

## การพัฒนากระบวนการผลิตเพคตินจากใบเครือหมาน้อย

Process Development for Pectin Production from Krueo Ma Noy Leaves (*Cissampelos pareira* L.)

พันธุ์เลิศ พรหมสาขา ณ สกลนคร<sup>1</sup> อนุวัตร แจ่มชัด<sup>1</sup> และ กมลวรรณ แจ่มชัด<sup>1</sup>

Phanlert Promsakha na Sakon Nakhon<sup>1</sup>, Anuvat Jangchud<sup>1</sup> and Kamolwan Jangchud<sup>1</sup>

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนากระบวนการและหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเพคตินจากใบเครือหมาน้อย ที่นำมาใช้ในการเปรียบเทียบ 3 ชนิด ได้แก่ ใบสด ใบที่อบแห้งโดยการตากแดดและใบที่อบแห้งโดยใช้ตู้อบลมร้อน และได้ทำการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัด โดยปัจจัยที่ทำการศึกษามี 3 ปัจจัย ได้แก่ อุณหภูมิ (30-90°C) เวลา (30-90 นาที) และ pH (2-8) จากการทดลองพบว่า การตากแดด และการใช้ตู้อบลมร้อน ให้ผลผลิตเพคตินที่สกัดได้สูงไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) ดังนั้นจึงเลือกกระบวนการอบแห้งโดยใช้ตู้อบลมร้อน เนื่องจากใช้เวลาสั้นในการเตรียมวัตถุดิบ ส่วนการหาสภาวะที่เหมาะสมพิจารณาจากปริมาณและคุณภาพของเพคตินที่สกัดได้ สภาวะที่ได้ คือ อุณหภูมิอยู่ในช่วง 68-75 องศาเซลเซียส และ pH อยู่ในช่วง 2.0-2.8 ที่เวลา 42 นาที ได้ผลผลิตเพคติน ปริมาณกรดกาแลกทูโรนิก (GalA) ปริมาณเมทอกซิล (MeO) และระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชัน (DE) ร้อยละ 35.32-42.21, 67.04-76.83, 2.62-3.28, 28.00-29.97 ตามลำดับ

### ABSTRACT

The main objectives of this research were to develop the process and optimize condition for pectin extraction from Krueo Ma Noy leaves. Three types of leaves used in comparison were fresh leaves (without any treatment), sun-dried leaves and hot air oven leaves. The studied factors were temperature (30-90°C), time (30-90 mins.) and pH (2-8). The results showed that sun-dried and the hot air oven non-significantly ( $p > 0.05$ ) gave the highest yield of extracted pectin. Therefore, process with hot air oven was chosen due to the shortest time consumption in the preparing raw material. The optimum condition was mainly considered from the quantity and quality of extracted pectin. Obtained condition was temperature in the range of 68-75°C, pH of 2.0-2.8 for 42 mins. Yield of extraction pectin, galacturonic acid (GalA) content, methoxyl (MeO) content and degree of esterification (DE) were 35.32-42.21%, 67.04-76.83%, 2.62-3.28% and 28.00-29.97%, respectively.

Key Words: Extraction, Krueo Ma Noy Leaves, pectin

e-mail address: P.Promsakhanasakonnakhon@hotmail.com

<sup>1</sup> ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

<sup>1</sup> Department of Product Development, Faculty of Agro-Industry, Kasetsart University, Bangkok, 10900

## คำนำ

เครือหมาน้อย (*Cissampelos pareira* L.) เป็นพืชเมืองร้อน จัดอยู่ในวงศ์ Menispermaceae พบได้ทั่วไปในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย (Singthong *et al.*, 2005) มีลักษณะเป็นไม้เลื้อยพัน ใบเดี่ยว รูปรีแกมไข่เป็นรูปหัวใจ โคนใบแบบก้นปัด หน้าใบและหลังใบมีขนสีน้ำตาล โดยถือเป็นพืชที่มีลักษณะเด่นในการนำไปใช้ประโยชน์ ทั่วไปจะนำใบเครือหมาน้อยชงกับน้ำ แล้วตั้งทิ้งไว้จะแข็งตัวเหมือนวุ้นจากนั้นนำมาปรุงอาหาร อีกทั้งมีสรรพคุณเป็นสมุนไพร ซึ่งได้มีการศึกษาคุณสมบัติของวุ้นที่เกิดจากใบเครือหมาน้อย พบว่ามีลักษณะโครงสร้างและคุณสมบัติของสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่มี กรด D-กาแลกทูโรนิก เป็นโมโนเมอร์ต่อกันเป็นโซ่ยาว ซึ่งเป็นสารจำพวกเพคตินชนิดเมทอกซิลต่ำ (Low methoxyl pectin, LM) (Singthong *et al.*, 2004)

