การสกัดไคตินและไคโตซานจากกระดองปูนา

(Chitin And Chitosan's Extraction From The Crab Shells)

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

[1]ภาควิชาวิทยาศาสตร์พื้นฐาน คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสุรินทร์
E-mail: w.prapussorn@gmail.com[*]

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}

***คำสำคัญ**: กระดองปู ไคติน ไคโตซาน*

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 were used for the extraction of chitin. Pure chitosan products was yield is obtained 25.00 g (12.50 %w/w). The chitin and chitosan is synthesized and analysed by FTIR based on the interpretation of the spectrogram. The results was found that a peak of the carbonyl group (C=O) absorption at 1666.4 cm^{-1}, –N-H (Bending) absorption at 1558.4 cm^{-1} of chitin, chitosan was found a peak of –N-H (Bending) absorption at 1596.9 cm^{-1}

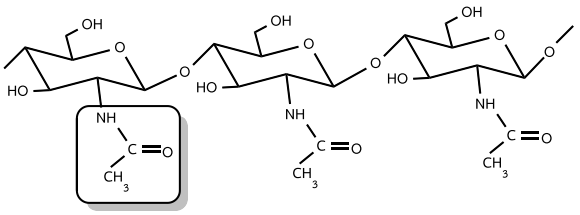
***Keywords**: Crab shells, Chitin, Chitosan*

บทนำ

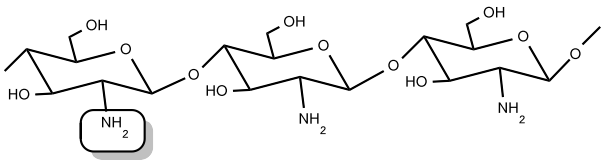
ประเทศไทยนับว่าเป็นเมืองแห่งพืชพันธุ์ธัญญาหารบริบูรณ์ ประชากรส่วนใหญ่ประกอบอาชีพเกษตรกรรมเป็นอาชีพหลัก โดยเฉพาะอย่างยิ่งอาชีพทำนา สามารถพบมากในภาคกลาง ภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ แต่ปัญหาโดยส่วนใหญ่ของชาวนาคือปัญหาด้านศัตรูพืชที่มักมาทำลายต้นข้าวให้ได้รับความเสียหาย ส่งผลให้ได้ผลผลิตต่ำลง ซึ่งเกษตรกรส่วนใหญ่แก้ปัญหาโดยการใช้สารเคมีเพื่อป้องกันและกำจัดศัตรูพืช รัฐบาลจึงมีนโยบายลดการใช้สารเคมีทางการเกษตรลง โดยกระตุ้นให้เกษตรกรใช้สารธรรมชาติในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชเพิ่มมากขึ้น และกำหนดไว้ในแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ ฉบับที่ 11 (พ.ศ. 2555 - 2559) รวมทั้งสนับสนุนการใช้สารชีวภาพให้มากขึ้น เพื่อลดต้นทุนการผลิต และสร้างความปลอดภัยในสุขภาพของผู้ผลิตและผู้บริโภค รวมทั้งลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมได้อีกด้วย ปูนานับว่าเป็นศัตรูพืชที่สำคัญอีกชนิดหนึ่งในนาข้าว มักทำลายต้นข้าวโดยไปกัดกินในส่วนของลำต้นกล้าข้าว ทำให้ต้นกล้าข้าวไม่โตหรือตายในที่สุด นับได้ว่าสร้างปัญหาให้กับเกษตรกรเป็นอย่างมาก การแพร่ระบาดของปูนาได้สร้างความเสียหายต่อพื้นที่นาข้าวทั่วทุกภาคของประเทศ เกษตรกรโดยส่วนใหญ่จึงใช้วิธีกำจัดโดยการใช้สารเคมี จนก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและนิเวศวิทยาในนาข้าว และอาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพของชาวนาเอง แต่ในอีกมุมหนึ่งปูนานับว่าเป็นสัตว์ที่มีประโยชน์เช่นกัน เนื่องจากปูนาสามารถนำมาประกอบอาหารได้เพราะมีโปรตีนสูง ส่วนกระดองปูนาคนส่วนใหญ่ไม่นิยมรับประทาน เนื่องจากเป็นส่วนโครงสร้างที่แข็ง จึงเป็นของเหลือทิ้ง

