



รายงานการวิจัย
ปีงบประมาณ 2552

ผลิตภัณฑ์ผัก และผลไม้ท้องถิ่นที่มีหน้าที่เฉพาะ
ของสารพรีไบโอติกส์และแอนติออกซิเดนท์
Local Fruits and Vegetables Products
with Functional Substance of Prebiotic and Antioxidants

โดย

รศ. ดร. ปราณี อำนเปื้อง และคณะ
ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2552

บทคัดย่อ

โครงการวิจัยนี้มีระยะเวลาประมาณ 4-5 ปี นับตั้งแต่ปี 2550 วัตถุประสงค์เพื่อใช้เทคนิค เอนไซม์ในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ สารให้กลิ่น และสารหน้าที่เฉพาะอื่นๆ จากผักผลไม้ เชตร้อนและกึ่งร้อน เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบปรุงแต่งอาหาร ในงานวิจัยมุ่งเป้าไปที่ผักและผลไม้ที่มีศักยภาพ ในการปลูก การส่งเสริมการปลูกในประเทศ ตั้งแต่อดีตถึงปัจจุบัน จากการสำรวจและวิจัยในปี 2550 พบว่ามี ใบเตย กัลฉวยหอม ฝรั่งแดง มะตูม มะม่วงน้ำดอกไม้ พุทราสามรส แก้วมังกรแดง แคนตาลูป และมังคุด และอาจจะมีอื่นๆ อีก

สำหรับในรายงานวิจัยในปี 2551 ซึ่งได้รายงานไปแล้วว่า สารออกฤทธิ์ที่พบในใบเตยหอม คือ คลอโรฟิลล์ให้สีเขียว สามารถแปรรูปเป็นสารอนุพันธ์ที่มีสีเขียวที่ทนความร้อนและกรดได้ดีกว่า รูปเดิม ฝรั่งแดงเมื่อผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ ทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า ของวัตถุดิบ มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้สูงขึ้น และสีเหลืองเพิ่มขึ้น ส่วนไซรัปมะตูม เมื่อผ่านการ ย่อยสลายด้วยเอนไซม์เพคตินเนสพบว่าได้ปริมาณคาร์โบไฮเดรตมากขึ้น สำหรับไฮโดรไลเลสมะม่วงที่ มีระดับการย่อยสลายเพคตินต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญต่อเสถียรภาพของ อิมัลชัน เป็นต้น

สำหรับงานวิจัยในปี 2552 พบว่า เมื่อใช้เอนไซม์เพคตินเนสสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพใน ใบเตยหอม พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณคลอโรฟิลล์และสารแอนติออกซิแดนที่ให้เป็น 17.3 และ 1.9 เท่า ตามลำดับ สำหรับกัลฉวยหอมได้ผลิตภัณฑ์ไซรัปที่มีสารหน้าที่เฉพาะที่มีความโดดเด่นสามารถ นำไปใช้ทดแทนวัตถุดิบปรุงแต่งกลิ่น รสกลิ่นหอมสังเคราะห์ได้เป็นอย่างดี ในฝรั่งแดงพบว่าไซรัปที่ได้มี ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน สารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์และไลโคพีนเพิ่มมากขึ้น สำหรับไซรัปมะตูม พบว่ามีปริมาณใยอาหาร ค่าแอกทิวิตีของฟรีโบอิดิก สารระเหย และสารต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น เมื่อผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ ในการย่อยสลายเพคตินในมะม่วง พบว่า เอนไซม์ช่วยเพิ่มปริมาณใย อาหารที่ละลายน้ำ ฤทธิ์การต้านออกซิเดชัน และปริมาณสารเบต้าแคโรทีน ส่วนวิจัยพุทราสามรส พบว่า เมื่อประมาณเอนไซม์และเวลาการย่อยสลายสูงขึ้น ส่งผลให้ปริมาณใยอาหารที่ละลายน้ำได้ สูงขึ้น งานวิจัยแก้วมังกรและแคนตาลูปพบว่าการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลทำได้โดยใช้กรดแอสคอบิก ร่วมกับความร้อน และการใช้เอนไซม์ทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของแก้วมังกรสูงขึ้นเป็น 1.5 เท่า และ แคนตาลูปเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า

จากผลการวิจัยที่กล่าวมาแสดงให้เห็นว่า การใช้เอนไซม์สามารถช่วยปรับปรุงสมบัติเฉพาะ ของวัตถุดิบให้มีความโดดเด่น และสามารถพัฒนาเพื่อใช้เป็นสารปรุงแต่งอาหารทดแทนการใช้สาร สังเคราะห์ได้เป็นอย่างดี

สารบัญเรื่อง

	หน้าที่
บทคัดย่อภาษาไทย	2
สารบัญ	3
รายงานการวิจัย	9
ชุดโครงการวิจัยย่อยที่ 1	
ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดและตรึงรูปสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และกลิ่นของใบเตยหอม <i>Pandanus amaryllifolius</i>	13
ชุดโครงการวิจัยย่อยที่ 2	
กระบวนการทางเอนไซม์สำหรับแปรรูปไซรัปกล้วยหอม <i>Musa acuminata</i> AAA Group 'Gross Michel' เพื่อเป็น อาหารหน้าที่เฉพาะ	26
ชุดโครงการวิจัยย่อยที่ 3	
ผลของการสกัดด้วยเอนไซม์ต่อสารหน้าที่เฉพาะในฝรั่งแดง <i>Psidium guajava</i> L.....	40
ชุดโครงการวิจัยย่อยที่ 4	
การผลิตด้วยเอนไซม์และการหาลักษณะเฉพาะของไซรัป มะตูม <i>Aegle marmel</i> (L.) Correa.....	55
ชุดโครงการวิจัยย่อยที่ 5	
ผลของการใช้เอนไซม์ต่อเสถียรภาพของอิมัลชันจาก ไฮโดรไลเสทของมะม่วงน้ำดอกไม้ <i>Mangifera indica</i> L.....	63
ชุดโครงการวิจัยย่อยที่ 6	
การสกัดด้วยเอนไซม์และสมบัติเชิงหน้าที่ของใยอาหารจาก พุทราพันธุ์สามรส <i>Ziziphus mauritiana</i> Lam.....	74
ชุดโครงการวิจัยย่อยที่ 7	
ผลของการใช้เอนไซม์ต่อสารออกฤทธิ์ชีวภาพจากเปลือกและ เนื้อแก้วมังกรพันธุ์เนื้อสีแดง <i>Hylocereus polyrhizus</i> (Weber) Britton & Rose.....	100
ชุดโครงการวิจัยย่อยที่ 8	
การสกัดสารหน้าที่เฉพาะจากแคนตาลูป <i>Cucumis melo</i> var. <i>cantalupensis</i> พันธุ์ชั้นเลดีด้วยเอนไซม์	111
ประวัติคณะผู้วิจัย	122

เลขที่

เลขทะเบียน 015067

วันที่ 11 พ.ย. 54

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1.1 การสกัดอนุพันธ์คลอโรฟิลล์จากใบเตยด้วยเอนไซม์ที่ระดับต่ำ (-1, -1, -1) กลาง (0, 0, 0) และสูง (+1, +1, +1) เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่เติมเอนไซม์ ต่อค่า (A) ค่าสีเขียว (B) ค่า Hue (C) ปริมาณคลอโรฟิลล์ (D) ค่า antioxidant activity	19
1.2 Response surfaces แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาในการสกัดต่อค่าสีเขียวเมื่อ (A) สกัด 1 รอบ (B) สกัด 2 รอบ และ (C) สกัด 3 รอบ	21
1.3 Response surfaces แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาในการสกัดต่อปริมาณคลอโรฟิลล์เมื่อ (A) สกัด 1 รอบ (B) สกัด 2 รอบ และ (C) สกัด 3 รอบ	22
1.4 Response surfaces แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาในการสกัดต่อค่าแอนติออกซิเดนซ์ เมื่อ (A) สกัด 1 รอบ (B) สกัด 2 รอบ และ (C) สกัด 3 รอบ	22
1.5 Superimposed contour plots สำหรับภาวะที่เหมาะสมของสีเขียว ปริมาณคลอโรฟิลล์และสารแอนติออกซิเดนซ์ภายใต้สัปดาห์การซ้ำ 2 ครั้ง	23
2.1 แอ็กทิวิตีของสารพรีไบโอติกของไซรัปกล้วยหอม.....	34
3.1 ลักษณะของเยลลี่ (a) เนื้อฝรั่งแดง (b) ไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 30 นาที (c) 90 นาที (d) 240 นาที และ (e) 300 นาที.....	50
4.1 ค่าแอ็กทิวิตีของสารพรีไบโอติกในไซรัปมะตูมเปรียบเทียบกับเนื้อมะตูมสุกตีปั่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาล	59
5.1 ระดับการย่อยสลายสารประกอบเพกทิน (DH) ในไฮโดรไลเสตมะม่วงที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ Pectinex [®] Ultra SP-L (P) ที่ความเข้มข้นและเวลาการย่อยต่างๆ.....	67
6.1 Rheograms ของสารละลายมิวซิเลจที่ความเข้มข้นต่างๆ (a) ความสัมพันธ์ระหว่าง shear stress และ shear rate (b) ความสัมพันธ์ระหว่าง viscosity และ shear rate.....	81
6.2 Rheograms ของสารละลายกัวกัมที่ความเข้มข้นต่างๆ ความสัมพันธ์ระหว่าง shear stress และ shear rate ความสัมพันธ์ระหว่าง viscosity และ shear rate..	83
6.3 Rheograms ของสารละลายแซนแทนกัมที่ความเข้มข้นต่างๆ (a) ความสัมพันธ์	

	ระหว่าง shear stress และ shear rate (b) ความสัมพันธ์ระหว่าง viscosity และ shear rate.....	84
6.4	ความสัมพันธ์ระหว่าง viscosity และ shear rate ของสารละลายมิวซิเลจที่ pH ต่างๆ	85
6.5	ความสัมพันธ์ระหว่าง viscosity และ shear rate ของสารละลายกั้วร์กัมที่ pH ต่างๆ	86
6.6	ความสัมพันธ์ระหว่าง viscosity และ shear rate ของสารละลายแซนแทนกัมที่ pH ต่างๆ	86
6.7	ความสัมพันธ์ระหว่าง viscosity และ shear rate ของสารละลายมิวซิเลจที่ อุณหภูมิต่างๆ	87
6.8	ความสัมพันธ์ระหว่าง viscosity และ shear rate ของสารละลายกั้วร์กัมที่ อุณหภูมิต่างๆ	88
6.9	ความสัมพันธ์ระหว่าง viscosity และ shear rate ของสารละลายแซนแทนกัมที่ อุณหภูมิต่างๆ	88
6.10	ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ในกากพุทราที่ได้จากกระบวนการทาง เอนไซม์ที่ภาวะต่างๆ	91
6.11	ค่า pH ในกากพุทราที่ได้จากกระบวนการทางเอนไซม์ที่ภาวะต่างๆ	91
6.12	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในกากพุทราที่ได้จากกระบวนการทางเอนไซม์ที่ภาวะต่างๆ	92
6.13	ปริมาณใยอาหารละลายน้ำในกากพุทราจากภาวะการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ ความเข้มข้น 2.0% (v/w) ที่ระยะเวลาต่างๆ.....	94
6.14	ปริมาณใยอาหารไม่ละลายน้ำในกากพุทราจากภาวะการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ ความเข้มข้น 2.0% (v/w) ที่ระยะเวลาต่างๆ.....	94
6.15	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในกากพุทราที่เติมเอนไซม์ความเข้มข้น 2% (v/w) เพิ่มที่ เวลาการย่อยสลาย 4 ชม.....	95
6.16	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในกากพุทราที่เติมเอนไซม์ความเข้มข้น 2% (v/w) เพิ่มที่ เวลาการย่อยสลาย 6 ชม.....	95
7.1	ค่าเฉลี่ยความสว่าง (L*) ของเนื้อแก้วมังกรแดงที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยา สีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ	107

7.2	ค่าเฉลี่ยสีแดง (+a*) ของเนื้อแก้วมังกรแดงที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ	104
7.3	ค่าเฉลี่ยความสว่าง (L*) ของเปลือกแก้วมังกรแดงที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ	105
7.4	ค่าเฉลี่ยสีแดง (+a*) ของเปลือกแก้วมังกรแดงที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ	105
7.5	การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในเปลือกแก้วมังกรที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ความเข้มข้น 0-10% เป็นเวลาต่างกัน	106
7.6	การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในเนื้อแก้วมังกรที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ความเข้มข้น 0-10% เป็นเวลาต่างกัน	107
8.1	ค่าเฉลี่ยความสว่าง (L*) ของเนื้อแคนตาลูปที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ	114
8.2	ค่าเฉลี่ยสีแดง (+a*) ของเนื้อแคนตาลูปที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ	115
8.3	ค่าเฉลี่ยสีเหลือง (+b*) ของเนื้อแคนตาลูปที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ	115
8.4	ค่าเฉลี่ยความสว่าง (L*) ของรกแคนตาลูปที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ	116
8.5	ค่าเฉลี่ยสีแดง (+a*) ของรกแคนตาลูปที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ	117
8.6	ค่าเฉลี่ยสีเหลือง (+b*) ของรกแคนตาลูปที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ	117
8.7	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์(RS) ในเนื้อแคนตาลูปที่ได้ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ Pectinex Ultra SP-L [®] ที่ความเข้มข้นและเวลาการย่อยต่างๆ	118
8.8	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์(RS) ในรกแคนตาลูปที่ได้ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ Pectinex Ultra SP-L [®] ที่ความเข้มข้นและเวลาการย่อยต่างๆ	119

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1.1	แผนการทดลองเพื่อศึกษาภาวะที่เหมาะสม (optimization) ในการสกัดด้วย เอนไซม์	16
1.2	ผลค่าสี ปริมาณคลอโรฟิลล์และสารแอนติออกซิเดนซ์เมื่อผ่านการสกัดด้วย เอนไซม์	18
1.3	แสดงค่า Regression coefficient, R^2 สำหรับค่าสี ปริมาณคลอโรฟิลล์และ สารแอนติออกซิเดนซ์	20
2.1	ปริมาณเส้นใยอาหารทั้งหมด และค่าแอกทิวิตีของการต้านอนุมูลอิสระ ของ ไซรัปกล้วยหอม	33
2.2	จำนวนประชากรของเซลล์แบคทีเรียที่เพิ่มขึ้นใน 24 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงใน อาหาร MRS ที่มีกลูโคส หรือมีเนื้อกล้วยหอมสุกระยะต่างๆเป็นองค์ประกอบ	
2.3	องค์ประกอบที่ระเหยได้ในไซรัปกล้วยหอม	36
3.1	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในไซรัปฝรั่งที่ได้จากการย่อยด้วย Pectinex [®] Ultra SP-L ที่ความเข้มข้น 0.75% (v/w)	44
3.2	สมบัติทางเคมีและกายภาพของไซรัปฝรั่งที่มีระดับการตัดพันธะไกล โคซิลด้วยเอนไซม์ต่างกัน	45
3.3	คะแนนลักษณะทางประสาทสัมผัสของไซรัปฝรั่งที่มีระดับการตัดพันธะ ไกลโคซิลด้วยเอนไซม์ต่างกัน	48
3.4	คะแนนลักษณะทางประสาทสัมผัสของเยลลี่ฝรั่งแดง	49
4.1	ผลของการย่อยด้วยเอนไซม์ที่มีต่อปริมาณใยอาหารในไซรัปมะตูม.....	57
4.2	เปรียบเทียบจำนวนจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นภายใน 24 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงในอาหาร เลี้ยงเชื้อที่มีเนื้อมะตูมสุกดีป็นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาล ไซรัปมะตูม หรือ มีกลูโคสเป็นองค์ประกอบ	58
4.3	ผลของการย่อยด้วยเอนไซม์ที่มีต่อชนิดของสารระเหยในไซรัปมะตูม	60
5.1	ลักษณะเฉพาะทางเคมีกายภาพของไฮโดรไลเสตมะม่วงที่มีสารประกอบ เพคตินในระดับการย่อยสลายต่างๆ.....	70
5.2	คะแนนลักษณะทางประสาทสัมผัสของไฮโดรไลเสตมะม่วงที่มีสารประกอบ เพคตินในระดับการย่อยสลายต่างๆ	71
6.1	ค่า consistency coefficient (K) และ flow behavior index (n) ของ สารละลายมิวซีเลจ และสารละลายกั๋วร็กัมที่ความเข้มข้นต่างๆ.....	82

6.2	ค่า yield stress (τ_0), consistency coefficient (K) และ flow behavior index (n) ของสารละลายแซนแทนัมที่ความเข้มข้นต่างๆ.....	82
6.3	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดซิตริก ค่า pH และ ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (TSS)	90
6.4	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในกากพืชร้าที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ความเข้มข้น 2.0% (v/w)	93
7.1	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยสลายเปลือกแก้วมังกรแดงด้วยเอนไซม์ เพคตินเนสความเข้มข้นต่างกันเป็นเวลา 3 ชม.....	108
7.2	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยสลายเนื้อแก้วมังกรแดงด้วยเอนไซม์ เพคตินเนส ความเข้มข้นต่างกันเป็นเวลา 3 ชม.....	109
8.1	ผลการแบ่งระดับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในเนื้อและรกที่ผ่านการย่อยสลาย ด้วยเอนไซม์ Pectinex [®] Ultra SP-L ความเข้มข้น 0-3%(v/w) ที่ระยะเวลาการ ย่อยเป็น 0-6 ชั่วโมง.....	119

รายงานความก้าวหน้าของการวิจัย

ที่ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัย นวัตกรรมเพื่อยกระดับคุณภาพและความปลอดภัยทางอาหารสู่

โครงการสร้างเศรษฐกิจยุคใหม่

โครงการวิจัยเรื่อง : ผลิตภัณฑ์ผักผลไม้ท้องถิ่นที่มีสารหน้าที่เฉพาะของสารพรีไบโอติกส์
และแอนติออกซิแดนท์ (Local Fruits and Vegetables Products
with Functional Substance of Prebiotic and Antioxidants)

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยประจำปี2550..... จำนวนเงิน.....280,000..... บาท

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยประจำปี2551..... จำนวนเงิน.....286,500..... บาท

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยประจำปี2552..... จำนวนเงิน.....413,500.....บาท

ระยะเวลาการทำวิจัย4 ปี..... เริ่มทำการวิจัย.....ตุลาคม 2549.....

รายงานความก้าวหน้าของการวิจัย ครั้งที่.1/2552 ..ระหว่าง .1 ตุลาคม 2551...ถึงมีนาคม 2552

รายนามคณะผู้วิจัย พร้อมทั้งหน่วยงานที่สังกัดและหมายเลขโทรศัพท์

1. รองศาสตราจารย์ ดร.ปราณี อ่านเป็รื่อง ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โทรศัพท์ 02-2185515-6 โทรสาร 02-2544314
2. น.ส. สมฤดี ไทพานิชย์ นิสิตหลักสูตรปริญญาโทบริหารธุรกิจ ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร
3. น.ส. วสาวี ถ้วยทอง นิสิตหลักสูตรปริญญาโทบริหารธุรกิจ สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
4. น.ส. ชมัยพร แรงกลาง นิสิตหลักสูตรปริญญาโทบริหารธุรกิจ ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร
5. น.ส. สุวิมล เจริญสิทธิ์ นิสิตหลักสูตรปริญญาโทบริหารธุรกิจ ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร
6. น.ส. เกวลี ครุณาสวัสดิ์ นิสิตหลักสูตรปริญญาโทบริหารธุรกิจ เทคโนโลยีชีวภาพ
7. น.ส. นัญฎพร วุฒิสสิทธิ์ นิสิตหลักสูตรปริญญาโทบริหารธุรกิจ ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร
8. น.ส. กรรณิการ์ สอนโยธา นิสิตหลักสูตรปริญญาโทบริหารธุรกิจ ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร
9. น.ส. พรรัตน์ เข็นกลาง นิสิตหลักสูตรปริญญาโทบริหารธุรกิจ ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร
เลขานุการ

(ลงชื่อ).....หัวหน้าโครงการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.ปราณี อ่านเป็รื่อง)

...14../..พฤษภาคม.../..2552...

รายละเอียดเกี่ยวกับผลงานความก้าวหน้าของการวิจัย (แนบท้าย) มีดังนี้

1. วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. เพื่อผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ใบเตย และใยอาหารผงจากพุทราไทย รวมทั้งไโซรัป กล้วยหอม มะตูม ฝรั่งแดงไทย แคนตาลูป มะม่วงน้ำดอกไม้ แก้วมังกร สำหรับเป็นอาหารหน้าที่เฉพาะโดยใช้เอนไซม์
2. เพื่อผลิตน้ำผักและผลไม้พร้อมดื่มและน้ำผักผลไม้เข้มข้นที่มีส่วนผสมของสารพรีไบโอติก และ/หรือสารต้านออกซิเดชันและสารให้สี กลิ่น รสเฉพาะโดยเทคนิคเอนไซม์

2. ตารางเปรียบเทียบระหว่างแผนงานวิจัยตามที่เสนอไว้ในโครงการกับงานวิจัยที่ได้ดำเนินการไปแล้ว

กิจกรรม/ขั้นตอนการดำเนินงาน	ปีที่ 3												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
1. หาลักษณะเฉพาะที่ต้องการสำหรับวัตถุดิบแต่ละประเภท	←-----→												
2. หาสถานะในการเตรียมวัตถุดิบที่เหมาะสมตามลักษณะเฉพาะของผลิตภัณฑ์	←-----→												
3. หาภาวะการสกัดโดยวิธีเอนไซม์	←-----→												
4. หาลักษณะเฉพาะของผลิตภัณฑ์						←-----→							
5. วิเคราะห์และติดตามลักษณะเฉพาะของผลิตภัณฑ์						←-----→							

←-----→ แผนงานวิจัยตามที่เสนอไว้ในโครงการ

←-----→ แผนงานวิจัยที่ได้ดำเนินการแล้ว

3. รายละเอียดผลงานวิจัยที่ได้ดำเนินการไปแล้ว

โครงการวิจัยด้านผลิตภัณฑ์ผักและผลไม้ท้องถิ่นที่มีหน้าที่เฉพาะ แบ่งโครงการย่อยออกเป็น 8 โครงการ ซึ่งมีระยะเวลาดำเนินการวิจัยในปี 2549 – 2553 ซึ่งรายละเอียดโครงการและแผนการใช้งบประมาณแสดงในตารางที่ 1 สำหรับรายงานการวิจัยฉบับที่ 1/2552 นี้ได้เสนอผลการวิจัยได้แก่

โครงการย่อยที่ 1 ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดและตรึงรูปสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและกลิ่นของใบเตยหอม *Pandanus amaryllifolius*

โครงการย่อยที่ 2 กระบวนการทางเอนไซม์สำหรับแปรรูปไข่รั้งกล้วยหอม *Musa acuminata* L. เพื่อเป็นอาหารหน้าที่เฉพาะ

โครงการย่อยที่ 3 ผลของการสกัดด้วยเอนไซม์ต่อสารหน้าที่เฉพาะในฝรั่งแดง *Psidium guajava* L.

โครงการย่อยที่ 4 การผลิตด้วยเอนไซม์และการหาลักษณะเฉพาะของไข่รั้งมะตูม *Aegle marmel* (L.)

โครงการย่อยที่ 5 ผลของการใช้เอนไซม์ต่อเสถียรภาพของอิมัลชันจากไฮโดรไลเสทของมะม่วงน้ำดอกไม้ *Mangifera indica* L.

โครงการย่อยที่ 6 การสกัดด้วยเอนไซม์และสมบัติเชิงหน้าที่ของโยอาหารจากพุทราพันธุ์สามรส *Ziziphus mauritiana* Lam.

โครงการย่อยที่ 7 ผลของการใช้เอนไซม์ต่อสารออกฤทธิ์ชีวภาพจากเปลือกและเนื้อแก้วมังกรพันธุ์เนื้อสีแดง *Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose

โครงการย่อยที่ 8 การสกัดสารหน้าที่เฉพาะจากแคนตาลูป *Cucumis melo* var. *cantalupensis* พันธุ์ชั้นเลิศด้วยเอนไซม์

มีข้อสรุปของการวิจัยที่ใช้สำหรับการเตรียมวัตถุดิบที่เหมาะสมแสดงในรายงานฉบับนี้

4. งานตามโครงการที่จะทำในงวดระยะเวลาต่อไป

ดังแสดงในตารางในหัวข้อที่ 2

5. คำชี้แจงเกี่ยวกับอุปสรรคหรือปัญหา

6. งบประมาณที่ได้ใช้จ่ายไปแล้วนับตั้งแต่เริ่มโครงการ

รายการ	งบประมาณที่ได้รับ (บาท)	ค่าใช้จ่ายที่เกิดขึ้นในรอบ 6 เดือน (บาท)	งบประมาณ คงเหลือ (บาท)
ก. หมวดค่าจ้าง - ค่าตอบแทนคณะผู้วิจัย	<u>84,000</u>	<u>84,000</u>	-
ข. หมวดค่าวัสดุ - วัสดุเคมี เอนไซม์	30,000	-	30,000
- วัสดุดิบทางการเกษตร	25,000	-	25,000
- อุปกรณ์เครื่องแก้ว	20,500	-	20,500
- อุปกรณ์สำนักงาน	10,000	10,000	-
ค. หมวดค่าใช้สอย - ค่าจ้างเหมา	<u>244,000</u>	<u>244,000</u>	-
- ค่าใช้จ่ายในการ วิเคราะห์	150,000	154,000	-
- ค่าพาหนะ	90,000	90,000	-
- ค่าพาหนะ	4,000	-	-
ง. หมวดค่าครุภัณฑ์	-	-	-
จ. ค่าบริหารโครงการ	-	-	-
รวมทั้งสิ้น	413,500	338,000	75,500

ชุดโครงการวิจัยย่อยที่ 1
ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดและตรึงรูปสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ
และกลิ่นของใบเตยหอม *Pandanus amaryllifolius*
โดย นางสาวปรรัตน์ เข็นกลาง และ รศ.ดร. ปราณี อำนเป็รื่อง

ตอนที่ 4

การหาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดอนุพันธ์ซิงค์คลอโรฟิลล์ด้วยเอนไซม์

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาภาวะที่เหมาะสม ในการสกัดอนุพันธ์ของซิงค์คลอโรฟิลล์จากใบเตยหอมด้วยเอนไซม์ Pectinex[®] Ultra SP-L เพื่อใช้เป็นสารแต่งสีเขียวในอาหาร โดยวางแผนการทดลองแบบ Central Composite Design (CCD) และหาภาวะที่เหมาะสมด้วยวิธี Response Surface Methodology (RSM) โดยแปรความเข้มข้นเอนไซม์ที่ 1-3% (v/w) เวลาในการสกัด 90-270 นาที และทำการสกัดซ้ำ 1-3 ครั้ง ควบคุมอุณหภูมิ 35 °C พบว่า ภาวะที่เหมาะสมอยู่ที่การใช้เอนไซม์ความเข้มข้น 2.3-2.5% (v/w) เวลาในการสกัด 240-260 นาที และสกัดซ้ำ 2 ครั้ง ซึ่งภาวะดังกล่าวสามารถสกัดอนุพันธ์คลอโรฟิลล์ที่มีสีเขียวที่ความเสถียร มีค่าสีเขียว (-10.36) ปริมาณคลอโรฟิลล์ (17.82 mg/g fw) และค่า antioxidant activity (612.89 μMTEAC/g fw) สูงขึ้น เป็น 3.0, 17.3 และ 1.9 เท่า ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับภาวะที่ไม่เติมเอนไซม์

2. บทนำ

โดยทั่วไปการสกัดคลอโรฟิลล์จากเนื้อเยื่อพืชจะใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ (organic solvent) เช่น อะซิโตน เมทานอล เอทานอล ไดคลอโรมีเทน และ Dioxane/water (Humphrey, 2004) แต่มีผลให้สีที่สกัดได้เปลี่ยนไปจากเดิม (Smith and Pickels, 1941) และอาจพบการตกค้างของตัวทำละลายที่เป็นพิษ จึงไม่เหมาะที่จะนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

การใช้เอนไซม์ในการสกัดรงควัตถุจากพืชเป็นทางเลือกหนึ่งวิธีที่มีความปลอดภัย อีกทั้งรงควัตถุยังคงอยู่ในภาวะตามธรรมชาติที่เชื่อมติดอยู่กับโปรตีน พันธะที่มีอยู่ช่วยในการรักษาเสถียรภาพของรงควัตถุจากการออกซิเดชัน จึงทำให้เกิดความคงตัวของสี (Fenema, 1985) การย่อยสลายผนังเซลล์ของพืช (cell wall lysis) จะใช้เอนไซม์ในกลุ่ม hydrolytic enzyme โดยเฉพาะเอนไซม์เพกตินเนสและเซลลูเลส เพราะผนังเซลล์ของพืชประกอบด้วยเพกติน (pectin) และเซลลูโลส (cellulose) เป็นส่วนใหญ่ (Choudhari and Ananthanarayan, 2007) เมื่อผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ทำให้เนื้อเยื่อพืชปลดปล่อยรงควัตถุที่ถูกตรึงอยู่ออกมา

มีรายงานวิจัยที่ใช้เอนไซม์ในกลุ่มเพกตินเนสและเซลลูเลสในการสกัดรงควัตถุและสารให้กลิ่นรสในพืช เช่น การสกัดวานิลลาจาก vanilla bean (Waliszewski และคณะ, 2007) การสกัดสาร gingerol และ shogaols ที่ให้กลิ่นขิง (ginger) (Schweiggert และคณะ, 2008) การสกัดแอนโทไซยานินจากเปลือกองุ่น (Muñoz และคณะ, 2004) การสกัดไลโคพีนจากมะเขือเทศ (Choudhari and Ananthanarayan, 2007) การสกัดแคโรทีนอยด์จาก sweet potato (Ciñar, 2005 a,b) และการสกัด lutein และคลอโรฟิลล์จากหน่อไม้ฝรั่ง แต่กรณีของคลอโรฟิลล์พบว่าสารสกัดมีสีน้ำตาลเมื่อเวลาการสกัดนานขึ้น (Sun และคณะ, 2007)

การวิจัยด้านเอนไซม์เพื่อหาภาวะที่เหมาะสมที่ปฏิบัติกันมักจะศึกษาตัวแปรหนึ่งและควบคุมตัวแปรที่เกี่ยวข้องอื่นให้คงที่ ซึ่งจะเป็นการหาภาวะที่เหมาะสมของตัวแปรเดียว (single-variable optimization) ทำให้ไม่สามารถอธิบาย interaction effect ระหว่างตัวแปรได้ (Rai และคณะ, 2004) แต่เมื่อมีการวางแผนการทดลองแบบ Response ตัวแปรต่างๆ รวมถึง interaction จะสามารถอธิบายความสัมพันธ์ได้ อาจกล่าวได้ว่าการใช้ RSM เป็นเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพในการหาภาวะที่เหมาะสม โดย RSM จะใช้หลักการทางสถิติในการวิเคราะห์และสร้างสมการเพื่อหาความสัมพันธ์หลายตัวแปร (solving multivariable equation) ไปพร้อมกัน (Roy และคณะ, 2002) และใช้ contour plot เพื่อหาพื้นที่ผิวตอบสนอง (response surface) และ Locate optimal parameter จะช่วยประเมิน optimizing condition ได้อย่างชัดเจน ดังนั้น RSM จึงนิยมนำมาใช้เพื่อหาภาวะที่เหมาะสมของงานวิจัยทางชีวเคมีรวมทั้งงานด้านเอนไซม์ (Rai, 2004; Sin, 2006; Sun, 2006; Schweiggerr และคณะ, 2006; Landbo และคณะ, 2007; Fan และคณะ, 2007)

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดอนุพันธ์คลอโรฟิลล์เพื่อนำมาใช้เป็นสารแต่งสีเขียวในอาหาร จากการทดลองเบื้องต้น พบว่า ต้องเปลี่ยนรูปคลอโรฟิลล์ให้เป็นอนุพันธ์ซิงค์คลอโรฟิลล์ที่มีความเสถียรก่อน จากนั้นจึงใช้เอนไซม์เพื่อสกัดอนุพันธ์ที่ได้ โดยวางแผนการทดลองแบบ CCD และหาภาวะที่เหมาะสมด้วย RSM

3. วัสดุและวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบและสารเคมี

ใบเตยสด ซื้อจากตลาดในเขตกรุงเทพมหานคร และเอนไซม์เพคตินเนส (Pectinex[®] Ultra SP-L) จากเชื้อ *Aspergillus aculeatus* จากบริษัท Novozyme (Denmark)

3.2 การสร้างอนุพันธ์ Metallochlorophyll complex

จากการทดลองภาวะที่เหมาะสมในการสร้างอนุพันธ์ซิงค์คลอโรฟิลล์คือ ใบเตยสด 500 กรัม ปั่นกับน้ำในอัตราส่วน 1:4 โดยใช้ Blender ปรับค่า pH 5 โดยใช้กรดซิตริก ปรับความเข้มข้นของซิงค์คลอไรด์ที่ 400 ppm และแปรระดับอุณหภูมิการเกิดปฏิกิริยาที่ 110 °C เป็นเวลา 15 นาที

3.3 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสาร bioactive compound ในใบเตยที่ผ่านการ metallochlorophyll complex โดยวิธี Response Surface Methodology (RSM)

จากการศึกษาเบื้องต้นพบว่าปัจจัยที่สำคัญในการสกัดด้วยเอนไซม์ ได้แก่ ความเข้มข้นของเอนไซม์ เวลาในการทำปฏิกิริยา และจำนวนรอบของการสกัด ซึ่งวางแผนการทดลองแบบ CCD และ RSM ภาวะที่ศึกษาแสดงในตารางที่ 1.1

3.4 การวัดค่าสี วัดด้วยเครื่อง Minolta colorimeter (Minolta Spectrophotometer CR300 และ CT310)

3.5 การวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ ด้วยวิธี Vernon method (1960)

3.6 การวัดค่า antioxidant activity ด้วยวิธี Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) ตามวิธี Thaipong และคณะ (2006)

ตารางที่ 1.1 แผนการทดลองเพื่อศึกษาภาวะที่เหมาะสม (optimization) ในการสกัดด้วยเอนไซม์

Treatment No.	Level		
	Enzyme code, (%)	Time code, (min)	Extract code, (times)
1	-1 (1)	0 (180)	0 (2)
2	+1 (3)	0 (180)	0 (2)
3	0 (2)	-1 (90)	0 (2)
4	0 (2)	+1 (270)	0 (2)
5	0 (2)	0 (180)	-1 (1)
6	0 (2)	0 (180)	+1 (3)
7	+1 (3)	+1 (270)	+1 (3)
8	-1 (1)	+1 (270)	+1 (3)
9	+1 (3)	-1 (90)	+1 (3)
10	-1 (1)	-1 (90)	+1 (3)
11	+1 (3)	+1 (270)	-1 (1)
12	-1 (1)	+1 (270)	-1 (1)
13	+1 (3)	-1 (90)	-1 (1)
14	-1 (1)	-1 (90)	-1 (1)
15	0 (2)	0 (180)	0 (2)
16	0 (2)	0 (180)	0 (2)
17	0 (2)	0 (180)	0 (2)
18	0 (2)	0 (180)	0 (2)
19	0 (2)	0 (180)	0 (2)

ผลการทดลองที่ได้นำมาสร้างสมการ Quadratic เพื่อสร้างความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูล โดยใช้โปรแกรม SPSS version 10 และสร้างกราฟพื้นผิวสามมิติ (response surface) และ contour plot โดยใช้โปรแกรม STATISTICA version 5

พิจารณาภาวะที่เหมาะสม (optimization) จากภาวะที่ได้ bioactive compound ได้แก่สาร สี คลอโรฟิลล์และสารต้านอนุมูลอิสระในภาวะที่เหมาะสมที่สุด

4. ผลการทดลอง

1) เปรียบเทียบผลการสกัดกับชุดควบคุม

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการสกัดสารสี คลอโรฟิลล์และสาร แอนติออกซิแดนซ์ กับชุดควบคุมที่ 1 (ไม่ผ่านปฏิกิริยา zinc-chlorophyll complex และไม่ใช้เอนไซม์สกัด) พบว่า ค่า Hue เท่ากับ 96.57 ที่แสดงถึงโทนสีน้ำตาล เพราะสารสกัดโบเตยมีสีน้ำตาลเข้ม ดังนั้นเมื่อผ่านกระบวนการสกัดจึงได้ค่าสีเขียว (Greenness; -2.38) คลอโรฟิลล์ (1.23 mg/gfw) และ แอนติออกซิแดนซ์ (300.85 μM TEAC) ต่ำมาก และชุดควบคุมที่ 2 (ผ่านปฏิกิริยา zinc-chlorophyll complex แต่ไม่เติมเอนไซม์) พบว่าค่า Hue เท่ากับ 105.67 คืออยู่ในโทนสีเขียว แต่ค่าสีเขียว (Greenness; -3.46) คลอโรฟิลล์ (mg/gfw) และ แอนติออกซิแดนซ์ (314.88 μM TEAC) ที่สกัดออกมาได้ต่ำ

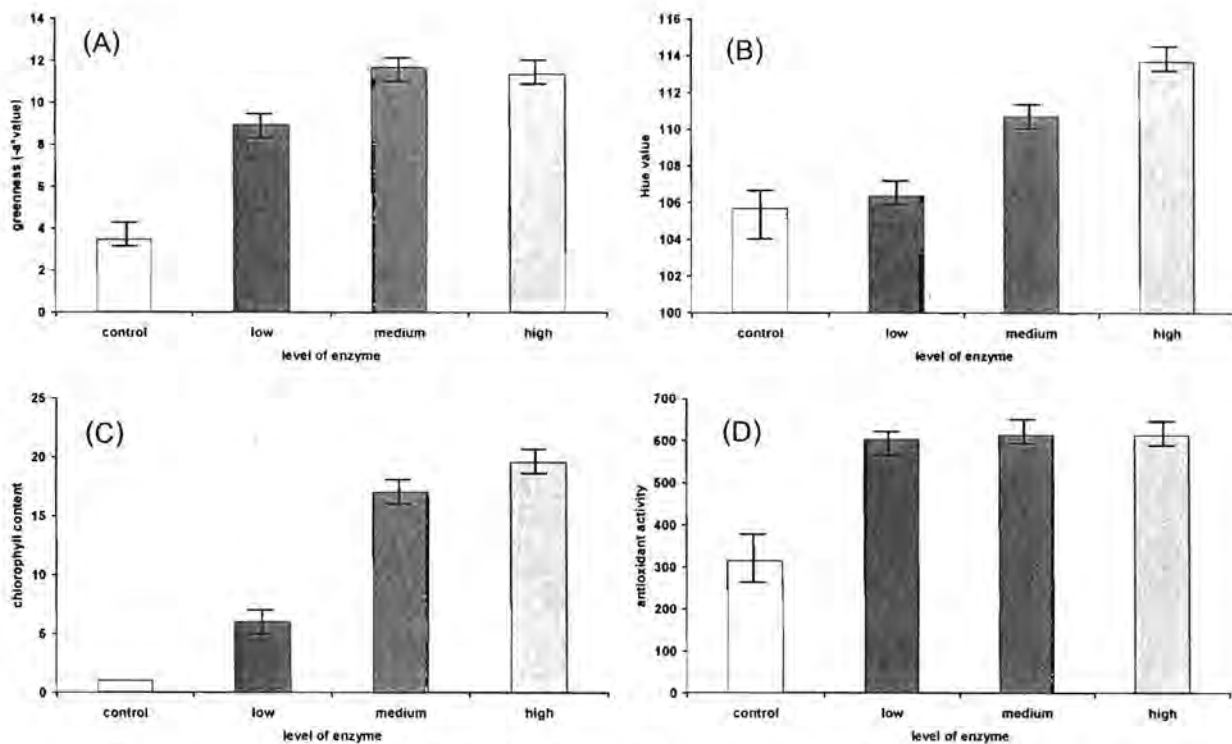
เมื่อเปรียบเทียบปริมาณคลอโรฟิลล์ระหว่างชุดควบคุมที่ 2 กับการสกัดโดยใช้เอนไซม์ที่ระดับต่ำสุด (Treatment 14; 1% Pectinex Ultra SP[®]-L เวลาทำปฏิกิริยา 90 นาที และสกัด 1 รอบ) พบว่าการใช้เอนไซม์เพิ่มปริมาณการสกัดคลอโรฟิลล์ได้ 5.84 เท่า นอกจากนี้ยังเพิ่มปริมาณ แอนติออกซิแดนซ์ ขึ้น 1.91 เท่า เมื่อเทียบกับสกัดโดยใช้เอนไซม์ที่ระดับกลาง (Treatment 15-19; 2% Pectinex Ultra SP[®]-L เวลาทำปฏิกิริยา 180 นาที และสกัด 2 รอบ) พบว่า การใช้เอนไซม์ช่วยเพิ่มปริมาณการสกัดคลอโรฟิลล์ 16.58 เท่า และเพิ่มปริมาณ แอนติออกซิแดนซ์ ขึ้น 1.95 เท่า เมื่อเทียบกับสกัดโดยใช้เอนไซม์ที่ระดับสูง (treatment 7; pectinex 3% เวลาทำปฏิกิริยา 270 นาที และสกัด 3 รอบ) พบว่า การใช้เอนไซม์เพิ่มปริมาณการสกัดคลอโรฟิลล์ได้ 19.07 เท่า นอกจากนี้ยังเพิ่มปริมาณแอนติออกซิแดนซ์ ขึ้น 1.95 เท่า สรุปได้ว่าการใช้เอนไซม์ในทุกระดับสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดปริมาณคลอโรฟิลล์และ แอนติออกซิแดนซ์ เมื่อเทียบกับชุดควบคุมได้อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยภาวะที่เติมใช้เอนไซม์ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดสารสี คลอโรฟิลล์ และสารแอนติออกซิแดนซ์ จากชุดควบคุมเป็น 2.58 - 3.43 เท่า 5.82-19.00 เท่า และ 1.91-1.95 เท่า ตามลำดับ (รูปที่ 1.1)

ตารางที่ 1.2 ผลค่าสี ปริมาณคลอโรฟิลล์และสารแอนติออกซิเดนต์เมื่อผ่านการสกัดด้วยเอนไซม์

No	Level			Response variable						
	Enzyme	Time	Re-extract	L* value	a* value	b* value	Chroma	Hue	Chlorophyll	Antioxidant
	(%)	(min)	(round)						(mg/g fw)	(μ M TEAC)
1	1	180	2	23.05 \pm 0.02 ^{ab}	-11.58 \pm 0.08 ^{bc}	33.07 \pm 0.03 ^b	35.04 \pm 0.03 ^b	109.23 \pm 0.06 ^c	18.39 \pm 0.22 ^c	607.44 \pm 3.53 ^{ab}
2	3	180	2	21.66 \pm 0.01 ^a	-11.56 \pm 0.03 ^{bc}	31.59 \pm 0.03 ^b	33.81 \pm 0.06	109.93 \pm 0.12 ^{bc}	15.11 \pm 0.02 ^c	615.63 \pm 1.46 ^b
3	2	90	2	31.20 \pm 0.01 ^b	-11.45 \pm 0.05 ^b	36.41 \pm 0.02 ^b	38.28 \pm 0.05 ^b	107.37 \pm 0.06 ^{bc}	14.24 \pm 0.01 ^b	606.04 \pm 7.83 ^{ab}
4	2	270	2	28.94 \pm 0.01 ^b	-11.59 \pm 0.04 ^{bc}	36.59 \pm 0.03 ^b	38.43 \pm 0.01 ^b	107.43 \pm 0.06 ^{bc}	17.76 \pm 0.03 ^c	612.82 \pm 3.17 ^{ab}
5	2	180	1	34.32 \pm 0.02 ^b	-11.21 \pm 0.01 ^b	35.74 \pm 0.01 ^b	37.49 \pm 0.02 ^b	107.40 \pm 0.00 ^{bc}	11.08 \pm 0.11 ^b	612.59 \pm 1.86 ^{ab}
6	2	180	3	18.19 \pm 0.01 ^a	-11.65 \pm 0.05 ^b	27.71 \pm 0.02 ^b	30.03 \pm 0.03 ^b	112.60 \pm 0.10 ^b	18.40 \pm 0.08 ^{bc}	613.99 \pm 0.70 ^b
7	3	270	3	16.68 \pm 0.01 ^a	-11.36 \pm 0.05 ^b	25.79 \pm 0.05 ^b	28.23 \pm 0.04 ^b	113.70 \pm 0.10 ^b	19.58 \pm 0.20 ^b	612.82 \pm 1.72 ^{ab}
8	1	270	3	20.26 \pm 0.01 ^a	-11.75 \pm 0.03 ^b	30.32 \pm 0.01 ^b	32.53 \pm 0.09 ^b	111.07 \pm 0.06 ^c	16.36 \pm 0.09 ^{bc}	614.69 \pm 11.86 ^b
9	3	90	3	21.03 \pm 0.02 ^a	-11.77 \pm 0.09 ^b	31.17 \pm 0.03 ^b	33.39 \pm 0.06 ^b	110.53 \pm 0.15 ^b	16.26 \pm 0.03 ^b	615.86 \pm 1.46 ^b
10	1	90	3	24.07 \pm 0.01 ^b	-11.57 \pm 0.05 ^b	33.81 \pm 0.05 ^b	35.79 \pm 0.07 ^b	108.87 \pm 0.06 ^b	14.61 \pm 0.12 ^b	608.61 \pm 7.88 ^{ab}
11	3	270	1	31.23 \pm 0.01 ^b	-11.35 \pm 0.04 ^b	36.46 \pm 0.02 ^b	38.24 \pm 0.02 ^b	107.40 \pm 0.00 ^{bc}	12.37 \pm 0.23 ^b	613.05 \pm 5.84 ^{ab}
12	1	270	1	32.38 \pm 0.01 ^b	-11.42 \pm 0.04 ^b	36.12 \pm 0.03 ^b	37.94 \pm 0.02 ^b	107.53 \pm 0.06 ^b	12.97 \pm 0.11 ^b	609.78 \pm 2.53 ^{ab}
13	3	90	1	42.11 \pm 0.01 ^b	-10.43 \pm 0.01 ^b	34.74 \pm 0.03 ^b	36.37 \pm 0.02	106.60 \pm 0.00 ^b	9.06 \pm 0.10 ^b	613.99 \pm 0.70 ^b
14	1	90	1	54.24 \pm 0.02 ^c	-8.95 \pm 0.02 ^b	30.22 \pm 0.08 ^{bc}	31.80 \pm 0.03 ^{bc}	106.37 \pm 0.06 ^b	6.00 \pm 0.06 ^b	602.76 \pm 1.86 ^b
15	2	180	2	23.53 \pm 0.01 ^b	-11.76 \pm 0.02 ^b	33.53 \pm 0.04 ^b	35.51 \pm 0.06 ^b	109.17 \pm 0.12 ^b	17.81 \pm 0.08 ^c	613.99 \pm 0.78 ^b
16	2	180	2	21.58 \pm 0.01 ^b	-11.68 \pm 0.04 ^b	31.63 \pm 0.03	33.76 \pm 0.05	110.17 \pm 0.06 ^b	17.03 \pm 0.10 ^b	613.52 \pm 1.07 ^b
17	2	180	2	22.88 \pm 0.01 ^b	-11.87 \pm 0.04 ^b	33.04 \pm 0.06 ^b	35.10 \pm 0.04 ^b	109.60 \pm 0.00 ^b	16.61 \pm 0.02 ^b	611.42 \pm 5.08 ^{ab}
18	2	180	2	21.36 \pm 0.01 ^b	-11.80 \pm 0.03 ^b	31.51 \pm 0.01 ^b	33.73 \pm 0.05 ^b	110.40 \pm 0.10 ^b	17.47 \pm 0.12 ^b	613.75 \pm 2.26 ^b
19	2	180	2	24.31 \pm 0.01 ^b	-11.45 \pm 0.02 ^b	33.82 \pm 0.04 ^b	35.75 \pm 0.01 ^b	108.67 \pm 0.06 ^b	16.51 \pm 0.21 ^b	615.16 \pm 1.07 ^b
Control (no pretreatment, no enzyme)				73.24 \pm 0.01 ^{ab}	-2.38 \pm 0.02 ^b	20.37 \pm 0.02 ^b	20.58 \pm 0.02 ^b	96.57 \pm 0.06 ^b	1.23 \pm 0.03 ^b	300.85 \pm 16.16 ^d
Control (no enzyme)				85.36 \pm 0.03 ^d	-3.46 \pm 0.02 ^{bc}	12.12 \pm 0.04 ^b	12.79 \pm 0.07 ^b	105.67 \pm 0.12 ^b	1.03 \pm 0.11 ^b	314.88 \pm 9.86 ^d