ปัจจุบันประเทศไทยยังคงนำเข้าเพคตินในราคาที่สูง ซึ่งมีมูลค่ามากกว่า 300 ล้านบาทต่อปี (กรมส่งเสริมการค้าระหว่างประเทศ, 2552) โดยราคาเพคตินจะขึ้นอยู่กับวัตถุดิบตั้งต้นที่นำมาสกัดและคุณภาพของเพคติน ทั่วไปทางอุตสาหกรรมจะสกัดเพคตินด้วยสารละลายกรดที่อุณหภูมิสูง และตกตะกอนด้วยแอลกอฮอล์ (Nussinovitch, 1997) โดยวัตถุดิบส่วนใหญ่จะใช้กากจากผลแอปเปิ้ล และผลไม้ตระกูลส้ม ได้แก่ เปลือกมะนาว ส้ม และเกรปฟรุต เป็นส่วนใหญ่ เพคตินเป็นพอลิแซคคาไรด์และเส้นใยอาหาร ซึ่งเป็นสารธรรมชาติที่มีการนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารอย่างแพร่หลาย เช่น ใช้เป็นสารทำให้เกิดเจล (gelling agent) สารเพิ่มความข้นหนืด (thickener) สารเพิ่มความคงตัว (stabilizer) และสารที่ใช้ในการปรับปรุงลักษณะทางเนื้อสัมผัส นิยมนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์ อาทิเช่น ใช้ผสมในไอศกรีม เยลลี่ วุ้น ลูกอม รวมทั้งยังมีการใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เป็นต้น โดยทั้งนี้เพคติน ชนิดเมทอกซิลต่ำ เมื่อเกิดเจลจะไม่ต้องกรรน้ำตาลช่วยในการเกิดเจล ด้วยเหตุนี้จึงสามารถนำไปใช้ในการผลิตอาหารเพื่อสุขภาพที่ให้พลังงานต่ำได้ดี (วรรณภา, 2549) งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณและคุณภาพของไฮโดรคอลลอยด์กลุ่มเพคตินที่สกัดได้จากใบเครือหมาน้อยและหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัด

## อุปกรณ์และวิธีการ

### 1. การเตรียมใบเครือหมาน้อยเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการสกัดเพคติน

นำใบเครือหมาน้อยที่ได้จากพื้นที่ในจังหวัดสกลนคร มาผ่านการคัดเลือกเฉพาะใบที่มีสีเขียวสดและล้างทำความสะอาดด้วยน้ำ แล้วแบ่งเป็นสิ่งทดลองต่าง ๆ ดังนี้ 1) ใบเครือหมาน้อยสด 2) ใบเครือหมาน้อยตากแดด (ความชื้นประมาณร้อยละ 6 - 9) 3) ใบเครือหมาน้อยอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างมาปั่นให้ละเอียด และนำไปสกัดเพื่อหาผลผลิตเพคติน

### 2. การวิเคราะห์หาผลผลิตเพคตินจากใบเครือหมาน้อย

นำใบเครือหมาน้อยที่ผ่านกระบวนการในข้อ 1 ซึ่งน้ำหนัก 10 กรัม เติมน้ำ 95 เปอร์เซ็นต์ (เพื่อขจัดสารแปลกปลอมที่ละลายได้ในแอลกอฮอล์) ในอัตราส่วน 1 : 10 จากนั้นนำไปแช่ในอ่างน้ำที่มีการควบคุมอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที จากนั้นกรองผ่านผ้ากรอง เก็บใบเครือหมาน้อยผงที่กรองได้นำมาสกัดด้วยน้ำที่ผ่านการปรับ pH เป็น 3 โดยใช้กรดไฮโดรคลอริก 0.1 นอร์มอล ในอัตราส่วน

ใบเครื่องหมาน้อยแห้งต่อน้ำเท่ากับ 1 : 50 จากนั้นนำไปต้มในอ่างน้ำที่มีการควบคุมอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที เมื่อครบกำหนดกรองเอากากออกด้วยผ้ากรอง จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้น โดยนำ สารละลายที่ได้ไประเหยเอาน้ำออกให้สารละลายมีความเข้มข้น ด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (Rotary evaporator Buchi รุ่น R-200) นำสารละลายเข้มข้นที่ได้ไปตกตะกอนด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ พร้อมกรอง สารละลายแฉะๆ ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 24 ชั่วโมง กรองตะกอน เพคตินที่ได้ด้วยผ้ากรอง แล้วล้างด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์จำนวน 3 ครั้ง นำไปอบให้แห้งด้วยตู้อบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยวิธีการที่เหมาะสมนำไปศึกษาในขั้นตอนต่อไป

