# การสกัดเพคตินคุณภาพสูงจากเปลือกมะม่วงโดยใช้สารตัวทำละลายดีปยูเทคติค

# EXTRACTION OF HIGH QUALITY PECTIN FROM MANGO PEEL USING DEEP EUTECTIC SOLVENTS


**นางสาวกรณ์กาญจน์ ยับ**

**นางสาวรินรดา ตันเดี่ยว**

**นายวัฒนชัย บุญนิมิ**


**ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต**

**สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี**

**คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง**

**ปีการศึกษา 2566**


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# การสกัดเพคตินคุณภาพสูงจากเปลือกมะม่วงโดยใช้สารตัวทำละลายดีปยูเทคติค

นางสาวกรณ์กาญจน์ ยับ

นางสาวรินรดา ตันเดี่ยว

นายวัฒนชัย บุญนิมิ

ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี

คณะวิศวกรรมศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2566

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# EXTRACTION OF HIGH QUALITY PECTIN FROM MANGO PEEL USING DEEP EUTECTIC SOLVENTS

KORNKAN YAP

RINRADA THONDIAW

WATTANACHAI BUNNIMI

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF ENGINEERING IN CHEMICAL ENGINEERING

SCHOOL OF ENGINEERING

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2023

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| **หัวข้อปริญญานิพนธ์** | การสกัดเพคตินคุณภาพสูงจากเปลือกมะม่วงโดยใช้สารตัวทำละลายดีปยูเทคติค | | | |
| **นักศึกษา** | นางสาวกรณ์กาญจน์ | ยับ | **รหัสนักศึกษา** | 63010014 |
| | นางสาวรินรดา | ตันเดี่ยว | **รหัสนักศึกษา** | 63010822 |
| | นายวัฒนชัย | บุญนิมิ | **รหัสนักศึกษา** | 63010874 |
| **ปริญญา** | วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต | | | |
| **สาขาวิชา** | วิศวกรรมเคมี | | | |
| **ปีการศึกษา** | 2566 | | | |
| **อาจารย์ที่ปรึกษา** | ผศ.ดร.ธนวรรณ พิณรัตน์ | | | |

---

ปริญญานิพนธ์นี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต สาขาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

คณะกรรมการตรวจสอบปริญญานิพนธ์

ธนวรรณ พิณรัตน์ ประธานกรรมการ

(ผศ.ดร.ธนวรรณ พิณรัตน์)

TEERAPORN กรรมการ

(รศ.ดร.ธีรพร สุธีวงศ์)

ญาณีพร พัชรวรโชติ กรรมการ

(รศ.ดร.ญาณีพร พัชรวรโชติ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| **หัวข้อปริญญานิพนธ์** | การสกัดเพคตินคุณภาพสูงจากเปลือกมะม่วงโดยใช้สารตัวทำละลายดีปยูเทคติค | | | |
| **นักศึกษา** | นางสาวกรณ์กาญจน์ | ยับ | **รหัสนักศึกษา** | 63010014 |
| | นางสาวรินรดา | ตันเดี่ยว | **รหัสนักศึกษา** | 63010822 |
| | นายวัฒนชัย | บุญนิมิ | **รหัสนักศึกษา** | 63010874 |
| **ปริญญา** | วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต | | | |
| **สาขาวิชา** | วิศวกรรมเคมี | | | |
| **ปีการศึกษา** | 2566 | | | |
| **อาจารย์ที่ปรึกษา** | ผศ.ดร.ธนวรรณ พิณรัตน์ | | | |

# บทคัดย่อ

การสกัดเพคตินคุณภาพสูงจากเปลือกมะม่วงโดยใช้สารตัวทำละลายดีปยูเทคติค (DES) เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพ เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ซึ่งตัวทำละลายดีปยูเทคติคประกอบด้วยคลอรีนคลอไรด์ (Choline Chloride,ChCl) เป็นสารรับพันธะไฮโดรเจน (HBA) โดยมีกรดซิตริก (Citric Acid,CA) และกลูโคส (Glucose,Glu) เป็นสารให้พันธะไฮโดรเจน (HBD) งานวิจัยนี้ได้ศึกษาสภาวะที่ดีที่สุดสำหรับสกัดเพคตินคุณภาพสูงจากเปลือกมะม่วงโดยใช้ตัวทำละลายดีปยูเทคติค ได้แก่ ชนิดของ HBD ซึ่งประกอบด้วย กรดซิตริก (Citric acid, CA) และกลูโคส (Glucose, Glu) สำหรับสกัดเพคติน โดยใช้คลอรีนคลอไรด์ (Choline chloride, ChCl) เป็น HBA เทียบกับการสกัดด้วยสารละลายกรดซิตริก (CA:H2O) อัตราส่วนโดยโมลของ ChCl:CA เท่ากับ 1:1,ChCl:Glu:$H_2O$ เท่ากับ 5:2:5 และ CA:H2O ในอัตราส่วน 1กรัมต่อ 90 มิลลิลิตร อุณหภูมิการสกัด 60, 70, 80 และ 90 องศา-เซลเซียส และศึกษาการสกัดเพคตินคุณภาพสูงจากเปลือกมะม่วงโดยใช้สารละลายดีปยูเทคติค (DES) ผสมน้ำร้อยละ 40,60,80,85 และ 90 โดยปริมาตรของ DES ที่อัตราส่วนโมล HBAต่อHBD 1:1 จากการทดลองพบว่าการสกัดเพคตินด้วยตัวทำละลาย DES โดยมี คลอรีนคลอไรด์ (Choline chloride, ChCl) เป็น HBA และ กรดซิตริก (Citric acid, CA) เป็น HBD ผสมน้ำร้อยละ 85 โดยปริมาตรของ DES อุณหภูมิการสกัด 90 องศาเซลเซียส ปริมาณผลผลิตเพคตินที่ได้ (Yield of pectin) ร้อยละ 42.77 และมี %DE ร้อยละ 25.87

คำสำคัญ: ตัวทำละลายดีปยูเทคติค เพคติน การสกัดเพคติน



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| | | | |
|---|---|---|---|
| **Thesis Title** | Extraction of high quality pectin from mango peel using Deep Eutectic Solvents | | |
| **Student** | Ms. Kornkarn Yap | **Student ID** | 63010014 |
| | Ms. Rinrada Thondiaw | **Student ID** | 63010822 |
| | Mr. Wattanachai Bunnimi | **Student ID** | 63010874 |
| **Degree** | Bachelor of Engineering | | |
| **Program** | Chemical Engineering | | |
| **Year** | 2566 | | |
| **อาจารย์ที่ปรึกษา** | Asst. Prof. Dr.Tanawan Pinnarat | | |

# ABSTRACT

The extraction of high-quality pectin from mango peel using deep eutectic solvents (DES) is an efficient and environmentally friendly method. The DES consists of choline chloride (ChCl) as a hydrogen bond acceptor (HBA) and citric acid (CA) and glucose (Glu) as hydrogen bond donors (HBDs). This research investigated the optimal conditions for extracting high-quality pectin from mango peel using deep eutectic solvents (DES). The study focused on the type of HBD, which included citric acid (CA) and glucose (Glu), for pectin extraction using choline chloride (ChCl) as the HBA. The results were compared to those obtained using citric acid solution (CA:H2O). The molar ratios of ChCl:CA, ChCl:Glu:H2O, and CA:H2O were 1:1, 5:2:5, and 1 g/90 mL, respectively. The extraction temperatures were 60, 70, 80, and 90 °C. And to study the extraction of high-quality pectin from mango peel using deep eutectic solvents (DES) mixed with water at 40, 60, 80, 85, and 90% by volume of DES at a molar ratio of HBA to HBD of 1:1.The experimental results showed that the extraction of pectin using DES solvent with choline chloride (ChCl) as HBA and citric acid (CA) as HBD mixed with 85% water by volume of DES, extraction temperature of 90 °C, the yield of pectin was 42.77% and had %DE of 25.87.

Keywords: Deep eutectic solvents (DES) Pectin Pectin extraction



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# กิตติกรรมประกาศ

โครงงานวิจัยการสกัดเพคตินคุณภาพสูงจากเปลือกมะม่วงโดยใช้สารตัวทำละลายดีปยูเทคติค สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความอนุเคราะห์และความช่วยเหลือจากบุคคลหลายท่าน ทางผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.ธนวรรณ พิณรัตน์ อาจารย์ที่ปรึกษาที่ได้ให้คำปรึกษา คำแนะนำ การแก้ไขข้อบกพร่องและข้อคิดต่างๆอันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการจัดทำโครงงานวิจัยนี้

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.ธีรพร สุธีวงศ์ คณะกรรมการผู้ตรวจสอบงานวิจัย สำหรับคำแนะนำอันเป็นประโยชน์ การแก้ไข้ข้อบกพร่อง ตลอดจนความอนุเคราะห์การใช้เทอร์โมคัปเปิล และคำแนะนำในการใช้เครื่องมือการทดลองต่างๆ อันเป็นประโยชน์ในการทำงานวิจัยนี้

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.ญาณีพร พัชรวรโชติ คณะกรรมการผู้ตรวจสอบงานวิจัย สำหรับคำแนะนำอันเป็นประโยชน์ การแก้ไข้ข้อบกพร่อง ตลอดจนคำแนะนำต่างๆอันเป็นประโยชน์ในการทำงานวิจัยนี้

ขอขอบพระคุณ คุณพิมใจ ภู่ชนะกิจ คุณสุกานต์ภิรมย์ ศรีวงษ์ และคุณพิสันต์ ผลโพธิ์ เจ้าหน้าที่ประจำภาควิชาวิศวกรรมเคมี ที่คอยให้ความช่วยเหลือในด้านต่างๆ และคำแนะนำในการใช้เครื่องมือการทดลองต่างๆ ในภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ได้อย่างถูกต้อง และปลอดภัย

สุดท้ายนี้ ทางผู้วิจัยขอน้อมรำลึกถึงพระคุณของบิดา มารดา ผู้ซึ่งมีพระคุณสูงสุดที่ได้ให้การอุปการะผู้วิจัยมาโดยตลอด รวมทั้งบุคคลรอบข้างทุกคนที่มีความเกี่ยวข้องกับงานวิจัยนี้ ที่ได้ให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจในการจัดทำงานวิจัยนี้จนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ผู้วิจัยรู้สึกยินดีเป็นอย่างยิ่ง จึงขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้

กรณ์กาญจน์ ยับ

รินรดา ตันเดี่ยว

วัฒนชัย บุญนิมิ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ

**บทคัดย่อ** ..... I

**ABSTRACT** ..... II

**กิตติกรรมประกาศ** ..... III

**สารบัญ** ..... IV

**สารบัญตาราง** ..... VII

**สารบัญรูปภาพ** ..... VIII

**บทที่ 1 บทนำ** ..... 1

1.1 ที่มาและความสำคัญ ..... 1

1.2 วัตถุประสงค์งานวิจัย ..... 4

1.3 ขอบเขตงานวิจัย ..... 4

**บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง** ..... 5

2.1 เพคติน (Pectin) ..... 5

2.2.1 การสกัดเพคติน (Extraction of Pectin) ..... 7

2.2 การสกัดเพคตินโดยใช้ตัวทำละลายดีปยูเทคติค ..... 9

2.2.1 ตัวทำละลายดีปยูเทคติค (Deep Eutectic Solvents, DES) ..... 9

2.2.2 อิทธิพลของการเติมน้ำเพื่อลดความหนืดตัวทำละลายดีปยูเทคติคต่อการสกัดเพคติน ..... 10

2.2.3 อิทธิพลของชนิด HBD ต่อการสกัดเพคตินโดยใช้ตัวทำละลายดีปยูเทคติค ..... 10

2.3 อิทธิพลที่มีผลต่อการสกัดเพคติน ..... 11

2.3.1 อิทธิพลของความเป็นกรด-เบสของสารละลายต่อการสกัดเพคติน ..... 11

2.3.2 อิทธิพลของอัตราส่วนของแข็งต่อของเหลวต่อการสกัดเพคติน ..... 12



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ (ต่อ)

2.3.2 อิทธิพลของอุณหภูมิและเวลาต่อการสกัดเพคติน....13
2.4 การสกัดของแข็งด้วยของเหลว (Solid-Liquid Extraction) .... 14
2.5 Degree of esterification (DE).... 15
2.6 การต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) .... 16
**บทที่ 3 วิธีการดำเนินงาน....18**
3.1 สารเคมี วัตถุดิบ และอุปกรณ์การทดลอง.... 18
3.1.1 วัตถุดิบ....18
3.1.2 สารเคมี....18
3.1.3 อุปกรณ์....18
3.2 การเตรียมเปลือกมะม่วง.... 19
3.3 การเตรียมสารละลาย .... 19
3.4 การเตรียม DES .... 20
3.5 การสกัดเพคติน.... 20
3.6 การวิเคราะห์.... 21
3.6.1 การวิเคราะห์ปริมาณร้อยละผลผลิตเพคติน (%yield) [8]....21
3.6.2 การวิเคราะห์ Degree of esterification (%DE) [31] ....21
3.6.3 การวิเคราะห์ปริมาณกลุ่มเมทอกซิล (% Methoxyl) ....22
3.6.4 การวิเคราะห์ปริมาณ Antioxidant โดยวิธี DPPH [33]....22
**บทที่ 4 ผลการทดลอง และอภิปรายผล....24**
4.1 สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเพคตินคุณภาพสูงจากเปลือกมะม่วง.... 24
4.1.1 ชนิดสารละลายที่ใช้สกัดเพคติน....24



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ (ต่อ)

4.1.2 การเติมน้ำใน DES ที่ใช้สกัดเพคติน ..... 26

4.1.3 อุณหภูมิที่ใช้สกัดเพคตินจากเปลือกมะม่วง ..... 29

**บทที่ 5 สรุปผลการดำเนินงาน และข้อเสนอแนะ ..... 32**

5.1 สรุปผลการดำเนินงาน ..... 32

5.2 ข้อเสนอแนะ ..... 34

**ภาคผนวก ..... 40**

**ภาคผนวก ก. ..... 41**

**ผลการทดลอง ..... 41**

**ภาคผนวก ข ..... 45**

**การวิเคราะห์ผล และตัวอย่างการคำนวณ ..... 45**

ข.1 การวิเคราะห์ปริมาณเพคตินที่สกัดได้ ..... 45

ข.2 การวิเคราะห์ Degree of esterification (%DE) ..... 45

ข.3 การวิเคราะห์ปริมาณกลุ่มเมทอกซิล (% Methoxyl) ..... 46

ข.4 การวิเคราะห์ปริมาณ Antioxidant โดยวิธี DPPH Assay ..... 47



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญตาราง

**ตารางที่ 2.1** การสกัดเพคตินด้วยวิธีการและสภาวะต่างๆ .....7

**ตารางที่ 2.2** ข้อดีและข้อเสียของการสกัดเพคตินด้วยวิธีการต่างๆ [8,15] .....8

**ตารางที่ ก. 1** ผลของสารละลายแต่ละชนิดที่ใช้สกัดเพคตินจากเปลือกมะม่วง ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ด้วยอัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว เท่ากับ 1:30.....41

**ตารางที่ ก.2** ผลของอุณหภูมิที่ใช้สกัดเพคตินจากเปลือกมะม่วง เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ด้วยอัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว เท่ากับ 1:30.....42

**ตารางที่ ก.3** ผลของปริมาณน้ำที่เติมใน ChCl:CA สัดส่วนโดยโมล 1:1 ที่ใช้สกัดเพคตินจากเปลือกมะม่วง ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ด้วยอัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว เท่ากับ 1:30.....44

**ตาราง ข. 1**แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า Degree of esterification กับ ปริมาณเมทอกซิลในเพคติน [38].....46

**ตาราง ข.2** ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่าง Trolox แต่ละความเข้มข้น และร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ (%Antioxidant activity).....48



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญรูปภาพ

**รูปที่ 2.1** โครงสร้างองค์ประกอบของเพคติน [10] ..... 5
**รูปที่ 2.2** โครงสร้างของเพคตินที่มีกรดกาแล็กทูโรนิกเป็นองค์ประกอบหลัก [10] ..... 6
**รูปที่ 2.3** โมเลกุลของเพคตินบริเวณผนังเซลล์ (Cell wall) ในเนื้อเยื่อผลไม้ [11] ..... 6
**รูปที่ 2.4** แผนผังของการก่อตัวของตัวทำละลายดีปยูเทคติก [18] ..... 9
**รูปที่ 2.5** ตัวรับพันธะไฮโดรเจน (HBA) และตัวให้พันธะไฮโดรเจน (HBD) ของตัวทำละลายดีปยูเทคติก [17] ..... 9
**รูปที่ 2.6** กลไกการสกัดเพคตินภายใต้สภาวะต่างๆ [24] ..... 14
**รูปที่ 2.7** กลไกการสกัดของแข็งด้วยของเหลว (Solid-Liquid Extraction) [27] ..... 15
**รูปที่ 2.8** แสดงการถูกเอสเทอริฟายของหมู่คาร์บอกซิลด้วยหมู่เมทิล [28] ..... 16

**รูปที่ 4.1** ผลของสารละลายที่ใช้สกัดเพคตินจากเปลือกมะม่วง (ก) %Yield (ข) %DE (ค) %Methoxyl (ง) %Antioxidant activity (ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เวลา 2 ชั่วโมง อัตราส่วนโดยมวลของแข็งต่อของเหลว เท่ากับ 1:30) ..... 25
**รูปที่ 4.2** เพคตินที่ได้จากการสกัดโดยสารละลายแต่ละชนิด ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เวลา 2 ชั่วโมง อัตราส่วนโดยมวลของแข็งต่อของเหลว เท่ากับ 1:30 ..... 26
**รูปที่ 4.4** ผลของปริมาณน้ำใน ChCl:CA อัตราส่วน 1:1 ใช้สกัดเพคตินจากเปลือกมะม่วง (ก) %Yield (ข) %DE (ค) %Methoxyl (ง) %Antioxidant activity (ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เวลา 2 ชั่วโมง อัตราส่วนโดยมวลของแข็งต่อของเหลว เท่ากับ 1:30) ..... 28
**รูปที่ 4.3** เพคตินที่ได้จากการสกัดโดย ChCl:CA 1:1 ที่เติมน้ำปริมาณต่างกัน ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เวลา 2 ชั่วโมง อัตราส่วนโดยมวลของแข็งต่อของเหลว เท่ากับ 1:30 ..... 28
**รูปที่ 4.5** ผลของอุณหภูมิที่ใช้สกัดเพคตินจากเปลือกมะม่วง ChCl:CA อัตราส่วนโดยโมล 1:1 ก) %Yield (ข) %DE (ค) %Methoxyl (ง) %Antioxidant activity (ที่ความเข้มข้นของน้ำ 85% เวลา 2 ชั่วโมง อัตราส่วนโดยมวลของแข็งต่อของเหลว เท่ากับ 1:30) ..... 30
**รูปที่ 4.6** เพคตินที่ได้จากการสกัดโดย ChCl:CA อัตราส่วนโดยโมล 1:1 ที่ความเข้มข้นของน้ำ 85% โดยปริมาตรของ DES ที่แต่ละอุณหภูมิ เวลา 2 ชั่วโมง อัตราส่วนโดยมวลของแข็งต่อของเหลว เท่ากับ 1:30 ..... 31

**รูปที่ ข.1** สารตัวอย่าง Trolox ความเข้มข้น 2.5, 5, 10, 15, 20, 25 µg/ml ..... 48
**รูปที่ ข.2** กราฟมาตรฐานการวิเคราะห์ค่าการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH ..... 49



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 1
# บทนำ

## 1.1 ที่มาและความสำคัญ

เพคตินเป็นสารที่มีความสำคัญในอุตสาหกรรมอาหาร เครื่องสำอาง และอุตสาหกรรมทางการแพทย์ เนื่องจากความเสถียร ความหนืด และความสามารถในการเกิดเจล อีกทั้งยังมีประโยชน์ต่อสุขภาพในหลายด้าน เช่น ความสามารถในการปรับสมดุลในลำไส้ การลดการอักเสบในลำไส้ การลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด การป้องกันการพัฒนาของภาวะหลอดเลือดแข็ง (Atherosclerosis) และการลดการสะสมของไขมัน [1] ปัจจุบันเพคตินที่นำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและยาต้องนำเข้าจากต่างประเทศเป็นหลักและมีราคาสูง เพคตินเกรดอุตสาหกรรม ราคา 500-1,000 บาทต่อกิโลกรัม และเกรดทางการแพทย์ 6,650-10,161 บาทต่อกิโลกรัม โดยการแบ่งเกรดของเพคตินนี้เป็นไปตามข้อกำหนดมาตรฐานของ The Joint / WHO Expert Committee on Food Additive (JECFA) ได้กำหนดคุณสมบัติของเพคตินระดับโรงงานอุตสาหกรรม (Industrial grade) เพคตินระดับห้องปฏิบัติการหรือทางการแพทย์ (Lab & pharmaceutical grade) และเพคตินมาตรฐาน (Standard) ดังตารางที่ 1.1

