

บทที่ 1

บทนำ

พอลิเมอร์ชีวภาพ (Biopolymer) จัดได้ว่าเป็นพอลิเมอร์ที่มีมากที่สุดในไบโอสเฟียร์ เพราะมีอยู่หลากหลายชนิดในสิ่งมีชีวิตทุกประเภทหากจะกล่าวไปแล้วสิ่งมีชีวิตเซลล์แรกๆ ที่กำเนิดขึ้นมาเป็นสิ่งมีชีวิตได้ เพราะมี Chemical evolution ทำให้โมเลกุลพื้นฐานสามารถเชื่อมต่อกันเป็นลูกโซ่ก่อนกำเนิดโมเลกุลที่ยาวและมีมวลโมเลกุลมากขึ้นคือเป็นพอลิเมอร์ชนิดต่างๆ ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญของสิ่งมีชีวิต เราสามารถจำแนกพอลิเมอร์ชีวภาพได้เป็นกลุ่มใหญ่ๆ ได้แก่ (ก) โพรตีน (ข) กรดนิวคลีอิก และ(ค) คาร์โบไฮเดรต เกือบจะกล่าวได้ว่าธรรมชาติผลิตคาร์โบไฮเดรตได้มากที่สุดโดยมีไว้ใช้เป็นประโยชน์สำหรับสิ่งมีชีวิตโดยทำหน้าที่หลัก 2 ประการคือ (1) เป็นคาร์โบไฮเดรตสะสมพลังงาน (Energy storage carbohydrate) สำหรับสิ่งมีชีวิต พอลิเมอร์ กลุ่มนี้ได้แก่อะไมโลส (Amylose) และอะไมโลเพกทิน (Amylopectin) ในพืช และไกลโคเจน (Glycogen) ในสัตว์ (2) เป็นคาร์โบไฮเดรตโครงสร้าง (Structural carbohydrate) คือเป็นโครงร่างที่ทำให้โมเลกุลอื่นๆ หรือธาตุชนิดต่างๆ มายึดเกาะก่อให้เกิดโครงสร้างที่แข็งแรงในสิ่งมีชีวิตตัวอย่างพอลิเมอร์ชีวภาพในกลุ่มนี้ได้แก่ เซลลูโลส (Cellulose) ซึ่งเป็นโมเลกุลเส้นใยของพืช ไฮยาลูโรเนต (Hyaluronate) และคอนดรอยตินซัลเฟต (Chondroitin sulfate) ซึ่งเป็นโมเลกุลโครงสร้างของเนื้อเยื่อกระดูก และไคตินซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรตที่เป็นโครงร่างของเปลือกของสัตว์ในกลุ่ม กุ้งและปู (Crustaceans) และแมลง (Insects) ที่ให้แร่ธาตุมายึดเกาะเป็นเปลือกที่แข็งแรงของสัตว์ปกป้องอวัยวะภายใน เป็นที่น่าสนใจว่ามโนแซ็กคาไรด์ที่มาเชื่อมต่อกันเป็นคาร์โบไฮเดรตสะสมพลังงานนั้นเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ α 1-4 ทำให้สายพอลิเมอร์ขดเป็นเกลียวได้ ในขณะที่มโนแซ็กคาไรด์ของคาร์โบไฮเดรตโครงสร้างนั้นต่อกันด้วยพันธะ β 1-4 ทำให้เกิดพอลิเมอร์เหยียดตรง พันธะชนิดนี้ถูกทำลายได้ยากกว่า α 1-4 จึงทำให้พอลิเมอร์ดังกล่าวเหมาะสมสำหรับเป็นโครงสร้างของสิ่งมีชีวิต

พิจารณาในแง่มุมของการประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์แล้ว เห็นได้ว่าการนำพอลิเมอร์ชีวภาพในกลุ่มคาร์โบไฮเดรตมาใช้ประโยชน์อย่างหลากหลาย เช่น เซลลูโลสเป็นเส้นใยสำหรับเครื่องนุ่งห่ม เซลลูโลส-ลิกนิน-เพกทิน ซึ่งเป็นองค์ประกอบของเนื้อไม้ใช้ทำวัสดุก่อสร้าง ไฮยาลูโรเนต ซึ่งเป็นโมเลกุลคอลลอยด์น้ำสูงสำหรับใช้ในกิจการแพทย์และเครื่องสำอาง และไคติน - ไคโตซานจากสัตว์กลุ่มครัสเตเชียน และแมลง ใช้ในกิจกรรมต่างๆ หลากหลาย งานวิจัยนี้มุ่งเน้นที่จะศึกษาพอลิเมอร์ชีวภาพไคตินจากสัตว์ในกลุ่มครัสเตเชียนเป็นหลักจึงจำเป็นต้องกล่าวถึงสัตว์ที่เป็นแหล่งของไคตินโดยสังเขป พร้อมทั้งวิธีการทางเคมีที่มีการนำมาใช้ที่เกี่ยวข้องกับไคติน

1.1 ลักษณะของสัตว์ในกลุ่มครัสเตเชียน

ลำตัวแบ่งออกเป็น 3 ส่วน คือส่วนหัว (Head), ส่วนอก (Thorax) และส่วนท้อง (Abdomen) ส่วนหัวมีระยางค์ที่สำคัญ 5 คู่ ปล้องที่มี anal เรียกว่า telson (Caudal rami) ระบบขับถ่ายประกอบด้วย Antenal or maxillary glands มีตา 2 ประเภทคือ Nauplius eye อยู่กลางหัว 1 ตา และตาแบบ Compound eye 1 คู่ อยู่ที่ด้านข้างของหัว ส่วนใหญ่สืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (เพศผู้และเพศเมียแยกกัน) การเจริญเติบโตมี 2 แบบคือ Indirect และ Direct development โดยมากมีตัวอ่อนเรียกว่า “nauplius larva” พบว่ามีจำนวนครัสเตเชียนถึง 75,000 ชนิด (ลัดดา 2544 อ้างใน Meglitsch and Scharm, 1991) ตัวอย่างสัตว์ในกลุ่มนี้ได้แก่

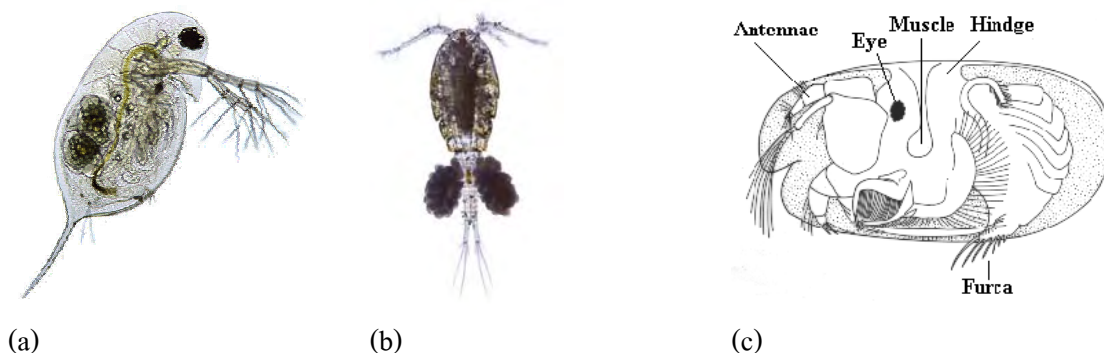
1.1.1 ไรน้ำ (Water fleas)

