

รายงานโครงงานวิทยาศาสตร์
การสกัดไคโตซานจากแกนหมึกกล้วยเพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสีย
Extraction of chitosan from Splendid squid cores to study efficiency
in wastewater treatment

โรงเรียนอุทัยวิทยาคม
จังหวัดอุทัยธานี

คณะผู้จัดทำโครงงาน

- | | |
|-----------------|---------------------|
| 1. นายณัฐพฤทธิ์ | ทองสุข (หัวหน้าทีม) |
| 2. นายนันทน์ภัส | หงษ์ทอง |
| 3. นางสาวพิชญภา | ฤกษ์ดี |

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงงานสาขาวิชาเคมี
การนำเสนอโครงงานของนักเรียนจากโรงเรียนในโครงการห้องเรียนพิเศษวิทยาศาสตร์ คณิตศาสตร์
เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม เครือข่ายภาคกลางตอนบน ประจำปีการศึกษา 2567

รายงานโครงงานวิทยาศาสตร์
การสกัดไคโตซานจากแกนหมึกกล้วยเพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสีย
Extraction of chitosan from Splendid squid cores to study efficiency
in wastewater treatment

โรงเรียนอุทัยวิทยาคม
จังหวัดอุทัยธานี

คณะผู้จัดทำโครงงาน

- | | |
|-----------------|---------------------|
| 1. นายณัฐพฤทธิ์ | ทองสุข (หัวหน้าทีม) |
| 2. นายนันทน์ภัส | หงษ์ทอง |
| 3. นางสาวพิชญภา | ฤกษ์ดี |

ครูที่ปรึกษาโครงงาน

- | | |
|-------------------|------------|
| 1. นางสาววีรณดา | บางแบ่ง |
| 2. นางสาวภัทรภรณ์ | เจริญศิลป์ |

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงงานสาขาวิชาเคมี
การนำเสนอโครงงานของนักเรียนจากโรงเรียนในโครงการห้องเรียนพิเศษวิทยาศาสตร์ คณิตศาสตร์
เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อมเครือข่ายภาคกลางตอนบน ประจำปีการศึกษา 2567

ชื่อเรื่อง การสกัดไคโตซานจากแกนหมึกกล้วยเพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสีย

(Extraction of chitosan from Splendid squid cores to study efficiency in wastewater treatment)

สาขาวิชา เคมี

ผู้จัดทำโครงการ

1. นายณัฐฤทธิ์ ทองสุข
2. นายนันทน์ภัส หงษ์ทอง
3. นางสาวพิชญภา ฤกษ์ดี

ที่ปรึกษาโครงการ

1. นางสาววีรณดา บางแบ่ง
2. นางสาวภัทรภรณ์ เจริญศิลป์

โรงเรียนอุทัยวิทยาคม อำเภอเมือง จังหวัดอุทัยธานี

บทคัดย่อ

โครงการนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาวิธีการสกัดไคโตซานจากแกนหมึกกล้วยด้วยเทคนิคการสกัดด้วยกรดหรือเบส และตรวจสอบไคโตซาน ด้วยการวัดค่า pH การทดสอบความเป็นแอมป์ และทดสอบความบริสุทธิ์โดยใช้กรดแอสซิดและน้ำยาล้างจาน แล้วจึงนำมาทดสอบกับสารตัวอย่างในน้ำเสีย ได้แก่ คอปเปอร์ (II) ไอออน โปรตีน และน้ำมันพืช

จากการศึกษาพบว่า เมื่อทดสอบการจับคอปเปอร์ (II) ไอออนด้วยวิธีการไทเทรตเพื่อหาจุดยุติและหาความเข้มข้นของไอออนโลหะที่เปลี่ยนไป โดยกำหนดปริมาณไคโตซานที่แตกต่างกัน คือ 0.00, 0.10, 0.15, 0.20 และ 0.25 กรัม พบว่าเมื่อใช้ปริมาณไคโตซาน 0.25 กรัมจะได้ผลลัพธ์ที่ดีที่สุด เมื่อทดสอบการจับกับโปรตีนด้วยวิธีการตกตะกอนเคซีนที่จุด Isoelectric Point โดยใช้สารละลาย HCl ในการปรับค่า pH ของนม แล้วใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายในการสกัดและกรองเพื่อหามวลของเคซีน โดยเปรียบเทียบมวลของเคซีนก่อน-หลังใส่ไคโตซาน และเมื่อทำการทดสอบการจับกับน้ำมันด้วยวิธีการใช้กรวยแยก โดยเปรียบเทียบมวลของน้ำมันก่อน-หลังใส่ไคโตซาน แล้วจึงนำผลการทดลองแต่ละสารตัวอย่าง มาหาค่าร้อยละเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสีย

กิตติกรรมประกาศ

โครงการนี้สำเร็จล่วงได้ดี ด้วยการได้รับความอนุเคราะห์ การสนับสนุนที่ดี และความกรุณาจาก คุณครูวีรญาดา บางแบ่ง และคุณครูภัทราภรณ์ เจริญศิลป์ ซึ่งเป็นคุณครูที่ปรึกษาและช่วยดูแลโครงการ รายวิชา โครงการวิทยาศาสตร์ ว33294 ที่ท่านได้กรุณาให้คำแนะนำ ข้อคิดเห็น ข้อเสนอแนะ แนวคิด ตลอดจนช่วยแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆมาโดยตลอด จนทำให้โครงการเล่มนี้เสร็จสมบูรณ์ ทางคณะผู้จัดทำจึง ขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณผู้ปกครอง ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำ และคำปรึกษาในเรื่องต่างๆ รวมถึงได้สนับสนุนงบประมาณในการทำโครงการในครั้งนี้ และยังเป็นกำลังใจที่ดีเสมอมา และขอบพระคุณผู้ที่ให้ความรู้ทุกท่าน ตำรา และเอกสารอ้างอิงทุกเล่ม บุคคลทุกท่านที่ให้ความอนุเคราะห์ในการทำโครงการครั้งนี้

ท้ายนี้ หากโครงการนี้มีข้อผิดพลาดประการใด ทางคณะผู้จัดทำต้องขออภัยมา ณ ที่นี้ และขอบพระคุณทุกท่านที่สนับสนุนการจัดทำโครงการนี้ให้สำเร็จล่วงด้วยดี

คณะผู้จัดทำ

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อ	ก
กิตติกรรมประกาศ	ข
คำนำ	ค
บทที่ 1 บทนำ	1
ที่มาและความสำคัญ	1
วัตถุประสงค์ของโครงการ	1
สมมติฐานของโครงการ	1
ตัวแปร	1
นิยามศัพท์เฉพาะ	1
ขอบเขตของโครงการ	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 เอกสาร ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	6
บทที่ 3 วิธีดำเนินงาน	8
บทที่ 4 ผลการดำเนินงาน	11
บทที่ 5 สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ	17
บรรณานุกรม	18
ภาคผนวก	19
สูตรที่ใช้ในการคำนวณ	24

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
ตารางที่ 4.1 ขั้นตอนของการนำแก๊สหนักมาต้มใน NaOH 4%w/v	11
ตารางที่ 4.2 ขั้นตอนของการนำแก๊สหนักมาต้มใน HCl 4%v/v	12
ตารางที่ 4.3 ผลที่ได้จากการต้มแก๊สหนักกล้วยใน NaOH 50%w/v	12
ตารางที่ 4.4 แสดงค่าเฉลี่ยปริมาตรของ NaOH ที่ใช้ในการไทเทรต เพื่อหาผลได้ร้อยละของสารโคโคซาน	14
ตารางที่ 4.5 แสดงมวลของเคซีนก่อนและหลังใส่โคโคซานและผลได้ร้อยละ	16
ตารางที่ 4.6 แสดงมวลของน้ำมันก่อนและหลังใส่โคโคซานและหาผลได้ร้อยละ	16

สารบัญรูปภาพ

ภาพ	หน้า
ภาพที่ 2.1 โครงสร้างทางเคมีของไคติน	3
ภาพที่ 2.2 สูตรโมเลกุลและโครงสร้างของไคตินและไคโตซาน	3
ภาพที่ 2.3 ไคโตซานจากเปลือกแข็งของสัตว์ต่างๆ	4
ภาพที่ 2.4 โครงสร้างทางเคมีของไคโตซาน	5

บทที่ 1

บทนำ

ที่มาและความสำคัญ

น้ำเป็นปัจจัยสำคัญของสิ่งมีชีวิต นอกจากนั้นน้ำยังมีประโยชน์ในด้านเกษตรกรรม อุตสาหกรรม และการอุปโภคบริโภค ในอดีตมนุษย์สามารถนำน้ำจากแหล่งน้ำตามธรรมชาติมาใช้ประโยชน์ได้ ต่างจากปัจจุบันที่เกิดปัญหาด้านคุณภาพของน้ำ เป็นปัญหาสิ่งแวดล้อมที่สำคัญที่สุดปัญหาหนึ่งของประเทศ ซึ่งถูกปนเปื้อนด้วยสิ่งสกปรกและสารพิษต่างๆ ทำให้ไม่สามารถใช้ประโยชน์ได้ ซึ่งส่งผลกระทบต่อคุณภาพชีวิต เศรษฐกิจและสังคม เนื่องจากน้ำที่มีสารพิษตกค้างอยู่ทำให้เกิดมลพิษทางน้ำ เช่น น้ำที่มีปุ๋ยและยากำจัดศัตรูพืช น้ำจากภาคครัวเรือน น้ำที่มีโลหะหนักปนเปื้อนทำให้เกิดการเน่าเสีย ส่งกลิ่นเหม็นและส่งผลกระทบต่อระบบนิเวศ

ปัจจุบันมีการแก้ปัญหาน้ำเสียอย่างต่อเนื่องด้วยวิธีการต่างๆ ทั้งทางชีวภาพและกายภาพ โดยทางชีวภาพใช้จุลินทรีย์ ในการกำจัดสิ่งเจือปนในน้ำเสียโดยเฉพาะสารคาร์บอนอินทรีย์ ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส ทางกายภาพ มีการทำปฏิกิริยากับสิ่งเจือปนในน้ำเสีย เช่น ค่าความเข้มข้นของกรดและเบสในน้ำ มีโลหะหนัก เช่น โปรท คอปเปอร์ สังกะสี เหล็ก เป็นต้น มีของแข็งแขวนลอยที่ตกตะกอนยาก มีไขมันและน้ำมันที่ละลายน้ำ ซึ่งมีการใช้งบประมาณจำนวนมากในการปรับปรุงคุณภาพน้ำและใช้ระยะเวลานาน

ทางคณะผู้จัดทำโครงการ จึงให้ความสำคัญกับปัญหาน้ำเสีย และความสำคัญของน้ำที่เป็นปัจจัยในการดำรงชีวิต อีกทั้งยังสนใจศึกษาสมบัติของโคโตซานเพื่อใช้ในการบำบัดน้ำเสีย จึงนำเสนอโครงการนี้ เนื่องจากโคโตซานเป็นตัวสร้างตะกอนและตกตะกอนที่ดี เพราะมีหมู่อะมิโนจำนวนมากที่สามารถแตกตัวเป็นประจุบวกและจับกับสารที่เป็นประจุลบได้ เช่น โปรตีนและโลหะหนัก และยังสามารถสกัดได้จากวัสดุธรรมชาติ และสามารถย่อยสลายได้เองตามธรรมชาติ จึงเป็นสารที่มีความปลอดภัยสำหรับการใช้กับมนุษย์และสิ่งแวดล้อม

วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. เพื่อศึกษาวิธีการเตรียมและการสกัดโคโตซานจากแกนหมึกกล้วย และหาผลได้ร้อยละ
2. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสีย

สมมติฐานโครงการ

1. โคโตซานที่สกัดได้มีผลได้ร้อยละมากกว่าร้อยละ 30
2. โคโตซานมีผลได้ร้อยละในการจับไอออนโลหะหนัก (Cu^{2+}) มากกว่าร้อยละ 80 และจับโปรตีนและน้ำมันมากกว่าร้อยละ 30

ตัวแปร

ตัวแปรต้น : ปริมาณโคโตซานที่ใช้ในการจับกับคอปเปอร์ (II) ไอออน โปรตีน และน้ำมัน

ตัวแปรตาม : ผลได้ร้อยละของโคโตซานที่ได้จากการสกัด ผลได้ร้อยละและประสิทธิภาพในการจับคอปเปอร์ (II) ไอออน โปรตีน และน้ำมัน

ตัวแปรควบคุม : ภาชนะที่บรรจุ ความเข้มข้นและปริมาตรของสารละลายคอปเปอร์ (II) ไอออน โปรตีน และไขมัน

นิยามศัพท์เฉพาะ

1. ไคโตซาน (Chitosan) คือสารพอลิเมอร์ธรรมชาติที่สกัดได้จากไคตินที่พบในเปลือกกุ้ง กระดองปู และแกนปลาหมึก เป็นต้น โดยมีหมู่อะมิโนที่แสดงสมบัติในการละลายในกรดอินทรีย์เจือจาง สามารถจับกับไอออนของโลหะได้ดี โดยคณะผู้จัดทำใช้ไคโตซานจากแกนหมึกกล้วยเพื่อใช้ในการจับกับไอออนโลหะ โปรตีน และไขมัน

2. โลหะหนัก (Heavy Metals) หมายถึง โลหะที่มีความถ่วงจำเพาะมากกว่าน้ำ 5 เท่าขึ้นไป เช่น พรอท สารหนู ตะกั่ว อลูมิเนียม แคดเมียม สังกะสี ทองแดง ซึ่งคณะผู้จัดทำใช้คอปเปอร์ (II) ไอออนในการศึกษาประสิทธิภาพของไคโตซานในการจับกับไอออนของโลหะ

3. การไทเทรต (Titration) คือกระบวนการหาปริมาณสารโดยวิธีใช้สารละลายมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้นแน่นอนทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่าง โดยใส่อินดิเคเตอร์ลงในสารตัวอย่าง และหาจุดยุติของการไทเทรตโดยการเปลี่ยนสี โดยคณะผู้จัดทำใช้ Phenolphthalein เป็นอินดิเคเตอร์ เพื่อไทเทรตหาจุดยุติของสารละลายคอปเปอร์ (II) ซัลเฟต

ขอบเขตของการศึกษา

1. ขอบเขตด้านเนื้อหา

1.1 ศึกษาการสกัดไคโตซาน ที่เกี่ยวข้องกับประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสีย

1.2 ศึกษาวิธีการตรวจสอบไคโตซาน

1.3 ศึกษาปริมาณไคโตซานจากแกนหมึกกล้วยที่ได้และผลได้ร้อยละ รวมถึงผลได้ร้อยละของไคโตซานในการจับคอปเปอร์ (II) ไอออน โปรตีนและน้ำมัน

1.4 ศึกษาแนวโน้มของปริมาณไคโตซานที่ใช้กับผลได้ร้อยละที่ไคโตซานจับไอออนโลหะ (Cu^{2+})

2. ขอบเขตด้านระยะเวลา ระยะเวลาระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2566 – กรกฎาคม 2567

3. ขอบเขตด้านสถานที่ โรงเรียนอุทัยวิทยาคม

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ศึกษาเกี่ยวกับการสกัดไคโตซานที่ถูกต้องเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในชีวิตประจำวัน

2. ได้ความรู้จากการทดสอบประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียด้วยวิธีการต่างๆ

3. สามารถพัฒนาต่อยอดระบบการบำบัดน้ำเสีย ร่วมกับวิธีการอื่นๆเพื่อพัฒนางานต่อไป

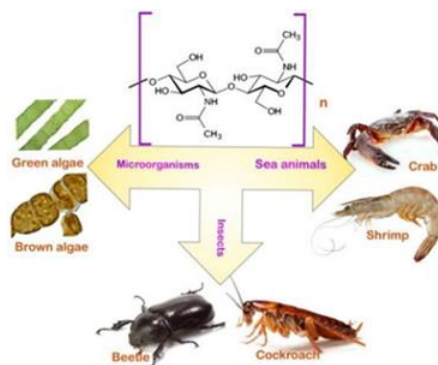
บทที่ 2

เอกสาร ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

โครงการเรื่อง การสกัดไคโตซานจากแกนหมึกกล้วยเพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสีย ได้ศึกษาเอกสารและทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง ดังนี้

2.1 ไคโตซาน (Chitosan)

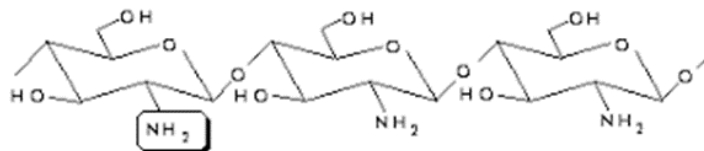
ไคโตซาน คือ สารธรรมชาติจำพวกสารพอลิแซ็กคาไรด์ (Polysaccharide) ที่สกัดได้จากเปลือกกุ้ง กระจดองปู และแกนปลาหมึก เป็นต้น นอกจากนี้ยังสามารถสกัดได้จากเปลือกแข็งของแมลง พืชเซลล์ของเห็ดและรา และสาหร่ายบางชนิด โดยแยกเอาโปรตีนและเกลือแร่ออกจะได้สารที่เรียกว่าไคติน (Chitin)



ภาพที่ 2.1 ไคโตซานจากเปลือกแข็งของสัตว์ต่างๆ

ที่มา : <https://swionictech.com/chitosan/>

ไคโตซานเป็นสารพอลิเมอร์ธรรมชาติซึ่งเป็นอนุพันธ์ของไคตินที่มีหมู่เอมีโน (-NH₂) มาประกอบกันเรียกว่า Polyamino glucose มีสูตรโมเลกุล (C₆H₁₂O₄N)_n ไคโตซานมีชื่อทางเคมีว่า poly-β-(1,4)-2-amino-2-deoxy-D-glucose โดยมี หมู่เอมีโนที่แสดงสมบัติในการละลายได้ในกรดอินทรีย์เจือจาง สามารถจับกับไอออนของโลหะได้ดี และสารมีฤทธิ์ทางชีวภาพ สามารถเตรียมได้จากปฏิกิริยากำจัดหมู่อะซีทิล (Deacetylation) ออกจากไคตินในสารละลายต่างเข้มข้น จึงทำให้โครงสร้างของไคตินบางส่วนเปลี่ยนแปลงโดยเฉพาะหมู่ฟังก์ชันที่มีธาตุไนโตรเจนในรูปของหมู่อะเซตามิโด (NH-CO-CH₃) เปลี่ยนไปเป็นหมู่เอมีโน (NH₂)



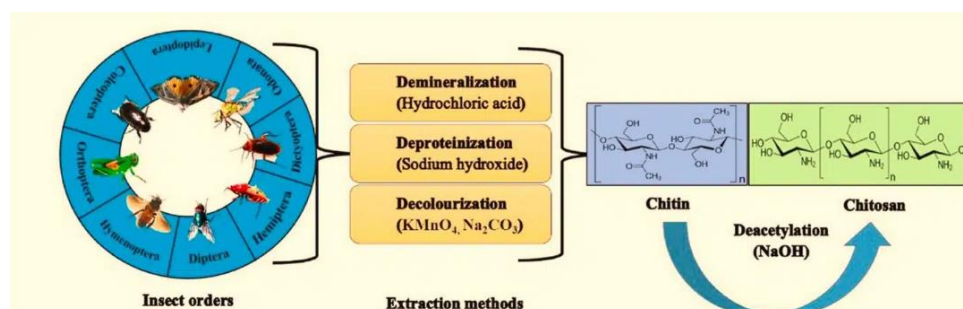
ภาพที่ 2.2 โครงสร้างทางเคมีของไคโตซาน

ที่มา : <https://www.kasetloongkim.com/>

ไคโตซานเป็นอนุพันธ์ของไคติน ที่จากการดึงเอาหมู่อะซีทิล (Acetyl Group) ของไคตินออกไปโดยปฏิกิริยา Deacetylation ทำให้โครงสร้างของไคตินที่เป็น N-Acetyl Glucosamine กลายเป็น Glucosamine เป็นโครงสร้างที่ Active พร้อมจะทำปฏิกิริยาได้อย่างรวดเร็ว มีสมบัติละลายได้ในกรดอ่อนในอุตสาหกรรม โดยผลิตอยู่ในรูปของผงไคโตซานที่ได้จะมีส่วนผสมของ น้ำตาล N-Acetyl-D-Glucosamine และ Glucosamine อยู่ในสายพอลิเมอร์เดียวกัน ซึ่ง

ระดับการกำจัดหมู่ Acetyl หรือเปอร์เซ็นต์การเกิด Deacetylation นี้มีผลต่อสมบัติและการทำงานของไคโตซาน นอกจากนี้ น้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานบอกถึงความยาวของสายไคโตซาน ซึ่งมีผลต่อความหนืด เช่น ไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง จะมีสายยาวและสารละลายมีความหนืดมากกว่าไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ เป็นต้น ดังนั้นการนำไคโตซานไปใช้ประโยชน์จะต้องพิจารณาทั้งเปอร์เซ็นต์การเกิด Deacetylation และน้ำหนักโมเลกุลไคโตซาน สามารถละลายในสารละลายหลายชนิด ได้แก่ สารละลายกรดอินทรีย์เจือจาง เช่น กรดอะซิติก กรดโพธิ์โอนิก กรดแลคติก กรดไพรูวิก กรดมาลิก กรดทาทราก และกรดซิตริก นอกจากนี้ยังสามารถละลายในสารละลายกรดไนตริก กรดไฮโปคลอริก กรดไฮโดรคลอริกเจือจาง (ความเข้มข้นร้อยละ 1 หรือน้อยกว่า) และละลายได้เล็กน้อย ในกรดฟอสฟอริก (ความเข้มข้นร้อยละ 0.5) แต่ไม่ละลายในกรดซัลฟูริก ไคโตซานไม่ละลายน้ำแต่จะละลายในรูปของเกลือของกรดหลายชนิด ยกเว้นเกลือซัลเฟตและเกลือซัลไฟต์ ไคโตซานไม่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ทั่วไป แต่จะละลายในสารละลายพอลิแอลกอฮอล์ที่มีสภาพเป็นกรด เช่น ในสารผสมของกลีเซอรอลและน้ำ (3:1) ที่กรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 1 สารละลายที่ได้จะใส และสามารถละลายได้ในเอทิลีนไกลคอล (Ethylene Glycol) โดยพบว่าการละลายในสารละลายอินทรีย์พวก พอลิแอลกอฮอล์จะมีผลต่อความหนืดของไคโตซานเล็กน้อย ถ้ามีกลีเซอรอลอยู่ในสารละลายไคโตซาน จะมีลักษณะเป็นเจล ขณะที่มีซอร์บิทอลอยู่จะมีลักษณะเจลกึ่งแข็ง (Anonymous.1997: 1-60) นอกจากนี้ไคตินและไคโตซานยังมีคุณสมบัติการชอบน้ำ และมีความสามารถในการอุ้มน้ำแตกต่างกันไปตามชนิดของไคติน โดยพบว่าความสามารถในการอุ้มน้ำของไคตินและไคโตซานเท่ากับร้อยละ 230 - 440 (น้ำหนัก / น้ำหนัก) โดยพบว่าไคโตซานมีค่าการอุ้มน้ำที่สูงกว่าไคติน ทั้งนี้เนื่องจากความแตกต่างของผลึกไคติน ปริมาณโปรตีนรวมทั้งหมู่ที่สามารถเกิดเกลือกับตัวทำละลาย

