

สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดเพกตินจากเปลือกมะกรูด
ด้วยคลื่นไมโครเวฟโดยใช้วิธีพื้นผิวตอบสนอง
Optimization on Microwave Assisted Extraction of
Kaffir Lime (*Citrus hystrix*) Peel Pectin
Using Response Surface Methodology

สุขสรณ์ ตันสิริ และวารวุธ ณะมูล*

หลักสูตรเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา
ตำบลในเมือง อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา 30000

วิชัย เสริมผล^A

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น
ตำบลในเมือง อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น 40002

Suksun Tansiri and Varavut Tanamool*

Chemistry Program, Faculty of Science and Technology, Nakhon Ratchasima Rajabhat University,
Nai Muang, Muang, Nakhon Ratchasima 30000

Wichai Soemphol^A

Department of Biotechnology, Faculty of Technology, Khon Kaen University,
Nai Muang, Muang, Khon Kaen 40002

บทคัดย่อ

สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดเพกตินจากเปลือกมะกรูด ซึ่งเป็นสภาวะที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม โดยใช้ น้ำกลั่นและคลื่นไมโครเวฟช่วยสกัด และประยุกต์ใช้วิธีพื้นผิวตอบสนองสำหรับการออกแบบการทดลอง ซึ่ง ประกอบด้วย 3 ปัจจัย ที่มีผลต่อร้อยละของปริมาณเพกติน ได้แก่ อุณหภูมิที่ใช้สกัด (90 ถึง 120 องศาเซลเซียส) เวลาที่ใช้สกัด (10 ถึง 120 นาที) และอัตราส่วนน้ำกลั่นต่อผงมะกรูด (40 : 1 ถึง 80 : 1 มิลลิลิตรต่อกรัม) ผลการ ทดลองพบว่าปริมาณเพกตินที่ได้จากการทำนายโดยแบบจำลองในสภาวะที่เหมาะสม (เวลา 13.34 นาที อุณหภูมิ 98.21 องศาเซลเซียส และอัตราส่วนของเหลวต่อของแข็ง 71.85 มิลลิลิตรต่อกรัม) มีค่าร้อยละ 20.18 โดยน้ำหนัก

^AFermentation Research Center for Value Added Agricultural Products, Khon Kaen University, Nai Muang, Muang, Khon Kaen 40002

*ผู้รับผิดชอบบทความ : Varavut12@gmail.com

และมีค่าต่ำกว่าการทดลองจริง (ร้อยละ 20.66 โดยน้ำหนัก) ซึ่งเพกตินที่ได้นั้นเป็นเพกตินที่มีปริมาณเมทอกซิลต่ำ (ร้อยละ 6.34) จากการตรวจสอบสเปกตรัม FTIR ของเพกตินจากเปลือกมะกรูดพบว่าเพกตินที่ได้มีความคล้ายคลึงกับเพกตินมาตรฐาน ดังนั้นจะเห็นได้ว่ามะกรูดเป็นแหล่งวัตถุดิบที่มีศักยภาพ สามารถนำมาใช้ในการผลิตเพกติน อีกทั้งการสกัดเพกตินด้วยน้ำกลั่นโดยใช้คลื่นไมโครเวฟช่วย สามารถใช้ในการผลิตเพกตินที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

คำสำคัญ : เพกติน เปลือกมะกรูด สภาวะเหมาะสม ไมโครเวฟ

Abstract

The optimization of pectin extraction from Kaffir lime (*Citrus hystrix*) peel by microwave-assisted aqueous extraction for environmentally friendly pectin was investigated in this study. The response surface methodology (RSM) was applied for the experiment with 3 factors, which affected pectin yield (%), i.e., extraction temperature (90-120 °C), extraction time (10-20 min) and liquid-solid ratios (40: 1 to 80: 1 mL/g). The results demonstrated that pectin yield predicted under the optimum extraction condition (time; 13.34 min, temperature; 98.21 °C and liquid-solid ratio; 71.85 mL/g) was obtained at 20.18 % (w/w), and was lower than the experimental value (20.66 % w/w). Moreover, pectin obtained from Kaffir lime peel can be classified as low methoxyl pectin (6.34 %). The FTIR spectrum of the obtained pectin was similar to that of the standard of pectin. Hence, Kaffir lime is a potential raw material for pectin production. Besides, the aqueous extraction by microwave-assisted aqueous extraction can be used for a green pectin production.

Keywords: pectin; Kaffir lime; optimization; microwave

1. บทนำ

เพกตินเป็นพอลิเมอร์ธรรมชาติที่พบมากในผนังเซลล์พืชและรอยต่อระหว่างผนังเซลล์ ในชั้นลามลลาส่วนกลาง (middle lamella) โดยรวมตัวอยู่กับเซลลูโลส ทำหน้าที่ยึดเกาะผนังเซลล์ให้ติดกันคล้ายเป็นซีเมนต์ [1] โดยที่โครงสร้างของเพกตินเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีโครงสร้างหลัก ประกอบไปด้วยกรดกาแลคทูโรนิก (D-galacturonic acid) และเมทิลการแลคทูโรเนตและน้ำตาลหลายชนิด ได้แก่ แรมโนสกาแลกโทส อะราบิโนส เป็นต้น [2] โครงสร้างของเพกตินเป็นพอลิเมอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง เกาะกันแน่นอยู่ในชั้นของผนังเซลล์ ซึ่งผนังเซลล์จะเป็นส่วนที่

