# รายงานการวิจัย

เรื่อง

## แนวทางการสกัดและการใช้ประโยชน์ไคโตแซนจากเปลือกและหัวกุ้ง

## Conversion and Utilization of Chitosan from Prawn Shell and Head

โดย

ถวย
เลขหมู่ QH345.2 W94 2534
เลขทะเบียน 030127
25 ก.ย. 2534

ไพรัตน์ โสภโณดร
วรรมา ชูฤทธิ์
เสาวลักษณ์ จิตรบรรเจิดกุล

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะทรัพยากรธรรมชาติ
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่

2534

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนทุนอุดหนุนจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประเภททั่วไป ปีงบประมาณ 2532 และสำนักงบประมาณหมวดเงินอุดหนุนการวิจัยพื้นฐาน ปีงบประมาณ 2533

# บทคัดย่อ

จากแนวโน้มการขยายตัวของอุตสาหกรรมการแปรรูปกุ้งในประเทศไทยที่เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ปริมาณวัสดุจำพวกเปลือกและหัวกุ้งจำนวนมากมาย ก่อให้เกิดปัญหามลภาวะเป็นพิษ จึงได้มีการศึกษาหาแนวทางการเปลี่ยนจากวัสดุเหลือใช้ให้เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าเพิ่มมากขึ้น ซึ่งนอกจากจะช่วยแก้ปัญหามลภาวะเป็นพิษแล้ว ยังอาจเพิ่มรายได้ให้กับผู้ประกอบการอุตสาหกรรมด้วย แนวทางการใช้ประโยชน์จากเปลือกและหัวกุ้งที่ได้รับความสนใจจากผู้ประกอบการและมีความเป็นไปได้สูง คือ การสกัดไคตินและไคโตแซนเพื่อประโยชน์ต่ออุตสาหกรรมหลายชนิด แต่เนื่องจากในประเทศไทยยังไม่มีการผลิตในระดับอุตสาหกรรม รวมทั้งมีความแตกต่างของกระบวนการผลิตและชนิดของวัตถุดิบ ส่งผลให้คุณภาพของผลิตภัณฑ์มีความแตกต่างกัน ดังนั้นการวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษากระบวนการผลิตไคตินและไคโตแซนจากเปลือกกุ้งที่เหมาะสม วิเคราะห์องค์ประกอบและคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์เปรียบเทียบกับไคตินและไคโตแซนทางการค้า และศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของไคตินและไคโตแซนระหว่างการเก็บรักษา

ผลการศึกษาวิจัย พบว่า สามารถสกัดไคตินและไคโตแซนจากเปลือกกุ้งแชบ๊วย (Panaeus indicus) ได้อย่างมีประสิทธิภาพโดยการกำจัดโปรตีนในเปลือกกุ้งแห้งที่ผ่านการบดให้มีขนาด 1.4-2.0 มม. ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น ร้อยละ 2.0 (น.น./ปริมาตร) ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง โดยใช้อัตราส่วนระหว่างเปลือกกุ้งและสารละลายด่างเท่ากับ 1 : 10 (น.น./ปริมาตร) แล้วทำการกำจัดแร่ธาตุด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1.25 นอร์มอล ที่อุณหภูมิห้อง ( 27-30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง โดยใช้อัตราส่วนระหว่างเปลือกกุ้งที่กำจัดโปรตีนแล้วและ สารละลายกรดเท่ากับ 1 : 10 (น.น./ปริมาตร) ผลผลิตไคตินที่ได้มีปริมาณร้อยละ 26.84 เมื่อเทียบจากน้ำหนักเปลือกกุ้งอบแห้ง และมีลักษณะเป็นเกล็ดสีเหลืองนวล ประกอบด้วยไคตินร้อยละ 96.15 ไนโตรเจนร้อยละ 6.80 และเถ้าร้อยละ 0.18 สำหรับไคโตแซนสามารถผลิตได้จากไคตินที่สกัดได้จากเปลือกกุ้งแชบ๊วยโดยการกำจัดหมู่อะซิติลด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 50 (น.น./น.น.) ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส อัตราส่วนระหว่างไคตินและสารละลายด่างเท่ากับ 1 : 15 (น.น./ปริมาตร) ภายใต้สภาวะสุญญากาศเป็นเวลา 30 นาที ไคโตแซนที่ผลิตได้มีปริมาณร้อยละ 21.04 เมื่อเทียบจากน้ำหนักเปลือกกุ้งอบแห้ง และมีลักษณะเป็นเกล็ดสีเหลืองจาง มีความมันวาว ประกอบด้วยไนโตรเจนร้อยละ 7.80 และเถ้าร้อยละ 0.29 สามารถละลายได้ดีในกรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 2 และมีความหนืด 10,183 เซนติพอยส์

จากผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพของไคตินและไคโตแซนที่ผลิตได้เปรียบเทียบกับไคตินและไคโตแซนจากบริษัท Fluka ประเทศสวิสเซอร์แลนด์ พบว่าไคตินจากเปลือกกุ้งแชบ๊วยมีองค์ประกอบเคมี ความชื้น เถ้า และไนโตรเจน ในปริมาณที่ต่ำกว่า แต่มีปริมาณไคตินสูงกว่าไคตินจากบริษัท Fluka สำหรับไคโตแซนจากเปลือกกุ้งแชบ๊วย พบว่ามีองค์ประกอบทางเคมีใกล้เคียงหรือดีกว่า แต่สามารถละลายในสารละลายกรดอะซิติกแล้วให้ค่าความหนืดสูงกว่าของไคโตแซนจากบริษัท Fluka จึงอาจนำไปประยุกต์ใช้ได้มากกว่า

เมื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบและคุณสมบัติของไคตินและไคโตแซนระหว่างการเก็บรักษา ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 เดือน พบว่า ปริมาณความชื้นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ในขณะที่ปริมาณไนโตรเจนในไคตินเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย ส่วนความหนืดซึ่งใช้เป็นดัชนีบ่งชี้คุณสมบัติของไคโตแซนมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ตลอดระยะเวลาเก็บรักษา

---

# Abstract

Continuously increasing of prawn processing industry in Thailand produced enormous amount of wastes causing waste handling and pollution problems. Thus,producers are searching for cost-effective disposal method or viable utilization of those wastes. Conversion of waste material into valued marketable products not only increases production efficiency and profitability but also reduces waste disposal problems

Development on potential utilization of prawn head and shell into chitin and chitosan has been interested among producers. Although research has shown the possibility in production of chitin and chitosan,there is no chitin/chitosan production industry in Thailand, probably dued to a lot of variation in production method and source of raw material. Therefore,this research work was aimed to produce chitin and chitosan from prawn shell and examine both chemical and physical properties and storage stability of the products.

The results showed that Banana prawn shell (Penaeus indicus) could be used for chitin production by extracting the dried shell ground to 1.4-2.0 mm. particle size with 2.0% NaOH (w/v) at 100 °C for 1 h with a solids to alkali solution ratio of 1 : 10 (w/v), further demineralization with 1.25 N HCl at ambient temperature for 1 h with a solids to acid solution ratio of 1 : 10 (w/v). The yield was 26.84% (dry basis). The chitin was white-yellow flakes and contained 96.15% chitin, 6.80% nitrogen and 0.18% ash. To produce chitosan, chitin was deacetylated properly with 50% NaOH (w/w) at 100 °C with a ratio of solids to alkali solution 1 : 15 (w/v) under vacuum for 30 min. The obtained chitosan was 21.04% yield based on

dried shell and characterized with shiny pale-yellow flakes and represented 7.80% nitrogen and 0.29% ash. It could be smoothly dissolved in 2% acetic acid and had a viscosity of 10,183 cps.

Chemical analysis showed that chitin from Banana prawn shell contained moisture, ash and nitrogen lower than those in chitin from "Fluka" . But higher chitin content and solubility were found in chitin from Banana prawn shell. Although the chemical compositions of chitosan from Banana prawn shell were comparable to those in chitosan from "Fluka" ,the solution of chitosan from Banana prawn shell in acetic acid achieved superior viscosity to solution of chitosan from "Fluka".

Storage stability studies showed that there were some changes in composition and property of chitin and chitosan during storage for 3 months at ambient temperature. The moisture content of both samples was significantly increased ($p < 0.05$) whereas the nitrogen content of chitin was slightly decreased. Viscosity used as an indicator of chitosan property showed a significant decrease ($p < 0.05$) during storage.

# สารบัญ


| | หน้า |
|---|---|
| สารบัญตาราง | ก |
| สารบัญการรูป | ข |
| บทนำ | 1 |
| การตรวจเอกสาร | 3 |
| ลักษณะโครงสร้างของไคตินและไคโตแซน | 3 |
| คุณสมบัติของไคตินและไคโตแซน | 4 |
| การผลิตไคตินและไคโตแซนทางเคมี | 4 |
| แหล่งวัตถุดิบ | 4 |
| การเตรียมวัตถุดิบ | 7 |
| การกำจัดโปรตีน | 7 |
| การกำจัดแร่ธาตุ | 11 |
| การฟอกสี | 13 |
| การกำจัดหมู่อะซิติล | 13 |
| ปัจจัยที่มีผลต่อคุณสมบัติของไคโตแซน | 15 |
| การผลิตไคตินและไคโตแซนทางชีวภาพ | 20 |
| จุลินทรีย์และการเลี้ยงจุลินทรีย์ที่เป็นแหล่งของไคโตแซน | 20 |
| การสกัดไคโตแซนจากจุลินทรีย์ | 21 |
| การใช้ประโยชน์ไคตินและไคโตแซน | 21 |
| ด้านการเกษตร | 22 |
| ด้านการแพทย์และเภสัชวิทยา | 22 |
| ด้านอุตสาหกรรมอาหาร | 22 |
| ด้านเทคโนโลยีชีวภาพ | 26 |
| ด้านอื่น ๆ | 27 |

สารบาญ (ต่อ)


| | หน้า |
|---|---|
| วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ | 29 |
| ผลและวิจารณ์ | 34 |
| สรุปและข้อเสนอแนะ | 55 |
| เอกสารอ้างอิง | 56 |
| ภาคผนวก ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ | 65 |

# สารบาญตาราง


| ตารางที่ | | หน้า |
|---|---|---|
| 1 | ปริมาณไคตินในสัตว์และราบางชนิด | 5 |
| 2 | ปริมาณไคตินและโปรตีนในเปลือกของสัตว์จำพวกปูและกุ้งบางชนิด | 8 |
| 3 | ผลของขนาดเปลือกกุ้งต่อคุณสมบัติของไคโตแซน | 16 |
| 4 | ผลของการกำจัดแร่ธาตุต่อความหนืดของไคโตแซน | 17 |
| 5 | องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกกุ้งแชบ๊วย | 35 |
| 6 | ประสิทธิภาพการกำจัดโปรตีนจากเปลือกกุ้งแชบ๊วย | 37 |
| 7 | ปริมาณเถ้าในไคตินจากเปลือกกุ้งแชบ๊วย | 38 |
| 8 | ปริมาณไคตินในไคตินจากเปลือกกุ้งแชบ๊วย | 39 |
| 9 | ค่าความหนืดของสารละลายไคโตแซนที่ผลิตภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน | 43 |
| 10 | องค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพของไคติน | 45 |
| 11 | องค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพของไคโตแซน | 48 |
| 12 | ปริมาณแร่ธาตุบางชนิดในเปลือกกุ้ง ไคตินและไคโตแซนจากเปลือกกุ้งแชบ๊วย | 50 |
| 13 | ปริมาณความชื้นและไนโตรเจนของไคตินจากเปลือกกุ้งแชบ๊วยในระหว่างการเก็บรักษา | 51 |
| 14 | ปริมาณความชื้นและค่าความหนืดของไคโตแซนจากเปลือกกุ้งแชบ๊วยในระหว่างการเก็บรักษา | 53 |

# บทนำ

อุตสาหกรรมสัตว์น้ำแช่เยือกแข็งของไทย มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งผลิตภัณฑ์กุ้งแช่เยือกแข็ง ซึ่งมีการผลิตเพื่อการส่งออกหลายรูปแบบด้วยกัน คือ กุ้งเด็ดหัว ติดเปลือก ติดหาง, กุ้งเด็ดหัวปอกเปลือก ติดหาง, กุ้งเด็ดหัวปอกเปลือก ติดหาง ผ่าหลัง, กุ้งเด็ดหัวปอกเปลือก ปอกหาง และกุ้งเด็ดหัว ปอกเปลือก ปอกหาง ผ่าหลัง ปริมาณที่ส่งออกในปี 2533 คิดเป็นปริมาณ 77,600 ตัน มีมูลค่าถึง 17,878 ล้านบาท

ในการแปรรูปกุ้งดังกล่าวจะก่อให้เกิดวัสดุเหลือใช้ที่สำคัญได้แก่ หัว เปลือก ส่วนของหางและท้อง ที่ไม่ได้ใช้ประโยชน์จำนวนมากคิดเป็นร้อยละ 40-80 ของน้ำหนักกุ้งสด ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดและขนาดของกุ้ง, กรรมวิธีในการผลิต และชนิดของผลิตภัณฑ์ เพราะฉะนั้นในปี 2533 พบว่ามีปริมาณของเปลือกและหัวกุ้งที่ไม่ได้ใช้ประโยชน์อยู่สูงถึงกว่า 46,560 ตัน เมื่อนำวัสดุเหลือใช้เหล่านี้มาตากแห้งจะให้ผลผลิตร้อยละ 85-90 ของน้ำหนักแห้ง และพบองค์ประกอบหลักที่สำคัญ คือ โปรตีน ไคติน และแคลเซียมคาร์บอเนต (Heinrich,1981 ; Narkviroj, 1987)

ดังนั้นจึงมีการศึกษาวิธีการนำวัสดุเหลือใช้จากการแปรรูปกุ้งไปใช้ให้เกิดประโยชน์และเพิ่มมูลค่าวัสดุเหลือใช้เหล่านั้นเช่น ใช้เป็นอาหารสัตว์ (Oke, et al., 1978; Austin, et al. 1981) ใช้เป็นปุ๋ย (Ismail and Madhavan, 1970) ใช้ผลิตเปปโตน (Stephens, et al., 1976; Suryanarayana Rao, et al., 1980; Narkviroj, 1987) ใช้ผลิตข้าวเกรียบ (Burkholder, et al. 1966; Narkviroj, 1987) ใช้ผลิตไส้กรอก (Meyers, 1987) ใช้ผลิตโปรตีนเซลล์เดียว (Carroad and Tom, 1978; Revah-Moiseev and Carroad, 1981; Cosio, et al., 1982)

ส่วนการใช้ประโยชน์ที่ได้รับความสนใจจากผู้ประกอบการอุตสาหกรรมแปรรูปสัตว์น้ำในปัจจุบันนี้อีกแนวทางหนึ่งคือ การผลิตไคตินและไคโตแซน ทั้งนี้เนื่องจากมีความเป็นไปได้สูงและเป็นการเพิ่มรายได้ให้กับผู้ประกอบการอีกทางหนึ่ง แต่เนื่องจากข้อมูลเกี่ยวกับไคตินและไคโตแซนในประเทศไทยมีอยู่น้อย รวมทั้งกระบวนการผลิตในทางอุตสาหกรรมและชนิดของวัตถุดิบแตกต่างกันมากมายส่งผลต่อคุณภาพของไคตินและไคโตแซนที่แตกต่างกัน ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาถึงรายละเอียดในการผลิตสารทั้งสองชนิดให้เหมาะสมกับวัตถุดิบในท้องถิ่นเพื่อให้การผลิตเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพตลอดจนหาแนวทางการนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมได้อย่างเหมาะสม

**วัตถุประสงค์ของโครงการ**

1. ศึกษากรรมวิธีที่เหมาะสมในการสกัดไคตินและไคโตแซนจากเปลือกกุ้ง
2. ทดสอบคุณภาพและคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์ที่ได้
3. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของไคตินและไคโตแซนในระหว่างการเก็บรักษา

**ขอบเขตของการวิจัย**

ทำการศึกษาการสกัดไคตินและไคโตแซนจากเปลือกกุ้งแชบ๊วย (Panaeus indicus) จากโรงงานแปรรูปกุ้ง (บริษัทห้องเย็นโชติวัฒน์ จำกัด อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา) ในห้องปฏิบัติการภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ หาดใหญ่

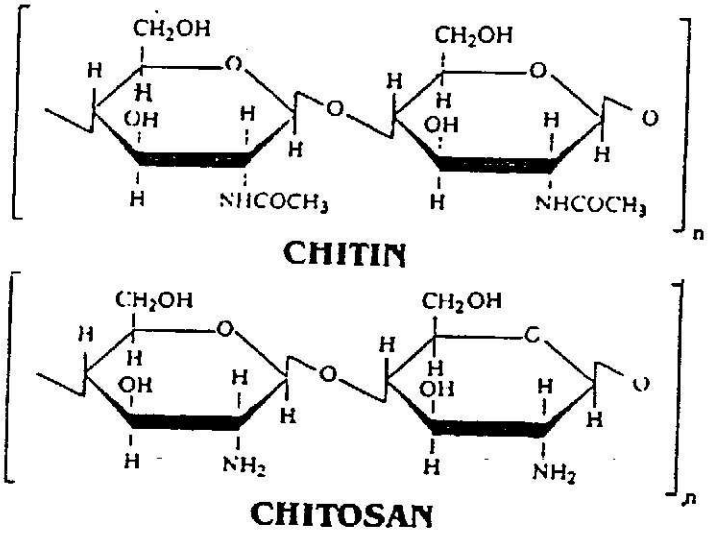
**ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย**

1. สามารถผลิตไคตินและไคโตแซนจากเปลือกกุ้งได้อย่างมีประสิทธิภาพ
2. ทำให้ได้แนวทางในการนำวัสดุเหลือใช้จากอุตสาหกรรมสัตว์น้ำมาใช้ประโยชน์ ลดปัญหามลภาวะ และเพิ่มรายได้ให้กับผู้ประกอบการอุตสาหกรรม
3. สามารถนำเอาผลิตภัณฑ์ที่ได้กลับมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมหลายชนิด

# การตรวจเอกสาร

ลักษณะโครงสร้างของไคตินและไคโตแซน

ไคตินเป็นพอลิเมอร์ของกลูโคส ซึ่งเชื่อมต่อกันโดยพันธะไกลโคซิดิก (glycosidic) ชนิด B-1,4 เกิดเป็นโครงสร้างของโมเลกุลที่มีลักษณะเป็นเส้นตรงยาวเช่นเดียวกับเซลลูโลส แต่ตำแหน่งของคาร์บอนตัวที่ 2 จับกับกลุ่มอะซิติลเอมีน ($-NHCOCH_3$) ดังนั้นไคตินจึงเป็นพอลิเมอร์ของ N-acetyl-2-amino-2-deoxy-B-D-glucopyranose หรือ N-acetyl-glucosamine (Conrad, 1965) (รูปที่ 1)




รูปที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของไคตินและไคโตแซน
ที่มา : Conrad (1965)

ส่วนไคโตแซนเป็นอนุพันธ์ของไคตินที่เกิดจากการแยกหมู่อะซิติล (deacetylation) ออกจากไคตินเกิดเป็นหมู่อะมิโนอิสระที่สามารถรับโปรตอนและทำให้พอลิเมอร์ที่ได้มีประจุรวมเป็นบวก ด้วยเหตุนี้ไคโตแซนจึงมีคุณสมบัติที่ละลายได้ในสารละลายหลายชนิดซึ่งมีพีเอชในช่วงที่เป็นกรดต่ำกว่า 5.5 (Filar and Wirick, 1978) และทำให้การใช้ประโยชน์ของไคโตแซนสูงกว่าไคติน

**คุณสมบัติของไคตินและไคโตแซน**

ไคตินบริสุทธิ์มีสีขาว ไม่ละลายน้ำ กรดอ่อน ด่างอ่อน ด่างแก่ และตัวทำละลายอินทรีย์ส่วนใหญ่ แต่ละลายในกรดฟอร์มิกบริสุทธิ์ สารละลายไฮโปคลอไรท์และกรดแร่เข้มข้น (Conrad, 1965) นอกจากนี้ยังพบว่าสารละลาย N,N-dimethylacetamide (DMAc)-5% LiCl และ N-methyl-2-pyrrolidone (NMP)-5% LiCl สามารถละลายไคตินโดยไม่มีผลทำลายโครงสร้างของไคติน (Rutherford and Austin, 1978)

ไคโตแซนจึงสามารถละลายได้ในสารละลายหลายชนิด ได้แก่ สารละลายกรดอินทรีย์เจือจาง เช่น กรดฟอร์มิก กรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก กรดออกซาลิก กรดมาโลนิก กรดซัคซินิก กรดอะดิพิก กรดแลกติก กรดไพรูวิก กรดมาลิก กรดทาร์ทาริก และกรดซิตริก นอกจากนี้สามารถละลายในกรดไนตริก กรดไฮโดรคลอริกเจือจางและกรดเปอร์คลอริก และละลายได้เล็กน้อยในกรดฟอสฟอริก แต่ไม่ละลายในกรดซัลฟูริก ไคโตแซนไม่ละลายน้ำ แต่สามารถละลายได้ในรูปเกลือของกรดหลายชนิด ยกเว้นเกลือซัลเฟตและเกลือซัลไฟท์ ไคโตแซนไม่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ทั่วไป แต่ละลายในสารพอลิออลที่มีสภาพเป็นกรด เช่น ละลายในส่วนผสมระหว่างกลีเซอรอลและน้ำ (3 : 1) ที่มีกรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 1.0 (Filar and Wirick, 1978; Kienzle-Sterzer, et al., 1982; Anonymous, 1989)

คุณสมบัติอีกประการหนึ่งของสารละลายไคโตแซนคือ ความหนืดซึ่งจะมีค่ามากหรือน้อยขึ้นกับปัจจัยหลายประการ เช่น น้ำหนักและโครงสร้างของโมเลกุล อัตราส่วนความเข้มข้นระหว่างไคโตแซนและกรด เป็นต้น (Anonymous, 1989)

**การผลิตไคตินและไคโตแซนทางเคมี**

<u>แหล่งวัตถุดิบ</u>

ไคตินเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของเปลือกนอกและกระดองของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังโดยเฉพาะในสัตว์ขาปล้องซึ่งมีไคตินเป็นองค์ประกอบในส่วนเคลือบผิว (cuticle) ถึงร้อยละ 80 (Jeuniaux, 1978) และเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของผนังเซลล์ของรา (Ruiz-Herrera, 1978) และอาจพบรวมกับเซลลูโลสในผนังเซลล์ของพืช (Knorr, 1984) ปริมาณไคตินจะแตกต่างไปตามชนิดของสิ่งมีชีวิต (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ปริมาณไคตินในสัตว์และราบางชนิด

| Type | Chitin Content (%) | Type | Chitin Content (%) |
|---|---|---|---|
| **Crustacea** | | **Molluscan Organs** | |
| Cancer (crab) | 72.1[c] | Clam shell | 6.1 |
| Carcinus (crab) | 0.4-3.3[a] | Oyster shell | 3.6 |
| | 8.29[b] | Squid, skeletal pen | 41.0 |
| | 64.2[c] | Krill, deproteinized shell | 40.2±5.2 |
| | | **Insects** | |
| Paralithodes (King crab) | 35[b] | May beetle | 16[b] |
| Callinectes (blue crab) | 14[a] | Diptera (true fly) | 54.8[c] |
| Pleuroncodes (red crab) | 1.3-1.8[b] | Pieris (sulfur butterfly) | 60[c] |
| Crangon (shrimp) | 5.8[b] | Grasshopper | 2-4[a] |
| | 69.1[c] | | 20[c] |
| Alaskan shrimp | 28[d] | Bombyx (silkworm) | 44.2[c] |
| Nephrops (lobster) | 69.8[c] | | |
| | 6.7[b] | Calleria (Wax worm) | 33.7[c] |
| Homarus (lobster) | 60.8-77.0[c] | | |
| Lepas (barnacles) | 58.3[c] | | |

