Srinakharinwirot University Journal of Sciences and Technology

Volume 18, Issue 1, January - June 2026, Pages 1 – 18 ISSN 2985-2641 (Online)



Research Article

อิทธิพลของตัวทำละลายและระยะเวลาการสกัดโพลิแซคคาไรด์จากเปลือกผลโกโก้: การสกัดด้วยน้ำ และการสกัดด้วยสารละลายกรดซิตริก

Effect of Solvent and Time on Polysaccharides Extraction from Cocoa Pod Husk: Water vs. Citric Acid Extraction

ณัฐณิรินทร์ บูรณะสระกวี*, เนาวพันธ์ ดลรุ้ง, ทองกร พลอยเพชรา, วราภรณ์ ศรเดช*

Natnirin Booranasakawee*, Nowwapan Donrung, Thongkorn Ploypetchara, Waraporn Sorndet*

ศูนย์เชี่ยวชาญนวัตกรรมอาหารสุขภาพ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

Expert Centre of Innovative Health Food, Thailand Institute of Scientific and Technological Research.

**Corresponding author, e-mail: krittalak.p@gmail.com*

Received: *1 October 2025;* ***Revised:*** *16 June 2026;* ***Accepted:*** *17 June 2026*

บทคัดย่อ

การศึกษานี้เพื่อเปรียบเทียบการสกัดโพลิแซคคาไรด์จากเปลือกผลโกโก้ (Theobroma cacao L.) โดยการสกัดด้วยน้ำ RO และสารละลายกรดซิตริกที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง 4.0 และผลของระยะเวลาการสกัดต่อปริมาณผลผลิต คุณสมบัติทางเคมี และองค์ประกอบเชิงโครงสร้างของสารสกัดที่ได้จากสภาวะที่เหมาะสม พบว่าเปลือกผลโกโก้มีปริมาณใยอาหารสูงถึงร้อยละ 64.02 โดยมีเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินร้อยละ 34.93, 35.46 และ 27.93 ตามลำดับ การสกัดด้วยน้ำให้ปริมาณโพลิแซคคาไรด์ 82–93 มิลลิกรัมกลูโคส/กรัม และผลผลิตคิดเป็นร้อยละ 12.17–13.00 ในขณะที่การสกัดด้วยสารละลายกรดซิตริกให้ปริมาณโพลิแซคคาไรด์สูงกว่า และผลผลิตคิดเป็นร้อยละ 13.93–17.17 การสกัดด้วยสารละลายกรดซิตริกที่ pH 4.0 นาน 2 ชั่วโมง เหมาะสมในการเตรียมสารสกัดโพลิแซคคาไรด์คุณภาพสูงจากเปลือกผลโกโก้ ซึ่งผลการวิเคราะห์ FTIR และ ^{13}C-NMR ยืนยันว่าโพลิแซคคาไรด์ที่ได้เป็นเพคตินชนิดโฮโมกาแลคทูโรแนน มีค่าเมทิลเอสเทอริฟิเคชันต่ำเหมาะสมต่อการเกิดเจลในระบบที่มีแคลเซียมสูง ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า สามารถสกัดโพลิแซคคาไรด์จากเปลือกผลโกโก้ด้วยน้ำหรือกรดอ่อน ๆ เพื่อการประยุกต์ใช้เป็นวัตถุดิบในอาหารฟังก์ชันและผลิตภัณฑ์สุขภาพ

คำสำคัญ: โพลิแซคคาไรด์; เปลือกผลโกโก้; การสกัดด้วยน้ำ; การสกัดด้วยกรด

Abstract

This study aimed to compare two solvents extraction - water extraction and citric acid solution extraction (pH 4.0) - for obtaining polysaccharides from cocoa pod husk (Theobroma cacao L.), and to evaluate the effect of extraction time on yield, chemical composition, and structural characteristics. The cocoa pod husk contained a high dietary fiber content of 64.02%, consisting of cellulose (34.93%), hemicellulose (35.46%), and lignin (27.93%). Water extraction yielded 82–93 mg glucose/g sample, corresponding to 12.17–13.00% yield, whereas citric acid extraction provided significantly higher yields. The results indicate that citric acid extraction at pH 4.0 for 2 h is an optimal condition to produce high-quality polysaccharide extracts from cocoa pod husk. FTIR and ^{13}C NMR analyses confirmed that the isolated polysaccharides were predominantly homogalacturonan-rich pectin with a low degree of methylation, suitable for calcium-induced gelation. The results demonstrated that polysaccharides can be extracted from cocoa pod husk using either water or mild organic acid, making them suitable for application as raw materials in functional foods and health-promoting products.

Keywords: polysaccharide; cocoa pod husk; water extraction; acid extraction

บทนำ

เปลือกผลโกโก้ (Cocoa pod husk: CPH**)** เป็นผลพลอยได้จากกระบวนการแปรรูปโกโก้หรือช็อคโกแลตคิดเป็นประมาณร้อยละ 60-80 ของน้ำหนักผลโกโก้สด ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์และสภาพแวดล้อมการเพาะปลูก และเป็นแหล่งใยอาหารที่สำคัญ (Belwal et al., 2023) [1], (Ouattara et al.) [2], (Budaraga et al., 2019) [3] โดย CPH เป็นแหล่งใยอาหารที่สำคัญ มีปริมาณใยอาหารรวม 55–56 กรัม/100 กรัม น้ำหนักตัวอย่างแห้ง โดยใยอาหารส่วนใหญ่เป็นใยอาหารชนิดไม่ละลายน้ำ (Insoluble Dietary Fiber; IDF) ในขณะที่ใยอาหารที่ละลายน้ำได้ (Soluble Dietary Fiber; SDF) พบในปริมาณน้อยกว่า (Soares and Oliveira, 2022) [4], (Campos-Vega et al., 2018) [5] องค์ประกอบของใยอาหารส่งผลให้ CPH มีความสามารถในการดูดน้ำ พองตัว และดูดซับสารต่าง ๆ ได้ดี นอกจากนี้ CPH ยังประกอบด้วยสาระสำคัญอื่น ๆ ได้แก่ เพคติน ลิกนิน เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส เมทิลแซนทีน ไขมัน ไฟโตสเตอรอล และสารโพลิฟีนอลที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Soares and Oliveira, 2022) [4], (Campos-Vega et al., 2018) [5] โดยเซลลูโลสเป็นโพลิแซคคาไรด์ที่ไม่ใช่แป้ง (non-starch polysaccharide) ที่สำคัญในเส้นใยของเปลือกผลโกโก้ ขณะที่โพลิแซคคาไรด์ที่ไม่ใช่เซลลูโลสประกอบด้วยเพกติกพอลิเมอร์และเฮมิเซลลูโลสหลายชนิด รวมทั้งมีน้ำตาลองค์ประกอบ เช่น กาแลคโตสและแมนโนส ซึ่งสะท้อนถึงความซับซ้อนและความหลากหลายของโครงสร้างผนังเซลล์ของเปลือกผลโกโก้ (Redgwell et al., 2003) [6] นอกจากนี้ เพคตินยังเป็นองค์ประกอบสำคัญของเส้นใยเปลือกผลโกโก้ และมีรายงานว่าพบได้ในปริมาณประมาณร้อยละ 15–20 ของน้ำหนักแห้ง ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์และวิธีการสกัด (Vriesmann et al, 2011) [7], (Vriesmann et al., 2012) [8]

กระบวนการสกัดโพลิแซคคาไรด์หรือเพคตินจากเปลือกผลโกโก้ (CPH) สามารถทำได้หลายวิธี การสกัดด้วยน้ำ (Water Extraction; WE) เป็นวิธีที่ง่าย ประหยัด และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม แต่มีข้อจำกัดคือผลผลิตต่ำ (Vriesmann et al, 2011) [7] การสกัดเพคตินจาก CPH ที่อุณหภูมิ 50 และ 100 องศาเซลเซียส นาน 90 นาที (อัตราส่วน CPH 1 ต่อน้ำ 25 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ให้ผลผลิตเพคตินร้อยละ 7.5 และ 12.6 ตามลำดับ เพคตินที่ได้มีองค์ประกอบหลักเป็นกรดยูโรนิก กาแลคโตส แรมโนส และอาราบิโนส ผลการวิเคราะห์ FT-IR และ ^{13}C-NMR พบว่า มีค่า DA ร้อยละ 19–29 และค่าเอสเทอ

ริฟิเคชัน (DE) ร้อยละ 37–42 แสดงถึงเพคตินชนิด Low-methoxyl (LM) และมีพฤติกรรมการไหลแบบ Non-Newtonian shear-thinning โดยการสกัดที่อุณหภูมิต่ำให้ความหนืดสูงกว่า (Vriesmann et al, 2011) [7]

การสกัดด้วยความร้อนสูงด้วย Autoclave ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที อัตราส่วนวัตถุดิบร้อยละ 20 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ให้ผลผลิตสูงถึงร้อยละ 26.22 ให้เพคตินชนิด LM ที่มีค่า DE ร้อยละ 34.74 (Zainal et al., 2024) [9] ในขณะที่การสกัดด้วยกรด (Acid Extraction; AE) โดยการใช้กรดอินทรีย์อ่อน เช่น กรดซิตริก สามารถเพิ่มปริมาณผลผลิตและความบริสุทธิ์ของเพคตินที่ได้ (Vriesmann et al., 2012) [8] โดยการสกัดที่ pH 3.0 อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 95 นาที ให้ผลผลิตเพคติน 10.1 กรัม/CHP แห้ง 100 กรัม มีกรดยูโรนิกร้อยละ 65.1 และค่า DE ร้อยละ 40.3 (Vriesmann et al., 2012) [8] ยังมีรายงานว่าการสกัดด้วยกรดไนตริกสามารถผลิตเพคตินชนิด LM ที่มีระดับ acetylation สูงและสามารถเกิดเจลได้ดีในสภาวะกรด (Vriesmann and Petkowicz, 2017) [10] จากการทบทวนวรรณกรรม พบว่า การสกัดโพลิแซคคาไรด์จากเปลือกผลโกโก้ส่วนใหญ่มักใช้สภาวะอุณหภูมิสูงและกรดเข้มข้นเพื่อเพิ่มผลผลิตของสารสกัด อย่างไรก็ตาม สภาวะดังกล่าวอาจส่งผลต่อการสลายตัวของโครงสร้างโพลิแซคคาไรด์ การเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของสารสกัด พบว่า ยังมีข้อมูลจำกัดเกี่ยวกับการสกัดภายใต้สภาวะกรดอ่อนและอุณหภูมิห้อง ซึ่งเป็นแนวทางที่เหมาะสมต่อการประยุกต์ใช้สร้างมูลค่าเพิ่มในการนำเปลือกผลโกโก้ที่เหลือทิ้งมาพัฒนากระบวนการสกัดโพลิแซคคาไรด์ในระดับกึ่งอุตสาหกรรมต่อไปได้