ป้องกันการปล่อยปล่อยเพกตินออกมานอกเซลล์ จำเป็นต้องใช้วิธีการสกัดที่เหมาะสมในการสกัด โดยปกติแล้วกระบวนการสกัดเพกตินนั้นจะใช้ความร้อนและกรดในการสกัด เช่น กรดไฮโดรคลอริก กรดซัลฟิวริก กรดซिटริก ซึ่งในการสกัด กรดที่หลงเหลืออยู่ในกระบวนการสกัดนั้นจำเป็นต้องนำกลับมาบำบัดก่อนจะปล่อยสู่สิ่งแวดล้อม การสกัดโดยใช้น้ำกลั่นเป็นวิธีการที่มีการศึกษาเพื่อหลีกเลี่ยงการใช้ตัวทำละลายเคมีสำหรับการนำมาใช้ในการสกัดเพกตินที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม เช่น การใช้น้ำสกัดในสภาวะยิ่งยวด (supercritical water extraction method) [3,4] การใช้คลื่นเสียงช่วย (ultrasound assisted method)

[5,6] และการสกัดด้วยน้ำกลั่นโดยใช้คลื่นไมโครเวฟช่วย (microwave assisted method) [5,7,8] วิธีการเหล่านี้สามารถลดการใช้สารเคมี เป็นกระบวนการสกัดเพกทินแบบสะอาด (green extraction) ซึ่งปัจจุบันทั่วโลกให้ความสำคัญและมีการศึกษาเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ เพื่อหลีกเลี่ยงการใช้สารเคมีในการผลิต [9]

สำหรับการสกัดสารโดยใช้คลื่นไมโครเวฟช่วยสกัดนั้น เป็นวิธีที่น่าสนใจเนื่องจากเป็นเทคนิคที่สามารถสกัดสารได้อย่างรวดเร็ว โดยอาศัยประสิทธิภาพจากการสั่นสะเทือนของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า ทำให้สารละลายเกิดการหมุนหรือสั่นและเกิดความร้อนที่กระจายตัวไปยังตัวทำละลาย ทำให้มีผลต่อเนื้อเยื่อของวัตถุดิบและมีผลต่อการละลายของสารละลายที่ต้องการออกมา ซึ่งใช้ปริมาณตัวทำละลายและพลังงานน้อย แต่ให้ปริมาณสารสกัดที่สูงและมีประสิทธิภาพ [10] อย่างไรก็ตาม การสกัดแต่ละวิธีจำเป็นต้องมีการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัด เพื่อให้ได้เพกทินที่มีปริมาณและคุณภาพสูง คุ่มค่าแก่การผลิตในอนาคต

สำหรับการผลิตเพกทินนั้นวัตถุดิบที่นำมาผลิตเพกทินเป็นอีกปัจจัยที่มีความสำคัญ โดยปัจจุบันวัตถุดิบที่นำมาผลิตเพกทินนั้นจะได้จากแอปเปิ้ลและพีชตระกูลส้ม [11,12] ซึ่งในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้โดยเฉพาะประเทศไทยมีพีชตระกูลส้มที่มีศักยภาพในการนำมาใช้เป็นแหล่งของเพกทิน เช่น มะกรูด เนื่องจากมะกรูดนั้นเป็นพืชที่นำมาใช้ในการประกอบอาหารในรูปแบบเครื่องเทศโดยใช้ส่วนของใบรวมทั้งการนำมาใช้ในการสกัดน้ำมันหอมระเหยต่างๆ [13] และส่วนใหญ่จะใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางสำหรับส่วนของน้ำและเปลือกมะกรูดนั้นจะไม่นิยมนำมาใช้สำหรับการประกอบอาหาร เนื่องจากเปลือกของมะกรูดมีรสชาติขมและมีกลิ่นฉุนไม่เหมาะต่อการประกอบอาหาร ซึ่งทำให้เกิดเป็นของเหลือทิ้ง [14] โดยเปลือกของมะกรูดเป็นส่วนประกอบที่มีเพกทิน

สะสมอยู่ [15,16] ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีการนำเปลือกมะกรูดมาใช้เป็นวัตถุดิบในการสกัดเพกทิน โดยมีการใช้น้ำกลั่นเป็นตัวสกัด โดยที่มีการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดเพกทินประกอบด้วยเวลาการสกัด อุณหภูมิ และอัตราส่วนของวัตถุดิบต่อสารที่ใช้สกัด รวมทั้งเทคนิคที่ใช้ในการสกัดด้วยเทคนิคการสกัดด้วยไมโครเวฟ ซึ่งเป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพในการสกัดสาร หาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดด้วยการออกแบบการทดลองโดยใช้วิธีพื้นผิวตอบสนอง (response surface methodology, RSM) ซึ่งเป็นวิธีทางสถิติที่นำมาใช้ในการออกแบบการทดลองและศึกษาความสัมพันธ์ของตัวแปรอิสระที่มีต่อตัวแปรตอบสนอง อีกทั้งยังสามารถพัฒนาแบบจำลองทางคณิตศาสตร์และหาระดับของตัวแปรอิสระที่ให้ค่าตอบสนองสูงที่สุด นอกจากนี้ยังให้ความแม่นยำของสมการแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ ซึ่งเทคนิคนี้มีประโยชน์ต่อการพัฒนากระบวนการ สามารถลดจำนวนการทดลอง ลดต้นทุนการผลิตและหาสภาวะที่เหมาะสมจากหลาย ๆ ปัจจัยเพื่อให้ได้ปริมาณสารสกัดมากที่สุด [10] และที่สำคัญเพื่อให้ได้วิธีการสกัดที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม รวมทั้งลดการใช้สารเคมีในการสกัดด้วย

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 การเตรียมตัวอย่างเปลือกมะกรูด

