

Research Article

การศึกษาเปรียบเทียบสมบัติของไคโตซานจากเปลือกกุ้งดิบและเปลือกกุ้งสุก และการใช้เป็นสารตกตะกอนน้ำแอปเปิ้ล

Comparative study on properties of chitosan from raw and cooked shrimp shell and the use as clarifying agent in apple juice

สุธีรา ขันทพันธ์* และสุธิดา อัครชนียากร

Sutheera Khantaphant* and Suthida Akkarachaneeyakorn

ภาควิชาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร อาหารและสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ บางซื่อ กรุงเทพฯ 10800

Department of Agro-Industrial, Food and Environmental Technology, Faculty of Applied Science, King Mongkut's University of Technology North Bangkok, Bangsue, Bangkok 10800

*E-mail: sutheera.k@sci.kmutnb.ac.th

Received: 11/01/2017; Accepted: 13/06/2017

บทคัดย่อ

การศึกษาเปรียบเทียบสมบัติของไคโตซาน โดยใช้เปลือกกุ้งดิบและสุกเป็นวัตถุดิบ พบว่าปริมาณแร่ธาตุและโปรตีนในเปลือกกุ้งดิบและสุกเริ่มต้นไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) หลังผ่านขั้นตอนกำจัดแร่ธาตุและโปรตีนเพื่อให้ได้ไคตินในลำดับแรก สามารถกำจัดแร่ธาตุและโปรตีนออกจากเปลือกกุ้งดิบได้ร้อยละ 95.65 และ 49.38 ตามลำดับ ขณะที่กำจัดออกจากเปลือกกุ้งสุกได้ร้อยละ 97.38 และ 50.59 ตามลำดับ และเมื่อผ่านขั้นตอนการกำจัดหมู่อะซีติล (deacetylation) เพื่อให้ได้เป็นไคโตซาน พบว่าร้อยละผลผลิต (โดยน้ำหนักแห้ง) ของไคโตซานจากเปลือกกุ้งสุกสูงกว่าจากเปลือกกุ้งดิบ (46.61 และ 38.59 ตามลำดับ) และสารละลายไคโตซานจากเปลือกกุ้งสุกมีความหนืดสูงกว่าจากเปลือกกุ้งดิบและไคโตซานทางการค้าที่นำมาเปรียบเทียบ (3203, 2888 และ 620 cP ตามลำดับ) ในขณะที่ค่า L* และ pH ของไคโตซานจากเปลือกกุ้งดิบและสุกไม่พบว่ามีค่าแตกต่างกัน ($p>0.05$) เทคนิค FT-IR ช่วยยืนยันว่าไคโตซานที่สกัดได้มีโครงสร้างคล้ายคลึงกับโครงสร้างของไคโตซานทางการค้า เมื่อนำไคโตซานไปใช้เป็นสารตกตะกอนน้ำแอปเปิ้ลเพื่อเพิ่มความใส โดยเติมสารละลายไคโตซานร้อยละ 1 ลงในน้ำแอปเปิ้ล พบว่าน้ำแอปเปิ้ลที่

ไม่ได้เติมสารละลายไคโตซานมีความขุ่นสูงสุด ซึ่งสอดคล้องกับค่า b^* ที่สูงที่สุด และน้ำแอปเปิ้ลที่เติมสารละลายไคโตซานจากเปลือกกุ้งมีความขุ่นต่ำสุด ตามด้วยน้ำแอปเปิ้ลที่เติมสารละลายไคโตซานจากเปลือกกุ้งดิบและทางการค้า ตามลำดับ โดยสารละลายไคโตซานที่เติมนั้นไม่ส่งผลต่อ pH ของน้ำแอปเปิ้ล

คำสำคัญ : ไคติน, ไคโตซาน, เปลือกกุ้ง, สารตกตะกอน, ความขุ่น, FT-IR

Abstract

Raw shrimp shell (RSS) and cooked shrimp shell (CSS) were used for chitosan extraction. The demineralization and deproteinization step provided mineral and protein elimination from RSS for 95.65 and 49.38%, respectively and 97.38 and 50.59%, respectively from CSS. After deacetylation, chitosan obtained from CSS yielded higher than that from RSS, 46.61 and 38.59%, respectively. At 1% concentration, chitosan solution of CSS showed higher viscosity than that of RSS and commercial one, respectively (3203, 2888 and 620 cP, respectively). No difference in L^* and pH between chitosan from RSS and CSS ($p > 0.05$) had been found. FT-IR technique revealed that the obtained chitosan structures were similar to the structure of the commercial one. As clarifying agent, chitosan solution (1% concentration) was able to decrease the turbidity of apple juice with no effect on pH of juice. Among the samples, apple juice with CSS chitosan solution showed the lowest turbidity than those with RSS and commercial chitosan solution, respectively.

Keywords: chitin, chitosan, shrimp shell, clarifying agent, turbidity, FT-IR

บทนำ

ไคติน (chitin) เป็นพอลิเมอร์ธรรมชาติที่ประกอบด้วยหน่วยย่อยของ *N*-acetyl-D-glucosamine ไคตินในธรรมชาติพบได้ในเปลือกของแมลง เปลือกกุ้ง กระจกปู และแกนหมึก และผนังเซลล์ของรา ยีสต์และจุลินทรีย์หลายชนิด เมื่อหมู่อะซิลิล (acetyl group) ที่ตำแหน่ง C2 ใน *N*-acetyl-D-glucosamine ถูกแทนที่ด้วยหมู่อะมิโน (amino group) ภายใต้สภาวะด่างเข้มข้น จะได้อนุพันธ์ของไคตินที่เรียกว่า ไคโตซาน (chitosan) (Rinaudo, 2006). ซึ่งการกำจัดหมู่อะซิลิลออกจากโมเลกุลไคติน เรียกว่ากระบวนการดีอะซิลิลเลชัน (deacetylation)