ด้วยองค์ประกอบของเปลือกโกโก้ที่มีสารประกอบโพลิฟีนอลมีศักยภาพในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าเพิ่มและประยุกต์ใช้ในหลายอุตสาหกรรม ได้แก่ อุตสาหกรรมอาหาร เครื่องสำอาง วัสดุชีวภาพ พลังงานชีวภาพ และอาหารสัตว์ (Belwal et al., 2022) [1] สารสกัด/ผงกากโกโก้ถูกนำมายังใช้เพื่อเพิ่มมูลค่าให้กับผลิตภัณฑ์อาหารหลายประเภท เช่น เค้ก ช็อกโกแลต เครื่องดื่ม ผลิตภัณฑ์จากแป้ง และอาหารเพื่อสุขภาพ (Belwal et al., 2023) [1] อีกทั้งยังมีรายงานประสิทธิภาพในการส่งเสริมสุขภาพต่าง ๆ เกี่ยวกับการต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ และลดความเสี่ยงต่อภาวะโรคไม่ติดต่อเรื้อรังบางชนิดได้ (Belwal et al., 2023) [1] เพคตินจาก CPH จัดเป็น Low methyl pectin ที่มีระดับ Acetylation สูงและสามารถเกิดเจลได้ดีภายใต้สภาวะกรดจึงมีศักยภาพในการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารประเภทเจล ผลิตภัณฑ์อาหารที่มีความเป็นกรด รวมถึงการใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมยา เครื่องสำอาง และวัสดุชีวภาพ (Vriesmann and Petkowicz, 2017) [10]

ดังนั้น การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอิทธิพลของชนิดตัวทำละลาย ได้แก่ น้ำที่ผ่านระบบ Reverse Osmosis (RO) และสารละลายกรดซิตริกที่ pH 4.0 รวมถึงระยะเวลาการสกัดที่เหมาะสมต่อปริมาณผลผลิตและลักษณะเชิงโครงสร้างของสารสกัดโพลิแซคคาไรด์จากเปลือกผลโกโก้ ภายใต้สภาวะการสกัดแบบ mild extraction ที่อุณหภูมิห้อง โดยมีสมมุติฐานว่าการใช้สารละลายกรดซิตริกภายใต้สภาวะกรดอ่อนร่วมกับระยะเวลาการสกัดที่เหมาะสม อาจช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดและคงคุณลักษณะเชิงโครงสร้างของโพลิแซคคาไรด์ได้ดีกว่าวิธีการสกัดด้วยน้ำเพียงอย่างเดียว ขณะเดียวกันยังช่วยลดความรุนแรงของกระบวนการสกัดเมื่อเปรียบเทียบกับการสกัดด้วยกรดเข้มข้นและอุณหภูมิสูงที่มีรายงานก่อนหน้านี้

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาผลของชนิดตัวทำละลายและระยะเวลาการสกัด โดยใช้น้ำ RO และสารละลายกรดซิตริกที่ pH 4.0 ร่วมกับระยะเวลาการสกัด 1–3 ชั่วโมง ต่อปริมาณผลผลิต คุณลักษณะเชิงโครงสร้าง และองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดโพลิแซคคาไรด์จากเปลือกผลโกโก้

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมวัตถุดิบ: เปลือกผลโกโก้

ผลโกโก้สดที่จัดซื้อจากฟาร์มในพื้นที่จังหวัดชลบุรี นำมาล้างทำความสะอาด ปอกเปลือก ผ่าครึ่ง และสไลด์เอาเฉพาะส่วนเปลือกผลโกโก้ นำมาอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 16-20 ชั่วโมง (ควบคุมความชื้นไม่เกินร้อยละ 10.00) และบดให้เป็นผงด้วยเครื่องบดของแห้ง ร่อนผ่านกระแกรงสแตนเลสขนาด 20-30 mesh บรรจุในถุง อลูมิเนียมฟอยล์ภายใต้สภาวะสุญญากาศ และเก็บไว้ที่อุณหภูมิเย็นระหว่างทำการทดลอง และทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต ไขมัน โปรตีน เถ้า ใยอาหาร และความชื้น ปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน โดยบริษัท อินเตอร์เทค เทสติ้ง เซอร์วิส (ประเทศไทย) จำกัด

2. การสกัดสารสกัดโพลิแซคคาไรด์จากเปลือกผลโกโก้

ชั่งน้ำหนักเปลือกผลโกโก้ผง 1 ส่วนโดยน้ำหนัก ใส่บีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร เติมน้ำ RO หรือสารละลายกรดซิตริกความเข้มข้นร้อยละ 5.0 (ที่ปรับค่า pH เท่ากับ 4.0) 40 ส่วนโดยน้ำหนัก ผสมให้เข้ากันด้วย High Shear Homogenizer ความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 วินาที ทำการสกัดที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 1, 2, และ 3 ชั่วโมง ตามลำดับ โดยกวนผสมที่ความเร็วรอบ 500 รอบต่อนาที ตลอดระยะเวลาการสกัด ปั่นเหวี่ยงแยกตะกอนหยาบออก ที่ความเร็วรอบ 5,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที จากนั้นนำเอาเฉพาะส่วนเจลมาตกตะกอนด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ที่ความเร็วรอบ 450 รอบต่อนาที จำนวน 2 ครั้ง โดยใช้อัตราส่วนสารสกัด 1 ส่วน ต่อเอทานอล 2 ส่วน แล้วปั่นเหวี่ยงเก็บตะกอนของโพลิแซคคาไรด์ ที่ความเร็วรอบ 5,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที นำตะกอนที่ได้มาอบแห้งในตู้อบ ลมร้อนที่อุณหภูมิ 50±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 8-10 ชั่วโมง จึงชั่งน้ำหนักของแห้งที่ได้และคำนวณเปรียบเทียบกับน้ำหนักเริ่มต้น รายงานเป็นค่าร้อยละของผลผลิต

การทดลองนี้วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) เพื่อศึกษาอิทธิพลของชนิดตัวทำละลายและระยะเวลาการสกัดต่อผลผลิตและคุณลักษณะของสารสกัดโพลิแซคคาไรด์จากเปลือกผลโกโก้ โดยใช้ตัวทำละลาย 2 ชนิด ได้แก่ น้ำ RO และสารละลายกรดซิตริกที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 4.0 และทำการสกัดที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 1, 2 และ 3 ชั่วโมง และสารสกัดที่ได้ถูกนำมาวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ ปริมาณสารประกอบโพลิแซคคาไรด์ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณสารประกอบโพลิฟีนอลทั้งหมด พร้อมทั้งบันทึกน้ำหนักเพื่อคำนวณปริมาณร้อยละผลผลิต

3. การวิเคราะห์ทางเคมี-กายภาพ

3.1 การวัดปริมาณน้ำอิสระ (Water activity, a_w) ด้วยเครื่องวัดปริมาณน้ำอิสระ (Decagon Devices, Aqua Lab Series 3 TE)

3.2 การวัดปริมาณความชื้น โดยนำตัวอย่าง 1 กรัม อบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ แล้วนำไปใส่ในเดซิเคเตอร์จนเย็นตัวที่อุณหภูมิห้อง แล้วบันทึกน้ำหนักที่เปลี่ยนแปลงไป คำนวณเปรียบเทียบก่อนอบ กับหลังอบ และน้ำหนักตัวอย่าง ตามวิธีมาตรฐาน AOAC (2000) [11].

3.3 การวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ด้วยเครื่องวัดค่า pH ยี่ห้อ Meter Totede รุ่น Seven easy ประเทศสวิสเซอร์แลนด์

3.4 การวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (Total soluble solid, TSS) ด้วยเครื่อง Hand-held refractometer ยี่ห้อ ATAGO ประเทศญี่ปุ่น เป็นการวัดดัชนีหักเหของแสง (refractive index) มีหน่วยเป็นองศาบริกซ์ สารละลายที่มีความเข้มข้นแตกต่างกันเมื่อแสงส่องผ่านจะเกิดการหักเห และให้ค่าดัชนีหักเหของแสงต่างกัน

3.5 การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตรวม ด้วยวิธี phenol-sulfuric acid ดัดแปลงจากวิธีของ Dubios et al. (1956) [12] ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 2 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น 8 มิลลิลิตร แล้วเจือจางสารละลายตัวอย่างด้วยน้ำกลั่น (อัตราส่วนตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ต่อน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร) ดูดสารละลายตัวอย่างที่เจือจาง 0.5 มิลลิลิตร เติมสารละลาย ฟีนอลความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร และกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 2.5 มิลลิลิตร จากนั้นผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสาร และวางไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 30 นาที แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ของบริษัท Hitachi รุ่น U-2900 ประเทศญี่ปุ่น นำค่าที่ได้มาคำนวณเทียบกับค่ามาตรฐานของสารละลายกลูโคสในช่วงความเข้มข้น 20 – 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร รายงานผลในรูปปริมาณคาร์โบไฮเดรตรวม เป็นมิลลิกรัมกลูโคสต่อกรัมตัวอย่าง (มิลลิกรัมกลูโคส/ตัวอย่าง 1 กรัม)

3.6 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ด้วยวิธี DNS (3,5-Dinitrosalicylic acid) ดัดแปลงจากวิธีการของ Miller (1959) [13] โดยนำตัวอย่าง 1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 40 มล. และเจือจางด้วยน้ำกลั่น (อัตราส่วน 1 : 10 ส่วนโดยปริมาตร) แล้วปิเปตสารละลายตัวอย่าง 0.2 มิลลิลิตร เติมสารละลาย 3,5-Dinitrosalicylic acid (DNS) 0.6 มิลลิลิตร ทำปฏิกิริยาในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที และหยุดปฏิกิริยาโดยการแช่ในน้ำเย็น นาน 5 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ และคำนวณเทียบกับค่ามาตรฐานของสารละลายกลูโคส ในช่วงความเข้มข้น 20 – 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร รายงานผลเป็นปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ มิลลิกรัมกลูโคส/ตัวอย่าง 1 กรัม

4. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลิฟีนอลทั้งหมด โดยวิธี Folin-Ciocautcu method ที่ดัดแปลงจาก Miliauskas et al. (2004) [14] โดยเจือจางสารละลายตัวอย่าง 50 ไมโครลิตร ด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 0.95 มล. ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex mixture นำสารละลายที่เจือจางแล้วปริมาตร 1 มล. มาเติมสารละลาย folin-ciocalteu phenol reagent ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันทันที แล้วเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 7.5 ปริมาตร 4 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที จากนั้นจึงวัดค่าการดูดกลืนแสง (ที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ นำค่าที่ได้มาคำนวณหาปริมาณสารประกอบโพลิฟีนอลทั้งหมด โดยการเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิคความเข้มข้น 10-100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เพื่อหาปริมาณของสารประกอบโพลิฟีนอลทั้งหมดที่มีในตัวอย่าง (C) ในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแกลลิคต่อกรัมตัวอย่าง (มิลลิกรัมสมมูลย์แกลลิค/ตัวอย่าง 1 กรัม) ตามสูตร C = (c x V) /m เมื่อ c = ค่าความเข้มข้นของกรดแกลลิคจากกราฟมาตรฐาน (มิลลิกรัมสมมูลย์แกลลิค/มิลลิลิตร), V = ปริมาตรของตัวอย่าง (มิลลิลิตร) และ m = น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)