**ตารางที่ 1.1** การเปรียบเทียบคุณสมบัติเพคตินทางการค้า [2]

| คุณสมบัติ | เพคตินระดับโรงงานอุตสาหกรรม | เพคตินระดับห้องปฏิบัติการหรือทางการแพทย์ | เพคตินมาตรฐาน |
|---|---|---|---|
| Moisture (%) | 4.26 | 4.81 | - |
| Ash (%) | 3.59 | 2.23 | 2.0 |
| Methoxyl (%) | 5.08 | 6.29 | >2.5 |
| Galacturonic acid (%mg) | 69.89 | 78.54 | >65 |

เพคตินเป็นสารจำพวกพอลีแซ็คคาไรด์ (polysaccharide) และมีโครงสร้างหลักประกอบด้วยกรดกาแลคทูโรนิก (D-galacturonic acid) สารประกอบเพคตินพบมากบริเวณระหว่างผนังเซลล์พืช เพคตินสามารถแบ่งเกรดตามระดับของเอสเทอริฟิเคชั่น (Degree of esterification: %DE) ได้ 2 ชนิด ซึ่งระดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของเอสเทอริฟิเคชั่นเกี่ยวข้องโดยตรงกับปริมาณเมทอลซิลที่อยู่ในเพคตินโดยแสดงถึงระดับของเอสเทอริ-ฟิเคชั่น และแสดงถึงระดับที่หมู่คาร์บอกซิล (-COOH) บนหน่วยกรดกาแลคทูโรนิกของเพคตินที่ถูกเอส-เทอร์ริไฟด์ด้วยหมู่เมทอกซิล ($-OCH_3$) [3] เพคตินกลุ่มที่มีเมทอกซิลสูง (High Methoxyl Pectin: HMP) จะมีค่า DE ตั้งแต่ 50% ขึ้นไป มีคุณสมบัติการเกิดเจลและจับฟองอากาศได้ดี โดยเฉพาะในสภาวะที่มีน้ำตาลสูง 55–75 %ของน้ำหนักทั้งหมด และมีค่า pH เท่ากับ 2.5–3.5 โดย HMP สามารถสร้างเจลได้โดยให้โมเลกุลน้ำตาลทำปฏิกิริยากับหมู่คาร์บอกซิล (-COOH) เกิดเป็นโครงสร้างเจล ทำให้ HMP มักจะถูกใช้ในการผลิตแยม หรือเยลลี่ที่มีความเป็นกรดและน้ำตาลสูง เพคตินกลุ่มที่มีเมทอกซิลต่ำ (Low Methoxyl Pectin: LMP) จะมีค่า DE ต่ำกว่า 50% มีคุณสมบัติการเกิดเจลได้ดีตั้งแต่ระดับอุณหภูมิห้อง การสร้างเจลของ LMP ไม่ขึ้นอยู่กับปริมาณน้ำตาลและ ค่า pH การสร้างเจลขึ้นอยู่กับแคลเซียมไอออน ($Ca^{2+}$) โดย $Ca^{2+}$ ทำปฏิกิริยากับหมู่คาร์บอกซิล (-COOH) เกิดเป็นโครงสร้างเจล จากคุณสมบัติการเกิดเจลที่ไม่ขึ้นอยู่กับปริมาณน้ำตาลและความเป็นกรด ทำให้ LMP สามารถใช้งานได้ในอุตสาหกรรมที่หลากหลายและใช้ในผลิตภัณฑ์ที่มีการควบคุมปริมาณน้ำตาลและความเป็นกรดมากกว่า โดยเฉพาะอุตสาหกรรมยาที่มีการควบคุมสภาวะและคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์ที่จำเพาะ LMP สามารถพัฒนาผลิตภัณฑ์ทางเภสัชกรรมโดยไม่ต้องคำนึงถึงค่า pH หรือ ปริมาณน้ำตาลสูง จากผลการวิจัยพบว่า %DE มีอิทธิพลอย่างมีนัยสำคัญต่อค่าความคงตัวต่อปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidative stability) LMP (DE ≤ 33%) มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในไขมันมากขึ้นกว่า HMP (DE ≥ 58%) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเพคตินที่สกัดได้จากวัสดุธรรมชาติสามารถทดแทนสารต้านอนุมูลอิสระที่มาจากการสังเคราะห์ [4] การนำเพคตินไปใช้งานในด้านอุตสาหกรรมยา ในอดีต HMP มักถูกนำไปใช้เนื่องจากน้ำหนักโมเลกุลที่สูงและความสามารถในการละลายในน้ำที่ดี แต่ข้อจำกัดของการการกักเก็บสารประกอบที่สลายตัวง่ายในรูปแบบแคปซูลหรือการเอนแคปซูเลชันผลิตภัณฑ์ยาและอาหารเสริมด้วย HMP คือระยะเวลาในการปลดปล่อยยาที่เร็วเกินไป และแคปซูลถูกกัดกร่อน ด้วยเหตุนี้ LMP จึงถูกนำมาใช้ในการเอนแคปซูเลชันผลิตภัณฑ์ยาและอาหารเสริมมากขึ้น เพื่อหลีกเลี่ยงการปลดปล่อยยาในร่างกายที่เร็วเกินไป เพิ่มความต้านทานของเจล ลดความสามารถในการละลายน้ำและลดการถูกกัดกร่อนของแคปซูล [4] LMP ได้รับความสนใจเป็นอย่างมากในช่วงนี้ เนื่องจากนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพและผลิตภัณฑ์ยา LMP ไม่เพียงแค่ใช้ในผลิตภัณฑ์สำหรับรักษาแผล แต่ยังสามารถใช้ในการลำเลียงโพรไบโอติก นอกจากนี้ LMP สามารถใช้ในแยมแคลอรี่ต่ำและเยลลี่สำหรับการเคลือบ การอบไมโครเวฟ การอบ และการฆ่าเชื้อหรือการพาสเจอร์ไรส์ [5]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เศษเหลือทิ้งทางการเกษตรหลายชนิดสามารถนำมาสกัดเพคตินได้ เช่น เปลือกส้ม เปลือกกล้วย เปลือกแอปเปิ้ล เปลือกมะนาว เป็นต้น ทั้งยังช่วยลดมลภาวะที่เกิดจากการเน่าเปื่อยของวัสดุเหลือทิ้งและมลภาวะจากการกำจัดขยะ และจากการศึกษาทำให้ทราบว่าในเปลือกของมะม่วงมีเพคตินอยู่ปริมาณมากมีร้อยละผลผลิต (% yield) เท่ากับร้อยละ 10-15 โดยน้ำหนักเปลือก [1,6] มะม่วงเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญของประเทศไทย จากสถิติพบว่าในปี 2566 ผลผลิตผลไม้ทั้งหมดในประเทศไทยประมาณ 6.78 ล้านตัน โดยมีผลผลิตมะม่วงน้ำดอกไม้ทั้งประเทศ 1.34 ล้านตัน คิดเป็น 30%ของผลผลิตผลไม้ทั้งประเทศ โดยในปีที่ผ่านมามะม่วงแปรรูป ได้แก่ มะม่วงกระป๋อง และมะม่วงอบแห้ง มีมูลค่าการส่งออกรวมถึง 2,700 ล้านบาท ซึ่งส่งผลให้เกิดเศษเหลือทิ้งจากเปลือกมะม่วงเป็นจำนวนมากจากการแปรรูปและการบริโภคมะม่วง เกิดความสิ้นเปลืองทรัพยากรและมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อม เปลือกมะม่วงสามารถนำมาใช้ประโยชน์และเพิ่มมูลค่าได้โดยการนำมาใช้เป็นสารประกอบออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ เช่น กรดฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ แคโรทีนอยด์ เซลลูโลส และเพคติน [7]

มะม่วงน้ำดอกไม้ (*Mangifer indica* L. ‘Nam Dork Mai’) เป็นมะม่วงสำหรับรับประทานผลสุก ลำต้นมีลักษณะเป็นพุ่มโปร่ง สูงประมาณ 10-15 เมตร เป็นไม้ยืนต้น ไม่ผลัดใบ แตกกิ่งน้อย เปลือกลำต้นมีสีดำอมเทา มีอายุประมาณ 15-20 ปี ผลอ้วนเกือบกลมหัวใหญ่ปลายแหลมมีขนาดใหญ่น้ำหนักประมาณ 400 กรัม ผลดิบมีรสเปรี้ยวผิวสีเขียวนวล เนื้อแน่น เมื่อสุกผลมีผิวสีเหลือง กลิ่นหอม เนื้อละเอียด มีรสหวาน จะออกดอกติดผลในช่วงเดือนพฤศจิกายน–ธันวาคม และเก็บเกี่ยวในช่วงเดือนมีนาคม–เมษายน อีกทั้งมะม่วงน้ำดอกไม้ยังเป็นมะม่วงที่นิยมปลูกมากที่สุดในปัจจุบัน พบว่าปลูกในทุกภาค และมีการปลูกเพื่อการค้ามากในภาคกลาง ภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคตะวันออก และภาคตะวันตก

โดยทั่วไป วิธีการสกัดเพคตินแบบดั้งเดิมจะใช้ตัวทำละลายเป็นกรดหรือเอนไซม์เป็นหลัก หรือสกัดด้วยตัวทำละลายร่วมกับวิธีอัลตราซาวด์ หรือไมโครเวฟ โดยวิธีการสกัดด้วยกรดเพียงอย่างเดียว ต้องใช้เวลาสกัดนานโดยไอระเหยจากกรดก่อให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพและเป็นมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อม ซึ่งอาจลดระดับของเอสเทอริฟิ-เคชัน และน้ำหนักโมเลกุลของเพคตินที่ได้จากการสกัดด้วยกรดเพียงอย่างเดียวได้ รวมถึงไม่เหมาะสำหรับเพคตินเกรดอาหารและยา นอกจากนี้ การสกัดด้วยเอนไซม์ หรือวิธีอัลตราซาวด์อาจส่งผลเสียต่อคุณสมบัติทางโครงสร้างและเคมีกายภาพของเพคตินที่สกัดได้ โดยจะทำลายโครงสร้างของเพคตินทำให้โซ่ข้างของเพคตินลดลง [8] ดังนั้นจึงเป็นเรื่องสำคัญอย่างยิ่งที่จะต้องสำรวจวิธีการใหม่ที่มีประสิทธิภาพสูงและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมในการสกัดเพคติน ซึ่งตัวทำละลายดีปยูเทคติค (Deep Eutectic Solvents: DES) เป็นตัวทำละลายที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ถือเป็นทางเลือกแทนตัวทำละลายอินทรีย์ในการสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โพลีเมอร์ชีวภาพและโมเลกุลของพืชต่างๆ เมื่อเปรียบเทียบกับตัวทำละลายอินทรีย์ ตัวทำละลายดีปยูเทคติคมีข้อดีหลายประการ ได้แก่ ความเป็นพิษต่ำ ไม่ระเหยง่าย และความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพที่ดี ซึ่งตรงกับแนวความคิดของเคมีสีเขียวอย่างสมบูรณ์แบบ [8] โดยตัวทำละลายดีปยูเทคติคเป็นตัวทำละลายประเภทหนึ่งที่เกิดจากการรวมกันของสารประกอบตั้งแต่ 2 ชนิดขึ้นไป โดยทั่วไปคือตัวให้พันธะไฮโดรเจน (Hydrogen bond donor: HBD) และตัวรับพันธะไฮโดรเจน (Hydrogen bond acceptor: HBA) ในอัตราส่วนเฉพาะ ซึ่งที่ได้รับความสนใจอย่างมากในช่วงไม่กี่ปีที่ผ่านมา เนื่องจากคุณสมบัติเฉพาะตัวการใช้งานที่มีประสิทธิภาพและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม

ดังนั้นผู้วิจัยจึงมุ่งเน้นที่จะศึกษาวิธีการสกัดให้ได้เพคตินคุณภาพสูงซึ่งคือ เพคตินที่มีค่า %DE น้อยกว่า 33% จากเปลือกมะม่วงโดยใช้ตัวทำละลายดีปยูเทคติค เพื่อศึกษาตัวแปรที่ส่งผลต่อสภาวะที่เหมาะสม ได้แก่ ชนิดของ HBD อุณหภูมิ และปริมาณน้ำที่เติมใน DES เพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับเศษเหลือทิ้งทางการเกษตรให้เกิดประโยชน์ และสามารถพัฒนากระบวนการผลิตเพคตินให้มีคุณภาพมาตรฐานและทดแทนเพคตินที่นำเข้าจากต่างประเทศได้

## 1.2 วัตถุประสงค์งานวิจัย

เพื่อศึกษาสภาวะที่ดีที่สุดสำหรับสกัดเพคตินคุณภาพสูง (%DE < 33%) จากเปลือกมะม่วงโดยใช้ตัวทำละลายดีปยูเทคติค

## 1.3 ขอบเขตงานวิจัย

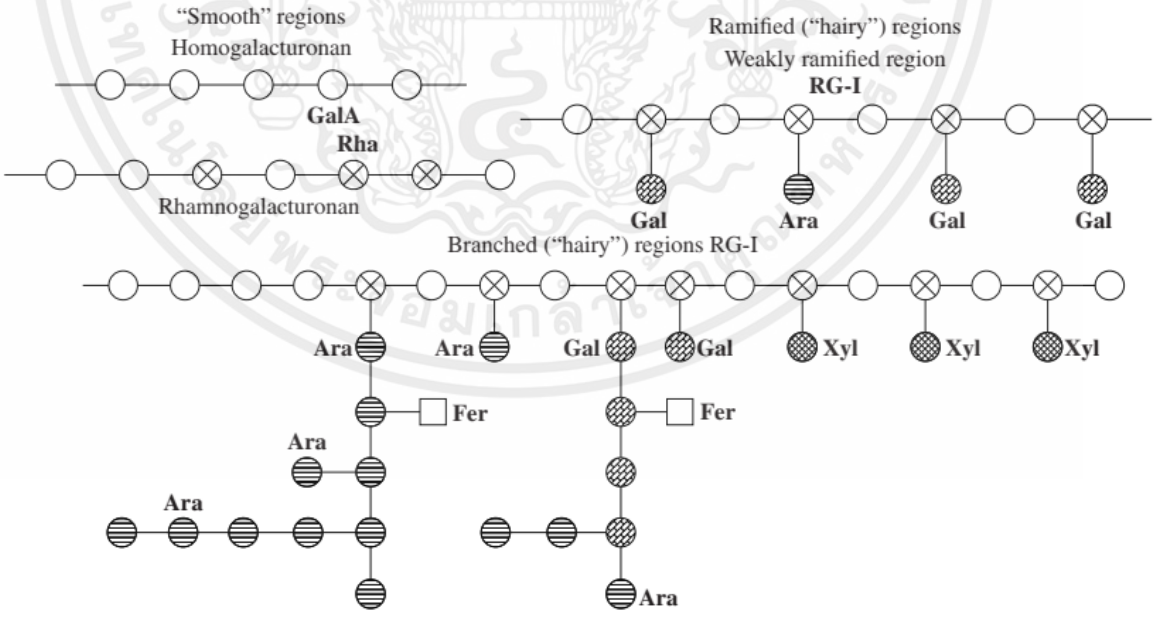
1. เพื่อศึกษาชนิดของ HBD ได้แก่ กรดซิตริก (Citric acid, CA) และกลูโคส (Glucose, Glu) ที่เหมาะสมที่สุดสำหรับสกัดเพคตินโดยใช้คลอรีนคลอไรด์ (Choline chloride, ChCl) เป็น HBA เทียบกับการสกัดด้วยสารละลายกรดซิตริก (CA:$H_2O$)
   - อัตราส่วนโดยโมลของ ChCl:CA:$H_2O$ เท่ากับ 1:1:13.96 ChCl:Glu:$H_2O$ เท่ากับ 5:2:5 และ CA:$H_2O$ ในอัตราส่วน 1 กรัมของ CA ต่อ 90 มิลลิลิตรของ $H_2O$
2. เพื่อศึกษาปริมาณน้ำที่เติมใน ChCl:CA ที่เหมาะสมที่สุดสำหรับสกัดเพคติน
   - ปริมาณน้ำ ร้อยละ 90 85 80 60 และ 40 โดยปริมาตรของ DES
3. เพื่อศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดสำหรับสกัดเพคตินโดยใช้ ChCl:CA ที่เติมน้ำร้อยละ 85
   - อุณหภูมิสำหรับการสกัดเพคติน 60 70 80 และ 90 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 2
# ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

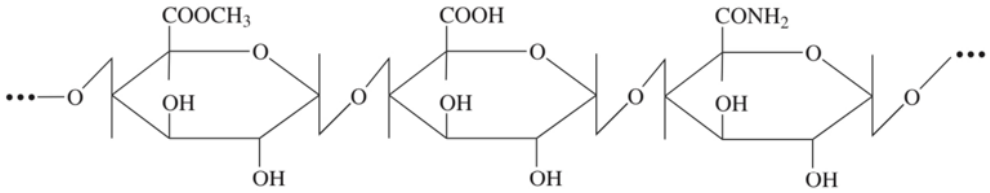
## 2.1 เพคติน (Pectin)

เพคติน (Pectin) เป็นชื่อเรียกของสารประกอบพอลีแซ็กคาไรด์ (Polysaccharide) ประเภทเฮเทอโรพอลิแซ็กคาไรด์ (Heteropolysaccharide) มีหน่วยย่อยเป็นกรดกาแล็กทูโรนิก (D-galacturonic acid) ประมาณร้อยละ 65 โดยน้ำหนัก เมทิลกาแล็กทูโรเนต (Methyl D-galacturonate) และน้ำตาล 4 ชนิด ได้แก่ แรมโนส (Rhamnose) กาแล็กโทส (Galactose) ไซโลส (Xylose) อะราบิโนส (Arabinose) ดังรูปที่ 2.1 เชื่อมต่อกันด้วยพันธะแอลฟา 1-4 ไกลโคซิดิค ($\alpha$-1,4 glycosidic bond) ประกอบด้วย หมู่คาร์บอกซิลอิสระ (-COOH) และหมู่คาร์บอกซิลที่รวมอยู่กับเมทิล (-$COOCH_3$) ดังรูปที่ 2.2 ด้วยปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน (Esterification) โดยสายยาวของกรดกาแล็กทูโรนิค เรียกว่า สมูธรีเจียน (Smooth regions) และส่วนที่แทรกอยู่โดยมีกรดกาแล็กทูโรนิคมาเชื่อมต่อกันเพียงเล็กน้อยเรียกว่า แฮร์รีเจียน (Hair regions) ซึ่งเป็นส่วนที่จำกัดการเกิดเจลของเพคติน [9]



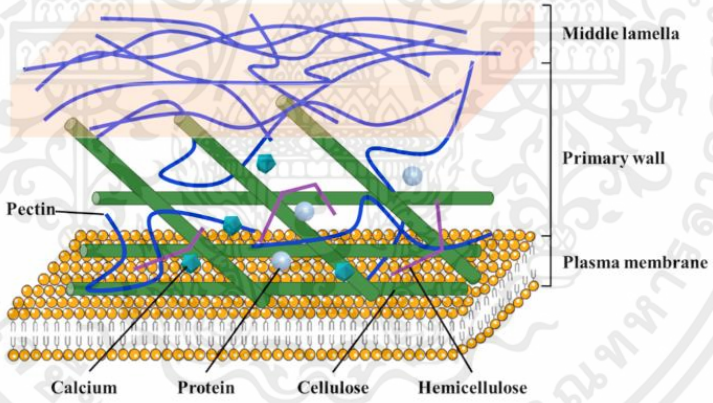

**รูปที่ 2.1** โครงสร้างองค์ประกอบของเพคติน [10]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ 2.2** โครงสร้างของเพคตินที่มีกรดกาแล็กทูโรนิกเป็นองค์ประกอบหลัก [10]