### 3. การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดเพคติน

ในกระบวนการสกัดเพคตินจากใบเครื่องหมาน้อย (30 กรัม) จะทำการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อ การสกัด เพคติน 3 ปัจจัย โดยวางแผนการทดลองแบบ CCD (Central Composite Design) ปัจจัยที่ 1 คือ อุณหภูมิที่ใช้ ในการสกัด ระดับต่ำ คือ 30 และระดับสูงคือ 90 องศาเซลเซียส ปัจจัยที่ 2 คือ เวลาที่ใช้ในการสกัดระดับต่ำ คือ 30 และระดับสูงคือ 90 นาที และสภาวะ pH ในการสกัดระดับต่ำ คือ 2 และระดับสูง คือ 8 (Table 1) โดยวิเคราะห์ค่าคุณภาพทางด้านเคมี ได้แก่ ผลผลิตเพคตินที่ได้ (คิดเป็นร้อยละของน้ำหนักแห้ง) ปริมาณกรด กาแลกทูโรนิก (Galacturonic acid) ตามวิธีการของ Ibarz *et al.* (2006) ปริมาณเมทอกซิล (Methoxyl) ตามวิธีการของ Ranganna (1986) และระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชัน (DE) ในเพคตินที่สกัดได้ (Vardhanabhuti *et al.*, 2006)

Table 1 Levels of the extraction variables in the central composite design (CCD).

Factor	Level				
	- 1.68	-1	0	1	+ 1.68
Temperature (°C)	30	42	60	78	90
Extraction Time (mins)	30	42	60	78	90
pH	2	3.2	5	6.8	8

### 4. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ผลการคัดเลือกกระบวนการเตรียมวัตถุดิบมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan ส่วนการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัด เพคตินจากใบเครื่องหมาน้อยนำข้อมูลมาวิเคราะห์ค่าคุณภาพทางเคมีเพื่อหาความสัมพันธ์โดยพิจารณาจากสิ่ง ทดลองทั้ง 17 การทดลองมาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดย Response surface methodology (RSM) สร้าง แบบจำลองทางคณิตศาสตร์โดยใช้สมการลำดับที่ 2 ( $Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_1 X_2 + \beta_4 X_1^2 + \beta_5 X_2^2$ ) เพื่ออธิบาย ความสัมพันธ์ระหว่างผลผลิตเพคติน ( $Y_1$ ) ปริมาณกรดกาแลกทูโรนิก ( $Y_2$ ) ปริมาณเมทอกซิล ( $Y_3$ ) กับปัจจัยที่ ศึกษา คือ อุณหภูมิ ( $X_1$ ) เวลาที่ใช้ในการสกัด ( $X_2$ ) และ pH ( $X_3$ ) และนำข้อมูลที่ได้พร้อมแบบจำลองมาสร้างกราฟ คอนทัวร์ (Contour plot) เพื่อตรวจสอบความสัมพันธ์ของตัวแปรและสภาวะที่เหมาะสมในการสกัด โดยใช้ โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ

## ผลการทดลองและวิจารณ์

### 1. การคัดเลือกวัตถุดิบเพื่อใช้ในการสกัดเพคติน

การคัดเลือกวัตถุดิบพิจารณาจากผลผลิตเพคตินสูงสุดที่สกัดได้ โดยผลผลิตเพคตินที่สกัดได้จากใบเครือหมาน้อยสด ใบเครือหมาน้อยตากแดดและใบเครือหมาน้อยอบแห้ง ได้ผลผลิตเพคตินร้อยละ 7.56, 20.09 และ 21.06 (โดยน้ำหนักแห้งของใบเครือหมาน้อย 100 กรัม) ตามลำดับ ดังแสดงใน Table 2 จะเห็นได้ว่าการตากแดดและการอบแห้งให้ผลผลิตเพคตินสูงไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) แต่เนื่องจากการอบแห้งใช้ระยะเวลาในการเตรียมสั้นกว่าและสามารถควบคุมคุณภาพของวัตถุดิบได้ดีกว่าการตากแดด จึงเลือกวิธีการอบแห้งโดยใช้ตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง มาเป็นกระบวนการเตรียมวัตถุดิบก่อนการสกัด โดยค่าผลผลิตเพคตินที่สกัดได้มีค่าใกล้เคียงกับการศึกษาของ Singthong และคณะ (2005) และ Vardhanabhuti และคณะ (2006) โดยมีค่าผลผลิตเพคตินที่สกัดได้อยู่ในช่วงร้อยละ 21-29 (โดยน้ำหนักแห้ง) และสอดคล้องกับการศึกษาของ Asgar และคณะ (2003) ที่ทำการเปรียบเทียบผลผลิตเพคตินที่สกัดได้จากลูกพลับสดและลูกพลับที่ผ่านการตากแดด โดยพบว่าลูกพลับที่ผ่านการตากแดดให้ผลผลิตเพคตินสูงกว่า (เทียบโดยน้ำหนักแห้ง) ทั้งนี้ยังไม่มีการอธิบายชัดเจนสำหรับสาเหตุนี้ แต่อาจเนื่องจากการสกัดสารจากของแข็งส่วนใหญ่ควรจะทำให้ของแข็งแห้งเพื่อขจัดน้ำออกมาก่อนแล้วจึงบดให้ละเอียดเพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวในการสัมผัสกับตัวทำละลาย อีกทั้งยังเป็นการเพิ่มอัตราการสกัดโดยทำให้ตัวทำละลายสามารถซึมผ่านเข้าไปในแกนกลางของของแข็งได้มากขึ้น โดยเมื่อตัวทำละลายสัมผัสกับของแข็งจะชะละลายสารบริเวณผิวหน้าให้หลุดออกไปก่อนแล้วทั้งส่วนที่ไม่ละลายไว้ทำให้เกิดรูพรุน (อนุกุล และโชคชัย, 2549)

Table 2 yield of pectin at different preparation methods.

Preparation process before extraction	% Pectin yield (on dry-weight basis)
Fresh leaves	7.56 <sup>b</sup> ± 0.59
Hot - air dried leaves	21.06 <sup>a</sup> ± 0.22
Sun-dried leaves	20.09 <sup>a</sup> ± 0.69

<sup>a-b</sup> Means within the same column followed by different letters were significantly different ( $p \leq 0.05$ )

### 2. ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดเพคตินจากใบเครือหมาน้อย

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดเพคติน 17 สิ่งทดลอง ได้ผลดังแสดงใน Table 3 มาสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์เพื่อหาความสัมพันธ์ของปัจจัยที่ศึกษากับปริมาณและคุณภาพของเพคตินที่สกัดได้ โดยใช้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์อันดับสอง (second order model) ได้ผลดังแสดงใน Table 4 จากนั้นผลที่ได้มาสร้างกราฟคอนทัวร์เพื่อตรวจสอบความสัมพันธ์ดังแสดงใน Figure 1

**Table 3** Levels of factors use for pectin extraction with % yield and qualities of extracted pectin.

Treatment	Factor			% Yield and Composition of the pectin extract			
	Temperature (°C)	Time (mins)	pH	% Yield	Galacturonic acid (mg/ml)	Methoxyl (%)	Degree of esterification (%)
1	42	42	3.2	29.33 ± 0.27	83.13 ± 1.28	5.40 ± 0.02	36.88 ± 0.87
2	42	42	6.8	19.41 ± 0.59	72.60 ± 1.85	5.82 ± 1.04	45.51 ± 0.69
3	42	78	3.2	35.34 ± 0.69	85.82 ± 0.08	5.46 ± 0.04	36.12 ± 0.39
4	42	78	6.8	23.17 ± 1.07	69.12 ± 0.93	5.65 ± 0.44	46.41 ± 0.96
5	78	42	3.2	34.40 ± 0.13	65.26 ± 0.52	3.40 ± 0.31	29.58 ± 1.50
6	78	42	6.8	26.13 ± 1.08	62.20 ± 1.53	3.70 ± 0.17	33.77 ± 1.79
7	78	78	3.2	39.30 ± 0.56	57.07 ± 1.96	3.10 ± 0.15	30.76 ± 0.33
8	78	78	6.8	29.29 ± 0.77	54.22 ± 2.30	3.90 ± 0.25	40.84 ± 0.80
9	30	60	5	19.56 ± 0.39	87.94 ± 2.53	5.90 ± 1.46	38.09 ± 0.96
10	90	60	5	35.70 ± 0.77	57.18 ± 0.86	1.90 ± 0.83	18.87 ± 0.85
11	60	30	5	20.11 ± 0.11	68.54 ± 1.53	4.21 ± 0.28	34.87 ± 1.02
12	60	90	5	29.80 ± 0.66	63.25 ± 0.93	4.53 ± 0.08	40.66 ± 0.56
13	60	60	2	36.72 ± 1.16	86.30 ± 1.02	3.60 ± 0.21	23.68 ± 0.55
14	60	60	8	18.35 ± 0.37	65.65 ± 1.04	5.73 ± 0.01	49.55 ± 0.76
15	60	60	5	23.50 ± 0.60	59.86 ± 1.02	3.70 ± 0.06	35.09 ± 0.75
16	60	60	5	23.50 ± 0.60	59.86 ± 1.02	3.70 ± 0.06	35.09 ± 0.75
17	60	60	5	21.10 ± 0.72	60.45 ± 0.63	3.60 ± 0.15	33.81 ± 1.34

