 ul
Eluent :	...?	Temperature :	23.000 C
Concentration :	1.000 g/l	Delay volume :	0.000 ml
Column 1 :	...?	Acquisition interval :	0.430 sec
Detector 1 :	RID A, Refractive Index Signal		
Operator :	scientst		

rid1A

<u>Mn</u> :	1.3891e4	g/mol
<u>Mw</u> :	6.3443e5	g/mol
<u>Mz</u> :	4.3547e6	g/mol
<u>Mv</u> :	6.3443e5	g/mol
<u>D</u> :	4.5673e1	
[<u>n</u>]:	0.000000	ml/g
<u>Vp</u> :	5.6232e0	ml
<u>Mp</u> :	3.6897e5	g/mol
<u>A</u> :	4.1682e1	ml*V
< 1070	0.00	
w% :	100.00	
> 14810	0.00	

Path : D:\HPCHEM1\DATA\TEST\RID01559.D
Date : Friday 06/07/13 15:45:10

Sign :

$\eta(10)$ Spectrum ของ Molar mass ที่ได้จากการวัดครั้งที่ 2 (90 kGy)

ประวัตินักวิจัย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ดุลยพงศ์ วงศ์แสง

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ดุลยพงศ์ วงศ์แสง ได้รับทุนการศึกษาจากรัฐบาลไทยให้ไปศึกษาในสาขาวิศวกรรมนิวเคลียร์ ที่ประเทศสหรัฐอเมริกา ระดับปริญญาตรี-โท-เอก เป็นระยะเวลา 10 ปี โดย ดร. ดุลยพงศ์ ได้สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาเอกจาก University of California at Berkeley ในปี พ.ศ. 2550

ปัจจุบัน ดร. ดุลยพงศ์ เป็นอาจารย์ประจำอยู่ที่ภาควิชาวิศวกรรมนิวเคลียร์ คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยการเรียนการสอนและงานวิจัย เน้นด้านวัสดุที่ใช้ในโรงไฟฟ้านิวเคลียร์ วัฏจักรเชื้อเพลิงนิวเคลียร์ โรงไฟฟ้านิวเคลียร์แบบอุณหภูมิสูงที่ใช้ก๊าซระบายความร้อน (High-temperature gas-cooled reactor) การแพร่กระจายของสารกัมมันตรังสีในอากาศ การสกัดยูเรเนียมจากน้ำทะเล การสังเคราะห์วัสดุและการปรับปรุงคุณภาพวัสดุโดยใช้รังสีและพลาสมา

ในปี 2554 ดร. ดุลยพงศ์ ได้รับคัดเลือกให้เป็นนักวิทยาศาสตร์นิวเคลียร์ดาวรุ่ง จากสถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน) โดยได้รับพระราชทานโล่รางวัลจากสมเด็จพระเจ้าลูกเธอ เจ้าฟ้าจุฬาภรณวลัยลักษณ์ อัครราชกุมารี ในการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีนิวเคลียร์ ครั้งที่ 12 ซึ่งจัดในวันที่ 6 - 7 กรกฎาคม 2554 ณ โรงแรมแชงกรี-ลา กรุงเทพฯ

ในวันที่ 1 มิถุนายน 2555 ดร. ดุลยพงศ์ ได้รับรางวัล "ศักดิ์อินทานิยม" ประจำปี พ.ศ. 2555 ประเภทผู้ทำชื่อเสียงให้คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

นางสาวชญาณิช จ่าปี

นางสาวชญาณิช จ่าปี เกิดเมื่อวันที่ 20 เดือนมกราคม พ.ศ. 2527 ที่จังหวัดเชียงราย สำเร็จ การศึกษาระดับบัณฑิตศึกษาวิทยาศาสตร์บัณฑิต (รังสีเทคนิค) จากภาควิชารังสีเทคนิค คณะเทคนิค การแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เมื่อปีการศึกษา 2548 และสำเร็จการศึกษานักสูตรวิทยาศาสตร์ มหาบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมนิวเคลียร์ คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปี พ.ศ. 2553 ปัจจุบันกำลังศึกษานักสูตรวิศวกรรมดุษฎีบัณฑิต สาขาวิศวกรรมนิวเคลียร์ ภาควิชาวิศวกรรม นิวเคลียร์ คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

นางสาววีรภรณ์ รัตนิสสัย

นางสาววีรภรณ์ รัตนิสสัย จบการศึกษาระดับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ในปี พ.ศ. 2543 และเข้าทำงานตำแหน่งอาจารย์ มหาวิทยาลัย เทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก วิทยาเขตบางพระ

ในปี พ.ศ. 2549 นางสาววีรภรณ์ รัตนิสสัย จบการศึกษาระดับปริญญาโทมหาบัณฑิต สาขานิวเคลียร์เทคโนโลยี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และได้รับการบรรจุเข้าทำงาน ตำแหน่ง อาจารย์ในสถาบันอุดมศึกษา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก วิทยาเขตบางพระ

ปัจจุบัน นางสาววีรภรณ์ รัตนิสสัย ได้รับอนุมัติให้ลาศึกษาต่อระดับปริญญาเอก หลักสูตร วิศวกรรมศาสตรดุษฎีบัณฑิต สาขาวิศวกรรมนิวเคลียร์ คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย โดยได้รับทุนรัฐบาลกระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี เพื่อศึกษาวิชาภายในประเทศ เน้นเทคโนโลยีด้านพลังงาน