



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วิทยาศาสตรการอาหาร)
ปริญญา

..... วิทยาศาสตร์การอาหาร วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร
สาขา ภาควิชา

เรื่อง การดัดแปรพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์
และเอทิลเอมีน

Modification of Okra Polysaccharides Using Ammonium Hydroxide and
Ethylamine

นามผู้วิจัย นางสาวชัชกรณ หมั่นเพียร

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการ

(..... ผู้ช่วยศาสตราจารย์ธนบูลย์ สัจจานันตกุล, Ph.D.)

กรรมการ

(..... รองศาสตราจารย์ศิริ ชัยเสรี, Ph.D.)

กรรมการ

(..... ผู้ช่วยศาสตราจารย์เพ็ญแข วันไชยธนวงศ์, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

(..... ผู้ช่วยศาสตราจารย์ธนบูลย์ สัจจานันตกุล, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(..... รองศาสตราจารย์วินัย อางคงหาญ, M.A.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ 31 เดือน มีนาคม พ.ศ. 2549

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การดัดแปรพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์
และเอทิลเอมีน

**Modification of Okra Polysaccharides Using Ammonium Hydroxide
and Ethylamine**

โดย

นางสาวจิราภรณ์ หมั่นเพียร

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตรการอาหาร)

พ.ศ. 2549

ISBN 974-16-1287-7

วชิราภรณ์ หมั่นเพียร 2549: การดัดแปรพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวด้วยแอมโมเนียม-ไฮดรอกไซด์และเอทิลเอมีน ปริญญานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตรการอาหาร)
สาขาวิทยาศาสตรการอาหาร ภาควิชาวิทยาศาสตรและเทคโนโลยีการอาหาร
ประธานกรรมการที่ปรึกษา: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ธนะบุญย์ สัจจอนันตกุล, Ph.D. 142 หน้า
ISBN 974-16-1287-7

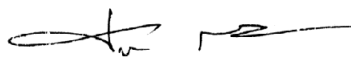
การสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว (*Abelmoshus esculentus* L. Moench) โดยใช้ น้ำเป็นตัวทำละลาย ได้พอลิแซ็กคาไรด์ (OKP) ที่มีผลได้เท่ากับ 0.93% เทียบกับน้ำหนักผักสด พอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวที่ผ่านการดัดแปรด้วยสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (OKPA) และเอทิลเอมีน (OKPE) ความเข้มข้น 4 โมลาร์ในไอโซโพรพานอลความเข้มข้น 60% และเมทานอล ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 3 °ซ เป็นเวลา 160 นาที พบว่ามีหมู่เอไมด์เพิ่มขึ้น โดย OKP, OKPA และ OKPE มีปริมาณเอไมด์ 11.46%, 31.62% และ 27.71% (w/w) ตามลำดับ และพบพีกของ amide I ใน OKPA จากการวิเคราะห์ด้วย Diffuse Reflectance Fourier Transform Infrared Spectroscopy (DRIFTS) ซึ่งการเพิ่มขึ้นของหมู่เอไมด์ส่งผลให้สารละลาย OKPA (pH 8.36) และ OKPE (pH 8.41) ความเข้มข้น 0.5% (w/v) มีความหนืดมากกว่าสารละลาย OKP (pH 5.88) 1.24 และ 2 เท่าตามลำดับ

สารละลาย OKP มีความหนืดต่ำในภาวะที่เป็นกรด-กลาง (pH 2.7-7) และมีความหนืดสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ในภาวะที่เป็นเบส (pH 8-10.8) ส่วนสารละลาย OKPA และ OKPE มีความหนืดสูงและคงที่ในช่วง pH กว้าง (pH 4-10.8) สารละลาย OKPA และ OKPE ในภาวะที่มีค่า pH 2.7-7 มีความหนืดสูงกว่าสารละลาย OKP 2.44 และ 3.34 เท่า ตามลำดับ ส่วนในภาวะที่มีค่า pH 8-10.8 มีความหนืดมากกว่าสารละลาย OKP 1.32 และ 1.66 เท่าตามลำดับ

การให้ความร้อนแก่สารละลาย OKP, OKPA และ OKPE จนถึงอุณหภูมิ 70 °ซ พบว่ามีค่าความหนืดลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยสารละลาย OKPA และ OKPE ที่อุณหภูมิ 70 °ซ มีความหนืดลดลง 1.61 และ 1.47 เท่า ตามลำดับ ขณะที่สารละลาย OKP มีความหนืดลดลง 2.01 เท่า เมื่อเทียบกับความหนืดที่อุณหภูมิห้องก่อนให้ความร้อน และเมื่อลดอุณหภูมิลงจนเท่ากับอุณหภูมิห้องพบว่าสารละลาย OKP มีค่าความหนืดน้อยกว่าความหนืดก่อนให้ความร้อนอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ส่วนสารละลาย OKPA และ OKPE มีความหนืดที่อุณหภูมิห้องหลังให้ความร้อนไม่แตกต่างกับความหนืดสารละลายดังกล่าวก่อนให้ความร้อนอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ส่วนแคลเซียมไอออนความเข้มข้น 0 - 1,000 ไมโครโมลาร์ จะไม่ส่งผลกระทบต่อความหนืดของสารละลาย OKP OKPA และ OKPE โดยสารละลาย OKPA และ OKPE มีความหนืดเฉลี่ย ในภาวะที่มีแคลเซียมไอออน 0 - 1,000 ไมโครโมลาร์ สูงกว่าสารละลาย OKP 1.22 และ 1.64 เท่าตามลำดับ



ลายมือชื่อนิติ



ลายมือชื่อประธานกรรมการ

25 / 5.ค. / 49

Wachiraporn Monpien 2006: Modification of Okra Polysaccharides Using Ammonium Hydroxide and Ethylamine. Master of Science (Food Science), Major Field: Food Science, Department of Food Science and Technology. Thesis Advisor: Assistant Professor Tanaboon Sajjaanantakul, Ph.D. 142 pages.
ISBN 974-16-1287-7

The water extracted polysaccharide from Okra (*Abelmoshus esculentus* L. Moench) (OKP) had 0.93% yield based on fresh weight of the pod. Amidated Okra polysaccharides were prepared from OKP by treatment with 4 M ammonium hydroxide in 60% isopropanol (OKPA) and 4 M ethylamine in methanol (OKPE) at 3 °C for 160 min. The amide content of OKPA and OKPE were 31.62%, 27.71%, respectively as compared to 11.46% by dry weight sample of OKP. DRIFT (Diffuse Reflectance Fourier Transform Infrared) spectrum indicated the existence of amide I band of OKPA. The apparent viscosity of OKPA and OKPE at 0.5% (w/v) had significantly 1.24 and 2 times higher than that of OKP solution ($p < 0.05$).

OKP solution had low viscosity at low pH values (pH 2.7-7) and the viscosity were significantly increased at higher pH values (pH 8-10.8). Moreover, OKPA and OKPE solution had high viscosity for a broader range of pH values (pH 4-10.8). The viscosity of OKPA and OKPE solution were 2.44 and 1.66 times higher than that of OKP solution at low pH values (pH 2.7-7) and 1.32 and 1.66 times higher than that of OKP solution at high pH values (pH 8-10.8), respectively.

When heated to 70 °C, the viscosity of OKPA and OKPE solutions only decreased 1.61 and 1.47 times, respectively while the viscosity of OKP solution decreased 2.01 times as compared to the sample at room temperature. Upon cooling the solution back to room temperature, there was an irreversible loss of viscosity of OKP solution. The viscosity of OKPA and OKPE solution were fully recovered as compared with the viscosity before heated. In addition, the viscosity of OKP, OKPA and OKPE solution were not significantly affected by concentration of calcium ions (0 - 1,000 μ M). However, the average viscosity of OKPA and OKPE solution was still 1.22 and 1.64 times higher than that of OKP solution for the range of 0 - 1,000 μ M of calcium ions.



Student's signature



Thesis Advisor's signature

25 / March / 2006

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณอาจารย์ธนะบุญย์ สัจจานันตกุล ประธานกรรมการที่ปรึกษา
วิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ศิริ ชัยเสรี กรรมการที่ปรึกษาวิชาเอก และผู้ช่วยศาสตราจารย์เพ็ญแข
วันไชยชนวงศ์ กรรมการที่ปรึกษาวิชารอง ที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำทาง ตลอดจนตรวจสอบ
แก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้เสร็จสมบูรณ์ และอาจารย์วรรณ ประไพหลง ผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัยที่
กรุณาให้คำแนะนำ ตรวจสอบ และแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้เสร็จสมบูรณ์

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ให้ทุนอุดหนุนและส่งเสริมวิทยา-
นิพนธ์ระดับปริญญาโท-เอก

ขอขอบคุณคุณวี หิรัญสมบูรณ์ กรรมการผู้จัดการ Food and Cosmetic System Co., Ltd. ที่
กรุณาให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่างเพกดิน ขอขอบคุณคุณวรางคณา อนุชิตโอฬาร เจ้าหน้าที่ศูนย์
เทคโนโลยีและวัสดุแห่งชาติ (MTEC) ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการวิเคราะห์ ตัวอย่างด้วย Diffuse
Reflectance Fourier Transform Infrared (DRIFT) รวมทั้งให้คำแนะนำในการแปลผลการวิเคราะห์
ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรม-
กรรมเกษตร ที่ให้ความสะดวกและคำแนะนำการใช้เครื่องมือตลอดระยะเวลาการศึกษา

ขอขอบคุณพี่ ๆ เพื่อน ๆ และน้อง ๆ นิสิตปริญญาโทและเอก ภาควิชาวิทยาศาสตร์และ
เทคโนโลยีการอาหาร ที่ให้คำปรึกษา ข้อคิดเห็น รวมถึงกำลังใจและความสนุกสนานที่มีให้ตลอด
ระยะเวลาการศึกษา โดยเฉพาะคุณสุหทัย นำชัยสีวัฒนา คุณปิติกานต์ ดติยพันธ์ คุณพัฒทอง สวัสดิ-
ดิเกียรติ คุณนิภาพร เส็งคำปาน คุณสุกสิริ ศิลาณ้อย คุณละอองดาว ว่องเอกลักษณ์ และสมาชิก 2313
ที่ดูแลกันทั้งทางด้านร่างกาย และจิตใจ คุณอรอนงค์ ฐาปนพันธ์นิตกุล ที่ให้ความช่วยเหลือในการ
หาข้อมูลจากต่างประเทศ และเป็นที่พึ่งได้ในทุกกรณี ขอขอบคุณคุณสุรวัช จินาพันธ์ ที่เป็น
กำลังใจให้กัน สุดท้ายนี้ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ และคุณจาวรรณ หมั่นเพียร ที่ให้
การ อบรมเลี้ยงดู เป็นกำลังใจ และให้การสนับสนุนการศึกษาของข้าพเจ้ามาโดยตลอด
คุณค่าของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ขอบแต่คุณพ่อ คุณแม่ อาจารย์ และผู้มีพระคุณทุกท่าน

วชิราภรณ์ หมั่นเพียร

กุมภาพันธ์ 2549

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ.....	(1)
สารบัญตาราง.....	(3)
สารบัญภาพ.....	(10)
คำนำ.....	1
การตรวจเอกสาร.....	3
พอลิแซ็กคาไรด์ในพืช	3
กระเจี๊ยบเขียว.....	15
อุปกรณ์และวิธีการ.....	28
อุปกรณ์.....	28
วิธีการ.....	33
ผลและวิจารณ์.....	44
การสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี และสมบัติทางกายภาพ.....	44
ผลของการดัดแปรพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวด้วยแอมโมเนียมไฮ- ดรอกไซด์และเอทิลเอมีนต่อองค์ประกอบทางเคมีและสมบัติทางกายภาพ.....	52
การวิเคราะห์หุ้มฟังก์ชันของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวด้วย Diffuse Reflectance Fourier Transform Infrared Spectroscopy (DRIFTS).....	64
ผลของปัจจัยที่มีต่อความหนืดของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว ที่ไม่ดัดแปรและดัดแปรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ และเอทิลเอมีน.....	73
สรุป.....	88
เอกสารและสิ่งอ้างอิง.....	90

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
ภาคผนวก.....	100
ภาคผนวก ก.....	101
ภาคผนวก ข.....	112
ภาคผนวก ค.....	118
ภาคผนวก ง.....	124

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	การเปลี่ยนแปลงขนาดของฝัก ปริมาณเพกติน ระหว่างการเจริญเติบโตของฝัก กระเจี๊ยบเขียวพันธุ์ OK#2.....	17
2	ค่า Water Absorption Capacity (WAC), Oil Absorption Capacity (OAC) และ Water Oil Absorption Index (WOAI) ของ Okra, Dika nut และ Khan flour.....	25
3	ปริมาณผลได้ (%yield) ของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวในรูปผงแห้ง ที่ ได้จากการสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้อง ครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2.....	46
4	องค์ประกอบทางเคมีของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว (OKP).....	49
5	ค่าสีและความหนืด (mPa.s) ของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว (OKP).....	51
6	ปริมาณผลได้ (%yield) ของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวที่ไม่ดัดแปร (OKP) และดัดแปรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (OKPA).....	52
7	องค์ประกอบเคมีพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวที่ไม่ดัดแปร (OKP) และ ดัดแปรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (OKPA).....	55
8	ค่าสีของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวที่ดัดแปรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอก- ไซด์ (OKPA).....	56
9	ปริมาณผลได้ (%yield) ของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวที่ไม่ดัดแปร (OKP) และดัดแปรด้วยเอทิลเอมีน (OKPE).....	57
10	องค์ประกอบเคมีของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวไม่ดัดแปร (OKP) พอลิ แซ็กคาไรด์ที่ดัดแปรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (OKPA) และพอลิแซ็กคา- ไรด์ที่ดัดแปรด้วยเอทิลเอมีน (OKPE)	58
11	ค่าสีของพอลิแซ็กคาไรด์ในรูปของผงแห้งที่ไม่ดัดแปร (OKP) พอลิแซ็กคาไรด์ ที่ดัดแปรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (OKPA) และพอลิแซ็กคาไรด์ ที่ดัดแปรด้วยเอทิลเอมีน (OKPE).....	61

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
12	ค่าสีของพอลิแซ็กคาไรด์ในรูปของสารละลายความเข้มข้น 0.5% ที่ไม่ดัดแปร (OKP) พอลิแซ็กคาไรด์ที่ดัดแปรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (OKPA) และพอลิแซ็กคาไรด์ที่ดัดแปรด้วยเอทิลเอมีน (OKPE).....	63
13	ค่าความหนืด (mPa.s) ของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์ที่ไม่ดัดแปร (OKP) พอลิแซ็กคาไรด์ที่ดัดแปรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (OKPA) และพอลิแซ็กคาไรด์ที่ดัดแปรด้วยเอทิลเอมีน (OKPE).....	64
14	Wave number ของหมู่ฟังก์ชันต่างๆ ในสเปกตรัมของ LM 104 AS, OKP, OKPA และ OKPE.....	68
15	ความหนืดเฉื่อย (mPa.s) ของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ความเข้มข้น 0.5% ในช่วง pH ที่เป็นกรด-กลาง (pH 2.7-7) และเบส (pH 8-10.8).....	73
ตารางผนวกที่		
ก1	การเตรียมสารละลาย citrate-phosphate buffer ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์.....	109
ก2	การเตรียมสารละลาย phosphate buffer ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์.....	109
ข1	องค์ประกอบทางเคมีของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ตกตะกอนด้วยเอทานอลความเข้มข้น 85% เทียบกับพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวที่ไม่ผ่านการตกตะกอน.....	114
ข2	ค่าความหนืด (mPa.s) ของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผ่านการตกตะกอนด้วยเอทานอลความเข้มข้น 85% เปรียบเทียบกับสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวที่ไม่ผ่านการตกตะกอน.....	115
ค1	ค่าความหนืด (mPa.s) ของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวที่ไม่ดัดแปร (OKP) พอลิแซ็กคาไรด์ที่ดัดแปรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (OKPA) และพอลิแซ็กคาไรด์ที่ดัดแปรด้วยเอทิลเอมีน (OKPE) ความเข้มข้น 0.5% ที่ค่าความเป็นกรด-เบสต่างๆ.....	118

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
ค2 ค่าความหนืด (mPa.s) ของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวที่ไม่ดัดแปร (OKP) พอลิแซ็กคาไรด์ที่ดัดแปรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (OKPA) พอลิแซ็กคาไรด์ที่ดัดแปรด้วยเอทิลเอมีน (OKPE) ความเข้มข้น 0.5% ที่อุณหภูมิต่างๆ.....	119
ค3 ปริมาณแคลเซียมไอออน (μM) ของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ได้จากวิธีการคำนวณและการวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง ion selective meter.....	120
ค4 ค่าความหนืด (mPa.s) ของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวที่ไม่ดัดแปร (OKP) พอลิแซ็กคาไรด์ที่ดัดแปรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (OKPA) และพอลิแซ็กคาไรด์ที่ดัดแปรด้วยเอทิลเอมีน (OKPE) ความเข้มข้น 0.5% ในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่มีแคลเซียมไอออนความเข้มข้นต่างๆ.....	121
ค5 ค่าความเป็นกรด-เบส (pH) ของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวที่ไม่ดัดแปร (OKP) พอลิแซ็กคาไรด์ที่ดัดแปรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (OKPA) และพอลิแซ็กคาไรด์ที่ดัดแปรด้วยเอทิลเอมีน (OKPE) ความเข้มข้น 0.5% ในสารละลายที่มีแคลเซียมไอออนความเข้มข้นต่างๆ.....	122
ง1 การวิเคราะห์ทางสถิติเปอร์เซ็นต์ความชื้นของ OKP, OKPA และ OKPE.....	124
ง2 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดของ OKP, OKPA และ OKPE.....	124
ง3 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณน้ำตาลที่ไม่ใช่ยูโรไนค์ของ OKP, OKPA และ OKPE.....	124
ง4 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณกรดกาแล็กทูโรนิก OKP, OKPA และ OKPE.....	125
ง5 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของ OKP, OKPA และ OKPE.....	125
ง6 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณเมทอกซิลของ OKP, OKPA และ OKPE.....	125
ง7 การวิเคราะห์ทางสถิติ degree of esterification ของ OKP, OKPA และ OKPE....	126

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
ง8 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณเอไมค์ของ OKP, OKPA และ OKPE.....	126
ง9 การวิเคราะห์ทางสถิติค่าสี L*ของ OKP, OKPA และ OKPE ในรูปของผงแห้ง...	126
ง10 การวิเคราะห์ทางสถิติค่าสี a* ของ OKP, OKPA และ OKPE ในรูปของผงแห้ง...	127
ง11 การวิเคราะห์ทางสถิติค่าสี b* ของ OKP, OKPA และ OKPE ในรูปของผงแห้ง..	127
ง12 การวิเคราะห์ทางสถิติค่าสี C*ของ OKP, OKPA และ OKPE ในรูปของผงแห้ง...	127
ง13 การวิเคราะห์ทางสถิติค่าสี h*ของ OKP, OKPA และ OKPE ในรูปของผงแห้ง...	128
ง14 การวิเคราะห์ทางสถิติค่าสี L*ของ OKP, OKPA และ OKPE ในรูปของ สารละลายความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์.....	128
ง15 การวิเคราะห์ทางสถิติค่าสี a*ของ OKP, OKPA และ OKPE ในรูปของ สารละลายความเข้มข้น 0.5%.....	128
ง16 การวิเคราะห์ทางสถิติค่าสี b*ของ OKP, OKPA และ OKPE ในรูปของ สารละลายความเข้มข้น 0.5%.....	129
ง17 การวิเคราะห์ทางสถิติค่าสี C* ของ OKP, OKPA และ OKPE ในรูปของ สารละลายความเข้มข้น 0.5%.....	129
ง18 การวิเคราะห์ทางสถิติค่าสี h* ของ OKP, OKPA และ OKPE ในรูปของสาร ละลายความเข้มข้น 0.5%.....	129
ง19 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE.....	130
ง20 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP ในสภาวะที่มีค่า pH 2.7-10.8.....	130
ง21 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKPA ในสภาวะที่มีค่า pH 2.7-10.8.....	130
ง22 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKPE ในสภาวะที่มีค่า pH 2.7-10.8.....	131
ง23 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ใน สภาวะที่มีค่า pH 2.7.....	131

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
ง24 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ใน ภาวะที่มีค่า pH 3.....	131
ง25 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ใน ภาวะที่มีค่า pH 4.....	132
ง26 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ใน ภาวะที่มีค่า pH 5.....	132
ง27 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ใน ภาวะที่มีค่า pH 6.....	132
ง28 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ใน ภาวะที่มีค่า pH 7.....	133
ง29 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ใน ภาวะที่มีค่า pH 8.....	133
ง30 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ใน ภาวะที่มีค่า pH 9.2.....	133
ง31 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ใน ภาวะที่มีค่า pH 9.6.....	134
ง32 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ใน ภาวะที่มีค่า pH 10.8.....	134
ง33 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP ที่อุณหภูมิห้อง-70 °ซ และความหนืดหลังผ่านการให้ความร้อน.....	134
ง34 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKPA ที่อุณหภูมิห้อง-70 °ซ และความหนืดหลังผ่านการให้ความร้อน.....	135
ง35 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKPE ที่อุณหภูมิห้อง-70 °ซ และความหนืดหลังผ่านการให้ความร้อน.....	135
ง36 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ที่ อุณหภูมิห้อง.....	135

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
ง37 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ที่อุณหภูมิ 30°C.....	136
ง38 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ที่อุณหภูมิ 40°C.....	136
ง39 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ที่อุณหภูมิ 50°C.....	136
ง40 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ที่อุณหภูมิ 60°C.....	137
ง41 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ที่อุณหภูมิ 70°C.....	137
ง42 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ที่อุณหภูมิห้องหลังให้ความร้อน.....	137
ง43 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP ในภาวะที่มีแคลเซียมไอออน 0-1,000 ไมโครโมลาร์.....	138
ง44 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKPA ในภาวะที่มีแคลเซียมไอออน 0-1,000 ไมโครโมลาร์.....	138
ง45 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKPE ในภาวะที่มีแคลเซียมไอออน 0-1,000 ไมโครโมลาร์.....	138
ง46 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ในภาวะที่มีแคลเซียมไอออน 0 ไมโครโมลาร์ (น้ำปราศจากไอออน).....	139
ง47 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ในภาวะที่มีแคลเซียมไอออน 200 ไมโครโมลาร์.....	139
ง48 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ในภาวะที่มีแคลเซียมไอออน 400 ไมโครโมลาร์.....	139

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
ง49 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ใน ภาวะที่มีแคลเซียมไอออน 600 ไมโครโมลาร์.....	140
ง50 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ใน ภาวะที่มีแคลเซียมไอออน 800 ไมโครโมลาร์.....	140
ง51 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ใน ภาวะที่มีแคลเซียมไอออน 1,000 ไมโครโมลาร์.....	140
ง52 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ใน ภาวะที่มีแคลเซียมไอออน 0-1,000 ไมโครโมลาร์.....	141

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ชั้นของผนังเซลล์ในพืช.....	3
2	ส่วนของ smooth polygalacturonic acid regions และ hairy rhamnogalacturonan regions.....	5
3	โครงสร้างทางเคมีของเพกติน.....	6
4	ส่วนของโมเลกุลเพกตินที่มีหมู่เมทิลเอสเทอร์ไฟด์ และหมู่โอ-2-แอซิทิล (ลูกศรชี้).....	7
5	ส่วนของโมเลกุลเพกตินที่แสดงตำแหน่งการเกิดเมทิลเอสเทอร์ฟิเคชันและ ตำแหน่งของหมู่เอไมด์ (ลูกศรชี้).....	7
6	แผนภาพการเรียกชื่อสารประกอบเพกติกในทางการค้า และแสดงความ สัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์เมทอกซิล และเปอร์เซ็นต์เอสเทอร์ฟิเคชัน.....	8
7	แบบจำลองการเกิดเจลของแอมิดเพกติน.....	12
8	ส่วนของโครงสร้างที่เป็นไปได้ของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว.....	19
9	ผลของค่าความเป็นกรด-เบส ต่อความหนืดสัมพัทธ์ของพอลิแซ็กคาไรด์จาก กระเจี๊ยบเขียวความเข้มข้น 5 กรัม/ลิตร, อุณหภูมิสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์ เท่ากับ 25 °C.....	20
10	ผลของการให้ความร้อน (เส้นทึบ) และการทำให้เย็น (เส้นประ) ต่อความหนืด สัมพัทธ์ของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวความเข้มข้น 8 กรัม/ลิตร.....	22
11	ความหนืดที่ขึ้นกับอัตราเฉือนของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวความ เข้มข้น 0.96% (□), 0.67% (■), 0.48 % (○), 0.19% (●) และ 0.096% (▲) ในน้ำ และใน 0.1 M NaCl(25 °C), η_s หมายถึง ความหนืดของตัวทำละลาย (0.1N HCl), γ หมายถึง อัตราเฉือน (1/วินาที).....	23
12	ผลของแคลเซียมไอออนต่อความหนืดสัมพัทธ์ (relative viscosity) ของพอลิ- แซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวความเข้มข้น 5 กรัม/ลิตร, pH 6.0.....	24
13	แผนภาพการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว.....	41
14	แผนภาพการดัดแปรพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวด้วยแอมโมเนียมไฮ- ดรอกไซด์ และเอทิลเอมีน.....	43

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
15	กระเจียบเขียวที่ใช้ในการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์.....	44
16	พอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำและทำแห้งแบบเยือกแข็ง.....	48
17	พอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวที่ดัดแปรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 4 โมลาร์ในไอโซโพรพานอลความเข้มข้น 60 เปอร์เซ็นต์ และผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็ง.....	53
18	พอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวที่ดัดแปรด้วยเอทิลเอมีนความเข้มข้น 4 โมลาร์ ในเมทานอลความเข้มข้น 60% และผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็ง.....	58
19	ปฏิกิริยาของของเพกตินกับเอมีนชนิดปฐมภูมิสายตรง.....	60
20	สารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวที่ไม่ดัดแปร (OKP) สารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวที่ดัดแปรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (OKPA) และเอทิลเอมีน (OKPE) ความเข้มข้น 0.5% (w/v)	63
21	สเปกตรัม DRIFT ของแอมิเดต เพกติน (LM 104 AS)	69
22	สเปกตรัม DRIFT ของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียว (OKP).....	70
23	สเปกตรัม DRIFT ของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวที่ดัดแปรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (OKPA).....	71
24	สเปกตรัม DRIFT ของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวที่ดัดแปรด้วยเอทิลเอมีน (OKPE).....	72
25	ผลของความเป็นกรด-เบสต่อความหนืดของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวที่ไม่ดัดแปร (OKP) พอลิแซ็กคาไรด์ที่ดัดแปรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์(OKPA) และพอลิแซ็กคาไรด์ที่ดัดแปรด้วยเอทิลเอมีน (OKPE) ความเข้มข้น 0.5%.....	76
26	ผลของความร้อนต่อความหนืดของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวที่ไม่ดัดแปร (OKP) พอลิแซ็กคาไรด์ที่ดัดแปรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (OKPA) และพอลิแซ็กคาไรด์ที่ดัดแปรด้วยเอทิลเอมีน (OKPE) ความเข้มข้น 0.5%.....	80

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
27 ความหนืดของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวที่ไม่ดัดแปร(OKP) พอลิแซ็กคาไรด์ที่ดัดแปรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (OKPA) และ พอลิแซ็กคาไรด์ที่ดัดแปรด้วยเอทิลเอมีน (OKPE) ความเข้มข้น 0.5% ที่ อุณหภูมิห้อง ก่อนและหลังให้ความร้อนอุณหภูมิ 70 °ซ.....	81
28 ปฏิกริยา β -elimination ของเพกติน.....	82
29 แบบจำลอง amide junction ของเพกตินที่ผ่านการดัดแปรด้วยแอมโมเนียม-ไฮดรอกไซด์.....	82
30 ผลของแคลเซียมต่อความหนืดของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบ-เขียวที่ไม่ดัดแปร (OKP) พอลิแซ็กคาไรด์ที่ดัดแปรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอก-ไซด์ (OKPA) และพอลิแซ็กคาไรด์ที่ดัดแปรด้วยเอทิลเอมีน (OKPE) ความเข้มข้น 0.5%.....	86
31 การเกิดอันตรกิริยาระหว่างแคลเซียมไอออนกับคาร์บอกซิลไอออนในลักษณะของ egg-boxes model.....	87
ภาพผนวกที่	หน้า
ก1 กราฟมาตรฐานของกรดกาแล็กทูโรนิกสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด.....	101
ก2 กราฟมาตรฐานของกรดกาแล็กทูโรนิกสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณกรดกาแล็กทูโรนิก.....	103
ก3 กราฟมาตรฐานของกรดกาแล็กทูโรนิกสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์.....	104
ก4 กราฟมาตรฐานของเมทานอล.....	105
ก5 ความสัมพันธ์ของค่าสีแดง (a) สีเหลือง (b) ค่ามุมของสี (hue angle) และค่าความเข้มของสี โดยที่ ค่ามุมของสี = $\tan^{-1} b^*/a^*$ และค่าความเข้มของสี = $((a^*)^2 + (b^*)^2)^{1/2}$	106
ข1 การเตรียมพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวเพื่อศึกษาผลของการตกตะกอนด้วยเอทานอล.....	113

การดัดแปรพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ และเอทิลเอมีน

Modification of Okra Polysaccharides Using Ammonium Hydroxide and Ethylamine

คำนำ

ในอุตสาหกรรมอาหารมีการนำสารประกอบประเภทกัม (gum) ซึ่งเป็นพอลิเมอร์สายยาว มาใช้ในรูปแบบของสารให้ความข้นหนืด สารให้ความคงตัว และสารช่วยให้เกิดเจล ทำให้ปัจจุบันมี แนวโน้มที่จะพัฒนาเทคโนโลยีเกี่ยวกับการผลิตกัมหรือการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากวัตถุดิบที่เป็น อาหารชนิดใหม่ๆ กันมากขึ้น โดยเฉพาะวัตถุดิบประเภทผักผลไม้ชนิดต่างๆ แต่ยังมีข้อจำกัดในการ ผลิตและการนำมาใช้ในเชิงอุตสาหกรรม ประกอบกับไม่มีข้อมูลสนับสนุนทางวิทยาศาสตร์ที่ เพียงพอ จึงทำให้ยังไม่สามารถผลิตพอลิแซ็กคาไรด์จากแหล่งใหม่ๆ ออกมาในเชิงการค้าได้

กระเจี๊ยบเขียวเป็นผักที่มีการปลูกในท้องถิ่นมาเป็นเวลานาน ปัจจุบันเป็นสินค้าเกษตร ส่งออกที่สำคัญของประเทศ โดยเกษตรกรไทยเริ่มปลูกกระเจี๊ยบเขียวเพื่อส่งออกตามโครงการ ส่งเสริมของภาคเอกชน ซึ่งในปี 2544 มีปริมาณการส่งออกกระเจี๊ยบเขียว 3,328 ตัน มูลค่า 253.2 ล้านบาท (ฝ่ายข้อมูลส่งเสริมการเกษตร, 2545) โดยร้อยละ 83 ส่งออกในรูปแบบของผักสด ส่วนที่ เหลือจะส่งออกในรูปแบบของผักกระเจี๊ยบเขียวแช่แข็ง ตลาดรับซื้อที่สำคัญคือประเทศญี่ปุ่น คิดเป็น ร้อยละ 98 ของปริมาณการส่งออกกระเจี๊ยบเขียวทั้งหมด เนื่องจากชาวญี่ปุ่นนิยมรับประทาน กระเจี๊ยบเขียว ซึ่งเป็นผักที่มีคุณค่าทางอาหารสูง โดยเฉพาะวิตามินซี และแคลเซียม รวมทั้ง สามารถนำไปใช้ผลิตยาบรรเทาอาการปวดของโรคกระเพาะอาหาร โดยส่วนที่เป็นเมือกจากผัก กระเจี๊ยบเขียวจะช่วยยับยั้ง หล่อลื่น และบรรเทาอาการระคายเคืองของเนื้อเยื่อที่อักเสบได้ (ภัสรา และคณะ, 2536; พาณิชย์, 2544) ส่วนประเทศแถบแอฟริกากลางและทางตะวันออกของแอฟริกา ซึ่งเป็นแหล่งเพาะปลูกกระเจี๊ยบเขียวที่สำคัญ นิยมนำผักกระเจี๊ยบเขียวมาเป็นส่วนประกอบอาหาร ประเภทซूप สตูว์ เพื่อเพิ่มความข้นหนืด (Ndjouenkeu *et al.*, 1996)

กระเจี๊ยบเขียวเมื่อนำมาปรุงอาหารหรือสัมผัสกับน้ำจะมีเมือกขับออกมาจากฝัก เมือกดังกล่าวเป็นสารประกอบคาร์โบไฮเดรตโมเลกุลใหญ่หรือพอลิแซ็กคาไรด์ จับกับส่วนของโปรตีนและแร่ธาตุ (Woolfe *et al.*, 1977) ปัจจุบันมีการศึกษาถึงองค์ประกอบ โครงสร้าง และสมบัติของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว ตลอดจนมีศึกษาเกี่ยวกับการนำพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดได้จากกระเจี๊ยบเขียวไปใช้ประโยชน์ทั้งทางด้านการผลิตอาหารและประโยชน์ทางการแพทย์ พบว่าพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวมีโครงสร้างหลักเป็น rhamnogalacturonan คล้ายเพกติน (Tomoda *et al.*, 1980) มีสมบัติเป็นสารให้ความหนืด และมีความหนืดสูงสุดในภาวะที่มี pH เป็นกลาง และการเพิ่มอุณหภูมิจะทำให้มีความหนืดลดลง เมื่อทิ้งไว้ให้เย็นจะทำให้มีความหนืดมากขึ้น แต่ไม่เท่ากับ ความหนืดเริ่มต้นที่อุณหภูมิเดียวกัน ส่วนการเพิ่มความเข้มข้นของแคลเซียมไอออน จะทำให้พอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวมีความหนืดลดลง (Ndjouenkeu *et al.*, 1996; Woolfe *et al.*, 1977)

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ในการปรับปรุงสมบัติของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว เพื่อให้ได้พอลิแซ็กคาไรด์ที่มีความหนืดสูงในช่วง pH กว้าง ในภาวะที่มีไอออนประจุบวก และมีความหนืดคงตัวหลังผ่านการให้ความร้อน โดยทำการศึกษาผลของการดัดแปรพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ และเอทิลเอมีน ที่มีต่อคุณลักษณะทางเคมี และสมบัติทางด้านความหนืดในภาวะที่มีความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ และปริมาณแคลเซียมแตกต่างกัน

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

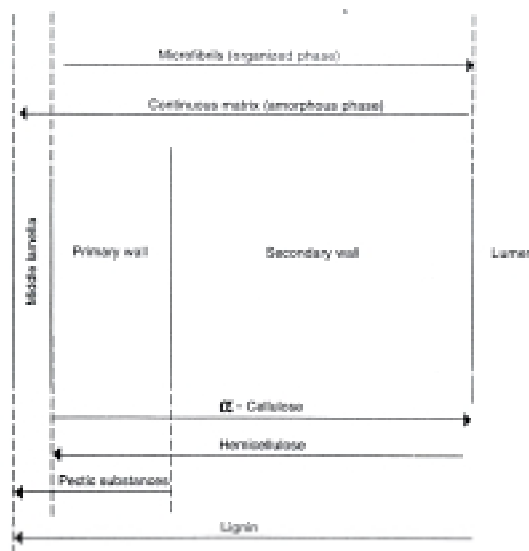
1. ทำการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว และดัดแปรโครงสร้างของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ และเอทิลเอมีน
2. ศึกษาองค์ประกอบเคมี และคุณลักษณะของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวที่ไม่ดัดแปรโครงสร้างและดัดแปรโครงสร้างด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์และเอทิลเอมีน
3. ศึกษาผลของความเป็นกรด-ด่าง ความร้อน และปริมาณแคลเซียมต่อความหนืดของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวที่ไม่ดัดแปรโครงสร้างและดัดแปรโครงสร้างด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์และเอทิลเอมีน

การตรวจเอกสาร

พอลิแซ็กคาไรด์ในพืช

1. แหล่งของพอลิแซ็กคาไรด์

ในเซลล์พืชจะพบพอลิแซ็กคาไรด์ซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรตโมเลกุลใหญ่ในโครงสร้างผนังเซลล์ ทำหน้าที่เสริมความแข็งแรงให้กับผนังเซลล์ และมีความสำคัญต่อลักษณะเนื้อสัมผัสของพืช ชั้นของผนังเซลล์แสดงดังภาพที่ 1 โดยผนังเซลล์ชั้นแรก (primary cell wall) 90% ประกอบด้วย พอลิแซ็กคาไรด์ชนิด เซลลูโลส 30-60% สารประเภทเพกติน 15-45% และ เฮมิเซลลูโลส 15-25% ส่วนที่เหลือประมาณ 10% เป็นไกลโคโปรตีน ผนังเซลล์ชั้นที่สอง (secondary wall) เป็นส่วนที่อยู่ระหว่างผนังเซลล์ชั้นแรกกับเยื่อหุ้มเซลล์ ประกอบด้วย เซลลูโลส และ เฮมิเซลลูโลส บางเซลล์จะมีลิกนินและซูเบอริน (suberin) อยู่ด้วย สำหรับส่วนมิดเดิลลามেলা (middle lamella) ซึ่งเป็นส่วนที่อยู่ระหว่างผนังเซลล์กับอีกเซลล์หนึ่ง ประกอบด้วยเพกตินเป็นส่วนใหญ่ (กาญจนา, 2541; Rolin *et al.*, 1998)



ภาพที่ 1 ชั้นของผนังเซลล์ในพืช

ที่มา: Rolin *et al.* (1998)

ปัจจุบันมีการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากพืชมาใช้ประโยชน์กันอย่างกว้างขวางทั้งในอุตสาหกรรมอาหารและอุตสาหกรรมประเภทอื่น เช่น เพกติน โลคัสบิน กัม กัวร์ กัม แคมมาริน กัม สำหรับในประเทศไทยมีการศึกษาเกี่ยวกับพอลิแซ็กคาไรด์ในพืชชนิดต่างๆ หรือส่วนของพืชที่เหลือจากอุตสาหกรรม เช่น ฐานรองดอกทานตะวันที่เหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมการผลิตน้ำมันจากเมล็ดทานตะวัน กรูงเขมา (ใบหমান้อย) เมล็ดแมงลัก และกระเจี๊ยบเขียว เป็นต้น ทั้งนี้เพื่อเป็นการนำวัสดุเหลือใช้หรือพืชที่มีมูลค่าต่ำมาเพิ่มมูลค่า และใช้ให้เกิดประโยชน์ทั้งในด้านการนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร การผลิตยารักษาโรค หรืออาหารเพื่อสุขภาพ

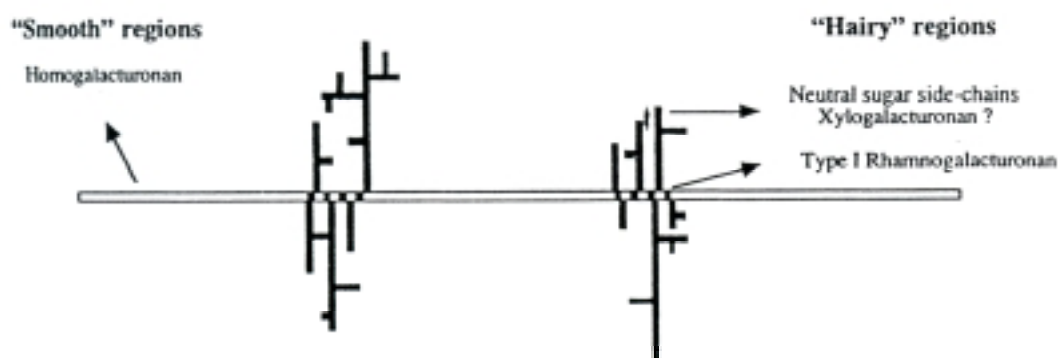
2. เพกติน

2.1 โครงสร้างทางเคมี

เพกตินเป็นเฮเทอโรพอลิแซ็กคาไรด์ (heteropolysaccharide) ประกอบด้วยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวมากกว่า 1 ชนิด (Whistler and BeMiller, 1999) ซึ่งโครงสร้างทางเคมีของเพกตินจะแตกต่างกันไปตามชนิดของพืชที่ใช้เป็นวัตถุดิบและวิธีการสกัด โครงสร้างหลักของเพกตินประกอบด้วย α -(1 $\rightarrow$ 4)-linked D-galacturonic acid เชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก (glycosidic bond) เรียกส่วนนี้ว่า smooth regions มีส่วนของ α -(1 $\rightarrow$ 2)-linked L-rhamnopyranosyl residues แทรกอยู่ในโครงสร้างหลัก โดยตำแหน่ง O-4 และ/หรือ O-3 ของ L-rhamnopyranose จะต่อกับโมเลกุลโซ่ข้าง (side chain) ซึ่งส่วนใหญ่เป็นน้ำตาลที่เป็นกลาง (neutral sugar) ได้แก่ D-galactose L-arabinose และ D-xylose ด้วยพันธะไกลโคซิดิก โดยมี D-mannose, L-fucose และ glucuronic acid เป็นองค์ประกอบส่วนน้อย เรียกส่วนของโมเลกุลโซ่ข้างที่ต่อกับโครงสร้างหลักนี้ว่า hairy regions (ภาพที่ 2) นอกจากนี้ในส่วนองกรดคาเล็กทูโรนิกที่เป็นโครงสร้างหลักสามารถเกิดปฏิกิริยากับสารที่ไม่ใช่น้ำตาล ได้แก่ การเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเมทิล แอลกอฮอล์-ซอร์บิทคาร์บอนตำแหน่งที่ 6 การเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันด้วยกรดอะซิติกกับหมู่ไฮดรอกซิลที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 และ/หรือ 3 และการเกิดดีเอสเทอร์ฟิเคชัน (deesterification) และแอมิเดชัน (amidation) ด้วยแอมโมเนียที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 6 ซึ่งจะส่งผลให้ได้เพกตินที่มีสมบัติเชิงหน้าที่แตกต่างกัน (Voragen *et al.*, 1995; Morris, 1998) แสดงดังภาพที่ 3-5

2.2 ชนิดของเพกติน

เพกตินที่ผลิตใช้ในทางการค้า แบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ เป็น high-methoxyl (HM) pectin และ low-methoxyl (LM) pectin ตาม Degree of methyl esterification หรือ DE ซึ่งเป็นเปอร์เซ็นต์ของหน่วยของกรดกาแล็กทูโรนิกที่ถูกเอสเทอร์ไฟด์ด้วยหมู่เมทิล ส่งผลให้เพกตินที่มี DE ต่างกัน มีภาวะที่ต้องการในการเกิดเจล (setting condition) ระยะเวลาในการเกิดเจล (gelling time) และ ความแข็งแรงของเจล (gel strength) แตกต่างกัน (Rolin *et al.*, 1998)