สารประกอบเพคตินพบมากบริเวณผนังเซลล์ของพืช (Plant cell wall) และรอยต่อระหว่างผนังเซลล์ โดยรวมตัวอยู่กับเซลลูโลส (Cellulose) ดังรูปที่ 2.3 โดยเฉพาะผลไม้ตระกูลส้ม เช่น ส้มโอ ส้มเขียวหวาน และมะม่วง ทำหน้าที่ยึดเกาะผนังเซลล์ให้ติดกันคล้ายซีเมนต์ เพคตินที่พบในพืชประกอบด้วยสาร 4 ชนิด คือ โพรโทเพคติน (Protopectin) กรดเพคทินิก (Pectinic acid) เพคติน (Pectin) และกรดเพคติน (Pectic Acid) ชนิดของเพคตินจะส่งผลต่อเนื้อสัมผัสของผักและผลไม้ เพคตินที่อยู่ในผลไม้ดิบจะอยู่ในรูปของ โพรโทเพคติน (Protopectin) เมื่อผลไม้สุกโพรโทเพคตินจะเปลี่ยนไปเป็นเพคติน (Pectin) ทำให้เนื้อสัมผัสของผลไม้นิ่มลง ความแน่นของเนื้อลดลง [11]




**รูปที่ 2.3** โมเลกุลของเพคตินบริเวณผนังเซลล์ (Cell wall) ในเนื้อเยื่อผลไม้ [11]

เพคตินจะมีคุณสมบัติการเกิดเจลเมื่อเติมกรดและน้ำตาลในปริมาณที่เหมาะสม ในอุตสาหกรรมอาหารสามารถนำมาผลิตเป็นฟิล์มพลาสติกที่ใช้เป็นบรรจุภัณฑ์อาหาร สารเคลือบผิวอาหาร สารให้ความข้นหนืด สารป้องกันการตกตะกอนในนมเปรี้ยว ในอุตสาหกรรมยาเป็นสารลดไลโพโปรตีนในพลาสมาและสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งการนำไปใช้จะขึ้นอยู่กับชนิดของเพคติน โดยทั่วไปจะแบ่งตามระดับของเอสเทอริฟิเคชั่น (Degree of esterification: %DE) [11]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.1.1 การสกัดเพคติน (Extraction of Pectin)

กระบวนการสกัดเพคตินเป็นกระบวนการต่อเนื่องซึ่งประกอบด้วยการไฮโดรไลซิสและการแยกเพคตินออกจากเนื้อเยื่อพืช และละลายในตัวทำละลาย การพัฒนาวิธีการสกัดเพคตินมีหลายวิธี คือ การสกัดด้วยกรด ด่าง เอนไซม์ น้ำกึ่งวิกฤต คลื่นอัลตราซาวด์ คลื่นไมโครเวฟ และตัวทำละลายดีปยูเทคติค ซึ่งสามารถสรุปสภาวะที่ดีที่สุดของแต่ละวิธีได้ดังตารางที่ 2.1

**ตารางที่ 2.1** การสกัดเพคตินด้วยวิธีการและสภาวะต่างๆ

| วิธีการสกัดเพคติน | ชนิดตัวทำละลาย | อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว | วัตถุดิบ | อุณหภูมิ (°C) | เวลา | ผลการทดลอง | | อ้างอิง |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | %yield | %DE | |
| สกัดด้วยกรด | citric acid และ trisodium citrate ในน้ำ | 1:18 | เปลือกมะม่วง | 80 | 5 ชั่วโมง 4 ชั่วโมง | 31.7 | 30.60 | [1] |
| | | | เปลือกเลมอน | | 5 ชั่วโมง 4 ชั่วโมง | 30.6 | 42.02 | |
| สกัดโดยใช้คลื่นไมโครเวฟ | Acidic water | - | เปลือกมะม่วง | 85.4–97 | 35–48 นาที | 18.8–32.10 | 62.20–86.2% | [12] |
| สกัดโดยใช้คลื่นอัลตราซาวด์ที่ 500 W at 20 kHz | สารละลาย Citric acid | 1:40 | เปลือกมะม่วง | 80 | 15 นาที | 16.70–17.15 | 85.43–88.38 | [13] |
| สกัดด้วยกรด | HCl-water | | เปลือกมะม่วง | 90 | 1.73 ชั่วโมง | 17.37% | 55.10% | [8] |
| Sonication bath | DES (choline chloride:malonic) 1:1 | 1:40 | เปลือกส้มโอ | 80 | 60 นาที | 96.37 | 52 | [14] |
| สกัดด้วยกรด | 0.5N HCl | 1:15 | เปลือกส้มคิน | 110 | 90 นาที | 20.46 | 66.03 | [15] |
| การสกัดด้วยน้ำ | distilled water โดยเติม 0.1N citric ให้ pH =2.5 | 1:20 | เปลือกส้มเขียวหวาน | 90 | 30 นาที | 18.57 | 55.74 | [15] |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| วิธีการสกัดเพคติน | ชนิดตัวทำละลาย | อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว | วัตถุดิบ | อุณหภูมิ (°C) | เวลา | ผลการทดลอง | | อ้างอิง |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | %yield | %DE | |
| สกัดโดยใช้คลื่นไมโครเวฟที่ 900W | 0.05 M HCl | 1:20 | เปลือกส้มเขียวหวาน | - | 120 วินาที | 26.87 | 75.04 | [15] |
| สกัดโดยใช้คลื่นอัลตราซาวด์ที่ 750W | 0.1 M citric acid | 1:20 | เปลือกส้มเขียวหวาน | - | 30 นาที | 30.59 | 80.09 | [15] |

**ตารางที่ 2.2** ข้อดีและข้อเสียของการสกัดเพคตินด้วยวิธีการต่างๆ [11,16]

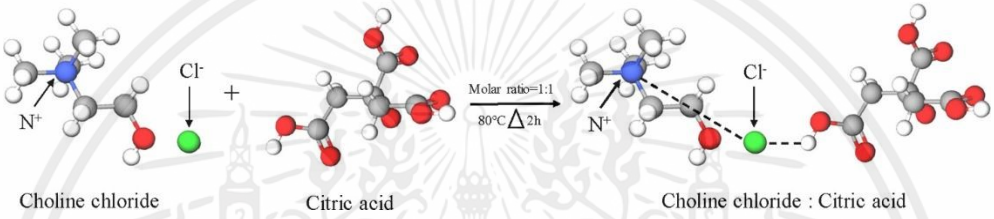
| วิธีการสกัดเพคติน | ข้อดี | ข้อเสีย |
|---|---|---|
| การสกัดด้วยกรด | - ง่ายต่อการดำเนินการ<br>- ต้นทุนต่ำ | - มีฤทธิ์กัดกร่อนสูง |
| การสกัดด้วยด่าง | - ให้ร้อยละผลผลิตสูง<br>- ต้นทุนต่ำ | - ส่งผลให้เกิดมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อม |
| การสกัดด้วยเอนไซม์ | - เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม | - ต้นทุนสูง<br>- ให้ร้อยละผลผลิตต่ำ |
| การสกัดด้วยน้ำกึ่งวิกฤต | - เวลาในการสกัดสั้น<br>- มีความบริสุทธิ์สูง | - ต้นทุนสูง<br>- เพคตินเกิดการไฮโดรไรซิส |
| การสกัดโดยใช้คลื่นอัลตราซาวด์ | - เวลาในการสกัดสั้น<br>- ให้ร้อยละผลผลิตสูง | - ความสม่ำเสมอของเพคตินต่ำ |
| การสกัดโดยใช้คลื่นไมโครเวฟ | - เวลาในการสกัดสั้น<br>- ใช้พลังงานต่ำ | - มีความยากต่อการผลิตขนาดใหญ่ |
| การสกัดโดยใช้คลื่นอัลตราซาวด์และไมโครเวฟ | - ประสิทธิภาพสูง | - มีข้อจำกัดของอุปกรณ์ |
| การสกัดโดยใช้ตัวทำละลายดีปยูเทคติค | - เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม<br>- ต้นทุนต่ำ | - มีความหนืดสูง |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

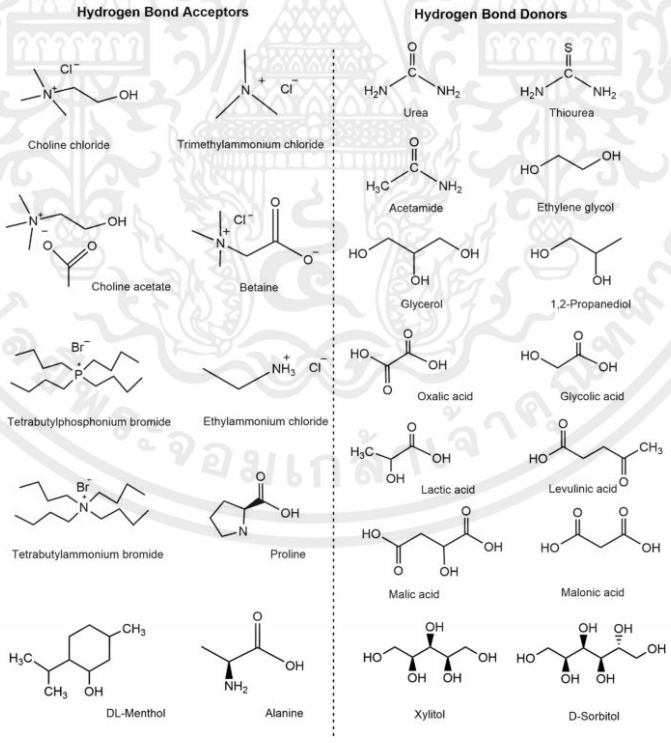
## 2.2 การสกัดเพคตินโดยใช้ตัวทำละลายดีปยูเทคติค

### 2.2.1 ตัวทำละลายดีปยูเทคติค (Deep Eutectic Solvents, DES)

ตัวทำละลายดีปยูเทคติค เป็นตัวทำละลายประเภทหนึ่งที่เกิดจากการรวมกันของสารประกอบตั้งแต่ 2 ชนิดขึ้นไป ได้แก่ ตัวให้พันธะไฮโดรเจน (Hydrogen bond donor: HBD) และตัวรับพันธะไฮโดรเจน (Hydrogen bond acceptor: HBA) ซึ่งสามารถเชื่อมโยงเพื่อสร้างวัฏภาคยูเทคติกใหม่ที่มีจุดหลอมเหลวต่ำกว่าจุดหลอมเหลวของสารบริสุทธิ์ที่เป็นองค์ประกอบ ตัวทำละลายดีปยูเทคติคมีความเป็นพิษต่ำ สามารถหมุนเวียนได้ ย่อยสลายได้ทางชีวภาพ และมีต้นทุนต่ำ [17]




**รูปที่ 2.4** แผนผังของการก่อตัวของตัวทำละลายดีปยูเทคติก [18]




**รูปที่ 2.5** ตัวรับพันธะไฮโดรเจน (HBA) และตัวให้พันธะไฮโดรเจน (HBD) ของตัวทำละลายดีปยูเทคติก [17]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Chen และคณะ [8] รายงานว่าตัวทำละลายในการสกัดเพคตินส่งผลต่อผลผลิตเพคติน เปรียบเทียบประสิทธิภาพการสกัดเพคตินจากเปลือกมะม่วงจินหวงโดยใช้ HCl และ DES ในอัตราส่วนโดยโมล 1:2 พบว่าทดลองใช้ Betaine:Citric acid (Bet:CA) ได้ผลผลิตเพคติน 27.62% และค่า DE เท่ากับ 83.43% และใช้ Choline Chloride:Malic Acid (ChCl:MA) ได้ผลผลิตเพคติน30.01% และค่า DE เท่ากับ 87.06% ซึ่งมากกว่าการสกัดโดยใช้ HCl ที่ได้ผลผลิตเพคติน 13.17% และค่า DE เท่ากับ 65.55% เนื่องมาจากตัวทำละลายกรดแก่นั้นทำให้เกิดการดีเมทิลเลชั่น (Demethylation) และการแตกตัว (Fragmentation) ของสายโซ่โพลีกาแล็กทูโรนิกของเพคติน ส่งผลให้ค่า DE ต่ำลง

Yusof และคณะ [19] เปรียบเทียบประสิทธิภาพการสกัดเพคตินจากเปลือกฝรั่งโดยใช้กรดซิตริก และ DES ในอัตราส่วนโดยโมล 1:2 พบว่าทดลองสกัดเพคตินโดยใช้ 10% โดยปริมาตรของ Choline Chloride:Ethylene Glycol (ChCl:EG) ได้ผลผลิตเพคติน 37.1% ซึ่งสูงกว่าเมื่อเทียบกับ 10% โดยปริมาตรของกรดซิตริกที่ได้ผลผลิตเพคติน 29.2% และ 10% โดยปริมาตรของ ChCl:Urea ได้ผลผลิตเพคตินเพียง 16.4% ซึ่งจะเห็นว่าชนิด DES ที่แตกต่างกันส่งผลต่อประสิทธิภาพการสกัด

### 2.2.2 อิทธิพลของการเติมน้ำเพื่อลดความหนืดตัวทำละลายดีปยูเทคติคต่อการสกัดเพคติน

Shan และคณะ [11] พบว่า Lactic acid:Glucose:$H_2O$ อัตราส่วนโดยโมล 6:1:6 ให้ผลการสกัดเพคตินสูง (23.04%) ในขณะที่ของ Lactic acid:Glucose อัตราส่วนโดยโมล 5:1 ให้ผลผลิตต่ำ (7.39%) เนื่องจากการเติมน้ำเพิ่มใน DES จะเอื้ออำนวยต่อการถ่ายเทมวลของเพคติน จึงทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้น แต่การเติมน้ำที่มากเกินไปจะทำให้ปฏิกิริยาพันธะไฮโดรเจนในส่วนประกอบของ DES อ่อนลง ส่งผลให้ผลผลิตการสกัดลดลง ดังนั้นอิทธิพลของน้ำต่อประสิทธิภาพการสกัดโดยใช้ DES จึงต้องใช้สัดส่วนให้เหมาะสม

Elgharbawy และคณะ [14] ทดลองสกัดเพคตินจากเปลือกส้มโอโดยใช้ตัวทำละลาย DES พบว่า ChCl:Glucose (5:2) ให้ผลผลิตเพคติน 50.54% และ ChCl:Glucose:$H_2O$ (5:2:5) ให้ผลผลิตเพคติน 96.73% เป็นผลมาจากน้ำใน DES ทำหน้าที่เป็น HBD เพื่อสร้างส่วนผสมยูเทคติก ดังนั้นน้ำจึงเป็นส่วนหนึ่งของ DES ที่มีส่วนร่วมในเครือข่ายพันธะไฮโดรเจน ซึ่งขั้วของ DES จะเพิ่มขึ้นเมื่อเติมน้ำ ขั้วของตัวกลางในการสกัดมีอิทธิพลอย่างมากต่อความสามารถในการละลายของสารประกอบที่ต้องการ

### 2.2.3 อิทธิพลของชนิด HBD ต่อการสกัดเพคตินโดยใช้ตัวทำละลายดีปยูเทคติค

โดยทั่วไป ความหนืด ความสามารถในการละลาย ความเป็นขั้ว และแรงตึงผิว เป็นปัจจัยสำคัญที่มีอิทธิพลต่อประสิทธิภาพการสกัดแบบมีขั้ว/ไม่มีขั้วของโมเลกุลเมื่อใช้ DES เป็นตัวทำละลาย จาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

งานวิจัยของ Chen และคณะ [8] ทดลองสกัดเพคตินโดยการเลือก DES สามประเภทที่แตกต่างกันเป็นตัวทำละลายเพื่อสกัดเพคตินจากเปลือกมะม่วงเทียบกับสกัดด้วยกรดไฮโดรคลอริก พบว่า L-Proline:Oxalic acid (Pro:OA) Betaine:Citric acid (Bet:CA) และ Choline Chloride:Malic Acid (ChCl:MA) ให้ผลผลิตเพคติน 20.13% 20.05% และ 19.95% ซึ่งสูงกว่า HCl (13.05%) แม้ว่า Pro:OA จะแสดงประสิทธิภาพการสกัดเพคตินที่ดี แต่ก็ยากที่จะนำไปใช้ในการผลิตทางอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ เนื่องจากสามารถตกผลึกได้ง่ายที่อุณหภูมิห้อง นอกจากนี้ยังพบว่าความหนืดของ Bet:CA มีค่า 117.07 mPas และ ChCl:MA มีค่า 140.73 mPas ซึ่งความหนืดต่ำจะให้ผลผลิตเพคตินที่สูงกว่า DES ที่มีความหนืดสูง เป็นเพราะความหนืดสูงของ DES ไม่เพียงแต่จะขัดขวางการแพร่กระจายของสารที่ต้องการสกัดในสารละลายเท่านั้น แต่ยังส่งผลกระทบอย่างมากต่อประสิทธิภาพการถ่ายโอนพลังงานและมวล ซึ่งไม่เป็นประโยชน์ต่อการสกัดเพคติน

Yusof และคณะ [19] ทดลองสกัดเพคตินจากเปลือกฝรั่งโดยใช้ 10% โดยปริมาตรของ ChCl:EG (1:2) พบว่าให้ผลผลิตเพคตินสูงกว่า (37.1%) เมื่อเทียบกับเพคตินที่สกัดโดยใช้ 10% โดยปริมาตรของ ChCl:Urea (1:2) ซึ่งมีเพียงผลผลิต 16.4% เป็นเพราะ ChCl:EG ที่มีพันธะไฮโดรเจนของหมู่ (O–H) มีขั้วสูงกว่าพันธะไฮโดรเจน (N–H) ที่มีอยู่ใน ChCl:Urea พันธะไฮโดรเจนที่มีขั้วสูงระหว่าง ChCl (Cl–anion) และ EG (กลุ่ม O–H) ทำให้ DES แทรกซึมเข้าไปในเนื้อเยื่อฝรั่ง ทำปฏิกิริยากับสารเพคตินที่มีอยู่ระหว่างผนังเซลล์ ซึ่งจะเป็นการเพิ่มผลผลิตเพคติน

## 2.3 อิทธิพลที่มีผลต่อการสกัดเพคติน

### 2.3.1 อิทธิพลของความเป็นกรด-เบสของสารละลายต่อการสกัดเพคติน

Karim และคณะ [1] ได้ทำการทดลองสกัดเพคตินจากเปลือกมะม่วงและเปลือกเลมอนโดยใช้สารละลายกรดซิตริก พบว่าค่า pH มีบทบาทสำคัญในการสกัดเพคติน จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าผลผลิตเพคตินเพิ่มขึ้นเมื่อค่า pH เท่ากับ 2 ส่งผลให้องค์ประกอบของเพคตินที่ไม่ละลายน้ำอาจไฮโดรไลซ์เป็นเพคตินที่ละลายน้ำได้ในตัวทำละลายสกัดที่เป็นกรด แต่ผลผลิตเพคตินลดลงเมื่อเพิ่มค่า pH เนื่องมาจากโพลีแซ็กคาไรด์ที่ผ่านการไฮโดรไลซ์บางส่วน (เพคติน) และเพคตินบางส่วนยังคงติดอยู่กับส่วนประกอบของผนังเซลล์ซึ่งทำให้การสกัดเพคตินล่าช้า และเมื่อลดค่า pH เท่ากับ 1 พบว่าผลผลิตเพคตินลดลง เนื่องจากค่า pH ที่ต่ำมาก สารละลายอาจทำลายพันธะไกลโคไซด์และเอสเทอร์ทำให้ผลผลิตของเพคตินต่ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Elgharbawy และคณะ [14] รายงานว่าหนึ่งในตัวแปรที่สำคัญที่สุดต่อปริมาณเพคตินที่สกัดได้ คือค่า pH ปริมาณเพคตินสกัดได้สูงสุดมีค่า pH ในช่วง 2-4 เนื่องจากคุณสมบัติที่เป็นกรดของตัวทำละลายที่เพิ่มขึ้นนำไปสู่การแตกตัวเป็นไอออนของกลุ่มคาร์บอกซิเลทลดลงทำให้ลดการผลักกันของโมเลกุลโพลิแซกคา-ไรด์ซึ่งเอื้อต่อคุณสมบัติการเกิดเจลของเพคตินทำให้เพคตินตกตะกอนมากขึ้น

