การสกัดไคตินและไคโตซานจากกระดองปูนาที่มีผลต่อการคงสภาพของมะเขือเทศ

The Chitin And Chitosan's Extraction From The Crab Shells on Effecting Tomato's Stabilization

ประภัสสร บัวนาค[1*], สุวรรณี สารภาค[2], ไพลิน เต่าคำ[3]
Prapussorn Buanak[1*], Suwannee Sarapak[2], Phailin Tao-kom[3]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาวิธีการสกัดไคตินและไคโตซานจากกระดองปูนา โดยนำกระดองปูนาตากแห้งจำนวน 200 กรัม มากำจัดโปรตีนด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 4%w/v กำจัดแร่ธาตุด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 4%v/v และกำจัดสีด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้น 95%v/v ตามลำดับได้ไคตินหนัก 32.27 กรัม (16.14 %w/w) แล้วทำการกำจัดหมู่อะซีทิลของไคตินด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 40%w/v จะได้ไคโตซานบริสุทธิ์หนัก 25.00 กรัม (12.50 %w/w) จากการตรวจสอบหมู่ฟังก์ชันของไคตินและไคโตซานโดยใช้เทคนิค FTIR Spectrophotometry พบว่าไคตินเกิดพีคของหมู่ฟังก์ชันคาร์บอนิล (C=O) ดูดกลืนที่เลขคลื่น 1666.4 cm^{-1} และเกิดพีคของหมู่ฟังก์ชัน –N-H (Bending) ดูดกลืนที่เลขคลื่น 1558.4 cm^{-1} ส่วนไคโตซาน เกิดพีคของหมู่ฟังก์ชัน –N-H (Bending) ดูดกลืนที่เลขคลื่น 1596.9 cm^{-1} จากการเคลือบผิวมะเขือเทศด้วยสารละลายไคโตซานเป็นเวลา 20 วัน ที่อัตราส่วน 10:50, 20:50, 40:50, 60:50, 80:50, 100:50 และชุดควบคุม ตามลำดับ ผลการวิจัยพบว่าอัตราส่วน 10:50, 20:50, 40:50, 60:50 และชุดควบคุม ผลมะเขือเทศมีการเน่าเสีย ไม่สามารถคงสภาพอยู่ได้นาน ส่วนอัตราส่วน 80:50 และอัตราส่วน 100:50 เป็นอัตราส่วนที่เหมาะสมในการเก็บรักษาผลมะเขือเทศให้คงสภาพอยู่ได้นาน

คำสำคัญ: กระดองปู, ไคติน, ไคโตซาน, มะเขือเทศ

Abstract

This research was proposed to study the method of determining chitin and chitosan's extraction from crab shells. The method was prepared dry crab shells 200 g, followed by deproteinisation process with 4% w/v sodium hydroxide solution, 4% v/v hydrochloric acid solution was demineralisation and decoloration with 95% v/v ethanol, respectively, obtained with 32.27 g (16.14 %w/w) yield of chitin. Deacetylation with 40%w/v of sodium hydroxide solution was used for the extraction of chitin. Pure chitosan yield was 25.00 g (12.50 %w/w). The chitin and chitosan was characterized by FTIR. The results showed that a peak of the carbonyl group (C=O) absorption appeared at 1666.4 cm^{-1}, –N-H (Bending) absorption of chitin at 1558.4 cm^{-1},–N-H (Bending) absorption of chitosan at 1596.9 cm^{-1}. The conclusion of tomatoes was coated with chitosan solution for 20 days, using the solution obtained 10:50, 20:50, 40:50, 60:50, 80:50, 100:50 and control ratio, respectively. It was found that a rotten tomatoes at 10:50, 20:50,

[1] อาจารย์ สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสุรินทร์ อำเภอเมือง จังหวัดสุรินทร์ 32000
[2,3] นิสิตปริญญาตรี สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสุรินทร์ อำเภอเมือง จังหวัดสุรินทร์ 32000
[1] Lecture, Department of Chemistry, Faculty of Science and technology, Surindra rajabhat surin University, Maung Distract, Surin 32000, Thailand
[2,3] Undergraduate student, Department of Chemistry, Faculty of Science and technology, Surindra rajabhat surin University, Maung Distract, Surin 32000, Thailand
* Corresponding author: Prapussorn Buanak, Lecture, Department of Chemistry, Faculty of Science and technology, Surindra rajabhat surin University, Maung Distract, Surin 32000, Thailand, E-mail b.prapussorn@srru.ac.th

40:50, 60:50 and control ratio not stable for long time. Therefore the ratio with 80:50 and 100:50 was chosen as the optimum value because it was stability tomatoes for long time.