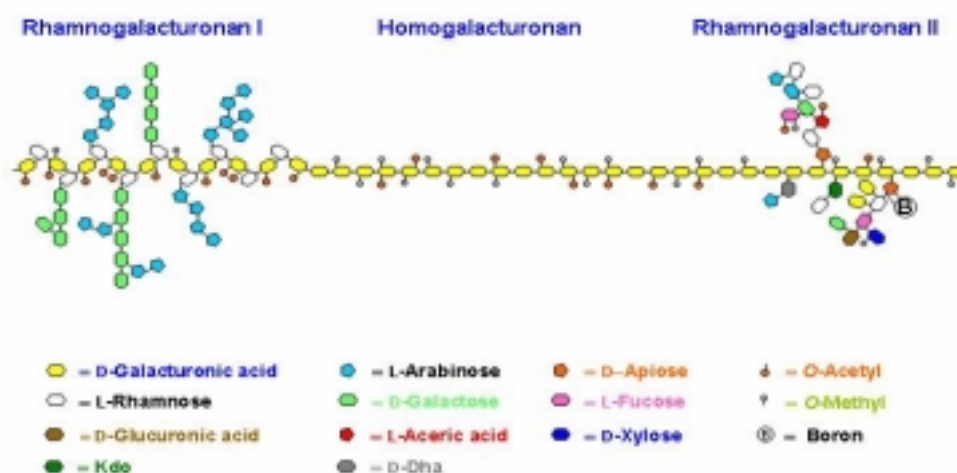
ภาพที่ 2 ส่วนของ smooth polygalacturonic acid regions และ hairy rhamnogalacturonan regions ที่มา: Ralet *et al.* (2002 a)

2.2.1 High-methoxyl (HM) petin

มีค่า DE มากกว่าหรือเท่ากับ 50% หรือมีปริมาณหมู่เมทอกซิล (methoxyl group) มากกว่าหรือเท่ากับ 7% ของน้ำหนักโมเลกุลเพกติน (ภาพที่ 6) โดยทางการค้า HM pectin มีค่า DE ระหว่าง 55-75% สามารถเกิดเจลได้ในภาวะที่มีค่า pH 2.0-3.0 มีของแข็งละลายได้ เช่น น้ำตาล อย่างน้อย 55% (Rolin *et al.*, 1998)

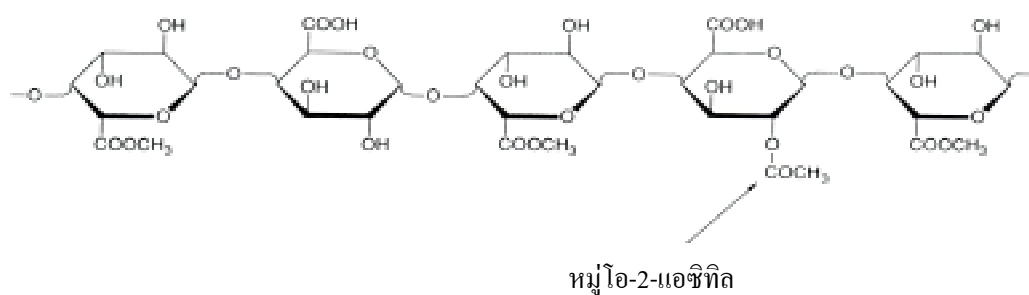
2.2.2 Low-methoxyl (LM) pectin

มีค่า DE ต่ำกว่า 50% ในทางการค้า LM pectin มีค่า DE ระหว่าง 20-40% หรือมีปริมาณหมู่เมทอกซิลน้อยกว่า 7% ของน้ำหนักโมเลกุลเพกติน (ภาพที่ 6) การเกิดเจลของ LM pectin ต้องการไอออนประจุบวกสอง (divalent cations) เช่น แคลเซียม และสามารถเกิดเจลได้ในภาวะที่มี pH 2.9-5.5 โดยไม่จำเป็นต้องเติมของแข็งที่ละลายได้ หรือสาร co-solute สำหรับการผลิต LM pectin ในทางการค้าจะได้มาจากการดีเอสเทอร์ฟิเคชัน เพกตินที่สกัดได้จากเปลือกส้ม และ กากแอปเปิล ด้วยวิธีการใช้กรดหรือแอมโมเนีย ทั้งนี้เนื่องจากเพกตินที่สกัดได้จากวัตถุดิบดังกล่าวเป็นชนิด HM pectin (Joseph *et al.*, 1949; Rolin *et al.*, 1998)

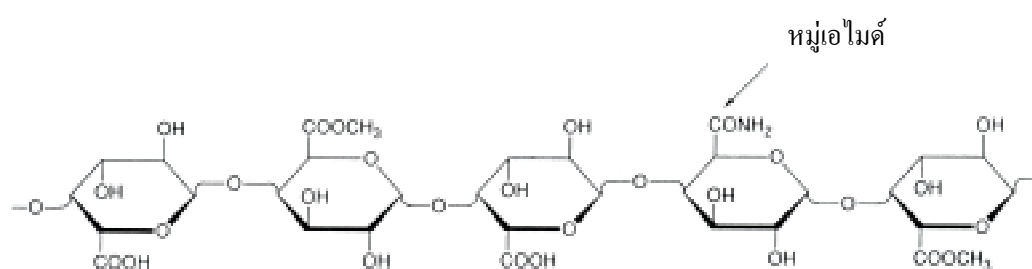


ภาพที่ 3 โครงสร้างทางเคมีของเพกติน

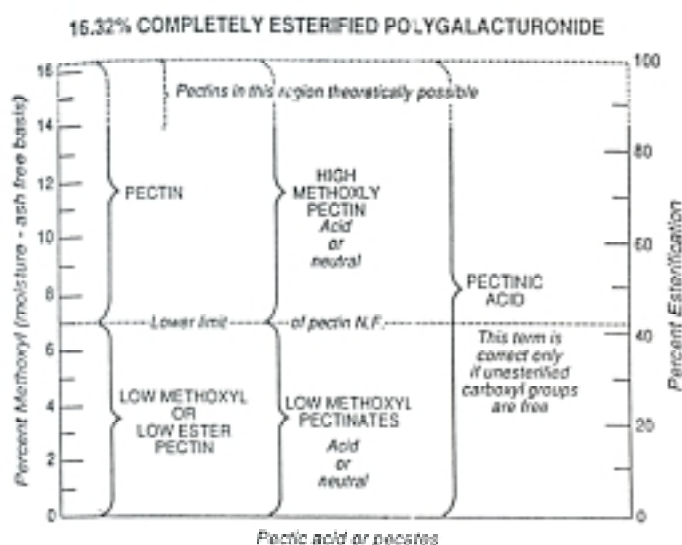
ที่มา: Scheller (2005)



ภาพที่ 4 ส่วนของโมเลกุลเพคตินที่มีหมู่เมทิลเอสเทอร์ไฟด์ และหมู่ไอ-2-แอซิทิล (ลูกศรชี้)
ที่มา: Rolin (1993)



ภาพที่ 5 ส่วนของโมเลกุลเพคตินที่แสดงตำแหน่งการเกิดเมทิลเอสเทอร์ไฟเคชันและตำแหน่งของ
หมู่เอไมด์ (ลูกศรชี้)
ที่มา: Rolin (1993)



ภาพที่ 6 แผนภาพการเรียกชื่อสารประกอบเพกติกในทางการค้า และแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์เมทอกซิล และเปอร์เซ็นต์เอสเทอร์ฟิเคชัน
ที่มา: Joseph *et al.* (1949)

2.3 การดัดแปรโครงสร้างเพกติน

การดัดแปรโครงสร้างเพกติน ทำให้ได้เพกตินที่มีโครงสร้างและสมบัติแตกต่างจากเดิม ส่วนใหญ่มีวัตถุประสงค์เพื่อผลิตเพกตินที่มีหมู่เมทอกซิลต่ำ Joseph *et al.* (1949) แบ่งการดัดแปรโครงสร้างเพกตินด้วยการดีเอสเทอร์ฟิเคชัน เป็น 4 วิธี คือ การดีเอสเทอร์ฟิเคชันด้วยกรด เบส เอนไซม์ และแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์

ในทางการค้ามีการผลิตเพกตินชนิดที่มีปริมาณหมู่เมทอกซิลต่ำ โดยการดัดแปรโครงสร้างเพกตินที่มีปริมาณหมู่เมทอกซิลสูงด้วยวิธีดีเอสเทอร์ฟิเคชันด้วยกรดหรือแอมโมเนีย เนื่องจากเพกตินที่สกัดได้จากเปลือกส้ม และกากแอปเปิลเป็นเพกตินที่มีหมู่เมทอกซิลสูง (Rolin *et al.*, 1998) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาเกี่ยวกับการใช้เอนไซม์ในการดีเอสเทอร์ไฟด์เพกตินที่มีหมู่เมทอกซิลสูง เพื่อผลิตเพกตินที่มีหมู่เมทอกซิลต่ำ และมีสมบัติที่แตกต่างไปจากเดิม (Axelos and Thibault, 1991 b)

2.3.1 การตัดแปร โครงสร้างเพกตินโดยใช้กรด

การตัดแปรเพกตินโดยใช้กรด เป็นการใช้กรดในการลดหมู่เมทอกซิล และเพิ่มหมู่คาร์บอกซิลอิสระ (free carboxyl group) ในโมเลกุลของ HM pectin ทำให้เกิดการกระจายแบบสุ่ม (random distribution) ของหมู่เมทอกซิล และหมู่คาร์บอกซิลอิสระในส่วนของ galacturonan ที่เป็นโครงสร้างหลัก กรดที่นิยมใช้คือกรดไฮโดรคลอริกและกรดซัลฟูริก (Axelos and Thibault, 1991 b; Ralet *et al.*, 2002 a)

การตัดแปรเพกตินด้วยกรดนอกจากจะสามารถย่อยพันธะเอสเทอร์ของหมู่เมทิลแล้วยังสามารถย่อยพันธะไกลโคซิดิก ซึ่งทำหน้าที่เชื่อมระหว่างโมเลกุลของกรดกาแล็กทูโรนิก ทำให้โมเลกุลของเพกตินมีขนาดเล็กลง หรือเกิดดีพอลิเมอร์ไรเซชัน (depolymerization) ส่งผลให้เจลอ่อนตัวมากขึ้น และทำให้ความหนืดของสารละลายเพกตินลดลง (Kim *et al.*, 1978 b; Rolin, 1993) นอกจากนั้นการใช้กรดยังทำให้ปฏิกิริยาดีเอสเทอร์ฟิเคชันเกิดขึ้นช้า และไม่สามารถเร่งปฏิกิริยาดังกล่าวด้วยการเพิ่มอุณหภูมิหรือความเข้มข้นของกรด เนื่องจากในภาวะที่มีอุณหภูมิและความเข้มข้นของกรดสูงจะทำให้เกิดดีพอลิเมอร์ไรเซชันของโมเลกุลเพกติน อย่างรุนแรง (Kim *et al.*, 1978 b)

LM pectin ที่ผ่านการตัดแปรด้วยกรด (acid deesterified pectin) จะมีความต้องการแคลเซียมไอออนปริมาณมากในการเกิดเจล โดยต้องการ 30-60 mg Ca^{2+} / g of pectin โดยใช้ในการผลิตอาหารจะต้องมีการเติมเกลือแคลเซียมในปริมาณสูงเพื่อช่วยให้เกิดเจล จึงเป็นข้อจำกัดสำหรับการนำมาใช้ในการผลิตอาหารบางชนิด เพราะการเติมแคลเซียมในปริมาณมากจะทำให้เจลเซ็ทตัวเร็วเกินไป และมีแนวโน้มที่จะเกิดการจับน้ำ (syneresis) มากขึ้น (Joseph *et al.*, 1949; Anonymous, n.d.)

2.3.2 การตัดแปร โครงสร้างเพกตินโดยใช้เอนไซม์

การตัดแปรเพกตินโดยใช้เอนไซม์ เป็นการใช้เอนไซม์ในการดีเอสเทอร์ไฟด์ HM pectin ทำให้เกิดการกระจายของคาร์บอกซิลอิสระในโมเลกุลของเพกตินอย่างสม่ำเสมอ นอกจากนั้นยังอาจเกิดการกระจายตัวของหมู่คาร์บอกซิลอิสระแบบสุ่ม ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับแหล่งของเอนไซม์ที่นำมาใช้ เช่น เอนไซม์จากจุลินทรีย์ เอนไซม์จากพืช เป็นต้น ซึ่งการกระจายตัวของหมู่

การบ่มกอลิโธสจะมีผลต่อการรวมตัวและการเกิดโครงสร้างคาข่ายของโมเลกุลเพกตินขณะเกิดเจล (Axelos and Thibault, 1991 b; Morris, 1998)

2.3.3 การดัดแปรโครงสร้างเพกตินด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์หรือแอมโมเนีย

การดัดแปรเพกตินด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ ทำให้เกิดปฏิกิริยาแอมิเดชัน (amidation) โดยใช้สารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ในแอลกอฮอล์เพื่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของหมู่คาร์บอกซิล หรือหมู่เมทอกซิล ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 6 ของกรดกลูโคนิก ไปเป็นหมู่แอซิดเอไมด์ (acid amide group) กระจายอยู่ในลักษณะสม่ำเสมอ (blockwise distribution) และเกิดการกระจายตัวแบบสุ่มของหมู่คาร์บอกซิลอิสระบนโมเลกุลเพกติน เพกตินที่ผ่านการดัดแปรด้วยแอมโมเนีย เรียกว่า แอมิเดตเพกติน (Kim *et al.*, 1978 b; Racape *et al.*, 1989)

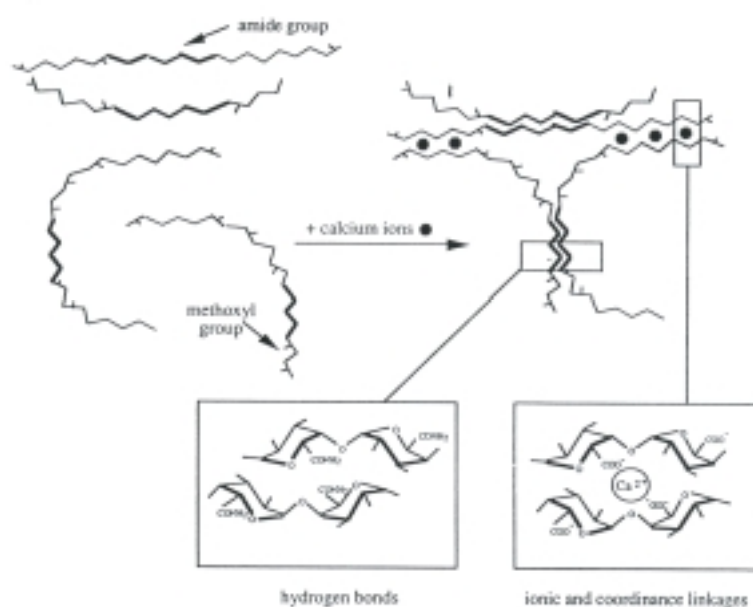
Kim *et al.* (1978 b) ได้ทำการทดลองเพื่อหาภาวะที่เหมาะสมในการเตรียม LM pectin โดยใช้แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ในแอลกอฮอล์ และใช้กรดในแอลกอฮอล์ร่วมกับการใช้แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ในแอลกอฮอล์ (acid-ammonia deesterification) การดีเอสเทอร์ิฟิเคชัน และแอมิเดชันเพกตินด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ในแอลกอฮอล์จะใช้แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1.0, 1.5, 2.0 และ 4.0 นอร์มัล ที่อุณหภูมิ 3, 15 และ 23 °C พบว่าการใช้แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ ทำให้เกิดการเปลี่ยนหมู่เมทอกซิลในโมเลกุลเพกตินไปเป็นหมู่แอซิดเอไมด์ ซึ่งการเพิ่มขึ้นของหมู่แอซิดเอไมด์จะมีความสัมพันธ์เป็นแบบเส้นตรงกับการลดลงของ degree of esterification โดยการใช้แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ 4.0 นอร์มัล ที่อุณหภูมิ 3 °C พบว่ามีอัตราการเกิดปฏิกิริยาเร็วที่สุด ทำให้เกิดหมู่แอซิดเอไมด์สูงที่สุด และเกิดการสูญเสียน้ำหนักโมเลกุลของเพกตินน้อยที่สุด การเพิ่มปริมาณของแอซิดเอไมด์สามารถทำได้โดยเพิ่มความเข้มข้นของแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ และทำในภาวะที่มีอุณหภูมิต่ำ สำหรับการไฮโดรคลอริก ร่วมกับแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ พบว่าการใช้กรดความเข้มข้นสูงที่อุณหภูมิต่ำเป็นระยะเวลานานตามด้วยการใช้แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ในระยะสั้นจะทำให้น้ำหนักโมเลกุลของเพกตินเปลี่ยนแปลงน้อย แต่มี แอซิดเอไมด์ในผลิตภัณฑ์สุดท้ายอยู่ในระดับต่ำ

EI-Nawawi and Heikal (1995) ได้ทำการศึกษากลไกของการเกิดดีเอสเทอร์ิฟิเคชัน ดีพอลิเมอร์ไรเซชัน และการเกิดหมู่แอซิดเอไมด์ในระหว่างการดัดแปร HM pectin จากพืชตระกูลส้ม โดยใช้แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ในแอลกอฮอล์ที่ระดับความเข้มข้น และอุณหภูมิต่างๆ พบว่าได้ผลการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kim *et al.* (1978 b) กล่าวคือ เกิดการเปลี่ยนแปลงของหมู่เมทอกซิลไปเป็นแอซิดเอไมด์ ซึ่งจะเกิดมากขึ้นเมื่อใช้แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นสูงในภาวะอุณหภูมิต่ำ ซึ่งในภาวะดังกล่าวจะทำให้เกิดการดีพอลิเมอร์ไรเซชันในระดับต่ำ และการใช้แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 4.0 นอร์มัล ที่อุณหภูมิ 5 °ซ มีอัตราการลดลงของ degree of esterification เร็วที่สุด

Reitsma *et al.*, (1986) ทำการศึกษาผลของหมู่เอไมด์ที่เพิ่มขึ้นต่อสมบัติเคมีเชิงกายภาพ (physico-chemical properties) ของแอมิเดตเพกติน พบว่าการเพิ่มระยะเวลาการเกิดปฏิกิริยาแอมิเดชันทำให้ มี degree of amidation เพิ่มขึ้น โดยมีหมู่คาร์บอกซิลอิสระเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดกาแล็กทูโรนิก และน้ำตาลที่เป็นกลาง เมื่อเทียบกับเพกตินที่ไม่ผ่านการแอมิเดชัน การเพิ่มขึ้นของ degree of amidation จาก 0 ถึง 48.7% ทำให้แอมิเดตเพกตินมีค่า intrinsic viscosity ลดลงเล็กน้อย แสดงให้เห็นว่าเกิดดีพอลิเมอร์ไรเซชันไม่รุนแรงเมื่อเพิ่มเวลาการแอมิเดชัน เมื่อพิจารณาความสามารถในการละลาย พบว่าแอมิเดตเพกตินที่มีค่า degree of amidation สูงกว่า 37.7% มีความสามารถในการละลายลดลง เนื่องจากเกิดการรวมตัวกันของสายโมเลกุลเพกติน (aggregation) ที่มีหมู่เอไมด์เพิ่มขึ้น ส่วนแอมิเดตเพกตินที่มีค่า degree of amidation 54.4% และ 59.7% สามารถละลายได้อย่างสมบูรณ์ได้เมื่อให้ความร้อน และมีแนวโน้มที่จะเกิดการรวมตัวกัน (flocculation) บางส่วนเมื่อทำให้เย็นลง

เพกตินที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีแอมิเดชัน สามารถเกิดเจลได้ในภาวะที่มีปริมาณไอออนของแคลเซียมต่ำ (15-30 mg Ca²⁺/g of pectin) ทั้งนี้เนื่องมาจากการเพิ่มขึ้นของหมู่เอไมด์ ซึ่งมีการกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ และการลดลงของหมู่คาร์บอกซิลอิสระ จึงทำให้เพกตินที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีแอมิเดชัน มีความต้องการแคลเซียมไอออนในการเกิดเจลด้อยลงเมื่อเทียบกับเพกตินที่ผ่านการดัดแปรด้วยกรด (30-40 mg Ca²⁺/g of pectin) (Joseph *et al.*, 1949) นอกจากนี้ในการเกิดเจลของเพกตินที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีแอมิเดชันยังต้องการของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในระดับต่ำเพื่อช่วยในการเกิดเจล ส่วนกลไกการเกิดเจลของ เพกตินที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีแอมิเดชันนั้น ไม่ได้เกิดในแบบที่เป็น egg-box junction ซึ่งเป็นส่วนที่เกิด ionic interaction ระหว่างแคลเซียมไอออนกับส่วนของกรดกาแล็กทูโรนิกเพียงอย่างเดียว แต่จะเกิดเจลเนื่องจากการ

รวมตัวกันของ amidated galacturonic acid residues ด้วยพันธะไฮโดรเจนเกิดเป็น amidated junction ด้วย (Voragen *et al.*, 1995) แสดงดังภาพที่ 7



ภาพที่ 7 แบบจำลองการเกิดเจลของแอมิเดตเพกติน

ที่มา: Ralet *et al.* (2002 a)

การตัดแปรรูปเพกตินด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์จะทำให้ได้เจลที่มีลักษณะแตกต่างไปจากเจลของเพกตินที่ตัดแปรรูปด้วยกรด โดย Kim *et al.* (1978 a) ได้ทำศึกษาลักษณะทางกายภาพของเจลที่ได้จากการตัดแปรรูปเพกตินด้วยด่างกรด และแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ พบว่าการตัดแปรรูปเพกตินด้วยกรด ทำให้มีค่า degree of esterification ลดลงจาก 40% ไปเป็น 29% และมีหมู่คาร์บอกซิลอิสระเพิ่มขึ้นจาก 60% เป็น 71% ส่งผลให้ได้เจลที่มีความเปราะ และมีลักษณะเป็นเม็ดเล็กๆที่ผิวหน้า (pebbly) ส่วนเจลที่ได้จากเพกตินที่ผ่านการตัดแปรรูปด้วยกรดร่วมกับแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (acid-ammonia demethylation and amidation) มีลักษณะของผิวหน้าเรียบ มีความชุ่มชื้น มีความแข็งแรงมากขึ้น และมีความยืดหยุ่นสูง พิจารณาจากเจลที่ได้มีค่า maximum stress (N cm^{-2}) และ relaxation time เพิ่มขึ้น ตามการเพิ่มขึ้นของหมู่แอซิดเอไมด์ และการลดลงของเปอร์เซ็นต์หมู่คาร์บอกซิลอิสระ

นอกจากจะมีการศึกษาเกี่ยวกับการดัดแปรเพกตินที่สกัดจากกากแอปเปิลและเปลือกส้ม ซึ่งเป็นวัตถุดิบหลักในการผลิตเพกตินแล้ว ยังมีการศึกษาการดัดแปรเพกตินที่สกัดได้จากแหล่งอื่นด้วย โดย Kim *et al.* (1978 c) กล่าวว่า การดัดแปรเพกตินที่สกัดจากก้านและฐานรองดอกทานตะวันด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ จะทำให้ปริมาณหมู่เอซิติล และ degree of esterification ลดลง รวมทั้งมีการเพิ่มขึ้นของหมู่เอซิดเอไมด์ ทำให้ได้เจลที่มีความเรียบ แข็งแรง มีความยืดหยุ่น และความคงตัวสูงกว่าเพกตินทางการค้า ชนิดที่มีหมู่เมทอกซิลต่ำ ทั้งยังสามารถลดการเกิด pregelation ซึ่งเป็นลักษณะที่ไม่ต้องการให้เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการผลิตอาหาร นอกจากนี้ แอมิเตดเพกตินที่ได้ยังมีค่าความเป็นกรด-เบสที่เหมาะสมกับการเกิดเจลเท่ากับ 4.3 ซึ่งสูงกว่าค่าความเป็นกรด-เบสที่เหมาะสมกับการเกิดเจลของเพกตินทางการค้า (pH 2.5-6.5) ทำให้สามารถนำไปใช้ในการผลิตขนมหวานหรือเจลลี่ที่มีค่าความเป็นกรด-เบสสูงได้

ปัจจุบัน LM pectin ที่จำหน่ายในเชิงการค้าส่วนใหญ่ได้มาจากการดัดแปรเพกตินด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ มีค่า degree of amidation 15-20% (Rolin, 1993) โดยใช้เป็นสารให้ความข้นหนืด และสารทำให้เกิดเจลในผลิตภัณฑ์อาหารประเภทที่ต้องการใช้น้ำตาลน้อย เช่น แยมเคลอริต้า หรือแยมสำหรับ ผู้ป่วยโรคเบาหวาน และเนื่องจากแอมิเตดเพกตินสามารถเกิดเจลได้หลังผ่านความร้อน (thermoreversible gel) จึงเหมาะกับการนำไปใช้ทำแยม หรือไส้ขนมอบ รวมทั้งช่วยเพิ่มความเป็นมันเงาในเจลลี่ และจากการที่แอมิเตดเพกตินสามารถเกิดเจลได้ในภาวะที่มีแคลเซียมปริมาณต่ำ จึงมีการนำมาใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์จากนม เช่น โยเกิร์ตผลไม้ หรือขนมหวานที่มีส่วนผสมของนมและผลไม้ เป็นต้น (Ralet *et al.*, 2002 a)

นอกจากจะมีการนำแอมิเตดเพกตินมาใช้ในการผลิตอาหารประเภทของหวานหรือผลิตภัณฑ์นมแล้ว ยังมีการนำแอมิเตดเพกตินมาใช้ในการผลิตภัณฑ์จากเนื้อ โดย Uresti *et al.* (2002) ได้มีการนำแอมิเตดเพกตินมาใช้ในการปรับปรุงสมบัติเชิงกลของซูริมิ พบว่าการเติมแอมิเตดเพกตินปริมาณ 1% สามารถปรับปรุงความสามารถในการอุ้มน้ำ และสมบัติเชิงกลของซูริมิให้ดีขึ้นได้ โดยพิจารณาจากการวิเคราะห์ texture profile analysis (TPA) ค่า breaking force และความแข็งแรงของเจล นอกจากนั้นปริมาณการเติมแอมิเตดเพกติน ยังมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสีของ fish paste ที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตซูริมิ โดยการเติมแอมิเตดเพกติน 2-5 % ทำให้ fish paste มีสีเหลืองมากกว่ากลุ่มควบคุมที่ไม่มีการเติมแอมิเตดเพกตินอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

จากรายงานของ Tho *et al.* (2005) กล่าวว่าการใช้แอมิเดตเพกตินร่วมกับการเติมแคลเซียมในการผลิตยาเม็ดด้วยกระบวนการ extrusion/spheronisation ทำให้เกิดการครอสลิงระหว่างแอมิเดตเพกตินกับไอออนของแคลเซียม ส่งผลให้ได้พอลิเมอร์ที่มีความสามารถในการละลายและการพองตัวต่ำ ซึ่งเป็นสมบัติที่สำคัญของสารช่วยในการขึ้นรูปของยาเม็ดกลม (aiding expient) เพราะหากพื้นผิวของอนุภาคเพกตินเกิดการพองตัวเมื่อเติมน้ำ จะทำให้เกิดการจับตัวกันเป็นก้อน ส่งผลให้เม็ดยาที่ได้จากกระบวนการ extrusion มีสมบัติเป็น plasticity สูง และมีความแข็งต่ำ ทำให้แตกหักง่ายและไม่สามารถขึ้นรูปเป็นยาเม็ดกลมได้ ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการขึ้นรูปเม็ดยาได้แก่ degree of amidation ของแอมิเดตเพกติน และค่าความเข้มข้นของแคลเซียม ไอออนแอมิเดตเพกตินที่มีค่า degree of amidation สูง (24%) จะมีความสามารถในการละลายต่ำ เนื่องจากหมู่เอไมด์ในโมเลกุลแอมิเดตเพกตินสามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนได้ทั้งในโมเลกุลเดียวกันและนอกโมเลกุล ส่งผลให้เกิดลักษณะที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic appearance) นอกจากนั้นการเติมไอออนของแคลเซียม ซึ่งจะไปจับกับส่วนของคาร์บอกซิลอิสระในโมเลกุลแอมิเดตเพกตินในลักษณะของ egg-box junction ยังช่วยลดความยาวของเม็ดยา ทำให้เม็ดยาที่ผ่านเครื่องอัดพองออกมามีลักษณะเป็นเม็ดกลมมากขึ้น

นอกจากการดัดแปร โครงสร้างเพกตินด้วยแอมโมเนียแล้ว ยังมีการดัดแปรเพกตินด้วยสารประเภทเอมีนอีกหลายชนิด เช่น เมทิลเอมีน เอทิลเอมีน เฮกซิลเอมีน ออกทิลเอมีน ออกตาเดซิลเอมีน รวมทั้งเอมีนชนิดที่มีวงแหวนเบนซีน และฟอสฟอรัสเป็นส่วนประกอบ ทำให้ได้เพกตินาไมด์ (pectinamide) ที่มีสมบัติแตกต่างกันไปตามชนิดของเอมีนที่ใช้ (Sinitysya *et al.*, 2000; Van Alebeek *et al.*, 2001)

การดัดแปร โครงสร้างเพกตินชนิดที่มีหมู่เมทอกซิลสูงด้วย *N*-octadecylamine ทำให้ได้ *N*-pectinamide ที่มีสมบัติเป็น amphiphilic polymer โดยปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจะทำให้อนุภาคของเพกตินเล็กลงอย่างมีนัยสำคัญ และเกิดการเปลี่ยนรูปร่างของอนุภาคเพกตินจากอนุภาคที่มีลักษณะกลมไปเป็นเพกตินที่มีอนุภาครูปไข่ และเมื่อศึกษาถึงโครงสร้างทางเคมีของ *N*-octadecyl pectinamide ด้วย FT-Raman, FT-IR, FT-NIR และ ^{13}C CP/MAS NMR พบว่ามีหมู่เอไมด์ทุติยภูมิ (secondary amide) และหมู่ *N*-octadecyl อยู่ในโมเลกุลของเพกตินที่ผ่านการดัดแปรหมู่ *N*-octadecyl จะไปเพิ่มสมบัติในการไม่ชอบน้ำ และมีความจำเพาะเจาะจงในการดูดซับโมเลกุลที่ไม่มีขั้วและมีขั้วได้ สามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นตัวดูดซับหรือกำจัดสารไม่มีขั้วต่าง ๆ เช่นการกำจัดไขมันออกจากน้ำเสีย เป็นต้น (Synytsya *et al.*, 2004)

กระเจี๊ยบเขียว

กระเจี๊ยบเขียว มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Hibiscus esculentus* Linn. ปัจจุบันเปลี่ยนเป็น *Abelmoshus esculentus* L. Moench ซึ่งอยู่ในตระกูล Malvaceae มีถิ่นกำเนิดในเขตร้อนแถบแอฟริกาและเอเชีย กระเจี๊ยบเขียวมีชื่อสามัญว่า Okra และมีชื่อในภาษาต่างๆ ได้แก่ Okra หรือ Lady's finger ในภาษาอังกฤษ ส่วนภาษาฝรั่งเศส สเปน และ โปรตุเกส เรียกว่า Gumbo, Guino-Gumbo และ Guibero ตามลำดับ นอกจากนั้นยังมีการเรียกชื่อกระเจี๊ยบเขียวแตกต่างกันในแต่ละท้องถิ่น เช่น แถบเอเชียใต้เรียก Bhindi ประเทศแถบตะวันออกกลางเรียกว่า Bamia, Bamyia หรือ Bamieh ทางตอนใต้ของสหรัฐอเมริกาเรียก Gumbo และประเทศญี่ปุ่นเรียก Okura เป็นต้น (Jambhale and Nerkar, 1998) โดยแหล่งผลิตกระเจี๊ยบเขียวที่สำคัญของโลก ได้แก่ แถบชายฝั่งทะเลแคริบเบียน ทวีปแอฟริกา โดยเฉพาะในประเทศชูดาน อียิปต์ ไนจีเรีย และประเทศในเขตเอเชีย ได้แก่ มาเลเซีย และฟิลิปปินส์ (ภัสรา และคณะ, 2536) สำหรับประเทศไทย มีการเรียกชื่อกระเจี๊ยบเขียวแตกต่างกันตามแต่ละท้องถิ่น เช่น กระเจี๊ยบมอญ มะเขือมอญ มะเขือมัน มะเขือละโว้ มะเขือทวาย กระต๊าด โดยมีแหล่งเพาะปลูกที่สำคัญ ได้แก่ เขตหนองแขม กรุงเทพฯ นครปฐม ปทุมธานี นนทบุรี สุพรรณบุรี อ่างทอง และ สมุทรสาคร (ภัสรา และคณะ, 2536) พันธุ์ที่มีการส่งเสริมให้เพาะปลูก เช่น Early Five, Green star และ Starlight (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2545)

1. การสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว

การสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวสามารถทำได้หลายวิธี โดยแต่ละวิธีจะได้ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์และองค์ประกอบทางเคมีแตกต่างกันออกไป ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่น ๆ เช่น สายพันธุ์ของกระเจี๊ยบเขียวอีกด้วย การสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวจะใช้ฝักกระเจี๊ยบเขียวที่มีอายุ 4-8 วัน ซึ่งเป็นช่วงที่ได้พอลิแซ็กคาไรด์ที่มีค่า ropiness มากกว่าฝักกระเจี๊ยบเขียวที่มีอายุ 11-12 วัน 3 เท่า การสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ใช้วิธีสกัดด้วยของเหลว ได้แก่ น้ำ หรือ กรดไฮโดรคลอริก จากการสกัดในห้องปฏิบัติการด้วยน้ำพบว่าปริมาณผลได้ (yield) ของพอลิแซ็กคาไรด์ประมาณ 0.35-1.6% ของน้ำหนักเปียกของฝักกระเจี๊ยบเขียว มีปริมาณโปรตีน 10-20% ส่วนการสกัดด้วยกรดไฮโดรคลอริก 0.1 โมลาร์ แล้วตกตะกอนด้วยอะซิโตน พบว่ามีปริมาณผลได้ของพอลิแซ็กคาไรด์ประมาณ 1% และมีปริมาณโปรตีนเหลือเพียง 1.6% ซึ่งพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดด้วยกรดนี้จะละลายน้ำได้ทีละน้อย แต่สามารถละลายได้ง่ายในสารละลาย 1% sodium borohydride (Bhat and Tharanathan, 1986; BeMiller *et al.*, 1993)

โสภิตา (2537) ทำการศึกษาการสกัดเพกตินจากกระเจี๊ยบเขียว โดยสกัดในถังปฏิกรณ์ที่เป็นเครื่องวัดความหนืด สามารถควบคุมอุณหภูมิและอัตราการเงื่อนไขได้ และใช้กรดไฮโดรคลอริก 1.5% (โดยปริมาตร) เป็นสารสกัด โดยกระเจี๊ยบเขียวที่ใช้จะถูกลบด้วยเครื่องบดชนิดเหวี่ยง (centrifugal mill) ทำการอบด้วยลมร้อนและร้อนผ่านตะแกรงเพื่อให้ได้ชิ้นส่วนกระเจี๊ยบเขียวขนาด 250-200 ไมครอน ผลการศึกษาพบว่าขนาดชิ้นส่วนของกระเจี๊ยบเขียวที่ผ่านการทำแห้งมาแล้ว และอัตราการเงื่อนไขในถังปฏิกรณ์ มีผลต่ออัตราการสกัด โดยการใช้กระเจี๊ยบเขียวที่มีอนุภาคขนาดใหญ่จะมีอัตราการสกัดเริ่มต้นและที่สมดุลมากกว่าอนุภาคขนาดเล็กเมื่อใช้อัตราการเงื่อนไขระหว่างสกัดเท่ากัน และเมื่อใช้กระเจี๊ยบเขียวขนาดอนุภาคเท่ากันที่อัตราการเงื่อนไขต่างๆ พบว่าการใช้อัตราการเงื่อนไขสูงทำให้มีอัตราการสกัดเริ่มต้นและที่สมดุลสูงกว่าการใช้อัตราการเงื่อนไขต่ำ และจากการทดลองนี้ ยังแสดงให้เห็นว่าอัตราการสกัดขึ้นอยู่กับค่าพารามิเตอร์ของเพกตินจากอนุภาคของแข็ง (ชิ้นส่วนกระเจี๊ยบเขียว) ออกสู่สารละลาย โดยมีแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่เหมาะสมต่อการสกัดเพกตินจากกระเจี๊ยบเขียว ดังนี้

$$C_t = C_{is} (1 - e^{-K_T t})$$

เมื่อ $K_T = (KA/bV)$ เป็นค่าคงที่รวมของการสกัด (1/นาที)

A = พื้นที่ผิวสัมผัส (ซ.ม.²)

b = effective thickness ของชั้นฟิล์มรอบๆ ของแข็ง (ซ.ม.)

V = ปริมาตรของสารละลาย (ซ.ม.³)

t = เวลาในการสกัด (วินาที)

C_t = ความเข้มข้นของเพกตินในสารละลาย (กรัม/มิลลิลิตร)

C_{is} = ความเข้มข้นของเพกตินซึ่งอิ่มตัวเมื่อสัมผัสกับของแข็ง (กรัม/มิลลิลิตร)

เบญจวรรณ (2534) ได้ทำการศึกษาการเจริญเติบโต และการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของ ฝักระเจี๊ยบเขียวพันธุ์ OK#2 ในช่วงอายุ 1-12 วันหลังดอกบาน พบว่าฝักระเจี๊ยบเขียวจะมี ปริมาณเพกตินในรูปของแคลเซียมเพกเตตลดลงเมื่ออายุฝักเพิ่มขึ้น (ตารางที่ 1) เนื่องจากเกิดการ เปลี่ยนแปลงของแคลเซียมเพกเตต (calcium pectate) ซึ่งอยู่ในรูปที่ไม่ละลายน้ำไปเป็น สารประกอบเพกติกที่ละลายน้ำได้โดยกิจกรรมของเอนไซม์เพกตินเอสเทอเรส (pectinesterase) ซึ่ง เอนไซม์ดังกล่าว จะมีกิจกรรมมากขึ้นในขณะที่ผลผลิตมีอายุมากขึ้น ส่งผลให้ฝักระเจี๊ยบเขียวมี เนื้อสัมผัสนุ่มลงได้

ตารางที่ 1 การเปลี่ยนแปลงขนาดของฝัก ปริมาณเพกติน ระหว่างการเจริญเติบโตของ ฝักระเจี๊ยบเขียวพันธุ์ OK#2

อายุ (วัน)	ขนาดของฝัก (ซ.ม.)		เปอร์เซ็นต์เพกตินในรูป ของแคลเซียมเพกเตต
	ความยาว	เส้นผ่านศูนย์กลาง	
1	1.41	1.09	0.93
2	2.43	1.23	0.94
3	3.74	1.34	0.95
4	6.23	1.73	0.87
5	9.54	1.84	0.81
6	13.94	2.25	0.78
7	17.40	2.54	0.75
8	19.25	2.84	0.69
9	20.08	3.06	0.68
10	20.29	3.10	0.67
11	20.61	3.13	0.66
12	21.10	3.06	0.63

ที่มา: เบญจวรรณ (2534)

2. องค์ประกอบและโครงสร้างทางเคมีของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว

2.1 องค์ประกอบทางเคมีของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว

พอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวประกอบด้วยน้ำตาลชนิดต่างๆ ได้แก่ กรดกาแล็กทูโรนิก กาแล็กโทส แรมโนส และกลูโคส ในอัตราส่วน 1.3: 1.0: 0.1: 0.1 (Woolfe *et al.*, 1977) ต่อมาการศึกษาน้ำตาลเพิ่มขึ้นอีก 3 ชนิดได้แก่ อะราบิโนส ไซโลส และแมนโนส ส่วนพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้จากการสกัดด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล ซึ่งไม่ละลายน้ำแต่ละลายในสารละลาย 1% sodium borohydride ประกอบด้วย galactose, rhamnose และ galacturonic acid ในอัตราส่วน 2.4:1:1 (Bhat and Tharanathan, 1986) เมื่อวิเคราะห์หมู่แอซิดิลด้วยเทคนิคอินฟราเรดสเปกโทรสโคปี พบว่าเกิดพีคของพันธะเอสเทอร์ที่ wave number 1,250 และ $1,730\text{ cm}^{-1}$ ซึ่งเป็นส่วนที่หมู่ไฮดรอกซิลของกรดกาแล็กทูโรนิกถูกเอสเทอร์ไฟด์ด้วยกรดแอซิดิก และจากการวิเคราะห์ปริมาณแอซิดิลในโครงสร้างพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวด้วย gas-liquid chromatography พบว่ามีปริมาณแอซิดิล 5.5% (Tomoda *et al.*, 1980)

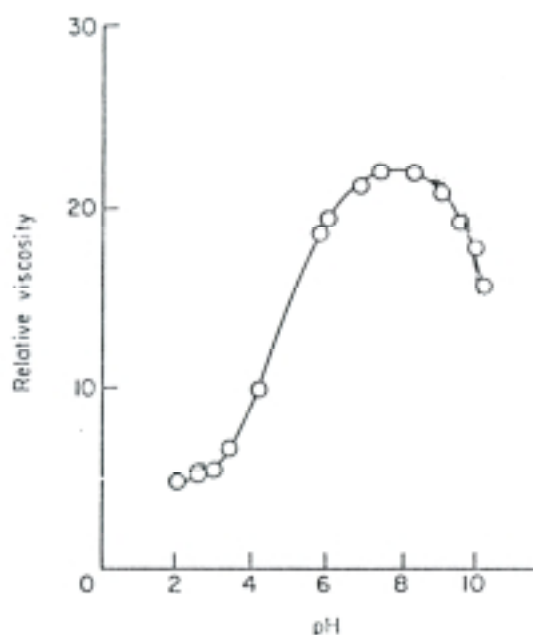
พอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดด้วยน้ำมีปริมาณโปรตีนประมาณ 10.8% ซึ่งประกอบด้วยกรดแอมิโนชนิดต่าง ๆ โดยส่วนของโปรตีนจะเกาะอยู่กับพอลิแซ็กคาไรด์และมีอัตราส่วนของ partially acetylated acedidic polysaccharide ต่อโปรตีนเท่ากับ 8.1: 1 (Tomoda *et al.*, 1980) นอกจากนั้นยังมีแร่ธาตุที่เป็นองค์ประกอบในพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว ได้แก่ แคลเซียม แมกนีเซียม และฟอสฟอรัสอีกด้วย (Woolfe *et al.*, 1977)

2.2 โครงสร้างทางเคมี

การศึกษาโครงสร้างของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวด้วยวิธี methylation analysis และ partial hydrolysis พบว่ามีโครงสร้างหลักเป็น $(1\rightarrow4)\text{-O-}\alpha\text{-(D-galactopyranosyluronic acid)-(1}\rightarrow2\text{)-O-}\alpha\text{-L-rhamnopyranose}$ หรือ rhamnogalacturonan คล้ายเพกติน โดยส่วนของน้ำตาลแรมโนสจะมีโมเลกุลโซ่ข้างเกาะอยู่ ประกอบด้วย $4\text{-O-}\beta\text{-D-galactopyranosyl D-galactopyranose}$ (Tomoda *et al.*, 1980) แสดงดังภาพที่ 8

3.1.2 ความเป็นกรด-เบส (pH)

จากการศึกษาผลของความเป็นกรด-เบส (pH 2-10) ที่มีต่อความหนืดสัมพัทธ์ (ความหนืดสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์/ความหนืดของน้ำ) ของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จาก กระเจี๊ยบเขียวที่สกัดด้วยน้ำ ซึ่งวัดโดยใช้ capillary viscometer พบว่าสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์ จากกระเจี๊ยบเขียวมีความหนืดต่ำในภาวะที่มีค่า pH 2-3 และจะมีความหนืดเพิ่มขึ้นเมื่ออยู่ในภาวะ ที่มีค่า pH สูงขึ้น โดยพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวจะมีค่าความหนืดสูงสุดเมื่ออยู่ในภาวะที่ เป็นกลาง และมีความหนืดลดลงในภาวะที่เป็นเบสแก่ (pH 10) (Woolfe *et al.*, 1977) แสดงดังภาพ ที่ 9



