

การพัฒนาวิธีการสกัดเพคตินจากเปลือกแตงโมด้วยกรดอินทรีย์เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

THE DEVELOPMENT OF PECTIN EXTRACTION PROCEDURE FROM WATERMELON PEEL USING ORGANIC ACID FOR FOOD INDUSTRY

อุษารัตน์ คำทับทิม*, นฤมล สารี, กนกวรรณ จิตใส, รัฐพล หงส์เกรียงไกร

Usarat Kumtabtim*, Narumon Sumree, Kanokwan Jitsai, Rattapon Hongkengkai

สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ

Division of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Krungthep.

*Corresponding author, e-mail: usarat.k@mail.rmutk.ac.th

Received: 27 October 2021; **Revised:** 15 June 2022; **Accepted:** 15 December 2022

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการสกัดเพคตินจากเปลือกแตงโมด้วยกรดอินทรีย์ โดยศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดเพคติน ได้แก่ ความเข้มข้นของสารละลายกรดซิตริก (0.025 0.05 0.1 และ 0.25 โมลาร์) อัตราส่วนน้ำหนักเปลือกแตงโมต่อปริมาตรตัวทำละลาย (1:12 1:16 1:20 และ 1:24 กรัมต่อมิลลิลิตร) อุณหภูมิ (75 85 95 องศาเซลเซียส) และเวลาที่ใช้ในการสกัด (30 60 90 และ 120 นาที) จากผลการทดลองพบว่า สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดเพคตินจากเปลือกแตงโมด้วยกรดซิตริก ได้แก่ ความเข้มข้นของสารละลายกรดซิตริก 0.025 โมลต่อลิตร อัตราส่วนน้ำหนักเปลือกแตงโมต่อปริมาตรตัวทำละลายเท่ากับ 1:12 กรัมต่อมิลลิลิตร อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที สำหรับการตกตะกอนเพคตินใช้เอทานอลความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร เมื่อวิเคราะห์สมบัติของเพคตินจากเปลือกแตงโม พบว่า มีผลผลิตเท่ากับ 13.21 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณกรดกาแลคทูโรนิก 68.03 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณเมทอกซิล 6.86 เปอร์เซ็นต์ ระดับเอสเทอร์ฟิเคชัน 62.18 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเพคตินจากเปลือกแตงโมที่สกัดได้จัดเป็นเพคตินชนิดเมทอกซิลสูง เมื่อวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของเพคตินจากเปลือกแตงโม และเพคตินจากแอปเปิลทางการค้าด้วยเครื่องฟลูอริเยร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรมิเตอร์ พบว่าหมู่ฟังก์ชันทางเคมีของเพคตินจากเปลือกแตงโมมีความสอดคล้องกับเพคตินทางการค้าจากเปลือกแอปเปิล เมื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของสารโดยอาศัยคุณสมบัติทางความร้อน (Thermalgravimetric analysis, TGA) ของเพคตินจากเปลือกแตงโม พบว่ามีความเสถียรทางความร้อนที่อุณหภูมิสูงสุด (DTG_{max}) เท่ากับ 255 องศาเซลเซียส ซึ่งมีความเสถียรต่อความร้อนสูง จากผลการวิเคราะห์สมบัติของเพคตินจากเปลือกแตงโมแสดงให้เห็นถึงการนำเปลือกแตงโมมาเป็นวัตถุดิบที่มีราคาถูกสำหรับการสกัดเพคติน โดยคุณภาพของเพคตินจากเปลือกแตงโมสามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นสารเติมแต่งในอุตสาหกรรมอาหารและอาหารที่ต้องผ่านกรรมวิธีการปรุงที่ใช้ความร้อนสูงได้

คำสำคัญ: เพคติน; เปลือกแตงโม; กรดอินทรีย์; การสกัด

Abstract

This research aims to study the extraction of pectin from watermelon peels using organic acid. The effects of various parameters on extraction, such as citric acid concentration (0.025 0.05 0.1 0.25 molar), weight and volume of watermelon peels and solvent (1:12 1:16 1:20 1:24 gram per milliliter) temperature (75 85 95 degree Celsius) and extraction time (30 60 90 120 minute) were investigated. According to the results, the optimum conditions were 0.025 mole per liter of citric acid solution, a solid-liquid ratio of 1:12 grams per milliliters, 95°C, and 60 minutes of extraction time. The extracted watermelon pectin was precipitated by ethanol 95 %v/v. The characteristics of watermelon peels pectin were analyzed. It was shown that the production yield, galacturonic acid, methoxyl contents and degree of esterification were 13.21, 68.03, 6.86, and 62.18 % respectively. From the results, pectin from watermelon peel was classified as having a high methoxyl content. The chemical structure of watermelon peels pectin and apple commercial pectin were determined by Fourier transform infrared spectrometer (FT-IR). The functional groups of pectin from watermelon peels were similar to those of commercial pectin from apple. Thermogravimetric analysis technique (TGA) was used to determine the thermal property of pectin from watermelon peels. The maximum thermal decomposition temperature (DTG_{max}) of pectin from watermelon was 255 °C, indicating high thermal stability. The results revealed that watermelon peels pectin can be an inexpensive source to obtain good pectin quality. Pectin from watermelon peels would have a high potential to be used as food additive in food industry and high temperature processed foods.

Keywords: Pectin; Watermelon Peel; Organic Acid; Extraction

บทนำ

เพคติน (pectin) คือสารประเภทโพลีแซคคาไรด์ที่เป็นโครงสร้างของผนังเซลล์ของพืชชั้นสูงเกือบทุกชนิด เพคตินจัดเป็นสารประกอบคาร์โบไฮเดรตเช่นเดียวกับแป้งและเซลลูโลส พบได้ในเซลล์ของพืชที่ส่วนของชั้นระหว่างเส้นใยของผนังเซลล์ชั้นแรก โดยมีหน้าที่ในการยึดเหนี่ยวเซลล์เข้าด้วยกัน ในปัจจุบันมีการนำเพคตินมาใช้ประโยชน์หลากหลายด้านเช่น การผสมเพคตินในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่มเพื่อทำให้เกิดเนื้อสัมผัสตามต้องการ ใช้เป็นสารก่อสภาพเจล (gelling agent) สารให้ความข้นหนืด (thickener หรือ thickening agent) และสารเพิ่มความคงตัว (stabilizer) เป็นต้น ซึ่งในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่มได้ใช้เพคตินเป็นส่วนผสมในการทำผลิตภัณฑ์แยมและเยลลี่ และใช้เป็นสารเพิ่มความข้นหนืดสำหรับซอสและผลิตภัณฑ์มะเขือเทศ มายองเนส น้ำสลัด และเครื่องดื่ม เป็นต้น นอกจากนี้เพคตินยังสามารถใช้เป็นเส้นใยอาหารในรูปของอาหารเสริมสุขภาพ [1]

สำหรับการใช้เพคตินในประเทศไทยได้มีการนำเข้าเพคตินจากต่างประเทศเป็นจำนวนมาก โดยราคาของเพคตินในประเทศไทยขึ้นอยู่กับชนิดวัตถุดิบที่ผลิตและคุณภาพเกรดของเพคติน ซึ่งเพคตินที่นำเข้าจากต่างประเทศนั้นมีราคาค่อนข้างสูง เพคตินทางการค้าส่วนใหญ่นิยมผลิตมาจากวัตถุดิบประเภทแอปเปิลและพืชตระกูลส้ม แต่อย่างไรก็ตามยังมีวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรอีกหลายชนิดที่มีองค์ประกอบของเพคตินในปริมาณสูงเช่น เปลือกกล้วย เปลือกผักและเปลือกผลไม้ชนิดต่าง ๆ เช่น เปลือกแครอท เปลือกมะละกอ เปลือกกล้วย เปลือกมะม่วง และเปลือกส้มโอ [2-6] โดยประเทศไทยมีผู้บริโภคนิยมรับประทานแตงโมเป็นจำนวนมาก ส่งผลให้มีปริมาณของเปลือกแตงโมที่ถูกทิ้งเป็นขยะตามตลาดและแหล่งชุมชน อีกทั้งเปลือกแตงโมยังเป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรในฤดูกาลที่ผลผลิตออกสู่ตลาดจำนวนมาก โดยในเปลือกแตงโมนั้นมีองค์ประกอบของสารประเภทโพลีแซคคาไรด์จึงมีแนวโน้มที่จะ