Keywords: Crab shells, Chitin, Chitosan, Tomato

บทนำ

ประเทศไทยนับว่าเป็นเมืองแห่งพืชพันธุ์ธัญญาหารบริบูรณ์ ประชากรส่วนใหญ่ประกอบอาชีพเกษตรกรรมเป็นอาชีพหลัก โดยเฉพาะอย่างยิ่งอาชีพทำนา สามารถพบมากในภาคกลาง ภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ แต่ปัญหาโดยส่วนใหญ่ของชาวนาคือปัญหาด้านศัตรูพืชที่มักทำลายต้นข้าวให้ได้รับความเสียหาย ส่งผลให้ได้ผลผลิตต่ำลง ซึ่งเกษตรกรส่วนใหญ่แก้ปัญหาโดยการใช้สารเคมีเพื่อป้องกันและกำจัดศัตรูพืช รัฐบาลจึงมีนโยบายลดการใช้สารเคมีทางการเกษตรลง โดยกระตุ้นให้เกษตรกรใช้สารธรรมชาติในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชเพิ่มมากขึ้น และกำหนดไว้ในแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ ฉบับที่ 11 (พ.ศ. 2555 - 2559) รวมทั้งสนับสนุนการใช้สารชีวภาพให้มากขึ้น เพื่อลดต้นทุนการผลิต และสร้างความปลอดภัยในสุขภาพของผู้ผลิตและผู้บริโภค รวมทั้งลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมได้ในระยะยาว ปูนานับว่าเป็นศัตรูพืชที่สำคัญอีกชนิดหนึ่งในนาข้าว มักทำลายต้นข้าวโดยไปกัดกินในส่วนของลำต้นกล้าข้าว ทำให้ต้นกล้าข้าวไม่โตหรือตายในที่สุด ซึ่งสร้างปัญหาและความเสียหายต่อพื้นที่นาข้าวทั่วทุกภาคของประเทศ เกษตรกรส่วนใหญ่จึงใช้วิธีกำจัดโดยการใช้สารเคมี จนก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและระบบนิเวศในนาข้าว และอาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพของชาวนาเอง หากมองอีกด้านหนึ่งปูนาก็เป็นสัตว์ที่มีประโยชน์เช่นกัน เนื่องจากปูนาสามารถนำมาประกอบอาหารได้เพราะมีโปรตีนสูง ส่วนกระดองปูนาเป็นของเหลือทิ้งเนื่องจากไม่สามารถรับประทานได้ เพราะเป็นส่วนโครงสร้างที่แข็ง สามารถพบไคตินได้ในส่วนนี้ และนำไปใช้ประโยชน์ต่อไปได้

ไคตินเป็นสารโพลิเมอร์ชีวภาพ (Biopolymer) ซึ่งเป็นองค์ประกอบอยู่ในเปลือกนอกของสิ่งมีชีวิตหลายชนิด เช่น เปลือกหอย ปู กุ้ง ปลาหมึก เปลือกของแมลง และพบได้ในผนังเซลล์ของเห็ด รา และ สาหร่ายบางชนิด มีลักษณะโดดเด่นเฉพาะตัว คือ เป็นวัสดุชีวภาพ (Biometerials) ที่สามารถย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ มีความปลอดภัยในการนำมาใช้กับมนุษย์ ไม่เกิดผลเสียและปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม ไคตินจัดเป็นสารคาร์โบไฮเดรตเช่นเดียวกับแป้งและเซลลูโลส โครงสร้างทางเคมีประกอบด้วยน้ำตาลโมเลกุลเล็กๆ ที่เรียกว่า N-Acetyl glucosamine ต่อกันเป็นสายยาว เกิดเป็นโครงสร้างที่ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายได้ในกรด อนินทรีย์ เช่น กรดเกลือ กรดกำมะถัน กรดฟอสฟอริก และกรดฟอร์มิกที่ปราศจากน้ำ[1] แต่จะมีลักษณะเนื้อหยาบกว่าไคโตซาน

ไคโตซาน เป็นอนุพันธ์ที่ได้จากไคติน ด้วยการเปลี่ยนแปลงทางเคมีจากปฏิกิริยาการกำจัดหมู่อะซีติล (Acetyl Group) ของไคตินออกไปโดยปฏิกิริยาที่เรียกว่า Deacetylation ทำให้โครงสร้างของไคตินที่เป็น N-Acetyl Glucosamine กลายเป็น Glucosamine กล่าวคือไคตินจะมีหมู่อะเซตาไมด์ (Acetamide) แต่ไคโตซานจะมีหมู่อะมิโน (Amino)[1] ไคติน และไคโตซานไม่ละลายน้ำ แต่ละลายได้ในกรดอินทรีย์บางชนิด เช่น กรดอะซีติก กรดออกซาลิก และละลายในกรดอนินทรีย์บางชนิด เช่น HCl H_2SO_4 HNO_3 เป็นต้น[2] ไคโตซานได้จากกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของไคติน โดยการกำจัดแร่ธาตุต่างๆด้วยกรดแก่และเบสแก่ที่อุณหภูมิสูง[3] ซึ่งกรดแก่ที่สามารถเป็นรีเอเจนต์ได้ได้แก่ HCl, HNO_3, H_2SO_4, CH_3COOH และ HCOOH แต่กรดที่เหมาะสมที่สุด คือ HCl[4] ส่วนเบสแก่ที่นิยมใช้เป็นรีเอเจนต์ คือ NaOH ทำหน้าที่ดึงโปรตีนออกจากไคติน และทำภายใต้สภาวะอุณหภูมิสูงเพื่อกำจัดหมู่อะซีติล (deacetylation) และตัดสายพอลิเมอร์ของไคตินให้สั้นลง (depolymerisation) [5] จะได้สารไคโตซาน