Note; *Control1 ; not zinc-chlorophyll formation and not added enzyme;

**Control2; not added enzyme.



รูปที่ 1.1 การสกัดอนุพันธ์คลอโรฟิลล์จากใบเตยด้วยเอนไซม์ที่ระดับต่ำ (-1, -1, -1) กลาง (0, 0, 0) และสูง (+1, +1, +1) เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่เติมเอนไซม์ ต่อค่า (A) ค่าสีเขียว (B) ค่า Hue (C) ปริมาณคลอโรฟิลล์ (D) ค่า antioxidant activity

การเพิ่มขึ้นของค่าสีและปริมาณคลอโรฟิลล์เมื่อใช้เอนไซม์ Pectinex® Ultra SPL สกัดเพราะเอนไซม์ Pectinex® Ultra SPL มี Activity ของทั้ง Pectinolytic และ Cellulolytic enzyme ได้แก่ Polygalacturonase, Pectinlyase, Pectin esterase, β -galactosidase, chitinase, และ transgalactosidase (Abdullah และคณะ, 2007) จึงสามารถย่อยสลายผนังเซลล์ (Cell wall degrading) ของคลอโรฟิลล์ที่อยู่ภายในคลอโรพลาสต์ (chloroplast) ทำให้รงควัตถุหลุดออกมาได้ (Essa, 2002; Ciñar, 2005; Choudhari and Anathanarayan, 2007) และปริมาณคลอโรฟิลล์ที่เพิ่มขึ้นทำให้สมบัติการเป็นแอนติออกซิแดนท์ สูงขึ้นกว่าในชุดควบคุมเพราะอนุพันธ์ของคลอโรฟิลล์มีฤทธิ์ในการสลายพันธะของอนุมูลอิสระ (chain-breaking antioxidants) เพราะสามารถให้อิเลคตรอนได้ (electron donors) (Endo และคณะ, 1985 a, b) นอกจากนี้ Cahyana และคณะ (1993) และ Hoshina และคณะ (1998) รายงานว่าโครงสร้าง porphyrins ในโมเลกุลของคลอโรฟิลล์สามารถยับยั้งการสร้าง lipid hydroperoxide (inhibition of lipid hydroperoxide formation) จาก ferric thiocyanate และ ferric nitrolotriacetate ได้ ดังนั้นขั้นตอน Zinc-chlorophyll complex ที่เปลี่ยนรูปคลอโรฟิลล์เป็น zinc chlorophyll นอกจากช่วยให้สีของคลอโรฟิลล์คงตัวเพราะ

porphyrin มีความคงตัว แล้วส่งผลให้มีสมบัติการเป็น แอนติออกซิแดนท์ สูงกว่าคลอโรฟิลล์ที่พบอยู่ในรูปธรรมชาติด้วย (Ferruzzi และคณะ, 2002)

2) Model fitting and response surface plotting

สมการรีเกรสชัน (Regression coefficient) ของค่าสี (L^* , a^* , b^* , $chroma$, H^i) ปริมาณคลอโรฟิลล์ และสารแอนติออกซิแดนท์แสดงในตารางที่ 1.3 ซึ่งพบว่าค่า coefficient of determination (R^2) สูงกว่า 0.9 ($p \leq 0.05$) ในทุกตัวแปรยกเว้น แอนติออกซิแดนท์ แสดงว่าสมการที่สร้างได้มีความสอดคล้อง (model fit) กับข้อมูลที่ได้จากการทดลอง (experiment data) (Rastogi and Rashmi, 1999)

ตารางที่ 1.3 แสดงค่า Regression coefficient, R^2 สำหรับค่าสี ปริมาณคลอโรฟิลล์

และสารแอนติออกซิแดนท์

coefficient	L^* value	a^* value	b^* value	Chroma	Hue	Chlorophyll	Antioxidant
β_0	23.223**	-11.717**	33.170**	35.202**	109.398**	16.814**	612.855**
β_1	-2.128**	-0.120**	-0.378**	-0.328*	0.510**	0.720**	2.807**
β_2	-4.317**	-0.332**	-0.106	-0.026	0.740**	1.887**	1.591**
β_3	-9.406**	-0.473**	-2.447**	-2.187**	2.147**	3.373**	1.380**
$\beta_1\beta_2$	1.305**	0.268**	-0.759**	-0.771**	0.075**	-0.262	-2.135
$\beta_1\beta_3$	0.834*	0.200**	-1.505**	-1.447**	0.525**	0.300**	-1.140**
$\beta_2\beta_3$	3.073**	0.454**	-2.061**	-2.055**	0.425**	-0.652**	-0.380**
β_1^2	-1.479**	0.149*	-1.425**	-1.414**	0.438**	-1.294**	-0.427**
β_2^2	6.238**	0.199**	2.750**	2.612**	-1.745**	-0.471**	-2.531**
β_3^2	2.421**	0.293**	-2.023**	-1.979**	0.855**	-1.731**	1.326**
R^2	0.959	0.924	0.907	0.906	0.933	0.963	0.509

Note: Subscripts; β_0 =(Constant), β_1 = enzyme concentration (x_1), β_2 = Incubation time (x_2) β_3 re-extract (x_3). ; *Significant at 0.05 level, **Significant at 0.01 level

จากตารางที่ 1.3 สามารถทำนายสีเขียวและปริมาณคลอโรฟิลล์เมื่อแปรความเข้มข้นของ เอนไซม์(x_1) เวลาในการบ่ม(x_2) และจำนวนรอบการสกัด (x_3) ได้ตามสมการที่ 1 และ 2 ตามลำดับ

$$\text{Equation 1: Greenness (-}a^* \text{ values)} = -11.717 - 0.120 x_1 - 0.332 x_2 - 0.473 x_3 + 0.268 x_1 x_2 + 0.200 x_1 x_3 + 0.454 x_2 x_3 + 0.149 x_1^2 + 0.199 x_2^2 + 0.293 x_3^2$$

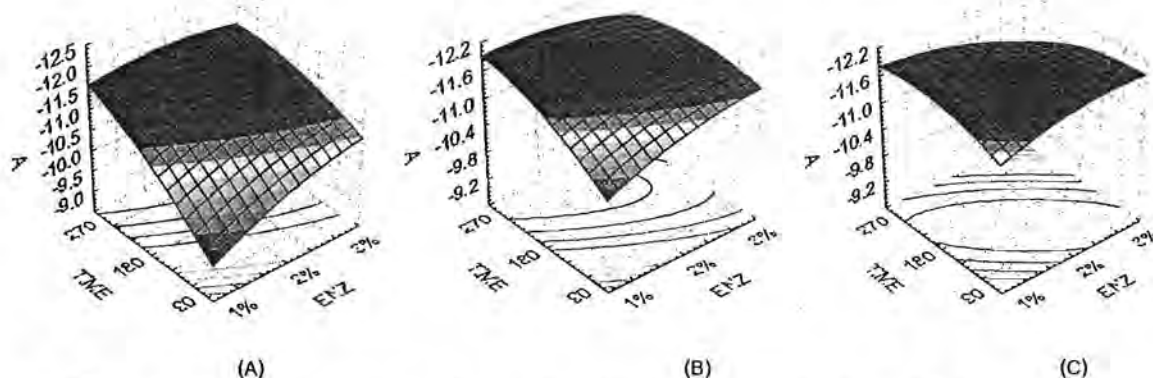
$$(R^2=0.924, p \leq 0.01)$$

$$\text{Equation 2: Chlorophylls content} = 16.814 + 0.720 x_1 + 1.887 x_2 + 3.373 x_3 + 0.3 x_1 x_3 - 0.652 x_2 x_3 - 1.294 x_1^2 - 0.471 x_2^2 - 1.731 x_3^2$$

$$(R^2=0.963, p \leq 0.01)$$

จากสมการพบว่ามีความสัมพันธ์ของความเข้มข้นของเอนไซม์ เวลาในการบ่มและจำนวนรอบการสกัดทั้งในเทอม linear, quadratic และ interaction แสดงว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์ ระยะเวลาการบ่ม และจำนวนรอบการสกัดจะทำให้สีเขียวและปริมาณคลอโรฟิลล์สูงขึ้นแบบ linear แต่เมื่อถึงจุดหนึ่งแล้วจะเริ่มลดลงตามรูปแบบ quadratic สามารถอธิบายได้ว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์ทำให้ความสามารถในการย่อย (enzyme hydrolysis) สูงขึ้น แต่การใช้ความเข้มข้นในปริมาณสูงเกินไปมีผลให้อัตราการ hydrolysis เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วจนอาจเกิด end-product inhibition เกิดขึ้นได้ (Çinar, 2005) เมื่อเพิ่มเวลาและจำนวนรอบการสกัดจะทำให้สกัดคลอโรฟิลล์ออกมาได้มากขึ้นจนถึงระดับหนึ่งที่คลอโรฟิลล์ถูกสกัดออกมาหมดทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ที่สกัดได้ไม่เพิ่มขึ้นอีก

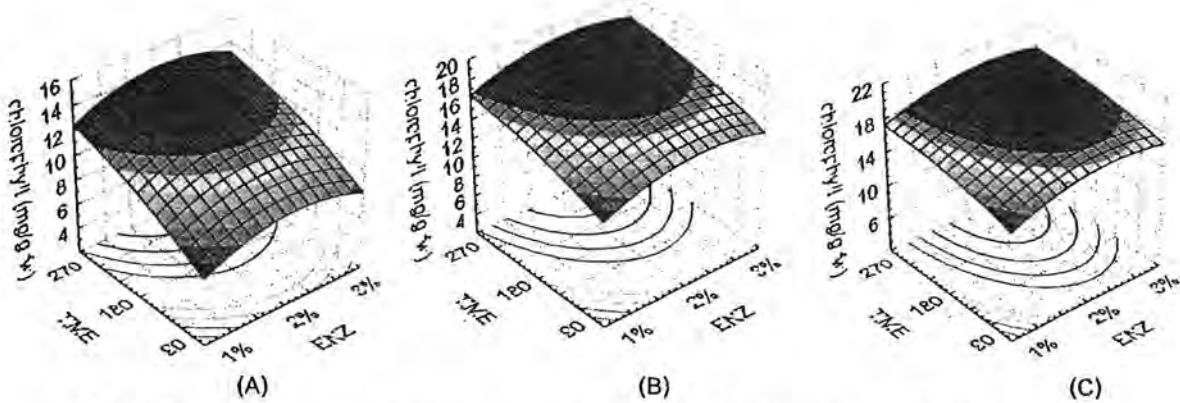
จากสมการแสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นเอนไซม์ เวลาในการบ่มและจำนวนรอบการสกัดมี interaction ซึ่งกันและกันแสดงว่าเมื่อมีการเพิ่มหรือลดค่าใดค่าหนึ่งจะส่งผลกระทบต่ออีก และเมื่อพิจารณาค่าสัมประสิทธิ์ (coefficient) พบว่า การเพิ่มจำนวนครั้งของสกัดมีผลต่อการเพิ่มขึ้นสารสกัดสีเขียวและปริมาณคลอโรฟิลล์มากที่สุด ตามด้วยระยะเวลาในการบ่ม และความเข้มข้นของเอนไซม์ ตามลำดับ



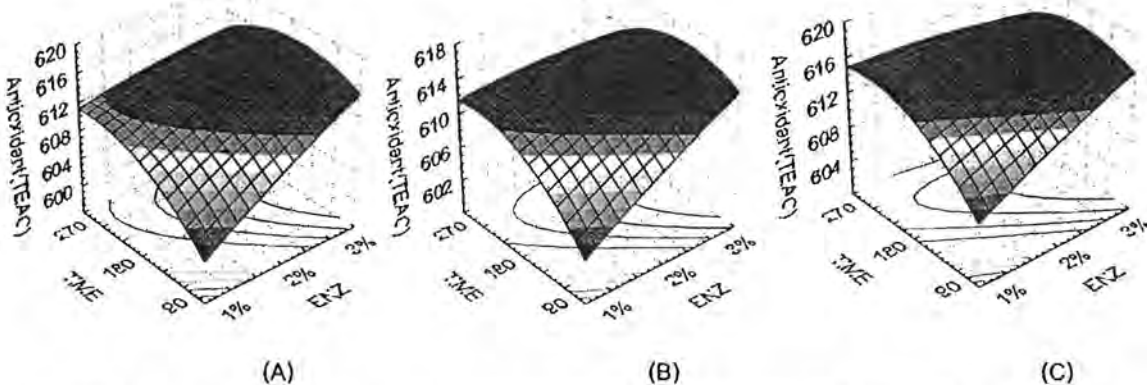
รูปที่ 1.2 Response surfaces แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาในการสกัดต่อค่าสีเขียวเมื่อ (A) สกัด 1 รอบ (B) สกัด 2 รอบ และ (C) สกัด 3 รอบ

รูปที่ 1.2 แสดงกราฟ response surface ของความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเอนไซม์ (1-3%) กับเวลาบ่ม (90-270 นาที) ต่อสารสีเขียวที่สกัดได้ พบว่า เมื่อสกัด 1 รอบ (A) ภาวะที่ได้สีเขียวสูงสุด คือใช้เอนไซม์เพคตินเนส 3 % เวลาทำปฏิกิริยา 270 นาที และเมื่อนำการกากไบโอดีมาเติมเอนไซม์ที่ความเข้มข้นเดิมเพื่อสกัดซ้ำเป็นครั้งที่ 2 ภาวะที่ให้สีเขียวสูงสุดคือใช้เอนไซม์เพคตินเนส 2% เวลาในการสกัดที่ 180-270 นาที หรือสามารถลดปริมาณเอนไซม์เพคตินเนสโดยใช้ที่ 1% แต่เพิ่มเวลาในการทำปฏิกิริยาเป็น 270 นาที แต่หากสกัดซ้ำเป็น 3 ครั้ง (C) สามารถเลือกการ

ลดเวลาหรือลดความเข้มข้นของเอนไซม์ เช่น ภาวะปริมาณเอนไซม์เพคตินเอส 1% เวลาการสกัด 180-250 นาที หรือ เพคตินเอส 2% เวลาการสกัด 90-200 นาที หรือ เพคตินเอส 3% ที่เวลาการสกัด 90 นาที จะทำให้ได้สารสีเขียวสูงสุด



รูปที่ 1.3 Response surfaces แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาในการสกัดต่อปริมาณคลอโรฟิลล์เมื่อ (A) สกัด 1 รอบ (B) สกัด 2 รอบ และ (C) สกัด 3 รอบ



รูปที่ 1.4 Response surfaces แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาในการสกัดต่อค่าแอนติออกซิเจนซ์ เมื่อ (A) สกัด 1 รอบ (B) สกัด 2 รอบ และ (C) สกัด 3 รอบ

จากรูปที่ 1.3 อธิบายความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเอนไซม์ (1-3%) กับเวลาบ่ม (90-270 นาที) ต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ที่สกัดได้ พบว่าเมื่อสกัดเป็นจำนวน 1, 2 และ 3 ครั้ง จะได้ปริมาณคลอโรฟิลล์ได้เป็น 14.23, 19.54 และ 20.12 mg/g fw ตามลำดับ โดยการสกัดครั้งที่ 2 ปริมาณคลอโรฟิลล์มีความแตกต่างจากครั้งที่ 1 อย่างมีนัยสำคัญแต่ไม่แตกต่างกับการสกัดครั้งที่ 3 แสดงว่าสกัดคลอโรฟิลล์ออกมาได้เกือบหมดแล้วในครั้งที่สอง ดังนั้นจึงทำให้การสกัดครั้งที่สามแทบ

เอกสารอ้างอิง

- Cahyana, H., Shuto, Y. and Kinoshita, Y. 1993. Antioxidative activity of porphyrin derivatives. Bioscience Biotechnology Biochemistry 57: 680-681.
- Choudhari, S. M. and Ananthanarayan, L. 2007. Enzyme aided extraction of lycopene from tomato tissue. Food Chemistry 102(1): 77-81.
- Çinar, I. 2005 a. Stability studies on the enzyme extracted sweet potato carotenoproteins. Food Chemistry 89(3): 397-401.
- Çinar, I. 2005 b. Effects of cellulase and pectinase concentrations on the colour yield of enzyme extracted plant carotenoids. Process Biochemistry 40: 945-949.
- Endo, Y., Usuki, R. and Kaneda, T. 1985 Antioxidant effects of chlorophyll and pheophytin on the autooxidation of oils in the dark. I. Comparison of the inhibitory effects. Journal of the American Oil Chemists Society 62: 1375-1378.
- Essa, H.A. and Salama, M.F. 2002. Effect of macerate enzymes on the yield, quality, volatile compounds and rheological property of prickly pear juice. Nahrung 46:245-250.
- Fan, G., Han, Y., Gu, Z. and Chen, D. 2008. Optimizing conditions for anthocyanins extraction from purple sweet potato using response surface methodology (RSM). Lebensm.-Wiss.U.-Technol 41(1): 155-160.
- Fenema, O.W. 1985. Food Chemistry. Marcel Dekker. New York.
- Ferruzzi, M. G., Böhm, V., Courtney, P. D. and Schwartz, S. J. 2002. Antioxidant and antimutagenic activity of dietary chlorophyll derivatives determined by radical scavenging and bacterial reverse mutagenesis assays. Journal of Food Science 67(7): 2589–2595.
- Hoshina, C., Tomita, K. and Shioi, Y. 1998. Antioxidant activity of chlorophylls: its structure–activity relationship. Photosynthesis: Mechanisms Effects 4: 3281–3284.
- Humphrey, A.M. 2004. Chlorophyll as a color and functional ingredient. Journal of Food Science 69(5): C422-C425.
- Landbo, A.K., Kaack, K., and Meyer, A.S. 2007. Statistically designed two step response surface optimization of enzymatic prepress treatment to increase juice yield and

- Muñoz, O., Sepulveda, M. and Schwartz, M. 2004. Effects of enzymatic treatment on anthocyanic pigments from grapes skin from Chilean wine. Food Chemistry 87: 487-490.
- 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.
- Roy, D., Daoudi, L. and Azaola, A., 2002. Optimization of galacto-oligosaccharide production by *Bifidobacterium infantis* RW-8120 using response surface methodology. Journal of Industry Microbiology&Biotechnology 29: 281-285.
- Schweiggert, U., Hofmann, S., Reichel, M., Schieber, A. and Carle, R. 2008. Enzyme-assisted liquefaction of ginger rhizomes (*Zingiber officinale* Rosc.) for the production of spray-dried and paste like ginger condiments. Journal of Food Engineering 84. 28-38.
- Sin, H.N., Yosof, S., Sheikh Abdul Hamid, N. and Abdul Rahman, R. 2006. Optimization of hot water extraction for sapodilla juice using response surface methodology. Journal of Food Engineering 74: 352-358.
- Smith, L. and Pickel, G. 1941. The effect of detergents on the chlorophyll-protein compound of spinach as studied in the ultracentrifuge. The Journal of General Physiology 753-764.
- Sun, T, Power, J.R. and Tang, J. 2007. Effect of enzymatic macerate treatment on rutin content, antioxidant activity, yield, and physical properties of asparagus juice. Journal of Food Science 72(4): S267-270.
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L. and Byrne, D.H. 2006. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP and ORAC assays for estimating antioxidant activity from grava fruit extracts. Journal of Food Composition and Analysis. 19:669-675.
- Vernon, L.P. 1960. Spectrophotometric determination of chlorophylls and pheophytin in plant extracts. Analytical Chemistry 32: 1144-1150.
- Waliszewski, N.K., Ovndo, S.L. and Pardo, V.T. 2007. Effect of hydration and enzymatic pretreatment of vanilla beans on the kinetics of vanillin extraction. Journal of Food Engineering 78: 1267- 1273.

ชุดโครงการวิจัยย่อยที่ 2

กระบวนการทางเอนไซม์สำหรับแปรรูปไซรัปกล้วยหอม

Musa acuminata AAA Group 'Gross Michel' เพื่อเป็นอาหารที่มีหน้าที่เฉพาะ

โดย นางสาวสมฤดี ไทพานิชย์ และ รศ.ดร. ปราณี อำนเป็รื่อง

ตอนที่ 4

สมบัติทางเคมีกายภาพเฉพาะของไซรัปกล้วยหอม

Musa acuminata AAA Group 'Gross Michel' เพื่อเป็นอาหารที่มีหน้าที่เฉพาะที่ผลิตได้

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพเฉพาะ ของไซรัปที่ผลิตได้จากเนื้อมีกล้วยหอม *Musa acuminata* AAA Group 'Gross Michel' เพื่อเป็นอาหารที่มีหน้าที่เฉพาะ จากการทดลองพบว่าไซรัปที่ผลิตได้มีเส้นใยอาหารทั้งหมด 21.75 % โดยน้ำหนักแห้ง มีฤทธิ์การต้านออกซิเดชันเท่ากับ 48.49 $\mu\text{g DPPH}/\mu\text{g fresh weight}$ หรือ 421.42 mM Trolox equivalents/g Fresh weight มีแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติกสำหรับเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* LA5 และ *Bifidobacterium lactis* BB-12 เป็น -0.12 และ 0.30 ตามลำดับ และไซรัปที่ผลิตได้จากเนื้อมีกล้วยหอมมีสารที่สามารถระเหยได้ทั้งสิ้น 21 ชนิด ที่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ด้วย GC-MS เทคนิค SPME ณ ภาวะที่ทำการศึกษา โดยสารที่สามารถระเหยได้ที่เป็นสารที่ให้กลิ่นรสที่เป็นเอกลักษณ์ของกล้วยหอม เช่น Isoamyl, butyrate, Isoamyl, acetate, Isobutyl, butyrate และ Isopentyl isopentanoate สามารถพบได้ในไซรัปกล้วยหอมในปริมาณสูง

บทนำ

การประยุกต์ใช้เอนไซม์จากภายนอกเพื่อย่อยสลายเนื้อเยื่อของกล้วยหอม *Musa acuminata* AAA Group 'Gross Michel' ซึ่งเป็นผลไม้ที่มีเพกทินปริมาณมาก เพื่อช่วยให้กระบวนการแปรรูปผลไม้มีประสิทธิภาพมากขึ้น ช่วยสกัดเอาองค์ประกอบบางอย่างที่อยู่ภายในเซลล์ของกล้วยหอม ออกมา เช่น สีส กลิ่นรส และสารประกอบอื่นๆ และเพื่อเป็นอาหารที่มีหน้าที่เฉพาะ (Functional food) ล้วนทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ชนิดใหม่ๆ จากกล้วยหอมที่มีความหลากหลาย มีคุณภาพที่ดี

อาหารที่มีหน้าที่เฉพาะ หมายถึง อาหารที่มีองค์ประกอบตามธรรมชาติ เช่น เส้นใยอาหาร สารพรีไบโอติก และสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งอาหารที่มีหน้าที่เฉพาะได้รับความสนใจในกลุ่มนักวิจัย เพื่อยกระดับคุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหารจากพืชผลไม้ท้องถิ่น เช่น ไชร์ปจากเนื้อกล้วยหอม

เส้นใยอาหาร (Dietary fiber)

เส้นใยอาหาร หมายถึง กลุ่มของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ไม่ใช่แป้งในพืช และสาหร่ายบางชนิด ได้แก่ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส สารประกอบเพกทิน มิวซิเลจ และ กัม เป็นต้น ที่รับประทานได้ แต่ไม่ถูกย่อยด้วยน้ำย่อยในระบบการย่อยอาหารของมนุษย์ ทำให้ไม่มีการดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย จึงผ่าน กระเพาะอาหาร และลำไส้โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลง แต่จุลินทรีย์บางชนิดในลำไส้ใหญ่สามารถย่อย สลายส่วนประกอบบางส่วนของเส้นใยอาหารได้ (Spiller, Ahiple และ Blake, 1978; Baghurst และ Record, 1996; Thebaudin และคณะ, 1997)

1. เส้นใยอาหารกลุ่มทั่วไป

จากการศึกษาสมบัติทางกายภาพของเส้นใยอาหาร สามารถแบ่งเส้นใยอาหารตามการ ละลายน้ำได้เป็น 2 ประเภท คือ เส้นใยอาหารที่ละลายน้ำได้ (soluble fiber) ได้แก่ เพกทิน กัม และ มิวซิเลจ และ เส้นใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ (insoluble fiber) ได้แก่ เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส

2. เส้นใยอาหารกลุ่มพรีไบโอติก

เส้นใยพรีไบโอติก คือ เส้นใยอาหารจากธรรมชาติซึ่งไม่ถูกย่อยที่ลำไส้ส่วนต้น แต่ถูกส่งไป ยังลำไส้ใหญ่เพื่อเป็นอาหารของจุลินทรีย์สุขภาพ ทำให้จุลินทรีย์สุขภาพเจริญ และเพิ่มปริมาณมากขึ้น ส่งผลต่อการรักษาสมดุลของระบบนิเวศน์ของจุลินทรีย์สุขภาพ (probiotic) ในทางเดินอาหาร ได้แก่ *Lactobacillue acidophilus* และ *Bifidobacterium lactis* เป็นต้น ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่อาศัย อยู่ในลำไส้มนุษย์ตามธรรมชาติ ปริมาณพรีไบโอติกที่แนะนำให้รับประทาน ที่ส่งผลดีต่อระบบ ทางเดินอาหาร คือ 4 ถึง 5 กรัมต่อวัน (Van และคณะ, 1995)

3. การวัดค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติก

คาร์โบไฮเดรตที่เป็นสารพรีไบโอติกแต่ละชนิด จะส่งผลต่อจุลินทรีย์สุขภาพแตกต่างกัน ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการตรวจวัดค่าความสามารถ หรือค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติก โดยดูจาก ประชากรจุลินทรีย์ อัตราการเจริญ ปริมาณซีสเตรดที่ลดลง หรือปริมาณกรดไขมันสายสั้นที่ถูก สร้างขึ้น อย่างไรก็ตามค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติกที่ได้จะขึ้นกับสายพันธุ์ของจุลินทรีย์สุขภาพ ด้วย สำหรับการวัดค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติก จากการเปรียบเทียบความสามารถของสาร พรีไบโอติกในการส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียที่เป็นจุลินทรีย์สุขภาพ เช่น *Lactobacilli* และ *Bifidobacteria* สายพันธุ์ต่างๆ และแบคทีเรียชนิดอื่นในระบบทางเดินอาหาร เช่น *E. coli* กับสารที่ไม่ได้เป็นสารพรีไบโอติก เช่น กลูโคส สารที่นำมาทดสอบจะมีค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติกสูง หรือ เป็นสารพรีไบโอติกที่ดี ถ้ามีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียที่เป็นจุลินทรีย์

สุขภาพได้ดีกว่าสารที่ไม่ได้เป็นสารฟรีไบโอติก แต่ในขณะเดียวกัน ต้องไม่ส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียอื่นในระบบทางเดินอาหาร (Huebener, Wehling และ Hutkins, 2007)

DH (1991) ได้รายงานไว้ว่า เซลลูโลส และเพกทิน เป็นองค์ประกอบหลักของสารกลุ่มพอลิแซ็กคาไรด์ที่ไม่ใช่แป้งที่พบในเนื้อกล้วย และพบอินนูลินปริมาณเล็กน้อย

Campbell และคณะ (1997); Hogarth และคณะ (2000) ศึกษาชนิดเส้นใยอาหารกลุ่มฟรีไบโอติกที่พบในผัก และผลไม้ต่างๆ พบว่า ในเนื้อกล้วย พลัม หอมหัวใหญ่ (onion) หอมแดง (shallot) ชิโครี่ (chicory) และอาร์ติโชค (artichoke) มีฟรุกโตโอลิโกแซ็กคาไรด์เป็นองค์ประกอบ

Homme, Puigserver และ Biagini (2003) ศึกษาผลของกระบวนการแปรรูปอาหารต่อการเสื่อมสลายของฟรุกโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ในผลไม้ พบว่า กระบวนการแปรรูปอาหาร เช่น การให้ความร้อนที่มีอุณหภูมิในช่วง 80-120 °C นาน 30 นาที หรือการฆ่าเชื้อวิธี ปาสเตอร์ (pasteurization) มีผลให้เกิดการเสื่อมสลายของฟรุกโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ในเนื้อกล้วยหอม

Cordenunsi, Shiga และ Lajolo (2007) ศึกษาปริมาณเส้นใยอาหารในเนื้อกล้วย 2 สายพันธุ์ (*Musa acuminata* L.: cvs Mysore และ Nanicão) พบว่า เนื้อกล้วย Mysore มีปริมาณเส้นใยอาหารที่ละลายน้ำได้ และที่ไม่ละลายน้ำ 3.68 และ 5.78% โดยน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ และเนื้อกล้วย Nanicão มีปริมาณเส้นใยอาหารที่ละลายน้ำได้ และที่ไม่ละลายน้ำ 5.04 และ 10.84% โดยน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

สารต้านอนุมูลอิสระ (Antiradicals)

สารต้านอนุมูลอิสระ คือ สารที่สามารถทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระโดยตรง เพื่อกำจัดอนุมูลให้หมดไป หรือหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ไม่ให้ดำเนินต่อ โดยทำหน้าที่ให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ หรือทำหน้าที่ป้องกันการเกิดกระบวนการออกซิเดชัน ซึ่งเป็นกระบวนการสำคัญที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระ (Gordon, 2001a; Gordon, 2001b; นวลศรี วัชรวิริยะธรรม และ อัญชญา เจนวิทีสุข, 2545; โสภา วัชรคุปต์ และคณะ, 2549)

1. สารต้านอนุมูลอิสระที่พบในเนื้อกล้วยหอมทอง

สามารถจำแนกได้เป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มวิตามิน กลุ่มสารแคโรทีนอยด์ และกลุ่มสารประกอบฟีนอล สารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มวิตามิน ที่พบในเนื้อกล้วยหอมทองได้แก่ วิตามินซี ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการการหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ (โสภา วัชรคุปต์ และคณะ, 2549) สารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มแคโรทีนอยด์ มีบทบาทสำคัญในการการหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ และการเข้าไปจับกับอนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มนี้ที่พบในเนื้อกล้วยหอมทองได้แก่ บีตาแคโรทีน สารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มสารประกอบฟีนอลที่พบในกล้วย ได้แก่ แคทีคอลเอมีน นารินจีน และลิวทิน (Drell, 1970; Kanazawa และ Sakakibara, 2000)

2. การตรวจวัดแอกทิวิตีของการต้านอนุมูลอิสระ

การตรวจวัดแอกทิวิตีของการต้านอนุมูลอิสระที่เกี่ยวข้องกับการยับยั้ง หรือกำจัด อนุมูลอิสระ (Radical-scavenging methods) มีหลายวิธี ได้แก่ วิธี DPPH และวิธี ABTS เป็นต้น ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้การกำจัดสารอนุมูลอิสระสังเคราะห์ในตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้ว เช่น เมทานอล ที่อุณหภูมิห้อง สารอนุมูลอิสระสังเคราะห์ที่นิยมใช้ ได้แก่ 2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) และ 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS) (Micheal, 2001)

2.1 วิธี DPPH (DPPH assay) วิธีนี้จะใช้อนุมูล DPPH[•] ซึ่งมีสีม่วงเป็นสารอนุมูลอิสระ แล้วติดตามการกำจัดอนุมูลอิสระจากค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ที่ลดลง ซึ่งเกิดเนื่องจากสารต้านออกซิเดชัน (AH) ทำให้เกิดปฏิกิริยารีดักชัน หรือเกิดปฏิกิริยากับสารอนุมูลอิสระอื่นๆ (R') (Brand-Williams, Cuvelier และ Berset, 1995) และเปลี่ยนเป็นสารที่ไม่มีสี ผลการทดสอบ แอกทิวิตีของสารต้านออกซิเดชัน จะรายงานในรูปของค่า EC₅₀ (50% effective concentration) ซึ่งเป็นค่าที่แสดงความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่จำเป็นต้องใช้ เพื่อกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ไปได้ 50% ภายในเวลาที่กำหนด

2.2 วิธี ABTS (ABTS assay) วิธีนี้จะใช้สารประกอบ ABTS เป็นสารอนุมูลอิสระ โดยจะใช้ Potassium persulphate ในการเปลี่ยนสารประกอบ ABTS ไปเป็นอนุมูล ABTS^{•+} ที่มีสีเขียวเข้ม (Re และคณะ, 1999) เมื่ออนุมูล ABTS^{•+} ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระ จะเปลี่ยนเป็นสารที่ไม่มีสี การติดตามการกำจัดอนุมูลอิสระจะวัดจากค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ที่ลดลง การรายงานผลการทดสอบแอกทิวิตีของสารต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี ABTS จะแสดงโดยค่า TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity) ในหน่วย mM Trolox[®] equivalents (TE)/g fresh weight (fw)

สารให้กลิ่นรสในเนื้อกล้วยหอม

1. สารให้กลิ่นรสกล้วยหอม

สารให้กลิ่นรสกล้วยหอมถูกสร้างขึ้นในช่วงระหว่างการสุก ซึ่งสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงหลังการเก็บเกี่ยว โดยจะเกิดขณะที่กล้วยมีอัตราการหายใจในช่วง Climacteric rise ถึง Climacteric peak ส่งผลให้กลิ่นรสของกล้วยหอมเปลี่ยนแปลงไปตามระยะการสุก กลิ่นรสกล้วยหอมเกิดจากสารที่สามารถระเหยได้ประมาณ 250 ชนิด (Nijssen และคณะ, 1996) โดยจำแนกเป็น 4 กลุ่มหลักๆ คือ เอสเทอร์ แอลกอฮอล์ กรด และคาร์บอนิล สารให้กลิ่นรสกลุ่มเอสเทอร์มีความสำคัญมากที่สุด โดยสารชนิดที่สำคัญคือ Acetates เนื่องจากมีความเข้มข้นสูง สารกลุ่มนี้จะทำให้เกิดกลิ่นรสที่เป็นเอกลักษณ์ของกล้วยหอม โดยเฉพาะ Isopentyl acetate และ Isobutyl acetate ซึ่งมีปริมาณ 75 และ 47 ppm ตามลำดับ ในขณะที่ร่างกายมนุษย์สามารถเริ่มรับรู้ทาง

ประสาทสัมผัสได้ที่ความเข้มข้น 2 และ 50 ppb ตามลำดับ สาร Acetates ที่สำคัญอื่นๆ ได้แก่ Ethyl acetate (200 ppm), 2-Pentyl acetate (10 ppm), Butyl acetate และ Hexyl acetate (4 ppm) นอกจากนี้ยังมีสาร Butanoates (Ethyl และ Isopentyl) ซึ่งพบปริมาณ 5 ppm และ Isopentyl isopentanoate พบปริมาณ 3 ppm (Tressl และคณะ, 1972) การวิเคราะห์สารระเหยเหล่านี้ในต้องอาศัยวิธีที่เหมาะสม และต้องทำด้วยความรวดเร็ว เนื่องจากอาจเกิดการเปลี่ยนรูปไปเป็นสารชนิดอื่น เทคนิค SPME/GC-MS เป็นเทคนิคที่นิยมนำมาใช้ในการวิเคราะห์สารให้กลิ่น เนื่องจากสะดวก รวดเร็ว และสามารถวิเคราะห์ชนิดของสารเหล่านี้ได้โดยไม่ต้องหาสารมาตรฐานมาทำการทดลองในภาวะเดียวกัน

2. การตรวจวิเคราะห์องค์ประกอบที่ระเหยได้ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี และแมสสเปกโตรเมตรี (GC-MS)

ในการวิจัยเกี่ยวกับการตรวจวิเคราะห์องค์ประกอบที่ระเหยได้ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี และแมสสเปกโตรเมตรี (GC-MS) เทคนิค solid phase microextraction (SPME) ได้ถูกนำมาประยุกต์ใช้ในการศึกษา

GC-MS เป็นเครื่องมือสำหรับแยกวิเคราะห์หาชนิด และปริมาณสารในสถานะแก๊ส โดยใช้ตัวตรวจวัด (Detector) เป็นแบบเครื่องวิเคราะห์มวลสาร (Mass Spectrometer) จัดเป็นเครื่องที่ใช้เทคโนโลยีขั้นสูง มีความถูกต้อง และความแม่นยำในการวิเคราะห์สูง สามารถวิเคราะห์สารตัวอย่างได้มากมายหลายชนิด GC-MS ประกอบด้วย 2 ส่วน คือ ส่วนของเครื่อง GC (Gas chromatography) และส่วนของเครื่อง MS (Mass spectrometer) ส่วนของเครื่อง GC ทำหน้าที่ในการแยกองค์ประกอบของสารที่สามารถระเหยกลายเป็นไอ (Volatile organic compounds) ได้เมื่อถูกความร้อน กลไกที่ใช้ในการแยกองค์ประกอบต่างๆ ในสารตัวอย่างอาศัยหลักของความชอบที่แตกต่างกันขององค์ประกอบในตัวอย่างที่มีต่อเฟส 2 เฟส คือ Stationary phase และ Mobile phase ส่วนของเครื่อง MS เป็น Detector ที่ใช้ตรวจวัดองค์ประกอบที่มีอยู่ในสารตัวอย่างโดยอาศัยกลไก คือ โมเลกุลขององค์ประกอบที่ถูกแยกออกมาจากสารตัวอย่างโดยเครื่อง GC จะถูกไอออไนซ์ในสถานะสุญญากาศแล้วตรวจวัดออกมาเป็นเลขมวล (Mass number) เทียบกับฐานข้อมูลอ้างอิงแล้ว แปลผลออกมาเป็นชื่อขององค์ประกอบนั้นๆ

SPME เป็นเทคนิค headspace ในการสกัด และเก็บสารตัวอย่างที่ได้รับความนิยมมากในด้านเคมีวิเคราะห์ เนื่องจากเป็นเทคนิคที่ทำ ได้ง่าย และช่วยประหยัดตัวทำละลายในการสกัดสาร อีกทั้งยังเป็นเทคนิคที่ใช้ได้กับสารตัวอย่าง ที่มีคุณสมบัติเป็นสารที่ระเหยได้ (Volatile Compounds) ที่อยู่ในรูปของแก๊ส ของแข็ง และของเหลว หลักการทำงานของ SPME คือสาร polymer ที่ coated บน silica fiber จะทำหน้าที่ absorb สารตัวอย่างที่เป็น Volatile Compounds ในขวดเก็บตัวอย่าง

แล้วนำ fiber ที่ absorb สารตัวอย่างแล้วมาฉีดใน injector port ของ GC หรือ GC-MS ที่ร้อนเพื่อทำการ Desorb สารตัวอย่าง และนำมาวิเคราะห์ผลด้วย GC หรือ GC-MS

Frank, S. and et. al. (2001) และ Chungqing, S. and et. al. (2002) ใช้เทคนิค SPME/GC-MS ในการวิเคราะห์สารให้กลิ่นหอมจากดอกไม้ Marie, C.M. and et. al. (2002) ใช้เทคนิค SPME/GC-MS การวิเคราะห์สาร ethyl phenol ในไวน์

วิธีการทดลอง

วัตถุดิบ

ไซรัปกล้วยหอมที่ผลิตได้จากตอนที่ 3 (นำเนื้อกล้วยหอมบดนำเข้าสู่กระบวนการแปรรูปด้วยเอนไซม์ Pectinex Ultra SP-L[®] ปริมาณ 1.5% (v/w) ที่อุณหภูมิ 32 ± 2 °C pH 4.64 ± 0.11 นาน 3 ชั่วโมง)

การวิเคราะห์สมบัติทางเคมีกายภาพ

1. ปริมาณเส้นใยอาหารทั้งหมด (Total dietary fiber, TDF)

ใช้การวิเคราะห์ปริมาณ TDF ตามวิธีการของ A.O.A.C. (1995)

2. ค่าแอกทิวิตีของการต้านอนุมูลอิสระ

2.1 วิธี DPPH

การหาค่าแอกทิวิตีการกำจัดอนุมูลอิสระ ด้วยวิธีที่เกี่ยวข้องกับการกำจัดอนุมูลอิสระ โดยใช้ DPPH เป็นสารอนุมูลอิสระ มีขั้นตอนตามวิธีของ Maisuthisakul และคณะ (2007)

2.2 วิธี ABTS

การหาค่าแอกทิวิตีการกำจัดอนุมูลอิสระ ด้วยวิธีที่เกี่ยวข้องกับการกำจัดอนุมูลอิสระ โดยใช้สารประกอบ ABTS ซึ่งสลายตัวให้อนุมูลเปอร์ออกซีซึ่งเป็นสารอนุมูลอิสระ มีขั้นตอนตามวิธีของ Thaipong และคณะ (2006)

3. ค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติก (Prebiotic activity score)

งานวิจัยนี้จะวัดค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติก โดยการเปรียบเทียบความสามารถในการส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียที่เป็นจุลินทรีย์สุขภาพ หรือโพรไบโอติก (probiotics) เช่น *Lactobacillus acidophilus* LA5 และ *Bifidobacterium lactis* BB-12 และแบคทีเรียชนิดอื่นในระบบทางเดินอาหาร เช่น *Escherichia coli* ATCC 29922 กับสารที่ไม่ได้เป็นสารพรีไบโอติก เช่น กลูโคส ตามวิธีของ Huebener, Wehling และ Hutkins (2007)

4. สารระเหยได้ (Volatile compounds)

4.1 การเตรียมตัวอย่างโดยเทคนิค solid phase microextraction (SPME)

การเตรียมตัวอย่างโดยเทคนิค solid phase microextraction (SPME) สำหรับใช้วิเคราะห์หาชนิดของสารระเหยได้ ทำตามวิธีของ Mahattanatawee et al. (2007)

4.2 การวิเคราะห์หาชนิดของสารระเหยได้

การวิเคราะห์หาชนิดของสารระเหยได้ด้วยเทคนิค SPME/GC-MS มีการกำหนดภาวะต่างๆ ดังนี้

ก. GC (Gas chromatography) ตามภาวะ Mahattanatawee et al. (2007)

ข. MS (Mass spectrometry)

การวิเคราะห์ และจำแนกชนิดสารระเหย ทำโดยเทียบเคียง Mass spectra ของสารที่มี % quality match มากกว่าเท่ากับ 85% ร่วมกันระหว่าง Chemstation Wiley Spectral Library และ National Institute of Standards and Technology (NIST) Library

ผลการทดลอง

ปริมาณเส้นใยอาหารทั้งหมด

เมื่อนำไคร้ปลก้วยหอมที่ผลิตได้จากตอนที่ 3 มาวิเคราะห์หน้าที่เฉพาะ จากปริมาณเส้นใยอาหารทั้งหมด (Total dietary fiber, TDF) ตามวิธีการของ A.O.A.C. (1995) พบว่าปริมาณเส้นใยอาหารทั้งหมดมีค่าเท่ากับ 21.75 % น้ำหนักแห้ง และปริมาณเส้นใยอาหารทั้งหมดไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงในระหว่างกระบวนการแปรรูปไคร้ปลก้วยหอม ค่าที่ได้แสดงให้เห็นว่าไคร้ปลก้วยหอมที่ผลิตได้เป็นแหล่งสำคัญของเส้นใยอาหาร แต่เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณเส้นใยอาหารทั้งหมดที่พบในพืชชนิดอื่นๆ ที่จัดอยู่กลุ่มที่มีเส้นใยอาหารสูง เช่น แอปเปิ้ล เซอร์รี่ แพร์ และแครอท ซึ่งได้มีการรายงานโดย Nawirska และ Kwásniewska (2005) ว่ามีปริมาณเส้นใยอาหารทั้งหมดเฉลี่ย 98.74, 91.37, 94 และ 95% โดยน้ำหนักแห้งตามลำดับ จะพบว่าไคร้ปลก้วยหอมที่ผลิตได้มีปริมาณเส้นใยอาหารค่อนข้างน้อย

ค่าแอกทิวิตีของการต้านอนุมูลอิสระ

การหาค่าแอกทิวิตีการกำจัดอนุมูลอิสระ ด้วยวิธีที่เกี่ยวข้องกับการกำจัดอนุมูลอิสระ โดยใช้ DPPH เป็นสารอนุมูลอิสระ และโดยใช้สารประกอบ ABTS ซึ่งสลายตัวให้อนุมูลเปอร์ออกซิซึ่งเป็นสารอนุมูลอิสระ พบว่าไคร้ปลก้วยหอมที่ผลิตได้ มีฤทธิ์การต้านออกซิเดชันเท่ากับ 48.49 μg DPPH/ μg fresh weight หรือ 421.42 mM Trolox equivalents/g Fresh Weight เมื่อเปรียบเทียบกับค่าดังกล่าวกับส่วนต่างๆของผลไม้ ผัก และสมุนไพร ที่ศึกษา โดย Maisuthisakul และคณะ (2007)