สามารถนำมาเป็นวัตถุดิบตั้งต้นสำหรับการสกัดเพคตินได้ คณะผู้วิจัยจึงสนใจนำเปลือกแฉะโมมาเป็นวัตถุดิบตั้งต้นสำหรับการสกัดเพคติน เพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับเปลือกแฉะโมและยังเป็นการช่วยลดปริมาณวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรอีกด้วย

กระบวนการผลิตเพคตินประกอบด้วยหลายขั้นตอนได้แก่ การสกัด (extraction) การทำให้บริสุทธิ์หรือการทำให้เข้มข้น (purification/concentration) และการทำให้แห้ง (drying) ซึ่งสิ่งสำคัญในขั้นตอนการสกัดเพคตินคือปริมาณของเพคตินที่สกัดได้และคุณภาพของเพคติน [7] โดยมีหลายปัจจัยที่ส่งผลต่อการสกัดเช่น อุณหภูมิ ความดัน อัตราส่วนระหว่างวัตถุดิบและตัวทำละลาย ขนาดอนุภาคของวัตถุดิบ ชนิดและความมีขี้ของตัวทำละลาย เนื่องจากคุณสมบัติการละลายของเพคตินที่สามารถละลายน้ำได้ ทำให้การสกัดเพคตินส่วนใหญ่ใช้สารละลายที่มีน้ำเป็นตัวทำละลาย (aqueous solution) และตกตะกอนเพคตินออกมาด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ สำหรับการสกัด เพคตินในระดับอุตสาหกรรมนั้นนิยมใช้กรดอินทรีย์เช่น กรดไฮโดรคลอริก กรดไนตริกและกรดซัลฟิวริก เป็นต้น ซึ่งกรดแก่หรือกรดอินทรีย์เหล่านี้อาจส่งผลกระทบต่ออุปกรณ์หรือเครื่องมือที่ใช้ในกระบวนการผลิตและหากเหลือจากขั้นตอนการสกัดแล้วถูกปล่อยสู่สิ่งแวดล้อมอาจทำให้เกิดปัญหามลพิษได้ สำหรับการพัฒนาวิธีการสกัดเพคตินจากวัตถุดิบทางการเกษตรด้วยกรดอินทรีย์ได้มีรายงานการวิจัยที่ใช้กรดอินทรีย์หลายชนิด [8] เช่น กรดซิตริก (citric acid) กรดมาลิก (malic acid) และกรดทาทาริก (tartaric acid) เป็นต้น โดยมีรายงานการวิจัยเกี่ยวกับปัจจัยและสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเพคตินจากเปลือกผลไม้หลายชนิดด้วยกรดซิตริกเช่น เปลือกแก้วมังกร เปลือกกล้วย เปลือกทับทิม และเปลือกแครอท [8] โดยกรดซิตริกเป็นกรดอินทรีย์ที่มีสมบัติเป็นกรดอ่อนและสามารถใช้เป็นวัตถุเจือปนในอาหาร ทำให้การใช้กรดซิตริกในขั้นตอนการสกัดเพคตินเป็นที่น่าสนใจ

ดังนั้นโครงการวิจัยนี้ จึงสนใจศึกษาการสกัดเพคตินจากเปลือกแฉะโมด้วยกรดซิตริก ซึ่งเป็นกรดที่มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม โดยการสกัดเพคตินจากเปลือกแฉะโมเป็นสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร และเป็นแนวทางในการต่อยอดสำหรับการผลิตเพคตินจากเปลือกแฉะโมด้วยกรดอินทรีย์

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดเพคตินจากเปลือกแฉะโมด้วยกรดอินทรีย์
2. ศึกษาสมบัติของเพคตินจากเปลือกแฉะโม
3. ศึกษาโครงสร้างทางเคมีของเพคตินจากเปลือกแฉะโม

วิธีดำเนินการวิจัย

โครงการวิจัยนี้เป็นการศึกษาการสกัดเพคตินจากเปลือกแฉะโมด้วยกรดอินทรีย์ โดยศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดเพคตินจากเปลือกแฉะโม ได้แก่ ความเข้มข้นของสารละลายกรดซิตริก อัตราส่วนน้ำหนักเปลือกแฉะโมต่อปริมาตรตัวทำละลาย อุณหภูมิที่ใช้การสกัด และเวลาที่ใช้ในการสกัด โดยออกแบบการทดลองเป็นแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) สำหรับการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดเพคตินจากเปลือกแฉะโม วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมทางสถิติ วิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยใช้ Duncan's multiple rang test (DMTR)

1. การเตรียมตัวอย่างเปลือกแฉะโม

1.1 วัตถุดิบที่ใช้ในงานวิจัยนี้เป็นเปลือกแฉะโมพันธุ์จินตรา ที่เก็บตัวอย่างวัตถุดิบมาจากร้านขายผลไม้ที่ตลาดสวนพหลุ เขตสาทร กรุงเทพมหานคร โดยก่อนนำมาศึกษาได้เก็บรักษาเปลือกแฉะโมไว้ในตู้เย็น

1.2 นำเปลือกแฉะโมส่วนที่เป็นเนื้อสีขาวมาหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วบั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องบั่นผลไม้ จากนั้นกรองแยกส่วนที่เป็นน้ำและเปลือกออกจากกันด้วยผ้าขาวบาง แล้วนำเฉพาะส่วนที่เป็นเปลือกไปต้มในตัวทำละลาย

เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ เพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ในเปลือกแดงโม (อัตราส่วนของเปลือกแดงโมต่อตัวทำละลายเท่ากับ 1:1 โดยมวลต่อปริมาตร) ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แล้วกรองแยกเปลือกแดงโม และตัวทำละลายออกจากกันด้วยผ้าขาวบาง ล้างเปลือกแดงโมด้วยน้ำกลั่น หลังจากนั้นนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เมื่อเปลือกแดงโมแห้งแล้วนำไปบดให้ละเอียดและร่อนผ่านตะแกรงร่อนขนาด 200 ไมโครเมตร จากนั้นชั่งน้ำหนักของเปลือกแดงโมบดละเอียดที่เตรียมได้ เก็บรักษาไว้ในขวดสีชาที่ปิดสนิทและเก็บไว้ในตู้เย็นเพื่อคงความชื้น

2. การหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดเพคตินจากเปลือกแดงโมด้วยกรดซิตริก

2.1 การศึกษาความเข้มข้นของสารละลายกรดซิตริก

ชั่งน้ำหนักเปลือกแดงโมบดแห้งที่เตรียมไว้ 10 กรัม ใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายกรดซิตริกที่มีความเข้มข้น 0.025 0.05 0.1 และ 0.25 โมลาร์ ลงในขวดรูปชมพู่ (แต่ละชุดการทดลองทำซ้ำ 3 ครั้ง) โดยใช้อัตราส่วนเปลือกแดงโมบดแห้งต่อตัวทำละลายเท่ากับ 1:12 โดยมวลต่อปริมาตร หลังจากนั้นทำการสกัดในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที จากนั้นกรองผ่านผ้าขาวบาง 2 ชั้น แล้วนำเปลือกแดงโมที่กรองได้ไปทำการสกัดซ้ำอีกครั้ง แล้วกรองผ่านผ้าขาวบาง 2 ชั้น หลังจากนั้นนำสารละลายที่ได้ทั้งสองครั้งมารวมกัน แล้วทำการตกตะกอนเพคตินด้วยเอทานอล โดยใช้อัตราส่วนสารละลายที่สกัดได้ต่อเอทานอลเท่ากับ 1:1 โดยปริมาตร หลังจากนั้นผสมสารให้เข้ากันด้วยแท่งแก้วคนสาร จากนั้นตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 ชั่วโมง เมื่อครบตามเวลาที่กำหนด กรองแยกตะกอนเพคตินออกจากสารละลายโดยการใช้อะไรเยาะกรองและกรวยบุชเนอร์ แล้วนำตะกอนเพคตินที่ได้ไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นชั่งน้ำหนักเพคตินจากเปลือกแดงโมที่ได้และคำนวณร้อยละผลผลิต (% yield)

