

ผลของการใช้เอ็นไซม์ต่อสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเปลือกและเนื้อแก้วมังกรพันธุ์เนื้อสีแดง  
*Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose

นางสาวกรรณิการ์ สอนโยธา

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร  
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
ปีการศึกษา 2552  
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EFFECTS OF ENZYMATIC TREATMENT ON BIOACTIVE COMPOUNDS FROM PEEL  
AND FLESH OF RED DRAGON FRUIT

*Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose

Miss Kunnika Sornyotha

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science Program in Food Technology

Department of Food Technology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2009

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์

ผลของการใช้เอนไซม์ต่อสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเปลือก  
และเนื้อแก้วมังกรพันธุ์เนื้อสีแดง *Hylocereus polyrhizus*  
(Weber) Britton & Rose

โดย

นางสาวกรรณิการ์ สอนโยธา

สาขาวิชา

เทคโนโลยีทางอาหาร

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

รองศาสตราจารย์ ดร. ปราณี อ่านเปรื่อง

---

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง  
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์  
(ศาสตราจารย์ ดร. สุพจน์ หารหนองบัว)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ดร. สุวรรณา สุภิमारส)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก  
(รองศาสตราจารย์ ดร. ปราณี อ่านเปรื่อง)

..... กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชื่นจิต ประภิตชัยวัฒนา)

..... กรรมการ  
(อาจารย์ ดร. ชาลีดา บรมพิชัยชาติกุล)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย  
(รองศาสตราจารย์ ดร.พรณจิรา วงศ์สวัสดิ์)

กรรมนิการ์ สอนโยธา : ผลของการใช้เอนไซม์ต่อสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเปลือกและเนื้อ  
 แก้วมังกรพันธุ์เนื้อสีแดง *Hylocereus polyrhizus*(Weber) Britton & Rose (EFFECTS OF  
 ENZYMATIC TREATMENT ON BIOACTIVE COMPOUNDS FROM PEEL AND FLESH  
 OF RED DRAGON FRUIT *Hylocereus polyrhizus*(Weber) Britton & Rose )  
 อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : รศ.ดร. ปราณี อานเป็รื่อง, 115 หน้า.

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้เอนไซม์ต่อสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเปลือก  
 และเนื้อแก้วมังกรพันธุ์เนื้อสีแดง พบว่าแก้วมังกรแดงที่ใช้เป็นวัตถุดิบมีอายุการเก็บเกี่ยว 45 - 50 วัน  
 นับตั้งแต่ออกดอกเป็นระยะที่มีการสะสมสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและเบต้าไซยานินสูงกว่าระดับอื่นอย่างมี  
 นัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) และเมื่อใช้อุณหภูมิ 85 °C นาน 3 นาทีร่วมกับกรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 0.2 และ 0.1 %  
 (w/w) สามารถยับยั้งเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลในเนื้อและเปลือกแก้วมังกรได้ดี และจากการนำเปลือกและเนื้อที่  
 ได้มาย่อยสลายด้วยเอนไซม์กลุ่มเพกทิเนส พบว่าตัวอย่างเนื้อ(F3)และเปลือก(P3)ของแก้วมังกรแดง ที่ผ่าน  
 การย่อยสลายด้วยเอนไซม์จนมีระดับการย่อยสลายคิดเป็นปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด 70.56 (เนื้อ) และ  
 44.54  $\mu\text{g glucose/g FM}$  (เปลือก) มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสูงกว่าที่ภาวะการย่อยสลายในระดับอื่นๆ  
 อย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) กล่าวคือมีค่าแอกทิวิตีของสารต้านการออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH เป็น 8 และ 2  
 เท่าของตัวอย่างควบคุม(F0,P0) (2.71,1.05  $\mu\text{g FM}/\mu\text{g DPPH}$ ) ส่วนวิธี ABTS เป็น 4 และ 7 เท่าของ  
 ตัวอย่างควบคุม(1,029.60, 815.03  $\mu\text{g Trolox equivalents/g FM}$ ) สำหรับปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดคิดเป็น  
 3 และ 4 เท่าของตัวอย่างควบคุม (1,049.18, 561.76  $\text{mg gallic acid equivalents}/100 \text{ g FM}$ ) ส่วน  
 ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเป็น 5 และ 7 เท่าของตัวอย่างควบคุม (1,310.10, 220.28  $\text{mg catechin}$   
 $\text{equivalents} /100\text{gFM}$ ) อีกทั้งยังมีปริมาณเบต้าไซยานินเพิ่มขึ้นจาก 15.53 เป็น 45.66 และ 14.27 เป็น  
 61.65  $\text{mg}/100\text{gFM}$  สำหรับปริมาณใยอาหารที่ละลายน้ำเพิ่มขึ้นจาก 0.65 เป็น 0.76 และ 0.32 เป็น 0.52  
 $\text{g}/100 \text{ g FM}$  และมีแอกทิวิตีของพรีไบโอติก (prebiotic activity score) โดยใช้โพรไบโอติก 2 ชนิดคือ *L.*  
*acidophilus* La5 เท่ากับ 0.15 และ 0.12 ส่วน *B. lactis* Bb12 เท่ากับ 0.34 และ 0.29 ตามลำดับ และยัง  
 พบว่าทั้งเนื้อและเปลือกแก้วมังกรแดงทุกตัวอย่างมีองค์ประกอบหลักของสารเบต้าไซยานินชนิดเดียวกัน คือ  
 เบต้าอิน และเมื่อพิจารณาเสถียรภาพของเบต้าไซยานินทั้งในตัวอย่างเนื้อและเปลือกของแก้วมังกรแดงที่  
 ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ได้ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ พบว่าชนิด  
 ของ food-grade acids ที่มีค่า  $\text{pK}_a$  สูง ทำให้ความเสถียรของสี  $a^*$  ตัวอย่างเนื้อและเปลือกของแก้วมังกร  
 แดงที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เพิ่มขึ้นสูงสุด (76.02, 78.46) ขณะที่การเพิ่มความเข้มข้นของเกลือทำ  
 ให้ความเสถียรของสีลดลง (28.05, 27.09) ส่วนการเติมน้ำตาลจะช่วยเพิ่มความเสถียรของสี (61.46,  
 60.13) และเมื่อเติมไฮโดรคอลลอยด์ พบว่า คาราจีแนนช่วยเพิ่มความเสถียรของสีเบต้าไซยานิน (60.76,  
 60.03) ภาวะที่ทำให้ค่าสีแดงสูงสุดคือ อุณหภูมิไม่เกิน 25 °C pH ช่วง 4-6 ระยะเวลาที่สัมผัสแสงไม่เกิน 2  
 วัน

ภาควิชา.....เทคโนโลยีทางอาหาร..... ลายมือชื่อนิสิต.....

สาขาวิชา.....เทคโนโลยีทางอาหาร..... ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์.....

ปีการศึกษา.....2552.....

# # 4972207423 : MAJOR FOOD TECHNOLOGY

KEY WORD : RED DRAGON FRUIT/ BETACYANIN/ ENZYME/ BIOACTIVE COMPOUNDS

KUNNIKA SORNYOTHA : EFFECTS OF ENZYMATIC TREATMENT ON

BIOACTIVE COMPOUNDS FROM PEEL AND FLESH OF RED DRAGON

FRUIT *Hylocereus polyrhizus*(Weber) Britton & Rose. THESIS ADVISOR :

ASSOC. PROF. PRANEE ANPRUNG, Ph.D., 115 pp.

The research aimed to study the effect of enzymatic treatment on bioactive compounds from peel and flesh of red dragon fruit. It was found that red dragon fruit harvested 45-50 d after bloom restored higher bioactive compounds and betacyanin than other levels significantly ( $p \leq 0.05$ ). The pretreatment condition of heating at 85°C for 3 min together with adding ascorbic acid concentration of 0.2 and 0.1 % (w/w) was suitable to inhibit the browning reaction in flesh and peel, respectively. After enzymatic treatment by pectinase, the flesh sample (F3) and peel sample (P3) degraded until highest reducing sugar of 70.56 (flesh) and 44.54  $\mu\text{g}$  glucose/g FM (peel) showed higher bioactive compounds than other levels significantly ( $p \leq 0.05$ ). Their antioxidant activities measured by DPPH method were 8 and 2 times higher than control (F0, P0) (2.71, 1.05  $\mu\text{g}$  FM/ $\mu\text{g}$  DPPH), and those determined by ABTS method were 4 and 7 times more than control (1,029.60, 815.03  $\mu\text{g}$  Trolox equivalents/g FM). Their total phenolic contents were 3 and 4 times higher than control (1,049.18, 561.76 mg gallic acid equivalents/100 g FM), and total flavonoid contents were 5 and 7 times more than control (1,310.10, 220.28 mg catechin equivalents /100gFM). Moreover, their betacyanin contents increased from 15.53 to 45.66 (flesh) and 14.27 to 61.65 mg/100gFM (peel). The dietary fiber was improved from 0.65 to 0.76 and 0.32 to 0.52 g/100 g FM. The prebiotic activity scores from using *L. acidophilus* La5 were 0.15 and 0.12 for flesh and peel, respectively, and those from *B. lactis* Bb12 were 0.34 and 0.29. Furthermore, it was found that all samples of red dragon fruit's flesh and peel composed of the same type of betacyanin which was betanin. The betacyanin stabilities of samples degraded by enzyme were compared with those from non-enzymatic treatment. The results showed that food-grade acids with high  $pK_a$  brought about the highest stability of  $a^*$  color in flesh and peel (76.02, 78.46). The higher salt concentration decreased color stability (28.05, 27.09), and the addition of sugar affected to higher color stability (61.46, 60.13). The outcome from hydrocolloid adding showed that carageenan can increase the stability of betacyanin color (60.76, 60.03). The optimum condition to result in the highest red color was the temperature not higher than 25 °C, pH range of 4-6, and the time period of lightening not later than 2 d.

Department : .....Food Technology..... Student's Signature : .....

Field of Study : .....Food Technology..... Advisor's Signature : .....

Academic Year : .....2009.....

## กิตติกรรมประกาศ

ดิฉันใคร่ขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร.ปราณี อานเป็รื่อง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์เป็นอย่างสูง ตลอดระยะเวลาที่ได้รู้จักอาจารย์ทั้งในฐานะที่เป็นอาจารย์บรรยายในวิชาเรียน และอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ในหลักสูตรปริญญาโทมหาบัณฑิต อาจารย์สอนให้ดิฉันทำในสิ่งที่ดิฉันคิดว่าทำไม่ได้ ผลักดันให้ทำงานวิจัยเพื่อเขียนเป็น manuscript สำหรับการตีพิมพ์ทั้งในระดับชาติ และ นานาชาติ สอนให้ดิฉันตั้งใจ และ ซื่อสัตย์ ในงานวิจัย สอนให้เกิดแนวคิดมีความคิดเป็นลำดับขั้น ในบางครั้งดิฉันท้อแต่อาจารย์ก็คอยให้คำสอน เพื่อผลักดันให้เดินหน้าต่อไปได้

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร. รมณี สงวนดีกุลหัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร รศ. ดร. สุวรรณ สุภิมาธ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผศ.ดร.ชื่นจิต ประกิจชัยวัฒนา อาจารย์ ดร. ชาลีดา บรมพิชัยชาติกุล และ รศ. ดร. พรรณจิรา วงศ์สวัสดิ์ ที่กรุณาเป็นเกียรติและสละเวลามาเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ กรุณาตรวจแก้ไขข้อบกพร่องและให้คำแนะนำอันเป็นประโยชน์ ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณคณาจารย์ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ที่คอยอบรม สั่งสอนให้ความรู้เสมอมา

ขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่และบุคลากร ตลอดจนเพื่อนๆ และน้องๆ ร่วมสถาบันทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือ ให้คำแนะนำ ให้กำลังใจ และอำนวยความสะดวกในด้านต่างๆ เสมอมา

ขอขอบคุณโครงการนวัตกรรมเพื่อยกระดับคุณภาพและความปลอดภัยทางอาหารสู่โครงสร้างเศรษฐกิจยุคใหม่ ทุนวิจัยเงินงบประมาณแผ่นดิน จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ทุนสนับสนุนการทำวิจัยในครั้งนี้

ท้ายสุดนี้ขอขอบพระคุณ คุณพ่อนิพนธ์ คุณแม่วรรณมา พี่และน้องที่คอยเอาใจใส่ให้ความช่วยเหลือในทุกด้านและเป็นกำลังใจที่สำคัญยิ่งตลอดมา ขอความดีทั้งหมดที่อยู่ในผลงานวิจัยอันจะพึงมีประโยชน์ทั้งโดยตรงและโดยอ้อมต่อประเทศ ดิฉันขออุทิศแด่คุณย่า และคุณตาที่ล่วงลับไปแล้ว

และดิฉันจะยึดมั่นในคำสอนของอาจารย์เป็นแนวทางในการดำเนินชีวิตตลอดไป

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ณ
สารบัญภาพ.....	ญ
บทที่	
1 บทนำ.....	1
2 วารสารปริทัศน์.....	3
2.1 แก้วมังกรพันธุ์เนื้อสีแดง.....	3
2.2 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสำคัญที่พบในแก้วมังกรพันธุ์เนื้อสีแดง.....	6
2.3 สารกลุ่มพรีไบโอติก.....	12
2.4 การเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลในผลิตภัณฑ์จากแก้วมังกรแดง.....	13
2.5 บทบาทของเอนไซม์เพคตินเนสในการแปรรูปผักและผลไม้.....	15
2.6 ปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์.....	18
2.7 การใช้เพคตินเนสในการแปรรูปผักและผลไม้.....	20
3 การดำเนินงานวิจัย.....	25
3.1 ขอบเขตงานวิจัย.....	25
3.2 วัตถุประสงค์ สารเคมี และอุปกรณ์.....	26
3.3 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย.....	30
4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง.....	37
4.1 การคัดเลือกระดับความสุกของผลแก้วมังกรแดงที่ใช้เป็นวัตถุดิบ.....	37
4.2 ภาวะที่เหมาะสมในการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลในเปลือกและเนื้อแก้วมังกรแดง.....	41
4.3 ภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเปลือกและเนื้อแก้วมังกรแดงโดยใช้เอนไซม์เพคตินเนสทางการค้า(Pectinex <sup>®</sup> Ultra SP-L).....	46
4.4 ผลของเอนไซม์ต่อสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเปลือกและเนื้อแก้วมังกรแดง..	50
4.5 ผลของเอนไซม์ต่อปริมาณใยอาหาร ค่าแอกทิวิตีสารพรีไบโอติก และ	

บทที่	หน้า
เบต้าไซยานินของเปลือกและเนื้อแก้วมังกรแดง.....	53
4.6 ผลของน้ำตาล กรด เกลือและไฮโดรคอลลอยด์ต่อเสถียรภาพของเบต้าไซยานิน	59
4.7 ผลของ pH อุณหภูมิ และแสงต่อเสถียรภาพของเบต้าไซยานิน.....	63
5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....	68
รายการอ้างอิง.....	71
ภาคผนวก.....	86
ภาคผนวก ก วิธีการวิเคราะห์.....	87
ภาคผนวก ข รายละเอียดของเอนไซม์.....	107
ภาคผนวก ค การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ.....	108
ภาคผนวก ง รายละเอียดข้อมูลเพิ่มเติม.....	112
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	115



บทที่

ณ  
หน้า

## สารบัญญัตราจ

ตารางที่		หน้า
2.1	ปริมาณสารอาหารที่พบในผลแก้วมังกรแดง.....	6
2.2	บทบาทของเพคตินเ็นสต่อการย่อยสลายเนื้อเยื่อผลไม้.....	21
4.1	ค่าสีของแก้วมังกรแดงที่ความสุกระดับต่างกัน.....	38
4.2	สมบัติทางเคมีและกายภาพเบื้องต้นของแก้วมังกรแดงที่ความสุกระดับต่างกัน...	38
4.3	สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่พบในเปลือกแก้วมังกรแดงที่ความสุกระดับต่างกัน...	40
4.4	สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่พบในเนื้อแก้วมังกรแดงที่ความสุกระดับต่างกัน.....	40
4.5	ปริมาณใยอาหารของเปลือกและเนื้อแก้วมังกรแดงในระดับความสุกที่ 2.....	41
4.6	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยสลายเปลือกแก้วมังกรแดงด้วยเอนไซม์ เพคตินเนสที่ความเข้มข้นต่างๆ ในระยะเวลา 3 ชม.....	48
4.7	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยสลายเนื้อแก้วมังกรแดงด้วยเอนไซม์ เพคตินเนสที่ความเข้มข้นต่างๆ ในระยะเวลา 3 ชม.....	49
4.8	สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและฤทธิ์ในการต้านการออกซิเดชันในตัวอย่างเนื้อ แก้วมังกรแดง.....	52
4.9	สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและฤทธิ์ในการต้านการออกซิเดชันในตัวอย่างเปลือก แก้วมังกรแดง.....	52
4.10	ปริมาณใยอาหารทั้งหมดในตัวอย่างเนื้อและเปลือกแก้วมังกรแดง.....	53
4.11	ปริมาณจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นในระหว่าง 0 และ 24 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยง เชื้อที่มีคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกัน.....	54
4.12	High-performance liquid chromatography-diode-array detection (HPLC- DAD) and liquid-chromatography-mass spectrometry (LC-MS) ของ เบต้าไซยานิน จาก flesh, F3 (a) and peel, P3 (b) ของแก้วมังกรแดง.....	58

ตารางที่	หน้า
ค.1	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าสีในระบบ $L^* a^* b^*$ ของเนื้อแก้วมังกรแดง ที่ระดับความสุกต่างๆ..... 108
ค.2	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าสีในระบบ $L^* a^* b^*$ ของเปลือกแก้วมังกร แดงที่ระดับความสุกต่างๆ..... 108
ค.3	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าสีในระบบ $L^* a^* b^*$ ของเนื้อแก้วมังกรแดง ที่ระดับความสุกต่างๆ..... 108
ค.4	การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นภายใน 24 ชั่วโมง เมื่อ เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเปลือกแก้วมังกรแดงหรือมีกลูโคสเป็นองค์ประกอบด้วย วิธี T-test..... 109
ค.5	การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นภายใน 24 ชั่วโมง เมื่อ เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเนื้อแก้วมังกรแดงหรือมีกลูโคสเป็นองค์ประกอบด้วยวิธี T-test..... 109
ค.6	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยความสว่าง ( $L^*$ ) ค่าสีแดง ( $+a^*$ ) ค่าสีเหลือง ( $+b^*$ ) ของแก้วมังกรแดงตีปนที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยา สีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ..... 109
ค.7	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในแก้วมังกรแดงที่ได้จาก การย่อยด้วยเอนไซม์ที่มีความเข้มข้น 2.5% (v/w)..... 110
ค.8	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (AA) และปริมาณเบต้า ไซยานินทั้งหมด (BC) ของเปลือกและเนื้อที่มีระดับการตัดพันธุ์ไกลโคซิลด้วย เอนไซม์ต่างกัน..... 110
ค.9	การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของปริมาณใยอาหารทั้งหมด (TDF) ใยอาหารที่ ละลายน้ำ (SDF) และใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ (IDF) ในแก้วมังกรแดงที่ผ่าน การย่อยด้วยเอนไซม์กับแก้วมังกรแดงตีปนและควบคุมการเกิดสีน้ำตาลด้วยวิธี T-test..... 110
ค.10	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นภายใน 24 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแก้วมังกรแดงตีปนและควบคุมการเกิดสีน้ำตาล แก้วมังกรแดงที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ หรือมีกลูโคสเป็นองค์ประกอบ..... 111

ตารางที่		หน้า
ค.11	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของการเปลี่ยนแปลงฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (AA) ปริมาณเบต้าไซยานินทั้งหมด (BC) และใยอาหาร (DF) ในระหว่างกระบวนการย่อยสลายด้วยเอนไซม์.....	111
ง.1	ค่า pH และค่าสี L* a* b* ของแก้วมังกรตีปั่นที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม (control) (ค่าสีที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยที่วัดทุกๆ 0, 3 และ 5 วัน).....	113
ง.2	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในแก้วมังกรแดงที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ที่ความเข้มข้นและเวลาการย่อยต่างๆ.....	114

## สารบัญญภาพ

รูปที่		หน้า
2.1	ลักษณะต้น ดอก และผลแก้วมังกรแดง.....	4
2.2	โครงสร้างทางเคมีของอนุพันธ์เบต้าไซยานิน.....	8
2.3	กลไกการสลายตัวของเบต้าินที่เป็นองค์ประกอบหลักของเบต้าไซยานิน.....	9
2.4	กลไกการเกิดและการควบคุมปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลจากการทำงาน ของเอนไซม์ PPO ด้วยสารรีดิวซ์.....	14
2.5	สารประกอบเพกติน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส ในเนื้อเยื่อพืช.....	16
2.6	ปฏิกิริยาของเอนไซม์เพกติเนส.....	18
3.1	ขั้นตอนการย่อยสลายเนื้อและเปลือกแก้วมังกรแดงด้วยเอนไซม์.....	34
4.1	ค่าความสว่าง (L*) ของเปลือกแก้วมังกรแดงตีป่นที่ผ่านการควบคุมการ เกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ.....	43
4.2	ค่าสีแดง (+a*) ของเปลือกแก้วมังกรแดงตีป่นตีป่นที่ผ่านการควบคุมการ เกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ.....	43
4.3	ค่าสีเหลือง (+b*) ของเปลือกแก้วมังกรแดงตีป่นที่ผ่านการควบคุมการเกิด ปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ.....	44
4.4	ค่าความสว่าง (L*) ของเนื้อแก้วมังกรแดงตีป่นที่ผ่านการควบคุมการ เกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ.....	44
4.5	ค่าสีแดง (+a*) ของเนื้อแก้วมังกรแดงตีป่นตีป่นที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยา น้ำตาลที่ภาวะต่างๆ.....	45
4.6	ค่าสีเหลือง (+b*) ของเนื้อแก้วมังกรแดงตีป่นที่ผ่านการควบคุมการเกิด ปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ.....	45
4.7	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (RS) ในเปลือกแก้วมังกรแดงที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ Pectinex® Ultra SP-L (P) ที่ความเข้มข้นและเวลาการย่อยต่างๆ.....	47
4.8	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (RS) ในเนื้อแก้วมังกรแดงที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ Pectinex® Ultra SP-L (P) ที่ความเข้มข้นและเวลาการย่อยต่างๆ.....	47

รูปที่	หน้า	
4.9	Prebiotic activity score ของ <i>L. acidophilus</i> La5 และ <i>B. lactis</i> Bb12 ที่เลี้ยง ในสารพีไบโอติกแตกต่างกัน.....	55
4.10	ปริมาณเบต้าไซยานินจากเปลือก (P0, P3) และเนื้อแก้วมังกรแดง (F0, F3).....	56
4.11	HPLC chromatographs ของเบต้าไซยานิน จาก flesh, F3 (a) and peel P3 (b) ของแก้วมังกรแดง.....	57
4.12	ผลของน้ำตาล กลูโคส ฟรุกโตส และซอร์บิทอลต่อความคงตัวของเบต้าไซยานิน จาก peel (P0, P3) และ flesh (F0, F3).....	60
4.13	ผลของความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ต่อความคงตัวของเบต้าไซยานิน จาก peel (P0, P3) และ flesh (F0, F3).....	60
4.14	ผลของกรดอะซิติก กรดซิตริก และ กรดแอสคอร์บิก ต่อความคงตัวของ เบต้าไซยานิน จาก peel (P0, P3) และ flesh (F0, F3).....	62
4.15	ผลของสารไฮโดรคอลลอยด์ต่อความคงตัวของเบต้าไซยานิน จาก peel (P0, P3) และ flesh (F0, F3).....	62
4.16	ผลของ pH ต่อความคงตัวของเบต้าไซยานิน จาก peel (P0, P3) และ flesh (F0, F3).....	64
4.17	ผลของอุณหภูมิต่อความคงตัวของเบต้าไซยานิน จาก peel (P0, P3) และ flesh (F0, F3).....	64
4.18	ผลของการสัมผัสแสง 10 ชม.ต่อวัน ต่อความคงตัวของเบต้าไซยานิน จาก peel (P0, P3) และ flesh (F0, F3).....	66
ก.1	กราฟมาตรฐานของสารละลาย Trolox.....	94
ก.2	กราฟมาตรฐานของสารละลาย Gallic acid.....	95
ก.3	กราฟมาตรฐานของสารละลาย Catechin.....	96
ก.4	กราฟมาตรฐานของสารละลาย Betacyanin.....	98
ก.5	กราฟมาตรฐานของสารละลาย Ascorbic acid.....	100
ก.6	กราฟมาตรฐานของสารละลาย Glucose.....	105
ข.1	แอกทิวิตีของเอนไซม์ที่ pH ต่างๆ.....	107
ข.2	แอกทิวิตีของเอนไซม์ที่อุณหภูมิต่างๆ.....	107

# บทที่ 1

## บทนำ

แก้วมังกรพันธุ์เนื้อสีแดง (Dragon fruit, Pitahaya, Pitaya, Strawberry Pear) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Hylocereus polyrhizus* อยู่ในวงศ์ Cactaceae เป็นผลไม้ที่มีถิ่นกำเนิดในเขตป่าร้อนชื้นแถบประเทศเม็กซิโก (Wu และคณะ, 2006; และ Harivaindaran และคณะ, 2008) ลักษณะทางกายภาพของแก้วมังกรพันธุ์เนื้อสีแดงที่สำคัญคือ ผลเป็นรูปวงรี ในส่วนที่เป็นเนื้อและเปลือกมีสีแดงสด โดยสารให้สีที่สำคัญคือ เบต้าไซยานิน ซึ่งเป็นสารให้สีชนิดเดียวกับที่พบในบีทรูท มีคุณสมบัติคือ สามารถละลายได้ในน้ำและตัวทำละลายแอลกอฮอล์ มีความคงตัวอยู่ในช่วง pH 3-7 (Wybraniec และคณะ, 2001; Stintzing และคณะ, 2004) ไม่เปลี่ยนสีตามค่า pH เหมือน anthocyanin และให้ความเข้มของสีแดงมากกว่า anthocyanin ถึง 3 เท่า (Harivaindaran และคณะ, 2008) เบต้าไซยานินมีโครงสร้างทางเคมีอยู่ด้วยกัน 4 ชนิด คือ betanin-type, amaranthin-type, gomphrenin-type และ bouginvillein-type (Cai และคณะ, 2005) สำหรับแก้วมังกรพันธุ์เนื้อสีแดง โครงสร้างทางเคมีหลักที่อยู่ในเบต้าไซยานิน คือ betanin (5-O-glucosides) (Stintzing และคณะ, 2002; Wybraniec, 2006) ปัจจุบันนี้สีม่วงแดงของเบต้าไซยานินสามารถสกัดได้จากบีทรูท และถูกใช้เป็นส่วนผสมอาหารในระดับอุตสาหกรรม เนื่องจากผู้บริโภคหันมาใส่ใจสุขภาพมากขึ้น สีที่ได้จากธรรมชาติจึงเป็นทางเลือกหนึ่ง แต่สีเหล่านี้มีข้อจำกัดคือ ราคาแพง มีความไวและสลายตัวได้ง่าย ต่อปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมได้แก่ pH อุณหภูมิ ออกซิเจน แสง water activity สารที่มีประจุ เช่น metal ion และ sulphur dioxide. จากรายงานของ Stintzing และ Carle, 2007 พบว่าสีในบีทรูทมีความคงตัวดีที่สุดที่ pH 4.5 ส่วนที่ pH มากกว่า 7 ขึ้นไป betacyanin จะลดลงอย่างรวดเร็ว และสีจะไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงในช่วง pH 3-7 ที่ภาวะความเป็นกรดสูงสีจะเปลี่ยนเป็น blue-violet เกิดจาก red anionic เปลี่ยนรูปไปเป็น violet cation ส่วนที่ภาวะความเป็นเบส สีจะเปลี่ยนเป็น yellow-brown อย่างรวดเร็วเนื่องจากการสูญเสีย betanin นอกจากนี้ยังมีปัจจัยด้านอุณหภูมิที่มีผลต่อความคงตัวของเบต้าไซยานิน โดยเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นส่งผลให้อัตราการสลายตัวเพิ่มขึ้นด้วยเนื่องจาก betanin สลายตัวให้ betalamic acid และ cyclodopa-5-O-glycoside (Vargas และคณะ, 2000) สำหรับปัจจัยทางด้านแสงมีรายงานว่า เบต้าไซยานินที่ได้จาก *Amaranthus* จะมีความคงตัวภายใต้ภาวะที่มีแสง (daylight) ต่ำกว่าภาวะที่ไม่มีแสง (darkness) เนื่องจากแสงไป excites  $\pi$  อิเล็กตรอน ของ double bonds ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการสลายตัวได้สูงกว่า (Cai และคณะ, 1998) นอกจากนี้แก้วมังกรพันธุ์เนื้อสีแดงนี้ยังประกอบด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ เช่น สารออกฤทธิ์ต้าน

อนุมูลอิสระในกลุ่ม ฟลาโวนอยด์ ฟีนอลิก และสารต้านอนุมูลอิสระประเภทอื่น สำหรับใยอาหารที่พบในแก้วมังกรพันธุ์เนื้อสีแดงแบ่งเป็น 2 ชนิด คือ ใยอาหารที่ละลายน้ำ เช่น มิวซิเลจและเพกติน และใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ (Wu และคณะ, 2006; Stintzing และ Carle, 2007; Phebe, 2009) จากลักษณะเด่นในด้านสี สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และใยอาหารที่เป็นเอกลักษณ์ จึงอาจกล่าวได้ว่าแก้วมังกรพันธุ์เนื้อสีแดงเป็นผลไม้ที่มีศักยภาพในการพัฒนาเป็นสารให้สีที่มีลักษณะเป็นของเหลวข้น ประกอบไปด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และใยอาหารรวมอยู่ด้วย ซึ่งให้ประโยชน์หรือสมบัติอื่นที่ดีต่อผลิตภัณฑ์อาหารนอกเหนือจากการให้คุณค่าทางโภชนาการพื้นฐาน โดยวิธีที่ใช้ในการย่อยสลายเนื้อเยื่อในชั้นมิดเดิลลามีผลด้วยวิธีเอนไซม์ ซึ่งวิธีดังกล่าวเป็นวิธีทางชีวภาพที่มีความปลอดภัยและสารที่ถูกปลดปล่อยจากเนื้อเยื่อยังคงรักษาสภาพธรรมชาติขององค์ประกอบเดิมรวมทั้งมีความเข้มข้นมากขึ้น ดังมีรายงานการวิจัยที่เกี่ยวข้องดังนี้ Pilnik และ Voragen (1993) รายงานว่าการใช้เอนไซม์กลุ่มเพคตินเอสในการผลิตน้ำองุ่นแดง นอกจากจะช่วยเพิ่มปริมาณน้ำองุ่นแดงแล้วยังเป็นการเพิ่มปริมาณแอนโทไซยานิน รวมทั้งให้กลิ่นรสที่ดีกว่าการไม่ใช้เอนไซม์ ซึ่งสอดคล้องกับ Munoz และคณะ (2004) ที่ศึกษาผลของการใช้เอนไซม์ที่มีต่อแอนโทไซยานินในเปลือกองุ่นแดง โดยใช้เอนไซม์เพคตินเอส พบว่าการใช้เอนไซม์ให้ค่าความหนาแน่นของสีสูงสุด (Color density) และให้ความหนาแน่นของสีมากกว่าการสกัดด้วยน้ำ รวมทั้งยังมีการศึกษาของ Mobhammer และคณะ (2005) เกี่ยวกับการสกัดเบต้าไซยานินที่ได้จาก cactus pear โดยการใช้อินไซม์เพคตินเอส สังเกตลักษณะปรากฏของสีที่ได้จากน้ำ cactus pear พบว่านอกจากจะได้สารให้สีที่ต้องการแล้ว ยังได้สารชนิดอื่นอีก เช่น amino acid, pectin และ reducing sugars เป็นต้น จากรายงานของ Choudhari และ Ananthanarayan (2007) พบว่าการสกัด lycopene จากเปลือกมะเขือเทศ โดยใช้เอนไซม์ สองชนิดคือ เซลลูเลสและเพคตินเอส ในการสกัดสามารถเพิ่มปริมาณ lycopene ได้สูงถึง 206% และให้ผลที่ดีกว่าการไม่ใช้เอนไซม์

งานวิจัยนี้ต้องการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเปลือกและเนื้อแก้วมังกร ได้แก่สารให้สีม่วงแดงของเบต้าไซยานิน สารประกอบฟีนอลิก สารต้านอนุมูลอิสระอื่นๆ โดยใช้เอนไซม์เพคตินเอสทางการค้าในการย่อยสลายเนื้อเยื่อในชั้นมิดเดิลลามีผลโดยไม่ผ่านกระบวนการแยกกากหรือใยอาหารออก นอกจากนี้ยังศึกษาความคงตัวของเบต้าไซยานิน และแอกทิวิตีของฟรีไบโอติก โดยเปรียบเทียบกับอินนูลินและกลูโคส ทำให้สารสกัดที่ได้ยังคงรักษาองค์ประกอบเดิม แต่มีความเข้มข้นมากขึ้น เพื่อความสะดวกในการนำไปใช้ปรุงแต่งสีและเนื้อสัมผัสในอาหาร ทดแทนสารสังเคราะห์ เป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับวัตถุดิบทางการเกษตร และสามารถประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมต่อไปได้



## บทที่ 2

### วารสารปริทัศน์

#### 2.1 แก้วมังกรพันธุ์เนื้อสีแดง

แก้วมังกรพันธุ์เนื้อสีแดง (Dragon fruit, Pitahaya, Pitaya, Strawberry Pear) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Hylocereus polyrhizus* อยู่ในวงศ์ Cactaceae เป็นผลไม้ที่มีถิ่นกำเนิดในเขตป่าร้อนชื้นแถบประเทศเม็กซิโก สำหรับการปลูกในประเทศไทย พบมากที่จังหวัดราชบุรี นครปฐมและจันทบุรี (นฤมล มานีพพาน, 2548) แก้วมังกรแดงเป็นผลไม้ที่สามารถใช้ประโยชน์ได้ทุกส่วน นอกเหนือจากส่วนเนื้อใช้บริโภคสดแล้ว ส่วนเปลือกสีแดงสดยังสามารถสกัดสีใช้ผสมอาหารได้

##### 2.1.1 ลักษณะทั่วไปของแก้วมังกรพันธุ์เนื้อสีแดง

แก้วมังกรพันธุ์เนื้อสีแดงเป็นไม้เลื้อยในตระกูลกระบองเพชร ลำต้นเป็นแฉก 3 แฉก คล้ายครีบบังกร เมื่อโตเต็มที่จะสูงประมาณ 20 ฟุต มีหนามเป็นกระจุกอยู่ที่ตา 4-5 หนาม ลำต้นเดี่ยว แผ่ก้านออกไปรอบ ๆ ต้องมีค้ำคอยพยุง ดอกมีสีขาว โคนดอกเป็นรูปกลมรีหรือรูปไข่ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3-4 นิ้ว บานในเวลากลางคืน จึงมีชื่อเรียกว่า moonflower หรือ lady of the night หรือ queen of the night สำหรับผลแก้วมังกรแดง เมื่อดิบผิวเปลือกเป็นสีเขียว รูปทรงกลมรี ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางผล 6-10 ซม. มีก้านเลี้ยงติดอยู่ตามเปลือกผล เมื่อสุกผิวเปลือกเปลี่ยนเป็นสีแดงอมชมพู เนื้อในมีสีแดงสด รสชาติหวานอมเปรี้ยวเล็กน้อย น้ำหนักประมาณ 200 – 500 กรัม และมีเมล็ดเล็ก ๆ สีดำคล้ายเมล็ดแมงลักกระจายทั่วทั้งผล (Reveh และคณะ, 1993)



รูปที่ 2.1 ลักษณะต้น ดอก และผลแก้วมังกรแดง (นิตา หงษ์วิวัฒน์ และ ทวีทอง หงษ์วิวัฒน์, 2550)

### 2.1.2 การปลูกแก้วมังกรแดง

แก้วมังกรแดงเป็นไม้เลื้อยลำต้นอ่อนจำเป็นต้องมีหลักให้ลำต้นเกาะยึด ซึ่งหลักจะเป็นไม้เนื้อแข็งหรือเสาซีเมนต์ก็ได้ ถ้าใช้ท่อซีเมนต์เป็นเสารูปทรงกลม ภายในกลวง เทปูนไว้ที่ก้นท่อเพื่อไว้ใส่น้ำหล่อเลี้ยงเสาให้มีความชุ่มชื้นอยู่เสมอ ฝังท่อซีเมนต์ลงในดินประมาณ 40 – 50 ซม. ต้องสูงกว่าพื้นดินประมาณ 1.5 – 2 เมตร ด้านบนของเสาทำเป็นร้านให้กิ่งเกาะแผ่ขยายออกไป ต้นแก้วมังกรที่เติบโตจากการใช้กิ่งปักชำจะให้ผลผลิตเมื่ออายุได้ประมาณ 8 – 10 เดือน ดอกจะออกบริเวณปลายกิ่ง มีลักษณะคล้ายดอกโบตั๋นคือมีสีเหลืองอมชมพู จะบานในเวลา กลางคืนและอยู่ได้ประมาณ 2 – 3 วันจะเหี่ยวและร่วงไป เหลือผลที่มีกลีบเลี้ยงหุ้มหลังจากนั้นประมาณ 1 เดือน ผลจะแก่และเก็บเกี่ยวได้ โดยปกติใน 1 ปีต้นแก้วมังกรจะให้ผลผลิตประมาณ 4

รุ่น ตั้งแต่พฤษภาคมถึงสิงหาคม ของทุกปี ต้นแก้วมังกรจะเริ่มให้ดอกชุดแรกในเดือนมีนาคม และดอกชุดสุดท้ายในเดือนกรกฎาคม (นิดา หงษ์วิวัฒน์ และ ทวีทอง หงษ์วิวัฒน์, 2550)

### 2.1.3 การใช้ประโยชน์แก้วมังกรแดงในประเทศไทย

แก้วมังกรแดงมีสรรพคุณหลายอย่าง ผลสุกจะมีรสหวานอมเปรี้ยว มีสรรพคุณในการช่วยเป็นยาระบาย (ช่อทิพย์วรรณ พันธุ์แก้ว, 2542) ดังนั้นส่วนใหญ่จะนิยมรับประทานแก้วมังกรแดงเป็นผลสด นอกจากนี้จะรับประทานผลสดแล้วยังมีการนำผลแก้วมังกรแดงไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ได้หลายชนิด ซึ่งเป็นการแปรรูปที่ทำในระดับครัวเรือนหรือกลุ่มแม่บ้านเพื่อเป็นการเสริมรายได้ ผลิตภัณฑ์แก้วมังกรแดงที่พบได้ทั่วไป ได้แก่ น้ำแก้วมังกรแดง ไอศกรีมแก้วมังกรแดง และโยเกิร์ตแก้วมังกรแดง เป็นต้น (ศิวาพร ศิวเวชช, 2546; กรมส่งเสริมการเกษตร, 2547)

### 2.1.4 คุณค่าทางอาหารของแก้วมังกรแดง

แก้วมังกรแดงจัดเป็นผลไม้ที่มีปริมาณสารอาหาร ส่วนใหญ่อยู่ในรูปน้ำตาลธรรมชาติ ได้แก่ น้ำตาลกลูโคส ฟรุคโตส และซูโครส นอกจากนี้ยังประกอบด้วยวิตามินและแร่ธาตุหลายชนิด รวมทั้งยังเป็นแหล่งของสารอาหารที่มีผลดีต่อสุขภาพ เช่น โยอาหาร และสารต้านอนุมูลอิสระ เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบว่าในผลแก้วมังกรแดงที่มีน้ำหนักประมาณ 100 กรัม จะประกอบไปด้วยสารอาหารต่างๆ ที่สำคัญดังตารางที่ 2.1 (กระยาทิพย์ เรือนใจ, 2543; Nittithan และคณะ, 2547)

ตารางที่ 2.1 ปริมาณสารอาหารที่พบในผลแก้วมังกรแดงที่มีน้ำหนักประมาณ 100 กรัม ของส่วนที่รับประทานได้

องค์ประกอบ	ปริมาณ
พลังงาน	66 หน่วยแคลลอรี่
ความชื้น	76.9 กรัม
คาร์โบไฮเดรต	20.4 กรัม
โปรตีน	1.6 กรัม
ไขมัน	0.4 กรัม
ใยอาหาร	1.1 กรัม
แคลเซียม	37 มิลลิกรัม
ฟอสฟอรัส	49 มิลลิกรัม
เหล็ก	0.8 มิลลิกรัม
วิตามินเอ	67 หน่วยสากล (I.U.)
วิตามินบี 1	0.03 มิลลิกรัม
วิตามินบี 2	0.01 มิลลิกรัม
วิตามินซี	8.0 มิลลิกรัม
ไนอะซิน	0.70 มิลลิกรัม

ที่มา: Nittithan และคณะ (2547)

## 2.2 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสำคัญที่พบในแก้วมังกรพันธุ์เนื้อสีแดง

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพคือ สารที่ให้ประโยชน์หรือคุณสมบัติอื่นที่ดีต่อสุขภาพ นอกเหนือจากคุณค่าทางโภชนาการพื้นฐาน เช่น การต้านอนุมูลอิสระ การเพิ่มประสิทธิภาพให้กับระบบภูมิคุ้มกัน ช่วยลดปริมาณคอเลสเตอรอลในเลือด ลดอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคกระดูกพรุน และช่วยป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง เป็นต้น (Sanders, 1998; Bender, 1999; Bidlack และ Wang, 2000) สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสำคัญที่พบในแก้วมังกรแดงสามารถแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ๆ ดังนี้

## 2.2.1 สารกลุ่มที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

สารที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันคือ สารที่สามารถทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระโดยตรง เพื่อกำจัดอนุมูลอิสระให้หมดไปหรือหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ไม่ให้ดำเนินต่อ โดยทำหน้าที่ให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ ถ้ายอนไฮโดรเจนอะตอมไปยังอนุมูลอิสระ หรือทำหน้าที่ป้องกันการเกิดกระบวนการออกซิเดชัน การวิเคราะห์ค่าฤทธิ์ต้านออกซิเดชันมีด้วยกันหลายวิธีขึ้นอยู่กับหลักการที่ใช้ เช่น วิธี Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) และ Total radical-trapping antioxidant parameter (TRAP) วิเคราะห์จากการส่งผ่านอะตอมไฮโดรเจน (hydrogen atom transfer, HAT) ส่วนวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) และ Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) วิเคราะห์จากการส่งผ่านอิเล็กตรอนเดี่ยว (electron transfer, ET หรือ SET) และวิธี 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) อาศัยจากทั้งสองหลักการในการวิเคราะห์ (โสภา และคณะ, 2549; Prior และคณะ, 2005) สารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสำคัญที่พบในแก้วมังกรแดง ได้แก่ สารให้สีเบต้าไซยานิน สารประกอบฟีนอลิก และวิตามินซี

### 2.2.1.1 สารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลิกเป็นกลุ่มสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสำคัญที่พบในผักผลไม้ และธัญพืชชนิดต่างๆ สามารถแบ่งเป็น 3 กลุ่มหลัก ได้แก่ กรดฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และแทนนิน (Dykes and Rooney, 2007) กลไกในการต้านอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกมี 3 กลไกคือ ทำหน้าที่เป็นสารคีเลต (chelating agent) ทำหน้าที่เป็นสารต้านออกซิเดชันโดยหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain breaking antioxidant) และทำหน้าที่เปลี่ยนรูปวิตามินอีกลับมาใหม่ (regenerate  $\alpha$ -tocopherol) (โสภา และคณะ, 2549) สารประกอบฟีนอลิกสำคัญที่พบในแก้วมังกรแดงได้แก่ ฟลาโวนอยด์และเบต้าไซยานิน เป็นกลุ่มรงควัตถุที่พบในพืชมีสีเหลืองและสีแดง Chanai (1998) รายงานว่า แก้วมังกรแดงประกอบด้วยสารฟลาโวนอยด์หลายชนิดที่ซับซ้อน สารฟลาโวนอยด์หลักที่พบได้แก่ ไซยานิดิน และ ฟิลาโกนินดิน