ไรรน้ำมีลักษณะทั่วไปคือลำตัวแบ่งออกเป็น 3 ส่วน คือส่วนหัว (Head), ส่วนอก (Thorax) และส่วนท้อง (Abdomen) ออกและท้องมีฝ่า 2 ฝ่า (Aarapace) คลุมตลอด หัวค่อนข้างเล็กและแยกออกจากส่วนอกไม่ชัดเจน บนหัวมีตา 2 ประเภททำหน้าที่รับแสงคือตาประกอบ (Compound eye) 1 คู่ มีขนาดใหญ่ และตาเดี่ยว (Ocellus) มีขนาดเล็กไรรน้ำส่วนมากมีหนวด 2 คู่ ดังแสดงในรูปที่

1.1(a)

1.1.2 โคพีพอด (Copepods)

โคพีพอดมีลักษณะทั่วไปคือ ลำตัวประกอบด้วยปล้อง 16-17 ปล้อง (ส่วนใหญ่มี 11 ปล้อง) และแบ่งออกเป็น 2 ส่วนเรียกว่า Prosome และ urosome ส่วน prosome บนสุดเรียกว่า frontal plate ประกอบด้วย head 1-5 ปล้องและ thorax 1-5 ปล้องแต่ละปล้องมีระยางค์ 1 คู่เรียกว่า Pereiopods ซึ่งมักจะเชื่อมกัน (Cephalothorax) ดังแสดงในรูปที่ 1.1 (b)



รูปที่ 1.1 ลักษณะสัตว์ครัสเตเชียนขนาดเล็ก ไรน้ำ โคพีพอด และออสตราคอด (ลัดดา วงศ์รัตน์ 2543)

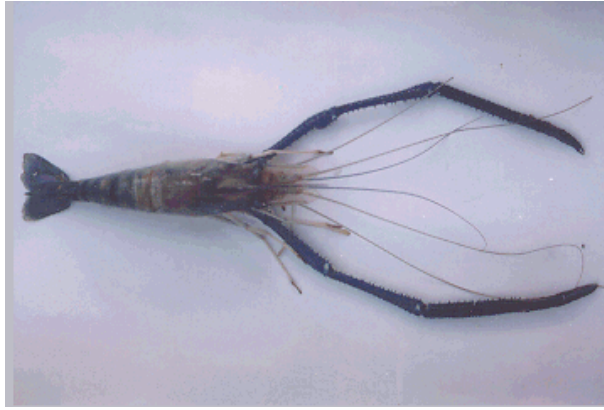
(a) *Daphnia* sp. (b) *Calanus* sp. (c) *Cycloleberis* sp.

1.1.3 ออสตราคอด (Ostracod, mussel or seed shrimp)

ออสตราคอดมีฝาหุ้มลำตัว (Bivalved carapace) 2 ฝา ลำตัวมีรูปร่างกลมหรือรูปไข่มีส่วนประกอบของ CaCO_3 ลำตัวแบ่งเป็น 2 ส่วน คือส่วนหัวและลำตัว ขนาดลำตัว 1-7 มิลลิเมตร ส่วนหัวมีหนวด 2 คู่, mandible 1 คู่ และระยางค์คู่ที่ 4 (Maxillules) แต่ละข้าง ประกอบด้วย แผ่นเหงือกและก้านเหงือก ออสตราคอดมีตาหลายประเภท เช่นบางชนิดมีตาเดี่ยว 1 คู่ต่อข้าง บางชนิดมีตาประกอบ 1 คู่ ลำตัวสั้นไม่เป็นข้อปล้องถูกหุ้มด้วย Carapace มีระยางค์บนลำตัวมี 3 คู่ รูปที่ 1.1(c)

1.1.4 กุ้งและปู (Shrimps, Lobster และ Crabs)

กุ้งและปูเป็นครัสเตเชียนขนาดใหญ่เนื่องจากมีขา รวม 10 ขา (5 คู่) จึงให้อยู่ในกลุ่ม Decapod (Decapod) มี ระยางค์อก 5 คู่ เป็นขาซึ่งใช้เดินอาจเป็นก้ามมีขนาดใหญ่กว่าคู่อื่นๆ เรียกว่า Cheliped ส่วนหัวและอกรวมกัน เรียกว่า Cephalothorax ด้านหลังมี Carapace หุ้ม ช่องว่างด้านหลังของ Cephalothorax กับ carapace เป็นช่องเหงือก ลำตัวแบ่งเป็น 2 ส่วนคือ Cephalothorax กับ Abdomen cephalothorax มีระยางค์ภายนอก 3 กลุ่มคือกลุ่มที่ 1 ได้แก่หนวด 2 คู่ แบ่งเป็นข้อประกอบด้วย peduncle และส่วนที่เป็นเส้นยาว flagella กลุ่มที่ 2 ได้แก่ปากประกอบด้วยริมฝีปากบน, ริมฝีปากล่าง, กราม, maxillae 2 คู่และมี Maxilliped 3 คู่และกลุ่มที่ 3 ได้แก่ขาเดิน Pereopod ซึ่งแบ่งเป็นข้อได้ 7 ข้อ Abdomen ประกอบด้วยปล้อง 7 ปล้อง ด้านข้างของส่วนท้องขยายใหญ่เรียกว่า pleura แต่ละปล้องมีขาว่ายน้ำ 1 คู่ เรียกว่า Pleopod ปล้องสุดท้าย (uropod) พัฒนาเป็นแพนหาง Tail fan เพศเมียมี Thelytulum ใช้เก็บ Sperm เพศผู้มี Petasma อยู่ที่ขาอกคู่ที่ 1 การเจริญเติบโต Decapod ส่วนใหญ่เจริญเติบโตโดยการลอกคราบ ตัวอ่อนมี 4 ระยะคือ Nauplius, Protozoa, Zoea หรือ Mysid และ Postlarva เนื่องจากกุ้งเป็นสัตว์เศรษฐกิจของไทยเนื้อของสัตว์กลุ่มนี้เป็นสินค้าส่งออกที่สำคัญของประเทศ ปัจจุบันมีความพยายามที่จะใช้พอลิเมอร์ชีวภาพจากเปลือกมาใช้ประโยชน์มากขึ้น กุ้งเศรษฐกิจที่สำคัญได้แก่ กุ้งก้ามกราม (*Macrobrachium rosenbergii*) กุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) และกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) ซึ่งมีลักษณะดังแสดงในรูปที่ 1.2 (a), (b), และ (c) ตามลำดับ



(a)



(b)



(c)

<http://www.kanchanapisek.or.th>

รูปที่ 1.2 ลักษณะสัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำขนาดใหญ่ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของไทย และเปลือกมี สัตว์ภาพในการ
นำมาผลิตไคติน-ไคโตซาน (a) กุ้งก้ามกราม (b) กุ้งกุลาดำ (c) กุ้งขาว

1.2 ไคติน-ไคโตซาน (Chitin-Chitosan)

ไคติน-ไคโตซาน (Chitin-Chitosan) เป็นพอลิเมอร์ชีวภาพเกิดในธรรมชาติ จัดอยู่ในกลุ่มคาร์โบไฮเดรตผสม ประกอบด้วยอนุพันธ์ของน้ำตาลกลูโคสที่มีธาตุไนโตรเจนอยู่ในโครงสร้าง ทำให้มีคุณสมบัติที่โดดเด่น และหลากหลาย ย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ ดังนั้นจึงเป็นสารที่มีความปลอดภัยในการใช้กับมนุษย์ สัตว์และสิ่งแวดล้อม สารไคติน-ไคโตซานนี้มีลักษณะพิเศษในการนำมาใช้ดูดซับและจับตะกอนต่างๆในสารละลาย แล้วสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ซึ่งเป็นการหมุนเวียนตามระบบธรรมชาติ