2.2 การศึกษาอัตราส่วนน้ำหนักเปลือกแดงโมบดแห้งต่อปริมาตรตัวทำละลาย

ในการทดลองส่วนนี้ ขั้นตอนการทดลองเหมือนวิธีการทดลองข้อ 2.1 แต่เปลี่ยนอัตราส่วนน้ำหนักเปลือกแดงโมบดแห้งต่อปริมาตรตัวทำละลายเป็น 1:12 1:16 1:20 และ 1:24 โดยมวลต่อปริมาตร ตามลำดับ

2.3 การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการสกัดเพคตินจากเปลือกแดงโม

ในการทดลองส่วนนี้ ขั้นตอนการทดลองเหมือนวิธีการทดลองข้อ 2.2 แต่เปลี่ยนอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดเป็น 75 85 และ 95 องศาเซลเซียส (ความเข้มข้นของสารละลายกรดซิตริกที่ใช้เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมตามผลการทดลองจากข้อ 2.1 และอัตราส่วนเปลือกแดงโมบดแห้งต่อปริมาตรตัวทำละลายเป็นอัตราส่วนที่เหมาะสมตามผลการทดลองข้อ 2.2)

2.4 การศึกษาเวลาที่ใช้สำหรับการสกัดเพคตินจากเปลือกแดงโม

ในการทดลองส่วนนี้ ขั้นตอนการทดลองเหมือนวิธีการทดลองข้อ 2.3 แต่เปลี่ยนเวลาที่ใช้ในการสกัดเป็น 30 60 90 และ 120 นาที ตามลำดับ (แต่ละชุดการทดลองทำซ้ำ 3 ครั้ง) โดยเมื่อทำการทดลองตามขั้นตอนการทดลองข้อ 2.1-2.4 แล้ว หลังจากนั้นนำเพคตินจากเปลือกแดงโมที่สกัดได้ไปทำการวิเคราะห์สมบัติของเพคตินได้แก่ ปริมาณความชื้น ปริมาณแก้ว น้ำหนักสมมูลของเพคติน ปริมาณกรดกาแลคทูโรนิก และระดับเอสเทอร์ฟิเคชัน โดยทำการวิเคราะห์เปรียบเทียบกับเพคตินจากเปลือกแอปเปิลทางค้าเกรด 150 (เมทอกซิลสูง) และเปรียบเทียบกับเพคตินจากเปลือกแดงโมที่สกัดด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่มีค่าพีเอช (pH) เท่ากับ 3 อัตราส่วนน้ำหนักเปลือกแดงโมต่อปริมาตรสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเท่ากับ 1 ต่อ 20 กรัมต่อมิลลิลิตร เวลาในการสกัด 1 ชั่วโมง อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส

3. การวิเคราะห์สมบัติของเพคตินจากเปลือกแดงโม

3.1 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น โดยอบด้วยกระเบื้องในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสจนน้ำหนักคงที่ หลังจากนั้นชั่งน้ำหนักตัวอย่างเพคติน 1.0 กรัม ใส่ลงในถ้วยกระเบื้องที่อบแห้งจนน้ำหนักคงที่ แล้วนำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสจนกระทั่งน้ำหนักคงที่ จากนั้นนำออกจากตู้อบแล้วไปใส่ในโถดูดความชื้นจนกระทั่งเย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง นำไปชั่งน้ำหนักที่เหลือและคำนวณปริมาณความชื้น

สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณเก่า โดยการเผาครุชชีเบลที่ 550 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทั้งให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักครุชชีเบล ชั่งตัวอย่างเพคติน 3 กรัม เเผจนหมดคว้น นำเก่าที่ได้ไปเผาค่อยในเตาเผาที่ 550 องศาเซลเซียส จนได้เก่าสีขาว ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้องในโถดูดความชื้น หลังจากนั้นนำไปชั่งน้ำหนักและคำนวณปริมาณเก่า

3.2 การวิเคราะห์น้ำหนักสมมูลของเพคติน [9] ชั่งเพคติน 0.5 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ 250 มิลลิลิตร ละลายเพคตินด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 10 มิลลิลิตร (ใช้แท่งแก้วคนให้เพคตินละลาย) หลังจากนั้นเติมโซเดียมคลอไรด์ 1 กรัม เขย่าให้โซเดียมคลอไรด์ละลายจนหมด จากนั้นนำสารละลายที่เตรียมได้ไปทำการไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล โดยใช้ฟีนอลเรดเป็นอินดิเคเตอร์ ไทเทรตจนกระทั่งสารละลายถึงจุดยุติ แล้วนำผลการทดลองที่ได้ไปคำนวณหาน้ำหนักสมมูลของเพคติน

3.3 การวิเคราะห์ปริมาณกรดกาแลคทูโรนิกด้วยเครื่องยูวีวิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ [9] ชั่งน้ำหนักเพคตินจากเปลือกแตงโม 0.5 กรัม ละลายด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.05 โมลาร์ 10 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที จากนั้นบีบอัดสารละลายเพคติน 10 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตรแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จากนั้นบีบอัดสารละลายเพคตินที่เตรียมได้ 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตร 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จากนั้นบีบอัดสารละลายใส่ในหลอดทดลอง 1 มิลลิลิตร ($n=3$) เติมสารละลายคาร์บาซอล (carbazole) 0.1 %w/v ลงในหลอดทดลอง 0.5 มิลลิลิตร จากนั้นเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 6 มิลลิลิตร เขย่าให้สารเข้ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้ 25 นาที เมื่อครบเวลาที่กำหนด นำสารละลายที่เตรียมได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร แล้วคำนวณหาปริมาณกรดกาแลคทูโรนิกโดยการเทียบกับกราฟมาตรฐาน (ความเข้มข้นของสารมาตรฐานกรดกาแลคทูโรนิกที่ใช้ในการทดลองอยู่ในช่วง 2-10 มิลลิกรัมต่อลิตร)

3.4 การวิเคราะห์ระดับเอสเทอร์ฟิเคชัน [9] ชั่งน้ำหนักเพคตินจากเปลือกแตงโม 0.5 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ แล้วเติมเอทานอล 2 มิลลิลิตร เขย่าให้สารละลายเข้ากันแล้วเติมน้ำที่ปราศจากคาร์บอนไดออกไซด์ 100 มิลลิลิตร ใช้แท่งแก้วคนให้สารละลายเข้ากัน แล้วหยดฟีนอล์ฟทาลีนลงไป 5 หยด จากนั้นนำไปไทเทรตด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.5 นอร์มอล จนสีชมพูเริ่มปรากฏ แล้วบันทึกปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการไทเทรต (V_1) จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.5 นอร์มอล ปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วเขย่าแรง ๆ ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที นำไปเติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.5 นอร์มอล ปริมาตร 10 มิลลิลิตร จากนั้นเขย่าจนกระทั่งสีชมพูจางหายไป เติมน้ำฟีนอล์ฟทาลีน 5 หยด แล้วนำไปไทเทรตด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.5 นอร์มอล จนสีชมพูเริ่มปรากฏ แล้วบันทึกปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการไทเทรต (V_2) จากนั้นคำนวณหา ระดับของเอสเทอร์ฟิเคชัน (%DE) โดยใช้สูตรการคำนวณดังนี้

$$DE (\%) = \frac{\text{ปริมาตรสุดท้ายที่ใช้ไทเทรต (มิลลิลิตร)}}{\text{ปริมาตรเริ่มต้น} + \text{ปริมาตรสุดท้ายที่ใช้ไทเทรต (มิลลิลิตร)}} \times 100$$

4. การศึกษาหมู่ฟังก์ชันทางเคมีของเพคตินจากเปลือกแตงโมด้วยเครื่องฟลูเรียร์ทรานฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรมิเตอร์ (FT-IR spectrometer, รุ่น model Nicolet 6700 ยี่ห้อ Thermo scientific) โดยใช้ภาวะการทดลองเป็น Transmission mode ทำการสแกนช่วงเลขคลื่น $400-4000 \text{ cm}^{-1}$ ที่อุณหภูมิห้อง ความละเอียด (Resolution) เท่ากับ 4

5. การวิเคราะห์สมบัติทางความร้อนของเพคตินจากเปลือกแตงโมด้วยเครื่องวิเคราะห์เชิงอุณหภูมิกความร้อน (Thermogravimetric analysis, TGA, รุ่น Netzsch, STA 449 ยี่ห้อ Jupiter) โดยใช้สภาวะการทดลองภายใต้บรรยากาศของแก๊สไนโตรเจน ที่มีอัตราการไหลเท่ากับ 50 มิลลิลิตรต่ออนาที น้ำหนักสารตัวอย่างประมาณ 6 มิลลิกรัม ช่วงอุณหภูมิตั้งแต่ 25 ถึง 600 องศาเซลเซียส อัตราการเพิ่มความร้อน (heating rate) เท่ากับ 5 องศาเซลเซียสต่ออนาที

