การสกัดและคุณสมบัติของเพคตินใบรางจืด

Extraction and Physicochemical Characterization of *Thunbergia laurifolia* Lindl. leaf Pectin

เปรมจิต รองสวัสดิ์[1], สุวรรณา ผลใหม่[1], บัณฑิตา ภู่ทรัพย์มี โปณะทอง[2], ฐิติกร พรหมบรรจง[1]*

Premjit Rongsawat[1], Suwanna Pholmai[1], Banthita Poosabmee Ponatong[2], Thitikorn Prombanchong[1]*

[1]สาขาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

[1]Division of Science, Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Srivijaya

[2]สาขาเทคโนโลยีอุตสาหการ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

[2]Department of Industrial technology, Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Srivijaya

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเพคตินที่สกัดได้จากใบรางจืดแห้งด้วยสารละลายกรดชนิดต่าง ๆ ได้แก่ กรดอะซีติก กรดไฮโดรคลอริก กรดไนตริก และกรดซัลฟูริก ที่ปรับค่าความเป็นกรด-เบส เท่ากับ 3 เพคตินที่สกัดได้จากใบรางจืดด้วยสารละลายกรดชนิดต่าง ๆ มีร้อยละการสกัดอยู่ในช่วง 0.15±0.07 - 0.33±0.16 โดยมีปริมาณกรดกาแลคทูโรนิค ร้อยละเอสเทอริฟิเคชัน และเมทอกซิลสูงที่สุดในเพคตินที่สกัดด้วยสารละลายกรดซัลฟูริก โดยมีค่าเท่ากับ 52.86±1.72 มิลลิกรัมต่อกรัม ร้อยละ 32.64±1.20 และร้อยละ 5.40±0.07 ตามลำดับ ในขณะที่เพคตินทางการค้ามีค่าเท่ากับ 91.27±0.73 มิลลิกรัมต่อกรัม ร้อยละเพคติน 45.07±0.26 และร้อยละ 7.35±0.04 ตามลำดับ ซึ่งเพคตินที่สกัดได้จัดอยู่ในกลุ่มของเพคตินที่มีระดับการเกิดเอสเทอริฟิเคชันและเมทอกซิลต่ำ เมื่อวิเคราะห์ด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรด สเปกโทรสโกปี แสดงให้เห็นการมีหมู่ฟังก์ชัน –OH –CH –COOH $–COOCH_3$ และ $–COO^-$ สอดคล้องกับหมู่ฟังก์ชันของเพคตินทางการค้า จึงสามารถสรุปได้ว่าสารที่สกัดได้จากใบรางจืดแห้งด้วยกรดชนิดต่าง ๆ ที่มีค่าความเป็นกรด-เบส เท่ากับ 3 คือ เพคติน

คำสำคัญ: กรดกาแลคทูโรนิค เพคติน รางจืด

* *Corresponding author: Thitikorn.c@rmutsv.ac.th*

Received: 16 ก.ย. 67; Revised: 7 ม.ค. 68; Accepted: 17 ก.ค. 68

Abstract

The purpose of this research was to study pectin extracted from dried *Thunbergia laurifolia* Lindl leaves with difference acid type solution i.e. acetic acid, hydrochloric acid, nitric acid and sulfuric acid) adjusted pH 3. Pectin extracted from dried leaves had an extraction percentage in the range of 0.15±0.07 - 0.33±0.16%. The pectin extract employing sulfuric acid solution adjusted pH 3 had the highest amounts of galacturonic acid, esterification percentage, and methoxyl, measuring 52.86±1.72 mg/g, 32.64±1.20%, and 5.40±0.07, respectively, while commercial pectin had the value of 91.27±0.73 mg/g. 45.07±0.26 and 7.35±0.04%, respectively. These results indicated that our pectin belonged to the group of low levels of esterification and methoxyl pectin as well as the extracted pectin was analyzed by Fourier Transform Infrared spectroscopy, which revealed the present of –OH –CH –COOH $–COOCH_3$ and $–COO^-$ functional groups corresponding to the commercial pectin. Therefore, it was concluded that the substances extracted from dried *T. laurifolia* leaves using various acids at pH 3 was pectin.

Keywords: Galacturonic acid, Pectin, *Thunbergia laurifolia* Lindl.

1. บทนำ

เพคตินเป็นสารประกอบประเภทคาร์โบไฮเดรตที่พืชผลิตขึ้น สามารถพบได้ทั่วไปบริเวณผนังเซลล์พืช ชั้นมิดเดิลลาเมลลา (middle lamella) และเนื้อเยื่อพาเรนไคมา (parenchyma tissue) มีหน้าที่ยึดเหนี่ยวเซลล์พืชหลายเซลล์ให้ติดกัน โครงสร้างของเพคตินเป็นพอลิแซคคาไรด์ (polysaccharide) แบบเฮเทอโรโพลีแซคคาไรด์ (heteropolysaccharide) มีหน่วยย่อยเป็นน้ำตาลกาแลคทูโรนิก (D-galacturonic acid) เป็นหลัก เมทิลกาแล็กทูโรเนต และน้ำตาลอีกหลายชนิด เช่น แรมโนส (rhamnose), กาแลคโตส (galactose) และอะราบิโนส (arabinose) ซึ่งเชื่อมต่อกันด้วยพันธะแอลฟา 1,4 ไกลโคซิดิก (α-1,4 glycosidic bond) (Christiaens et al., 2016; Kratchanova et al., 2004) เพคตินเป็นคาร์โบไฮเดรตประเภทที่ร่างกายมนุษย์ไม่สามารถย่อยสลายได้ จึงมีประโยชน์ในด้านของการช่วยขับถ่าย เนื่องจากเป็นใยอาหาร (dietary fiber) ที่ช่วยอุ้มน้ำ และช่วยลดคอเลสเตอรอล ในอุตสาหกรรมอาหารเพคตินถูกใช้เป็นวัตถุเจือปนอาหาร (food additive) โดยการใส่เพคตินในอาหารมีวัตถุประสงค์หลายประการ เช่น 1) เพื่อทำให้เกิดเจล (gelling agent) โดยต้องมีปริมาณน้ำตาลและกรดที่เหมาะสม เจลที่เกิดจากการเติมเพกตินจะเป็นเจลที่มีความอ่อนนุ่ม จึงนิยมใช้ในผลิตภัณฑ์แยม และเยลลี่ 2) เพื่อทำให้เกิดความข้นหนืด (thickening agent) เนื่องจากสามารถพองตัวอุ้มน้ำ 3) เป็นสารป้องกันการตกตะกอน (stabilizer) นิยมใช้ในนม นมเปรี้ยว เนื่องจากความเป็นกรดของนมเปรี้ยวจะทำให้โปรตีนเคซีนที่อยู่ในนมตกตะกอน 4) เป็นสารอิมัลซิไฟเออร์ (emulsifier) ทำให้อิมัลชัน (emulsion) มีความคงตัว เนื่องจากสามารถช่วยลดแรงตึงผิวระหว่างเฟสของน้ำมันและน้ำ 5) เป็นพรีไบโอติก (prebiotic) เนื่องจากเป็นอาหารของแบคทีเรียกลุ่มโพรไบโอติก (probiotic) ซึ่งเป็นประโยชน์แก่ร่างกาย และ 6) เพคตินยังนิยมเติม