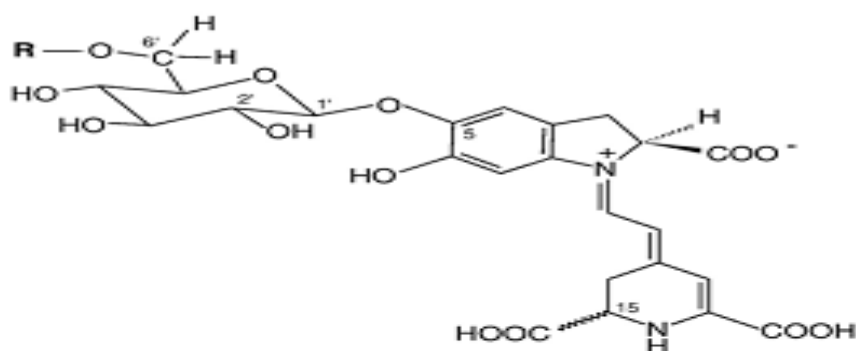
### 2.2.1.2 วิตามินซี

วิตามินซีมีบทบาทสำคัญในการหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ และเข้าจับอนุมูลที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบและมีความไวในการเกิดปฏิกิริยาสูง (scavenging of reactive oxygen species) (โสภา และคณะ, 2549; Smirnoff, 2000) วิตามินซีเป็นวิตามินหลักที่พบในแก้วมังกรแดง ซึ่งพบในปริมาณ 8 มิลลิกรัม วิเคราะห์จากส่วนที่รับประทานได้ 100 กรัม

(กองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข, 2530; Gopalan และคณะ, 1978) โดยเมื่อแก้วมังกรแดงมีระยะเวลาสุกมากขึ้นจะมีปริมาณวิตามินซีสูงขึ้น (Pande และคณะ, 1986)

### 2.2.1.3 สารให้สีเบต้าไซยานิน

เบต้าไซยานินเป็น pigment ที่ให้สีแดงม่วง จัดอยู่ในกลุ่ม betalains สามารถละลายได้ในน้ำและตัวทำละลายแอลกอฮอล์ โมเลกุลของเบต้าไซยานินมักจะมีน้ำตาลกลูโคส 1 โมเลกุลเชื่อมจับกับโมเลกุลของเบต้าไซยานิน ช่วยให้เบต้าไซยานินมีเสถียรภาพดีขึ้นดังรูปที่ 2.2 และบางครั้งโมเลกุลของน้ำตาลจะถูกเชื่อม (acylated) ด้วยกรดอินทรีย์บางชนิด ทำให้โมเลกุลของน้ำตาลกลูโคสไม่หลุดออกไป ซึ่งก็จะช่วยให้มีเสถียรภาพดีขึ้นอีก แต่ในทางกลับกันถ้าโมเลกุลของน้ำตาลกลูโคสหลุดออกไป(hydrolysis)จะมีผลให้เสถียรภาพของเบต้าไซยานินลดลง (Stintzing และคณะ, 2007) เบต้าไซยานินที่พบมากในพืชมีมากถึง 50 ชนิด (Francis, 1999) ในแก้วมังกรพันธุ์เนื้อสีแดงได้มีการศึกษาหาโครงสร้างพบว่ามียถึง 7 ชนิดคือ bougainvillein-r-I, betanin, isobetanin, phyllocactin, iso-phyllocactin, hylocerenin และ iso-hylocerenin (Wybraniec และคณะ, 2001) เบต้าไซยานินสามารถพบได้ตามส่วนต่างๆของพืช เช่น เซลล์ และ vacuoles แต่โดยส่วนใหญ่จะสะสมอยู่ที่เนื้อเยื่อ epidermal และ subepidermal

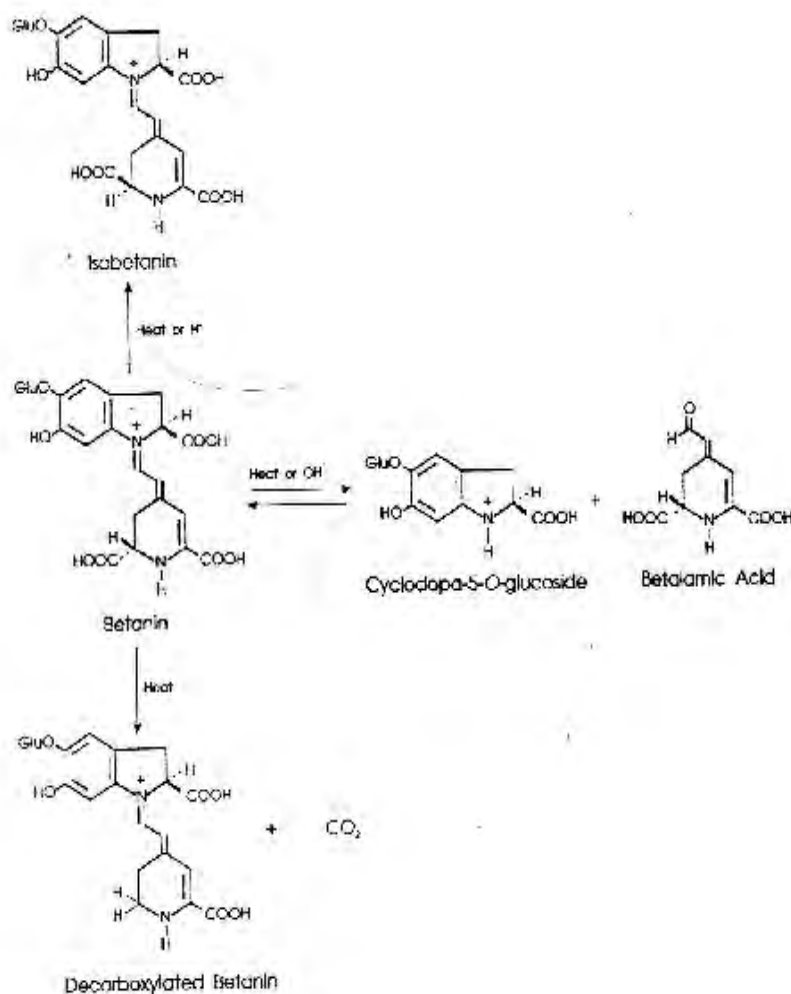


**R = H : Betanin, Isobetanin**

**R = CO — CH<sub>2</sub> — COOH : Phyllocactin, Isophyllocactin**

**R = CO — CH<sub>2</sub> — C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> — CH<sub>2</sub> — COOH : Hylocerenin, Isohylocerenin**

รูปที่ 2.2 โครงสร้างทางเคมีของอนุพันธ์เบต้าไซยานิน (Stintzing และคณะ, 2007)



รูปที่ 2.3 กลไกการสลายตัวของเบตานิินที่เป็นองค์ประกอบหลักของเบต้าไซยานิน (Wybraniec และคณะ, 2001)

สารให้สีที่ได้จากธรรมชาติมักมีข้อจำกัดคือ ไม่ค่อยมีความคงตัว มีความไวและสลายตัวได้ง่าย ต่อปัจจัยทางสิ่งแวดล้อม ได้แก่ pH อุณหภูมิ ออกซิเจน แสง water activity สารที่มีประจุ เช่น พวกร metal ion และ sulphur dioxide (Henry, 1992)

#### pH

Henry, 1992 และ Stintzing และ Carle, 2007 ศึกษาสีแดงที่ได้จากบีทรูท พบว่ามีความคงตัวดีที่สุดในที่ pH 4.5 และที่ pH ตั้งแต่ 7 ขึ้นไป พบว่า ปริมาณเบตานิินลดลงอย่างรวดเร็ว ดังนั้นจึงไม่แนะนำให้ใช้ในองค์ประกอบที่เป็นพวกอัลคาไลน์ การเปลี่ยนแปลงสีจะไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลง pH ในช่วง 3 – 7 ในภาวะที่เป็นกรดมาก สีจะเปลี่ยนไปเป็น blue-violet ซึ่งเกิดจาก

red anionic ถูกเปลี่ยนไปเป็น violet cation ส่วนในภาวะต่าง สีจะเกิดการเปลี่ยนแปลงมาเป็น yellow-brown อย่างรวดเร็วเนื่องจากการสูญเสียเบต้านิน

### อุณหภูมิ

อุณหภูมิเพิ่มขึ้นส่งผลให้อัตราการสลายตัวเพิ่มขึ้นด้วยเนื่องจาก betanin สลายตัวให้ betalamic acid และ cyclodopa-5-O-glycoside (Vargas และคณะ, 2000) ดังกลไกในรูปที่ 2.3

### แสง

แสงจะไป excites  $\pi$  อิเล็กตรอน ของ double bonds ของเบต้าไฮยานินทำให้เบต้าไฮยานินสลายตัว มีผลให้สีแดงลดลง ดังปรากฏในรายงานของ Cai และคณะ, 1998 ซึ่งได้ทดลองศึกษาเสถียรภาพของเบต้าไฮยานินที่ได้จาก Amaranthus พบว่าเบต้าไฮยานินสูญเสียความคงตัวภายใต้ภาวะที่มีแสง (daylight) มากกว่าภาวะที่ไม่มีแสง (darkness)

### water activity

การลดค่า water activity เช่น การเติมน้ำตาลในสารละลายเบต้าไฮยานินจะทำให้ค่า water activity ในตัวอย่างต่ำลง เนื่องจากน้ำตาลจะไปแย่งจับกับน้ำในระบบ (water- glucose systems) และมีผลให้โมเลกุลของเบต้าไฮยานินยังคงรูปเดิม (ไม่สูญเสียน้ำตาลกลูโคสในโมเลกุล) จึงไม่สลายตัวไปเป็น betalamic acid และ cyclodopa-5-O-glycoside ดังรูปที่ 2.3 (Vargas และคณะ, 2000)

### เกลือ

ไอออนบวกของเกลือ ( $\text{Na}^+$ ) จะไปเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของเบต้านินซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของเบต้าไฮยานิน ทำให้เกิดเป็น betalamic acid และ cyclodopa-5-Oglycoside ซึ่งเป็นโครงสร้างที่ไม่คงตัว (Henry และคณะ, 1992)

### Food acids

กรดที่มีค่า  $\text{pK}_a$  สูง ( $\text{pK}_a$  value acetic acid : 4.76) จะทำให้ปฏิกิริยาที่เกิดจากการรวมตัวกับน้ำ (hydration) ในระบบเกิดขึ้นช้าลง แต่ในทางกลับกันถ้ากรดที่มีค่า  $\text{pK}_a$  ต่ำกว่าเช่น กรดซิตริก  $\text{pK}_a$  value = 3.09 และ แอสคอร์บิก  $\text{pK}_a$  value = 2.98 จะยิ่งเร่งทำให้ปฏิกิริยาการรวมตัวกับน้ำเกิดเร็วขึ้น ส่งผลให้สีสูญเสียเร็วขึ้น โดยไอออนบวกของกรดอะซิติกจะไปอยู่ที่ตำแหน่ง C-11 ซึ่งเป็นคาร์บอนอะตอมที่อยู่ใกล้กับ quaternary amino nitrogen ส่งผลให้โครงสร้างของเบต้านินตรงตำแหน่งดังกล่าวสัมผัสกับอะตอมของน้ำช้าลง จึงทำให้ลดการสลายโครงสร้างไปเป็น betalamic acid and cyclodopa-5-Oglycoside ซึ่งเป็นโครงสร้างที่ไม่คงตัวช้าลง (Cai และคณะ, 1998)



## Hydrocolloids

การเติมสาร hydrocolloids จะทำให้ carboxylic group ของ colloids ไปจับกับเบต้าไซยานิน ซึ่งไปป้องกันการจับกับน้ำที่เป็นสาเหตุทำให้เบต้าไซยานินเกิดการสลายตัว จึงมีผลต่อการรักษาเสถียรภาพของเบต้าไซยานินไว้ (Azeredo et al. 2007) ดังมีตัวอย่างงานวิจัยที่ศึกษาการเพิ่มค่าสีแดงของเบต้าไซยานินใน cactus pear ที่มีการเติม carrageenan โดยค่าสี  $a^*$  เพิ่มจาก 35.53 ไปเป็น 39.08 ตามรายงานของ Mobhammer et al. 2005

### 2.2.2 โยอาหาร (Dietary fiber)

โยอาหารหมายถึง ส่วนประกอบของพืช ผัก และผลไม้ที่รับประทานได้ เมื่อบริโภคเข้าไปแล้วสามารถทนต่อการย่อยสลายของเอนไซม์ที่อยู่ในกระเพาะอาหาร และในลำไส้เล็กของมนุษย์ จึงผ่านกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กโดยไม่มี การเปลี่ยนแปลง แต่เมื่อผ่านลำไส้ใหญ่บางส่วนของโยอาหารจะถูกย่อยโดยแบคทีเรีย (Thebaudin และคณะ, 1997) เส้นโยอาหารแบ่งตามการละลายน้ำได้เป็น 2 ประเภท ดังนี้ (Deveries และ Reinhold, 1992) คือ

#### 2.2.2.1 โยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ (Insoluble dietary fiber)

โยอาหารที่ไม่ละลายน้ำเป็นส่วนของผนังเซลล์พืชที่ไม่ละลายน้ำแต่จะจับน้ำไว้พบมากในรำข้าว รำข้าวสาลี ข้าวโพด ผักต่าง ๆ ผลไม้บางชนิด แบคทีเรียในลำไส้สามารถย่อยโยอาหารกลุ่มนี้ได้บางส่วนอย่างช้าๆ โยอาหารกลุ่มนี้จะช่วยเพิ่มปริมาณกากในลำไส้ใหญ่ เพิ่มมวลอุจจาระ และช่วยลดอาการท้องผูก (Kaur และ Gupta, 2002; Rodriguez และคณะ, 2006) ซึ่งโยอาหารชนิดนี้ ประกอบด้วย

**2.2.2.1.1 เซลลูโลส** เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์พืชแต่ละโมเลกุลประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคสมากกว่า 3000 ยูนิต เชื่อมต่อกันด้วย  $\beta$  -1,4 linkage ไม่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ในร่างกาย ไม่ละลายในน้ำและสารละลายต่าง

**2.2.2.1.2 เฮมิเซลลูโลส** พบรวมอยู่กับ เซลลูโลส ลิกนิน และเพคติน ในผนังเซลล์ของพืช เป็น heteropolysaccharide ละลายได้ในสารละลายต่าง โครงสร้างโซ่หลักประกอบด้วยน้ำตาลไซโลส กลูโคส แมนโนส และกาแลกโทส สายโซ่ด้านข้าง ประกอบด้วย กลูโคส อะราบิโนส และกรดกลูคูโรนิก

2.2.2.1.3 **ลิกนิน** เป็นสารประกอบเชิงซ้อนของ aromatic alcohols ไม่ละลายน้ำ ทนต่อปฏิกิริยาของกรดต่าง และความร้อน โดยลิกนินเข้าแทรกและครอบคลุมในชั้นระหว่าง เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส

#### 2.2.2.2 **ใยอาหารที่ละลายน้ำ (Soluble dietary fiber)**

ใยอาหารที่ละลายน้ำพบปนอยู่กับส่วนที่เป็นแป้งในพืช เมื่อละลายน้ำสามารถเพิ่มความหนืดให้กับอาหารและสามารถถูกย่อยสลายโดยแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ได้อย่างสมบูรณ์ มีผลช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลและช่วยลดคอเลสเตอรอลในลำไส้ ลดโอกาสการเป็นโรคหลอดเลือดแดงแข็ง โรคความดันโลหิตสูง โรคหลอดเลือดหัวใจ และโรคมะเร็งลำไส้ (Kay และคณะ, 1977; Jenkins และคณะ, 1979; Bolton, Heaton และ Burroughs, 1981; Kaur และ Gupta, 2002; Nawirska และ Kwasniewska, 2005)

### 2.3 **สารกลุ่มพรีไบโอติก**

พรีไบโอติกคือ ส่วนของอาหารที่ไม่ถูกย่อยหรือดูดซึมในกระเพาะอาหารหรือลำไส้เล็ก มีผลช่วยกระตุ้นการเจริญและการทำหน้าที่ของจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่ที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย หรือที่เรียกว่าพรีไบโอติก ซึ่งพรีไบโอติกเป็นกลุ่มของจุลินทรีย์ที่มีชีวิต เมื่อเข้าไปอยู่ในระบบร่างกายของมนุษย์และสัตว์จะก่อให้เกิดประโยชน์ต่อสุขภาพร่างกาย โดยจุลินทรีย์นั้นจะทำหน้าที่ช่วยปรับสมดุลของสภาพแวดล้อมในระบบลำไส้ โดยทั่วไปเป็นแบคทีเรียในกลุ่ม Lactobacilli และ Bifidobacteria เช่น *Lactobacillus acidophilus* La5 และ *Bifidobacterium animalis* spp. *Lactis* Bb12 (Roberfroid, 2000; Chow, 2002; De Vrese และ Schrezenmeir, 2008) พรีไบโอติกชนิดที่มีการศึกษากันมากและนิยมใช้เพิ่มคุณค่าในผลิตภัณฑ์อาหารทางการค้า ได้แก่ อินนูลิน โอลิโกฟรุกโตส ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ แป้งที่ไม่สามารถถูกย่อยด้วยเอนไซม์หรือ resistant starch และใยอาหารที่ละลายน้ำบางชนิด (Kolida และคณะ, 2002; Douglas และ Sanders, 2008)

พรีไบโอติกมีประโยชน์ต่อสุขภาพในหลายด้านดังนี้ (Roberfroid, 2000; Venter, 2007)

(1) ผลต่อระบบทางเดินอาหาร การหมักพรีไบโอติกโดยพรีไบโอติกจะได้สารบางชนิด เช่น กรดแลคติกและกรดไขมันชนิดสายสั้น (short-chain fatty acids) ทำให้มีการกระตุ้นการเจริญของพรีไบโอติก และภาวะความเป็นกรดที่เกิดขึ้นจะช่วยยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

ก่อโรคบางชนิดในลำไส้ได้ มีผลช่วยป้องกันอาการท้องเดินจากการติดเชื้อและลดความเสี่ยงในการเกิดโรคมะเร็ง

(2) ผลต่อการดูดซึมแร่ธาตุบางชนิด ภาวะความเป็นกรดที่เกิดขึ้นจากการหมักโปรไบโอติกโดยโพรไบโอติกยังช่วยการดูดซึมแร่ธาตุบางชนิด เช่น แคลเซียม เหล็ก แมกนีเซียม และสังกะสี ทำให้ลดความเสี่ยงในการเกิดโรคกระดูกพรุน

(3) ผลต่อการเผาผลาญไขมัน จากกระบวนการหมักที่ได้กรดไขมันสายสั้น โดยเฉพาะกรดโพรพิโอนิก สามารถไปยับยั้งการสังเคราะห์ไขมันรวมทั้งคอเลสเตอรอล จึงช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดแข็งได้

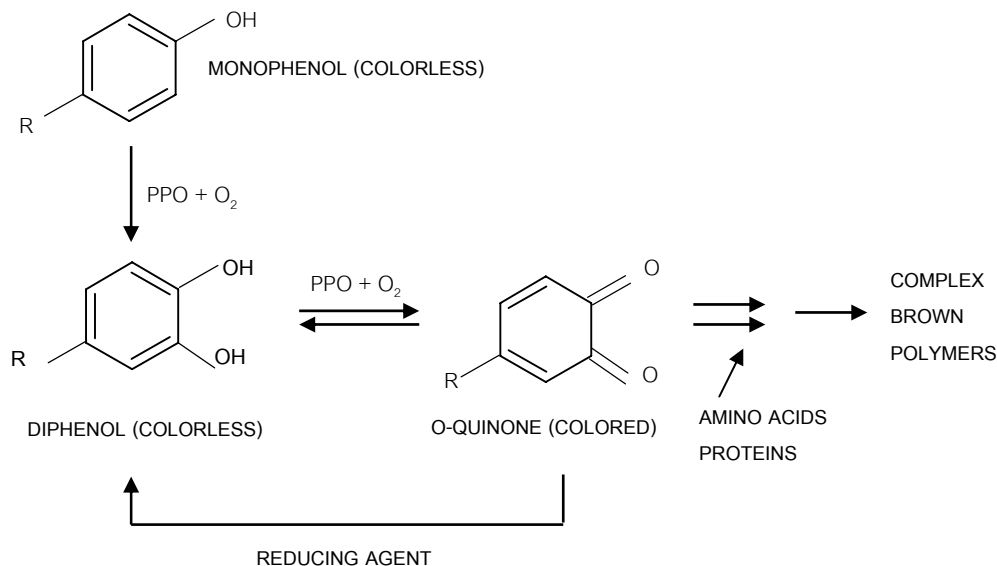
(4) ผลต่อระบบภูมิคุ้มกันของระบบทางเดินอาหาร โปรไบโอติกสามารถช่วยกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน โดยมีผลต่อการทำหน้าที่ของเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับภูมิคุ้มกันในลำไส้ มีผลเพิ่มความแข็งแรงของเซลล์เยื่อผิวที่ลำไส้ซึ่งสามารถป้องกันการติดเชื้อได้ดี รวมถึงมีผลต่อจำนวนและการทำงานของโพรไบโอติก

เนื่องจากสารโปรไบโอติกแต่ละชนิดจะส่งผลกระทบต่อโพรไบโอติกแตกต่างกัน ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการตรวจวัดค่าความสามารถหรือค่าเอกทิวิตีของสารโปรไบโอติก (prebiotic activity score) Huebner และคณะ (2007) และ Huebner และคณะ (2008) ศึกษาค่าเอกทิวิตีของสารโปรไบโอติกทางการค้า โดยพิจารณาจากความสามารถของโปรไบโอติกในการส่งเสริมการเจริญของโพรไบโอติกกลุ่ม *Lactobacilli* และ *Bifidobacteria* สายพันธุ์ต่างๆ รวมทั้งแบคทีเรียที่พบในระบบทางเดินอาหารคือ *Escherichia coli* กับสารที่ไม่เป็นโปรไบโอติก คือ กลูโคส พบว่า สารที่ทดสอบจะมีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติกที่ดีหรือมีค่าเอกทิวิตีสูง ถ้าสารนั้นมีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญของโพรไบโอติกได้ดีกว่าสารที่ไม่เป็นโปรไบโอติก แต่ในขณะเดียวกันต้องไม่ส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียชนิดอื่นในระบบทางเดินอาหาร

#### 2.4 การเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลในผลิตภัณฑ์จากแก้วมังกรแดง

การเกิดสีน้ำตาลของแก้วมังกรแดงส่วนใหญ่เกิดจากปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่เร่งด้วยเอนไซม์ (enzymatic browning) ปฏิกิริยานี้จะเกิดขึ้นกับเนื้อเยื่อพืชที่ถูกทำลายทางกล เช่น การปอกเปลือก การหั่น หรือการตีป่น ทำให้เกิดปฏิกิริยาระหว่างสารประกอบโมโนฟีนอลที่อยู่ในเซลล์พืช กับออกซิเจนในอากาศ โดยมีเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดส (PPO) เป็นตัวเร่งทำให้เกิดปฏิกิริยาไฮดรอกซิเลชันได้เป็น o-diphenol ซึ่งสารนี้จะถูกออกซิไดส์ต่อไปเป็น o-quinone

จากนั้น o-quinone ที่เกิดขึ้นจะรวมตัวกันและเกิดปฏิกิริยากับสารประกอบฟีนอลอื่นๆ หรือกับกรดอะมิโนได้เป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำตาล ดังรูปที่ 2.4



รูปที่ 2.4 กลไกการเกิดและการควบคุมปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลจากการทำงานของเอนไซม์ PPO ด้วยสารรีดิวซ์ (ดัดแปลงจาก Tomás-Barberán และ Espín, 2001)

ปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่เร่งด้วยเอนไซม์เป็นปัญหาสำคัญในการแปรรูปแก้วมังกรแดงทำให้ผลิตภัณฑ์มีสี กลิ่น รสเปลี่ยนแปลงไป และสูญเสียคุณค่าทางอาหาร (Martinez และ Whitaker, 1995) ดังนั้นจึงต้องมีการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลในขั้นตอนการเตรียมวัตถุดิบ วิธีการควบคุม และยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลมีดังนี้

#### 1. การใช้ความร้อน

การให้ความร้อนกับผักและผลไม้ เช่น การลวกด้วยไอน้ำเป็นการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ PPO เนื่องจากความร้อนจะทำให้เอนไซม์ซึ่งเป็นโปรตีนเสียสภาพจนไม่สามารถเร่งปฏิกิริยาได้ แต่การใช้ความร้อนเพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ PPO อาจทำให้น้ำเนื้อสัมผัสของผลไม้นุ่ม และเกิดกลิ่นรสผิดปกติได้ Sakho และคณะ (1998) ศึกษาการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ PPO โดยการลวกชิ้นเนื้อมะม่วงในน้ำเดือดพบว่า การลวกชิ้นเนื้อมะม่วงด้วยน้ำเดือดจนมีอุณหภูมิจุดกึ่งกลาง 85°C นาน 5 นาที สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ PPO ได้บางส่วน แต่การให้ความร้อนกับกล้วยจนมีอุณหภูมิจุดกึ่งกลาง 95°C นาน 5 นาที สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ PPO ได้ทั้งหมด (Galeazzi และ Sgarbieri, 1981)

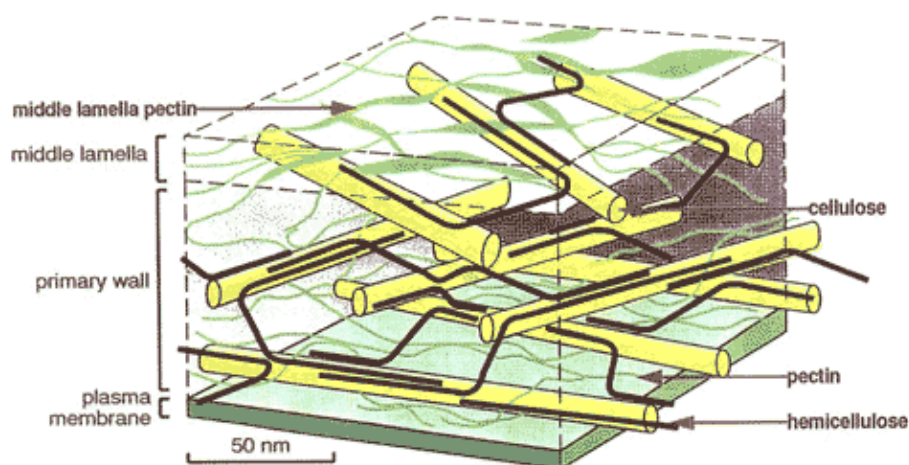
## 2. การใช้สารเคมี

สารที่สามารถควบคุมปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่เร่งด้วยเอนไซม์ PPO มีหลายชนิด เช่น สารซัลไฟต์ กรดแอสคอร์บิก และกรดซิตริก เป็นต้น (Sapers, 1993) แต่สารที่นิยมใช้ได้แก่ กรดแอสคอร์บิก และกรดซิตริก

กรดแอสคอร์บิกจะทำหน้าที่เป็นสารรีดิวซ์ มีผลให้ o-quinone กลับมาอยู่ในรูปของสารประกอบพีนอล ก่อนที่ o-quinone จะทำปฏิกิริยาต่อไปจนกลายเป็นสารสีน้ำตาล (Dris และ Jain, 2004) อย่างไรก็ตามกรดแอสคอร์บิกจะถูกออกซิไดส์เป็น dehydroascorbic acid ซึ่งจะสูญเสียคุณค่าของวิตามินซีไป ส่วนกรดซิตริกจะทำหน้าที่เป็นสารป้องกันการเกิดสีน้ำตาลกลุ่ม acidulant โดยจะลดค่า pH ให้น้อยกว่าค่า optimum pH ของเอนไซม์ PPO ส่งผลให้เอนไซม์มีแอกทิวิตีลดลง และกรดซิตริกยังสามารถทำหน้าที่เป็นสารคีเลตจับกับทองแดงที่บริเวณเร่งของเอนไซม์ PPO เมื่อทองแดงถูกดึงออกไปจะทำให้เอนไซม์ PPO ไม่สามารถทำงานได้เป็นปกติ (McCord และ Kilara, 1983) Singh (1960) รายงานว่าเมื่อใช้กรดซิตริกปรับค่า pH ของมะม่วงให้มีค่าน้อยกว่า 3.5 จะสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ PPO

### 2.5 บทบาทของเอนไซม์เพกทิเนสในการแปรรูปผักและผลไม้

ชั้นสเตรตของเพกทิเนส คือ สารประกอบประเภทเพกทินและอนุพันธ์ของพอลิเมอร์ของ  $\alpha$ -1,4-D-galacturonopyranose units ซึ่งสารประเภทเพกทิน เป็นคอลลอยด์ของคาร์โบไฮเดรต พบในผลไม้ตั้งแต่ผลอ่อนถึงระยะสุกงอม ประกอบด้วย anhydrogalacturonic acid units และอนุพันธ์ ได้แก่ โปรโตเพกทิน เพกทิน กรดเพกติก กรดเพกทินิก ซึ่งสารประกอบเพกทินทำหน้าที่เป็นองค์ประกอบโครงสร้าง พบในพืชทุกชนิดโดยเฉพาะที่ผนังเซลล์และระหว่างเซลล์ (intercellular) ดังรูปที่ 2.5 โดยสารประกอบเพกทินจะช่วยเพิ่มลักษณะคงตัวของเนื้อสัมผัสของผักและผลไม้ ทำหน้าที่เปรียบเหมือนซีเมนต์เชื่อมยึดเซลล์ต่างๆของเนื้อเยื่อไว้ เกิดการกักเก็บสารต่างๆไว้ในเนื้อเยื่อ ดังนั้นเมื่อมีการใช้เอนไซม์เพกทิเนสในการแปรรูปผักและผลไม้ เอนไซม์เพกทิเนสจะทำหน้าที่ไปตัดสารประกอบเพกทินซึ่งเป็นองค์ประกอบของโครงสร้างพืชดังกล่าวมา ทำให้สารประกอบเพกทินมีขนาดโมเลกุลสั้นลง มีหมู่คาร์บอกซิลอิสระบนโมเลกุลมากขึ้น ส่งผลให้สารประกอบเพกทินยึดจับกับผนังเซลล์อย่างหลวม ทำให้เนื้อสัมผัสของผักและผลไม้มีความอ่อนตัวลง และเกิดการปลดปล่อยสารต่างๆ (ปราวณี อานเป็ร็อง, 2547)



รูปที่ 2.5 สารประกอบเพกทิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส ในเนื้อเยื่อพืช  
(ดัดแปลงจาก Hopkins, 1999)

เอนไซม์เพกทิเนส พบทั่วไปในพืชชั้นสูงเช่นเดียวกับที่พบสารประกอบเพกทิน แต่อยู่คนละส่วนของเซลล์ แต่เมื่อเซลล์พืชช้ำหรือได้รับการกระทบกระเทือน เอนไซม์และเพกทินจะเคลื่อนเข้าใกล้กัน ทำให้เกิดการย่อยสลาย ลักษณะความคงตัวของเนื้อสัมผัสของผักผลไม้เสียไป ผักและผลไม้จะนิ่มลง โดยเพกทิเนสแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม (ปราณี อ่านเป็ร้อง, 2547; Kashyap และคณะ, 2001; Jayani, Saxena และ Gupta, 2005)

### 2.5.1 โปรโตเพกทิเนส (Protopectinases)

เอนไซม์เพกทิเนสในกลุ่มนี้จะเร่งสลายโปรโตเพกทินที่ไม่ละลายน้ำส่งผลทำให้พอลิเมอร์ของเพกทินมีสายสั้นลงและสามารถละลายน้ำได้เพิ่มขึ้น ดังปฏิกิริยา

Protopectinases



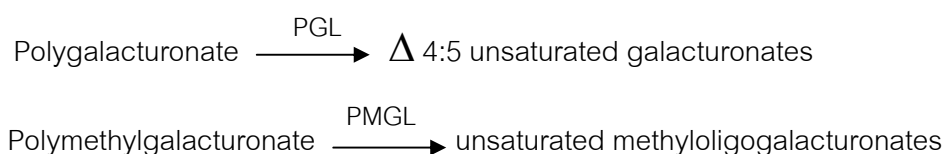
### 2.5.2 เอสเทอเรส (Esterase)

เอนไซม์เพกทิเนสในกลุ่มนี้จะเร่งการเกิดปฏิกิริยา de-esterification ของเพกทิน โดยการดึงหมู่เมทิลเอสเทอร์ออก เอนไซม์กลุ่มนี้ได้แก่ เอนไซม์เพกทินเอสเทอเรส (PE) ได้ผลผลิตเป็นเพกทินสายเดิม และเมทานอล ดังปฏิกิริยา

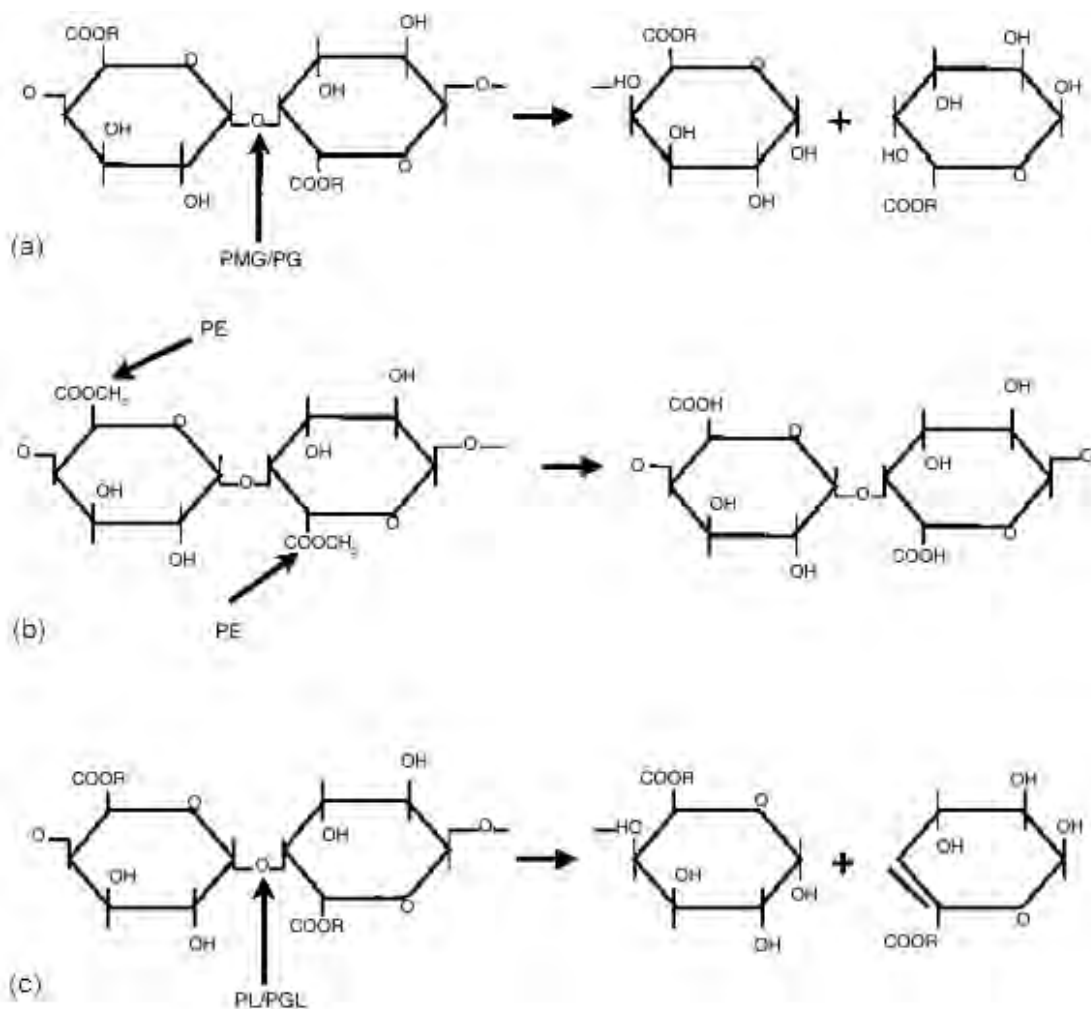


### 2.5.3 ดีพอลิเมอร์เอส (Depolymerase)

เอนไซม์เพกทิเนสในกลุ่มนี้จะเร่งสลายพันธะ  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4)-glycosidic ในสารประกอบเพกทิน โดยจะแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มย่อย ตามชนิดของซับสเตรต กลุ่มแรกคือ เอนไซม์พอลิกลาแลกทูโรเนส (PG) และเอนไซม์พอลิเมทิลกลาแลกทูโรเนส (PMG) ทำหน้าที่ไฮโดรไลซ์พันธะไกลโคซิลของเพกเทตและเพกทินตามลำดับ ส่วนอีกกลุ่มคือ เอนไซม์พอลิกลาแลกทูโรเนสไลเอส (PGL) และเอนไซม์พอลิเมทิลกลาแลกทูโรเนสไลเอส (PMGL) ทำหน้าที่สลายพันธะไกลโคซิลของเพกเทตและเพกทินตามลำดับ โดยอาศัย  $\beta$ -elimination ได้สารพอลิเมอร์สายสั้นที่สายหนึ่งมีปลายรีดิวซ์และอีกสายพอลิเมอร์มีพันธะคู่ ดังปฏิกิริยา



โดยทั่วไปแล้วเอนไซม์เพกทิเนสที่ใช้และผลิตเพื่อจำหน่ายในทางการค้านั้นจะเป็นส่วนผสมของเอนไซม์เพกทิเนสเป็นหลัก ได้แก่ เอนไซม์เพกทินเอสเทอเรส พอลิกลาแลกทูโรเนส และเพกเทตไลเอส นอกจากนี้ยังมีส่วนของเอนไซม์ชนิดอื่นร่วมอยู่ด้วย อาทิเช่น เซลลูเลส ไชลาเนส อะไมเลส ออกซิโดรีดักเทส และโปรติเอส เป็นต้น ในสัดส่วนต่างๆกัน ซึ่งจะกันช่วยเสริมประสิทธิภาพในการย่อยสลายองค์ประกอบต่างๆในเซลล์พืช โดยการทำงานของเอนไซม์เพกทิเนสชนิดต่างๆ แสดงในรูปที่ 2.6



รูปที่ 2.6 ปฏิกริยาของเอนไซม์เพคตินเนส: (a) PG (R = H), PMG (R = CH<sub>3</sub>); (b) PE;  
 (c) PGL (R = H), PL (R = CH<sub>3</sub>) โดยที่ลูกศรจะแสดงตำแหน่งที่เอนไซม์เข้าทำปฏิกริยากับสารประกอบเพคติน ซึ่ง PG = Polygalacturonases (EC 3.2.1.15);  
 PE = Pectinesterase (EC 3.1.1.11); PL = Pectin lyase (EC 4.2.2.10)  
 (Jayani และคณะ., 2005)

## 2.6 ปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์

ปัจจัยที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ เป็นสิ่งสำคัญมากต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์โดยจะมีผลต่อลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่ได้หลังจากผ่านกระบวนการทางเอนไซม์ อาทิเช่น ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการแปรรูปผักและผลไม้ด้วยเอนไซม์ โดยปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ จะส่งผลกระทบต่อลักษณะความขุ่น ความใส ความหนืด เนื้อสัมผัส สี กลิ่นรส และปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ



เป็นต้น ซึ่งปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์มีดังนี้คือ (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2547; Whitaker, 1996)

### 2.6.1 ปริมาณซับสเตรตและความเข้มข้นของเอนไซม์

เมื่อในระบบมีปริมาณของซับสเตรตและเอนไซม์เพิ่มมากขึ้น โอกาสที่เอนไซม์และซับสเตรตจับตัวกันย่อมมีมากขึ้น ทำให้อัตราเร็วของปฏิกิริยาเพิ่มขึ้น แต่ในทางตรงกันข้ามเมื่อปริมาณของซับสเตรตและเอนไซม์ลดลงโอกาสจับตัวกันของเอนไซม์และซับสเตรตจะลดลงด้วยเช่นกัน ทำให้อัตราเร็วของปฏิกิริยาลง โดยอัตราการเร่งปฏิกิริยาจะเพิ่มขึ้นเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณของซับสเตรตหรือปริมาณของเอนไซม์ แต่ถ้ามีปริมาณซับสเตรตมากเกินไปก็ไม่มีผลทำให้ปฏิกิริยาเกิดเร็วขึ้น เนื่องจากไม่มีเอนไซม์ปริมาณมากพอที่จะทำปฏิกิริยากับซับสเตรตที่มากเกินไปได้ และเช่นเดียวกันถ้ามีปริมาณเอนไซม์มากเกินไป ก็ไม่มีผลทำให้ปฏิกิริยาเกิดเร็วขึ้น เนื่องจากไม่มีซับสเตรตปริมาณมากพอที่จะทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ที่มากเกินไปได้

### 2.6.2 ค่า pH

ค่า pH มีผลต่อเสถียรภาพและแอกติวิตีของเอนไซม์ โดยเอนไซม์ทุกชนิดเป็นโปรตีน ดังนั้นปัจจัยที่มีผลต่อความเสถียรของเอนไซม์ก็คือปัจจัยที่มีผลให้โครงสร้างของโปรตีนเปลี่ยนแปลงไป ซึ่ง pH จะไปมีผลต่อการแตกไอออนของ prototropic group ที่อยู่ในบริเวณเร่ง (active site) ของเอนไซม์ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงรูปสามมิติซึ่งจะมีผลต่อการจับกับซับสเตรต หรือการเร่งปฏิกิริยา อีกทั้งยังนำไปสู่การจับกับเอนไซม์ที่เปลี่ยนแปลงไปด้วย บางกรณี pH อาจมีผลให้ผลผลิตต่ำ ดังนั้นในปฏิกิริยาต้องควบคุม pH ให้เหมาะสมสูงสุดที่จะไม่ให้ออกติวิตีถูกยับยั้งไป ซึ่งเอนไซม์แต่ละชนิดจะมีประสิทธิภาพในการเร่งปฏิกิริยาที่แตกต่างกัน ที่ระดับ pH ต่างกัน โดยจะมีช่วงหนึ่งที่เอนไซม์มีแอกติวิตีสูงสุด เรียกว่า optimum pH

### 2.6.3 อุณหภูมิ

ปฏิกิริยาเคมีส่วนใหญ่จะให้ความเร็วปฏิกิริยาสูงขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นดังนั้นการเพิ่มอุณหภูมิจะช่วยเพิ่มพลังงานจลน์ที่โมเลกุลของสารปฏิกิริยา แล้วมีผลให้เกิดการชนกันได้มากขึ้นต่อหน่วยเวลา เช่นเดียวกันกับเอนไซม์ เนื่องจากเอนไซม์เป็นสารประกอบเชิงซ้อนของโปรตีนและโมเลกุลของเอนไซม์มีโครงสร้างที่ละเอียดอ่อนมาก ถ้าโมเลกุลของสารปฏิกิริยามีพลังงานมากเกินไป โครงสร้างของเอนไซม์จะเสียหาย ทำให้เอนไซม์เสียสภาพธรรมชาติและสูญเสียแอกติวิตีไป

ซึ่งเอนไซม์แต่ละชนิดจะมีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานหรือ optimum temperature แตกต่าง กัน โดยค่าอุณหภูมิที่เหมาะสมนี้ หมายถึงอุณหภูมิสูงสุดที่เอนไซม์จะแสดงแอกติวิตีสูงที่สุด

#### 2.6.4 ระยะเวลาการทำปฏิกิริยา

เมื่อปริมาณซับสเตรตและเอนไซม์คงที่ การเพิ่มระยะเวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา การย่อยสลายจะส่งผลทำให้เอนไซม์และซับสเตรตจับกันได้มากขึ้น ดังนั้นปฏิกิริยาจึงเกิดได้มากขึ้น แต่เมื่อถึงจุดหนึ่งการเพิ่มระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาจะไม่มีผลต่อปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น เนื่องจาก ซับสเตรตหมดหรือปฏิกิริยาเข้าสู่สมดุล