ผลการวิจัย

เปลือกแตงโมสดที่ใช้ในการทดลองแสดงดังภาพที่ 1 (ก) เปลือกแตงโมที่ปั่นละเอียดแสดงดังภาพที่ 1 (ข) สำหรับเปลือกแตงโมที่ผ่านการอบแห้งแล้วมีลักษณะเป็นผงละเอียดสีเหลืองอ่อน ดังภาพที่ 1 (ค) จากผลการทดลองได้ผลผลิตของเปลือกแตงโมแห้งเท่ากับ 12.5 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 1 เปลือกแตงโม (ก) เปลือกแตงโมที่ปั่นละเอียด (ข) เปลือกแตงโมที่อบแห้ง (ค)

1. ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดเพคตินจากเปลือกแตงโมด้วยกรดอินทรีย์

1.1 ผลของความเข้มข้นสารละลายกรดซิตริกต่อการสกัดเพคตินจากเปลือกแตงโม

เมื่อใช้ความเข้มข้นของสารละลายกรดซิตริกเท่ากับ 0.025 0.05 0.1 และ 0.25 โมลาร์ พบว่าเมื่อความเข้มข้นของสารละลายกรดซิตริกเพิ่มมากขึ้น แวนโน้มของปริมาณผลผลิตจะมีแวนโน้มเพิ่มมากขึ้น เมื่อพิจารณาปริมาณกรดกาแลคทูโรนิกและระดับเอสเทอร์ฟิเคชัน พบว่าการสกัดโดยใช้ความเข้มข้นของสารละลายกรดซิตริกเท่ากับ 0.025 โมลาร์ทำให้ได้ร้อยละของปริมาณกรดกาแลคทูโรนิกและระดับเอสเทอร์ฟิเคชันมากที่สุด โดยค่าที่ได้มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเลือกการสกัดเพคตินจากเปลือกแตงโมที่ความเข้มข้นของสารละลายกรดซิตริกเท่ากับ 0.025 โมลาร์เนื่องจากเป็นความเข้มข้นของสารละลายกรดซิตริกที่สามารถสกัดเพคตินจากเปลือกแตงโมแล้วให้ปริมาณผลผลิตที่สูงและเพคตินจากเปลือกแตงโมที่สกัดได้มีปริมาณกรดกาแลคทูโรนิกและระดับเอสเทอร์ฟิเคชันมากที่สุด

1.2 ผลของอัตราส่วนน้ำหนักเปลือกแตงโมต่อปริมาตรตัวทำละลาย

เมื่อใช้อัตราส่วนน้ำหนักเปลือกแตงโมต่อปริมาตรตัวทำละลายเท่ากับ 1:12 1:16 1:20 และ 1:24 กรัมต่อมิลลิลิตร ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 2 เมื่อพิจารณาระดับเอสเทอร์ฟิเคชันและกรดกาแลคทูโรนิกของเพคตินจากเปลือกแตงโมที่สกัดด้วยอัตราส่วนต่าง ๆ พบว่าค่าที่ได้มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 1 ผลการสกัดเพคตินจากเปลือกแตงโมด้วยสารละลายกรดซิตริกที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้น สารละลายกรดซิตริก (โมลาร์)	ปริมาณผลผลิต (ร้อยละ)	ระดับการเกิด เอสเทอร์ฟิเคชัน (ร้อยละ)	กรดกาแลคทูโรนิก (mg/g) (ร้อยละ)
0.025	21.10 $\pm$ 0.17 ^a	64.14 $\pm$ 0.13 ^d	61.72 $\pm$ 0.19 ^d
0.05	27.89 $\pm$ 0.08 ^b	31.96 $\pm$ 0.09 ^c	56.88 $\pm$ 0.10 ^c
0.1	33.18 $\pm$ 0.17 ^c	27.27 $\pm$ 0.21 ^b	55.92 $\pm$ 0.08 ^b
0.25	44.78 $\pm$ 0.13 ^d	15.19 $\pm$ 0.16 ^a	45.77 $\pm$ 0.05 ^a

หมายเหตุ อักษร abcd ที่แตกต่างกันในแนวดังแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 2 ผลการสกัดเพคตินจากเปลือกแตงโมด้วยอัตราส่วนน้ำหนักรตต่อปริมาตรตัวทำละลายที่แตกต่างกัน

อัตราส่วนน้ำหนักเปลือก แตงโมต่อปริมาตรตัวทำ ละลาย (กรัมต่อมิลลิลิตร)	ปริมาณผลผลิต (ร้อยละ)	ระดับการเกิด เอสเทอร์ฟิเคชัน (ร้อยละ)	กรดกาแลคทูโรนิก (mg/g) (ร้อยละ)
1 ต่อ 12	15.06±0.03 ^a	58.06±0.04 ^d	57.87±0.10 ^d
1 ต่อ 16	15.31±0.11 ^a	53.67±0.11 ^c	56.75±0.11 ^c
1 ต่อ 20	16.34±0.06 ^b	44.03±0.11 ^b	55.43±0.07 ^b
1 ต่อ 24	16.62±0.08 ^b	40.00±0.03 ^a	52.37±0.07 ^a

หมายเหตุ อักษร abcd ที่แตกต่างกันในแนวดังแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

1.3 ผลของอุณหภูมิที่ใช้สำหรับการสกัดเพคตินจากเปลือกแตงโม

เมื่อใช้อุณหภูมิในการสกัดเท่ากับ 75 85 และ 95 องศาเซลเซียส จากการทดลองพบว่าเมื่ออุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดเพิ่มขึ้น แนวโน้มของปริมาณผลผลิต ระดับเอสเทอร์ฟิเคชันและปริมาณกรดกาแลคทูโรนิกจะมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น เมื่อพิจารณาปริมาณผลผลิต กรดกาแลคทูโรนิกและระดับเอสเทอร์ฟิเคชันพบว่าการสกัดโดยใช้อุณหภูมิในการสกัดเท่ากับ 95 องศาเซลเซียส จะได้ปริมาณผลผลิต กรดกาแลคทูโรนิกและระดับเอสเทอร์ฟิเคชันมากที่สุด โดยค่าที่ได้มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงใช้เลือกการสกัดเพคตินจากเปลือกแตงโมที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เนื่องจากเป็นอุณหภูมิที่สามารถสกัดเพคตินจากเปลือกแตงโมแล้วให้ร้อยละผลผลิต กรดกาแลคทูโรนิกและระดับเอสเทอร์ฟิเคชันที่มากที่สุด

ตารางที่ 3 ผลการสกัดเพคตินจากเปลือกแตงโมด้วยอุณหภูมิที่แตกต่างกัน

อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด (องศาเซลเซียส)	ปริมาณผลผลิต (ร้อยละ)	ระดับการเกิด เอสเทอร์ฟิเคชัน (ร้อยละ)	กรดกาแลคทูโรนิก (mg/g) (ร้อยละ)
75	11.75±0.12 ^a	52.25±0.12 ^a	66.19±0.07 ^a
85	14.17±0.10 ^b	52.98±0.06 ^b	70.85±0.10 ^b
95	16.46±0.09 ^c	56.95±0.06 ^c	74.20±0.16 ^c

หมายเหตุ อักษร abc ที่แตกต่างกันในแนวดังแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

1.4 ผลของเวลาที่ใช้ในการสกัดเพคตินจากเปลือกแตงโม

จากผลการทดลองเมื่ออุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด 30 60 90 และ 120 นาที พบว่าปริมาณผลผลิตมากที่สุดเมื่อใช้เวลานการสกัด 90 นาที แต่มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญกับการใช้เวลาในการสกัด 30 นาที และเมื่อพิจารณา ระดับเอสเทอร์ฟิเคชันและปริมาณกรดกาแลคทูโรนิก พบว่าที่เวลาในการสกัด 60 และ 90 นาที มีค่าใกล้เคียงกัน

และไม่แตกต่างกันมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกเวลา 60 นาที เป็นเวลาที่เหมาะสมในการสกัดเพื่อเป็นการประหยัดเวลาในการสกัด