ตารางที่ 1 (ต่อ)

| Type | Chitin Content (%) | Type | Chitin Content (%) |
|---|---|---|---|
| Insects (continued) | | Fungi | |
| Periplaneta (cockroach) | 2.0[c] | Aspergillus niger | 42.0[e] |
| | | Penicillium notatum | 18.5[e] |
| Platella (cockroach) | 18.4[c] | Penicillium chrysogenium | 20.1[e] |
| | 10[b] | Saccharomyces cerevisiae (baker's yeast) | 2.9[e] |
| | 35[c] | | |
| Colcoptera (beetle) | 5-15[b] | | |
| | 27-35[c] | Mucor rouxii | 44.5 |
| Tenebrio (beetle) | 2.1[a] | Lactarius vellereus (mushroom) | 19.0 |
| | 4.9[b] | | |
| | 31.3[c] | | |

[a] Wet body weight

[b] Dry body weight

[c] Organic weight of cuticle

[d] Total dry weight of cuticle

[e] Dry weight of the cell wall

ที่มา : Knorr (1984)

วัตถุดิบที่นิยมใช้ในการผลิตไคตินและไคโตแซนในทางอุตสาหกรรม คือ เปลือกของสัตว์จำพวกกุ้ง (crustacean) เช่น กุ้ง ปู กั้ง และเคย ปริมาณไคตินที่พบแตกต่างตามชนิดของวัตถุดิบเมื่อเทียบจากน้ำหนักแห้ง Anderson และคณะ (1978) พบว่าวัสดุเหลือใช้จากเคยมี

ไคติน ร้อยละ 24 ส่วน Ashford และคณะ (1977) รายงานว่ามีไคตินในเศษกุ้งและปูในช่วงร้อยละ 14-27 และ 13-15 ตามลำดับ นอกจากนี้ No และคณะ (1989) พบว่ามีไคตินในเปลือกกั้งร้อยละ 23.5

นอกจากไคตินแล้วเปลือกของสัตว์จำพวกกุ้งยังประกอบด้วยองค์ประกอบที่สำคัญ 2 ชนิด คือ โปรตีนและแคลเซียมคาร์บอเนต (Green and Kramer, 1979) โปรตีนนั้นเป็นองค์ประกอบที่ก่อให้เกิดการเน่าเสียของเปลือกกุ้งสดอันเป็นผลจากจุลินทรีย์และเอนไซม์จากเปลือกกุ้ง การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีนจากสาเหตุดังกล่าวมีผลให้สูญเสียคุณสมบัติการตกตะกอนของโปรตีนที่จุดไอโซอิเล็กทริก นอกจากนี้ยังมีผลต่อการสูญเสียหมู่เอมีน (Deamination) ในไคตินทำให้ไคโตแซนที่ได้มีโมเลกุลเล็กลงและสูญเสียคุณสมบัติการละลาย เพื่อป้องกันปัญหาดังกล่าวจึงควรปฏิบัติดังนี้คือ

1. โรงงานผลิตไคตินและไคโตแซนควรตั้งอยู่ใกล้แหล่งวัตถุดิบ
2. รักษาคุณภาพของวัตถุดิบโดยการทำแห้งหรือแช่เยือกแข็ง การแช่วัตถุดิบที่ผ่านการบดในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เจือจางสามารถป้องกันการเน่าเสียและยืดอายุการเก็บส่วนการกำจัดโปรตีนออกจากส่วนเปลือกให้เหลือในปริมาณต่ำสามารถป้องกันการเน่าเสียได้ (Green and Kramer, 1979)

<u>การเตรียมวัตถุดิบ</u>

ไคตินอาจสกัดจากเปลือกกุ้งสด (Madhavan and Ramachandrannair, 1974) หรือเปลือกกุ้งที่ผ่านการตากแห้งและบด แต่วัตถุดิบที่นำมาใช้ควรผ่านการทำความสะอาดเพื่อกำจัดสิ่งสกปรกต่าง ๆ ที่ปะปนมา Bough และคณะ (1978) ได้เตรียมเปลือกกุ้งสำหรับผลิตไคโตแซนโดยอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส เวลา 20 ชั่วโมง แล้วบดให้มีขนาด 1.0 มม. ส่วน No และคณะ (1989) ทำความสะอาดวัตถุดิบด้วยน้ำร้อนแล้วทำแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เวลา 24 ชั่วโมง แล้วบดให้มีขนาด 0.5-2.0 มม.

<u>การกำจัดโปรตีน</u> (Deproteinization)

ไคตินมักอยู่รวมกับโปรตีนโดยการจับกันอย่างหลวม ๆ เช่น พันธะไฮโดรเจนหรือจับกันด้วยพันธะโคเวเลนซ์ โดยกลูโคซามีนในไคตินจับกับหมู่แอสปาติล และหมู่ฮิสติดิลของโปรตีน (Conrad, 1965) เกิดเป็นสารประกอบไกลโคโปรตีน (Austin, <u>et al</u>., 1981) อัตรา

ส่วนระหว่างไคตินและโปรตีนแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของวัตถุดิบไปตั้งแต่ 1 : 1 ถึง 20 : 1 ปริมาณไคตินและโปรตีนในเปลือกของสัตว์จำพวกกุ้ง แสดงในตารางที่ 2 เนื่องจากความแตกต่างของโครงสร้างและองค์ประกอบเป็นเหตุให้ความยากง่ายต่อการกำจัดโปรตีนแตกต่างกันออกไป

ตารางที่ 2 ปริมาณไคตินและโปรตีนในเปลือกของสัตว์จำพวกปูและกุ้งบางชนิด (ร้อยละของน้ำหนักแห้ง)

| Organism | Chitin | Total protein | Co-valently bound protein | Ratio of chitin to bound protein |
|---|---|---|---|---|
| Blue crab | 14.9 | 16.4 | 5.3 | 2.8 to 1 |
| Stone crab | 18.1 | 15.4 | 5.7 | 3.2 to 1 |
| Red crab | 27.6 | 12.3 | 3.1 | 9.0 to 1 |
| Brine shrimp | 27.2 | 34.9 | 16.0 | 1.7 to 1 |
| Horseshoe crab | 26.4 | 73.4 | 27.9 | 0.9 to 1 |

ที่มา : Austin และคณะ (1981)

การกำจัดโปรตีนอาจกระทำก่อนหรือหลังการกำจัดแร่ธาตุ ทั้งนี้ขึ้นกับวัตถุประสงค์และผลพลอยได้ ถ้าต้องการโปรตีนเพื่อนำไปใช้ประโยชน์อื่นต่อไป ก็ควรกำจัดโปรตีนก่อนเพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากสารละลายในการกำจัดแร่ธาตุ และสามารถควบคุมปริมาณต่างในวัตถุดิบได้อย่างแน่นอน คุณภาพโปรตีนที่ได้จึงสูงสุดทั้งด้านปริมาณและคุณภาพ

การแช่เปลือกของสัตว์จำพวกกุ้งด้วยสารละลายฟอร์มาลีนในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่เป็นกลางและทำให้อิ่มตัวด้วย disodium EDTA เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง สามารถกำจัดโปรตีนที่จับอยู่กับเกลือและโปรตีนที่จับกับไคตินอย่างหลวม ๆ นอกจากนี้อาจใช้น้ำอุ่นหรือสารละลายโซเดียมซิลเฟตเข้มข้น 0.15 นอร์มอล (Austin, et al., 1981)

การกำจัดโปรตีนที่จับไคตินด้วยพันธะไฮโดรเจนนั้นอาจทำได้โดยใช้สารละลายยูเรียเข้มข้น 7 โมลาร์ ส่วนการกำจัดโปรตีนที่จับกับไคตินด้วยพันธะโคเวเลนซ์บางส่วนอาจทำได้โดย

การใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้นต่างกันตามลำดับขั้นตอน คือ สารละลายเข้มข้น 0.01 นอร์มอล อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เวลา 6 ชั่วโมง สารละลายเข้มข้น 1 นอร์มอล อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เวลา 5 ชั่วโมง และสารละลายเข้มข้น 1 นอร์มอล อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เวลา 48 ชั่วโมง (Austin, et al., 1981) ปกตินิยมใช้สารละลายต่างที่อุณหภูมิเหมาะสมเพื่อละลายโปรตีนให้อยู่ในรูปโซเดียมโปรตีเนท แต่ยังคงมีโปรตีนเหลืออยู่ แม้จะใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นและอุณหภูมิสูงสักเพียงไร

Hackman (1954) นำเปลือกกุ้งก้ามกรามที่กำจัดแร่ธาตุแล้ว แช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1 นอร์มอล ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง โดยมีการคนเป็นครั้งคราว กระทำขั้นตอนดังกล่าวซ้ำ 4 ครั้งหรือมากกว่า ล้างให้เป็นกลางด้วยน้ำ แล้วล้างไคตินด้วยแอลกอฮอล์และอีเธอร์แล้วทำแห้ง ปริมาณผลผลิตที่ได้คือ ร้อยละ 17 ผลิตภัณฑ์ประกอบด้วย ไนโตรเจน ร้อยละ 6.8 และไม่มีเถ้า

Horowitz และคณะ (1957) แช่เปลือกกุ้งก้ามกรามซึ่งผ่านการกำจัดแร่ธาตุแล้วในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 10 เป็นเวลา 2.5 ชั่วโมง บนอ่างไอน้ำ ล้างด้วยน้ำ แอลกอฮอล์และอีเธอร์ แล้วทำให้แห้งโดยลดความดัน ปริมาณผลผลิตที่ได้เท่ากับร้อยละ 60-70 เมื่อเทียบกับเปลือกที่ผ่านการกำจัดแร่ธาตุแล้ว โดยมีปริมาณไนโตรเจนในผลิตภัณฑ์เท่ากับร้อยละ 6.95

Kamasastri และ Prabhu (1961) ได้กำจัดโปรตีนในเปลือกกุ้งที่ผ่านการฟอกสีและกำจัดแร่ธาตุแล้ว โดยการกลั่นไหลกลับ (reflux) ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 5 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

Whistler และ BeMiller (1962) แช่เปลือกกุ้งก้ามกรามบดแห้ง (อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ด้วยตู้อบสุญญากาศ) ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้นร้อยละ 10 ในสภาพปราศจากอากาศ เป็นเวลา 3 วัน ที่อุณหภูมิห้อง โดยเปลี่ยนสารละลายด่างทุกวัน ล้างส่วนที่กำจัดโปรตีนแล้วให้เป็นกลาง ฟอกสีแล้วทำแห้งก่อนการกำจัดแร่ธาตุ

Takeda และ Katsuura (1964) ใช้เอนไซม์บางชนิด ที่มีคุณสมบัติย่อยโปรตีนเพื่อกำจัดโปรตีนในเปลือกกุ้งที่ผ่านการกำจัดแร่ธาตุแล้ว เช่น เอนไซม์โปรตีเนสจากปลาทูน่าที่สภาวะพีเอช 8.5 อุณหภูมิ 37.5 องศาเซลเซียส เอนไซม์ปาเปนที่สภาวะ พีเอช 5.5-6.0 อุณหภูมิ 37.5 องศาเซลเซียส หรือเอนไซม์โปรตีเนสจากแบคทีเรียที่สภาวะพีเอช 7.0 อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส โดยใช้ระยะเวลา 6 ชั่วโมง หรือมากกว่า เอนไซม์ทั้งสามชนิดให้ประสิทธิ-

ภาพการกำจัดโปรตีนใกล้เคียงกัน ผลิตภัณฑ์ไคตินมีปริมาณโปรตีนเหลือร้อยละ 5

Broussignac (1968) พบว่าการผลิตไคตินสามารถกระทำโดยกำจัดโปรตีนในเปลือกปูที่กำจัดแร่ธาตุแล้วด้วยเอนไซม์ เช่น ปาเปน เพปซิน ทริปซิน เพื่อป้องกันการสูญเสียหมู่อะซิติล แต่ถ้าต้องการผลิตไคโตแซน การกำจัดโปรตีนจะกระทำโดยแช่เปลือกปูที่กำจัดแร่ธาตุแล้วในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 5.0 ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที แล้วล้างให้เป็นกลาง

Madhavan และ Ramachandrannair (1974) ได้กำจัดโปรตีนในเปลือกกุ้งสดโดยต้มเปลือกกุ้งในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น ร้อยละ 0.5 อัตราส่วน 2 : 3 (น.น./น.น.) เป็นเวลา 30 นาที แล้วต้มในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น ร้อยละ 3 จำนวน 2 ครั้ง

Moorjani และคณะ (1975) กำจัดโปรตีนในวัสดุเหลือทิ้งของกุ้ง (Penaeus indicus หรือ Metapenaeus dobsoni) ซึ่งผ่านการกำจัดแร่ธาตุแล้ว โดยแช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น ร้อยละ 5 (อัตราส่วน 1 : 1) ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ได้ไคตินแห้ง 4 กก. จากน้ำหนักสด 100 กก.

Anderson และคณะ (1978) กำจัดโปรตีนจากเคยโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น ร้อยละ 3.5 อัตราส่วน 1 : 10 อุณหภูมิ 90-95 องศาเซลเซียส เวลา 2 ชั่วโมง

Bough และคณะ (1978) ได้กำจัดโปรตีนในเปลือกกุ้งแห้งบดโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้นร้อยละ 3 (น.น./ปริมาตร) อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เวลา 1 ชั่วโมง

Wu และ Bough (1978) ได้กำจัดโปรตีนจากเปลือกกุ้งที่ผ่านการกำจัดแร่ธาตุแล้วด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 1 อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เวลา 1 ชั่วโมง

No และคณะ (1989) ได้กำจัดโปรตีนในเปลือกกุ้งที่ผ่านการกำจัดแร่ธาตุแล้วด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น ร้อยละ 3.5 (น.น./น.น.) อัตราส่วน 1 : 10 (น.น./ปริมาตร) อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เวลา 2 ชั่วโมง และได้ตกตะกอนโปรตีนจากการสกัดไคตินด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1 นอร์มอล จนได้พีเอช 4.5 ตั้งทิ้งไว้ 3 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง แล้วเหวี่ยงด้วยแรง 16,300 g เป็นเวลา 15 นาที แล้วทำแห้งที่ 50 องศาเซล-

เซียส เวลา 8 ชั่วโมง พบว่ามีปริมาณโปรตีนร้อยละ 34.1 เถ้าร้อยละ 12.8

โปรตีนที่ละลายในสารละลายด่างสามารถนำกลับมาใช้ประโยชน์และลดปัญหามลภาวะจากน้ำทิ้งโดยปรับพีเอชให้ถึงจุดไอโซอิเล็กทริก ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเจือจางจนได้พีเอชประมาณ 4.0 (Green and Kramer, 1979)

Johnson และ Peniston (1982) ได้ปรับพีเอชสารละลายที่เหลือจากการกำจัดโปรตีนจากเศษกุ้งและปูในการสกัดไคตินให้มีค่าเท่ากับ 4.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกหรือกรดซัลฟูริก หลังจากนั้นนำโปรตีนที่ได้ไปล้างแล้วทำแห้ง พบว่ามีปริมาณโปรตีน ร้อยละ 90 เถ้าร้อยละ 5 โปรตีนที่ได้ประกอบด้วยกรดอะมิโนหลายชนิดคล้ายกับเคซีน ยกเว้นซิสตีนและเมทไธโอนีน เมื่อทดลองเลี้ยงหนูและมิงค์พบว่าให้คุณค่าทางโภชนาการที่ดีเมื่อมีการเติมเมทไธโอนีน

การกำจัดแร่ธาตุ (Demineralization)

โดยทั่วไปเปลือกของสัตว์จำพวกกุ้งมีแร่ธาตุ ร้อยละ 30-50 ขึ้นอยู่กับชนิดและปัจจัยอื่น แคลเซียมคาร์บอเนตเป็นองค์ประกอบหลักของสารอนินทรีย์ในเปลือก แต่อาจมีแคลเซียมฟอสเฟตในปริมาณ ร้อยละ 8-10 ของปริมาณสารอนินทรีย์ทั้งหมด (Johnson and Peniston, 1982)

การกำจัดแร่ธาตุอาจกระทำก่อนหรือหลังการกำจัดโปรตีน ทั้งนี้ขึ้นกับวัตถุประสงค์และผลพลอยได้ การกำจัดแร่ธาตุส่วนใหญ่นิยมใช้กรดเจือจาง เช่น กรดไฮโดรคลอริกและกรดซัลฟูริก ซึ่งจะละลายแคลเซียมคาร์บอเนตให้อยู่ในรูปแคลเซียมคลอไรด์ และเหลือไคตินซึ่งไม่ละลาย ปริมาณกรดและสภาวะต่าง ๆ ในการกำจัดแร่ธาตุขึ้นกับชนิดของวัตถุดิบและปัจจัยอื่น ๆ แต่การกำจัดแร่ธาตุที่ดีควรใช้กรดที่มีความเข้มข้นต่ำและเวลาที่เหมาะสมพร้อมกับมีการคนอย่างสม่ำเสมอ Johnson และ Peniston (1982) รายงานว่า การกำจัดแร่ธาตุที่ไม่เหมาะสมและการล้างกรดซึ่งใช้ในการกำจัดแร่ธาตุที่ไม่สมบูรณ์อาจมีผลต่อโครงสร้างของไคติน

Hackman (1954) นำเปลือกกุ้งก้ามกรามแห้งปริมาณ 220 กรัม แช่ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 2 นอร์มอล ปริมาตร 21 ลิตร ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 ชั่วโมง ล้างและทำแห้ง แล้วบดให้ละเอียด นำส่วนที่บดละเอียดปริมาณ 91 กรัม แช่ในกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 2 นอร์มอล ปริมาตร 500 มล. ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน โดยเขย่าเป็นครั้งคราว

Horowitz และคณะ (1957) นำเปลือกกุ้งก้ามกรามซึ่งผ่านการกำจัดแคลเซียมคาร์บอเนตด้วยวิธีของ Hackman (1954) ปริมาณ 10 กรัม แช่ในกรดฟอร์มิกเข้มข้นร้อยละ 90 ปริมาตร 100 มล. เวลา 18 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้องแล้วล้างให้เป็นกลาง

Kamasastri และ Prabhu (1961) ได้กำจัดแร่ธาตุในเปลือกกุ้งที่ผ่านการฟอกสีแล้วด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นร้อยละ 5 พร้อมกับคนอย่างสม่ำเสมอเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

Whistler และ BeMiller (1962) แช่เปลือกกุ้งก้ามกรามที่กำจัดโปรตีนแล้วในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นร้อยละ 37 ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เวลา 4 ชั่วโมง ล้างด้วยน้ำให้มีสภาพเป็นกลาง ผลผลิตไคตินที่ได้เท่ากับ ร้อยละ 20 มีองค์ประกอบที่สำคัญคือ เถ้าจำพวกซัลเฟตร้อยละ 0.15 และไนโตรเจนร้อยละ 7.1

Takeda และ Katsuura (1964) ได้กำจัดแคลเซียมคาร์บอเนตในเปลือกปู (King crab) ด้วย EDTA ที่พีเอช 10 ที่อุณหภูมิห้อง

Broussignac (1968) แช่เปลือกปูบด (ขนาด 1-6 มม.) ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริก (50 กรัม/ลิตร) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจสอบปริมาณเถ้าจนมีค่าร้อยละ 0.4-0.5

Madhavan และ Ramachandrannair (1974) ได้แช่เปลือกกุ้งสดซึ่งผ่านการกำจัดโปรตีนแล้วในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1.25 นอร์มอล ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง

Moorjani และคณะ (1975) กำจัดแร่ธาตุในวัสดุเหลือทิ้งของกุ้งสด โดยแช่ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นร้อยละ 5 อัตราส่วน 1 : 2 ที่อุณหภูมิห้องนาน 1 ชั่วโมง

Anderson และคณะ (1978) ได้กำจัดแร่ธาตุในเคยที่กำจัดโปรตีนออกแล้วโดยใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1.0 นอร์มอล อัตราส่วน 1 : 22 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

Bough และคณะ (1978) ใช้เปลือกกุ้งที่กำจัดโปรตีนออกแล้ว แช่ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1.0 นอร์มอล พร้อมกับคนอย่างสม่ำเสมอเป็นเวลา 30 นาที ล้างให้เป็นกลางแล้วอบที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส เวลา 3-4 ชั่วโมง

Wu และ Bough (1978) ได้กำจัดแร่ธาตุในเปลือกกุ้งปริมาณ 900 กรัม ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.5 นอร์มอล ปริมาตร 10 ลิตร

No และคณะ (1989) ได้กำจัดแร่ธาตุในเปลือกกุ้งแห้งบดโดยใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1 นอร์มอล เวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง อัตราส่วน 1 : 15 (น.น./ปริมาตร)

การฟอกสีสารประกอบไคติน

เนื่องจากในเปลือกสัตว์จำพวกกุ้งมีรงควัตถุพวกคาโรทีนอยด์ เช่น astacene, astaxanthin, canthaxanthin, lutein และ beta-carotene (Simpson, 1978) รงควัตถุเหล่านี้อาจจับกับหมู่อะมิโนของไคตินด้วยพันธะคาร์โบนิลอะมิโนทำให้ผลิตผลมีสีแตกต่างกันออกไป (Muzzarelli, 1977) ดังสมการ

$$R_2C = O + RCH_2NH_2 \longrightarrow R_2C(OH)(NHCH_2R) \longrightarrow R_2C = NCH_2R + H_2O$$

เพื่อเพิ่มการยอมรับในผลิตภัณฑ์จึงควรฟอกสีไคตินโดยใช้สารเคมีที่มีคุณสมบัติฟอกสี เช่น อะซีโตน (Kamasastri and Prabhu, 1961) ไฮโปคลอไรท์ (Madhavan and Ramachandrannair, 1974) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Brine and Austin, 1981) และเอทธิลอะซิเตท (Brzeski, 1987)

Moorjani และคณะ (1975) พบว่าการฟอกสีมีผลให้ความหนืดของไคโตแซนลดลง นอกจากนี้ขั้นตอนการฟอกสีในกระบวนการผลิตมีผลโดยตรงต่อความหนืดของไคโตแซน

การกำจัดหมู่อะซิติล (Deacetylation)

เนื่องจากคาร์บอนตำแหน่งที่ 2 ของไคตินประกอบด้วยกลุ่มอะซิติลเอมีน ($-NHCOCH_3$) โดยหมู่อะซิติลจับกับเอมีน เพื่อให้ได้สารไคโตแซนจำเป็นต้องกำจัดหมู่อะซิติลออกโดยใช้สารละลายด่างที่เข้มข้นและอุณหภูมิสูง ทั้งนี้เนื่องจากโครงสร้างของไคตินค่อนข้างแข็งแรง ความเข้มข้นด่างที่ใช้ในการกำจัดหมู่อะซิติลจากสารไคติน โดยทั่วไปอยู่ในช่วงร้อยละ 40-55 (Green and Kramer, 1979; Katsuyama, 1979)

Horowitz และคณะ (1957); Horton และ Lineback (1965) ได้ผสมไคตินปริมาณ 30 กรัม กับผงโซเดียมไฮดรอกไซด์ปริมาณ 150 กรัม ในภาชนะที่ทำด้วยนิเกิลในสภาวะ

ที่มีไนโตรเจน ให้ความร้อนอุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส เวลา 30 นาที เทส่วนที่หลอมละลายลงในแอลกอฮอล์แล้วล้างด้วยน้ำให้เป็นกลาง ทำให้บริสุทธิ์โดยละลายในสารละลายกรดฟอร์มิกเข้มข้นร้อยละ 5 แล้วจึงตกตะกอนด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ พบว่าสามารถกำจัดหมู่อะซิติลได้ร้อยละ 95

Wolfrom และคณะ (1958) นำไคตินปริมาณ 50 กรัม แช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น ร้อยละ 40 ปริมาตร 2.4 ลิตรที่อุณหภูมิ 115 องศาเซลเซียส เวลา 6 ชั่วโมง ในสภาวะที่มีไนโตรเจน กรองหลังจากทำให้เย็นแล้วล้างด้วยน้ำจนมีสภาพเป็นกลาง พบว่าสามารถกำจัดหมู่อะซิติลได้ร้อยละ 82

Broussignac (1968) ได้กำจัดหมู่อะซิติลด้วยการใช้ส่วนผสมของโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ เอทธานอล และโมโนเอทธิลีนไกลคอลในปริมาณร้อยละ 50 25 และ 25 (โดยน้ำหนัก) ตามลำดับ โดยผสมสารละลายสองชนิดหลังก่อน แล้วจึงเติมโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ เกิดปฏิกิริยาให้ความร้อนอุณหภูมิเพิ่มขึ้นเป็น 90 องศาเซลเซียส เติมไคตินปริมาณ 27 กิโลกรัม ลงในสารละลายปริมาณ 360 กิโลกรัม ในถังปฏิกิริยาที่ให้ความร้อนอุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เวลา 16 ชั่วโมง แล้วกรองและล้างให้เป็นกลาง สามารถกำจัดหมู่อะซิติลได้ร้อยละ 83 และได้ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 7 เมื่อเทียบจากน้ำหนักเริ่มต้น

Fujita (1970) ผสมไคติน 10 ส่วนกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 50 จำนวน 10 ส่วน แล้วเติมพาราฟินเหลวจำนวน 100 ส่วน กวนเป็นเวลา 2 ชั่วโมง อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส แล้วเทส่วนผสมลงในน้ำเย็นจำนวน 80 ส่วน กรองแล้วล้างด้วยน้ำจนเป็นกลาง ปริมาณผลิตภัณฑ์ไคโตแซนที่ได้เท่ากับ 8 ส่วน

Madhavan และ Ramachandrannair (1974) กำจัดหมู่อะซิติลออกจากโครงสร้างไคตินจากเปลือกกุ้งโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น ร้อยละ 50 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เวลา 2 ชั่วโมง

Moorjani และคณะ (1975) กำจัดหมู่อะซิติลโดยแช่ไคตินในสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 60 (น.น./น.น.) อัตราส่วนไคตินต่อสารละลายต่างเท่ากับ 1 : 65 ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เวลา 1 ชั่วโมง ได้ไคโตแซนแห้ง 3 กก. จากน้ำหนักวัสดุเหลือทิ้งของกุ้งสด 100 กก.

