

การผลิตด้วยเอนไซม์และการหาลักษณะเฉพาะของไซรัปมะตูม *Aegle marmelos* (L.) Correa

นางสาวสุวิมล เจริญสิทธิ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2551

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ENZYMATIC PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF BAEI FRUIT *Aegle marmelos* (L.) Correa SYRUP

Miss Suvimol Charoensiddhi

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

Department of Food Technology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2008

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์

การผลิตด้วยเอนไซม์และการหาลักษณะเฉพาะของไซรัปมะตูม

Aegle marmelos (L.) Correa

โดย

นางสาวสุวิมล เจริญสิทธิ์

สาขาวิชา

เทคโนโลยีทางอาหาร

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

รองศาสตราจารย์ ดร. ปราณี อานเป็รื่อง

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

(ศาสตราจารย์ ดร.สุพจน์ หารหนองบัว)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รมนิ สงวนดีกุล)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์ ดร. ปราณี อานเป็รื่อง)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ณัฐฐา เลหากุลจิตต์)

..... กรรมการ

(ดร. ธนจันทร์ มหาวนิช)

สุวิมล เจริญสิทธิ์ : การผลิตด้วยเอนไซม์และการหาลักษณะเฉพาะของไซรัปมะตูม

Aegle marmelos (L.) Correa. (ENZYMATIC PRODUCTION AND

CHARACTERIZATION OF BAEI FRUIT *Aegle marmelos* (L.) Correa SYRUP)

อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : รศ.ดร. ปราณีย์ อานเป็รื่อง, 126 หน้า.

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษากระบวนการแปรรูปไซรัปมะตูมด้วยเอนไซม์ และศึกษาลักษณะเฉพาะของไซรัปมะตูม จากการคัดเลือกระดับความสุกของมะตูมพบว่า มะตูมแก่จัดบ่มที่อุณหภูมิ $30 \pm 2^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 10 วัน จะมีเนื้อสีส้มอมเหลือง ให้กลิ่นมะตูมชัดเจน และมีรสหวานมากกว่าระดับอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ดังนั้นจึงเลือกใช้มะตูมสุกระดับนี้เป็นวัตถุดิบในการผลิตไซรัปมะตูม โดยพบว่าเนื้อมะตูมสุกมีปริมาณใยอาหารทั้งหมด ใยอาหารที่ละลายน้ำ และใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ เท่ากับ 19.84, 11.22 และ 8.62 g/ 100 g dry weight (dw) ตามลำดับ มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันเท่ากับ 6.21 $\mu\text{g dw}/\mu\text{g DPPH}$ หรือ 102.74 $\mu\text{M trolox equivalent}/\text{g dw}$ มีปริมาณฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ แครโทีนอยด์ และวิตามินซี เท่ากับ 87.34 mg gallic acid equivalent/ g dw, 15.20 mg catechin equivalent/ g dw, 32.98 $\mu\text{g}/\text{g dw}$ และ 26.17 mg/ 100 g dw ตามลำดับ มีค่าแอกทิวิตีของสารฟรีไบโอติกโดยใช้ *B. lactis* Bb12 และ *L. acidophilus* La5 เป็นโพรไบโอติก เท่ากับ 0.20 และ 0.01 ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์สารระเหยด้วยวิธี SPME/GC/MS พบว่า เนื้อมะตูมสุกมีสารระเหยทั้งหมด 28 ชนิด โดยมีสารกลุ่ม terpenes เป็นสารระเหยที่ให้กลิ่นรสหลักของมะตูม และในการทดลองหาภาวะควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลของเนื้อมะตูมโดยใช้กรดอินทรีย์ 2 ชนิด คือ กรดแอสคอร์บิกและกรดซิตริก แปรความเข้มข้นกรดในช่วง 0-0.5% (w/w) ร่วมกับการให้ความร้อนด้วยไอน้ำจนเนื้อมะตูมมีอุณหภูมิ 85°C แปรเวลาการให้ความร้อนในช่วง 0-5 นาที พบว่า การเติมกรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 0.3% (w/w) ร่วมกับการให้ความร้อนนาน 3 นาที เป็นภาวะที่เหมาะสมในการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลในเนื้อมะตูม และจากการทดลองแปรรูปไซรัปมะตูมด้วยเอนไซม์ Pectinex[®] Ultra SP-L ควบคุมอุณหภูมิที่ $32 \pm 2^{\circ}\text{C}$ แปรความเข้มข้นเอนไซม์ในช่วง 1.0-3.0% (v/w) แปรเวลาการย่อย 0-6 ชั่วโมง พบว่า การใช้เอนไซม์เข้มข้น 2.5% (v/w) เวลาการย่อย 0, 1, 2, 4 และ 6 ชั่วโมง สามารถแบ่งระดับการตัดพันธะไกลโคซิลของพอลิเมอร์ในเนื้อมะตูมด้วยเอนไซม์ที่ประเมินจากค่าของน้ำตาลรีดิวซ์ได้เป็น 5 ช่วง โดยประมาณคือ 39, 55, 68, 77 และ 85 mg glucose/ g fresh weight จากการศึกษาลักษณะเฉพาะของไซรัปมะตูมช่วงดังกล่าวพบว่า ไซรัปมะตูมที่ใช้เวลาในการย่อย 2 และ 4 ชั่วโมงขึ้นไป มีปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงกว่าภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ตามลำดับ ส่วนที่เวลาการย่อย 6 ชั่วโมง ไซรัปมะตูมจะมีขนาดอนุภาคเฉลี่ยเล็กที่สุดคือ 79.92 μm และไซรัปมะตูมทุกภาวะจะมีพฤติกรรมการไหลแบบ pseudoplastic with yield stress ที่ขึ้นกับเวลา (thixotropic) เมื่อใช้ Herschel-Bulkley model ในการทำนายค่า เมื่อเวลาการย่อยมากขึ้น ไซรัปจะมีค่า yield stress (τ_0) และ flow behavior index (n) มากขึ้น แต่มีค่า consistency coefficient (K) apparent viscosity (η) ที่อัตราเฉือน 100 s^{-1} และ hysteresis loop area ลดลง สำหรับผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสพบว่า ไซรัปมะตูมที่ใช้เวลาในการย่อย 4 ชั่วโมงขึ้นไป จะมีสีส้มอมเหลืองและมีกลิ่นรสมะตูมชัดเจน โดยมีเนื้อสัมผัสที่เรียบเนียนมากกว่าและมีความข้นเหนียวน้อยกว่า ไซรัปมะตูมที่ภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) จากการเปรียบเทียบปริมาณใยอาหาร ค่าแอกทิวิตีของสารฟรีไบโอติก และสารระเหย ในไซรัปมะตูมที่ใช้เวลาในการย่อย 6 ชั่วโมง กับเนื้อมะตูมสุกที่ปั่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาลพบว่า ไซรัปมะตูมจะมีปริมาณใยอาหารที่ละลายน้ำและชนิดสารระเหยเพิ่มขึ้น แต่มีค่าแอกทิวิตีของสารฟรีไบโอติกที่ และจากการทดลองใช้ไซรัปมะตูมที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลด้วยเอนไซม์ต่างกันเป็นส่วนผสมในไส้ขนมแฉะพบว่า ไส้ขนมที่มีส่วนผสมของไซรัปมะตูมที่ใช้เวลาในการย่อย 4 ชั่วโมงขึ้นไป มีคะแนนด้านสี กลิ่นรสมะตูม ลักษณะเนื้อสัมผัส และการยอมรับโดยรวมสูงกว่าภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ภาควิชา.....เทคโนโลยีทางอาหาร..... ลายมือชื่อ.....

สาขาวิชา.....เทคโนโลยีทางอาหาร..... ลายมือชื่อ.....ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....

ปีการศึกษา.....2551.....

4972550623 : MAJOR FOOD TECHNOLOGY

KEY WORD : BAEL FRUIT/ SYRUP/ ENZYME/ BIOACTIVE COMPOUNDS

SUVIMOL CHAROENSIDDHI : ENZYMATIC PRODUCTION AND

CHARACTERIZATION OF BAEL FRUIT *Aegle marmelos* (L.) Correa SYRUP.

THESIS PRINCIPAL ADVISOR : ASSOC. PROF. PRANEE ANPRUNG Ph.D.,

126 pp.

The objective of this research was to study the production of bael fruit (*Aegle marmelos* (L.) Correa) syrup using enzyme processing and the characterization of this syrup. From the selection of the ripeness level, results showed that ripened fruit at $30\pm 2^{\circ}\text{C}$ for 10 days had yellowish-orange pulp, fragrant and pleasant flavor and sweet taste significantly higher than other levels ($p\leq 0.05$). Therefore, the bael fruit at this ripeness level was used as raw material in bael fruit syrup production. This pulp had total, soluble, and insoluble dietary fiber contents of 19.84, 11.22 and 8.62 g/ 100 g dry weight (dw), respectively. It was also found that the antioxidant activities, phenolic, flavonoid, carotenoid, and ascorbic acid contents were 6.21 $\mu\text{g dw}/\mu\text{g DPPH}$ or 102.74 $\mu\text{M trolox equivalent}/\text{g dw}$, 87.34 mg gallic acid equivalent/ g dw, 15.20 mg catechin equivalent/ g dw, 32.98 $\mu\text{g}/\text{g dw}$, and 26.17 mg/ 100 g dw, respectively. Prebiotic activity scores for *B. lactis* Bb12 and *L. acidophilus* La5 were 0.20 and 0.01, respectively. A total of 28 volatile compounds were identified by SPME/GC/MS method, and the dominant component of bael fruit flavor was terpenes. The optimum condition to control browning reaction in bael fruit pulps was evaluated by varying the acid content and blanching time during pretreatment (0-0.5% w/w ascorbic acid or citric acid and 0-5 min for blanching at 85°C). The result showed that browning reaction was controlled when treated with 0.3% ascorbic acid and blanching at 85°C for 3 min. The process conditions (1.0-3.0% v/w enzyme concentration, 0-6 h hydrolysis time and controlled temperature at $32\pm 2^{\circ}\text{C}$) of bael fruit syrup treated with Pectinex[®] Ultra SP-L were studied. The results showed that bael fruit pulp treated with enzyme concentration of 2.5% and hydrolyzed for 0, 1, 2, 4, and 6 h can be hydrolyzed in five levels different in the amount of reducing sugars (39, 55, 68, 77 and 85 mg glucose/ g fresh weight) released during the treatment. The effect of these treatment conditions on bael fruit syrup properties showed that syrup at hydrolysis time higher than 2 and 4 h had significantly greater total carotenoid content and antioxidant activities, respectively than other hydrolysis times ($p\leq 0.05$). The bael fruit syrup at a hydrolysis time of 6 h had the smallest particle size of 79.92 μm . The rheological behavior of bael fruit syrup from all treatments fitted the Herschel-Bulkley model exhibited pseudoplastic with yield stress and thixotropic behavior. An increase in hydrolysis time is associated with an increase in yield stress (τ_0) and flow behavior index (n) while the consistency coefficient (K), apparent viscosity (η) at shear rate 100 s^{-1} , and hysteresis loop area decreased. In addition, bael fruit syrup at hydrolysis time higher than 4 h also had significantly higher yellowish-orange color, pleasant flavor and smoothness, but lower thickness than other hydrolysis times ($p\leq 0.05$). When compare with the homogenized and antibrowning controlled bael fruit pulp, bael fruit syrup at 6 h hydrolysis time gave higher in soluble dietary fiber and volatile compounds, but constant in prebiotic activity score. Sensory evaluation on assorted éclair stuffed with bael fruit syrup at hydrolysis time higher than 4 h showed significantly greater scoring in color, bael fruit flavor, texture, and overall acceptability than other hydrolysis times ($p\leq 0.05$).

Department : Food Technology Student's Signature :

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

Academic Year : 2008

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร.ปราณี อานเป็รื่อง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ เป็นอย่างสูง ที่เสนอแนวคิดริเริ่มของงานวิจัยนี้ และได้กรุณาให้คำแนะนำ ข้อคิดเห็น และความช่วยเหลือในทุกด้าน อันเป็นประโยชน์ต่องานวิจัย ตลอดจนปรับปรุงแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆด้วยความเอาใจใส่อย่างดียิ่ง ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ได้ นอกจากนี้ยังได้ให้ความรู้และแนวคิดทางด้านวิชาการ ตลอดจนแนวทางในการดำเนินชีวิต อันเป็นประโยชน์แก่ผู้วิจัยต่อไปในอนาคต

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร.รมณี สงวนดีกุล ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ อ.ดร.ธนจันทร์ มหาวนิช และ ผศ.ดร.ณัฐฐา เลาทกุลจิตต์ ที่กรุณาสละเวลามาร่วมเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ กรณมาตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆและให้คำแนะนำอันเป็นประโยชน์ ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.วิรัชชัย ชรินพาณิชกุล และเจ้าหน้าที่ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านเทคโนโลยีอนาคต คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องวัดขนาดอนุภาค และให้คำแนะนำที่เกี่ยวข้องอันเป็นประโยชน์ต่องานวิจัย

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.ณัฐฐา เลาทกุลจิตต์ ที่กรุณาให้ความรู้และคำแนะนำในการแปลผลข้อมูลที่ได้จากเครื่อง GC-MS และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่หน่วยเครื่องมือกลาง (Central Instrument Facility) คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ได้ให้คำแนะนำและอำนวยความสะดวกในการใช้เครื่อง GC-MS

ขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่และบุคลากร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ที่ได้ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกด้านต่างๆตลอดงานวิจัย ขอขอบคุณ คุณอำนาจ มุลนางเดี่ยว ที่กรุณาให้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์อย่างมากเกี่ยวกับมะตูม และขอบคุณเพื่อนปริญญาโท พี่ปริญญาเอก และน้องๆ ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารทุกคน รวมทั้งเพื่อนสมัยเรียนมัธยมและปริญญาตรี ที่ให้ความช่วยเหลือ ให้คำแนะนำ และให้กำลังใจตลอดมา

ขอขอบคุณ โครงการนวัตกรรมเพื่อยกระดับคุณภาพและความปลอดภัยทางอาหารสู่โครงสร้างเศรษฐกิจยุคใหม่ ทุนวิจัยเงินงบประมาณแผ่นดิน จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ทุนสนับสนุนการทำวิจัยในครั้งนี้

ท้ายสุดนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ คุณยาย ขอขอบคุณพี่สาวและญาติทุกคน ที่คอยเอาใจใส่ ให้ความช่วยเหลือในทุกด้าน และเป็นกำลังใจที่สำคัญยิ่ง รวมทั้งให้การสนับสนุนและส่งเสริมผู้วิจัยจนประสบผลสำเร็จในการศึกษาตลอดมา

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ณ
สารบัญภาพ.....	ญ
บทที่	
1 บทนำ.....	1
2 วารสารปริทัศน์.....	3
2.1 มะตูม.....	3
2.2 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสำคัญที่พบในเนื้อมะตูม.....	8
2.3 สารให้กลิ่นรสในเนื้อมะตูม.....	12
2.4 พฤติกรรมการไหลของสารเพิ่มลักษณะเนื้อสัมผัสในอาหาร.....	13
2.5 การเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลในผลิตภัณฑ์จากผักและผลไม้.....	16
2.6 การผลิตสารสกัดจากผักและผลไม้ด้วยเอนไซม์.....	17
3 การดำเนินงานวิจัย.....	26
3.1 ขอบเขตงานวิจัย.....	26
3.2 วัตถุประสงค์ สารเคมี และอุปกรณ์.....	27
3.3 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย.....	31
4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง.....	38
4.1 การคัดเลือกระดับความสุกของมะตูมที่ใช้เป็นวัตถุดิบ.....	38
4.2 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารระเหยที่พบในเนื้อมะตูม.....	40
4.3 ภาวะที่เหมาะสมในการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลในเนื้อมะตูม.....	47
4.4 ภาวะการผลิตไซรัปมะตูมด้วยเอนไซม์.....	53
4.5 ลักษณะเฉพาะของไซรัปมะตูมที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์.....	58
5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....	72
รายการอ้างอิง.....	74
ภาคผนวก.....	88

บทที่	หน้า
ภาคผนวก ก วิธีการวิเคราะห์.....	89
ภาคผนวก ข แบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส.....	108
ภาคผนวก ค สูตรไส้ขนมเอแคลร์.....	111
ภาคผนวก ง รายละเอียดของเอนไซม์.....	112
ภาคผนวก จ การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ.....	113
ภาคผนวก ฉ รายละเอียดข้อมูลเพิ่มเติม.....	119
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	126

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	ลักษณะทางกายภาพของมะตูมที่ได้จากแหล่งต่างๆในประเทศอินเดีย.....	5
2.2	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของการพัฒนาผลของมะตูม.....	6
2.3	องค์ประกอบทางเคมีและคุณภาพทางประสาทสัมผัสของมะตูมที่ได้จากแหล่งต่างๆในประเทศอินเดีย.....	7
2.4	ปริมาณสารอาหารที่พบในผลมะตูมสุกของไทย.....	8
2.5	สารที่ให้กลิ่นรสหลักพื้นฐานของมะตูมที่พบในประเทศศรีลังกา.....	13
4.1	สมบัติทางเคมีและกายภาพเบื้องต้นของมะตูมสุกที่ระดับต่างๆ.....	39
4.2	คะแนนลักษณะทางประสาทสัมผัสของเนื้อมะตูมสุกที่ระดับต่างๆ.....	40
4.3	สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่พบในเนื้อมะตูมที่ใช้เป็นวัตถุเติม.....	42
4.4	เปรียบเทียบจำนวนจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นภายใน 24 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเนื้อมะตูมหรือมีกลูโคสเป็นองค์ประกอบ.....	43
4.5	ชนิดสารระเหยที่พบในเนื้อมะตูมสุก วิเคราะห์ด้วยวิธี SPME/GC/MS.....	45
4.6	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในไซรัปมะตูมที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ Pectinex® Ultra SP-L ที่ความเข้มข้น 2.5% (v/w).....	57
4.7	สมบัติทางเคมีและกายภาพของไซรัปมะตูมที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิดด้วยเอนไซม์ต่างกัน.....	59
4.8	คะแนนลักษณะทางประสาทสัมผัสของไซรัปมะตูมที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิดด้วยเอนไซม์ต่างกัน.....	62
4.9	ผลของการย่อยด้วยเอนไซม์ที่มีต่อปริมาณใยอาหารในไซรัปมะตูม.....	63
4.10	เปรียบเทียบจำนวนจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นภายใน 24 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเนื้อมะตูมสุกตีปั่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาล ไซรัปมะตูมหรือมีกลูโคสเป็นองค์ประกอบ.....	64
4.11	ผลของการย่อยด้วยเอนไซม์ที่มีต่อชนิดของสารระเหยในไซรัปมะตูม.....	66
4.12	คะแนนลักษณะทางประสาทสัมผัสของไส้ขนมแอมเบิ้ลรี่ที่มีไซรัปมะตูมเป็นส่วนผสม.....	68
4.13	การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญในระหว่างกระบวนการผลิตไซรัปมะตูม.....	70

ตารางที่	หน้า
จ.1	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าสีในระบบ $L^* a^* b^*$ ของเปลือกมะตูม ที่ระดับความสุกต่างๆ..... 113
จ.2	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าสีในระบบ $L^* a^* b^*$ ของเนื้อมะตูม ที่ระดับความสุกต่างๆ..... 113
จ.3	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า pH ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของ กรดซิตริก และปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ ของเนื้อมะตูมที่ระดับ ความสุกต่างๆ..... 113
จ.4	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านสี กลิ่น และรส ของเนื้อมะตูมที่ระดับความสุกต่างๆ..... 114
จ.5	การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นภายใน 24 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเนื้อมะตูมหรือมีกลูโคสเป็นองค์ประกอบ ด้วยวิธี T-test..... 114
จ.6	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยความสว่าง (L^*) ค่าสีแดง ($+a^*$) ค่าสีเหลือง ($+b^*$) และค่า pH ของเนื้อมะตูมตีปั่นที่ผ่านการควบคุมการ เกิดปฏิกิริยาน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ..... 115
จ.7	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ ค่าสีในระบบ $L^* a^* b^*$ และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ของไซรัปมะตูมที่ได้จาก การย่อยด้วยเอนไซม์ที่ภาวะต่างๆ..... 115
จ.8	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในไซรัปมะตูม ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ที่ความเข้มข้น 2.5% (v/w)..... 116
จ.9	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ปริมาณแคโรทีนอยด์ ทั้งหมด และขนาดอนุภาค ของไซรัปมะตูมที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิด ด้วยเอนไซม์แตกต่างกัน..... 116
จ.10	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของพฤติกรรมกาวไหลของไซรัปมะตูมที่มีระดับ การตัดพันธะไกลโคซิดด้วยเอนไซม์แตกต่างกัน..... 116
จ.11	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของคะแนนลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านต่างๆ ของไซรัปมะตูมที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิดด้วยเอนไซม์ต่างกัน..... 117