ภาพที่ 9 ผลของค่าความเป็นกรด-เบส ต่อความหนืดสัมพัทธ์ ของพอลิแซ็กคาไรด์จาก กระเจี๊ยบเขียว ความเข้มข้น 5 กรัม/ลิตร, อุณหภูมิสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์เท่ากับ 25 °ซ
ที่มา: Woolfe *et al.* (1977)

3.1.3 อุณหภูมิ

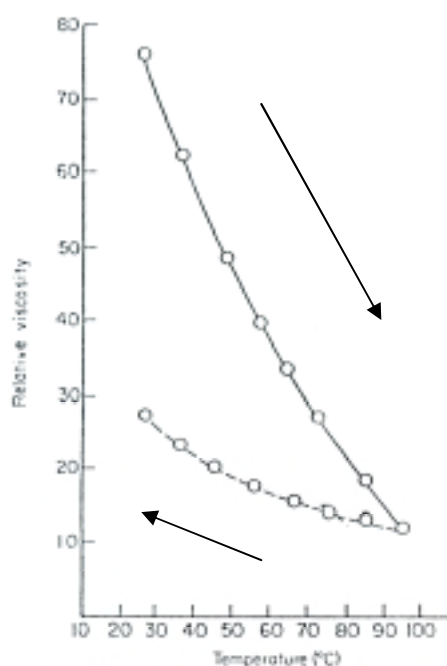
การให้ความร้อนแก่สารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวความเข้มข้น 8 กรัม/ลิตร จากอุณหภูมิห้องจนถึง 90 °ซ แล้วทำให้เย็นลงจนเท่ากับอุณหภูมิเริ่มต้น พบว่าการเพิ่มอุณหภูมิจะทำให้ความหนืดสัมพัทธ์ของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์ลดลง และเมื่อทิ้งไว้ให้เย็น พบว่ามีค่าความหนืดมากขึ้นแต่น้อยกว่าความหนืดเริ่มต้นวัดความหนืดโดยใช้ capillary viscometer แสดงดังภาพที่ 10 (Woolfe *et al.*, 1977)

3.1.4 สารอิเล็กโทรไลต์

Ndjouenkeu *et al.* (1996) พบว่าพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวความเข้มข้น 0.96%, 0.67%, 0.48%, 0.19%, และ 0.096% ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ มีความหนืดน้อยกว่าสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวในน้ำเล็กน้อย และจะพบการเปลี่ยนแปลงความหนืดชัดเจนเมื่อพิจารณาที่ความเข้มข้นต่ำ (ภาพที่ 11) วิเคราะห์ความหนืดโดยใช้ contraves low shear 30 rotational viscometer (cup and bob geometry) พฤติกรรมดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวมีการตอบสนองต่อโมเลกุลที่มีประจุ สายของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวเมื่อละลายในน้ำจะมีลักษณะเป็นเกลียวที่จัดเรียงตัวกันแบบสุ่ม (random coils) และแผ่ตัวออกด้วยแรงผลักระหว่างโมเลกุล เมื่อเติมสารอิเล็กโทรไลต์ลงในสารละลายดังกล่าว ประจุบวกที่เกิดจากการแตกตัวของสารอิเล็กโทรไลต์จะไปลดแรงผลักระหว่างประจุในโมเลกุลพอลิแซ็กคาไรด์ ทำให้เกิดการจับตัวกันระหว่างสายเกลียวแต่ละสายแน่นมากขึ้น ส่งผลให้ความหนืดลดลง ส่วนการเติมแคลเซียมคลอไรด์ให้มีความเข้มข้นของแคลเซียมไอออน 200-1,000 ไมโครโมลาร์ จะทำให้ความหนืดของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่มีการเติมแคลเซียมคลอไรด์ แสดงดังภาพที่ 12 (Woolfe *et al.*, 1977)

สอดคล้องกับรายงานของ BeMiller *et al.* (1993) ซึ่งกล่าวว่า สมบัติในการต้านทานการไหลของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวจะได้รับผลกระทบเล็กน้อยจากการเติมเกลือที่มีประจุบวก 1 ประจุ (monovalent cations) เช่น โซเดียมคลอไรด์ และ โพแทสเซียมคลอไรด์ และจะได้รับผลกระทบมากจากการเติมเกลือที่มีประจุบวก 2 ประจุ (divalent cations) เช่น แคลเซียม

คลอไรด์ และแมกนีเซียมซัลเฟต ส่วนเกลือที่มีประจุบวก 3 ประจุ (trivalent cations) เช่น เกลือของ อะลูมิเนียม จะทำให้สารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวตกตะกอน

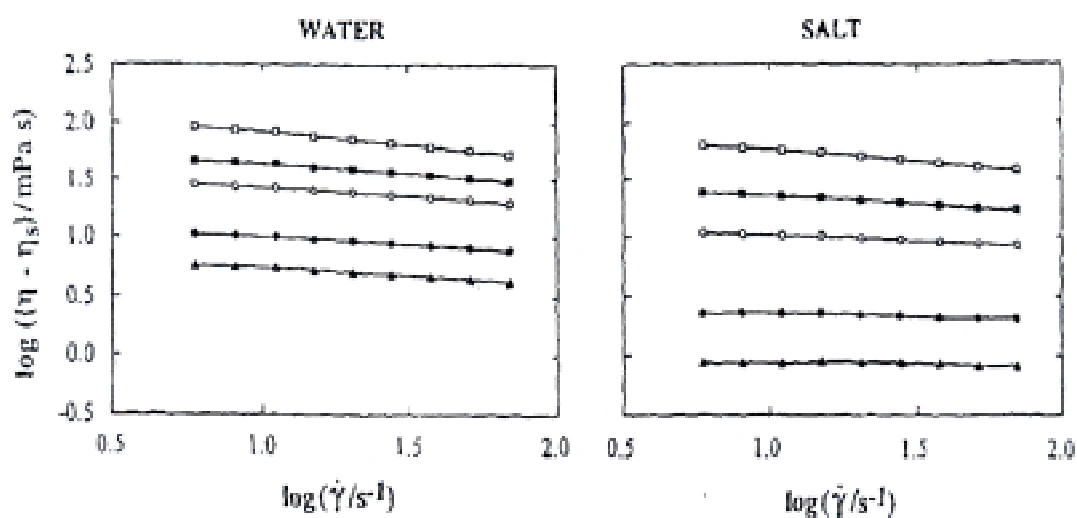


ภาพที่ 10 ผลของการให้ความร้อน (เส้นทึบ) และการทำให้เย็น (เส้นประ) ต่อความหนืดสัมพัทธ์ของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวความเข้มข้น 8 กรัม/ลิตร
ที่มา: Woolfe *et al.* (1977)

3.1.5 สารที่ละลายน้ำได้ (water-soluble additives)

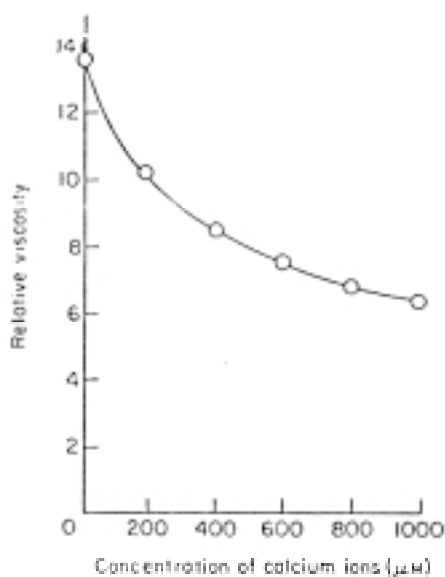
การเติมน้ำตาลซูโครส และน้ำตาลกลูโคส ความเข้มข้น 5-40% ในสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว โดยมี sodium borohydride ความเข้มข้น 1% เป็นตัวทำละลาย ส่งผลให้มีค่าความหนืดปรากฏ (apparent viscosity) เพิ่มขึ้นเล็กน้อย เนื่องจากน้ำตาลชนิดดังกล่าวจะไปลดการจับน้ำ (hydration) ของพอลิแซ็กคาไรด์ ขณะเดียวกันก็จะเข้าจับกับน้ำ ทำให้มีค่าความหนืดเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ส่วนการเติมมอลโตเด็คซ์ทรินความเข้มข้น 5-40% จะช่วยเพิ่มความหนืดแก่

สารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว เนื่องจากมอลโตเด็คซ์ทรินสามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนกับโมเลกุลพอลิแซ็กคาไรด์ ทำให้มีค่าความหนืดสูงขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม วิเคราะห์ความหนืดด้วย rotovisco viscometer (cone and plate sensor system) (Bhat and Tharanathan, 1987)



ภาพที่ 11 ความหนืดที่ขึ้นกับอัตราเฉือนของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวความเข้มข้น 0.96% (□), 0.67% (■), 0.48 % (○), 0.19% (●) และ 0.096% (▲) ในน้ำ และใน 0.1 M NaCl (25 °C), η_s หมายถึง ความหนืดของตัวทำละลาย (0.1N HCl), γ หมายถึง อัตราเฉือน (1/วินาที)

ที่มา: Ndjouenkeu *et al.* (1996)



ภาพที่ 12 ผลของแคลเซียมไอออนต่อความหนืดสัมพัทธ์ ของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว ความเข้มข้น 5 กรัม/ลิตร, pH 6.0

ที่มา: Woolfe *et al.* (1977)

3.2 สมบัติในการเป็นสารให้ความคงตัวและความหนืดแก่อิมัลชัน

Ndjouenkeu *et al.*, 1997 ได้ทำการศึกษาสมบัติของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวแบบผง (okra flour) และศึกษาผลของการเติมสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว ที่มีต่อความคงตัวของอิมัลชันของน้ำมันข้าวโพดซึ่งเป็นอิมัลชันชนิดไขมันในน้ำ จากการศึกษาพบว่า okra flour มีค่า Water Absorption Capacity (WAC), Oil Absorption Capacity (OAC) และ Water Oil Absorption Index (WOAI) อยู่ในระดับต่ำ เมื่อเทียบกับพอลิแซ็กคาไรด์จากพืชชนิดอื่นแสดงดังตารางที่ 2 ค่าดังกล่าวเป็นค่าที่ใช้แสดงความสามารถในการเป็นสารให้ความคงตัวแก่อิมัลชัน โดยการที่พอลิแซ็กคาไรด์จะช่วยให้อิมัลชันมีความคงตัวได้นั้นจะต้องมีค่า WAC และ OAC สูง นอกจากนั้นอิมัลชันที่มีการเติมพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวยังมีค่า Emulsifying Activity (EA) และ Emulsion Stability (ES) ต่ำ ซึ่งจากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวมีสมบัติในการเป็นสารให้ความหนืด (thickener) ขณะที่ไม่มีสมบัติในการให้ความคงตัวแก่อิมัลชัน (emulsion stabilizer) ต่ำ

ตารางที่ 2 ค่า Water Absorption Capacity (WAC), Oil Absorption Capacity (OAC) และ Water Oil Absorption Index (WOAI) ของ Okra, Dika nut และ Khan flour

ตัวอย่าง	WAC (%)	OAC (%)	WOAI (%)
Okra flour	412.4	229.7	1.8
Dika nut flour	938.9	304.9	3.2
Khan flour	1053.6	76.4	13.8

ที่มา: Ndjouenkeu *et al.* (1997)

4. การใช้ประโยชน์จากกระเจี๊ยบเขียว

4.1 การใช้ประโยชน์ทางด้านอาหาร

ปัจจุบันยังไม่มีการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวมาใช้เป็นสารเจือปนในอาหารเป็นเชิงการค้า แต่ในประเทศแถบแอฟริกากลาง และตะวันออกของแอฟริกา ซึ่งเป็นแหล่งเพาะปลูกกระเจี๊ยบเขียวที่สำคัญ นิยมนำกระเจี๊ยบเขียวมาใช้เป็นส่วนประกอบของอาหารพื้นเมืองประเภทซूप สตูว์ เพื่อเพิ่มความหนืด โดยมีการนำมาใช้ทั้งในรูปของผลสด ผลแห้ง และแบบผง (Ndjouenkeu *et al.*, 1996) ส่วนในประเทศญี่ปุ่นนิยมนำกระเจี๊ยบเขียวมาประกอบอาหาร เช่น ผักสดย่างไฟ สลัด ผัด และซूप (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2545)

ส่วนในประเทศสหรัฐอเมริกามีการนำพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว มาใช้ทดแทนเนยเหลวและไข่ทั้งหมดในสูตรการทำเค้กบราวนี่ ทำให้บราวนี่สูตรดังกล่าวมีปริมาณไขมันน้อยกว่าสูตรปกติ โดยบราวนี่สูตรปกติมีปริมาณไขมัน 6.6 g fat/serving ส่วนบราวนี่ที่มีการทดแทนเนยเหลวและไข่ด้วยพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวมีปริมาณไขมัน 0.49 g fat/serving และมีคะแนนความชอบจากการทดสอบทางประสาทสัมผัสอยู่ในระดับที่ยอมรับได้ (Stenson, 2000) นอกจากนี้ยังมีการนำพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวมาใช้ในรูปของสารทดแทนไขมันในการทำซ็อกโกแลตบาร์คุกกี้ ทั้งยังสามารถช่วยรักษาความชุ่มชื้นของคุกกี้ในระหว่างการเก็บรักษาได้มากกว่าคุกกี้สูตรปกติ โดยมีคะแนนความชอบโดยรวมไม่แตกต่างกับคุกกี้สูตรปกติและคุกกี้ที่มีการเติมสารทดแทนไขมันชนิดอื่น (Romanchick-Cerpovicz *et al.*, 2002)

ในการผลิตไข่ขาวผง (reconstituted dried egg white) สามารถนำพอลิแซ็กคาไรด์จาก กระเจี๊ยบเขียวมาเป็นส่วนประกอบเพื่อให้คุณสมบัติในการตี โดยจะใช้เป็นส่วนประกอบเพียงชนิดเดียว หรือใช้ร่วมกับสารเพิ่มประสิทธิภาพในการตี (whipping agent) ชนิดอื่นก็ได้ เมื่อนำไข่ขาวผง ที่มีการเติมพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวมาเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ขนมอบ จะช่วยลด ระยะเวลาในการตีส่วนผสม ช่วยเพิ่มปริมาตรและปรับปรุงเนื้อสัมผัสของขนมอบ เช่น ขนมเค้ก ให้ ดียิ่งขึ้น (BeMiller *et al.*, 1993)

Aquistucci and Francisci (2002) พบว่าการเติมกระเจี๊ยบเขียวในรูปของผงแห้ง (okra flour) ปริมาณ 1% ผสมกับแป้งสาลีเพื่อใช้ในการทำขนมปัง สามารถปรับปรุงสมบัติของโด และ เพิ่ม specific volume ของขนมปังได้อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่มีการเติมพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว และเมื่อทำการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส พบว่าผู้ทดสอบให้ คะแนนการยอมรับขนมปังที่มีการเติมกระเจี๊ยบเขียวร่วมกับแป้งสาลีมากกว่ากลุ่มควบคุมซึ่งไม่มีการเติมพอลิแซ็กคาไรด์

4.2 การศึกษาเกี่ยวกับการใช้ประโยชน์ทางการแพทย์

ในประเทศไทยมีการศึกษาผลของกระเจี๊ยบเขียวในการใช้ทำยาลดพยาธิตัวจิ๊ดในหนู ถีบจักร พบว่ากระเจี๊ยบเขียวมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในการลดจำนวนพยาธิตัวจิ๊ดได้ (ประเสริฐ และ คณะ, 2538) นอกจากนั้นพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวยังสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดของ หนูได้อย่างมีนัยสำคัญ (Tomoda *et al.*, 1989)

พอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวที่ไม่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ ซึ่งมีองค์ประกอบที่สำคัญคือน้ำตาลที่เป็นกรด ได้แก่ กาแล็กทูโรนิก แอซิด และกลูคูโรนิก แอซิด เชื่อมต่อกับโปรตีน สามารถช่วยลดการเกาะติดของแบคทีเรียชนิด *Helicobacter pylori* บริเวณผนังเยื่อกระเพาะอาหาร ซึ่งแบคทีเรียชนิดดังกล่าวเป็นสาเหตุของแผลเรื้อรังในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก โดย ทำการศึกษาในแบบจำลองของเยื่อกระเพาะอาหาร (Lengsfeld *et al.*, 2004)

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาเกี่ยวกับการนำพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวมาใช้เป็นตัว ประสาน (binder) ในยาโซเดียม ซาลิไซเลต ชนิดเม็ดแบน (sodium salicylate tablet) โดยศึกษา สมบัติต่าง ๆ ของยาเม็ด ได้แก่ ความสม่ำเสมอ (mass uniformity) ความแข็ง (hardness) ความร่วน

(friability) ระยะเวลาในการแตก (disintegration time) และอัตราการละลาย เปรียบเทียบกับการใช้ตัวประสานชนิดอื่น ได้แก่ polyvinylpyrrolidone (PVP) และแป้งข้าวโพด พบว่ายาเม็ดชนิดแบนที่เติมพอลิแซ็กคาไรด์ทุกระดับความเข้มข้น (1-6% m/v) มีความแข็งมากที่สุด และมีความร่วนน้อยที่สุด รวมถึงช่วยยืดระยะเวลาในการแตกและอัตราการละลายของเม็ดยาด้วย (Onunkwo and Mba, 1996)

4.3 การใช้ประโยชน์อื่น ๆ

พอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว สามารถนำมาใช้เป็นส่วนประกอบในการผลิตกระดาส หรือเชือกที่มีความเหนียวและยืดหยุ่นสูงได้ (BeMiller *et al.*, 1993)

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. วัตถุดิบ

กระเจียบเขียว อายุ 5-6 วัน มีความยาวฝักประมาณ 9-13 เซนติเมตร ลักษณะฝักมีความสมบูรณ์ ไม่มีรอยฉีกขาด ปลูกในเขตจังหวัดพระนครศรีอยุธยา โดยซื้อจากตลาดไท เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °ซ ในระหว่างรอการสกัด และเก็บรักษาไม่เกิน 5 วัน

2. สารเคมี

2.1 การสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียว

2.1.1 เอทานอล (ethanol) ความเข้มข้น 95%, commercial grade

2.1.2 เมทานอล (methanol) Analytical grade ของ Merck ประเทศเยอรมัน

2.1.3 คลอโรฟอร์ม (chloroform) Analytical grade ของ Merck ประเทศเยอรมัน

2.2 การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด

2.2.1 ฟีนอล (phenol) Analytical grade ของ Merck ประเทศเยอรมัน

2.2.2 กรดซัลฟูริกเข้มข้น (concentrate sulfuric acid) 95-97% ของ Merck ประเทศเยอรมัน

2.2.3 กรดกาแล็กทูโรนิก (D-galacturonic acid monohydrate) 98% ของ Sigma ประเทศสหรัฐอเมริกา ใช้เป็นสารมาตรฐาน

2.3 การวิเคราะห์กรดกาเล็กทูโรนิก

2.3.1 โซเดียมเตตระโบเรต (di-sodium tetraborate decahydrate) Analytical grade ของ Merck ประเทศเยอรมัน

2.3.2 เมตาไฮดรอกซีไดเฟนิล (*m*-hydroxydiphenyl) 85% ของ Fluka ประเทศ สวิตเซอร์แลนด์

2.3.3 กรดซัลฟูริกเข้มข้น (concentrate sulfuric acid) 95-97% ของ Merck ประเทศ เยอรมัน เช่นเดียวกับข้อ 2.2.3

2.3.4 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide) Analytical grade ของ Merck ประเทศเยอรมัน

2.3.5 กรดกาเล็กทูโรนิก (D-galacturonic acid monohydrate) 98% ของ Sigma ประเทศสหรัฐอเมริกา ใช้เป็นสารมาตรฐาน เช่นเดียวกับข้อ 2.2.3

2.4 การวิเคราะห์น้ำตาลรีดิคัล

2.4.1 โซเดียมฟอสเฟต (di-sodium hydrogen phosphate dodecahydrate)

2.4.2 โซเดียมโพแทสเซียมทาทเรต (sodium potassium tartrate)

2.4.3 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide) เช่นเดียวกับข้อ 2.3.4

2.4.4 คิวพริกซัลเฟต เพนตะไฮเดรต (cupric sulfate pentahydrate)

2.4.5 โซเดียมซัลเฟต (sodium sulfate)

2.4.6 แอมโมเนียมโมลิบเดต (ammonium molybdate tetrahydrate) ของ Fisher ประเทศอังกฤษ

2.4.7 โซเดียมไฮโดรเจนอาซีนเตต (di-sodium hydrogen arsenate heptahydrate)

2.4.8 กรดซัลฟูริกเข้มข้น (concentrate sulfuric acid) 95-97% ของ Merck ประเทศ เยอรมัน เช่นเดียวกับข้อ 2.2.3

2.4.9 กรดกาเล็กทูโรนิก (D-galacturonic acid monohydrate) 98% ของ Sigma ประเทศสหรัฐอเมริกา ใช้เป็นสารมาตรฐาน เช่นเดียวกับข้อ 2.2.3

2.5 การวิเคราะห์ปริมาณเมทอกซิลและค่า degree of esterification

2.5.1 โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (potassium hydroxide)

2.5.2 เพนแทนไดโอน (2,4-pentanedione) ของ Aldrich ประเทศอังกฤษ

2.5.3 แอลกอฮอล์ ออกซิเดส จาก *P. pastoris* (alcohol: oxygen oxidoreductase, EC

1.1.3.13) ของ Sigma ประเทศสหรัฐอเมริกา

2.5.4 แอมโมเนียมอะซิเตต (ammonium acetate) ของ Ajax ประเทศออสเตรเลีย

2.5.5 กรดแอซติก (glacial acetic acid) 100% ของ Merck ประเทศเยอรมัน

2.5.6 กรดฟอสฟอริก (phosphoric acid) 85% ของ Mallinckrodt ประเทศ
สหรัฐอเมริกา

2.5.7 เมทานอล (methanol anhydrous) 100% ของ Mallinckrodt ประเทศ
สหรัฐอเมริกา ใช้เป็นสารมาตรฐาน

2.5.8 โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (potassium dihydrogen phosphate)

2.6 การวิเคราะห์ปริมาณเอไมด์

2.6.1 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide) เช่นเดียวกับข้อ 2.3.4

2.6.2 กรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid) 36.5-38.0% ของ J.B Baker ประเทศ
สหรัฐอเมริกา

2.6.3 เมทิล เรด (methyl red)

2.7 การตัดแปรพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์

2.7.1 แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (ammonium hydroxide) ความเข้มข้น 25% ในน้ำ
ของ Merck ประเทศเยอรมัน

2.7.2 ไอโซโพรพานอล (isopropanol) ของ Merck ประเทศเยอรมัน

2.7.3 อะซิโตน (acetone) Analytical grade ของ Merck ประเทศเยอรมัน

2.7.4 ซิลเวอร์ไนเตรต (silver nitrate) ของ Merck ประเทศเยอรมัน

2.8 การตัดแปรพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวด้วยเอทิลเอมีน

2.8.1 เอทิลเอมีน (ethylamine solution) ความเข้มข้น 70% ในน้ำ ของ Fluka ประเทศสวิตเซอร์แลนด์

2.8.2 เมทานอล (methanol anhydrous) เช่นเดียวกับข้อ 2.5.7

2.8.3 ไอโซโพรพานอล (isopropanol) เช่นเดียวกับข้อ 2.7.2

2.8.4 อะซิโตน (acetone) เช่นเดียวกับข้อ 2.7.3

2.9 การวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันด้วย Diffuse Reflectance Fourier Transform Infrared Spectroscopy (DRIFTS)

2.9.1 โพแทสเซียมโบรไมด์ (potassium bromide)

2.9.2 แอมิเดคเพกติน (pectin type LM 104 AS) ของ GENU ประเทศเดนมาร์ก

2.10 การศึกษาผลของปัจจัยที่มีต่อความหนืดของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว

2.10.1 โซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (di-sodium hydrogen phosphate dodecahydrate)

2.10.2 กรดซิตริก (citric acid)

2.10.3 โซเดียมฟอสเฟต (sodium hydrogen phosphate monohydrate)

2.10.4 โซเดียมคาร์บอเนต (sodium carbonate anhydrous)

2.10.5 โซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต (sodium hydrogen carbonate)

2.10.6 แคลเซียมคลอไรด์ (calcium chloride dihydrate)

3. อุปกรณ์และเครื่องมือ

3.1 อุปกรณ์งานครัว

3.2 เครื่องชั่งหยาบและเครื่องชั่งละเอียด

3.3 ชุดกรองสุญญากาศ

3.4 เครื่องแก้ว

3.5 เทอร์โมมิเตอร์

- 3.6 เครื่องปั่นผสม (Waring blender)
- 3.7 เครื่องหมุนเหวี่ยง (Refrigerated centrifuge Himac CR 20B2, Hitachi)
- 3.8 เครื่องระเหยแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (Rotary evaporator รุ่น Rotavapor R-114, Buchi)
- 3.9 โถดูดความชื้น (desiccator)
- 3.10 เครื่องทำแห้งแบบเยือกแข็ง (Freeze dryer รุ่น FD 2.5, Heto)
- 3.11 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Digital spectrophotometer รุ่น Spectro22)
- 3.12 อ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)
- 3.13 เครื่องวัดความหนืด (Brookfield digital rheometer รุ่น DV-III)
- 3.14 เครื่องวัดความชื้น (Moisture analyzer รุ่น MA 45-000230V1, Sartorius)
- 3.15 อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์ด้วยวิธี Micro-Kjeldahl
- 3.16 เครื่องวัดสี (Minolta spectrophotometer 3500 d)
- 3.17 Ion Selective (I.S.E.) Meter (Thermo Orion รุ่น 940/960)
- 3.18 pH meter (Jenco ประเทศสหรัฐอเมริกา)
- 3.19 Spectrum One FT-IR Spectrometer (Perkin Elmer ประเทศสหรัฐอเมริกา)

วิธีการ

1. การสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว และการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี การวิเคราะห์ทางกายภาพ

1.1 การสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว ดัดแปลงจาก Tomoda *et al.*, (1980)

ทำการสกัดของแข็งที่ไม่ละลายในแอลกอฮอล์ (alcohol insoluble solids : AIS) ดัดแปลงจาก Ahmed and Labavitch (1977) และ De Vries *et al.*, (1981) โดยนำฝักกระเจี๊ยบเขียวมา แยกเมล็ดออก หั่นเป็นชิ้นและปั่นผสมกับ เอทานอลความเข้มข้น 95% ปริมาตร 2 เท่าของ น้ำหนักกระเจี๊ยบเขียวหลังหั่น กวนเป็นเวลา 15 นาที กรองแยกเอทานอลออกด้วยชุดกรอง สูญญากาศ เติมน้ำละลายคลอโรฟอร์ม : เมทานอล (1:1) ปริมาตร 2 เท่าของน้ำหนักกระเจี๊ยบเขียวหลังหั่น กวนเป็นเวลา 30 นาที กรองแยกสารละลายออก ทำซ้ำอีก 1 ครั้ง ได้ส่วนของแข็งที่ไม่ละลายในแอลกอฮอล์ (alcohol insoluble solids : AIS)

นำ AIS มาสกัดครั้งที่ 1 ด้วยน้ำปริมาตร 10 เท่าของน้ำหนัก AIS กวนตลอดเวลาที่ อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำไปหมุนเหวี่ยงที่ 9,500×g นาน 30 นาที เก็บส่วนใสไว้แล้ว นำส่วนกากมาเติมน้ำปริมาตรเท่าเดิมเพื่อสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ครั้งที่ 2 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำไป หมุนเหวี่ยงที่ภาวะเดิม รวมส่วนใสที่ได้จากการหมุนเหวี่ยงทั้ง 2 ครั้ง ทำให้เข้มข้น และทำแห้ง แบบเยือกแข็ง (ภาพที่ 13) จะได้พอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวในรูปของแห้ง (okra polysaccharide: OKP) กำหนดปริมาณผลได้ของพอลิแซ็กคาไรด์เป็นเปอร์เซ็นต์ เทียบกับน้ำหนัก ฝักสด (wet basis)

1.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว

1.2.1 ความชื้น

ชั่งผงพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว 1 กรัม (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ทำการ วิเคราะห์ความชื้นด้วยเครื่องวัดปริมาณความชื้น (moisture analyzer:MA 45-000230V1) โดยใช้ อุณหภูมิในการวิเคราะห์ 105 °ซ

1.2.2 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด (total carbohydrate) วิเคราะห์ตามวิธี phenol-sulfuric acid colorimetric method (Hodge and Hofreiter, 1962)

ปีเปตสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวความเข้มข้น 0.01% (วิธีการเตรียมสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์แสดงดังภาคผนวก ก) ลงในหลอดทดสอบ เติมน้ำกลั่น 1 มิลลิเมตร เขย่า (vortex) ให้เข้ากัน เติมน้ำกรดซัลฟูริกเข้มข้น อย่างรวดเร็ว เขย่าให้เข้ากัน ปล่อยให้เย็นเป็นเวลา 10 นาที แล้วทำการเขย่าอีกครั้ง จากนั้นปล่อยให้เย็นอีก 20 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 480 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ คำนวณปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดเป็นเปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักแห้ง (w/w) จากกราฟมาตรฐานของกรดกลูโคส (รายละเอียดในการวิเคราะห์แสดงดังภาคผนวก ก)

1.2.3 กรดกลูโคส (คัดแปลงจาก Ahmed and Labavitch, 1977)

นำพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวที่อยู่ในรูปผงแห้งมาชั่งด้วยกรรตูลงในหลอดทดสอบ เติมน้ำกลั่น 1 มิลลิเมตร เขย่า (vortex) ให้เข้ากัน เติมน้ำกรดซัลฟูริกเข้มข้น อย่างรวดเร็ว เขย่าให้เข้ากัน ปล่อยให้เย็นเป็นเวลา 10 นาที นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ คำนวณปริมาณกรดกลูโคสเป็นเปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักแห้ง (w/w) จากกราฟมาตรฐานของกรดกลูโคส (รายละเอียดในการวิเคราะห์แสดงดังภาคผนวก ก)

1.2.4 น้ำตาลรีดิวซ์ วิเคราะห์ตามวิธีของ Somogyi-Nelson (Hodge and Hofreiter, 1962)

เติมน้ำกลั่น 1 มิลลิเมตร ลงในสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวความเข้มข้น 0.01% ให้ความร้อน เป็นเวลา 20 นาที แล้วทำการลดอุณหภูมิในอ่างน้ำแข็ง เติมน้ำกลั่น 1 มิลลิเมตร เขย่า (vortex) ให้เข้ากัน เติมน้ำกรดซัลฟูริกเข้มข้น อย่างรวดเร็ว เขย่าให้เข้ากัน ปล่อยให้เย็นเป็นเวลา 10 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ คำนวณปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เป็นเปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักแห้ง (w/w) จากกราฟมาตรฐานของกรดกลูโคส (รายละเอียดในการวิเคราะห์แสดงดังภาคผนวก ก)

1.2.5 ปริมาณเมทอกซิล และค่า degree of esterification (Schultz, 1965; Klavones and Bennett, 1986)

เติมสารละลายเอนไซม์แอลกอฮอล์ออกซิเดส ลงในสารละลายกระเจียบเขียวที่ผ่านการย่อยด้วยโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ บ่มที่อุณหภูมิ 25 °ซ 15 นาที เติมสารละลายเพนเทนไดโอน เข้าไปให้เข้ากัน แช่ในอ่างน้ำร้อนอุณหภูมิ 60 °ซ 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 412 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ คำนวณปริมาณเมทอกซิลเป็นเปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักแห้ง (w/w) จากกราฟมาตรฐานของเมทานอล แล้วคำนวณค่า degree of esterification ดังรายละเอียดการวิเคราะห์ในภาคผนวก ก

1.2.6 ปริมาณเอไมด์ (ดัดแปลงจาก Food Chemicals Codex, 1996 และ Kim *et al.*, 1978 a)

ละลายผงพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียว 0.35 กรัม ใน flask ก้นกลม โดยใช้ น้ำกลั่นปราศจากคาร์บอนไดออกไซด์ปริมาตร 100 มิลลิลิตรเป็นตัวทำละลาย เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 10% ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ต่อ flask ก้นกลมเข้ากับอุปกรณ์สำหรับกลั่นด้วยวิธี Micro-Kjeldahl ทำการกลั่นโดยให้สารที่กลั่นได้ไหลลงในขวดรูปชมพู่ที่บรรจุสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 20 มิลลิลิตร และสารละลายเมทิลเรด 3 หยด กลั่นจนมีปริมาตรในขวดรูปชมพู่เพิ่มขึ้น 80-120 มิลลิลิตร นำส่วนที่กลั่นได้มาไทเทรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ คำนวณปริมาณเอไมด์ตามสูตร

$$\% \text{NH}_2 = \frac{\text{mg NH}_2 \text{ in sample}}{\text{mg sample (moisture free)}} \times 100$$

$$\% \text{ amide groups} = (\% \text{NH}_2 / 9.4143) \times 100$$

1.3 การวิเคราะห์ทางกายภาพ

1.3.1 การวิเคราะห์ค่าสี

วัดค่าความสว่าง (L^*) ค่าสีแดง (a^*) ค่าสีเหลือง (b^*) ค่าความเข้มของสี (chroma: C^*) และค่ามุมของสี (hue: h^*) ของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวทั้งที่อยู่ในรูปที่บดเป็นผง และสารละลายความเข้มข้น 0.5% ด้วยเครื่อง Minolta spectrophotometer 3500d ดังภาวะข้างล่าง โดยตั้งค่าเครื่องมือ (instrument set up) เป็น exclude เมื่อวิเคราะห์ตัวอย่างผง โดยใช้ white calibration plate CM-A120 และ zero calibration box CM-A124 ในการสอบเทียบเครื่อง และตั้งค่า include เมื่อวิเคราะห์ตัวอย่างที่เป็นสารละลาย โดยใช้ transmittance zero calibration plate CM-A100 ในการสอบเทียบเครื่อง รายงานผลเป็นค่าเฉลี่ยจากการวัด 3 ซ้ำ (แผนภาพของสี แสดงในภาคผนวก ก)

Illuminates	:	D (daylight: 6500 Kelvin)
Observes	:	10 degree
Color Space	:	CIE $L^*a^*b^*/CIE L^*C^*H^*$

1.3.2 การวิเคราะห์ความหนืด

เตรียมสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวความเข้มข้น 0.5% โดยใช้ น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย (รายละเอียดการเตรียมสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์แสดงดังภาคผนวก ก) ใช้ตัวอย่างปริมาตร 16 มิลลิลิตร วัดความหนืดด้วยเครื่อง Brookfield รุ่น DV-III ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อัตราการเหวี่ยง 183 รอบต่อนาที และใช้เวลาวัดความหนืด 1 นาที ค่าความหนืด มีหน่วยเป็นมิลลิปาสคาล.วินาที (mPa.s) รายงานผลเป็นค่าความหนืดปรากฏ

2. ศึกษาผลของการตัดแปรพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ต่อองค์ประกอบเคมีและสมบัติทางด้านความหนืด

2.1 การตัดแปรพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ ตัดแปลงจาก Kim *et al.* (1978 b) และ EI-Nawawi and Heikal (1995)

นำผงพอลิแซ็กคาไรด์มาละลายกับน้ำในอัตราส่วนพอลิแซ็กคาไรด์ต่อน้ำเท่ากับ 6 : 100 (w/v) โดยเตรียมล่วงหน้าก่อนนำไปตัดแปร 1 วัน และเก็บในตู้เย็น อุณหภูมิ 4 °ซ

ผสมสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวกับสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (4 M NH_4OH ใน 60% isopropanol) ลงในบีกเกอร์ที่ปิดสนิท ในอัตราส่วนสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์ต่อสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เท่ากับ 10 : 8 คนสารละลายผสมอย่างต่อเนื่องที่อุณหภูมิ 3 °ซ เป็นเวลา 160 นาที ล้างด้วยคลอโรฟอร์ม แล้วกรองสารละลายที่ได้ด้วยชุดกรองสูญญากาศอย่างรวดเร็ว ล้างด้วยไอโซโพรพานอลความเข้มข้น 60% ตามด้วยกรดไฮโดรคลอริก 1 โมลาร์ (1 M HCl ใน 60% isopropanol) จากนั้นเติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1 โมลาร์ในไอโซโพรพานอล ปริมาตรเท่ากับปริมาตรรวมของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์และแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ คนอย่างต่อเนื่องที่อุณหภูมิ 3 °ซ เป็นเวลา 20 นาที ล้างตัวอย่างด้วยไอโซโพรพานอล จนปราศจากคลอไรด์ ตามด้วยอะซิโตน นำไปทำแห้งแบบเยือกแข็ง บดให้ละเอียด คำนวณปริมาณผลได้เป็นเปอร์เซ็นต์เทียบกับน้ำหนักผักสด และทำการวิเคราะห์ ดังนี้

1. ความชื้น เช่นเดียวกับข้อ 1.2.1
2. ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด เช่นเดียวกับข้อ 1.2.2
3. ปริมาณกรดกาแล็กทูโรนิก เช่นเดียวกับข้อ 1.2.3
4. ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ เช่นเดียวกับข้อ 1.2.4
5. ปริมาณเมทอกซิลและค่า degree of esterification เช่นเดียวกับข้อ 1.2.5
6. ปริมาณเอไมด์ เช่นเดียวกับข้อ 1.2.6
7. ค่าสี เช่นเดียวกับข้อ 1.3.1
8. ความหนืด เช่นเดียวกับข้อ 1.3.2

2.2 การดัดแปรพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวด้วยเอทิลเอมีน ดัดแปลงจาก Kim *et al.* (1978 b) และ Sinitsya *et al.* (2000)

นำผงพอลิแซ็กคาไรด์มาละลายกับน้ำในอัตราส่วนพอลิแซ็กคาไรด์ต่อน้ำ เท่ากับ 6 : 100 (w/v) โดยเตรียมล่วงหน้าก่อนนำไปดัดแปรเป็นเวลา 1 วัน และเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 °ซ

ผสมสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวกับสารละลายเอทิลเอมีน (4 M ethylamine ในเมทานอล) ลงในบีกเกอร์ที่ปิดสนิท ในอัตราส่วนสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์ต่อสารละลายเอทิลเอมีน เท่ากับ 10 : 8 คนสารละลายผสมอย่างต่อเนื่องที่อุณหภูมิ 3 °ซ เป็นเวลา 160 นาที ล้างด้วยคลอโรฟอร์ม แล้วกรองสารละลายที่ได้ด้วยชุดกรองสุญญากาศอย่างรวดเร็ว ล้างด้วยไอโซโพรพานอลความเข้มข้น 60% ตามด้วยกรดไฮโดรคลอริก 1 โมลาร์ (1 M HCl ใน 60% isopropanol) จากนั้นเติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1 โมลาร์ในไอโซโพรพานอล ปริมาตรเท่ากับปริมาตรรวมของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์และเอทิลเอมีน คนอย่างต่อเนื่องที่อุณหภูมิ 3 °ซ เป็นเวลา 20 นาที ล้างตัวอย่างด้วยไอโซโพรพานอล จนปราศจากคลอไรด์ ตามด้วยอะซิโตน นำไปทำแห้งแบบเยือกแข็ง บดให้ละเอียด คำนวณปริมาณผลได้เป็นเปอร์เซ็นต์เทียบกับน้ำหนักผักสด และทำการวิเคราะห์ ดังนี้

1. ความชื้น เช่นเดียวกับข้อ 1.2.1
2. ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด เช่นเดียวกับข้อ 1.2.2
3. ปริมาณกรดกลูโคส เช่นเดียวกับข้อ 1.2.3
4. ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ เช่นเดียวกับข้อ 1.2.4
5. ปริมาณเมทอกซิลและค่า degree of esterification เช่นเดียวกับข้อ 1.2.5
6. ปริมาณเอไมด์ เช่นเดียวกับข้อ 1.2.6
7. ค่าสี เช่นเดียวกับข้อ 1.3.1
8. ความหนืด เช่นเดียวกับข้อ 1.3.2

เปรียบเทียบผลของการดัดแปรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ และเอทิลเอมีน กับพอลิแซ็กคาไรด์ที่ไม่ผ่านการดัดแปร วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ Completely Randomized Design โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ และตรวจสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's multiple range test

3. การวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของพอลิแซ็กคาไรด์ด้วย **Diffuse Reflectance Fourier Transform Infrared Spectroscopy (DRIFTS)**

นำพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวซึ่งอยู่ในรูปผงแห้งมาวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชัน และเปรียบเทียบลักษณะสเปกตรัมที่ได้กับสเปกตรัมของแอมิเดคเพกติน (LM 104 AS) ด้วย DRIFTS โดยใช้พอลิแซ็กคาไรด์ หรือแอมิเดคเพกติน 2 มิลลิกรัม บดผสมกับโพแทสเซียมโบรไมด์ ที่ผ่านการอบในอุณหภูมิ 110 °ซ เป็นเวลา 12 ชั่วโมง 100 มิลลิกรัม เพื่อเป็นการเจือจางตัวอย่าง และมีผลทำให้เกิดการสะท้อนกลับของรังสีอินฟราเรดแบบ diffuse reflectance ได้ดี โดยบดให้ตัวอย่างมีขนาดเท่า ๆ กันและกระจายตัวอยู่ในโพแทสเซียมโบรไมด์อย่างสม่ำเสมอ จากนั้นบรรจุตัวอย่างใส่ sample holder เพื่อนำไปวิเคราะห์ ด้วยเครื่อง FTIR ต่อไป (แสดงภาพที่ใช้ในการวิเคราะห์ในภาคผนวก ก)

4. ศึกษาผลของปัจจัยที่มีต่อความหนืดของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวที่ไม่ตัดแปรและตัดแปรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ และเอทิลเอมีน

4.1 ศึกษาผลของความเป็นกรด-เบสต่อความหนืดของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียว

เตรียมสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์ความเข้มข้น 0.5% (w/v) โดยใช้สารละลายบัฟเฟอร์ที่มีค่าความเป็นกรด-เบสเท่ากับ 2.7, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.2, 9.6 และ 10.0 เป็นตัวทำละลาย (การเตรียมสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์ในสารละลายบัฟเฟอร์แสดงดังภาคผนวก ก) นำมาวัดความหนืดตามข้อ 1.3.1

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ Completely Randomized Design โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ และตรวจสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's multiple range test

4.2 ศึกษาผลของความร้อนต่อความหนืดของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียว

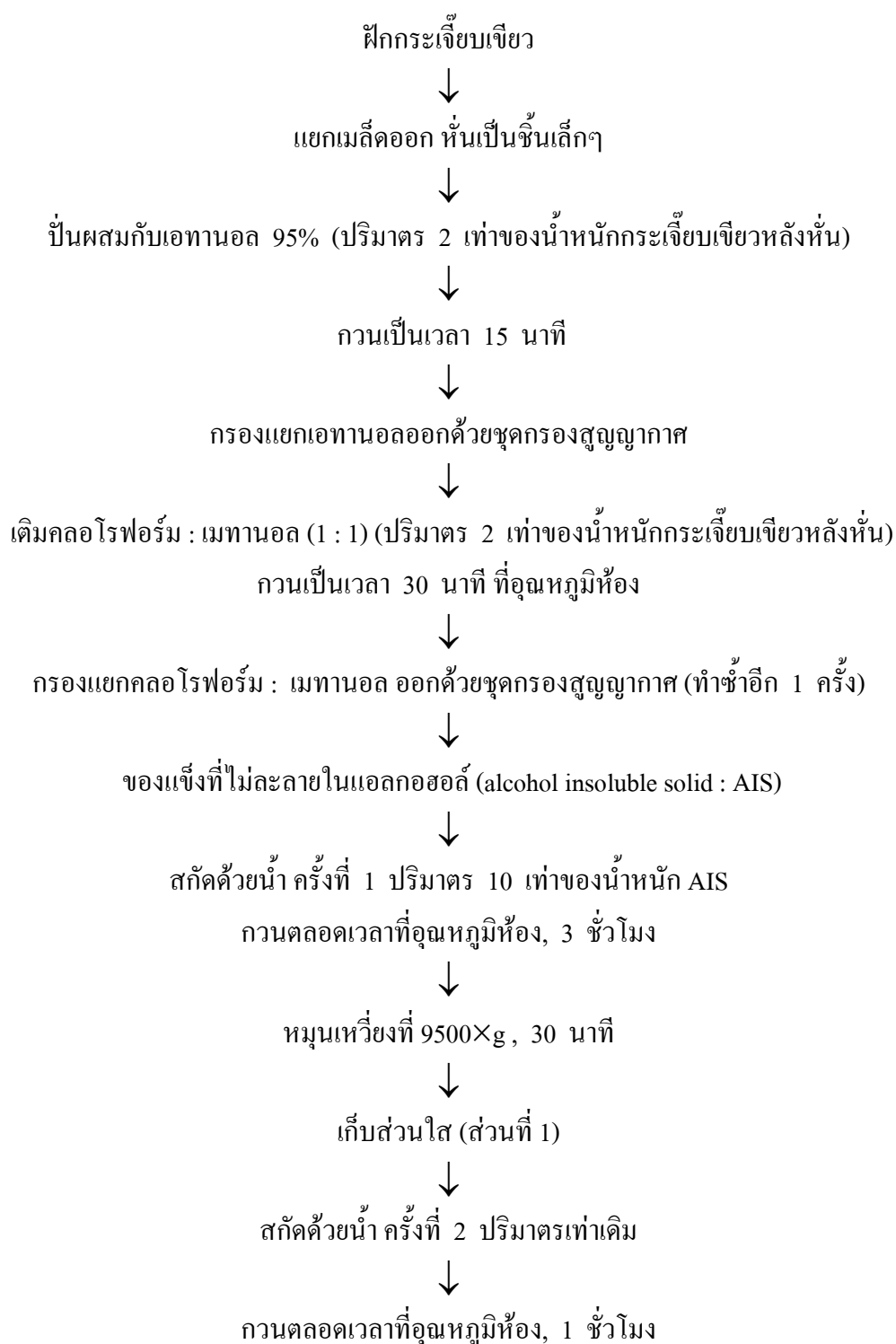
เตรียมสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์ความเข้มข้น 0.5% (w/v) โดยใช้ น้ำกลั่น เป็นตัวทำละลาย นำมาให้ความร้อนโดยการแช่ในอ่างน้ำร้อน จากอุณหภูมิห้องจนอุณหภูมิของสารละลายมีค่า 70 °ซ ทำการวัดความหนืดสารละลายที่อุณหภูมิห้อง, 30 °ซ, 40 °ซ, 50 °ซ, 60 °ซ และ 70 °ซ จากนั้นทิ้งไว้ให้เย็นจนสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์มีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้อง แล้วจึงวัดความหนืดซ้ำอีกครั้ง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ Completely Randomized Design โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ และตรวจสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan 's multiple range test

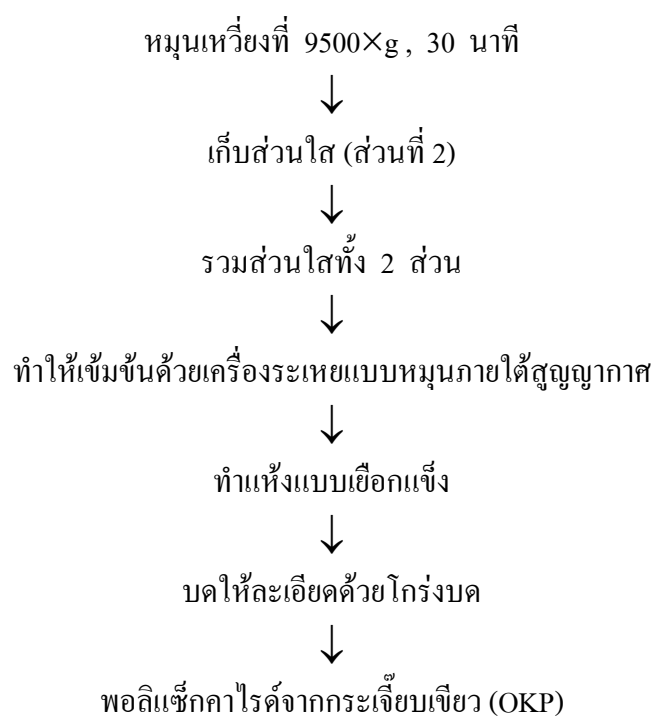
4.3 ศึกษาผลของปริมาณแคลเซียมต่อความหนืดของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียว

เตรียมสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์ความเข้มข้น 0.5% (w/v) โดยใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ที่มีปริมาณแคลเซียมไอออน 200, 400, 600, 800 และ 1,000 ไมโครโมลาร์ ที่เตรียมด้วยน้ำปราศจากไอออน วัดความหนืดเทียบกับกลุ่มควบคุมที่เตรียมโดยใช้น้ำปราศจากไอออนเป็นตัวทำละลาย

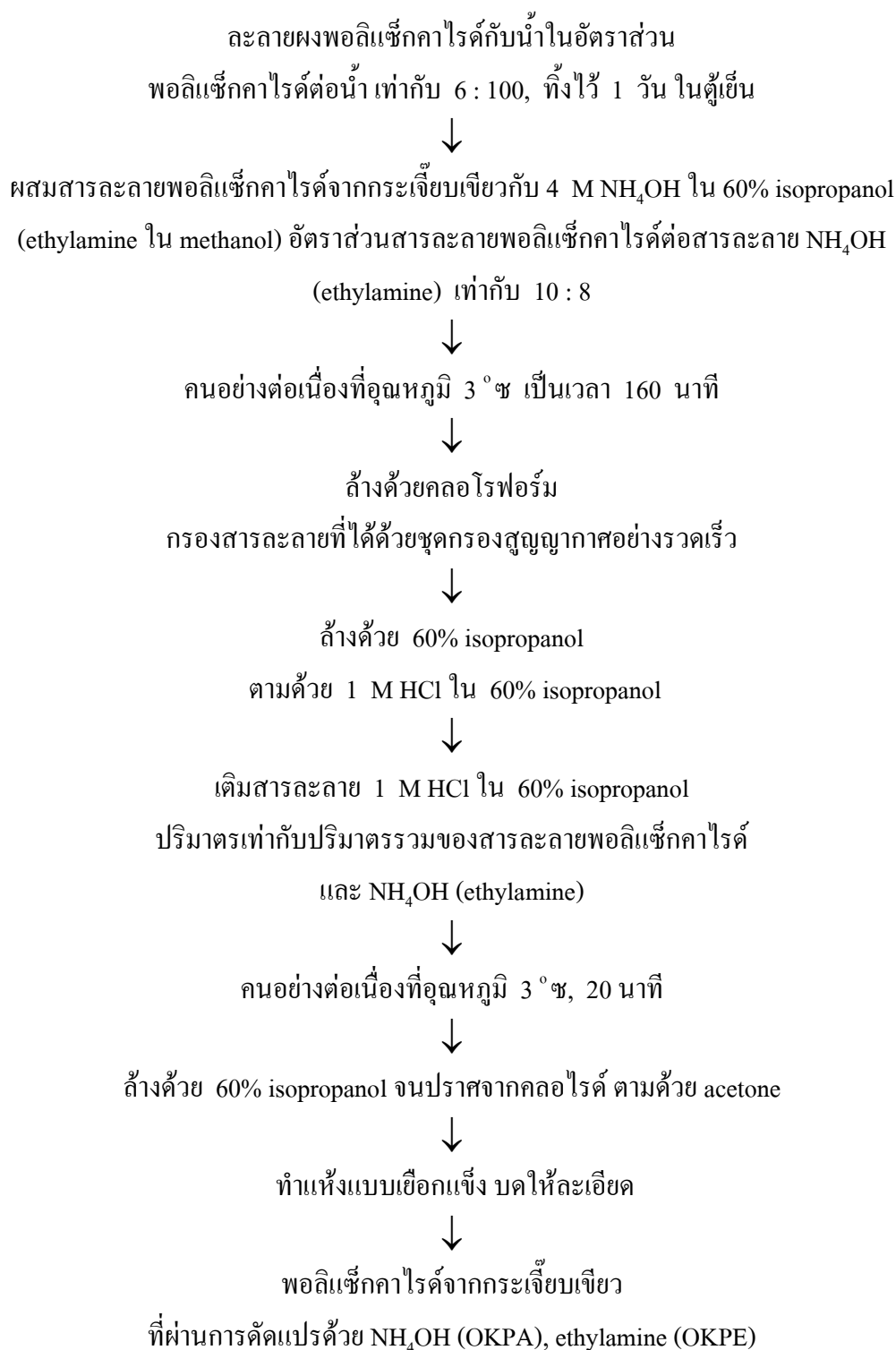
วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ Completely Randomized Design โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ และตรวจสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan 's multiple range test



ภาพที่ 13 แผนภาพการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียว



ภาพที่ 13 (ต่อ)



ภาพที่ 14 แผนภาพการดัดแปรพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์
และเอทิลเอมีน

ผลและวิจารณ์

1. การสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี และสมบัติทางกายภาพ

1.1 การสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว

กระเจี๊ยบเขียวที่นำมาใช้ในการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ มีอายุ 5-6 วันหลังดอกบาน มีความยาวฝักประมาณ 9-13 เซนติเมตร ดังภาพที่ 15 ซึ่งกระเจี๊ยบเขียวที่มีอายุช่วงดังกล่าวเป็นช่วงที่มีปริมาณเพกตินค่อนข้างสูง (เบญจวรรณ, 2534)



ภาพที่ 15 กระเจี๊ยบเขียวที่ใช้ในการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์

การเตรียมตัวอย่างกระเจี๊ยบเขียวก่อนนำมาสกัด จะต้องแยกเมล็ดออกจากฝักก่อน เนื่องจากเมล็ดกระเจี๊ยบเขียวมีไขมันปริมาณสูง (Ndjouenkeu *et al.*, 1996) จากนั้นจึงทำให้อยู่ในรูปของของแข็งที่ไม่ละลายในแอลกอฮอล์ (alcohol insoluble solid: AIS) เพื่อกำจัดสิ่งเจือปน น้ำตาลโมเลกุลเล็ก และไขมันบางส่วนออกไป (Bucher, 1984)

ในการทดลองนี้ใช้น้ำเป็นตัวทำละลายสำหรับการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียว เนื่องจากการรักษาโครงสร้างดั้งเดิม และสมบัติทางเคมีกายภาพของสารสกัด โดยการสกัดด้วยน้ำเป็นวิธีที่ทำได้ง่าย และเกิดการทำลายโครงสร้างของพอลิแซ็กคาไรด์น้อย (Simpson *et al.*, 1984) Voragen *et al.* (1995) กล่าวว่า การสกัดเพกตินด้วยน้ำ จะได้เพกตินชนิดที่มีปริมาณเมทอกซิล และน้ำตาลที่เป็นกลาง (neutral sugar) สูง สำหรับการใช้น้ำเป็นตัวทำละลายในการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียว จะได้พอลิแซ็กคาไรด์ที่มีองค์ประกอบทางเคมีแตกต่างจากพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวที่สกัดด้วยกรด โดยพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำ มีอัตราส่วนของน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบหลัก คือ กรดกาแล็กทูโรนิก: กาแล็กโทส: แรมโนส เท่ากับ 1.3: 1.0: 0.1 มีโปรตีน 7.31% และละลายน้ำได้ดี (Woolfe *et al.*, 1977) ส่วนพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้จากการสกัดด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ มีอัตราส่วนของกรดกาแล็กทูโรนิก ซึ่งเป็นโครงสร้างหลักของสายพอลิแซ็กคาไรด์เทียบกับน้ำตาลที่เป็นกลาง และมีปริมาณโปรตีนน้อยกว่าพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวที่สกัดด้วยน้ำ โดยมีอัตราส่วนกรดกาแล็กทูโรนิก: กาแล็กโทส: แรมโนส เท่ากับ 0.4: 1.0: 0.4 มีโปรตีน 1.6% และมีความสามารถในการละลายน้ำได้น้อย แต่ละลายได้ดีในสารละลายโซเดียมบอโรไฮไดรด์ ความเข้มข้น 1% (Bhat and Tharanathan, 1986) จากผลของรายงานที่กล่าวมานี้ แสดงให้เห็นว่าการสกัดด้วยน้ำ ไม่ทำให้เกิดการสูญเสียน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบหลัก และได้พอลิแซ็กคาไรด์ที่สามารถละลายได้ดีในน้ำ ซึ่งเป็นสมบัติที่เหมาะสมในการนำมาใช้ในการทำการทดลองขั้นต่อไป

พอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำครั้งที่ 1 หลังผ่านขั้นตอนการหมุนเหวี่ยงจะได้ส่วนใสที่มีลักษณะเป็นเมือกข้น สีเหลืองอ่อน เมื่อดังกล่าวประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตโมเลกุลใหญ่หรือพอลิแซ็กคาไรด์ ส่วนกากที่เหลือยังมีเมือกข้นจับอยู่ที่ผิว แสดงให้เห็นว่ายังมีพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดออกมาไม่หมดหลงเหลืออยู่ จึงนำกากที่เหลือมาสกัดครั้งที่ 2 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทั้งนี้เนื่องมาจากพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวมีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบคล้ายสารประกอบเพกติก (pectic substances) (Woolfe *et al.*, 1977) ซึ่งเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์พืชชั้นแรก และชั้นมิดเซลลามีลลา สามารถละลายน้ำได้ (Rolin *et al.*, 1998) การเพิ่มระยะเวลาการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวจะช่วยให้พอลิแซ็กคาไรด์ในผนังเซลล์พืชละลายน้ำออกมาได้มากขึ้น

พอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้จากการสกัดครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 มีปริมาณผลได้ (%yield) ซึ่งแสดงถึงปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดได้ในรูปผงแห้งต่อน้ำหนักสดของกระเจี๊ยบเขียว 100 กรัม เท่ากับ 0.77% และ 0.16% ตามลำดับ โดยปริมาณผลได้ของพอลิแซ็กคาไรด์จากการสกัดครั้งที่ 2 มีค่าลดลง 79.22% เมื่อเทียบกับปริมาณผลได้จากการสกัดครั้งที่ 1 และมีปริมาณผลได้รวมเท่ากับ 0.93% (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ปริมาณผลได้ (%yield) ของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวในรูปผงแห้ง ที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้อง ครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2

การสกัดครั้งที่	ปริมาณผลได้ เทียบกับน้ำหนักผักสด (%)
1	0.77
2	0.16
รวม	0.93

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณผลได้ของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวที่ได้จากการทดลองนี้ กับปริมาณผลได้ของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวที่ได้จากงานวิจัยในต่างประเทศ พบว่ามีค่าปริมาณผลได้แตกต่างกัน โดย Woolfe *et al.* (1977) ทำการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวด้วยน้ำ และผ่านขั้นตอนการตกตะกอนด้วยเอทานอล ได้พอลิแซ็กคาไรด์ในรูปผงแห้ง (crude okra polysaccharide) 1.6% ของน้ำหนักผักสด ส่วน Lengsfeld *et al.* (2004) ซึ่งทำการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวด้วยน้ำ แล้วทำแห้งแบบเยือกแข็ง โดยไม่ผ่านขั้นตอนการตกตะกอนด้วยเอทานอล มีปริมาณผลได้เท่ากับ 1.9% ของน้ำหนักผักสด สำหรับ Tomoda *et al.* (1980) ทำการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวด้วยน้ำ และผ่านขั้นตอนการตกตะกอนด้วย cetyltrimethyl ammonium bromide และเอทานอล ได้พอลิแซ็กคาไรด์ 0.35% ของน้ำหนักผักสด

จากผลการวิจัยดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าการที่ปริมาณผลได้ของพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดจากกระเจี๊ยบเขียวมีค่าแตกต่างกัน เกี่ยวข้องกับวิธีที่ใช้ในการสกัด และขั้นตอนการทำให้บริสุทธิ์ สำหรับในการทดลองนี้จะทำการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว โดยไม่ผ่านขั้นตอนการตกตะกอนด้วยเอทานอล เนื่องจากขั้นตอนดังกล่าว จะทำให้เกิดการสูญเสียคาร์โบไฮเดรตออกไปบางส่วน ส่งผลให้ทำให้มีปริมาณผลได้ลดลง โดยคาร์โบไฮเดรตที่ถูกกำจัดออกนั้นอาจมีอิทธิพลต่อความหนืดของพอลิแซ็กคาไรด์ ส่งผลให้สารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวมีความหนืดลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) (ภาคผนวก ข) สอดคล้องกับการทดลองของ Lengsfeld

et al. (2004) ที่พบว่าสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวที่ผ่านการตกตะกอนด้วยเอทานอล โดยมีความเข้มข้นสุดท้ายของเอทานอลเท่ากับ 45% มีค่าความหนืดต่ำกว่าพอลิแซ็กคาไรด์จาก กระเจี๊ยบเขียว (native fresh fruit extract) 2.6 เท่า โดยพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวที่ผ่านการ ตกตะกอนด้วยเอทานอลจะมีความหนืดสูงกว่าน้ำกลั่นเพียง 1.2 เท่า

นอกจากวิธีการสกัดแล้ว ปริมาณของพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดได้ ยังขึ้นอยู่กับความ แตกต่างทางด้านสายพันธุ์ของกระเจี๊ยบเขียว ซึ่งแต่ละสายพันธุ์จะมีปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์แตกต่าง กันออกไป (Bhat and Tharanathan, 1986)

ส่วนอายุของกระเจี๊ยบเขียวที่นำมาใช้ในการสกัดก็มีผลต่อปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ที่ สกัดได้ โดยปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์จะลดลงตามอายุของฝักกระเจี๊ยบเขียว (ตารางที่ 1) ฝัก กระเจี๊ยบเขียวที่มีอายุ 1-3 วันหลังดอกบาน มีปริมาณเพกตินในรูปของแคลเซียมเพกเตตมากที่สุด (0.93%-0.95%) และจะมีปริมาณลดลงเล็กน้อยในช่วงอายุ 4-6 วัน (0.87%-0.78%) เมื่อฝัก กระเจี๊ยบเขียวมีอายุมากขึ้นจะมีปริมาณเพกตินลดลงเรื่อยๆ จนเมื่อฝักมีอายุ 12 วันหลังดอกบาน จะมีเพกตินน้อยที่สุด คือ 0.63% (เบญจวรรณ, 2534) สำหรับในการทดลองนี้จะใช้กระเจี๊ยบเขียวที่ มีอายุประมาณ 5-6 วันหลังดอกบานเนื่องจากกระเจี๊ยบเขียวในช่วงอายุดังกล่าวมีปริมาณเพกติ นค่อนข้างสูง ประกอบกับเป็นช่วงอายุฝักที่มีขายมากในท้องตลาด และเหลือจากการส่งขาย ต่างประเทศ ซึ่งลักษณะคุณภาพฝักที่ต่างประเทศต้องการสอดคล้องกับฝักที่มีอายุ 4-5 วัน หลัง ดอกบาน นอกจากนั้น BeMiller *et al.* (1993) ยังแนะนำว่าการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบ เขียว ควรใช้กระเจี๊ยบเขียวที่มีอายุ 4-8 วัน ซึ่งเป็นช่วงอายุที่พอลิแซ็กคาไรด์มีค่า ropiness มากกว่าฝักกระเจี๊ยบเขียวที่มีอายุ 11-12 วัน 3 เท่า และไม่ควรใช้กระเจี๊ยบเขียวอายุมากกว่า 8 วัน มาใช้ในการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ (BeMiller *et al.*, 1993)

การสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย ผ่านการทำแห้ง แบบแช่เยือกแข็ง และและบดละเอียด จะได้สารสกัดที่มีลักษณะเป็นผงแห้ง สีครีม (ภาพที่ 16) สามารถดูดซับความชื้นได้ง่าย หากวางทิ้งไว้ให้สัมผัสกับอากาศจะเกาะตัวกัน ทำให้ยากต่อการ นำไปละลายน้ำ จึงต้องบรรจุในถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ปิดสนิท และเก็บรักษาในโถดูดความชื้น (desiccator) เพื่อเตรียมสำหรับนำไปใช้ในการทดลองต่อไป



ภาพที่ 16 พอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำและทำแห้งแบบเยือกแข็ง

1.2 องค์ประกอบของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว

พอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว มีองค์ประกอบทางเคมี แสดงดังตารางที่ 4 โดยมี ความชื้น 11.27% ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด (total carbohydrate) 68.5% ประกอบด้วย น้ำตาลที่มีหมู่คาร์บอกซิลิก (uronic acid) ได้แก่ กรดกาแล็กทูโรนิก 24.2% น้ำตาลที่ไม่ใช่ยูโรนิก (nonuronic sugar) 44.3% ซึ่งมีน้ำตาลรีดิวซ์ 15.4% น้ำตาลรีดิวซ์นอกจากจะเป็นน้ำตาลที่อยู่ปลายสายของพอลิแซ็กคาไรด์แล้ว ยังอาจเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่ถูกกำจัดออกไปไม่หมดในขั้นตอนการสกัด เนื่องจากในการทดลองนี้ ไม่มีการตกตะกอนด้วยเอทานอล จึงส่งผลให้พอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดได้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวปะปนอยู่ด้วย

เมื่อพิจารณาปริมาณเมทอกซิล ซึ่งได้จากการวิเคราะห์ด้วย alcohol oxidase ตามวิธีของ Klavones and Bennett (1986) พบว่ามีค่าต่ำ คือ 0.2% โดยมีค่า degree of esterification เท่ากับ 4.73% แสดงให้เห็นว่ากรดกาแล็กทูโรนิก ซึ่งเป็นโครงสร้างหลักของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว มีหมู่เมทิลเอสเทอร์ไฟด์อยู่ค่อนข้างน้อย เมื่อเทียบกับค่า degree of esterification ของเพคตินชนิดที่มีหมู่เมทอกซิลต่ำ ที่ใช้ในทางการค้าซึ่งมีค่า degree of esterification อยู่ในช่วง 20-40% (Rolin, 1998)

ตารางที่ 4 องค์ประกอบทางเคมีของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียว (OKP)

องค์ประกอบทางเคมี	ปริมาณ (% w/w)*
คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด	68.5±0.9
กรดกาแล็กทูโรนิก	24.2±0.9
น้ำตาลที่ไม่ใช่ซูโรโนค	44.3±1.5
น้ำตาลรีดิวซ์	15.4±0.4
เมทอกซิล	0.20±0.01
โปรตีน	5.60±0.88
เอนไซม์	11.46±1.82

หมายเหตุ * หมายถึง ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

จากการวิเคราะห์ปริมาณเอนไซม์ในพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวด้วยวิธี micro-kjeldahl พบว่ามีค่าเท่ากับ 11.36% ซึ่งปริมาณเอนไซม์ที่วิเคราะห์ได้ด้วยวิธีดังกล่าว เป็นการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจน แล้วจึงนำมาคำนวณเป็นปริมาณเอนไซม์ โดยสามารถวิเคราะห์สารประกอบไนโตรเจนได้ทุกชนิด ประกอบกับสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวที่ใช้ในงานวิจัยนี้ เป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่ไม่ได้ผ่านขั้นตอนการกำจัดโปรตีน ทำให้ปริมาณไนโตรเจนที่วิเคราะห์ได้ไม่ได้เป็นไนโตรเจนจากหมู่เอนไซม์เพียงอย่างเดียว แต่เป็นไนโตรเจนที่มีในโปรตีนด้วย เนื่องจากพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำ จะมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบ โดยโปรตีนจะเชื่อมติดกับพอลิแซ็กคาไรด์ (glycosylated protein) ด้วยพันธะโควาเลนต์ (BeMiller *et al.*, 1993) จากผลการทดลองดังกล่าวให้ผลทำนองเดียวกับผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคอินฟราเรด และการวิเคราะห์ทางเคมีของ woolfe *et al.* (1977) ที่พบว่ามีโปรตีนเป็นองค์ประกอบในโครงสร้างของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำ

เมื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนด้วยวิธี micro-kjeldahl แล้วคำนวณเป็นปริมาณโปรตีน โดยใช้ conversion factor เท่ากับ 6.25 ซึ่งสามารถใช้ในการคำนวณปริมาณโปรตีนในผักได้ (Pomeranz and Meloan, 1994) พบว่า OKP มีปริมาณโปรตีน 5.6% แสดงให้เห็นว่า ปริมาณไนโตรเจนที่ใช้ในการคำนวณปริมาณเอนไซม์ เป็นไนโตรเจนที่มีในโปรตีนด้วย

การกำจัดโปรตีนในขั้นตอนการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวทำได้โดยการตกตะกอนโปรตีนด้วย 5% trichloroacetic acid (TCA) ส่งผลให้ปริมาณโปรตีนลดลง 72% ส่วนการใช้เอนไซม์ papain ย่อยโปรตีนแล้วตกตะกอนโปรตีนด้วย 10% trichloroacetic acid ก็สามารถกำจัดโปรตีนออกได้เช่นกัน (Ndjouenkeu *et al.*, 1996; Lengsfeld *et al.*, 2004) นอกจากนั้นการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ สามารถลดปริมาณโปรตีนลงได้มาก โดยพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดได้มีปริมาณโปรตีนเพียง 1.6% (Bhat and Tharanathan, 1986) แต่เนื่องจากการสกัดโปรตีนจะใช้ภาวะค่อนข้างรุนแรง ส่งผลให้ปริมาณผลได้ ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด และปริมาณกรดกาแล็กทูโรนิกของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (Lengsfeld *et al.*, 2004) ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงทำการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์โดยไม่ผ่านขั้นตอนการสกัดโปรตีน เพื่อให้ได้พอลิแซ็กคาไรด์ที่มีสมบัติใกล้เคียงกับสมบัติดั้งเดิมมากที่สุด และป้องกันการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบทางเคมี ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อคุณลักษณะทางกายภาพ รวมทั้งคำนึงถึงปริมาณผลได้ของพอลิแซ็กคาไรด์ ที่อาจลดลงหลังทำการสกัดโปรตีนอีกด้วย

1.3 การวิเคราะห์ทางกายภาพ

การวิเคราะห์ค่าสีของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียว จะทำการวิเคราะห์ค่าสีแดง (a^*) ค่าสีเหลือง (b^*) ค่าความเข้มของสี (C^*) และค่ามุมสี (h^*) ซึ่งพัฒนามาจากระบบ CIELAB โดยการเชื่อมค่าสีแดง (a^*) และค่าสีเหลือง (b^*) เข้ากับค่ามุม (h^*) และค่าความเข้ม (C^*) ทำให้เกิดความเข้าใจและทราบลักษณะของสีใกล้เคียงกับสีที่ตาของมนุษย์มองเห็น (กรมส่งเสริมอุตสาหกรรม, 2540) แผนภาพของสี แสดงดังภาพผนวกที่ ก5

พอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียว เมื่อนำมาละลายน้ำจะมีค่าสีเหลือง (b^*) น้อยกว่าที่อยู่ในรูปผงแห้ง โดยพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวเมื่อละลายน้ำจะได้สารละลายที่มีความหนืด และมีสีเหลืองอ่อน พิจารณาจากค่าสีเหลือง ($b^*=13.6$) และค่ามุมของสี (h^*) ที่มีค่าเท่ากับ 91.84 ซึ่งค่าเข้าใกล้ 90 แสดงว่าสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวมีสีเหลือง และเมื่อพิจารณาค่า L^* พบว่ามีค่าสูง ($L^*=90.79$) แสดงว่าแสงผ่านได้มาก สารละลายค่อนข้างใส (ตารางที่ 5)

สารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวความเข้มข้น 0.5% มีค่าความหนืดปรากฏ เท่ากับ 17.3 มิลลิปาสคาล.วินาที จากการศึกษาเกี่ยวกับรีโอโลยี (rheology) พบว่าพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวมีลักษณะเป็น disordered polysaccharide coils เมื่ออยู่ในน้ำ สายของพอลิแซ็กคาไรด์ (individual coils) จะแผ่ตัวออกด้วยแรงผลักระหว่างประจุ (electrostatic repulsion) (Ndjouenkeu *et al.*, 1996) ทำให้โครงสร้างมีแรงเสียดทานภายใน (internal friction) เมื่อมีแรงมากระทำ ทำให้เกิดการเคลื่อนที่ของสารละลาย หรือเกิดแรงต้านทานการไหล ซึ่งสามารถวิเคราะห์ออกมาเป็นค่าความหนืดได้ (Glicksman, 1982) สำหรับการทดลองนี้ทำการวัดความหนืดสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวด้วยเครื่อง Brookfield รุ่น DV-III ซึ่งจะวัดแรงต้านที่เกิดขึ้นของสารละลาย เมื่อใช้แท่งทรงกระบอก (cylindrical spindle) ที่จุ่มอยู่ในสารละลายมีการหมุนด้วยแรงเหวี่ยงที่กำหนด ค่าที่อ่านได้จะเป็นค่าความหนืดปรากฏ

ตารางที่ 5 ค่าสีและความหนืด (mPa.s) ของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียว (OKP)

คุณลักษณะ	พอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียว (OKP)	
	ผง	สารละลาย
ค่าสี		
L*	80.18	90.79
a*	1.58	-0.44
b*	18.07	13.6
C*	18.11	13.61
h*	75.99	91.84
ความหนืด (mPa.s)**	n.a.	17.13

หมายเหตุ ** หมายถึง ความหนืดของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวความเข้มข้น

0.5% (w/v)

n.a. หมายถึง not applicable

2. ผลของการตัดแปรพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์และเอทิลเอมีนต่อองค์ประกอบทางเคมีและสมบัติทางกายภาพ

2.1 การตัดแปรพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์

การตัดแปรพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ เป็นการใช้น้ำตาลละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ในแอลกอฮอล์เพื่อแทนที่หมู่คาร์บอกซิลและหมู่เมทอกซิลที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 6 ของกรดกาแล็กทูโรนิกด้วยหมู่เอไมด์ โดยปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องได้แก่ ปฏิกิริยาดีเอส-เทอร์ิฟิเคชัน หรือดีเมทิลเลชัน และปฏิกิริยาเอมิเคชัน พอลิแซ็กคาไรด์ที่ผ่านการตัดแปรด้วยวิธีนี้จะมีหมู่เอไมด์เพิ่มขึ้น ส่วนหมู่คาร์บอกซิลอิสระและค่า degree of esterification จะลดลง (Kim *et al.*, 1978 a ; Voragen *et al.*, 1995) จากการทดลองพบว่าพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวที่ผ่านการตัดแปรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (OKPA) จะมีปริมาณเอไมด์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับพอลิแซ็กคาไรด์ที่ไม่ผ่านการตัดแปร (OKP) แสดงดังตารางที่ 7

การตัดแปรพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ จะได้ OKPA ที่มีปริมาณผลได้เท่ากับ 0.44% เทียบกับน้ำหนักเปียกฝักสด โดยหลังการตัดแปรจะมีปริมาณผลได้ของ OKPA ลดลง 52.69 % เมื่อเทียบกับ OKP ซึ่งมีปริมาณผลได้เท่ากับ 0.93% (ตารางที่ 6) เนื่องจากในระหว่างการตัดแปร จะต้องผ่านขั้นตอนการกรองสูญญากาศ และการชะล้างด้วยไอโซโพรพานอลความเข้มข้น 60% หลายครั้ง ส่งผลให้พอลิแซ็กคาไรด์ ซึ่งเป็นส่วนที่ละลายน้ำได้ดี ถูกชะล้างออกไปบางส่วน จึงทำให้มีผลได้น้อยลง ลักษณะของ OKPA ที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็ง และบดให้ละเอียด แสดงดังภาพที่ 17

ตารางที่ 6 ปริมาณผลได้ (%yield) ของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวที่ไม่ตัดแปร (OKP) และตัดแปรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (OKPA)

พอลิแซ็กคาไรด์	ปริมาณผลได้ เทียบกับน้ำหนักฝักสด (%)
OKP	0.93
OKPA	0.44



ภาพที่ 17 พอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวที่ดัดแปรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 4 โมลาร์ในไอโซโพรพานอลความเข้มข้น 60% และผ่านการทำให้แห้งแบบเยือกแข็ง

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของ OKPA (ตารางที่ 7) พบว่ามีความชื้น 10.63% ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด 83.5% ประกอบด้วยกรดกาแล็กทูโรนิก 39.0% น้ำตาลที่ไม่ใช่ยูโรนิก 44.5% ซึ่งมีน้ำตาลรีดิวซ์อยู่ 10.7%

พอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวหลังผ่านการดัดแปรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับ พอลิแซ็กคาไรด์ก่อนดัดแปร ผลดังกล่าวคาดว่ามีสาเหตุมาจากการเปลี่ยนแปลงของกรดแอมิโน (amino acid) ที่เป็นองค์ประกอบของโปรตีน ซึ่งยึดติดอยู่กับโครงสร้างพอลิแซ็กคาไรด์ เช่น กรดแอมิโนที่มีกลุ่ม guanidino ได้แก่ อาร์จินีน (arginine) ในระหว่างการดัดแปรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ ซึ่งมีภาวะเป็นเบส (pH 13.9) สามารถเปลี่ยนไปเป็นแอมโมเนียมไอออน (NH_3^+) ประกอบกับใน OKPA มีหมู่เอไมด์ ซึ่งมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ สามารถทำปฏิกิริยากับน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้มาจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของสายพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยกรดซัลฟูริกที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (วิธี phenol-sulfuric acid) เมื่อให้ความร้อนจะทำให้เกิดสารประเภทไกลโคซิลเอมีน (glycosylamine) สารดังกล่าวจะเกิดการจัดเรียงตัวกันใหม่ โดยปฏิกิริยา Amadori rearrangement ได้ 1-amino-1-deoxy-D-fructose และเกิดปฏิกิริยาต่อเนื่องในภาวะที่เป็นกรด ($\text{pH} < 5$) เกิดเป็น 3-deoxycosulose ซึ่งจะมีการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาดีไฮเดรชัน และพอลิเมอไรเซชัน ได้รงควัตถุสีเหลือง-น้ำตาลแดง ประกอบด้วยอนุพันธ์ของ furan เช่น hydroxymethyl furfural

(HMF) ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นดังกล่าวคือ ปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) (Whistler and BeMiller, 1999) และเนื่องจากการวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดด้วยวิธี phenol-sulfuric acid ซึ่งทำการวิเคราะห์ในภาวะที่เป็นกรด ได้ผลิตภัณฑ์สีเหลือง-ส้ม ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาของฟีนอลกับสารอนุพันธ์ของ furan ที่ได้จากการไฮโดรไลซ์พอลิแซ็กคาไรด์ด้วยกรดซัลฟูริกโดยปริมาณน้ำตาลที่มีในตัวอย่างจะแปรผันตรงกับปริมาณสารให้สีที่เกิดขึ้น (Dubois *et al.*, 1956) ด้วยเหตุนี้สารรงควัตถุที่เกิดจากปฏิกิริยาเมลลาร์ดดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้น จึงอาจรบกวนการอ่านค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่วิเคราะห์ด้วยวิธี phenol-sulfuric acid ส่งผลให้อ่านค่าการดูดกลืนแสงได้มากกว่าปกติ เมื่อวิเคราะห์ออกมาเป็นปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด จึงมีค่าสูงเมื่อเทียบกับ OKP

ดังนั้นในการวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดในตัวอย่างพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยวิธี phenol-sulfuric acid จึงควรใช้ตัวอย่างที่มีความบริสุทธิ์ (Dubois *et al.*, 1956) เพื่อป้องกันความคลาดเคลื่อนที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาของสารเจือปน เช่น สารประกอบที่มีหมู่เอมีโน นอกจากนี้ในการวิเคราะห์ปริมาณองค์ประกอบที่เป็นคาร์โบไฮเดรตในตัวอย่างที่ผ่านการตัดแปรด้วยสารประเภทเอมีน อาจเลือกใช้วิธีวิเคราะห์ที่มีความจำเพาะเจาะจงสูง เช่น การวิเคราะห์น้ำตาลที่เป็นกลางในแอมมิเตตเพกตินด้วย gas-liquid chromatography โดยจะต้องผ่านขั้นตอน derivatization เพื่อให้ได้ alditol acetate ที่เป็นสารระเหยได้ก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วยวิธีดังกล่าว (Reitsma *et al.*, 1986)

จากการเปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และกรดกาแล็กทูโรนิก ระหว่างพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผ่านการตัดแปร และไม่ผ่านการตัดแปร พบว่า OKPA มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์น้อยกว่า OKP และมีปริมาณกรดกาแล็กทูโรนิกมากกว่า OKP อาจมีสาเหตุมาจากการในระหว่างการตัดแปร มีขั้นตอนการล้างพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยไอโซโพรพานอลความเข้มข้น 60% หลายครั้งจึงทำให้มีการชะล้างน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวบางส่วนออกไป ส่งผลให้ OKPA มีสัดส่วนน้ำตาลรีดิวซ์น้อยกว่า OKP

จากรายงานของ Voragen *et al.* (1995) กล่าวว่า การดีเอสเทอร์ฟิเคชันเพกตินด้วยกรดในเอทานอล นอกจากจะทำให้เพกตินมีหมู่เมทอกซิลลดลงแล้ว ยังทำให้โมเลกุลโซ่ข้าง (side chain) ของสายพอลิแซ็กคาไรด์ถูกตัดออก ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีปริมาณกรดกาแล็กทูโรนิกเพิ่มขึ้น สำหรับขั้นตอนการตัดแปรพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ จะใช้สารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ในแอลกอฮอล์ และต้องผ่านขั้นตอนการล้างด้วยไอโซโพรพานอลหลายครั้ง ด้วยเหตุนี้จึงเป็นไปได้ว่าในระหว่างทำการตัดแปร อาจเกิดการสูญเสียส่วนที่เป็น

โมเลกุลโซ่ข้าง รวมทั้งน้ำตาลโมเลกุลเล็ก ส่งผลให้สามารถวิเคราะห์ปริมาณกรดกาแล็กทูโรนิกได้มากขึ้นด้วย

ตารางที่ 7 องค์ประกอบเคมีพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวที่ไม่ดัดแปร (OKP) และดัดแปรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (OKPA)

องค์ประกอบเคมี	ปริมาณ (% w/w)*	
	OKP	OKPA
คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด	68.5±0.9	83.5±2.8
กรดกาแล็กทูโรนิก	24.2±0.9	39.0±1.3
น้ำตาลที่ไม่ใช่ซูโรน	44.3±1.5	44.5±2.2
น้ำตาลรีดิวซ์	15.4±0.4	10.7±1.5
เมทอกซิล	0.20±0.01	0.18±0.01
เอไมด์	11.46±1.82	31.62±0.38

หมายเหตุ * หมายถึง ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เมื่อพิจารณาค่า degree of esterification และหมู่เอไมด์ พบว่าหลังการดัดแปรพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์แล้ว ทำให้ OKPA มีค่า degree of esterification ลดลง และมีหมู่เอไมด์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับ OKP สอดคล้องกับรายงานของ Kim *et al.* (1978 b) และ EI-Nawawi and Heikal (1995) ที่กล่าวว่า การดัดแปรเพคตินชนิดที่มีค่า degree of esterification สูง ด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 4 นอร์มัล ที่อุณหภูมิ 3 °ซ และ 5 °ซ จะเกิดปฏิกิริยาดีเมทิลเลชัน ทำให้หมู่เมทอกซิลที่ เอสเทอร์ไฟด์อยู่ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 6 ของกรดกาแล็กทูโรนิก มีปริมาณลดลง และมีหมู่เอไมด์เพิ่มขึ้นที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 6 แทนที่หมู่เมทอกซิล เนื่องจากเกิดปฏิกิริยาเอมิเดชัน โดยการลดลงของค่า degree of esterification จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับการเพิ่มขึ้นของหมู่เอไมด์ ด้วยเหตุนี้ จึงอาจกล่าวได้ว่าเอไมด์ที่เพิ่มขึ้นใน OKPA นั้นมาจากปฏิกิริยาของแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ ที่เข้าไปแทนที่หมู่เมทอกซิลในโมเลกุลของกรดกาแล็กทูโรนิก เกิดเป็นหมู่เอไมด์ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 6 เช่นเดียวกันกับรายงานที่กล่าวมาข้างต้น

OKPA เมื่อละลายน้ำจะได้สารละลายที่มีความหนืด และมีสีเหลืองมากขึ้นเมื่อเทียบกับตัวอย่างผง (ตารางที่ 8) พิจารณาจากค่าสีเหลือง (b^*) ของสารละลาย OKPA มีค่ามากกว่า OKPA ที่เป็นผง ส่วนค่ามุมของสี (h^*) มีค่าเท่ากับ 89.38 ซึ่งค่าเข้าใกล้ 90 แสดงให้เห็นว่าสารละลาย OKPA มีสีออกทางเหลืองมากกว่า OKPA แบบผง ซึ่งมีสีออกเหลืองน้ำตาล และเมื่อพิจารณาค่า L^* พบว่ามีค่าสูง ($L^*=86.64$) แสดงว่าแสงส่องผ่านได้มาก สารละลายจึงมีความใส

ตารางที่ 8 ค่าสีของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวที่ดัดแปรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (OKPA)

คุณลักษณะ	พอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียว (OKPA)	
	ผง	สารละลาย
L^*	61.73	86.64
a^*	3.02	0.23
b^*	17.51	21.46
C^*	17.76	21.46
h^*	80.19	89.38

จากการวิเคราะห์ความหนืดของสารละลาย OKPA เปรียบเทียบกับ OKP พบว่าสารละลาย OKPA มีความหนืดสูงกว่าสารละลาย OKP อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) (ตารางที่ 13) โดยสารละลาย OKPA มีความหนืดสูงกว่าสารละลาย OKP 1.24 เท่า เนื่องจากการดัดแปรพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของหมู่เอไมด์บนโมเลกุลของกรดกาแล็กทูโรนิก และทำให้หมู่คาร์บอกซิลอิสระซึ่งเป็นส่วนที่ทำให้เกิดแรงผลักระหว่างประจุ (intermolecular electrostatic repulsion) ของสายพอลิแซ็กคาไรด์ลดลง ส่งผลให้สายโมเลกุลของพอลิแซ็กคาไรด์มีโอกาสเคลื่อนที่เข้ามาอยู่ใกล้กันมากขึ้น จนกระทั่งเกิดการรวมตัวกันของ amidated galacturonic acid residues ด้วยพันธะไฮโดรเจน (Voragen *et al.*, 1995; Moris, 1998) การรวมตัวกันดังกล่าวทำให้พอลิแซ็กคาไรด์มีขนาดใหญ่มากขึ้น (Yoo *et al.*, 2006) ประกอบกับการเพิ่มขึ้นของหมู่เอไมด์ ทำให้สายพอลิแซ็กคาไรด์มีส่วนที่ชอบน้ำ (hydrophilic) มากขึ้น ส่งผลให้เกิดการเพิ่มขึ้นของ hydration force (Axelos and Thibault, 1991 a) โครงสร้างของพอลิแซ็กคาไรด์จึงมีแรงต้านทานการไหลมากขึ้น สารละลาย OKPA จึงมีความหนืดมากกว่าสารละลาย OKP