ไคตินเป็นสารโพลิเมอร์ชีวภาพ (Biopolymer) ที่พบมากเป็นอันดับสองของโลกรองจากเซลลูโลส ซึ่งเป็นองค์ประกอบอยู่ในเปลือกนอกของสิ่งมีชีวิตหลายชนิด เช่น เปลือกหอย ปู กุ้ง ปลาหมึก เปลือกของแมลง และพบได้ในผนังเซลล์ของเห็ด รา และ สาหร่ายบางชนิด มีลักษณะโดดเด่นเฉพาะตัว คือ เป็นวัสดุชีวภาพ (Biometerials) ย่อยสลายตามธรรมชาติ มีความปลอดภัยในการนำมาใช้กับมนุษย์ ไม่เกิดผลเสียและปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม ไคตินจัดเป็นสารคาร์โบไฮเดรตเช่นเดียวกับแป้งและเซลลูโลส โครงสร้างทางเคมีประกอบด้วยน้ำตาลโมเลกุลเล็กๆ ที่เรียกว่า N-Acetyl glucosamine ต่อกันเป็นสายยาว เกิดเป็นโครงสร้างที่ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายได้ในกรดอนินทรีย์ เช่น กรดเกลือ กรดกำมะถัน กรดฟอสฟอริก และกรดฟอร์มิกที่ปราศจากน้ำ (สุธิดา, 2552)

ไคโตซาน เป็นอนุพันธ์ที่ได้จากไคติน ด้วยการเปลี่ยนแปลงทางเคมีจากปฏิกิริยาการกำจัดหมู่อะซีติล (Acetyl Group) ของไคตินออกไปโดยปฏิกิริยาที่เรียกว่า Deacetylation ทำให้โครงสร้างของไคตินที่เป็น N-Acetyl Glucosamine กลายเป็น Glucosamine กล่าวคือไคตินจะมีหมู่อะเซตาไมด์ (Acetamide) แต่ไคโตซานจะมีหมู่อะมิโน (Amino) (สุธิดา, 2552) ไคตินและไคโตซานไม่ละลายน้ำ แต่ละลายได้ในกรดอินทรีย์บางชนิด เช่น กรดอะซีติก กรดออกซาลิก และละลายในกรดอนินทรีย์บางชนิด เช่น HCl H_2SO_4 HNO_3 เป็นต้น (Arbia et al., 2013) ไคโตซานได้จากกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของไคติน โดยการกำจัดแร่ธาตุต่างๆด้วยกรดแก่และเบสแก่ที่อุณหภูมิสูง (Gadgey & Bahekar, 2017) ซึ่งกรดแก่ที่สามารถเป็นรีเอเจนต์ได้ ได้แก่ HCl, HNO_3, H_2SO_4, CH_3COOH และ HCOOH แต่กรดที่เหมาะสมที่สุด คือ HCl (Khanafari et al., 2008) ส่วนเบสแก่ที่นิยมใช้เป็นรีเอเจนต์ คือ NaOH ทำหน้าที่ดึงโปรตีนออกจากไคตินและทำภายใต้สภาวะอุณหภูมิสูงเพื่อกำจัดหมู่อะซีติล (deacetylation) และตัดสายพอลิเมอร์ของไคตินให้สั้นลง (depolymerisation) (Kalut, 2008) จะได้สารไคโตซาน