**Table 4** The predictive models for quantity and quality of extracted pectin.

Independent Variable (Y <sub>i</sub> )	Predictive models	Adjust R <sup>2</sup>	Lack of fit (p-value)
% Yield of pectin	$= 77.111 - 0.754x_1 - 0.307x_2 - 10.425x_3 + 0.008x_1^2 + 0.005x_2^2 + 0.756x_3^2 - 0.001x_1x_2 + 0.015x_1x_3 - 0.015x_2x_3$	0.886	> 0.05
Galacturonic acid (mg/ml)	$= 192.082 - 1.815x_1 - 0.001x_2 - 20.512x_3 + 0.010x_1^2 + 0.003x_2^2 + 1.425x_3^2 - 0.006x_1x_2 + 0.082x_1x_3 - 0.024x_2x_3$	0.926	> 0.05
Methoxyl (%)	$= 14.568 - 0.115x_1 - 0.111x_2 - 1.134x_3 + 0.000x_1^2 + 0.001x_2^2 + 0.121x_3^2 - 0.00003472x_1x_2 + 0.002x_1x_3 - 0.001x_2x_3$	0.901	> 0.05

Y<sub>i</sub> = Quantity and quality of pectin extracted, X<sub>1</sub> = Temperature (°C), X<sub>2</sub> = Extraction time (min), X<sub>3</sub> = pH