Shan และคณะ [11] ได้ทำการทดลองสกัดเพคตินโดยใช้กรดซิตริกและ DES ได้ข้อสรุปว่าค่า pH มีอิทธิพลต่อการสกัดเพคตินมากที่สุด รองลงมาคืออุณหภูมิและอัตราส่วนของแข็งของเหลวในขณะที่เวลาสกัดมีอิทธิพลน้อยที่สุด ผลผลิตเพคตินมากที่สุดเมื่อสกัดที่ค่า pH ต่ำ ผลการวิจัยพบว่าค่า pH ในช่วง 1.5-2.5 มีประสิทธิภาพการสกัดดีที่สุดในพืชตระกูลส้ม แต่ในการสกัดเพคตินจากมะนาวนั้นใช้ค่า pH เท่ากับ 3.5 เป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุดเนื่องจากมะนาวมีความเป็นกรดสูงทำให้ส่งผลต่อค่าความต่างของความเป็นกรดระหว่างตัวกลางในการสกัด

Maran และคณะ [20] ทำการทดลองสกัดเพคตินด้วยไมโครเวฟที่ค่า pH ในช่วง 1–4.5 พบว่าค่า pH ที่ต่ำช่วยลดน้ำหนักโมเลกุลของเพคติน และสามารถละลายได้จากเนื้อเยื่อพืชโดยไม่เกิดการย่อยสลาย ดังนั้นโมเลกุลเพคตินจึงมีแนวโน้มที่จะเกิดการตกตะกอน แต่ค่า pH ที่มากกว่า 3 อาจเกิดการรวมตัวของเพคติน ซึ่งทำให้การสกัดเพคตินช้าลง และทำให้ผลผลิตเพคตินลดลง

### 2.3.2 อิทธิพลของอัตราส่วนของแข็งต่อของเหลวต่อการสกัดเพคติน

Maran และคณะ [20] ทำการทดลองใช้อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว 1:5–1:30 กรัมต่อมิลลิลิตร ผลผลิตของเพคตินจะเพิ่มขึ้นเมื่ออัตราส่วนของแข็งต่อของเหลวเพิ่มขึ้นเป็น 1:20 กรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งอาจเป็นเพราะตัวทำละลายสามารถดูดซับพลังงานไมโครเวฟได้อย่างมีประสิทธิภาพ และนำไปสู่การเพิ่มการบวมของวัตถุดิบ ซึ่งเป็นประโยชน์ในการเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างวัตถุดิบและตัวทำละลาย ดังนั้นผนังเซลล์จึงแตกออก ซึ่งส่งผลให้เพคตินถูกปล่อยออกสู่ตัวกลางที่อยู่รอบๆ ได้ง่าย เมื่อเพิ่มอัตราส่วนของแข็งต่อของเหลวเป็น 1:30 กรัมต่อมิลลิลิตร สารละลายอิ่มตัวด้วยตัวถูกละลายและตัวทำละลายที่สูงขึ้น อาจลดการดูดซับไมโครเวฟด้วยวัสดุ ซึ่งส่งผลเสียต่ออัตราการถ่ายโอนมวล และกีดขวางการซึมผ่านของเพคตินเข้าไปในสารละลายทำให้ผลผลิตเพคตินลดลง

Gu และคณะ [21] ทดลองใช้อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว 1:10–1:50 กรัมต่อมิลลิลิตร สกัดเพคตินจาก wolfberry โดยใช้ DES คู่ ChCl:Propylene Glycol (1:2) ที่มีปริมาณน้ำ 20% โดยน้ำหนัก พบว่าผลผลิตเพคตินจะเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มอัตราส่วนของแข็งต่อของเหลวจาก 1:10 เป็น 1:20 กรัมต่อมิลลิลิตร แต่เมื่อทดลองเพิ่มอัตราส่วนของแข็งของเหลว 30 และ 40 กรัมต่อมิลลิลิตร ไม่ได้ส่งผลให้ผลผลิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพคตินเพิ่มขึ้นหรือลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นจึงเลือกอัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว 20 กรัมต่อมิลลิลิตร เนื่องอัตราส่วนของแข็งต่อของเหลวที่เหมาะสม ช่วยส่งเสริมกระบวนการแพร่กระจายของสารตัวทำละลายเข้าสู่เพคติน

### 2.3.3 อิทธิพลของอุณหภูมิและเวลาต่อการสกัดเพคติน

Karim และคณะ [1] ทดลองสกัดเพคตินจากเปลือกมะม่วงและมะนาวโดยใช้กรดซิตริกและไทร์โซเดียมซิเตรทที่อุณหภูมิ 70 80 และ 90 องศาเซลเซียส พบว่าผลผลิตเพคตินเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มอุณหภูมิจาก 70 เป็น 80 องศาเซลเซียส และผลผลิตเพคตินลดลงเมื่อเพิ่มอุณหภูมิจาก 80 องศาเซลเซียส เป็น 90 องศาเซลเซียส ผลการทดลองนี้สามารถอธิบายได้โดยการย่อยสลายเนื่องจากความร้อนของเพคตินที่สกัดที่อุณหภูมิสูงกว่าจะทำให้เพคตินที่มีขนาดโมเลกุลเล็กสลายตัว

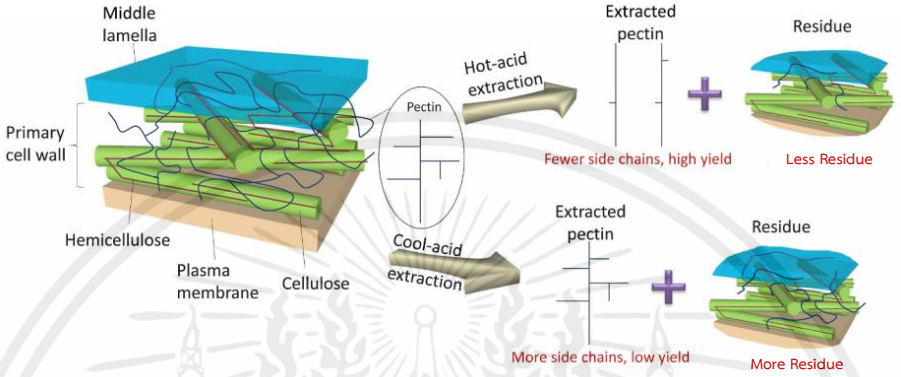
Wang และคณะ [22] ทดลองสกัดเพคตินจากหม่อนดำในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 60-100 องศาเซลเซียส พบว่าที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียสให้ผลผลิตเพคตินสูงที่สุด เนื่องจากการอุณหภูมิที่สูงขึ้นจะให้พลังงานความร้อนที่จำเป็นในการทำให้โครงสร้างพืชอ่อนตัวลง เป็นผลให้ตัวทำละลายสามารถแพร่กระจายไปยังตัวกลางในการสกัดได้ง่ายขึ้นมาก แต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ส่งผลให้ผลผลิตเพคตินลดลง

Shafie และคณะ [23] ทดลองสกัดเพคตินจากตะลิงปลิงที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส และเวลา 30 60 90 120 150 และ 180 นาที พบว่า เมื่อเพิ่มเวลาตั้งแต่ 60 จนถึง 120 นาที แนวโน้มของผลผลิตของเพคตินเพิ่มขึ้น เมื่อเพิ่มเวลาเป็น 180 นาที แนวโน้มของผลผลิตเพคตินคงที่ เนื่องจากการเพิ่มขึ้นของเวลาจะทำให้สารละลายสัมผัสกับตัวถูกละลายได้นานขึ้นและพาตัวถูกละลายออกมาจากอนุภาคของของแข็งได้อย่างสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น เมื่อเพิ่มระยะเวลาไปถึงจุดหนึ่งของกระบวนการ การถ่ายเทมวลสารจะสิ้นสุดลงเนื่องจากระบบเข้าสู่สมดุล จึงทำให้การเพิ่มเวลามากกว่า 120 นาทีไม่มีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อการเพิ่มขึ้นของผลผลิตเพคติน

Chen และคณะ [8] ทดลองสกัดเพคตินโดยใช้ ChCl:MA เพื่อหาอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดที่อุณหภูมิในช่วง 30-100 องศาเซลเซียส และเวลาในการสกัดในช่วง 60-120 นาที พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดคือ 85 องศาเซลเซียสและเวลาในการสกัด 120 นาที การเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิสามารถเพิ่มการถ่ายเทมวลและอัตราการแพร่ และลดความหนืดและแรงตึงผิวของ ChCl:MA ซึ่งจะทำให้ผลผลิตเพคตินเพิ่มขึ้น แต่หากเพิ่มอุณหภูมิไปจนถึง 100 องศาเซลเซียส จะทำให้ผลผลิตเพคตินลดลง ซึ่งการปรับอุณหภูมิสูงจนเกินไปจะทำให้โซ่ข้าง (Side chains) ของเพคตินลดลงดังรูปที่ 2.6 เมื่อมวลโมเลกุลลดลง คุณสมบัติใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเพิ่มความข้นหนืดลดลง ส่งผลต่อการเป็นสารเพิ่มความข้นหนืด (Thickener) ที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร ในทางกลับกันการสกัดเพคตินที่อุณหภูมิต่ำจะทำให้ได้เพคตินที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการรักษาโรคหลายๆโรคได้ดีกว่า เช่น โรคมะเร็ง [24]




**รูปที่ 2.6** กลไกการสกัดเพคตินภายใต้สภาวะต่างๆ [24]

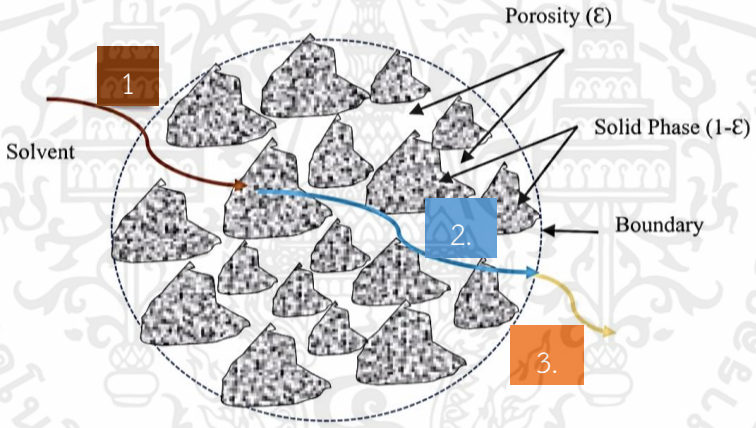
จากงานวิจัยของ Valdivia-Rivera และคณะ [25] ได้ศึกษาอิทธิพลของเวลาในการสกัดเพคตินจากเปลือกมะม่วงที่อุณหภูมิ 60 70 80 และ 90 องศาเซลเซียสและเวลา 30 45 60 75 และ 90 นาที พบว่าปริมาณผลผลิตเพคติน (Yield of pectin) มีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นในช่วงเวลา 30 ถึง 75 นาที และลดลงในช่วงเวลา 90 นาที เนื่องจากการเพิ่มขึ้นของเวลาจะทำให้สารละลายสัมผัสกับตัวถูกละลายได้นานขึ้นและพาตัวถูกละลายออกมาจากอนุภาคของของแข็งได้อย่างสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น เมื่อเพิ่มระยะเวลาไปถึงจุดหนึ่งของกระบวนการ การถ่ายเทมวลสารจะสิ้นสุดลงเนื่องจากระบบเข้าสู่สมดุล [21] เห็นได้ว่าเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นจะทำให้สกัดเพคตินได้มากขึ้น เมื่อเพิ่มเวลาในการสกัดจะทำให้การถ่ายโอนมวลสารของเพคตินจากสารชีวมวลมาอยู่ใน DES มากยิ่งขึ้น ในการเลือกใช้อุณหภูมิในการสกัดเพคตินให้เหมาะสมควรคำนึงถึงอุณหภูมิซึ่งส่งผลให้โซ่ข้าง (Side chains) ของเพคตินถูกทำลายลงได้ ทำให้ผลผลิตเพคตินที่สกัดได้น้อยลง

## 2.4 การสกัดของแข็งด้วยของเหลว (Solid-Liquid Extraction)

การสกัดของแข็งด้วยของเหลว (Solid-Liquid Extraction) เป็นกระบวนการที่ทำให้เกิดการถ่ายโอนตัวถูกละลายจากวัฏภาคของแข็งไปยังตัวทำละลาย โดยเกิดจากการสัมผัสกันระหว่างวัฏภาคของของเหลวและวัฏภาคของของแข็ง โดยกระบวนการสกัดจะถูกแบ่งเป็น 2 ระยะ คือ 1) ระยะการแพร่ของตัวทำละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผ่านผิวของอนุภาคเข้าไปยังอนุภาคของของแข็ง 2) ระยะที่ตัวถูกละลายถูกพาออกมาจากอนุภาค ซึ่งตัวถูกละลายจะถูกถ่ายโอนจากพื้นผิวของอนุภาคไปยังสารละลาย ในกระบวนการแพร่ของโมเลกุลจะมีลักษณะการเคลื่อนที่แบบสุ่ม ตามระดับความเข้มข้น ซึ่งสามารถอธิบายได้ด้วย Fick's laws จึงสามารถประมาณค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ (Diffusion Coefficient ,$D_{eff}$) ได้ ทำให้ทราบคุณสมบัติของการโอนอนุภาค และการถ่ายโอนมวลสาร [26] การสกัดเพคตินจากเมทริกซ์ของแข็ง ประกอบด้วย 3 ขั้นตอนหลัก ได้แก่ 1) การไฮโดรซิสของโปรโตเพคตินที่ไม่ละลายน้ำไปเป็นเพคติน 2) การแพร่ของเพคตินที่ละลายน้ำไปยังตัวทำละลาย โดยการแพร่ภายในผ่านรูพรุนของวัฏภาคของแข็ง (Internal diffusion) และ 3) การแพร่ภายนอกของเพคตินจากพื้นผิวของของแข็งไปยังตัวทำละลายในการสกัด (External diffusion) กระบวนการการถ่ายโอนมวลสารจะสิ้นสุดลงเมื่อระบบเข้าสู่สมดุล กล่าวคือ ความเข้มข้นของเพคตินภายในวัฏภาคของของแข็งเท่ากับความเข้มข้นของเพคตินในวัฏภาคของตัวทำละลาย [27]

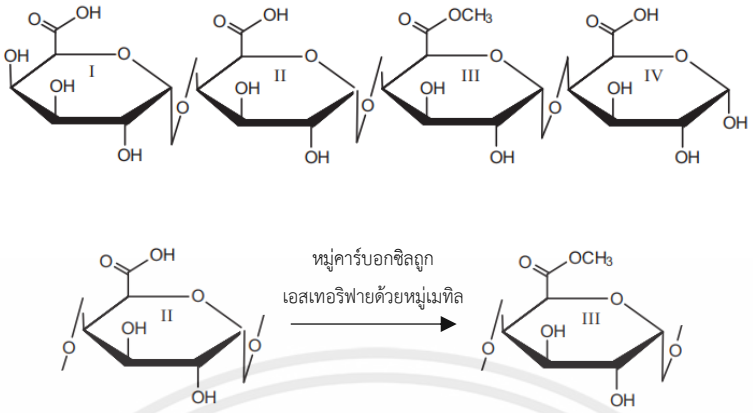



**รูปที่ 2.7** กลไกการสกัดของแข็งด้วยของเหลว (Solid-Liquid Extraction) [27]

## 2.5 Degree of esterification (DE)

ระดับการเกิดเอสเทอริฟิเคชั่น (Degree of esterification, DE) เป็นร้อยละของกรดกาแลคทูโรนิกที่ถูกเอสเทอริฟายโดยหมู่เมทิล ( $-CH_3$) ต่อจำนวนกรดกาแลคทูโรนิกทั้งหมด [28]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ 2.8** แสดงการถูกเอสเทอริฟายของหมู่คาร์บอกซิลด้วยหมู่เมทิล [28]

Degree of esterification ถูกใช้สำหรับการแบ่งประเภทของเพคติน ได้แก่ เพคตินกลุ่มที่มีเมทธอกซิลสูง (High Methoxyl Pectin: HMP) จะมีค่า DE ตั้งแต่ 50% ขึ้นไป และ เพคตินกลุ่มที่มีเมทธอกซิลต่ำ (Low Methoxyl Pectin: LMP) จะมีค่า DE ต่ำกว่า 50% โดยเพคตินทั้ง 2 ประเภทมีคุณสมบัติที่ต่างกัน

## 2.6 การต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)

สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) คือสารที่สามารถยับยั้ง ต่อต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation) หรือสารที่สามารถขจัดอนุมูลอิสระออกจากร่างกายเป็นสาเหตุของการเกิดอนุมูลอิสระ (Free Radical) ซึ่งสารอนุมูลอิสระเหล่านี้จะเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่และทำลายเซลล์ของร่างกาย สารต้านอนุมูลอิสระจะเข้ายับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่เหล่านี้ด้วยการเข้าจับกับสารอนุมูลอิสระและปฏิกิริยาออกซิเดชันจะถูกออกซิไดซ์โดยที่สารต้านอนุมูลอิสระจึงถือเป็นตัวรีดิวซ์ ภาวะที่ร่างกายเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันมากเกินไปเป็นการก่อโรคในมนุษย์ได้หลายโรค ในปัจจุบันมีการให้ความสำคัญต่อสารต้านอนุมูลอิสระในทางเภสัชวิทยา และถูกนำมาใช้เป็นส่วนผสมของผลิตภัณฑ์อาหารเสริมและยา

สารต้านอนุมูลอิสระสามารถแบ่งตามกลไกการยับยั้งได้เป็น 3 ชนิด ดังนี้

(1) Preventive antioxidant ป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระ

(2) Scavenging antioxidant ทำลายหรือยับยั้งอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น

(3) Chain breaking antioxidant ทำให้ลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระสิ้นสุดลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อีกทั้งเพคตินเป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากโพลีแซ็กคาไรด์จากผลไม้มีโครงสร้างทางเคมีที่ช่วยป้องกันโรคเบาหวาน กระตุ้นภูมิคุ้มกัน ลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด และช่วยขจัดสารพิษในร่างกาย ทำให้เพคตินสามารถสร้างเจลที่นำไปใช้งานในทางอุตสาหกรรมชีวการแพทย์ [29]



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 3
# วิธีการดำเนินงาน

## 3.1 สารเคมี วัตถุดิบ และอุปกรณ์การทดลอง

### 3.1.1 วัตถุดิบ

เปลือกมะม่วงน้ำดอกไม้

### 3.1.2 สารเคมี

- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์
- กรดไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์
- HBA : คลอรีนคลอไรด์ (ChCl)
- HBD : กลูโคส (Glucose), กรดซิตริก (Citric acid)
- เอทานอล 95% โดยปริมาตร
- เอทานอล 99.8% โดยปริมาตร
- ฟีนอล์ฟทาลีน
- Trolox (Standard solution)
- DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

### 3.1.3 อุปกรณ์

- ตู้อบลมร้อน ยี่ห้อ Binder
- เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
- บีกเกอร์ ขนาด 250 มิลลิลิตร
- ขวดก้นกลม ขนาด 50 มิลลิลิตร
- ขวดกรองสาร ขนาด 250 มิลลิลิตร
- บิวเรตและขาตั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- เครื่องให้ความร้อน
- เทอร์โมคัปเปิล
- เครื่องปั่น
- กระดาษกรอง Whatman No.1
- เครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอน ยี่ห้อ Hettich Universal 320R
- ปั้มสุญญากาศ
- ไมโครปิเปต 10-100 ไมโครลิตร
- UV-VIS Spectrophotometer ยี่ห้อ Thermo Scientific Evolution 200 series

## 3.2 การเตรียมเปลือกมะม่วง

1. เตรียมมะม่วงและล้างให้สะอาด
2. แยกส่วนเปลือกมะม่วงออก
3. นำเปลือกมะม่วงแช่น้ำที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที เพื่อยับยั้งเอนไซม์เพกทิเนส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ย่อยเพคติน [8]
4. นำเปลือกมะม่วงใส่ในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
5. นำเปลือกมะม่วงบดด้วยเครื่องปั่น
6. นำเปลือกมะม่วงผงไปร่อนผ่านตะแกรงขนาด 40-60 mesh (ขนาดอนุภาค 425-250 ไมโครเมตร) [8]
7. นำเปลือกมะม่วงผงที่ได้เก็บในถุงซิปล็อค จากนั้นแช่ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

