

บทที่ 3

ผลการทดลอง

การแยกเฮมิเซลลูโลสจากมะละกอดิบและวิเคราะห์น้ำตาลองค์ประกอบทำโดยทำแห้งเปลือกและเนื้อมะละกอดิบแล้ววิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด พร้อมทั้งตรวจปริมาณเกลืออนินทรีย์ โพแทสเซียม ฟอสฟอรัส และโลหะหนัก การแยกเฮมิเซลลูโลสจากเปลือกและเนื้อมะละกอแห้งทำโดยการสกัดด้วยสารละลายโพแทสเซียม ไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1 และ 4 โมลาร์ ตามด้วยการกำจัดไอออนต่างๆ โดยไดอะไลซิส และทำให้แห้งโดยไลโอไฟไลเซชัน การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลองค์ประกอบของเฮมิเซลลูโลสทำโดยการย่อยสลายเฮมิเซลลูโลสด้วยกรดซัลฟิวริก แล้ววิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลโมโนแซ็กคาไรด์องค์ประกอบด้วย HPLC พร้อมทั้งหาปริมาณกรดยูโรนิกที่เป็นองค์ประกอบด้วย colourimetry วิเคราะห์หาปริมาณจีเอ็ม วัดความขาวและความเข้มสีของเฮมิเซลลูโลส และเปรียบเทียบหมู่ฟังก์ชันที่สำคัญของเฮมิเซลลูโลสที่สกัดด้วย KOH ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน

3.1 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตและสารต่างๆ ในเปลือกและเนื้อมะละกอ

ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดในเนื้อและเปลือกมะละกอหาได้โดยหักกลบปริมาณโปรตีนจีเอ็ม และลืปดออกจากน้ำหนักแห้งของเนื้อและเปลือกมะละกอ และทำการวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัส โพแทสเซียม และโลหะหนักต่างๆ เพื่อทราบปริมาณสารต่างๆ ในเปลือกและเนื้อมะละกอ

3.1.1 น้ำหนักแห้งของเปลือกและเนื้อมะละกอ

เปลือกและเนื้อมะละกอที่นำมาทำการศึกษาในงานวิจัยนี้ เก็บรวบรวมมาจากผลมะละกอดิบคละสายพันธุ์และจากร้านขายส้มตำ ซึ่งมีลักษณะดังรูป 3.1 ก. และ ข. เนื่องจากต้องใช้ในปริมาณมากจึงต้องเก็บรักษาในรูปเปลือกและเนื้อมะละกอบแห้ง ซึ่งได้ผ่านเปลือกและเนื้อเป็นแผ่นบางๆ อบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 55°C จนแห้ง ผลปรากฏว่า เปลือกและเนื้อมะละกอที่แห้งแล้วมีลักษณะม้วนงอและกรอบ (รูป 3.1 ก.2 และข.2) น้ำหนักที่แห้งแล้วลดลงจากน้ำหนักขณะเปียกโดยเหลือเพียง 8.84 และ 8.58% โดยน้ำหนัก ตามลำดับ (ตาราง 3.1)



ก.1



ข.1



ก.2



ข.2

รูป 3.1 ลักษณะของเปลือก (ก) และเนื้อ (ข) มะละกอขณะที่ยังเขียว (1) และแห้ง (2)

ตาราง 3.1 ร้อยละของน้ำหนักของเปลือกและเนื้อมะละกอแห้งที่ได้จากการอบที่ 55°C

ตัวอย่างมะละกอ	น้ำหนักสด (กรัม)	อบแห้ง		
		น้ำหนัก (กรัม)	ร้อยละ	ร้อยละเฉลี่ย
เปลือก	220	18.25	8.50	8.84 ± 0.62
	300	25.98	8.46	
	300	28.64	9.55	
เนื้อ	440	31.10	7.07	8.58 ± 1.52
	300	25.71	8.57	
	300	30.31	10.10	

3.1.2 ปริมาณโปรตีน

ความเข้มข้นที่ถูกต้องของสารละลาย NaOH และ HCl ที่ใช้ในการหาปริมาณโปรตีน ทำได้โดยการไทเทรตสารละลาย 0.1000 M KHP (KHP 5.1314 กรัม ละลายในน้ำ 250 มล.) 20 มล. ด้วยสารละลาย NaOH ที่เตรียมไว้ จากการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง พบว่าใช้ปริมาตรเฉลี่ยของสารละลาย NaOH เท่ากับ 19.57 มล. ซึ่งทำให้คำนวณความเข้มข้นของสารละลาย NaOH ได้เท่ากับ 0.1022 M

สำหรับความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลาย HCl ทำโดยใช้สารละลาย 0.1022 M NaOH 20 มล. ไทเทรตกับสารละลาย HCl จากผลการทดลอง 3 ครั้ง พบว่าใช้ปริมาตร HCl โดยเฉลี่ยเท่ากับ 19.23 มล. เมื่อนำไปคำนวณทำให้ได้ค่าความเข้มข้นของสารละลาย HCl เท่ากับ 0.1063 M

ปริมาณโปรตีนในเปลือกและเนื้อมะละกอกที่หาโดยวิธี Kjeldahl ซึ่งต้องย่อยเปลือกและเนื้อมะละกอกแห้ง 0.5000 กรัม ด้วยกรดซัลฟิวริกเข้มข้น และเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เพื่อทำให้เกิดก๊าซแอมโมเนียซึ่งถูกจับด้วย 0.1063 M HCl แล้วไทเทรตกับ 0.1022 M NaOH เพื่อหาปริมาณ HCl ที่เหลือจากการทำปฏิกิริยากับแอมโมเนีย ได้ผลดังปรากฏในตาราง 3.2

การไทเทรตสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่เหลือจากการจับก๊าซแอมโมเนียที่ได้จากการสลายโปรตีนในเปลือกมะละกอด้วย 0.1022 M NaOH ทำให้คำนวณหาความเข้มข้นของสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่เหลือได้โดยอาศัยความสัมพันธ์ดังนี้

$$M_1V_1 = M_2V_2$$

โดย M_1 = ความเข้มข้นของ NaOH ที่ใช้ไทเทรต = 0.1022 M

V_1 = ปริมาตรของ NaOH ที่ใช้ไทเทรต = 45.73 มล

M_2 = ความเข้มข้นของ HCl ที่เหลือ (M)

V_2 = ปริมาตรของ HCl = 50.00 มล.

แทนค่าลงในสมการทำให้ได้ผลดังนี้

$$0.1022 \times 45.73 = M_2 \times 50.00$$

$$M_2 = \frac{0.1022 \times 45.73}{50.00}$$

$$= 0.0935 \text{ M}$$

ดังนั้น ความเข้มข้นของ HCl ที่เหลือ เท่ากับ 0.0935 M

เนื่องจาก ความเข้มข้นของ HCl ที่จับก๊าซแอมโมเนีย = A-B

โดยที่ A = ความเข้มข้นของ HCl ทั้งหมด

$$\begin{aligned}
 B &= \text{ความเข้มข้นของ HCl ที่เหลือ} \\
 \text{ดังนั้นความเข้มข้นของ HCl ที่จับกับก๊าซ NH}_3 &= 0.1063 - 0.0935 \text{ M} \\
 &= 0.0128 \text{ M} \\
 \text{เนื่องจาก HCl ที่ใช้} &= 50 \text{ มล.} \\
 \text{ดังนั้น จำนวนโมลของ HCl} &= \frac{0.0128 \times 50}{1000} \text{ โมล} \\
 &= 0.00064 \text{ โมล} \\
 \text{เนื่องจากจำนวนโมลของ HCl ที่จับ NH}_3 &= (\text{จำนวนโมลของ NH}_3 \text{ ที่เกิดจากโปรตีน} \\
 &\quad \text{ในเปลือกมะละกอ}) \\
 \text{ดังนั้นจำนวนโมลของ NH}_3 \text{ ที่เกิดจากโปรตีนในเปลือกมะละกอ} &= 0.00064 \text{ โมล} \\
 \text{เนื่องจาก 1 โมล ของ NH}_3 \text{ มี N} &= 14 \text{ กรัม} \\
 \text{ดังนั้น 0.00064 โมล ของ NH}_3 \text{ มี N} &= 14 \times 0.00064 \\
 &= 0.00896 \text{ กรัม} \\
 \text{เนื่องจาก Factor ในการหาปริมาณของโปรตีนในพืช} &= 6.25 \\
 \text{ดังนั้น ปริมาณโปรตีนในเปลือกมะละกอ 0.5 กรัม} &= 0.00896 \times 6.25 \text{ กรัม} \\
 &= 0.056 \text{ กรัม} \\
 \text{ดังนั้นเปลือกมะละกอแห้ง 100 กรัม จะได้ปริมาณโปรตีน} &= \frac{0.056 \times 100}{0.5000} \text{ กรัม} \\
 &= 11.2 \text{ กรัม}
 \end{aligned}$$

ในทำนองเดียวกัน สามารถคำนวณปริมาณโปรตีนในเนื้อมะละกอ 100 กรัม ได้ 4.55 กรัม (ตาราง 3.2)

ตาราง 3.2 ปริมาตรของ 0.1022 M NaOH ที่ใช้ในการไทเทรตหาปริมาณโปรตีนจากเปลือกและเนื้อมะละกอแห้งตัวอย่างละ 0.5000 กรัม

ตัวอย่างมะละกอ	ปริมาตร NaOH (มล.)				ปริมาณโปรตีน (มก.)
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	
เปลือก	45.70	44.40	41.70	45.73	56.00
เนื้อ	49.10	49.55	49.70	49.45	22.75

3.1.3 ปริมาณลิปิด

การสกัดลิปิดจากเปลือกและเนื้อมะละกอแห้ง 100 กรัม อย่างละ 3 ตัวอย่าง ด้วยเฮกเซน ได้ลิปิด ดังตาราง 3.3 ซึ่งพบว่าเปลือกและเนื้อมะละกอแห้ง 100 กรัม มีลิปิดโดยเฉลี่ย 2.453 และ 0.519 กรัม ตามลำดับ

ตาราง 3.3 ปริมาณลิปิดที่สกัดจากเปลือกและเนื้อมะละกอแห้ง 100 กรัม

ตัวอย่างมะละกอ	ปริมาณลิปิด (กรัม)			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย
เปลือก	2.658	2.281	2.419	2.453 ± 0.191
เนื้อ	0.572	0.556	0.429	0.519 ± 0.078