ตารางที่	หน้า
จ.12	117
จ.13	117
จ.14	118
จ.15	118
ฉ.1	120
ฉ.2	121
ฉ.3	122
ฉ.4	123
ฉ.5	124
ฉ.6	125

สารบัญภาพ

รูปที่		หน้า
2.1	ลักษณะต้นมะตูม ผลมะตูมดิบและสุกขณะอยู่บนต้น.....	4
2.2	ภาพตัดตามขวางของผลมะตูม.....	4
2.3	วงจรการเจริญและการพัฒนาผลของมะตูมในประเทศไทย.....	5
2.4	Flow curves ของพฤติกรรมกรไหลแบบต่างๆ.....	15
2.5	ลักษณะการไหลแบบ Time-dependent.....	15
2.6	กลไกการเกิดและการควบคุมปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลจากการทำงานของเอนไซม์ PPO ด้วยสารรีดิวซ์.....	17
2.7	ส่วนประกอบต่างๆของผนังเซลล์พืช.....	18
2.8	ความเกี่ยวโยงของสารประกอบเพกทิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลสในเนื้อเยื่อพืช.....	19
2.9	ปฏิกิริยาของเอนไซม์เพกทิเนสชนิดต่างๆ.....	21
3.1	ขั้นตอนการผลิตไซรัปมะตูมด้วยเอนไซม์.....	35
4.1	ลักษณะภายนอกของผลมะตูม 3 ระดับความสุก.....	39
4.2	ค่าเอกทิวิตีของสารฟีนอลิกในเนื้อมะตูมสุก.....	44
4.3	Chromatogram ของสารระเหยที่พบในเนื้อมะตูมสุกวิเคราะห์ด้วยวิธี SPME/GC/MS.....	46
4.4	สีเนื้อมะตูมตีปั่นที่ไม่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล.....	47
4.5	สีเนื้อมะตูมตีปั่นที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลด้วยการเติมกรดแอสคอร์บิกและกรดซิตริกที่ความเข้มข้นต่างๆและการให้ความร้อนที่เวลาต่างๆ.....	48
4.6	สีเนื้อมะตูมตีปั่นที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลด้วยการเติมกรดแอสคอร์บิกและกรดซิตริกที่ความเข้มข้นต่างๆ ควบคู่กับการให้ความร้อนเป็นเวลานาน 1, 3 และ 5 นาที.....	49
4.7	ค่าเฉลี่ยความสว่าง (L*) ของเนื้อมะตูมตีปั่นที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ.....	51
4.8	ค่าเฉลี่ยสีแดง (+a*) ของเนื้อมะตูมตีปั่นที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ.....	51

รูปที่	หน้า	
4.9	ค่าเฉลี่ยสี่เหลี่ยม (+b*) ของเนื้อมะตูมตีป่นที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยา สีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ.....	52
4.10	ค่า pH ของเนื้อมะตูมตีป่นที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล ที่ภาวะต่างๆ.....	52
4.11	การเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ในไซรัปมะตูมที่ได้จากการ ย่อยด้วยเอนไซม์ Pectinex® Ultra SP-L ที่ความเข้มข้นและเวลาการย่อยต่างๆ.	54
4.12	การเปลี่ยนแปลงค่าสีในระบบ $L^* a^* b^*$ ของไซรัปมะตูมที่ได้จากการย่อยด้วย เอนไซม์ Pectinex® Ultra SP-L ที่ความเข้มข้นและเวลาการย่อยต่างๆ.....	56
4.13	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในไซรัปมะตูมที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ Pectinex® Ultra SP-L ที่ความเข้มข้นและเวลาการย่อยต่างๆ.....	57
4.14	Flow curve ของไซรัปมะตูมที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิดด้วยเอนไซม์ ต่างกัน.....	61
4.15	ลักษณะของเนื้อมะตูมสุกตีป่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาลเปรียบเทียบกับ ไซรัปมะตูมที่ใช้เวลาในการย่อย 6 ชั่วโมง.....	62
4.16	ค่าแอกทิวิตีของสารฟรีโบไอติกในไซรัปมะตูมเปรียบเทียบกับเนื้อมะตูมสุกตีป่น และควบคุมการเกิดสีน้ำตาล.....	65
4.17	ลักษณะของไล้ขนมเอแคลร์ที่มีส่วนผสมของเนื้อมะตูมสุกตีป่นและควบคุม การเกิดสีน้ำตาล และไซรัปมะตูมที่ใช้เวลาในการย่อย 1, 2, 4 และ 6 ชั่วโมง.....	68
4.18	ค่าแอกทิวิตีของสารฟรีโบไอติกในระหว่างกระบวนการผลิตไซรัปมะตูม.....	70
4.19	เปรียบเทียบ SPME/GC/MS Chromatogram profile ของเนื้อมะตูมสุก เนื้อมะตูมสุกตีป่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาล และไซรัปมะตูม.....	71
ก.1	กราฟมาตรฐานของสารละลาย Trolox.....	96
ก.2	กราฟมาตรฐานของสารละลาย Gallic acid.....	97
ก.3	กราฟมาตรฐานของสารละลาย Catechin.....	98
ก.4	กราฟมาตรฐานของสารละลาย Ascorbic acid.....	101
ก.5	กราฟมาตรฐานของสารละลาย Glucose.....	106
ง.1	แอกทิวิตีของเอนไซม์ที่ pH ต่างๆ.....	112
ง.2	แอกทิวิตีของเอนไซม์ที่อุณหภูมิต่างๆ.....	112

บทที่ 1

บทนำ

มะตูมเป็นพืชพื้นเมืองของไทยที่ปลูกง่ายและพบได้เกือบทุกภาคของประเทศ โดยเฉพาะบริเวณภาคเหนือตอนล่างและภาคกลาง (ธีรพร และ ขนิษฐา, 2545) ลักษณะทางกายภาพของเนื้อมะตูมสุกที่สำคัญคือ มีสีส้มอมเหลือง มีกลิ่นหอมเป็นเอกลักษณ์ และมีรสหวาน ประกอบด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญหลายชนิด เช่น สารกลุ่มแคโรทีนอยด์ สารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ เทอร์ปีน และสารต้านอนุมูลอิสระอื่นๆ ส่วนใยอาหารที่พบในมะตูมแบ่งเป็น 2 ชนิดคือ ใยอาหารที่ละลายน้ำ เช่น มิวซิเลจและเพกทิน และใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ นอกจากนี้มะตูมยังประกอบด้วยวิตามินและแร่ธาตุหลายชนิดได้แก่ วิตามินซี ไบโอฟลาโวน ไรโบเฟลวิน ในอะซิน วิตามินเอ แคลเซียม และฟอสฟอรัส (Roy and Khurdiya, 1995) มะตูมจึงจัดเป็นพืชที่มีสรรพคุณใช้เป็นสมุนไพรและมีความสำคัญต่อระบบยาพื้นบ้าน (indigenous system of medicine) (เพียร, 2537; Singh, 1986) จากข้อมูลของมะตูมที่มีลักษณะเด่นในด้านสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและกลิ่นรสที่เป็นเอกลักษณ์ อาจกล่าวได้ว่ามะตูมจัดเป็นพืชท้องถิ่นของไทยที่มีศักยภาพในการพัฒนาเป็นอาหารที่มีหน้าที่เฉพาะ (functional food) ซึ่งให้ประโยชน์หรือสมบัติอื่นที่ดีต่อสุขภาพนอกเหนือจากการให้คุณค่าทางโภชนาการพื้นฐาน เช่น ลดปริมาณคอเลสเตอรอลในเลือด ป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง โรคเบาหวาน และช่วยเพิ่มระบบภูมิคุ้มกันให้กับร่างกาย (Bidlack and Wang, 2000) แต่ในปัจจุบันการรับประทานเนื้อมะตูมสดและการแปรรูปมะตูมยังไม่แพร่หลายเท่าที่ควร ทั้งนี้เนื่องจากการปลูกมะตูมส่วนใหญ่นิยมปลูกเพื่อบริโภคภายในครัวเรือน และใช้ประโยชน์เป็นสมุนไพร มีเพียงบางจังหวัดเท่านั้นที่ปลูกเพื่อการค้า โดยผลิตภัณฑ์แปรรูปจากมะตูมที่พบส่วนใหญ่ในประเทศไทยมีเพียง 4 ชนิดหลัก ได้แก่ มะตูมแวนตากแห้ง มะตูมเชื่อม มะตูมผง และชามะตูม ซึ่งผลิตภัณฑ์เหล่านี้ยังขาดคุณสมบัติสำคัญในการเป็นอาหารที่มีหน้าที่เฉพาะ เนื่องจากในกระบวนการผลิตมีการทำลายองค์ประกอบตามธรรมชาติและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญของมะตูม และยังไม่พบรายงานการนำเนื้อมะตูมมาแปรรูปเป็นไซรัปที่ให้สี กลิ่นรส และใยอาหาร

การผลิตไซรัปมะตูมด้วยวิธีทางชีวภาพ โดยใช้เอนไซม์ย่อยสารประกอบเพกทิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลสที่อยู่ในชั้นผนังเซลล์พืช จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดของเหลวต่างๆ รวมทั้งสารให้กลิ่นรสและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (ปราณี, 2547) โดยไม่ต้องผ่านกระบวนการกรองแยกกากหรือใยอาหารออก ทำให้ไซรัปที่ได้ยังคงองค์ประกอบเดิมของมะตูมไว้และเพิ่มองค์ประกอบใหม่ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ เช่น เพกทินที่ถูกย่อยสลาย โดยไซรัปที่ได้จะมีสีส้ม

อมเหล็องจากแคโรทีนอยด์ ประกอบด้วยใยอาหาร และให้กลิ่นรสธรรมชาติที่เป็นเอกลักษณ์ของมะตูม สามารถใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์อาหารที่มีหน้าที่เฉพาะและสารเพิ่มลักษณะเนื้อสัมผัสในอาหารได้ เช่น ไอศกรีม เครื่องดื่ม ธัญพืชชนิดแท่ง (cereal bar) และผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ เพื่อทดแทนการใช้สารสังเคราะห์และสะดวกต่อการนำไปใช้งาน

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษากระบวนการแปรรูปไซรัปมะตูม ด้วยเอนไซม์เพกทิเนสทางการค้า Pectinex® Ultra SP-L รวมทั้งศึกษาลักษณะเฉพาะของไซรัปมะตูม และทดลองใช้ไซรัปมะตูมในผลิตภัณฑ์อาหาร เพื่อเพิ่มแนวทางการใช้ประโยชน์และเพิ่มมูลค่าให้กับวัตถุดิบทางการเกษตร ได้ผลิตภัณฑ์รูปแบบใหม่ที่มีความเป็นสากลและเป็นที่ยอมรับมากขึ้น นอกจากนี้ยังช่วยส่งเสริมการปลูกมะตูมเพื่อแปรรูปสู่อุตสาหกรรม เนื่องจากมะตูมเป็นพืชที่มีวงจำกัดในการใช้งานและเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์

บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

2.1 มะตูม

มะตูมมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Aegle marmelos* (L.) Correa อยู่ในวงศ์ Rutaceae เป็นพืชที่พบทั่วไปในประเทศอินเดีย ศรีลังกา ปากีสถาน บังคลาเทศ พม่า ไทย และประเทศในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ สามารถเจริญเติบโตได้ดีในเขตร้อนและทนต่อสภาพแห้งแล้งได้ (Singh and Roy, 1984) ในประเทศไทยพบมะตูมขึ้นกระจายอยู่ทั่วไป ยกเว้นบริเวณภาคตะวันออกเฉียงใต้และภาคใต้ มะตูมเป็นพืชที่สามารถใช้ประโยชน์ได้ทุกส่วน มีสรรพคุณใช้เป็นสมุนไพร และมีความสำคัญต่อระบบยาพื้นบ้าน (indigenous system of medicine) (Arseculeratne et al., 1981; Karunanayake et al., 1984; Singh, 1986; Nagaraju and Rao, 1990)

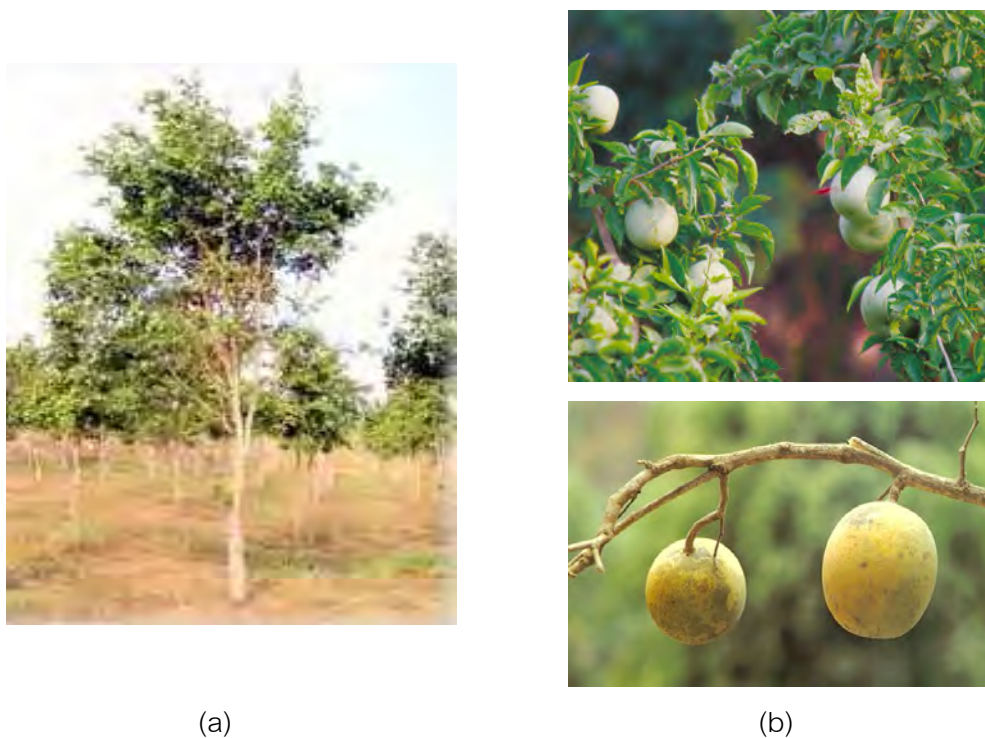
2.1.1 ลักษณะทั่วไปของมะตูม

มะตูมเป็นไม้ยืนต้นผลัดใบขนาดกลาง ทรงพุ่มโปร่ง เรือนยอดเป็นรูปไข่ ต้นสูงประมาณ 10-15 เมตร เมื่อต้นโตเต็มที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางของลำต้นประมาณ 25-50 เซนติเมตร ลำต้นและกิ่งมีหนาม เปลือกลำต้นเรียบมีสีน้ำตาลเทา ชนิดใบเป็นใบประกอบมีใบย่อย 3 ใบ ดอกมีสีขาวอมเขียว กลิ่นหอม เป็นดอกช่อชนิดสมบูรณเพศ ลักษณะผลค่อนข้างกลมหรือเป็นรูปไข่ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5-12.5 เซนติเมตร (รูปที่ 2.1) มีส่วนประกอบหลัก 3 ส่วน ได้แก่ ผนังผลชั้นนอก (epicarp) ผนังผลชั้นกลาง (mesocarp) และผนังผลชั้นใน (endocarp) แสดงในรูปที่ 2.2 เปลือกผลหนาและแข็ง ผลอ่อนมีเปลือกสีเขียว เมื่อสุกจะเปลี่ยนเป็นสีเขียวอมเหลือง ภายในผลสุกมีเนื้อสีส้มอมเหลือง มีกลิ่นรสหอมหวาน เนื้อนี้มีเมล็ดสีขาวจำนวนมากแทรกอยู่ภายในเนื้อ และมีมิวซิเลจเป็นเมือกใสบริเวณโดยรอบ (Morton, 1987; Chanai, 1998; Subhadrabandhu, 2001) ลักษณะทางกายภาพของมะตูมที่ได้จากแหล่งต่างๆในประเทศอินเดียแสดงในตารางที่ 2.1

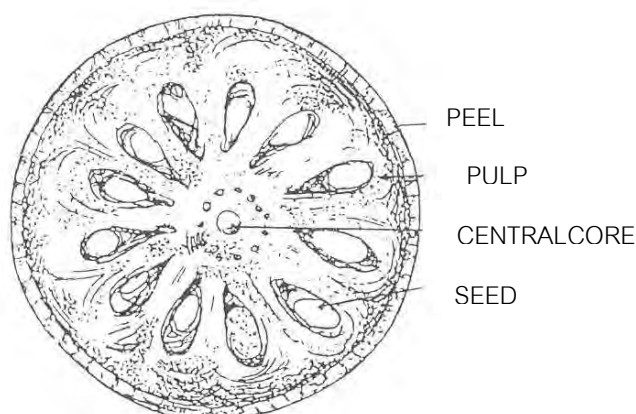
2.1.2 การเจริญและการพัฒนาผลของมะตูม

การเจริญของผลมะตูมสามารถแบ่งเป็น 3 ระยะ ได้แก่ ระยะที่ 1 ผลมะตูมจะเริ่มต้นการเจริญอย่างช้าๆ ใช้เวลาประมาณ 1 เดือน ระยะที่ 2 ผลมะตูมมีการเพิ่มขนาดอย่างรวดเร็ว และระยะที่ 3 เป็นระยะคงที่และไม่ค่อยมีการเปลี่ยนแปลงในเชิงขนาดจนกระทั่งเวลาเก็บเกี่ยวผล ในประเทศไทยมะตูมจะเริ่มออกดอกตั้งแต่เดือนมีนาคมและเริ่มเปลี่ยนแปลงเป็นผลมะตูมในช่วงต้นเดือนเมษายน จากนั้นจะใช้เวลาประมาณ 9 เดือน จนผลแก่เต็มที่ และผลมะตูม

จะเริ่มสุกประมาณเดือนที่ 10 ถึง 11 หรือประมาณเดือนมกราคมถึงกุมภาพันธ์ แสดงในรูปที่ 2.3 ซึ่งในช่วงการเจริญของมะตูมพบว่า มีการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญ ได้แก่ ปริมาณแคลโรทีนอยด์ ไนโตรเจนทั้งหมด คาร์โบไฮเดรต กรดอินทรีย์ ฟลาโวนอยด์ คูมาริน ไขมัน สารระเหย แวกซ์ สเตอรอยด์ เทอร์ปีนอยด์ วิตามิน และสารอินทรีย์ชนิดอื่นๆ (Roy and Khurdiya, 1995; Chanai, 1998) นอกจากนี้ Roy (1998) ได้รายงานถึงลักษณะทางสัณฐานวิทยา ระหว่างการพัฒนาผลของมะตูมที่พบในประเทศอินเดีย แสดงในตารางที่ 2.2



รูปที่ 2.1 ลักษณะ (a) ต้นมะตูม และ (b) ผลมะตูมดิบและสุกขณะอยู่บนต้น (นินดา และ ทวีทอง, 2550)