5. การประเมินองค์ประกอบของสารประกอบโพลิแซคคาไรด์ที่สกัดได้

ทำการประเมินหมู่ฟังก์ชันทางเคมีของสารสกัดโพลิแซคคาไรด์ที่สกัดได้ด้วยเครื่องฟลูเรียร์ทรานฟอร์มอินฟาเรดสเปกโตรมิเตอร์ (FT-IR spectrometer) รุ่น Nicolet iS50 ยี่ห้อ Thermo scientific สหรัฐอเมริกา โดยใช้ภาวะการทดลองเป็น ATR mode ทำการสแกนในช่วงคลื่นความถี่ 400-4000 cm-1 ที่อุณหภูมิห้อง กำหนดความละเอียด (Resolution) เท่ากับ 4 ณ สำนักงานวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีขั้นสูง มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ และคำนวณ ค่า ratio ของ esterified carboxyl group ต่อ free carboxyl/carboxylate group โดยใช้ค่าความเข้มของพีค (A) จากช่วงคลื่น 1730–1750 cm-1 = esterified carboxyl group (C=O ester), 1580–1610 cm-1 = free carboxyl/carboxylate group (COO^-) และ 1390–1415 cm-1 = symmetric COO^- stretching มาคำนวณค่า estimated DE index จากสมการ: $DE(\%) = ((A_{1730})/(A_{1730}+A_{1600})) \times 1000$

การประเมินโครงสร้างของสารสกัดโพลิแซคคาไรด์ที่สกัดได้ด้วยเทคนิค ^{13}C-NMR โดยใช้เครื่องนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโตรมิเตอร์ (Nuclear Magnetic Resonance Spectrometer: NMR) ยี่ห้อ Bruker รุ่น 600 MHz AVANCE III

HD/AscendTM 600 ประเทศสวิสเซอร์แลนด์ โดยการเตรียมตัวอย่าง 15.3 มิลลิกรัม ละลายในตัวทำละลาย D2O ณ สำนักงานวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีขั้นสูง มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

การวิเคราะห์น้ำตาลองค์ประกอบของสารสกัดโพลิแซคคาไรด์ที่สกัดได้ โดยเทคนิค Thin Layer Chromatography ใช้สารละลายผสมของบิวทานอล (n-Butanol) 4 ส่วน ต่อกรดอะซิติก (Acetic acid) 1 ส่วน ต่อน้ำ (Water) 1 ส่วน เป็น Mobile phase เปรียบเทียบกับสารละลายน้ำตาลมาตรฐาน ได้แก่ Glucose, Fructose, Ribose, Mannose, Rhamnose, Arabinose, Xylose, Cellubiose, Galactose ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

ผลการวิจัย

1. ผลการเตรียมวัตถุดิบเปลือกผลโกโก้

ในกระบวนการแปรรูปโกโก้จะมีการแยกเอาส่วนเมล็ดโกโก้ออกจากผลสด ซึ่งมีปริมาณเปลือกผลโกโก้สดมากถึงร้อยละ 60-70 ของน้ำหนักโกโก้ทั้งผล ผลการสุ่มตัวอย่างผลผลิตโกโก้สดจากฟาร์มในจังหวัดชลบุรี ในช่วงเดือนตุลาคม-ธันวาคม 2567 เป็นโกโก้สายพันธุ์ชุมพร 1 เตรียมให้อยู่ในรูปผงแห้ง และวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี-กายภาพ ได้แก่ ปริมาณความชื้น ไขมัน โปรตีน คาร์โบไฮเดรต เถ้า ใยอาหาร เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน และปริมาณน้ำอิสระ แสดงผลในตารางที่ 1 พบว่ามีองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตถึงร้อยละ 70.36 คิดเป็นใยอาหารสูงถึงร้อยละ 64.02 โดยองค์ประกอบของเปลือกผลโกโก้ ประกอบด้วยเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินร้อยละ 34.93, 35.46, และ 27.93 ตามลำดับ

ตารางที่ 1 คุณสมบัติทางเคมี-กายภาพของวัตถุดิบเปลือกผลโกโก้

คุณสมบัติทางเคมี-กายภาพ	ค่าที่วิเคราะห์ได้
ปริมาณผลผลิต (ร้อยละ)	13.55-17.59
ปริมาณน้ำอิสระ	0.4213
ความชื้น (ร้อยละ)	9.17 ± 0.04
ไขมัน (ร้อยละ)	2.42 ± 0.01
โปรตีน (ร้อยละ)	5.86 ± 0.00
เถ้า (ร้อยละ)	12.20 ± 0.24
คาร์โบไฮเดรต (ร้อยละ)	70.36 ± 0.21
ใยอาหาร (ร้อยละ)	64.02 ± 0.45
ปริมาณเซลลูโลส (ร้อยละโดยน้ำหนัก/น้ำหนัก)	34.93 ± 0.40
ปริมาณเฮมิเซลลูโลส (ร้อยละโดยน้ำหนัก/น้ำหนัก)	35.46 ± 0.76
ปริมาณลิกนินทั้งหมด (ร้อยละโดยน้ำหนัก/น้ำหนัก)	27.93 ± 0.10

หมายเหตุ: การเก็บเกี่ยวเดือนตุลาคม-ธันวาคม พ.ศ.2567

2. ผลการศึกษาสภาวะการสกัดโพลิแซคคาไรด์จากเปลือกผลโกโก้

จากการสกัดโพลิแซคคาไรด์จากเปลือกผลโกโก้ ด้วยกรรมวิธีการสกัดด้วยน้ำ RO ที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 1, 2, และ 3 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับวิธีการสกัดด้วยสารละลายกรดซิตริก ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง 4.0 เป็นระยะเวลา 1, 2, และ 3 ชั่วโมง และทำการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมต่าง ๆ ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด, ปริมาณคาร์โบไฮเดรตรวม, ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์, และปริมาณสารประกอบโพลิฟีนอลทั้งหมด แสดงผลการวิเคราะห์

ดังตารางที่ 2 และ 3 พบว่า วิธีการสกัดด้วยน้ำ มีค่า pH อยู่ในช่วง 7.03-7.29 มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตรวม 82–93 มิลลิกรัมกลูโคส/ตัวอย่าง 1 กรัม มีปริมาณสารประกอบโพลิฟีนอลทั้งหมด 9.58–10.97 มิลลิกรัมสมมูลย์แกลลิค/ตัวอย่าง 1 กรัม ได้น้ำหนักสารสกัด 0.73–0.78 กรัม หรือคิดเป็นร้อยละ 12.17-13.00 สำหรับวิธีการสกัดด้วยสารละลายกรดซิตริก ที่ pH 4.0 สารสกัดมีค่า pH ประมาณ 4.51 มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตรวม 194–199 มิลลิกรัมกลูโคส/ตัวอย่าง 1 กรัม มีปริมาณสารประกอบโพลิฟีนอลทั้งหมด 11.79–12.12 มิลลิกรัมสมมูลย์แกลลิค/ตัวอย่าง 1 กรัม ได้น้ำหนักสารสกัด 0.83–1.03 กรัม หรือคิดเป็นร้อยละ 13.93-17.17 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดของสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยสารละลายกรดซิตริกที่ pH 4.0 มีค่าอยู่ที่ 1.60 องศาบริกซ์ ซึ่งสูงกว่าวิธีการสกัดด้วยน้ำ RO ที่มีค่า 1.00 องศาบริกซ์

ตารางที่ 2 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด ปริมาณคาร์โบไฮเดรตรวม และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ระหว่างการสกัดเปลือกผลโกโก้ด้วยน้ำ RO และสารละลายกรดซิตริกที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง 4.0

กรรมวิธีการสกัด	ระยะเวลาสกัด (ชั่วโมง)	ค่าความเป็นกรด-ด่าง	ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (องศาบริกซ์)	ปริมาณคาร์โบไฮเดรตรวม (มิลลิกรัมกลูโคส/ตัวอย่าง 1 กรัม)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัมกลูโคส/ตัวอย่าง 1 กรัม)
น้ำ RO	1	7.29±0.01^{a}	1.00±0.00^{b}	85.70±0.43^{d}	16.73±0.01^{c}
	2	7.25±0.05^{b}	1.00±0.00^{b}	82.13±0.43^{e}	16.02±0.01^{d}
	3	7.03±0.05^{c}	1.00±0.00^{b}	93.14±0.66^{c}	16.64±0.01^{c}
สารละลายกรดซิตริก (pH 4.0)	1	4.51±0.00^{d}	1.60±0.00^{a}	199.25±0.50^{a}	22.09±0.62^{a}
	2	4.51±0.00^{d}	1.60±0.00^{a}	195.02±1.38^{b}	21.60±0.14^{b}
	3	4.51±0.01^{d}	1.60±0.00^{a}	194.28±1.11^{b}	21.20±0.04^{b}

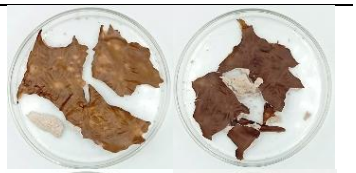
หมายเหตุ: ข้อมูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean ± SD) จากการทดลอง 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่มีอักษรกำกับต่างกัน (a–e) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าชนิดตัวทำละลายมีผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด ปริมาณคาร์โบไฮเดรตรวม ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณสารประกอบโพลิฟีนอลทั้งหมด และร้อยละผลผลิต อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยการสกัดด้วยสารละลายกรดซิตริกที่ pH 4.0 ให้ค่าปริมาณคาร์โบไฮเดรตรวม ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดสูงกว่าวิธีการสกัดด้วยน้ำ RO อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แสดงให้เห็นว่าสภาวะกรดอ่อนช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการละลายและสกัดสารประกอบคาร์โบไฮเดรตจากเปลือกผลโกโก้ได้ดีกว่าการสกัดด้วยน้ำเพียงอย่างเดียว นอกจากนี้ ระยะเวลาการสกัดมีผลต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรตรวม ปริมาณสารประกอบโพลิฟีนอลทั้งหมด และร้อยละผลผลิตของสารสกัด โดยการเพิ่มระยะเวลาการสกัดมีแนวโน้มทำให้ร้อยละผลผลิตและปริมาณสารสำคัญเพิ่มขึ้น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ทั้งนี้ การสกัดด้วยสารละลายกรดซิตริกที่ pH 4.0 เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ให้ร้อยละผลผลิตสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในขณะที่การสกัดด้วยสารละลายกรดซิตริกเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ให้ปริมาณสารประกอบโพลิฟีนอลทั้งหมดสูงที่สุด เท่ากับ 12.12 มิลลิกรัมสมมูลย์แกลลิค/ตัวอย่าง 1 กรัม