$$Y_1 = 73.036 - 0.796x_1 - 10.488x_3 + 0.008x_1^2 + 0.015x_1x_3 + 0.756x_3^2$$

$$Y_2 = 197.332 - 2.067x_1 - 21.52x_3 + 0.010x_1^2 + 0.082x_1x_3 + 1.425x_3^2$$

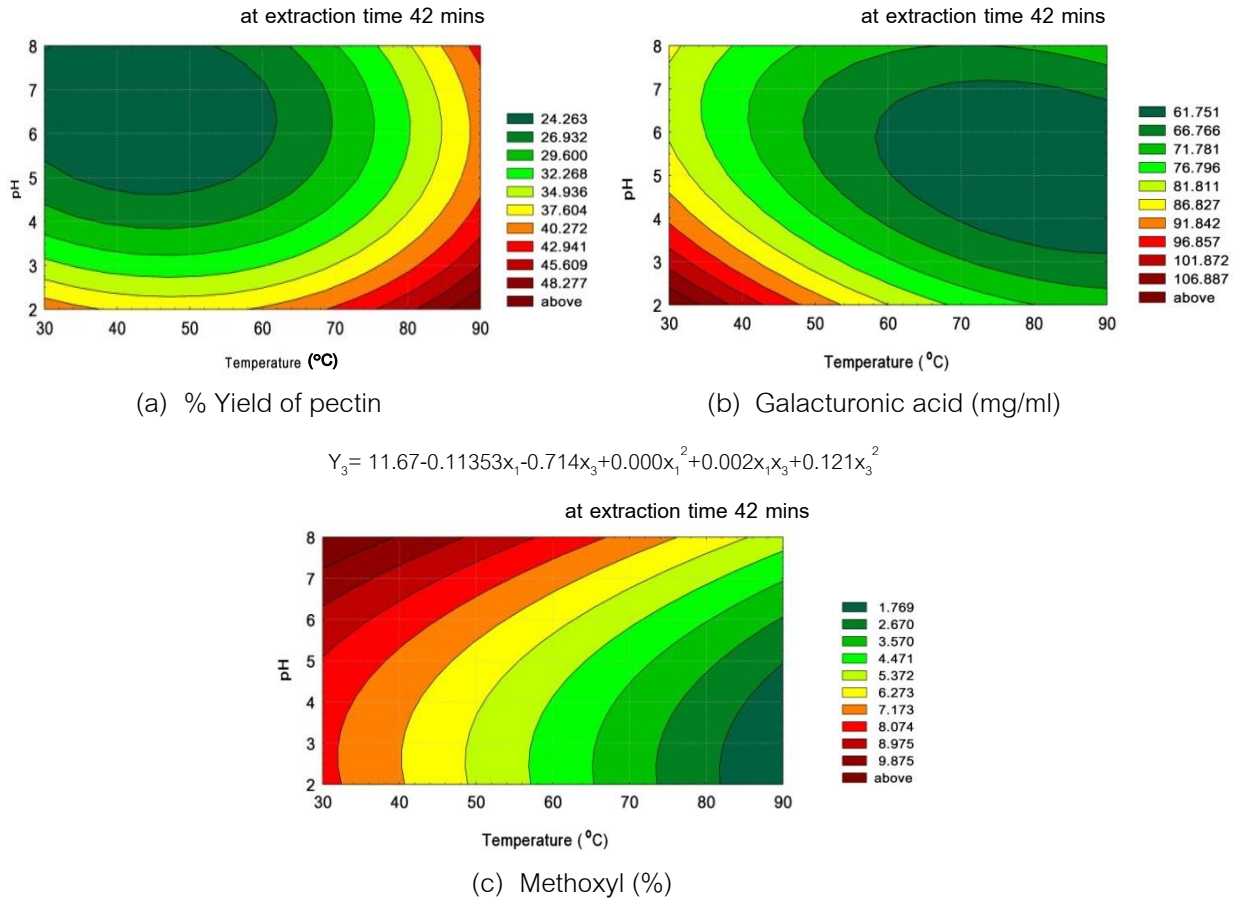


Figure 1 (a-c) Contour plots % yield of pectin (a), Galacturonic acid (mg/ml) (b), Methoxyl (%) (c) between temperature (°C) ( $X_1$ ) and pH ( $X_3$ ) at extraction time of 42 mins ( $X_2$ )

จากแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ (Table 4) พบว่าปัจจัยทั้งสามมีอิทธิพลโดยตรงและมีอิทธิพลร่วมของ ปัจจัย ผลการทดลองนี้จะแสดงแผนภาพคอนทัวร์ของความสัมพันธ์ระหว่าง pH และอุณหภูมิ ที่เวลาในการสกัด ( $x_2$ ) 42 นาที ทั้งนี้จากการวิเคราะห์แผนภาพคอนทัวร์ระหว่างเวลาที่ใช้ในการสกัดกับปัจจัยอื่นๆ พบว่าเวลาที่ 42 นาที เหมาะสมที่สุด (ไม่ได้แสดงข้อมูล) และจากกราฟคอนทัวร์ใน Figure 1 (a) พบว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิจาก 60 เป็น 90 องศาเซลเซียส และปรับ pH ลดลงจาก 4 เป็น 2 มีผลต่อการสกัดเพคตินให้ได้ปริมาณเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากในสารละลายที่มีความเข้มข้นของไฮโดรเจนไอออนสูง (pH 2.5–4.5 (ต่ำ)) จะกระตุ้นให้เกิดการ ไฮโดรไลซ์ สารประกอบเพคตินที่ไม่ละลายน้ำ คือ โปรโตเพคติน โดยหมู่เมทิลถูกแยกออก ได้เป็นหมู่คาร์บอกซิลอิสระ เรียกว่า กรดเพคติน ซึ่งเป็นสารประกอบเพคตินที่สามารถละลายน้ำได้ (Yeoh *et al.*, 2008) ทำให้เมื่อ pH ลดลงเป็นผลให้ผลผลิตเพคตินที่สกัดได้เพิ่มขึ้น โดยที่สภาวะการสกัดเพคตินที่ pH 2 (ต่ำ) จะเกิดการ depolymerisation สลายพันธะของเพคตินให้เป็นโมเลกุลขนาดเล็ก และเกิด deesterification โดยกรดพอลิกลาแลกทูโรนิก ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของเพคตินจะถูกสลายพันธะไกลโคซิดิก และเกิดปฏิกิริยา  $\beta$ -elimination ได้ โมเลกุลกรดกลูตาเมตที่ไม่อิ่มตัว (Endress *et al.*, 2006) เช่นเดียวกับสภาวะการสกัดที่มี pH  $\geq 5$  แต่ในช่วงของ pH ต่ำจะเกิดปฏิกิริยาช้ากว่าในช่วงสภาวะการสกัดที่ pH สูง เนื่องจากกรดจะเข้าไปตัดพันธะที่โมเลกุลของ น้ำตาลที่เกาะอยู่ในโครงสร้างของเพคตินมากกว่ากรดพอลิกลาแลกทูโรนิก (Taylor, 1982) ทำให้เพคตินที่สกัดได้