3.1.4 จี๊เถ้า

การเผาเปลือกและเนื้อมะละกอแห้งที่ 600°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ทำให้ได้จี๊เถ้าสีขาว ในปริมาณจี๊เถ้าคิดเป็นร้อยละโดยเฉลี่ย 8.82 และ 6.60 % ตามลำดับ (ตาราง 3.4) ซึ่งแสดงว่าในเปลือกมะละกอมีอนินทรีย์วัตถุมากกว่าในเนื้อมะละกอ

ตาราง 3.4 ปริมาณร้อยละของจี๊เถ้าที่ได้จากการเผาเปลือกและเนื้อมะละกอแห้ง

ตัวอย่างมะละกอ		จี๊เถ้า		
ชนิด	น้ำหนัก (กรัม)	กรัม	%	% เฉลี่ย
เปลือก	1.0022	0.0891	8.89	8.89 ± 0.08
	1.0041	0.0901	8.97	
	1.0015	0.0883	8.82	
เนื้อ	1.0026	0.0643	6.41	6.60 ± 0.16
	1.0009	0.0670	6.69	
	1.0013	0.0681	6.70	

3.1.5 ปริมาณคาร์โบไฮเดรต

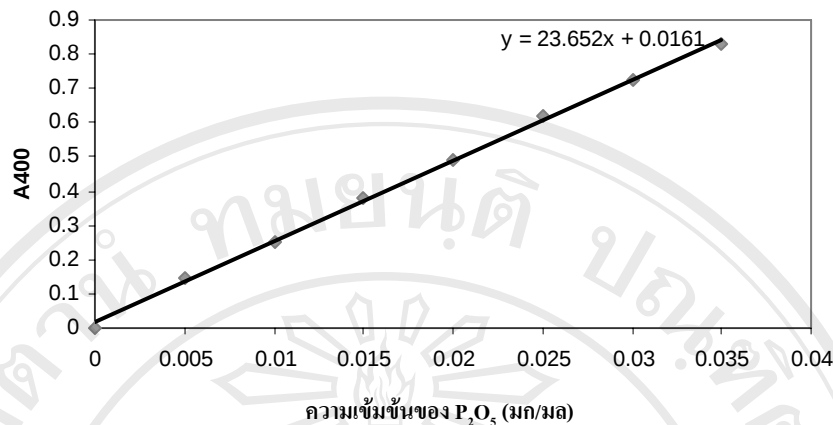
เนื่องจาก ปริมาณคาร์โบไฮเดรต = $100 - \text{ปริมาณโปรตีน} - \text{ลิพิด} - \text{จีเอ็ม}$
ดังนั้นในเปลือกมะละกอแห้งมีคาร์โบไฮเดรต = $100 - 11.2 - 2.45 - 8.89$
= 77.46% โดยน้ำหนัก
ดังนั้นในเนื้อมะละกอแห้งมีคาร์โบไฮเดรต = $100 - 4.55 - 0.52 - 6.60$
= 88.73% โดยน้ำหนัก

3.1.6 ปริมาณฟอสฟอรัส

การหาปริมาณฟอสฟอรัสในเปลือกและเนื้อมะละกอด้วยวิธี Spectrophotometry ซึ่งได้จากการใช้สารละลายโมลิบดีนัมคอปเปอร์ปฏิกิริยากับฟอสฟอรัสจนเกิดสารประกอบที่มีสีและค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ 400 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงจากเปลือกและเนื้อมะละกอเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลาย KH_2PO_4 ซึ่งคำนวณอยู่ในรูปของ P_2O_5 โดยค่าดูดกลืนแสงของ P_2O_5 ที่ความเข้มข้นต่างๆ ได้ผลดังตาราง 3.5 และเมื่อเขียนกราฟมาตรฐานทำให้ได้รูป 3.2 สารละลายเปลือกและเนื้อมะละกอที่เตรียมโดยใช้เปลือกหรือเนื้อมะละกอแห้ง 2.0 กรัม (อย่างละ 3 ตัวอย่าง) และได้สารละลายทั้งหมด 100 มล. เมื่อนำสารละลายจากเปลือก (เจือจาง 20 เท่า) และ

ตาราง 3.5 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 400 นาโนเมตร ของสารละลายมาตรฐานในการหาปริมาณฟอสฟอรัส โดยวิธี spectrophotometry

ความเข้มข้นของ P_2O_5 (มก./มล.)	A_{400}			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย
0	0	0	0	0
0.005	0.145	0.145	0.141	0.144
0.010	0.254	0.249	0.254	0.252
0.015	0.381	0.376	0.381	0.379
0.020	0.494	0.490	0.489	0.491
0.025	0.618	0.619	0.617	0.618
0.030	0.722	0.720	0.729	0.724
0.035	0.832	0.827	0.837	0.832



รูป 3.2 กราฟมาตรฐานของการหาปริมาณฟอสฟอรัสโดยวิธี Spectrophotometry

เมื่อมะละกอไปตรวจสอบปริมาณของฟอสฟอรัสโดยวิธี Spectrophotometry ได้ค่าดูดกลืนแสงที่ 400 นาโนเมตรของสารละลายจากเปลือกและเนื้อมะละกอ เท่ากับ 0.389 และ 0.483 ตามลำดับ ซึ่งเมื่อนำไปเทียบหาค่าความเข้มข้นของฟอสฟอรัสจากกราฟมาตรฐาน ทำให้ได้ค่าความเข้มข้นของ P_2O_5 ในเปลือกที่เจือจาง 20 เท่า และเนื้อมะละกอเป็น 0.016 และ 0.020 มก./มล. ตามลำดับ (ตาราง 3.6)

เนื่องจากสารละลายนี้มีปริมาตรทั้งหมด 100 มล. นั่นคือ เปลือกและเนื้อมะละกอที่แห้ง 2.0 กรัม มี P_2O_5 เป็น 32 และ 2 มก. ตามลำดับ เนื่องจากใน P_2O_5 141.9 กรัม (มวลโมเลกุล) ประกอบด้วย ฟอสฟอรัส (P) 31 กรัม ดังนั้น เมื่อคำนวณเป็นปริมาณของฟอสฟอรัสในเปลือกและเนื้อมะละกอแห้งได้เท่ากับ 14 และ 1.75 มก. และคิดเป็นร้อยละ 0.70 และ 0.088 ตามลำดับ

ตาราง 3.6 ความเข้มข้นของ P_2O_5 ในสารละลายที่ได้จากเปลือกและเนื้อมะละกอ 2 กรัม

ตัวอย่างมะละกอ	A400				ความเข้มข้นของ P_2O_5 (มก./มล.)	ฟอสฟอรัส (มก.)
	1	2	3	เฉลี่ย		
เปลือก (เจือจาง 20 เท่า)	0.391	0.39	0.387	0.389	0.016	14
เนื้อ	0.48	0.484	0.484	0.483	0.020	1.75

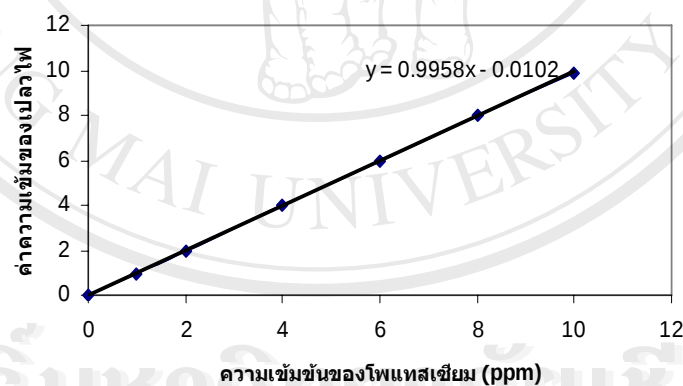
3.1.7 ปริมาณโพแทสเซียม

การหาปริมาณของโพแทสเซียมในเปลือกและเนื้อมะละกอโดยวิธีทาง Flame photometer นั้น ได้ใช้สารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์มาตรฐานเป็นสารเปรียบเทียบ เมื่อวัดค่า

ความเข้มของเปลวไฟ (emission intensity) ของสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ ทำให้ได้ค่าความเข้มของเปลวไฟดังตาราง 3.7 และเมื่อเขียนกราฟมาตรฐานทำให้ได้กราฟดังรูป 3.3

ตาราง 3.7 ค่าความเข้มของเปลวไฟของสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียม

ความเข้มข้นของโพแทสเซียม (พิพิเอ็ม)	ความเข้มของเปลวไฟ			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
1.0	1.0	0.9	1.0	1.0
2.0	1.9	1.9	2.0	1.9
4.0	4.0	3.8	4.3	4.0
6.0	6.0	5.7	6.2	6.0
8.0	8.0	8.0	8.0	8.0
10.0	9.6	9.8	10.3	9.9



รูป 3.3 กราฟมาตรฐานของการหาปริมาณโพแทสเซียมโดยวิธีทาง Flame photometer

สารละลายเปลือกและเนื้อมะละกอซึ่งเตรียมจากเปลือกและเนื้อ 2.0 กรัม ที่นำไปเผาที่ 600 °C จนได้ขี้เถ้าสีขาวและละลายด้วยกรดไฮโดรคลอริกให้มีปริมาตรสารละลายทั้งหมด 100 มล. (อย่างละ 3 ตัวอย่าง) เมื่อเจือจางสารละลายจากเปลือก 250 เท่า และเจือจางสารละลายจากเนื้อมะละกอ 20 เท่าแล้วนำไปตรวจสอบปริมาณของโพแทสเซียมโดยวิธีทาง Flame photometer ได้ค่าความเข้มของเปลวไฟโดยเฉลี่ยของสารละลายจากเปลือกและเนื้อเท่ากับ 8.1 และ 3.5 ตามลำดับ

ซึ่งเมื่อนำไปเทียบหาค่าความเข้มข้นของโพแทสเซียมจากกราฟมาตรฐาน ทำให้ได้ค่าความเข้มข้นของโพแทสเซียมในเปลือก (เงื๋อจาง 250 เท้า) และเนื้อมะละก๋อ (เงื๋อจาง 20 เท้า) มีค่าเท่ากับ 3.54 และ 8.12 พีพีเอ็ม ตามลำดับ (ตาราง 3.8) เนื่องจกสารละลายนี้มีปริมาตรทั้งหมด 100 มล. นั่นคือเปลือกและเนื้อมะละก๋อแห่ง 2 กรัม มีปริมาณโพแทสเซียม 88.5 และ 16.24 มก. ตามลำดับ และคำนวณคิดเป็นร้อยละ 4.42 และ 0.81 ตามลำดับ