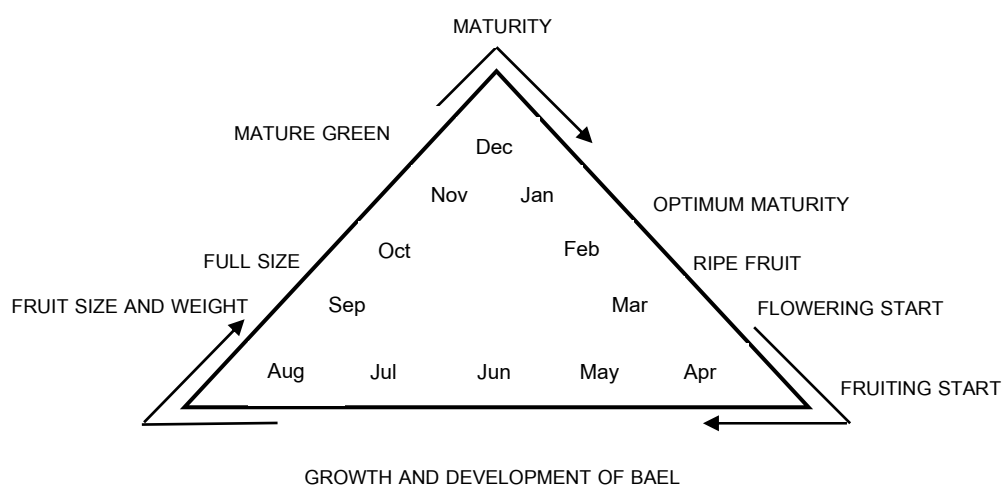


รูปที่ 2.2 ภาพตัดตามขวางของผลมะตูม (Jayaweera, 1981)

ตารางที่ 2.1 ลักษณะทางกายภาพของมะตูมที่ได้จากแหล่งต่างๆในประเทศอินเดีย

Particulars	Cultivars of different locations			
	Calcutta	Varanasi	Agra	Delhi
Shape	oblong, spherical, flat, pear, and cylindrical	oblong, spherical, flat, and pear	flat, spherical, and pear	oblong, spherical, and pear
Transverse diameter (cm)	9.83-13.52	8.52-14.54	10.23-16.82	8.91-10.08
Polar diameter (cm)	8.64-16.05	8.53-17.78	8.42-13.95	6.65-10.44
Weight (g)	440-1165	401-1640	460-1850	360-540
External color	Greenish to yellowish	Greenish to yellowish	Greenish to yellowish	Greenish to yellowish
Internal color	Various shades of orange and yellow	Various shades of yellow	Various shades of yellow	Various shades of orange and yellow
Peel (%)	20.91-27.00	20.82-29.92	20.54-27.31	22.85-36.11
Seed (%)	1.38-5.36	2.36-3.05	0.81-4.35	3.30-5.55
Fiber (%)	1.31-3.89	1.65-3.75	1.39-4.10	1.85-2.50
Edible portion (%)	66.69-74.80	63.53-74.77	65.66-77.26	56.12-70.29
Thickness of peel (cm)	0.18-0.30	0.19-0.28	0.18-0.28	0.21-0.31
Number of seeds	39-246	54-215	32-104	85-170

ที่มา: Roy และ Khurdiya (1995)



รูปที่ 2.3 วงจรการเจริญและการพัฒนาผลของมะตูมในประเทศไทย (Chanai, 1998)

ตารางที่ 2.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาระหว่างการพัฒนาผลของมะตูม

ระยะเวลาของการพัฒนา	ลักษณะทางสัณฐานวิทยา
เดือนที่ 1 (มิถุนายน)	เปลือกสีเขียวเข้มและอ่อนนุ่ม ยังไม่มีเมล็ด เนื้อผลเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอย่างรวดเร็วเมื่อปอกออกจากเปลือก ผลเป็นรูปไข่
เดือนที่ 2 (กรกฎาคม)	เปลือกสีเขียวเข้มและอ่อนนุ่ม สามารถปอกด้วยมีดได้ง่าย เนื้อผลมีสีเหลืองอ่อนและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเมื่อปอกออกจากเปลือก เมล็ดมีขนาดเล็กและอ่อนนุ่ม มีเมือกบางๆคลุม ผลเป็นรูปไข่
เดือนที่ 3 (สิงหาคม)	เปลือกสีเขียวเข้มและแข็งมาก ปอกด้วยมีดได้ยาก เนื้อผลมีสีเหลืองอ่อน เมล็ดอ่อนนุ่มและมีขนาดใหญ่ขึ้น มีเมือกบางๆคลุม ผลกลมขึ้น
เดือนที่ 4 (กันยายน)	เปลือกสีเขียวเข้มและแข็งมาก ปอกด้วยมีดได้ยาก เนื้อผลมีสีเหลืองอ่อน มีการสร้างเนื้อเพิ่มขึ้น เมล็ดแข็งขึ้น มีเมือกใส ช่องว่างภายในผลเต็มไปด้วยเมล็ดและเมือก ผลกลม
เดือนที่ 5 (ตุลาคม)	เปลือกสีเขียวและแข็งมากขึ้น เนื้อสีเหลือง เมล็ดแข็งและมีขนบริเวณผิวเมล็ด มีเมือกหนา ผลกลม
เดือนที่ 6 (พฤศจิกายน)	เปลือกสีเขียวและแข็งมาก เนื้อสีเหลือง มีการสร้างเนื้อเพิ่มขึ้น เมล็ดแข็งมากและมีขนบริเวณผิวเมล็ด เมือกหนามากขึ้น
เดือนที่ 7 (ธันวาคม)	เปลือกสีเขียวอ่อนและแข็งมาก เนื้อมีสีเหลืองเพิ่มขึ้น มีการสร้างเนื้อจนเต็มเปลือก เมือกหนามาก ผลกลม
เดือนที่ 8 (มกราคม)	คล้ายเดือนธันวาคม
เดือนที่ 9 (กุมภาพันธ์)	คล้ายเดือนมกราคม
เดือนที่ 10 (มีนาคม)	เปลือกสีเขียวเหลือง เริ่มมีกลิ่นมะตูมสุก ลักษณะอื่นคล้ายเดือนกุมภาพันธ์
เดือนที่ 11 (เมษายน)	เปลือกสีเหลืองเขียว แข็ง และขรุขระ เนื้อภายในอ่อนนุ่ม ผลสุก
ระยะสุกเต็มที่ (หลังเก็บเกี่ยว 8 วัน)	เปลือกสีเหลือง มีกลิ่นระสมมะตูมสุก เนื้อภายในอ่อนนุ่ม มีรสหวาน ขั้วหลุดง่าย

ที่มา: Roy (1998)

2.1.3 พันธุ์มะตูม

มะตูมไม่มีการกำหนดพันธุ์ที่เป็นมาตรฐานเดียวกันทั่วโลก โดยส่วนมากจะเรียกชื่อพันธุ์ตามท้องถิ่นที่พบ สำหรับมะตูมที่พบในประเทศไทยสามารถแบ่งออกเป็น 4 พันธุ์ ได้แก่ มะตูมไข่ เป็นมะตูมที่มีลักษณะผลค่อนข้างกลมเล็กคล้ายมะขวิด เปลือกบาง นิยมใช้บริโภค มะตูมหม้อ มะตูมฝ้าย หรือมะตูมธรรมดา เป็นมะตูมที่มีขนาดใหญ่กว่ามะตูมไข่และมีเปลือกแข็ง

มะตูมนิม มีลักษณะผลเล็กขนาดเท่าผลส้มเกลี้ยง ยาวเล็กน้อย มีเปลือกผลนิ่มและบาง สามารถบีบให้แตกได้ และมะตูมยักษ์หรือมะตูมซี่ข้าง มีขนาดผลใหญ่กว่ามะตูมธรรมดา น้ำหนักผลประมาณ 3 กิโลกรัม หรือมากกว่าเมื่อผลโตเต็มที่ (ธีรพร และ ชนิษฐา, 2545)

2.1.4 คุณค่าทางอาหารของมะตูม

มะตูมเป็นพืชชนิดหนึ่งที่มีสรรพคุณทางยาและมีคุณค่าทางอาหารสูง องค์ประกอบทางเคมีและคุณภาพทางประสาทสัมผัสของมะตูมที่ได้จากแหล่งต่างๆในประเทศอินเดีย แสดงในตารางที่ 2.3 และตารางที่ 2.4 แสดงปริมาณสารอาหารที่พบในผลมะตูมสุกของไทย วิเคราะห์จากส่วนที่รับประทานได้ 100 กรัม

ตารางที่ 2.3 องค์ประกอบทางเคมีและคุณภาพทางประสาทสัมผัสของมะตูมที่ได้จากแหล่งต่างๆในประเทศอินเดีย

Particulars	Cultivars of different locations			
	Calcutta	Varanasi	Agra	Delhi
Moisture (%)	59.64-62.19	59.40-68.70	60.08-62.05	59.37-61.83
Total soluble solids (%)	31.5-35.5	31.0-34.5	31.5-34.0	32.5-35.0
Reducing sugars (%)	2.50-5.53	2.35-5.68	2.08-3.72	2.15-3.24
Nonreducing sugars (%)	11.11-12.38	12.58-14.72	9.56-12.32	10.15-11.70
Total sugars (%)	13.90-16.70	13.65-17.92	12.92-15.88	12.50-14.70
Mucilage (%)	13.33-19.57	12.78-18.92	13.73-19.18	16.93-19.27
Acidity (%) ^a	0.31-0.40	0.33-0.39	0.33-0.42	0.32-0.36
pH	5.1-5.3	5.15-5.3	5.0-5.25	5.2-5.3
Ascorbic acid (mg/ 100 g)	8.98-17.51	14.40-18.01	12.80-18.20	7.68-10.73
Crude protein (%)	2.28-3.18	2.32-3.28	2.75-3.22	2.26-2.89
Total phenolics (mg/ 100 g)	1755-2473	1777-2375	1850-2650	2210-3000
Organoleptic score ^b	5.7-8.3	5.7-8.5	5.6-8.3	5.6-7.3

^aExpressed as citric acid, ^b5.5 and above acceptable

ที่มา: Roy และ Khurdiya (1995)

ตารางที่ 2.4 ปริมาณสารอาหารที่พบในผลมะตูมสุกของไทย

องค์ประกอบ	ปริมาณ
คาร์โบไฮเดรต	34.7 กรัม
โปรตีน	1.8 กรัม
ไขมัน	0.3 กรัม
น้ำตาล	14.3 กรัม
ใยอาหาร	2.9 กรัม
แคลเซียม	85 มิลลิกรัม
ฟอสฟอรัส	50 มิลลิกรัม
เหล็ก	0.6 มิลลิกรัม
วิตามินเอ	92 หน่วยสากล (I.U.)
วิตามินบี 1	1.3 มิลลิกรัม
วิตามินบี 2	1.19 มิลลิกรัม
วิตามินซี	8.0 มิลลิกรัม
วิตามินอี	0.06 หน่วยสากล (I.U.)
ไนอะซิน	1.1 มิลลิกรัม

ที่มา: กองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข (2530)

2.1.5 การใช้ประโยชน์จากมะตูมในประเทศไทย

มะตูมเป็นพืชที่สามารถใช้ประโยชน์ได้หลายด้าน ทั้งด้านการอุปโภคและบริโภค รวมถึงการใช้ประโยชน์ในด้านสมุนไพร ส่วนข้อมูลการแปรรูปมะตูมที่มีในประเทศไทยพบว่าการบริโภคมะตูมแปรรูปเริ่มแพร่หลายและเป็นที่ยอมรับของบุคคลทั่วไปมากขึ้น เนื่องจากมะตูมเป็นพืชที่มีสรรพคุณทางยาและมีประโยชน์ต่อร่างกายหลายด้าน ดังนั้นจึงมีการนำมะตูมทั้งผลดิบและผลสุกมาแปรรูปเพื่อจำหน่ายมากขึ้น แต่ส่วนใหญ่การแปรรูปจะทำในระดับครัวเรือนหรือกลุ่มแม่บ้าน ซึ่งชนิดของผลิตภัณฑ์แปรรูปจากมะตูมที่พบทั่วไปในปัจจุบันได้แก่ มะตูมแวนตากแห้ง มะตูมเชื่อม มะตูมผง และชามะตูม (ธีรพร และ ชนิษฐา, 2545)

2.2 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสำคัญที่พบในเนื้อมะตูม

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพคือ สารที่ให้ประโยชน์หรือคุณสมบัติอื่นที่ดีต่อสุขภาพนอกเหนือจากคุณค่าทางโภชนาการพื้นฐาน เช่น การต้านอนุมูลอิสระ การเพิ่มประสิทธิภาพให้กับระบบภูมิคุ้มกัน ช่วยลดปริมาณคอเลสเตอรอลในเลือด ลดอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคกระดูกพรุน และ

ช่วยป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง เป็นต้น (Sanders, 1998; Bender, 1999; Bidlack and Wang, 2000) สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสำคัญที่พบในเนื้อมะตูมสามารถแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ๆ ดังนี้

2.2.1 สารกลุ่มที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

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

2.2.1.1 สารกลุ่มแคโรทีนอยด์

แคโรทีนอยด์เป็นกลุ่มรงควัตถุที่พบในพืช ให้สีเหลือง ส้ม และส้มแดง มีความสำคัญต่อร่างกายโดยสามารถเปลี่ยนเป็นวิตามินเอ (provitamin A) และทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยมีบทบาทสำคัญในการหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ และการเข้าไปจับกับอนุมูลอิสระ (Gross, 1991) แคโรทีนอยด์ถือเป็นรงควัตถุหลักที่ให้สีส้มอมเหลืองในมะตูม Gopalan และคณะ (1978) รายงานว่า เนื้อมะตูมสุกมีปริมาณแคโรทีน 55 ไมโครกรัม วิเคราะห์จากส่วนที่รับประทานได้ 100 กรัม ซึ่งการเปลี่ยนแปลงชนิดและปริมาณของแคโรทีนอยด์จะเพิ่มมากขึ้นในระหว่างกระบวนการสุก

2.2.1.2 สารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลิกเป็นกลุ่มสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสำคัญที่พบในผัก ผลไม้ และธัญพืชชนิดต่างๆ สามารถแบ่งเป็น 3 กลุ่มหลัก ได้แก่ กรดฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และแทนนิน (Dykes and Rooney, 2007) กลไกในการต้านอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกมี 3 กลไกคือ ทำหน้าที่เป็นสารคีเลต (chelating agent) ทำหน้าที่เป็นสารต้านออกซิเดชันโดยหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain breaking antioxidant) และทำหน้าที่เปลี่ยนรูปวิตามินอีกลับมาใหม่ (regenerate α -tocopherol) (โสภา และคณะ, 2549) สารประกอบฟีนอลิกสำคัญที่พบในมะตูม ได้แก่ ฟลาโวนอยด์และแทนนิน ฟลาโวนอยด์เป็นกลุ่มรงควัตถุที่พบในพืชมีสีเหลือง Chanai

(1998) รายงานว่า มะตูมประกอบด้วยสารฟลาโวนอยด์หลายชนิดที่ซับซ้อน สารฟลาโวนอยด์หลักที่พบได้แก่ ไฮยานิดิน และ ฟิลาโกนินดิน ส่วนแทนนินเป็นกลุ่มของสารประกอบเชิงซ้อนที่ทำให้เกิดรสฝาด (astringency) และมีสีเหลืองจนถึงน้ำตาล Siddappa (1958) รายงานว่า สารประกอบแทนนินที่พบในมะตูมคือ กรดแทนนิก

2.2.1.3 วิตามินซี

วิตามินซีมีบทบาทสำคัญในการหยุดปฏิกิริยาถูกใช้ของอนุมูลอิสระ และเข้าจับอนุมูลที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบและมีความไวในการเกิดปฏิกิริยาสูง (scavenging of reactive oxygen species) (โอบา และคณะ, 2549; Smirnoff, 2000) วิตามินซีเป็นวิตามินหลักที่พบในมะตูม ซึ่งพบในปริมาณ 8 มิลลิกรัม วิเคราะห์จากส่วนที่รับประทานได้ 100 กรัม (กองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข, 2530; Gopalan et al., 1978) โดยเมื่อมะตูมมีระยะเวลาสุกมากขึ้นจะมีปริมาณวิตามินซีสูงขึ้น (Pande et al., 1986)

2.2.2 โยอาหาร (Dietary fiber)

โยอาหารหมายถึง ส่วนของพืชที่รับประทานได้ แต่ไม่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ ทำให้ไม่มีการดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย จึงผ่านกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กโดยไม่มีการเปลี่ยนแปลง แต่จุลินทรีย์บางชนิดในลำไส้ใหญ่สามารถย่อยสลายส่วนประกอบทั้งหมดหรือบางส่วนของโยอาหารได้ โยอาหารประกอบด้วยกลุ่มของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ไม่ใช่แป้งในพืช เช่น เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสบางส่วน กัม สารประกอบเพกทิน รวมถึงลิกนิน เป็นต้น (American Association of Cereal Chemists, 2001; Slavin, 2003) โยอาหารแบ่งตามการละลายน้ำได้เป็น 2 ประเภท ดังนี้

2.2.2.1 โยอาหารที่ละลายน้ำ (Soluble dietary fiber)

โยอาหารที่ละลายน้ำ ได้แก่ กัม เพกทิน และมิวซิเลจ พบมากในพืชตระกูลถั่วบางชนิด ธัญพืช เช่น ข้าวโอ๊ต ข้าวบาร์เลย์ ผักและผลไม้ชนิดต่างๆ โยอาหารกลุ่มนี้เมื่อละลายน้ำสามารถเพิ่มความหนืดให้กับอาหาร และสามารถถูกย่อยสลายโดยแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ได้อย่างสมบูรณ์ (soluble/ viscous/ fermentable) (Roberfroid, 1993) มีผลช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลและช่วยดูดซึ่มกลูโคสในลำไส้ (Scheneeman, 1987) ลดโอกาสการเป็นโรคหลอดเลือดแดงแข็ง โรคความดันโลหิตสูง โรคหลอดเลือดหัวใจ และโรคมะเร็งลำไส้ (Nawirska, 2005)

2.2.2.2 โยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ (Insoluble dietary fiber)

โยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ ได้แก่ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน พบมากในธัญพืชที่ผ่านกระบวนการขัดสีน้อย รำข้าว ถั่วและเมล็ดพืช แบคทีเรียในลำไส้สามารถย่อยโยอาหารกลุ่มนี้ได้บางส่วนอย่างช้าๆ (insoluble/ non-viscous/ slowly fermentable)

(Roberfroid, 1993) โยอาหารกลุ่มนี้จะช่วยเพิ่มปริมาณกากในลำไส้ใหญ่ เพิ่มมวลอุจจาระ และช่วยลดอาการท้องผูก (Rodriguez et al., 2006)

2.2.3 สารกลุ่มพรีไบโอติก

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

พรีไบโอติกมีประโยชน์ต่อสุขภาพในหลายด้านดังนี้ (Roberfroid, 2000; Venter, 2007)

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

(2) ผลต่อการดูดซึมแร่ธาตุบางชนิด ภาวะความเป็นกรดที่เกิดขึ้นจากการหมักพรีไบโอติกโดยพรีไบโอติกยังช่วยการดูดซึมแร่ธาตุบางชนิด เช่น แคลเซียม เหล็ก แมกนีเซียม และสังกะสี ทำให้ลดความเสี่ยงในการเกิดโรคกระดูกพรุน

(3) ผลต่อการเผาผลาญไขมัน จากกระบวนการหมักที่ได้กรดไขมันสายสั้น โดยเฉพาะกรดพริพิโอนิก สามารถไปยับยั้งการสังเคราะห์ไขมันรวมทั้งคอเลสเตอรอล จึงช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดแข็งได้

(4) ผลต่อระบบภูมิคุ้มกันของระบบทางเดินอาหาร พรีไบโอติกสามารถช่วยกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน โดยมีผลต่อการทำหน้าที่ของเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับภูมิคุ้มกัน

ลำไส้ มีผลเพิ่มความแข็งแรงของเซลล์เยื่อผิวที่ลำไส้ซึ่งสามารถป้องกันการติดเชื้อได้ดี รวมถึงมีผลต่อจำนวนและการทำงานของโพรไบโอติก