Anderson และคณะ (1978) ใช้สารละลายต่างชิ้งประกอบด้วย 53.5 กรัม โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ในเอทธานอล (เข้มข้นร้อยละ 95) ปริมาตร 48.5 มล. และเอทธิลีน

ไกลคอลปริมาณ 34.5 กรัม เพื่อกำจัดหมู่อะซิติลในไคตินจากเคยปริมาณ 8 กรัม โดยการกลั่นไหลกลับเป็นเวลา 20 ชั่วโมง

Bough และคณะ (1978) ได้ไฮโดรไลซ์หมู่อะซิติลในไคตินจากเปลือกกุ้งโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 50 (น.น./น.น.) โดยใช้อัตราส่วนด่าง : ไคติน เท่ากับ 5 : 1 ปฏิกิริยาดังกล่าวเกิดขึ้นในขวดกลั่นไหลกลับ 3 คอ ในสภาวะที่ปราศจากออกซิเจนที่อุณหภูมิ 145-150 องศาเซลเซียส เวลา 5 หรือ 15 นาที ไคโตแซนที่ได้จะผ่านการล้างจนมีสภาวะเป็นกลาง แล้วอบที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เวลา 16 ชั่วโมง

No และ Meyers (1989) ได้เตรียมไคโตแซนจากไคตินจากกั้งโดยแช่ไคตินในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น ร้อยละ 50 (น.น./ น.น.) โดยใช้อัตราส่วนด่าง : ไคติน เท่ากับ 10 : 1 (ปริมาตร/น.น.) อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เวลา 30 นาที

การผลิตไคโตแซนโดยวิธี Thermo-Mechano-Chemical Treatment เป็นอีกวิธีหนึ่งที่สามารถผลิตไคโตแซนได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยสามารถควบคุมการกำจัดหมู่อะซิติลออกจากโครงสร้างไคติน และประการสำคัญคือ สามารถประหยัดสารละลายด่างและระยะเวลาได้มากกว่าวิธีการผลิตทางเคมีแบบเดิม Pelletier และคณะ (1990) ได้แช่ไคตินปริมาณร้อยละ 20 (น.น./ปริมาตร) ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 50 (น.น./ปริมาตร) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แยกไคตินโดยการเหวี่ยง แล้วแช่ไคตินในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 10 (น.น./ปริมาตร) โดยให้มีปริมาณไคตินในสารละลายเท่ากับร้อยละ 5 ให้ความร้อนกับของผสมอย่างรวดเร็วด้วยหม้อนึ่งไอน้ำจนมีอุณหภูมิเท่ากับ 210-230 องศาเซลเซียส จับเวลา 90 วินาที ปล่อยก๊าซไนโตรเจน (13.8 มิลลิปาสคาล) ลงในหม้อนึ่งไอน้ำ หลังจากนั้นแยกไคโตแซนจากสารละลายด่างโดยการเหวี่ยง แล้วล้างให้เป็นกลางด้วยน้ำที่ปราศจากอิออน จากการวิเคราะห์ประสิทธิภาพการกำจัดหมู่อะซิติลพบว่า การใช้อุณหภูมิ 230 องศาเซลเซียส สามารถกำจัดหมู่อะซิติลได้เกือบสมบูรณ์ (มากกว่าร้อยละ 98)

<u>ปัจจัยที่มีผลต่อคุณสมบัติไคโตแซน</u>

น้ำหนักโมเลกุลเป็นปัจจัยสำคัญที่กำหนดคุณสมบัติของไคโตแซน ซึ่งมีความสัมพันธ์กับความหนืดตามสมการของ Staudinger (Rutherford and Austin, 1978)

$\log[n] = \log K + a \log MW$

a, K คือ ค่าคงที่ : a = 0.71; K = $8.93 \times 10^{-4}$ สำหรับไคตินหรือไคโตแซน

/n/ คือ Intrinsic viscosity

MW คือ น้ำหนักโมเลกุล

ปกติไคโตแซนในทางการค้ามีน้ำหนักโมเลกุลตั้งแต่ 10,000-1,000,000 ดัลตัน โดยมีอัตราการกำจัดหมู่อะซิติลตั้งแต่ร้อยละ 70-90 (Anonymous, 1989)

คุณสมบัติของไคโตแซนขึ้นอยู่กับปัจจัยดังต่อไปนี้

1. ขนาดของวัตถุดิบ

Bough และคณะ (1978) ได้ใช้เปลือกกุ้งบดขนาด 1 2 และ 6.4 มม. เพื่อผลิตไคโตแซน พบว่า เปลือกขนาดเล็กให้ไคโตแซนที่มีความหนืดและน้ำหนักโมเลกุลสูงสุด (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ผลของขนาดเปลือกกุ้งต่อคุณสมบัติของไคโตแซน*

| ขนาดเปลือกกุ้ง (มม.) | ไนโตรเจน (ร้อยละ) | เถ้า (ร้อยละ) | ความหนืด (เซนติพอยส์) | น้ำหนักโมเลกุล $10^3$ (ดัลตัน) |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 7.78 | 0.012 | 2449 | 1331 |
| 2 | 7.94 | 0.043 | 960 | 1285 |
| 6.4 | 7.84 | 0.011 | 313 | 1051 |

* ใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 50 (น.น./น.น.) อุณหภูมิ 145-150 องศาเซลเซียส เวลา 5 นาที ในสภาวะที่มีไนโตรเจน

ที่มา : Bough และคณะ (1978)

ส่วน Muzzarelli (1977) กล่าวว่า ขนาดไคตินในช่วง 180-850 ไมโครเมตร ไม่มีผลต่ออัตราการกำจัดหมู่อะซิติลและความหนืดของไคโตแซน

2. สภาวะในการกำจัดแร่ธาตุ

Madhavan และ Ramachandrannair (1974) พบว่าการกำจัดแร่ธาตุมีผลโดยตรงต่อความหนืดของไคโตแซน การใช้กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นมากกว่า 1.25 นอร์มอล มีผลให้ความหนืดของไคโตแซนลดลง (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 ผลของการกำจัดแร่ธาตุต่อความหนืดของไคโตแซน

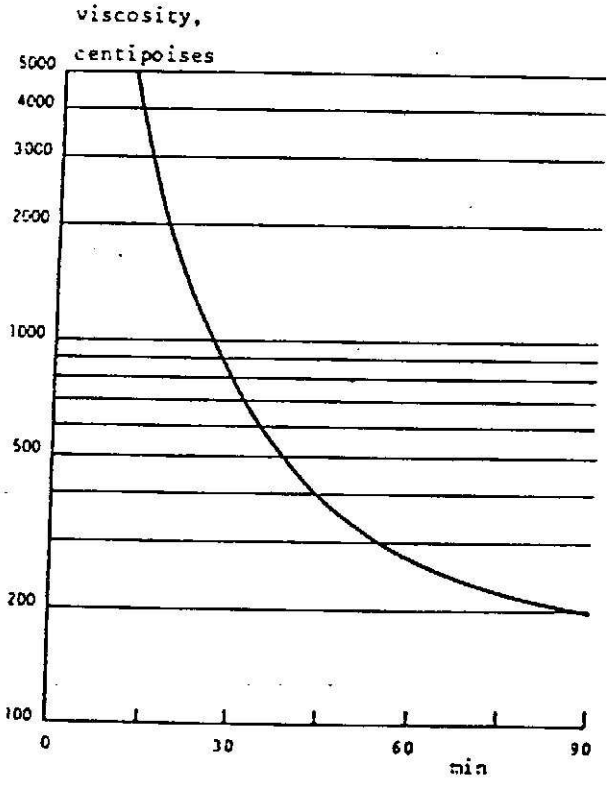
| ความเข้มข้นกรด (นอร์มอล) | ระยะเวลาในการกำจัดแร่ธาตุ (นาที) | ปริมาณเถ้าที่ละลายในกรดของไคติน (ร้อยละ) | ความหนืด* (เซนติพอยส์) |
|---|---|---|---|
| 0.75 | 30 | 48.44 | 14.63 |
| | 60 | 46.30 | 16.84 |
| | 120 | 41.52 | 18.86 |
| | 180 | 39.44 | 18.45 |
| 1.00 | 30 | 43.69 | 32.03 |
| | 60 | 38.28 | 36.56 |
| | 120 | 33.86 | 38.19 |
| | 180 | 23.95 | 39.42 |
| 1.25 | 30 | 24.34 | 106.85 |
| | 60 | 18.82 | 97.07 |
| | 120 | 6.33 | 58.05 |
| | 180 | 2.97 | 46.44 |
| 1.50 | 30 | 15.34 | 49.28 |
| | 60 | 7.90 | 43.95 |
| | 120 | 3.14 | 40.06 |
| | 180 | 1.46 | 38.84 |
| 2.00 | 30 | 2.71 | 37.66 |
| | 60 | 1.76 | 31.52 |
| | 120 | 1.03 | 26.94 |
| | 180 | 0.65 | 17.79 |

* ละลายไคโตแซนเข้มข้นร้อยละ 1.0 ในสารละลายกรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 1.0

ที่มา : ดัดแปลงจาก Madhavan และ Ramachandrannair (1974)

3. ระยะเวลาในการกำจัดหมู่อะซิติล

Muzzarelli (1977) พบว่าค่าความหนืดจะลดลงเมื่อระยะเวลาในการกำจัดหมู่อะซิติลเพิ่มขึ้น การใช้ระยะเวลา 30 นาที จึงเพียงพอสำหรับการกำจัดหมู่อะซิติลและให้ไคโตแซนที่มีความหนืดสูง (รูปที่ 2) การกำจัดหมู่อะซิติลกระทำโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 50 ที่อุณหภูมิ 118 องศาเซลเซียส

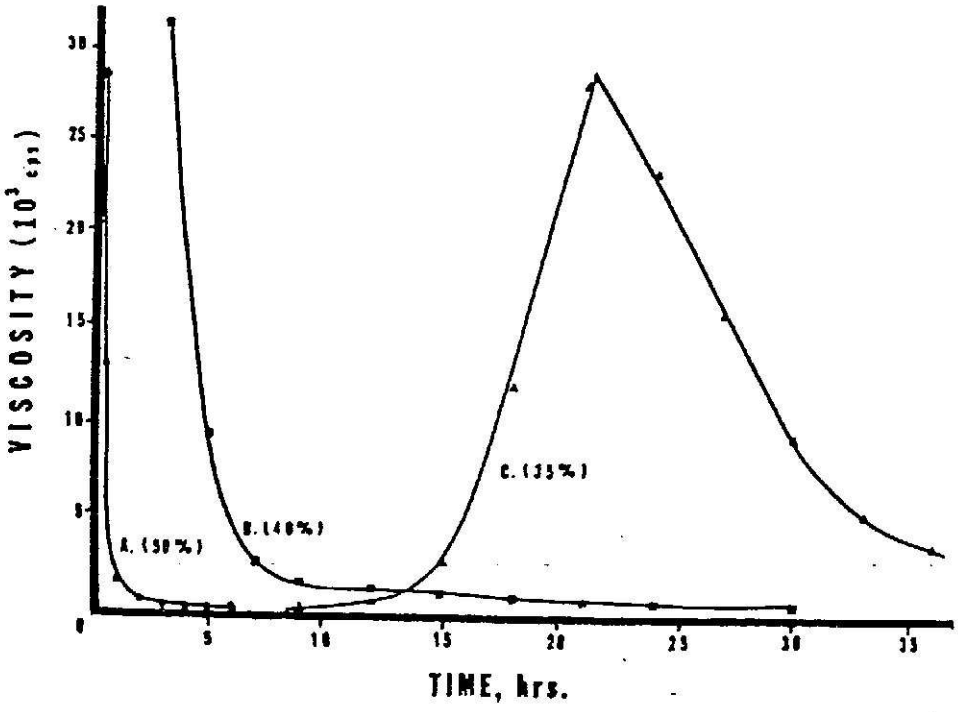



รูปที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่างความหนืดและระยะเวลาในการกำจัดหมู่อะซิติล
ที่มา : Muzzarelli (1977)

Bough และคณะ (1978) ศึกษาระยะเวลาในการกำจัดหมู่อะซิติล (5, 15 นาที) โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 50 (น.น./น.น.) ที่อุณหภูมิ 145-150 องศาเซลเซียส พบว่าระยะเวลาสั้นได้ไคโตแซนที่มีความหนืดและน้ำหนักโมเลกุลสูงกว่าการใช้ระยะเวลานาน

4. ความเข้มข้นด่าง

Wu และ Bough (1978) ศึกษาผลของความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ร้อยละ 35 40 50 และระยะเวลาในการกำจัดหมู่อะซิติล ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นด่างสูง เมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้นมีผลให้ความหนืดลดลง ทั้งระดับความเข้มข้น ร้อยละ 40 และ 50 สำหรับความเข้มข้นร้อยละ 35 นั้น ความหนืดเพิ่มขึ้นสูงสุดที่ระยะเวลา 21 ชั่วโมง แล้วจึงลดลง (รูปที่ 3)




รูปที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่างความหนืด ความเข้มข้นด่างและระยะเวลาในการกำจัดหมู่อะซิติล

ที่มา : Wu และ Bough (1978)

5. สภาพบรรยากาศ

Muzzarelli (1977) พบว่าการกำจัดหมู่อะซิติลในสภาพบรรยากาศที่ไม่มีออกซิเจนจะได้ไคโตแซนที่มีความหนืดสูงกว่าการกำจัดหมู่อะซิติลในสภาพที่มีออกซิเจน

Central Library
Prince of Songkla University



Bough และคณะ (1978) พบว่า ไคโตแซนที่ผลิตในสภาวะที่มีออกซิเจนให้ความหนืดและน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่าสภาวะที่ใช้ไนโตรเจน

Kurita (1986) ได้เติมไฮโอฟีนอลเพื่อจับกับออกซิเจนในระหว่างการกำจัดหมู่อะซิติลเพื่อป้องกันการลดลงของน้ำหนักโมเลกุล นอกจากนี้มีการพ่นก๊าซไนโตรเจนในระหว่างการกำจัดหมู่อะซิติล (Bough, et al., 1978; Wu and Bough, 1978; Johnson and Peniston, 1982)

6. การฟอกสี

Moorjani และคณะ (1975) พบว่าการฟอกสีโดยใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เข้มข้นร้อยละ 0.5 มีผลลดความหนืดของไคโตแซนในสารละลายกรดอะซิติก (เข้มข้นร้อยละ 2) นอกจากนั้นขั้นตอนการฟอกสีมีผลต่อความหนืด กล่าวคือความหนืดของไคโตแซนที่ได้จากกระบวนการผลิตที่ไม่ฟอกสี ฟอกสีหลังกำจัดแร่ธาตุ ฟอกสีหลังกำจัดโปรตีน และฟอกสีหลังการกำจัดหมู่อะซิติลมีค่า 2.0230 1.3560 0.8790 และ 0.0121 พอยส์ตามลำดับ

การผลิตไคตินและไคโตแซนทางชีวภาพ

เนื่องจากเปลือกของสัตว์จำพวกกุ้งอาจมีไม่เพียงพอสำหรับการผลิตไคตินและไคโตแซนด้วยวิธีทางเคมี ตลอดจนต้องเสียค่าใช้จ่ายสูงในการผลิต จึงมีการศึกษาการผลิตไคโตแซนโดยจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ

จุลินทรีย์และการเลี้ยงจุลินทรีย์ที่เป็นแหล่งของไคโตแซน

ราจำพวก Mucorales มีไคโตแซนเป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์ จุลินทรีย์พวกนี้สามารถเจริญในแหล่งอาหารราคาถูกและสามารถแยกไคโตแซนจากผนังเซลล์ได้ง่ายโดยวิธีทางเคมี Shimahara และคณะ (1989) ได้ศึกษาปริมาณไคโตแซนในราจำพวก Mucoraceae จำนวน 125 สายพันธุ์ พบว่ามีค่า 65-900 มก./ลิตร ส่วนไคโตแซนในราจำพวก Rhizopus จำนวน 32 สายพันธุ์ มีค่า 330-645 มก./ลิตร

McGahren และคณะ (1984) ได้เลี้ยง Absidia coerulea ในอาหารที่มีแหล่งคาร์บอน เช่น กลูโคส หรือโมแลส เกลือแอมโมเนีย ยีสต์สกัด และแร่ธาตุอื่น ๆ ที่จำเป็นต่อการเจริญ โดยควบคุมพีเอชให้เท่ากับ 4.5 เซลล์ของจุลินทรีย์ชนิดนี้มีลักษณะคล้ายเมล็ดข้าวจึงสะดวกต่อการเก็บเกี่ยวและการล้างเซลล์ การเก็บเกี่ยวเซลล์ ควรกระทำก่อนช่วงที่มีการเจริญอย่างเต็มที่ (36 ชั่วโมง) เพราะมิฉะนั้นจะต้องใช้กรดเข้มข้นสูงในการย่อยให้ได้ไคโตแซน ซึ่งสภาวะ

ที่มีกรดสูงนั้นจะมีผลต่อการไฮโดรไลซ์ไคโตแซน

Hang (1990) ได้เลี้ยง Rhizopus oryzae ในอาหารที่มีข้าวโพดเป็นองค์ประกอบและในอาหารที่มีข้าวเป็นองค์ประกอบ เป็นเวลา 72 ชั่วโมง พบว่าให้ปริมาณไคโตแซนสูงสุดคือ 406 และ 700 มก./ลิตร ในอาหารสูตรข้าวโพด และอาหารสูตรข้าว ตามลำดับ

การสกัดไคโตแซนจากจุลินทรีย์

เนื่องจากในเซลล์ของจุลินทรีย์มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบซึ่งจำเป็นต้องกำจัดโปรตีนออกโดยต้มเซลล์ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 2.0 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง (McGahren, et al., 1984) ส่วน Hang (1990) ได้กำจัดโปรตีนโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 2.0 อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที นอกจากโปรตีนแล้วยังมีองค์ประกอบต่าง ๆ ภายในเซลล์ เช่น ไตรโอเลอีน สารประกอบไกลโคไซด์ และเกลือโซเดียมของกรดโอเลอิกและกรดไขมันชนิดอื่น การกำจัดสารไตรโอเลอีน และสารประกอบไกลโคไซด์นั้น นิยมใช้อะซีโตนร่วมกับความร้อน ส่วนเกลือของกรดไขมันพบน้อยมาก เซลล์ที่จะนำมาสกัดไคโตแซนควรมีความบริสุทธิ์เพียงพอ

เซลล์ที่ผ่านการกำจัดองค์ประกอบต่าง ๆ แล้ว จะนำมาสกัดไคโตแซนโดยใช้กรดในสภาวะที่เหมาะสม McGahren และคณะ (1984) ละลายเซลล์ในกรดอะซิติก แล้วตกตะกอนไคโตแซน ซึ่งเป็นส่วนที่ละลายในกรดโดยปรับพีเอชให้มีค่าเท่ากับ 8.5 ด้วยสารละลายโซเดียม-ไฮดรอกไซด์

1. ด้านการเกษตร

ในสหรัฐอเมริกา มีการใช้ไคโตแซนเคลือบเมล็ดข้าวสาลีเพื่อป้องกันเชื้อรา ทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นจากเดิม ร้อยละ 20 ส่วนการใช้ไคตินในการเตรียมดินสำหรับเพาะปลูกสามารถลดโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราในดิน นอกจากนี้มีการศึกษาการใช้ไคตินจับกับสารเคมีหรือยากำจัดโรคพืชชนิดต่าง ๆ เพื่อทำหน้าที่เป็นตัวปลดปล่อยสารเหล่านั้น ซึ่งเป็นแนวทางลดการสูญเสียสารเคมีและยากำจัดโรคพืชซึ่งใช้ในทางเกษตรกรรมได้ (Brzeski, 1987)

Austin และคณะ (1981) ใช้ไคตินเป็นส่วนผสมอาหารสำหรับเลี้ยงไก่โดยใช้ไคตินในรูปผลึกขนาดเล็ก (microcrystalline chitin; MCC) ร้อยละ 2 ผสมกับหางนม ร้อยละ 20 ในอาหารสำหรับเลี้ยงไก่ พบว่าหลังจาก 46 วัน ไก่ที่กินอาหารผสมที่มีไคตินและหางนมมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับไก่ที่เลี้ยงด้วยอาหารปกติและอาหารที่มีการเติมหางนมหรือไคตินเพียงอย่างเดียว

2. ด้านการแพทย์และเภสัชวิทยา

Balassa และ Prudden (1978) ใช้ไคตินและไคโตแซนในการรักษาแผลทั้งชนิดที่รักษาให้หายได้ยากและชนิดที่ไม่สามารถรักษา (ulcers)

ส่วน Brzeski (1987) และ Anonymous (1989) ได้สรุปงานวิจัยเกี่ยวกับการใช้ประโยชน์ไคตินและไคโตแซนในด้านการแพทย์และเภสัชวิทยาดังต่อไปนี้ ใช้เป็นวัสดุเชื่อมหรือจัดกระดูก ใช้เป็นเลนส์สายตาเนื่องจากมีคุณสมบัติยอมให้ออกซิเจนผ่านเข้าออกได้และไม่ก่อให้เกิดอาการแพ้ ใช้เป็นแคปซูลบรรจุยา อนุพันธ์ของไคโตแซนบางชนิดใช้เป็นสารป้องกันการตกตะกอนของเลือด ใช้เป็นตัวจับและตกตะกอนเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว ใช้ผลิตเป็นผนังไตเทียม ใช้เป็นสารลดคลอเลสเตอรอล และใช้เป็นสารเชื่อมหรืออุดฟันในด้านทันตกรรม

3. ด้านอุตสาหกรรมอาหาร

3.1 ใช้ในการผลิตและปรับปรุงคุณภาพอาหาร

ไคตินและไคโตแซนมีคุณสมบัติเชิงหน้าที่ที่สำคัญหลายประการ อันเกิดจากคุณสมบัติพื้นฐานดังต่อไปนี้ (Knorr, 1984)

3.1.1 คุณสมบัติการชอบน้ำ (Hydrophilic Properties)

คุณสมบัติการชอบน้ำจะแตกต่างไปตามชนิดของไคติน ความสามารถในการอุ้มน้ำ

(water uptake) เท่ากับร้อยละ 230-440 (น.น./น.น.) ทั้งนี้เนื่องจากความแตกต่างของผลึกไคติน ปริมาณโปรตีนและจำนวนหมู่ที่สามารถเกิดเกลือกับตัวทำละลาย ไคโตแซนมีคุณสมบัติจับกับน้ำได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับไคติน ไคตินในรูปผลึกขนาดเล็กและเซลลูโลสในรูปผลึกขนาดเล็ก (Knorr, 1982)