ในสภาวะ pH ต่ำ จะมีการตกตะกอนสูง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Gama และคณะ (2007) เพคตินที่สกัดได้จึงมีระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชัน (DE) สูง และแสดงคุณสมบัติในการเกิดเจลที่ดีกว่า ทำให้การคืนตัวหลังจากการตกตะกอนที่ pH ดังกล่าวมากกว่า ส่งผลให้ผลผลิตเพคตินที่สกัดได้มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับที่สกัดในสภาวะที่ pH  $\geq 5$  ส่วนกราฟคอนทัวร์ใน Figure 1 (b) พบว่าเมื่อลดอุณหภูมิจาก 80 เป็น 30 องศาเซลเซียส และ pH ลดลงจาก 4 เป็น 2 มีผลทำให้ปริมาณกรดกาแลกทูโรนิกของเพคตินที่สกัดได้มีแนวโน้มที่สูงขึ้นและกราฟคอนทัวร์ใน Figure 1 (c) พบว่าเมื่อลดอุณหภูมิจาก 90 เป็น 30 องศาเซลเซียส และ pH ปรับเพิ่มจาก 2 เป็น 8 มีผลทำให้ปริมาณเมทอกซิลของเพคตินที่สกัดได้มีแนวโน้มที่สูงขึ้น

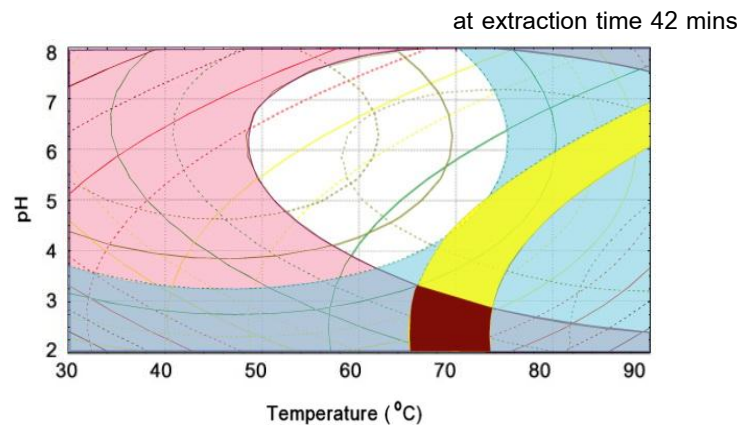


Figure 2 Contour plots yield of pectin upper 30 % (■), Galacturonic acid  $\geq 65$  mg/ml (■), Methoxyl range 2.5 to 4.5 % (■) and the optimization area after overlapping (■)

การพิจารณาเลือกสภาวะการสกัดเพคตินจากใบเครือหมาน้อยจะพิจารณาจากปัจจัยด้านปริมาณเพคตินเป็นหลัก โดยพิจารณาร่วมกับคุณลักษณะที่บ่งชี้ถึงคุณภาพของเพคตินที่ทำการสกัด ได้แก่ ร้อยละปริมาณเมทอกซิล และปริมาณกรดกาแลกทูโรนิก (mg/ml) รวมถึงระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชัน (DE) ซึ่งจากการทดลองพบว่า เพคตินที่สกัดได้จากใบเครือหมาน้อยเป็นเพคตินประเภทเมทอกซิลต่ำ โดยมีระดับ DE อยู่ในช่วงระหว่าง 23–49 ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Singthong และคณะ (2005) และ Vardhanabhuti และคณะ (2006) ที่สกัดเพคตินจากใบเครือหมาด้วยเช่นกัน โดยเพคตินชนิดเมทอกซิลต่ำ ในระดับอุตสาหกรรมควรมีปริมาณเมทอกซิลอยู่ในช่วงร้อยละ 2.5–4.5 (Kertesz, 1951) ส่วนปริมาณกรดกาแลกทูโรนิกของเพคตินตามมาตรฐานของ FAO. (1992) กำหนดให้เพคตินทุกประเภทต้องมีปริมาณกรดกาแลกทูโรนิก ไม่น้อยกว่าร้อยละ 65 จากการทดลองพบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเพคตินจาก ใบเครือหมาน้อยอยู่ในช่วงอุณหภูมิ 68–75 องศาเซลเซียส เวลาที่ใช้ในการสกัด 42 นาที และ pH ในสารละลายที่ใช้ในการสกัดอยู่ในช่วงระหว่าง 2-2.8 ดังแสดงใน Figure 2 ซึ่งระดับการเกิด DE ใช้เป็นตัวแบ่งประเภทของ เพคติน คือ เพคตินที่มีเมทอกซิลสูง (Height methoxyl: HM) มีระดับการเกิด DE มากกว่าร้อยละ 50 ขึ้นไป ซึ่งต้องการน้ำตาลช่วยในการเกิดเจล และเพคตินชนิดที่มีเมทอกซิลต่ำ (Low methoxyl: LM) ซึ่งมีระดับการเกิด DE ต่ำกว่าร้อยละ 50 จะต้องการแคลเซียม ( $Ca^{2+}$ ) ช่วยในการเกิดเจลแทนการใช้น้ำตาล อีกทั้งเจลที่ได้เป็นชนิดผันกลับได้ด้วยความร้อน ดังนั้นจึงเหมาะสมกับผลิตภัณฑ์ที่ต้องการพลังงานต่ำ