### 2.7 การใช้เพกทีเนสในการแปรรูปผักและผลไม้

เพกทีเนสเป็นเอนไซม์หลักที่ใช้ในอุตสาหกรรมการแปรรูปผักและผลไม้ ซึ่งเอนไซม์ เพกทีเนสมักใช้ร่วมกับเอนไซม์เซลลูเลสและเฮมิเซลลูเลส เพื่อช่วยปรับปรุงประสิทธิภาพในการ สกัดและเพิ่มผลผลิต เพื่อปรับปรุงคุณภาพผลิตภัณฑ์ หรือเพื่อลดส่วนกากทิ้ง โดยเอนไซม์จะช่วย ย่อยพอลิแซ็กคาไรด์ในวัตถุดิบหรือวัสดุที่ใช้ในการแปรรูปผักและผลไม้ (เปี่ยมสุข พงษ์สวัสดิ์, 2551; Alkorta และคณะ, 1998) สำหรับการใช้อินไซม์เพกทีเนสในกระบวนการผลิตน้ำผลไม้ นั้น จะช่วยเพิ่มปริมาณน้ำผลไม้ที่สกัดได้ รวมทั้งสารกลีโคไซด์ เนื่องจากการสกัดน้ำผลไม้โดยทั่วไปที่ใช้ วิธีการบีบอัดทางกายภาพ จะเริ่มต้นด้วยการทำให้เนื้อเยื่อในผนังเซลล์ฉีกขาดและทำให้เล็กลง ผลผลิตจะขึ้นอยู่กับแรงอัดและลักษณะเนื้อผลไม้ ความอ่อนแก่ ความสด โดยถ้าเนื้อสัมผัสแข็ง ผลไม้อ่อน จะสกัดด้วยแรงกลได้ง่าย แต่ถ้าผลไม้มีรสขม การบีบอัดจะให้น้ำน้อย ดังนั้นการใช้ เอนไซม์จะช่วยให้ได้น้ำมากขึ้นโดยเอนไซม์จะทำหน้าที่ทำลายเนื้อเยื่อเซลล์ผลไม้ ทำให้โครงสร้าง เซลล์อ่อนตัว เกิดการปลดปล่อยของเหลวและปล่อยองค์ประกอบสำคัญ เช่น รงควัตถุและสารให้ กลิ่นรส นอกจากนี้เอนไซม์เพกทีเนสยังมีบทบาทต่อความใสของน้ำผลไม้ด้วย เนื่องจาก กระบวนการผลิตผลไม้ใส มีขั้นตอนการแยกตะกอนแขวนลอยของเพกติน เซลลูโลส ออกไป โดย เซลล์แขวนลอยของคาร์โบไฮเดรตซึ่งเป็นได้ทั้งเพกตินและเซลลูโลสอาจรวมตัวกับโปรตีนจะแยก ด้วยวิธีการกรองได้ยาก ดังนั้นการใช้เอนไซม์เพกทีเนสนั้นจะไปช่วยย่อยสลายสารเพกตินให้เปิด ออก เพื่อให้โมเลกุลโปรตีนในคอลลอยด์และเพกตินมารวมกันเกิดเป็นโมเลกุลใหญ่ขึ้น ส่งผลให้ ง่ายต่อการกรองและการปั่นเหวี่ยงแยกตะกอนออก ทำให้น้ำผลไม้ที่ได้มีความใสมากขึ้น (ปราณี อานเป็รื่อง, 2547) สำหรับบทบาทของเพกทีเนสต่อการย่อยสลายเนื้อเยื่อผลไม้แสดงในตาราง ที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 บทบาทของเพกทินต่อการย่อยสลายเนื้อเยื่อผลไม้

เอนไซม์	ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น	ผลิตภัณฑ์ที่ได้
เพกตินเอสเทอเรส (PE) ร่วมกับเกล็ดแคลเซียม	เกิดปฏิกิริยา saponification หรือ deesterification ที่ผนังเซลล์พืช	ทำให้ผลไม้มีความแน่นเนื้อลดลง
PG, PL, PAL	สลายเพกตินและกรดเพกติกที่ ผนังเซลล์บางส่วน	ทำให้เนื้อผลไม้อ่อนตัว (softening)
PG หรือ PL	สลายเพกตินและกรดเพกติกที่ middle lamella บางส่วน ทำให้ เนื้อเยื่อที่รวมอยู่ แยกออกจากกัน กระจัดกระจาย	ทำให้เนื้อผลไม้ยุ่ยและ (maceration)
PG + PE และ/หรือ PL ร่วมกับเฮมิเซลลูเลส เช่น อาราบานเนส กาแล็กทานเนส	ย่อยสลายเพกติน กรดเพกติก, อะราบีแนน, กาแล็กแทนในส่วน ที่เกี่ยวข้องที่ผนังเซลล์	ทำให้เนื้อเยื่อเซลล์ผลไม้ทั้งหมด ถูกทำลาย (disintegration) เกิดการปล่อยของเหลวละลาย เพกทิน อะราบีแนน และ กาแล็กแทนสายสั้น เกิดเป็น คอลลอยด์ที่เสถียรและข้น
เซลลูเลส + PE + PG และ/หรือ PL	เกิดการย่อยสลายพอลิแซ็กคาไรด์ ทั้งหมดของผนังเซลล์พืช	ทำให้เป็นของเหลว ไม่ข้น ไหลริน ได้ดี สารให้กลิ่นรสละลาย ผสม ได้ดี มีกลิ่นรสตามเฉพาะ ผลิตภัณฑ์
เฮมิเซลลูเลส, โอลิโกเมอเรส, เอกโซ-คาร์โบไฮเดรส, ไกลโคซิเดส (เช่น อะไมเลส)	เกิดการย่อยโมเลกุลของ พอลิแซ็กคาไรด์ให้เป็น โมโนแซ็กคาไรด์	เกิดเป็นน้ำเชื่อมของน้ำตาล เชิงเดี่ยว, คู่ เช่น กลูโคสไซรัป, ฟรุกโทสไซรัป, โอลิโกฟรุกโทส ไซรัป, ซึ่งมีรสหวานและตกผลึก ที่ความเข้มข้นสูง

ที่มา: ปราวณี อานเป็อง (2547)

มีงานวิจัยที่ศึกษาการใช้เพกทินส์ในการแปรรูปผักและผลไม้ดังนี้

Sreenath, Sudarshanakrishna และ Santhanam (1994) ศึกษาการผลิตน้ำสับประรดโดยใช้เอนไซม์เซลลูเลสและเพกทินส์ โดยใช้เอนไซม์ความเข้มข้น 0.025% ระยะเวลาการย่อยสลาย 30 นาที ที่อุณหภูมิ 27-30°C พบว่าปริมาณผลผลิตที่ได้หลังจากการใช้เอนไซม์สูงถึง 81-86% ซึ่งมากกว่าน้ำสับประรดที่ไม่ใช้เอนไซม์ที่ได้ปริมาณผลผลิต 72%

Brasil, Maia และ Figueiredo (1995) ศึกษาการผลิตน้ำฝรั่งโดยใช้เอนไซม์เพกทินส์ พบว่าเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการย่อยสลายจะส่งผลให้ปริมาณผลผลิต และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเพิ่มขึ้น ส่วนค่าความหนืดและค่า pH จะลดลง โดยภาวะที่เหมาะสมในการผลิตคือใช้เอนไซม์ความเข้มข้น 600 ppm ที่อุณหภูมิ 45°C เป็นเวลา 120 นาที ส่งผลให้ได้ปริมาณผลผลิตของน้ำฝรั่งที่ได้สูงถึง 84.70 %

Alvarez และคณะ (1998) ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำแอปเปิลโดยใช้เอนไซม์เพกทินส์ความเข้มข้น 0-400 ppm ระยะเวลาการย่อยสลายนาน 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 55°C พบว่าน้ำแอปเปิลที่ได้มีความขุ่น ความหนืด และปริมาณสารเพกทินลดลง อีกทั้งยังช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการกรองด้วย

Bhattacharya และ Rastogi (1998) ศึกษาผลของผลของความเข้มข้นของเอนไซม์เพกทินส์ ระยะเวลาในการย่อยสลาย และอุณหภูมิ ต่อค่าลักษณะการไหลของเนื้อมะม่วง พบว่าความเข้มข้นของเอนไซม์ อุณหภูมิและระยะเวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา มีผลต่อพฤติกรรม การไหลของเนื้อมะม่วง โดยเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาในการย่อยสลาย ส่งผลให้ลักษณะการไหลแบบ Pseudoplastic ลดลง และมีลักษณะการไหลใกล้เคียงกับ Newtonian มากขึ้น

Rastogi และ Rashmi (1999) ศึกษาผลของความเข้มข้นของเอนไซม์เพกทินส์และระยะเวลาในการย่อยสลายต่อลักษณะของน้ำมะม่วง พบว่าภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำมะม่วงคือ การใช้เอนไซม์เพกทินส์ความเข้มข้น 0.14% (v/w) ระยะเวลาในการย่อยสลาย 46.67 นาที ที่อุณหภูมิ 42°C ส่งผลช่วยเพิ่มปริมาณผลผลิตของน้ำมะม่วงมากกว่า 64% โดยน้ำมะม่วงที่ได้มีความใสเพิ่มขึ้นมากกว่า 71% ปริมาณแอลกอฮอล์ที่ไม่ละลายน้ำลดลงน้อยกว่า 2% และความหนืดของน้ำมะม่วงลดลงน้อยกว่า 1850 cP

Landbo และ Meyer (2001) ศึกษาการใช้กลุ่มของเอนไซม์ในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากกากบีคเคอเรนท์ที่เหลือจากการผลิตเป็นน้ำผลไม้ พบว่าในทุกๆเอนไซม์นั้นสามารถ

ย่อยสลายผนังเซลล์พืชได้ และพบว่าการใช้เอนไซม์ Grindamyl pectinase จะส่งผลให้ได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุด

Al-Hooti และคณะ (2002) ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไซรัปจากผลอินทผลัม โดยใช้เอนไซม์เพกทิเนสและเซลลูเลส 0.5 1.0 และ 2.0% (v/w) ย่อยสลายนาน 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 40°C พบว่าไซรัปที่ได้จากการใช้เอนไซม์มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดสูงถึง 68% ซึ่งมากกว่าไซรัปที่ไม่ใช้เอนไซม์ที่มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 35% นอกจากนี้การใช้เอนไซม์ยังช่วยคงลักษณะสีและกลิ่นธรรมชาติของอินทผลัมไว้ได้

Barros, Mendes และ Peres (2004) ศึกษาการใช้เอนไซม์ในกลุ่มเพกทิเนสในการผลิตน้ำเชอร์รี่และน้ำสับปะรด พบว่าภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำเชอร์รี่และน้ำสับปะรดคือ การใช้เอนไซม์ความเข้มข้น 20 mg/L ระยะเวลาการย่อยสลายนาน 60 นาที ที่อุณหภูมิ 40°C ส่งผลให้น้ำเชอร์รี่และน้ำสับปะรดมีความหนืด ความขุ่น และปริมาณสารเพกทินลดลง และช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการกรอง

Rai และคณะ (2004) ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำส้มขี้ผึ้งโดยเอนไซม์เพกทิเนส พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์และอุณหภูมิ ส่งผลให้น้ำส้มขี้ผึ้งมีความหนืดและปริมาณของแข็งที่ไม่ละลายในแอลกอฮอล์ลดลง และน้ำส้มขี้ผึ้งมีความใสเพิ่มขึ้น โดยภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำส้มขี้ผึ้งคือ การใช้เอนไซม์เพกทิเนสความเข้มข้น 4% (v/w) ระยะเวลาในการย่อยสลาย 90 นาที ที่อุณหภูมิ 40 °C

Çinar (2005) ศึกษาผลของความเข้มข้นของเอนไซม์เซลลูเลสและเอนไซม์เพกทิเนสรวมทั้งระยะเวลาการสกัดแคโรทีนอยด์จากเปลือกส้ม มันทะ และแครอท พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์จะช่วยลดระยะเวลาในการสกัดแคโรทีนอยด์จากเปลือกส้ม มันทะ และแครอทได้ ซึ่งการเพิ่มระยะเวลาในการสกัดแคโรทีนอยด์จากแครอทนั้นจะส่งผลให้ได้ปริมาณแคโรทีนอยด์มากกว่าการเพิ่มปริมาณความเข้มข้นของเอนไซม์

Lee และคณะ (2006) ศึกษาผลของความเข้มข้นของเอนไซม์เพกทิเนส ระยะเวลาในการย่อยสลาย และอุณหภูมิ ต่อลักษณะน้ำกล้วย พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาในการย่อยสลาย ส่งผลให้น้ำกล้วยที่ได้สามารถกรองได้ง่ายขึ้น และมีความใสมากขึ้น โดยที่ความหนืดและขุ่นของน้ำกล้วยจะมีค่าลดลง ซึ่งภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำกล้วย คือการใช้เอนไซม์เพกทิเนสความเข้มข้น 0.80% (v/w) ระยะเวลาในการย่อยสลาย 80 นาที ที่อุณหภูมิ 40°C

Sun และคณะ (2006) ศึกษาภาวะการใช้เอนไซม์เพกตินเนสในการผลิตน้ำแครอท พบว่า ภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำแครอทคือ การใช้เอนไซม์เพกตินเนสความเข้มข้น 100 ml/L เป็นระยะเวลาการย่อยสลายนาน 80 นาที ที่อุณหภูมิ 45°C pH 4.8 ส่งผลให้ได้ปริมาณผลผลิตของน้ำแครอทมากกว่า 63.5% มีปริมาณเบตาแคโรทีนมากกว่า 63.5% และมีความหนืดน้อยกว่า 2.128 cP

Sakamoto และคณะ (2006) ศึกษาการใช้เอนไซม์ 18 ชนิด สกัดใยอาหารจาก burdock roots และ bamboo shoots พบว่าเอนไซม์ Cellulosin ME ทำให้ใยอาหารที่ได้มีเนื้อสัมผัสอ่อนนุ่มขึ้นมากที่สุด ตามด้วย Pectinase โดยใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ Cellulosin ME ในช่วงความเข้มข้น 0.02-1.0% ระยะเวลาการทำปฏิกิริยา 20 นาที พบว่าความแข็งของใยอาหารจาก burdock roots และ bamboo shoots ลดลงอย่างรวดเร็ว และจากการใช้เอนไซม์ Cellulosin ME ในการสกัดใยอาหาร burdock roots พบว่าช่วยเพิ่มใยอาหารละลายได้จาก 0.9% เป็น 1.4%

Abdullah และคณะ (2007) ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการใช้เอนไซม์เพกตินเนสผลิตน้ำมะเฟือง พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาในการย่อยสลาย ส่งผลให้น้ำมะเฟืองมีความขุ่นลดลง มีความใสเพิ่มขึ้น และมีความหนืดลดลง โดยภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำมะเฟืองคือ การใช้เอนไซม์เพกตินเนสความเข้มข้น 0.10% (v/w) ที่อุณหภูมิ 30°C เป็นระยะเวลา 20 นาที

Choudhari และ Ananthanarayan (2007) ศึกษาผลของความเข้มข้นของเอนไซม์เซลลูเลสและเอนไซม์เพกตินเนส รวมทั้งระยะเวลาการสกัดไลโคพีนจากมะเขือเทศ พบว่าภาวะที่เหมาะสมในการสกัดไลโคพีนจากมะเขือเทศคือ การใช้เอนไซม์เซลลูเลสเข้มข้น 6.0% (w/w) และเอนไซม์เพกตินเนสเข้มข้น 0.5% (w/w) ส่งผลให้ได้ปริมาณไลโคพีนเพิ่มขึ้นสูงสุด 96.33  $\mu\text{g/g}$  และ 90.6  $\mu\text{g/g}$  ตามลำดับ และพบว่าระยะเวลาในการย่อยสลายส่งผลให้ปริมาณไลโคพีนที่สกัดได้มีค่าต่างกัน โดยระยะเวลาที่ให้ปริมาณไลโคพีนเพิ่มขึ้นสูงสุด สำหรับเอนไซม์เซลลูเลสและเอนไซม์เพกตินเนสคือ ระยะเวลาย่อยสลายนาน 15 นาที และ 20 นาที ตามลำดับ

## บทที่ 3

### การดำเนินงานวิจัย

#### 3.1 ขอบเขตงานวิจัย

งานวิจัยนี้แบ่งออกเป็น 5 ส่วน คือ

##### 3.1.1 คัดเลือกระดับความสุขของแก้วมังกรแดงที่ใช้เป็นวัตถุดิบ

งานวิจัยส่วนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกระดับความสุขของแก้วมังกรแดงที่เหมาะสมสำหรับใช้เป็นวัตถุดิบ โดยพิจารณาจากผลการประเมินคุณภาพทางเคมีและกายภาพ

##### 3.1.2 ศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารให้สีในเนื้อและเปลือกแก้วมังกรแดง

งานวิจัยส่วนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาชนิดและปริมาณของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารให้สีที่พบในเนื้อและเปลือกของแก้วมังกรแดงที่คัดเลือกได้จากข้อ 3.1.1 โดยวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ ปริมาณวิตามินซี ปริมาณเบต้าไซยานินทั้งหมด ปริมาณใยอาหารทั้งหมดแบ่งเป็นใยอาหารที่ละลายน้ำและใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ ค่าแอกทิวิตีของสารฟรีไบโอติก และความคงตัวของสารให้สีในเนื้อและเปลือกของแก้วมังกรแดง

##### 3.1.3 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลในเนื้อและเปลือกแก้วมังกรแดง

งานวิจัยส่วนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลในเนื้อเนื้อและเปลือกของแก้วมังกรแดงที่คัดเลือกได้จากข้อ 3.1.1 เพื่อใช้เป็นภาวะในการเตรียมเนื้อและเปลือกแก้วมังกรแดงตีบก่อนย่อยด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนต่อไป โดยมีปัจจัยที่ศึกษา 3 ปัจจัย คือ ชนิดของสารควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล ปริมาณสารควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล และระยะเวลาการให้ความร้อนด้วยไอน้ำ

##### 3.1.4 ศึกษาภาวะการย่อยสลายเนื้อและเปลือกแก้วมังกรแดงด้วยเอนไซม์ Pectinex® Ultra SP-L

งานวิจัยส่วนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้เอนไซม์ต่อสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเนื้อและเปลือกของแก้วมังกรแดง โดยมีปัจจัยที่ศึกษา 2 ปัจจัย คือ ความเข้มข้นของ

เอนไซม์และเวลาที่ใช้ในการย่อย ติดตามการทำงานของเอนไซม์ที่ภาวะต่างๆ จากระดับการตัดพันธะไกลโคซิดของพอลิเมอร์ในเนื้อและเปลือกแก้วมังกรแดงที่ประเมินจากค่าน้ำตาลรีดิวซ์ โดยเลือกภาวะที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิดครอบคลุมจากช่วงต่ำไปสูงเป็นตัวแทนในการศึกษา ลักษณะเฉพาะของสาร

### 3.1.5 ศึกษาลักษณะเฉพาะของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารให้สีในเนื้อและเปลือกแก้วมังกรแดง

งานวิจัยส่วนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาลักษณะเฉพาะของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารให้สี ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ เพื่อเป็นข้อมูลยืนยันว่าสารที่ได้สามารถพัฒนาเป็นวัตถุปรุงแต่งสีอาหารซึ่งมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆผสมอยู่ด้วย ลักษณะเฉพาะที่ศึกษา ได้แก่ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ปริมาณเบต้าไซยานินทั้งหมด ปริมาณใยอาหารทั้งหมดแบ่งเป็นใยอาหารที่ละลายน้ำและใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ ค่าแอกทิวิตีของสารฟรีโบไอติก และเสถียรภาพของเบต้าไซยานินต่อปัจจัยทางด้าน น้ำตาล กรด เกลือ สารไฮโดรคอลลอยด์ pH อุณหภูมิ และ แสง

## 3.2 วัตถุดิบ สารเคมี และอุปกรณ์

### 3.2.1 วัตถุดิบ

แก้วมังกรแดงที่ใช้เป็นวัตถุดิบในงานวิจัยคือ แก้วมังกรพันธุ์เนื้อสีแดง เก็บเกี่ยวในช่วงปี พ.ศ. 2550-2551 มีลักษณะเปลือกสีแดงอมชมพู เนื้อมีสีแดงสด น้ำหนักผลประมาณ 200-300 กรัม จากสวนในจังหวัดปราจีนบุรี ประเทศไทย

### 3.2.2 เอนไซม์

Amyloglucosidase	(Sigma-Aldrich, Germany)
Pectinex <sup>®</sup> Ultra SP-L	(Novo Industri A/S Copenhagen, Denmark)
Protease	(Sigma-Aldrich, Germany)
Termamyl	(Sigma-Aldrich, Germany)

### 3.2.3 สายพันธุ์แบคทีเรีย

<i>Bifidobacterium animalis</i> spp. <i>lactis</i> Bb12	(Christian Hansen, Denmark)
<i>Lactobacillus acidophilus</i> La5	(Christian Hansen, Denmark)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 29922	(Culture Collection Unit, โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์)

### 3.2.4 สารเคมี

#### 3.2.4.1 การวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดซิตริก

Phenolphthalein	A.R. grade (Merck, Germany)
-----------------	-----------------------------



Potassium hydrogen phthalate A.R. grade (Ajax, Australia)

Sodium hydroxide A.R. grade (Ajax, Australia)

#### 3.2.4.2 การวิเคราะห์ปริมาณใยอาหาร

Acetone A.R. grade (Ajax, Australia)

Celite A.R. grade (Sigma-Aldrich, Germany)

Disodium hydrogen phosphate A.R. grade (Ajax, Australia)

Ethanol absolute A.R. grade (Ajax, Australia)

95% Ethanol A.R. grade (BDH, UK)

Hydrochloric acid A.R. grade (J.T. Baker, USA)

Sodium dihydrogen phosphate A.R. grade (Ajax, Australia)

Sodium hydroxide A.R. grade (Ajax, Australia)

#### 3.2.4.3 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

##### 1. วิธี 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) A.R. grade (Fluka, USA)

95% Ethanol A.R. grade (BDH, UK)

Methanol A.R. grade (BDH, UK)

##### 2. วิธี 2,2-azinobis (3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid)(ABTS)

Potassium persulfate A.R. grade (POCH, Poland)

Methanol A.R. grade (BDH, UK)

2,2-azinobis (3-ethyl-benzothiazoline  
-6-sulfonic acid)(ABTS) A.R. grade (Fluka, USA)

Trolox A.R. grade (Fluka, USA)

#### 3.2.4.4 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

Folin-Ciocalteu's phenol reagent A.R. grade (Merck, Germany)

Gallic acid A.R. grade (Fluka, USA)

Sodium carbonate A.R. grade (S.d. fine-chem limited, India)

#### 3.2.4.5 การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์

Aluminum chloride A.R. grade (Ajax, Australia)

Catechin A.R. grade (Fluka, USA)

Sodium hydroxide A.R. grade (Ajax, Australia)

Sodium nitrite A.R. grade (Ajax, Australia)

3.2.4.6 การวิเคราะห์ปริมาณเบต้าไธยานินทั้งหมด

95% Ethanol	A.R. grade (BDH, UK)
Phosphate	A.R. grade (Panreac, Spain)

3.2.4.7 การวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซี

Ascorbic acid	A.R. grade (Ajax, Australia)
2,6-Dichlorophenolindophenol	A.R. grade (Ajax, Australia)
Oxalic acid	A.R. grade (Ajax, Australia)

3.2.4.8 การวิเคราะห์ค่าแอกทิวิตีของสารฟรีไบโอติก

Agar	Commercial grade
Ammonium sulphate	A.R. grade (Ajax, Australia)
D-(+)-glucose	A.R. grade (Merck, Germany)
Dipotassium hydrogen orthophosphate	A.R. grade (Ajax, Australia)
Lactobacillus MRS Broth	A.R. grade (HIMEDIA, India)
Magnesium sulfate	A.R. grade (Ajax, Australia)
Soyabean Casein Digest Medium (Typtone Soya Broth; TSB)	A.R. grade (HIMEDIA, India)

3.2.4.9 สารทดสอบแอกทิวิตีของเอนไซม์เพออกซิเดส

95% Ethanol	A.R. grade (BDH, UK)
Guaiacol	A.R. grade (Merck, Germany)
Hydrogen peroxide	A.R. grade (Merck, Germany)

3.2.4.10 สารควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล

Ascorbic acid	Food grade (วิทยาศาสตร์)
Citric acid	Food grade (วิทยาศาสตร์)

3.2.4.11 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

Ammonium molybdate	A.R. grade (Ajax, Australia)
Anhydrous sodium dihydrogen phosphate	A.R. grade (Ajax, Australia)
Anhydrous sodium sulphate	A.R. grade (Ajax, Australia)
Copper sulphate pentahydrate	A.R. grade (Ajax, Australia)
D-(+)-glucose	A.R. grade (Merck, Germany)
Potassium sodium tartrate	A.R. grade (Ajax, Australia)

Sodium hydroxide	A.R. grade (Ajax, Australia)
Sulfuric acid	A.R. grade (BDH, UK)
Sodium arsenate	A.R. grade (Fluka, USA)

### 3.2.5 อุปกรณ์

1. Hand refractometer (Atago 32-62°Brix, Japan)
2. ปั๊มสุญญากาศ (Vacuum pump) (GAST รุ่น 1023-V2-G583X, Germany)
3. ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) (Mettler รุ่น 600, Germany)
4. เตาเผา (Muffle Furnace) (Fisher scientific รุ่น Isotemp, Germany)
5. เตาให้ความร้อน (Hot plate) (Framo®-Gerätetechnik รุ่น M 21/1, Thailand)
6. เครื่อง Spectrophotometer (JASCO รุ่น V-530, Japan)
7. เครื่องชั่งน้ำหนัก ทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Sartorius รุ่น BP3100S, Germany)
8. เครื่องชั่งน้ำหนัก ทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Sartorius รุ่น A2005, Germany)
9. เครื่องปั่นผสม (Philips รุ่น Cucina HR 1799, Netherlands)
10. เครื่อง pH meter (Eutech รุ่น Cyber Scan pH 1000 Bench, Singapore)
11. เครื่อง Rotary vacuum evaporator (Eyela รุ่น SB-651, Japan)
12. เครื่อง Vortex (Labnet รุ่น VX100, USA)
13. เครื่อง Chroma meter (Minolta รุ่น CR 400, Japan) และ Granular Attachment (Minolta รุ่น CR A50, Japan)
14. เครื่อง Autoclave (TOMY Autoclave รุ่น SS-320, Japan)
15. เครื่อง Incubator (Mettler รุ่น 500, Germany)
16. เครื่อง Gas chromatography (Agilent รุ่น 6890, USA)
17. เครื่อง Mass-selective detector (Agilent รุ่น 5973, USA)
18. SPME Fiber Holder ชนิด Polydimethylsiloxane (PDMS 100µm, Supelco)
19. เครื่อง Laser particle size analyzer (Malvern รุ่น Mastersizer 2000, UK)
20. เครื่อง Magnetic stirrer (Framo®-Gerätetechnik รุ่น M 21/1, Thailand)
21. เครื่อง Hand homogenizer (Ystral homogenizer รุ่น x 10/25, Netherlands)
22. เครื่อง Water bath shaker (GFL รุ่น 1092, Germany)
23. หม้อนึ่งความดัน (National รุ่น SR-TMA18, Japan)
24. Microbiology Anaerobic Jar 2.5 L (Merck, Germany)
25. AnaeroGen™ 2.5 L (Oxoid, UK)

### 3.3 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

#### 3.3.1 คัดเลือกระดับความสุกของแก้วมังกรแดงที่ใช้เป็นวัตถุดิบ

ผลแก้วมังกรแดงจากแหล่งเพาะปลูกที่มีอายุการเก็บเกี่ยวนับตั้งแต่ออกดอกมาแบ่งระดับความสุกเป็น 3 ระดับ คือ ระดับที่ 1 (มีอายุ 35-40 วัน) ระดับที่ 2 (มีอายุ 45-50 วัน) และระดับที่ 3 (แก้วมังกรแดงอายุ 45-50 วัน ปุ่มที่อุณหภูมิ  $30 \pm 5^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 10 วัน) จากนั้นนำแต่ละระดับความสุกมาแยกวิเคราะห์เป็น 2 ส่วน คือ เปลือกและเนื้อ วิเคราะห์สมบัติทางเคมีและกายภาพเบื้องต้นของเนื้อและเปลือกแก้วมังกรแดงทั้ง 3 ระดับ เพื่อนำผลที่ได้มาใช้พิจารณา กำหนดเกณฑ์สำหรับคัดเลือกวัตถุดิบในการทดลองแต่ละครั้ง โดยวัดการเปลี่ยนแปลงค่าสี ค่า pH ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดซิตริก และปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ ทดลอง 3 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ดังนี้

1. วัดค่าสีด้วยเครื่อง Chroma meter โดยใช้ระบบ  $L^* a^* b^*$  (CIELAB) [ $L^* = 0$  (Black);  $L^* = 100$  (White),  $a^*$  ( $-a^* = \text{Green}$ ;  $+a^* = \text{Red}$ ),  $b^*$  ( $-b^* = \text{Blue}$ ;  $+b^* = \text{Yellow}$ ),  $C^*$  (Chroma saturation) และ  $^{\circ}h$  (Hue)] แหล่งกำเนิดแสง  $D_{65}$  และใช้ Granular Attachment สำหรับใส่ตัวอย่างที่จะวัดค่า

2. วัดค่า pH ด้วยเครื่อง pH meter

3. วิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดซิตริกตามวิธีของ A.O.A.C (1995) แสดงในภาคผนวก ก.1

4. วัดปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (total soluble solids; TSS) ด้วย Hand Refractometer ในหน่วย  $^{\circ}\text{Brix}$

จากนั้นคัดเลือกระดับความสุกของเนื้อและเปลือกแก้วมังกรแดงที่เหมาะสม สำหรับใช้เป็นวัตถุดิบตั้งต้นในการทดลอง

#### 3.3.2 ศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารให้สีในเนื้อและเปลือกแก้วมังกรแดง

แก้วมังกรแดงที่เลือกได้จากข้อ 3.3.1 มาวิเคราะห์ปริมาณความชื้นโดยการอบแห้งในตู้อบลมร้อน ดัดแปลงวิธีของ A.O.A.C. (1995) แสดงในภาคผนวก ก.2 จากนั้นศึกษาชนิดและปริมาณของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารให้สี ดังนี้

##### 3.3.2.1 ปริมาณใยอาหาร

วิเคราะห์ปริมาณใยอาหารทั้งหมด (total dietary fiber; TDF) ปริมาณใยอาหารที่ละลายน้ำ (soluble dietary fiber; SDF) และปริมาณใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ (insoluble dietary fiber; IDF) ตามวิธีของ A.O.A.C. (1995) แสดงในภาคผนวก ก.3

### 3.3.2.2 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (Antioxidant activities)

เตรียมสารสกัดจากเนื้อและเปลือกของแก้วมังกรแดง โดยดัดแปลงวิธีของ Masuda และคณะ (1999) และวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH ทำตามวิธีของ Maisuthisakul และคณะ (2007) และวิธี ABTS ดัดแปลงวิธีของThaipong และคณะ (2006) แสดงในภาคผนวก ก.4

### 3.3.2.3 ปริมาณฟีนอลิก

วิเคราะห์ปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetry จากสารสกัดที่เตรียมได้ในข้อ 3.3.2.2 ตามวิธีของ Waterhouse (2005) แสดงในภาคผนวก ก.5

### 3.3.2.4 ปริมาณฟลาโวนอยด์

วิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ด้วยวิธี Aluminum chloride colorimetry จากสารสกัดที่เตรียมได้ในข้อ 3.3.2.2 ตามวิธีของ Zhishen และคณะ (1999) แสดงในภาคผนวก ก.6

### 3.3.2.5 ปริมาณเบต้าไซยานินทั้งหมด

วิเคราะห์ปริมาณเบต้าไซยานินทั้งหมดด้วยวิธี spectrophotometry ตามวิธีของ Herbach และคณะ (2006) และ Wu และคณะ(2006) แสดงในภาคผนวก ก.7

### 3.3.2.6 ปริมาณวิตามินซี

วิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีด้วยวิธี spectrophotometry ตามวิธีของ Pearson (1976) แสดงในภาคผนวก ก.8

### 3.3.2.7 ค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติก (Prebiotic activity score)

ค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติก วิเคราะห์เปรียบเทียบความสามารถในการส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียที่เป็นจุลินทรีย์สุขภาพหรือโพรไบโอติก ได้แก่ *L. acidophilus* La5 และ *B. lactis* Bb12 และแบคทีเรียชนิดอื่นในระบบทางเดินอาหาร ได้แก่ *E. coli* ATCC 29922 กับสารที่ไม่ได้เป็นพรีไบโอติก คือ กลูโคส ดัดแปลงวิธีของ Huebner และคณะ (2007) แสดงในภาคผนวก ก.9

### 3.3.2.8 สารประกอบหลักในเบต้าไซยานิน

#### Thin layer chromatography (TLC)

เตรียมตัวอย่างแก้วมังกรแดงทั้งเนื้อและเปลือกที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เพกทิเนสทางการค้า ตามวิธีของ Vargas et al. (2000) จากนั้นนำไปแยกสารให้สีโดยใช้ Thin layer chromatography (TLC) aluminium silica gel plate (Merck, Germany) และใช้สารละลาย isopropanol-ethanol-distilled water-acetic acid, 6:7:6:1 v/v เป็น mobile phase คำนวณค่า  $R_f$  (ระยะทางที่สารเคลื่อนที่ (ซม.) / ระยะทางที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่ (ซม.)) โดยเทียบกับค่า  $R_f$

มาตรฐานของเบต้าไซยานิน ชูตแถบสารเบต้าไซยานินดังกล่าว และละลายในตัวทำละลายเอทานอล 95% จากนั้นนำไปปั่นแยกส่วนใสด้านบนซึ่งเป็นส่วนของสารเบต้าไซยานินด้วยเครื่องเซนตริฟิวจ์ แล้วนำไปวัด absorption spectra ในช่วง 400 – 700 nm แสดงในภาคผนวก ก.10

#### High performance Liquid Chromatography (HPLC)

การเตรียมตัวอย่างและภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์สารประกอบในเบต้าไซยานินด้วยวิธี HPLC/MS ทำโดยดัดแปลงจากวิธีของ Stintzing และคณะ (2007) แสดงในภาคผนวก ก.11 ส่วนการวิเคราะห์และจำแนกชนิดสารประกอบ ทำโดยเทียบเคียง mass spectra ของสารที่มี % quality match มากกว่า 80% ร่วมกันระหว่าง Chemstation Wiley Spectral Library และ National Institute of Standards and Technology (NIST) Library และวิเคราะห์ร่วมกับค่า RIs (retention indices) โดยเปรียบเทียบจาก Mass Finder และจากรายงานวิจัยของ Wybraniec และคณะ (2001); Stintzing และ คณะ (2002); Herbach และคณะ (2006); Esquivel และ คณะ (2007); Wybraniec และคณะ (2007)

### 3.3.3 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลในเนื้อและเปลือกของแก้วมังกรแดง

เนื้อและเปลือกของแก้วมังกรแดงที่มีระดับความสุกที่คัดเลือกได้จากข้อ 3.3.1 มาหาภาวะที่เหมาะสมในการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล โดยใช้สารควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล 2 ชนิด คือ กรดแอสคอร์บิกและกรดซิตริก ร่วมกับการให้ความร้อนด้วยไอน้ำ โดยบดลดขนาดส่วนเนื้อและส่วนเปลือกของแก้วมังกรแดง นาน 2 นาที ด้วยเครื่องปั่นผสม ควบคุมกับการเติมสารควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล แปรปริมาณสารที่ใช้เป็น 4 ระดับ คือ 0, 0.1, 0.3 และ 0.5% (w/w) จากนั้นนำส่วนเนื้อและส่วนเปลือกของแก้วมังกรแดงตีปั่นที่ได้มาให้ความร้อนด้วยไอน้ำแปรระยะเวลาในการให้ความร้อนเป็น 4 ระดับ คือ 0, 1, 3 และ 5 นาที เริ่มจับเวลาเมื่อจุดกึ่งกลางของส่วนเนื้อและส่วนเปลือกของแก้วมังกรแดงมีอุณหภูมิ 85°C และทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็ว วัดค่าสีในระบบ  $L^* a^* b^*$  ด้วยเครื่อง Chroma meter แหล่งกำเนิดแสง  $D_{65}$  ทุกๆ 0, 3 และ 5 วัน โดยเก็บที่อุณหภูมิ  $10 \pm 2^{\circ}\text{C}$  และวัดค่า pH ด้วยเครื่อง pH meter ที่ทุกภาวะการทดลอง จากนั้นนำภาวะที่เลือกมาทดสอบแอกทิวิตีของเอนไซม์เพอร์ออกซิเดส เพื่อยืนยันว่าภาวะที่เลือกใช้สามารถควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลได้ ซึ่งการทดสอบแอกทิวิตีของเอนไซม์เพอร์ออกซิเดสทำโดยดัดแปลงวิธีของ Pearson (1970) แสดงในภาคผนวก ก.12 ขั้นตอนการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลในส่วนเนื้อและส่วนเปลือกของแก้วมังกรแดงโดยย่อแสดงในรูปที่ 3.1

เลือกภาวะที่เหมาะสมในการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล โดยพิจารณาจากค่าสี เพื่อใช้เป็นภาวะในการเตรียมส่วนเนื้อและส่วนเปลือกของแก้วมังกรแดง ก่อนนยอยสลายด้วย

เอ็นไซม์ต่อไป ทดลอง 3 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ 2x4x4 Factorial in Completely Randomized Design (CRD) วิเคราะห์ข้อมูล โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%





### 3.3.4 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเปลือกและเนื้อแก้วมังกรแดงโดยใช้เอนไซม์เพคตินเนสทางการค้า (Pectinex<sup>®</sup> Ultra SP-L)

สกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเปลือกและเนื้อแก้วมังกรแดงที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล ด้วยเอนไซม์เพคตินเนสทางการค้าคือ Pectinex<sup>®</sup> Ultra SP-L โดยทำปฏิกิริยาในขวดแก้วสีชาขนาด 250 มิลลิลิตร แบบ batch ควบคุมอุณหภูมิที่  $32 \pm 2^{\circ}\text{C}$  และกวนผสมด้วยความเร็ว 100 รอบต่อนาที แปรความเข้มข้นของเอนไซม์เป็น 9 ระดับ คือ 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 5.0, 7.0 และ 10.0% (v/w) และแปรเวลาการย่อยเป็น 9 ระดับ คือ 0, 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 5 และ 6 ชั่วโมง หยุดปฏิกิริยาเอนไซม์โดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ  $100 \pm 5^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลานาน 5 นาที นำสารสกัดที่ได้มาทำให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่อง hand homogenizer ที่ความเร็ว 16000 รอบต่อนาที เป็นเวลานาน 3 นาที และวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar; RS) ตามวิธีของ Nelson (1944) ที่ทุกภาวะการทดลอง ทดลอง 3 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ 9x9 Factorial in CRD วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

### 3.3.5 ศึกษาลักษณะเฉพาะของเนื้อและเปลือกแก้วมังกรแดงที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์

ศึกษาลักษณะเฉพาะของเนื้อและเปลือกแก้วมังกรแดงที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ ที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลด้วยเอนไซม์ต่างกันที่ได้จากข้อ 3.3.4 โดยวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันและปริมาณเบต้าไซยานินทั้งหมด ตามการวิเคราะห์ในข้อ 3.3.2 และติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณใยอาหาร ค่าเอกทิวติของสารฟิโบอิติก และสารประกอบหลักของเบต้าไซยานิน ในเนื้อและเปลือกแก้วมังกรแดงที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลด้วยเอนไซม์สูงสุดในช่วงที่ศึกษา เปรียบเทียบกับเนื้อและเปลือกแก้วมังกรแดงที่ปั่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาล ทำตามการวิเคราะห์ในข้อ 3.3.2

### 3.3.6 การศึกษาเสถียรภาพของ betacyanin

ปัจจัยที่ศึกษา คือ ชนิดของน้ำตาล ชนิดของกรด ความเข้มข้นของเกลือ และชนิดของสารไฮโดรคอลลอยด์

การเตรียมสารละลายกรด, เกลือ และไฮโดรคอลลอยด์ตามวิธีของ Hubbermann และคณะ (2006) แสดงในภาคผนวก ก.13

สารละลายกรดซิตริก, กรดอะซิติก และ กรดแอสคอร์บิก แต่ละชนิดเตรียมที่ความเข้มข้น 0.2 M ปรับให้มี pH เป็น 3.9 ด้วย NaOH 1.0N สำหรับสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น

1, 3 และ 5% โดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย สารละลายน้ำตาล กลูโคส, ฟรุกโตส และ ซอร์บิทอล เตรียมที่ความเข้มข้น 7% และสารไฮโดรคอลลอยด์ แป้งข้าวโพด, แชนแทนกัม และคาราจีแนน เตรียมที่ความเข้มข้น 0.5% นำสารละลายแต่ละชนิดที่เตรียมไว้ที่ความเข้มข้นต่างๆ จำนวนอย่างละ 1 ลิตร เติมในตัวอย่างแก้วมังกรแดง 1 กรัม และเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง ในที่มืดเป็นเวลา 7 วัน เปรียบเทียบผลการทดลองกับชุดตัวอย่างควบคุมที่ไม่เติมสารละลายกรด เกลลี่ และไฮโดรคอลลอยด์

#### วิเคราะห์เสถียรภาพของเบต้าไซยานิน ต่อค่า pH

การเตรียมสารละลายที่มีค่า pH แตกต่างกัน ใช้กรดซิตริกเข้มข้น 0.1 M และ  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  เข้มข้น 0.2 M เติมลงไปใต้น้ำกลั่นปรับจนมี pH เป็น 2-6 แสดงในภาคผนวก ก.14 จากนั้นนำตัวอย่างแก้วมังกรแดงมา 10 กรัม เติมลงไปใต้น้ำกลั่นที่มี pH ต่างๆ ปริมาตร 30 ml และเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง ในที่มืดเป็นเวลา 7 วัน แล้วนำผลไปวิเคราะห์เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงค่าสีในช่วง pH ที่ศึกษา

#### วิเคราะห์เสถียรภาพของเบต้าไซยานิน ต่ออุณหภูมิ

ตัวอย่างแก้วมังกรแดงจำนวน 10 กรัม ผสมใต้น้ำกลั่นปริมาตร 30 มล. จากนั้นนำไปให้ความร้อนจนตัวอย่างมีอุณหภูมิ 40, 60, 80 และ  $100^\circ\text{C}$  ทำให้เย็นลง เปรียบเทียบผลการทดลองกับตัวอย่างควบคุมที่อุณหภูมิ  $25^\circ\text{C}$

#### วิเคราะห์เสถียรภาพของเบต้าไซยานิน ต่อแสง

ตัวอย่างแก้วมังกรแดงจำนวน 10 กรัมผสมใต้น้ำกลั่นปริมาตร 30 มล. จากนั้นตั้งทิ้งไว้ให้สัมผัสแสง (fluorescence constant irradiance of  $6 \text{ Wm}^{-2}$ ) นาน 10 ชม.ต่อวัน เป็นระยะเวลา 7 วัน เปรียบเทียบผลการทดลองกับตัวอย่างควบคุม 0 วัน (day 0)

การหาค่าความคงตัวของเบต้าไซยานินจะทำกับตัวอย่างเนื้อและเปลือกของแก้วมังกรแดงที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เพกทิเนสทางการค้าและใช้ตัวอย่างที่ไม่ได้ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เพกทิเนสเป็นตัวอย่างควบคุม สำหรับการติดตามเสถียรภาพของสีของเบต้าไซยานินจะคิดในค่าของ  $a^*$  โดยใช้การวัดสีในระบบ CIE  $L^*a^*b^*$ ,  $L^* = 0(\text{black}); L^* = 100(\text{white})$ ,  $a^*(-a^* = \text{green}; +a^* = \text{red})$ ,  $b^*(-b^* = \text{blue}; +b^* = \text{yellow})$  และใช้แหล่งกำเนิดแสง  $D_{65}$

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range test และ T-test สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณใยอาหาร ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

## บทที่ 4

### ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

#### 4.1 การคัดเลือกระดับความสุกของผลแก้วมังกรแดงที่ใช้เป็นวัตถุดิบ

ในการศึกษาผลของเอนไซม์ที่มีต่อสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเนื้อและเปลือกแก้วมังกรแดงจำเป็นต้องมีการคัดเลือกระดับความสุก และการตรวจสอบคุณภาพเบื้องต้นของวัตถุดิบ เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพสม่ำเสมอในทุกครั้งที่ทดลอง จากการทดลองพบว่าเมื่อนำเปลือกและเนื้อของแก้วมังกรแดงทั้ง 3 ระดับความสุกมาวิเคราะห์สมบัติทางเคมีและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพพบว่าตั้งแต่ช่วงระดับความสุกที่ 1 (35-40 วัน) จนถึงช่วงระดับความสุกที่ 2 (45-50 วัน) สีของเปลือกและเนื้อแก้วมังกรแดงมีการเปลี่ยนแปลงระหว่างการสุกอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) โดยเปลือกและเนื้อของแก้วมังกรแดงจะมีค่าความสว่าง ( $L^*$ ) ค่าสีเหลือง ( $+b^*$ ) ค่าความอิ่มตัวของสีหรือ chroma ( $C^*$ ) และค่าองศา Hue ( $^\circ h$ ) ลดลง แต่มีค่าสีแดง ( $+a^*$ ) เพิ่มขึ้น เมื่อระดับความสุกมากขึ้น การเปลี่ยนแปลงสีของเปลือกและเนื้อแก้วมังกรแดงในแต่ละระดับความสุก เนื่องมาจากผลไม้จะมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณเบต้าไซยานินซึ่งเป็นรงควัตถุที่ให้สีแดงม่วงแก่แก้วมังกรแดงในระหว่างการสุก โดยผลไม้สุกจะมีปริมาณเบต้าไซยานินเพิ่มมากขึ้น ขณะที่ปริมาณคลอโรฟิลล์จะลดน้อยลง (Shewfelt, 1993) ผลแสดงในตารางที่ 4.1 เมื่อพิจารณาค่า pH ปริมาณกรดทั้งหมดโดยใช้กรดซิตริกเป็นตัวแทนในการชี้วัดค่าความเป็นกรดที่พบในเปลือกและเนื้อแก้วมังกรแดง และปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ พบว่าเมื่อแก้วมังกรแดงมีระดับความสุกมากขึ้นจะมีค่า pH เพิ่มขึ้น และมีปริมาณกรดทั้งหมดลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) เนื่องจากผลไม้ที่สุกมากขึ้นจะมีอัตราการหายใจเพิ่มขึ้น กรดในผลไม้ เช่น กรดซิตริก จะถูกใช้ไปเป็นสารตั้งต้นในวัฏจักร Krebs ของกระบวนการหายใจ (Thompson, 1996) ส่วนปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้จะมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) เนื่องจากแป้งในผลไม้ถูกไฮโดรไลซ์เป็นน้ำตาลมากขึ้น (Haard and Chism, 1996) และเมื่อเปรียบเทียบระดับความสุกทั้ง 3 ระดับในส่วนเปลือกและเนื้อของแก้วมังกรแดงพบว่า ระดับความสุกที่ 2 (45-50 วัน) มีค่า pH ปริมาณกรดทั้งหมด ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ สูงกว่าความสุกระดับอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ผลแสดงในตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.1 ค่าสีของแก้วมังกรแดงที่ความสุกระดับต่างกัน

