



โครงการ

การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ การศึกษาการสกัดเพคตินจากกระเจี๊ยบแดงโดยใช้
เทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลาย

ชื่อนิสิต นางสาว กรรวิ อังศุธรรังสี
นางสาว อรวิภา เมฆอัมพร

ภาควิชา เทคโนโลยีทางอาหาร
ปีการศึกษา 2561

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการทางวิชาการที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการทางวิชาการที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of senior projects in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)
are the senior project authors' files submitted through the faculty.

การศึกษาการสกัดเพคตินจากกระเจี๊ยบแดงโดยใช้เทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลาย

โดย

นางสาว กรรวิ อังศุธรรังสี

นางสาว อรวิภา เมฆอัมพร

อาจารย์ที่ปรึกษา

อาจารย์ ดร. สารีศา สุริยรักษ์

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประจำปีการศึกษา 2561

A study of pectin extraction from roselle (*Hibiscus sabdariffa*) using solvent
extraction

Kornrawee Angsutornrangsi
Onwipha Makaumporn

Project Advisor

Ph.D. Sarisa Suriyarak

Report Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Bachelor of Science Program in Food Technology

Department of Food Technology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2018

หัวข้องานวิจัย การศึกษาการสกัดเพคตินจากกระเจี๊ยบแดงโดยใช้เทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลาย

โดย นางสาว กรรวี อังศุธรรังสี

นางสาว อรวิภา เมฆอัมพร

สาขาวิชา เทคโนโลยีทางอาหาร

อาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์ ดร. สารีศา สุริยรักษ์

ปีการศึกษา 2561

ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

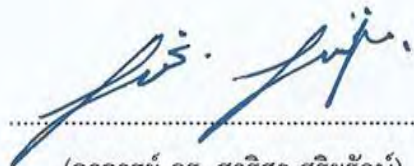
อนุมัติให้รายงานฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

ประจำปีการศึกษา 2561



.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.ชนิษฐา ธนานุวงศ์)
หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร



.....
(อาจารย์ ดร. สารีศา สุริยรักษ์)
อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ

หัวข้องานวิจัย	การศึกษาการสกัดเพคตินจากกระเจี๊ยบแดงโดยใช้เทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลาย
โดย	นางสาว กรรวิ อังศุธรรังสี นางสาว อรวิภา เมฆอัมพร
สาขาวิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ ดร. สารีศา สุริยรักษ์
ปีการศึกษา	2561

บทคัดย่อ

เพคตินเป็นสารประเภทพอลิแซ็กคาไรด์ มีหน่วยย่อย คือ กรดกาแล็กทูโรนิก โดยเพคตินนิยมนำมาใช้เป็นสารเพิ่มความหนืด สารเพิ่มความคงตัว สารก่อเจล ใช้ในอาหาร เช่น แยม เยลลี่ กระเจี๊ยบแดงจัดเป็นพืชที่มีสารประกอบเพคตินสูง มีราคาถูก อีกทั้งยังสามารถหาได้ง่าย แต่กลับมีผู้ศึกษาการสกัดเพคตินจากกระเจี๊ยบแดงไม่มากนัก การทดลองนี้จึงมีจุดประสงค์เพื่อศึกษาการสกัดเพคตินจากกระเจี๊ยบแดง โดยศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดในด้านสมบัติทางเคมีและสมบัติทางกายภาพของเพคตินที่ได้จากการสกัด โดยในการทดลองนี้ได้ทำการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายสองชนิดคือ กรดไฮโดรคลอริก และ น้ำกลั่น โดยอุณหภูมิที่ใช้สกัด คือ 30 60 และ 90 องศาเซลเซียส และเวลาที่ใช้ในการสกัด คือ 30 120 และ 240 นาที โดยจากการสกัดเพคตินด้วยกรดไฮโดรคลอริกและน้ำกลั่น พบว่าสถานะที่ทำให้สกัดได้ปริมาณเพคตินออกมามากที่สุด คือ การสกัดด้วยกรดไฮโดรคลอริกที่อุณหภูมิ 90 องศา เป็นเวลา 240 นาที โดยได้เพคตินออกมาปริมาณร้อยละ 21.85 ± 0.87 และการสกัดด้วยน้ำกลั่นที่อุณหภูมิและเวลาเดียวกันได้เพคตินออกมาปริมาณร้อยละ 19.91 ± 0.70 ส่วนสถานะที่ทำให้สกัดได้ปริมาณเพคตินออกมาน้อยที่สุด คือ การสกัดด้วยกรดไฮโดรคลอริกที่อุณหภูมิ 30 องศา เป็นเวลา 30 นาที โดยได้เพคตินออกมาปริมาณร้อยละ 2.52 ± 0.10 และการสกัดด้วยน้ำกลั่นที่อุณหภูมิและเวลาเดียวกันได้เพคตินออกมาปริมาณร้อยละ 1.05 ± 0.35 จากผลการทดลองพบว่าทั้ง 3 ปัจจัย คือ ชนิดของตัวทำละลาย อุณหภูมิ และเวลานั้นมีผลต่อปริมาณเพคตินที่ได้จากการสกัดอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) และจากการวัดค่าสีค่าความสว่าง (L^*), ค่าสีแดง (a^*), ค่าสีเหลือง (b^*) พบว่าค่าความสว่าง (L^*) มีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 21.19 – 43.19 โดยพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิและเวลา ค่าสีแดง (a^*) มีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 10.67 – 30.55 โดยพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงชนิดตัวทำละลาย อุณหภูมิและเวลา และค่าสีเหลือง (b^*) มีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง -1 – 13.08 และพบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงชนิดตัวทำละลาย อุณหภูมิและเวลา จากการวัดปริมาณความชื้นพบว่าในการวัดปริมาณความชื้นเพคตินที่สกัดได้มีค่าความชื้นอยู่ในช่วงร้อยละ 7.52 – 12.27 ซึ่งซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับเพคตินทางการค้า

Project title	A study of pectin extraction from roselle (<i>Hibiscus sabdariffa</i>) using solvent extraction
Student	Kornrawee Angsutornrangsi Onwipha Makaumporn
Study program	Bachelor of Science in Food Technology
Advisor	Dr. Sarisa Suriyarak
Academic year	2018

Abstract

Pectin is a structural polysaccharide which has galacturonic acid as a monomer. Pectin is used as a thickening agent, stabilizer, gelling agent in food such as yam and Jelly. Roselle is a typical plant in Thailand. Even that roselle contains high amount of pectins and is economical, research papers about roselle as a potential source of pectin are not found much. Thus, this research aimed to study pectin extraction from roselle and to study chemical and physical characteristics of the pectin. In this research, two type of solvent was used which were hydrochloric solution and distilled water with extraction temperature of 30, 60 and 90 °C and with extraction time of 30, 120 and 240 minutes. The highest production yield of pectin (21.85 ± 0.87) was obtained at temperature of 90 °C, extraction time of 240 minutes, using Hydrochloric as solvent. The highest production yield of pectin extracted using distilled water (19.91 ± 0.70) is the same condition as hydrochloric. The lowest production yield of pectin (1.05 ± 0.35) was obtained at temperature of 30 °C, extraction time of 30 minutes, using distilled water as solvent. The highest production yield of pectin extracted using hydrochloric (2.52 ± 0.10) is the same condition as distilled water. The three factors of the experiment which are type of solvent, temperature, extraction time significantly ($P < 0.05$) affected pectin extraction. From $L^*a^*b^*$ color measurement, it was found that L^* value is between 21.19 – 43.19 which significantly ($p < 0.05$) affect by temperature and extraction time. A^* value was between 10.67 – 30.55 which was significantly ($p < 0.05$) affected by type of solvent, temperature and extraction time. B^* value is between -1 – 13.08 and did not show significant. Moisture content of pectin was between 7.52 – 12.27 which is close to commercial pectin.

กิตติกรรมประกาศ

รายงานการวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความกรุณาจากอาจารย์ ดร.สาริศา สุริยรักษ์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการที่ได้ให้คำแนะนำ ความคิดเห็น และช่วยตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ รวมถึงการตรวจติดตามการทำโครงการของนิสิตอย่างใกล้ชิด

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ผู้คุมห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยา เคมีอาหาร และการทดสอบทางประสาทสัมผัส สำหรับการให้คำแนะนำในการใช้ห้องปฏิบัติการ การใช้เครื่องมือ และการอบรม ขอขอบคุณพี่มณฑา ชัยปัญญา และ พี่สำเร็จ จันทรมนิยม ที่อุทิศส่วสละเวลาอันมีค่าในการคุมการทำงานวิจัยของกลุ่มผู้วิจัยในช่วงเย็น และทุกๆวันเสาร์เนื่องจากเป็นนอกเวลาราชการ

ขอขอบคุณเพื่อนๆ ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สำหรับการช่วยเหลือเรื่องการติดต่อสื่อสารเคมี การแนะนำการใช้เครื่องมือ รวมถึงการสอนความรู้ต่างๆ ที่นอกเหนือจากตำราการเรียน และให้กำลังใจกลุ่มผู้วิจัยเสมอตลอดจนสำเร็จการศึกษา

นางสาว กรรวี อังสุธรรมรังสี

นางสาว อรวิภา เมฆอัมพร

สารบัญ

	หน้า
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ	2
1.3 ขอบเขต/กรอบแนวคิดของการวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับการวิจัย	2
บทที่ 2 แนวคิดทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 กระเจี๊ยบ	3
2.2 เพคติน	4
2.3 การสกัด	6
2.3.1 การสกัดของแข็งด้วยของเหลว (Solid-liquid extraction)	7
2.3.2 การสกัดของเหลวด้วยของเหลว (Liquid-liquid extraction)	8
2.3.3 การเลือกใช้ตัวทำละลายในการสกัด	9
2.3.4 สภาพแวดล้อมต่อกระบวนการสกัด	9
2.3.5 ตัวทำละลาย	11
2.3.5.1 โครงสร้างของตัวทำละลาย	11
2.3.5.2 ตัวทำละลายอนินทรีย์ (Inorganic solvent)	11
2.3.5.3 ตัวทำละลายอินทรีย์ (Organic solvent)	11
2.3.5.4 สารละลายสีเขียว (Green solvent)	13
2.3.5.4.1 ของเหลวไอออนิก Ionic Liquids (ILs)	13
2.3.5.4.2 ตัวทำละลายดีฟยูเทคติก (Deep eutectic solvents)	14
2.3.5.4.3 ตัวทำละลายดีฟยูเทคติกจากธรรมชาติ	17
2.3.6 วิธีทดสอบสมบัติทางกายภาพของเพคติน	18
2.3.7 การสกัดเพคติน	19
2.4 เทคนิคที่ใช้ในการสกัด	19
2.4.1 การสกัดโดยเทคนิคการสกัดด้วยไมโครเวฟ (Microwave-assisted extraction)	19
2.4.2 การสกัดโดยเทคนิคการสกัดด้วยอัลตราซาวด์(Ultrasound-assisted extraction)	19

2.4.3 การสกัดโดยเทคนิคการสกัดด้วยไมโครเวฟร่วมกับเทคนิค การสกัดด้วยอัลตราซาวด์ (Microwave-ultrasonic assisted extraction)	20
2.4.4 การสกัดโดยเทคนิคการเหนี่ยวนำแม่เหล็กไฟฟ้า (Electromagnetic induction heating)	20
2.4.5 การสกัดโดยเทคนิคการสกัดด้วยการให้ความร้อนแบบโอห์มมิก (Ohmic heating)	21
2.4.6 การสกัดโดยเทคนิคการสกัดด้วยการใช้เอนไซม์ (Enzymatic – assisted extraction)	21
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	
3.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิจัย	22
3.1.1 วัสดุดิบ	22
3.1.2 สารเคมี	22
3.2 วิธีการทดลอง	22
3.2.1 การเตรียมวัสดุดิบที่จะนำไปสกัดเพคติน	22
3.2.2 การสกัดเพคตินด้วยตัวทำละลายกรดไฮโดรคลอริก	22
3.2.3 การสกัดเพคตินด้วยน้ำกลั่น	23
3.2.4 ขั้นตอนหลังการสกัดเพคติน	23
3.2.5 การวัดสมบัติทางเคมีและกายภาพของเพคติน	24
บทที่ 4 ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล	
4.1 การตรวจสอบระดับเอสเทอร์ฟิเคชันจากผงเพคตินสำเร็จรูป	25
4.2 ปริมาณร้อยละเพคตินที่ได้จากการสกัด	27
4.3 การวัดค่าสีที่ได้จากผงเพคตินอบแห้ง	30
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	31
บรรณานุกรม	32
ประวัติผู้วิจัย	36

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ตารางแสดงปริมาณเพคตินในผักและผลไม้ชนิดต่างๆ	6
2	ตารางแสดงค่าความหนาแน่น, ความหนืดและการนำความร้อนของสารละลายดีฟยูเพคติก	16
3	ตารางแสดงสภาวะการสกัดที่ใช้	23
4	ตารางแสดงแสดงปริมาณร้อยละเพคตินเฉลี่ยที่ได้จากการสกัด	25
5	ตารางแสดงแสดงค่าสี (L^* a^* และ b^*) ของเพคตินที่สกัดได้จากดอกกระเจี๊ยบแดง ด้วยกรดไฮโดรคลอริกและน้ำกลั่นที่สภาวะต่างๆ	27
6	ตารางแสดงปริมาณร้อยละความชื้นของเพคตินที่สกัดได้จากดอกกระเจี๊ยบแดง ด้วยกรดไฮโดรคลอริกและน้ำกลั่นที่สภาวะต่างๆ	30

สารบัญญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	กระเจียบ	4
2	โครงสร้างของเพคติน	5
3	ปริมาณร้อยละเพคตินที่สกัดได้จากการสกัดด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกและน้ำกลั่น	25

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ในปัจจุบันมีของเหลือทิ้งจากแหล่งต่างๆมากมาย ไม่ว่าจะเป็นของเหลือทิ้งจากครัวเรือนหรือโรงงานอุตสาหกรรมต่างๆ ซึ่งรวมไปถึงของเหลือทิ้งตามธรรมชาติ ที่โดยส่วนใหญ่จะถูกทิ้งไปโดยไม่ได้นำมาใช้ทำประโยชน์ในด้านอื่นๆ เช่น เปลือกหรือกากของผักและผลไม้ต่างๆ ซึ่งพบว่าอุตสาหกรรมการผลิตที่เกี่ยวข้องกับผักและผลไม้มีอัตราการสูญเสียของเหลือทิ้งเป็นจำนวนมาก โดยเปลือกหรือกากของผักและผลไม้ต่างๆ บางส่วนที่ถูกทิ้งนั้น บ้างก็จะมีการนำไปแปรรูปเป็นอาหารสัตว์ต่อไป แต่ในปัจจุบันเปลือกหรือกากของผักและผลไม้ นั้น สามารถถูกนำมาใช้ในการแปรรูปให้มีมูลค่าและมีประโยชน์เพิ่มมากขึ้น ซึ่งจากการศึกษาพบว่าในเปลือกหรือกากของผักและผลไม้ต่างๆ นั้น จะมีเพคตินสะสมอยู่ในปริมาณมาก ในปัจจุบันจึงมีผู้ที่สนใจศึกษาและนิยมนำเปลือกหรือกากของผักและผลไม้ต่างๆ นั้น มาสกัดเพคตินออกมา เพื่อมูลค่าและนำมาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆต่อไป (Mirela et al., 2018) โดยผลไม้ที่นิยมนำมาสกัดเพคตินทางการค้า นั้น ได้แก่ เปลือกของพืชตระกูลส้ม (citrus peel) (Putnik et al., 2017), กากของแอปเปิ้ล (apple pomace) (Kumar & Chauhan, 2010), เนื้อของหัวบีท (sugar beet pulp) (Chen, Fu, & Luo, 2015) เป็นต้น