โครงสร้างทางเคมีของสารไคติน (Poly (1, 4-2-acetamido-2-deoxy-β-D-glucosamine)) คล้ายคลึงกับเซลลูโลส คือสายพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีกลูโคสเป็นองค์ประกอบหลัก ไคตินที่เกิดในธรรมชาติมีโครงสร้างของผลึกที่แข็งแรงมีการจัดตัวของรูปแบบของผลึกเป็น 3 ลักษณะได้แก่ แอลฟาไคติน, บีต้าไคติน, และแกมมาไคติน ไคตินที่เกิดในเปลือกกุ้งและปู ส่วนใหญ่อยู่ในรูปแอลฟาไคติน ส่วนไคตินที่อยู่ในปลาหมึกพบว่าส่วนใหญ่เป็นบีต้าไคติน ซึ่งทั้งสองชนิดมีความแตกต่างในการจัดเรียงตัวของโครงสร้างตามธรรมชาติ โดยพบว่าแอลฟาไคตินมีคุณลักษณะของเสถียรภาพทางเคมีสูงกว่าบีต้าไคติน ดังนั้นจึงมีโอกาที่บีต้าไคตินสามารถจะเปลี่ยนแปลงรูปแบบไปเป็นแอลฟาไคตินได้ในสารละลายของกรดแก่ เช่น กรดเกลือ เป็นต้น ส่วนแกมมาไคตินเป็นโครงสร้างผสมระหว่างแอลฟาและบีต้าไคติน

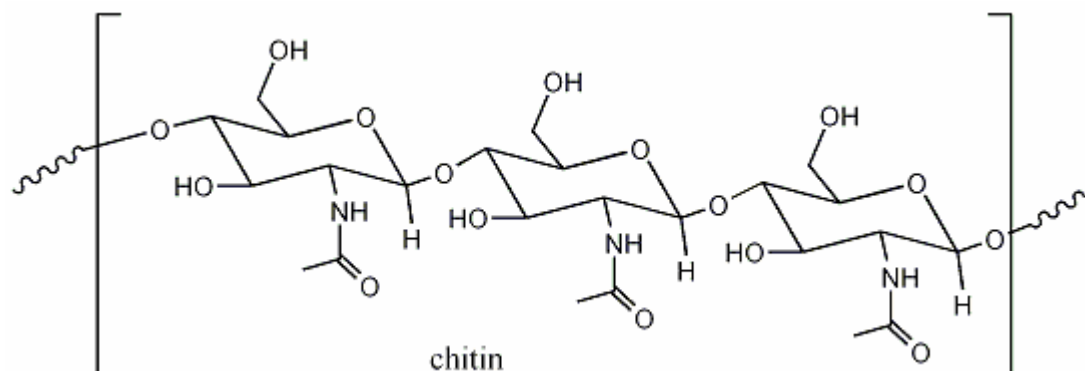
ในการผลิตไคโตซานมักจะมีไคตินเหลืออยู่ในสัดส่วนต่างๆกัน พิจารณาในด้านโมเลกุลไคตินเป็นพอลิเมอร์ที่มีสายยาวมีองค์ประกอบของหน่วยย่อยเป็นอนุพันธ์ของน้ำตาลกลูโคสมีชื่อว่า N-acetyl glucosamine ส่วนไคโตซานเป็นพอลิเมอร์ของหน่วยย่อยที่ชื่อว่า Glucosamine และมีปริมาณ Glucosamine มากกว่า 60% ขึ้นไป ในการผลิตไคโตซานจะได้ไคตินและไคโตซาน ผสมกันอยู่ในสัดส่วนต่างๆกัน หากปริมาณของ Glucosamine น้อยกว่า 40 % ลงมา พอลิเมอร์นั้นจะไม่ละลายในตัวทำละลาย และปริมาณของ Glucosamine มากกว่า 60 % จะสามารถละลายได้ในกรดอินทรีย์ได้ ฉะนั้นการเปลี่ยนแปลงทางเคมีทำให้ไคตินเปลี่ยนไปเป็นไคโตซาน คือการลดลงของหมู่อะซิติลหรือเรียกว่า Deacetylation ขณะที่มีการลดลงของหน่วยย่อย N-acetyl glucosamine หน่วยย่อยของ Glucosamine จะเพิ่มขึ้นในปริมาณที่เท่ากัน การจัดระดับของการ Deacetylation มีค่าร้อยละหรือเรียกว่า Percent Degree of Deacetylation (% DD) กล่าวคือเมื่อในพอลิเมอร์มีค่า %DD เกินกว่า 60 % ขึ้นไป ของการกระจายไคโตซานในกรดอินทรีย์มากจะเพิ่มขึ้นของหมู่อะมิโนของ Glucosamine ทำให้มีความสามารถในการรับโปรตอน จากสารละลายได้เพิ่มขึ้นซึ่งช่วยในการละลายดีขึ้น เนื่องจากมีสมบัติของประจุบวกเพิ่มขึ้น ไคโตซานจึงสามารถละลายได้ดีขึ้นในกรดต่างๆ เช่น กรดน้ำส้ม กรดแลกติก และกรดอินทรีย์อื่นๆ ซึ่งโดยธรรมชาติแล้ว ไคโตซานจะไม่ละลายน้ำ แต่ไคโตซานจะละลายได้ดีเมื่อใช้กรดอินทรีย์เป็นตัวทำละลาย สารละลายของไคโต

ชานจะมีความชื้นเหนียวแต่ไสคล้ายวุ้น หรือพลาสติกใส และยืดหยุ่นได้เล็กน้อย จึงมีคุณสมบัติที่พร้อมจะทำให้เป็นรูปแบบต่างๆได้ง่าย โดยเฉพาะถ้าต้องการทำเป็นแผ่นหรือเยื่อบางๆเป็นเจลหรือรูปร่างเป็นเม็ด เกล็ด เส้นใย สารเคลือบและคอลลอยด์ เป็นต้น และเนื่องจากไคโตซานเป็นพอลิเมอร์ชีวภาพ ไคโตซานจึงสามารถบริโภคได้โดยไม่เกิดอันตรายต่อสิ่งมีชีวิต นอกจากนี้ไคโตซานยังย่อยสลายได้เองตามธรรมชาติ จึงไม่เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมในระยะยาวเมื่อเติมลงไปไปในน้ำหรือในดินเพื่อการเกษตร

ไคโตซานที่ผลิตขึ้นมาใช้ในปัจจุบันนี้ มีหลายรูปแบบ และส่วนใหญ่จะผลิตมาจากบริษัทต่างประเทศ จึงมีราคาค่อนข้างสูง

1.2.1 ไคติน (Poly (1, 4-2-acetamido-2-deoxy-β-D-glucosamine))

ไคตินมีสูตรทางเคมีของโมโนเมอร์คือ $C_8H_{13}NO_5$ ประกอบด้วย C 47.29% H 6.45% N 6.89% และ O 39.37% พบได้ในเปลือกของสัตว์ เช่น กุ้ง ปู หมึก แมลง ตัวไหม หอยมุก และผนังเซลล์ของพวกรา ยีสต์ และจุลินทรีย์อีกหลายชนิด ไคตินในธรรมชาติเป็นของแข็งอันยวรูปในทางปฏิบัติไคตินละลายได้ในกรดอินทรีย์ เช่น กรดเกลือ กรดกำมะถัน และกรดฟอสฟอริก กรดฟอร์มิกที่ปราศจากน้ำแต่ไม่ละลายในน้ำค้างเจือจาง แอลกอฮอล์ และตัวทำละลายอินทรีย์อื่นๆ โครงสร้างของไคตินแสดงไว้ในรูปที่ 1.3

