รายงานการวิจัย

เรื่อง

การศึกษาคุณสมบัติของสารสกัดโพลีแซกคาไรด์จากเปลือกกล้วยไข่ กล้วยน้ำว้า และกล้วยหอม

Study on the Properties of Polysaccharide Extracts from Musa Peels

สุปรียา ยืนยงสวัสดิ์

สุดใจ คงทอง

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

วิทยาเขตหาดใหญ่

ประจำปี 2537

680 โพลีแซกคาไรด์--วิจัย
สารสกัดจากพืช
กล้วยไข่
กล้วยน้ำว้า
กล้วยหอม

สมค

Order Key 23997
BIB Key 166662

เลขหมู่ QK898.P77 ส73 2537
เลขทะเบียน
20 / ม.ค. / 42

บทคัดย่อ

การศึกษาสารสกัดจากเปลือกกล้วยไข่ กล้วยหอม และกล้วยน้ำว้า นำมาทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพและวิเคราะห์หาค่าปริมาณเถ้า ค่า methoxy content ปริมาณ galacturonic acid และ equivalent weight พบว่าสารสกัดที่ได้เป็นสารกลุ่มคาร์โบไฮเดรต ที่มีส่วนประกอบและคุณสมบัติคล้ายเพคติน มีความหนืดใกล้เคียงกัน แต่มีปริมาณน้ำตาลและสารอินทรีย์สูงกว่าสารที่สกัดได้ยังไม่ผ่านขั้นตอนการทำให้บริสุทธิ์ และยังไม่ทราบสูตรโครงสร้าง

Abstract

Crude extracts prepared from 3 cultivated banana (*Musa sapientum* L.) peels were analyzed for physical properties, ash content, methoxy group, galacturonic acid and equivalent weight. The crude extracts were identified as carbohydrates, which correlate to pectin in component and properties. Viscosity of each extract was found to be in the range as that of pectin but the sugar and organic acid content was higher. The extracts have not yet been purified and their chemical structures remain to be established.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	I
บทคัดย่อ (ภาษาไทย)	II
บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ)	III
สารบัญ	IV
บทที่ 1 บทนำ	1
ความเป็นมาของปัญหาและเหตุผลของการวิจัย	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	3
บทที่2 วัสดุและวิธีการวิจัย	4
วัสดุ	4
วัตถุดิบ	4
สารเคมี	4
เครื่องมือ	5
วิธีวิจัย	5
การเตรียมตัวอย่างและการสกัด	5
การทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพ	5
การทดสอบคุณสมบัติของคาร์โบไฮเดรต	6
การทดสอบคุณส์มบัติของเพคติน	7
การทดสอบคุณสมบัติอื่น ๆ	7
บทที่ 3 ผลการทดลอง	10
บทที่ 4 วิจารณ์และสรุปผล	13
บรรณานุกรม	14
ภาคผนวก	15

บทที่ 1
บทนำ

ความเป็นมาของปัญหาและเหตุผลการวิจัย

สารพวกโพลีแซกคาไรด์ที่พบในผนังเซลล์ของพืช จะอยู่รวมกับสารพวกเซลลูโลส ทำหน้าที่ในการยึดเกาะเซลล์ พบมากในส่วนของเปลือก และแกนในของผล ส่วนของเนื้อผลไม้จะพบน้อย ส่วนใหญ่วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตเพคติน คือ เปลือกส้ม ซึ่งจะมีเพคตินอยู่ในส่วนของเปลือกชั้นในที่มีลักษณะคล้ายฟองน้ำสีขาว เปลือกส้มเหล่านี้ได้จากอุตสาหกรรมน้ำผลไม้ ซึ่งเปลือกส้มสดจะมีเพคติน 2-4% เปลือกส้มแห้งมี 20-40% แหล่งอื่น ๆ ที่ใช้ผลิตเพคติน คือ ส่วนเหลือจากการบีบน้ำแอปเปิล ในกากแห้งจะมีเพคติน 10-20% นอกจากนี้ยังมีแหล่งวัตถุดิบที่ใช้ผลิตเพคตินในเชิงอุตสาหกรรม ได้แก่ กากที่เหลือจากการผลิตน้ำตาลของหัวบีท