พบว่าไช้ร้ปกล้วยหอมที่ผลิตได้ มีแอกทิวิตีของการต้านอนุมูลสูงกว่่าส่วนต่งๆของผลไม้ ผัก และ สมุนไพรรหลายชนิด เช่น เนื้อลูกพลับ (1.72 μg DPPH/ μg fw) เปลือกมังคุด (0.92 μg DPPH/ μg fw) เมล็ดกระถิน (0.14 μg DPPH/ μg fw) ผักปลั่ง (0.68 μg DPPH/ μg fw) ตับเต่านา (1.22 μg DPPH/ μg fw) สะเดาดิน (0.16 μg DPPH/ μg fw) ผักหนาม (0.13 μg DPPH/ μg fw) ผักพาย (0.13 μg DPPH/ μg fw) และมะกอก (0.68 μg DPPH/ μg fw) เป็นต้น เมื่อเปรียบเทียบค่าแอกทิวิตีของการต้านอนุมูลอิสระในรูปของค่า TEAC ของไช้ร้ปกล้วยหอมที่ผลิตได้ กับค่า TEAC ของผลไม้อื่นๆที่มีการระบุว่าเป็นผลไม้ที่มีแอกทิวิตีของการต้านอนุมูลอิสระสูง เช่น บลูเบอร์รี่ ซึ่งศึกษาโดย Prior และคณะ (1998) ที่มีค่า TEAC อยู่ในวง 13.9–45.9 mM TE/g fw จะเห็นว่าไช้ร้ปกล้วยหอมที่ผลิตได้ มีค่า TEAC สูงกว่่าค่า TEAC ของบลูเบอร์รี่มาก ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่า ไช้ร้ปกล้วยหอมที่ผลิตได้ จัดเป็นผลิตภัณฑ์อาหารอีกชนิดหนึ่งที่มีแอกทิวิตีของการต้านอนุมูลอิสระสูง

ตารางที่ 2.1 ปริมาณเส้นใยอาหารทั้งหมด และค่าแอกทิวิตีของการต้านอนุมูลอิสระของไช้ร้ปกล้วยหอม

Sample	TDF (% dry basis)	Free radical-scavenging activity	
		DPPH assay (1/EC ₅₀ , μg DPPH/ μg FM)	ABTS assay (mM TE/g FM)
Banana flesh	21.72 ^{ns} ±0.49	2.95 ^b ±0.01	25.69 ^b ±0.03
Banana flesh after blanching	21.69 ^{ns} ±0.20	47.89 ^a ±0.65	419.11 ^a ±0.53
Banana syrup	21.75 ^{ns} ±0.80	48.49 ^a ±0.80	421.42 ^a ±0.75

หมายเหตุ: ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขในแนวดิ่งที่กำกับด้วยตัวอักษรต่งกันมีความหมายต่งต่งกันอย่าง

มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ns ไม่มีความต่งต่งกันทางสถิติ ($p > 0.05$)

ค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติก

จากการหาค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติก (Prebiotic activity score) จากการส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียที่เป็นจุลินทรีย์สุขภาพ 2 ชนิด คือ *Lactobacillus acidophilus* LA5 และ *Bifidobacterium lactis* BB-12 ได้ผลต่งแสดงโดยตารางที่ 2.2 และรูปที่ 2.1

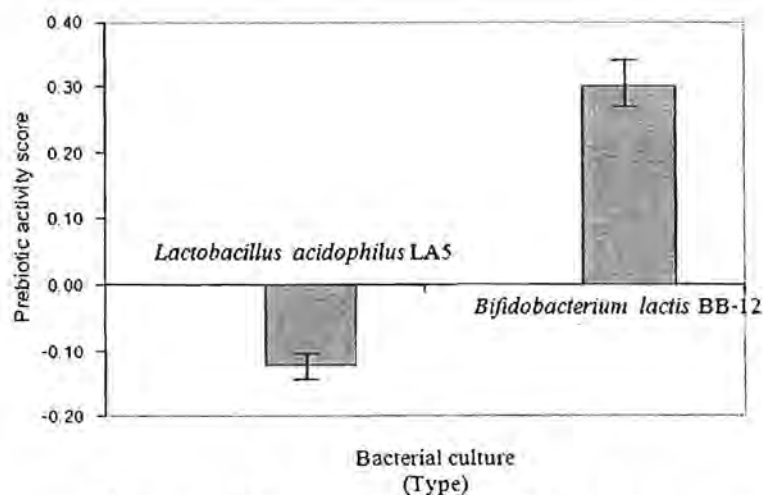
ตารางที่ 2.2 จำนวนประชากรของเซลล์แบคทีเรียที่เพิ่มขึ้นใน 24 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงในอาหาร MRS ที่มีกลูโคส หรือมีเนื้อกล้วยหอมสุกกระยะต่างๆเป็นองค์ประกอบ

Bacterial culture	Cell population [$\log_{10}(\text{cfu/ml})$]		
	Glucose	Banana flesh	Banana syrup
<i>Lactobacillus acidophilus</i> LA5	1.95 ^e ±0.07	2.51 ^c ±0.07	2.52 ^c ±0.03
<i>Bifidobacterium lactis</i> BB-12	2.10 ^d ±0.04	3.58 ^a ±0.07	3.61 ^a ±0.05
<i>Escherichia coli</i> ATCC 29922	2.00 ^e ±0.03	2.81 ^b ±0.02	2.83 ^b ±0.05

หมายเหตุ : ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

จากตารางที่ 2.2 แสดงให้เห็นว่าจำนวนประชากรของเซลล์แบคทีเรียในอาหารที่มีไซรัปกล้วยหอมเป็นองค์ประกอบ จะมีค่าเพิ่มขึ้นสูงกว่าจำนวนประชากรของเซลล์แบคทีเรียในอาหารที่มีกลูโคสเป็นองค์ประกอบอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยอาหารที่มีไซรัปกล้วยหอมเป็นองค์ประกอบ จะส่งเสริมการเจริญของ *Bifidobacterium lactis* BB-12 ได้ดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบค่าเอกทิวิตีของสารพรีไบโอติกในไซรัปกล้วยหอม ซึ่งแสดงโดยรูปที่ 2.1 กับค่าเอกทิวิตีของสารพรีไบโอติกของเนื้อกล้วยหอมที่สุกกระยะ 7 จะพบว่า มีค่าเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย โดยเมื่อใช้ *Lactobacillus acidophilus* LA5 เป็นจุลินทรีย์สุขภาพ เอกทิวิตีของสารพรีไบโอติกจะมีค่าลดลงจาก -0.11 ไปเป็น -0.12 แต่เมื่อใช้ *Bifidobacterium lactis* BB-12 เป็นจุลินทรีย์สุขภาพ เอกทิวิตีของสารพรีไบโอติกจะมีค่าเพิ่มขึ้นจาก 0.29 ไปเป็น 0.30



รูปที่ 2.1 เอกทิวิตีของสารพรีไบโอติกของไซรัปกล้วยหอม

สารระเหยได้

ในการวิจัยเกี่ยวกับการตรวจวิเคราะห์หาองค์ประกอบที่ระเหยได้ในไซรัปกล้วยหอม ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี และแมสสเปกโตรเมตรี (GC-MS) เทคนิค solid phase microextraction (SPME) ผลที่ได้แสดงโดยตารางที่ 2.3

จากตารางที่ 2.3 จะพบว่า มีสารที่สามารถระเหยได้ทั้งสิ้น 21 ชนิดที่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี และแมสสเปกโตรเมตรี (GC-MS) เทคนิค solid phase microextraction (SPME) ณ ภาวะที่ทำการศึกษา โดยสารที่สามารถระเหยได้ที่เป็นสารที่ให้กลิ่นรสที่เป็นเอกลักษณ์ของกล้วยหอม เช่น Isoamyl butyrate Isoamyl acetate Isobutyl butyrate และ Isopentyl isopentanoate สามารถพบได้ในไซรัปกล้วยหอมในปริมาณสูง ผลที่ได้แสดงให้เห็นทราบว่า ไซรัปกล้วยหอมที่ผลิตได้กลิ่นรสกล้วยหอมชัดเจน

สรุปผลการทดลอง

จากผลทางด้านลักษณะเฉพาะ และสมบัติเชิงหน้าที่ของไซรัปกล้วยหอม ที่ได้จากการทดลองข้างต้น แสดงให้เห็นว่าไซรัปกล้วยหอมที่ได้จากกระบวนการทางเอนไซม์ สามารถจัดอยู่ในกลุ่มอาหารที่มีหน้าที่เฉพาะได้ เนื่องจากมีองค์ประกอบตามธรรมชาติต่างๆ ที่ผ่านการศึกษาวิจัยแล้วพบว่า เมื่อบริโภคอาหารที่มีองค์ประกอบเหล่านั้นแล้วจะส่งผลดีต่อร่างกายมนุษย์ โดยเฉพาะในด้านสุขภาพ เช่น เส้นใยอาหาร สารต้านอนุมูลอิสระ สารพรีไบโอติก และสารให้กลิ่นรสกล้วยหอมตามธรรมชาติ จากการทดลองพบว่าไซรัปกล้วยหอมที่ได้มีใยอาหารอยู่ 21.75% โดยน้ำหนักแห้ง มีค่าแอกทิวิตีรวมในการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 48.49 $\mu\text{g DPPH}/\mu\text{g fw}$ หรือเท่ากับ 421.42 mM TE/g fw มีค่าแอกทิวิตีรวมในการเป็นสารพรีไบโอติกเท่ากับ -0.12 โดย *Lactobacillus acidophilus* LA5 หรือเท่ากับ 0.30 โดย *Bifidobacterium Lactis* BB-12 และมีสารที่สามารถระเหยได้ทั้งสิ้น 21 ชนิดที่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ด้วย GC-MS เทคนิค SPME ณ ภาวะที่ทำการศึกษา โดยสารที่สามารถระเหยได้ที่เป็นสารที่ให้กลิ่นรสที่เป็นเอกลักษณ์ของกล้วยหอม เช่น Isoamyl, butyrate, Isoamyl acetate, Isobutyl butyrate และ Isopentyl isopentanoate สามารถพบได้ในไซรัปกล้วยหอมในปริมาณสูง

ตารางที่ 2.3 องค์ประกอบที่ระเหยได้ในไซรัปกล้วยหอม

No	CAS Number	Identification	% Peak Area
1	000075-07-0	Acetaldehyde	0.07
2	000075-18-3	Methane	0.07
3	000078-84-2	Propanol	0.03
4	000079-20-9	Methyl ester	0.08
5	000141-78-6	Ethyl acetate	1.08
7	000064-17-5	Ethanol	1.50
8	000097-62-1	Propanoic acid	0.03
9	000105-54-4	Ethyl ester	0.46
10	000108-64-5	Butanoic acid	0.07
11	000066-25-1	Hexanal	0.08
12	000123-92-2	Isoamyl acetate	3.37
13	000071-36-3	1-Butanol	0.06
14	000539-90-2	Isobutyl butyrate	4.50
15	000106-27-4	Isoamyl butyrate	26.98
16	000142-92-7	Hexyl ester	0.10
17	027625-35-0	Isoamyl 2-methylbutyrate	1.32
18	000659-70-1	Isopentyl isopentanoate	21.26
19	000105-79-3	Isobutyl hexanoate	0.08
20	002639-63-6	Hexyl butyrate	0.76
21	002035-99-6	Isoamyl octanoate	0.26
Total			62.16

เอกสารอ้างอิง

- นวลศรี รักอริยะธรรม และ อัญชญา เจนวิถีสุข. 2545. แอนติออกซิเดนต์ สารต้านมะเร็งในผัก-สมุนไพรไทย. เชียงใหม่: นพบุรีการพิมพ์.
- โสภา วัชรคุปต์, ปรีชา บุญสูง, จันทนา บุญยะรัตน์ และ มาลีรักษ์ อัดตสินทอง. 2549. สารต้านอนุมูลอิสระ Radical Scavenging Agent. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: พี. เอส. พรินท์.
- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis of AOAC International. 16th ed. Washington D.C.
- Baghurst, P. A., Baghurst, K. I., and Record, S. J. 1996. Dietary fiber, Non-starch polysaccharides and resistant starch; a review. Food Australia. 48 (3): S1-S35.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., and Bersel, C. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. Food Science and Technology. 28: 25-30.
- Campbell, J. M., Bauer, L. L, Fahey, G. C. Jr., Hogarth, A. J. C. L., Wolf, B. W., and Hunter, D. E. 1997. Selected fructooligosaccharide (1-kestose, nystose, and 1F-b-fructofuranosyl-nystose) composition of foods and feeds. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 45: 3076-3082.
- Cordenunsi, B. R., Shiga, T. M., and Lajolo, F. 2007. Non-starch polysaccharide composition of two cultivars of banana (*Musa acuminata* L.: cvs Mysore and Nanicão). Carbohydrate Polymers[Online]. Available from: <http://www.sciencedirect.com>[2007, Sep 30]
- DH (Department of Health).1991. Dietary Reference Values for Food Energy and Nutrients for the United Kingdom. HMSO: London.
- Drell, W. 1970. Separation of catecholamines from catechol acids by alumina. Analytical Biochemistry. 34: 142-151.
- Frank, S., Roymond, L. and John, E.T. 2001. Fragrance volatiles of developing and senescing carnation flowers, Photochemistry. 56:703-710.
- Gordon, M.H. 2001a. Measuring antioxidant activity. Antioxidants in food: practical applications, 71-84. Cambridge: Woodhead Publishing Limited.
- Gordon, M.H. 2001b. The development of oxidative rancidity in foods. Antioxidants in food: practical applications, 7-21. Cambridge: Woodhead Publishing Limited.

- Homme, C. L., Puigserver, A., and Biagini, A. 2003. Effect of food-processing on the degradation of fructooligosaccharides in fruit. *Food Chemistry*. 82: 533-537.
- Huebner, J., Wehling, R. L., and Hutkins, R. W. 2007. Functional activity of commercial prebiotics. *International Dairy Journal*. 17 (7): 770-775.
- Kanazawa, K., and Sakakibara, H. 2000. High content of dopamine, a strong antioxidant, in Cavendish banana. *Journal of Agricultural and Chemistry*. 48: 844-848.
- MAHATTANATAWEE, K., PEREZ-CACHO, P.R., DAVENPORT, T. and ROUSEFF, R. 2007. Comparison of three lychee cultivar odor profiles using gas chromatography-olfactometry and gas chromatography-sulfur detection. *J. Agric. Food Chem.* 55, 1939-1944.
- Maisuthisakul, M., 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.
- Marie, C.M., Christelle, P. and Valetie, G. 2002. Determination of ethyl phenol compound in wine by headspace solid-phase micro extraction, *Journal of Chromatography A*. 458:111-117.
- Michael, H.G. 2001. Measuring antioxidant activity. *Antioxidants in Food: Practical Applications*, 71-84. New York: CRC Press.
- Nijssen, L. M., Visscher, C. A. Maarse, H., Willemsens, L.C., and Boelens, M.H. 1996. *Volatile Compounds in Foods Qualitative and Quantitative Data*. 7 th ed. TNO Nutrition and Food Research Institute. Zeist. The Netherlands.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., and Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*. 26: 1231-1237.
- Spiller, G. A., Ahipley, E. A., and Blake, J. A. 1978. Recent progress in dietary fiber in human nutrition. *Critical Review of Food Science and Nutrition*. 10: 31.
- Thaipong, K., Boonprakkob, U., Ckrosby, K., Cisneros-Zevallos, L., 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 fibres: Nutritional and technological interest. *Trends in Food Science & Technology*. 8 (2): 41-48.
- Tressl, R., and Jennings, W. G. 1972. Production of volatile compounds in the ripening banana. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 20 (2): 189-192.
- Van, L. J., Coussement, P., DeLeenheer, L., Hoebregs, H., and Smits, G. 1995. On the presence of inulin and oligofructose as natural ingredients in the Western diet. *CRC Critical Reviews in Food Science & Nutrition*. 35: 525-552.

ชุดโครงการวิจัยย่อยที่ 3
ผลของการสกัดด้วยเอนไซม์ต่อสารหน้าที่เฉพาะในฝรั่งแดง *Psidium guajava* L.
EFFECTS OF ENZYMATIC EXTRACTION ON FUNCTIONAL COMPOUNDS
IN RED GUAVA *Psidium guajava* L.
โดย นางสาวสาวิ ถ้วยทอง และ รศ.ดร. ปราณีย์ อำนเป็รื่อง

ตอนที่ 4

ศึกษาลักษณะเฉพาะของไซรัปฝรั่งแดง

บทคัดย่อ

งานวิจัยส่วนนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาลักษณะเฉพาะของไซรัปฝรั่งแดงที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ เพื่อเป็นข้อมูลยืนยันว่าไซรัปฝรั่งแดงที่ได้สามารถพัฒนาเป็นสารปรุงแต่งสี กลิ่นรส และลักษณะเนื้อสัมผัสในอาหารที่มีหน้าที่เฉพาะ ลักษณะเฉพาะที่ศึกษา ได้แก่ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ ปริมาณไลโคพีน ปริมาณวิตามินซี ขนาดอนุภาค ซึ่งการแปรรูปไซรัปฝรั่งแดงด้วยเอนไซม์ Pectinex[®] Ultra SP-L แปรความเข้มข้นเอนไซม์ในช่วง 0.25-1% (v/w) แปรเวลาการย่อย 0-480 นาที พบว่า การใช้เอนไซม์เข้มข้น 0.75% (v/w) เวลาการย่อย 0, 30, 90, 240 และ 300 นาที สามารถแบ่งระดับการตัดพันธะไกลโคซิลของพอลิเมอร์ในเนื้อฝรั่งแดงด้วยเอนไซม์ที่ประเมินจากค่าของน้ำตาลรีดิวซ์ได้เป็น 5 ช่วง โดยประมาณคือ 41, 53, 62, 77 และ 86 mg glucose/ g fw จากการศึกษาลักษณะเฉพาะของไซรัปฝรั่งแดงช่วงดังกล่าวพบว่า ไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 240 และ 300 นาทีขึ้นไป มีปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสูงกว่าภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ส่วนที่เวลาการย่อย 240 นาที ไซรัปฝรั่งแดงจะมีขนาดอนุภาคเฉลี่ยเล็กที่สุดคือ 14.67 μm สำหรับผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสพบว่า ไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 240 นาทีขึ้นไป จะมีสีแดงตามธรรมชาติของฝรั่งแดงสด มีกลิ่นหอมหวานและมีรสหวานของฝรั่งแดงชัดเจนและมีเนื้อสัมผัสที่เรียบเนียนมากกว่าไซรัปฝรั่งแดงที่ภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) และจากการทดลองใช้ไซรัปฝรั่งแดงเป็นส่วนผสมในเยลลี่ พบว่า เยลลี่ที่มีส่วนผสมของไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 240 นาทีขึ้นไป มีคะแนนด้านสี กลิ่นรสฝรั่งแดง ลักษณะเนื้อสัมผัส และการยอมรับโดยรวมสูงกว่าภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

บทนำ

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive compounds) คือ สารจากสิ่งมีชีวิตตามธรรมชาติที่มีผลต่อสิ่งมีชีวิตทั้งคน สัตว์ และพืช สารพวกนี้ไม่ได้จัดอยู่ในกลุ่มสารอาหาร เช่น สารต้านอนุมูลอิสระ ช่วยลดปริมาณคอเลสเตอรอลในเลือด ป้องกันการเกิดโรคอ้วน โรคเบาหวาน ตลอดจนมีผลต่อการเพิ่มระบบภูมิคุ้มกันให้กับร่างกาย เป็นต้น ซึ่งสารนั้นจะต้องไม่มีผลทางลบต่อร่างกาย หรือมีผลข้างเคียงน้อยมาก เพราะเมื่อสารนั้นถูกนำมาแปรรูปให้เป็นส่วนประกอบของอาหารย่อมไม่ต้องการให้มีผลกับร่างกาย ยกเว้น เชื้อโรค หรือเซลล์มะเร็งที่เราต้องการขจัดเท่านั้น (Kinsella และคณะ, 1993; Helmja และคณะ, 2007)

สารต้านออกซิเดชันเป็นกลุ่มสารซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน จึงสามารถป้องกันเซลล์จากการถูกทำลายได้ สารกลุ่มนี้ทำงานโดยการเอาตัวเองเข้ารับอนุมูลอิสระ ทำให้อนุมูลอิสระหมดฤทธิ์และปฏิกิริยาถูกชะงักลง ขณะเดียวกันสารต้านออกซิเดชันเองก็ถูกทำลายไปด้วย สารต้านออกซิเดชัน จึงมีส่วนช่วยป้องกันหรือลดการเกิดโรคต่างๆ (Temple, 2000) การวิเคราะห์ค่าฤทธิ์ต้านออกซิเดชันมีด้วยกันหลายวิธีขึ้นอยู่กับหลักการที่ใช้ เช่น วิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) และ Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) ซึ่งทั้ง 2 วิธีเป็นกลไกในการส่งผ่านอิเล็กตรอนไปรีดิวซ์สารอื่น โดยวิธี FRAP เป็นการวัดความสามารถรวมในการรีดิวซ์สารประกอบเชิงซ้อนของเหล็ก Fe^{3+} -TPTZ (Ferric tripyridyl triazine) ส่วนวิธี TEAC เป็นการวัดความสามารถในการขจัดอนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ ที่มีสีเขียวปนน้ำเงิน (โอภา วัชรคุปต์ และคณะ, 2549) ส่วนวิธี Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) และ Total radical-trapping antioxidant parameter (TRAP) วิเคราะห์จากการส่งผ่านอะตอมไฮโดรเจน (hydrogen atom transfer, HAT) และวิธี 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) อาศัยจากทั้งสองหลักการในการวิเคราะห์ (Prior, Wu และ Schaich, 2005) สารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสำคัญที่พบในฝรั่งแดง ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก ไโคโคพินและวิตามินซี

สารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลิกเป็นกลุ่มสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสำคัญที่พบในผัก ผลไม้ และธัญพืชชนิดต่างๆ สามารถแบ่งเป็น 3 กลุ่มหลัก ได้แก่ กรดฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และแทนนิน (Dykes และ Rooney, 2007) กลไกในการต้านอนุมูลอิสระของสารในสารประกอบฟีนอล มี 3 กลไก (Rice-Evan, 1999; โอภา วัชรคุปต์ และคณะ, 2549) คือ

ก. เป็นสารคีเลต (chelating agent) ทำหน้าที่จับกับโลหะหนักที่ส่งเสริมให้เกิดปฏิกิริยาถูกชะงักของอนุมูลอิสระ เช่น ทองแดง และเหล็ก เป็นต้น

ข. เป็นสารต้านออกซิเดชันโดยหยุดปฏิกิริยาถูกชะงัก โดยทำหน้าที่ให้อิเล็กตรอนหรือไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระ ได้อนุมูลของสารประกอบฟีนอลที่มีความเสถียร

ค. ทำหน้าที่เปลี่ยนรูปวิตามินอีกลับมาใหม่ โดยจะรีดิวซ์อนุมูลของวิตามินอีกลับเป็นวิตามินอีเหมือนเดิม ทำให้วิตามินอีสามารถทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ต่อไป

Mahattanatawee และคณะ (2006) รายงานว่า เนื้อฝรั่งมีสารประกอบฟีนอล ปริมาณ 2316-1589 $\mu\text{g GA/g puree}$ และมีสารประกอบฟีนอลชนิดหลักๆ ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ และแทนนิน (Seshadri และ Vasishta, 1964; Misra และ Seshadri, 1968)

ไลโคพีน

ไลโคพีนเป็นสารอนุพันธ์ในกลุ่มแคโรทีนอยด์กลุ่มเดียวกับ เบต้า-คาโรทีน มีโครงสร้างทางเคมีแบบ unsaturated hydrocarbon ประกอบด้วย พันธะคู่แบบ conjugated 11 คู่ และ unconjugated 2 คู่ ซึ่งเป็นสารให้สีเหลือง ส้มและแดงในผลไม้ เช่น ฝรั่งแดง เกรปฟรุ้ต แอปริคอต ส้ม แดงโม มะละกอ และส่วนใหญ่พบในมะเขือเทศ เป็นต้น (Ishida และ Chapman, 2004)

สารไลโคพีน มีโครงสร้างทางเคมีที่มีพันธะคู่มากทำให้ง่ายต่อการเกิดปฏิกิริยากับสารอนุมูลอิสระที่เป็นสารอนุพันธ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน ที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคมะเร็งต่างๆ เช่น มะเร็งทรวงอก มะเร็งปอด มะเร็งต่อมลูกหมาก ลดปัญหาการอุดตันของเส้นเลือดแดง เนื่องจากไลโคพีนไปช่วยเพิ่มปริมาณ LDL cholesterol ในกระแสเลือดโดยไปลดปฏิกิริยาออกซิเดชัน และยังถูกนำมาศึกษาในการเป็นวัคซีนต่อต้านไวรัส HIV และไวรัสตับอักเสบบี ด้วย จากการศึกษาในชายจำนวน 48,000 คน พบว่ารับประทานขอมมะเขือเทศอย่างน้อยสัปดาห์ละ 2 ครั้ง (ปริมาณไลโคพีน 19 mg/day) มีภาวะเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งต่อมลูกหมากน้อยกว่าคนปกติ 16% (Clinton, 1988) ในการทานอาหารเพื่อให้ได้สารไลโคพีนนั้น จำเป็นต้องนำฝรั่งแดงมาผ่านกระบวนการให้ความร้อน เนื่องจากในธรรมชาติโครงสร้างของสารดังกล่าวจะจับตัวกับสารโปรตีน และสามารถแยกตัวออกได้ด้วยความร้อน (Clinton, 1988; Ishida และ Chapman, 2004)

วิตามินซี

วิตามินซี ทำหน้าที่เป็นสารต้านออกซิเดชัน โดยจะถ่ายเทไฮโดรเจนอะตอมจากโมเลกุลของไขมันให้กับออกซิเจน ทำให้ออกซิเจนไม่สามารถเกิดปฏิกิริยาต่อไปได้ ในฝรั่งมีวิตามินซีมากกว่าผลไม้อื่นๆ ซึ่งมากกว่าส้ม 4-10 เท่า โดย Lim, Lim และ Tee (2007) รายงานว่า ฝรั่งมีวิตามินซี ปริมาณ 144-132 mg/100 g วิตามินซีช่วยเสริมสร้างและรักษาสุขภาพของเนื้อเยื่อคอลลาเจน ทำให้ผิวสมบูรณ์แข็งแรง เสริมการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน และลดความเสี่ยงจากการเป็นมะเร็ง (Delia และ Padula, 1986)

วิธีการทดลอง

วัตถุดิบ

ไซรัปฝรั่งแดงที่ผลิตได้จากตอนที่ 3 (ไซรัปฝรั่งแดงที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์เข้มข้น 0.75% (v/w) ที่เวลาการย่อย 0, 30, 90, 240 และ 300 นาที ที่อุณหภูมิ $32 \pm 2^{\circ}\text{C}$)

ศึกษาลักษณะเฉพาะของไซรัปฝรั่งแดง

1. ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (Antioxidant activities)

การเตรียมสารสกัดจากไซรัปฝรั่งเพื่อวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ดัดแปลงจากวิธีของ Maisuthisakul และคณะ (2007) และวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH ดัดแปลงจากวิธีของ Masuda และคณะ (1999); Maisuthisakul และคณะ (2007) และวิธี FRAP ดัดแปลงวิธีของ Benzie และ Strain (1996)

2. ปริมาณฟีนอลิก

วิเคราะห์ปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetry จากสารสกัดที่เตรียมได้ในข้อ 3.3.2.2 ตามวิธีของ Marinova และคณะ (2005)

3. ปริมาณฟลาโวนอยด์

วิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ด้วยวิธี Aluminum chloride colorimetry จากสารสกัดที่เตรียมได้ในข้อ 3.3.2.2 ตามวิธีของ Zhishen และคณะ (1999)

4. ปริมาณไลโคพีน

วิเคราะห์ปริมาณไลโคพีนด้วย HPLC ตามวิธีของ Shi และคณะ (2008)

5. ปริมาณวิตามินซี

วิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีด้วยวิธี spectrophotometry ตามวิธีของ Pearson (1976)

6. ขนาดอนุภาค

วัดด้วยเครื่อง Laser particle size analyzer ดัดแปลงภาวะที่ใช้ของ Worrasinchai และคณะ (2006)

ทดลอง 3 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ CRD และประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของไซรัปฝรั่งแดงด้วยวิธี QDA โดยใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 10 คน ประเมินลักษณะด้านสี กลิ่นรส เนื้อสัมผัส และการยอมรับรวม ทดลอง 2 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ RCBD

ทดลองใช้ไซรัปฝรั่งแดงในผลิตภัณฑ์อาหาร โดยใช้เป็นส่วนผสมในเยลลี่ปริมาณ 10% โดยนำนักส่วนผสมทั้งหมด แทนการใช้กลิ่นรสผลไม้สังเคราะห์ในสูตรต้นแบบ และประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ที่ได้ ด้วยวิธี QDA โดยใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 10 คน ประเมินลักษณะด้านสี กลิ่นรส เนื้อสัมผัส และการยอมรับรวม ทดลอง 2 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ RCBD

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

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการติดตามการทำงานของเอนไซม์ โดยพิจารณาจากปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดจากการตัดพันธะไกลโคซิลของพอลิเมอร์ในเนื้อฝรั่งแดงในตอนที่ 3 เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในไซรัปฝรั่งแดง พบว่า การใช้เอนไซม์ที่มีความเข้มข้น 0.75% (v/w) เวลาการย่อยนาน 0-480 นาที เป็นภาวะที่ไซรัปฝรั่งแดงมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์หรือมีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลครอบคลุมจากช่วงต่ำไปสูง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้มีค่าไม่แตกต่างกับภาวะที่ใช้เอนไซม์เข้มข้น 1% (v/w) อย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) โดยมีอัตราการย่อยสลายคงที่ ตั้งแต่ 300 นาทีขึ้นไป และเมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่า ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในไซรัปฝรั่งแดงที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์เข้มข้น 0.75% (v/w) ที่เวลาการย่อย 0, 30, 90, 240 และ 300 นาที สามารถแบ่งเป็น 5 ช่วง โดยประมาณ คือ 41, 53, 62, 77 และ 86 mg glucose/ g fresh weight (fw) แสดงในตารางที่ 3.1 ดังนั้นจึงเลือกใช้เอนไซม์ที่มีความเข้มข้น 0.75% (v/w) เวลาการย่อย 0, 30, 90, 240 และ 300 นาที เป็นตัวแทนเพื่อศึกษาผลของระดับการตัดพันธะไกลโคซิลของพอลิเมอร์ในเนื้อฝรั่งแดงด้วยเอนไซม์ที่มีต่อลักษณะเฉพาะของไซรัปฝรั่งแดงในด้านฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน สารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ วิตามินซี ปริมาณไลโคพีน ขนาดอนุภาค และคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ตารางที่ 3.1 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในไซรัปฝรั่งแดงที่ได้จากการย่อยด้วย Pectinex® Ultra SP-L ที่ความเข้มข้น 0.75% (v/w)

Hydrolysis time (min)	Reducing sugars (mg glucose/g fw*)
0	41.58 ^e ± 1.56
30	53.29 ^d ± 3.51
90	62.72 ^c ± 3.16
240	77.36 ^b ± 3.93
300	86.34 ^a ± 3.49

ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขในแนวตั้งที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

*fw คือ fresh weight basis

ลักษณะเฉพาะของไซรัปฝรั่งแดงที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์

ตารางที่ 3.2 สมบัติทางเคมีและกายภาพของไซรัปฝรั่งแดงที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลด้วยเอนไซม์ต่างกัน

Physicochemical properties	Hydrolysis time (min)				
	0	30	90	240	300
DPPH assay (EC ₅₀ , µg fw/ µg DPPH)	18.31 ^a ±0.17	17.60 ^b ±0.34	15.34 ^c ±0.33	14.15 ^d ±0.36	13.66 ^e ±0.22
FRAP assay (µM TE ^e /g fw)	90.32 ^d ±0.08	95.03 ^c ±0.16	100.01 ^b ±0.12	107.71 ^a ±0.16	107.66 ^a ±0.30
Total phenolics (mg GAE ^e /g fw)	162.27 ^d ±0.17	178.51 ^c ±0.15	189.05 ^b ±0.16	196.52 ^a ±0.14	196.75 ^a ±0.17
Total flavonoids (mg CE ^e /g fw)	34.51 ^a ±0.14	39.49 ^b ±0.13	43.86 ^c ±0.05	57.56 ^b ±0.11	65.49 ^a ±0.13
Ascorbic acid (mg/g fw)	90.56 ^a ±0.05	82.30 ^b ±0.28	80.91 ^c ±0.12	80.74 ^c ±0.14	80.69 ^c ±0.12
Lycopene (µg/g fw)	921.67 ^d ±1.12	1496.89 ^c ±1.82	1670.24 ^b ±1.72	1778.30 ^a ±2.13	1773.08 ^a ±1.12
Particle size (µm)	206.67 ^a ±1.05	19.56 ^b ±0.91	16.52 ^c ±1.08	14.67 ^d ±0.97	13.62 ^e ±0.43

ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขในแนวนอนที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05)

fw คือ fresh weight basis, TE คือ trolox equivalent

เมื่อนำไซรัปฝรั่งแดงที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ในตารางที่ 3.1 มาศึกษาลักษณะเฉพาะในด้านต่างๆ รวมทั้งทดลองใช้ไซรัปฝรั่งแดงในผลิตภัณฑ์อาหาร เพื่อเป็นข้อมูลยืนยันว่าไซรัปฝรั่งแดงที่ได้สามารถพัฒนาเป็นสารปรุงแต่งสี กลิ่นรส และลักษณะเนื้อสัมผัสในอาหารที่มีหน้าที่เฉพาะได้ จากผลการศึกษาลักษณะเฉพาะของไซรัปฝรั่งแดงที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลด้วยเอนไซม์ต่างกันในด้านสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน สารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ วิตามินซี ไลโคพีน ด้านขนาดอนุภาค และด้านคุณภาพทางประสาทสัมผัส พบว่า ไซรัปฝรั่งแดงจะมีลักษณะเฉพาะที่แตกต่างกันตามระดับการตัดพันธะไกลโคซิลของพอลิเมอร์ในเนื้อฝรั่งแดง โดยเอนไซม์ที่ใช้มีบทบาทสำคัญต่อสมบัติด้านต่างๆของไซรัปดังนี้

1. สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชันในเนื้อฝรั่งแดง ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ โลโคพินและวิตามินซี (Mercadante, Steck และ Pfander, 1999) เมื่อวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของเนื้อฝรั่งแดงด้วยวิธี DPPH และ FRAP พบว่า ไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 240 นาทีขึ้นไป จะมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงกว่าที่ภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ 3.2) จากงานวิจัยของ Hartmann และคณะ (2008) ที่รายงานว่า การผลิตน้ำสตรอเบอรี่พร้อมดื่มโดยใช้เอนไซม์เพกทิเนส ช่วยเพิ่มปริมาณสารต้านออกซิเดชันได้ถึง 77% มากกว่าตัวอย่างที่ไม่ใช้เอนไซม์ซึ่งได้ 56% เนื่องจากเอนไซม์จะย่อยองค์ประกอบต่างๆ บริเวณผนังเซลล์พืชที่ยึดจับสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชันไว้ ทำให้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพถูกปล่อยออกมา (Dominguez, Navez และ Lama, 1994) ส่งผลให้ไซรัปฝรั่งแดงที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลสูงมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันมากขึ้น โดยค่าฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH และ FRAP จะให้ผลไปในทางเดียวกัน

สารประกอบฟีนอลิกสำคัญที่พบในฝรั่งแดงส่วนใหญ่ ได้แก่ ฟลาโวนอยด์และแทนนิน (Seshadri และ Vasishta, 1964; Misra และ Seshadri, 1968) จากการทดลองพบว่า ไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 240 นาทีขึ้นไป จะมีสารกลุ่มฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าที่ภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ 3.2) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Landbo และ Meyer (2001) ที่รายงานว่า การสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากน้ำแบล็คเคอเรนท์โดยใช้เอนไซม์เพกทิเนสทางการค้า พบว่า การใช้เอนไซม์จะช่วยเพิ่มปริมาณสารประกอบฟีนอลิกได้ 40% เมื่อเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ใช้เอนไซม์

ฟลาโวนอยด์ เป็นกลุ่มรงควัตถุที่พบในพืชมีสีเหลือง สารฟลาโวนอยด์หลักที่พบในฝรั่ง ได้แก่ ไมริซิดิน เคอร์ซีติน แคมพ์ฟีรอล และอะจิทินิน (Misra และ Seshadri, 1968; Mian และ Mohamed, 2001) จากการทดลอง พบว่า โดยไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 300 นาทีขึ้นไป จะมีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงกว่าที่ภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Mandalari และคณะ (2006) พบว่า การใช้เอนไซม์เพคตินเนสและเซลลูเลสในการสกัดฟลาโวนอยด์จากเปลือกมะนาวสามารถเพิ่มฟลาโวนอยด์ได้ 90%

ปริมาณวิตามินซี จากการทดลอง พบว่า เมื่อระยะเวลาในการย่อยเพิ่มมากขึ้นจะทำให้ปริมาณวิตามินซีลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Yusof และ Ibrahim (1994) พบว่า การใช้เอนไซม์เพคตินเนสในการสกัดวิตามินซีจากทุเรียนเทศ ไม่สามารถเพิ่มปริมาณวิตามินซีได้เช่นเดียวกัน เนื่องจากวิตามินซีสามารถสลายตัวได้ง่ายเนื่องจากความร้อน แสงสว่าง และอากาศ (Marks, 1993)

ไลโคพีนเป็นสารอนุพันธ์ในกลุ่มแคโรทีนอยด์กลุ่มเดียวกันกับเบต้า-คาโรทีนเป็นรงควัตถุสำคัญที่ทำให้แครีปฝรั่งแดงมีสีแดง ส้มและเหลือง และมีสมบัติเป็นสารแอนติออกซิแดนท์ (Gerster, 1997) จากผลการทดลองพบว่า แครีปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 240 นาทีขึ้นไป มีปริมาณไลโคพีนสูงกว่าที่ภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ 3.2) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Choudhari และ Ananthanarayan (2007) ที่รายงานว่าการสกัดไลโคพีนจากมะเขือเทศโดยใช้เอนไซม์เพกทิเนสและเซลลูเลสเข้มข้น 0 - 5% (v/w) ทำปฏิกิริยา 0 -180 นาที ที่อุณหภูมิ 60 และ 55°C ตามลำดับ พบว่าการใช้เอนไซม์จะช่วยเพิ่มปริมาณไลโคพีนได้ 712 และ 424 $\mu\text{g/g}$ ตามลำดับ ซึ่งมากกว่าตัวอย่างที่ไม่ใช้เอนไซม์ เนื่องจากเอนไซม์จะช่วยสลายผนังเซลล์พืชและปล่อยไลโคพีนที่อยู่ในคลอโรพลาสต์ และอยู่ในของเหลวภายในเซลล์ออกมาทำให้ง่ายต่อการสกัด (Santamaria และคณะ, 2000) ในการทานอาหารเพื่อให้ได้สารไลโคพีนนั้น จำเป็นต้องนำผักหรือผลไม้ชิ้นนั้นมาผ่านกระบวนการให้ความร้อน เนื่องจากในธรรมชาติโครงสร้างของสารดังกล่าวจะจับตัวกับสารโปรตีนและสามารถแยกตัวออกได้ด้วยความร้อน ดังนั้นอาหารที่ผ่านความร้อนจะมีปริมาณไลโคพีนมากกว่า (Bowen และคณะ, 2002)

2. ขนาดอนุภาค

แครีปฝรั่งแดงที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์จะมีขนาดอนุภาคเฉลี่ยเล็กลงอย่างต่อเนื่อง โดยแครีปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 240 นาที จะมีขนาดอนุภาคเฉลี่ยเล็กที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) คือ 14.67 μm (ตารางที่ 3.2) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ De Carvalho และคณะ (2006) ที่รายงานว่าการใช้เอนไซม์เพกทิเนสเข้มข้น 0.3% (v/w) ทำปฏิกิริยา 40 นาที สามารถลดขนาดอนุภาคน้ำมะนาวได้ดีที่สุด ซึ่งสามารถลดขนาดได้น้อยกว่า 200 μm . ทั้งนี้เนื่องจากเอนไซม์จะย่อยสารประกอบต่างๆบริเวณผนังเซลล์พืช ได้แก่ เพกทิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลสทำให้ได้พอลิเมอร์ของสารประกอบดังกล่าวที่ลดลง ส่งผลให้ขนาดอนุภาคที่ได้มีขนาดเล็กลง (Jayani, Saxena และ Gupta, 2005)

3. คุณภาพทางประสาทสัมผัส

3.1 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของแครีปฝรั่งแดง

จากการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส ด้วยวิธี QDA ในด้านสี กลิ่นรส ลักษณะเนื้อสัมผัสและการยอมรับรวมของแครีปฝรั่งแดงที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลด้วยเอนไซม์ต่างกัน โดยใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 10 คน ให้ผลการทดลองดังตารางที่ 3.3 คือ แครีปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 240 นาทีขึ้นไป จะมีสีแดงตามธรรมชาติของฝรั่งแดงสด มีกลิ่นหอมหวานและมีรสหวานของฝรั่งแดงชัดเจนกว่าที่ภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ผลที่ได้สอดคล้องกับค่าสีที่วัดได้จากการทดลองตอนที่ 3.3 พบว่า เมื่อเพิ่มระยะเวลาการย่อยจะทำให้แครีปที่ได้มีค่าความสว่าง (L^*) ลดลง แต่ค่าสีแดง ($+a^*$) และค่าสีเหลือง ($+b^*$) เพิ่มขึ้น และ

สอดคล้องกับงานวิจัยของ Thongsombat, Sirichote และ Chanthachum (2007) ที่รายงานว่า การใช้เอนไซม์เพกทิเนสช่วยปรับปรุงคุณภาพน้ำฝรั่งพร้อมดื่ม จะทำให้น้ำฝรั่งที่ได้มีลักษณะปรากฏด้านสี กลิ่น รสและลักษณะโดยรวมดีขึ้น ส่วนในด้านกลิ่นรสแปลกปลอม ผู้ทดสอบจะรู้สึกถึงกลิ่นรสแปลกปลอมได้บ้างเล็กน้อย เป็นลักษณะกลิ่นคัมสุกในไซรัปฝรั่งแดงที่ทุกเวลาการย่อย นอกจากนี้ไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 240 นาทีขึ้นไปจะมีลักษณะเนื้อสัมผัสที่เรียบเนียน และการยอมรับรวมมากกว่าไซรัปที่ได้จากภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับผลของขนาดอนุภาค พบว่าเมื่อเพิ่มระยะเวลาการย่อยจะทำให้ไซรัปที่ได้มีขนาดอนุภาคเฉลี่ยเล็กลง

ตารางที่ 3.3 คะแนนลักษณะทางประสาทสัมผัสของไซรัปฝรั่งแดงที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลด้วยเอนไซม์ต่างกัน

Sensory attributes	Hydrolysis time (min)				
	0	30	90	240	300
Color	6.25 ^d ±0.26	7.10 ^c ±0.46	7.65 ^b ±0.34	8.65 ^a ±0.67	8.95 ^a ±0.72
Flavor					
red guava flavor	6.35 ^d ±0.24	7.10 ^c ±0.46	7.80 ^b ±0.25	8.55 ^a ±0.55	8.15 ^{ab} ±0.67
off-flavor*	6.85 ^c ±0.41	7.05 ^c ±0.44	7.70 ^b ±0.26	8.40 ^a ±0.61	8.05 ^{ab} ±0.50
Texture					
smoothness	6.25 ^d ±0.54	7.00 ^c ±0.41	7.55 ^b ±0.37	8.30 ^a ±0.63	7.85 ^{ab} ±0.67
Overall acceptability	6.60 ^d ±0.46	7.10 ^c ±0.46	7.60 ^b ±0.32	8.40 ^a ±0.61	8.00 ^a ±0.60

ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขในวงเล็บที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

กำหนดให้ลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านต่างๆของไซรัปฝรั่งแดงมีคะแนนสูงสุด 10 คะแนน

*กลิ่นรสแปลกปลอม (off-flavor): มีกลิ่นรสแปลกปลอมชัดเจน (0 คะแนน) -ไม่มีกลิ่นรสแปลกปลอมเลย (10 คะแนน)

3.2 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของเยลลี่ฝรั่งแดง

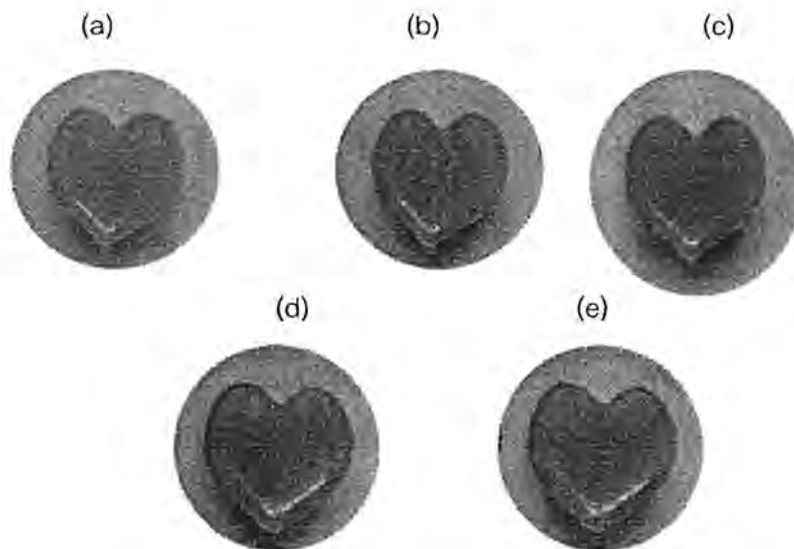
จากการทดลองใช้ไซรัปฝรั่งแดงที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลด้วยเอนไซม์ต่างกัน เป็นสารแต่งกลิ่นรสในผลิตภัณฑ์อาหาร เพื่อทดแทนการใช้สารปรุงแต่งกลิ่นสังเคราะห์ เพิ่มสมบัติเชิงหน้าที่และคุณค่าทางโภชนาการให้กับผลิตภัณฑ์ โดยใช้เป็นส่วนผสมในเยลลี่ปริมาณ 10% โดยน้ำหนักส่วนผสมทั้งหมด แทนการใช้กลิ่นผลไม้สังเคราะห์ในสูตรต้นแบบ แสดงในรูปที่ 3.1 และประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ที่ได้ด้วยวิธี QDA โดยใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 10 คน ประเมินลักษณะด้านสี กลิ่นรส ลักษณะเนื้อสัมผัส และการยอมรับรวมผลที่ได้แสดงในตารางที่ 3.4 พบว่า เมื่อใช้ไซรัปฝรั่งแดงที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลต่างกันเป็น