ตารางที่ 4 ผลการสกัดเพคตินจากเปลือกแตงโมด้วยอุณหภูมิที่แตกต่างกัน

เวลาที่ใช้ในการสกัด (นาที)	ผลผลิต (ร้อยละ)	ระดับเอสเทอร์ฟิเคชัน (ร้อยละ)	กรดกาแลคทูโรนิก (mg/g) (ร้อยละ)
30	12.64±0.07 ^b	61.53±0.12 ^a	56.29±0.09 ^a
60	13.21±0.08 ^c	62.18±0.15 ^c	68.03±0.07 ^c
90	14.22±0.13 ^c	62.89±0.05 ^c	68.35±0.08 ^c
120	11.14±0.12 ^a	61.91±0.18 ^b	61.41±0.06 ^b

หมายเหตุ อักษร abc ที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

2. ผลการศึกษาสมบัติของเพคตินจากเปลือกแตงโม

เมื่อทำการสกัดเพคตินจากเปลือกแตงโมด้วยกรดซิตริกภายใต้สภาวะที่เหมาะสมและทำการวิเคราะห์สมบัติที่สำคัญของเพคตินที่สกัดได้เปรียบเทียบกับเพคตินจากเปลือกแตงโมที่สกัดด้วยกรดไฮโดรคลอริกและเพคตินจากเปลือกแอปเปิลทางการค้า ตามข้อกำหนดของ The Joint/WHO Expert Committee on Food Additive (JECFA) ได้ผลดังตารางที่ 5 จากผลการวิเคราะห์พบว่า ปริมาณผลผลิตของเพคตินที่สกัดด้วยกรดซิตริกมีค่าน้อยกว่าเพคตินที่สกัดด้วยกรดไฮโดรคลอริก โดยค่าที่ได้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แต่เมื่อพิจารณาปริมาณความเถ้า ปริมาณเมทอกซิล ปริมาณกรดกาแลคทูโรนิกและระดับเอสเทอร์ฟิเคชันแล้วพบว่าสมบัติของเพคตินจากเปลือกแตงโมที่สกัดด้วยกรดซิตริกมีค่าใกล้เคียงกับเพคตินจากเปลือกแตงโมที่สกัดด้วยกรดไฮโดรคลอริกและเพคตินทางการค้าจากเปลือกแอปเปิลทางการค้า โดยค่าที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นการสกัดเพคตินจากเปลือกแตงโมด้วยกรดซิตริกซึ่งเป็นตัวทำละลายที่ปลอดภัยและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับการสกัดเพคตินจากเปลือกแตงโม

ตารางที่ 5 คุณสมบัติของเพคตินจากเปลือกแตงโมและเพคตินทางการค้าจากเปลือกแอปเปิล

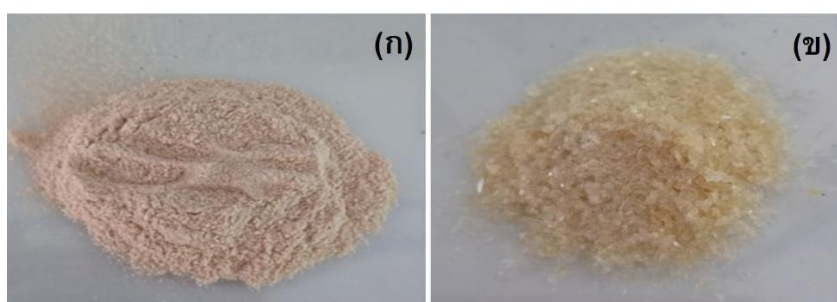
คุณสมบัติ (Characteristics)	เพคตินจาก เปลือกแตงโม (สกัดด้วยกรดซิตริก)	เพคตินจาก เปลือกแตงโม (สกัด ด้วยกรดไฮโดรคลอริก)	เพคตินทางการค้า จากเปลือกแอปเปิล
1. ความชื้น (%moisture)	5.38 ± 0.14	4.48±0.18	4.26 ± 0.25
2. ปริมาณเถ้า (%ash)	3.21 ± 0.18	3.68±0.15	3.59 ± 0.24
3. ปริมาณกรดกาแลคทูโรนิก (galacturonic acid, %)	68.03 ± 1.02	67.69±0.45	69.89 ± 1.26

4. ปริมาณเมทอกซิล (%methoxyl)	6.86 $\pm$ 0.11	6.12 $\pm$ 0.16	5.08 $\pm$ 0.16
5. ระดับเอสเทอร์ฟิเคชัน (%DE)	62.18 $\pm$ 0.88	63.00 $\pm$ 0.26	64.60 $\pm$ 1.23
6. ปริมาณผลผลิต (%yield)	13.71 $\pm$ 0.49 ^a	19.39 $\pm$ 0.74 ^a	-

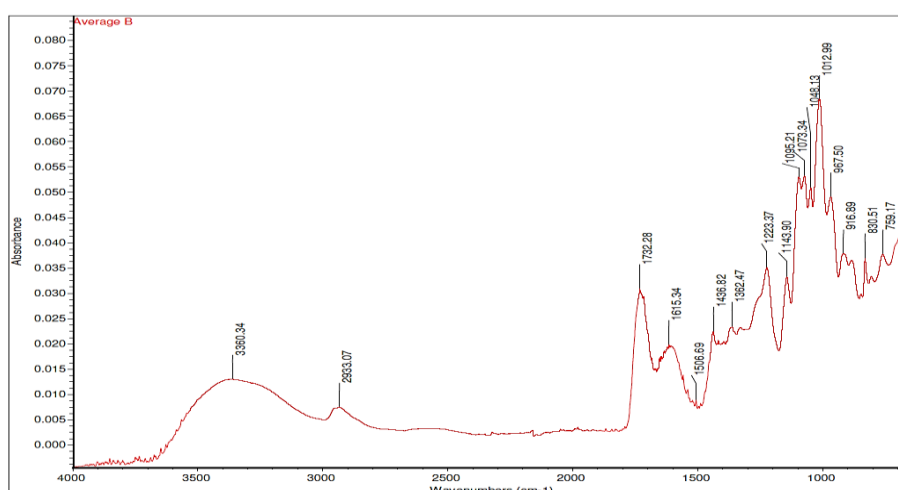
หมายเหตุ อักษร a แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

3. ผลการศึกษาโครงสร้างทางเคมีของเพคตินจากเปลือกแดงไม้ด้วยเครื่องฟลูอริเยร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรมิเตอร์

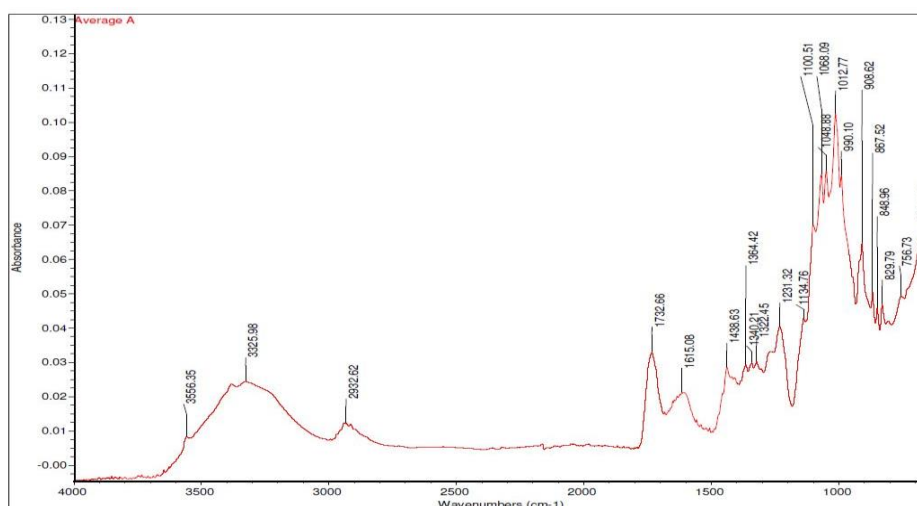
ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาหมู่ฟังก์ชันทางเคมีของเพคตินทางการค้าจากแอปเปิล (ภาพที่ 2 ก) และเพคตินจากเปลือกแดงไม้ (ภาพที่ 2 ข) ด้วยเครื่องฟลูอริเยร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรมิเตอร์ (FT-IR) ผลการวิเคราะห์แสดง IR spectrum ดังภาพที่ 3 และภาพที่ 4