กระบวนการผลิตไคโตซาน มี 4 ขั้นตอนสำคัญ ได้แก่ การกำจัดเกลือแร่ การกำจัดโปรตีน การฟอกสีและการสกัดไคโตซาน



ภาพที่ 2.3 ขั้นตอนการผลิตไคโตซาน

ที่มา : <https://swionictech.com/chitosan/>

การใช้ประโยชน์ของไคติน และไคโตซาน

วัสดุชีวภาพ (Biomaterials) ย่อยสลายตามธรรมชาติมีความปลอดภัยในการนำมาใช้กับมนุษย์ไม่เกิดผลเสียและปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม ไม่เกิดการแพ้ไม่ไวไฟและไม่เป็นพิษ (Non – Phytotoxic) ต่อพืช นอกจากนี้ยังส่งเสริมการเพิ่มปริมาณของสิ่งมีชีวิตที่มีประโยชน์ จึงได้มีการนำไคติน-ไคโตซานมาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ เช่น ด้านการเกษตรใช้เป็นสารปรับปรุงดินสำหรับเพาะปลูก ด้านอุตสาหกรรมอาหารในรูปของอาหารเสริม เพื่อลดคอเลสเตอรอลและควบคุมน้ำหนัก จากสมบัติที่ยังเชื่อจุลชีพ เช่น แบคทีเรีย เชื้อราจึงนำมาใช้ประโยชน์ในการถนอมอาหาร เป็น

ฟิล์มห่อหุ้มเพื่อถนอมอาหาร การใช้เป็นสารตกตะกอนชีวภาพ (Biofloculant) ในการบำบัดน้ำเสียจากอุตสาหกรรมอาหาร สามารถลดความขุ่นของปริมาณตะกอนแขวนลอย ตลอดจนค่า BOD และ COD ลงได้ ทำให้น้ำมีคุณภาพดีขึ้น ในด้านการแพทย์และเภสัชกรรม พบว่าไคโตซานเป็นสารธรรมชาติที่มีความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อและเซลล์ของร่างกาย สามารถรับประทานได้ และย่อยสลายได้ตามธรรมชาติโดยไม่เป็นพิษต่อร่างกาย จึงได้มีการนำมาใช้ทางการแพทย์ เช่น ใช้ในวัสดุทดแทนกระดูก ใช้เป็น Filling ในกระดูกและฟัน ใช้เป็นวัสดุปิดบาดแผล ป้องกันการติดเชื้อจึงช่วยทำให้บาดแผลหายเร็วขึ้น เป็นสารป้องกันการจับตัวเป็นก้อนของเลือด (Blood Anticoagulant) และสารห้ามเลือด (Hemostatic) ในด้านการดูดซับน้ำมันของไคโตซาน มีรายงานการนำไคโตซานมาใช้ประโยชน์ในการดูดซับน้ำมัน ตกค้าง (Residue Oil) ที่มีอยู่ในน้ำเสีย ในรายงานได้กล่าวถึงไคโตซานซึ่งเป็นพอลิเมอร์ชีวภาพที่มีประจุบวก (Cationic Biopolymer) โดยโมเลกุลของไคโตซานประกอบด้วยหมู่อะมิโนที่มีประสิทธิภาพสูงในการดูดซับน้ำมันจึงสามารถจับกลับสารที่มีประจุลบได้ดีนั้นคือไคโตซานสามารถดูดซับ Residue Oil ได้ และทำให้ประจุลบของ Residue Oil สูญเสียเสถียรภาพโดยอาศัยกลไกการสะเทิน (Neutralize) ประจุ

2.2 หมึกกล้วย

ชื่อสามัญภาษาอังกฤษ : Splendid squid

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Loligo duvauceli* / *Loligo* spp. *Loligo formosana*

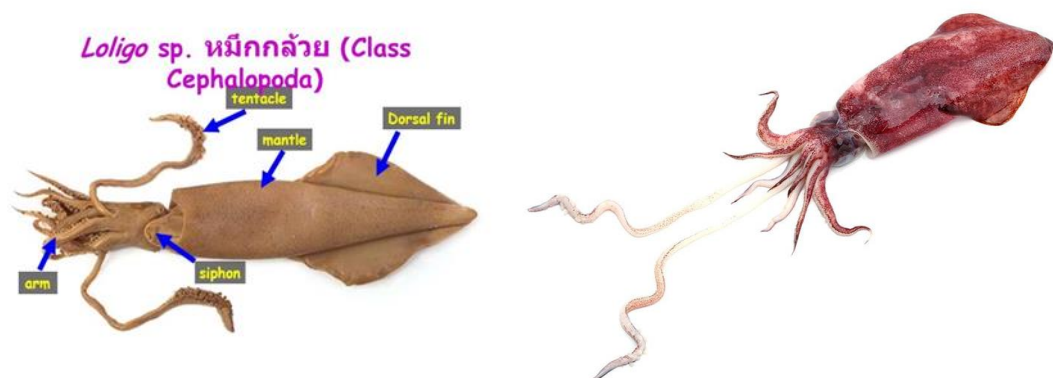
วงศ์ : *Loliginidae*

Class : *Cephalopoda*

Phylum : *Mollusca*

Kingdom : *Animalia*

หมึกกล้วย เป็น Molluska ประเภทหมึกอันดับหนึ่ง นับเป็นหมึกที่มนุษย์คุ้นเคยและรู้จักมากที่สุด หมึกกล้วยมีรูปร่างเรียวยาว ลำตัวกลม มีรยางค์เหมือนครีบเป็นรูปสามเหลี่ยมอยู่ทางด้านซ้ายและขวา มีหนวดทั้งหมด 10 หนวด และจะมีอยู่คู่หนึ่งที่ยาวกว่าหนวดอื่น ๆ ใช้สำหรับจับอาหาร เรียกว่าเป็นหนวดล่าเหยื่อ โดยหนวดอื่น ๆ นั้นจะใช้สำหรับช่วยเพื่อไม่ให้อาหารหลุดไป ก่อนที่จะกินเข้าปาก



ภาพที่ 2.4 ส่วนประกอบของหมึกและหมึกกล้วยใต้ทะเล

ที่มา : <https://www.thammachartseafood.com>

ภายในลำตัวหมึกกล้วยมีแคลเซียมแข็งลักษณะโปร่งใส เรียกว่า เพน (Pen) ที่มีขนาดเล็กและบางกว่าเส้นทะเลที่เป็นแคลเซียมแข็งเช่นเดียวกันในกลุ่มหมึกกระดอง เป็นหมึกที่มีพฤติกรรมอยู่รวมกันเป็นฝูงใหญ่ มักว่ายและหากินอยู่บริเวณกลางน้ำ จับสัตว์น้ำทั่วไปกินเป็นอาหาร แม้กระทั่งหมึกพวกเดียวกันเองก็ตาม การว่ายน้ำของหมึกกล้วยเป็นไปอย่างคล่องแคล่วและรวดเร็ว เนื่องจากมีท่อสำหรับดูดน้ำทะเลที่มีออกซิเจนเข้าไปใช้ในการหายใจ และใช้พ่นน้ำออกมาโดยใช้หลักการเดียวกับเครื่องยนต์เจ็ท ซึ่งหากหมึกกล้วยพ่นน้ำออกจากท่อนี้ด้วยความแรง ก็สามารถเป็นแรงผลักดันในการเคลื่อนที่ให้ลำตัวพุ่งไปในทางตรงกันข้ามได้อย่างรวดเร็ว หมึกกล้วย ยังถือได้ว่าเป็นสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในโลกอีกด้วย โดยหมึกกล้วยชนิดที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในโลก คือ หมึกหมึก หรือหมึกโคลอสซัล ที่อาศัยอยู่ในระดับความลึกถึง 2,000 เมตร เป็นหมึกที่ยังไม่เป็นที่ทราบถึงพฤติกรรมและข้อมูลต่าง ๆ มากนักในทางวิทยาศาสตร์ มีความยาวได้ถึง 14 เมตร หมึกกล้วย ที่มีขนาดใหญ่ที่เป็นที่รู้จักกันดี เช่น หมึกฮัมโบลต์ แห่งมหาสมุทรแอตแลนติก หรือหมึกโดมอนต์ แห่งมหาสมุทรแปซิฟิก

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. กนิษฐา วัฒนชัย และ จิตติมา เกตุแก้ว, **ประสิทธิภาพของไคโตซานจากเปลือกกุ้งและไคโตซานทางการค้าในการกำจัดน้ำมันและไขมัน**,วารสารวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏธนบุรี ปีที่ 2 ฉบับที่ 1 (มกราคม-มิถุนายน) 2567,กล่าวว่า การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของไคโตซานจากเปลือกกุ้งและไคโตซานทางการค้าในการกำจัดไขมันในน้ำเสีย โดยทำการทดสอบกับน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีปริมาณไขมันและน้ำมันเริ่มต้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการทดสอบด้วยกระบวนการเขย่าที่ 90 รอบต่อนาที นาน 10 นาที ที่อุณหภูมิห้อง ผลการศึกษา พบว่าไคโตซานจากเปลือกกุ้ง ปริมาณ 1.5 กรัม ให้ประสิทธิภาพในการกำจัดไขมันและน้ำมันดีที่สุด คือ ร้อยละ 75.76 เมื่อเปรียบเทียบกับไคโตซานสำเร็จรูป พบว่า ไคโตซาน ปริมาณ 0.5 กรัม มีประสิทธิภาพในการกำจัดไขมันและน้ำมันดีที่สุด ร้อยละ 77.55 ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 แสดงให้เห็นว่าไคโตซานเตรียมจากเปลือกกุ้งมีความสามารถในการกำจัดน้ำมันและไขมัน เช่นเดียวกับไคโตซานทางการค้า แต่จำเป็นต้องใช้ในปริมาณเพิ่มขึ้นเพื่อให้ได้ประสิทธิภาพที่ใกล้เคียงกัน ไคโตซานจากเปลือกกุ้ง จึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่ใช้ในการกำจัดน้ำมันและไขมันในน้ำเสียและช่วยลดปัญหาการจัดการขยะอินทรีย์จากเศษอาหาร

2.รศ.ดร.พัฒนา อนุรักษ์พงศธร อาจารย์ประจำภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, **โครงการการใช้ไคโตซานเป็นสารกักการจับก้อนที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมในระบบบำบัดน้ำเสียจากอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์นม**,กล่าวว่า การใช้ไคโตซานเป็นสารกักการจับก้อนที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมในระบบบำบัดน้ำเสียจากอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์นม” งานวิจัยเริ่มจากการผลิตไคโตซานจากวัตถุดิบเปลือกกุ้งซึ่งเป็นของเหลือทิ้งจากโรงงานอาหารทะเลแช่แข็ง ใช้เปลือกกุ้งที่อบแห้งและบดแล้วมาผ่านกระบวนการกำจัดโปรตีนด้วยสารละลายโซดาไฟ จากนั้นใช้กรดเกลือเพื่อกำจัดแร่ธาตุออก จึงทำการกำจัดสีย้อมด้วยอะซิโตน จะได้สารโคติน ซึ่งเมื่อนำมาแช่ในสารละลายโซดาไฟ 50% ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ล้างด้วยน้ำร้อนจนมีสภาพเป็นกลาง นำไปอบแห้งได้ไคโตซานเกรดสีขาวขุ่น เมื่อบดละเอียด จะได้เป็นผงไคโตซาน ผลการสกัดไคโตซานจากเปลือกกุ้ง จะได้ผลผลิตประมาณ 18.5 % โดยน้ำหนัก เมื่อนำไคโตซานมาทดลองเป็นสารกักการจับเป็นก้อน หรือให้เกิดการ

ตกตะกอนในการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานผลิตนมของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพกับการใช้โพลีลูมิเนียมคลอไรด์(PAC) ซึ่งเป็นสารสังเคราะห์โพลีเมอร์ที่ใช้อยู่เดิม ทดสอบปริมาณการใช้สารระดับต่างๆ กำหนดความเร็วเข้าในการกวน ระยะเวลาการกวน ทั้งช่วงเวลาให้น้ำเสียตกตะกอน วิเคราะห์เปรียบเทียบคุณภาพน้ำเสียก่อนและหลัง โดยวัดค่าความเป็นกรด ต่าง ของแข็งที่ละลายได้ สารแขวนลอย ค่าความขุ่น ค่าCOD ผลการทดลองพบว่า การใช้โคโคซานเป็นสารก่อการจับก้อนที่ปริมาณ 0.09 กรัม ต่อน้ำเสีย 500 มิลลิลิตร มีค่า pH เท่ากับ 5 มีความเหมาะสมต่อการบำบัดน้ำเสียโดยการตกตะกอน สามารถกำจัด COD ได้ 79.43 % ตะกอนที่ได้มีลักษณะเป็นเกล็ดละเอียดแยกชั้นออกจากน้ำเสียได้ง่าย ขณะที่ใช้สารโพลีเมอร์สังเคราะห์ PAC 0.75 กรัมต่อน้ำเสีย 500 มิลลิลิตร ค่าpH เท่ากับ 6 มีความเหมาะสมสำหรับการตกตะกอนน้ำเสีย สามารถกำจัด COD ได้ 62.77 % ตะกอนที่ได้มีลักษณะเกาะกันเป็นก้อนเหนียวหนืด ดังนั้นการใช้โคโคซานเป็นสารก่อการจับก้อนในการบำบัดน้ำเสียจากอุตสาหกรรมผลิตนม มีประสิทธิภาพสูงกว่าการใช้สารโพลีเมอร์สังเคราะห์ PAC

3.จิรนนท์ บุตรอ่อน และคณะ (2564)การศึกษาประสิทธิภาพของโคโคซานจากเปลือกหอยเชอร์รี่ในการบำบัดไขมันและน้ำมันของน้ำเสียจากบ่อบึงประดิษฐ์ในระบบบำบัดน้ำเสียของโรงอาหารกลาง มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี,กล่าวว่า การศึกษาในครั้งนี้เป็นการวิจัยเชิงทดลอง เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของโคโคซานจากเปลือกหอยเชอร์รี่ที่สกัดเองในการบำบัดไขมันและน้ำมันของน้ำเสียจากบ่อบึงประดิษฐ์ในระบบบำบัดน้ำเสีย ของโรงอาหารกลาง มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี เปรียบเทียบกับโคโคซานจากเปลือกกุ้งที่มีจำหน่ายตามท้องตลาด โดยใช้ Jar test ที่มีความเร็วในการกวน 90 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที และให้ระยะเวลาเข้าสู่สมดุล 15 นาที ผลการศึกษาพบว่า ปริมาณที่เหมาะสมของโคโคซานจากเปลือกหอยเชอร์รี่และเปลือกกุ้งอยู่ 20 กรัมต่อตัวอย่างน้ำ 2 ลิตร โดยโคโคซานจากเปลือกหอยเชอร์รี่สามารถบำบัดโดยการดูดซับไขมันและน้ำมันได้ร้อยละ60.67 ในขณะที่โคโคซานจากเปลือกกุ้งสามารถบำบัดโดยการดูดซับไขมันและน้ำมันได้ร้อยละ 67.37 ตามลำดับ จากผลการทดลองนี้ ชี้ได้ว่าโคโคซานที่สกัดจากเปลือกหอยเชอร์รี่มีความสามารถในการดูดซับไขมันและน้ำมัน สามารถนำไปพัฒนาเพื่อช่วยลดไขมันในระบบบำบัดน้ำเสียต่อไปในอนาคตได้

4.ชัชญาภา เกตุวงศ์,ภานุวัฒน์ เกตุวงศ์,รัตติยาภรณ์ ไปนา,มนทการ รังเพีย,การดูดซับทองแดง (II) ในน้ำเสียด้วยโคโคซานที่สกัดจากเปลือกปูม้า,กล่าวว่า สารสกัดโคโคซานจากเปลือกปูม้าสามารถดูดซับทองแดง (II) ไอออนในน้ำเสียสังเคราะห์ได้โดยในการทดลองได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการดูดซับทองแดง (II) ไอออน พบว่าสภาวะที่เกิดการดูดซับได้ดีที่สุด คือ ปริมาณโคโคซาน 0.5 กรัมต่อน้ำเสีย 50 มิลลิลิตรเวลาการดูดซับ 60 นาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และค่า pH 5 การศึกษาจลศาสตร์ของการดูดซับทองแดง (II) ไอออน โดยประเมินจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ พบว่าจลศาสตร์ของการดูดซับทองแดง (II) ไอออน จากเปลือกปูม้าสอดคล้องกับปฏิกิริยาอันดับสองเทียม

5.รัชกฤษ ปทมโสภาสกุล,เอกรินทร์บติรัฐ และบุญยรัศมี สุขเขียว,งานประชุมวิชาการระดับชาติครั้งที่12 มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม จังหวัดนครปฐม,การดูดซับน้ำมันในแหล่งน้ำทิ้งด้วยไคตินจากเปลือกกุ้งขาว,งานวิจัยนี้เป้นการศึกษาการสกัดไคตินจากเปลือกกุ้งขาว เพื่อใช้ในการศึกษาการดูดซับน้ำมันจากแหล่งน้ำทิ้ง พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดไคตินจากเปลือกกุ้งขาวคือ การต้มด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 8% w/v ที่อุณหภูมิ 80 C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง และแช่ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 8% w/v ที่อุณหภูมิห้อง (28 C) เป

นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อการกำจัดโปรตีนและกำจัดแร่ธาตุจากเปลือกกุ้งขาว ตามลำดับ ลักษณะทางกายภาพของไคตินที่ไดเปนเกล็ดสีสมออน และมีปริมาณ 5.73 % w/w ของน้ำหนักเปลือกกุ้งขาว เมื่อนำไคตินที่ได้ไปประยุกต์ใช้ในการดูดซับน้ำมันจากแหล่งน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีน้ำมันผสม 2% w/v ในสภาวะที่เหมาะสมคือ ที่อุณหภูมิ 28 C pH 9.0 เขยาที่ความเร็วรอบ 125 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 15 นาทีพบว่าไคตินน้ำหนัก 1.00 2.00 3.00 4.00 และ 5.00 กรัม มีความสามารถในการดูดซับน้ำมัน 65.25 76.10 78.33 79.13 และ 80.25% ตามลำดับ ประสิทธิภาพการดูดซับน้ำมันจากแหล่งน้ำทิ้งของร้านอาหารรอบมหาวิทยาลัยรังสิต 5 แห่ง พบว่ามีความสามารถในการดูดซับได้ดีมากโดยเฉลี่ย 86.55%

บทที่ 3

วิธีดำเนินงาน

โครงการเรื่อง การสกัดโคโคทาโนจากแกนหมึกกล้วยเพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสีย ได้ใช้เครื่องมือ วัสดุ อุปกรณ์ สารเคมี และมีขั้นตอนการดำเนินงาน ดังนี้

3.1 เครื่องมือ วัสดุ และอุปกรณ์เคมี

เครื่องมือ วัสดุ อุปกรณ์ มีดังนี้

- | | |
|--|------------------------------------|
| 1. ปีกเกอร์ (Beaker) | 12. pH meter |
| 2. ขวดปรับปริมาตร (Volumetric flask) | 13. ช้อนตักสารเคมี (Spatula) |
| 3. Heating Magnetic Stirrer | 14. บิวเรตต์ (Burette) |
| 4. ปิเปตต์แบบปริมาตร (Volumetric pipette) | 15. กรวยกรอง (Filter cone) |
| 5. ปิเปตต์แบบใช้ดวง (Graduated pipette) | 16. Clamp |
| 6. ขาตั้ง (Stand) | 17. Magnetic bar |
| 7. แท่งแก้วคนสาร (Stirring rod) | 18. กระดาษกรอง(Filter paper) |
| 8. หลอดหยดสาร (Dropper) | 19. หลอดหยดสาร (Dropper) |
| 9. กระบอกตวง (Graduate cylinder) | 20. ช้อนตักสารเคมี (Spatula) |
| 10. กรวยแยก (Separatory funnel) | 21. ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) |
| 11. เครื่องชั่งสาร 4 ตำแหน่ง (Analytical balance 4 digits) | |

สารเคมีและสารตัวอย่าง มีดังนี้

- | | |
|---|---------------------------------------|
| 1. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) | 7. สารละลายกรดไฮโดรคลอริก (HCl) |
| 2. ฟีนอล์ฟทาลีน (Phenolphthalein) | 8. น้ำยาล้างจาน (Dishwashing liquid) |
| 3. เอทานอลเข้มข้น 95% (Ethanol) | 9. หมึกกล้วย (Splendid squid) |
| 4. สารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ (KI) | 10. นม (Milk) |
| 5. สารละลายกรดแอสติค (CH_3COOH) | 11. น้ำยาล้างจาน (Dishwashing liquid) |
| 6. สารละลายคอปเปอร์(II)ซัลเฟต (CuSO_4) | 12. น้ำกลั่น (Distilled water) |

3.2 ขั้นตอนการดำเนินงาน

~~มีรายละเอียดการปฏิบัติงานดังนี้~~

3.2.1 การเตรียมสารละลาย

1.1 เตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เข้มข้น 4% w/v โดยใช้ NaOH 4 g ในสารละลาย 100 mL โดยใช้ขวดปรับปริมาตรขนาด 100 mL

1.2 เตรียมสารละลายไฮโดรคลอริก (HCl) เข้มข้น 4% v/v โดยใช้ HCl 4 mL ในสารละลาย 100 mL โดยใช้ขวดปรับปริมาตรขนาด 100 mL

1.3 เตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เข้มข้น 50% w/v โดยใช้ NaOH 50 g ในสารละลาย 100 mL โดยใช้ขวดปรับปริมาตรขนาด 100 mL

1.4 เตรียมสารละลาย Biuret โดยใช้ CuSO_4 0.1 M ปริมาตร 2 mL กับ NaOH 2.5 M ปริมาตร 2 mL

2. การเตรียมและสกัดโคโคซานจากหมึกกล้วย

2.1 นำเอามาเฉพาะแกนหมึกมาอบที่อุณหภูมิ 70-80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 6 ชั่วโมง จากนั้นนำมาบดให้ละเอียด

2.2 ต้มแกนหมึกใน NaOH 4%w/v ที่เตรียมไว้จากข้อ 1.1 โดยใช้ น้ำหนักแกนหมึกต่อน้ำหนักสารละลาย NaOH อัตราส่วน 1:20 ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง กรองและล้างด้วยน้ำกลั่นจนได้ pH ที่เป็นกลาง โดยใช้ pH meter ตรวจสอบ จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 30 นาทีจนแห้ง ซึ่งเป็นกระบวนการแยกโปรตีน และตรวจสอบโดยใช้ Biuret ถ้าเปลี่ยนเป็นสีม่วงแสดงว่ามีโปรตีนถูกจับด้วยเบส NaOH ออกมาผ่านการกรอง และนำมาคำนวณหาผลได้ร้อยละในขั้นตอนนี้

