



## โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

เรื่อง

การพัฒนาผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจากเปลือกส้มโอ

(Development of Dietary Supplement from Pomelo Peel Extract)

โดย

นสภ. ญาดา เยี่ยงวรกุล 62210012

นสภ. เกตุสุตา คณาเนปะ 62210036

นสภ. ตฤณานี ชุมมุง 62210056

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาบัณฑิต ปีการศึกษา 2566

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

ก

## โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

เรื่อง

การพัฒนาผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจากเปลือกส้มโอ

(Development of Dietary Supplement from Pomelo Peel Extract)

โดย

นสภ. ญาดา เยี่ยงวรกุล 62210012

นสภ. เกตุสุตา คณาเนปะ 62210036

นสภ. ตฤณानी ชุมมุง 62210056

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาบัณฑิต ปีการศึกษา 2566

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

## คำนำ

ส้มโอ (Pomelo) ไม้ผลทางเศรษฐกิจที่สำคัญและเป็นที่ต้องการของตลาดอุปโภคบริโภค ประชากรในประเทศไทยส่วนใหญ่นิยมบริโภคเนื้อส้มโอกันอย่างแพร่หลายทั่วทุกภูมิภาค ส่งผลให้มี ปริมาณขยะเหลือทิ้งจากเปลือกส้มโอเป็นจำนวนมากเนื่องจากไม่สามารถบริโภคในรูปแบบสด เปลือกส้ม โอจึงกลายเป็นวัตถุดิบเหลือใช้ที่ถูกคัดทิ้งไปอย่างน่าเสียดาย ผวนกับสถานการณ์ขยะในปัจจุบัน กระแส การจัดการปัญหาขยะเหลือใช้จากกระบวนการผลิตและอุปโภคบริโภคควบคู่ไปกับการรักษาสิ่งแวดล้อม ลดการใช้ทรัพยากรที่มีอยู่อย่างจำกัดและใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุดตามหลักการ 3R และ BCG Model เป็นสิ่งที่ทุกภาคส่วนให้ความสำคัญ เนื่องจากเป็นส่วนหนึ่งของแผนปฏิบัติการการกำจัดขยะของประเทศ ฉบับที่ 2 ปี 2565-2570

ปัจจุบันมีการเผยแพร่งานวิจัยที่ศึกษาทั้งองค์ประกอบและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจาก เปลือกส้มโอเป็นจำนวนมาก ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ ต้านโรคเบาหวาน ฤทธิ์ป้องกันโรคอ้วน และฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ จากการสืบค้นข้อมูลพบว่ามีผู้วิจัยน้อย รายทดลองนำสารสกัดจากเปลือกส้มโอมาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อสุขภาพ ทางคณะผู้จัดทำ จึงมีความสนใจและตระหนักถึงคุณประโยชน์ของเปลือกส้มโอและความสำคัญของการนำทรัพยากร วัตถุดิบเหลือใช้มาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ใหม่เพื่อยกระดับและเพิ่มมูลค่าให้ผลผลิต กล่าวคือ เป็นการดีที่จะ พลิกวิกฤติให้เป็นโอกาส

คณะผู้จัดทำ

## โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์ปีการศึกษา 2566

### เรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจากเปลือกส้มโอ

#### ผู้จัดทำโครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

1. นสภ. ญาดา เยี่ยงวรกุล 62210012
2. นสภ. เกตุสุตา คณาเนปะ 62210036
3. นสภ. ตุลญาณี ชุมมุง 62210056

#### อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

1. ผศ.ดร.ภญ.เนตรชนก เจียงสีบชาติวิระ
2. ผศ.ดร.ภญ.ธัญชนก ศิริรักษ์

#### บทคัดย่อ

ปัจจุบันมีการเผยแพร่งานวิจัยที่ศึกษาทั้งองค์ประกอบและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากเปลือกส้มโอเป็นจำนวนมาก ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ต้านโรคเบาหวาน ฤทธิ์ป้องกันโรคอ้วน และฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ จากการสืบค้นข้อมูลพบว่าการนำสารสกัดจากเปลือกส้มโอมาทำผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อสุขภาพมีปริมาณน้อย การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อสกัดสาร hesperidin และ pectin จากเปลือกส้มโอ ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ hesperidin และ pectin ที่สกัดได้จากเปลือกส้มโอด้วยวิธี ABTS assay พัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจากสารสกัดเปลือกส้มโอ และประเมินคุณลักษณะทางกายภาพและความคงตัวของตำรับผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจากเปลือกส้มโอ ผลการศึกษาพบว่าการสกัด hesperidin และ pectin ด้วยวิธีการสกัดแบบต่อเนื่องได้ปริมาณ pectin 21.27% และ hesperidin 2.97% เมื่อนำสารสกัดทั้งสองมาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS assay จะได้ค่า  $IC_{50}$  ของ pectin และ hesperidin เท่ากับ  $2.9644 \pm 0.0805$  และ  $0.0006 \pm 0.0031$  mg/mL ตามลำดับ การพัฒนาตำรับยาลี่จากสารสกัด hesperidin และ pectin ให้เนื้อเยลลี่ที่มีความแข็งดี ขึ้นรูปไม่เหลวจนเกินไป มีความแดง ความหนืด และรสชาติดี จนได้ตำรับยาลี่ที่ดีที่สุดที่มีสารก่อเจลที่ความเข้มข้น 3% w/v ประกอบด้วย pectin และ

carrageenan ในอัตราส่วน 4:6 ใช้ hesperidin 0.05 % และสารให้ความหวาน erythritol 30% ในการศึกษาคุณลักษณะทางกายภาพเบื้องต้น และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์เยลลี่เปรียบเทียบกับระหว่างวันแรกๆที่เตรียม หลังเก็บที่อุณหภูมิห้องนาน 30 วัน และหลังเก็บที่อุณหภูมิ 4°C นาน 30 วัน พบว่าผลิตภัณฑ์เยลลี่ในวันแรกหลังเตรียมเสร็จ เก็บที่อุณหภูมิห้องนาน 30 วัน และเก็บที่อุณหภูมิ 4°C นาน 30 วัน ที่ความเข้มข้น 10 mg/mL มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยให้ค่า %inhibition เท่ากับ  $23.20 \pm 1.43$ ,  $11.39 \pm 0.40$  และ  $12.62 \pm 2.80\%$  ตามลำดับ ทั้งนี้เยลลี่หลังการทดสอบความคงตัวทั้งสองสภาวะยังคงความแข็ง ความแดง ความหนุบหนับ สี กลิ่น และรสชาติที่อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ในการรับประทาน ไม่พบการเจริญเติบโตของเชื้อรา ซึ่งผลการศึกษาค้างนี้จะสามารถใช้เป็นแนวทางในการต่อยอดพัฒนาผลิตภัณฑ์เยลลี่หรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหารอื่น ๆ จากสารสกัดเปลือกส้มโอเพื่อต้านอนุมูลอิสระให้แก่วางกายต่อไป

อาจารย์ที่ปรึกษา.....

**Senior Project Academic Year 2023****: Development of Dietary Supplement from Pomelo Peel extract****By**

1. Miss Yada Yeangvorakul ID 62210012

2. Miss Gatsuda Kananepa ID 62210036

3. Miss Tunlayanee Chummung ID 62210056

**Advisor:**

Assist. Prof. Dr.Nadechanok Jiangseubchatveera

Assist. Prof. Dr.Thanchanok Sirirak

---

**Abstract**

Many studies have been published recently related to the components and biological effects of pomelo peel extract, including its antioxidant, anti-microbial, anti-inflammatory, anti-diabetic, anti-obesity, and other biological properties. The healthy dietary supplements developed from pomelo peel are uncommon, nevertheless. The aim of this study is to extract hesperidin and pectin from pomelo peels, evaluate the antioxidant activity using the ABTS assay, develop a jelly dietary supplement product utilizing pomelo peel extracts, and assess the physical characteristics and the product's stability. According to the study, the continuous extraction method yielded a pectin and hesperidin concentration of 21.27% and 2.97%, respectively. Using the ABTS assay to test their antioxidant activity, pectin and hesperidin had  $IC_{50}$  values of  $2.9644 \pm 0.0805$  and  $0.0006 \pm 0.0031$  mg/mL, respectively. The development of a jelly dietary supplement using pectin and hesperidin to improve hardness, cohesiveness, springiness, chewiness and

taste. The best combination of ingredients included 3% gel-forming agents (carrageenan and pectin in a 4:6 ratio), 0.05% hesperidin, and 30% erythritol as a sweetener. The jelly products' primary physical properties and antioxidant activity were compared on the first day of production, 30 days after storage at room temperature, and 30 days after storage at 4°C. The concentration of 10 mg/mL of jelly products demonstrated antioxidant activities, with percentage inhibition values of  $23.20 \pm 1.43$ ,  $11.39 \pm 0.40$  และ  $12.62 \pm 2.80\%$ , respectively. In addition, the jelly products kept their acceptable eating qualities after passing the two-condition stability test in terms of hardness, cohesiveness, springiness, chewiness, color, and flavor. No fungal formation. The outcomes of this study can serve as guidelines for further development of jelly, or additional dietary supplements aimed at boosting antioxidant activity.

Major Advisor.....

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงลงได้ด้วยดีเนื่องจากได้รับทุนวิจัยสนับสนุนจากคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ประจำปีการศึกษา 2566 และได้รับความกรุณาจาก ผศ.ดร.ภญ.เนตรชนก เจียงสืบชาติวีระ และ ผศ.ดร.ภญ.ฉันทย์ชนก ศิริรักษ์ อาจารย์ที่ปรึกษาและอาจารย์ที่ปรึกษาร่วมโครงการวิจัยที่กรุณาให้คำปรึกษาและเสนอแนะแนวทางที่ถูกต้องตลอดระยะเวลาทำการวิจัย จึงขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ทั้งสองท่านเป็นอย่างสูง

ขอขอบคุณผู้ช่วยวิจัยสำหรับคำแนะนำและความอนุเคราะห์เรื่องการทำงานในห้องปฏิบัติการ และเพื่อนร่วมงานที่อำนวยความสะดวกและช่วยเหลือกันและกันในการทำงานวิจัยครั้งนี้

สุดท้ายนี้ผู้วิจัยหวังว่ารายงานวิจัยฉบับนี้จะเป็นประโยชน์สำหรับหน่วยงานที่เกี่ยวข้องและผู้สนใจศึกษาต่อไป

คณะผู้จัดทำ

1. นสภ. ญาดา เยี่ยงวรกุล 62210012
2. นสภ. เกตุสุตา คณาเนปะ 62210036
3. นสภ. ตุลญาณี ชุมมุง 62210056



## สารบัญ

| หัวข้อ                                                                    | หน้า |
|---------------------------------------------------------------------------|------|
| บทที่ 1 บทนำ.....                                                         | 1    |
| 1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา .....                                       | 1    |
| 1.2 วัตถุประสงค์.....                                                     | 2    |
| 1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ .....                                       | 2    |
| 1.4 กรอบแนวคิด.....                                                       | 2    |
| 1.5 นิยามศัพท์ .....                                                      | 3    |
| บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง .....                                  | 4    |
| 2.1 ส้มโอ.....                                                            | 4    |
| 2.2ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของเปลือกส้มโอ.....                                  | 15   |
| 2.3 วิธีการสกัดสารสำคัญจากพืชหรือสมุนไพรในปัจจุบัน .....                  | 19   |
| 2.4 การสกัด hesperidin และ pectin.....                                    | 22   |
| 2.5 การวิเคราะห์เอกลักษณ์ของ hesperidin และ pectin (Identification) ..... | 23   |
| 2.6 การพัฒนาผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจากเปลือกส้มโอ .....                       | 23   |
| 2.7 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant activity).....              | 24   |
| บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย.....                                        | 24   |
| 3.1 วัสดุดิบและสารเคมี.....                                               | 24   |
| 3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ .....                                            | 25   |
| 3.3 การสำรวจแหล่งจำหน่ายและคัดเลือกผลส้มโอ .....                          | 26   |
| 3.4 การสกัดสารสำคัญจากเปลือกส้มโอ .....                                   | 26   |

|                                                                                                                                             |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.4 การตรวจสอบคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมี (Identification) .....                                                                           | 27 |
| 3.6 การพัฒนาผลิตภัณฑ์เสริมอาหารประเภทเยลลี่จากเปลือกส้มโอ .....                                                                             | 29 |
| 3.7 การศึกษาลักษณะทางกายภาพและทางเคมีเบื้องต้นของตำรับ .....                                                                                | 31 |
| บทที่ 4 ผลการวิจัย และวิจารณ์ผลการวิจัย .....                                                                                               | 33 |
| 4.1 การสำรวจและการคัดเลือกผลส้มโอ .....                                                                                                     | 33 |
| 4.2 การสกัดสารสำคัญจากเปลือกส้มโอ .....                                                                                                     | 33 |
| 4.3 การตรวจสอบคุณลักษณะของ pectin และ hesperidin ด้วย FT-IR .....                                                                           | 33 |
| 4.4 การพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์เยลลี่จากสารสกัดเปลือกส้มโอ .....                                                                                 | 39 |
| 4.5 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเปลือกส้มโอ ผลิตภัณฑ์เยลลี่จากสารสกัดเปลือกส้มโอ และผลิตภัณฑ์เยลลี่หลังการทดสอบความคงตัว ..... | 43 |
| 4.6 ผลการทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์เยลลี่จากสารสกัดเปลือกส้มโอ .....                                                                        | 45 |
| บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย .....                                                                                                                | 51 |
| ข้อเสนอแนะ .....                                                                                                                            | 51 |
| เอกสารอ้างอิง .....                                                                                                                         | 52 |

## สารบัญตาราง

|                                                                                                                                                     |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| ตารางที่ 1 แสดงสูตรการเตรียมตำรับเยลลี่จากสารสกัดเปลือกส้มโอ.....                                                                                   | 31 |
| ตารางที่ 2 แสดงผลผลิตร้อยละของสารสกัดจากเปลือกส้มโอ .....                                                                                           | 33 |
| ตารางที่ 3 ลักษณะทางกายภาพ เนื้อสัมผัส และความเป็นกรด-ด่างของเยลลี่ที่มีอัตราส่วนต่าง ๆ ของ pectin : carrageenan ที่ความเข้มข้นของสารก่อเจล 3%..... | 39 |
| ตารางที่ 4 แสดงรสชาติที่ได้จากการปรับอัตราส่วนความเข้มข้นของ erythritol และ citric acid .....                                                       | 42 |
| ตารางที่ 5 สูตรตำรับผลิตภัณฑ์เยลลี่จากสารสกัดเปลือกส้มโอ.....                                                                                       | 42 |
| ตารางที่ 6 แสดงค่า IC <sub>50</sub> และ %inhibition ของแต่ละตัวอย่างโดยวิธี ABTS assay .....                                                        | 44 |
| ตารางที่ 7 แสดงคุณภาพของผลิตภัณฑ์หลังการทดสอบความคงตัวที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 30 วัน .....                                          | 45 |
| ตารางที่ 8 แสดงผลการวิเคราะห์ค่าความชื้นที่หายไปเมื่ออบแห้ง (%LOD) จากเครื่อง moisture analyzer .....                                               | 46 |
| ตารางที่ 9 แสดงผลการวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (texture analysis) จากเครื่องวัดเนื้อสัมผัส (texture analyzer).....                                        | 47 |
| ตารางที่ 10 แสดงค่า pH ของผลิตภัณฑ์เยลลี่ในรูปแบบต่าง ๆ ที่เตรียมได้.....                                                                           | 48 |

## สารบัญรูปภาพ

|                                                                       |    |
|-----------------------------------------------------------------------|----|
| รูปที่ 1 แสดงลักษณะของต้นส้มโอ.....                                   | 6  |
| รูปที่ 2 แสดงลักษณะของดอกส้มโอ .....                                  | 6  |
| รูปที่ 3 แสดงส่วนประกอบและโครงสร้างของผลส้มโอ .....                   | 8  |
| รูปที่ 4 แสดงโครงสร้าง hesperidin .....                               | 10 |
| รูปที่ 5 แสดงโครงสร้าง pectin .....                                   | 11 |
| รูปที่ 6 แสดงองค์ประกอบภายใน percolator.....                          | 20 |
| รูปที่ 7 แสดงการสกัดแบบไหลย้อนกลับ .....                              | 20 |
| รูปที่ 8 แสดงลักษณะการทำงานของ soxhlet extractor.....                 | 21 |
| รูปที่ 9 แสดง FT-IR spectra ของ hesperidin .....                      | 23 |
| รูปที่ 10 แสดง FT-IR spectra ของ pectin.....                          | 23 |
| รูปที่ 11 แสดง FT-IR spectrum ของสารมาตรฐาน pectin .....              | 34 |
| รูปที่ 12 แสดง FT-IR spectrum ของ pectin ที่สกัดได้.....              | 35 |
| รูปที่ 13 แสดง FT-IR spectrum ของสารมาตรฐาน hesperidin .....          | 37 |
| รูปที่ 14 แสดง FT-IR spectrum ของสารมาตรฐาน glucosyl hesperidin ..... | 37 |
| รูปที่ 15 แสดง FT-IR spectrum ของ hesperidin ที่สกัดได้ .....         | 38 |
| รูปที่ 16 แสดง FT-IR spectrum ของ purified hesperidin.....            | 38 |

## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา

ส้มโอ เป็นไม้ผลทางเศรษฐกิจที่สำคัญอีกชนิดหนึ่งซึ่งเป็นที่ต้องการของตลาดทั้งในและนอกประเทศ มีการบริโภคกันแพร่หลาย ปลูกกระจายอยู่ทั่วทุกภูมิภาคในประเทศและให้ผลผลิตตลอดทั้งปี พันธุ์ส้มโอที่เกษตรกรนิยมปลูก [1] ได้แก่ พันธุ์ขาวทองดี พันธุ์ขาวใหญ่ พันธุ์ขาวแตงกวา พันธุ์ขาวพวง พันธุ์ขาวแป้น พันธุ์ขาวหอม พันธุ์ขาวน้ำผึ้ง พันธุ์ท่าซ้อย และพันธุ์ทับทิมสยาม ในปัจจุบันมีการบริโภคเนื้อส้มโอเป็นหลัก ส่วนเปลือกส้มโอที่มีลักษณะหนาและไม่สามารถบริโภคสดได้นั้นกลายเป็นวัตถุดิบเหลือใช้ที่ถูกคัดทิ้งเป็นขยะปริมาณมากเมื่อเทียบกับสัดส่วนเนื้อส้มโอที่ได้ [2] ปัจจุบันจึงมีการแปรรูปส้มโอเพื่อใช้ประโยชน์หลายรูปแบบ เช่น น้ำมันหอมระเหย สเปรย์กันยุง น้ำยาล้างจาน และอาหารหวาน เป็นต้น

ปัจจุบันสถานการณ์ปัญหาขยะมูลฝอยในประเทศไทยมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นทุกวันตามจำนวนประชากรและการเปลี่ยนแปลงทางด้านเศรษฐกิจและสังคม หนึ่งในนั้นคือขยะเหลือทิ้งจากกระบวนการผลิต และการอุปโภคบริโภค เช่น เศษอาหาร เปลือกผักผลไม้ที่ถูกทิ้งให้เน่าเสียโดยไม่เกิดประโยชน์ ก่อมลพิษส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและสร้างทัศนียภาพจากข้อมูลสถานการณ์ขยะมูลฝอยของกรมควบคุมมลพิษ พบว่า ในปี พ.ศ. 2565 ประเทศไทยมีปริมาณขยะมูลฝอยเพิ่มขึ้นเป็น 25.70 ล้านตัน โดยมีการจัดทำแผนปฏิบัติการด้านการจัดการขยะของประเทศ ฉบับที่ 2 (พ.ศ. 2565 – 2570) มุ่งเน้นเรื่อง การจัดการขยะควบคู่ไปกับการรักษาสิ่งแวดล้อม ลดการใช้ทรัพยากรที่มีจำกัดและใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุดโดยการหมุนเวียนมาใช้ใหม่ตามหลักการจัดการขยะสมัยใหม่ที่อารยประเทศยอมรับ เช่น BCG Model และ 3R ซึ่งมีความสอดคล้องกับแผนแม่บทภายใต้ยุทธศาสตร์ชาติ พ.ศ. 2566-2580 (ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม) ในประเด็น (03) การเกษตร ห่วงโซ่แผนย่อย เกษตรแปรรูป [3]

คุณประโยชน์ของเปลือกส้มโอมีหลากหลาย โดยพบว่าเปลือกส้มโอเป็นแหล่งใยอาหารคุณภาพดี มีสารสำคัญที่อุดมไปด้วยฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ต้านโรคเบาหวาน ฤทธิ์ป้องกันโรคอ้วน และฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ [4] คณะผู้วิจัยตระหนักถึงคุณประโยชน์

เหล่านี้ของเปลือกส้มโอที่ถูกคัดทิ้งเป็นขยะและเห็นความสำคัญของการนำวัตถุดิบเหลือใช้มาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ใหม่เพื่อยกระดับและเพิ่มมูลค่าให้สินค้า จึงมีความสนใจจะนำเปลือกส้มโอมาสกัดและทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสำคัญที่ได้ รวมถึงการนำสารที่ได้มาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อสุขภาพต่อไป

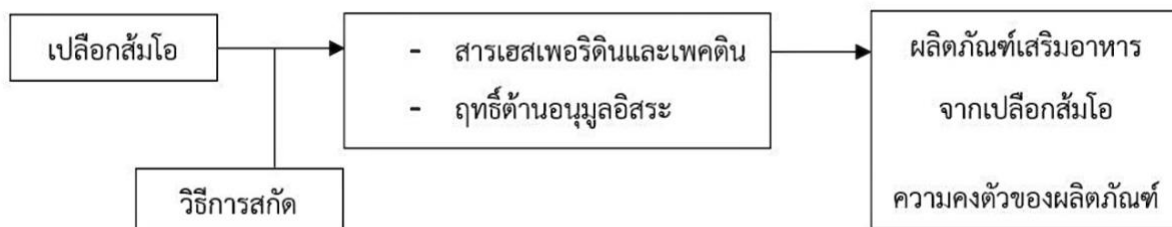
## 1.2 วัตถุประสงค์

1. เพื่อสกัดสารเฮสเพอริดิน (hesperidin) และเพคติน (pectin) จากเปลือกส้มโอ
2. ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเฮสเพอริดิน (hesperidin) และเพคติน (pectin) ที่สกัดได้จากเปลือกส้มโอ
3. เพื่อพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจากสารสกัดเปลือกส้มโอ
4. เพื่อประเมินคุณลักษณะทางกายภาพและความคงตัวของตำรับผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจากเปลือกส้มโอ

## 1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้สารเฮสเพอริดิน (hesperidin) และเพคติน (pectin) ที่สกัดได้จากเปลือกส้มโอ
2. ทราบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเฮสเพอริดิน (hesperidin) และเพคติน (pectin) ที่สกัดได้จากเปลือกส้มโอ
3. ได้ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจากเปลือกส้มโอที่มีคุณลักษณะทางกายภาพที่ดีและความคงตัวดี
4. ได้ผลงานวิจัยเผยแพร่เป็นข้อมูลให้ผู้ที่สนใจนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

## 1.4 กรอบแนวคิด



## 1.5 นิยามศัพท์

1. ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ใช้กินนอกเหนือจากการกินอาหารตามปกติ ซึ่งมีสารอาหารหรือสารอื่นเป็นองค์ประกอบอยู่ในรูปแบบเม็ด แคปซูล ผง เกล็ด ของเหลว หรือลักษณะอื่นซึ่งมีใช้รูปแบบอาหารปกติ ใช้กับผู้บริโภคสุขภาพปกติที่คาดหวังประโยชน์ด้านส่งเสริมสุขภาพ [5]