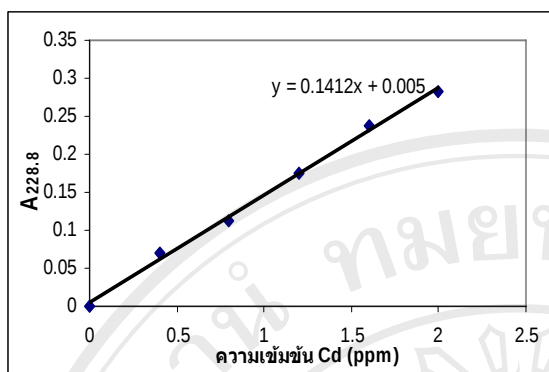
ตาราง 3.8 ปริมาณโพแทสเซียมในเปลือกและเนื้อมะละก๋อแห่ง 2 กรัม

สารละลายตัวอย่าง มะละก๋อ	ค่าความเข้มของเปลวไฟ				โพแทสเซียม	
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ความเข้มขั่น (พีพีเอ็ม)	(มก)
เปลือก (เงื๋อจาง 250 เท้า)	3.4	3.7	3.5	3.5	3.54	88.5
เนื้อ (เงื๋อจาง 20 เท้า)	8.3	8.0	8.0	8.1	8.12	16.24

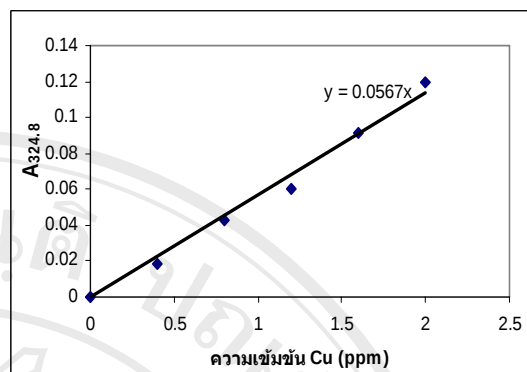
3.1.8 ปริมาณโลหะหนักและแร่ธาตุบางชนิด

ในการหาปริมาณของโลหะหนักและแร่ธาตุบางชนิดที่สำคัญในเปลือกและเนื้อมะละก๋อแห่งโดยวิธี AAS นั้น ทำโดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 324.8, 228.8, 283.3, 213.9, 285.2 และ 279.5 นาโนเมตรของเปลวไฟจากการเผาไหม้สารละลายมาตรฐาน Cd, Cu, Pb, Zn, Mg และ Mn ตามลำดับ เมื่อนำไปเขียนกราฟมาตรฐานทำให้ได้กราฟดังรูป 3.4 สารละลายเปลือกและเนื้อมะละก๋อซึ่งเตรียมจากเปลือกและเนื้อมะละก๋อแห่ง 0.50 กรัม อย่างละ 3 ตัวอย่าง มีปริมาตรสารละลายตัวอย่างละ 50 มล. มีค่าดูดกลืนแสงของเปลวไฟจากการเผาไหม้ของโลหะหนักและแร่ธาตุต่างๆ ดังแสดงในตาราง 3.9

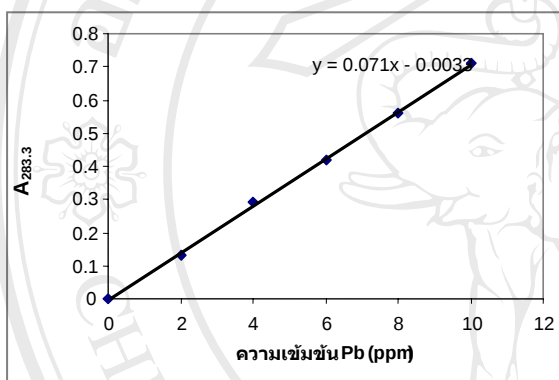
เมื่อเทียบกับกราฟมาตรฐานรูป 3.4 ทำให้คำนวณหาปริมาณโลหะหนักและแร่ธาตุค่อน้ำหนักเปลือกและเนื้อมะละก๋อแห่ง 0.5 กรัม ได้ผลแสดงในตาราง 3.10 และคำนวณหาปริมาณของ Cd, Cu, Zn, Mg และ Mn ในเปลือกมะละก๋อแห่ง 100 กรัม ได้เท่ากับ 3.71, 12.63, 9.596, 4.21 และ 25.62 มก. ตามลำดับ ในขณะที่ในเนื้อมะละก๋อแห่ง 100 กรัม มี Cd, Cu, Zn, Mg และ Mn เท่ากับ 8.59, 8.11, 15.19, 74.26 และ 22.74 มก. ตามลำดับ ซึ่งแสดงว่าในเปลือกมะละก๋อมี Cu, Zn และ Mn มากกว่าในเนื้อมะละก๋อ 1.6, 6.3 และ 1.1 เท่า ตามลำดับ แต่ในเนื้อมะละก๋อมี Cd และ Mg มากกว่าในเปลือกมะละก๋อ 2.3 และ 1.2 เท่า ตามลำดับ แร่ธาตุที่พบมากที่สุดใเปลือกและเนื้อมะละก๋อ คือ แมกนีเซียม แต่ไม่พบตะกั่วในตัวอย่างทั้งสอง



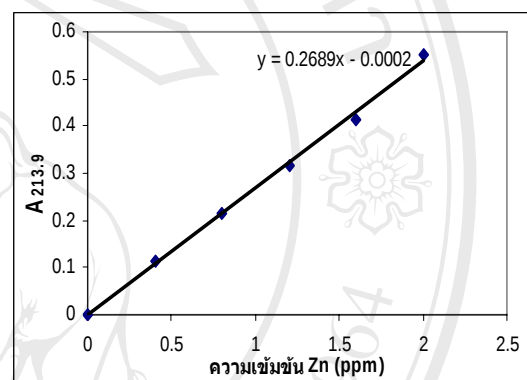
(ก)



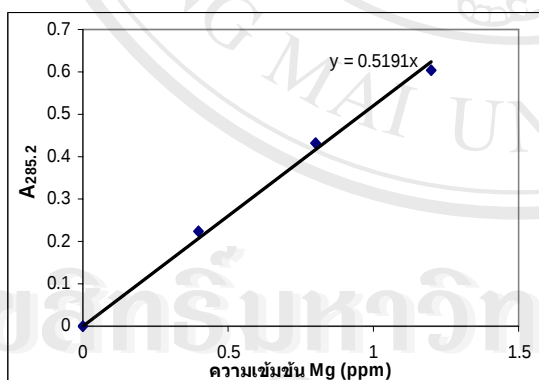
(ข)



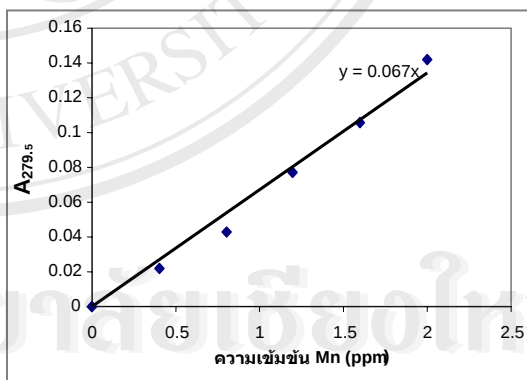
(ค)



(ง)



(จ)



(ฉ)

รูป 3.4 กราฟมาตรฐานของสารละลายโลหะหนักและแร่ธาตุชนิดต่างๆ

(ก) Cd (ข) Cu (ค) Pb (ง) Zn (จ) Mg และ (ฉ) Mn

ตาราง 3.9 ปริมาณของโลหะหนักและแร่ธาตุบางชนิดในเปลือกและเนื้อมะละกอแห้ง 0.50 กรัม

ชนิดของโลหะหนัก	เปลือกมะละกอ				เนื้อมะละกอ			
	ค่าการดูดกลืนแสงของเปลวไฟ		โลหะหนัก		ค่าการดูดกลืนแสงของเปลวไฟ		โลหะหนัก	
	ตัวอย่าง	เฉลี่ย	พีพีเอ็ม	มก	ตัวอย่าง	เฉลี่ย	พีพีเอ็ม	มก
Cu	0.071	0.072	1.264	0.063	0.052	0.046	0.811	0.040
	0.068				0.057			
	0.076				0.029			
Cd	0.025	0.057	0.371	0.018	0.110	0.126	0.859	0.043
	0.065				0.120			
	0.082				0.149			
Mg	3.477	3.330	6.42	0.321	3.828	3.890	7.43	0.371
	3.242				3.851			
	3.281				3.886			
Mn	0.169	0.172	2.562	0.128	0.187	0.152	2.274	0.114
	0.189				0.115			
	0.157				0.155			
Zn	0.231	0.258	0.959	0.048	0.575	0.408	0.152	0.076
	0.291				0.356			
	0.251				0.294			