3.1.2 คุณสมบัติการทำปฏิกิริยาระหว่างเฟส (Interphastic Properties)

คุณสมบัติการจับกับไขมันของไคตินในรูปผลึกขนาดเล็กและไคโตแซนมีค่าในช่วงร้อยละ 170-315 (น.น/น.น) ไคโตแซนมีคุณสมบัตินี้ต่ำกว่าไคติน (Knorr, 1982)

คุณสมบัติการเป็นสารที่ก่อให้เกิดอิมัลชัน (emulsifier) พบว่า ไคตินในรูปผลึกขนาดเล็ก ให้ผลดีกว่าเซลลูโลสในรูปผลึกขนาดเล็ก โดยให้ความสามารถในการเกิดอิมัลชัน (emulsion capacity) เท่ากับ 900 $\pm$ 47 มล.น้ำมัน/กรัม ที่ระดับความเข้มข้น 0.12 กรัมต่อ 100 มล. (Knorr, 1982)

ส่วนคุณสมบัติการจับกับสีนั้น Knorr (1983) ได้ศึกษาการใช้ไคตินและไคโตแซนในการจับสี (FD & C Red No.40) พบว่ามีความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสี (0.2-1.6 มก./กรัม ไคตินและไคโตแซน) กับความสามารถในการจับกับสี นอกจากนี้ได้ศึกษาอิทธิพลของพีเอชต่อการจับกับสีของไคตินและไคโตแซน พบว่าในช่วงพีเอช 2.0-7.0 ความสามารถในการจับกับสีคงที่ แต่ลดลงเมื่อพีเอชสูงกว่า 7.0 และไม่พบการปลดปล่อยสีจากไคติน (ความเข้มข้น 0.77 มก. สี/กรัมไคติน) ในช่วงพีเอช 2.0-6.0

3.1.3 คุณสมบัติการทำปฏิกิริยาระหว่างโมเลกุล (Intermolecular Properties)

คุณสมบัติที่สำคัญคือ การเกิดแผ่นฟิล์มหรือเยื่อใยโดยการนำไคโตแซน ปริมาณ 4 กรัม ละลายในกรดฟอร์มิกหรือกรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 2 (น.น./น.น.) ปริมาตร 100 มล. แล้วแช่ไว้ค้างคืนจนได้สารละลายที่มีความหนืด 1,500-2,000 เซนติพอยส์ นำสารละลายดังกล่าวมาขึ้นรูปบนแผ่นพลาสติกชนิดพอลิเอทธิลีนหรือแผ่นแก้ว แล้วทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 35-40 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นแผ่แผ่นฟิล์มบนแผ่นพอลิเอทธิลีน หรือชิงแผ่นฟิล์มบนกรอบ แล้วทำให้แห้งอีกครั้งที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส ฟิล์มที่ได้มีลักษณะใส เหนียว และยืดหยุ่น สามารถใช้ห่อหุ้มอาหารเนื่องจากรับประทานได้และทนอุณหภูมิสูง (Averbach, 1978)

Yang และ Zall (1984) ได้ผลิตแผ่นกรองรีเวอร์สออสโมซิสโดยละลายไคโตแซนในกรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 2 แล้วแผ่เป็นแผ่นบาง ๆ บนแผ่นกระจก แล้วปรับให้เป็นกลางด้วย

สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 10 แผ่นฟิล์มชนิดนี้ทนต่อด่าง (พีเอช 13) แต่ยังคงละลายในกรด ดังนั้นการเติมหมู่อะซิติลให้กับหมู่อะมิโนอิสระทำให้แผ่นฟิล์มคงทนต่อกรด ซึ่งเป็นข้อได้เปรียบกว่าแผ่นกรองที่ผลิตจากเซลลูโลสอะซิเตท

Hayes และ Davies (1978) ได้ศึกษาการเกิดเจลของไคโตแซนพบว่าไคโตแซนสามารถเกิดเจลได้ดีในกรดออกซาลิกเข้มข้นร้อยละ 10 (น.น./น.น.) แต่ไม่สามารถเกิดเจลในกรดคาร์บอกซิลิก

3.1.4 คุณสมบัติการให้กลิ่นรสกับผลิตภัณฑ์อาหาร

ที่อุณหภูมิสูง (305-900 องศาเซลเซียส) ไคตินจะเปลี่ยนเป็นสารไพราซีน (pyrazines) โดยผ่านกระบวนการไพโรไลซิส พบว่าที่อุณหภูมิสูงขึ้น ปริมาณและชนิดของไพราซีนเพิ่มขึ้น มีผลให้กลิ่นหอมหวานเพิ่มขึ้น (Knorr, 1984; 1986)

3.1.5 คุณสมบัติเป็นสารลดแรงตึงผิว

Knorr (1982) ได้ผลิตขนมปังโดยใช้แป้งที่มีส่วนผสมของโปรตีนจากมันฝรั่งปริมาณร้อยละ 8 พร้อมกับเติมไคตินในรูปผลึกขนาดเล็ก พบว่าเมื่อปริมาณไคตินมากขึ้น ปริมาตรจำเพาะ (specific loaf volume) มากขึ้นเนื่องจากคุณสมบัติเป็นสารลดแรงตึงผิว ของไคตินนั่นเอง อัตราส่วนที่เหมาะสมในการผลิตขนมปังคือ น้ำร้อยละ 65 และไคตินในรูปผลึกขนาดเล็ก ร้อยละ 2 ซึ่งจะให้ปริมาตรสูงสุด (6 ลบ.ซม./กรัม) โดยไม่จำเป็นต้องเติมสารที่ก่อให้เกิดอิมัลชันหรือเนยขาว (Knorr, 1984)

3.2 ใช้เป็นสารตกตะกอน

3.2.1 ใช้บำบัดน้ำเสีย

มีการใช้สารที่มีประจุทั้งชนิดประจุบวกและประจุลบในการแก้ปัญหาน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม ซึ่งรวมถึงการลดปริมาณของแข็งทั้งหมดและการตกตะกอนโปรตีนและคาร์โบไฮเดรทเพื่อนำกลับมาใช้ประโยชน์ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการตกตะกอนได้มีการใช้เกลือบางชนิดร่วมด้วย ไคโตแซนเป็นสารโมเลกุลยาวที่มีประจุบวก จึงมีคุณสมบัติที่เหมาะสมในการเป็นสารช่วยตกตะกอนอีกชนิดหนึ่งที่มีการใช้กันอย่างแพร่หลาย

3.2.2 ใช้กำจัดโลหะหนักและสารพิษ

โลหะหนักเป็นสิ่งที่มีพิษต่อร่างกายเมื่อได้รับในปริมาณมากเกิน และอาจมีฤทธิ์สะสมก่อให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพ ดังนั้นจึงมีการใช้ไคตินและไคโตแซนในการกำจัดโลหะหนัก เช่น

$Cu^{++}$, $Cr^{+++}$, $Ni^{++}$, $Zn^{++}$, $Fe^{+++}$ และ $Mn^{++}$ (Madhavan and Ramachanrannair, 1978; Maruca, 1982; Kurita, et al., 1986) นอกจากนี้ไคตินและไคโตแซนสามารถจับกับสารกำจัดแมลง เช่น DDT และสารปนเปื้อนในแหล่งน้ำ เช่น พลูโตเนียม เมทธิลเมอร์คิวรี อะซิเตท ซึ่งเกิดจากโรงงานผลิตอะเซทตัลดีไฮด์ ตลอดจนมีการใช้ไคโตแซนในการกำจัดปิโตรเลียมและผลิตภัณฑ์ในน้ำเสีย (Brzeski, 1987)

3.2.3 ใช้ทำให้น้ำผลไม้ใส

การผลิตน้ำผลไม้ส่วนใหญ่มักพบกับปัญหาความขุ่นและสีของผลิตภัณฑ์ จึงมีการศึกษากรรมวิธีการทำให้น้ำผลไม้ใสด้วยวิธีต่าง ๆ ได้แก่ การใช้สารเคมีที่มีคุณสมบัติตกตะกอน เช่น เจลลาติน เบนโทไนท์ ซิลิกา ตลอดจนมีการใช้เอนไซม์เพื่อแก้ปัญหาดังกล่าว

Imeri และ Knorr (1988) ได้ศึกษาผลของไคโตแซนที่มีต่อผลผลิตและองค์ประกอบของน้ำแครอทและน้ำแอปเปิลพบว่า ไม่มีผลต่อผลผลิต แต่มีผลต่อความเป็นกรดและสีอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และมีผลเพียงเล็กน้อยต่อปริมาณของแข็งละลายได้และพีเอช

Soto-Peralta และคณะ (1989) ศึกษาการใช้ไคโตแซนชนิดละลายในกรดและอนุพันธ์ไคโตแซนชนิดละลายในน้ำเพื่อทำให้น้ำแอปเปิลใส พบว่าที่ระดับความเข้มข้นต่ำ ไคโตแซนชนิดละลายในกรดมีประสิทธิภาพในการลดความขุ่นได้สูงกว่าอนุพันธ์ไคโตแซนชนิดละลายในน้ำ ปริมาณของไคโตแซนชนิดละลายในกรดและอนุพันธ์ไคโตแซนชนิดละลายในน้ำที่สามารถขจัดความขุ่นได้หมดคือ 0.7 และ 0.8 กก./ลบ.ม. ตามลำดับ และอุณหภูมิที่เหมาะสำหรับการลดความขุ่นด้วยอนุพันธ์ไคโตแซนชนิดละลายในน้ำคือ 30 องศาเซลเซียส แต่อุณหภูมิไม่มีผลต่อการลดความขุ่นของไคโตแซนชนิดละลายในกรด

3.2.4 ใช้ลดปริมาณสารที่ไม่ต้องการในอาหาร

มีการใช้ไคโตแซนเพื่อลดสารที่ไม่ต้องการบางชนิดในอาหารเช่น แทนนิน (Knorr, 1984) นอกจากนี้ไคโตแซนสามารถกำจัดกรดในส่วนสกัดจากกาแฟ เช่น กรดคลอโรจินิก กรดออกซาลิก กรดซิตริก กรดฟูมาริก กรดมาลิก กรดไพรูวิก กรดควินิก และกรดคาเฟอิก (Knorr, 1984)

4. ด้านเทคโนโลยีชีวภาพ

4.1 ใช้ตรึงเอนไซม์และกักเซลล์

โครงสร้างของไคตินอาจประกอบด้วยหมู่อะมิโนอิสระซึ่งสามารถจับกับเอนไซม์ได้ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการจับกับเอนไซม์ จึงมีการเตรียมไคตินให้เหมาะสม เช่น แช่ในสารละลายกลูตารัลดีไฮด์ (Stanley, et al., 1975) หรือสารละลายฟอร์มัลดีไฮด์ (Synowiecki, et al., 1982) เนื่องจากสารพวกไดหรือพอลิอัลดีไฮด์ เข้าทำปฏิกิริยากับหมู่อะมิโนอิสระได้ง่าย แล้วทำหน้าที่เป็นศูนย์กลางสำหรับการจับระหว่างเอนไซม์กับไคตินได้อย่างมีประสิทธิภาพ สำหรับการตรึงเอนไซม์ด้วยไคโตแซนไม่จำเป็นต้องใช้สารพวกไดหรือพอลิอัลดีไฮด์เป็นสะพานเชื่อมระหว่างเอนไซม์กับตัวค้ำจุน เนื่องจากไคโตแซนมีหมู่อะมิโนอิสระเพียงพอในการจับกับเอนไซม์

นอกจากนี้มีการใช้ไคโตแซนในการจับหรือกักเซลล์ (Knorr, 1984; 1986) เช่น การกักเซลล์สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมโดยใช้ไคโตแซน-คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูโลส เพื่อผลิตโมโนโคลนอลแอนติบอดี พบว่าให้ปริมาณโมโนโคลนอลแอนติบอดีสูงกว่าการใช้เซลล์อิสระ 1.5 เท่า (Yoshioka, et al., 1990)

4.2 ใช้ผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

การผลิตโปรตีนเซลล์เดียวประกอบด้วยขั้นตอนดังนี้

1. การเตรียมวัตถุดิบ

การเตรียมวัตถุดิบประกอบด้วย การล้างทำความสะอาด การทำแห้ง และการลดขนาด หลังจากนั้นจึงผ่านการกำจัดโปรตีนและแคลเซียมคาร์บอเนตเพื่อให้ได้ไคตินสำหรับเป็นแหล่งวัตถุดิบในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว (Cosio, et al., 1982)

2. การผลิตเอนไซม์ไคตินเนส

เอนไซม์ไคตินเนสพบในสัตว์มีกระดูกสันหลังและไม่มีกระดูกสันหลัง ในสัตว์มีกระดูกสันหลัง พบว่าตับอ่อนและเยื่อบุทางเดินอาหารจะทำหน้าที่ปลดปล่อยเอนไซม์ชนิดนี้ (Jeuniaux, 1966) ส่วนในสัตว์ที่ไม่มีกระดูกสันหลังพบว่ามีหลายชนิดที่มีเอนไซม์ชนิดนี้ เช่น โปรโตซัว (Tracey, 1955) ไส้เดือน และหอยทาก (Tracey, 1951) แมลงสาบ (Powning and Irzykiewicz, 1963) นอกจากนี้ยังพบเอนไซม์ชนิดนี้ในพืช เช่น แตง (Roby, et al., 1986) เมล็ดแอลมอน (Jeuniaux, 1966) แต่แหล่งของเอนไซม์ไคตินเนสที่เหมาะสมสำหรับการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวได้จากจุลินทรีย์

Reynold (1954) ได้ศึกษาเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยไคตินจำนวน 41 สายพันธุ์ โดยการเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีการคนอย่างสม่ำเสมอ พบว่า Streptomyces spp. สามารถย่อยไคตินได้ดีกว่าจุลินทรีย์กลุ่มอื่น

Monreal และ Reese (1969) ศึกษาการผลิตเอนไซม์ไคตินเนสโดยจุลินทรีย์ต่าง ๆ จำนวน 100 ชนิด พบว่าเชื้อราและแบคทีเรียส่วนใหญ่ผลิตเอนไซม์ไคตินเนส เมื่อเจริญบนอาหารที่มีไคตินโดยผลิตได้ดีเมื่อเจริญบนไคตินจากเปลือกกุ้ง

จุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์ไคตินเนสส่วนใหญ่จะพบในตะกอนแหล่งน้ำ (Chandramohan and Thomas, 1984) นอกจากนี้สามารถพบในน้ำและสัตว์ที่มีไคตินเป็นองค์ประกอบ เชื้อแต่ละชนิดมีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ไคตินเนสแตกต่างกันไปขึ้นกับสภาวะแวดล้อมและชนิดอาหาร จุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์ชนิดนี้ได้มากที่สุดและสามารถย่อยไคตินจากเปลือกกุ้งได้ดีที่สุดคือ Serratia marcescens QM B1466 (Monreal and Reese, 1969; Carroad and Tom, 1978) นอกจากนี้มีการศึกษาการปรับปรุงพันธุ์ S. marcescens QM B1466 เพื่อให้สามารถผลิตเอนไซม์ไคตินเนสได้มากขึ้น (Reid and Ogrydziak, 1981)

3. การผลิตไฮโดรไลเสท

ปัจจัยที่มีผลต่อการไฮโดรไลซ์ไคตินของเชื้อ S. marcescens QM B1466 ได้แก่ อุณหภูมิ แอกติวิตีของเอนไซม์ ขนาดอนุภาคไคติน ความเข้มข้นของไคตินและชนิดของไคติน (Carroad and Tom, 1978; Tom and Carroad, 1981)

4. การผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

จุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ดีในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ไฮโดรไลเสทเป็นจุลินทรีย์ที่เหมาะสำหรับการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว Revah-Moiseev และ Carroad (1981) ได้คัดเลือกยีสต์ 42 สายพันธุ์ พบว่า Pichia kudriavzevii มีความเหมาะสมที่สุด คือ สามารถเจริญได้ดีในไฮโดรไลเสทภายใต้สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญคือ อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส พีเอช 4.0-5.5 โปรตีนจากยีสต์ชนิดนี้มักขาดกรดอะมิโนที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ แต่จะให้กรดอะมิโนชนิดวงแหวนและไลซีนสูง

5. ด้านอื่น ๆ

ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางค์ Nicol (1991) กล่าวว่ามีการใช้ไคตินในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางค์ครั้งแรกใน ปี 1969 บริษัทในประเทศญี่ปุ่นและเยอรมันได้ผลิต

เกลือของไคโตแซนซึ่งสามารถละลายน้ำเพื่อใช้เป็นส่วนผสมเครื่องสำอางค์สำหรับผิวและเส้นผม บริษัท Wella ของประเทศเยอรมันได้ผลิตเครื่องสำอางค์สำหรับเส้นผมมานานประมาณ 10 ปี โดยอาศัยคุณสมบัติการเกิดแผ่นฟิล์มของไคโตแซนสำหรับผลิตสเปรย์และยาเคลือบเล็บ ตลอดจนอาศัยคุณสมบัติการเป็นสารให้ความหนืดสำหรับเป็นส่วนผสมของครีม ส่วนบริษัท Chito-Bios of Ancona ประเทศอิตาลีได้ผลิตเอ็น-คาร์บอกซีบิวทิวไคโตแซนภายใต้เครื่องหมายการค้า "EvalsanR" แทนการใช้กรดไฮยาลูโรนิก สำหรับผลิตภัณฑ์แชมพู สบู่เหลว ยาสีฟัน ครีม โลชั่น

ในอุตสาหกรรมกระดาษ การเติมไคตินร้อยละ 1.0 ลงในเยื่อกระดาษมีผลเพิ่มความแข็งแรงของกระดาษ ทำให้เยื่อกระดาษสะเด็ดน้ำเร็วขึ้น และทำให้ปริมาณเยื่อใยเพิ่มขึ้น ส่งผลให้การผลิตเป็นแผ่นกระดาษดีขึ้น การเติมไคตินทำให้ประหยัดพลังงานในการรีดเยื่อกระดาษถึงร้อยละ 90 นอกจากนี้ไคตินทำให้ประสิทธิภาพการพิมพ์เพิ่มขึ้น (Brzeski, 1987; Nicol, 1991)

ในอุตสาหกรรมทอผ้า ไคตินสามารถป้องกันการหดตัวของเนื้อผ้า ส่วนไคโตแซนใช้กำจัดสีในน้ำเสียจากการย้อม (Brzeski, 1987)

ในอุตสาหกรรมแก้ว สามารถเพิ่มความเหนียวและประสิทธิภาพในการย้อมสีแก้ว (Brzeski, 1987)

ในการถ่ายภาพ การเติมไคโตแซนลงในฟิล์มถ่ายรูป สามารถเพิ่มความไวในการสร้างภาพ (Brzeski, 1987)

ในอุตสาหกรรมการแปรรูปไม้ โดยนำไคตินบริสุทธิ์ละลายในกรดซัลฟูริก เข้มข้นร้อยละ 70 ที่อุณหภูมิห้องแล้วปรับให้เป็นกลางด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 17 หลังจากนั้นเติมสารคาร์บอนไดซัลไฟด์ จะได้สารประกอบแซนเธท (Xanthate) ซึ่งมีสีน้ำตาลทอง มีความเหนียวมาก สามารถใช้เป็นวัสดุเชื่อมหรือกาวในอุตสาหกรรมผลิตไม้แปรรูป, ไม้อัดและเฟอร์นิเจอร์ (Rajulu and Gowri, 1978)

ไคตินใช้เป็นตัวดูดซับบนหินเลเยอร์โครมาโตกราฟี ซึ่งสามารถแยกส่วนผสมของฟีนอล กรดอะมิโน กรดนิวคลีอิก ตลอดจนอิออนของสารอนินทรีย์ได้ดีกว่าหรือเท่ากับการใช้เซลลูโลสในรูปผลึก ซิลิกาเจล และพอลิเอมายด์ (Takeda, 1978) ส่วนไคโตแซนนั้นมีการใช้ประโยชน์ด้านโครมาโตกราฟีมากมาย (Muzzarelli, 1978)

# วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ

## 1. วัสดุ

1.1 เปลือกกุ้งแชบ๊วย (Penaeus indicus) จากบริษัทห้องเย็นโชติวัฒน์ จำกัด อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา โดยเก็บตัวอย่างเพื่อทำการทดลองในช่วงเดือนเมษายนถึงพฤษภาคม 2533

1.2 ไคตินจากบริษัท Fluka ประเทศสวิสเซอร์แลนด์

1.3 ไคโตแซนชนิดน้ำหนักโมเลกุลสูง (MW 2,000,000) และชนิดน้ำหนักโมเลกุลต่ำ (MW 70,000) จากบริษัท Fluka ประเทศสวิสเซอร์แลนด์

## 2. อุปกรณ์

2.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมวัตถุดิบ

ตู้อบชนิดใช้ลมร้อน (Air dryer) เครื่องบด Hammer Mill (ตัวเครื่องทำด้วยเหล็กและประกอบด้วยลูกโม่หิน) และตะแกรงร่อนทองเหลืองขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.4 มม. 2.0 มม. และ 4.0 มม.

2.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์

เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ Model LKB 4052 TDS ของบริษัท LKB Biochrom Ltd. และเครื่องวัดความหนืด Brookfield Synchro-Lectric Model RVT

## 3. วิธีการทดลอง

3.1 การเตรียมเปลือกกุ้งบด

3.1.1 ล้างเปลือกกุ้งและแยกส่วนเนื้อและหัวออกไป

3.1.2 ทิ้งให้สะเด็ดน้ำ

3.1.3 อบเปลือกกุ้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

3.1.4 บดเปลือกกุ้งแห้งด้วยเครื่องบด Hammer Mill แล้วใช้ตะแกรงร่อนเพื่อแยกขนาดเปลือกกุ้งบดให้ได้ขนาดเล็กกว่า 1.4 มม. ขนาด 1.4-2.0 มม. และขนาด 2.0-4.0 มม.

3.1.5 เก็บเปลือกกุ้งบดในถุงพลาสติกที่อุณหภูมิห้องในที่มืด

3.2 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกกุ้งบด

ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกกุ้งบด 3 ขนาด (จากข้อ 3.1.4) ได้แก่

3.2.1 ความชื้น (A.O.A.C., 1984)

3.2.2 โปรตีน (Kjeldahl method; A.O.A.C., 1984)

3.2.3 เถ้า (A.O.A.C., 1984)

3.2.4 ไขมัน (A.O.A.C., 1984)

3.2.5 เยื่อใย (A.O.A.C., 1984)

3.2.6 ไคติน (Winzler, 1955)

3.2.7 แคลเซียม (Kerven, 1980)

3.2.8 ฟอสฟอรัส (Oweczkin and Kerven, 1980)

3.3 กระบวนการผลิตไคตินและไคโตแซน

3.3.1 สภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดโปรตีน

วางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) และจัดชุดการทดลองแบบ factorial design ปัจจัยต่าง ๆ ที่ทำการศึกษามีดังต่อไปนี้

3.3.1.1 ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ [ร้อยละ 2,3 (น.น./ปริมาตร)]

3.3.1.2 ระยะเวลาในการกำจัดโปรตีน (1, 2, 3 ชั่วโมง)

3.3.1.3 อุณหภูมิ (65, 100 องศาเซลเซียส)

3.3.1.4 ขนาดของเปลือกกุ้ง (1.4-2.0, 2.0-4.0 มม.)

แช่เปลือกกุ้งบดในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ด้วยอัตราส่วน 1 : 10 (น.น./ปริมาตร) ที่สภาวะการกำจัดโปรตีนต่าง ๆ (2 x 3 x 2 x 2 ชุดการทดลอง) นำมาล้างให้มีสภาพเป็นกลางด้วยน้ำกรองที่ผ่านเครื่องกรองด้วยเรซินชนิดแคทไอออนนิก และแอนไอออนนิก แล้วประเมินประสิทธิภาพการกำจัดโปรตีนโดยวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่เหลือในเปลือกกุ้งด้วยวิธีของ Lowry และคณะ (1951) วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และความแตกต่างโดยใช้ DMRT (Duncan's Multiple Range Test) (ไพศาล เหล่าสุวรรณ, 2531) คัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมที่สุดเพื่อใช้ศึกษาในขั้นต่อไป

3.3.2 สภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดแร่ธาตุ

วางแผนการทดลองแบบ CRD และจัดชุดการทดลองแบบ factorial design ปัจจัยต่าง ๆ ที่ทำการศึกษามีดังต่อไปนี้

3.3.2.1 ความเข้มข้นของสารละลายกรดไฮโดรคลอริก (1.0, 1.25, 1.5 นอร์มอล)

3.3.2.2 อัตราส่วนของเปลือกกุ้งบดที่กำจัดโปรตีนแล้วต่อสารละลายกรด [(1 : 10, 1 : 15 (น.น./ปริมาตร)]

3.3.2.3 ระยะเวลาในการกำจัดแร่ธาตุ (0.5, 1.0, 1.5 ชั่วโมง)

3.3.2.4 ขนาดของเปลือกกุ้งบดที่กำจัดโปรตีนแล้ว (1.4-2.0, 2.0-4.0 มม.)