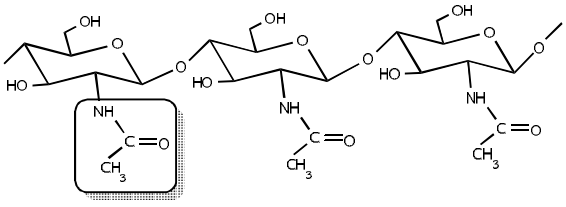

Figure 1 Chitin structure

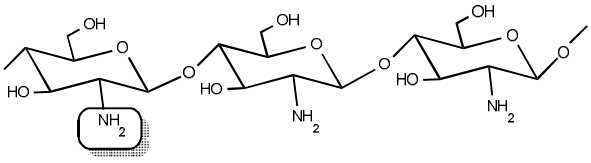

Figure 2 Chitosan structure

ไคโตซานสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้หลายด้าน เช่น ด้านการเกษตร ใช้เคลือบเมล็ดพันธุ์เพื่อกำจัดศัตรูพืช ใช้เป็นสารฆ่าแมลงเพื่อต่อต้านและกำจัดเชื้อรา ใช้ในการปรับสภาพดินเพื่อเพิ่มความพรุนในดิน ใช้เป็นสารเร่งการเจริญเติบโตของพืช และใช้ในการรักษาคุณภาพผลผลิตทางการเกษตร โดยการนำไคโตซานไปเคลือบผิวของผักและผลไม้ นอกจากนี้ไคโตซานยังสามารถจับตัวเป็นไฟเบอร์ หรือเป็นเยื่อบางๆ ที่สามารถเคลือบติดกับผิวของผักและผลไม้ได้ [6] ด้านสิ่งแวดล้อม มีการใช้ไคโตซานเป็นสารตกตะกอนชีวภาพ (Bioflocculant) ในการบำบัดน้ำเสีย หรือเป็นตัวจับไอออนโลหะในน้ำทิ้ง เป็นต้น อีกทั้งสามารถยับยั้งเชื้อจุลชีพ เช่น แบคทีเรีย เชื้อรา ซึ่งได้นำมาใช้ประโยชน์ในด้านการถนอมอาหาร เช่น ในการเก็บรักษาเนื้อปลา เครื่องปรุงรสอาหาร หรือใช้เป็นฟิล์มห่อหุ้มเพื่อถนอมอาหาร เป็นต้น

จากประโยชน์ของไคโตซานดังกล่าวข้างต้น ผู้วิจัยจึงเล็งเห็นการนำเอากระดองปูนาที่เป็นของเหลือทิ้งมาสกัดเป็นไคโตซาน เนื่องจากในกระดองปูนามีสารไคโตซานที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ โดยพบว่ากระดองปูประกอบด้วยไคติน 25-30% โปรตีน 25% และแคลเซียมคาร์บอเนต 40-50 %[7] และนอกจากนี้ยังสามารถแก้ปัญหาการกัดกินต้นข้าวของปูนา ปัญหาการใช้สารเคมีเพื่อนำมากำจัดศัตรูพืชในนาข้าว และเนื่องจากกระดองปูนามีสารไคโตซานที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจที่จะดำเนินการสกัดไคตินและไคโตซานจากกระดองปูนา ซึ่งเป็นของเหลือทิ้งให้กลับมามีประโยชน์ โดยนำกระดองปูนาที่ตากแห้งมาผ่านกระบวนการการกำจัดแร่ธาตุต่างๆภายใต้สภาวะกรดแก่และเบสแก่ และกำจัดสีด้วยสารละลายเอทานอล จะได้ไคติน และนำเอาไคตินไปกำจัดหมู่อะซีทิล จะได้สารไคโตซาน แล้วจึงนำสารละลายไคโตซานไปใช้ประโยชน์ในการเคลือบผิวมะเขือเทศ ซึ่งเป็นพืชชนิดหนึ่งที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบอยู่มาก ทำให้เกิดการเน่าเสียได้ง่าย วิธีที่จะป้องกันการเน่าเสียของมะเขือเทศนั้นมีหลายวิธี ซึ่งในวิจัยนี้ได้นำสารละลายไคโตซานที่สกัดจากกระดองปูนามาเคลือบที่ผิวของมะเขือเทศเพื่อช่วยลดอัตราการระเหยของน้ำไม่ให้มะเขือเทศเน่าเสีย ช่วยรักษาสีของมะเขือเทศไม่ให้ซีดจางไป และช่วยรักษาการคงสภาพของมะเขือเทศให้สามารถเก็บไว้ใช้ได้นานยิ่งขึ้น นอกจากนี้ไคโตซานที่สกัดได้จากธรรมชาตินี้ยังเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม และเป็นการช่วยลดการใช้สารเคมีในผักและผลไม้ด้วย

วิธีการดำเนินงานวิจัย

วิธีดำเนินการวิจัย

การศึกษาการสกัดไคตินและไคโตซานจากกระดองปูนาที่มีผลต่อการคงสภาพของมะเขือเทศ ได้แบ่งการวิจัยออกเป็น 2 ตอน ได้แก่ ตอนที่ 1 ศึกษาการสกัดไคตินและไคโตซานจากกระดองปูนา ตอนที่ 2 ศึกษาผลการเคลือบไคโตซานที่มีต่อการคงสภาพของมะเขือเทศ โดยมีขั้นตอนและวิธีการ ดังนี้

ตอนที่ 1 ศึกษาการสกัดไคตินและไคโตซานจากกระดองปูนา

1. การสกัดไคตินและไคโตซาน

นำกระดองปูนามาชั่ง แล้วนำมาต้มในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 4% (w/v) เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส พร้อมทั้งคนตลอดเวลา และนำกระดองปูนามาล้างให้สะอาด แล้วจึงนำกลับไปต้มซ้ำในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 4% (w/v) เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เพื่อกำจัดโปรตีน (Deproteinisation) และตากให้แห้ง