เนื่องจากสารโพรไบโอติกแต่ละชนิดจะส่งผลต่อโพรไบโอติกแตกต่างกัน ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการตรวจวัดค่าความสามารถหรือค่าแอกทิวิตีของสารโพรไบโอติก (prebiotic activity score) Huebner และคณะ (2007) และ Huebner และคณะ (2008) ศึกษาค่าแอกทิวิตีของสารโพรไบโอติกทางการค้า โดยพิจารณาจากความสามารถของโพรไบโอติกในการส่งเสริมการเจริญของโพรไบโอติกกลุ่ม Lactobacilli และ Bifidobacteria สายพันธุ์ต่างๆ รวมทั้งแบคทีเรียที่พบในระบบทางเดินอาหารคือ *Escherichia coli* กับสารที่ไม่ได้เป็นโพรไบโอติกคือ กลูโคส พบว่าสารที่ทดสอบจะมีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติกที่ดีหรือมีค่าแอกทิวิตีสูง ถ้าสารนั้นมีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญของโพรไบโอติกได้ดีกว่าสารที่ไม่ได้เป็นโพรไบโอติก แต่ในขณะเดียวกันต้องไม่ส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียชนิดอื่นในระบบทางเดินอาหาร

2.3 สารให้กลิ่นรสในเนื้อมะตูม

มะตูมเป็นพืชที่มีกลิ่นหอมเป็นเอกลักษณ์ คล้ายกลิ่นของสารกลุ่มเทอร์ปีน (characteristic floral, terpene-like aroma) จากงานวิจัยของ MacLeod และ Pieris (1981) พบว่า สารระเหยให้กลิ่นของมะตูมที่ปลูกในประเทศศรีลังกาเป็นสารกลุ่ม alcohols, ester, monoterpenes และ sesquiterpenes โดยมีองค์ประกอบหลักคือ cis-linalool oxide (furanoid) ซึ่งมีปริมาณมากกว่าหนึ่งในสามส่วนของสารระเหยที่พบ และสารที่ให้กลิ่นเฉพาะของมะตูมได้แก่ 3-methylbutyl acetate, 3-methyl-2-buten-1-ol และ α -phellandrene ส่วนงานวิจัยของ Tokimoto และคณะ (1982) พบว่า สารกลุ่มเทอร์ปีน เช่น limonene, linalool oxide และ linalool เป็นสารสำคัญที่ให้กลิ่นรสหลักของมะตูมในประเทศศรีลังกา (ตารางที่ 2.5) และพบว่า 3,7-dimethyl-1,5,7-octatrien-3-ol และไอโซเมอร์ของสารชนิดนี้ เป็นสารที่ทำให้กลิ่นรสมะตูมมีความน่าสนใจและดึงดูดใจมากขึ้น

สารประกอบกลุ่มเทอร์ปีน เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีโครงสร้างเป็นเส้นตรงหรือวงแหวน ประกอบด้วยหน่วยไอโซพรีน (isoprene) ตั้งแต่ 2 หน่วยขึ้นไป เรียกว่าเทอร์ปีนไฮโดรคาร์บอน เทอร์ปีนที่พบในมะตูมส่วนใหญ่ประกอบด้วยไอโซพรีน 2 หน่วย เรียกว่า monoterpene ($C_{10}H_{16}$) และเทอร์ปีนที่ประกอบด้วยไอโซพรีน 3 หน่วย เรียกว่า sesquiterpene ($C_{15}H_{24}$) ซึ่งสารทั้งสองกลุ่มนี้สามารถแบ่งเป็นกลุ่มย่อยได้อีกหลายกลุ่ม เช่น acyclic/ monocyclic/ bicyclic monoterpenes และ acyclic/ monocyclic/ azulenes sesquiterpenes นอกจากสารประกอบในกลุ่มเทอร์ปีนจะเป็นสารที่ให้กลิ่นรสในมะตูมแล้ว สารประกอบกลุ่มนี้ยังเป็นสารออกฤทธิ์ทาง

ชีวภาพชนิดหนึ่งที่ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และมีผลช่วยป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง (Hill, 1993; Bakkali et al., 2008)

ตารางที่ 2.5 สารที่ให้กลิ่นรสหลักพื้นฐานของมะตูมที่พบในประเทศไทยศรีลังกา

Compound	Concentration (%)
Limonene	31.8
Δ^3 -Carene	5.7
p-Cymene	2.0
Linalool oxide I, II	19.2
Linalool	20.0
Benzyl acetate	5.2
Linalool oxide III, IV	10.8
Benzyl alcohol	1.5
2-Phenylethanol	1.5
β -Ionone	1.5

ที่มา: Tokimoto และคณะ (1982)

2.4 พฤติกรรมการไหลของสารเพิ่มลักษณะเนื้อสัมผัสในอาหาร

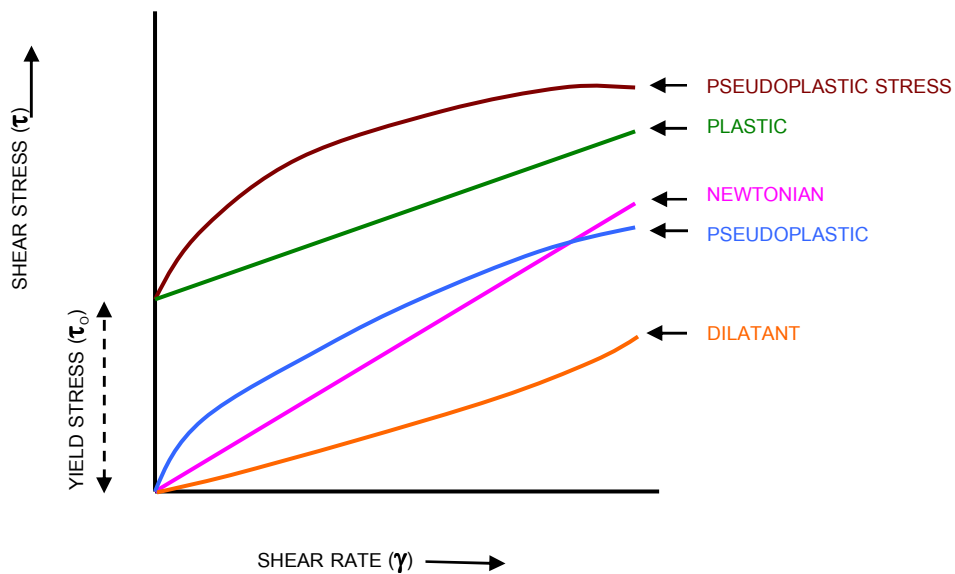
การใช้ประโยชน์จากสารเพิ่มลักษณะเนื้อสัมผัสในอาหารประเภทไฮโดรคอลลอยด์ชนิดต่างๆ เช่น แซนแทนกัม คาร์ราจีแนน เพกทิน สตาร์ช และเจลาติน ในอุตสาหกรรมอาหาร เพื่อใช้เป็นสารเพิ่มความคงตัว (stabilizer) สารเพิ่มความหนืด (thickener) อิมัลซิไฟเออร์ (emulsifier) และหน้าที่อื่นๆ ในผลิตภัณฑ์อาหาร จะช่วยให้ผลิตภัณฑ์อาหารที่ได้มีคุณภาพและเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคมากขึ้น เช่น มีลักษณะเนื้อสัมผัสและลักษณะปรากฏที่ดีขึ้น รวมทั้งมีอายุการวางขายได้นาน (Marcotte et al., 2001; Petsev, 2004) ซึ่งไฮโดรคอลลอยด์แต่ละชนิดจะมีลักษณะการใช้งานที่แตกต่างกันทั้งนี้ขึ้นอยู่กับพฤติกรรมการไหลของไฮโดรคอลลอยด์ที่ต่างกันด้วย

พฤติกรรมการไหลของไฮโดรคอลลอยด์ที่พบสามารถแบ่งเป็น 2 ลักษณะ ได้แก่ Newtonian fluids คือ เมื่ออุณหภูมิและความดันคงที่ ของเหลวจะมีความหนืดไม่เปลี่ยนแปลงตามอัตราเฉือน และ non-Newtonian fluids คือ ของเหลวจะมีความหนืดแปรตามอัตราเฉือน การไหลแบบ non-Newtonian ที่พบส่วนใหญ่ในไฮโดรคอลลอยด์จะเป็นแบบ Pseudoplastic หรือ Shear-thinning behavior คือ ของเหลวจะมีความหนืดลดลง เมื่ออัตราเฉือนเพิ่มขึ้น แต่ในบางกรณีของเหลวจะไหลได้เมื่อให้แรงที่ใช้ในการเคลื่อนที่ถึงจุดๆหนึ่งที่เรียกว่า Yield value หรือมีพฤติกรรมการไหล

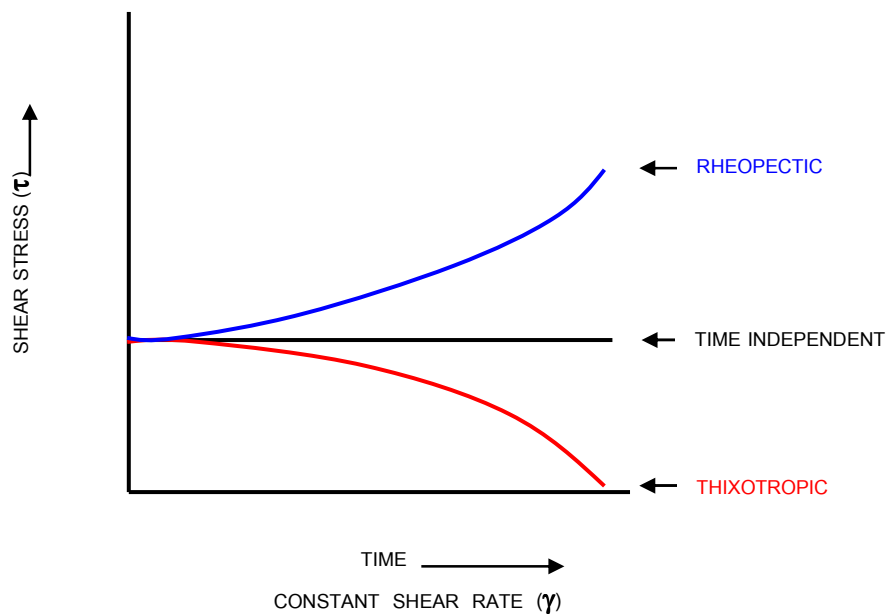
แบบ Pseudoplastic with yield stress ส่วนการไหลในอีกลักษณะหนึ่งของไฮโดรคอลลอยด์บางชนิดที่มีโครงสร้างซับซ้อนได้แก่ ลักษณะการไหลที่ขึ้นกับเวลาในการให้อัตราเฉือน ที่พบส่วนใหญ่จะเป็นแบบ Thixotropic (Time-dependent pseudoplastic flow) คือ ของเหลวที่มีความหนืดลดลง เมื่อได้รับอัตราเฉือนที่คงที่ในเวลาเพิ่มขึ้น (McKenna and Lyng, 2003; Schramm, 2005; Brummer, 2006) รูปที่ 2.4 และ 2.5 แสดง Flow curves ของพฤติกรรมกรไหลแบบต่างๆ และลักษณะการไหลแบบ Time-dependent ตามลำดับ ตัวอย่างสมการที่ใช้ในการทำนายค่าพฤติกรรมกรไหลของไฮโดรคอลลอยด์ได้แก่ Linear (Newtonian หรือ Bingham), Power law (Ostwald-de-Waele), Power law with an yield stress (Herschel-Bulkley) และ Casson models (Rao, 1999)

Marcotte และคณะ (2001) ศึกษาพฤติกรรมกรไหลของไฮโดรคอลลอยด์หลายชนิดได้แก่ แชนแทนกัม คาร์ราจีแนน เพกทิน สตาร์ช และเจลาติน พบว่า ที่อุณหภูมิ 20°C เจลาตินมีพฤติกรรมกรไหลแบบ Newtonian เมื่อใช้ Newtonian model ทำนายค่า ในขณะที่ไฮโดรคอลลอยด์ชนิดอื่นจะมีพฤติกรรมกรไหลแบบ non-Newtonian ในลักษณะ Pseudoplastic fluids (shear thinning) โดยสมการที่ใช้ในการทำนายค่าพฤติกรรมกรไหลของสตาร์ชและเพกทินคือ Power law model ส่วนคาร์ราจีแนนและแชนแทนกัมจะใช้ Herschel-Bulkley model ในการทำนายค่า

Sharma และคณะ (2007) รายงานพฤติกรรมกรไหลของไฮโดรคอลลอยด์ชนิดต่างๆที่นิยมใช้ในอาหารพบว่า กัวกัมและโซเดียมแอลจีเนตมีพฤติกรรมกรไหลแบบ Pseudoplastic fluids (shear thinning) แชนแทนกัม คาร์ราจีแนน กัมทราคาแคนต์ เมทิลเซลลูโลส ไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลส ไฮดรอกซีเอทิลเซลลูโลส ไฮดรอกซีโพรพิลเซลลูโลส และไฮดรอกซีโพรพิลกัวมีพฤติกรรมกรไหลแบบ Pseudoplastic with yield stress กัมอะราบิกมีพฤติกรรมกรไหลแบบ Newtonian ที่ความเข้มข้นต่ำกว่า 40% และมีพฤติกรรมกรไหลแบบ Pseudoplastic with yield stress ที่ความเข้มข้นสูงกว่า 40% และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นจนถึงระดับหนึ่งจะมีค่า yield value เกิดขึ้น ส่วนโซเดียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสมีพฤติกรรมกรไหลแบบ Time-dependent pseudoplastic flow



รูปที่ 2.4 Flow curves ของพฤติกรรมกรไหลแบบต่างๆ (Schramm, 2005)



รูปที่ 2.5 ลักษณะการไหลแบบ Time-dependent (Schramm, 2005)

2.5 การเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลในผลิตภัณฑ์จากผักและผลไม้

การเกิดสีน้ำตาลในผลิตภัณฑ์จากผักและผลไม้ ส่วนใหญ่เกิดจากปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่เร่งด้วยเอนไซม์ โดยมีสาเหตุหลักจากการทำงานของเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดส (PPO) ซึ่งเกิดขึ้นเมื่อเซลล์เนื้อเยื่อพืชถูกทำลายทางกล เช่น การปอกเปลือก การหั่นชิ้น หรือการตีปั่น ทำให้เกิดปฏิกิริยาระหว่างสารประกอบโมโนฟีนอลที่อยู่ในเซลล์พืชกับออกซิเจนในอากาศ และมีเอนไซม์ PPO ทำให้เกิดปฏิกิริยาไฮดรอกซิเลชันได้เป็น o-diphenol ซึ่งสารนี้จะถูกออกซิไดส์ต่อไปเป็น o-quinone สารดังกล่าวที่เกิดขึ้นจะรวมตัวกันและเกิดปฏิกิริยากับสารประกอบฟีนอลอื่นๆ หรือกับกรดอะมิโนได้เป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำตาล (Owusu-apenten, 2005) แสดงในรูปที่

2.6 ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่เร่งด้วยเอนไซม์เมื่อเกิดขึ้น จะทำให้สีและรสชาติของผลิตภัณฑ์จากผักและผลไม้บางชนิดเปลี่ยนแปลงไป ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีคุณภาพลดลงและไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ดังนั้นจึงต้องมีการควบคุมไม่ให้เกิดปฏิกิริยาชนิดดังกล่าวขึ้น ซึ่งวิธีการควบคุมและยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลมีหลายวิธีด้วยกัน (Lee and Whitaker, 1995) ดังนี้

(1) การใช้ความร้อน

การให้ความร้อนกับผักและผลไม้ เช่น การลวกด้วยไอน้ำ เป็นการช่วยควบคุมหรือยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ PPO เนื่องจากความร้อนทำให้เอนไซม์ซึ่งเป็นโปรตีนเกิดการเสียสภาพ ทั้งนี้เอนไซม์ PPO ในผักและผลไม้ชนิดต่างชนิดกัน จะมีเสถียรภาพต่อความร้อนแตกต่างกัน ดังนั้นจึงต้องใช้อุณหภูมิและเวลาในการให้ความร้อนต่างกัน

Vámos-Vigyázó (1981) รายงานว่า การให้ความร้อนกับผักและผลไม้ในช่วงเวลาสั้นๆ ที่อุณหภูมิ 70 ถึง 90°C สามารถทำลายแอกทิวิตีของเอนไซม์ PPO ได้ทั้งบางส่วนและได้ทั้งหมด ซึ่งการให้ความร้อนกับกล้วยที่อุณหภูมิ 95°C เป็นเวลานาน 5 นาที สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ PPO ได้ทั้งหมด (Galeazzi and Sgarbieri, 1981) แต่การให้ความร้อนกับลูกแพร์ที่อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลานาน 2 นาที สามารถทำลายแอกทิวิตีของเอนไซม์ PPO ได้ 90.5% และทำลายได้สมบูรณ์เมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80°C เป็นเวลานาน 2 นาที (Almeida and Nogueira, 1995)

(2) การใช้สารเคมี

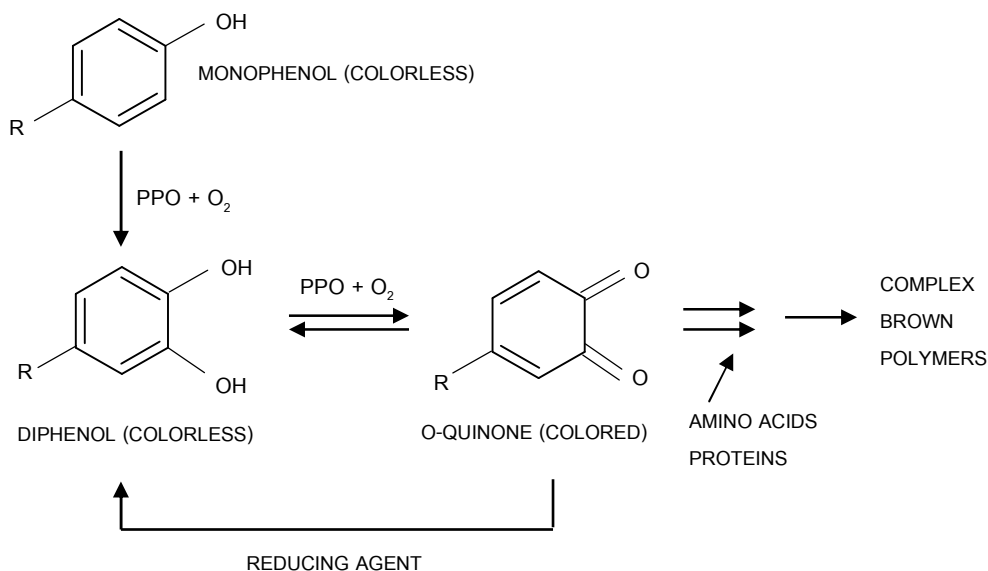
สารที่ใช้ควบคุมหรือยับยั้งปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลจากเอนไซม์ PPO มีหลายชนิด แต่ที่นิยมใช้ได้แก่ กรดแอสคอร์บิกและกรดซิตริก

กรดแอสคอร์บิกจะทำหน้าที่เป็นสารรีดิวซ์ โดยจะรีดิวซ์ o-quinone ให้กลับมาอยู่ในรูปของสารประกอบฟีนอล ก่อนที่ o-quinone จะทำปฏิกิริยาต่อไปจนกลายเป็นสารสีน้ำตาล (Dris and Jain, 2004) แสดงในรูปที่ 2.6 Almeida และ Nogueira (1995) รายงานว่า การใช้กรด

แอสคอร์บิกเข้มข้น 0.5% สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ PPO ในลูกแพร์ มะเดื่อ แอปเปิ้ล และลูกพีช ได้อย่างสมบูรณ์

กรดซิตริกทำหน้าที่เป็นสารป้องกันการเกิดสีน้ำตาลกลุ่ม Acidulant โดยลดค่า pH ให้ต่ำกว่าค่า optimum pH ของเอนไซม์ PPO ส่งผลให้เอนไซม์มีแอกทิวิตีลดลง และยังพบว่ากรดซิตริกสามารถทำหน้าที่เป็นสารคีเลทจับกับทองแดงที่บริเวณเร่งของเอนไซม์ PPO เมื่อทองแดงถูกดึงออกไปจะทำให้เอนไซม์ PPO ไม่สามารถทำงานได้เป็นปกติ (Richardson and Hyslop, 1985) McCord และ Kilara (1983) รายงานว่า แอกทิวิตีของเอนไซม์ PPO ในเห็ดจะถูกทำลายอย่างรวดเร็วที่อุณหภูมิ 40°C เมื่อใช้กรดซิตริกช่วยลด pH เป็น 3.5

