

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(3)
Abstract	(6)
กิตติกรรมประกาศ	(9)
สารบัญ	(10)
รายการตาราง	(11)
รายการภาพประกอบ	(14)
ตัวย่อและสัญลักษณ์	(16)
1. บทนำ	1
บทนำตั้งเรื่อง	1
ตรวจเอกสาร	5
วัตถุประสงค์	31
2. วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ	32
3. ผลและวิจารณ์	43
4. สรุป	71
เอกสารอ้างอิง	73
ภาคผนวก ก	79
ภาคผนวก ข	82
ภาคผนวก ค	88
ประวัติผู้เขียน	101

## รายการตาราง

ตารางที่	หน้า
1. ปริมาณไคตินที่พบในสัตว์ทะเลพวกครัสตาเซีย, แมลงและเชื้อรา	5
2. ความเข้มข้นต่ำสุดของไคโตแซนที่นำหนักโมเลกุลต่างๆ ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 11 สายพันธุ์	22
3. สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง	33
4. อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง	34
5. ผลผลิตจากการเตรียมวัตถุดิบเปลือกส่วนหัวกุ้งกุลาดำ	43
6. ผลผลิตไคโตแซนที่เตรียมจากเปลือกส่วนหัวกุ้งกุลาดำภายใต้สภาวะบรรยากาศและเวลาต่างๆ กัน	44
7. นำหนักโมเลกุลและระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตแซนที่เตรียมจากเปลือกส่วนหัวกุ้งกุลาดำภายใต้สภาวะต่างๆ	46
8. ผลการยับยั้งเชื้อ <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> และ <i>C. albicans</i> ของไคโตแซนที่เตรียมภายใต้สภาวะบรรยากาศและเวลาต่างๆ	47
9. ผลการทดสอบกิจกรรมการยับยั้งเชื้อ <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> และ <i>C. albicans</i> ของไคโตแซน โอลิโกเมอร์ที่ได้จากการย่อยสลายด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์	50
10. ผลการทดสอบกิจกรรมการยับยั้งเชื้อ <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> และ <i>C. albicans</i> ของไคโตแซนที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ไลโซไซม์ (บัฟเฟอร์ พีเอช 5.0)	51
11. ผลการทดสอบกิจกรรมการยับยั้งเชื้อ <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> และ <i>C. albicans</i> ของไคโตแซนที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ไคตินเนส	53
12. ผลการทดสอบกิจกรรมการยับยั้งเชื้อ <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> และ <i>C. albicans</i> ของไคโตแซนที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ปาเปน วิธีการที่ 1 (บัฟเฟอร์พีเอช 4.5)	55
13. ผลการทดสอบกิจกรรมการยับยั้งเชื้อ <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> และ <i>C. albicans</i> ของไคโตแซนที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ปาเปน วิธีการที่ 2 (บัฟเฟอร์พีเอช 5.0)	56
14. ผลการทดสอบกิจกรรมการยับยั้งเชื้อ <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> และ <i>C. albicans</i> ของไคโตแซนที่ละลายในตัวทำละลายต่างๆ	58

## รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
15. ผลของค่าพีเอชต่างๆ ในอาหารเลี้ยงเชื้อต่อกิจกรรมการยับยั้งเชื้อ <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> และ <i>C. albicans</i> ของไคโตแซน	60
16. ผลของอุณหภูมิต่างๆ ต่อกิจกรรมการยับยั้งเชื้อ <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> และ <i>C. albicans</i> ของไคโตแซน	61
17. ผลการทดสอบกิจกรรมการยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับอาหารของไคโตแซนที่เตรียมได้ (native chitosan) และไคโตแซนทางการค้าที่มี %DD = 70, 80 และ 90	64
18. ค่าความชื้นของไคโตแซนที่เตรียมจากเปลือกส่วนหัวกุ้งกุลาดำภายใต้สภาวะต่างๆ	89
19. การรอดชีวิตของ <i>E. coli</i> ที่เจริญเติบโตหลังการเติมสารละลายไคโตแซนที่ความเข้มข้นต่างๆ	89
20. การรอดชีวิตของ <i>S. aureus</i> ที่เจริญเติบโตหลังการเติมสารละลายไคโตแซนที่ความเข้มข้นต่างๆ	90
21. การรอดชีวิตของ <i>C. albicans</i> ที่เจริญเติบโตหลังการเติมสารละลายไคโตแซนที่ความเข้มข้นต่างๆ	91
22. ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งชนิด HT- 29 human colon adenocarcinoma cell lines ของไคโตแซน	92
23. ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งชนิด HT- 29 human colon adenocarcinoma cell lines ของไคโตแซนทางการค้า (90%DD)	94
24. ผลของกรดอะซิติกที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อกิจกรรมการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> และ <i>C. albicans</i>	96
25. ผลของกรดแลกติกที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อกิจกรรมการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> และ <i>C. albicans</i>	97

## รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
26. ผลของกรดฟอรั่มิกที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> และ <i>C. albicans</i>	98
27. ผลของ DMSO ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> และ <i>C. albicans</i>	99
28. ผลของโพรพิลีนไกลคอลที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตของ เชื้อ <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> และ <i>C. albicans</i>	100

## รายการภาพประกอบ

ภาพที่	หน้า
1. โครงสร้างทางเคมีของไคตินและไคโตแซน	7
2. แผนภูมิการผลิตไคตินและไคโตแซนจากเปลือกกุ้ง	8
3. การกำจัดหมู่อะซิติกของไคตินโดยใช้เอนไซม์ไคติน-ดีอะซิทิเลส	11
4. วิธีการเปลี่ยนแปลงของไคติน	15
5. แสดงอัตราส่วนของสารละลายผสมที่ใช้ในการทดสอบกิจกรรมการยับยั้งจุลินทรีย์ของไคโตแซนใน microplate 96 หลุม	38
6. ผลของไคโตแซนที่เตรียมภายใต้สภาวะบรรยากาศปกติ (ชมพู) และสุญญากาศ (เขียว) ที่เวลา 0.5 (●), 1.0 (■) และ 2.0 (▲) ชม.ต่อการยับยั้งจุลินทรีย์ (A) <i>E. coli</i> , (B) <i>S. aureus</i> และ (C) <i>C. albicans</i> โดยมีชุดควบคุมเป็น 0.06% กรดอะซิติก (ส้ม)(◆)	48
7. กราฟจำนวนเซลล์จุลินทรีย์ <i>E. coli</i> ที่เจริญเติบโตหลังการเติมสารละลายไคโตแซนที่ความเข้มข้น 0 ถึง 1250 พีพีเอ็ม	66
8. กราฟจำนวนเซลล์จุลินทรีย์ <i>S. aureus</i> ที่เจริญเติบโตหลังการเติมสารละลายไคโตแซนที่ความเข้มข้น 0 ถึง 1250 พีพีเอ็ม	66
9. กราฟจำนวนเซลล์จุลินทรีย์ <i>C. albicans</i> ที่เจริญเติบโตหลังการเติมสารละลายไคโตแซนที่ความเข้มข้น 0 ถึง 1250 พีพีเอ็ม	67
10. ภาพถ่ายกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบทรานสมิชชันเชื้อ <i>E. coli</i> (A) ชุดควบคุมเติม 0.06% กรดอะซิติก และ (B-C) ชุดทดสอบเติมไคโตแซนเข้มข้น 625 พีพีเอ็ม บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C 6 ชั่วโมง	68
11. อัตราการรอดชีวิตของเซลล์มะเร็งชนิด HT-29 human colon adenocarcinoma cell line หลังเติมสารละลายไคโตแซนที่ความเข้มข้น 0.1-1.5 mg/ml. ชุดควบคุม คืออาหาร DMEM ไม่มีไคโตแซน	70
12. ผลของความเข้มข้นต่างๆ ของกรดอะซิติกต่อการเจริญของจุลินทรีย์ <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> และ <i>C. albicans</i>	96

## รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
13. ผลของความเข้มข้นต่างๆ ของกรดแลคติกตักต่อการเจริญของจุลินทรีย์ <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> และ <i>C. albicans</i>	97
14. ผลของความเข้มข้นต่างๆ ของกรดฟอร์มิกต่อการเจริญของจุลินทรีย์ <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> และ <i>C. albicans</i>	98
15. ผลของความเข้มข้นต่างๆ ของ DMSO ต่อการเจริญของจุลินทรีย์ <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> และ <i>C. albicans</i>	99
16. ผลของความเข้มข้นต่างๆ ของ Propylene glycol ต่อการเจริญของจุลินทรีย์ <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> และ <i>C. albicans</i>	100

## ตัวย่อและสัญลักษณ์

น.น.	= น้ำหนัก
มก.	= มิลลิกรัม
มล.	= มิลลิลิตร
%	= percentage
$\beta$	= beta
$\alpha$	= alpha
$\gamma$	= gamma
$\eta$	= intrinsic viscosity
DD	= degree of deacetylation
kcal	= kilocalories
$\mu$ l	= microlitre
Da	= dalton
kDa	= kilodalton
nm	= nanometre
M	= molar
CFU	= Colony Forming Unit
MIC	= Minimum Inhibitory Concentration
MHB	= Muller Hinton Broth
PDB	= Potato Dextrose Broth
MW	= molecular weight
ppm	= part per million
GlcNAc	= N- Acetylglucosamine
GlcN	= Glucosamine
PNAc	= Partially- N- Acetylglucosamine