ไคโตซาน เป็นวัสดุชีวภาพที่ย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ มีความปลอดภัยในการนำมาใช้กับมนุษย์ อีกทั้งยังเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม ผลจากการถูกแทนที่ด้วยหมู่อะมิโนที่ตำแหน่ง C2 ทำให้โมเลกุลของไคโตซานมีความเป็นขั้วบวกสูง (strong positive polarity) ส่งผลให้ไคโตซานสามารถเกิดปฏิกิริยาได้ง่าย จึงมีการนำไคโตซานมาใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวาง โดยในทางอาหาร สามารถใช้ไคโตซานเป็นสารกันเสีย เนื่องจากไคโตซานมีสมบัติในการต่อต้านจุลินทรีย์ โดยประจุบวกของไคโตซานสามารถจับกับเชื้อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ซึ่งเป็นประจุลบ จึงส่งผล

ให้เซลล์จุลินทรีย์ทำงานผิดปกติ (Shahidi et al., 1999) หรือใช้เป็นอาหารเสริมเพื่อลดระดับไขมันและโคเลสเตอรอลในกระแสเลือด เนื่องจากประจุบวกของไคโตซานสามารถจับกับประจุลบของกรดไขมัน อีกทั้งไคโตซานยังสามารถจับไขมันไว้ในโครงสร้างพอลิเมอร์ ทำให้อวัยวะดูดซึมไขมันได้น้อยลง (Aranaz et al., 2009) หรือใช้เพื่อทำให้น้ำผักและผลไม้ใสโดยทำหน้าที่เป็นสารตกตะกอน/สารช่วยให้ใส (clarifying agent) (Rungsardthong et al., 2006) หรือใช้ไคโตซานเป็นฟิล์มเคลือบอาหาร (edible film) เพื่อรักษาความสดของผักและผลไม้ (Martíñon et al., 2014)

แหล่งวัตถุดิบของไคโตซานมักได้จากวัสดุเศษเหลือจากเปลือกและกระดองของสัตว์ทะเล (crustacean shell waste) (Knorr, 1991) ซึ่งมีทั้งเศษวัตถุดิบสดและเศษวัตถุดิบที่เหลือจากการแปรรูปผ่านความร้อน (ปิ้งสุก) ผู้วิจัยจึงต้องการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการสกัดและสมบัติของไคโตซานที่ได้จากเปลือกกุ้งต้มสุกและเปลือกกุ้งดิบ รวมถึงการนำไคโตซานไปประยุกต์ใช้ในระบบอาหาร โดยใช้เป็นสารตกตะกอนเพื่อทำให้น้ำผลไม้ใสขึ้น

วิธีการทดลอง

1. การเตรียมเปลือกกุ้งดิบและเปลือกกุ้งสุก

นำเปลือกกุ้งสด (กุ้งขาว: *Litopenaeus vannamei*) มาล้างด้วยน้ำสะอาด แยกส่วนที่เป็นเนื้อและไขมันที่ติดกับเปลือกออกเพื่อให้ได้เฉพาะส่วนเปลือก จากนั้นนำเปลือกกุ้งสดมาตัดเป็นชิ้นขนาดประมาณ 1x1 เซนติเมตร ได้เป็นเปลือกกุ้งสดที่พร้อมนำไปสกัดไคโตซาน กรณีเปลือกกุ้งสุกเตรียมโดยการต้มเปลือกกุ้งสดในน้ำเดือดนาน 3 นาที แล้วจึงตัดเป็นชิ้นขนาดประมาณ 1x1 เซนติเมตร

2. การวิเคราะห์หองค์ประกอบพื้นฐานทางเคมีของเปลือกกุ้ง

นำเปลือกกุ้งจากข้อ 1. มาวิเคราะห์หาปริมาณแร่ธาตุและปริมาณโปรตีน ตามวิธีการของ AOAC (1990)

3. การกำจัดแร่ธาตุ

นำเปลือกกุ้งจากข้อ 1. มากำจัดแร่ธาตุโดยการแช่ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้น 2 M กวนตลอดเวลา เป็นเวลา 2 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง (28 ± 2 องศาเซลเซียส) โดยใช้อัตราส่วนน้ำหนักต่อปริมาตรเป็น 1 ต่อ 20 จากนั้นนำเปลือกกุ้งมาล้างด้วยน้ำจนเป็นกลาง (ทดสอบโดยใช้กระดาษลิตมัส) สะเด็ดน้ำบนตะแกรงเป็นเวลา 10 นาที แล้วนำมาผึ่งบนถาดนาน 30 นาที

4. การกำจัดโปรตีน

นำเปลือกกุ้งที่ได้จากขั้นตอนการกำจัดแร่ธาตุมาแช่ต่อในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 2 M กวนตลอดเวลาเป็นเวลา 2 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง (28 ± 2 องศาเซลเซียส) ใช้อัตราส่วนน้ำหนักต่อปริมาตรเป็น 1 ต่อ 20 จากนั้นล้างเปลือกกุ้งด้วยน้ำจนเป็นกลาง (ทดสอบโดยใช้กระดาษลิตมัส) สะเด็ดน้ำบนตะแกรงเป็นเวลา 10 นาที แล้วนำมาผึ่งบนถาด 30 นาที

5. การวิเคราะห์องค์ประกอบพื้นฐานทางเคมีของเปลือกกุ้งที่ผ่านการกำจัดแร่ธาตุและโปรตีน

นำเปลือกกุ้งที่ได้จากขั้นตอนการกำจัดแร่ธาตุและโปรตีนมาวิเคราะห์หาปริมาณแร่ธาตุและโปรตีนตามวิธีการของ AOAC (1990)