2.2 การตัดแปรรพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวด้วยเอทิลเอมีน

การใช้เอทิลเอมีนซึ่งเป็นเอมีนปฐมภูมิสายตรง (primary aliphatic amine) ในการตัดแปรรพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีกรดกลูตาเมตเป็นองค์ประกอบหลัก ทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของหมู่เอไมด์ที่หมู่คาร์บอกซิลในโมเลกุลของกรดกลูตาเมต โดยเอไมด์ที่เกิดขึ้นเป็นเอไมด์ชนิดทุติยภูมิ (secondary amide) และมีหมู่เอทิลเป็นองค์ประกอบ ซึ่งแตกต่างจากการตัดแปรรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ ซึ่งจะทำให้เกิดหมู่เอไมด์ชนิดปฐมภูมิ (primary amide) (Sinitnya *et al.*, 2000)

พอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวที่ตัดแปรรด้วยเอทิลเอมีน (OKPE) มีปริมาณผลได้เท่ากับ 0.36% เทียบกับน้ำหนักฝักสด โดยหลังตัดแปรรมีค่าผลได้ลดลง 61.59% เมื่อเทียบกับปริมาณผลได้ของ OKP (0.93 %) (ตารางที่ 9) เนื่องมาจากเกิดการสูญเสียของพอลิแซ็กคาไรด์ในระหว่างการตัดแปรรเช่นเดียวกับการตัดแปรรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ ลักษณะของ OKPE ที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็ง แสดงดังภาพที่ 18



ภาพที่ 18 พอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวที่ตัดแปรรด้วยเอทิลเอมีนความเข้มข้น 4 โมลาร์ ในเมทานอลความเข้มข้น 60% และผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็ง

ตารางที่ 9 ปริมาณผลได้ (%yield) ของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวที่ไม่ตัดแปร (OKP) และตัดแปรด้วยเอทิลเอมีน (OKPE)

พอลิแซ็กคาไรด์	ปริมาณผลได้ เทียบกับน้ำหนักผักสด (%)
OKP	0.93
OKPE	0.36

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของ OKPE (ตารางที่ 10) พบว่ามีความชื้น 8.39% ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด 85.1% ประกอบด้วยกรดกาเล็กทูโรนิก 39.3% น้ำตาลที่ไม่ใช่ยูโรโนด 45.8% ซึ่งมีน้ำตาลรีดิวซ์อยู่ 8.2%

ตารางที่ 10 องค์ประกอบเคมีของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวที่ไม่ตัดแปร (OKP) พอลิแซ็กคาไรด์ที่ตัดแปรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (OKPA) และพอลิแซ็กคาไรด์ที่ตัดแปรด้วยเอทิลเอมีน (OKPE)

องค์ประกอบเคมี	ปริมาณ (% w/w)*		
	OKP	OKPA	OKPE
คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด	68.5±0.9 ^a	83.5±2.8 ^b	85.1±1.1 ^b
กรดกาเล็กทูโรนิก	24.2±0.9 ^a	39.0±1.3 ^b	39.3±2.6 ^b
น้ำตาลที่ไม่ใช่ ยูโรโนด	44.3±1.5 ^{ns}	44.5±2.2 ^{ns}	45.8±1.7 ^{ns}
น้ำตาลรีดิวซ์	15.4±0.4 ^c	10.7±1.5 ^b	8.2±0.8 ^a
เมทอกซิล	0.20±0.01 ^b	0.18±0.01 ^{ab}	0.15±0.01 ^a
เอไมด์	11.46±1.82 ^a	31.62±0.38 ^c	27.71±0.86 ^b

หมายเหตุ * หมายถึง ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวเลขในแนวนอนที่ตามด้วยอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

ns แสดงความไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

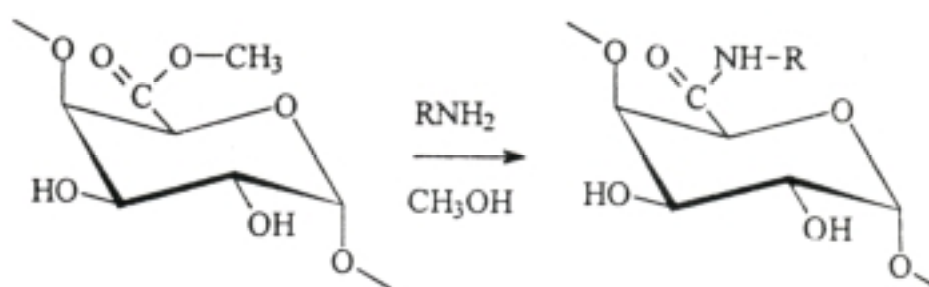
พอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวหลังผ่านการดัดแปรด้วยเอทิลเอมีน มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับพอลิแซ็กคาไรด์ก่อนดัดแปร โดยมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดไม่แตกต่างกับพอลิแซ็กคาไรด์ที่ดัดแปรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ ผลดังกล่าวคาดว่ามีสาเหตุมาจากการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดระหว่างแอมโมเนียมไอออนที่เกิดขึ้นจากการเปลี่ยนแปลงของกรดแอมิโนในภาวะเบส ขณะดัดแปรด้วยเอทิลเอมีน (pH 13.44) และ หมู่เอไมด์ของ OKPE ที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ กับน้ำตาลรีดิวซ์ที่มีใน OKPE ได้ผลิตภัณฑ์เป็นรงควัตถุที่ไปรบกวนการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดด้วยวิธี phenol-sulfuric acid ส่งผลให้อ่านค่าการดูดกลืนแสงคลาดเคลื่อนเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดใน OKPA ดังที่กล่าวมาแล้วในข้อ 2.1

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณกรดกาแล็กทูโรนิกและน้ำตาลรีดิวซ์ ระหว่างพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผ่านการดัดแปร และไม่ผ่านการดัดแปร พบว่า OKPE มีปริมาณกรดกาแล็กทูโรนิกมากกว่า OKP อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และมีปริมาณกรดกาแล็กทูโรนิกไม่แตกต่างจาก OKPA โดย OKPE มีน้ำตาลรีดิวซ์น้อยกว่า OKP และ OKPA อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

การที่ OKPE มีน้ำตาลรีดิวซ์ลดลง และมีปริมาณกรดกาแล็กทูโรนิกเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับ OKP อาจมีสาเหตุมาจากการในระหว่างการดัดแปรด้วยเอทิลเอมีน มีขั้นตอนการล้างพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยไอโซโพรพานอลความเข้มข้น 60% หลายครั้งจึงทำให้มีการชะล้างน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวบางส่วนออกไป ส่งผลให้ OKPE มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลง และมีปริมาณกรดกาแล็กทูโรนิกเพิ่มขึ้น เมื่อเทียบกับ OKP

เมื่อพิจารณาค่า degree of esterification และหมู่เอไมด์ พบว่า OKPE มีค่า degree of esterification ลดลง และมีหมู่เอไมด์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับ OKP โดย OKPE และ OKPA มีค่า degree of esterification ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจะคล้ายกับปฏิกิริยาเอมิเดชันระหว่างเพกตินชนิดที่มีหมู่เมทอกซิลสูงกับเอมีนปฐมภูมิ สายตรง (ภาพที่ 19) ผลิตภัณฑ์ที่ได้คือ *N*-alkylpectinamide (Sinitnya *et al.*, 2000) โดยเอไมด์ที่เพิ่มขึ้นใน OKPE นั้นมาจากเอทิลเอมีนที่เข้าไปแทนที่หมู่เมทอกซิลในโมเลกุลของกรดกาแล็กทูโรนิก เกิดเป็นหมู่เอไมด์ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 6 สอดคล้องกับรายงานของ Sinitnya *et al.* (2000) ที่ทำการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของเพกตินที่ถูกดัดแปรด้วยเอมีนปฐมภูมิ (primary amine) ด้วย FTIR โดยใช้เทคนิค diffuse reflectance พบว่าเอมิเดเพกติน มีพีคของ amide I และ II ประกอบกับ

การที่ฟังก์ชันของหมู่คาร์บอกซิลิกมีพื้นที่ได้ฟังก์ชันลดลงหลังผ่านการดัดแปร แสดงให้เห็นว่าเอมีนที่นำมาใช้ในการดัดแปร จะเข้าทำปฏิกิริยากับหมู่คาร์บอกซิลในโมเลกุลของกรดกลูตาเมตหรือกรดแอสพาร์ติก เกิดเป็นหมู่ เอไมด์ที่วิเคราะห์ได้ และเมื่อวิเคราะห์ค่า degree of methylation (DM) และ degree of amidation (DA) พบว่าหลังการดัดแปร มีค่า DA เพิ่มขึ้น ขณะที่ค่า DM ลดลง โดยในขณะดัดแปรจะเกิดปฏิกิริยาคีเมทิลเลชัน ทำให้ปริมาณหมู่เมทอกซิลที่เอสเทอร์ไฟด์อยู่ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 6 ของกรดกลูตาเมตหรือกรดแอสพาร์ติก มีปริมาณลดลง และมีหมู่เอไมด์เพิ่มขึ้นที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 6 แทนที่หมู่เมทอกซิล เนื่องจากเกิดปฏิกิริยาเอมิเดชัน



ภาพที่ 19 ปฏิกิริยาของของเพคตินกับเอมีนชนิดปฐมภูมิสายตรง

ที่มา: Sinitsya *et al.* (2000)

จากการเปรียบเทียบค่าสีของพอลิแซ็กคาไรด์ในรูปผงแห้ง (ตารางที่ 11) พบว่า OKP มีค่าความสว่าง (L^*) มากกว่า OKPE และ OKPA อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ส่วนค่าสีเหลือง (b^*) และค่าความเข้มของสี (C^*) ของ OKP จะมีค่ามากที่สุดเมื่อเทียบกับ OKPA และ OKPE

ตารางที่ 11 ค่าสีของพอลิแซ็กคาไรด์ในรูปของผงแห้งที่ไม่ดัดแปร (OKP) พอลิแซ็กคาไรด์ที่ดัดแปรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (OKPA) และพอลิแซ็กคาไรด์ที่ดัดแปรด้วยเอทิลเอมีน (OKPE)

ค่าสี	พอลิแซ็กคาไรด์		
	OKP	OKPA	OKPE
L*	80.18 ^c	61.73 ^b	62.18 ^b
a*	1.58 ^a	3.02 ^b	1.62 ^a
b*	18.07 ^b	17.51 ^b	16.25 ^a
C*	18.11 ^b	17.76 ^b	16.33 ^a
h*	75.99 ^b	80.19 ^a	84.31 ^b

หมายเหตุ ตัวเลขในแนวนอนที่ตามด้วยอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

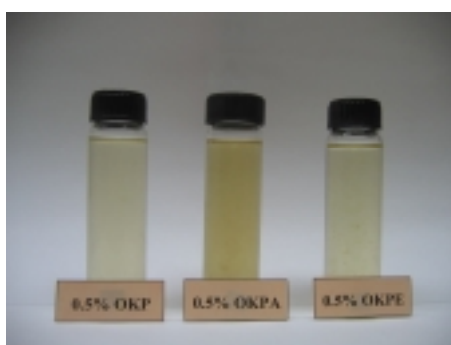
จากที่กล่าวมาแสดงให้เห็นว่าการดัดแปรพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ และเอทิลเอมีน ส่งผลให้ได้ตัวอย่างผงที่มีสีคล้ำมากขึ้น ขณะที่การดัดแปรดังกล่าวทำให้สีเหลืองของ OKPA และ OKPE ลดลงเล็กน้อย โดยการดัดแปรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ จะทำให้ได้ตัวอย่างพอลิแซ็กคาไรด์ผงที่มีสีคล้ำมากกว่าการใช้เอทิลเอมีน

การวิเคราะห์ค่าสีของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวในรูปของสารละลายความเข้มข้น 0.5% (ภาพที่ 20) พบว่าสารละลาย OKPE มีค่าความใส (L*) มากกว่า OKP และ OKPA ตามลำดับอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อพิจารณาค่าสีเหลือง (b*) ของสารละลาย OKPA พบว่ามีค่ามากกว่าสารละลาย OKP และ OKPE ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าสารละลาย OKPA มีสีออกทางเหลืองมากกว่าสารละลาย OKP และ OKPE และเมื่อสังเกตค่าความเข้มของสีพบว่าสารละลาย OKPA มีความเข้มของสีมากกว่าสารละลาย OKP และ OKPE อย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 12)

ดังนั้นการตัดแปรรูปโพลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (OKPA) จะทำให้ได้สารละลายที่มีสีเหลืองมากขึ้น โดยมีความใสน้อยกว่าสารละลายโพลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวที่ไม่ได้ตัดแปรรูป (OKP) และที่ตัดแปรรูปด้วยเอทิลเอมีน (OKPE) ส่วนการตัดแปรรูปด้วยเอทิลเอมีนจะทำให้ได้สารละลายที่มีความใสที่สุด และมีสีเหลืองน้อยกว่าสารละลาย OKP และ OKPA

การที่สารละลาย OKP, OKPA และ OKPE มีสีและความใสต่างกัน นอกจากจะมีสาเหตุมาจากการตัดแปรรูปแล้ว ความแตกต่างที่เกิดขึ้นอาจมาจากค่า pH ที่ไม่เท่ากันของสารละลาย โดยสารละลาย OKP OKPA และ OKPE มีค่า pH เท่ากับ 5.88, 8.36 และ 8.41 ตามลำดับ

สำหรับการเลือก OKP, OKPA และ OKPE ความเข้มข้น 0.5% มาใช้เป็นสารให้ความหนืดในอาหาร ซึ่งส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของสารละลายนั้น จะต้องคำนึงถึงลักษณะทางด้านสีของผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ เช่น หากนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์ที่ต้องการความใส อาจเลือก OKPE มาใช้เป็นสารให้ความหนืด เนื่องจากสารละลาย OKPE เมื่ออยู่ในรูปของสารละลายแล้วจะใสกว่า OKP และ OKPA นอกจากนั้นการที่สารละลาย OKP, OKPA และ OKPE มีสีค่อนข้างเหลือง อาจไม่มีผลกระทบกับสีของผลิตภัณฑ์บางชนิดที่มีสีเข้ม เช่น น้ำเกรวี่ ซอส และน้ำสลัด เป็นต้น แต่ทั้งนี้ข้อแนะนำดังกล่าวเป็นการพิจารณาในด้านของสีเพียงด้านเดียว หากมีการนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารจริง จะต้องพิจารณาถึงสมบัติของโพลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวทั้ง 3 ตัวอย่างในภาวะที่ใช้ในการผลิตและเก็บรักษาอาหารชนิดนั้น ด้วยเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์อาหารที่มีลักษณะตามที่ต้องการ



ภาพที่ 20 สารละลายโพลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวที่ไม่ได้ตัดแปรรูป (OKP) สารละลายโพลิแซ็กคาไรด์ที่ตัดแปรรูปด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (OKPA) และเอทิลเอมีน (OKPE) ความเข้มข้น 0.5% (w/v)

ตารางที่ 12 ค่าสีของพอลิแซ็กคาไรด์ในรูปของสารละลายความเข้มข้น 0.5% ที่ไม่ดัดแปร (OKP) พอลิแซ็กคาไรด์ที่ดัดแปรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (OKPA) และพอลิแซ็กคาไรด์ที่ดัดแปรด้วยเอทิลเอมีน (OKPE)

ค่าสี	พอลิแซ็กคาไรด์		
	OKP	OKPA	OKPE
L*	90.79 ^b	86.64 ^a	92.57 ^c
a*	-0.44 ^a	0.23 ^b	-0.43 ^a
b*	13.6 ^b	21.46 ^c	11.09 ^a
C*	13.61 ^b	21.46 ^c	11.09 ^a
h*	91.84 ^b	89.38 ^a	92.23 ^c

หมายเหตุ ตัวเลขในแนวนอนที่ตามด้วยอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

เมื่อเปรียบเทียบความหนืดของสารละลาย OKPE พบว่าสารละลาย OKPE มีความหนืดสูงกว่าสารละลาย OKPA และ OKP อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 13) แสดงให้เห็นว่าการเพิ่มขึ้นของหมู่เอไมด์ และการมีหมู่เอทิลเป็นองค์ประกอบ นั้นมีบทบาทสำคัญต่อสมบัติทางด้านการเพิ่มความหนืดของสารละลาย OKPE เป็นอย่างยิ่ง โดยการเพิ่มขึ้นของหมู่เอไมด์ และการลดลงของหมู่คาร์บอกซิลอิสระในโมเลกุลกรดกาแล็กทูโรนิก ส่งผลให้แรงผลักระหว่างประจุของสายพอลิแซ็กคาไรด์ลดลง เกิดการรวมตัวกันของ amidated galacturonic acid residues ด้วยพันธะไฮโดรเจน เช่นเดียวกับพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวที่ผ่านการดัดแปรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ และจากการใช้เอทิลเอมีน ซึ่งเป็นเอมีนปฐมภูมิในการดัดแปร ทำให้ได้อนุพันธ์พอลิแซ็กคาไรด์ที่มีหมู่ไฮโดรโฟบิกมากขึ้น (Simitsya *et al.*, 2000) ดังนั้นในสายของ OKPE นอกจากจะสามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนกับโมเลกุลน้ำ และเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างสายของพอลิแซ็กคาไรด์บริเวณที่เป็นหมู่เอไมด์แล้ว ยังสามารถเกิดแรงยึดเหนี่ยวกันด้วยพันธะไฮโดรโฟบิกของหมู่เอทิลระหว่างสายพอลิแซ็กคาไรด์ได้อีกด้วย ส่งผลให้สารละลาย OKPE มีแรงต้านทานการไหลสูง (Morris, 1998) และมีความหนืดสูงกว่าสารละลาย OKPA และ OKP

นอกจากนั้นในการดัดแปรโครงสร้างของพอลิแซ็กคาไรด์ ยังสามารถใช้สารประกอบเอมีนชนิดอื่น เช่น เมทิลเอมีน เฮกซิลเอมีน และออกตาเดซิลเอมีน เพื่อให้ได้พอลิแซ็กคาไรด์ที่มีสมบัติแตกต่างกันไป ตามชนิดของเอมีนที่ใช้ และสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้กว้างขวางมากยิ่งขึ้น (Sinitsya *et al.*, 2000)

ตารางที่ 13 ค่าความหนืด (mPa.s) ของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์ที่ไม่ดัดแปร (OKP)

พอลิแซ็กคาไรด์ที่ดัดแปรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (OKPA) และพอลิแซ็กคาไรด์ที่ดัดแปรด้วยเอทิลเอมีน (OKPE)

คุณลักษณะ	พอลิแซ็กคาไรด์		
	OKP	OKPA	OKPE
ค่าความหนืด ** (mPa.s)	17.13 ^a	21.92 ^b	34.13 ^c

หมายเหตุ ตัวเลขในแนวนอนที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

** ความหนืดของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวความเข้มข้น 0.5% (w/v)

3. การวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวด้วย **Diffuse Reflectance Fourier Transform Infrared Spectroscopy (DRIFTS)**

การวิเคราะห์โมเลกุลของสารด้วย FTIR โดยใช้เทคนิค Diffuse reflectance จะทำให้ทราบข้อมูลเกี่ยวกับการสั่นและการหมุนของอะตอมในโมเลกุลที่วิเคราะห์ เทคนิคดังกล่าวอาศัยหลักการสะท้อนของคลื่นอินฟราเรดที่ตกกระทบลงบนพื้นผิวแล้วผ่านเข้าไปในตัวอย่าง (Diffuse reflectance) ที่มีลักษณะทึบแสง ผิวหน้าหยาบ คลื่นที่สะท้อนกลับออกมาจะถูกส่งเข้าสู่ตัววัดสัญญาณ และแปรผลออกมาเป็นสเปกตรัม เทคนิคดังกล่าวเหมาะสมกับการวิเคราะห์โครงสร้างพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว กล่าวคือสามารถวิเคราะห์ตัวอย่างที่เป็นผงแห้ง และผิวหน้าไม่เรียบได้ เพราะหากวิเคราะห์พอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวในรูปของสารละลาย จะทำให้เกิดฟิรบกวนของน้ำขึ้นในสเปกตรัมของตัวอย่าง ข้อดีของเทคนิค Diffuse Reflectance คือสามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้อย่างรวดเร็ว ไม่ต้องผ่านขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างที่ยุ่งยาก และไม่เกิดการ

สูญเสียโครงสร้างดั้งเดิมของตัวอย่าง โดยการเตรียมตัวอย่างจะใช้โพแทสเซียมโบรไมด์ บดผสมกับตัวอย่างเพื่อเป็นการเจือจาง และทำให้มีการสะท้อนคลื่นอินฟราเรดแบบ Diffuse reflectance ได้ดีขึ้น (นิพนธ์และคณะ, 2547; Monsoor *et al.*, 2001)

เมื่อทำการวิเคราะห์โครงสร้างของ OKP, OKPA และ OKPE ด้วย DRIFTS (ภาพที่ 21-24) เปรียบเทียบกับสเปกตรัมของแอมิเดตเพกตินที่ใช้ในทางการค้า (LM 104 AS) และ wave number อ้างอิงของหมู่ฟังก์ชันต่างๆ จาก Infrared Spectroscopy Atlas Working Committee (1991) ประกอบกับงานวิจัยที่มีการวิเคราะห์โครงสร้างเพกตินและแอมิเดตเพกตินด้วย DRIFTS สามารถบอกชนิดของหมู่ฟังก์ชันในโมเลกุลของ OKP, OKPA และ OKPE ที่ wave number ต่างๆ ดังตารางที่ 14

LM 104 AS มีหมู่ฟังก์ชันที่สำคัญคือ หมู่เมทิลเอสเทอร์ และหมู่เอไมด์ โดยมีพีกที่เกิดจาก C=O stretching ในโมเลกุลของเมทิลเอสเทอร์ที่ wave number $1,745.07\text{ cm}^{-1}$ สอดคล้องกับการทดลองของ Sinitsya *et al.* (2000) ที่พบว่าแอมิเดตเพกติน มีพีกของหมู่เมทิลเอสเทอร์ที่ wave number $1,747\text{ cm}^{-1}$ นอกจากนั้นสเปกตรัมของ LM 104 AS ยังพบพีกของหมู่เอไมด์ (amide I และ amide III) ที่ wave number $1,641.01\text{ cm}^{-1}$ และ $1,419.64\text{ cm}^{-1}$ ซึ่งเกิดจาก C=O stretching และ N-H in-plan deformation ในโมเลกุลของเอไมด์ (Elliott, 1969) ใกล้เคียงกับสเปกตรัมของแอมิเดตเพกตินทางการค้าที่พบพีกของ amide I และ amide III ที่ wave number $1,681\text{ cm}^{-1}$ และ $1,415\text{ cm}^{-1}$ (Sinitsya *et al.*, 2000)

เมื่อพิจารณาสเปกตรัมของ OKP, OKPA และ OKPE พบว่าคล้ายกับสเปกตรัมของ LM 104 AS บางส่วน จากสเปกตรัมของ OKP, OKPA และ OKPE พบว่าไม่มีพีกของหมู่เมทิลเอสเทอร์ ซึ่งเป็นพีกที่เกิดในช่วง wave number $1,760\text{--}1,745\text{ cm}^{-1}$ (Monsoor *et al.*, 2001) ขณะที่ LM 104 AS จะพบพีกดังกล่าว สอดคล้องกับผลการศึกษาปริมาณเมทอกซิลด้วยวิธี alcohol oxidase ซึ่งพบว่า OKP, OKPA และ OKPE มีปริมาณเมทอกซิลเพียง 0.2%, 0.18% และ 0.15% ตามลำดับ ซึ่งปริมาณดังกล่าวเป็นอาจปริมาณที่ต่ำมากจนไม่สามารถวัดสัญญาณการสั่นของอะตอมได้ชัดเจน

เมื่อพิจารณาพีกของ OKP, OKPA และ OKPE ที่ wave number $1,605.51$, $1,602.92$ และ $1,603.44\text{ cm}^{-1}$ ตามลำดับ ซึ่งเป็นพีกที่เกิดจากพันธะระหว่างคาร์บอนและออกซิเจน ที่มีการสั่นแบบ asymmetrical stretching ($1,650\text{--}1,550\text{ cm}^{-1}$) ประกอบกับพีกที่ wave number $1,419.51$,

1,434.77 และ 1,421.59 cm^{-1} ซึ่งเกิดจากการสั่นแบบ symmetrical stretching (weak peak) ของพันธะดังกล่าว สามารถระบุได้ว่าในโมเลกุลของ OKP, OKPA และ OKPE มีหมู่ carboxylate anion เป็นองค์ประกอบ (Silverstein *et al.*, 1981)

และจากการที่ OKPA และ OKPE มีพีกของพันธะระหว่างไนโตรเจนและไฮโดรเจนในช่วงใกล้เคียงกับ 3,300-3,030 cm^{-1} และ 1,400 cm^{-1} ซึ่งซ้อนทับอยู่กับพีก (weak peak) ของ carboxylate anion ที่ตำแหน่งประมาณ 1,400 cm^{-1}) ทำให้ทราบว่าในโมเลกุลของ OKPA และ OKPE มีพีกของ amide III (N-H inplane deformation) คล้ายกับสเปกตรัมของ LM 104 AS ที่มีพีกของ amide III ที่ตำแหน่ง 1,419.64 cm^{-1} และ ethylpectinamide ซึ่งมีพีกของ amide III ตรงตำแหน่ง 1,420 cm^{-1} (Sinitnya *et al.*, 2000) ส่วนในสเปกตรัมของ OKP ซึ่งมีพีกที่ตำแหน่ง 1,419.51 cm^{-1} พบว่ามีลักษณะเป็น weak peak ซึ่งแตกต่างจากลักษณะของพีกของ OKPA และ OKPE ที่ตำแหน่ง 1,434.77 และ 1,421.59 cm^{-1} แสดงให้เห็นว่าที่ตำแหน่งดังกล่าวของ OKP เป็นพีกของ carboxylate anion ซึ่งไม่มีพีกของ amide III ซ้อนทับอยู่

นอกจากนั้น OKPA ยังมีพีกของ amide I (1,641.92 cm^{-1}) ซึ่งเป็นพีกหลัก (strongest peak) ของหมู่เอไมด์ คล้ายกับพีกของของ LM 104 AS (1,641.01 cm^{-1}) ประกอบกับการพบพีกของ amide III ในสเปกตรัมของ OKPA และ OKPE ทำให้ทราบว่าหลังจากตัดแปรพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ และเอทิลเอมีน จะทำให้มีหมู่เอไมด์เพิ่มขึ้นในโครงสร้างพอลิแซ็กคาไรด์ สำหรับสเปกตรัมของ OKPE แม้จะไม่พบพีกของ amide I ซึ่งมีความเป็นไปได้ว่าอาจเกิดพีกซ้อนทับกับพีกของ carboxylate anion เนื่องจากหมู่เอไมด์ที่เกิดขึ้น เป็นเอไมด์ชนิดทุติยภูมิ (secondary amide) ซึ่งมีเอทิลเป็นองค์ประกอบ ทำให้พีกของ amide I เกิดขึ้นที่ wave number ต่ำกว่าพีก amide I ของแอมิเดเพกตินทางการค้า ซึ่งเป็นเอไมด์ชนิดปฐมภูมิ (primary amide) (Sinitnya *et al.*, 2000) ดังนั้นตัวอย่าง OKPE จึงไม่พบพีกของ amide I แต่คาดว่าปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจากการตัดแปรด้วยเอทิลเอมีน จะคล้ายกับการตัดแปรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ ซึ่งทำให้มีหมู่เอไมด์เพิ่มขึ้นในโครงสร้างพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยเช่นกัน

จากผลการวิเคราะห์ด้วย DRIFT สอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ทางเคมี กล่าวคือการตัดแปรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์และเอทิลเอมีน จะทำให้มีหมู่เอไมด์เพิ่มขึ้น โดยพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวที่ไม่ได้ตัดแปรมีปริมาณหมู่เอไมด์เท่ากับ 11.46% เมื่อตัดแปรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์และ เอทิลเอมีน มีปริมาณหมู่เอไมด์เพิ่มขึ้นเป็น 31.62% และ 27.71% ตามลำดับ

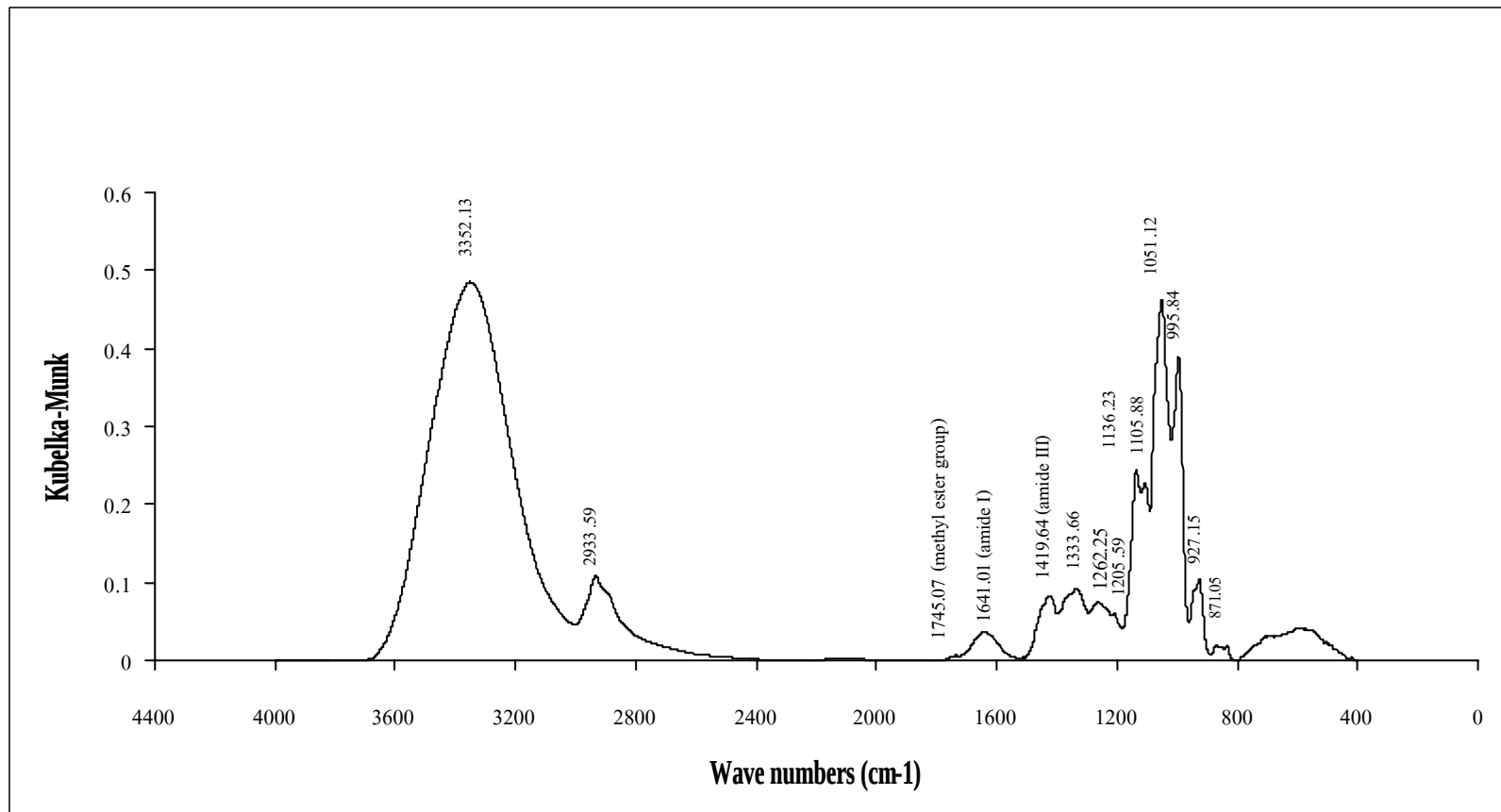
ดังตารางที่ 10 แต่เนื่องจากการวิเคราะห์ด้วย DRIFTS ในการทดลองนี้เป็นวิธีที่ใช้ตัวอย่างในปริมาณที่น้อยมาก (2 มิลลิกรัม) จึงไม่สามารถระบุในเชิงปริมาณได้ว่าพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวมีหมู่เอไมด์ในปริมาณเท่าใดทั้งก่อนและหลังการดัดแปร โดยสามารถยืนยันการมีหมู่เอไมด์ในโครงสร้างพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวทั้งที่ผ่านการดัดแปรและไม่ดัดแปรได้ จากการเปรียบเทียบกับสเปกตรัมของแอมมิเดตเพกตินที่ใช้ในการค้า และเพกตินที่ผ่านการดัดแปรด้วยสารประเภทเอมีนอื่น ๆ ซึ่งมีหมู่เอไมด์เป็นองค์ประกอบ

ตารางที่ 14 wave number ของหมู่ฟังก์ชันต่างๆ ในสเปกตรัมของ LM 104 AS, OKP, OKPA และ OKPE

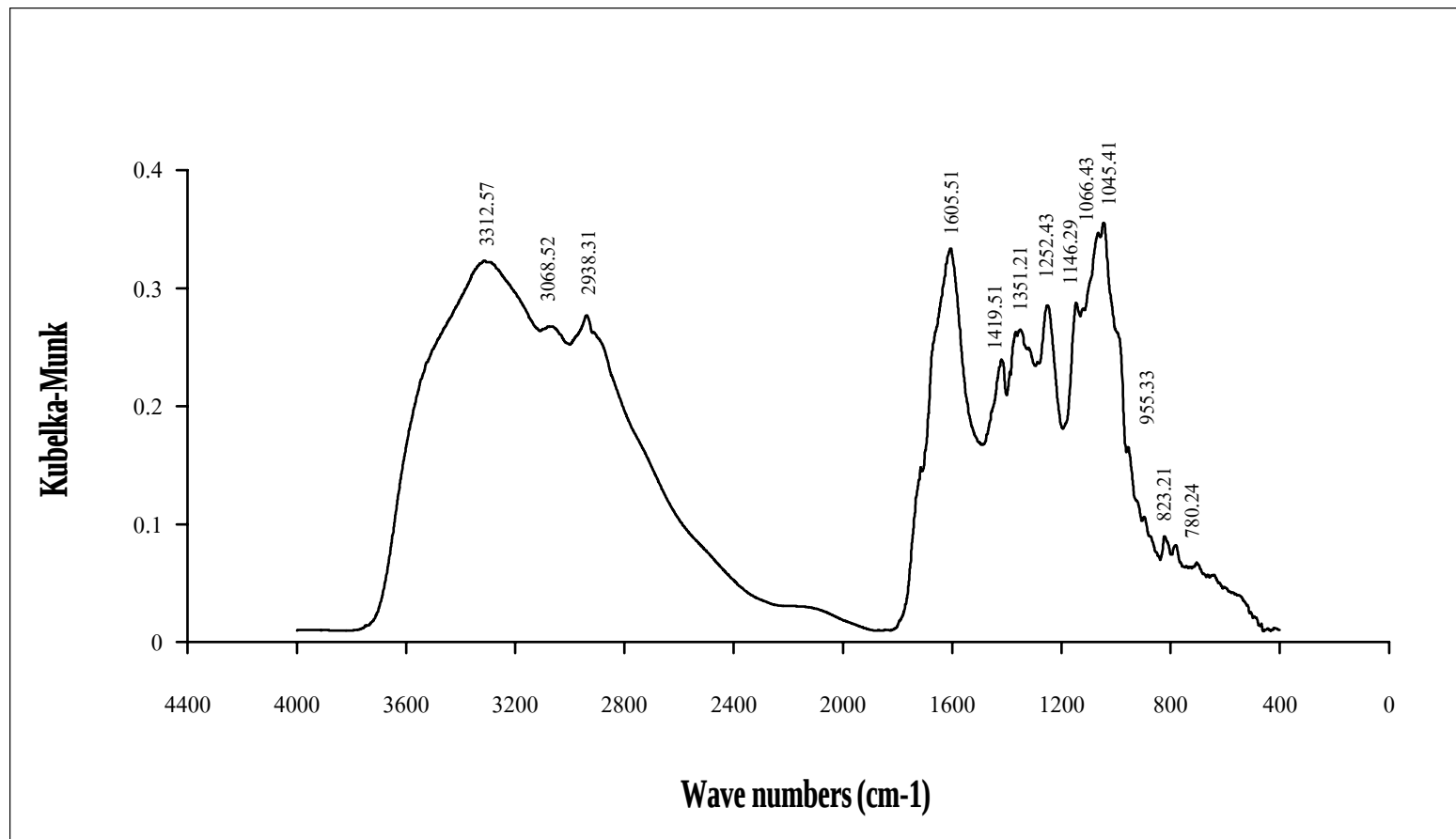
ตัวอย่าง	หมู่ฟังก์ชัน และ wave number (cm ⁻¹)						
	-OH, N-H	CH, -CH ₂ -, -CH ₃	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{- C - OCH}_3 \end{array}$	COO ⁻ , amide I, amide III	C-H	-C-O-C, C-N-H	C-OH, (CC)(CO)pyranoid ring, (C-O-C) glycosidic bond
	3,600-3,000	3,000-2,800	1,760-1,745	1,650-1,550, 1,715- 1,630, 1,420-1,400	1,385-1,340	1,275-1,070, 1,250-1,000	1,200-1,000
LM 104 AS	3,352.13	2,933.59	1,745.07	1,641.01, 1,419.64	1,333.66	1,262.25, 1,205.59	1,136.23, 1,105.88, 1,051.12
OKP	3,312.57, 3,068.52	2,938.31	-	1,605.51, 1,419.51	1,351.21	1,252.43	1,146.29, 1,121.07, 1,066.43, 1,045.41
OKPA	3,463.67, 3,229.26	2,941.94	-	1,602.92, 1,641.31, 1,434.77	1,369.50	1,250.50	1,146.07, 1,119.97, 1,011.96
OKPE	3311.20, 3057.93	2,937.03, 2,912.04	-	1,603.44, 1,421.59	1,339.51	1,249.65	1,144.22, 1065.79, 1044.33

หมายเหตุ – หมายถึงไม่พบฟังก์ชัน

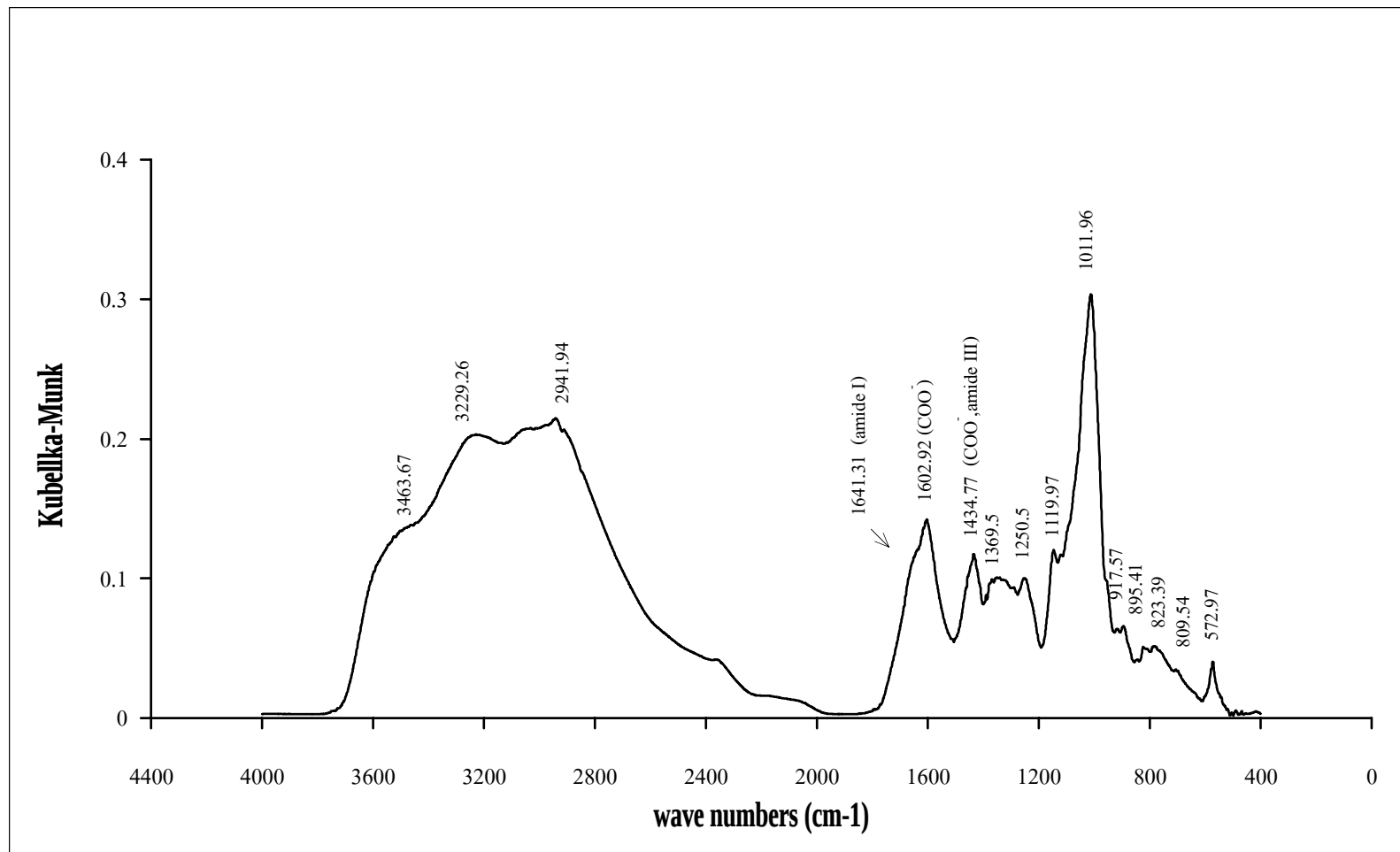
ที่มา: Silverstein *et al.* (1981); Infrared Spectroscopy Atlas Working Committee (1991); Sinitsya *et al.* (2000); Monsoor *et al.* (2001)