เพคติน (pectin) นั้นเป็นสารประกอบ Polysaccharide พบได้ตามธรรมชาติในผนังเซลล์ชั้นปฐมภูมิ และชั้นทุติยภูมิ (primary and secondary cell wall) ของพืชและรอยต่อระหว่างผนังเซลล์ (middle lamella) ของเซลล์พืช โครงสร้างโดยรวมของเพคตินประกอบด้วย α -D-galacturonic acid เชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคไซด์ (glycosidic bond) ชนิดแอลฟา 1-4 ซึ่งโครงสร้างของเพคตินนั้นจะเป็นตัวกำหนดคุณสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ (physicochemical properties) ต่างๆ (Hosseini et al., 2016a, 2016b) โดยชนิดของเพคตินนั้นจะแบ่งได้ตามระดับของเอสเทอริฟิเคชัน (degree of esterification, DE) ออกเป็น 2 ชนิด ได้แก่ ชนิดที่ 1 คือ High-methoxyl pectin (HMP) หมายถึง เพคตินที่มีค่า DE มากกว่า 50% และ ชนิดที่ 2 คือ Low-methoxyl pectin (LMP) หมายถึง เพคตินที่มีค่า DE น้อยกว่า 50% (Thakur et al., 1997) โดย High-methoxyl pectin (HMP) จะเกิดเจลได้ในสภาวะที่มีความเป็นกรดสูง (pH ระหว่าง 2-3.5) และต้องมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในน้ำ (total soluble solid) มากกว่า 55-75 %w/v และ Low-methoxyl pectin (LMP) จะสามารถเกิดเจลได้โดยไม่ต้องมีของแข็งที่ละลายน้ำได้และความเป็นกรดไม่ต้องสูงมาก (pH ระหว่าง 2-6) แต่จำเป็นต้องมี divalent ion เช่น แคลเซียมไอออน (Ca^{2+}) (Fishman et al., 2007)

เพคตินที่มีเมททอกซิลสูง (High-methoxyl pectin (HMP)) และ เพคตินที่มีเมททอกซิลต่ำ (Low-methoxyl pectin (LMP)) นั้นมีคุณสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ (physicochemical properties) และการนำมาใช้ที่แตกต่างกัน โดยเพคตินที่มีเมททอกซิลสูง จะสามารถนำมาใช้เป็นส่วนที่ทำให้เกิดเจล (gelling agent), สารให้ความคงตัว (stabilizer), เป็นอิมัลซิไฟเออร์ (emulsifier) และเป็นสารที่ทำให้ข้นหนืด (thickening agent)

ในอุตสาหกรรมการทำแยมและเยลลี่ ในขณะที่เพคตินที่มีเมคทอซิลต่ำจะนิยมนำมาใช้เป็นสารทดแทนไขมัน (fat replacer) ในอาหารที่นำมาทาขนมปัง, ไอศกรีม, การเตรียมเนื้อผลไม้ที่จะใส่ในโยเกิร์ต เป็นต้น

การสกัดเพคตินนั้นสามารถทำได้หลายวิธี ซึ่งวิธีในการสกัดที่เหมาะสมนั้นจะทำให้ได้เพคตินที่มีคุณภาพดีและมีปริมาณมาก โดยวิธีแบบดั้งเดิมนั้นจะใช้กรดอินทรีย์ เช่น กรดไฮโดรคลอริกกรดซัลฟิวริก, กรดไนตริก เป็นต้น ในการสกัด ซึ่งเป็นกรดที่เป็นอันตราย มีฤทธิ์กัดกร่อนค่อนข้างรุนแรง อีกทั้งยังเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อมอีกด้วย ในปัจจุบันจึงได้มีการพัฒนาวิธีการสกัดโดยใช้วิธีอื่นแทน เช่น การสกัดโดยใช้กรดอินทรีย์ (organic acid) เช่น กรดซิตริก (citric acid), กรดทาตาลิก (tartalic acid), กรดแลคติก (lactic acid) ซึ่งเป็นกรดที่มีฤทธิ์อ่อนกว่า ไม่เป็นพิษและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม (Yang, Mu, & Ma, 2018) นอกจากนี้ยังมีวิธีการสกัดโดยใช้คลื่นอัลตราซาวด์ (ultrasound-assited extraction), การสกัดโดยใช้คลื่นไมโครเวฟ (microwave-assited extraction), การสกัดโดยใช้เอนไซม์ (enzymatic extraction), การสกัดโดยใช้ Deep Eutectic Solvent (DES) เป็นต้น

การสกัดเพคตินด้วยวิธีการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายดีฟิวเทคติก นั้นเป็นสารละลายที่เกิดจากการผสมด้วยองค์ประกอบที่ไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษ 2 ส่วนคือ ผู้รับพันธะไฮโดรเจน (H-bond acceptor) และอีกส่วนคือ ผู้ให้พันธะไฮโดรเจน (H-bond donor) ซึ่งโดยทั่วไปเมื่อผสมกันแล้วจะมีจุดหลอมเหลวที่ต่ำกว่าองค์ประกอบแต่ละส่วน และมีคุณสมบัติทางเคมีที่สำคัญ คือ มีความดันไอต่ำ, ไม่ไวไฟ, ไม่ไวต่อการทำปฏิกิริยากับน้ำ นอกจากนี้ยังง่ายในการเตรียมและไม่ต้องอาศัยขั้นตอนที่ทำให้บริสุทธิ์, เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม, ไม่มีความเป็นพิษ, สามารถย่อยสลายสารอินทรีย์ได้ทางชีวภาพแล้ว มีราคาที่ถูกและสามารถเตรียมขึ้นเองได้ง่ายในห้องปฏิบัติการ (Cunha and Fernandes 2018)

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการสกัดของชนิดตัวทำละลายระหว่างน้ำและกรดไฮโดรคลอริก โดยการศึกษารวมถึงปัจจัยในด้านอุณหภูมิ และเวลา
2. เพื่อศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของเพคตินที่ได้จากการสกัด

1.3 ขอบเขตของการวิจัย/กรอบแนวคิดของการวิจัย

ตัวแปรสำหรับในการทดลองครั้งนี้ คือ ชนิดของตัวทำละลาย, อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด, เวลาที่ใช้ในการสกัด

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

1. ทราบถึงสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเพคตินจากกระเจี๊ยบให้ได้ประสิทธิภาพมากที่สุดโดยใช้เทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลาย
2. ทราบถึงคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของเพคตินที่ได้จากการสกัด ทำให้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ต่อไปในผลิตภัณฑ์ต่างๆได้อย่างเหมาะสม

บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

2.1 กระเจี๊ยบ

กระเจี๊ยบ (Roselle) หรือชื่อทางวิทยาศาสตร์ *Hibiscus sabdariffa* L. เป็นไม้พุ่มพบได้มากในประเทศเขตร้อน เช่น ไทย มาเลเซีย อินเดีย อินโดนีเซีย และแอฟริกา กระเจี๊ยบสามารถบริโภคได้ทุกส่วนทั้งใบ เมล็ด และดอก ดอกกระเจี๊ยบนิยมนำมาใช้ในอุตสาหกรรมเกี่ยวกับอาหารและเครื่องดื่มไปจนถึงอุตสาหกรรมชีวการแพทย์ ในประเทศไทยมักนำมาบริโภคในรูปแบบของชา และนำมาทำเป็นผลิตภัณฑ์หลากหลาย อย่างเช่น แยม ไวน์ และซอสด้วย (Juhari, Bredie et al. 2018) โดยกระเจี๊ยบนั้นประกอบไปด้วยสารสำคัญหลายชนิดไม่ว่าจะเป็นโปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน กรด แร่ธาตุ วิตามิน และสารประกอบฟีนอลิกประเภทต่างๆ นอกจากนี้เมล็ดของกระเจี๊ยบนั้นยังประกอบไปด้วยสารประกอบที่มีสภาพขั้วต่ำหลายชนิด เช่น สเตอรอล (sterol) (ซิโตสเตอรอล (sitosterol), เออร์โกสเตอรอล (ergosterol), แคมพีสเตอรอล (campesterol) (Borrás-Linares, 2015) โดยสารประกอบฟีนอลิกที่พบในกระเจี๊ยบนั้นมีคุณสมบัติที่น่าสนใจมากมายไม่ว่าจะเป็นสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) หรือการนำมาใช้เป็นสารให้สีแทนสีสังเคราะห์ที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน (Xu, 2017)

จากข้อมูลของ Ismail และ คณะ 2008 พบว่ากิลิเบียงของกระเจี๊ยบมีส่วนประกอบของโปรตีน (1.9 กรัม/100 กรัม) ไขมัน (0.1 กรัม/100 กรัม) คาร์โบไฮเดรต (12.3 กรัม/100 กรัม) และ เส้นใยอาหาร (2.3 กรัม/100 กรัม) นอกจากนี้ยังพบว่ามีวิตามินซี (14 มิลลิกรัม/100 กรัม), เบต้าแคโรทีน (300 ไมโครกรัม/100 กรัม) แคลเซียม (1.72 มิลลิกรัม/100 กรัม) และเหล็ก (57 มิลลิกรัม/100 กรัม) เป็นปริมาณมาก และยังพบสารประเภทกรดอินทรีย์ แอนโทไซยานิน โพลีแซคคาไรด์ และ ฟลาโวนอยด์ ซึ่งเป็นสารที่ได้รับความสนใจทางด้านอุตสาหกรรม

ในปัจจุบันเนื่องจากความรู้เกี่ยวกับสุขภาพว่ากระเจี๊ยบมีผลที่ดีต่อสุขภาพ ทำให้ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบได้รับความนิยมมากขึ้นจากโดยเฉพาะในเอเชีย ข้อมูลจาก the Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) บอกว่าอุปสงค์กระเจี๊ยบเพิ่มขึ้นทุกๆปี โดยมีกระเจี๊ยบประมาณ 15,000 ตันได้ถูกทำการแลกเปลี่ยนข้ามประเทศต่อปี ถึงแม้ว่าจะมีหลายประเทศเพาะปลูกกระเจี๊ยบแต่คุณภาพก็

แตกต่างกันไปตามประเทศที่ปลูก ประเทศจีนและประเทศไทยครองตลาดโลกในการส่งออกกระเจี๊ยบ (Juhari, Bredie et al. 2018) นอกจากนี้ในด้านเศรษฐกิจแล้วในด้านการแพทย์พบว่ากระเจี๊ยบเป็นแหล่งของสารโพลีฟีนอลซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ดี ได้มีการศึกษาพบว่ากระเจี๊ยบมีสมบัติการป้องกันภาวะน้ำตาลในเลือดสูง โดยทดลองในหนูทดลอง นอกจากนี้ น้ำที่สกัดออกมาได้จากฝักกระเจี๊ยบยังพบว่าช่วยลดการทำลายของเม็ดเลือดแดงและหัวใจจากออกซิเดชันในหนูทดลองได้อีกด้วย (Si, Ali et al. 2017)

ด้วยคุณลักษณะเช่นนี้เองจึงทำให้กระเจี๊ยบได้รับความสนใจจากผู้ประกอบการธุรกิจและนักวิจัยอย่างมาก อย่างไรก็ตามส่วนประกอบอีกอย่างที่สำคัญของกระเจี๊ยบคือเพคตินกลับไม่ค่อยมีคนศึกษา

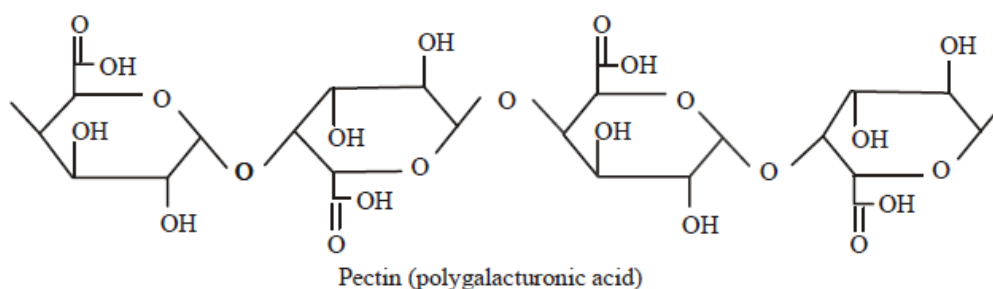


ภาพที่ 1 กระเจี๊ยบ

ที่มา : Bizuss, 2016

2.2 เพคติน

เพคติน (pectin) เป็นพอลิแซ็กคาไรด์ชนิดหนึ่งซึ่งพบในผนังเซลล์ปฐมภูมิ (Primary cell wall) และ Middle lamella ของเซลล์พืช โครงสร้างโดยรวมประกอบจาก α -D-galacturonic acid ที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคไซด์ (glycosidic bond) ชนิดแอลฟา 1-4 (Caffall and Mohnen 2009)



ภาพที่ 2 โครงสร้างของเพคติน

ที่มา : Science, Technology and Development Volume 34 Issue 1, 2015

หนึ่งในสมบัติที่สำคัญของเพคติน คือ การเป็นสารที่ทำให้เกิดเจล (gelling agent) ในแยมและเจลลี่ต่างๆ นอกจากนี้ยังถูกใช้ในการเป็นสารคงตัว (stabilizer) ให้กับเครื่องดื่มผลไม้และนมอีกด้วย โดยเพคตินนั้นเป็นไฟเบอร์ ซึ่งมีคุณสมบัติช่วยลดคอเลสเตอรอลและต้านอนุมูลอิสระ (Kratchanova, Pavlova et al. 2004) สมบัติการเกิดเจลของเพคตินจะขึ้นกับระดับของเมทิลเอสเทอร์ฟิเคชัน (Degree of methyl esterification, %DM) หรือที่เรียกกันว่า Degree of esterification (DE) กล่าวคือ High-methoxyl pectin (HMP) หมายถึง เพคตินที่มีค่า DE > 50% จะเกิดเจลในสภาวะที่มีความเป็นกรดสูงและต้องมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในน้ำ (total soluble solid) มากกว่า 55 %w/v ขณะที่ Low-methoxyl pectin (LMP) หมายถึง เพคตินที่มีค่า DE น้อยกว่า 50% สามารถเกิดเจลได้โดยไม่จำเป็นต้องมีของแข็งที่ละลายน้ำได้และความเป็นกรดไม่ต้องสูงมาก แต่จำเป็นต้องมี Divalent ion เช่น แคลเซียมไอออน เพื่อให้เกิดเป็นโครงสร้าง Egg box model และเกิดเป็นเจลได้ (Kastner, Einhorn-Stoll et al. 2017)

