



# รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

สมบัติเชิงหน้าที่ของไคตินและไคโตแซนต่อการ  
ประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร

Functional Properties of Chitin and Chitosan

Applicable to Food Products

โดย

รองศาสตราจารย์ ดร. ไพรัตน์ โสภโณดร  
อาจารย์สืบทักดี กลิ่นสอน

ทุนสนับสนุนจากงบประมาณแผ่นดิน ปีงบประมาณ 2547-2548

(ตุลาคม 2546 – กันยายน 2548)

## บทคัดย่อ

การศึกษาปัจจัยการผลิตไคตินและไคโตแซนจากเปลือกกุ้งกุลาดำ (*Panaeus monodon*) โดยกระบวนการทางเคมีโดยไม่ใช้ความร้อน พบว่าสภาวะการผลิตที่เหมาะสม ประกอบด้วยการกำจัดโปรตีนจากเปลือกกุ้งด้วยสารละลายด่างเข้มข้นร้อยละ 4 โดยน้ำหนัก ที่ อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำการกำจัดเกลือแร่จากเปลือกกุ้งที่ผ่านการกำจัดโปรตีน ด้วยสารละลายกรด ไฮโดรคลอริกเข้มข้นร้อยละ 6 โดยน้ำหนัก ที่ อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เมื่อทำการผลิตเป็นไคโตแซนโดยการกำจัดหมู่อะซิติลจากไคตินด้วยการแช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก อัตราส่วนไคตินที่สะเด็ดน้ำต่อสารละลายด่าง 1:10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2-8 วัน โดยพบว่าระยะเวลาการกำจัดหมู่อะซิติลที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ( $p < 0.05$ ) ขณะที่น้ำหนักโมเลกุลของไคโตแซนมีค่าเพิ่มขึ้นในช่วงแรกแล้วมีค่าลดลง เช่นเดียวกับความชื้นหนืดของไคโตแซนที่เพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการกำจัดหมู่อะซิติลเป็นเวลา 3-6 วัน ( $p < 0.05$ ) และลดลงเมื่อระยะเวลาการกำจัดหมู่อะซิติลนานขึ้นถึง 7-8 วัน

การศึกษาผลของการกำจัดหมู่อะซิติลและน้ำหนักโมเลกุลของไคโตแซนที่ผลิตโดยไม่ใช้ความร้อนต่อสมบัติเชิงหน้าที่บางประการของไคโตแซนและระบบอิมัลชัน โดยทำการผลิตไคโตแซนที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิติลต่างกัน (ร้อยละ 78.55 83.41 และ 86.98) และมีน้ำหนักโมเลกุลต่างกัน (419.22 943.54 และ 1326.74 กิโลดาลตัน) ผลการทดลองพบว่าความหนืดของสารละลายไคโตแซนมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อระดับการกำจัดหมู่อะซิติลลดลง และเมื่อความเข้มข้นและน้ำหนักโมเลกุลของไคโตแซนเพิ่มขึ้น นอกจากนี้พบว่าไคโตแซนที่ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 86.98 น้ำหนักโมเลกุล 419.22 กิโลดาลตัน มีความสามารถในการจับน้ำสูงสุด เท่ากับร้อยละ 688.25 ความสามารถในการจับไขมันสูงสุด เท่ากับร้อยละ 590.23 และค่าสมมูลของหมู่ที่ชอบน้ำกับหมู่ที่ชอบไขมันสูงสุด เท่ากับ 50.71 อิมัลชันที่เตรียมจากสารละลายไคโตแซนเข้มข้นร้อยละ 1.5 และ 2.0 ที่อัตราส่วนระหว่างสารละลายไคโตแซนต่อน้ำมันพืช 9:1 มีค่าความคงตัวของอิมัลชันสูงที่สุด ส่วนผลของระดับการกำจัดหมู่อะซิติล และน้ำหนักโมเลกุลของไคโตแซนต่อสมบัติการเกิดอิมัลชัน พบว่าไคโตแซนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 419.22 กิโลดาลตัน ระดับการกำจัดหมู่อะซิติล ร้อยละ 86.98 ที่ความเข้มข้นของไคโตแซนร้อยละ 2.0 มีขนาดอนุภาคเม็ดไขมันขนาดเล็กประมาณ 8-10 ไมครอน มีความสามารถในการเกิดอิมัลชันและมีความคงตัวสูงที่สุด