Color	Ripening levels		
	1	2	3
Peel color			
L*	44.44 <sup>a</sup> ±0.70	40.11 <sup>b</sup> ±0.27	31.77 <sup>c</sup> ±0.31
a*	19.98 <sup>c</sup> ±0.74	24.82 <sup>a</sup> ±0.20	21.37 <sup>b</sup> ±0.73
b*	2.72 <sup>b</sup> ±0.67	0.84 <sup>a</sup> ±0.24	1.80 <sup>b</sup> ±0.66
C*	21.39 <sup>a</sup> ±0.52	22.68 <sup>a</sup> ±0.23	19.66 <sup>b</sup> ±0.68
°h	64.23 <sup>a</sup> ±1.30	59.70 <sup>a</sup> ±0.33	51.40 <sup>b</sup> ±1.14
Flesh color			
L*	54.44 <sup>a</sup> ±0.50	53.11 <sup>a</sup> ±0.21	41.77 <sup>b</sup> ±0.37
a*	20.98 <sup>c</sup> ±0.14	23.82 <sup>a</sup> ±0.16	21.49 <sup>b</sup> ±0.72
b*	3.72 <sup>a</sup> ±0.35	1.84 <sup>b</sup> ±0.24	1.89 <sup>b</sup> ±0.63
C*	22.39 <sup>a</sup> ±0.42	23.79 <sup>a</sup> ±0.32	18.66 <sup>b</sup> ±0.68
°h	69.41 <sup>a</sup> ±0.30	63.70 <sup>a</sup> ±0.33	56.44 <sup>b</sup> ±0.14

ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขในแนวนอนที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p≤0.05)

Ripening levels 1, 2 และ 3 คือ ผลแก้วมังกรแดงที่เวลา 35-40, 45-50 และ 55-60 วัน นับตั้งแต่ออกดอก

ตารางที่ 4.2 สมบัติทางเคมีและกายภาพเบื้องต้นของแก้วมังกรแดงที่ความสุกระดับต่างกัน

Physicochemical characteristics	Peel			Flesh		
	1	2	3	1	2	3
pH	3.29 <sup>c</sup> ±0.09	4.21 <sup>b</sup> ±0.02	6.04 <sup>a</sup> ±0.05	3.75 <sup>b</sup> ±0.37	4.50 <sup>a</sup> ±0.03	5.95 <sup>a</sup> ±0.02
Total acidity (%)	0.32 <sup>a</sup> ±0.03	0.09 <sup>b</sup> ±0.03	0.08 <sup>b</sup> ±0.03	0.45 <sup>a</sup> ±0.02	0.30 <sup>b</sup> ±0.03	0.28 <sup>b</sup> ±0.02
Total soluble solid (°Brix)	1.94 <sup>b</sup> ±0.17	2.20 <sup>a</sup> ±0.22	2.22 <sup>a</sup> ±0.07	4.58 <sup>b</sup> ±0.07	6.37 <sup>a</sup> ±0.15	6.22 <sup>a</sup> ±0.07
Reducing sugar (mg glucose/ g fresh mass)	7.61 <sup>b</sup> ±0.95	10.63 <sup>a</sup> ±0.99	10.26 <sup>a</sup> ±0.82	19.45 <sup>b</sup> ±0.78	22.39 <sup>a</sup> ±0.65	23.04 <sup>a</sup> ±0.98

ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขในแนวนอนที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p≤0.05)

Ripening levels 1, 2 และ 3 คือ ผลแก้วมังกรแดงที่เวลา 35-40, 45-50 และ 55-60 วัน นับตั้งแต่ออกดอก

เพื่อคัดเลือกระดับความสุกของเปลือกและเนื้อแก้วมังกรแดงที่เหมาะสม สำหรับใช้เป็นวัตถุดิบตั้งต้น โดยการวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ปริมาณเบต้าไซยานิน สารที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน สารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และวิตามินซีในเปลือกและเนื้อแก้วมังกรแดง ทั้ง 3 ระดับความสุก ให้ผลดังตารางที่ 4.3 และ 4.4 พบว่า ตั้งแต่ช่วงระดับความสุก 1 (35-40 วัน) จนถึงช่วงระดับความสุก 2 (45-50 วัน) ทั้งในส่วนเปลือกและเนื้อของแก้วมังกรแดงมีการเปลี่ยนแปลงระหว่างการสุกอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) โดยในระดับความสุก 2 ทั้งในส่วนเปลือกและเนื้อของแก้วมังกรแดง มีปริมาณเบต้าไซยานิน สารที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH และ ABTS สารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และวิตามินซี สูงกว่าความสุกระดับอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) แต่จะลดลงหรือคงที่ในช่วงระดับความสุก 3 (55-60 วัน) เมื่อวิเคราะห์สารที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในเปลือกและเนื้อของแก้วมังกรแดงด้วยวิธี DPPH ซึ่งแสดงในรูปแบบความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่ใช้กำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ได้ 50% ภายในเวลาที่กำหนด ( $EC_{50}$ ) สารต้านอนุมูลอิสระจะมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงเมื่อมีค่า  $EC_{50}$  ต่ำ จากการทดลอง พบว่า เปลือกและเนื้อแก้วมังกรแดงในระดับความสุก 2 มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันเท่ากับ 20.88 และ 3.27  $\mu\text{g FM}/\mu\text{g DPPH}$  ตามลำดับ ซึ่งในเนื้อมีความอยู่ในช่วงของฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในผัก ผลไม้ และพืชสมุนไพรที่ระบุว่า มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูง เช่น พลับ มังคุด มะกอก กระถิน และพลู (0.3-7  $\mu\text{g FM}/\mu\text{g DPPH}$ ) (Maisuthisakul และคณะ, 2007) และเมื่อวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี ABTS พบว่า เปลือกและเนื้อแก้วมังกรแดงมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันเท่ากับ 110.41 และ 332.14  $\mu\text{g trolox equivalent (TE)}/\text{g FM}$  ตามลำดับ ซึ่งค่าที่ได้มีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกันกับการหาด้วยวิธี DPPH ดังนั้นแก้วมังกรแดง จึงจัดเป็นพืชที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันค่อนข้างสูง และมีปริมาณเบต้าไซยานินเท่ากับ 14.27 และ 15.53  $\text{mg}/100\text{g FM}$  ตามลำดับ

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ และวิตามินซี ในเปลือกและเนื้อแก้วมังกรแดง พบว่า ที่ระดับความสุก 2 มีค่าดังกล่าวสูงกว่าที่ระดับความสุกอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) โดยเปลือกและเนื้อแก้วมังกรแดงมีปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 191.24 และ 480.47  $\mu\text{g gallic acid equivalent (GAE)}/\text{g FM}$  ตามลำดับ ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วงเดียวกับพืชสมุนไพรของจีนที่มีสรรพคุณใช้เป็นยาที่เกี่ยวข้องกับการต้านโรคมะเร็ง เช่น คำฝอย ผ่าง ซุมเห็ดไทย ชะเอมจีน หมากสง โปต้น และทับทิม (2.2-503  $\mu\text{g GAE}/\text{g FM}$ ) ส่วนปริมาณฟลาโวนอยด์ที่พบในเปลือกและเนื้อแก้วมังกรแดงมีค่าเท่ากับ 32.63 และ 288.27  $\mu\text{g catechin equivalent (CE)}/\text{g FM}$  ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกันกับพืชสมุนไพรที่มีสรรพคุณใช้เป็นยา เช่น เลมอนบาล์ม ลาเวนเดอร์ และวาเรเรียน (20-300  $\mu\text{g CE}/\text{g FM}$ ) (Bouayed และคณะ, 2007)

สำหรับปริมาณวิตามินซีที่พบในเปลือกและเนื้อแก้วมังกรแดงมีค่าเท่ากับ 45.11 และ 44.91 mg/g FM ตามลำดับซึ่งมีค่าอยู่ในช่วงเดียวกับผักและผลไม้ชนิดต่างๆ เช่น กระจิน โหระพา เงาะ และ มะขาม (19-49 mg/g FM) (Maisuthisakul และคณะ, 2007)

ตารางที่ 4.3 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่พบในเปลือกแก้วมังกรแดงที่ความสุกระดับต่างกัน

Bioactive compounds / ripening levels	Peel		
	1	2	3
DPPH (EC <sub>50</sub> : µg FM <sup>A</sup> / µg DPPH)	27.64 <sup>a</sup> ±0.02	20.88 <sup>c</sup> ±0.02	22.23 <sup>b</sup> ±0.40
ABTS (µg TE <sup>B</sup> /g FM)	81.12 <sup>c</sup> ±0.14	110.41 <sup>a</sup> ±0.06	94.71 <sup>b</sup> ±0.03
Total phenolics (µg GAE <sup>C</sup> /100g FM)	155.02 <sup>c</sup> ±0.01	110.41 <sup>a</sup> ±0.06	173.46 <sup>b</sup> ±0.09
Total flavonoids (µg CE <sup>D</sup> /100g FM)	28.79 <sup>b</sup> ±0.50	32.63 <sup>a</sup> ±0.03	30.94 <sup>a</sup> ±0.09
VitaminC (mg / 100g FM)	44.38 <sup>a</sup> ±0.51	45.11 <sup>a</sup> ±0.02	39.97 <sup>b</sup> ±0.43
Betacyanin(mg /100g FM)	10.29 <sup>b</sup> ±0.09	14.27 <sup>a</sup> ±0.02	14.04 <sup>a</sup> ±0.05

ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขในแนวนอนที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p≤0.05)

Ripening levels 1, 2 และ 3 คือ ผลแก้วมังกรแดงที่เวลา 35-40, 45-50 และ 55-60 วันนับตั้งแต่ออกดอก

<sup>A</sup>FM = fresh mass, <sup>B</sup>TE = Trolox equivalent, <sup>C</sup> GAE=gallic acid equivalents ,

<sup>D</sup> CE=catechin equivalents

ตารางที่ 4.4 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่พบในเนื้อแก้วมังกรแดงที่ความสุกระดับต่างกัน

Bioactive compounds / ripening levels	Flesh		
	1	2	3
DPPH (EC <sub>50</sub> : µg FM <sup>A</sup> / µg DPPH)	6.89 <sup>a</sup> ±0.01	3.27 <sup>c</sup> ±0.05	4.25 <sup>b</sup> ±0.02
ABTS (µg TE <sup>B</sup> /g FM)	223.70 <sup>c</sup> ±0.01	332.14 <sup>a</sup> ±0.21	253.87 <sup>b</sup> ±0.03
Total phenolics (µg GAE <sup>C</sup> /100g FM)	376.39 <sup>c</sup> ±0.04	480.47 <sup>a</sup> ±0.01	393.94 <sup>b</sup> ±0.09
Total flavonoids (µg CE <sup>D</sup> /100g FM)	219.05 <sup>c</sup> ±0.65	288.27 <sup>a</sup> ±0.04	255.48 <sup>b</sup> ±1.24
VitaminC (mg / 100g FM)	42.71 <sup>b</sup> ±0.09	44.91 <sup>a</sup> ±0.03	41.66 <sup>b</sup> ±0.32
Betacyanin(mg /100g FM)	11.75 <sup>b</sup> ±0.37	15.53 <sup>a</sup> ±0.07	15.14 <sup>a</sup> ±0.02

ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขในแนวนอนที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p≤0.05)

Ripening levels 1, 2 และ 3 คือ ผลแก้วมังกรแดงที่เวลา 35-40, 45-50 และ 55-60 วันนับตั้งแต่ออกดอก

<sup>A</sup>FM = fresh mass, <sup>B</sup>TE = Trolox equivalent, <sup>C</sup> GAE=gallic acid equivalents ,

<sup>D</sup> CE=catechin equivalents

จากผลการทดลองข้างต้นดังที่ได้กล่าวมาแล้ว พบว่าระดับความสุก 2 มีปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าที่ระดับความสุก 1 และ 3 อย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) จึงเลือกระดับความสุก 2 มาวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารทั้งหมดในเปลือกและเนื้อของแก้วมังกรแดง พบว่า ปริมาณใยอาหารทั้งหมดมีค่า 3.62 และ 2.50 g/100gFM แบ่งเป็นใยอาหารที่ละลายน้ำ 1.93 และ 0.90 g/100gFM และใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ 1.69 และ 1.67 g/100gFM ตามลำดับ ผลดังแสดงในตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ปริมาณใยอาหารของเปลือกและเนื้อแก้วมังกรแดงในระดับความสุกที่ 2

Dietary fiber	ripening levels 2	
	Peel	Flesh
Total dietary fiber(TDF) (g / 100g FM)	3.62 ±0.01	2.50 ±0.06
Soluble dietary fiber(SDF)	1.93 ±0.05	0.90 ±0.02
Insoluble dietary fiber(IDF)	1.69 ±0.07	1.67 ±0.03

ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย+ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

จากข้อมูลของเปลือกและเนื้อแก้วมังกรแดงที่ระดับความสุก 2 พบว่า สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสำคัญที่พบในเปลือกและเนื้อแก้วมังกรแดง ได้แก่ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน สารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ วิตามินซี เบต้าไซยานิน และใยอาหาร มีปริมาณค่อนข้างสูงเมื่อเปรียบเทียบกับผักและผลไม้ชนิดอื่น จึงอาจกล่าวได้ว่าแก้วมังกรแดงจัดเป็นพืชที่มีศักยภาพในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ปรุงแต่งสีและกลิ่นรสในอาหารที่มีหน้าที่เฉพาะต่อไป

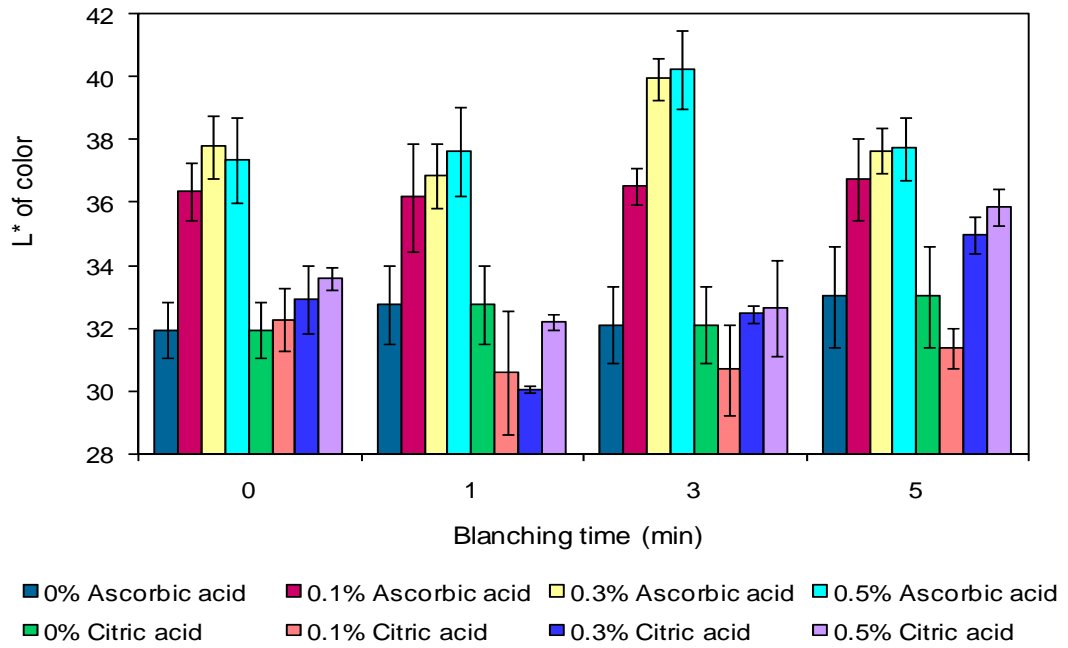
#### 4.2 ภาวะที่เหมาะสมในการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลในเปลือกและเนื้อของแก้วมังกรแดง

การเตรียมแก้วมังกรแดงก่อนย่อยสลายด้วยเอนไซม์ ต้องมีการปั่นละเอียดก่อนเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวในการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ เมื่อมีการหั่นและปั่นทำให้แก้วมังกรแดงเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลมากขึ้น ซึ่งในผักและผลไม้ส่วนใหญ่เกิดการทำงานของเอนไซม์ polyphenol oxidase (PPO) เมื่อเนื้อเยื่อถูกทำลายทางกล เกิดปฏิกิริยาระหว่างสารประกอบ monophenol ที่อยู่ในเซลล์พืชกับออกซิเจนในอากาศโดยเอนไซม์ PPO ทำให้เกิดสาร o-diphenol ซึ่งถูกออกซิไดซ์ต่อเป็น o-quinone จากนั้น o-quinone ที่เกิดขึ้นจะรวมตัวกันและเกิดปฏิกิริยา Maillard กับกรดอะมิโนหรือสารประกอบฟีนอลอื่น ๆ ได้สารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำตาล(Owusu-apenten, 2005) ส่งผลให้เกิด

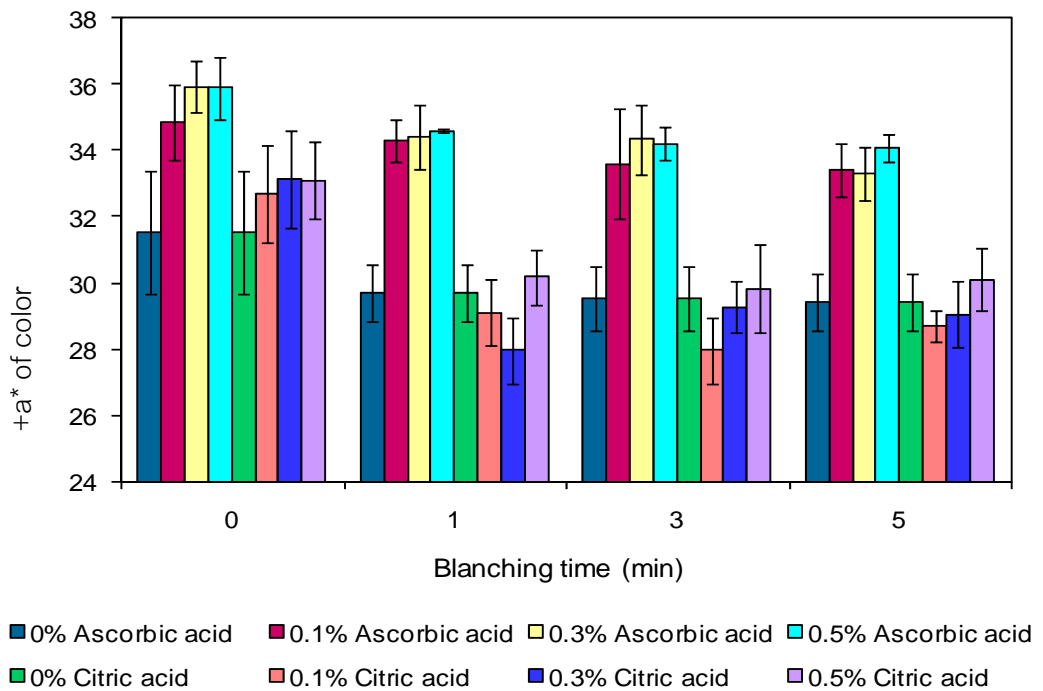
การเปลี่ยนแปลงสีทั้งในเปลือกและเนื้อแก้วมังกรแดง ดังนั้นจึงต้องมีการควบคุมปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาล ก่อนนำไปใช้ในการย่อยสลายด้วยเอนไซม์

การทดลองเลือกใช้กรดอินทรีย์ 2 ชนิด คือ กรดแอสคอร์บิก และกรดซิตริก ซึ่งมีหน้าที่ในการควบคุมปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลต่างกัน กรดแอสคอร์บิกทำหน้าที่เป็นสารรีดิวซ์ o-quinone ให้กลับมามีอยู่ในรูปของ o-diphenol ทำให้ไม่เกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล ส่วนกรดซิตริกทำหน้าที่เป็นสารป้องกันการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลในกลุ่ม acidulant โดยทำให้ค่า pH ลดลง เมื่อ pH ต่ำกว่าค่า optimum pH ของเอนไซม์ PPO (pH 5-7) จะช่วยลดแอกติวิตีของเอนไซม์ได้เมื่อใช้กรด ร่วมกับการให้ความร้อนจนจุดกึ่งกลางมีอุณหภูมิ 85 °C เพื่อทดสอบอิทธิพลร่วมระหว่างชนิดกับปริมาณสารควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลและระยะเวลาในการให้ความร้อน พบว่าเปลือกแก้วมังกรเมื่อเติมกรดซิตริกควบคู่กับการให้ความร้อนด้วยไอน้ำทำให้มีค่าความสว่าง ( $L^*$ ) ค่าสีเหลือง ( $+b^*$ ) และค่าสีแดง ( $+a^*$ ) ใกล้เคียงกับที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลด้วยการให้ความร้อนเพียงอย่างเดียว เนื่องจากกรดซิตริกที่ใช้มีปริมาณน้อยเกินไป จึงทำให้ยังมีค่า pH ใกล้เคียงกับ optimum pH ของเอนไซม์ PPO แต่การเติมกรดซิตริกในปริมาณมากเกินไป ส่งผลให้แก้วมังกรแดงมีรสเปรี้ยวมีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภค ส่วนการเติมกรดแอสคอร์บิกควบคู่กับการให้ความร้อนจะช่วยลดปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลเมื่อเทียบกับที่ผ่านการให้ความร้อนเพียงอย่างเดียว จากผลการทดลองพบว่า ในส่วนเปลือกและเนื้อแก้วมังกรแดง การเติมกรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 0.3 และ 0.1 % (w/w) ตามลำดับ ร่วมกับการให้ความร้อนด้วยไอน้ำนาน 3 นาที โดยทั้งเปลือกและเนื้อแก้วมังกรแดงจะมีค่าความสว่าง ( $L^*$ ) และค่าสีแดง ( $+a^*$ ) สูงที่สุด ส่วนค่าสีเหลือง ( $+b^*$ ) จะมีค่าต่ำที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ดังนั้นจึงเลือกการเติมกรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 0.3 และ 0.1 % (w/w) ตามลำดับร่วมกับการให้ความร้อนด้วยไอน้ำเป็นเวลา 3 นาที ผลที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Mao และคณะ (2007) ที่พบว่า การให้ความร้อนควบคู่กับการเติมกรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 0.1 % (w/w) มีผลช่วยควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลและเพิ่มคุณภาพโดยรวมของน้ำอ้อยได้ และเมื่อนำภาวะที่ได้ไปทดสอบแอกติวิตีของเอนไซม์เพอร์ออกซิเดส (POD) เพื่อเป็นการยืนยันว่าเป็นภาวะที่สามารถควบคุมปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลได้ พบว่าไม่พบแอกติวิตีของเอนไซม์ POD แสดงผลของค่าเฉลี่ยความสว่าง ( $L^*$ ) และค่าสีแดง ( $+a^*$ ) ของเปลือกและเนื้อแก้วมังกรแดงที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ ดังรูปที่ 4.1- 4.6 เป็นที่น่าสังเกตว่าการเติมกรดลงไปในตัวอย่างส่งผลให้ตัวอย่างมีค่าสีแดง ( $a^*$ ) เพิ่มขึ้น จึงนำไปสู่การศึกษาผลของกรดที่มีต่อเสถียรภาพของเบต้าไซยานินต่อไป



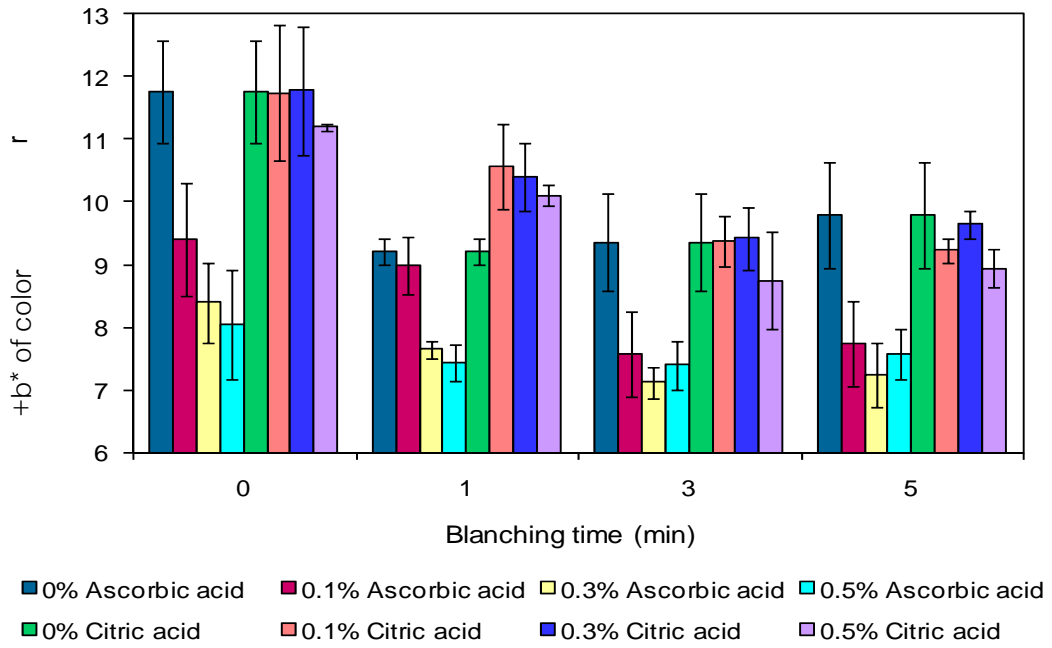


รูปที่ 4.1 ค่าความสว่าง (L\*) ของเปลือกแก้วมังกรแดงตีปนที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาดีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ



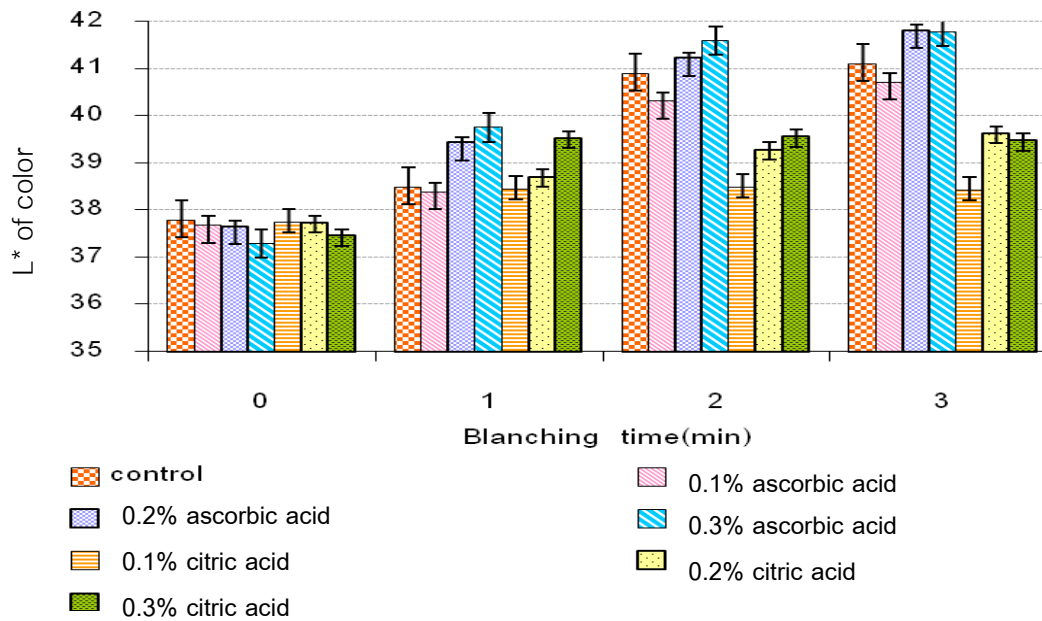
รูปที่ 4.2 ค่าสีแดง (+a\*) ของเปลือกแก้วมังกรแดงตีปนที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยา

สีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ



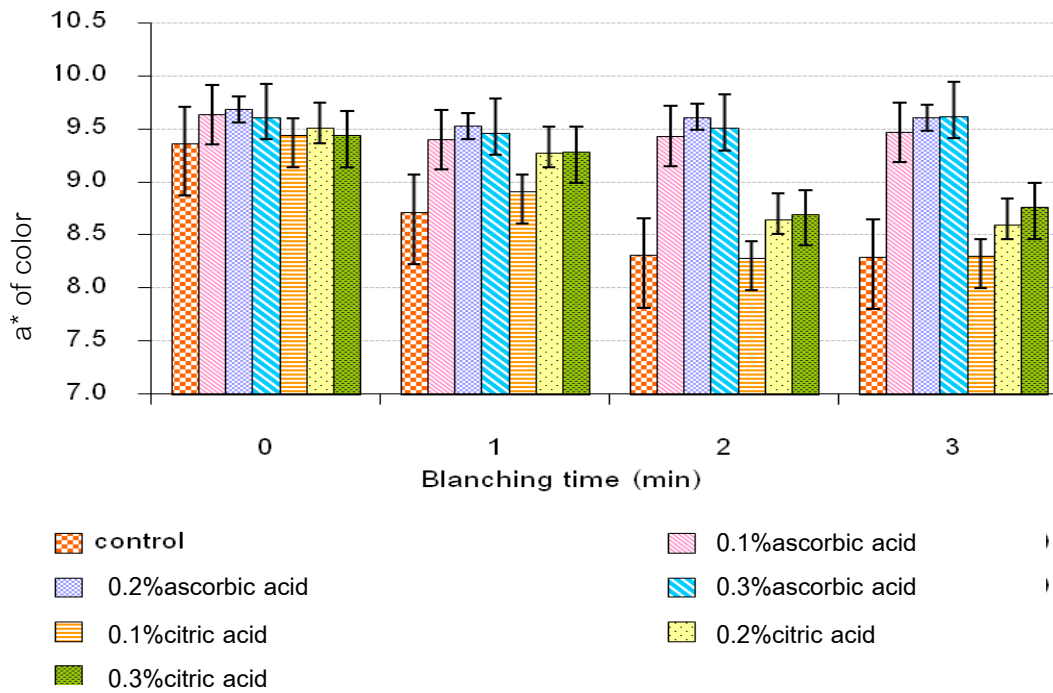
รูปที่ 4.3 ค่าสีเหลือง (+b\*) ของเปลือกแก้วมังกรแดงตีป่นที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยา

สีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ

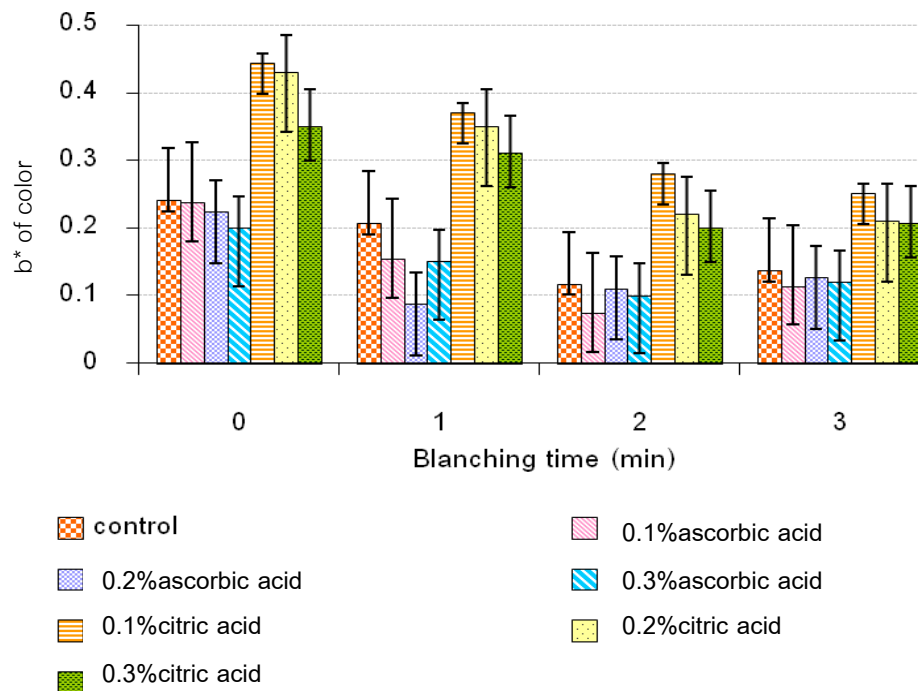


รูปที่ 4.4 ค่าความสว่าง (L\*) ของเนื้อแก้วมังกรแดงตีป่นที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยา

สีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ



รูปที่ 4.5 ค่าสีแดง ( $+a^*$ ) ของเนื้อแก้วมังกรแดงตีปนที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ



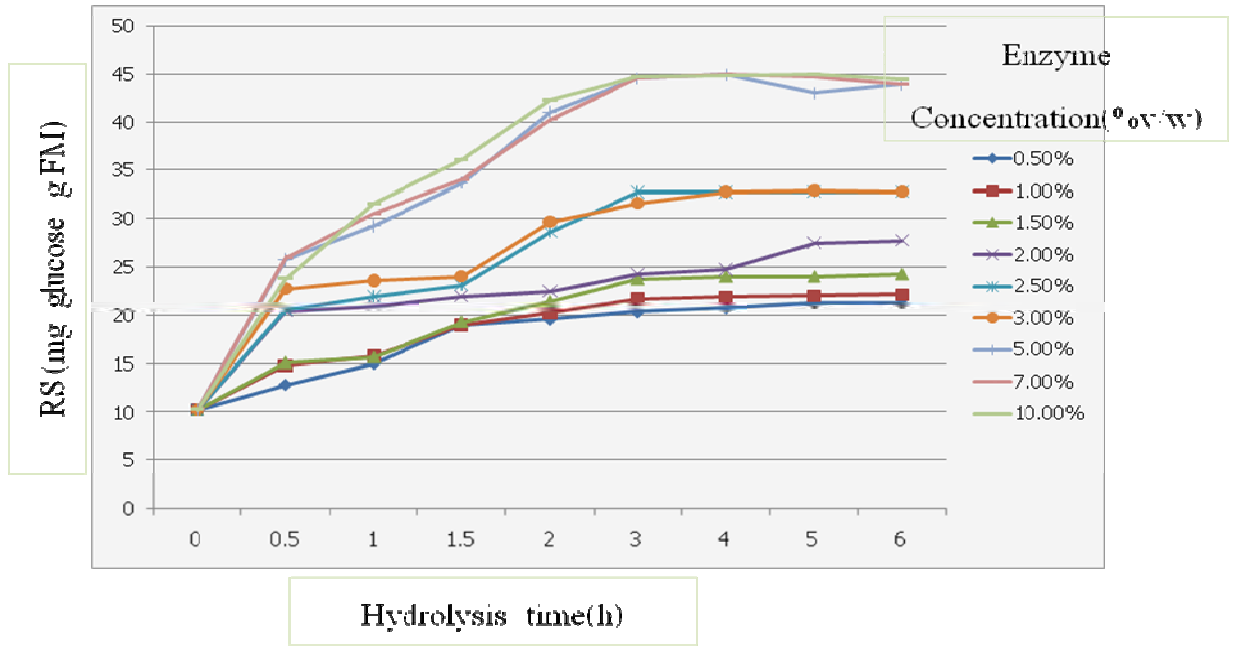
รูปที่ 4.6 ค่าสีเหลือง ( $+b^*$ ) ของเนื้อแก้วมังกรแดงตีปนที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยา

สีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ

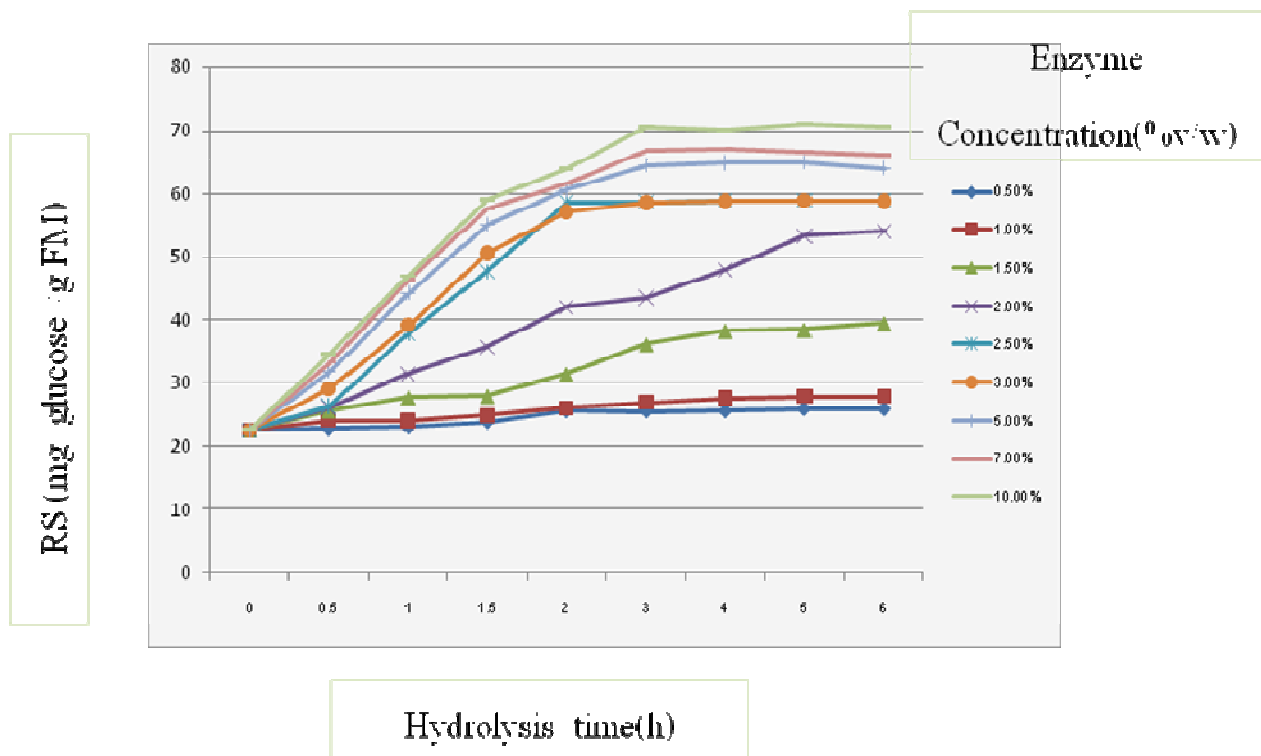
#### 4.3 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเปลือกและเนื้อแก้ว มังกรแดงโดยใช้เอนไซม์เพคตินเนสทางการค้า(Pectinex<sup>®</sup> Ultra SP-L)

การติดตามการย่อยสลายเซลล์โครงสร้างของพอลิแซคคาไรด์ในชั้น middle lamella ด้วยเอนไซม์ เพื่อปลดปล่อยสาร bioactive compounds ในเซลล์โครงสร้างในเนื้อและเปลือกของแก้วมังกรแดง ได้แก่ สารแอนติออกซิแดนท์ ฟีนอลิกและ ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด จากงานวิจัยนี้ได้ทดลองย่อยเปลือกและเนื้อแก้วมังกรแดงตีป่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาลที่เตรียมได้จากข้อ 4.2 ด้วยเอนไซม์เพคตินเนสทางการค้าคือ Pectinex<sup>®</sup> Ultra SP-L (10292 PGU/ml) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ประกอบด้วยเอนไซม์หลายชนิด ได้แก่ พอลิกลาแลกทูโรเนส เพกทินไลเอส เพกทินเอสเทอเรส เฮมิเซลลูเลส เซลลูเลส โปรติเอส และอะไมเลส ที่ความเข้มข้น 1.0-10.0% (v/w) เวลาการย่อย 0-6 ชั่วโมง จากนั้นติดตามผลการเปลี่ยนแปลง พิจารณาภาวะที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลด้วยเอนไซม์ครอบคลุมจากช่วงต่ำไปสูงโดยประเมินจากค่าของน้ำตาลรีดิวซ์ เป็นตัวแทนในการศึกษา ลักษณะเฉพาะของเปลือกและเนื้อแก้วมังกรแดง

จากการติดตามการทำงานของเอนไซม์ โดยพิจารณาจากปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดจากการตัดพันธะไกลโคซิลของพอลิเมอร์ในเปลือกและเนื้อแก้วมังกรแดง เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ พบว่า ความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาการย่อยมีอิทธิพลอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และพบผลของอิทธิพลร่วมอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ระหว่างปัจจัยทั้งสอง จากผลการทดลองรูปที่ 4.7-4.8 พบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาการย่อย เปลือกและเนื้อแก้วมังกรแดงจะมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ซึ่งปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เพิ่มขึ้น เกิดจากการตัดพันธะไกลโคซิลของพอลิเมอร์ในเปลือกและเนื้อแก้วมังกรแดงที่มากขึ้น โดยเอนไซม์เพคตินเนส เซลลูเลส และเฮมิเซลลูเลส จะย่อยสลายพันธะไกลโคซิลของสารประกอบเพกทิน เซลลูโลส และ เฮมิเซลลูโลส ตามลำดับ ที่บริเวณผนังเซลล์ของเนื้อเยื่อพืช (ปราณี, 2547; Grohmann และ Baldwin, 1992; Fanta และคณะ, 1992; Sreenath และคณะ, 1999; Jayani และคณะ, 2005) ทั้งนี้เอนไซม์ Pectinex<sup>®</sup> Ultra SP-L ประกอบด้วยเอนไซม์หลายชนิดดังกล่าว จึงสามารถช่วยเสริมการย่อยสลายสารประกอบต่างๆ ที่บริเวณผนังเซลล์ของเนื้อเยื่อพืชได้ดีขึ้น (Pilnik และ Rombouts, 1979)



รูปที่ 4.7 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (RS) ในเปลือกแก้วมังกรแดงที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ Pectinex<sup>®</sup> Ultra SP-L (P) ที่ความเข้มข้นและเวลาการย่อยต่างๆ



รูปที่ 4.8 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (RS) ในเนื้อแก้วมังกรแดงที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ Pectinex<sup>®</sup> Ultra SP-L (P) ที่ความเข้มข้นและเวลาการย่อยต่างๆ

จากการติดตามผลของการย่อยสลายเปลือกแก้วมังกรแดงด้วยเอนไซม์ พบว่าการใช้เวลา ย่อยนาน 3 ชั่วโมง ที่เอนไซม์ความเข้มข้น 0.5-7.0% (v/w) เป็นภาวะที่เปลือกแก้วมังกร มีปริมาณ น้ำตาลรีดิวซ์หรือมีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลครอบคลุมจากช่วงต่ำไปสูง ซึ่งปริมาณน้ำตาล รีดิวซ์ที่ได้มีค่าไม่แตกต่างกับภาวะที่ใช้เวลา 4-6 ชั่วโมง อย่างมีนัยสำคัญ ( $p>0.05$ ) และเมื่อ วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่า ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในเปลือกแก้วมังกรที่ได้จากการย่อย 3 ชั่วโมง ด้วยเอนไซม์เข้มข้น 0.5-7.0% (v/w) สามารถแบ่งเป็น 3 ช่วง โดยประมาณคือ 20.35, 32.73 และ 44.54 mg glucose/ g fresh weight (fw) แสดงในตารางที่ 4.6 ดังนั้นจึงเลือกใช้เวลาการย่อย 3 ชั่วโมง เอนไซม์ที่ความเข้มข้น 0.5, 2.5 และ 5.0%(v/w) เป็นตัวแทนเพื่อศึกษาผลของระดับการตัด พันธะไกลโคซิลของพอลิเมอร์ในเปลือกแก้วมังกรแดงด้วยเอนไซม์ที่มีต่อสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ สารให้สีของเบต้าไซยานิน ปริมาณสารฟีนอลิก และสารต้านอนุมูลอิสระอื่นๆ และเลือกใช้ เอนไซม์ที่ความเข้มข้น 5.0% (v/w) เวลาการย่อย 3 ชั่วโมง ซึ่งเป็นภาวะที่เปลือกแก้วมังกรแดงมี ระดับการตัดพันธะไกลโคซิลด้วยเอนไซม์สูงสุดในช่วงที่ศึกษา เป็นตัวแทนเพื่อติดตามการ เปลี่ยนแปลงปริมาณใยอาหาร และความคงตัวของเบต้าไซยานิน เปรียบเทียบกับเปลือกแก้วมังกร แดงตีป่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาล

ตารางที่ 4.6 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยสลายเปลือกแก้วมังกรแดงด้วยเอนไซม์ เพคตินเนสที่ความเข้มข้นต่างๆ ในระยะเวลา 3 ชม.