จากผลการทดลอง การสกัดด้วยสารละลายกรดซิตริกที่ pH 4.0 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง คัดเลือกเป็นสภาวะสำหรับการศึกษาลักษณะเชิงโครงสร้างและองค์ประกอบของสารสกัดในขั้นต่อไป เนื่องจากให้ปริมาณคาร์โบไฮเดรตรวม ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และร้อยละผลผลิตอยู่ในระดับสูง ขณะเดียวกันใช้ระยะเวลาการสกัดสั้นกว่าสภาวะ 3 ชั่วโมง จึงมีความเหมาะสม

ในด้านระยะเวลาการสกัดและศักยภาพในการประยุกต์ใช้ในระดับกึ่งอุตสาหกรรม จึงคัดเลือกเพื่อศึกษาองค์ประกอบของสารสกัดโพลิแซคคาไรด์ที่ได้ด้วย FTIR, ^{13}C-NMR, และ TLC

ตารางที่ 3 การเปลี่ยนแปลงปริมาณโพลิฟีนอลทั้งหมด ปริมาณผลผลิต และลักษณะสารสกัดโพลิแซคคาไรด์ที่ได้ ระหว่างการสกัดเปลือกผลโกโกด้วยน้ำ RO และสารละลายกรดซิตริกที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง 4.0

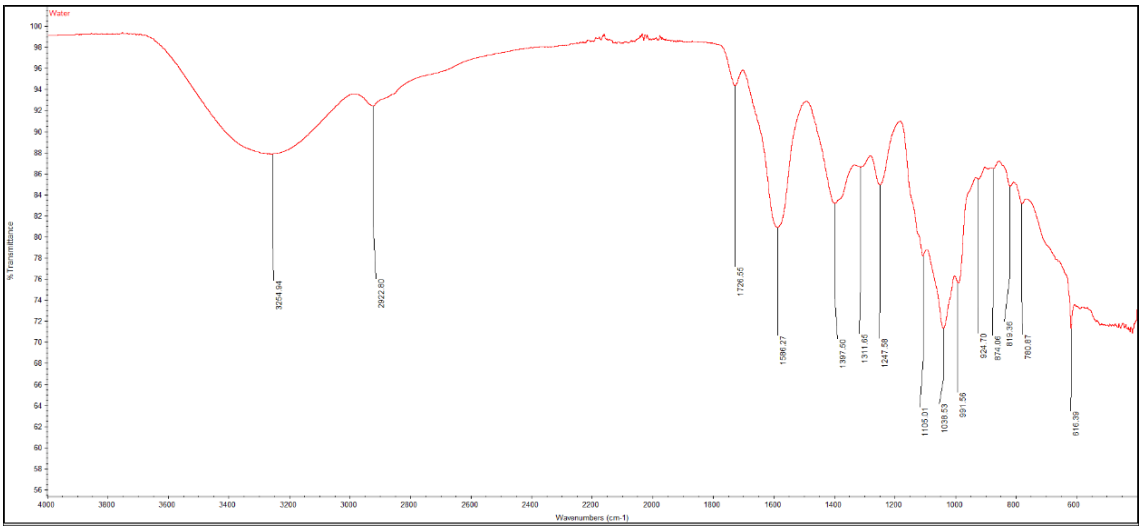
กรรมวิธีการสกัด	ระยะเวลาสกัด (ชั่วโมง)	ปริมาณโพลิฟีนอลทั้งหมด (มิลลิกรัมสมมูลย์แกลลิค/ตัวอย่าง 1 กรัม)	น้ำหนัก (กรัม)	ปริมาณผลผลิต (ร้อยละ)	ลักษณะที่ปรากฏ
น้ำ RO	1	10.28±0.15^{c}	0.73±0.04^{d}	12.17^{d}	
	2	9.58±0.71^{c}	0.75±0.03^{cd}	12.50^{cd}	
	3	10.97±0.03^{bc}	0.78±0.01^{c}	13.00^{c}	
สารละลายกรดซิตริก (pH 4.0)	1	10.93±0.26^{bc}	0.83±0.11^{bc}	13.93^{bc}	
	2	12.12±1.77^{a}	0.86±0.12^{b}	14.33^{b}	
	3	11.79±1.05^{ab}	1.03±0.01^{a}	17.17^{a}	

หมายเหตุ: ข้อมูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลอง 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่มีอักษรกำกับต่างกัน (a–e) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

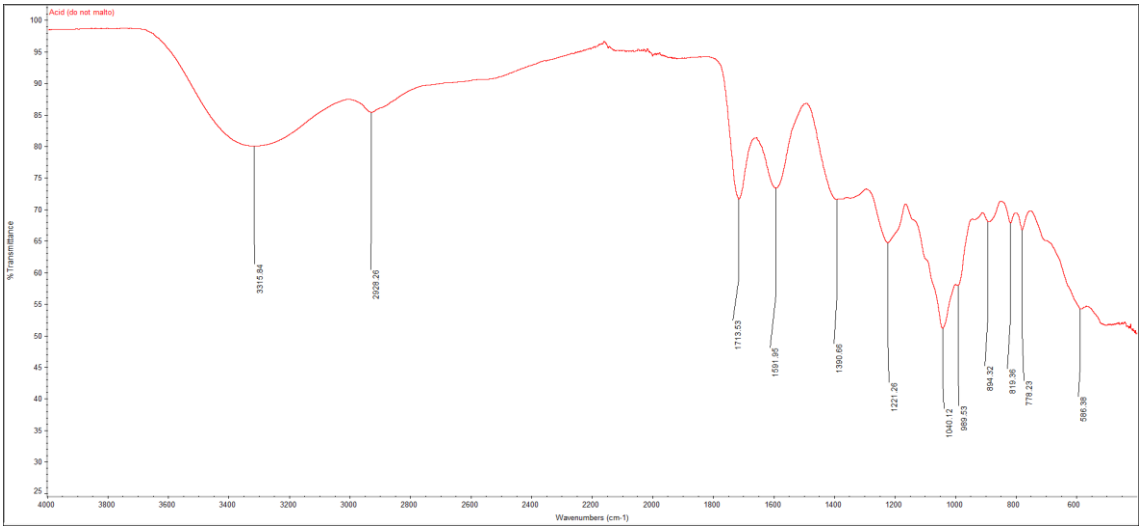
3. ผลการประเมินองค์ประกอบของสารสกัดโพลิแซคคาไรด์ที่ได้ด้วย FTIR, NMR, และ TLC

ผลการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของสารสกัดโพลิแซคคาไรด์ที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำ RO ด้วยเทคนิค FTIR แสดงผล IR spectrum ในช่วงคลื่นความถี่ 400-4000 cm^{-1} ในภาพที่ 1 พบพีคของหมู่ฟังก์ชันที่ช่วงคลื่นที่ 1744 cm^{-1} ร่วมกับแถบที่ 1605 และ 1387 cm^{-1} สะท้อนการมีอยู่ของหมู่คาร์บอกซิลและคาร์บอกซิเลตของกรดกาแลคทูโรนิก ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญของเพคติน และสารสกัดโพลิแซคคาไรด์ที่ได้จากการสกัดด้วยสารละลายกรดซิตริกแสดงผลการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันด้วย

เทคนิค FTIR ซึ่งแสดงผล IR spectrum ในภาพที่ 2 สเปกตรัมนี้แสดงลักษณะเด่นของพอลิแซ็กคาไรด์ โดยเฉพาะพีคที่ 1738, 1611 และ 1390 cm^{-1} ซึ่งสัมพันธ์กับหมู่คาร์บอกซิล/คาร์บอกซิเลตของกรดยูโรนิก จึงสนับสนุนว่าสารสกัดมีองค์ประกอบของเพคตินหรือโพลิแซคคาไรด์กลุ่มเพกติก นอกจากนี้ พีคในช่วง 1200–900 cm^{-1} แสดงโครงสร้าง C–O–C และ C–O ของพันธะไกลโคซิดิกในโพลิแซคคาไรด์ ซึ่งแสดงค่า ratio ของ esterified carboxyl group ต่อ free carboxyl/carboxylate group โดยใช้ค่าความเข้มของพีคจากช่วงคลื่น 1730–1750 cm^{-1} = esterified carboxyl group (C=O ester), 1580–1610 cm^{-1} = free carboxyl/carboxylate group (COO^-) และ 1390–1415 cm^{-1} = symmetric COO^- stretching ดังตารางที่ 4



ภาพที่ 1 FTIR วิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของสารสกัดโพลิแซคคาไรด์ที่ได้ด้วยวิธีการใช้น้ำ RO