เพคตินละลายน้ำได้ และสามารถเกิดเป็นเจลเหมือนวุ้นได้เมื่ออยู่ในสภาวะที่เหมาะสม เป็นสารที่ใช้ประโยชน์ได้หลายด้านทั้งอุตสาหกรรมอาหาร การแพทย์ เภสัชกรรม และอุตสาหกรรมบางประเภท ในอุตสาหกรรมอาหาร จะใช้เป็นส่วนประกอบในการผลิตแยม เยลลี่ มาร์มาเลด ลูกกวาด และขนมหวานอื่น ๆ ใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องดื่มโดยใช้เป็นสารช่วยเพิ่มความคงตัวในน้ำผลไม้ ช่วยเพิ่มความข้นของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต ใช้เคลือบผักผลไม้ก่อนแช่แข็ง ช่วยลดการเกิดผลึกในน้ำแข็งและเชอร์เบท มีความปลอดภัยในการใช้เป็นอาหาร โดยไม่จำกัดปริมาณการรับประทานต่อวัน การใช้ประโยชน์ของยาในเภสัชตำรับใช้แก้ท้องเสีย เพคตินซัลเฟตช่วยยืดอายุการแข็งตัวของเลือด มีการใช้แทนเฮพารีน ใช้รับประทานเพื่อลดระดับโคเลสเตอรอลในเลือด เพคตินรวมกับเจลาติน แนะนำให้ใช้เป็น encapsulating agent สำหรับยาเพื่อเพิ่ม sustained release เช่น เพิ่ม sustained release ของ aspirin และเป็น demulcent ทำให้ยาระคายเคืองต่อระบบทางเดินอาหารน้อยลง โดย pectin-aspirin mixture อาจเตรียมเป็นเม็ดหรือเป็นผง เป็นต้น นอกจากนี้ในอุตสาหกรรมกระดาษและสิ่งทอยังใช้เป็น sizing agent

กล้วยเป็นพืชเศรษฐกิจชนิดหนึ่งของไทย มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Musa sapientum* Linn. วงศ์ Musaceae เป็นพืชที่ปลูกง่าย ทุกส่วนของกล้วยสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ กล้วยที่นิยมบริโภคส่วนใหญ่ ได้แก่ กล้วยหอม กล้วยน้ำว้า และกล้วยไข่ คุณค่าทางอาหารของกล้วยสูงเมื่อเทียบกับผลไม้อื่น ๆ กล้วยสุกมักจะมีรสหวานเป็นอาหารที่ย่อยง่าย มีคุณค่าใกล้เคียงกับมันฝรั่ง แต่มีไขมัน โคเลสเตอรอล และเกลือแร่ต่ำ จึงเหมาะสำหรับเป็นอาหารของคนที่ลดความอ้วน เป็นอาหารที่แนะนำสำหรับคนชรา ผู้ที่เป็นโรคเกี่ยวกับทางเดินอาหาร และเด็กที่ท้องเสียบ่อย ๆ กล้วยสามารถลดแก๊สในกระเพาะซึ่งเกิดจากความเครียดได้ นอกจากใช้เป็นอาหารแล้ว ยังใช้ประโยชน์ในการเป็นสมุนไพร เช่น ราก และลำต้นใต้ดิน ช่วยแก้แผลไฟไหม้ น้ำร้อนลวก

กาบกล้วยมาวางที่ลำตัวช่วยลดไข้ ใบใช้อังไฟนำมาประคบบริเวณปวดเมื่อย ผลใช้บำรุงน้ำนมมารดา เปลือกกล้วยทาบริเวณยุงกัด ก้านกล้วยใช้ห้ามเลือด ผลดิบแก้ท้องผูก เป็นต้น

กล้วยดิบมีคาร์โบไฮเดรตอยู่ในรูปของแป้งจำนวนมาก จึงได้มีคณะผู้วิจัยจากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ทดลองทำแป้งกล้วย และนำไปใช้ประโยชน์ ในการทำผลิตภัณฑ์อาหารหลายชนิด พบว่า สามารถใช้แทนแป้งสาลีได้ กล้วยสุก สามารถแปรรูปเป็นเครื่องดื่มได้ โดยทดลองทำเป็นน้ำกล้วยหอม ไวน์และลิเคียว (สุรากลั่นเติมรสหวาน) และพบว่าเปลือกกล้วยและความหวานมีอิทธิพลต่อคุณภาพและการยอมรับของไวน์ และลิเคียวจากกล้วย

