การดัดแปลงไคโตซานจากเปลือกปูดำเพื่อรักษาคุณภาพของกุ้งแช่เยือกแข็ง

MODIFYING CHITOSAN FROM SHELLS OF BLACK CRAB (*SCYLLA OLIVACEA*) TO MAINTAIN THE QUALITY OF FROZEN SHRIMP

น้ำฝน ไทยวงษ์[1] ธเนศ สินธุ์ประจิม[2] สุแพรวพันธ์ โลหะลักษณาเดช[2] และนัฏฐา คเชนทร์ภักดี[2*]

Numphon Thaiwong[1], Tanayt Sinprachim[2], Supraewan Lohalaksanadech[2], and Natta Kachenpukdee[2*]

บทคัดย่อ

ปูนิ่มเป็นปูดำตามธรรมชาติที่เจริญเติบโตโดยอาศัยการลอกคราบ จึงทำให้มีเศษกระดองปูดำเหลือทิ้ง งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) ผลิตไคโตซานจากกระดองปูดำ 2) ศึกษาชนิดและความเข้มข้นที่เหมาะสมของเพนตะโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟต ซัลเฟต และซิเตรทในการดัดแปลงไคโตซานจากกระดองปูดำ ที่ความเข้มข้นต่างกัน 1, 2 และ 3% เพื่อนำไปใช้เป็นสารแช่กุ้งแชบ๊วยก่อนการแช่เยือกแข็ง ผลการทดลองพบว่าไคโตซานจากกระดองปูดำมีค่าการกำจัดหมู่อะซิติลเท่ากับ 72.11±4.13% และมีดัชนีความขาวเท่ากับ 70.13±0.98 ซึ่งไคโตซานมีความสามารถในการอุ้มน้ำ ดัชนีการละลายน้ำ ความสามารถในการอุ้มไขมัน และการพองตัวเท่ากับ 1.07±0.28, 3.15±0.75%, 9.87±0.65 กรัม/กรัมตัวอย่าง และ 1.80±0.98 มิลลิลิตร/กรัม ตามลำดับ การศึกษาร้อยละการผลิตของอาหารแช่เยือกแข็ง ร้อยละการสูญเสียน้ำเนื่องจากการละลาย การสูญเสียน้ำ ค่าพีเอช ปริมาณกรดไทโอบาร์บิทูริก ปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด และค่าไตรเมธิลามีนออกไซด์ของกุ้งแช่เยือกแข็งหลังการเก็บรักษาที่ -18 องศาเซลเซียส

[1]คณะนวัตกรรมและเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา 30000

[1]Faculty of Agricultural Innovation and Technology, Rajamangala University of Technology Isan, Muang District, Nakhon Ratchasima Province 30000

[2]คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง วิทยาเขตตรัง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย อำเภอสิเกา จังหวัดตรัง 92510

[2]Faculty of Science and Fisheries Technology, Trang Campus, Rajamangala University of technology Srivijaya, Sikao District, Trang Province 92150

*corresponding author e-mail: n.kachenpukdee@yahoo.com

Received: 23 May 2024; Revised: 21 October 2024; Accepted: 24 October 2024

DOI: https://doi.org/10.14456/lsej.2024.29

นาน 6 เดือน พบว่า ตัวอย่างที่ใช้ไคโตซานดัดแปลงด้วยเพนตะโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟตให้ผลในการรักษาคุณภาพ ของผลิตภัณฑ์อาหารแช่เยือกแข็งดีที่สุด เนื่องจากมีค่าการสูญเสียน้ำของผลิตภัณฑ์หลังการแช่เยือกแข็งต่ำที่สุดเท่ากับ 0.55±0.18% และมีประสิทธิภาพในการลดปฏิกิริยาการเกิดออกซิเดชันของไขมันดีที่สุด โดยมีปริมาณกรดไทโอบาร์บิทูริกต่ำที่สุดเท่ากับ 0.75 มิลลิกรัม มาโลนาลดีไฮด์ต่อกิโลกรัมของตัวอย่าง

คำสำคัญ: ไคโตซานดัดแปลงจากกระดองปู เพนตะโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟต สารแช่กุ้ง

Abstract

Soft-shell crabs are naturally occurring black crabs that grow through molting, a process that leaves behind discarded black crab shells. The objectives of this research were to 1) produce chitosan from black crab shells and 2) study the appropriate type and concentration of crosslinkers: pentasodium tripolyphosphate (TPP), sulfate, and citrate at different concentrations of 1, 2, and 3% to modify chitosan from black crab shell and apply these modified chitosans as a soaking solution for *Fenneropenaeus merguiensis* (banana shrimp) before freezing. The results found that chitosan from black crab shells had a degree of deacetylation of 72.11±4.13% and a whiteness index of 70.13±0.98. Chitosan showed the water holding capacity, water solubility index, fat binding capacity, and swelling capacity equal to 1.07±0.28, 3.15±0.75%, 9.87±0.65 g/g sample, and 1.80±0.98 mL/g, respectively. The study examined various parameters of frozen banana shrimp stored at -18°C for 6 months, including the production yield (% yield), thawing loss (% thawing loss), drip loss (% drip loss), pH, thiobarbituric acid value (TBA), total volatile base nitrogen (TVB-N), and trimethylamine (TMA). Samples treated with chitosan modified by TPP exhibited the best quality preservation among frozen food products. These treatments resulted in the lowest drip loss, measured at 0.55±0.18%. Furthermore, they demonstrated superior efficiency in inhibiting lipid oxidation, as evidenced by the lowest thiobarbituric acid content of 0.75 mg malonaldehyde/kg sample.

Keywords: modified crab shell chitosan, pentasodium tripolyphosphate, shrimp soaking solution

บทนำ

ปูนิ่มเป็นปูดำตามธรรมชาติที่ลอกคราบเพื่อการเจริญเติบโต เมื่อปูมีเนื้อแน่นเต็มกระดอง เพราะกระดองปูเป็นสารประกอบจำพวกพวกหินปูนทำให้ปูไม่สามารถขยายขนาดได้โดยตรง ปัจจุบันความต้องการปูนิ่มของท้องตลาดมีมากขึ้นทำให้มีการเลี้ยงปูนิ่มในรูปแบบฟาร์มเพิ่มขึ้นตามไปด้วย (MGR online, 2015) ทั้งนี้ การจำหน่ายปูนิ่มมีสัดส่วนภายในประเทศ 5% และส่งออก 95% จากความต้องการปูนิ่มในท้องตลาดทำให้มีเศษกระดองปูดำเหลือทิ้งเป็นจำนวนมาก กระดองปูเป็นหนึ่งในแหล่งวัตถุดิบที่สำคัญในการผลิตสารไคโตซาน นอกเหนือจากเปลือกกุ้งและแกนหมึก (Kanlapaphruek et al., 2013)