ส่วนผสมในเยลลี่จะส่งผลให้เยลลี่มีสี กลิ่นรส และลักษณะเนื้อสัมผัสต่างกัน ซึ่งผลที่ได้มีแนวโน้มไปในทางเดียวกับการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของไซรัปฝรั่งแดง โดยเยลลี่ที่มีส่วนผสมของไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 240 นาทีขึ้นไป จะมีสีชมพูอมแดงและมีกลิ่นรสฝรั่งแดงชัดเจนกว่าที่ภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ส่วนด้านกลิ่นรสแปลกปลอมพบว่าเยลลี่ที่มีส่วนผสมของไซรัปฝรั่งแดงทุกภาวะไม่ทำให้เกิดกลิ่นรสแปลกปลอมในระดับที่ผู้ทดสอบสามารถรู้สึกได้ชัดเจน ในด้านลักษณะเนื้อสัมผัส พบว่า เยลลี่ที่มีส่วนผสมของไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 240 นาทีขึ้นไป จะมีเนื้อสัมผัสด้านความเรียบเนียนเป็นเนื้อเดียวกันไม่แยกชั้นมากกว่าไซรัปฝรั่งแดงที่ภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ด้านความยืดหยุ่นของเนื้อเยลลี่ พบว่า เยลลี่ที่มีส่วนผสมของไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 90 นาทีขึ้นไปจะมีความยืดหยุ่นมากกว่าเยลลี่ที่ภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เนื่องจากเอนไซม์จะย่อยสารประกอบเพกทินที่ไม่ละลายน้ำให้อยู่ในรูปที่แสดงหมู่ไฮดรอกซิลมากขึ้น ส่งผลให้เพกทินมีปริมาณหมู่ที่ชอบน้ำมากขึ้น จึงละลายน้ำได้ดีขึ้น เกิดเป็นพอลิเมอร์ที่สามารถรวมตัวกันเป็นโครงสร้างร่างแหที่มีน้ำอยู่ในช่องว่างระหว่างร่างแห ส่งผลให้เยลลี่มีลักษณะของเจลและมีความยืดหยุ่นดี แต่เมื่อระยะเวลาในการย่อยเพิ่มมากขึ้นที่ 300 นาที พบว่า เนื้อเยลลี่ฝรั่งแดงที่ได้จะมีลักษณะเยิ้ม น้ำ มีการแยกชั้น อาจเนื่องมาจากส่วนที่ชอบน้ำมากเกินไปส่งผลให้เยลลี่มีลักษณะเยิ้ม น้ำ แต่ที่เวลา 360 นาที เยลลี่จะมีความยืดหยุ่นเพิ่มขึ้นอีก อาจเนื่องจากส่วนที่ชอบน้ำจะเกิดการรวมตัวกันเองอีกครั้ง ทำให้เยลลี่มีความยืดหยุ่นเพิ่มขึ้นได้ (ปราณี อานเป็รื่อง, 2547) ด้านการยอมรับรวม พบว่า ผู้ทดสอบให้การยอมรับเยลลี่ที่มีส่วนผสมของไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 240 นาทีขึ้นไปมากกว่าไซรัปฝรั่งแดงที่ภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 3.4 คะแนนลักษณะทางประสาทสัมผัสของเยลลี่ฝรั่งแดง

Sensory attributes	Hydrolysis time (min)				
	0	30	90	240	300
Color	6.25 ^d ±0.26	7.15 ^c ±0.53	7.60 ^b ±0.39	8.75 ^a ±0.63	8.55 ^a ±0.60
Flavor					
red guava flavor	6.30 ^d ±0.26	7.10 ^c ±0.46	7.70 ^b ±0.35	8.80 ^a ±0.54	8.40 ^a ±0.77
off-flavor*	6.75 ^c ±0.49	7.05 ^c ±0.52	7.65 ^b ±0.34	8.65 ^a ±0.67	8.20 ^a ±0.71
Texture					
smoothness	6.20 ^d ±0.54	7.00 ^c ±0.41	7.55 ^{bc} ±0.28	8.50 ^a ±0.68	7.75 ^b ±1.04
springiness	6.65 ^c ±0.53	7.05 ^b ±0.87	7.50 ^a ±0.47	4.95 ^d ±0.69	6.82 ^c ±0.57
Overall acceptability	6.60 ^d ±0.46	7.05 ^c ±0.64	7.65 ^b ±0.41	8.80 ^a ±0.63	7.90 ^b ±0.32

ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน /ค่าตัวเลขในแนวนอนที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) กำหนดให้ลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านต่างๆของไซรัปฝรั่งแดงมีคะแนนสูงสุด 10 คะแนน *กลิ่นรสแปลกปลอม (off-flavor): มีกลิ่นรสแปลกปลอมชัดเจน (0 คะแนน) -ไม่มีกลิ่นรสแปลกปลอมเลย (10 คะแนน)



รูปที่ 3.1 ลักษณะของเยลลี่ (a) เนื้อฝรั่งแดง (b) ไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 30 นาที (c) 90 นาที (d) 240 นาที และ (e) 300 นาที

สรุปผลการทดลอง

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่าภาวะที่ใช้ในการศึกษาลักษณะเฉพาะของไซรัปฝรั่งแดงคือ การใช้เอนไซม์ที่มีความเข้มข้น 0.75% (v/w) เวลาการย่อย 0, 30, 90, 240 และ 300 นาที ซึ่งที่ภาวะนี้สามารถแบ่งระดับการตัดพันธะไกลโคซิลของพอลิเมอร์ในเนื้อฝรั่งแดง โดยประเมินจากค่าน้ำตาลรีดิวซ์ครอบคลุมจากช่วงต่ำไปสูงได้เป็น 5 ช่วง โดยประมาณคือ 41, 53, 62, 77 และ 86 mg glucose/ g fresh weight เมื่อพิจารณาลักษณะเฉพาะของไซรัปฝรั่งแดงในช่วงดังกล่าว พบว่า ไซรัปฝรั่งแดงที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลต่างกันจะมีลักษณะเฉพาะที่ต่างกัน โดยเอนไซม์ Pectinex® Ultra SP-L มีบทบาทสำคัญต่อลักษณะเฉพาะของไซรัปฝรั่งแดง ดังนี้ ไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 240 นาทีขึ้นไป จะมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันเท่ากับ 14.15 µg fw/ µg DPPH หรือเท่ากับ 107.71 µM TE/ g fw สารประกอบฟีนอลิก เท่ากับ 196.52 mg GAE/g fw โพลีฟีนอล เท่ากับ 1778.30 µg/g fw และมีขนาดอนุภาคเฉลี่ยเล็กที่สุดคือ 14.67 µm ไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 300 นาทีขึ้นไป มีปริมาณฟลาโวนอยด์ เท่ากับ 65.49 mg CE/g fw แต่จะมีปริมาณวิตามินซีลดลงเมื่อระยะเวลาในการย่อยเพิ่มมากขึ้น

การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของไซรัปฝรั่งแดง พบว่า ไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 240 นาทีขึ้นไป จะมีสีแดงตามธรรมชาติของฝรั่งแดงสด มีกลิ่นหอมหวานและมีรสหวานของฝรั่งแดงชัดเจนกว่าที่ภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ส่วนในด้านกลิ่นรสแปลกปลอม ผู้ทดสอบจะรู้สึกถึงกลิ่นรสแปลกปลอมได้บ้างเล็กน้อย นอกจากนี้ไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 240 นาทีขึ้นไปจะมีลักษณะเนื้อสัมผัสที่เรียบเนียนและการยอมรับรวมมากกว่าไซรัปที่ได้จากภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ส่วนการใช้ไซรัปฝรั่งแดงเป็นส่วนผสมในเยลลี่พบว่า ผู้ทดสอบให้การยอมรับเยลลี่ที่มีส่วนผสมของไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 240 นาทีขึ้นไปมากกว่าที่ภาวะอื่นทั้งทางด้านสี กลิ่นรส และลักษณะเนื้อสัมผัส ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่า ไซรัปฝรั่งแดงมีแนวโน้มในการใช้เป็นสารปรุงแต่งสี กลิ่นรส และลักษณะเนื้อสัมผัสในอาหารที่มีหน้าที่เฉพาะได้

เอกสารอ้างอิง

- ปราณี อ่านเปรื่อง. 2547. เอนไซม์ทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- โอภา วัชรคุปต์, ปรีชา บุญจุง, จันทนา บุญยะรัตน์ และมาลีรักษ์ อัดตีสินทอง. 2549. สารต้านอนุมูลอิสระ Radical Scavenging Agent. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: พี. เอส. พรินท์.
- Benzie, I. F. F. and Strain, J. J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "Antioxidant Power" the FRAP assay. Analytical Biochemistry 239: 70-76.
- Bowen, P., Chen, L., Stacewicz, S. M., Duncan, C., Sharifi, R., Ghosh, L., Kim, H. S., Christov, T. K., and Van, B. R. 2002. Tomato sauce supplementation and prostate cancer: lycopene accumulation and modulation of biomarkers of carcinogenesis. Experimental Biology and Medicine 227(10): 886-893.
- Choudhari, S. M., and Ananthanarayan, L. 2007. Enzyme aided extraction of lycopene from tomato tissues. Food Chemistry 102: 77-81.
- Clinton, S. K. 1988. Lycopene: Chemistry, biology and implication for human health and disease. Nutrition Review 56 (2): 35-51.
- De Carvalho, L. M. J., Borchetta, R., and da Silva, É. M. M. 2006. Effect of Enzymatic Hydrolysis on Particle Size Reduction in Lemon Juice (Citrus limon, L.), cv. Tahiti. Brazilian Journal of Food Technology 9(4): 277-282.

- Delia, B. R., and Padula, M. 1986. Characterisation of the carotenoids and assessment of the vitamin A value of Brazilian guava (*Psidium guajava* L.). Food Chemistry 20(1):11-19.
- Dominguez, H., Navez, M. J., and Lama, J. M. 1994. Enzymatic pretreatment to enhance oil extraction from fruits and oil seeds: a review. Food Chemistry 94: 271-286.
- Dykes, L., and Rooney, L. W. 2007. Phenolic compounds in cereal grains and their health benefits. Cereal Foods World 52(3): 105-111.
- Gerster, H. 1997. The Potential Role of Lycopene for Human Health. Journal of The American College of Nutrition 16(2): 109-126.
- Hartmann, A., Claus-Dieter P., Andlauer, W., Dietrich, H., and Ludwig, M. 2008. Influence of processing on quality parameters of strawberries. Journal of Agricultural and Food Chemistry 56(20): 9484-9489.
- Ishida, B. K., and Chapman, M. N. 2004. A comparison of carotenoid content and total antioxidant activity catsup from several commercial sources in the United State. Journal of Agricultural and Food Chemistry 52 (26): 8017- 8020.
- Jayani, R. S., Saxena, S., and Gupta, R. 2005. Microbial pectinolytic enzymes: A review. Process Biochemistry 40: 2931-2944.
- Kinsella, J. E., Frankel, E., German, B., and Kanner, J. 1993. Possible mechanism for the protection role of antioxidants in wine and plant food. Food Technology 4: 85-9.
- Landbo, A. K., and Meyer, A. S. 2001. Enzyme-extraction of antioxidative phenols from black currant juice press residues (*Ribes nigrum*). Journal of Agricultural and Food Chemistry 49: 3169- 3177.
- Lim, Y. Y., Lim, T. T., and Tee, J. J. 2007. Antioxidant properties of several tropical fruits: A comparative study. Food Chemistry 103(3): 1003-1008.
- Mahattanatawee, K., Manthey, J. A., Luzio, G., Talcott, S. T., Goodner, K., and Baldwin, E. A. 2006. Total antioxidant activity and fiber content of select Florida-Grow tropical fruits. Journal of Agricultural and Food Chemistry 54(19): 7355-7363.

- 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.
- Mandalari, G., Bennett, R. N., Kirby, A. R., Lo Curto, R. B., Bisignano, G., Waldron, K. W., and Faulds C. B. 2006. Enzymatic hydrolysis of flavonoids and pectic oligosaccharides from bergamot (*Citrus bergamia* Risso) peel. Journal of Agricultural and Food Chemistry 54: 8307-8313.
- 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.
- Mercadante, A. Z., Steck, A., and Pfander, H. 1999. Carotenoids from guava (*Psidium guajava* L): Isolation and structure elucidation. Journal of Agricultural and Food Chemistry 47: 145–151.
- Miean, K. H, and Mohamed, S. 2001. Flavonoid (myricetin, quercetin, kaempferol, luteolin and apigenin) content of edible tropical plants. Journal of Agricultural and Food Chemistry 49: 3106–3112.
- Misra, K., and Seshadri, T. R. 1968. Chemical components of the fruits of *Psidium guajava*. Phytochemistry 7:641-45.
- Pearson, D. 1976. The Chemical Analysis of Foods. Edinburgh: Churchill Livingstone.
- 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.
- Rice-Evans, C. 1999. Screening of phenolics and flavonoids for antioxidant activity. In L. Packer, M. Hiramatsu, and T. Yoshikawa (eds), Antioxidant Food Supplements in Human Health, pp. 239-253. USA: Academic press.
- Santamaria, R. L., Reyes-Duarte, M. D., Barzana, E., Fernando, D., Gama, F. M., and Mota, M. 2000. Selective enzyme-mediated extraction of capsaicinoids and carotenoids from chilli guajillo puya (*Capsicum annum* L.) using ethanol as solvent. Journal of Agricultural and Food Chemistry 48: 3063–3067.
- Seshadri, T. R., and Vasishta, K. 1964. Polyphenolic components of guava fruits. Current Science 33: 334-335.

- Shi, J., Dai, Y., Kakuda, Y., Mittal, G., and Xue, S. J. 2008. Effect of heating and exposure to light on the stability of lycopene in tomato puree. Food Control 19: 514-520.
- Temple, N. J. 2000. Antioxidants and disease: More questions than answers. Nutrition Research 20: 449-459.
- Thongsombat, W., Sirichote, A., and Chanthachum, S. 2007. The production of guava juice fortified with dietary fiber. The Songklanakarin Journal of Science and Technology 29: 187-196.
- Worrasinchai, S., Suphantharika, M., Pinjai, S., and Jarnong, P. 2006. β -Glucan prepared from spent brewer's yeast as a fat replacer in mayonnaise. Food Hydrocolloids 20: 68-78.
- Yusof, S., and Ibrahim, N. 1994. Quality of sour sop juice pectinase enzyme treatment. Food Chemistry 51: 81 – 83.
- 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.

ชุดโครงการวิจัยย่อยที่ 4
การผลิตด้วยเอนไซม์และการหาลักษณะเฉพาะ
ของไซรัปมะตูม *Aegle marmelos* (L.) Correa
Enzymatic Production and Characterization of Bael Fruit
***Aegle marmelos* (L.) Correa Syrup**
โดย นางสาวสุวิมล เจริญสิทธิ์ และ รศ.ดร. ปราณี อำนเป็รื่อง

ตอนที่ 4

การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ
ในระหว่างกระบวนการผลิตไซรัปมะตูม

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญในระหว่างกระบวนการผลิตไซรัปมะตูม โดยทดลองแปรรูปไซรัปมะตูมด้วยเอนไซม์เพกทินเนส (Pectinex Ultra SP-L[®], 10292 PGU/ml) ที่ความเข้มข้น 2.5% (v/w) ระยะเวลาการย่อย 6 ชั่วโมง พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงปริมาณใยอาหารทั้งหมดในระหว่างกระบวนการผลิตไซรัปมะตูมด้วยเอนไซม์ แต่ไซรัปมะตูมจะมีปริมาณใยอาหารที่ละลายน้ำเพิ่มขึ้นและปริมาณใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำลดลง ส่วนการเปลี่ยนแปลงค่าแอกทิวิตีของสารฟรีไบโอติกพบว่า การผลิตไซรัปมะตูมด้วยเอนไซม์สามารถคงค่าแอกทิวิตีของสารฟรีไบโอติกในเนื้อมะตูมสุกไว้ได้ โดยมีการเปลี่ยนแปลงค่าแอกทิวิตีของสารฟรีไบโอติกในไซรัปมะตูมเพียงเล็กน้อย และเมื่อเปรียบเทียบชนิดสารระเหยจาก SPME/GC/MS chromatogram profile พบว่า ไซรัปมะตูมที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์จะมีชนิดสารระเหยเพิ่มขึ้น

บทนำ

ปัจจุบันผู้บริโภคได้ให้ความสนใจผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติเพิ่มสูงขึ้น โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์ประเภทสารสกัดจากผักและผลไม้ที่ประกอบด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ จากข้อมูลด้านลักษณะเด่นของมะตูมสุกที่มีเนื้อสีส้มอมเหลือง มีกลิ่นรสหอมหวาน ประกอบด้วยสารเมือก โดยมีสารหน้าที่เฉพาะและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญหลายชนิด (Morton, 1987; Roy and Khurdiya, 1995) จะเห็นว่ามะตูมจัดเป็นพืชที่มีศักยภาพในการผลิตเป็นสารสกัด เพื่อพัฒนาเป็นสารปรุงแต่งสี กลิ่น รส และเนื้อสัมผัสในอาหารที่มีหน้าที่เฉพาะ (functional food) เช่น ไอศกรีม เครื่องดื่ม ธัญพืชชนิดแห้ง และผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ การผลิตสารสกัดจากผักและผลไม้ด้วยวิธีทาง

ชีวภาพ โดยใช้เอนไซม์เพกทินเอสย่อยสลายเพกทินที่อยู่ในชั้นผนังเซลล์พืช จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดของเหลวต่างๆ รวมทั้งสารให้สี กลิ่น รส และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (ปราณี, 2547; Pilnik and Voragen, 1993; Mutlu et al., 1999) โดยไม่ต้องผ่านกระบวนการกรองแยกกากหรือโยอาหารออก ทำให้สารสกัดที่ได้ยังคงองค์ประกอบเดิมไว้ และเพิ่มองค์ประกอบใหม่ที่ได้จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญในระหว่างกระบวนการผลิตไซรัปมะตูม เพื่อเพิ่มมูลค่าและแนวทางการใช้ประโยชน์ของมะตูม

วิธีการทดลอง

1. วัตถุดิบ

เนื้อมะตูมสุกพันธุ์ไข่จากจังหวัดพิจิตรที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ $30 \pm 2^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 10 วัน และผ่านการบดลดขนาดและควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล โดยเติมกรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 0.3% (w/w) ร่วมกับการให้ความร้อนด้วยไอน้ำจันจุดกึ่งกลางของเนื้อมะตูมมีอุณหภูมิ 85°C นาน 3 นาที (Homogenized and antibrowning controlled bael fruit pulp; HABP)

ไซรัปมะตูมที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์เพกทินเอส (Pectinex Ultra SP-L[®], 10292 PGU/ml) ที่ความเข้มข้น 2.5% (v/w) ระยะเวลาการย่อย 6 ชั่วโมง ซึ่งเป็นภาวะที่ไซรัปมะตูมมีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลด้วยเอนไซม์สูงสุดในช่วงที่ศึกษาจากตอนที่ 2 (Enzyme treated bael fruit syrup; EBS)

2. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญของไซรัปมะตูม

2.1 วิเคราะห์ปริมาณใยอาหาร ตามวิธีของ A.O.A.C. (1995)

2.2 วิเคราะห์ค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติก โดยเปรียบเทียบความสามารถในการส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียที่เป็นจุลินทรีย์สุขภาพหรือพรีไบโอติก ได้แก่ *L. acidophilus* La5 และ *B. lactis* Bb12 และแบคทีเรียชนิดอื่นในระบบทางเดินอาหาร ได้แก่ *E. coli* ATCC 29922 กับสารที่ไม่ได้เป็นพรีไบโอติก คือ กลูโคส ดัดแปลงวิธีของ Huebner และคณะ (2007)

2.3 วิเคราะห์สารระเหยด้วยวิธี SPME/GC/MS โดยวิธีของ Chen และคณะ (2006)

3. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป Statistic Package for the Social Science (SPSS Version 12.0, USA) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

เมื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณใยอาหาร ค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติก และสารระเหย ในไซรัปมะตูมที่ใช้เวลาในการย่อย 6 ชั่วโมง ซึ่งเป็นภาวะที่ไซรัปมะตูมมีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลด้วยเอนไซม์สูงสุดในช่วงที่ศึกษา เปรียบเทียบกับเนื้อมะตูมสุกตีปั่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาลให้ผลการทดลองดังนี้

ปริมาณใยอาหาร

ผลการเปลี่ยนแปลงปริมาณใยอาหารในไซรัปมะตูม เปรียบเทียบกับเนื้อมะตูมสุกตีปั่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาล แสดงในตารางที่ 4.1 พบว่า ไซรัปมะตูมมีปริมาณใยอาหารทั้งหมด (TDF) คงที่ แต่มีปริมาณใยอาหารที่ละลายน้ำ (SDF) เพิ่มขึ้น และปริมาณใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ (IDF) ลดลง อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ทั้งนี้เนื่องจากเอนไซม์จะย่อยสารประกอบเพกทินที่ไม่ละลายน้ำให้อยู่ในรูปที่แสดงหมู่ไฮดรอกซิลมากขึ้น ส่งผลให้เพกทินละลายน้ำได้มากขึ้น (Sakamoto et al., 2006)

ตารางที่ 4.1 ผลของการย่อยด้วยเอนไซม์ที่มีต่อปริมาณใยอาหารในไซรัปมะตูม

Sample	TDF (g/100g fw)	SDF (g/100g fw)	IDF (g/100g fw)
HABP	6.21 ^{ns} ±0.03	3.51 ^b ±0.08	2.70 ^a ±0.06
EBS	6.12 ^{ns} ±0.17	4.58 ^a ±0.13	1.54 ^b ±0.04

ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขในแนวตั้งที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

^{ns} หมายถึง ค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

HABP คือ Homogenized and antibrowning controlled bael fruit pulp

EBS คือ Enzyme treated bael fruit syrup

ค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติก

จากการทดลองเพื่อหาค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติกในไซรัปมะตูม เปรียบเทียบกับเนื้อมะตูมสุกตีปั่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาล แสดงผลในตารางที่ 4.2 พบว่า อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีไซรัปมะตูมกับเนื้อมะตูมสุกตีปั่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบ จะมีจำนวนจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นภายใน 24 ชั่วโมง ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) โดย *L. acidophilus* La5 ที่เลี้ยงในอาหารที่มีไซรัปมะตูมหรือเนื้อมะตูมสุกตีปั่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบ มีจำนวนเพิ่มขึ้นภายใน 24 ชั่วโมง ไม่แตกต่างจากภาวะที่เลี้ยงในอาหารที่มีกลูโคสเป็นองค์ประกอบอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ในขณะที่ *B. lactis* Bb12 และ *E. coli* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีไซรัปมะตูมหรือเนื้อมะตูมสุกตีปั่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบ มีจำนวนเพิ่มขึ้นภายใน 24

ชั่วโมง สูงและต่ำกว่าภาวะที่เลี้ยงในอาหารที่มีกลูโคสเป็นองค์ประกอบอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ตามลำดับ เมื่อนำค่าจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นภายใน 24 ชั่วโมง ไปคำนวณเพื่อหาค่าแอกทิวิตีของสารฟรีไบโอติก (รูปที่ 4.1) พบว่า ค่าแอกทิวิตีของสารฟรีไบโอติกในไซรัปมะตูมกับเนื้อมะตูมสุกตีปั่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาลมีค่าไม่แตกต่างกัน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการใช้เอนไซม์ในช่วงที่ศึกษาไม่สามารถย่อยองค์ประกอบในเนื้อมะตูมสุกที่เป็นฟรีไบโอติกให้มีโมเลกุลเล็กมากพอที่ฟรีไบโอติกสามารถใช้ได้มากขึ้น จึงทำให้ค่าแอกทิวิตีของสารฟรีไบโอติกที่ได้มีค่าไม่ต่างกัน โดย *B. lactis* Bb12 จะมีค่าแอกทิวิตีของสารฟรีไบโอติกสูงกว่า *L. acidophilus* La5 แสดงว่า สารฟรีไบโอติกในไซรัปมะตูมและเนื้อมะตูมสุกตีปั่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาลสามารถส่งเสริมการเจริญของ *B. lactis* Bb12 ได้ดีกว่า *L. acidophilus* La5 แต่ไม่ส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียชนิดอื่นในระบบทางเดินอาหาร

ตารางที่ 4.2 เปรียบเทียบจำนวนจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นภายใน 24 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเนื้อมะตูมสุกตีปั่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาล ไซรัปมะตูม หรือมีกลูโคสเป็นองค์ประกอบ

Bacterial culture	Cell population [$\log_{10}(\text{cfu/ml})$]		
	HABP	EBS	Glucose
<i>L. acidophilus</i> La5	1.70 ^{ns} ± 0.03	1.74 ^{ns} ± 0.16	1.84 ^{ns} ± 0.14
<i>B. lactis</i> Bb12	2.12 ^a ± 0.06	2.14 ^a ± 0.04	1.87 ^b ± 0.02
<i>E. coli</i> ATCC 29922	1.73 ^b ± 0.03	1.76 ^b ± 0.05	1.88 ^a ± 0.08

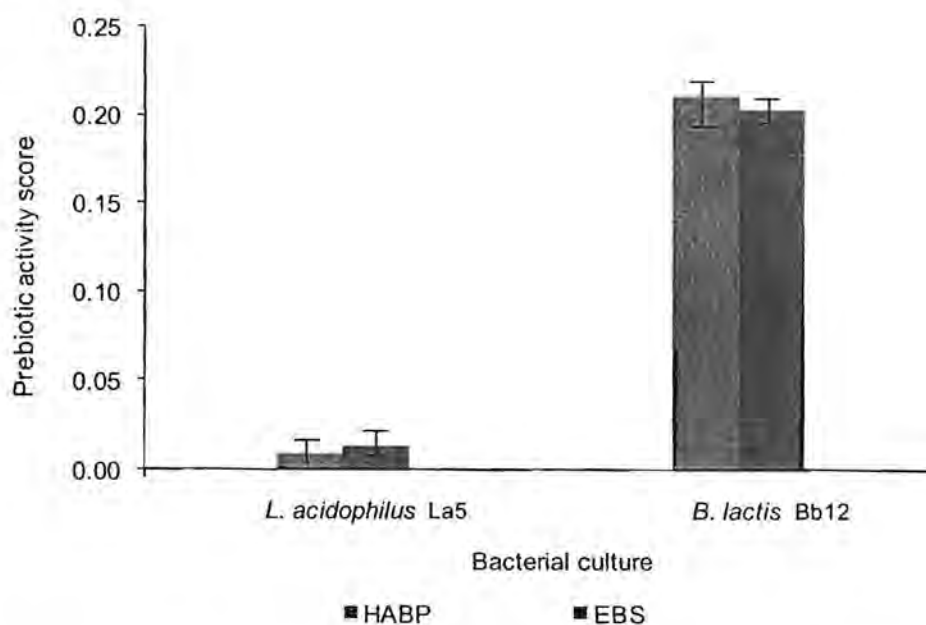
ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขในแนวนอนที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างก็มีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

^{ns} หมายถึง ค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

HABP คือ Homogenized and antibrowning controlled bael fruit pulp

EBS คือ Enzyme treated bael fruit syrup



รูปที่ 4.1 ค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติกในไซรัปมะตูมเปรียบเทียบกับเนื้อมะตูมสุกตีปั่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาล

HABP คือ Homogenized and antibrowning controlled bael fruit pulp

EBS คือ Enzyme treated bael fruit syrup

สารระเหย

ผลการเปลี่ยนแปลงชนิดของสารระเหยในไซรัปมะตูมเปรียบเทียบกับเนื้อมะตูมสุกตีปั่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาล วิเคราะห์ด้วยวิธี SPME/GC/MS พบว่า ไซรัปมะตูมมีสารระเหยเพิ่มขึ้นทั้งหมด 24 ชนิด แสดงในตารางที่ 4.3 โดยชนิดของสารระเหยที่เพิ่มขึ้นในไซรัปมะตูมส่วนใหญ่จะเป็นสารกลุ่ม terpenes เช่น linalool oxide, linalool, β -elemene และ germacrene-D ซึ่งเป็นสารที่ให้กลิ่นรสในผลไม้หลายชนิด (Maarse, 1991) ทั้งนี้ชนิดของสารระเหยที่เพิ่มขึ้นเกิดจากสารประกอบเพกทินในเนื้อผลไม้ส่วนใหญ่จะเกาะกับเส้นใยเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสที่บริเวณผนังเซลล์ของเนื้อเยื่อผลไม้ ทำให้เกิดการกักเก็บสารให้กลิ่นไว้ภายในเนื้อเยื่อ ดังนั้นการใช้เอนไซม์ย่อยสารประกอบเพกทินโดยการตัดที่สายโซ่หลักหรือโซ่กิ่งของเพกทิน จะทำให้โครงสร้างของเพกทินเปลี่ยนแปลงไป เพกทินละลายน้ำได้มากขึ้นและยึดจับกับผนังเซลล์โดยรอบอย่างหลวมๆ ทำให้เนื้อเยื่อผลไม้มีความอ่อนตัวมากขึ้น เกิดการปลดปล่อยสารให้กลิ่นของผลไม้ออกมาได้มากกว่าการใช้วิธีบีบอัดทางกายภาพ (ปราณี, 2547; Baumann, 1981; Mutlu et al., 1999)

ตารางที่ 4.3 ผลของการย่อยด้วยเอนไซม์ที่มีต่อชนิดของสารระเหยในไซรัปมะตูม

Compound name	RIs*	% Peak Area	
		HABP	EBS
Isoamyl acetate	1147	1.86	-
Limonene	1202	36.48	9.46
β -Phellandrene	1217	5.16	-
β -cis-Ocimene	1245	-	0.69
3-Methyl-2-butenyl acetate	1266	-	0.95
p-Cymene	1279	29.96	-
α -Terpinolene	1297	-	0.90
4-Methylpentan-1-ol	1301	0.96	-
cis-Rose-oxide	1338	-	0.29
Dehydro-p-cymene	1414	1.99	-
Linalool oxide	1425	-	5.09
α -Cubebene	1463	-	0.42
α -Copaene	1536	1.46	0.35
β -Cubebene	1558	1.32	-
Linalool	1565	-	7.62
β -Elemene	1570	-	2.37
β -Caryophyllene	1594	1.93	21.56
Citronellyl acetate	1607	-	0.27
Aromadendrene	1650	-	0.71
Pulegone	1665	1.71	-
α -Humulene	1680	1.11	7.00
α -Amorphene	1691	-	0.37
Verbenone	1729	1.16	-
Bicyclogermacrene	1738	-	1.28
trans-Pyranoid linalool oxide	1747	-	1.13
Carvone	1751	0.87	-
trans-Carvyl acetate	1759	0.89	-
Germacrene-D	1772	-	7.44
Methyl laurate	1813	-	0.49
Dihydro- β -ionone	1825	3.63	6.31
Geranyl acetone	1840	2.27	1.08
β -Ionone	1947	3.31	12.11
Tridecanol	1952	-	0.35
Dihydro- β -ionol	1991	-	0.70
Caryophyllene oxide	1999	3.10	-
cis-Nerolidol	2010	-	0.43
Pentadecanol	2035	-	0.29
Methyl cinnamate	2056	-	0.82
Elemol	2069	-	0.37
Methyl palmitate	2170	-	0.43
Methyl palmitoleate	2237	-	0.72
2,4-Di-tert-butylphenol	2243	-	5.79
Hexadecanoic acid	2860	0.81	-

*RIs คือ Retention Indices

HABP คือ Homogenized and antibrowning controlled bael fruit pulp; EBS คือ Enzyme treated bael fruit syrup

สรุปผลการทดลอง

เอนไซม์ Pectinex® Ultra SP-L มีบทบาทสำคัญต่อลักษณะเฉพาะของไซรัปมะตูมดังนี้ ช่วยเพิ่มปริมาณใยอาหารที่ละลายน้ำและชนิดสารระเหย และคงค่าแอกทิวิตีของสารฟรีไบโอติก ซึ่งจะเห็นได้ว่าไซรัปมะตูมมีแนวโน้มในการใช้เป็นสารปรุงแต่งสี กลิ่นรส และลักษณะเนื้อสัมผัสในอาหารที่มีหน้าที่เฉพาะ

เอกสารอ้างอิง

- ปราณี อานเป็รื่อง. 2547. เอนไซม์ทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis of the AOAC International. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D. C.
- 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.
- Chen, J. L., Yan, S., Feng, Z., Xiao, L., and Hu, X. S. 2006. Changes in the volatile compounds and chemical and physical properties of Yali pear (*Pyrus bertschneideri* Rehd) during storage. Food Chemistry. 97: 248-255.
- Huebner, J., Wehling, R. L., and Hutkins, R. W. 2007. Functional activity of commercial prebiotics. International Dairy Journal. 17: 770-775.
- Maarse, H. 1991. Volatile Compounds in Foods and Beverages. New York: Marcel Dekker.
- Morton. J. F. 1987. Fruits of Warm Climates. Winterville, N.C.: Creative Resource Systems Inc.
- 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.
- Pilnik, W. and Voragen, A. G. J. 1993. Pectic enzymes in fruit juice and vegetable juice manufacture. In Reeds, G. (ed.), Enzymes in Food Processing, pp. 363-399. New York: Academic Press.

- Roy, S. K. and Khurdiya, D. S. 1995. Other subtropical fruit. In D.K. Salunkhe; S. S. Kadam (ed.), Handbook of Fruit Science and Technology: Production, Composition, Storage and Processing, pp. 539-543. New York: Marcel Dekker.
- 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.

ชุดโครงการวิจัยย่อยที่ 5

ผลของการใช้เอนไซม์ต่อเสถียรภาพของอิมัลชัน
จากไฮโดรไลเสตของมะม่วงน้ำดอกไม้ *Mangifera indica* L.
EFFECT OF ENZYMES ON EMULSION STABILIZING PROPERTIES OF
NHAM DOK MAI MANGO *Mangifera indica* L. FRUIT HYDROLYSATE
โดย นางสาวเกวลี คุรุณาสวัสดิ์ และ รศ.ดร. ปราณีย์ อำนเป็รื่อง

ตอนที่ 4

หาลักษณะเฉพาะทางเคมีกายภาพของไฮโดรไลเสตมะม่วงที่มี
สารประกอบเพกทินในระดับการย่อยสลายต่างๆ

1. บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาภาวะการผลิตไฮโดรไลเสตมะม่วงด้วยเอนไซม์ และหา
ลักษณะเฉพาะทางเคมีกายภาพของไฮโดรไลเสตมะม่วงที่มีสารประกอบเพกทินในระดับการย่อยสลาย
ต่างๆ เปรียบเทียบกับไฮโดรไลเสตมะม่วงที่ไม่เติมเอนไซม์ ผลการทดลองพบว่า ไฮโดรไลเสตมะม่วงที่
ใช้เป็นตัวแทนในการศึกษาลักษณะเฉพาะ คือไฮโดรไลเสตมะม่วงที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ Pectinex[®]
Ultra SP-L 2.0% (v/w) เวลาการย่อยนาน 0, 0.5, 1.5 และ 4 ชั่วโมง ซึ่งที่ภาวะดังกล่าวมีระดับการ
ย่อยสลายสารประกอบเพกทิน หรือปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยประมาณ คือ 45.78, 59.84, 79.83 และ
94.80 mg glucose/ g fresh weight (fw) ตามลำดับ ส่วนลักษณะเฉพาะทางเคมีกายภาพของ
ไฮโดรไลเสตมะม่วงพบว่า ไฮโดรไลเสตมะม่วงที่ระดับการย่อยสลายสารประกอบเพกทิน 79.83 และ
94.80 mg glucose/ g fw มีใยอาหารที่ละลายน้ำและฤทธิ์ด้านออกซิเดชันสูงกว่าภาวะอื่นอย่างมี
นัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แต่มีใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำน้อยกว่า และขนาดอนุภาคเล็กกว่าภาวะอื่นอย่างมี
นัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) และไฮโดรไลเสตมะม่วงที่ระดับการย่อยสลายสารประกอบเพกทิน 59.84 mg
glucose/ g fw ขึ้นไป มีปริมาณเบต้าแคโรทีนสูงกว่าภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) สำหรับการ
ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสพบว่า ไฮโดรไลเสตมะม่วงที่ระดับการย่อยสลายสารประกอบ
เพกทิน 79.83 mg glucose/ g fw ขึ้นไป จะมีสีเหลืองอมทอง มีกลิ่นรสมะม่วงชัดเจน และมีเนื้อสัมผัส
เรียบเนียนมากกว่าภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

2. บทนำ

มะม่วงน้ำดอกไม้เป็นผลไม้ที่อยู่ร่วมกับวัฒนธรรมการบริโภคของไทยมาแต่โบราณ ลักษณะทางกายภาพที่สำคัญ คือมีสีเหลืองทอง มีกลิ่นรสเป็นเอกลักษณ์ และมีรสหวาน ประกอบด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ คือสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ และสารต้านอนุมูลอิสระต่างๆ ส่วนใยอาหารที่พบในมะม่วงแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือใยอาหารที่ละลายน้ำ ได้แก่ สารประกอบเพกทิน และใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ อีกทั้งมะม่วงน้ำดอกไม้ยังประกอบด้วยวิตามิน เช่น วิตามินเอ และวิตามินซี (Gil, Aguayo และ Kader, 2006; González-Aguilar และคณะ, 2008) นอกจากนี้ลักษณะการบริโภคมะม่วงน้ำดอกไม้ยังแตกต่างจากมะม่วงสายพันธุ์อื่นๆ คือนิยมบริโภคร่วมกับข้าวเหนียวและน้ำกะทิ หรือนำไปแปรรูปร่วมกับน้ำนมเป็นไอศกรีมที่มีลักษณะเป็นครีมข้นซึ่งเมื่อรับประทานร่วมกันจะมีกลิ่นรสมะม่วง และมีเนื้อสัมผัสเนียนเป็นเนื้อเดียวกันคล้ายกับการบริโภคสังขยาและน้ำสลัดซึ่งเป็นอาหารระบบอิมัลชัน แต่ผลิตภัณฑ์อาหารระบบอิมัลชันจากมะม่วงไม่ได้รับความนิยมเท่าที่ควรเนื่องจากอิมัลชันที่ได้ไม่มีเสถียรภาพ คือเมื่อตั้งทิ้งไว้เป็นเวลานาน ของเหลวภายในอิมัลชันจะพยายามรวมตัวกันส่งผลให้อิมัลชันเกิดการแยกชั้น

ปัญหาดังกล่าวเกิดจากสารประกอบเพกทินในเนื้อเยื่อผักและผลไม้ส่วนใหญ่มีสายโมเลกุลยาว และมีขั้วน้อย ทำให้สารประกอบเพกทินไม่สามารถทำหน้าที่เป็นสาร อิมัลซิไฟเออร์ในระบบอิมัลชัน ซึ่งปัญหาดังกล่าวสามารถแก้ไขได้โดยการใช้เอนไซม์เพกทิเนสย่อยสลายโมเลกุลของสารประกอบเพกทิน ทำให้สารประกอบเพกทินมีขนาดโมเลกุลสั้นลงและมีขั้วเพิ่มขึ้น ส่งผลให้เกิดสัดส่วนที่สมดุลระหว่างหมู่ที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) และหมู่ที่ชอบน้ำ (hydrophilic) ทำให้อิมัลชันมีเสถียรภาพเพิ่มขึ้น นอกจากนี้เอนไซม์เพกทิเนสยังทำให้สารประกอบเพกทินยึดจับกับผนังเซลล์โดยรอบอย่างหลวม ส่งผลให้ผักและผลไม้มีเนื้อสัมผัสที่อ่อนลงเกิดการปลดปล่อยสารต่างๆ เช่น รงควัตถุ สารให้กลิ่นรส และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพภายในเนื้อเยื่อที่ออกมาได้มากกว่าการใช้วิธีบดอัดทางกายภาพ ทำให้ผลิตภัณฑ์อิมัลชันจากมะม่วงที่ได้ยังคงองค์ประกอบเดิมของมะม่วงไว้ และเพิ่มองค์ประกอบใหม่ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ เช่น อิมัลชันที่ได้จะมีเสถียรภาพเพิ่มขึ้น มีสีเหลืองจากเบต้าแคโรทีน ประกอบด้วย ใยอาหาร และสารให้กลิ่นรสธรรมชาติที่เป็นเอกลักษณ์ของมะม่วง

จากที่กล่าวมาข้างต้นส่งผลให้ผู้วิจัยสนใจศึกษาผลของการใช้เอนไซม์ต่อเสถียรภาพของอิมัลชันจากไฮโดรไลเสตของเนื้อมะม่วงน้ำดอกไม้ โดยงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาภาวะการผลิตไฮโดรไลเสตมะม่วงด้วยเอนไซม์เพกทินทางการค้า (Pectinex® Ultra SP-L) และหาลักษณะเฉพาะทางเคมีกายภาพของไฮโดรไลเสตมะม่วงที่มีสารประกอบเพกทินในระดับการย่อยสลายต่างๆ เปรียบเทียบกับไฮโดรไลเสตมะม่วงที่ไม่เติมเอนไซม์

3. วิธีการทดลอง

3.1 ศึกษาภาวะการผลิตไฮโดรไลเซตมะม่วงด้วยเอนไซม์

นำเนื้อมะม่วงน้ำดอกไม้ที่เตรียมโดยเติมกรดแอสคอร์บิก 0.5% (w/w) ร่วมกับการลวกด้วยไอน้ำเป็นระยะเวลา 3 นาที เติมน้ำในถังปฏิกรณ์แบบกวนอุณหภูมิ 35°C เติมเอนไซม์เพกทิเนส 0.5-2.5% (v/w) และแปรเวลาการย่อย 0-6 ชั่วโมง กวนผสมตลอดเวลา และควบคุมความเร็วการกวนผสมที่ 100 รอบต่อนาที หยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์ด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 100±5°C นาน 5 นาที และทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็ว นำไฮโดรไลเซตที่ได้มาวัดระดับการย่อยสลายสารประกอบเพกทิน (Degree of hydrolysis; DH) ในเทอมของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Nelson, 1944) เพื่อเลือกภาวะที่ไฮโดรไลเซตมะม่วงมีระดับการย่อยสลายสารประกอบเพกทินครอบคลุมจากช่วงต่ำไปสูง เป็นตัวแทนในการศึกษาลักษณะเฉพาะทางเคมีกายภาพของไฮโดรไลเซตมะม่วง

3.2 ศึกษาลักษณะเฉพาะทางเคมีกายภาพของไฮโดรไลเซตมะม่วงที่มีสารประกอบเพกทินในระดับการย่อยสลายต่างๆ

นำไฮโดรไลเซตที่คัดเลือกได้จากข้อ 3.1 และไฮโดรไลเซตมะม่วงที่ไม่เติมเอนไซม์มาศึกษา ลักษณะเฉพาะทางเคมีกายภาพ ดังนี้

3.2.1 วัดค่าสีในระบบ CIE LAB ด้วยเครื่อง Chroma meter ($L^*=0$ (Dark); $L^*=100$ (Light), a^* ($-a^*$ =Green; $+a^*$ =Red), b^* ($-b^*$ =Blue; $+b^*$ = Yellow)) ใช้แหล่งกำเนิดแสง D_{65}

3.2.2 วัดค่า pH ด้วยเครื่อง pH meter

3.2.3 วิเคราะห์ปริมาณใยอาหาร

วิเคราะห์ปริมาณใยอาหารทั้งหมด (Total dietary fiber; TDF) ปริมาณใยอาหารที่ละลายน้ำ (Soluble dietary fiber; SDF) และปริมาณใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ (Insoluble dietary fiber; IDF) ตามวิธีของ A.O.A.C. (2006)

3.2.4 วิเคราะห์ปริมาณเบต้าแคโรทีนดัดแปลงวิธีของ Ranganna (1978)

3.2.5 วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (Antioxidant activities)

เตรียมสารสกัดจากเนื้อมะม่วง โดยดัดแปลงวิธีของ Masuda และคณะ (1999) และวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH ทำตามวิธีของ Maisuthisakul, Suttajit และ Pongsawatmanit (2007) และวิธี FRAP ดัดแปลงวิธีของ Benzie และ Strain (1996)

3.2.6 วัดขนาดอนุภาคด้วยเครื่อง Laser light-scattering analyzer

3.2.7 วัดความหนืดปรากฏด้วยเครื่อง Viscometer หัวเข็มเบอร์ 2 ความเร็ว 70 รอบต่อนาที

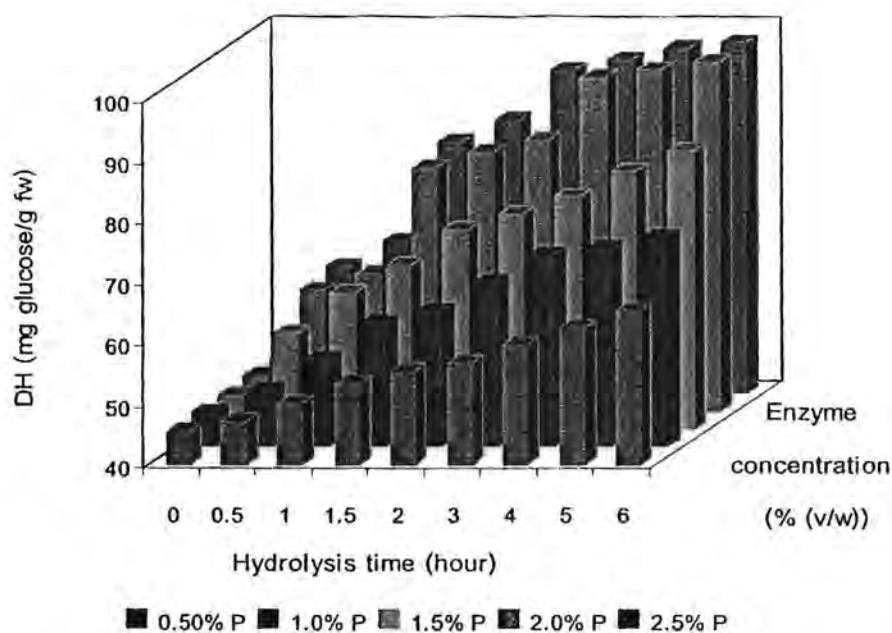
นำไฮโดรไลเสตที่ได้มาประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของไฮโดรไลเสตมะม่วงด้วยวิธี QDA โดยใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝน ประเมินลักษณะด้านสี กลิ่น รส และความเรียบเนียน

4. ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 ภาวะการผลิตไฮโดรไลเสตมะม่วงด้วยเอนไซม์