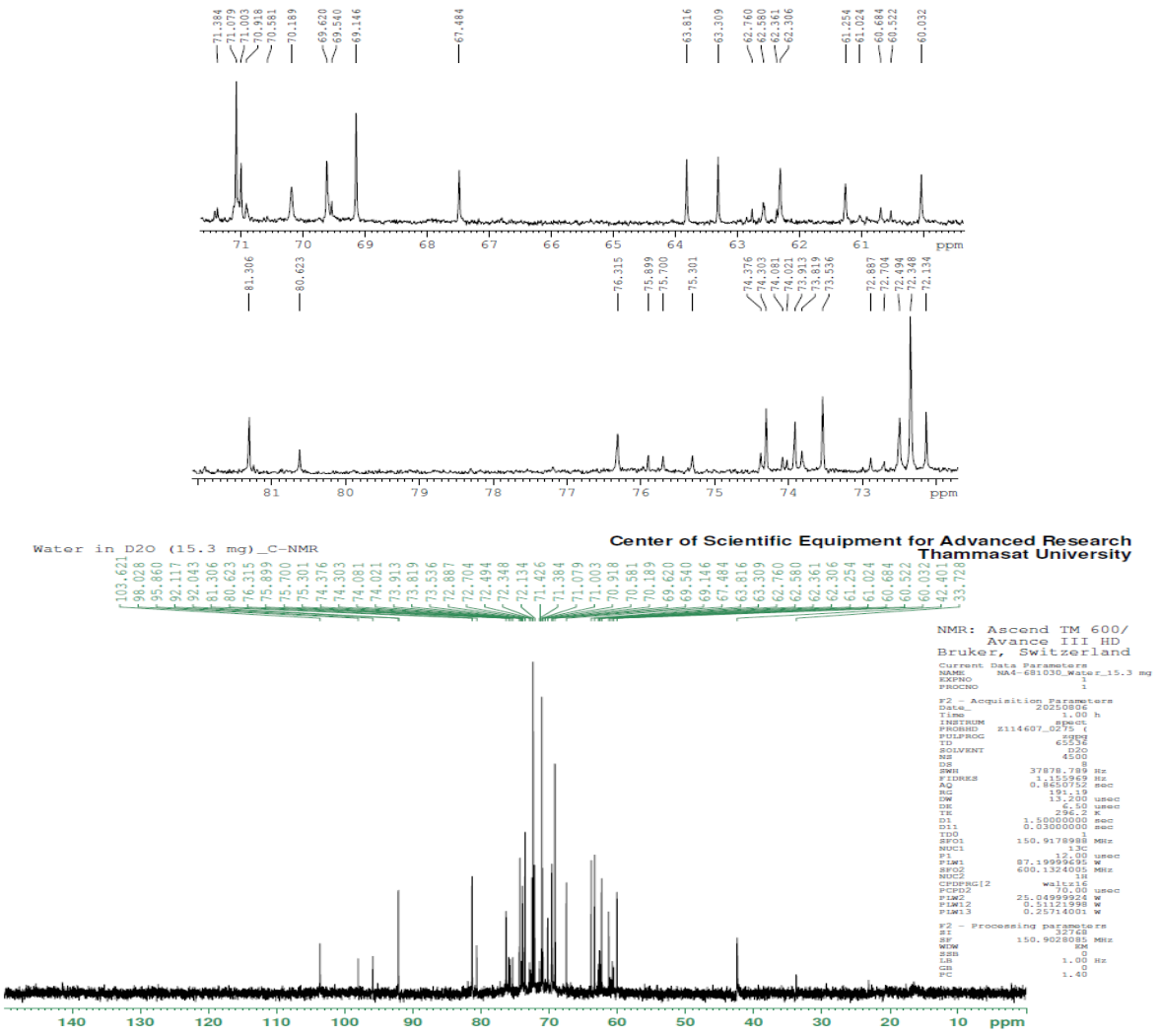


ภาพที่ 2 FTIR วิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของสารสกัดโพลิแซคคาไรด์ที่ได้ด้วยวิธีการใช้สารละลายกรดซิตริกที่ pH 4.0

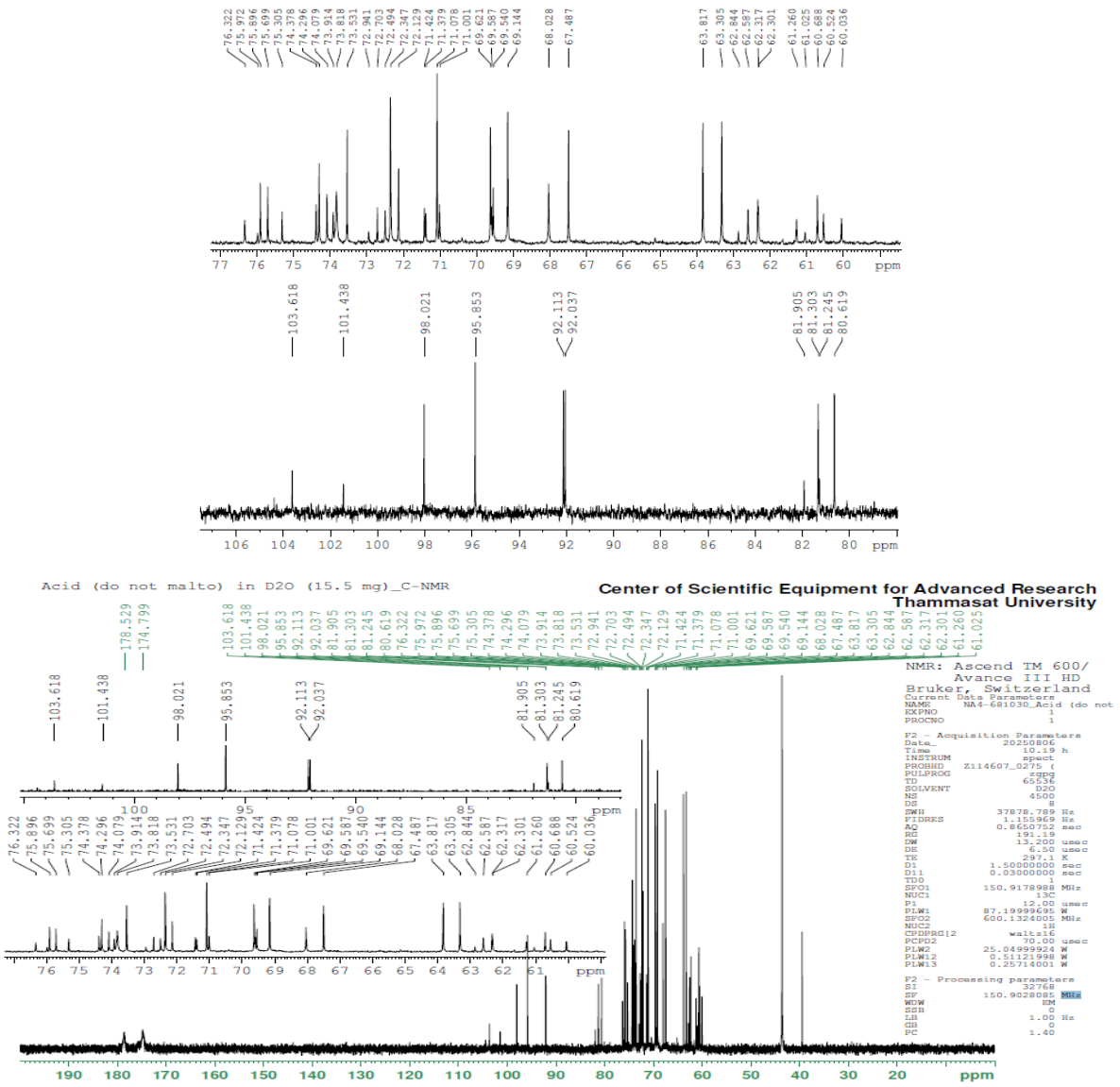
ตารางที่ 4 FTIR peak ratio และ estimated DE index ของสารสกัดโพลิแซคคาไรด์จากเปลือกผลโกโก้ที่สกัดด้วยน้ำ RO และสารละลายกรดซิตริก

ตัวอย่าง	A1730	A1600	A1410	A1248	A1039	A1730/A1600	A1730/A1410	Estimated DE index (%)
น้ำ RO	96.47	83.21	84.47	85.74	73.69	1.159	1.142	53.69
สารละลายกรดซิตริก (pH 4.0)	84.82	74.76	73.18	69.83	54.79	1.135	1.159	53.15

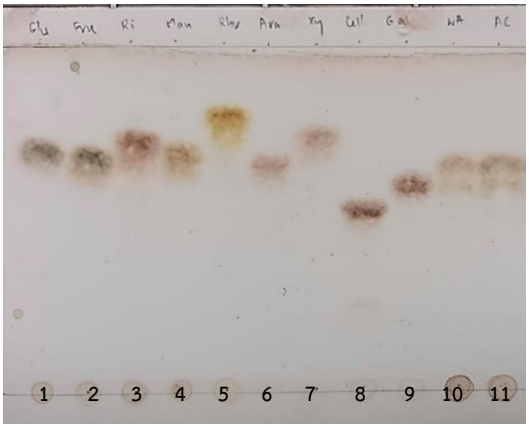
ภาพที่ 3 แสดงผลการประเมินโครงสร้างของสารสกัดโพลิแซคคาไรด์ที่ได้ ด้วยเทคนิค ^{13}C-NMR ของสารสกัดโพลิแซคคาไรด์ที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำ RO แสดงสัญญาณหลักในช่วง 60–105 ppm ซึ่งเป็นช่วงของคาร์บอนในโครงสร้างคาร์โบไฮเดรต/โพลิแซคคาไรด์ โดยสัญญาณบริเวณ 98–103 ppm สัมพันธ์กับ anomeric carbon (C-1) ของน้ำตาล ขณะที่สัญญาณบริเวณ 70–76 ppm และ 60–64 ppm สอดคล้องกับคาร์บอนในวงแหวนของน้ำตาลและหมู่ CH_2OH ตามลำดับ ลักษณะดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าสารสกัดประกอบด้วยพอลิแซคคาไรด์จากผนังเซลล์พืชเป็นองค์ประกอบหลัก ในขณะที่ภาพที่ 4 เป็น ^{13}C-NMR ของสารสกัดโพลิแซคคาไรด์ที่ได้จากการสกัดด้วยสารละลายกรดซิตริก ปรากฏของสัญญาณบริเวณ 174–179 ppm บ่งชี้การมีอยู่ของกรดยูโรนิก โดยเฉพาะ Galacturonic acid ซึ่งเป็นหน่วยโครงสร้างหลักของเพคติน และสนับสนุนผล FTIR ที่พบหมู่คาร์บอกซิลและคาร์บอกซิเลตของเพคติน และภาพที่ 5 แสดงโครมาโตแกรมขององค์ประกอบของน้ำตาลเชิงเดี่ยวที่พบในสารสกัดโพลิแซคคาไรด์ที่ได้เปรียบเทียบกับสารละลายน้ำตาลมาตรฐาน โดยใช้เทคนิคโครมาโตกราฟีผิวบาง (TLC)



ภาพที่ 3 ภาพ ^{13}C-NMR ประเมินโครงสร้างของสารสกัดโพลิแซคคาไรด์ที่ได้ด้วยวิธีการใช้น้ำ RO



ภาพที่ 4 ภาพ ^{13}C-NMR ประเมินโครงสร้างของสารสกัดโพลิแซคคาไรด์ที่ได้ ด้วยวิธีการใช้สารละลายกรดซิตริกที่ pH 4.0



ภาพที่ 5 ภาพโครมาโตแกรมด้วยเทคนิค TLC ของสารสกัดโพลิแซคคาไรด์ที่ได้และสารละลายน้ำตาลมาตรฐาน

หมายเหตุ: 1=Glucose, 2=Fructose, 3=Ribose, 4=Mannose, 5=Rhamnose, 6=Arabinose, 7=Xylose, 8=Cellubiose, 9=Galactose, 10=โพลิแซคคาไรด์ที่สกัดด้วยน้ำ, 11=โพลิแซคคาไรด์ที่สกัดด้วยกรดซิตริก pH 4.0

