

การสกัดเพคตินจากยุงมะขามด้วยวิธีการไฮโดรเทอร์มอล
PECTIN EXTRACTION FROM TAMAMRIND PULP USING
HYDROTHERMAL METHOD

จารุวรรณ สิงห์จันทร์
จิตติมา ฉายประดับ

ปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมแปรรูปอาหาร
คณะอุตสาหกรรมเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2562



ใบรับรองปัญหาพิเศษ

การสกัดเพคตินจากย้งมะขามด้วยวิธีการไฮโดรเทอร์มอล

PECTIN EXTRACTION FROM TAMAMRIND PULP USING HYDROTHERMAL
METHOD

จัดทำโดย

นางสาวจรรุวรรณ

สิงห์ขันธุ์

รหัสนักศึกษา 58080153

นางสาวจิตติมา

ฉายประดับ

รหัสนักศึกษา 58080154

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

.....
(ดร.พงษ์เสริฐ ศรีพรหม)

อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

28 / มิ.ย. / 62

หัวข้อปัญหาพิเศษ	การสกัดเพคตินจากยุงมะขามด้วยวิธีการไฮโดรเทอร์มอล	
ชื่อนักศึกษา	จารุวรรณ สิงห์ขันธุ์	รหัสนักศึกษา 58080153
	จิตติมา ฉายประดับ	รหัสนักศึกษา 58080154
หลักสูตร	วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมแปรรูปอาหาร	
พ.ศ.	2562	
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.พงษ์เสริฐ ศรีพรหม	

บทคัดย่อ

ปัญหาพิเศษนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเพคตินจากยุงมะขามด้วยวิธีการไฮโดรเทอร์มอล ซึ่งนำมาเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดด้วยกรดโดยใช้กรดไฮโดรคลอริก ในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมได้มีการออกแบบการทดลองแบบ Box-Benhken โดยมี ปัจจัยที่สำคัญ 4 ปัจจัยที่ตัวแปร 3 ระดับ ซึ่งที่การสกัดแบบกรดมีปัจจัยที่ศึกษาคือ อุณหภูมิ (60-90 องศาเซลเซียส), อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว (1:5-1:15 กรัมต่อมิลลิลิตร), เวลาในการสกัด (30-90 นาที) และความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก (0.1-0.5 โมลต่อลิตร) พบว่า สภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดแบบกรด คือ อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส, อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว 1:15 กรัมต่อมิลลิลิตร, เวลาในการสกัด 39 นาทีและความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริก 0.5 โมลต่อลิตร ทำให้ได้ร้อยละผลได้ของเพคติน ร้อยละ 2.18 และมีระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชัน ร้อยละ 63.18 การออกแบบการทดลองแบบ Box-Benhken ด้วยกระบวนการไฮโดรเทอร์มอล มีปัจจัยที่ศึกษาคือ อุณหภูมิ (100-140 องศาเซลเซียส), อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว (1:5-1:15 กรัมต่อมิลลิลิตร), เวลาในการสกัด (20-60 นาที) และความดัน (0-1 บาร์) พบว่า สภาวะที่เหมาะสม คือ อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส, อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว 1:5 กรัมต่อมิลลิลิตร, เวลาในการสกัด 20 นาทีและความดันที่ 0.8 บาร์ ทำให้ได้ร้อยละผลได้ ร้อยละ 3.10 และการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชัน ร้อยละ 80.46 พบว่า การสกัดแบบไฮโดรเทอร์มอลให้ร้อยละผลได้มากกว่าการสกัดแบบกรดและทั้งสองวิธีมีระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันที่สูง แสดงว่าเพคตินจากยุงมะขามที่ได้จากการสกัดเป็นแบบค่าเมทอกซีสูง (High methoxy pectin)

คำสำคัญ: เพคติน ยุงมะขาม ไฮโดรเทอร์มอล ระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชัน

Special problem title	Pectin Extraction from Tamarind pulp using Hydrothermal method
Student name	Jaruwan Singhkun Student ID 58080153 Jittima Chaypradap Student ID 58080154
Program	Bachelor of Science in Food Process Engineering
Year	2019
Advisor	Dr.Pongsert Sriprom

ABSTRACT

This special project was aimed to the optimum conditions for pectin extraction from tamarind pulp using hydrothermal method which is compared with acid extraction. The acid extraction experiment designed by box-benhken design with four factors at 3 levels. The independence variables are temperature (60-90 degree Celsius), Solid to liquid ratio (1:5-1:15 g/ml), Extraction time (30-90 min) and HCL concentration (0.1-0.5 mol). The results shown that the optimum condition of acid extraction is temperature 72 °C, Solid to liquid ratio 1:15 g/ml, extraction time 39 minute and HCL concentration 0.5 mol that the percent yield of pectin and degree of esterification were 2.18% and 63.18%. The hydrothermal extraction experiment was designed by box-benhken design with four factors at 3 levels. The independence variables are temperature (60-90 °C), Solid to liquid ratio (1:5-1:15 g/ml), Extraction time (30-90 min) and HCL concentration (0.1-0.5 mol). The results shown that the optimum condition is temperature 100 °C, Solid to liquid ratio 1:5 g/ml, extraction time 20 minute and Pressure 0.8 bar that the percent yield of pectin and degree of esterification were 3.10% and 80.46%. The result indicated that hydrothermal method has more yield than acid extraction. Both of method has high esterification that type of pectin is high methoxy.

Keywords: Pectin Tamarind pulp Hydrothermal Esterification

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ดร.พงษ์เสรีฐ์ ศรีพรหม ที่คอยให้คำปรึกษาช่วยแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆและชี้แนะแนวทางพร้อมทั้งสละเวลาอันมีค่าให้ความรู้และความช่วยเหลืออย่างเต็มที่ในการทำปัญหาพิเศษนี้ ทำให้วิชาปัญหาพิเศษนี้ ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบคุณ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง คณะอุตสาหกรรมเกษตร ให้ความกรุณาทุนการศึกษาในงบประมาณวิจัยพร้อมทั้งเครื่องมือในการวิเคราะห์และห้องปฏิบัติการ

ขอขอบคุณบิดา-มารดา ที่ให้การสนับสนุนช่วยเหลือทางการศึกษาในระหว่างการเรียนและการจัดทำปัญหาพิเศษนี้

ขอขอบคุณบริษัทปิ่นเพชรที่สนับสนุนด้านตัวอย่างการทดลองโดยส่งมะขามเพื่อให้ทำงานวิจัยนี้จนสำเร็จไปได้อย่างลุล่วง

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณทุกท่านที่มีส่วนเกี่ยวข้องทั้งทางตรงและทางอ้อมที่ช่วยให้การสนับสนุนให้การทำเล่มปัญหาพิเศษนี้สำเร็จไปได้ด้วยดี

จารุวรรณ สิงห์ขันธุ์

จิตติมา ฉายประดับ

23 พฤษภาคม 2562

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	VI
สารบัญภาพ	VII
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา	2
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 มะขาม	3
2.2 เพศติน	3
2.3 การสกัดเพศติน	7
2.4 การออกแบบการทดลอง	8
2.5 พื้นที่ผิวตอบสนอง	10
2.6 การวัดค่าสี	11
2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	12
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	
3.1 วัสดุดิบและสารเคมี	15
3.2 อุปกรณ์	15
3.3 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง	16
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์	
4.1 การหาความชื้นในยุงมะขามเริ่มต้น	25
4.2 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเพศตินจากยุงมะขามโดยใช้กรดไฮโดรคลอริก	27

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
4.3 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเพคตินจากยั้งมะขามโดยใช้วิธีการไฮโดรเทอร์มอล	44
4.4 เปรียบเทียบการหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเพคตินจากยั้งมะขามระหว่างการใช้กรดไฮโดรคลอริกและกระบวนการไฮโดรเทอร์มอล	61
4.5 การวัดสีของเพคตินที่สภาวะเหมาะสมและดีที่สุดจากกระบวนการไฮโดรเทอร์มอล	62
บทที่ 5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ	
5.1 สรุปผล	63
5.2 ข้อเสนอแนะ	64
บรรณานุกรม	65
ภาคผนวก	
ภาคผนวก ก	68
ภาคผนวก ข	70
ประวัติผู้เขียน	73

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
3.1	ปัจจัยและระดับของการออกแบบการทดลองแบบ Box-Behnken design	21
3.2	การออกแบบการทดลองแบบ Box-Behnken เพศตินจากยุงมะขามด้วยกรดไฮโดรคลอริก	21
3.3	ปัจจัยและระดับของการออกแบบการทดลองแบบ Box-Behnken design	23
3.4	การออกแบบการทดลองแบบ Box-Behnken สกัดเพศตินจากยุงมะขามด้วยวิธีไฮโดรเทอร์มอล	23
4.1	ความชื้นยุงมะขาม (Moisture content)	25
4.2	การออกแบบการทดลองแบบ Box-Behnken Design ในการสกัดเพศตินจากยุงมะขามโดยใช้กรดไฮโดรคลอริก	27
4.3	การวิเคราะห์หาค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยของร้อยละผลได้ของเพศติน	29
4.4	การวิเคราะห์หาค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยของระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพศติน	31
4.5	การหาสภาวะเหมาะสมในการสกัดเพศตินจากยุงมะขามโดยวิธีการแบบกรด	43
4.6	ร้อยละผลได้ของเพศตินและระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพศตินตามสภาวะที่เหมาะสมที่สุด	43
4.7	การออกแบบการทดลองแบบ Box-Behnken Design ในการสกัดเพศตินจากยุงมะขามโดยใช้วิธีการไฮโดรเทอร์มอล	44
4.8	การวิเคราะห์หาค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยของร้อยละผลได้ของเพศติน	46
4.9	การวิเคราะห์หาค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยของระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพศติน	48
4.10	การหาสภาวะเหมาะสมในการสกัดเพศตินจากยุงมะขามโดยวิธีการไฮโดรเทอร์มอล	60
4.11	ร้อยละผลได้ของเพศตินและระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพศตินตามสภาวะที่เหมาะสมที่สุด	60
4.12	เปรียบเทียบการหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเพศตินจากยุงมะขามระหว่างการใช้กรดไฮโดรคลอริกและกระบวนการไฮโดรเทอร์มอล	61
4.13	ค่าสีเพศตินจากยุงมะขามกับเพศตินจากเปลือกส้ม	62

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1	โมเลกุลของเพคตินในเนื้อเยื่อผักผลไม้บริเวณมิดเดิลลามেলাและผนังเซลล์
2.2	ลักษณะโครงสร้างของเพคตินโดยเชื่อมต่อกันเป็นสายยาว
2.3	การถูกเอสเทอร์ไฟด์ของหมู่คาร์บอกซิล
2.4	อุปกรณ์ autoclave
2.5	ระบบการวัดสี
3.1	ล้างยุ่งมะขามเพื่อเตรียมการอบยุ่งมะขามหลังอบ
3.2	อบแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบถาด
3.3	บดยุ่งมะขามด้วยเครื่อง Hammer mill
3.4	มะขามที่ผ่านการบด
3.5	เพคตินที่ได้จากการสกัดด้วยกรดไฮโดรคลอริก
3.6	เพคตินที่ได้จากการสกัดแบบไฮโดรเทอร์มอลและเครื่องปฏิกรณ์
4.1	ยุ่งมะขามหลังอบ
4.2	ยุ่งมะขามหลังบด
4.3	การวิเคราะห์ความถูกต้องของการออกแบบการทดลองจากร้อยละผลได้ของเพคติน
4.4	การวิเคราะห์ความถูกต้องของการออกแบบการทดลองจากระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคติน
4.5	แผนภาพพารेटโตแสดงปัจจัยที่มีผลสำคัญต่อร้อยละผลได้ของเพคติน
4.6	แผนภาพพารेटโตแสดงปัจจัยที่มีผลสำคัญต่อค่าระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคติน
4.7	ผลของปัจจัยที่มีต่อร้อยละผลได้ของเพคตินจากการสกัดด้วยกรด
4.8	ผลกระทบปัจจัยร่วมของการสกัดด้วยกรด
4.9	ความสัมพันธ์พื้นที่ผิวตอบสนองเวลาและอุณหภูมิที่มีผลต่อร้อยละผลได้ของเพคตินและระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคติน
4.10	ความสัมพันธ์พื้นที่ผิวตอบสนองอัตราส่วนและอุณหภูมิที่มีผลต่อร้อยละผลได้ของเพคตินและระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคติน

สารบัญ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4.11 ความสัมพันธ์พื้นที่ผิวตอบสนองความเข้มข้นและอัตราส่วนที่มีผลต่อร้อยละผลได้ของเพคตินและระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคติน	40
4.12 ความสัมพันธ์พื้นที่ผิวตอบสนองความเข้มข้นและเวลาที่มีผลต่อร้อยละผลได้ของเพคตินและระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคติน	41
4.13 ความสัมพันธ์พื้นที่ผิวตอบสนองความเข้มข้นและอุณหภูมิที่มีผลต่อร้อยละผลได้ของเพคตินและระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคติน	41
4.14 ความสัมพันธ์พื้นที่ผิวตอบสนองอัตราส่วนและเวลาที่มีผลต่อร้อยละผลได้ของเพคตินและระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคติน	42
4.15 การวิเคราะห์ความถูกต้องของการออกแบบการทดลองจากร้อยละผลได้ของเพคติน	50
4.16 การวิเคราะห์ความถูกต้องของการออกแบบการทดลองจากระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคติน	50
4.17 แผนภาพพารेटโตแสดงปัจจัยที่มีผลสำคัญต่อร้อยละผลได้ของเพคติน	51
4.18 แผนภาพพารेटโตแสดงปัจจัยที่มีผลสำคัญต่อค่าระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคติน	52
4.19 ผลของปัจจัยที่มีต่อร้อยละผลได้ของเพคตินจากการสกัดด้วยไฮโดรเทอร์มอล	53
4.20 ผลกระทบปัจจัยร่วมของการสกัดด้วยไฮโดรเทอร์มอล	55
4.21 ความสัมพันธ์พื้นที่ผิวตอบสนองเวลาและอุณหภูมิที่มีผลต่อร้อยละผลได้ของเพคตินและระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคติน	56
4.22 ความสัมพันธ์พื้นที่ผิวตอบสนองอัตราส่วนและอุณหภูมิที่มีผลต่อร้อยละผลได้ของเพคตินและระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคติน	56
4.23 ความสัมพันธ์พื้นที่ผิวตอบสนองความดันและอัตราส่วนที่มีผลต่อร้อยละผลได้ของเพคตินและระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคติน	57
4.24 ความสัมพันธ์พื้นที่ผิวตอบสนองเวลาและอัตราส่วนที่มีผลต่อร้อยละผลได้ของเพคตินและระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคติน	58

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
4.25	ความสัมพันธ์พื้นที่ผิวตอบสนองความดันและอุณหภูมิที่มีผลต่อร้อยละผลได้ของ เพคตินและระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคติน	58
4.26	ความสัมพันธ์พื้นที่ผิวตอบสนองความดันและเวลาที่มีผลต่อร้อยละผลได้ของ เพคตินและระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคติน	59

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

มะขามประกอบไปด้วยเปลือก, ยุงมะขาม, เนื้อมะขาม, เมล็ด ซึ่งในส่วนที่ใช้นำไปประกอบอาหารส่วนมากคือส่วนเนื้อมะขาม ทำให้มีส่วนเหลือทิ้งอย่างเช่นยุงมะขามที่ได้นำมาศึกษาองค์ประกอบ โดยพบว่า ยุงมะขาม ประกอบไปด้วยลิกนิน, เซลลูโลส, เฮมิเซลลูโลสและเพคติน ซึ่งเพคตินเป็นส่วนที่ให้คุณค่าทางอาหารมากมาย และยังเป็นส่วนประกอบให้เกิดเจลอีกด้วย ดังนั้นผู้จัดทำจึงได้สนใจศึกษาการสกัดเพคตินจากยุงมะขาม โดยใช้วิธีการสกัดแบบดั้งเดิมคือใช้กรดไฮโดรคลอริก และการสกัดแบบไฮโดรเทอร์มอลโดยใช้น้ำในการสกัด นอกจากนี้ยังศึกษาคุณสมบัติทางเคมีคือค่าระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันและทางกายภาพโดยการวัดสีของเพคตินจากยุงมะขาม

จึงมีการศึกษาวิจัยการสกัดเพคตินของนักวิจัยหลายคน R. Sharma et al. (2015) ทำการสกัดของเพคตินใช้เอนไซม์ร่วมกับอัลตราโซนิกให้ผลได้ของเพคติน คือ ร้อยละ 31.1 ให้ผลปริมาณ galcturonic และ DE สูงที่สุด คือร้อยละ 62.88 และ 49.64 ตามลำดับ C. Freitas de Oliveira et al. (2016) ได้ศึกษาโดยวิธีการสกัดเพคตินด้วยอัลตราซาวด์จากเปลือกเสาวรส ผลได้สูงสุด, ปริมาณกรด galacturonic และ DE คือ ร้อยละ 12.67, 66.65 และ 60.36 ตามลำดับ Shu-Ying Xu, (2018) ศึกษาการสกัดเปลือกเพคตินจากเปลือกขนุนด้วยกรด โดยใช้วิธีการปั่นผิวตบสนองถูกในการหาสภาวะที่เหมาะสมของประสิทธิภาพอัลตราโซนิก การสกัดด้วยไมโครเวฟ(UMAE) ของเพคตินด้วยกรดซิตริก เพคตินที่ได้จาก UMAE และให้ความร้อนแบบดั้งเดิม (CH-P) เมื่อเปรียบเทียบคุณสมบัติทางเคมีกายภาพและสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสภาวะที่เหมาะสมของ UMAE ผลได้ของ เพคตินคือร้อยละ 21.5 ซึ่ง UM-P มีส่วนสำคัญในให้สารต้านอนุมูลอิสระมาก , galacturonic acid และ DE ที่มีระดับสูงกว่า CH-P อติศักดิ์ สีนโสภาและคณะ (2557) ศึกษาการเปรียบเทียบวิธีการสกัดเพคตินจากเปลือกมะนาวแป้นโดยใช้วิธีการสกัดแบบดั้งเดิมวิธีการสกัดด้วยน้ำกึ่งวิกฤตวิธีการสกัดด้วยไมโครเวฟและวิธีการสกัดด้วยอัลตราโซนิกจากการสกัด 4 วิธีผลการศึกษา พบว่า การสกัดเพคตินด้วยน้ำกึ่งวิกฤตให้ร้อยละผลได้ของเพคติน (3.91%) สูงกว่าการสกัดแบบดั้งเดิม (3.30%), การสกัดด้วยไมโครเวฟ (2.65%) และการสกัดด้วยอัลตราโซนิก (1.84%) ($p \leq 0.05$) และมีระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชัน (75.75– 1.78%) ของเพคตินที่ได้จากการสกัดทั้ง 4 วิธีไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) เยลลี่จากเพคตินที่สกัดด้วยน้ำกึ่งวิกฤตมีความแข็งแรงของเจลมากกว่าเยลลี่จากเพคตินที่สกัดจากวิธีอื่นๆ ($p \leq 0.05$) นอกจากการสกัดเพคตินแล้วยังมีการสกัดสารต่างๆ เช่น งานวิจัยของ Gianluca Gallina, (2018) เกี่ยวกับการสกัดเฮมิเซลลูโลสโดยวิธีสกัดแบบ hydrothermal ได้ผลได้เฮมิเซลลูโลส คือร้อยละ 38.80 ให้ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของไซโลส 1.8 กรัม

ต่อลิตร (170 องศาเซลเซียส) วิธีการสกัดแบบไฮโดรเทอร์มอลเป็นวิธีที่ให้ผลได้ของเพคตินที่ได้มีความบริสุทธิ์และน้ำเป็นตัวทำละลายซึ่งเป็นพลังงานสะอาดที่เร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสได้โดยประจุอุณหภูมิและความดันใช้ต้นทุนที่ไม่สูงจึงเหมาะกับการสกัดยั้งมะขาม

ดังนั้นปัญหาพิเศษนี้จึงได้ทำการศึกษาการสกัดเพคตินจากยั้งมะขามโดยวิธีไฮโดรเทอร์มอลและเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดด้วยกรดไฮโดรคลอริก และหาสภาวะที่เหมาะสมด้วยการออกแบบการทดลองแบบ Box-benhken เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัด เพิ่มมูลค่าให้ยั้งมะขาม และเปรียบเทียบร้อยละผลได้กับวิธีการสกัดแต่ละวิธีรวมถึงวิเคราะห์ชนิดของเพคตินที่ได้จากการสกัด ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในด้วยอุตสาหกรรมอาหารได้

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

- 1.2.1 เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดเพคตินจากยั้งมะขาม
- 1.2.2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเพคตินจากยั้งมะขามระหว่างวิธีแบบดั้งเดิมคือการใช้กรดไฮโดรคลอริกและวิธีการไฮโดรเทอร์มอล

1.3 ประโยชน์ที่ได้รับ

- 1.3.1 สามารถนำยั้งมะขามไปทำขึ้นรูปเจลลาติน
- 1.3.2 สามารถนำไปใช้เป็นสารเพิ่มปริมาณทางอาหารและอุตสาหกรรม
- 1.3.3 ลดปริมาณการเกิดของเสียภายในโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

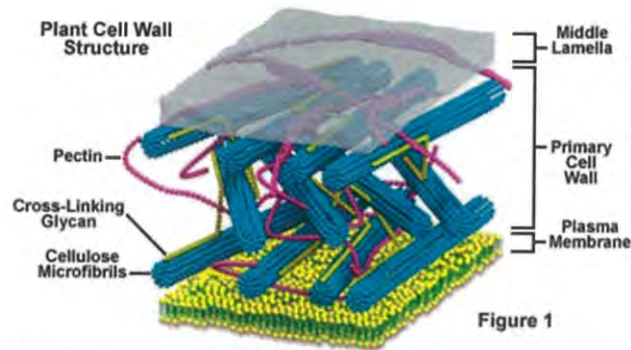
2.1 มะขาม

มะขามเป็นผลไม้เขตร้อน มีชื่อทางภาษาอังกฤษ คือ Tamarind ส่วนชื่อทางวิทยาศาสตร์จะใช้คำว่า *Tamarindus indica* Linn. มะขามมีต้นกำเนิดในทวีปแอฟริกา ต่อมามีการนำเข้ามาปลูกในแถบเอเชียรวมทั้งประเทศไทยด้วย สำหรับประโยชน์ของมะขามและสรรพคุณมะขามนั้นมีมากมาย และจัดว่าเป็นผลไม้เพื่อสุขภาพที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงและยังมีสรรพคุณใช้เป็นยารักษาโรคอีกด้วย โดยในส่วนที่นำมาใช้เป็นยาจะเป็นเนื้อฝักแก่(มะขามเปียก) เปลือกของลำต้น(ทั้งสดและแห้ง) และเนื้อในเมล็ด โดยสามารถช่วยรักษาได้หลายโรค เช่น เป็นยาขับเสมหะ แก้อาการท้องเดิน บรรเทาอาการท้องผูก ใช้เป็นยาถ่ายพยาธิ เป็นต้น (ฐนิชา พันธานนท์, 2560)

2.2 เพคติน

เป็นพอลิเมอร์ชีวภาพ (biopolymer) หรือพอลิเมอร์ธรรมชาติ (natural-polymer) จัดเป็นคาร์โบไฮเดรตประเภทเส้นใยอาหารที่ไม่ถูกย่อยโดยเอนไซม์ในระบบการย่อยของร่างกายมนุษย์ เพคตินมีการนำมาใช้ประโยชน์กันอย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่มโดยใช้เป็นสารเพิ่มความเข้มข้นของของเหลวสารก่อเจลในผลิตภัณฑ์แยม, เจลลี่และสารเพิ่มความคงตัวของระบบคอลลอยด์ในเครื่องดื่มน้ำผลไม้ และผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเนื้อคล้ายเยลลี่ ในช่วง 2-3 ทศวรรษที่ผ่านมาได้มีการนำเพคตินมาใช้ในทางเภสัชกรรม และอุตสาหกรรมยาเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ เนื่องจากเพคตินมีสมบัติเฉพาะที่ทำให้สามารถนำมาใช้เก็บกักโปรตีนและเปปไทด์ เป็นต้น ซึ่งได้รับความสนใจจากนักโภชนาการมากขึ้น เนื่องจากเพคตินเป็นสารที่มีเส้นใยสูงจะช่วยป้องกันการเกิดโรคต่างๆ หรือในทางกลับกันคนที่กินอาหารที่มีเส้นใยน้อยก็มีความเสี่ยงที่จะเกิดโรคต่างๆ ได้ง่ายขึ้น เพคตินเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่จัดเป็นสารประกอบคาร์โบไฮเดรตเช่นเดียวกับแป้งและเซลลูโลส (cellulose) ค้นพบในศตวรรษที่ 18 ทำหน้าที่เป็นสารที่ทำให้เกิดเจล โดย Henri (1825) ได้ตั้งชื่อและริเริ่มศึกษากรรมวิธีการสกัดเพคติน เพคตินมาจากภาษากรีกว่า “Pektikos” ซึ่งแปลว่าทำให้ข้นแข็งหรือทำให้กลายเป็นของแข็งและมีผู้ให้คำจำกัดความของเพคตินว่าเป็นกรดเพกทินิก (pectinic acid) ชนิดละลายน้ำได้ซึ่งมีปริมาณหมู่เมทิลเอสเทอร์หลากหลายสามารถเกิดเป็นเจลในสภาวะที่มีน้ำตาล และความเข้มข้นที่เหมาะสมหรือสภาวะที่มีเกลือแคลเซียมร่วมอยู่ด้วย สารประกอบเพคตินทำหน้าที่เป็นโครงสร้างของเซลล์และเป็นสารที่สำคัญในบริเวณชั้นผนังเซลล์เชื่อมยึดระหว่างเซลล์หรือมิดเดิลลามেলা (middle lamella) ที่ยึดเหนี่ยวเซลล์