อย่างที่ได้อ้างอิงข้างต้นว่าเพคตินนั้นพบได้ในส่วนประกอบของพืชทุกชนิด โดยปริมาณของเพคตินขึ้นอยู่กับชนิดของพืชหรือผลไม้ ซึ่งส่วนมากนิยมสกัดเพคตินออกมาจากพืชตระกูลส้ม (citrus fruit) เช่น ส้มเกรปฟรุต (grapefruit) หรือจากผลไม้อื่นเช่น แอปเปิ้ล กล้วย แอปริคอต หัวบีท เป็นต้น โดยจากการเปรียบเทียบการสกัดเพคตินจากเปลือกส้ม เปลือกมะนาว และแอปเปิ้ล พบว่าสามารถสกัดเพคตินออกมาจากเปลือกส้มได้ %yield สูงที่สุด รองลงมาคือแอปเปิ้ล และสกัดเพคตินออกมาจากเปลือกมะนาวได้ %yield ที่ต่ำที่สุด (Kratchanova, Panchev et al. 1994)

ตารางที่ 1 แสดงปริมาณเพคตินในผักและผลไม้ชนิดต่างๆ

ชนิดผลไม้	ปริมาณเพคติน (%)	แหล่งอ้างอิง
แอปเปิ้ล	0.19–0.79	Money & Christian (1950)
แอพริคอต	0.42–1.32	Money & Christian (1950)
กล้วย	0.58–0.89	Kertesz (1951)
ถั่ว	0.43–0.63	Ross et al. (1985)
แบล็คเบอร์รี่	0.40–1.19	Money & Christian (1950)
แครอท	0.72–1.01	Ross et al. (1985)
เชอร์รี่	0.36–0.46	Facteau (1982)
องุ่น	0.7–0.8	Silacci & Morrison (1990)
เกรปฟรุ้ต	0.34–0.51	Wenzel et al. (1956)
เลมอน	0.63	Vollendorf & Marlett (1993)
ส้ม	0.25–0.76	Money & Christian (1950)
ราสเบอร์รี่	0.10–0.88	Money & Christian (1950)
มันหวาน	0.78	Kertesz (1951)

2.3 การสกัด

การสกัด คือ กระบวนการแยก (Separation) โดยใช้ของเหลวชนิดหนึ่งเป็นตัวทำละลาย ซึ่งสารที่ต้องการแยกนั้นจะละลายออกมาในตัวทำละลาย จากนั้นจะอาศัยการกรอง (Filtration) และการหมุนเหวี่ยง (Centrifuge) เพื่อเป็นตัวช่วยในการแยกส่วนที่ละลายน้ำได้และละลายน้ำไม่ได้ออกจากกันในตัวน้ำ (Crompton

2015) โดยหลักการการทำงานของเครื่องหมุนเหวี่ยงนั้นจะอาศัยความสัมพันธ์ระหว่างระยะห่างที่ไปถึงจุดศูนย์กลางของการหมุนและความเร็ว ซึ่งจะขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ไม่ว่าจะเป็น ความเร็วในการหมุนเหวี่ยง, เวลาในการหมุนเหวี่ยง และน้ำหนักของตัวอย่างที่นำมาหมุนเหวี่ยง (Di Bonito, Breward et al. 2008)จากนั้นจึงนำไปทำแห้งต่อไป ตัวอย่างของการสกัด เช่น การสกัดใบชาให้กลายเป็นน้ำชาโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย หรือ การสกัดเอาน้ำมันออกมาโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์

โดยการสกัดนั้นสามารถทำได้หลายวิธี ซึ่งเทคนิคการสกัดแต่ละวิธีนั้นมีผลต่างกันในด้านของปริมาณของสารที่สกัดได้, สมบัติทางกายภาพ, สมบัติทางเคมี และสมบัติทางชีวภาพ โดยแต่ละเทคนิคนั้นมีทั้งข้อดีและข้อเสียแตกต่างกันไปเมื่อพิจารณาในด้านค่าใช้จ่าย, เวลาในการสกัด, ผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม รวมไปถึงประสิทธิภาพในการสกัด (Chen, Shang et al. 2018) ซึ่งวิธีในการสกัดที่เหมาะสมนั้นจะทำให้ได้ที่มีคุณภาพดีและมีปริมาณมาก โดยวิธีแบบดั้งเดิมนั้นจะใช้กรดอินทรีย์ (mineral acid) เช่น กรดไฮโดรคลอริก กรดซัลฟิวริก, กรดไนตริก เป็นต้น ในการสกัด ซึ่งเป็นกรดที่เป็นอันตราย มีฤทธิ์กัดกร่อนค่อนข้างรุนแรง อีกทั้งยังเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อมอีกด้วย ในปัจจุบันจึงได้มีการพัฒนาวิธีการสกัดโดยใช้วิธีอื่นแทน เช่น การสกัดโดยใช้เอนไซม์ (enzymatic extraction), การสกัดโดยใช้กรดอินทรีย์ (organic acid) เช่น กรดซิตริก (citric acid), กรดทาตาลิก (tartalic acid), กรดแลคติก (lactic acid) ซึ่งเป็นกรดที่มีฤทธิ์อ่อนกว่า ไม่เป็นพิษและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม (Yang, Mu et al. 2018)

โดยการสกัดสามารถแยกได้เป็น 2 แบบ ก็คือการสกัดแบบ liquid-liquid extraction และ การสกัดแบบ solid-liquid extraction หรือที่เรียกกันว่าการชะ (leaching)

นอกจากนี้ในปัจจุบันได้มีการนำเทคโนโลยีต่างๆมาช่วยในการสกัด ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมเป็นอย่างมาก เช่น การสกัดโดยใช้คลื่นอัลตราซาวด์ (Ultrasound-assited extraction), การสกัดโดยใช้คลื่นไมโครเวฟ (Microwave-assited extraction), การสกัดโดยเทคนิคการเหนี่ยวนำแม่เหล็กไฟฟ้า (Electromagnetic induction heating) เป็นต้น ซึ่งจะสามารถช่วยเพิ่มปริมาณและคุณภาพของสารที่ได้จากการสกัด, ช่วยลดเวลาและอุณหภูมิในการสกัด อีกทั้งยังเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมอีกด้วย

2.3.1 การสกัดของแข็งด้วยของเหลว (Solid-liquid extraction)

เป็นการสกัดเอาสารที่ต้องการออกจากส่วนที่เป็นของแข็งโดยใช้ตัวทำละลายช่วย เช่น การสกัดเอากลิ่นออกจากหินโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย การสกัดสารในกาแฟออกมาจากกาแฟคั่ว การสกัดน้ำมันบริโภคออกมาจากเมล็ดพืชน้ำมัน (oilseeds) ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ การสกัดโปรตีนจากถั่วเหลืองในกระบวนการ

ทำโปรตีนถั่วเหลือง เป็นต้น นอกจากนี้ยังสามารถกล่าวได้ว่าการสกัดแบบ Solid-liquid extraction ว่าเป็น การชะ (leaching)

กลไกของการสกัดแบบ Solid-liquid extraction เกี่ยวข้องกับการทำให้ผิวหน้าของของแข็งเปียก ด้วยตัวทำละลาย การแทรกซึมของตัวทำละลายเข้าไปในของแข็ง การละลายของตัวถูกละลาย การเคลื่อนที่ ของตัวถูกละลายจากภายในของแข็งออกมาสู่ผิวหน้า การกระจายของตัวถูกละลายในตัวทำละลาย ในบาง กรณี ขั้นตอนการละลายอาจจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสมบัติทางเคมีเนื่องมาจากตัวทำละลายที่ใช้ เช่น การเกิดไฮโดรไลซิสของไบโอโพลิเมอร์ที่ไม่ละลายน้ำเพื่อให้เกิดผลิตภัณฑ์ที่สามารถละลายได้ (Aguilera 2003)

2.3.2 การสกัดของเหลวด้วยของเหลว (Liquid-liquid extraction)

การสกัดของเหลวด้วยของเหลวเป็นหลักการที่ใช้ในการสกัดตัวถูกละลายจากสารละลายโดยใช้ตัวทำ ละลายที่เหมาะสม เช่น การสกัดเพนนิซิลินออกมาจากอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวโดยใช้บิวทานอล (butanol) การ สกัดสารออกซิจีเนต เทอเพินอยด์ (oxygenated terpenoids) จากน้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูลส้มโดยใช้ เอทานอล (ethanol) เป็นตัวทำละลาย เป็นต้น นอกจากนี้การสกัดของเหลวด้วยของเหลวยังกล่าวได้ว่าเป็น การแยก (partitioning) การสกัดของเหลวด้วยของเหลวนี้เป็นกระบวนการที่ใช้กันมานานแล้วและมักใช้ ร่วมกับกระบวนการกลั่น โดยถูกนำมาใช้ในทางการค้าเป็นครั้งแรกในปี 1909 โดยบริษัทปิโตรเลียมแห่งหนึ่งเพื่อ ใช้ในการแยกสารอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนออกมาจากเคโรซีน (kerosene) โดยใช้ซัลเฟอร์ไดออกไซด์เป็นตัว ทำละลาย วิธีการสกัดของเหลวด้วยของเหลวเป็นที่นิยมในอุตสาหกรรมยา, เคมี และเทคโนโลยีชีวภาพ แต่พบ ได้น้อยในอุตสาหกรรมทางอาหาร

การสกัดของเหลวด้วยของเหลวนี้อาศัยความสามารถในการละลายในตัวทำละลายเพื่อสกัดสารที่มี คุณสมบัติทางเคมีคล้ายคลึงกันให้มาอยู่ในตัวทำละลาย โดยทั่วไปเทคนิคการสกัดนี้จะใช้เมื่อสารที่ต้องการสกัด นั้นไวต่อความร้อนหรือไม่สามารถระเหยได้และใช้เมื่อการกลั่นนั้นไม่สามารถใช้ได้เพราะสารประกอบนั้นมีจุด เดือดที่ใกล้เคียงกัน

เทคนิคการสกัดของเหลวด้วยของเหลวที่ง่ายที่สุดคือ การสกัดแบบกะ (batch) โดยที่สารละลายที่ ต้องการสกัดจะถูกนำมาเขย่ากับตัวทำละลาย หลังจากนั้นจะปล่อยให้เกิดสารละลายสองชั้นที่แยกชั้นกัน ไม่ ผสมกัน โดยตัวถูกละลายจะละลายอยู่ในตัวทำละลายที่เราเลือกมาในตอนแรก การสกัดแบบนี้นิยมใช้ใน ห้องปฏิบัติการเนื่องจากทำได้ง่าย ไม่ต้องใช้อุปกรณ์ที่ซับซ้อนและมีราคาถูก ในขณะที่การสกัดในระดับ อุตสาหกรรมนั้นโดยมากจะประกอบด้วยขั้นตอนในการสกัดมากกว่าหนึ่งขั้นตอนและมักจะทำเป็น แบบต่อเนื่อง (Müller, Berger et al. 2000)

2.3.3 การเลือกใช้ตัวทำละลายในการสกัด

1. ความสามารถในการละลายของสารที่ต้องการสกัดในตัวทำละลายนั้นๆ
2. การนำกลับมาใช้ซ้ำ เนื่องจากตัวทำละลายมักจะต้องนำกลับมาใช้ในกระบวนการสกัดต่อเนื่อง ถ้ามีการใช้การกลั่นและการระเหยร่วมด้วย ตัวทำละลายนั้นไม่ควรทำให้เกิด azeotropes และความรื้อนแฝงของการกลายเป็นไอควรจะน้อย การนำตัวทำละลายที่สกัดเสร็จแล้วออกจากของผสมและจากของแข็งที่ใช้สกัดควรจะสามารถทำได้โดยง่าย โดยให้เหลือตัวทำละลายตกค้างน้อยที่สุด
3. แรงตึงผิวและความหนืด ตัวทำละลายที่ดีควรจะสามารถซึมเข้าไปในของแข็งที่ต้องการสกัดและควรมีความหนืดต่ำเพื่อที่จะได้ไหลได้สะดวก
4. ตัวทำละลายที่ดีควรมีจะไม่มีพิษ มีความเสถียร ไม่เกิดปฏิกิริยา ไม่ไวต่อการเกิดไฟ ไม่ทำลายธรรมชาติ และควรมีราคาถูก

(Müller, Berger et al. 2000)

2.3.4 สภาวะที่มีผลต่อกระบวนการสกัด

สภาวะในการสกัดนั้นมีผลต่ออัตราและปริมาณผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการสกัด ดังนั้นจึงควรมีความรู้ความเข้าใจต่อปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดเพื่อที่จะสามารถออกแบบการสกัดที่ได้ประสิทธิภาพสูงสุด

1. อุณหภูมิ

ในการสกัดควรใช้อุณหภูมิที่สูงเนื่องจากให้ผลดีต่ออัตราเร็วและปริมาณที่ได้ในการสกัด ในอุณหภูมิสูงความสามารถในการละลายของสารที่ต้องการสกัดในตัวทำละลายจะมากขึ้น และ ความหนืดของตัวทำละลายจะลดลง ส่งผลให้เพิ่มความสามารถของตัวทำละลายที่จะเข้าไปแทรกซึมและทำให้สัมประสิทธิ์การแพร่มีค่ามากขึ้นด้วย ในกรณีของสารตัวทำละลายที่สามารถระเหยและติดไฟได้อย่างเฮกเซน เอทานอล หรือ อะซีโตนนั้น ควรพิจารณาการใช้อุณหภูมิสูงให้ถี่ถ้วน ในบางกรณี การใช้อุณหภูมิต่ำอาจให้ผลดีหากเหมาะสมต่อสภาวะของสารที่ต้องการสกัด

2. ความดัน

การสกัดแบบ Solid-liquid extraction ที่อุณหภูมิสูงต้องอาศัยการใช้ความดันเพื่อควบคุมให้ตัวทำละลายอยู่ในรูปของเหลว ยกตัวอย่างเช่น การใช้น้ำที่มีความดันและอุณหภูมิสูงในการสกัดกาแฟ ความมีขี้ของน้ำจะลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น Cacace and Mazza (2007) ได้ใช้น้ำที่มีความดันและอุณหภูมิสูง

(pressurized-low polarity water) ในการสกัดสารชีวภาพออกจากเนื้อเยื่อพืช Corrales *et al.* (2009) สกัดเอาแอนโทไซยานินจากเปลือกขององุ่น โดยใช้ using high (600-MPa) hydrostatic pressure เป็นต้น

3. ขนาดของอนุภาค

การลดขนาดของแข็งลงจะช่วยให้อัตราเร็วในการสกัดนั้นเพิ่มขึ้น ด้วยเหตุนี้ ในการสกัดเอาน้ำตาลออกจากต้นอ้อยจึงต้องมีการนำอ้อยมาฉีกเป็นแผ่นบางๆก่อนเข้ากระบวนการสกัด และ จึงต้องนำถั่วเหลืองมาบดและทำให้เป็นเกล็ดก่อนการสกัดนั่นเอง หลักการนี้ยังนำมาใช้ในการสกัดโปรตีนออกจากแป้งถั่วเหลือง การลดขนาดอนุภาคลงจะช่วยให้การเดินทางของตัวถูกละลายมาสู่ตัวทำละลายเร็วขึ้นเนื่องจากลดระยะห่างของพื้นผิวและยังช่วยเพิ่มพื้นที่เจอกับตัวทำละลาย (Vishwanathan *et al.*, 2011)