จากนั้นนำกระดองปูนาที่ผ่านกระบวนการกำจัดโปรตีนมาแช่ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริก เพื่อกำจัดแร่ธาตุต่างๆ (Demineralisation) ความเข้มข้น 4% (v/v) เป็นเวลา 2 คืน แล้วเทสารละลายทิ้ง เติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกใหม่เพื่อแช่กระดองปูนาซ้ำอีก 2-3 ครั้ง หรือจนกว่าจะไม่มีแคลเซียมคาร์บอเนตเหลืออยู่ (สังเกตได้จากไม่มีฟองแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เกิดขึ้น) และล้างออกด้วยเอทานอลเข้มข้น 95% (v/v) เพื่อกำจัดสี (Decoloration) ของกระดองปูนา แล้วนำเปลือกกระดองปูนาไปตากให้แห้ง และบดพอละเอียด แล้วนำไปชั่งด้วยเครื่องชั่ง จะได้ไคติน จากนั้นนำไคตินผ่านกระบวนการดึงหมู่อะซีทิล (Deacetylation) โดยนำไคตินมาต้มกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 40% (w/v) เป็นเวลา 3-4 ชั่วโมง อุณหภูมิ 100-120 องศาเซลเซียส จากนั้นล้างด้วยน้ำสะอาด นำไปตากให้แห้ง แล้วนำมาบดให้ละเอียด และชั่งน้ำหนัก จะได้ไคโตซานบริสุทธิ์

2. การทดสอบความบริสุทธิ์ของสารไคโตซาน (ทางกายภาพ)

ชั่งไคโตซานหนัก 0.5 กรัม ละลายในกรดแอซิติก ความเข้มข้น 5% (v/v) ปริมาตร 10 mL คนให้เข้ากัน จะได้สารละลายไคโตซาน เติมน้ำยาล้างจานปริมาตร 10 mL ลงในสารละลายไคโตซาน แล้วคนให้เข้ากัน พร้อมทั้งสังเกตความบริสุทธิ์ของสารไคโตซาน หากเป็นไคโตซานที่บริสุทธิ์ ไคโตซานจะจับตัวกันเหมือนไข่ขาว แต่ถ้าเป็นไคโตซานไม่บริสุทธิ์จะไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง

3. การตรวจสอบหมู่ฟังก์ชันโดยใช้เทคนิค FTIR Spectrophotometry

บดสารมาตรฐานไคโตซานให้ละเอียด จากนั้นผสมสารมาตรฐานไคโตซานเข้ากับ KBr ในโกร่งบดสาร โดยให้มีความเข้มข้นประมาณ 0.01 เปอร์เซ็นต์ (ใส่สารมาตรฐานไคโตซานน้อยกว่าสาร KBr) และบดสารให้ละเอียด โดยให้มีการกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ แล้วใส่สารมาตรฐานไคโตซานที่บดแล้วลงในแม่พิมพ์ และนำไปอัดด้วยเครื่องอัดไฮดรอลิกให้มีความดันประมาณ 15000 ทิ้งไว้ 1-2 นาที สารมาตรฐานไคโตซานจะติดอยู่ที่แม่พิมพ์ และกระจายอยู่บน KBr จากนั้นนำสารมาตรฐานไคโตซานไปตรวจสอบหมู่ฟังก์ชันด้วยเครื่อง FTIR Spectrophotometer และทำการทดลองซ้ำ โดยเปลี่ยนจากสารมาตรฐานไคโตซานเป็นไคติน และไคโตซานจากตัวอย่างกระดองปูนา ตามลำดับ

ตอนที่ 2 ศึกษาผลการเคลือบสารละลายไคโตซานที่มีต่อการคงสภาพของผลมะเขือเทศ

1. การเตรียมสารละลายไคโตซาน

ชั่งไคโตซานมา 10 กรัม ละลายในกรดแอซิติก (Acetic Acid) ความเข้มข้น 5% v/v ละลายในกรดแอซิติก 5% v/v คนให้ไคโตซานละลาย แล้วเทลงในไปในขวดวัดปริมาตรขนาด 1,000 มิลลิลิตร จะได้สารละลายไคโตซานที่มีความเข้มข้น 1% w/v

2. การเคลือบผิวมะเขือเทศด้วยสารละลายไคโตซาน

นำผลมะเขือเทศไปล้างน้ำให้สะอาด เช็ดให้แห้ง แล้วแบ่งมะเขือเทศเป็น 7 ชุดการทดลองชุดละ 5 ผล จากนั้นนำมะเขือเทศแต่ละชุดไปชั่งน้ำหนัก และบันทึกน้ำหนักเริ่มต้น นำชุดมะเขือเทศที่ชั่งน้ำหนักแล้ว มาเคลือบด้วยสารละลายไคโตซาน ในอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานต่อน้ำกลั่น (mL : mL) ดังนี้ อัตราส่วน 10 : 50, 20 : 50, 40 : 50, 60 : 50, 80 : 50, 100 : 50 และชุดควบคุม ตามลำดับ ใช้เวลาในการเคลือบ 2 นาที แล้วสังเกตการคงสภาพของมะเขือเทศพันธุ์สีดาเป็นระยะเวลา 20 วัน โดยวัดจากน้ำหนักและลักษณะทางกายภาพของมะเขือเทศที่เปลี่ยนแปลงไปในแต่ละวัน บันทึกผลการทดลอง