2. BCG Model หมายถึง แนวทางการพัฒนาเศรษฐกิจชีวภาพ-เศรษฐกิจหมุนเวียน-เศรษฐกิจสีเขียว ประกอบด้วย [6]

2.1 เศรษฐกิจชีวภาพ (Bio Economy) เป็นการพัฒนาต่อยอดความรู้ด้านเทคโนโลยีและนวัตกรรม เพื่อยกระดับและเพิ่มมูลค่าให้ผลผลิต

2.2 เศรษฐกิจหมุนเวียน (Circular Economy) เป็นการนำทรัพยากรหรือผลิตภัณฑ์ที่ใช้แล้วเข้ากระบวนการผลิตอีกครั้ง เพื่อนำกลับมาใช้ใหม่หรือแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ใหม่

2.3 เศรษฐกิจสีเขียว (Green Economy) เป็นการใช้เทคโนโลยีการผลิตที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

3. 3R หมายถึง หลักการกำจัดของเสีย ซึ่งประกอบด้วย [7]

3.1 การลดการใช้ (Reduce)

3.2 การใช้ซ้ำโดยไม่ผ่านกระบวนการแปรรูป (Reuse)

3.3 การนำทรัพยากรเหลือใช้มาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ใหม่ (Recycle)

## บทที่ 2

### ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 ส้มโอ [8]

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Citrus grandis* (L.) Osbeck

ชื่อสามัญ: Pomelo

ชื่อพ้อง: *Citrus maxima* (Burm.f.) Merr., *Citrus aurantium* L. var. *grandis* L.,  
*Citrus pamplemos* Risso., *Aurantium maxima*

ชื่อวงศ์: Rutaceae

ชื่ออื่น: โกรยตะลอง (เขมร); มะขุน, มะโอ (ภาคเหนือ); ลิมาบาลี (มลายู-ยะลา); สังอุ (กะเหรี่ยง-แม่ฮ่องสอน); ส้มโอ (ทั่วไป)

ส้มโอเป็นไม้ผลทางเศรษฐกิจอีกชนิดที่เกษตรกรไทยนิยมปลูกทั่วทุกภูมิภาค เนื่องจากมีรสชาติดี กลิ่นหอม และเป็นที่ยอมรับของคนทั่วไป นอกจากนี้ยังมีมูลค่าการส่งออกสู่ตลาดต่างประเทศปีละหลายสิบล้านบาท ทำให้มีการขยายพื้นที่เพาะปลูกส้มโอไปยังจังหวัดต่าง ๆ มากขึ้น [9]

แต่เดิมพื้นที่เพาะปลูกส้มโอตั้งอยู่ที่เขตจังหวัดทางตะวันตก เช่น นนทบุรี นครปฐม จากการสำรวจ ในปัจจุบันพบว่าพื้นที่เพาะปลูกส้มโอมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นและกระจายอยู่ในจังหวัดต่าง ๆ ทั่วประเทศ โดยมีแหล่งผลิตที่สำคัญ ได้แก่ นครปฐม ตราด ชุมพร สงขลา เป็นต้น [10]

##### 2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของส่วนต่าง ๆ ของส้มโอ [11]

**ลำต้น** ส้มโอเป็นไม้ยืนต้นขนาดกลาง สูง 6-8 เมตร หากปลูกในแหล่งที่เหมาะสมหรือมีอายุมากอาจสูงถึง 15 เมตร ทรงต้นโปร่ง ลำต้นและกิ่งก้านใหญ่ (รูปที่ 1) บางพันธุ์อาจมีหนามตามลำต้น ต้นปลูกด้วยเมล็ดซึ่งมีหนามแข็งยาว

**ใบ** ใบส้มโอมีลักษณะเป็นรูปไข่ยาว (ovate oblong) หนา ใหญ่ และเป็นมัน เส้นใบนูนเด่น ความยาวของแผ่นใบ 13.5-17 cm ความกว้างของแผ่นใบ 7.5-9 cm แบ่งเป็น 2 ตอน



คือ ตัวใบ และหูใบ (ส่วนก้านใบ) ปลายใบมนและซ้อนขึ้นเล็กน้อย ใบด้านบนสีเขียวเข้มเป็นมัน ด้านล่างสีเขียวอ่อนมีขนอ่อนนุ่ม ริมใบเป็นหยักเล็ก ๆ และมีหยักใหญ่ 1 หยัก

**ก้านใบ** ประกอบด้วยส่วนของหูใบซึ่งมีลักษณะเป็นปีกใหญ่ยาว รูปทรงคล้ายหัวใจ กลับด้านหรือรูปไข่หัวกลับเรียวยาวมาทางก้านใบ

**ดอก** ส้มโอออกดอกบริเวณปลายกิ่ง มีลักษณะเป็นช่อ (axillary raceme) จำนวน 10-20 ดอก บางครั้งอาจออกดอกเดี่ยว เป็นดอกสมบูรณ์เพศ (perfect flower) ขนาดค่อนข้างใหญ่ ก้านดอกยาว กลีบดอกสีขาวมี 4-5 กลีบ มีต่อมน้ำมันที่กลีบดอก กลีบรองมีสีเขียวอ่อนสั้น 4-5 นิ้ว ถัดมาเป็นเกสรตัวผู้มี 16-24 อัน ล้อมรอบรังไข่ รูปกลม สีเขียวอ่อน ก้านเกสรตัวเมียใหญ่ ปลายกลม (รูปที่ 2) เมื่อดอกบาน มีกลิ่นหอมคล้ายดอกแก้ว ฤดูออกดอกกลางเดือนธันวาคมถึงเดือนกุมภาพันธ์ (ภาคกลาง) และอีกครั้งหนึ่งระหว่างเดือนสิงหาคมถึงกันยายน ระยะผลิดอกถึงดอกบานใช้เวลา 25-30 วัน ดอกบานถึงผลแก่ 180-210 วัน

**ผล** ผลประเภท berry จำพวก hesperidium มีขนาดใหญ่ เส้นผ่านศูนย์กลาง 12-18 cm สูง 14-16 cm ทรงผลมีหลายแบบ เช่น กลมมน กลมแป้น กลมสูง มีจุดคล้ายผลสาลีเปลือกหนา 2-2.5 cm มีลักษณะนุ่มจัดเป็น pericarp ของผล เนื้อที่ใช้บริโภคเจริญมาจาก endocarp มีลักษณะเป็นเส้นอวบน้ำอัดรวมตัวกันอยู่ เรียกว่า กุ้ง (juice sacs) ภายในบรรจุน้ำรสหวานอมเปรี้ยว ด้านในผลแบ่งออกเป็นร่องหรือกลีบ 12-14 กลีบ ตอนกลางมีแกนแข็ง (core) บางผลไม่มีจึงเป็นโพรงกลวงกลางผล ปริมาณผลในต้นหนึ่งมีตั้งแต่ 40-100 ผล เฉลี่ย 45 ผล/ต้น

**เมล็ด** เมล็ดสีขาวอมเหลือง ขนาดค่อนข้างใหญ่ แบน เปลือกย่น ผิวเมล็ดมีลักษณะเป็นร่องเล็ก ๆ และมักอยู่รวมกันตรงกลางผลรอบ ๆ แกน บางผลไม่มีเมล็ดหรือเมล็ดลีบ จำนวนเมล็ดแตกต่างกันแต่ละผลและสายพันธุ์ (0-265 เมล็ด)

**ราก** รากปฐมภูมิ (primary root) เจริญออกมาเมื่อเมล็ดเริ่มงอก ส่วนนี้จะเจริญไปเป็นรากแก้ว (tap root) ส่วนรากทุติยภูมิ (secondary root) มีอยู่ 2 แบบคือ pioneer root กับ fibrous root ซึ่ง pioneer root เจริญมาจาก tap root การเจริญเป็นแบบ epitopic growth รากส้มโอส่วนใหญ่อยู่ต่ำกว่าระดับดิน 2 ฟุต การเจริญเติบโต ของรากสัมพันธ์ถึงการเติบโตของทรงพุ่มเหนือพื้นดิน เช่น ถ้าทรงต้นชะลูดต้นส้มโอจะมี tap root แหวงตั้ง

ลงในแนวลึก ถ้าแตกพุ่มแผ่กว้าง fibrous root ในแนวลึกมีน้อย ในสภาพปกติไม่พบราก ขนอ่อน (root hair) ในรากพืชวงศ์ส้มเลย



รูปที่ 1 แสดงลักษณะของต้นส้มโอ [12]



รูปที่ 2 แสดงลักษณะของดอกส้มโอ [13]

### 2.1.2 ส่วนประกอบและโครงสร้างของผลส้มโอ [14]

โครงสร้างของผลส้มโอแบ่งเป็น 3 ส่วน คือ เปลือกชั้นนอก (flavedo) เปลือกชั้นใน หรือเปลือกชั้นกลาง (albedo) และเปลือกชั้นในสุดหรือเนื้อเยื่อของผล (segment membranes) ซึ่งเป็นส่วนที่นำมารับประทานและมีถุงน้ำ (juice sacs) จำนวนมาก (รูปที่ 3)

#### 2.1.2.1 เปลือกชั้นนอกสุด (Exocarp หรือ Flavedo)

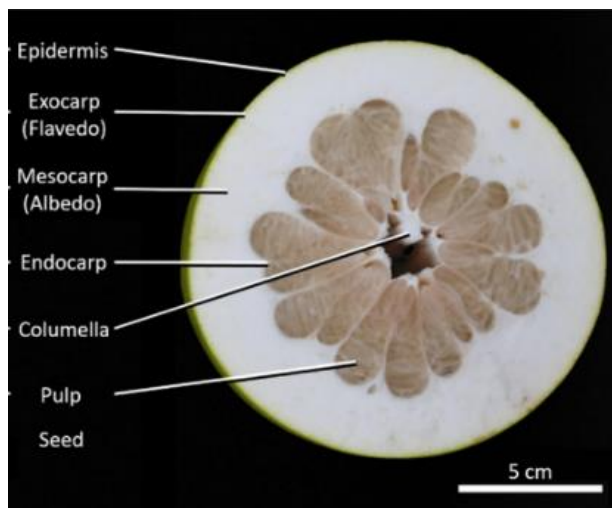
เปลือกชั้นนอกสุดสีเขียวมีลักษณะเหนียวและบางกว่าเปลือกชั้นใน ประกอบด้วย ชั้นเซลล์ผิว (epidermal layer) ชั้นใต้เซลล์ผิว (subepidermal layer) และต่อมน้ำมัน (oil glands) กระจายตัวอยู่ทั่วบริเวณผิวผล ชั้นเซลล์ผิวประกอบด้วย เซลล์รูปร่างสี่เหลี่ยมผืนผ้า 1 ชั้น ด้านนอกมีคิวทิเคิลเคลือบ (cuticle layer) ชั้นใต้เซลล์ผิวประกอบด้วยเซลล์ parenchyma 2-3 ชั้นเรียงชิดกัน โดยข้างใต้ชั้นดังกล่าวจะมีเซลล์ parenchyma ขนาดใหญ่กว่าเรียงอยู่ เมื่อเกิดการเสื่อมของเซลล์ parenchyma จะเกิดเป็นช่องว่างแบบ schizolysigenous intercellular space ซึ่งภายในมีน้ำมัน จึงเรียกว่า ต่อมน้ำมัน

#### 2.1.2.2 เปลือกชั้นกลางหรือเปลือกชั้นใน (Mesocarp หรือ Albedo)

เปลือกชั้น albedo มีลักษณะหนาประมาณ 1-3 cm อ่อนนุ่ม เป็นสีขาว และมีรูพรุนคล้ายฟองน้ำ ประกอบด้วยเซลล์ parenchyma รูปร่างหลายเหลี่ยม มีช่องว่างระหว่างเซลล์ใหญ่ และมีกลุ่มท่อลำเลียงชั้นเซลล์ส่วนใหญ่เป็นเนื้อเยื่อ mesocarp แต่ชั้นด้านในสุด 2-3 ชั้นเป็นเนื้อเยื่อ endocarp

#### 2.1.2.3 เปลือกชั้นในสุดหรือเนื้อเยื่อของผล (Endocarp หรือ Juice sacs หรือ Segment membranes)

เนื้อเยื่อของผลเรียงเป็นกลีบของเนื้อส้มโอ ในหนึ่งผลมีประมาณ 12-14 กลีบ ที่แยกออกจากกันได้ง่าย ไม่เชื่อมติดกันแน่น อาจมีหรือไม่มีแกนอยู่ตรงกลางผล เนื้อผล ซึ่งเป็นส่วนที่รับประทานได้มีลักษณะเป็นถุงน้ำ (juice sacs) ซึ่งพัฒนามาจาก endocarp อัดแน่นเป็นระเบียบ ภายในมีน้ำรสหวานหรือหวานอมเปรี้ยวบรรจุอยู่ สีของเนื้อผลขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ บางสายพันธุ์อาจมีเมล็ดมาก ปานกลาง หรือไม่มีเลย โดยทั่วไปเมล็ดส้มโอจะมีขนาดใหญ่กว่า เมล็ดผลไม้ตระกูลส้มอื่น ๆ



รูปที่ 3 แสดงส่วนประกอบและโครงสร้างของผลส้มโอ [15]

### 2.1.3 เปลือกส้มโอ

จากงานวิจัยของ Anmol et al. (2564) [16] พบว่า flavonones ที่มีอยู่ในเปลือกของส้มโอส่วนใหญ่อยู่ในรูปของ aglycones และ glycosides โดย flavonone aglycones ที่พบได้บ่อย คือ hesperetin, naringenin และ eriodictyol ส่วน flavonones ที่มีมากที่สุด ได้แก่ naringin, naringenin, neoeriodictin และ neohesperidine

ส้มโอจัดเป็นผลไม้ในกลุ่ม citrus fruits ที่มีขนาดใหญ่ที่สุด โดยเปลือกของส้มโอที่มีสัดส่วนประมาณร้อยละ 30 ของน้ำหนักผลทั้งหมดมักจะเป็นขยะเหลือทิ้งทางการเกษตร เปลือกส้มโอมีส่วนประกอบที่หลากหลาย เช่น น้ำมันหอมระเหย (essential oils) สารประกอบคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อน (polysaccharides) และสารพฤกษเคมี (phytochemicals) ได้แก่ pectin, flavonoids, phenolic acids, carotenoids, hesperidin และ coumarins เป็นต้น [14] ซึ่งสารสกัดจากเปลือกส้มโอและสารประกอบบริสุทธิ์ที่แยกได้เหล่านี้ผ่านการประเมินศักยภาพทางการแพทย์ทั้งในหลอดทดลองและสัตว์ทดลองพบว่า มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ลดไขมัน ฤทธิ์ลดน้ำตาล และฤทธิ์ต้านมะเร็ง เป็นต้น [17]

จากงานวิจัยของ จิตรวดี ตั้งหิรัญรัตน์ และคณะ (2562) [18] ที่ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง โดยเปรียบเทียบปัจจัยด้านความเข้มข้นของสารละลาย

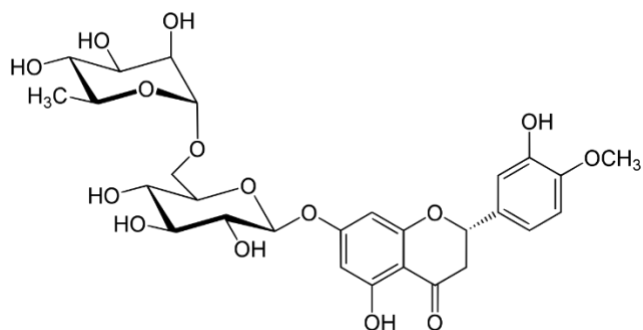
เอทานอล (80, 90 และ 95 %v/v) และอุณหภูมิการสกัด (60 และ 80°C) ที่มีผลต่อประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชัน และปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ แล้วจึงนำไปทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัด สำหรับประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันทดสอบด้วยวิธี DPPH assay และ FRAP assay ตรวจสอบปริมาณ total flavonoids และ total phenolic content พบว่าความเข้มข้นของตัวทำละลาย และอุณหภูมิในการสกัดมีผลต่อประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชัน และปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยสภาวะที่เหมาะสมที่สุด คือ ความเข้มข้นเอทานอล 90%v/v และอุณหภูมิในการสกัด 80 °C เนื่องจากได้สารสกัดที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด (ค่า half maximal effective concentration ( $EC_{50}$ ) เท่ากับ 2.53 mg/g crude extract และ ferric reducing antioxidant power (FRAP) value เท่ากับ 8.78 mg trolox equivalent (TE) / g crude extract) และได้ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสูง (total flavonoid content เท่ากับ 8.84 mg catechin equivalent (CE) / g crude extract และ total phenolic content เท่ากับ 6.89 mg gallic acid equivalent (GAE) / g crude extract)

ตัวอย่างสารประกอบบริสุทธิ์ที่ได้จากเปลือกส้มโอ เช่น เฮสเพอริดิน และเพคติน

### 2.1.3.1 เฮสเพอริดิน (Hesperidin)

เฮสเพอริดิน (Hesperidin : 3,5,7-trihydroxyflavanone 7-rhamnoglucoside, hesperetin-7-O-rutinoside) เป็นสารประกอบ flavanone (รูปที่ 4) ที่เป็นกลุ่มย่อยของสารในกลุ่ม flavonoids โดยเป็นส่วนประกอบหลักที่มีมากในเปลือกพืชตระกูลส้ม [19] มีคุณสมบัติทางชีวภาพที่หลากหลาย ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยมีค่า  $IC_{50}$  ต่ำอยู่ในช่วงระหว่าง 1.08 ถึง 4.51  $\mu\text{g/mL}$  [20] ฤทธิ์แก้ปวดและต้านการอักเสบ ฤทธิ์ต้านมะเร็ง ฤทธิ์ป้องกันความผิดปกติของระบบหัวใจและหลอดเลือด ฤทธิ์ป้องกันการเสื่อมของระบบประสาท [21] ฤทธิ์ลด cholesterol ในเลือด ฤทธิ์ลดความดันโลหิตและขับปัสสาวะ ฤทธิ์การรักษาเส้นเลือดอุดตันและโรคหลอดเลือดหัวใจ นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ในการรักษาโรคอ้วน โดยกระตุ้นให้เกิดการปลดปล่อย

ฮอร์โมน cholecystokinin (CCK) ในเซลล์ enteroendocrine STC-1 ซึ่งใช้ในการควบคุมความอยากอาหาร [22]



รูปที่ 4 แสดงโครงสร้าง hesperidin [23]

#### ฤทธิ์ทางชีวภาพของเฮสเพอริดิน (Biological activity of hesperidin)

จากงานวิจัยของ Aalikhani et al. (2565) [24] ทำการตรวจสอบฤทธิ์การยับยั้งธาตุเหล็กของ hesperidin และ coumarin ในเนื้อเยื่อสมองของหนูที่มีธาตุเหล็กมากเกินไป โดยให้หนูกลุ่มนั้นได้รับการรักษาด้วย hesperidin, coumarin และ desferal สัปดาห์ต่อสัปดาห์เป็นเวลา 1 เดือน ผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่า hesperidin และ coumarin สามารถยับยั้งธาตุเหล็กส่วนเกินออกจากซีรัมและเนื้อเยื่อในสมองได้เป็นอย่างดีเมื่อเทียบกับกลุ่ม desferal นอกจากนี้หนูที่ได้รับ hesperidin และ coumarin มีการทำงานของเอนไซม์ catalase และ super oxidase เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ กล่าวได้ว่า hesperidin และ coumarin เป็นตัวเลือกที่มีประสิทธิภาพในการขับออกไอออนของเหล็กและเพิ่มการทำงานของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ

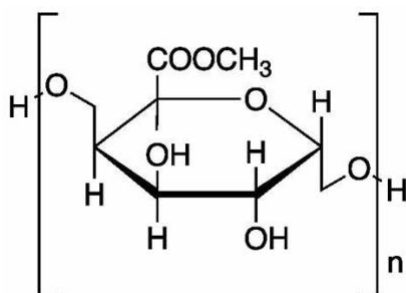
จากงานวิจัยของ Ali et al. (2563) [25] ประเมินฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือด ฤทธิ์ลดไขมันในเลือด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด hydroethanolic และ flavonoids 2 ชนิด ได้แก่ hesperidin และ quercetin จากเปลือก *Citrus reticulata* ในหนูที่ถูกรบกวนทำให้เกิดเบาหวานชนิดที่ 2 โดย nicotinamide (NA)/streptozotocin (STZ) ผลการศึกษาพบว่า hesperidin และ quercetin มีประสิทธิภาพในการต้านเบาหวานผ่านกลไกออกฤทธิ์กระตุ้น insulin รวมถึงบรรเทา

ระบบป้องกันด้วยสารต้านอนุมูลอิสระของร่างกายซึ่งช่วยเสริมฤทธิ์ต้านเบาหวานและปรับปรุงการทำงานของตับและไตในหนูที่เป็นเบาหวานชนิดที่ 2

จากงานวิจัยของ Xiao et al. (2561) [26] ศึกษาผลของ hesperidin ต่อเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ของมนุษย์ (human mesenchymal stem cells: MSCs) ในการซ่อมแซมเนื้อเยื่อกระดูกอ่อน พบว่า hesperidin ปรับปรุงความสามารถในการแบ่งเซลล์ทดแทนตนเอง (self-renewal) และการสร้างกระดูกของ MSCs ให้ดีขึ้น รวมถึงยับยั้งการหลั่งไซโตไคน์ก่อการอักเสบ ได้แก่ IFN- $\gamma$ , IL-2, IL-4 และ IL-10 ยับยั้งการแสดงออกของ p65 จึงกล่าวได้ว่า hesperidin ช่วยเพิ่มการสร้างกระดูกอ่อนของ MSCs ของมนุษย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพผ่านฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบ และเอื้อต่อการซ่อมแซมเนื้อเยื่อกระดูกอ่อน

### 2.1.3.2 เพคติน (Pectin)

Pectin เป็นพอลิเมอร์ชีวภาพในกลุ่มสารประกอบ polysaccharides พบได้มากในผักและผลไม้ อาทิ กัลวีย แอปเปิ้ล ขนุน และส้มโอ ปัจจุบันถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องสำอางแพร่หลายเนื่องจากมีคุณสมบัติเป็นสารก่อเจลเมื่อรวมตัวกับน้ำตาลและกรดในปริมาณที่เหมาะสม เจลที่เกิดมีลักษณะอ่อนนุ่ม นิยมนำมาทำแยมหรือเยลลี่ นอกจากนี้ pectin ยังเป็นสารเพิ่มความข้นหนืด สามารถเพิ่มความคงตัวในอาหารและช่วยลดการแยกชั้นในผลิตภัณฑ์ที่เป็นกรด อาทิ นมเปรี้ยว และน้ำผลไม้ [27]



รูปที่ 5 แสดงโครงสร้าง pectin [28]

จากงานวิจัยของ Yan et al. (2566) [29] ศึกษาลักษณะโครงสร้างและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ pectic polysaccharide สกัดจาก *Veronica peregrina* L. โดยใช้น้ำร้อน และแยก