ภาพที่ 2 เพคตินทางการค้าจากเปลือกแอปเปิล (ก) เพคตินจากเปลือกแดงไม้ (ข)



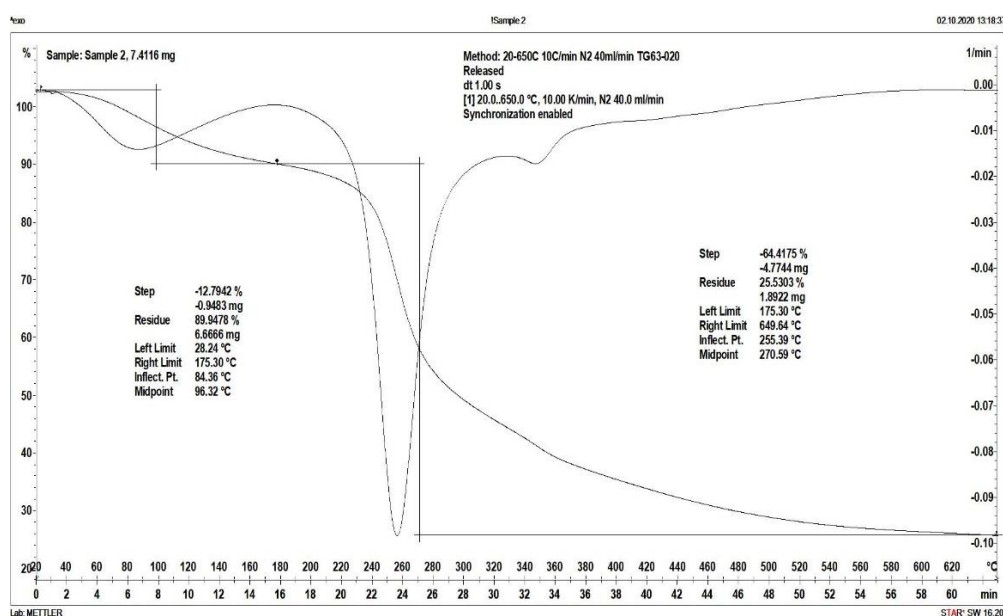
ภาพที่ 3 IR spectrum ของเพคตินจากเปลือกแดงไม้



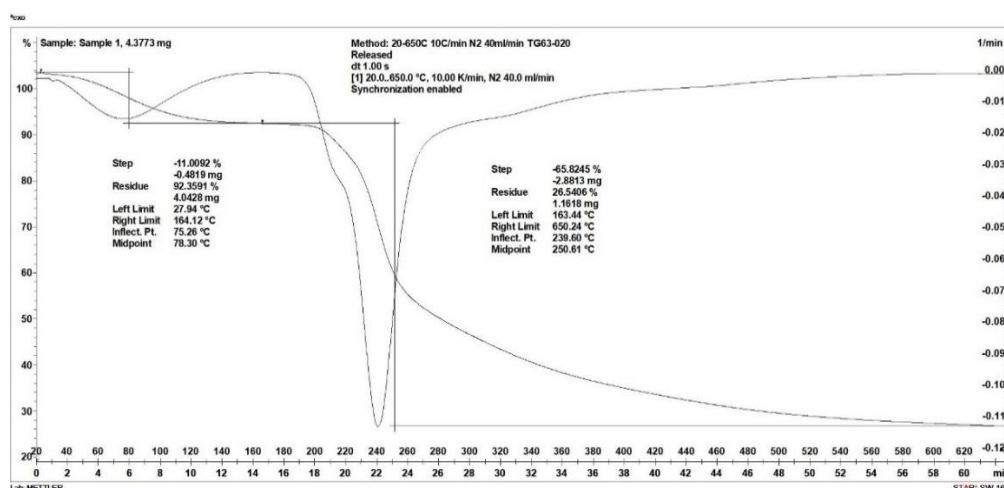
ภาพที่ 4 IR spectrum ของเพคตินจากการคั่วจากเปลือกแอปเปิล

4. ผลการวิเคราะห์สมบัติทางความร้อนของเพคตินจากเปลือกแตงโมด้วยการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของสารโดยอาศัยคุณสมบัติทางความร้อน (Thermogravimetric analysis, TGA)

ในงานวิจัยนี้ได้วิเคราะห์สมบัติทางความร้อนของเพคตินจากเปลือกแตงโมและเพคตินจากการคั่วจากเปลือกแอปเปิลด้วยการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของสารโดยอาศัยคุณสมบัติทางความร้อน ผลการวิเคราะห์แสดง TG curve ดังภาพที่ 5 และภาพที่ 6



ภาพที่ 5 TG curve ของเพคตินจากเปลือกแตงโม (น้ำหนักตัวอย่าง 6 มิลลิกรัม ใส่ใน Pt crucible, heating rate 5 °C/min) ภายใต้บรรยากาศ N₂



ภาพที่ 6 TG curve ของเพคตินจากการค้าจากแอปเปิล (น้ำหนักตัวอย่าง 6 มิลลิกรัม ใส่ใน Pt crucible, heating rate 5 °C/min) ภายใต้บรรยากาศ N₂

สรุปและอภิปรายผล

จากผลการทดลองเมื่อความเข้มข้นของสารละลายกรดซिटริกเพิ่มมากขึ้น แนวโน้มของร้อยละผลผลิตจะมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น (ตารางที่ 1) ทั้งนี้เนื่องจากเมื่อความเข้มข้นของสารละลายกรดซिटริกมากขึ้น จะมีปริมาณของกรดซिटริกที่เพียงพอสำหรับการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (hydrolysis reaction) ซึ่งการเกิดปฏิกิริยาจะมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรโตเพคตินในเปลือกแดงไม่ไปเป็นเพคตินโดยเมื่อความเข้มข้นของสารละลายกรดซिटริกมีความเข้มข้นสูง ปริมาณไฮโดรเจนไอออน (H⁺) ที่มีอยู่ในระบบสูง การเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสมากขึ้นเป็นผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสารประกอบเพคตินที่ไม่ละลายน้ำเช่น โปรโตเพคติน (protopectin) และแคลเซียมเพคเตอเนต (calcium pectinate) ให้อยู่ในรูปที่ละลายน้ำได้มีผลทำให้ปริมาณเพคตินที่สกัดได้มีปริมาณสูง [10]

เมื่อพิจารณาระดับเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคตินจากเปลือกแดงไม่ที่สกัดด้วยสารละลายกรดซिटริกที่มีความเข้มข้น 0.025 0.05 0.1 และ 0.25 โมลาร์ (ตารางที่ 1) พบว่ามีระดับเอสเทอร์ฟิเคชันที่แตกต่างกันโดยระดับเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคตินเป็นค่าที่บ่งบอกถึงคุณสมบัติการเกิดเจล(gelation) ซึ่งเพคตินชนิดเมทอกซิลสูง(high methoxyl pectin) มีค่าระดับเอสเทอร์ฟิเคชันมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ จะมีคุณสมบัติทำให้เกิดเจลได้ดี ส่วนเพคตินชนิดเมทอกซิลต่ำ (low methoxyl pectin) เป็นเพคตินที่มีค่าระดับเอสเทอร์ฟิเคชันน้อยกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ มีคุณสมบัติการเกิดเจลได้ดีที่อุณหภูมิห้องแต่ต้องมีการเติมโลหะบางชนิดเข้าช่วยเช่น แคลเซียมไอออน (Ca²⁺) และต้องเติมในปริมาณที่เพียงพอจึงทำให้เกิดเจลได้ [11] โดยการผลิตเพคตินทางค้าหรือระดับอุตสาหกรรมนั้นต้องการเพคตินที่มีระดับเอสเทอร์ฟิเคชันที่มีค่าสูง