Enzyme concentration (%v/w)	Reducing sugars (mg glucose/g FM*)
0.5	20.35±0.09c
1.0	21.72±1.53c
1.5	23.72±0.32c
2.0	24.33±0.21c
2.5	32.73±0.02b
3.0	33.60±0.84b
5.0	44.54±0.65a
7.0	45.67±0.36a

ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขในแนวตั้งที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p\leq 0.05$ )

\* FM คือ fresh mass

ในส่วนเนื้อแก้มังกรแดงพบว่าการใช้เวลาช่อยนาน 3 ชั่วโมง ที่เอนไซม์ความเข้มข้น 0.5-10.0% (v/w) เป็นภาวะที่เนื้อแก้มังกร มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์หรือมีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลลดลงจากช่วงต่ำไปสูง และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้มีค่าไม่แตกต่างกับภาวะที่ใช้เวลา 4-6 ชั่วโมง อย่างมีนัยสำคัญ ( $p>0.05$ ) เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่า ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในเนื้อแก้มังกรที่ได้จากการช่อย 3 ชั่วโมง ด้วยเอนไซม์เข้มข้น 0.5-10.0% (v/w) สามารถแบ่งเป็น 3 ช่วง โดยประมาณคือ 25.61, 58.54 และ 70.56 mg glucose/ g fresh weight (fw) แสดงในตารางที่ 4.7 ดังนั้นจึงเลือกใช้เวลาการช่อย 3 ชั่วโมง เอนไซม์ที่ความเข้มข้น 0.5, 2.5 และ 10.0%(v/w) เป็นตัวแทนเพื่อศึกษาผลของระดับการตัดพันธะไกลโคซิลของพอลิเมอร์ในเนื้อแก้มังกรแดงด้วยเอนไซม์ที่มีต่อสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้แก่ สารให้สีของเบต้าไซยานิน ปริมาณสารฟีนอลิก และสารต้านอนุมูลอิสระอื่นๆ และเลือกใช้เอนไซม์ที่ความเข้มข้น 10.0% (v/w) เวลาการช่อย 3 ชั่วโมง ซึ่งเป็นภาวะที่เนื้อแก้มังกรแดงมีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลด้วยเอนไซม์สูงสุดในช่วงที่ศึกษา เป็นตัวแทนเพื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณใยอาหาร และความคงตัวของเบต้าไซยานิน เปรียบเทียบกับเนื้อแก้มังกรแดงดิบและควบคุมการเกิดสีน้ำตาล

ตารางที่ 4.7 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการช่อยสลายเนื้อแก้มังกรแดงด้วยเอนไซม์เพคตินเนส ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในระยะเวลา 3 ชม.

Enzyme concentration (%v/w)	Reducing sugars (mg glucose/g FM*)
0.5	25.61±0.09c
1.0	27.99±1.53c
1.5	28.72±0.32c
2.0	30.13±0.21c
2.5	58.54±0.02b
3.0	58.60±0.84b
5.0	64.54±0.65b
7.0	66.85±0.36b
10.0	70.56±0.19a

ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขในแนวตั้งที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p\leq 0.05$ )

\* FM คือ fresh mass

#### 4.4 ผลของเอนไซม์ต่อสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเปลือกและเนื้อแก้วมังกรแดง

จากการติดตามการย่อยสลายเซลล์โครงสร้างของพอลิแซคคาไรด์ในชั้น middle lamella ด้วยเอนไซม์เพกทินเนสทางการค้า Pectinex<sup>®</sup> Ultra SP-L เพื่อปลดปล่อยสาร bioactive compounds ในเซลล์โครงสร้างในเนื้อและเปลือกของแก้วมังกรแดง ได้แก่ สารแอนติออกซิแดนท์ ฟีนอลิกและ ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาในการย่อยสลายส่งผลให้อัตราการย่อยสลายพอลิแซคคาไรด์ทั้งในเนื้อและเปลือกด้วยเอนไซม์คิดเป็นปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์(reducing sugar, RS)เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ( $p \leq 0.05$ ) ทั้งนี้เนื่องจาก Pectinex<sup>®</sup> Ultra SP-L จะย่อยสลายพันธะไกลโคซิลของสารประกอบเพกทิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส ที่บริเวณผนังเซลล์ของเนื้อเยื่อผลไม้ ส่งผลให้มีหมู่รีดิวซ์สูงขึ้น (Grohman and Baldwin, 1992; Multu และคณะ, 1999) สำหรับการติดตามปริมาณสาร bioactive compounds ในตัวอย่างหลังการย่อยสลายโครงสร้างพอลิแซคคาไรด์ด้วยเอนไซม์นั้นได้คัดเลือกตัวอย่างที่ผ่านการย่อยสลายจนมีระดับการย่อยสลายคิดเป็นปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดของตัวอย่างเนื้อแก้วมังกรแดงเท่ากับ 70.56 และเปลือกแก้วมังกรแดง เท่ากับ 44.54 mg glucose/ g FM เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมซึ่งไม่ผ่านการย่อยสลาย (control) ในการรายงานผลแบ่งตัวอย่างตามความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ( $p \leq 0.05$ ) ของระดับการย่อยสลายด้วยเอนไซม์โดยใช้ code ดังนี้ เนื้อแก้วมังกรแดงใช้code F0(control)(RS=22.39), F1(RS=25.61), F2(RS=58.54) และ F3(RS=70.56) ส่วนเปลือกแก้วมังกรแดงใช้code P0(control) (RS=10.63), P1(RS=20.35), P2(RS=32.73) และP3(RS=44.54)

##### 4.4.1 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

จากตารางที่ 4.8และ 4.9 พบว่าฤทธิ์ในการต้านการออกซิเดชันในเนื้อและเปลือกของแก้วมังกรแดงมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจากการวัดด้วยวิธี DPPH และ ABTS ที่ระดับการย่อยสลายโครงสร้างพอลิแซคคาไรด์สูงสุดจะพบว่ามีสารปลดปล่อยสารที่มีฤทธิ์ในการต้านการออกซิเดชันสูงกว่าที่ภาวะการย่อยสลายอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญ( $p \leq 0.05$ )ของทั้งในส่วนตัวอย่างเนื้อและเปลือกของแก้วมังกรแดง เป็นที่น่าสังเกตว่าที่ระดับการย่อยสลายตัวอย่างสูงสุด (F3,P3) มีค่าแอกทิวิตีของสารต้านการออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH เป็น 3 และ 8 เท่าของตัวอย่างควบคุม(1.05,2.71  $\mu\text{g FM}/\mu\text{g DPPH}$ ) ส่วนวิธีABTS เป็น 3 และ 7 เท่าของตัวอย่างควบคุม(1,029,110.41  $\mu\text{g Trolox equivalents/g FM}$ ) ตามลำดับ เมื่อพิจารณาจากค่า  $EC_{50}$  ที่ระดับการย่อยสลายสูงสุดของเนื้อและเปลือก มีค่าเป็น 0.15 และ 0.17  $\mu\text{g FM}/\mu\text{g DPPH}$  ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าวิธีการสกัดโดยใช้เอนไซม์ช่วยเพิ่มการสกัดสารต้านออกซิเดชันได้ดีกว่าการสกัดด้วยเมทานอล ดังรายงานของ Tachakittirungrod et al., 2007 ซึ่งพบว่าสารต้านออกซิเดชันในใบฝรั่งที่สกัดด้วยเมทานอลมีฤทธิ์



ต้านออกซิเดชันสูงกว่าสารต้านออกซิเดชันในใบฝรั่ง 3 เท่า ถ้าพิจารณาโดยรวมตัวอย่างเนื้อและเปลือกของแก้วมังกรแดง ที่มีระดับการย่อยสลายสูงสุด(F3และ P3) พบว่าฤทธิ์ในการต้านการออกซิเดชันด้วยวิธีABTS ของตัวอย่างเนื้อแก้วมังกรแดงคิดเป็น 9 เท่าของตัวอย่างเปลือก

#### 4.4.2 ปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

จากการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดพบว่าที่ระดับการย่อยสลายโครงสร้างพอลิแซคคาไรด์สูงสุดในเนื้อ(F3)และเปลือก(P3)แก้วมังกรแดง จะมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดคิดเป็น 8 และ 3 เท่าของตัวอย่างควบคุม(14.95,39.72 mg gallic acid equivalents/100 g Fm) ส่วนปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเป็น 10 และ 2 เท่าของตัวอย่างควบคุม(2.25,12.24 mg catechin equivalents /100gFM) ตามลำดับ แสดงผลดังตารางที่ 4.8 และ4.9 เมื่อเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างเนื้อ(F3)จะมีค่าสูงกว่าในตัวอย่างเปลือก(P3) คิดเป็น 1.11 เท่าแต่มีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในตัวอย่างเนื้อและเปลือกใกล้เคียงกัน ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Versari et al.,1997 พบว่าการสกัดสาร ฟีนอลิกในกลุ่ม ellagic acid และ quercetin ที่พบในสตรอเบอรี่และราสเบอร์รี่ด้วยเอนไซม์ทางการค้าก็พบว่าปริมาณสารเหล่านี้เพิ่มขึ้นหลังการย่อยสลายโครงสร้างของ พอลิแซคคาไรด์ด้วยเอนไซม์เช่นกัน รวมทั้งมีรายงานการเพิ่มปริมาณสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์หลังการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ใน น้ำมันมะกอก (Najafian และคณะ, 2009), pine(Lin และคณะ, 2009) และ pigconpea (Fu และคณะ, 2008) อธิบายได้ว่าเกิดจากการที่เอนไซม์ไปช่วยย่อยผนังเซลล์พืชและเพิ่มปริมาณสารสกัด รวมทั้งปลดปล่อยสารประกอบฟีนอลิกออกมาออกเซลล์มากขึ้น

ตารางที่ 4.8 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและฤทธิ์ในการต้านการออกซิเดชันในตัวอย่างเนื้อ  
แก้วมังกรแดง

Functional substances / RS	Hydrolysate level			
	F0(control) (RS = 22.39±0.65)	F1 (RS = 25.61±0.09)	F2 (RS = 58.54±0.02)	F3 (RS = 70.56±0.19)
DPPH (EC <sub>50</sub> : µg FM <sup>A</sup> / µg DPPH)	3.27±0.05	2.03±0.04	1.33±0.57	1.05±0.33
ABTS (µg TE <sup>B</sup> /g FM)	332.14±0.21	840.78±0.01	1,001.21±0.13	1,029±0.67
Total phenolics (mg GAE <sup>C</sup> /100g FM)	480.47±0.01	693.39±0.04	1,043.33±0.57	1,049.18±0.33
Total flavonoids (mg CE <sup>D</sup> /100g FM)	288.27±0.04	1,094±0.01	1,281.21±0.13	1,310.10±0.67

ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขในแนวนอนที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ(p≤0.05)

RS = reducing sugars, <sup>A</sup>FM= fresh mass, <sup>B</sup> TE=Trolox equivalents, <sup>C</sup> GAE=gallic acid equivalents, <sup>D</sup>CE=catechin equivalents

ตารางที่ 4.9 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและฤทธิ์ในการต้านการออกซิเดชันในตัวอย่างเปลือก  
แก้วมังกรแดง

Functional substances / RS	Hydrolysate level			
	P0(control) (RS = 10.63±0.99)	P1 (RS = 20.35±0.09)	P2 (RS = 32.73±0.02)	P3 (RS = 44.54±0.65)
DPPH (EC <sub>50</sub> : µg FM <sup>A</sup> / µg DPPH)	20.88±0.02	3.11±1.09	2.03±0.19	2.71±0.02
ABTS (µg TE <sup>B</sup> /g FM)	110.41±0.06	596.70±0.52	754.28±0.19	815.03±0.22
Total phenolics (mg GAE <sup>C</sup> /100g FM)	191.24±0.05	324.63±1.09	379.37±0.19	561.76±0.02
Total flavonoids (mg CE <sup>D</sup> /100g FM)	32.63±0.03	143.70±0.52	175.28±0.19	220.28±0.22

ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขในแนวนอนที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ( $p \leq 0.05$ )

RS = reducing sugars, <sup>A</sup>FM= fresh mass, <sup>B</sup>TE= Trolox equivalents, <sup>C</sup>GAE=gallic acid equivalents, <sup>D</sup>CE=catechin equivalents

#### 4.5 ผลของเอนไซม์ต่อปริมาณใยอาหาร ค่าแอกทิวิตีสารฟิโอบีโอดีค และเบต้าไซยานิน ของเปลือกและเนื้อแก้วมังกรแดง

##### 4.5.1 ปริมาณใยอาหาร

จากตารางที่ 4.10 พบว่าปริมาณใยอาหารทั้งหมดในเนื้อและเปลือก(F0,P0) เทียบกับในเนื้อ (F3) และเปลือก (P3)ของแก้วมังกรแดง พบว่ามีปริมาณใยอาหารทั้งหมด (TDF)ในทุกตัวอย่างไม่เปลี่ยนแปลง สำหรับปริมาณใยอาหารที่ละลายน้ำ (SDF) จะเพิ่มขึ้นในทั้งตัวอย่าง F3 และ P3 จาก 0.90 เป็น 1.63 (เพิ่มขึ้น 81 %) และ 1.93 เป็น 3.53 g / 100g FM (เพิ่มขึ้น 83%) ตามลำดับ เป็นที่สังเกตว่าการเพิ่มขึ้นของปริมาณ ใยอาหารที่ละลายน้ำในตัวอย่างเปลือกจะสูงกว่ากรณีของตัวอย่างเนื้อแก้วมังกรแดงถึง 100% ทั้งนี้เป็นผลมาจากเอนไซม์หลายชนิดใน Pectinex Ultra SP-L<sup>®</sup> ย่อยสลายสารประกอบเพกตินในเนื้อและเปลือกของแก้วมังกรแดง โดยเอนไซม์ เพกทินเอสเทอร์เรส (PE) ทำหน้าที่ดึงหมู่เมทิลออกจากสารประกอบเพกติน ส่วนเอนไซม์ พอลิกลาแลกทูโรเนส (PG) จะไฮโดรไลซ์พันธะไกลโคซิดระหว่างกรดกลูโคนิกของสารประกอบเพกตินทำให้เพกตินที่เป็นผลผลิตจากการย่อยสลายมีขั้วเพิ่มมากขึ้น จึงเปลี่ยนสภาพจากเพกตินที่ละลายน้ำได้น้อยไปเป็นสารประกอบเพกตินที่ละลายน้ำได้สูงขึ้น (Kashyapและคณะ,2001) สอดคล้องกับผลการทดลองในตัวอย่างมะตูมสุกที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์แล้วเช่นกัน (Charoensidhi และ Anprung,2009)

ตารางที่ 4.10 ปริมาณใยอาหารทั้งหมดในตัวอย่างเนื้อและเปลือกแก้วมังกรแดง

Total dietary fiber (g / 100g FM)	Hydrolysate level			
	Flesh		Peel	
	F0(control) (RS = 22.39±0.65)	F3 (RS = 70.56±0.19)	P0(control) (RS = 10.63±0.99)	P3 (RS = 44.54±0.65)
Total dietary fiber	2.50 <sup>b</sup> ±0.06	2.61 <sup>b</sup> ± 0.03	3.62 <sup>a</sup> ±0.01	3.72 <sup>a</sup> ± 0.05
- Soluble dietary fiber	0.90 <sup>d</sup> ±0.02	1.63 <sup>c</sup> ± 0.01	1.93 <sup>b</sup> ±0.05	3.53 <sup>a</sup> ± 0.03
- Insoluble dietary fiber	1.67 <sup>a</sup> ±0.03	0.98 <sup>b</sup> ± 0.01	1.69 <sup>a</sup> ±0.07	0.19 <sup>c</sup> ± 0.08

ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

FM คือ fresh mass

ค่าตัวเลขในแนวนอนที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ( $p \leq 0.05$ )

#### 4.5.2. ค่าแอกทิวิตีสารพรีไบโอติก

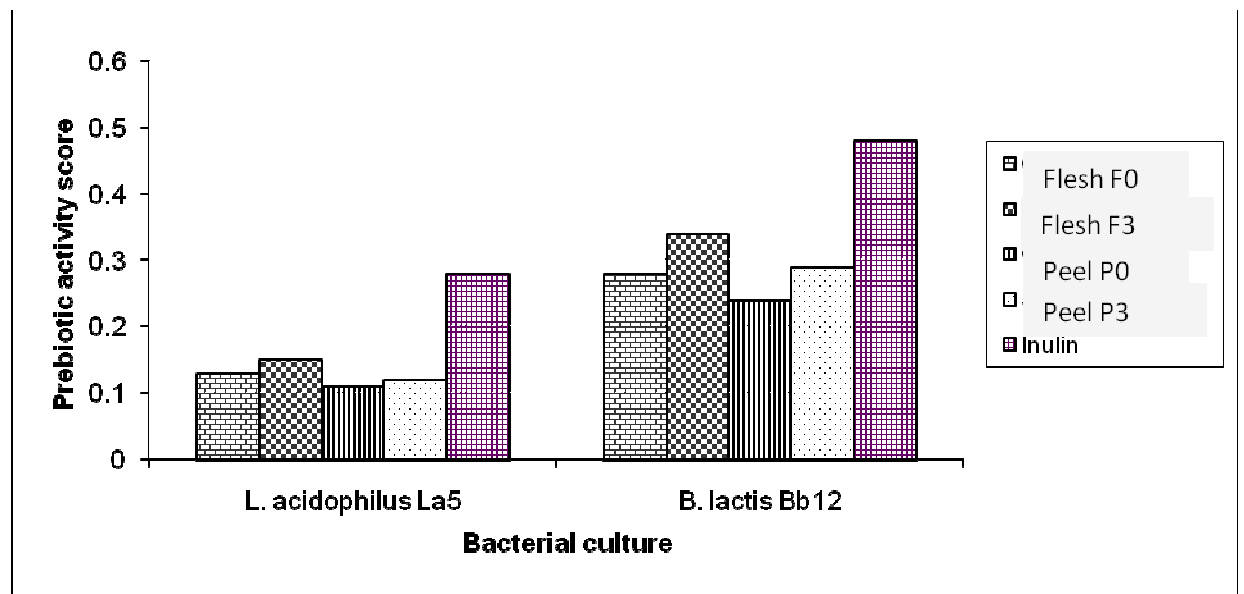
สารพรีไบโอติก หมายถึงสารประกอบชีวภาพ เช่น inulin ,oligofructose หรือ คาร์โบไฮเดรตอื่นๆ ที่ช่วยส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียที่เป็นจุลินทรีย์สุขภาพ หรือโพรไบโอติก คือ *L. acidophilus* La5 และ *B. lactis* Bb12 ผลการเปรียบเทียบปริมาณเซลล์จุลินทรีย์ทั้ง 2 ชนิด หลังจากเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีส่วนผสมของสารพรีไบโอติกชนิดต่างๆคือ inulin ตัวอย่าง เนื้อและเปลือกของแก้วมังกรแดง F0 ,F3 ,P0 และP3 กับอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีส่วนผสมของ สารพรีไบโอติก (glucose) ใน 24 ชั่วโมง ดังตารางที่ 4.11 พบว่าปริมาณเซลล์จุลินทรีย์ของ *L. acidophilus* La5 และ *B. lactis* Bb12 ที่เลี้ยงในอาหารที่มี inulin และตัวอย่าง F3 สูงกว่าภาวะ อื่นๆอย่างมีนัยสำคัญ( $p \leq 0.05$ ) และยังพบว่าปริมาณเซลล์จุลินทรีย์pathogen(*E. coli*)ที่เลี้ยงใน อาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีส่วนผสมของสารพรีไบโอติก(glucose) สูงกว่าในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี ส่วนผสมของสารพรีไบโอติกทุกชนิดที่ศึกษาอย่างมีนัยสำคัญ( $p \leq 0.05$ ) และสามารถนำข้อมูลใน ตารางที่4 ไปคำนวณหาค่าคะแนนแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติก (prebiotic activity score)แสดง ในรูปที่ 3 พบว่า prebiotic activity score ของสารพรีไบโอติกทุกชนิดมีผลต่อการเพิ่มปริมาณ เซลล์จุลินทรีย์ *B. lactis* Bb12 มากกว่า *L. acidophilus* La5 ทั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าจุลินทรีย์ทั้ง 2 ชนิดมี ขีดความสามารถแตกต่างกันในด้านความจำเพาะในการย่อยสลายและระบบการถ่ายโอนสารพรี ไบโอติกสำหรับการเจริญเติบโตของเซลล์จุลินทรีย์ ( Huebner et al., 2007) เป็นที่สังเกตว่าค่า prebiotic activity score ของสารพรีไบโอติกในทุกตัวอย่างที่ผ่านการย่อยสลายมีค่าสูงกว่าทุก ตัวอย่างที่ไม่ผ่านการย่อยสลายเมื่อใช้สำหรับการเจริญของโพรไบโอติกทั้ง 2 ชนิดอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ 4.11 ปริมาณจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นในระหว่าง 0 และ 24 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยง เชื้อที่มีคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกัน

Bacterial culture	Cell density [ $\log_{10}$ (cfu/ml)]					
			Flesh		Peel	
	Glucose	Inulin	F0 (RS = 22.39)	F3 (RS = 70.56)	P0 (RS = 10.63)	P3 (RS = 44.54)
<i>L. acidophilus</i> La5	1.99 <sup>c</sup> ±0.01	2.23 <sup>a</sup> ±0.01	2.18 <sup>b</sup> ±0.03	2.25 <sup>a</sup> ±0.02	2.01 <sup>c</sup> ±0.02	2.17 <sup>b</sup> ±0.04
<i>B. lactis</i> Bb12	2.01 <sup>d</sup> ±0.06	2.66 <sup>a</sup> ±0.03	2.51 <sup>b</sup> ±0.02	2.65 <sup>a</sup> ±0.04	2.27 <sup>c</sup> ±0.05	2.53 <sup>b</sup> ±0.03
<i>E. coli</i> ATCC 29922	2.03 <sup>a</sup> ±0.02	1.71 <sup>a</sup> ±0.05	1.97 <sup>c</sup> ±0.04	1.99 <sup>b</sup> ±0.03	1.81 <sup>d</sup> ±0.02	1.96 <sup>c</sup> ±0.01

ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

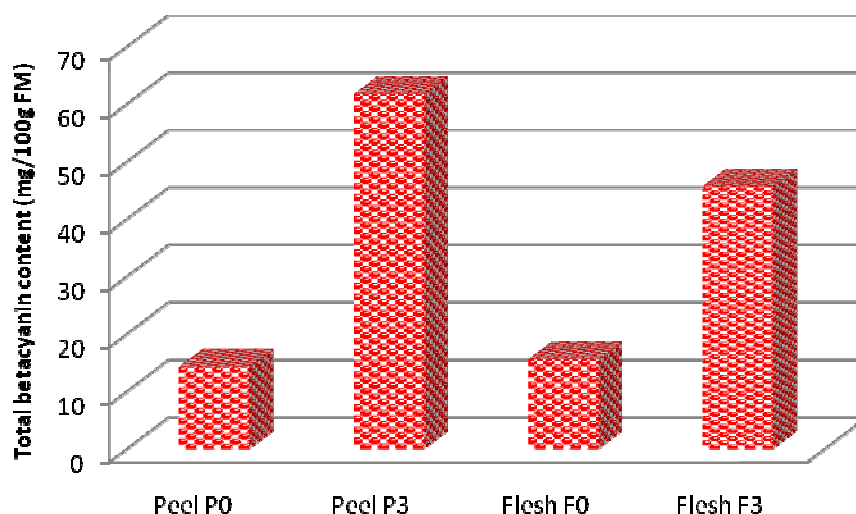
ค่าตัวเลขในแนวนอนที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ( $p \leq 0.05$ )



รูปที่ 4.9 Prebiotic activity score ของ *L. acidophilus* La5 และ *B. lactis* Bb12 ที่เลี้ยงในสารพีไบโอติกแตกต่างกัน

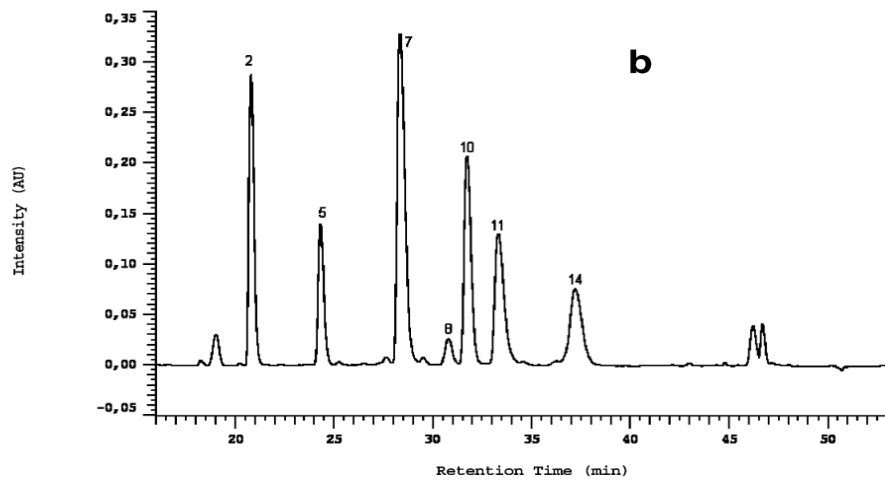
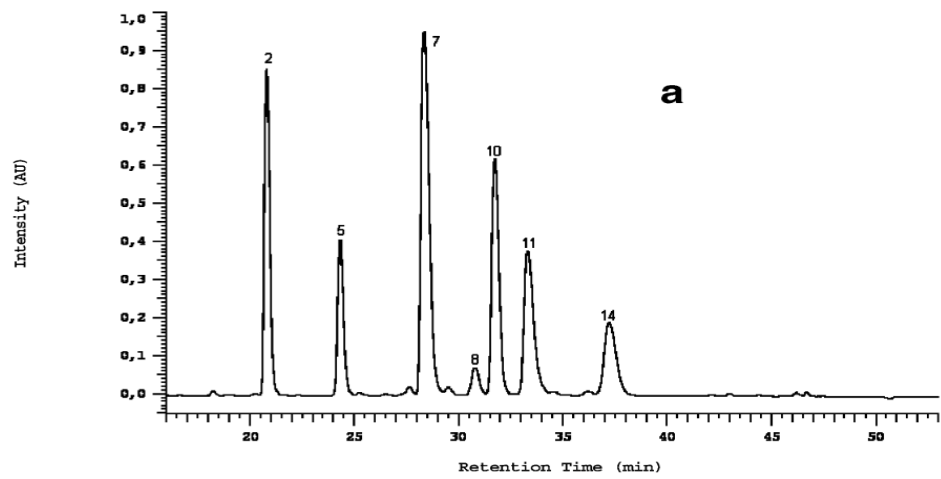
#### 4.5.3 ปริมาณเบต้าไซยานิน

ปริมาณเบต้าไซยานินที่พบในตัวอย่างเนื้อ และเปลือกแก้วมังกรแดงที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ในระดับ F3 และ P3 ดังรูปที่ 4.10 พบว่ามีปริมาณเบต้าไซยานินเพิ่มขึ้นจาก 15.53 เป็น 45.66 และ 14.27 เป็น 61.65 mg/100gFM ตามลำดับ และในตัวอย่างเปลือก(P3) มีปริมาณเบต้าไซยานินสูงกว่าในเนื้อ(F3)ถึง 1.35 เท่า ซึ่งปรากฏการณ์นี้เกิดจากการที่เอนไซม์เซลลูเลสทำปฏิกิริยากับเซลลูโลสที่อยู่ในผนังชั้นนอกใต้ชั้นแรกของ middle lamella ของผนังเซลล์พืช ที่ผนังชั้นนอกประกอบด้วยโครงร่างที่แข็งของเซลลูโลสตรังใน gel-like matrix ของสารประกอบเพกติก เฮมิเซลลูโลส และไกลโคโปรตีน ในส่วนเนื้อเยื่อที่เป็นเซลลูโลส เอนไซม์จะเข้าไปย่อยสลายเนื้อเยื่อดังกล่าวจนได้ผลผลิตเป็น กลูโคส เซลโลไบโอส และโพลีเมอร์ของกลูโคส สำหรับการสกัดด้วยเอนไซม์กลุ่มเพกติเนสนี้ เคยมีรายงานว่า สามารถเพิ่มปริมาณไลโคปีนในเปลือกมะเขือเทศที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์จาก 96.30 เป็น 138.67  $\mu\text{g/g}$  หรือ 1.43 เท่าของตัวอย่างควบคุม (Choudhari และ Ananthanarayan, 2007) ซึ่งเป็นผลมาจากบทบาทของเอนไซม์ในการสลายเนื้อเยื่อในชั้นมิดเดิลลามิลาและปลดปล่อยรงควัตถุในสภาพธรรมชาติดังที่กล่าวไว้ข้างต้น



รูปที่ 4.10 ปริมาณเบต้าไซยานินจากเปลือก (P0, P3) และเนื้อแก้วมังกรแดง (F0, F3)

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบ และปริมาณของเบต้าไซยานินในตัวอย่างเนื้อ(F3) และตัวอย่างเปลือก (P3) ของแก้วมังกรแดง ด้วยวิธี HPLC ดังแสดงในรูปที่ 4.11 และตารางที่ 4.12 พบว่าทั้งตัวอย่างเนื้อและเปลือกแก้วมังกรแดงมีองค์ประกอบหลักของเบต้าไซยานินจำนวน 7 ชนิด ไม่แตกต่างกันคือBetanidin5-O-β-glucoside(betanin)(peak 2), 17Decarboxyisobetanin (peak 6), Betanidin 5-O-(6'-O-malonyl)-β-glucoside (phyllocatin) (peak 7), Betanidin 5-O-(6'-O-3-hydroxybutyryl)-β-glucoside(peak8),Betanidin5-O-(6'-O-3-hydroxy-3-methyl-glutaryl)-β-glucoside (hylocerenin) (peak 10), Isobetanidin 5-O-(6'-O-malonyl)- β-glucoside (isophyllocactin) (peak 11) และ Isobetanidin 5-O-(6'-O-3-hydroxy-3-methyl-glutaryl)- β-glucoside(isohylocerenin)(peak 14) ซึ่งองค์ประกอบของเบต้าไซยานินทั้ง 7 ชนิด นี้ พบว่าเป็นชนิดเดียวกันกับองค์ประกอบของเบต้าไซยานินที่พบในแก้วมังกรแดงจากประเทศอิสราเอล ตามรายงานของ Herbach และคณะ, 2006



รูปที่ 4.11 HPLC chromatographs ของเบต้าไซยานิน จาก flesh, F3 (a) and peel P3 (b) ของแก้วมังกรแดง

ตารางที่ 4.12 High-performance liquid chromatography-diode-array detection (HPLC-DAD) and liquid-chromatography-mass spectrometry (LC-MS) ของเบต้าไซยานิน จาก flesh, F3 (a) and peel, P3 (b) ของแก้วมังกรแดง

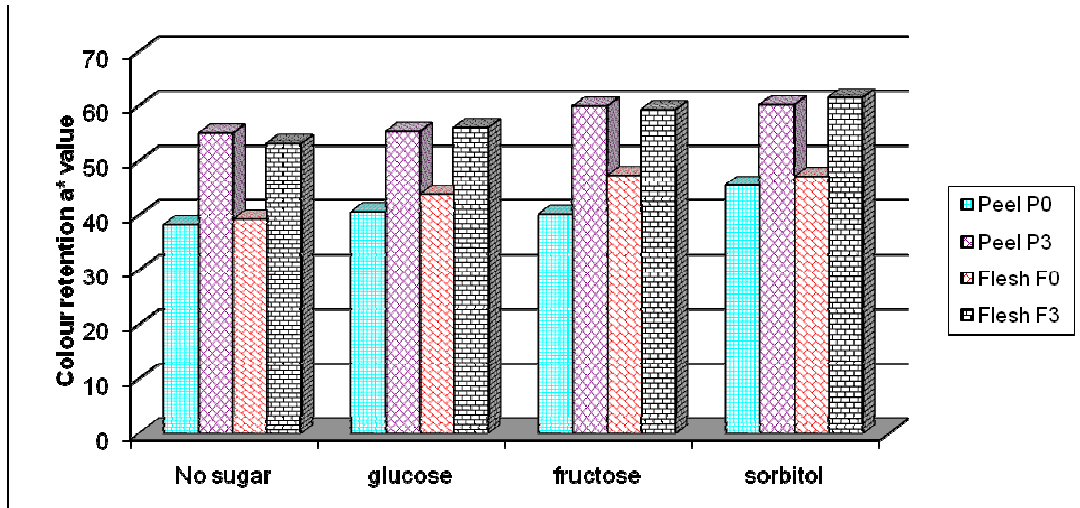
Peak number	Name/proposed name (trivial name)	Retention Time(min)	HPLC-DAD $\lambda_{max}$ (nm)
1	<i>Cyclo</i> -dopa 5-O- $\beta$ -glucoside	7.4	285
2	Betanidin 5-O- $\beta$ -glucoside(betanin)	20.6	538
3	17-Decarboxybetanin	22.1	505
4	Betalamic acid	23.0	410
5	Isobetanidin 5-O- $\beta$ -glucoside(isobetanin)	24.2	538
6	17-Decarboxyisobetanin	26.1	505
7	Betanidin 5-O-(6'-O-malonyl)- $\beta$ -glucoside (phyllocatin)	28.3	538
8	Betanidin 5-O-(6'-O-3-hydroxybutyryl)- $\beta$ -glucoside	30.6	535
9	15-Decarboxybetanin	31.1	538
10	Betanidin 5-O-(6'-O-3-hydroxy-3-methyl-glutaryl)- $\beta$ -	31.6	538
11	glucoside (hylocerenin)	33.2	538
12	Isobetanidin 5-O-(6'-O-malonyl)- $\beta$ -glucoside	33.3	454
13	(isophyllocactin)	36.1	487
14	Neobetatin, decarboxylated	37.0	536
	Neobetatinidin 5-O- $\beta$ -glucoside (neobetatin)		
	Isobetanidin 5-O-(6'-O-3-hydroxy-3-methyl-glutaryl)- $\beta$ -glucoside(isohylocerenin)		



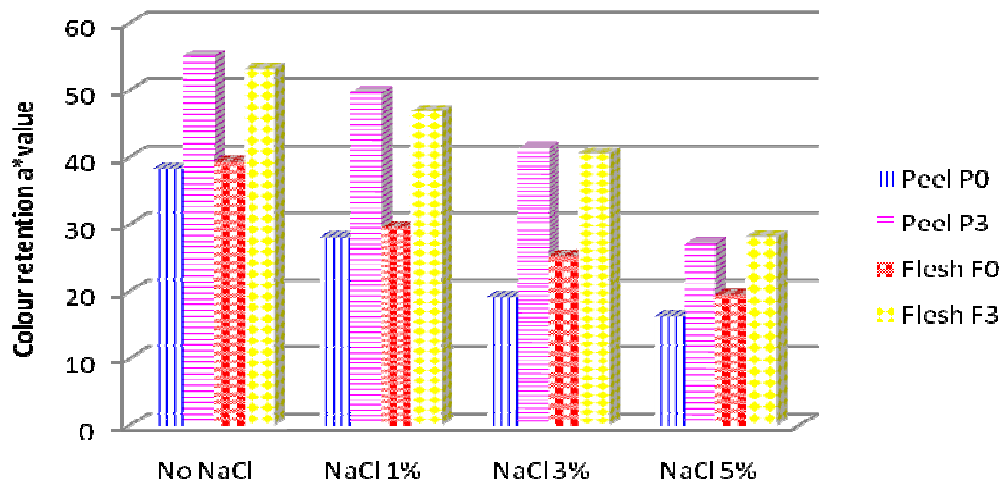
#### 4.6 ผลของน้ำตาล กรด เกลือ และไฮโดรคอลลอยด์ ต่อเสถียรภาพของสีเบต้าไซยานิน

##### 4.6.1 ผลของน้ำตาลต่อเสถียรภาพของสีเบต้าไซยานิน

จากการวิเคราะห์เสถียรภาพของสีของเบต้าไซยานิน ในค่า  $a^*$  ของตัวอย่างเนื้อ (F0 และ F3) และเปลือก (P0 และ P3) ของแก้วมังกรแดง ที่มีการเติมน้ำตาลชนิดต่างๆ คือ กลูโคส ฟรุกโตส และซอร์บิทอล เปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่เติมน้ำตาล หลังจากเก็บไว้ 7 วัน พบว่าค่าสี  $a^*$  ในตัวอย่างแก้วมังกรแดงทั้ง 4 ชนิด (F0, F3, P0 และ P3) ที่มีการเติมน้ำตาลมีค่าสูงกว่าตัวอย่างควบคุม ซึ่งไม่มีการเติมน้ำตาล ขณะเดียวกันค่า  $a^*$  ในตัวอย่างที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ (P3 และ F3) สูงกว่าค่า  $a^*$  ในตัวอย่างที่ไม่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ (P0 และ F0) อย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ดังรูปที่ 4.12 จะเห็นว่าการเติมน้ำตาลกลูโคส ฟรุกโตส และซอร์บิทอล ในตัวอย่างเปลือก P0, P3 และตัวอย่างเนื้อ F0, F3 จะช่วยรักษาเสถียรภาพของสีของเบต้าไซยานิน คิดในค่าของ  $a^*$  ที่เพิ่มขึ้นในช่วงตั้งแต่ 6-9 และ 4-13% ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างชนิดของน้ำตาลแล้วพบว่าซอร์บิทอลมีผลต่อการรักษาเสถียรภาพได้ดีที่สุด อธิบายได้ว่าในการเติมน้ำตาลจะทำให้ค่า water activity ในตัวอย่างต่ำลง เนื่องจากน้ำตาลจะไปแย่งจับกับน้ำที่มีอยู่ในโมเลกุล ซึ่งในสีของเบต้าไซยานิน จะแสดงค่าความคงตัวสูงที่ water activity ต่ำ (ค่าความคงตัวของสีจะลดลง 1 order ของ magnitude เมื่อ water activity เพิ่มขึ้น) ในความเป็นจริง ปฏิกริยาของการสลายตัวของเบต้าไซยานินเกี่ยวข้องกับน้ำ ในปรากฏการณ์ตามธรรมชาติจะส่งเสริมโดยการใช้ระบบ water – glucose ซึ่งจะไปช่วยลดการสลายตัว โดยการลดค่า water activity ลง (Vargas และคณะ, 2000) นอกจากนี้พบว่า การเติมน้ำตาลกลูโคสลงไปในตัวอย่งแก้วมังกรแดงที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ (F3) จะเพิ่มค่าสี  $a^*$  ได้สูงสุดจาก 53.12 ไปเป็น 55.59 ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาการเพิ่มค่าสีแดงของเบต้าไซยานินในบีทรูทที่มีการเติมน้ำตาลกลูโคส โดยค่าสี  $a^*$  เพิ่มจาก 35.53 ไปเป็น 44.41 ตามรายงานของ Pedreno และ Escribano, 2001



รูปที่ 4.12 ผลของน้ำตาล กลูโคส ฟรุคโตส และซอร์บิทอลต่อความคงตัวของเบต้าไซยานิน จาก peel (P0, P3) และ flesh (F0, F3)



รูปที่ 4.13 ผลของความเข้มข้นของเกลือ โซเดียมคลอไรด์ต่อความคงตัวของเบต้าไซยานิน จาก peel (P0, P3) และ flesh (F0, F3)

#### 4.6.2 ผลของเกลือโซเดียมคลอไรด์ต่อเสถียรภาพของสีเบต้าไซยานิน

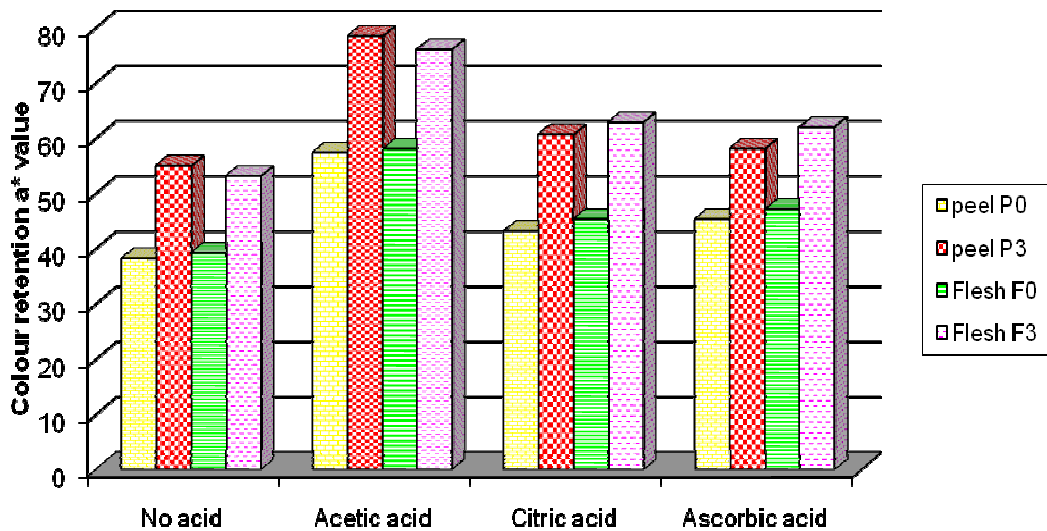
จากผลการติดตามผลกระทบของการเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นในช่วง 1% - 5% โดยน้ำหนัก ต่อการรักษาเสถียรภาพของสีของเบต้าไซยานินของตัวอย่างเนื้อ (F0และF3)และเปลือก (P0 และP3) ของแก้วมังกรแดง คิดในค่า  $a^*$  พบว่า โซเดียมไอออนในโซเดียมคลอไรด์มีผลให้ค่า  $a^*$  ลดลงในทุกตัวอย่างที่ศึกษา ขณะเดียวกันค่า  $a^*$  ในตัวอย่างที่ผ่านการย่อยสลายด้วย

เอนไซม์ (P3 และ F3) สูงกว่าค่า  $a^*$  ในตัวอย่างที่ไม่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ (P0 และ F0) อย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ดังรูปที่ 4.13 อธิบายได้ว่าปรากฏการณ์นี้เกิดจากไอออนบวกของเกลือ ( $\text{Na}^+$ ) จะไปช่วยเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของเบตานิโนซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของเบต้าไฮยานิน ทำให้เกิดเป็น betalamic acid และ cyclodopa-5-Oglycoside ซึ่งเป็นโครงสร้างที่ไม่คงตัว (Henry และคณะ, 1992) นอกจากนี้ยังมีรายงานผลกระทบของเกลือโซเดียมคลอไรด์ต่อเสถียรภาพของสีของรงควัตถุอื่น เช่น แอนโทไซยานินใน elderberry และ black currant พบว่าค่าความเป็นสีแดงของแอนโทไซยานิน ลดลง 32%, 42% และ 55% ของตัวอย่างควบคุม (60%) ที่ความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์เป็น 1%, 3% และ 5% ตามลำดับ ตามรายงานของ Hubbermann และคณะ, 2006.