6. การสกัดไคโตซาน

นำไคติน (เปลือกกุ้งที่ได้จากขั้นตอนการกำจัดแร่ธาตุและโปรตีน) มาแช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้นร้อยละ 50 (w/v) โดยใช้อัตราส่วน 1 ต่อ 100 กวนตลอดเวลาที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส และเปลี่ยนสารละลายใหม่ทุก 1 ชั่วโมง จนครบ 2 ชั่วโมง แล้วจึงนำมาล้างด้วยน้ำจนเป็นกลาง (ทดสอบโดยใช้กระดาษลิตมัส) สะเด็ดน้ำบนตะแกรงเป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อควบคุมให้มีความชื้นที่ร้อยละ 10 ± 0.5 ชั่งน้ำหนักไคโตซานที่ได้เพื่อใช้คำนวณหาร้อยละผลผลิตจากสมการที่ (1)

$$\text{ร้อยละผลผลิตของไคโตซาน} = (\text{น้ำหนักไคโตซานที่ได้หลังอบ} / \text{น้ำหนักเปลือกกุ้งเริ่มต้น}) \times 100 \quad (1)$$

7. การวิเคราะห์สมบัติของไคโตซาน

นำไคโตซานที่ได้มาลดขนาดโดยเครื่องมือ (Perten Instruments รุ่น Laboratory Mill 120) แล้วนำผงไคโตซานมาวิเคราะห์ค่าต่าง ๆ ดังนี้

7.1 สี

ชั่งผงไคโตซาน 1 กรัม ใส่จานวัดสีแล้วนำไปวัดสีโดยเครื่องวัดสี (HunterLab Colorimeter รุ่น Color Quest 45/0) ภายใต้แหล่งแสง D65 รายงานผลค่าสีเป็น L^* (lightness), a^* (redness) และ b^* (yellowness)

7.2 โครงสร้างโมเลกุล

นำผงไคโตซานมาตรวจสอบโครงสร้างโมเลกุลโดยวิธี Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR) โดยใช้ความยาวคลื่น $4000-400 \text{ cm}^{-1}$ (Velde & Kiekens, 2004)

7.3 ความหนืด

เตรียมสารละลายไคโตซานให้มีความเข้มข้นร้อยละ 1 (w/v) โดยการละลายผงไคโตซานในกรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 1 วัดค่าความหนืดโดยเครื่องวัดความหนืด (Brookfield Viscometer รุ่น Programmable DV-II) โดยใช้หัววัดเบอร์ 5 ความเร็วรอบ 100 rpm อ่านค่าความหนืดที่เวลา 1 นาที รายงานผลเป็นค่าเซนติพอยด์ (cP)

7.4 pH

กระจายผงไคโตซานในน้ำกลั่น โดยให้มีความเข้มข้นร้อยละ 1 (w/v) กวนผสมนาน 30 นาที แล้วนำไปวัด pH ด้วย pH meter (Eutech Instruments รุ่น 510)

8. การใช้ไคโตซานเพื่อตกตะกอนน้ำแอปเปิ้ล

8.1 การเตรียมน้ำแอปเปิ้ล

แอปเปิ้ลฟรุ๊ตหั่นเป็นชิ้นเล็ก ผสมกับน้ำเปล่าในอัตราส่วน 1:3 โดยน้ำหนัก แล้วปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นผสม (Buono Blender รุ่น BUO-119371) ใช้ความเร็วเบอร์ 1 (ความเร็วต่ำสุด) เป็นเวลา 1 นาที 30 วินาที โดยน้ำแอปเปิ้ลที่เตรียมได้ต้องนำไปใช้ทันทีในข้อ 8.3 เพื่อไม่ให้เกิดการแยกชั้นของน้ำแอปเปิ้ล

8.2 การเตรียมสารละลายไคโตซาน

เตรียมสารละลายไคโตซานให้มีความเข้มข้นร้อยละ 1 (w/v) โดยการละลายไคโตซานในกรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 1

8.3 การตกตะกอนน้ำแอปเปิ้ลด้วยสารละลายไคโตซาน

ตวงน้ำแอปเปิ้ลปริมาตร 80 มิลลิลิตรลงในบีกเกอร์ เปิดสารละลายไคโตซานจากข้อ 8.2 ลงไป 1 มิลลิลิตร กวนให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเทส่วนใสออกมาใส่บีกเกอร์ใบใหม่ แล้วกรองน้ำแอปเปิ้ลส่วนใสด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ

8.4 การตรวจสอบลักษณะทางกายภาพและเคมีของน้ำแอปเปิ้ลที่ผ่านการตกตะกอน

8.4.1 ความขุ่น

นำน้ำแอปเปิ้ลไปวัดความขุ่นโดยเครื่องวัดความขุ่น (Hach Turbidity Meter รุ่น 2100P)

8.4.2 สี

นำน้ำแอปเปิ้ลไปวัดสีโดยเครื่องวัดสี ภายใต้แหล่งแสง D65 รายงานผลค่าสีเป็น L^* , a^* และ b^*

8.4.3 pH

นำน้ำแอปเปิ้ลไปวัด pH ด้วย pH meter

9. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบ CRD ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) ด้วยโปรแกรม SPSS version 17 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างพรีติเมนต์ของการทดลองที่ 2 และ 5 ด้วย t-test ของการทดลองที่ 7 ด้วย Least Significant Difference (LSD) และของการทดลองที่ 8.4 ด้วย Duncan's New Multiple Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. องค์ประกอบพื้นฐานทางเคมีของเปลือกกุ้ง

ผลการวิเคราะห์ปริมาณแร่ธาตุและโปรตีนในเปลือกกุ้งดิบและสุก แสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1. องค์ประกอบพื้นฐานทางเคมี (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง) ของเปลือกกุ้งดิบและเปลือกกุ้งสุก