นอกจากนี้ยังได้ศึกษาส่วนเปลือกกล้วยเหลือทิ้งสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้เพราะมีสารแทนนินเป็นส่วนประกอบ แทนนินเป็นสารประกอบเชิงซ้อนพวกฟินอลลิค พบได้ทั่วไปในส่วนต่างๆ ของพืช สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมหลายประเภท ได้แก่ อุตสาหกรรมฟอกหนัง ทำหมึกพิมพ์ สีย้อมผ้า กาว เครื่องสำอาง และยา ปัจจุบันได้นำแทนนินมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร โดยใช้เป็นสารเสริมรสชาติของอาหาร นอกจากนี้ยังใช้เป็นสารเคลือบผิวหน้าของอาหาร ทำให้รักษาอาหารได้นานขึ้น คณะผู้วิจัย จากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ได้ศึกษาหาปริมาณแทนนินในเปลือกกล้วยหอม กล้วยน้ำว้า กล้วยไข่ ที่ระยะเวลาในการสุกต่างกัน พบว่า เปลือกกล้วยหอม มีแทนนินสูงกว่าเปลือกกล้วยน้ำว้า และเปลือกกล้วยไข่ โดยเปลือกกล้วยหอมดิบมีปริมาณแทนนินสูงสุด 58 mg/g น้ำหนักแห้ง เปลือกกล้วยน้ำว้าดิบ และเปลือกกล้วยไข่ดิบ มีปริมาณแทนนิน 49 mg/g และ 35.6 mg/g น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ เมื่อกล้วยสุกเพิ่มขึ้นปริมาณแทนนินที่เปลือกกล้วยจะลดลงโดยที่อัตราการลดลงในเปลือกกล้วยไข่มีแนวโน้มสูงกว่าในกล้วยพันธุ์อื่น ๆ การที่ปริมาณแทนนินลดลงเมื่อกล้วยสุกมากขึ้น เป็นเพราะโมเลกุลของแทนนินไปรวมตัวกับสารประกอบอื่น เช่น คาร์โบไฮเดรตหรือโปรตีน หรือเกิดจากโมเลกุลของแทนนินรวมตัวกันเอง เกิดเป็นสารโพลีเมอร์ ซึ่งมีขนาดโมเลกุลใหญ่เกิดขึ้น และมีการเคลื่อนตัวไปเก็บสะสมที่ผนังเซลล์ทำให้ยากต่อการสกัด นอกจากนี้การรวมตัวกันเป็นการลด activity ของแทนนินลงด้วย สำหรับสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดแทนนินจากเปลือกกล้วยน้ำว้าดิบอบแห้งที่ล่อนผ่าน ตะแกรงขนาด 30 mesh พบว่า ชนิดของสารละลายสกัดผสมของน้ำและเอธานอล (50%) ใช้เวลาการแช่ 2 ชั่วโมง อัตราส่วนของเปลือกกล้วย : สารละลายสกัด 1:30 หรือ 1:40 และสกัดที่อุณหภูมิ 50°C จะให้การสกัดแทนนินสูงถึง 81-85%

ในงานวิจัยต่าง ๆ ยังไม่มีรายงานที่เกี่ยวกับปริมาณของโพลีแซกคาไรด์ในเปลือกกล้วยแต่ละชนิด การวิจัยในครั้งนี้จึงเป็นข้อมูลเพื่อนำเปลือกกล้วยต่าง ๆ มาใช้ประโยชน์ต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาหาปริมาณโพลีแซกคาไรด์ที่มีอยู่ในเปลือกกล้วยแต่ละชนิด
2. เพื่อศึกษาคุณสมบัติของโพลีแซกคาไรด์ทั้งทางเคมีและกายภาพที่สกัดได้จากเปลือกกล้วยแต่ละชนิด

บทที่ 2
วัสดุและวิธีการ

วัสดุ

วัตถุดิบ

เปลือกกล้วยหอม กล้วยไข่ กล้วยน้ำว้า จากร้านค้าต่าง ๆ ในเมืองหาดใหญ่ และอำเภอเมือง จังหวัดสงขลา

สารเคมี

conc. HCl

NaOH

Copper sulphate

H_2SO_4

Sodium potassium tartrate

α-naphthol

Phloroglucinol

Iodine

Ferric chloride

Ethyl alcohol

Resorcinol

Lead acetate

Lead subacetate

Picric acid

Anhydrous trinitrophenol

Phenolphthalein

Orcinol

กระดาษกรอง

ผ้า gauze

สำลี

กระดาษ วัด pH

เครื่องมือ

เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)

เครื่องวัดความหนืด (Brookfield viscometer)

ตู้อบ

เตาเผาสาร (Muffle furnace)

ขันอังไอน้ำ (water bath)

เครื่องชั่งไฟฟ้า

เครื่องหาความชื้น (Moisture content determination balance)

วัสดุงานบ้านและงานครัว

เครื่องแก้ว

วิธีการวิจัย

การเตรียมสารสกัด

1. ซื้อกล้วยไข่ กล้วยน้ำว้า และกล้วยหอม โดยเลือกกล้วยที่ค่อนข้างสุก เนื่องจากกล้วยดิบ จะมีเปลือกซึ่งเป็นส่วนเหลือทิ้งน้อยกว่า และมีแทนนินสูง

2. นำเปลือกมาหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ กำจัดเอนไซม์ที่มีอยู่ในเปลือก โดยต้มให้เดือดในเอธิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 95% นาน 15 นาที

3. กรองเอาเปลือกกล้วยออกมาแล้วบีบให้แห้ง นำมาสกัดสารเพคตินโดยนำเปลือกกล้วยที่เตรียมได้ มาเติมน้ำกลั่นลงไปในอัตราส่วน 1:4

4. ปรับให้เป็นกรดด้วยกรดเกลือเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ให้มีพีเอช เท่ากับ 2 ต้มที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส 60 นาที