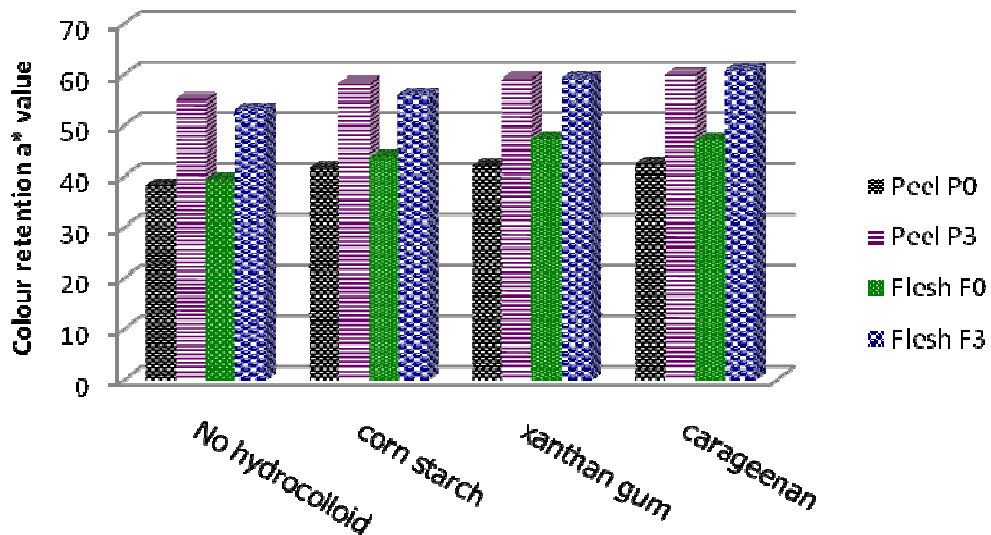
#### 4.6.3 ผลของกรดต่อเสถียรภาพของสีเบต้าไฮยานิน

จากการวิเคราะห์เปรียบเทียบเสถียรภาพของสีของเบต้าไฮยานินของตัวอย่างเนื้อ (F0 และ F3) และเปลือก (P0 และ P3) ของแก้วมังกรแดง ที่มีการเติมกรดชนิดต่างๆ คือ กรดอะซิติก กรดซิตริก และ กรดแอสคอร์บิกเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่เติมกรด หลังจากเก็บไว้ 7 วัน วัดค่าสี  $a^*$  ของทุกตัวอย่างพบว่า ค่าสี  $a^*$  ในชุดตัวอย่างแก้วมังกรแดงทั้ง 4 ชนิด (F0, F3, P0 และ P3) ที่มีการเติมกรด มีค่าสูงกว่าชุดตัวอย่างควบคุม ซึ่งไม่มีการเติมกรด ขณะเดียวกันค่า  $a^*$  ในตัวอย่างที่ไม่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ (P3 และ F3) สูงกว่าค่า  $a^*$  ในตัวอย่างที่ไม่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ (P0 และ F0) อย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ดังรูปที่ 4.14 และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างชนิดของกรดต่อการเปลี่ยนแปลงของค่า  $a^*$  ของทุกตัวอย่างพบว่า กรดอะซิติก มีผลต่อการรักษาเสถียรภาพของสีของเบต้าไฮยานินได้ดีกว่ากรดชนิดอื่นที่ศึกษา สำหรับในตัวอย่างเปลือก P0, P3 และตัวอย่างเนื้อ F0, F3 ค่าของ  $a^*$  เพิ่มขึ้น 1.5, 1.6, 1.4 และ 1.7 เท่าของตัวอย่างควบคุม ตามลำดับ อธิบายได้ว่าการเติมกรดที่มีค่า  $pK_a$  สูง ( $pK_a$  value acetic acid : 4.76) ทำให้ปฏิกิริยาที่เกิดจากการรวมตัวกับน้ำ (hydration) ในระบบเกิดขึ้นช้าลง แต่ถ้าเป็นกรดที่มีค่า  $pK_a$  ต่ำกว่าเช่น กรดซิตริก  $pK_a$  value = 3.09 และ แอสคอร์บิก  $pK_a$  value = 2.98 จะยิ่งเร่งทำให้ปฏิกิริยาที่เกิดจากการรวมตัวกับน้ำเร็วขึ้น ส่งผลให้สีสูญเสียเร็วขึ้น ในการทดลองนี้ไอออนบวกของ กรดอะซิติกจะไปอยู่ที่ตำแหน่ง C-11 ซึ่งเป็นคาร์บอนอะตอมที่อยู่ใกล้กับ quaternary amino nitrogen ส่งผลให้โครงสร้างของเบตานิโนตรงตำแหน่งดังกล่าวสัมผัสกับอะตอมของน้ำช้าลง จึงทำให้ลดการสลายโครงสร้างไปเป็น betalamic acid and cyclodopa-5-Oglycoside ซึ่งเป็นโครงสร้างที่ไม่คงตัวช้าลง (Cai และคณะ, 1998) ถ้าจะพิจารณาในผลของกรดแอสคอร์บิก เข้มข้น 0.2 M, pH 3.9 ต่อการเพิ่มค่าสี  $a^*$  ในตัวอย่างแก้วมังกรแดงที่ไม่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ (F3) พบว่ามีค่าเพิ่มขึ้นสูงสุดจาก 53.12 ไป

เป็น 61.97 ซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกับการเพิ่มค่าสีแดงของเบต้าไซยานินในบีทรูทที่มีการเติมกรดแอสคอร์บิกที่ความเข้มข้นเดียวกันโดยค่าสีเพิ่มจาก 35.48 ไปเป็น 55.23 (Vargas และคณะ, 2000)



รูปที่ 4.14 ผลของกรดซิติค กรดซิตริก และ กรดแอสคอร์บิก ต่อความคงตัวของเบต้าไซยานิน จาก peel (P0, P3) และ flesh (F0, F3)



รูปที่ 4.15 ผลของสารไฮโดรคอลลอยด์ต่อความคงตัวของเบต้าไซยานิน จาก peel (P0, P3) และ flesh (F0, F3)

#### 4.6.4 ผลของสารไฮโดรคอลลอยด์ต่อเสถียรภาพของสีเบต้าไซยานิน

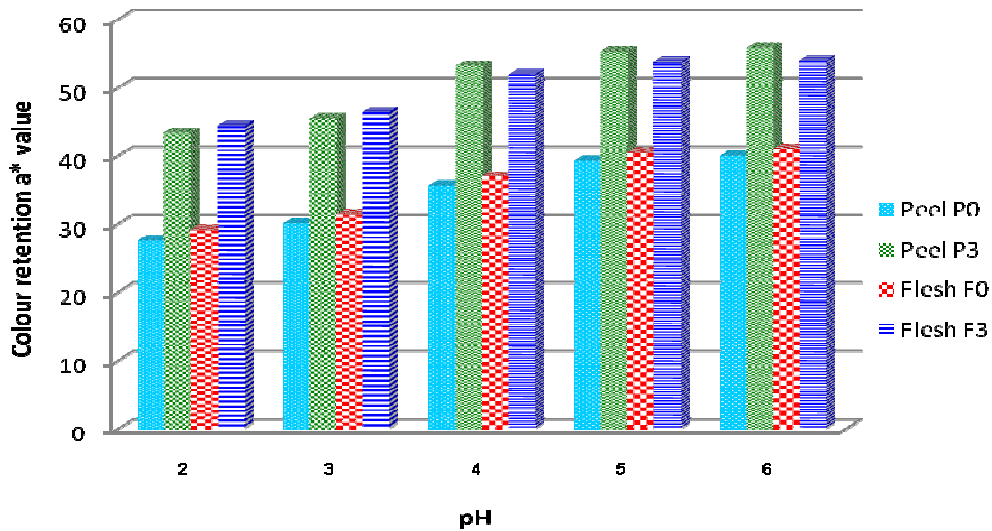
จากการติดตามผลของ hydrocolloids (corn starch, xanthan gum และ carrageenan) ต่อเสถียรภาพของสีของเบต้าไซยานินของตัวอย่างเนื้อ (F0และF3)และเปลือก(P0 และP3)ของแก้วมังกรแดง คิดในค่าของ  $a^*$  เปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่เติมสาร hydrocolloids หลังจากเก็บไว้ 7 วัน พบว่าค่าสี  $a^*$  ในตัวอย่างแก้วมังกรแดงทั้ง 4 ชนิด(F0, F3, P0 และP3)ที่มีการเติมสาร hydrocolloids มีค่าสูงกว่าตัวอย่างควบคุม ซึ่งไม่มีการเติมสาร hydrocolloids ขณะเดียวกันค่า  $a^*$  ในตัวอย่างที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ (P3 และ F3) สูงกว่าค่า  $a^*$  ในตัวอย่างที่ไม่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ (P0 และ F0) อย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ดังรูปที่ 4.15 และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างชนิดของสาร hydrocolloids ต่อการเปลี่ยนแปลงของค่า  $a^*$  ของทุกตัวอย่างพบว่า carrageenan มีผลต่อการรักษาเสถียรภาพของสีของเบต้าไซยานินได้ดีกว่าสาร xanthan gum และ corn starch ที่ศึกษา ที่เป็นเช่นนี้สามารถอธิบายได้ว่าการเติม hydrocolloids จะทำให้ carboxylic group ของ colloids ไปจับกับเบต้าไซยานิน ซึ่งไปป้องกันการจับกับน้ำที่เป็นสาเหตุทำให้เบต้าไซยานินเกิดการสลายตัว จึงมีผลต่อการรักษาเสถียรภาพของเบต้าไซยานินไว้(Azeredo และคณะ, 2007) นอกจากนี้พบว่า การเติม carrageenan ในตัวอย่างแก้วมังกรแดงที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ (F3) จะเพิ่มค่าสี  $a^*$  ได้สูงสุดจาก 53.12 ไปเป็น 60.76 ซึ่งมีทิศทางที่ไม่แตกต่างกับการเพิ่มค่าสีแดงของเบต้าไซยานินใน cactus pear ที่มีการเติม carrageenan โดยค่าสี  $a^*$  เพิ่มจาก 35.53 ไปเป็น 39.08 ตามรายงานของ Mobhammer และคณะ, 2005

#### 4.7 ผลของpH อุณหภูมิ และแสงต่อเสถียรภาพของสีเบต้าไซยานิน

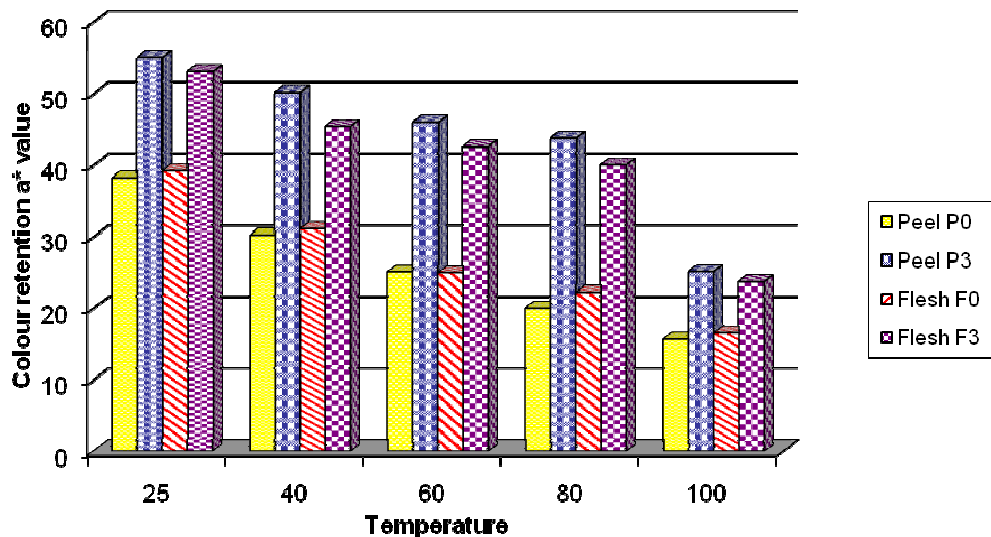
##### 4.7.1 ผลของ pH ต่อเสถียรภาพของสีเบต้าไซยานิน

จากการติดตามผลของระดับ pH ในช่วง 2- 6 ต่อเสถียรภาพของสีของเบต้าไซยานินในตัวอย่างเนื้อ (F0และF3)และเปลือก(P0 และP3)ของแก้วมังกรแดง หลังจากเก็บไว้ 7 วัน คิดในค่าของ  $a^*$  พบว่า ในตัวอย่างเปลือก(P3)ของแก้วมังกรแดง มีค่าความเป็นสีแดงของเบต้าไซยานิน ที่ pH 2, 3, 4, 5 และ 6 เป็น 43.34, 45.45, 53.19, 55.26 และ 55.76 ซึ่งมีค่าสูงกว่าค่าความเป็นสีแดงจากตัวอย่างอื่นๆที่ระดับ pH เดียวกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) นอกจากนี้พบว่า optimum pH stability ของทุกตัวอย่างมีค่า pH อยู่ในช่วงเดียวกันที่ 4-6 ดังรูปที่ 4.16 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเบต้าไซยานินในตัวอย่างที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ ไม่ได้ถูกกระทบกระเทือนและยังคงเป็นรูปเดียวกับเบต้าไซยานินที่อยู่ในธรรมชาติ (P0 และ F0) นอกจากนี้ยังพบว่าในช่วง pH ที่ใกล้เคียงกันกับช่วง pH ที่แสดงเสถียรภาพสูงสุดของสีเบต้าไซยานินในแก้วมังกรแดงจากประเทศอิสราเอล(pH

4.5-5.5) แต่กว้างกว่า pH ที่แสดงเสถียรภาพสูงสุดของสีเบต้าไซยานินที่พบในแก้วมังกรแดงจากประเทศ ใต้หวัน(pH 5) และในบัตูท(pH 5.5) ตามรายงานของ Pedreno และ Escribano, 2001; Wu และคณะ, 2006 และ Stintzing และCarle, 2007.



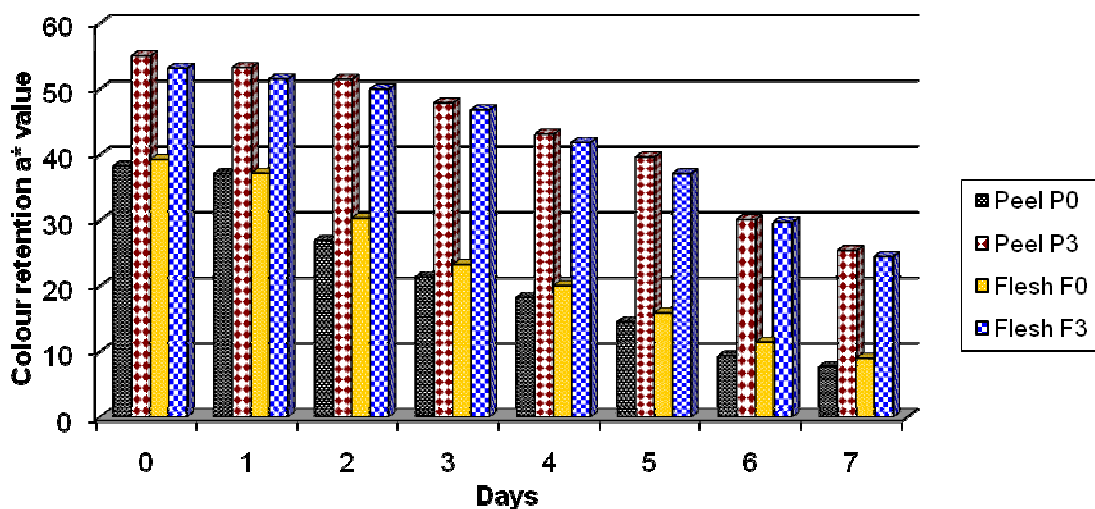
รูปที่ 4.16 ผลของ pH ต่อความคงตัวของเบต้าไซยานิน จาก peel (P0, P3) และ flesh (F0, F3)



รูปที่ 4.17 ผลของอุณหภูมิต่อความคงตัวของเบต้าไซยานิน จาก peel (P0, P3) และ flesh (F0, F3)

#### 4.7.2 ผลของอุณหภูมิต่อเสถียรภาพของสีเบต้าไซยานิน

จากผลการติดตามผลกระทบของอุณหภูมิ (25, 40, 60, 80 และ 100 °C) ต่อการรักษาเสถียรภาพของสีของเบต้าไซยานินของตัวอย่างเนื้อ (F0 และ F3) และเปลือก (P0 และ P3) ของแก้วมังกรแดง คิดในค่าของ  $a^*$  พบว่าเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นตลอดช่วง 25 - 100 °C มีผลทำให้ค่า  $a^*$  ลดลงในทุกตัวอย่างที่ศึกษาดังรูปที่ 4.17 ทั้งนี้อธิบายได้ว่า เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น จะไปเร่งทำให้เบต้าไซยานินที่เป็นโครงสร้างหลักของเบต้าไซยานินสลายตัวได้เป็นโครงสร้าง 2 ชนิด คือ betalamic acid และ cyclodopa-5-Oglycoside ซึ่งเป็นโครงสร้างที่ไม่คงตัว (Herbach และคณะ, 2004) และเมื่อพิจารณาเสถียรภาพของสีของเบต้าไซยานินคิดในค่าของ  $a^*$  พบว่าทั้งในตัวอย่างเนื้อและเปลือกของแก้วมังกรแดงที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ (F3 และ P3) มีเสถียรภาพของสีสูงกว่าในทุกตัวอย่างที่ไม่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ (F0 และ P0) ตลอดทุกช่วงอุณหภูมิอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ทั้งนี้เป็นเพราะว่าความหนาแน่นของเบต้าไซยานินที่ถูกปลดปล่อยในตัวอย่างที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ (F3 และ P3) สูงกว่าตัวอย่างที่ไม่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ (F0 และ P0) ซึ่งมีผลให้ค่า water activity ต่ำกว่า ตัวอย่าง F0 และ P0 ค่า water activity ต่ำจะช่วยลดการสลายตัวของเบต้าไซยานิน (Vargas และคณะ, 2000) เมื่อพิจารณาเสถียรภาพของเบต้าไซยานินที่อุณหภูมิ 100 °C พบว่าตัวอย่างแก้วมังกรแดงที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ (P3 และ F3) มีค่า  $a^*$  ลดลงเหลือ 25.16 และ 23.71 ตามลำดับ ซึ่งเป็นปรากฏการณ์เดียวกันกับการสูญเสียค่าสีแดงของเบต้าไซยานินของตัวอย่างเปลือกแก้วมังกรแดงสายพันธุ์มาเลเชีย (ลดลง จาก 38.46 เป็น 18.23) ตามรายงานของ Harivaindaran และคณะ, 2008



รูปที่ 4.18 ผลของการสัมผัสแสง 10 ชม.ต่อวัน ต่อความคงตัวของเบต้าไซยานิน จาก peel (P0, P3) และ flesh (F0, F3)

#### 4.7.3 ผลของแสงต่อเสถียรภาพของสีเบต้าไซยานิน

จากการติดตามอิทธิพลของแสง (fluorescence constant irradiance of  $6 \text{ Wm}^{-2}$ ) ต่อเสถียรภาพของสีของเบต้าไซยานินของตัวอย่างเนื้อ (F0 และ F3) และเปลือก (P0 และ P3) ของแก้วมังกรแดง คิดในค่าของ  $a^*$  เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม หลังจากเก็บไว้ 7 วัน พบว่าค่าสี  $a^*$  ของตัวอย่างเนื้อ (F0 และ F3) และเปลือก (P0 และ P3) ของแก้วมังกรแดงทุกตัวอย่างที่เก็บในบรรยากาศมีแสง (light exposure) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ดังรูปที่ 4.18 อธิบายได้ว่าแสงไปทำให้อิเล็กตรอนของ double bonds ในโมเลกุลของเบต้าไซยานิน อยู่ในภาวะกระตุ้น (excited stage) จึงเป็นสาเหตุที่ทำให้เบต้าไซยานินเกิดการสลายตัวได้สูงกว่าภาวะที่มีมืด (Cai และคณะ, 1998) และเมื่อพิจารณาเสถียรภาพของสีของเบต้าไซยานินคิดในค่าของ  $a^*$  พบว่าทั้งในตัวอย่างเนื้อและเปลือกของแก้วมังกรแดงที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ (F3 และ S3) มีเสถียรภาพของสีสูงกว่าในทุกตัวอย่างที่ไม่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ (F0 และ P0) ทั้งนี้เป็นเพราะว่าความหนาแน่นของเบต้าไซยานินที่ถูกปลดปล่อยในตัวอย่างที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ (F3 และ P3) สูงกว่าตัวอย่างที่ไม่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ (F0 และ P0) เช่นเดียวกับเหตุผลที่อธิบายไว้ในกรณีของอุณหภูมิ นอกจากนี้พบว่าเสถียรภาพของเบต้าไซยานินในตัวอย่างแก้วมังกรแดงที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ (P3 และ F3) เก็บในบรรยากาศมีแสงเป็นเวลา 7 วัน



รายงานในการทดลองนี้มีค่าสีแดงของเบต้าไซยานิน ลดลงเหลือ 24.43 และ 25.37 ตามลำดับ ซึ่งอาจจะแตกต่างกับค่าสีแดงของเบต้าไซยานินที่เหลือในตัวอย่างน้ำผลไม้จากแก้วมังกรแดง (-8.31) ที่เก็บในภาวะเดียวกัน ดังรายงานของ Herbach และคณะ, 2004



## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

แก้วมังกรแดงที่ใช้เป็นวัตถุดิบควรมีอายุการเก็บเกี่ยว 45 – 50 วันนับตั้งแต่ออกดอก ซึ่งจะ  
มีปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและเบต้าไซยานินสูงกว่าระดับอื่นๆ( $p \leq 0.05$ ) ส่วนเปลือกมีฤทธิ์  
ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH และวิธี ABTS เท่ากับ 20.88  $\mu\text{g fresh mass (FM)}/\mu\text{g}$   
DPPH และ 110.14  $\mu\text{g Trolox equivalents (TE)}/\text{g FM}$  ตามลำดับ ส่วนเนื้อเท่ากับ 3.27  $\mu\text{g FM}$   
 $/\mu\text{g DPPH}$  และ 332.14  $\mu\text{g Trolox equivalents (TE)}/\text{g FM}$  ตามลำดับ ปริมาณฟีนอลิกในส่วน  
เปลือกและเนื้อทั้งหมดเท่ากับ 191.24 และ 480.47  $\mu\text{g gallic acid equivalents (GAE)}/\text{g FM}$   
ตามลำดับ มีฟลาโวนอยด์ในส่วนเปลือกและเนื้อทั้งหมด 32.63 และ 288.27  $\mu\text{g catechin}$   
 $\text{equivalents (CE)}/\text{g FM}$  มีปริมาณวิตามินซีในส่วนเปลือกและเนื้อทั้งหมด 45.11 และ 44.91  
 $\text{mg}/100\text{g FM}$  มีปริมาณเบต้าไซยานินในส่วนเปลือกและเนื้อทั้งหมด 14.27 และ 15.53  $\text{mg}/100$   
 $\text{g FM}$  ตามลำดับ มีปริมาณใยอาหารในส่วนเปลือกและเนื้อทั้งหมด 3.62 และ 2.57 แบ่งเป็นใย  
อาหารที่ละลายน้ำ 1.93 และ 0.90 และใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ 1.69 และ 1.67  $\text{g}/100\text{g FM}$   
ตามลำดับ ส่วนภาวะที่เหมาะสมในการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลคือ การ เติมกรด  
แอสคอร์บิกเข้มข้น 0.2 และ 0.1 % (w/w) ตามลำดับรวมกับการให้ความร้อนจนจุดกึ่งกลางมี  
อุณหภูมิ 85°C นาน 3 นาที และภาวะที่ใช้ในการศึกษาลักษณะเฉพาะของเปลือกแก้วมังกรแดง  
คือ การใช้เอนไซม์ที่ความเข้มข้น 0.5, 2.5 และ 5.0%(v/w) ซึ่งสามารถแบ่งระดับของปริมาณ  
น้ำตาลรีดิวซ์เป็น 3 ช่วง คือ 20, 32 และ 45  $\text{mg glucose}/\text{g FM}$  และในส่วนเนื้อที่เวลา 3 ชั่วโมง  
ความเข้มข้นของเอนไซม์เป็น 0.5, 2.5 และ 10.0%(v/w)สามารถแบ่งระดับของปริมาณน้ำตาล  
รีดิวซ์เป็น 3 ช่วง คือ 26, 59 และ 71  $\text{mg glucose}/\text{g FM}$

การประยุกต์ใช้เอนไซม์เพกทินเอสทางการค้า Pectinex<sup>®</sup> Ultra SP-L เพื่อย่อยสลาย  
โครงสร้าง พอลิแซ็กคาไรด์ทั้งในเนื้อและเปลือกของแก้วมังกรแดงจนมีระดับการย่อยสลายคิดเป็น  
ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นจาก 25.61 จนได้สูงสุดเป็น 70.56 (เนื้อแก้วมังกรแดง) และจาก  
20.35 จนได้สูงสุดเป็น 44.54  $\mu\text{g glucose}/\text{g FM}$ (เปลือกแก้วมังกรแดง) สรุปได้ว่าเนื้อแก้วมังกร  
แดงมีปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสูงกว่าเปลือก ดังนั้น สารออกฤทธิ์ในการต้านการออกซิเดชัน  
(ABTS) ของตัวอย่างเนื้อคิดเป็น 1.26 เท่าของตัวอย่างเปลือก เมื่อเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิก  
และฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในตัวอย่างเนื้อจะมีค่าสูงกว่าในตัวอย่างเปลือก คิดเป็น 2.66 และ 5.95  
เท่า และเปลือกยังมีปริมาณใยอาหารที่ละลายน้ำสูงกว่าในเนื้อคิดเป็น 1.82 เท่า นอกจากนี้เมื่อ

พิจารณาค่า prebiotic activity score ของสารพรีไบโอติกทั้งในตัวอย่างเนื้อและเปลือกพบว่ามีความสามารถในการส่งเสริมการเพิ่มปริมาณเซลล์จุลินทรีย์ทั้ง 2 ชนิดใกล้เคียงกัน สำหรับปริมาณเบต้าไซยานินในเปลือกสูงกว่าในเนื้อ 1.35 เท่า(เนื้อ= 45.66 , เปลือก= 61.65 mg/100gFM ) และยังพบว่าทั้งเนื้อและเปลือกแก้วมังกรแดงทุกตัวอย่างมีองค์ประกอบหลักของสารเบต้าไซยานินชนิดเดียวกัน คือ เบต้าานิน และเมื่อพิจารณาเสถียรภาพของเบต้าไซยานินทั้งในตัวอย่างเนื้อและเปลือกของแก้วมังกรแดงที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ได้ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ พบว่าชนิดของ food-grade acids ที่มีค่า  $pK_a$  สูง ทำให้ความเสถียรของสี  $a^*$  ตัวอย่างเนื้อและเปลือกของแก้วมังกรแดงที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เพิ่มขึ้นสูงสุด เนื่องจากปฏิกิริยา hydration ของเบต้าไซยานินลดลง จึงทำให้ลดการสลายโครงสร้างไปเป็น betalamic acid and cyclo-dopa-5-Oglycoside ซึ่งเป็นโครงสร้างที่ไม่คงตัวขณะที่การเพิ่มความเข้มข้นของเกลือทำให้ความเสถียรของสีลดลง เนื่องจากจากอิออนบวกของเกลือ( $Na^+$ ) จะไปช่วยเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของเบต้าานินซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของเบต้าไซยานิน ทำให้เกิดเป็นสารประกอบที่มีโครงสร้างไม่คงตัว การเติมน้ำตาลช่วยเพิ่มความเสถียรของสี เนื่องจากน้ำตาลช่วยลดค่า water activity ของระบบทำให้ปฏิกิริยา hydration ของเบต้าไซยานินลดลง และเมื่อเติมไฮโดรคอลลอยด์ พบว่า คาราจีแนนช่วยเพิ่มความเสถียรของสีเบต้าไซยานิน เนื่องจากการเติม hydrocolloids จะทำให้ carboxylic group ของ colloids ไปจับกับเบต้าไซยานิน ซึ่งไปป้องกันการจับกับน้ำที่เป็นสาเหตุทำให้เบต้าไซยานินเกิดการสลายตัว จึงมีผลต่อการรักษาเสถียรภาพของเบต้าไซยานิน จากการศึกษาผลของอุณหภูมิ pH และ แสงต่อเสถียรภาพของเบต้าไซยานิน พบว่าภาวะที่ทำให้ค่าสีแดงสูงสุดคือ อุณหภูมิไม่เกิน 25 °C pH ช่วง 4-6 ระยะเวลาที่สัมผัสแสงไม่เกิน 2 วัน เป็นที่น่าสังเกตว่าความหนาแน่นของเบต้าไซยานินที่ปลดปล่อยในทุกตัวอย่างที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์มีค่าสูงกว่าตัวอย่างอื่นๆ จึงมีผลให้มีความคงทนต่อปัจจัยต่างๆที่ศึกษาข้างต้น (น้ำตาล, กรด, เกลือ, สารไฮโดรคอลลอยด์, อุณหภูมิ, pH และแสง)ได้ดีกว่าตัวอย่างที่ไม่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์

ดังนั้นทั้งในตัวอย่างเนื้อและเปลือกของแก้วมังกรแดงที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ น่าจะใช้เป็นแหล่งที่ดีของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่างๆ ได้แก่ สารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ โยอาหารละลายน้ำ สารพรีไบโอติกและสารต้านอนุมูลอิสระอื่นๆ รวมทั้งสารให้สีแดงของเบต้าไซยานิน สำหรับพัฒนาเป็นวัตถุปรุงแต่งสีอาหารซึ่งมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆผสมอยู่ด้วย อีกทั้งยังเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับแก้วมังกรแดงและในอนาคตอาจพัฒนาจนสามารถทดแทนสารสังเคราะห์ได้

## ข้อเสนอแนะ

### 1. ข้อเสนอแนะสำหรับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

จากผลการทดลองทั้งหมดสอดคล้องตามวัตถุประสงค์ที่กำหนดไว้ แต่อย่างไรก็ตาม มีข้อเสนอแนะที่น่าจะได้มีการพิสูจน์ให้ชัดเจนต่อไป

#### ด้านวัตถุดิบ

ขยายการศึกษาผลของเอนไซม์ในแก้วมังกรแดงสายพันธุ์อื่นที่มีสมบัติและสีต่างจากสายพันธุ์ที่เลือกใช้ เพื่อจะได้นำไปพัฒนาเป็นวัตถุดิบปรุงแต่งสีอาหารที่หลากหลายมากขึ้น

การวิเคราะห์ฤทธิ์ในด้านฟรีไบโอติก

น่าจะมีการทดลองเพื่อวิเคราะห์หาชนิดของสารที่เสริมการเจริญของจุลินทรีย์สุขภาพในตัวอย่างเปลือกและเนื้อแก้วมังกรแดง

### 2. ข้อเสนอแนะสำหรับวิทยานิพนธ์ฉบับต่อไป

2.1 พัฒนาผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อยู่ในรูปผง เพื่อสะดวกแก่การใช้งาน และยืดอายุการเก็บ

2.2 กำหนดแนวทางในการประยุกต์ใช้ให้เฉพาะเจาะจงตามลักษณะเฉพาะที่ได้ เช่น

2.2.1 วัตถุดิบปรุงแต่งสีแดงและเสถียรภาพ

2.2.2 วัตถุดิบปรุงแต่งเนื้อสัมผัสในอาหารแบบทั้ง water in oil และ oil in water

2.2.3 สารออกฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระในอาหารที่ปรุงแต่งในข้อ 2.2.1 และ 2.2.2

สำหรับยืดอายุการเก็บ

## รายการอ้างอิง

### ภาษาไทย

- กระยาทิพย์ เรือนใจ. 2543. ผลไม้ คุณค่านานา เพื่อสุขภาพ. กรุงเทพมหานคร: ต้นธรรม.
- กองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข. 2530. ตารางแสดงคุณค่าทางโภชนาการ อาหาร. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์กระทรวงสาธารณสุข.
- ช่อทิพย์วรรณ พันธุ์แก้ว. 2542. คุณวิเศษของผักและผลไม้. กรุงเทพมหานคร: ต้นธรรม.
- นิตา หงษ์วิวัฒน์ และ ทวีทอง หงษ์วิวัฒน์. 2550. ผลไม้ 111 ชนิด คุณค่าอาหารและการกิน. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์แสงแดด.
- นฤมล มานีพพาน. 2548. แก้วมังกร. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ปราณี อานเป็รื่อง. 2547. เอนไซม์ทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- เปี่ยมสุข พงษ์สวัสดิ์. 2551. เอนไซม์ตัดแปรคาร์โบไฮเดรตในอุตสาหกรรม. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ศิวาพร ศิวเวชช. 2546. ผลิตภัณฑ์พืชมงคล. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์สำนักส่งเสริมและฝึกอบรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ส่งเสริมการเกษตร, กรม. 2547. อาหารจากผักและผลไม้. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์สำนักพัฒนาการถ่ายทอดเทคโนโลยี กรมส่งเสริมการเกษตร.
- โสภา วัชรคุปต์, ปรีชา บุญจุง, จันทนา บุญยะรัตน์ และมาลีรักษ์ อัดดีสินทอง. 2549. สารต้านอนุมูลอิสระ Radical Scavenging Agent. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: พี. เอส. พรินท์.

### ภาษาอังกฤษ

- Abdullah, A. G. L., Sulaiman, N. M., Aroua, M. K., and Megat Mohd Noor, M. J. 2007. Response surface optimization of conditions for clarification of carambola fruit juice using a commercial enzyme. Journal of Food Engineering. 81: 65-71.
- Azeredo, H. M. C., Santos, A. N., Souza, A. C. R., Mendes, K. C. B., and Andrade, M. I. R. 2007. Betacyanin stability during processing and storage of a microencapsulated red beetroot extract. American journal of food technology. 2: 307-312.

- Al-Hooti, S. N., Sidhu, J. S., Al-Saqer, J. M., and Al-Othman, A. 2002. Chemical composition and quality of date syrup as affected by pectinase/cellulase enzyme treatment. Food Chemistry. 79: 215-220.
- Alkorta, I., Garbisu, C., Llama, M. J., and Serra, J. L. 1998. Industrial applications of pectic enzymes: a review. Process Biochemistry. 33: 21-28.
- Almeida, M. E. M. and Nogueira, J. N. 1995. The control of polyphenol oxidase activity in fruits and vegetables: a study of interactions between the chemical compounds used and heat treatment. Plant Foods for Human Nutrition. 47: 245-256.
- Altan, A., Kus, S., and Kaya, A. 2005. Rheological behavior and time dependent characterization of Gilaboru juice (*Viburnum opulus* L.). Food Science and Technology International. 11(2): 129-137.
- Álvarez, E. E. and Sánchez, P. G. 2006. Dietary fibre. Nutrición Hospitalaria. 21: 60-71.
- Alvarez, S., Alvarez, R., Riera, F. A., and Coca, J. 1998. Influence of depectinization on apple juice ultrafiltration. Colloid and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. 138: 377-382.
- American Association of Cereal Chemists. 2001. The definition of dietary fibre. Report of the Dietary Fibre Definition Committee to the Board of Directors of the AAC. 1: 10.
- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis of the AOAC International. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D. C.
- Arseculeratne, S. N., Gunatilaka, A. A. L., and Panabokke, R. G. 1981. Studies on medicinal plants of Srilanka: occurrence of pyrrolizidine alkaloids and hepatotoxic properties in some traditional medicinal herbs. Journal of Ethnopharmacology. 4: 159-177.
- Atlas, R. M. 1993. Handbook of microbiological media. Boca Raton, CA, USA: CRC Press.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., and Idaomar, M. 2008. Biological effects of essential oils - A review. Food and Chemical Toxicology. 46: 446-475.
- Barros, S. T. D., Mendes, E. S., and Peres, L. 2004. Influence of depectinization in the ultrafiltration of west Indian cherry (*Malpighia glabra* L.) and pineapple (*Ananas comosus* (L.) Meer) juices. Ciênc. Tecnol. Aliment. Campinas 24(2): 194-201.

- Baumann, J. W. 1981. Application of enzymes in fruit juice technology. In G. G. Birch, N. Blakebrough, and K. J. Parker (ed.), Enzymes and Food Processing, pp. 129-146. England: Applied Science Publishers.
- Benders, D. A. and Bender, A. E. 1999. Benders' Dictionary of Nutrition and Food Technology. Cambridge: CRC Press.
- Bhattacharya, S. and Rastogi, N. K. 1998. Rheological properties of enzyme-treated mango pulp. Journal of Food Engineering. 36: 249-262.
- Bidlack, W. R. and Wang, W. 2000. Designing functional foods to enhance health. In W. R. Bidlack (ed.), Phytochemicals as Bioactive Agents, pp. 241-266. Lancaster: Technomic.
- Bolton, R. P., Heaton, K. w., and Burroughs, L. F. 1981. The role of dietary fiber in satiety, glucose, and insulin: studies with fruit and fruit juice. The American Journal of Clinical Nutrition. 34: 211-217.
- Bouayed, J., Piri, K., Rammal, H., Dicko, A., Desor, F., Younos, C., and Soulimani, R. 2007. Comparative evaluation of the antioxidant potential of some Iranian medicinal plants. Food Chemistry. 104: 364-368.
- Brasil, I. M., Maia, G. A., and Figueiredo, R. W. 1995. Physical-chemical changes during extraction and clarification of guava juice. Food Chemistry 54(4): 383-386.
- Cai, Y., Sun, M., and Corke, H. 1998. Colorant properties and stability of *Amaranthus* betacyanin pigments. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 46: 4491-4495.
- Cai, Y., Luo, Q., Sun, M., and Corke, H. 2004. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. Life Sciences. 74: 2157-2184.
- Cai, Y., Sun, M., and Corke, H. 2005. Characterization and application of betalain pigment from plants of the Amaranthaceae. Trends in Food Science & Technology. 16: 370-376.
- Chanai Noysang. 1998. The phytochemical studies of Thai bael fruits, *Aegle Marmelos* Correa (L.). M.Sc. Thesis. Mahidol University.



- Charoensiddhi, S. and Anprung, P. 2009. Characterization of bael fruit (*Aegle marmelos* (L.)Correa) hydrolysate as affected by enzyme treatment. Food biochemistry. Article in Press.
- Choudhari, S. M. and Ananthanarayan, L. 2007. Enzyme aided extraction of lycopene from tomato tissues. Food Chemistry. 102: 77-81.
- Chow, J. 2002. Probiotics and prebiotics: A brief overview. Journal of Renal Nutrition. 12(2): 76-86.
- Çinar, I. 2005. Effects of cellulase and pectinase concentrations on the colour yield of enzyme extracted plant carotenoids. Process Biochemistry. 40: 945-949.
- Delgado-Vargas, F. and Paredes-López, O. 2000. Betacyanins and phenolic compounds from *Beta vulgaris* L roots. Food Chemistry. 58(3): 255-258.
- Deveries, L. J., and Reinhold, V. N. 1992. Controlling dietary fiber in food products. New York: Van Nostrand Reinhold.
- De Vrese, M. and Schrezenmeir. 2008. Probiotics, prebiotics, and synbiotics. Advances in Biochemical Engineering/ Biotechnology. 111: 1-66.
- Douglas, L. C. and Sanders, M. E. 2008. Probiotics and prebiotics in dietetics practice. Journal of the American Dietetic Association. 108(3): 510-521.
- Dris, R. and Jain, S. M. 2004. Production Practices and Quality Assessment of Food Crops. Netherlands: Kluwer Academic Publishers.
- Dykes, L. and Rooney, L. W. 2007. Phenolic compounds in cereal grains and their health benefits. Cereal Foods World. 52(3): 105-111.
- Fanta, N., Quaas, A., Zulueta, P., and Pérez, L. M. 1992. Release of reducing sugars from *Citrus* seedlings, leaves and fruits. Effect of treatment with pectinase and cellulase from *Alternaria* and *Trichoderma*. Phytochemistry. 31(10): 3359-3364.
- Francis, F. J. 1999. Anthocyanins Food Colours. In Hendry, G. A. F. and Houghton, J. D. (Eds.), Natural Food Colorants, pp. 39-77. Blackie, Glassgow.
- Fu, Y.-J., Liu, W., Zu, Y.-G., Tong, M.-H., Li, S.-M., Yan, M.-M., Efferth, T. and Luo, H. 2008. Enzyme assisted extraction of luteolin and apigenin from pigeonpea [*Cajanus cajan* (L.) Millsp.]leaves. Food Chemistry. 111: 508-512.

- Galeazzi, M. A. and Sgarbieri, V. C. 1981. Substrate specificity and inhibitor of polyphenoloxidase (PPO) from a dwarf variety of banana (*Musa cavendishii* L). Journal of Food Science. 46: 1404-1406.
- Gopalan C., Ramasastri, B. V., and Balasubramanian, S. C. 1978. Nutritive Value of Indian Foods. Hyderabad: ICMR.
- Grohmann, K. and Baldwin, E. A. 1992. Hydrolysis of orange peel with pectinase and cellulase enzymes. Biotechnology Letters. 14(12): 1169-1174.
- Gross, J. 1991. Pigments in Vegetables: Chlorophylls and Carotenoids. New York: Van Nostrand Reinhold.
- Haard, N. F. and Chism, G. W. 1996. Characteristics of edible plant tissues. In O. R. Fennema (ed.), Food chemistry, pp. 943-1007. New York: Marcel Dekker.
- Harivaindaran, K. V., Rebecca, O. P. S., and Chandran, S. 2008. Study of optimal temperature, pH and stability of dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) peel for use as potential natural colorant. Pakistan Journal of Biological Sciences. 11(18):2259-2263.
- Henry, B. S. 1992. Natural Food Colours. In Hendry, G. A. F. and Houghton, J. D. (Eds.), Natural Food Colorants, pp. 39-77. Blackie, Glassgow.
- Herbach, K. M., Stintzing, F. C., and Carle, R. 2004. Thermal degradation of betacyanins in juice from purple pitaya (*Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose) monitored by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometric analyses. European Food Research Technology. 219:377-385.
- Herbach, K. M., Rohe, M., Stintzing, F. C., and Carle, R. 2006. Structural and chromatic stability of purple pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) betacyanins as affected by the juice matrix and selected additives. Food Research International. 39: 667-677.
- Hill, R. A. 1993. Terpenoids. In R. H. Thomson (ed.), The Chemistry of Natural Products, pp. 106-139. London: Blackie academic & Professional.
- Högnadóttir, A. and Russell, R.L. 2003. Identification of aroma active compounds in orange essence oil using gas chromatography - olfactometry and gas chromatography - mass spectrometry. Journal of Chromatography A. 998: 201-211.

- Hopkins, W. G. 1999. Introduction to Plant Physiology. New York: John Wiley and Sons, Inc.
- Hubbermann, E. M., Heins, A., Stockmann, H., and Schwarz, K. 2006. Influence of acids, salt, sugars and hydrocolloids on the colour stability of anthocyanin rich black currant and elderberry concentrates. Europaen Food Reserarch Technology. 223: 83-90.
- Huebner, J., Wehling, R. L., and Hutkins, R. W. 2007. Functional activity of commercial prebiotics. International Dairy Journal. 17: 770-775.
- Huebner, J., Wehling, R. L., Parkhurst, A., and Hutkins, R. W. 2008. Effect of processing conditions on the prebiotic activity of commercial prebiotics. International Dairy Journal. 18: 287-293.
- Hutchings, J. B. and Ffst, F. 1999. Food Color and Appearance. 2<sup>nd</sup>ed. Gaithersburg, Maryland: Aspen Publishers Inc.
- Jenkins, D. J. A., Leeds, A. R., Slavin, B., Mann, J., and Jepson, E. M. 1979. Dietary fiber and blood lipids: reduction of serum cholesterol in type II hyperlipidemia by guar gum. The American Journal of Clinical Nutrition 32: 16-18.
- Jayani, R. S., Saxena, S., and Gupta, R. 2005. Microbial pectinolytic enzymes: A review. Process Biochemistry. 40: 2931-2944.
- Jayaweera, D. M. A. 1981. Medicinal plants (indigenous and exotic) used in Ceylon Part 3. A Publication of National Science Council of Sri Lanka, Colombo.
- Kashyap, D. R., Vohra, P. K., Chopra, S., and Tewari, R. 2001. Applications of pectinases in the commercial sector: a review. Bioresource Technology. 77: 215-227.
- Kaur, N., and Gupta, A. K. 2002. Applications of inulin and oligofructose in health and nutrition. Journal of Biosciences 27(7): 703-714.
- Kay, R. M., and Truswell, A. S. 1977. Effect of citrus pectin on blood lipids and fecal steroid excretion in man. The American Journal of Clinical Nutrition 30: 171-175.
- Kilara, A. 1982. Enzymes and their uses in the processed apple industry: A review. Process Biochemistry. 17: 35-41.
- Kolida, S., Tuohy, K., and Gibson, G. R. 2002. Prebiotic effect of inulin and oligofructose. British Journal of Nutrition. 87(2): S193-S197.