เก็บตัวอย่างผลมะกรูดแก่จัดในช่วงเดือนมิถุนายนถึงกรกฎาคม พ.ศ. 2561 จากอำเภอด่านขุนทด จังหวัดนครราชสีมา มะกรูดที่ได้จะนำมาปอกเปลือกโดยใช้เฉพาะส่วนของเยื่อสีขาว แล้วล้างน้ำทำความสะอาด รอให้สะเด็ดน้ำและผึ่งแดดให้แห้ง ซึ่งจะใช้เวลาประมาณ 3-4 วัน จากนั้นนำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนกระทั่งมีน้ำหนักคงที่ บดให้ละเอียด ร่อนผ่านตะแกรงลวดขนาด 80 mesh แล้วเก็บไว้ในถุงพลาสติกพอลิเอทิลีนที่ปิดปากถุงมิดชิด

เพื่อใช้ตลอดการทดลอง

2.2 การศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมในการสกัดเพกตินจากมะกรูดโดยใช้คลื่นไมโครเวฟ

ตารางที่ 1 ข้อมูลแต่ละปัจจัยจะนำมาออกแบบการทดลองโดยใช้โปรแกรม Design-expert software (Trial version 7.0.0, Stat-Ease, Inc.) โดยออกแบบการทดลองด้วยวิธีพื้นผิวตอบสนอง (response surface methodology) แบบส่วนประสมกลาง (central composite design, CCD) โดยมีปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดเพกตินทั้งหมด 3 ปัจจัย ได้แก่ อัตราส่วนระหว่างน้ำกลั่นและผงมะกรูด อุณหภูมิ และเวลาที่ใช้สกัด ซึ่งแต่ละปัจจัยจะมี 5 ระดับ มีการทดลองทั้งหมด 20 การทดลอง โดยใช้ร้อยละผลผลิตเพกตินที่ได้จากการสกัดเป็นค่าตอบสนองของการทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 2 และเมื่อเสร็จสิ้นการทดลองทั้งหมด นำสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากการทำนายจากแบบจำลอง (model) มาทดลองอีกครั้งเพื่อทดสอบความเหมาะสมของโมเดลที่ได้จากการออกแบบการทดลอง

2.2.1 การสกัดเพกตินจากน้ำกลั่นด้วยเครื่องไมโครเวฟ

กระบวนการสกัดเพกตินจากเปลือกมะกรูดนั้น จะนำผงมะกรูดที่ได้จากขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างในข้อ 2.1 โดยใช้อัตราส่วนระหว่างน้ำกลั่น

และผงมะกรูดตั้งแต่ 23.36 ต่อ 1 ถึง 93.64 ต่อ 1 (มิลลิลิตรต่อกรัม) โดยซึ่งผงมะกรูด 0.43-1.00 กรัม ใส่ในหลอดขนาด 60 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปริมาตร 40 มิลลิลิตร แล้วสกัดเพกตินโดยใช้เครื่องย่อยด้วยคลื่นไมโครเวฟ (Speedwave Xpert DAP-60X, Berghof Group, Germany) อุณหภูมิ 79.77-130.23 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 23.26-93.64 นาที ดังตารางที่ 2 จากนั้นนำสารละลายไปตกตะกอนเพกตินต่อไป

2.2.2 การตกตะกอนเพกติน

นำสารละลายที่ได้จากขั้นตอนการสกัดเพกตินในข้อ 2.2.1 มาตกตะกอนด้วยเอทานอลเย็น ความเข้มข้นร้อยละ 95 โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วน 1:2 ใช้แท่งแก้วคนให้ทั่ว ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอนที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นนำของผสมไปหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ตกตะกอนเพกตินที่ได้นำไปทำให้แห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนกว่าน้ำหนักคงที่ (ปรับปรุงจากวิธีของ Pasandide และคณะ [8]) จากนั้นคำนวณร้อยละผลผลิตเพกตินที่ได้ในแต่ละสภาวะ ดังสมการที่ 1

$$Y_{pec} (\%) = 100 \times (P \div Bi) \quad (1)$$

เมื่อ Y_{pec} คือ ร้อยละผลผลิตของเพกติน; P คือ น้ำหนักรวมของเพกตินที่สกัดได้ (กรัม); Bi คือ น้ำหนักของผง

Table 1 Independent factor values of extraction time, extraction temperature and liquid: solid ratio for pectin extraction from Kaffir lime (*Citrus hystrix*) peel by microwave-assisted.

Factors	Factor levels				
	$-\alpha$ (-1.682)	-1	0	+1	$+\alpha$ (+1.682)
(A) Extraction time (min)	6.59	10	15	20	23.41
(B) Extraction temperature (°C)	79.77	90	105	120	130.23
(C) Liquid : Solid ratio (mL/g)	23.36	40	60	80	93.64

Table 2 Central composite design (CCD) experimental design with results

Runs	Factors			Responses
	Extraction times (min)	Extraction temperatures (°C)	Liquid : Solid ratio (mL/g)	Pectin yield (%)
1	15.00	105.00	93.64	19.49
2	15.00	130.23	60.00	5.40
3	10.00	120.00	40.00	10.80
4	10.00	90.00	40.00	13.76
5	20.00	120.00	40.00	8.70
6	15.00	105.00	60.00	16.05
7	10.00	120.00	80.00	10.28
8	20.00	90.00	40.00	17.42
9	15.00	105.00	60.00	20.08
10	15.00	79.77	60.00	13.01
11	15.00	105.00	60.00	19.49
12	20.00	120.00	80.00	8.77
13	15.00	105.00	60.00	19.22
14	10.00	90.00	80.00	19.36
15	15.00	105.00	60.00	17.63
16	6.59	105.00	60.00	16.51
17	20.00	90.00	80.00	17.71
18	23.41	105.00	60.00	17.59
19	15.00	105.00	26.36	11.50
20	15.00	105.00	60.00	19.40

มะกรูดที่ใช้ในการสกัด (กรัม)