นำเปลือกกุ้งบดที่กำจัดโปรตีนแล้วและผ่านการล้างจนมีสภาพเป็นกลางมาศึกษาการกำจัดแร่ธาตุที่สภาวะต่าง ๆ (3 x 2 x 3 x 2 ชุดการทดลอง) นำมาล้างให้มีสภาพเป็นกลางด้วยน้ำกรอง แล้วประเมินการกำจัดแร่ธาตุ โดยวิเคราะห์ปริมาณเถ้าด้วยวิธีของ A.O.A.c. (1984) และปริมาณไคตินด้วยวิธีของ Winzler (1955) วิเคราะห์ความแปรปรวนและความแตกต่างของปริมาณเถ้าโดยใช้ DMRT (ไพศาล เหล่าสุวรรณ, 2531)

3.3.3 สภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดหมู่อะซิติล

นำไคตินที่ผลิตได้ (ข้อ 3.3.2) มาศึกษาการกำจัดหมู่อะซิติลที่สภาวะต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

สภาวะที่ 1 อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เวลา 30 นาที ในสภาวะที่มีอากาศ
สภาวะที่ 2 อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เวลา 30 นาที ในสภาวะสุญญากาศ
สภาวะที่ 3 อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เวลา 30 นาที ในสภาวะที่มีไนโตรเจน
สภาวะที่ 4 อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เวลา 2 ชั่วโมง ในสภาวะที่มีอากาศ
สภาวะที่ 5 อุณหภูมิ 145-150 องศาเซลเซียส เวลา 5 นาที ในสภาวะที่มีอากาศ
สภาวะที่ 6 อุณหภูมิ 145-150 องศาเซลเซียส เวลา 5 นาที ในสภาวะสุญญากาศ
สภาวะที่ 7 อุณหภูมิ 145-150 องศาเซลเซียส เวลา 5 นาที ในสภาวะที่มีไนโตรเจน

ชั่งไคตินจากเปลือกกุ้งบดทั้งสองขนาด (1.4-2.0 และ 2.0-4.0 มม.) ให้ได้น้ำหนักแน่นอน เติมลงในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น ร้อยละ 50 (น.น./น.น.)

โดยใช้อัตราส่วนระหว่างไคตินและสารละลายด่างเท่ากับ 1 : 15 (น.น./ปริมาตร) ทำการกำจัดหมู่อะซิติลที่สภาวะต่าง ๆ (7 สภาวะ)

นำของผสมระหว่างไคโตแซนและสารละลายด่างขณะร้อนหลังจากการกำจัดหมู่อะซิติลผ่านลงไปในน้ำผสมน้ำแข็งเพื่อทำให้เย็นอย่างรวดเร็ว แล้วจึงล้างให้มีสภาวะเป็นกลางด้วยน้ำกรอง ทิ้งให้สะเด็ดน้ำ แล้วอบในตู้อบชนิดใช้ลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ทำการประเมินคุณสมบัติของไคโตแซนโดยตรวจสอบความหนืดของไคโตแซนในสารละลายกรดอะซิติกด้วย Brookfield Synchro-Lectric Viscometer, model RVT ด้วยวิธีของ Bough และคณะ (1978)

3.3.4 การตรวจสอบองค์ประกอบและคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์

3.3.4.1 องค์ประกอบทางเคมี

ไคติน

ก) ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของไคตินจากเปลือกกุ้ง 2 ขนาด (1.4-2.0 มม. และ 2.0-4.0 มม.) เปรียบเทียบกับไคตินจากบริษัท Fluka ดังต่อไปนี้คือ ความชื้น ไนโตรเจน และเถ้าตามวิธีของ A.O.A.C. (1984) ปริมาณไคติน ตามวิธีของ Winzler (1955)

ข) ทำการวิเคราะห์แร่ธาตุและโลหะหนักบางชนิดของไคตินจากเปลือกกุ้งขนาด 1.4-2.0 มม. เปรียบเทียบกับเปลือกกุ้งขนาดเดียวกัน (1.4-2.0 มม.) ดังต่อไปนี้คือ ฟอสฟอรัส ตามวิธีของ Oweczkin และ Kerven (1980) แคลเซียม โพแทสเซียม เหล็ก สังกะสี แมกนีเซียม ทองแดง และแมงกานีส ตามวิธีของ Kerven (1980)

ไคโตแซน

ก) ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของไคโตแซนจากเปลือกกุ้ง 2 ขนาด (1.4-2.0 มม. และ 2.0-4.0 มม.) เปรียบเทียบกับไคโตแซน ชนิดน้ำหนักโมเลกุลสูง และชนิดน้ำหนักโมเลกุลต่ำ จากบริษัท Fluka ดังต่อไปนี้คือ ความชื้น ไนโตรเจน และเถ้า ตามวิธีของ A.O.A.C. (1984)

ข) ทำการวิเคราะห์แร่ธาตุและโลหะหนักบางชนิดของไคโตแซนจากเปลือกกุ้งขนาด 1.4-2.0 มม. เช่นเดียวกับการวิเคราะห์ในไคติน

3.3.4.2 คุณสมบัติทางกายภาพ

ไคติน - ทำการวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพของไคตินจากเปลือกกุ้งทั้ง 2

ขนาดเปรียบเทียบกับไคตินจากบริษัท Fluka ดังต่อไปนี้คือ การละลาย (solubility) ตามวิธีของ Rutherford และ Austin (1978) สีโดยใช้แผ่นเทียบสี (Munsell color charts)

ไคโตแซน - ทำการวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพของไคโตแซนจากเปลือกกุ้งทั้ง 2 ขนาด เปรียบเทียบกับไคโตแซนชนิดน้ำหนักโมเลกุลสูงและชนิดน้ำหนักโมเลกุลต่ำ จากบริษัท Fluka ดังต่อไปนี้คือ ความหนืด ตามวิธีของ Bough และคณะ (1978) สีโดยใช้แผ่นเทียบสี (Munsell color charts)

3.4 <u>การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบและคุณสมบัติของไคตินและไคโตแซนในระหว่างการเก็บรักษา</u>

3.4.1 การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบและคุณสมบัติบางประการของไคตินและไคโตแซน

ไคติน - เก็บไคตินจากเปลือกกุ้งบดขนาด 1.4-2.0 มม. และ 2.0-4.0 มม. ในขวดแก้วปิดสนิท (ball jar) ในที่มืดเป็นระยะเวลา 3 เดือน ตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีทุก ๆ 1 เดือน ดังต่อไปนี้คือ ความชื้นและไนโตรเจน ตามวิธีของ A.O.A.C. (1984)

ไคโตแซน - เก็บไคโตแซนจากเปลือกกุ้งบดขนาด 1.4-2.0 มม. และ 2.0-4.0 มม. ในขวดแก้วปิดสนิทในที่มืดเป็นระยะเวลา 3 เดือน ตรวจสอบองค์ประกอบและคุณสมบัติทุก ๆ 1 เดือน ดังต่อไปนี้คือ ความชื้นตามวิธีของ A.O.A.C (1984) ความหนืดตามวิธีของ Bough และคณะ (1978)

3.4.2 การเปลี่ยนแปลงความหนืดของสารละลายไคโตแซน

เตรียมตัวอย่างสารละลายไคโตแซนขนาด 1.4-2.0 และ 2.0-4.0 มม. ที่ผลิตจากเปลือกกุ้งแช่บ่วยภายใต้สภาวะที่ประกอบด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้นร้อยละ 50 (น.น./น.น.) อัตราส่วนระหว่างไคตินและสารละลายด่างเท่ากับ 1 : 15 (น.น./ปริมาตร) อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ในสภาพบรรยากาศต่าง ๆ คือ สภาวะที่มีอากาศ สภาวะสุญญากาศ และสภาวะที่มีไนโตรเจน ให้มีความเข้มข้นของไคโตแซนร้อยละ 1 ในภาคอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 2 แล้ววัดค่าความหนืดด้วยวิธีของ Bough และคณะ (1978) ทุก ๆ 2 วัน เป็นระยะเวลา 10 วัน ที่อุณหภูมิห้อง

# ผลและวิจารณ์

## 1 การผลิตไคตินและไคโตแซน

### 1.1 องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกกุ้งบด

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกกุ้งแช่บ๊วยที่ผ่านการร่อนด้วยตะแกรงขนาดต่าง ๆ (ตารางที่ 5) พบว่า ปริมาณเถ้าซึ่งแสดงถึงปริมาณแร่ธาตุมีมากที่สุดในเปลือกกุ้งขนาดใหญ่ (2.0-4.0 มม.) ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับปริมาณแคลเซียม ส่วนปริมาณฟอสฟอรัสมีค่าใกล้เคียงกันในเปลือกกุ้งทั้ง 3 ขนาด องค์ประกอบที่สำคัญอีกชนิดหนึ่งคือ โปรตีน พบว่าเปลือกกุ้งที่ผ่านการร่อนด้วยตะแกรงขนาด 1.4 มม. มีปริมาณโปรตีนสูงสุด ทั้งนี้เป็นผลเนื่องจากการขัดสีทำให้ส่วนเนื้อและเยื่อหุ้มบริเวณเปลือกชั้นในซึ่งมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ปะปนลงไป ปริมาณโปรตีน (คำนวณจากปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด) ในเปลือกกุ้งขนาดเล็ก ขนาดกลาง และขนาดใหญ่ มีค่าเท่ากับร้อยละ 39.99, 37.22 และ 31.65 ตามลำดับ โดยมีปริมาณโปรตีนที่แท้จริง (คำนวณจากผลต่างระหว่างปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดและไนโตรเจนในไคติน) เท่ากับร้อยละ 31.55, 28.03 และ 20.90 ตามลำดับ สำหรับปริมาณไคตินในเปลือกกุ้งขนาดต่าง ๆ พบว่ามีปริมาณสูงสุดในเปลือกกุ้งขนาดใหญ่ (ร้อยละ 24.96) และมีปริมาณลดลงเมื่อขนาดเล็กลง (ร้อยละ 21.35 และ 19.59 ตามลำดับ) ผลดังกล่าวสอดคล้องกับปริมาณเยื่อใย ซึ่งเป็นส่วนที่ไม่ถูกย่อยสลายด้วยกรดและด่าง ส่วนปริมาณไขมันมีค่าใกล้เคียงกันโดยเปลือกกุ้งขนาดใหญ่มีไขมันสูงสุด องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกกุ้งแช่บ๊วย ที่ได้จากการทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองของ Meyers (1986) ซึ่งพบว่าเปลือกกุ้งมีองค์ประกอบ (ร้อยละ) ดังนี้คือ เถ้า 31.7 ไขมัน 0.4 โปรตีนที่แท้จริง 22.8 ไคติน 27.2 แคลเซียม 11.1 และฟอสฟอรัส 3.16 แต่แตกต่างจากการทดลองของ Kamasastri และ Prabhu (1961) ซึ่งพบว่าเปลือกกุ้งมีโปรตีนที่แท้จริงสูงถึงร้อยละ 48.26 และมีไคตินร้อยละ 30 ทั้งนี้เนื่องจากความแตกต่างของวัตถุดิบอันประกอบด้วยชนิดของกุ้ง ฤดูกาล และสิ่งแวดล้อม

ตารางที่ 5 องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกกุ้งแชบ๊วย

| องค์ประกอบ* (ร้อยละ) | ขนาดเปลือกกุ้งบด (มม.) | | |
|---|---|---|---|
| | < 1.4 | 1.4-2.0 | 2.0-4.0 |
| เถ้า[a] | 28.29±0.31 | 29.30±0.87 | 31.53±0.16 |
| ไขมัน[a] | 0.63±0.10 | 0.99±0.08 | 1.05±0.14 |
| โปรตีน[a] | 39.99±0.24 | 37.22±0.42 | 31.65±0.98 |
| ไคติน[a] | 19.59±0.23 | 21.35±0.16 | 24.96±0.34 |
| เยื่อใย[b] | 23.75 | 24.17 | 25.17 |
| แคลเซียม[b] | 11.26 | 13.21 | 13.71 |
| ฟอสฟอรัส[b] | 2.83 | 2.75 | 2.77 |

* คำนวณจากน้ำหนักแห้ง

[a] ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

[b] ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ

เมื่อพิจารณาคุณสมบัติของเปลือกกุ้งสำหรับผลิตไคตินโดยใช้เกณฑ์ในการตัดสินคือ มีปริมาณไคตินสูงและปริมาณโปรตีนต่ำ นอกจากนี้เปลือกกุ้งขนาดเล็กอาจสูญเสียได้ง่ายในระหว่างการผลิต เช่น การล้าง และการกรองกระทำได้ช้า รวมทั้งมีโปรตีนสูง ทำให้สิ้นเปลืองปริมาณด่างสำหรับกำจัดโปรตีน ดังนั้นจึงเลือกเปลือกกุ้งขนาด 2.0-4.0 มม. และ 1.4-2.0 มม. (รูปที่ 4) เพื่อทำการศึกษาต่อไป

**รูปที่** 4 เปลือกกุ้งแชบ๊วยแห้งที่ผ่านการบดขนาด 2.0-4.0 มม. (ก) และ 1.4-2.0 มม. (ข)

1.2 กระบวนการผลิตไคตินและไคโตแซน

1.2.1 การกำจัดโปรตีน

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดโปรตีนประกอบด้วย 4 ปัจจัย คือ ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ขนาดของเปลือกกุ้งบด ระยะเวลาและอุณหภูมิในการกำจัดโปรตีน พบว่า การใช้สภาวะที่แตกต่างกันในการกำจัดโปรตีน มีผลต่อประสิทธิภาพการกำจัดโปรตีนที่แตกต่างกัน (ตารางที่ 6) เมื่อวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (ตารางผนวกที่ 1) พบว่า ทุกปัจจัยมีผลต่อประสิทธิภาพการกำจัดโปรตีนอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p < 0.05$) และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างโดยใช้ DMRT (ตารางผนวกที่ 2, 3, 4) พบว่า เปลือกกุ้งขนาดใหญ่ (2.0-4.0 มม.) ให้ประสิทธิภาพการกำจัดโปรตีนน้อยกว่าเปลือกกุ้งขนาดเล็ก ($p < 0.05$) การใช้อุณหภูมิสูง (100 องศาเซลเซียส) ให้ประสิทธิภาพการกำจัดโปรตีนสูงกว่าการใช้อุณหภูมิต่ำ (65 องศาเซลเซียส) ส่วนความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เพิ่มขึ้นมีผลทำให้ประสิทธิภาพในการกำจัดโปรตีนสูงขึ้น นอกจากนี้การใช้ระยะเวลาในการกำจัดโปรตีนนานขึ้นมีผลต่อการเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัดโปรตีนเช่นเดียวกัน เมื่อเปรียบเทียบสภาวะในการกำจัดโปรตีนจากเปลือกกุ้งทั้งสองขนาดที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ระยะเวลา

1-3 ชั่วโมง โดยใช้สารละลายด่างเข้มข้นร้อยละ 2.0 และ 3.0 (น.น./ปริมาตร) พบว่าการใช้สารละลายด่างที่ความเข้มข้นสูง และระยะเวลานาน มีผลต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการกำจัดโปรตีนเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ดังนั้นจึงเลือกสภาวะที่ประหยัดค่าใช้จ่ายและระยะเวลาเพื่อใช้ในการกำจัดโปรตีนซึ่งได้แก่ การใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 2.0 (น.น./ปริมาตร) เวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส โดยสภาวะที่ใช้อุณหภูมิและระยะเวลาดังกล่าวสอดคล้องกับการกำจัดโปรตีนจากเปลือกกุ้งแห้งที่ผ่านการบดของ Bough และคณะ (1978) แต่ใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 3.0 (น.น./ปริมาตร) ทั้งนี้เนื่องจากความแตกต่างของชนิดเปลือกกุ้ง โครงสร้าง และชนิดของโปรตีนซึ่งมีผลต่อความยากง่ายในการกำจัดโปรตีนในเปลือกกุ้งแต่ละชนิด

**ตารางที่ 6** ประสิทธิภาพการกำจัดโปรตีนจากเปลือกกุ้งแชบ๊วย* (ร้อยละ)

| ขนาดเปลือกกุ้ง บด (มม.) | เวลาในการกำจัดโปรตีน (ชม.) | ความเข้มข้นสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (ร้อยละ)/อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) 2.0 | | 3.0 | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 65 | 100 | 65 | 100 |
| 2.0-4.0 | 1 | 92.77±0.10 | 99.17±0.05 | 95.54±0.11 | 99.51±0.10 |
| | 2 | 95.72±0.05 | 99.44±0.06 | 97.70±0.13 | 99.67±0.05 |
| | 3 | 97.71±0.10 | 99.68±0.04 | 98.28±0.13 | 99.78±0.08 |
| 1.4-2.0 | 1 | 93.24±0.17 | 99.40±0.08 | 96.05±0.11 | 99.44±0.07 |
| | 2 | 95.98±0.11 | 99.57±0.12 | 97.69±0.14 | 99.60±0.04 |
| | 3 | 97.50±0.09 | 99.70±0.12 | 98.20±0.12 | 99.71±0.07 |

* ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ตารางที่ 7 ปริมาณเถ้าในไคตินจากเปลือกกุ้งแชบ๊วย* (ร้อยละ)

| ขนาดเปลือกกุ้งบด (มม.) | เวลาในการกำจัดแร่ธาตุ (ชม.) | ความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริก (นอร์มอล)/อัตราส่วนเปลือกกุ้งบด : สารละลายกรด (น.น. : ปริมาตร) 1.00 | | 1.25 | | 1.50 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 : 10 | 1 : 15 | 1 : 10 | 1 : 15 | 1 : 10 | 1 : 15 |
| 2.0-4.0 | 0.5 | 16.54±0.70 | 0.95±0.24 | 1.49±0.52 | 0.17±0.08 | 0.17±0.03 | 0.15±0.03 |
| | 1.0 | 15.98±0.10 | 0.26±0.07 | 0.20±0.05 | 0.15±0.04 | 0.15±0.01 | 0.13±0.02 |
| | 1.5 | 15.34±0.09 | 0.20±0.03 | 0.17±0.12 | 0.05±0.02 | 0.09±0.03 | 0.05±0.04 |
| 1.4-2.0 | 0.5 | 14.08±1.50 | 0.18±0.07 | 0.54±0.10 | 0.15±0.03 | 0.18±0.03 | 0.06±0.03 |
| | 1.0 | 13.00±1.56 | 0.10±0.02 | 0.19±0.03 | 0.13±0.02 | 0.12±0.03 | 0.05±0.02 |
| | 1.5 | 10.73±0.60 | 0.09±0.02 | 0.15±0.03 | 0.05±0.02 | 0.06±0.02 | 0.02±0.01 |

* ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ตารางที่ 8 ปริมาณไคตินในไคตินจากเปลือกกุ้งแช่บ๊วย* (ร้อยละ)

| ขนาดเปลือกกุ้งบด (มม.) | เวลาในการกำจัดแร่ธาตุ (ชม.) | ความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริก (นอร์มอล)/อัตราส่วนเปลือกกุ้งบด : สารละลายกรด (น.น. : ปริมาตร) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1.00 | | 1.25 | | 1.50 | |
| | | 1 : 10 | 1 : 15 | 1 : 10 | 1 : 15 | 1 : 10 | 1 : 15 |
| 2.0-4.0 | 0.5 | 67.10±1.20 | 87.35±1.96 | 87.35±2.42 | 88.24±1.80 | 86.96±1.04 | 81.54±2.68 |
| | 1.0 | 69.88±1.27 | 89.29±1.44 | 92.65±2.51 | 85.94±0.96 | 91.22±1.98 | 93.75±2.17 |
| | 1.5 | 82.07±2.39 | 92.89±0.48 | 87.65±1.07 | 79.53±0.88 | 88.57±2.54 | 92.50±1.37 |
| 1.4-2.0 | 0.5 | 58.11±1.06 | 84.10±0.88 | 88.13±1.26 | 82.44±3.09 | 95.83±1.44 | 93.65±1.70 |
| | 1.0 | 67.96±2.09 | 86.87±1.97 | 88.62±1.47 | 87.90±0.21 | 95.23±0.17 | 93.67±1.41 |
| | 1.5 | 72.93±1.73 | 90.80±2.21 | 78.69±1.82 | 75.17±3.73 | 87.95±3.63 | 79.28±3.19 |

* ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

1.2.2 การกำจัดแร่ธาตุ

โดยทั่วไปเปลือกของสัตว์จำพวกกุ้งมีแคลเซียมคาร์บอเนตเป็นองค์ประกอบหลักของสารอนินทรีย์ การแช่เปลือกกุ้งในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกสามารถละลายแคลเซียมคาร์บอเนตให้อยู่ในรูปแคลเซียมคลอไรด์และเหลือไคตินซึ่งไม่ละลาย จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดแร่ธาตุ ประกอบด้วย 4 ปัจจัยคือ ความเข้มข้นของสารละลายกรดไฮโดรคลอริก อัตราส่วนของเปลือกกุ้งบดที่กำจัดโปรตีนแล้วต่อสารละลายกรด ระยะเวลาในการกำจัดแร่ธาตุ และขนาดของเปลือกกุ้งบดที่กำจัดโปรตีนแล้ว พบว่า ภายหลังการกำจัดแร่ธาตุที่สภาวะต่าง ๆ แล้วจะได้สารประกอบไคติน ที่มีปริมาณเถ้าต่างกันดังตารางที่ 7 เมื่อวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (ตารางผนวกที่ 5) พบว่า ทุกปัจจัยมีผลต่อปริมาณเถ้าที่เหลืออยู่ในไคตินอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p < 0.01$) และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างโดยใช้ DMRT (ตารางผนวกที่ 6) พบว่า เปลือกกุ้งขนาดใหญ่ที่กำจัดโปรตีนแล้วให้ไคตินที่มีปริมาณเถ้าสูงกว่าเปลือกกุ้งขนาดเล็ก ($p < 0.05$) ทั้งนี้เพราะว่าเปลือกกุ้งขนาดเล็กมีพื้นที่ผิวสัมผัสกับสารละลายกรดมากกว่าจึงสามารถละลายแคลเซียมคาร์บอเนตได้มากกว่า ส่วนระยะเวลามีผลต่อปริมาณเถ้าคือ เมื่อระยะเวลานานขึ้นสามารถกำจัดแร่ธาตุได้มากขึ้นโดยระยะเวลามากกว่า 1 ชั่วโมง ให้ไคตินที่มีปริมาณเถ้าที่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ที่ระยะเวลาและขนาดของเปลือกกุ้งเดียวกัน อัตราส่วนเปลือกกุ้งต่อกรดมีผลต่อความแตกต่างของปริมาณเถ้าอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p < 0.01$) เมื่อใช้กรดเข้มข้น 1.0 นอร์มอล แต่จะไม่มีผลต่อความแตกต่างของเถ้าเมื่อใช้กรดเข้มข้น 1.25 และ 1.5 นอร์มอลยกเว้นการใช้กรดเข้มข้น 1.25 นอร์มอล เวลา 0.5 ชั่วโมง ส่วนผลของความเข้มข้นกรดพบว่าเมื่อใช้อัตราส่วนเปลือกกุ้งต่อกรด 1 : 10 (ขนาดเปลือกกุ้งและระยะเวลาเดียวกัน) จะให้ผลที่ไม่มีความแตกต่างของปริมาณเถ้าอย่างมีนัยสำคัญเมื่อใช้กรดเข้มข้น 1.25 และ 1.5 นอร์มอล แต่จะแตกต่างกันเมื่อใช้กรดเข้มข้น 1.0 นอร์มอล ส่วนการใช้อัตราส่วนเปลือกกุ้งต่อกรด 1 : 15 นั้นจะไม่มีความแตกต่างของปริมาณเถ้าอย่างมีนัยสำคัญในทุกสภาวะยกเว้นสภาวะการใช้เปลือกกุ้งขนาดใหญ่เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