ตัวอย่าง	แร่ธาตุ ^{ns}	โปรตีน ^{ns}
เปลือกกุ้งดิบ	7.59±0.06	32.56±2.78
เปลือกกุ้งสุก	7.64±0.24	34.61±1.03

หมายเหตุ: ns คือค่าเฉลี่ยของข้อมูลที่ไม่มีความแตกต่างกัน ($p>0.05$)

ปริมาณแร่ธาตุและโปรตีนในเปลือกกุ้งดิบและสุกไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) แต่พบว่าปริมาณแร่ธาตุที่ได้จากการทดลองนี้มีค่าต่ำกว่าที่ได้จากเปลือกกุ้งขาวอินเดีย ซึ่งรายงานไว้ที่ร้อยละ 26.6 (Ravichandran et al., 2009) ส่วนปริมาณโปรตีนที่ได้จากการทดลองนี้มีค่าสูงกว่าที่ได้จากเปลือกกุ้งกุลาดำ ซึ่งรายงานไว้ที่ร้อยละ 27.7 (Lertsutthiwong et al., 2002) ซึ่งให้เห็นว่า วัตถุดิบที่แตกต่างกันอาจมีปริมาณองค์ประกอบพื้นฐานที่แตกต่างกันตามไปด้วย

2. องค์ประกอบพื้นฐานทางเคมีของไคติน

เปลือกของสัตว์ตระกูลครัสเตเชียน (crustacean) มีองค์ประกอบหลัก 3 ชนิด คือ ไคติน แร่ธาตุและโปรตีน ดังนั้นในการสกัดไคตินจึงต้องกำจัดแร่ธาตุและโปรตีนออกจากวัตถุดิบ (Lertsutthiwong et al., 2002) ปริมาณแร่ธาตุและโปรตีนในเปลือกกุ้งดิบและสุกที่ผ่านขั้นตอนการกำจัดแร่ธาตุและโปรตีน (ไคติน) แสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2. องค์ประกอบพื้นฐานทางเคมี (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง) ของไคตินจากเปลือกกุ้งดิบและเปลือกกุ้งสุก

ตัวอย่าง	แร่ธาตุ	โปรตีน ^{ns}
เปลือกกุ้งดิบ	0.33 ^a ±0.06	16.48±1.41
เปลือกกุ้งสุก	0.20 ^b ±0.03	17.10±0.83

หมายเหตุ: อักษรที่แตกต่างกันในคอลัมภ์หมายถึงค่าเฉลี่ยของข้อมูลที่แตกต่างกัน ($p<0.05$)

ns คือค่าเฉลี่ยของข้อมูลที่ไม่มีความแตกต่างกัน ($p>0.05$)

ปริมาณแร่ธาตุและโปรตีนในเปลือกกุ้งดิบและสุกเริ่มต้นมีค่าไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 1) แต่เมื่อผ่านขั้นตอนการกำจัดแร่ธาตุ พบว่าไคตินจากเปลือกกุ้งสุกมีปริมาณแร่ธาตุต่ำกว่าจากเปลือกกุ้งดิบ ($p<0.05$) บ่งชี้ว่าแร่ธาตุในเปลือกกุ้งสุกถูกกำจัดออกไปได้มากกว่า ซึ่งอาจเป็นเพราะ โครงสร้างของเปลือกกุ้งสุกเกิดการเปลี่ยนแปลงเมื่อผ่านการให้ความร้อนในขั้นตอนการเตรียม ส่งผลให้ความแข็งแรงของโครงสร้างลดลง จึงทำให้สามารถกำจัดแร่ธาตุออกจากเปลือกกุ้งได้มากกว่า อย่างไรก็ตาม ปริมาณโปรตีนในไคตินจากเปลือกกุ้งสุกและดิบไม่ต่างกัน เมื่อ

เปรียบเทียบปริมาณแร่ธาตุและโปรตีนในไคตินที่ได้กับในเปลือกกุ้งเริ่มต้น (ตารางที่ 1) พบว่ามีค่าลดลงอย่างชัดเจน โดยแร่ธาตุในเปลือกกุ้งดิบและเปลือกกุ้งสุกถูกกำจัดออกไปได้ร้อยละ 95.65 และ 97.38 ตามลำดับ ขณะที่โปรตีนในเปลือกกุ้งดิบและเปลือกกุ้งสุกถูกกำจัดออกไปได้ร้อยละ 49.38 และ 50.59 ตามลำดับ

3. ไคโตซานจากเปลือกกุ้ง

3.1 ร้อยละผลผลิตของไคโตซาน

ไคโตซานที่ได้จากเปลือกกุ้งสุกให้ร้อยละผลผลิตโดยน้ำหนักแห้งสูงกว่าไคโตซานจากเปลือกกุ้งดิบ ($p < 0.05$) โดยมีค่า 46.61 และ 38.59 ตามลำดับ

3.2 สี

จากการวิเคราะห์สีของวัตถุดิบเริ่มต้นและสีของไคโตซาน ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3. ค่าสี (L^* , a^* และ b^*) ของเปลือกกุ้งและไคโตซานที่สกัดจากเปลือกกุ้ง

ตัวอย่าง	L^*	a^*	b^*
เปลือกกุ้งดิบ	55.95 ^b ±0.36	4.54 ^c ±0.07	12.04 ^b ±0.22
เปลือกกุ้งสุก	49.84 ^c ±0.12	9.16 ^a ±0.29	13.79 ^a ±0.05
ไคโตซานจากเปลือกกุ้งดิบ	71.82 ^a ±0.50	5.94 ^b ±0.40	11.44 ^b ±0.54
ไคโตซานจากเปลือกกุ้งสุก	71.94 ^a ±0.63	3.60 ^d ±0.16	8.54 ^c ±0.35