3.2 เสมิเซลลูโลสจากเปลือกและเนื้อมะละกอ

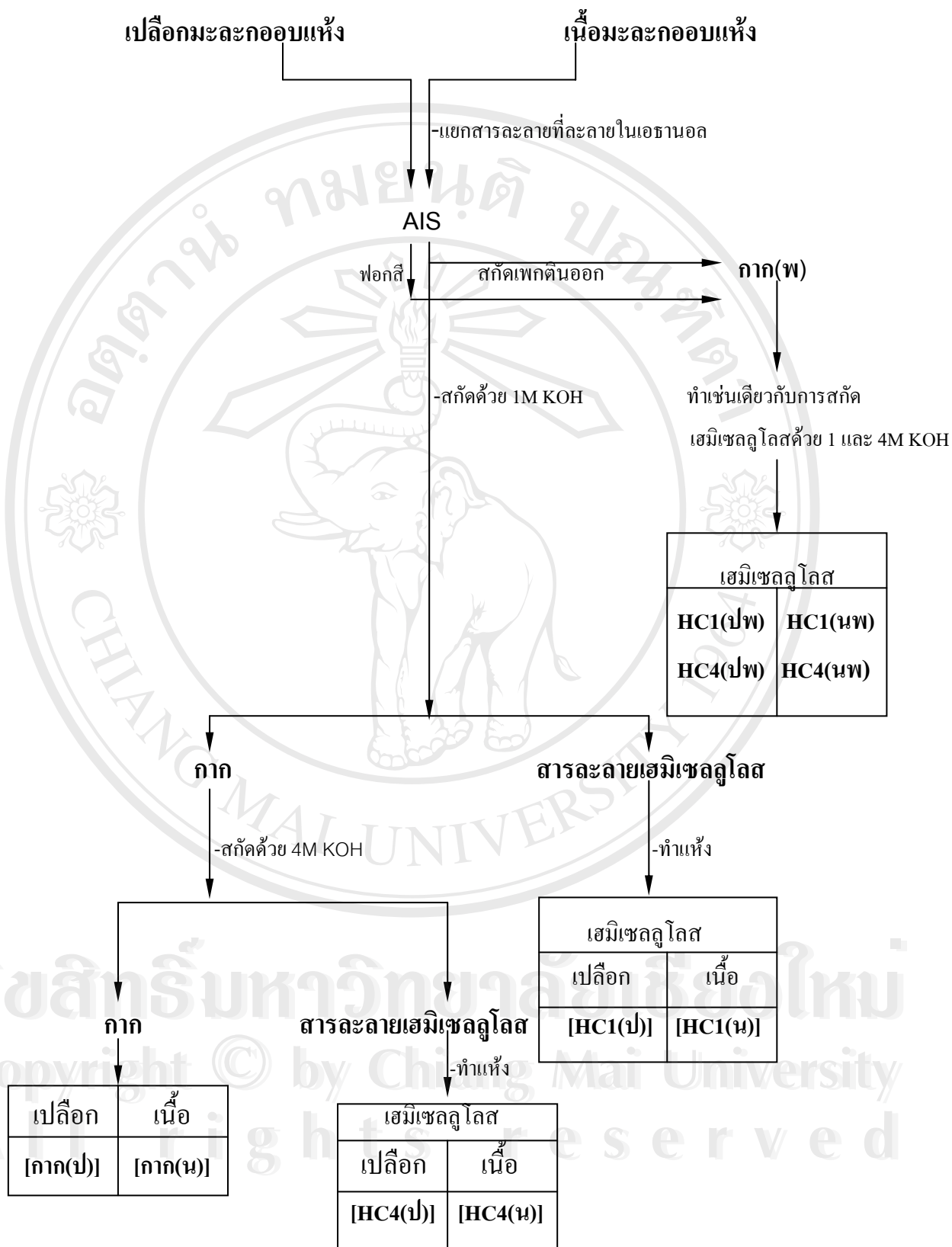
เปลือกและเนื้อมะละกอที่นำมาสกัดเสมิเซลลูโลส ได้ผ่านการแยกสิ่งเจือปนที่เป็นองค์ประกอบของเซลล์ซึ่งละลายได้ในน้ำออกไปโดยการต้มในเอธานอล สารอื่นๆ ถูกกำจัดออกไปอยู่ในสารละลาย ส่วนกากที่ได้เรียกชื่อว่า **Alcohol-Insoluble Solid (AIS)** ซึ่งมีเสมิเซลลูโลสเป็นส่วนประกอบ เปลือกและเนื้อมะละกอแห้งอย่างละ 3 ตัวอย่างๆ ละ 50 กรัม เมื่อสกัดด้วยเอธานอลที่ร้อนแล้วได้ปริมาณของ AIS ดังตารางที่ 3.10 และคำนวณได้ร้อยละของ AIS ในเปลือกและเนื้อมะละกอเท่ากับ 58.60 และ 37.37 ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ในเนื้อมีส่วนอื่นๆ ที่ละลายน้ำได้มากกว่าในเปลือกมะละกอ

ตาราง 3.10 น้ำหนักและร้อยละของเปลือกและเนื้อมะละกอที่ได้จากการสกัดแยกสารที่ละลาย
เอธานอลออกไปจากน้ำหนักเริ่มต้น 50 กรัม

ตัวอย่างมะละกอ	AIS		
	น้ำหนัก (กรัม)	ร้อยละ	เฉลี่ยร้อยละ
เปลือก	26.15	52.30	58.60 ± 6.40
	29.02	58.40	
	31.35	65.10	
เนื้อ	19.00	38.00	37.37 ± 3.59
	16.80	33.50	
	20.30	40.60	

3.2.1 ผลผลิตของเฮมิเซลลูโลส

ตัวอย่างเปลือกและเนื้อมะละกอแห้งอย่างละ 3 ตัวอย่างๆ ละ 100 กรัม ถูกนำไปวิเคราะห์หาความชื้น ปริมาณโปรตีน ลิพิด กลีโคอนินทรีย์ โพลีแซคคาไรด์ ฟอสฟอรัส และโลหะหนักชนิดต่างๆ ก่อนนำไปเตรียม AIS จากนั้นจึงแยกเฮมิเซลลูโลสโดยการสกัดด้วยสารละลาย โพลีแซคคาไรด์ไฮดรอกไซด์ 1 และ 4 M ต่อเนื่องกัน (รูป 3.5) เฮมิเซลลูโลสจากเปลือกและเนื้อมะละกอโดยการสกัดด้วย 1 M KOH คือ HC1(ป) และ HC1(น) ตามลำดับ ส่วนเฮมิเซลลูโลสจากเปลือกและเนื้อมะละกอที่สกัดด้วย 4 M KOH คือ HC4(ป) และ HC4(น) ตามลำดับ กากเปลือกและเนื้อมะละกอที่เหลือจากการสกัดด้วย 4 M KOH คือ กาก(ป) และ กาก(น) ตามลำดับ AIS ของเปลือกและเนื้อมะละกออย่างละ 3 ตัวอย่างๆ ละ 50 กรัม ถูกสกัดเพกตินออกไปก่อนสกัดเฮมิเซลลูโลสเช่นเดียวกับกรณีที่ไม่สกัดเพกติน (รูป 3.6) น้ำหนักของเฮมิเซลลูโลสที่ได้จากแต่ละตัวอย่างแสดงไว้ในตาราง 3.11 เมื่อคำนวณปริมาณร้อยละโดยน้ำหนักของเฮมิเซลลูโลสแต่ละชนิดต่อน้ำหนักเปลือกหรือเนื้อมะละกอแห้ง 100 กรัม พบว่า ร้อยละปริมาณของเฮมิเซลลูโลสทั้งหมดของเปลือก [HC1(ป) + HC4(ป)] และเนื้อมะละกอ [HC1(น) + HC4(น)] มีค่าเท่ากับ 17.27 และ 16.72



รูป 3.5 แผนผังที่มาของเฮมิเซลลูโลสแต่ละชนิดจากเปลือกและเนื้อมะละกอ

ตาราง 3.11 ปริมาณเฮมิเซลลูโลสที่สกัดได้จากเปลือกและเนื้อมะละกอแห้ง 50 กรัม

ตัวอย่าง มะละกอ	ชนิดของ เฮมิเซลลูโลส	เฮมิเซลลูโลส				
		น้ำหนัก (กรัม)				ร้อยละ
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	
เปลือก	HC1(ป)	5.64	5.98	6.16	5.98 ± 0.26	11.80
	HC4 (ป)	3.42	2.22	2.56	2.74 ± 0.62	5.47
	กาก(ป)	8.96	17.16	23.46	16.53 ± 7.27	33.05
	HC1(ปพ)	0.51	0.54	0.50	0.52 ± 0.02	1.04
	HC4(ปพ)	0.65	0.76	0.70	0.70 ± 0.06	1.40
	กาก(ปพ)	4.67	4.62	4.65	4.65 ± 0.03	9.30
เนื้อ	HC1(น)	3.35	2.68	3.89	3.31 ± 0.60	6.61
	HC4(น)	5.49	3.70	5.98	5.06 ± 1.20	10.11
	กาก(น)	9.59	11.70	8.75	10.01 ± 1.52	20.02
	HC1(นพ)	0.74	0.70	0.74	0.59 ± 0.22	1.18
	HC4(นพ)	0.49	0.76	0.56	0.62 ± 0.19	1.24
	กาก(นพ)	7.48	6.32	6.69	6.90 ± 0.82	13.80

3.2.2 ปริมาณความชื้นของเฮมิเซลลูโลส

เฮมิเซลลูโลสที่อบที่ 100°C จนได้น้ำหนักคงที่ เมื่อคำนวณหาร้อยละความชื้นจากน้ำหนักที่หายไประหว่างอบได้ผลดังแสดงในตาราง 3.12 ซึ่งพบว่าเฮมิเซลลูโลสส่วนมากที่ได้จากเปลือกและเนื้อมะละกามีความชื้นอยู่ในช่วง 10-15 %

3.2.3 จี๊ถ้ำ

การเผาเฮมิเซลลูโลสชนิดต่างๆ จากเปลือกและเนื้อมะละกอชนิดละ 3 ตัวอย่างๆ ละประมาณ 30 มก. ทำให้ได้จี๊ถ้ำสีขาวที่มีน้ำหนักดังแสดงในตาราง 3.13 โดยพบว่าเฮมิเซลลูโลสจากเปลือกที่สกัดด้วย 1 M KOH [HC1(ป)] มีอนินทรีย์วัตถุปนอยู่มากกว่าชนิดอื่นๆ และเฮมิเซลลูโลสทั้งหมดที่สกัดจากเปลือก [HC1(ป) และ HC4(ป)] มีอนินทรีย์วัตถุมากกว่าเฮมิเซลลูโลสทั้งหมดที่ได้จากเนื้อ [HC1(น) และ HC4(น)] เพียง 0.92% เท่านั้น



รูป 3.6 SEM ของผลึกซิลิกาจากเปลือก [HC1(ป) (1), HC4(ป) (2)] และเนื้อมะละกอ [HC1(น) (3), HC4(น) (4)] ที่ไม่ผ่านการสกัดเพกติน (ก) และผ่านการสกัดเพกตินออก (ข)