## 3.3 การเตรียมสารละลาย

1. เตรียมส่วนผสมของกรดซิตริก:น้ำ (CA:$H_2O$) ในอัตราส่วน 1 กรัมของ CA ต่อ 90 มิลลิลิตรของน้ำลงในบีกเกอร์ ขนาด 250 มิลลิลิตร
2. นำส่วนผสมที่เตรียมมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส และกวนด้วยแท่งแม่เหล็กกวนสาร โดยใช้เครื่องให้ความร้อน เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จนกระทั่งได้ส่วนผสมที่เป็นเนื้อเดียวกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 3.4 การเตรียม DES

1. เตรียมส่วนผสมของคลอลีนคลอไรด์:กรดซิตริก (ChCl:CA) ในอัตราส่วนโดยโมล 1:1 และคลอลีนคลอไรด์:กลูโคส:น้ำ (ChCl:Glu:$H_2O$) ในอัตราส่วนโดยโมล 5:2:5 ลงในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร
2. นำส่วนผสมที่เตรียมมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส และกวนด้วยแท่งแม่เหล็กกวนสาร โดยใช้เครื่องให้ความร้อน เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จนกระทั่งได้ส่วนผสมที่เป็นเนื้อเดียวกัน
3. เติมน้ำตามที่กำหนด ในแต่ละ DES เพื่อลดความหนืด

## 3.5 การสกัดเพคติน

1. นำเปลือกมะม่วงผงแห้ง 3 กรัม ผสมกับสารละลายหรือ DES ที่เตรียมไว้ จำนวน 90 มิลลิลิตร [8] ใส่ขวดก้นกลมขนาด 250 มิลลิลิตร 1 ขวด
2. ให้ความร้อนกับสารผสมในอ่างน้ำมัน (Oil bath) ที่อุณหภูมิตามที่กำหนด เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เพื่อสกัดเพคตินและทำให้เย็นลงจนถึงอุณหภูมิห้อง
3. จากนั้น กรองแบบสุญญากาศเพื่อแยกของเหลวที่สกัดได้ออกจากของแข็งกากตะกอนด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 หลังจากนั้นนำของเหลวที่ได้จากการสกัด ปั่นในเครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอน 8,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาทีเพื่อรวบรวมของเหลวที่อยู่เหนือตะกอน (supernatant)
4. นำของเหลวที่ได้จากการปั่นเหวี่ยงผสมกับเอทานอลร้อยละ 95 โดยปริมาตร ในอัตราส่วนโดยปริมาตรของสารละลายต่อเอทานอล 1:2 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำสารผสมเก็บใส่ตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 ชั่วโมง เพื่อตกตะกอนเพคติน
5. นำสารผสมกรองแบบสุญญากาศเพื่อแยกตะกอนเพคตินด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 แล้วล้างตะกอนเพคตินด้วยเอทานอลร้อยละ 95 โดยปริมาตร ปริมาณ 20 มิลลิลิตร จำนวน 4 ครั้งเพื่อกำจัดตัวทำละลายที่ตกค้างออกจนหมด
6. หลังจากนั้น เพคตินที่สกัดแล้วจะถูกทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในตู้อบลมร้อนให้มีน้ำหนักคงที่ แล้วเก็บใส่ตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส
7. หาค่าร้อยละผลผลิตเพคติน (%yield), Degree of esterification (%DE), %Methoxyl และ %Antioxidant activity ตามสมการที่ (1), (2), (5) และ (6)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 3.6 การวิเคราะห์

### 3.6.1 การวิเคราะห์ปริมาณร้อยละผลผลิตเพคติน (%yield) [8]

ปริมาณร้อยละผลผลิตเพคติน (%yield) สามารถคำนวณได้จากสมการที่ (1)

$$\%yield = \frac{m_p}{m_{rm}} x100 \quad (1)$$

โดยที่ %yield คือ ปริมาณร้อยละผลผลิตเพคติน

$m_p$ คือ น้ำหนักเพคติน (กรัม)

$m_{rm}$ คือ น้ำหนักเปลือกมะม่วงบดแห้ง (กรัม)

### 3.6.2 การวิเคราะห์ Degree of esterification (%DE) [30]

ขั้นตอนการวิเคราะห์ Degree of esterification (%DE)

1. ชั่งน้ำหนักเพคติน 0.1 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ ขนาด 100 มิลลิลิตร
2. เติมเอทานอลร้อยละ 95 โดยปริมาตร 2 มิลลิลิตร และ น้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร
3. บ่มในอ่างน้ำมัน (Oil bath) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ผสมให้ละลายเข้ากัน เป็นเวลา 20 นาที
4. หยดฟีนอล์ฟทาลีน 5 หยด นำไปไทเทรตด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ บันทึกปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นปริมาตรที่ 1 ($V_1$)
5. เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร (สีชมพูจะเข้มขึ้น) เขย่าทิ้งไว้ 20 นาทีที่อุณหภูมิห้องสำหรับการไฮโดรไลซิส
6. เติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เขย่าจนสีชมพูของสารละลายหายไป
7. นำไปไทเทรตด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ จนกระทั่งได้สีชมพูอ่อนเริ่มปรากฏ บันทึกปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นปริมาตรที่ 2 ($V_2$)

Degree of esterification (%DE) [30] สามารถคำนวณได้จากสมการที่ (2)

$$\%\ DE = \frac{V_2}{V_1+V_2} x\ 100 \quad (2)$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยที่ % DE คือ ร้อยละการเกิดปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชั่น

$V_1$ คือ ปริมาตรสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.01 โมลาร์ที่ใช้ไทเทรตรอบแรก (มิลลิลิตร)

$V_2$ คือ ปริมาตรสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.01 โมลาร์ที่ใช้ไทเทรตรอบสอง (มิลลิลิตร)

**3.6.3 การวิเคราะห์ปริมาณกลุ่มเมทอกซิล (% Methoxyl)**

ปริมาณกลุ่มเมทอกซิล สามารถคำนวนได้จาก Degree of esterification (%DE) โดยมีความสัมพันธ์ดังนี้ [28,31]

$$\% \text{ DE} = \frac{176 \times \%\text{Methoxyl}}{31 \times \%\text{AUA}} \times 100 \quad (3)$$

โดยที่ %AUA คือ ร้อยละกรดแอนไฮโดรนิก สามารถคำนวณได้จากสมการ

$$\% \text{ AUA} = \frac{176 \times 0.1z \times 100}{w \times 100} + \frac{176 \times 0.1y \times 100}{w \times 100} \quad (4)$$

โดยที่ มวลโมเลกุลของกรดแอนโดรนิก เท่ากับ 176

มวลโมเลกุลของหมู่เมทอกซิล เท่ากับ 31

z คือ NaOH (มิลลิลิตร) ที่ใช้ในการวิเคราะห์หาน้ำหนักสมมูล

y คือ NaOH (มิลลิลิตร) ที่ใช้ในการวิเคราะห์หาหลุ่มเมทอกซิล

w คือ น้ำหนักตัวอย่างเพคติน

สมารถสร้างสมการความสัมพันธ์ของ %DE และ % Methoxyl ได้ดังนี้

$$\% \text{ Methoxyl} = (0.1632 \times \%\text{DE}) - 0.0023 \quad (5)$$

**3.6.4 การวิเคราะห์ปริมาณ Antioxidant โดยวิธี DPPH** [9]

ขั้นตอนการวิเคราะห์ปริมาณ Antioxidant โดยวิธี DPPH

1. เตรียมสารตัวอย่าง Trolox ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยละลายสารตัวอย่างในเอทานอลให้ได้ความเข้มข้นระหว่าง 2.5, 5, 10, 15, 20, 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อใช้เป็นสารละลายมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. นำตัวอย่างขนาด 1 มิลลิลิตรจากแต่ละความเข้มข้นของสารตัวอย่าง ผสมกับสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ ในปริมาณ 2 มิลลิลิตร และทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดอย่างน้อย 30 นาที
3. วัดค่าการดูดกลืนแสงของแต่ละความเข้มข้นที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้เอทานอลเป็นตัวอ้างอิง และสร้างกราฟมาตรฐาน
4. นำตัวอย่างที่สกัดไว้ขนาด 1 มิลลิลิตรและผสมกับสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ ในปริมาณ 2 มิลลิลิตร และทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดอย่างน้อย 30 นาที จากนั้นทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร และเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงกับกราฟมาตรฐานที่สร้างขึ้นจากสารตัวอย่างมาตรฐาน
5. คำนวณ ร้อยละ Scavenging activity ดังสมการ

$$\text{Scavenging activity (\%)} = \frac{A_C - A_S}{A_C} \times 100 \qquad (6)$$

โดย $A_C$ ,$A_S$ คือค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายควบคุมและสารละลายตัวอย่าง ตามลำดับ ซึ่ง Scavenging activity คือร้อยละการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (%Antioxidant activity)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 4
# ผลการทดลอง และอภิปรายผล

## 4.1 สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเพคตินคุณภาพสูงจากเปลือกมะม่วง

การทดลองการสกัดเพคตินคุณภาพสูงโดยต้องการนำไปใช้กับผลิตภัณฑ์ หรือเครื่องสำอางค์ ซึ่งควรมีค่า %DE น้อยกว่า 33% [4] จากเปลือกมะม่วงโดยใช้สารตัวทำละลายดีปยูเทคติต (DES) ได้ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดเพคติน โดยศึกษาตัวแปรที่มีอิทธิพลต่อประสิทธิภาพการสกัดเพคตินด้วยตัวทำละลายดีปยูเทคติค (DES) ได้แก่ ชนิดของคู่สารรับพันธะไฮโดรเจน (Hydrogen Bond Acceptors, HBA) และสารให้พันธะไฮโดรเจน (Hydrogen Bond Donors, HBD) ของ DES เปรียบเทียบการสกัดเพคตินคุณภาพสูงด้วย DES กับการใช้สารละลายกรดซิตริก (Critic Acid, CA) ในน้ำ การเติมน้ำใน DES ที่ใช้สกัด และอุณหภูมิในการสกัดเพคติน ทำการตรวจวิเคราะห์ค่าผลผลิตเพคติน (%yield) ค่า Degree of esterification (%DE) ค่า %Methoxyl และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant activity (%)) โดยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

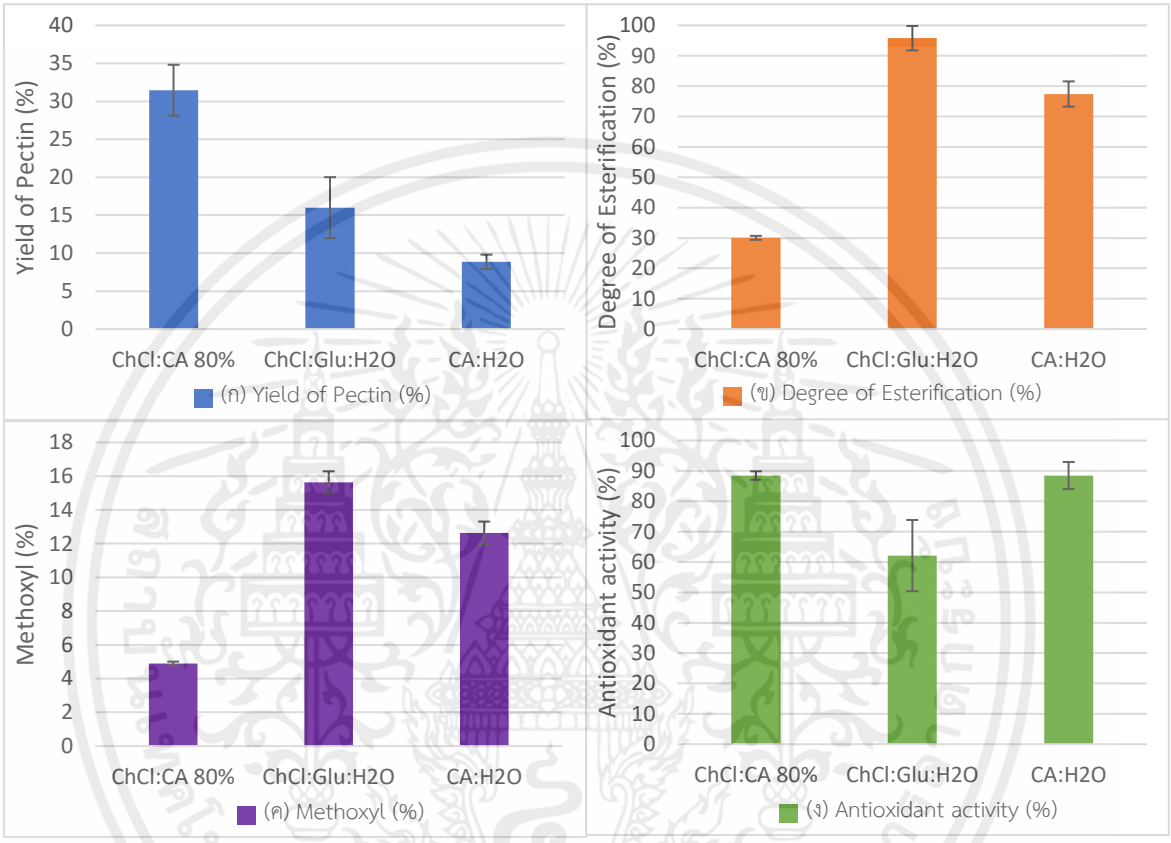
### 4.1.1 ชนิดสารละลายที่ใช้สกัดเพคติน

งานวิจัยนี้ ได้ทำการศึกษาการสกัดเพคตินคุณภาพสูงด้วยคู่ DES 2 ชนิด ได้แก่ ChCl:CA:$H_2O$ อัตราส่วนโดยโมลเท่ากับ 1:1:13.96 และ ChCl:Glu:$H_2O$ อัตราส่วนโดยโมลเท่ากับ 5:2:5 เปรียบเทียบกับสารละลาย CA:$H_2O$ (1 กรัม:90 มิลลิลิตร) เพื่อหาคู่ DES ที่ดีที่สุดในการสกัดเพคตินให้ได้ผลผลิตสูงที่สุด

การทดลองสกัดเพคตินจากเปลือกมะม่วงที่อุณหภูมิ 90 องศาสเซลเซียส ด้วย DES ต่างชนิดกันรูปที่ 4.1-ก พบว่า ChCl:CA:$H_2O$ ให้ผลผลิตเพคตินร้อยละ 31.47±3.34 ซึ่งมีค่ามากกว่า ChCl:Glu:$H_2O$ ที่มีผลผลิตเพคตินร้อยละ 15.99±4.02 และ CA:$H_2O$ ที่มีผลผลิตเพคตินร้อยละ 8.87±0.93 เป็นผลมาจากค่า pH ของ DES แต่ละชนิดที่วัดจากกระดาษลิตมัส ซึ่ง ChCl:CA:$H_2O$ มีค่า pH อยู่ที่ประมาณ 1-2 ซึ่งมีความเป็นกรดมากกว่า ChCl:Glu:$H_2O$ ที่มีค่า pH อยู่ที่ประมาณ 4-5 คุณสมบัติที่เป็นกรดของตัวทำละลายที่ค่า pH ต่ำ ความเข้มข้นของ [H+] ของสารละลายจะเพิ่มขึ้น ทำให้กลุ่มคาร์บอกซิเลทแตกตัวเป็นไอออนลดลง การสูญเสียหมู่คาร์บอกซิเลทช่วยลดการผลักกันของโมเลกุลโพลีแซ็กคาไรด์ ซึ่งช่วยให้คุณสมบัติการเกิดเจลของเพคตินดีขึ้น ทำให้ได้เพคตินที่ตกตะกอนมากขึ้น [14] ส่งผลให้ผลผลิตของเพคตินสูงขึ้นตามไปด้วย ในทางกลับกัน เมื่อเปรียบเทียบกับ CA:$H_2O$ ที่มีค่า pH อยู่ในช่วง 1-2 เช่นเดียวกับ ChCl:CA แต่มีค่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลผลิตเพคตินน้อยกว่า เนื่องจากการใช้ ChCl เป็น HBA สามารถสร้างพันธะไฮโดรเจนกับโพลีแซ็กคาไรด์หรือโพลีฟีนอลด้วยตัวรับโปรตอนหรือตัวให้โปรตอน ซึ่งช่วยในการสกัดส่วนที่มีโพลีฟีนอลมากจากภายในโครงสร้างของเพคติน [A43]32



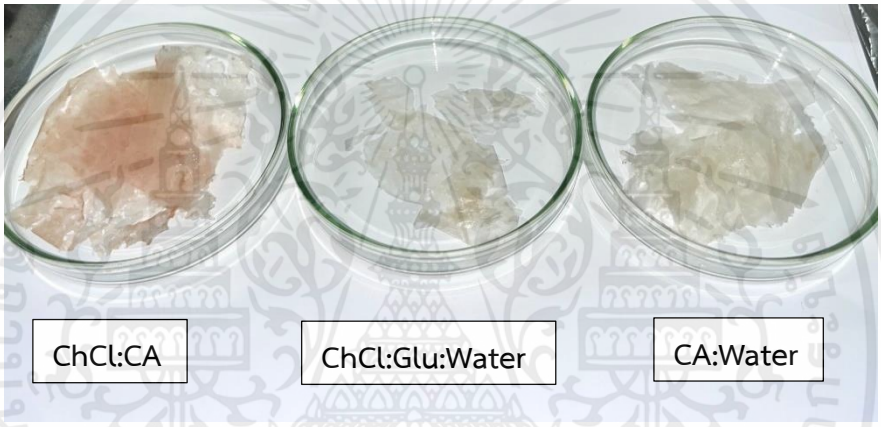

**รูปที่ 4.1** ผลของสารละลายที่ใช้สกัดเพคตินจากเปลือกมะม่วง (ก) %Yield (ข) %DE (ค) %Methoxyl (ง) %Antioxidant activity (ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เวลา 2 ชั่วโมง อัตราส่วนโดยมวลของแข็งต่อของเหลว เท่ากับ 1:30)

ในทางกลับกัน รูปที่ 4.1-ข,ค พบว่า ChCl:CA:$H_2O$ มี %DE อยู่ร้อยละ 30.04±0.66 ซึ่งมีค่าน้อยกว่า ChCl:Glu:$H_2O$ ที่มี %DE อยู่ร้อยละ 95.81±4.03 และ CA:$H_2O$ ที่มี %DE อยู่ร้อยละ 77.40±4.16 เนื่องจากค่า pH ที่สูง จะทำให้การมีอยู่ของไฮโดรเจนไอออนสำหรับดีเอสเทอริฟิเคชั่นของเพคตินจะถูกจำกัดไว้ [33] ซึ่งหมายความว่าการมีอยู่ของไฮโดรเจนไอออนจะส่งผลให้ %DE สูงขึ้น ซึ่งมีแนวโน้ม %DE ของ ChCl:CA:$H_2O$, ChCl:Glu:$H_2O$ และ CA:$H_2O$ เป็นไปในทางเดียวกันกับ %Methoxyl

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อยู่ที่ร้อยละ 4.90, 15.63 และ 12.63 เพคตินที่สกัดด้วย ChCl:CA:$H_2O$ เป็นเพคตินกลุ่มที่มีเมทอกซิลต่ำ (Low Methoxyl Pectin: LMP) ซึ่งเหมาะกับการนำมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมยาและอาหารเสริม เนื่องจาก LMP สามารถเกิดเจลได้โดยไม่คำนึงถึงปริมาณน้ำตาลและความเป็นกรด อีกทั้งยังมีความสามารถในการสมานแผลและลำเลียงสารอาหารและยาในระบบร่างกายได้อย่างมีประสิทธิภาพมากกว่า HPM [5]

จากการทดลอง DES ต่างชนิดกัน ดังรูปที่ 4.1-ง. ChCl:CA:$H_2O$ และ CA:$H_2O$ พบว่า มีค่า Antioxidant activity อยู่ร้อยละ 88.47±0.01 และ 88.47±0.04 ตามลำดับ ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกันมาก และมีค่าสูงกว่า เมื่อเทียบกับ ChCl:Glu:$H_2O$ ที่มี Antioxidant activity อยู่ร้อยละ 50.79±0.28