4. การเขย่า (Agitation)

การเขย่าจะช่วยเพิ่มการขนส่งสารออกสู่ภายนอก แต่จะไม่ช่วยในการเพิ่มอัตราเร็วการสกัด

5. การใช้อัลตราซาวด์ช่วยในการสกัด

การใช้อัลตราซาวด์จะช่วยในการทำลายผนังเซลล์ทำให้สารที่อยู่ในเซลล์ออกมาจากสารแขวนลอย เทคนิคนี้มักใช้ในการสกัดเอาเอนไซม์ออกมาจากชีวมวล

6. การใช้ Pulsed electric fields (PEFs) ในการสกัด

Pulsed electric fields จะช่วยในการเปิดช่องในเยื่อหุ้มเซลล์ ในตอนแรกนั้นใช้ในการถนอมอาหาร โดยใช้เพื่อยับยั้งแบคทีเรีย ต่อมาได้มีการนำมาใช้พัฒนาเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพให้การสกัดของแข็งด้วยของเหลว

7. การใช้สารลดแรงตึงผิวในการสกัด

จากงานวิจัยของ Do and Sabatini (2011) สกัดเอาน้ำมันออกมาจากถั่วลิสงและคาโนล่าโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายและใช้สารลดแรงตึงผิวในการช่วย พบว่า Oil-recovery yield ที่ได้นั้นมากกว่า 90%

(Berk 2013)

2.3.5 ตัวทำละลาย

2.3.5.1 โครงสร้างของตัวทำละลาย

1. ตัวทำละลายโพล่าโปรติก (Polar protic solvents)

โมเลกุลโพล่าโปรติกประกอบด้วยกลุ่มมีขั้ว OH และ กลุ่มที่ไม่มีขั้ว สูตรโครงสร้างอาจประกอบด้วย R-OH Polar protic solvents จะละลายสารอื่นที่มีโครงสร้างแบบ polar protic Polar protic solvents สามารถละลายร่วมกับน้ำ ตัวอย่างของ Polar protic solvents เช่น น้ำ (H-OH), กรดอะซิติก ($\text{CH}_3\text{CO-OH}$) methanol ($\text{CH}_3\text{-OH}$), เอทานอล ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{-OH}$), โพรพานอล ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-OH}$), บิวทานอล ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-OH}$) (Yu, 2017)

2. ตัวทำละลายไดโพล่าอะโปรติก (Dipolar aprotic solvents)

โมเลกุลไดโพล่าอะโปรติกทำให้เกิดไดโพลโมเมนต์(dipole moment)ขนาดใหญ่ ตัวทำละลายนี้ไม่มีหมู่ OH ตัวอย่างเช่น อะซีโตน ($(\text{CH}_3)_2\text{C=O}$), เอซิล อะซิเตต ($\text{CH}_3\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), ไดมิล ซัลโฟออกไซด์ ($(\text{CH}_3)_2\text{SO}$), อะซีโตนไทรต์ (CH_3CN), ไดมิลฟอลมารีไมด์ ($(\text{CH}_3)_2\text{NC(O)H}$) (Yu, 2017)

3. ตัวทำละลายไม่มีขั้ว (Non-polar solvents)

ประจุไฟฟ้าในโมเลกุลของตัวทำละลายไม่มีขั้วนั้นมีการรวมกันเป็นศูนย์ ดังนั้นโมเลกุลเหล่านี้จึงมีค่าคงที่ไดอิเล็กทริกที่ต่ำ ตัวทำละลายไม่มีขั้วเป็นไฮโดรโฟบิก (hydrophobic) หมายถึงไม่ละลายในน้ำและเป็น ลิโปฟิลิก (lipophilic) นั่นก็คือสารเหล่านี้สามารถละลายได้ในสารที่ไม่มีขั้ว เช่น น้ำมันและไขมัน เป็นต้น ตัวอย่างของตัวทำละลายไม่มีขั้ว เช่น คาร์บอน เททระคลอไรด์ (CCl_4), เบนซีน (C_6H_6), ไดเอซิล อีเธอร์ ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_3$), เฮกเซน ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$), เมธิลีน คลอไรด์ (CH_2Cl_2) (Yu, 2017)

2.3.5.2 ตัวทำละลายอนินทรีย์ (Inorganic solvent)

น้ำ เป็นตัวทำละลายอนินทรีย์ที่พบได้มากที่สุดในโลก และจัดว่าเป็นหนึ่งในตัวทำละลายอนินทรีย์ เนื่องจากโครงสร้างทางเคมีนั้นไม่มีคาร์บอนเป็นส่วนประกอบ นอกเหนือจากน้ำ ตัวทำละลายอื่นๆที่เป็นที่รู้จัก เช่น liquid anhydrous Ammonia (NH_3), concentrated sulfuric acid (H_2SO_4), sulfuryl chloride fluoride (SO_2ClF) (Tuck, 1958)

2.3.5.3 ตัวทำละลายอินทรีย์ (Organic solvent)

เป็นตัวทำละลายซึ่งประกอบด้วยคาร์บอนเป็นส่วนประกอบ โดยสามารถแบ่งประเภทตามโครงสร้างทางเคมีได้เป็น 3 ประเภทใหญ่ๆ

1. ตัวทำละลายไฮโดรคาร์บอน

โมเลกุลของตัวทำละลายประเภทนี้ประกอบด้วยไฮโดรเจนและคาร์บอนเท่านั้น แบ่งเป็น

1.1 ตัวทำละลายอะลิฟาติก เป็นไฮโดรคาร์บอนซึ่งเป็นสายตรง เช่น เฮกซีน แก๊สโซลีน และ คีโรซีน

1.2 ตัวทำละลายอะโรมาติก เป็นไฮโดรคาร์บอนที่มีโครงสร้างเป็นวงแหวนเบนซีน ตัวอย่างเช่น เบนซีน โทลูอีน และไซรีน

2. ตัวทำละลาย Oxygenated

ตัวทำละลายOxygenated เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ที่โมเลกุลประกอบด้วยออกซิเจน ตัวทำละลายประเภทนี้ใช้ในอุตสาหกรรมยา สีส น้ำหอม เครื่องสำอาง ผงซักฟอก และ อาหาร ตัวอย่างของตัวทำละลาย Oxygenated เช่น แอลกอฮอล์, คีโตน, แอลดีไฮด์, ไกลคอล อีเธอร์, เอสเธอร์, ไกลคอล อีเธอร์ เอสเธอร์

3. ตัวทำละลาย Halogenated

เป็นตัวทำละลายที่ประกอบด้วยธาตุในหมู่ฮาโลเจน ได้แก่ คลอรีน(Cl) ฟลูออรีน(F) โบรมีน(Br) และ ไอโอดีน(I) ตัวอย่างเช่น ไตรคลอโรเอธิลีน ($\text{ClCH}_2\text{CHCl}_2$), คลอโรเอธิลีน($\text{Cl}_2\text{C}-\text{CH}_2$), เมธิลีนคลอไรด์(CH_2Cl_2), คาร์บอนเตตระคลอไรด์ (CCl_4), คลอโรฟอร์ม (CHCl_3), เมธิลคลอโรฟอร์ม (methyl chloroform, CH_3CCl_2), ไตรคลอโรเอธิลีน($\text{ClCH}_2\text{CHCl}_2$), เพอร์คลอโรเอธิลีน ($\text{Cl}_2\text{C}-\text{CH}_2$), เมธิลีนคลอไรด์(CH_2Cl_2), คาร์บอนเตตระคลอไรด์ (CCl_4), ไดคลอโรฟลูออโรมีเทน (freon 21, CHCl_2F), ไตรคลอโรฟลูออโรมีเทน (freon 11, CCl_3F), เตตระฟลูออโรมีเทน (freon 14, CF_4), ไดฟลูออโรไดคลอโรมีเทน (freon 12, CHCl_2F_2), ไฮโดรคลอโรฟลูออโรคาร์บอน (freon 22, HCFC)

(Barba, 2016)

2.3.5.4 ตัวทำละลายสีเขียว

ตัวทำละลายที่ใช้กันในอุตสาหกรรมเป็นหนึ่งในปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมของโลก นอกจากนี้ยังส่งผลกระทบต่อด้านสุขภาพและเศรษฐกิจของมนุษย์ จึงได้มีแนวคิดเกี่ยวกับตัวทำละลายสีเขียวเกิดขึ้นมาจุดประสงค์ควบคุมให้สารเคมีที่ใช้ในกระบวนการอุตสาหกรรมส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมน้อยที่สุด โดยตัวทำละลายสีเขียวนั้นจะต้องอยู่ในขอบเขตดังต่อไปนี้ 1. เป็นอนุพันธ์ของตัวทำละลายที่มีสมบัติที่ดีต่อสิ่งแวดล้อม สุขภาพ และความปลอดภัยมากกว่าตัวทำละลายเริ่มแรก เช่น ลดการทำลายชั้นโอโซน สามารถย่อยสลายในธรรมชาติได้ดีขึ้น 2. เป็นตัวทำละลายที่เป็น bio-solvent เช่น เป็นตัวทำละลายที่เกิดจากแหล่งที่สามารถนำกลับมาใช้ได้แบบเอทานอลที่ผลิตจากการหมักอาหารประเภทน้ำตาล (sugar-containing feeds) 3. อนุพันธ์ของตัวทำละลายอินทรีย์ซึ่งอาจจะมีของไหลวิกฤตยิ่งยวด (supercritical fluid) ที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม เช่น การใช้คาร์บอนไดออกไซด์ซึ่งเป็นของไหลวิกฤตยิ่งยวดในกระบวนการสังเคราะห์โพลิเมอร์แทนการใช้คลอโรฟลูออโรคาร์บอนด์ จึงช่วยลดการทำลายชั้นโอโซน หรือ อาจจะมีของเหลวไอออนิกที่มีความดันไอต่ำทำให้เกิดการระเหยไปสู่บรรยากาศต่ำ (Capello, Fischer et al. 2007) โดยในวารสารปริทัศน์นี้จะกล่าวถึงตัวทำละลายสีเขียวสองประเภท ได้แก่ ของเหลวไอออนิก และ ตัวทำละลายดีฟิวเทคติก

2.3.5.4.1 ของเหลวไอออนิก (Ionic liquids)

ของเหลวไอออนิก คือ เกลือที่ซึ่งไอออนเกิดการโคร์อดิเนตกันอย่างอ่อนๆ เป็นผลให้สารนี้สามารถกลายเป็นของเหลวได้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 100 องศาเซลเซียสหรือแม้แต่อุณหภูมิห้อง ไอออนอย่างน้อยหนึ่งตัวต้องมีประจุที่สามารถดีโลคัลไลซ์ (delocalized) ได้และอีกสารหนึ่งต้องเป็นสารละลายอินทรีย์ซึ่งป้องกันการเกิดโครงสร้างผลึก crystal lattice ยกตัวอย่างเช่น เมทิลลิมีดาโซเลียม (methylimidazolium) และ ไพริมีเนียมไอออน (pyridinium ions) เป็นสารเริ่มต้นที่ได้ในการสังเคราะห์ของเหลวไอออนิก

สมบัติของของเหลวไอออนิก เช่น จุดหลอมเหลว, ความหนืด, ความสามารถในการละลายนั้นจะขึ้นอยู่กับสารที่ผสมเพื่อเป็นของเหลวไอออนิก มีของเหลวไอออนิกหลายตัวที่ถูกพัฒนาขึ้นมาเพื่อจุดประสงค์พิเศษหรืออาจกล่าวได้ว่าของเหลวไอออนิกนั้นเป็นตัวทำละลายที่สามารถออกแบบได้ (designer solvents) แต่คุณสมบัติที่ทำให้นักวิทยาศาสตร์สนใจของเหลวไอออนิกนั้นคือการที่มันมีความดันไอที่ต่ำและสามารถตัดแปลงการเกิดปฏิกิริยากับสารอื่นๆได้ เช่น catalysts, ตัวถูกละลาย, ของเหลว เป็นต้น ของเหลวไอออนิกมีความคงที่สูงในความร้อนและในทางไฟฟ้าเคมี ของเหลวไอออนิกยังมีข้อดีอีกมากมาย

ของเหลวไอออนิกถูกสังเคราะห์ขึ้นครั้งแรกโดยพอล วอลเดิน (Paul Walden) ในปี 1914 ethylammonium nitrate นี้มีจุดหลอมเหลวอยู่ที่ 12 องศาเซลเซียส และคุณสมบัติที่หลากหลายของมันทำให้จำนวนของเหลวไอออนิกและบทความทางวิชาการที่เกี่ยวข้องมีจำนวนเพิ่มมากขึ้นอย่างรวดเร็วในระยะเวลาที่ผ่านมา ความสัมพันธ์ระหว่างพันธะไฮโดรเจน แรงคูอมบ์ และ แวน เดอร์ วาลส์ ระหว่างไอออนทำให้เกิดเป็นคุณสมบัติอันหลากหลายเหล่านี้ เมื่อเปรียบเทียบกับสารละลายทั่วไปจะพบว่าของเหลวไอออนิกนั้นมีความหนืดที่สูงกว่าและมีความหนาแน่นที่มากกว่า และยังสามารถในการละลายที่ดีและความสามารถในการรวมตัวเป็นเนื้อเดียวกันนั้นมักเป็นสารที่ไม่ติดไฟและไม่ระเหยจึงทำให้มักถูกจัดเป็นตัวทำละลายสีเขียวหรือทางเลือกสีเขียวเมื่อเปรียบเทียบกับตัวทำละลายออร์แกนิก อย่างไรก็ตาม ยังคงต้องมีการศึกษาเกี่ยวกับความเป็นพิษต่อไป (Dai, 2013)

2.3.5.4.2 ตัวทำละลายดีฟยูเทคติก (Deep eutectic solvents)

ตัวทำละลายดีฟยูเทคติกนั้นมีความคล้ายคลึงกับของเหลวไอออนิกในด้านคุณสมบัติหลายอย่าง โดยตัวทำละลายดีฟยูเทคติกนั้นเป็นสารละลายที่เกิดจากการผสมตัวขององค์ประกอบที่ไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษ ระบบดีฟยูเทคติกประกอบด้วยส่วนประกอบ 2 ส่วนคือ ผู้รับพันธะไฮโดรเจน (H-bond acceptor) ได้แก่ quaternary ammonium, tetralkylammonium หรือ phosphonium salts และอีกส่วน คือ ผู้ให้พันธะไฮโดรเจน (H-bond donor) ได้แก่ กรด แอลกอฮอล์ เอมีน หรือคาร์โบไฮเดรต ซึ่งโดยทั่วไปเมื่อผสมกันแล้วจะมีจุดหลอมเหลวที่ต่ำกว่าสารที่ประกอบเป็นระบบ และมีคุณสมบัติทางเคมีที่สำคัญ คือ มีความดันไอต่ำ ไม่ไวไฟไม่ไวต่อการทำปฏิกิริยากับน้ำ นอกจากนี้ยังง่ายในการเตรียมและไม่ต้องอาศัยขั้นตอนที่ทำให้บริสุทธิ์ เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ไม่มีความเป็นพิษ สามารถย่อยสลายสารอินทรีย์ได้ทางชีวภาพแล้ว มีราคาที่ถูกและสามารถเตรียมขึ้นเองได้ง่ายในห้องปฏิบัติการ