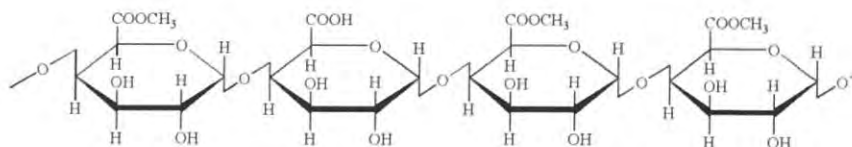
เข้าด้วยกัน โดยจับกับเซลลูโลส (cellulose), เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) และไกลโคโปรตีน (glycoprotein) ของผนัง เซลล์พืช (cellwall) ดังแสดงในภาพที่ 2.1 เพคติน ช่วยเสริมผนังเซลล์ให้หนา แข็งแรง และยืดหยุ่นได้เล็กน้อย โดยเฉพาะบริเวณที่มีเนื้อเยื่ออ่อนนุ่ม เช่น ต้นอ่อน ใบ และผลไม้



ภาพที่ 2.1 โมเลกุลของเพคตินในเนื้อเยื่อผักผลไม้บริเวณมิดเดิลลามลลาและผนังเซลล์
ที่มา : Michael W. Davidson (2015)

สารประกอบเพคตินเป็นสารประกอบคาร์โบไฮเดรตเช่นเดียวกับแป้ง ไกลโคเจนและเซลลูโลส จัดเป็น High molecular weight pectic acids มีคุณสมบัติพิเศษ คือ เมื่อละลายน้ำจะพองตัวเป็นเจลทำหน้าที่เป็นสารก่อสภาพเจลสารเพิ่มความเข้มข้นของของเหลวและสารให้ความคงตัวจึงนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอย่างกว้างขวาง (นิธิยา รัตนพานนท์, 2539)

2.2.1 โครงสร้างของเพคตินเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่พบได้จากธรรมชาติโดยเป็นเส้นใยอาหารที่ละลายน้ำได้มีน้ำหนักโมเลกุลสูงประกอบด้วยพอลิเมอร์ของกรดดีกาแลคทูโรนิก (D-galacturonic acid) ประมาณร้อยละ 65 โดยน้ำหนักเป็นสายหลักและมีกิ่งแขนงประกอบไปด้วยน้ำตาลชนิดต่างๆ เช่น อะราบินอส (arabinose) กาแลคโตส (galactose) แรมโนส (rhamnose) เป็นต้น และบางส่วนประกอบไปด้วยหมู่คาร์บอกซิล (-COOH) ที่กรดดีกาแลคทูโรนิกจะถูกเอสเทอร์ไฟต์ด้วยหมู่เมทิล (-CH₃) เป็นเมทิลเอสเทอร์ทำให้ระดับของเมทิลเลชัน (degree of methylation, DM) แตกต่างกันจึงทำให้เพคตินจากวัตถุดิบแต่ละแหล่งมีโครงสร้างที่แตกต่างกันและเป็นโครงสร้างที่ซับซ้อนมาก (สมฤทัย จิตภักดีดินทร์, 2552) ดังภาพที่ 2.2



ภาพที่ 2.2 ลักษณะโครงสร้างของเพคตินโดยเชื่อมต่อกันเป็นสายยาว
ที่มา : ปรียา สุขเกษม (2549)

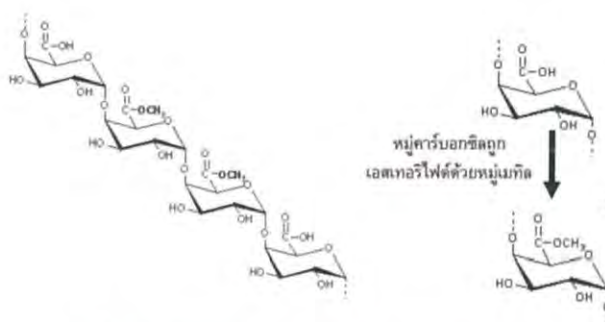
ปริมาณการถูกเอสเทอร์ไฟด์ของหมู่กาแลคทูโรนิกในโมเลกุลของเพคตินนั้น เกิดขึ้นได้หลายระดับ ตัวอย่างเช่น เพคตินที่มีค่าระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันร้อยละ 50 คือ เพคตินที่มีหมู่เมธิลในโมเลกุลของกรดกาแลคทูโรนิกที่เป็นโครงสร้างร้อยละ 50 ของจำนวนทั้งหมด นอกจากนี้ยัง พบว่า เพคตินที่มีค่าระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันเท่ากันอาจมีการจัดเรียงตัวแตกต่างกันได้ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับกรรมวิธีในการสกัดวิธีและเวลาในการเอสเทอร์ไฟด์ชนิดของพืชและตำแหน่งของเซลล์ที่นำมาสกัดจะทำให้เพคตินที่ได้มีคุณสมบัติต่างกัน (วัชร เวียงแก้ว, 2549)

2.2.2 ประเภทของเพคตินสามารถแบ่งได้ 2 แบบ ได้แก่

2.2.2.1 การแบ่งกรดเพคตินตามระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชัน (Degree of esterification, DE) สามารถแบ่งเพคติน ได้ 2 ระดับ คือ

1 เพคตินที่มีเมทอกซิลสูง (High Methoxyl pectin, HM) เป็นสารเพคติน ที่มีระดับของเมทิลเอสเทอร์ฟิเคชัน (degree of methyl esterification, %DM) มากกว่าร้อยละ 50 ในทางการค้าจะมีค่าระดับของเมทิลเอสเทอร์ฟิเคชันร้อยละ 55 - 65 จะเกิดเจลได้เมื่อมีของแข็งที่ละลายได้ (total-soluble solid) มากกว่าร้อยละ 55 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ใช้กับอาหารที่มีพีเอชต่ำกว่า 3.5 (ประมาณ 2- 3.5) ซึ่งเป็นสภาวะปกติที่ใช้ในแฮมทั่วไประยะ

2 เพคตินที่มีเมทอกซิลต่ำ (Low Methoxyl pectin, LM) เป็นสารเพคตินที่มีระดับของเมทิลเอสเทอร์ฟิเคชัน น้อยกว่าร้อยละ 50 ในทางการค้าจะมีค่าระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชัน อยู่ในช่วงร้อยละ 20 - 40 เพคตินชนิดนี้สามารถจะเกิดเจลได้ที่อุณหภูมิห้องโดยไม่ต้องมีของแข็งที่ละลายได้ (soluble solid) แต่ต้องมีไอออนของโลหะบางชนิดช่วยในการเกิดเจล เช่น แคลเซียมไอออน (Ca^{2+}) อยู่ประมาณร้อยละ 3 มีของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (total soluble solid) ตั้งแต่ร้อยละ 10 - 80 ที่พีเอชช่วงกว้างตั้งแต่ 2.9 - 5.5 เจลที่ได้จะเป็นชนิดเจลที่เปลี่ยนกลับเมื่อได้รับความร้อน (thermoreversible gel) เนื้อสัมผัสของเจลจะมีความอ่อนนุ่มและยืดหยุ่นมากกว่าเจลที่ได้จากเพคตินที่มีเมทอกซิลสูง เพคตินแต่ละชนิดจะมีหมู่คาร์บอกซิล (carboxyl) ของกรดกาแลคทูโรนิกที่ถูกเอสเทอร์ไฟด์ (esterified) ด้วยหมู่เมทิลได้ต่างกัน อัตราส่วนของ หมู่เมทิลที่ถูกเอสเทอร์ไฟด์จะแสดงในรูปของระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชัน หรือเรียกว่า DE ซึ่งจะเป็น ร้อยละของกรดกาแลคทูโรนิกที่ถูกเอสเทอร์ไฟด์ต่อจำนวนกรดกาแลคทูโรนิกทั้งหมดแสดงในรูปที่ 2.3 (องอาจ เด็ดดวง, 2553)



ภาพที่ 2.3 การถูกเอสเทอร์ไฟต์ของหมู่คาร์บอกซิล
ที่มา : องอาจ เต็ดดวง (2553)

2.2.2.3 การแบ่งเกรดเพคติน ตามปริมาณเมทอกซิลโดยแบ่งเพคติน ออกได้เป็น 2 ชนิด คือ

1 ชนิดที่มีเมทอกซิลสูง (High Methoxy pectin) ซึ่งจะมีปริมาณเมทอกซิลมากกว่าร้อยละ 7 ซึ่งสอดคล้องกับระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชัน. ที่ต้องมีระดับของเมธิลเอสเทอร์ฟิเคชันมากกว่าร้อยละ 50 เรียกว่า เกิดเจลได้เร็ว (rapidset) และไม่สามารถเกิดเจลได้ ถ้าไม่มีน้ำตาลในปริมาณสูง จึงเหมาะสำหรับทำแยมและเยลลี่

2 ชนิดที่มีเมทอกซิลต่ำ (Low Methoxy pectin) ซึ่งจะมีปริมาณเมทอกซิล ร้อยละ 3 –7 ซึ่งสอดคล้องกับระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันที่ต้องมีระดับเมธิลเอสเทอร์ฟิเคชันน้อยกว่าร้อยละ 50 เรียกว่า เกิดเจลได้ช้า (slowset) ซึ่งจะเกิดเจลได้ต้องมีไอออนของโลหะ คือ แคลเซียมไอออน

2.2.3 ปัจจัยวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีและกายภาพของเพคติน

การหาปริมาณเพคตินที่มีอยู่ในพืชเพียงอย่างเดียว จะไม่เพียงพอที่จะบอกได้ว่าตัวอย่างชนิดนั้น สามารถที่จะนำมาใช้เพื่อเป็นแหล่งของเพคตินในระดับอุตสาหกรรมได้ ต้องทำการวิเคราะห์ คุณภาพของเพคตินที่สกัดได้ควบคู่ไปด้วย (Thakur & Singh, 1997)

2.2.3.1 ระดับการเกิดเอสเทอร์ (Degree of esterification; De)

ระดับการเกิดเอสเทอร์ หมายถึง จำนวนของหมู่คาร์บอกซิลที่ถูกเอสเทอร์ไฟต์ด้วยหมู่เมธิลโดยการคำนวณได้เป็นร้อยละของส่วนที่เป็นเอสเทอร์ต่อจำนวนของกรดกาแลคทูโรนิกที่มีอยู่ทั้งหมดถ้ามีหมู่คาร์บอกซิลในกรดพอลิกลาแลคทูโรนิกทั้งหมดเป็นเอสเทอร์พบว่าจะมีปริมาณของหมู่เมทอกซิลร้อยละ 16.32 ซึ่งถือว่าเป็นระดับของการเกิดเอสเทอร์ร้อยละ 100 (Kertesz, 1951) การแบ่งเพคตินสามารถแบ่งได้ตามระดับการเกิดเอสเทอร์ดังที่กล่าวมาข้างต้นคือ เพคตินชนิดที่มีระดับการเกิดเอสเทอร์มากกว่าร้อยละ 50 จัดเป็นชนิด High Methoxyl Pectin และเพคตินชนิดที่มีระดับการเกิดเอสเทอร์น้อยกว่าร้อยละ 50 จัดเป็น Low Methoxyl Pectin

2.2.3.2 ปริมาณหมู่เมทอกซิล (Methoxyl content; MeO.)

ปริมาณหมู่เมทอกซิล หมายถึง จำนวนของหมู่เมทอกซิลที่อยู่ในโมเลกุลของเพคติน ปริมาณหมู่เมทอกซิลนี้มีความหมายคล้ายกับระดับการเกิดเอสเทอร์และเป็นตัวแปรสำคัญที่ใช้ในการควบคุมเวลาในการเกิดเจลของเพคตินและความว่องไวในการตอบสนองต่อ Polyvalent cation สามารถหาได้โดยปฏิกิริยาสะปอนนิฟิเคชัน (Saponification) ของเพคตินและทำการไทเทรตเพื่อหาหมู่คาร์บอกซิลอิสระด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Ranganna, 1986) สามารถทำได้โดยการดูเฟลมของสารละลายบนไม้พายหรือใบมีดที่สะอาดซึ่งจะต้องใส่น้ำมันส่วนคล้ายเม็ดทราย

2.3 การสกัดเพคติน

การสกัดคือการกระบวนกรแยก (separation) โดยใช้ของเหลวอีกชนิดหนึ่งเป็นตัวทำละลายสารที่ต้องการแยกโดยให้ละลายออกมาในตัวทำละลาย การสกัดในปัจจุบันมีหลายวิธี เช่น การสกัดด้วยไอน้ำ การสกัดด้วยอัลตราซาวนด์ การสกัดด้วยไมโครเวฟ ฯลฯ ทางผู้จัดทำมีความสนใจในการสกัดด้วยอัลตราซาวนด์และการสกัดด้วยไอน้ำ

2.3.1 การสกัดเพคตินที่สกัดด้วยความร้อนแบบเดิม คือ ขึ้นอยู่กับวิธีการของ (Kratchanova, Pavlova, & Panchhev, 2004) มีการปรับเปลี่ยนเล็กน้อยคือมีการรักษาสภาพต่อไปนี้ไว้ ค่าคงที่ของ ค่า pH ที่ 2.0 (1.0 โมลต่อลิตร/ลิตร HNO_3) อัตราส่วนเปลือก / ตัวทำละลาย 1:30, อุณหภูมิ 85 ± 2 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที

2.3.2 กระบวนการไฮโดรเทอร์มอล

ไฮโดรเทอร์มอลเป็นปฏิกิริยา Heterogenous ที่ใช้ตัวทำละลาย ทำปฏิกิริยาภายใต้ความดันและอุณหภูมิสูง เพื่อทำการละลายและก่อกำเนิดในระบบปิด ถึงแม้ว่าจะไม่มีการกำหนดความดันและอุณหภูมิต่ำสุดสำหรับกระบวนการนี้ แต่โดยทั่วไปแล้วกระบวนการไฮโดรเทอร์มอลจะทำการในสภาวะที่อุณหภูมิสูงกว่า 100 องศาเซลเซียส และความดันมากกว่า 1 atm ปฏิกิริยาซึ่งโดยทั่วไปแล้วเกิดที่อุณหภูมิสูงเมื่ออยู่ภายใต้กระบวนการไฮโดรเทอร์มอลจะสามารถเกิดในสภาวะปกติได้ เนื่องจากคุณลักษณะบางประการของน้ำ เช่น ความหนาแน่น, pK_w , ค่าคงที่ไดอิเล็กทริก (dielectric constant) และความหนืด จะเปลี่ยนแปลงภายใต้สภาวะไฮโดรเทอร์มอลจนมีคุณสมบัติใกล้เคียงกับของไหลวิกฤตยิ่งยวด (supercritical fluid) และทำให้เกิดปฏิกิริยาขึ้นโดยวิธีการนี้ สามารถใช้เพิ่มความเร็วในการเกิดปฏิกิริยาระหว่างของแข็ง, ทำละลายสารและก่อกำเนิดผลึก รวมทั้งการแยกหรือการสร้างเป็นองค์ประกอบขึ้นมาใหม่ เป็นต้นการก่อกำเนิดโดยวิธีนี้ จะใช้อุปกรณ์ที่เรียกว่า auto calve หรือ Teflon lined Hydrothermal Synthesis Autoclave Reactor ดังแสดงในภาพที่ 2.4 โดยการสกัดหรือสังเคราะห์สารด้วยวิธีไฮโดรเทอร์มอลมีข้อดีและข้อเสียดังนี้

2.3.4.1 ข้อดีคือสามารถสังเคราะห์ผลึกของสารที่ไม่มีเสถียรภาพที่จุดหลอมเหลว, สามารถควบคุมขนาดผลึกให้เล็กหรือใหญ่ได้ โดยการปรับอัตราส่วนของสารเคมีที่เป็นส่วนประกอบและผลึกที่ได้ยังมีคุณภาพดีอีกด้วย

2.3.4.2 ข้อเสียคือใช้อุปกรณ์ที่มีราคาสูง และ ไม่สามารถสังเกตเห็นกระบวนการเกิดผลึกในขณะทำการทดลองได้



ภาพที่ 2.4 อุปกรณ์ autoclave
ที่มา: Glassware Chemical (2560)

2.4 การออกแบบการทดลอง (Design of Experiments : DOE)

การออกแบบการทดลองเป็นเทคนิคทางสถิติขั้นสูงที่ใช้กับการปรับสภาวะของกระบวนการเพื่อให้ได้ผลตอบสนองตามที่กำหนด

2.4.1 องค์ประกอบของการออกแบบการทดลอง

2.4.1.1 ชนิดของการดำเนินการ (Design type) หมายถึงรูปแบบมาตรฐานที่จะใช้ในการดำเนินการ ผู้ทำการทดลองจะต้องตัดสินใจเลือกตั้งแต่อยู่ในขั้นตอนวางแผน เพราะการออกแบบจะนำไปสู่วิธีการดำเนินการทดลอง วิธีเก็บบันทึกข้อมูล และเครื่องมือทางสถิติที่จะใช้ในการวิเคราะห์ในที่สุด การจะตัดสินใจเลือกการออกแบบใดนั้น มีองค์ประกอบคือ ผลหรือเป้าหมายที่ต้องการได้รับความซับซ้อนของการทำการทดลอง และข้อจำกัดของทรัพยากรต่างๆ นักสถิติในยุคที่ผ่านๆมาได้คิดค้นการออกแบบต่างๆไว้มากมาย จำเป็นที่ผู้ต้องการใช้ จะต้องศึกษารายละเอียดของแต่ละการออกแบบเพิ่มเติมด้วย

2.4.1.2 เครื่องมือทางสถิติ (Statistical tools) หมายถึง กรรมวิธีในการวิเคราะห์ข้อมูลที่ได้ เช่นเดียวกันที่ผู้ทำการทดลองจะต้องเลือกตั้งแต่อยู่ในขั้นตอนการวางแผนการทดลอง และที่สำคัญผู้ที่จะต้อง

เข้าใจ Tool เหล่านี้ให้ดีพอ เมื่อผลการวิเคราะห์ปรากฏบนหน้าจอคอมพิวเตอร์แล้ว จะแปลความหมายอย่างไร มีข้อผิดพลาดจะรู้ได้อย่างไรและจะตรวจได้ที่ใด

2.4.1.3 เทคนิคหรือกลยุทธ์ (Technique) หมายถึง วิธีการที่จะทำให้การดำเนินการทดลองง่าย สะดวก และประหยัดทรัพยากรมากขึ้น โดยที่ผลการวิเคราะห์ยังเป็นที่ยอมรับได้ เช่นเดียวกันผู้ทำการทดลอง จะต้องกำหนดเทคนิคหรือกลยุทธ์พร้อมกับการเลือกการออกแบบเพราะบางการออกแบบก็มีข้อห้ามข้อกำหนด หรือข้อยืดหยุ่นที่แตกต่างกันไป

2.4.1.4 ข้อกำหนดที่จำเป็น (Fundamental procedure) เป็นสิ่งพื้นฐานที่ผู้ทำการทดลอง จะต้องคำนึงถึงอยู่เสมอ หากไม่แล้วผลการวิเคราะห์และข้อสรุปที่ได้ก็อาจจะไร้ความหมายหากปราศจากสิ่งเหล่านี้

2.4.2 ขั้นตอนในการออกแบบการทดลอง

2.4.2.1 กำหนดหัวข้อปัญหา (Problem statement) จะต้องชัดเจน เข้าใจได้ง่ายและเป็น รูปธรรม มีองค์ประกอบหลัก 3 อย่าง อะไรที่กำลังเป็นปัญหา (What) ลักษณะของปัญหาเป็นเช่นไรขนาด ไหน (How) และพบปัญหานั้นที่ใดในช่วงเวลาใด (Where)

2.4.2.2 การเลือกปัจจัย (Factor) และการกำหนดระดับของปัจจัย (Treatment) จำเป็นที่จะต้อง เลือกปัจจัยที่มีผลต่อกระบวนการ สามารถเลือกจากกรรมวิธีคัดกรองโดยเครื่องมือทางสถิติ จำพวก Univariate เช่น T-Test เป็นต้น ผู้ที่มีความรู้หรือเชี่ยวชาญในกระบวนการนั้นๆ ก็เป็นผู้ที่สามารถให้คำแนะนำที่ดีในการ เลือกปัจจัย และการกำหนดระดับของปัจจัยด้วย

2.4.2.3 การเลือกตัวแปรตอบสนอง (Response) จะต้องเน้นตัวแปรที่สามารถวัดได้ ทั้งที่วัดด้วย เครื่องมือวัดและวัดด้วยกระบวนการวัดอื่นๆ เช่น การนับ และจะต้องเป็นตัวแปรที่สื่อถึงกระบวนการที่เรา ต้องการศึกษานั้นได้ดีด้วย

2.4.2.4 เลือกแบบทดลอง (Experiment design) เช่น การกำหนดจำนวนสิ่งตัวอย่าง วิธีการ เลือกสิ่งตัวอย่าง วางแผนการทำการทดลอง วิธีการบันทึกผลการทดลอง และการกำหนดค่าใช้จ่ายในการ ดำเนินการ เป็นต้น

2.4.1.5 ดำเนินการทดลอง (Perform the Experiment) ให้เป็นไปตามแผนการ ทั้งวิธีการ ดำเนินการ ความถูกต้องในการวัด การควบคุมตัวแปรในการทดลอง และเก็บผลการทดลอง

2.4.1.6 การวิเคราะห์ข้อมูล (Data analysis) เพื่อให้ได้ผลออกมาเท่านั้น แต่รวมถึงการตรวจสอบ ลักษณะและคุณภาพของข้อมูลที่ได้จากการทดลอง การพิสูจน์ทราบความถูกต้องของ Model ที่ได้ (Model adequacy checking) หาค่าระดับนัยสำคัญของอิทธิพลของแต่ละปัจจัย โดยปกติการออกแบบการทดลองจะ ใช้ ANOVA ในการวิเคราะห์ข้อมูล ดังนั้นผู้วิเคราะห์ก็ต้องเข้าใจเงื่อนไข ของ ANOVA ด้วย

2.4.1.7 สรุปผลการทดลองและให้คำแนะนำซึ่งผู้ดำเนินการทดลองจะเป็นผู้ที่เข้าใจที่ไปที่มาของข้อมูลเป็นอย่างดี และมองออกว่าผลที่ได้เป็นเช่นนั้นเพราะอะไรและการดำเนินการมีข้อบกพร่องตรงไหน มีสาระสำคัญอะไรที่ผู้อ่านรายงานควรจะรับรู้ เพื่ออนาคตได้ดำเนินการทดลองบ้างก็จะเอาไปเป็นบรรทัดฐานได้ ผู้บริหารหน่วยงานอาจจะสนใจข้อวิเคราะห์ ความคิดเห็น ของผู้ดำเนินการมากกว่าผลที่ปรากฏก็เป็นได้

2.4.2 วิธีการดำเนินการออกแบบการทดลอง

2.4.2.1 กำหนดเป้าหมายให้มีความคลาดเคลื่อนของข้อมูลให้น้อยที่สุด ให้ได้สาระสำคัญของตัวปัจจัยที่เรากำลังพิจารณาให้มากที่สุด ซึ่งส่งผลให้ต้นทุนและเวลาดำเนินการน้อยที่สุด

2.4.2.1 กลยุทธ์และวิธีการดำเนินการที่ดี ควรจะเริ่มจากเข้าใจสภาพปัญหา และรู้ว่าตัวผู้ดำเนินการหรือผู้บริหารต้องการสิ่งใด

2.4.2.3 สิ่งที่ต้องยึดถือและต้องทำให้ได้ 3 ประการ

1 การสุ่ม (Randomization) การดำเนินการปัจจัยจะต้องอิสระ เพื่อให้ข้อมูลแต่ละตัวเป็นอิสระต่อกัน นอกจากนั้นจะต้องคำนึงถึง หลักการกระจายอย่างทั่วถึงสมดุลย์ (Balance out) สำหรับปัจจัยอื่นที่เราไม่อาจควบคุมได้

2 การทำซ้ำ (Replication) หมายถึงการดำเนินการทดลองซ้ำอีกครั้ง เพื่อจุดประสงค์ 2 อย่างที่สำคัญคือ

- เพื่อให้สามารถมองเห็นและประเมินค่าความคลาดเคลื่อนจากการทดลองได้ การดำเนินการวิเคราะห์จะนำเอาค่าความคลาดเคลื่อนดังกล่าวไปประเมินว่าปัจจัยใดมีอิทธิพลต่อกระบวนการบ้าง
- เพื่อกำจัดทั้งความคลาดเคลื่อน (Average out) อิทธิพลที่ไม่สามารถควบคุมได้ ที่มีต่อปัจจัย เปรียบดังเช่นการหาค่าเฉลี่ยนั่นเอง เป็นวิธีการในการประเมินค่าอิทธิพลของปัจจัยอีกอย่างหนึ่ง

3 การบล็อก (Blocking) เป็นเทคนิคที่ใช้ในการเพิ่มความแม่นยำ (Precision) ของการทดลอง หรือคือเพื่อลดค่าความคลาดเคลื่อนในการทดลอง

2.5 พื้นผิวตอบสนอง (Response Surface Methodology; RSM)

วิธีพื้นผิวตอบสนองเป็นวิธีการทางคณิตศาสตร์และสถิติที่เป็นประโยชน์ในการสร้างแบบจำลองเพื่อวิเคราะห์ปัญหาใช้แสดงผลตอบสนองต่อตัวแปรต่าง ๆ โดยวิธี Box-Behnken design ออกแบบการทดลองด้วยโปรแกรมพื้นผิวตอบสนองมีวิธี Box Behnken design แบบ 3 ตัวแปร การออกแบบนี้ถูกสร้างขึ้นจากการรวมการออกแบบแฟกทอเรียล 2^k กับการออกแบบบล็อกไม่สมบูรณ์ ผลของการออกแบบมีประสิทธิภาพในด้านจำนวนของการรันที่ต้องการ จากสมการ 2.1 และการออกแบบนี้ยังมีความสามารถในการหมุนหรือเกือบหมุนได้อีกด้วย เนื่องจากการออกแบบ Box-Behnken Design เป็นการออกแบบรูปทรงกลมที่ทุกจุดวางอยู่บน