เป็นส่วนผสมของอาหารที่มีสารประกอบในอาหารทำหน้าที่พิเศษกว่าสารอาหารที่จำเป็นต่อร่างกายทั่วไป (functional food) อีกด้วย สำหรับด้านการแพทย์มีการนำเพคตินมาใช้ประโยชน์ในการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์รักษาแผล เนื่องจากมีคุณสมบัติช่วยในการสมานแผล นอกจากนี้ยังนำมาใช้ทางด้านเครื่องสำอางโดยเป็นสารเติมในเครื่องสำอางดูแลผิวพรรณ และเส้นผม สำหรับด้านเภสัชกรรม มีการนำเพคตินมาเป็นสารห่อหุ้มยา (encapsulation) หรือห่อหุ้มสารสำคัญอีกด้วย (Liu et al., 2007; Munarin et al., 2011; Mishra et al., 2008) โดยเพคตินที่มีคุณภาพจะต้องมีปริมาณกรดกาแลคทูโรนิคไม่ต่ำกว่าร้อยละ 65 (Willats et al., 2006) ในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยสนในสกัดเพคตินจากใบรางจืดซึ่งเป็นสมุนไพรที่หาได้ง่ายในพื้นที่ของประเทศไทยในภาคต่าง ๆ รวมถึงภาคใต้ และจากการสืบค้นงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่ายังไม่มีรายงานการสกัดเพคตินจากใบรางจืดมาก่อน โดยการศึกษาครั้งนี้ได้ดำเนินการใช้กรดชนิดต่าง ๆ ที่เตรียมเป็นสารละลายที่มีค่าความเป็นกรด-เบส เท่ากับ 3 เพื่อศึกษาชนิดของกรดที่เหมาะสมในการใช้สกัดเพคตินจากใบรางจืด และศึกษาคุณสมบัติของเพคตินที่สกัดได้จากกรดชนิดต่าง ๆ ซึ่งจะทำให้สามารถประเมินศักยภาพของพืชชนิดนี้ในการนำมาใช้งานด้านการผลิตเพคตินต่อไป

2. วัตถุประสงค์การวิจัย

2.1 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการสกัดเพคตินจากใบรางจืดโดยการใช้สารละลายกรดอะซีติก ไฮโดรคลอริก กรดไนตริก และกรดซัลฟูริก ที่มีค่าความเป็นกรด-เบส 3

2.2 เพื่อศึกษาคุณสมบัติของเพคตินที่สกัดได้จากกรดชนิดต่าง ๆ

3. วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเก็บตัวอย่างใบรางจืด

ตัวอย่างใบรางจืดเก็บใน อ.ทุ่งสง จ.นครศรีธรรมราช ล้างด้วยน้ำกลั่น แล้วอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง จนน้ำหนักคงที่ จากนั้นปั่นใบแห้งให้ละเอียด

2. การสกัดเพคตินจากใบรางจืด

นำใบรางจืดอบแห้งที่ปั่นละเอียดแล้ว 200 กรัม ใส่ในขวดโหลแก้วขนาด 2 ลิตร จากนั้นเติมเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตร/ปริมาตร ในอัตราส่วนน้ำหนักแห้งใบรางจืดต่อเอทานอล 1:10 ผสมให้เข้ากัน แล้วบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 60 นาที นำสารละลายที่ได้กรองผ่านผ้ากรอง ทิ้งส่วนสารละลาย และเก็บตะกอนใบรางจืดอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนัก แล้วนำมาสกัดเพคตินด้วยน้ำสารละลายกรดชนิดต่าง ๆ ที่มีค่าความเป็นกรด-เบส 3 ได้แก่ สารละลายกรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid, HCl) กรดกรดซัลฟูริก (sulfuric acid, H_2SO_4) กรดไนตริก (nitric acid, HNO_3) และกรดอะซีติก (acetic acid, CH_3COOH) โดยเติมกรดลงไปในตะกอนที่บรรจุในขวดรูปชมพูในอัตราส่วนตะกอนต่อสารละลายกรดชนิดต่าง ๆ 1:10 จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 60 นาที กรองเพื่อนำตะกอนทิ้ง และนำส่วนสารละลายที่ได้ตกตะกอนด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตร/ปริมาตร ในอัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตร แล้วกวนเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นกรองตะกอน

เพคตินที่ได้ แล้วล้างตะกอนที่ได้ด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ปริมาตร/ปริมาตร 3 ครั้ง ครั้งละ 100 มิลลิลิตร นำตะกอนที่ได้ไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักตะกอนที่ได้เพื่อหาร้อยละผลผลิต (% yield) ดังสมการ (1)

ร้อยละผลผลิต (%) = น้ำหนักเพคตินหลังอบ (กรัม) x 100 / น้ำหนักใบรางจืดแห้งที่ใช้ในการสกัด (กรัม) (1)

ตะกอนที่ได้จะถูกเก็บในที่แห้งเพื่อนำไปศึกษาในขั้นตอนต่อไป

3. การวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของเพคติน

3.1 ปริมาณกรดกาแลคทูโรนิค

ปริมาณกรดกาแลคทูโรนิคดำเนินการโดยดัดแปลงจาก Kyriakidis & Psoma (2001) ชั่งน้ำหนักเพคตินที่สกัดได้ 0.1 กรัม ลงในขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.05 โมลาร์ ให้มีปริมาตรทั้งหมดเป็น 100 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน บ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 30 นาที จากนั้นนำสารละลายที่ได้มาเจือจาง 10 เท่าด้วยน้ำกลั่น แล้วปิเปตสารละลายที่ได้ 2 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง เติมสารละลายคาร์บาซอลเข้มข้นร้อยละ 0.1 น้ำหนัก/ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วเติมสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น ปริมาตร 12 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองแต่หลอด เขย่าให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 25 นาที จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 525 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ได้คำนวณปริมาณกรดกาแลคทูโรนิค โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดกาแลคทูโรนิค ช่วงความเข้มข้น 0 - 100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