รูปที่ 1 โครงสร้างของไคติน



รูปที่ 2 โครงสร้างของไคโตซาน

ไคโตซานสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้หลายด้าน เช่น ด้านการเกษตร ใช้เคลือบเมล็ดพันธุ์เพื่อกำจัดศัตรูพืช ใช้เป็นสารฆ่าแมลงเพื่อต่อต้านและกำจัดเชื้อรา ใช้ในการปรับสภาพดินเพื่อเพิ่มความพรุนในดิน ใช้เป็นสารเร่งการเจริญเติบโตของพืช และใช้ในการรักษาคุณภาพผลผลิตทางการเกษตร โดยการนำไคโตซานไปเคลือบผิวของผักและผลไม้ นอกจากนี้ไคโตซานยังสามารถจับตัวเป็นไฟเบอร์ หรือเป็นเยื่อบางๆ ที่สามารถเคลือบติดกับผิวของผักและผลไม้ได้ (ธิดารัตน์ และสัญญา (2553) ด้านสิ่งแวดล้อมมีการใช้ไคโตซานเป็นสารตกตะกอน ชีวภาพ (Bioflocculant) ในการบำบัดน้ำเสียจากอุตสาหกรรมอาหาร สามารถลดความขุ่นปริมาณตะกอนแขวนลอย ตลอดจนค่า BOD และCOD ลงได้ ทำให้น้ำมีคุณภาพดีขึ้น หรือการใช้ไคติน-ไคโตซานเป็นตัวจับไอออนโลหะในน้ำทิ้ง เช่น ไอออนของปรอท ทองแดง ตะกั่ว แคดเมียม เป็นต้น ด้านอุตสาหกรรมอาหารปัจจุบันไคโตซานมีการผลิตออกจำหน่ายอย่างแพร่หลายในรูปของอาหารเสริมเพื่อลดคอเลสเตอรอลและควบคุมน้ำหนัก จากสมบัติของไคโตซานในด้านการยับยั้งเชื้อจุลชีพ เช่น แบคทีเรีย เชื้อรา ซึ่งนำมาใช้ประโยชน์ในด้านการถนอมอาหาร เช่น ในการเก็บรักษาเนื้อปลา เครื่องปรุงรสอาหาร หรือใช้เป็นฟิล์มห่อหุ้มเพื่อถนอมอาหาร เป็นต้น ด้านเครื่องสำอางไคโตซานเป็นสารประเภท Non Toxic Polyelectrolyte ที่มีประโยชน์ต่อการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง ทั้งนี้เพราะประจุบวกของหมู่แอมโนเนียม (NH_3^+) ที่เรียงรายอยู่บนโครงสร้างของไคโตซานจะมีความว่องไวต่อการจับกับผิวหนังและเส้นผมที่ประกอบด้วยสาร Mucopolysaccharides โปรตีน และไขมันที่มีประจุลบได้เป็นอย่างดี ไคโตซานที่เคลือบอยู่นี้จะก่อตัวเป็นฟิล์มบางๆ พร้อมกับดูดซับความชื้นและไขมันเอาไว้จึงช่วยรักษาความชุ่มชื้นและความยืดหยุ่นให้แก่ผิวหนังและเส้นผม (สุธิดา, 2552)

จากประโยชน์ของไคโตซานดังกล่าวข้างต้น ผู้วิจัยจึงเล็งเห็นการนำเอากระดองปูนาที่เป็นของเหลือทิ้งมาสกัดเป็นไคโตซาน เนื่องจากในกระดองปูนามีสารไคโตซานที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ โดยพบว่ากระดองปูประกอบด้วยไคติน 25-30% โปรตีน 25% และแคลเซียมคาร์บอเนต 40-50 % (Pandharipande, & Bhagat, 2016) และนอกจากนี้ยังสามารถแก้ปัญหาการกัดกินต้นข้าวของปูนา ปัญหาการใช้สารเคมีเพื่อนำมากำจัดศัตรูพืชในนาข้าว ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจที่จะสกัดไคตินและไคโตซานจากกระดองปูนาซึ่งเป็นของเหลือทิ้งให้กลับมามีประโยชน์ ด้วยกระบวนการการกำจัดแร่ธาตุต่างๆภายใต้สภาวะกรดแก่และเบสแก่และกำจัดสีด้วยสารละลายเอทานอล จะได้ไคตินที่มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว เหนียว และไม่ละลายน้ำ และนำเอาไคตินไปกำจัดหมู่อะซีทิล จะได้สารไคโตซานมีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว และละลายได้ดีในกรดอ่อน แล้วจึงนำสารละลายไคโตซานไปใช้ประโยชน์ต่อไป

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีดำเนินการวิจัย

วัตถุดิบ

1. กระดองปูนาเหลือใช้

สารเคมี

1. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)
2. กรดไฮโดรคลอริก (HCl)
3. กรดแอซิติก (CH_3COOH)
4. เอทานอล (C_2H_5OH)
5. โพแทสเซียมโบรไมด์ (KBr)

เครื่องมือ

1. เครื่อง Fourier Transform Infrared Spectrophotometer (FTIR)

วิธีการเตรียมสารเคมี

1. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 4% (w/v)

เตรียมโดยการชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์หนัก 4.00 กรัมในบีกเกอร์ แล้วละลายด้วยน้ำกลั่นเล็กน้อย ใช้แท่งแก้วคนจนสารละลายหมด จากนั้นเทสารที่อยู่ในบีกเกอร์ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลาย NaOH ความเข้มข้น 4% (w/v)

2. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 40% (w/v)

เตรียมได้โดยการชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์มาจำนวน 40.00 กรัมในบีกเกอร์ ละลายด้วยน้ำกลั่นเล็กน้อย ใช้แท่งแก้วคนจนสารละลาย จากนั้นเทสารละลายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลาย NaOH ความเข้มข้น 40% (w/v)

3. กรดไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้น 4% (v/v)

จาก Stock ของกรดไฮโดรคลอริก (HCl) มีความเข้มข้นเท่ากับ 36% (v/v) เตรียมได้โดยการปิเปตกรดไฮโดรคลอริกมา 11.00 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร (เทกรดลงในน้ำ) ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 4% (v/v) HCl

4. กรดแอซิติก (CH_3COOH) **ความเข้มข้น** 0.1 M

จาก Stock ของกรดแอซิติก (CH_3COOH) มีความเข้มข้นเท่ากับ 99.7% เตรียมได้โดยการปิเปตกรดแอซิติกมา 6.00 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร (เทกรดลงในน้ำ) ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1000 มิลลิลิตร จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 0.1 M CH_3COOH

การเตรียมวัตถุดิบ

1. นำปูนามาล้างให้สะอาด แล้วนำไปต้มในน้ำเดือดประมาณ 2 นาที
2. แกะเอาเฉพาะกระดองปู แล้วล้างเอาเนื้อและอวัยวะภายในออกจากกระดองให้สะอาด
3. นำกระดองปูนาไปตากแดดให้แห้ง จะได้ตัวอย่างกระดองปูนา

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การสกัดไคตินและไคโตซาน

1. 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)
2. ล้างกระดองปูนาด้วยน้ำสะอาด และตากกระดองปูนาให้แห้ง
3. นำกระดองปูนาที่ผ่านกระบวนการกำจัดโปรตีนมาแช่ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 4% (v/v) เป็นเวลา 2 คืน หลังจากนั้นเทสารละลายทิ้ง แล้วเติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกใหม่เพื่อแช่กระดองปูนาซ้ำอีก 2-3 ครั้ง จนกว่าจะไม่มีแคลเซียมคาร์บอเนตหลงเหลืออยู่ (สังเกตการณ์ได้จากไม่มีฟองแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เกิดขึ้น) เพื่อกำจัดแร่ธาตุต่างๆ (Demineralisation) และล้างออกด้วยเอทานอลเข้มข้น 95% (v/v) เพื่อกำจัดสี (Decoloration) ของกระดองปูนา แล้วจึงนำเปลือกกระดองปูนาไปตากให้แห้ง
4. นำเปลือกกระดองปูนาที่ได้มาบดพอละเอียด แล้วนำไปชั่งด้วยเครื่องชั่ง จะได้ไคติน
5. กระบวนการดึงหมู่อะซีทิล (Deacetylation) โดยการนำไคตินมาต้มกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 40% (w/v) เป็นเวลา 3-4 ชั่วโมง อุณหภูมิ 100-120 องศาเซลเซียส
6. หลังจากนั้นให้ล้างออกไคตินด้วยน้ำสะอาด นำไปตากให้แห้ง แล้วนำมาบดให้ละเอียด และชั่งน้ำหนักจะได้ไคโตซานบริสุทธิ์

2. การทดสอบความบริสุทธิ์ของสารไคโตซาน (ทางกายภาพ)

1. ชั่งไคโตซานหนัก 0.5 กรัม ละลายในกรดแอซิติก ความเข้มข้น 5% (v/v) ปริมาตร 10 mL คนให้เข้ากัน จะได้สารละลายไคโตซาน

2. เติมน้ำยาล้างจาน ปริมาตร 10 mL ลงในสารละลายไคโตซาน แล้วคนให้เข้ากัน

3. สังเกตความบริสุทธิ์ของสารไคโตซาน หากเป็นไคโตซานที่บริสุทธิ์ไคโตซานจะจับตัวกันเหมือนไข่ขาว แต่ถ้าเป็นไคโตซานไม่บริสุทธิ์จะไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง