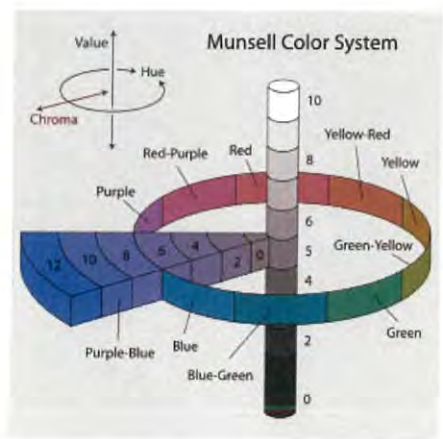
รูปทรงกลมรัศมี 2 และไม่ได้รวมเอาจุดใดๆที่เป็นจุดยอดของรูปลูกบาศก์ ที่สร้างขึ้นจากขีดจำกัดบนและล่างของแต่ละตัวแปรเอาไว้ ซึ่งการกระทำเช่นนี้มีประโยชน์มากเมื่อจุดที่อยู่บนมุมของลูกบาศก์เป็นการรวมเอาปัจจัยระดับ (Factor-Level Combination) ที่แพงมากหรือเป็นไปได้ที่จะทำการทดลองอันเนื่องมาจากข้อจำกัดทางด้านกายภาพของกระบวนการ

$$Y = b_0 + \sum b_i x_i + \sum b_{ii} x_i^2 + \sum b_{ij} x_i x_j \tag{2.1}$$

โดย	Y	คือ	ค่าการตอบสนอง (ตัวแปรตาม)
	b_0	คือ	ค่าสัมประสิทธิ์ของโมเดลทดลอง
	b_i	คือ	ค่าสัมประสิทธิ์ของ linear effect
	b_{ii}	คือ	ค่าสัมประสิทธิ์ของ square effect
	b_{ij}	คือ	ค่าสัมประสิทธิ์ของปฏิสัมพันธ์ระหว่างตัวแปร
	X_i, X_j	คือ	ตัวแปรอิสระ

2.6 การวัดสี

การกำหนดมาตรฐานลำดับชั้นสีใช้ระบบ CIE 1976 L*a*b* (CIELAB) ซึ่งเป็นการกำหนดค่าโคออร์ดิเนตของสีใน 3 มิติ วัดสีโดยวัดค่า L*, a*, b* โดยใช้เครื่องวัดค่าสี Minolta CR-400 โดยวัดค่าเฉลี่ยสีผิวของเพศคนที่สกัด



ภาพที่ 2.5 ระบบการวัดสี
ที่มา: พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ (2553)

2.6.1.1 Hue เป็นสีที่สะท้อนมาจากสีของวัตถุ ซึ่งแตกต่างกันตามความยาวของคลื่นแสงที่มากกระทบวัตถุแล้วสะท้อนกลับมากที่ตาเรา เช่น ส้มแดง เหลือง ม่วง เป็นต้น ดังตัวอย่างภาพที่ 2.5

2.6.1.2 Chroma บอกความบริสุทธิ์ หรือความเข้มของสีเป็นระดับสีอ่อน-แก่

2.6.1.3 การคำนวณค่าที่แตกต่างกันของสีสามารถคำนวณได้ดังนี้

1 L^* วัตถุที่มีสีขาว ($+L^*$) จนไปถึง วัตถุที่มีสีดำ ($-L^*$) ค่าความสว่างถ้าค่า L^* มีค่าเข้าใกล้ 0 หมายถึงวัตถุที่มีสีทึบ

2 a^* วัตถุที่มีสีออกเขียว ($-a^*$) จนไปถึง วัตถุที่มีสีออกแดง ($+a^*$)

3 b^* วัตถุที่มีสีน้ำเงิน ($-b^*$) จนไปถึง วัตถุที่มีสีเหลือง ($+b^*$)

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

มะขาม (*Tamarindus indica* L.) เป็นพืชที่นิยมปลูกและรับประทานในประเทศไทยสามารถนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ได้หลายรูปแบบ แต่ส่วนประกอบของมะขามโดยเฉพาะยั้งมะขามนั้นหากไม่มีเนื้อและเมล็ด ยั้งก็จะเป็นส่วนที่ถูกทิ้งเป็นขยะ เราจึงสนใจนำวัสดุจากชีวมวลอย่างยั้งมะขามมาใช้ให้เกิดคุณค่าโดยนำมาสกัดเพคตินและจะหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัด ซึ่งมีงานวิจัยที่เกี่ยวกับการสกัดเพคตินจากยั้งมะขามของ R. Sharma et al. (2015) โดยนำเปลือกนอกแช่น้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร, pH 5.0 และเก็บไว้ 3-4 ชม. ที่ 25-75 องศาเซลเซียส เมล็ดจะถูกแยกออกจากยั้ง ส่วนที่ทำเป็นแขวนลอยนี้จะเก็บไว้ข้ามคืนในตู้เก็บความเย็น เพื่อทำการแยกโดยใช้โพเรสเซียมโบรทาเทรท ผงสีเหลืองที่ตั้งอยู่ที่ด้านล่างของภาชนะถูกแยกออกจากน้ำกลั่นบริสุทธิ์ เนื้อเยื่อที่เป็นส่วนแขวนลอยจะเอาไปผ่านการกรองด้วยกระดาษกรองมัสลินเพื่อเอาเศษต่างๆ ออก ส่วนที่ตกตะกอนจะถูกล้างด้วยตัวทำละลายที่ตกตะกอนใหม่ และนำไปทำแห้งในสุญญากาศต่อ 1 ชั่วโมง การวิเคราะห์ผลการสกัดเพคตินจากยั้งมะขามโดยการออกแบบการทดลองแบบ 3^3 -factorial experimental design ขึ้นอยู่กับปัจจัยดังต่อไปนี้ ความเข้มข้นของเนื้อเยื่อ (X_1 : 20-80 % น้ำหนักต่อปริมาตร), อุณหภูมิจุดเดือดของเนื้อเยื่อแขวนลอย (X_2 : 25 -75 องศาเซลเซียส และ ค่าดัชนีชี้วัดของสารละลายสำหรับการจับเป็นก้อน (X_3 : 3.9 - 6) ถูกจัดเป็นตัวแปรอิสระของผลเปอร์เซ็นต์ (Y_1), ปริมาณเมทอกซิล (Y_2), ปริมาณกรด galacturonic (Y_3) และระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชัน (Y_4) จะถูกทำเป็นตัวแปรไม่อิสระดังนั้นการออกแบบการทดลองแบบ 3^3 factorial experimental design ช่วยให้การตอบสนองการทดลองมีประสิทธิภาพสูงสุด พบว่าภายใต้เงื่อนไขที่เหมาะสมผลได้ของเพคตินที่ได้จากยั้งมะขามสูงสุดจากการทดลอง คือร้อยละ 48.2 และงานวิจัยการสกัดเพคตินจากกากเส้นใยวัสดุจากพืชเปรียบเทียบการสกัด 5 แบบของ Y. Yang et al. (2018) โดยมีการสกัดแบบใช้เอนไซม์ร่วมกับอัลตราโซนิกซึ่งเริ่มจากการบ่มด้วยเอนไซม์แล้วตามการสกัดอัลตราโซนิกนาน 60 นาที พบว่าการสกัดแบบใช้เอนไซม์ร่วมกับอัลตราโซนิกให้ผลได้ของเพคตินที่มากที่สุด คือ

ร้อยละ 31.1 จากงานวิจัยพบว่านอกจากผลได้ของเพคตินแล้วยังมีผลของปริมาณกาแลคทูโรนิกที่ปรากฏอยู่ด้วย เนื่องจากในโครงสร้างเพคตินนั้นมี D – galacturonic เป็นองค์ประกอบสำคัญซึ่งได้ผลการวิเคราะห์ปริมาณ galacturonic acid คือ ร้อยละ 62.88

เนื่องจากร้อยละผลได้ของปริมาณกรด galacturonic ที่สูงมีผลอย่างมากต่อผลได้ของเพคตินจากการศึกษาวิจัยความเข้มแสงของอัลตราซาวด์และอุณหภูมิในการสกัดเพคตินจากเปลือกเสารสของ C. Freitas de Oliveira et al. (2016) โดยใช้เปลือกแห้งสกัดอัตราส่วนครั้งที่ 1:30 เป็นเวลา 10 นาที อัลตราซาวด์จาก ความแรง 644 W/cm^2 และอุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส ตัวแปรตามคือผลได้ของปริมาณกรด galacturonic ของเพคติน ภายใต้เงื่อนไขผลได้สูงสุดและปริมาณกรด galacturonic acid คือร้อยละ 12.67 และ 66.65 ตามลำดับ นอกจากนี้ได้ทำการสกัดแบบปกติ (อัตราส่วนของเปลือกแห้ง/สารสกัด 1:30, 10 นาที และ 85 องศาเซลเซียส) เพื่อเปรียบเทียบผลของการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ พบว่าการใช้อัลตราซาวด์ช่วยให้ผลได้ของเพคตินมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีธรรมดา จากการสกัดที่ต่างออกไปให้ผลได้สูงสุดที่ต่างกันน้อยต่างกันทำให้มีงานวิจัยการสกัดอีกหลายแบบ อีกตัวอย่างคือการสกัดเพคตินจากเปลือกขนุน (Artocarpusheterophyllus) ของ Shu-Ying Xu, (2018) โดยวิธีการผิวดอบสนองถูกใช้เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพอัลตราโซนิกการสกัดด้วยไมโครเวฟ (UMAE) ของเพคตินด้วยกรดซิตริกอัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว 1:48 (w/v) ที่ 86 องศาเซลเซียสระยะเวลาการสกัด 29 นาที พบว่าภายใต้เงื่อนไขดังกล่าวผลได้ของเพคตินคือร้อยละ 21.5 เมื่อเทียบกับการสกัดแบบดั้งเดิม (CH-P) จะเห็นได้ชัดว่าการสกัดด้วยไมโครเวฟ นอกจากจะให้ผลได้ที่สูงยังมีส่วนสำคัญในให้ สารต้านอนุมูลอิสระ, galacturonic acid และ DE ที่มีระดับสูงกว่า CH-P และงานวิจัยที่คล้ายๆกันเกี่ยวกับการสกัดเพคตินจากเปลือกผลไม้ ของอดิศักดิ์ สินโสภาและคณะ (2557) ศึกษาการเปรียบเทียบวิธีการสกัดเพคตินจากเปลือกมะนาวแป้นโดยใช้วิธีการสกัดแบบดั้งเดิม, วิธีการสกัดด้วยน้ำกึ่งวิกฤต, วิธีการสกัดด้วยไมโครเวฟและวิธีการสกัดด้วยอัลตราโซนิกจากการสกัด 4 วิธีผลการศึกษา พบว่าการสกัดเพคตินด้วยน้ำกึ่งวิกฤตให้ร้อยละผลได้ของเพคติน (3.91%) สูงกว่าการสกัดแบบดั้งเดิม (3.30%), การสกัดด้วยไมโครเวฟ (2.65%) และการสกัดด้วยอัลตราโซนิก (1.84%) นอกจากวิธีการสกัดข้างต้นยังมีอีกวิธีที่น่าสนใจและมีข้อดีหลายอย่างนั่นคือวิธีการสกัดแบบไฮโดรเทอร์มอลในฐานะที่เป็นเพียงน้ำที่ใช้เป็นสื่อปฏิกิริยา ทำให้บางขั้นตอนนี้ไม่จำเป็นต้องมีสารเป็นพิษอีกต่อไป เพราะไม่มีตัวทำละลายเหลือตกค้างอยู่ในส่วนที่สกัดและมีต้นทุนพลังงานต่ำ ตัวอย่างเช่นงานวิจัยของ Gianluca Gallina, (2018) เกี่ยวกับการสกัดเฮมิเซลลูโลสโดยวิธีสกัดแบบไฮโดรเทอร์มอล โดยใช้ชุดเครื่องปฏิกรณ์แบบ flow type ในการสกัดเฮมิเซลลูโลส ซึ่งอุณหภูมิควบคุมที่ 160 และ 170 องศาเซลเซียส ใช้เวลาสกัด 90 นาที ได้ผลได้ของเฮมิเซลลูโลส คือ ร้อยละ 33.9 และ 38.8 ตามลำดับอุณหภูมิ และอีกงานวิจัยที่คล้ายๆกัน กระบวนการไฮโดรเทอร์มอลและไมโครเวฟเพื่อแยกเปลือกหุ้ม arecanut ของ R.D.Singh (2017) โดยผลได้ที่ต้องการคือเฮมิเซลลูโลสของเปลือก จากกระบวนการไฮโดรเทอร์มอล ที่ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1, 1.5 และ 2 ชั่วโมง และฉายรังสีด้วย

คลื่นไมโครเวฟที่ระดับกำลัง 900, 540 และ 180 วัตต์ตามลำดับ พบว่าผลได้เอมิเซลเซลลูโลสที่ได้ คือร้อยละ 82.3, 69.2 และ 52 ดังนั้นจะเห็นได้ว่าการสกัดหลายวิธีทั้ง การสกัดแบบใช้กรด, การสกัดแบบเอนไซม์, การสกัดแบบอัลตราโซนิก, การสกัดแบบเอนไซม์ร่วมกับอัลตราโซนิกและการสกัดโดยใช้ไมโครเวฟ ในวิธีการเหล่านี้ยังคงหลงเหลือสารตกค้างในตอนสกัดสุดท้าย ดังนั้นการสกัดด้วยไฮโดรเทอร์มอลจึงเป็นอีกวิธีการสกัดที่ให้ร้อยละผลได้สูงและบริสุทธิ์กว่าวิธีอื่นๆ

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบและสารเคมี

3.1.1 วัตถุดิบ

ยี่งมะขาม (Tamarind) จำนวน 3.25 กิโลกรัม

3.1.2 สารเคมี

โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide, AR grade, New Zealand)

เอทานอล (Ethanol 95%, Merck, Germany)

กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid 37%, J.T. Baker, Thailand)

ฟีนอล์ฟทาลีน เข้มข้น 0.1% (Phenophtalein 0.1%, Labvally, Bangkok, Thailand)

น้ำกลั่น (Distilled vinegar, aorsorror, Thailand)

ก๊าซไนโตรเจน (Gas Nitrogen, N₂, Praxair, Thailand)

3.2 อุปกรณ์

กรวยกรองแก้ว (Glass funnel, Duran, Germany)

กระดาษกรอง Whatman No.1 (Filter paper, Merck, Germany)

กระบอกตวง ขนาด 100 มิลลิลิตร (Cylinder, Duran, Germany)

บีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร (Beaker, Duran, Germany)

แท่งแก้วคนสาร (Stiring rod, Pyrex, USA)

เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Analytical balance, Percica, Swizerland)

เครื่องบดละเอียด (Hammer mill, JB-40, Jiangyin Baoli Machinery, China)

เครื่องอบลมร้อน (Hot air oven, Hot air oven 3000, Japan)

เครื่องบดละเอียด (HM-02, Thailand)

Erlenmeyer flask (BeR1, Germany)

เครื่อง Buchner funnel (HBARSCI, Thailand)

เครื่องอบแห้งแบบถาด (Champ, Thailand)

ผ้าลินิน

3.3 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง

3.3.1 การเตรียมวัตถุดิบ

3.3.1.1 นำยั้งมะขามสดมาแยกส่วนเปลือกและเนื้อออกให้หมด ล้างด้วยน้ำเปล่าดังภาพที่ 3.1



ภาพที่ 3.1 ล้างยั้งมะขามเพื่อเตรียมการอบ

3.3.1.2 นำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เครื่องอบแห้งแบบถาดดังภาพที่ 3.2



ภาพที่ 3.2 อบแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบถาด

3.3.1.3 ชั่งน้ำหนักหลังอบและนำไปบดให้ละเอียดด้วยเครื่อง Hammer mill ดังภาพที่ 3.3



ภาพที่ 3.3 บดยุ่งมะขามด้วยเครื่อง Hammer mill

3.3.1.4 นำยุงที่บดละเอียดเก็บแบบปลอดความชื้น ดังภาพที่ 3.4



ภาพที่ 3.4 มะขามที่ผ่านการบด

3.3.1.5 คำนวนปริมาณความชื้น (moisture content) จากสมการที่ 3.1

$$\text{ร้อยละปริมาณความชื้น} = \frac{\text{น้ำหนักเปียก} - \text{น้ำหนักแห้ง}}{\text{น้ำหนักเปียก}} \times 100 \quad (3.1)$$

3.3.2 ทำการศึกษาเปรียบเทียบผลการสกัดยั้งมะขาม

3.3.2.1 การสกัดด้วยกรดไฮโดรคลอริก

ชั่งผงยั้งมะขามจำนวน 5 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริก (HCl) นำไปตั้งบนแผ่นให้ความร้อนและปรับความเร็วรอบในการหมุนของแท่งแม่เหล็กกวนสารที่ความเร็วรอบ 500 รอบต่อนาที โดยกำหนดอุณหภูมิช่วง 60-90 องศาเซลเซียส และเวลาช่วง 30-90 นาที กรอกแยกส่วนสารละลายและส่วนกากนำไปสกัดอีกครั้งด้วยวิธีการเดิม นำสารละลายที่กรองได้ทั้งสองนำมารวมกัน นำสารละลายที่ได้มาตกตะกอนด้วยแอลกอฮอล์ (95% ethanol) (C_2H_5OH) ปริมาตร 2 เท่า ทั้งสารละลายไว้รอการตกตะกอนของเพคตินหลังจากนั้นกรองผ่านผ้าลินิน ดังภาพที่ 3.5 แล้วทำการแยกเพคตินด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifugal) อบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นำมาชั่งน้ำหนักที่ได้หาค่าร้อยละโดยมวลของผลได้ คำนวณจากสมการที่ 3.2 ระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชัน และระดับการการเมทอกซี เพื่อนำไปเปรียบกับการสกัดแบบไฮโดรเทอร์มอล

$$\text{ผลได้ของเพคติน} = \frac{\text{มวลของเพคตินที่ถูกสกัด (กรัม)} \times 100}{\text{มวลทั้งหมดของยั้งมะขาม (กรัม)}} \quad (3.2)$$



ภาพที่ 3.5 เพคตินที่ได้จากการสกัดด้วยกรดไฮโดรคลอริก

3.3.2.2 การสกัดด้วยกระบวนการไฮโดรเทอร์มอล

ตั้งอุณหภูมิตู้อบตามแผนการทดลอง นำยั้งมะขามไปแช่น้ำหนักตามที่กำหนดใส่ในถังปฏิกรณ์ พร้อมอัดแก๊สไนโตรเจนให้ได้ความดันช่วง 0-1 บาร์, เวลาที่ 20-60 นาที ตามกำหนด เมื่อครบกำหนดแล้วนำถังปฏิกรณ์ออกมาจากตู้อบ ลอดอุณหภูมิด้วยน้ำประปาไหลผ่านและปล่อยแก๊สออกจากถังปฏิกรณ์ เปิดถังปฏิกรณ์นำสารละลายออกมากรองตะกอนออก นำสารละลายที่ได้มาตกตะกอนด้วยแอลกอฮอล์ (95% ethanol, C_2H_5OH) ปริมาตร 2 เท่า ทั้งสารละลายไว้รอการตกตะกอนของเพคติน ดังภาพที่ 3.6 หลังจากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส พร้อมคำนวณหาค่าร้อยละโดยมวลตามสูตรสมการที่ 3.2



ภาพที่ 3.6 เพคตินที่ได้จากการสกัดแบบไฮโดรเทอร์มอลและเครื่องปฏิกรณ์

3.3.2.3 การหาระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชัน (Degree of esterification)

นำผงเพคติน 0.5 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมนีเอทานอล 2 มิลลิลิตรและน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร เขย่าเพียงเล็กน้อย หยดฟีนอล์ฟทาลีน 5 หยด นำมาทำการไทเทรตกับโซเดียมไฮดรอกไซด์ เมื่อเปลี่ยนเป็นสีชมพูให้บันทึกปริมาณที่ 1 จากนั้นเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที เติมกรดไฮโดรคลอริก 10 มิลลิลิตรจนสีชมพูหายไป หยดฟีนอล์ฟทาลีน 5 มิลลิลิตร นำไปไทเทรตด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์เมื่อเปลี่ยนสีให้บันทึกเป็นปริมาตรที่ 2

คำนวณหาค่า degree of esterification (%DE) จากสมการที่ 3.3

$$\text{ระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชัน} = \frac{\text{ปริมาณโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ 2}}{\text{ปริมาณโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ 2} + \text{ปริมาณโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ 1}} \times 100 \quad (3.3)$$

3.3.3 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัด

ในการศึกษาการสกัดตัวแปรที่ทำการศึกษา คือ อุณหภูมิในการสกัด เวลาที่ใช้ในการสกัด อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลวในการสกัด ความเข้มข้นในการสกัด โดยเลือกการวางแผนการทดลองแบบ Box-benhen design (BBD) เพื่อทำการวิเคราะห์หาสภาวะที่เหมาะสมพื้นที่ผิวตอบสนอง เป็นวิธีการรวบรวมเอาเทคนิคทั้งทางคณิตศาสตร์และทางสถิติ มาใช้ในการสร้างแบบจำลองและวิเคราะห์ปัญหา ซึ่งแสดงผลตอบสนองต่อผลจากตัวแปรต่างๆ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อหาจุดหรือความเหมาะสมต่อผลนั้น โดยใช้วิธีการวิเคราะห์แบบ Multiple regression analysis ซึ่งหากตัวแปรใดมีผลต่อค่าการตอบสนองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ตัวแปรนั้นจะปรากฏอยู่ในสมการกำลังสอง (Second order model) ตัวอย่างดังสมการที่ 3.4

$$Y = b_0 + \sum b_i x_i + \sum b_{ii} x_i^2 + \sum b_{ij} x_i x_j \tag{3.4}$$

โดย	Y	คือ	ค่าการตอบสนอง (ตัวแปรตาม)
	b_0	คือ	ค่าสัมประสิทธิ์ของโมเดลทดลอง
	b_i	คือ	ค่าสัมประสิทธิ์ของ linear effect
	b_{ii}	คือ	ค่าสัมประสิทธิ์ของ square effect
	b_{ij}	คือ	ค่าสัมประสิทธิ์ของปฏิสัมพันธ์ระหว่างตัวแปร
	X_i, X_j	คือ	ตัวแปรอิสระ

โดยปัจจัยที่เกี่ยวข้องมี 4 ปัจจัย คือ อุณหภูมิในการสกัด (X_1) ,อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว (X_2) ,เวลาในการสกัด (X_3) ,ปริมาณความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก (X_4) โดยระดับของตัวแปร 3 ระดับขอบเขตของปัจจัยที่ศึกษาดังแสดงในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 ปัจจัยและระดับของการออกแบบการทดลองแบบ Box-Behnken design

ปัจจัย	ระดับ	
	ต่ำ	สูง
อุณหภูมิในการสกัด (องศาเซลเซียส, X_1)	60	90
อัตราส่วนของของแข็งต่อของเหลว (กรัมต่อมิลลิลิตร, X_2)	1:05	1:15
ระยะเวลาการสกัด (นาที, X_3)	30	60
ปริมาณความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก (โมลต่อลิตร, X_4)	0.1	0.5

เมื่อกำหนดขอบเขตการทดลองแล้ว เพื่อทำการออกแบบการทดลองแบบ Box-Behnken design (BBD) ให้การทดลองทั้งหมด 27 การทดลองดังตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 การออกแบบการทดลองแบบ Box-Behnken เพื่อดูผลจากยั้งมะขามด้วยกรดไฮโดรคลอริก

stdOrder	RunOrder	Temp (X_1)	S/L (X_2)	Time (X_3)	HCl (X_4)
1	25	75	10	60	0.3
2	19	75	5	90	0.3
3	12	75	5	60	0.5
4	27	60	15	60	0.3
5	1	60	10	60	0.5
6	18	75	10	60	0.3
7	13	90	5	60	0.3
8	26	90	5	60	0.1

ตารางที่ 3.2 การออกแบบการทดลองแบบ Box-Behnken เพศดินจากยุงมะขามด้วยกรดไฮโดรคลอริก(ต่อ)

stdOrder	RunOrder	Temp (X ₁)	S/L (X ₂)	Time (X ₃)	HCl (X ₄)
9	11	75	10	90	0.1
10	20	75	15	60	0.3
11	2	90	10	60	0.5
12	14	75	15	90	0.3
13	24	75	15	30	0.3
14	10	75	10	30	0.1
15	21	60	10	30	0.3
16	3	90	10	30	0.3
17	9	60	10	60	0.1
18	15	75	15	60	0.1
19	4	75	10	90	0.5
20	8	60	5	60	0.3
21	22	60	10	90	0.3
22	5	90	10	90	0.3
23	16	75	10	60	0.3
24	23	75	10	30	0.5
25	6	90	10	60	0.1
26	17	75	5	30	0.3
27	7	75	15	60	0.5

3.3.3.2 การออกแบบการทดลองการสกัดเพศดินจากยุงมะขามแบบไฮโดรเทอร์มอล

ออกแบบการทดลองแบบ Box-Behnken design (BBD) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสม โดยปัจจัยที่เกี่ยวข้องมี 4 ปัจจัย คือ อุณหภูมิในการสกัด (X₁) ,อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว (X₂) ,เวลาในการสกัด (X₃) ,ความดัน (X₄) โดยระดับของตัวแปร 3 ระดับ ขอบเขตของปัจจัยที่ศึกษาดังแสดงในตารางที่ 3.3

ตารางที่ 3.3 ปัจจัยและระดับของการออกแบบการทดลองแบบ Box-Behnken design

ปัจจัย	ระดับ	
	ต่ำ	สูง
อุณหภูมิในการสกัด (องศาเซลเซียส, X_1)	100	140
อัตราส่วนของของเหลวต่อของแข็ง (กรัมต่อมิลลิลิตร, X_2)	1:05	1:15
ระยะเวลาการสกัด (นาที, X_3)	20	60
ความดัน (บาร์, X_4)	0	1

เมื่อกำหนดขอบเขตการทดลองแล้ว เพื่อทำการออกแบบการทดลองแบบ Box-Behnken design (BBD) ให้การทดลองทั้งหมด 27 การทดลองดังตารางที่ 3.4

ตารางที่ 3.4 การออกแบบการทดลองแบบ Box-Behnken สกัดเพคตินจากยุงมะขามด้วยวิธีไฮโดรเทอร์มอล

StdOrder	RunOrder	Temperature (X_1)	S/L (X_2)	Time (X_3)	Pressure (X_4)
4	1	140	10	60	0.5
22	2	140	5	40	0.5
1	3	100	10	20	0.5
17	4	120	10	20	0
24	5	140	15	40	0.5
8	6	120	15	40	1
16	7	140	10	40	1
15	8	100	10	40	1
11	9	120	15	20	0.5
6	10	120	5	40	1