ไคตินรูปผลึกขนาดเล็กที่ผลิตได้โดยการใช้กรดอะซิติลเป็นตัวย่อยสลายมีระดับการกำจัดหมู่อะซิติลสูงกว่าไคตินรูปผลึกขนาดเล็กที่ใช้กรดไฮโดรคลอริกและกรดฟอสฟอริก ( $p < 0.05$ ) ไคตินรูปผลึกขนาดเล็กที่ใช้กรดไฮโดรคลอริกในการย่อยสลายนี้น้ำหนักโมเลกุล 133-272 กิโลดาลตัน ซึ่งเล็กกว่าไคตินรูปผลึกขนาดเล็กที่ใช้กรดฟอสฟอริกและกรดอะซิติลที่มีน้ำหนักโมเลกุล 191-382 และ 351-581 กิโลดาลตัน ตามลำดับ และพบว่าไคตินรูปผลึกขนาดเล็กที่มีขนาดน้ำหนักโมเลกุลต่ำจะส่งผลให้ไคตินมีความสามารถในการก่ออิมัลชันได้ดี และมีการกระจายตัวของเม็ดไขมันที่ดี เม็ดไขมันมีขนาดเล็ก ปริมาณมากและมีขนาดสม่ำเสมอ ผลของไคตินรูปผลึกขนาดเล็กและแซนแทนกัม ต่อคุณลักษณะของมายองเนส พบว่าการเติมไคตินรูปผลึกขนาดเล็กและแซนแทนกัม ปริมาณสูงขึ้นมีผลให้มายองเนสมีการกระจายตัวของอนุภาคของเม็ดไขมันสูงขึ้น ( $p < 0.05$ ) แต่มายองเนสที่เติมแซนแทนกัมมีการกระจายตัวของอนุภาคของเม็ดไขมันสูงกว่ามายองเนสที่เติมไคตินรูปผลึกขนาดเล็ก ( $p < 0.05$ )

มายองเนสที่เติมโคตินรูปผลึกขนาดเล็กในปริมาณแตกต่างกันได้รับคะแนนการยอมรับด้านลักษณะเนื้อสัมผัสต่ำกว่ามายองเนสที่เติมแซนแทนกัมในปริมาณแตกต่างกัน ( $p < 0.05$ ) การเติมปริมาณแซนแทนกัมและโคตินรูปผลึกขนาดเล็กที่สูงขึ้น มีผลให้คะแนนการยอมรับทางด้านลักษณะความข้นหนืดมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น

การศึกษาปัจจัยการผลิตคาร์บอกซีเมทิลโคโตแซน ซึ่งประกอบด้วยการทำปฏิกิริยากับโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Alkalization) และการทำปฏิกิริยากับกรดโมโนคลอโรอะซิติก (Carboxymethylation) พบว่าการใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เข้มข้นเพิ่มขึ้น มีผลทำให้น้ำหนักโมเลกุลของคาร์บอกซีเมทิลโคโตแซนมีแนวโน้มที่ลดลง ( $p < 0.05$ ) การเพิ่มระยะเวลาของการ Alkalization มีผลทำให้น้ำหนักโมเลกุลมีแนวโน้มที่สูงขึ้น และการใช้ระยะเวลาในการ Carboxymethylation เพิ่มขึ้น ทำให้น้ำหนักโมเลกุลของคาร์บอกซีเมทิลโคโตแซนเพิ่มสูงขึ้น การใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 40 โดยน้ำหนัก ทำให้ระดับของการกำจัดหมู่อะซิติกของคาร์บอกซีเมทิลโคโตแซนมีค่าสูงสุด ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ ระยะเวลาการทำปฏิกิริยากับด่าง และระยะเวลาการทำปฏิกิริยาคาร์บอกซีเมทิลเลชันเพิ่มขึ้น มีผลทำให้ Degree of substitution (DS) ของหมู่คาร์บอกซีเมทิลในคาร์บอกซีเมทิลโคโตแซนมีแนวโน้มสูงขึ้น คาร์บอกซีเมทิลโคโตแซนที่เตรียมได้มีความหนืดอยู่ในช่วง 6.30 – 25.42 เซ็นติพอยต์ ค่า HLB ของสารละลายคาร์บอกซีเมทิลโคโตแซนอยู่ในช่วงระหว่าง 5.99 – 8.35 ซึ่งมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามการเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ อิมัลชันที่เติมคาร์บอกซีเมทิลโคโตแซนที่เตรียมจากโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 50 ปริมาตรร้อยละ 1 มีปริมาณเม็ดไขมันที่สูงกว่า อิมัลชันที่เติมคาร์บอกซีเมทิลโคโตแซนที่เตรียมจากโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 30 และ 40 การเพิ่มระยะเวลาของปฏิกิริยาคาร์บอกซีเมทิลเลชันมีผลทำให้อิมัลชันที่ผลิตได้มีแนวโน้มของปริมาณเม็ดไขมันเพิ่มขึ้น