จุดยูเทคติก (eutectic point) หมายถึง จุดที่ระบบนั้นๆสามารถคงตัวอยู่ในเฟสของเหลวได้ในอุณหภูมิที่ต่ำที่สุด การที่สารสามารถประกอบขึ้นเป็นระบบดีฟยูเทคติกได้นั้นเป็นผลมาจากการดีโลคอลไลเซชัน (delocalization) ของประจุในพันธะไฮโดรเจน เป็นผลทำให้จุดหลอมเหลวมีค่าต่ำลง

ตัวทำละลายดีฟยูเทคติกยังอาจแยกได้เป็น ตัวทำละลายดีฟยูเทคติก และตัวทำละลายดีฟยูเทคติกที่มาจากธรรมชาติ

ตัวทำละลายดีฟยูเทคติกถูกสังเคราะห์ขึ้นมาครั้งแรกในปี 2001 แอบบอร์ต (Abbot) และผู้ร่วมงานได้มีการรายงานเกี่ยวกับสารผสมระหว่างโคลีนคลอไรด์และเกลือของโลหะ (ซิงค์คลอไรด์) ซึ่งสามารถกลายเป็น

ของเหลวได้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 100 องศา หลังจากนั้นถัดมา 2 ปี กลุ่มวิจัยกลุ่มเดียวกันนี้ได้พัฒนาสารผสมระหว่าง โคลีนคลอไรด์และตัวให้พันธะไฮโดรเจน (ยูเรีย) และเรียกมันว่าตัวทำละลายดีฟิวเทคติก (Abbott, Capper et al. 2003) หลังจากนั้นเป็นต้นมาการวิจัยเกี่ยวกับตัวทำละลายดีฟิวเทคติกก็มีการวิจัยต่อเนื่องมาเรื่อยๆ โดยส่วนมากมักเป็นการผสมโคลีนคลอไรด์กับกรดคาร์บอกซิลิกต่างชนิดกัน (เช่น กรดออกซาลิก, กรดมาโลนิค และกรดซัคซินิก) นอกจากนี้ตระกูลของตัวทำละลายดีฟิวเทคติกที่มีขนาดใหญ่และได้รับความสนใจก็คือการผสมกับสารประเภทคาร์โบไฮเดรต (หรือ อนุพันธ์ของมัน เช่น ซอร์บิทอล และ แมนนิทอล), อนุพันธ์ของยูเรีย และเกลือคลอไรด์ (เช่น แอมโมเนียมคลอไรด์) โดยทั่วไปนั้นจุดหลอมเหลวของตัวทำละลายดีฟิวเทคติกจะต่ำกว่าสารที่ผสมกันเป็นตัวมัน หนึ่งในคุณสมบัติของตัวทำละลายชนิดนี้ที่น่าสนใจคือแค่เพียงเปลี่ยนชนิดของสารที่ผสมหรืออัตราส่วนโมลในตัวทำละลายก็ทำให้คุณสมบัติทางเคมีเปลี่ยนไป จึงทำให้สามารถสังเคราะห์ตัวทำละลายดีฟิวเทคติกได้หลากหลายแบบโดยมีคุณสมบัติทางเคมีแตกต่างกันไป ไม่นานมานี้ได้มีการสังเคราะห์ตัวทำละลายดีฟิวเทคติกประเภทใหม่ขึ้นมา เป็นการผสมกันระหว่างกรดดีคาโนอิก (decanoic acid) กับเกลือควอเตอร์นารีแอมโมเนียมหลายตัว หรือ การผสมแมนธอล (menthol) กับกรดที่ได้จากธรรมชาติชนิดต่างๆ ตัวทำละลายดีฟิวเทคติกประเภทใหม่นี้แสดงพฤติกรรมที่เป็นไฮโดรโฟบิกอย่างสูงตรงข้ามกับตัวทำละลายดีฟิวเทคติกที่เคยมีมาก่อนซึ่งเป็นไฮโดรฟิลิก ซึ่งตัวทำละลายดีฟิวเทคติกประเภทใหม่นี้จะทำให้กระบวนการสกัดหลายกระบวนการมีประสิทธิภาพมากขึ้นเนื่องจากความสามารถในการสกัดสารที่ไม่มีขั้วออกจากตัวทำละลายมากไปกว่านั้น ตัวทำละลายดีฟิวเทคติกประเภทใหม่นี้ยังมีความสามารถในการสกัดสารที่มีความเป็นกรดได้ในทั้งรูปที่แตกตัวสมบูรณ์และแตกตัวไม่สมบูรณ์ เป็นการขยายขอบเขตของการใช้ตัวทำละลายดีฟิวเทคติกในสภาพแวดล้อมที่ pH แตกต่างออกไป

ตัวทำละลายดีฟิวเทคติกสามารถผลิตได้ง่ายโดยการผสมสารตั้งแต่สองตัวขึ้นไปและให้ความร้อนในช่วงประมาณ 80 องศาเซลเซียสหรือใช้การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze drying) โดยไม่ต้องอาศัยขั้นตอนที่ซับซ้อนอื่นๆอีก ดังนั้นการที่จะผสมตัวทำละลายขึ้นมาจึงสามารถทำได้ในห้องปฏิบัติการทั่วไป อย่างไรก็ตามเนื่องจากความสามารถในการดูดความชื้นที่ดีของตัวรับพันธะไฮโดรเจน (เช่น โคลีนคลอไรด์, เตตระบิวทิลแอมโมเนียม, แมนธอล) อาจทำให้เกิดความชื้นขึ้นระหว่างการเตรียมได้ จึงควรเตรียมการในภาวะสุญญากาศ ถึงแม้ว่าโคลีนคลอไรด์จะเป็นเกลือควอเตอร์นารีแอมโมเนียมที่มีการนำมาผสมมากที่สุดเพราะราคาถูกและสามารถย่อยสลายในธรรมชาติได้ แต่สารประกอบเฮไลด์ตัวอื่นก็สามารถนำมาสังเคราะห์เป็นตัวทำละลายดีฟิวเทคติกที่ดีได้เช่นกัน เช่น อะซีลโคลีนคลอไรด์, เตตระเมทิลแอมโมเนียม คลอไรด์ และเมทิลไตรฟีนิลฟอสโฟเนียม โบร์ไมด์ เป็นต้น

หนึ่งในความสำคัญของตัวทำละลายดีฟลูออโรติกก็คือความสามารถที่จะเป็นตัวทำละลายในการสกัดให้กับตัวถูกละลายหลายชนิด การใช้ตัวทำละลายดีฟลูออโรติกในการสกัดขึ้นอยู่กับคุณสมบัติทางด้านกายภาพ

ตารางที่ 2 แสดงค่าความหนาแน่น, ความหนืดและการนำความร้อนของสารละลายดีฟลูออโรติก

ตัวทำละลายดีฟลูออโรติก (สัดส่วนโดยโมล)	ความหนาแน่น	ความหนืด	การเหนี่ยวนำ	E_T^N
	g/cm^3	mm^2/s	$(mS\ cm^{-1})$	
Urea:ChCl (2:1)	1.25 (25°C)	750 (25°C)	0.20 (40°C)	0.84
Ethylene Glycol: ChCl (2:1)	1.12 (25°C)	37 (25°C)	7.61 (20°C)	0.8
Glycerol: ChCl (2:1)	1.18 (25°C)	359 (25°C)	1.05 (20°C)	0.86
Malonic: ChCl (1:1)	1.25 (25°C)	721 (25°C)	0.55 (25°C)	–
1,4- butanediol: ChCl (3:1)	1.06	140 (20°C)	1.64 (20°C)	–
Urea: ethylammonium chloride (1.5:1)	1.041	128 (40°C)	–	–
Acetamide: ethylammonium chloride (1.5:1)	1.14	64 (40°C)	0.69 (40°C)	–
2,2,4-trifluoroacetamide: ChCl (2:1)	1.342	77 (40°C)	0.286 (40°C)	–
Water	0.992	1	250	1

ความหนืด ความหนาแน่น ความผสมกันได้ (miscibility) และความมีขี้ การจะเลือกตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดจึงต้องดูคุณสมบัติของตัวทำละลายดีฟลูออโรติกด้วย

จุดเยือกแข็งของตัวทำละลายดีฟลูออโรติกขึ้นอยู่กับส่วนประกอบของตัวทำละลายนั้น (ประเภทของตัวให้และตัวรับพันธะไฮโดรเจน และสัดส่วนโมลที่ใช้ ตัวอย่างเช่น จุดเยือกแข็งของตัวทำละลายที่มีเกลือโคลิ้นผสมกับยูเรียนั้นจะลดลงตามลำดับของ $F^- > NO_3^- > Cl^- > BF_4^-$ ซึ่งสัมพันธ์กับความแข็งแรงของพันธะไฮโดรเจน สัดส่วนของเกลืออินทรีย์ต่อตัวให้พันธะไฮโดรเจนก็มีผลต่อจุดเยือกแข็งของตัวทำละลายดีฟลูออโรติก ยกตัวอย่างเช่น เมื่อผสมโคลิ้นคลอไรด์เข้ากับยูเรียในอัตราส่วนโมล 1:1 และ 1:2 พบว่าจุดเยือกแข็งของตัวทำละลายนั้นมีค่ามากกว่า 50 องศาเซลเซียสและ 12 องศาเซลเซียสตามลำดับ

ตัวทำละลายดีฟลูออโรเพนเทนมีความหนาแน่นมากกว่าน้ำอย่างมาก โดยมีช่วงความหนาแน่นตั้งแต่ 1.041 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ไปจนถึง 1.63 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ด้วยความหนาแน่นที่ต่างกันเช่นนี้จะช่วยให้ขั้นตอนการแยกตัวทำละลายออกมาทำได้ง่ายกว่าตัวทำละลายปกติ

ตัวทำละลายดีฟลูออโรเพนเทนส่วนมากนั้นจะมีความหนืดสัมพัทธ์ที่สูงที่อุณหภูมิห้อง (มากกว่า100cP) ซึ่งอาจจะเป็นข้อได้เปรียบในการสกัดแบบใช้ตัวทำละลายหยดเดียว (single drop micro extraction) เพราะความหนืดที่สูงจะช่วยหยดให้การหยกตัวทำละลายจะมีขนาดหยดที่ใหญ่ขึ้น อย่างไรก็ตามในการกระบวนการสกัดบางอย่างเช่น วิธีการสกัดระดับไมโครโดยอาศัยหลักการกระจายตัวระหว่างชั้นของเหลว ที่ใช้ตัวทำละลายสกัดเป็นชนิดความหนาแน่นต่ำ (dispersive liquid-liquid microextraction) คุณสมบัตินี้ อาจจะทำให้เกิดผลลบต่อการแพร่สู่สารที่ต้องการสกัดได้ เพื่อจัดการกับปัญหานี้ นักวิจัยบางคนได้ทดลองทำการเพิ่มอุณหภูมิในระหว่างที่สกัดหรือได้ทำการเพิ่มความเข้มข้นของโคลลิคโลไรด์ซึ่งได้ผลว่าทำให้ความหนืดลดลงในตัวทำละลายดีฟลูออโรเพนเทนบางชนิด

โดยทั่วไปในตัวทำละลายดีฟลูออโรเพนเทนมีความหนืดที่ต่ำเนื่องจากความหนืดที่สูงของมัน อย่างไรก็ตาม ความสามารถในการนำความร้อนสามารถเพิ่มได้ด้วยการเพิ่มอุณหภูมิเนื่องจากทำให้ความหนืดลดลง จากงานวิจัยของแอบบอร์ตพบว่า การเติมคลอรีนคลอไรด์ลงไป ในกลีเซอรอลช่วยลดความหนืดลงและเพิ่มความสามารถในการนำความร้อน (จาก 0.74 mS cm^{-1} โดยผสมในสัดส่วนมวล 1:4 ChCl-glycerol เป็น 1.30 mS cm^{-1} โดยผสมสัดส่วนมวล 1:2 ChCl-glycerol) เนื่องจากมีพาหะของประจุไฟฟ้าเพิ่ม (charge carriers) มากขึ้น (Abbott, Harris et al. 2011)

ความมีขั้วก็เป็นหนึ่งในคุณสมบัติสำคัญของตัวทำละลายดีฟลูออโรเพนเทน ในมุมมองของความสามารถในการสกัดและความสามารถในการผสมเข้ากันกับตัวทำละลายอื่น อย่างไรก็ตามยังมีการตีพิมพ์เกี่ยวกับความมีขั้วในตัวทำละลายดีฟลูออโรเพนเทนในปริมาณน้อย แอบบอร์ตและผู้ร่วมงานได้รายงานว่ารระดับความมีขั้วของสารผสมคลอรีนและกลีเซอรอลนั้นคล้ายคลึงกับ RNH_3^+X^- , $\text{R}_2\text{NH}_2^+\text{X}^-$ และของเหลวไอออนิก ในตัวทำละลายดีฟลูออโรเพนเทนที่ประกอบด้วยเกลือแอมโมเนียมและกรดคาร์บอกซิลิก ความเป็นกรดนั้นส่วนใหญ่เป็นผลเนื่องมาจากตัวทำละลายอินทรีย์ที่อยู่ในสารผสม และการเพิ่มสายโซ่ของแอสิดในสารประกอบทั้งสองจะทำให้ความสามารถในการให้โปรตอนของตัวทำละลายนั้นลดลง ตัวทำละลายดีฟลูออโรเพนเทนที่มีอนุพันธ์ของคาร์โบไฮเดรตนั้นจะมีความมีขั้วที่สูงกว่าตัวทำละลายที่มีแอลกอฮอล์สายสั้น (เช่น เอทานอล, 2-โพรพานอล) และในตัวทำละลายโพลาอะโพรติกบางตัว (เช่น ไดเมทิลซัลโฟออกไซด์ และ ไดเมทิลฟอร์มาลดีไฮด์) (Dai, 2013)

2.3.5.4.3 ตัวทำละลายดีฟลูออโรเพนเทนจากธรรมชาติ (Natural deep eutectic solvents)

เมื่อไม่นานมานี้เชว (Choi) และผู้ร่วมวิจัยได้ค้นพบผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติซึ่งสามารถเป็นแหล่งในการผลิตตัวทำละลายดีฟลูออโรเพนเทนได้ โดยเป็นสารเมตาบอไลต์ที่ได้จากกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์

สิ่งมีชีวิต(เช่น น้ำตาล,น้ำตาลแอลกอฮอล์,กรดอินทรีย์,กรดอะมิโน) (Choi, van Spronsen et al. 2011) ตัวทำละลายดีฟยูเทคตติคจากธรรมชาติสามารถเตรียมได้โดยการให้ความร้อนสารผสมตั้งแต่สองอย่างขึ้นไปในอัตราส่วนที่เหมาะสมโดยที่น้ำเป็นส่วนประกอบด้วย เพื่อลดความหนืดของตัวทำละลายลงและเพื่อทำให้เกิดแรงระหว่างโมเลกุลมากขึ้น เช่น คลอไรด์ การเกิดพันธะไฮโดรเจน หรือการเกิดพันธะไอออนิก โดยปกติตัวทำละลายดีฟยูเทคตติคจากธรรมชาติมักผสมขึ้นจากตัวรับพันธะไฮโดรเจนอย่างเอมีน(เช่น โคลีนคลอไรด์ แอมโมเนียม)หรือกรดอะมิโน(เช่น อะลานีน โพรลีน ไกลซีน ปีเทน) และตัวให้พันธะไฮโดรเจนอย่างตัวทำละลายอินทรีย์ (เช่น กรดออกซาลิก กรดแลกติก กรดมาลิก เป็นต้น) หรือ คาร์โบไฮเดรต (เช่น กลูโคส ฟรุกโตส มอลโตส เป็นต้น)