การทำงานของเอนไซม์พิจารณาจากระดับการย่อยสลายสารประกอบเพกทิน (DH) ในไฮโดรไลเสตมะม่วงซึ่งประเมินจากปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์พบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาการย่อยส่งผลให้ระดับการย่อยสลายสารประกอบเพกทินหรือปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในไฮโดรไลเสตมะม่วงเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 45-95 mg glucose/ g fresh weight (fw) (รูปที่ 5.1) ระดับการย่อยสลายสารประกอบเพกทินที่เพิ่มขึ้นเกิดจากเอนไซม์เพกทิเนส เซลลูเลส และเฮมิเซลลูเลสซึ่งเป็นองค์ประกอบของเอนไซม์ Pectinex® Ultra SP-L จะย่อยสลายพันธะไกลโคซิดของสารประกอบเพกทิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส ตามลำดับ ที่บริเวณผนังเซลล์ของเนื้อเยื่อพืช (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2547; Fanta และคณะ, 1992)

เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่า การใช้เอนไซม์เข้มข้น 2.0% (v/w) เวลาการย่อยนาน 0-6 ชั่วโมง เป็นภาวะที่ไฮโดรไลเสตมะม่วงมีระดับการย่อยสลายสารประกอบเพกทิน หรือปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ครอบคลุมจากช่วงต่ำไปสูงซึ่งระดับการย่อยสลายสารประกอบเพกทินที่ได้มีค่าไม่แตกต่างกับภาวะที่ใช้เอนไซม์เข้มข้น 2.5% (v/w) อย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ดังนั้นจึงเลือกระดับการย่อยสลายสารประกอบเพกทินในไฮโดรไลเสตมะม่วงด้วยเอนไซม์เข้มข้น 2.0% (v/w) โดยแบ่งเป็น 4 ระดับ คือ 45.78, 59.84, 79.83 และ 94.80 mg glucose/ g fw ซึ่งใช้เวลาย่อย 0, 0.5, 1.5 และ 4.0 ชั่วโมงตามลำดับ เป็นตัวแทนเพื่อศึกษาผลของระดับการย่อยสลายสารประกอบเพกทินในเนื้อมะม่วงด้วยเอนไซม์ที่มีต่อลักษณะเฉพาะทางเคมีกายภาพของไฮโดรไลเสตมะม่วง และเปรียบเทียบลักษณะเฉพาะที่ได้กับไฮโดรไลเสตมะม่วงที่ไม่เติมเอนไซม์ โดยกำหนดรหัสตัวอย่างเพื่อสะดวกในการอ้างถึงตลอดงานวิจัย ดังนี้ ไฮโดรไลเสตมะม่วงเริ่มต้นที่ไม่เติมเอนไซม์ และมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 45.59 mg glucose/ g fw ให้รหัสตัวอย่างเป็น DP 46 ไฮโดรไลเสตมะม่วงที่เติมเอนไซม์ ณ จุดเริ่มต้นของการย่อยสลายสารประกอบเพกทินซึ่งมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับรหัสตัวอย่าง DP 46 ให้รหัสตัวอย่างเป็น DP 46E ส่วนไฮโดรไลเสตมะม่วงที่มีระดับการย่อยสลายสารประกอบเพกทินด้วยเอนไซม์จนมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 59.84, 79.83 และ 94.80 mg glucose/ g fw ให้รหัสตัวอย่างเป็น DP 60, DP 80 และ DP 95 ตามลำดับ



รูปที่ 5.1 ระดับการย่อยสลายสารประกอบเพกทิน (DH) ในไฮโดรไลเสตมะม่วงที่ได้จากการย่อยด้วย เอนไซม์ Pectinex® Ultra SP-L (P) ที่ความเข้มข้นและเวลาการย่อยต่างๆ

4.2 ลักษณะเฉพาะทางเคมีกายภาพของไฮโดรไลเสตมะม่วงที่มีสารประกอบเพกทินในระดับการย่อยสลายต่างๆ

เมื่อนำไฮโดรไลเสตมะม่วงที่เติมเอนไซม์จนมีระดับการย่อยสลายสารประกอบเพกทินในช่วง 45-95 mg glucose/ g fw (DP 46E-DP 95) จากข้อ 4.1 และไฮโดรไลเสตมะม่วงที่ไม่เติมเอนไซม์ (DP 46) มาศึกษาลักษณะเฉพาะทางเคมีกายภาพ และประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสพบว่า ไฮโดรไลเสตมะม่วงจะมีลักษณะเฉพาะทางเคมีกายภาพแตกต่างกันตามระดับการย่อยสลายสารประกอบเพกทิน ดังตารางที่ 5.1 ดังนี้

4.2.1 ค่าสี

เมื่อเพิ่มระดับการย่อยสลายสารประกอบเพกทินส่งผลให้ไฮโดรไลเสตมะม่วงมีค่าความสว่าง (L^*) และค่าสีเหลือง ($+b^*$) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แต่ค่าสีเขียว ($-a^*$) ค่อนข้างคงที่ ($p > 0.05$) การลดลงของค่าความสว่าง (L^*) และค่าสีเหลือง ($+b^*$) อาจเกิดจากสีของไฮโดรไลเสตมะม่วงเปลี่ยนตามสีของเอนไซม์เพกทินเนสซึ่งมีสีน้ำตาลเข้ม

4.2.2 ค่า pH

ค่า pH ของไฮโดรไลเสตมะม่วงที่เติมเอนไซม์ (DP 46E, DP 60, DP 80 และ DP 95) มีค่าไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) เพราะไฮโดรไลเสตทั้ง 4 ระดับ ถูกย่อยด้วยเอนไซม์เพกทินเนสที่

ความเข้มข้น 2.0% (v/w) แต่ค่า pH ของไฮโดรไลเสตมะม่วงที่เติมเอนไซม์มีค่าน้อยกว่าค่า pH ของไฮโดรไลเสตมะม่วงที่ไม่เติมเอนไซม์ (DP 46) เนื่องจากเอนไซม์ Pectinex[®] Ultra SP-L มีสภาพเป็นกรด

4.2.3 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด

การเพิ่มระดับการย่อยสลายสารประกอบเพกทินตั้งแต่ DP 46 ถึง DP 95 ส่งผลให้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

4.2.4 ปริมาณใยอาหาร

การเปลี่ยนแปลงปริมาณใยอาหารในไฮโดรไลเสตมะม่วงที่มีสารประกอบเพกทินในระดับการย่อยสลายต่างๆ แสดงดังตารางที่ 5.1 จากตารางพบว่า ไฮโดรไลเสตมะม่วงจะมีปริมาณใยอาหารทั้งหมด (TDF) คงที่ ในขณะที่ปริมาณใยอาหารที่ละลายน้ำ (SDF) จะเพิ่มขึ้น และปริมาณใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ (IDF) จะลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อเพิ่มระดับการย่อยสลายสารประกอบเพกทิน เนื่องจากเอนไซม์เพกทินเอสเทอร์เรส (PE) และพอลิกลาแลกทูโรเนส (PG) ซึ่งเป็นองค์ประกอบของเอนไซม์ Pectinex[®] Ultra SP-L จะย่อยสลายสารประกอบเพกทินในไฮโดรไลเสต โดยเอนไซม์เพกทินเอสเทอร์เรส (PE) จะดึงหมู่เมทิลออกจากสารประกอบเพกทิน ส่วนเอนไซม์พอลิกลาแลกทูโรเนส (PG) จะไฮโดรไลซ์พันธะไกลโคซิลระหว่างกรดกาแลกทูโรนิกของสารประกอบเพกทินทำให้ไฮโดรไลเสตมีขี้เพิ่มมากขึ้น และสารประกอบเพกทินที่ไม่ละลายน้ำจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของสารประกอบเพกทินที่ละลายน้ำได้ ซึ่งสารประกอบเพกทินที่ละลายน้ำได้นี้เป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อเสถียรภาพของอิมัลชัน (Akhtar และคณะ, 2002)

ผลการทดลองพบว่า ไฮโดรไลเสตมะม่วงที่ระดับการย่อยสลายสารประกอบเพกทิน 79.83 mg glucose/ g fw (DP 80) ขึ้นไป มีปริมาณใยอาหารที่ละลายน้ำได้สูงสุดอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) และมีปริมาณใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำน้อยสุดอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

4.2.5 ปริมาณเบต้าแคโรทีน

เบต้าแคโรทีนเป็นรงควัตถุสำคัญในมะม่วง จัดอยู่ในกลุ่มแคโรทีนอยด์ ให้สีเหลืองส้ม และมีสมบัติเป็นสารแอนติออกซิแดนท์ (Godoy และ Rodriguez-Amaya, 1989) ผลการทดลองพบว่า ไฮโดรไลเสตมะม่วงจะมีปริมาณเบต้าแคโรทีนเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อระดับการย่อยสลายสารประกอบเพกทินเพิ่มขึ้น โดยไฮโดรไลเสตมะม่วงที่ระดับการย่อยสลายสารประกอบเพกทิน 59.84 mg glucose/ g fw (DP 60) ขึ้นไป จะมีปริมาณเบต้าแคโรทีนสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ผลที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Çinar (2005) ที่รายงานว่า เอนไซม์เพกทิเนส เซลลูเลส และเฮมิเซลลูเลสจะย่อยผนังเซลล์พืช ทำให้แคโรทีนอยด์ซึ่งเป็นรงควัตถุที่อยู่ในคลอโรพลาสต์ หรือโครโมพลาสต์ และของเหลวภายในเซลล์ถูกปลดปล่อยออกมา แคโรทีนอยด์ที่ได้จะอยู่ในรูปธรรมชาติ

กล่าวคือสามารถจับกับโปรตีน กรดไขมัน และคาร์โบไฮเดรตในส่วนของใยอาหาร ซึ่งแคโรทีนอยด์ที่อยู่ในรูปนี้จะช่วยป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน

4.2.6 ฤทธิ์ด้านออกซิเดชัน

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีฤทธิ์ด้านออกซิเดชันที่พบในมะม่วง ได้แก่ สารกลุ่มแคโรทีนอยด์ สารกลุ่มวิตามิน และสารประกอบฟีนอลิก ผลการทดลองพบว่า เมื่อเพิ่มระดับการย่อยสลายสารประกอบเพกทินจะทำให้ไฮโดรไลเซตมะม่วงมีฤทธิ์ด้านออกซิเดชันเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และไฮโดรไลเซตมะม่วงที่ระดับการย่อยสลายสารประกอบเพกทิน 79.83 mg glucose/ g fw (DP 80) ขึ้นไป มีฤทธิ์ด้านออกซิเดชันสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดย ค่าฤทธิ์ด้านออกซิเดชันที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH และ FRAP ให้ผลไปในทางเดียวกัน เนื่องจากเอนไซม์เพกทิเนสจะย่อยองค์ประกอบต่างๆ บริเวณผนังเซลล์พืชที่ยึดจับสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีคุณสมบัติเป็นสารแอนติออกซิแดนท์ ทำให้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพถูกปล่อยออกมา (Puupponen-Pimia และคณะ, 2008)

4.2.7 ขนาดอนุภาค

จากตารางที่ 5.1 พบว่า การเพิ่มระดับการย่อยสลายสารประกอบเพกทินในไฮโดรไลเซตมะม่วงส่งผลให้ขนาดอนุภาคของไฮโดรไลเซตลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยไฮโดรไลเซตมะม่วงที่ระดับการย่อยสลายสารประกอบเพกทิน 79.83 mg glucose/ g fw (DP 80) ขึ้นไป มีขนาดอนุภาคเล็กที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ทั้งนี้เนื่องจากเอนไซม์จะย่อยสารประกอบต่างๆ บริเวณผนังเซลล์พืช ได้แก่ สารประกอบเพกทิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส ทำให้ได้พอลิเมอร์ของสารประกอบดังกล่าวสั้นลง ส่งผลให้อนุภาคมีขนาดเล็กลง (Zhang, Himmel และ Mielenz, 2006) นอกจากนี้ยังพบว่าไฮโดรไลเซตมะม่วงที่เติมเอนไซม์ ณ จุดเริ่มต้น (DP 46E) มีขนาดอนุภาคเล็กกว่าไฮโดรไลเซตมะม่วงที่ไม่เติมเอนไซม์ (DP 46) อาจเนื่องมาจากเอนไซม์ซึ่งป็นโปรตีนจะช่วยลดการรวมตัวของไขมันในไฮโดรไลเซตมะม่วง (Youssef และ Barbut, 2009) ขนาดอนุภาคของไฮโดรไลเซตที่ได้เป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อเสถียรภาพของอิมัลชัน

4.2.8 ความหนืด

ผลการทดลองพบว่า เมื่อเพิ่มระดับการย่อยสลายสารประกอบเพกทินจะทำให้ความหนืดของไฮโดรไลเซตมะม่วงลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เนื่องจากเอนไซม์จะย่อยสารประกอบ เพกทินส่งผลให้ความสามารถในการอุ้มน้ำของสารประกอบเพกทินลดลง น้ำอิสระจึงถูกปลดปล่อยออกมา ทำให้ค่าความหนืดของไฮโดรไลเซตลดลง (Sreenath, Krishna และ Santhanam, 1995) นอกจากนี้ยังพบว่า ความหนืดของไฮโดรไลเซตจะเปลี่ยนแปลงตามขนาดอนุภาคของไฮโดรไลเซต ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Ana และ Cunha (2009) ที่รายงานว่า ความหนืดของ jaboricaba pulp จะลดลงตามขนาดอนุภาค ความหนืดที่ได้เป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อเสถียรภาพของอิมัลชันจากไฮโดรไลเซต

ตารางที่ 5.1 ลักษณะเฉพาะทางเคมีกายภาพของไฮโดรไลเสตมะม่วงที่มีสารประกอบเพกทินในระดับการย่อยสลายต่างๆ

Physicochemical properties	Sample codes				
	DP 46	DP 46E	DP 60	DP 80	DP 95
Degree of hydrolysis	45.59±0.37	45.78±0.78	59.84±0.37	79.83±1.16	94.80±0.44
Color					
L*	48.35 ^a ±0.73	47.69 ^{ab} ±0.41	46.73 ^{bc} ±0.20	45.75 ^c ±0.78	45.78 ^c ±0.63
-a*	1.77 ^{ns} ±0.32	1.79 ^{ns} ±0.13	1.94 ^{ns} ±0.04	2.03 ^{ns} ±0.27	2.06 ^{ns} ±0.27
+b*	32.51 ^a ±0.48	30.32 ^b ±0.18	30.43 ^b ±0.48	29.88 ^b ±0.10	29.01 ^c ±0.02
pH	4.49 ^a ±0.01	3.83 ^b ±0.02	3.81 ^b ±0.05	3.80 ^b ±0.05	3.78 ^b ±0.05
Total soluble solid (°Brix)	18.53 ^c ±0.31	18.60 ^{bc} ±0.00	18.73 ^{abc} ±0.50	19.13 ^{ab} ±0.12	19.20 ^a ±0.00
Total dietary fiber (TDF) (g/ 100 g dw)	10.37 ^{ns} ±0.17	10.43 ^{ns} ±0.07	10.32 ^{ns} ±0.04	10.34 ^{ns} ±0.07	10.36 ^{ns} ±0.07
Soluble dietary fiber (SDF)	2.40 ^c ±0.08	2.46 ^c ±0.04	3.80 ^b ±0.04	4.38 ^a ±0.03	4.44 ^a ±0.04
Insoluble dietary fiber (IDF)	7.96 ^a ±0.10	7.97 ^a ±0.04	6.49 ^b ±0.03	5.96 ^c ±0.04	5.94 ^c ±0.03
β-Carotene (µg/ g dw)	40.72 ^b ±0.52	40.90 ^b ±0.47	48.59 ^a ±0.68	48.92 ^a ±0.37	48.97 ^a ±0.24
Antioxidant activities					
DPPH assay (EC50, µg dw/ µg DPPH)	15.93 ^a ±0.12	15.94 ^a ±0.42	11.45 ^b ±0.26	10.27 ^c ±0.19	9.83 ^c ±0.24
FRAP assay (µM TE/ g dw)	16.99 ^c ±0.89	16.86 ^c ±0.49	25.22 ^b ±0.82	27.40 ^a ±0.94	28.22 ^a ±1.24
Particle size (µm)	32.69 ^a ±1.86	13.41 ^b ±2.93	11.52 ^{bc} ±2.52	9.09 ^{cd} ±1.53	6.68 ^d ±0.74
Viscosity (mPa.s)	317.97 ^a ±5.34	289.90 ^b ±5.43	155.10 ^c ±2.89	112.60 ^d ±10.08	96.11 ^e ±4.68

หมายเหตุ: ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขในแนวอนที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$), ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

dw คือ dry weight basis, TE คือ trolox equivalent

4.2.9 คุณภาพทางประสาทสัมผัส

การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี QDA ในด้านสี กลิ่น รส และ ความเรียบเนียนของไฮโดรไลเซตมะม่วงที่มีสารประกอบเพกทินในระดับการย่อยสลายต่างๆ โดยใช้ ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝน 10 คน ให้ผลดังตารางที่ 5.2 จากตารางพบว่า ไฮโดรไลเซตมะม่วงที่ระดับ การย่อยสลายสารประกอบเพกทิน 79.83 mg glucose/ g fw (DP 80) ขึ้นไป จะมีสีเหลือง และกลิ่น มะม่วงชัดเจนกว่าภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ผลที่ได้สอดคล้องกับ Sreenath, Krishna และ Santhanam (1995) ที่รายงานว่า เอนไซม์เพกทิเนสจะช่วยปรับปรุงคุณภาพของน้ำมะม่วง ทำ ให้น้ำมะม่วงมีลักษณะปรากฏด้านสี กลิ่น รสดีขึ้น ส่วนในด้านกลิ่นรสแปลกปลอมผู้ทดสอบจะรู้สึก ถึงกลิ่นรสแปลกปลอมได้บ้างในไฮโดรไลเซตทุกระดับการย่อยสลายสารประกอบเพกทิน และ ไฮโดรไลเซตมะม่วงที่ระดับการย่อยสลายสารประกอบเพกทิน 79.83 mg glucose/ g fw (DP 80) ขึ้นไป มีเนื้อสัมผัสเรียบเนียนกว่าไฮโดรไลเซตที่ภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับ ผลของขนาดอนุภาค และค่าความหนืดที่พบว่า เมื่อเพิ่มระดับการย่อยสลายสารประกอบเพกทินจะ ทำให้ ไฮโดรไลเซตมีขนาดอนุภาคเล็กลง และมีความหนืดลดลง นอกจากนี้ผู้ทดสอบจะรู้สึกถึง กลิ่นรสมะม่วงที่ตกค้างได้ปานกลางในไฮโดรไลเซตมะม่วงทุกระดับการย่อยสลายสารประกอบ เพกทิน

ตารางที่ 5.2 คะแนนลักษณะทางประสาทสัมผัสของไฮโดรไลเซตมะม่วงที่มีสารประกอบเพกทิน ในระดับการย่อยสลายต่างๆ

Sensory attributes	Sample codes				
	DP 46	DP 46E	DP 60	DP 80	DP 95
Color	6.31 ^b ±1.15	6.37 ^b ±1.03	6.95 ^b ±0.86	8.53 ^a ±0.86	8.56 ^a ±0.73
Flavor					
Mango flavor	6.46 ^c ±0.42	6.43 ^c ±1.01	7.14 ^b ±0.41	7.90 ^a ±0.72	8.41 ^a ±0.56
Off- flavor	7.81 ^a ±0.26	6.38 ^b ±0.46	6.52 ^b ±0.31	6.41 ^b ±0.23	6.63 ^b ±0.28
Smoothness	2.85 ^c ±0.62	2.98 ^c ±0.34	4.49 ^b ±0.48	7.21 ^a ±0.68	7.74 ^a ±0.74
Aftertaste	6.42 ^a ±1.17	6.24 ^{ab} ±1.16	5.94 ^{abc} ±0.50	5.55 ^{bc} ±0.53	5.30 ^c ±0.55

หมายเหตุ: ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขในแนวนอนที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

กำหนดให้ลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านต่างๆ ของไฮโดรไลเซตมะม่วงมีคะแนนสูงสุด 10 คะแนน

5. สรุปผลการทดลอง

ภาวะการผลิตไฮโดรไลเซตมะม่วงด้วยเอนไซม์ที่ใช้เป็นตัวแทนในการศึกษาลักษณะเฉพาะของไฮโดรไลเซตมะม่วงคือ ไฮโดรไลเซตมะม่วงที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ Pectinex[®] Ultra SP-L 2.0% (v/w) เวลาการย่อยนาน 0, 0.5, 1.5 และ 4 ชั่วโมง ซึ่งที่ภาวะดังกล่าวมีระดับการย่อยสลายสารประกอบเพกทิน หรือปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยประมาณ คือ 45.78, 59.84, 79.83 และ 94.80 mg glucose/g fresh weight (fw) ตามลำดับ เมื่อพิจารณาลักษณะเฉพาะของไฮโดรไลเซตมะม่วงที่ภาวะดังกล่าวเปรียบเทียบกับไฮโดรไลเซตมะม่วงที่ไม่เติมเอนไซม์พบว่า การเพิ่มระดับการย่อยสลายสารประกอบเพกทินด้วยเอนไซม์จะช่วยเพิ่มปริมาณใยอาหารที่ละลายน้ำ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันและปริมาณเบต้าแคโรทีน แต่จะลดปริมาณใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ ขนาดอนุภาคและความหนืดของไฮโดรไลเซต นอกจากนี้ยังทำให้ไฮโดรไลเซตมะม่วงมีสีเหลืองและกลิ่นรสมะม่วงชัดเจนขึ้น และมีเนื้อสัมผัสที่เรียบเนียนมากขึ้น

6. เอกสารอ้างอิง

- ปราณี อานเป็รื่อง. 2547. เอนไซม์ทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- Akhtar, M., Dickinson, E., Mazoyer, J., and Langendorff, V. 2002. Emulsion stabilizing properties of depolymerized pectin. Food Hydrocolloids 16: 249-256.
- Ana, C. K. S., and Cunha, R. L. 2009. Effect of particle size on rheological properties of jaboticaba pulp. Journal of Food Engineering 91: 566-570.
- AOAC. 2006. Official Methods of Analysis of the AOAC International. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D. C.
- Benzie, I. F. F., and Strain, J. J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "Antioxidant Power" the FRAP assay. Analytical Biochemistry 239: 70-76.
- Çinar, I. 2005. Effect of cellulose and pectinase concentrations on the colour yield of enzyme extracted plant carotenoids. Process Biochemistry 40: 945-949.
- 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.
- Gil, M. I., Aguayo, E., and Kader, A. A. 2006. Quality changes and nutrient retention in fresh-cut versus whole fruits during storage. Journal of Agriculture and Food Chemistry 54: 4284-4296.

- Godoy, H. T., and Rodriguez-Amaya, D. B. 1989. Carotenoid composition of commercial mangoes from Brazil. Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie 22: 100-103.
- González-Aguilar, G. A., Celis, J., Sotelo-Mundo, R. R., de la Rosa, L. A., Rodrigo-García, J., and Alvarez-Parrilla, E. 2008. Physiological and biochemical changes of different fresh-cut mango cultivar stored at 5°C. International Journal of Food Science and Technology 43: 91-101.
- 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.
- 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.
- Nelson, N. 1944. A photometric adaptation of the Somogyi method for determination of glucose. Journal of Biological Chemistry 153: 375-380.
- Puuppopen-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.
- Ranganna, S. 1978. Manual of Analysis of Fruit and Vegetable Products. 2nd ed. New Delhi: McGraw Hill Publishing.
- Sreenath, H. K., Krishna, K. R. S., and Santhanam, K. 1995. Enzymatic liquefaction of some varieties of mango pulp. Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie 28: 196-200
- Youssef, M. K., and Barbut, S. 2009. Effects of protein level and fat/oil on emulsion stability, texture, microstructure and color of meat batters. Meat Science 82(2): 228-233.
- Youssef, M. K., and Barbut, S. 2009. Effects of protein level and fat/oil on emulsion stability, texture, microstructure and color of meat batters. Meat Science 82(2): 228-233.
- Zhang, Y. H. P., Himmel, M. E., and Mielenz, J. R. 2006. Research review paper: Outlook for cellulose improvement: Screening and selection strategies. Biotechnology Advances 24: 452-481.

ชุดโครงการวิจัยย่อยที่ 6
การสกัดด้วยเอนไซม์และสมบัติเชิงหน้าที่ของใยอาหารจากพุทราพันธุ์สามรส
Ziziphus mauritiana Lam.
 ENZYMATIC EXTRACTION AND FUNCTIONAL PROPERTIES OF DIETARY
 FIBER FROM JUJUBE *Ziziphus mauritiana* Lam.
 โดย นางสาวชัมย์พร แรงกลาง และ รศ.ดร. ปราณี อำนวยพร

ตอนที่ 4

ศึกษาพฤติกรรมการไหลของมิวซิเลจผงและศึกษาภาวะที่เหมาะสม
ในการสกัดใยอาหารจากกากพุทรา

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์ เพื่อศึกษาพฤติกรรมการไหลของมิวซิเลจผงและศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดใยอาหารจากกากพุทราที่ผ่านการสกัดมิวซิเลจแล้ว จากการศึกษาพฤติกรรม การไหลของมิวซิเลจผง พบว่ามิวซิเลจมีพฤติกรรมการไหลแบบ pseudoplastic ซึ่งคล้ายกับ กัวร์ กัมและพบว่าเมื่อสารละลายมิวซิเลจมีความเข้มข้นสูงขึ้นและค่า pH สูงขึ้น ส่งผลให้ค่าความหนืด มากขึ้นแต่เมื่อเพิ่ม อุณหภูมิส่งผลให้ค่าความหนืดของสารละลายมิวซิเลจลดลง สำหรับการศึกษา ภาวะการใช้เอนไซม์เพกทีเนสในการสกัดใยอาหารจากกากพุทรา ในส่วนของการล้างกากพุทรา พบว่าภาวะที่เหมาะสมในการล้างกากพุทราคือล้างกากพุทราด้วยน้ำในอัตราส่วนกากพุทราต่อน้ำ 1:2 จำนวน 3 ครั้ง จากนั้นศึกษาภาวะการสกัดใยอาหารจากกากพุทรา พบว่าภาวะการสกัดใย อาหารที่เหมาะสมคือ การสกัดด้วยเอนไซม์ความเข้มข้น 2.0% (v/w) โดยสามารถแบ่งระดับการตัด พันธะไกลโคซิลของพอลิเมอร์ในกากพุทราด้วยเอนไซม์ที่ประเมินจากค่าของน้ำตาลรีดิวซ์ได้เป็น 5 ระดับคือ 1.01, 17.79, 19.29, 22.61 และ 23.98 mg glucose/ g fresh weight โดยใช้เวลาในการ ย่อยเท่ากับ 0, 0.5, 1, 2 และ 4 ชม. ตามลำดับ และพบว่าระยะเวลาการย่อย 4 ชั่วโมง ส่งผลให้ได้ ปริมาณใยอาหารละลายน้ำมากกว่าระดับอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) จากนั้นเติมเอนไซม์ลงไป ณ จุดที่ปฏิกิริยาการย่อยสลายเริ่มหยุดนิ่ง พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีค่าสูงขึ้นและเริ่มคงที่ที่ ระยะเวลาการย่อยสลาย 6 ชม. จากการทดลองจะได้ใยอาหารผงที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิล ของพอลิเมอร์ในกากพุทราที่ระยะเวลาการย่อยสลายต่างกัน 3 ระดับคือ ใยอาหารผงที่ย่อยด้วย เอนไซม์ความเข้มข้น 2.0 % (v/w) เป็นระยะเวลา 0, 4 และ 6 ชม.

บทนำ

เพกทินเป็นเอนไซม์หลักที่ใช้ในอุตสาหกรรมการแปรรูปผักและผลไม้ ซึ่งเอนไซม์เพกทินส มักใช้ร่วมกับเอนไซม์เซลลูเลสและเอมิเซลลูเลส เพื่อช่วยปรับปรุงประสิทธิภาพในการสกัดและเพิ่มผลผลิต เพื่อปรับปรุงคุณภาพผลิตภัณฑ์ หรือเพื่อลดส่วนกากทิ้ง โดยเอนไซม์จะช่วยย่อยพอลิแซ็กคาไรด์ในวัตถุดิบหรือวัสดุที่ใช้ในการแปรรูปผักและผลไม้ (เปี่ยมสุข พงษ์สวัสดิ์, 2551; Alkorta และคณะ, 1998) สำหรับการใช้เอนไซม์เพกทินสในกระบวนการผลิตน้ำผลไม้มันจะช่วยเพิ่มปริมาณน้ำผลไม้ที่สกัดได้ รวมทั้งสารกลีโคไซด์ เนื่องจากการสกัดน้ำผลไม้โดยทั่วไปที่ใช้วิธีการบีบอัดทางกายภาพ จะเริ่มต้นด้วยการทำให้เนื้อเยื่อในผนังเซลล์ฉีกขาดและทำให้เล็กลง ผลผลิตจะขึ้นอยู่กับแรงอัดและลักษณะเนื้อผลไม้ ความอ่อนแก่ ความสด โดยถ้าเนื้อสัมผัสแข็ง ผลไม้อ่อน จะสกัดด้วยแรงกลได้ง่าย แต่ถ้าผลไม้มีรสขมอม การบีบอัดจะให้น้ำน้อย ดังนั้นการใช้เอนไซม์จะช่วยให้ได้น้ำมากขึ้นโดยเอนไซม์จะทำหน้าที่ทำลายเนื้อเยื่อเซลล์ผลไม้ ทำให้โครงสร้างเซลล์อ่อนตัว เกิดการปลดปล่อยของเหลวและปล่อยองค์ประกอบสำคัญ เช่น รงควัตถุและสารให้กลิ่นรส นอกจากนี้เอนไซม์เพกทินสยังมีบทบาทต่อความใสของน้ำผลไม้ด้วย เนื่องจากกระบวนการผลิตผลไม้สด มีขั้นตอนการแยกตะกอนแขวนลอยของเพกทิน เซลลูโลส ออกไป โดยเซลล์แขวนลอยของคาร์โบไฮเดรตซึ่งเป็นได้ทั้งเพกทินและเซลลูโลสอาจรวมตัวกับโปรตีนจะแยกด้วยวิธีการกรองได้ยาก ดังนั้นการใช้เอนไซม์เพกทินสนั้นจะไปช่วยย่อยสลายสารเพกทินให้เปิดออก เพื่อให้โมเลกุลโปรตีนในคอลลอยด์และเพกทินมารวมกันเกิดเป็นโมเลกุลใหญ่ขึ้น ส่งผลให้ง่ายต่อการกรองและการปั่นเหวี่ยงแยกตะกอนออก ทำให้น้ำผลไม้ที่ได้มีความใสมากขึ้น (ปราณี อานเป็รื่อง, 2547) มีงานวิจัยที่ศึกษาการใช้เพกทินสในการแปรรูปผักและผลไม้ดังนี้

Sreenath, Sudarshanakrishna และ Santhanam (1994) ศึกษาการผลิตน้ำสับประรดโดยใช้เอนไซม์เซลลูเลสและเพกทินส โดยใช้เอนไซม์ความเข้มข้น 0.025% ระยะเวลาการย่อยสลาย 30 นาที ที่อุณหภูมิ 27-30°C พบว่าปริมาณผลผลิตที่ได้หลังจากการใช้เอนไซม์สูงถึงร้อยละ 81-86 ซึ่งมากกว่าน้ำสับประรดที่ไม่ใช้เอนไซม์ที่ได้ปริมาณผลผลิตร้อยละ 72%

Brasil, Maia และ Figueiredo (1995) ศึกษาการผลิตน้ำฝรั่งโดยใช้เอนไซม์เพกทินส พบว่าเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการย่อยสลายจะส่งผลให้ปริมาณผลผลิต และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเพิ่มขึ้น ส่วนค่าความหนืดและค่า pH จะลดลง โดยภาวะที่เหมาะสมในการผลิต คือใช้เอนไซม์ความเข้มข้น 600 ppm ที่อุณหภูมิ 45°C เป็นเวลา 120 นาที ส่งผลให้ได้ปริมาณผลผลิตของน้ำฝรั่งที่ได้สูงถึงร้อยละ 84.70

Alvarez และคณะ (1998) ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำแอปเปิลโดยใช้เอนไซม์เพกทินสความเข้มข้น 0-400 ppm ระยะเวลาการย่อยสลายนาน 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 55°C พบว่า

น้ำแอปเปิลที่ได้มีความข้น ความหนืด และปริมาณสารเพกตินลดลง อีกทั้งยังช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการกรองด้วย

Bhattacharya และ Rastogi (1998) ศึกษาผลของผลของความเข้มข้นของเอนไซม์ เพกทิเนส ระยะเวลาในการย่อยสลาย และอุณหภูมิ ต่อค่าลักษณะการไหลของเนื้อมะม่วง พบว่า ความเข้มข้นของเอนไซม์ อุณหภูมิและระยะเวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา มีผลต่อพฤติกรรม การไหลของเนื้อมะม่วง โดยเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาในการย่อยสลาย ส่งผลให้ลักษณะการไหลแบบ Pseudoplastic ลดลง และมีลักษณะการไหลใกล้เคียงกับ Newtonian มากขึ้น

Rastogi และ Rashmi (1999) ศึกษาผลของความเข้มข้นของเอนไซม์เพกทิเนสและระยะเวลาในการย่อยสลายต่อลักษณะของน้ำมะม่วง พบว่าภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำมะม่วง คือ การใช้เอนไซม์เพกทิเนสความเข้มข้น 0.14% (v/w) ระยะเวลาในการย่อยสลาย 46.67 นาที ที่อุณหภูมิ 42°C ส่งผลช่วยเพิ่มปริมาณผลผลิตของน้ำมะม่วงมากกว่าร้อยละ 64 โดยน้ำมะม่วงที่ได้มีความใสเพิ่มขึ้นมากกว่าร้อยละ 71 ปริมาณแอลกอฮอล์ที่ไม่ละลายน้ำลดลงน้อยกว่าร้อยละ 2 และความหนืดของน้ำมะม่วงลดลงน้อยกว่า 1850 cP

Landbo และ Meyer (2001) ศึกษาการใช้กลุ่มของเอนไซม์ในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากกากแอปเปิ้ลเคอร์เนลที่เหลือจากการผลิตเป็นน้ำผลไม้ พบว่าในทุกๆเอนไซม์นั้นสามารถย่อยสลายผนังเซลล์พืชได้ 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 พบว่าไซรัปที่ได้จากการใช้เอนไซม์มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดสูงถึงร้อยละ 68 ซึ่งมากกว่าไซรัปที่ไม่ใช้เอนไซม์ที่มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดร้อยละ 35 นอกจากนี้การใช้เอนไซม์ยังช่วยคงลักษณะสีและกลิ่นธรรมชาติของอินทผลัมไว้ได้

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

Rai และคณะ (2004) ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำส้มเข้มข้นโดยเอนไซม์เพกทิเนส พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์และอุณหภูมิ ส่งผลให้น้ำส้มเข้มข้นมีความหนืดและปริมาณของแข็งที่ไม่ละลายในแอลกอฮอล์ลดลง และน้ำส้มเข้มข้นมีความใสเพิ่มขึ้น โดยภาวะที่เหมาะสมใน

การผลิตน้ำส้มเข็งคือ การใช้เอนไซม์เพกทิเนสความเข้มข้น 0.0004% (v/w) ระยะเวลาในการย่อยสลาย 99.27 นาที ที่อุณหภูมิ 41.89 °C

Çinar (2005) ศึกษาผลของความเข้มข้นของเอนไซม์เซลลูเลสและเอนไซม์เพกทิเนส รวมทั้งระยะเวลาการสกัดแคโรทีนอยด์จากเปลือกส้ม มันทะ และแครอท พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์จะช่วยลดระยะเวลาในการสกัดแคโรทีนอยด์จากเปลือกส้ม มันทะ และ แครอทได้ ซึ่งการเพิ่มระยะเวลาในการสกัดแคโรทีนอยด์จากแครอทนั้นจะส่งผลให้ได้ปริมาณ แคโรทีนอยด์มากกว่าการเพิ่มปริมาณความเข้มข้นของเอนไซม์

Lee และคณะ (2006) ศึกษาผลของความเข้มข้นของเอนไซม์เพกทิเนส ระยะเวลาในการย่อยสลาย และอุณหภูมิ ต่อลักษณะน้ำกล้วย พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาในการย่อยสลาย ส่งผลให้น้ำกล้วยที่ได้สามารถกรองได้ง่ายขึ้น และมีความใสมากขึ้น โดยที่ความหนืดและขุ่นของน้ำกล้วยจะมีค่าลดลง ซึ่งภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำกล้วย คือการใช้เอนไซม์เพกทิเนสความเข้มข้น 0.084% (v/w) ระยะเวลาในการย่อยสลาย 80 นาที ที่อุณหภูมิ 43.2°C

Sun และคณะ (2006) ศึกษาภาวะการใช้เอนไซม์เพกทิเนสในการผลิตน้ำแครอท พบว่าภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำแครอทคือ การใช้เอนไซม์เพกทิเนสความเข้มข้น 100 ml/t เป็นระยะเวลาการย่อยสลายนาน 80 นาที ที่อุณหภูมิ 45°C pH 4.8 ส่งผลให้ได้ปริมาณผลผลิตของ น้ำแครอทมากกว่าร้อยละ 63.5 มีปริมาณเบตาแคโรทีนมากกว่าร้อยละ 63.479 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 พบว่าช่วยเพิ่มใยอาหารละลายได้จากร้อยละ 0.9 เป็น ร้อยละ 1.4

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

Choudhari และ Ananthanarayan (2007) ศึกษาผลของความเข้มข้นของเอนไซม์เซลลูเลส และเอนไซม์เพกทิเนส รวมทั้งระยะเวลาการสกัดไลโคพีนจากมะเขือเทศ พบว่าภาวะที่เหมาะสมในการสกัดไลโคพีนจากมะเขือเทศคือ การใช้เอนไซม์เซลลูเลสเข้มข้น 6.0% (w/w) และเอนไซม์เพกทิ

เนสเข้มข้น 0.5% (w/w) ส่งผลให้ได้ปริมาณไลโคพีนเพิ่มขึ้นสูงสุด 96.33 $\mu\text{g/g}$ และ 90.6 $\mu\text{g/g}$ ตามลำดับ และพบว่าระยะเวลาในการย่อยสลายส่งผลให้ปริมาณไลโคพีนที่สกัดได้มีค่าต่างกัน โดยระยะเวลาที่ให้ปริมาณไลโคพีนเพิ่มขึ้นสูงสุด สำหรับเอนไซม์เซลลูเลสและเอนไซม์เพกทีเนสคือ ระยะเวลาย่อยสลายนาน 15 นาที และ 20 นาที ตามลำดับ

วิธีการทดลอง

1. วิเคราะห์พฤติกรรมการไหล

เตรียมสารละลายมิวซิเลจเข้มข้น 5%, 7% และ 9% โดยละลายมิวซิเลจผงในน้ำกลั่น เก็บสารละลายไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง เพื่อให้สารละลายมิวซิเลจเกิดการ hydration อย่างสมบูรณ์ นำมาศึกษาพฤติกรรมการไหล เปรียบเทียบกับกัวกัม (ความเข้มข้น 0.5%, 1% และ 2% โดยละลายกัวกัมในน้ำกลั่น เก็บสารละลายไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง) และแซนแทนกัม (ความเข้มข้น 0.5%, 1% และ 2% โดยละลายแซนแทนกัมในน้ำกลั่น เก็บสารละลายไว้ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง) ด้วยเครื่อง Rheometer โดยใช้ภาวะที่ตัดแปลงจากภาวะของ Medina-Torres และคณะ (2000) รวมทั้งศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นความเป็นกรดต่าง (pH 3 – pH 11 โดยปรับสารละลายให้มีความเป็นกรดด้วย 0.1 M และ 1 M acetic acid และปรับสารละลายให้มีความเป็นด่างด้วย 0.1 M และ 1 M NaOH) และอุณหภูมิ (25°C - 75°C) ต่อค่าความหนืดของสารละลาย

2. ศึกษาภาวะการใช้เอนไซม์เพกทีเนส (Pectinex Ultra SP-L[®], 10292 PGU/ml) ในการสกัดใยอาหารจากกากพุทรา

ผลิตใยอาหารจากกากพุทราที่ผ่านการสกัดมิวซิเลจแล้ว ด้วยเอนไซม์เพกทีเนสทางการค้า คือ Pectinex[®] Ultra SP-L (10292 PGU/ml) ขั้นตอนแรกหาภาวะการล้างกากพุทราเพื่อให้ได้กากพุทราที่บริสุทธิ์ โดยแปรจำนวนครั้งในการล้างกากพุทราออกเป็น 5 ระดับคือ 0, 1, 2, 3 และ 4 ครั้ง ล้างกากพุทราด้วยน้ำในอัตราส่วนกากพุทราต่อน้ำ 1:2 วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ตามวิธีของ Nelson (1944) วัดค่า pH วิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดซิตริกตามวิธีของ AOAC (1995) และวิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ด้วย Hand Refractometer ในหน่วย °Brix ทดลอง 3 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ CRD วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% หลังจากนั้นนำกากพุทราที่ได้มาเติมน้ำในอัตราส่วนกากพุทราต่อน้ำ 1:2 ทำปฏิกิริยาในขวดแก้วสีชาขนาด 500 มิลลิลิตร แบบ batch ที่อุณหภูมิ 32±2°C กวนผสมด้วยความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที แปรความเข้มข้นของเอนไซม์เป็น 7 ระดับคือ 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0,

2.5 และ 3.0% (v/w) และแปรระยะเวลาการทำปฏิกิริยาเป็น 9 ระดับคือ 0, 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 5 และ 6 ชั่วโมง หยุดปฏิกิริยาเอนไซม์โดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ $100 \pm 5^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลานาน 5 นาที จากนั้นทำให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่อง Hand homogenizer ที่ความเร็ว 16000 รอบต่อนาที นาน 3 นาที วิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (TSS) ด้วย Hand Refractometer ในหน่วย $^{\circ}\text{Brix}$ วัดค่า pH ด้วยเครื่อง pH meter และวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar; RS) ตามวิธีของ Nelson (1944) ที่ทุกภาวะการทดลอง ซึ่งภาวะที่เลือกจะพิจารณาจากระดับการตัดพันธะไกลโคซิลของพอลิเมอร์จากพืชมะพร้าว โดยประเมินจากค่าของน้ำตาลรีดิวซ์เป็นหลัก ทดลอง 3 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ 7×9 Factorial ในแผนการทดลอง CRD วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

นำภาวะที่เลือกได้มาศึกษาอัตราการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ โดยการเติมเอนไซม์เพิ่มลงไป ณ จุดที่ปฏิกิริยาการย่อยสลายเริ่มหยุดนิ่ง โดยแปรระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา เป็น 8 ระดับคือ 0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 7.0, 8.0 และ 9.0 ชั่วโมง เมื่อได้ภาวะอัตราการย่อยสลายเริ่มคงที่ก็เติมเอนไซม์ลงไปอีกเช่นเดิม โดยแปรระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาต่อไป ซึ่งจะทำเช่นเดียวกันนี้จนกว่าจะพบว่าปฏิกิริยาเริ่มหยุดนิ่งไม่มีการย่อยสลายเกิดขึ้นแม้ว่าจะเติมเอนไซม์ลงไปหรือเพิ่มระยะเวลาการย่อยสลายก็ตาม วิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (TSS) ด้วย Hand Refractometer ในหน่วย $^{\circ}\text{Brix}$ วัดค่า pH ด้วยเครื่อง pH meter และวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar; RS) ตามวิธีของ Nelson (1944) โดยพิจารณาภาวะที่เหมาะสมจากระดับการย่อยสลายที่ประเมินจากค่าของน้ำตาลรีดิวซ์เป็นหลัก ทดลอง 3 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ CRD วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% หลังจากวิเคราะห์ทางสถิติซึ่งประเมินจากค่าของน้ำตาลรีดิวซ์จะได้ตัวแทนภาวะการสกัดที่เหมาะสม นำภาวะที่เลือกได้มาวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารละลายน้ำและใยอาหารไม่ละลายน้ำ ตามวิธีของ AOAC (1995) เพื่อเลือกภาวะการสกัดใยอาหารที่เหมาะสมที่ให้ใยอาหารละลายน้ำสูงสุด

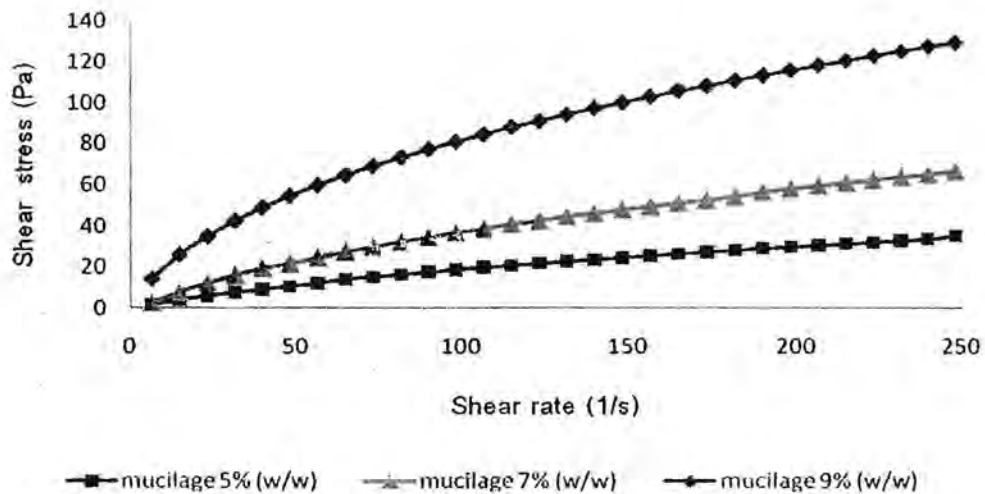
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ศึกษาพฤติกรรมการไหล