ไคโตซานเป็นพอลิแซ็กคาไรด์สายตรงประจุบวก ประกอบด้วย ดี-กลูโคซามีน (D-glucosamine) และเอ็น-อะซิติล กลูโคซามีน (N-acetyl-d-glucosamine) ที่เชื่อมกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก ชนิด ***β***(1,4) โดยจัดเรียงตัวแบบสุ่ม โคโตซานเป็นอนุพันธุ์ของไคตินที่ได้จากปฏิกิริยาการกำจัดหมู่อะซิติลออกจากโมเลกุลของไคติน (Gierszewska & Ostrowska, 2016) การผลิตไคโตซานจากไคตินเป็นขั้นตอนที่ใช้สารเคมีในการผลิต ซึ่งมีขั้นตอนการกำจัดโปรตีน (Deproteinization) การกำจัดเกลือแร่ (Demineralization) การกำจัดสี (Decolouration) และการกำจัดหมู่อะซิติล (Deacetylation) ขั้นตอนเหล่านี้ล้วนส่งผลต่อสมบัติของไคโตซานที่ได้ทั้งสิ้น (Musmade & Mahatma, 2021) เนื่องจากไคโตซานมีสมบัติความเข้ากันได้ทางชีวภาพ (Biocompatibility) มีความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพ (Biodegradability) ชอบน้ำ ไม่เป็นพิษ มีประจุบวก ดัดแปลงเป็นเจล ฟิล์ม อนุภาคนาโน อนุภาคไมโครและเม็ดบีดได้ง่าย มีสัมพรรคภาพกับโลหะ (Metals affinity) โปรตีน และสี เป็นต้น ไคโตซานจึงใช้ในอุตสาหกรรมยา เวชภัณฑ์ อาหาร และสิ่งแวดล้อม (Gierszewska & Ostrowska-Czubenko, 2016) จากคุณลักษณะของไคโตซานที่ชอบน้ำสูง ทำให้ไคโตซานสามารถสร้างไฮโดรเจลซึ่งเป็นโครงร่างตาข่ายสามมิติที่มีสมบัติเป็นเยื่ออิเล็กโทรไลต์ (Mia & Sahai, 2013) อย่างไรก็ตาม ไฮโดรเจลจากไคโตซานมีโครงสร้างโครงข่ายสามมิติค่อนข้างหลวมเพราะเกิดจากโมเลกุลพอลิแซ็กคาไรด์เชิงเส้น ทำให้เยื่อไฮโดรเจลมีความเสถียรต่อแรงกลต่ำเมื่อมีน้ำเป็นส่วนประกอบในปริมาณสูง โดยเฉพาะสารละลายกรด (Gierszewska & Ostrowska-Czubenko, 2016) ปัญหาดังกล่าวนี้ทำให้มีการปรับเปลี่ยนวิธีการผลิตไคโตซานโดยใช้กระบวนการเชื่อมโยงข้าม (Cross-link) เพื่อปรับปรุงความเสถียรของไคโตซานที่มีต่อสารเคมีและแรงกล คุณภาพของไคโตซานขึ้นอยู่กับธรรมชาติของตัวเชื่อมโยงข้าม (Crosslinker) ไคโตซานสามารถเชื่อมโยงข้ามได้ทั้งแบบโควาเลนต์และแบบไอออน อย่างไรก็ตาม การเชื่อมโยงข้ามแบบไอออนิกเป็นขั้นตอนที่ง่าย และไม่ซับซ้อน (Gierszewska & Ostrowska, 2016) เป็นการอาศัยปฏิกิริยาระหว่างไฟฟ้าสถิตระหว่างหมู่เอมีนของไคโตซานกับกลุ่มประจุลบของสารโพลีแอนไอออน (Severino et al., 2016) แต่เดิมกลูตารัลดีไฮด์ และไกลโอซัลนำมาใช้เป็นสารยึดเหนี่ยวโมเลกุลไคโตซาน แต่สารทั้งสองนี้มีความเป็นพิษ (Berger et al., 2004) จึงเปลี่ยนมาใช้สารที่มีประจุลบ และน้ำหนักโมเลกุลต่ำ เช่น ไตรพอลิฟอสเฟต, ซิเตรต และซัลเฟต เป็นต้น (Gierszewska & Ostrowska-Czubenko, 2016)

ในอุตสาหกรรมอาหารไคโตซานนำมาใช้เพื่อป้องกันการเสื่อมเสียทางเคมีและจุลินทรีย์ รวมถึงสามารถป้องกันการสูญเสียน้ำ (Drip loss) หลังการละลายในอาหารแช่เยือกแข็งอีกด้วย (Chang et al., 2023) ทั้งนี้ การเคลือบกุ้งแช่แข็งด้วยไคโตซานที่เชื่อมโยงข้ามด้วยโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟตที่ -2°C นาน 30 วัน สามารถควบคุมปฏิกิริยาออกซิเดชันจากไขมัน และลดจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และรา ได้ดีกว่าตัวอย่างควบคุม (Solval et al., 2014) จากการเตรียมเนื้อกุ้งแช่เยือกแข็งที่เตรียมโดยผสมเนื้อกุ้งกับไคโตซาน (Water-soluble chitosan) ในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 ด้วยเครื่องนวดสุญญากาศ และจัดเก็บที่อุณหภูมิ -20°C เป็นเวลา 120 วัน พบว่าเนื้อกุ้งแช่เยือกแข็งที่ผสมกับไคโตซานมีจำนวนจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด จำนวนยีสต์และรา และการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันต่ำกว่ากลุ่มควบคุม นอกจากนี้ สี เนื้อสัมผัส และปริมาณความชื้นของกุ้งแช่เยือกแข็งที่ผสมกับไคโตซานไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงในระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง (Chouljenko et al., 2016) และการใช้สารละลายไคโตซาน หรือสารละลายไคโตซานโซเดียม-ไตรโพลีฟอสเฟตเป็นส่วนผสมกับเนื้อกุ้งแช่เยือกแข็งที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20°C นาน 120 วัน ช่วยลดการเจริญของจุลินทรีย์ในเนื้อกุ้งได้ดีกว่าตัวอย่างควบคุม (Chouljenko et al., 2017) นอกจากนี้การใช้ไคโตซานเคลือบผิวปลาเฮอร์ริ่งรมควันแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -18°C เป็นเวลา 90 วัน ส่งผลให้อัตราการเจริญของแบคทีเรียที่เจริญในที่เย็น (Psychrotrophic bacteria) แบคทีเรีย Enterobacteriaceae ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่เจริญได้ในภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน ยีสต์และราน้อยกว่าตัวอย่างควบคุม การเคลือบไคโตซานยังทำให้คุณภาพทางเคมีกายภาพของปลาเฮอร์ริ่งรมควันแช่เยือกแข็งดีขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (Abdel-Naeem et al., 2021) รวมถึงเนื้อปลายี่สกเทศ (*Labeo rohita*) แล่แช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -18°C ที่เคลือบผิวด้วยไคโตซานมีอายุการเก็บรักษา (12 สัปดาห์) นานกว่าตัวอย่างควบคุม (6 สัปดาห์) (Afrin et al., 2021) ขณะที่ไคโตซานที่ใช้ซิเตรทเป็นสารยึดเหนี่ยวโมเลกุลมีขนาดอนุภาค รูพรุน และพื้นที่ผิวเล็กกว่าไคโตซาน และมีพฤติกรรมการบวมตัว (Swelling behavior) ต่ำกว่าไคโตซาน และไคโตซานที่เชื่อมโยงข้ามด้วยซิเตรทไม่สามารถละลายได้ในสารละลายกรดอะซิติกเข้มข้น 2% แต่ไคโตซานสามารถละลายได้ (Latupeirissa et al., 2022) และอนุภาคนาโนไคโตซานที่เชื่อมโยงข้ามด้วยซัลเฟตมีอัตราการละลายช้าเมื่ออยู่ในสารละลายกรด และค่อนข้างเสถียรในตัวกลางที่เป็นน้ำ ไคโตซานที่เชื่อมโยงข้ามด้วยซัลเฟตจึงเป็นตัวพา (Carriers) ที่เหมาะสมกับเทคโนโลยีการนำส่งยา (Mayyas & Al-Remawi, 2012) เนื่องจากส่วนประกอบหลักของกระดองปูประกอบด้วย ไคติน โปรตีน และเกลือแคลเซียม (Aklog et al., 2016)