ตาราง 3.12 ร้อยละของความชื้นในเฮมิเซลลูโลสชนิดต่างๆจากเปลือกและเนื้อมะละกอ

เฮมิเซลลูโลส			ร้อยละความชื้น	
ชนิด	น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม)	น้ำหนักที่ลดลง (กรัม)	ความชื้น	เฉลี่ย
เปลือก	0.0313	0.0039	12.46	11.27 ± 1.79
	0.0307	0.0038	12.38	
	0.0314	0.0042	13.38	
	0.0322	0.0049	15.22	12.86 ± 0.66
	0.0322	0.0046	14.28	
	0.0326	0.0046	14.11	
	0.0346	0.0037	10.69	11.33 ± 1.21
	0.0338	0.0043	12.72	
	0.035	0.0037	10.57	
เนื้อ	0.0335	0.0038	11.34	11.93 ± 0.55
	0.0316	0.0038	12.02	
	0.0322	0.004	12.42	
เนื้อ	0.0316	0.0044	13.92	12.87 ± 1.94
	0.032	0.0034	10.62	
	0.0306	0.0043	14.05	
เนื้อ	0.0334	0.003	8.98	8.67 ± 0.61
	0.0331	0.003	9.06	
	0.0326	0.0026	7.98	
เนื้อ	0.0313	0.0029	9.26	12.74 ± 0.55
	0.0312	0.0037	11.86	
	0.0315	0.004	12.7	
เนื้อ	0.0332	0.0043	12.95	14.54 ± 0.59
	0.0312	0.0042	13.46	
	0.0329	0.004	12.16	

ตาราง 3.13 น้ำหนักและปริมาณร้อยละของขี้เถ้าที่ได้จากการเผาเฮมิเซลลูโลสชนิดต่างๆ จากเปลือกและเนื้อมะละกอ

เฮมิเซลลูโลส	น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)	ขี้เถ้า			
		น้ำหนัก (กรัม)	% ขี้เถ้า	% เกลี่ย	
เปลือก	HC1(ป)	0.0330	0.0030	9.09	8.44 ± 0.60
		0.0329	0.0026	7.90	
		0.0336	0.0028	8.33	
	HC4(ป)	0.0335	0.0016	4.78	4.54 ± 0.23
		0.0325	0.0014	4.31	
		0.0330	0.0015	4.55	
เนื้อ	HC1(น)	0.0320	0.0017	5.31	5.27 ± 0.07
		0.0327	0.0017	5.20	
		0.0320	0.0017	5.31	
	HC4(น)	0.0330	0.0026	7.88	6.79 ± 0.99
		0.0335	0.0022	6.57	
		0.0320	0.0019	5.94	

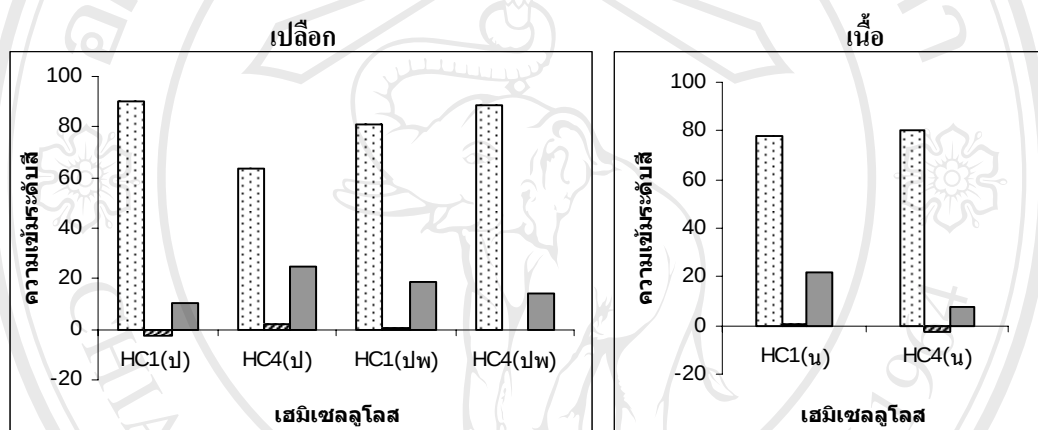
3.2.4 ความเข้มข้นระดับสี

เนื่องจากเปลือกมะละกอมีสีเขียวของคลอโรฟิลล์ ดังนั้นจึงทำให้เฮมิเซลลูโลสจากเปลือกมะละกอมีสีขาวน้อยกว่าเฮมิเซลลูโลสที่ได้จากเนื้อมะละกอ ดังนั้นในการเตรียมเฮมิเซลลูโลสจากเปลือกมะละกอจึงได้ฟอกสีด้วยโซเดียมคลอไรท์ และผลการวัดความขาวและความเข้มสีของเฮมิเซลลูโลสจากเปลือกและเนื้อมะละกอได้แสดงไว้ในตาราง 3.14

นอกจากค่าความขาวซึ่งมีหน่วยระหว่าง 0 – 100 เครื่อง X-Rite CDM ยังวัดความเข้มระดับสีที่แฝงอยู่กับความขาวของผลิตภัณฑ์ ซึ่งได้แก่ ช่วงสีเขียว-แดง และช่วงสีน้ำเงิน-เหลือง โดยค่าลบแสดงว่ามีสีก่อนไปทางสีเขียวและสีน้ำเงิน ตามลำดับ และค่าบวกแสดงถึงสีที่ก่อนไปทางสีแดงและสีเหลือง ตามลำดับ ผลการทดลองในรูป 3.7 แสดงว่า เฮมิเซลลูโลสจากเปลือกที่ฟอกสี [HC1(ปพ) และ HC4(ปพ)] แล้วมีความขาวมากกว่าเฮมิเซลลูโลสจากเปลือกที่สกัดด้วย 4 M KOH [HC4(ป)] และเนื้อที่ไม่ฟอกสี [HC1(น) และ HC4(น)] แต่ HC1(ป) มีความขาวมากที่สุด เฮมิเซลลูโลสทุกตัวอย่างของเปลือกและเนื้อมะละกอมีสีเหลืองปน นอกจากนี้ยังมีสีเขียวและสีแดงปนในบางตัวอย่าง

ตาราง 3.14 ความขาวและความเข้มระดับสีของเฮมิเซลลูโลสที่ได้จากเปลือกและเนื้อมะละกอ

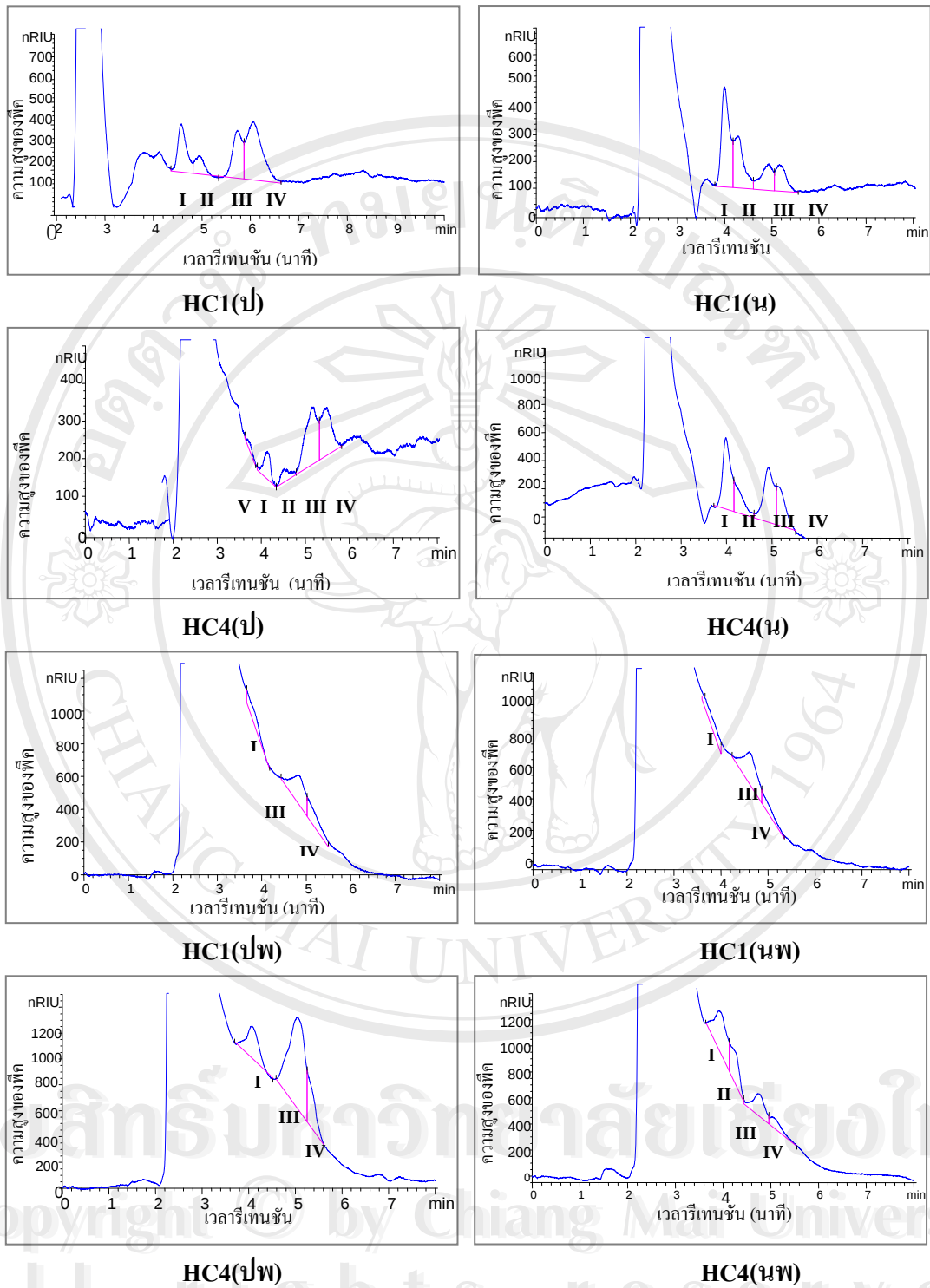
เฮมิเซลลูโลส	ความขาว	สีเขียว-แดง	สีน้ำเงิน-เหลือง
HC1(ป)	+89.88±0.46	-2.19±0.29	+10.23±0.22
HC4(ป)	+63.71±0.16	+1.86±0.02	+24.97±0.02
HC1(ปพ)	+81.08±0.51	+0.23±0.30	+18.55±0.61
HC4(ปพ)	+88.54±0.86	-0.24±0.24	+14.37±0.29
HC1(น)	+77.98±0.37	+0.35±0.61	+21.95±0.44
HC4(น)	+80.38±0.01	-2.76±0.13	+7.56±0.25



รูป 3.7 ความเข้มสี (ขาว = □, เขียว-แดง = ▨, น้ำเงิน-เหลือง=■) ของเฮมิเซลลูโลสจากเปลือกมะละกอ 4 ตัวอย่าง [HC1(ป), HC4(ป), HC1(ปพ), HC4(ปพ)] และเนื้อมะละกอ 2 ตัวอย่าง [HC1(น), HC4(น)]