5. กรองเอากากออกแล้วนำไปสกัดซ้ำ สารละลายที่ได้ทิ้งให้เย็นแล้วนำมาตกตะกอนด้วยแอลกอฮอล์ 95% ที่ พีเอช 3.0

6. นำตะกอนไปอบที่ 60 องศาเซลเซียสจนแห้ง แล้วบดให้เป็นผง

7. นำมาชั่งน้ำหนักหาปริมาณของสารสกัด

การทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพ

1. ดูลักษณะภายนอก ความแข็ง เปราะ

สารสกัดที่ได้จากเปลือกกล้วยหอม กล้วยน้ำว้า กล้วยไข่ เป็นแผ่นแห้งสีน้ำตาล ที่ได้จากเปลือกกล้วยหอม มีสีเข้มที่สุด

2. ดูการละลาย

โดยเตรียมตัวอย่างชนิดละ 2 กรัม เติมน้ำ 100 ml

2.1 เมื่อนำสารละลายในน้ำมาเติมด่าง (NaOH)

2.2 เมื่อนำสารละลายในน้ำมาเติมกรด (conc. HCl)

3. การหาค่า pH

1. ชั่งสารสกัด 2 กรัม อย่างละเอียดในภาชนะที่ทำจากแก้ว

2. เติมน้ำร้อน 10 ml คนจนละลาย

3. วัดค่า pH ด้วย pH meter (ต่างกันไม่เกิน 0.1 unit)

การทดสอบคุณสมบัติของคาร์โบไฮเดรต

1. Fehling 's test

เป็นการทดสอบความสามารถในการริดิวซ์ของน้ำตาล หรือทดสอบหมู่อัลดีไฮด์ และคีโตนในน้ำตาล โดยใช้สารละลาย Fehling's ซึ่งประกอบด้วย 2 ส่วน คือ

ส่วนที่ 1 Fehling A คือ สารละลาย copper II sulphate ในน้ำ

ส่วนที่ 2 Fehling B คือ สารละลาย potassium hydroxide และสารละลาย potassium tartrate ($NaKC_4H_4O_6 \cdot 4H_2O$)

เมื่อต้องการใช้นำเอาสารละลายทั้ง 2 ส่วนผสมในอัตราส่วนที่เท่า ๆ กัน tartrate ion จะเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับ cupric ion(Cu^{++})ทำให้ Cu^{++} ไม่ตกตะกอน ในสารละลายที่เป็นด่าง อัลดีไฮด์จะ reduce Cu++ เป็น Cu^{+} ซึ่งจะตกตะกอนเป็น cuprous oxide มีสีแดงอิฐ

2. Molisch's test

นำสารละลายคาร์โบไฮเดรตผสมกับสารละลาย 5% α-naphthol ใน alcohol ที่เตรียมใหม่ ๆ ค่อย ๆ รินกรด cone. H_2SO_4 ลงไปข้าง ๆ หลอดทดสอบจนเป็นชั้นอยู่ด้านล่าง จะเกิดสีม่วงแดงระหว่างชั้นทั้งสอง เมื่อตั้งทิ้งไว้จะเป็นสีม่วงเข้มขึ้น ถ้าเติมสารละลายแอมโมเนียจำนวนมากเกินพอลงไปจะได้สีน้ำตาลปฏิกิริยานี้เกิดจากการรวมตัวของ α-naphthol และ furfural ซึ่งได้จากการสลายตัวของคาร์โบไฮเดรต

3. Bial's test

ใช้ทดสอบน้ำตาล pentose โดยใช้สารละลาย orcinal ใน HCl แล้วหยดสารละลาย 10% ferric chloride นำไปต้มจนเดือด แล้วหยดสารละลายที่ต้องการทดสอบเล็กน้อย ถ้ามีน้ำตาล pentose จะได้สารละลายสีเขียวเข้ม ตะกอนสีส้ม

4. Seliwanoff's test

เป็นการทดสอบน้ำตาลที่มีหมู่คีโตน โดยเติม 25% HCl ลงในสารละลายน้ำตาลที่ทดสอบในปริมาณเท่า ๆ กัน เติม resorcinol ลงไปอุ่นให้ร้อน ถ้ามีน้ำตาลที่มีหมู่คีโตน จะให้สารละลายสีแดง

5. การทดสอบด้วยสารละลายไอโอดีน เพื่อดูว่าเป็น polysaccharide

polysaccharide จะให้สีเมื่อถูกกับสารละลายไอโอดีน โดยให้สีน้ำเงินม่วง

การทดสอบคุณสมบัติของเพคติน

1. ทำ Ferric chloride test โดยหยดสารละลาย 5% Ferric chloride เพื่อทดสอบว่าเป็นคาร์โบไฮเดรตกลุ่ม polyuronide จะได้ตะกอนลักษณะเป็นวุ้น

2. นำสารละลายที่สกัดได้มาเติม 95% alcohol เพื่อดูว่าเป็นคาร์โบไฮเดรตกลุ่ม polyuronide จะตกตะกอนเป็นวุ้น