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจนำกระดองปูดำที่เป็นเศษเหลือทิ้งจากการเพาะเลี้ยงปูนิ่มมาผลิตไคโตซาน และนำไคโตซานมาดัดแปลงโดยใช้สารเชื่อมโยงข้าม 3 ชนิด ได้แก่ เพนตะโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟต ซัลเฟต และซิเตรท ที่ความเข้มข้นต่างกัน 1, 2 และ 3% มาใช้เป็นสารละลายแช่กุ้งแชบ๊วยปอกเปลือกก่อนแช่เยือกแข็ง และเปรียบเทียบประสิทธิภาพของไคโตซานดัดแปลงโดยพิจารณาคุณภาพของกุ้งแช่เยือกแข็ง ที่เก็บ -18°C นาน 6 เดือน จากร้อยละการผลิตของอาหารแช่เยือกแข็ง ร้อยละการละลาย

การสูญเสียน้ำ และปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน (กรดไทโอบาร์บิทูริก ปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด และค่าไตรเมธิลามีนออกไซด์) เนื่องจากกุ้งแชบ๊วยเป็นกุ้งน้ำเค็มที่พบได้ทั้งจากการเพาะเลี้ยงและแหล่งธรรมชาติ ด้วยรสชาติที่ดีจึงเป็นที่นิยมของผู้บริโภคทั้งในประเทศและต่างประเทศ ทั้งนี้ กรมประมงประสบความสำเร็จในการเพาะขยายพันธุ์กุ้งแชบ๊วยมาเป็นเวลานานแล้ว (Kaenchueachai et al., 2019) การยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กุ้งแชบ๊วยแช่เยือกแข็งโดยการแช่สารละลายไคโตซานจึงเป็นแนวทางในการปรับปรุงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ให้ผู้บริโภคได้รับผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพสูงและคงคุณค่าทางโภชนาการ

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมวัตถุดิบ

นำกระดองปูดำจากฟาร์มปูนิ่มในพื้นที่จังหวัดตรังและจังหวัดใกล้เคียง มาล้างทำความสะอาด ผึ่งแดดให้แห้ง นำไปอบแห้งที่ 70°C ประมาณ 3 ชั่วโมง ให้ความชื้นต่ำกว่า 8% (ดัดแปลงวิธีตาม Wisespongpand et al., 2013) จากนั้นบดกระดองปูให้ละเอียดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 1 มิลลิเมตร ได้กระดองปูแห้ง นำส่วนหนึ่งไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี (AOAC, 2000) เก็บตัวอย่าง ในถุงซิปล็อคที่อุณหภูมิห้องเพื่อรอใช้ต่อไป

2. การเตรียมสารสกัดไคโตซาน

ชั่งกระดองปูแห้ง 50 กรัม เติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1 นอร์มัล อัตราส่วนตัวอย่างต่อกรด 1:10 (w/v) แช่ตัวอย่างที่อุณหภูมิห้อง นาน 1 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาให้เปลี่ยนสารละลายกรดทุก 1 ชั่วโมง จนสารละลายกรดไม่มีฟองเกิดขึ้น ล้างตัวอย่างให้ค่าพีเอชของน้ำล้างมีค่าเป็นกลาง โดยวัดค่าด้วย pH meter (Starter™ 2200 pH Meter, OHAUS, US) จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1 นอร์มัล อัตราส่วนตัวอย่างต่อสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เท่ากับ 1:20 (w/v) นำไปต้มที่ 90°C นาน 2 ชั่วโมง ล้างตัวอย่างให้ค่าพีเอชของน้ำล้างมีค่าเป็นกลาง แช่ตัวอย่างในเมทานอลที่อัตราส่วนตัวอย่างต่อเมทานอล 1:10 (w/v) นาน 1 ชั่วโมง เปลี่ยนสารละลายที่ใช้แช่เป็นอะซิโตน โดยใช้อัตราส่วนและเวลาในการแช่เช่นเดียวกับเมทานอล ล้างตัวอย่างให้ค่าพีเอชของน้ำล้างมีค่าเป็นกลาง ทำให้สะเด็ดน้ำ อบแห้งตัวอย่างที่ 70°C นาน 18 ชั่วโมง ได้เป็นไคติน และนำมาสกัดไคโตซานตามวิธีของ Wisespongpand et al. (2013) เมื่อสกัดไคโตซานได้แล้ว ให้นำไคโตซานที่ได้มาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีตามวิธีของ AOAC (2000) และสมบัติเชิงหน้าที่ตามข้อ 3

3. สมบัติเชิงหน้าที่ของสารสกัดไคโตซาน

3.1 ค่าการกำจัดหมู่อะซิติล (degree of deacetylation, %DD)

เตรียมสารละลายไคโตซานจากกระดองปูเข้มข้น 0.04% v/v ในสารละลายกรดอะซิติกเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ไทเทรตกับสารละลาย Potassium polyvinyl sulfate (PVSK) โดยใช้ Toluidine blue เป็นอินดิเคเตอร์ คำนวณความเข้มข้นของ PVSK โดยใช้ 1-n-Hexadecyl

pyridinium chloride monohydrate เป็นสารละลายมาตรฐาน คำนวณ %DD จากสมการ [1] (ตามวิธีของ Ueno & Kina, 1985 และ Sukwattanasinitt, 2001 อ้างถึงใน Wisespongpand et al., 2013)

$$\% \text{ DD} = 100 - \left[\frac{100 \times (50C - 161ND)}{(42ND + 50C)}\right] \quad [1]$$

เมื่อ N = ความเข้มข้นของ PVSK (N), D = ผลต่างของปริมาตรที่ได้จากการไทเทรตไคโตซานและ blank, C = ความเข้มข้นของไคโตซาน (%)

3.2 ค่าสีและคำนวณค่าดัชนีความขาว (Whiteness Index: WI) โดยวัดค่าสีด้วยเครื่องวัดค่าสี (Colorflex EZ 45-0(LAV), HunterLab, US) และคำนวณค่า WI จากสมการ [2]

$$WI = 100 - \sqrt{(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}} \quad [2]$$

3.3 ศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของสารสกัดไคโตซาน

วิเคราะห์ความสามารถในการอุ้มน้ำ (Water holding capacity) และดัชนีการละลายน้ำ (Water solubility index) ตามวิธีของ Luft et al. (2021) วิเคราะห์ความสามารถในการอุ้มไขมัน (Fat binding capacity) และการพองตัว (Swelling capacity) ตามวิธีของ Zhou et al. (2006)

4. ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารเชื่อมโยงข้ามในการดัดแปลงไคโตซาน โดยเตรียมสารละลายไคโตซานเข้มข้น 0.5% w/v ที่ละลายในสารละลายกรดอะซิติกเข้มข้น 0.75% v/v ให้เป็นเนื้อเดียวกัน (Magnetic stirrer C-Mag HS7 Package, IKA, Germany) ที่ 25°C นาน 24 ชั่วโมง ปรับค่าพีเอชเป็น 4.8 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.1 โมลาร์ หรือกรดคลอริกเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ค่อย ๆ เติมเพนตะโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟต หรือซิเตรต หรือซัลเฟตเข้มข้น 1, 2 และ 3% w/v ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน (1,500 rpm นาน 15 นาที) ได้เป็นสารละลายไคโตซานดัดแปลง (ดัดแปลงวิธีของ Wisespongpand et al. 2013)

5. ศึกษาประสิทธิภาพของไคโตซานดัดแปลงในการรักษาคุณภาพกุ้งแช่เยือกแข็ง

โดยเตรียมสารละลายไคโตซาน และไคโตซานดัดแปลงที่ใช้สารเชื่อมโยงข้าม 3 ชนิด 1, 2 และ 3% w/v ละลายในน้ำ ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน เตรียมกุ้งแชบ๊วยขนาด 22-25 ตัว/กิโลกรัม ล้างให้สะอาด ปอกเปลือก แช่กุ้งในสารละลายนาน 15 นาที เรียงกุ้งใส่ถาด PP ขนาด 16 × 26 x 3.3 ซม. คลุมถาดด้วยถุงพลาสติก (HDPE) ซีลปากถุง และนำไปเก็บที่ตู้แช่เยือกแข็ง -18°C (SHARP SJ-CX300T-W, SHARP, Japan) นาน 6 เดือน ดังภาพที่ 1 (Figure 1) ระยะเวลาดังกล่าวเป็นระยะเวลาที่ผลิตภัณฑ์กุ้งแช่เยือกแข็งเริ่มเกิดการเปลี่ยนแปลงคุณภาพ (Gonçalves & Junior, 2009) เมื่อครบเวลานำตัวอย่างมาตรวจสอบคุณภาพดังนี้