3.2 ระดับการเกิดเอสเทอริฟิเคชั่นและปริมาณเมทอกซิล

การศึกษาระดับการเกิดเอสเทอริฟิเคชัน และปริมาณเมทอกซิลดำเนินการตามวิธีการของ Singthong (2004) และ Dominiak et al. (2014) ทำโดยชั่งเพคตินที่สกัดได้ 0.5 กรัม ลงในขวดชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร จากนั้นเติม เอทานอลร้อยละ 95 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นเติมฟีนอล์ฟทาลีน 5 หยด ไทเทรตด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.5 โมลาร์ จนกว่าสารละลายจะเป็นสีชมพูอ่อน บันทึกปริมาตรสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้เป็นปริมาตรโซเดียมไฮดรอกไซด์ครั้งที่ 1 (NaOH Vol 1) จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ปริมาตร 10 ปริมาตร แล้วเขย่าแรง ๆ บ่มไว้นาน 15 นาที ที่อุณหภูมิห้อง เติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.5 โมลาร์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร จนสีชมพูหายไป หยดสารละลายฟีนอล์ฟทาลีน 5 หยด แล้วไทเทรตต่อด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.5 โมลาร์ บันทึกปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้เป็นปริมาตรโซเดียมไฮดรอกไซด์ครั้งที่ 2 (NaOH Vol 2) คำนวณหาระดับการเกิดเอสเทอร์ ดังสมการที่ (2) และหาปริมาณเมทอกซิลโดยเปรียบเทียบค่าระดับการเกิดเอสเทอริฟิเคชันที่ได้ด้วยตารางแสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับการเกิดเอสเทอริฟิเคชันกับปริมาณเมทอกซิล (ตารางที่ 1)

ระดับการเกิดเอสเทอริฟิเคชั่น = (NaOH Vol 2 x 100)/(NaOH Vol 1 + NaOH Vol 2) (2)

ตารางที่ 1 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าระดับการเกิดเอสเทอริฟิเคชัน (Degree of Esterification, DE) กับปริมาณเมทอกซิล (% Methoxyl) ในเพคติน

DE (%)	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
Methoxyl (%)	0.00	1.63	3.26	4.90	6.53	8.16	9.76	11.42	13.06	14.69	16.32

หมายเหตุ ความสัมพันธ์ระหว่างค่าระดับการเกิดเอสเทอริฟิเคชัน (Degree of Esterification, DE) กับปริมาณเมทอกซิล (% Methoxyl) ในเพคติน. จาก “คาร์โบไฮเดรตในอาหาร” โดย อรพิน ภูมิสมร, 2523, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4. การพิสูจน์เอกลักษณ์ของเพคตินที่สกัดได้กับเพคตินการค้าโดยวิธีการ Fourier-transform infrared spectroscopy analysis (FTIR analysis)

การพิสูจน์เอกลักษณ์ของเพคตินที่สกัดได้ดำเนินตามวิธีการของ Zaidel et al. (2017) โดยนำเพคตินผงแห้ง 2 กรัม ผสมกับ ผลึก KBr และสแกนเลขคลื่นด้วย FTIR (ยี่ห้อ Bruker Spectrophotometer model alpha E/No 11960093 ประเทศเกาหลี) ในช่วงเลขคลื่น 400 - 4000 cm^{-1}

5. การเปรียบเทียบค่าที่วิเคราะห์ได้ทางสถิติ

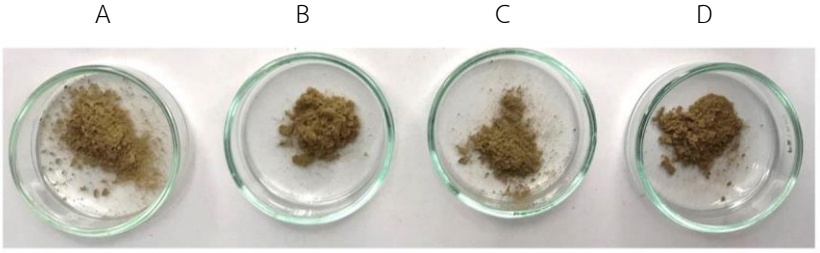
ค่าที่วิเคราะห์ทำซ้ำ 3 ครั้ง รายงานผลในรูปค่าเฉลี่ย ± SD และวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบทางเดียว (One-Way ANOVA) ด้วยวิธีการของ Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4. ผลการวิจัย

4.1 ลักษณะของเพคตินที่สกัดได้ และร้อยละผลผลิต

ลักษณะของเพคตินรางจืดที่สกัดได้จากสารละลายกรดชนิดต่าง ๆ ได้แก่ กรดอะซีติก กรดไฮโดรคลอริก กรดไนตริก และกรดซัลฟูริก ซึ่งเตรียมโดยละลายกรดชนิดต่าง ๆ ในน้ำจนได้สารละลายกรดต่าง ๆ ที่มีค่าความเป็นกรด-เบสเท่ากับ 3 พบว่าเพคตินจากใบรางจืดที่ได้จากการสกัดด้วยสารละลายกรดทุกชนิดมีสีเขียวอมน้ำตาล (ภาพที่ 1) และในขั้นตอนการตกตะกอนเพคตินด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตร/ปริมาตร พบตะกอนวุ้นเกิดขึ้น (ภาพที่ 2) ซึ่งเป็นลักษณะเช่นเดียวกับตะกอนที่เกิดขึ้นในการสกัดเพคตินจากพืชตระกูลส้ม (Singhal and Swami Hulle, 2022) โดยร้อยละผลผลิตของเพคตินที่สกัดได้จากกรดชนิดต่าง ๆ มีค่าอยู่ในช่วง 0.15±0.07 - 0.33±0.16 ซึ่งมีร้อยละผลผลิตต่ำและคุณสมบัติของเพคติน ได้แก่ ปริมาณกรดกาแลคทูโรนิค ร้อยละเอสเทอริฟิเคชัน และร้อยละเมทอกซิลดังตารางที่ 2 โดยเพคตินที่สกัดได้จากสารละลายกรดซัลฟูริก ความเป็นกรด-เบสเท่ากับ 3 มีปริมาณกรดกาแลคทูโรนิค ร้อยละเอสเทอริฟิเคชัน และร้อยละเมทอกซิลมากที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 52.86±1.72 มิลลิกรัม/กรัม ร้อยละ 32.64±1.20 และร้อยละ 5.40±0.07 ตามลำดับ ในขณะที่เพคตินทางการค้ามีค่าเท่ากับ 91.27±0.73 มิลลิกรัม/กรัม ร้อยละ 45.07±0.26 และร้อยละ 7.35±0.04 ตามลำดับ ซึ่งจากค่าร้อยละเอสเทอริฟิเคชัน แสดงให้เห็นว่าเพคตินที่สกัดได้ และเพคติน