นอกจากนี้ยังพบว่า การควบคุมหรือยับยั้งเอนไซม์ PPO อาจใช้หลายวิธีร่วมกันได้ Mao และคณะ (2007) พบว่า การให้ความร้อนควบคู่กับการเติมกรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 0.1% (w/w) มีผลช่วยควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลและเพิ่มคุณภาพโดยรวมของน้ำอ้อยได้



รูปที่ 2.6 กลไกการเกิดและการควบคุมปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลจากการทำงานของเอนไซม์ PPO ด้วยสารรีดิวซ์ (ดัดแปลงจาก Walker, 1977)

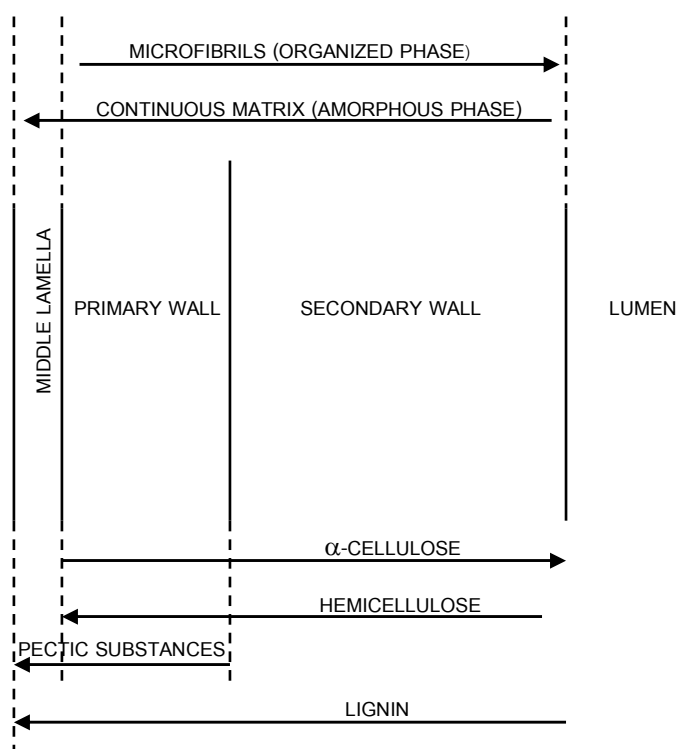
2.6 การผลิตสารสกัดจากผักและผลไม้ด้วยเอนไซม์

การผลิตสารสกัดจากผักและผลไม้ด้วยวิธีทางชีวภาพ โดยใช้เอนไซม์ย่อยสลายส่วนประกอบต่างๆ ในผนังเซลล์พืช จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดของเหลวต่างๆ รวมทั้งสารให้สี กลิ่น รส และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (ปราณี, 2547; Pilnik and Voragen, 1993) โดยไม่ต้องผ่านกระบวนการกรองแยกกากหรือใยอาหารออก ทำให้สารสกัดหรือไฮโดรไลเสตที่ได้ยังคงองค์ประกอบเดิมไว้และเพิ่มองค์ประกอบใหม่ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ ซึ่งสารสกัดที่ได้สามารถพัฒนาเป็นสารปรุง

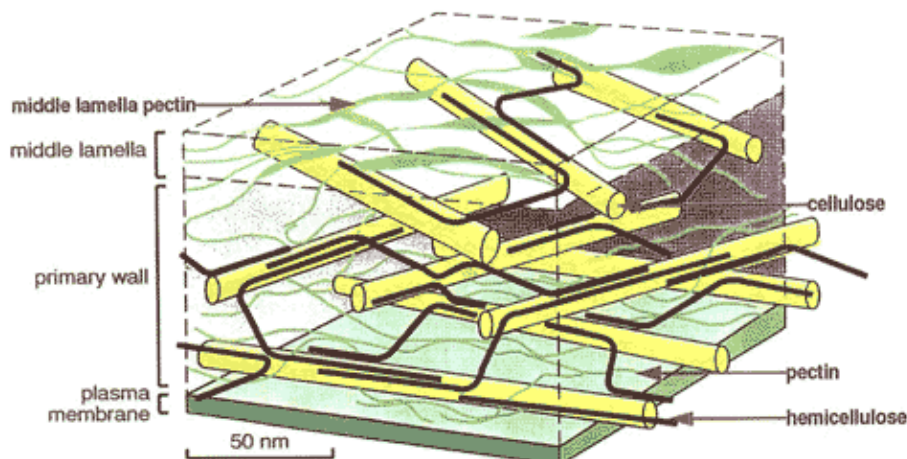
แต่งสี กลิ่น รส และลักษณะเนื้อสัมผัสในอาหารที่มีหน้าที่เฉพาะ (functional food) สำหรับชนิดของเอนไซม์ที่เลือกใช้ในการทำปฏิกิริยา จะต้องมีความสัมพันธ์และมีความเหมาะสมกับลักษณะและองค์ประกอบของผักและผลไม้แต่ละชนิด

2.6.1 ลักษณะผนังเซลล์พืช

โดยทั่วไปส่วนประกอบหลักของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ทำหน้าที่เป็นผนังเซลล์พืช ได้แก่ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และสารประกอบเพกทิน ทั้ง 3 ส่วนนี้จะอยู่รวมกันในลักษณะเชื่อมต่อกันในชั้นปฐมภูมิ (primary wall) ของผนังเซลล์พืช ส่วนชั้นระหว่างเซลล์ (middle lamella) ซึ่งเป็นชั้นที่เชื่อมระหว่างเซลล์ให้อยู่ติดกันจะมีสารประกอบเพกทินเป็นองค์ประกอบหลัก และในชั้นทุติยภูมิ (secondary wall) จะประกอบด้วยเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสเป็นหลัก (Rolin et al., 1998) แสดงในรูปที่ 2.7 ซึ่งความเกี่ยวโยงของสารประกอบเพกทิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส ในเนื้อเยื่อพืชเป็นสิ่งสำคัญที่ทำให้ผักและผลไม้มีความแน่นเนื้อ เกิดการกักเก็บของเหลวละลายและสารให้กลิ่นรส (ปราณี, 2547) แสดงในรูปที่ 2.8



รูปที่ 2.7 ส่วนประกอบต่างๆของผนังเซลล์พืช (Rolin et al., 1998)



รูปที่ 2.8 ความเกี่ยวข้องของสารประกอบเพกทิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส ในเนื้อเยื่อพืช (ดัดแปลงจาก Hopkins, 1999)

2.6.2 บทบาทของเอนไซม์เพกทิเนสในการแปรรูปผักและผลไม้

เนื่องจากสารประกอบเพกทินทำหน้าที่เป็นองค์ประกอบโครงสร้าง พบในพืชทุกชนิดโดยเฉพาะที่ผนังเซลล์และระหว่างเซลล์ (intercellular) มีปริมาณมากในผักและผลไม้หลายชนิด เช่น เปลือกส้มและมะนาวจะมีสารประกอบเพกทินในปริมาณสูงถึง 20-30% (w/w) และในแอปเปิ้ลมีประมาณ 15% (w/w) นอกจากนี้สารประกอบเพกทินในพืชยังทำหน้าที่เปรียบเหมือนซีเมนต์เชื่อมยึดเซลล์ต่างๆของเนื้อเยื่อไว้ จึงทำให้ผักและผลไม้มีเนื้อสัมผัสที่แน่น เกิดการกักเก็บสารต่างๆไว้ในเนื้อเยื่อดังกล่าวมาแล้ว ดังนั้นการใช้เอนไซม์เพกทิเนสในการแปรรูปผักและผลไม้จึงมีผลทำให้สารประกอบเพกทินมีขนาดโมเลกุลสั้นลง และมีหมู่คาร์บอกซิลอิสระในโมเลกุลมากขึ้นอันเนื่องมาจากการทำงานของเอนไซม์ ทำให้เพกทินยึดจับกับผนังเซลล์โดยรอบอย่างหลวม ส่งผลให้ผักและผลไม้เดิมมีเนื้อสัมผัสที่แน่น มีความอ่อนตัว เกิดการปล่อยสารต่างๆ เช่น รสควัตถุและสารให้กลิ่นรส ภายในเนื้อเยื่อพืชออกมาได้มากกว่าการใช้วิธีบีบอัดทางกายภาพ (ปราณี, 2547; วรรณ, 2549)

2.6.2.1 เอนไซม์เพกทิเนส

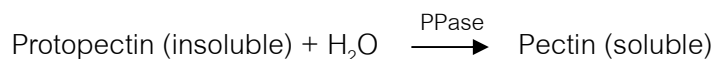
เอนไซม์กลุ่มเพกทิเนส เป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงสารประกอบเพกทินที่ผนังเซลล์พืช สับสเตรตของเอนไซม์เพกทิเนสคือ สารประกอบประเภทเพกทิน ซึ่งสามารถแบ่งตามลักษณะโครงสร้างได้เป็น 4 ชนิด ได้แก่ โปรโตเพกทินคือ สารประกอบเพกทินที่ไม่ละลายน้ำ ส่วนมากพบในผลไม้ดิบ กรดเพกติกคือ พอลิเมอร์ของกาแลกทูโรแนนที่ละลายน้ำได้และไม่มีหมู่เมทิลเอสเทอร์ในโมเลกุล กรดเพกทินิกคือ สายโซ่ของพอลิกาแลก

ทูโรแนนที่มีหมู่เมทิลเอสเทอร์เล็กน้อย (มากกว่า 0 แต่น้อยกว่า 75%) และเพกทิน (polymethyl galacturonate) คือ สารประกอบเพกทินที่มีหมู่คาร์บอกซิลอย่างน้อย 75% ถูกเอสเทอริไฟด์ด้วย เมทานอล พบเพกทินในผลไม้ตั้งแต่เริ่มสุกจนถึงสุกเต็มที่ โมเลกุลเพกทินประกอบขึ้นจากกรด α -D-galactopyranosyluronic ต่อเชื่อมกันเป็นสายโซ่ตรงและยาว ยึดจับระหว่างกันด้วยพันธะ α -1,4-glycosidic บางส่วนของหมู่คาร์บอกซิลบนสายโซ่จะมีหมู่เมทิลมาเอสเทอริไฟด์ นอกจากนี้ เพกทินยังมีพวกสายกิ่งที่ประกอบด้วยน้ำตาลชนิดเป็นกลาง โดยเฉพาะน้ำตาล L-rhamnose ส่วน น้ำตาลอื่นที่พบได้แก่ D-galactose และ L-arabinose เป็นต้น (ปราณี, 2547; Alkorta et al., 1998)

เอนไซม์เพกทิเนสสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ๆ ตามลักษณะการทำงาน คือ โปรโตเพกทิเนส เอสเทอเรส และดีพอลิเมอร์ส (Pilnik and Rombouts, 1979; Kashyap et al., 2001; Jayani et al., 2005)

(1) โปรโตเพกทิเนส (Protopectinases, PPase)

เป็นเอนไซม์กลุ่มที่เร่งการสลายโปรโตเพกทินที่ไม่ละลายน้ำ โดยจะ ได้พอลิเมอร์ของเพกทินที่สั้นลงและสามารถละลายน้ำได้มากขึ้น ดังสมการ



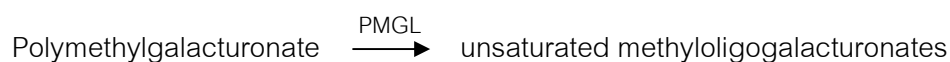
(2) เอสเทอเรส (Esterases)

เป็นเอนไซม์ที่เร่งการเกิดปฏิกิริยา de-esterification ของเพกทิน โดยดึงหมู่เมทิลเอสเทอร์ออก ได้แก่ เอนไซม์เพกทินเอสเทอเรส (PE) ดังสมการ

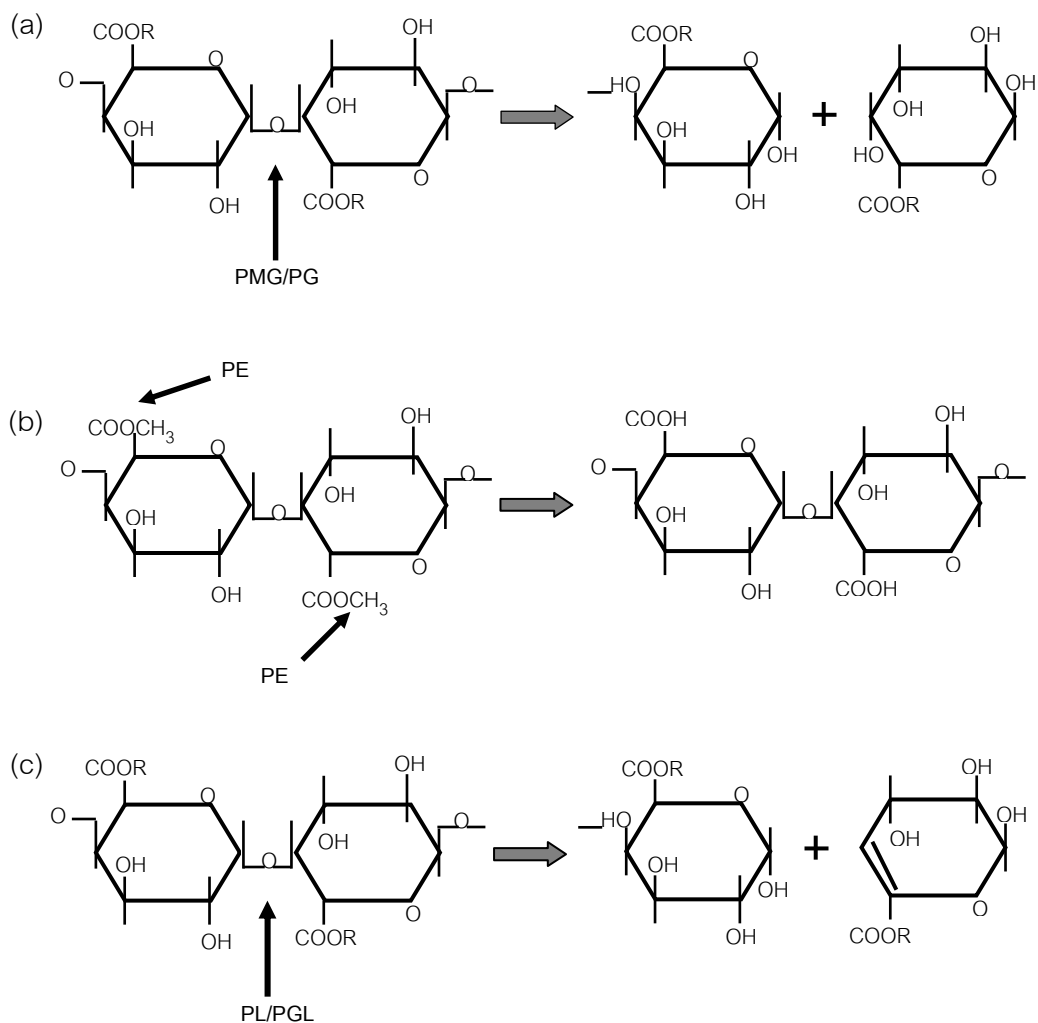


(3) ดีพอลิเมอร์ส (Depolymerases)

เป็นเอนไซม์ที่เร่งการสลายพันธะ α -(1→4)-glycosidic ระหว่าง กรดกาแลกทูโรนิกของสารประกอบเพกทิน แบ่งเป็น 2 กลุ่มหลัก ตามลักษณะการสลายพันธะ กลุ่มแรกคือ เอนไซม์พอลิกลาแกทูโรเนส (PG) และเอนไซม์พอลิเมทิลกลาแกทูโรเนส (PMG) ทำหน้าที่ไฮโดรไลซ์พันธะไกลโคซิลของเพกเทตและเพกทินตามลำดับ ส่วนอีกกลุ่มคือ เอนไซม์ พอลิกลาแกทูโรเนสไลเอส (PGL) และเอนไซม์พอลิเมทิลกลาแกทูโรเนสไลเอส (PMGL) ทำหน้าที่ สลายพันธะไกลโคซิลของเพกเทตและเพกทินตามลำดับ โดยอาศัย β -elimination ได้สาร พอลิเมอร์สายสั้นที่สายหนึ่งมีปลายรีดิวซ์และอีกสายพอลิเมอร์มีพันธะคู่ ดังสมการ



เอนไซม์เพกทิเนสที่ใช้ทางการค้าส่วนใหญ่ ประกอบด้วยเอนไซม์หลายชนิด โดยมีเอนไซม์กลุ่มเพกทิเนสเป็นหลัก เช่น เอนไซม์พอลิกลาแลกตูโรเนส เพกทินไลเอส และเพกทินเอสเทอเรส รวมถึงเอนไซม์ชนิดอื่นได้แก่ เอนไซม์เฮมิเซลลูเลส เซลลูเลส โปรตีเอส และอะไมเลส เป็นต้น ซึ่งการทำงานร่วมกันของเอนไซม์เหล่านี้จะช่วยเสริมประสิทธิภาพในการย่อยสลายประกอบต่างๆ ในผนังเซลล์พืชได้ดียิ่งขึ้น การผลิตเอนไซม์เพกทิเนสทางการค้าส่วนใหญ่จะผลิตโดยใช้จุลินทรีย์ *Aspergillus niger* และ *Aspergillus aculeatus* (Mutlu et al., 1999) รูปที่ 2.9 แสดงปฏิกิริยาของเอนไซม์เพกทิเนสชนิดต่างๆ



รูปที่ 2.9 ปฏิกิริยาของเอนไซม์เพกทิเนสชนิดต่างๆ (a) PG (R = H), PMG (R = CH₃);

(b) PE; (c) PGL (R = H), PL (R = CH₃); PMG = polymethylgalacturonases;

PG = polygalacturonases (EC 3.2.1.15); PE = pectinesterase (EC 3.1.1.11);

PL = pectin lyase (EC 4.2.2.10); ลูกศรแสดงตำแหน่งที่เอนไซม์เพกทิเนส

เข้าทำอันตรกิริยากับสารประกอบเพกทิน (Jayani et al., 2005)

2.6.2.2 การทำงานของเอนไซม์เพกทิเนสในการแปรรูปผักและผลไม้

การใช้เอนไซม์เพกทิเนสในกระบวนการแปรรูป ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงส่วนต่างๆของผักและผลไม้นี้ ส่วนที่เป็นน้ำผลไม้ (juice) ซึ่งเป็นส่วนของน้ำที่อิสระจากโครงสร้างเซลล์ จะมีความหนืดลดลง โดยช่วงแรกที่โปรโตเพกทินเริ่มละลาย ความหนืดจะสูงขึ้น แต่เมื่อผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์อย่างสมบูรณ์ความหนืดสุดท้ายจะลดลง ในขณะที่ส่วนชั้นกลาง (intermediary layer) ซึ่งเป็นชั้นที่มีลักษณะคล้ายเจล มีความหนืด อุ่มน้ำได้ดีเนื่องจากโปรโตเพกทินจับน้ำไว้ในโครงสร้าง เอนไซม์จะทำหน้าที่ลดปริมาณโปรโตเพกทินที่ไม่ละลายซึ่งมีส่วนในการทำลายโครงสร้างเจลและปล่อยน้ำออกมา พร้อมกับเพิ่มสมบัติการซึมผ่านของของแข็ง ส่วนสุดท้ายคือ ส่วนที่เป็นของแข็ง (solid) เป็นส่วนที่ไม่ละลายน้ำ และเป็นโครงสร้างของผักและผลไม้ เอนไซม์จะทำให้โครงสร้างเซลล์อ่อนตัวและปล่อยองค์ประกอบสำคัญ เช่น รงควัตถุและสารให้กลิ่นรส (Kilara, 1982; Pilnik and Voragen, 1991)

ส่วนรูปแบบการใช้เอนไซม์เพกทิเนสแปรรูปผักและผลไม้โดยทั่วไปมีอยู่ 2 รูปแบบหลัก (Baumann, 1981) รูปแบบแรกคือ Mash treatment เป็นการเติมเอนไซม์ลงในเนื้อผักและผลไม้ที่ผ่านการตีป่นมาแล้ว มีจุดประสงค์เพื่อเพิ่มปริมาณน้ำผักและผลไม้และช่วยในการสกัดองค์ประกอบอื่นๆ เช่น สารให้สี กลิ่น รส และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยมีตัวอย่างงานวิจัยที่เกี่ยวข้องดังนี้