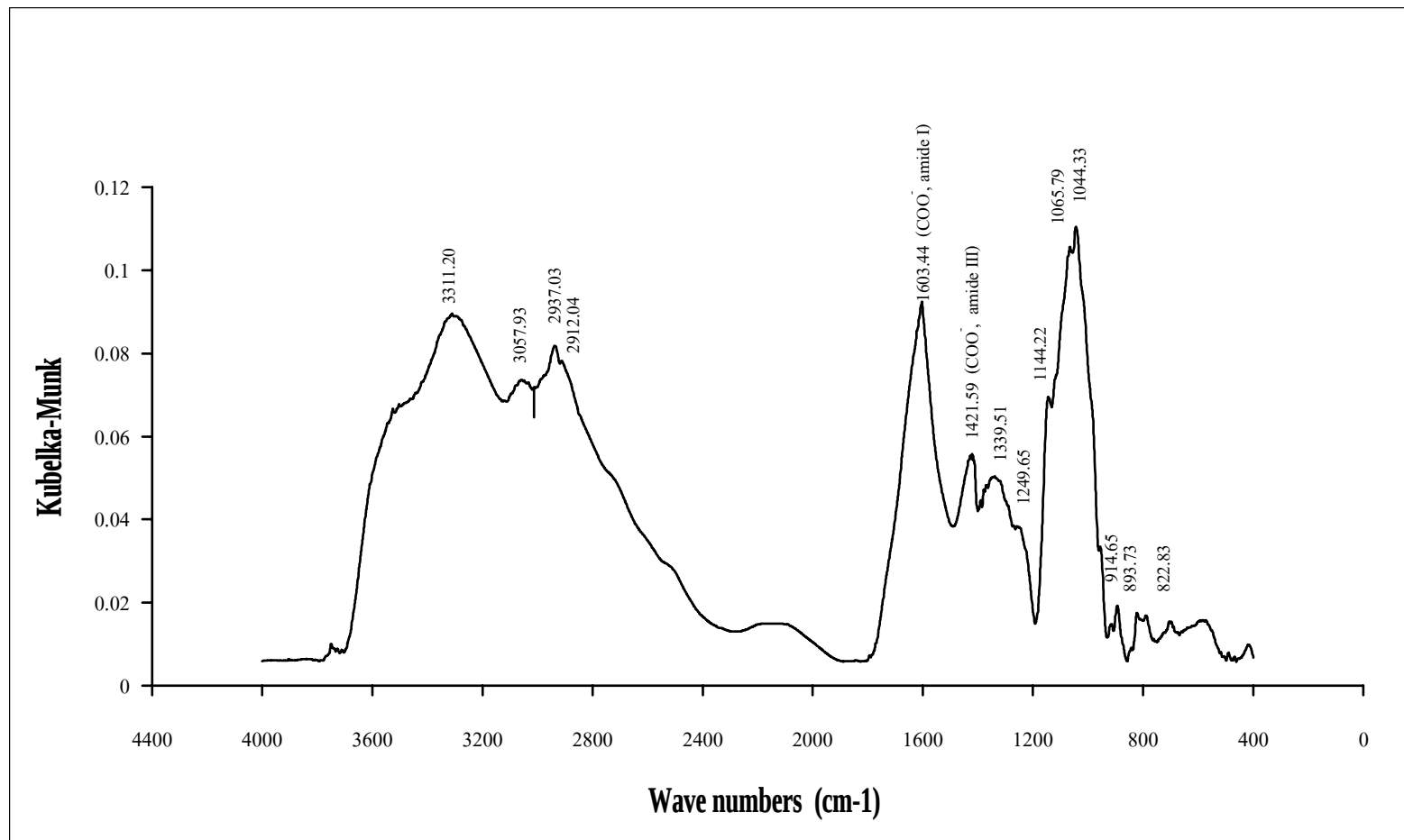
ภาพที่ 21 สเปกตรัม DRIFTS ของแอมิเดต เพกติน (LM 104 AS)



ภาพที่ 22 สเปกตรัม DRIFTS ของพอลิเอทไธนจากกระเจี๊ยบเขียว (OKP)



ภาพที่ 23 สเปกตรัม DRIFTS ของพอลิแอคริลาไรด์จากกระเจียนเขียวที่ดัดแปรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (OKPA)



ภาพที่ 24 สเปกตรัม DRIFTS ของพอลิแลคติกไครด์จากกระเจียวเขียวที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอทิลเอมีน (OKPE)

4. ผลของปัจจัยที่มีต่อความหนืดของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวที่ไม่ดัดแปร และดัดแปรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ และเอทิลเอมีน

4.1 ผลของความเป็นกรด-เบสต่อความหนืดของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียว

จากการศึกษาความหนืดของ OKP OKPA และ OKPE ในสารละลายบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ pH 2.7-10.8 พบว่าในภาวะที่เป็นกรด-กลาง (pH 2.7-7) สารละลาย OKP มีความหนืดต่ำ (ตารางที่ 15) ส่วนในภาวะที่เป็นเบส (pH สูงกว่า 7) สารละลาย OKP จะมีความหนืดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยความหนืดที่ pH 10.8 มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับที่ pH 9.6 (ภาพที่ 25 และตารางผนวกที่ ค1) ผลการทดลองดังกล่าวคล้ายกับรายงานของ Woolfe *et al.* (1977) ซึ่งกล่าวว่าพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวความเข้มข้น 5 กรัม/ลิตร มีความหนืดสัมพัทธ์ต่ำในภาวะที่เป็นกรด (pH 2-4) และมีค่าสูงขึ้นในช่วง pH 6-9 จากนั้นจะลดลงในภาวะที่มีค่า pH 10 ส่วนสารละลาย OKPA และ OKPE จะมีความหนืดสูง และคงที่ในช่วงกว้างกว่า สารละลาย OKP กล่าวคือจะมีความหนืดสูง และคงที่ในช่วง pH 4-10.8

ตารางที่ 15 ความหนืดเฉลี่ย (mPa.s) ของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ความเข้มข้น 0.5% ในช่วง pH ที่เป็นกรด-กลาง (pH 2.7-7) และเบส (pH 8-10.8)

ช่วง pH	ความหนืดเฉลี่ย (mPa.s)		
	OKP	OKPA	OKPE
2.7-7	7.47	18.26	24.92
8-10.8	15.17	20.03	25.28

การที่ความหนืดของสารละลาย OKP มีค่าต่ำในภาวะที่เป็นกรด เนื่องจากในภาวะดังกล่าวจะเกิดการสลาย (degradation) ของสายพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (acid hydrolysis) ส่งผลให้เกิดการแตกออกของพันธะไกลโคซิดิก ซึ่งเป็นพันธะที่ยึดระหว่างกรดกลูเตอิก และระหว่างกรดกลูเตอิกกับน้ำตาลแรมโนส ที่เป็นองค์ประกอบหลักของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียว การแตกออกของพันธะดังกล่าวทำให้เกิดดีพอลิเมอร์ไรเซชัน (depolymerization) ของสายพอลิแซ็กคาไรด์ สารละลาย OKP จึงมีความหนืดลดลง ปัจจัยสำคัญที่

มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสและดีพอลิเมอร์เชชันในภาวะกรด คือลักษณะของพันธะไกลโคซิดิก ค่า pH ระยะเวลา และอุณหภูมิในระหว่างเกิดปฏิกิริยา (Whistler and BeMiller, 1999) โดยในภาวะที่มี pH ต่ำ จะมีอัตราการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสและดีพอลิเมอร์เชชันเร็วกว่าภาวะที่มี pH สูงกว่า ณ อุณหภูมิเดียวกัน ส่วนโครงสร้างของพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีหมู่เมทิลอยู่น้อย จะเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสได้มากกว่าพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีหมู่เมทิลสูง (Krall and McFeeters, 1998) และอัตราการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสจะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิและเวลาในการไฮโดรไลซ์เพิ่มขึ้น

จากการทดลองที่พบว่าสารละลาย OKP มีความหนืดเพิ่มขึ้น เมื่อค่า pH เพิ่มขึ้นจาก 2.7 ถึง 7 ผลดังกล่าวมีสาเหตุมาจากภาวะที่มีค่า pH ต่ำ แสดงถึงการมีปริมาณไฮโดรเจนไอออนอยู่สูง สามารถเร่งให้เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสได้มากกว่าภาวะที่มีค่า pH สูง ดังนั้นในภาวะที่มีค่า pH ต่ำ จึงเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสได้มากกว่าภาวะที่มี pH สูง (Whistler and BeMiller, 1999) สารละลาย OKP ที่ pH 2.7 จึงมีความหนืดต่ำกว่าที่ pH 7 อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) สอดคล้องกับการทดลองของ Krall and McFeeters, (1998) ซึ่งกล่าวว่าอัตราการเกิดไฮโดรไลซิสด้วยกรดของพอลิเพกเตต (polypectate) ที่มีค่า degree of methylation น้อยกว่า 5% จะลดลง เมื่อค่า pH เพิ่มขึ้นจาก 2-6 โดยใช้ปริมาณหมู่รีดิวซ์ (reducing group) ของพอลิเพกเตตเป็นตัวชี้วัดการเกิดไฮโดรไลซิสของพันธะไกลโคซิดิก

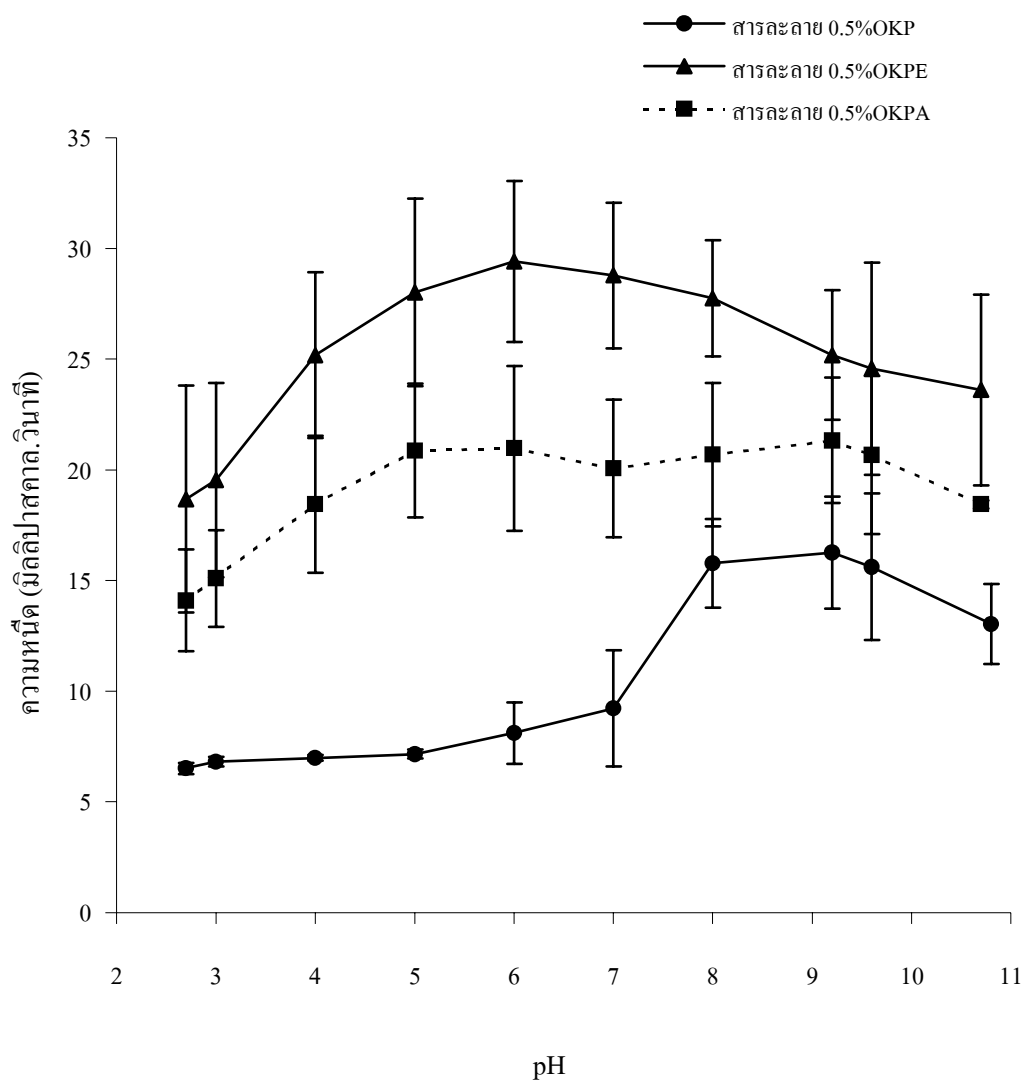
นอกจากนั้นในภาวะที่มีค่า pH ต่ำกว่า จะทำให้หมู่คาร์บอกซิลิกไม่แตกตัวเป็นไอออน ทำให้เกิดอันตรกิริยากับน้ำได้น้อยกว่าหมู่คาร์บอกซิลิกที่อยู่ในรูปที่ไม่แตกตัว (Chaplin, 2005) การที่พอลิแซ็กคาไรด์เกิดอันตรกิริยากับน้ำได้น้อย มีความเป็นไปได้ว่าสายของพอลิแซ็กคาไรด์สามารถเคลื่อนที่มารวมกันเอง (association) ได้มากขึ้นจนทำให้เกิดการแยกตัวออกจากสารละลาย ส่งผลให้ความหนืดของสารละลายลดลง (Whistler, 1993)

สำหรับในภาวะที่เป็นเบส (pH 8-10.8) พบว่าสารละลาย OKP มีค่าความหนืดสูงขึ้น เมื่อเทียบกับความหนืดในภาวะที่เป็นกรดและภาวะที่เป็นกลาง (pH 2.7-7) โดยความหนืดของสารละลาย OKP ที่ pH 8-10.8 มีค่าสูงกว่าสารละลายสารละลาย OKP ที่ pH 2.7-7 อยู่ 2.03 เท่า ทั้งนี้เนื่องมาจากในภาวะที่มีความเป็นเบสสูง หมู่คาร์บอกซิลของกรดกลูตาเมตจะแตกตัวเป็นประจุลบอย่างสมบูรณ์ ทำให้สายของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวที่มีลักษณะเป็นเกลียวพันกันอยู่ (entangled coil) ถูกเปิดออก โครงสร้างดังกล่าวเป็นโครงสร้างที่สามารถเกิดอันตรกิริยากับ

สารอื่นได้มากขึ้น เช่น เกิดอันตรกิริยากับน้ำ ส่งผลให้พอลิแซ็กคาไรด์มีความสามารถในการต้านทานการไหลมากขึ้น สารละลาย OKP ในภาวะที่เป็นเบสจึงมีความหนืดสูงขึ้น (Ndjouenkeu *et al.*, 1996; Mesbahi *et al.*, 2005) แม้ว่าภาวะที่มี pH สูงจะทำให้สารละลายพอลิแซ็กคาไรด์มีความหนืดสูงขึ้น แต่ในภาวะดังกล่าวก็ยังสามารถทำให้สายพอลิแซ็กคาไรด์เกิดการแตกสลาย ได้ด้วยปฏิกิริยา β -elimination (Sajjaanantakul, 1989) ดังนั้นจึงพบว่าในภาวะที่มีค่า pH 10.8 สารละลาย OKP มีความหนืดลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับความหนืดในภาวะที่มีค่า pH 9.6

เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงความหนืดของสารละลาย OKPA และ OKPE เทียบกับสารละลาย OKP ในภาวะที่มีค่า pH 2.7-10.8 พบว่าสารละลาย OKPA และ OKPE มีความหนืดสูงกว่าสารละลาย OKP ในทุกช่วง pH โดยในภาวะที่เป็นกรด-กลาง (pH 2.7-7) สารละลาย OKPA และ OKPE จะมีความหนืดเฉลี่ยสูงกว่าสารละลาย OKP ที่ภาวะเดียวกัน 2.44 และ 3.34 เท่า ตามลำดับ ส่วนในภาวะที่เป็นเบส (pH 8-10.8) สารละลาย OKPA และ OKPE จะมีความหนืดเฉลี่ยสูงกว่าสารละลาย OKP ที่ภาวะเดียวกัน 1.32 และ 1.66 เท่า ตามลำดับ

สารละลาย OKPA และ OKPE มีความหนืดต่ำลงเล็กน้อยในภาวะที่เป็นกรด (pH 2.7-3) อาจมีสาเหตุมาจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของสายพอลิแซ็กคาไรด์ และเนื่องจากการตัดแปรรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ และเอทิลเอมีนจะทำให้ OKPA และ OKPE มีหมู่เอไมด์เพิ่มขึ้น และมีปริมาณหมู่คาร์บอกซิลอิสระลดลง (Kim *et al.*, 1978 b; Sinitsya *et al.*, 2000) ส่งผลให้สารละลายมีการเปลี่ยนแปลงความหนืดเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของประจุใน pH ต่าง ๆ น้อยกว่าสารละลาย OKP สารละลาย OKPA และ OKPE จึงมีความหนืดค่อนข้างคงที่ในภาวะที่มีค่า pH ต่าง ๆ



ภาพที่ 25 ผลของความเป็นกรด-เบสต่อความหนืดของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวที่ไม่ดัดแปร (OKP) พอลิแซ็กคาไรด์ที่ดัดแปรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (OKPA) และพอลิแซ็กคาไรด์ที่ดัดแปรด้วยเอทิลเอมีน (OKPE) ความเข้มข้น 0.5%

4.2 ผลของความร้อนต่อความหนืดของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียว

การให้ความร้อนแก่สารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ความเข้มข้น 0.5% (w/v) และมีค่า pH ของสารละลายเท่ากับ 5.88, 8.36 และ 8.41 ตามลำดับ โดยแช่ในอ่างน้ำร้อน อุณหภูมิห้องและเพิ่มอุณหภูมิเรื่อย ๆ จนถึง 70 °ซ แล้ววัดความหนืดของสารละลายที่อุณหภูมิห้อง 30, 40, 50, 60 และ 70 °ซ พบว่าการให้ความร้อนที่ระดับอุณหภูมิสูงขึ้นจะทำให้สารละลาย OKP, OKPA และ OKPE มีความหนืดลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) (ภาพที่ 26) โดยสารละลาย OKP ที่อุณหภูมิ 70 °ซ มีความหนืดลดลง 2.01 เท่า ขณะที่สารละลาย OKPA และ OKPE มีความหนืดลดลงเพียง 1.61 และ 1.47 เท่าตามลำดับ เมื่อเทียบกับความหนืดที่อุณหภูมิห้องก่อนให้ความร้อน

เมื่อลดอุณหภูมิลงจนเท่ากับอุณหภูมิห้อง พบว่าสารละลาย OKP มีความหนืดน้อยกว่าสารละลาย OKP ที่อุณหภูมิห้องก่อนให้ความร้อนอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) (ตารางผนวกที่ ค2) สอดคล้องกับการทดลองของ Woolfe *et al.* (1977) ซึ่งกล่าวว่าการให้ความร้อนจากอุณหภูมิห้องจนถึง 90 °ซ จะทำให้สารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียว ความเข้มข้น 8 กรัม/ลิตร มีค่าความหนืดสัมพัทธ์ลดลง และเมื่อลดอุณหภูมิลงจนเท่ากับอุณหภูมิเริ่มต้น พบว่ามีค่าความหนืดสัมพัทธ์น้อยกว่าความหนืดสัมพัทธ์เริ่มต้น ส่วนสารละลาย OKPA และ OKPE หลังผ่านการให้ความร้อนและทิ้งไว้ให้เย็นจนมีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้อง มีความหนืดไม่แตกต่างจากความหนืดของสารละลาย OKPA และ OKPE ที่อุณหภูมิห้องก่อนให้ความร้อนอย่างมีนัยสำคัญ (ภาพที่ 27)

เนื่องจากพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวที่สกัดด้วยน้ำ มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบอยู่ด้วย เมื่อได้รับความร้อนจะทำให้โปรตีนดังกล่าวเกิดการเสียสภาพ (denature) จึงเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้สารละลาย OKP, OKPA และ OKPE มีค่าความหนืดลดลง โดยไม่พบตะกอนของโปรตีนในสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE หลังจากผ่านการให้ความร้อน ผลการทดลองดังกล่าวแตกต่างจากการทดลองของ Woolfe *et al.* (1977) ที่พบตะกอนของโปรตีนในสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวหลังผ่านการให้ความร้อน ซึ่งตะกอนดังกล่าวไม่สามารถละลายกลับ (redissolve) ได้หลังจากทิ้งไว้ให้เย็น เนื่องจากในการทดลองนี้ทำการเพิ่มอุณหภูมิให้แก่สารละลาย OKP, OKPA และ OKPE สูงสุดที่ 70 °ซ ขณะที่การทดลองของ Woolfe *et al.* (1977) ทำการเพิ่มอุณหภูมิให้แก่สารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวจนถึง 90 °ซ ซึ่งการใช้อุณหภูมิสูงในการทดลองจะส่งผลให้โปรตีนเสียสภาพ และพบการเกิดตะกอนของโปรตีนได้ชัดเจนมากกว่าการให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่ำกว่า

การลดลงของความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ในภาวะที่มีอุณหภูมิสูงขึ้น เกี่ยวข้องกับการขยายตัวเนื่องจากความร้อน (thermal expansion) ที่เกิดจากการเพิ่มขึ้นของพลังงานความร้อน (thermal energy) ส่งผลให้ระยะห่างระหว่างโมเลกุล (intermolecular distance) เพิ่มขึ้น (Kar and Arslan, 1999) การเพิ่มขึ้นของระยะห่างระหว่างโมเลกุล จะทำให้สายของพอลิแซ็กคาไรด์ไม่สามารถยึดเกาะกันได้ด้วยพันธะไฮโดรเจน และพันธะโควาเลนต์ เนื่องจากแรงดังกล่าวจัดเป็นแรงช่วงสั้น (short ranged forces) ทำให้สายพอลิแซ็กคาไรด์กระจายตัวกันอย่างกระจัดกระจายส่งผลให้ความหนืดของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์ลดลง (ปาริฉัตร, 2545) ผลของอุณหภูมิต่อความหนืดของของไหล เช่น สารละลายเพกติน อธิบายได้จากสมการ Arrhenius ดังนี้

$$\eta = \eta_0 \exp(E_a/RT)$$

เมื่อ η คือ ความหนืดของสารละลายเพกติน (mPa s), η_0 คือ preexponential factor (mPa s), E_a คือ พลังงานกระตุ้น (activation energy) ของการไหล (kJ/mol K) และ T คือ อุณหภูมิสัมบูรณ์ (absolute temperature: K)

พอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวประกอบด้วยกรดกาแล็กทูโรนิก เชื่อมต่อกันด้วย α -(1 $\rightarrow$ 4) glycosidic bond และมีน้ำตาลแรมโนสแทรกอยู่ในโครงสร้างหลักที่ตำแหน่ง α -(1 $\rightarrow$ 2) glycosidic bond (Tomoda *et al.*, 1980) แต่เนื่องจากพันธะไกลโคซิดิก เป็นพันธะโควาเลนต์ที่มีความแข็งแรง และต้องใช้อุณหภูมิสูงในการทำลายพันธะ เช่น ในภาวะของกระบวนการสเตอริไรเซชัน และการทำแห้ง (LeVan, 1989) ด้วยเหตุนี้พันธะไกลโคซิดิกที่เชื่อมระหว่างโมเลกุลน้ำตาลที่เป็นโครงสร้างหลักของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียว จึงไม่ถูกทำลายที่อุณหภูมิ 70 °C ดังนั้นการลดลงของความหนืดหลังผ่านความร้อน อาจมาจากการเพิ่มขึ้นของระยะห่างระหว่างโมเลกุล ดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้น และเมื่อลดอุณหภูมิลงจนถึงอุณหภูมิห้อง สารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จะมีความหนืดเพิ่มขึ้น เนื่องจากสายของพอลิแซ็กคาไรด์สามารถเคลื่อนที่เข้ามาใกล้กันมากขึ้น จึงสามารถยึดเกาะกันด้วยพันธะไฮโดรเจนได้อีกครั้ง

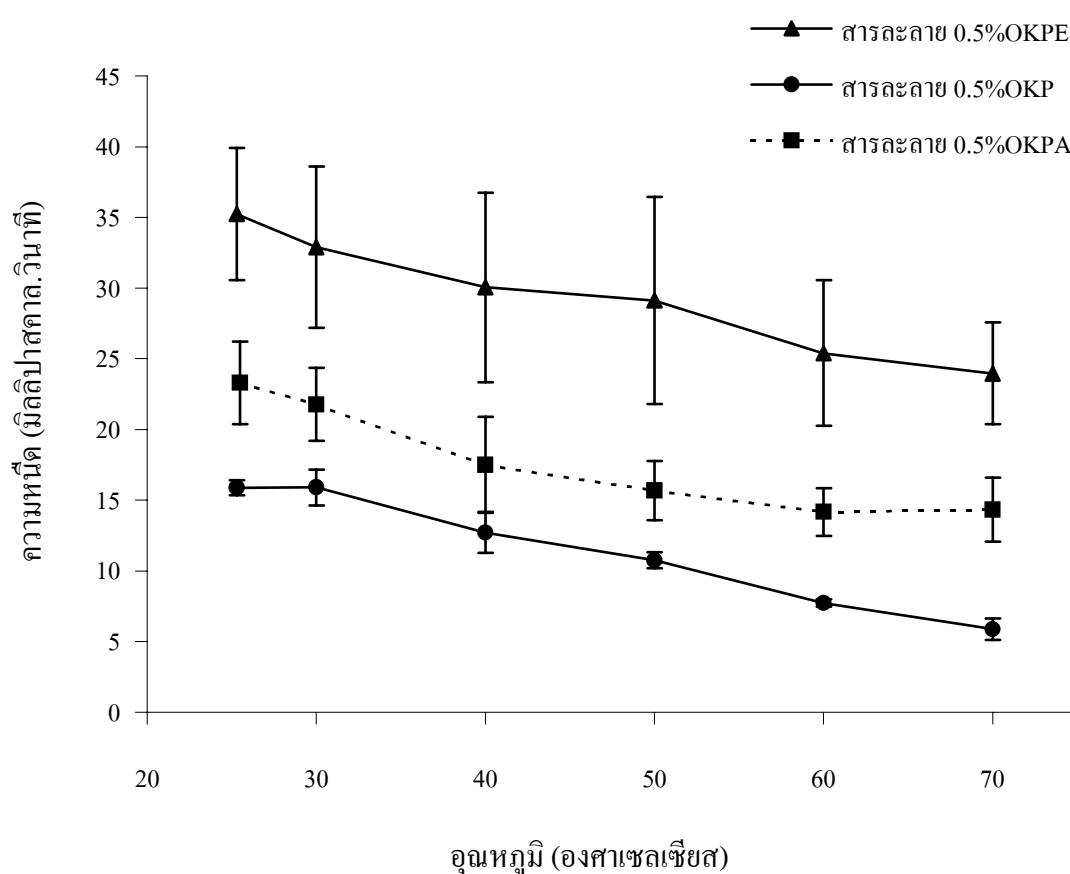
การเพิ่มอุณหภูมิในภาวะที่มีค่า pH มากกว่า 5 สามารถเร่งให้เกิดดีพอลิเมอร์ไรเซชันเนื่องจากปฏิกิริยา β -elimination ในโมเลกุลของกรดกาแล็กทูโรนิกได้ โดยเกิดการสูญเสียไฮโดรเจนอะตอมที่ตำแหน่ง C-5 และ C-4 ในภาวะที่มีไฮดรอกซิล ไอออน (OH^-) ทำให้เกิด

พันธะคู่ระหว่าง C-5 และ C-4 ส่งผลให้พันธะไกลโคซิดิกที่เชื่อมระหว่างโมเลกุลของกรดกาแล็กทูโรนิกถูกทำลายลง (ภาพที่ 28) ซึ่งการเกิดปฏิกิริยา β -elimination จะเกิดได้เมื่อโมเลกุลกรดกาแล็กทูโรนิกมีหมู่เมทิลเอสเทอร์ไฟด์อยู่ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 6 ซึ่งจะทำให้ไฮโดรเจนที่ตำแหน่ง C-5 ถูกดึงออกมาได้ง่าย (Keijbets and Pilnik, 1974; Sajjaanantakul *et al.*, 1989; Voragen *et al.*, 1995) Sajjaanantakul *et al.*, 1989 กล่าวว่า การเกิดปฏิกิริยา β -elimination เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ chelator-soluble pectin (CSP) เกิดการสลายตัวขณะให้ความร้อน โดย CSP ที่มีค่า degree of esterification 96.69% จะเกิดปฏิกิริยา β -elimination ได้มากกว่า CSP ที่มีค่า degree of esterification 0.45% ในภาวะที่มีการให้ความร้อนอุณหภูมิ 100 °C เป็นระยะเวลาเท่ากัน นอกจากนี้ Krall and McFeeters (1998) ยังพบว่าในภาวะที่มีค่า pH 6 เพกตินที่มีค่า degree of methylation 70% มีอัตราการสลายตัวมากกว่าพอลิเพกเตตที่มี degree of methylation ต่ำกว่า 5% 60 เท่า จากรายงานดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าหมู่เมทิลเอสเทอร์มีความสำคัญต่อการเกิดปฏิกิริยา β -elimination โดยเพกตินที่มีหมู่เมทิลเอสเทอร์อยู่มาก จะสามารถเกิดการสลายตัวเนื่องจากปฏิกิริยา β -elimination ได้มากกว่าเพกตินที่มีหมู่เมทิลเอสเทอร์อยู่ในโครงสร้างน้อยกว่า

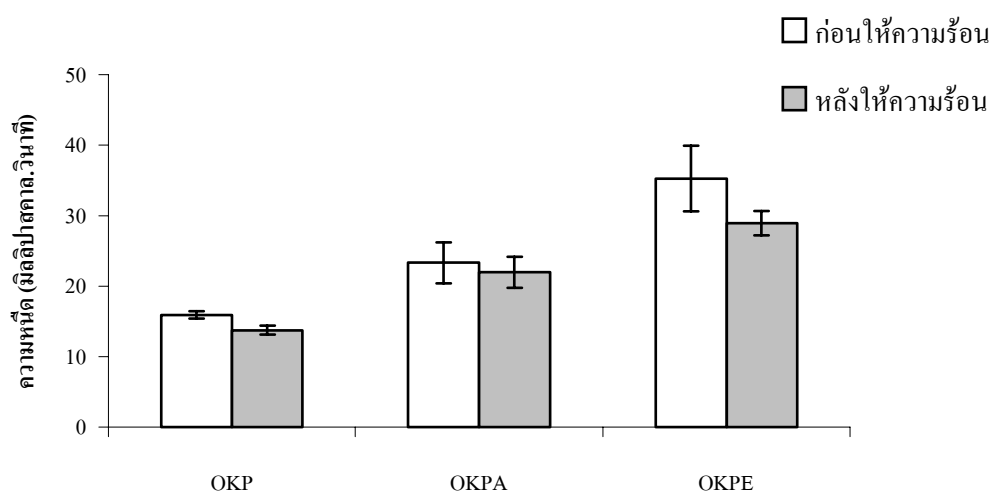
แต่เนื่องจากสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE มีค่าความหนืดเพิ่มขึ้นเมื่อทิ้งไว้ให้เย็นหลังผ่านความร้อน แสดงให้เห็นว่าสายของพอลิแซ็กคาไรด์ ไม่เกิดการสลายตัว ประกอบกับพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียวมีหมู่เมทิลเอสเทอร์ไฟด์อยู่ในปริมาณต่ำ การเกิดปฏิกิริยา β -elimination จึงอาจไม่ส่งผลกระทบต่อความหนืดได้อย่างชัดเจน ดังนั้นการเกิด β -elimination จึงไม่น่าจะใช่สาเหตุหลักที่ทำให้เกิดการลดลงของความหนืดหลังผ่านการให้ความร้อน แต่อาจมีสาเหตุหลักมาจากการเสียสภาพของโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบในพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียว และการเพิ่มขึ้นของระยะห่างระหว่างสายของพอลิแซ็กคาไรด์หลังได้รับพลังงานความร้อน ทำให้สารละลาย OKP, OKPA และ OKPE มีความหนืดลดลง

เมื่อพิจารณาสารละลาย OKPA พบว่ามีการลดลงของความหนืดอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ในช่วงอุณหภูมิ 40 °C และจะลดลงอีกเล็กน้อยจนเกือบคงที่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิถึง 70 °C ซึ่งแตกต่างจากการเปลี่ยนแปลงความหนืดของสารละลาย OKP เมื่อได้รับความร้อน กล่าวคือ สารละลาย OKP จะมีความหนืดลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นทุก 10 °C จนถึงอุณหภูมิ 70 °C โดยสารละลาย OKPA มีความหนืดสูงกว่าสารละลาย OKP ในทุกช่วงอุณหภูมิ และหลังจากให้ความร้อนแล้วทิ้งไว้ให้เย็นจนมีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิเริ่มต้น สารละลาย OKPA จะมีความหนืดไม่แตกต่างกับความหนืดที่อุณหภูมิห้องก่อนให้ความร้อนอย่างมีนัยสำคัญ แสดงให้เห็นว่า

การดัดแปรพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ ทำให้ได้พอลิแซ็กคาไรด์ที่ทนความร้อนได้มากขึ้น และสามารถช่วยรักษาสมบัติทางด้านความหนืดหลังผ่านความร้อนได้



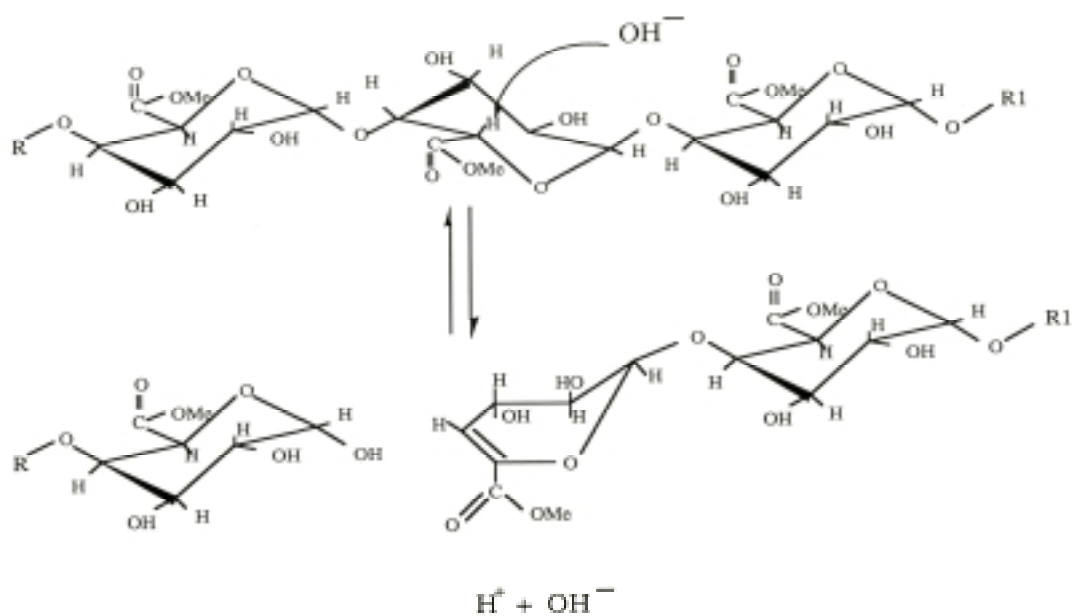
ภาพที่ 26 ผลของความร้อนต่อความหนืดของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวที่ไม่ดัดแปร (OKP) พอลิแซ็กคาไรด์ที่ดัดแปรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (OKPA) และพอลิแซ็กคาไรด์ที่ดัดแปรด้วยเอทิลเอมีน (OKPE) ความเข้มข้น 0.5%



ภาพที่ 27 ความชื้นของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวที่ไม่ตัดแปรรูป (OKP)

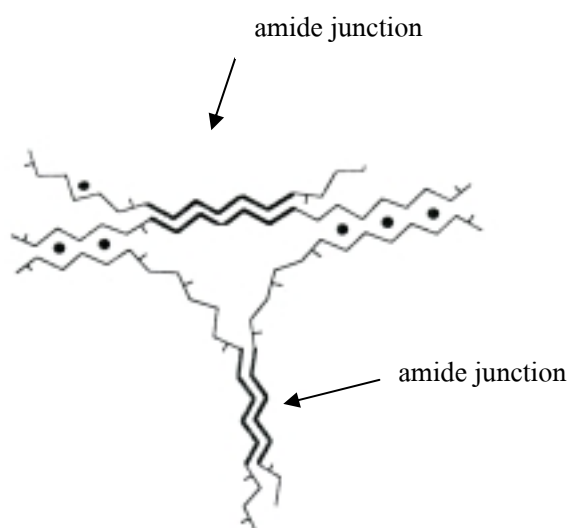
พอลิแซ็กคาไรด์ที่ตัดแปรรูปด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (OKPA) และ พอลิแซ็กคาไรด์ที่ตัดแปรรูปด้วยเอทิลเอมีน (OKPE) ความเข้มข้น 0.5% ที่อุณหภูมิห้อง ก่อนและหลังให้ความร้อนอุณหภูมิ 70 °ซ

เนื่องจากการตัดแปรรูปพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ ทำให้มีหมู่เอไมด์เพิ่มขึ้น ซึ่งการรวมตัวกันของสายพอลิแซ็กคาไรด์ มีสาเหตุมาจากการเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างหมู่เอไมด์ซึ่งจัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบในโมเลกุลกรดกลูตาเมตที่ เป็นโครงสร้างหลักของพอลิแซ็กคาไรด์ กับหมู่คาร์บอกซิล ที่อยู่ในรูปของประจุลบ (Voragen *et al.*, 1995; Alonso-Mougan *et al.*, 2002) ดังภาพที่ 29 พันธะดังกล่าวทำให้เกิดการรวมตัวของสายพอลิแซ็กคาไรด์ได้มากขึ้น ประกอบกับในระหว่างการตัดแปรรูปด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ จะทำในภาวะอุณหภูมิต่ำ (3 °ซ) เช่นเดียวกับการทดลองของ Reitsma *et al.* (1996) และ Kim *et al.* (1978 b) จึงสามารถป้องกันการเกิดดีพอลิเมอร์ของสายพอลิแซ็กคาไรด์ในระหว่างตัดแปรรูปได้ ส่งผลให้สารละลาย OKPA มีความหนืดสูงกว่าสารละลาย OKP ในทุกช่วงอุณหภูมิ



ภาพที่ 28 ปฏิกิริยา β -elimination ของเพคติน

ที่มา: Sajjaanantakul (1989)



ภาพที่ 29 แบบจำลอง amide junction ของเพคตินที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอมโมเนียมไฮดรอกไซด์

ที่มา: Morris (1998)

จากการเปรียบเทียบค่าความหนืดของสารละลาย OKPE กับ สารละลาย OKP เมื่อทำการเพิ่มอุณหภูมิจนถึง 70 °ซ พบว่าสารละลาย OKPE มีความหนืดลดลงจากความหนืดที่อุณหภูมิห้อง เมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงกว่าสารละลาย OKP โดยสารละลาย OKPE มีความหนืดลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ที่อุณหภูมิ 60 °ซ ส่วนสารละลาย OKP มีการลดลงของความหนืดที่อุณหภูมิ 40 °ซ อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับความหนืดของสารละลายอื่นๆ ที่อุณหภูมิห้อง ประกอบกับเมื่อให้ความร้อนแก่สารละลาย OKPE แล้วทิ้งไว้ให้เย็น สารละลาย OKPE ยังคงมีความหนืดไม่แตกต่างจากความหนืดก่อนให้ความร้อน แสดงให้เห็นว่าการดัดแปรพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวด้วยเอทิลเอมีน ทำให้ได้พอลิแซ็กคาไรด์ที่ทนความร้อนได้ดีกว่าพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวที่ไม่ผ่านการดัดแปร และสามารถช่วยรักษาสมบัติทางด้านความหนืดหลังผ่านความร้อนได้ เช่นเดียวกับการดัดแปรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์

ทั้งนี้เนื่องมาจากโครงสร้างของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอทิลเอมีน ประกอบด้วยหมู่เอไมด์ที่สามารถเกิดแรงยึดเหนี่ยวระหว่างสายพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยพันธะไฮโดรเจน และหมู่เอทิล ที่สามารถเกิดแรงยึดเหนี่ยวระหว่างสายของพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิก (hydrophobic interaction) และจะมีความแข็งแรงขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น (Alonso-Mougan *et al.*, 2002) ทำให้สายของพอลิแซ็กคาไรด์มีความทนต่อความร้อนมากกว่าพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวที่ไม่ผ่านการดัดแปร

4.3 ผลของแคลเซียมต่อความหนืดของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียว

สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้นของแคลเซียมไอออน 200-1,000 ไมโครโมลาร์ ซึ่งคำนวณจากปริมาณแคลเซียมคลอไรด์ เมื่อนำมาวัดค่าปริมาณแคลเซียมไอออนด้วยเครื่อง ion selective meter โดยใช้สารมาตรฐานเป็นแคลเซียมไอออน พบว่าสารละลายแคลเซียมคลอไรด์มีปริมาณแคลเซียมไอออนใกล้เคียงกับปริมาณแคลเซียมไอออนที่ได้จากการคำนวณ (ตารางผนวกที่ ค3)

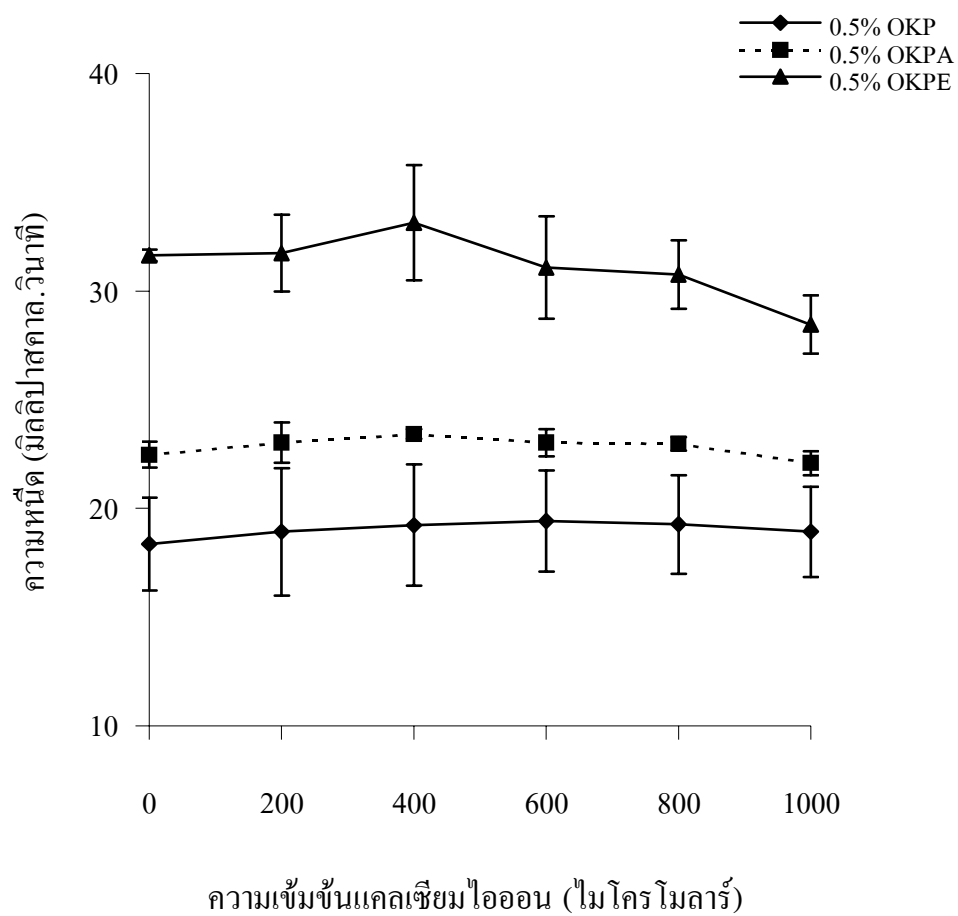
จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงความหนืดของ OKP, OKPA และ OKPE ความเข้มข้น 0.5% (w/v) ในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้นของแคลเซียมไอออนเท่ากับ 200, 400, 600, 800 และ 1,000 ไมโครโมลาร์ โดยใช้ น้ำปราศจากไอออนเป็นตัวทำละลายในกลุ่มควบคุม พบว่าสารละลาย OKP ไม่มีการเปลี่ยนแปลงความหนืดอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) เมื่อเพิ่มความ