3. การตรวจสอบหมู่ฟังก์ชันโดยใช้เทคนิค FTIR Spectrophotometry

1. บดสารมาตรฐานไคโตซานให้ละเอียด

2. ผสมสารมาตรฐานไคโตซานเข้ากับ KBr ในโกร่งบดสาร โดยให้มีความเข้มข้นประมาณ 0.01 เปอร์เซ็นต์ (ใส่สารมาตรฐานไคโตซานน้อยกว่าสาร KBr) และบดสารให้ละเอียด โดยให้มีการกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ

3. ใส่สารมาตรฐานไคโตซานที่บดแล้วลงในแม่พิมพ์ และนำไปอัดด้วยเครื่องอัดไฮดรอลิก ให้มีความดันประมาณ 15000 ทิ้งไว้ 1-2 นาที

4. ถอดตัวประกบแม่พิมพ์ออก สารมาตรฐานไคโตซานจะติดอยู่ที่แม่พิมพ์ มีลักษณะเป็นวงกลมใส และสารมาตรฐานไคโตซานจะกระจายอยู่บน KBr แล้วนำสารมาตรฐานไคโตซานเข้าเครื่อง FTIR ได้

5. ทำการทดลองซ้ำจากข้อ 1-4 โดยเปลี่ยนจากสารมาตรฐานไคโตซานเป็นไคตินและไคโตซานจากตัวอย่างกระดองปูนา

ผลการวิจัย

1. **การสกัดไคตินและไคโตซานจากกระดองปูนา**

ตารางที่ 1 ผลการสกัดไคตินและไคโตซาน

ปริมาณกระดองปูนาแห้ง (กรัม)	ปริมาณไคตินที่สกัดได้		ปริมาณไคโตซานที่สกัดได้	
	น้ำหนัก (กรัม)	% โดยน้ำหนัก	น้ำหนัก (กรัม)	% โดยน้ำหนัก
200	32.27	16.14	25.00	12.50

จากตารางที่ 1 พบว่าเมื่อนำกระดองปูนาที่ตากแห้งมา 200 กรัม โดยผ่านกระบวนการกำจัดโปรตีน กำจัดแร่ธาตุ และกำจัดสี ตามลำดับ จะได้ไคตินหนัก 32.27 กรัม คิดเป็นเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักเท่ากับ 16.14 และเมื่อนำไคตินไปกำจัดหมู่อะซีทิล จะได้ไคโตซานหนัก 25.00 กรัม คิดเป็นเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักเท่ากับ 12.50 ตามลำดับ

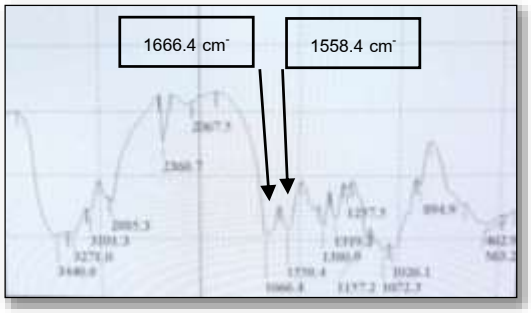
(ก) ไคติน (Chitin) (ข) ไคโตซาน (Chitosan)

รูปที่ 3 ไคตินและไคโตซานที่สกัดได้จากกระดองปูนา

จากรูปที่ 3 (ก) แสดงลักษณะทางกายภาพของสารไคติน และ (ข) แสดงไคโตซานที่สกัดได้จากกระดองปูนา พบว่าไคตินมีลักษณะเป็นของแข็ง สีขาว เป็นแผ่นเหนียวคล้ายเยื่อกระดาษ ไม่ละลายน้ำ และตัวทำละลายอินทรีย์ ส่วนลักษณะของไคโตซาน คือ เป็นของแข็ง สีขาว เนื้อละเอียด ไม่เหนียว และไม่ละลายน้ำ แต่สามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายที่เป็นกรดอินทรีย์และกรดอนินทรีย์ที่เจือจางบางชนิด เช่น CH_3COOH HNO_3 HCl เป็นต้น