ส่วนด้วยวิธี ion exchange chromatography และ gel permeation chromatography ในการศึกษานี้มีการเตรียม pectin สองชนิด ได้แก่ WVPP-A2b และ WVPP-A3b เมื่อนำมาวิเคราะห์พบว่ามี monosaccharides เป็นองค์ประกอบ ได้แก่ GalA, Rha, Gal และ Ara โดยมีสัดส่วนรวมกัน 80% รวมถึงมี HG, RG-I และ RG-II ซึ่งมีอัตราส่วนมวล คือ 2.08 : 2.64 : 1.00 และ 3.87 : 4.65 : 1.00 ตามลำดับ pectin ทั้งสองชนิดเกิด methyl esterification คล้ายกัน แต่แตกต่างกันในด้านฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งทำการทดสอบด้วยวิธี DPPH, OH และ ABTS พบว่า WVPP-A3b ซึ่งมีองค์ประกอบ GalA และ HG สูงกว่าจึงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่แรงกว่า และเป็นสารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติที่นำมาใช้ทางยาหรืออาหารเพื่อสุขภาพ

จากงานวิจัยของ รณชัย จันทรัตน์ และคณะ (2563) [30] ศึกษาผลของการเติม pectin จากเปลือกส้มโอในผลิตภัณฑ์คุกกี้ 3 ระดับ ได้แก่ ร้อยละ 0, 5 และ 10 ของน้ำหนักแป้งสาลีต่อคุณสมบัติทางกายภาพและเคมี พบว่า การเติมเพคตินปริมาณมากขึ้นส่งผลให้ความชื้นของคุกกี้เพิ่มขึ้น ( $p < 0.05$ ) ส่วนร้อยละน้ำหนักที่หายไป การแผ่กระจาย และค่าสีมีแนวโน้มลดลง ( $p < 0.05$ ) ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส พบว่า คุกกี้ที่เสริม pectin จากเปลือกส้มโอร้อยละ 5 มีคะแนนความชอบไม่แตกต่างจากคุกกี้ที่ไม่เสริม pectin ซึ่งเป็นปัจจัยควบคุม ( $p > 0.05$ ) จึงถือเป็นปริมาณที่เหมาะสมที่สุดในการผลิตคุกกี้

### ฤทธิ์ทางชีวภาพของเพคติน (Biological activity of pectin)

#### ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

จากงานวิจัยของ สุदारัตน์ เพ็ชรภิรมย์ (2560) [31] ที่ศึกษาความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและสารต้านแบคทีเรีย พบว่า pectin มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 6230.06 ppm เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน vitamin C ซึ่งมีค่าเท่ากับ 3.60 ppm และมีคุณสมบัติเป็นสารต้านแบคทีเรียโดยมีความสามารถในการยับยั้ง *Staphylococcus aureus* TISTR 2329 ได้ดีกว่า *Escherichia coli* TISTR 073

#### ฤทธิ์พรีไบโอติก

จากงานวิจัยของ Gómez et al. (2557) [32] ศึกษาฤทธิ์พรีไบโอติกของ pectic-oligosaccharides ที่ได้จากการสกัดด้วยกระบวนการบำบัดของเสียจากเปลือก



ส้ม (orange peel waste) โดยใช้ความร้อนชื้น (hydrothermal treatment: HTT) จากนั้นนำไปกรองผ่านเมมเบรนให้บริสุทธิ์แล้วนำสารสกัดเข้มข้นมาประเมินประสิทธิภาพฤทธิ์พรีไบโอติกโดยหมักกับหัวเชื้อจุลินทรีย์ในหลอดทดลอง โดยเปรียบเทียบผลลัพธ์กับการทดลองที่ใช้ pectin commercial fructo-oligosaccharides พบว่า pectic oligosaccharides สามารถเพิ่มจำนวน probiotics ในช่องปากและลำไส้โดยเฉพาะสายพันธุ์ bifidobacteria และ lactobacillus ซึ่งมีประโยชน์ในการช่วยย่อยอาหาร ช่วยผลิตกรดไขมันสายสั้นและช่วยเพิ่มการทำงานของลำไส้

#### ฤทธิ์ลด cholesterol ในเลือด

จากงานวิจัยของ Baekey et al. (2531) [33] ศึกษาผลของอาหารเสริม pectin สกัดจากเกรปฟรุตต่อ cholesterol ในพลาสมาและการพัฒนาของหลอดเลือดในลูกสุกร 18 ตัว โดยสุ่มอาหารหนึ่งในสามจากอาหารไม่เติมไขมัน (I) อาหารเพิ่มไขมัน/cellulose (II) และ อาหารเพิ่มไขมัน/pectin (III) มาให้ลูกสุกร ทำการวัด cholesterol ในพลาสมาทุกเดือน และตรวจหาภาวะ atherosclerosis เมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่าอาหารที่มีไขมันเสริม pectin ก่อ cholesterol ในพลาสมาโดยเฉลี่ยต่ำกว่าอาหารที่มีไขมันเสริม cellulose อย่างมีนัยสำคัญ (168 mg/dL เทียบกับ 249 mg/dL,  $p < 0.05$ ) และเกิดภาวะ atherosclerosis บริเวณ aorta น้อยลง (1.1% เทียบกับ 7.0%,  $p < 0.05$ ) รวมถึงบริเวณหลอดเลือดหัวใจน้อยลง (2.9% เทียบกับ 26.2% cross-sectional narrowing,  $p < 0.05$ ) โดยระดับ cholesterol ในพลาสมาส่งผลต่อความรุนแรงของภาวะ atherosclerosis บริเวณหลอดเลือด aorta ( $r = 0.836$ ) และหลอดเลือดหัวใจ ( $r = 0.735$ ) จึงสรุปว่าอาหารเสริม pectin สกัดจากเกรปฟรุตสามารถยับยั้งภาวะไขมันในเลือดสูงได้

### ฤทธิ์ลดการดูดซึมน้ำตาล

จากงานวิจัยของ Flourie et al. (2527) [34] ศึกษาผลของสารก่อเจล high methoxy apple pectin ต่อการดูดซึม glucose น้ำ และเกลือในลำไส้ โดยประเมินผลช่องท้องของอาสาสมัครสุขภาพดี 22 คน ด้วยเทคนิค intestinal perfusion ร่วมกับ occlusive balloon ใช้สารละลายทดสอบ (130 mM NaCl, 5 mM KCl, glucose หรือ mannitol 30 mM, PEG4000 5 g/L) ทำการศึกษา pectin สามความเข้มข้น ได้แก่ 6, 10 และ 15 g/L ประเมินผลของ pectin ที่ความเข้มข้น 6 และ 10 g/L ต่อความหนาของ jejunal unstirred layer ในอาสาสมัครสุขภาพดีอีก 9 คนด้วยเทคนิคทางไฟฟ้า โดย pectin ในสารละลาย mannitol จะดูดกลับน้ำและเกลือในทุกความเข้มข้น ขณะที่สารละลาย glucose จะลดการดูดซึมน้ำและเกลือลงอย่างมีนัยสำคัญที่ 10 และ 15 g/L เท่านั้น ( $p < 0.01$ ) โดยจะลดการดูดซึม glucose ในทุกความเข้มข้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.01$ ) ผลลัพธ์เหล่านี้ชี้ให้เห็นว่าในผู้ที่มีสุขภาพดี การให้ pectin โดยตรงอาจทำให้การดูดซึมในลำไส้ลดลงเนื่องจากความต้านทานของ jejunal unstirred layer ที่เพิ่มขึ้น

### ฤทธิ์เพิ่มมวลอุจจาระ

จากงานวิจัยของ Schwartz et al. (2525) [35] ศึกษาผลจากการรับประทานไฟเบอร์เป็นเวลานานต่อ gastric emptying glucose tolerance การตอบสนองของฮอร์โมน และการดูดซึม glucose และ lysine ที่ jejunum โดยให้ผู้เข้าร่วมการทดลองรับประทานอาหารไฟเบอร์ต่ำ (3 g) เป็นเวลาสองสัปดาห์ จากนั้นรับประทาน isocaloric diet เสริม apple pectin (7 ราย) หรือเสริม alpha-cellulose (6 ราย) 20 g/day เป็นเวลาสี่สัปดาห์ เมื่อสิ้นสุดการทดลองให้ผู้เข้าร่วมรับประทานอาหารไฟเบอร์ต่ำที่พื้นผิวเคลือบ  $^{99m}$ technetium sulfur-colloid แล้วตรวจสอบค่า gastric emptying half-time พบว่า ใช้เวลานานขึ้นเป็น 2 เท่าระหว่างได้รับ pectin ( $p < 0.005$ ) และกลับสู่ภาวะปกติในสามสัปดาห์หลังจากหยุดให้ pectin

## 2.2 ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของเปลือกส้มโอ

### 2.2.1 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant activity)

จากงานวิจัยของ Kumar et al. (2562) [36] ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเปลือกส้มโอที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่แตกต่างกัน โดย ตัวทำละลาย chloroform:methanol (2:1) ให้ %yield ต่ำที่สุดเท่ากับ 11.1% และ methanol ให้ %yield สูงที่สุดเท่ากับ 21.6% สำหรับ ethanol ให้ %yield เท่ากับ 15.9% และ hexane ให้ %yield เท่ากับ 12.7% ขณะที่สารสกัด ethanol (14 mg/mL) ของเปลือกส้มโอให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด คือ 88.8% นำน้ำมันถั่วลิสง 100 mL ที่ผสมสารสกัด ethanol ของเปลือกส้มโอ 1000, 1500 และ 2000 ppm เก็บไว้ในที่อุณหภูมิห้องนาน 21 วัน โดยมีน้ำมันถั่วลิสงที่ไม่ผสมสารสกัดเป็นตัวควบคุม วัดปริมาณ free fatty acid, iodine และ p-anisidine โดยประเมินหลังวันที่ 7 และหลังวันที่ 21 ผลพบว่าน้ำมันถั่วลิสงที่มีสารสกัดเปลือกส้มโอ 1500 และ 2000 ppm มีปริมาณ free fatty acid (2.66, 2.15%) และ p-anisidine (6.6, 4.68) ต่ำกว่า และมี iodine (52.8, 51.46) สูงกว่าตัวควบคุม (free fatty acid 9.32%, p- anisidine 9.85, iodine 33.9) สรุปได้ว่าสารต้านอนุมูลอิสระที่สกัดจากเปลือกส้มโอสามารถนำมาใช้ถนอมอาหารประเภทไขมันและน้ำมันได้

จากงานวิจัยของ He et al. (2562) [37] ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านการสร้างเม็ดสีเมลานินของน้ำมันหอมระเหยจากเปลือก *Citrus grandis* ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน ประเมินโดย DPPH, ABTS และอัตราการกำจัดอนุมูล superoxide anion ผลพบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจะแปรผันตรงตามความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหย โดยที่ความเข้มข้นต่ำกว่า 50  $\mu\text{g/mL}$  สามารถลดเมลานินได้โดยไม่ส่งผลกระทบต่อการทำงานของชีวิตและสัณฐานวิทยาของเซลล์ จากการวิเคราะห์ western blot พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกส้มโอสามารถควบคุมการแสดงออกของ tyrosinase (TYR) ในเซลล์ B16 แปรผันตามความเข้มข้น โดยยับยั้งได้สูงสุด 64.54%

จากงานวิจัยของ Jang et al. (2562) [38] ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเปลือก *Citrus grandis* Osbeck ด้วยวิธี DPPH และ FRAP พบว่ามีค่าเท่ากับ  $26.1 \pm 1.2\%$  และ  $2.3 \pm 0.3$  mM ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าสารสกัดเนื้อผลไม้ต่าง ๆ อย่างมีนัยสำคัญ โดยปริมาณ total phenolic ทั้งหมดจากสารสกัดจากเนื้อผลไม้ต่าง ๆ อยู่ระหว่าง  $4.8 \pm 0.3$  ถึง  $1.5 \pm 0.2$  mM GAE ขณะที่เปลือกส้มโอมีปริมาณ total phenolic และ flavonoid เท่ากับ  $214 \pm 10.3$  mM GAE และ  $134 \pm 0.2$  mg QE/g ตามลำดับ

จากงานวิจัยของ นันทชนก นันทะไชย และคณะ (2556) [39] วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้งที่ผ่านการนวดและการหมัก ประเมินโดยวิธี DPPH ผลพบว่าระยะเวลาการหมักที่แตกต่างกันส่งผลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ต่างกัน การหมักเป็นเวลา 1 ชั่วโมงมีค่าการต้านอนุมูลอิสระระหว่าง 61.74-62.15% สูงกว่าการหมักเปลือกส้มเป็นเวลา 3 ชั่วโมงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ในขณะที่การนวดและอุณหภูมิไม่มีผลต่อการต้านอนุมูลอิสระ

## 2.2.2 ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพ (Antimicrobial activity)

จากงานวิจัยของ พัทธรา เพชรบัวทอง และคณะ (2557) [40] ศึกษาผลของสารสกัดจากเปลือกส้มโอต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* และ *Vibrio parahaemolyticus* ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน 5 ระดับด้วยวิธี disc diffusion และ agar well diffusion พบว่า

- ผลของการสกัดสารจากเปลือกส้มโอด้วย 95% ethanol ต่อการยับยั้งเชื้อ *Vibrio harveyi* โดยวิธี disc diffusion พบว่าที่ความเข้มข้น 100% และกลุ่มที่เจือจางด้วยน้ำกลั่น 1:1, 1:2, 1:4 มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางวงใส 0.77, 0.67, 0.47 และ 0.50 mm ตามลำดับ ( $p \geq 0.05$ ) ส่วนที่อัตราส่วน 1:6 และกลุ่มควบคุมไม่ปรากฏวงใสจึงไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Vibrio harveyi*
- ผลของการสกัดสารจากเปลือกส้มโอด้วย 95% ethanol ต่อการยับยั้งเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* โดยวิธี disc diffusion พบว่าที่ความเข้มข้น 100% และกลุ่มที่เจือจางด้วยน้ำกลั่น 1:1 และ 1:2 มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางวงใส 0.87, 0.50 และ 0.40 mm ตามลำดับ ( $p \geq 0.05$ ) ส่วนที่อัตราส่วน 1:4, 1:6 และกลุ่มควบคุมไม่ปรากฏวงใสจึงไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus*
- ผลของการสกัดสารจากเปลือกส้มโอด้วย 95% ethanol ต่อการยับยั้งเชื้อ *Vibrio harveyi* โดยวิธี agar well diffusion พบว่าที่ความเข้มข้น 100 % และกลุ่มที่เจือจางด้วยน้ำกลั่น 1:1, 1:2 และ 1:4 มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางวงใส 2.03, 1.53, 0.47 และ 0.50 mm ตามลำดับ ( $p \geq 0.05$ ) ส่วนที่อัตราส่วน 1:6 และกลุ่มควบคุมไม่ปรากฏวงใสจึงไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Vibrio harveyi*
- ผลของการสกัดสารจากเปลือกส้มโอด้วย 95% ethanol ต่อการยับยั้งเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* โดยวิธี agar well diffusion พบว่าที่ความเข้มข้น 100 %

และกลุ่มที่เจือจางด้วยน้ำกลั่น 1:1, 1:2, 1:4 และ 1:6 มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางวงใส 2.10, 1.67, 1.50, 1.53 และ 1.50 mm ตามลำดับ ( $p \geq 0.05$ )

- ผลของสารสกัดสารจากเปลือกส้มโอด้วย hexane ต่อการยับยั้งเชื้อ *Vibrio harveyi* และ *Vibrio parahaemolyticus* ด้วยวิธี disc diffusion และวิธี agar well diffusion พบว่าที่ความเข้มข้น 100% และกลุ่มที่เจือจางด้วยน้ำกลั่น 1:1 1:2 1:4 1:6 ไม่เกิดบริเวณวงใสจึงไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทั้ง 2 ชนิดได้

จากงานวิจัยของ Suklampoo et al. (2555) [41] พบว่าสารสกัดหยาบ ethyl acetate ของเปลือก *Citrus grandis* สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวก (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* และ *Bacillus cereus*) ได้ดีกว่าแกรมลบ (*Salmonella Enteritidis* และ *Escherichia coli*) ความเข้มข้นในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพคือ 150-200 mg/mL ซึ่งที่ 200 mg/mL สามารถยับยั้งการเจริญของ *B. subtilis* มากที่สุด โดยปรากฏวงใสกว้างที่สุด คือ 14 mm ส่วนสารสกัด hexane ของเปลือกส้มโอไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ

จากงานวิจัยของ Bijun et al. (2547) [42] กล่าวว่าสารสกัด ethanol ของเปลือก *Citrus grandis* มีศักยภาพในการต้านเชื้อแบคทีเรีย *E. coli*, *S. aureus* และ *Salmonella* โดยความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งแบคทีเรีย (Minimum inhibitory concentration: MIC) คือ 2.5% โดยสารสกัดจะมีประสิทธิภาพมากขึ้นในสภาวะที่เป็นกรด และมีฤทธิ์ลดอุณหภูมิสูงถึง 80°C นอกจากนี้ยังพบ percent inhibition เชื้อรา *Aspergillus niger* V Tiegh 60.5%, *Penicillium* 59.5% และ *Aspergillus otyzae* 34.3%

### 2.2.3ฤทธิ์ป้องกันโรคอ้วน (Anti-obesity activity)

จากงานวิจัยของ Xiong et al. (2562) [43] และ Akiyama et al. (2553) [44] กล่าวว่า hesperidin สามารถควบคุม metabolism ของไขมันและ glucose ได้ รวมถึงสามารถส่งสัญญาณ NF-KB ทางอ้อมเพื่อควบคุมการอักเสบซึ่งช่วยในการควบคุมโรคอ้วน

จากงานวิจัยของ Hong et al. (2553) [45] ทำการศึกษาในหนูที่ถูกทำให้อ้วนโดยการกระตุ้นเอนไซม์ทางชีวเคมีที่มีผลต่อการ metabolism ของไขมัน พบว่าสารสกัดจากเปลือก *Citrus grandis* ลดน้ำหนักตัว และไขมัน (total cholesterol, triglycerides, LDL-c) ในเลือดได้อย่างมีนัยสำคัญ

### 2.2.4ฤทธิ์ต้านโรคเบาหวาน (Antidiabetic activity)

จากงานวิจัยของ Ding et al. (2556) [46] กล่าวว่าสารสกัด ethanol ของเปลือก *Citrus grandis* เมื่อให้กับหนูถีบจักรสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดขณะอดอาหาร ลดระดับไขมันในตับ และลดอินซูลินในเลือดได้อย่างมีนัยสำคัญ

### 2.2.5 ฤทธิ์ด้านการอักเสบ (Anti-inflammatory activity)

จากงานวิจัยของ Zhao et al. (2562) [47] ศึกษาฤทธิ์ด้านการอักเสบของสารสกัด 90% methanol ของ *Citrus grandis* และสารสกัด ethyl acetate ของเปลือกผล (coumarin fraction, 32 g) ผลพบว่าฤทธิ์ด้านการอักเสบของสารกลุ่ม coumarins ที่ได้จากเปลือก *Citrus grandis* เช่น auraptene, isoauraptene และ meranzin hydrate สามารถลดการบวมของหนู (p < 0.05/0.01) หลังจากฉีดให้หนูติดต่อกัน 3 วัน สรุปได้ว่า *Citrus grandis* ทำหน้าที่เป็นสารต้านการอักเสบที่ดี เนื่องจากมี polysaccharides และ bioactive coumarins ในเปลือกทำหน้าที่ยับยั้ง inflammatory mediators และขัดขวาง pro-inflammatory cytokines

จากงานวิจัยของ Ibrahim et al. (2561) [48] ศึกษาฤทธิ์ด้านการอักเสบของสารสกัดหยาบ methanol ของเปลือก *Citrus maxima* ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน ทดสอบในหนูที่ถูกทำให้อักเสบด้วยการฉีดน้ำมันพืช 500 mg/kg มีฤทธิ์ด้านการอักเสบเทียบเท่ายาอ้างอิง ibuprofen และออกฤทธิ์ยาวนานถึง 2-4 ชั่วโมง โดย %inhibition ที่ 4 ชั่วโมง คือ 38.68%

### 2.2.6 ฤทธิ์ป้องกันความเป็นพิษต่อตับ (Hepatoprotective activity)

จากงานวิจัยของ Chowdhury et al. (2558) [49] และ Lee et al. (2548) [50] รายงานว่าเปลือกส้มโอ *Citrus maxima* มีคุณสมบัติด้านการอักเสบและพังผืดในตับรวมถึงป้องกันความเป็นพิษต่อตับที่เกิดจาก CCl<sub>4</sub> เนื่องจากมีองค์ประกอบของสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น caffeic acid และ epicatechin

### 2.2.7 ฤทธิ์ต้านเนื้องอกและฤทธิ์ต้านมะเร็ง (Antitumor/Anticancerous property)

จากงานวิจัยของ Yu et al. (2561) [51] ประเมินฤทธิ์ต้านเนื้องอกของเปลือกส้มโอ *Citrus grandis* ในหนูทดลองที่มีเนื้องอก S180 พบว่า เมื่อนำเปลือกส้มโอขนาด 300 mg/kg มาอบที่อุณหภูมิ 50°C แล้วผ่านแรงขนาด 80 mesh นำไปสกัดและผ่านกรรมวิธีการทำแห้งแบบเยือกแข็ง (lyophilized)

เพื่อให้ได้สารสกัด polysaccharides พบว่า สามารถกระตุ้นการตายแบบ apoptosis ของเซลล์เนื้องอกได้ โดยประสิทธิภาพการยับยั้งการก่อตัวของ S180 ขึ้นกับปริมาณของสารสกัดที่ได้รับ

## 2.3 วิธีการสกัดสารสำคัญจากพืชหรือสมุนไพรในปัจจุบัน [52] [53]

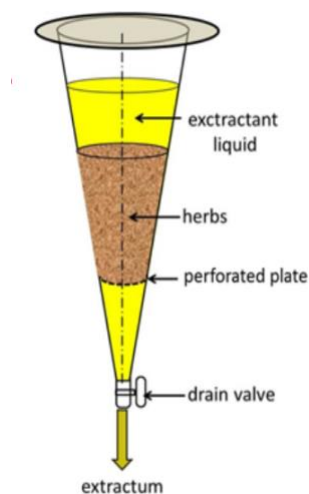
การสกัดสารสำคัญจากสมุนไพรจัดเป็นการสกัดแบบ solid-liquid extraction ประกอบด้วย เทคนิคการสกัดที่ไม่ต้องอาศัยความร้อน ได้แก่ maceration, percolation และเทคนิคการสกัดที่ต้องอาศัยความร้อน ได้แก่ soxhlet extraction, heat reflux extraction, decoction, digestion, supercritical fluid extraction, ultrasound assisted extraction และ microwave assisted extraction

### 2.3.1 การหมัก (Maceration)

เป็นวิธีการแช่ตัวอย่างสมุนไพรกับตัวทำละลายในภาชนะปิดสนิท เช่น ขวดปากกว้าง หรือขวดรูปชมพู่ ทิ้งไว้ประมาณ 7 วัน ระหว่างนั้นให้เขย่าหรือคนเป็นระยะ แล้วนำสารสกัดที่ได้มากรองแยกกาก บีบเอาสารสกัดออกจากสมุนไพรให้ได้มากที่สุดแล้วสกัดซ้ำจนสมบูรณ์ สังเกตจากสีของสารสกัดที่ได้จะค่อย ๆ จางลง ข้อดี คือ สารไม่ถูกความร้อนง่าย และสะดวก ข้อเสีย คือ สิ้นเปลืองตัวทำละลายและใช้เวลานาน