สำหรับปริมาณกาแลคทูโรนิกของเพคตินจากเปลือกแดงไม่ เป็นค่าที่บ่งชี้ถึงความบริสุทธิ์ของเพคตินที่สกัดได้จากการทดลองพบว่าเพคตินจากเปลือกแดงไม่ที่สกัดด้วยสารละลายกรดซिटริกที่มีความเข้มข้น 0.025 0.05 0.1 และ 0.25 โมลาร์ (ตารางที่ 1) ได้ปริมาณกรดกาแลคทูโรนิกที่แตกต่างกัน โดยเมื่อทำการสกัดเพคตินจากเปลือกแดงไม่ด้วยสารละลายกรดซिटริกที่มีความเข้มข้นมาก ปริมาณกรดกาแลคทูโรนิกที่มีในเพคตินที่สกัดได้จะมีปริมาณลดลง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากความเข้มข้นของสารละลายกรดซिटริกที่มากเกินไป ทำให้องค์ประกอบอื่น ๆ เช่น เฮมิเซลลูโลส

และน้ำตาลอื่น ๆ ที่มีอยู่ในเปลือกแดงโมถูกสกัดออกมาเพิ่มขึ้นด้วยทำให้เพคตินจากเปลือกแดงโมที่สกัดได้มีความบริสุทธิ์ที่น้อยลง [12] ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้ความเข้มข้นสารละลายกรดซัลฟิวริกเท่ากับ 0.025 โมลาร์เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับการสกัดเพคตินจากเปลือกแดงโม เนื่องจากเป็นความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟิวริกที่สามารถสกัดเพคตินจากเปลือกแดงโมแล้วให้ร้อยละผลผลิตที่สูงและมีปริมาณกรดกาแลคทูโรนิกและระดับเอสเทอร์ฟิเคชันมากที่สุด

เมื่อใช้อัตราส่วนน้ำหนักเปลือกแดงโมต่อปริมาตรตัวทำละลายเท่ากับ 1:12 1:16 1:20 และ 1:24 กรัมต่อมิลลิลิตร ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 2 เมื่อพิจารณาในระดับเอสเทอร์ฟิเคชันและกรดกาแลคทูโรนิกของเพคตินจากเปลือกแดงโมที่สกัดด้วยอัตราส่วนต่าง ๆ พบว่าค่าที่ได้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเลือกการสกัดเพคตินจากเปลือกแดงโมโดยใช้อัตราส่วนน้ำหนักเปลือกแดงโมต่อปริมาตรตัวทำละลายเท่ากับ 1:12 เนื่องจากเป็นอัตราส่วนน้ำหนักเปลือกแดงโมต่อปริมาตรตัวทำละลายที่ทำให้ได้เพคตินที่มีระดับเอสเทอร์ฟิเคชันและกรดกาแลคทูโรนิกมากที่สุด

สำหรับผลของอุณหภูมิที่มีต่อการสกัดเพคตินจากเปลือกแดงโม จากผลการทดลอง (ตารางที่ 3) พบว่าเมื่อใช้อุณหภูมิในการสกัดเพิ่มมากขึ้น ร้อยละของผลผลิตที่ได้จากการสกัดจะเพิ่มมากขึ้นด้วย ทั้งนี้เนื่องจากการสกัดเพคตินเกิดขึ้นโดยตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดแพร่เข้าไปในเนื้อเยื่อของเปลือกแดงโม แล้วเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของโมเลกุลเพคติน หลังจากนั้นโมเลกุลเพคตินเคลื่อนที่แพร่ออกจากเนื้อเยื่อเปลือกแดงโมสู่ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด โดยเมื่อทำการสกัดเพคตินจากเปลือกแดงโมที่อุณหภูมิสูงจะมีผลทำให้ค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ (diffusion coefficient) ของเพคตินในเปลือกแดงโมมีค่าสูงขึ้น ทำให้สามารถเกิดการสกัดเพคตินออกจากเปลือกแดงโมได้มากขึ้น ในขณะที่เมื่อทำการสกัดที่อุณหภูมิต่ำ ค่าสัมประสิทธิ์การแพร่จะมีค่าน้อยทำให้เกิดการสกัดเพคตินออกจากเปลือกแดงโมได้น้อย ร้อยละผลผลิตที่สกัดได้จึงมีค่าต่ำ นอกจากนี้เมื่อพิจารณาระดับเอสเทอร์ฟิเคชันและปริมาณกรดกาแลคทูโรนิกของเพคตินจากเปลือกแดงโมเมื่อใช้อุณหภูมิในการสกัดเท่ากับ 95 องศาเซลเซียส พบว่ามีระดับเอสเทอร์ฟิเคชันและมีปริมาณกรดกาแลคทูโรนิกมากที่สุด ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการสกัดเพคตินจากเปลือกแดงโมที่ 95 องศาเซลเซียส เนื่องจากเป็นอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดแล้วให้ระดับเอสเทอร์ฟิเคชันและปริมาณกรดกาแลคทูโรนิกมากที่สุด

จากผลการทดลองเมื่อเวลาที่ใช้ในการสกัดเท่ากับ 30 60 90 และ 120 นาที (ตารางที่ 4) พบว่าเมื่อใช้เวลาในการสกัดเพิ่มมากขึ้นจะได้ร้อยละผลผลิตของเพคตินเพิ่มมากขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากการสกัดเพคตินเกิดขึ้นโดยตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดแพร่เข้าไปในเนื้อเยื่อของเปลือกแดงโม แล้วเกิดการไฮโดรไลซิสโมเลกุลเพคติน หลังจากนั้นโมเลกุลเพคตินเคลื่อนที่แพร่ออกจากเนื้อเยื่อเปลือกแดงโมสู่ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด โดยการแพร่ของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดเข้าสู่เนื้อเยื่อและการแพร่ของโมเลกุลเพคตินออกจากเนื้อเยื่อนั้นมีความสัมพันธ์กับเวลา โดยผลการทดลองที่ได้จากงานวิจัยนี้มีความสอดคล้องกับรายงานการวิจัยเกี่ยวกับการสกัดเพคตินจากเปลือกส้ม ซึ่งรายงานการวิจัยว่าเมื่อเวลาในการสกัดเพิ่มมากขึ้น ร้อยละผลผลิตจะค่อย ๆ เพิ่มขึ้น จนกระทั่งถึงช่วงเวลาหนึ่งแล้วร้อยละของผลผลิตจะลดลง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเกิดการสลายตัวทางความร้อน (Thermal degradation) ของสารสกัดบางส่วน [12] ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้เวลาในการสกัดเท่ากับ 60 นาทีเป็นเวลาที่เหมาะสมสำหรับการสกัดเพคตินจากเปลือกแดงโม เนื่องจากเพคตินที่สกัดได้มีร้อยละผลผลิตที่สูงและเวลาที่ใช้ในการสกัดไม่นานจนเกินไปเพื่อเป็นการประหยัดเวลาและพลังงานที่ใช้ในกระบวนการสกัด

เมื่อทำการสกัดเพคตินจากเปลือกแฉะโมด้วยกรดซิดริกภายใต้สภาวะที่เหมาะสมและทำการวิเคราะห์คุณสมบัติของเพคตินที่สกัดได้ พบว่าเพคตินจากเปลือกแฉะโมที่สกัดได้มีร้อยละความชื้น 5.38 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณแฉะ 3.21 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณกรดกาแลคทูโรนิก 68.03 เปอร์เซ็นต์ และระดับเอสเทอร์ฟิเคชัน 62.18 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 5) โดยคุณสมบัติของเพคตินจากเปลือกแฉะโมมีความใกล้เคียงกับเพคตินที่สกัดด้วยกรดไฮโดรคลอริกและเพคตินทางการค้า เมื่อพิจารณาระดับเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคตินจากเปลือกแฉะโมที่สกัดด้วยกรดซิดริก พบว่ามีระดับเอสเทอร์ฟิเคชันมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ จัดเป็นเพคตินชนิดเมทอกซิลสูง (high methoxyl pectin) ซึ่งมีคุณสมบัติในการเกิดเจลได้ดี สามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นสารก่อเจลในอาหารประเภทต่าง ๆ ได้