2.3 การวิเคราะห์สมบัติทางเคมีของเพกทิน

2.3.1 วิเคราะห์หาน้ำหนักสมมูลของเพกทิน

ซึ่งเพกทิน 0.50 กรัม และเติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพูนขนาด 250 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นเติมโซเดียมคลอไรด์ 1.00 กรัม หยดอินดิเคเตอร์ฟีนอลเรด 6 หยด นำสารละลายไปไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.10 นอร์มอล จนกระทั่งสารละลายถึงจุดยุติ

แล้วคำนวณหาน้ำหนักสมมูลตามสมการที่ 2 [16]

$$\text{Equivalent weight} = 1000S \div NV \quad (2)$$

เมื่อ S คือ น้ำหนักของผงเพกทินที่ใช้ (กรัม); N คือ จำนวนนอร์มอลิตีของเบสที่ใช้ในการไทเทรต (นอร์มอล); V คือ ปริมาณของเบสในการไทเทรต (มิลลิลิตร)

2.3.2 การวิเคราะห์หาปริมาณเมทอกซิล สารละลายที่ผ่านการหาน้ำหนักสมมูลแล้วนำมาเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.25 นอร์มอล จำนวน 25 มิลลิลิตร จนได้สารละลายสีม่วง จากนั้นปิดปากขวดรูปชมพู่แล้วตั้งทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที เติม

สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.25 นอร์มอล ปริมาตร 25 มิลลิลิตร เขย่าจนกระทั่งสาร ละลาย เปลี่ยนสีจากสีม่วงเป็นสีเหลือง นำสารละลายที่ได้ไปไทเทรตด้วยสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.10 นอร์มอล จนกระทั่งถึงจุดยุติ แล้วคำนวณหาปริมาณเมทอกซิลดั่งสมการที่ 3 [16]

$$\text{Methoxyl content} = (\text{NVE} \div 1000\text{S}) \times 100 \quad (3)$$

เมื่อ N คือ จำนวนนอร์มอลิตีของเบสที่ใช้ในการไทเทรต (นอร์มอล); V คือ ปริมาตรของเบสในการไทเทรต (มิลลิลิตร); E คือ ค่าคงที่น้ำหนักสมมูลของเมทอกซิล (เท่ากับ 31); S คือ น้ำหนักของผงเพกตินที่ใช้ (กรัม)

หลังจากได้ปริมาณเมทอกซิลแล้ว นำข้อมูลที่ได้ไปเปรียบเทียบกับตารางความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเมทอกซิลและร้อยละการเกิดเอสเทอร์

2.4 การวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของเพกตินด้วยเทคนิคอินฟราเรด

วิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของเพกตินที่ได้จากการทดลอง โดยวิเคราะห์เปรียบเทียบระหว่างเปลือกมะกรูดและเพกตินมาตรฐาน (pectin pure, Loba Chemie Pvt. Ltd., India) ด้วยเครื่องวิเคราะห์สารด้วยเทคนิคอินฟราเรด (Fourier-transform infrared spectroscopy, FTIR) ที่ช่วงเลขคลื่น 4,000-700 ต่อเซนติเมตร โดยวิเคราะห์แบบ ATR (attenuated total reflection) ซึ่งมีค่าความละเอียดในการแยกสเปกตรัม (resolution) 4 ต่อเซนติเมตร และจำนวนสแกน 64

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

3.1 สภาพที่เหมาะสมสำหรับการสกัดเพกตินจากเปลือกมะกรูดโดยใช้ไมโครเวฟช่วยสกัด

การสกัดเพกตินจากเปลือกมะกรูดโดยใช้ไมโครเวฟช่วยสกัดทั้ง 20 การทดลอง ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าปริมาณเพกตินที่สกัดได้ คือ ร้อยละ 5.40-

20.08 โดยน้ำหนัก เมื่อนำผลที่ได้มาวิเคราะห์พบว่าการทดลองนี้สามารถสร้างแบบจำลองที่เหมาะสม (model fit) เป็นสมการกำลังสอง (quadratic model) ดั่งสมการที่ 4 โดยแบบจำลองที่ได้มีค่า p-value < 0.0001 และยังพบว่าความไม่สมบูรณ์ของข้อมูล (lack of fit) ไม่มีผลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p > 0.05) รวมทั้งมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจที่ยอมรับได้ ($R^2 = 0.9322$) ดังแสดงในตารางที่ 3 จากผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าสมการกำลังสองที่ได้ สามารถใช้ทำนายปริมาณเพกตินที่ได้จากการสกัดโดยใช้เครื่องไมโครเวฟช่วย ซึ่งจากสมการและข้อมูลที่ได้นี้สามารถนำมาสร้างกราฟพื้นผิวตอบสนอง ดังแสดงในรูปที่ 1

$$\text{Pectin yield (\%)} = 18.99 + 0.015A - 3.11B + 1.38C - 0.70AB - 0.59AC - 0.79BC - 0.74A^2 - 3.51B^2 - 1.29C^2 \quad (4)$$

รูปที่ 1a แสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลของอุณหภูมิและเวลาที่ใช้เครื่องไมโครเวฟในการสกัดเพกตินจากเปลือกมะกรูดด้วยน้ำกลั่น โดยกำหนดให้อัตราส่วนระหว่างน้ำกลั่นกับผงมะกรูดอยู่ที่ระดับกลาง จะเห็นได้ว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการสกัด ปริมาณผลได้ของเพกตินจะสูงขึ้น โดย Pasandide และคณะ [8] รายงานว่าการเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดเพกตินจะทำให้เพกตินสามารถละลายและแพร่ออกมาจากเนื้อเยื่อพืชสู่ตัวทำละลายได้มากขึ้น จนถึงอุณหภูมิระดับหนึ่ง ปริมาณเพกตินจะลดลง เมื่ออุณหภูมิในการสกัดเพกตินสูงขึ้น อาจทำให้โครงสร้างโมเลกุลเพกตินถูกทำลายและมีมวลโมเลกุลต่ำลง ทำให้เมื่อนำไปตกตะกอนเพกตินไม่สามารถจับรูป [17] เมื่อพิจารณาผลของการเพิ่มอัตราส่วนระหว่างผงมะกรูดกับน้ำกลั่นที่ใช้สกัดและเวลาที่ใช้เครื่องไมโครเวฟในการสกัดเพกตินจากเปลือกมะกรูดด้วยน้ำกลั่น โดยกำหนดให้อุณหภูมิของการสกัดอยู่ที่ระดับกลาง พบว่าการเพิ่ม