3. นำสารละลายของสารสกัด 1% ปริมาตร 5 ml เติม 2N sodium hydroxide 1 ml ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที จะเกิดเป็น gel หรือ semigel เป็นการทดสอบคุณสมบัติของสารพวกเพคติน

4. นำสารละลายของส่วนสกัดมาเติม lead acetate solution เพื่อทดสอบว่าเป็น polysaccharide ซึ่งจะได้ตะกอนวุ้น

5. นำสารละลายมาเติม lead subacetate จะได้ตะกอนวุ้น

การทดสอบคุณสมบัติอื่น ๆ

1. หา Loss on drying (USP)

อบขวดชั่ง (weighing bottle) ที่ 110°C จนได้น้ำหนักคงที่

ชั่งสารตัวอย่างประมาณ 2 กรัม อย่างละเอียดในขวดชั่ง

นำไปอบที่ 105°C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็น

เก็บไว้ใน desiccator 0.5 ชั่วโมง ชั่งหาน้ำหนักอย่างละเอียด

นำตัวอย่างไปอบที่ 105°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เก็บไว้ให้เย็นใน desiccator ชั่งหาน้ำหนัก น้ำหนักที่ชั่งได้ต้องคงที่ (ต่างกันไม่เกิน 2 mg)

คำนวณเปอร์เซนต์ Loss on drying = $\frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างที่หายไป}}{\text{น้ำหนักสารตัวอย่างเริ่มต้น}} \times 100$

น้ำหนักที่หายไป ไม่เกิน 10% ของน้ำหนักสารตัวอย่างเริ่มต้น

2. หาปริมาณเถ้า

ชั่งสารตัวอย่าง 3 กรัม ± 100 มิลลิกรัม ใน crucible ที่อบจนได้น้ำหนักคงที่

เผาด้วยตะเกียงแกสจนเป็นเถ้าสีขาว

นำไปเผาใน muffle furnace ที่ 450°C 3 ชั่วโมง

ทิ้งให้เย็น เก็บไว้ใน desiccator 0.5 ชั่วโมง

ชั่งน้ำหนักอย่างละเอียด

นำไปเผาใน muffle furnace ที่ 450°C 1 ชั่วโมง

ทิ้งให้เย็น เก็บไว้ใน desiccator 0.5 ชั่วโมง

ชั่งน้ำหนัก ซึ่งน้ำหนักที่ได้ต้องต่างกันไม่เกิน 0.1 กรัม

3. วัดความหนืด โดยใช้เครื่อง Brookfield viscometer

โดยเตรียมสารละลายที่มีความเข้มข้น 2% ปริมาตร 100 ml กำหนดน้ำหนักที่ใช้ถ่วงหนัก 8 กรัม จำนวนรอบที่วัด 100 รอบ

วิธีทำ

คล้องตุ้มน้ำหนัก ลูกรอกชั่งจะมีเชือกเก็บอยู่ที่ winding spool คล้องมายังลูกรอก เมื่อปล่อยเบรคจะทำให้ตุ้มน้ำหนักเคลื่อนมาตามแรงถ่วง

นำของเหลวที่จะวัดใส่ลงใน cup และจุ่ม bub เมื่อปลดตัวล็อค จะทำให้ bub หมุน และจับเวลาที่ตุ้มน้ำหนักตกลงมาเป็นระยะทางที่กำหนดไว้

อ่านค่าที่หน้าปัดหมุนไป 100 รอบ/นาที

เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานและเพคตินที่มีขาย

หาค่าความหนืดของสารมาตรฐาน

จากสูตร $n = \frac{k_v W}{V}$

เมื่อ $k_v = 184$

W = น้ำหนักที่ใช้ถ่วง

V = รอบต่อนาที

นำค่าที่วัดได้มาคำนวน จากสูตร

$$n1 = \frac{t1n}{t}$$

$n1$ = ความหนืดตัวอย่าง

$t1$ = เวลาที่ตัวอย่างหมุน 100 รอบ

n = ความหนืดสารมาตรฐาน

t = เวลาที่สารมาตรฐานหมุน 100 รอบ

สารมาตรฐาน Brookfield viscosity standard

Fluid	viscosity	temp.	Lot Number
50	48.0 centipoise	25 °C	010594

4. วิเคราะห์ methoxy content

ชั่งสารสกัด 5 กรัม ใส่ beaker เติมสารผสมของ 5 ml HCl และ 100 ml 60% EtOH คน 10 นาที กรองผ่าน sintered glass filter (30-60 ml Buchner type) ล้างด้วยสารผสมของ HCl และ EtOH ซ้ำ 6 ครั้ง ล้างด้วย 60% EtOH จน filtrate ไม่มี chloride ล้างด้วย 20 ml EtOH ทำให้แห้งที่ 105 °C 1 ชั่วโมงจากนั้น ทำให้เย็น แล้วนำมา ชั่งน้ำหนัก