3.2.5 ชนิดและปริมาณน้ำตาลองค์ประกอบ

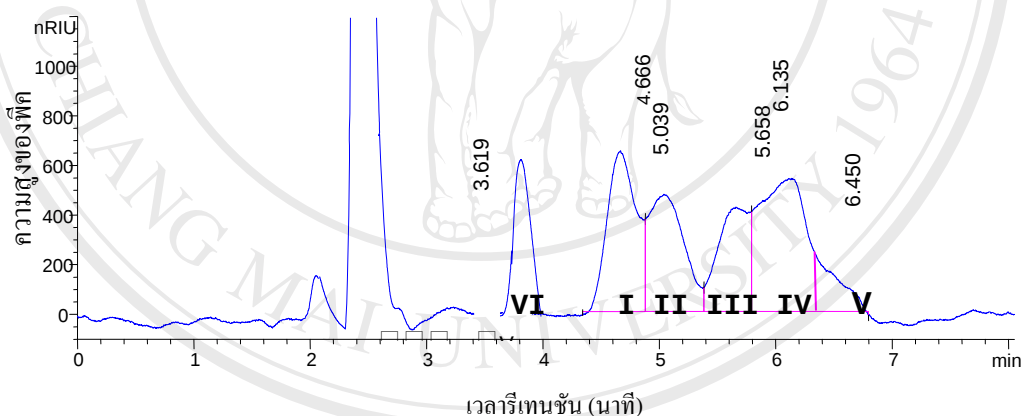
การหาชนิดและปริมาณน้ำตาลองค์ประกอบของเฮมิเซลลูโลสจากเปลือกและเนื้อมะละกอดังกล่าว ได้แก่ HC1(ป), HC4(ป), HC1(น), HC4(น), HC1(ปพ), HC4(ปพ), HC1(นพ) และ HC4(นพ) ทำได้โดยการไฮโดรไลส์เฮมิเซลลูโลสเหล่านี้ อย่างละ 3 ตัวอย่างๆ ละ 20 มก. ด้วยกรดซัลฟิวริก 1 M ปรากฏว่าได้สารละลายจากการไฮโดรไลส์ของแต่ละตัวอย่างเท่ากับ 12 มล. ซึ่งจากการไฮโดรไลส์นี้ทำให้เฮมิเซลลูโลสถูกย่อยสลายเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวชนิดต่างๆ และกรดยูโรนิก อยู่ในสารละลายดังกล่าว การวิเคราะห์หาน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบในเฮมิเซลลูโลสด้วย HPLC ทำให้ได้โครมาโทแกรมของตัวอย่างต่างๆ ของเฮมิเซลลูโลสจากเปลือกและเนื้อมะละกอดังรูป 3.78



รูป 3.8 โครมาโทแกรมของเฮมิเซลลูโลสชนิดต่างๆ ที่ได้จากเปลือกและเนื้อมะละกอ ซึ่งได้ฟิคว
ของ ไซโลส(I) อะราบิโนส(II) กลูโคส(III) กาแล็กโตส(IV) และแรมโนส(V)

เมื่อเทียบเวลาริเทนชันของพีคต่างๆ กับเวลาริเทนชันของน้ำตาลมาตรฐาน ซึ่งได้แก่ กลูโคส กาแล็กโตส ไซโลส แมนโนส แรมโนส และอะราบินอส (รูป 3.9) ทำให้ทราบชนิดของน้ำตาลองค์ประกอบในเฮมิเซลลูโลส

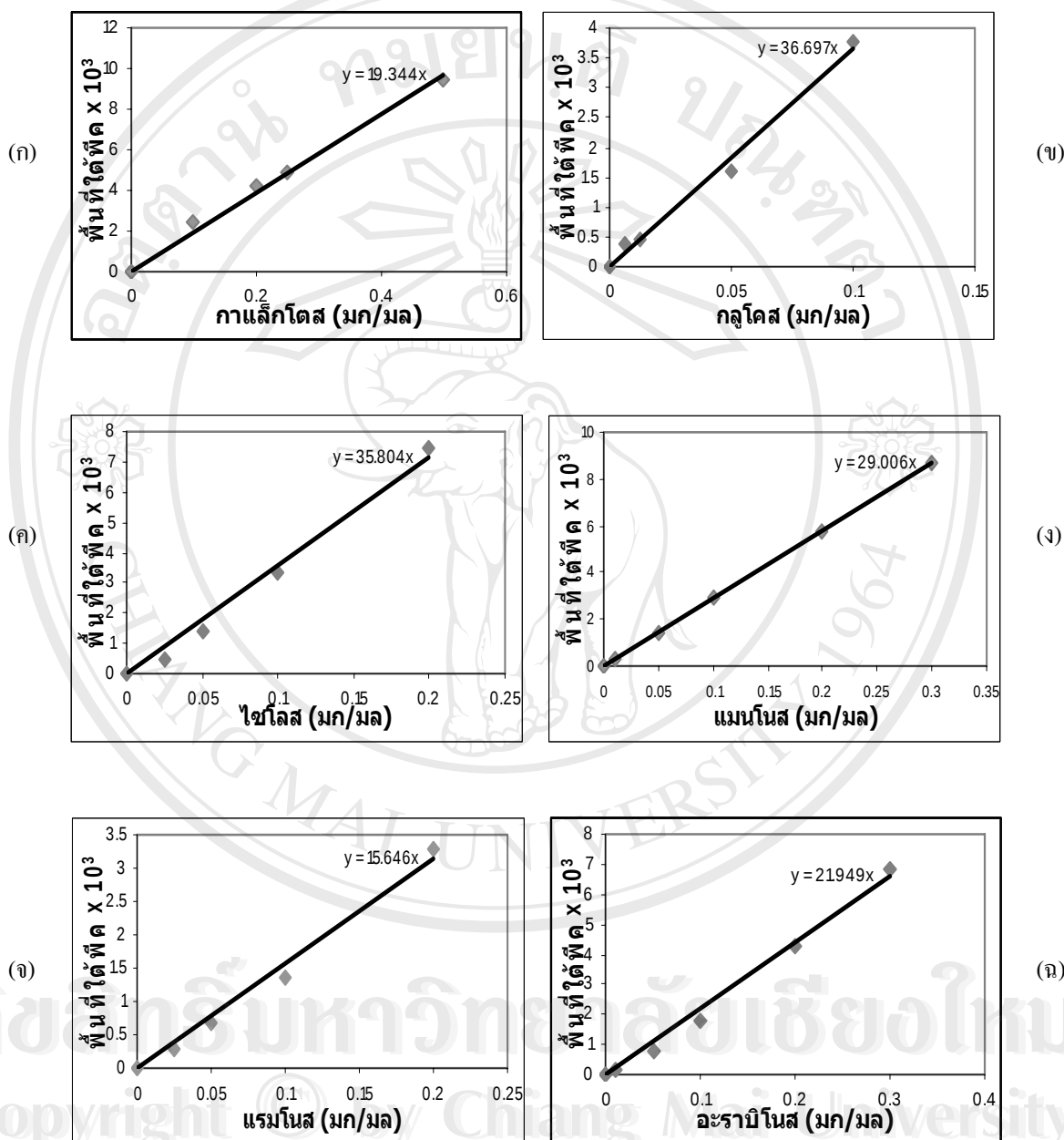
การคำนวณหาปริมาณของน้ำตาลองค์ประกอบแต่ละชนิดในเฮมิเซลลูโลส ทำได้โดยใช้กราฟมาตรฐานของน้ำตาลแต่ละชนิด (รูป 3.10) ซึ่งได้จากการใช้สารละลายน้ำตาลมาตรฐาน ครึ่งละ 5 ไมโครลิตร และเปรียบเทียบพื้นที่ใต้พีคของน้ำตาลแต่ละชนิดที่ได้จาก HPLC โครมาโทแกรมของการนึ่งสารละลายที่ได้จากการไฮโดรไลส์เฮมิเซลลูโลส 5 ไมโครลิตร กับกราฟมาตรฐาน ทำให้ได้ปริมาณน้ำตาลองค์ประกอบในสารละลายที่ได้จากการไฮโดรไลส์เฮมิเซลลูโลส 1 มล. จากการไฮโดรไลส์เฮมิเซลลูโลส 20 มก. ได้ปริมาณสารละลายทั้งหมด 12 มล. ดังนั้นจึงสามารถคำนวณหาปริมาณน้ำตาลองค์ประกอบของเฮมิเซลลูโลส 20 มก ได้ดังแสดงในตาราง 3.15 และคำนวณร้อยละโดยน้ำหนักของน้ำตาลองค์ประกอบชนิดต่างๆ ของเฮมิเซลลูโลสจากเปลือกและเนื้อมะละกอได้ผลดังสรุปในตารางเดียวกัน ซึ่งเขียนกราฟได้ดังรูป 3.11



รูป 3.9 พีคและเวลาริเทนชันของน้ำตาลมาตรฐาน ไซโลส (I) อะราบินอส (II) แมนโนส (III) กลูโคส (IV) กาแล็กโตส (V) และแรมโนส (VI)

ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าเฮมิเซลลูโลสจากเปลือกมะละกอที่ไม่สกัดเพกตินออก [HC1(ป)+HC4(ป)] มีปริมาณน้ำตาลกาแล็กโทสและกลูโคสมากกว่าน้ำตาลอื่นๆ ค่อนข้างมาก ในขณะที่เฮมิเซลลูโลสจากการสกัดด้วย 1 และ 4 M KOH ของเนื้อมะละกอที่ไม่สกัดเพกติน [HC1(น)+HC4(น)] มีปริมาณน้ำตาลไซโลสและกาแล็กโทสโคสมากกว่าชนิดอื่น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างการสกัดเฮมิเซลลูโลสด้วย 1 และ 4 M KOH พบว่าการสกัดเฮมิเซลลูโลสจากเปลือกมะละกอด้วย 1 M KOH ทำให้ได้ปริมาณน้ำตาลไซโลส อะราบินอส กลูโคส และกาแล็กโทส

มากกว่าการสกัดด้วย 4 M KOH แต่ตรงกันข้ามกับการสกัดจากเนื้อมะละกอด้วย 1 M KOH ทำให้ได้ปริมาณน้ำตาลดังกล่าวทั้ง 4 ชนิดน้อยกว่าการสกัดด้วย 4 M KOH



รูป 3.10 กราฟมาตรฐานระหว่างพื้นที่ใต้พีคและปริมาณของน้ำตาลชนิดต่างๆ ได้แก่ กาแล็กโทส