2.3 ต้มแกนหมึกใน HCl 4%v/v ที่เตรียมไว้จากข้อ 1.2 โดยใช้ น้ำหนักแกนหมึกต่อน้ำหนักสารละลาย HCl อัตราส่วน 1:20 ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง กรองและล้างด้วยน้ำกลั่นจนได้ pH ที่เป็นกลาง โดยใช้ pH meter ตรวจสอบ จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสได้เป็นโคติน เป็นเวลาประมาณ 30 นาทีจนแห้ง ซึ่งเป็นกระบวนการแยกแร่ธาตุ และนำมาคำนวณหาผลได้ร้อยละในขั้นตอนนี้

2.4 นำโคตินแห้งใส่ใน NaOH 50%w/v ที่เตรียมไว้จากข้อ 1.3 โดยใช้ น้ำหนักแกนหมึกต่อน้ำหนักสารละลาย NaOH อัตราส่วน 1:20 ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง กรองและล้างน้ำกลั่นจนได้ pH ที่เป็นกลาง โดยใช้ pH meter ตรวจสอบ จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 30 นาทีจนแห้ง จะได้โคโคซานจากแกนหมึกมี pH ใกล้เคียงกับน้ำกลั่น ซึ่งเป็นกระบวนการดึงหมู่อะซิติก (Deacetylation) และนำมาคำนวณหาผลได้ร้อยละที่สกัดโคโคซานได้

3. วิธีการตรวจสอบโคโคซาน

3.1 ทดสอบด้วยการวัดค่า pH โดยตรงโดยใช้ pH meter

3.1.1 นำโคโคซานที่ได้ในรูปผงละลายในน้ำกลั่นได้เป็นสารละลายปริมาตร 100 มิลลิลิตร และวัดค่า pH จากนั้นบันทึกผลการทดลอง

3.2 ทดสอบความบริสุทธิ์ของโคโคซาน

3.2.1 นำโคโคซานหนัก 0.5 กรัม มาละลายในกรดแอซิติกความเข้มข้น 5%v/v ปริมาตร 10 mL แล้วคนให้เข้ากัน จะได้เป็นสารละลายโคโคซาน

3.2.2 ใส่หยาล้างจานปริมาตร 10 mL ลงในสารละลายที่เตรียมไว้ในข้อ 1) สังเกตความบริสุทธิ์โดยถ้าโคโคซานค่อนข้างบริสุทธิ์จะเห็นการจับตัวกันคล้ายกับไข่ขาว ถ้าไม่บริสุทธิ์จะไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง

3.3 ทดสอบว่าโคโคซานเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ (Polysaccharide)

3.3.1 นำโคโคซานหนัก 0.2 กรัม ลงในน้ำกลั่นปริมาตร 5 mL ได้สารละลายโคโคซาน แล้วใส่ลงในหลอดทดลอง

3.2.2 เติมน้ำละลายไอโอดีนในสารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ (I_2 ใน KI) 3 หยด สังเกตสีที่เกิดขึ้นและบันทึกผลการทดลองที่ได้

4. ศึกษาประสิทธิภาพของไคโตซานในการบำบัดน้ำเสีย

4.1 ศึกษาประสิทธิภาพในการจับกับคอปเปอร์ (II) ไอออน

4.1.1 ชั่งสาร $CuSO_4$ 2.50 g มาละลายน้ำและปรับปริมาตรเป็น 100 mL โดยใช้ขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 mL จะได้สารละลาย $CuSO_4$ 0.1 M

4.1.2 ชั่งสาร NaOH 0.8 g มาละลายน้ำและปรับปริมาตรเป็น 100 mL โดยใช้ขวดปรับปริมาตรขนาด 100 mL จะได้สารละลาย NaOH 0.2 M

4.1.3 ปิเปตต์สารละลาย $CuSO_4$ 0.1 M 10 mL ใส่ในขวดรูปชมพู่ 3 ใบ จากนั้นหยดฟีนอล์ฟทาลีนเพื่อใช้เป็นอินดิเคเตอร์ 1-2 หยด

4.1.4 นำสารละลาย NaOH 0.2 M มาใส่ในบิวเรตต์ขนาด 50 mL

4.1.5 ทำการไทเทรตระหว่างสารละลาย $CuSO_4$ และ NaOH เมื่อถึงจุดยุติสีของสารละลายจะเปลี่ยนจากสีฟ้าของ Cu^{2+} เป็นสีม่วง (เกิดจากสีฟ้าผสมกับสีชมพูซึ่งเกิดจากการเปลี่ยนสีของฟีนอล์ฟทาลีน จากไม่มีสีเป็นสีชมพู) และทำการบันทึกปริมาตร NaOH ที่ใช้ทำ 3 ครั้ง หาปริมาตรที่ใช้เฉลี่ย จากนั้น คำนวณหาโมลของ Cu^{2+} เริ่มต้นและหามวลของ Cu^{2+} ใน $CuSO_4$ 0.2 M 10 mL

4.1.6 ชั่งไคโตซาน 0.10 g ใส่ลงในสารละลาย $CuSO_4$ 0.2 M 10 mL คนสารและตั้งทิ้งไว้ ประมาณ 10 นาที จากนั้นกรองนำเอา Cu^{2+} ที่ไม่ได้จับกับไคโตซานหรือ Cu^{2+} ที่เหลือในสารละลายมา ไทเทรตกับสารละลาย NaOH 0.2 M บันทึกปริมาตร NaOH ที่ใช้ ทำ 3 ครั้งและหาปริมาตรที่ใช้เฉลี่ย จากนั้น คำนวณหาโมล Cu^{2+} และหามวล Cu^{2+} ที่เหลือในสารละลาย

4.1.7 ทำตามขั้นตอนที่ 6 แต่เปลี่ยนปริมาณไคโตซานเป็น 0.15 g , 0.20 g และ 0.25 g

4.1.8 คำนวณหาผลได้ร้อยละของแต่ละการทดลอง โดยนำมวลของ Cu^{2+} ก่อนใส่ไคโตซานลบกับมวลของ Cu^{2+} หลังใส่ไคโตซาน จะได้มวล Cu^{2+} ที่จับกับไคโตซานแล้วนำมาหารด้วยมวล Cu^{2+} ตอนเริ่มต้นคูณด้วย 100 %

4.2 ศึกษาประสิทธิภาพในการจับกับโปรตีน

4.2.1 นำสารละลายกรดไฮโดรคลอริก (HCl) 6 M ปริมาตร 3.33 mL มาละลายน้ำและปรับปริมาตรเป็น 100 mL ได้สารละลายเข้มข้น 0.1 M

4.2.2 ใส่นมปริมาตร 40 mL ลงในบีกเกอร์ขนาด 100 mL และวัด pH โดยใช้ pH Meter

4.2.3 นำ HCl จากข้อ 1 มาหยดใส่ในนมและทำให้ค่า pH ได้ประมาณ 4.6-4.7 ซึ่งมีค่า pI (Isoelectric point) ของเคซีนเท่ากับ pH จะทำให้เคซีนตกตะกอนลงมา (จะสังเกตเห็นส่วนของด้านบนที่มีลักษณะใสถึงขุ่นเล็กน้อย เรียกว่า หางนม)

4.2.4 นำไปกรองเพื่อแยกระหว่างหางนมกับตะกอน นำตะกอนที่ได้ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 mL และใส่เอทานอลเข้มข้น 95% ลงไปให้ท่วมตะกอน ปิดด้วยจุกยาง แล้วเขย่าประมาณ 5-10 นาที

4.2.5 นำไปกรองเพื่อแยกระหว่างเอทานอลกับตะกอน และนำตะกอนที่ได้ไปชั่งหาเพื่อมวลของเคซีนในนมก่อนใส่โคโตซาน และเมื่อนำตะกอนมาทดสอบด้วยสารละลายไบยูเรต (Biuret) จะพบว่าได้เป็นสีม่วง (มีเคซีนซึ่งเป็นโปรตีนชนิดหนึ่งในนมอยู่)

4.2.6 ทำการทดลองอีกครั้งโดยใส่โคโตซานลงไป 0.1 g และทำตามข้อ 1 ถึง 5 (ปริมาตรของนมและความเข้มข้นของเอทานอลเท่าเดิม)

4.2.7 คำนวณหาผลได้ร้อยละโดยนำมวลของเคซีนที่ได้เมื่อใส่โคโตซานลบกับมวลของเคซีนก่อนใส่โคโตซานหารด้วยมวลของเคซีนก่อนใส่โคโตซาน และนำไปคูณด้วย 100

4.3 ศึกษาประสิทธิภาพในการจับกับน้ำมัน (น้ำมันพืช)

4.3.1 ใส่น้ำมันปริมาตร 10 mL ลงในปิกรอร์ขนาด 250 mL และใส่น้ำลงไป 90 mL

4.3.2 นำไปใส่ในกรวยแยก และทำการแยกน้ำกับน้ำมัน นำน้ำมันมาชั่งหามวล

4.3.3 ใส่โคโตซาน 0.1 g (ใช้ปริมาตรน้ำกับน้ำมันเท่าเดิม) จากนั้นรอประมาณ 10 นาทีเพื่อให้โคโตซานจับกับน้ำมันแล้วตักตะกอนลงไปในส่วนล่างของน้ำ

4.3.4 คำนวณหาผลได้ร้อยละ โดยนำมวลของน้ำมันก่อนใส่โคโตซาน (มวลเริ่มต้น) ลบกับมวลของน้ำมันหลังใส่โคโตซานหารด้วยมวลเริ่มต้นแล้วคูณด้วย 100

บทที่ 4

ผลการดำเนินงาน

โครงการเรื่อง การสกัดโคโตซานจากแกนหมึกกล้วยเพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสีย มีผลการดำเนินงานดังนี้

4.1 ผลการทดลองการสกัดโคโตซานจากแกนหมึกกล้วย

4.1.1 ขั้นตอนของการนำแกนหมึกมาต้มใน NaOH 4%w/v

อัตราส่วน 1:20 ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง กรองและล้างด้วยน้ำกลั่นจนได้ pH ที่เป็นกลาง นำไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 4.1 ผลที่ได้จากการต้มแกนหมึกกล้วยใน NaOH 4%w/v

ผลก่อนต้มแกน		ผลหลังต้มแกน		
มวลของแกนก่อนใส่ NaOH 4%w/v โดยเฉลี่ย (กรัม)	ปริมาตรของ NaOH 4%w/v ที่ใช้ (mL)	มวลของแกนหลังการอบโดยเฉลี่ย (กรัม)	ค่า pH ที่ได้หลังจากการล้างด้วยน้ำกลั่นเพื่อให้เป็นกลาง	ทดสอบด้วย Biuret ของสารละลายหลังกรอง
1.00	20.00	0.743	7	สีม่วงเข้มปานกลาง
				สีม่วงเข้มน้อยที่สุด
				สีม่วงเข้มมากที่สุด

จากตารางบันทึกผลพบว่ามวลของแกนหมึกหลังผ่านกระบวนการแยกโปรตีนและนำไปอบให้แห้งจะมีมวลน้อยกว่ามวลของแกนหมึกเริ่มต้น เนื่องจากมวลที่หายไปนั้นเป็นส่วนของโปรตีนที่ถูกแยกออกจากการต้มและกรอง และอาจเกิดจากการทดลองในขั้นตอนต่างๆ เช่น การล้างแกนหมึก การใส่แกนหมึกลงในบีกเกอร์ แกนหมึกติดตามบีกเกอร์และจานเพาะเชื้อ สามารถหาผลได้ร้อยละของปฏิกิริยา (% yield) ได้จาก

$$\text{ผลได้ร้อยละของปฏิกิริยา (\% yield)} = \frac{\text{มวลของแกนหมึกเฉลี่ยหลังผ่านกระบวนการ (กรัม)}}{\text{มวลของแกนหมึกเฉลี่ยเริ่มต้น (กรัม)}} \times 100 \%$$

$$\text{มวลของแกนหมึกเฉลี่ยเริ่มต้น} = \frac{1.00 + 1.00 + 1.00}{3} = 1.00 \text{ g}$$

$$\text{มวลของแกนหมึกเฉลี่ยหลังผ่านการต้มใน NaOH 4\%w/v และการอบ} = \frac{0.74 + 0.75 + 0.74}{3} = 0.743 \text{ g}$$

$$\text{ผลได้ร้อยละของปฏิกิริยา (\% yield)} = \frac{0.743 \text{ g}}{1.00 \text{ g}} \times 100\% = 74.30 \%$$