ผลการศึกษาและวิจารณ์

1. การสกัดไคตินและไคโตซานจากกระดองปูนา

จากการวิจัยการสกัดไคตินและไคโตซานโดยนำกระดองปูนาตากแห้งจำนวน 200 กรัม มาผ่านกระบวนการกำจัดโปรตีนด้วยสารละลาย NaOH กำจัดแร่ธาตุด้วยสารละลาย HCl และกำจัดสีด้วยสารละลายเอทานอล ตามลำดับ ผลการวิจัยพบว่าได้ไคตินหนัก 32.27 กรัม คิดเป็นเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักเท่ากับ 16.14 และเมื่อนำไคตินไปกำจัดหมู่อะซีทิล ได้

ไคโตซานหนัก 25.00 กรัม คิดเป็นเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักเท่ากับ 12.50 ตามลำดับ

Table 1 Amount of Chitin and Chitosan's extraction.

ปริมาณกระดองปูนาแห้ง (กรัม)	ปริมาณไคตินที่สกัดได้		ปริมาณไคโตซาน ที่สกัดได้	
	น้ำหนัก (กรัม)	โดยน้ำหนัก	น้ำหนัก (กรัม)	โดยน้ำหนัก
200	32.27	16.14	25.00	12.50

ด้านคุณลักษณะทางกายภาพของสารสกัดไคตินและไคโตซานจากตัวอย่างกระดองปูนา พบว่าไคตินมีลักษณะเป็นของแข็ง สีขาว เป็นแผ่นเหนียวคล้ายเยื่อกระดาษ ไม่ละลายน้ำ และตัวทำละลายอินทรีย์ ส่วนลักษณะของไคโตซาน คือ เป็นของแข็ง สีขาว เนื้อละเอียด ไม่เหนียว และไม่ละลายน้ำ แต่สามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายที่เป็นกรด อินทรีย์และกรดอนิน ทรีย์ที่เจือจางบางชนิด เช่น CH_3COOH HNO_3 HCl เป็นต้น

(a) Chitin (b) Chitosan

Figure 3 Chitin and Chitosan extraction from crab shells.

จาก Figure 3 พบว่ากระดองปูนาที่ผ่านกระบวนการกำจัดโปรตีน แร่ธาตุ และสี รวมทั้ง 3 ขั้นตอน ผลที่ได้จะได้ไคตินออกมาก่อน (Figure 3-a) หลังจากนั้นจึงเข้าสู่กระบวนการเปลี่ยนไคตินให้เป็นไคโตซาน โดยการนำเอาไคตินที่สกัดได้ไปกำจัดหมู่อะซีทิลด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น โดย NaOH ทำหน้าที่ดึงโปรตีนออกจากไคติน และทำภายใต้สภาวะอุณหภูมิสูงเพื่อกำจัดหมู่อะซีติล (deacetylation) และตัดสายพอลิเมอร์ของไคตินให้สั้นลง (depolymerisation)[5] เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ไคโตซานบริสุทธิ์ (Figure 3-b) ซึ่งในกระบวนการนี้ต้องใช้ความระมัดระวัง เนื่องจากสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์มีความเข้มข้นมาก เมื่อให้ความร้อนสูงจะเกิดปฏิกิริยาที่รุนแรง เนื่องจากกระบวนการกำจัดหมู่อะซีทิลต้องใช้ความร้อนสูงเท่านั้นจึงจะสามารถดึงหมู่อะซีทิลออกได้หมด ไคตินและไคโตซานที่ได้มีลักษณะทางกายภาพที่แตกต่างกัน คือ แผ่นของไคตินจะมีความเหนียวและหนากว่าไคโตซาน

ในกระบวนการกำจัดโปรตีนต้องใช้ระยะเวลานาน มีการควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ในช่วง 80-90 องศาเซลเซียส และคนอย่างสม่ำเสมอ เพื่อให้สารเข้าไปทำปฏิกิริยากำจัดโปรตีนออกให้หมด และในกระบวนการกำจัดแร่ธาตุนั้น ควรแช่กระดองปูนาในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกและเปลี่ยนสารละลายกรดไฮโดรคลอริกทุกวัน จนกว่าจะไม่มีแคลเซียมคาร์บอเนตหลงเหลืออยู่ (สังเกตได้จากไม่มีฟองแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เกิดขึ้น) ดังสมการ

$$2HCl\ (aq) + CaCO_3(s) \longrightarrow CaCl_2(aq) + H_2O(l) + CO_2(g) \quad (1)$$

จากสมการ (1) เมื่อนำกระดองปูนามาทำปฏิกิริยากับกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น เนื่องจากโครงสร้างของกระดองปูนามีแคลเซียมคาร์บอเนตอยู่ ทำให้แคลเซียมคาร์บอเนตถูกกำจัดออกไปได้ด้วยกรด HCl โดยเปลี่ยนไปเป็นสารผลิตภัณฑ์แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$) และแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ซึ่งจะระเหยออกไป ส่วนกระบวนการกำจัดสีของกระดองปูเพื่อให้ไคตินและไคโตซานที่ได้มีลักษณะเป็นสีขาวบริสุทธิ์

จากการวิจัยสามารถสรุปได้ว่าเมื่อผ่านกระบวนการทางเคมี โครงสร้างของไคตินจะเปลี่ยนไปเป็นโครงสร้างของไคโตซาน