หมายเหตุ: อักษรที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์หมายถึงค่าเฉลี่ยของข้อมูลที่แตกต่างกัน ($p < 0.05$)

ค่า L^* ของเปลือกกุ้งดิบมีค่าสูงกว่าของเปลือกกุ้งสุก ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการให้ความร้อนแก่เปลือกกุ้ง ทำให้โปรตีนที่จับอยู่กับสารสีกลุ่มแคโรทีนอยด์ (carotenoids) เสื่อมสภาพธรรมชาติ ส่งผลให้แคโรทีนอยด์เป็นอิสระ และปรากฏให้เห็นเป็นสีแดงของเปลือกกุ้งสุก ค่า L^* จึงลดลง ซึ่งสอดคล้องกับค่า a^* และ b^* ของเปลือกกุ้งสุกที่มีค่าสูงกว่าของเปลือกกุ้งดิบ

เมื่อผ่านขั้นตอนการสกัด พบว่าไคโตซานที่ได้มีลักษณะใส สีออกเหลืองจาง ๆ โดยไคโตซานที่สกัดได้มีค่า L^* สูงกว่าของเปลือกกุ้ง และค่า a^* และ b^* มีแนวโน้มที่ลดลง ซึ่งเป็นผลมาจากสารสีในเปลือกกุ้งถูกกำจัดออกไปในขั้นตอนการกำจัดแร่ธาตุและโปรตีน โดยค่า a^* และ b^* ของไคโตซานจากเปลือกกุ้งดิบมีค่าสูงกว่าของเปลือกกุ้งสุก ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการที่แคโรทีนอยด์ในเปลือกกุ้งสุกเป็นอิสระมากกว่าในเปลือกกุ้งดิบ จึงทำให้สามารถถูกสกัดออกไปจากเปลือกกุ้งได้มากกว่า อย่างไรก็ตาม L^* ของไคโตซานจากเปลือกกุ้งดิบและเปลือกกุ้งสุก

มีค่าไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) อาจเป็นเพราะสารสีที่เหลือในเปลือกกุ้งนั้น มีปริมาณเพียงเล็กน้อย จึงไม่ส่งผลกระทบต่อค่า L^* อย่างเด่นชัด

3.3 pH

การวัด pH ของไคโตซานที่ได้ เพื่อใช้ยืนยันว่าในขั้นตอนการสกัดได้ทำการล้างตัวทำละลายออกจนหมด เพื่อให้ได้ไคโตซานที่เป็นกลาง ทั้งนี้เพื่อไม่ให้ส่งผลกระทบต่อการนำไปประยุกต์ใช้ในขั้นต่อไป ซึ่ง pH ของไคโตซานจากเปลือกกุ้งดิบและเปลือกกุ้งสุกมีค่าไม่ต่างกัน ($p>0.05$) คือ 7.27 และ 7.31 ตามลำดับ และ pH ดังกล่าวเป็น pH ที่ใกล้เคียงกับ pH ของน้ำกลั่นที่ใช้ในการทดลอง (7.29)

3.4 ความหนืด

ความหนืดของสารละลายไคโตซานแปรผันตามขนาดโมเลกุล แต่หากเกิดปฏิกิริยาดีพอลิเมอร์ไรเซชัน (depolymerization) ก็อาจส่งผลให้ความหนืดลดลงได้ อันเนื่องมาจากขนาดโมเลกุลที่เล็กลง ซึ่งปฏิกิริยาดีพอลิเมอร์ไรเซชันเกิดจากหลายสาเหตุ อาทิเช่น สภาวะที่ใช้ในการกำจัดหมู่อะซิติก สภาวะที่ใช้ในการกำจัดโปรตีน ความเข้มข้นของสารเคมีที่ใช้ pH หรืออุณหภูมิ (Rinaudo, 2006) ความหนืดของสารละลายไคโตซานที่ได้แสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4. ความหนืดของสารละลายไคโตซานจากเปลือกกุ้งดิบและเปลือกกุ้งสุก

ตัวอย่าง	cP
ไคโตซานจากเปลือกกุ้งดิบ	2888 ^b ±69
ไคโตซานจากเปลือกกุ้งสุก	3203 ^a ±125
ไคโตซานทางการค้า*	620 ^c ±32

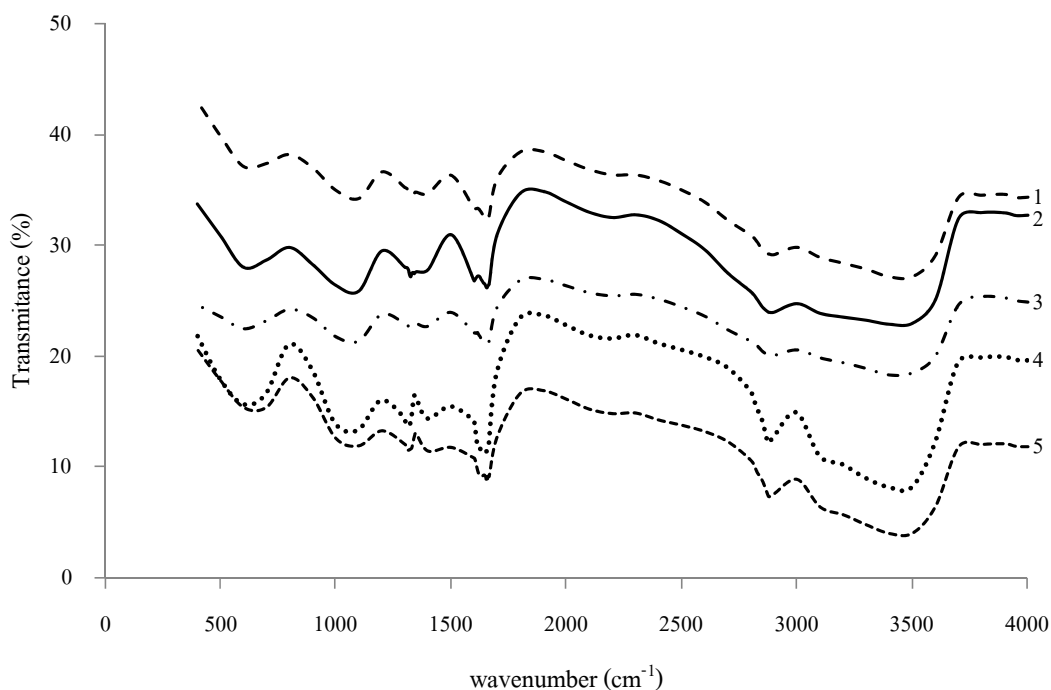
หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมภ์หมายถึงค่าเฉลี่ยของข้อมูลที่แตกต่างกัน ($p<0.05$)