หลักการ : สารละลายเบส NaOH 4 %w/v จะทำหน้าที่จับกับโปรตีนซึ่งเป็นองค์ประกอบของแกนหมึก โดยโปรตีนที่ถูกจับจะผ่านการกรองลงมากับ NaOH ซึ่งทดสอบโปรตีนนั้นโดยใช้สารละลาย Biuret ได้ผลเป็นสีม่วงเข้ม แสดงว่ามีโปรตีนในสารละลายนั้น ทำให้พบว่ามวลของแกนหมึกลดลงจากเดิม (โดยอาจมาจากการทดลองที่มีแกนหมึกติดตามบีกเกอร์ และจานเพาะเชื้อได้ จะพบว่ามวลที่ลดลงนั้นค่อนข้างมาก)

4.1.2 ขั้นตอนของการนำแกนหมึกมาต้มใน HCl 4%v/v

อัตราส่วน 1:20 ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง กรองและล้างด้วยน้ำกลั่นจนได้ pH ที่เป็นกลาง นำไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 4.2 ผลที่ได้จากการต้มแกนหมึกกล้วยใน HCl 4%w/v

ผลก่อนต้มแกน		ผลหลังต้มแกน	
มวลของแกนก่อนใส่ HCl 4%w/v โดยเฉลี่ย (กรัม)	ปริมาตรของ HCl 4%w/v ที่ใช้ (mL)	มวลของแกนหลังการอบ โดยเฉลี่ย (กรัม)	ค่า pH ที่ได้หลังจากการล้างด้วยน้ำกลั่นเพื่อให้เป็นกลาง
0.743	20.00	0.55	7

จากตารางบันทึกผลพบว่ามวลของแกนหมึกหลังผ่านกระบวนการแยกแร่ธาตุและนำไปอบให้แห้งจะมีมวลน้อยกว่ามวลของแกนหมึกเริ่มต้น เนื่องจากมวลที่หายไปนั้นเป็นส่วนของแร่ธาตุที่ถูกแยกออกจากการต้มและกรอง และอาจเกิดจากการทดลองในขั้นตอนต่างๆ เช่น การชั่งแกนหมึก การใส่แกนหมึกลงในปิកเกอร์ แกนหมึกติดตามปิกเกอร์และจานเพาะเชื้อ สามารถหาผลได้ร้อยละของปฏิกิริยา (% yield) ได้จาก

$$\text{มวลของแกนหมึกเฉลี่ยเริ่มต้น} = \frac{0.74+0.75+0.74}{3} = 0.743 \text{ g}$$

มวลของแกนหมึกเฉลี่ยหลังผ่านการต้มใน HCl 4%v/v

$$\text{และการอบ} = \frac{0.56+0.54+0.55}{3} = 0.55 \text{ g}$$

$$\text{ผลได้ร้อยละของปฏิกิริยา (\%yield)} = \frac{0.55 \text{ g}}{0.743 \text{ g}} \times 100\% = 74.02 \%$$

หลักการ : สารละลายเบส HCl 4 %v/v จะทำหน้าที่จับกับแร่ธาตุซึ่งเป็นองค์ประกอบของแกนหมึก โดยแร่ธาตุที่ถูกจับจะผ่านการกรองลงมากับ HCl พบว่ามวลของแกนหมึกลดลงจากเดิม (อาจมาจากการทดลองที่มีแกนหมึกติดตามปิกเกอร์ และจานเพาะเชื้อได้ จะพบว่ามวลที่ลดลงนั้นค่อนข้างมาก)

4.1.3 ขั้นตอนของการนำแกนหมึกมาต้มใน NaOH 50%w/v

อัตราส่วน 1:20 ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง กรองและล้างด้วยน้ำกลั่นจนได้ pH ที่เป็นกลาง นำไปอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 4.3 ผลที่ได้จากการต้มแกนหมึกกล้วยใน NaOH 50%w/v

ผลก่อนต้มแกน		ผลหลังต้มแกน	
มวลของแกนก่อนใส่ NaOH 50%w/v โดยเฉลี่ย (กรัม)	ปริมาตรของ NaOH 50%w/v ที่ใช้ (mL)	มวลของแกนหลังการอบ โดยเฉลี่ย (กรัม)	ค่า pH ที่ได้หลังจากการล้างด้วยน้ำกลั่นเพื่อให้เป็นกลาง
0.550	20.00	0.386	7

จากตารางบันทึกผลพบว่ามวลของแกนหมึกหลังผ่านกระบวนการดั่งหมู่อะซีทิลและนำไปอบให้แห้งจะมีมวลน้อยกว่ามวลของแกนหมึกเริ่มต้น เนื่องจากมวลที่หายไปนั้นเป็นส่วนของหมู่อะซีทิลที่ถูกแยกออกจากการต้มและกรอง และอาจเกิดจากการทดลองในขั้นตอนต่างๆ เช่น การชั่งแกนหมึก การใส่แกนหมึกลงในปิกเกอร์ แกนหมึกติดตามปิกเกอร์และจานเพาะเชื้อ สามารถหาผลได้ร้อยละของปฏิกิริยา (% yield) ได้จาก

$$\text{มวลของแกนหมึกเฉลี่ยเริ่มต้น} = \frac{0.56+0.54+0.55}{3} = 0.550 \text{ g}$$

มวลของแกนหมึกเฉลี่ยหลังผ่านการต้มใน NaOH 50%v/v

$$\text{และการอบ} = \frac{0.38+0.40+0.38}{3} = 0.386 \text{ g}$$

$$\text{ผลได้ร้อยละของปฏิกิริยา (\%yield)} = \frac{0.386 \text{ g}}{0.55 \text{ g}} \times 100\% = 70.18 \%$$

หลักการ: สารละลายเบส NaOH 50%v/v จะทำหน้าที่จับกับหมู่อะซิทิลซึ่งเป็นองค์ประกอบของโคติน โดยหมู่อะซิทิลที่ถูกจับจะผ่านการกรองลงมากับ NaOH พบว่ามวลของแกนหมึกลดลงจากเดิม (อาจมาจากการทดลองที่มีแกนหมึกติดตามปีกเกอร์ และงานเพาะเชื้อได้ จะพบว่ามวลที่ลดลงนั้นค่อนข้างมาก)

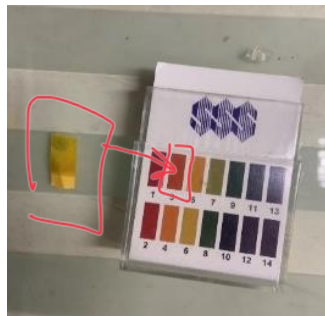
คำนวณหาผลได้ร้อยละของโคโตนที่ได้จากแกนหมึกกล้วย

$$\text{ผลได้ร้อยละของปฏิกิริยา (\%yield)} = \frac{0.386 \text{ g}}{1.00 \text{ g}} \times 100\% = 38.60 \%$$

ในแต่ละขั้นตอนจะมีผลได้ร้อยละเฉลี่ยของขั้นตอนนั้นๆ ประมาณร้อยละ 70-75 และเมื่อคำนวณหาผลได้ร้อยละของโคโตนที่สกัดได้จากแกนหมึกกล้วยโดยผ่านขั้นตอนต่างๆ มีค่าร้อยละ 38.60% (%ที่คำนวณอาจคลาดเคลื่อนได้เนื่องจากในการทดลองอาจจะมีสารที่ติดตามขอบปีกเกอร์ หรือแท่งแก้วคนสาร)

4.2 ผลจากการตรวจสอบว่าเป็นโคโตนที่ได้จากการสกัด

4.2.1 ทดสอบด้วยการวัดค่า pH โดยตรงโดยใช้ Universal indicator พบว่า ค่า pH ที่ได้ประมาณ 7 ซึ่งใกล้เคียงกับค่า pH ของโคโตน



4.2.2 ทดสอบความบริสุทธิ์ของโคโตน

เมื่อใส่ CH_3COOH กับน้ำยาล้างจานลงไป จะเห็นการจับตัวกันคล้ายกับไข่ขาว แสดงว่าเป็นโคโตนที่ค่อนข้างบริสุทธิ์



4.2.3 ทดสอบว่าไคโตซานเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ (Polysaccharide) จะเห็นตะกอนขนาดเล็กสีส้มอมน้ำตาล แสดงว่าเป็นพอลิแซ็กคาไรด์



4.3 การทดสอบประสิทธิภาพของไคโตซาน

4.3.1 การทดสอบประสิทธิภาพของไคโตซานในการจับกับ Cu^{2+} คำนวณหาผลได้ร้อยละ และนำผลได้ร้อยละมาเปรียบเทียบและดูแนวโน้ม ดังตาราง

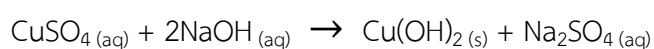
ตารางที่ 4.4 ค่าเฉลี่ยปริมาตรของ NaOH ที่ใช้ในการไทเทรตเพื่อหาผลได้ร้อยละของสารไคโตซาน

การทดลอง	ปริมาณไคโตซาน (g)	ปริมาตร NaOH ที่ได้ (mL)			ค่าเฉลี่ยปริมาตร NaOH โดยเฉลี่ย (mL)	ผลได้ร้อยละ (%)
1	-	5.00	4.95	5.00	4.98	-
2	0.10	0.20	0.20	0.20	0.20	95.98
3	0.15	0.15	0.15	0.12	0.14	97.19
4	0.20	0.10	0.05	0.10	0.08	98.33
5	0.25	0.05	0.05	0.05	0.05	99.00

จากตาราง พบว่าเมื่อใช้ปริมาณไคโตซานเพิ่มขึ้น ผลได้ร้อยละของไคโตซานในการจับกับคอปเปอร์(II)ไอออนจะเพิ่มขึ้นด้วย แต่แนวโน้มการเพิ่มขึ้นจะลดลงและจะเริ่มคงที่เมื่อใช้ไคโตซานเพิ่มขึ้นไปอีก ซึ่งผลได้ร้อยละของการทดลองนั้นมีค่ามากกว่าร้อยละ 90 (แต่ละการทดลองมีการคำนวณที่เหมือนกัน)

ตัวอย่างการคำนวณหาผลได้ร้อยละการทดลองที่ 2 โดยใช้การทดลองที่ 1 และ 2

นำการทดลองที่ 2 มาคำนวณหาผลได้ร้อยละ



1. mol CuSO_4 เริ่มต้น นำการทดลอง 1 มาคำนวณ

$$\text{mol CuSO}_4 = \frac{\text{mol NaOH}}{2}$$

$$\text{mol CuSO}_4 \text{ ก่อนใส่ไคโตซาน(ในสารละลาย CuSO}_4\text{ 10 mL)} = \frac{CV}{2(1000)} = \frac{(0.2)(4.98)}{2(1000)} = 4.98 \times 10^{-4} \text{ mol}$$

$$\text{mol CuSO}_4 = \text{mol Cu}^{2+} = 4.98 \times 10^{-4} \text{ mol}$$

$$\text{g Cu}^{2+} = \text{mol Cu}^{2+} \times M_w \text{ Cu}^{2+} = (4.98 \times 10^{-4})(63.5) = 0.03162 \text{ g}$$