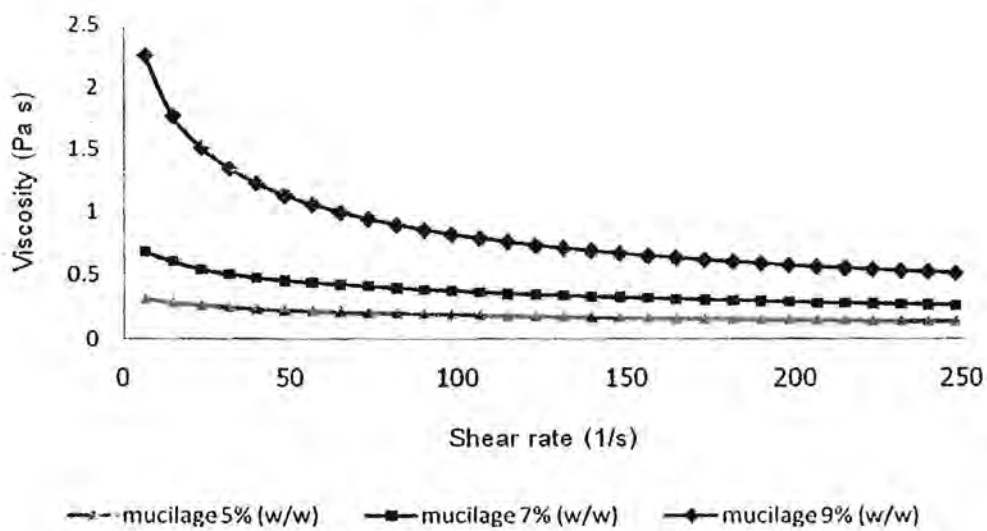
1.1 อิทธิพลของความเข้มข้น (Concentration effect)

เนื่องจากมีรายงานว่ สารละลายมิวชิเลจมีความหนืดแตกต่างจากสารละลายแซนแทนกัม ดังรายงานของ Medina-Torres และคณะ (2000) ที่พบว่าสารละลายมิวชิเลจจาก *Opuntia ficus indica* ความเข้มข้น 3% มีความหนืดใกล้เคียงกับสารละลายแซนแทนกัม 10% แต่เนื่องจากมิวชิเลจที่ได้จากพืชต่างชนิดกันจะมีองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกัน อีกทั้งยังมีสมบัติเชิงหน้าที่แตกต่างกันดังที่ศึกษามาข้างต้น ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้ดัดแปรสภาวะการทดลองให้เหมาะสม เพื่อศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นต่อความหนืดของสารละลายมิวชิเลจ เปรียบเทียบกับกัมทางการค้า คือ กัวร์กัมและแซนแทนกัม โดยจะแปรความเข้มข้นของสารละลายมิวชิเลจ สารละลายกัวร์กัมและสารละลายแซนแทนกัมในความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ดังนี้คือ สารละลายมิวชิเลจความเข้มข้น 5%, 7% และ 9% (w/w) สารละลายกัวร์กัมความเข้มข้น 0.5%, 1% และ 2% (w/w) และสารละลายแซนแทนกัมความเข้มข้น 0.5%, 1% และ 2% (w/w) จากการศึกษาพฤติกรรมการไหลของสารละลายมิวชิเลจโดยใช้ Power law model (Ostwald-de-Waele) ทำนายพฤติกรรมการไหล แสดงผลในค่าของ consistency coefficient (K) และ flow behavior index (n) พบว่าสารละลายมิวชิเลจความเข้มข้น 5%, 7% และ 9% (w/w) มีพฤติกรรมการไหลแบบ Pseudoplastic หรือ Shear thinning ดังแสดงในรูปที่ 6.1 โดยเมื่ออัตราเฉือนเพิ่มขึ้นจะส่งผลให้ shear stress เพิ่มขึ้นและสารละลายมิวชิเลจจะมีค่าความหนืดลดลง ทั้งนี้เนื่องจากมิวชิเลจเป็นพอลิเมอร์ที่มีสายโมเลกุลยาวพันกันและกักเก็บน้ำไว้ในโมเลกุลของมัน เมื่อให้แรงน้อยๆพอลิเมอร์เหล่านี้จะมีการเรียงตัวใหม่ในทิศทางเดียวกับแรงที่ให้เข้าไปและจะเกิดการไหลทำให้แรงหลายๆ การไหลจะมากขึ้นซึ่งความหนืดจะลดลงตามไปด้วย (Marcotte และคณะ, 2001) ซึ่งในอัตราเฉือนเดียวกันค่า shear stress และค่าความหนืดของสารละลายมิวชิเลจที่ความเข้มข้นสูงจะมีค่ามากกว่าสารละลายมิวชิเลจที่มีความเข้มข้นต่ำกว่า ซึ่งจากการใช้ Power law model จะได้ค่า consistency coefficient (K) ซึ่งมีความสัมพันธ์กับความหนืดของของเหลวและ flow behavior index (n) เป็นค่าที่บ่งบอกลักษณะการไหลของของเหลว ดังตารางที่ 6.1 ซึ่งใช้โปรแกรมสำเร็จรูปในการคำนวณค่า โดยค่า consistency coefficient (K) มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อสารละลาย มิวชิเลจมีความเข้มข้นสูงขึ้น อีกทั้งค่า flow behavior index (n) มีค่าน้อยกว่า 1 และจะมีค่าลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารละลายมิวชิเลจสูงมากขึ้น โดยสารละลายมิวชิเลจจะมีพฤติกรรมการไหลคล้ายกับสารละลายกัวร์กัมคือ มีพฤติกรรมการไหลแบบ Pseudoplastic ซึ่งใช้ Power law model (Ostwald-de-Waele) ทำนายพฤติกรรมการไหลเช่นเดียวกัน ดังรูปที่ 6.2 ศศิธร เรืองจักรเพชร และ ปราณีย์ อานเป็รื่อง (2002b) พบว่ามิวชิเลจจากเมล็ดแมงลักมีพฤติกรรม

การไหลแบบ Pseudoplastic นอกจากนั้น Medina-Torres และคณะ (2000) รายงานว่ามิวซิเลจที่สกัดได้จาก *Opuntia ficus indica* มีพฤติกรรมการไหลแบบ Pseudoplastic เช่นเดียวกันและพบว่าค่าความหนืดของสารละลายมิวซิเลจมีค่าสูงขึ้นตามความเข้มข้นของสารละลายที่เพิ่มขึ้น



(a)



(b)

รูปที่ 6.1 Rheograms ของสารละลายมิวซิเลจที่ความเข้มข้นต่างๆ (a) ความสัมพันธ์ระหว่าง shear stress และ shear rate (b) ความสัมพันธ์ระหว่าง viscosity และ shear rate

ตารางที่ 6.1 ค่า consistency coefficient (K) และ flow behavior index (n) ของสารละลาย
มิวซิลเจ และสารละลายกัวร์กัมที่ความเข้มข้นต่างๆ

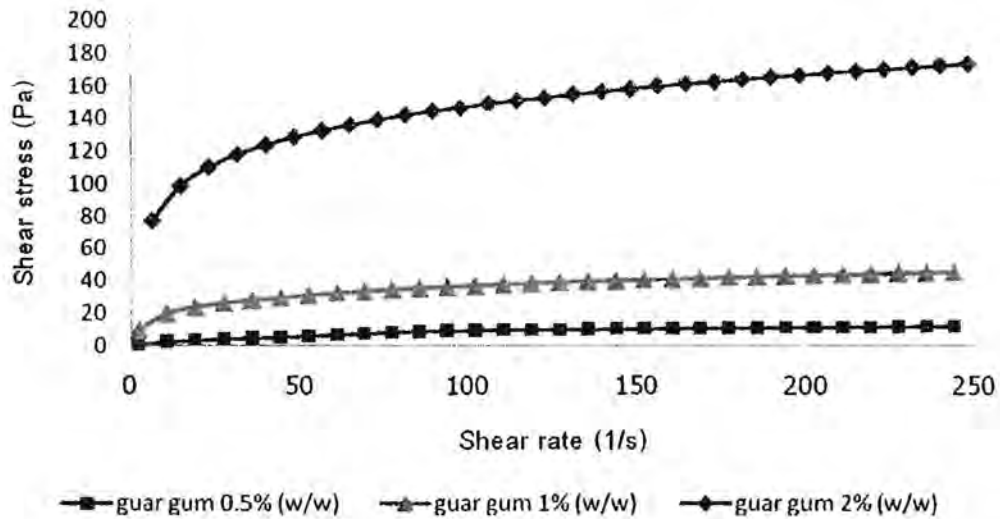
Concentration (w/w)		K (Pa s ⁿ)	n
Mucilage	5%	0.783±0.02	0.689±0.02
	7%	1.746±0.04	0.645±0.06
	9%	6.873±0.03	0.543±0.05
Guar gum	0.5%	1.128±0.02	0.435±0.06
	1%	10.894±0.06	0.261±0.08
	2%	58.258±0.02	0.199±0.03

ตัวเลขในตารางคือค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

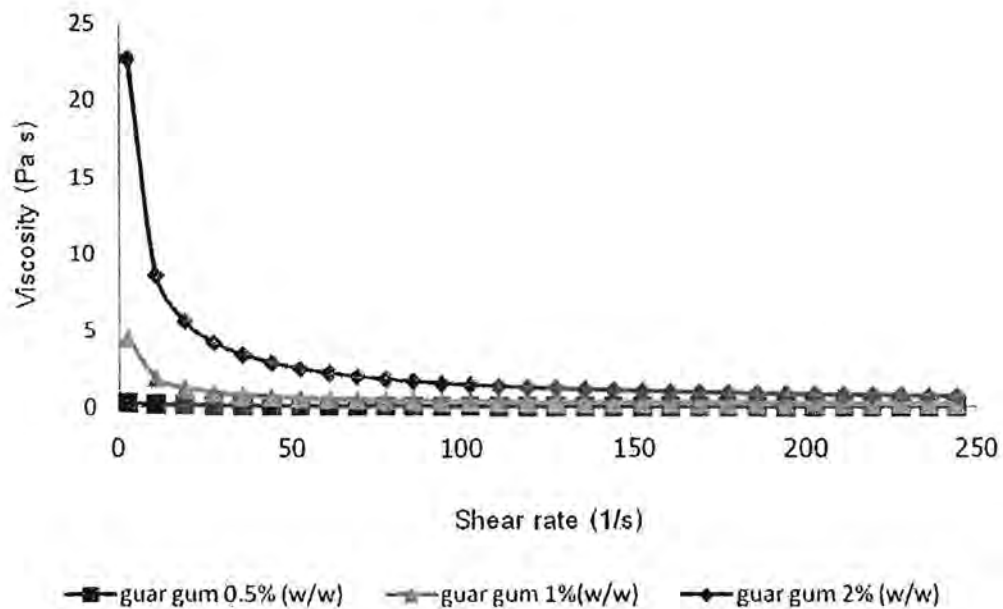
ตารางที่ 6.2 ค่า yield stress (τ_0), consistency coefficient (K) และ flow behavior index (n)
ของสารละลายแซนแทนกัมที่ความเข้มข้นต่างๆ

Concentration (w/w)		τ_0 (Pa)	K (Pa s ⁿ)	n
Xanthan gum	0.5%	0.019±0.04	1.588±0.04	0.283±0.01
	1%	0.337±0.01	3.296±0.01	0.310±0.07
	2%	0.399±0.04	7.155±0.03	0.289±0.05

ตัวเลขในตารางคือค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน



(a)

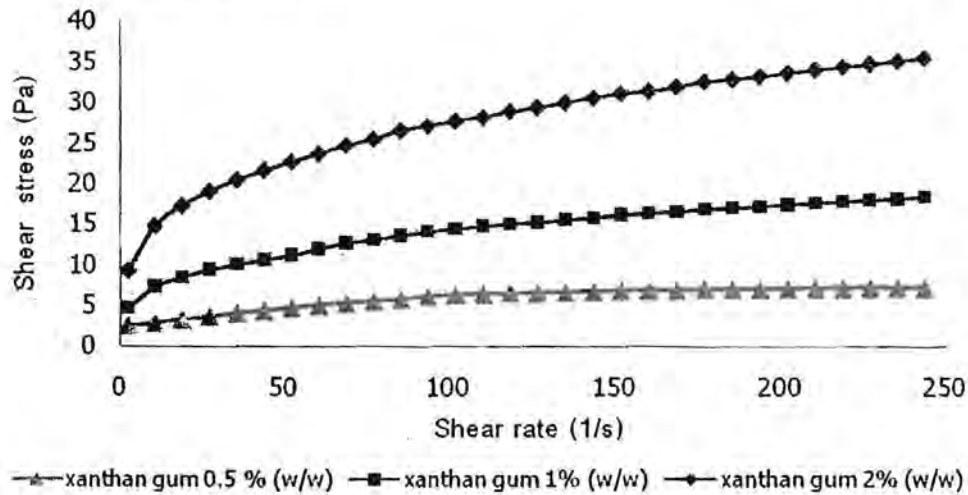


(b)

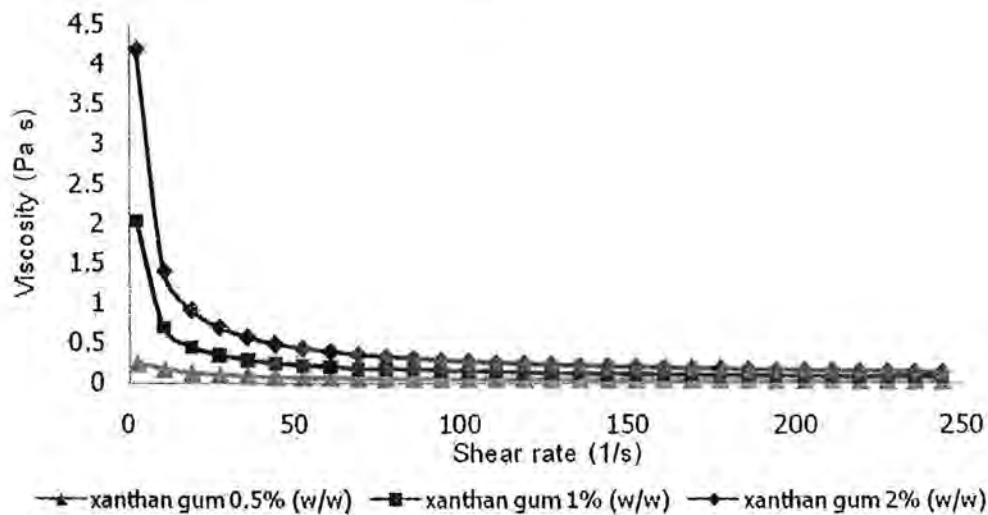
รูปที่ 6.2 Rheograms ของสารละลายกัวกัมที่ความเข้มข้นต่างๆ (a) ความสัมพันธ์ระหว่าง shear stress และ shear rate (b) ความสัมพันธ์ระหว่าง viscosity และ shear rate

สำหรับสารละลายแซนแทนกัมเมื่อใช้ Herschel-Bulkley model ทำนายพฤติกรรมการไหล แสดงผลในค่าของ yield stress (τ_0), consistency coefficient (K) และ flow behavior index (n) พบว่าสารละลายแซนแทนกัมความเข้มข้น 0.5%, 1% และ 2% มีพฤติกรรมการไหลแบบ

Pseudoplastic with yield stress ดังรูปที่ 6.3 โดย ค่า yield stress (τ_0) คือ แรงที่น้อยที่สุดที่ทำให้ของเหลวเริ่มไหลได้ และพบว่าเมื่อสารละลายมีความเข้มข้นสูงขึ้นจะส่งผลให้ค่า yield stress (τ_0) สูงขึ้นด้วยเช่นกัน ดังตารางที่ 6.2



(a)

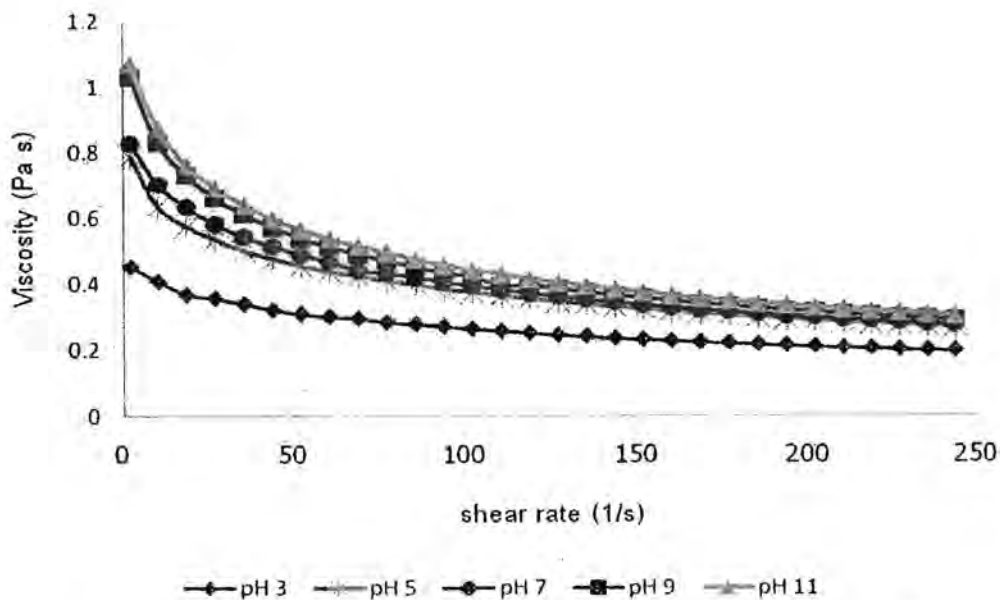


(b)

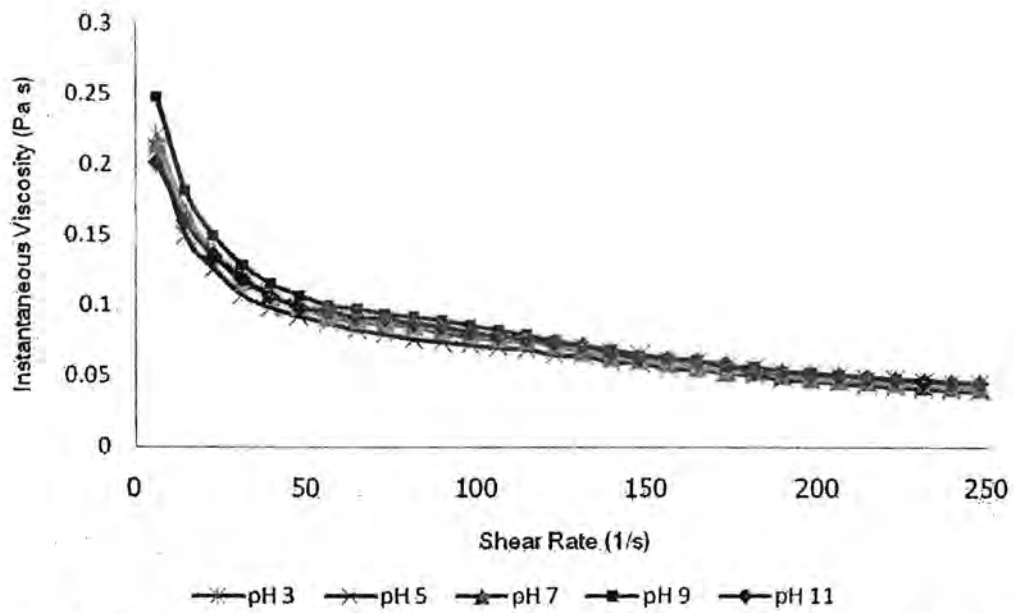
รูปที่ 6.3 Rheograms ของสารละลายแซนแทนกัมที่ความเข้มข้นต่างๆ (a) ความสัมพันธ์ระหว่าง shear stress และ shear rate (b) ความสัมพันธ์ระหว่าง viscosity และ shear rate

2.2 อิทธิพลของความเป็นกรดต่าง (Effect of pH)

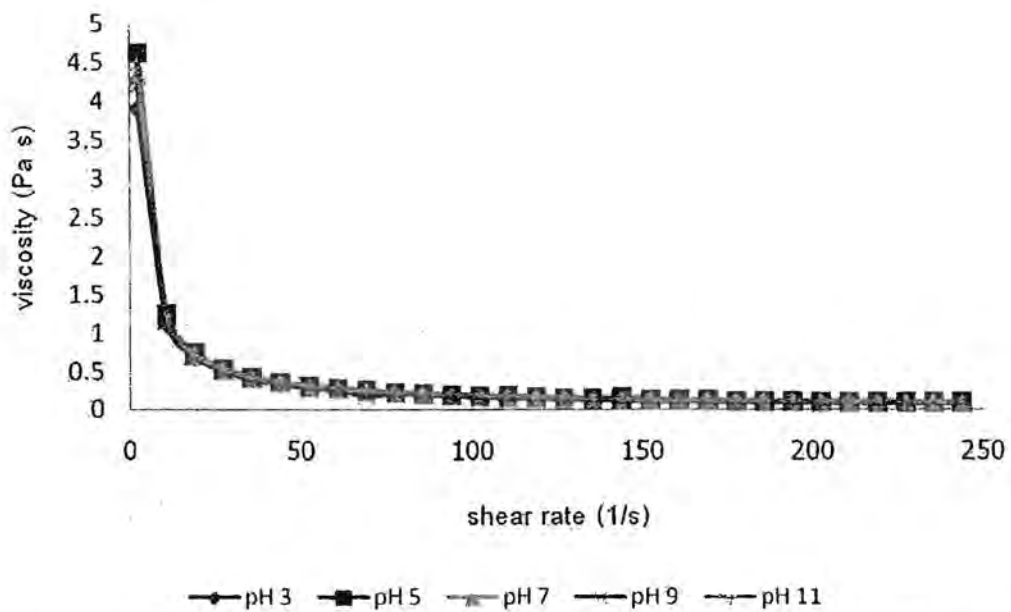
จากการศึกษาค่าความหนืดของสารละลายมิวซิเลจในภาวะค่าความเป็นกรดต่างต่างกัน (pH 3 – pH 11) เปรียบเทียบกับสารละลายกั้วร์กัมและแซนแทนกัม ซึ่งศึกษาอิทธิพลของความเป็นกรดต่างของสารละลายมิวซิเลจความเข้มข้น 7% (w/w) เปรียบเทียบกับกั้วร์กัมและแซนแทนกัมความเข้มข้น 0.5% (w/w) โดยวัดที่อัตราเฉือนในช่วง $0.1-250 \text{ s}^{-1}$ ที่อุณหภูมิ 25°C ภายในเวลา 180 วินาที พบว่าเมื่อค่าความเป็นกรดต่างเพิ่มขึ้นส่งผลให้สารละลายมิวซิเลจมีความหนืดสูงขึ้น โดยในภาวะการเป็นกรดสูง (pH 3) สารละลายมิวซิเลจจะมีค่าความหนืดต่ำที่สุด ดังรูปที่ 4 แสดงให้เห็นว่าสารละลายมิวซิเลจไม่เหมาะสมกับภาวะความเป็นกรดสูง เนื่องจากเมื่ออยู่ในภาวะกรดสูง กรดจะไปไฮโดรไลซ์โครงสร้างที่เป็นพอลิเมอร์ของมิวซิเลจทำให้พอลิเมอร์มีสายสั้นลง มีแรงต้านทานการไหลได้น้อยลงจึงทำให้สารละลายมิวซิเลจมีความหนืดลดลง และจากการศึกษาค่าความหนืดของสารละลายกั้วร์กัมและแซนแทนกัม พบว่าเมื่อค่าความเป็นกรดต่างเพิ่มขึ้นจะไม่ส่งผลต่อความหนืดของสารละลายกั้วร์กัมและแซนแทนกัมมากนัก ดังรูปที่ 6.5 และรูปที่ 6.6 เนื่องจากกั้วร์กัมและแซนแทนกัมทนต่อภาวะการเป็นกรดสูงได้ดี ดังนั้นในภาวะการเป็นกรดสูงจึงพบว่ากั้วร์กัมและแซนแทนกัมนั้นมีค่าความหนืดไม่แตกต่างจากภาวะการเป็นด่าง (Wang, Ellis และ Ross-Murphy, 2000; Nussinovitch, 1997) Medina-Torres และคณะ (2000) รายงานว่าค่าความหนืดของสารละลายมิวซิเลจจาก *Opuntia ficus indica* มีค่าสูงขึ้นตามค่า pH ของสารละลายที่เพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับการศึกษาของ Chen และ Chen (2001) ที่พบว่าเมื่อสารละลายมิวซิเลจจาก green laver มีค่า pH สูงขึ้นส่งผลให้ค่าความหนืดของสารละลายเพิ่มขึ้น



รูปที่ 6.4 ความสัมพันธ์ระหว่าง viscosity และ shear rate ของสารละลายมิวซิเลจที่ pH ต่างๆ



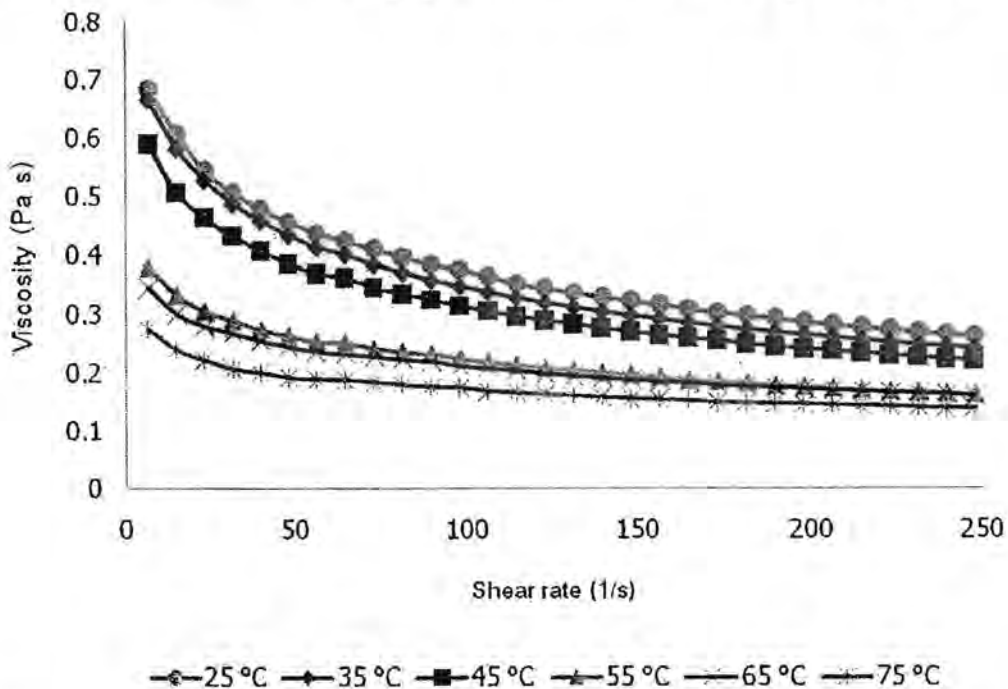
รูปที่ 6.5 ความสัมพันธ์ระหว่าง viscosity และ shear rate ของสารละลายกัวยักริมที่ pH ต่างๆ



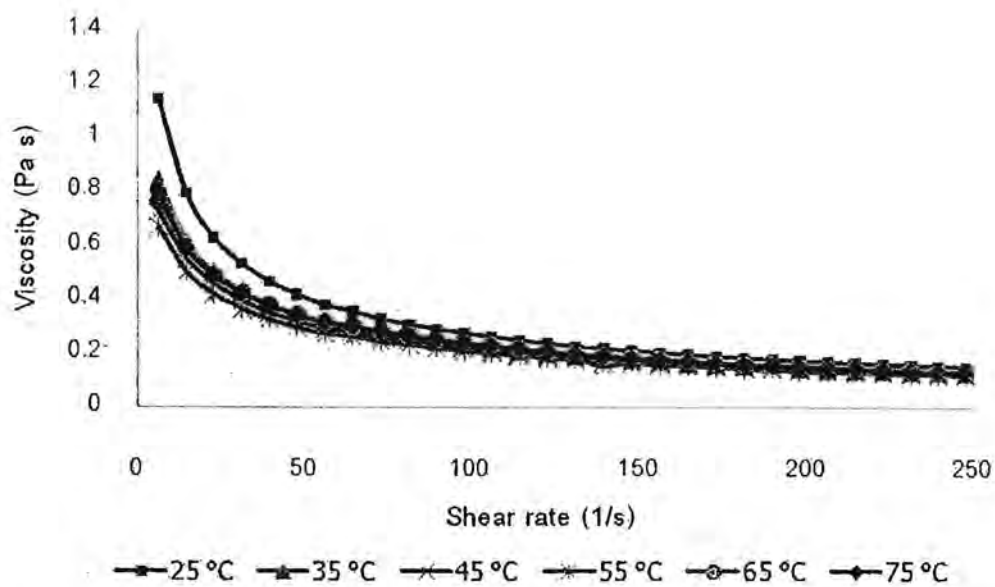
รูปที่ 6.6 ความสัมพันธ์ระหว่าง viscosity และ shear rate ของสารละลายแซนแทนกัมที่ pH ต่างๆ

2.3 อิทธิพลของอุณหภูมิ (Temperature effect)

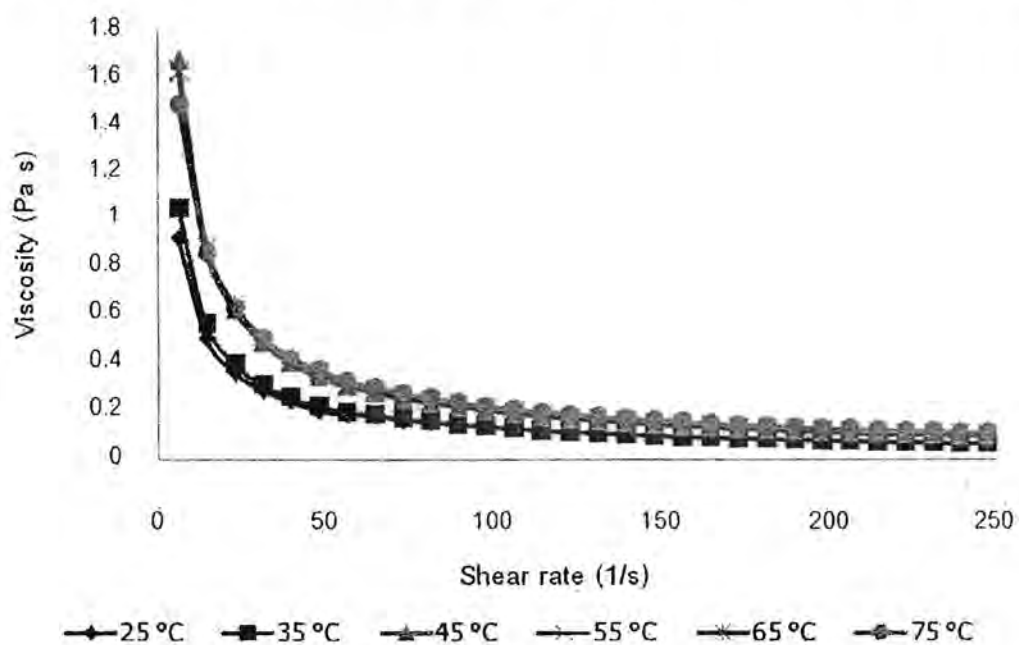
เมื่อศึกษาการเพิ่มอุณหภูมิในช่วงอุณหภูมิ 25°C ถึง 75°C ต่อค่าความหนืดของสารละลายมิวซีเลจความเข้มข้น 7% (w/w) เปรียบเทียบกับกั้วร์กัมและแซนแทนกัมความเข้มข้น 0.5% (w/w) โดยวัดที่อัตราเฉือนในช่วง 0.1-250 s⁻¹ ภายในเวลา 180 วินาที พบว่าความหนืดของสารละลายมิวซีเลจมีค่าลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ดังรูปที่ 6.7 Medina-Torres และคณะ (2000) รายงานว่าค่าความหนืดของสารละลายมิวซีเลจจาก *Opuntia ficus indica* มีค่าลดลงเมื่ออุณหภูมิของสารละลายเพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับรายงานของ Chen และ Chen (2001) ที่พบว่าเมื่ออุณหภูมิของสารละลายมิวซีเลจจาก green laver เพิ่มขึ้นส่งผลให้ค่าความหนืดของสารละลายลดลงเช่นกัน ทั้งนี้เนื่องจากเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นจะส่งผลให้สารพอลิเมอร์มีโครงสร้างเป็น random coil ทำให้การจับเกาะกันลดลง (inter molecular interaction) เป็นผลให้ความหนืดของสารละลายลดลง สำหรับสารละลายกั้วร์กัมและแซนแทนกัมการเพิ่มอุณหภูมิไม่ส่งผลต่อความหนืดมากนัก เนื่องจากกั้วร์กัมและแซนแทนกัมมีความเสถียรต่ออุณหภูมิสูงได้ดี (Nussinovitch, 1997) ดังรูปที่ 6.8 และ 6.9



รูปที่ 6.7 ความสัมพันธ์ระหว่าง viscosity และ shear rate ของสารละลายมิวซีเลจที่อุณหภูมิต่างๆ



รูปที่ 6.8 ความสัมพันธ์ระหว่าง viscosity และ shear rate ของสารละลายกัวยักรัมที่อุณหภูมิต่างๆ



รูปที่ 6.9 ความสัมพันธ์ระหว่าง viscosity และ shear rate ของสารละลายแซนแทนกัมที่อุณหภูมิต่างๆ

จากพฤติกรรมการไหลที่ศึกษามาพบว่ามิวซีเลจมีพฤติกรรมการไหลแบบ Psuedoplastic และพบว่าค่าความเป็นกรดต่างและอุณหภูมิมีผลต่อค่าความหนืดของสารละลายมิวซีเลจ โดยเมื่ออุณหภูมิสูงจะส่งผลให้ความหนืดของสารละลายมิวซีเลจลดลง และเมื่อสารละลายมิวซีเลจอยู่ในภาวะกรดสูงจะส่งผลให้ค่าความหนืดลดลง ดังนั้นเมื่อนำมิวซีเลจไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร สามารถนำมิวซีเลจไปใช้ร่วมกับผลิตภัณฑ์อาหารที่มีค่าความเป็นกรดไม่สูงมากนัก นอกจากนั้นต้องควบคุมอุณหภูมิให้เหมาะสมกับการใช้งานมิวซีเลจ

2. ศึกษาภาวะการใช้เอนไซม์เพกทินเนส (Pectinex Ultra SP-L[®], 10292 PGU/ml) ในการสกัดใยอาหารจากกากพุทรา

เนื่องจากกากพุทราที่ได้จากการสกัดมิวซีเลจแล้วมีองค์ประกอบของเพกทินที่ไม่ละลายในปริมาณสูง อีกทั้งยังประกอบด้วยเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ดังนั้นจึงใช้เอนไซม์ Pectinex[®] Ultra SP-L ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ประกอบด้วยเอนไซม์หลายชนิด ได้แก่ พอลิกลาแลกทูโรเนส เพกทินไลเอส เพกทินเอสเทอเรส เฮมิเซลลูเลส เซลลูเลส โปรตีเอส และอะไมเลส ในการสกัดใยอาหารจาก กากพุทรา เพื่อช่วยเสริมกันเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายสารประกอบเพกทิน เซลลูโลสและ เฮมิเซลลูโลสในกากพุทรา นอกจากนั้นเอนไซม์ Pectinex[®] Ultra SP-L ยังเป็นเอนไซม์ที่สามารถใช้ในอาหารได้ ซึ่งรับรองโดย FAO/WHO, JECFA และ FCC

สำหรับขั้นตอนแรกคือการศึกษาภาวะการล้างกากพุทราที่ผ่านการสกัดมิวซีเลจออกแล้ว เพื่อให้ได้กากพุทราที่บริสุทธิ์ โดยแปรจำนวนครั้งในการล้างกากพุทราออกเป็น 5 ระดับคือ 0, 1, 2, 3 และ 4 ครั้ง ล้างกากพุทราด้วยน้ำในอัตราส่วนกากพุทราต่อน้ำ 1:2 เมื่อวิเคราะห์ปริมาณ น้ำตาลรีดิวซ์ วัดค่า pH วิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดซิตริก และวิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (TSS) พบว่าเมื่อเพิ่มจำนวนครั้งในการล้างกากพุทราส่งผลให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดซิตริก และปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้มีค่าลดลง ในขณะที่ค่า pH มีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้น ดังตารางที่ 6.3 ทั้งนี้เนื่องมาจากการล้างกากพุทราเป็นขั้นตอนในการกำจัดองค์ประกอบที่ไม่ต้องการและจุลินทรีย์ก่อโรคออกจากใยอาหาร โดยในขั้นตอนการล้าง น้ำตาลและกรดจะถูกกำจัดออกไปทำให้ใยอาหารที่ได้มีความบริสุทธิ์มากขึ้น (Larrauri และคณะ, 1996) ซึ่งจากการวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าภาวะที่เหมาะสมในการล้างกากพุทราคือการล้างกากพุทราจำนวน 3 ครั้ง

ตารางที่ 6.3 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดซิตริก ค่า pH และปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (TSS)

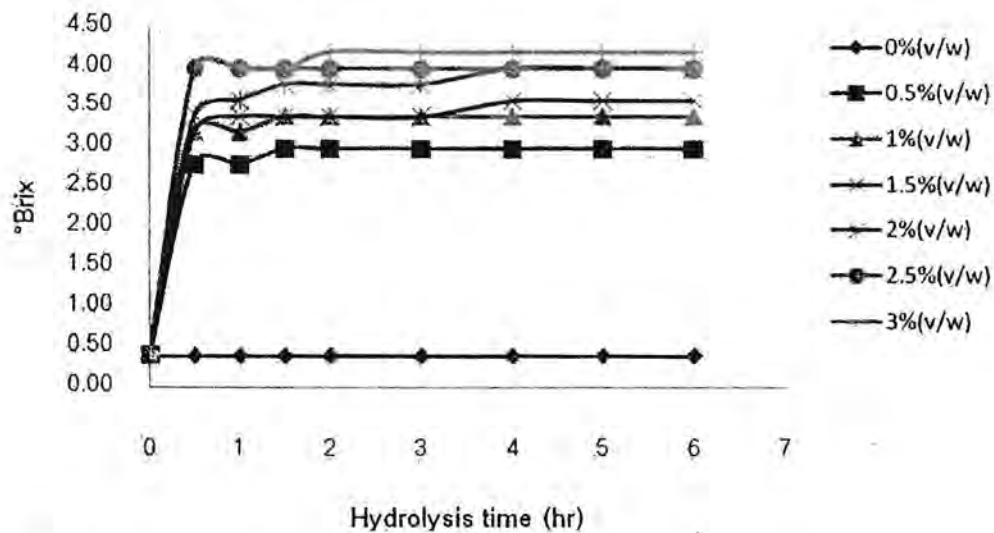
จำนวนครั้งที่ล้าง	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (mg glucose/g FW)	ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดซิตริก (%)	pH	TSS (°Brix)
0	14.91 ^a ± 0.04	1.67 ^a ± 0.04	3.76 ^c ± 0.04	1.8
1	9.00 ^b ± 0.04	1.30 ^b ± 0.04	4.43 ^d ± 0.04	1.2
2	5.78 ^c ± 0.04	0.95 ^c ± 0.04	4.94 ^c ± 0.04	0.8
3	1.30 ^d ± 0.04	0.70 ^d ± 0.04	5.54 ^b ± 0.04	0.4
4	0.91 ^d ± 0.04	0.60 ^d ± 0.04	5.61 ^a ± 0.04	0.4

ตัวเลขในตารางคือค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขในแนวตั้งที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

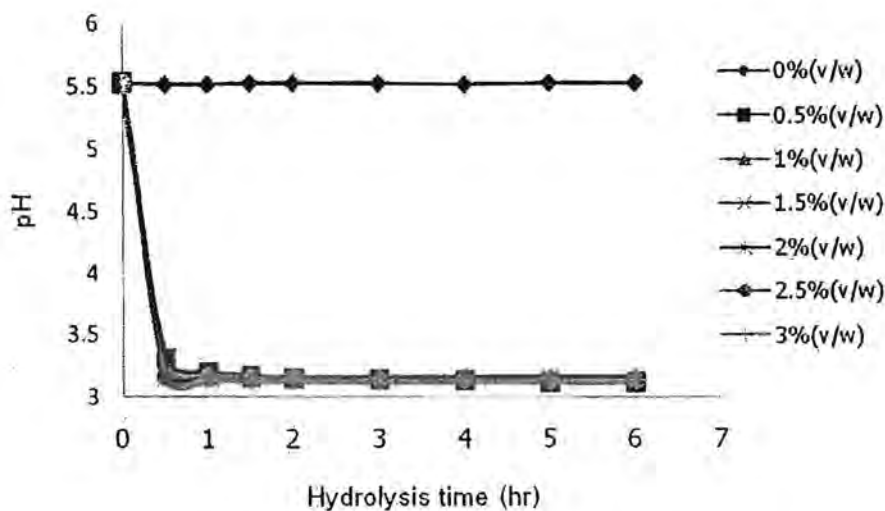
จากการศึกษาภาวะการใช้เอนไซม์เพกทินเนสทางการค้าคือ Pectinex[®] Ultra SP-L ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ประกอบด้วยเอนไซม์หลายชนิด ได้แก่ พอลิกลาแลกทูโรเนส เพกทินไลเอส เพกทินเอสเทอเรส เอมีเซลลูโลส เซลลูโลส โปรติเอส และอะไมเลส ในการสกัดโยเกิร์ตจากกากพุทราที่ผ่านการสกัดมิวซิเลจแล้ว โดยแปรความเข้มข้นเอนไซม์ในช่วง 0-3.0% (v/w) และแปรระยะเวลาการทำปฏิกิริยาในช่วง 0-6 ชั่วโมง นำมาวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ และค่า pH ได้ผลดังนี้คือ

จากการติดตามการทำงานของเอนไซม์โดยพิจารณาจากปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ในกากพุทรา พบว่าเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาในการย่อยเพิ่มมากขึ้นส่งผลให้ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้มีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 6.10 เนื่องจากเอนไซม์ Pectinex[®] Ultra SP-L ที่ประกอบด้วยเอนไซม์หลายชนิด จะช่วยเสริมกันเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายสารประกอบเพกทิน เซลลูโลส และ เอมีเซลลูโลส จึงส่งผลทำให้อัตราการละลายของสารประกอบเพกทินในกากพุทราเพิ่มขึ้น และในขณะเดียวกันส่วนของน้ำในกากพุทราจะถูกปลดปล่อยออกมาได้ง่ายและมากขึ้น เมื่อโครงสร้างร่างแหของเพกทินที่อุ้มน้ำถูกทำให้ฉีกขาด และได้สารประกอบเพกทินที่สามารถละลายน้ำได้มากขึ้นด้วย ดังนั้น ของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้จึงสูงขึ้น ซึ่งผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับการศึกษาของ Brasil และคณะ (1995) ที่ศึกษาการใช้เอนไซม์เพกทินเนสในการผลิตน้ำฝรั่ง พบว่าการใช้เอนไซม์จะทำให้ฝรั่งที่ได้มีปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้เพิ่มขึ้น



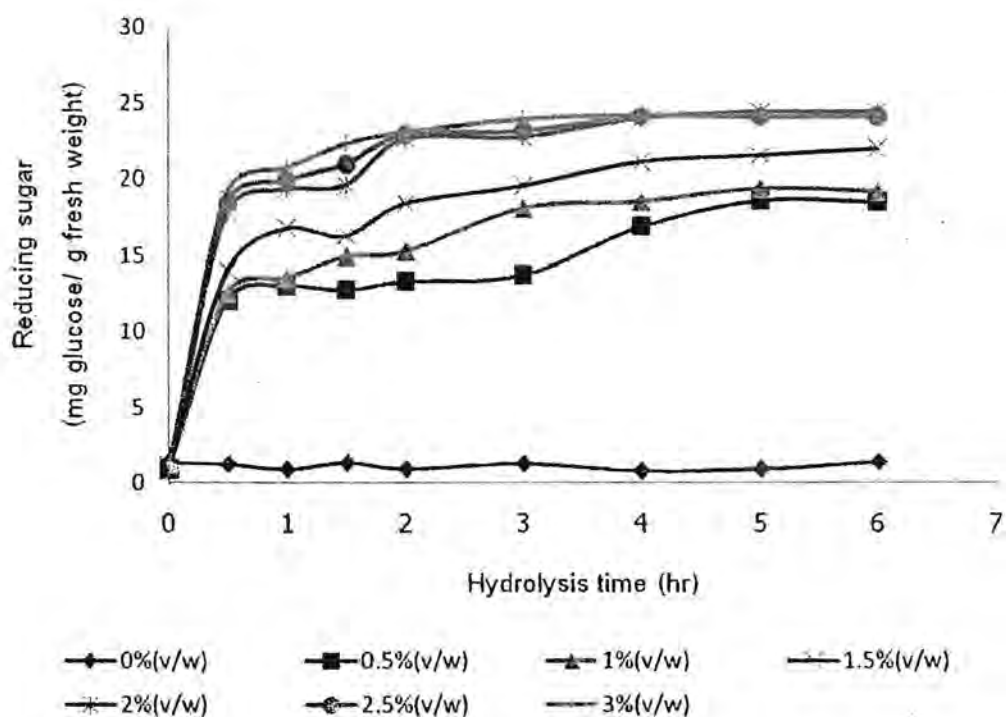
รูปที่ 6.10 ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ในกากพุทราที่ได้จากกระบวนการทางเอนไซม์ที่ภาวะต่างๆ

จากการติดตามการทำงานของเอนไซม์ โดยพิจารณาจากค่า pH พบว่าเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาในการย่อยสลายเพิ่มมากขึ้นจะส่งผลให้ค่า pH ลดลง เนื่องจากเอนไซม์จะแยกหมู่เมธิลออกจากเพกทินโดยการไฮโดรไลซ์พันธะเอสเทอร์ ได้เป็นกรดเพคติก กรดเพคติกเอนไซม์ในกลุ่มนี้ได้แก่ เพกทินเอสเทอเรส (ปราณี อานเป็ร้อง, 2547) ดังรูปที่ 6.11 และจากการทดลองจะเห็นได้ว่า pH ที่ลดลงนั้นยังอยู่ในช่วง pH ที่เอนไซม์ Pectinex® Ultra SP-L สามารถทำงานได้ (pH 3 – pH 4.5) ดังนั้นจึงไม่มีผลกระทบต่อการย่อยสลายกากพุทรา



รูปที่ 6.11 ค่า pH ในกากพุทราที่ได้จากกระบวนการทางเอนไซม์ที่ภาวะต่างๆ

จากการติดตามการทำงานของเอนไซม์โดยพิจารณาจากปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดจากการตัดพันธะไกลโคซิลของพอลิเมอร์ในในกากพืชมะพร้าว เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในกากพืชมะพร้าว พบว่าความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาในการย่อยสลายมีอิทธิพลอย่างมีนัยสำคัญต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ($p \leq 0.05$) และพบผลของอิทธิพลร่วมอย่างมีนัยสำคัญระหว่างปัจจัยทั้งสอง ($p \leq 0.05$) จากผลการทดลองพบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อย ส่งผลให้กากพืชมะพร้าวที่ได้มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เพิ่มขึ้นนี้เกิดจากการตัดพันธะไกลโคซิลของพอลิเมอร์ในกากพืชมะพร้าวมากขึ้น โดยการทำงานของเอนไซม์เพกทิเนส เซลลูเลส และเฮมิเซลลูเลส ที่ย่อยสลายพันธะไกลโคซิลของสารประกอบเพกทิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส ตามลำดับ ที่บริเวณผนังเซลล์ของเนื้อเยื่อพืช (ปราณี อานเป็รื่อง, 2547; Grohmann และ Baldwin, 1992; Sreenath และคณะ, 1999; Jayani และคณะ, 2005) ดังแสดงในรูปที่ 6.12