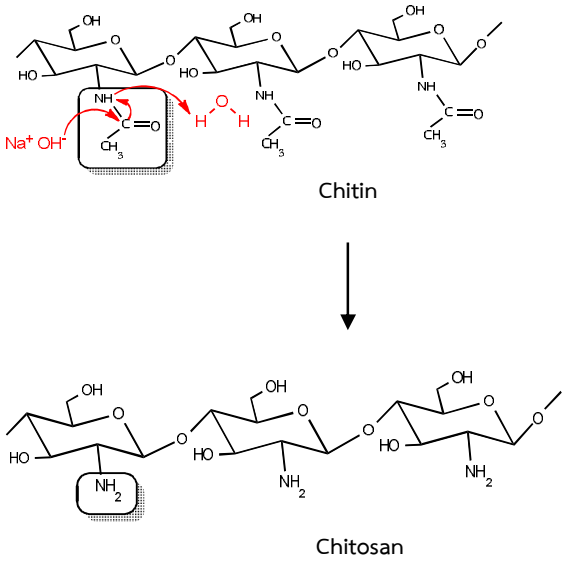

Figure 4 Structural change chitin to chitosan.[8]

จากกลไกการเปลี่ยนโครงสร้างของไคตินไปเป็นไคโตซาน คือ เมื่อไคตินทำปฏิกิริยากับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เข้มข้น NaOH จะแตกตัวเป็นไอออนบวกและไอออนลบ ได้แก่ Na^+ และ OH^- มีกลไกทางเคมี คือหมู่ OH^- จะเข้าไปจับกับหมู่คาร์ บอนิล ($-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-$) แล้วไล่อิเล็กตรอนไปที่หมู่เอไมด์(-NH) ทำให้เกิดเป็น NH^- จากนั้น NH^- จะเข้าไปดึงโปรตอน (H^+) ในโมเลกุลของน้ำ (H_2O) กลายเป็นหมู่อะมิโน (NH_2) ของไคโตซาน

2. ผลการตรวจสอบหมู่ฟังก์ชันโดยใช้เทคนิค FTIR Spectrophotometry

ผลการตรวจสอบหมู่ฟังก์ชันโดยใช้เครื่อง FTIR Spectrophotometer โดยทำการตรวจสอบหมู่ฟังก์ชันของไคตินและและไคโตซานจากตัวอย่างกระดองปูนา เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานไคโตซาน จากการตรวจสอบ พบ spectrogram ของไคตินและไคโตซานจากตัวอย่างกระดองปูนา ดังแสดง Figure 5 Figure 6 และ Figure 7 ดังนี้

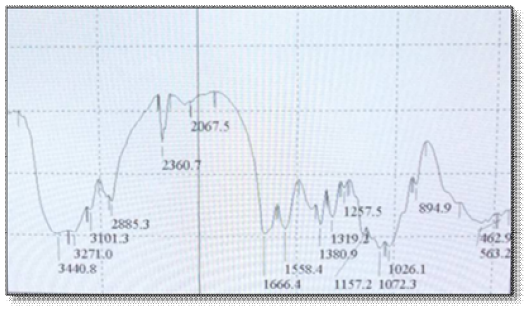

Figure 5 FTIR spectrogram of Chitin.

Figure 5 จะเห็นได้ว่า spectrogram ของไคติน จะเกิดที่หมู่ฟังก์ชันของคาร์บอนิล C=O ของโมเลกุลเอไมด์ ในเลขคลื่น 1666.4 cm^{-1} และพบหมู่ฟังก์ชัน –N-H (Bending) ของโมเลกุลเอไมด์ ในเลขคลื่น 1558.4 cm^{-1} ส่วน spectrogram ของไคโตซานแสดงได้ใน Figure 6

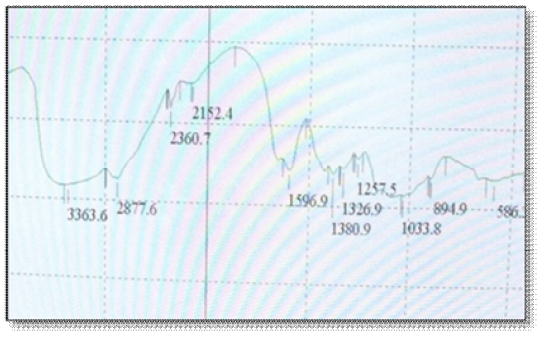

Figure 6 FTIR spectrogram of Chitosan.

Figure 6 พบว่า spectrogram ของไคโตซานจากตัวอย่างกระดองปูนา พบที่พันธะ –N-H (Bending) ของโมเลกุลเอมีน ในเลขคลื่น 1596.9 cm^{-1} ซึ่งตรงกับ spectrogram ของสารมาตรฐานไคโตซาน (Figure 7)

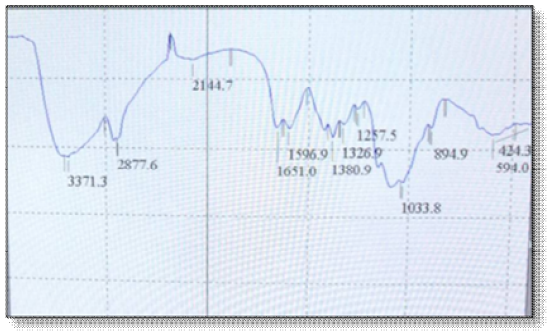

Figure 7 FTIR spectrogram of standard Chitosan.