### 2.3.2 การไหลซึม (Percolation)

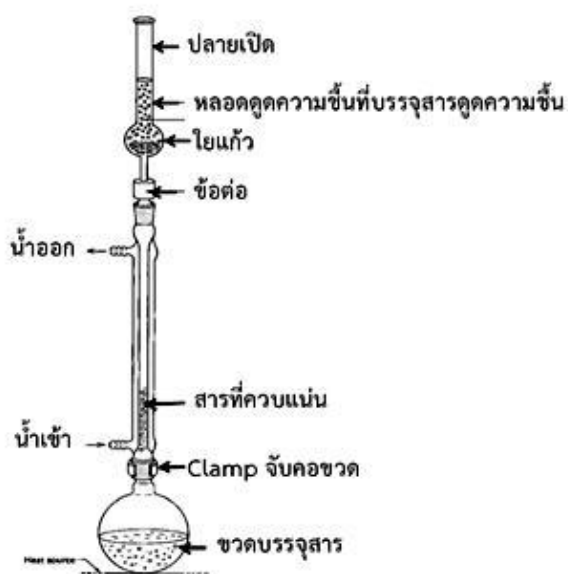
เป็นวิธีการสกัดแบบต่อเนื่อง (continuous extraction) โดยหมักผงสมุนไพรกับสารละลายพอขึ้นทิ้งไว้ 1 ชั่วโมงให้พองตัวเต็มที่ ค่อย ๆ บรรจุที่ละน้อยเป็นชั้น ๆ ลงใน percolator (รูปที่ 6) จากนั้นเติมตัวทำละลายให้ระดับอยู่เหนือสมุนไพรประมาณ 0.5 cm ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง จากนั้นไซเอสารสกัดออกช้า ๆ ด้วยอัตรา 0.1-1 mL/min ขณะเดียวกันค่อย ๆ เติมตัวทำละลายเหนือสมุนไพรอย่าปล่อยให้แห้ง ทำเช่นนี้เรื่อย ๆ จนสกัดได้สมบูรณ์ สังเกตจากสารสกัดที่หยดลงมาใสไม่มีสีหรือมีสีจาง บีบกากเอาสารสกัดออกให้มากที่สุดแล้วนำสารสกัดที่เก็บได้ทั้งหมดรวมกันนำไปกรอง ข้อดี คือ สารไม่ถูกความร้อนง่าย และสะดวก ข้อเสีย คือ สิ้นเปลืองตัวทำละลายและใช้เวลานาน



รูปที่ 6 แสดงองค์ประกอบภายใน Percolator [52]

### 2.3.3 การสกัดแบบไหลย้อนกลับ (Heat reflux extraction: HRE)

หลักการคือ นำ flask ที่บรรจุผงสมุนไพรและตัวทำละลายต่อกับ condenser (รูปที่ 7) ให้ความร้อนจนตัวทำละลายระเหย ควบแน่น และกลั่นตัวหยดกลับลง flask อีกครั้ง ระบบจะหมุนเวียนไปเรื่อย ๆ จนสารสกัดเข้มข้นขึ้น



รูปที่ 7 แสดงการสกัดแบบไหลย้อนกลับ [52]

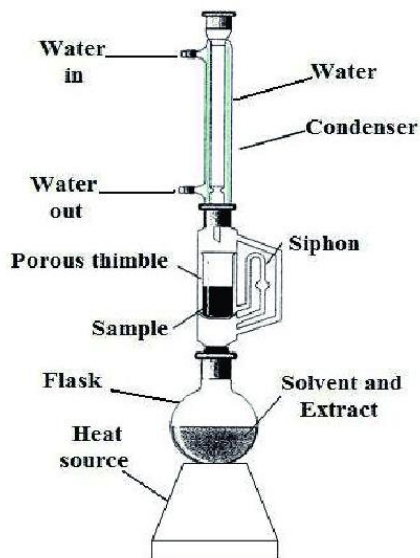


### 2.3.4 การต้ม (Decoction)

เป็นวิธีการสกัดสารโดยนำสมุนไพรที่ย่อยขนาดเป็นชิ้นเล็ก ๆ ใส่ลงในหม้อ ต้มกับน้ำจนเดือดแล้วนำไปกรองแยกเอาสารสกัดออกจากกากสมุนไพร เทคนิคนี้สารสกัดจะต้องละลายในน้ำและทนความร้อน

### 2.3.5 Soxhlet extraction / Hot continuous extraction

เป็นวิธีการสกัดแบบต่อเนื่อง (continuous extraction) ด้วยเครื่องมือ soxhlet apparatus (รูปที่ 8) และตัวทำละลายจุดเดือดต่ำ หลักการคือให้ความร้อนตัวทำละลายใน round bottom flask จนระเหย ควบแน่น และกลั่นตัวหยดลงบนตัวอย่างสมุนไพรใน thimble เกิดกระบวนการหมักและสกัดขึ้น เมื่อตัวทำละลายสูงขึ้นจนถึงระดับสูงสุดของ siphon tube สารสกัดจะไหลกลับลงมาใน flask กระบวนการกลั่นน้ำจะเกิดไปเรื่อย ๆ จนได้สารสกัดที่สมบูรณ์สังเกตจากสีของตัวทำละลายใน thimble ใสขึ้น ข้อเสีย คือ ความร้อนอาจทำให้สารสำคัญบางชนิดสลายตัวไป



รูปที่ 8 แสดงลักษณะการทำงานของ Soxhlet extractor [54]

### 2.3.6 การตุ๋น (Digestion)

เป็นวิธีการสกัดคล้ายวิธีการหมัก แต่ต่างกันตรงที่มีการใช้ความร้อนช่วยเร่งการสกัด และใช้เวลานานกว่าการต้ม โดยปริมาตรของตัวทำละลายอาจจะเหลือเพียง 1 ส่วนจาก 3 ส่วน นิยมใช้สกัดสมุนไพรจำนวนน้อย ๆ

### 2.3.7 การสกัดโดยใช้ของไหลวิกฤตยิ่งยวด (Supercritical fluid extraction: SFE)

เป็นวิธีการสกัดโดยอาศัยคุณสมบัติของตัวทำละลาย (นิยมนำแก๊ส  $\text{CO}_2$ ) ที่สภาวะวิกฤต ซึ่งเป็นของไหลวิกฤตยิ่งยวดที่เกิดจากการเพิ่มความดันและอุณหภูมิให้สูงกว่าจุดวิกฤต (critical point) ของตัวทำละลายนั่น ซึ่งจะมีความสามารถในการซึมผ่านของแข็งแทรกซึมเข้าสู่โครงสร้างได้เหมือนแก๊ส และสามารถละลายสารได้เหมือนของเหลว ข้อดี คือ สกัดสารสำคัญออกจากพืชได้ดี มีประสิทธิภาพ และ  $\text{CO}_2$  ราคาไม่แพง ข้อเสีย คือ ต้นทุนราคาสูง

### 2.3.8 การสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง (Ultrasound assisted extraction: UAE หรือ Sonication)

เป็นวิธีการสกัดโดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูง 20-2,000 kHz สั่นสะเทือนหรือเสียดสีกันเป็นความร้อน เกิดการสลายฟองอากาศขนาดเล็กจำนวนมากอย่างรวดเร็วในตัวทำละลายจึงเกิดกระบวนการสกัด และการปลดปล่อยสารสำคัญ ข้อดี ลดระยะเวลา อุณหภูมิ ได้ปริมาณสารสกัด สูงกว่าการหมักและการสกัดแบบต่อเนื่อง ข้อเสีย คือ ต้นทุนราคาสูง

### 2.3.9 การสกัดโดยใช้คลื่นไมโครเวฟ (Microwave assisted extraction: MWE)

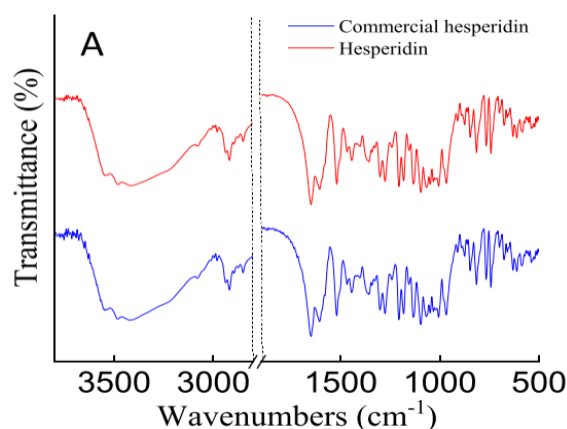
เป็นวิธีการสกัดโดยใช้คลื่นไมโครเวฟซึ่งเป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า ทำให้อนุภาคหรือโมเลกุลที่มีขั้วเสียดสีกันและเกิดความร้อน จึงเกิดการสกัดและการปลดปล่อยสารสำคัญ

## 2.4 การสกัด hesperidin และ pectin

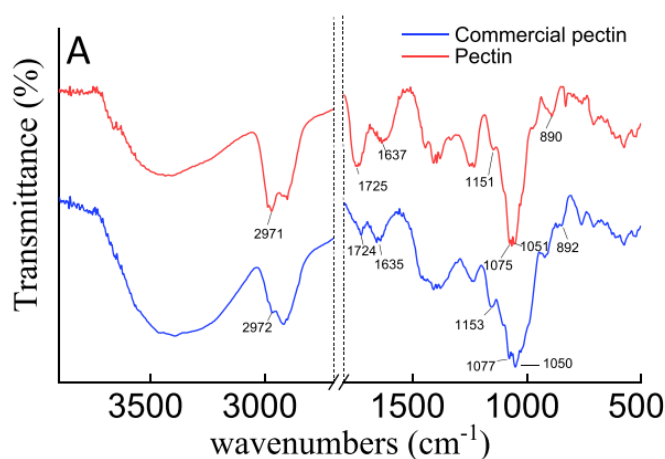
จากงานวิจัยของ Zhou et al. (2565) [55] ศึกษาการพัฒนากระบวนการสกัด hesperidin และ pectin แบบต่อเนื่องให้มีคุณสมบัติและความบริสุทธิ์สูงขึ้น ใช้ต้นทุนต่ำลง ประหยัดสารและพลังงาน รวมถึงเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม โดยตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด ได้แก่ 4% citric acid, 99.9% ethanol, 3% NaOH solution และ 50% HCl solution ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าการสกัดต่อเนื่อง (consecutive extraction) ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัด hesperidin ให้มีความบริสุทธิ์สูงถึง 91.7% และได้ผลผลิต pectin ปริมาณมาก ( $23.3 \pm 0.5\%$ ) ที่มีคุณสมบัติก่อกเจลที่เหนียวกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับ pectin ที่มีจำหน่ายทั่วไป นอกจากนี้ pectin ที่ได้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง และมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียบางชนิดจึงถูกนำไปใช้ในการทางการแพทย์และอุตสาหกรรมอาหารเนื่องจากมีลักษณะเฉพาะ

## 2.5 การวิเคราะห์เอกลักษณ์ของ hesperidin และ pectin (Identification)

วิเคราะห์เอกลักษณ์ของ hesperidin (รูปที่ 9) และ pectin (รูปที่ 10) เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานทางการค้าด้วย Nicolet iS10 Fourier transform infrared spectrometer (FT-IR) โดยใช้ OMNIC software library [55]



รูปที่ 9 แสดง FT-IR spectra ของ hesperidin [55]



รูปที่ 10 แสดง FT-IR spectra ของ pectin [55]

## 2.6 การพัฒนาผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจากเปลือกส้มโอ

จากงานวิจัย Hung et al. (2566) [56] นำเปลือกส้มโอกลับมาใช้ใหม่เพื่อผลิตเยลลี่ 2 ชนิด คือ เยลลี่จากเปลือกส้มโอเหลือง (PYPJ) และเยลลี่จากเปลือกส้มโอขาว (PWPJ) จากนั้นทำการประเมินทาง

ประสาทสัมผัสของผู้บริโภคจำนวน 50 คน เพื่อสำรวจการประเมินและความยอมรับได้ของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์ทั้งสองชนิด ผลการวิจัยพบว่าเยลลี่ทั้งสองชนิดได้รับคะแนนเฉลี่ยสูงสำหรับคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสทั้งหมด และความยอมรับได้ของผู้บริโภคต่อเยลลี่จากเปลือกส้มโอเหลือง และเยลลี่จากเปลือกส้มโอขาวอยู่ที่ 62% และ 92% ตามลำดับ ผลลัพธ์แสดงให้เห็นว่ามีความจำเป็นต้องปรับปรุงเยลลี่จากเปลือกส้มโอเหลืองต่อไป และเยลลี่จากเปลือกส้มโอขาวก็เป็นผลิตภัณฑ์ที่ผู้บริโภคยอมรับ

จากงานวิจัย Baek et al. (2566) [57] นำเยลลี่เปลือกส้มมาวัดความเค็ม สี เนื้อสัมผัส และคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระโดยการเติมผงเปลือกส้มที่ 0%, 1%, 3%, 5% และ 7% ตามลำดับ พบว่าความเค็มจะลดลงเมื่อปริมาณการเติมผงเปลือกส้มเพิ่มขึ้น ( $p < 0.001$ ) ค่า L (lightness) ของสีลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.001$ ) ค่า a-value และ b-value เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.001$ ) เมื่อปริมาณการเติมเพิ่มขึ้น ความแข็งลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p = 0.002$ ) ปริมาณ total polyphenols, flavonoids, DPPH scavenging capacity และ ABTS scavenging capacity เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.001$ ) จากการศึกษาช่วยยืนยันคุณลักษณะและคุณภาพของเยลลี่เปลือกส้มว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง

## 2.7 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant activity) [58]

### 2.7.1 DPPH scavenging assay

เป็นการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีทางเคมีโดยใช้ diphenyl-picrylhydrazyl radical (DPPH<sup>•</sup>) ซึ่งเป็นสารสังเคราะห์ที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระที่คงตัว มีสีม่วง ดูดกลืนแสงได้สูงสุดที่ความยาวคลื่น 515 nm วัดด้วยเครื่อง spectrophotometer เมื่อ DPPH<sup>•</sup> ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระที่ละลายใน ethanol จะทำให้สีม่วงจางลงจนเป็นสีเหลือง ตั้งทิ้งในที่มืดเป็นเวลา 30 นาทีเพื่อให้เกิดปฏิกิริยาก่อนนำมาวัด ค่าการดูดกลืนแสงแล้วคำนวณ %inhibition และ IC<sub>50</sub> เพื่อวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่าง ข้อดี คือ ง่าย สะดวก และรวดเร็ว ส่วนข้อเสีย คือ DPPH<sup>•</sup> ค่อนข้างเสถียรไม่ว่าต่อปฏิกิริยาเหมือนอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกายจริงจึงทำให้เกิดปฏิกิริยาได้ช้า ส่งผลให้ค่า

การต้านอนุมูลอิสระที่วัดได้น้อยกว่าความเป็นจริง รวมถึงการใช้ ethanol จะทำให้โปรตีนตกตะกอน จึงไม่สามารถวิเคราะห์ในตัวอย่างที่เป็นเลือด

### 2.7.2 ABTS radical cation decolorization assay

เป็นการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยการฟอกสี 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical (ABTS<sup>•+</sup>) ซึ่งเป็นสารสังเคราะห์สีเขียวปนน้ำเงิน ดูดกลืนแสงได้สูงสุดที่ความยาวคลื่น 734 nm โดยปกติสีของ ABTS<sup>•+</sup> จะมีค่าการดูดกลืนแสงสูง ต้องทำการเจือจางด้วยตัวทำละลาย จากนั้นจึงนำไปทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่างที่ละลายด้วย ethanol เจือจางทำให้สีจางลง ตั้งทิ้งให้เกิดปฏิกิริยา ก่อนนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงแล้วคำนวณ %inhibition และ IC<sub>50</sub> ข้อดีคือ ABTS<sup>•+</sup> ละลายได้ดีในน้ำ และตัวทำละลายอินทรีย์จึงเกิดปฏิกิริยาได้อย่างรวดเร็ว และทำปฏิกิริยาได้ดีในช่วง pH กว้าง ส่วนข้อเสีย คือ ABTS<sup>•+</sup> ไม่ใช่สารธรรมชาติที่พบในร่างกาย หรือเซลล์ของสิ่งมีชีวิต

## บทที่ 3

### วิธีการดำเนินการวิจัย

#### 3.1 วัตถุดิบและสารเคมี

- 3.1.1 ผลส้มโอสุก
- 3.1.2 Carrageenan (บริษัท เดอะวัน จำกัด)
- 3.1.3 Pectin (บริษัท สเปเชียลฟู้ด จำกัด)
- 3.1.4 Erythritol (บริษัท กรุงเทพเคมี จำกัด)
- 3.1.5 สีผสมอาหาร (บริษัท เกรทฮิลล์ จำกัด)
- 3.1.6 วัตถุแต่งกลิ่นรสเลียนธรรมชาติ (บริษัท เกรทฮิลล์ จำกัด)
- 3.1.7 น้ำดื่ม (บริษัท ไทยน้ำทิพย์ คอร์ปอเรชั่น จำกัด)
- 3.1.8 Citric acid (บริษัท คอนติเนนตัล ฟู้ด จำกัด)
- 3.1.9 Sodium benzoate (บริษัท เบสท์ โอเดอร์)
- 3.1.10 Deionized water
- 3.1.11 *n*-Butanol 99.5% (loba chemie, India)
- 3.1.12 Ethanol 99.9% (RCI labscan, Thailand)
- 3.1.13 Hydrochloric acid 37% (บริษัท ยูนิทรีเวล จำกัด)
- 3.1.14 DMSO (dimethyl sulfoxide) (Merck KGaA, Germany)
- 3.1.15 Sodium hydroxide pellets 98% (loba chemie, India)
- 3.1.16 Acetic acid glacial (RCI labscan, Thailand)
- 3.1.17 Methanol (Honeywell, Korea)
- 3.1.18 Ethyl acetate (Honeywell, USA)
- 3.1.19 ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenthiiazoline-6-sulphonic acid))  
(Calbiochem, USA)

3.1.20 Commercial hesperidin

3.1.21 Ascorbic acid / Vitamin C (Tokyo chemical industry, Japan)

### 3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

3.2.1 Industrial high-speed grinder (RALIRA®)

3.2.2 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) (Alset®)

3.2.3 UV/vis spectrophotometer (FLUOstar® Omega)

3.2.4 เครื่องชั่งน้ำหนักดิจิทัลทศนิยม 2 และ 4 ตำแหน่ง (Mettler Toledo®)

3.2.5 ผ้าขาวบางสำหรับกรอง

3.2.6 เครื่องกวนสารละลายพร้อมให้ความร้อน (Magnetic stirrer hotplate) (Onilab®)

3.2.7 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) (Mettmert®)

3.2.8 เครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอน (Centrifuge) (Tomy®)

3.2.9 ชุดกรวยกรองบุชเนอร์ (Buchner funnel and vacuum pump) (Robu®)

3.2.10 กระดาษวัด pH (pH universal indicator) (MQuant®)

3.2.11 เครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศ (VacuumFreeze-drying) (Biobase®)

3.2.12 ไมโครปิเปต ขนาด 2-20  $\mu\text{L}$  (Axygen®)

3.2.13 ไมโครปิเปต ขนาด 20-200  $\mu\text{L}$  (Axygen®)

3.2.14 ไมโครปิเปต ขนาด 100-1000  $\mu\text{L}$  (Axygen®)

3.2.15 96-well microtiter plate (Nunc®)

3.2.16 เครื่อง FT-IR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy) (Nicolet®)

3.2.17 เครื่องย่อยตัวอย่างด้วยคลื่นเสียง (Ultrasonic Homogenizer Sonicator)  
(Wiseclean®)

3.2.18 โถดูดความชื้น (Desiccator) (Wiseclean®)

3.2.19 ขงลามิเนต ขนาด 3.5 x 15 cm

3.2.20 Thermometer

3.2.21 เครื่องวัดความชื้น (Loss on drying) (Sartorius®)

3.2.22 เครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (Texture analyzer) (TA.XT Plus C®)

### 3.3 การสำรวจแหล่งจำหน่ายและคัดเลือกผลส้มโอ

สำรวจแหล่งจำหน่ายผลส้มโอในจังหวัดชลบุรี และคัดเลือกผลส้มโอสุกเพื่อนำเปลือกไปใช้สกัดสารสำคัญ

### 3.4 การสกัดสารสำคัญจากเปลือกส้มโอ

กระบวนการสกัดสาร hesperidin และ pectin จากเปลือกส้มโอดัดแปลงจาก Zhou et al. [55] และ รณชัย จันทรต้น และคณะ [30]

#### 3.4.1 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง

- 3.4.1.1 นำเปลือกส้มโอมานั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ
- 3.4.1.2 ล้างน้ำและอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50°C นาน 12 ชั่วโมง
- 3.4.1.3 นำมาลดขนาดเป็นผงด้วย Industrial high-speed grinder

#### 3.4.2 ขั้นตอนการสกัด pectin และ hesperidin ด้วยวิธีการสกัดอย่างต่อเนื่อง

- 3.4.2.1 ชั่งน้ำหนักผงเปลือกส้มโอแห้ง 500.13 g ลงในบีกเกอร์
- 3.4.2.2 เติม 4% citric acid เป็นตัวทำละลายสกัดในอัตราส่วนตัวอย่าง (g) ต่อตัวทำละลาย (mL) 1:15 แล้วปิดปาก beaker ด้วย aluminum foil
- 3.4.2.3 ทำการสกัดโดยต้มบน hot plate ที่ 100°C ระยะเวลา 105 นาที
- 3.4.2.4 ตั้งสารสกัดให้เย็นตัวที่อุณหภูมิห้องแล้วกรองด้วยผ้าขาวบาง
- 3.4.2.5 นำสารละลายที่ได้จากการกรอง (filtrate) มาปั่นเหวี่ยง 15,000 rpm เป็นเวลา 30 นาที ส่วนกากจากการกรอง (solid residue) ให้แยกเก็บไว้
- 3.4.2.6 ตกตะกอน supernatant ด้วย 99.9% ethanol (1:1 %v/v) แล้วตั้งทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง
- 3.4.2.7 นำมาปั่นเหวี่ยงอีกรอบที่ 15,000 rpm เป็นเวลา 30 นาที เพื่อแยกตะกอน pectin
- 3.4.2.8 ล้างตะกอน pectin ด้วย 99.9% ethanol 3 ครั้ง ได้เป็น pectin เปียก
- 3.4.2.9 นำกากที่แยกเก็บไว้มาเติมตัวทำละลาย 3% NaOH solution ในอัตราส่วนตัวอย่าง (g) ต่อตัวทำละลาย (mL) 1:8 แล้วปิดปาก beaker ด้วย aluminum foil
- 3.4.2.10 ทำการสกัดโดยต้มบน hot plate ที่ 60°C ระยะเวลา 90 นาที



- 3.4.2.11 ตั้งทิ้งให้เย็นตัวที่อุณหภูมิห้อง แล้วกรองสุญญากาศ (vacuum filtration) ด้วยชุดกรวยกรอง Buchner
- 3.4.2.12 ปรับ pH เป็น 4 ด้วย 37% HCl solution ทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง
- 3.4.2.13 นำไปปั่นเหวี่ยง 15,000 rpm เป็นเวลา 30 นาที เพื่อแยกตะกอน hesperidin
- 3.4.2.14 ล้างตะกอนด้วยน้ำ 3 ครั้ง ได้เป็น hesperidin เปียก
- 3.4.2.15 นำสารสกัด pectin และ hesperidin เปียกมาทำแห้งด้วย vacuum freeze-drying จนน้ำหนักคงที่