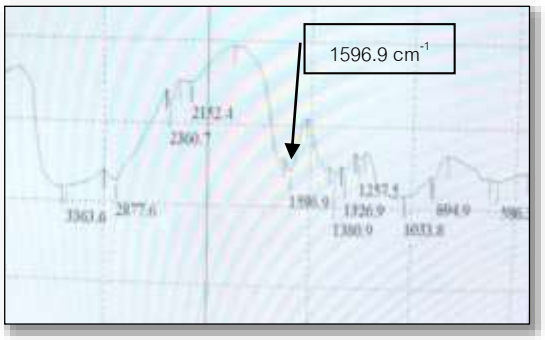
2.ผลการตรวจสอบหมู่ฟังก์ชันโดยใช้เทคนิค FTIR Spectrophotometry

ผลการตรวจสอบหมู่ฟังก์ชันโดยใช้เครื่อง FTIR Spectrophotometer โดยทำการตรวจสอบหมู่ฟังก์ชันของไคตินและและไคโตซานจากตัวอย่างกระดองปูนา เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานไคโตซาน จากการตรวจสอบ พบ Spectrogram ของไคตินและไคโตซานจากตัวอย่างกระดองปูนา ดังแสดงในรูปที่ 4 รูปที่ 5 และรูปที่ 6 ดังนี้



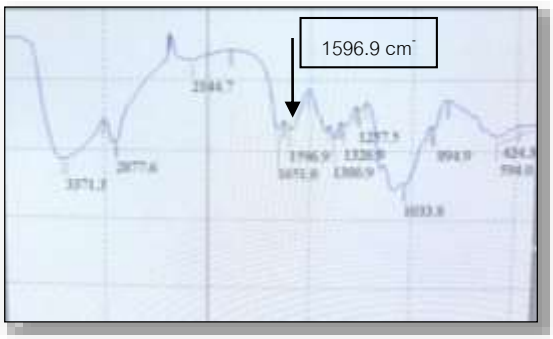
รูปที่ 4 FTIR spectrogram ของไคติน

จากรูปที่ 4 จะเห็นได้ว่า Spectrogram ของไคติน จะเกิดที่หมู่ฟังก์ชันของคาร์บอนิล C=O ของโมเลกุลเอไมด์ ในเลขคลื่น 1666.4 cm^{-1} และพบหมู่ฟังก์ชัน –N-H (Bending) ของโมเลกุลเอไมด์ ในเลขคลื่น 1558.4 cm^{-1}



รูปที่ 5 FTIR Spectrogram ของไคโตซานจากตัวอย่างกระดองปูนา

จากรูปที่ 5 พบว่า Spectrogram ของไคโตซานจากตัวอย่างกระดองปูนา พบที่พันธะ –N-H (Bending) ของโมเลกุลเอมีน ในเลขคลื่น 1596.9 cm^{-1} ซึ่งตรงกับ spectrogram ของสารมาตรฐานไคโตซาน



รูปที่ 6 FTIR spectrogram ของสารมาตรฐานไคโตซาน

จากรูปที่ 6 พบว่า spectrogram ของสารมาตรฐานไคโตซานบริสุทธิ์ พบที่หมู่ฟังก์ชัน –N-H (Bending) ในเลขคลื่น 1596.9 cm^{-1}