2. ใส่โคโคโตซาน 0.1 g หา mol Cu²⁺ หลังใส่โคโคโตซาน

$$\text{mol CuSO}_4 = \frac{\text{mol NaOH}}{2}$$

$$\text{mol CuSO}_4 \text{ ก่อนใส่โคโคโตซาน(ในสารละลาย CuSO}_4 \text{ 10 mL)} = \frac{CV}{2(1000)} = \frac{(0.2)(0.20)}{2(1000)} = 2.00 \times 10^{-5} \text{ mol}$$

$$\text{mol CuSO}_4 = \text{mol Cu}^{2+} = 2.00 \times 10^{-5} \text{ mol}$$

$$\text{g Cu}^{2+} = \text{mol Cu}^{2+} \times M_w \text{ Cu}^{2+} = (2.00 \times 10^{-5})(63.5) = 0.00127 \text{ g}$$

3. หาผลได้ร้อยละ

$$\begin{aligned} \text{ผลได้ร้อยละ (\% yield)} &= \frac{\text{g Cu}^{2+} \text{ ก่อนใส่โคโคโตซาน} - \text{g Cu}^{2+} \text{ หลังใส่โคโคโตซาน}}{\text{g Cu}^{2+} \text{ ก่อนใส่โคโคโตซาน}} \times 100\% \\ &= \frac{(0.03162 - 0.00127)}{0.03162} \times 100\% \\ &= 95.98\% \end{aligned}$$

4. หาความคลาดเคลื่อน

$$\text{ผลได้ร้อยละจากการทดลอง} = 95.98\%$$

$$\text{ผลได้ร้อยละทางทฤษฎี} = 96.00\%$$

$$(\text{ปริมาตรเฉลี่ย} = 5.00 \text{ mL}) \text{ หาได้จาก}$$

$$4.1 \text{ mol CuSO}_4 \text{ เริ่มต้น นำการทดลอง 1 มาคำนวณ}$$

$$\text{mol CuSO}_4 = \frac{\text{mol NaOH}}{2}$$

$$\text{mol CuSO}_4 \text{ ก่อนใส่โคโคโตซาน(ในสารละลาย CuSO}_4 \text{ 10 mL)} = \frac{CV}{2(1000)} = \frac{(0.2)(5.00)}{2(1000)} = 5.00 \times 10^{-4} \text{ mol}$$

$$\text{mol CuSO}_4 = \text{mol Cu}^{2+} = 5.00 \times 10^{-4} \text{ mol}$$

$$\text{g Cu}^{2+} = \text{mol Cu}^{2+} \times M_w \text{ Cu}^{2+} = (5.00 \times 10^{-4})(63.5) = 0.03175 \text{ g}$$

$$4.2 \text{ ใส่โคโคโตซาน 0.1 g หา mol Cu}^{2+} \text{ หลังใส่โคโคโตซาน}$$

$$\text{mol CuSO}_4 = \frac{\text{mol NaOH}}{2}$$

$$\text{mol CuSO}_4 \text{ ก่อนใส่โคโคโตซาน(ในสารละลาย CuSO}_4 \text{ 10 mL)} = \frac{CV}{2(1000)} = \frac{(0.2)(0.20)}{2(1000)} = 2.00 \times 10^{-5} \text{ mol}$$

$$\text{mol CuSO}_4 = \text{mol Cu}^{2+} = 2.00 \times 10^{-5} \text{ mol}$$

$$\text{g Cu}^{2+} = \text{mol Cu}^{2+} \times M_w \text{ Cu}^{2+} = (2.00 \times 10^{-5})(63.5) = 0.00127 \text{ g}$$

$$4.3 \text{ หาผลได้ร้อยละ}$$

$$\begin{aligned} \text{ผลได้ร้อยละ (\% yield)} &= \frac{\text{g Cu}^{2+} \text{ ก่อนใส่โคโคโตซาน} - \text{g Cu}^{2+} \text{ หลังใส่โคโคโตซาน}}{\text{g Cu}^{2+} \text{ ก่อนใส่โคโคโตซาน}} \times 100\% \\ &= \frac{(0.03175 - 0.00127)}{0.03175} \times 100\% = 96.00\% \end{aligned}$$

4.4 หาความคลาดเคลื่อน

$$S.D. = \sqrt{\frac{\sum(x - \bar{x})^2}{N}} = \sqrt{\frac{(95.98 - 96.00)^2}{1}} = 0.02$$

$$\text{Relative error} = \frac{\text{ค่าที่ได้จากการทดลอง} - \text{ค่าจริง}}{\text{ค่าจริง}} = \frac{95.98 - 96.00}{96.00} = 2.083 \times 10^{-4}$$

$$\% \text{Error} = 2.083 \times 10^{-4} \times 100$$

$$= 0.02083 \%$$

4.3.2 ทดสอบประสิทธิภาพในการจับกับโปรตีน และคำนวณหาผลได้ร้อยละ พบว่าเมื่อใส่โคโตซานลงไป เมื่อผ่านกระบวนการต่างๆ มวลของเคซีนที่ได้จะมากขึ้น เนื่องจากโคโตซานจะไปจับกับโปรตีนและลงไปกลายเป็น ตะกอน ทำให้เคซีนที่ได้มากขึ้นจากเดิม และนำมาคำนวณผลได้ร้อยละ ผลได้ดังตาราง

ตารางที่ 4.5 มวลของเคซีนก่อนและหลังใส่โคโตซาน และผลได้ร้อยละการจับกับโปรตีนของโคโตซาน (%yield)

การทดลอง	ปริมาณโคโตซานที่ใช้ (g)	ปริมาณเคซีนที่ได้โดยเฉลี่ย (g)	ผลได้ร้อยละ (%)
1	-	9.58	-
2	0.1	13.10	36.74

$$\begin{aligned} \text{ผลได้ร้อยละ (\%yield)} &= \frac{\text{มวลของเคซีนที่ได้เมื่อใส่โคโตซาน} - \text{มวลของเคซีนที่ได้เมื่อไม่ใส่โคโตซาน}}{\text{มวลของเคซีนที่ได้เมื่อไม่ใส่โคโตซาน}} \times 100\% \\ &= \frac{(13.10 - 9.58) \text{ g}}{9.58 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 36.74 \% \end{aligned}$$

จากตาราง การทดลองที่ 1 และ 2 พบว่าเมื่อใส่ปริมาณโคโตซาน 0.1 g ปริมาณเคซีนที่ได้จะเพิ่มจากเดิมมา 3.52 g เนื่องจากโคโตซานจะจับกับโปรตีน(เคซีน)เพิ่มเติมจากปริมาณเคซีนเดิมที่ได้นั้นคือ 9.58 g จึงกล่าวได้ว่ามวล 3.52 g นี้เป็นมวลที่ถูกโคโตซานจับกันเป็นตะกอนเพิ่มขึ้นจากเดิม

4.3.3 ทดสอบประสิทธิภาพในการจับกับน้ำมัน (น้ำมันพืช) และนำมาหาผลได้ร้อยละ พบว่าเมื่อใส่โคโตซานลงไป โคโตซานจะจับกับน้ำมันบางส่วนกลายเป็นก้อนของตะกอนแล้วจมลงไปในส่วนของชั้นที่เป็นน้ำ ทำให้เหลือมวลของน้ำมันน้อยลงเมื่อนำน้ำมันที่ผ่านกรวยแยกมาชั่ง โดยปริมาตรน้ำมันเริ่มต้นคือ 10.00 mL และความหนาแน่นของน้ำมันพืช = 0.9 g/cm³ ได้ผลดังตาราง

ตารางที่ 4.6 มวลของน้ำมันก่อนและหลังใส่โคโตซาน และหาผลได้ร้อยละ

การทดลอง	ปริมาณโคโตซานที่ใช้ (g)	ปริมาตรน้ำมันที่ได้ (mL)	ปริมาณน้ำมันที่ได้ (g)	ผลได้ร้อยละ (%)
1	-	10.00	9.00	-
2	0.1	7.00	6.30	30.00

$$\begin{aligned} \text{ผลได้ร้อยละ (\%yield)} &= \frac{\text{มวลของน้ำมันที่ได้เมื่อไม่ใส่โคโตซาน} - \text{มวลของน้ำมันที่ได้เมื่อใส่โคโตซาน}}{\text{มวลของน้ำมันที่ได้เมื่อไม่ใส่โคโตซาน}} \times 100\% \\ &= \frac{(9.00 - 6.30) \text{ g}}{9.00 \text{ g}} \times 100\% = 30.00 \% \end{aligned}$$

จากตาราง การทดลองที่ 1 และ 2 พบว่าเมื่อใส่ปริมาณไคโตซาน 0.1 g ปริมาณน้ำมันที่ได้จะลดจากเดิม 2.70 g เนื่องจากไคโตซานจะจับกับน้ำมันบางส่วนกลายเป็นก้อนของตะกอนทำให้เหลือมวลของน้ำมันน้อยลง

บทที่ 5 สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

โครงการเรื่อง การสกัดไคโตซานจากแกนหมึกกล้วยเพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสีย ได้สรุป
อภิปรายผล และมีข้อเสนอแนะ ดังนี้

5.1 สรุปผลการทดลอง

1. ตอนที่ 1 การสกัดไคโตซาน จากการทดลอง ผลได้ร้อยละที่ได้จากการสกัดไคโตซานจากแกนหมึกกล้วยพบว่าได้ไคโตซานประมาณร้อยละ 39 และผลจากการตรวจสอบพบว่าไคโตซานที่ได้นั้นมีค่า pH ประมาณ 7 เป็นไคโตซานที่บริสุทธิ์ และเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ ซึ่งตรงกับลักษณะของไคโตซาน

2. ตอนที่ 2 การทดสอบประสิทธิภาพของไคโตซานในการจับกับคอปเปอร์ (II) ไอออน โปรตีน และน้ำมัน จากการทดลอง ผลได้ร้อยละของไคโตซานในการจับกับคอปเปอร์ (II) ไอออนได้ดีมากถึงร้อยละ 90 ขึ้นไป และมีแนวโน้มของผลได้ร้อยละเพิ่มขึ้น เมื่อปริมาณไคโตซานเพิ่มมากขึ้น แต่จับกับโปรตีนและน้ำมันเพียงร้อยละ 30-40

5.2 อภิปรายผล

1. ตอนที่ 1 การสกัดไคโตซาน ผลได้ร้อยละที่ได้จากการสกัดไคโตซานจากแกนหมึกกล้วยพบว่าได้ไคโตซานประมาณร้อยละ 38.60 % และผลจากการตรวจสอบบอกได้ว่าเป็นไคโตซาน โดยในขั้นตอนนี้มีการดึงโปรตีน แร่ธาตุ และหมู่อะซิติก ได้เป็นไคโตซาน

2. ตอนที่ 2 การทดสอบประสิทธิภาพของไคโตซานในการจับกับคอปเปอร์ (II) ไอออน โปรตีน และน้ำมัน ผลได้ร้อยละของไคโตซานในการจับกับไอออนของโลหะหนัก (ซึ่งใช้ Cu^{2+} เป็นตัวที่ศึกษา) โปรตีนและน้ำมัน โดยจะพบว่าสามารถจับกับคอปเปอร์ (II) ไอออนได้ดีมากถึงร้อยละ 90 ขึ้นไป ซึ่งเมื่อใช้ปริมาณไคโตซานเพิ่มขึ้น ผลได้ร้อยละจะมีร้อยละที่มากขึ้นด้วย แต่เมื่อใช้ไคโตซานที่มากกว่านี้ อาจพบแนวโน้มว่าจะเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยและจะคงที่ในที่สุด แต่สามารถจับกับโปรตีนและน้ำมันได้เพียงร้อยละ 30-40 ซึ่งเมื่อเทียบกับสารอื่นๆ ที่สามารถจับกับสารเหล่านี้ได้จะพบว่าไคโตซานมีประสิทธิภาพมากกว่าสารอื่นๆ และกล่าวได้ว่าไคโตซานนั้นมีประสิทธิภาพที่ต่างกันในการจับกับสารที่ต่างชนิดกัน

ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับสมมติฐานที่กล่าวว่าไคโตซานที่สกัดได้มีผลได้ร้อยละมากกว่าร้อยละ 30 และมีผลได้ร้อยละในการจับกับไอออนโลหะหนัก (Cu^{2+}) มากกว่าร้อยละ 80 แต่จับกับโปรตีนและจับกับน้ำมันมากกว่าร้อยละ 30

5.3 ข้อเสนอแนะ

1. ในขั้นตอนการสกัดไคโตซาน อาจมีความคลาดเคลื่อนของผลการทดลองเนื่องมาจากมีสารบางส่วนที่ติดตามแท่งแก้วคนสารหรือบีกเกอร์ ทำให้มวลบางส่วนหายไป และผลได้ร้อยละที่คำนวณได้อาจน้อยกว่าที่ควรจะได้ จึงควรมีวิธีที่ทำให้สารติดตามภาชนะน้อยลง เพื่อให้ผลมีประสิทธิภาพมากขึ้น

2. ในขั้นตอนการทดสอบประสิทธิภาพในการจับกับน้ำมัน ปริมาตรและมวลที่ได้ อาจมีค่าน้อยกว่าค่าที่ควรจะได้ เนื่องจากเมื่อทำการเทสารจากบีกเกอร์ลงกระบอกตวงเพื่อวัดปริมาตร จะมีน้ำมันบางส่วนติดตามบีกเกอร์ซึ่งมาจากคุณสมบัติของน้ำมันที่มีความหนืดค่อนข้างมาก จึงควรมีวิธีการให้ได้น้ำมันที่มากขึ้น เช่น ใช้น้ำฉีดเพื่อให้น้ำมันไหลลงมาหมดซึ่งน้ำมันแยกชั้นกับน้ำมันอยู่แล้วจึงไม่มีผลต่อการบันทึกผลปริมาตร เพื่อให้ผลการทดสอบมีความน่าเชื่อถือมากขึ้น

3. สามารถนำแนวโน้มของผลได้ร้อยละในการจับกับคอปเปอร์ (II) ไอออนของโคโคซาน มาใช้บำบัดน้ำเสียในชีวิตประจำวันได้ เพื่อให้เกิดการลงทุนที่คุ้มค่าและเกิดประโยชน์สูงสุด รวมถึงนำไปใช้กับสารอื่นๆได้อย่างโปรตีนและไขมัน

บรรณานุกรม

บริษัท ผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพ จำกัด.(2564).ประโยชน์ของไคโตซาน.สืบค้นวันที่ 11 กรกฎาคม.จาก

<https://www.healthfoodsnetwork.com/content/>

บริษัท สยามเคมี จำกัด.โลหะหนัก ประโยชน์ และพิษโลหะหนัก.สืบค้นวันที่ 11 กรกฎาคม 2567.จาก

<https://www.siamchemi.com>.

ปศุสัตว์. ปลาหมึก. สืบค้นวันที่ 16 กันยายน 2566. จาก <https://pasusat.com>

มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์.การวิเคราะห์โดยปริมาตร.สืบค้นวันที่ 11 กรกฎาคม 2567.จาก

<http://blog.bru.ac.th/wp-content/uploads/bp-attachments/>

ผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพ. (2564). ประโยชน์ของไคโตซาน.สืบค้นวันที่ 16 กันยายน 2566. จาก

<https://www.healthfoodsnetwork.com/content>

สถาบันนวัตกรรมการเรียนรู้.มหิดล.การบำบัดน้ำเสีย.สืบค้นวันที่ 15 พฤศจิกายน 2566. จาก

https://il.mahidol.ac.th/e-media/ecology/chapter3/chapter3_water13.htm

สนุก แอปพลิเคชัน. (2556). ไคติน-ไคโตซาน. สืบค้นวันที่ 16 กันยายน 2566.จาก

<https://guru.sanook.com>.

สปริงกรีนอีโวลูชั่น. ไคโตซานคืออะไร. สืบค้นวันที่ 16 กันยายน 2566. จาก <https://www.sgethai.com>

สำนักงานสิ่งแวดล้อมและควบคุมมลพิษที่ 13 (ชลบุรี).(2561).น้ำเสียและการบำบัดน้ำเสีย. สืบค้นวันที่ 15

พฤศจิกายน 2566. จาก <https://www.mnre.go.th/reo13/th/news/detail/น้ำเสีย>

ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ. (2544). เรื่องน่ารู้ ไคติน-ไคโตซาน.สืบค้นวันที่ 17 กันยายน 2566.จาก

<https://www.nstda.or.th/asean-india-dl>

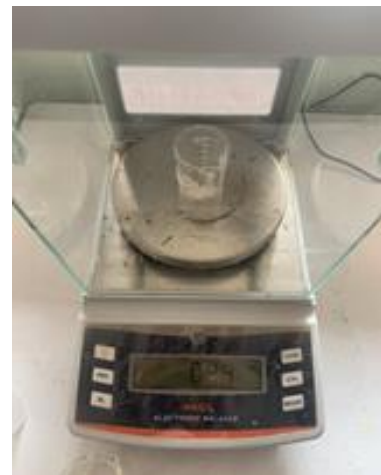
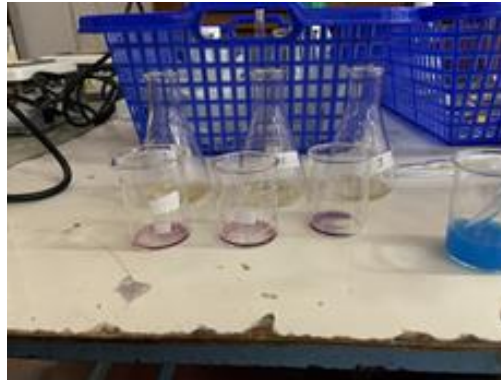
หมึกกล้วย.สืบค้นวันที่ 15 พฤศจิกายน 2566. จาก <https://th.wikipedia.org/wiki/หมึกกล้วย>

Kusumarhinghoy.(2560).ไขมันและน้ำมัน.สืบค้นวันที่ 15 พฤศจิกายน 2566. จาก

<https://kusumarhinghoy.blogspot.com/p/fat-and-oil.html/>

ภาคผนวก

1. ผลที่ได้จากการต้มแกนหมึกกล้วยใน NaOH 4%w/v



2. ผลที่ได้จากการต้มแกนหมึกกล้วยใน HCl 4%w/v

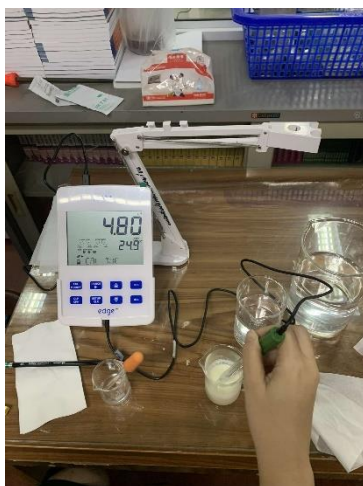




3. ผลที่ได้จากการต้มแกนหมึกกล้วยใน NaOH 50%w/v



4. ผลที่ได้จากการตกตะกอนเคซินก่อนและหลังใส่ไคโตซานเพื่อหาผลได้ร้อยละของไคโตซาน



4. ผลที่ได้จากการไทเทรต CuSO_4 และ NaOH ที่ปริมาณไคโตซาน 0 g, 0.1 g, 0.15 g, 0.20 g และ 0.25 g เพื่อนำไปหาค่าผลได้ร้อยละและดูแนวโน้มการเพิ่มขึ้น



5. ผลที่ได้จากการใช้โคโตซานจับกับน้ำมัน โดยชั้นบนคือน้ำมันที่เหลือนิ่ไม่ได้ถูกจับด้วยโคโตซาน)



สูตรที่ใช้ในการคำนวณ

1. การเตรียมสารละลาย

กรณี 1 เตรียมสารที่เป็นของแข็งเป็นสารละลาย

$$\text{จาก } \frac{g}{M_w} = \frac{CV}{1000}$$

โดยที่ g คือ มวลของสารที่เตรียม (g)

M_w คือ มวลโมเลกุลของสาร (g/mol)

C คือ ความเข้มข้นของสาร (mol/dm³ หรือ M)

V คือ ปริมาตรของสาร (cm³ หรือ mL)

กรณี 2 เตรียมสารที่เป็นของเหลวเป็นสารละลาย

$$\text{จาก } C_1V_1 = C_2V_2$$

โดยที่ C_1 คือ ความเข้มข้นก่อนเจือจาง

V_1 คือ ปริมาตรของสารก่อนเจือจาง

C_2 คือ ความเข้มข้นหลังเจือจาง (สารละลายที่เตรียม)

V_2 คือ ปริมาตรของสารหลังเจือจาง (สารละลายที่เตรียม)

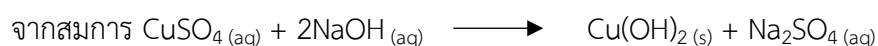
2. การหาผลได้ร้อยละในการสกัดโคโตซาน

$$\text{จาก ผลได้ร้อยละ} = \frac{g \text{ โคโตซานที่ได้}}{g \text{ ของแกนหมักกล้วยเริ่มต้น}} \times 100\%$$

$$\text{และ ผลได้ร้อยละที่ได้ในแต่ละขั้นตอน} = \frac{g \text{ สารที่ได้ในขั้นตอนนั้นๆ}}{g \text{ สารเริ่มต้นในขั้นตอนนั้นๆ}} \times 100\%$$

3. การทดสอบประสิทธิภาพของโคโตซาน

3.1 โคโตซานจับกับคอปเปอร์ (II) ไฮดรอกไซด์โดยใช้การไทเทรตเพื่อหาผลได้ร้อยละ



$$\text{จะได้ว่า } \text{mol CuSO}_4 = \frac{\text{mol NaOH}}{2} = \text{mol Cu(OH)}_2 = \text{mol Na}_2\text{SO}_4$$

$$\text{และ mol} = \frac{CV}{1000} = \frac{g}{Mw}$$

3.2 ไคโตซานจับกับโปรตีน หาผลได้ร้อยละ

$$\text{จาก ผลได้ร้อยละ} = \frac{g \text{ โปรตีนที่ถูกจับกับไคโตซาน}}{g \text{ โปรตีนทั้งหมดในสารละลาย}} \times 100\%$$

3.3 ไคโตซานจับกับน้ำมัน หาผลได้ร้อยละ

$$\text{จาก ผลได้ร้อยละ} = \frac{g \text{ น้ำมันที่ถูกจับกับไคโตซาน}}{g \text{ น้ำมันทั้งหมดในสารละลาย}} \times 100\%$$

4. การหาค่าความคลาดเคลื่อน

$$\text{จาก S.D.} = \sqrt{\frac{\sum(x - \bar{x})^2}{N}}$$

x คือ ผลได้ร้อยละที่ได้จากการทดลอง

$\bar{x}$ คือ ผลได้ร้อยละทางทฤษฎี

N คือ จำนวนครั้งที่ใช้ในแต่ละการทดลอง (โดยในการทดลองใช้ N=1 เพราะผลได้ร้อยละที่ใช้เป็นค่าเฉลี่ยของแต่ละการทดลอง)

$$\text{จาก Relative error} = \frac{\text{ค่าที่ได้จากการทดลอง} - \text{ค่าจริง}}{\text{ค่าจริง}}$$