### 3.4.3 การทำสารสกัด hesperidin ให้บริสุทธิ์ (Purification of hesperidin)

- กระบวนการทำสารสกัด hesperidin ให้บริสุทธิ์ดัดแปลงจาก Daoud et al. [59]
- 3.4.3.1 ละลาย crude hesperidin ใน DMSO บน magnetic stirrer hotplate 60-80°C จนได้สารละลายใสเข้มข้น 0.5 g/10 mL
- 3.4.3.2 ตั้งสารละลายไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 คืน เพื่อให้เกิดการตกผลึก (crystallization)
- 3.4.3.3 กรองเก็บผลึก hesperidin แล้วล้างตะกอนด้วยน้ำร้อนตามด้วย butanol
- 3.4.3.4 นำผลึก hesperidin บริสุทธิ์เข้าโถดูดความชื้น (desiccator) เป็นเวลา 3 วัน
- 3.4.3.5 วิเคราะห์ผลึกที่ได้ด้วย FT-IR

## 3.5 การตรวจสอบคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมี (Identification)

### 3.5.1 การคำนวณร้อยละผลได้ (%yield) [55]

$$\text{ด้วยสูตร} \quad \text{PEY (\%)} = P/m \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{และ} \quad \text{HEY (\%)} = H/m \times 100\% \quad (2)$$

PEY คือ ร้อยละผลได้ของ pectin

HEY คือ ร้อยละผลได้ของ hesperidin

P คือ น้ำหนักของสารสกัด pectin (g)

H คือ น้ำหนักของสารสกัด hesperidin (g)

m คือ น้ำหนักของสารตัวอย่างผงเปลือกส้มโอ (g)

### 3.5.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ pectin และ hesperidin ด้วยวิธี ABTS radical cation decolorization assay

กระบวนการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย ABTS assay ดัดแปลงจาก พีระพรรณ วิโรจน์บุรณะ และคณะ [60]

#### ABTS stock solution

3.5.2.1 นำ 14 mM ABTS stock solution ผสมกับ 4.9 mM potassium persulfate buffer solution (1:1 v/v) จากนั้น incubate ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 16-20 ชั่วโมง

3.5.2.2 เจือจาง ABTS ด้วยน้ำกลั่นแล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 nm ให้ได้ช่วง 0.7-0.9 ด้วยเครื่อง spectrophotometer (FLUOstar® Omega)

#### การทดสอบ

3.5.2.3 เตรียมสารตัวอย่างและสารมาตรฐาน

3.5.2.3.1 เตรียมสารตัวอย่าง pectin ให้มีความเข้มข้น 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0 และ 10.0 mg/mL โดยละลายตัวอย่างในน้ำกลั่น

3.5.2.3.2 เตรียมสารตัวอย่าง hesperidin ให้มีความเข้มข้น 0.05, 0.075, 0.1, 0.125, 0.15, 0.175, 0.2 และ 10.0 mg/mL โดยละลายตัวอย่างใน ethanol

3.5.2.3.3 เตรียมสารมาตรฐาน vitamin C ให้มีความเข้มข้น 0.00125, 0.0025, 0.00375, 0.005, 0.00625, 0.0075, 0.00875 และ 0.1 mg/mL โดยละลายในน้ำกลั่น

3.5.2.4 ปิเปตสารตัวอย่าง pectin, hesperidin และสารมาตรฐาน vitamin C ในแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 50  $\mu$ L ผสมกับสารละลาย ABTS 50  $\mu$ L ลงใน 96-well plate รอให้ทำปฏิกิริยาประมาณ 5 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 nm ด้วยเครื่อง spectrophotometer โดยแต่ละความเข้มข้นทำซ้ำ 3 ครั้ง

3.5.2.5 คำนวณหา %inhibition ดังสมการ

$$\%inhibition = \left(1 - \frac{A_s}{A_c}\right) \times 100$$

โดย  $A_s$  = ค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 nm ของ sample

$A_c$  = ค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 nm ของ control

เมื่อ  $A_s$  เป็นค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างที่ใช้ทดสอบ และ  $A_c$  เป็นค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายควบคุม ประกอบด้วยสารที่ใช้ในการทดสอบทุกชนิด ยกเว้นสารละลายตัวอย่าง

### 3.5.3 การตรวจสอบคุณลักษณะของ hesperidin และ pectin

ตรวจสอบเอกลักษณ์ของสาร hesperidin และ pectin โดย Fourier transform infrared spectrometer (FT-IR) เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน hesperidin และ pectin ทางการค้า

## 3.6 การพัฒนาผลิตภัณฑ์เสริมอาหารประเภทเยลลี่จากเปลือกส้มโอ [60]

### 3.6.1 การหาปริมาณสารก่อเจลที่เหมาะสมสำหรับเตรียมตำรับเยลลี่

3.6.1.1 เตรียมเยลลี่โดยผสม pectin และ carrageenan ในอัตราส่วน 10:0, 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, 4:6, 3:7, 2:8, 1:9 และ 0:10 ตามลำดับ ละลายลงในน้ำให้ได้ความเข้มข้น 3% w/v โดยชั่งสารก่อเจลตามอัตราส่วน แล้วค่อย ๆ เติมน้ำตามพร้อมคน เพื่อให้สารก่อเจลกระจายตัวไม่จับเป็นก้อน นำไปให้ความร้อนด้วย hot plate และคนจนเนื้อสารก่อเจลละลายหมด นำมาเทใส่พิมพ์แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องให้เจลเซตตัว

3.6.1.2 เปรียบเทียบเนื้อเยลลี่ที่ได้ในแต่ละอัตราส่วน เพื่อหาเนื้อสัมผัสของเยลลี่ที่เหมาะสมที่สุดในการพัฒนาตำรับต่อไป

### 3.6.2 การเตรียมตำรับเยลลี่จากสารสกัดเปลือกส้มโอ แบ่งเป็น 2 ส่วน

ส่วนที่ 1 เตรียมสารก่อเจล

1. เตรียมสารก่อเจลโดยชั่ง pectin และ carrageenan ในอัตราส่วน 4:6 ใส่ลงบีกเกอร์ แบ่งน้ำในตำรับมาปริมาณ  $\frac{3}{4}$  ลงในบีกเกอร์เพื่อใช้ละลายสารก่อเจล โดยค่อย ๆ โปรยสารก่อเจลลงในน้ำ
2. คนให้สารก่อเจลละลาย จากนั้นนำไปให้ความร้อน โดยควบคุมอุณหภูมิไม่ให้เกิน  $100^{\circ}\text{C}$  คนอย่างต่อเนื่องจนกระทั่งสารก่อเจลละลายเป็นเนื้อใสไม่จับตัวเป็นก้อน

ส่วนที่ 2 เตรียมสารอื่น ๆ ในตำรับ ได้แก่ สารสกัด hesperidin จากเปลือกส้มโอ (0.5%), น้ำตาล erythritol และ citric acid (ในอัตราส่วน 20:0.2, 20:0.3, 20:0.4, 25:0.2, 25:0.3, 25:0.4, 30:0.2, 30:0.3 และ 30:0.4 ตามลำดับ ดังตารางที่ 1) และ sodium benzoate (0.1%)

3. แบ่งน้ำในตำรับมาปริมาณ  $\frac{1}{4}$  เพื่อละลายสารทั้งหมด คนให้สารให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน
4. นำส่วนที่ 2 เทลงในส่วนที่ 1 คนให้สารทั้งหมดละลายเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วตั้งทิ้งไว้ให้อุณหภูมิลดลงเหลือ  $60^{\circ}\text{C}$  จึงใส่สารแต่งกลิ่น และสารแต่งสี
5. เปรียบเทียบรสชาติของเยลลี่ที่มีองค์ประกอบของ erythritol และ citric acid ในแต่ละอัตราส่วน เพื่อหารสชาติของเยลลี่ที่เหมาะสมที่สุด
6. เมื่อได้เยลลี่ที่ตรงกับรสชาติที่เหมาะสม จะเตรียมตำรับเยลลี่ซ้ำในข้อ 1-4 แล้วใช้ syringe คูดเยลลี่ปริมาณ 18 mL บรรจุลงในซองลามิเนต และปิดผนึกปากซองให้แน่นด้วยความร้อน เพื่อป้องกันการรั่วไหลของเยลลี่ และความชื้น จากนั้นจึงนำผลิตภัณฑ์เยลลี่ที่ได้ไปทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย ABTS assay

ตารางที่ 1 แสดงสูตรการเตรียมตำรับเยลลี่จากสารสกัดเปลือกส้มโอ

| สารเตรียมตำรับเยลลี่                    | ปริมาณ (%) |                   |                   |                   |                   |                   |                   |                   |                   |                   |
|-----------------------------------------|------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| ตัวอย่าง                                | ตำรับ      | 1                 | 2                 | 3                 | 4                 | 5                 | 6                 | 7                 | 8                 | 9                 |
| สารก่อเจล<br>Pectin : carrageenan (4:6) |            | 3                 | 3                 | 3                 | 3                 | 3                 | 3                 | 3                 | 3                 | 3                 |
| สารสกัด hesperidin                      |            | 0.05              | 0.05              | 0.05              | 0.05              | 0.05              | 0.05              | 0.05              | 0.05              | 0.05              |
| Erythritol                              |            | 20                | 20                | 20                | 25                | 25                | 25                | 30                | 30                | 30                |
| Citric acid                             |            | 0.2               | 0.3               | 0.4               | 0.2               | 0.3               | 0.4               | 0.2               | 0.3               | 0.4               |
| Sodium benzoate                         |            | 0.1               | 0.1               | 0.1               | 0.1               | 0.1               | 0.1               | 0.1               | 0.1               | 0.1               |
| สารแต่งสี                               |            | q.s.              | q.s.              | q.s.              | q.s.              | q.s.              | q.s.              | q.s.              | q.s.              | q.s.              |
| สารแต่งกลิ่น                            |            | q.s.              | q.s.              | q.s.              | q.s.              | q.s.              | q.s.              | q.s.              | q.s.              | q.s.              |
| น้ำสะอาด                                |            | q.s.<br>to<br>100 | q.s.<br>to<br>100 | q.s.<br>to<br>100 | q.s.<br>to<br>100 | q.s.<br>to<br>100 | q.s.<br>to<br>100 | q.s.<br>to<br>100 | q.s.<br>to<br>100 | q.s.<br>to<br>100 |

### 3.7 การศึกษาลักษณะทางกายภาพและทางเคมีเบื้องต้น และทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์ [60]

#### 3.7.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์เยลลี่จากสารสกัดเปลือกส้มโอด้วยวิธี ABTS radical cation decolorization assay

3.7.1.1 เตรียมสารละลายตัวอย่างโดยการนำเยลลี่หลังจากเตรียมเสร็จไม่เกิน 1 วัน เยลลี่ที่เก็บที่อุณหภูมิห้องนาน 30 วัน และเยลลี่ที่เก็บที่อุณหภูมิ 4°C นาน 30 วัน มาเตรียมเป็นสารละลายให้มีความเข้มข้น 10 mg/mL ด้วยการบดเยลลี่ใน DI water และ sonicate เป็นเวลา 15 นาที

3.7.1.2 ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS assay เช่นเดียวกับการทดสอบสาร pectin และ hesperidin ที่ได้จากสารสกัดเปลือกส้มโอ

### 3.7.2 วัดค่าความชื้นที่หายไปเมื่ออบแห้ง (Loss on Drying, LOD) [61]

- 3.7.2.1 เปิดเครื่องหาความชื้นเพื่อทำการ self-test runs
- 3.7.2.2 ใส่ตัวอย่างประมาณ 2 g บนจานใส่ตัวอย่างแล้วเกลี่ยให้ทั่วจาน
- 3.7.2.3 เปิดฝาครอบแล้ววางจานใส่ตัวอย่างบนแท่นวางจานซึ่ง กดปุ่ม enter
- 3.7.2.4 ปิดฝาครอบ เพื่อให้เครื่องทำงานโดยอัตโนมัติ
- 3.7.2.5 เมื่อความชื้นคงที่ เครื่องจะหยุดทำงานโดยอัตโนมัติและแสดงสัญลักษณ์ END

### 3.7.3 การวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (Texture analysis) ด้วยเครื่องวัดเนื้อสัมผัส (Texture analyzer)

นำผลิตภัณฑ์เยลลี่จากสารสกัดเปลือกส้มโอมาวัดเนื้อสัมผัส โดยกำหนดสถานะในการวิเคราะห์ ดังนี้

|                  |                                                                 |
|------------------|-----------------------------------------------------------------|
| Probe:           | P/25                                                            |
| Pre-test speed:  | 10 mm/sec                                                       |
| Test speed:      | 10 mm/sec                                                       |
| Post-test speed: | 10 mm/sec                                                       |
| Target mode:     | Strain                                                          |
| Strain:          | 90%                                                             |
| Time:            | 5 sec                                                           |
| Trigger force:   | 5 g                                                             |
| การทดสอบ:        | hardness, cohesiveness, springiness, chewiness<br>ทำซ้ำ 3 ครั้ง |

### 3.7.4 การวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH)

วัดตัวอย่างผลิตภัณฑ์เยลลี่จากสารสกัดเปลือกส้มโอ ด้วย pH universal indicator โดยค่า pH ของเยลลี่ควรอยู่ในช่วงประมาณ 2.8-3.5 ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 213(34) [62]

### 3.7.5 การทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์

เก็บผลิตภัณฑ์เยลลี่จากสารสกัดเปลือกส้มโอที่อุณหภูมิห้องและที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นระยะเวลา 30 วัน จากนั้นดูความเปลี่ยนแปลงของสี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์

## บทที่ 4

### ผลการวิจัย และวิจารณ์ผลการวิจัย

#### 4.1 การสำรวจและการคัดเลือกผลส้มโอ

สำรวจและซื้อผลส้มโอจากร้านส้มโอแยกบ้านสวน อำเภอเมืองชลบุรี จังหวัดชลบุรี โดยคัดเลือกผลส้มโอสุกที่มีเปลือกสีเขียวอ่อน หนานุ่ม ไม่เหี่ยว และมีน้ำหนัก เนื่องจากผลส้มโอที่ยังไม่สุกจะมีน้ำหนักเบา

#### 4.2 การสกัดสารสำคัญจากเปลือกส้มโอ

นำผลส้มโอมาล้างทำความสะอาด เช็ดให้แห้งแล้วปอกเปลือก จากนั้นนำส่วนเปลือกไปหั่นให้มีขนาดเล็ก นำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50°C ด้วยตู้อบลมร้อนนาน 12 ชั่วโมง แล้วบดลดขนาดด้วยเครื่องปั่นมอเตอร์ไฟฟ้าที่มีแกนหมุนเป็นใบมีดจนได้เป็นผงละเอียด จากนั้นชั่งน้ำหนักผงส้มโอแห้ง 500.13 g นำมาเติมตัวทำละลาย 4% citric acid ในอัตราส่วน 1:15 แล้วต้มบน hot plate ที่ 100°C นาน 105 นาที เพื่อสกัดสาร ตั้งสารสกัดที่ได้ให้เย็นตัวแล้วกรองด้วยผ้าขาวบาง หลังจากนั้นนำสารละลายจากการกรองมาปั่นเหวี่ยง 15,000 rpm นาน 30 นาที ส่วนกากจากการกรองให้แยกเก็บไว้เพื่อนำไปเข้าสู่กระบวนการสกัดต่อเนื่องด้วยตัวทำละลายต่อไป โดยจะแบ่งการสกัดออกเป็น 2 ส่วน ส่วนที่ 1 คือการสกัด pectin โดยจะนำ supernatant ที่ได้จากการปั่นเหวี่ยงมาตกตะกอนด้วย 99.9% ethanol ในอัตราส่วน 1:1 จากนั้นตั้งทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงอีกรอบที่ 15,000 rpm นาน 30 นาที เพื่อแยกตะกอน pectin ออกมาล้างด้วย 99.9% ethanol จำนวน 3 ครั้ง

สำหรับการสกัดในส่วนที่ 2 คือการสกัด hesperidin จะใช้ส่วนกากที่แยกเก็บไว้จากการกรองมาเติมตัวทำละลาย 3% NaOH ในอัตราส่วน 1:8 แล้วต้มบน hot plate ที่ 60°C นาน 90 นาที ตั้งสารสกัดให้เย็นตัวลง แล้วกรองสุญญากาศด้วยชุดกรองสุญญากาศ และปรับ pH สารละลายที่ได้จากการกรองให้เป็น 4 ด้วย 37% HCl solution แล้วตั้งทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง ก่อนนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 15,000 rpm นาน 30 นาที เพื่อแยกตะกอน hesperidin ออกมาล้างด้วยน้ำ จำนวน 3 ครั้ง

นำสารสกัด pectin และ hesperidin ที่ได้มาทำให้แห้งด้วย vacuum freeze-dryer จนน้ำหนักคงที่ คือ 106.36 และ 14.85 g ซึ่งคิดเป็น %yield เท่ากับ 21.27 และ 2.97% ตามลำดับ ดังตารางที่ 2



ตารางที่ 2 แสดงผลผลิตร้อยละของสารสกัดจากเปลือกส้มโอ

| สารสกัด               | น้ำหนัก (g) | % yield | ลักษณะสารสกัดที่ได้                                                                  |
|-----------------------|-------------|---------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| สารสกัด<br>hesperidin | 14.85       | 2.97    |   |
| สารสกัด<br>pectin     | 106.36      | 21.27   |  |

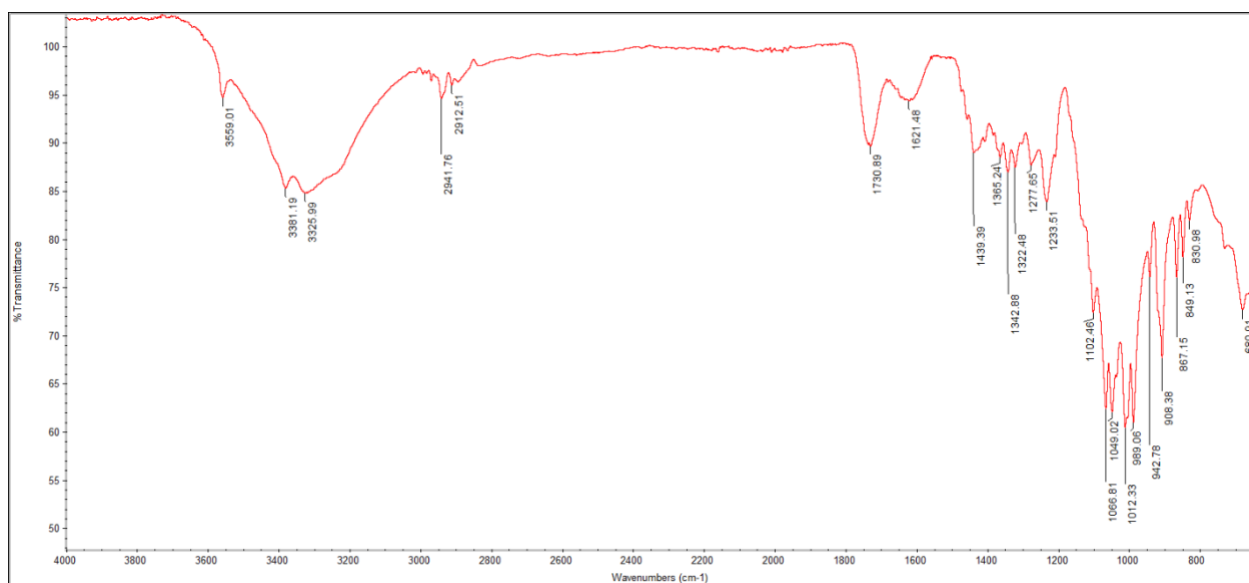
#### 4.3 การตรวจสอบคุณลักษณะของ pectin และ hesperidin ด้วย FT-IR

หลังจากสกัดสารสกัด pectin และ hesperidin ได้แล้วจะนำไปตรวจสอบเอกลักษณ์ของสารด้วยเครื่อง fourier transform infrared spectrometer (FT-IR) เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานทางการค้า

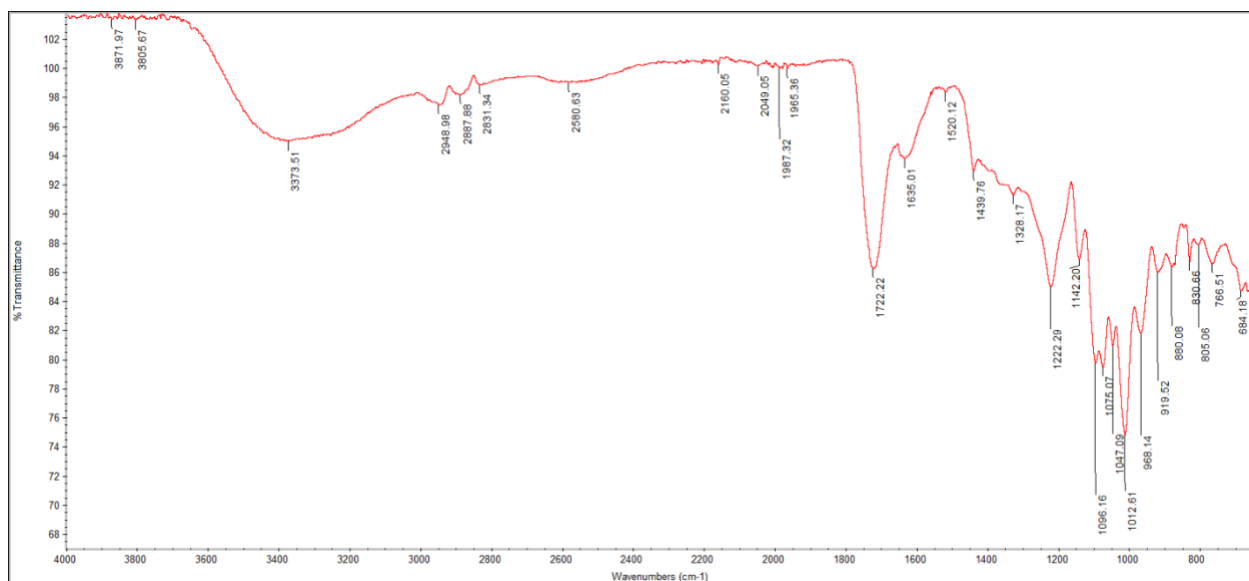
ผลการตรวจสอบเอกลักษณ์ของสารมาตรฐาน pectin และ pectin ที่สกัดได้ แสดงผลเป็น FT-IR spectrum ดังรูปที่ 11 และ 12 ตามลำดับ โดย FT-IR spectrum จะแสดงถึงการสั่นของหมู่ฟังก์ชันที่

สอดคล้องกับสารชีวโมเลกุลต่าง ๆ โดย pectin เป็นสารกลุ่ม polysaccharides เมื่อสังเกต FT-IR spectrum เปรียบเทียบกันจะพบว่า มีพิกหลายตำแหน่งของ pectin ที่สกัดได้ที่คล้ายคลึงกับสารมาตรฐาน pectin เช่น พบ overtone ที่ช่วงความยาวคลื่น  $2000\text{ cm}^{-1}$  ร่วมกับพิกที่ความยาวคลื่น  $1635$  และ  $1439\text{ cm}^{-1}$  ซึ่งเป็นช่วงคลื่นที่บ่งบอกถึง C-C stretches ใน aromatic ring เมื่อดูประกอบกันจึงสื่อถึงความเป็น aromatic compounds นอกจากนั้นยังพบ broad peak ที่ความยาวคลื่น  $3373\text{ cm}^{-1}$  ซึ่งเป็นช่วงคลื่นที่มีการสั่นของหมู่ฟังก์ชัน hydroxyl group (O-H stretching) พบพิกที่ความยาวคลื่น  $1722\text{ cm}^{-1}$  ซึ่งเป็นช่วงคลื่นที่มีการสั่นของหมู่ฟังก์ชัน ester (C=O stretching) นอกจากนั้นที่ความยาวคลื่นในช่วง  $1200 - 700\text{ cm}^{-1}$  ซึ่งเป็น fingerprint region ยังมีพิกที่ความยาวคลื่นใกล้เคียงกันหลายจุด เพียงแต่พิกของ pectin ที่สกัดได้ไม่คมชัดเท่าพิกของสารมาตรฐาน pectin