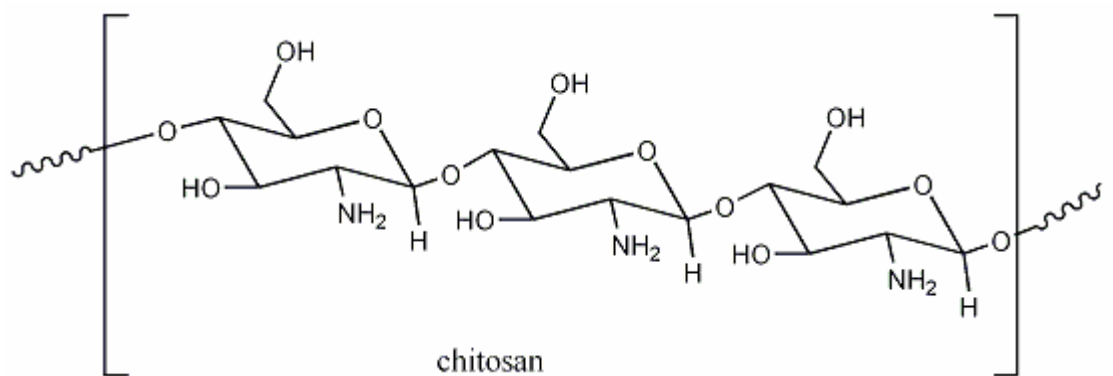


รูปที่ 1.3 โครงสร้างเคมีของไคติน (Bannawach Bio-Line Co. Ltd.)

1.2.2 ไคโตซาน (Poly (1, 4-2-amino-2-deoxy-β-D-glucosamine))

ไคโตซานเกิดจากปฏิกิริยาการกำจัดหมู่อะซีทิล (Deacetylation) ของไคตินด้วยด่างเข้มข้น ทำให้โครงสร้างของไคตินบางส่วนเปลี่ยนแปลงไป โดยมีการเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันที่มี

หมู่อะเซตามิโด ($-\text{NHCOCH}_3$) เปลี่ยนไปอยู่ในรูปของหมู่อะมิโน ($-\text{NH}_2$) ที่ตำแหน่งคาร์บอนตัวที่ 2 สมบัติทางกายภาพและทางเคมีของไคโตซานเป็นโพลิเมอร์สายยาว มีประจุบวก เนื่องจากเกิดโปรตอนเตหมู่อะมิโน (ในรูป $-\text{NH}_3^+$) ปกติไคโตซานละลายได้ดีในกรดอินทรีย์ เช่น กรดอะซิติก กรดโพรพาโนอิก กรดแลกติก เป็นต้น pK_a ของไคโตซานขึ้นอยู่กับความหนาแน่นของโพลิเมอร์ ขอบเขตของความเสถียรของประจุและค่าระดับการกำจัดหมู่อะซิดิล (%DD) ที่มีเศษส่วนโมลเดียวกันกับคู่กรดที่ถูกสะเทิน pK_a ของไคโตซานมีค่าอยู่ในช่วง 6.2 และ 6.8 สารละลายของไคโตซานมีความเหนียวใส มีพฤติกรรมแบบนอน-นิวโตเนียน (non-newtonian) โครงสร้างของไคโตซานแสดงไว้ในรูปที่ 1.4



รูปที่ 1.4 โครงสร้างเคมีของไคโตซาน (Bannawach Bio-Line Co. Ltd.)