ทางการค้าจัดอยู่ในกลุ่มของเพคตินมีร้อยละเอสเทอริฟิเคชันต่ำ เนื่องจากมีค่าร้อยละเอสเทอริฟิเคชันต่ำกว่า 50 (Freitas et al., 2021) ซึ่งมีผลต่อการเกิดเจลและความสามารถในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ (de Oliveira et al., 2015) และการวิเคราะห์ FTIR ของเพคตินที่สกัดได้และเพคตินทางการค้าดังภาพที่ 3 พบการสั่นที่ปรากฏพีคของหมู่ฟังก์ชันที่สำคัญ คือ ที่เลขคลื่น 3435 cm^{-1} แสดงถึงมีหมู่ฟังก์ชันไฮดรอกซิล (-OH) (ภาพที่ 3 ลูกศรหมายเลข 1) ซึ่งเป็นหมู่ฟังก์ชันที่สำคัญของสารกลุ่มคาร์โบไฮเดรต ที่เลขคลื่น 2,935 cm^{-1} แสดงถึงหมู่ฟังก์ชัน C-H (ภาพที่ 3 ลูกศรหมายเลข 2) ที่เลขคลื่น 1738.76 1737.94 1738.52 1738.51 และ 1738.43 cm^{-1} ของเพคตินทางการค้า และเพคตินที่สกัดได้โดยใช้กรดอะซีติก กรดไฮโดรคลอริก กรดไนตริก และกรดซัลฟูริก ตามลำดับ แสดงถึงหมู่ฟังก์ชันของหมู่คาร์บอนิลที่อยู่ในรูปของเมทิลเอสเทอร์ ($-COOCH_3$) และหมู่คาร์บอนิลของกรดคาร์บอกซิลิกที่ไม่แตกตัว (-COOH) (ภาพที่ 3 ลูกศรหมายเลข 3) ที่เลขคลื่น 1647.07 1610.19 1610.99 1610.56 และ 1609.97 cm^{-1} ของเพคตินทางการค้า และเพคตินที่สกัดได้โดยใช้กรดอะซีติก กรดไฮโดรคลอริก กรดไนตริก และกรดซัลฟูริก ตามลำดับ แสดงถึงหมู่ฟังก์ชันของหมู่คาร์บอนิลในรูปที่แตกตัวเป็นไอออนคาร์บอกซิเลต ($-COO^-$) และที่เลขคลื่น 1435.02 cm^{-1} ของเพคตินทางการค้า และเพคตินจากกรดชนิดต่าง ๆ ที่สกัดได้ แสดงถึงหมู่เมทิล ($-CH_3$) ซึ่งเป็นหมู่ฟังก์ชันที่สัมพันธ์กับร้อยละเมทอกซิล (Demir et al., 2021) ซึ่งรูปแบบของสเปกตรัมของ FTIR ของเพคตินที่สกัดได้กับเพคตินทางการค้ามีความใกล้เคียงกัน และมีหมู่ฟังก์ชันสำคัญต่าง ๆ ที่พบในเพคติน แสดงให้เห็นว่า สารที่สกัดได้จากใบรางจืดแห้งด้วยสารละลายกรดชนิดต่าง ๆ ที่มีค่าความเป็นกรด-เบส เท่ากับ 3 เป็นเพคติน

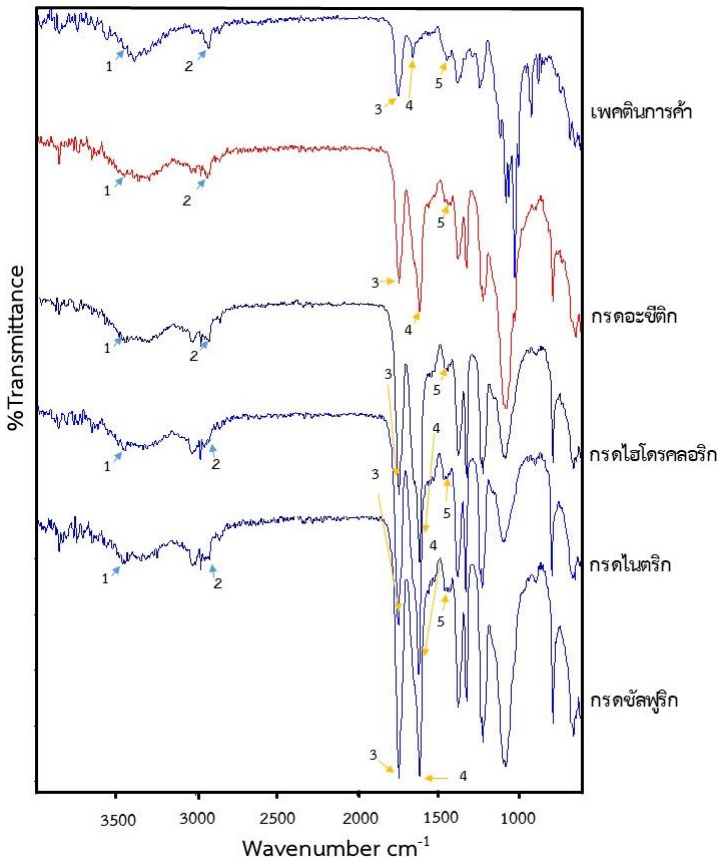


ภาพที่ 1 ลักษณะของเพคตินที่สกัดได้ โดย A-D คือ เพคตินที่สกัดได้จากสารละลายกรดต่าง ๆ ที่มีค่าความเป็นกรด-เบส เท่ากับ 3 ได้แก่ กรดอะซีติก กรดซัลฟิวริก กรดไนตริก และกรดไฮโดรคลอริก ตามลำดับ

ภาพที่ 2 ลักษณะชั้นตะกอนวุ้นที่เกิดขึ้นในขั้นตอนการตกตะกอนเพคตินด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ปริมาตร/ปริมาตร

ตารางที่ 2 ร้อยละผลผลิตและคุณสมบัติของเพคตินรางจืดที่สกัดด้วยสารละลายกรดชนิดต่าง ๆ ที่มีค่าความเป็นกรด-เบสเท่ากับ 3