**รูปที่ 4.2** เพคตินที่ได้จากการสกัดโดยสารละลายแต่ละชนิด ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เวลา 2 ชั่วโมง อัตราส่วนโดยมวลของแข็งต่อของเหลว เท่ากับ 1:30

**4.1.2 การเติมน้ำใน DES ที่ใช้สกัดเพคติน**

การศึกษาอิทธิพลของการเติมน้ำต่อการสกัดเพคตินให้ได้สูงที่สุด โดยในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาการสกัดเพคตินโดยใช้ ChCl:CA อัตราส่วนโดยโมล 1:1 ที่มีความเข้มข้นของน้ำแตกต่างกัน ได้แก่ ร้อยละ 40, 60, 80, 85 และ 90 โดยปริมาตร

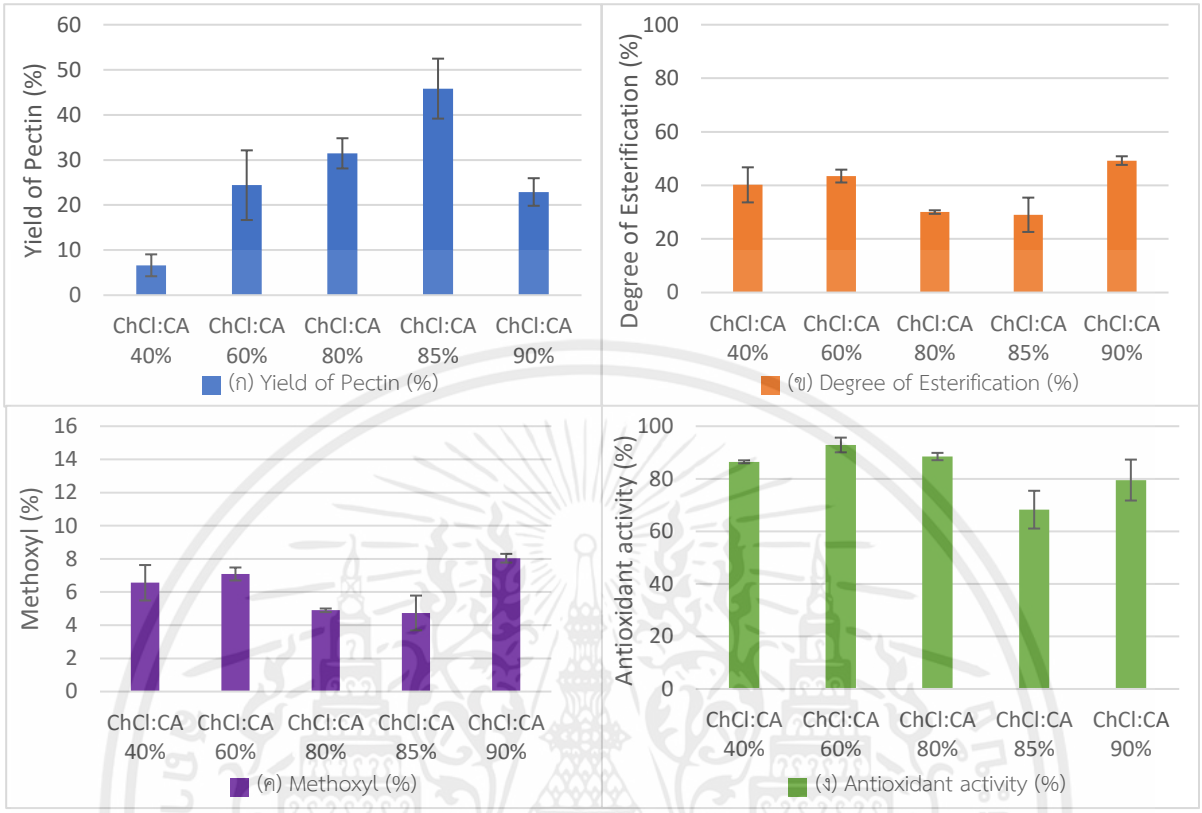
การทดลองสกัดเพคตินจากเปลือกมะม่วงที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส ด้วย ChCl:CA อัตราส่วนโดยโมล 1:1 ที่เติมน้ำปริมาณที่แตกต่างกัน ได้แก่ ร้อยละ 40 60 80 85 และ 90 โดยปริมาตร ของ ChCl:CA ได้ผลผลิตเพคตินร้อยละ 6.63±2.42, 24.40±7.73, 31.47±3.34, 42.77±10.08 และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

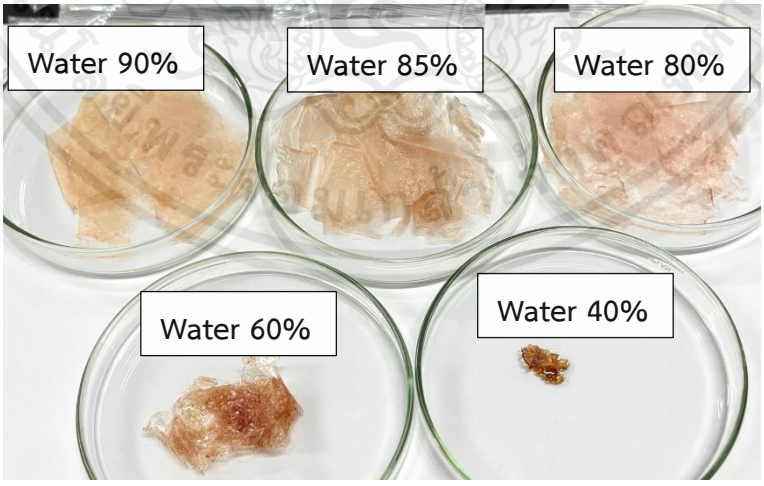
22.89±3.06 ตามลำดับ พบว่า เมื่อเติมน้ำร้อยละ 85 โดยปริมาตรของ ChCl:CA สามารถสกัดเพคตินได้ปริมาณสูงสุด เนื่องจากการเติมน้ำมีผลต่อคุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของตัวทำละลายดีปยูเทคติค เมื่อมีการเติมน้ำใน DES พบว่าพันธะไฮโดรเจนภายในโมเลกุลของ DES จะถูกทำลาย โมเลกุลของน้ำจะถูกดูดซับเข้าไปในโมเลกุลของ DES และสร้างพันธะไฮโดรเจนระหว่างไอออนและ HBD ในการเติมน้ำที่ความเข้มข้นมากขึ้น น้ำจะทำปฏิกิริยาที่สร้างพันธะให้แข็งแรงกับโมเลกุลของ DES ซึ่งทำให้แรงยึดเหนี่ยวระหว่างโมเลกุลและแรงยึดเหนี่ยวภายในโมเลกุลลดลง และยับยั้งไม่ให้เกิดปฏิกิริยาระหว่าง HBA และ HBD ทำให้ความหนืดของ DES ลดลง [34] ส่งผลให้เกิดการถ่ายโอนมวลต่อการสกัดให้ได้ปริมาณเพคตินที่สุงสุดเมื่อเติมน้ำจนถึงความเข้มข้น 85% โดยปริมาตร หลังจากนั้นปริมาณเพคตินที่สกัดได้จะลดลง เป็นผลมาจากค่าการนำไฟฟ้าของ DES ซึ่งเพิ่มขึ้นในช่วงแรกตามปริมาณน้ำที่เพิ่มขึ้น เกิดจากการส่งเสริมการแตกตัวของไอออนของโมเลกุล DES และมีค่าการนำไฟฟ้าสูงสุดเกิดขึ้นเมื่อคลอรีนและคลอไรด์ไอออนถูกแยกตัวออกอย่างสมบูรณ์ จากนั้นจะลดลง เนื่องจากการเติมน้ำมากเกินไปจะทำให้อิเล็กโทรไลต์เจือจาง ส่งผลให้ค่าการนำไฟฟ้าลดลง [34] เมื่อเปรียบเทียบแนวโน้มของร้อยละปริมาณผลผลิตเพคตินจากเปลือกมะม่วง (Yield of pectin) กับงานวิจัยของ Gu และคณะ [21] ที่ทำการศึกษาของร้อยละปริมาณผลผลิตเพคตินจาก wolfberry ด้วย DES ที่ความเข้มข้นของน้ำแตกต่างกัน พบว่ามีแนวโน้มเหมือนกัน เมื่อ DES ที่มีการเติมน้ำอย่างเหมาะสม จะเอื้อต่อการเข้าไปในอนุภาคของเปลือกพืชและส่งเสริมการถ่ายเทมวล ในขณะที่มีการเติมน้ำมากเกินไปอาจรบกวนความแข็งแรงของพันธะไฮโดรเจนของ DES

จากการทดลอง ChCl:CA ที่มีความเข้มข้นของน้ำ 40, 60, 80, 85 และ 90% โดยปริมาตร พบว่า %DE อยู่ร้อยละ 40.20±6.55, 43.49±2.40, 30.04±0.66, 25.87±1.13 และ 49.27±1.61 ในทางเดียวกันกับ %Methoxyl อยู่ที่ร้อยละ 6.56, 7.09, 4.90, 4.74 และ 8.04 สรุปได้ว่าเพคตินที่สกัดโดย ChCl:CA ที่มีความเข้มข้นของน้ำ 40, 60, 80, 85 และ 90% โดยปริมาตร เป็นเพคตินกลุ่มที่มีเมทธอกซิลต่ำ (Low Methoxyl Pectin: LMP) เนื่องจากมี %DE น้อยกว่า 50% ซึ่งเหมาะกับการนำมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมยาหรือผลิตภัณฑ์ที่มีการควบคุมปริมาณน้ำตาล และ ChCl:CA ที่มีความเข้มข้นของน้ำ 80 และ 85% จะอยู่ในช่วงที่ %DE น้อยกว่า 33% ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในไขมันมากกว่าสามารถทดแทนสารต้านอนุมูลอิสระที่มาจากการสังเคราะห์ได้ และมักถูกนำไปใช้ ในการเอนแคปซูเลชันผลิตภัณฑ์ยาและอาหารเสริมมากขึ้น เพื่อลดการปล่อยสารในแคปซูลยาสู่ร่างกายที่เร็วเกินไปได้ [4]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ 4.3** ผลของปริมาณน้ำใน ChCl:CA อัตราส่วน 1:1 ใช้สกัดเพคตินจากเปลือกมะม่วง (ก) %Yield (ข) %DE (ค) %Methoxyl (ง) %Antioxidant activity (ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เวลา 2 ชั่วโมง อัตราส่วนโดยมวลของแข็งต่อของเหลว เท่ากับ 1:30)




**รูปที่ 4.4** เพคตินที่ได้จากการสกัดโดย ChCl:CA 1:1 ที่เติมน้ำปริมาณต่างกัน ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เวลา 2 ชั่วโมง อัตราส่วนโดยมวลของแข็งต่อของเหลว เท่ากับ 1:30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดลอง ChCl:CA ที่มีความเข้มข้นของน้ำ 40, 60, 80, 85 และ 90% โดยปริมาตร พบว่า Antioxidant activity อยู่ร้อยละ 86.46±0.00, 92.86±0.02, 88.47±0.01, 72.02±0.10 และ 78.37±0.09 ตามลำดับ

**4.1.3 อุณหภูมิที่ใช้สกัดเพคตินจากเปลือกมะม่วง**

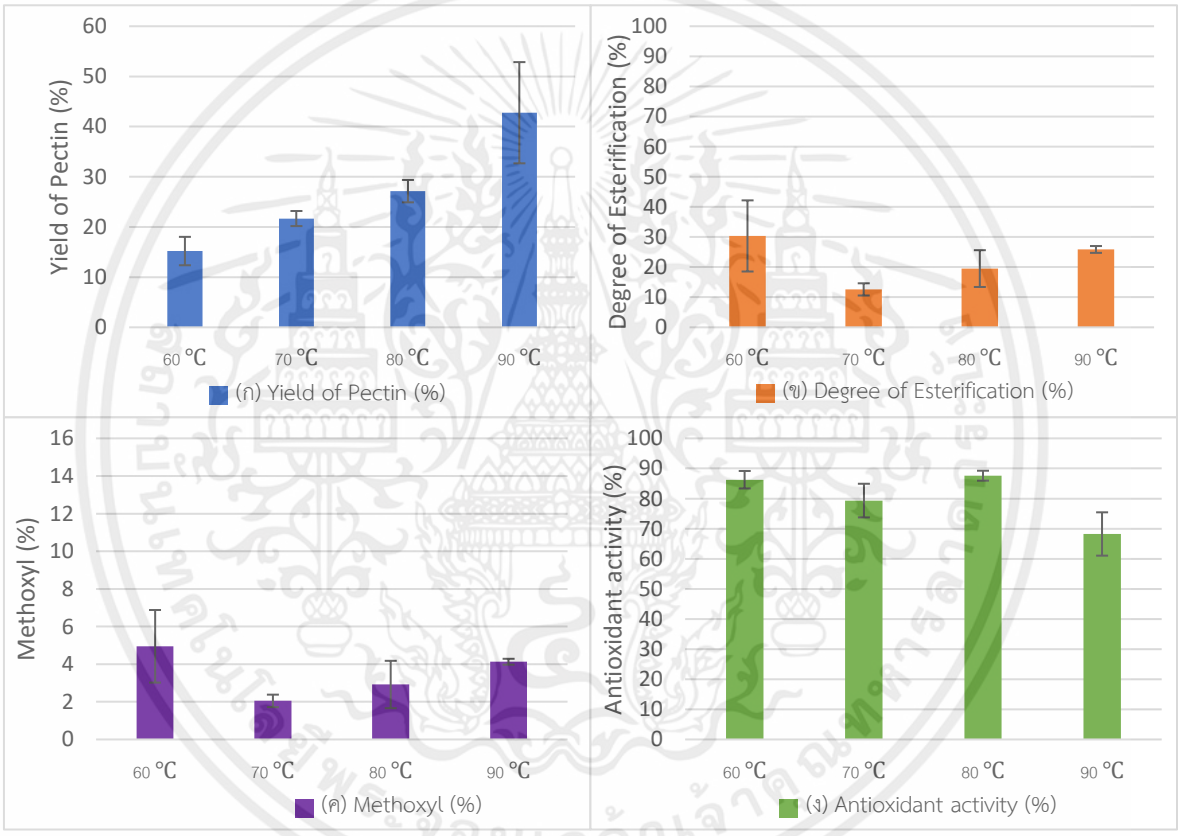
การศึกษาเพื่อหาอุณหภูมิในการสกัดที่เหมาะสมที่สุดเพื่อสกัดเพคตินได้สูงที่สุด โดยอ้างอิงจากงานวิจัยของ Girmar และคณะ [35] เพคตินจะเริ่มมีการสลายตัวเมื่อใช้อุณหภูมิในการสกัดเกิน 100 องศาเซลเซียส เพราะอุณหภูมิที่สูงเกินไปจะนำไปสู่การสลายตัวของโมเลกุลเพคติน เนื่องจากเพคตินประกอบด้วยหน่วยเชื่อมเนื่องจากเพคตินเชื่อมต่อกันด้วยพันธะแอลฟา 1-4 ไกลโคซิดิค ($\alpha$-1,4 glycosidic bond) ซึ่งประกอบด้วย หมู่คาร์บอกซิลอิสระ (-COOH) และหมู่คาร์บอกซิลที่รวมอยู่กับเมทิล ($-COOCH_3$) ด้วยปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน (Esterification) ส่งผลให้เพคตินที่สกัดได้มีขนาดโมเลกุลเล็กลง [34] โดยในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาการสกัดเพคตินที่อุณหภูมิ 60 70 80 และ 90 องศาเซลเซียส โดย ChCl:CA 1:1 ที่เติมน้ำ 85% โดยปริมาตรของ DES ทำการสกัดเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ด้วยอัตราส่วนระหว่างของแข็งต่อของเหลว เท่ากับ 1:30 (กรัม:มิลลิลิตร) และใช้สารละลายเอทานอลผสมน้ำที่ความเข้มข้นร้อยละ 95 โดยปริมาตร ในการตกตะกอนหลังจากการสกัด พบว่า ที่อุณหภูมิการสกัด 60 70 80 และ 90 องศาเซลเซียส ได้ร้อยละปริมาณผลผลิตเพคตินจากเปลือกมะม่วง (Yield of pectin) เท่ากับร้อยละ 15.20±2.83, 21.68±1.50, 27.14±2.23 และ 42.77±10.08 เมื่อเปรียบเทียบแนวโน้มของร้อยละปริมาณผลผลิตเพคตินจากเปลือกมะม่วง (Yield of pectin) กับงานวิจัยของ Sayed และคณะ [37]; Wang และคณะ [22] พบว่ามีแนวโน้มที่คล้ายกัน เมื่อเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้นจะทำให้ร้อยปริมาณผลผลิตเพคตินจากเปลือกมะม่วง (Yield of pectin) สูงขึ้นตามไปด้วย เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Shafie และคณะ [23] เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นจาก 40 เป็น 80 องศาเซลเซียส ร้อยละผลผลิตเพคตินเพิ่มขึ้นจาก 4.83 เป็น 13.07 ซึ่งแนวโน้มผลผลิตที่เพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นมีความสัมพันธ์กับความสามารถในการละลายของเพคตินในระหว่างการสกัด ความร้อนทำให้พันธะระหว่างเพคตินและผนังเซลล์เกิดการสลายตัวมากขึ้น จากนั้นเพคตินที่ละลายได้จะถูกปล่อยออกมาจากโครงข่ายผนังเซลล์และละลายได้ในสารละลายสำหรับการสกัด

จากการทดลอง ChCl:CA ที่ความเข้มข้นของน้ำ 85% พบว่าอุณหภูมิ 60 70 80 และ 90 องศาเซลเซียส แสดงค่า %DE อยู่ร้อยละ 30.36±11.82, 12.60±2.03, 19.51±6.11 และ 25.87±1.13 และค่า %methoxyl อยู่ร้อยละ 4.95, 2.05, 2.92 และ 4.13 ซึ่งจะเห็นได้ว่าที่อุณหภูมิต่ำ ส่งผลให้ค่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

%DE สูงขึ้น เนื่องจากการพลังงานความร้อนไม่เพียงพอในการไฮโดรไลซ์พันธะเอสเทอร์ในโครงสร้างเพคติน ที่อุณหภูมิต่ำ ดังนั้นจึงป้องกันไม่ให้เพคตินเกิดดีเอสเทอริฟิเคชันเกิดขึ้น [34]

จากการทดลอง ChCl:CA ที่มีความเข้มข้นของน้ำ 85% ณ อุณหภูมิ 60 70 80 และ 90 องศาเซลเซียส พบว่า Antioxidant activity อยู่ร้อยละ 72.02±0.10, 87.61±0.01, 80.85±0.07 และ 86.25±0.03 ตามลำดับ จากรูป 4.5-ง แสดงให้เห็นว่าที่อุณหภูมิสูง ค่า Antioxidant activity จะน้อยลง เนื่องจากเกิดการย่อยสลายสารประกอบฟีนอลที่อุณหภูมิสูง [37]




**รูปที่ 4.5** ผลของอุณหภูมิที่ใช้สกัดเพคตินจากเปลือกมะม่วง ChCl:CA อัตราส่วนโดยโมล 1:1 ก) %Yield (ข) %DE (ค) %Methoxyl (ง) %Antioxidant activity (ที่ความเข้มข้นของน้ำ 85% เวลา 2 ชั่วโมง อัตราส่วนโดยมวลของแข็งต่อของเหลว เท่ากับ 1:30)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**รูปที่ 4.6** เพคตินที่ได้จากการสกัดโดย ChCl:CA อัตราส่วนโดยโมล 1:1 ที่ความเข้มข้นของน้ำ 85% โดยปริมาตรของ DES ที่แต่ละอุณหภูมิ เวลา 2 ชั่วโมง อัตราส่วนโดยมวลของแข็งต่อของเหลว เท่ากับ 1:30

จากรูปที่ 4.6 แสดงให้เห็นถึงสีของเพคตินที่ได้จากการสกัด พบว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิตั้งแต่ 60 จนถึง 90 องศาเซลเซียส สีของเพคตินที่สกัดได้มีความเข้มขึ้นตามอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น เป็นผลมาจากความสว่างของเพคตินจะลดลงเนื่องจากเวลาและอุณหภูมิในการสกัดที่เพิ่มขึ้น เพคตินที่มีสีเข้มกว่าเกิดจากโพลีฟีนอลหรือรงควัตถุอื่นๆที่ละลายน้ำได้ ซึ่งถูกจำกัดอยู่ที่ภายในของเพคตินในขณะที่ตกตะกอน การให้ความร้อนเพิ่มขึ้นช่วยทำให้เกิดปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่ไม่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ (non-enzymatic browning) ซึ่งจะเปลี่ยนสีของเพคติน และเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาต่างๆ เช่น ปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) ปฏิกิริยาการเกิดคาราเมล (Caramelization) และการออกซิเดชันของส่วนประกอบฟีนอลิก [15]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 5
# สรุปผลการดำเนินงาน และข้อเสนอแนะ