Multlu และคณะ (1999) รายงานว่า การใช้เอนไซม์กลุ่มเพกทิเนสในการผลิตน้ำแครอท นอกจากจะช่วยเพิ่มปริมาณน้ำแครอทที่ได้มากถึง 20% ยังเป็นการเพิ่มปริมาณบีตาแคโรทีนในน้ำแครอท รวมทั้งให้สีและกลิ่นรสของแครอทที่ดีกว่าการไม่ใช้เอนไซม์ เช่นเดียวกับการใช้เอนไซม์กลุ่มนี้ เพื่อเพิ่มปริมาณน้ำผลไม้และปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำองุ่นแดง (Pilnik and Voragen, 1993)

Al-Hooti และคณะ (2002) ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไซรัปจากผลอินทผลัม เพื่อใช้เป็นสารให้ความหวานและทดแทนการใช้น้ำตาลในอุตสาหกรรมอาหาร โดยใช้เอนไซม์เพกทิเนสและเซลลูเลสเข้มข้น 0.5, 1.0 และ 2.0% (v/w) เวลาการย่อยนาน 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 40°C พบว่า การใช้เอนไซม์จะช่วยเพิ่มปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้เป็น 68% ซึ่งมากกว่าตัวอย่างที่ไม่ใช้เอนไซม์ รวมทั้งช่วยลดความหนืดและคงลักษณะสีและกลิ่นรสธรรมชาติของอินทผลัมไว้ได้

Sun และคณะ (2006) ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการใช้เอนไซม์เพกทิเนสและเซลลูเลสผลิตน้ำแครอทเข้มข้นพบว่า การใช้เอนไซม์เข้มข้น 100 ml/t เวลาการย่อยนาน 80 นาที ที่อุณหภูมิ 45°C pH 4.8 เป็นภาวะที่ให้ปริมาณน้ำแครอทและบีตาแคโรทีนสูง ($\geq 63.479\%$ และ ≥ 54.19 mg/kg ตามลำดับ) และมีค่าความหนืดต่ำ (≤ 2.128 cP)

ส่วนการใช้เอนไซม์เพกทิเนสแปรรูปผักและผลไม้ในอีกรูปแบบคือ Juice treatment เป็นการเติมเอนไซม์ลงในน้ำผักและผลไม้ที่ผ่านการบีบคั้นมาแล้ว มีจุดประสงค์เพื่อลดความหนืดและง่ายต่อการทำให้เข้มข้น นอกจากนี้ยังทำให้น้ำผักและผลไม้ใส มีความคงตัว และช่วยให้การกรองทำได้ดีขึ้น Kashyap และคณะ (2001) รายงานว่า การใช้เอนไซม์เพกทิเนสในการผลิตน้ำผลไม้จะช่วยทำให้น้ำผลไม้มีความหนืดลดลง เนื่องจากโมเลกุลเพกทินถูกย่อยและเกิดการสลายของเพกทินที่จับน้ำไว้ นอกจากนี้ยังส่งผลให้ความขุ่นของน้ำผลไม้ลดลงเนื่องจากอนุภาคแขวนลอยของเพกทินที่ห่อหุ้มโปรตีนบางส่วนถูกย่อย ทำให้เกิดการรวมประจุที่ต่างกันของเพกทินและโปรตีน โอกาสที่อนุภาคแขวนลอยจะรวมตัวกันจนมีขนาดใหญ่แล้วตกตะกอนมีสูงขึ้น ส่งผลให้ง่ายต่อการกรองและการปั่นเหวี่ยงแยกตะกอนออก ตัวอย่างงานวิจัยที่เกี่ยวข้องมีดังนี้

Alvarez และคณะ (1998) ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำแอปเปิ้ลโดยใช้เอนไซม์กลุ่มเพกทิเนสที่ความเข้มข้นในช่วง 0-400 ppm เวลาการย่อยนาน 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 55°C พบว่า น้ำแอปเปิ้ลที่ได้มีความขุ่นและความหนืดน้อยลงเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ใช้เอนไซม์

Abdullah และคณะ (2007) รายงานว่า ภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำมะเฟืองได้แก่ การใช้เอนไซม์เพกทิเนสทางการค้าที่ความเข้มข้น 0.10% (v/v) เวลาการย่อยนาน 20 นาที อุณหภูมิ 30°C ทำให้ได้น้ำมะเฟืองที่มีความหนืดและความขุ่นลดลง

2.6.2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์

ภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ เป็นสิ่งสำคัญที่ส่งผลต่อคุณภาพและลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการแปรรูปผักและผลไม้ด้วยเอนไซม์ เช่น ความหนืด ความใส สี กลิ่นรส เนื้อสัมผัส ความคงตัว และปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ซึ่งปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์เพกทิเนสได้แก่ ปริมาณสับสเตรตและความเข้มข้นของเอนไซม์ ค่า pH อุณหภูมิ และระยะเวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา (ปราณี, 2547; Baumann, 1981; Whitaker, 1996)

(1) ปริมาณสับสเตรตและความเข้มข้นของเอนไซม์

ปฏิกิริยาที่มีสับสเตรตชนิดเดียว เมื่อเพิ่มปริมาณสับสเตรตจะทำให้อัตราเร็วของปฏิกิริยาเพิ่มขึ้นจนถึงจุดที่มีอัตราเร็วของปฏิกิริยาสูงสุด ถ้าเพิ่มปริมาณสับสเตรตต่อไปอีก อัตราเร็วของปฏิกิริยาจะคงที่ และถ้าความเข้มข้นของสับสเตรตสูงเกินไปอาจยับยั้งอัตราเร็วของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นให้ช้าลงได้ ส่วนความเข้มข้นของเอนไซม์มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ โดยเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์จะทำให้อัตราเร็วของปฏิกิริยาเพิ่มขึ้น แต่ต้องไม่มีสารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์

(2) ผลของค่า pH

เนื่องจากเอนไซม์เป็นโปรตีน การเปลี่ยนแปลง pH ของสารละลายโปรตีนจะมีผลต่อประจุที่เกิดขึ้นบนโมเลกุลของโปรตีน จึงส่งผลกระทบต่อการทำงานของเอนไซม์ โดยเฉพาะบริเวณ active site เอนไซม์แต่ละชนิดจะมีค่า pH ที่เหมาะสมต่อการทำงาน (optimum pH) แตกต่างกันไป ถ้าค่า pH ของสารละลายสูงหรือต่ำกว่าค่า pH ที่เหมาะสม จะทำให้ความเร็วของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นช้าลง

(3) ผลของอุณหภูมิ

อุณหภูมิมีผลต่อความคงตัวของเอนไซม์ ถ้าอุณหภูมิสูงเกินไปจะทำให้โปรตีนเสียสภาพธรรมชาติ ทำให้ความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์เสียไป เนื่องจากโครงสร้างที่ active site เปลี่ยนแปลงไป เอนไซม์แต่ละชนิดจะมีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงาน (optimum temperature) แตกต่างกันไป ถ้าอุณหภูมิสูงหรือต่ำกว่าอุณหภูมิที่เหมาะสม เอนไซม์จะมีแอกทิวิตีลดลง

(4) ระยะเวลาการทำปฏิกิริยา

เมื่อปริมาณสับสเตรตและเอนไซม์คงที่ การเพิ่มเวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาจะทำให้ปฏิกิริยาเกิดได้มากขึ้น เนื่องจากโอกาสในการจับตัวของเอนไซม์และสับสเตรตมีมากขึ้น แต่เมื่อถึงจุดหนึ่งการเพิ่มระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาจะไม่มีผลต่อปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น เนื่องจากสับสเตรตหมดหรือปฏิกิริยาเข้าสู่สมดุล

ตัวอย่างงานวิจัยที่ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ ซึ่งโดยส่วนมากจะพิจารณาจากปัจจัยด้านความเข้มข้นของเอนไซม์ ระยะเวลาและอุณหภูมิที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา

Bhattacharya และ Rastogi (1998) ศึกษาพฤติกรรมการไหลของเนื้อมะม่วงที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์เพกทิเนสที่ภาวะต่างๆพบว่า ความเข้มข้นของเอนไซม์ อุณหภูมิ และระยะเวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา มีผลต่อพฤติกรรมการไหลของเนื้อมะม่วง โดยเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์ จะทำให้เนื้อมะม่วงมีความหนืดปรากฏลดลงอย่างชัดเจน และเมื่อเพิ่มเวลาการย่อยและความเข้มข้นของเอนไซม์ ส่งผลให้เนื้อมะม่วงมีลักษณะการไหลแบบ Pseudoplastic ลดลง และมีลักษณะการไหลใกล้เคียงกับ Newtonian มากขึ้น

Rastogi และ Rashmi (1999) ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการใช้เอนไซม์เพกทิเนสผลิตน้ำมะม่วงเข้มข้นพบว่า ความเข้มข้นของเอนไซม์ อุณหภูมิและระยะเวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา มีผลต่อลักษณะของน้ำมะม่วงเข้มข้นที่ได้ โดยการใช้เอนไซม์เข้มข้น 0.14% (v/w) ที่อุณหภูมิ 42°C เวลาการย่อยนาน 46.67 นาที จะช่วยเพิ่มปริมาณและความใสของน้ำ

มะม่วงเข้มข้นได้มากกว่า 64 และ 71% ตามลำดับ ส่วนปริมาณแอลกอฮอล์ที่ไม่ละลายน้ำและความหนืดของน้ำมะม่วงมีค่าลดลงน้อยกว่า 2% และ 1850 cP ตามลำดับ

Çinar (2005) ศึกษาผลความเข้มข้นของเอนไซม์เพกทิเนสและเซลลูเลส รวมทั้งระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดแคโรทีนอยด์จากเปลือกส้ม มันทะเทศ และแครอท พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์ จะช่วยลดระยะเวลาในการสกัดแคโรทีนอยด์จากทุกตัวอย่างได้ และในกรณีของแครอทจะเห็นได้ชัดว่า ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดจะมีผลต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ที่สกัดได้มากกว่าการเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์

Lee และคณะ (2006) ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการใช้เอนไซม์เพกทิเนสผลิตน้ำกล้วยพบว่า ความเข้มข้นของเอนไซม์เป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อลักษณะเฉพาะของน้ำกล้วยที่ได้ โดยเมื่อเพิ่มระยะเวลาการย่อยและความเข้มข้นของเอนไซม์ มีผลทำให้น้ำกล้วยมีความใสมากขึ้นและกรองได้ง่ายขึ้น ส่วนความหนืดและความขุ่นจะมีค่าลดลง

Choudhari และ Ananthanarayan (2007) ศึกษาชนิดของเอนไซม์และภาวะที่เหมาะสมในการสกัดไลโคพีนจากมะเขือเทศ โดยใช้เอนไซม์ในกลุ่มเซลลูเลสและเพกทิเนส ที่อุณหภูมิ 25°C pH 4.5 (สำหรับเอนไซม์เซลลูเลส) และ pH 5.5 (สำหรับเอนไซม์เพกทิเนส) พบว่าเมื่อใช้เอนไซม์ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน ปริมาณไลโคพีนที่สกัดได้จะมีค่าต่างกัน โดยการใช้เอนไซม์เซลลูเลสเข้มข้น 6.0% (w/w) และเอนไซม์เพกทิเนสเข้มข้น 0.5% (w/w) จะได้ปริมาณไลโคพีนเพิ่มขึ้นจากเดิมสูงสุด 96.33 µg/g และ 90.6 µg/g ตามลำดับ และพบว่าเวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ต่างกัน ส่งผลให้ปริมาณไลโคพีนที่สกัดได้มีค่าต่างกัน กรณีของเอนไซม์เซลลูเลส เมื่อใช้เวลาในการย่อยนาน 15 นาที จะให้ปริมาณไลโคพีนเพิ่มขึ้นสูงสุด ส่วนเอนไซม์เพกทิเนสจะให้ปริมาณไลโคพีนเพิ่มขึ้นสูงสุด เมื่อใช้เวลาในการย่อยนาน 20 นาที

บทที่ 3

การดำเนินงานวิจัย

3.1 ขอบเขตงานวิจัย

งานวิจัยนี้แบ่งออกเป็น 5 ส่วน คือ

3.1.1 คัดเลือกระดับความสุกของมะตูมที่ใช้เป็นวัตถุดิบ

งานวิจัยส่วนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกระดับความสุกของมะตูมที่เหมาะสมสำหรับใช้เป็นวัตถุดิบตั้งต้นในการผลิตไซรัปมะตูม โดยพิจารณาจากผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของเนื้อมะตูมสุก

3.1.2 ศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารระเหยในเนื้อมะตูม

งานวิจัยส่วนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาชนิดและปริมาณของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารระเหยที่พบในเนื้อมะตูมสุกที่คัดเลือกได้จากข้อ 3.1.1 โดยวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารทั้งหมดแบ่งเป็นใยอาหารที่ละลายน้ำและใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด ปริมาณวิตามินซี ค่าแอกทิวิตีของสารฟรีไบโอติก และสารระเหยด้วยวิธี Solid-phase microextraction/ gas chromatography/ mass spectrometry (SPME/GC/MS)

3.1.3 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลในเนื้อมะตูม

งานวิจัยส่วนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลในเนื้อมะตูมที่คัดเลือกได้จากข้อ 3.1.1 เพื่อใช้เป็นภาวะในการเตรียมเนื้อมะตูมตีปั่นก่อนย่อยด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนต่อไป โดยมีปัจจัยที่ศึกษา 3 ปัจจัย คือ ชนิดสารควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล ปริมาณสารควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล และระยะเวลาการให้ความร้อนด้วยไอน้ำ

3.1.4 ศึกษาภาวะการผลิตไซรัปมะตูมด้วยเอนไซม์ Pectinex® Ultra SP-L

งานวิจัยส่วนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาภาวะการผลิตไซรัปมะตูมด้วยเอนไซม์ โดยมีปัจจัยที่ศึกษา 2 ปัจจัย คือ ความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาที่ใช้ในการย่อย ติดตามการทำงาน

ของเอนไซม์ที่ภาวะต่างๆ จากระดับการตัดพันธะไกลโคซิลของพอลิเมอร์ในเนื้อมะตูมที่ประเมิน จากค่าน้ำตาลรีดิวซ์ โดยเลือกภาวะที่ไซรัปมะตูมมีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลครอบคลุมจากช่วง ต่ำไปสูงเป็นตัวแทนในการศึกษาลักษณะเฉพาะของไซรัปมะตูม

3.1.5 ศึกษาลักษณะเฉพาะของไซรัปมะตูม

งานวิจัยส่วนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาลักษณะเฉพาะของไซรัปมะตูมที่ได้จากการ ย่อยด้วยเอนไซม์ เพื่อเป็นข้อมูลยืนยันว่าไซรัปมะตูมที่ได้สามารถพัฒนาเป็นสารปรุงแต่งสี กลิ่นรส และลักษณะเนื้อสัมผัสในอาหารที่มีหน้าที่เฉพาะ ลักษณะเฉพาะที่ศึกษา ได้แก่ ฤทธิ์ต้าน ออกซิเดชัน ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด ขนาดอนุภาค พฤติกรรมการไหล ปริมาณใยอาหาร ทั้งหมดแบ่งเป็นใยอาหารที่ละลายน้ำและใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ ค่าแอกทิวิตีของสารฟรีโบอิติก และสารระเหยด้วยวิธี SPME/GC/MS รวมทั้งประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของไซรัปมะตูม และทดลองใช้ไซรัปมะตูมในผลิตภัณฑ์อาหาร

3.2 วัตถุดิบ สารเคมี และอุปกรณ์

3.2.1 วัตถุดิบ

มะตูมที่ใช้เป็นวัตถุดิบในงานวิจัยคือ มะตูมพันธุ์ไซท์แก้จัดหรืออยู่ในระยะพัฒนาเต็มที่ (อายุการเก็บเกี่ยวประมาณเดือนที่ 11 เก็บเกี่ยวในช่วงปี พ.ศ. 2550-2551) มีลักษณะเปลือก สีเหลืองอมเขียว น้ำหนักผลประมาณ 600-700 กรัม จากสวนในจังหวัดพิจิตร ประเทศไทย

3.2.2 เอนไซม์

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

3.2.3 สายพันธุ์แบคทีเรีย

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

3.2.4 สารเคมี

3.2.4.1 การวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดซิตริก

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

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

3.2.4.2 การวิเคราะห์ปริมาณใยอาหาร

Acetone A.R. grade (Ajax, Australia)

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

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

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

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

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

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

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

3.2.4.3 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

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

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

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

Methanol A.R. grade (BDH, UK)

2. วิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP)

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

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

Ferric chloride A.R. grade (POCH, Poland)

Hydrochloric acid A.R. grade (Ajax, Australia)

Methanol A.R. grade (BDH, UK)

Sodium acetate trihydrate A.R. grade (Ajax, Australia)

2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ) A.R. grade (Fluka, USA)

Trolox A.R. grade (Fluka, USA)

3.2.4.4 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

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

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

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

3.2.4.5 การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์

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

Catechin A.R. grade (Fluka, USA)

Sodium hydroxide	A.R. grade (Ajax, Australia)
Sodium nitrite	A.R. grade (Ajax, Australia)
3.2.4.6 <u>การวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด</u>	
Acetone	A.R. grade (BDH, UK)
Ethanol	A.R. grade (BDH, UK)
Butylated hydroxytoluene (BHT)	A.R. grade (Panreac, Spain)
3.2.4.7 <u>การวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซี</u>	
Ascorbic acid	A.R. grade (Ajax, Australia)
2,6-Dichlorophenolindophenol	A.R. grade (Ajax, Australia)
Oxalic acid	A.R. grade (Ajax, Australia)
3.2.4.8 <u>การวิเคราะห์ค่าแอกทิวิตีของสารฟรีไบโอติก</u>	
Agar	Commercial grade
Ammonium sulphate	A.R. grade (Ajax, Australia)
D-(+)-glucose	A.R. grade (Merck, Germany)
Dipotassium hydrogen orthophosphate	A.R. grade (Ajax, Australia)
Lactobacillus MRS Broth	A.R. grade (HIMEDIA, India)
Magnesium sulfate	A.R. grade (Ajax, Australia)
Soyabean Casein Digest Medium (Typtone Soya Broth; TSB)	A.R. grade (HIMEDIA, India)
3.2.4.9 <u>สารทดสอบแอกทิวิตีของเอนไซม์เพออกซิเดส</u>	
95%Ethanol	A.R. grade (BDH, UK)
Guaiacol	A.R. grade (Merck, Germany)
Hydrogen peroxide	A.R. grade (Merck, Germany)
3.2.4.10 <u>สารควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล</u>	
Ascorbic acid	Food grade (วิทยาศาสตร์)
Citric acid	Food grade (วิทยาศาสตร์)
3.2.4.11 <u>การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์</u>	
Ammonium molybdate	A.R. grade (Ajax, Australia)
Anhydrous sodium dihydrogen phosphate	A.R. grade (Ajax, Australia)
Anhydrous sodium sulphate	A.R. grade (Ajax, Australia)

Copper sulphate pentahydrate	A.R. grade (Ajax, Australia)
D-(+)-glucose	A.R. grade (Merck, Germany)
Potassium sodium tartrate	A.R. grade (Ajax, Australia)
Sodium hydroxide	A.R. grade (Ajax, Australia)
Sulfuric acid	A.R. grade (BDH, UK)
Sodium arsenate	A.R. grade (Fluka, USA)

3.2.5 อุปกรณ์

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

24. หม้อนึ่งความดัน (National รุ่น SR-TMA18, Japan)
25. Microbiology Anaerobic Jar 2.5 L (Merck, Germany)
26. AnaeroGen™ 2.5 L (Oxoid, UK)

3.3 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

3.3.1 คัดเลือกระดับความสุกของมะตูมที่ใช้เป็นวัตถุดิบ

นำผลมะตูมแก่จัดมาล้างทำความสะอาด และบ่มที่อุณหภูมิ $30\pm 2^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 5, 10 และ 15 วัน จะได้ผลมะตูมสุก 3 ระดับ วิเคราะห์สมบัติทางเคมีและกายภาพเบื้องต้นของเนื้อมะตูมสุกทั้ง 3 ระดับ เพื่อนำผลที่ได้มาใช้พิจารณากำหนดเกณฑ์สำหรับคัดเลือกวัตถุดิบในการทดลองแต่ละครั้ง โดยวัดการเปลี่ยนแปลงค่าสี ค่า pH ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดซิตริก และปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ ทดลอง 3 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ดังนี้