## สรุป

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเพคตินจากใบเครือหมาน้อย เพื่อให้ได้ผลผลิตเพคตินที่สกัดได้เพิ่มขึ้นและคุณภาพของเพคตินอยู่ในมาตรฐานที่กำหนด พบว่าสภาวะที่เหมาะสม คือ อุณหภูมิอยู่ในช่วง 68–75 องศาเซลเซียส เวลาในการสกัด 42 นาที และ pH อยู่ในช่วง 2.0-2.8 ซึ่งจะทำให้ได้ผลผลิตเพคตินร้อยละ 35.32-42.21 กรดกาแลกทูโรนิก 67.04-76.83 mg/ml มีปริมาณเมทอกซิลร้อยละ 2.62-3.28 และเพคตินที่สกัดได้จะมีระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันอยู่ระหว่าง 28.00-29.97

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษา และวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ

## เอกสารอ้างอิง

กรมศุลกากร. 2552. สถิติการนำเข้าและส่งออก. แหล่งที่มา:

<http://www.customs.go.th/Statistic/StatisticIndex.jsp>. 24 พฤศจิกายน 2552.

วรรณภา ตูลยธัญ. 2549. เคมีอาหารของคาร์โบไฮเดรต. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

อนุกุล วัฒนสุข และโชคชัย ชีรกุลเกียรติ. 2549. กระบวนการแช่เยือกแข็งอาหาร. ใน คณาจารย์ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 5. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Asgar, M. A., R. Yamauchi and K. Kato. 2003. Modification of pectin in Japanese persimmon fruit during the sun-drying process. *Food Chemistry*. 81: 555-560.

Endress, H. U., F. Mattes and K. Norz. 2006. Pectin, pp. 140-1 – 140-35. In Y. H. Hui, ed. *Handbook of food science, technology and engineering*. CRC Taylor and Francis, Inc. UK.

Garna, H., N. Mabon, C. Robert, C. Cornet, K. Nott, H. Legros, Bernard and M. Paquot. 2007. Effect of extraction condition on the yield and purity of apple pomace pectin precipitated but not washed by alcohol. *Journal of Food Science*. 72: C1-C9.

Ibarz, A., A. Pagan. F. Tribaldo and J. Pagan. 2006. Improvement in the measurement spectrophotometer data in the m-hydroxydiphenyl pectin determination methods. *Journal of FoodControl*. 17:890-893

K ertes, Z.I. 1951. *The pectic substances*. Interscience publishers Inc., New York.

Nussinovitch, A. 1997. *Hydrocolloid Applications: gum technology in the food and other industries*. Blackie Academic and Professional publishing., United Kingdom.

Ranganna, S. 1986. *Handbook of Analysis and Quality Control of Fruit and Vegetable Products*. Tata McGraw Hill publishing Ltd., New Delhi.



- Singthong, J., S.W.Cui S. Ningsanond, and H.D. Goff. 2004. Structural characterization, degree of esterification and some gelling properties of Krueo Ma Noy pectin (*Cissampelos pareira*) pectin. **Journal of Carbohydrate Polymers**. 58: 391 – 400.
- Singthong, J., S. Ningsanond, S.W. Cui and H. D. Goff. 2005. Extraction and physicochemical characterization of Krueo Ma Noy pectin. **Journal of Food Hydrocolloids**. 19: 719-801.
- Taylor, A.J. 1982. Intramolecular distribution of carboxyl groups in Low Methoxyl Pectin. **Carbohydrate Polymers**. 2: 9-17.
- Vardhanabhuti, B. and S. Ikeda. 2006. Isolation and characterization of hydrocolloids from monoi (*Cissampelos pareira*) leaves. **Journal of Food Hydrocolloids**. 20: 885 – 891.
- Yeoh. S., J. Shi and T.A.G. Langrish. 2008. Comparisons between different techniques for water -based extraction of pectin from orange peels. **Journal of Desalination**. 218: 229-237.