นำ 1 ใน 10 ของตัวอย่างแห้งที่เตรียมได้ ใส่ใน conical flask ขนาด 250 ml ทำให้ชื้นด้วย 2 ml EtOH เติมน้ำที่ปราศจาก CO_2 100 ml ปิดจุก แกว่งจนละลายหมด เติม phenolphthalein 5 หยด titrate กับ 0.5 N NaOH VS บันทึกผลเป็นค่า initial titer (A) เติม 20 ml 0.5 N NaOH VS ปิดจุกเขย่าทิ้งไว้ 15 นาที เติม 20 ml 0.5 N HCl VS เขย่าจนสีชมพูหายไป เติม phenolphthalein T.S. titrate กับ 0.5 N NaOH VS จนได้สีชมพูอ่อนคงตัว บันทึกผลเป็นค่า saponification titer (B) แต่ละ ml ของ 0.5 N NaOH ที่ใช้ใน saponification titer equivalent to 15.52 mg ของ $-OCH_3$ หรือ % methoxy=3.1N x B/W
เมื่อ N= normality ของ NaOH W=น้ำหนักของสารสกัด B= ปริมาตรของ NaOH ที่ใช้ (B)

5. วิเคราะห์ galacturonic acid

แต่ละ ml ของ 0.5 N NaOH ที่ใช้ไปทั้งหมด (initial titer เติมไปจนถึง saponification titer) ในการหา methoxy group equivalent to 97.07 mg ของ $C_6H_{10}O_7$

6. การหาน้ำตาลและ organic acids

ชั่งสารสกัด 1 กรัม ใส่ใน flask ขนาด 500 ml ทำให้ชื้นด้วย alcohol 3-5 ml เติมน้ำ 100 ml เขย่า ทิ้งไว้จนละลาย เติม alcohol 99.7 ml ที่มี HCl 0.3 ml คนให้เข้ากัน กรองอย่างรวดเร็ว

นำ filtrate มา 25 ml ใส่ใน dish ที่ชั่งน้ำหนักจนคงที่ ระเหยบน water bath ส่วนที่เหลือทำให้แห้งใน vacuum oven ที่ 50°C 2 ชั่วโมง น้ำหนักของเหลือต้องไม่เกิน 20 mg

บทที่ 3
ผลการทดลอง

สารสกัดที่ได้จากเปลือกกล้วยทั้ง 3 ชนิด มีลักษณะเป็นแผ่นแห้งสีน้ำตาล เปราะ ดูดความชื้นได้ง่าย ละลายน้ำได้สีน้ำตาล เมื่อเติมด่าง หรือ กรด ลงไปในสารละลายจะเกิดตะกอนวุ้นสีขาว

ตารางที่ 1 การทดสอบคุณสมบัติที่แสดงว่าเป็นสารกลุ่มคาร์โบไฮเดรต

	กล้วยไข่	กล้วยหอม	กล้วยน้ำว้า
Fehling's test	ตะกอนสีแดงอิฐ	ตะกอนสีแดงอิฐ	ตะกอนสีแดงอิฐ
Molisch's test	เกิดวงแหวนสีม่วง	เกิดวงแหวนสีม่วง	เกิดวงแหวนสีม่วง
Bial's test			
-ก่อนเติมกรด	ตะกอนสีส้ม	ตะกอนสีส้ม	ตะกอนสีส้ม
-หลังเติมกรด	ตะกอนสีส้ม	ตะกอนสีส้ม	ตะกอนสีส้ม
Seliwanoff's test			
-ก่อนเติมกรด	ไม่ได้ผล	ไม่ได้ผล	ไม่ได้ผล
-หลังเติมกรด	สารละลายสีแดง	สารละลายสีแดง	สารละลายสีแดง
Iodine test	สารละลายสีม่วง	สารละลายสีม่วง	สารละลายสีม่วง

ตารางที่ 2 การทดสอบคุณสมบัติที่แสดงว่าเป็นสารคาร์โบไฮเดรตกลุ่มโพลียูโรไนด์

	กล้วยไข่	กล้วยหอม	กล้วยน้ำว้า
เติม 5% $FeCl_3$	เกิดเป็นตะกอนวุ้น	เกิดเป็นตะกอนวุ้น	เกิดเป็นตะกอนวุ้น
เติม 95% EtOH	เกิดเป็นตะกอนวุ้น	เกิดเป็นตะกอนวุ้น	เกิดเป็นตะกอนวุ้น
เติม 2N NaOH	เกิดเป็นตะกอนวุ้น	เกิดเป็นตะกอนวุ้น	เกิดเป็นตะกอนวุ้น
เติม lead acetate	เกิดเป็นตะกอนวุ้น	เกิดเป็นตะกอนวุ้น	เกิดเป็นตะกอนวุ้น
เติม lead subacetate	เกิดเป็นตะกอนวุ้น	เกิดเป็นตะกอนวุ้น	เกิดเป็นตะกอนวุ้น