1. วัดค่าสีด้วยเครื่อง Chroma meter โดยใช้ระบบ $L^* a^* b^*$ (CIELAB) [$L^* = 0$ (Black); $L^* = 100$ (White), a^* ($-a^* = \text{Green}$; $+a^* = \text{Red}$), b^* ($-b^* = \text{Blue}$; $+b^* = \text{Yellow}$), C^* (Chroma saturation) และ $^{\circ}h$ (Hue)] แหล่งกำเนิดแสง D_{65} และใช้ Granular Attachment สำหรับใส่ตัวอย่างที่จะวัดค่า
2. วัดค่า pH ด้วยเครื่อง pH meter
3. วิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดซิตริกตามวิธีของ A.O.A.C (1995) แสดงในภาคผนวก ก.1
4. วัดปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (total soluble solids; TSS) ด้วย Hand Refractometer ในหน่วย $^{\circ}\text{Brix}$

จากนั้นคัดเลือกระดับความสุกของมะตูมที่เหมาะสม สำหรับใช้เป็นวัตถุดิบตั้งต้นในการผลิตไซรัปมะตูม โดยนำเนื้อมะตูมสุกทั้ง 3 ระดับ มาประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้วยวิธีการวิเคราะห์รายละเอียดเชิงปริมาณ (Quantitative descriptive analysis; QDA) ใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 10 คน ประเมินลักษณะด้านสี กลิ่น รส ของเนื้อมะตูม ตัวอย่างแบบทดสอบแสดงในภาคผนวก ข.1 ทดลอง 2 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD)

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป Statistic Package for the Social Science (SPSS Version 11.5, USA) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3.3.2 ศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารระเหยในเนื้อมะตูม

นำมะตูมที่เลือกได้จากข้อ 3.3.1 มาวิเคราะห์ปริมาณความชื้นโดยการอบแห้งในตู้อบลมร้อน ดัดแปลงวิธีของ A.O.A.C. (1995) แสดงในภาคผนวก ก.2 จากนั้นศึกษาชนิดและปริมาณของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารระเหย ดังนี้

3.3.2.1 ปริมาณใยอาหาร

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

3.3.2.2 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (Antioxidant activities)

เตรียมสารสกัดจากเนื้อมะตูม โดยดัดแปลงวิธีของ Masuda และคณะ (1999) และวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH ทำตามวิธีของ Maisuthisakul และคณะ (2007) และวิธี FRAP ดัดแปลงวิธีของ Benzie และ Strain (1996) แสดงในภาคผนวก ก.4

3.3.2.3 ปริมาณฟีนอลิก

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

3.3.2.4 ปริมาณฟลาโวนอยด์

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

3.3.2.5 ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด

วิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดด้วยวิธี spectrophotometry ตามวิธีของ Gross (1991); Talcott และ Howard (1999) แสดงในภาคผนวก ก.7

3.3.2.6 ปริมาณวิตามินซี

วิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีด้วยวิธี spectrophotometry ตามวิธีของ Pearson (1976) แสดงในภาคผนวก ก.8

3.3.2.7 ค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติก (Prebiotic activity score)

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

3.3.2.8 สารระเหย (Volatile compounds)

การเตรียมตัวอย่างและภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์สารระเหยด้วยวิธี

SPME/GC/MS ทำโดยดัดแปลงจากวิธีของ Chen และคณะ (2006) แสดงในภาคผนวก ก.10 ส่วนการวิเคราะห์และจำแนกชนิดสารระเหย ทำโดยเทียบเคียง mass spectra ของสารที่มี % quality match มากกว่า 80% ร่วมกันระหว่าง Chemstation Wiley Spectral Library และ National Institute of Standards and Technology (NIST) Library และวิเคราะห์ร่วมกับค่า R_is (retention indices) โดยเปรียบเทียบจาก Mass Finder และจากรายงานวิจัยของ Tressl และคณะ (1982); Umano และ Shibamoto (1987); Davies (1990); Chung และคณะ (1993); Nishimura (1995); Píry และคณะ (1995); Rychlik และคณะ (1998); Ong และ Acree (1999); Boulanger และ Crouzet (2000); Ferreira และคณะ (2001); Kocsis และคณะ (2002); Umano และคณะ (2002); Choi (2003); Högnadóttir และ Russell, (2003); Lee และ Noble (2003); Mau และคณะ (2003); Acree และ Arn (2004); Culleré และคณะ (2004); Klesk และคณะ (2004); Selli และคณะ (2004); Szafranek และคณะ (2005); Wu และคณะ (2005); Kohara และคณะ (2006)

3.3.3 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลในเนื้อมะตูม

นำเนื้อมะตูมที่มีระดับความสุกที่คัดเลือกได้จากข้อ 3.3.1 มาหาภาวะที่เหมาะสมในการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล โดยใช้สารควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล 2 ชนิด คือ กรดแอสคอร์บิกและกรดซิตริก ร่วมกับการให้ความร้อนด้วยไอน้ำ โดย बदลดขนาดเนื้อมะตูมในขณะที่ยื่น (อุณหภูมิไม่เกิน $10 \pm 2^{\circ}\text{C}$) นาน 2 นาที ด้วยเครื่องปั่นผสม อัตราส่วนเนื้อมะตูมต่อน้ำเท่ากับ 5:1 ควบคุมกับการเติมสารควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล แปรปริมาณสารที่ใช้เป็น 4 ระดับ คือ 0, 0.1, 0.3 และ 0.5% (w/w) จากนั้นนำเนื้อมะตูมที่ปั่นที่ได้มาให้ความร้อนด้วยไอน้ำแปรระยะเวลาในการให้ความร้อนเป็น 4 ระดับ คือ 0, 1, 3 และ 5 นาที เริ่มจับเวลาเมื่อจุดกึ่งกลางของเนื้อมะตูมมีอุณหภูมิ 85°C และทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็ว วัดค่าสีในระบบ $L^* a^* b^*$ ด้วยเครื่อง Chroma meter แหล่งกำเนิดแสง D_{65} ทุกๆ 0, 3 และ 5 วัน โดยเก็บที่อุณหภูมิ $10 \pm 2^{\circ}\text{C}$ และวัดค่า pH ด้วยเครื่อง pH meter ที่ทุกภาวะการทดลอง จากนั้นนำภาวะที่เลือกมาทดสอบแยกทีละตัวของเอนไซม์เพออกซิเดส เพื่อยืนยันว่าภาวะที่เลือกใช้สามารถควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลได้ ซึ่งการทดสอบแยกทีละตัวของเอนไซม์เพออกซิเดสทำโดยดัดแปลงวิธีของ Pearson (1970) แสดงในภาคผนวก ก.11 ขั้นตอนการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลในเนื้อมะตูมสุกโดยย่อแสดงในรูปที่ 3.1

เลือกภาวะที่เหมาะสมในการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล โดยพิจารณาจากค่าสี เพื่อใช้เป็นภาวะในการเตรียมเนื้อมะตูมก่อนย่อยด้วยเอนไซม์ต่อไป ทดลอง 3 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ 2x4x4 Factorial in Completely Randomized Design (CRD) วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3.3.4 ศึกษาภาวะการผลิตไซรัปมะตูมด้วยเอนไซม์

แปรรูปไซรัปมะตูมจากเนื้อมะตูมสุกที่ป็นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาล ที่เตรียมได้ในขั้นตอนที่ 3.3.3 ด้วยเอนไซม์เพกทินเอสทางการค้าคือ Pectinex[®] Ultra SP-L (10292 PGU/ml) โดยทำปฏิกิริยาในขวดแก้วสีชาขนาด 500 มิลลิลิตร แบบ batch ควบคุมอุณหภูมิที่ $32 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ค่า pH ประมาณ 4.61 และกวนผสมด้วยความเร็ว 100 รอบต่อนาที แปรความเข้มข้นของเอนไซม์เป็น 5 ระดับ คือ 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 และ 3.0% (v/w) หรือ 191.41, 382.85, 574.28, 765.71, 957.14 และ 1148.56 PGU/ g dry weight (dw) และแปรเวลาการย่อยเป็น 8 ระดับ คือ 0, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 ชั่วโมง หยุดปฏิกิริยาเอนไซม์โดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ $100 \pm 5^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลานาน 5 นาที นำไซรัปที่ได้มาทำให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่อง hand homogenizer ที่ความเร็ว 16000 รอบต่อนาที เป็นเวลานาน 2 นาที ขั้นตอนการผลิตไซรัปมะตูมด้วยเอนไซม์โดยย่อแสดงในรูปที่ 3.1 วัดปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (TSS) ด้วย Hand Refractometer ในหน่วย °Brix วัดค่าสีในระบบ $L^* a^* b^*$ ด้วยเครื่อง Chroma meter แหล่งกำเนิดแสง D_{65} และวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar; RS) ตามวิธีของ Nelson (1944) แสดงในภาคผนวก ก.12 ที่ทุกภาวะการทดลอง

ติดตามการทำงานของเอนไซม์ โดยพิจารณาจากระดับการตัดพันธะไกลโคซิดของพอลิเมอร์ในเนื้อมะตูมที่ประเมินจากค่าของน้ำตาลรีดิวซ์ เพื่อเลือกภาวะที่ไซรัปมะตูมมีระดับการตัดพันธะไกลโคซิดครอบคลุมจากช่วงต่ำไปสูง เป็นตัวแทนในการศึกษาลักษณะเฉพาะของไซรัปมะตูมต่อไป ทดลอง 3 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ 5x8 Factorial in CRD วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3.3.5 ศึกษาลักษณะเฉพาะของไซรัปมะตูม

ศึกษาลักษณะเฉพาะของไซรัปมะตูมที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิดด้วยเอนไซม์ต่างกันที่ได้จากข้อ 3.3.4 โดยวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันและปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดตามการวิเคราะห์ในข้อ 3.3.2 วัดขนาดอนุภาคด้วยเครื่อง Laser particle size analyzer ดัดแปลงภาวะที่ใช้ของ Worrasinchai และคณะ (2006) แสดงในภาคผนวก ก.13 ศึกษาพฤติกรรมการไหลด้วยเครื่อง Rheometer ดัดแปลงภาวะที่ใช้ของ Bhattacharya และ Rastogi (1998); Sharoba และคณะ (2005) แสดงในภาคผนวก ก.14 ทดลอง 3 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ CRD และประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของไซรัปมะตูมด้วยวิธี QDA โดยใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 10 คน ประเมินลักษณะด้านสี กลิ่นรส และลักษณะเนื้อสัมผัส ตัวอย่างแบบทดสอบแสดงในภาคผนวก ข.2 ทดลอง 2 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ RCBD ส่วนการติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณใยอาหาร ค่าแอกทิวิตีของสารฟีนอลิก และสารระเหย ในไซรัปมะตูมที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิดด้วยเอนไซม์สูงสุดในช่วงที่ศึกษา เปรียบเทียบกับเนื้อมะตูมสุกตีปั่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาล ทำตามการวิเคราะห์ในข้อ 3.3.2

ทดลองใช้ไซรัปมะตูมในผลิตภัณฑ์อาหารประเภทครีมชั้น โดยใช้เป็นส่วนผสมในไส้ขนมเอแคลร์ปริมาณ 10% โดยนำน้ำหนักส่วนผสมทั้งหมด แทนการใช้กลิ่นวานิลลาสังเคราะห์ในสูตรต้นแบบ แสดงในภาคผนวก ค และประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ที่ได้ด้วยวิธี QDA โดยใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 10 คน ประเมินลักษณะด้านสี กลิ่นรส ลักษณะเนื้อสัมผัส และการยอมรับรวม ตัวอย่างแบบทดสอบแสดงในภาคผนวก ข.3 ทดลอง 2 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ RCBD

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

ในงานวิจัยนี้ได้กำหนดค่าจำกัดความขุ่นของเนื้อมะตูมสุก เนื้อมะตูมสุกตีปั่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาล และไซรัปมะตูม ดังนี้

เนื้อมะตูมสุก (Bael fruit pulp; BP) คือ เนื้อมะตูมสุกที่ได้จากผลมะตูมแก่จัดบ่มที่อุณหภูมิ $30\pm 2^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 10 วัน จนมีลักษณะสีเหลืองอมส้ม มีกลิ่นหอมเป็นเอกลักษณ์และมีรสหวานของมะตูมชัดเจน ไม่มีกลิ่นแปลกปลอม และไม่มีรสฝาด

เนื้อมะตูมสุกตีปั่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาล (Homogenized and antibrowning controlled bael fruit pulp; HABP) คือ เนื้อมะตูมสุกที่ผ่านการบดลดขนาดและควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลโดยการเติมกรดอินทรีย์ควบคู่กับการให้ความร้อนด้วยไอน้ำ

ไซรัปมะตูม (Enzyme treated bael fruit syrup; EBS) คือ ไซรัปหรือของเหลวข้นสีส้มอมเหลืองที่ได้จากการย่อยเนื้อมะตูมสุกตีปั่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาล โดยใช้เอนไซม์ที่ระดับการย่อยต่างๆ

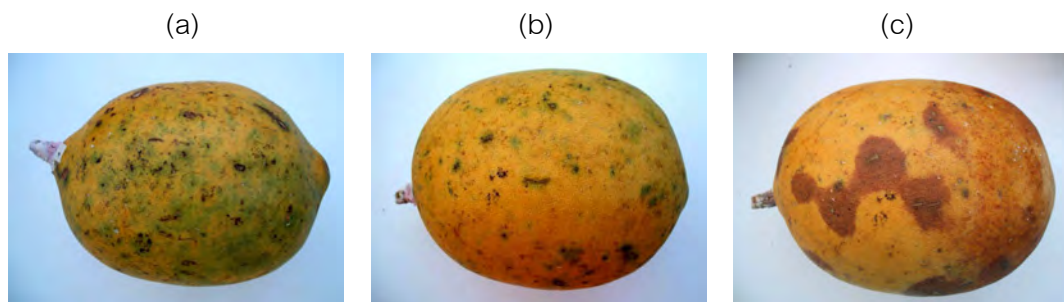
บทที่ 4

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การคัดเลือกระดับความสุกของมะตูมที่ใช้เป็นวัตถุดิบ

ในการผลิตไซรัปมะตูมจำเป็นต้องมีการคัดเลือกระดับความสุก และการตรวจสอบคุณภาพเบื้องต้นของวัตถุดิบ เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพสม่ำเสมอในทุกครั้งที่ทดลอง จากผลการทดลองบ่มมะตูมแก่จัด (อายุการเก็บเกี่ยวประมาณเดือนที่ 11) ที่อุณหภูมิ $30 \pm 2^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 5, 10 และ 15 วัน จะได้ผลมะตูมที่มีความสุกแตกต่างกัน 3 ระดับ โดยใช้ลักษณะทางกายภาพภายนอกคือ สีเปลือกเป็นเกณฑ์ แสดงในรูปที่ 4.1 กำหนดให้มะตูมสุกระดับที่ 1 ได้แก่ ผลมะตูมที่มีเปลือกสีเหลืองมากกว่าสีเขียว หรือมีค่าองศา Hue ($^{\circ}\text{h}$) เท่ากับ 94.57 ระดับที่ 2 ได้แก่ ผลมะตูมที่มีเปลือกสีส้มอมเหลือง เริ่มมีสีน้ำตาลเล็กน้อย หรือมีค่า $^{\circ}\text{h}$ เท่ากับ 83.56 และระดับที่ 3 ได้แก่ ผลมะตูมที่มีเปลือกสีส้มอมเหลืองและมีสีน้ำตาลมาก หรือมีค่า $^{\circ}\text{h}$ เท่ากับ 68.86 ค่าสีในระบบ $L^* a^* b^*$ ของเปลือกมะตูมภายนอกในแต่ละระดับความสุก แสดงในตารางที่ 4.1

เมื่อนำเนื้อมะตูมทั้ง 3 ระดับความสุก มาวิเคราะห์สมบัติทางเคมีและกายภาพเบื้องต้นพบว่า สีเนื้อมะตูมมีการเปลี่ยนแปลงระหว่างการสุกอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยเนื้อมะตูมจะมีค่าความสว่าง (L^*) ค่าสีเหลือง ($+b^*$) ค่าความอิ่มตัวหรือ chroma (C^*) และค่า $^{\circ}\text{h}$ ลดลง แต่มีค่าสีแดง ($+a^*$) เพิ่มขึ้น เมื่อระดับความสุกมากขึ้น การเปลี่ยนแปลงสีเนื้อมะตูมในแต่ละระดับความสุก เนื่องจากผลไม้จะมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณแคโรทีนอยด์ซึ่งเป็นรงควัตถุที่สีส้มเหลืองแก่พีระหว่างการสุก โดยผลไม้สุกจะมีปริมาณแคโรทีนอยด์เพิ่มมากขึ้น ขณะที่ปริมาณคลอโรฟิลล์จะลดน้อยลง (Shewfelt, 1993) เมื่อพิจารณาค่า pH ปริมาณกรดทั้งหมดโดยใช้กรดซิตริกเป็นตัวแทนในการชี้วัดค่าความเป็นกรดที่พบในเนื้อมะตูม และปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ พบว่า เนื้อมะตูมมีระดับความสุกมากขึ้นจะมีค่า pH เพิ่มขึ้น และมีปริมาณกรดทั้งหมดลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เนื่องจากผลไม้ที่สุกมากขึ้นจะมีอัตราการหายใจเพิ่มขึ้น กรดในผลไม้ เช่น กรดซิตริก จะถูกใช้ไปเป็นสารตั้งต้นในวัฏจักร Krebs ของกระบวนการหายใจ (Thompson, 1996) ส่วนปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้จะมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เนื่องจากแป้งในผลไม้ถูกไฮโดรไลซ์เป็นน้ำตาลมากขึ้น (Haard and Chism, 1996) ผลแสดงในตารางที่ 4.1



รูปที่ 4.1 ลักษณะภายนอกของผลมะตูม 3 ระดับความสุก (a) มะตูมสุกระดับที่ 1 (b) มะตูมสุกระดับที่ 2 และ (c) มะตูมสุกระดับที่ 3

ตารางที่ 4.1 สมบัติทางเคมีและกายภาพเบื้องต้นของมะตูมสุกที่ระดับต่างๆ

Physicochemical characteristics	Ripening levels		
	1	2	3
External color			
L*	60.98 ^a ±1.02	62.51 ^a ±1.59	48.90 ^b ±1.65
a*	-3.06 ^c ±2.42	4.96 ^b ±2.05	10.80 ^a ±0.62
b*	37.57 ^b ±3.06	44.20 ^a ±0.98	27.93 ^c ±0.79
C*	37.74 ^b ±3.16	44.51 ^a ±0.72	29.95 ^c ±0.77
°h	94.57 ^a ±3.41	83.56 ^b ±2.79	68.86 ^c ±1.24
Internal color			
L*	44.44 ^a ±0.70	40.11 ^b ±0.27	31.77 ^c ±0.31
a*	6.98 ^b ±0.74	7.82 ^b ±0.20	11.37 ^a ±0.73
b*	36.72 ^a ±0.67	35.84 ^a ±0.24	33.80 ^b ±0.66
C*	37.39 ^a ±0.52	36.68 ^{a,b} ±0.23	35.66 ^b ±0.68
°h	79.23 ^a ±1.30	77.70 ^a ±0.33	71.40 ^b ±1.14
pH	5.27 ^b ±0.05	5.37 ^a ±0.03	5.43 ^a ±0.03
Total acidity (%)	1.07 ^a ±0.05	0.94 ^b ±0.04	0.82 ^c ±0.00
Total soluble solids (°Brix)	37.50 ^b ±0.87	39.50 ^a ±0.87	40.50 ^a ±0.50

ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขในแนวนอนที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05)

Ripening levels 1, 2 และ 3 คือ ผลมะตูมแก่จัดบ่มที่อุณหภูมิ 30±2°C เป็นเวลา 5, 10 และ 15 วัน