ชนิดของกรด	ร้อยละผลผลิต	กรดกาแลคทูโรนิค (มิลลิกรัม/กรัม)	ร้อยละเอสเทอริฟิเคชัน	ร้อยละเมทอกซิล
กรดอะซีติก	0.30±0.02[a]	47.46±1.20[c]	20.32±1.29[b]	3.33±0.21[b]
กรดไฮโดรคลอริก	0.30±0.14[a]	18.25±1.20[a]	21.03±1.78[b]	3.49±0.26[b]
กรดไนตริก	0.33±0.16[a]	24.44±1.45[b]	6.06±0.45[a]	1.01±0.05[a]
กรดซัลฟูริก	0.15±0.07[a]	52.86±1.72[d]	32.64±1.20[c]	5.40±0.07[c]
เพคตินการค้า	-	91.27±0.73[e]	45.07±0.26[d]	7.35±0.04[d]



ภาพที่ 3 สเปกตรัม FTIR ของเพคตินทางการค้า และเพคตินที่สกัดได้จากกรดชนิดต่าง ๆ

โดยที่เลขคลื่นตามลูกศรชี้หมายเลข 1-5 แสดงถึง หมู่ฟังก์ชันไฮดรอกซิล (–OH) หมู่ฟังก์ชัน -C-H หมู่ฟังก์ชันคาร์บอนิลของกรดคาร์บอกซิลิกในรูปคาร์บอกซีเมทิล และในรูปกรดคาร์บอกซิลิกที่ไม่แตกตัว หมู่ฟังก์ชันคาร์บอนิลของไอออนเกลือคาร์บอกซิเลต ($-COO^-$) และหมู่เมทิล ($–CH_3$) ตามลำดับ

5. อภิปรายผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

เพคตินที่สกัดได้จากใบรางจืดอบแห้งโดยใช้สารละลายกรดชนิดต่าง ๆ ที่มีค่าความเป็นกรด-เบสเท่ากับ 3 ได้แก่ กรดอะซีติก กรดไฮโดรคลอริก กรดไนตริก และกรดซัลฟูริก มีค่าร้อยละผลผลิต (%yield) ในช่วงร้อยละ 0.15±0.07 - 0.33±0.16 ซึ่งมีร้อยละผลผลิตต่ำเมื่อเทียบกับเพคตินจากส้มและแอปเปิ้ลที่มีการสกัดทางการค้า โดยเปลือกส้มที่สกัดด้วยกรดซัลฟูริกที่ความเข้มข้น 1 โมลาร์ มีร้อยละผลผลิตเท่ากับ 29 โดยปริมาตร/ปริมาตรของน้ำหนักแห้ง (Zouambia et al., 2017) เปลือกแอปเปิ้ลที่สกัดด้วยกรดซิตริกและกรดไนตริกสามารถสกัดเพคตินได้ร้อยละ 13.75 - 17.82 (Canteri-Schemin et al., 2015) โดยพืชที่สกัดได้ใกล้เคียงกับงานวิจัยนี้มากที่สุด คือ เพคตินจากเมล็ดลินซีดที่สกัดด้วยกรดไฮโดรคลอริก ที่มีค่าความเป็นกรด-เบสเท่ากับ 2 มีร้อยละผลผลิตเท่ากับ 0.35 - 0.65 (Díaz-Rojas et al., 2004) โดยการสกัดเพคตินในปัจจุบันมีการศึกษาการสกัดหลายวิธี ส่วนใหญ่เป็นการสกัดโดยการใช้กรดเนื่องจากกรดสามารถทำให้เพคตินเกิดการไฮโดรไลซิสและอยู่ในรูปที่สามารถละลายได้ จึงมีผลให้ร้อยละผลผลิตจากการสกัดสูงขึ้น (Kamal et al. 2020; Maran et al. 2013) แต่หากใช้กรดความเข้มข้นสูงหรือมีค่าความเป็นกรด-เบสต่ำ รวมทั้งใช้อุณหภูมิสูงสามารถทำให้เพคตินที่ได้มีคุณภาพต่ำ เพราะเกิดการสลายตัวของพันธะไกลโคซิดิคซึ่งเป็นพันธะที่เชื่อมต่อระหว่างน้ำตาลในโครงสร้างของเพคตินทำให้เพคตินกลายเป็นน้ำตาลสายสั้นมีผลทำให้ร้อยละผลได้ลดลง (Hamidon & Zaidel, 2017) โดยปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดเพคตินทั้งเชิงปริมาณ และคุณสมบัติของเพคติน ได้แก่ ชนิดของพืช อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด ชนิดของกรดที่ใช้สกัด (Munarin et al., 2012) อย่างไรก็ตามการสกัดเพคตินจากเปลือกเสาวรสโดยใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่มีค่าความเป็นกรด-เบส ต่ำกว่า 2 ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทำให้ร้อยละผลได้ลดลง (Kulkarni & Vijayanand, 2010) ในการทดลองนี้ศึกษาการสกัดด้วยกรดชนิดต่าง ๆ ที่มีค่าความเป็นกรด-เบสเท่ากับ 3 ซึ่งเป็นมีค่าความเป็นกรด-เบสใกล้เคียงกับการเกิดเจลของเพคตินที่มีปริมาณเมทอกซิลสูงซึ่งสามารถเกิดเจลเมื่ออยู่ในสารละลายที่มีมีค่าความเป็นกรด-เบสต่ำกว่า 3.6 (Voragen et al., 2009) และเลือกใช้กรดชนิดต่าง ๆ ทั้ง 4 ชนิดที่นิยมใช้ในการสกัดเพื่อเปรียบเทียบและศึกษาเพคตินที่สกัดได้ รวมถึงการเลือกตกตะกอนเพคตินด้วยเอทานอลยังทำให้สามารถประเมินปริมาณเพคตินในสารสกัดได้เบื้องต้น โดยร้อยละผลผลิตจากการสกัดด้วยกรดชนิดต่าง ๆ ที่มีค่าความเป็นกรด-เบสเท่ากับ 3 ในงานวิจัยนี้ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ซึ่งกรดที่ใช้ในการสกัดที่แตกต่างกันมีผลต่อการละลายของเพคตินแตกต่างกัน ชนิดของกรดที่ใช้ในการทดสอบครั้งนี้เป็นกรดแก่ 3 ชนิด คือ กรดซัลฟูริก กรดไนตริก และกรดไฮโดรคลอริก และกรดอ่อน 1 ชนิด คือ กรดอะซีติก ซึ่งมีลักษณะการแตกตัวให้ไฮโดรเจนไอออนแตกต่างกัน โดยกรดแก่สามารถแตกตัวให้โปรตอนได้รวดเร็ว เพราะมีการแตกตัวอย่างสมบูรณ์ ในขณะที่กรดอ่อนมีเพียงบางส่วนที่แตกตัว ซึ่งปริมาณโปรตอนในการสกัดมีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสซึ่งช่วยในการเปลี่ยนเพคตินในรูปที่ไม่ละลายน้ำให้อยู่ในรูปที่ละลายได้ส่งผลให้มีร้อยละผลผลิตจากการสกัดเพคตินมากขึ้น (Tangwongchai et al., 2006; Canteri-Schemin et al., 2005)