Figure 7 พบว่า spectrogram ของสารมาตรฐานไคโตซานบริสุทธิ์ พบที่หมู่ฟังก์ชัน –N-H (Bending) ในเลขคลื่น 1596.9 cm^{-1}

3. การเคลือบผิวมะเขือเทศด้วยสารละลายไคโตซานจากกระดองปูนา

จากการวิจัย ได้ทำการศึกษาผลของสารสกัดไคโตซานจากกระดองปูนาที่มีผลต่อการคงสภาพของมะเขือเทศตัวอย่าง โดยทำการศึกษาอัตราส่วนสารละลายไคโตซานต่อน้ำกลั่น (mL : mL) จำนวน 7 อัตราส่วน ได้แก่ 10:50, 20:50, 40:50, 60:50, 80:50, 100:50 และชุดควบคุม ตามลำดับ โดยทำการศึกษาทั้งก่อนเคลือบและหลังเคลือบสารละลายไคโตซาน เป็นเวลา 20 วัน ได้ผลการวิจัยดังนี้

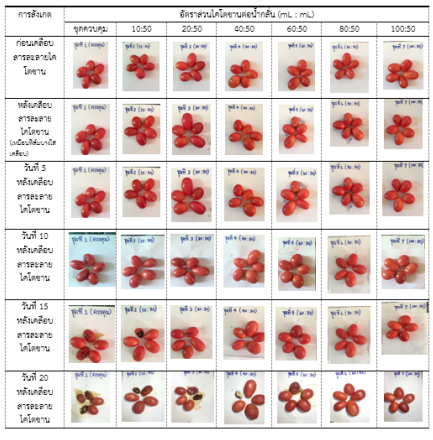

Figure 8 แสดงผลมะเขือเทศก่อนและหลังเคลือบสารละลายไคโตซาน

Figure 8 จะเห็นได้ว่าสารละลายไคโตซานที่ความเข้มข้นในอัตราส่วน 10:50, 20:50, 40:50, 60:50 และชุดควบคุม พบว่าผลมะเขือเทศมีการเน่าเสีย เหี่ยว และบวม และอัตราส่วน 80:50 และ 100:50 ผลการวิจัยพบว่าผลมะเขือเทศไม่เน่าเสีย และยังคงมีลักษณะมันวาว จากการวิจัยสรุปได้ว่า อัตราส่วน 80:50 และอัตราส่วน 100:50 เป็นอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดในการเก็บรักษาผลมะเขือเทศให้คงสภาพอยู่ได้นาน เพราะผลมะเขือเทศทั้ง 2 อัตราส่วนนี้ถูกเคลือบด้วยสารละลายไคโตซานที่มีความเข้มข้นสูง ทำให้ผลมะเขือเทศไม่เน่าเสีย แต่จะเหี่ยวเท่านั้น เหตุที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากสารละลายไคโตซานสามารถก่อตัวเป็นฟิล์มบาง ใส ไม่มีสี ไม่มีกลิ่น ใช้เคลือบผิวมะเขือเทศได้ เป็นสารป้องกันการเกิดเชื้อราที่ผิว ช่วยลดอัตราการสูญเสียน้ำ ช่วยลดอัตราการหายใจและการผลิตก๊าซเอธิลีน ทำให้บรรยากาศภายในมีการเปลี่ยนแปลงสีและเน่าช้าลง และในอัตราส่วนอื่นๆ ได้แก่ 10:50, 20:50, 40:50, 60:50 และชุดควบคุม พบว่ามะเขือเทศมีการเน่าเสีย เหี่ยว และบวม จึงไม่สามารถคงสภาพอยู่ได้นาน เนื่องจากสารละลายไคโตซานมีความเข้มข้นต่ำ จึงไม่สามารถยืดอายุของผลมะเขือเทศไว้ได้นาน และจากการเคลือบผิวมะเขือเทศนี้ใช้เวลาในการสังเกตนาน 20 วัน พบว่ามะเขือเทศในแต่ละอัตราส่วนจะเริ่มมีการเหี่ยว บวม และเน่าเสีย ในวันที่10 หลังเคลือบไคโตซาน

4. การวัดน้ำหนักที่หายไปของผลมะเขือเทศที่เคลือบด้วยสารละลายไคโตซานจากกระดองปูนา

จากการวิจัย เมื่อได้ทำการศึกษาลักษณะทางกายภาพของผลมะเขือเทศที่ถูกเคลือบด้วยสารละลายไคโตซานในอัตราส่วนต่างๆ เป็นเวลา 20 วันแล้ว จากนั้นได้นำกลุ่มมะเขือเทศตัวอย่างนี้มาชั่งหาน้ำหนักที่สูญเสียไปในช่วงเวลาดังกล่าว ดังแสดงใน Table 2

Table 2 The weight of tomatoes

น้ำหนัก (กรัม)	Chitosan : น้ำกลั่น (mL:mL)						
	ชุดควบคุม	10:50	20:50	40:50	60:50	80:50	100:50
เริ่มต้น	125.42	141.47	111.45	117.63	111.83	121.03	111.09
สุดท้าย	77.87	60.58	51.90	27.48	30.50	27.87	3.99
เปลี่ยนแปลง	47.55	80.89	59.55	90.15	81.33	93.16	107.10
%น้ำหนักที่หายไป	62.09	42.82	46.57	23.36	27.27	23.02	3.59

และสามารถสรุปน้ำหนักที่สูญเสียไปของผลมะเขือเทศได้จากกราฟใน Figure 9

Figure 9 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่หายไปของผลมะเขือเทศ