ตารางที่ 3.4 การออกแบบการทดลองแบบ Box-Behnken สกัดเพศดินจากยุ่งมะขามด้วยวิธีไฮโดรเทอร์มอล(ต่อ)

StdOrder	RunOrder	Temperature (X ₁)	S/L (X ₂)	Time (X ₃)	Pressure (X ₄)
12	11	120	15	60	0.5
13	12	100	10	40	0
25	13	120	10	40	0.5
5	14	120	5	40	0
19	15	120	10	20	1
18	16	120	10	60	0
3	17	140	10	20	0.5
9	18	120	5	20	0.5
7	19	120	15	40	0
10	20	120	5	60	0.5
21	21	100	5	40	0.5
2	22	100	10	60	0.5
14	23	140	10	40	0
20	24	120	10	60	1
26	25	120	10	40	0.5
23	26	100	15	40	0.5
27	27	120	10	40	0.5

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

ปัญหาพิเศษนี้ทำการศึกษาการสกัดเพคตินจากยุงมะขามด้วยวิธีไฮโดรเทอร์มอลจากการหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดเพื่อให้ได้ปริมาณร้อยละผลได้ของเพคติน (%yield) และระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคติน (%DE) ที่เหมาะสมที่สุด โดยกำหนดปัจจัยที่มีผลต่อการสกัด คือ เวลาที่ใช้ในการสกัด (นาทื) อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด (องศาเซลเซียส), ความดัน (บาร์) และอัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว (กรัมต่อมิลลิลิตร) และได้ทำการศึกษาการสกัดเพคตินจากยุงมะขามโดยใช้กรดไฮโดรคลอริก เพื่อให้ได้ปริมาณร้อยละผลได้ (%yield) และระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคติน (%DE) ที่เหมาะสมที่สุด โดยกำหนดปัจจัยที่มีผลต่อการสกัด คือ อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว (กรัมต่อมิลลิลิตร), อุณหภูมิในการสกัด (องศาเซลเซียส), ความเข้มข้นกรด (โมลต่อลิตร) และระยะเวลาการสกัด (นาทื)

4.1 การหาความชื้นในยุงมะขามเริ่มต้น

4.1.1 ผลการทดลองเบื้องต้น

หลังจากนำยุงมะขามไปล้างทำความสะอาดแล้ว นำไปตากแห้งและวางเรียงบนถาดอบแล้วนำเข้าตู้อบแห้งแบบถาด และหาความชื้นก่อนอบและความชื้นหลังอบแห้ง โดยสามารถคำนวณได้จากสมการ (3.1) พบว่า ยุงมะขามมีค่าความชื้นเฉลี่ยโดยประมาณร้อยละ 9.23

ตารางที่ 4.1 ความชื้นยุงมะขาม (Moisture content)

วัตถุดิบ	น้ำหนัก (กิโลกรัม)	ร้อยละปริมาณความชื้น
ยุงมะขาม	3.25	-
ยุงมะขามก่อนอบ	3.25	-
ยุงมะขามหลังอบ	2.95	9.23
ยุงมะขามหลังบด	2.95	9.23



ภาพที่ 4.1 ยั่งมะขามหลังอบ



ภาพที่ 4.2 ยั่งมะขามหลังบด

หลังจากการอบแห้งยั่งมะขามสด ก็จะต้องชั่งน้ำหนักวัดค่าความชื้นแล้วต้องนำผ่านการบดแล้วจึงนำมาชั่งน้ำหนักอีกครั้ง เพื่อนำผงยั่งมะขามไปใช้ในศึกษาการสกัดเพคตินโดยใช้วิธีการสกัด 2 แบบเปรียบเทียบ ผลได้จากการสกัด (Yield) คือ การสกัดแบบดั้งเดิมใช้แผ่นให้ความร้อนและการสกัดแบบไฮโดรเทอร์มอลใช้ถังปฏิกรณ์ ซึ่งทั้งสองวิธีใช้อุปกรณ์ไม่ซับซ้อนแะยังให้ผลได้จากการสกัดที่สูง

4.2 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเพคตินจากยี่มะขามโดยใช้กรดไฮโดรคลอริก

4.2.1 การออกแบบการทดลอง แบบ Box-Behnken Design

การหาสภาวะที่เหมาะสมเพื่อใช้ในการหำร้ยลผลได้และระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคตินที่ดีที่สุดในการสกัดเพคตินจากยี่มะขามด้วยกรดไฮโดรคลอริก โดยในการออกแบบการทดลองได้กำหนด 4 ตัวแปรตามปัจจัยสำคัญ คือ X_1 (อุณหภูมิในการสกัด, องศาเซลเซียส), X_2 (อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว, กรัมต่อมิลลิลิตร), X_3 (ระยะเวลาการสกัด, นาที) และ X_4 (ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก, โมลต่อลิตร) จากการออกแบบการทดลองได้ทั้งหมด 27 การทดลองได้ แสดงผลดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 การออกแบบการทดลองแบบ Box-Behnken Design ในการสกัดเพคตินจากยี่มะขามโดยใช้กรดไฮโดรคลอริก

stdOrder	RunOrder	Temp (X_1)	S/L (X_2)	Time (X_3)	HCl con. (X_4)	response	
						%Y	%DE
1	25	75	10	60	0.3	1.58	45
2	19	75	5	90	0.3	1.22	62
3	12	75	5	60	0.5	1.35	58
4	27	60	15	60	0.3	0.90	46
5	1	60	10	60	0.5	1.64	52
6	18	75	10	60	0.3	1.68	46
7	13	90	5	60	0.3	1.02	33
8	26	90	5	60	0.1	2.10	33
9	11	75	10	90	0.1	1.42	33
10	20	75	15	60	0.3	1.39	50
11	2	90	10	60	0.5	1.31	24
12	14	75	15	90	0.3	1.56	33
13	24	75	15	30	0.3	0.98	66
14	10	75	10	30	0.1	1.87	33
15	21	60	10	30	0.3	1.21	33

ตารางที่ 4.2 การออกแบบการทดลองแบบ Box-Behnken Design ในการสกัดเพคตินจากยุงมะขามโดยใช้กรดไฮโดรคลอริก

stdOrder	RunOrder	Temp (X ₁)	S/L (X ₂)	Time (X ₃)	HCl con. (X ₄)	response	
						%Y	%DE
16	3	90	10	30	0.3	0.83	33
17	9	60	10	60	0.1	1.32	23
18	15	75	15	60	0.1	1.00	66
19	4	75	10	90	0.5	1.62	33
20	8	60	5	60	0.3	1.71	50
21	22	60	10	90	0.3	0.60	33
22	5	90	10	90	0.3	0.70	25
23	16	75	10	60	0.3	1.45	50
24	23	75	10	30	0.5	1.83	50
25	6	90	10	60	0.1	1.63	33
26	17	75	5	30	0.3	1.86	25
27	7	75	15	60	0.5	2.46	50

จากตาราง 4.2 พบว่า ได้ค่าร้อยละผลได้ของเพคตินอยู่ระหว่าง ร้อยละ 0.60 – 2.46 และมีค่าระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคตินอยู่ที่ ร้อยละ 24 – 66

ตารางที่ 4.3 การวิเคราะห์หาค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยของร้อยละผลได้ของเพศดิน

Term	Coef	SE Coef	T-Value	P-Value
ความคงตัว	1.56	0.06	24.44	0.00
อุณหภูมิ	-0.06	0.04	-1.63	0.13
เวลา	-0.12	0.03	-3.62	0.00
อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว	-0.15	0.04	-4.24	0.00
ความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริก	0.02	0.03	0.58	0.57
อุณหภูมิ * อุณหภูมิ	-0.44	0.05	-8.37	0.00
เวลา * เวลา	-0.23	0.05	-4.71	0.00
อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว * อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว	0.05	0.05	0.93	0.37
ความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริก * ความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริก	0.32	0.05	6.67	0.00
อุณหภูมิ * เวลา	0.12	0.06	2.06	0.06
อุณหภูมิ * อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว	0.27	0.07	3.88	0.00
อุณหภูมิ * ความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริก	-0.14	0.06	-2.59	0.02
เวลา * อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว	0.31	0.06	5.27	0.00
เวลา * ความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริก	0.06	0.06	1.04	0.32
อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว * ความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริก	0.71	0.06	11.36	0.00

S = 0.16 R² = 96.69% R²(adj) = 92.83%

จากตาราง 4.3 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของสัมประสิทธิ์การถดถอยของร้อยละผลได้ของเพศดินพบว่า ค่าสัมประสิทธิ์ (R²) มีค่าเท่ากับ ร้อยละ 96.69 ส่วนค่าสัมประสิทธิ์การปรับแก้ R² (adj) มีค่าร้อยละ

92.83 แสดงให้เห็นมีความสัมพันธ์ต่อบัจจัยสำคัญทั้ง 4 บัจจัย ได้แก่ อุณหภูมิ, อัตราส่วน, เวลาและความเข้มข้น สามารถนำไปคำนวณเพื่อหาค่าร้อยละผลได้ของเพคตินได้ ดังสมการ 4.1

$$\begin{aligned} \text{ร้อยละผลได้ของเพคติน} = & 1.56 - 0.06X_1 - 0.15X_2 - 0.12X_3 + 0.02X_4 - 0.44X_1^2 + 0.05X_2^2 \\ & - 0.23X_3^2 + 0.32X_4^2 + 0.27X_1X_2 + 0.12X_1X_3 \\ & - 0.14X_1X_4 + 0.31X_2X_3 + 0.71X_2X_4 + 0.06X_3X_4 \end{aligned} \quad (4.1)$$

เมื่อ X_1 คือ อุณหภูมิที่ใช้การสกัด Temperature ($^{\circ}\text{C}$)

X_2 คือ อัตราส่วนของเหลวต่อของแข็ง S/L ratio

X_3 คือ เวลาที่ใช้ในการสกัด Time (min)

X_4 คือ ค่าความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก (M)

จากตาราง 4.3 แสดงแบบจำลองถดถอยในรูปแบบ Coded units ของร้อยละผลได้ของเพคติน โดยบอกค่าสัมประสิทธิ์ถดถอย (Coef) กับค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SE Coef) ตามลำดับ เมื่อนำไปสร้างแบบจำลองแบบลดรูปโดยตัดเทอมที่ไม่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 นั่นคือ P-value มากกว่า 0.05 สามารถนำไปคำนวณค่าผลได้ที่มากที่สุดทำให้ได้สมการดัง 4.2

$$\begin{aligned} \text{ร้อยละผลได้ของเพคติน} = & 1.56 - 0.15X_2 - 0.12X_3 - 0.44X_1^2 - 0.23X_3^2 + 0.32X_4^2 + 0.27X_1X_2 \\ & - 0.14X_1X_4 + 0.31X_2X_3 + 0.71X_2X_4 \end{aligned} \quad (4.2)$$

เมื่อ X_1 คือ อุณหภูมิที่ใช้การสกัด Temperature ($^{\circ}\text{C}$)

X_2 คือ อัตราส่วนของเหลวต่อของแข็ง S/L ratio

X_3 คือ เวลาที่ใช้ในการสกัด Time (min)

X_4 คือ ค่าความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก (M)

ตารางที่ 4.4 การวิเคราะห์หาค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยของระดับการเกิดเอสเทอริฟิเคชันของเพคติน

Term	Coef	SE Coef	T-Value	P-Value
ความคงตัว	45.52	2.34	19.47	0.00
อุณหภูมิ	-3.20	1.33	-2.41	0.03
เวลา	-1.75	1.22	-1.43	0.18
อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว	2.96	1.30	2.28	0.04
ความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริก	3.32	1.25	2.65	0.02
อุณหภูมิ * อุณหภูมิ	-9.11	1.92	-4.75	0.00
เวลา * เวลา	-6.19	1.81	-3.41	0.01
อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว * อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว	7.67	1.88	4.07	0.00
ความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริก * ความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริก	-1.79	1.78	-1.01	0.33
อุณหภูมิ * เวลา	-2.00	2.11	-0.95	0.36
อุณหภูมิ * อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว	4.03	2.52	1.60	0.14
อุณหภูมิ * ความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริก	-10.19	2.03	-5.03	0.00
เวลา * อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว	-17.50	2.11	-8.28	0.00
เวลา * ความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริก	-4.25	2.11	-2.01	0.07
อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว * ความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริก	-8.71	2.27	-3.83	0.00

$S = 4.23 \quad R^2 = 95.05\% \quad R^2(\text{adj}) = 89.27\%$

จากตาราง 4.4 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของสัมประสิทธิ์การถดถอยของระดับการเกิดเอสเทอริฟิเคชันของเพคติน พบว่า ค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (R^2) มีค่าเท่ากับ ร้อยละ 95.05 ส่วนค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ ที่มีการปรับแก้ R^2 (adj) มีค่าร้อยละ 89.27 แสดงให้เห็นมีความสัมพันธ์ต่อปัจจัยสำคัญทั้ง 4 ปัจจัย

ได้แก่ อุณหภูมิ, อัตราส่วน, เวลาและความเข้มข้น สามารถนำไปคำนวณเพื่อหาค่าผลได้ของเพคตินได้
ดังสมการ 4.3

$$\begin{aligned} \text{ร้อยละระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชัน} = & 45.52 - 3.20X_1 + 2.96X_2 - 1.75X_3 + 3.32X_4 - 9.11X_1^2 \\ & + 7.67X_2^2 - 9.11X_3^2 - 1.97X_4^2 + 4.03X_1X_2 - 2.00X_1X_3 \\ & - 10.19X_1X_4 - 17.50X_2X_3 - 8.71X_2X_4 - 4.25X_3X_4 \end{aligned} \quad (4.3)$$

เมื่อ X_1 คือ อุณหภูมิที่ใช้การสกัด Temperature ($^{\circ}\text{C}$)

X_2 คือ อัตราส่วนของเหลวต่อของแข็ง S/L ratio

X_3 คือ เวลาที่ใช้ในการสกัด Time (min)

X_4 คือ ค่าความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก (M)

จากตาราง 4.4 แสดงแบบจำลองถดถอยในรูปแบบ Coded units ของร้อยละผลได้ของเพคติน โดยบอกค่าสัมประสิทธิ์ถดถอย (Coef) กับค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SE Coef) ตามลำดับ เมื่อนำไปสร้างแบบจำลองแบบลดรูปโดยตัดเทอมที่ไม่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 นั่นคือ P-value มากกว่า 0.05 สามารถนำไปคำนวณค่าผลได้ที่มากที่สุดทำให้ได้สมการดัง 4.4

$$\begin{aligned} \text{ร้อยละระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชัน} = & 45.52 - 3.20X_1 + 2.96X_2 + 3.32X_4 - 9.11X_1^2 + 7.67X_2^2 \\ & - 2.00X_1X_3 - 10.19X_1X_4 - 17.50X_2X_3 - 8.71X_2X_4 - 4.25X_3X_4 \end{aligned} \quad (4.4)$$

เมื่อ X_1 คือ อุณหภูมิที่ใช้การสกัด Temperature ($^{\circ}\text{C}$)

X_2 คือ อัตราส่วนของเหลวต่อของแข็ง S/L ratio

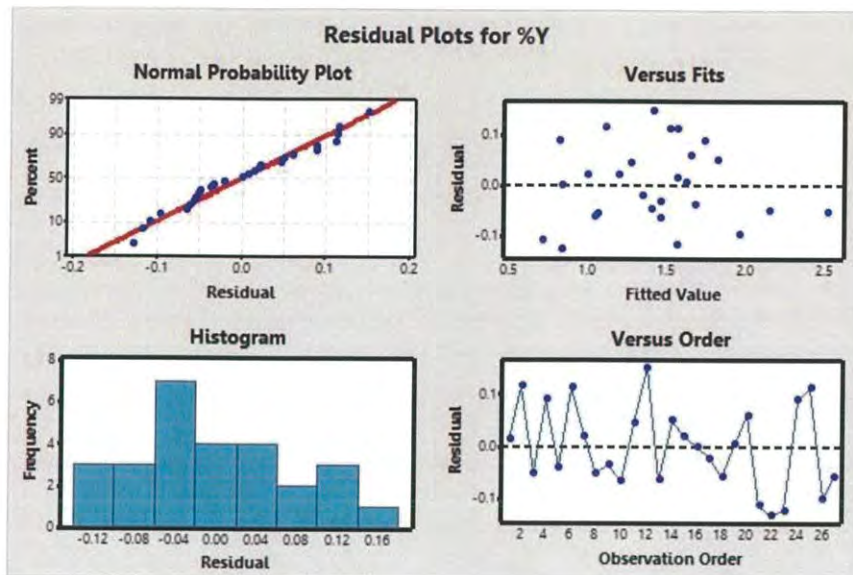
X_3 คือ เวลาที่ใช้ในการสกัด Time (min)

X_4 คือ ค่าความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก (M)

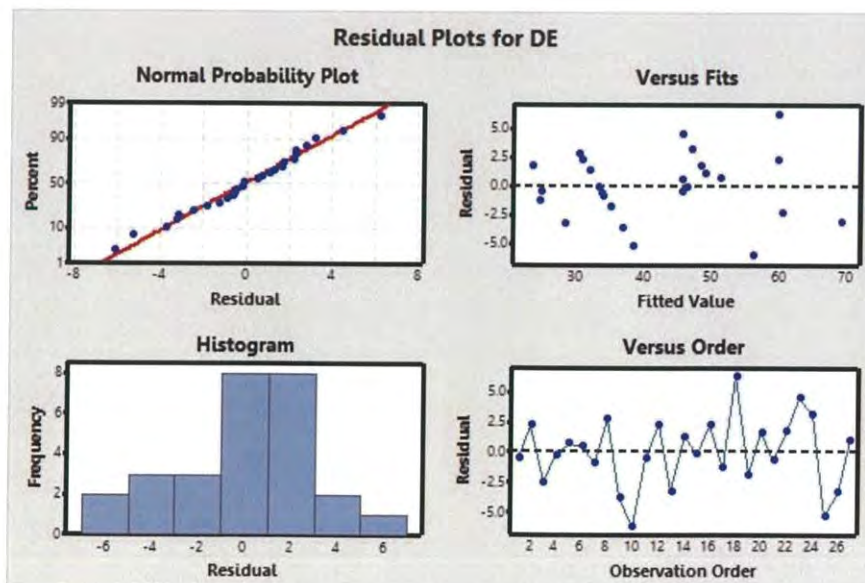
4.2.2 การวิเคราะห์ความถูกต้องของการออกแบบการทดลอง

การหาสถานะที่เหมาะสมจากการออกแบบการทดลองทั้ง 27 ครั้ง นำมาวิเคราะห์ความคลาดเคลื่อนของแบบการทดลอง (Residual plot) ดังภาพที่ 4.3 และ 4.4 พบว่า กราฟ Normal Probability Plot ใช้บอกการกระจายแบบปกติ เพื่อพิจารณาค่าส่วนที่ตกค้างโดยการกระจายตัวต้องเป็นตามแนวเส้นตรง ซึ่งจากภาพมีการกระจายตัวแบบปกติ จึงทำให้กราฟไม่มีการแปรปรวน จากนั้นวิเคราะห์กราฟ Versus Fits

จากภาพในกราฟมีการกระจายตัวสม่ำเสมอแสดงว่ามีความเสถียร และจากกราฟ Versus Order รูปแบบกราฟไม่มีรูปร่างแน่นอนของเส้นกราฟ ทำให้เห็นว่าข้อมูลเป็นอิสระต่อกัน โดยสรุปภาพรวมความถูกต้องของการออกแบบข้อมูลมีความถูกต้องทุกประการ



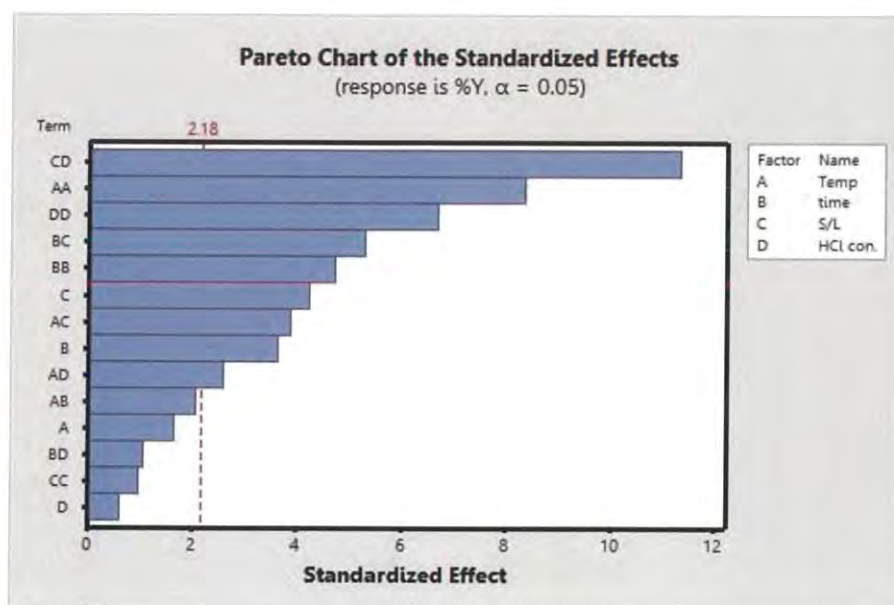
ภาพที่ 4.3 การวิเคราะห์ความถูกต้องของการออกแบบการทดลองจากร้อยละผลได้ของเพคติน



ภาพที่ 4.4 การวิเคราะห์ความถูกต้องของการออกแบบการทดลองจากระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคติน

4.2.3 แผนภาพพาเรโตแสดงปัจจัยที่มีผลสำคัญต่อร้อยละผลได้ของเพคติน

จากภาพที่ 4.5 เป็นภาพแสดงผลที่ได้จากการสกัดเพคตินโดยวิธีการแบบดั้งเดิมคือใช้กรดไฮโดรคลอริกในการสกัด จากแผนภาพแสดงปัจจัยที่มีผลกระทบทั้งหมด โดยจะมีปัจจัยที่มีความสำคัญเทียบกับผลกระทบร้อยละผลได้ของเพคตินที่สำคัญตามลำดับดังนี้คือ ผลกระทบร่วมระหว่างอัตราส่วนกับความเข้มข้น ($C*D$) ซึ่งมีผลมากที่สุดรองมาด้วยผลกระทบร่วมระหว่างอุณหภูมิกับอุณหภูมิ ($A*A$), ผลกระทบร่วมระหว่างความเข้มข้นกับความเข้มข้น ($D*D$), ผลกระทบร่วมระหว่างเวลากับอัตราส่วน ($B*C$), ผลกระทบร่วมระหว่างเวลากับเวลา ($B*B$), ผลกระทบของอัตราส่วน (C), ผลกระทบร่วมระหว่างอุณหภูมิกับอัตราส่วน ($A*C$), ผลกระทบของเวลา (B), ผลกระทบร่วมระหว่างอุณหภูมิกับความเข้มข้น

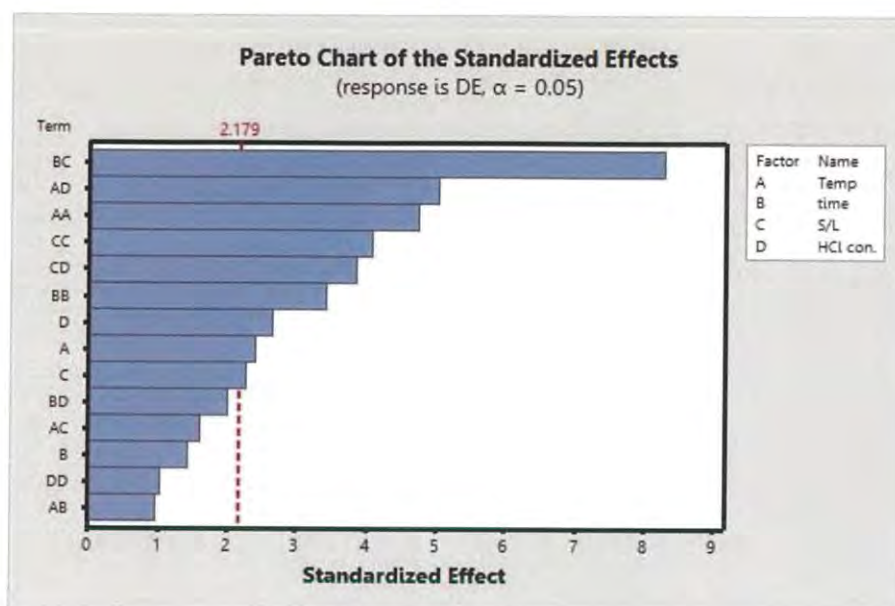


ภาพที่ 4.5 แผนภาพพาเรโตแสดงปัจจัยที่มีผลสำคัญต่อร้อยละผลได้ของเพคติน

4.2.4 แผนภาพพาเรโตแสดงปัจจัยที่มีผลสำคัญต่อค่าระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคติน

จากภาพที่ 4.6 เป็นภาพแสดงผลที่ได้จากการสกัดเพคตินโดยวิธีการแบบดั้งเดิมคือ ใช้กรดไฮโดรคลอริกในการสกัด จากแผนภาพแสดงปัจจัยที่มีผลกระทบทั้งหมด โดยจะมีปัจจัยที่มีความสำคัญเทียบกับผลกระทบต่อค่าระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคตินที่สำคัญตามลำดับดังนี้คือ ผลกระทบร่วมระหว่างเวลาและอัตราส่วน ($B*C$) ซึ่งมีผลมากที่สุดรองมาด้วยผลกระทบร่วมระหว่างอุณหภูมิกับความเข้มข้น ($A*D$), ผลกระทบร่วมระหว่างอุณหภูมิกับอุณหภูมิ ($A*A$), ผลกระทบร่วมระหว่างอัตราส่วนกับอัตราส่วน ($C*C$),

ผลกระทบร่วมระหว่างอัตราส่วนกับความเข้มข้น ($C \times D$), ผลกระทบร่วมระหว่างเวลากับเวลา ($B \times B$), ผลกระทบของอัตราส่วน (D), ผลกระทบของอุณหภูมิ (A) และผลกระทบของอัตราส่วน (C)