ตัวทำละลายดีฟยูเทคตติคจากธรรมชาติมีคุณสมบัติที่ดีในการเป็นตัวทำละลาย เนื่องจาก แทบจะไม่มี การระเหย มีจุดหลอมเหลวที่ต่ำ (แม้ในอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสก็เป็นของเหลว) มีความเป็นขั้วหลายระดับ และมีความสามารถในการละลายสูงในสารประกอบหลายประเภท โดยเฉพาะในสารละลายที่ละลายในน้ำได้ต่ำ จากงานวิจัยของตัวทำละลายดีฟยูเทคตติคจากธรรมชาติซึ่งประกอบ 1 โมลของโคลีนคลอไรด์กับ2โมลของ 1,2-เอซีนไดออล กลีเซอรอล กรดมาโลนิค หรือยูเรีย พบว่าตัวทำละลายสองตัวแรกมีความเป็นไดโพล่ามากกว่าตัวที่เหลือ แสดงถึงสมบัติของแอลกอฮอล์ภายในตัวทำละลายสองตัวนั้น อย่างไรก็ตามข้อมูลอื่นๆที่เกี่ยวกับสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของตัวทำละลายดีฟยูเทคตติคจากธรรมชาติก็ยังคงมีปริมาณน้อย และมีการนำตัวทำละลายดีฟยูเทคตติคจากธรรมชาติมาประยุกต์เช่นการนำมาใช้สกัดสารอินทรีย์ ก็ยังคงพบในปริมาณที่น้อยเช่นกัน จึงยังมีความต้องการในการวิจัยเกี่ยวกับตัวทำละลายดีฟยูเทคตติคจากธรรมชาติต่อไป (Cunha and Fernandes 2018)

2.3.6 วิธีทดสอบสมบัติทางกายภาพของตัวทำละลายดีฟยูเทคตติค

2.3.6.1 การทดสอบความหนาแน่น

ทดสอบโดยใช้อุปกรณ์ Pycnometer

2.3.6.2 การทดสอบความหนืด

ทดสอบโดยใช้เครื่องวัดความหนืด Viscometer UNION NDJ-8S

2.3.6.3 การทดสอบค่าความเป็นกรด-ด่าง

ทดสอบโดยใช้เครื่อง pH meter S220 SevenCompact™ pH/Ion โดยวัดที่อุณหภูมิห้อง

2.3.7 การสกัดเพคติน

จากการศึกษาพบว่าคุณสมบัติทางชีวเคมีและปริมาณของเพคตินที่ได้จากการสกัดนั้นจะขึ้นอยู่กับชนิดของพืชที่นำมาสกัดและเทคนิคการสกัดที่ใช้ ซึ่งในการสกัดเพคตินนั้นมีกระบวนการสกัดหลายขั้นตอน ได้แก่ การไฮโดรไลซ์และสกัดเพคตินจากเนื้อเยื่อพืชโดยตัวทำละลาย ซึ่งขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ไม่ว่าจะเป็น อุณหภูมิ, ความเป็นกรด-ด่าง และเวลา (Kertesz, 1951) โดยวิธีในการสกัดสารเพคตินจากพืชนั้นในอดีตนั้น นิยมใช้วิธีการสกัดโดยใช้กรด เช่น กรดไฮโดรคลอริก, กรดไนตริก เป็นต้น หรือสารคีเลต (Chelating agent) เช่น กรดเอทิลีนไดอามีนเตตราอะเซติก (EDTA), แอมโมเนียม ออกซาเลต, โซเดียมเฮกซะเมต้าฟอสเฟต เป็นต้น ซึ่งมีข้อเสียคือต้องมีการเตรียมวัตถุดิบ เช่น การบดลดขนาดวัตถุดิบ การชะส่วนที่เป็นน้ำตาลและเมล็ดสี ออกก่อนการสกัด (Wikiera et al., 2015) ขั้นตอนนี้ทำให้สูญเสียวัตถุดิบไปส่วนหนึ่ง และการใช้สภาวะกรด และอุณหภูมิสูงๆทำให้เพคตินอาจได้คุณภาพไม่ดี (Ptichkina et al., 2008)

โดยการสกัดสารเพคตินในกากของผลไม้มีการศึกษากันมานานแล้ว แต่ข้อมูลเกี่ยวกับการสกัดสารเพคตินจากกระเจี๊ยบนั้นยังน้อยอยู่มาก ซึ่งกากกระเจี๊ยบก็เป็นแหล่งเพคตินทางเลือกที่น่าสนใจ ในปัจจุบันจึงมีการพัฒนาวิธีการใหม่ๆในการสกัดเพคตินออกมาจากผลไม้ เช่น วิธีการสกัดโดยใช้เอนไซม์ วิธีการสกัดสกัดโดยใช้อัลตราซาวด์, วิธีการสกัดโดยใช้ไมโครเวฟ เป็นต้น

2.4 เทคนิคที่ใช้ในการสกัด

2.4.1 การสกัดโดยเทคนิคการสกัดด้วยไมโครเวฟ (Microwave - assisted extraction)

การสกัดด้วยไมโครเวฟนั้นถูกนำมาใช้ในการวิเคราะห์ทางเคมีอย่างแพร่หลาย ซึ่งเทคนิคการสกัดด้วยไมโครเวฟนี้ประกอบด้วยการใช้พลังงานไมโครเวฟเพื่อทำให้เกิดความร้อนโดยตรงไปยังภายในวัตถุดิบที่นำมาสกัด (Morais 2013) โดยไมโครเวฟนั้นเป็นเครื่องมือที่มีบทบาทสำคัญในด้านวิทยาศาสตร์อาหารและเทคโนโลยีเป็นอย่างมาก ซึ่งสามารถพบได้ทั่วไปตามห้องปฏิบัติการหรือโรงงานอุตสาหกรรม เพื่อใช้ในกระบวนการต่างๆ เช่น การอบแห้งอาหาร, เป็นตัวช่วยในการสกัดสารต่างๆ, เป็นตัวช่วยในการยับยั้งการเกิดแอกทิวิตีของเอนไซม์ เป็นต้น

ส่วนประกอบหลักของไมโครเวฟประกอบ แมกนีตรอน ซึ่งทำหน้าที่สร้างพลังงานไมโครเวฟ เวฟไกด์ หรือท่อนำคลื่น ซึ่งทำหน้าที่เป็นสายส่งสัญญาณที่ใช้ส่งคลื่นไมโครเวฟ แอปพลิเคชันเตอร์ ซึ่งใช้ใส่วัสดุที่ต้องการให้รับคลื่นไมโครเวฟ และที่ตรวจจับความดันและอุณหภูมิเพื่อควบคุมกระบวนการทำงาน (Morais 2013)

2.4.2 การสกัดโดยเทคนิคการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ (Ultrasound - assisted extraction)

คลื่นอัลตราซาวด์จะประกอบด้วยคลื่นทางกล ซึ่งสามารถนำมาใช้ในการทดลองที่เกี่ยวกับ ของแข็ง, ของเหลว หรือแก๊ส ด้วยความถี่ที่มากกว่า 20 kHz ซึ่งเทคนิคนี้ถูกใช้เพื่อจุดประสงค์ต่างๆในอุตสาหกรรมอาหาร ไม่ว่าจะเป็นการสกัด, การอบแห้ง, การทำให้เกิดอิมัลชัน, การทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน และเป็นตัวช่วยใน

การยับยั้งการเกิดแอกทิวิตีของเอนไซม์

ในการใช้คลื่นอัลตราซาวด์ในจุดประสงค์เพื่อการสกัดนั้น จะทำให้บริเวณที่ใกล้กับผนังเซลล์ เกิดเป็นโพรงและแตกตัวอย่างรวดเร็ว โดยประสิทธิภาพในการสกัดนั้นจะขึ้นกับการพองโตและแตกออกของฟองอากาศขนาดเล็ก (Microbubble) ในชั้นของเหลว (Liquid phase) และการเกิดอุณหภูมิจึงและความดันที่สูงขึ้นอย่างมากในขณะเดียวกัน โดยจะส่งผลต่อการแตกและกระจายของตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ ซึ่งเป็นผลมาจากการเหนี่ยวนำของคลื่นอัลตราซาวด์ (Albahari, Jug et al. 2018)

ดังนั้นการใช้คลื่นอัลตราซาวด์ร่วมกับตัวทำละลายในการสกัด จะเป็นตัวช่วยให้ตัวทำละลายนั้นสามารถเข้าไปในเซลล์ และมีประสิทธิภาพในการสกัดมากขึ้น นอกจากนี้ยังช่วยลดพลังงานที่จะถูกใช้ไปในการสกัด, ลดเวลาในการสกัด, ลดการใช้ตัวทำละลายในการสกัด, เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม เนื่องจากลดปริมาณการใช้กรดที่เป็นอันตรายลง (Marić, Grassino et al. 2018) โดยเมื่อเปรียบเทียบกับเทคนิคการสกัดอื่นๆพบว่ามีค่าใช้จ่ายในการสกัดที่น้อยกว่า อีกทั้งยังเป็นวิธีที่นิยมใช้ในห้องปฏิบัติการและในโรงงานอุตสาหกรรมอีกด้วย ดังนั้นเทคนิคนี้จึงเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการสกัดที่สูงและใช้เวลาในการสกัดที่สั้น

2.4.3 การสกัดโดยเทคนิคการสกัดด้วยไมโครเวฟร่วมกับเทคนิคการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ (Microwave - ultrasonic assisted extraction)

เนื่องจากไมโครเวฟเป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีความถี่สูง ทำให้ผนังเซลล์ของพืชแตก จึงสามารถทำให้ตัวทำละลายนั้นสามารถเข้าไปในเซลล์และสกัดสารออกมาได้ ส่วนคลื่นอัลตราซาวด์นั้นสามารถทำให้เกิดโพรงระหว่างตัวทำละลายและตัวอย่างได้ โดยแรงดันที่เกิดจากโพรงนั้นสามารถทำให้ผนังเซลล์แตก และทำให้ตัวทำละลายซึมผ่านได้ จึงทำให้การสกัดสารภายในเซลล์จากตัวทำละลายนั้นได้ออกมาในปริมาณมาก ดังนั้นการทำงานร่วมกันระหว่างไมโครเวฟและอัลตราซาวด์นั้นจึงทำให้การสกัดนั้นมีประสิทธิภาพมากขึ้น (Chen, Zhang et al. 2016) ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับเทคนิคการสกัดด้วยวิธีใดวิธีหนึ่ง พบว่าเทคนิคนี้นั้นให้ผลเป็นที่น่ายอมรับมากกว่า ไม่ว่าจะเป็น การสกัดที่มีประสิทธิภาพมากกว่า, ปริมาณตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดน้อยกว่า ซึ่งจะช่วยลดค่าใช้จ่ายลงได้ นอกจากนี้ยังช่วยลดผลิตภัณฑ์ที่ไม่ต้องการ, สามารถให้ความร้อนได้ในอัตราที่สูงกว่า ทำให้ผนังเซลล์นั้นแตกอย่างรวดเร็ว ทำให้ใช้เวลาในการสกัดที่สั้นกว่า (Xu, Liu et al. 2018)

2.4.4 การสกัดโดยเทคนิคการเหนี่ยวนำแม่เหล็กไฟฟ้า (Electromagnetic induction heating)

เป็นเทคนิคที่พัฒนาขึ้นจากวิธีการใช้ความร้อนในการสกัดบนพื้นฐานสมบัติทางฟิสิกส์และสมบัติทางไฟฟ้าของสารละลายกรดและเบส โดยมีหลักการคือ การเหนี่ยวนำสนามแม่เหล็กโดยการผ่านกระแสไฟฟ้าเข้าไปในขดลวดเหนี่ยวนำ เมื่อมีวัตถุโลหะจำพวกเหล็ก (Ferro Magnetic) ที่อยู่ภายในสนามเหนี่ยวนำนั้น

โมเลกุลก็จะเกิดการสั่นสะเทือนจนเกิดความร้อนสูง ความร้อนที่เกิดขึ้นจึงเกิดขึ้นโดยตรง ซึ่งสามารถช่วยลดเวลาในการสกัดลงได้ (Zouambia, Youcef Ettoumi et al. 2017)

2.4.5 การสกัดโดยเทคนิคการสกัดด้วยการให้ความร้อนแบบโอห์มมิก (Ohmic heating)

การให้ความร้อนแบบโอห์มมิก (ohmic heating) เป็นเทคโนโลยีการสร้างความร้อน ที่มีประสิทธิภาพสูง โดยเป็นการให้ความร้อนโดยการผ่านกระแสไฟฟ้าสลับที่ความถี่ 50-60 Hz กับอาหารที่นำไฟฟ้าได้ กระแสไฟฟ้าทำให้เซลล์ของอาหารสั่นสะเทือน เสียดสีกัน และเกิดการต้านทานการไหลของกระแสไฟฟ้าในอาหาร เกิดความร้อนขึ้นอย่างรวดเร็วและอุณหภูมิสูงมากกว่าวิธีการให้ความร้อนแบบอื่นๆ โดยมีอัตราการเกิดความร้อนประมาณ 0.005 - 1.2 องศาเซลเซียสต่อวินาที และสม่ำเสมอภายในชิ้นของอาหาร ซึ่งมีประสิทธิภาพในการเปลี่ยนแปลงพลังงานไฟฟ้าเป็นพลังงานความร้อนได้มากกว่าร้อยละ 95 (Sarang, Sastry et al. 2008)

2.4.6 การสกัดโดยเทคนิคการสกัดด้วยการใช้เอนไซม์ (Enzymatic – assisted extraction)

วิธีการสกัดโดยใช้เอนไซม์ เอนไซม์มีความสามารถในการเร่งปฏิกิริยา เช่น ไฮโดรไลซิส (hydrolysis) โดยมีความจำเพาะสูงต่อซับสเตรต (substrate) ในการสกัดโดยใช้เอนไซม์นั้นจะเลือกเอนไซม์เช่น เซลลูเลส (cellulase) เฮมิเซลลูเลส (hemicellulose) โปรตีเอส (protease) ในการย่อยโครงสร้างของผนังเซลล์พืชซึ่งไม่ใช่ออกไปและแยกเอาสารสกัดที่ต้องการออกมาได้ ด้วยความจำเพาะของเอนไซม์นี้เองจึงส่งผลให้ได้ปริมาณสารสกัดเพิ่มมากขึ้นหรือลดปริมาณการใช้ตัวทำละลายลง (Puri, Sharma et al. 2012)รวมถึงทำให้การเตรียมวัตถุดิบก่อนการสกัดมีความสำคัญน้อยลงเมื่อเทียบกับวิธีการสกัดแบบดั้งเดิม ข้อได้เปรียบอีกประการคือ การสกัดด้วยวิธีนี้ไม่จำเป็นต้องใช้ค่าความเป็นกรด – ด่าง ในช่วงกรดและอุณหภูมิสูงในการสกัด (Adetunji, Adekunle et al. 2017) ซึ่งช่วยลดการกักกร่อนของอุปกรณ์และถือว่าการสกัดที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