(ก) กลูโคส(ข) ไซโลส(ค) แมนโนส(ง) แรมโนส(จ) และ อะราบีโนส(ฉ)

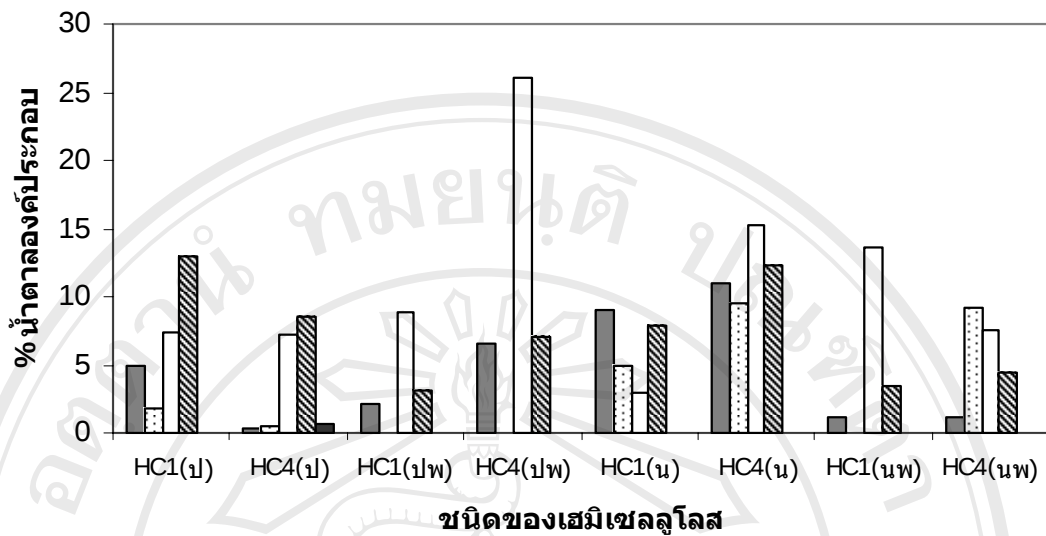
ตาราง 3.15 น้ำหนักของน้ำตาลองค์ประกอบที่ได้จากการไฮโดรไลส์เฮมิเซลลูโลส 20 มก. และร้อยละของน้ำตาลแต่ละชนิดในตัวอย่างเฮมิเซลลูโลส 100 กรัม

เฮมิเซลลูโลส	น้ำตาลองค์ประกอบ									
	ไซโลส		อะราบิโนส		กลูโคส		กาแล็กโทส		แรมโนส	
	มก.	%	มก.	%	มก.	%	มก.	%	มก.	%
HC1(ป)	1.00	5	0.37	1.87	1.01	5.04	3.06	15.28	-	-
HC4(ป)	0.07	0.34	0.09	0.44	0.97	4.84	2.02	10.08	0.13	0.66
HC1(ปพ)	0.41	2.06	-	-	1.20	6.00	0.75	3.73	-	-
HC4(ปพ)	1.30	6.52	-	-	3.52	17.60	1.69	8.43	-	-
HC1(น)	1.80	9.00	0.97	4.86	0.40	2.00	1.87	9.34	-	-
HC4(น)	2.20	11.00	1.89	9.46	2.06	10.30	2.90	14.50	-	-
HC1(นพ)	0.24	1.19	-	-	1.84	9.19	0.83	4.14	-	-
HC4(นพ)	2.16	10.82	1.82	9.12	1.02	5.12	1.04	5.21	-	-

* - = ไม่พบ

นอกจากนี้ การสกัดเฮมิเซลลูโลสจากเปลือกมะละกอด้วย 4 M KOH ยังได้เฮมิเซลลูโลสที่มีน้ำตาลแรมโนส ในขณะที่เฮมิเซลลูโลสชนิดอื่นๆ ไม่มีน้ำตาลชนิดนี้ และพบว่าเฮมิเซลลูโลสจากเนื้อมะละกามีปริมาณน้ำตาลไซโลสมากกว่าเฮมิเซลลูโลสจากเปลือกมะละกอย่างชัดเจน

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลองค์ประกอบของเฮมิเซลลูโลสจากเปลือกและเนื้อมะละกที่สกัดและไม่สกัดเพคตินออก พบว่า การสกัดเพคตินออกก่อนทำให้ปริมาณน้ำตาลกาแล็กโทสและอะราบิโนสลดลงในทุกตัวอย่าง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเฮมิเซลลูโลสจากเปลือกที่สกัดด้วย 1 M KOH [HC1(ปพ)] และเฮมิเซลลูโลสจากเนื้อที่สกัดด้วย 4 M KOH [HC4(นพ)] พบว่ามีกาแล็กโทสลดลงถึง 11.50 และ 9.29% ตามลำดับ ในทางตรงกันข้าม การสกัดเพคตินออกก่อนกลับทำให้ได้เฮมิเซลลูโลสจากเปลือก [HC1(ปพ)+HC4(ปพ)] และเนื้อมะละกอ [HC1(นพ)+HC4(นพ)] มีปริมาณน้ำตาลกลูโคสเพิ่มขึ้น

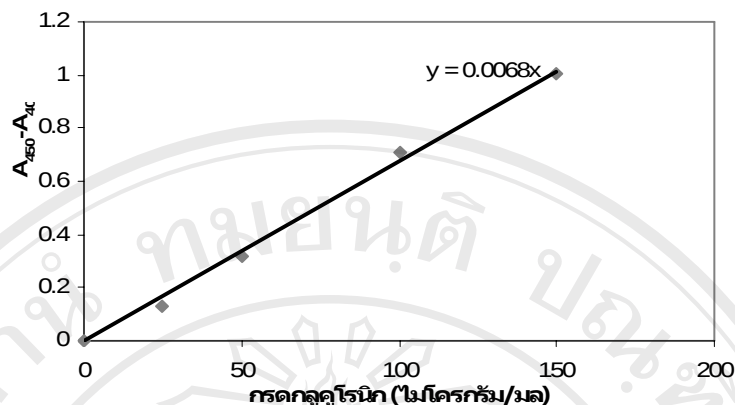


รูป 3.11 ร้อยละของน้ำตาล ไซโลส (▨), อะราบีโนส (□), กูโคส (▤), กาแล็กโทส (▧) และ แรมโนส (■) ที่เป็นองค์ประกอบของเฮมิเซลล์โลสชนิดต่างๆ จากเปลือกและเนื้อมะละกอ

การหาปริมาณกรดยูโรนิกซึ่งเป็นองค์ประกอบหนึ่งในเฮมิเซลล์โลสด้วยวิธี colorimetry ซึ่งทำโดยใช้สารละลายกรดคลอโรโรนิกเป็นสารมาตรฐาน ผลการใช้กรดคลอโรโรนิกความเข้มข้นต่างๆ ทำให้ได้ค่าผลต่างของการดูดกลืนแสงที่ 400 และ 450 นาโนเมตร ดังแสดงในตาราง 3.16 และเขียนกราฟมาตรฐานได้ดังรูป 3.12

ตาราง 3.16 ผลต่างของค่าดูดกลืนแสงที่ 400 และ 450 นาโนเมตรที่ได้จากการใช้กรดคลอโรโรนิกมาตรฐานในการหาปริมาณกรดยูโรนิก

กรดคลอโรโรนิก (ไมโครกรัม/มล)	$A_{400} - A_{450}$		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	เฉลี่ย
0	0.000	0.000	0.000
25	0.136	0.118	0.127
50	0.303	0.333	0.318
100	0.710	0.705	0.708
150	1.047	0.967	1.007



รูป 3.12 กราฟมาตรฐานของการหาปริมาณกรดโครนิกโดยวิธี Colorimetry

สารละลายเฮมิเซลลูโลสจากเปลือกและเนื้อมะละกอแต่ละชนิดๆ ละ 3 ตัวอย่างๆ ละ 20 มก. เมื่อไฮโดรไลส์ด้วยกรดแล้วได้สารละลายทั้งหมดของแต่ละตัวอย่างเท่ากับ 12 มล. ส่วนหนึ่งได้แบ่งไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลองค์ประกอบด้วย HPLC และอีกส่วนหนึ่งแบ่งไว้ 1 มล. เพื่อใช้ทดสอบหาปริมาณกรดโครนิกด้วยวิธี Colorimetry ซึ่งได้ค่าผลต่างการดูดกลืนแสงที่ 400 และ 450 นาโนเมตร ดังแสดงในตาราง 3.17 ซึ่งเมื่อเทียบกับกราฟมาตรฐาน รูป 3.12 ทำให้ได้ปริมาณของกรดโครนิกในสารละลายที่ได้จากการไฮโดรไลส์เฮมิเซลลูโลส 1 มล. ดังนั้นจึงคำนวณหาปริมาณกรดโครนิกที่เกิดจากการสลายเฮมิเซลลูโลส 20 มก. และ 100 กรัม ได้ดังสรุปในตาราง 3.17 ซึ่งแสดงว่าเฮมิเซลลูโลสจากเนื้อมะละกอที่สกัดด้วย 4 M KOH [HC4(น)และHC4(นพ)] มีปริมาณกรดโครนิกสูงกว่าเฮมิเซลลูโลสจากเนื้อที่สกัดด้วย 1 M KOH [HC1(น) และ HC1(นพ)] และเฮมิเซลลูโลสจากเปลือกมะละกอ [HC1(ป) HC1(ปพ) HC4(ป) และ HC4(ปพ)]

3.2.6 การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงหมู่ฟังก์ชันของเฮมิเซลลูโลสด้วย FT-IR

เฮมิเซลลูโลสชนิดต่างๆ ที่เตรียมจากเปลือกและเนื้อมะละกอให้ FT-IR สเปกตรัม ดังรูปที่

3.13 การบ่งชี้ชนิดหมู่ฟังก์ชันจากสเปกตรัม ทำได้โดยการเปรียบเทียบกับพีคของการสั่นสะเทือน (vibration) แบบดึงยืดหรือโค้งงอ (stretching or bending) ของหมู่ฟังก์ชันที่สำคัญอันเป็นเอกลักษณ์ของเฮมิเซลลูโลส ดังสรุปไว้ในตาราง 3.18