## 5.1 สรุปผลการดำเนินงาน

งานวิจัยนี้ได้ทำการทดลองการสกัดเพคตินคุณภาพสูง คือเพคตินกลุ่มที่มีเมทอกซิลต่ำ (Low Methoxyl Pectin: LMP) ด้วยตัวทำละลายดีพยูเทคติก (Deep Eutectic Solvent, DES) ประกอบด้วย คลอรีนคลอไรด์ (Choline Chloride, ChCl) เป็น HBA กลูโคส (Glucose, Glu) และกรดซิตริก (Citric Acid, CA) เป็น HBD โดยมีอัตราส่วนโดยมวลของเปลือกมะม่วงต่อ DES เท่ากับ1:30 เวลาการสกัด 2 ชั่วโมง [8] ได้ทำการศึกษาการสกัดเพคตินจากเปลือกมะม่วงโดยใช้ ChCl:Glu:$H_2O$ 5:2:5 ChCl:CA:$H_2O$ 1:1:13.96 และ CA:$H_2O$ (1 กรัม:90 มิลลิลิตร) ที่อุณหภูมิการสกัด 90 องศาเซลเซียส เวลา 2 ชั่วโมง อัตราส่วนโดยมวลของแข็งต่อของเหลว เท่ากับ 1:30 การสกัดเพคตินโดยใช้ ChCl:CA:$H_2O$ 1:1:13.96 โดยปริมาตรของ DES ทำให้ได้ปริมาณเพคตินสูงที่สุด เป็นผลมาจากค่า pH ของ DES แต่ละชนิด ซึ่ง ChCl:CA:$H_2O$ มีค่า pH อยู่ที่ประมาณ 1-2 ซึ่งมีความเป็นกรดมากกว่า ChCl:Glu:$H_2O$ ที่มีค่า pH อยู่ที่ประมาณ 4-5 คุณสมบัติที่เป็นกรดของตัวทำละลายที่ค่า pH ต่ำ ความเข้มข้นของ [H+] ของสารละลายจะเพิ่มขึ้น ทำให้กลุ่มคาร์บอกซิเลทแตกตัวเป็นไอออนลดลง การสูญเสียหมู่คาร์บอกซิเลทช่วยลดการผลักกันของโมเลกุลโพลีแซ็กคาไรด์ ซึ่งช่วยให้คุณสมบัติการเกิดเจลของเพคตินดีขึ้น ทำให้ได้เพคตินที่ตกตะกอนมากขึ้น [14] ส่งผลให้ผลผลิตของเพคตินสูงขึ้นตามไปด้วย และการสกัดเพคตินโดย ChCl:CA:$H_2O$ 1:1:13.96 ทำให้ได้เพคตินกลุ่มที่มีเมทอกซิลต่ำ (Low Methoxyl Pectin: LMP) ส่วนการสกัดโดยใช้ ChCl:Glu:$H_2O$ และ การสกัดโดยใช้ CA:$H_2O$ ได้เพคตินกลุ่มที่มีเมทอกซิลสูง (High Methoxyl Pectin: HMP) เนื่องจากค่า pH ที่สูง จะทำให้การมีอยู่ของไฮโดรเจนไอออนสำหรับดีเอสเทอริฟิเคชั่นของเพคตินจะถูกจำกัดไว้ [33] ซึ่งหมายความว่าการมีอยู่ของไฮโดรเจนไอออนจะส่งผลให้ %DE สูงขึ้น การสกัดเพคตินโดยใช้ ChCl:CA:$H_2O$ 1:1:13.96 และ การสกัดเพคตินโดยใช้ CA:$H_2O$ ทำให้ได้เพคตินนี่มีร้อยละการต้านอนุมูล-อิสระ (%Antioxidant activity) มากกว่าการสกัดเพคตินโดยใช้ DES ChCl:Glu:Water

ได้ทำการศึกษาปริมาณน้ำใน DES ที่ใช้ในการสกัดเพคตินโดยใช้ ChCl:CA:$H_2O$ ที่อุณหภูมิการสกัด 90 องศาเซลเซียส เวลา 2 ชั่วโมงอัตราส่วนโดยมวลของแข็งต่อของเหลว เท่ากับ 1:30 โดยเติมน้ำ ร้อยละ 40 60 80 85 และ 90 โดยปริมาตรของ DES ซึ่งการเติมน้ำจะทำให้ความหนืดของ DES ลดลงตามสัดส่วนของน้ำที่เพิ่มขึ้น ทำให้เมื่อใช้ DES ผสมน้ำสกัดเพคตินจากเปลือกมะม่วง จะเกิดการถ่ายโอนมวลได้ดีขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นผลมาจากความหนืดที่ลดลง ทำให้ค่าความสามารถในการละลายของ DES เพิ่มขึ้นจึงส่งผลให้ประสิทธิภาพการสกัดเพิ่มขึ้น ซึ่งการสกัดโดยใช้ DES ที่เติมน้ำ 85% โดยปริมาตรของ DES ทำให้ได้ผลผลิตเพคตินปริมาณมากที่สุด เนื่องจากน้ำจะทำปฏิกิริยาที่สร้างพันธะให้แข็งแรงกับโมเลกุลของ DES ซึ่งทำให้แรงยึดเหนี่ยวระหว่างโมเลกุลทำให้ความหนืดของ DES ลดลง ส่งผลให้เกิดการถ่ายโอนมวลต่อการสกัดให้ได้ปริมาณเพคตินที่สุงสุดเมื่อเติมน้ำจนถึงความเข้มข้น 85% โดยปริมาตร หลังจากนั้นปริมาณเพคตินที่สกัดได้จะลดลง เป็นผลมาจากค่าการนำไฟฟ้าของ DES ซึ่งเพิ่มขึ้นตามปริมาณน้ำที่เพิ่มขึ้น เกิดจากการแตกตัวของไอออนของโมเลกุล DES และมีค่าการนำไฟฟ้าสูงสุดเมื่อคลอรีนและคลอไรด์ไอออนถูกแยกตัวออกอย่างสมบูรณ์ [21] ที่ความเข้มข้นของน้ำ 85% โดยปริมาตร จากนั้นจะลดลง เนื่องจากการเติมน้ำมากเกินไปจะทำให้อิเล็กโทรไลต์เจือจาง ส่งผลให้ค่าการนำไฟฟ้าลดลง การสกัดโดยใช้ ChCl:CA อัตราส่วนโดยโมล 1:1 ที่ความเข้มข้นของน้ำ 80% โดยปริมาตรของ DES สกัดได้เพคตินที่มี %DE (Degree of esterification) ต่ำที่สุด ในทางกลับกัน หากดูจากแนวโน้มการเปปลี่ยนแปลงอุณหภูมิที่ใช้สกัดจากผลการทดลอง ไม่ได้ส่งผลอย่างมีนัยสำคัญต่อค่า %DE และการสกัดโดยใช้ DES ที่เติมน้ำ 60% โดยปริมาตรของ DES สกัดได้เพคตินมีร้อยละการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด ในทางกลับกันเมื่อวิเคราะห์จากแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำใน DES ของผลการทดอลงพบว่าปริมาณน้ำใน DES ไม่ได้ส่งผลอย่างมีนัยสำคัญต่อร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของเพคติน

ได้ทำการศึกษาการสกัดเพคตินจากเปลือกมะม่วงโดยใช้ ใช้ ChCl:CA 1:1 ที่เติมน้ำ 85% โดยปริมาตรของ DES เป็นเวลา 2 ชั่วโมง อัตราส่วนโดยมวลของแข็งต่อของเหลว เท่ากับ 1:30 ทำการลดอุณหภูมิในการสกัดจาก 90 เป็น 80 70 และ 60 องศาเซลเซียส การสกัดเพคติตที่อุณหภูมิ 90 องศา-เซลเซียสทำให้ได้ปริมาณผลผลิตเพคตินมากที่สุด การสกัดเพคตินที่อุณหภูมิน้อยกว่า 90 องศาเซลเซียสจะทำให้แนวโน้มปริมาณผลผลิตเพคตินที่สกัดได้ลดลง เนื่องจากอุณหภูมิมีความสัมพันธ์กับความสามารถในการละลายของเพคติน ในระหว่างการสกัดความร้อนทำให้พันธะระหว่างเพคตินและผนังเซลล์เกิดการสลายมากขึ้น อุณหภูมิที่ต่ำลงทำให้การสลายพันธะระหว่างเพคตินและผนังเซลล์มีประสิทธิภาพลดลงส่งผลให้สกัดได้ผลผลิตเพคตินลดลง และเห็นได้ว่าที่อุณหภูมิต่ำ ส่งผลให้ค่า %DE สูงขึ้น เนื่องจากการพลังงานความร้อนไม่เพียงพอในการไฮโดรไลซ์พันธะเอสเทอร์ในโครงสร้างเพคตินที่อุณหภูมิต่ำ ดังนั้นจึงป้องกันไม่ให้เพคตินเกิดดีเอสเทอริฟิเคชันเกิดขึ้น [34] ในทางกลับกัน หากดูจากแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิจากการทดลอง ไม่ได้ส่งผลอย่างมีนัยสำคัญต่อค่า %DE และการสกัดเพคตินที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสทำให้ได้เพคติมีร้อยละการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด ในทางกลับกันเมื่อวิเคราะห์จากแนวโน้มการเปลี่ยนแปลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุณหภูมิของผลการทดลองพบว่าอุณหภูมิในการสกัด ไม่ได้ส่งผลอย่างมีนัยสำคัญต่อร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของเพคติน

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

1. การสกัดเพคตินโดยใช้ DES ซึ่งเป็นสารละลายที่ไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม การนำสารละลายที่ใช้สกัดแล้วกลับมาใช้ใหม่เป็นอีกแนวทางหนึ่งในการลดค่าใช้จ่ายและลดของเสียที่เกิดขึ้นจากกระบวณการสกัดเพคตินทำให้กระบวนการสกัดเพคตินโดยใช้ DES เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมมากขึ้น
2. ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดเป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อการสกัดเพคติน การศึกษาอิทธิพลของระยะเวลาในการสกัดเพคตินต่อปริมาณและคุณสมบัติของเพคตินที่สกัดได้ ทำให้สามารถศึกษาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดเพคติน
3. ปริมาณความชื้น (%Moisture) และปริมาณเถ้า (%Ash) เป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อการนำเพคตินไปใช้งานในอุตสาหกรรมต่างๆ การตรวจวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (%Moisture) และปริมาณเถ้า (%Ash) ทำให้การวิเคราะห์คุณสมบัติของเพคตินมีประสิทธิภาพมากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บรรณานุกรม


[1] R. Karim et al., “Pectin from lemon and mango peel: Extraction, characterisation and application in biodegradable film,” Carbohydrate Polymer Technologies and Applications, vol. 4, p. 100258, Dec. 2022, doi: 10.1016/j.carpta.2022.100258.

[2] ศิริลักษณ์ อ่อนน้อม และคณะ. (2565). ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเพคตินด้วยกรดไฮโดรคลอริก จากเปลือกกล้วยหักมุกและคุณสมบัติทางเคมี. รายงานสืบเนื่องจากการประชุมวิชาการระดับชาติ สำหรับนักศึกษา มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร ครั้งที่ 2. มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร .

[3] S. Bajkacz and J. Adamek, “Evaluation of new natural deep eutectic solvents for the extraction of isoflavones from soy products,” Talanta, vol. 168, pp. 329–335, Jun. 2017, doi: 10.1016/j.talanta.2017.02.065.

[4] C. M. P. Freitas, J. S. R. Coimbra, V. G. L. Souza & R. C. S. Sousa. (2021). Structure and Applications of Pectin in Food, Biomedical, and Pharmaceutical Industry: A Review. Coatings, 11(8), 922. doi:10.3390/coatings11080922

[5] X. Ma, J. Jing, J. Wang, J. Xu & Z.Hu. (2020). Extraction of Low Methoxyl Pectin from Fresh Sunflower Heads by Subcritical Water Extraction. ACS Omega. doi:10.1021/acsomega.0c00928

[6] J. Cui et al., “Pectins from fruits: Relationships between extraction methods, structural characteristics, and functional properties,” Trends Food Sci Technol, vol. 110, pp. 39–54, Apr. 2021, doi: 10.1016/j.tifs.2021.01.077.

[7] S.Zhang et al,“Characterization of ionically crosslinked mango peel pectin-based films:Effect of different cations on the improved properties of film,” Food Packaging and Shelf Life 38 (2023), vol. 38, Jul. 2023, https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2023.101131.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[8] S. Chen, L. Xiao, S. Li, T. Meng, L. Wang, and W. Zhang, “The effect of sonication-synergistic natural deep eutectic solvents on extraction yield, structural and physicochemical properties of pectins extracted from mango peels,” Ultrason Sonochem, vol. 86, p. 106045, May 2022, doi: 10.1016/j.ultsonch.2022.106045.

[9] H. A. Schols and A. G. J. Voragen, “Complex Pectins: Structure elucidation using enzymes,” 1996, pp. 3–19. doi: 10.1016/S0921-0423(96)80242-5.

[10] Yu. S. Ovodov, “Current views on pectin substances,” Russ J Bioorg Chem, vol. 35, no. 3, pp. 269–284, May 2009, doi: 10.1134/S1068162009030017.

[11] S. Q. Liew, G. C. Ngoh, R. Yusoff, and W. H. Teoh, “Acid and Deep Eutectic Solvent (DES) extraction of pectin from pomelo (Citrus grandis (L.) Osbeck) peels,” Biocatal Agric Biotechnol, vol. 13, pp. 1–11, Jan. 2018, doi: 10.1016/j.bcab.2017.11.001.

[12] A.N. Oliveira, D.A. Paula, E.B. de Oliveira, S.H. Saraiva, P.C. Stringheta, A.M. Ramos, Optimization of pectin extraction from Ub´a mango peel through surface response methodology, Int. J. Biol. Macromol. 113 (2018) 395–402, https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.02.154.

[13] M.M. Wang, B.H. Huang, C.H. Fan, K.L. Zhao, H. Hu, X.Y. Xu, S.Y. Pan, F.X. Liu,Characterization and functional properties of mango peel pectin extracted by ultrasound assisted citric acid, Int. J. Biol. Macromol. 91 (2016) 794–803, https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.06.011.

[14] A. Elgharbawy et al., “Natural Deep Eutectic Solvent-Assisted Pectin Extraction from Pomelo Peel Using Sonoreactor: Experimental Optimization Approach,” Processes, vol. 7, no. 7, p. 416, Jul. 2019, doi: 10.3390/pr7070416.

[15] M. Kumari, S. Singh, and A. K. Chauhan, “A Comparative Study of the Extraction of Pectin from Kinnow (Citrus reticulata) Peel Using Different Techniques,” Food Bioproc Tech, vol. 16, no. 10, pp. 2272–2286, Oct. 2023, doi: 10.1007/s11947-023-03059-4.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[16] C. M. P. FREITAS, R. C. S. SOUSA, M. M. S. DIAS, and J. S. R. COIMBRA, “Extraction of Pectin from Passion Fruit Peel,” Food Engineering Reviews, vol. 12, no. 4, pp. 460–472, Dec. 2020, doi: 10.1007/s12393-020-09254-9.

[17] L. I. N. Tomé, V. Baião, W. da Silva, and C. M. A. Brett, “Deep eutectic solvents for the production and application of new materials,” Appl Mater Today, vol. 10, pp. 30–50, Mar. 2018, doi: 10.1016/j.apmt.2017.11.005.

[18] J. Bai et al., “Investigation of the Mechanism and Effect of Citric Acid-Based Deep Eutectic Solvents Inhibiting Hydration and Expansion of Gas Shale Clay Minerals,” Energy Fuels 2023, 37, 4, 2750–2758, Feb. 2023, https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.2c03819.

[19] R. Yusof, S. Z. A. Zaini, and M. A. Azman, “Characterization of Pectin Extracted from Guava Peels Using Deep Eutectic Solvent and Citric Acid,” in Charting the Sustainable Future of ASEAN in Science and Technology, Singapore: Springer Singapore, 2020, pp. 421–433. doi: 10.1007/978-981-15-3434-8_36.

[20] J. P. Maran, K. Swathi, P. Jeevitha, J. Jayalakshmi, and G. Ashvini, “Microwave-assisted extraction of pectic polysaccharide from waste mango peel,” Carbohydr Polym, vol. 123, pp. 67–71, Jun. 2015, doi: 10.1016/j.carbpol.2014.11.072.

[21] J. Gu, L. Lin, and M. Zhao, “Demonstration of feasibility and effectiveness of deep eutectic solvent-water system extraction of RG-I type pectin from wolfberry based on target polysaccharide, solvent and their interactions,” Food Hydrocoll, vol. 144, p. 109027, Nov. 2023, doi: 10.1016/j.foodhyd.2023.1090

[22] W. Wang, X. Li, X. Bao, L. Gao & Y.Tao. “Extraction of polysaccharides from black mulberry fruit and their effect on enhancing antioxidant activity. International Journal of Biological Macromolecules.” Biomac 2018, doi:10.1016/j.ijbiomac.2018.09.13

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[23] M. H. Shafie, R.Yusof & C.-Y Gan. “Deep eutectic solvents (DES) mediated extraction of pectin from Averrhoa bilimbi: Optimization and characterization studies.” Carbohydrate Polymers (2018), 216, 303–311. doi:10.1016/j.carbpol.2019.04.007

[24] J. Chen et al., “Extraction temperature is a decisive factor for the properties of pectin,” Food Hydrocoll, vol. 112, p. 106160, Mar. 2021, doi: 10.1016/j.foodhyd.2020.106160.

[25] S. Valdivia-Rivera et al., “Kinetic, Thermodynamic, Physicochemical, and Economical Characterization of Pectin from Mangifera indica L. cv. Haden Residues,” Foods, vol. 10, no. 9, p. 2093, Sep. 2021, doi: 10.3390/foods10092093.

[26] S. Chanioti et al. (2014). “Solid–Liquid Extraction”. Food Engineering Handbook: Food Process Engineering, Chapter 6.

[27] I. Das, & A. Arora et al. “Kinetics and mechanistic models of solid-liquid extraction of pectin using advance green techniques- a review.” Food Hydrocolloids, 120, 106931, June 2021, doi:10.1016/j.foodhyd.2021.106931

[28] Z. Mukhiddinov et al. “Isolation and structural characterization of a pectin homo and ramnogalacturonan.” Talanta, 53(1), 171–176, Apr. 2000, doi:10.1016/s0039-9140(00)00456-2

[29] F. Munarin, M. C. Tanzi, & P. Petrini “Advances in biomedical applications of pectin gels.” International Journal of Biological Macromolecules, 51(4), 681–689, Jul 2012. doi:10.1016/j.ijbiomac.2012.07.00

[30] P. Rodsamran and R. Sothornvit, “Microwave heating extraction of pectin from lime peel: Characterization and properties compared with the conventional heating method,” Food Chem, vol. 278, pp. 364–372, Apr. 2019, doi: 10.1016/j.foodchem.2018.11.067

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[31] N. Mohd et al., “Extraction and Characterization of Pectin from Dragon Fruit (Hylocereus polyrhizus) using Various Extraction Conditions,” Trends Food Sci Technol, vol. 110, pp. 39–54, Apr. 2021, doi: 10.1016/j.tifs.2021.01.077.

[32] A. Bermúdez-Oria et al. (2023). “Extraction of polyphenols associated with pectin from olive waste (alperujo) with choline chloride”. Food Chemistry. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136073

[33] Y. Duwee et al. “Multi-objective optimization of pectin extraction from orange peel via response surface methodology: yield and degree of esterification,” Journal of Food Measurement and Characterization, April 2022, doi: 10.1007/s11694-022-01305-5.