ตารางที่ 3 ผลการหาค่า Loss on drying

	กล้วยไข่	กล้วยหอม	กล้วยน้ำว้า
น้ำหนักสารเริ่มต้น	2.0036	2.0166	2.0181
	2.0073	2.0632	2.0032
น้ำหนักสารที่เหลือ	1.6557	1.8109	1.9495
	1.6869	1.8504	1.9358
น้ำหนักหายไป	0.3479	0.2570	0.0686
	0.3204	0.2128	0.0674
%loss on drying	17.36	12.74	3.39
	16.33	10.31	3.36
%เฉลี่ย	16.84	11.52	3.37

ตารางที่ 4 ผลการหาค่าปริมาณเถ้า

	กล้วยไข่	กล้วยหอม	กล้วยน้ำว้า
น้ำหนักสารสกัด	3.1899	2.9948	2.9900
	3.0200	2.9815	3.1683
น้ำหนักเถ้า	0.4767	0.4623	0.5097
	0.4534	0.4880	0.5224
% เถ้า	14.94	15.44	17.05
	15.02	16.37	16.49
%เฉลี่ย	14.98	15.90	16.77

ตารางที่ 7 ผลการหาค่าน้ำตาลและกรดอินทรีย์

	กล้วยไข่	กล้วยหอม	กล้วยน้ำว้า
น้ำหนักสารเริ่มต้น	1.0181 1.0055	1.0055 1.0050	1.0054 1.0030
น้ำหนักสารที่เหลือ	0.1093 0.1170	0.0925 0.0968	0.0724 0.0640
ค่าเฉลี่ย	0.1130	0.0946	0.0682

ตารางที่ 5 ผลการหาความหนืด

	สารมาตรฐาน	เพคตินที่มีขาย	กล้วยไข่	กล้วยหอม	กล้วยน้ำว้า
เวลา/รอบ (วินาที)	196.0	41.5	69.0	28.0	54.0
ความหนืดสัมพัทธ์ (รอบ/วินาที)	48	10.167	16.905	6.86	13.224

ตารางที่ 6 ผลการหาค่า equivalent weight, % methoxy group, %galacturonic acid

	เพคตินที่มีขาย	กล้วยไข่	กล้วยหอม	กล้วยน้ำว้า
น้ำหนักที่ใช้หาค่า	0.275	0.1957	0.2263	0.3001
Equivalent weight	128.57	150.53	135.10	196.14
% methoxy	24.17	20.59	22.94	16.34
%galacturonic acid	81.7	50.47	65.03	61.35

บทที่ 4
วิจารณ์และสรุปผล

สารสกัดจากเปลือกกล้วยทั้ง 3 ชนิด เมื่อได้นำมาทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพพบว่าทั้ง 3 ชนิดมีคุณสมบัติเป็นสารพวกโพลิแซกคาไรด์ ที่สามารถเกิดเป็นเจลได้ โดยสารสกัดที่ได้จากกล้วยน้ำว้าสกัดได้ 0.7 เปอร์เซนต์ กล้วยหอม 0.65 เปอร์เซนต์ กล้วยไข่ 0.63 เปอร์เซนต์ สารสกัดจากกล้วยทั้ง 3 ชนิดมีความเป็นกรด คือ มีค่า pH 3-4 วัดความหนืดของสารสกัดเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน และเพคตินที่มีขาย พบว่า สารสกัดจากเปลือกกล้วยและเพคตินที่มีขายมีความหนืดน้อยกว่าสารมาตรฐาน สารสกัดจากเปลือกกล้วยไข่และกล้วยน้ำว้ามีความหนืดมากกว่าเพคตินที่มีขาย สารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมมีความหนืดน้อยที่สุด ปริมาณเถ้าของสารสกัดจากเปลือกกล้วยทั้ง 3 ชนิดมีค่าใกล้เคียงกัน คือ กล้วยไข่ 14.96 กล้วยหอม 15.67 กล้วยน้ำว้า 16.63 เปอร์เซนต์ตามลำดับ ค่า loss on drying เป็น 16.84 , 11.52 และ 3.37 เปอร์เซนต์ตามลำดับ และการหาค่าน้ำตาลและกรดอินทรีย์เป็น 0.1130 , 0.0946, และ 0.0680 กรัมตามลำดับ ซึ่งใน USP กำหนดให้มีค่าน้ำตาลและกรดอินทรีย์ในเพคตินไม่เกิน 0.02 กรัม สารสกัดจากเปลือกกล้วยทั้ง 3 ชนิดมีน้ำตาลและกรดอินทรีย์สูงกว่าที่กำหนดเป็นมาตรฐานของเพคติน