จากการศึกษาหมู่ฟังก์ชันทางเคมีของเพคตินจากเปลือกแฉะโม พบว่าลักษณะสเปกตรัม (FT-IR spectrum) ของเพคตินจากเปลือกแฉะโม (ภาพที่ 3) มีความสอดคล้องกับสเปกตรัมของเพคตินจากแอปเปิลทางการค้า (ภาพที่ 4) โดยมีแถบสเปกตรัมที่กว้าง (broad band spectrum) ที่เลขคลื่น $3400-3600\text{ cm}^{-1}$ ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของพีก (characteristic peak) ของสารประกอบพอลิไฮดรอกซิล (polyhydroxy compound) โดยแถบสเปกตรัมนี้บ่งบอกถึงหมู่ฟังก์ชันไฮดรอกซิล (-OH) ส่วนพีกที่เลขคลื่น 2932 cm^{-1} เป็นพีกที่บ่งบอกถึงหมู่ฟังก์ชันที่เป็น -CH, -CH₂ และ CH₃ stretching ของ galacturonic acid methyl esters สำหรับพีกที่เลขคลื่น 1732 cm^{-1} เป็นพีกที่บ่งบอกถึงหมู่ฟังก์ชันคาร์บอนิล (C=O) ที่พบในเอสเทอร์และอนุพันธ์ของหมู่ฟังก์ชันอะซิetyl (acetyl, COCH₃ group) ในส่วนของพีกที่เลขคลื่น $1340-1438\text{ cm}^{-1}$ เป็นพีกที่บ่งบอกถึงหมู่เมทิล (-CH₃ group) และแถบสเปกตรัมที่เลขคลื่น $1012-1100\text{ cm}^{-1}$ เป็นของพันธะที่เกิดจาก C-O bending หรือ stretching โดยผลการวิเคราะห์ที่ได้จากงานวิจัยนี้มีความสอดคล้องกับรายงานการวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับคุณลักษณะของเพคตินจากเปลือกผลไม้ [13]

จากการศึกษาสมบัติทางความร้อนและการสูญเสียน้ำหนักที่อุณหภูมิเปลี่ยนแปลงไปด้วยเทคนิค TGA ของเพคตินจากเปลือกแฉะโมพบว่า TGA thermogram ของเพคตินจากเปลือกแฉะโม (ภาพที่ 5) มีความสอดคล้องกับเพคตินจากเปลือกแอปเปิลทางการค้า (ภาพที่ 6) โดยมีการลดลงของน้ำหนัก 3 ขั้นตอน ขั้นตอนแรกที่อุณหภูมิ 50-190 องศาเซลเซียส (°C) เป็นการสูญเสียน้ำหนักของความชื้นและสารที่มีโมเลกุลขนาดเล็กที่ได้การสกัด ขั้นตอนที่อุณหภูมิ 190-400 องศาเซลเซียสเป็นการสูญเสียน้ำหนักของพอลิแซ็กคาไรด์ และที่อุณหภูมิ 400-650 องศาเซลเซียสเป็นการสูญเสียน้ำหนักของสายโซ่หลักของเพคติน ส่วนค่า DTG_{max} (maximum decomposition rate) ของเพคตินจากเปลือกแฉะโมมีค่าเท่ากับ 255 องศาเซลเซียส โดยมีรายงานการวิจัยเกี่ยวกับการศึกษาคูณลักษณะของเพคตินจากเปลือกผลไม้ที่ได้รายงานผลการวิจัยว่าเพคตินจากเปลือกเมล่อน เปลือกกีวี เปลือกแอปเปิล และเปลือกส้ม มีค่า DTG_{max} เท่ากับ 210 234 249 และ 236 องศาเซลเซียสตามลำดับ ซึ่งเพคตินที่สกัดได้จากเปลือกผลไม้แต่ละชนิดจะมีคุณสมบัติทางความร้อนและความเสถียรต่อความร้อนที่แตกต่างกัน [13] โดยเพคตินจากเปลือกแฉะโมที่ได้จากงานวิจัยนี้มีความเสถียรต่อความร้อนสูง (high thermal stability) จึงสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและสามารถใช้เป็นสารเติมแต่ง (food additive) ในผลิตภัณฑ์อาหารที่ต้องผ่านกรรมวิธีการปรุงที่ใช้ความร้อนสูงได้ เช่น แค็ก ลูกก๊ี้ ขนมอบ และขนมอบ [14] โดย Min และคณะ [15] ได้รายงานการวิจัยเกี่ยวกับการใช้เพคตินจากแอปเปิลเป็นสารทดแทนไขมัน (fat replacer) ในผลิตภัณฑ์ลูกก๊ี้ โดยใช้เพคตินทดแทนเนยขาว (shortening) ในอัตราส่วนที่ต่างกันแล้วพบว่าเมื่อใช้เพคตินจากแอปเปิลในสัดส่วนที่เพิ่มมากขึ้นทำให้ผลิตภัณฑ์ลูกก๊ี้มีความกรอบ เนื้อสัมผัสแข็งมากขึ้น และทำให้เนื้อลูกก๊ี้มีความหนาแน่นเพิ่มขึ้นนอกจากนี้ยังเป็นการเพิ่มใยอาหารให้กับลูกก๊ี้อีกด้วย

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณรายได้ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ ด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ปีงบประมาณ 2563 และได้รับการสนับสนุนด้านเครื่องมือวิทยาศาสตร์จากสาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ

เอกสารอ้างอิง

- [1] Sittidilokratna, C., Vaithanomsat, P., Chaugoo, J., and Siriacha, P. (2005). Production of pectin from orange peel and pomace. In *Proceedings of 43rd Kasetsart University Annual Conference: Animals, Agro-Industry*. pp. 469-480. Bangkok (Thailand): The Thailand Research Fund, Bangkok (Thailand).
- [2] Emaga, T. H., Ronkart, S. N., Robert, C., Wathelet, B., and Paquot, M. (2008). Characterization of pectins extracted from banana peels (*Musa AAA*) under different conditions using an experimental design. *Food chemistry*, 108, 463-471.
- [3] Methacanon, P., Kongsin, J., and Gamonpilas, C. (2014). Pomelo (*Citrus maxima*) pectin: Effect of extraction parameters and its properties. *Food Hydrocolloids*, 35, 383-391.
- [4] Kermani, J. Z., Shpigelman, A., Pham, H., Loey, A., and Hendrickx, E. M. (2015). Functional properties of citric acid extracted mango peel pectin as related to its chemical structure. *Food Hydrocolloids*, 44, 424-434.
- [5] Guo, X., Meng, H., Zhu, S., Tang, Q., Pan, R., and Yu, S. (2016). Stepwise ethanolic precipitation of sugar beet pectins from the acidic extract. *Carbohydrate Polymers*, 136, 316-321.
- [6] Maric, M., Grassino, A., Zhu, Z., Barba, F., Brncic, M., and Brncic, S. (2018). An overview of the traditional and innovative approaches for pectin extraction from plant food wastes and by-products: Ultrasound-, microwaves-, and enzyme-assisted extraction. *Trends in Food Science and Technology*, 76, 28-37.
- [7] Dranca, F., and Oroian, M. (2018). Extraction, purification and characterization of pectin from alternative sources with potential technological applications. *Food Research International*, 113, 327-350.
- [8] Cho, E., Jung, H., Lee, B., Kim, H., Rhee, J., and Yoo, S. (2019). Green process development for apple-peel pectin production by organic acid extraction. *Carbohydrate Polymers*, 204, 97-103.
- [9] Thiangphet, P., Bumee, R., and Aunsamai, P. (2013). The optimal conditions for extraction of pectin from pomelo peel by hydrochloric acid. In *Proceedings of 3rd Kamphaengphet Rajabhat University*. pp. 339-346. Kamphaengphet (Thailand): Kamphaengphet Rajabhat University.
- [10] Liew, S., Chin, N., and Yusof, Y. (2014). Extraction and characterization of pectin from passion fruit peels. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 2, 231-236.
- [11] Dranca, F., and Oroian, M. (2018). Extraction, Purification and characterization of pectin from alternative sources with potential technological applications. *Food Research International*, 113, 327-350.
- [12] Devi, E. (2014). Extraction of pectin from citrus fruit peel and its utilization in preparation of jelly. *International Journal of Engineering Research and Technology*, 3(5), 1925-1932.
- [13] Guzel, M., and Akpinar, O. (2019). Valorization of fruit by-products: Production characterization of pectins from fruit peel. *Food and Bioprocess Processing*, 115, 126-133.

- [14] Wang, M., Huang, B., Fan, C., Zhao, K., Hu, H., Xu, X., Pan, S., and Liu, F. (2016). Characterization and functional properties of mango peel pectin extracted by ultrasound assisted citric acid. *International Journal of Biological Macromolecules*, 91, 794-803.
- [15] Min, B., Bae, I., Lee, H., Yoo, S., and Leea, S. (2010). Utilization of pectin-enriched materials from apple pomace as a fat replacer in a model food system. *Bioresource technology*, 101(14), 5414-5418.