ผลของคาร์บอกซีเมทิลโคโตแซนที่มีต่อสมบัติของมายองเนส พบว่ามายองเนสที่เตรียมด้วยการเติมสารเพิ่มความคงตัวต่างกัน 2 ชนิด คือ คาร์บอกซีเมทิลโคโตแซน และแซนแทนกัม มีลักษณะภายนอกเป็นสีขาวครีม ผิวเนื้อละเอียดไม่เกิดการแยกตัวของไขมันและน้ำเมื่อทิ้งไว้ให้คงตัวเป็นเวลา 12 ชั่วโมง มายองเนสที่เติมคาร์บอกซีเมทิลโคโตแซนในปริมาณมากกว่าร้อยละ 0.5 และแซนแทนกัมในปริมาณมากกว่าร้อยละ 0.10 มีความหนืดสูงกว่ามายองเนสชุดควบคุมที่ไม่เติมสารเพิ่มความคงตัว

## Abstract

Production of chitin and chitosan from Black Tiger shrimp shell (*Panaeus monodon*) by chemical method without heat treatment were carried out to study the effect of some processing parameters on characteristics and properties of chitin and chitosan. The optimum conditions consisted of deproteinization with 4% NaOH for 48 h at room temperature and then demineralization with 6% HCl for 72 h at RT. The resulted chitin was further deacetylated with 50% NaOH for 6-8 day at RT. The longer deacetylation gave the higher degree of deacetylation (DD). Where as molecular weight and viscosity of chitosan increased at early period and then decreased after 7-8 days of deacetylation.

Effect of degree of deacetylation (DD) and molecular weight (MW) of chitosan produced without heat treatment on their characteristics and properties as well as on properties of emulsion were studied using chitosans produced under the optimum conditions from previous experiment without heat treatment to obtain different degree of deacetylation (78.55, 83.41 and 86.98%) and different molecular weights (419.22, 943.54 and 1326.74 KDa). It was found that viscosity of chitosan solution increased with the decrease in degree of deacetylation and the increase of chitosan concentration and molecular weight. The highest water binding capacity (688.25%), fat binding capacity (590.23%) and hydrophilic lipophilic balance (50.71) was found in chitosan with the molecular weight of 419.22 KDa and 86.98% degree of deacetylation. The chitosan solution (1.5 and 2.0%) mixed with vegetable oil at the ratio of 9:1 showed the highest emulsion stability. Chitosan with the molecular weight of 419.22 KDa, 86.98% degree of deacetylation and 2% chitosan concentration had the small size of oil droplet (8-10 micron) resulted in the highest emulsion activity and highest emulsion stability. However, it had the lowest emulsion viscosity.

Microcrystalline chitin (M-chitin) produced by acetic acid hydrolysis had higher degree of deacetylation than those by hydrochloric and phosphoric acids hydrolysis whereas acid concentration and hydrolysis time did not significantly affected. M-chitin from acetic acid hydrolysis also had smaller molecular weight (133-272 KDa) than those from hydrochloric and phosphoric acids. The M-chitin with lower MW could be used for emulsion preparation with better emulsion capacity and more consistency oil droplets. Adding of M-chitin as well as xanthan gum could enhance oil droplets distribution in mayonnaise. The mayonnaise product with M-chitin showed less oil droplets distribution and texture acceptance than those contained xanthan gum.

Modification of chitosan into carboxymethyl chitosan (CM-chitosan) was carried out under different alkalization conditions (alkali concentration, time) and carboxymethylation time. Using higher NaOH concentration resulted in the decrease of CM-chitosan's molecular weight. But longer alkalization time and carboxymethylation time could increase the molecular weight of CM-chitosan. The increase in NaOH concentration, alkalization time and carboxymethylation time resulted in the increase of degree of substitution

(DS) of carboxymethyl group. The prepared CM-chitosan showed 6.30-25.42 centipoise viscosity, 5.99-8.35 HLB value and trended to increase with the increase of NaOH concentration. Emulsion with 1% CM-chitosan from 50% NaOH exhibited more oil droplet than those with CM-chitosan from 30 and 40% NaOH. Carboxymethylation for longer period also gave more oil droplet

Addition of CM-chitosan and xanthan gum into mayonnaise resulted in smooth and creamy white appearance with no fat separation after leaving for 12 h. Mayonnaise with more than 0.5% CM-chitosan or 0.1% xanthan gum showed higher viscosity than those without CM-chitosan or xanthan gum.

---