* ผลิตภัณฑ์จากแกนหมึก (บริษัท ด้าหมิงเอ็นเตอร์ไพรส์ จำกัด ประเทศไทย, %DD=94.39)

จากตารางที่ 4 พบว่า ความหนืดของไคโตซานจากเปลือกกุ้งสุกมีค่ามากกว่าไคโตซานจากเปลือกกุ้งดิบ และไคโตซานทางการค้าตามลำดับ โดยไคโตซานจากเปลือกกุ้งดิบและสุกให้ค่าความหนืดที่สูงกว่าของไคโตซานทางการค้าอย่างชัดเจน ตามรายงานของ Li et al. (1992) ระบุค่าความหนืดของสารละลายไคโตซานความเข้มข้นร้อยละ 1 ในกรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 1 ว่าอยู่ในช่วง 200 – 2000 cP จะเห็นได้ว่าความหนืดของสารละลายไคโตซานที่สกัดได้มีค่าสูงกว่าค่าดังกล่าว ซึ่งค่าความหนืดของสารละลายไคโตซานที่มากกว่านี้ ขึ้นถึงขนาดโมเลกุลที่ใหญ่กว่าของไคโตซานที่สกัดได้เมื่อเทียบกับขนาดของโมเลกุลไคโตซานทางการค้า อย่างไรก็ตาม หากมีการวิเคราะห์ขนาดโมเลกุลของไคโตซานร่วมด้วย ก็จะสามารถใช้เป็นข้อมูลยืนยันผลการวิเคราะห์ความหนืดได้

3.5 โครงสร้างโมเลกุล

เทคนิค Fourier Transform Infrared (FT-IR) Spectroscopy ใช้ในการจำแนกชนิดของสารหรือใช้ยืนยันอัตลักษณ์ของสาร โดยอาศัยชนิดของพันธะเคมีในโมเลกุล ที่มีการดูดกลืน (absorption) หรือการปลดปล่อย (transmission) ของรังสีอินฟราเรดที่มีความถี่ต่าง ๆ ของแต่ละพันธะในโครงสร้างที่แตกต่างกัน ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของแต่ละพันธะ (Velde & Kiekens, 2004) โครงสร้างโมเลกุลของไคโตซานที่สกัดจากเปลือกกุ้งและไคโตซานทางการค้า เมื่อวิเคราะห์โดย FT-IR แสดงดังรูปที่ 1



รูปที่ 1. โครงสร้างโมเลกุลของไคตินและไคโตซานโดยการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FT-IR

- ไคตินจากเปลือกกุ้งดิบ (5)
- ไคตินจากเปลือกกุ้งสุก (4)
- ไคโตซานจากเปลือกกุ้งดิบ (2)
- - - ไคโตซานจากเปลือกกุ้งสุก (1)
- · - · ไคโตซานทางการค้า (3)

โดยทั่วไป โครงสร้างของไคตินที่ตำแหน่ง C2 จะมีหมู่อะซิติก (*N*-acetyl group: $-NHC=OCH_3$) เป็นหมู่ฟังก์ชัน ซึ่งประกอบด้วยพันธะ N-H, C-H, C=O และ C-N เมื่อผ่านกระบวนการกำจัดหมู่อะซิติกเพื่อเปลี่ยนไคติน

ให้เป็นไคโตซาน จะทำให้หมู่ฟังก์ชันที่ตำแหน่ง C2 ของบางโมโนเมอร์ในโมเลกุลไคตินเปลี่ยนเป็นหมู่อะมิโน (amino group: $-NH_2$) ทำให้พันธะ C-H, C=O และ C-N ซึ่งมีพีคตรงกับเลขคลื่น 2878, 1550 และ 1320 cm^{-1} ตามลำดับ ของไคโตซานที่ได้ลดลงหรือหายไปเมื่อเทียบกับไคตินเริ่มต้น

เมื่อพิจารณาจากกราฟในรูปที่ 1 พบว่าไคตินจากเปลือกกุ้งดิบและสุกปรากฏพีคที่เลขคลื่นดังกล่าวชัดเจน แต่ในไคโตซานที่ได้หลังผ่านขั้นตอนการสกัด พีคที่เลขคลื่นเหล่านี้ลดลงอย่างสังเกตเห็นได้ ซึ่งเป็นข้อชี้บ่งว่าไคตินได้ถูกเปลี่ยนไปเป็นไคโตซานแล้ว (Velde & Kiekens, 2004) และเมื่อเปรียบเทียบลักษณะโครงสร้างของไคโตซานจากเปลือกกุ้งดิบและสุกกับไคโตซานทางการค้า พบว่าให้กราฟที่มีรูปแบบคล้ายคลึงกัน ซึ่งแสดงว่าไคโตซานที่สกัดได้มีลักษณะโครงสร้างโมเลกุลใกล้เคียงกับไคโตซานทางการค้า นอกจากนี้หากสามารถตรวจสอบขนาดโมเลกุลและระดับการกำจัดหมู่อะซิติก (degree of deacetylation) ควบคู่กับการวิเคราะห์ FT-IR ก็จะทำให้ได้ข้อมูลที่ครบถ้วนสำหรับการนำไปประยุกต์ใช้ประโยชน์ต่อไป