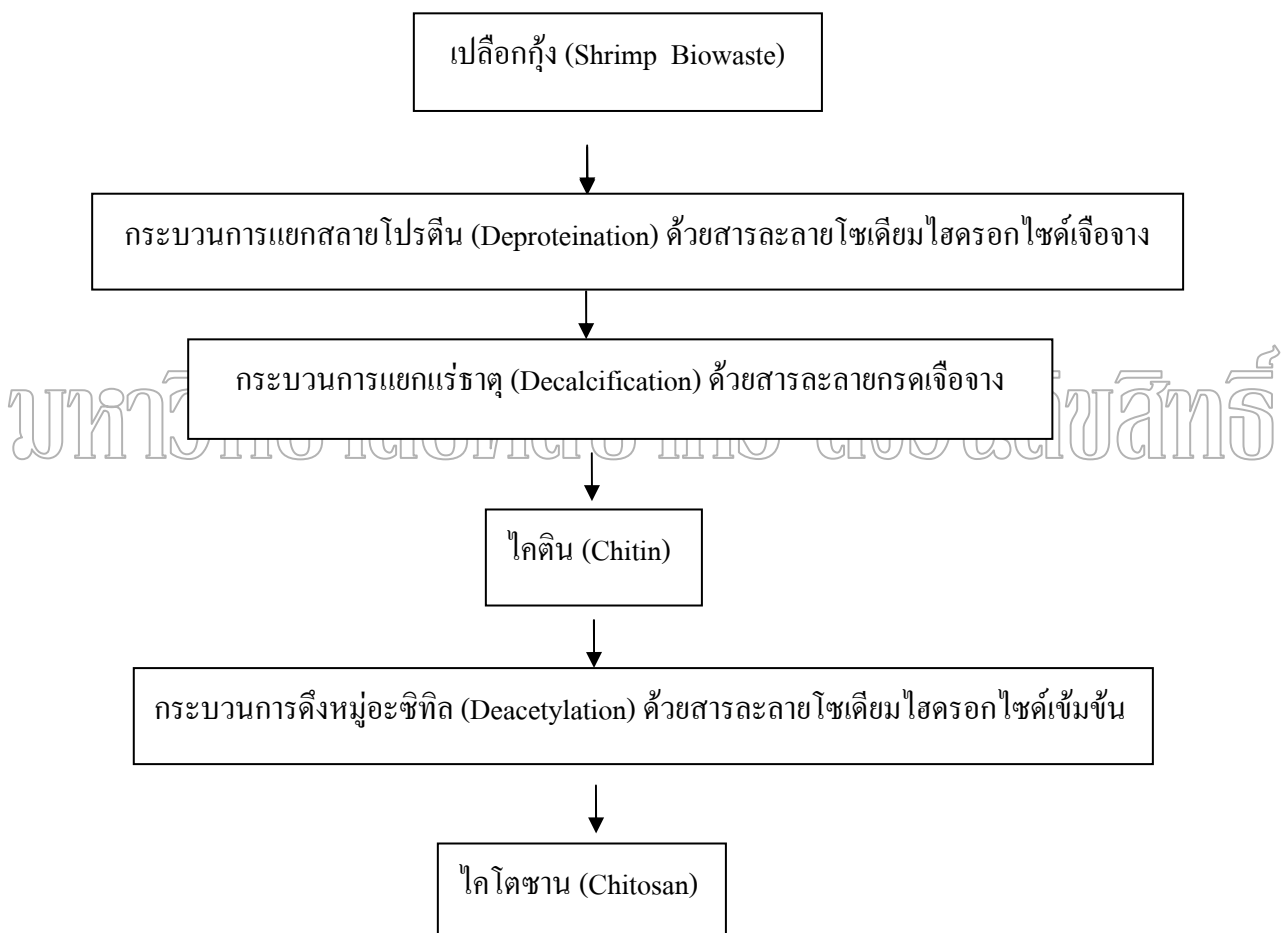
1.2.3 การสกัดไคติน

แหล่งวัตถุดิบในการสกัดไคตินได้มาจากเปลือกของสัตว์ตระกูล ครัสเตเชียน จำพวก ปู และกุ้ง ปกติไคตินจะอยู่ร่วมกับ โปรตีน เม็ดสี ไขมันและ แคลเซียมคาร์บอเนตในเปลือกของสัตว์ดังกล่าวได้มีการพัฒนาวิธีการต่างๆในการสกัดไคติน แต่มีขั้นตอนหลักคือ (1) การสกัดเอาแร่ธาตุออกด้วยกรดไฮโดรคลอริก และ(2) กำจัดโปรตีนด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ แต่การใช้ เบส อาจทำให้เกิดการเปลี่ยนไคตินเป็นไคโตซานได้ ในบางกรณีมีการใช้เอนไซม์ในการย่อยโปรตีนออกไป (Roberts *et al.* 1992)ซึ่งเหมาะสำหรับการสกัดเพื่อแยกเอาไคตินออกมาเพียงอย่างเดียว

ในเปลือกสัตว์ ครัสเตเชียนนี้ยังมีสารจำพวกคาโรทีนอยด์ อยู่ด้วย ซึ่งไม่สามารถ กำจัดออกไปกับโปรตีนและแร่ธาตุพร้อมกันในกระบวนการข้างต้นได้ จึงต้องมีกระบวนการกำจัดสีโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ จำพวกแอลกอฮอล์ หรืออะซิโตน นอกจากวิธีนี้ ยังสามารถกำจัดสีออกด้วยการฟอกขาวด้วยโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต หรือไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Broussignac 1968, Robert 1992.)

1.2.4 การเตรียมไคโตซาน

ในกระบวนการสังเคราะห์ไคโตซานนั้นทำได้โดยการกำจัดหมู่อะซิติลออกจากไคติน โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น โดยกำหนด ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์เท่ากับ 50% โดยมวล อุณหภูมิ 100 ° C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จะได้ผลิตภัณฑ์เป็นไคโตซาน 82% DD และถ้ายืดเวลาออกไปเป็น 2 ชั่วโมงจะให้ผลิตภัณฑ์เกือบ 100% (Robert 1992) และเราสามารถแยกความแตกต่างของไคตินกับไคโตซานได้โดยการทดสอบสมบัติการละลาย การเตรียมไคโตซานแสดงขั้นตอนไว้ในรูป 1.5



รูปที่ 1.5 ขั้นตอนสำคัญที่นิยมใช้ในการสกัดไคตินและผลิตไคโตซาน

1.2.5 ประโยชน์ของไคติน-ไคโตซาน

ปัจจุบันมีการนำไคตินและไคโตซานมาประยุกต์ในด้านต่างๆ ตัวอย่างเช่น

(ก) ด้านอาหาร

ไคโตซานมีสมบัติในการต่อต้านจุลินทรีย์และเชื้อราบางชนิด โดยมีกลไกคือไคโตซานมีประจุบวก สามารถจับกับเซลล์เมมเบรนของจุลินทรีย์ที่มีประจุลบได้ ทำให้เกิดการรั่วไหลของโปรตีนและสารอื่นของเซลล์ ในหลายประเทศได้ขึ้นทะเบียนไคตินและไคโตซานให้เป็นสารที่ใช้เติมในอาหารได้ โดยนำไปใช้เป็นสารกักตุน สารช่วยรักษา กลิ่น รส และสารให้ความข้น ใช้เป็นสารเคลือบอาหาร ผัก และผลไม้ เพื่อรักษาความสดหรือผลิตในรูปฟิล์มที่รับประทานได้ (edible film) สำหรับบรรจุอาหาร

(ข) ด้านอาหารเสริม

ไคโตซานช่วยลดคอเลสเตอรอล และไขมันในเส้นเลือด โดยไคโตซานไปจับกับคอเลสเตอรอล ทำให้ร่างกายไม่สามารถดูดซึมไปใช้หรือดูดซึมได้น้อยลง ทั้งนี้ต้องใช้ด้วยความระมัดระวัง เนื่องจากไคโตซานสามารถจับวิตามินที่ละลายได้ดีในไขมัน (วิตามินเอ ดี อี เค) อาจทำให้ขาดวิตามินเหล่านี้ได้

(ค) ด้านการแพทย์

ไคตินเป็นสารที่ไม่ก่อให้เกิดการต่อต้านจากร่างกาย เนื่องจากไคติน-ไคโตซานเป็นสารที่ได้จากธรรมชาติสามารถเข้าได้กับร่างกายมนุษย์ ไม่มีผลข้างเคียงที่เป็นอันตราย ทั้งยังช่วยส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อคนอีก ใช้ส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียในลำไส้ที่ช่วยส่งเสริมสุขภาพ ต่อต้านมะเร็ง ช่วยลดสารพิษและยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่เป็นอันตราย จากการศึกษาในต่างประเทศ พบว่าสามารถย่อยสลายได้ภายในสัตว์ เนื่องจากมีเอนไซม์หลายชนิดสามารถย่อยสลายได้ นอกจากนี้ ไคติน-ไคโตซานยังสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์บางชนิดด้วย

(ง) ด้านการเกษตร

เนื่องจากไคตินและไคโตซานมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ ไนโตรเจนจะถูกปลดปล่อยออกจากโมเลกุลอย่างช้าๆ รวมทั้งช่วยตรึงไนโตรเจนจากอากาศและดิน จึงใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพ นอกจากนี้ยังช่วยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของพืช และกระตุ้นการนำแร่ธาตุไปใช้ ผลคือสามารถเพิ่มผลผลิตและคุณภาพการผลิตได้ ทำให้เกษตรกรมี ต้นทุนต่ำลง เนื่องจากลดการใช้ปุ๋ยและยาฆ่าแมลง

(จ) ด้านการบำบัดน้ำเสีย

เนื่องจากไคโตซานมีประจุบวกจึงสามารถจับกับโปรตีนและไขมันได้ดี จึงเหมาะสำหรับใช้บำบัดน้ำเสียอุตสาหกรรมอาหารซึ่งมีสารแขวนลอยสูง ไคโตซานยังสามารถดูดซับไอออนของโลหะหนักซึ่งสามารถใช้ในการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมหนัก นอกจากนี้ไคโตซานยังมีความสามารถในการจับกับสารกัมมันตรังสีอย่างพลูโตเนียมและยูเรเนียมด้วย

(ฉ) ภาควัตถุศาสตร์

ไคตินและไคโตซาน มีประโยชน์อย่างมากมายใน อุตสาหกรรมอาหาร เช่น ใช้เสริมใยอาหารธรรมชาติในผลิตภัณฑ์ที่ทำจากแป้ง ใช้เพิ่มความเหนียวแน่นให้กับผลิตภัณฑ์แปรรูปจากเนื้อสัตว์ ใช้เพิ่มกลิ่นรสให้ดีขึ้นในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ ในอุตสาหกรรมเส้นใย กระดาษ สิ่งทอ ก็มีการใช้ไคโตซาน เช่น ใช้ทำภาชนะบรรจุที่ย่อยสลายได้ในธรรมชาติ ทำฟิล์มถนอมอาหารที่สามารถรับประทานได้ ใช้ในการผลิตผ้าที่ย้อมสีติดทนนาน ใช้ในกระบวนการผลิตกระดาษ ที่มีคุณสมบัติทางกายภาพสูง ทนทานต่อการฉีกขาด หรือผลิตกระดาษที่จับหมึกได้ดีเพื่อการพิมพ์ที่ต้องการคุณภาพสูง