สรุปและอภิปรายผล

ส่วนของเปลือกผลโกโก้สด ประกอบด้วยส่วนต่าง ๆ ที่เรียกว่า Epicarp, Mesocarp, Sclerotic, Endocarp เป็นองค์ประกอบหลักของเปลือกผลโกโก้ ซึ่งมีสารสำคัญทางชีวภาพและมีกากใยอาหารสูง ซึ่งวัตถุดิบเปลือกผลโกโก้ที่เตรียมในครั้งนี้มีใยอาหารสูงถึงร้อยละ 64.02 ใกล้เคียงกับรายงานของ Soares and Oliveira (2022) [4] ระบุว่าเปลือกผลโกโก้มีปริมาณใยอาหารรวมสูงสุด 55–56 กรัม/ตัวอย่างแห้ง 100 กรัม ซึ่งผลการวิเคราะห์เปลือกผลโกโก้ที่ได้ ประกอบด้วยเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินร้อยละ 34.93, 35.46, และ 27.93 ตามลำดับ (ตารางที่ 1) แสดงถึงองค์ประกอบที่เป็นเซลล์พืช ทั้งนี้ปริมาณเซลลูโลสใกล้เคียงกับรายงานของ Sobamiwa and Longe (1994) [15] ที่ระบุไว้ร้อยละ 35.0 ซึ่งเป็นองค์ประกอบของ cocoa pod pericarp (Sobamiwa and Longe, 1994) [15] ขณะที่องค์ประกอบของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินที่พบในการศึกษานี้สอดคล้องกับรายงานก่อนหน้าที่ระบุว่าเปลือกผลโกโก้เป็นวัสดุลิกโนเซลลูโลสที่อุดมด้วยองค์ประกอบดังกล่าว (Campos-Vega et al., 2018) [5]

ผลการทดลอง พบว่า วิธีการสกัดด้วยน้ำมีค่า pH ลดลงจาก 7.29 เป็น 7.03 เมื่อระยะเวลาการสกัดเพิ่มขึ้นจาก 1 ชั่วโมงเป็น 3 ชั่วโมง ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณคาร์โบไฮเดรตรวมที่เพิ่มขึ้นจาก 82 มิลลิกรัมกลูโคส/ตัวอย่าง 1 กรัม เป็น 93 มิลลิกรัมกลูโคส/ตัวอย่าง 1 กรัม และปริมาณผลผลิตสารสกัดที่เพิ่มขึ้นจากร้อยละ 12.17 เป็น 13.00 แสดงให้เห็นว่าเมื่อระยะเวลาการสกัดเพิ่มขึ้น ตัวทำละลายสามารถแพร่เข้าสู่โครงสร้างเนื้อเยื่อของเปลือกผลโกโก้ได้มากขึ้น ส่งผลให้สารประกอบที่ละลายน้ำได้ออกจากโครงสร้างผนังเซลล์เปลือกผลโกโก้มากขึ้น โดยเฉพาะกลุ่มคาร์โบไฮเดรต เช่น โพลิแซคคาไรด์ เพคติน และสารประกอบเชิงขั้วอื่น ๆ การลดลงของค่า pH อาจเนื่องจากการเพิ่มขึ้นของสารที่ถูกสกัดออกมาที่มีหมู่คาร์บอกซิล (-COOH) ของกรดยูโรนิกที่เป็นองค์ประกอบของเพคติน (Vriesmann et al, 2011) [7], (Vriesmann et al., 2012) [8] รวมถึงกรดอินทรีย์และสารประกอบฟีนอลิกบางชนิดที่สามารถละลายออกมาในระหว่างการสกัด ส่งผลให้ค่า pH ของสารสกัดลดลงเล็กน้อยเมื่อระยะเวลาการสกัดเพิ่มขึ้น สำหรับการสกัดด้วยสารละลายกรดซิตริกที่ pH 4.00 พบว่า สารสกัดมีค่า pH ค่อนข้างคงที่อยู่ที่ประมาณ 4.51 ตลอดระยะเวลาการสกัด เนื่องจากสารละลายกรดซิตริกมีคุณสมบัติในการควบคุมสภาวะกรดของระบบได้

การสกัดด้วยสารละลายกรดซิตริกที่ pH 4.0 ให้ปริมาณคาร์โบไฮเดรตรวมและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงกว่าวิธีการสกัดด้วยน้ำ RO อย่างชัดเจน โดยมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตรวมอยู่ในช่วง 194.28–199.25 มิลลิกรัมกลูโคส/ตัวอย่าง 1 กรัม และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์อยู่ในช่วง 21.20–22.09 มิลลิกรัมกลูโคส/ตัวอย่าง 1 กรัม แสดงให้เห็นว่าสภาวะกรดอ่อนช่วยเพิ่มการแตกตัวของโครงสร้างผนังเซลล์และเพิ่มการละลายของสารกลุ่มคาร์โบไฮเดรตจากเปลือกผลโกโก้ได้ดีกว่าการสกัดด้วยน้ำเพียงอย่างเดียว แม้ว่าปริมาณคาร์โบไฮเดรตรวมและน้ำตาลรีดิวซ์มีแนวโน้มลดลงเล็กน้อยเมื่อระยะเวลาการสกัดเพิ่มขึ้น แต่ปริมาณผลผลิตกลับเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 13.93 เป็น 17.17 โดยเฉพาะที่ระยะเวลาการสกัด 3 ชั่วโมง เนื่องจากระยะเวลาการสกัดที่นานขึ้น เกิดการละลายและการแพร่ของสารกลุ่มโพลิแซคคาไรด์และเพคตินที่มีมวลโมเลกุลสูงออกจากโครงสร้างผนังเซลล์ได้มากขึ้น ส่งผลให้ปริมาณสารที่สามารถตกตะกอนด้วยเอทานอลเพิ่มขึ้น แม้ว่าปริมาณน้ำตาลโมเลกุลขนาดเล็กที่ตรวจวัดได้จะมีแนวโน้มลดลงเล็กน้อยก็ตาม

นอกจากนี้ เมื่อระยะเวลาการสกัดเพิ่มขึ้น ปริมาณผลผลิตมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทั้งในวิธีการสกัดด้วยน้ำ RO และสารละลายกรดซิตริก ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการสกัดเพคตินจากเปลือกส้ม (Devi, 2014) [16] และเปลือกแตงโม (Ussarat Kathabthim et al., 2013) [17] ที่พบว่าการเพิ่มระยะเวลาการสกัด ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดสามารถแพร่เข้าไปในเนื้อเยื่อเปลือกผลโกโก้ได้มากขึ้น จะเกิดการไฮโดรไลซ์โมเลกุลของสารประกอบโพลิแซคคาไรด์ได้ ช่วยเพิ่มการละลายของสารประกอบโพลิแซคคาไรด์ออกสู่ตัวทำละลาย อย่างไร ก็ตาม หากใช้ระยะเวลาหรือสภาวะการสกัดที่รุนแรงเกินไป อาจส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างหรือการสลายตัวของสารสกัดได้ (Devi, 2014) [16] ในขณะที่ ผลของวิธีการสกัดและ

ระยะเวลาในการสกัดต่อปริมาณโพลิฟีนอลทั้งหมด (ตารางที่ 3) พบว่า การสกัดด้วยสารละลายกรดซิตริก (10.93-12.12 มิลลิกรัมสมมูลย์แกลลิก/ตัวอย่าง 1 กรัม) ให้ปริมาณโพลิฟีนอลทั้งหมดสูงกว่าการสกัดด้วยน้ำ RO เล็กน้อย (9.58-10.97 มิลลิกรัมสมมูลย์แกลลิก/ตัวอย่าง 1 กรัม) ปริมาณโพลิพีนอลทั้งหมดที่พบในสารสกัดโพลิแซคคาไรด์ที่ได้มีค่าต่ำกว่าและปริมาณโพลิฟีนอลทั้งหมดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เมื่อเพิ่มระยะเวลาในการสกัด สอดคล้องกับรายงานการทดลองการสกัดโพลิแซคคาไรด์จากแก่นตะวัน พบว่า เมื่อแก่นตะวันถูกสกัดด้วยกรดไฮโดรคลอริก pH 1.0 ให้ปริมาณโพลิฟีนอลทั้งหมดสูงกว่าการสกัดด้วยน้ำปราศจากไอออน หรือซิเตรทบัฟเฟอร์ เนื่องด้วยสารประกอบโพลิพีนอลที่ถูกย่อยออกมา (Phontrakulpipat and Pintathong, 2023) [18]

เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยก่อนหน้า พบว่าร้อยละผลผลิตของสารสกัดที่ได้จากการศึกษานี้อยู่ในช่วง ร้อยละ 12.17–17.17 ซึ่งอยู่ในระดับใกล้เคียงหรือสูงกว่าการสกัดเพคตินจากเปลือกผลโกโก้ด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 50 และ 100 องศาเซลเซียส ซึ่งรายงานผลผลิตอยู่ที่ร้อยละ 7.5 และ 12.6 ตามลำดับ (Vriesmann et al, 2011) [7] และสูงกว่าการสกัดด้วยกรดที่ pH 3.0 ที่ 95 องศาเซลเซียส นาน 95 นาที ซึ่งรายงานผลผลิตประมาณ 10.1 กรัมต่อ CPH แห้ง 100 กรัม (Vriesmann et al., 2012) [8] อย่างไรก็ตาม ผลผลิตจากการศึกษานี้ยังต่ำกว่าการสกัดด้วยสภาวะรุนแรง เช่น การใช้ autoclave ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส ซึ่งสามารถให้ผลผลิตสูงถึงร้อยละ 26.22 (Zainal et al., 2024) [9] อย่างไรก็ตาม ผลผลิตที่รายงานในการศึกษานี้เป็นผลผลิตของสารสกัดโพลิแซคคาไรด์หยาบ (crude polysaccharide-rich extract) ที่ได้จากการตกตะกอนด้วยเอทานอล ภายใต้สภาวะ mild extraction ที่อุณหภูมิห้อง โดยยังไม่มีขั้นตอนการทำให้บริสุทธิ์ ดังนั้น ผลผลิตที่ได้อาจประกอบด้วยสารกลุ่มโพลิแซคคาไรด์ เพคติน สารประกอบฟีนอลิก โปรตีน หรือลิกนินบางส่วนที่ตกตะกอนร่วมกัน

จากผลการทดลอง การสกัดด้วยสารละลายกรดซิตริกที่ pH 4.0 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ถูกเลือกเป็นสภาวะสำหรับการศึกษาลักษณะเชิงโครงสร้างของสารสกัด เนื่องจากให้ปริมาณคาร์โบไฮเดรตรวม ปริมาณสารประกอบโพลิฟีนอลทั้งหมด และร้อยละผลผลิตอยู่ในระดับสูง ภายใต้สภาวะการสกัดแบบ mild extraction ที่อุณหภูมิห้อง และใช้ระยะเวลาการสกัดที่ไม่ยาวนานเกินไป เป็นเวลาที่เหมาะสม เพื่อเตรียมสารสกัดโพลิแซคคาไรด์ และศึกษาองค์ประกอบของสารสกัดโพลิแซคคาไรด์ที่ได้ด้วย FTIR, ^{13}C-NMR, และ TLC

ผลการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของสารสกัดโพลิแซคคาไรด์ที่ได้จากเปลือกผลโกโก้ ด้วยเทคนิค FTIR (ภาพที่ 1 และ 2) พบว่า ทั้ง 2 วิธี แสดงสเปกตรัมของโพลิแซคคาไรด์ โดยแสดงแถบสเปคตรัมที่กว้างที่ความถี่ 3200–3600 cm^{-1} ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของหมู่ฟังก์ชัน O–H และความถี่ 2920 cm^{-1} แสดงลักษณะของหมู่ฟังก์ชัน -CH, -CH_2, -CH_3 stretching ของกรดกาแลคทูโรนิก พบพีคที่ความถี่ 1730-1740 cm^{-1} บ่งชี้ถึงหมู่ฟังก์ชันของคาร์บอนิล (C=O) ที่พบในเอสเทอร์และอนุพันธ์ของหมู่ฟังก์ชันเอซิทิล ($COCH_3$ group) ซึ่งหากมีพีคนี้เด่นชัดขึ้น แสดงว่าระดับเอสเทอริฟิเคชัน (DE) ของเพกทินสูง ผลการวิจัยนี้มีความสอดคล้องกับรายงานการวิจัยหมู่ฟังก์ชันในสารสกัดจากเปลือกผลโกโก้ที่แสดงคุณลักษณะหลักของเพคติน (Muñoz-Almagro et al., 2019) [19], (Chamniankul and Saewan, 2020) [20] และการสกัดเพคตินจากเปลือกแตงโม (Phontrakulpipat and Pintathong, 2023) [18] นอกจากนี้ยังแสดงพีคที่คลื่นความถี่ 1590/1400 cm^{-1} ซึ่งแสดงหมู่ COO^- ของคาร์บอกซิเลต ซึ่งที่ 1410 cm^{-1} แสดงหมู่ COO^- ของรามโนกาแลคทูโรแนน และโฮโมกาแลคทูโรแนน ซึ่งพบได้ในโครงสร้างของเพคติน (Vriesmann et al, 2011) [7], (Vriesmann et al., 2012) [8], (Chamniankul and Saewan, 2020) [20], (Santiago-Gómez, 2025) [21] พีคที่ความถี่ 1397 cm^{-1} ซึ่งแสดงหมู่ -CH_2 ที่เป็นองค์ประกอบของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว เช่น รามโนส และเซลลูโลส หรือแมนโนส และที่ความถี่ 1311 cm^{-1} แสดงหมู่ -CH_2 อาจสัมพันธ์กับโครงสร้างของโพลิแซคคาไรด์บางชนิดที่มีน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว เช่น Arabinose หรือ Glucan เป็นองค์ประกอบ ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักในเซลลูโลสเช่นกัน และที่ความถี่ 1248 cm^{-1} แสดงหมู่ C-O stretching ที่พบในโพลิแซคคาไรด์ที่คล้ายรามโนกาแลคทู

โรแนน และโฮโมกาแลคทูโรแนน และที่ความถี่ 1039 cm^{-1} แสดงหมู่ฟังก์ชันของ C–O และ C-C stretching ซึ่งเป็นลักษณะของเซลลูโลส และสัญญาณที่ 820 cm^{-1} แสดงหมู่ฟังก์ชัน -CH ที่อาจสัมพันธ์กับไซโลสที่พบในเฮมิเซลลูโลส ทั้งนี้สอดคล้องกับรายงานการวิจัยหมู่ฟังก์ชันในสารสกัดจากเปลือกผลโกโก้โดยการสกัดด้วยเอทานอล นาน 3 ชั่วโมง ของ Santiago-Gómez (2025) [21] และพบแถบ amide I/II เด่น แสดงว่ามีโปรตีนปะปน และพบแถบ 1510/1600 cm^{-1} บ่งชี้ถึงมีปริมาณลิกนินตกค้าง

อย่างไรก็ตามความต่างของความเข้ม (intensity) และการปรากฏ/หรือหายไปของพีคเหล่านี้ระหว่างวิธีสกัดที่แตกต่างกัน จะบ่งชี้ถึงระดับเอสเทอริฟิเคชัน (DE) ของเพกทินที่แตกต่างกัน ซึ่งจะเห็นว่าวิธีการสกัดด้วยน้ำ RO พบแถบที่ความถี่ 1200–1000 cm^{-1} ชัดเจน แถบกว้างที่ 3400 cm^{-1} แสดงหมู่ฟังก์ชัน O–H ของคาร์โบไฮเดรตโดดเด่น และปรากฏแถบที่ 1740 cm^{-1} อยู่บ้าง แสดงค่า DE ปานกลาง–สูง และพบแถบ amide I/II เด่น แสดงว่ามีโปรตีนปะปน และพบแถบ 1510/1600 cm^{-1} บ่งชี้ถึงมีปริมาณลิกนินตกค้าง ในขณะที่ การสกัดด้วยสารละลายกรดซิตริก pH 4.0 มีสภาวะกรดอ่อน ส่งผลให้ลดค่า DE จึงพบความเข้มของแถบ 1740 cm^{-1} เพิ่มขึ้น แต่แถบที่ 1590 และ 1397 cm^{-1} ลดลง แสดงคุณสมบัติของเจลเพกทินแบบ de-esterified หรือแคลเซียมเพกเทต และแถบ 1200–1000 cm^{-1} เปลี่ยนแปลงรูปร่างเล็กน้อยตามองค์ประกอบน้ำตาลที่ละลายได้ดีขึ้นในสภาวะกรด จากการประเมินอัตราส่วนของพีค esterified carboxyl group ต่อ Free Carboxyl/carboxylate group จากสเปกตรัม FTIR พบว่า สารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำ RO มีค่า A1730/A1600 และ estimated DE index สูงกว่าการสกัดด้วยสารละลายกรดซิตริกที่ pH 4.0 เล็กน้อย ซึ่งสอดคล้องกับแนวโน้มของการคงอยู่ของหมู่เอสเทอร์ในโครงสร้างเพคตินมากกว่า ขณะที่การสกัดภายใต้สภาวะกรดอ่อนอาจส่งผลให้เกิด de-esterification บางส่วน ทำให้ปริมาณ Free carboxyl group เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ การสกัดด้วยน้ำ RO ยังให้ความเข้มของพีคบริเวณ 1248 และ 1039 cm^{-1} สูงกว่า ซึ่งสัมพันธ์กับโครงสร้างของสารกลุ่มโพลิแซคคาไรด์และเพคติน ขณะที่การสกัดด้วยสารละลายกรดซิตริกอาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบที่ละลายได้ภายใต้สภาวะกรดอ่อน อย่างไรก็ตาม ค่า ratio และ estimated DE ที่ได้จาก FTIR ในการศึกษานี้ใช้เพื่อเปรียบเทียบเชิงแนวโน้มระหว่างตัวอย่างเท่านั้น เนื่องจากยังไม่ได้วิเคราะห์ค่า DE โดยวิธีมาตรฐานโดยตรง รวมทั้งอาจมีผลรบกวนจากสารตกค้างในสารสกัดหยาบ จึงควรมีการวิเคราะห์เพิ่มเติมในการศึกษาต่อไปเพื่อยืนยันชนิดของเพคตินให้ชัดเจนมากยิ่งขึ้น

ผลการประเมินโครงสร้างของสารสกัดโพลิแซคคาไรด์ที่ได้ ด้วยเทคนิค NMR (ภาพที่ 3 และ 4) โดยพบว่า ^{13}C NMR ของสารสกัดโพลิแซคคาไรด์จากเปลือกผลโกโก้แสดงให้เห็นลักษณะของคาร์โบไฮเดรตที่เด่น ที่ δ 60–85 ppm และที่ δ 100 ppm สอดคล้องกับโครงสร้างของเพคตินที่สกัดได้จากเปลือกผลโกโก้ ที่มี Homogalacturonan ซึ่งเป็นโพลิเมอร์สายตรง ที่เชื่อมต่อ D-galacturonic acid (GalA) กันด้วยพันธะ α-(1⟶4)-glycosidic linkage และอาจมี Rhamnogalac- turonan-I (RG-I) บางส่วนจากสเปคตรัมที่ δ 100–105 ppm สำหรับสารสกัดโพลิแซคคาไรด์จากวิธีการสกัดด้วยน้ำ RO พบสเปกตรัมที่ δ 33.73-103.62 ppm ส่วนของโพลิแซคคาไรด์จากเปลือกผลโกโก้ที่สกัดด้วยสารละลายกรดซิตริก พบสเปกตรัมที่ δ 33.73-178.52 ppm ซึ่งที่ δ 71-76 ppm แสดงสัญญาณของ α-D-GalAp และที่ δ 174.80, δ 178.52 ppm แสดงสัญญาณของ Carbonyl carbon ของ Galacturonic acid residue และคาร์บอกซิล (C=O) สัญญาณที่ δ 62-64 ppm แสดงหมู่ CH_2-O และสัญญาณที่ δ 98, δ 101 ppm แสดงหมู่ C-1 ของเมธิลเอสเธอร์ α-D-GalAp ของโฮโมกาแลคทูโรแนน ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ (Redgwell et al., 2003) [6], (Vriesmann et al, 2011) [7], (Vriesmann and Petkowicz, 2017) [10] โดยสรุปสารสกัดโพลิแซคคาไรด์ที่ได้มีลักษณะเป็นเพคตินแบบโฮโมกาแลคทูโรแนน ที่เชื่อมต่อกันด้วย α-(1⟶4)-D-galacturonic acid (GalA) เห็นได้จากหมู่คาร์บอนิล GalA และเพคตินทั้ง 2 ตัวอย่างมีค่า DM ต่ำ เนื่องจากไม่เห็นสเปคตรัมของ O-CH_3 ที่ δ 52–54 ppm ชัดเจนนัก จึงจัดอยู่ในกลุ่มที่มีลักษณะคล้าย Low

methyl pectin ซึ่งมักเกิดเจลได้ดีในระบบมี Ca^{2+} มากกว่าระบบ High-sugar/Low-pH สอดคล้องกับผล FTIR จึงควรมีการศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่เพิ่มเติม เช่น สมบัติการเกิดเจลในระบบที่มีแคลเซียมไอออน เพื่อใช้ทวนสอบสมมุติฐานของการเป็น Low-methoxyl pectin ให้ชัดเจนยิ่งขึ้น