ภาพที่ 4.6 แผนภาพพารेटอสถิตแสดงปัจจัยที่มีผลสำคัญต่อค่าระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคติน

4.2.5 ผลของปัจจัยที่มีต่อร้อยละผลได้ของเพคตินของการสกัดด้วยกรด

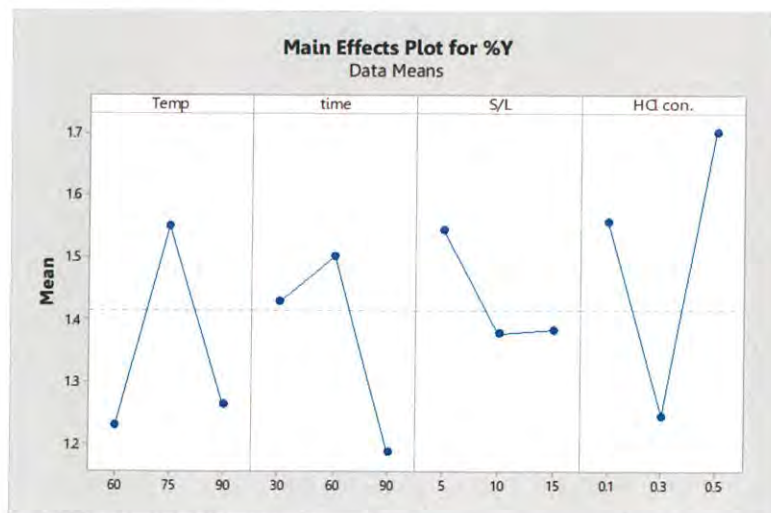
จากภาพที่ 4.7 แสดงถึงผลของการกำหนดค่าตัวแปรของอุณหภูมิ, เวลา, อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลวและความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริกส่งผลต่อร้อยละผลได้ของเพคติน ซึ่งจากภาพการผลของการกำหนดค่าตัวแปรของอุณหภูมิ, เวลาและอัตราส่วนของแข็งต่อของเหลวมีผลต่อร้อยละผลได้ของเพคตินใกล้เคียงกัน แต่มีตัวแปรที่มีผลกระทบมากที่สุดคือ ความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริก โดยมีค่าร้อยละผลได้มากที่สุดนอกจากนั้นกราฟในภาพที่ 4.7 ยังแสดงให้เห็นว่า

4.2.5.1 ผลของอุณหภูมิในช่วง 60-75 องศาเซลเซียส ซึ่งมีผลกระทบต่อยุทธศาสตร์ผลได้ของเพคตินมากขึ้นเรื่อยๆ เพราะโครงสร้างของเพคตินในยังมะขาม ที่เกาะอยู่ชั้นกลางขยายตัวออกมาได้พอดี แต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้น พบว่า ผนังเซลล์ที่ขยายตัวมากเกินไปทำลายโครงสร้างเซลล์ในชั้นมิดเดิลเลเมลลา (จิราภรณ์, 2554) ส่งผลให้ได้ผลได้ของเพคตินต่ำ

4.2.5.2 ผลของเวลาที่ช่วง 30-60 นาที ซึ่งมีผลกระทบต่อร้อยละผลได้ของเพคตินมากขึ้น เนื่องจากเป็นเวลาที่พอเหมาะสำหรับที่เซลล์ถูกละลายออกมาได้ดี แต่เมื่อเพิ่มเวลานานขึ้นกว่า 60 นาที ผัสดึงเซลล์ถูกทำลายของเหลวภายในเซลล์ถูกปลดปล่อยออกมาหมด (จิราภรณ์ สังข์สุข, 2554) ส่งผลให้ผลได้ของเพคตินต่ำ

4.2.5.3 ผลของของอัตราส่วนที่ 1:5 กรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีผลกระทบต่อร้อยละผลได้ของเพคตินมากที่สุด เนื่องจากความเข้มข้นเพคตินพอเหมาะสำหรับปริมาณน้ำที่ปรับกับกรดไฮโดรคลอริก ต่างจากการปรับอัตราส่วนที่ 1:10 และ 1:15 กรัมต่อมิลลิลิตร ที่ให้ผลได้น้อยลงเพราะความเข้มข้นเพคตินน้อยเมื่อเจอกับปริมาณน้ำที่ปรับกับกรดไฮโดรคลอริกที่อัตราส่วนมากไป เพคตินจึงไม่ค่อยเกาะกลุ่มกัน

4.2.5.4 ผลของความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริกที่ 0.5 โมลต่อลิตร เป็นปัจจัยหลักที่สำคัญมากที่สุด เพราะมีผลกระทบต่อร้อยละผลได้ของเพคตินสูงที่สุด เนื่องจากเพคตินเป็นพอลิเมอร์ที่พืชสร้าง เป็นสารที่มีขั้วละลายได้ดีในตัวทำละลายมีขั้วโดยเฉพาะกรด ดังนั้นเมื่อปรับความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริกที่ 0.1 และ 0.3 โมลต่อลิตร มีความเข้มข้นน้อยจึงทำให้เพคตินถูกละลายออกมาได้น้อย ส่งผลให้ผลได้ของเพคตินต่ำ



ภาพที่ 4.7 ผลของปัจจัยที่มีต่อร้อยละผลได้ของเพคตินจากการสกัดด้วยกรด

4.2.6 ผลกระทบของปัจจัยร่วม 3 ระดับของการสกัดด้วยกรด

จากภาพที่ 4.8 แสดงถึงผลกระทบร่วมกันระหว่างปัจจัย ซึ่งจากกราฟในภาพที่มีลักษณะเป็นเส้นขนานต่อกันนั้นแสดงว่าไม่มีปัจจัยร่วมต่อปริมาณร้อยละผลได้ แต่หากกราฟไม่เป็นเส้นขนานหรือมีจุดตัดกันนั้นแสดงว่ามีปัจจัยร่วมกัน ทำให้ไม่สามารถตัดปัจจัยใดปัจจัยหนึ่งออกได้ และจากภาพแสดงให้เห็นว่า

4.2.6.1 ผลของอุณหภูมิเป็นปัจจัยร่วมกับเวลาในการสกัดซึ่งมีผลต่อร้อยละผลได้ จากภาพที่ 4.7 อุณหภูมิและเวลาเป็นปัจจัยหลัก และจากภาพที่ 4.5 แสดงให้เห็นว่าทั้งสองปัจจัยเป็นปัจจัยที่สำคัญร่วมกัน เพราะในการสกัดอุณหภูมิช่วง 60 – 75 องศาเซลเซียส ที่เวลาช่วง 30 – 60 นาที มีร้อยละผลได้ของเพคตินสูง แต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิสูงขึ้นและเวลานานขึ้น ส่งผลให้ร้อยละผลได้ทั้งสองปัจจัยต่ำ นั้นเพราะยังใช้อุณหภูมิมาก และเวลาในการสกัดนานขึ้น ผนังเซลล์ขยายตัวและถูกทำลายของเหลวภายในเซลล์ถูกปลดปล่อยออกมาหมด (จิราภรณ์, 2554)

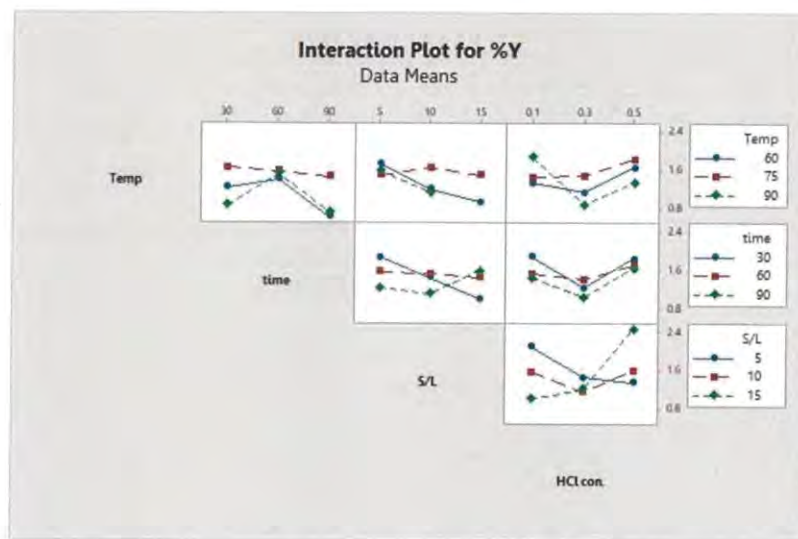
4.2.6.2 ผลของอุณหภูมิเป็นปัจจัยร่วมกับอัตราส่วนในการสกัดซึ่งมีผลต่อร้อยละผลได้ จากภาพที่ 4.7 อุณหภูมิและอัตราส่วนเป็นปัจจัยหลัก และจากภาพที่ 4.5 แสดงให้เห็นว่าทั้งสองปัจจัยเป็นปัจจัยที่สำคัญร่วมกัน เพราะในการสกัดอุณหภูมิช่วง 60 – 75 องศาเซลเซียส ที่อัตราส่วน 1:5 กรัมต่อมิลลิลิตร มีร้อยละผลได้ของเพคตินสูง แต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิและอัตราส่วน ส่งผลให้ร้อยละผลได้ทั้งสองปัจจัยต่ำ เนื่องจากเมื่อความเข้มข้นเพคตินน้อยลงและปริมาณน้ำที่ปรับกับกรดจึงเข้ามาในเซลล์มากขึ้นอีกทั้งอุณหภูมิสูงเกือบถึงจุดเดือด ทำให้ผนังเซลล์ถูกทำลายไป (จิราภรณ์, 2554)

4.2.6.3 ผลของอุณหภูมิเป็นปัจจัยร่วมกับความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริกในการสกัดซึ่งมีผลต่อร้อยละผลได้ จากภาพที่ 4.7 อุณหภูมิและความเข้มข้นกรดเป็นปัจจัยหลัก และจากภาพที่ 4.5 แสดงให้เห็นว่าทั้งสองปัจจัยเป็นปัจจัยที่สำคัญร่วมกัน เพราะในการสกัดอุณหภูมิช่วง 60 – 75 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มข้น 0.5 โมลต่อลิตร มีร้อยละผลได้ของเพคตินสูง แต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิที่ความเข้มข้นลดลงนั้น ส่งผลให้ร้อยละผลได้ทั้งสองปัจจัยต่ำ เนื่องจากเพคตินจากพืชชอบตัวทำละลายมีขั้ว ดังนั้นถ้าความเข้มข้นกรดน้อยที่อุณหภูมิสูงก็ละลายออกมาได้น้อย

4.2.6.4 ผลของเวลาเป็นปัจจัยร่วมกับอัตราส่วนในการสกัดซึ่งมีผลต่อร้อยละผลได้ จากภาพที่ 4.7 เวลาและอัตราส่วนเป็นปัจจัยหลัก และจากภาพที่ 4.5 แสดงให้เห็นว่าทั้งสองปัจจัยเป็นปัจจัยที่สำคัญร่วมกัน เพราะเวลาในการสกัดช่วง 30 – 60 นาที ที่อัตราส่วน 1:5 กรัมต่อมิลลิลิตร มีร้อยละผลได้ของเพคตินสูง แต่เมื่อใช้เวลานานขึ้นและปรับอัตราส่วนเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ร้อยละผลได้ทั้งสองปัจจัยต่ำ เนื่องจากความเข้มข้นของเพคตินน้อยและยังใช้เวลาในการสกัดนานทำให้เอนไซม์เพคตินเนสที่อยู่ในพืชย่อยสลายเพคตินในชั้นมิดเดิลเลเมลลา (พิมพ์เพ็ญ, 2553)

4.2.6.5 ผลของเวลาเป็นปัจจัยร่วมกับความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริกในการสกัดซึ่งมีผลต่อร้อยละผลได้ จากภาพที่ 4.7 เวลาและความเข้มข้นกรดเป็นปัจจัยหลัก และจากภาพที่ 4.5 แสดงให้เห็นว่าทั้งสองปัจจัยเป็นปัจจัยที่สำคัญร่วมกัน เพราะเวลาในการสกัดช่วง 30 – 60 นาที ที่ความเข้มข้นกรด 0.5 โมลต่อลิตร มีร้อยละผลได้ของเพคตินสูง แต่เมื่อใช้เวลานานขึ้นแต่ที่ความเข้มข้นกรดต่ำนั้น พบว่าร้อยละผลได้ทั้งสองปัจจัยต่ำ เนื่องจากเพคตินถูกละลายน้อยที่ความเข้มข้นกรดน้อยและเมื่อเวลานานขึ้นทำให้เยื่อหุ้มภายในเซลล์แตก

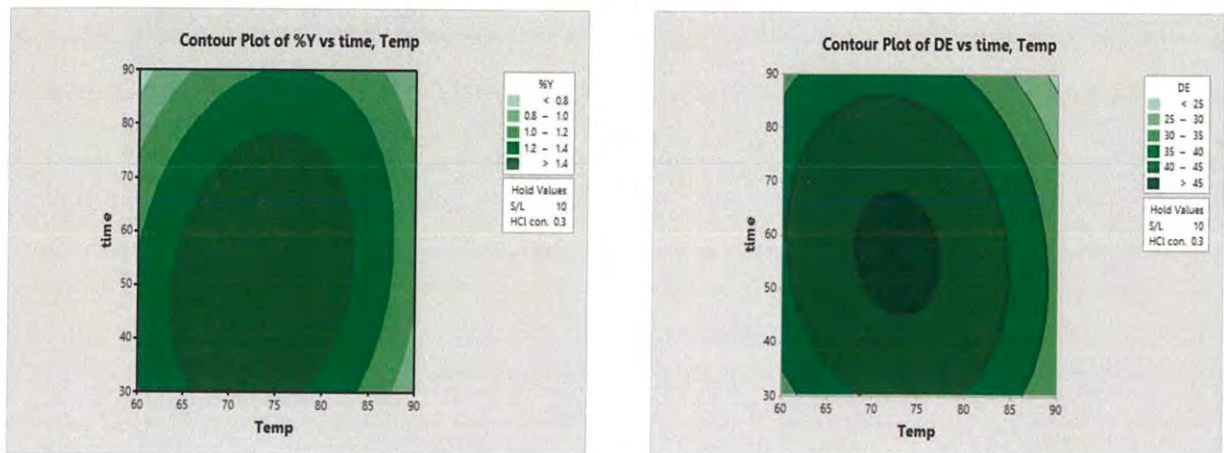
4.2.6.6 ผลของอัตราส่วนเป็นปัจจัยร่วมกับความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริกในการสกัดซึ่งมีผลต่อร้อยละผลได้ จากภาพที่ 4.7 อัตราส่วนและความเข้มข้นกรดเป็นปัจจัยหลัก และจากภาพที่ 4.5 แสดงให้เห็นว่าทั้งสองปัจจัยเป็นปัจจัยที่สำคัญร่วมกันมากที่สุดเพราะให้ร้อยละผลได้สูงที่สุด เนื่องจากในการสกัดโดยปรับใช้อัตราส่วน 1:5 กรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยความเข้มข้นกรด 0.5 โมลต่อลิตร มีร้อยละผลได้ของเพคตินสูง แต่เมื่อปรับอัตราส่วนเพิ่มขึ้นที่ความเข้มข้นกรดน้อยลง พบว่า ร้อยละผลได้ทั้งสองปัจจัยต่ำ เพราะเพคตินเป็นสารมีขั้วละลายได้ดีที่ตัวทำละลายมีขั้วมากอย่างกรดไฮโดรคลอริก ดังนั้นที่ความเข้มข้นกรดต่ำและความเข้มข้นเพคตินน้อยกว่าปริมาณน้ำที่ปรับโดยกรดเพคตินจึงถูกทำลายน้อย



ภาพที่ 4.8 ผลกระทบปัจจัยร่วมของการสกัดด้วยกรด

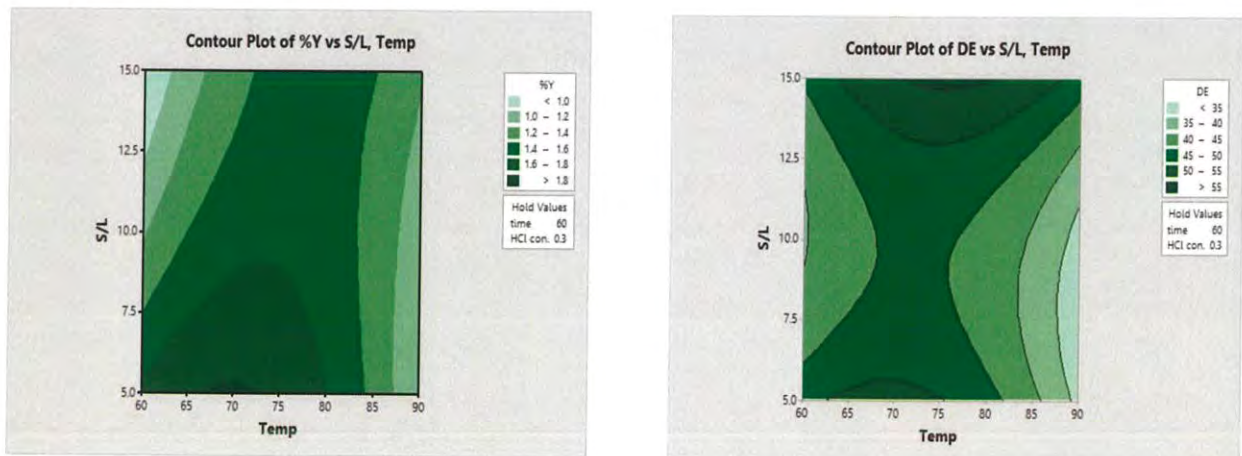
4.2.7 ความสัมพันธ์พื้นที่ผิวตอบสนองที่มีผลต่อค่าร้อยละผลได้ของเพคตินและระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคตินจากการสกัดโดยใช้กรดไฮโดรคลอริก

4.2.7.1 จากภาพที่ 4.9 แสดงความสัมพันธ์พื้นที่ผิวตอบสนองเวลาและอุณหภูมิที่มีผลต่อร้อยละผลได้ของเพคตินและระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคติน จากความสัมพันธ์พื้นที่ผิวตอบสนอง พบว่าเวลาและอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดเพคตินและได้ปริมาณร้อยละผลได้ของเพคตินสูงที่สุด คือ 75 นาที ที่ 83 องศาเซลเซียส ซึ่งมีอัตราส่วนของแข็งต่อของเหลวคือ 1:10 กรัมต่อมิลลิลิตร



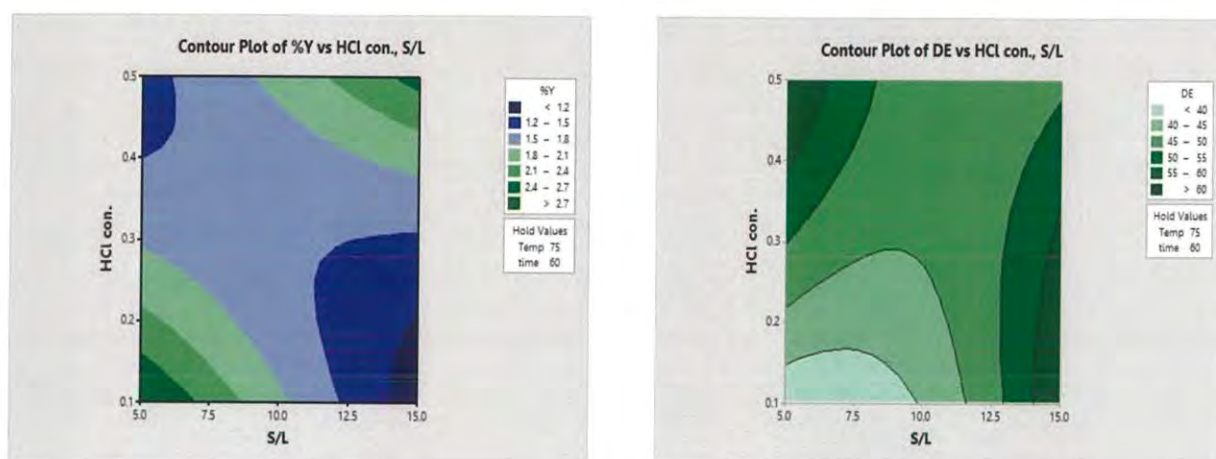
ภาพที่ 4.9 ความสัมพันธ์พื้นที่ผิวตอบสนองเวลาและอุณหภูมิที่มีผลต่อร้อยละผลได้ของเพคตินและระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคติน

4.2.7.2 จากภาพที่ 4.10 แสดงความสัมพันธ์พื้นที่ผิวตอบสนองอัตราส่วนและอุณหภูมิที่มีผลต่อร้อยละผลได้ของเพคตินและระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคติน จากความสัมพันธ์พื้นที่ผิวตอบสนองพบว่า อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลวและอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดเพคตินและได้ปริมาณร้อยละผลได้และระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันสูงที่สุด คือ อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว 1:5 กรัมต่อมิลลิลิตร ที่อุณหภูมิในช่วง 73 - 75 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ซึ่งเวลาที่ใช้ในการสกัด 60 นาที และความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก 0.3 โมลต่อลิตร



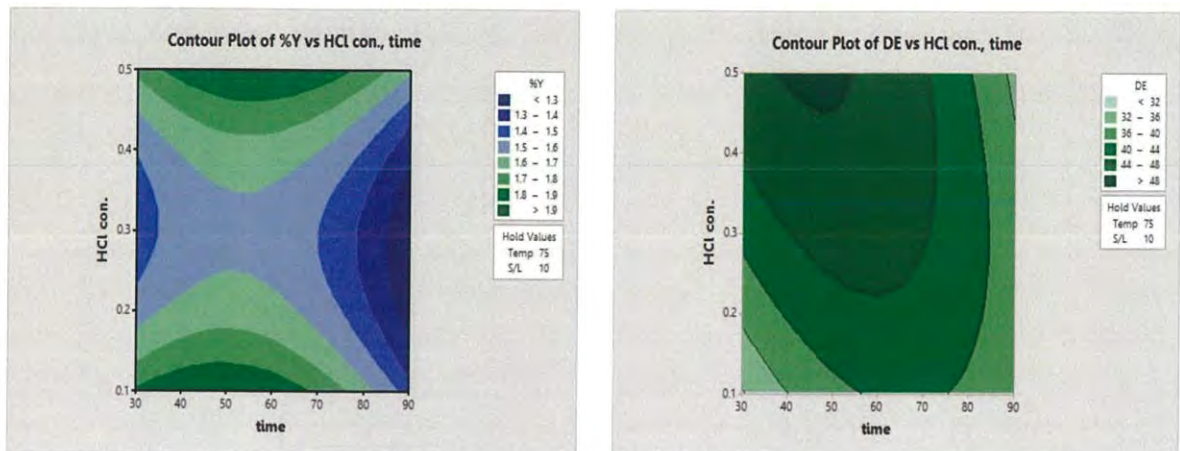
ภาพที่ 4.10 ความสัมพันธ์พื้นที่ผิวตอบสนองอัตราส่วนและอุณหภูมิที่มีผลต่อร้อยละผลได้ของเพคตินและระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคติน

4.2.7.3 จากภาพที่ 4.11 แสดงความสัมพันธ์พื้นที่ผิวตอบสนองความเข้มข้นและอัตราส่วนที่มีผลต่อร้อยละผลได้ของเพคตินและระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคติน จากความสัมพันธ์พื้นที่ผิวตอบสนองพบว่า ความเข้มข้นและอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดเพคตินและได้ปริมาณร้อยละผลได้และระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันสูงสุด คือ 0.5 โมลต่อลิตร โดยอัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว 1: 15 กรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งใช้เวลาในการสกัดที่ 60 นาที ที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส



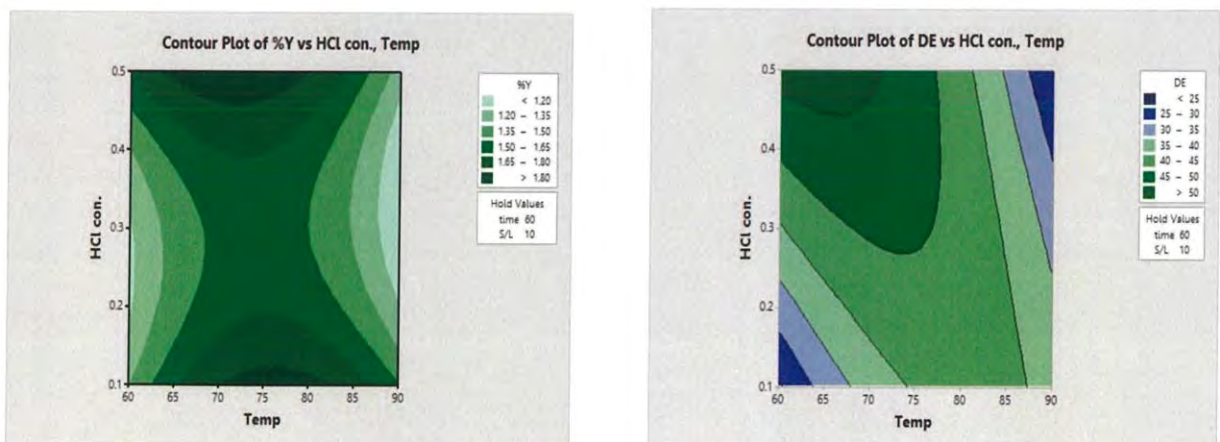
ภาพที่ 4.11 ความสัมพันธ์พื้นที่ผิวตอบสนองความเข้มข้นและอัตราส่วนที่มีผลต่อร้อยละผลได้ของเพคตินและระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคติน

4.2.7.4 จากภาพที่ 4.12 แสดงความสัมพันธ์พื้นที่ผิวตอบสนองความเข้มข้นและเวลาที่มีผลต่อร้อยละผลได้ของเพคตินและระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคติน จากความสัมพันธ์พื้นที่ผิวตอบสนองพบว่า ความเข้มข้นและเวลาที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดเพคตินและได้ปริมาณร้อยละผลได้และระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันสูงสุด คือ 0.5 โมลต่อลิตร และใช้เวลาในการ 60 นาที ที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส โดยมีอัตราส่วนของแข็งต่อของเหลวคือ 1:10 กรัมต่อมิลลิลิตร