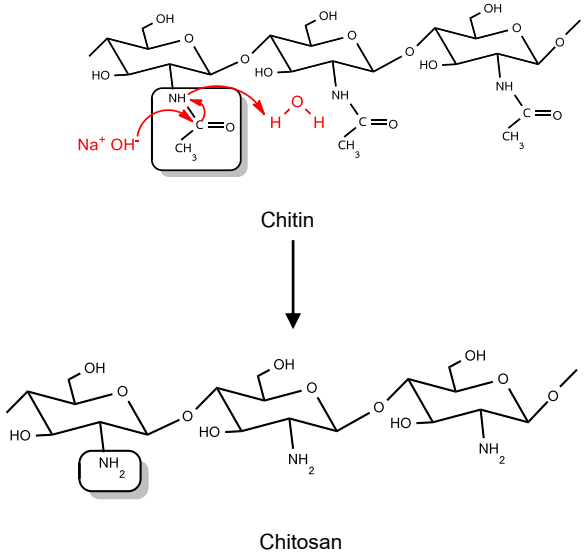
อภิปรายผล

การนำกระดองปูนาที่ตากแห้งมาสกัดผ่านกระบวนการกำจัดโปรตีนด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ กำจัดแร่ธาตุด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น และกำจัดสีด้วยสารละลายเอทานอล โดยในกระบวนการกำจัดโปรตีนนั้นจะต้องใช้ระยะเวลานาน 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 จากผลการวิจัยพบว่ากระดองปูนาที่ผ่านกระบวนการกำจัดโปรตีน แร่ธาตุ และสี รวมทั้ง 3 ขั้นตอน ผลที่ได้จะได้ไคตินออกมาก่อน ซึ่งไคตินที่ได้จะมีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว (รูปที่ 3 ก) เหนียว และไม่ละลายน้ำ หลังจากนั้นจึงเข้าสู่กระบวนการเปลี่ยนไคตินให้เป็นไคโตซาน โดยการนำเอาไคตินที่สกัดได้ไปกำจัดหมู่อะซีทิลด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ไคโตซานบริสุทธิ์ ซึ่งในกระบวนการนี้ต้องใช้ความระมัดระวัง เนื่องจากสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์มีความเข้มข้นมาก เมื่อให้ความร้อนสูงจะเกิดปฏิกิริยาที่รุนแรง เพราะกระบวนการกำจัดหมู่อะซีทิลต้องใช้ความร้อนสูงเท่านั้นจึงจะสามารถดึงหมู่อะซีทิลออกได้หมด จากผลการวิจัย

ทำให้ได้สารไคโตซานที่มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว (รูปที่ 3 ข) เนื้อละเอียด ไม่เหนียว และสามารถละลายได้ดีในกรดอินทรีย์ เช่น กรดอะซิติก ไคตินและไคโตซานที่ได้มีลักษณะทางกายภาพที่แตกต่างกัน คือ แผ่นของไคตินจะมีความเหนียวและหนากว่าไคโตซาน จากการวิจัยสามารถสรุปได้ว่าเมื่อผ่านกระบวนการทางเคมีโครงสร้างของไคตินจะเปลี่ยนไปเป็นโครงสร้างของไคโตซานได้ ดังรูปที่ 7



รูปที่ 7 การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างจากไคตินเป็นไคโตซาน

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

ไคติน เป็นพวกโพลิแซคคาไรด์และเป็นโพลิเมอร์ชีวภาพ สารไคตินจะมีหมู่อะเซตาไมด์ ($NH\text{-}CO\text{-}CH_3$) เกาะอยู่ ไคตินมีพันธะ C=O ของโมเลกุลเอไมด์ ค่าการดูดกลืนในช่วงเลขคลื่น 1870-1650 cm^{-1} และมีพันธะ -N-H (Bending) ของโมเลกุลเอไมด์ มีค่าการดูดกลืนในช่วงเลขคลื่น 1640-1550 cm^{-1} จากการตรวจสอบหมู่ฟังก์ชันโดยใช้เครื่อง FTIR Spectrophotometer จะเห็นได้ว่า Spectrogram ของไคติน (รูปที่ 4) จะเกิดที่หมู่ฟังก์ชันคาร์บอนิล (C=O) ที่เลขคลื่น 1666.4 cm^{-1} และพบที่หมู่ฟังก์ชัน –N-H (Bending) มีค่าการดูดกลืนในเลขคลื่น 1558.4 cm^{-1} แสดงว่าสารที่ได้นั้นจัดเป็นไคติน ส่วนไคโตซาน เป็นอนุพันธ์ของไคติน ซึ่งไคตินจะมีหมู่อะเซทาไมด์ ($NH\text{-}CO\text{-}CH_3$) เมื่อดึงหมู่อะซีทิลออกจะทำให้หมู่อะเซทาไมด์ของไคตินเปลี่ยนไปเป็นหมู่อะมิโน ($\text{-}NH_2$) ของไคโตซาน และไคโตซานมีพันธะ -N-H (Bending) ของโมเลกุลเอมีน มีค่าการดูดกลืนในช่วงเลขคลื่น 1640-1550 cm^{-1} จากการตรวจสอบหมู่ฟังก์ชันโดยใช้เทคนิค FTIR Spectrophotometry พบว่า spectrogram ของไคโตซาน (รูปที่ 5) เกิดขึ้นที่หมู่ฟังก์ชัน –N-H (Bending) มีค่าการดูดกลืนในเลขคลื่น 1596.9 cm^{-1} แสดงว่าสารที่ได้นั้นจัดเป็นไคโตซาน เมื่อนำ Spectrogram ของไคโตซานจากกระดองปูนาตัวอย่าง (รูปที่ 5) ไปเปรียบเทียบกับ Spectrogram ของไคโตซานมาตรฐาน (รูปที่ 6) พบว่าเกิดที่หมู่ฟังก์ชัน –N-H (Bending) มีค่าการดูดกลืนในเลขคลื่น 1596.9 cm^{-1} เดียวกัน ทำให้สรุปได้ว่าสารที่สกัดได้จากตัวอย่างกระดองปูนาจัดเป็นสารไคโตซาน