ค่า methoxy content ของสารสกัดจากเปลือกกล้วยทั้ง 3 ชนิดมีค่าเป็น กล้วยไข่ 20.59 เปอร์เซนต์ กล้วยหอม 22.94 เปอร์เซนต์ กล้วยน้ำว้า 16.34 เปอร์เซนต์ ส่วนเพคตินที่มีขายมีค่าเป็น 24.17 เปอร์เซนต์ แสดงว่าสารที่สกัดได้มีค่า methoxy content ใกล้เคียงกับเพคตินที่มีขายในท้องตลาด สารที่สกัดได้มีความสามารถในการเกิดเจลได้ใกล้เคียงกับเพคตินที่มีขายแต่สารสกัดเป็นโพลีแซกคาไรด์ที่มีส่วนประกอบเป็น galacturonic acid น้อกว่าเพคตินที่มีขาย สารสกัดจากเปลือกกล้วยทั้ง 3 ชนิดมีค่าปริมาณน้ำตาลและกรดอินทรีย์สูงกว่าเพคตินที่มีขาย แสดงว่าในสูตรโครงสร้างของสารสกัดเป็นสารประกอบโพลีแซกคาไรด์ที่มีน้ำตาลหลายโมเลกุลต่อกับ galacturonic acid คุณสมบัติทางกายภาพสามารถเกิดเป็นเจลได้เช่นเดียวกับเพคติน สามารถนำมาสกัดแยกออกได้ด้วยวิธีการเดียวกับเพคติน แต่ปริมาณที่สกัดได้ยังน้อยเนื่องจากยังไม่มีการศึกษาถึงสภาวะที่เหมาะสมในการสกัด การนำมาใช้ประโยชน์ต้องมีการศึกษาวิธีการสกัดเพื่อให้ได้สารที่มีความบริสุทธิ์และปริมาณสูงกว่านี้

บรรณานุกรม

1. Leung, A,Y. **Encyclopedia of Common Natural Ingredients**. John Wiley & Sons, Inc, New York. USA 1980 pp 263-263
2. Simpson, B.B., **Economic Botany:Plants in Our World** McGraw-Hill Book Company, New York. 1986 p. 337
3. Trease and Evans **Pharmacognosy**. Bailliere Tindall London 1989 pp 344-345
4. The United states **Pharmacopoiea XXII** 1985 pp. 1021-1022
5. Whistler. R.L. Bemiller,J.N. **Industrial Gums** Academic Press London 1973 pp 429-461
6. Youngken, H.W. **Textbook of Pharmacognosy** McGraw-Hill Book Company, London, 1948 pp 429-461
7. นัยทัศน์ ภู่ศรัณย์ **การศึกษาสกัดเปคตินจากส่วนเหลือใช้ของจำปาดะ** วารสารสงขลานครินทร์ ปีที่ 9 ฉบับที่ 1 มค. - มีค. 2530 หน้า 99-104
8. อนุชิต พลับรู้การ, อรุณพร อิฐรัตน์ รายงานการวิจัย เรื่อง **การศึกษาคุณสมบัติของสารสกัดคาร์โบไฮเดรตจากเปลือกด้านในขนุนและจำปาดะ** : ปี 2533

ภาคผนวก

การเตรียมสารเคมี

1. Fehling's solution

Stock solution A

$CuSO_4$	34.64	g
conc.H_2SO_4	0.5	ml
น้ำกลั่น		

ละลาย $CuSO_4$ 34.6 g ใน conc. H_2SO_4 0.5 ml ค่อยๆเติมน้ำกลั่น คนให้ละลาย แล้วเติมน้ำให้เป็น 500 ml

Stock solution B

Sodium Potassium tartrate	176	g
NaOH	77	g
น้ำกลั่น		

ละลาย Sodium potassium tartrate 176 g และ NaOH 77 g ในน้ำกลั่น เติมน้ำให้เป็น 500 ml

2. Molisch's reagent

ละลาย α-Naphthol 5 g ใน 95 % ethanol 100 ml

3. Bial's reagent

ละลาย Orcinol 1 g ใน conc. HCl ปริมาตร 50 ml คนให้ละลาย เติม ferric chloride ปรับปริมาตรด้วย conc. HCl จนครบ 100 ml

4. Seliwanoff's reagent

ละลาย Resorcinol 5 g ใน dil. HCl 100 ml

5. Ferric chloride solution

ละลาย Ferric chloride 10 g ในน้ำกลั่น 100 ml

6. 0.5 N NaOH

ละลาย NaOH 20 g เติมน้ำให้ครบ 1000 ml

7. 0.5 N HCl

ประกอบด้วย conc. HCl 18.25 ml เติมน้ำกลั่นจนครบ 1000 ml

8. 2N NaOH

ละลาย NaOH 8 g ในน้ำ 100 ml

9. Iodine in potssium iodide solution

ละลาย Iodine 5 g และ potassium iodide 15 g ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 250 ml

10. Lead acetate

ละลาย lead acetate จนเกิดสารละลายอิ่มตัวในน้ำ 100 ml