รูปที่ 6.12 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในกากพืชมะพร้าวที่ได้จากกระบวนการทางเอนไซม์ที่ภาวะต่างๆ

จากการวิเคราะห์ทางสถิติเมื่อพิจารณาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในกากพืชมะพร้าวที่ได้จากกระบวนการทางเอนไซม์ที่ภาวะต่างๆ พบว่าการใช้เอนไซม์เพกทิเนสที่ความเข้มข้น 2.0% (v/w) ระยะเวลาการย่อย 0-6 ชม. เป็นภาวะที่ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในช่วงกว้าง ซึ่งปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้มีค่าไม่แตกต่างกับภาวะที่ใช้เอนไซม์ความเข้มข้น 2.5 (v/w) และ 3.0 (v/w) อย่างมี

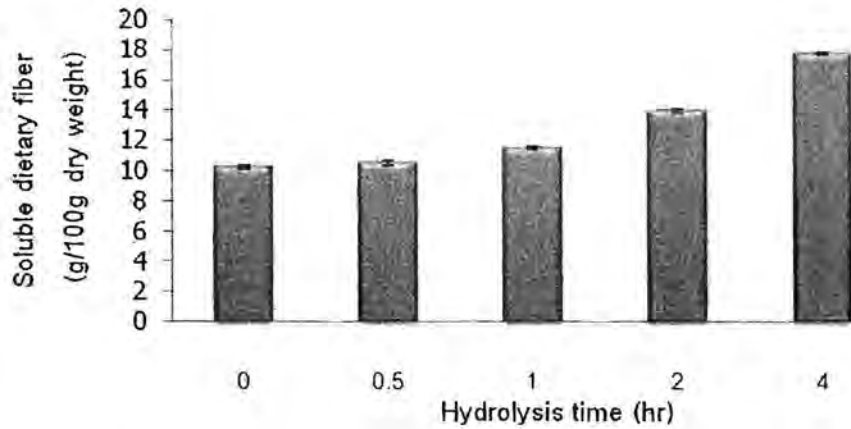
นัยสำคัญ ($p > 0.05$) และเมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในกากพุทราที่ได้จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ความเข้มข้น 2.0 (v/w) สามารถแบ่งระดับการย่อยด้วยเอนไซม์โดยประเมินในค่าของน้ำตาลรีดิวซ์ได้ 5 ระดับ คือ 1.01, 17.79, 19.29, 22.61 และ 23.98 mg glucose/ g fresh weight ซึ่งใช้เวลาในการย่อยเท่ากับ 0, 0.5, 1, 2 และ 4 ชม. ตามลำดับ ดังตารางที่ 6.4 ดังนั้นจึงเลือกเอนไซม์ความเข้มข้น 2.0 (v/w) เวลาการย่อยสลาย 0, 0.5, 1, 2 และ 4 ชม. เป็นตัวแทนเพื่อศึกษาผลของระดับการตัดพันธะไกลโคซิลของพอลิเมอร์ในกากพุทราต่อปริมาณใยอาหารละลายน้ำและใยอาหารไม่ละลายน้ำ พบว่าเมื่อระยะเวลาการย่อยสลายเพิ่มมากขึ้นหรือเมื่อมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงขึ้นจะส่งผลให้ได้ปริมาณใยอาหารละลายน้ำเพิ่มขึ้นและส่งผลให้ปริมาณใยอาหารไม่ละลายน้ำลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ดังรูปที่ 6.13 และ 6.14 ทั้งนี้เนื่องจากเอนไซม์ได้เข้าไปย่อยสารประกอบพวกเพกทินที่ไม่ละลายให้เป็นเพกทินละลายได้ซึ่งจะมีหมู่ไฮดรอกซิลเพิ่มมากขึ้น จึงทำให้มีความสามารถในการละลายน้ำได้มากขึ้น (Sakamoto และคณะ, 2006) ซึ่งจากการศึกษา พบว่าภาวะการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ที่ความเข้มข้น 2.0% (v/w) เป็นระยะเวลา 4 ชม. ส่งผลให้ได้ปริมาณใยอาหารละลายน้ำสูงและมีปริมาณใยอาหารไม่ละลายน้ำต่ำกว่าระดับอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 6.4 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในกากพุทราที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ความเข้มข้น 2.0% (v/w)

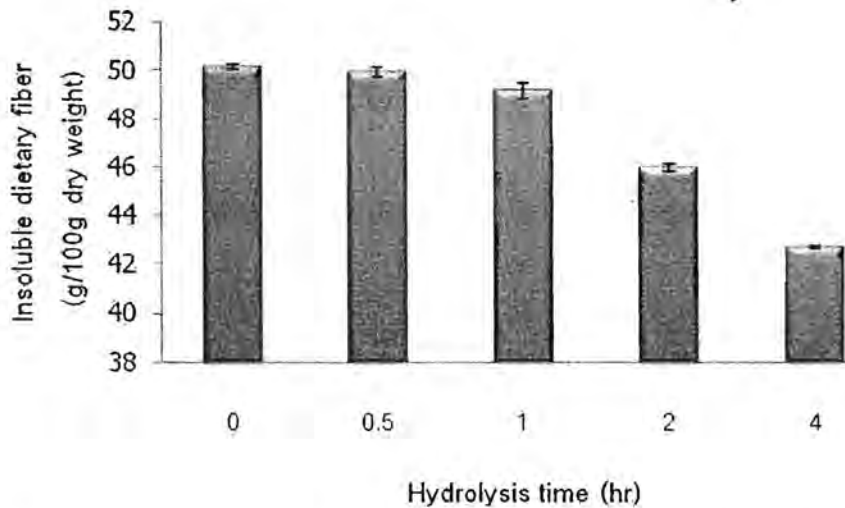
ระยะเวลาการย่อยสลาย (hr)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (mg glucose/g fresh weight)
0	1.02 ^a ± 0.27
0.5	17.79 ^d ± 0.17
1.0	19.29 ^c ± 0.13
1.5	19.59 ^c ± 0.20
2	22.61 ^b ± 0.15
3	22.74 ^b ± 0.21
4	23.98 ^a ± 0.19
5	24.38 ^a ± 0.20
6	24.40 ^a ± 0.23

ตัวเลขในตารางคือค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขในแนวตั้งที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)



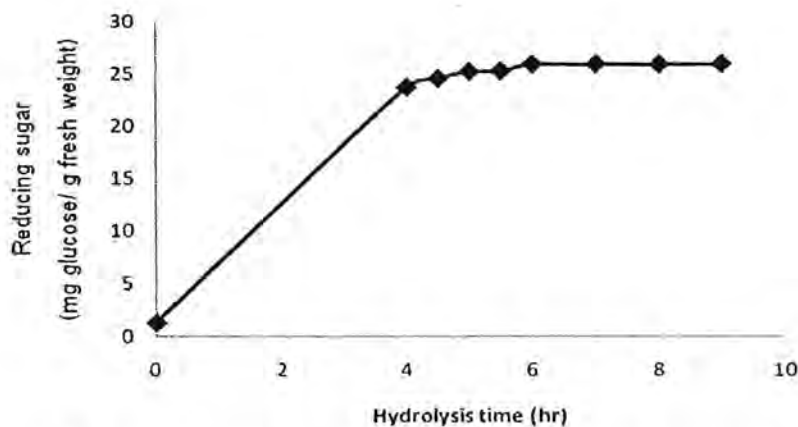
รูปที่ 6.13 ปริมาณใยอาหารละลายน้ำในกากพุทราจากภาวะการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ ความเข้มข้น 2.0% (v/w) ที่ระยะเวลาต่างๆ



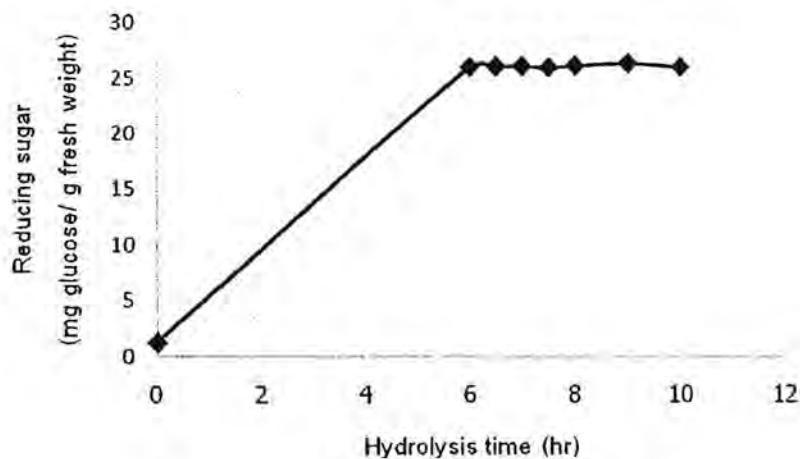
รูปที่ 6.14 ปริมาณใยอาหารไม่ละลายน้ำในกากพุทราจากภาวะการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ ความเข้มข้น 2.0% (v/w) ที่ระยะเวลาต่างๆ

การศึกษ้อัตราการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ โดยการเติมเอนไซม์เพิ่มลงไป ณ จุดที่ปฏิกิริยาการย่อยสลายเริ่มหยุดนิ่ง ทั้งนี้เพื่อศึกษาว่าเมื่อเติมเอนไซม์ลงไป ณ จุดที่ปฏิกิริยาการย่อยสลายเริ่มหยุดนิ่งจะมีการย่อยสลายเกิดขึ้นอีกหรือไม่ ซึ่งถ้าหากมีการย่อยสลายเกิดขึ้น แสดงว่าเอนไซม์ถูกยับยั้งโดยผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น แต่ถ้าหากไม่มีการย่อยสลายเกิดขึ้นแสดงว่าปริมาณซับสเตรตได้หมดลงจึงไม่มีปฏิกิริยาการย่อยสลายเกิดขึ้น โดยการทดลองจะเติมเอนไซม์ความเข้มข้น 2% (v/w) เพิ่มที่เวลาการย่อยสลาย 4 ชม. โดยใช้เวลาในการย่อยสลาย 0-9 ชม. จากการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ พบว่าเมื่อระยะเวลาการย่อยเพิ่มขึ้นส่งผลให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีค่าสูงขึ้นอย่าง

มีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) และเริ่มคงที่ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 6 ชม. ดังรูปที่ 6.15 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการที่ปฏิกิริยาการย่อยสลายเริ่มหยุดนิ่งหรือปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มคงที่นั้นเกิดขึ้นเนื่องมาจากเอนไซม์ถูกยับยั้งโดยผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น (ปราณี อานเป็รื่อง, 2547) จากนั้นได้เติมเอนไซม์ความเข้มข้น 2% (v/w) ลงไปที่เวลาการย่อยสลาย 6 ชม. (เป็นระยะเวลาที่ปฏิกิริยาการย่อยสลายเริ่มหยุดนิ่ง) โดยใช้เวลาในการย่อยสลาย 0-10 ชม. จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์คงที่ไม่เพิ่มขึ้นหรือไม่มีความแตกต่างจากการลงเอนไซม์ที่เวลาการย่อยสลาย 6 ชม. ถึงแม้ว่าจะใช้ระยะเวลาการย่อยสลายนานถึง 10 ชม. ดังรูปที่ 6.16 ดังนั้นจึงแสดงให้เห็นว่าปริมาณซับสเตรตได้หมดลงจึงไม่มีปฏิกิริยาการย่อยสลายเกิดขึ้น



รูปที่ 6.15 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในกากพุทธราที่เติมเอนไซม์ความเข้มข้น 2% (v/w) เพิ่มที่เวลาการย่อยสลาย 4 ชม.



รูปที่ 6.16 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในกากพุทธราที่เติมเอนไซม์ความเข้มข้น 2% (v/w) เพิ่มที่เวลาการย่อยสลาย 6 ชม.

จากภาวะการย่อยสลายกากพืชรากด้วยเอนไซม์ข้างต้นจะได้ระดับการตัดพันธะไกลโคซิลของพอลิเมอร์ในกากพืชรากด้วยเอนไซม์ในระดับต่างๆ โดยใช้ระยะเวลาการย่อยสลายที่แตกต่างกัน ซึ่งจากการทดลองจะได้ระดับการตัดพันธะไกลโคซิลของพอลิเมอร์ในกากพืชรากที่ระยะเวลาการย่อยสลายต่างกัน 3 ระดับคือ การย่อยสลายด้วยเอนไซม์ความเข้มข้น 2.0% (v/w) เป็นระยะเวลา 0, 4 และ 6 ชม.

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาพฤติกรรมการไหลของสารละลายมิวซิเลจ พบว่าสารละลายมิวซิเลจมีพฤติกรรมการไหลแบบ Pseudoplastic เช่นเดียวกับกัวร์กัม ส่วนแซนแทนกัมมีพฤติกรรมการไหลแบบ Pseudoplastic with yield stress และพบว่าความเข้มข้นของสารละลาย ค่าความเป็นกรดต่างและอุณหภูมิ มีผลต่อค่าความหนืดของสารละลายมิวซิเลจ โดยเมื่อความเข้มข้นของสารละลายมิวซิเลจสูงขึ้นส่งผลให้ค่าความหนืดมากขึ้นเช่นเดียวกับสารละลายกัวร์กัมแซนแทนกัม แต่เมื่อเพิ่มค่าความเป็นกรดต่างและเพิ่มอุณหภูมิส่งผลให้ความหนืดลดลง ส่วนสารละลายกัวร์กัมและแซนแทนกัม การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดต่างและอุณหภูมิไม่มีอิทธิพลต่อค่าความหนืด สำหรับการศึกษาภาวะการใช้เอนไซม์เพกทิเนสในการสกัดใยอาหารจากกากพืชรากที่ผ่านการสกัดมิวซิเลจแล้ว พบว่าเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาในการทำปฏิกิริยาเพิ่มมากขึ้นปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้มีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้น ในขณะที่ค่า pH มีแนวโน้มที่ลดลง โดยภาวะการสกัดใยอาหารที่เหมาะสม คือการใช้เอนไซม์ที่ความเข้มข้น 2.0% (v/w) ระยะเวลาการย่อยสลาย 0-6 ชั่วโมง ซึ่งจะให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในช่วงกว้าง และจากการวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารละลายน้ำและใยอาหารไม่ละลายน้ำ พบว่าระยะเวลาการย่อย 4 ชั่วโมง ส่งผลให้ได้ปริมาณใยอาหารละลายน้ำสูงที่สุดและมีปริมาณใยอาหารไม่ละลายน้ำน้อยที่สุด จากการศึกษาอัตราการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ โดยการเติมเอนไซม์เพิ่มลงไป ณ จุดที่ปฏิกิริยาการย่อยสลายเริ่มหยุดนิ่ง พบว่าเมื่อระยะเวลาการย่อยเพิ่มขึ้นส่งผลให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีค่าสูงขึ้นและเริ่มคงที่ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 6 ชม. และเมื่อเติมเอนไซม์ ณ จุดที่ปฏิกิริยาการย่อยสลายเริ่มหยุดนิ่ง (ที่ 6 ชม.) พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์คงที่ไม่มีเปลี่ยนแปลง ดังนั้นจากการทดลองจะได้ระดับการตัดพันธะไกลโคซิลของพอลิเมอร์ในกากพืชรากที่ระยะเวลาการย่อยสลายต่างกัน 3 ระดับคือ การย่อยสลายด้วยเอนไซม์ความเข้มข้น 2.0% (v/w) เป็นระยะเวลา 0, 4 และ 6 ชม.

เอกสารอ้างอิง

- เปี่ยมสุข พงษ์สวัสดิ์. 2551. เอนไซม์ตัดแปรคาร์โบไฮเดรตในอุตสาหกรรม. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- ปราณี อานเป็รื่อง. 2547. เอนไซม์ทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ศศิธร เรืองจักรเพชร และ ปราณี อานเป็รื่อง. 2002b. ลักษณะเฉพาะทางกายภาพของผงเมือกเมล็ดแมงลัก. อาหาร 32(3): 144-153.
- 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.
- 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.
- 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.
- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis of the AOAC International. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D. C.
- 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.
- Bhattacharya, S. and Rastogi, N. K. 1998. Rheological properties of enzyme-treated mango pulp. Journal of Food Engineering 36: 249-262.
- Brasil, I. M., Maia, G. A., and Figueiredo, R. W. 1995. Physical-chemical changes drying extraction and clarification of guava juice. Food Chemistry 54(4): 383-386.
- Chen, R. H., and Chen, W. Y. 2001. Rheology properties of the water-soluble mucilage of a green laver, *Monostroma nitidum*. Journal of Applied Phycology 13: 481-488.

- Choudhari, S. M. and Ananthanarayan, L. 2007. Enzyme aided extraction of lycopene from tomato tissues. Food Chemistry 102: 77-81.
- Çinar, I. 2005. Effects of cellulase and pectinase concentrations on the colour yield of enzyme extracted plant carotenoids. Process Biochemistry 40: 945-949.
- Grigelmo-Miguel, N., Ibarz-Ribas, A., and Martin-Belloso, O. 1999. Rheology of peach dietary fiber suspensions. Journal of Food Engineering 39: 91-99.
- Jayani, R. S., Saxena, S., and Gupta, R. 2005. Microbial pectinolytic enzymes: A review. Process Biochemistry 40: 2931-2944.
- 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.
- Larrauri, J.A., Rupprez, B., and Suara-Calixto, F. 1996. Mango peels as a new tropical fibre: preparation and characterization. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie 29:729-733.
- Larrauri, J.A., 1999. New approaches in the preparation of high dietary fiber powders from fruit by product. Trends in Food Science. & Technology 10:3-8.
- 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.
- 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.
- Medina-Torres, L., Brito-De La Fuente E., Torrestiana-Sanchez, B. and Katthain, R. 2000. Rheological properties of the mucilage gum (*Opuntia ficus indica*). Food Hydrocolloids 14: 417-424.
- Nelson, N. 1944. A photometric adaptation of the Somogyi method for determination of glucose. Journal of Biological Chemistry 153: 375-380.
- Nussinovitch, A. 1997. Hydrocolloid Applications: Gum Technology in the Food and Other Industries. USA. Chapman and Hall.
- Petsev, D. N. 2004. Emulsions: Structure Stability and Interactions. Amsterdam: Elsevier Academic Press.

- 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.
- Rao, M. A. 1999. Rheology of Fluid and Semisolid Foods: Principles and Applications. Gaithersburg: An Aspen publication.
- 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.
- Sakamoto, K., Shibata, K., and Ishihara, M. 2006. Decreased hardness of dietary fiber-rich foods by the enzyme-infusion method. Bioscience Biotechnology Biochemistry 70(7): 1564-1570.
- Schramm, L. L. 2005. Emulsions, Foams, and Suspensions: Fundamentals and Applications. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co.KGAA.
- Sharma, B. R., Dhuldhoya, N. C., Merchant, S. U., and Merchant, U. C. 2007. Hydrocolloids: efficient rheology control additives. Science Tech Entrepreneur February Issue: 1-9.
- Sreenath, H. K., Sudarshanakrishna, K. S., and Santhanam, K. 1994. Improvement of juice recovery from pineapple pulp/residue using cellulases and pectinases. Journal of Fermentation and Bioengineering 78(6): 486-488.
- 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.
- Wang, Q., Ellis, P. R. and Ross-Murphy, S. B. 2000. The stability of guar gum in an aqueous system under acidic conditions. Food Hydrocolloids 14: 129-134.

ชุดโครงการวิจัยย่อยที่ 7

ผลของการใช้เอนไซม์ต่อสารออกฤทธิ์ชีวภาพจากเปลือกและเนื้อแก้วมังกรพันธุ์
เนื้อสีแดง *Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose

EFFECTS OF ENZYMATIC TREATMENT ON BIOACTIVE COMPOUNDS FROM SKIN
AND FLESH OF RED DRAGON FRUIT *Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose

โดย น.ส. กรรณิการ์ สอนโยธาและ รศ.ดร. ปราณี อ่านเปรื่อง

ตอนที่ 2

การควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลและภาวะที่เหมาะสมในการสกัด
สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเปลือกและเนื้อแก้วมังกรแดง
โดยใช้เอนไซม์เพคตินเนสทางการค้า (Pectinex[®] Ultra SP-L)

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลของเปลือกและเนื้อแก้วมังกรแดงที่มีอายุการเก็บเกี่ยว 45-50 วันนับตั้งแต่ออกดอก โดยภาวะที่ใช้ในการควบคุมปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลในเปลือกและเนื้อของแก้วมังกรแดงใช้กรดอินทรีย์ 2 ชนิด คือ กรดแอสคอร์บิกและกรดซิตริก แปรความเข้มข้นกรดในช่วง 0-0.5%(w/w) แปรเวลาการให้ความร้อนในช่วง 0-5 นาทีพบว่า ภาวะที่เหมาะสมในการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลของเปลือกและเนื้อคือ เติมกรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 0.2 และ 0.1%(w/w) ตามลำดับร่วมกับการให้ความร้อนด้วยไอน้ำจนถึงกึ่งกลางมีอุณหภูมิ 85°C นาน 3 นาที ขึ้นตอนต่อมา นำเปลือกและเนื้อแก้วมังกรแดงที่ได้มาย่อยสลายด้วยเอนไซม์กลุ่มเพคตินเนส โดยแปรระยะเวลาการย่อย 0-6 ชั่วโมง และแปรความเข้มข้นเอนไซม์ในช่วง 0-10.0%(v/w) โดยติดตามความสามารถในการย่อยสลายด้วยเอนไซม์จากปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์พบว่า ในส่วนเปลือก เวลา 3 ชั่วโมง ความเข้มข้นของเอนไซม์เป็น 0.5, 2.5 และ 5.0%(v/w)สามารถแบ่งระดับของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เป็น 3 ช่วง คือ 20, 32 และ 45 mg glucose / g FM และในส่วนเนื้อ เวลา 3 ชั่วโมง ความเข้มข้นของเอนไซม์เป็น 0.5, 2.5 และ 10.0%(v/w)ซึ่งสามารถแบ่งระดับของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เป็น 3 ช่วง คือ 26, 59 และ 71 mg glucose / g FM ตามลำดับคัดเลือกเป็นตัวแทนเพื่อศึกษาผลของการใช้เอนไซม์ต่อสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ สารให้สีม่วงแดงของเบต้าไซยานิน สารประกอบฟีนอลิก และสารต้านอนุมูลอิสระอื่นๆ รวมทั้งโย

อาหารทั้งหมด ที่มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อระดับของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เปลี่ยนแปลงไปเมื่อผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์กลุ่มเพคตินเนส

1. บทนำ

แก้วมังกรพันธุ์เนื้อสีแดง (Dragon fruit, Pitahaya, Pitaya, Strawberry Pear) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Hylocereus polyrhizus* อยู่ในวงศ์ Cactaceae เป็นผลไม้ที่มีสีแดงสด (นฤมล มา นิพพาน, 2548) ในการปอกเปลือก การหั่นชิ้น และการตีปั่น สามารถทำให้เกิดสีน้ำตาลได้ง่าย ซึ่งใน ผักและผลไม้ส่วนใหญ่มีสาเหตุหลักจากการทำงานของเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดส (PPO) โดย เกิดปฏิกิริยาระหว่างสารประกอบโมโนฟีนอลที่อยู่ในเซลล์พืชกับออกซิเจนในอากาศ และมีเอนไซม์ PPO ทำให้เกิดปฏิกิริยาไฮดรอกซิเลชันได้เป็น *o*-diphenol ซึ่งสารนี้จะถูกออกซิไดซ์ต่อไปเป็น *o*-quinone สารดังกล่าวที่เกิดขึ้นจะรวมตัวกันและเกิดปฏิกิริยากับสารประกอบฟีนอลอื่นๆ หรือกับ กรดอะมิโนได้เป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำตาล (Owusu-apenten, 2005) ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่เร่งด้วยเอนไซม์เมื่อเกิดขึ้น จะทำให้สีและรสชาติของผลิตภัณฑ์เปลี่ยนแปลงไป มีคุณภาพ ลดลงและไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ดังนั้นจึงต้องมีการควบคุมปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลใน เปลือกและเนื้อของแก้วมังกรแดงก่อนนำไปย่อยสลายด้วยเอนไซม์ โดยใช้ความร้อนร่วมกับการ สารเคมี โดยสารเคมีที่นิยมใช้ได้แก่กรดแอสคอร์บิกและกรดซิตริก สำหรับกรดแอสคอร์บิกทำหน้าที่ เป็นสารรีดิวซ์ โดยจะรีดิวซ์ *o*-quinone ให้กลับมาอยู่ในรูปของสารประกอบฟีนอล ก่อนที่ *o*-quinone จะทำปฏิกิริยาต่อไปจนกลายเป็นสารสีน้ำตาล (Dris และ Jain, 2004) ส่วนกรดซิตริกทำหน้าที่เป็น สารป้องกันการเกิดสีน้ำตาลโดยลดค่า pH ให้ต่ำกว่าค่า optimum pH ของเอนไซม์ PPO ส่งผลให้ เอนไซม์มีแอกทิวิตีลดลง (El-Shimi, 1993; Sapers และ Miller, 1995; Sapers และคณะ, 1989;) และในการนำมาย่อยสลายด้วยเอนไซม์ในกลุ่มเพคตินเนสมีจุดประสงค์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการ สกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเปลือกและเนื้อของแก้วมังกรแดง ได้แก่ สารให้สีม่วงแดงของเบต้า ไซยานิน สารประกอบฟีนอลิก สารต้านอนุมูลอิสระอื่นๆ โดยใช้เอนไซม์เพคตินเนสในการสกัดโดยไม่ ผ่านกระบวนการแยกกากหรือโยอาหารออก ทำให้สารสกัดที่ได้ยังคงรักษาองค์ประกอบเดิม แต่มี ความเข้มข้นมากขึ้น เพื่อความสะดวกในการนำไปใช้ปรุงแต่งสีและเนื้อสัมผัสในอาหาร ทดแทนสาร สังเคราะห์ เป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับวัตถุดิบทางการเกษตร นอกจากนี้ยังสามารถประยุกต์ใช้ใน อุตสาหกรรมต่อไปได้

2. วิธีการทดลอง

2.1 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล

นำแก้วมังกรที่คัดเลือกระดับความสุกได้แล้วแยกเป็นส่วนเปลือกและเนื้อ มาหาภาวะที่เหมาะสมในการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล โดยใช้สารควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล 2 ชนิด คือ กรดแอสคอร์บิก และกรดซิตริก ร่วมกับการให้ความร้อนด้วยไอน้ำ โดยตีปั่นด้วยเครื่องปั่นนาน 3 นาที แปรปริมาณสารควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ใช้เป็น 4 ระดับ คือ 0, 0.1, 0.2 และ 0.3% (w/w) แปรระยะเวลาในการให้ความร้อนเป็น 4 ระดับ คือ 0, 1, 2 และ 3 นาที เริ่มจับเวลาเมื่อจุดกึ่งกลางของตัวอย่างมีอุณหภูมิ 85°C และทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็ว วัดค่าสีในระบบ $L^* a^* b^*$ ด้วยเครื่อง Chroma meter แหล่งกำเนิดแสง D_{65} ที่ทุกภาวะการทดลอง จากนั้นนำภาวะที่เลือกมาทดสอบแยกทีละวิธีของเอนไซม์เพออกซิเดส เพื่อยืนยันว่าภาวะที่เลือกใช้สามารถควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลได้ ซึ่งการทดสอบแยกทีละวิธีของเอนไซม์เพออกซิเดสทำโดยดัดแปลงวิธีของ Pearson (1976)

2.2 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเปลือกและเนื้อแก้วมังกรแดงโดยใช้เอนไซม์เพคตินเนสทางการค้า (Pectinex[®] Ultra SP-L)

สกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเปลือกและเนื้อแก้วมังกรแดงที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล ด้วยเอนไซม์เพคตินเนสทางการค้าคือ Pectinex[®] Ultra SP-L โดยทำปฏิกิริยาในขวดแก้วสี่ขาขนาด 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 9×9 Factorial in CRD วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

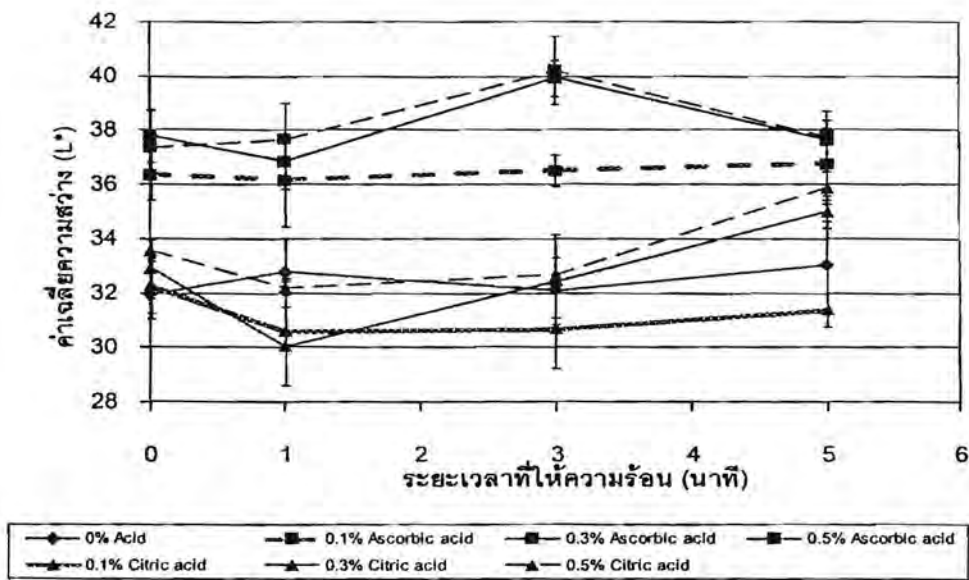
3. ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

3.1 ภาวะที่เหมาะสมในการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล

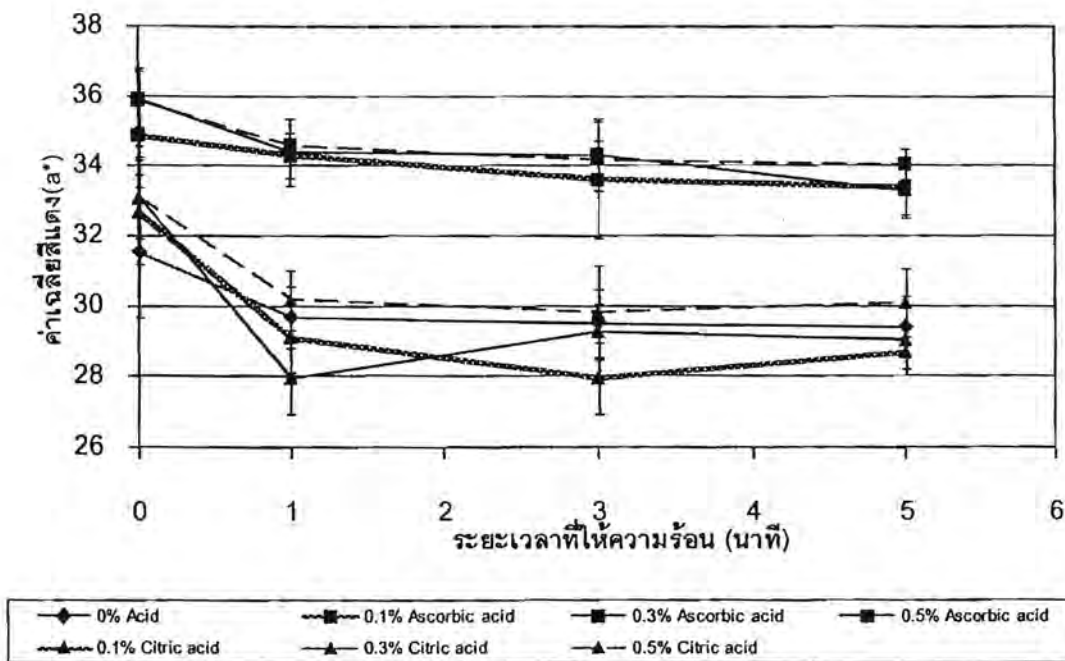
การเตรียมแก้วมังกรแดงก่อนนำไปย่อยสลายเอนไซม์ ต้องมีการปั่นละเอียดก่อนเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวในการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ เมื่อมีการหั่นและปั่นทำให้แก้วมังกรแดงเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลมากขึ้น ซึ่งในผักและผลไม้ส่วนใหญ่เกิดการทำงานของเอนไซม์ polyphenol oxidase

(PPO) เมื่อเนื้อเยื่อถูกทำลายทางกล เกิดปฏิกิริยาระหว่างสารประกอบ monophenol ที่อยู่ในเซลล์พืชกับออกซิเจนในอากาศโดยเอนไซม์ PPO ทำใหเกิดสาร o-diphenol ซึ่งถูกออกซิไดซ์ต่อไปเป็น o-quinone จากนั้นสารดังกล่าวที่เกิดขึ้นจะรวมตัวกันและเกิดปฏิกิริยา Maillard กับกรดอะมิโนหรือสารประกอบฟีนอลอื่น ๆ ได้สารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำตาล(Owusu-apenten,2005) ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีทั้งในเปลือกและเนื้อแก้วมังกรแดง ดังนั้นจึงต้องมีการควบคุมปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาล ก่อนนำไปใช้ในการย่อยสลายด้วยเอนไซม์

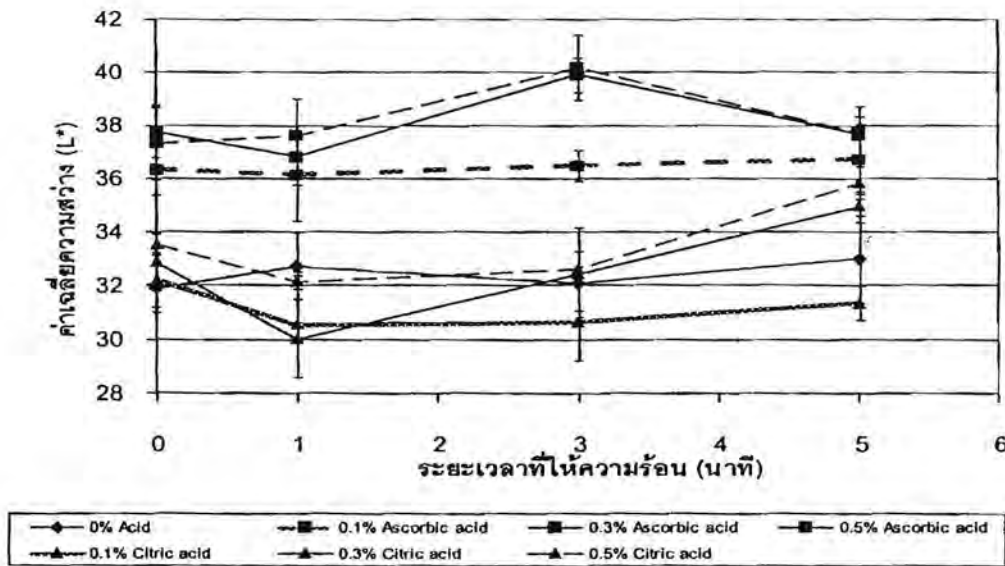
การทดลองเลือกใช้กรดอินทรีย์ 2 ชนิด คือ กรดแอสคอร์บิก และกรดซิตริก ซึ่งมีหน้าที่ในการควบคุมปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลต่างกัน กรดแอสคอร์บิกทำหน้าที่เป็นสารรีดิวซ์ o-quinone ให้กลับมาอยู่ในรูปของ o-diphenol ทำให้ไม่เกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล ส่วนกรดซิตริกทำหน้าที่เป็นสารป้องกันการเกิดสีน้ำตาลกลุ่ม acidulant โดยทำให้ค่า pH ลดลง เมื่อ pH ต่ำกว่าค่า optimum pH ของเอนไซม์ PPO (pH 5-7) จะช่วยลดแอกติวิตีของเอนไซม์ได้เมื่อใช้กรดร่วมกับการให้ความร้อนจนจุดกึ่งกลางมีอุณหภูมิ 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) ตามลำดับ ร่วมกับการให้ความร้อนด้วยไอน้ำเป็นเวลา 3 นาที และเมื่อนำภาวะที่ได้ไปทดสอบแอกติวิตีของเอนไซม์ peroxidase (POD) เพื่อเป็นการยืนยันว่าเป็นภาวะที่สามารถควบคุมปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลได้ พบว่าไม่พบแอกติวิตีของเอนไซม์ POD แสดงผลของค่าเฉลี่ยความสว่าง (L^*) และค่าสีแดง ($+a^*$) ของเปลือกและเนื้อแก้วมังกรแดงที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ ดังรูปที่ 7.1-7.4



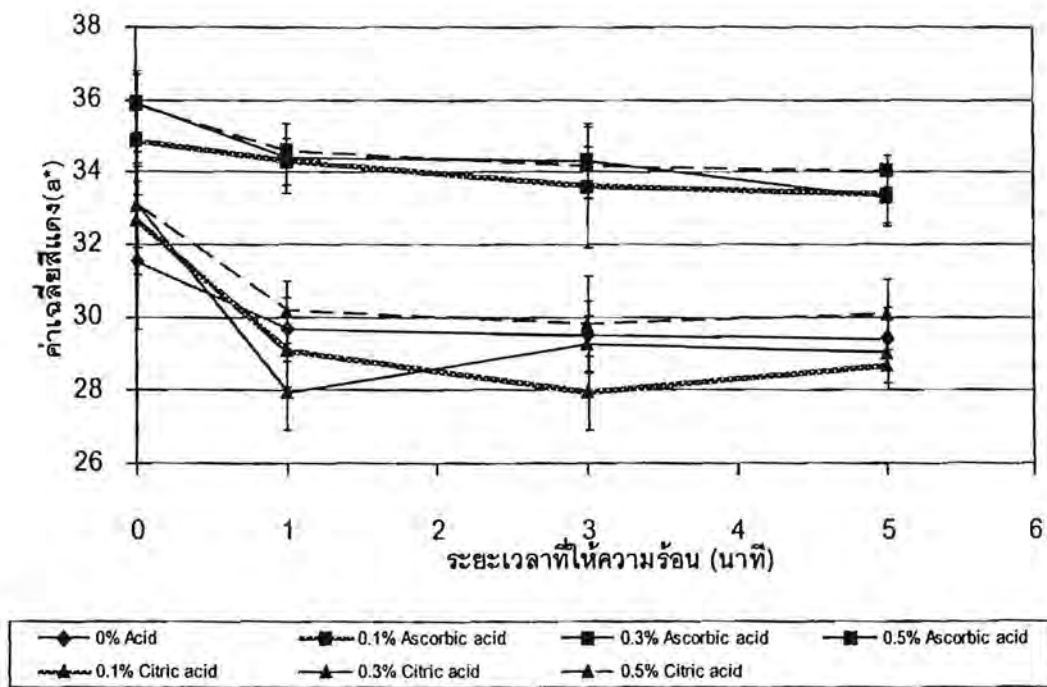
รูปที่ 7.1 ค่าเฉลี่ยความสว่าง (L*) ของเนื้อแก้วมังกรแดงที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ



รูปที่ 7.2 ค่าเฉลี่ยสีแดง (+a*) ของเนื้อแก้วมังกรแดงที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ



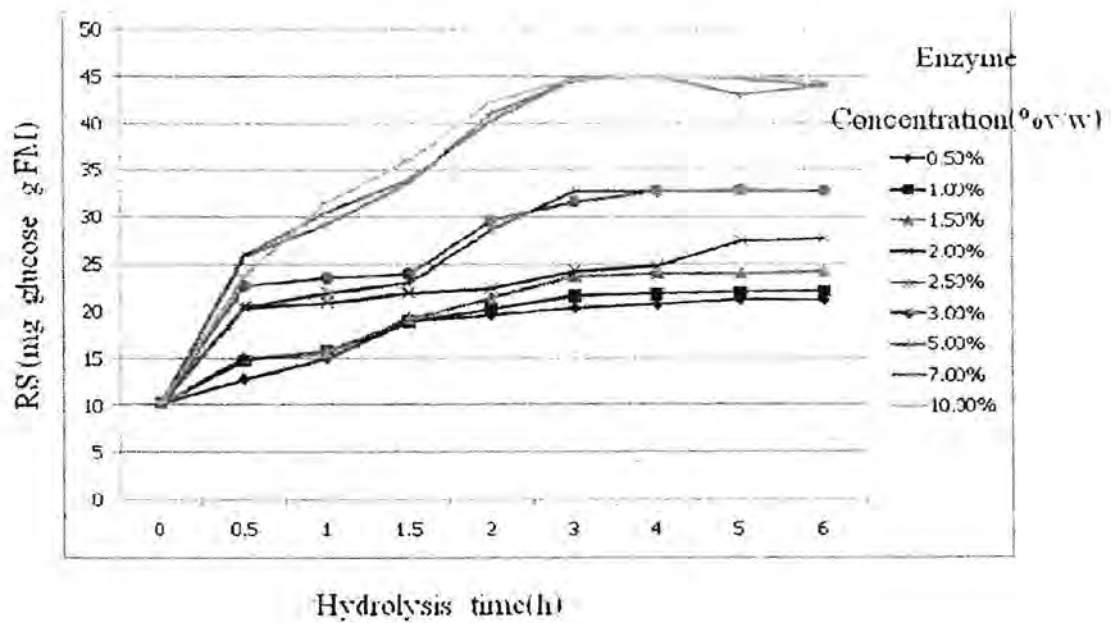
รูปที่ 7.3 ค่าเฉลี่ยความสว่าง (L*) ของเปลือกแก้วมังกรแดงที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ



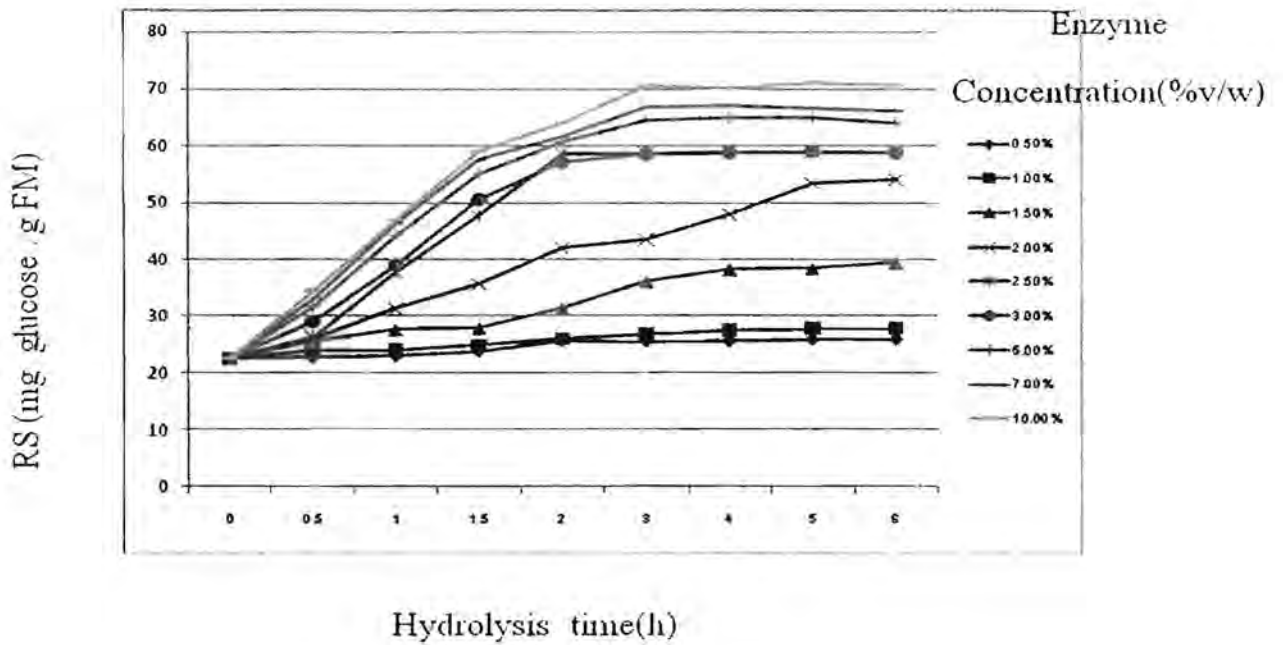
รูปที่ 7.4 ค่าเฉลี่ยสีแดง (+a*) ของเปลือกแก้วมังกรแดงที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ

3.2 ศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเปลือกและเนื้อแก้วมังกรแดงโดยใช้เอนไซม์เพคตินเนสทางการค้า(Pectinex[®] Ultra SP-L)

จากการติดตามการทำงานของเอนไซม์ โดยพิจารณาจากปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดจากการตัดพันธะไกลโคซิดของพอลิเมอร์ในเปลือกและเนื้อแก้วมังกรแดง เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในเปลือกและเนื้อแก้วมังกรแดง พบว่า ความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาการย่อยมีอิทธิพลต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) และพบผลของอิทธิพลร่วมระหว่างปัจจัยทั้งสองอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) จากผลการทดลองรูปที่ 7.5-7.6 พบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาการย่อยเปลือกและเนื้อแก้วมังกรแดง จะมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ซึ่งปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เพิ่มขึ้น เกิดจากการตัดพันธะไกลโคซิดของพอลิเมอร์ในเปลือกและเนื้อแก้วมังกรแดงที่ มากขึ้น โดยเอนไซม์เพคตินเนส เซลลูเลส และเฮมิเซลลูเลส จะย่อยสลายพันธะไกลโคซิดของสารประกอบเพกทิน เซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสตามลำดับ ที่บริเวณผนังเซลล์ของเนื้อเยื่อพืช(ปราณี, 2547; Grohmann and Baldwin, 1992; Sreenath et al., 1999) ทั้งนี้เอนไซม์ Pectinex[®] Ultra SP-L ประกอบด้วยเอนไซม์หลายชนิดดังกล่าว จึงสามารถช่วยเสริมการย่อยสลายสารประกอบต่างๆ ที่บริเวณผนังเซลล์ของเนื้อเยื่อพืชได้ดีขึ้น (Pilnik and Rombouts, 1979)



รูปที่ 7.5 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในเปลือกแก้วมังกรที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ ความเข้มข้น 0-10% เป็นเวลาต่างกัน



รูปที่ 7.6 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในเนื้อแก้วมังกรที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ ความเข้มข้น 0-10% เป็นเวลาต่างกัน

โดยพบว่าการใช้เวลาย่อยนาน 3 ชั่วโมง ที่เอนไซม์ความเข้มข้น 0.5-7.0% (v/w) เป็นภาวะที่เปลือกแก้วมังกร มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์หรือมีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลครอบคลุมจากช่วงต่ำไปสูง ซึ่งปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้มีค่าไม่แตกต่างกับภาวะที่ใช้เวลา 4-6 ชั่วโมง อย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) และเมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่า ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในเปลือกแก้วมังกรที่ได้จากการย่อยเป็นเวลา 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 1 ดังนั้นจึงเลือกใช้เวลาการย่อย 3 ชั่วโมง เอนไซม์ที่ความเข้มข้น 0.5, 2.5 และ 5.0% (v/w) เป็นตัวแทนเพื่อศึกษาผลของระดับการตัดพันธะไกลโคซิลของพอลิเมอร์ในเปลือกแก้วมังกรแดงด้วยเอนไซม์ที่มีต่อสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้แก่ สารให้สีของเบต้าไซยานิน ปริมาณสารฟีนอลิก และสารต้านอนุมูลอิสระอื่นๆ และเลือกใช้เอนไซม์ที่ความเข้มข้น 5.0% (v/w) เวลาการย่อย 3 ชั่วโมง ซึ่งเป็นภาวะที่เปลือกแก้วมังกรแดงมีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลด้วยเอนไซม์สูงสุดในช่วงที่ศึกษา เป็นตัวแทนเพื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณใยอาหาร และความคงตัวของเบต้าไซยานิน เปรียบเทียบกับเปลือกแก้วมังกรแดงตีปั่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาล

ตารางที่ 7.1 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยสลายเปลือกแก้วมังกรแดงด้วยเอนไซม์เพคตินเนสความเข้มข้นต่างกันเป็นเป็นเวลา 3 ชม.