[34] F. Gabriele, M. Chiarini, R. Germani, M. Tiecco & N. Spreti. “Effect of water addition on choline chloride/glycol deep eutectic solvents: Characterization of their structural and physicochemical properties.” Journal of Molecular Liquids, 111301, July 2019. doi:10.1016/j.molliq.2019.111301

[35] E. Girma and T. Worku. “Extraction and Characterization of Pectin From Selected Fruit Peel Waste.” International Journal of Scientific and Research Publications, Volume 6, Issue 2, February 2016.

[36] Md. A. Sayed et al. “Efect of extraction parameters on the yield and quality of pectin from mango (Mangifera indica L.) peels.” Discover Food, Oct 2022. https://doi.org/10.1007/s44187-022-00029-1

[37] R. Rojas, O. B. Alvarez-Pérez, J. C. Contreras-Esquivel, A. Vicente, A. Flores, J. Sandoval, & C. N. Aguilar. (2018). “Valorisation of Mango Peels: Extraction of Pectin and Antioxidant and Antifungal Polyphenols”. Waste and Biomass Valorization. doi:10.1007/s12649-018-0433-4

[38] อรพิน ภูมิภมร. (2523). คาร์โบไฮเดรตในอาหาร : พอลีแซ็คคาไรด์. กรุงเทพฯ: คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก ก.

## ผลการทดลอง

**ตารางที่ ก. 1** ผลของสารละลายแต่ละชนิดที่ใช้สกัดเพคตินจากเปลือกมะม่วง ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ด้วยอัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว เท่ากับ 1:30

| สารละลาย | ชุดการทดลอง | น้ำหนักเพคตินที่สกัดได้ (g) | %yield | | %DE | | ค่าการดูดกลืนแสง | | Antioxidant activity (%) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | ทั้งหมด | เฉลี่ย (%error) | ทั้งหมด | เฉลี่ย (%error) | | | ทั้งหมด | เฉลี่ย (%error) |
| ChCl:CA:$H_2O$ 1:1 80% Water | 1 | 0.86 | 28.53 | 31.47 (±3.34) | 30.80 | 30.04 (±0.66) | 0.088 | 89.97 | 88.474 (±1.39) | |
| | 2 | 0.92 | 30.76 | | 29.62 | | 0.104 | 88.15 | | |
| | 3 | 1.05 | 35.11 | | 29.70 | | 0.112 | 87.27 | | |
| ChCl:Glu:$H_2O$ 5:2:5 | 1 | 0.41 | 13.60 | 15.99 (±4.02) | 98.25 | 95.81 (±4.03) | 0.283 | 67.91 | 62.107 (±11.72) | |
| | 2 | 0.62 | 20.63 | | 98.01 | | 0.454 | 48.62 | | |
| | 3 | 0.41 | 13.75 | | 91.16 | | 0.266 | 69.79 | | |
| CA: $H_2O$ 1:90 (g/ml) | 1 | 0.29 | 9.65 | 8.87 (±0.93) | 73.08 | 77.40 (±4.16) | 0.061 | 93.07 | 88.475 (±4.47) | |
| | 2 | 0.24 | 7.83 | | 81.37 | | 0.104 | 88.23 | | |
| | 3 | 0.27 | 9.13 | | 77.76 | | 0.140 | 84.13 | | |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ก.2** ผลของอุณหภูมิที่ใช้สกัดเพคตินจากเปลือกมะม่วง เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ด้วยอัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว เท่ากับ 1:30

| อุณหภูมิ (°C) | สารละลาย | ชุดการทดลอง | น้ำหนักเพคตินที่สกัดได้ (g) | %yield | | %DE | | ค่าการดูดกลืนแสง | Antioxidant activity (%) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | ทั้งหมด | เฉลี่ย (%error) | ทั้งหมด | เฉลี่ย (%error) | | ทั้งหมด | เฉลี่ย (%error) |
| 90 | ChCl:CA: $H_2O$ 1:1 85% Water | 1 | 1.28 | 42.59 | 45.82 (±6.65) | 26.92 | 29.03 (±6.41) | 0.354 | 59.94 | 68.245 (±7.19) |
| | | 2 | 1.60 | 53.47 | | 24.67 | | 0.243 | 72.44 | |
| | | 3 | 1.24 | 41.40 | | 26.02 | | 0.244 | 72.36 | |
| | ChCl:Glu: $H_2O$ 5:2:5 | 1 | 0.41 | 13.60 | 15.99 (±4.02) | 98.25 | 95.81 (±4.02) | N/A | N/A | N/A |
| | | 2 | 0.62 | 20.63 | | 98.01 | | N/A | N/A | |
| | | 3 | 0.41 | 13.75 | | 91.16 | | N/A | N/A | |
| | CA: $H_2O$ 1:90 (g/ml) | 1 | 0.29 | 9.65 | 8.87 (±0.93) | 73.08 | 77.40 (±4.16) | N/A | N/A | N/A |
| | | 2 | 0.24 | 7.83 | | 81.37 | | N/A | N/A | |
| | | 3 | 0.27 | 9.13 | | 77.76 | | N/A | N/A | |
| 80 | ChCl:CA: $H_2O$ 1:1 85% Water | 1 | 0.80 | 26.57 | 27.14 (±2.23) | 10.94 | 19.51 (±6.11) | 0.109 | 87.66 | 87.610 (±1.65) |
| | | 2 | 0.76 | 25.25 | | 38.00 | | 0.124 | 85.94 | |
| | | 3 | 0.89 | 29.60 | | 56.90 | | 0.095 | 89.23 | |
| | ChCl:Glu: $H_2O$ 5:2:5 | 1 | 0.04 | 1.34 | 1.69 (±0.63) | N/A | N/A | N/A | N/A | N/A |
| | | 2 | 0.04 | 1.31 | | N/A | | N/A | N/A | |
| | | 3 | 0.07 | 2.42 | | N/A | | N/A | N/A | |
| | CA:H2O 1:90 (g/ml) | 1 | 0.19 | 6.31 | 6.08 (±0.84) | 26.32 | 29.49 (±3.46) | N/A | N/A | N/A |
| | | 2 | 0.20 | 6.78 | | 28.98 | | N/A | N/A | |
| | | 3 | 0.15 | 5.14 | | 33.18 | | N/A | N/A | |
| 70 | ChCl:CA: $H_2O$ 1:1 | 1 | 0.69 | 22.94 | 21.68 (±1.50) | 11.35 | 12.60 (±2.02) | 0.169 | 80.85 | 79.34 (±5.59) |
| | | 2 | 0.66 | 22.07 | | 14.94 | | 0.101 | 84.02 | |
| | | 3 | 0.60 | 20.02 | | 11.51 | | 0.237 | 73.15 | |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 85% Water | | | | | | | | | |
| | ChCl:Glu: | 1 | 0.03 | 1.07 | 1.01 | N/A | N/A | N/A | N/A | N/A |
| | Water | 2 | 0.02 | 0.53 | (±0.46) | N/A | | N/A | N/A | |
| | 5:2:5 | 3 | 0.04 | 1.45 | | N/A | | N/A | N/A | |
| | CA:H2O | 1 | 0.19 | 6.33 | 4.56 | 28.72 | 50.86 | N/A | N/A | N/A |
| | 1:90 | 2 | 0.12 | 4.00 | (±1.57) | 61.21 | (±19.1) | N/A | N/A | |
| | (g/ml) | 3 | 0.10 | 3.33 | | 62.63 | | N/A | N/A | |
| 60 | ChCl:CA: | 1 | 0.36 | 11.93 | 15.20 | 38.46 | 30.36 | 0.145 | 83.52 | 86.264 |
| | $H_2O$ | 2 | 0.51 | 16.90 | (±2.83) | 35.81 | (±11.82) | 0.123 | 85.98 | (±2.90) |
| | 1:1 | 3 | | | | | | 0.094 | 89.29 | |
| | 85% Water | | 0.50 | 16.77 | | 16.80 | | | | |
| | ChCl:Glu: | 1 | 0.02 | 0.67 | 1.63 | N/A | N/A | N/A | N/A | N/A |
| | Water | 2 | 0.07 | 2.37 | (±0.87) | N/A | | N/A | N/A | |
| | 5:2:5 | 3 | 0.06 | 1.87 | | N/A | | N/A | N/A | |
| | CA:H2O | 1 | 0.08 | 2.80 | 3.84 | N/A | 55.96 | N/A | N/A | N/A |
| | 1:90 | 2 | 0.15 | 4.97 | (±1.08) | 67.23 | (±15.94) | N/A | N/A | |
| | (g/ml) | 3 | 0.11 | 3.77 | | 44.69 | | N/A | N/A | |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ก.3** ผลของปริมาณน้ำที่เติมใน ChCl:CA สัดส่วนโดยโมล 1:1 ที่ใช้สกัดเพคตินจากเปลือกมะม่วง ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ด้วยอัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว เท่ากับ 1:30

| ปริมาณน้ำ (%v/v) | ชุดการทดลอง | น้ำหนักเพคตินที่สกัดได้ (g) | %yield | | %DE | | ค่าการดูดกลืนแสง | Antioxidant activity (%) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | ทั้งหมด | เฉลี่ย (%error) | ทั้งหมด | เฉลี่ย (%error) | | ทั้งหมด | เฉลี่ย (%error) |
| 90 | 1 | 0.76 | 25.37 | 22.89 (±3.06) | 47.43 | 49.27 (±1.61) | 0.125 | 85.78 | 79.51 (±7.79) |
| | 2 | 0.72 | 23.84 | | 50.00 | | 0.159 | 81.94 | |
| | 3 | 0.58 | 19.47 | | 50.39 | | 0.288 | 70.79 | |
| 85 | 1 | 1.28 | 42.59 | 45.82 (±6.65) | 26.92 | 29.03 (±6.41) | 0.354 | 59.94 | 68.245 (±7.19) |
| | 2 | 1.60 | 53.47 | | 24.67 | | 0.243 | 72.44 | |
| | 3 | 1.24 | 41.40 | | 26.02 | | 0.244 | 72.36 | |
| 80 | 1 | 0.86 | 28.54 | 31.47 (±3.35) | 30.80 | 30.04 (±0.66) | 0.088 | 90.00 | 88.473 (±1.39) |
| | 2 | 0.92 | 30.76 | | 29.62 | | 0.104 | 88.15 | |
| | 3 | 1.05 | 35.11 | | 29.70 | | 0.112 | 87.27 | |
| 60 | 1 | 0.64 | 21.40 | 24.40 (±7.73) | 45.43 | 43.49 (±2.40) | 0.082 | 90.64 | 92.862 (±2.80) |
| | 2 | 1.00 | 33.18 | | 40.81 | | 0.071 | 91.93 | |
| | 3 | 0.56 | 18.63 | | 44.22 | | 0.035 | 96.01 | |
| 40 | 1 | 0.28 | 9.43 | 6.63 (±2.43) | 46.33 | 40.20 (±6.55) | 0.121 | 86.20 | 86.462 (±0.55) |
| | 2 | 0.16 | 5.30 | | 40.98 | | 0.122 | 86.09 | |
| | 3 | 0.15 | 5.16 | | 33.30 | | 0.114 | 87.10 | |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก ข.

# การวิเคราะห์ผล และตัวอย่างการคำนวณ

## ข.1 การวิเคราะห์ปริมาณเพคตินที่สกัดได้

ปริมาณร้อยละผลผลิตเพคติน (%yield) สามารถคำนวณได้จากสมการที่ (1)

$$\%yield = \frac{m_p}{m_{rm}} x100 \quad (1)$$

โดยที่ %yield คือ ปริมาณร้อยละผลผลิตเพคติน

$m_p$ คือ น้ำหนักเพคติน (g)

$m_{rm}$ คือ น้ำหนักเปลือกมะม่วงบดแห้ง (g)

ตัวอย่างการคำนวณการสกัดเพคตินจากเปลือกมะม่วงโดยใช้ ChCl:CA อัตราส่วนโดยโมล 1:1 เติมน้ำร้อยละ 80% เป็นเวลา 2 ชั่วโมง อัตราส่วนโดยมวลของแข็งต่อของเหลว เท่ากับ 1:30 ชุดการทดลองที่ 1

$$\%yield = \frac{0.856}{3} x100 = 28.53$$

## ข.2 การวิเคราะห์ Degree of esterification (%DE)

Degree of esterification (%DE) [7] สามารถคำนวณได้จากสมการที่ (2)

$$\% DE = \frac{V_2}{V_1+V_2} x\ 100 \quad (2)$$

โดยที่ % DE คือ ร้อยละการเกิดปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชั่น

$V_1$ คือ ปริมาตรสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.01 โมลาร์ที่ใช้ไทเทรตรอบแรก (ml)

$V_2$ คือ ปริมาตรสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.01 โมลาร์ที่ใช้ไทเทรตรอบสอง (ml)

ตัวอย่างการคำนวณการสกัดเพคตินจากเปลือกมะม่วงโดยใช้ ChCl:CA อัตราส่วนโดยโมล 1:1 เติมน้ำร้อยละ 80% เป็นเวลา 2 ชั่วโมง อัตราส่วนโดยมวลของแข็งต่อของเหลว เท่ากับ 1:30 ชุดการทดลองที่ 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดลอง

ปริมาตรสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.01 โมลาร์ที่ใช้ไทเทรตรอบแรก ($V_1$) เท่ากับ 28.6 ml

ปริมาตรสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.01 โมลาร์ที่ใช้ไทเทรตรอบสอง ($V_2$) เท่ากับ 25.8 ml

$$\% \text{ DE} = \frac{25.8}{28.6+25.8} \text{ X } 100 = 47.43$$

## ข.3 การวิเคราะห์ปริมาณกลุ่มเมทอกซิล (% Methoxyl)

%Methoxyl คำนวณได้จากสมการความสัมพันธ์ระหว่าง %DE และ % Methoxyl

$$\% \text{ Methoxyl} = = (0.1632 \text{ x } \%DE) - 0.0023$$

ตัวอย่างการคำนวณการสกัดเพคตินจากเปลือกมะม่วงโดยใช้ ChCl:CA อัตราส่วนโดยโมล 1:1 เติมน้ำร้อยละ 80% เป็นเวลา 2 ชั่วโมง อัตราส่วนโดยมวลของแข็งต่อของเหลว เท่ากับ 1:30 ชุดการทดลองที่ 1

$$\% \text{ Methoxyl} = = (0.1632 \text{ x } \%DE) - 0.0023 = 5.03$$

**ตาราง ข. 1**แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า Degree of esterification กับ ปริมาณเมทอกซิลในเพคติน [38]

| %DE | %Methoxly |
|---|---|
| 0 | 0 |
| 10 | 1.63 |
| 20 | 3.26 |
| 30 | 4.9 |
| 40 | 6.53 |
| 50 | 8.16 |
| 60 | 9.76 |
| 70 | 11.42 |
| 80 | 13.06 |
| 90 | 14.69 |
| 100 | 16.32 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ข.4 การวิเคราะห์ปริมาณ Antioxidant โดยวิธี DPPH Assay

จากวิธีการทดลองข้างต้น เตรียมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.2 mM ในเอทานอล ผสมกับ สารตัวอย่าง Trolox ความเข้มข้น 2.5, 5, 10, 15, 20, 25 µg/ml ที่อุณหภูมิห้องและทึบแสง 30 นาที นำสารละลายวัดค่าการดูดกลืนแสงโดย UV-VIS Spectrophotometer (Evolution 200 series) ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยค่าการยับยั้งของ DPPH (%inhibition) สามารถคำนวณได้จากสมการ:

$$\text{Scavenging activity (\%)} = \frac{A_C - A_S}{A_C} \times 100$$

โดย $A_C$ ,$A_S$ คือสารลายควบคุมและสารละลายตัวอย่าง ตามลำดับ

ตัวอย่างการคำนวณการสกัดเพคตินจากเปลือกมะม่วงโดยใช้ ChCl:CA อัตราส่วนโดยโมล 1:1 เติมน้ำร้อยละ 80% เป็นเวลา 2 ชั่วโมง อัตราส่วนโดยมวลของแข็งต่อของเหลว เท่ากับ 1:30 ชุดการทดลองที่ 1

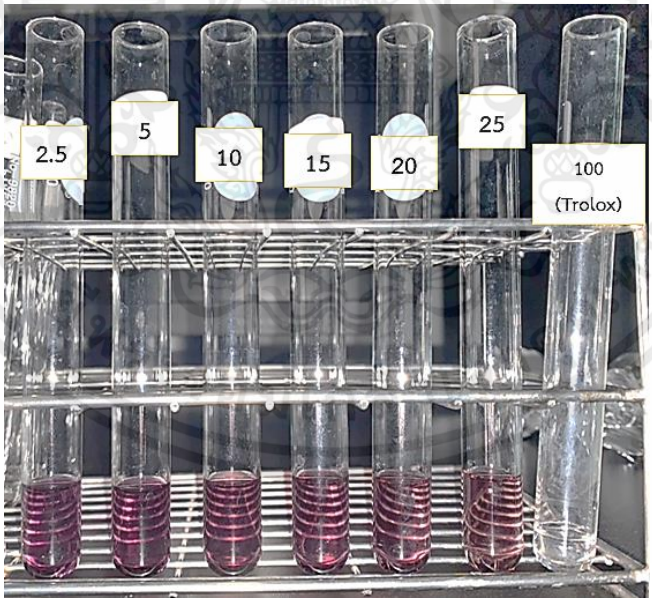
โดย ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายควบคุม ( $A_C$ ) เท่ากับ 16.698

$$\text{Scavenging activity (\%)} = \frac{16.698 - 0.08841}{16.698} \times 100 = 89.997\%$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

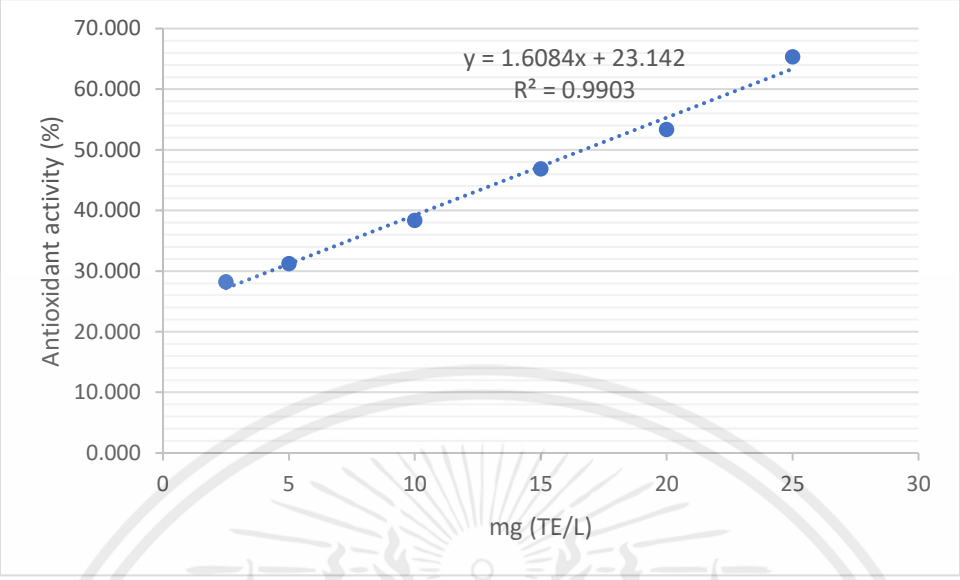
**ตาราง ข.2** ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่าง Trolox แต่ละความเข้มข้น และร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ (%Antioxidant activity)

| Trolox (µg/ml) | Absorbance (nm) | | | AVG | Antioxidant activity (%) | SD |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | | | |
| 2.5 | 0.635 | 0.629 | 0.639 | 0.634 | 28.248 | 0.553 |
| 5 | 0.609 | 0.605 | 0.609 | 0.607 | 31.269 | 0.225 |
| 10 | 0.569 | 0.521 | 0.544 | 0.545 | 38.371 | 2.752 |
| 15 | 0.464 | 0.481 | 0.463 | 0.469 | 46.901 | 1.101 |
| 20 | 0.382 | 0.458 | 0.395 | 0.412 | 53.383 | 4.607 |
| 25 | 0.317247 | 0.31566 | 0.286404 | 0.306437 | 65.330 | 1.965 |




**รูปที่ ข.1** สารตัวอย่าง Trolox ความเข้มข้น 2.5, 5, 10, 15, 20, 25 µg/ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ ข.2** กราฟมาตรฐานการวิเคราะห์ค่าการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้