4. การใช้ไคโตซานเพื่อตกตะกอนน้ำแอมเปิ้ล

น้ำแอมเปิ้ลที่เติมไคโตซานเพื่อเพิ่มความใส ถูกนำมาวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพและเคมี ดังแสดงผลในตารางที่ 5 และ 6

ตารางที่ 5. ค่าความขุ่นของน้ำแอมเปิ้ลที่เติมและไม่เติมสารละลายไคโตซาน

ตัวอย่าง	ความขุ่น (NTU)
น้ำแอมเปิ้ล ¹	$844.78^a \pm 41.79$
น้ำแอมเปิ้ลเติมไคโตซานจากเปลือกกุ้งดิบ ²	$150.33^c \pm 13.53$
น้ำแอมเปิ้ลเติมไคโตซานจากเปลือกกุ้งสุก ²	$57.81^d \pm 4.85$
น้ำแอมเปิ้ลเติมไคโตซานทางการค้า ²	$155.00^b \pm 5.29$

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมภ์หมายถึงค่าเฉลี่ยของข้อมูลที่แตกต่างกัน ($p < 0.05$)

:¹ ตัวอย่างถูกตั้งทิ้งให้ตกตะกอนโดยไม่เติมไคโตซาน แล้วนำมากรอง

:² ตัวอย่างถูกตั้งทิ้งให้ตกตะกอนโดยหลังจากเติมไคโตซาน แล้วนำมากรอง

ความขุ่นของน้ำแอมเปิ้ลเกิดจากคอลลอยด์ของโมเลกุลแทนนิน โปรตีนและเพคติน โดยในสภาวะกรด เพคตินซึ่งมีประจุลบจะห่อหุ้มโมเลกุลของโปรตีนซึ่งมีประจุบวกเอาไว้ (Mukprasirt, 2002) ไคโตซานซึ่งมีหมู่ อะมิโนที่แสดงประจุบวกจึงจับและห่อหุ้มอนุภาคนี้นี้ไว้ได้ ทำให้อนุภาคมีขนาดใหญ่ขึ้นและตกตะกอนได้ง่ายขึ้น จากการทดลองพบว่า ความขุ่นของน้ำแอมเปิ้ลที่เติมไคโตซานมีค่าต่ำกว่าของน้ำแอมเปิ้ลที่ไม่ได้เติมถึง 5-14 เท่า โดยที่

โคโตซานจากเปลือกกุ้งสุกให้น้ำแอปเปิ้ลที่มีความใสสูงสุด (ความขุ่นต่ำสุด) ซึ่งอาจเกิดจากการที่โคโตซานจากเปลือกกุ้งสุกมีประจุบวกของหมู่อะมิโนมากกว่า นอกจากนี้ยังอาจเป็นผลมาจากขนาดของโมเลกุลของโคโตซานจากเปลือกกุ้งสุกที่ใหญ่กว่าของโคโตซานจากเปลือกกุ้งดิบและโคโตซานทางการค้า (แปลผลจากความหนืดที่สูงกว่า-ตารางที่ 4) โดยโคโตซานที่มีโมเลกุลใหญ่กว่า มีโอกาสจับคอลลอยด์ในน้ำแอปเปิ้ลได้มากกว่าและทำให้ตกตะกอนได้ดีกว่าดังผลปรากฏ

ตารางที่ 6. pH และค่าสีของน้ำแอปเปิ้ลที่เติมและไม่เติมสารละลายโคโตซาน

ตัวอย่าง	pH ^{ns}	L*	a*	b*
น้ำแอปเปิ้ล ¹	4.06±0.03	26.07 ^a ±0.21	1.20 ^a ±0.29	12.90 ^a ±0.76
น้ำแอปเปิ้ลเติมโคโตซานจากเปลือกกุ้งดิบ ²	4.08±0.01	24.36 ^b ±0.23	-1.30 ^b ±0.06	3.31 ^b ±0.47
น้ำแอปเปิ้ลเติมโคโตซานจากเปลือกกุ้งสุก ²	4.10±0.02	23.37 ^c ±0.17	-1.51 ^b ±0.02	1.33 ^c ±0.59
น้ำแอปเปิ้ลเติมโคโตซานทางการค้า ²	4.09±0.01	24.36 ^b ±0.25	-1.38 ^b ±0.01	2.65 ^b ±0.17

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์หมายถึงค่าเฉลี่ยของข้อมูลที่แตกต่างกัน (p < 0.05)

: ns คือค่าเฉลี่ยของข้อมูลที่ไม่มีความแตกต่างกัน (p>0.05)

: ¹ ตัวอย่างถูกตั้งทิ้งให้ตกตะกอนโดยไม่เติมโคโตซาน แล้วนำมากรอง

: ² ตัวอย่างถูกตั้งทิ้งให้ตกตะกอนโดยหลังจากเติมโคโตซาน แล้วนำมากรอง

pH ของน้ำแอปเปิ้ลที่เติมสารละลายโคโตซานมีค่าไม่แตกต่างกับ pH ของน้ำแอปเปิ้ลปกติที่ไม่ได้เติมสารละลายโคโตซาน ทั้งนี้เพราะ pH ของสารละลายโคโตซานจากเปลือกกุ้งดิบ เปลือกกุ้งสุกและโคโตซานทางการค้าต่างอยู่ในช่วงกรด (3.62, 3.58 และ 3.52 ตามลำดับ) และปริมาตรที่ใช้เติมเพียง 1 มิลลิลิตร จึงทำให้ไม่กระทบกับค่า pH