จากข้อมูลข้างต้นจึงสามารถสรุปได้ว่าสารสกัดที่ได้ คือ pectin เนื่องจากมีหลายพิกใน FT-IR spectrum ที่ใกล้เคียงกับ FT-IR spectrum ของสารมาตรฐาน pectin แต่อาจจะมีพิกอื่น ๆ เพิ่มขึ้นหรือขาดหายไปบางตำแหน่ง และมีบางพิกที่ไม่คมชัด ซึ่งอาจเกิดจากการมีสารไม่บริสุทธิ์อื่น ๆ ปนเปื้อนในระหว่างขั้นตอนการสกัด



รูปที่ 11 แสดง FT-IR spectrum ของสารมาตรฐาน pectin



รูปที่ 12 แสดง FT-IR spectrum ของ pectin ที่สกัดได้

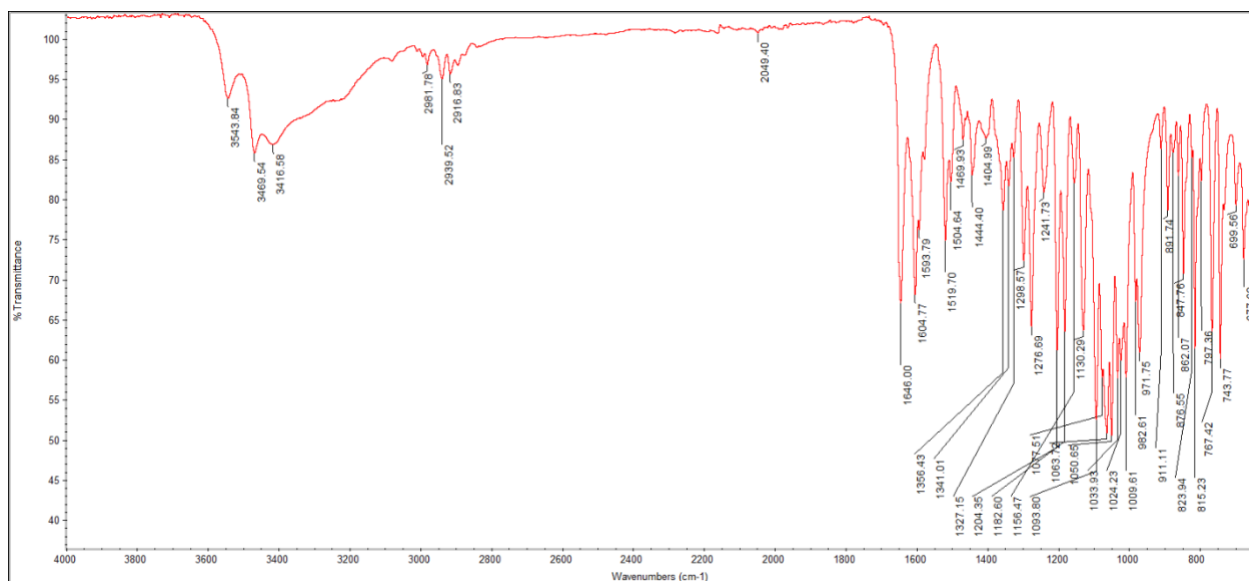
ผลการตรวจสอบเอกลักษณ์ของสารมาตรฐาน hesperidin, สารมาตรฐาน glucosyl hesperidin, hesperidin ที่สกัดได้ และ purified hesperidin แสดงผลเป็น FT-IR spectrum ดังรูปที่ 13, 14, 15 และ 16 ตามลำดับ โดย FT-IR spectrum จะแสดงถึงการสั่นของหมู่ฟังก์ชันที่สอดคล้องกับสารชีวโมเลกุลต่าง ๆ โดย hesperidin เป็นสารประกอบ flavanone ที่เป็นกลุ่มย่อยของสารในกลุ่ม flavonoids เมื่อสังเกต FT-IR spectrum ของสารมาตรฐาน hesperidin, สารมาตรฐาน glucosyl hesperidin, hesperidin ที่สกัดได้ และ purified hesperidin เปรียบเทียบกันจะพบว่า FT-IR ของ hesperidin ที่สกัดได้ และ purified hesperidin มีความใกล้เคียงกับสารมาตรฐาน glucosyl hesperidin มากกว่าสารมาตรฐาน hesperidin เมื่อเปรียบเทียบจากส่วน fingerprint region ที่มีจำนวนพิกนน้อยกว่า และไม่คมชัดเท่ากับ FT-IR spectrum ของสารมาตรฐาน hesperidin

และเมื่อเปรียบเทียบ FT-IR spectrum ระหว่าง hesperidin ที่สกัดได้ และ purified hesperidin จะพบว่า purified hesperidin มี spectrum ที่ใกล้เคียงกับสารมาตรฐาน glucosyl hesperidin มากกว่า เนื่องจากที่ความยาวคลื่นประมาณ  $3200\text{ cm}^{-1}$  purified hesperidin จะพบเป็น broad peak แบบเดียวกับที่พบใน spectrum ของสารมาตรฐาน glucosyl hesperidin ในขณะที่ hesperidin ที่สกัดได้จะพบพิกที่มีความคมชัดมากกว่า โดยเหตุผลที่ในความยาวคลื่นประมาณ  $3200$

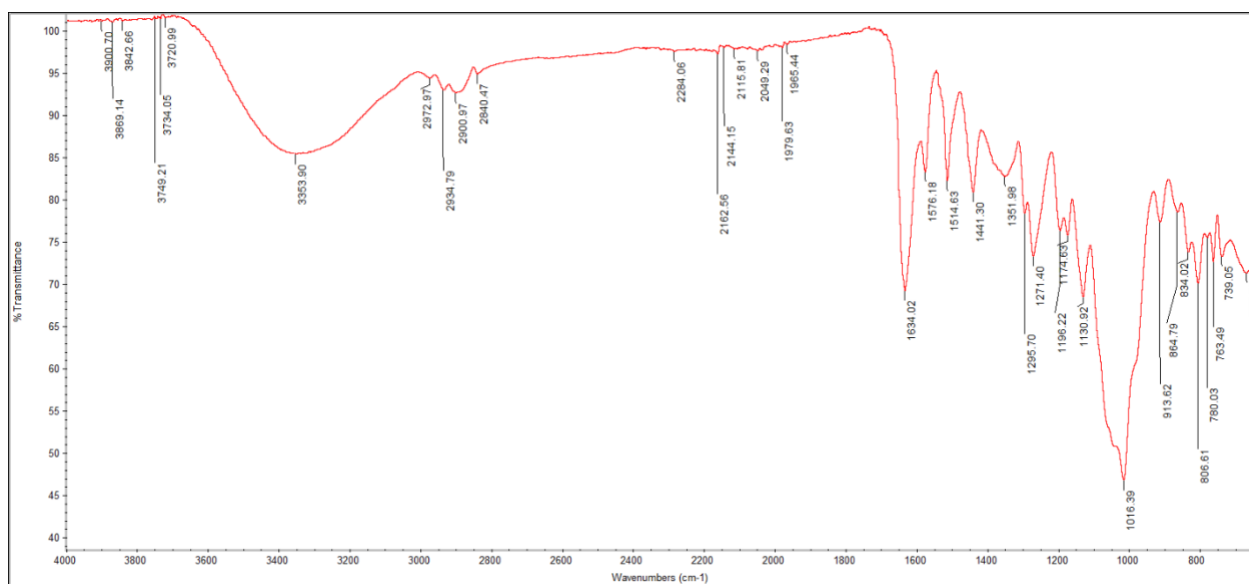
$\text{cm}^{-1}$  glucosyl hesperidin มีความเป็น board peak มากกว่า เพราะในโครงสร้างของ glucosyl hesperidin มีน้ำตาลมากกว่าสารมาตรฐาน hesperidin อยู่ 1 วง

เมื่อนำ FT-IR spectrum เปรียบเทียบกันจะพบว่ามีพีคหลายตำแหน่งของ purified hesperidin ที่คล้ายคลึงกับสารมาตรฐาน glucosyl hesperidin เช่น พบ overtone ที่ช่วงความยาวคลื่น  $2000\text{ cm}^{-1}$  ร่วมกับพีคที่ความยาวคลื่น  $1602$  และ  $1415\text{ cm}^{-1}$  ซึ่งเป็นช่วงคลื่นที่บ่งบอกถึง C-C stretches ใน aromatic ring เมื่อดูประกอบกันจึงสื่อถึงความเป็น aromatic compounds นอกจากนั้นยังพบ board peak ที่ความยาวคลื่น  $3283\text{ cm}^{-1}$  ซึ่งเป็นช่วงคลื่นที่มีการสั่นของหมู่ฟังก์ชัน hydroxyl group (O-H stretching) พบพีคที่ความยาวคลื่น  $1602\text{ cm}^{-1}$  ซึ่งเป็นช่วงคลื่นที่มีการสั่นของหมู่ฟังก์ชัน ketone (C=O stretching) พบพีคที่ความยาวคลื่น  $2916$  และ  $2848\text{ cm}^{-1}$  ซึ่งเป็นช่วงคลื่นที่มีการสั่นของหมู่ฟังก์ชัน alkane (C-H stretching) นอกจากนั้นในช่วง fingerprint region ยังพบพีคที่ตำแหน่งใกล้เคียงกันหลายจุด แต่ในบางความยาวคลื่นพีคที่พบในสารมาตรฐาน glucosyl hesperidin ก็ไม่พบใน purified hesperidin

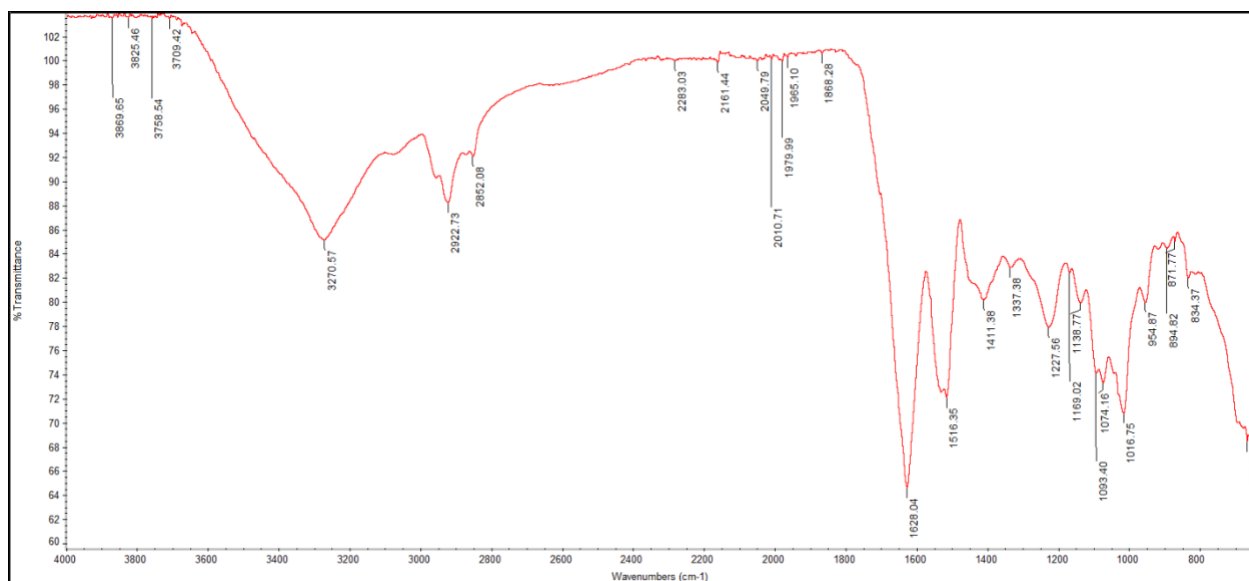
จากข้อมูลข้างต้นจึงสามารถสรุปได้ว่าสารสกัดที่ได้ คือ hesperidin เนื่องจากมีหลายพีคใน FT-IR spectrum ของสารสกัด hesperidin และ purified hesperidin ที่ใกล้เคียงกับ FT-IR spectrum ของสารมาตรฐาน hesperidin และสารมาตรฐาน glucosyl hesperidin แต่อาจจะขาดพีคในบางความยาวคลื่น และมีบางพีคที่ไม่คมชัด ซึ่งอาจเกิดจากการมีสารไม่บริสุทธิ์อื่น ๆ ปนเปื้อนในระหว่างขั้นตอนการสกัดทำให้สารสกัด hesperidin ที่ได้มีความบริสุทธิ์ไม่เทียบเท่ากับสารมาตรฐาน



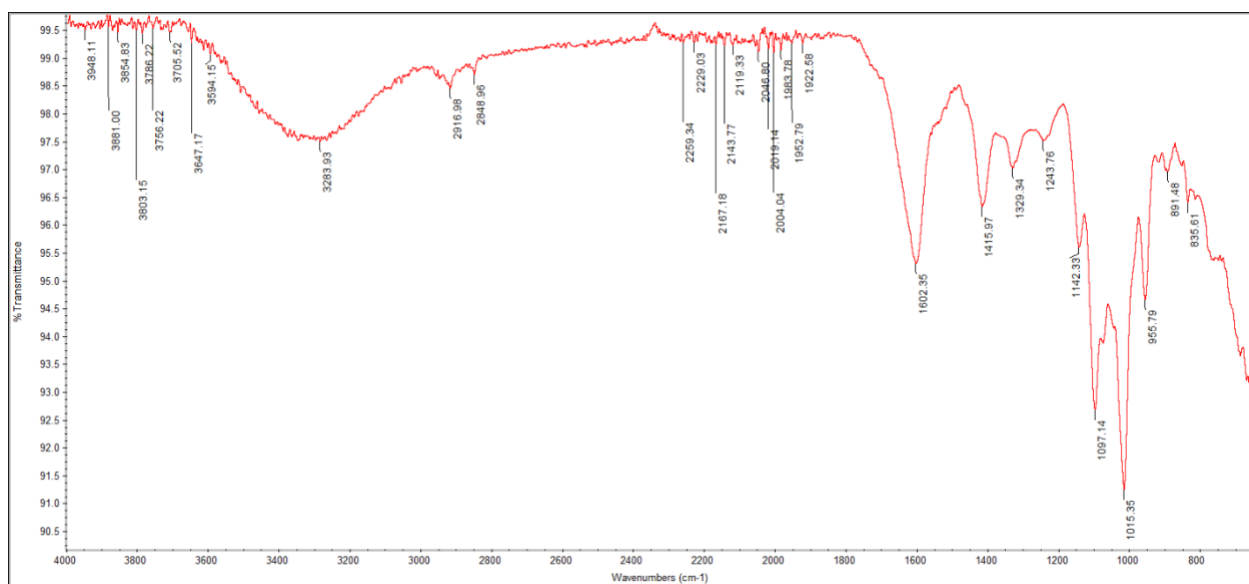
รูปที่ 13 แสดง FT-IR spectrum ของสารมาตรฐาน hesperidin



รูปที่ 14 แสดง FT-IR spectrum ของสารมาตรฐาน glucosyl hesperidin



รูปที่ 15 แสดง FT-IR spectrum ของ hesperidin ที่สกัดได้



รูปที่ 16 แสดง FT-IR spectrum ของ purified hesperidin

#### 4.4 การพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์เยลลี่จากสารสกัดเปลือกส้มโอ

##### 4.4.1 การหาปริมาณสารก่อกเจลที่เหมาะสมสำหรับเตรียมตำรับเยลลี่

การเตรียมตำรับเยลลี่ที่ความเข้มข้น 3% ด้วยสารก่อกเจล pectin และ carrageenan ในอัตราส่วนต่าง ๆ ให้เยลลี่ที่มีความใส ความแข็ง ความแต่ง และค่าความเป็นกรด-ด่าง ดังตารางที่ 3

**ตารางที่ 3** ลักษณะทางกายภาพ เนื้อสัมผัส และค่าความเป็นกรด-ด่างของเยลลี่ที่มีอัตราส่วนต่าง ๆ ของ pectin : carrageenan ที่ความเข้มข้นของสารก่อกเจล 3%

| อัตราส่วนของ<br>pectin : carrageenan | ลักษณะทางกายภาพ<br>และเนื้อสัมผัส          | pH  | ภาพเนื้อเยลลี่                                                                        |
|--------------------------------------|--------------------------------------------|-----|---------------------------------------------------------------------------------------|
| 10:0                                 | ความใส: +++<br>ความแข็ง: 0<br>ความแต่ง: 0  | 3-4 |   |
| 9:1                                  | ความใส: ++<br>ความแข็ง: +<br>ความแต่ง: +   | 3-4 |  |
| 8:2                                  | ความใส: ++<br>ความแข็ง: +<br>ความแต่ง: +   | 3-4 |  |
| 7:3                                  | ความใส: ++<br>ความแข็ง: ++<br>ความแต่ง: ++ | 3-4 |  |

| อัตราส่วนของ<br>pectin : carrageenan | ลักษณะทางกายภาพ<br>และเนื้อสัมผัส               | pH  | ภาพเนื้อเยลลี่                                                                        |
|--------------------------------------|-------------------------------------------------|-----|---------------------------------------------------------------------------------------|
| 6:4                                  | ความใส: +++<br>ความแข็ง: +++<br>ความเค็ง: +++   | 4   |    |
| 5:5                                  | ความใส: ++++<br>ความแข็ง: ++++<br>ความเค็ง: +++ | 4-5 |    |
| 4:6                                  | ความใส: ++++<br>ความแข็ง: +++<br>ความเค็ง: ++++ | 4-5 |   |
| 3:7                                  | ความใส: +++++<br>ความแข็ง: +<br>ความเค็ง: +++++ | 4-5 |  |
| 2:8                                  | ความใส: +++++<br>ความแข็ง: 0<br>ความเค็ง: +++++ | 4-5 |  |
| 1:9                                  | ความใส: +++++<br>ความแข็ง: 0<br>ความเค็ง: +++++ | 5-6 |  |



| อัตราส่วนของ<br>pectin : carrageenan | ลักษณะทางกายภาพ<br>และเนื้อสัมผัส               | pH  | ภาพเนื้อเยลลี่                                                                      |
|--------------------------------------|-------------------------------------------------|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|
| 0:10                                 | ความใส: +++++<br>ความแข็ง: 0<br>ความแต่ง: +++++ | 5-6 |  |

หมายเหตุ: +++++ หมายถึง มากที่สุด, ++++ หมายถึง มาก, +++ หมายถึง ปานกลาง, ++ หมายถึง น้อย, + หมายถึง น้อยที่สุด, 0 หมายถึง ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง

จากการประเมินทุกอัตราส่วนระหว่าง pectin และ carrageenan พบว่า อัตราส่วนที่เหมาะสมในการนำมาพัฒนาตำรับเยลลี่คือ 4:6 เนื่องจากให้เนื้อสัมผัสใกล้เคียงกับความต้องการมากที่สุด คือ มีความใส ความแข็งที่กำลังพอดีไม่มากเกินไปจนเนื้อเยลลี่แข็ง และไม่อ่อนเกินไปจนเนื้อเยลลี่เหลว และไม่ขึ้นรูป และให้ความแต่ง ความหนุบหนับเคี้ยวเพลินกำลังดี

#### 4.4.2 การหาอัตราส่วนความหวานต่อความเปรี้ยวที่เหมาะสมสำหรับเตรียมตำรับเยลลี่

หลังจากได้สารก่อเจลระหว่าง pectin และ carrageenan ในอัตราส่วน 4:6 ที่ความเข้มข้นของสารก่อเจล 3% ก็มาพัฒนาตำรับด้านรสชาติ เพื่อให้มีรสชาติที่เหมาะสมด้วยการปรับอัตราส่วนของสารให้ความหวาน erythritol และสารให้ความเปรี้ยว citric acid โดยเยลลี่ที่ได้จะมีรสชาติหวานและเปรี้ยวที่ต่างกันไป ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงรสชาติที่ได้จากการปรับอัตราส่วนความเข้มข้นของ erythritol และ citric acid

| Erythritol (%) | Citric acid (%) | รสชาติ   |             |
|----------------|-----------------|----------|-------------|
|                |                 | ความหวาน | ความเปรี้ยว |
| 20             | 0.2             | +        | 0           |
| 20             | 0.3             | +        | +           |
| 20             | 0.4             | +        | ++          |
| 25             | 0.2             | ++       | +           |
| 25             | 0.3             | ++       | ++          |
| 25             | 0.4             | ++       | +++         |
| 30             | 0.2             | ++       | +           |
| 30             | 0.3             | ++       | ++          |
| 30             | 0.4             | ++       | +++         |

หมายเหตุ: +++ หมายถึง มากที่สุด, ++ หมายถึง มาก, + หมายถึง น้อย, 0 หมายถึง ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง

จากการปรับความเข้มข้นของความหวานและความเปรี้ยว พบว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดคือ erythritol 30% และ citric acid 0.3% เนื่องจากให้ผลิตภัณฑ์เยลลี่ที่มีรสชาติเปรี้ยวและหวานกำลังพอดี

ดังนั้น จากการทดลองทั้งหมดที่ผ่านมาสามารถสรุปสูตรตำรับของผลิตภัณฑ์เยลลี่จากสารสกัดเปลือกส้มโอ ดังตารางที่ 5

**ตารางที่ 5** สูตรตำรับผลิตภัณฑ์เยลลี่จากสารสกัดเปลือกส้มโอ

| วัตถุดิบ                              | ปริมาณ (%)  |
|---------------------------------------|-------------|
| สารก่อกเจล pectin : carrageenan (4:6) | 3           |
| สารสกัด hesperidin จากเปลือกส้มโอ     | 0.05        |
| Erythritol                            | 30          |
| Citric acid                           | 0.3         |
| Sodium benzoate                       | 0.1         |
| สารแต่งกลิ่นส้ม                       | q.s.        |
| สารแต่งสี (เขียว แดง ส้ม)             | q.s.        |
| น้ำสะอาด                              | q.s. to 100 |

หลังการเตรียมตำรับผลิตภัณฑ์เยลลี่จากสารสกัด hesperidin และ pectin จากเปลือกส้มโอ จะใช้ syringe ดูดเยลลี่ปริมาณ 18 mL บรรจุลงในซองลามิเนต และปิดผนึกปากช่องให้แน่นสนิทด้วยความร้อน แล้วนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปทดสอบความคงตัวโดยเก็บผลิตภัณฑ์เยลลี่ที่อุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิ 4°C เป็นระยะเวลา 30 วัน หลังจากนั้นนำไปทดสอบลักษณะทางกายภาพเบื้องต้นต่าง ๆ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่อไป

#### 4.5 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเปลือกส้มโอ ผลิตภัณฑ์เยลลี่จากสารสกัดเปลือกส้มโอ และผลิตภัณฑ์เยลลี่หลังการทดสอบความคงตัว

จากการประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด hesperidin และ pectin จากเปลือกส้มโอ ผลิตภัณฑ์เยลลี่จากสารสกัดเปลือกส้มโอที่เตรียมเสร็จใหม่ และผ่านการทดสอบความคงตัวที่อุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิ 4°C เป็นระยะเวลานาน 30 วัน ด้วยวิธี ABTS assay ได้ผล  $IC_{50}$  และ %inhibition ดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 แสดงค่า  $IC_{50}$  และ %inhibition ของแต่ละตัวอย่างโดยวิธี ABTS assay

| สาร                                                                       | $IC_{50}$ (mg/mL)    |
|---------------------------------------------------------------------------|----------------------|
| สารสกัด hesperidin จากเปลือกส้มโอ                                         | $0.0006 \pm 0.0031$  |
| สารสกัด pectin จากเปลือกส้มโอ                                             | $2.9644 \pm 0.0805$  |
| สารมาตรฐาน vitamin C                                                      | $0.0013 \pm 0.0003$  |
| <b>ผลิตภัณฑ์เยลลี่จากสารสกัดเปลือกส้มโอ<br/>ที่มีความเข้มข้น 10 mg/mL</b> | <b>% inhibition</b>  |
| เตรียมเสร็จใหม่                                                           | $23.1951 \pm 1.4291$ |
| หลังการทดสอบความคงตัวที่อุณหภูมิห้อง นาน 30 วัน                           | $11.3872 \pm 0.3990$ |
| หลังการทดสอบความคงตัวที่ 4°C นาน 30 วัน                                   | $12.6233 \pm 2.8038$ |

จากการประเมินการต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างด้วยวิธี ABTS assay พบว่า สารสกัด hesperidin และ pectin จากเปลือกส้มโอมีความสามารถในการทำให้ความเข้มข้นของ ABTS<sup>•+</sup> ลดลง 50% โดยมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $0.0006 \pm 0.0031$  mg/mL และ  $2.9644 \pm 0.0805$  mg/mL ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าสารสกัด hesperidin ที่ทดสอบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าสารมาตรฐาน vitamin C ซึ่งมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $0.0013 \pm 0.0003$  mg/mL ในขณะที่สารสกัด pectin มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้อยกว่าสารมาตรฐาน vitamin C ผลิตภัณฑ์เยลลี่จากสารสกัดเปลือกส้มโอที่เตรียมขึ้นใหม่และที่ผ่านการทดสอบความคงตัวที่อุณหภูมิห้องและที่อุณหภูมิ 4°C นาน 30 วันนั้นไม่สามารถหาค่า  $IC_{50}$  ได้ เนื่องจากข้อจำกัดในการละลายของเยลลี่ในน้ำ โดยผลิตภัณฑ์เยลลี่ที่มีความเข้มข้น 10 mg/mL สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ โดยมีค่า %inhibition เท่ากับ  $23.20 \pm 1.43\%$ ,  $11.39 \pm 0.40$ ,  $12.62 \pm 2.80\%$  ตามลำดับ ซึ่งผลิตภัณฑ์เยลลี่หลังการทดสอบความคงตัวทั้ง 2 สภาวะยังคงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเช่นเดียวกับหลังเตรียมเสร็จใหม่ แต่มีฤทธิ์น้อยกว่า โดยผลิตภัณฑ์เยลลี่ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิห้องจะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุด อาจเนื่องจากการสลายตัวของสารสำคัญที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากอุณหภูมิที่สูงขึ้น และอุณหภูมิห้องนั้นไม่ได้ควบคุมอุณหภูมิให้คงที่สม่ำเสมอเพียงพอ ในช่วงฤดูร้อนอากาศบางวันร้อนมากกว่าปกติ สำหรับผลิตภัณฑ์เยลลี่ที่เก็บที่อุณหภูมิ 4°C สารสำคัญที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอาจเกิดการสลายตัวเมื่ออยู่ในรูปสารละลายในน้ำเป็นระยะเวลาสั้น

ผลิตภัณฑ์เยลลี่จากสารสกัดเปลือกส้มโอที่เตรียมขึ้นใหม่ ผลิตภัณฑ์เยลลี่จากสารสกัดเปลือกส้มโอหลังการทดสอบความคงตัวที่อุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิ 4°C ที่ความเข้มข้น 10 mg/mL นั้นให้ค่าเฉลี่ย %inhibition ที่มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) มาก แสดงว่าผลการทดสอบมีค่าที่แตกต่างกันค่อนข้างมาก อาจเนื่องมาจากสารละลายของผลิตภัณฑ์เยลลี่ที่เตรียมได้ไม่ละลายเป็นเนื้อเดียวกันยังมีเนื้อเยลลี่ขนาดเล็กปนอยู่จึงอาจบดบังการดูดกลืนแสงของสารละลาย

#### 4.6 ผลการทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์เยลลี่จากสารสกัดเปลือกส้มโอ

##### 4.6.1 ลักษณะทางกายภาพเบื้องต้น

หลังการเก็บผลิตภัณฑ์เยลลี่จากสารสกัดเปลือกส้มโอที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ 4°C เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับลักษณะภายนอก ลักษณะปรากฏ สี กลิ่น และรสชาติ กับผลิตภัณฑ์เยลลี่จากสารสกัดส้มโอที่เตรียมขึ้นใหม่ ได้ผลทดสอบดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 แสดงคุณภาพของผลิตภัณฑ์หลังการทดสอบความคงตัวที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 30 วัน

| คุณภาพผลิตภัณฑ์ | วันที่ 1                                                                            | เก็บอุณหภูมิห้องวันที่ 30                                                            | เก็บอุณหภูมิ 4 °C วันที่ 30                                                           |
|-----------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| ลักษณะภายนอก    |  |  |  |
| ลักษณะปรากฏ     | นุ่ม หนึบหนับ เด้ง<br>ไม่เกิดการแยกตัวของน้ำ<br>ไม่มีจุดเชื้อรา                     | นุ่ม หนึบหนับ เด้ง<br>เกิดการแยกตัวของน้ำออกมา<br>เป็นน้ำเชื่อม ไม่มีจุดเชื้อรา      | นุ่ม หนึบหนับ เด้ง<br>เกิดการแยกตัวของน้ำออกมา<br>เป็นน้ำเชื่อม ไม่มีจุดเชื้อรา       |
| สี              | ส้ม เข้ม และชัด                                                                     | ส้มอ่อนมาก                                                                           | ส้มเจือจางลง                                                                          |
| กลิ่น           | กลิ่นส้มชัดเจน                                                                      | กลิ่นส้มเจือจางลงมาก                                                                 | กลิ่นส้มเจือจางลง                                                                     |
| รสชาติ          | เปรี้ยวหวานพอดี                                                                     | เปรี้ยวหวานลดลงมาก                                                                   | เปรี้ยวหวานลดลง                                                                       |

จากผลการทดสอบความคงตัวโดยการเก็บผลิตภัณฑ์เยลลี่จากสารสกัดเปลือกส้มโอที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 30 วัน พบว่าเนื้อสัมผัสเยลลี่ที่อุณหภูมิห้องยังมีความคงตัวดีเหมือนผลิตภัณฑ์ที่ผลิตขึ้นในวันแรก คือ เนื้อยังแข็ง นุ่ม หนึบหนับ ใส ไม่มีจุดเชื้อรา แต่มีน้ำแยกตัวออกมา ซึ่งอาจเกิดจากอุณหภูมิที่สูงขึ้นส่งผลให้น้ำในสูตรตำรับแยกตัวออกมา ส่วนผลิตภัณฑ์เยลลี่ที่อุณหภูมิ 4°C พบว่าเนื้อสัมผัสเยลลี่ยังคงมีความคงตัวดี นุ่ม หนึบหนับ เติ่งคล้ายผลิตภัณฑ์ที่ผลิตขึ้นในวันแรก ไม่มีจุดเชื้อรา แต่มีน้ำแยกตัวออกมามากน้อย การเปลี่ยนแปลงในปัจจัยเรื่องรสชาติเปรี้ยวหวาน สี และกลิ่นของเยลลี่ พบว่า เยลลี่ที่ผ่านการทดสอบความคงตัวมีปัจจัยเหล่านี้ลดลง โดยผลิตภัณฑ์เยลลี่ที่เก็บที่อุณหภูมิห้องจะมีสี กลิ่น และรสชาติเปรี้ยวหวานลดลงมากที่สุด แต่ยังอยู่ในเกณฑ์ยอมรับที่สามารถรับประทานได้

#### 4.6.2 ผลการวิเคราะห์ค่าความชื้นที่หายไปเมื่ออบแห้ง (Loss on Drying, LOD)

เมื่อนำผลิตภัณฑ์เยลลี่จากสารสกัดเปลือกส้มโอที่เตรียมขึ้นใหม่และหลังจากเก็บที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 30 วัน มาวัดเนื้อสัมผัสด้วยเครื่อง moisture analyzer ให้ผลดังตารางที่ 8

ตารางที่ 8 แสดงผลการวิเคราะห์ค่าความชื้นที่หายไปเมื่ออบแห้ง (%LOD) จากเครื่อง moisture analyzers

| ตัวอย่างเยลลี่ที่ใช้ทดสอบค่าความชื้นที่หายไปเมื่ออบแห้ง                          | % LOD |
|----------------------------------------------------------------------------------|-------|
| ผลิตภัณฑ์เยลลี่จากสารสกัดเปลือกส้มโอที่เตรียมใหม่                                | 63.40 |
| ผลิตภัณฑ์เยลลี่จากสารสกัดเปลือกส้มโอหลังทดสอบความคงตัวที่อุณหภูมิห้อง นาน 30 วัน | 53.19 |
| ผลิตภัณฑ์เยลลี่จากสารสกัดเปลือกส้มโอหลังทดสอบความคงตัวที่อุณหภูมิ 4°C นาน 30 วัน | 51.27 |

จากการวิเคราะห์ค่าความชื้นที่หายไปเมื่ออบแห้ง (loss on drying) ด้วยเครื่อง moisture analyzer โดยใช้ตัวอย่างเยลลี่จากสารสกัดเปลือกส้มโอ 3 ตัวอย่าง ได้แก่ เยลลี่จากสารสกัดเปลือกส้มโอที่เตรียมเสร็จใหม่ เยลลี่จากสารสกัดเปลือกส้มโอที่ทดสอบความคงตัวโดยเก็บที่อุณหภูมิห้องและเก็บที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 30 วัน พบว่าเยลลี่ที่เตรียมเสร็จใหม่มีค่า %LOD สูงที่สุดเนื่องจากยังมีปริมาณน้ำในตำรับสูงกว่าเยลลี่ที่ผ่านการเก็บในอุณหภูมิต่าง ๆ นาน 30 วัน ซึ่งปรากฏการแยกตัวของน้ำในตำรับจึงมี %LOD ที่ต่ำกว่า

#### 4.6.3 ผลการวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (Texture analysis)

เมื่อนำผลิตภัณฑ์เยลลี่จากสารสกัดเปลือกส้มโอที่เตรียมขึ้นใหม่และหลังจากเก็บที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 30 วัน มาวัดเนื้อสัมผัสด้วยเครื่อง texture analyzer ให้ผลดังตารางที่ 9

**ตารางที่ 9** แสดงผลการวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (texture analysis) จากเครื่องวัดเนื้อสัมผัส (texture analyzer)

| ตัวอย่างเยลลี่             | Hardness (g)       | Cohesiveness  | Springiness   | Chewiness     |
|----------------------------|--------------------|---------------|---------------|---------------|
| เตรียมเสร็จใหม่            | 1,835.460 ± 95.607 | 0.053 ± 0.010 | 0.063 ± 0.003 | 6.189 ± 1.405 |
| เก็บที่อุณหภูมิ 4°C 30 วัน | 519.574 ± 33.611   | 0.038 ± 0.001 | 0.055 ± 0.001 | 1.082 ± 0.125 |
| เก็บที่อุณหภูมิห้อง 30 วัน | 366.248 ± 51.512   | 0.036 ± 0.006 | 0.023 ± 0.001 | 0.302 ± 0.061 |

จากการทดลองการวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (texture analysis) ด้วยเครื่อง texture analyzer ในด้าน hardness (ความแข็ง), cohesiveness (ค่าพลังงานการยึดเกาะ), springiness (ค่าความสามารถในการคืนตัว) และ chewiness (ค่าพลังงานในการบดเคี้ยว) โดยทดสอบตัวอย่างละ 3 ซ้ำ โดยใช้ตัวอย่างเยลลี่จากสารสกัดเปลือกส้มโอ 3 ตัวอย่าง ได้แก่ เยลลี่จากสารสกัดเปลือกส้มโอที่เตรียมเสร็จใหม่ เยลลี่จากสารสกัดเปลือกส้มโอที่ทดสอบความคงตัวโดยเก็บที่อุณหภูมิห้อง และเก็บที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 30 วัน พบว่า เยลลี่ที่เตรียมเสร็จใหม่มีค่าความแข็ง ค่าพลังงานการยึดเกาะ ค่าความสามารถในการคืนตัว และค่าพลังงานในการบดเคี้ยวมากที่สุด ซึ่งมีความสอดคล้องกับลักษณะปรากฏของเยลลี่เตรียมเสร็จใหม่ที่รูปร่างมีความคงตัวมากกว่าเยลลี่ที่ผ่านการเก็บในอุณหภูมิต่าง ๆ ซึ่งดูอ่อนนุ่มมากกว่าเดิมจากการแยกออกมาของชั้นน้ำ และเมื่อเปรียบเทียบเนื้อสัมผัสทั้งสี่ด้านระหว่างเยลลี่ที่เก็บในอุณหภูมิที่แตกต่างกันเป็นระยะเวลา 30 วัน พบว่า เยลลี่ที่เก็บในอุณหภูมิ 4°C มีค่าความแข็ง ค่าพลังงานการยึดเกาะ ค่าความสามารถในการคืนตัว และค่าพลังงานในการบดเคี้ยวใกล้เคียงกับเยลลี่ที่เตรียมเสร็จใหม่มากกว่า ดังนั้น การเก็บเยลลี่ที่อุณหภูมิ 4°C จะสามารถคงเนื้อสัมผัสของเยลลี่ได้ดีกว่าการเก็บที่อุณหภูมิห้อง

#### 4.6.4 ผลการวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH)

จากผลการวัดความเป็นกรด-ด่างด้วย pH universal indicator ของผลิตภัณฑ์เยลลี่เปล่าที่เตรียมจาก pectin และ carrageenan ในอัตราส่วน 4:6 ที่ความเข้มข้น 3% ผลิตภัณฑ์เยลลี่จากสารสกัดเปลือกส้มโอที่เตรียมใหม่ ผลิตภัณฑ์เยลลี่จากสารสกัดเปลือกส้มโอหลังทดสอบความคงตัวที่อุณหภูมิห้อง

และอุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 30 วัน พบว่ามีค่า pH เท่ากับ 3-3.5, 4, และ 4 ตามลำดับ ดังตารางที่ 10 โดยค่า pH ที่ได้นี้มีความเป็นกรดซึ่งอยู่ในช่วงค่าปกติของเยลลี่ทั่วไปดังที่ระบุในประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 213(34) [62]

**ตารางที่ 10** แสดงค่า pH ของผลิตภัณฑ์เยลลี่ในรูปแบบต่าง ๆ ที่เตรียมได้

| ตัวอย่างเยลลี่ที่ใช้ทดสอบความเป็นกรดต่าง                                         | pH    |
|----------------------------------------------------------------------------------|-------|
| เยลลี่เปล่า (pectin และ carrageenan อัตราส่วน 4:6 ความเข้มข้น 3%)                | 4-5   |
| ผลิตภัณฑ์เยลลี่จากสารสกัดเปลือกส้มโอที่เตรียมใหม่                                | 3-3.5 |
| ผลิตภัณฑ์เยลลี่จากสารสกัดเปลือกส้มโอหลังทดสอบความคงตัวที่อุณหภูมิห้อง นาน 30 วัน | 4     |
| ผลิตภัณฑ์เยลลี่จากสารสกัดเปลือกส้มโอหลังทดสอบความคงตัวที่อุณหภูมิ 4°C นาน 30 วัน | 4     |

#### 4.7 วิจารณ์ผลการวิจัย

สารสกัด hesperidin และ pectin ที่ได้จากเปลือกส้มโอด้วยวิธีการสกัดแบบต่อเนื่องมี %yield เท่ากับ 2.97 % และ 21.27 % ตามลำดับ ถือเป็นวิธีการสกัดที่ได้ผลจริง สามารถเข้าใจและทำได้ง่าย งานวิจัย Zhou et al. (2565) [55] ที่ใช้การสกัดแบบต่อเนื่องเพื่อสกัด pectin และ hesperidin พบว่า %yield ผลผลิต pectin ได้ปริมาณ 23.3% และ hesperidin ได้ปริมาณ 3.5% ในขณะที่งานวิจัยนี้ได้ปริมาณน้อยกว่าผลการทดลองของงานวิจัยอ้างอิงเล็กน้อย อาจเนื่องจากการสกัดมีการปรับเปลี่ยนเพื่อให้ดำเนินงานได้สะดวกมากขึ้น เช่น การคนสารละลายที่ไม่ได้คนต่อเนื่องตลอดการสกัดในช่วงการต้มหรือคนเป็นพัก ๆ อาจมีผลทำให้สารสกัดออกมาได้น้อย หรือการเก็บกากกรองเพื่อมาสกัดในขั้นตอนต่อเนื่องไม่สามารถเก็บมาได้ทั้งหมด ทำให้ได้สารตั้งต้นในการสกัดต่อเนื่องน้อยลง ส่งผลให้ได้สารสกัดน้อยลงเช่นกัน

เมื่อตรวจสอบสารสกัดด้วยเครื่อง FT-IR ซึ่งเป็นวิธีวิเคราะห์ที่ช่วยประหยัสดสารเคมี ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างง่ายและสามารถดำเนินการได้ง่าย พบว่าสารสกัด hesperidin ที่ได้มีข้อมูลของ IR spectrum ที่ใกล้เคียงกับ IR spectrum ของสารมาตรฐาน hesperidin และสารมาตรฐาน glucosyl hesperidin ในขณะที่สารสกัด hesperidin เมื่อนำไปผ่านการทำ purification จะมีข้อมูล IR spectrum ใกล้เคียงและเข้าได้กับสารมาตรฐาน glucosyl hesperidin มากขึ้น จึงอนุมานได้ว่าสารสกัด hesperidin ที่ได้จากเปลือกส้มโอเป็นสารประเภทเดียวกันกับสารมาตรฐาน glucosyl hesperidin จากงานวิจัย Choi



SS et al. (2565) [63] พบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ hesperidin และ glucosyl hesperidin ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ จึงสามารถนำสารสกัดที่ได้ไปใช้ในการเตรียมตำรับผลิตภัณฑ์เสริมอาหารได้ ส่วนสารสกัด pectin ที่ไม่มีข้อมูล IR spectrum ใกล้เคียงกับสารมาตรฐาน pectin ที่ใช้ในการตรวจสอบ แม้มีช่วงการดูดกลืนหรือพีคที่ไม่ชัดเจนเท่าสารมาตรฐาน เนื่องจากไม่ได้นำไปผ่านการทำ purification แต่สามารถอนุมานได้ว่าสารสกัด pectin ที่ได้เป็นสารประเภทเดียวกันกับสารมาตรฐาน pectin สารสกัดที่ได้มีคุณสมบัติในการก่อเจล จึงสามารถนำสารสกัดที่ได้ไปใช้ในการเตรียมตำรับผลิตภัณฑ์เสริมอาหารได้

เมื่อนำสารสกัดทั้งสองชนิดไปทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS radical cation scavenging assay สารสกัด hesperidin และ pectin จะมีค่า  $IC_{50}$  อยู่ในช่วง  $0.0006 \pm 0.0031$  mg/mL และ  $2.9644 \pm 0.0805$  mg/mL ตามลำดับ และเมื่อนำสารสกัดจากเปลือกส้มโอที่ได้มาเตรียมผลิตภัณฑ์ในรูปแบบเยลลี่ ทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์เยลลี่ที่เตรียมได้ที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ  $4^{\circ}C$  นาน 30 วัน พบว่ายังคงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระแล้วทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS radical cation scavenging assay โดยทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์เยลลี่ใน 3 สภาวะ ได้แก่ ผลิตภัณฑ์เยลลี่ที่เตรียมเสร็จใหม่ เยลลี่ที่เก็บที่อุณหภูมิห้อง และเยลลี่ที่เก็บที่อุณหภูมิ  $4^{\circ}C$  นาน 30 วัน พบว่าในผลิตภัณฑ์เยลลี่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเมื่อเตรียมความเข้มข้น 10 mg/mL โดยมีค่า %inhibition เท่ากับ  $23.20 \pm 1.43\%$ ,  $11.39 \pm 0.40$ ,  $12.62 \pm 2.80\%$  ตามลำดับ ไม่มีการเจริญเติบโตของเชื้อราบนเนื้อเยลลี่ โดยลักษณะเนื้อเยลลี่ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิห้องมีความแข็งลดลง เนื่องจากเกิดการแยกตัวของน้ำในตำรับและสีที่จางลง ซึ่งสาเหตุหลักคืออุณหภูมิห้องสูงมีแนวโน้มทำให้เกิด hydrolysis ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างภายในของสารก่อเจล และโมเลกุลของสีเป็นส่วนที่ละลายน้ำก็ไหลออกมาผสมกับน้ำที่แยกตัว [61] แต่ผลิตภัณฑ์เยลลียังอยู่ในช่วงที่สามารถยอมรับได้ในการรับประทาน

## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัย

จากผลการดำเนินงานครั้งนี้สามารถตอบวัตถุประสงค์ของโครงการวิจัยได้คือ วิธีการสกัดแบบต่อเนื่องสามารถสกัดสาร hesperidin และ pectin จากเปลือกส้มโอได้, การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ hesperidin และ pectin ที่สกัดได้จากเปลือกส้มโอด้วยวิธี ABTS assay พบว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, สารสกัดที่ได้สามารถนำไปพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจากสารสกัดเปลือกส้มโอได้ และทำการประเมินคุณลักษณะทางกายภาพและความคงตัวของตำรับผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจากเปลือกส้มโอ ผลการศึกษานี้สามารถใช้เป็นแนวทางในการนำสารสกัดจากเปลือกส้มโอไปพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์เยลลี่เพื่อการค้าหรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหารในรูปแบบอื่น ๆ ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (free radicals) และประสิทธิภาพ อีกทั้งยังสามารถนำไปศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ อาทิ ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ ฤทธิ์ลดไขมัน เป็นต้น เพื่อนำไปพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเสริมสร้างสุขภาพในด้านอื่น ๆ ต่อไปในอนาคต นอกจากการต่อยอดทางสุขภาพก็สามารถก่อเกิดประโยชน์จากการเลือกใช้ทรัพยากรหมุนเวียนเพื่อลดปริมาณขยะ และเพิ่มมูลค่าให้กับทรัพยากรหมุนเวียนได้

#### ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์เยลลี่ที่เตรียมจากสาร pectin และ hesperidin ที่เป็นสารมาตรฐาน และที่ได้จากสารสกัดเปลือกส้มโอทั้ง 3 สภาวะ ได้แก่ ผลิตภัณฑ์เยลลี่ที่เตรียมเสร็จใหม่ เยลลี่ที่เก็บที่อุณหภูมิห้อง และเยลลี่ที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 °C นาน 30 วันด้วย เพื่อเปรียบเทียบค่า  $IC_{50}$  ของผลิตภัณฑ์กับสารมาตรฐานและสารสกัดที่ได้ เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการนำไปพัฒนาผลิตภัณฑ์เยลลี่ในอนาคตได้
2. ควรมีการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ เพิ่มเติม เช่น การทดสอบการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์, การวัดค่าความหวาน เป็นต้น

3. ควรมีการประเมินความพึงพอใจของผู้บริโภคในเรื่องรสชาติ เนื้อสัมผัส และกลิ่นเพื่อนำไปปรับปรุงพัฒนาสูตรต่อไปในอนาคต

4. ควรเพิ่มผลการทดสอบการตรวจสอบชนิดของสารสำคัญ (identification) ด้วยวิธี TLC (thin-layer chromatography) หรือ HPTLC (high-performance thin-layer chromatography) หรือ HPLC (high-performance liquid chromatography) เพื่อยืนยันชนิดของสารสำคัญที่แน่นอนมากขึ้น สำหรับนำไปใช้เป็นข้อมูลในการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ ในอนาคต

## เอกสารอ้างอิง

1. ทำความรู้จักกับส้มโอไทย [อินเทอร์เน็ต]. ตลาดแม่กลอง. 2562. [เข้าถึง 13 ตุลาคม 2566]. แหล่งที่มา: <https://www.taladmaeklong.com/get-to-know-about-thai-pomelo/>
2. Tocmo, Fronteras, Calumba, Mendoza, Johnson. Valorization of pomelo (*Citrus grandis* Osbeck) peel: A review of current utilization, phytochemistry, bioactivities, and mechanisms of action. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2020;19(4):1969-2012.
3. ประกาศสำนักนายกรัฐมนตรี. แผนแม่บทภายใต้ยุทธศาสตร์ชาติ พ.ศ. 2566-2580 (ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม) [อินเทอร์เน็ต]. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 140 ตอนพิเศษ 51 ง. หน้า 4 [เข้าถึง 13 ตุลาคม 2566]. แหล่งที่มา: [http://nscr.nesdc.go.th/wp-content/uploads/2023/03/masterplan\\_updated\\_2023\\_080363.pdf](http://nscr.nesdc.go.th/wp-content/uploads/2023/03/masterplan_updated_2023_080363.pdf)
4. Rusat Jahin Anmol, Fei Tsong Hiew et al. Phytochemical and Therapeutic Potential of *Citrus grandis* (L.) Osbeck: A Review. *Journal of Evidence-Based Integrative Medicine*. 2021;26:1-20
5. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข. ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร [อินเทอร์เน็ต]. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 122 ตอนพิเศษ 150 ง หน้า 2. (2548). [เข้าถึง 16 ตุลาคม 2566]. แหล่งที่มา: <https://www.ratchakitcha.soc.go.th /DATA/PDF/2548/00179117.PDF>
6. ข้อมูลและแนวทางประกอบการตรวจราชการแบบบูรณาการของผู้ตรวจราชการ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2565. การจัดการสิ่งแวดล้อมสีเขียวเพื่อความยั่งยืนตามแนวทางการพัฒนาเศรษฐกิจชีวภาพ เศรษฐกิจหมุนเวียน และเศรษฐกิจสีเขียว (BCG Model) [อินเทอร์เน็ต]. สำนักงานปลัดสำนักนายกรัฐมนตรี. (2565). [เข้าถึง 16 ตุลาคม 2566]. แหล่งที่มา: [https://www.opm.go.th/opmportal/multimedia/suphatdo/bcg\\_65\\_compressed](https://www.opm.go.th/opmportal/multimedia/suphatdo/bcg_65_compressed).