Concentration (%v/w)	Reducing sugars (mg glucose/g fw)
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

ในส่วนเนื้อแก้วมังกรแดงพบว่าการใช้เวลาย่อยนาน 3 ชั่วโมง ที่เอนไซม์ความเข้มข้น 0.5-10.0% (v/w) เป็นภาวะที่เนื้อแก้วมังกร มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์หรือมีระดับการตัดพันธะไกลโคซิดัลครอบคลุมจากช่วงต่ำไปสูง และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้มีค่าไม่แตกต่างกับภาวะที่ใช้เวลา 4-6 ชั่วโมง อย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่า ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในเนื้อแก้วมังกรที่ได้จากการย่อยที่เวลาย่อย 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 7.2 ดังนั้นจึงเลือกใช้เวลาการย่อย 3 ชั่วโมง เอนไซม์ที่ความเข้มข้น 0.5, 2.5 และ 10.0% (v/w) เป็นตัวแทนเพื่อศึกษาผลของระดับการตัดพันธะไกลโคซิดัลของพอลิเมอร์ในเนื้อแก้วมังกรแดงด้วยเอนไซม์ที่มีต่อสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้แก่ สารให้สีของเบต้าไซยานิน ปริมาณสารฟีนอลิก และสารต้านอนุมูลอิสระอื่นๆ และเลือกใช้เอนไซม์ที่ความเข้มข้น 10.0% (v/w) เวลาการย่อย 3 ชั่วโมง ซึ่งเป็นภาวะที่เนื้อแก้วมังกรแดงมีระดับการตัดพันธะไกลโคซิดัลด้วยเอนไซม์สูงสุดในช่วงที่ศึกษา เป็นตัวแทนเพื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณใยอาหาร และความคงตัวของเบต้าไซยานิน เปรียบเทียบกับเนื้อแก้วมังกรแดงที่ปั่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาล

ตารางที่ 7.2 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยสลายเนื้อแก้วมังกรแดงด้วยเอนไซม์เพคตินเนส ความเข้มข้นต่างกันเป็นเวลา 3 ชม.

Concentration (%v/w)	Reducing sugars (mg glucose/g fw)
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

4. สรุปผลการทดลอง

จากการทดลองหาภาวะที่ใช้ในการควบคุมปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลโดยใช้กรดอินทรีย์ 2 ชนิด คือ กรดแอสคอร์บิกและกรดซิตริก พบว่าภาวะที่เหมาะสมในเปลือกและเนื้อคือ เติมกรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 0.2 และ 0.1 % (w/w) ตามลำดับร่วมกับการให้ความร้อนจนจุดกึ่งกลางมีอุณหภูมิ 85°C นาน 3 นาที ขั้นตอนสุดท้ายนำเปลือกและเนื้อที่ได้มาย่อยสลายด้วยเอนไซม์กลุ่มเพคตินเนส โดยแปรระยะเวลาการย่อย 0-6 ชั่วโมง และแปรความเข้มข้นเอนไซม์ในช่อง 0-10.0% (v/w) โดยติดตามความสามารถในการย่อยสลายด้วยเอนไซม์จากปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์พบว่า ในส่วนเปลือก ที่เวลา 3 ชั่วโมง ความเข้มข้นของเอนไซม์เป็น 0.5, 2.5 และ 5.0%(v/w)สามารถแบ่งระดับของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เป็น 3 ช่วง คือ 20, 32 และ 45 mg glucose / g fw และในส่วนเนื้อที่เวลา 3 ชั่วโมง ความเข้มข้นของเอนไซม์เป็น 0.5, 2.5 และ 10.0%(v/w) สามารถแบ่งระดับของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เป็น 3 ช่วง คือ 26, 59 และ 71 mg glucose / g fw โดยภาวะดังกล่าวจะใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ สารให้สีม่วงแดงของเบต้าไซยานิน สารประกอบฟีนอลิก และสารต้านอนุมูลอิสระอื่นๆ

5. เอกสารอ้างอิง

- นฤมล มานีพพาน. 2548. แก้วมังกร. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
 ปรานี อานเป็รื่อง. 2547. เอนไซม์ทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์แห่ง
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
 Dris, R. and Jain, S. M. 2004. Production Practices and Quality Assessment of Food Crops. Netherlands: Kluwer Academic Publishers.

- El-Shimi, N.M., 1993. Control of enzymatic browning in apple slices by using ascorbic acid under different conditions. Plant Foods for Human Nutrition. 43: 71-76.
- Grohmann, K. and Baldwin, E. A. 1992. Hydrolysis of orange peel with pectinase and cellulase enzymes. Biotechnology Letters. 14(12): 1169-1774.
- Nelson, N. 1944. Determination of glucose. Journal Biological and Chemistry. 153: 375-380.
- Owusu-Apenten. 2005. Introduction to Food Chemistry.
- Pearson, D. 1970. The Chemical Analysis of Food. 6th ed. New York: Chemical Publishing.
- 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.
- Sapers, G.M., and Miller, R.L. 1995. Heated Ascorbic/Citric Acid Solution as Browning Inhibitor for Pre-Peeled Potatoes. Journal of Food Science. 60(4): 762-766.
- Sapers, G. M., Hicks, K.B., Phillips, J.P., Garzarella, L., Pondish, D.L., Matulaitis, McCormack, T.J., Sondey, S.M., Seib, P.A., and Ei-Atawy, Y.S. 1989. Control of Enzymatic Browning in Apple with Ascorbic Acid Derivatives, Polyphenol Oxidase Inhibitors, and Complexing Agents. Journal of Food Science. 54(4): 997-1002.
- 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.

ชุดโครงการวิจัยย่อยที่ 8

การสกัดสารหน้าที่เฉพาะจากแคนตาลูป *Cucumis melo* var. *cantalupensis*
พันธุ์ชั้นเลิศด้วยเอนไซม์

ENZYMATIC EXTRACTION OF FUNCTIONAL SUBSTANCES FROM
CANTALOUPE *Cucumis melo* var. *cantalupensis* HYBRID SUNLADY

โดย น.ส. นฎกพร วุฒิสีทธิ์และ รศ.ดร. ปราณี อำนเป็รื่อง

ตอนที่ 2

การควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลและผลการย่อยสลายเนื้อและรกของแคนตาลูปด้วย
เอนไซม์เพคติเนสทางการค้า(Pectinex[®] Ultra SP-L)

บทคัดย่อ

จากการศึกษาการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลของแคนตาลูปที่มีอายุการเก็บเกี่ยว 45 วันหลังออกดอก มาบ่มเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิห้อง $30 \pm 2^{\circ}\text{C}$ และควบคุมปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลในเนื้อและรกของแคนตาลูปโดยใช้กรดอินทรีย์ 2 ชนิด คือ กรดแอสคอร์บิกและกรดซิตริก แปรความเข้มข้นกรดในช่วง 0-0.3%(w/w) ร่วมกับการให้ความร้อนด้วยไอน้ำจนจุดกึ่งกลางมีอุณหภูมิ 85°C แปรเวลาการให้ความร้อนในช่วง 0-3 นาที พบว่า ในเนื้อเติมกรดแอสคอร์บิก 0.2%(w/w) ระยะเวลา 3 นาที ส่วนในรกเติมกรดแอสคอร์บิก 0.1%(w/w) ระยะเวลา 2 นาที หลังจากนั้น นำแคนตาลูปที่ได้มาย่อยสลายด้วยเอนไซม์ความเข้มข้น 0-3 %(v/w) ที่ระยะเวลาการย่อยเป็น 0-6 ชั่วโมง โดยแบ่งระดับของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในเนื้อเป็น 6 ระดับ คือ A-F = 37-58 mg glucose/ gFM ส่วนในรก แบ่งเป็น 5 ระดับ คือ A-E= 23-43 mg glucose/ gFM คัดเลือกเป็นตัวแทนเพื่อศึกษาลักษณะเฉพาะในการต้านการออกซิเดชัน ปริมาณเบต้าแคโรทีน วิตามินซี ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด รวมทั้งใยอาหารทั้งหมด และสารระเหย ที่มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อระดับของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เปลี่ยนแปลงไปเมื่อผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ด้วยเอนไซม์เพคติเนสทางการค้า(Pectinex[®] Ultra SP-L)

1. บทนำ

แคนตาลูป เป็นแตงเทศชนิดหนึ่งอยู่ในตระกูล *Cucurbitaceae* มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Cucumis melo var. cantalupensis* เป็นผลไม้ที่สามารถบ่มให้สุกได้ (climateric fruit) ในการเตรียมตัวอย่างแคนตาลูปเมื่อมีการหั่นและบั่นทำให้แคนตาลูปเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลมากขึ้น ซึ่งในผักและผลไม้ส่วนใหญ่เกิดการดำเนินงานของเอนไซม์ polyphenol oxidase (PPO) เมื่อเนื้อเยื่อถูกทำลายทางกล เกิดปฏิกิริยาระหว่างสารประกอบ monophenol ที่อยู่ในเซลล์พืชกับออกซิเจนในอากาศโดยเอนไซม์ PPO ทำให้เกิดสาร o-diphenol ซึ่งถูกออกซิไดซ์ต่อไปเป็น o-quinone จากนั้น quinone ที่เกิดขึ้นจะรวมตัวกันและเกิดปฏิกิริยา Maillard กับกรดอะมิโนหรือสารประกอบฟีนอลอื่น ๆ ได้ สารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำตาล (Owusu-apenten, 2005) ดังนั้นจึงต้องมีการควบคุมปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลในเนื้อและรกของแคนตาลูปก่อนนำไปใช้ในการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ โดยใช้ความร้อนร่วมกับการสารเคมี คือกรดแอสคอร์บิกทำหน้าที่เป็นสารรีดิวซ์ โดยจะรีดิวซ์ o-quinone ให้กลับมาอยู่ในรูปของสารประกอบฟีนอล ก่อนที่ o-quinone จะทำปฏิกิริยาต่อไปจนกลายเป็นสารสีน้ำตาล ส่วน กรดซิตริกทำหน้าที่เป็นสารป้องกันการเกิดสีน้ำตาลโดยลดค่า pH ให้ต่ำกว่าค่า optimum pH ของเอนไซม์ PPO ส่งผลให้เอนไซม์มีแอกทิวิตีลดลง (El-Shimi, 1993; Sapers และ Miller, 1995; Sapers และคณะ, 1989;) และนำมาสกัดด้วยเอนไซม์ในกลุ่มเพกทิเนสมีจุดประสงค์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดสารหน้าที่เฉพาะต่าง ๆ เช่นฤทธิ์ในการต้านการออกซิเดชัน ปริมาณเบต้าแคโรทีน วิตามินซี สารฟีนอลิกทั้งหมด สารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด รวมทั้งใยอาหารทั้งหมด แยกเป็นใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำและใยอาหารที่ละลายน้ำ และสารระเหย โดยเอนไซม์เพกทิเนสทางการค้า Pectinex[®] Ultra SP-L (10,292 PGU/ml) ผลิตจากเชื้อกลุ่ม *Aspergillus aculeatus* (Najafian และคณะ, 2009) ประกอบด้วยเอนไซม์พอลิกลาแลกทูโรเนส เพกทินไลเอส เพกทินเอสเทอเรส เป็นหลัก โดยมีเอนไซม์เฮมิเซลลูเลส เซลลูเลส โปรติเอส และ อะไมเลส ช่วยเสริมการย่อยสลายโมเลกุลต่างๆที่บริเวณผนังเซลล์ของพืช (Mutlu และคณะ, 1999) เป็นของเหลวสีน้ำตาลเข้ม และมีกลิ่นหมักเล็กน้อย มี pH ประมาณ 4.5 สามารถละลายน้ำได้ดีที่ทุกความเข้มข้น (Wilkins และคณะ, 2007)

2. วิธีการทดลอง

2.1 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล

นำแคนตาลูปที่คัดเลือกระดับการสุกได้แล้วทั้งเนื้อและรกของแคนตาลูป มาหาภาวะที่เหมาะสมในการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล โดยใช้สารควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล 2 ชนิด คือ กรดแอสคอร์บิก และกรดซิตริก ร่วมกับการให้ความร้อนด้วยไอน้ำ โดยบดละเอียดด้วยเครื่องปั่นผสมนาน 3 นาที แปรปริมาณสารควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ใช้เป็น 4 ระดับ คือ 0,

0.1, 0.2 และ 0.3% (w/w) แปรระยะเวลาในการให้ความร้อนเป็น 4 ระดับ คือ 0, 1, 2 และ 3 นาที สำหรับเนื้อ และรก ตามลำดับ เริ่มจับเวลาเมื่อจุดกึ่งกลางของตัวอย่างมีอุณหภูมิ 85°C และทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็ว วัดค่าสีในระบบ $L^* a^* b^*$ ด้วยเครื่อง Chroma meter แหล่งกำเนิดแสง D_{65} ที่ทุกภาวะการทดลอง จากนั้นนำภาวะที่เลือกมาทดสอบแอกทิวิตีของเอนไซม์เพอออกซิเดส เพื่อยืนยันว่าภาวะที่เลือกใช้สามารถควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลได้ ซึ่งการทดสอบแอกทิวิตีของเอนไซม์เพอออกซิเดสทำโดยดัดแปลงวิธีของ Pearson (1970)

2.2 ผลการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เพคตินเนสทางการค้า (Pectinex[®] Ultra SP-L)

นำแคนตาลูปทั้งเนื้อและรกที่ผ่านการควบคุมการเกิดสีน้ำตาลมาย่อยสลายด้วยเอนไซม์เพคตินเนสทางการค้าคือ Pectinex[®] Ultra SP-L จาก Novozymes Switzerland AG, Dittengen, Switzerland โดยทำปฏิกิริยาในขวดแก้วสีชาขนาด 250 มิลลิลิตร แบบ batch ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 ± 5 องศาเซลเซียส และกวนผสมด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที แปรความเข้มข้นของเอนไซม์เป็น 7 ระดับ คือ 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 และ 3.0% (v/w) และแปรเวลาการย่อยเป็น 9 ระดับ คือ 0, 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 5 และ 6 ชั่วโมง หยุดปฏิกิริยาเอนไซม์โดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 95 ± 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 5 นาที และติดตามการย่อยสลายด้วยเอนไซม์จากปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar; RS) ตามวิธีของ Nelson (1944)

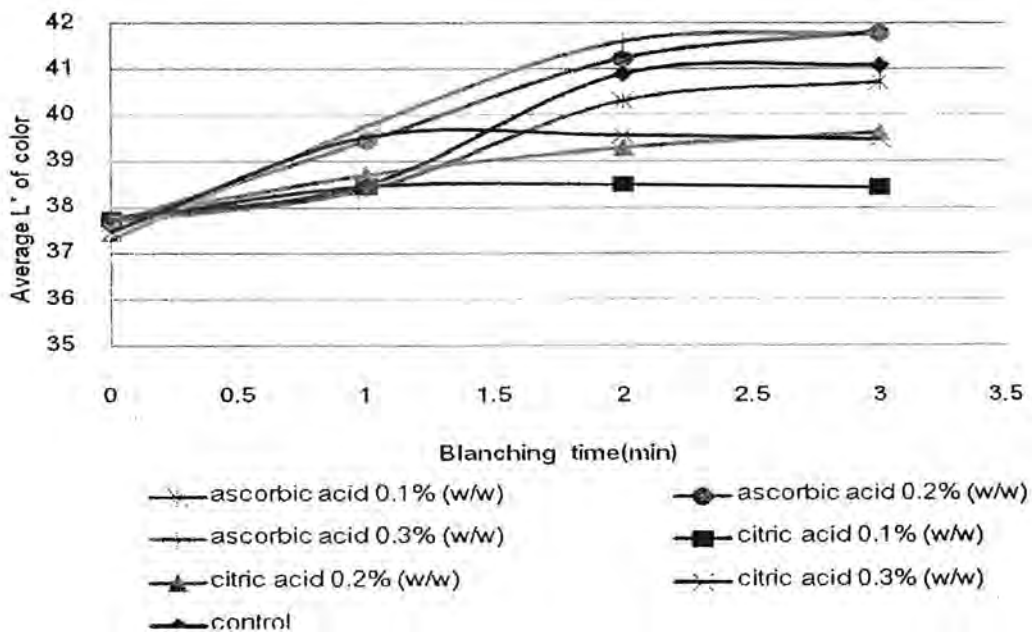
3. ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

3.1 ภาวะที่เหมาะสมในการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล

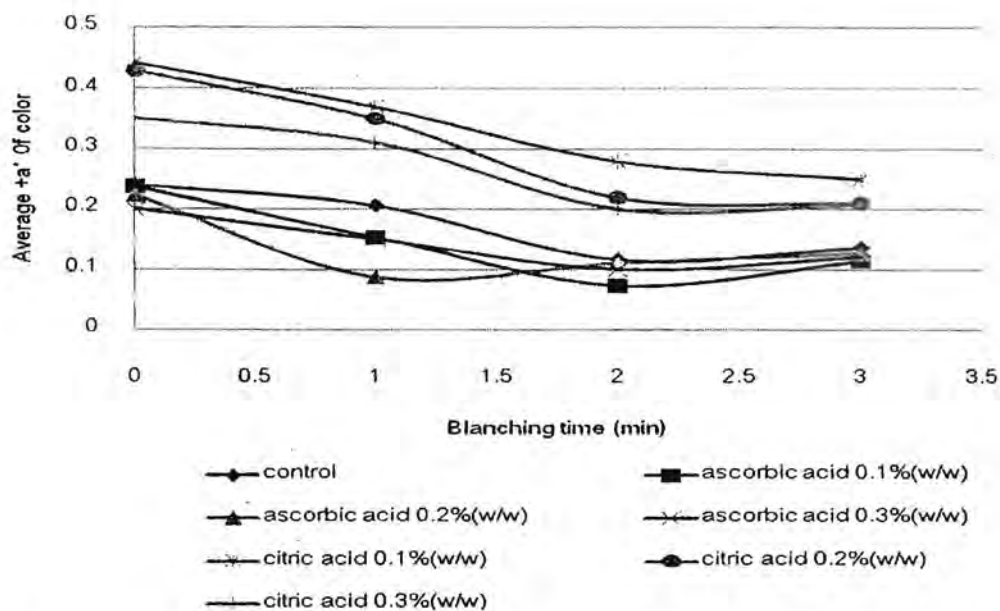
การเตรียมแคนตาลูปก่อนลงเอนไซม์ ต้องมีการบั่นละเอียดก่อนเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวในการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ เมื่อมีการหั่นและบั่นทำให้แคนตาลูปเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลมากขึ้น ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีทั้งในเนื้อและรกของแคนตาลูป ดังนั้นจึงต้องมีการควบคุมปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลในเนื้อและรกของแคนตาลูปก่อนนำไปใช้ในการย่อยสลายด้วยเอนไซม์

การทดลองเลือกใช้กรดอินทรีย์ 2 ชนิด คือ กรดแอสคอร์บิก และกรดซิตริก ซึ่งมีหน้าที่ในการควบคุมปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลต่างกัน กรดแอสคอร์บิกทำหน้าที่เป็นสารรีดิวซ์ โดย o-quinone ให้กลับมายุในรูปของ o-diphenol ทำให้ไม่เกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล ส่วนกรดซิตริกทำหน้าที่เป็นสารป้องกันการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลในกลุ่ม acidulant โดยทำให้ค่า pH ลดลง เมื่อ pH ต่ำกว่าค่า optimum pH ของเอนไซม์ PPO (pH 5-7) จะช่วยลดแอกทิวิตีของเอนไซม์ได้ ร่วมกับการให้ความร้อนจนจุดกึ่งกลางมีอุณหภูมิ 85 °C เพื่อทดสอบอิทธิพลร่วมระหว่างชนิดกับปริมาณสารควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลและระยะเวลาในการให้ความร้อน พบว่าเนื้อแคนตาลูปเมื่อเติมกรดซิตริกควบคู่กับการให้ความร้อนด้วยไอน้ำทำให้มีค่าความสว่าง (L^*) ค่าสีเหลือง ($+b^*$) และค่าสีแดง ($+a^*$)

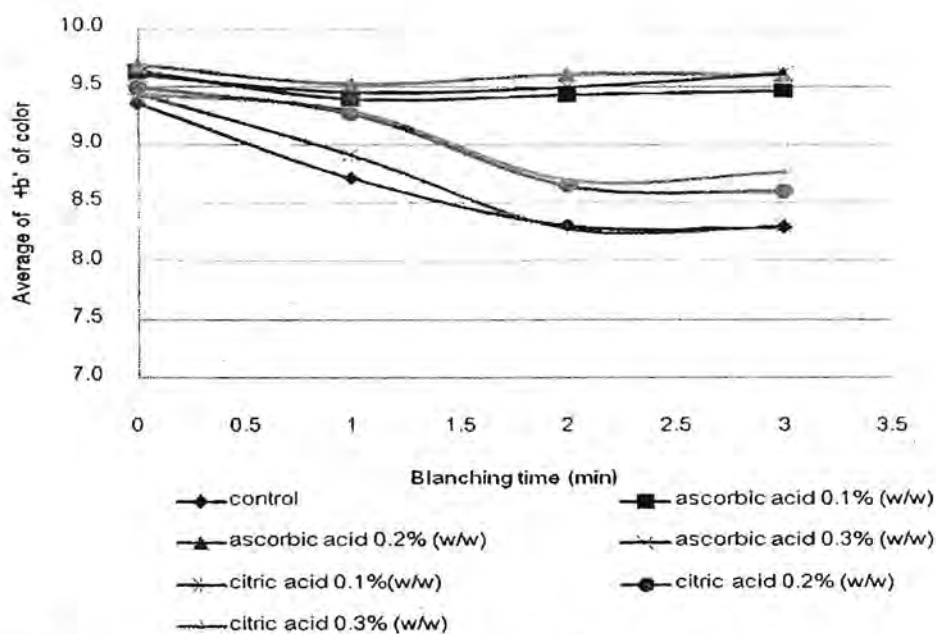
ใกล้เคียงกับที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลด้วยการให้ความร้อนเพียงอย่างเดียว เนื่องจากกรดซิตริกที่ใช้ปริมาณน้อยเกินไป จึงทำให้ยังมีค่า pH ใกล้เคียงกับ optimum pH ของเอนไซม์ PPO แต่การเติมกรดซิตริกในปริมาณมากเกินไป ส่งผลให้แคนตาลูปมีรสเปรี้ยวมีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภค แต่การเติมกรดแอสคอร์บิกควบคู่กับการให้ความร้อนจะช่วยลดปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลเมื่อเทียบกับที่ผ่านการให้ความร้อนเพียงอย่างเดียว จากผลการทดลองพบว่า การเติมกรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 0.2 และ 0.3 % (w/w) ร่วมกับการให้ความร้อนด้วยไอน้ำนาน 3 นาที โดยเนื้อจะมีค่าความสว่าง (L^*) และค่าสีเหลือง ($+b^*$) สูงที่สุด ส่วนค่าสีแดง ($+a^*$) จะมีค่าต่ำที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ดังนั้นจึงเลือกการเติมกรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 0.2% (w/w) ร่วมกับการให้ความร้อนด้วยไอน้ำเป็นเวลา 3 นาที เนื่องจากภาวะในการใช้กรดน้อยกว่า 0.3% (w/w) และเมื่อนำภาวะที่ได้ไปทดสอบแอกติวิตีของเอนไซม์ peroxidase (POD) เพื่อเป็นการยืนยันว่าเป็นภาวะที่สามารถควบคุมปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลได้ พบว่าไม่พบแอกติวิตีของเอนไซม์ POD แสดงผลของค่าเฉลี่ยความสว่าง (L^*) ค่าสีแดง ($+a^*$) และค่าสีเหลือง ($+b^*$) ของเนื้อ แคนตาลูปที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ ดังรูปที่ 8.1-8.3



รูปที่ 8.1 ค่าเฉลี่ยความสว่าง (L^*) ของเนื้อแคนตาลูปที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ

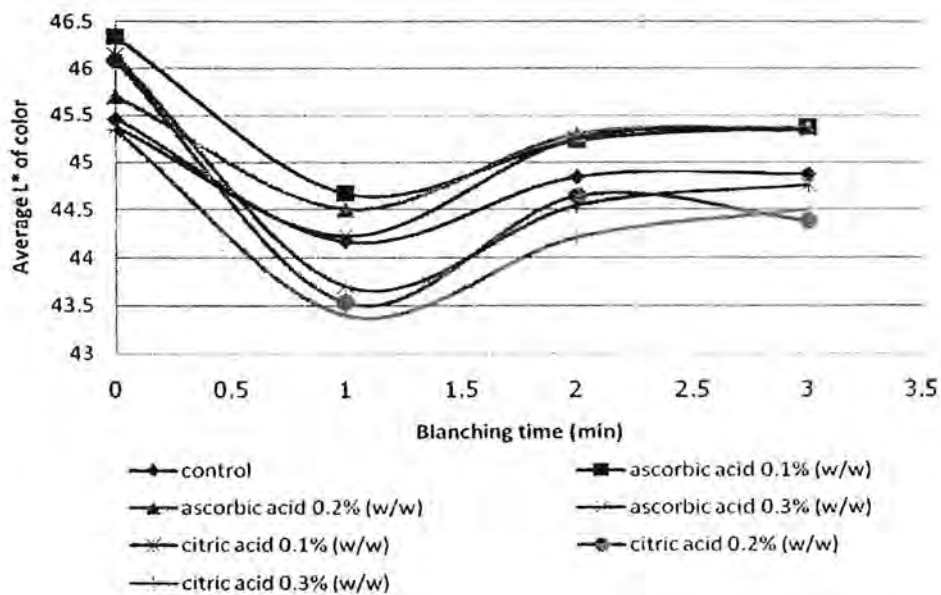


รูปที่ 8.2 ค่าเฉลี่ยสีแดง (+a*) ของเนื้อแคนตาลูปที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ

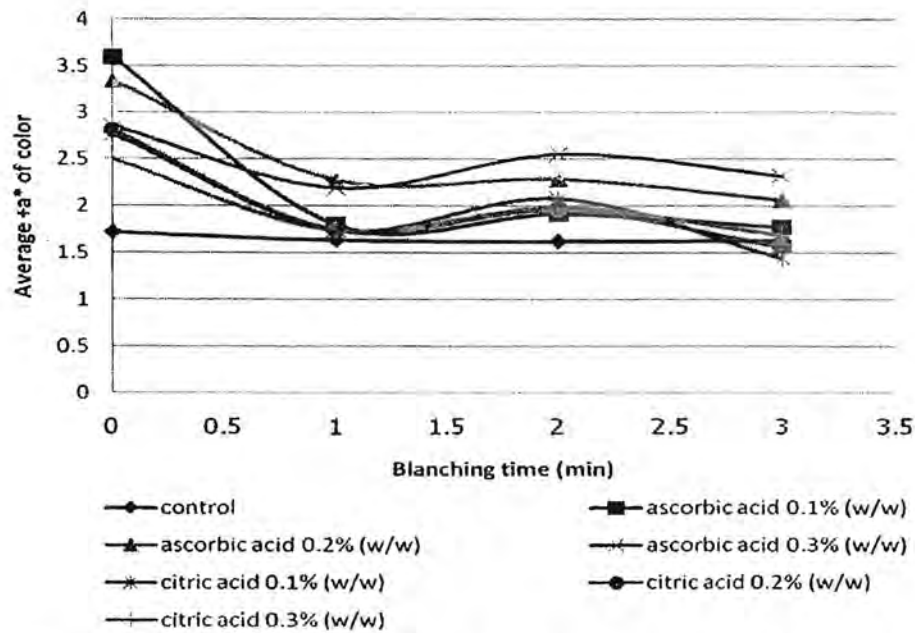


รูปที่ 8.3 ค่าเฉลี่ยสีเหลือง (+b*) ของเนื้อแคนตาลูปที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ

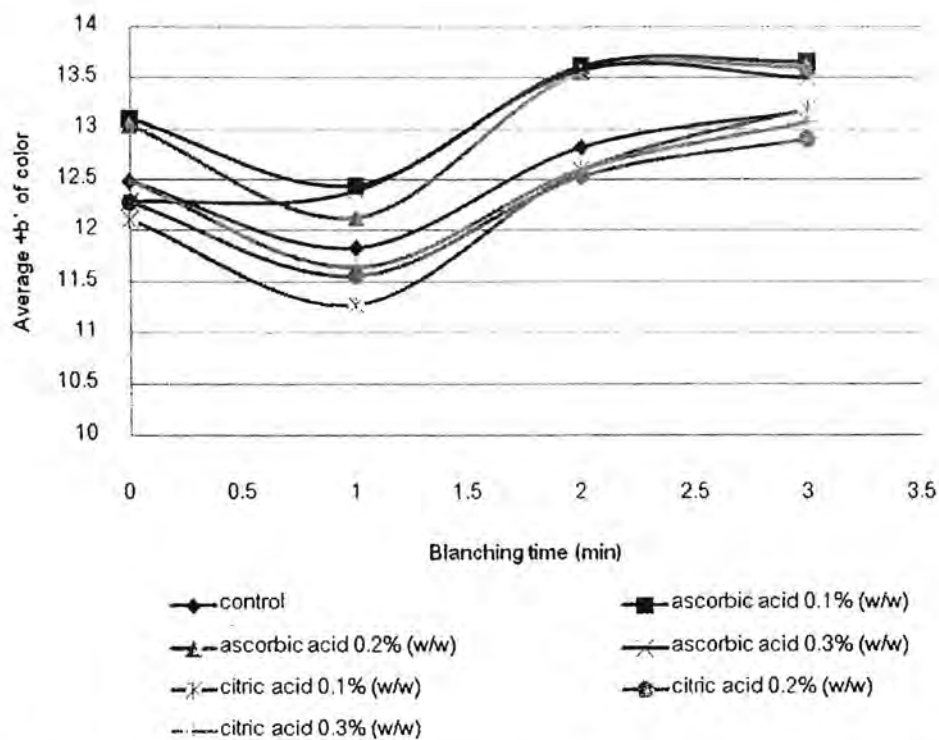
สำหรับในรอกพบว่า การเติมกรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 0.1-0.3 % (w/w) ร่วมกับการให้ความร้อนด้วยไอน้ำนาน 2 นาที โดยเนื้อจะมีค่าความสว่าง (L^*) และค่าสีเหลือง ($+b^*$) สูงที่สุด ส่วนค่าสีแดง ($+a^*$) จะมีค่าต่ำที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ดังนั้นจึงเลือกการเติมกรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 0.1% (w/w) ร่วมกับการให้ความร้อนด้วยไอน้ำเป็นเวลา 2 นาที เนื่องจากภาวะในการใช้กรดน้อยกว่า 0.2 และ 0.3% (w/w) และเมื่อนำภาวะที่ได้ไปทดสอบแอกติวิตีของเอนไซม์ POD เพื่อเป็นการยืนยันว่าเป็นภาวะที่สามารถควบคุมปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลได้ พบว่าไม่พบแอกติวิตีของเอนไซม์ POD แสดงผลของค่าเฉลี่ยความสว่าง (L^*) ค่าสีแดง ($+a^*$) และค่าสีเหลือง ($+b^*$) ของรอกแคนตาลูปที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ ดังรูปที่ 8.4-8.6



รูปที่ 8.4 ค่าเฉลี่ยความสว่าง (L^*) ของรอกแคนตาลูปที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ



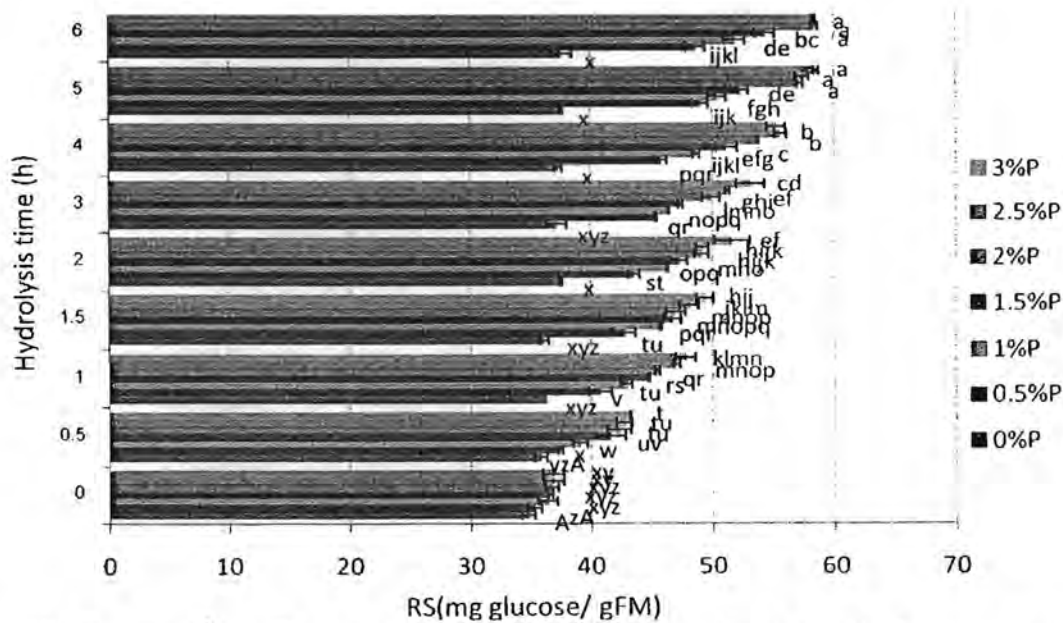
รูปที่ 8.5 ค่าเฉลี่ยสีแดง (+a*) ของรกแคนตาลูปที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ



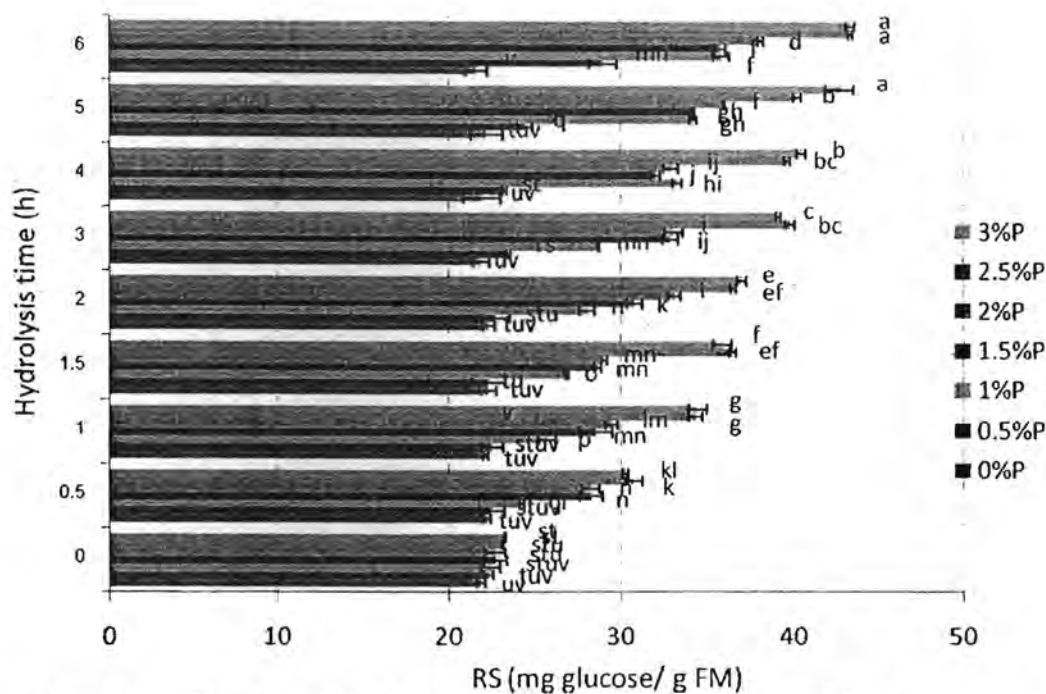
รูปที่ 8.6 ค่าเฉลี่ยสีเหลือง (+b*) ของรกแคนตาลูปที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ

3.2 ผลการย่อยสลายเนื้อและรกของแคนตาลูปที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เพคตินเนสทางการค้า(Pectinex[®] Ultra SP-L)

จากการติดตามการทำงานของเอนไซม์เพคตินเนสทางการค้า Pectinex[®] Ultra SP-L โดยพิจารณาจากปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในเนื้อและรกของแคนตาลูปแสดงผลดังรูปที่ 8.7 และ 8.8 ตามลำดับ พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาการย่อยส่งผลให้ในเนื้อและรกของแคนตาลูปส่งผลให้มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ($p \leq 0.05$) ทั้งนี้เนื่องจาก Pectinex[®] Ultra SP-L ซึ่งประกอบเอนไซม์หลายชนิด คือ พอลิกลแลกทูโรเนส เพกทินไลเอส เพกทินเอสเทอเรส เฮมิเซลลูเลส เซลลูเลส โปรติเอส และ อะไมเลส จะย่อยสลายพันธะไกลโคซิดของสารประกอบเพกทิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส ที่บริเวณผนังเซลล์ของเนื้อเยื่อผลไม้ ส่งผลให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงขึ้น (Grohman and Baldwin, 1992; Multu และคณะ, 1999)



รูปที่ 8.7 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์(RS) ในเนื้อแคนตาลูปที่ได้ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ Pectinex Ultra SP-L[®] ที่ความเข้มข้นและเวลาการย่อยต่างๆ



รูปที่ 8.8 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์(RS) ในรกแคนตาลูปีที่ได้ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ Pectinex Ultra SP-L® ที่ความเข้มข้นและเวลาการย่อยต่างๆ

ตารางที่ 8.1 ผลการแบ่งระดับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในเนื้อและรกที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ Pectinex Ultra SP-L® ความเข้มข้น 0-3%(v/w) ที่ระยะเวลาการย่อยเป็น 0-6 ชั่วโมง

Code	RS(mgglucose/gFM)	
	flesh	placenta
A	37-38	23-24
B	42-43	28-30
C	45-47	32-36
D	48-49	38-40
E	50-53	41-43
F	57-58	

โดยพบว่าการใช้เอนไซม์ความเข้มข้นตั้งแต่ 0-3% v/w ระยะเวลาในการย่อย 0-6 ชั่วโมง เป็นภาวะที่มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์หรือมีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลครอบคลุมจากช่วงต่ำไปสูง ในเนื้อและรกมีช่วง 37- 58 และ 23- 43 mg glucose/ g FM ตามลำดับ โดยแบ่งเป็น code ดังนี้เนื้อเป็น A-F ส่วน รกเป็น A-E แสดงในตารางที่ 8.1 โดย codeเดียวกันแทนปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ไม่แตกต่าง

กันอย่างมีนัยสำคัญ($p > 0.05$) ส่วนcodeต่างกันแสดงว่ามีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ($p \leq 0.05$) คัดเลือกเป็นตัวแทนเพื่อศึกษาผลของระดับการตัดพื้นระกลโคซิลของพอลิเมอร์ในเนื้อและรกของแคนตาลูปที่มีต่อลักษณะเฉพาะในด้านฤทธิ์ในการต้านการออกซิเดชัน ปริมาณเบต้าแคโรทีน วิตามินซี ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด รวมทั้งใยอาหารทั้งหมด และสารระเหย ที่มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อระดับของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เปลี่ยนแปลงไป

4. สรุปผลการทดลอง

ทั้งเนื้อและรกของแคนตาลูปที่ผ่านการควบคุมปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลโดยใช้กรดอินทรีย์ 2 ชนิด คือ กรดแอสคอร์บิกและกรดซิตริก พบว่า ในเนื้อเติมกรดแอสคอร์บิก 0.2%(w/w) ระยะเวลา 3 นาที ส่วนในรกเติมกรดแอสคอร์บิก 0.1%(w/w) ระยะเวลา 2 นาที เป็นภาวะที่เหมาะสมในการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล หลังจากนั้น นำแคนตาลูปที่ได้มาย่อยสลายด้วยเอนไซม์สามารถแบ่งระดับของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในเนื้อเป็น 6 ระดับ คือ A-F = 37-58 mg glucose/ gFM ส่วนในรก แบ่งเป็น 5 ระดับ คือ A-E = 23-43 mg glucose/ gFM ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารหน้าที่เฉพาะต่อไป

5. เอกสารอ้างอิง

- El-Shimi, N.M., 1993. Control of enzymatic browning in apple slices by using ascorbic acid under different conditions. Plant Foods for Human Nutrition. 43: 71-76.
- Grohmann, K. and Baldwin, E. A. 1992. Hydrolysis of orange peel with pectinase and cellulase enzymes. Biotechnology Letters. 14(12): 1169-1774.
- Mutlu, M., Sariglo, 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. 14: 147-150.
- 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.
- Nelson, N. 1944. Determination of glucose. Journal Biological and Chemistry. 153: 375-380.
- Pearson, D. 1970. The Chemical Analysis of Food. 6th ed. New York: Chemical Publishing.
- Sapers, G.M., and Miller, R.L. 1995. Heated Ascorbic/Citric Acid Solution as Browning Inhibitor for Pre-Peeled Potatoes. Journal of Food Science. 60(4): 762-766.

- Sapers, G. M., Hicks, K.B., Phillips, J.P., Garzarella, L., Pondish, D.L., Matulaitis, McCormack, T.J., Sondey, S.M., Seib, P.A., and El-Atawy, Y.S. 1989. Control of Enzymatic Browning in Apple with Ascorbic Acid Derivatives, Polyphenol Oxidase Inhibitors, and Complexing Agents. Journal of Food Science. 54(4): 997-1002.
- Wilkins, M. R., Widmer, W. W., Grohmann, K., and Cameron, R. G. 2007. Hydrolysis of grapefruit peel waste with cellulose and pectinase enzymes. Bioresource Technology. 98: 1596-1601.

ประวัติคณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

1. ชื่อ-นามสกุล (ภาษาไทย).....รองศาสตราจารย์ ดร. ปราณี อานปร็อง.....
(ภาษาอังกฤษ).....Associate Professor Dr. Pranee Anprung.....

สถานภาพ โสด สมรส

2. การทำงาน

ตำแหน่งปัจจุบัน (อาจารย์ม,ผศ,รศ,ศ.)

สถานที่ทำงาน ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์
มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ

โทรศัพท์...02-2185515-6..โทรสาร..02-2544314...Email...Prenee@sc.chula.ac.th

3. ที่อยู่ (ที่บ้าน)...270..ซอยสิรินธร 7..ถนนสิรินธร...เขตบางรัก.....กรุงเทพฯ.....107000..
โทรศัพท์...02-4341734....(Mobile Phone)...09-5368813

4. ประวัติการศึกษา

	สาขา	สถาบัน	ปีที่จบ
4.1	ปริญญาตรี เคมีเทคนิค	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	2516
4.2	ปริญญาโท เคมีเทคนิค	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	2518
4.3	ปริญญาเอก Food Tech	Tokyo Univ.of Agri	2528(MOMBUCHO)
4.4	อื่นๆ(ระบุ) Applied Biochem	Post Grad.Dip.in Tokyo Inst of Tech,	2521 (UNESCO)

5. สาขาวิชาที่เชี่ยวชาญ

..Food Enzymes,Functional Foods and Bioactive Prebiotics, Sensory
Evaluation, Fruit Juice..

คณะผู้วิจัย

ชื่อ	ปริญญาตรี	ปริญญาโท	ปริญญาเอก
นางสาวปรรัตน์ เขื่อนกลาง	สาขาเทคโนโลยีอาหาร สำนักวิชาเทคโนโลยี ทางการเกษตร มหาวิทยาลัย เทคโนโลยี สุรนารี	ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น	ภาควิชาเทคโนโลยีทาง อาหาร คณะ วิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
นางสาวสมฤดี ไทพาณิชย์	ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	-
นางสาวสววี ถ้วยทอง	สาขาเทคโนโลยีอาหาร สำนักวิชาเทคโนโลยี ทางการเกษตร มหาวิทยาลัย เทคโนโลยี สุรนารี	ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	-
นางสาวสุวิมล เจริญสิทธิ์	สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล	ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	-
นางสาวชมัพร แรงกลาง	สาขาเทคโนโลยีอาหาร สำนักวิชาเทคโนโลยี ทางการเกษตร มหาวิทยาลัย เทคโนโลยี สุรนารี	ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	-

ชื่อ	ปริญญาตรี	ปริญญาโท	ปริญญาเอก
นางสาวกวลี คุรุณาสวัสดิ์	ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	-
นางสาวกรรณิการ์ สอนโยธา	ภาควิชาจุลชีววิทยา สาขาวิทยาศาสตร์และ เทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยี พระจอมเกล้าธนบุรี	ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	-
นางสาวนัฐพร วุฒิสีทธิ์	สาขาเทคโนโลยีทางอาหาร สำนักวิชา เทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์	ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	-