แต่อย่างไรก็ตามการใช้กรดอ่อนยังสามารถให้ร้อยละผลได้ของการสกัดมากกว่ากรดแก่ เนื่องจากกรดอ่อนสามารถสามารถทำลายโครงสร้างของเพคตินจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสได้น้อยกว่า และได้เพคตินที่มีคุณภาพสูงกว่า (Canteri-Schemin et al., 2005) ซึ่งผลการทดสอบในครั้งนี้ร้อยละผลได้ไม่มีความแตกต่างอย่างนัยสำคัญทางสถิติเมื่อใช้กรดต่างชนิดกัน ที่มีค่าความเป็นกรด-เบส 3 เท่ากัน เนื่องจากพฤติกรรมของสารละลายกรดชนิดต่าง ๆ ที่มีค่าความเป็นกรด-เบส 3 เท่ากัน อาจมีความแตกต่างกัน รวมถึงระยะเวลาในการสกัดอาจจะมากหรือน้อยเกินไปทำให้ไม่เห็นความแตกต่างของร้อยละผลผลิตในการสกัด ซึ่งจำเป็นต้องศึกษาเพิ่มเติมต่อไป การสกัดเพคตินทางการค้าเป็นการสกัดโดยใช้สารละลายกรดที่มีค่าความเป็นกรด-เบส อยู่ในช่วง 1.5 - 3 และมีการให้ความร้อนในการสกัดในช่วงอุณหภูมิ 75 - 100 องศาเซลเซียส และใช้เวลาในการสกัดประมาณ 1 - 3 ชั่วโมง ซึ่งในการสกัดมีการกวนไปด้วย และนิยมใช้กรดแร่ในการสกัด (Picot-Allain, 2020) โดยเฉพาะกรดที่เป็นกรดแก่เนื่องจากใช้เวลาในการสกัดน้อยกว่ากรดอ่อน (Canteri-Schemin et al., 2005) เมื่อศึกษาปริมาณกรดกาแลคทูโรนิคของเพคตินที่สกัดได้มีค่าสูงที่สุดเมื่อสกัดด้วยสารละลายกรดซัลฟูริกที่มีค่าความเป็นกรด-เบสเท่ากับ 3 โดยมีค่าเท่ากับ 52.86±1.72 มิลลิกรัม/กรัม รองลงมาคือเพคตินที่สกัดได้จากกรดอะซีติก ที่มีค่าความเป็นกรด-เบสเท่ากับ 3 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 47.46±1.20 มิลลิกรัม/กรัม ขณะที่เพคตินทางการค้ามีค่าเท่ากับ 91.27±0.73 มิลลิกรัม/กรัม ซึ่งปริมาณกรดกาแลคทูโรนิคแสดงให้เห็นถึงความบริสุทธิ์ของเพคตินที่สกัดได้ เนื่องจากเป็นองค์ประกอบหลักของเพคติน (Christiaens et al., 2016; Kratchanova et al., 2004) โดยเพคตินที่สกัดได้จากเปลือกส้ม แอปเปิ้ล และเปลือกมะม่วง มีค่าร้อยละเท่ากับ 72.5 56.67 (Madhav & Pushpalatha, 2002) และ 75.98 0.88 (Wathonia et al. 2019) เมื่อวิเคราะห์ค่าระดับการเกิดเอสเทอริฟิเคชันและเมทอกซิลของเพคตินที่สกัดด้วยสารละลายกรดซัลฟูริกมีค่ามากที่สุดเช่นกันเมื่อเทียบกับเพคตินที่สกัดได้ด้วยกรดชนิดอื่น ๆ โดยมีค่าระดับการเกิดเอสเทอริฟิเคชัน และเมทอกซิลเท่ากับร้อยละ 32.64±1.20 และ 5.40±0.07 ตามลำดับ ซึ่งค่าที่ได้น้อยกว่าเพคตินทางการค้าซึ่งมีค่าร้อยละเท่ากับ 45.07±0.26 และ 7.35±0.04 ตามลำดับ โดยเพคตินที่มีค่าร้อยละเอสเทอริฟิเคชันต่ำกว่า 50 จัดเป็นเพคตินที่มีเอสเทอริฟิเคชันต่ำ (Freitas et al., 2021) โดยเพคตินที่สกัดได้ในงานวิจัยนี้และเพคตินทางการค้าจัดอยู่ในกลุ่มของเพคตินที่มีร้อยละเอสเทอริฟิเคชันต่ำ ซึ่งมีผลต่อการเกิดเจลและความสามารถในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ (de Oliveira et al., 2015) เมื่อวิเคราะห์เพคตินที่สกัดได้เทียบกับเพคตินทางการค้ามีค่าพีคที่ได้รูปแบบเช่นเดียวกัน แสดงให้เห็นว่าสารที่สกัดได้เป็นเพคติน โดยการศึกษาของ Wathonia et al. (2019) ศึกษาเพคตินที่สกัดจากเปลือกมะม่วงพบพีคที่เลขคลื่น 3402.43 cm^{-1} และ 3367.71 cm^{-1} ของเพคตินที่สกัดได้และเพคตินทางการค้า ซึ่งเป็นพีคที่แสดงถึงหมู่ฟังก์ชันไฮดรอกซิล (-OH) พีคที่เลขคลื่น ช่วง 2927.94 cm^{-1} และ 1747.51cm^{-1} ของเพคตินที่สกัดได้และเพคตินทางการค้า แสดงถึงหมู่ C-H ส่วนพีคที่เลขคลื่นช่วง 2939.52 cm^{-1} และ 1639.49 cm^{-1} ของเพคตินที่สกัดได้และเพคตินทางการค้า ซึ่งแสดงถึงหมู่ฟังก์ชันคาร์บอนิล (C=O) พีคที่ช่วงเลขคลื่น 1442.7 cm^{-1} เป็นพีคที่แสดงถึงหมู่เมทิล ส่วนพีคที่เลขคลื่น 1,161.15 cm^{-1} และ 1,153.43 cm^{-1} แสดงถึงพันธะ C–O ในแอลกอฮอล์ เอสเทอร์ และกรดคาร์บอกซิลิก ส่วนงานวิจัยของ Zouambia et al. (2017) ระบุพีคที่เลขคลื่น 1145cm^{-1} คือ พันธะ (C-O-C) ซึ่งบ่งชี้ถึงพันธะไกลโคซิดิค (glycosidic bond, ring) นอกจากนี้เลขคลื่นช่วง 1200 และ 950 cm^{-1} เป็นลักษณะของคาร์โบไฮเดรตซึ่งมีลักษณะจำเพาะตามชนิดของโพลีแซคคาไรด์แต่ละชนิด (Zaidel et al. 2015) ซึ่งจากการ