จะเห็นได้ว่าเมื่อคำนวณเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่หายไปพบว่ามะเขือเทศที่ถูกเคลือบด้วยสารละลายไคโตซานที่มีความเข้มข้นมากจะมีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่หายไปน้อยกว่ามะเขือเทศที่ถูกเคลือบด้วยสารละลายไคโตซานที่มีความเข้มข้นน้อย เรียงจากมากไปหาน้อย ได้แก่ ชุดควบคุม 20:50, 10:50, 60:50, 60:50, 40:50, 80:50 และ 100:50 ตามลำดับ จะเห็นได้ว่ายิ่งมีความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานมาก อัตราการคายน้ำก็ยิ่งลดลงเนื่องจากไคโตซานมีลักษณะเป็นแผ่นฟิล์มเคลือบผลของมะเขือเทศ ส่งผลให้มะเขือเทศเหี่ยวช้าลง

สรุปผลการศึกษา

ไคโตซาน จัดเป็นพอลิเมอร์จากธรรมชาติที่สามารถย่อยสลายได้เองตามธรรมชาติ เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ไม่เกิดอาการแพ้ และไม่เป็นพิษ งานวิจัยนี้ได้นำเอาสารละลายไคโตซานที่สกัดจากกระดองปูนามาเคลือบที่ผิวของผลมะเขือเทศ ซึ่งสารละลายไคโตซานที่มีความเข้มข้นสูงจะสามารถรักษาการคงสภาพของผลมะเขือเทศไว้ไม่ให้เน่าเสียได้นานกว่าสารละลายไคโตซานที่มีความเข้มข้นต่ำ เนื่องจากไคโตซานมีคุณสมบัติที่สามารถจับตัวกันเป็นฟิล์มบางใส เคลือบติดกับผิวของผลไม้ได้ ซึ่งช่วยลดอัตราการคายน้ำออกจากผิวของมะเขือเทศ ลดอัตราการหายใจ ช่วยรักษาสีและความมันวาวของผลมะเขือเทศ และสามารถป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อจุลินทรีย์ได้ นอกจากนี้ไคโตซานยังสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในด้านอื่นๆ เช่น การนำไปเป็นตัวจับกับไอออนของโลหะหนักในน้ำทิ้ง เช่น ไอออนของปรอท ทองแดง ตะกั่ว แคดเมียม เป็นต้น หรือการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง ซึ่งจากคุณสมบัติของไคโตซานที่สามารถก่อตัวเป็นฟิล์มบางๆ จะช่วยรักษาความชุ่มชื้นและความยืดหยุ่นให้แก่ผิวหนังและเส้นผม

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณคุณณิชมน ธรรมรักษ์ นักวิทยาศาสตร์ประจำสถาบันส่งเสริมวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) ภาคเหนือ

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กฤษณ์ ปิ่นทอง สาขาวิชาชีววิทยา ภาควิชาวิทยาศาสตร์พื้นฐาน คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสุรินทร์

ขอขอบพระคุณอาจารย์ ดร.เนาวรัตน์ กองคำ สาขาวิชาเคมี ภาควิชาวิทยาศาสตร์พื้นฐาน คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสุรินทร์

ขอขอบพระคุณสาขาวิชาเคมี ภาควิชาวิทยาศาสตร์พื้นฐาน คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสุรินทร์ ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ด้านอุปกรณ์ สารเคมี และห้องปฏิบัติการการทดลองสำหรับงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

1. สุธิดา คงทอง. ไคติน-ไคโตซาน (Chitin-Chitosan): สาขาวิชาอุตสาหกรรมศึกษา คณะศึกษาศาสตร์ มหาวิทยาศรีนครินทรวิโรฒ. วารสารวิชาการอุตสาหกรรมศึกษา 2552 ปีที่ 3 ฉบับที่ 1: 1-7.

2. Arbia W, Arbia L, Adour L, Amrane A. Chitin Extraction from Crustacean Shells Using Biological Methods. Food Technol. Biotechnol 2013;51(1): 12-25.
3. Gadgey K, Bahekar A. Studies on extraction methods of chitin from crab shell and investigation of its mechanical properties. International Journal of Mechanical Engineering and Technology (IJMET); 2017 Volume 8, Issue 2: 220-231.
4. Khanafari A, Marandi R, Sanatei S. Recovery of chitin and chitosan from shrimp waste by chemical and microbial methods. Iran J. Environ. Health Sci. Eng. 2008;5: 19-24.
5. Kalut S. Enhancement of degree of deacetylation of chitin in chitosan production, B. Chemical Engineering. University Malaysia Pahang. 2008.
6. ธิดารัตน์ เอกสิทธิกุล และสัญญา กุดั่น. การประยุกต์ใช้ไคโตซานในการเพิ่มผลผลิตและคุณค่าทางอาหารของเห็ดนางรม. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยรามคำแหง. 2553.
7. Pandharipande S.L., Bhagat P.H. Synthesis of Chitin from Crab Shells and its Utilization in Preparation of Nanostructured Film, International Journal of Science, Engineering and Technology Research (IJSETR); 2016 Volume 5, Issue 5: 1378-1383.
8. วราวุฒิ พุทธให้. 2546 การเตรียมและศึกษาคุณลักษณะของเยื่อบางไคโตซานและเยื่อประกอบอีเทอร์ซัลโฟน/ ไคโตซานเพื่อทำแผ่นเยื่อกรองระดับอัลตรา.