ดังนั้นสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการกำจัดแร่ธาตุคือ การใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1.25 นอร์มอล อัตราส่วนเปลือกกุ้งต่อกรด 1 : 10 ระยะเวลา 1 ชั่วโมง ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Madhavan และ Ramachandrannair (1974) ที่พบว่าภายใต้สภาวะดังกล่าวจะให้ไคตินจากเปลือกกุ้งสำหรับผลิตไคโตแซนที่มีความหนืดสูงสุด แต่

เมื่อใช้กรดเข้มข้นเพิ่มขึ้น ความหนืดของสารละลายไคโตแซนจะลดลง

สภาวะการกำจัดแร่ธาตุมีผลต่อปริมาณไคตินที่เหลือในเปลือกกุ้ง (ตารางที่ 8) โดยพบว่า ที่ระดับความเข้มข้นกรดสูงกว่า 1.0 นอร์มอล และระยะเวลามากกว่า 1 ชั่วโมง มีผลทำให้ปริมาณไคตินลดลง และมีผลโดยตรงต่อคุณภาพของไคตินและไคโตแซนซึ่งเป็นอนุพันธ์ของไคติน ดังนั้นสภาวะในการกำจัดแร่ธาตุจึงมีความสำคัญต่อการผลิตไคติน

1.2.3 การกำจัดหมู่อะซิติล

การตรวจสอบคุณสมบัติของไคโตแซนซึ่งผลิตจากไคตินสามารถกระทำได้หลายวิธี เช่น การวัดระดับการกำจัดหมู่อะซิติล (degree of deacetylation) การหาน้ำหนักโมเลกุล แต่เนื่องจากวิธีการทั้งสองจำเป็นต้องใช้เครื่องมือ และอุปกรณ์พิเศษ การวัดความหนืดจึงเป็นอีกวิธีหนึ่งในการตรวจสอบคุณสมบัติ เนื่องจากความหนืดและน้ำหนักโมเลกุลมีความสัมพันธ์กัน (Rutherford and Austin, 1978) นอกจากนี้ความหนืดของสารละลายไคโตแซนสามารถบ่งชี้จำนวนหมู่เอมีนอิสระซึ่งขึ้นกับระดับการกำจัดหมู่อะซิติลออกจากโครงสร้างของไคติน ทั้งนี้เพราะว่าไคโตแซนซึ่งเป็นพอลิเมอร์ของกลูโคซามีนจะคลายตัวในสารละลายกรดโดยหมู่เอมีนอิสระ ($-NH_2$) รับไฮโดรเจนอิออนจากสารละลายกรดเกิดเป็นประจุบวก ($-NH^+_3$) ก่อให้เกิดแรงผลักระหว่างประจุเพิ่มขึ้นส่งผลให้การคลายตัวของไคโตแซนเพิ่มขึ้น การประสานหรือจับกันของสายโซ่ไคโตแซนก่อให้เกิดความหนืด (Filar and Wirick, 1978) สายโซ่ที่มีความยาวมาก (น้ำหนักโมเลกุลสูง) ให้ความหนืดของสารละลายสูงดังนั้นการใช้ความหนืดเป็นดัชนีบ่งบอกคุณสมบัติจึงสามารถกระทำได้ง่ายและรวดเร็ว จากการศึกษาพบว่าการกำจัดหมู่อะซิติลภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน 7 สภาวะ ส่งผลต่อความหนืดของไคโตแซนดังแสดงในตารางที่ 9 ดังนี้

1) อุณหภูมิ การใช้อุณหภูมิต่ำ (100 องศาเซลเซียส) ระยะเวลานาน (30 นาที) ในการกำจัดหมู่อะซิติลได้ไคโตแซนที่มีความหนืดสูงกว่าการใช้อุณหภูมิสูง (145-150 องศาเซลเซียส) ระยะเวลาสั้น (5 นาที)

2) สภาพบรรยากาศ การกำจัดหมู่อะซิติลในสภาวะที่มีอากาศส่งผลให้ไคโตแซนมีความหนืดน้อยกว่าในสภาวะสุญญากาศและในสภาวะที่มีไนโตรเจนภายใต้อุณหภูมิเดียวกัน เนื่องจากในสภาวะที่มีอากาศ (ออกซิเจน) จะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันส่งผลต่อการทำลายโครงสร้างของไคโตแซน ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการทดลองของ Bough และคณะ (1978) ที่พบว่าไคโตแซนซึ่งผลิตในสภาวะที่มีไนโตรเจนให้ความหนืดสูงกว่าไคโตแซนที่ผลิตในสภาวะที่มีออกซิเจน

3) ระยะเวลา การใช้ระยะเวลานานในการกำจัดหมู่อะซิติล มีผลทำให้คุณภาพของไคโตแซนลดลง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและสภาพบรรยากาศที่ใช้ด้วย ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส การใช้ระยะเวลานาน (2 ชั่วโมง) ทำให้ความหนืดของสารละลายไคโตแซนที่ได้ต่ำกว่าการใช้ระยะเวลาสั้น (30 นาที) ทั้งนี้เนื่องจากการใช้ระยะเวลานานก่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันมีผลให้คุณภาพของไคโตแซนลดลง ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับการรายงานของ Bough และคณะ (1978) และของ Wu และ Bough (1978) ซึ่งพบว่า การใช้ระยะเวลากำจัดหมู่อะซิติลมากขึ้น ส่งผลให้ความหนืดของสารละลายไคโตแซนลดลง

4) ขนาดของไคติน ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ในสภาวะที่มีออกซิเจน ไคตินขนาดเล็กจะให้ไคโตแซนที่มีความหนืดต่ำกว่าไคตินที่มีขนาดใหญ่ เพราะว่าไคตินขนาดเล็กมีพื้นที่ผิวสัมผัสกับออกซิเจนมากกว่า มีผลในการเพิ่มอัตราการทำลายโครงสร้างเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน อย่างไรก็ตามที่อุณหภูมิ 145-150 องศาเซลเซียส ภายใต้สภาวะบรรยากาศเดียวกัน ไคตินขนาดเล็กให้ความหนืดสูงกว่าไคตินขนาดใหญ่ ทั้งนี้อาจเนื่องจากระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันสั้น (5 นาที) ตลอดจนสามารถกำจัดหมู่อะซิติลได้อย่างรวดเร็วภายใต้อุณหภูมิสูงจึงเป็นผลให้ได้ไคโตแซนที่มีความหนืดสูงกว่า ส่วนสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (สภาวะสุญญากาศและสภาวะที่มีไนโตรเจน) พบว่า ไคตินขนาดเล็กจะให้ไคโตแซนที่มีความหนืดสูงกว่า เนื่องจากไคตินขนาดเล็กมีพื้นที่ผิวสัมผัสกับสารละลายด่างมากกว่า การกำจัดหมู่อะซิติลจึงทำได้สมบูรณ์กว่าไคตินขนาดใหญ่ โดยปราศจากการทำลายโครงสร้างเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับการทดลองของ Bough และคณะ (1978) ซึ่งได้กำจัดหมู่อะซิติลจากไคตินที่ผลิตจากเปลือกกุ้งขนาดต่าง ๆ (1, 2 และ 6.4 มม.) ภายใต้สภาวะที่มีไนโตรเจน พบว่า ไคตินขนาดเล็กให้ไคโตแซนที่มีความหนืดสูงสุด

ดังนั้นสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไคโตแซนจากเปลือกกุ้งแชบ๊วยคือ การใช้ไคตินขนาด 1.4-2.0 มม. ทำการกำจัดหมู่อะซิติลโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 50 (น.น./น.น.) อัตราส่วนระหว่างไคตินและสารละลายด่างเท่ากับ 1 : 15 ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ในสภาวะสุญญากาศ เป็นเวลา 30 นาที

ตารางที่ 9 ค่าความหนืดของสารละลายไคโตแซนที่ผลิตภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน

| สภาวะการผลิตไคโตแซน | ความหนืด* (เซนติพอยส์)/ขนาดไคติน (มม.) | |
|---|---|---|
| | 2.0-4.0 | 1.4-2.0 |
| 100 °ซ, 30 นาที ในสภาวะที่มีอากาศ | 3,527 | 2,449 |
| 100 °ซ, 30 นาที ในสภาวะสุญญากาศ | 10,122 | 12,892 |
| 100 °ซ, 30 นาที ในสภาวะที่มีไนโตรเจน | 10,459 | 10,497 |
| 100 °ซ, 2 ชั่วโมง ในสภาวะที่มีอากาศ | 530 | 460 |
| 145-150 °ซ, 5 นาที ในสภาวะที่มีอากาศ | 824 | 1,068 |
| 145-150 °ซ, 5 นาที ในสภาวะสุญญากาศ | 860 | 1,085 |
| 145-150 °ซ, 5 นาที ในสภาวะที่มีไนโตรเจน | 1,263 | 1,490 |

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ

1.2.4 ผลผลิตไคตินและไคโตแซนจากเปลือกกุ้งแชบ๊วย

ผลผลิตไคตินที่ได้จากเปลือกกุ้งแชบ๊วยขนาด 2.0-4.0 มม. และ 1.4-2.0 มม. ซึ่งผลิตภายใต้สภาวะที่เหมาะสม (ข้อ 1.2.1 และ 1.2.2) มีปริมาณร้อยละ 27.18 และ 26.84 เมื่อเทียบจากน้ำหนักเปลือกกุ้งอบแห้ง ส่วนผลผลิตไคโตแซนจากเปลือกกุ้งแชบ๊วยขนาด 2.0-4.0 มม. และ 1.4-2.0 มม. ซึ่งผลิตในสภาวะที่เหมาะสม (ข้อ 1.2.3) มีปริมาณร้อยละ 79.46 และ 78.38 เมื่อเทียบจากไคตินแห้ง และมีปริมาณร้อยละ 21.60 และ 21.04 เมื่อเทียบจากเปลือกกุ้งอบแห้ง 2 ขนาดตามลำดับ

1.2.5 องค์ประกอบและคุณสมบัติของไคตินและไคโตแซน

1.2.5.1 องค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพของไคติน

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของไคตินจากเปลือกกุ้งแชบ๊วยบด 2 ขนาด (2.0-4.0 มม. และ 1.4-2.0 มม.) เปรียบเทียบกับไคตินจากบริษัท

Fluka แสดงผลดังตารางที่ 10 ไคตินจากเปลือกกุ้งแชบ๊วยทั้ง 2 ขนาด มีองค์ประกอบทางเคมีใกล้เคียงกัน แต่แตกต่างจากไคตินจากบริษัท Fluka ดังนี้

ความชื้น ไคตินจากเปลือกกุ้งแชบ๊วยบดขนาดใหญ่มีความชื้นสูงกว่าไคตินที่ได้จากเปลือกกุ้งบดขนาดเล็ก อันเป็นผลจากประสิทธิภาพการทำแห้งที่ต่ำกว่า แต่มีปริมาณต่ำกว่าไคตินจากบริษัท Fluka

เถ้า ไคตินจากเปลือกกุ้งแชบ๊วยบดทั้งสองขนาดมีปริมาณเถ้าใกล้เคียงกันแต่มี ค่าต่ำกว่าไคตินจากบริษัท Fluka จึงอาจกล่าวได้ว่าประสิทธิภาพการกำจัดแร่ธาตุในไคตินจากเปลือกกุ้งแชบ๊วยสูงกว่า

ไคติน ปริมาณไคตินที่พบในไคตินจากเปลือกกุ้งแชบ๊วยสูงกว่าในไคตินจากบริษัท Fluka อย่างเด่นชัด ทั้งนี้อาจเป็นผลเนื่องจากกระบวนการผลิต ชนิดของวัตถุดิบ และองค์-ประกอบเคมีอื่น ๆ ที่แตกต่างกัน

ไนโตรเจน ปริมาณไนโตรเจนของไคตินจากเปลือกกุ้งแชบ๊วยทั้งสองขนาดมีค่าใกล้เคียงกับค่าทางทฤษฎีสำหรับไคตินบริสุทธิ์ (ร้อยละ 6.9) (No, et al., 1989) คือ มีค่าเท่ากับร้อยละ 6.81 และ 6.80 ในเปลือกกุ้งบดขนาดใหญ่และเล็กตามลำดับ ส่วนปริมาณไนโตรเจนของไคตินจากบริษัท Fluka มีค่าสูงกว่าค่าทางทฤษฎีอย่างเด่นชัด (ร้อยละ 8.12) ปริมาณไนโตรเจนที่สูงกว่า 6.9 อาจเนื่องจากการสูญเสียหมู่อะซิติลหรือการกำจัดโปรตีนที่ไม่สมบูรณ์ ส่วนปริมาณไนโตรเจนที่ต่ำกว่า 6.9 เนื่องจากการสูญเสียหมู่เอมีน และการปนเปื้อนจากองค์ประกอบอื่นเช่น เถ้า ซึ่งเหลืออยู่ภายหลังการกำจัดแร่ธาตุที่ไม่เหมาะสม (Rutherford and Austin, 1978)

ตารางที่ 10 องค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพของไคติน

| องค์ประกอบ /คุณสมบัติ | ไคตินจากเปลือกกุ้งแชบ๊วยขนาดที่มีขนาด (มม.) 2.0-4.0 | 1.4-2.0 | ไคตินจากบริษัท Fluka |
|---|---|---|---|
| ความชื้น[a] | 4.38±0.08 | 2.95±0.16 | 9.64±0.10 |
| เถ้า[a] | 0.19±0.03 | 0.18±0.05 | 0.62±0.03 |
| ไคติน[a] | 97.31±1.31 | 96.15±1.51 | 83.66±2.86 |
| ไนโตรเจน[a] | 6.81±0.05 | 6.80±0.11 | 8.12±0.06 |
| การละลาย[b] | 41.72 | 42.60 | - |

[a,b] ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ และ 2 ซ้ำ ตามลำดับ

\- ไม่ละลายใน N,N-dimethylacetamide (DMAc) -5% LiCl

จากการวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพของไคตินจากเปลือกกุ้งแชบ๊วยเปรียบเทียบกับไคตินจากบริษัท Fluka ได้ผลดังนี้คือ

สี ไคตินจากเปลือกกุ้งแชบ๊วยขนาดทั้ง 2 ขนาด มีลักษณะเป็นเกล็ดสีเหลืองนวล (10YR 9/2) (รูปที่ 5) ส่วนไคตินจากบริษัท Fluka มีขนาดและสีที่ไม่สม่ำเสมอ โดยทั่วไปมีสีเข้มและมีความหนามากกว่าไคตินจากเปลือกกุ้งแชบ๊วยซึ่งคาดว่าเป็นไคตินจากเปลือกและกระดองปู

การละลาย ไคตินจากเปลือกกุ้งแชบ๊วยสามารถละลายในสารละลาย N,N-dimethylacetamide ที่มีลิเทียมคลอไรด์ร้อยละ 5 (DMAc-5%LiCl) ได้ประมาณร้อยละ 42 ส่วนไคตินจากบริษัท Fluka ไม่สามารถละลายในสารละลายดังกล่าว อาจเนื่องจากมีความแตกต่างของน้ำหนักโมเลกุล สารที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงมีแนวโน้มละลายได้น้อยกว่าสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ (Billmeyer, 1971) นอกจากนี้อาจเป็นผลจากความแตกต่างของหมู่อะซิติลในโครงสร้างของไคติน ซึ่ง Rutherford และ Austin (1978) พบว่าไคตินที่มีหมู่อะซิติลสูงมีแนวโน้มละลายได้สูงกว่าไคตินที่มีหมู่อะซิติลต่ำ เนื่องจากหมู่อะซิติลสามารถทำปฏิกิริยากับตัวทำ

ละลายได้ ส่วนความแตกต่างของลักษณะโครงสร้างก็อาจมีผลต่อการละลายเช่นกัน

**รูปที่ 5** ไคตินจากเปลือกกุ้งแชบ๊วยบดขนาด 2.0-4.0 มม. (ก) และ 1.4-2.0 มม. (ข)

1.2.5.2 องค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพของไคโตแซน

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของไคโตแซนจากเปลือกกุ้งแชบ๊วยบด 2 ขนาด (2.0-4.0 มม. และ 1.4-2.0 มม.) เปรียบเทียบกับไคโตแซนชนิดน้ำหนักโมเลกุลสูงและชนิดน้ำหนักโมเลกุลต่ำจากบริษัท Fluka แสดงผลดังตารางที่ 11 ไคโต-แซนจากเปลือกกุ้งแชบ๊วยบดทั้ง 2 ขนาด มีองค์ประกอบทางเคมีใกล้เคียงกันแต่แตกต่างจากไคโตแซนจากบริษัท Fluka ดังนี้

<u>ความชื้น</u> ความชื้นในไคโตแซนจากเปลือกกุ้งแชบ๊วยบดทั้งสองขนาดมีปริมาณใกล้เคียงกัน โดยมีปริมาณต่ำกว่าไคโตแซนทั้งสองชนิดของบริษัท Fluka อย่างเด่นชัด

เถ้า แม้ว่าปริมาณเถ้าที่พบในไคโตแซนจากเปลือกกุ้งแชบ๊วยบดทั้งสองขนาดมีค่าต่ำ (ร้อยละ 0.26-0.29) แต่ยังสูงกว่าปริมาณเถ้าในไคโตแซนจากการทดลองของ Bough และคณะ (1978) ซึ่งมีปริมาณเพียงร้อยละ 0.011-0.043 ทั้งนี้เนื่องจากความแตกต่างของชนิดและโครงสร้างเปลือกกุ้งซึ่งมีผลต่อความยากง่ายในการกำจัดแร่ธาตุเมื่อผลิตเป็นไคติน ส่วนปริมาณเถ้าในไคโตแซนทั้งสองชนิดของบริษัท Fluka นั้นมีปริมาณสูง (ร้อยละ 1.11-1.50) ซึ่งให้ผลใกล้เคียงกับการทดลองของ Filar และ Wirick (1978) ซึ่งพบว่ามีเถ้าในไคโตแซนชนิดน้ำหนักโมเลกุลสูงและต่ำเท่ากับ ร้อยละ 1.9 และ 1.2 ตามลำดับ

ไนโตรเจน ปริมาณไนโตรเจนในไคโตแซนจากเปลือกกุ้งแชบ๊วยบดทั้งสองขนาดมีค่าสูงกว่าปริมาณไนโตรเจนในไคตินทั้งนี้เป็นผลจากการสูญเสียหมู่อะซิติลนั่นเอง ปริมาณไนโตรเจนดังกล่าวใกล้เคียงกับการทดลองของ Bough และคณะ (1978) ส่วนปริมาณไนโตรเจนในไคโตแซนทั้งสองชนิดจากบริษัท Fluka นั้นมีค่าต่ำกว่าปริมาณไนโตรเจนในไคโตแซนจากเปลือกกุ้งแชบ๊วย ทั้งนี้อาจเนื่องจากมีการสูญเสียหมู่เอมีนในระหว่างการขนส่งและเก็บรักษาที่ไม่เหมาะสม ส่วน Filar และ Wirick (1978) พบว่า ปริมาณไนโตรเจนในไคโตแซนทั้งสองชนิด (น้ำหนักโมเลกุลสูงและต่ำ) มีค่าร้อยละ 8.17-8.41 ซึ่งสูงกว่าปริมาณไนโตรเจนในไคโตแซนจากเปลือกกุ้งแชบ๊วย และไคโตแซนจากบริษัท Fluka เนื่องจากความแตกต่างของโครงสร้างและประสิทธิภาพการกำจัดโปรตีนในกระบวนการผลิตไคตินสำหรับเป็นวัตถุดิบในการผลิตไคโตแซน

ตารางที่ 11 องค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพของไคโตแซน

| องค์ประกอบ /คุณสมบัติ | ไคโตแซนจากไคตินที่มีขนาด (มม.) ต่างกัน | | ไคโตแซนจากบริษัท Fluka ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่างกัน | |
|---|---|---|---|---|
| | 2.0-4.0 | 1.4-2.0 | สูง | ต่ำ |
| ความชื้น[a] (ร้อยละ) | 6.27±0.09 | 6.46±0.42 | 8.25±0.11 | 10.36±0.07 |
| เถ้า[a] (ร้อยละ) | 0.26±0.03 | 0.29±0.08 | 1.11±0.12 | 1.50±0.24 |
| ไนโตรเจน[a] (ร้อยละ) | 7.76±0.01 | 7.80±0.01 | 7.21±0.05 | 7.08±0.03 |
| ความหนืด[b] (เซนติพอยส์) | 9,172 | 10,183 | 1,056 | 203 |

[a] ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

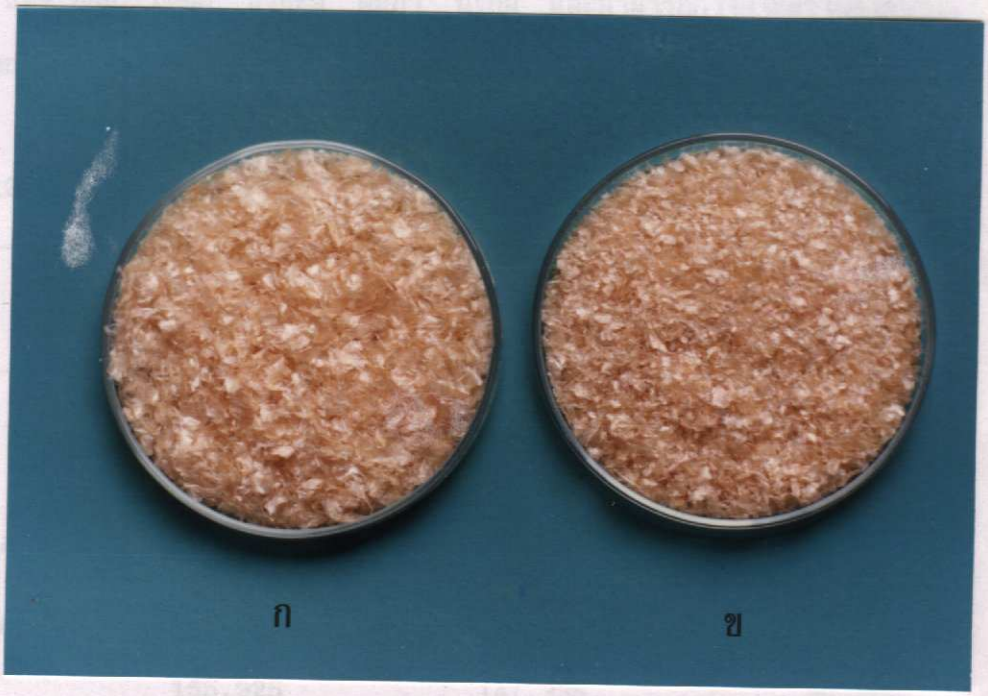
[b] ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ (ร้อยละ 1 ในกรดอะซิติกร้อยละ 2)

จากการวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพของไคโตแซนจากเปลือกกุ้งแชบ๊วยเปรียบเทียบกับไคโตแซนจากบริษัท Fluka ได้ผลดังนี้คือ

สี ไคโตแซนจากเปลือกกุ้งแชบ๊วยมีลักษณะเป็นเกล็ดสีเหลืองจาง (5Y 9/2) มีความมันวาว (รูปที่ 6) โดยมีสีใกล้เคียงกับไคโตแซนจากบริษัท Fluka ทั้งชนิดน้ำหนักโมเลกุลสูงและต่ำ

ความหนืด สารละลายไคโตแซนจากเปลือกกุ้งแชบ๊วยบดขนาด 1.4-2.0 มม. ในกรดอะซิติก มีความหนืดสูงกว่าสารละลายไคโตแซนจากเปลือกกุ้งบดขนาด 2.0-4.0 มม. (ตารางที่ 11) ส่วนการละลายของไคโตแซนจากบริษัท Fluka ในกรดอะซิติกนั้นพบว่า มีบางส่วนไม่ละลายและตกตะกอน โดยมีความหนืดเท่ากับ 1,056 และ 203 เซนติพอยส์ ในไคโตแซนชนิดน้ำหนักโมเลกุลสูงและต่ำตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Filar และ Wirick (1978) ซึ่งพบว่าความหนืดของสารละลายไคโตแซนชนิดน้ำหนักโมเลกุลสูงและต่ำมีค่าเท่ากับ 2,780 และ 50 เซนติพอยส์ ตามลำดับ สารละลายไคโตแซนจากเปลือกกุ้งแชบ๊วยมีค่าความหนืดสูงกว่าสารละลายไคโตแซนจากบริษัท Fluka อย่างเด่นชัด ทั้งนี้อาจเนื่องจากมีการสูญเสียหมู่