Figure 1 The appearance of frozen shrimp storage at -18°C for 6 months

1) ร้อยละการผลิตของอาหารแช่เยือกแข็ง (% Freezing yield) ตามวิธีของ Pinyosak et al. (2019) ดังสมการ [3]

$$\text{Freezing yield (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างหลังแช่แข็ง} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนแช่แข็ง}} \quad [3]$$

2) ร้อยละการสูญเสียน้ำเนื่องจากการละลาย (% Thawing loss) ตามวิธีของ Zhang et al. (2020) ดังสมการ [4]

$$\text{Thawing loss (\%)} = \frac{(\text{น้ำหนักตัวอย่างแช่แข็ง} - \text{น้ำหนักตัวอย่างแช่แข็งหลังละลาย}) \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างแช่แข็ง}} \quad [4]$$

3) ร้อยละการสูญเสียน้ำ (% Drip loss) ตามวิธีของ Gonçalves & Junior (2009) ดังสมการ [5]

$$\text{Drip loss (\%)} = \frac{(\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนละลายน้ำแข็ง} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังละลายน้ำแข็ง}) \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างหลังละลายน้ำแข็ง}} \quad [5]$$

4) ค่าพีเอช ซึ่งเตรียมตัวอย่างตามวิธีของ Zhang et al. (2019) และวัดค่าพีเอชด้วย pH meter 5) ปริมาณกรดไทโอบาร์บิทูริก (TBA) ตามวิธีของ Zhang et al. (2019) 6) ปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (total volatile base nitrogen; TVB-N) ด้วยวิธี Modify Conway Microdiffusion ตามวิธีของ Siang & Kim (1992) 7) ค่าไตรเมธิลามีนออกไซด์ (TMA) ดัดแปลงจากวิธีของ Hasegawa (1987)

6. วิเคราะห์ผลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบ 3x3 แฟคทอเรียล โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ ทำการวิเคราะห์ความแปรปรวน (One-way ANOVA) และวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างตัวอย่างด้วยวิธี Duncan's new multiple's range test (DMRT)

ผลการวิจัย

1. องค์ประกอบทางเคมีของกระดองปูดำและไคโตซาน

ค่าองค์ประกอบทางเคมีของกระดองปูดำและไคโตซานที่สกัดได้จากกระดองปูดำ รวมถึงค่าการกำจัดหมู่อะซิติล ค่าดัชนีความขาว ความสามารถในการอุ้มน้ำ ดัชนีการละลายน้ำ ความสามารถในการอุ้มไขมัน และการพองตัวของไคโตซานที่สกัดได้จากกระดองปูดำแสดงดังตารางที่ 1 (Table 1)

Table 1 Proximate analysis of black crab shells and black crab shells' chitosan.

Component	black crab shells	black crab shells' chitosan
Moisture (%)	2.53±0.37	6.43±0.57
Protein (%)	32.64±0.86	6.89±0.94
Fat (%)	1.07±2.19	1.27±7.69
Ash (%)	31.11±0.31	0.58±0.71
Degree of deacetylation (%)	-	72.11±4.13
Whiteness index	-	70.13±0.98
Water holding capacity (%)	-	1.07±0.28
Water solubility index (%)	-	3.15±0.75
Fat binding capacity (g/g sample)	-	9.87±0.65
Swelling capacity (mL/g)	-	1.80±0.98

2. ชนิดและความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารเชื่อมโยงข้ามที่ใช้ดัดแปลงไคโตซานในการเป็นสารแช่กุ้งต่อคุณภาพของกุ้งแช่เยือกแข็ง

ค่าร้อยละการผลิตของอาหารแช่เยือกแข็ง ร้อยละการสูญเสียเนื่องจากการละลาย การสูญเสียน้ำ ค่าพีเอช และปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันของกุ้งแช่เยือกแข็งที่ใช้ไคโตซานดัดแปลงต่างชนิดเป็นสารแช่กุ้งก่อนการแช่เยือกแข็งที่เก็บ -18°C นาน 6 เดือน แสดงดังตารางที่ 2 และ 3 (Table 2 and 3) ตามลำดับ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า ค่าร้อยละการผลิตของอาหารแช่เยือกแข็งของกุ้งแช่เยือกแข็งทุกตัวอย่างไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$)

ร้อยละการสูญเสียน้ำเนื่องจากการละลายของกุ้งแช่เยือกแข็งพบว่า ตัวอย่างที่แช่ด้วยไคโตซานดัดแปลงด้วยเพนตะโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟต (ไคโตซาน-TPP) 3% มีค่าร้อยละการสูญเสียน้ำเนื่องจากการละลายมากที่สุด ($p\leq0.05$) ซึ่งการใช้ไคโตซาน-ซัลเฟตเข้มข้น 3% มีค่าร้อยละการสูญเสียน้ำเนื่องจากการละลายอยู่ในระดับเดียวกัน ($p>0.05$) ขณะที่การใช้ไคโตซาน -TPP เข้มข้น 3% เป็นสารแช่กุ้งส่งผลให้กุ้งแช่เยือกแข็งมีการสูญเสียน้ำมีค่าน้อยที่สุด ($p\leq0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับไคโตซาน-TPP ที่ความเข้มข้นต่ำกว่า โดยที่การใช้ไคโตซาน-ซิเตรทเข้มข้น 2 และ 3% รวมถึงการใช้ไคโตซาน-ซัลเฟต 3% ส่งผลให้การสูญเสียน้ำมีค่าอยู่ในระดับเดียวกัน ($p>0.05$) ดังตารางที่ 2 (Table 2)

Table 2 Yield, thaw yield, and drip loss of frozen shrimp treated with modified chitosan after 6 months of storage.

Modified Chitosan	Conc. (%)	Freezing Yield (%)	Thaw loss (%)	Drip loss (%)
Chitosan-citrate	0 (control)	100.00±0.00^{ns}	97.20±0.05^{d}	2.91±0.20^{ab}
	1	101.10±0.10^{ns}	98.29±0.10^{c}	1.67±1.22^{cde}
	2	101.20±0.50^{ns}	98.51±0.04^{bc}	1.38±0.70^{cdef}
	3	101.10±0.60^{ns}	98.64±0.03^{b}	1.22±0.89^{def}
Chitosan-sulfate	0 (control)	100.00±0.00^{ns}	96.90±0.08^{e}	3.62±0.10^{a}
	1	101.50±0.60^{ns}	97.29±0.09^{d}	3.35±0.32^{a}
	2	101.40±0.50^{ns}	98.51±0.087^{bc}	2.23±0.39^{bc}
	3	101.20±0.70^{ns}	99.34±0.06^{a}	0.77±0.16^{ef}
Chitosan-TPP	0 (control)	100.00±0.00^{ns}	97.10±0.50^{de}	3.30±0.00^{a}
	1	101.80±0.70^{ns}	98.39±0.10^{bc}	2.17±0.32^{bcd}
	2	101.90±0.80^{ns}	98.61±0.04^{b}	1.84±0.27^{cd}
	3	101.40±0.50^{ns}	99.36±0.03^{a}	0.55±0.18^{f}

Remark TPP = Penta sodium tripolyphosphate; The mean ± standard deviation with the same letters in the same column showed no statistical difference ($p>0.05$). The mean ± standard deviation with the different letters in the same column showed statistical difference ($p\leq0.05$).