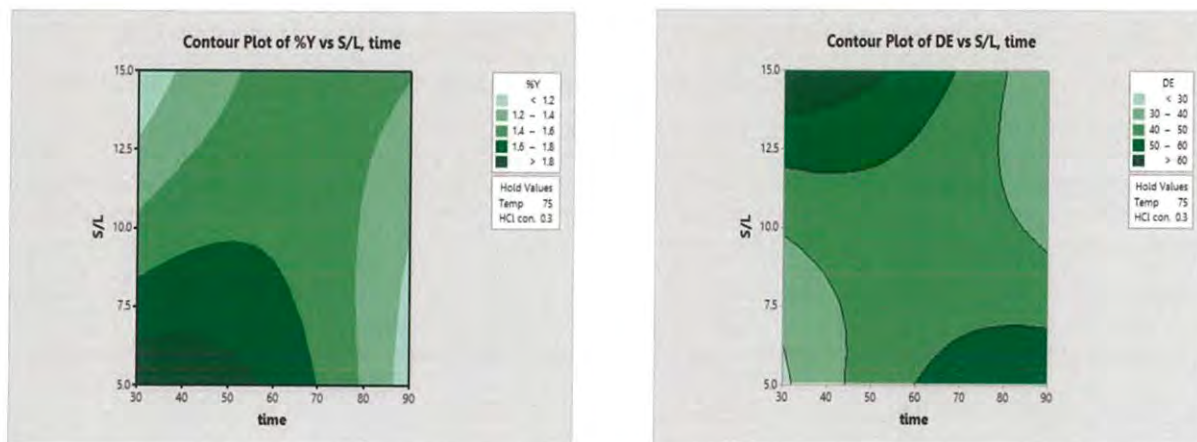
ภาพที่ 4.12 ความสัมพันธ์พื้นที่ผิวตอบสนองความเข้มข้นและเวลาที่มีผลต่อร้อยละผลได้ของเพคตินและระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคติน

4.2.7.5 จากภาพที่ 4.13 แสดงความสัมพันธ์พื้นที่ผิวตอบสนองความเข้มข้นและอุณหภูมิที่มีผลต่อร้อยละผลได้ของเพคตินและระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคติน จากความสัมพันธ์พื้นที่ผิวตอบสนองพบว่า ความเข้มข้นและอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดเพคตินและได้ปริมาณร้อยละผลได้และระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันสูงสุด คือในช่วง 0.45 - 0.5 โมลต่อลิตร ที่อุณหภูมิช่วง 65 - 75 องศาเซลเซียส โดยมีอัตราส่วนของแข็งต่อของเหลวคือ 1:10 กรัมต่อมิลลิลิตรและใช้เวลา 60 นาที



ภาพที่ 4.13 ความสัมพันธ์พื้นที่ผิวตอบสนองความเข้มข้นและอุณหภูมิที่มีผลต่อร้อยละผลได้ของเพคตินและระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคติน

4.2.7.6 จากภาพที่ 4.14 แสดงความสัมพันธ์พื้นที่ผิวตอบสนองอัตราส่วนและเวลาที่มีผลต่อร้อยละผลได้ของเพคตินและระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคติน จากความสัมพันธ์พื้นที่ผิวตอบสนองพบว่า อัตราส่วนและเวลาที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดเพคตินและได้ปริมาณร้อยละผลได้และระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันสูงสุด คือที่อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลวคือ 1:5 กรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งใช้เวลาอยู่ในช่วง 30 – 55 นาที ที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียสโดยใช้ความเข้มข้น 0.3 โมลต่อลิตร



ภาพที่ 4.14 ความสัมพันธ์พื้นที่ผิวตอบสนองอัตราส่วนและเวลาที่มีผลต่อร้อยละผลได้ของเพคตินและระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคติน

จากความสัมพันธ์พื้นที่ผิวตอบสนองที่บ่งบอกสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดและระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคตินตามปัจจัยสำคัญโดยผลของพื้นที่ผิวส่วนใหญ่เป็นค่าของช่วงความเหมาะสม เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดที่จะได้ร้อยละผลได้และระดับมากที่สุดในการสกัดที่ดีที่สุด จึงต้องนำผลข้อมูลไปวิเคราะห์ Response Optimization เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพพื้นที่ผิวตอบสนอง จากตาราง 4.4 ทำให้ทราบสภาวะที่เหมาะสมในการสกัด คือที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 20 นาที โดยมีอัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว 1:5 กรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งได้ร้อยละผลได้เท่ากับร้อยละ 2.20 และระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันเท่ากับร้อยละ 63.91 ซึ่งบ่งบอกได้ว่าเป็นเพคตินชนิดมีค่าเมทอกซิลสูง (High Methoxy Pectin)

ตารางที่ 4.5 การหาสภาวะเหมาะสมในการสกัดเพคตินจากยุงมะขามโดยวิธีการแบบกรด

ปัจจัย		Setting
เวลา (นาที)		72
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)		39
ความดัน (บาร์)		15
อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว (กรัมต่อมิลลิลิตร)		0.5

Response	Fit	SE Fit	95% CI	95% PI
%DE	63.91	4.03	(55.12, 72.70)	(51.17, 76.64)
%Y	2.20	0.11	(1.96, 2.44)	(1.85, 2.55)

ทำการทดลองทั้งหมด 5 ซ้ำ ที่สภาวะดังตารางที่ 4.5 เพื่อยืนยันผลจากการออกแบบการทดลองได้ผลดังตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 ร้อยละผลได้ของเพคตินและระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคตินตามสภาวะที่เหมาะสมที่สุด

Run No.	1	2	3	4	5	Average
%Y	2.16	2.19	2.20	2.19	2.17	2.18
%DE	63.95	64.02	63.56	63.74	63.80	63.18

จากตารางที่ 4.6 ปริมาณร้อยละผลได้ของเพคตินร้อยละ 2.18 ซึ่งมีความคาดเคลื่อนเฉลี่ยร้อยละ 0.86 และในส่วนระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคตินเฉลี่ยร้อยละ 63.18 คิดค่าคาดเคลื่อนได้ ร้อยละ 0.3 พบว่า จากการคาดเคลื่อนของทั้งร้อยละผลได้และระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันนั้น บ่งบอกได้ว่าการสกัดแบบดั้งเดิมยังสามารถนำมาใช้ได้ตามแต่กรดที่ใช้ โดยในที่นี้กรดไฮโดรคลอริกก็ทำให้ได้ผลได้ในปริมาณมากเช่นกัน เป็นอีกทางเลือกที่จะเลือกใช้กรดในการสกัด

4.3 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเพคตินจากยี่มมะขามโดยใช้วิธีการไฮโดรเทอร์มอล

4.3.1 การออกแบบการทดลอง แบบ Box-Behnken Design

การหาสภาวะที่เหมาะสมเพื่อใช้ในการหาปริมาณร้อยละผลได้และระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคตินที่ดีที่สุดในการสกัดเพคตินจากยี่มมะขามด้วยกระบวนการไฮโดรเทอร์มอล โดยในการออกแบบการทดลองได้กำหนด 4 ปัจจัยสำคัญ คือ X_1 (อุณหภูมิในการสกัด, องศาเซลเซียส), X_2 (อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว, กรัมต่อมิลลิลิตร), X_3 (ระยะเวลาการสกัด, นาที) และ X_4 (ความดันที่ใช้ในการสกัด, บาร์) จากการออกแบบการทดลองทั้งหมด 27 การทดลองได้ แสดงผลดังตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 การออกแบบการทดลองแบบ Box-Behnken Design ในการสกัดเพคตินจากยี่มมะขามโดยใช้วิธีการไฮโดรเทอร์มอล

StdOrder	RunOrder	Temperature	S/L	Time	Pressure	Response	
		(X_1)	(X_2)	(X_3)	(X_4)	%Y	%DE
4	1	140	10	60	0.5	0.56	68
22	2	140	5	40	0.5	1.59	66
1	3	100	10	20	0.5	0.98	50
17	4	120	10	20	0	0.34	60
24	5	140	15	40	0.5	0.89	57
8	6	120	15	40	1	1.08	50
16	7	140	10	40	1	0.29	55
15	8	100	10	40	1	1.65	50
11	9	120	15	20	0.5	0.52	55
6	10	120	5	40	1	1.10	55
12	11	120	15	60	0.5	1.11	55
13	12	100	10	40	0	0.28	50
25	13	120	10	40	0.5	1.40	55

ตารางที่ 4.7 การออกแบบการทดลองแบบ Box-Behnken Design ในการสกัดเพคตินจากยุงมะขามโดยใช้วิธีการไฮโดรเทอร์มอล (ต่อ)

StdOrder	RunOrder	Temperature	S/L	Time	Pressure	Response	
		(X ₁)	(X ₂)	(X ₃)	(X ₄)	%Y	%DE
5	14	120	5	40	0	1.2	50
19	15	120	10	20	1	0.96	40
18	16	120	10	60	0	0.73	50
3	17	140	10	20	0.5	0.96	50
9	18	120	5	20	0.5	2.91	55
7	19	120	15	40	0	0.03	50
10	20	120	5	60	0.5	1.40	65
21	21	100	5	40	0.5	2.87	50
2	22	100	10	60	0.5	1.86	55
14	23	140	10	40	0	1.30	60
20	24	120	10	60	1	0.80	65
26	25	120	10	40	0.5	1.40	55
23	26	100	15	40	0.5	0.64	50
27	27	120	10	40	0.5	1.20	55

จากตารางที่ 4.7 พบว่า จากได้ค่าผลได้ของเพคตินเท่ากับ ร้อยละ 0.03-2.91 และมีค่าระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคตินที่ ร้อยละ 40-65

ตารางที่ 4.8 การวิเคราะห์หาค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยของร้อยละผลได้ของเพศดิน

Term	Coef	SE Coef	T-Value	P-Value
ความคงตัว	1.33	0.14	9.80	0.00
อุณหภูมิ	-0.21	0.07	-3.04	0.01
อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว	-0.53	0.07	-7.79	0.00
เวลา	0.01	0.07	0.16	0.88
ความดัน	0.15	0.07	2.28	0.04
อุณหภูมิ * อุณหภูมิ	-0.03	0.10	-0.25	0.81
อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว * อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว	0.13	0.10	1.28	0.23
เวลา * เวลา	-0.14	0.10	-1.33	0.21
ความดัน * ความดัน	-0.49	0.10	-4.86	0.000
อุณหภูมิ * อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว	0.33	0.12	2.80	0.02
อุณหภูมิ * เวลา	-0.32	0.12	-2.77	0.02
อุณหภูมิ * ความดัน	-0.59	0.12	-5.04	0.00
อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว * เวลา	0.44	0.12	3.71	0.00
อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว * ความดัน	0.32	0.12	2.75	0.02
เวลา * ความดัน	-0.14	0.12	-1.16	0.27

$S = 0.21 \quad R^2 = 95.24\% \quad R^2(\text{adj}) = 89.68\%$

จากตาราง 4.8 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของสัมประสิทธิ์การถดถอยของร้อยละผลได้ของเพศดิน พบว่า ค่าสัมประสิทธิ์ (R^2) มีค่าเท่ากับ ร้อยละ 95.24 ส่วนค่าสัมประสิทธิ์การปรับแก้ R^2 (adj) มีค่าร้อยละ 89.68 แสดงให้เห็นมีความสัมพันธ์ต่อปัจจัยสำคัญทั้ง 4 ปัจจัย ได้แก่ อุณหภูมิ, อัตราส่วน, เวลาและความดัน สามารถนำไปคำนวณเพื่อหาค่าผลได้ของเพศดินได้ ดังสมการ 4.5

$$\begin{aligned} \text{ร้อยละผลได้ของเพคติน} = & 1.33 - 0.21X_1 + 0.53X_2 + 0.15X_4 - 0.03X_1^2 + 0.13X_2^2 - 0.14X_3^2 \\ & - 0.49X_4^2 + 0.33X_1X_2 - 0.32X_1X_3 - 0.59X_1X_4 + 0.44X_2X_3 \\ & + 0.32X_2X_4 - 0.14X_3X_4 \end{aligned} \quad (4.5)$$

- เมื่อ X_1 คือ อุณหภูมิที่ใช้การสกัด Temperature ($^{\circ}\text{C}$)
 X_2 คือ อัตราส่วนของเหลวต่อของแข็ง S/L ratio (g/ml)
 X_3 คือ เวลาที่ใช้ในการสกัด Time (min)
 X_4 คือ ความดันที่ใช้ในการสกัด (Bar)

จากตาราง 4.9 แสดงแบบจำลองถดถอยในรูปแบบ Coded units ของร้อยละผลได้ของเพคติน โดยบอกค่าสัมประสิทธิ์ถดถอย (Coef) กับค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SE Coef) ตามลำดับ เมื่อนำไปสร้างแบบจำลองแบบลดรูปโดยตัดเทอมที่ไม่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 นั่นคือ P-value มากกว่า 0.05 สามารถนำไปคำนวณค่าผลได้ที่มากที่สุดทำให้ได้สมการดัง 4.6

$$\begin{aligned} \text{ร้อยละผลได้ของเพคติน} = & 1.33 - 0.21X_1 + 0.53X_2 + 0.01X_3 + 0.15X_4 - 0.49X_4^2 + 0.33X_1X_2 \\ & - 0.32X_1X_3 - 0.59X_1X_4 + 0.44X_2X_3 + 0.32X_2X_4 \end{aligned} \quad (4.6)$$

- เมื่อ X_1 คือ อุณหภูมิที่ใช้การสกัด Temperature ($^{\circ}\text{C}$)
 X_2 คือ อัตราส่วนของเหลวต่อของแข็ง S/L ratio (g/ml)
 X_3 คือ เวลาที่ใช้ในการสกัด Time (min)
 X_4 คือ ความดันที่ใช้ในการสกัด (Bar)

ตารางที่ 4.9 การวิเคราะห์หาค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยของระดับการเกิดเอสเทอริฟิเคชันของเพคติน

Term	Coef	SE Coef	T-Value	P-Value
ความคงตัว	55.00	1.44	38.28	0.00
อุณหภูมิ	4.26	0.72	5.93	0.00
อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว	-1.98	0.72	-2.77	0.017
เวลา	4.00	0.72	5.57	0.000
ความดัน	-0.42	0.72	-0.58	0.57
อุณหภูมิ*อุณหภูมิ	0.51	1.08	0.48	0.64
อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว*อัตราส่วน ของแข็งต่อของเหลว	0.14	1.08	0.13	0.90
เวลา*เวลา	1.37	1.08	1.27	0.23
ความดัน*ความดัน	-2.76	1.08	-2.56	0.03
อุณหภูมิ*อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว	-2.21	1.24	-1.78	0.10
อุณหภูมิ*เวลา	3.25	1.24	2.61	0.02
อุณหภูมิ*ความดัน	-1.25	1.24	-1.00	0.34
อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว*เวลา	-2.50	1.24	-2.01	0.07
อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว*ความดัน	-1.25	1.24	-1.00	0.33
เวลา*ความดัน	8.75	1.24	7.03	0.00

$S = 2.49 \quad R^2 = 92.69\% \quad R^2(\text{adj}) = 84.16\%$

จากตาราง 4.9 การวิเคราะห์ทางสถิติของสัมประสิทธิ์การถดถอยของร้อยละการเกิดเอสเทอริฟิเคชันพบว่า ค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (R^2) มีค่าเท่ากับ ร้อยละ 92.69 ส่วนค่าการค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจที่มีการปรับแก้ $R^2(\text{adj})$ มีค่าร้อยละ 84.16 แสดงให้เห็นมีความสัมพันธ์ต่อปัจจัยสำคัญทั้ง 4 ปัจจัย ได้แก่ อุณหภูมิ, อัตราส่วน, เวลาและความดัน สามารถนำไปคำนวณเพื่อหาระดับของเพคตินได้ ดังสมการ 4.7

$$\begin{aligned} \text{ร้อยละผลได้ของระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชัน} = & 55 + 4.26X_1 - 1.98X_2 + 4.00X_3 - 0.42X_4 + 0.51X_1^2 \\ & + 0.14X_2^2 + 1.37X_3^2 - 2.76X_4^2 - 2.11X_1X_2 + 3.25X_1X_3 \\ & - 1.25X_1X_4 - 2.50X_2X_3 - 1.25X_2X_4 + 8.75X_3X_4 \end{aligned} \quad (4.7)$$

- เมื่อ X_1 คือ อุณหภูมิที่ใช้การสกัด Temperature ($^{\circ}\text{C}$)
 X_2 คือ อัตราส่วนของเหลวต่อของแข็ง S/L ratio (g/ml)
 X_3 คือ เวลาที่ใช้ในการสกัด Time (min)
 X_4 คือ ความดันที่ใช้ในการสกัด (Bar)

จากตาราง 4.9 แสดงแบบจำลองถดถอยในรูปแบบ Coded units ของร้อยละผลได้ของเพคติน โดยบอกค่าสัมประสิทธิ์ถดถอย (Coef) กับค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SE Coef) ตามลำดับ เมื่อนำไปสร้างแบบจำลองแบบลดรูปโดยตัดเทอมที่ไม่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 นั่นคือ P-value มากกว่า 0.05 สามารถนำไปคำนวณค่าผลได้ที่มากที่สุดทำให้ได้สมการดัง 4.8

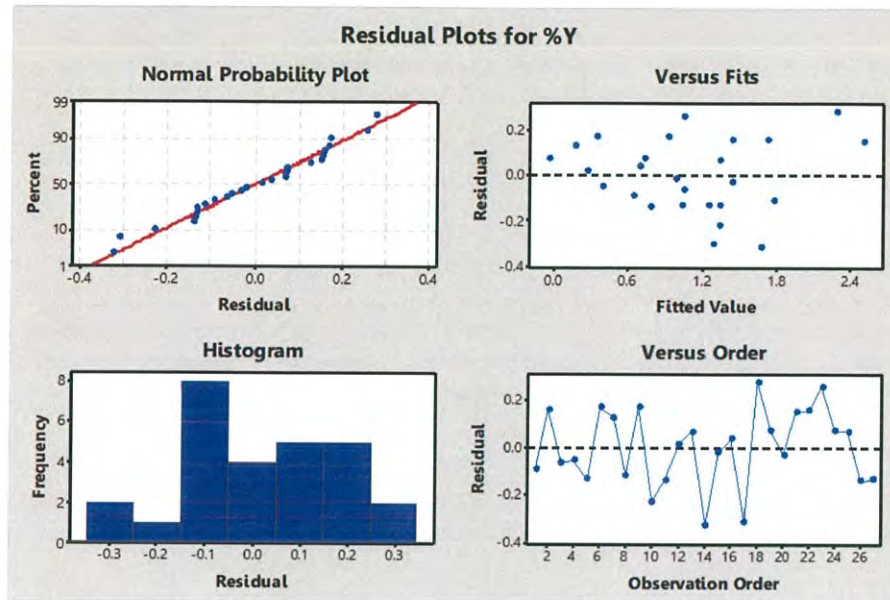
$$\begin{aligned} \text{ร้อยละผลได้ของระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชัน} = & 55 + 4.26X_1 - 1.98X_2 + 4.00X_3 - 2.76X_4^2 \\ & + 3.25X_1X_3 + 8.75X_3X_4 \end{aligned} \quad (4.8)$$

- เมื่อ X_1 คือ อุณหภูมิที่ใช้การสกัด Temperature ($^{\circ}\text{C}$)
 X_2 คือ อัตราส่วนของเหลวต่อของแข็ง S/L ratio (g/ml)
 X_3 คือ เวลาที่ใช้ในการสกัด Time (min)
 X_4 คือ ความดันที่ใช้ในการสกัด (Bar)

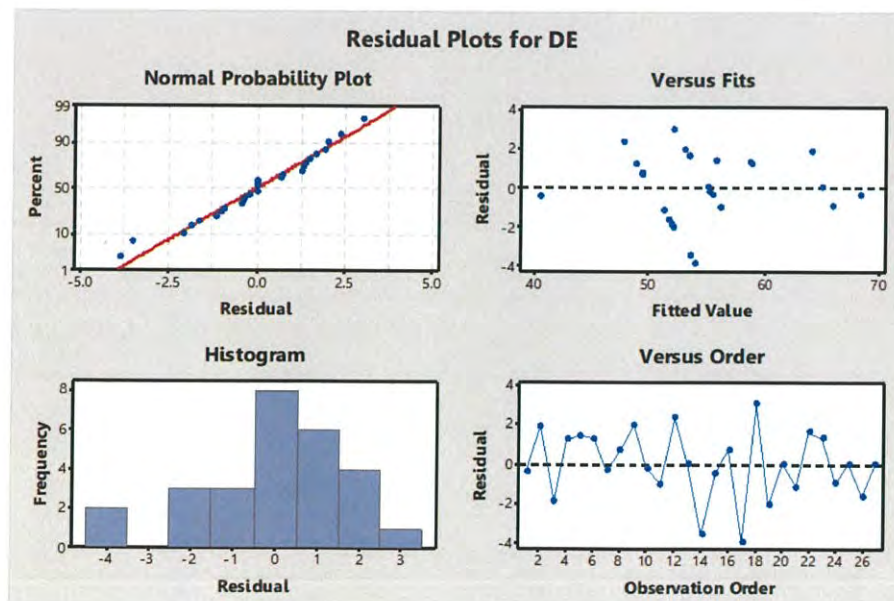
4.3.2 การวิเคราะห์ความถูกต้องของการออกแบบการทดลอง

การหาสถานะที่เหมาะสมจากการออกแบบการทดลองทั้ง 27 ครั้ง นำมาวิเคราะห์ความคลาดเคลื่อนของแบบการทดลอง (Residual plot) โดยจากภาพที่ 4.15 และ 4.16 แสดงกราฟ Normal Probability Plot ใช้บอกการกระจายแบบปกติ เพื่อพิจารณาค่าส่วนที่ตกค้างโดยการกระจายตัวต้องเป็นตามแนวเส้นตรง ซึ่งจากภาพมีการกระจายตัวแบบปกติ จึงทำให้กราฟไม่มีการแปรปรวน จากนั้นวิเคราะห์กราฟ Versus Fits จากภาพในกราฟมีการกระจายตัวสม่ำเสมอแสดงว่ามีความเสถียร และจากกราฟ Versus Order

รูปแบบกราฟไม่มีรูปร่างแน่นอนของเส้นกราฟ ทำให้เห็นว่าข้อมูลเป็นอิสระต่อกัน โดยสรุปภาพรวมความถูกต้องของการออกแบบข้อมูลมีความถูกต้องทุกประการ



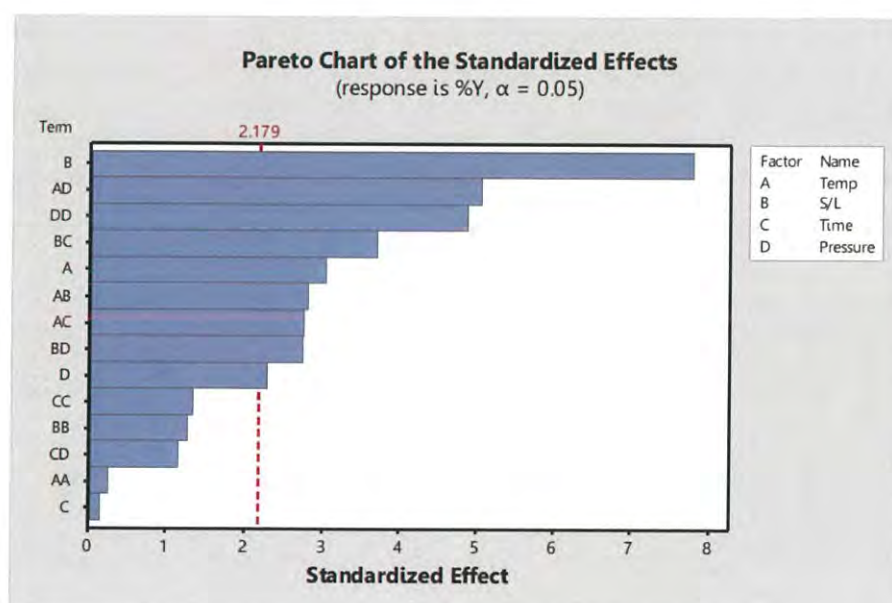
ภาพที่ 4.15 การวิเคราะห์ความถูกต้องของการออกแบบการทดลองจากร้อยละผลได้ของเพคติน



ภาพที่ 4.16 การวิเคราะห์ความถูกต้องของการออกแบบการทดลองจากระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคติน

4.3.3 แผนภาพพาเรโตแสดงปัจจัยที่มีผลสำคัญต่อร้อยละผลได้ของเพคติน

จากภาพที่ 4.17 เป็นภาพแสดงผลที่ได้จากการสกัดเพคตินโดยวิธีการไฮโดรเทอร์มอลในการสกัด จากแผนภาพแสดงปัจจัยที่มีผลกระทบทั้งหมด โดยจะมีปัจจัยที่มีความสำคัญเทียบกับผลกระทบต่อร้อยละผลได้ของเพคตินที่สำคัญตามลำดับดังนี้คือ ผลกระทบของอัตราส่วน (B) ซึ่งสำคัญมากที่สุดรองลงมาด้วยผลกระทบร่วมระหว่างอุณหภูมิกับความดัน ($A*D$), ผลกระทบร่วมระหว่างความดันกับความดัน ($D*D$), ผลกระทบร่วมระหว่างอัตราส่วนกับเวลา ($B*C$), ผลกระทบของอุณหภูมิ (A), ผลกระทบร่วมระหว่างอุณหภูมิกับอัตราส่วน ($A*B$) ผลกระทบร่วมระหว่างอุณหภูมิกับเวลา ($A*C$), ผลกระทบร่วมระหว่างอัตราส่วนกับความดัน ($B*D$) และผลกระทบของความดัน (D)