วิเคราะห์เพคตินที่สกัดได้ในงานวิจัยนี้พบว่าเพคตินทางการค้าและที่สกัดได้ด้วยกรดชนิดต่าง ๆ มีพีคที่เลขคลื่น 3435 cm^{-1} ซึ่งแสดงหมู่ฟังก์ชันไฮดรอกซิล (-OH) ซึ่งเป็นหมู่ฟังก์ชันที่สำคัญของสารกลุ่มคาร์โบไฮเดรต เลขคลื่น 2935 cm^{-1} แสดงหมู่ฟังก์ชัน C-H และเพคตินทางการค้า และที่สกัดได้ด้วยกรดกรดอะซีติก กรดไฮโดรคลอริก กรดไนตริก และกรดซัลฟูริก มีที่เลขคลื่น 1738.76 1737.94 1738.52 1738.51 และ 1738.43 cm^{-1} ตามลำดับ แสดงถึงหมู่ฟังก์ชันของหมู่คาร์บอนิลที่อยู่ในรูปของเมทิลเอสเทอร์ (-$COOCH_3$) และหมู่คาร์บอนิลของกรดคาร์บอกซิลิกที่ไม่แตกตัว (-COOH) และที่เลขคลื่น 1647.07 1610.19 1610.99 1610.56 และ 1609.97 cm^{-1} ตามลำดับ แสดงหมู่ฟังก์ชันของหมู่คาร์บอนิลในรูปที่แตกตัวเป็นไอออนคาร์บอกซิเลต (-COO^-) และพบพีคที่เลขคลื่น 1435.02 cm^{-1} ของเพคตินทางการค้า และเพคตินจากกรดชนิดต่าง ๆ ที่สกัดได้ แสดงถึงหมู่เมทิล (-CH_3) ซึ่งเป็นหมู่ฟังก์ชันที่สัมพันธ์กับร้อยละร้อยละเมทอกซิล (Demir et al., 2021) ซึ่งลักษณะพีคของเพคตินทางการค้าและเพคตินที่สกัดได้จากสารละลายกรดชนิดต่าง ๆ มีรูปแบบคล้ายคลึงกัน แสดงให้เห็นว่าสารที่สกัดได้เป็นเพคติน อย่างไรก็ตามเพคตินที่สกัดได้มีสีและร้อยละผลผลิตต่ำ และชนิดของกรดที่ศึกษาในงานวิจัยนี้มีร้อยละผลผลิตไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ แต่การสกัดด้วยสารละลายกรดซัลฟูริกที่มีค่าความเป็นกรด-เบส เท่ากับ 3 สามารถสกัดเพคตินที่มีคุณสมบัติ ได้แก่ ปริมาณกรดกาแลคทูโรนิค ร้อยละเอสเทอริฟิเคชัน และร้อยละการเกิดเมทอกซิลดีที่สุดเมื่อเทียบกับการใช้กรดชนิดอื่น ๆ ในสภาวะการสกัดเดียวกัน ดังนั้นเพคตินจากใบรางจืดที่สกัดได้ในปริมาณน้อยอาจจะเหมาะกับผลิตภัณฑ์ที่ต้องการความเข้มข้นเพคตินในปริมาณน้อย สำหรับผลิตภัณฑ์ที่ต้องการเพคตินปริมาณมากอาจใช้เพคตินจากแหล่งอื่นเพิ่มเติมเข้าไป โดยการสกัดเพคตินจากรางจืดยังสามารถต่อยอดในการศึกษาพัฒนากระบวนการสกัดเพื่อให้ได้ปริมาณที่มากขึ้น รวมทั้งตรวจสอบคุณสมบัติทางชีวภาพ เพื่อเป็นแนวทางในการนำไปประยุกต์ใช้ในด้านการแพทย์ เภสัชกรรม หรือเครื่องสำอางต่อไป

6. สรุปผลการวิจัย

การสกัดเพคตินจากใบรางจืดอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสในเวลา 60 นาที ด้วยกรดชนิดต่าง ๆ ที่มีค่าความเป็นกรด-เบสเท่ากับ 3 พบว่า มีร้อยละผลผลิตอยู่ในช่วงร้อยละ 0.15±0.07 - 0.33±0.16 และชนิดของกรดไม่ทำให้ร้อยละผลผลิตในการสกัดแตกต่างกันทางสถิติ และการสกัดด้วยสารละลายกรดกรดซัลฟูริกมีปริมาณกรดกาแลคทูโรนิค ร้อยละเอสเทอริฟิเคชัน และร้อยละเมทอกซิลดีที่สุดเมื่อเทียบกับกรดชนิดอื่น ๆ โดยมีค่าเท่ากับ 52.86±1.72 มิลลิกรัม/กรัม ร้อยละ 32.64±1.20 และร้อยละ 5.40±0.07 ตามลำดับ ซึ่งสามารถจัดเพคตินที่สกัดได้อยู่ในกลุ่มของเพคตินที่มีค่าเอสเทอริฟิเคชันต่ำ และจากพีคที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรด สเปกโทรสโกปี ของเพคตินที่สกัดได้กับเพคตินทางการค้า สามารถสรุปได้ว่าสารที่สกัดได้เป็นเพคติน

7. กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาในครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากงบประมาณเงินรายได้ ปีงบประมาณ 2565 จากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย และขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำหรับเครื่องมือและสถานที่ทำวิจัย

8. เอกสารอ้างอิง

อรพิน ภูมิสมร. (2523). *คาร์โบไฮเดรตในอาหาร.* ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Canteri-Schemin, M.H., Cristina, H., Fertonani, R., Waszczynskyj, N. & Wosiacki, G. (2005). Barchives of biology and technology extraction of pectin from apple pomace. *Brazilian archives of biology and technology*, *48*, 259-266. https://doi.org/10.1590/S1516-89132005000200013