Table 3 ANOVA results for extraction yield of pectin

Sources	Sum of Squares	df	Mean Square	F-values	p-values	Remark
Model	361.77	9	40.20	15.28	< 0.0001	significant
A-time	3.225E-003	1	3.225E-003	1.23E-003	0.9728	
B-temperature	132.21	1	132.21	50.26	< 0.0001	
C-ratio	26.06	1	26.06	9.91	0.0104	
AB	3.93	1	3.93	1.50	0.2494	
AC	2.77	1	2.77	1.05	0.3288	
BC	5.04	1	5.04	1.92	0.1964	
A ²	7.86	1	7.86	2.99	0.1147	
B ²	177.55	1	177.55	67.49	< 0.0001	
C ²	23.90	1	23.90	9.09	0.0130	
Residual	26.31	10	2.63			
Lack of fit	21.94	5	4.39	5.03	0.0505	not significant
Pure error	4.37	5	0.87			
Core total	388.08	19				
R ²	0.9322					

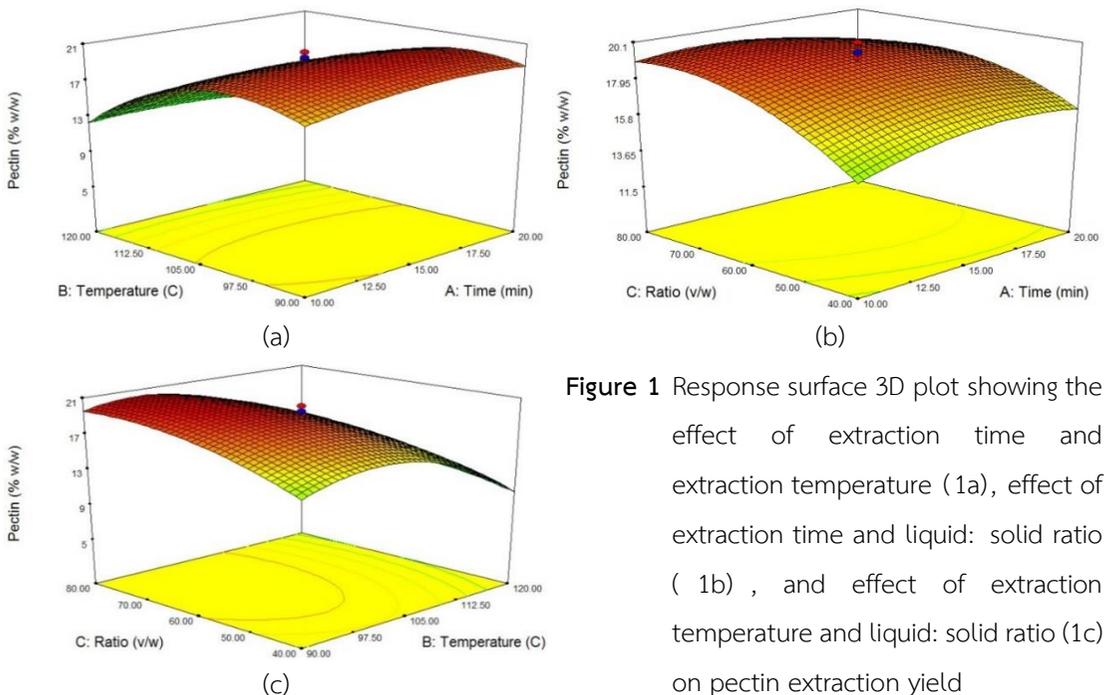


Figure 1 Response surface 3D plot showing the effect of extraction time and extraction temperature (1a), effect of extraction time and liquid: solid ratio (1b) , and effect of extraction temperature and liquid: solid ratio (1c) on pectin extraction yield

อัตราส่วนของผงมะกรูดที่ใช้ในกระบวนการสกัดนั้น ปริมาณเพกตินที่ได้จะมีปริมาณเพิ่มขึ้นด้วย ซึ่งการเพิ่มอัตราส่วนระหว่างน้ำกลั่นและผงมะกรูดนั้น ทำให้ปริมาณเพกตินที่สกัดได้มากขึ้นเช่นกัน ดังแสดงในรูปที่ 1b ซึ่งอาจเนื่องมาจากการเพิ่มอัตราส่วนดังกล่าวทำให้ผงมะกรูดมีการสัมผัสกับน้ำกลั่นเพิ่มมากขึ้น และทำให้สารละลายสามารถละลายเพกตินออกมาจากเนื้อเยื่อพืชได้มากขึ้นเช่นกัน [15,18] แต่เมื่อพิจารณาการเพิ่มเวลาในการสกัดพบว่าการเพิ่มเวลาในการสกัด 6.59-23.41 นาที จากรูปที่ 1a ถึง 1c นั้น ปริมาณเพกตินที่สกัดได้จะมีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย ซึ่งจากผลทางสถิติโดยรวมในตารางที่ 3 พบว่าปัจจัยของเวลาที่ใช้สกัด (A) ไม่มีผลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value = 0.9728) แต่อุณหภูมิ (B) และอัตราส่วนระหว่างน้ำกลั่นกับผงมะกรูด (C) ที่ในการสกัดเพกตินจากเปลือกมะกรูดด้วยน้ำกลั่นนั้น มีผลต่อปริมาณผลได้ของเพกตินอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า p -value < 0.0001 และ 0.0104 ตามลำดับ ซึ่งเมื่อนำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาสร้างกราฟพื้นผิวตอบ สองระหว่างอุณหภูมิและอัตราส่วนระหว่างน้ำกลั่นกับผงมะกรูด โดยกำหนดให้เวลาที่ใช้เครื่องไมโครเวฟในการสกัดเพกตินอยู่ที่ระดับกลาง จะเห็นได้ว่าการเพิ่มอุณหภูมิและอัตราส่วนระหว่างน้ำกลั่นกับผงมะกรูดจะทำให้ปริมาณเพกตินที่สกัดได้มีปริมาณเปลี่ยนแปลงไป ดังแสดงในรูปที่ 1c