เข้มข้นของแคลเซียมไอออน ส่วนสารละลาย OKPA และ OKPE มีความหนืดค่อนข้างคงที่ในภาวะที่มีความเข้มข้นของแคลเซียมไอออน 0 - 800 ไมโครโมลาร์ แต่ในภาวะที่มีความเข้มข้นของแคลเซียมไอออนเท่ากับ 1,000 ไมโครโมลาร์ สารละลาย OKPE จะมีความหนืดลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับสารละลาย OKPE ที่มีน้ำปราศจากไอออนเป็นตัวทำละลาย (ตารางผนวกที่ ค4) โดยสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE มีค่าความหนืดเฉลี่ยในภาวะที่มีแคลเซียมไอออนความเข้มข้น 0 - 1,000 ไมโครโมลาร์ เท่ากับ 18.96, 23.11 และ 31.13 มิลลิปาสคาล. วินาที ตามลำดับ

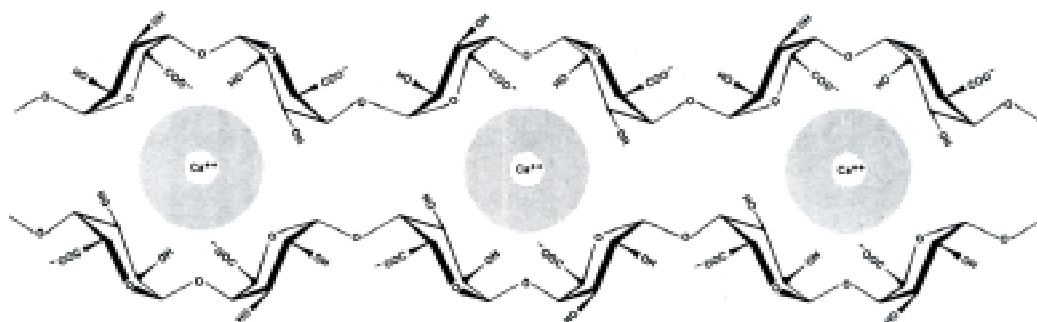
จากภาพที่ 30 แสดงให้เห็นว่าที่ระดับความเข้มข้นไอออนเท่ากับศูนย์ สารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ซึ่งมีค่า pH เฉลี่ยเท่ากับ 5.31, 8.33 และ 8.20 ตามลำดับ (ตารางผนวก ค5) มีความหนืดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เนื่องจากความแตกต่างทางด้านองค์ประกอบทางเคมี โดยหมู่เอไมด์ที่เพิ่มขึ้นใน OKPA และ OKPE ประกอบกับการมีหมู่เอทิลใน OKPE จะมีส่วนทำให้สารละลาย OKPA และ OKPE มีความหนืดสูงกว่าสารละลาย OKP ดังที่กล่าวมาแล้วในข้อ 2.1 และ 2.2

พอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีประจุลบ (anionic polysaccharide) เนื่องจากโครงสร้างหลักประกอบด้วยกรดกาแลกทูโรนิก ซึ่งมีหมู่คาร์บอกซิลที่สามารถแตกตัวเป็นประจุลบได้เมื่อละลายน้ำ (Ndjouenkeu *et al.*, 1996) แต่ปริมาณกรดกาแลกทูโรนิกที่มีอยู่นั้นค่อนข้างน้อย เมื่อเทียบกับพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีประจุลบชนิดอื่น เช่น เพกติน โดยเพกตินชนิดที่มีหมู่เมทอกซิลต่ำ ซึ่งได้จากการดีเอสเทอร์ิไฟด์เพกตินชนิดที่มีหมู่เมทอกซิลสูงด้วยเอนไซม์จากพืช (plant-pectin methyl esterase) มีปริมาณกรดกาแลกทูโรนิก 81.9 กรัม/100 กรัม เพกติน และมีลำดับชั้นเอสเทอร์ิฟิเคชันเท่ากับ 20.8% เพกตินดังกล่าวจะมีความไวต่อแคลเซียมไอออนสูง เนื่องจากมีปริมาณกรดกาแลกทูโรนิกสูง ประกอบกับการเรียงตัวของหมู่คาร์บอกซิลอิสระอย่างสม่ำเสมอ (blockwise distribution) และมีหมู่คาร์บอกซิลอิสระเรียงต่อกันอย่างน้อย 14-20 โมเลกุล ซึ่งโครงสร้างดังกล่าวเป็นโครงสร้างที่เหมาะสมกับการเกิดอันตรกิริยากับแคลเซียมไอออนในลักษณะของ egg boxes model (Ralet *et al.*, 2001 b) ดังภาพที่ 31 ด้วยเหตุนี้ทำให้ทราบว่าสารละลาย OKP ซึ่งมีปริมาณกรดกาแลกทูโรนิกต่ำ (24.2% w/w) มีส่วนของคาร์บอกซิลอิสระไม่เพียงพอที่จะเกิดอันตรกิริยากับแคลเซียมไอออนในลักษณะของ egg boxes model ส่งผลให้ไม่มีการเปลี่ยนแปลงความหนืดในภาวะที่มีแคลเซียมไอออนความเข้มข้นต่างๆ

สำหรับการดัดแปรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์และเอทิลเอมีน คาดว่าจะทำให้เกิดการกระจายตัวของหมู่เอไมด์อย่างสม่ำเสมอ ส่วนหมู่คาร์บอกซิลอิสระที่ไม่ถูกแอมิเดต จะมีการกระจายตัวแบบสุ่ม คล้ายกับการทดลองของ Racape *et al.* (1989) ที่กล่าวว่าเพกตินที่ผ่านการดัดแปรด้วยแอมโมเนีย ได้เป็นแอมิเดตเพกติน (amidated pectin) จะมีการกระจายตัวของหมู่เอไมด์อย่างสม่ำเสมอ และมีหมู่คาร์บอกซิลอิสระกระจายแบบสุ่มอยู่ในสายของแอมิเดตเพกติน โดยหมู่เอไมด์ที่เกิดขึ้น จะทำหน้าที่เหมือนตัวกั้น (spacer units) ระหว่างหมู่คาร์บอกซิล ซึ่งสามารถแตกตัวให้ประจุลบได้ ส่งผลในการลดความหนาแน่นของประจุ (charge density) บนสายพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีหมู่เอไมด์กระจายตัวอยู่ ทำให้หมู่คาร์บอกซิลที่แตกตัวเป็นประจุลบ เกิดอันตรกิริยากับแคลเซียมไอออนที่มีประจุบวกได้น้อย ประกอบกับรายงานของ Garnier *et al.* (1994) ที่กล่าวว่า การเกิดอันตรกิริยาระหว่างคาร์บอกซิลไอออนกับแคลเซียมไอออน จะถูกจำกัดเนื่องจากการกระจายตัวแบบสุ่มของหมู่คาร์บอกซิลบนสายพอลิแซ็กคาไรด์ ด้วยเหตุนี้สารละลาย OKPA และ OKPE จึงมีการเปลี่ยนแปลงความหนืดเพียงเล็กน้อยในภาวะที่มีแคลเซียมไอออน



ภาพที่ 30 ผลของแคลเซียมต่อความหนืดของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวที่ไม่ดัดแปร (OKP) พอลิแซ็กคาไรด์ที่ดัดแปรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (OKPA) และพอลิแซ็กคาไรด์ที่ดัดแปรด้วยเอทิลเอมีน (OKPE) ความเข้มข้น 0.5%



ภาพที่ 31 การเกิดอันตรกิริยาระหว่างแคลเซียมไอออนกับคาร์บอกซิลไอออนในลักษณะของ egg-boxes model

ที่มา: Rolin (1993)

เมื่อพิจารณาความหนืดของสารละลาย OKPE ในภาวะที่มีแคลเซียมไอออน 1,000 ไมโครโมลาร์ พบว่ามีความหนืดน้อยกว่าความหนืดของสารละลาย OKPE ทุกกลุ่มการทดลองอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เนื่องจากการมีแคลเซียมไอออนปริมาณสูง จะไปเพิ่มความแรงของไอออนในสารละลาย แคลเซียมไอออนสามารถจับกับน้ำได้มากขึ้น ทำให้น้ำในส่วนที่จะไปล้อมรอบ และผลักให้หมู่เอทิลที่อยู่ในสายของ OKPE เข้ามาใกล้กันและเกิดอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิก เหลือน้อยลง ส่งผลให้อันตรกิริยาไฮโดรโฟบิกเกิดได้น้อยลง (Oakenfull, 1991) ดังนั้นสารละลาย OKPE ที่มีแคลเซียมไอออน 1,000 ไมโครโมลาร์ จึงมีความหนืดลดลง แต่ทั้งนี้ความหนืดของ OKPE ในภาวะดังกล่าวก็ยังมีค่ามากกว่าความหนืดของสารละลาย OKP และ OKPA ในภาวะเดียวกัน

จากผลการทดลองที่กล่าวมาแล้ว ทำให้ทราบว่าแคลเซียมไอออนไม่มีอิทธิพลต่อความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ทำให้สามารถนำพอลิแซ็กคาไรด์ดังกล่าวไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารได้อย่างกว้างขวางโดยไม่ต้องคำนึงถึงปริมาณแคลเซียมที่มีอยู่ในอาหาร

สรุป

1. การสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวด้วยน้ำ ที่อุณหภูมิห้อง โดยไม่ผ่านขั้นตอนการตกตะกอนด้วยเอทานอล ได้พอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียว (OKP) ซึ่งประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรต 68.5% และโปรตีน 5.6% โดยมีปริมาณผลได้เท่ากับ 0.93% เทียบกับน้ำหนักผักสด

2. การดัดแปรพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ ทำให้ได้พอลิแซ็กคาไรด์ (OKPA) ที่มีหมู่เอไมด์เพิ่มขึ้น โดยมีปริมาณเอไมด์ใน OKPA และ OKP เท่ากับ 31.62% และ 11.46% ตามลำดับ และมีปริมาณผลได้ของ OKPA เท่ากับ 0.44% เทียบกับน้ำหนักผักสด

3. สารละลายพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผ่านการดัดแปรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (OKPA) ความเข้มข้น 0.5% (w/v) มีค่าสีเหลือง (b^*) มากกว่าสารละลาย OKP และมีความใสน้อยกว่า สารละลาย OKP อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อพิจารณาความหนืดของสารละลาย OKPA พบว่ามีความหนืดมากกว่าสารละลาย OKP 1.24 เท่า โดยสารละลาย OKPA และ OKP ความเข้มข้น 0.5% (w/v) มีความหนืดเท่ากับ 21.92 และ 17.13 มิลลิปาสคาล.วินาที ตามลำดับ

4. การดัดแปรพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยเอทิลเอมีน ทำให้ได้พอลิแซ็กคาไรด์ (OKPE) ที่มีหมู่เอไมด์เพิ่มขึ้น เมื่อเทียบกับ OKP โดย OKPE มีปริมาณเอไมด์เท่ากับ 27.21% และมีปริมาณผลได้เท่ากับ 0.36% เทียบกับน้ำหนักผักสด

5. สารละลายพอลิแซ็กคาไรด์ที่ดัดแปรด้วยเอทิลเอมีน (OKPE) ความเข้มข้น 0.5% (w/v) มีค่าสีเหลือง (b^*) น้อยกว่า และมีความใสมากกว่าสารละลาย OKP อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อพิจารณาค่าความหนืดของสารละลาย OKPE พบว่ามีความหนืดมากกว่าสารละลาย OKP 2 เท่า โดยสารละลาย OKPE และ OKP ความเข้มข้น 0.5% (w/v) มีความหนืดเท่ากับ 34.13 และ 17.13 มิลลิปาสคาล.วินาที ตามลำดับ

6. การศึกษาหมู่ฟังก์ชันด้วย Diffuse Reflectance Fourier Transform Infrared Spectroscopy พบว่าการ ดัดแปรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ และเอทิลเอมีน ทำให้มีหมู่เอไมด์เพิ่มขึ้นในโครงสร้างของพอลิแซ็กคาไรด์ โดยสเปกตรัมของ OKPA มีพีกของ amide I ($1,641.31 \text{ cm}^{-1}$) ซึ่งเป็นพีกหลักของหมู่เอไมด์เพิ่มขึ้นมา ขณะที่สเปกตรัมของ OKP ไม่มีพีกดังกล่าว ส่วน

สเปกตรัมของ OKPE แม้จะไม่พบพีกของ amide I ซึ่งมีความเป็นไปได้ว่าอาจเกิดพีกซ้อนทับกับพีกของ carboxylate anion เนื่องจากหมู่เอไมด์ที่เกิดขึ้น มีหมู่เอทิลเป็นองค์ประกอบอยู่ด้วย จึงทำให้ตำแหน่งพีกของ amide I คลาดเคลื่อนไปจากตำแหน่งปกติเล็กน้อย จึงไม่ปรากฏเป็นพีก amide I ที่ชัดเจน

7. การศึกษาความหนืดของ OKP, OKPA และ OKPE ในสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีค่า pH 2.7-10.8 พบว่าสารละลาย OKP มีความหนืดต่ำในภาวะที่เป็นกรด-กลาง (pH 2.7-7) และมีความหนืดสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ในภาวะที่เป็นเบส (pH 8-10.8) ส่วนสารละลาย OKPA และ OKPE มีความหนืดคงที่ในภาวะที่มีค่า pH ช่วงกว้าง (pH 4-10.8)

สารละลาย OKPA และ OKPE มีค่าความหนืดเฉลี่ยสูงกว่าค่าความหนืดเฉลี่ยของสารละลาย OKP 2.44 และ 3.34 เท่า ตามลำดับ ในภาวะที่เป็นกรด-กลาง (pH 2.7-7) และมีความหนืดสูงกว่าสารละลาย OKP 1.32 และ 1.66 เท่า ตามลำดับ ในภาวะที่เป็นเบส (pH 8-10.8)

8. การศึกษาความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE เมื่อให้ความร้อนจนถึง 70 °ซ พบว่าสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE มีความหนืดลดลงจากความหนืดที่อุณหภูมิห้องอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยมีค่าความหนืดลดลง 2.01, 1.61 และ 1.47 เท่า ตามลำดับ และเมื่อลดอุณหภูมิสารละลายลงจนเท่ากับอุณหภูมิห้อง พบว่าสารละลาย OKP มีความหนืดน้อยกว่าความหนืดก่อนให้ความร้อนอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ส่วนสารละลาย OKPA และ OKPE มีความหนืดไม่แตกต่างกับความหนืดก่อนให้ความร้อนอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แสดงให้เห็นว่าสารละลาย OKPA และ OKPE ทนความร้อนที่อุณหภูมิ 70 °ซ ได้ดีกว่าสารละลาย OKP

9. การศึกษาความหนืดของ OKP, OKPA และ OKPE ในสารละลายที่มีแคลเซียมไอออน 0-1,000 ไมโครโมลาร์ พบว่าความเข้มข้นของแคลเซียมไอออนจะไม่ส่งผลกระทบต่อความหนืดของสารละลาย OKP และ OKPA อย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ส่วนสารละลาย OKPE มีความหนืดไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) ในภาวะที่มีแคลเซียมไอออน 0-800 ไมโครโมลาร์ และการเพิ่มขึ้นของแคลเซียมไอออนที่ระดับ 1,000 ไมโครโมลาร์ จะทำให้สารละลาย OKPE มีความหนืดลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แต่ทั้งนี้สารละลาย OKPE และ OKPA ก็ยังมีความหนืดเฉลี่ยสูงกว่าสารละลาย OKP ในภาวะที่มีแคลเซียมไอออนความเข้มข้น 0-1,000 ไมโครโมลาร์ 1.64 และ 1.22 เท่า ตามลำดับ

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กาญจนา สาลีติด. 2541. **พฤกษศาสตร์ทั่วไป**. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร. กรุงเทพฯ.

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2545. **กระเจี๊ยบเขียว**. แหล่งที่มา:

www.doa.go.th/home/publication/pub/scientific_1-4/scientific_2/Okra. 23 ตุลาคม 2545.

กรมส่งเสริมอุตสาหกรรม. 2540. **ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับทฤษฎีการวัดสี**. โรงพิมพ์คุรุสภาลาดพร้าว, กรุงเทพฯ.

นิพนธ์ ตั้งคณานุรักษ์ และคณิดา ตั้งคณานุรักษ์. 2547. **สเปกโตรสโคปีด้านการวิเคราะห์**. พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

เบญจวรรณ ชุตินุเดช. 2534. **การศึกษาการเก็บเกี่ยว การทำ precooling การบรรจุและการเก็บรักษาผักกระเจี๊ยบเขียว**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ปาริฉัตร หงสประภาส. 2545. **เคมีกายภาพของอาหาร คอลลอยด์ อิมัลชัน และเจล**. พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

ประเสริฐ เสตสุพรรณ, นันทวันบุญยะประภัศร และ สุนันทา วิบูลย์จันทร์. 2538. รายงานเบื้องต้นการรักษายาตัวจี๊ดในหน่อถั้วด้วยกระเจี๊ยบขาว, 86-91. การสัมมนาเรื่องการพัฒนาการใช้ยาสมุนไพรทางคลินิก และการวิจัยทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีสมุนไพรที่ใช้รักษาโรคเขตร้อน. มหาวิทยาลัยมหิดล, ศาลายา.

พานิชย์ศปัญญา. 2544. **กระเจี๊ยบครบวงจรจากไทยไปญี่ปุ่น**. เทคโนโลยีชาวบ้าน 14(247): 26-31.

โสภิตา โคตระวีระ. 2537. **การศึกษาแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ของการสกัดเพกตินจากกระเจี๊ยบมอญ**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท., สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

ภัศรา ชาวประดิษฐ์, ปิยรัตน์ เจียนมีสุข และนิยมรัตน์ ไตรศรี. 2536. กระเจี๊ยบเขียว. **กองส่งเสริมพืชสวน**. แหล่งที่มา <http://web.ku.ac.th/agri/okra/1.htm>. 10 กันยายน 2545.

ฝ่ายข้อมูลส่งเสริมการเกษตร, กรมส่งเสริมการเกษตร. 2545. **ถามตอบปัญหาเกษตร**. แหล่งที่มา: http://www.rakbankerd.com/06_agriculture/commerce/nw_board01.html, 19 มกราคม 2546.

Ahmed, E. R. A. and J. M. Labavitch. 1977. A simplified method for accurate determination of cell wall uronide content. **J. Food Biochem.** 1: 361-365.

Anonymous. n.d. Low Esterificated Pectins. **Pectins**. Available Source: http://www.pektowin.com.pl/ang/nisko_a.htm, January 26, 2003.

Alonso-Mougan, M., F. Meijide, A. Jover, E. Rodriguez-Nunez and J. Vazquez-Tato. 2002. Rheological behaviour of an amide pectin. **J. Food Eng.** 55: 123-129.

Aquistucci, R. and R. Francisci. 2002. Effect of okra (*Hibiscus esculentus* L.) addition on the technological properties of a wheat flour. **Int. J. of Food Sci. and Nutr.** 53(5): 375-379.

Axelos, M.A.V. and J.F. Thibault. 1991 a. Influence of the substituents of the carboxyl groups and of the rhamnose content on the solution properties and flexibility of pectins. **Int. J. Biol. Macromol.** 13:77-82.

Axelos, M.A.V. and J.F. Thibault. 1991 b. The chemistry of low methoxyl pectin gelation, pp. 109-118. In R.H. Walter, ed. **The Chemistry and Technology of Pectin**. Academic Press, Inc., San Diego.

Berger-Schunn, A. 1994. **Practical Color Measurement**. John Wiley and Sons, Inc., New York.

BeMiller, J. N., R. L. Whistler and D. G. Barkalow. 1993. Aloe, Chia, Flex seed, Okra, Psyllium seed, Quince seed, and Tamarind Gums, pp. 227-256. In R. L. Whistler and J.N. BeMiller, eds. **Industrial Gums Polysaccharide and their Derivatives**. Academic Press, Inc., San Diago.

Bhat, U. R. and R. N. Tharanathan. 1986. Fractionation of okra mucilage and structural investigation of an acidic polysaccharide. **Carbohydr. Res.** 148: 143-147.

_____ and _____. 1987. Functional properties of okra (*Hibiscus esculentus* L.) mucilage. **Starch/Starke**. 39(5): 165-167.

Bucher A. C. 1984. **A Comparision of Solvent Systems for Extraction of Pectic Substances from Fruits and Vegetables**. M. S. Thesis, Cornell University.

Chaplin, M. 2005. Polysaccharide hydration. Water Structure and Behavior. Available Source: <http://www.isbu.ac.uk/water/hydrat.html>, January 20, 2006.

De Vries, J. A., A. G. J. Voragen, F.M. Rombouts and Pilnik. 1981. Extraction and purification of pectins from alcohol insoluble solids from ripe and unripe apples. **Carbohydr. Polym.** 1: 117-126.

Dubois, M., K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers and F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Anal. Chem.** 28(3): 350-356.

EI-Nawawi, S. A. and Y. A. Heikal. 1995. Production of low ester pectin by de-esterification of high ester citrus pectin. **Carbohydr. Polym.** 27: 191-195.

Elliott, A. 1969. **Infra-red Spectra and Structure of Organic Long-Chain Polymer**. Edward Arnold (Publishers) Ltd., London.

Food Chemicals Codex. 1996. **Pectins**. 4th ed. National Academy Press, Washington, D. C.

Garnier, C., M. A. V. Axelos and J. F. Thibault. 1994. Selectivity and cooperativity in the binding of calcium ions by pectins. **Carbohydr. Res.** 256: 71-81.

Glicksman, M. 1982. Functional properties of hydrocolloids, pp.48-99. In M. Glicksman ed. **Food Hydrocolloids Volume I**. CRC Press, Inc., Florida.

Hodge, J. E. and B. T. Hofreiter. 1962. Determination of reducing sugars and carbohydrates, pp. 388-389 In R. L. Whistler, M. L. Wolfrom, eds. **Methods in Carbohydrate Chemistry vol. I: Analysis and Preparation of Sugars**. Academic Press, New York.

Hunter, R. S. and R. W. Harold. 1987. **The Measurement of Appearance**. John Wiley & Son, Inc., Canada.

Infrared Spectroscopy Atlas Working Committee. 1991. **An Infrared Spectroscopy Atlas for the Coating Industry**. 4th ed. Federation of Societies for Coating Technology, Pennsylvania.

Jambhale, N.D. and Y.S. Nerkar. 1998. Okra, pp. 589-607. In D.K. Salunkhe and S.S. Kadam, eds. **Handbook of Vegetable Science and Technology**. Marcel Dekker Inc., New York.

Joseph G.H., A.H. Kieser and E.F. Bryant. 1949. High polymer, ammonia-demethylated pectinates and their gelation. **Food Technol.** 3: 85-90.

Kar, F. and A. Arslan. 1999. Effect of temperature and concentration on viscosity of orange peel pectin solutions and intrinsic viscosity-molecularweight relationship. **Carbohydr. Polym.** 40: 277-284.

- Keijbets, M. J. H. and W. Pilnik. 1974. β -Elimination of pectin in the presence of anions and cations. **Carbohydr. Res.** 33: 359-362.
- Kim, W. J., V.N.M. Rao and C. J. B. Smit . 1978 a. Effect of chemical composition on compressive mechanical properties of low ester pectin gels. **J. Food Sci.** 43: 572-575.
- _____, C. J. B. Smit and V.N.M. Rao. 1978 b. Demethylation of pectin using acid and ammonia. **J. Food Sci.** 43: 74-78.
- _____, F. Sosulski and S. C. K. Lee. 1978 c. Chemical and gelation characteristic of ammonia-demethylated sunflower pectins. **J. food Sci.** 43(5): 1436-1439.
- Klavons, J. A. and R. D. Bennett. 1986. Determination of methanol using alcohol oxidase and its application to methyl ester content of pectin. **J. Agric. Chem.** 34: 597-599.
- Krall, S. M. and R. F. McFeeters. 1998. Pectin hydrolysis: effect of temperature, degree of methylation, pH and calcium on hydrolysis rate. **J. Agric. Food Chem.** 46: 1311-1315.
- Lengsfeld, C., F. Titgemeyer., G. Faller and A. Hensel. 2004. Glycosylated compounds from okra inhibit adhesion of *Helicobacter pylori* to human gastric mucosa. **J. Agric. Food. Chem.** 52: 1495-1503.
- LeVen, S. L. 1989. Thermal degradation, pp. 271-273. In A. P. Schniewind, ed. **Concise Encyclopedia of Wood and Wood-Based Materials**. Pergamon Press, New York.
- Mesbahi, G., J. Jamalian and A. Farahnaky. 2005. A comparative study on functional properties of beet and citrus pectins in food systems. **Food Hydrocolloids.** 19: 731-738.

- Monsoor, M. A., U. Kalapathy and A. Proctor. 2001. Improved method for determination of pectin degree of esterification by diffuse reflectance fourier transform infrared spectroscopy. **J. Agric. Food Chem.** 49: 2756-2760.
- Morris V. J. 1998. Gellation of polysacchride, pp. 169-175. In D.E. Hill, D.A., Ledward and J.R., Mitchell, eds. **Functional Properties of Food Macromolecules**. Aspen Publishers, Inc., Gaithersburge.
- Ndjouenkeu, R., J. O. Akingbala and G. B. Oguntimein. 1997. Emulsifying properties of three african food hydrocolloids: okra (*Hibiscus esculentus* L.) dika nut (*Irvingia gabonensis*) and Khan (*Belschmiedia* sp.). **Plant Food for Human Nutrit.** 51: 245-255.
- _____, F. M. Goycoolea, E. R. Morris and J. O. Akingbala. 1996. Rheology of okra (*Hibiscus esculentus* L.) and dika nut (*Irvingia gabonensis*) polysaccharides. **Carbohydr. Polym.** 29: 263-269.
- Oakenfull, D. G. 1991. The chemistry of high methoxyl pectins, pp. 87-108. In R.H. Walter, ed. **The Chemistry and Technology of Pectin**. Academic Press, Inc., San Diago.
- Onunkwo, G.C. and O. C. Mba. 1996. Physical properties of sodium salicylate tablets formulated with *Abelmoshus esculentus* gum as binder. **Acta Pharm. (Zagrab).** 46(2): 101-107.
- Pomeranz, Y. and C. E. Meloan. 1994. **Food Analysis Theory and Practice**. 3 th ed. Chapman and Hall, New York.
- Racape, E., J. F. Thibault, J. C. E. Reitsma and W. Pilnik. 1989. Properties of amidated pectin. II. Polyelectrolyte behavior and calcium binding of amidated pectins and amidated pectic acids. **Biopolymer.** 28: 1435-1448.

- Ralet, M.C., E. Bonnin and J. F. Thibault. 2002 a. Pectins. In S. De Baets, E. J. Vandamme and A. Steinbuchel, eds. **Biopolymers : Biology, Chemistry, Biotechnology, Applications Vol 6. Polysaccharide II : Poysaccharides from Eukaryotes**. Wiley-VCH, Germany.
- Ralet, M.C., V. Dronnet, H. C. Buchholt and J. F. Thibault. 2002 b. Enzymatically and chemically de-esterified lime pectins: characterisation, polyelectrolyte behaviour and calcium binding properties. **Carbohydr. Res.** 336: 117-125.
- Reitsma, J. C. E., J. F. Thibault and W. Pilnik. 1986. Properties of amidated pectins. I. preparation and characterization of amidated pectins and amidated pectic acids. **Food Hydrocolloids**. 2: 121-127.
- Rolin, C. 1993. Pectin, pp. 257-293. In R. L. Whistler and J.N. BeMiller, eds. **Industrial Gums Polysaccharide and their Derivatives**. Academic Press, Inc., San Diego.
- Rolin, C., B. U. Nielsen and P. E. Glahn. 1998. Pectin, pp. 377-431. In D. Severian, ed. **Polysaccharides Structural Diversity and Functional Versatility**. Marcel Dekker Inc., New York.
- Romanchick-Cerpovicz, J. E., R. W. Tilmon and K. A. Baldree. 2002. Moisture retention and consumer acceptability of chocolate bar cookies prepared with okra gum as a fat ingredient substitute. **J. Am Diet Assoc.** 102(9): 1301-1303.
- Sajjaanantakul, T. 1989. **A Study on Heat Degradation of Carrot Chelator Soluble Pectin in a Model System**. Ph.D. thesis, Cornell University.
- Sajjaanantakul, T., J. P. Van Buren and D. L. Downing. 1989. Effect of methyl ester content on heat degradation of chelator-soluble carrot pectin. **J. Food Sci.** 54 (5): 1272-1277.

- Scheller, H. V. 2005. Biosynthesis of cell wall polysaccharides. Available Source: www.plbio.kvl.dk/plbio/cellwall.htm. January 5, 2006.
- Schultz, T. H. 1965. Determination of the degree of esterification of pectin, pp. 189-194. In R. V. Whistler, ed. **Method in Carbohydrate Chemistry**. ACP Inc., New York.
- Silverstein, R. M., G. C. Bassler and T. C. Morrill. 1981. **Spectrometric Identification of Organic Compounds**. 4th ed. John Wiley and Sons, Inc., New York.
- Simpson, B. K., K. B. Egyankor and A. M. Martin. 1984. Extraction, Purification and determination of pectin in tropical fruits. **J. Proc. and Preserv.** 2:64-72.
- Sinitsya, A., J. Copikova, V. Prutyanov, S. Skoblya and V. Machovic. 2000. Amidation of highly methylated citrus pectin with primary amines. **Carbohydr. Polym.** 42: 359-368.
- Synytsya, A., J. Copikova, M. Marounek, P. Mlcochova, L. Sihelnikova, S. Skoblya, H. Havlatova, P. Matejka, M. Maryska and V. Machovic. 2004. *N*-octadecylpectinamide, a hydrophobic sorbent based on modification of highly methoxylated citrus pectin. **Carbohydr. Polym.** 56: 169-179.
- Stenson, J. 2000. **Okra brownies? Tofu fudge?** . Available Source: <http://www.msnbc.com/news/478343.asp#BODY>, November 18, 2002.
- Tomoda, M., K. Shimada., Y. Saito and M. Sugi. 1980. Plant mucilages. XXVI. isolation and structural features of a mucilage, "okra-mucilage F," from the immature fruit of *Abelmoschus esculentus*. **Chem.Pharm. Bull.** 28(10): 2933-2940.
- _____, M. Shimizu, R. Gonda and M. KaNri. 1989. Anticomplementary and hypoglycemic activity of okra and hibiscus mucilage. **Carbohydr. Res.** 190: 323-328.

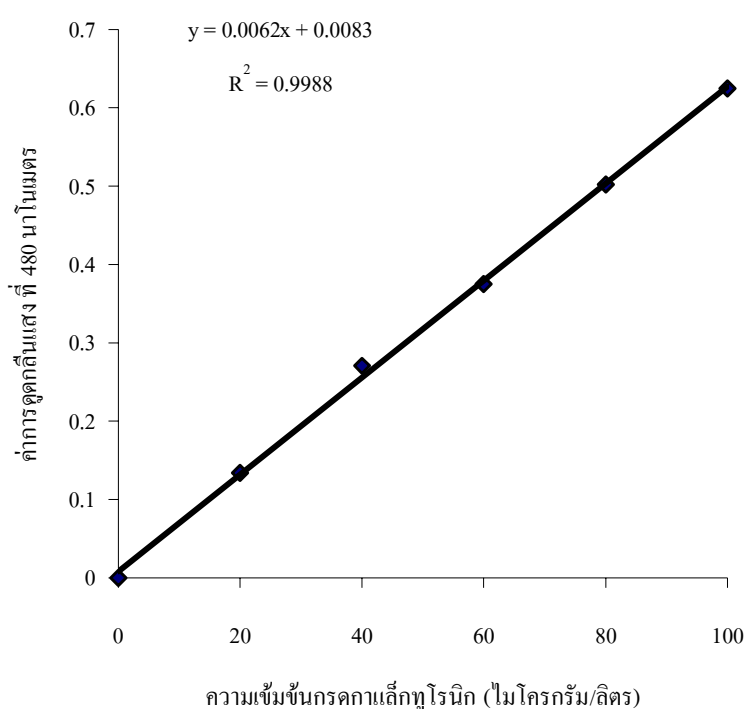
- Tho, I., S. A. Sande and P. Kleinebudde. 2005. Cross-linking of low-methoxylated pectin with calcium during extrusion/spheronisation: Effect on particle size and shape. **Chem. Eng. Sci.** 60: 3899-3907.
- Uresti, M. R., N. Lopez-Arias, J. J. Gonzalez-Cabriaes, J. A. Ramirez and M. Vezquez. 2003. Use of amidated low methoxyl pectin to produce fish restructured products. **Food Hydrocolloids.** 17: 171-176.
- Van Alebeek, G. –J. W. M., H. A. Schols and A. G. J. Voragen. 2001. Amidation of methyl-esterified oligogalacturonides: examination of the reaction products using MALDI-TOF MS. **Carbohydr. Polym.** 46: 311-321.
- Voragen, A.G.J, W. Pilnik, J. Thibault, M.A.V. Axelos and C. M.G.C. Renard. 1995. Pectins, pp. 287-323. In A.M. Stephen, ed. **Food Polysaccharides and Their Application.** Marcel Dekker Inc., New York.
- Whistler, R. L. 1993. Introduction to industrial gums, pp. 1-19. In R. L. Whistler and J.N. BeMiller, eds. **Industrial Gums Polysaccharide and their Derivatives.** Academic Press, Inc., San Diego.
- Whistler, R. L. and J. N. BeMiller. 1999. **Carbohydrate Chemistry for Food Scientists.** Egan Press, Minnesota.
- Woolfe, M. L., M. F. Chaplin and G. Otchere. 1977. Studies on the mucilages extracted from okra Fruits (*Hibiscus esculentus* L.) and baobab leaves (*Adansonia digitata* L.). **J. Sci. Food. Agric.** 28: 519-529.
- Yoo, S., M. L. Fishman, A. T. Hotchkiss and H. G. Lee. 2006. Viscometric behavior of high-methoxy and low-methoxy pectin solutions. **Food Hydrocolloids.** 20: 62-67.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
การวิเคราะห์ทางเคมีและกายภาพ

1. คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด (total carbohydrate) วิเคราะห์ตามวิธี Phenol-sulfuric acid colorimetric method (Hodge and Hofreiter, 1962)

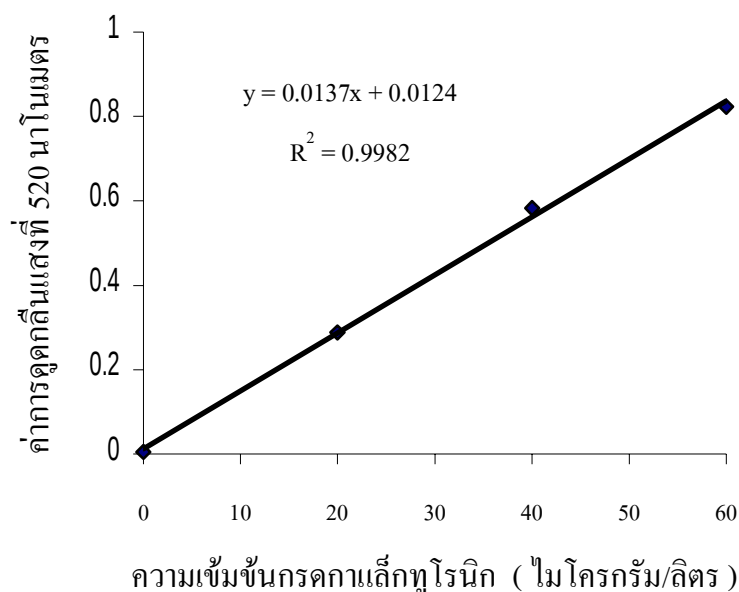
ปิเปตสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวความเข้มข้น 0.01% (วิธีเตรียมแสดงในข้อ 7.1) 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดสอบที่ 1, 2 และ 3 และเติมน้ำกลั่นปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดสอบที่ 4 (blank) เติมสารละลายฟีนอลความเข้มข้น 5% ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดสอบทั้ง 4 หลอด เขย่าให้เข้ากัน เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 5 มิลลิลิตร อย่างรวดเร็ว เขย่า (vortex) ให้เข้ากัน ปลดปล่อยไ่วให้เย็นเป็นเวลา 10 นาที แล้วทำการเขย่าอีกครั้ง จากนั้นปลดปล่อยไ่วอีก 20 นาที ก่อนนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 480 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ คำนวณปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดเป็นเปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักแห้ง (w/w) จากกราฟมาตรฐานของกรดกลูโคส



ภาพผนวกที่ ก1 กราฟมาตรฐานของกรดกลูโคสสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด

2. กรดกาแล็กทูโรนิก (ดัดแปลงจาก Ahmed and Labavitch, 1977)

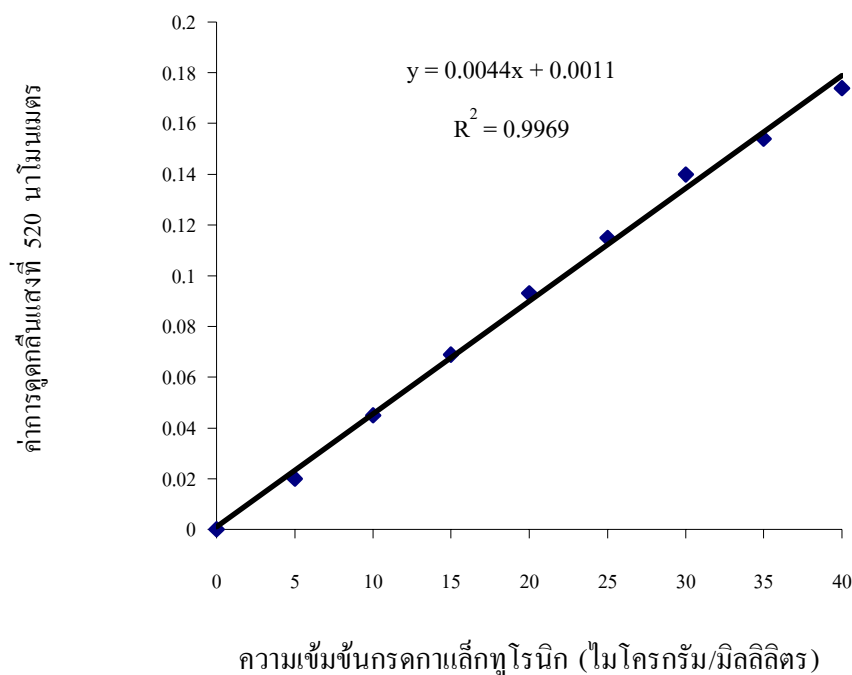
ชั่งพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวที่อยู่ในรูปผงแห้ง 0.005 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 20 มิลลิลิตร เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น (แซ่เย็น) 2 มิลลิลิตร วางบีกเกอร์ในอ่างน้ำแข็งที่วางอยู่บนเครื่องกวน (stirring mortar) กวนเบาๆ พร้อมกับค่อยๆ หยดน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร ลงไปจนพอลิแซ็กคาไรด์ละลาย รินสารละลายลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร ชะล้างบีกเกอร์แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 50 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น จะได้สารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว ความเข้มข้น 0.01% นำไปวิเคราะห์ปริมาณกรดกาแล็กทูโรนิก โดยเปิดสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวความเข้มข้น 0.01% ใส่ในหลอดทดสอบที่แห้งและสะอาด 4 หลอด หลอดละ 0.5 มิลลิลิตร เติมสารละลายโซเดียมเตตระโบเรต 0.0125 โมลาร์ในกรดซัลฟูริกเข้มข้น 2.5 มิลลิลิตร ในทุกหลอดทดสอบ เขย่า (vortex) ให้เข้ากันแล้วลดอุณหภูมิทันที โดยแช่หลอดทดสอบในอ่างน้ำแข็ง เมื่อเย็นแล้ว นำมาให้ความร้อนในอ่างน้ำร้อนอุณหภูมิ 100 °C เป็นเวลา 10 นาที ลดอุณหภูมิทันทีอีกครั้งในอ่างน้ำแข็ง เติมสารละลายเมตาไฮดรอกซีไดเฟนิล (0.15% *m*-hydroxydiphenyl ใน 0.5% NaOH) 50 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดสอบที่ 1, 2 และ 3 และเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.5 % ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดสอบที่ 4 (blank) เขย่าหลอดทดสอบทั้ง 4 หลอด ปล่อยให้ทิ้งไว้ 15 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ คำนวณปริมาณกรดกาแล็กทูโรนิกเป็นเปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักแห้ง (w/w) จากกราฟมาตรฐานของกรดกาแล็กทูโรนิก



ภาพผนวกที่ ก2 กราฟมาตรฐานของกรดกาเล็กทูโรนิกสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณกรดกาเล็กทูโรนิก

3. น้ำตาลรีดิวซ์ วิเคราะห์ตามวิธีของ Somogyi-Nelson (Hodge and Hofreiter, 1962)

ปิเปตสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวความเข้มข้น 0.01% (วิธีเตรียมแสดงในข้อ 7.1) 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดสอบที่ 1, 2 และ 3 และเติมน้ำกลั่นปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดสอบที่ 4 (blank) เติมสารละลาย low-alkalinity copper reagent ในทุกหลอดทดสอบ เขย่า (vortex) ให้เข้ากัน นำมาให้ความร้อนในอ่างน้ำร้อนอุณหภูมิ 100 °ซ เป็นเวลา 20 นาที แล้วทำการลดอุณหภูมิในอ่างน้ำแข็ง เติมสารละลาย arsenomolybdate reagent ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร ปล่อยให้ทิ้งไว้ 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ คำนวณปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เป็นจากกราฟมาตรฐานของกรดกาเล็กทูโรนิก



ภาพผนวกที่ ก3 กราฟมาตรฐานของกรดกลูโคโรนิกสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

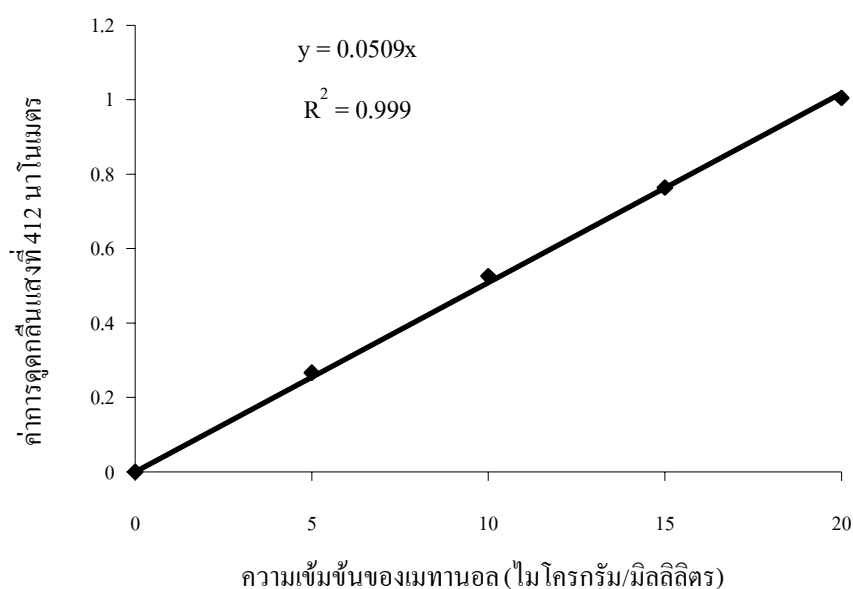
4. ปริมาณเมทอกซิล และค่า degree of esterification (Schultz, 1965; Klavones and Bennett, 1986)