ตาราง 3.17 ผลต่างการดูดกลืนแสงที่ 400 และ 450 นาโนเมตร และปริมาณกรดโครนิกในเฮมิ-

เซลลูโลสจากเปลือกและเนื้อมะละกอ

เฮมิเซลลูโลส	A400 - A450				กรดยูโรนิก		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มล.)	มก.	% ของ เฮมิเซลลูโลส
HC1(ป)	0.408	0.520	0.640	0.523	77.06	0.92	4.61
HC4(ป)	0.285	0.300	0.317	0.301	44.26	0.53	2.68
HC1(ปพ)	0.235	0.210	0.186	0.210	30.96	0.37	1.86
HC4(ปพ)	0.450	0.475	0.501	0.476	69.93	0.84	4.20
HC1(น)	0.392	0.392	0.392	0.392	57.65	0.69	3.46
HC4(น)	0.593	0.488	0.381	0.487	71.62	0.86	4.30
HC1(นพ)	0.529	0.479	0.428	0.478	70.34	0.84	4.22
HC4(นพ)	1.081	1.130	1.175	1.128	165.88	1.99	9.95

ซึ่งจะเห็นได้ว่า เฮมิเซลลูโลสจากเปลือกและเนื้อมะละกอทุกตัวอย่างแสดงสัญญาณในช่วง $3600-2800\text{ cm}^{-1}$ ซึ่งเป็นการสั่นสะเทือนแบบดึงยืดของ C-H และ O-H และสัญญาณในช่วง $1200-950\text{ cm}^{-1}$ ของการดึงยืดของ C-O ในช่วงสัญญาณ $1670-1630\text{ cm}^{-1}$ แสดงถึงการดูดซับน้ำไว้ในโมเลกุลของเฮมิเซลลูโลส ซึ่งแสดงถึงการดูดซับความชื้นได้ดีของเฮมิเซลลูโลสจากเปลือกและเนื้อมะละกอ และพบแบนด์ที่คมชัดในสเปกตรัมของเฮมิเซลลูโลสจากเปลือกและเนื้อมะละกอในช่วง $1050-1040\text{ cm}^{-1}$ ที่แสดงถึงการสั่นสะเทือนแบบดึงยืดของ C-O และ C-C ซึ่งเป็นลักษณะหนึ่งของสายไซแลน (Fang *et al.*, 1999) และสัญญาณช่วง $920-900\text{ cm}^{-1}$ แสดงถึงจุดเชื่อมต่อระหว่างน้ำตาลในสายเฮมิเซลลูโลส (β - glycosidic linkage) นอกจากนี้สเปกตรัมในช่วง $1470-1250\text{ cm}^{-1}$ ของเฮมิเซลลูโลสจากเปลือกและเนื้อมะละกอแสดงถึงพันธะ กลุ่ม $-\text{CH}_2$, C-H, -OH

สเปกตรัมของเฮมิเซลลูโลสที่สกัดด้วย 4 M KOH ของเปลือกทั้งที่ผ่านและไม่ผ่านการฟอกสี [HC4(ป) และ HC4(ปพ)] และเนื้อมะละกอที่ผ่านและไม่ผ่านการสกัดเพกตินออกก่อน [HC4(น) และ HC4(นพ)] ไม่ปรากฏสัญญาณในช่วง $1750-1700\text{ cm}^{-1}$ ที่แสดงถึงการสั่นสะเทือนแบบดึงยืดของหมู่คาร์บอนิลในส่วนที่เป็นเอสเทอร์ของกรดยูโรนิกและหมู่อะซิติก (acetyl) ที่เป็นองค์ประกอบในเฮมิเซลลูโลส การไม่ปรากฏสัญญาณในช่วงคลื่นดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า ในการสกัดเฮมิเซลลูโลสด้วยสารละลายเบสที่มีความเข้มข้นสูง (4 M KOH) ทำให้เกิดการตัดพันธะเอสเทอร์ในเฮมิเซลลูโลสในส่วนที่มีเอสเทอร์ของกรดยูโรนิกและหมู่อะซิติก

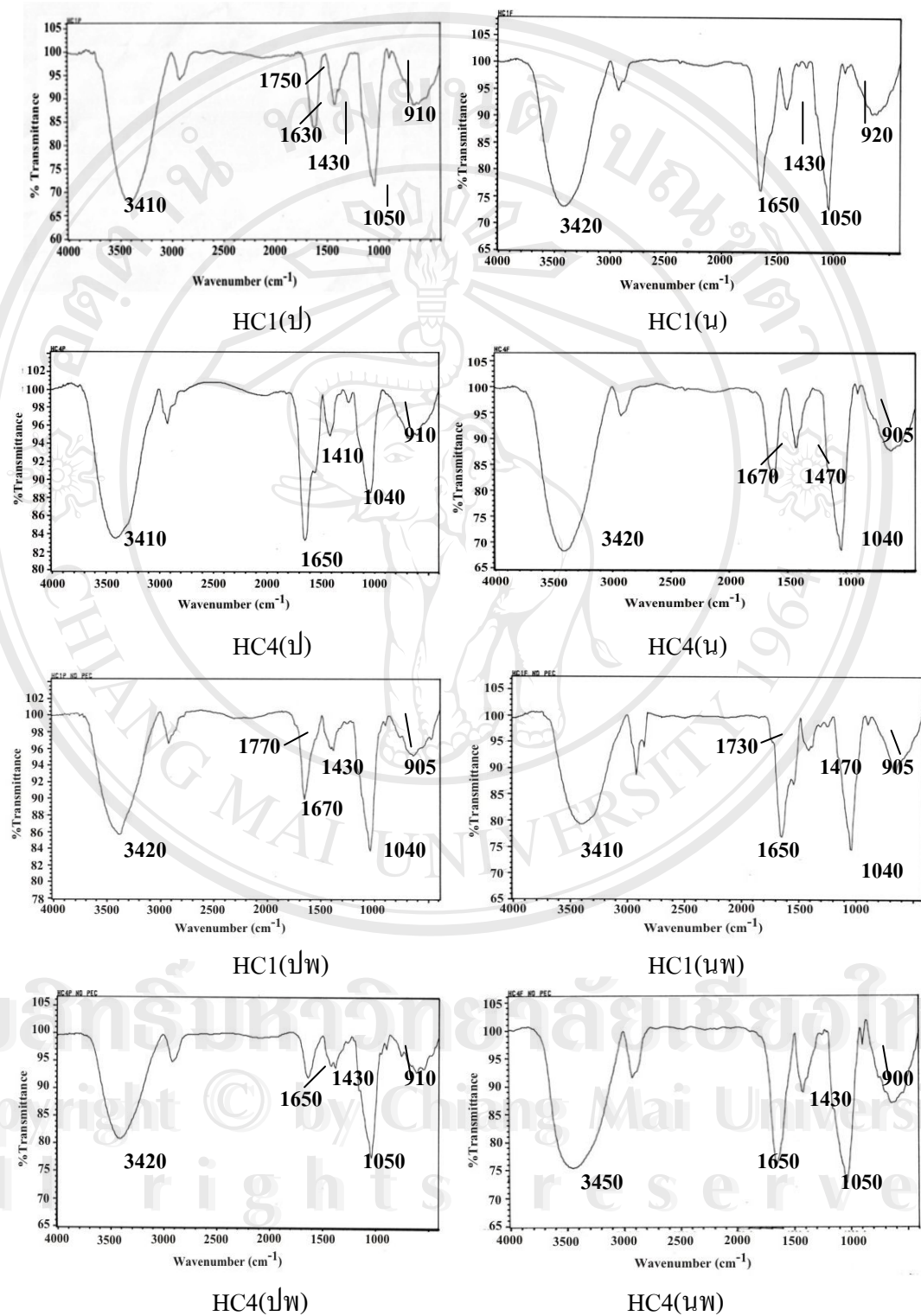
ตาราง 3.18 หมู่ฟังก์ชันของเฮมิเซลลูโลสชนิดต่างๆ ที่ได้จากเปลือกและเนื้อมะละกอโดยการวิเคราะห์ด้วย FT-IR

เฮมิเซลลูโลส	หมู่ฟังก์ชัน	wave number (cm ⁻¹)			
		HC1(ป)	HC4(ป)	HC1(ปพ)	HC4(ปพ)
เปลือก	OH	3410	3410	3380	3420
	C-H	2930, 2880	2960, 2830	2920-2780	2920-2875
	หมู่ carbonyl ของ uronic ester, acetyl	1750	-	1770	-
	absorbed water	1630	1650	1670	1650
	Lignin	1540	1560	-	-
	C-H, OH, -CH ₂ -	1430-1220	1410-1250	1430-1250	1430-1270
	C-O-C	1170, 980	1150, 990	1160, 980	1180, 975
	Xylan	1050	1040	1040	1050
	β-glycosidic linkage	910	910	910	920
เนื้อ		HC1(น)	HC4(น)	HC1(นพ)	HC4(นพ)
	OH	3420	3420	3410	3450
	C-H	2940-2870	2930-2890	2970-2870	2940-2900
	หมู่ carbonyl ของ uronic ester, acetyl	-	-	1730	-
	absorbed water	1650	1670	1650	1650
	Lignin	1570	-	1560	-
	C-H, OH, -CH ₂	1430-1250	1470-1320	1470-1250	1430-1280
	C-O-C	1180, 1000	1160, 1010	1150, 990	1180, 980
	Xylan	1050	1040	1040	1050
	β-glycosidic linkage	920	905	910	900

นอกจากหมู่ฟังก์ชันที่เป็นลักษณะสำคัญของเฮมิเซลลูโลสแล้วยังพบว่า มีลิกนินซึ่งแสดงให้เห็นในสเปกตรัมช่วง 1560-1540 cm⁻¹ ปนอยู่ในเฮมิเซลลูโลสจากเปลือกมะละกอ [HC1(ป) และ HC4(ป)] แต่ไม่มีในเฮมิเซลลูโลสจากเปลือกที่ผ่านการฟอกสีด้วยโซเดียมคลอไรท์ก่อนสกัดเพกตินออก [HC1(ปพ) และ HC4(ปพ)] และในเฮมิเซลลูโลสจากเนื้อจะพบลิกนินเฉพาะส่วนที่สกัดด้วย 1 M KOH [HC1(น) และ HC1(นพ)] แสดงให้เห็นว่าโซเดียมคลอไรท์ช่วยกำจัดลิกนินที่ติดมากับเฮมิเซลลูโลสได้

(ก)

(ข)



รูป 3.13 FT-IR spectra ของเฮมิเซลลูโลสชนิดต่างๆ จากเปลือก (ก) และเนื้อมะละกอ (ข)