Christiaens, S., Van Buggenhout, S., Houben, K., Jamsazzadeh Kermani, Z., Moelants, K.R.N., Ngouemazong, E.D., Van Loey, A. & Hendrickx, M.E.G. (2016). Process–structure–function relations of pectin in food. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 56*(6), 1021-1042. https://doi.org/10.1080/10408398.2012.753029

Demir, D., Ceylan, S., Göktürk, D. & Bölgen, N. (2021). Extraction of pectin from albedo of lemon peels for preparation of tissue engineering scaffolds. *Polymer Bulletin, 78*, 2211-2226. https://doi.org/10.1007/s00289-020-03208-1

Díaz-Rojas, E., Pacheco-Aguilar, R., Lizardi, J., Argüelles-Monal, W., Valdez, M., Rinaudo, M. & Goycoolea, F. (2 0 0 4). Linseed pectin: Gelling properties and performance as an encapsulation matrix for shark liver oil. *Food Hydrocolloids, 18*(2), 293-304. http://dx.doi.org/10.1016/S0268-005X(03)00085-7

Dominiak, M., Søndergaard, K.M., Wichmann, J., Vidal-Melgosa, S., Willats, W.G.T., Meyer, A.S. & Mikkelsen, J.D. (2014). Application of enzymes for efficient extraction, modification, and development of functional properties of lime pectin. *Food Hydrocolloids, 40*, 273-282. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.03.009

Freitas, C.M.P., Coimbra, J.S.R., Souza, V.G.L. & Sousa, R.C.S. (2021). Structure and applications of pectin in food, biomedical, and pharmaceutical industry: A Review. *Coatings, 1 1* (8), 922, 1-22. https://doi.org/10.3390/coatings11080922

Hamidon, N.H. & Zaidel, D.N.A. (2017). Effect of Extraction Conditions on Pectin Yield Extracted from Sweet Potato Peels Residues using Hydrochloric Acid. *Chemical Engineering Transactions, 56*, 979-984. https://doi.org/10.3303/CET1756164

Kratchanova, M., Pavlova, E. & Panchev, I. (2004). The effect of microwave heating of fresh orange peels on the fruit tissue and quality of extracted pectin. *Carbohydrate. Polymers, 56*(2), 181-185. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2004.01.009

Kulkarni, S.G. & Vijayanand, P. (2010). Effect of extraction conditions on the quality characteristics of pectin from passion fruit peel (*Passiflora edulis f. flavicarpa L.*). LWT - *Food Science and Technology, 43*(7), 1026-1031. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.11.006

Kyriakidis, N.B. & Psoma, E. (2001). Hydrocolloid Interferences in the Determination of Pectin by the Carbazole Method, *Journal of AOAC international*, *84*(6), 1947-1950. https://doi.org/10.1093/jaoac/84.6.1947

Liu, L.S., Fishman, M.L. & Hicks, K.B. (2007). Pectin in controlled drug delivery- a review. *Cellulose, 14*, 15-24. https://doi.org/10.1007/s10570-006-9095-7

Madhav, A. & Pushpalatha, P. (2002). Characterization of pectin extracted from different fruit wastes. *Journal of tropical agriculture, 40*, 53-55. http://14.139.185.57:8080/jspui/bitstream/123456789/2122/1/40_1-2_53-55_0971-636X.pdf

Maran, J. P., Sivakumar, V., Thirugnanasambandham, K., & Sridhar, R. (2013). Optimization of microwave assisted extraction of pectin from orange peel. *Carbohydrate Polymers, 97*(2), 703-709. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.05.052

Mishra, R.K., Datt, M K. & Banthia, A.K. (2008). Preparation and characterization of amidated pectin based hydrogels for drug delivery system. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 19*, 2275-2280. https://doi.org/10.1007/s10856-007-3310-4

Munarin, F., Guerreiro, S.G., Grellier, M.A., Tanzi, M.C., Barbosa, M.A., Petrini, P. & Granja, P.L. (2011). Pectin-based injectable biomaterials for bone tissue engineering. *Biomacromolecules, 12*, 568-577. https://doi.org/10.1021/bm101110x

Munarin, F., Tanzi, M.C. & Petrini, P. (2012). Advances in biomedical applications of pectin gels. *International Journal of Biological Macromolecules, 51*(4), 681-689. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2012.07.002

Picot-Allain, M.C.N., Ramasawmy, B. & Emmambux, M.N. (2020). Extraction, characterization, and application of pectin from tropical and sub-tropical fruits: A review. *Food Reviews International, 38*(3), 1-31. https://doi.org/10.1080/87559129.2020.1733008

Singhal, S. & Swami Hulle, N.R. (2022). Citrus pectins: Structural properties, extraction methods, modifications and applications in food systems – A review. *Applied Food Research, 2*(2), 100215, 1-14. https://doi.org/10.1016/j.afres.2022.100215

Tangwongchai, R., Lerkchaiyaphum, K., Nantachai, K. & Rojanakorn, T. (2006). Pectin extraction from Citron peel (*Citrus medica* Linn.) and its used in food system. *Songklanakarin Journal of Science and Technology, 28*(6), 1351-1363. https://www.researchgate.net/publication/26469515

Voragen, A. G. J., Coenen, G. J., Verhoef, R. P., & Schols, H. A. (2009). Pectin, a versatile polysaccharide present in plant cell walls. *Structural Chemistry, 20*(2), 263-275. https://doi.org/10.1007/s11224-009-9442-z

Wathonia, N., Shana, C.Y. Shana, W.Y., Rostinawatib, T., Indradib, R.B., Pratiwic, R. & Muchtaridic, M. (2019). Characterization and antioxidant activity of pectin from Indonesian mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) rind. *Heliyon, 5*(8) (e02299), 1-5. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02299

Willats, W.G.T., Paual Knox, J. & Mikkelsen, J.D. (2006). Pectin: new insights into an old polymer are strating to gel. *Trends in Food Science & Technology, 17*(3), 97-104. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2005.10.008

Zaidel, D.N.A., Zainudin, N.N., Jusoh, Y.M.M. & Muhamad, I.I. (2015) Extraction and characterization of pectin from sweet potato (*Ipomoea batatas*) pulp. *Journal of Engineering Science and Technology, 10*, 22-29. http://doi.org/10.17660/ActaHortic. 2017.1152.29

Zouambia, Y., Ettoumi, K.Y., Krea, M. & Moulai-Mostefa, N. (2017). A new approach for pectin extraction: Electromagnetic induction heating. *Arabian Journal of Chemistry, 10*(4), 480-487. https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.11.011