3.2 การตรวจสอบความเหมาะสมของแบบจำลอง

สถานะที่เหมาะสมในการสกัดเพกตินจากเปลือกมะกรูดโดยใช้ไมโครเวฟช่วยที่ได้จากแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ คือ อัตราส่วนระหว่างน้ำกลั่นและผงมะกรูด 71.85 (มิลลิลิตรต่อกรัม) อุณหภูมิ 98.21 องศาเซลเซียส โดยใช้เวลาในการสกัดด้วยไมโครเวฟทั้งสิ้น 13.34 นาที ซึ่งมีค่าผลได้ของปริมาณเพกติน

จากการทำนายโดยใช้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์คิดเป็นร้อยละ 20.18 โดยน้ำหนัก เมื่อนำสภาวะดังกล่าวมาทดลองจริง พบว่าสามารถให้ผลผลิตเพกตินร้อยละ 20.66 โดยน้ำหนัก ดังแสดงในตารางที่ 4 โดยค่าที่ได้จากการทดลองจริงมีค่ามากกว่าค่าที่ได้จากการทำนายคิดเป็นร้อยละ 2.38 ซึ่งมีค่าไม่เกินร้อยละ 5.00 แสดงให้เห็นว่าสมการที่ได้จากทำนายโดยแบบจำลองมีความน่าเชื่อถือ [19] และนำมาทำนายผลผลิตเพกตินที่ได้จากการสกัดเพกตินจากเปลือกมะกรูดโดยใช้ไมโครเวฟช่วยในการทดลองนี้ได้

ตารางที่ 4 ค่าผลผลิตเพกตินที่ได้จากสภาวะที่เหมาะสมจากการทดลอง (20.66 %w/w) ซึ่งจากค่าร้อยละผลผลิตที่ได้จากการทดลองนี้พบว่ามีปริมาณมากกว่าการทดลองของ ทิพย์ธิดา และคณะ [20] ที่สกัดเพกตินโดยใช้น้ำกลั่นต่อผงมะกรูดที่อัตราส่วน 14 มิลลิลิตร ต่อผงมะกรูด 1 กรัม ในอ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที โดยให้ผลผลิตเพกตินร้อยละ 6.51 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการใช้ไมโครเวฟช่วยในการสกัดนี้มีประสิทธิภาพมากกว่าการใช้อ่างน้ำร้อนในการสกัด ทั้งนี้เมื่อพิจารณาสมบัติของเพกตินที่ได้จากการทดลองนี้พบว่าเมื่อนำผงมะกรูด (รูปที่ 2a) มาสกัดโดยใช้น้ำกลั่นโดยใช้สภาวะที่ได้จากแบบจำลอง เพกตินที่ได้มีลักษณะแสดงในรูปที่ 2b เมื่อนำมาวิเคราะห์สมบัติทางเคมีพบว่าเพกตินมีน้ำหนักสมมูล 3917.73 ซึ่งมีค่ามากกว่าเพกตินจากเปลือกมะกรูดที่ได้จากงานวิจัยของ ทิพย์ธิดา และคณะ [20] โดยมีน้ำหนักสมมูล 1261.54 และมากกว่าการศึกษาของ Shaha และคณะ [15] (น้ำหนักสมมูล 735) ที่มีการสกัดเพกตินจากเปลือกมะกรูดโดยใช้กรดไฮโดรคลอริกที่มี pH 1.5 โดยใช้อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เมื่อพิจารณาร้อยละการเกิดเอสเทอร์ของเพกตินที่ได้จากการทดลองนี้มีค่าร้อยละ 38.84 และคำนวณร้อยละปริมาณเมทอกซิลได้ 6.34 ซึ่ง

เพกทินที่ได้เป็นเพกทินที่มีเมทอกซิลต่ำ สามารถเกิดเจลในอุณหภูมิห้องเมื่อมีการเติมไอออนของโลหะบางชนิดหรือน้ำตาล ซึ่งปัจจุบันการผลิตเพกทินในระดับ

อุตสาหกรรมให้ความสนใจในการผลิตเพกทินชนิดนี้มากขึ้น เนื่องจากสมบัติในการเกิดเจลของเพกทินชนิดนี้เหมาะสำหรับนำมาใช้ผลิตอาหารแคลลอรี่ต่ำ [21]

Table 4 Validation results at optimum conditions

Optimum conditions	Pectin yield (%)		Bias (%)
	Optimized data (Predicted)	Experimental data*	
(A) Extraction time = 13.34 min	20.18	20.66±0.11	2.38
(B) Extraction temperature = 98.21 °C			
(C) Liquid : Solid ratio = 71.85 mL/g			

* Mean ± standard deviation of triplicate determinations from experiments.