3.1.1 วัตถุดิบ

กระเจี๊ยบสด

3.1.2 สารเคมี

โซเดียมไฮดรอกไซด์ (UN 18238, Mallinckrodt Baker, Mexico), กรดไฮโดรคลอริก (Merck KGaA, Germany), ฟีนอล์ฟทาลีน (A368-100G, Asia Pacific Specialty Chemicals Limited ACN), กรดซิตริก (KA160, Kemaus, Australia), สารละลายกรดแลคติก 90% (189870010, Acros organics, Belgium) กลูโคส (KA783, Kemaus, Australia), ฟรุคโตส (10207896, Alfa Aesar, UK), ซูโครส (1705243514, Ajax Finechem, Australia)

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 การเตรียมวัตถุดิบที่จะนำไปสกัดเพคติน

1. นำกระเจี๊ยบไปแช่แข็งด้วยเครื่องแอร์บลาส (Air Blast Freezer) ด้วยอุณหภูมิ -30 องศาเซลเซียส
2. นำไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ด้วยเครื่องฟรีซไดร (Freeze dryer)
3. นำมาปั่นให้เป็นผง แล้วร่อนผ่านตะแกรง แล้วนำผงที่ได้บรรจุในถุงพลาสติกพอลิเอทิลีน เก็บในตู้เย็น อุณหภูมิประมาณ -15 ± 2 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาสกัดเพคตินต่อไป

3.2.2 การสกัดเพคตินด้วยสารละลายไฮโดรคลอริก

1. เตรียมสารละลายไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.03 N เพื่อใช้ในการสกัด
2. นำผงกระเจี๊ยบที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งแล้ว 5 กรัมมาผสมกับสารละลายไฮโดรคลอริก 100 มิลลิลิตร โดยทำการสกัดในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath) ซึ่งอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการสกัดเป็นดังนี้

- อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด 30, 60, 90 องศาเซลเซียส

- เวลาที่ใช้ในการสกัด 30, 120, 240 นาที

โดยในแต่ละปัจจัยทำซ้ำ 3 ครั้ง

3.2.3 การสกัดเพคตินด้วยน้ำกลั่น

นำผงกระเจี๊ยบที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งแล้ว 5 กรัมมาผสมกับน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร โดยทำการสกัดในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath) ซึ่งอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการสกัดเป็นดังนี้

- อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด 30, 60, 90 องศาเซลเซียส
- เวลาที่ใช้ในการสกัด 30, 120, 240 นาที

โดยในแต่ละปัจจัยทำซ้ำ 3 ครั้ง

(Pasandide, 2017)

ตารางที่ 3 แสดงสภาวะที่ใช้ในการสกัดเพคตินด้วยสารละลายไฮโดรคลอริกและน้ำ

	อุณหภูมิ 30	อุณหภูมิ 60	อุณหภูมิ 90
HCl	30 นาที	30 นาที	30 นาที
	120 นาที	120 นาที	120 นาที
	240 นาที	240 นาที	240 นาที
น้ำ	30 นาที	30 นาที	30 นาที
	120 นาที	120 นาที	120 นาที
	240 นาที	240 นาที	240 นาที

3.2.4 ขั้นตอนหลังการสกัดเพคติน

1. กรองแยกกากกระเจี๊ยบออกด้วยผ้าขาวบาง
2. นำส่วนที่เป็นของเหลวมาตกตะกอนเพคตินด้วยเอทานอล ในอัตราส่วน 1:1 และตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
3. กรองแยกเพคตินออกด้วยกระดาษกรอง แล้วนำเพคตินที่ได้มาชะด้วยเอทานอล 3 ครั้ง
4. นำเพคตินที่ได้ไปอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อน (Hot air oven) ที่อุณหภูมิ 65 °C จนกว่าจะได้น้ำหนักคงที่
5. นำเพคตินที่ผ่านการอบแห้งแล้วมาบดให้เป็นผง แล้วเก็บใส่ถุงฟอยด์

3.2.5 การวัดสมบัติทางเคมีและกายภาพของเพคติน

1 ทดสอบปริมาณสารสกัดเพคตินที่สกัดออกมาได้ (%yield)

$$\% \text{ yield} = 100 \times \left(\frac{\text{มวลของเพคตินที่สกัดได้ (กรัม)}}{\text{มวลของดอกกระเจียวที่นำมาใช้ในการสกัด (กรัม)}} \right)$$

2. การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (AOAC, 2000)

- 1) อบถัวยอลูมิเนียมในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ทำให้เย็นใน desiccator นำมาชั่งน้ำหนักที่แน่นอน
- 2) ชั่งตัวอย่าง 3 กรัม ใส่ลงในถัวยอลูมิเนียมที่อบแห้ง และบันทึกน้ำหนักที่แน่นอน
- 3) นำถัวยอลูมิเนียมที่บรรจุตัวอย่างเข้าอบที่อุณหภูมิ 105 ถึง 107 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 30 นาที นำเอามาใส่ใน desiccator ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
- 4) นำไปชั่งน้ำหนักอบซ้ำครั้งละ 30 นาที จนได้น้ำหนักคงที่ซึ่งค่าที่ได้จะแตกต่างกันไม่เกิน 2 มิลลิกรัม จดน้ำหนักที่น้อยที่สุดของถัวยอลูมิเนียมและน้ำหนักตัวอย่างหลังจากอบแห้งแล้ว

3. การวัดค่าสี

วัดค่าสีด้วยอุปกรณ์ Chroma Meter CR-400 ซึ่งค่าที่อ่านได้จะเป็นตามแบบจำลอง $L^* a^* b^*$ โดย L^* ใช้กำหนดค่าความสว่าง (Lightness)

$L = 0$ สีที่ได้จะมีมืดเป็นสีดำ

$L = 100$ สีที่ได้จะสว่างเป็นสีขาว

a^* ใช้กำหนดสีแดง หรือสีเขียว

a เป็น + วัตถุมีสีออกแดง

a เป็น - วัตถุมีสีออกเขียว

b^* ใช้กำหนดสีเหลือง หรือสีน้ำเงิน

b เป็น + วัตถุมีสีออกเหลือง

b เป็น - วัตถุมีสีออกน้ำเงิน

(Liew, 2018)

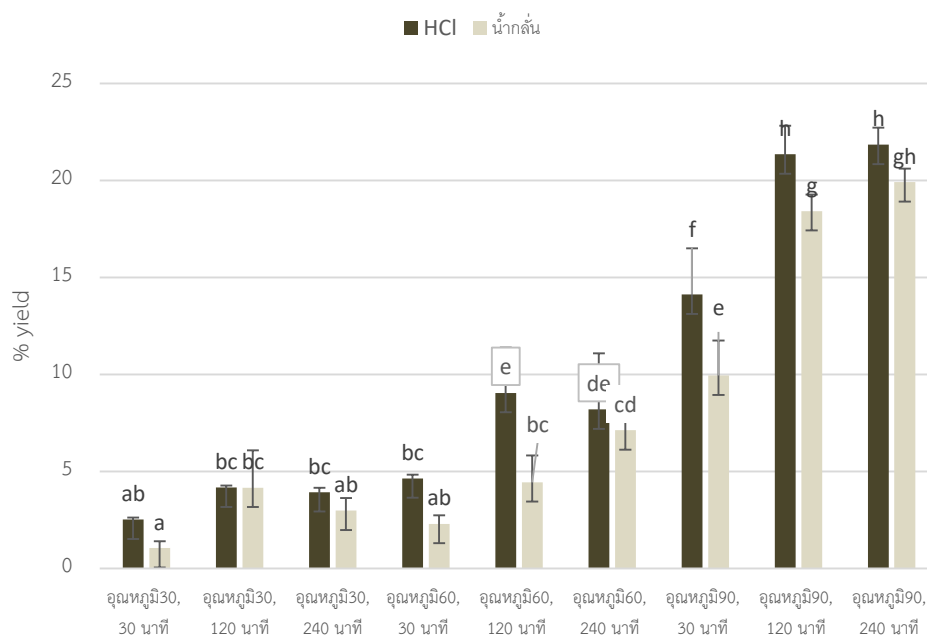
บทที่ 4

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

4.1 ปริมาณร้อยละเพคตินที่ได้จากการสกัด

ตารางที่ 4 แสดงปริมาณร้อยละเพคตินเฉลี่ยที่ได้จากการสกัด

สารละลาย	HCl			Distilled Water		
อุณหภูมิ (°C)	30	60	90	30	60	90
เวลา (นาที)						
30	2.52 ^{ab} ± 0.10	4.64 ^{bc} ± 0.20	14.12 ^f ± 2.38	1.05 ^a ± 0.35	2.30 ^{ab} ± 0.44	9.95 ^e ± 1.80
120	4.17 ^{bc} ± 0.10	9.05 ^e ± 2.33	21.35 ^h ± 1.48	4.16 ^{bc} ± 1.93	4.44 ^{bc} ± 1.39	18.42 ^g ± 0.86
240	3.93 ^{bc} ± 0.23	8.20 ^{de} ± 2.89	21.85 ^h ± 0.87	2.98 ^{ab} ± 0.65	7.12 ^{cd} ± 1.31	19.91 ^{gh} ± 0.70



ภาพที่ 3 ปริมาณร้อยละเพคตินที่สกัดได้จากการสกัดด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกและน้ำกลั่น

จากการทดลองสกัดเพคตินจากกระเจี๊ยบแดงพบว่าปริมาณร้อยละเพคตินที่ได้จากการสกัดมีค่าอยู่ตั้งแต่ช่วง 1.05 ± 0.35 ถึง 21.85 ± 0.87 โดยสภาวะที่สกัดแล้วได้ปริมาณร้อยละเพคตินมากที่สุดคือ การสกัดด้วยกรดไฮโดรคลอริกที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เวลา 240 นาที โดยได้ปริมาณร้อยละเพคตินคือ 21.85 ± 0.87

จากการทดลองพบว่าปัจจัยที่ใช้ในการในการสกัดได้แก่ ชนิดตัวทำละลาย อุณหภูมิ เวลา มีผลอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ต่อปริมาณร้อยละเพคตินที่ได้

จากผลของชนิดตัวทำละลายพบว่า การสกัดที่ใช้กรดไฮโดรคลอริกได้ปริมาณร้อยละเพคตินที่สกัดได้มากกว่าการสกัดที่ใช้น้ำกลั่นทุกสภาวะ ซึ่งผลเป็นไปตามการศึกษาของ (Nazaruddin et al, 2012) จากการทดลองเปรียบเทียบการสกัดเพคตินจากกระเจี๊ยบแดงโดยใช้กรดไฮโดรคลอริกและแอมโมเนียมออกซาลेट พบว่าการใช้ตัวทำละลายที่มีพีเอชอยู่ในช่วงกรดจะทำให้ปริมาณการสกัดที่ดีกว่า เนื่องจากพีเอชที่ต่ำจะทำให้เกิดความแตกต่างของความเข้มข้นระหว่างตัวทำละลายและเนื้อเยื่อของพืชซึ่งจะช่วยให้ตัวทำละลายสามารถแทรกซึมเข้าไปเปลี่ยนเพคตินที่ไม่ละลายน้ำให้เกิดการไฮโดรไลซิสกลายเป็นเพคตินที่ละลายน้ำได้ ทำให้ประสิทธิภาพในการสกัดเพิ่มมากขึ้น

จากผลของอุณหภูมิ อุณหภูมิถือเป็นปัจจัยสำคัญและส่งผลกระทบต่อปริมาณเพคตินที่สกัดได้อย่างมาก จากการทดลองพบว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิมากขึ้น ปริมาณร้อยละเพคตินที่สกัดได้ก็จะเพิ่มมากขึ้นไปด้วย โดยอุณหภูมิ

ที่สกัดเพคตินได้มากที่สุดคือที่ 90 องศาเซลเซียส จากกราฟที่1และ2 จะเห็นได้ว่าการสกัดในอุณหภูมิที่แตกต่างกันได้ปริมาณร้อยละเพคตินออกมาแตกต่างกันค่อนข้างมาก ซึ่งผลเป็นไปตามการศึกษาของ (Nazaruddin et al, 2012) การเพิ่มอุณหภูมิจะทำให้ความสามารถในการแพร่และการละลายของเพคตินในตัวทำละลายเพิ่มมากขึ้น รวมไปถึงช่วยให้เนื้อเยื่อของพืชอ่อนแอลงจึงสกัดได้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

อีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการสกัดคือเวลาที่ใช้ในการสกัด พบว่าเมื่อเพิ่มเวลาในการสกัด ปริมาณร้อยละเพคตินที่สกัดได้ก็จะเพิ่มมากขึ้นไปด้วย ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องตามการศึกษาของ(Nazaruddin et al, 2012) การที่ปริมาณร้อยละเพคตินเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญจากการเพิ่มเวลาในการสกัดเป็นผลเนื่องมาจากการเพิ่มเวลาในการเกิดการถ่ายโอนมวลจากของแข็งมาสู่ของเหลว

4.2 การวัดค่าสีที่ได้จากผงเพคตินอบแห้ง

ตารางที่ 5 แสดงค่าสี (L^* a^* และ b^*) ของเพคตินที่สกัดได้จากดอกกระเจี๊ยบแดงด้วยกรดไฮโดรคลอริกและน้ำกลั่นที่สภาวะต่างๆ

ชนิดของตัวทำละลาย	อุณหภูมิ (°C)	เวลา (นาที)	L^*	a^*	b^*	
กรดไฮโดรคลอริก (0.03 N)	30	30	30.35	25.77	2.01	
		120	30.90	21.31	1.63	
		240	28.45	20.07	2.04	
		ค่าเฉลี่ย	29.90	22.38	1.89	
	60	30	30	30.85	22.63	2.16
			120	32.24	10.97	4.37
			240	30.71	28.56	6.69
			ค่าเฉลี่ย	31.27	20.72	4.41
		90	30	26.25	22.74	3.83
			120	25.42	22.98	5.24
	240		21.19	10.67	1.50	
		ค่าเฉลี่ย	24.29	18.80	3.52	
30	30	30	25.05	16.29	0.04	
		120	25.75	21.22	1.81	
		240	26.66	22.67	2.26	

	ค่าเฉลี่ย	25.82	20.06	1.37
	30	43.19	27.88	-1.00
60	120	25.15	21.70	3.30
น้ำกลั่น	240	29.55	30.55	13.08
	ค่าเฉลี่ย	32.63	26.71	5.13
	30	26.41	22.47	3.50
90	120	22.83	17.36	2.67
	240	25.41	14.72	2.39
	ค่าเฉลี่ย	24.88	18.18	2.85