(ง) ในด้านความสวยงาม

คุณสมบัติที่ไม่ละลายน้ำและอุ้มความชื้นได้ดีจึงพัฒนานำมาทำผลิตภัณฑ์บำรุงผิว และดูแลเส้นผม ยาสีฟัน เครื่องสำอาง โดยเฉพาะนำไปใส่ในเครื่องสำอางที่มีส่วนผสมของกรดผลไม้ธรรมชาติ หรือ AHA ช่วยกระตุ้นให้ผิวหนังเก่าหลุดลอก ไคโตซานยังถูกนำมาเป็นสารเพิ่มความชื้นเหนียวในครีม เป็นส่วนผสมในโลชั่น เพื่อเพิ่มความชุ่มชื้นและความเนียนนุ่ม เป็นส่วนผสมในแชมพูสระผม ครีมนวดผมและครีมปรับสภาพผม เนื่องจากมีคุณสมบัติ ความหนืด และการเคลือบ โดยไคโตซานจะก่อตัวเป็นฟิล์มเคลือบเส้นผมไว้เพื่อช่วยเก็บความชุ่มชื้นทำให้เส้นผมคงสภาพนุ่มสลวยไม่เสียง่าย

(ช) พัฒนาผลิตภัณฑ์ที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

มีการนำมาใช้ประโยชน์โดยนำมาผสมกับพลาสติก เพื่อช่วยให้สามารถย่อยสลายได้ง่าย นอกจากนี้ยังนำมาทำเป็นฟิล์มถนอมอาหารที่สามารถรับประทานได้โดยไม่เป็นอันตราย

ความน่าสนใจของไคโตซานคือมีหมู่เอมีนอยู่ภายในโครงสร้าง จึงสามารถสร้างอนุพันธ์ได้หลากหลาย เช่นในสภาวะกรด สามารถจับกับสารประเภทโพลีแอนไอออน และเมื่อปรับค่า pH เพิ่มขึ้นสามารถสร้างโครงสร้างเชิงซ้อน กับโลหะหนัก หรือสารให้สี (Kaminski and Modrzejewska, 1997) เนื่องจากหมู่เอมีนมีอิเล็กตรอน คู่อยู่ เชื่อว่าตำแหน่งนี้เองที่สามารถสร้างพันธะโคออดิเนชันกับโลหะได้ ดังนั้นไคโตซานจึงเป็นที่รู้จักว่าเป็นสารดูดซับโลหะได้ดีชนิดหนึ่ง โดยมีการศึกษาความสามารถในการดูดซับ โดยใช้ไคตินธรรมชาติ หรือไคโตซาน รวมไปถึงการใช้อนุพันธ์ของไคโตซานที่มีการติดหมู่ฟังก์ชันก่เข้าไปด้วย (Muzzarelli *et al.* 1984, Guibal *et al.* 1995)

ไคโตซานสามารถละลายได้ในกรดอินทรีย์ และกรดอนินทรีย์ จึงเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้ภาคอุตสาหกรรมนำเอาไคโตซานมาใช้ในการบำบัดน้ำเสีย ซึ่งจำเป็นต้องใช้กระบวนการเชื่อมไขว้ (Cross-link) เพื่อเพิ่มสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของไคโตซานโดยใช้สารเคมีหลายชนิด

1.2.6 การสร้างอนุพันธ์ของไคโตซาน

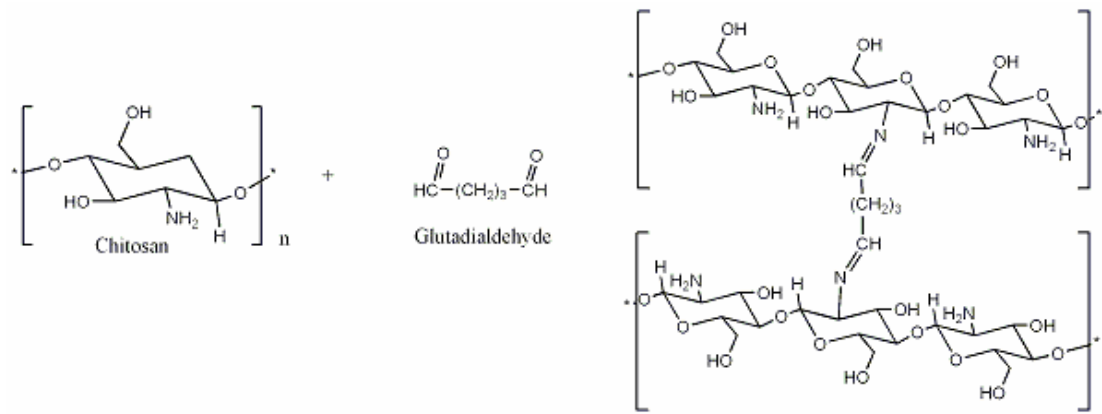
(ก) การเชื่อมไขว้(Cross-linked) ไคโตซาน ด้วย Glutardialdehyde

การเชื่อมไขว้ด้วย Glutardialdehyde เป็นวิธีการหลักที่นิยมใช้และเหมาะสมในทางเคมี ในการเชื่อมไขว้ (Cross-link) คือใช้ Glutardialdehyde ซึ่งเป็น Bifunctional reagent Yang และ Zall (1984) และ Masri *et al.* (1978) กล่าวว่าในการใช้การเชื่อมไขว้ (Cross-link) ด้วย Glutardialdehyde จะลดประสิทธิภาพการดูดซับ แต่จะป้องกันการละลาย ของไคโตซานในทางตรงข้าม Koyama และ Taniguchi (1986) ทำเชื่อมไขว้ ด้วย Glutardialdehyde ในสารละลายกรดอะซิติก แล้วเร่งให้ตกตะกอน ซึ่งพบว่า การเชื่อมไขว้ ด้วย Glutardialdehyde จะเพิ่มประสิทธิภาพการดูดซับ คอปเปอร์(II) ไอออน

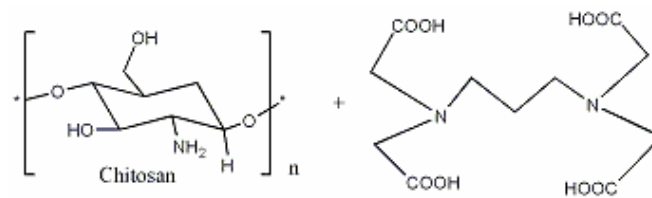
การcrosslinked ด้วย glutardialdehyde เกิดได้โดย กระบวนการ Chiff's Base ระหว่าง ปลายด้านแอลดีไฮด์ ของ Glutardialdehyde และ หมู่เอมีนของไคโตซานเพื่อทำให้เกิดเป็นอิมีน(Robert 1992; Rorrer *et al.* 1993; Guibal *et al.* 1998) ดังแสดงในรูปที่ 1.6

(ข) การเชื่อมไขว้ด้วย 1,3-diaminopropane-N,N',N'-tetraacetic acid (Becker *et al.* 2000)

เป็นอีกวิธีที่สามารถทำได้โดยลักษณะของพอลิเมอร์ที่ได้จะมีความต่างกันที่โมเลกุลที่เป็นเสมือนสะพานเชื่อมต่อสายพอลิเมอร์ของไคโตซานเข้าด้วยกันเปลี่ยนจาก Glutardialdehyde เป็น 1,3-diaminopropane-N,N',N'-tetraacetic acid ดังแสดงในรูปที่ 1.7