- Landbo, A. K., and Meyer, A. S. 2001. Enzyme-assisted extraction of antioxidative phenols from black currant juice press residues (*Ribes nigrum*). Journal of Agriculture and Food Chemistry. 49: 3169-3177.
- Lee, C. Y. and Whitaker, J. R. 1995. Enzymatic Browning and Its Prevention. Washington D.C.: American Chemical Society.
- Lee, W. C., Yusof, S., Hamid, N. S. A., and Baharin, B. S. 2006. Optimizing conditions for enzymatic clarification of banana juice using response surface methodology (RSM). Journal of Food Engineering. 73: 55-63.
- Lin, S.-C., Chang, C.-M. J. and Deng, T.-S. 2009. Enzymatic hot pressurized fluids extraction of polyphenolics from *Pinus taiwanesis* and *Pinus morrisonicola*. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers. 40: 136-142.
- Maisuthisakul, P., Pasuk, S., and Ritthiruangdej, P. 2008. Relationship between antioxidant properties and chemical composition of some Thai plants. Journal of Food Composition and Analysis. 21: 229-240.
- Maisuthisakul, P., Suttajit, M., and Pongsawatmanit, R. 2007. Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants. Food Chemistry. 100: 1409–1418.
- Mao, L. C., Xu, Y. Q., and Que, F. 2007. Maintaining the quality of sugarcane juice with blanching and ascorbic acid. Food Chemistry. 104: 740-745.
- Marcotte, M., Hoshahili, A. R. T., and Ramaswamy, H. S. 2001. Rheological properties of selected hydrocolloids as a function of concentration and temperature. Food Research International. 34: 695-703.
- Marinova, D., Ribarova, F., and Atanassova, M. 2005. Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy. 40 (3): 255-260.
- Martinez, M. V., and Whitaker, J. R. 1995. The biochemistry and control of enzymatic browning. Trends in Food Science and Technology. 6(6): 195-200.
- Masuda, T., Yonemori, S., Oyama, Y., Takeda, Y., Tanaka, T., Andoh, T., Shinobara, A., and Nakata, M. 1999. Evaluation of the antioxidant activity of environmental plants: activity of the leaf extracts from seashore plants. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 47: 1749-1754.

- McCord, J. D. and Kilara, A. 1983. Control of enzymatic browning in processed mushrooms (*Agaricus bisporus*). Journal of Food Science. 48: 1479-1483.
- Moßhammer, M. R., Stintzing, F. C., and Carle, R. 2005. Development of a process for the production of a betalain-based colouring foodstuff from cactus pear. Innovative Food Science & Emerging Technologies. 6: 221-231.
- Morton. J. F. 1987. Fruits of Warm Climates. Winterville, N.C.: Creative Resource Systems Inc.
- Muñoz, O., Sepúlveda, M., and Schwartz, M. 2004. Effects of enzymatic treatment on anthocyanic pigments from grapes skin from Chilean wine. Food Chemistry. 87: 487-490.
- Mutlu, M., Sarioğlu, K., Demir, N., Ercan, M. T., and Acar, J. 1999. The use of commercial pectinase in fruit juice industry. Part I: viscosimetric determination of enzyme activity. Journal of Food Engineering. 41: 147-150.
- Morton. J. F. 1987. Fruits of Warm Climates. Winterville, N.C.: Creative Resource Systems Inc.
- Nagaraju, N. and Rao, K. N. 1990. A survey of plant crude drugs of Rayalaseema, Andhra Pradesh Indian. Journal of Ethnopharmacology. 29: 137-158.
- Najafian, L., Ghodsvali, A., Haddad Khodaparast, M. H. and Diosady, L. L. 2009. Aqueous extraction of virgin olive oil using industrial enzymes. Food Research International, 42: 171-175.
- Nawirska, A. and Kwaśniewska. M. 2005. Dietary fibre fractions from fruit and vegetable processing waste. Food Chemistry. 91: 221-225.
- Nelson, N. 1944. A photometric adaptation of the Somogyi method for determination of glucose. Journal of Biological Chemistry. 153: 375-380.
- Nitithan, S., Nichachotsalid, A., and Komindr, S. 2004. Phytate and Fiber Content in Thai Fruits Commonly Consumed by Diabetic patients. Journal Medicine Association Thai. 87: 1444-1446.
- Ou, B., Huang, D., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J. A., and Deemer, E. K. 2002. Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power

- (FRAP) assays: a comparative study. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 50: 3122-3128.
- Owusu-Apenten. 2005. Introduction to Food Chemistry. Boca Raton: CRC Press.
- Pande, N. C., Singh, A. R., Maurya, V. N., and Katiyar, R. K. 1986. Studies on the biochemical changes in bael (*Aegle marmelos* Correa) fruit. Progressive Horticulture. 18(1-2): 29-34.
- Pearson, D. 1970. The Chemical Analysis of Food. 6<sup>th</sup> ed. New York: Chemical Publishing.
- Pearson, D. 1976. The Chemical Analysis of Foods. Edinburgh: Churchill Livingstone.
- Pedreno, M., and Escribano, J. 2001. Correlation between antiradical activity and stability of betanine from *Beta vulgaris* L roots under different pH, temperature and loght condition. Journal of Science of Food and Agriculture. 81: 627-631.
- Phebe, D., Chew, M. K., Suraini, A. A., Lai, O. M., and Janna, O. A. 2009. Red-fleshed pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) fruit colour and betacyanin content depend on maturity. International Food Research Journal. 16: 233-242.
- Petsev, D. N. 2004. Emulsions: Structure Stability and Interactions. Amsterdam: Elsevier Academic Press.
- Pilnik, W. and Rombouts, F. M. 1979. Pectic enzymes. In J. M. V. Blanshard; J. R. Mitchell (eds.), Polysaccharides in Food, pp. 109-126. London: Butterworths.
- Pilnik, W. and Voragen, A. G. J. 1991. The significance of endogenous and exogenous pectic enzyme in fruit and vegetable processing. In P. F. Fox (ed.), Food Enzymology, pp. 303-336. London: Elsevier Science Publishers LTD.
- Pilnik, W. and Voragen, A. G. J. 1993. Pectic enzymes in fruit juice and vegetable juice manufacture. In G. Reeds (ed.), Enzymes in Food Processing, pp. 363-399. New York: Academic Press.
- Píry, J., Pribela, A., Ďurčanská, J., and Farkaš, P. 1995. Fractionation of volatiles from blackcurrant (*Ribes nigrum* L.) by different extractive methods. Food Chemistry. 54: 73-77.

- Prior, R. L., Wu, X., and Schaich, K. 2005. Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 53(10): 4290-4302.
- Puupponen-Pimia, R., Nohynek, L., Ammann, S., Oksman-Caldentey, K. M., and Buchert, J. 2008. Enzyme-assisted processing increases antimicrobial and antioxidant activity of bilberry. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 56: 681-688.
- Rai, P., Majumdar, G. C., Dasgupta, S., and De, S. 2004. Optimizing pectinase usage in pretreatment of mosambi juice for clarification by response surface methodology. Journal of Food Engineering. 64: 397-403.
- Ramos, A. M. and Ibarz, A. 1998. Thixotropy of orange concentrate and quince puree. Journal of Texture Studies. 29: 313-324.
- Ramulu, P. and Rao, P. U. 2003. Total, insoluble and soluble dietary fiber contents of Indian fruits. Journal of Food Composition and Analysis. 16: 677-685.
- Rastogi, N. K. and Rashmi, K. R. 1999. Optimisation of enzymatic liquefaction of mango pulp by response surface methodology. European Food Research and Technology. 209: 57-62.
- Raveh, E., Weiss, J., Nerd, A., and Mizrahi, Y. 1993. Pitayas (Genus *Hylocereus*): a new fruit crop for the Negev Desert of Israel. In Janick, J. and Simon, J. E. (Eds.), *New Crop*, pp. 491-495. New York: Wiley.
- Ray, B. and Bhunia, A. 2008. Fundamental Food Microbiology. Boca Raton: CRC Press.
- Richardson, T. and Hyslop, D. B. 1985. Enzymes. In O. R. Fennema (ed.), Food Chemistry, pp. 371-476. New York: Marcel Dekker.
- Roberfroid, M. 1993. Dietary fibre, inulin, and oligofructose: A review comparing their physiological effects. CRC Critical Review of Food Science and Nutrition. 33: 103-148.
- Roberfroid, M. B. 2000. Prebiotics and probiotics: are they functional food?. The American Journal of Clinical Nutrition. 71: 1682S-1687S.
- Rodríguez, R., Jiménez, A., Fernández-Bolaños, J., Guillén, R., and Heredia, A. 2006. Dietary fibre from vegetable products as source of functional ingredients. Trends in Food Science and Technology. 17(1): 3-15.

- Rolin, C., Nielsen, B. U., and Glahn, P. 1998. Pectin. In S. Dumitriu (ed.), Polysaccharides: Structural Diversity and Functional Versatility, p. 388. New York: Marcel Dekker.
- Roy, S. K. 1998. Bael fruit. In P. E. Shaw; H. T. Chan; S. Nagy (eds.), Tropical and Subtropical Fruits, pp. 217-260. Florida: Agacience Inc.
- Roy, S. K. and Khurdiya, D. S. 1995. Other subtropical fruit. In D.K. Salunkhe; S. S. Kadam (eds.), Handbook of Fruit Science and Technology: Production, Composition, Storage and Processing, pp. 539-543. New York: Marcel Dekker.
- Rychlik, M., Schieberle, P., and Grosch, W. 1998. Compilation of odor thresholds, odour qualities and retention indices of key food odorants. Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie: Garching, Germany.
- Sakamoto, K., Shibata, K., and Ishihara, M. 2006. Decreased Hardness of dietary fiber-rich foods by the enzyme-infusion method. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. 70(7): 1564-1570.
- Sakho, M., Chassagne, D., Jaus, A., Chiarazzo, E., and Cruzet, J. 1998. Enzymatic maceration effects on volatile components of mango pulp. Journal of Food Science 63(6): 975-978.
- Sanders, M. E. 1998. Overview of functional foods: emphasis on probiotic bacteria. International Dairy Journal. 8: 341-347.
- Sapers, G. M. 1993. Browning of foods: control by sulfites, antioxidants, and other means. Food Technology 47(2): 75-84.
- Sawamura, M., Shichiri, K., Ootani, Y., and Zheng, X. H. 1991. Volatile constituents of several varieties of pummelos and characteristics among citrus species. Journal of Agricultural and Biological Chemistry. 55 (10): 2571-2578.
- Scheneeman, B. O. 1987. Soluble vs. insoluble fibre-different physiological responses. Food Technology. 41: 81-82.
- Schramm, L. L. 2005. Emulsions, Foams, and Suspensions: Fundamentals and Applications. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co.KGaA.
- Shallom, D. and Shoham, Y. 2003. Microbial hemicellulases. Current Opinion in Microbiology. 6: 219-228.



- Shewfelt, R. L. 1993. Measuring quality and maturity. In R. L. Shewfelt; S. E. Prussia (eds.), Postharvest Handling a Systems Approach, pp. 99-119. California: Academic press Inc.
- Siddappa, G. S. 1958. The polyphenols in Bilwa preserve (*Aegle marmelos*). Journal of Food Science and Technology (Mysore). 7: 186.
- Singh, Y. N. 1986. Traditional medicine in Fiji: Some herbal folk cures used by Fiji Indians. Journal of Ethnopharmacology. 15: 57-88.
- Slavin, J. 2003. Impact of the proposed definition of dietary fiber on nutrient databases. Journal of Food Composition and Analysis. 16: 287-291.
- Smirnoff, N. 2000. Ascorbate biosynthesis and function in photoprotection. Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B - Biological Sciences. 355: 1455-1464.
- Sreenath, H. K., Koegel, R. G., Jeffries, T. W., and Straub, R. J. 1999. Enzymic saccharification of alfalfa fibre after liquid hot water pretreatment. Process Biochemistry. 35: 33-41.
- Stintzing, F. C., Schieber, A. and Carle, R. 2002. Evaluation of colour properties and chemical quality parameters of cactus juices. European Food Research and Technology. 216: 303-311.
- Stintzing, F. C., Schieber, A. and Carle, R. 2003. Evaluation of colour properties and chemical quality parameters of cactus juices. European Food Research and Technology. 216: 303-311.
- Stintzing, F. C., and Carle, R. 2004. Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. Trends in Food Science & Technology. 15: 19-38.
- Stintzing, F. C., and Carle, R. 2007. Betalain-emerging prospects for food scientists. Trends in Food Science & Technology. 18: 514-525.
- Subhadrabandhu, S. 2001. Under-Utilized Tropical Fruits of Thailand. Food and Agriculture Organization of the United Nations Regional Office for Asia and the Pacific, Bangkok, Thailand.
- Sun, Y., Wang, Z., Wu, J., Chen, F., Liao, X., and Hu, X. 2006. Optimising enzymatic maceration in pretreatment of carrot juice concentrate by response surface

- methodology. International Journal of Food Science and Technology. 41: 1082-1089.
- Szafranek, B., Chrapkowska, K., Pawińska, M., and Szafranek, J. 2005. Analysis of leaf surface sesquiterpenes in potato varieties. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 53: 2817-2822.
- Tachakittirungrod, S., Okonogi, S. and Chowwanapoonpohn, S. 2007. Study on antioxidant activity of certain plants in Thailand: mechanism of antioxidant action of guava leaf extract. Food Chemistry. 103: 381-388.
- Talcott, S. T. and Howard, L. R. 1999. Phenolic autooxidation is responsible for color degradation in processed carrot puree. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 47: 2109-2115.
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Luis, C. Z., and Byrne, D. H. 2006. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. Journal of Food Composition and Analysis, 19: 669-675.
- Thebaudin, J. Y., Lefebvre, A. C., Harrington, M., and Bourgeois, C. M. 1997. Dietary fibers: nutrition and technological interest. Trends in Food Science. & Technology 8(2):41-48.
- Thompson, A. K. 1996. Postharvest Technology of Fruit and Vegetables. Cambridge. MA.: Blackwell Science. Ltd.
- Tokitomo, Y., Shimono, Y., Kobayashi, A., and Yamanishi, T. 1982. Aroma components of bael fruit (*Aegle marmelos* CORREA). Journal of Agricultural and Biological Chemistry. 46 (7): 1873-1877.
- Tomas-Barberan, F. A., and Espin, J. C. 2001. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruit and vegetables. Journal of the Science of Food and Agriculture 81: 853-876.
- Tressl, R., Bahri, D., and Engel, K. H. 1982. Formation of eight-carbon and ten-carbon components in mushrooms (*Agaricus campestris*). Journal of Agricultural and Food Chemistry. 30: 89-93.
- Umano, K., Hagi, Y., and Shibamoto, T. 2002. Volatile chemicals identified in extracts from newly hybrid citrus, Dekopon (*Shiranuhi mandarin* Suppl. J.). Journal of

- Agricultural and Food Chemistry. 50: 5355-5359.
- Umano, K. and Shibamoto, T. 1987. Analysis of headspace volatiles from overheated beef fat. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 35: 14-18.
- Vámos-Vigyázó, L. 1981. Polyphenol oxidase and peroxidase in fruits and vegetables. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 15: 49-127.
- Venter, C. S. 2007. Prebiotics: an update. Journal of Family Ecology and Consumer Sciences. 35: 17-25.
- Walker, J.R.L. 1977. Enzymatic browning in foods, its chemistry and control. Food Technology in Newzealand. 12: 19-25.
- Waterhouse, A. L. 2005. Determination of total phenolics. In R. E. Wrolstad; T. E. Acree; E. A. Decker; M. H. Penner; D. S. Reid; S. J. Schwartz; C. F. Shoemaker; D. Smith; P. Sporns (eds.), Handbook of Food Analytical Chemistry: Pigments, Colorants, Flavors, Texture, and Bioactive Food Components, pp. 463-481. New Jersey: John Wiley and Sons.
- Wenguang, J., Wenlai, F., Yan, X., Guang'ao, Z., Jiming, L., and Ying, Y. 2007. Analysis of free terpenoids in *Vitis vinifera* using solvent assisted flavour evaporation and gas chromatography-tandem mass spectrometry. Chinese Journal of Chromatography. 25 (6): 881–886.
- Whitaker, J. R. 1996. Enzymes. In O. R. Fennema (ed.), Food Chemistry, pp.453-472. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Wong, S. P., Leong, L. P., and Koh, J. H. W. 2006. Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. Food Chemistry. 99: 775-783.
- Worrasinchai, S., Suphantharika, M., Pinjai, S., and Jamnong, P. 2006.  $\beta$ -Glucan prepared from spent brewer's yeast as a fat replacer in mayonnaise. Food Hydrocolloids. 20: 68-78.
- Wu, S., Krings, U., Zorn, H., and Berger, R. G. 2005. Volatile compounds from the fruiting bodies of beefsteak fungus *Fistulina hepatica* (Schaeffer: Fr.) Fr. Food Chemistry. 92: 221–226.
- Wu. L., Hsu. H., Chen, Y., Chiu, C., Lin, Y. and Ho. A. 2006. Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya, Food Chemistry. 2: 319-327.
- Wybraniec, S., Platzner, I., Geresh, S., Gottlieb, H. E., Haimberg, M., Mogilnitzki, M., and

- Mizrahi, Y. 2001. Betacyanins from vine cactus *Hylocereus polyrhizus*. Phytochemistry. 58: 1209-1212.
- Wybraniec, S. 2006. Effect of tetraalkylammonium salts on retention of betacyanins and decarboxylated betacyanins in ion-pair reversed-phase high-performance liquid chromatography. Journal of Chromatography A. 1127: 70-75.
- Zhang, Y. H. P., Himmel, M. E., and Mielenz, J. R. 2006. Research review paper: Outlook for cellulase improvement: Screening and selection strategies. Biotechnology Advances. 24: 452-481.
- Zhishen, J., Mengcheng, T., and Jianming, W. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food Chemistry. 64: 555-559.

ภาคผนวก

## ภาคผนวก ก

### วิธีการวิเคราะห์

#### ก.1 การวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดซิตริก

ตามวิธีของ A.O.A.C. (1995)

##### สารเคมี

1. 0.1 N Sodium hydroxide (NaOH)
2. Potassium hydrogen phthalate ( $\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$ )
3. Phenolphthalein indicator

##### อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง

##### วิธีวิเคราะห์

1. คำนวณความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายมาตรฐาน NaOH โดยไทเทรตกับสารละลายมาตรฐาน  $\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$  โดยใช้ phenolphthalein เป็น indicator

$$N \text{ NaOH} = \frac{\text{น้ำหนักของ } \text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4 \text{ (g)} \times 1000}{\text{ปริมาตรของ NaOH (ml)} \times 204.22}$$

2. ชั่งตัวอย่าง 5 g (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) เติมน้ำกลั่นเล็กน้อย ต้มให้เดือดเป็นเวลา 2-3 นาที
3. ทำให้เย็น ถ่ายใส่ขวดปริมาตรขนาด 50 ml ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น แล้วกรองกากออก
4. ปิเปตส่วนที่กรองได้ 10 ml ใส่ในขวดรูปชมพู่ ขนาด 125 ml
5. เติมสารละลาย Phenolphthalein indicator 2 หยด
6. ไทเทรตกับสารละลายมาตรฐาน NaOH ความเข้มข้น 0.1 N จนกระทั่งถึงจุดยุติซึ่งมีสีชมพูอ่อน คำนวณปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ทั้งหมดในรูปของกรดซิตริกจากสูตร

ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ทั้งหมด (%)

$$= \frac{N \text{ NaOH} \times \text{ปริมาตรของ NaOH ที่ใช้ไทเทรต (ml)} \times 0.07 \times 100 \times 50}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (g)} \times 10}$$

โดยที่มีลลิวคิวิวาเลนซ์ของกรดซิตริก (Milliequivalent of citric acid monohydrate) = 0.07

## ก.2 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น

ตามวิธีของ A.O.A.C. (1995)

### อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. ตู้อบลมร้อน
2. Aluminium dish
3. Desiccator
4. เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง

### วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่าง 5 กรัม (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ใส่ aluminium dish ซึ่งอบแห้งที่อุณหภูมิ 105°C จนน้ำหนักคงที่ และชั่งน้ำหนักที่แน่นอนไว้แล้ว
2. นำตัวอย่างอบแห้งในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105°C เป็นเวลา 10-12 ชั่วโมง หรือจนกว่าน้ำหนักจะคงที่
3. นำมาทิ้งให้เย็นใน desiccator แล้วชั่งน้ำหนักที่แน่นอน คำนวณปริมาณความชื้นจากสูตร

$$\text{ปริมาณความชื้น (\%)} = \frac{[\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (g)} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ (g)}] \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (g)}}$$

## ก.3 การวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารทั้งหมด ใยอาหารที่ละลายน้ำ และใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ

(Total, Soluble, and Insoluble dietary fiber; TDF, SDF, and IDF)

ตามวิธีการของ A.O.A.C. (1995)

### สารเคมี

1. 95% Ethanol
2. 78% Ethanol
3. Acetone
4. Phosphate buffer 0.08 M pH 6:  
เตรียมโดยละลาย  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  1.4 g และ  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  9.68 g ในน้ำกลั่น 700 ml  
ปรับปริมาตรสุดท้ายให้เป็น 1 L ด้วยน้ำกลั่น วัด pH
5. เอนไซม์ Termamyl<sup>®</sup>
6. เอนไซม์ Protease<sup>®</sup>
7. เอนไซม์ Amyloglucosidase<sup>®</sup>

8. 0.275 M Sodium hydroxide (NaOH)
9. 0.325 M Hydrochloric acid (HCl)
10. Celite

#### อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่อง Vacuum pump
2. เครื่อง Magnetic stirrer
3. Desiccator
4. Crucible
5. อุปกรณ์วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน
6. เตาเผา
7. ตู้อบลมร้อน
8. เครื่อง pH meter
9. เครื่อง Water bath shaker

#### การเตรียมตัวอย่าง

1. นำตัวอย่างมาอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 105°C เป็นเวลา 5 ชั่วโมง ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นใน desiccator (ทำ 2 ซ้ำ เพื่อใช้วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนและเถ้า)
2. นำตัวอย่างมาบดให้ละเอียดและเก็บตัวอย่างที่เตรียมได้ไว้ใน desiccator

#### วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่าง 1 g (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 ml เติมสารละลาย Phosphate buffer ปริมาตร 50 ml ปรับ pH ของสารละลายให้ได้ pH 6.0±0.2 โดยเติม NaOH ความเข้มข้น 0.275 N หรือ HCl ความเข้มข้น 0.325 N
2. เติมเอนไซม์ Termamyl 0.1 ml ปิดฝาขวดด้วยกระดาษฟอยล์ นำไปให้ความร้อนจนสารละลายมีอุณหภูมิ 95-100°C นาน 15 นาที โดยเขย่าขวดทุกๆ 5 นาที
3. ตั้งทิ้งไว้ให้สารละลายมีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้อง ปรับ pH ของสารละลายให้เท่ากับ 7.5±0.2 ด้วยสารละลาย NaOH ความเข้มข้น 0.275 N
4. เติมเอนไซม์ Protease (Protease 50 mg ใน Phosphate buffer 1 ml) 0.1 ml ปิดปากขวดด้วยกระดาษฟอยล์ นำไปให้ความร้อนจนสารละลายมีอุณหภูมิ 60°C นาน 30 นาที โดยกวนตลอดเวลาด้วยเครื่อง Magnetic stirrer
5. ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น และปรับ pH ของสารละลายให้เท่ากับ 4.0-4.6 ด้วยสารละลาย HCl ความเข้มข้น 0.325 M



6. เติมเอนไซม์ Amyloglucosidase 0.3 ml ปิดปากขวดด้วยกระดาษฟอยล์ นำไปให้ความร้อนจนสารละลายมีอุณหภูมิ 60°C นาน 30 นาที โดยกวนตลอดเวลาด้วยเครื่อง Magnetic stirrer และทำให้เย็น
7. กรองสารละลายผ่าน crucible ที่ซึ่งน้ำหนักแล้ว ที่มี Celite ประมาณ 0.1 mg ลงในขวด suction flask และเก็บส่วนที่กรองได้เพื่อนำไปหาใยอาหารที่ละลายน้ำต่อไป
8. ล้างกากที่ได้ด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 10 ml 2 รอบ (เพื่อแยกส่วนใยอาหารที่ละลายน้ำเก็บไว้) 95% Ethanol ปริมาตร 10 ml 2 รอบ และ Acetone ปริมาตร 10 ml 2 รอบ
9. นำ crucible ที่มีกากอยู่ภายในไปอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 105°C เป็นเวลา 5 ชั่วโมง ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นใน desiccator ซึ่งน้ำหนัก (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) คำนวณหาน้ำหนักกากที่ได้ ทำซ้ำ 2 รอบ
10. นำกากที่ได้จากซ้ำที่ 1 ไปหาปริมาณโปรตีนตามวิธีของ A.O.A.C. นำกากที่ได้จากซ้ำที่ 2 ไปหาปริมาณเถ้า เพื่อคำนวณหาปริมาณใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ (IDF) โดยใช้สูตร

$$\text{IDF (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักกากเฉลี่ย (mg)} - P - A - B}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (mg)}} \times 100$$

โดยกำหนดให้ P = น้ำหนักโปรตีน (mg)

A = น้ำหนักเถ้า (mg)

B = blank (mg) (B = น้ำหนักกากเฉลี่ย (mg) - P<sub>B</sub> - A<sub>B</sub>)

P<sub>B</sub> = น้ำหนักโปรตีนของ blank (mg)

A<sub>B</sub> = น้ำหนักเถ้าของ blank (mg)

11. กรณีใยอาหารที่ละลายน้ำ (SDF) สามารถวิเคราะห์ได้โดย นำส่วนที่กรองได้ (ข้อ 7) และส่วนที่ได้จากการล้างกากด้วยน้ำกลั่น (ข้อ 8) มารวมกัน แล้วปรับน้ำหนักให้ได้ 100 g ด้วยน้ำกลั่น
12. เติม 95% Ethanol ปริมาตร 400 ml (4 เท่าของน้ำหนักที่ได้) และทำให้ร้อนจนสารละลายมีอุณหภูมิ 60°C
13. ทิ้งไว้ให้ตกตะกอนที่อุณหภูมิห้อง นานประมาณ 60 นาที แล้วกรองสารละลายผ่าน crucible ที่ซึ่งน้ำหนักแล้ว ที่มี celite ประมาณ 0.1 mg
14. ล้างส่วนที่ตกตะกอนด้วย 78% Ethanol ปริมาตร 20 ml 3 รอบ 95% Ethanol ปริมาตร 10 ml 2 รอบ และ Acetone ปริมาตร 10 ml 2 รอบ

15. นำ crucible ที่มีส่วนที่ตกตะกอนอยู่ภายในไปอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105°C เป็นเวลา 5 ชั่วโมง ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นใน desiccator ชั่งน้ำหนัก (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) คำนวณหาน้ำหนักกากที่ได้ ทำซ้ำ 2 รอบ

16. นำกากที่ได้จากซ้ำที่ 1 ไปหาปริมาณโปรตีนตามวิธีของ A.O.A.C. นำกากที่ได้จากซ้ำที่ 2 ไปหาปริมาณแล้ว เพื่อคำนวณหาปริมาณใยอาหารที่ละลายน้ำ (SDF) โดยใช้สูตร

$$\text{SDF (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักกากเฉลี่ย (mg)} - P - A - B}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (mg)}} \times 100$$

สำหรับปริมาณใยอาหารทั้งหมด (%TDF) หาได้จาก %IDF + %SDF

#### ก.4 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

##### ก.4.1 การเตรียมสารสกัด

ดัดแปลงวิธีของ Masuda และคณะ (1999)

##### สารเคมี

1. 95% Ethanol

##### อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องปั่นผสม
2. เครื่อง Water bath shaker
3. เครื่อง Rotary vacuum evaporator
4. เครื่อง Vacuum pump

##### วิธีการเตรียม

1. สุ่มตัวอย่างเนื้อและเปลือกแก้วมังกรแดงมาตีปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นผสมนาน 2 นาที
2. เติม 95% ethanol ปริมาตร 300 ml ลงในเนื้อและเปลือกแก้วมังกรแดงที่ผ่านการตีปั่นปริมาณ 60 g เขย่าด้วยเครื่อง water bath shaker ในที่มืด ที่อัตราเร็ว 125 rpm อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลานาน 4.5 ชั่วโมง
3. กรองสารสกัดที่ได้ผ่านกระดาษกรอง (Whatman No.4) เพื่อแยกเอากากออก โดยใช้เครื่อง Vacuum pump แล้วระเหย ethanol ออกจากของเหลวที่กรองได้ด้วยเครื่อง rotary vacuum evaporator ที่อุณหภูมิ 70°C
4. เก็บสารสกัดที่ได้ในขวดสีชาที่มีฝาปิดสนิท และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -15°C จนกว่า

จะทำการวิเคราะห์

#### ก.4.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH

ตามวิธีของ Maisuthisakul และคณะ (2007)

##### สารเคมี

1. Methanol
2. 5 mM DPPH in methanol

##### อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง
2. เครื่อง Spectrophotometer
3. เครื่อง Water bath

##### วิธีวิเคราะห์

1. เตรียมสารสกัดจากเนื้อและเปลือกแก้วมังกรแดงที่เจือจางด้วย methanol ในอัตราส่วนต่างๆ
  2. นำสารสกัดที่เจือจางแล้วแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 4.9 ml ผสมกับสารละลาย DPPH in methanol ความเข้มข้น 5 mM ปริมาตร 100  $\mu$ l ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลานาน 30 นาที
  3. วัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 517 nm ด้วยเครื่อง spectrophotometer โดยใช้ methanol เป็น blank
- ปริมาณของสารอนุมูลอิสระ DPPH ที่ลดลง (DPPH radical-scavenging activity) ของตัวอย่างสารสกัดจากเปลือกและเนื้อแก้วมังกรแดงที่แต่ละความเข้มข้นสามารถคำนวณได้จากสูตร

$$\text{DPPH radical-scavenging activity (\%)} = \frac{[A_0 - (A_1 - A_s)]}{A_0} \times 100$$

โดยกำหนดให้  $A_0$  คือ ค่า absorbance ของสารละลาย DPPH (control)

$A_1$  คือ ค่า absorbance ของสารสกัดที่มีการเติมสารละลาย DPPH

$A_s$  คือ ค่า absorbance ของสารสกัดที่ผ่านการเจือจางแต่ไม่มีการเติมสารละลาย DPPH

สร้างกราฟระหว่างปริมาณของสารอนุมูลอิสระ DPPH ที่ลดลง และความเข้มข้นของสารสกัดจากเนื้อและเปลือกแก้วมังกรแดงเพื่อหาปริมาณของสารสกัดที่สามารถลดความเข้มข้นของสารอนุมูลอิสระ DPPH ได้ 50% เรียกว่า  $EC_{50}$

#### ก.4.3 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี ABTS

ตามวิธีของ Thaipong และคณะ (2006) ดังนี้

##### สารเคมี

1. Trolox
2. Methanol
3. Stock solutions

##### อุปกรณ์และเครื่องมือ

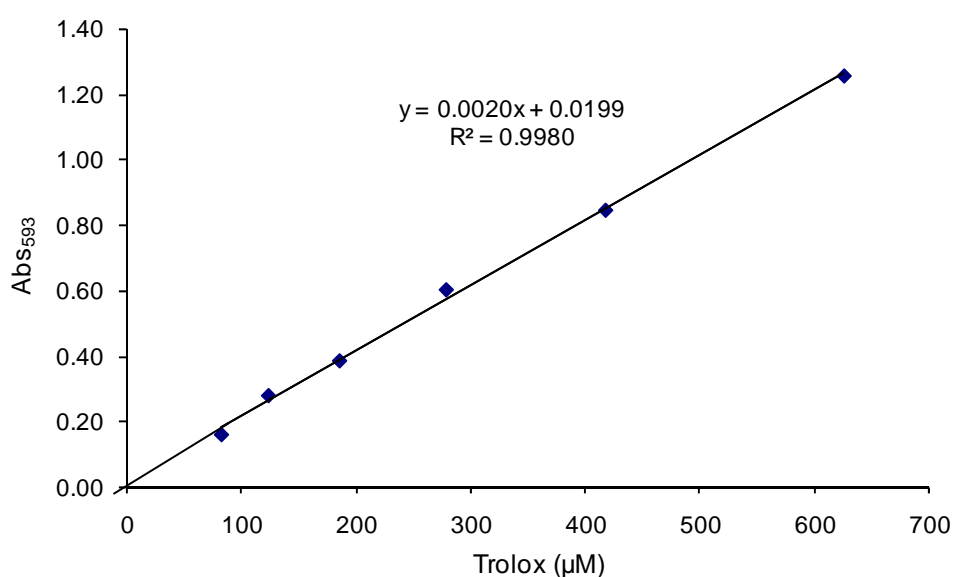
1. เครื่องชั่งน้ำหนักศนิยม 4 ตำแหน่ง
2. เครื่อง Spectrophotometer
3. เครื่อง Water bath

##### วิธีวิเคราะห์

- 1) เตรียม Stock solutions ซึ่งประกอบด้วยสารละลาย ABTS 7.4 mM และสารละลาย Potassium persulfate 2.6 mM
- 2) เตรียม Working solutions โดยผสม Stock solutions ทั้งสองชนิดในอัตราส่วนที่เท่ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด ณ อุณหภูมิห้อง นาน 12 ชม. นำสารละลายที่ได้มาเจือจางด้วยสารละลาย Working solutions 2 ml และเมทานอล 60 ml จนสารละลายที่ได้มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 nm เท่ากับ  $1.1 \pm 0.02$  ด้วยเครื่อง Spectrophotometer โดยใช้เมทานอลเป็น blank และเรียกสารละลายที่ได้ว่า ABTS solution
- 3) เตรียมสารสกัดจากเปลือกและเนื้อแก้วมังกรแดงที่เจือจางด้วยเมทานอลในอัตราส่วนต่างๆ เช่น  $40:10^4$ ,  $60:10^4$ ,  $80:10^4$ ,  $100:10^4$ ,  $150:10^4$ ,  $200:10^4$ ,  $250:10^4$ , และ  $300:10^4$  โดยให้มีคามเข้มข้นที่แน่นอน

4) นำตัวอย่างสารสกัดจากเปลือกและเนื้อแก้วมังกรแดงแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 150  $\mu\text{l}$  มาทำปฏิกิริยากับ ABTS solution ปริมาตร 2,850  $\mu\text{l}$  ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ในที่มีเวลานาน 2 ชม. จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 nm ( $A_{734}$ ) ด้วยเครื่อง Spectrophotometer

สร้างกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 nm และความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกและเนื้อแก้วมังกรแดง และสร้างกราฟมาตรฐานโดยใช้ Trolox ความเข้มข้น 100 – 500  $\mu\text{M}$  แทนสารสกัดจากเปลือกและเนื้อแก้วมังกรแดง ผลที่ได้จะแสดงในรูปของ  $\mu\text{g}$  Trolox equivalents (TE) / mg dry mass (DM)



รูปที่ ก.1 กราฟมาตรฐานของสารละลาย Trolox

#### ก.5 การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิก

ตามวิธีของ Waterhouse (2005)

##### สารเคมี

1. Folin-Ciocalteu's phenol reagent
2. Gallic acid

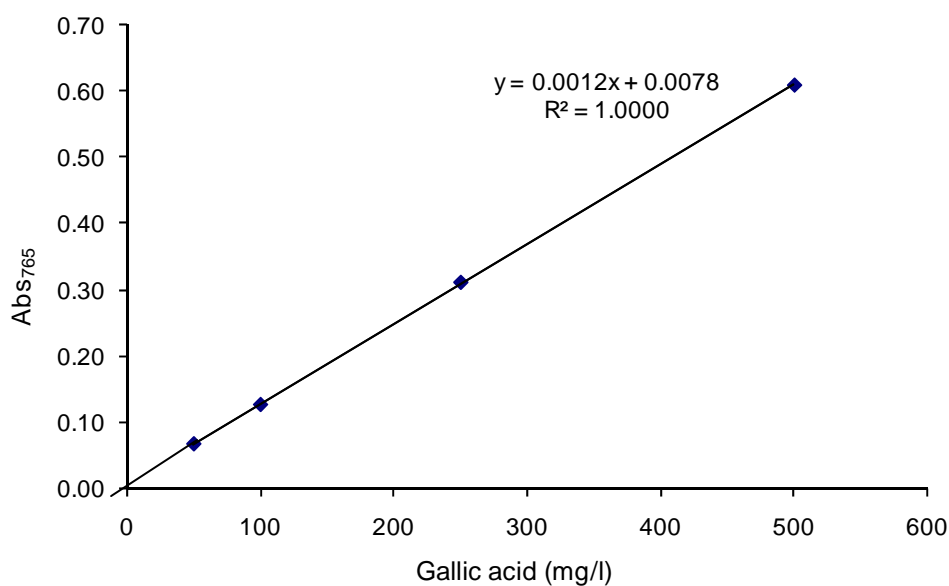
3. สารละลาย Sodium carbonate: ละลาย anhydrous sodium carbonate 200 g ใน deionised water 800 ml และนำไปต้ม หลังจากเย็น เติมเกล็ด sodium carbonate ลงไปเล็กน้อย ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง จากนั้นกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman No. 1 และปรับปริมาตรด้วย deionised water เป็น 1 L

#### อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง
2. เครื่อง Spectrophotometer

#### วิธีวิเคราะห์

- 1) ใส่สารสกัดจากแก้วมังกรแดงที่เตรียมได้จากข้อ ก.4.1 20  $\mu$ l ลงใน cuvette (1 cm, 2 ml) เติม deionised water 1.58 ml ตามด้วย Folin-Ciocalteu's phenol reagent 100  $\mu$ l ผสมให้เข้ากัน และทิ้งไว้ 1-8 นาที
- 2) เติมสารละลาย Sodium carbonate 300  $\mu$ l ผสมให้เข้ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 2 ชั่วโมง ในที่มืด
- 3) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm โดยใช้ deionised water เป็น blank และคำนวณปริมาณฟีนอลิกจากกราฟมาตรฐาน
- 4) สร้างกราฟมาตรฐานโดยใช้ gallic acid ความเข้มข้นในช่วง 50 ถึง 500 mg/l แสดงผลในรูปของ mg gallic acid equivalent (GAE)/ 100 g fresh weight (fw)



รูปที่ ก.2 กราฟมาตรฐานของสารละลาย Gallic acid

## ก.6 การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์

ตามวิธีของ Zhishen และคณะ (1999)

### สารเคมี

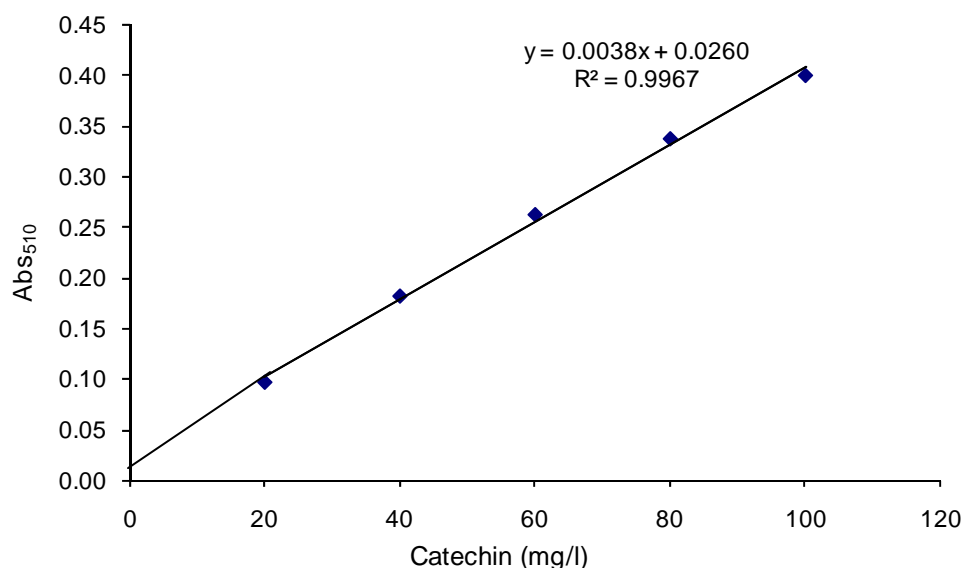
1. 10% Aluminum chloride ( $\text{AlCl}_3$ )
2. Catechin
3. 1 M Sodium hydroxide ( $\text{NaOH}$ )
4. 5% Sodium nitrite ( $\text{NaNO}_2$ )

### อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง
2. เครื่อง Spectrophotometer

### วิธีวิเคราะห์

1. ใส่สารสกัดจากแก้วมังกรแดงที่เตรียมได้จากข้อ ก.4.1 1 ml ลงใน volumetric flask ขนาด 10 ml ที่มี deionise water อยู่ 4 ml ทำในที่มืด
2. เติม 5%  $\text{NaNO}_2$  0.3 ml ทิ้งไว้ 5 นาที แล้วเติม 10%  $\text{AlCl}_3$
3. เมื่อถึงนาทีที่ 6 เติม  $\text{NaOH}$  ความเข้มข้น 1 M 2 ml และปรับปริมาตรเป็น 10 ml ด้วย deionised water
4. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 nm โดยใช้ deionised water เป็น blank และคำนวณปริมาณฟลาโวนอยด์จากกราฟมาตรฐาน
5. สร้างกราฟมาตรฐานโดยใช้ catechin ความเข้มข้นในช่วง 20 ถึง 100 mg/l แสดงผลในรูปของ mg catechin equivalent (CE)/ 100 g fresh weight (fw)



รูปที่ ก.3 กราฟมาตรฐานของสารละลาย Catechin

### ก.7 การวิเคราะห์ปริมาณเบต้าไซยานิน

ตามวิธีของ Wu และคณะ, (2006)

#### สารเคมี

Ethanol

#### อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง
2. เครื่อง Spectrophotometer

#### วิธีวิเคราะห์

การสกัดตัวอย่างตามวิธีของ Wu et al., (2006) นำตัวอย่างในส่วนเปลือกและส่วนเนื้อของแก้วมังกรแดง ปริมาณ 20 กรัม เติมหเอทานอล 95% ปริมาตร 40 ml จากนั้นปั่นตัวอย่างจนเป็นเนื้อเดียวกันนาน 5 นาที และนำไปกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman® No 1 เพื่อแยกเอากากออก นำส่วนของเหลวที่กรองได้ไปเซนตริฟิวจ์ที่ 12000 rpm ภายใต้อุณหภูมิ -4 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที หลังจากนั้นนำส่วนใสไประเหยเอทานอลออกด้วยเครื่อง Rotary vacuum evaporator ที่อุณหภูมิ 25 °C นาน 35 นาที เก็บสารสกัดที่ได้ในขวดสีชาที่มีฝาปิดสนิท ที่อุณหภูมิ -15 °C สำหรับนำไปวิเคราะห์หาปริมาณเบต้าไซยานินทั้งหมดด้วยเครื่อง Spectrophotometer

การวิเคราะห์ปริมาณเบต้าไซยานินทั้งหมด ตามวิธีของ Wu et al (2006) เตรียมสารสกัดจากเนื้อและเปลือกของแก้วมังกรแดงที่เจือจางด้วย 0.05 M phosphate buffer, pH 6.5 ในอัตราส่วน เนื้อและเปลือกของแก้วมังกรแดง : 0.05 M phosphate buffer, pH 6.5 เป็น 1 : 30 และ 1 : 24 ตามลำดับ วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer โดยใช้ 0.05 M phosphate buffer, pH 6.5 เป็น blank จนสารละลายที่ได้มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 538 nm เท่ากับ  $0.4 - 0.5 \pm 0.02$  ปริมาณของเบต้าไซยานินของตัวอย่างสารสกัดจากเนื้อและเปลือกของแก้วมังกรแดงสามารถคำนวณได้โดย

1. สร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสง ( $A_{538}$ ) กับ ค่าความเข้มข้นของเบต้าไซยานิน ในช่วง 5 - 35
2. อ่านค่า slop ของกราฟได้ ค่า mean molar absorptivity ( $M^{-1}$ ) =  $6.5 \times 10^4 M^{-1}$  และ น้ำหนักโมเลกุลของเบต้าไซยานิน (MW) = 550 ดังรูป



ตัวอย่างการคำนวณ

จากสูตร  $A_{538} = E \times c \times L$

$E$  = mean molar absorptivity ( $M^{-1}$ ) =  $6.5 \times 10^4 M^{-1}$  (ค่า slop ของกราฟ)

$C$  = betacyanins content (mg/100g of fresh mass)

$L$  = path length = 1.0 cm

ในการทดลองวัดค่าการดูดกลืนแสงในตัวอย่างเนื้อแก้วมังกรแดงซึ่งเตรียมตามข้างต้น ( $A_{538}$ ) = 0.45

ดังนั้นปริมาณ เบต้าไซยานิน คิดเป็น (mg/100g of fresh mass)

$$= [0.45 \times 550 \times 6 \times (100/20) \times 100] / [6.5 \times 10^4 \times 1.0]$$