เอมีน โดยพบว่าปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดต่ำกว่าปริมาณไนโตรเจนในไคโตแซนจากเปลือกกุ้งแชบ๊วย จึงทำให้ความสามารถในการรับประจุไฮโดรเจนจากสารละลายกรดต่ำลง ส่งผลให้แรงผลักระหว่างประจุไม่เพียงพอสำหรับการคลายตัวของพอลิเมอร์ของไคโตแซน ความหนืดจึงต่ำกว่าที่ควรจะเป็น นอกจากนี้อาจเป็นผลจากระดับการกำจัดหมู่อะซิติลที่แตกต่างกันส่งผลให้การละลายแตกต่างกัน




**รูปที่ 6** ไคโตแซนจากเปลือกกุ้งแชบ๊วยบดขนาด 2.0-4.0 มม. (ก) และ 1.4-2.0 มม. (ข)

เมื่อศึกษาปริมาณแร่ธาตุบางชนิดในไคตินและไคโตแซนจากเปลือกกุ้งแชบ๊วยแห้งที่ผ่านการบดขนาด 1.4-2.0 มม. เปรียบเทียบกับเปลือกกุ้ง โดยตรวจสอบปริมาณแคลเซียม ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม โพแทสเซียม เหล็ก แมงกานีส ทองแดง และสังกะสี (ตารางที่ 12) พบว่าแคลเซียมและฟอสฟอรัสเป็นแร่ธาตุหลักในเปลือกกุ้ง ปริมาณแร่ธาตุจะเปลี่ยนแปลงและแตกต่างไปตามขั้นตอนการผลิต แคลเซียมในเปลือกกุ้งมีปริมาณลดลงประมาณ ร้อยละ 99.9 และ 99 ในไคตินและไคโตแซนตามลำดับ ส่วนฟอสฟอรัสซึ่งเป็นแร่ธาตุรองนั้นมีปริมาณลดลงประมาณร้อยละ

98 และ 99 ในไคตินและไคโตแซนตามลำดับ ปริมาณแมกนีเซียม โพแทสเซียม เหล็กและทองแดง ลดลงตามขั้นตอนการผลิต ส่วนปริมาณแมงกานีสและสังกะสีพบว่าในไคตินมีปริมาณลดลงจากเปลือกกุ้งซึ่งเป็นวัตถุดิบ แต่จะเพิ่มขึ้นในไคโตแซนซึ่งคาดว่าอาจมีการปนเปื้อนในระหว่างการผลิต เนื่องจากไคโตแซน สามารถจับกับอนุมูลโลหะหลายชนิด เช่น โครเมียม นิเกิล สังกะสี เหล็ก แมงกานีส (Madhavan and Ramachandran, 1978) จากคุณสมบัติดังกล่าวจึงมีการใช้ไคโตแซนในการกำจัดโลหะหนัก จากน้ำทิ้งโรงงานอุตสาหกรรมต่าง ๆ พบว่า สามารถลดปริมาณทองแดง แคดเมียม เหล็ก สังกะสี ตะกั่ว นิเกิล และสามารถกำจัดไซยาไนด์ได้บางส่วน (Masri and Randall, 1978)

ตารางที่ 12 ปริมาณแร่ธาตุบางชนิดในเปลือกกุ้ง ไคตินและไคโตแซนจากเปลือกกุ้งแชบ๊วย

| แร่ธาตุ* | เปลือกกุ้ง | ไคติน | ไคโตแซน |
|---|---|---|---|
| แคลเซียม[a] | 12.760 | 0.007 | 0.120 |
| ฟอสฟอรัส[a] | 2.535 | 0.040 | 0.010 |
| แมกนีเซียม[a] | 0.710 | 0.003 | 0.006 |
| โพแทสเซียม[a] | 0.095 | 0.002 | 0.002 |
| เหล็ก[b] | 155.925 | 147.335 | 21.445 |
| แมงกานีส[b] | 25.090 | 0.640 | 6.945 |
| ทองแดง[b] | 8.905 | 1.090 | 0.050 |
| สังกะสี[b] | 3.160 | 0.425 | 20.780 |

[a] ร้อยละ (เทียบจากน้ำหนักแห้งเริ่มต้น)

[b] ส่วนในล้านส่วน (เทียบจากน้ำหนักแห้งเริ่มต้น)

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ

1.2.5.3 องค์ประกอบและคุณภัติของไคตินและไคโตแซนระหว่างการเก็บรักษา

ไคติน การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของไคตินระหว่างการเก็บรักษาในขวดแก้วปิดสนิทที่อุณหภูมิห้อง (27-30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 3 เดือน (ตารางที่ 13) พบว่าปริมาณความชื้นของไคตินทั้งสองขนาดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) คือ เพิ่มจากร้อยละ 4.38 เป็นร้อยละ 6.77 ในไคตินขนาดใหญ่ และเพิ่มจากร้อยละ 2.95 เป็นร้อยละ 6.96 ในไคตินขนาดเล็ก โดยอัตราการเพิ่มของความชื้นในไคตินขนาดเล็กมีค่าสูงกว่าในไคตินขนาดใหญ่ ส่วนปริมาณไนโตรเจนในไคตินทั้งสองขนาดไม่เปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 1 เดือน แต่จะลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษามากขึ้น

ตารางที่ 13 ปริมาณความชื้นและไนโตรเจนของไคตินจากเปลือกกุ้งแชบ๊วยในระหว่างการเก็บรักษา

| ขนาดของไคติน (มม.) | ระยะเวลาการเก็บรักษา (เดือน) | ความชื้น* (ร้อยละ) | ไนโตรเจน* (ร้อยละ) |
|---|---|---|---|
| 2.0-4.0 | 0 | $4.38\pm0.08^{a}$ | $6.81\pm0.05^{a}$ |
| | 1 | $5.92\pm0.12^{b}$ | $6.79\pm0.06^{a}$ |
| | 2 | $5.89\pm0.05^{b}$ | $6.26\pm0.06^{b}$ |
| | 3 | $6.77\pm0.19^{c}$ | $6.08\pm0.05^{c}$ |
| 1.4-2.0 | 0 | $2.95\pm0.16^{a}$ | $6.80\pm0.11^{a}$ |
| | 1 | $5.96\pm0.15^{b}$ | $6.71\pm0.13^{a}$ |
| | 2 | $6.02\pm0.12^{b}$ | $6.24\pm0.08^{b}$ |
| | 3 | $6.96\pm0.16^{c}$ | $6.11\pm0.03^{c}$ |

* ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ตัวอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันของไคตินแต่ละขนาดแสดงว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ไคโตแซน เมื่อประเมินการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบและคุณสมบัติของไคโตแซนในระหว่างการเก็บรักษาในขวดแก้วปิดสนิท ที่อุณหภูมิห้อง (27-30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 3 เดือน (ตารางที่ 14) พบว่า ความชื้นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยระดับการเพิ่มของความชื้นในไคโตแซนขนาดเล็กมีค่าสูงกว่าในไคโตแซนขนาดใหญ่ คือ เพิ่มจากร้อยละ 6.27 เป็นร้อยละ 10.64 ในไคโตแซนขนาดใหญ่ และเพิ่มจากร้อยละ 6.46 เป็นร้อยละ 12.83 ในไคโตแซนขนาดเล็ก ส่วนค่าความหนืดของไคโตแซนจะลดลงทุกเดือนอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยลดลงประมาณร้อยละ 36 ในไคโตแซนขนาดใหญ่และปริมาณร้อยละ 21 ในไคโตแซนขนาดเล็ก ทั้งนี้อาจเป็นผลเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงทางเคมีในระหว่างการเก็บรักษาทำให้ความหนืดลดลง

เมื่อเปรียบเทียบความชื้นและอัตราการเพิ่มของความชื้นในระหว่างการเก็บรักษาของไคตินและไคโตแซนพบว่า ไคโตแซนมีปริมาณความชื้นและอัตราการเพิ่มความชื้นสูงกว่าไคติน ทั้งนี้เพราะไคโตแซนมีคุณสมบัติจับกับน้ำได้สูงกว่าไคติน (Knorr, 1982)

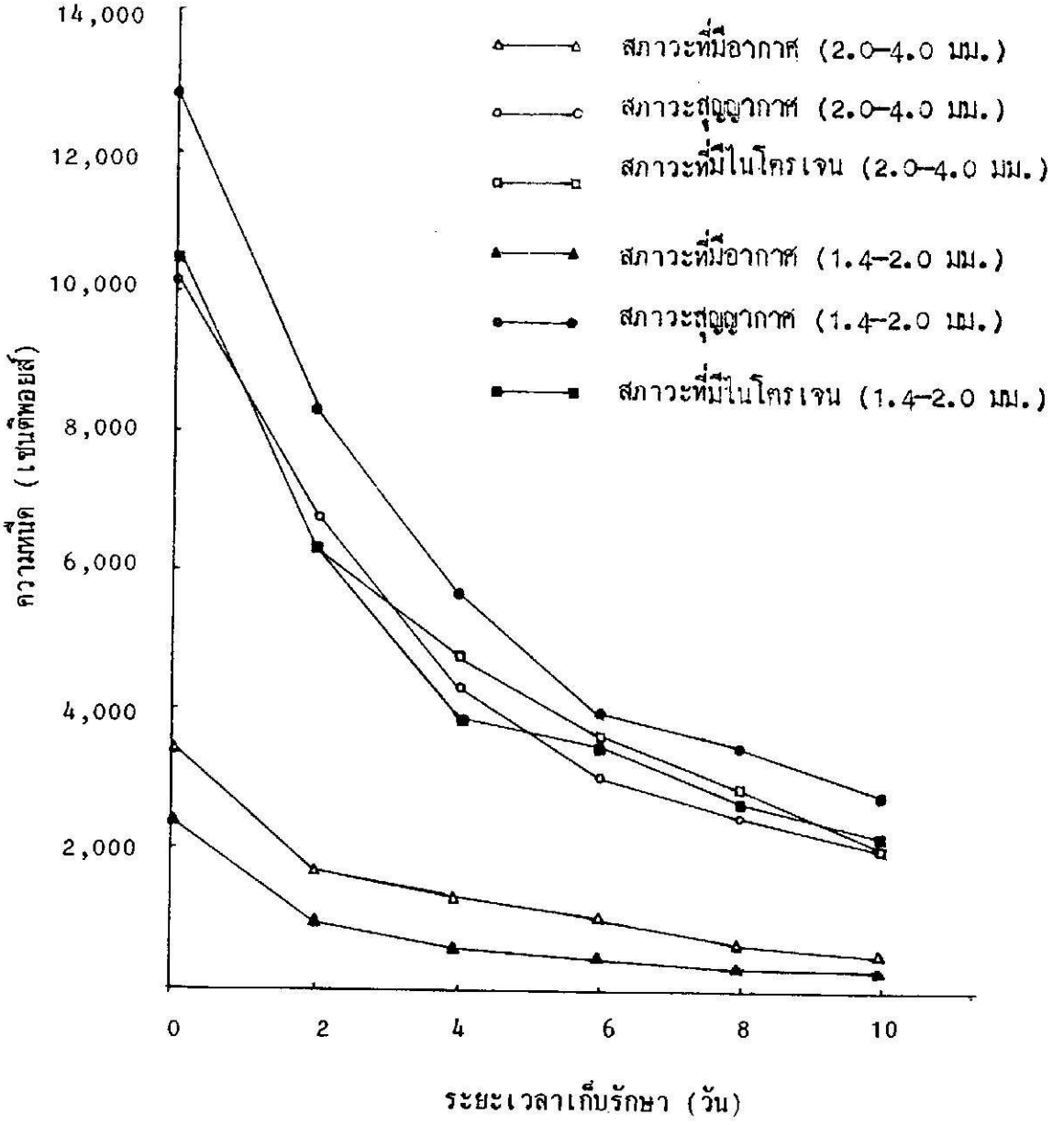
เมื่อตรวจสอบความหนืดของสารละลายไคโตแซนที่ผลิตจากเปลือกกุ้งแช่บ๊วยภายใต้สภาวะที่ประกอบด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 50 (น.น./ น.น.) อัตราส่วนระหว่างไคตินและสารละลายด่างเท่ากับ 1 : 15 (น.น./ปริมาตร) อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ในสภาพบรรยากาศต่าง ๆ คือ สภาวะที่มีอากาศ สภาวะสุญญากาศ และสภาวะที่มีไนโตรเจน พบว่า เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น สารละลายไคโตแซนทุกชนิดในกรดอะซิติกมีความหนืดลดลง (รูปที่ 7) อันเนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาผันกลับของการเปลี่ยนลักษณะโครงสร้างของไคโตแซนในสารละลายกรด ซึ่งผลดังกล่าวสอดคล้องกับการทดลองของ Moorjani และคณะ (1978) ดังนั้นจึงไม่ควรเตรียมสารละลายทิ้งไว้คราวละมาก ๆ หากต้องการจะใช้ควรเตรียมใหม่ทุกครั้งเพื่อให้ได้ความหนืดสูงสุด

**ตารางที่ 14** ปริมาณความชื้นและค่าความหนืดของไคโตแซนจากเปลือกกุ้งแชบ๊วยในระหว่างการเก็บรักษา

| ขนาดของไคโตแซน (มม.) | ระยะเวลาการเก็บรักษา (เดือน) | ความชื้น* (ร้อยละ) | ความหนืด* (เซนติพอยส์) |
|---|---|---|---|
| 2.0-4.0 | 0 | $6.27\pm0.09^{a}$ | $9172\pm8^{a}$ |
| | 1 | $8.03\pm0.10^{b}$ | $6840\pm6^{b}$ |
| | 2 | $9.89\pm0.17^{c}$ | $6380\pm14^{c}$ |
| | 3 | $10.64\pm0.15^{d}$ | $5698\pm21^{d}$ |
| 1.4-2.0 | 0 | $6.46\pm0.42^{a}$ | $10183\pm16^{a}$ |
| | 1 | $9.40\pm0.55^{b}$ | $9088\pm23^{b}$ |
| | 2 | $12.39\pm0.32^{c}$ | $8600\pm18^{c}$ |
| | 3 | $12.83\pm0.07^{c}$ | $8020\pm9^{d}$ |

* ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ตัวอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันของไคโตแซนแต่ละขนาดแสดงว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95




**รูปที่ 7** ค่าความหนืดของสารละลายไคโตแซน (ร้อยละ 1 ในกรดอะซิติกเข้มข้น ร้อยละ 2) ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

# สรุปและข้อเสนอแนะ

ผลการศึกษาแนวทางการสกัดและการใช้ประโยชน์ไคโตแซนจากเปลือกและหัวกุ้ง พบว่า เปลือกกุ้งแช่บ๊วยสามารถใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตไคตินและไคโตแซนได้อย่างมีประสิทธิภาพ ภายใต้สภาวะการผลิตที่เหมาะสมของแต่ละขั้นตอน ประกอบด้วย การกำจัดโปรตีน การกำจัดแร่ธาตุ และการกำจัดหมู่อะซิติล ได้ผลิตภัณฑ์ไคตินและไคโตแซนในปริมาณเท่ากับร้อยละ 26.84 และ 21.04 เมื่อเทียบจากน้ำหนักเปลือกกุ้งอบแห้ง ตามลำดับ กระบวนการผลิตดังกล่าว คาดว่าจะสามารถนำไปประยุกต์ใช้เพื่อการผลิตในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

จากผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพของไคตินและไคโตแซนที่ผลิตได้เปรียบเทียบกับไคตินและไคโตแซนทางการค้า พบว่าองค์ประกอบทางเคมีของไคตินและไคโตแซนจากเปลือกกุ้งแช่บ๊วยมีลักษณะใกล้เคียงหรือดีกว่าของไคตินและไคโตแซนจากบริษัท Fluka ส่วนคุณสมบัติการละลายในกรดอะซิติก พบว่า ไคโตแซนจากเปลือกกุ้งแช่บ๊วยสามารถละลายแล้วให้ค่าความหนืดสูงกว่าไคโตแซนจากบริษัท Fluka ซึ่งเป็นข้อได้เปรียบในการนำไปประยุกต์ใช้ได้กว้างขวางมากกว่า แต่เมื่อเตรียมสารละลายไคโตแซนตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลานานขึ้น พบว่าค่าความหนืดลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นจึงมีข้อแนะนำว่าไม่ควรเตรียมสารละลายไคโตแซนทิ้งไว้คราวละมากๆ หากต้องการใช้ควรเตรียมใหม่ทุกครั้งเพื่อให้ได้ความหนืดสูงสุด

เนื่องจากไคโตแซนมีคุณสมบัติการละลายได้ดีในสารละลายกรด โดยเฉพาะอย่างยิ่งกรดอะซิติก จึงทำให้เกิดข้อจำกัดในการนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร เพราะจะมีผลต่อกลิ่นรสของอาหาร หากดัดแปลงให้ไคโตแซนสามารถละลายได้ในสารละลายที่เป็นกลาง ก็จะเพิ่มศักยภาพการใช้ประโยชน์ได้มากขึ้น ดังนั้นจึงมีข้อเสนอแนะเพื่อเป็นแนวทางในการศึกษาวิจัยต่อไป ดังนี้คือ

1. พัฒนากระบวนการผลิตเพื่อให้ได้ไคโตแซนหรืออนุพันธ์ของไคโตแซนที่สามารถละลายน้ำได้
2. ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพที่แท้จริงของไคโตแซน
3. ศึกษาการประยุกต์ใช้ไคโตแซนในอุตสาหกรรมต่างๆ ให้กว้างขวางมากขึ้น

# เอกสารอ้างอิง

ไพศาล เหล่าสุวรรณ. 2531. สถิติสำหรับการวิจัยทางเกษตร. คณะทรัพยากรธรรมชาติ. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. หาดใหญ่ สงขลา 278 หน้า

Anderson, C.G., de Pablo, N. and Romo, C.R. 1978. Antartic krill (Euphausia superba) as a source of chitin and chitosan. In Proceedings of the First International Conference on Chitin/ Chitosan. Muzzarelli, R.A.A. and Pariser, E.R. (eds). MIT Sea Grant Program : Cambridge, MA; p 54-63.

Anonymous. 1989. Chitosan makes the grade. Manufacture Chemist. 60 (10) : 31-35.

A.O.A.C. 1984. Official Methods of Analysis of the Association of Official Chemists. 14th ed. The Association of Official Analytical Chemists, Inc.

Ashford, N.A., Hattis, D. and Murray, A.E. 1977. Industrial prospects for chitin and protein from shellfish wastes; MIT Sea Grant Report MISG 77-3. Report MIT : Cambridge, MA. cited by No, H.K., Meyers, S.P. and Lee, K.S. 1989. Isolation and characterization of chitin from crawfish shell waste. J. Agri. Food. Chem. 37 : 575-78.

Austin, P.R., Brine, C.J., Castle, J.E. and Zikakis J.P. 1981. Chitin : New facets of research. Science 12 : 749-753.

Averbach, B.L. 1978. Film-forming capacity of chitosan. In Proceedings of the First International Conference on Chitin/Chitosan. Muzzarelli, R.A.A. and Pariser, E.R. (eds). MIT Sea Grant Program : Cambridge, MA; p 199-209.

Balassa. L.L. and Prudden, J.F. 1978. Applications of chitin and chitosan in wound healing acceleration. In Proceedings of the First International Conference on Chitin/Chitosan. Muzzarelli, R.A.A. and Pariser, E.R. (eds). MIT Sea Grant Program : Cambridge, MA; p 296-305.

Billmeyer, F.W. 1971. Textbook of Polymer Science. Wiley-Interscience. New York.

Bough, W.A., Salter, W.L., Wu, A.C.M. and Perkins, B.E. 1978. Influence of manufacturing variables on the characteristics and effectiveness of chitosan products I. chemical compositions, viscosity, and molecular-weight distribution of chitosan products. Biotech. Bioen. 20 : 1931-1943.

Brine, C.J. and Austin, P.R. 1981. Chitin isolates : species variation in residual amino acids. Comp. Biochem . Physiol. 70B : 173. cited by Narkviroj, P. 1987. The utilization of prawn processing wastes. Ph. D. Thesis. Univ. New South Wales. 260 pp.

Broussignac, P. 1968. Chitosan : a natural polymer not well known by the industry. Chim. Ind. Genie Chim 99 : 1241-1247. cited by Muzzarelli, R.A.A. 1977. Chitin. Pergamon Press Ltd. New York 309 pp.

Brzeski, M.M. 1987. Chitin and chitosan-putting waste to good use. INFOFISH International 5 : 31-36.

Burkholder, P.R., Burkholder, L.M. and Centeno, P. 1966. Nutritive values of shrimp flour. Nature 211 : 860-861.

Carroad, P.A. and Tom, R.A. 1978. Bioconversion of shellfish chitin wastes : process conception and selection on microorganisms. J. Food Sci. 43 : 1158-1167.

Chandramohan, D. and Thomas, I. 1984. Studies on chitinase activity and chitinoclastic bacteria in sediments, fishes and prawns. Proc. Symp. Coastal Aquaculture 3 : 839-845.

Conrad, J. 1965. Chitin. In Encyclopedia of Polymer Science and Technology : Plastics, Resins, Rubbers, Fibers. Vol. 3. Mark, H.F., Gaylord, N.G. and Bikales, N.M. (Eds). John Willey & Sons, Inc. USA.

Cosio, I.G., Fisher, R.A. and Carroad, P.A. 1982. Bioconversion of shellfish chitin waste : waste pretreatment, enzyme production, process design and economic analysis. J. Food Sci. 47 : 901-905.

Filar, L. J. and Wirick, M.G. 1978. Bulk and solution properties of chitosan. In Proceedings of the First International Conference on Chitin/Chitosan. Muzzarelli, R.A.A. and Pariser, E.R. (eds). MIT Sea Grant Program : Cambridge, MA; p 169-181.

Fujita, T. 1970. Chitosan. Japan 13,599. cited by Muzzarelli, R.A.A. 1977. Chitin. Pergamon Press Ltd. New York. 309 pp.

Green. J.H. and Kramer, A. 1979. Food processing waste management. AVI. Publishing Company, Inc. Westport. Connecticut USA. 629 pp.

Hackman, R.H. 1954. Chitin I. Enzymic degradation of chitin and chitin esters. Austr. J. Biol. Sci. 7 : 168-178. cited by Muzzarelli, R.A.A. 1977. Chitin. Pergamon Press Ltd. New York. 309 pp.

Hang, Y.D. 1990. Chitosan production from Rhizopus oryzae mycelia. Biotech. Letters 12 (12) : 911-912.

Hayes, E.R. and Davies, S.H. 1978. Characterization of chitosan. I : Thermoreversible chitosan gels. In Proceedings of the First International Conference on Chitin/Chitosan. Muzzarelli, R.A.A. and Pariser, E.R. (eds). MIT Sea Grant Program : Cambridge MA; p 193-198.

Heinrich,M.P.1981. The utilisation of prawn processing wastes. B.Sc. Thesis. The University of New South Wales. Australia.

Horowitz, S.T., Roseman, S. and Blumenthal, H.J. 1957. Preparation of glucosamine oligosaccharides I. Separation. J. Amer. Chem. Soc. 79 : 5046-5049.

Horton, D. and Lineback D.R. 1965. N-deacetylation : chitosan from chitin. Meth. Carbohydr. Chem. 5 : 403-406. cited by Muzzarelli, R.A.A. 1977. Chitin. Pergamon Press Ltd. New York. 309 pp.

Imeri, A.G. and Knorr, D. 1988. Effects of chitosan on yield and compositional data of carrot and apple juice. J. Food Sci. 53 (6) : 1707-1709.

Ismail, P.K. and Madhavan, P. 1970. A note on liquid fertilizer from shrimp and fish wastes. Fish. Technol. 9 : 216-217.

Jeuniaux, Ch. 1966. Chitinase. Methods Enzymol. 8 : 645-650.