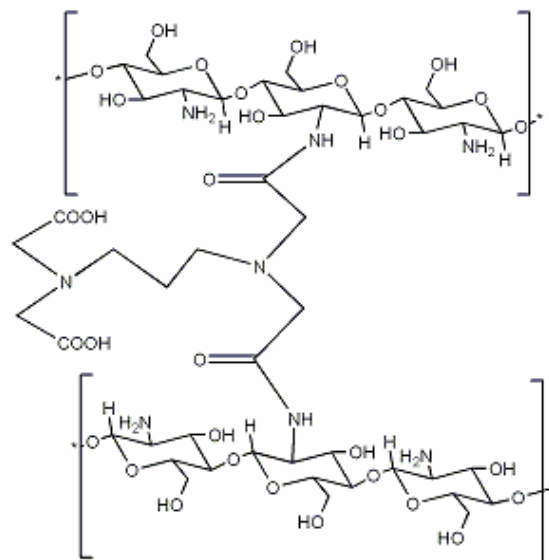


รูปที่ 1.6 ปฏิกิริยาการเชื่อมไขว้ไคโตซานด้วย Glutardialdehyde (Becker, 2000)



มหาวิทยาลัย

วลัยลักษณ์



รูปที่ 1.7 ปฏิกิริยาการเชื่อมไขว้ไคโตซานด้วย 1,3-diaminopropane-N,N,N',N'- tetraacetic acid (Becker,2000)

การติดหมู่ฟังก์ชันกลในไคโตซาน ช่วยเพิ่มความสามารถในการเลือกจับสารเคมีบางชนิดได้ ในการทดลองของ Becker *et al* (2000) พบว่าเมื่อเพิ่มหมู่ฟังก์ชันเข้าไปในไคโตซานที่ cross-linked ด้วย

Glutadiyaldehyde จะเพิ่มความสามารถในการเลือกจับโลหะได้ดีขึ้นโดยพบว่า การเพิ่มหมู่ฟังก์ชันกับ Thiolglycolic acid สามารถเลือกดูดซับไอออนของโลหะ นิกเกิล และแคดเมียมได้

1.3 ขั้นตอนในการวิเคราะห์โดยใช้ UV-VIS Spectrophotometric Techniques

- 1.3.1 ศึกษาการเตรียมสารละลายตัวอย่าง โดยเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสม โดยตัวทำละลายจะต้องไม่มีการดูดกลืนแสงในช่วงเดียวกับสารตัวอย่าง
- 1.3.2 เลือกใช้สภาวะของเครื่องมือให้ถูกต้อง
- 1.3.3 ศึกษาแอมพลิจูดของสเปกตรัมโดยสแกนค่าแอมพลิจูดแบบสลับกับความยาวคลื่นจากสเปกตรัมจะทำให้เราทราบว่าควรเลือก $\lambda_{\max}$ ที่ความยาวคลื่นเท่าใด
- 1.3.4 ศึกษาตัวแปรต่างๆที่จะทำให้ค่าแอมพลิจูดแบบสลับเปลี่ยนแปลงได้
- 1.3.5 ส่วนประกอบของเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer

(ก) Light source

Hydrogen lamp หรือ Deuterium lamp เป็นต้นกำเนิดแสง ultraviolet ซึ่งอยู่ในช่วงความยาวคลื่น 185-375 nm

Tungsten lamp เปล่งแสงออกมาในช่วง visible ซึ่งอยู่ในช่วงความยาวคลื่น 320-2500 nm นอกจากนี้ยังมีหลอดชนิดอื่นๆอีก

(ข) Monochromator

ส่วนประกอบนี้ถือเป็นหัวใจของเครื่อง Spectrophotometer เพราะเป็นส่วนที่ใช้ควบคุมแสง โดยทำให้แสงที่ออกมาจากต้นกำเนิดแสง ซึ่งเป็นพอลิโครเมติก (คือเป็นแสงที่ประกอบด้วยแสงที่มีความยาวคลื่นต่างๆ) ให้เป็นแสงโมโนโครมาติกซึ่งเป็นแถบแสงแคบๆ Monochromator ประกอบด้วย 3 ส่วน

ช่องที่ปล่อยให้แสงเข้า (Entrance slit)

กระจกและเลนส์ (Mirror และ lens)

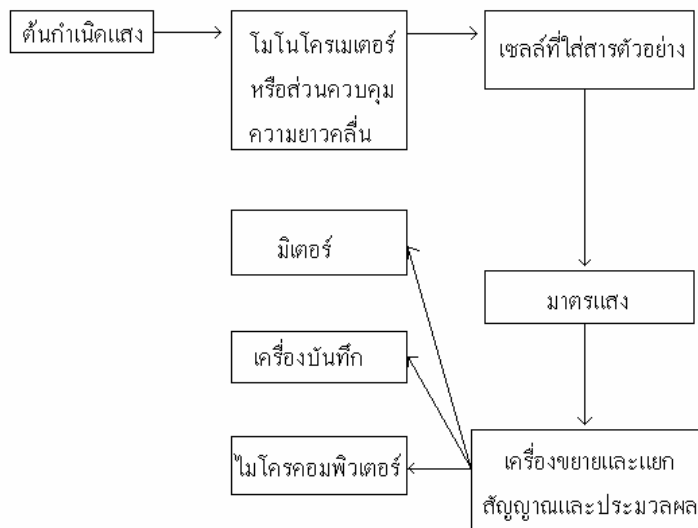
ส่วนที่ใช้ทำให้แสงกระจายออกเป็นความยาวคลื่นต่างๆ เช่น Filters, prism, grating เป็นต้น

(ค) Sample cell

บางครั้งเรียกว่าคิวเวทท์ (Cuvettes) มีด้วยกันหลายรูปแบบ รูปร่างแตกต่างกันเช่น เซลล์ที่ทำด้วยแก้วธรรมดา จะใช้ได้เฉพาะในช่วงวิสิเบิล เพราะเนื้อแก้วธรรมดาดูดกลืนแสงในช่วงยูวีได้ เซลล์ที่ทำด้วยซิลิกา (Silica) และ ควอตซ์ (Quartz) ใช้ได้ทั้งในช่วงยูวีและวิสิเบิล

(ง) Radiation detector

เครื่องวัดแสง เช่น Photomultiplier tube (PMT), silicon diode detector, photodiode arrays เป็นต้น



รูปที่ 1.8 ผังเครื่อง UV-Vis spectrophotometer

เครื่อง UV-VIS Spectrophotometer ที่ใช้ในการศึกษาในงานวิจัยนี้ แสดงดังรูปที่ 2.25