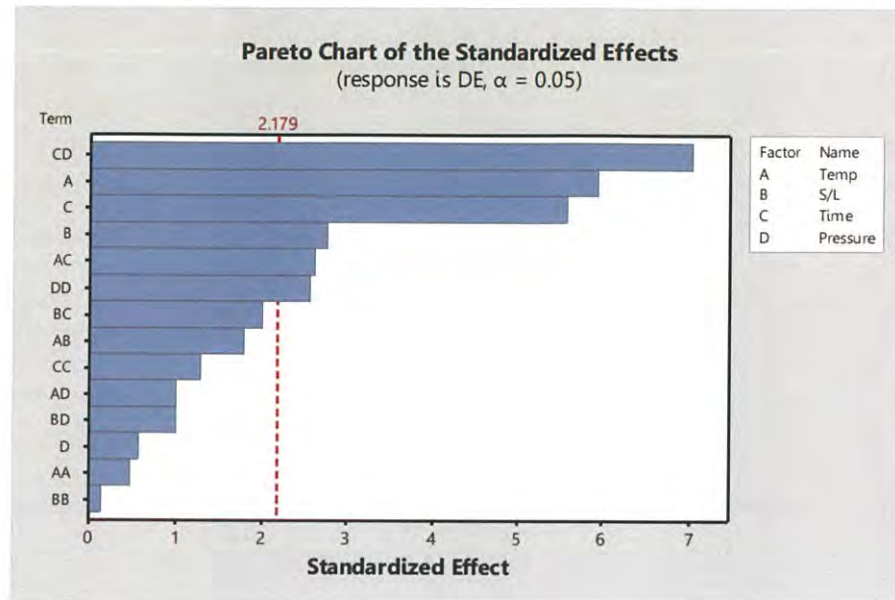


ภาพที่ 4.17 แผนภาพพาเรโตแสดงปัจจัยที่มีผลสำคัญต่อร้อยละผลได้ของเพคติน

4.3.4 แผนภาพพาเรโตแสดงปัจจัยที่มีผลสำคัญต่อค่าระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคติน

จากภาพที่ 4.18 เป็นภาพแสดงผลที่ได้จากการสกัดเพคตินโดยวิธีการแบบไฮโดรเทอร์มอลในการสกัด จากแผนภาพแสดงปัจจัยที่มีผลกระทบทั้งหมด โดยจะมีปัจจัยที่มีความสำคัญเทียบกับผลกระทบต่อค่าระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคตินที่สำคัญตามลำดับดังนี้คือ ผลกระทบร่วมระหว่างเวลากับความดัน ($C*D$) ซึ่งมีผลมากที่สุดรองลงมาด้วยผลกระทบของอุณหภูมิ (A), ผลกระทบของเวลา (C), ผลกระทบของ

อัตราส่วน (B), ผลกระทบร่วมระหว่างอุณหภูมิกับเวลา (A*C) และผลกระทบร่วมระหว่างความดันกับความดัน (D*D)



ภาพที่ 4.18 แผนภาพพารโตแสดงปัจจัยที่มีผลสำคัญต่อค่าระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคติน

4.3.5 ผลของปัจจัยที่มีต่อร้อยละผลได้ของเพคตินของการสกัดด้วยกรด

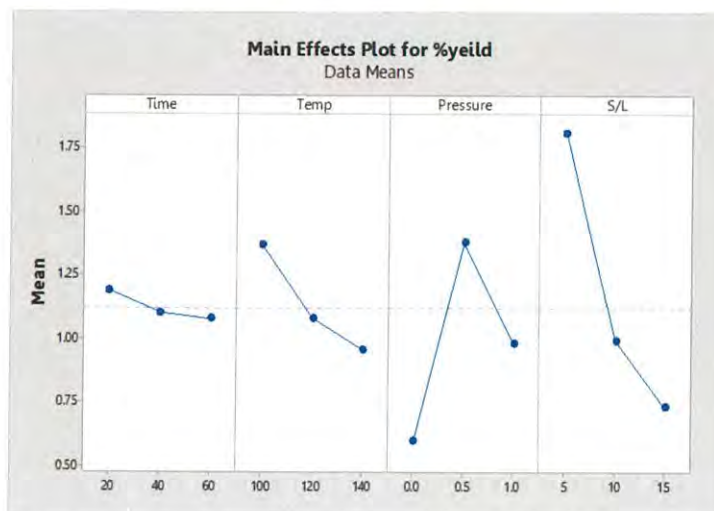
จากภาพที่ 4.19 แสดงถึงผลของการกำหนดค่าตัวแปรของเวลา, อุณหภูมิ, ความดันและอัตราส่วนของแข็งต่อของเหลวส่งผลต่อร้อยละผลได้ของเพคติน ซึ่งจากภาพการผลของการกำหนดค่าตัวแปรของเวลา, อุณหภูมิและความดัน มีผลต่อร้อยละผลได้ของเพคตินใกล้เคียงกัน แต่มีตัวแปรที่มีผลกระทบมากที่สุดคือ อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว โดยมีค่าร้อยละผลได้มากที่สุด นอกจากนั้นกราฟในภาพที่ 4.19 ยังแสดงให้เห็นว่า

4.3.5.1 ผลของเวลาที่ 20 นาที ซึ่งมีผลกระทบต่อง่ายผลได้ของเพคตินมากที่สุด เนื่องจากเป็นเวลาที่พอเหมาะสำหรับที่ผนังเซลล์ถูกละลายออกมาได้ดี แต่เมื่อเพิ่มเวลานานขึ้นกว่า 20 นาที ผนังเซลล์ที่เชื่อมยึดเหนี่ยวเซลลูโลส, เฮมิเซลลูโลสและไกลโคโปรตีนจะถูกทำลายทำให้ของเหลวภายในเซลล์ถูกปล่อยออกมา (จิราภรณ์ สังข์ผุด, 2554) ส่งผลให้ผลได้ของเพคตินต่ำ

4.3.5.2 ผลของอุณหภูมิที่ 100 องศาเซลเซียส ซึ่งมีผลกระทบต่อร้อยละผลได้ของเพคตินมากที่สุด เพราะโครงสร้างของเพคตินในยังมะขาม ที่เกาะอยู่ชั้นกลางขยายตัวออกมาได้พอดี แต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้น พบว่า ผนังเซลล์ที่ขยายตัวมากเกินไปทำลายโครงสร้างเซลล์ในชั้นมิดเดิลเลมเลลลา (จิราภรณ์, 2554) ส่งผลให้ได้ผลได้ของเพคตินต่ำ

4.3.5.3 ผลของความดันที่ช่วง 0 - 0.5 บาร์ ซึ่งมีผลกระทบต่อร้อยละผลได้ของเพคตินมากขึ้นเรื่อยๆ เนื่องจากเพคตินเป็นพอลิเมอร์ที่พืชรสร้างเป็นสารที่มีขั้วละลายได้ดีในตัวทำละลายมีขั้วโดยเฉพาะน้ำ จะขยายตัวได้ดีและเพิ่มพื้นที่ผิวหน้าของเซลล์ในสภาวะที่พอเหมาะ ดังนั้นเมื่อปรับความดันที่ 1.0 บาร์ มีความดันที่มากเกินไปทำให้ผนังเซลล์มีน้ำซึมผ่านมากจนเพคตินสลายตัวไปหมด ส่งผลให้ผลได้ของเพคตินต่ำ

4.3.5.4 ผลของของอัตราส่วนที่ 1:5 กรัมต่อมิลลิลิตร เป็นปัจจัยหลักที่สำคัญมากที่สุดเพราะมีผลกระทบต่อร้อยละผลได้ของเพคตินสูงที่สุด เนื่องจากความเข้มข้นเพคตินพอเหมาะ กับปริมาณน้ำ ต่างจากการปรับอัตราส่วนที่ 1:10 และ 1:15 กรัมต่อมิลลิลิตร ที่ให้ผลได้น้อยลงเพราะความเข้มข้นเพคตินน้อยเมื่อเจอกับปริมาณน้ำจึงเกิดการไฮโดรไลซิสของน้ำที่มากเกินไป (จิราภรณ์, 2554) ทำให้ผนังเซลล์ของเพคตินแตกตัว



ภาพที่ 4.19 ผลของปัจจัยที่มีต่อร้อยละผลได้ของเพคตินจากการสกัดด้วยไฮโดรเทอร์มอล

4.3.6 ผลกระทบของปัจจัยร่วม 3 ระดับของการสกัดด้วยไฮโดรเทอร์มอล

จากภาพที่ 4.20 แสดงถึงผลกระทบร่วมกันระหว่างปัจจัย ซึ่งจากกราฟในภาพที่มีลักษณะเป็นเส้นขนานต่อกันนั้นแสดงว่าไม่มีปัจจัยร่วมต่อปริมาณร้อยละผลได้ แต่หากกราฟไม่เป็นเส้นขนานหรือมีจุดตัดกันนั้นแสดงว่ามีปัจจัยร่วมกัน ทำให้ไม่สามารถตัดปัจจัยใดปัจจัยหนึ่งออกได้ และจากภาพอธิบายได้ว่า

4.3.6.1 ผลของเวลาเป็นปัจจัยร่วมกับอุณหภูมิในการสกัดซึ่งมีผลต่อร้อยละผลได้ จากภาพที่ 4.19 เวลาและอุณหภูมิเป็นปัจจัยหลัก และจากภาพที่ 4.17 แสดงให้เห็นว่าทั้งสองปัจจัยเป็นปัจจัยที่สำคัญร่วมกัน เพราะในการสกัดเวลา 20 นาที ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส มีร้อยละผลได้ของเพคตินสูง แต่เมื่อใช้เวลาสกัดนานขึ้นและเพิ่มอุณหภูมิสูงขึ้น ส่งผลให้ร้อยละผลได้ทั้งสองปัจจัยต่ำ นั้นเพราะยังใช้เวลาในการสกัดนานขึ้นและอุณหภูมิมาก ผนังเซลล์จะขยายตัวและถูกทำลายของเหลวภายในเซลล์ถูกปลดปล่อยออกมาหมด (จิราภรณ์, 2554)

4.2.6.2 ผลของเวลาเป็นปัจจัยร่วมกับความดันในการสกัดซึ่งมีผลต่อร้อยละผลได้ จากภาพที่ 4.19 เวลาและความดันเป็นปัจจัยหลัก และจากภาพที่ 4.17 แสดงให้เห็นว่าทั้งสองปัจจัยเป็นปัจจัยที่สำคัญร่วมกัน เพราะเวลาในการสกัด 20 นาที ที่ความดันช่วง 0 - 0.5 บาร์ มีร้อยละผลได้ของเพคตินสูง แต่เมื่อใช้เวลานานขึ้นและความดันสูงขึ้นนั้น พบว่า ร้อยละผลได้ทั้งสองปัจจัยต่ำ เนื่องจากการอัดความดันคือการเพิ่มพื้นที่ผิวหน้าของเซลล์ และช่วยในการแพร่ให้เพคตินกระจายตัวในน้ำได้ดี แต่ถ้าความดันที่มากและใช้เวลานานจะทำให้เยื่อหุ้มภายในเซลล์แตก

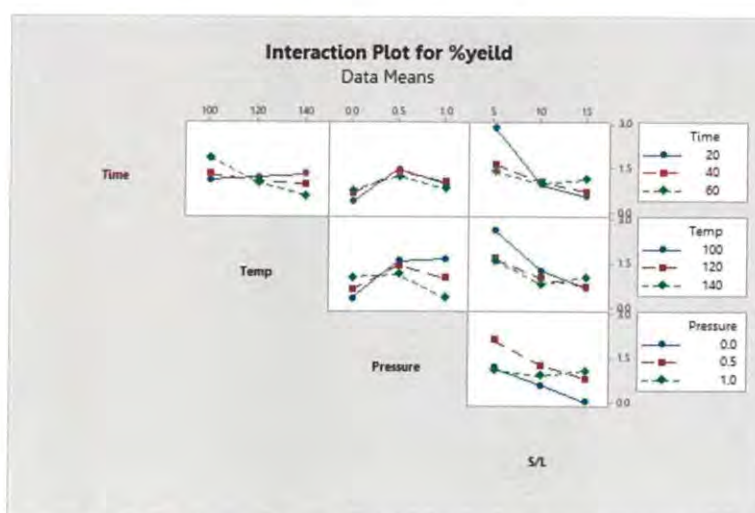
4.2.6.3 ผลของเวลาเป็นปัจจัยร่วมกับอัตราส่วนในการสกัดซึ่งมีผลต่อร้อยละผลได้ จากภาพที่ 4.19 เวลาและอัตราส่วนเป็นปัจจัยหลัก และจากภาพที่ 4.17 แสดงให้เห็นว่าทั้งสองปัจจัยเป็นปัจจัยที่สำคัญร่วมกันมากที่สุดเพราะให้ร้อยละผลได้สูงที่สุด เพราะเราใช้น้ำในการสกัด ซึ่งเพคตินเป็นสารมีขี้ผึ้งและเป็นตัวถูกละลายกับน้ำได้ดีในสภาวะที่เหมาะสม จากการสกัด 20 นาที ในอัตราส่วน 1:5 กรัมต่อมิลลิลิตร มีร้อยละผลได้ของเพคตินสูง แต่เมื่อใช้เวลานานขึ้นและปรับอัตราส่วนน้ำเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ร้อยละผลได้ทั้งสองปัจจัยต่ำ เนื่องจากความเข้มข้นของเพคตินน้อยและยังใช้เวลาในการสกัดนานไปทำให้เอนไซม์เพคตินเอสที่อยู่ในพืชย่อยสลายเพคตินในชั้นมิดเดิลเลเมลลา (พิมพ์เพ็ญ, 2553)

4.2.6.4 ผลของอุณหภูมิเป็นปัจจัยร่วมกับความดันในการสกัดซึ่งมีผลต่อร้อยละผลได้ จากภาพที่ 4.19 อุณหภูมิและความดันเป็นปัจจัยหลัก และจากภาพที่ 4.17 แสดงให้เห็นว่าทั้งสองปัจจัยเป็นปัจจัยที่สำคัญร่วมกัน เพราะในการสกัดอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ที่ความดันช่วง 0 - 0.5 บาร์ มีร้อยละผลได้ของเพคตินสูง แต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิและความดันนั้น ส่งผลให้ร้อยละผลได้ทั้งสองปัจจัยต่ำ เนื่องจากอุณหภูมิสูง โครงสร้างเพคตินจะเกิดการพองตัวและแตกตัว (จิราภรณ์, 2554)

4.2.6.5 ผลของอุณหภูมิเป็นปัจจัยร่วมกับอัตราส่วนในการสกัดซึ่งมีผลต่อร้อยละผลได้ จากภาพที่ 4.19 อุณหภูมิและอัตราส่วนเป็นปัจจัยหลัก และจากภาพที่ 4.17 แสดงให้เห็นว่าทั้งสองปัจจัยเป็นปัจจัย

ที่สำคัญร่วมกัน เพราะในการสกัดอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ที่อัตราส่วน 1:5 กรัมต่อมิลลิลิตร มีร้อยละผลได้ของเพคตินสูง แต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิและอัตราส่วน ส่งผลให้ร้อยละผลได้ทั้งสองปัจจัยต่ำ เนื่องจากเมื่อความเข้มข้นเพคตินน้อยลงและปริมาณน้ำที่จึงเข้ามาในเซลล์มากขึ้นอีกทั้งอุณหภูมิสูงเกือบถึงจุดเดือด ทำให้ผนังเซลล์ถูกทำลายไป (จิราภรณ์, 2554)

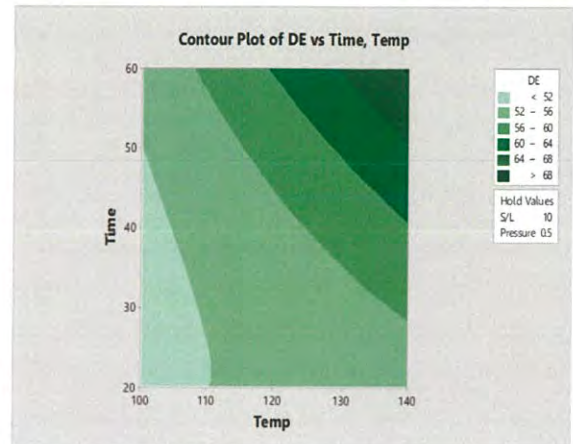
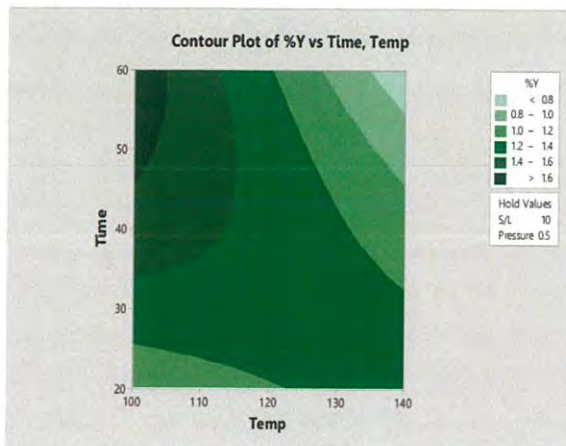
4.2.6.6 ผลของความดันเป็นปัจจัยร่วมกับอัตราส่วนในการสกัดซึ่งมีผลต่อร้อยละผลได้ จากภาพที่ 4.19 ความดันและอัตราส่วนเป็นปัจจัยหลัก และจากภาพที่ 4.17 แสดงให้เห็นว่าทั้งสองปัจจัยเป็นปัจจัยที่สำคัญร่วมกัน เนื่องจากที่ความดันช่วง 0 – 0.5 บาร์ และใช้อัตราส่วนที่ 1:5 กรัมต่อมิลลิลิตร มีร้อยละผลได้ของเพคตินสูง แต่เมื่อเพิ่มความดันและปรับอัตราส่วนเพิ่มด้วย พบว่า ร้อยละผลได้ทั้งสองปัจจัยต่ำ เพราะเราใช้น้ำเป็นองค์ประกอบหลักและเพคตินเป็นสารมีขั้วละลายได้ดีที่ตัวทำละลายมีขั้วมากอย่างน้ำ ดังนั้นที่ความดันและความเข้มข้นเพคตินน้อยกว่าปริมาณน้ำจึงถูกไฮโดรไลซิสโดยน้ำมาก ทำให้โครงสร้างที่เรียงตัวกันเปลี่ยนแปลงและทำให้เพคตินสลายตัวในที่สุด



ภาพที่ 4.20 ผลกระทบปัจจัยร่วมของการสกัดด้วยไฮโดรเทอร์มอล

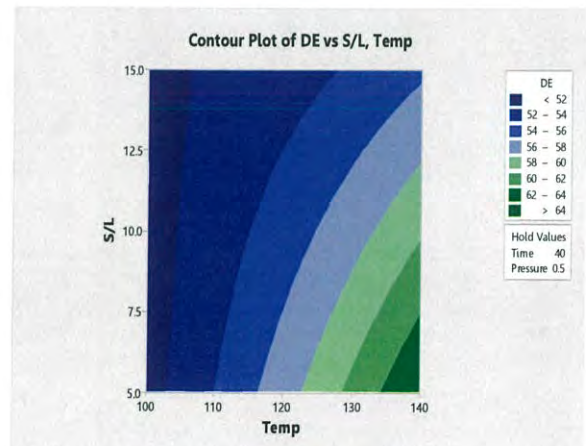
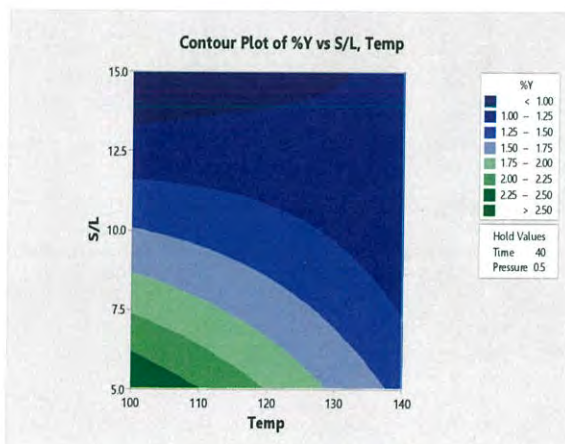
4.3.7 ความสัมพันธ์พื้นที่ผิวตอบสนองที่มีผลต่อค่าร้อยละผลได้และระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคตินจากการสกัดโดยกระบวนการไฮโดรเทอร์มอล

4.3.7.1 จากภาพที่ 4.21 แสดงความสัมพันธ์พื้นที่ผิวตอบสนองเวลาและอุณหภูมิที่มีผลต่อร้อยละผลได้ของเพคตินและระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคติน จากความสัมพันธ์พื้นที่ผิวตอบสนองพบว่าเวลาและอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดเพคตินและได้ปริมาณร้อยละผลได้สูงที่สุด คือในช่วง 100-105 องศาเซลเซียส ใช้เวลาระหว่าง 45 – 60 นาที ซึ่งมีอัตราส่วนของแข็งต่อของเหลวคือ 1:10 กรัมต่อมิลลิลิตร ที่ความดัน 0.5 บาร์



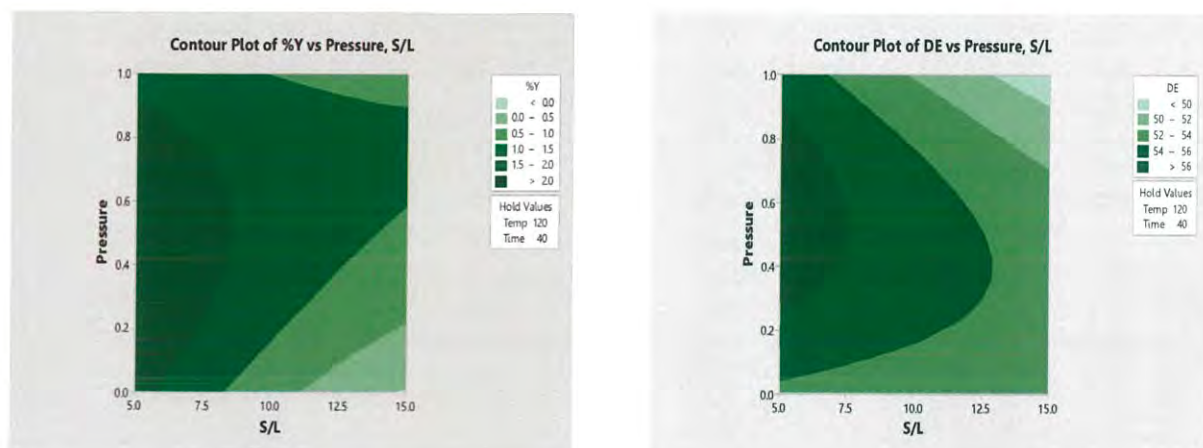
ภาพที่ 4.21 ความสัมพันธ์พื้นที่ผิวตอบสนองเวลาและอุณหภูมิที่มีผลต่อร้อยละผลได้ของเพคตินและระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคติน

4.3.7.2 จากภาพที่ 4.22 แสดงความสัมพันธ์พื้นที่ผิวตอบสนองอัตราส่วนและอุณหภูมิที่มีผลต่อร้อยละผลได้ของเพคตินและระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคติน จากความสัมพันธ์พื้นที่ผิวตอบสนองพบว่า อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลวและอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดเพคตินและได้ปริมาณร้อยละผลได้และระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันสูงสุด คือ อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว 1:5 กรัมต่อมิลลิลิตร ที่อุณหภูมิในช่วง 100 - 110 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ซึ่งเวลาที่ใช้ในการสกัด 40 นาที และความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก 0.5 โมลต่อลิตร



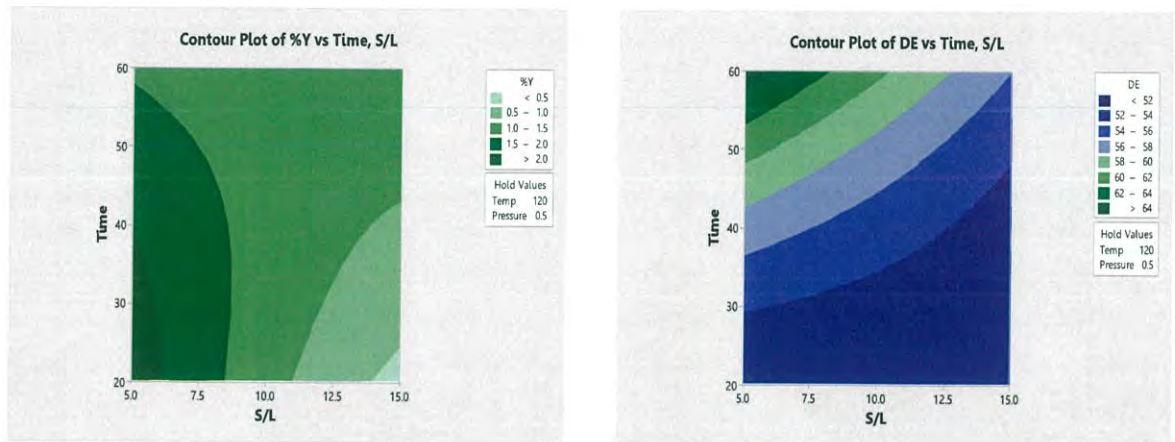
ภาพที่ 4.22 ความสัมพันธ์พื้นที่ผิวตอบสนองอัตราส่วนและอุณหภูมิที่มีผลต่อร้อยละผลได้ของเพคตินและระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคติน

4.3.7.3 จากภาพที่ 4.23 แสดงความสัมพันธ์พื้นที่ผิวตอบสนองความดันและอัตราส่วนที่มีผลต่อร้อยละผลได้ของเพคตินและระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคติน จากความสัมพันธ์พื้นที่ผิวตอบสนองพบว่า ความดันและอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดเพคตินและได้ปริมาณร้อยละผลได้และระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันสูงสุด คือที่ช่วง 0.8 - 0.9 บาร์ โดยอัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว 1:5 กรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งใช้เวลาในการสกัดที่ 40 นาที ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส



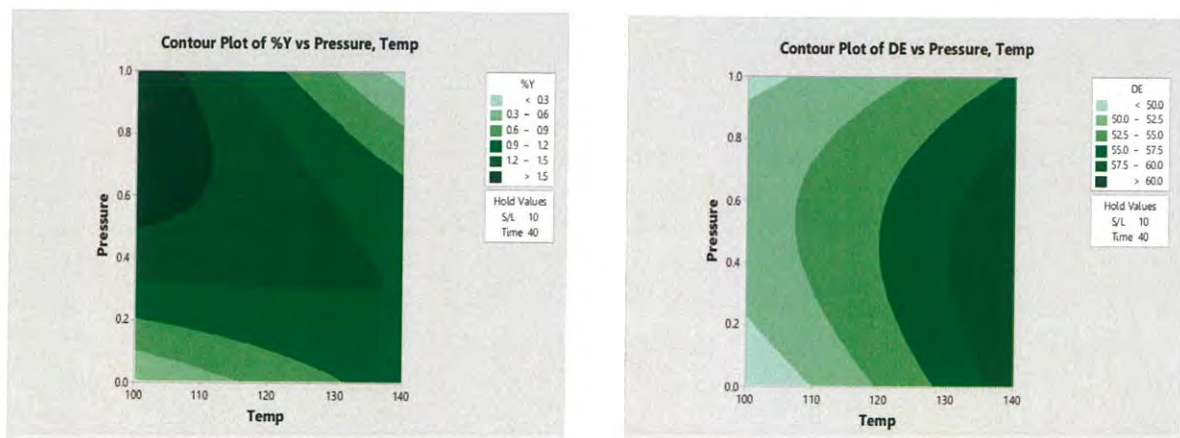
ภาพที่ 4.23 ความสัมพันธ์พื้นที่ผิวตอบสนองความดันและอัตราส่วนที่มีผลต่อร้อยละผลได้ของเพคตินและระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคติน

4.3.5.3 จากภาพที่ 4.24 แสดงความสัมพันธ์พื้นที่ผิวตอบสนองเวลาและอัตราส่วนที่มีผลต่อร้อยละผลได้ของเพคตินและระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคติน จากความสัมพันธ์พื้นที่ผิวตอบสนองพบว่า เวลาและอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดเพคตินและได้ปริมาณร้อยละผลได้และระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันสูงสุด คือใช้เวลาในการ 50 - 60 นาที โดยมีอัตราส่วนของแข็งต่อของเหลวคือ 1:5 กรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งใช้อุณหภูมิ 120 องศาที่ความดัน 0.5 บาร์



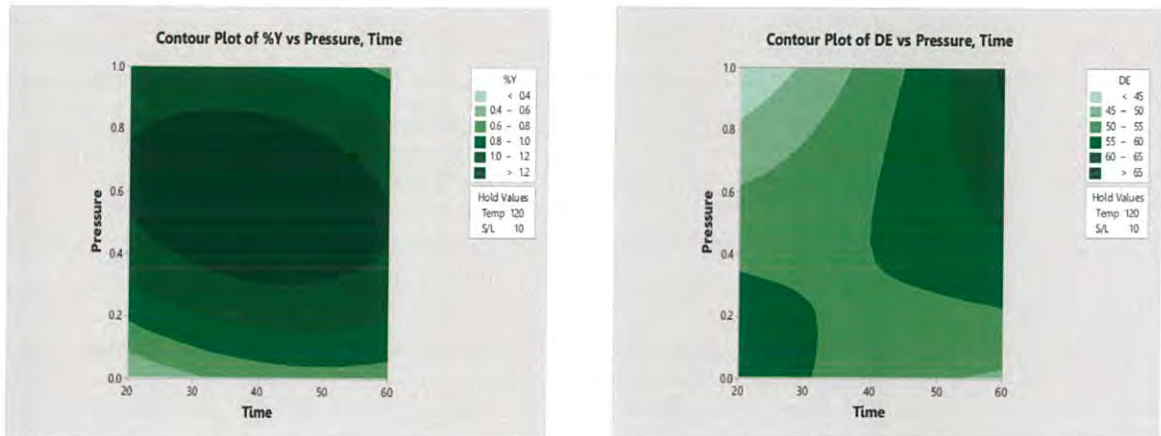
ภาพที่ 4.24 ความสัมพันธ์พื้นที่ผิวตอบสนองเวลาและอัตราส่วนที่มีผลต่อร้อยละผลได้ของเพคตินและระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคติน

4.3.5.4 จากภาพที่ 4.25 แสดงความสัมพันธ์พื้นที่ผิวตอบสนองความดันและอุณหภูมิที่มีผลต่อร้อยละผลได้ของเพคตินและระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคติน จากความสัมพันธ์พื้นที่ผิวตอบสนอง พบว่าความดันและอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดเพคตินและได้ปริมาณร้อยละผลได้และระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันสูงสุด คือที่ 0.8 บาร์ ที่อุณหภูมิช่วง 100 - 110 องศาเซลเซียส โดยมีอัตราส่วนของแข็งต่อของเหลวคือ 1:10 กรัมต่อมิลลิลิตรและใช้เวลา 40 นาที



ภาพที่ 4.25 ความสัมพันธ์พื้นที่ผิวตอบสนองความดันและอุณหภูมิที่มีผลต่อร้อยละผลได้ของเพคตินและระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคติน

4.3.5.5 จากภาพที่ 4.26 แสดงความสัมพันธ์พื้นที่ผิวตอบสนองความดันและเวลาที่มีผลต่อร้อยละผลได้ของเพคตินและระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคติน จากความสัมพันธ์พื้นที่ผิวตอบสนองพบว่า ความดันและเวลาที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดเพคตินและได้ปริมาณร้อยละผลได้และระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันสูงสุด คือที่ความดัน 0.8 โดยใช้เวลาอยู่ในช่วง 20 - 60 นาที อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว คือ 1:10 กรัมต่อมิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 4.26 ความสัมพันธ์พื้นที่ผิวตอบสนองความดันและเวลาที่มีผลต่อร้อยละผลได้ของเพคตินและระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคติน

จากความสัมพันธ์พื้นที่ผิวตอบสนองที่บ่งบอกสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดและระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคตินตามปัจจัยสำคัญโดยผลของพื้นที่ผิวส่วนใหญ่เป็นค่าของช่วงความเหมาะสม เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดที่จะได้ร้อยละผลได้และระดับมากที่สุด ค่าที่ดีที่สุด จึงต้องนำผลข้อมูลไปวิเคราะห์ Response Optimization เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพพื้นที่ผิวตอบสนอง จากตาราง 4.4 ทำให้ทราบสภาวะที่เหมาะสมในการสกัด คือที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 20 นาที โดยมีอัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว 1:5 กรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งได้ร้อยละผลได้เท่ากับร้อยละ 2.93 และระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันเท่ากับร้อยละ 80.81 ซึ่งบ่งบอกได้ว่าเป็นเพคตินชนิดมีค่าเมทอกซิลสูง (High Methoxy Pectin)

ตารางที่ 4.10 การหาสภาวะเหมาะสมในการสกัดเพคตินจากยุงมะขามโดยวิธีการไฮโดรเทอร์มอล

Variable		Setting
เวลา (นาทื)		20
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)		100
ความดัน (บาร์)		0.8
อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว (กรัมต่อมิลลิลิตร)		5

Response	Fit	SE Fit	95% CI	95% PI
%Y	2.93	0.38	(2.11, 3.76)	(1.88, 3.99)
%DE	80.81	3.80	(72.53, 89.09)	(70.91, 90.71)

ทำการทดลองทั้งหมด 5 ซ้ำ ที่สภาวะดังตารางที่ 4.10 เพื่อยืนยันผลจากการออกแบบการทดลองได้ผลดังตารางที่ 4.11

ตารางที่ 4.11 ร้อยละผลได้ของเพคตินและระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคตินตามสภาวะที่เหมาะสมที่สุด

Run No.	1	2	3	4	5	Average
%Y	3.02	3.16	2.98	3.19	3.15	3.10
%DE	80.06	80.85	79.98	80.52	80.91	80.46

จากตารางที่ 4.11 ปริมาณร้อยละผลได้ของเพคตินเฉลี่ยร้อยละ 3.10 ซึ่งมีความคาดเคลื่อนร้อยละ 1.37 และในส่วนระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคตินร้อยละ 80.46 คิดค่าคาดเคลื่อนได้ร้อยละ 0.78 พบว่า จากการคาดเคลื่อนของทั้งร้อยละผลได้และระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันนั้น บ่งบอกได้ว่าการสกัดแบบดั้งเดิมยังสามารถนำมาใช้ได้ตามแต่กรดที่ใช้ โดยในที่นี้กรดไฮโดรคลอริกก็ทำให้ได้ผลได้ในปริมาณมากเช่นกัน เป็นอีกทางเลือกที่จะเลือกใช้กรดในการสกัด

4.4 เปรียบเทียบการหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเพคตินจากยุงมะขามระหว่างการใช้กรดไฮโดรคลอริกและกระบวนการไฮโดรเทอร์มอล

ตารางที่ 4.12 เปรียบเทียบการหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเพคตินจากยุงมะขามระหว่างการใช้กรดไฮโดรคลอริกและกระบวนการไฮโดรเทอร์มอล

ปัจจัย	วิธีการสกัด	
	การสกัดด้วยกรด	การสกัดด้วยไฮโดรเทอร์มอล
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	72	100
ความดัน (บาร์)	-	0.8
อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว (กรัมต่อมิลลิลิตร)	15	5
เวลา (นาที)	39	20
กรดไฮโดรคลอริก (โมลต่อลิตร)	0.5	-
%Y	2.18	3.10
%DE	63.18	80.46

จากตารางที่ 4.12 สภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดหาปริมาณร้อยละผลได้ของเพคตินทั้ง 2 วิธีคือการสกัดแบบกรดและการสกัดแบบกระบวนการไฮโดรเทอร์มอลมีปริมาณที่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญโดยวิธีไฮโดรเทอร์มอลมีปริมาณสูงกว่า ในส่วนของระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคตินทั้ง 2 วิธีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญซึ่งวิธีการไฮโดรเทอร์มอลมีค่าระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันสูงกว่าแต่ทั้ง 2 วิธีมีค่าระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันสูงกว่าร้อยละ 50 จึงบ่งบอกได้ว่าเพคตินชนิดนี้จัดเป็นเพคตินที่มีค่าเมทอกซิลสูง (High methoxyl pectin) ซึ่งเพคตินนี้เกิดเจลได้รวดเร็วมากจากค่าเมทอกซิลที่สูงอีกทั้งการเกิดเจลนี้ไม่ต้องใช้สารเร่งการเกิดเจล ดังนั้นวิธีการแบบไฮโดรเทอร์มอลจึงสะดวกในการสกัดเพราะใช้น้ำในการสกัดและกรรมวิธีไม่ซับซ้อน และไม่ก่อมลพิษทางอากาศอีกด้วย

4.5 ผลลักษณะสีของเพคตินจากการสกัดแบบกรดและกระบวนการไฮโดรเทอร์มอล

จากการหาสภาวะที่เหมาะสมเมื่อได้ค่าที่ดีที่สุดแล้วนำไปหาค่าสีเพื่อวัดระดับการเกิดสีของเพคตินจากยั้งมะขามชนิดนี้โดยเทียบกับค่าสีเพคตินจากเปลือกส้ม เกรด 150

ตารางที่ 4.13 ค่าสีเพคตินจากยั้งมะขามกับเพคตินจากเปลือกส้ม

คุณสมบัติ	เพคตินที่สกัดจากยั้งมะขามโดยกรด	เพคตินที่สกัดจากยั้งมะขามโดยกระบวนการไฮโดรเทอร์มอล	เพคตินที่สกัดจากส้มเกรด 150	เพคตินมาตรฐาน	Industrial grade pectin
ค่าสี					
L*	43.26±0.00	56.43±0.00	82.77±0.00	-	-
a*	32.42±0.00	7.93±0.00	3.14±0.00	-	-
b*	55.09±0.00	19.31±0.00	18.92±0.00	-	-

ที่มา : <https://www.baanjommyut.com>

จากตารางที่ 4.13 จากการนำเอาค่าวัดแสงนำไปคำนวณสูตรเพื่อหา Hue และ Chroma แสดงให้เห็นว่าสีของเพคตินที่สกัดจากยั้งมะขามโดยใช้กรดไปทางสีส้มเข้มเมื่อเทียบกับการสกัดยั้งมะขามแบบไฮโดรเทอร์มอล จะเห็นได้ว่าเมื่อนำยั้งมะขามไปเทียบกับเพคตินจากส้ม เกรด 150 ยั้งมะขามจะมีสีเข้มกว่าส้มเกรด 150 เนื่องจากยั้งมะขามมีสีน้ำตาลเข้ม ทำให้การสกัดเพคตินโดยเฉพาะจากกรดไฮโดรคลอริกเกิดสีของเพคตินมีความเข้มสีไปทางสีน้ำตาลจากกระบวนการสกัดและกระบวนการแบบไฮโดรเทอร์มอลให้สีน้ำตาลที่อ่อนกว่าการสกัดแบบกรดไฮโดรคลอริก

บทที่ 5

สรุปผลและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผล

จากการหาสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดเพคตินโดยมีหลายปัจจัยสำคัญ ในที่นี้ใช้การสกัด 2 วิธีคือ วิธีการแบบดั้งเดิมและแบบกระบวนการไฮโดรเทอร์มอล โดยเริ่มจากวัดค่าความชื้นของเพคติน (Moisture content) พบว่ายังเหมาะสมที่นำมาใช้ในการทดลองมีค่าความชื้นภายในเฉลี่ยเท่ากับ ร้อยละ 9.23 หลังจากนั้นนำไปออกแบบการทดลองการสกัดด้วยกรดไฮโดรคลอริกแบบ Box-Behnken โดยทำการทดลอง 27 การทดลอง จากนั้นนำไปหาพื้นที่ผิวตอบสนอง (Response Surface Methodology: RSM) โดยกำหนดปัจจัยที่มีผลต่อการสกัด 4 ปัจจัย ดังนี้ อัตราส่วนของของเหลวต่อของแข็ง (S/L), อุณหภูมิในการสกัด (T), pH และระยะเวลาการสกัด (t) ซึ่งได้ค่าผลได้ของเพคตินสูงถึงร้อยละ 2.46 และระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันที่ร้อยละ 50 ต่อมาออกแบบการทดลองการสกัดด้วยกระบวนการไฮโดรเทอร์มอลแบบ Box-Behnken โดยทำการทดลอง 27 การทดลอง จากนั้นนำไปหาพื้นที่ผิวตอบสนอง (Response Surface Methodology: RSM) โดยกำหนดปัจจัยที่มีผลต่อการสกัด 4 ปัจจัย ดังนี้ อัตราส่วนของของเหลวต่อของแข็ง (S/L), อุณหภูมิในการสกัด (T), pH และระยะเวลาการสกัด (t) ซึ่งได้ค่าผลได้ของเพคตินสูงถึงร้อยละ 2.91 และระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันที่ร้อยละ 55 จากการนำไปวิเคราะห์ด้วยพื้นที่ผิวตอบสนองนั้นทั้ง 2 แบบการสกัดได้ค่าของปัจจัยสำคัญเป็นช่วง จึงนำข้อมูลไปเข้า Response Optimization เพื่อหาค่าที่ดีที่สุด ซึ่งได้ค่าของปัจจัยที่ดีที่สุด โดยที่ 72 องศาเซลเซียส ใช้เวลาสกัด 39 นาที ในอัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว 1:15 กรัมต่อมิลลิลิตร และที่ความเข้มข้น 0.5 โมลต่อลิตร ทำทั้งหมด 5 ซ้ำ ทำให้ได้ ผลได้สูงสุดของเพคตินอยู่ที่ร้อยละ 2.18 และระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันที่ร้อยละ 63.18 ซึ่งคิดเป็นค่าความคลาดเคลื่อนร้อยละ 0.86 และ 0.3 ตามลำดับ ส่วนวิธีการไฮโดรเทอร์มอลค่าปัจจัยที่ดีที่สุดคือ 100 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 20 นาที ที่ความดัน 0.8 บาร์ และอัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว 1:5 กรัมต่อมิลลิลิตร ทำทั้งหมด 5 ซ้ำเช่นเดียวกับแบบกรด ทำให้ได้ผลได้สูงสุดของเพคตินอยู่ที่ร้อยละ 3.10 และระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันที่ร้อยละ 80.46 ซึ่งคิดเป็นค่าความคลาดเคลื่อนร้อยละ 1.37 และ 0.78 ตามลำดับ จะเห็นได้ว่ามีค่าความคลาดเคลื่อนไม่เกินร้อยละ 2 สามารถยืนยันได้ว่าแบบจำลองการสกัดเพคตินจากยุงมะขามด้วยกรดไฮโดรคลอริกและกระบวนการไฮโดรเทอร์มอลสามารถนำไปใช้ได้จริงและเมื่อเปรียบเทียบวิธีการสกัดทั้งสองวิธีพบว่า การสกัดเพคตินจากยุงมะขามด้วยกระบวนการไฮโดรเทอร์มอลให้ผลได้เพคตินมากกว่าแบบกรดไฮโดรคลอริกถึงร้อยละ 0.92 และค่าระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันก็มีค่าสูงกว่านั้นแสดงว่าเพคตินนี้เป็นเพคตินชนิดที่มีค่าเมทอกซิลสูง (High methoxyl pectin) และ

จากการมีเมทอกซิลที่สูงทำให้การเกิดเจลทำได้รวดเร็วและไม่ต้องใช้สารเร่งการเกิดเหมือนพีดินที่มีเมทอกซิลต่ำ นอกจากนี้ตัวเจลลาจินยังมีความนุ่มและยืดหยุ่นอีกด้วย

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 เมื่อใช้เอทานอลควรเตรียมใส่ภาชนะบรรจุที่ปิดสนิทกันไม่ให้เอทานอลระเหยออกมาและกำหนดเวลาในการตกตะกอนให้เท่ากันทุกการทดลองเพื่อป้องกันความคลาดเคลื่อนของการทดลอง

5.2.2 ควรตรวจสอบเครื่องชั่งก่อนการทดลองและใช้เครื่องชั่งในการทดลองเพียงเครื่องเดียวเพื่อป้องกันความคลาดเคลื่อนจากเครื่องชั่ง

5.2.3 ผ้าที่ใช้กรองควรหมั่นทำความสะอาดเพื่อป้องกันเศษฝุ่นที่ทำให้เกิดความคลาดเคลื่อน

5.2.4 การอัดแก๊สไนโตรเจนควรใช้เกจวัดความดันแบบดิจิตอลเพื่อความแม่นยำในการทดลอง

บรรณานุกรม

- จิราภรณ์ สังข์ผุด. 2554. สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเพคตินจากเปลือกส้มโอ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช
- ฐนิชา พันธานนท์. 2560. มะขามนํ้ารู้. [ออนไลน์].เข้าถึงได้จาก : <http://www.mindmeister.com> . 26 ตุลาคม 2561.
- นิธิยา รัตนานนท์.(2545).เคมีอาหาร.ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- ปรียา สุขเกษม.(2549).การสกัดและคุณสมบัติของเพกตินจากเปลือกเสาวรส. โครงการวิจัยคณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- ผศ.ดร.พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์และ ดร.นิธิยา รัตนานนท์. 2553. Pectin. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/430/pectin>. 20 ตุลาคม 2561.
- พรศักดิ์ ศรีอมรศักดิ์. เพกติน: พอลิเมอร์ชีวภาพทางเภสัชกรรม.2551.นครปฐม: โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยศิลปากร. 188 หน้า.
- สมฤทัยจิตภักดิ์ดินทร์และอมราวดีจางวาง(2552).เพกตินจากเปลือก มะนาว.การประชุมวิชาการและเสนอผลงานวิจัย มหาวิทยาลัยทักษิณ ครั้งที่ 19.
- ลลิตา อินทกนก.(2559).แผนธุรกิจเครื่องดื่มเกษตรอินทรีย์เพื่อสุขภาพจากเมล็ดมะขามสำหรับชาวญี่ปุ่นในเมืองไทย. สาขาวิชาการจัดการเชิงกลยุทธ์คณะพาณิชยศาสตร์และการ บัญชี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.
- วัชรเวียงแก้ว.(2549).การสกัดเพกตินด้วยเอน้ำจากเปลือกส้มโอ.ภาควิชาวิศวกรรมเคมีคณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.
- องอาจเด็ดดวง.(2553).การเปรียบเทียบเพกตินสกัดจากฝรั่งสามชนิดกับเพกตินมาตรฐาน.สารนิพนธ์.สาขาวิชาเคมี.มหาวิทยาลัย ศรีนครินทรวิโรฒ.
- อดิศักดิ์ สีนโสภาและคณะ (2557) .การเปรียบเทียบวิธีการสกัดเพคตินจากเปลือกมะนาวแบบโดยใช้วิธีการสกัดแบบดั้งเดิม วิธีการสกัดด้วยน้ำกึ่งวิกฤต วิธีการสกัดด้วยไมโครเวฟและวิธีการสกัดด้วยอัลตราโซนิก. การประชุมวิชาการ “มหาวิทยาลัย มหาสารคามวิจัย ครั้งที่ 12.

บรรณานุกรม

- Cibele Freitas de Oliveira, Diego Giordani, Rafael Lutckemier, Poliana Deyse Gurak, Florencia Cladera-Olivera, Ligia Damasceno Ferreira Marczak. (2016). Extraction of pectin from passion fruit peel assisted by ultrasound. *LWT - Food Science and Technology*, 71, 110-115.
- Gallina, Gianluca., Alfageme, Enrique Regidor., Biasi, Pierdomenico., Garcia-Serna, Juan. (2018). Hydrothermal extraction of hemicellulose: from lab to pilot scale. In *Bioresource Technology*, 980-991.
- Michael Kröger., Marco Klemm and Michael Nelles. (2018). Hydrothermal Disintegration and Extraction of Different Microalgae Species. Faculty of Agricultural and Environmental Sciences, Chair of Waste Management, University of Rostock, Justus-von-Liebig-Weg 6, 18059 Rostock, Germany
- Sharma, R., Kamboj, S., Khurana, R., Singh, G., Rana, V., 2015. Physicochemical and functional performance of pectin extracted by QbD approach from *Tamarindus indica* L. pulp. *Carbohydrate Polymers* 134, 364–374. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.07.073>
- Singh, R.D., Bhuyan, K., Banerjee, J., Muir, J., Arora, A., 2017. Hydrothermal and microwave assisted alkali pretreatment for fractionation of arecanut husk. *Industrial Crops and Products* 102, 65–74. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.03.017>
- Yuting Xu, Lifan Zhang, Yakufu Bailina, Zhi Ge, Tian Ding, Xingqian Ye, Donghong Liu. (2014). Effects of ultrasound and/or heating on the extraction of pectin from grapefruit peel. *Journal of Food Engineering*, 126, 72–81

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

วิธีการคำนวณ

ก.1 การหาปริมาณความชื้น

คำนวณปริมาณความชื้น (moisture content)

$$\text{ร้อยละปริมาณความชื้น} = \frac{\text{น้ำหนักเปียก} - \text{น้ำหนักแห้ง}}{\text{น้ำหนักเปียก}} \times 100$$

ตัวอย่างการคำนวณ

น้ำหนักขี้เถ้าขี้เถ้าก่อนอบ 3.25 กิโลกรัม และน้ำหนักหลังอบ 2.95

$$\text{ร้อยละปริมาณความชื้น} = \frac{3.25 - 2.95}{3.25} \times 100$$

จะได้ค่าความชื้นเท่ากับ ร้อยละ 9.23

ก.2 การหาค่าร้อยละโดยมวลของผลได้

คำนวณเปอร์เซ็นต์ของผลได้ (Yield)

$$\text{ผลผลิตของเพคติน} = \frac{\text{มวลของเพคตินที่ถูกสกัด (กรัม)}}{\text{มวลทั้งหมดของขี้เถ้าขี้เถ้า (กรัม)}} \times 100$$

ตัวอย่างการคำนวณ

มวลของเพคตินที่ถูกสกัด 0.159 กรัม และมวลทั้งหมดของขี้เถ้าขี้เถ้า 10 กรัม

$$\text{ผลผลิตของเพคติน} = \frac{0.159}{10} \times 100$$

จะได้ค่าร้อยละผลได้ของเพคตินร้อยละ 1.59

ก.3 การหาระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชัน

คำนวณหาค่าระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชัน (%DE)

$$\text{ระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชัน} = \frac{\text{ปริมาณโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ 2}}{\text{ปริมาณโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ 2} + \text{ปริมาณโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ 1}} \times 100$$

ตัวอย่างการคำนวณ

ปริมาณโซเดียมไฮดรอกไซด์ ปริมาตรที่ 1 คือ 0.1 มิลลิลิตร และ ปริมาณโซเดียมไฮดรอกไซด์ ปริมาตรที่ 2 คือ 0.2 มิลลิลิตร

$$\text{ระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชัน} = \frac{0.2}{0.2+0.1} \times 100$$

จะได้ค่าระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันเท่ากับร้อยละ 33

ภาคผนวก ข

ภาพขั้นตอนการทดลอง

ข.1 ยุ่งมะขามที่แยกจากเปลือกและทำการอบแห้งผ่านเครื่องอบลมร้อนแล้ว



ข.2 เครื่องปฏิกรณ์ที่ใช้ในการสกัดแบบไฮโดรเทอร์มอล



ข.3 การสกัดแบบกรด



ข.4 การกรองด้วยผ้าลินินและเติมเอทานอลตั้งทิ้งไว้จนเกิดตะกอน



ข.5 เพคตินที่ได้หลังการกรอง



ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวจารุวรรณ สิงห์ขันธุ์
วัน เดือน ปี เดือน	10 ธันวาคม 2539
ประวัติการศึกษา	โรงเรียนเตรียมอุดมศึกษาพัฒนาการ วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมแปรรูปอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร
ประสบการณ์การทำงาน	นักศึกษาฝึกงาน บริษัท เบอร์ลี่ ยุคเกอร์ จำกัด(มหาชน)
ผลงานวิจัยและรางวัลที่เคยได้รับ	-
ชื่อ-นามสกุล	นางสาวจิตติมา ฉายประดับ
วัน เดือน ปี เดือน	12 กรกฎาคม 2539
ประวัติการศึกษา	โรงเรียนสละเตา”ขรรค์ชัยกัมพลานนท์อนุสรณ์” วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมแปรรูปอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร
ประสบการณ์การทำงาน	นักศึกษาฝึกงาน บริษัท เสริมสุข จำกัด(มหาชน)
ผลงานวิจัยและรางวัลที่เคยได้รับ	-