7. สำนักจัดการกากของเสียและสารอันตราย. การคัดแยกขยะมูลฝอยอย่างถูกวิธีและเพิ่มมูลค่า [อินเทอร์เน็ต]. กรมควบคุมมลพิษ, กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. 2559. [เข้าถึง 16 ตุลาคม 2566]. แหล่งที่มา: [https://www.pcd.go.th/wp-content/uploads/2020/06/pcdnew-2020-06-04\\_08-33-14\\_078455.pdf](https://www.pcd.go.th/wp-content/uploads/2020/06/pcdnew-2020-06-04_08-33-14_078455.pdf)
8. สุदारัตน์ หอมหวาน. สัมโอ. ฐานข้อมูลเครื่องยาสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. 2553. แหล่งที่มา: <https://apps.phar.ubu.ac.th/thaicrudedrug/main.php?action=viewpage&pid=130>
9. นายณรงค์ แดงเปี่ยม. การรวบรวมและศึกษาพันธุ์ส้มโอในสภาพแปลงปลูกเพื่อการใช้ประโยชน์จากเชื้อพันธุกรรม [อินเทอร์เน็ต]. กรมส่งเสริมการเกษตร. 2558.
10. กรมส่งเสริมการเกษตร. การปลูกส้มโอ. ศูนย์วิทยบริการเพื่อส่งเสริมการเกษตร; 2558. [เข้าถึง 13 ตุลาคม 2566]. แหล่งที่มา: <https://esc.doae.go.th/wp-content/uploads/2015/02/som-oh.pdf>
11. สุदारณ มีเจริญ. สัมโอ. กรมวิชาการเกษตร. 2552. [เข้าถึง 13 ตุลาคม 2566]. แหล่งที่มา: <http://lib.doa.go.th/multim/e-book/EB00577.pdf>
12. ประสิทธิ์ เลิศสำราญ. ปลูกส้มโอทองดี คุณภาพมาตรฐาน ส่งออก ตลาดฮ่องกง ปีละ 400,000 ลูก. พลังเกษตรและเมืองผลไม้. แหล่งที่มา: <https://www.palangaset.com/เมืองไม้ผล/ปลูกส้มโอทองดี-1/>
13. OneNeung. ต้นส้มโอ. My home my gardening. 2563. [เข้าถึง 13 ตุลาคม 2566]. แหล่งที่มา: <https://www.myhomemy-gardening.com/2020/01/pomelo.html>
14. Sadka A, Shlizerman L, Kamara I, Blumwald E. Primary Metabolism in Citrus Fruit as Affected by Its Unique Structure. *Frontiers in Plant Science*. 2019;10.
15. Jentzsch, M.; Becker, S.; Thielen, M.; Speck, T. Functional Anatomy, Impact Behavior and Energy Dissipation of the Peel of *Citrus × limon*: A Comparison of *Citrus × limon* and *Citrus maxima*. *Plants* 2022;11:991. <https://doi.org/10.3390/plants11070991>
16. Anmol RJ, Mariam S, Hiew FT, Han WC, Kwan LK, Wong AKY, Khan F, Sarker MMR, Chan SY, Kifli N, Ming LC. Phytochemical and Therapeutic Potential of *Citrus grandis* (L.)

- Osbeck: A Review. J Evid Based Integr Med. 2021 Jan-Dec;26:2515690X211043741. doi: 10.1177/2515690X211043741.
17. Restituto Tocmo et al. Valorization of pomelo (*Citrus grandis* Osbeck) peel: A review of current utilization, phytochemistry, bioactivities, and mechanisms of action. FOOD SCIENCE AND FOOD SAFETY. 2020;19(4).
  18. จิตรวดี ตั้งหิรัญรัตน์, ขวัญจิต อิศระสุข, ปิยนุช พรหมภมร, นิสุภา อิ่มเสถียร และณัฏฐรัตน์ ศรีบุรินทร์. การประเมินคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสารสกัดเปลือกส้มโอในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทางเครื่องสำอาง [อินเทอร์เน็ต]. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสวนดุสิต, กรุงเทพมหานคร, 10700. (2563). [เข้าถึง 13 ตุลาคม 2566]. แหล่งที่มา: [https://li01.tci-thaijo.org/index.php/PRRJ\\_Scitech/article/download/165577/168863/851859](https://li01.tci-thaijo.org/index.php/PRRJ_Scitech/article/download/165577/168863/851859)
  19. Victor, Mauricio & David, Jorge & Cortez, Maria & Leite, Juliana & Silva, Gálber. (2020). A High-Yield Process for Extraction of Hesperidin from Orange (*Citrus sinensis* L. osbeck) Peels Waste, and Its Transformation to Diosmetin, A Valuable and Bioactive Flavonoid. Waste and Biomass Valorization.12.10.1007/s12649-020-00982-x
  20. Truong Ngoc Quynh Phuong, Pham Van Hung, Nguyen Thi Lan Phi. Extraction of flavonoids in pomelos' peels using Box-Behnken response surface design and their biological activities. VJSTE [Internet]. 2021. [cited 2024Mar.11];63(2):52-7. Available from: <https://vietnamscience.vjst.vn/index.php/vjste/article/view/51>
  21. Pyrzynska K. Hesperidin: A Review on Extraction Methods, Stability and Biological Activities. Nutrients. 2022;14(12):2387. doi: <https://doi.org/10.3390/nu14122387>
  22. Manikyam HK, Tripathi P, Patil SB, Lamichhane J, Chaitanya M, Patil AR. Extraction, purification, and quantification of hesperidin from the immature *Citrus grandis* /*maxima* fruit Nepal cultivar. Asian Journal of Natural Product Biochemistry. 2022;20(1).
  23. Wikipedia. Hesperidin. Wikipedia The Free Encyclopedia. 2563. แหล่งที่มา: <https://en.wikipedia.org/wiki/Hesperidin>

24. Aalikhani M, Safdari Y, Jahanshahi M, Alikhani M, Khalili M. Comparison Between Hesperidin, Coumarin, and Deferoxamine Iron Chelation and Antioxidant Activity Against Excessive Iron in the Iron Overloaded Mice. *Front Neurosci.* 2022; 15:811080. doi: 10.3389/fnins.2021.811080.
25. Ali AM, Gabbar MA, Abdel-Twab SM, Fahmy EM, Ebaid H, Alhazza IM, Ahmed OM. Antidiabetic Potency, Antioxidant Effects, and Mode of Actions of *Citrus reticulata* Fruit Peel Hydroethanolic Extract, Hesperidin, and Quercetin in Nicotinamide/Streptozotocin-Induced Wistar Diabetic Rats. *Oxid Med Cell Longev.* 2020;2020:1730492. doi: 10.1155/2020/1730492.
26. Xiao S, Liu W, Bi J, Liu S, Zhao H, Gong N, Xing D, Gao H, Gong M. Anti-inflammatory effect of hesperidin enhances chondrogenesis of human mesenchymal stem cells for cartilage tissue repair. *J Inflamm (Lond).* 2018 Jul 20; 15:14. doi: 10.1186/s12950-018-0190-y.
27. จันทร์ตรี รุ่งสว่าง. การสกัดและการใช้ประโยชน์เพกตินจากเปลือกส้มโอ. ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 2561.
28. Dr.Samanthi. DifferenceBetween.com. What is the Difference Between Pectin and Lignin. 2021. Available from: <https://www.differencebetween.com/what-is-the-difference-between-pectin-and-lignin/>
29. Yan S, Liu X, Wang Y, et al. Structural characterization and antioxidant activity of pectic polysaccharides from *Veronica peregrina* L. *Front Nutr.* 2023;10:1217862. Published 2023 Jun 29. doi:10.3389/fnut.2023.1217862
30. รณชัย จันทน์ตน, ศรัณย์ สิริชัย และ วิจิตรา แดงปรก. การพัฒนาผลิตภัณฑ์คุกกี้เสริมเพกตินสกัดจากเปลือกส้มโอ. วารสารมหาวิทยาลัยราชภัฏร้อยเอ็ด: วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 2563.
31. สุดารัตน์ เพ็ชรภิมย์. คุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดเพกตินจากเปลือกทุเรียนพันธุ์หมอนทอง. วิทยานิพนธ์. วท.ม. (เทคโนโลยีการเกษตร),มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณีจันทบุรี. 2560.

32. Belén Gómez, Beatriz Gullón, Connie Remoroza, Henk A. Schols, Juan C. Parajó, and José L. Purification, Characterization, and Prebiotic Properties of Pectic Oligosaccharides from Orange Peel Wastes. *Alonso Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2014;62(40):9769-9782. doi: 10.1021/jf503475b
33. Baekey PA, Cerda JJ, Burgin CW, Robbins FL, Rice RW, Baumgartner TG. Grapefruit pectin inhibits hypercholesterolemia and atherosclerosis in miniature swine. *Clin Cardiol*. 1988;11(9):597-600. doi: 10.1002/clc.4960110903.
34. Flourie B, Vidon N, Florent CH, Bernier JJ. Effect of pectin on jejunal glucose absorption and unstirred layer thickness in normal man. *Gut*. 1984;25(9):936-41. doi: 10.1136/gut.25.9.936.
35. Schwartz SE, Levine RA, Singh A, Scheidecker JR, Track NS. Sustained pectin ingestion delays gastric emptying. *Gastroenterology*. 1982;83(4):812-817.
36. Sanjay Kumar, Inderjeet Singh, Deepika Kohli et al. Waste Pomelo (*Citrus Maxima*) Peels – A Natural Source of Antioxidant and Its Utilization in Peanut Oil for Suppressing the Development of Rancidity. *Enviro Research Publishers*. 2019;16(3):800-806. doi: <https://dx.doi.org/10.12944/CRNFSJ.7.3.19>
37. He W, Li X, Peng Y, He X, Pan S. Anti-Oxidant and Anti-Melanogenic Properties of Essential Oil from Peel of Pomelo cv. Guan Xi. *Molecules*. 2019;24(2):242. Published 2019 Jan 10. doi:10.3390/molecules24020242
38. Hung-Der Jang, Ku-Shang Chang, Tsan-Chang Chang, Chuan-Liang Hsu. Antioxidant potentials of buntan pumelo (*Citrus grandis* Osbeck) and its ethanolic and acetified fermentation products. *Food Chemistry*. 2010;118(3):554-558. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.05.020>
39. นันทชนก นันทะไชย และคณะ. ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของชาขงจากเปลือกส้มโอ. คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี. 2556. [เข้าถึง 13 ตุลาคม 2566]. แหล่งที่มา: <https://www.agr.rmutt.ac.th/wp-content/uploads/2014/05/ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของชาขงจากเปลือกส้มโอ.pdf>



40. พัชรา เพชรบัวทอง และ อรรวรรณ จงอ่อน. ผลของสารสกัดจากเปลือกส้มโอต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* และ *Vibrio parahaemolyticus*. จุลนิพนธ์ คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตสารสนเทศเพชรบุรี. 2557. [เข้าถึง 13 ตุลาคม 2566]. แหล่งที่มา: [https://sure.su.ac.th/xmlui/bitstream/id/ff5ef12f-e7cf-478a-92f0-146e188bf2c4/BA\\_Patchara\\_+Pechbuathong.pdf?attempt=2](https://sure.su.ac.th/xmlui/bitstream/id/ff5ef12f-e7cf-478a-92f0-146e188bf2c4/BA_Patchara_+Pechbuathong.pdf?attempt=2)
41. Linchong Suklampoo et al. Antimicrobial Activities of Crude Extracts from Pomelo Peel of Khao-nahm-peung and Khao-paen Varieties. KMITL Sci. 2012;12:55-61. Available from: <https://www.thaiscience.info/journals/Article/KLST/10896124.pdf>
42. Bijun LCDJX. Antimicrobial activity of shaddock peels extract [J]. Food Ferment Ind. 2004;1. [Google Scholar]
43. Xiong H, Wang J, Ran Q, et al. Hesperidin: A Therapeutic Agent for Obesity. Drug Des Devel Ther. 2019;13:3855-3866. Published 2019 Nov 12. doi:10.2147/DDDT.S227499
44. Akiyama, S., Katsumata, S., Suzuki, K., Ishimi, Y., Wu, J., & Uehara, M. Dietary hesperidin exerts hypoglycemic and hypolipidemic effects in streptozotocin-induced marginal type 1 diabetic rats. Journal of clinical biochemistry and nutrition. 2010;46(1):87–92. doi: <https://doi.org/10.3164/jcbrn.09-82>
45. Hong HJ, Jin JY, Yang H, Kang WY, Kim DG, Lee S, et al. Dangyuja (*Citrus grandis* Osbeck) Peel Improves Lipid Profiles and Alleviates Hypertension in Rats Fed a High-Fat Diet. Laboratory Animal Research 26(4):361
46. Ding X, Guo L, Zhang Y, Fan S, Gu M, Lu Y, et al. Extracts of pomelo peels prevent high-fat diet-induced metabolic disorders in c57bl/6 mice through activating the PPARalpha and GLUT4 pathway. PLoS One. 2013;8(10):e77915.
47. Zhao YL, Yang XW, Wu BF, et al. Anti-inflammatory Effect of Pomelo Peel and Its Bioactive Coumarins. J Agric Food Chem. 2019;67(32):8810-8818. doi:10.1021/acs.jafc.9b02511
48. Md. Ibrahim I, Nurul Amin M, Millat MS, Raju JA, Hussain MS, Sultana F, et al. Methanolic Extract of Peel of *Citrus maxima* Fruits Exhibit Analgesic, CNS Depressant and Anti-

- inflammatory Activities in Swiss Albino Mice. *Biology, Engineering, Medicine and Science Reports*. 2018;4(1):07-11.
49. Chowdhury MR, Sagor MA, Tabassum N, Poto MA, Hossain H, Alam MA. Supplementation of *Citrus maxima* Peel Powder Prevented Oxidative Stress, Fibrosis, and Hepatic Damage in Carbon Tetrachloride (CCl<sub>4</sub>) Treated Rats. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2015;2015:598179. doi:10.1155/2015/598179
  50. Gi-Ppeum LEE, Won-Il J, Da-Hee J, Sun-Hee DO, Tae-Hwan KIM, Kyu-Shik J. Diagnostic Evaluation of Carbon Tetrachloride-induced Rat Hepatic Cirrhosis Model. *Anticancer Research*. 2005;25(2A):1029.
  51. Yu J, Ji H, Liu A. Preliminary Structural Characteristics of Polysaccharides from Pomelo Peels and Their Antitumor Mechanism on S180 Tumor-Bearing Mice. *Polymers*. 2018; 10(4):419. <https://doi.org/10.3390/polym10040419>
  52. Extraction technologies for medicinal and aromatic plants [Internet]. Unido.org. 2018 [cited 18 November 2018]. Available from: [https://www.unido.org/sites/default/files/2009-10/Extraction\\_technologies\\_for\\_medicinal\\_and\\_aromatic\\_plants\\_0.pdf](https://www.unido.org/sites/default/files/2009-10/Extraction_technologies_for_medicinal_and_aromatic_plants_0.pdf)
  53. ฉันทกร อาริรัชชกุล. การสกัดแยกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีจากสมุนไพร. KM JUMP. 2561. Available from: <https://www.tistr.or.th/tistrblog/?p=4737>.
  54. Kothari, Vijay & Gupta, Ankit & Naraniwal, Madhu. Extraction methods for preparation of bioactive plant extracts: A comparative study. Lambert Academic Publishing (LAP). 2012.
  55. Peng Zhou, Min Zheng, Xiangzhou Li, Jun Zhou, Yaxuan Shang, ZhaoShuang Li, Limin Qu, A consecutive extraction of pectin and hesperidin from *Citrus aurantium* L.: Process optimization, extract mechanism, characterization and bio-activity analysis, *Industrial Crops and Products* 182(3):114849. doi:10.1016/j.indcrop.2022.114849

56. Hung, M., Zhang, R., Mao, T., Gong, X., Su, X. and Chen, S. A Preliminary Study on Consumer Sensory Evaluation and Acceptance of Pomelo Peel Jelly. *Agricultural Sciences*, 2023;14:446-455. doi: 10.4236/as.2023.143029.
57. Baek JJ, Ryu SI, Paik JK. Quality Characteristics of Citrus Peel Jelly. *Prev Nutr Food Sci*. 2023;28(1):79-82. doi: 10.3746/pnf.2023.28.1.79.
58. Jiangseubchatveera N, Teerawutgulrag A, Santiarworn D, Pyne SG, Liawruangrath B. Phytochemical screening, phenolic and flavonoid contents, antioxidant and cytotoxic activities of *Graptophyllum pictum* (L.) Griff. *Chiang Mai J Sci*. 2017:193-202.
59. Daoud S, Afifi FU, Al-Bakri AG, Kasabri V, Hamdan II. Preparation, Physicochemical Characterization and Biological Evaluation of some Hesperidin Metal Complexes. *Iran J Pharm Res*. 2014;13(3):909-918.
60. พีระพรรณ วิโรจน์บุรณะ และคณะ. การพัฒนาผลิตภัณฑ์เยลลี่เหลวจากสารสกัดฝรั่งหองช้างคอก. [ม.ป.ท.]: มหาวิทยาลัยบูรพา; 2565
61. Guo H, Ge J, Wu Q, He Z, Wang W, Cao G. Syneresis Behavior of Polymer Gels Aged in Different Brines from Gelants. *Gels*. 2022;8(3).
62. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 213) พ.ศ.2543. แยม เยลลี่ และมาร์มาเลดในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท [Internet]. กองอาหาร. 2543. Available from: [https://food.fda.moph.go.th/media.php?id=510381411811860480&name=Compi\\_213.pdf](https://food.fda.moph.go.th/media.php?id=510381411811860480&name=Compi_213.pdf).
63. Choi SS, Lee SH, Lee KA. A Comparative Study of Hesperetin, Hesperidin and Hesperidin Glucoside: Antioxidant, Anti-Inflammatory, and Antibacterial Activities *In Vitro*. *Antioxidants* (Basel). 2022 Aug 20;11(8):1618. doi: 10.3390/antiox11081618. PMID: 36009336; PMCID: PMC9405481.

## รายงานสรุปการเงิน

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2566

ชื่อโครงการ การพัฒนาผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจากเปลือกส้มโอ

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน ผศ.ดร.ภญ.เนตรชนก เจียงสืบชาติวิระ

รายงานในช่วงตั้งแต่วันที่ 01/ส.ค./66 ถึงวันที่ 31/มี.ค./67

ระยะเวลาดำเนินการ 8 เดือน ตั้งแต่วันที่ 01/ส.ค./66

รายรับ

จำนวนเงินที่ได้รับ (100%) 15,000 บาท

เมื่อวันที่ 01 ส.ค. 66

รายจ่าย

| รายการ                     | งบประมาณที่ตั้งไว้<br>(บาท) | งบประมาณที่ใช้จริง<br>(บาท) | จำนวนเงินคงเหลือ/เกิน<br>(บาท) |
|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|--------------------------------|
| 1. ผลส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง | 500                         | 500                         | 0                              |
| 2. อุปกรณ์และสารเคมี       | 13,500                      | 13,500                      | 0                              |
| 3. ค่าใช้สอย               | 1,000                       | 1,000                       | 0                              |
| รวม                        | 15,000                      | 15,000                      | 15,000                         |

(.....)

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เกสักรหญิงเนตรชนก เจียงสืบชาติวิระ)

อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการวิจัย



แบบฟอร์มอนุญาตให้เผยแพร่โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์  
ในฐานข้อมูลเว็บ OPAC ของมหาวิทยาลัย

ชื่อ-นามสกุล ผศ.ดร.ภญ.เนตรชนก เจียงสืบชาติวีระ

ตำแหน่ง อาจารย์ที่ปรึกษารายวิชาโครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

โครงการวิจัยเรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจากเปลือกส้มโอ

Development of Dietary Supplement from Pomelo Peel extract

☐ ๑. อนุญาตให้เผยแพร่โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

☐ ๒. อนุญาตให้เผยแพร่เฉพาะบทคัดย่อ

☐ ๓. ไม่อนุญาตให้เผยแพร่ผลงานวิจัย เนื่องจาก

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

ลงชื่อ.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เกสัชกรหญิงเนตรชนก เจียงสืบชาติวีระ)

อาจารย์ที่ปรึกษารายวิชาโครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

วันที่.....