จากตารางที่ 2 (Table 2) ร้อยละการสูญเสียน้ำเนื่องจากการละลายของกุ้งแช่เยือกแข็งพบว่าตัวอย่างที่แช่ด้วยไคโตซานดัดแปลงด้วยเพนตะโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟต (ไคโตซาน-TPP) 3% มีค่าร้อยละการสูญเสียน้ำเนื่องจากการละลายมากที่สุด ($p\leq0.05$) ซึ่งการใช้ไคโตซาน-ซัลเฟตเข้มข้น 3% มีค่าร้อยละการสูญเสียน้ำเนื่องจากการละลายอยู่ในระดับเดียวกัน ($p>0.05$) ขณะที่การใช้ไคโตซาน-TPP เข้มข้น 3% เป็นสารแช่กุ้ง ส่งผลให้กุ้งแช่เยือกแข็งมีการสูญเสียน้ำมีค่าน้อยที่สุด ($p\leq0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับไคโตซาน-TPP ที่ความเข้มข้นต่ำกว่า โดยที่การใช้ไคโตซาน-ซิเตรทเข้มข้น 2 และ 3% รวมถึงการใช้ไคโตซาน-ซัลเฟต 3% ส่งผลให้การสูญเสียน้ำมีค่าอยู่ในระดับเดียวกัน ($p>0.05$)

Table 3 pH, Trimethylamine (TMA), Total Volatile Bases (TVB), and Thiobarbituric Acid (TBA) values of frozen shrimp treated with modified chitosan after 6 months of storage.

Modified Chitosan	Conc. (%)	pH	TMA (mg Nitrogen /100g sample)	TVB-N (mg Nitrogen /100g sample)	TBA (mg malonaldehyde /kg sample)
Chitosan-citrate	0 (control)	6.7±0.10^{a}	12.11±0.80^{a}	13.15±0.90^{a}	0.89±0.70^{a}
	1	6.6±0.10^{ab}	11.92±0.10^{b}	12.01±0.10^{b}	0.87±0.65^{ab}
	2	6.5±0.10^{b}	11.75±0.80^{c}	12.04±0.30^{b}	0.84±0.90^{b}
	3	6.6±0.10^{ab}	11.50±0.60^{d}	11.49±0.80^{bc}	0.81±0.56^{c}
Chitosan-sulfate	0 (control)	6.8±0.10^{a}	12.11±0.80^{a}	13.15±0.90^{a}	0.89±0.70^{a}
	1	6.7±0.10^{ab}	12.05±0.90^{b}	12.04±0.60^{b}	0.88±0.40^{a}
	2	6.6±0.10^{b}	11.90±0.70^{c}	11.70±0.80^{b}	0.81±0.80^{bc}
	3	6.7±0.10^{ab}	11.60±0.50^{d}	11.50±0.60^{bc}	0.80±0.90^{bc}
Chitosan-TPP	0 (control)	6.9±0.10^{a}	12.11±0.80^{a}	13.15±0.90^{a}	0.89±0.70^{a}
	1	6.8±0.10^{ab}	12.01±0.90^{b}	11.98±0.50^{b}	0.83±0.80^{b}
	2	6.7±0.10^{b}	11.78±0.70^{c}	11.65±0.40^{bc}	0.78±0.80^{c}
	3	6.6±0.10^{bc}	11.21±0.80^{d}	11.16±0.70^{d}	0.75±0.60^{d}

Remark TPP = Penta sodium tripolyphosphate; The mean ± standard deviation with the different letters in the same column showed statistical difference ($p \leq 0.05$).

จากตารางที่ 3 (Table 3) ค่าพีเอชของกุ้งแช่เยือกแข็งมีค่าระหว่าง 6.5±0.10 ถึง 6.9±0.10 ความเข้มข้นของสารเชื่อมโยงข้ามไคโตซานที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ค่าพีเอชมีแนวโน้มลดลง เมื่อพิจารณาค่าไตรเมธิลามีนออกไซด์ (TMA) ตัวอย่างที่แช่ไคโตซาน-TPP เข้มข้น 3% มีค่า TMA น้อยที่สุด ($p \leq 0.05$) และตัวอย่างที่แช่ด้วยไคโตซาน-ซัลเฟต และไคโตซาน-ซิเตรท เข้มข้น 3% มีค่า TMA ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ขณะที่ปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB-N) มีค่าระหว่าง 13.15±0.90 mg Nitrogen/100g sample โดยตัวอย่างที่แช่ด้วยไคโตซาน-TPP เข้มข้น 3% มีค่า TVB-N น้อยที่สุด ($p \leq 0.05$) และปริมาณกรดไทโอบาร์บิทูริก (TBA) มีค่าระหว่าง 0.75±0.60 ถึง 0.89±0.70 mg malonaldehyde/ kg sample ซึ่งตัวอย่างที่แช่ด้วยไคโตซาน-TPP เข้มข้น 3% มีค่า TBA น้อยที่สุด ($p \leq 0.05$)

อภิปรายผล

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของปูดำดังตารางที่ 1 (Table 1) มีงานวิจัยศึกษาการสกัดไคโตซานจากปูสีฟ้า (*Portunus segnis*) ที่รายงานความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้าของกระดองปูสีฟ้ามีค่าเท่ากับ 13.5±0.02, 10.63±0.01, 5.45±0.58 และ 26.83±0.02% ตามลำดับ ขณะที่ไคโตซานที่สกัดจากกระดองปูสีฟ้ามีค่าเท่ากับ 2.00±0.03, 0.20±0.03, 0.030±0.01 และ 0.57±0.02% ตามลำดับ

(Zaghbib et al., 2022) เนื่องจากปริมาณเถ้าเป็นตัวบ่งชี้คุณภาพไคโตซานที่สำคัญไคโตซานที่มีคุณภาพสูงจะมีปริมาณเถ้าต่ำ ซึ่งกระบวนการผลิตและคุณภาพของวัตถุดิบตั้งต้นเป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อปริมาณเถ้าที่เกิดขึ้น (Takarina et al., 2017) ไคโตซานที่มีปริมาณเถ้าเป็นองค์ประกอบในปริมาณมากส่งผลต่อสมบัติทางเคมีกายภาพของไคโตซาน เช่น ความสามารถในการละลาย จึงส่งผลให้ความสามารถในการดูดซึมทางชีวภาพของไคโตซานต่ำ (Ssekatawa et al. 2021) จากปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของไคโตซานและไคโตซานจากกระดองปูสีฟ้าแสดงให้เห็นว่า ปริมาณเถ้าของไคโตซานของกระดองปูดำและกระดองปูสีฟ้ามีค่าใกล้เคียงกัน จากการวิเคราะห์สมบัติเชิงหน้าที่ของไคโตซานที่สกัดได้จากกระดองปูดำ ดังตารางที่ 1 (Table 1) พบว่าค่าการกำจัดหมู่อะซิติล (% DD) มีค่าเท่ากับ 72.11±4.13% ซึ่ง %DD เป็นค่าที่แสดงถึงโครงสร้างโมเลกุลของไคโตซานมีความสม่ำเสมอและเป็นผลึกสูง ไคโตซานที่มีกลุ่มกรดอะมิโนเป็นส่วนประกอบในปริมาณสูงจะทำให้พันธะไฮโดรเจนภายในโมเลกุลและระหว่างโมเลกุลรวมตัวกันได้ดี (Feng et al., 2012) และหากไคโตซานมี % DD ต่ำ หรือมีปริมาณโปรตีนสูง จะส่งผลให้ไคโตซานมีค่าดัชนีการละลายน้ำ (Ssekatawa et al. 2021) เมื่อพิจารณาค่าดัชนีความขาวของไคโตซานที่สกัดได้จากกระดองปูดำมีค่าเท่ากับ 70.13±0.98% การวัดค่าดัชนีความขาวเป็นผลเนื่องมาจากหลังขั้นตอนการกำจัดหมู่อะซิตัล ไคโตซานจะมีขนาดเล็กลงและสีซีดลง (Potivas & Laokuldilok, 2014) ทำให้ไคโตซานมีความสว่างมากขึ้นจึงนำค่าสีที่วัดได้ค่ามาคำนวณค่าดัชนีความขาว ส่งผลให้ดัชนีความขาวของไคโตซานมีค่าเพิ่มขึ้น และงานวิจัยที่สกัดไคโตซานจากกระดองปู ใบ้ม่วงมีค่าการกำจัดหมู่อะซิติลเท่ากับ 72.16±1.40 และมีค่าดัชนีความขาวเท่ากับ 77.76±1.74 (Wisespongpand et al., 2013) ดังนั้นวัตถุดิบและสภาวะการสกัดที่แตกต่างกันจึงเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลให้องค์ประกอบทางเคมี ค่าการกำจัดหมู่อะซิติล และค่าดัชนีความขาวของไคโตซานมีค่าแตกต่างกัน (Wisespongpand et al., 2013)