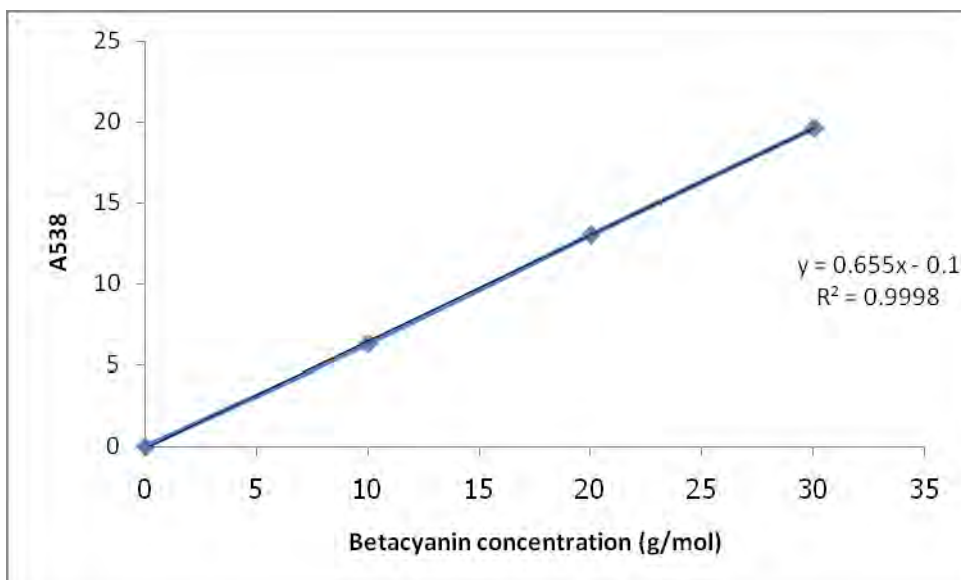
3. หรืออ่านจากกราฟจะได้ค่าเบต้าไซยานินในหน่วย mol/L หรือ M แล้วเปลี่ยนหน่วย M ของเบต้าไซยานินไปเป็นน้ำหนักเบต้าไซยานินทั้งหมดในตัวอย่างตั้งต้น 100 g ( mg/100g of fresh mass)

โดยคำนวณจากน้ำหนักโมเลกุลของเบต้าไซยานิน MW = 550

ดังนั้นในตัวอย่างนี้มีค่าที่อ่านได้จากกราฟปริมาณเบต้าไซยานิน = 0.83 mol/L

$$= (0.83 \times 550 \text{ g/L} \times (6/0.1) \times 10^{-3}) / 20$$

$$= 1.37 \text{ mg/100g of fresh mass}$$



รูปที่ ก.4 กราฟมาตรฐานของสารละลาย Betacyanin

## ก.8 การวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซี

ตามวิธีของ Pearson (1976)

### สารเคมี

1. 0.4% Oxalic acid
2. 0.0012% 2,6-Dichlorophenolindophenol
3. Ascorbic acid

### อุปกรณ์และเครื่องมือ

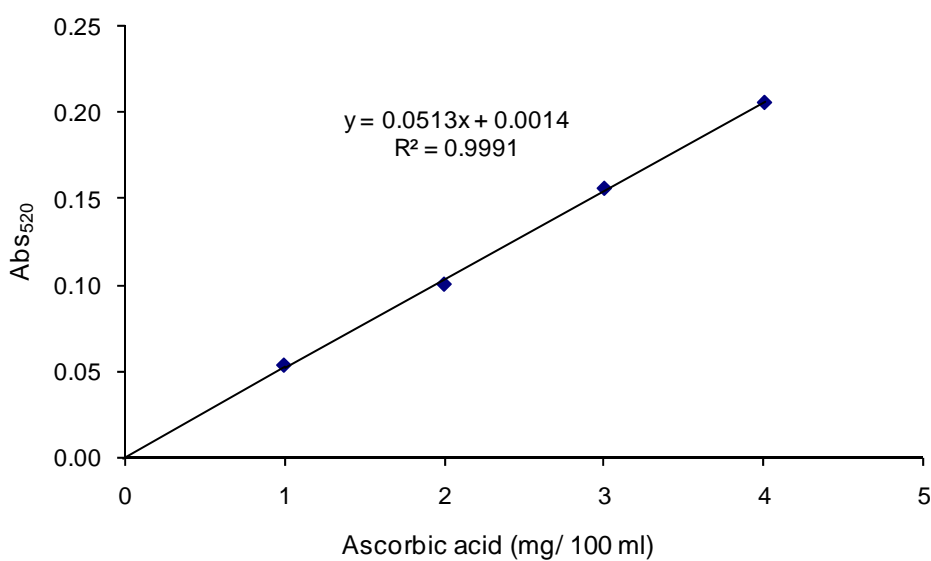
1. เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง
2. เครื่อง Spectrophotometer
3. เครื่องปั่นผสม

### วิธีวิเคราะห์

1. สร้างกราฟมาตรฐาน โดยนำสารละลาย ascorbic acid ที่ความเข้มข้นในช่วง 1-4 mg/ 100 ml มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 nm ตามขั้นตอนดังนี้
  - 1.1 ปรับค่าการดูดกลืนแสงให้เท่ากับศูนย์ด้วยน้ำกลั่น
  - 1.2 นำสารละลาย 0.4% oxalic acid มา 1 ml เติมสารละลาย 0.0012% 2,6-dichlorophenolindophenol 9 ml แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงภายใน 15 วินาที อ่านค่าการดูดกลืนแสงเป็นค่า  $L_1$  (blank)
    - 1.3 นำสารละลาย ascorbic acid 1, 2, 3 และ 4 mg/100 ml มา 1 ml เติมน้ำกลั่น 9 ml ใช้ปรับค่าการดูดกลืนแสงให้เป็นศูนย์ ตามลำดับ
    - 1.4 นำสารละลาย ascorbic acid 1, 2, 3 และ 4 mg/100 ml มา 1 ml เติมสารละลาย 0.0012% 2,6-dichlorophenolindophenol 9 ml แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงภายในเวลา 15 วินาที อ่านค่าการดูดกลืนแสงเป็นค่า  $L_2$ ,  $L_3$ ,  $L_4$  และ  $L_5$  ตามลำดับ เมื่อปรับค่าการดูดกลืนแสงเป็นศูนย์ ตามข้อ 1.3
    - 1.5 Plot กราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย ascorbic acid กับค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย ascorbic acid ที่ความเข้มข้นต่างๆ ซึ่งหักลบกับค่า  $L_1$  แล้ว ( $L_1 - L_2$ ,  $L_1 - L_3$ ,  $L_1 - L_4$  และ  $L_1 - L_5$ ) ตามลำดับ
2. ตีป่นส่วนเปลือกและส่วนเนื้อแก้วมังกรแดง 50 g ในสารละลาย 0.4% oxalic acid ปริมาตร 350 ml นาน 3 นาที ด้วยเครื่องปั่นผสม ทำในที่มืด
3. ปิเปตตัวอย่างที่ได้มา 1 ml เติมน้ำกลั่น 9 ml ปรับค่าการดูดกลืนแสงให้เป็นศูนย์

4. ปิเปตตัวอย่างมาอีก 1 ml แล้วเติมสารละลาย 0.0012% 2,6-dichlorophenolindo phenol 9 ml แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ภายในเวลา 15 วินาที อ่านค่าการดูดกลืนแสงเป็นค่า  $L_x$

5. คำนวณค่า  $L_1$ -  $L_x$  แล้วนำไปอ่านค่าความเข้มข้นของวิตามินซีจากกราฟมาตรฐาน ascorbic acid



รูปที่ ก.5 กราฟมาตรฐานของสารละลาย Ascorbic acid

#### ก.9 การวิเคราะห์ค่าแอกทिवิตีของสารพรีไบโอติก (Prebiotic activity score)

ดัดแปลงวิธีของ Huebner และคณะ (2007)

##### เชื้อแบคทีเรีย

1. *Lactobacillus acidophilus* La5
2. *Bifidobacterium animalis* spp. *Lactis* Bb12
3. *Escherichia coli* ATCC 29922

##### อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Lactobacillus MRS Broth
2. Soyabean Casein Digest Medium (Typtone Soya Broth; TSB)
3. Agar
4. Minimal Medium Broth

- D-(+)-glucose	2.0	g
- Ammonium sulphate ((NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	1.0	g
- Dipotassium hydrogen orthophosphate (K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	7.0	g
- Magnesium sulfate (MgSO <sub>4</sub> )	0.5	g
- น้ำ	1	L

### อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องซั่งน้ำหนัก ทศนิยม 2 ตำแหน่ง
2. เครื่อง Autoclave
3. เครื่อง Incubator
4. Microbiology Anaerobic Jar 2.5 L
5. AnaeroGen™ 2.5 L

### การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

1. *L. acidophilus* La5 และ *B. lactis* Bb12

นำเชื้อ *L. acidophilus* La5 และ *B. lactis* Bb12 มา streak บน MRS agar และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง โดยเชื้อ *L. acidophilus* La5 บ่มที่ภาวะบรยากาศ และเชื้อ *B. lactis* Bb12 บ่มที่ภาวะไม่มีออกซิเจนใน Anaerobic jar จากนั้นถ่ายเชื้อจำนวน 1 คอลโลนี ลงใน MRS broth ปริมาตร 10 ml และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่ภาวะบรยากาศ

2. *E. coli* ATCC 29922

นำเชื้อ *E. coli* มา streak บน Tryptic Soy Agar (TSA) และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ที่ภาวะบรยากาศ จากนั้นถ่ายเชื้อจำนวน 1 คอลโลนี ลงใน Tryptic Soy Broth (TSB) ปริมาตร 10 ml นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่ภาวะบรยากาศ และถ่ายเชื้อ *E. coli* จาก TSB ปริมาตร 1% (v/v) ลงใน Minimal Medium Broth ปริมาตร 10 ml และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่ภาวะบรยากาศ

### วิธีวิเคราะห์

1. ถ่ายเชื้อ *L. acidophilus* La5 และ *B. lactis* Bb12 ที่เตรียมได้ปริมาณ 1% (v/v) ลงในอาหารเหลว MRS ที่มีกลูโคส 1% (w/v) หรือ ตัวอย่างที่ต้องการตรวจสอบ 1% (w/v) และ *E. coli* ที่เตรียมได้ปริมาณ 1% (v/v) ลงใน Minimal Medium Broth ที่มีกลูโคส 1% (w/v) หรือ ตัวอย่างที่ต้องการตรวจสอบ 1% (w/v)

2. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C ที่ภาวะบรรยากาศ
3. หลังจากบ่มนาน 0 และ 24 ชั่วโมง นับจำนวนคอโลนีบน MRS agar สำหรับเชื้อ *L. acidophilus* La5 และ *B. lactis* Bb12 และบน TSA สำหรับเชื้อ *E. coli* และหาค่าแอกทิวิตีของสารพีไบโอติกในตัวอย่างที่นำมาตรวจสอบโดยคำนวณจากสมการ

ค่าแอกทิวิตีของสารพีไบโอติก

$$= \frac{\text{ความแตกต่างระหว่างจำนวนคอโลนี (log cfu ml}^{-1}\text{) ของโพรไบโอติกที่ 0 และ 24 ชั่วโมง ในพีไบโอติก}}{\text{ความแตกต่างระหว่างจำนวนคอโลนี (log cfu ml}^{-1}\text{) ของโพรไบโอติกที่ 0 และ 24 ชั่วโมง ในกลูโคส}}$$

$$- \frac{\text{ความแตกต่างระหว่างจำนวนคอโลนี (log cfu ml}^{-1}\text{) ของ } E. coli \text{ ที่ 0 และ 24 ชั่วโมง ในพีไบโอติก}}{\text{ความแตกต่างระหว่างจำนวนคอโลนี (log cfu ml}^{-1}\text{) ของ } E. coli \text{ ที่ 0 และ 24 ชั่วโมง ในกลูโคส}}$$

## ก.10 การวิเคราะห์สารประกอบในเบต้าไซยานิน

### Thin layer chromatography (TLC)

เตรียมตัวอย่างแก้วมังกรแดงทั้งเนื้อและเปลือกที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เพกทิเนสทางการค้า ตามวิธีของ Vargas et al. (2000) : นำตัวอย่างแก้วมังกรแดง ปริมาณ 10 กรัม เติมนเอทานอล 95% ปริมาตร 20 ml จากนั้นปั่นตัวอย่างจนเป็นเนื้อเดียวกันนาน 5 นาที และนำไปกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman<sup>®</sup> No 1 เพื่อแยกเอากากออก นำส่วนของเหลวที่กรองได้ไประเหยเอทานอลออกด้วยเครื่อง Rotary vacuum evaporator ที่อุณหภูมิ 25 °C นาน 35 นาที จากนั้นนำไปแยกสารให้สีโดยใช้ Thin layer chromatography (TLC) aluminium silica gel plate (Merck, Germany) และใช้สารละลาย isopropanol-ethanol-distilled water-acetic acid, 6:7:6:1 v/v เป็น mobile phase คำนวณค่า R<sub>f</sub> (ระยะทางที่สารเคลื่อนที่ (ซม.) / ระยะทางที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่ (ซม.)) โดยเทียบกับค่า R<sub>f</sub> มาตรฐานของเบต้าไซยานิน ชุดแถบสารเบต้าไซยานินดังกล่าว และนำไปละลายในตัวทำละลายเอทานอล 95% จากนั้นนำไปปั่นแยกส่วนใสด้านบนซึ่งเป็นส่วนของสารเบต้าไซยานินด้วยเครื่องเซนตริฟิวจ์ที่ 5000 rpm 5 นาที แล้วนำไปวัด absorption spectra ในช่วง 400 – 700 nm

### High performance Liquid Chromatography (HPLC)

ตัวอย่างแก้วมังกรแดงทั้งเนื้อและเปลือกที่แยกได้จาก TLC ข้างต้น กรองผ่านกระดาษกรอง Whatman<sup>®</sup> No 42 สารที่กรองได้นำมาปรับปริมาตรกับเอทานอล 95% จนมีปริมาตรเป็น 50 มล. จากนั้นนำสารดังกล่าวไปฉีดวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ตามวิธีของ Stintzing และคณะ, 2007 โดยใช้ C<sub>18</sub>- column (250x4.6 mm i.d.) มี particles size 5 µm ระบบของสารละลาย

mobile phase A เป็น acetic acid/water, 2/98 (v/v) และใช้ mobile phase B เป็น acetic acid 0.5%/acetonitrile, 50/50 (v/v) การแยกจะใช้อุณหภูมิ 30 °C อัตราการไหล (flow rate) 1 ml/min ในการวิเคราะห์ช่วงแรกจะใช้สาร A 100%, นาทีที่ 20 ใช้สาร B 10% , นาทีที่ 40 ใช้สาร B 13% , นาทีที่ 45 ใช้สาร B 20% และสุดท้าย นาทีที่ 50 ใช้สาร B 100% สำหรับค่าความยาวคลื่นจะใช้ที่ 538 nm การวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC นี้จะถูกต้องเข้ากับ Bruker model Esquire 3000 (Bremen, Germany) ion trap mass spectrometer ซึ่งต่อกับ electrospray ionization source ทั้งหมดนี้จะ ดำเนินการใน positive mode ใช้ไนโตรเจนแบบแห้ง ที่อัตราการไหล 12 ml/min และแรงดัน 70 psi ที่เครื่อง nebulizer ใช้อุณหภูมิ 365 °C โดยมีฮีเลียมเป็น collision gas ( $4.1 \times 10^{-9}$  bar)

#### ก.11 การทดสอบค่าแอกทิวิตีของเอนไซม์เพอร์ออกซิเดส

ดัดแปลงวิธีของ Pearson (1970)

##### สารเคมี

4. 1% Guaiacol (in 50% Ethanol)
5. 0.08% Hydrogen peroxide

##### อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องซึ่งน้ำหนักศนิยม 2 ตำแหน่ง

##### การเตรียมตัวอย่าง

1. ตีป็นส่วนเปลือกและส่วนเนื้อแก้วมังกรแดงกับ deionised water ในอัตราส่วนแก้วมังกรแดงต่อน้ำ เท่ากับ 2:1 ด้วยเครื่องปั่นผสม แล้วกรองแยกกากออก นำส่วนใสมาทดสอบปฏิกิริยาเอนไซม์

##### วิธีทดสอบ

1. เตรียม blank โดยใส่ตัวอย่างที่เตรียมไว้ 0.5 ml ลงในหลอดทดลองที่มี deionised water 2 ml เขย่าให้เข้ากัน ใช้เป็นหลอดเปรียบเทียบสี
2. ใส่ตัวอย่างที่เตรียมไว้ 0.5 ml ลงในหลอดทดลอง แล้วเติม 1% Guaiacol (in 50% Ethanol) จำนวน 1 ml ลงไป โดยไม่ต้องเขย่าและผสม
3. เติมสารละลาย 0.08% Hydrogen peroxide จำนวน 1 ml ตามลงไป โดยไม่ต้องเขย่าและผสม
4. ผสมสารละลายในหลอดทดลองโดยจับหลอดทดลองคว่ำไปมา และสังเกตสีที่เกิดขึ้น

โดยเปรียบเทียบกับหลอดที่เป็น blank ถ้าไม่มีสีเกิดขึ้นภายใน 3.5 นาที แสดงว่าไม่มีแอกทิวิตีของ เอนไซม์เพอร์ออกซิเดส และถ้าเกิดสีหลังจาก 3.5 นาที แสดงว่าไม่มีแอกทิวิตีของเอนไซม์เพอร์ออกซิเดสเช่นเดียวกัน

### ก.12 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

ตามวิธีของ Nelson (1944)

#### สารเคมี

1. Ammonium molybdate ( $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ )
2. Anhydrous sodium dihydrogen phosphate ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ )
3. Anhydrous sodium sulphate ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ )
4. Copper sulphate pentahydrate ( $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ )
5. Potassium sodium tartrate ( $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6$ )
6. Sodium hydroxide ( $\text{NaOH}$ )
7. Sulfuric acid ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ )
8. Sodium arsenate ( $\text{Na}_2\text{HASO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )
9. D-(+)-glucose

#### อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง
2. เครื่อง Spectrophotometer

#### วิธีวิเคราะห์

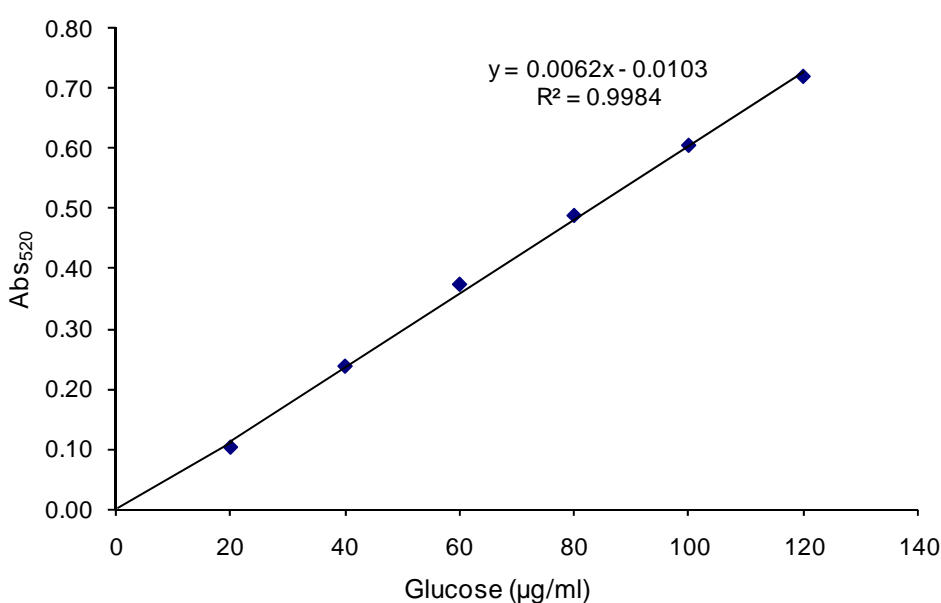
1. เตรียมสารละลาย Alkaline copper reagent โดยละลาย  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  14 g และ  $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6$  20 g ในน้ำกลั่น 350 ml เติม  $\text{NaOH}$  ความเข้มข้น 1 N ปริมาตร 50 ml เติม 10%  $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$  ปริมาตร 20 ml และเติม Anhydrous  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  50 g ผสมให้เข้ากัน แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนมีปริมาตรสุดท้ายเป็น 500 ml ทิ้งไว้ 1-2 วันในขวดสีชา

2. เตรียมสารละลาย Asenomolydate reagent โดยละลาย  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$  25 g ในน้ำกลั่น 400 ml เติม Conc.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  21 ml และสารละลาย  $\text{Na}_2\text{HASO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (ได้จาก  $\text{Na}_2\text{HASO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$  3 g ในน้ำกลั่น 12.5 ml) ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 1-2 วันในขวดสีชา

3. เตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคสเข้มข้น 20-120  $\mu\text{g}/\text{ml}$  ปิเปตสารละลายแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 1 ml จากนั้นเติมสารละลาย Alkaline copper reagent ปริมาตร 1 ml นำไปต้มในน้ำเดือดนาน 10 นาที ทำให้เย็น เติม Asenomolydate reagent ที่เจือจางด้วยสารละลาย

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ความเข้มข้น 1.5 N ในอัตราส่วน 1:2 ปริมาตร 1 ml และเติมน้ำกลั่นปริมาตร 3 ml จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 nm

4. ใช้น้ำกลั่นเป็น Blank โดยผ่านขั้นตอนเช่นเดียวกับข้อ 3
5. นำค่าที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐาน
6. การวิเคราะห์ตัวอย่างให้ทำการเจือจางจนได้ความเข้มข้นที่เหมาะสม จากนั้นนำไปวิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 3



รูปที่ ก.6 กราฟมาตรฐานของสารละลาย Glucose

### ก.13 เสถียรภาพของเบต้าไซยานิน

#### สารละลาย กรด เกลือ และไฮโดรคอลลอยด์

การเตรียมสารละลายกรด เกลือ และไฮโดรคอลลอยด์ตามวิธีของ Hubbermann และคณะ (2006)

สารละลายกรดซิตริก, กรดอะซิติก และ กรดแอสคอร์บิก แต่ละชนิดเตรียมที่ความเข้มข้น 0.2 M ปรับให้มี pH เป็น 3.9 ด้วย NaOH 1.0N สำหรับสารละลายเกลือใช้ไซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1, 3 และ 5% โดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย สารละลายน้ำตาล กลูโคส, ฟรุคโตส และ ซอร์บิทอล เตรียมที่ความเข้มข้น 7% และสารไฮโดรคอลลอยด์ แบ่งข้าวโพด, แชนแทนกัม และคาราจีแนน เตรียมที่ความเข้มข้น 0.5% นำสารละลายแต่ละชนิดที่เตรียมไว้ที่ความเข้มข้นต่างๆ จำนวนอย่างละ 1 ลิตร เติมน้ำในตัวอย่างแก้วมังกร 1 กรัม และเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง ในที่มืดเป็นเวลา 7 วัน



เปรียบเทียบผลการทดลองกับชุดตัวอย่างควบคุมที่ไม่เติมสารละลายกรด เกลีส และไฮโดรคอลลอยด์

#### การเตรียมสารละลายที่มี pH แตกต่างกัน

การเตรียมสารละลายที่มีค่า pH แตกต่างกัน ตามวิธีของHarivaindaran และคณะ (2008) ใช้กรดซิตริกเข้มข้น 0.1 M และ $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  เข้มข้น 0.2 M เติมลงไปใต้น้ำกลั่นปรับจนมี pH เป็น 2, 3, 4, 5 และ 6 จากนั้นนำตัวอย่างแก้วมังกรแดงมา 10 กรัม เติมลงไปใต้น้ำกลั่นที่มี pH ต่างๆ ปริมาตร 30 ml และเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง ในที่มืดเป็นเวลา 7 วัน แล้วนำผลไปวิเคราะห์เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงค่าสีในช่วง pH ที่ศึกษา

#### การวิเคราะห์เกี่ยวกับอุณหภูมิ

ตัวอย่างแก้วมังกรแดงจำนวน 10 กรัม ผสมใต้น้ำกลั่นปริมาตร 30 มล. จากนั้นนำไปให้ความร้อนจนตัวอย่างมีอุณหภูมิ 40, 60, 80 และ 100°C ทำให้เย็นลง เปรียบเทียบผลการทดลองกับตัวอย่างควบคุมที่อุณหภูมิ 25°C

#### การวิเคราะห์เกี่ยวกับแสง

ตัวอย่างแก้วมังกรแดงจำนวน 10 กรัมผสมใต้น้ำกลั่นปริมาตร 30 มล. จากนั้นตั้งทิ้งไว้ให้สัมผัสแสง (fluorescence constant irradiance of  $6 \text{ Wm}^{-2}$ ) นาน 10 ชม. ต่อวัน เป็นระยะเวลา 7 วัน เปรียบเทียบผลการทดลองกับตัวอย่างควบคุม 0 วัน (day 0)

สำหรับการติดตามเสถียรภาพของสีของเบต้าไซยานินจะคิดในค่าของ  $a^*$  โดยใช้การวัดสีในระบบ CIE  $L^*a^*b^*$ ,  $L^* = 0(\text{black})$ ;  $L^* = 100(\text{white})$ ,  $a^*(-a^* = \text{green}; +a^* = \text{red})$ ,  $b^*(-b^* = \text{blue}; +b^* = \text{yellow})$  และใช้แหล่งกำเนิดแสง  $D_{65}$

## ภาคผนวก ข

### รายละเอียดของเอนไซม์

#### เอนไซม์เพกทิเนสทางการค้า Pectinex® Ultra SP-L

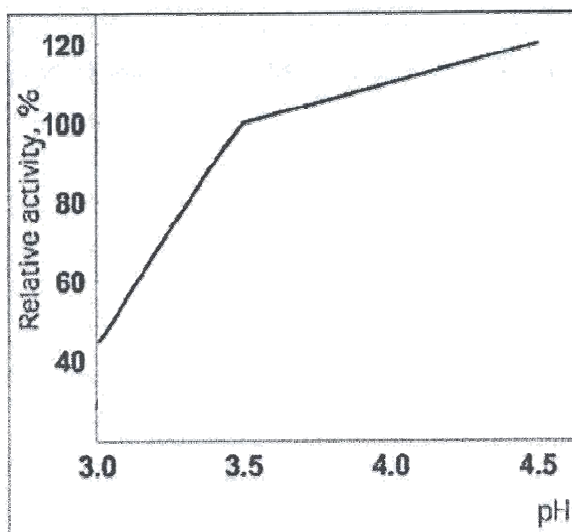
Pectinex® Ultra SP-L เป็นเอนไซม์ที่มีแอกทิวิตีของเพกทิเนสสูง ผลิตจากเชื้อกลุ่ม *Aspergillus aculeatus* สายพันธุ์ที่ผ่านการคัดเลือกแล้ว ประกอบด้วยเอนไซม์พอลิกลาแลกทูโรเนส เพกทินไลเอส เพกทินเอสเทอเรส เป็นหลัก โดยมีเอนไซม์เฮมิเซลลูเลส เซลลูเลส โปรตีเอส และ อะไมเลส ช่วยเสริมการย่อยสลายโมเลกุลต่างๆที่บริเวณผนังเซลล์ของพืช

ลักษณะปรากฏ: เป็นของเหลวสีน้ำตาลเข้ม และมีกลิ่นหมักเล็กน้อย มี pH ประมาณ 4.5 สามารถละลายน้ำได้ดีที่ทุกความเข้มข้น

แอกทิวิตีของเอนไซม์โดยทั่วไป: 26,000 PGU/ml (pH 3.5) ค่าแอกทิวิตีของเอนไซม์พิจารณาโดยวัดความหนืดของสารละลายกรดเพกติกที่ลดลง ที่อุณหภูมิ 20°C pH 3.5

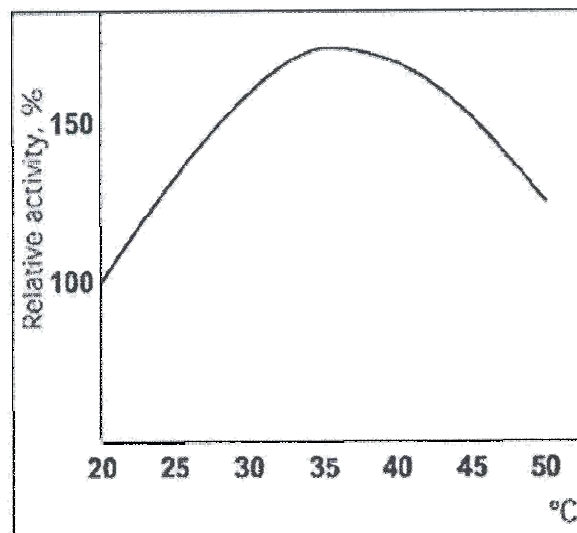
ข้อกำหนด: สามารถใช้ในอาหารได้ รับรองโดย FAO/WHO, JECFA และ FCC

การเก็บรักษา: เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 20°C แอกทิวิตีของเอนไซม์สามารถคงอยู่ได้เป็นเวลา 3 เดือน และเมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 0-10°C แอกทิวิตีของเอนไซม์สามารถคงอยู่ได้อย่างน้อย 1 ปี



รูปที่ ข.1 แอกทิวิตีของเอนไซม์ที่ pH ต่างๆ

Polygalacturonase activity at 20°C



รูปที่ ข.2 แอกทิวิตีของเอนไซม์ที่อุณหภูมิต่างๆ

Polygalacturonase activity at pH 3.5

(ดัดแปลงจาก Novozymes, Enzyme Information)

## ภาคผนวก ค

## การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ตารางที่ ค.1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าสีในระบบ L\* a\* b\* ของเนื้อแก้วมังกรแดง  
ที่ระดับความสุกต่างๆ

Source of variance	df	MS				
		L*	a*	b*	C*	°h
Ripening levels	2	166.785*	145.132*	200.876*	159.406*	499.271*
Error	6	2.096	3.490	3.641	3.703	6.985

\* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ ค.2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าสีในระบบ L\* a\* b\* ของเปลือกแก้วมังกรแดง  
ที่ระดับความสุกต่างๆ

Source of variance	df	MS				
		L*	a*	b*	C*	°h
Ripening levels	2	124.403*	16.326*	6.757*	2.251*	51.582*
Error	6	0.220	0.272	0.339	0.265	1.034

\* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ ค.3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าสีในระบบ L\* a\* b\* ของเนื้อแก้วมังกรแดง  
ที่ระดับความสุกต่างๆ

Source of variance	df	MS				
		L*	a*	b*	C*	°h
Ripening levels	2	134.302*	14.346*	6.847*	2.242*	51.602*
Error	6	0.214	0.216	0.327	0.253	1.104

\* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

**ตารางที่ ค.4** การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นภายใน 24 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยง  
ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเปลือกมังกรแดงหรือมีกลูโคสเป็นองค์ประกอบด้วยวิธี T-test

		t	df	Sig. (2-tailed)
La5	Equal variances assumed	1.607	4	0.183
Bb12	Equal variances assumed	8.634	4	0.001
<i>E. coli</i>	Equal variances assumed	1.965	4	0.121

**ตารางที่ ค.5** การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นภายใน 24 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยง  
ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเนื้อมังกรแดงหรือมีกลูโคสเป็นองค์ประกอบด้วยวิธี T-test

		t	df	Sig. (2-tailed)
La5	Equal variances assumed	1.517	4	0.175
Bb12	Equal variances assumed	8.724	4	0.011
<i>E. coli</i>	Equal variances assumed	2.015	4	0.131

**ตารางที่ ค.6** การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยความสว่าง ( $L^*$ ) ค่าสีแดง ( $+a^*$ )  
ค่าสีเหลือง ( $+b^*$ ) ของแก้วมังกรแดงตีป่นที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยา  
สีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ

Source of variance	df	MS		
		$L^*$	$+a^*$	$+b^*$
Blanching time (A)	3	8.647*	18.878*	38.511*
Acid type (B)	1	354.048*	66.600*	253.240*
Acid concentration (C)	3	57.694*	8.311*	32.777*
AxB	3	9.165*	1.066*	5.170*
AxC	9	3.064*	0.964*	0.771
BxC	3	39.984*	8.246*	28.765*
AxBxC	9	2.541*	0.265	0.936
Error	64	1.247	0.382	1.103

\* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

**ตารางที่ ค.7** การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในแก้วมังกรแดงที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ที่ความเข้มข้น 2.5% (v/w)

Source of variance	df	MS
Hydrolysis time	7	826.475*
Error	16	4.576

\* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

**ตารางที่ ค.8** การวิเคราะห์ความแปรปรวนของฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (AA) และปริมาณเบต้าไซยานินทั้งหมด (BC) ของไซรัปเปลือกและเนื้อแก้วมังกรแดงที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิดด้วยเอนไซม์ต่างกัน

Source of variance	df	MS		
		AA		BC
		DPPH	ABTS	
Hydrolysis time	4	18.671*	21.200*	1.609*
Error	10	0.490	2.192	0.084

\* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

**ตารางที่ ค.9** การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของปริมาณใยอาหารทั้งหมด (TDF) ใยอาหารที่ละลายน้ำ (SDF) และใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ (IDF) ในแก้วมังกรแดงที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์กับแก้วมังกรแดงตีป่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาลด้วยวิธี T-test

		t	df	Sig. (2-tailed)
TDF	Equal variances assumed	0.740	2	0.536
SDF	Equal variances assumed	9.892	2	0.010
IDF	Equal variances assumed	23.200	2	0.002

**ตารางที่ ค.10** การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นภายใน 24 ชั่วโมง  
เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแก้วมังกรแดงตีป่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาล  
แก้วมังกรแดงที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ หรือมีกลูโคสเป็นองค์ประกอบ

Source of variance	df	MS		
		La5	Bb12	<i>E. coli</i>
Media	2	0.015	0.066*	0.019*
Error	6	0.015	0.002	0.003

\* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

**ตารางที่ ค.11** การวิเคราะห์ความแปรปรวนของการเปลี่ยนแปลงฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (AA)  
ปริมาณเบต้าไซยานินทั้งหมด (BC) และใยอาหาร (DF) ในระหว่างกระบวนการ  
ย่อยสลายด้วยเอนไซม์

Source of variance	df	MS					
		AA		BC	DF		
		DPPH	ABTS		TDF	SDF	IDF
Sample	2	2.013*	514.481*	94.309*	0.583	10.267*	9.085*
Error	6	0.062	30.721	0.960	0.112	0.098	0.025

\* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

ภาคผนวก ง

รายละเอียดข้อมูลเพิ่มเติม

ตารางที่ 1 ค่า pH และค่าสี L\* a\* b\* ของแก้วมังกรตีป่นที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ  
เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม (control) (ค่าสีที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยที่วัดทุกๆ 0, 3 และ 5 วัน)

Blanching Time (min)	Type of Treatment	Amount of Acid (% w/w)	pH	Average of color in 5 days		
				L*	+a*	+b*
0	control		5.36 <sup>a</sup> ±0.05	31.94 <sup>e,f,g</sup> ±0.90	11.77 <sup>a</sup> ±0.82	31.54 <sup>d,e</sup> ±1.85
	Ascorbic acid	0.10	4.93 <sup>b</sup> ±0.35	36.36 <sup>b,c</sup> ±0.94	9.41 <sup>c,d,e,f,g</sup> ±0.90	34.87 <sup>a,b</sup> ±1.12
		0.30	4.66 <sup>b,c,d</sup> ±0.16	37.79 <sup>b</sup> ±1.00	8.39 <sup>g,h,i,j</sup> ±0.65	35.94 <sup>a</sup> ±0.79
		0.50	4.46 <sup>d,e,f</sup> ±0.08	37.36 <sup>b</sup> ±1.35	8.04 <sup>h,i,j,k</sup> ±0.88	35.89 <sup>a</sup> ±0.93
	Citric acid	0.10	4.91 <sup>b</sup> ±0.14	32.26 <sup>e,f</sup> ±1.00	11.75 <sup>a</sup> ±1.07	32.69 <sup>c,d</sup> ±1.47
		0.30	4.59 <sup>c,d</sup> ±0.03	32.91 <sup>e</sup> ±1.09	11.78 <sup>a</sup> ±1.03	33.12 <sup>b,c,d</sup> ±1.47
		0.50	4.31 <sup>e,f</sup> ±0.08	33.57 <sup>d,e</sup> ±0.37	11.20 <sup>a,b</sup> ±0.05	33.11 <sup>b,c,d</sup> ±1.18
1	control		5.24 <sup>a</sup> ±0.06	32.76 <sup>e,f</sup> ±1.24	9.21 <sup>d,e,f,g</sup> ±0.22	29.68 <sup>e,f,g</sup> ±0.86
	Ascorbic acid	0.10	4.91 <sup>b</sup> ±0.26	36.17 <sup>b,c</sup> ±1.71	8.98 <sup>e,f,g,h</sup> ±0.46	34.31 <sup>a,b,c</sup> ±0.63
		0.30	4.61 <sup>c,d</sup> ±0.07	36.85 <sup>b,c</sup> ±1.03	7.64 <sup>i,j,k</sup> ±0.15	34.41 <sup>a,b,c</sup> ±0.98
		0.50	4.43 <sup>d,e,f</sup> ±0.04	37.64 <sup>b</sup> ±1.40	7.42 <sup>j,k</sup> ±0.29	34.61 <sup>a,b,c</sup> ±0.07
	Citric acid	0.10	4.89 <sup>b</sup> ±0.16	30.59 <sup>f,g</sup> ±1.97	10.57 <sup>b,c</sup> ±0.68	29.11 <sup>f,g</sup> ±0.98
		0.30	4.54 <sup>c,d,e,f</sup> ±0.11	30.04 <sup>g</sup> ±0.11	10.41 <sup>b,c,d</sup> ±0.54	27.95 <sup>g</sup> ±1.00
		0.50	4.28 <sup>f</sup> ±0.08	32.18 <sup>e,f</sup> ±0.25	10.11 <sup>b,c,d</sup> ±0.17	30.17 <sup>e,f</sup> ±0.83
3	control		5.29 <sup>a</sup> ±0.02	32.11 <sup>e,f,g</sup> ±1.23	9.36 <sup>d,e,f,g</sup> ±0.79	29.52 <sup>f,g</sup> ±0.97
	Ascorbic acid	0.10	4.92 <sup>b</sup> ±0.25	36.51 <sup>b,c</sup> ±0.58	7.57 <sup>j,k</sup> ±0.69	33.61 <sup>b,c</sup> ±1.66
		0.30	4.61 <sup>c,d</sup> ±0.03	39.95 <sup>a</sup> ±0.66	7.12 <sup>k</sup> ±0.25	34.34 <sup>a,b,c</sup> ±1.04
		0.50	4.42 <sup>d,e,f</sup> ±0.09	40.23 <sup>a</sup> ±1.25	7.39 <sup>j,k</sup> ±0.38	34.21 <sup>a,b,c</sup> ±0.51
	Citric acid	0.10	4.78 <sup>b,c</sup> ±0.29	30.67 <sup>f,g</sup> ±1.42	9.37 <sup>d,e,f,g</sup> ±0.41	27.95 <sup>g</sup> ±1.01
		0.30	4.50 <sup>d,e,f</sup> ±0.14	32.46 <sup>e,f</sup> ±0.29	9.42 <sup>c,d,e,f</sup> ±0.50	29.27 <sup>f,g</sup> ±0.77
		0.50	4.36 <sup>f</sup> ±0.04	32.65 <sup>e,f</sup> ±1.53	8.74 <sup>f,g,h,i</sup> ±0.78	29.81 <sup>e,f,g</sup> ±1.33
5	control		5.31 <sup>a</sup> ±0.04	33.02 <sup>d,e</sup> ±1.61	9.79 <sup>c,d,e,f</sup> ±0.85	29.41 <sup>f,g</sup> ±0.86
	Ascorbic acid	0.10	4.92 <sup>b</sup> ±0.39	36.76 <sup>b,c</sup> ±1.32	7.74 <sup>i,j,k</sup> ±0.69	33.40 <sup>b,c,d</sup> ±0.80
		0.30	4.66 <sup>b,c,d</sup> ±0.05	37.66 <sup>b</sup> ±0.71	7.23 <sup>j,k</sup> ±0.52	33.32 <sup>b,c,d</sup> ±0.86
		0.50	4.43 <sup>d,e,f</sup> ±0.08	37.74 <sup>b</sup> ±0.99	7.57 <sup>j,k</sup> ±0.41	34.06 <sup>a,b,c</sup> ±0.42
	Citric acid	0.10	4.92 <sup>b</sup> ±0.20	31.38 <sup>e,f,g</sup> ±0.63	9.23 <sup>d,e,f,g</sup> ±0.19	28.68 <sup>f,g</sup> ±0.46
		0.30	4.58 <sup>c,d,e</sup> ±0.08	34.99 <sup>c,d</sup> ±0.58	9.64 <sup>c,d,e,f</sup> ±0.21	29.03 <sup>f,g</sup> ±1.00
		0.50	4.29 <sup>f</sup> ±0.08	35.87 <sup>b,d</sup> ±0.60	8.94 <sup>e,f,g,h</sup> ±0.31	30.10 <sup>e,f</sup> ±0.96

ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขในแนวตั้งที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )



ตารางที่ ง. 2 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในแก้วมังกรแดงที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ที่มีความเข้มข้นและเวลาการย่อยต่างๆ

Enzyme concentration (% v/w)	Reducing sugars (mg glucose/ g fresh weight)							
	Hydrolysis time (h)							
	0	0.5	1	2	3	4	5	6
1.0	36.37 <sup>f</sup> ±1.78	40.30 <sup>o,p,q</sup> ±2.30	44.02 <sup>o</sup> ±1.41	53.20 <sup>kl</sup> ±2.59	57.31 <sup>ij</sup> ±1.16	61.45 <sup>h</sup> ±1.93	63.32 <sup>g,h</sup> ±1.47	67.05 <sup>d,e,f,g</sup> ±0.53
1.5	37.48 <sup>q,r</sup> ±1.66	41.77 <sup>o,p</sup> ±2.27	48.58 <sup>n</sup> ±3.34	57.53 <sup>ij</sup> ±3.31	60.81 <sup>h,i</sup> ±2.44	65.61 <sup>f,g</sup> ±3.15	67.76 <sup>d,e,f</sup> ±3.27	70.89 <sup>c,d</sup> ±2.28
2.0	40.43 <sup>o,p,q</sup> ±1.02	49.37 <sup>m,n</sup> ±1.12	52.88 <sup>k,l,m</sup> ±0.05	61.42 <sup>h</sup> ±1.81	66.21 <sup>e,f,g</sup> ±1.79	69.93 <sup>c,d,e</sup> ±2.33	71.88 <sup>c</sup> ±2.42	75.90 <sup>b</sup> ±2.12
2.5	39.25 <sup>p,q,r</sup> ±0.45	51.71 <sup>l,m,n</sup> ±0.17	55.26 <sup>j,k,l</sup> ±1.27	68.35 <sup>c,d,e,f</sup> ±0.54	75.58 <sup>b</sup> ±2.42	77.84 <sup>b</sup> ±0.31	82.89 <sup>a</sup> ±3.66	85.47 <sup>a</sup> ±3.90
3.0	38.30 <sup>p,q,r</sup> ±1.79	53.74 <sup>j,k,l</sup> ±1.58	56.44 <sup>j,k</sup> ±1.23	68.57 <sup>c,d,e,f</sup> ±2.31	75.45 <sup>b</sup> ±1.31	79.10 <sup>b</sup> ±2.39	85.56 <sup>a</sup> ±2.78	85.98 <sup>a</sup> ±2.84

ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขทั้งหมดที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

## ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวกรรณิการ์ สอนโยธา เกิดวันที่ 26 มกราคม พ.ศ. 2526 ที่จังหวัดราชบุรี สำเร็จ การศึกษาระดับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต จากภาคจุลชีววิทยา สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี เมื่อปี การศึกษา 2547 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตร วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีทาง อาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยในปีการศึกษา 2549

รายการสิ่งตีพิมพ์และเผยแพร่

ระดับชาติ

1. กรรณิการ์ สอนโยธาและ ปราณี อานเป็รื่อง. 2551. สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและความ คงตัวของเบต้าไซยานินจากเปลือกและเนื้อแก้วมังกรพันธุ์เนื้อสีแดง *Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose. ใน การประชุมวิชาการและเสนอผลงานวิจัยพืชเขต ร้อนและกึ่งร้อน ครั้งที่ 2 (ภาคบรรยาย). วันที่ 21 สิงหาคม 2551 ณ โรงแรม เดอะทวิน ทาวเวอร์ กรุงเทพมหานคร.
2. กรรณิการ์ สอนโยธาและ ปราณี อานเป็รื่อง. 2551. สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและความ คงตัวของเบต้าไซยานินจากเปลือกและเนื้อแก้วมังกรพันธุ์เนื้อสีแดง *Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 40 (1):15-18

ระดับนานาชาติ

1. Sornyotha, K. and Anprung, P. 2008. Influence of enzyme treatment on bioactive compound and colour stability of betacyanin in flesh and peel of red dragon fruit. European Food Research and Technology. (submit)