สรุปผลการวิจัย

จากการสกัดไคตินและไคโตซานจากกระดองปูนา โดยวิธีทางเคมีภายใต้สภาวะการเติมกรดแก่และเบสแก่ ที่อุณหภูมิสูง โดยการนำกระดองปูนาที่ตากแห้งแล้วมากำจัดโปรตีนด้วยการต้มในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส จากนั้นนำกระดองปูนาที่ผ่านกระบวนการกำจัดโปรตีนมาแช่ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเพื่อกำจัดแร่ธาตุ และล้างด้วยเอทานอลเพื่อกำจัดสีของเปลือกกระดองปูนา จะได้ไคติน จากนั้นทำการดึงหมู่อะซีทิลออกโดยการนำไคตินมาต้มกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เป็นเวลา 3-4 ชั่วโมง ด้วยอุณหภูมิ 100-120 องศาเซลเซียส นำไปตากให้แห้งจะได้ไคโตซานบริสุทธิ์

จากการตรวจสอบหมู่ฟังก์ชันโดยใช้เทคนิค FTIR Spectrophotometry โดยการบดสารตัวอย่าง ไคโตซานที่ได้จากกระดองปูนาตัวอย่าง และไคโตซานมาตรฐานให้มีความละเอียด แล้วผสมกับ KBr จากนั้นนำไปตรวจสอบหมู่ฟังก์ชัน พบว่า Spectrogram ของไคตินจะเกิดที่หมู่ฟังก์ชันคาร์บอนิล C=O ดูดกลืนในเลขคลื่น 1666.4 cm^{-1} และพบที่หมู่ฟังก์ชัน –N-H (Bending) ดูดกลืนในเลขคลื่น 1558.4 cm^{-1} ส่วน FTIR Spectrogram ของไคโตซาน พบที่หมู่ฟังก์ชันของ –N-H (Bending) ดูดกลืนในเลขคลื่น 1596.9 cm^{-1} ซึ่งไคโตซานที่สกัดได้นั้นเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม สามารถย่อยสลายได้เองตามธรรมชาติ จึงไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อม

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 และห้องปฏิบัติการการทดลอง สำหรับงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

ธิดารัตน์ เอกสิทธิกุล และสัญญา กุดั่น. (2553). **การประยุกต์ใช้ไคโตซานในการเพิ่มผลผลิตและคุณค่าทางอาหารของเห็ดนางรม.** กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยรามคำแหง.

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

Khanafari, A., Marandi, R., & Sanatei, S. (2008). Recovery of chitin and chitosan from shrimp waste by chemical and microbial methods. **Iran J. Environ. Health Sci. Eng,** 5: 19-24.

Kalut, S. (2008). Enhancement of degree of deacetylation of chitin in chitosan production, **B. Chemical Engineering**. University Malaysia Pahang.

Gadgey, K., & Bahekar, A. (2017). Studies on extraction methods of chitin from crab shell and investigation of its mechanical properties. **International Journal of Mechanical Engineering and Technology (IJMET)**, **8**(2): 220-231.

Pandharipande, S.L., & Bhagat, P.H. (2016). Synthesis of Chitin from Crab Shells and its Utilization in Preparation of Nanostructured Film**, International Journal of Science, Engineering and Technology Research (IJSETR), 5**(5): 1378-1383.

Arbia, W., Arbia, L., Adour, L., & Amrane, A. (2013). Chitin Extraction from Crustacean Shells Using Biological Methods. **Food Technol. Biotechnol**, 51(1): 12-25.