มหาวิทยาลัยศิลปากร ล่งวนลขสิทธิ์



รูปที่ 1.9 เครื่อง UV-VIS Spectrophotometer รุ่น HP 8453

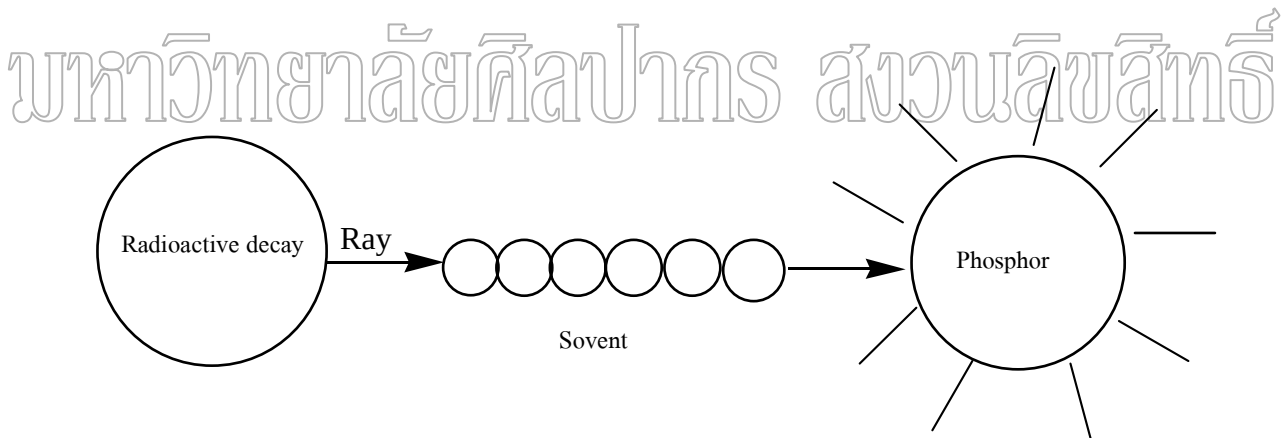
1.4 หลักการและทฤษฎีของเครื่อง Liquid Scintillation Counter

การวัดรังสีโดยใช้ Liquid Scintillation Counter ทำให้สามารถวัดรังสีเบตาที่มีพลังงานต่ำ เช่น รังสีเบตาจาก ^3H ($E_{\text{Bmax}} = 0.018 \text{ MeV}$) หรือ ^{14}C ($E_{\text{Bmax}} = 0.155 \text{ MeV}$) ทั้งนี้สามารถหลีกเลี่ยงผลที่เกิดจากกระบวนการ absorption และ self-absorption ที่เกิดจากการวัดโดยใช้เครื่องวัดแบบไกเกอร์ รังสีเบตาจาก ^3H ไม่สามารถวัดได้เนื่องจากประสิทธิภาพของการวัดมีค่าต่ำมาก แต่เมื่อใช้การวัดโดย Liquid Scintillation Counter แล้วประสิทธิภาพของการวัดจะมีค่ามากกว่า 60% สำหรับ ^3H และมากกว่า 90 % สำหรับ ^{14}C

รังสีแอลฟาอาจวัดได้ด้วย Liquid Scintillation Counter และมีประสิทธิภาพสูง ซึ่งถ้าใช้เครื่องวัดแบบไกเกอร์ก็จะให้ประสิทธิภาพการวัดต่ำ ทั้งนี้เนื่องจากรังสีแอลฟาเดินทางไปในตัวกลางได้น้อย (short range)

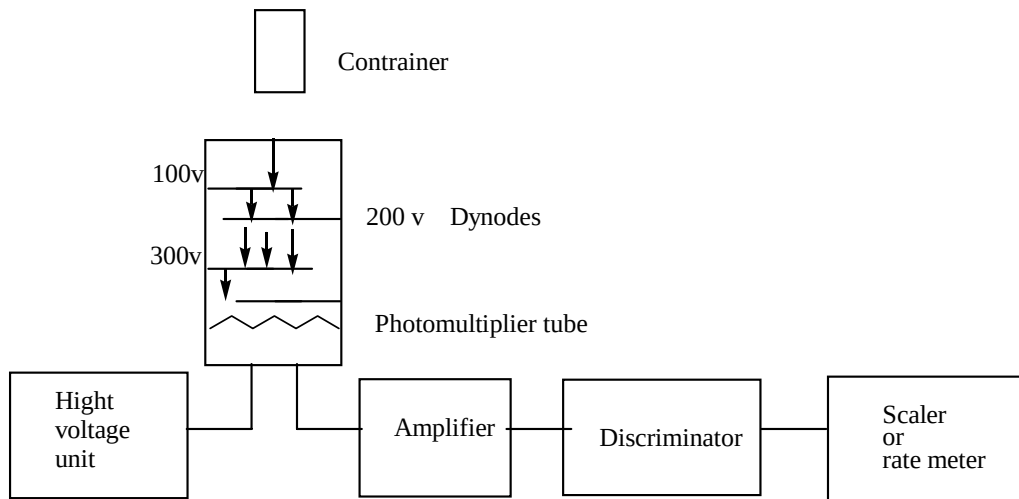
ถึงแม้ Liquid Scintillation Counter จะใช้วัดรังสีแกมมาได้แต่ก็ไม่นิยม หลักในการวัดแบบ Liquid Scintillation ก็คล้ายกับหลักของการใช้ Phosphor หรือ Scintillator ที่เป็นผลึก เช่น NaI (Tl)

หลักการของ Liquid Scintillation Counter นั้นเกี่ยวข้องกับการถ่ายเทพลังงานของรังสีที่เกิดจากการสลายตัวไปยังโมเลกุล Phosphor (รูปที่ 2.26)



รูปที่ 1.10 การถ่ายเทพลังงานของรังสีที่เกิดจากการสลายตัวไปยังโมเลกุล phosphor

เมื่อโมเลกุลนั้นดูดเอาพลังงานไว้แล้วจะคายพลังงานออกมาในรูปของพลังงานแสง ซึ่งโมเลกุลที่มีสมบัติดังกล่าวนี้เรียกว่า Phosphor หรือ Scintillator แสงที่เกิดขึ้นนี้จะไปตกกระทบบนหลอดทวีปริมาณอิเล็กตรอน (Photomultiplier tube) หลอดนี้จะเปลี่ยนแสงเป็นไฟฟ้า (Electrical pulse) แล้วไฟฟ้านี้จะถูกขยายและถูกส่งไปยัง Scaler หรือ Rate meter เช่นเดียวกับเครื่องวัดแบบไกเกอร์ (รูปที่ 2.27)



รูปที่ 1.11 ผังเครื่อง Liquid Scintillation Counter

เครื่องวัดแบบนี้จะประกอบด้วย Photomultiplier tube ซึ่งจะอยู่ติดกับขวดเล็ก (vial) บรรจุสารตัวอย่างที่อาจทำด้วยแก้วหรือพลาสติก ภายในขวดนี้จะบรรจุด้วย Organic liquid scintillator เช่น 2, 5-diphenyloxazole, PPO สารตัวอย่างที่ต้องการวัดจะละลายอยู่ในตัวทำละลายที่เหมาะสม เช่น Dioxane, toluene ส่วนของเครื่องมีรวมทั้งระบบอิเล็กทรอนิกส์ต่างๆจะบรรจุอยู่ในฝาหรือกล่องที่ปกคลุมป้องกันแสงจากภายนอก



รูปที่ 1.12 เครื่อง Liquid Scintillation Counter

1.5 วัตถุประสงค์การทดลอง

- (ก) เพื่อสกัดไคตินจากแหล่งธรรมชาติที่หาได้ง่ายในประเทศไทย
- (ข) เตรียมเม็ดพอลิเมอร์ไคโตซานโดยการเชื่อมไขว้ด้วย Glutadialdehyde
- (ค) เตรียมเม็ดพอลิเมอร์อนุพันธ์ไคโตซานโดยใช้ Benzaldehyde
- (ง) ทดสอบความสามารถของเม็ดพอลิเมอร์ไคโตซาน และอนุพันธ์ไคโตซานในการดูดซับ
Cu(II), Ni(II), $^{232}\text{Th}^{2+}$, PO_4^{3-} , และ Rhodamine B

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์