เนื่องจากการแช่เยือกแข็งเป็นวิธีการถนอมอาหารที่สำคัญของผลิตภัณฑ์อาหารทะเล แม้ว่าการแช่เยือกแข็งจะช่วยยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหารทะเลให้ยาวนานขึ้น แต่ในระหว่างกระบวนการแช่เยือกแข็งยังคงเกิดการเสื่อมสภาพของคุณภาพผลิตภัณฑ์ (Sriket et al., 2007) ทั้งคุณภาพทางภาพ เคมี จุลินทรีย์ และประสาทสัมผัส จากตารางที่ 2 (Table 2) พบว่าร้อยละการผลิตของอาหารแช่เยือกแข็ง (% Freezing yield) ร้อยละการสูญเสียน้ำเนื่องจากการละลาย (% Thawing loss) และร้อยละการสูญเสียน้ำ (% Drip loss) ของกุ้งแช่เยือกแข็ง เก็บที่ -18°C เป็นเวลา 6 เดือนมีค่าค่อนข้างใกล้เคียงกัน โดยค่า % Freezing yield มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าระหว่าง 100.00±0.00 ถึง 101.90±0.80% ผลิตภัณฑ์อาหารแช่เยือกแข็งทั่วไปจะมีค่า % Freezing yield มากกว่า 100% เป็นผลเนื่องมาจากขั้นตอนการเคลือบน้ำแข็ง (Ice glazing) ป้องกันไม่ให้กุ้งเกิดการสูญเสียน้ำในระหว่างการแช่เยือกแข็ง นอกจากนี้ ไคโตซานอาจช่วยชะลอการสูญเสียความชื้นจากผลิตภัณฑ์จนกว่าความชื้นที่มีอยู่ในสารเคลือบไคโตซานจะระเหยออกไป (Kester & Fennema, 1986 as cited in Sathivel, 2005) อย่างไรก็ตาม กุ้งแช่เยือกแข็งจะมีความสามารถในการอุ้มน้ำลดลง เพราะโปรตีนบางส่วน

เกิดการเสื่อมสภาพในระหว่างการแช่เยือกแข็ง (Mackie, 1993 as cited in Sathivel, 2005) เมื่อพิจารณาค่า % Thawing loss และ % Drip loss พบว่ากุ้งแช่เยือกแข็งที่ใช้ไคโตซาน-TPP ที่ความเข้มข้น 3% มีค่า % Thawing loss มากที่สุด (99.36±0.03) และมีค่า % Drip loss น้อยที่สุด (0.55±0.18) การคำนวณค่า Freezing yield ค่า Thawing loss และค่า Drip loss มีความจำเป็นอย่างมากต่อกระบวนการผลิตอาหารแช่เยือกแข็ง เนื่องจากค่าเหล่านี้เป็นค่าที่ส่งผลกระทบทางเศรษฐกิจ เพราะมีความสัมพันธ์กับต้นทุนการผลิต โดยเฉพาะอย่างยิ่งค่า Freezing yield เป็นดัชนีชี้วัดประสิทธิภาพของกระบวนการแช่แข็งและคุณภาพของผลิตภัณฑ์สุดท้าย (Lopkulkiaert et al., 2009) จากข้อมูล % Freezing yield, % Thawing loss และ % Drip loss จากตารางที่ 2 (Table 2) แสดงให้เห็นว่าไคโตซานที่สกัดได้จากกระดองปูดำร่วมกับสารเชื่อมโยงข้ามต่างกัน ได้แก่ ไคโตซาน-TPP, ไคโตซาน-ซัลเฟต และไคโตซาน-ซิเตรท ตามลำดับ ที่ความเข้มข้น 3% สามารถลดค่าการสูญเสียน้ำของกุ้งแช่เยือกแข็งได้ดี โดยสามารถเรียงลำดับประสิทธิภาพของไคโตซานดัดแปลงที่ใช้สารเชื่อมโยงข้าม ต่างชนิดในการเป็นสารแช่กุ้งก่อนการแช่เยือกแข็งเพื่อรักษาคุณภาพของกุ้งแช่เยือกแข็งได้ดังนี้ ไคโตซาน-TPP, ไคโตซาน-ซัลเฟต และไคโตซาน-ซิเตรท ตามลำดับ

จากการพิจารณาค่าพีเอช ค่าไตรเมธิลามีนออกไซด์ (TMA) ปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB-N) และปริมาณกรดไทโอบาร์บิทูริก (TBA) ในตารางที่ 3 (Table 3) ซึ่งเป็นค่าคุณภาพทางเคมีที่นำมาใช้เป็นตัวชี้วัดคุณภาพหลักของอาหารทะเล (Martin et al., 2023) พบว่า การเพิ่มความเข้มข้นของไคโตซานดัดแปลงจะส่งผลให้กุ้งแช่เยือกแข็งมีค่าพีเอช ค่า TMA ค่า TVB-N และค่า TBA มีแนวโน้มลดลงในช่วงแรกของกระบวนการเก็บรักษากุ้งแช่เยือกแข็ง ค่าพีเอชของเกิดการเปลี่ยนแปลง โดยการลดลงของค่าพีเอชของกุ้งแช่เยือกแข็งมีสาเหตุมาจากการเกิดปฏิกิริยาไกลโคไลซิสในเนื้อกุ้ง ที่เกิดสลายอะดีโนซีน-ไตรฟอสเฟต (ATP) และผลิตภัณฑ์อื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง ได้เป็นกรดแล็กติก (Qiu et al., 2014) ต่อมาค่าพีเอชจะมีค่าเพิ่มขึ้น เพราะอาจเกิดจากสารประกอบต่าง ๆ ที่มีฤทธิ์เป็นเบส แอมโมเนีย ไตรเมทิลลามีน อินโดล และฮิสตามีน ที่เกิดขึ้นจากการสลายตัวของโปรตีน กรดอะมิโน และสารอาหารอื่น ๆ รวมทั้งเอนไซม์ต่าง ๆ และแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย (Hui et al., 2016) ทั้งนี้ ค่าพีเอชของกุ้งที่เหมาะสมควรมีค่าต่ำกว่า 7.7 (Mehmet et al., 2009 as cited in Zhang et al., 2019[2]) ตัวอย่างควบคุม ในงานวิจัยนี้มีค่าพีเอชระหว่าง 6.7±0.10 ถึง 6.9±0.10 ซึ่งต่ำกว่า 7.7 ทั้งไคโตซานดัดแปลงยังส่งผลให้กุ้งแช่เยือกแข็งมีค่าพีเอชลดลงเมื่อเก็บรักษานาน 6 เดือน แสดงให้เห็นว่าไคโตซานดัดแปลงทั้งสามชนิดที่ความเข้มข้น 2 และ 3% สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์และกิจกรรมของเอนไซม์ที่อาจเกิดในระหว่างการเก็บรักษาได้ การเพิ่มความเข้มข้นไคโตซานจึงยิ่งเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์และกิจกรรมของเอนไซม์ให้ดีมากยิ่งขึ้น นอกจากนี้ การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชที่เกิดขึ้นระหว่างการแช่แข็งจะส่งผลต่อความสามารถในการกักเก็บน้ำ ความสามารถในการจับตัวของน้ำ การสูญเสียจากการปรุงอาหาร และการละลายน้ำแข็ง รวมถึงสมบัติเชิงหน้าที่ของเนื้อสัตว์ด้วย (Alonso et al., 2016)