3.3 การตรวจสอบหมู่ฟังก์ชันของเพกทินด้วยเทคนิคอินฟราเรด

การตรวจสอบหมู่ฟังก์ชันของเพกทินที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำโดยใช้คลื่นไมโครเวฟช่วยสกัด โดยเปรียบเทียบกับเพกทินมาตรฐานและผงเปลือกมะกรูดก่อนการนำไปสกัด ซึ่งการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง FT-IR โดยใช้โหมด ATR (attenuated total reflection) ผลการวิเคราะห์แสดงดังรูปที่ 3 สเปกตราที่พบในเลขคลื่น 1,748-1,532 ต่อเซนติเมตร แสดงถึงหมู่เมทิล (CH₂) ซึ่งเป็นส่วนของเซลลูโลสที่เป็นองค์ประกอบในเนื้อเยื่อพืช โดยความเข้มของสเปกตราในผงเปลือกมะกรูดจะมีความเข้มสูงสุด รองลงมาเป็นเพกทินจากการสกัดด้วยน้ำกลั่นโดยใช้คลื่นไมโครเวฟช่วย และสเปกตราจะพบต่ำสุดจากเพกทินบริสุทธิ์ เช่นเดียวกันกับการลดลงของความเข้มสเปกตราที่เลขคลื่น 2,985 ต่อเซนติเมตร (C-H stretching vibration) และ 2,885 ต่อเซนติเมตร (methoxyl group) โดยความเข้มของสเปกตราที่ลดลงเนื่องจากองค์ประกอบของไขมันและบางส่วนของลิกนินถูกกำจัดไปในกระบวนการสกัด [22] กรณีของแถบสเปกตราในช่วง 1,700-1,610 ต่อเซนติเมตร จะแสดงหมู่คาร์บอนิล (C=O) ของเพกทิน หมู่แอลกอฮอล์

(O-H) ให้แถบกว้างและความเข้มสูงมากในช่วง 3,561-3,166 ต่อเซนติเมตร และหมู่ (C-H) จะแสดงแถบสเปกตราในช่วง 1,000-1,400 ต่อเซนติเมตร ตามลำดับ [23]



Figure 2 Kaffir lime peel powder (a) and pectin extracted from Kaffir lime peel using microwave assisted under optimal condition (b)

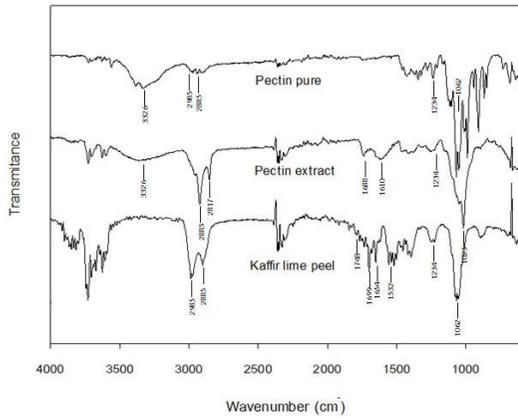


Figure 3 Fourier transform infrared spectra of kaffir lime peel pectin extracted under optimal extraction conditions, pectin pure and kaffir lime peel

4. สรุป

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดเพกตินจากเปลือกมะกรูดโดยการใช้ น้ำกลั่นสกัด และใช้คลื่นไมโครเวฟช่วยในกระบวนการสกัดเพื่อเพิ่มความร้อนให้แก่ระบบ ซึ่งเป็นกระบวนการสกัดเพกตินที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม เนื่องจากเป็นกระบวนการที่ไม่ใช้กรดในการสกัด สภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ โดยการออกแบบการทดลองด้วยวิธีพื้นผิวตอบสนอง คือ ใช้เวลาในการสกัด 13.34 นาที ที่อุณหภูมิ 98.21 องศาเซลเซียส และอัตราส่วนของเหลวต่อของแข็ง 71.85 มิลลิลิตรต่อกรัม สามารถสกัดเพกตินได้ร้อยละ 20.66 โดยน้ำหนัก ซึ่งมีปริมาณมากกว่าค่าจากการทำนายจากแบบจำลอง (ร้อยละ 20.18 โดยน้ำหนัก) โดยมีค่าอคติร้อยละ 2.38 แสดงให้เห็นว่าแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่ได้จากการทดลองนี้มีความเหมาะสมแก่การนำไปใช้สกัดเพกตินจากเปลือกมะกรูดด้วยน้ำกลั่นโดยใช้คลื่นไมโครเวฟช่วย ซึ่งเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพและสามารถนำมาใช้ผลิตเพกตินเพื่อใช้สำหรับอุตสาหกรรมอาหารใน

อนาคต นอกจากนี้ยังแสดงให้เห็นว่ามะกรูดเป็นแหล่งวัตถุดิบที่มีศักยภาพสามารถนำมาผลิตเพกตินที่มีมูลค่าสูงขึ้นได้อย่างมีประสิทธิภาพ

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ สาขาวิชาเคมี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และเครื่องมือสำหรับการทำวิจัยจนเสร็จสิ้น และขอบคุณ นางสาวหนึ่งฤทัย จ่านงบุญ นางสาวอารีย์ เทียบโพธิ์ และนางสาวพานิดา มุ่งสระกลาง นักศึกษาหลักสูตรครุศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี และนางสาวชัตติยาพร มุขกระโทก และนางสาวชลดา จอมสระน้อย นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา สำหรับการจัดหาตัวอย่างและการเตรียมตัวอย่างมะกรูดในการทดลอง