อย่างไรก็ตาม สารสกัดที่ได้จากการศึกษานี้ยังเป็นสารสกัดโพลิแซคคาไรด์หยาบ (crude polysaccharide-rich extract) ซึ่งอาจมีสารประกอบอื่นปะปนอยู่ เช่น โปรตีน ลิกนิน สารประกอบฟีนอลิก หรือกรดซิตริกที่ตกค้างจากกระบวนการสกัดและการตกตะกอนด้วยเอทานอล ดังนั้น การแปลผล FTIR และ ^{13}C-NMR จึงเป็นการประเมินลักษณะเชิงโครงสร้างเบื้องต้นเท่านั้น ในการศึกษาต่อไปควรวิเคราะห์ปริมาณ Uronic acid หรือ Galacturonic acid และเพิ่มขั้นตอนการทำให้บริสุทธิ์ของสารสกัด เพื่อยืนยันองค์ประกอบของเพคตินให้ชัดเจนยิ่งขึ้น

โครมาโตแกรมของการวิเคราะห์ด้วย TLC ในการศึกษานี้ใช้เพื่อเปรียบเทียบลักษณะของน้ำตาลที่ตรวจพบในสารสกัดเชิงคุณภาพเบื้องต้น โดยไม่ได้มีการย่อยโพลิแซคคาไรด์เพิ่มเติมก่อนการวิเคราะห์ ดังนั้น แถบที่ตรวจพบอาจเกิดจากน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวหรือโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีอยู่เดิม หรือเกิดจากการแตกตัวบางส่วนของสารสกัดภายใต้สภาวะการสกัด ที่พบในสารสกัดโพลิแซคคาไรด์ที่ได้ (ภาพที่ 5) พบว่า สารสกัดโพลิแซคคาไรด์ที่ได้จากเปลือกผลโกโก้ด้วยวิธีการสกัดด้วยน้ำ RO และวิธีการสกัดด้วยสารละลายกรดซิตริก แสดงแถบของน้ำตาลกาแลคโตส (Galactose) และน้ำตาลอาราบิโนส (Arabinose) ได้อย่างชัดเจน สอดคล้องกับองค์ประกอบน้ำตาลที่พบได้ในเพคตินและโพลิแซคคาไรด์จากผนังเซลล์พืช ซึ่งจะเห็นว่าสีแถบของน้ำตาลองค์ประกอบทั้งสองในตัวอย่างสารสกัดโพลิแซคคาไรด์ที่สกัดด้วยสารละลายกรดซิตริกมีแถบสีที่เข้มกกว่าวิธีการสกัดด้วยน้ำ นอกจากนี้อาจมีองค์ประกอบของกรดยูโรนิก (Gluronic acid) อยู่ด้วย ทั้งนี้เนื่องจากตัวทำละลายเข้าไปสกัดเอาสารสกัดที่มีขนาดเล็ก จึงมีองค์ประกอบของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว และสารละลายกรดจะมีประสิทธิภาพในการไฮโดรไลซ์ได้ดีกว่าน้ำ RO จึงย่อยสลายสารสกัดให้มีขนาดเล็กได้ในปริมาณมากกว่า จึงมีแถบสีเข้มกว่า

การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า ชนิดตัวทำละลายและระยะเวลาการสกัดมีผลต่อคุณลักษณะและประสิทธิภาพในการสกัดสารสกัดโพลิแซคคาไรด์จากเปลือกผลโกโก้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยการสกัดด้วยสารละลายกรดซิตริกที่ pH 4.0 ให้ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด ปริมาณคาร์โบไฮเดรตรวม ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และร้อยละผลผลิตสูงกว่าวิธีการสกัดด้วยน้ำ RO อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สะท้อนให้เห็นว่าสภาวะกรดอ่อนช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการละลายและสกัดสารประกอบกลุ่มคาร์โบไฮเดรตจากโครงสร้างผนังเซลล์ของเปลือกผลโกโก้ได้ดีกว่าการสกัดด้วยน้ำเพียงอย่างเดียว ผลการวิเคราะห์ FTIR และ ^{13}C-NMR แสดงให้เห็นว่าสารสกัดที่ได้มีลักษณะเชิงโครงสร้างสอดคล้องกับสารกลุ่มโพลิแซคคาไรด์และเพคติน โดยพบหมู่ฟังก์ชันที่สัมพันธ์กับกรดกาแลคทูโรนิก รามโนกาแลคทูโรแนน และโฮโมกาแลคทูโรแนน รวมทั้งพบแนวโน้มของระดับเอสเทอริฟิเคชันที่แตกต่างกันระหว่างวิธีการสกัด ทั้งนี้ การประเมินค่า FTIR peak ratio และ estimated DE index ช่วยสนับสนุนแนวโน้มว่าการสกัดภายใต้สภาวะกรดอ่อนอาจส่งผลต่อระดับ de-esterification ของสารสกัดบางส่วน จึงมีความสำคัญในฐานะข้อมูลพื้นฐานสำหรับการพัฒนากระบวนการสกัดสารสกัดโพลิแซคคาไรด์จากเปลือกผลโกโก้ซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร ให้สามารถต่อยอดสู่กระบวนการสกัดร่วมกับเอนไซม์ การศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ และการประยุกต์ใช้เป็นสารให้เนื้อสัมผัสหรือสารเพิ่มมูลค่าในผลิตภัณฑ์อาหารและอุตสาหกรรมชีวภาพต่อไป ซึ่งสามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการพัฒนากระบวนการสกัดร่วมกับเอนไซม์และการประยุกต์ใช้ในระดับอุตสาหกรรมต่อไป นอกจากนี้ ควรมีการศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ เช่น สมบัติการเกิดเจล ความหนืด และสมบัติทางรีโอโลยี รวมถึงการเปรียบเทียบกับเพคตินเชิงพาณิชย์ เพื่อเป็นแนวทางในการประยุกต์ใช้สารสกัดจากเปลือกผลโกโก้ในผลิตภัณฑ์อาหารและผลิตภัณฑ์มูลค่าเพิ่มต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษานี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจาก กองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (ววน.) จากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ประจำปีงบประมาณ 2568 รหัสโครงการ 6818101235 และได้รับการสนับสนุนด้านเครื่องมือวิทยาศาสตร์จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

เอกสารอ้างอิง

[1] Belwal, T., Cravotto, C., Ramola, S., Thakur, M., Chemat, F., and Cravotto, G. (2022). Bioactive compounds from cocoa husk: Extraction, analysis and applications in food production chain. *Foods*, *11*(6), Article 798. https://doi.org/10.3390/foods11060798

[2] Ouattara, Y. L., Kouassi, E. A., Soro, D., Soro, Y., Yao, K. B., Adouby, K., Drogui, A. P., Tyagi, D. R., and Aina, P. M. (2021). Cocoa pod husks as potential sources of renewable high-value-added products: A review of current valorizations and future prospects. *BioResources*, *16*(1), 1988-2020. https://www.researchgate.net/publication/357157254

[3] Budaraga, I. K., Febrianti, A., and Kumalasari, R. (2019). Characterization of pectin from cocoa pod husk and potential application as edible film base material. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 365(1), Article 012049. https://doi.org/10.1088/1755-1315/365/1/012049

[4] Soares, R. R. P. and Oliveira, L. S. (2022). Cocoa industry by-products: Characterization and applications. *Molecules*, 27(5), Article 1625. https://doi.org/10.3390/molecules27051625

[5] Campos-Vega, R., Nieto-Figueroa, K. H., and Oomah, B. D. (2018). Cocoa (*Theobroma cacao L.*) pod husk: Renewable source of bioactive compounds. *Trends in Food Science and Technology*, *81,* 172-184. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.09.022

[6] Redgwell, R., Trovato, V., Merinat, S., Curti, D., Hediger, S., and Manez, A. (2003). Dietary fibre in cocoa shell: characterization of component polysaccharides. *Food Chemistry*, *81*, 103-112. https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00385-0

[7] Vriesmann, L. C., Amboni, R. D. M. C., and Petkowicz, C. L. O. (2011). Cacao pod husks (Theobroma cacao L.): Composition and hot-water-soluble pectin. *Industrial Crops and Products*, 34(1), 1173-1181. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.04.004

[8] Vriesmann, L. C., Teófilo, R. F., and Petkowicz, C. L. O. (2012). Extraction and characterization of pectin from cacao pod husks (Theobroma cacao L.) with citric acid. *LWT - Food Science and Technology*, 49(1), 108-116. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.04.018

[9] Zainal, S., Phang, L. Y., Fai, C. K., Fadzillah, A. A. M., Ab Karim, N., Ramli, N., and Abd-Aziz, S. (2024). Autoclave-mediated extraction of low-methoxyl pectin from cocoa husk: Optimization, characterization, and functional properties. *Foods, 13*(4), Article 669. https://doi.org/10.3390/foods13040669

[10] Vriesmann, L. C., and Petkowicz, C. L. O. (2017). Cacao pod husks as a source of low-methoxyl, highly acetylated pectins able to gel in acidic media. *International Journal of Biological Macromolecules*, 101, 146-152. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.03.082

[11] AOAC. (2000). Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. (15th ed). Virginia: Association of Official Analytical Chemists, Inc.

[12] Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., and Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28, 350-356. http://doi.org/10.1021/ac60111a017

[13] Miller, G. L. (1959). Use of Dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Journal of Analytical Chemistry*, *31,* 426-428.

[14] Miliauskas G., Venskutonis P. R., and van Beek T. A. (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry*, *85*(2), 231-237.

[15] Sobamiwa, O., and Longe, O. G. (1994). Utilization of cocoa-pod pericarp fractions in broiler chick diets. *Animal Feed Science and Technology*, *47*, 237-244

[16] 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.

[17] Ussarat Kathabthim, N., Samri, N., Chitsai, K., and Hongkriangkrai, R. (2023). Development of pectin extraction methods from watermelon peel using organic acids for food industry applications. *Srinakharinwirot University Journal (Science and Technology)*, *15*(30), Article 251598. (in Thai)

[18] Phontrakulpipat, P., and Pintathong, P. (2023). Preparation of polysaccharide and fructooligosaccharide extracts from Jerusalem artichoke *(Helianthus tuberosus L.)*. https://postgrads.mfu.ac.th/wp-content/uploads/2024/11/6351701288.pdf (in Thai)

[19] Muñoz-Almagro, N., Valadez-Carmona, L., Mendiola, J. A., Ibáñez, E., and Villamiel, M. (2019). Structural characterisation of pectin obtained from cacao pod husk: Comparison of conventional and subcritical water extraction. *Carbohydrate Polymers*, *217*, 69-78. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.04.040

[20] Chamniankul, S., and Saewan, N. (2020). Development of cocoa pod extract for utilizing in cosmetic products. In *Proceedings of the School of Cosmetic Science Conference*. Mae Fah Luang University.

[21] Santiago-Gómez, I., Carrera-Lanestosa, A., González-Alejo, F. A., Guerra-Que, Z., García-Alamilla, R., Rivera-Armenta, J. L., and García-Alamilla, P. (2025). Pectin extraction process from cocoa pod husk (Theobroma cacao L.) and characterization by Fourier transform infrared spectroscopy. *Chem Engineering*, *9*(2), Article 25. https://doi.org/10.3390/chemengineering9020025