Jeuniaux, Ch. 1978. Distribution and quantitative importance of chitin in animals. In Proceedings of the first International Conference on Chitin/Chitosan. Muzzarelli, R.A.A. and Pariser, E.R. (eds). MIT Sea Grant Program : Cambridge, MA; p 5-10.

Johnson. E.L. and Peniston, Q.P. 1982. Utilization of shellfish waste for chitin and chitosan production. In Chemistry and biochemistry of marine food products. Martin, R.E. (ed). AVI Publish Westport Connecticut; p 415-422.

Kamasastri, P.V. and Prabhu, P.V. 1961. Preparation of chitin and glucosamine from prawn shell waste. J. Sci. Industr. Res. 20D : 460.

Katsuyama, A.M. 1979. A guide for waste management in the food processing industry. The Food Process Institute. Washington, D.C. USA. 276 pp.

Kerven, G. 1980. Applications of Atomic Absorption Spectroscopy to the Analysis of Biological Materials. Department of Agriculture. University of Queensland. 12 pp.

Kienzle-sterzer, C., Rodriguez-sanchez, D. and Rha, C. 1982. Dilute solution behavior of a cationic polyelectrolyte. J. Appl. Polymer Sci. 27 : 4467-4470.

Knorr, D. 1982. Functional properties of chitin and chitosan. J. Food Sci. 47 : 593-595.

Knorr, D. 1983. Dye binding properties of chitin and chitosan. J. Food Sci. 48 : 36-41.

Knorr, D. 1984. Use of chitinous polymers in food. Food Technol. 38 : 85-97.

Knorr, D. 1986. Chitosan gels for entrapment of cultured plant cells. In Chitin in Nature and Technology. Muzzarelli, R., Jeuniaux, C. and Goody, G.W. (eds). Plenum Press, New York; p 428-431.

Knorr, D. 1986. Nutritional quality, food processing, and biotechnology aspects of chitin and chitosan : a review. Process Biochem. : 21 (3) : 90-92.

Kurita, K. 1986. Chemical modifications of chitin and chitosan. In Chitin in Nature and Technology. Muzzarelli, R., Jeuniaux, C. and Goody, G.W. (eds). Plenum Press, New York; p 287-293.

Kurita, K., Koyama, Y. and Taniguchi, A. 1986. Studies on chitin. IX. Crosslink of water-soluble chitin and evaluation of products as absorbents for cupric ion. J. Appl. Polymer Sci. 31 : 1169-1176.

Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R. J. 1951 Protein. Measurement with Folin-phenol reagent. J. Biological Chemistry. 193 : 265-275.

Madhavan, P. and Ramachandrannair, K.G. 1974. Utilization of prawn waste-isolation of chitin and its conversion to chitosan. Fish. Technol. 11 (1) : 50-53.

Madhavan, P. and Ramachandrannair, K.G. 1978. Metal-binding property of chitosan from prawn waste. In Proceedings of the First International Conference on Chitin/Chitosan. Muzzarelli, R.A.A. and Pariser, E.R. (eds). MIT Sea Grant Program : Cambridge. MA; p 444-448.

Maruca, R. 1982. Interaction of heavy metals with chitin and chitosan. III. chromium. J. Appl. Polymer Sci. 27 : 4827-4837.

Masri, M.S. and Randall, V.G. 1978. Chitosan and chitosan derivatives for removal of toxic metallic ions from manufacturing-plant waste streams. In Proceedings of the First International Conference on Chitin/Chitosan. Muzzarelli, R.A.A. and Pariser, E.R. (eds). MIT Sea Grant Program : Cambridge. MA; p 277-287.

McGahren, W.J., Perkinsan, G.A., Growich, J.A., Leese, R.A. and Ellestad, G.A. 1984. Chitosan by fermentation. Process Biochem. 19 (3) : 88-90.

Meyers, S.P. 1986. Utilisation of shrimp processing wastes. INFOFISH Marketing Digest 4 : 18-19.

Meyers, S.P. 1987. Sausages from shrimp waste. INFOFISH International 5 : 36.

Monreal, J. and Reese, E. 1969. The chitinase of Serratia marcescens Can. J. Microbiol. 15 : 689-696.

Moorjani, M.N., Achutha, V. and Khasim, D.I. 1975. Parameters affecting the viscosity of chitosan from prawn waste. J. Food Sci. and Technol. 12 : 187-189.

Moorjani, M.N., Khasim, D.I. and Rajalakshmi, S. 1978. Chitosan of high viscosity and protein as a valuable by-product from squilla. In Proceedings of the First International Conference on Chitin/Chitosan. Muzzarelli, R.A.A. and Pariser, E.R. (eds). MIT Sea Grant Program : Cambridge, MA; p. 210-216.

Muzzarelli, R.A.A. 1977. Chitin. Pergamon Press Ltd. New York 309 pp.

Muzzarelli, R.A.A. 1978. Modified chitosans and their chromatographic performances. In Proceedings of the First International Conference on Chitin/Chitosan. Muzzarelli, R.A.A. and Pariser, E.R. (eds). MIT Sea Grant Program : Cambridge, MA; p 335-354.

Narkviroj, P. 1987. The utilization of prawn processing wastes. Ph.D. Thesis. Univ. New South Wales. 260 pp.

Nicol, S. 1991. Life after death for empty shells. New Scientist 129 : 36-38.

No, H.K., Meyers, S.P. and Lee, K.S. 1989. Isolation and characterization of chitin from crawfish shell waste. J. Agri. Food Chem. 37 : 575-579.

Oke, O.L., Talabi, S.O. and Umoch, I.B. 1978. The possible use of chitin and chitosan as animal feed. In Proceedinds of the First International Conference on Chitin/Chitosan. Muzzarelli, R.A.A. and pariser, E.R. (eds). MIT Sea Grant Program : Cambridge, MA; p 327.

Oweczkin, J. and Kerven, G. 1980. Methods of Analysis for Nitrogen, Phosphorus, Sulphur and Potassium in Plant Tissue. Department of Agriculture. University of Queensland. 12 pp.

Pelletier, A., Lemire, I., Sygusch J., Chornet, E., Overend, R.P. 1990. Chitin/chitosan transformation by thermo-mechano-chemical treatment encluding characterization by enzymatic depolymerization. Biotech. Bioen. 36 : 310-315.

Powning R.F. and Irzykiewicz, H. 1963. A chitinase from the gut of cockroach Periplaneta americana. Nature 200 : 1128.

Rajulu, G.S. and Gowri, N. 1978. Chitin from marine organisms and its use as an adhesive. In Proceedings of the First International Conference on Chitin/Chitosan. Muzzarelli, R.A.A. and Pariser, E.R. (eds). MIT Sea Grant Program : Cambridge, MA; p 430-436.

Reid, J.D. and Ogrydziak, D.M. 1981. Chitinase-overproducing mutant of Serratia marcescens. Appl. Environ. Microbiol. 41 (3) : 664-669.

Revah-Moiseev, S. and Carroad, P.A. 1981. Conversion of the enzymatic hydrolysate of shellfish waste chitin to single-cell protein. Biotech. Bioen. 23 : 1067-1078.

Reynold, D.M. 1954. Exocellular chitinase from a Streptomyces sp. J. Gen. Microbiol. 11 : 150-159.

Roby, D., Toppan, A. and Esquerre-Tugaye, M.T. 1986. Chitinases : plant defense protein related to resistance against fungal pathogens. In Chitin in Nature and Technology. Muzzarelli, R., Jeuniaux, C. and Goody, G.W. (eds). Plenum press, New York; p. 231-233.

Ruiz-Herrera. 1978. The distribution and quantitative importance of chitin in fungi. In Proceedings of the First International Conference on Chitin/Chitosan. Muzzarelli, R.A.A. and Pariser, E.R. (eds). MIT Sea Grant Program : Cambridge, MA; p 11-12.

Rutherford, F.A. and Austin, P.R. 1978. Marine chitin properties and solvents. In Proceedings of the First International Conference on Chitin/Chitosan. Muzzarelli, R.A.A. and Pariser, E.R. (eds).

MIT Sea Grant Program : Cambridge, MA; p 182-192.

Shimahara, K., Takiguchi, Y., Kobayashi, T., Uda, K. and Sannan, T. 1989. Screening of Mucaraceae strains suitable for chitosan production. In Chitin and Chitosan, Skjak-Braek, G., Anthonsen, and Sanford, P. (eds). Elsevier Applied Science. New York. p 171-178.

Simpson , K. 1978. The recovery of protein and pigments from shrimp and crab meals and their use in salmonid pigmentation. In Proceedings of the First International Conference on Chitin/Chitosan. Muzzarelli, R.A.A. and Pariser, E.R. (eds). MIT Sea Grant Program : Cambridge, MA; p 253-262.

Soto-Peralta, N.V., Muller, H. and Knorr, D. 1989. A research note : Effect of chitosan treatments on the clarify and color of apple juice, J. Food Sci. 54 (2) : 495-496.

Stanley, W.L., Watters, G.G., Chan, B. and Mercer, J.M. 1975. Lactase and other emzymes bound to chitin with glutaraldehyde. Biotech. Bioen. 17 : 315-326.

Stephens, N.L., Bough, W.A., Beuchat, L.R. and Heaton, E.K. 1976. Preparation and evaluation of two microbiological media from shrimp heads and hulls. Appl. Environ. Microbiol. 31 : 1-6.

Suryanarayana Rao, S.V., Dwarakanath, C.T. and Saraswathi, C.R. 1980. Preparation and microbiological evaluation of bactopeptone from shrimp waste. J. Food Sci. and Technol. 17 : 133-136.

Synowiecki, J., Sikorski, Z.E., Naczk, M. and Piotrzwska, H. 1982. Immobilization of enzymes on krill chitin activated by formaldehyde. Biotech. Bioen. 24 : 1871-1876.

Takeda, M. 1978. Use of chitin powder as adsorbent in Thin-Layer chromatography. In Proceedings of the First International Conference on Chitin/Chitosan. Muzzarelli, R.A.A. and Pariser, E.R. (eds). MIT Sea Grant Program : Cambridge, MA; p 355-363.

Takeda, M. and Katsuura, H. 1964. Purification of king crab chitin. Suisan Daigaku kenkyu Hokoku 13 : 109-116. cited by Muzzarelli,

R.A.A. 1977. Chitin. Pergamon Press Ltd. New York 309 pp.

Tom, R.A. and Carroad, P.A. 1981. Effect of reaction conditions on hydrolysis of chitin by Serratia Marcescens QM B1466 chitinase. J. Food Sci. 46 : 646-647.

Tracey, M.V. 1951. Cellulase and chitinase of earthworms. Nature 167 : 776-777.

Tracey, M.V. 1955. Cellulase and chitinase in soil amoebae. Nature 175 : 815.

Whistler, R.S. and BeMiller, J.N. 1962. Chitin. J. Org. Chem. 27 : 1161-1163. cited by Muzzarelli, R.A.A. 1977. Chitin. Pergamon Press Ltd. New York. 309 pp.

Winzler, R.J. 1955. Method for determination of serum glycoprotein : hexosamine. Glick, D. (Ed). Method of biochemical analysis Vol 2 : 292-294. cited by Narkviroj, P. 1987. The utilization of prawn processing wastes. Ph. D. Thesis Univ. New South Wales.

Wolfrom, M.L., Maher, G.G. and Chaney, A. 1958. Chitosan nitrate. J. Org. Chem. 23 : 1990-1991. cited by Muzzarelli, R.A.A. 1977. Chitin. Pergarmon Press Ltd. New York. 309 pp.

Wu, A.C.M., Bough, W.A., Holmess, M.R. and Perkins, B.E. 1978. Influence of manufacturing variables on the characteristics and effectiveness of chitosan products. III. Coagulation of cheese whey solids. Biotech. Bioen. 20 : 1957-1966.

Yang, T. and Zall, R.R. 1984. Chitosan membranes for reverse osmosis application. J. Food Sci. 49 : 91-93.

Yoshioka, T., Hirano, R., Shioya, T. and Kako, M. 1990. Encapsulation of mammalian cell with chitosan-CMC capsule. Biotech. Bioen. 35 : 66-72.

## ภาคผนวก

## ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ

**ตารางผนวกที่ 1** การวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับประสิทธิภาพการกำจัดโปรตีนจากเปลือกกุ้งแช่บ๊วย

| SV | DF | SS | MS | F |
|---|---|---|---|---|
| Treatment | 23 | 296.898565 | 12.908633 | 1334.99 ** |
| size (s) | 1 | 0.136068 | 0.136068 | 14.07 ** |
| time (i) | 2 | 46.140286 | 23.070143 | 2385.88 ** |
| temperature (t) | 1 | 182.882812 | 182.882812 | 18913.48 ** |
| concentration (c) | 1 | 15.876612 | 15.876612 | 1641.94 ** |
| sxi | 2 | 0.432969 | 0.216485 | 22.39 ** |
| sxt | 1 | 0.079335 | 0.079335 | 8.20 ** |
| sxc | 1 | 0.065401 | 0.065401 | 6.76 * |
| ixt | 2 | 31.875408 | 15.937704 | 1648.25 ** |
| ixc | 2 | 4.031108 | 2.015554 | 208.45 ** |
| txc | 1 | 12.029513 | 12.029513 | 1244.07 ** |
| sxixt | 2 | 0.210836 | 0.105418 | 10.90 ** |
| sxixc | 2 | 0.042969 | 0.021485 | 2.22 ns |
| sxtxc | 1 | 0.032512 | 0.032512 | 3.36 ns |
| ixtxc | 2 | 3.027675 | 1.513837 | 156.56 ** |
| sxixtxc | 2 | 0.035058 | 0.017529 | 1.81 ns |
| Error | 48 | 0.464133 | 0.009669 | |
| TOTAL | 71 | 297.362700 | | |

CV = 0.1%

** = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p < 0.01$)

* = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ตารางผนวกที่ 2 การวิเคราะห์ความแตกต่างสำหรับประสิทธิภาพการกำจัดโปรตีน (ixtxc)

| concentration | t1 | t2 | c-MEAN | DIFF |
|---|---|---|---|---|
| i1 | | | | |
| C1 | 93.01b | 99.28b | 96.14 | - 6.27 ** |
| C2 | 95.80a | 99.47a | 97.64 | - 3.68 ** |
| i2 | | | | |
| C1 | 95.85b | 99.50b | 97.68 | - 3.65 ** |
| C2 | 97.70a | 99.64a | 98.67 | - 1.94 ** |
| i3 | | | | |
| C1 | 97.61b | 99.69a | 98.65 | - 2.08 ** |
| C2 | 98.24a | 99.73a | 98.99 | - 1.49 ** |
| t-MEAN | 98.37 | 99.55 | 97.96 | - 3.18 |

** = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p < 0.01$)

อักษรที่เหมือนกันในแต่ละสดมภ์ของเวลา (i) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยการวิเคราะห์ด้วย DMRT

**ตารางผนวกที่ 3** การวิเคราะห์ความแตกต่างสำหรับประสิทธิภาพการกำจัดโปรตีน (sxc)

| concentration | S1 | S2 | c-MEAN | DIFF |
|---|---|---|---|---|
| C1 | 97.42b | 97.56b | 97.49 | - 0.14 ** |
| C2 | 98.42a | 98.44a | 98.43 | - 0.02 ns |
| s-MEAN | 97.92 | 98.00 | 97.96 | - 0.08 |

** = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p < 0.01$)

อักษรที่เหมือนกันในแต่ละสดมภ์ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยการวิเคราะห์ด้วย DMRT

**ตารางผนวกที่ 4** การวิเคราะห์ความแตกต่างสำหรับประสิทธิภาพการกำจัดโปรตีน (sxixt)

| time | t1 | t2 | i-MEAN | DIFF |
|---|---|---|---|---|
| S1 | | | | |
| i1 | 94.16 c | 99.34 c | 96.75 | - 5.18 ** |
| i2 | 96.71 b | 99.56 b | 98.14 | - 2.85 ** |
| i3 | 98.00 a | 99.73 a | 98.86 | - 1.73 ** |
| S2 | | | | |
| i1 | 94.65 c | 99.42 b | 97.03 | - 4.77 ** |
| i2 | 96.83 b | 99.58 a | 98.21 | - 2.76 ** |
| i3 | 97.85 a | 99.69 a | 98.77 | - 1.84 ** |
| t-MEAN | 96.37 | 99.55 | 97.96 | - 3.18 |

** = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p < 0.01$)

อักษรที่เหมือนกันในแต่ละสดมภ์ของขนาด (s) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยการวิเคราะห์ด้วย DMRT

ตารางผนวกที่ 5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับปริมาณแป้งในไดซินจากเปลือกกุ้งแชบ๊วย

| SV | DF | SS | MS | F |
|---|---|---|---|---|
| Treatment | 35 | 3043.40785 | 86.95451 | 532.64 ** |
| size (s) | 1 | 12.84780 | 12.84780 | 78.70 ** |
| time (i) | 2 | 7.22615 | 3.61307 | 22.13 ** |
| ratio (p) | 1 | 620.97649 | 620.97649 | 3803.79 ** |
| concentration (c) | 2 | 1207.13337 | 603.56668 | 3697.15 ** |
| sxt | 2 | 0.32114 | 0.16057 | 0.98 ns |
| sxp | 1 | 8.06333 | 8.06333 | 49.39 ** |
| sxc | 2 | 18.19076 | 9.09538 | 55.71 ** |
| txp | 2 | 3.34189 | 1.67095 | 10.24 ** |
| txc | 4 | 5.34928 | 1.33732 | 8.19 ** |
| pxc | 2 | 1139.42142 | 569.71071 | 3489.77 ** |
| sxtxp | 2 | 0.64184 | 0.32092 | 1.97 ns |
| sxtxc | 4 | 1.25268 | 0.31317 | 1.92 ns |
| sxpxc | 2 | 12.43948 | 6.21974 | 38.10 ** |
| txpxc | 4 | 3.43877 | 0.85969 | 5.27 ** |
| sxtxpxc | 4 | 2.76346 | 0.69086 | 4.23 ** |
| Error | 72 | 11.75413 | 0.16325 | |
| TOTAL | 107 | 3055.16210 | | |

CV = 15.8%

** = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p < 0.01$)

ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ตารางผนวกที่ 6 การวิเคราะห์ความแตกต่างสำหรับปริมาณเถ้าในไคติน (sxtxpxc)

| concentration | | | p1 | p2 | c-MEAN | DIFF | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | S1 | t1 | | | | | |
| C1 | | | 16.54 a | 0.95 a | 8.74 | 15.59 | ** |
| C2 | | | 1.49 b | 0.17 b | 0.83 | 1.32 | ** |
| C3 | | | 0.17 c | 0.15 b | 0.16 | 0.02 | ns |
| | S1 | t2 | | | | | |
| C1 | | | 15.98 a | 0.26 a | 8.12 | 15.72 | ** |
| C2 | | | 0.20 b | 0.15 a | 0.17 | 0.05 | ns |
| C3 | | | 0.15 b | 0.13 a | 0.14 | 0.02 | ns |
| | S1 | t3 | | | | | |
| C1 | | | 15.34 a | 0.20 a | 7.77 | 15.14 | ** |
| C2 | | | 0.24 b | 0.05 a | 0.15 | 0.19 | ns |
| C3 | | | 0.09 b | 0.05 a | 0.07 | 0.04 | ns |
| | S2 | t1 | | | | | |
| C1 | | | 14.08 a | 0.18 a | 7.13 | 13.90 | ** |
| C2 | | | 0.54 b | 0.15 a | 0.35 | 0.39 | ns |
| C3 | | | 0.18 b | 0.06 a | 0.12 | 0.12 | ns |
| | S2 | t2 | | | | | |
| C1 | | | 13.00 a | 0.10 a | 6.55 | 12.90 | ** |
| C2 | | | 0.19 b | 0.13 a | 0.16 | 0.06 | ns |
| C3 | | | 0.12 b | 0.05 a | 0.09 | 0.07 | ns |
| | S2 | t3 | | | | | |
| C1 | | | 10.73 a | 0.09 a | 5.41 | 10.64 | ** |
| C2 | | | 0.15 b | 0.04 a | 0.10 | 0.11 | ns |
| C3 | | | 0.06 b | 0.02 a | 0.04 | 0.04 | ns |
| p-MEAN | | | 4.96 | 0.16 | 2.56 | 4.80 | |

** = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p < 0.01$) ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

อักษรที่เหมือนกันในแต่ละสดมภ์ของ s * t ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยการวิเคราะห์ด้วย DMRT

**ตารางผนวกที่ 7** การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณความชื้นในไคตินขนาด 2.0-4.0 มม. ระหว่างการเก็บรักษาระยะเวลา 3 เดือน

| SV | DF | SS | MS | F |
|---|---|---|---|---|
| Treatment | 3 | 9.008 | 3.003 | 182.275 ** |
| Error | 8 | 0.132 | 0.016 | |
| TOTAL | 11 | 9.140 | | |

CV = 2.23%

** = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p < 0.01$)

**ตารางผนวกที่ 8** การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณความชื้นในไคตินขนาด 1.4-2.0 มม. ระหว่างการเก็บรักษาระยะเวลา 3 เดือน

| SV | DF | SS | MS | F |
|---|---|---|---|---|
| Treatment | 3 | 27.380 | 9.127 | 408.485 ** |
| Error | 8 | 0.179 | 0.022 | |
| TOTAL | 11 | 27.559 | | |

CV = 2.73%

** = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p < 0.01$)

**ตารางผนวกที่ 9** การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณไนโตรเจนในไคตินขนาด 2.0-4.0 มม. ระหว่างการเก็บรักษาระยะเวลา 3 เดือน

| SV | DF | SS | MS | F |
|---|---|---|---|---|
| Treatment | 3 | 1.252 | 0.417 | 134.543 ** |
| Error | 8 | 0.025 | 0.003 | |
| TOTAL | 11 | 1.277 | | |

CV = 0.86%

** = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p < 0.01$)

**ตารางผนวกที่ 10** การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณไนโตรเจนในไคตินขนาด 1.4-2.0 มม. ระหว่างการเก็บรักษาระยะเวลา 3 เดือน

| SV | DF | SS | MS | F |
|---|---|---|---|---|
| Treatment | 3 | 1.042 | 0.347 | 39.798 ** |
| Error | 8 | 0.070 | 0.009 | |
| TOTAL | 11 | 1.112 | | |

CV = 1.44%

** = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p < 0.01$)

**ตารางผนวกที่ 11** การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณความชื้นในไคโตแซนขนาด 1.4-2.0 มม. ระหว่างการเก็บรักษาระยะเวลา 3 เดือน

| SV | DF | SS | MS | F |
|---|---|---|---|---|
| Treatment | 3 | 34.610 | 11.537 | 664.088 ** |
| Error | 8 | 0.139 | 0.017 | |
| TOTAL | 11 | 34.749 | | |

CV = 1.51%

** = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p < 0.01$)

**ตารางผนวกที่ 12** การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณความชื้นในไคโตแซนขนาด 1.4-2.0 มม. ระหว่างการเก็บรักษาระยะเวลา 3 เดือน

| SV | DF | SS | MS | F |
|---|---|---|---|---|
| Treatment | 3 | 78.928 | 26.309 | 175.569 ** |
| Error | 8 | 1.199 | 0.150 | |
| TOTAL | 11 | 80.127 | | |

CV = 3.77%

** = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p < 0.01$)

**ตารางผนวกที่ 13** การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความหนืดของไคโตแซนขนาด 2.0-4.0 มม. ระหว่างการเก็บรักษาระยะเวลา 3 เดือน

| SV | DF | SS | MS | F |
|---|---|---|---|---|
| Treatment | 3 | 18962858.000 | 6320952.500 | 33847.137 ** |
| Error | 8 | 1494.000 | 186.750 | |
| TOTAL | 11 | 18964352.000 | | |

CV = 0.19%

** = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p < 0.01$)

**ตารางผนวกที่ 14** การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความหนืดของไคโตแซนขนาด 1.4-2.0 มม. ระหว่างการเก็บรักษาระยะเวลา 3 เดือน

| SV | DF | SS | MS | F |
|---|---|---|---|---|
| Treatment | 3 | 7574506.500 | 2524835.500 | 11545.404 ** |
| Error | 8 | 1749.500 | 218.688 | |
| TOTAL | 11 | 7576256.000 | | |

CV = 0.16%

** = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p < 0.01$)