6. References

- [1] Adetunji, L.R., Adekunle, A., Orsat, V. and Raghavan, V. , 2017, Advances in the pectin production process using novel extraction techniques: A review, *Food Hydrocoll.* 62: 239-250.
- [2] Mohnen, D., 2008, Pectin structure and biosynthesis, *Curr. Opin. Plant Biol.* 11: 266-277.
- [3] Chen, H.M., Fu, X. and Luo, Z.G., 2015, Properties and extraction of pectin-enriched materials from sugar beet pulp by ultrasonic- assisted treatment combined with subcritical water, *Food Chem.* 168: 302-310.
- [4] Liew, S.Q., Teoh, W.H., Yusoff, R. and Ngoh, G.C., 2019, Comparisons of process

- intensifying methods in the extraction of pectin from pomelo peel, Chem. Eng. Process. 143: 107586.
- [5] Bagherian, H., Zokaee Ashtiani, F., Fouladitajar, A. and Mohtashamy, M., 2011, Comparisons between conventional, microwave- and ultrasound-assisted methods for extraction of pectin from grapefruit, Chem. Eng. Process. Process Intensificat. 50: 1237-1243.
- [6] de Oliveira, C.F., Giordani, D., Lutckemier, R., Gurak, P.D., Cladera-Olivera, F. and Marczak, L.D.F., 2016, Extraction of pectin from passion fruit peel assisted by ultrasound, LWT Food Sci. Technol. 71: 110-115.
- [7] Wang, Y., Leng, F., Liu, X., Zhang, W. and Yang, M. , 2014, Optimization of microwave-assisted extraction of water-soluble polysaccharides from piteguo fruit by response surface methodology, Food Sci. Technol. Res. 20: 755-764.
- [8] Pasandide, B., Khodaiyan, F., Mousavi, Z.E. and Hosseini, S.S. , 2017, Optimization of aqueous pectin extraction from *Citrus medica* peel, Carbohydr. Polym. 178: 27-33.
- [9] Zuin, V.G. and Ramin, L.Z. , 2018, Green and sustainable separation of natural products from agro- industrial waste: Challenges, potentialities, and perspectives on emerging approaches, Top. Curr. Chem. 376: 3.
- [10] Narkprasom, K. , Varith, J. , Upara, U. , Tanongkankit, Y. and Narkprasom, N. , 2017, Optimized extraction of total phenolic compounds from *Nelumbo nucifera* Gaertn using microwave assisted extraction (MAE), KKU Sci. J. 45(2): 328-342. (in Thai)
- [11] Tuan, N.T., Dang, L.N., Huong, B.T.C. and Danh, L.T. , 2019, One step extraction of essential oils and pectin from pomelo (*Citrus grandis*) peels, Chem. Eng. Process. 142: 107550.
- [12] Wang, Y.C. , Chuang, Y.C. and Hsu, H.W. , 2008, The flavonoid, carotenoid and pectin content in peels of citrus cultivated in Taiwan, Food Chem. 106: 277-284.
- [13] Tunjung, W.A.S. , Cinatl, J. , Michaelis, M. and Smales, C.M., 2015, Anti-cancer effect of kaffir lime (*Citrus Hystrix* DC) leaf extract in cervical cancer and neuroblastoma cell lines, Proc. Chem. 14: 465-468.
- [14] Lubinska- Szczygeł, M. , Róžańska, A. , Dymerski, T., Namieśnik, J., Katrich, E. and Gorinstein, S. , 2018, A novel analytical approach in the assessment of unprocessed Kaffir lime peel and pulp as potential raw materials for cosmetic applications, Ind. Crops. Prod. 120: 313-321.
- [15] Shaha, R.K. , Punichelvana, Y.N.A.P. and Afandi, A. , 2013, Optimized extraction condition and characterization of pectin

- from kaffir lime (*Citrus hystrix*), Res. J. Agric. Forest. Sci. 1: 1-11.
- [16] Handee, J., Soemphol, W. and Tanamool, V., 2016, Optimization of pectin extraction from Kaffir limes peel, pp. 401- 408, National and International Graduate Research Conference 2016, Khon Kaen University, Khon Kaen. (in Thai)
- [17] Matharu, A. S. , Houghton, J. A. , Lucas-Torres, C. and Moreno, A., 2016, Acid-free microwave- assisted hydrothermal extraction of pectin and porous cellulose from mango peel waste- towards a zero waste mango biorefinery: Towards a zero waste mango biorefinery, Green Chem. 18: 5280-5287
- [18] Maran, J.P, Sivakumar, V., Thirugnanasam bandham, K. and Sridhar, R. , 2014, Microwave assisted extraction of pectin from waste *Citrullus lanatus* fruit rinds, Carbohydr. Polym. 101: 786-791.
- [19] Katsuwon, P. and Banjong, K., 2561, Optimization of microwave-assisted extraction of papaya seed oil by responses surface methodology, Srinakharinwirot Univ. (J. Sci. Technol.) 10(20): 76-88. (in Thai)
- [20] Nusap, T., Kaopoom, P., Promdee, J. and Noiduang, P, 2018, Properties and efficacy of pectin from kaffir lime peel extracted with citric acid, pp. 241- 246, Academic Science and Technology Conference (ASTC 2018), Huachiew Chalermprakiet University< Samut Prakan. (in Thai)
- [21] Chan, S.Y. and Choo, W.S., 2013, Effect of extraction conditions on the yield and chemical properties of pectin from cocoa husks, Food Chem. 141: 3752-3758.
- [22] Oliveira, T.Í.S., Rosa, M.F., Cavalcante, F.L., Pereira, P.H.F., Moates, G.K., Wellner, N., Mazzetto, S. E. , Waldron, K. W. and Azeredo, H.M.C. , 2016, Optimization of pectin extraction from banana peels with citric acid by using response surface methodology, Food Chem. 198: 113-118.
- [23] Pińkowska, H. , Krzywonos, M., Wolak, P. and Złocińska, A., 2019, Pectin and neutral monosaccharides production during the simultaneous hydrothermal extraction of waste biomass from refining of sugar- optimization with the use of Doehlert design, Molecules 24(3): 472.