ผลการวิเคราะห์ค่า TMA และ TVB-N จากตารางที่ 3 (Table 3) ซึ่งค่าเหล่านี้เป็นค่าที่นำมาใช้วัดสารประกอบที่ระเหยได้ในผลิตภัณฑ์อาหารทะเล โดยในระหว่างการรักษาผลิตภัณฑ์จะมีสารประกอบที่ระเหยได้ออกมาเนื่องจากจุลินทรีย์ย่อยสลาย (Martin et al., 2023) ค่า TMA เป็นค่าที่แสดงปริมาณสารระเหยที่มีกลิ่นเหม็น ขณะที่ TVB-N เป็นค่าที่นำมาใช้พิจารณาการเสื่อมสภาพของผลิตภัณฑ์อาหารทะเลที่เกิดขึ้นในระหว่างการเก็บรักษา โดยวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนพื้นฐานที่ระเหยได้ เกิดจากโปรตีนในผลิตภัณฑ์ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ดีคาร์บอกซิเลสที่จุลินทรีย์สร้างขึ้น โดยดึงหมู่คาร์บอกซิลออกจากกรดอะมิโน (Martin et al., 2023) จากผลการทดลองพบว่ากุ้งแช่เยือกแข็งที่แช่ไคโตซาน-TPP ที่ความเข้มข้น 3% มีปริมาณ TMA มากที่สุด โดยที่ค่า TMA ของกุ้งแช่เยือกแข็งด้วยไคโตซาน-ซัลเฟต และไคโตซาน-ซิเตรท มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) ขณะที่ค่า TVB-N ที่วิเคราะห์ได้จากกุ้งแช่เยือกแข็งที่แช่ไคโตซาน-TPP ที่ความเข้มข้น 3% มีค่ามากที่สุด ($p\leq0.05$) แสดงให้เห็นว่ากุ้งแช่เยือกแข็งที่แช่ด้วยไคโตซาน-TPP มีแนวโน้มที่จะเสื่อมสภาพน้อยกว่าตัวอย่างอื่น ๆ ซึ่งอาจเป็นผลมาจากเพนตะโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟตและไคโตซานมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (Lee et al., 2019; Zhang et al., 2019[2]) ทั้งนี้ มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมกุ้งเยือกแข็ง (มอก.115-2529) กำหนดค่า TVB-N ไม่เกิน 30 มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัมตัวอย่าง ซึ่งตัวอย่างจากงานวิจัยนี้มีค่า TVB-N อยู่ในระดับที่มาตรฐานกำหนด เมื่อพิจารณาปริมาณ TBA จากตารางที่ 3 (Table 3) ซึ่งเป็นค่าที่นำมาใช้ประเมินระดับของการเกิดออกซิเดชันของลิพิดในผลิตภัณฑ์ (Zhang et al., 2019[2]) จากผลการทดลองพบว่ากุ้งแช่เยือกแข็งที่แช่ในสารละลายไคโตซาน-TPP มีค่า TBA น้อยที่สุด แสดงให้เห็นว่าไคโตซาน-TPP ทำหน้าที่เป็นตัวการขวางกั้น (barrier) ที่มีประสิทธิภาพสูงในการป้องกันการแพร่ของออกซิเจนไปยังผิวของกุ้ง (Zhang et al., 2019[2]) ส่งผลให้กุ้งแช่เยือกแข็งเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของลิพิดช้ากว่าตัวอย่างอื่น ๆ

ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า กระดองปูดำมีความเป็นไปได้ในการนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตไคโตซาน และจากการศึกษาชนิดและความเข้มข้นที่เหมาะสมของไคโตซานดัดแปลงพบว่าไคโตซาน-TPP (ไคโตซานที่ดัดแปลงกับเพนตะโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟต) เป็นสารแช่กุ้งที่มีประสิทธิภาพดีกว่าไคโตซาน-ซัลเฟต และไคโตซาน-ซิเตรท ซึ่งไคโตซาน-TPP ที่ความเข้มข้น 3% เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมในการนำมาใช้เป็นสารแช่กุ้งแชบ๊วยก่อนการแช่เยือกแข็ง

สรุปผลการวิจัย

การใช้ไคโตซานจากเปลือกปูดำซึ่งเป็นเศษเหลือจากการผลิตปูนิ่มมาดัดแปลงโดยใช้เพนตะ-โซเดียมไตรพอลิฟอสเฟตที่ความเข้มข้น 3% เป็นสารละลายแช่กุ้งแชบ๊วยปอกเปลือกก่อนแช่เยือกแข็ง และเก็บรักษากุ้งแช่เยือกแข็งที่ -18°C นาน 6 เดือน สามารถลดการสูญเสียน้ำ ควบคุมค่าพีเอช และลดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันในระหว่างกระบวนการเก็บรักษาได้ดีกว่าการใช้ไคโตซานดัดแปลงด้วยซัลเฟต และไคโตซานดัดแปลงด้วยซิเตรท งานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าการประยุกต์ใช้ไคโตซานจากกระดองปูที่ดัดแปลงด้วย TPP มีความเป็นไปได้ในการนำมาพัฒนาต่อยอดเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิจัย งบประมาณกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม ประจำปี 2562

เอกสารอ้างอิง

Abdel-Naeem HHS, Sallam KI, Malak NML. Improvement of the microbial quality, antioxidant activity, phenolic and flavonoid contents, and shelf life of smoked herring (*Clupea harengus*) during frozen storage by using chitosan edible coating. Food Control 2021;130:108317.

Afrin F, Rasul MdG, Khan M, Akter T, Yuan C, Shah AKMA. Optimization of Chitosan Concentration on the Quality and Shelf Life of Frozen Rohu (*Labeo rohita*) Fillets. Squalen Bulletin of Marine and Fisheries Postharvest and Biotechnology 2021;16(1):1-9.

Aklog YF, Egusa M, Kaminaka H, Izawa H, Morimoto M, Saimoto H, Ifuku S. Protein/$CaCO_3$/Chitin Nanofiber Complex Prepared from Crab Shells by Simple Mechanical Treatment and Its Effect on Plant Growth. International Journal of Molecular Sciences 2016;17:1600.

Alonso V, Muela E, Tenas J, Calanche JB, Roncalés P, Beltrán JA. Changes in physicochemical properties and fatty acid composition of pork following long-term frozen storage. European Food Research and Technology 2016;242:2119-2127.

AOAC Official method of analysis (17th ed.). Washington, DC: Association of the Official Analytical Chemists; 2000.

Berger J, Reist M, Mayer JM, Felt O, Peppas NA, Gurny R. Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 2004;57:19-34.

Chang L, Li Y, Bai X, Xia X, Xu W. Inhibition of Chitosan Ice Coating on the Quality Deterioration of Quick-Frozen Fish Balls during Repeated Freeze–Thaw Cycles. Foods 2023;12:717.

Chouljenko A, Chotiko A, Bonilla F, Moncada M, Reyes V, Sathivel S. Effects of vacuum tumbling with chitosan nanoparticles on the quality characteristics of cryogenically frozen shrimp. LWT - Food Science and Technology 2017;75:114-123.