จากการทดลองการวัดค่าสีด้วยอุปกรณ์ Chroma Meter CR-400 ซึ่งค่าที่อ่านได้จะเป็นตามแบบจำลอง L^* a^* และ b^* พบว่าเพคตินที่สกัดได้จากดอกกระเจี๊ยบแดงด้วยกรดไฮโดรคลอริกและน้ำกลั่นมีสีแดงเข้ม ซึ่งสอดคล้องกับผลตามแบบจำลอง L^* a^* และ b^* โดยเพคตินที่สกัดได้มีค่า L^* เข้าใกล้ 0 นั่นคือเพคตินที่ได้มีสีคล้ำ มีค่า a^* ที่เป็นบวก นั่นคือ เพคตินที่ได้มีสีแดง และมีค่า b^* เป็นบวก นั่นคือเพคตินที่ได้มีสีโทนเหลือง ซึ่งการที่เพคตินมีสีแดงเข้มนั้น เป็นผลมาจากการที่ดอกกระเจี๊ยบแดงนั้นมีรงควัตถุในกลุ่มแอนโทไซยานินเป็นจำนวนมาก ซึ่งจัดเป็นสารสีที่ให้สีแดง (Zhang, Zou et al. 2019) จึงทำให้เพคตินที่สกัดออกมาได้นั้นมีสีแดงด้วย โดยจาก (Hubbermann, Heins et al. 2006) กล่าวว่าเสถียรภาพของสีนั้นขึ้นอยู่กับแรงดึงดูดทางไฟฟ้าสถิต (electrostatic interactions) ระหว่างแอนโทไซยานินในรูป flavylium cation ซึ่งเป็นรูปไอออนบวกกับกลุ่มของคาร์บอกซิลิกของเพคติน เกิดเป็นพันธะไอออนิก ทำให้แอนโทไซยานินนั้นถูกขัดขวางจากการเข้าจับของน้ำ ทำให้สีนั้นมีเสถียรภาพมากขึ้น นอกจากนี้จากงานวิจัยของ (Rien, 2005) กล่าวว่าเมื่อ pH สูงขึ้นทำให้ความเข้มข้นของสีและความเข้มข้นของ flavylium cation ลดลง ส่งผลให้โครงสร้างของแอนโทไซยานินเปลี่ยนจาก flavylium cation ซึ่งมีสีแดงในสารละลายที่เป็นกรดไปเป็น carbinol ซึ่งไม่มีสีสอดคล้องกับผลการทดลองโดยที่เพคตินที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำกลั่นมีสีแดงอ่อนกว่าเพคติน โดยค่า a^* ที่แสดงถึงค่าสีแดง มีค่าเป็นบวกลดกว่าเพคตินที่ได้จากการสกัดด้วยกรดไฮโดรคลอริก (0.03 N) เล็กน้อย

โดยจากการวิเคราะห์ผลทางสถิติ พบว่าอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการสกัดมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ต่อค่าความสว่าง (L^*) แต่ทั้ง 3 ปัจจัย ไม่ว่าจะเป็นชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด อุณหภูมิและเวลานั้นมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ต่อค่าสีแดงและเขียว (a^*) แต่ไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญต่อค่าสีเหลืองและน้ำเงิน (b^*)

4.3 การวัดปริมาณความชื้นที่ได้จากผงเพคตินอบแห้ง

ตารางที่ 6 แสดงปริมาณร้อยละความชื้นของเพคตินที่สกัดได้จากดอกกระเจี๊ยบแดงด้วยกรดไฮโดรคลอริกและน้ำกลั่นที่สภาวะต่างๆ

สารละลาย	HCl (0.03 N)			น้ำกลั่น		
	30	60	90	30	60	90
อุณหภูมิ(°C)						
เวลา (นาที)						
30	7.63 ^a ± 0.18	8.69 ^c ± 0.3	11.08 ^j ± 0.2	10.09 ^{sh} ± 0.06	7.52 ^a ± 0.14	9.79 ^f ± 0.07
120	8.42 ^b ± 0.14	10.47 ⁱ ± 0.19	11.85 ^k ± 0.05	9.18 ^d ± 0.06	9.97 ^s ± 0.05	10.20 ^h ± 0.18
240	10.53 ⁱ ± 0.13	10.25 ^h ± 0.04	12.27 ^l ± 0.06	9.43 ^e ± 0.03	8.27 ^b ± 0.07	9.53 ^e ± 0.02

จากการทดลองพบว่าเพคตินที่สกัดได้มีค่าความชื้นอยู่ในช่วงร้อยละ 7.52 – 12.27 ซึ่งซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับเพคตินทางการค้า และงานวิจัยที่ผ่านมา อย่างงานวิจัยของ Virk and Sogi ปี 2004 ซึ่งมีค่าปริมาณความชื้นอยู่ที่ร้อยละ 10.49 ± 0.04 และ Ayora-Talavera และคณะ ปี 2017 ซึ่งมีค่าปริมาณความชื้นอยู่ที่ร้อยละ 10.03 ± 0.02

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากผลการทดลองการสกัดกระเจี๊ยบ เมื่อพิจารณาที่มีผลต่อปริมาณร้อยละเพคติน โดยมีปัจจัยคือ ชนิดตัวทำละลาย อุณหภูมิและเวลา พบว่า ปัจจัยที่มีผลมากที่สุดคือ อุณหภูมิ และตามมาด้วยเวลา ปัจจัยที่มีผลน้อยที่สุดคือชนิดตัวทำละลาย โดยผลอย่างมีนัยสำคัญ($p < 0.05$) เมื่อเพิ่มอุณหภูมิและเวลาในการสกัด ปริมาณเพคตินที่ได้จะเพิ่มมากขึ้น และเมื่อเพิ่มความเป็นกรดของตัวทำละลายจะทำให้สกัดเพคตินได้มากขึ้น จากผลการทดลองวัดค่าสีของผงเพคตินที่สกัด เมื่อใช้ตัวทำละลายที่มีค่าความเป็นกรดสูงกว่า และได้เพคตินที่มีสีเข้มกว่าเล็กน้อย จากผลการทดลองวัดค่าปริมาณความชื้นของผงเพคตินที่สกัดพบว่ามีความใกล้เคียงกับเพคตินทางการค้า

งานวิจัยนี้สามารถนำไปพัฒนาต่อได้โดยเพคตินที่สกัดได้จากการงานวิจัยนี้ควรจะนำมาตรวจหาระดับเอสเทอร์ฟิเคชันและปริมาณกรดกาแลคทูโรนิกเพื่อทำให้ทราบคุณสมบัติของเพคตินที่สกัดได้เพิ่มมากขึ้น และเปรียบเทียบกับเพคตินทางการค้าที่มีขายตามท้องตลาดว่ามีความใกล้เคียงกันหรือไม่ และอาจพัฒนาได้โดยการนำเพคตินที่สกัดจากกระเจี๊ยบแดงมาผสมกับอาหารและเครื่องดื่ม โดยใช้เป็นสารสร้างความข้นหนืด สารสร้างความคงตัว และสารก่อเจล เช่น การใช้ในเครื่องดื่มน้ำผลไม้ เครื่องดื่มนมเปรี้ยวเติมกรด แยมและเยลลี่ต่างๆ

บรรณานุกรม

- Abbott, A. P., G. Capper, D. L. Davies, R. K. Rasheed and V. Tambyrajah (2003). "Novel solvent properties of choline chloride/urea mixtures." Chemical Communications(1): 70-71.
- Abbott, A. P., R. C. Harris, K. S. Ryder, C. D'Agostino, L. F. Gladden and M. D. Mantle (2011). "Glycerol eutectics as sustainable solvent systems." Green Chemistry **13**(1): 82-90.
- Adetunji, L. R., A. Adekunle, V. Orsat and V. Raghavan (2017). "Advances in the pectin production process using novel extraction techniques: A review." Food Hydrocolloids **62**: 239-250.
- Aguilera, J. M. (2003). Solid-liquid extraction. Extraction optimization in food engineering, CRC Press: 51-70.
- Albahari, P., M. Jug, K. Radić, S. Jurmanović, M. Brnčić, S. R. Brnčić and D. Vitali Čepo (2018). "Characterization of olive pomace extract obtained by cyclodextrin-enhanced pulsed ultrasound assisted extraction." LWT **92**: 22-31.
- Berk, Z. (2013). Chapter 11 - Extraction. Food Process Engineering and Technology (Second Edition). Z. Berk. San Diego, Academic Press: 287-309.
- Caffall, K. H. and D. Mohnen (2009). "The structure, function, and biosynthesis of plant cell wall pectic polysaccharides." Carbohydrate Research **344**(14): 1879-1900.
- Capello, C., U. Fischer and K. Hungerbühler (2007). "What is a green solvent? A comprehensive framework for the environmental assessment of solvents." Green Chemistry **9**(9): 927-934.
- Chaharbaghi, E., F. Khodaiyan and S. S. Hosseini (2017). "Optimization of pectin extraction from pistachio green hull as a new source." Carbohydrate Polymers **173**: 107-113.
- Chen, F., X. Zhang, Q. Zhang, X. Du, L. Yang, Y. Zu and F. Yang (2016). "Simultaneous synergistic microwave-ultrasonic extraction and hydrolysis for preparation of trans-resveratrol in tree peony seed oil-extracted residues using imidazolium-based ionic liquid." Industrial Crops and Products **94**: 266-280.
- Chen, S., H. Shang, J. Yang, R. Li and H. Wu (2018). "Effects of different extraction techniques on physicochemical properties and activities of polysaccharides from comfrey (*Symphytum officinale* L.) root." Industrial Crops and Products **121**: 18-25.
- Choi, Y. H., J. van Spronsen, Y. Dai, M. Verberne, F. Hollmann, I. W. C. E. Arends, G.-J. Witkamp and R. Verpoorte (2011). "Are Natural Deep Eutectic Solvents the Missing

- Link in Understanding Cellular Metabolism and Physiology?" Plant Physiology **156**(4): 1701-1705.
- Crompton, T. R. (2015). Chapter 1 - Metals in Natural Water Samples: Sampling Techniques. Determination of Metals in Natural Waters, Sediments and Soils. T. R. Crompton, Elsevier: 1-8.
- Cunha, S. C. and J. O. Fernandes (2018). "Extraction techniques with deep eutectic solvents." TrAC Trends in Analytical Chemistry **105**: 225-239.
- Dai, Y., J. van Spronsen, G.-J. Witkamp, R. Verpoorte and Y. H. Choi (2013). "Natural deep eutectic solvents as new potential media for green technology." Analytica Chimica Acta **766**: 61-68.
- Di Bonito, M., N. Beward, N. Crout, B. Smith and S. Young (2008). CHAPTER TEN - OVERVIEW OF SELECTED SOIL PORE WATER EXTRACTION METHODS FOR THE DETERMINATION OF POTENTIALLY TOXIC ELEMENTS IN CONTAMINATED SOILS: OPERATIONAL AND TECHNICAL ASPECTS. Environmental Geochemistry. B. De Vivo, H. E. Belkin and A. Lima. Amsterdam, Elsevier: 213-249.
- Dragan Z. Troter , M. Z. Z., D. R. Đ.-S. , S. S. Konstantinović and Z. B. T. (2016). "Citric acid-based deep eutectic solvents: Physical properties and their use as cosolvents in sulphuric acid-catalysed ethanolsis of oleic acid." Advanced technologies **5**(1): 53-56.
- Guandalini, B. B. V., N. P. Rodrigues and L. D. F. Marczak (2018). "Sequential extraction of phenolics and pectin from mango peel assisted by ultrasound." Food Research International.
- Marić, M., A. N. Grassino, Z. Zhu, F. J. Barba, M. Brnčić and S. Rimac Brnčić (2018). "An overview of the traditional and innovative approaches for pectin extraction from plant food wastes and by-products: Ultrasound-, microwaves-, and enzyme-assisted extraction." Trends in Food Science & Technology **76**: 28-37.
- Morais, S. (2013). 18 - Ultrasonic- and microwave-assisted extraction and modification of algal components. Functional Ingredients from Algae for Foods and Nutraceuticals. H. Domínguez, Woodhead Publishing: 585-605.
- Müller, E., R. Berger, E. Blass, D. Sluyts and A. Pfennig (2000). "Liquid-liquid extraction." Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry.
- Puri, M., D. Sharma and C. J. Barrow (2012). "Enzyme-assisted extraction of bioactives from plants." Trends in Biotechnology **30**(1): 37-44.

- Sarang, S., S. K. Sastry and L. Knipe (2008). "Electrical conductivity of fruits and meats during ohmic heating." Journal of Food Engineering **87**(3): 351-356.
- Savi, L. K., M. C. G. C. Dias, D. Carpine, N. Waszczynskyj, R. H. Ribani and C. W. I. Haminiuk (2018). "Natural deep eutectic solvents (NADES) based on citric acid and sucrose as a potential green technology: a comprehensive study of water inclusion and its effect on thermal, physical and rheological properties." International Journal of Food Science & Technology.
- Si, L. Y.-N., S. A. M. Ali, J. Latip, N. M. Fauzi, S. B. Budin and S. Zainalabidin (2017). "Roselle is cardioprotective in diet-induced obesity rat model with myocardial infarction." Life Sciences **191**: 157-165.
- Van den Bruinhorst, A., Kouris, P., Timmer, J. M. K., de Croon, M. H. J. M., & Kroon, M. C. (2016). Exploring orange peel treatment with deep eutectic solvents and diluted organic acids. *Natural Products Chemistry and Research*, *4*(6), 1-5.
- Wei, Z., X. Qi, T. Li, M. Luo, W. Wang, Y. Zu and Y. Fu (2015). "Application of natural deep eutectic solvents for extraction and determination of phenolics in *Cajanus cajan* leaves by ultra performance liquid chromatography." Separation and Purification Technology **149**: 237-244.
- Xu, S.-Y., J.-P. Liu, X. Huang, L.-P. Du, F.-L. Shi, R. Dong, X.-T. Huang, K. Zheng, Y. Liu and K.-L. Cheong (2018). "Ultrasonic-microwave assisted extraction, characterization and biological activity of pectin from jackfruit peel." LWT **90**: 577-582.
- Yang, J.-S., T.-H. Mu and M.-M. Ma (2018). "Extraction, structure, and emulsifying properties of pectin from potato pulp." Food Chemistry **244**: 197-205.
- Zhang, M., G. Zeng, Y. Pan and N. Qi (2018). "Difference research of pectins extracted from tobacco waste by heat reflux extraction and microwave-assisted extraction." Biocatalysis and Agricultural Biotechnology **15**: 359-363.
- Zouambia, Y., K. Youcef Ettoumi, M. Krea and N. Moulai-Mostefa (2017). "A new approach for pectin extraction: Electromagnetic induction heating." Arabian Journal of Chemistry **10**(4): 480-487.

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	นางสาวกรรวิ อังศุธรรังสี
ตำแหน่ง	หัวหน้าผู้วิจัย
วุฒิการศึกษา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ.)
ภาควิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีที่สำเร็จการศึกษา	2561
โทรศัพท์	083-8213580
Email	kornrawee.ang@gmail.com



ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	นางสาวอรวิภา เมฆอัมพร
ตำแหน่ง	ผู้วิจัยร่วม
วุฒิการศึกษา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (วท.บ.)
ภาควิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีที่สำเร็จการศึกษา	2561
โทรศัพท์	086-5940155
Email	onwipha_praew@hotmail.com