เมื่อพิจารณาลักษณะปรากฏของสีน้ำแอปเปิ้ล พบว่าน้ำแอปเปิ้ลที่เติมโคโตซานมีสีเหลืองอ่อนกว่าน้ำแอปเปิ้ลที่ไม่ได้เติมโคโตซาน ซึ่งผลการสังเกตสอดคล้องกับค่า b* ของน้ำแอปเปิ้ล โดยน้ำแอปเปิ้ลที่ไม่ได้เติมโคโตซานมีค่า b* สูงกว่า ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการที่โคโตซานสามารถจับกับสารเชิงซ้อนที่เกิดจากพอลิเมอร์ไรซ์ของสารตัวกลางที่ได้จากปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาล ทำให้อายุขัยของสีกลายเป็นอนุภาคขนาดใหญ่และตกตะกอน น้ำแอปเปิ้ลที่เติมโคโตซานจึงมีสีที่อ่อนกว่าดังผลปรากฏ

สรุปผลการทดลอง

แม้ว่าองค์ประกอบพื้นฐานทางเคมีของเปลือกกุ้งดิบและเปลือกกุ้งสุกไม่มีความแตกต่างกัน แต่เปลือกกุ้งสุกถูกกำจัดแร่ธาตุออกไปได้มากกว่า และร้อยละผลผลิตของไคโตซานที่ได้จากเปลือกกุ้งสุกมีค่าสูงกว่าที่ได้จากเปลือกกุ้งดิบ ไคโตซานจากเปลือกกุ้งดิบและเปลือกกุ้งสุกมีค่า L^* เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับของเปลือกกุ้งดิบและสุกเริ่มต้น ในขณะที่ค่า a^* และ b^* มีแนวโน้มลดลง ความหนืดของสารละลายไคโตซานจากเปลือกกุ้งสุกมีค่าสูงกว่าของเปลือกกุ้งดิบ น้ำแอปเปิ้ลที่เติมไคโตซานให้ความใสมากกว่าน้ำแอปเปิ้ลที่ไม่ได้เติม โดยไคโตซานจากเปลือกกุ้งสุกช่วยให้ น้ำแอปเปิ้ลมีความใสสูงสุดเมื่อเทียบกับที่ได้จากการเติมไคโตซานจากเปลือกกุ้งดิบหรือจากทางการค้า และผลจากการวิเคราะห์โครงสร้างโดยเทคนิค FT-IR ยืนยันว่าโครงสร้างของไคโตซานที่สกัดได้จากเปลือกกุ้งดิบและเปลือกกุ้งสุกมีลักษณะเฉพาะเหมือนไคโตซานทางการค้า

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ ที่สนับสนุนทุนอุดหนุนการวิจัยประเภทนักวิจัยทั่วไป ประจำปี 2559 (เลขที่สัญญารับทุน 5944104) และขอขอบคุณภาควิชาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร อาหารและสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ สำหรับการเอื้อเฟื้อสถานที่และอุปกรณ์ในการทำวิจัย รวมถึงบริษัท ต้าหมิงเอ็นเตอร์ไพรส์ จำกัด ประเทศไทย ที่ให้ความอนุเคราะห์ไคโตซาน

เอกสารอ้างอิง

- AOAC. (1990). Official methods of analysis of the AOAC (15th ed.). Arlington, VA, USA: Association of official analytical chemists.
- Aranaz, I., Mengibar, M., Harris, R., Panos, I., Miralles, B., Acosta, N., et al. (2009). Functional characterization of chitin and chitosan. *Current Chemical Biology*, 3(2), 203-230.
- Knorr, D. (1991). Recovery and utilization of chitin and chitosan in food processing waste management. *Food Technology*, 45(1), 114-122.
- Lertsuthiwong, P., How, N. C., Chandkrachang, S. & Stevens, W. F. (2002). Effect of chemical treatment on the characteristics of shrimp chitosan. *Journal of Metals, Materials and Minerals*, 12(1), 11-18.
- Li, Q., Dunn, E. T., Grandmaison, E. W. & Goosen, M. F. A. (1992). Applications and properties of chitosan. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, 7(4), 370-397. <http://doi.org/10.1177/088391159200700406>

- Martiñon, M. E., Moreira, R. G., Castell-Perez, M. E. & Gomes C. (2014). Development of a multilayered antimicrobial edible coating for shelf-life extension of fresh-cut cantaloupe (*Cucumis melo* L.) stored at 4°C. *LWT-Food Science and Technology*, 56(2), 341-350. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.11.043>
- Mukprasirt, A. (2002). Clarification of guava juice by chemical and biochemical methods. *Journal of King Mongkut's Institute of Technology North Bangkok*, 12(3), 57-64. (in Thai)
- Ravichandran, S., Rameshkumar G. & Prince, R. A. (2009). Biochemical composition of shell and flesh of the Indian white shrimp *Penaeus indicus*. *American-Eurasian Journal of Scientific Research*, 4(3), 191-194.
- Rinaudo, M. (2006). Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in Polymer Science*, 31(7), 603-632. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2006.06.001>
- Rungsardthong, V., Wongvuttanakul, N., Kongpien, N. & Chotiwaranon, P. (2006). Application of fungal chitosan for clarification of apple juice. *Process Biochemistry*, 41(3), 589-593. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.08.003>
- Shahidi, F., Arachchi, J. K. V. & Jeon, Y. J. (1999). Food applications of chitin and chitosan. *Trends in Food Science and Technology*, 10(2), 37-51.
- Velde, K. V. & Kiekens, P. (2004). Structure analysis and degree of substitution of chitin, chitosan and dibutylchitin by FT-IR spectroscopy and solid state. *Carbohydrate Polymer*, 58(4), 409-416. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2004.08.004>