4.1 การย่อยหมู่เมทิลเอสเทอร์

ปีเปตสารละลายกระเจียบเขียวความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 25 มิลลิลิตร เติมโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1.0 นอร์มัล 25 มิลลิลิตร จะได้สารละลายกระเจียบเขียวความเข้มข้น 500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตรของโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.5 นอร์มัล บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยสารละลายกรดฟอสฟอริกให้ได้ pH 7.5 นำไปใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณเมทอกซิลต่อไป

4.2 การวิเคราะห์ปริมาณเมทอกซิล

เติมสารละลายเอนไซม์แอลกอฮอล์ออกซิเดส 1 unit ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในสารละลายกระเจี๊ยบเขียวที่ผ่านการย่อยด้วยโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เข้า (vortex) เบบๆ แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 25 °ซ นาน 15 นาที เติมสารละลายเพนเทนไดโอนความเข้มข้น 0.02 โมลาร์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เข้าให้เข้ากัน แช่ในอ่างน้ำร้อนอุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นเท่าอุณหภูมิห้อง แล้วนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 412 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ คำนวณปริมาณเมทอกซิลเป็นเปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักแห้ง (w/w) จากกราฟมาตรฐานของเมทานอล



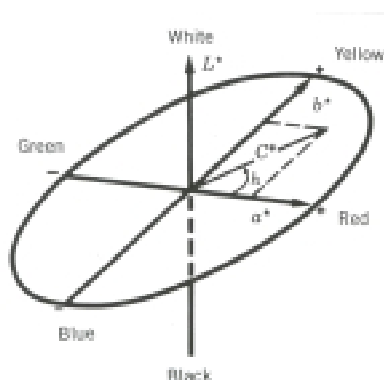
ภาพผนวกที่ ก4 กราฟมาตรฐานของเมทานอล

4.3 การคำนวณค่า degree of esterification

$$\text{degree of esterification} = \frac{176 \times \text{ปริมาณเมทอกซิล (\%w/w)} \times 100}{31 \times \text{ปริมาณกรดกาแล็กทูโรนิก (\%w/w)}}$$

5. การวัดสี

การวิเคราะห์ค่าสีของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว ใช้การวิเคราะห์ค่า L^* , a^* , b^* , C^* และ h^* ด้วย Minolta spectrophotometer 3500 d แผนภาพของสี แสดงดังภาพผนวกที่ ก5



ภาพผนวกที่ ก5 ความสัมพันธ์ของค่าสีแดง (a^*) สีเหลือง (b^*) ค่ามุมของสี (hue angle) และค่าความเข้มของสี โดย ค่ามุมสี (h^*) = $\tan^{-1} b^*/a^*$ และค่าความเข้มของสี = $((a^*)^2 + (b^*)^2)^{1/2}$

ที่มา: Berger-Schunn, 1994

ค่า L^* เป็นค่าความสว่าง หรือความใส กรณีตัวอย่างเป็นสารละลาย หรือตัวอย่างที่แสงส่องผ่านได้ (Hunter and Harold, 1987)

ค่า a^* เป็นค่าสีแดง (+) หรือ สีเขียว (-)

ค่า b^* เป็นค่าสีเหลือง (+) หรือ สีนํ้าเงิน (-)

ค่า C^* เป็นค่าความเข้มหรือความอิ่มตัวของสี ที่ค่าความสว่างหนึ่งๆ

ค่า h^* เป็นตัวเลขที่ระบุว่าคุณสีนั้นอยู่ในตำแหน่งใดในแผนภาพสี

$h^* = 0$ แสดงว่าเป็นสีแดง, $h^* = 90$ แสดงว่าเป็นสีเหลือง

$h^* = 180$ แสดงว่าเป็นสีเขียว, $h^* = 270$ แสดงว่าเป็นสีนํ้าเงิน

6. การวิเคราะห์โครงสร้างพอลิแซ็กคาไรด์ด้วย Diffuse Reflectance Fourier Transform Infrared Spectroscopy (DRIFTS)

ภาพที่ใช้ในการวิเคราะห์แสดงดังนี้

Test method	:	Diffuse Reflectance technique
Light source	:	Middle range infrared (4000-450 cm^{-1})
Resolution	:	4 cm^{-1}
Detector	:	Triglycine Sulfate (TGS)
%Humidity (%RH)	:	58 $\pm$ 5 %

สเปกตรัมที่บันทึกได้เป็นค่า % transmittance และถูกเปลี่ยนเป็นหน่วย Kubelka-Munk ซึ่งเป็นสมการที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มของการสะท้อน (reflectance intensity) กับความเข้มข้นของสารตัวอย่าง โดยความสูงของพีคใน Kubelka-Munk spectrum จะแปรผันตรงกับความเข้มข้นของสารตัวอย่าง (นิพนธ์และคณิตา, 2547)

7. การเตรียมสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียว

7.1 การเตรียมสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด และน้ำตาลรีดิวซ์

เตรียมสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์ความเข้มข้น 0.01% (w/v) โดยชั่งพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวที่อยู่ในรูปผงแห้ง 0.01 กรัม ด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง ค่อยๆ เทลงในบีกเกอร์ที่บรรจุน้ำกลั่น ทิ้งไว้ให้ละลายโดยใช้แท่งแก้วคนเพียงเล็กน้อย เมื่อสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์ละลายเป็นเนื้อเดียวกันแล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

7.2 การเตรียมสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ความหนืด

เตรียมสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์ความเข้มข้น 0.5% (w/v) โดยชั่งพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวที่อยู่ในรูปผงแห้ง 0.125 กรัม ด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง ค่อยๆ เทลงในบีกเกอร์ที่บรรจุน้ำกลั่น ทิ้งไว้ให้ละลายโดยใช้แท่งแก้วคนเพียงเล็กน้อย เมื่อสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์ละลายเป็นเนื้อเดียวกันแล้วปรับปริมาตรให้ได้ 25 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 คืน ก่อนนำไปวิเคราะห์ความหนืด รายงานผลเป็นค่าความหนืดปรากฏ

7.3 การศึกษาผลของความเป็นกรด-เบสต่อความหนืดของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียว

เตรียมสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์ความเข้มข้น 0.5% (w/v) โดยชั่งพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวที่อยู่ในรูปผงแห้ง 0.125 กรัม ด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง ค่อยๆ เทลงในบีกเกอร์ที่บรรจุสารละลายบัฟเฟอร์ซึ่งมีค่าความเป็นกรด-เบสเท่ากับ 2.7, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.2, 9.6 และ 10.8 (วิธีการเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ แสดงในข้อ 7.3.1-7.3.3) ทิ้งไว้ให้ละลายโดยใช้แท่งแก้วคนเพียงเล็กน้อย เมื่อสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์ละลายเป็นเนื้อเดียวกันแล้วปรับปริมาตรให้ได้ 25 มิลลิลิตรด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ ทิ้งไว้เป็นเวลา 1 คืนที่อุณหภูมิห้อง วัดค่าความเป็นกรด-เบสของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์ก่อนนำไปวิเคราะห์ความหนืด รายงานผลเป็นค่าความหนืดปรากฏ

7.3.1 การเตรียมสารละลาย citrate-phosphate buffer ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์

ผสมสารละลาย citric acid ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ (สารละลาย A) กับสารละลาย di-sodium hydrogen phosphate dodecahydrate ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ (สารละลาย B) ในสัดส่วนตามตารางผนวกที่ ก1 แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร

ตารางผนวกที่ ก1 การเตรียมสารละลาย citrate-phosphate buffer ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์

pH	สารละลาย A (มล.)	สารละลาย B (มล.)
2.7	44.6	5.4
3.0	39.8	10.2
4.0	30.7	19.3
5.0	24.3	25.7
6.0	17.9	32.1
7.0	6.5	43.6

7.3.2 การเตรียมสารละลาย phosphate buffer ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์

ผสมสารละลาย sodium hydrogen phosphate monohydrate ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ 5.3 มิลลิลิตร กับ สารละลาย di-sodium hydrogen phosphate dodecahydrate ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ 94.7 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้เป็น 200 มิลลิลิตร จะได้สารละลาย phosphate buffer ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ จากนั้นทำการเจือจางให้ได้สารละลาย phosphate buffer ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ ด้วยน้ำกลั่น

7.3.3 การเตรียมสารละลาย carbonate-bicarbonate buffer ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์

ผสมสารละลาย sodium carbonate anhydrous ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ (สารละลาย A) กับ สารละลาย sodium hydrogen carbonate ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ (สารละลาย B) ในสัดส่วนตาม ตารางผนวกที่ ก2 แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 200 มิลลิลิตร

ตารางผนวกที่ ก2 การเตรียมสารละลาย phosphate buffer ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์

pH	สารละลาย A (มล.)	สารละลาย B (มล.)
9.2	4.0	46.0
9.6	16.0	34.0
10.8	45.0	5.0

7.4 ศึกษาผลของความร้อนต่อความหนืดของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียว

เตรียมสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์ความเข้มข้น 0.5% (w/v) ตามข้อที่ 7.2 วิเคราะห์ความหนืดเริ่มต้นที่อุณหภูมิห้อง เทสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์ลงในหลอดทดสอบที่มีฝาปิด นำหลอดทดสอบมาแช่ในอ่างน้ำร้อนจนตัวอย่างมีอุณหภูมิ 30 °ซ, 40 °ซ, 50 °ซ, 60 °ซ และ 70 °ซ ทำการวัดความหนืดสารละลายที่อุณหภูมิดังกล่าว จากนั้นทิ้งไว้ให้เย็นจนสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์มีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้อง แล้วจึงวัดความหนืดซ้ำอีกครั้ง รายงานผลเป็นค่าความหนืดปรากฏ

7.5 ศึกษาผลของปริมาณแคลเซียมต่อความหนืดของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียว

เตรียมสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์ความเข้มข้น 0.5% (w/v) โดยชั่งพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวที่อยู่ในรูปผงแห้ง 0.125 กรัม ด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง ค่อยๆเทลงในบีกเกอร์ที่บรรจุสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่มีค่าความเข้มข้นของแคลเซียมไอออนเท่ากับ 200, 400, 600, 800 และ 1,000 ไมโครโมลาร์ (คำนวณจากปริมาณแคลเซียมคลอไรด์ และใช้น้ำที่ปราศจากไอออนเป็นตัวทำละลาย) สำหรับกลุ่มควบคุมจะใช้น้ำที่ปราศจากไอออนเป็นตัวทำละลาย ทิ้งไว้ให้ละลายโดยใช้แท่งแก้วคนเพียงเล็กน้อย เมื่อสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์ละลายเป็นเนื้อเดียวกันแล้วปรับปริมาตรให้ได้ 25 มิลลิลิตรด้วยสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ หรือน้ำที่ปราศจากไอออน ทิ้งไว้เป็นเวลา 1 คืนที่อุณหภูมิห้อง วัดค่าความเป็นกรด-เบสของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์ ก่อนนำไปวิเคราะห์ความหนืด และรายงานผลเป็นค่าความหนืดปรากฏ

ภาคผนวก ข

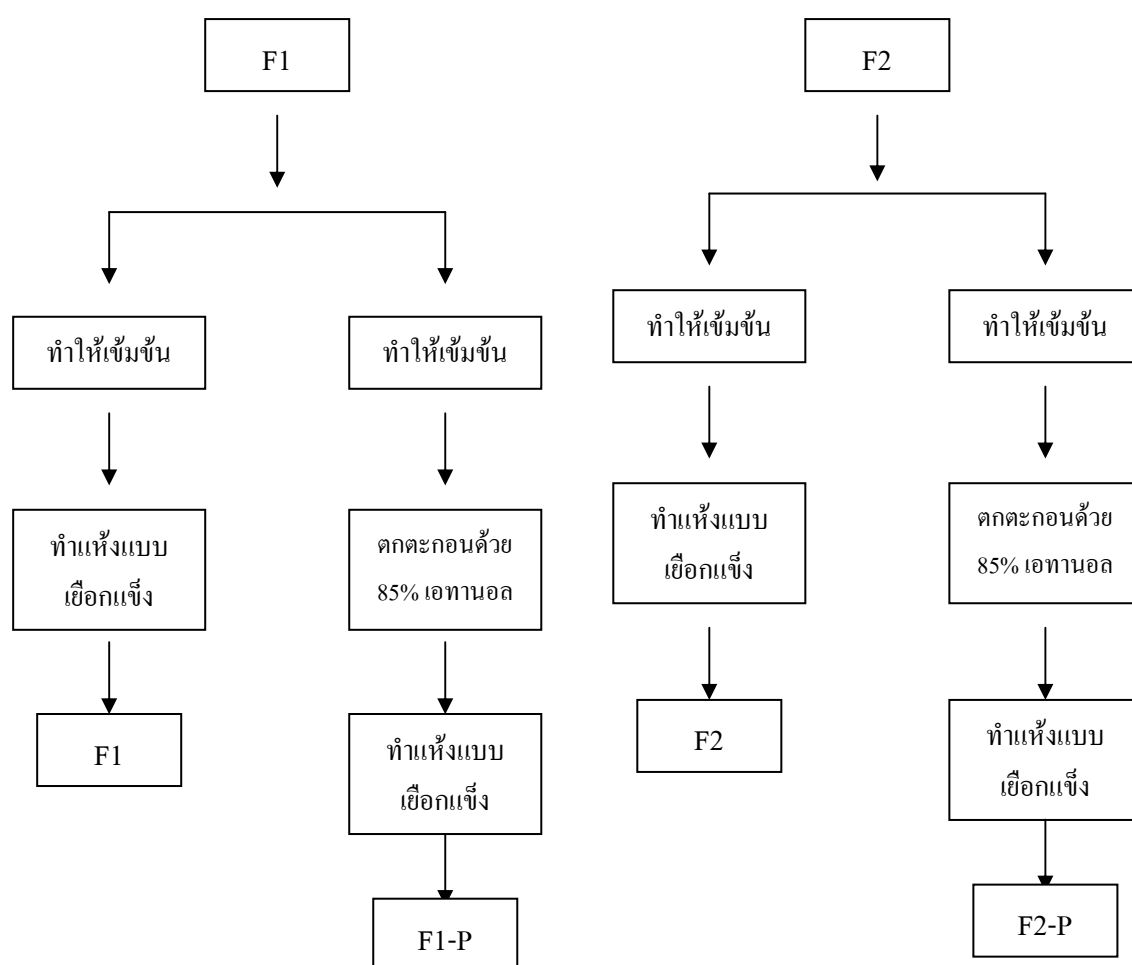
ผลของการตกตะกอนด้วยเอทานอลต่อองค์ประกอบทางเคมีและความหนืด
ของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียว

1. การศึกษาผลของการตกตะกอนด้วยเอทานอลต่อองค์ประกอบทางเคมีและความหนืดของ พอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว

ทำการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวดัดแปลงจาก Tomoda *et al.*, (1980) และศึกษาผลของการตกตะกอนด้วยเอทานอลต่อองค์ประกอบทางเคมีของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว โดยนำกระเจี๊ยบเขียวที่อยู่ในรูปของแข็งที่ไม่ละลายในแอลกอฮอล์ (alcohol insoluble solid: AIS) (รายละเอียดแสดงในวิธีการ) มาสกัดครั้งที่ 1 ด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 10 เท่าของน้ำหนัก AIS กวนตลอดเวลาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำไปหมุนเหวี่ยงที่ $9,500 \times g$ นาน 30 นาที ส่วนที่ได้จากการสกัดครั้งที่ 1 เรียกว่า F1 นำกากที่เหลือจากการสกัดครั้งที่ 1 มาเติมน้ำกลั่นปริมาตรเท่าเดิมเพื่อสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ครั้งที่ 2 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำไปหมุนเหวี่ยงที่ภาวะเดิม เรียกส่วนที่ได้จากการสกัดครั้งที่ 2 ว่า F2 นำ F1 และ F2 มาแบ่งเป็น 2 ส่วนเท่าๆ กันเพื่อศึกษาผลของการตกตะกอนด้วยเอทานอลดังภาพผนวกที่ ข1

เปรียบเทียบผลของการตกตะกอนด้วยเอทานอล โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) และวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

การตกตะกอนพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดได้ด้วยแอลกอฮอล์ความเข้มข้นมากกว่า 45% (w/v) สามารถกำจัดสารเจือปนประเภทโลหะหนัก กรด พอลิฟีนอล รงควัตถุ และคาร์โบไฮเดรตโมเลกุลต่ำ (Voragen *et al.*, 1995) ดังนั้นพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวที่ผ่านขั้นตอนการตกตะกอนด้วยเอทานอลจึงมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดน้อยกว่าพอลิแซ็กคาไรด์ที่ไม่ผ่านการตกตะกอนอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อพิจารณาค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่อยู่ปลายสายพอลิแซ็กคาไรด์ (reducing end group) พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงหลังจากผ่านขั้นตอนการตกตะกอนด้วยเอทานอลแสดงให้เห็นว่าการตกตะกอนด้วยเอทานอลไม่ทำให้เกิดการย่อยภายในสายพอลิแซ็กคาไรด์ นอกจากนี้ยังพบว่า การตกตะกอนไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดกาแล็กทูโรนิก ซึ่งเป็นโครงสร้างหลักของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวอีกด้วย



ภาพผนวกที่ ข1 การเตรียมพอลิเอทิลีนจากกระเจียบเขียวเพื่อศึกษาผลของการตกตะกอนด้วยเอทานอล

ตารางผนวกที่ ข1 องค์ประกอบทางเคมีของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ตกตะกอนด้วยเอทานอลความเข้มข้น 85% เปรียบเทียบกับพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวที่ไม่ผ่านการตกตะกอน

องค์ประกอบทางเคมี	ปริมาณองค์ประกอบทางเคมี*			
	F1 ¹	F1-P ²	F2 ³	F2-P ⁴
คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด	36.50 ^a	26.62 ^b	5.63 ^c	4.22 ^c
กรดกาแล็กทูโรนิก	7.32 ^a	6.35 ^a	1.14 ^b	0.86 ^b
น้ำตาลรีดิวซ์	4.53 ^a	4.14 ^a	1.35 ^b	0.90 ^b
ปริมาณผลได้**	0.41 ^a	0.35 ^a	0.09 ^b	0.08 ^b

หมายเหตุ ตัวเลขในแนวนอนที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

* หมายถึง แสดงเป็นค่าเฉลี่ยน้ำหนัก (กรัม) ต่อพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดได้รวม 100 กรัม

** หมายถึง เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักพอลิแซ็กคาไรด์ส่วนนั้นต่อน้ำหนักสดของกระเจียบเขียว 100 กรัม

¹ หมายถึง พอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดด้วยน้ำครั้งที่ 1

² หมายถึง พอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดด้วยน้ำครั้งที่ 1 และตกตะกอนด้วยเอทานอลความเข้มข้น 85%

³ หมายถึง พอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดด้วยน้ำครั้งที่ 2

⁴ หมายถึง พอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดด้วยน้ำครั้งที่ 2 และตกตะกอนด้วยเอทานอลความเข้มข้น 85%

นอกจากนั้นการตกตะกอนด้วยเอทานอลยังส่งผลให้มีปริมาณผลได้ของพอลิแซ็กคาไรด์ลดลง สอดคล้องกับรายงานของ Lengsfeld *et al.* (2004) ซึ่งกล่าวว่า ปริมาณผลได้ของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวจะลดลงจาก 1.9% เป็น 1.3% หลังผ่านขั้นตอนการตกตะกอนด้วยเอทานอล

เมื่อนำ F1, F1-P, F2 และ F2-P มาทำให้เป็นสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์ความเข้มข้น 0.5% (w/v) แล้ววัดค่าความหนืด พบว่าการตกตะกอนด้วยเอทานอลส่งผลให้สารละลายพอลิแซ็กคาไรด์มีความหนืดลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แสดงผลดังตารางผนวกที่ ข2

ตารางผนวกที่ ข2 ค่าความหนืด (mPa.s) ของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผ่านการตกตะกอนด้วยเอทานอลความเข้มข้น 85% เปรียบเทียบกับสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวที่ไม่ผ่านการตกตะกอน

คุณลักษณะ	พอลิแซ็กคาไรด์			
	F1 ¹	F1-P ²	F2 ³	F2-P ⁴
ค่าความหนืด (mPa.s)	16.63 ^a	8.78 ^b	8.42 ^b	4.53 ^c

หมายเหตุ ตัวเลขในแนวนอนที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

¹ หมายถึง พอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดด้วยน้ำครั้งที่ 1

² หมายถึง พอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดด้วยน้ำครั้งที่ 1 และตกตะกอนด้วยเอทานอลความเข้มข้น 85%

³ หมายถึง พอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดด้วยน้ำครั้งที่ 2

⁴ หมายถึง พอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดด้วยน้ำครั้งที่ 2 และตกตะกอนด้วยเอทานอลความเข้มข้น 85%

การศึกษาผลของขั้นตอนการตกตะกอนพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยเอทานอลในระหว่างการสกัดที่มีต่อองค์ประกอบทางเคมี ปริมาณผลได้ และค่าความหนืดของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียว สามารถสรุปได้ว่าการตกตะกอนด้วยเอทานอลจะทำให้ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดลดลง โดยไม่มีการทำลายโครงสร้างหลักซึ่งส่วนใหญ่ซึ่งประกอบด้วยสายพอลิเมอร์ของกรดกาแล็กทูโรนิก แต่ขั้นตอนดังกล่าวจะทำให้มีปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดได้น้อยลง และทำให้ความหนืดของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

สำหรับงานวิจัยนี้จะคำนึงถึงปริมาณผลได้ของพอลิแซ็กคาไรด์หลังการสกัด ประกอบกับค่าความหนืดของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์เป็นสำคัญ ดังนั้นในการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์เพื่อนำไปใช้ในการทดลองขั้นต่อไป จะทำการสกัดด้วยน้ำ 2 ครั้ง โดยไม่ผ่านขั้นตอนการตกตะกอนด้วยเอทานอล

ภาคผนวก ค

ผลการทดลองข้อ 4 เรื่องผลของปัจจัยที่มีต่อความหนืดของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์
จากกระเจียบเขียวที่ไม่ดัดแปร และดัดแปรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ และเอทิลเอมีน

ตารางผนวกที่ ค1 ค่าความหนืด (mPa.s) ของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวที่ไม่ดัดแปร (OKP) พอลิแซ็กคาไรด์ที่ดัดแปรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (OKPA) และพอลิแซ็กคาไรด์ที่ดัดแปรด้วยเอทิลเอมีน (OKPE) ความเข้มข้น 0.5% ที่ค่าความเป็นกรด-เบสต่างๆ

ค่าความเป็นกรด-เบส	ความหนืด (mPa.s)*		
	OKP	OKPA	OKPE
2.7	6.52±0.26 ^{aA}	14.1±2.3 ^{aB}	18.67±5.12 ^{aC}
3	6.82±0.22 ^{abA}	15.1±2.18 ^{abB}	19.53±4.38 ^{abC}
4	6.99±0.13 ^{abA}	18.44±3.09 ^{bcB}	25.18±3.75 ^{cdC}
5	7.16±0.21 ^{abA}	20.87±3.03 ^{cbB}	28.01±4.24 ^{cdB}
6	8.11±1.38 ^{abA}	20.97±3.73 ^{cbB}	29.42±3.64 ^{dcC}
7	9.22±2.63 ^{bA}	20.07±3.11 ^{cbB}	28.73±3.29 ^{cdC}
8	15.77±2.00 ^{dA}	20.68±3.23 ^{cbB}	27.75±2.62 ^{cdC}
9.2	16.27±2.53 ^{dA}	21.32±2.83 ^{cbB}	25.18±2.93 ^{cdC}
9.6	15.62±3.31 ^{dA}	20.67±3.57 ^{cbB}	24.57±4.79 ^{cdB}
10.8	13.03±1.81 ^{cA}	18.45±0.18 ^{bcB}	23.60±4.31 ^{bcC}

หมายเหตุ * หมายถึง ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวเลขในแนวตั้งที่ตามด้วยอักษรพิมพ์เล็กต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ตัวเลขในแนวนอนที่ตามด้วยอักษรพิมพ์ใหญ่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ตารางผนวกที่ ๓2 ค่าความหนืด (mPa.s) ของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวที่ไม่
ดัดแปร (OKP)พอลิแซ็กคาไรด์ที่ดัดแปรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (OKPA)
และพอลิแซ็กคาไรด์ที่ดัดแปรด้วยเอทิลเอมีน (OKPE) ความเข้มข้น 0.5% ที่
อุณหภูมิต่าง ๆ

อุณหภูมิ (°C)	ความหนืด (mPa.s)*		
	OKP	OKPA	OKPE
อุณหภูมิห้อง	15.88±0.53 ^{eA}	23.3±2.93 ^{cB}	35.24±4.67 ^{bC}
30	15.90±1.26 ^{eA}	21.78±2.57 ^{cB}	32.88±5.69 ^{bC}
40	12.73±1.45 ^{dA}	17.5±3.76 ^{bA}	30.05±6.70 ^{abB}
50	10.75±0.55 ^{cA}	15.68±2.10 ^{abA}	29.12±7.31 ^{abB}
60	7.74±0.27 ^{bA}	14.17±1.68 ^{aB}	25.4±5.15 ^{aC}
70	7.89±0.75 ^{aA}	14.33±2.27 ^{aB}	23.97±3.60 ^{aC}
อุณหภูมิห้อง (หลังผ่านการให้ความร้อน)	13.73±0.64 ^{dA}	21.97±2.17 ^{cB}	28.93±1.74 ^{abC}

หมายเหตุ * หมายถึง ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวเลขในแนวตั้งที่ตามด้วยอักษรพิมพ์เล็กต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทาง
สถิติ (p<0.05)

ตัวเลขในแนวนอนที่ตามด้วยอักษรพิมพ์ใหญ่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ
ทางสถิติ (p<0.05)

ตารางผนวกที่ ค3 ปริมาณแคลเซียมไอออน (μM) ของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ได้จาก
วิธีการคำนวณและการวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง ion selective meter

ปริมาณแคลเซียมไอออน จากวิธีการคำนวณ (μM)	ปริมาณแคลเซียมไอออนจากการวิเคราะห์โดย ใช้เครื่อง ion selective meter (μM)
200	201.9
400	398.5
600	600.6
800	797.8
1000	1,004.0

ตารางผนวกที่ ก4 ค่าความหนืด (mPa.s) ของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวที่ไม่ตัดแปร (OKP) พอลิแซ็กคาไรด์ที่ตัดแปรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (OKPA) และพอลิแซ็กคาไรด์ที่ตัดแปรด้วยเอทิลเอมีน (OKPE) ความเข้มข้น 0.5% ในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่มีแคลเซียมไอออนความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของ แคลเซียมไอออน (โมลาร์)	ความหนืด (mPa.s)*		
	OKP	OKPA	OKPE
0	18.37±2.13 ^{nsA}	22.47±0.60 ^{abB}	31.63±0.27 ^{bcC}
200	18.92±2.94 ^{nsA}	23.03±0.93 ^{bcB}	31.73±1.76 ^{bcC}
400	19.23±2.79 ^{nsA}	23.42±0.22 ^{cbB}	33.13±2.65 ^{ccC}
600	19.42±2.34 ^{nsA}	23.02±0.63 ^{bcB}	31.07±2.35 ^{bC}
800	19.27±2.27 ^{nsA}	22.97±0.31 ^{bcB}	30.75±1.56 ^{bcC}
1,000	18.92±2.08 ^{nsA}	22.08±0.56 ^{abB}	28.45±1.34 ^{aC}
เฉลี่ย	18.96±2.36 ^A	23.11±0.42 ^B	31.13±1.66 ^C

หมายเหตุ * หมายถึง ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวเลขในแนวตั้งที่ตามด้วยอักษรพิมพ์เล็กต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตัวเลขในแนวนอนที่ตามด้วยอักษรพิมพ์ใหญ่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ns หมายถึง ไม่แตกต่างทางสถิติ

ตารางผนวกที่ ๕ ค่าความเป็นกรด-เบส (pH) ของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวที่ไม่ดัดแปร(OKP) พอลิแซ็กคาไรด์ที่ดัดแปรด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (OKPA) และพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวที่ดัดแปรด้วยเอทิลเอมีน(OKPE) ความเข้มข้น 0.5% ในสารละลายที่มีแคลเซียม ไอออนความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้นของ แคลเซียมไอออน (ไมโครโมลาร์)	ค่าความเป็นกรด-เบสของสารละลาย		
	OKP	OKPA	OKPE
0 (นำปราศจากไอออน)	5.35	8.32	8.08
200	5.34	8.34	8.37
400	5.26	8.47	8.37
600	5.35	8.23	8.32
800	5.26	8.37	8.03
1000	5.30	8.24	8.02
เฉลี่ย	5.31	8.33	8.20

ภาคผนวก ง
ตารางวิเคราะห์ทางสถิติ

ตารางผนวกที่ ๑1 การวิเคราะห์ทางสถิติเปอร์เซ็นต์ความชื้นของ OKP, OKPA และ OKPE

Source	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P-Level
treatment	2	13.722	6.861	10.192	0.012*
error	6	4.039	0.673		
total	8	17.761			

หมายเหตุ * แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางผนวกที่ ๑2 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดของ OKP, OKPA และ OKPE

Source	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P-Level
treatment	2	1003.503	501.752	142.073	0.000*
error	15	52.975	3.532		
total	17	1056.478			

หมายเหตุ * แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางผนวกที่ ๑3 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณน้ำตาลที่ไม่ใช่ซูโครสของ OKP, OKPA และ OKPE

Source	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P-Level
treatment	2	7.598	3.799	1.112	0.355 ^{ns}
error	15	51.261	3.417		
total	17	58.859			

หมายเหตุ ns แสดงความไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางผนวกที่ ๔4 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณกรดกาแล็กทูโรนิก OKP, OKPA และ OKPE

Source	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P-Level
treatment	2	449.215	224.608	70.527	0.000*
error	6	19.108	3.185		
total	8	468.323			

หมายเหตุ * แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางผนวกที่ ๔5 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของ OKP, OKPA และ OKPE

Source	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P-Level
treatment	2	161.353	80.577	70.928	0.000*
error	15	17.062	1.137		
total	17	178.415			

หมายเหตุ * แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางผนวกที่ ๔6 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณเมทอกซิลของ OKP, OKPA และ OKPE

Source	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P-Level
treatment	2	7.078×10^{-3}	3.539×10^{-3}	2.722	0.098 ^{ns}
error	15	1.950×10^{-2}	1.300×10^{-3}		
total	17	2.658×10^{-2}			

หมายเหตุ ns แสดงความไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางผนวกที่ ๗7 การวิเคราะห์ทางสถิติ degree of esterification ของ OKP, OKPA และ OKPE

Source	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P-Level
treatment	2	21.689	10.843	17.591	0.000*
error	15	9.246	0.616		
total	17	30.933			

หมายเหตุ * แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางผนวกที่ ๗8 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณเอไมด์ของ OKP, OKPA และ OKPE

Source	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P-Level
treatment	2	583.349	291.675	156.170	0.000*
error	4	7.471	1.868		
total	6	590.820			

หมายเหตุ * แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางผนวกที่ ๗9 การวิเคราะห์ทางสถิติค่าสี L* ของ OKP, OKPA และ OKPE ในรูปของผงแห้ง

Source	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P-Level
treatment	2	664.245	332.123	17963.358	0.000*
error	6	0.111	1.849×10^{-2}		
total	8	664.356			

หมายเหตุ * แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 10 การวิเคราะห์ทางสถิติค่าสี a* ของ OKP, OKPA และ OKPE ในรูปของผงแห้ง

Source	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P-Level
treatment	2	4.035	2.018	81.795	0.000*
error	6	0.148	2.467×10^{-2}		
total	8	4.183			

หมายเหตุ * แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 11 การวิเคราะห์ทางสถิติค่าสี b* ของ OKP, OKPA และ OKPE ในรูปของผงแห้ง

Source	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P-Level
treatment	2	5.229	2.615	13.057	.007*
error	6	1.202	0.200		
total	8	6.431			

หมายเหตุ * แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 12 การวิเคราะห์ทางสถิติค่าสี C* ของ OKP, OKPA และ OKPE ในรูปของผงแห้ง

Source	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P-Level
treatment	2	5.379	2.689	12.841	0.007*
error	6	1.257	0.209		
total	8	6.635			

หมายเหตุ * แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 13 การวิเคราะห์ทางสถิติค่าสี h* ของ OKP, OKPA และ OKPE ในรูปของผงแห้ง

Source	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P-Level
treatment	2	40.48	20.238	118.100	0.000*
error	6	1.028	0.171		
total	8	41.508			

หมายเหตุ * แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 14 การวิเคราะห์ทางสถิติค่าสี L* ของ OKP, OKPA และ OKPE ในรูปของสารละลายความเข้มข้น 0.5%

Source	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P-Level
treatment	2	55.572	27.786	1314.095	0.000*
error	6	0.127	2.114×10^{-2}		
total	8	55.698			

หมายเหตุ * แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 15 การวิเคราะห์ทางสถิติค่าสี a* ของ OKP, OKPA และ OKPE ในรูปของสารละลายความเข้มข้น 0.5 %

Source	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P-Level
treatment	2	0.884	.442	234.124	0.000*
error	6	1.133×10^{-2}	1.889×10^{-3}		
total	9	0.896			

หมายเหตุ * แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 16 การวิเคราะห์ทางสถิติค่า b^* ของ OKP, OKPA และ OKPE ในรูปของ
สารละลายความเข้มข้น 0.5 %

Source	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P-Level
treatment	2	175.702	87.851	4185.607	0.000*
error	6	0.126	2.099×10^{-2}		
total	8	175.828			

หมายเหตุ * แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 17 การวิเคราะห์ทางสถิติค่า C^* ของ OKP, OKPA และ OKPE ในรูปของ
สารละลายความเข้มข้น 0.5 %

Source	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P-Level
treatment	2	175.338	87.669	4176.925	0.000*
error	6	0.126	2.099×10^{-2}		
total	8	175.464			

หมายเหตุ * แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 18 การวิเคราะห์ทางสถิติค่า h^* ของ OKP, OKPA และ OKPE ในรูปของสาร
ละลายความเข้มข้น 0.5 %

Source	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P-Level
treatment	2	14.255	7.128	544.103	0.000*
error	6	7.860×10^{-2}	1.310×10^{-2}		
total	8	14.334			

หมายเหตุ * แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 19 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE

Source	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P-Level
treatment	2	615.239	307.620	99.713	0.000*
error	9	27.765	3.085		
total	11	643.005			

หมายเหตุ * แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 20 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP ในสภาวะที่มีค่า pH 2.7-10.8

Source	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P-Level
treatment	9	892.776	99.197	28.923	0.000*
error	47	161.197	3.430		
total	56	1053.973			

หมายเหตุ * แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 21 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKPA ในสภาวะที่มีค่า pH 2.7-10.8

Source	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P-Level
treatment	9	355.170	39.463	4.733	0.000*
error	49	408.597	8.339		
total	58	763.767			

หมายเหตุ * แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 22 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKPE ในสถานะที่มีค่า pH 2.7-10.8

Source	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P-Level
treatment	9	735.869	81.763	5.158	0.000*
error	50	792.577	15.852		
total	59	1528.446			

หมายเหตุ * แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 23 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ในสถานะที่มีค่า pH 2.7

Source	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P-Level
treatment	2	451.705	225.852	21.450	0.000*
error	15	157.941	10.529		
total	17	609.646			

หมายเหตุ * แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 24 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ในสถานะที่มีค่า pH 3

Source	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P-Level
treatment	2	447.538	223.769	26.117	0.000*
error	14	119.950	8.568		
total	16	567.487			

หมายเหตุ * แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางผนวกที่ ๒25 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ใน
สภาวะที่มีค่า pH 4

Source	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P-Level
treatment	2	910.521	455.260	54.404	0.000*
error	13	108.786	8.368		
total	15	1019.307			

หมายเหตุ * แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางผนวกที่ ๒26 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ใน
สภาวะที่มีค่า pH 5

Source	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P-Level
treatment	2	1348.222	674.111	74.431	0.000*
error	15	135.852	9.057		
total	17	1484.074			

หมายเหตุ * แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางผนวกที่ ๒27 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE
ในสภาวะที่มีค่า pH 6

Source	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P-Level
treatment	2	1380.885	690.443	71.280	0.000*
error	15	145.295	9.686		
total	17	1526.180			

หมายเหตุ * แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางผนวกที่ ๒28 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ใน
สภาวะที่มีค่า pH 7

Source	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P-Level
treatment	2	1044.342	522.171	56.157	0.000*
error	14	130.177	9.298		
total	16	1174.519			

หมายเหตุ * แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางผนวกที่ ๒29 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ใน
สภาวะที่มีค่า pH 8

Source	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P-Level
treatment	2	435.423	217.712	30.653	0.000*
error	15	106.537	7.102		
total	17	541.960			

หมายเหตุ * แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางผนวกที่ ๒30 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ใน
สภาวะที่มีค่า pH 9.2

Source	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P-Level
treatment	2	239.921	119.961	15.640	0.000*
error	15	115.050	7.670		
total	17	354.971			

หมายเหตุ * แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 31 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ใน
สภาวะที่มีค่า pH 9.6

Source	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P-Level
treatment	2	241.630	120.815	7.772	0.005*
error	15	233.175	15.545		
total	17	474.805			

หมายเหตุ * แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 32 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ใน
สภาวะที่มีค่า pH 10.8

Source	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P-Level
treatment	2	335.034	167.517	22.0925	0.000*
error	15	109.608	7.307		
total	17	444.643			

หมายเหตุ * แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 33 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP ที่อุณหภูมิห้อง-70 °ซ
และความหนืดหลังผ่านการให้ความร้อน

Source	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P-Level
treatment	6	544.002	90.667	118.960	0.000*
error	35	26.676	0.762		
total	41	570.677			

หมายเหตุ * แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 34 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKPA ที่อุณหภูมิห้อง-70 °ซ และความหนืดหลังผ่านการให้ความร้อน

Source	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P-Level
treatment	6	206.359	34.393	15.343	0.000*
error	35	78.459	2.242		
total	41	284.818			

หมายเหตุ * แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 35 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKPE ที่อุณหภูมิห้อง-70 °ซ และความหนืดหลังผ่านการให้ความร้อน

Source	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P-Level
treatment	6	519.550	86.592	3.088	0.016*
error	34	953.350	28.040		
total	40	1472.900			

หมายเหตุ * แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 36 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ที่อุณหภูมิห้อง

Source	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P-Level
treatment	2	1029.269	514.635	54.790	0.000*
error	14	131.500	9.393		
total	16	1160.769			

หมายเหตุ * แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 37 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ที่อุณหภูมิ 30°C

Source	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P-Level
treatment	2	892.514	446.257	32.93	0.000*
error	15	203.277	13.552		
total	17	1095.791			

หมายเหตุ * แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 38 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ที่อุณหภูมิ 40°C

Source	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P-Level
treatment	2	960.181	480.091	24.692	0.000*
error	15	291.648	19.443		
total	17	1251.829			

หมายเหตุ * แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 39 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ที่อุณหภูมิ 50°C

Source	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P-Level
treatment	2	1084.253	542.127	27.955	0.000*
error	15	290.892	19.393		
total	17	1375.145			

หมายเหตุ * แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 40 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ที่อุณหภูมิ 60°C

Source	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P-Level
treatment	2	959.213	479.606	48.937	0.000*
error	15	147.007	9.800		
total	17	1106.220			

หมายเหตุ * แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 41 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ที่อุณหภูมิ 70°C

Source	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P-Level
treatment	2	981.891	490.945	79.050	0.000*
error	15	93.159	6.211		
total	17	1075.049			

หมายเหตุ * แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 42 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ที่อุณหภูมิห้องหลังให้ความร้อน

Source	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P-Level
treatment	2	694.724	347.362	127.519	0.000*
error	15	40.86	2.724		
total	17	735.584			

หมายเหตุ * แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 43 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP ในสถานะที่มีแคลเซียมไออน 0-1,000 ไมโครโมลาร์

Source	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P-Level
treatment	5	4.257	0.851	0.141	0.981 ^{ns}
error	29	175.245	6.043		
total	34	179.502			

หมายเหตุ ns แสดงความไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตารางผนวกที่ 44 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKPA ในสถานะที่มีแคลเซียมไออน 0-1,000 ไมโครโมลาร์

Source	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P-Level
treatment	5	6.771	1.354	3.912	0.008*
error	30	10.385	0.346		
total	35	17.156			

หมายเหตุ * แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ตารางผนวกที่ 45 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKPE ในสถานะที่มีแคลเซียมไออน 0-1,000 ไมโครโมลาร์

Source	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P-Level
treatment	5	71.769	14.354	4.320	0.004*
error	30	99.683	3.323		
total	35	171.452			

หมายเหตุ * แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ตารางผนวกที่ 46 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ในสภาวะที่มีแคลเซียมไอออน 0 ไมโครโมลาร์ (น้ำปราศจากไอออน)

Source	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P-Level
treatment	2	525.481	262.741	64.997	0.000*
error	15	60.635	4.042		
total	17	570.884			

หมายเหตุ * แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 47 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ในสภาวะที่มีแคลเซียมไอออน 200 ไมโครโมลาร์

Source	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P-Level
treatment	2	543.484	271.742	148.764	0.000*
error	15	27.400	1.827		
total	17	586.116			

หมายเหตุ * แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 48 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ในสภาวะที่มีแคลเซียมไอออน 400 ไมโครโมลาร์

Source	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P-Level
treatment	2	610.248	305.124	61.637	0.000*
error	15	74.255	4.950		
total	17	684.503			

หมายเหตุ * แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 49 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ในสภาวะที่มีแคลเซียมไอออน 600 ไมโครโมลาร์

Source	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P-Level
treatment	2	427.870	205.734	77.350	0.000*
error	15	55.255	2.660		
total	17	483.125			

หมายเหตุ * แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 50 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ในสภาวะที่มีแคลเซียมไอออน 800 ไมโครโมลาร์

Source	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P-Level
treatment	2	427.870	213.935	58.011	0.000*
error	15	55.255	3.684		
total	17	451.364			

หมายเหตุ * แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 51 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ในสภาวะที่มีแคลเซียมไอออน 1,000 ไมโครโมลาร์

Source	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P-Level
treatment	2	263.769	131.884	66.247	0.000*
error	14	27.871	1.991		
total	16	291.640			

หมายเหตุ * แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางผนวกที่ ๖52 การวิเคราะห์ทางสถิติความหนืดของสารละลาย OKP, OKPA และ OKPE ใน
สภาวะที่มีแคลเซียมไอออน 0-1,000 ไมโครโมลาร์

Source	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P-Level
treatment	2	918.510	459.255	162.232	0.000*
error	33	93.418	2.831		
total	35	1011.928			

หมายเหตุ * แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ประวัติการศึกษา

ชื่อ : นางสาวจิราภรณ์ หมั่นเพียร
 วัน เดือน ปีเกิด : 4 เมษายน 2521
 ประวัติการศึกษา : วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เทคโนโลยีอาหาร)
 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
 ทุนการศึกษาที่ได้รับ : ทุนอุดหนุนและส่งเสริมวิทยานิพนธ์ระดับปริญญาโท-เอก
 บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
 ประจำปีงบประมาณ 2546