Chouljenko A, Chotiko A, Reyes V, Alfaro L, Liu C, Dzandu B, Sathivel S. Application of water-soluble chitosan to shrimp for quality retention. LWT - Food Science and Technology 2016;74:571-579.

Elzatahry AA, Eldin MSM, Soliman EA, Hassan EA. Evaluation of alginate–chitosan bioadhesive beads as a drug delivery system for the controlled release of theophylline. Journal of Applied Polymer Science 2009;111:2452-2459.

Feng F, Liu Y, Zhao B, Hu K. Characterization of half N-acetylation chitosan powders and films. Procedia Engineering 2012;27:718-732.

Gierszewska M, Ostrowska-Czubenko J. Chitosan-based membranes with different ionic crosslinking density for pharmaceutical and industrial applications. Carbohydrate Polymers 2016;153:501-511.

Gonçalves AA, Junior CSGG.[1] The effect of glaze uptake on storage quality of frozen shrimp. Journal of Food Engineering 2009;90(2):285-290.

Gonçalves AA, Ribeiro JLD.[2] Effects of phosphate treatment on quality of red shrimp (*Pleoticus muelleri*) processed with cryomechanical freezing. LWT - Food Science and Technology 2009;42:1435-1438.

Hui GH, Liu W, Feng HL, Li JN, Gao YY. Effects of chitosan combined with nisin treatment on storage quality of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*). Food Chemistry 2016;203:276–282.

Kaenchueachai N, Komanpririn K, Kateklam W, Khamphong S, Homchot K. Comparison of Growth and Survival Rate on the Selected and Wild Stocks of Banana Shrimp (*Fenneropenaeus merquiensis* De Man, 1888) with Different Stocking Density. Proceeding of the Annual Conference on Fisheries: Department of Fisheries, Ministry of Agriculture and Cooperatives. 2019.

Kanlapaphruek S, Kuekkong P, Kulapthong, Chitosan in aquaculture. Veridian E-Journal 2013;6(2):984-993.

Latupeirissa J, Tanasale MFJDP, Fransina EG, Noya A. Synthesis and Characterization of Chitosan-Citrate Microparticle Using Ionic Gelation Methods. Indonesian Journal of Chemical Research 2022;10(1):1-7.

Lee J, Moon J, Ryu J, Kang SW, Kwack KH, Lee J. Antibacterial effects of sodium tripolyphosphate against *Porphyromonas* species associated with periodontitis of companion animals. Journal of Veterinary Science 2019;20(4):e33.

Lopkulkiaert W, Prapatsornwattana K, Rungsardthong V. Effects of sodium bicarbonate containing traces of citric acid in combination with sodium chloride on yield and some properties of white shrimp (*Penaeus vannamei*) frozen by shelf freezing, air-blast and cryogenic freezing. LWT - Food Science and Technology 2009;42:768-776.

Luft L, Confortin TC, Todero I, Neto JRC, Tres MV, Zabot GL, Mazutti MA. Extraction and characterization of polysaccharide-enriched fractions from *Phoma dimorpha* mycelial biomass. Bioprocess and Biosystems Engineering 2021;44:769-783.

Martin D, Joly C, Dupas-Farrugia C, Adt I, Oulahal N, Degraeve P. Volatilome Analysis and Evolution in the Headspace of Packed Refrigerated Fish. Foods 2023;12(14):2657.

MGR online. Do you know “soft crab”, a soft shell that everyone likes to eat? 2015. Available at: https://mgronline.com/travel/detail/9580000081536. Accessed May 19, 2024.

Mia J, Sahai Y. Chitosan biopolymer for fuel cell applications. Carbohydrate Polymers 2013;92:955-975.

Musmade NA, Mahatma L. Extraction and Characterization of Chitosan by Simple Technique from Mud Crabs. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences 2021;10(06):513-518.

Pinyosak N, Asavasanti S, Tangduangdee C. Reducing of weight variation in soaking step of shrimp processing: effects of iced storage time and soaking equipment. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science 2019;301:012060.

Potivas T, Laokuldilok T. Deacetylation of Chitin and the Properties of Chitosan Films with Various Deacetylation Degrees. CMUJ NS Special Issue on Food and Applied Bioscience 2014;13(1):559-567.

Qiu XJ, Chen SJ, Liu GM, Yang QM. Quality enhancement in the Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicas*) fillets stored at 4°C by chitosan coating incorporated with citric acid or licorice extract. Food Chemistry 2014;162;156-160.

Sarbon NM, Sandanamsamy S, Kamaruzaman SFS, Ahmad F. Chitosan extracted from mud crab (*Scylla olivicea*) shells: physicochemical and antioxidant properties. Journal of Food Science and Technology 2015;52(7):4266-4275.

Sathivel S. Chitosan and Protein Coatings Affect Yield, Moisture Loss, and Lipid Oxidation of Pink Salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) Fillets During Frozen Storage. Journal of food Science 2005;70(8):455-459.

Severino P, da Silva CF, da Silva MA, Santana MHA, Souto EB. Chitosan Cross-Linked Pentasodium Tripolyphosphate Micro/ Nanoparticles Produced by Ionotropic Gelation. Sugar Tech 2016;18:49-54.

Siang NC, Kim LL. Quality Assessment and Identification. In: Miwa K, Ji LS. Editors. Laboratory Manual on Analytical Methods and Procedures for Fish and Fish Products. 2nd ed. Singapore: Japan International Cooperation Agency;1992.

Solval KM, Rodezno LAE, Moncada M, Bankston JD, Sathivel S. Evaluation of chitosan nanoparticles as a glazing material for cryogenically frozen shrimp. LWT - Food Science and Technology 2014;57(1): 172-180.

Sriket P, Benjakul S, Visessanguan W, Kijroongrojana K. Comparative studies on the effect of the freeze–thawing process on the physicochemical properties and microstructures of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) and white shrimp (*Penaeus vannamei*) muscle. Food Chemistry 2007;104(1):113-121.

Ssekatawa K, Byarugaba DK, Wampande EM, Moja TN, Nxumalo E, Maaza M, Sackey J, Ejobi F, Kirabir JB. Isolation and characterization of chitosan from Ugandan edible mushrooms, Nile perch scales and banana weevils for biomedical applications. Scientifc Reports 2021;11:4116.

Takarina ND, Indah AB, Nasrul AA, Nurmarina A, Saefumillah A, Fanani AA, Loka KDP. Optimisation of Deacetylation Process for Chitosan Production from Red Snapper (*Lutjanus* sp.) Scale Wastes. IOP Conf. Series: Journal of Physics: Conf. Series 2017;812:012110.

Wisespongpand P, Vareevanich D, Kanthawong A, Srichomngam W. The yields and characteristics of chitosan from wasted crabs shells collected from bottom gill net. Proceedings of 51st Kasetsart University Annual Conference: Veterinary Medicine, Fisheries. 2013.

Zaghbib I., Arafa S, Hassouna M. Biological, Functional and physico-chemical characterization of chitosan extracted from Blue Crab (*Portunus segnis*) Shell Waste by Chemical Method. American Academic Scientific Research Journal for Engineering, Technology, and Sciences 2022;85(1):100-115.

Zhang B, Yao H, Qi H, Ying X. Cryoprotective characteristics of different sugar alcohols on peeled Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) during frozen storage and their possible mechanisms of action. International Journal of Food Properties 2020;23(1):95–107.

Zhang Z, Xia G, Yang Q, Fan X, Lyu S.[2] Effects of chitosan-based coatings on storage quality of Chinese shrimp. Food Science & Nutrition 2019;00:1–10.

Zhou K, Xia W, Zhang C, Yu L. *In vitro* binding of bile acids and triglycerides by selected chitosan preparations and their physico-chemical properties. LWT-Food Science and Technology 2006;39(10):1087–1092.