เพื่อคัดเลือกระดับความสุกของมะตูมที่เหมาะสม สำหรับใช้เป็นวัตถุดิบตั้งต้นในการผลิตไซรัปมะตูม โดยการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของเนื้อมะตูมทั้ง 3 ระดับความสุก ด้วยวิธี QDA โดยใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 10 คน ประเมินลักษณะด้านสี กลิ่น และรสของเนื้อมะตูม ให้ผลดังตารางที่ 4.2 พบว่า เนื้อมะตูมสุกระดับที่ 2 มีคะแนนด้านสีไม่แตกต่างจากเนื้อมะตูมสุกระดับที่ 3 แต่มีคะแนนสูงกว่าเนื้อมะตูมสุกระดับที่ 1 นอกจากนี้เนื้อมะตูมสุกระดับที่ 2 จะมีคะแนนด้านกลิ่นและรสมะตูมสูงกว่าเนื้อมะตูมสุกระดับที่ 1 และ 3 อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ดังนั้นจึงเลือกใช้มะตูมสุกระดับที่ 2 เป็นวัตถุดิบตั้งต้นในการผลิตไซรัปมะตูมในขั้นตอนต่อไป โดยเนื้อมะตูมสุกระดับที่ 2 จะมีสีเหลืองอมส้ม มีกลิ่นหอมเป็นเอกลักษณ์และมีรสหวานของมะตูมชัดเจน ไม่มีกลิ่นแปลกปลอม และไม่มีรสฝาด สำหรับการคัดเลือกวัตถุดิบในแต่ละครั้งจะใช้สมบัติทางเคมีและกายภาพเบื้องต้นของมะตูมสุกระดับที่ 2 ได้แก่ ค่าสี ค่า pH ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดซิตริก และปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ เป็นเกณฑ์ในการคัดเลือกวัตถุดิบให้มีความสม่ำเสมอและอยู่ในเกณฑ์เดียวกันทุกครั้งที่ทดลอง

ตารางที่ 4.2 คะแนนลักษณะทางประสาทสัมผัสของเนื้อมะตูมสุกที่ระดับต่างๆ

Sensory attributes	Ripening levels		
	1	2	3
Internal color	3.05 ^b ±0.26	4.18 ^a ±0.51	4.35 ^a ±0.47
Aroma	2.88 ^c ±0.47	4.15 ^a ±0.26	3.77 ^b ±0.35
Taste	2.77 ^c ±0.54	4.28 ^a ±0.28	3.56 ^b ±0.32

ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขในแนวนอนที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

Ripening levels 1, 2 และ 3 คือ ผลมะตูมแก่จัดป่มที่อุณหภูมิ $30 \pm 2^\circ\text{C}$ เป็นเวลา 5, 10 และ 15 วัน

กำหนดให้ลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านต่างๆของเนื้อมะตูมมีคะแนนสูงสุด 5 คะแนน

4.2 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารระเหยที่พบในเนื้อมะตูม

เมื่อนำเนื้อมะตูมสุกที่คัดเลือกตามเกณฑ์จากข้อ 4.1 มาวิเคราะห์ปริมาณความชื้น สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และสารระเหย พบว่า เนื้อมะตูมมีปริมาณความชื้นเท่ากับ $67.74 \pm 0.25\%$ (wet basis) โดยประกอบด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive compounds) ได้แก่ โยอาหารฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน สารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ แคโรทีนอยด์ วิตามินซี สารฟิโอบีโอติก และสารระเหยที่สำคัญหลายชนิด

จากผลการทดลองที่แสดงในตารางที่ 4.3 พบว่า ปริมาณใยอาหารทั้งหมด (TDF) ที่พบในเนื้อมะตูมมีค่าเท่ากับ 19.84 g/ 100 g dry weight (dw) แบ่งออกเป็นใยอาหารที่ละลายน้ำ (SDF) และใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ (IDF) เท่ากับ 11.22 และ 8.62 g/ 100 g dw ตามลำดับ ค่าที่ได้แสดงให้เห็นว่ามะตูมเป็นแหล่งของใยอาหาร โดยมีปริมาณใยอาหารอยู่ในช่วงเดียวกับผลไม้ที่จัดอยู่ในกลุ่มใยอาหารสูง เช่น แดงโม ส้ม กัลย ะม่วง มะละกอ สับปะรด และแอปเปิ้ล ซึ่งมีค่า TDF, SDF และ IDF อยู่ในช่วง 9-24, 4-8 และ 6-17 g/ 100 g dw ตามลำดับ (Ramulu and Rao, 2003)

เมื่อวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของเนื้อมะตูมด้วยวิธี DPPH ซึ่งแสดงในรูปความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่ใช้กำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ได้ 50% ภายในเวลาที่กำหนด (EC_{50}) ทั้งนี้ สารต้านอนุมูลอิสระจะมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงเมื่อมีค่า EC_{50} ต่ำ พบว่า เนื้อมะตูมมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันเท่ากับ 6.21 $\mu\text{g dw}/\mu\text{g DPPH}$ ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วงของฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในผัก ผลไม้ และพืชสมุนไพร ที่ระบุว่ามียุทธิต้านออกซิเดชันสูง เช่น พลับ มังคุด มะกอก กระถิน และพลู (0.3-7 $\mu\text{g dw}/\mu\text{g DPPH}$) (Maisuthisakul et al., 2007) และเมื่อวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี FRAP พบว่า เนื้อมะตูมมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันเท่ากับ 102.74 $\mu\text{M trolox equivalent (TE)}/\text{g dw}$ ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในผักและสมุนไพร เช่น กระเจี๊ยบแดง บัวบก โหระพา บัทรูท และมันเทศ (86-150 $\mu\text{M TE}/\text{g dw}$) (Ou et al., 2002; Wong et al., 2006) ดังนั้นมะตูมจึงจัดเป็นพืชที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันค่อนข้างสูง โดยสารต้านอนุมูลอิสระสำคัญที่พบในเนื้อมะตูมได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ แคโรทีนอยด์ และวิตามินซี เป็นต้น (Morton, 1987; Roy and Khurdiya, 1995)

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ แคโรทีนอยด์ ทั้งหมด และวิตามินซี ในเนื้อมะตูมสุกพบว่า เนื้อมะตูมมีปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 87.34 mg gallic acid equivalent (GAE)/ g dw ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วงเดียวกับพืชสมุนไพรของจีนที่มีสรรพคุณใช้เป็นยาที่เกี่ยวข้องกับการต้านโรคมะเร็ง เช่น คำฝอย ผ่าง ชุมเห็ดไทย ชะเอมจีน หมากสง โปต้น และทับทิม (2.2-503 mg GAE/ g dw) และมีค่าสูงกว่าผักและผลไม้ที่พบโดยทั่วไป เช่น กีวี ส้ม ลูกแพร์ กระเทียม แครอท และปวยเล้ง (1.2-10.8 mg GAE/ g dw) (Cai et al., 2004) ส่วนปริมาณฟลาโวนอยด์ที่พบในเนื้อมะตูมมีค่าเท่ากับ 15.20 mg catechin equivalent (CE)/ g dw ซึ่งมีค่าค่อนข้างสูงเมื่อเปรียบเทียบกับพืชสมุนไพรที่มีสรรพคุณใช้เป็นยา เช่น เลมอนบาล์ม ลาเวนเดอร์ และวาเรเรียน (0.2-10 mg CE/ g dw) (Bouayed et al., 2007) และมีปริมาณฟลาโวนอยด์อยู่ในช่วงเดียวกับผักและผลไม้ เช่น แอปเปิ้ล ราสเบอร์รี่ ลูกพีช บร็อคโคลี่ ขึ้นฉ่าย และมะเขือเทศ (2.5-190 mg CE/ 100 g fw) (Marinova et al., 2005) สำหรับปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดที่พบในเนื้อมะตูมมีค่าเท่ากับ 32.98 $\mu\text{g}/\text{g dw}$ ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วงเดียวกับผัก

และผลไม้ชนิดต่างๆ เช่น มะละกอ มะม่วง พักทอง ขิง และกะหล่ำปลี (12-70 $\mu\text{g}/\text{g dw}$) (Inocent et al., 2007; Kandlakunta et al., 2008) และปริมาณวิตามินซีที่พบในเนื้อมะตูมมีค่าเท่ากับ 26.17 $\text{mg}/100\text{ g dw}$ ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วงเดียวกับผักและผลไม้ชนิดต่างๆ เช่น กระจิน โหระพา เงาะ และมะขาม (19-39 $\text{mg}/100\text{ g dw}$) (Maisuthisakul et al., 2008)

ตารางที่ 4.3 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่พบในเนื้อมะตูมที่ใช้เป็นวัตถุดิบ

Bioactive compounds	Content
Total dietary fiber (TDF) ($\text{g}/100\text{ g dw}^{\text{a}}$)	19.84 \pm 0.01
Soluble dietary fiber (SDF)	11.22 \pm 0.06
Insoluble dietary fiber (IDF)	8.62 \pm 0.04
Antioxidant activities	
DPPH assay (EC_{50} , $\mu\text{g dw}/\mu\text{g DPPH}$)	6.21 \pm 0.34
FRAP assay ($\mu\text{M TE}^{\text{b}}/\text{g dw}$)	102.74 \pm 3.01
Total phenolics ($\text{mg GAE}^{\text{c}}/\text{g dw}$)	87.34 \pm 4.44
Total flavonoids ($\text{mg CE}^{\text{d}}/\text{g dw}$)	15.20 \pm 0.51
Total carotenoids ($\mu\text{g}/\text{g dw}$)	32.98 \pm 0.51
Ascorbic acid ($\text{mg}/100\text{ g dw}$)	26.17 \pm 0.85

ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

^a dw คือ dry weight basis, ^b TE คือ trolox equivalent

^c GAE คือ gallic acid equivalent, ^d CE คือ catechin equivalent

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญในเนื้อมะตูมสุกอีกชนิดหนึ่งคือ สารพรีไบโอติก จากการทดลองหาค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติกในเนื้อมะตูมสุก โดยศึกษาการเจริญของโพรไบโอติก 2 ชนิด ได้แก่ *L. acidophilus* La5 และ *B. lactis* Bb12 และแบคทีเรียที่พบในระบบทางเดินอาหาร ได้แก่ *E. coli* ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเนื้อมะตูมเป็นองค์ประกอบเปรียบเทียบกับในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีกลูโคสซึ่งไม่ได้เป็นพรีไบโอติกเป็นองค์ประกอบ ผลแสดงในตารางที่ 4.4 พบว่า *L. acidophilus* La5 และ *E. coli* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีเนื้อมะตูมเป็นองค์ประกอบ มีจำนวนเพิ่มขึ้นภายใน 24 ชั่วโมง ไม่แตกต่างจากภาวะที่เลี้ยงในอาหารที่มีกลูโคสเป็นองค์ประกอบอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ในขณะที่ *B. lactis* Bb12 ที่เลี้ยงในอาหารที่มีเนื้อมะตูมเป็นองค์ประกอบ

มีจำนวนเพิ่มขึ้นภายใน 24 ชั่วโมง สูงกว่าภาวะที่เลี้ยงในอาหารที่มีกลูโคสเป็นองค์ประกอบอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อนำค่าจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นภายใน 24 ชั่วโมง ไปคำนวณตามสมการที่แสดงในภาคผนวก ก. 9 เพื่อหาค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติก แสดงในรูปที่ 4.2 พบว่า *B. lactis* Bb12 มีค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติกสูงกว่า *L. acidophilus* La5 โดยมีค่าเท่ากับ 0.20 และ 0.01 ตามลำดับ แสดงว่า สารพรีไบโอติกในเนื้อมะตูมสุกสามารถส่งเสริมการเจริญของ *B. lactis* Bb12 ได้ดีกว่า *L. acidophilus* La5 แต่ไม่ส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียชนิดอื่นในระบบทางเดินอาหาร ทั้งนี้เนื่องจากจุลินทรีย์ต่างชนิดกันจะมีเอนไซม์ที่จำเพาะต่อการย่อยสารอาหารเชิงซ้อนที่มีโมเลกุลใหญ่ต่างกัน (Ray and Bhunia, 2008) โดย *B. lactis* Bb12 อาจมีเอนไซม์ที่จำเพาะต่อการย่อยพรีไบโอติกในเนื้อมะตูมมากกว่า *L. acidophilus* La5 จึงทำให้มีค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติกสูงกว่า

เมื่อเปรียบเทียบค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติกในเนื้อมะตูมสุก กับพรีไบโอติกทางการค้าที่ใช้จุลินทรีย์สายพันธุ์อื่นเป็นโพรไบโอติกพบว่า ค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติกในเนื้อมะตูมมีค่าสูงกว่าค่าแอกทิวิตีของพรีไบโอติกกลุ่มกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (purified Oligomate 55) ที่ใช้ *B. bifidum* NCI เป็นโพรไบโอติก ซึ่งมีค่าเท่ากับ -1.24 แต่มีค่าต่ำกว่าค่าแอกทิวิตีของพรีไบโอติกกลุ่มอินนูลิน (Inulin-S) ที่ใช้ *L. paracasei* 1195 เป็นโพรไบโอติก ซึ่งมีค่าเท่ากับ 1.17 (Huebner et al., 2007) สำหรับองค์ประกอบสำคัญในเนื้อมะตูมสุกที่สามารถเป็นพรีไบโอติกได้คือ สารกลุ่มใยอาหาร (dietary fiber) Álvarez และ Sánchez (2006) รายงานว่า ใยอาหารกลุ่ม Non-starch polysaccharides (NPS) เช่น เพกทิน มิวซิเลจ บางส่วนของเฮมิเซลลูโลส และเซลลูโลส สามารถจัดเป็นสารพรีไบโอติกได้ เนื่องจากสารกลุ่มนี้ไม่ถูกย่อยหรือดูดซึมในกระเพาะอาหารหรือลำไส้เล็ก และช่วยกระตุ้นการเจริญและการทำหน้าที่ของจุลินทรีย์ในลำไส้ที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย

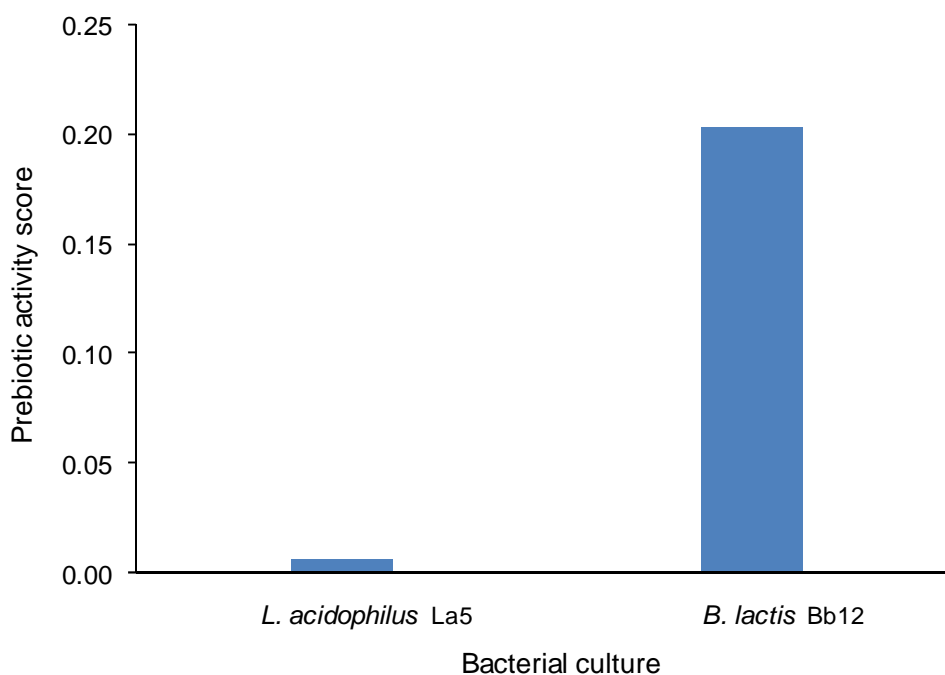
ตารางที่ 4.4 เปรียบเทียบจำนวนจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นภายใน 24 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเนื้อมะตูมหรือมีกลูโคสเป็นองค์ประกอบ

Bacterial culture	Cell population [$\log_{10}(\text{cfu/ml})$]	
	Bael fruit pulp	Glucose
<i>L. acidophilus</i> La5	1.71 ^{ns} ±0.04	1.84 ^{ns} ±0.14
<i>B. lactis</i> Bb12	2.11 ^a ±0.04	1.87 ^b ±0.02
<i>E. coli</i> ATCC 29922	1.73 ^{ns} ±0.10	1.88 ^{ns} ±0.08

ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขในแนวนอนที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

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



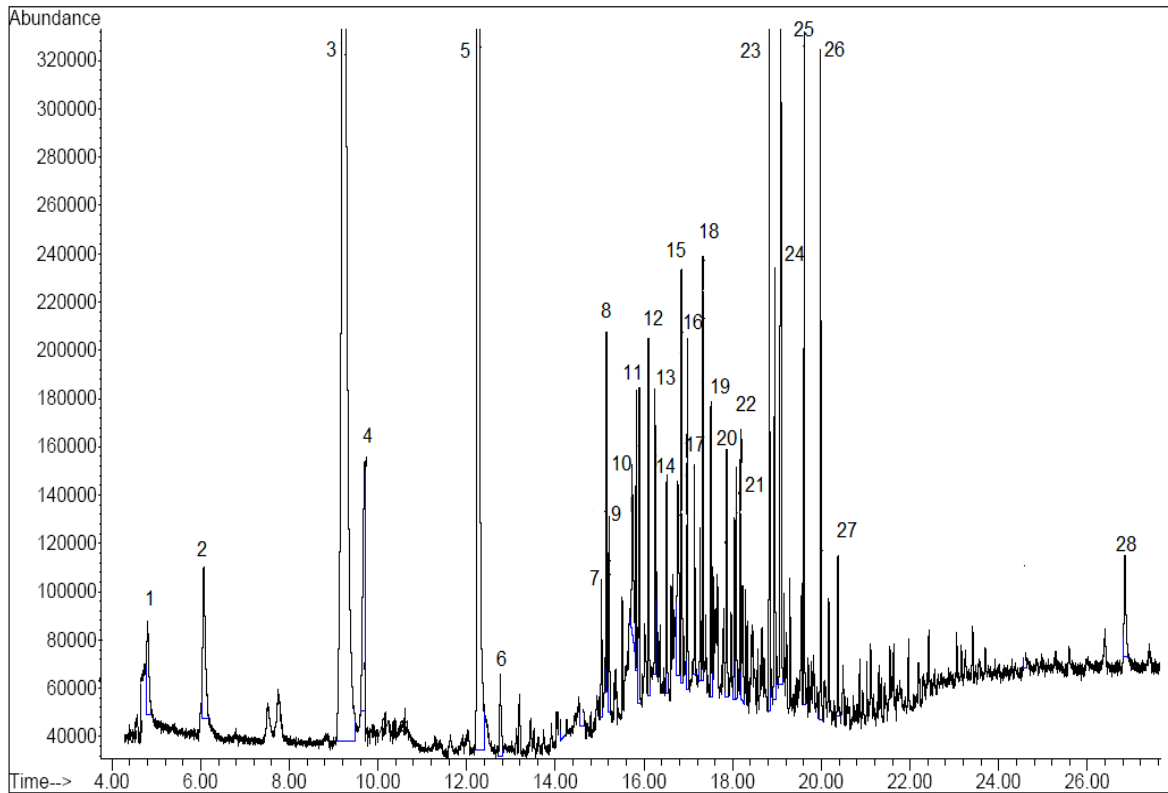
รูปที่ 4.2 ค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติกในเนื้อมะตูมสุก

จากการวิเคราะห์หาชนิดสารระเหยในเนื้อมะตูมด้วยวิธี SPME/GC/MS พบว่า เนื้อมะตูมสุกมีสารระเหยทั้งหมด 28 ชนิด แสดงในตารางที่ 4.5 และ รูปที่ 4.3 โดยมีสารกลุ่ม monoterpenes และ sesquiterpenes เช่น limonene, p-cymene, β -phellandrene และ dihydro- β -ionone เป็นองค์ประกอบหลัก ซึ่งสารระเหยกลุ่มนี้เป็นสารที่ให้กลิ่นรสในผลไม้หลายชนิด เช่น ผลไม้ตระกูลส้ม มะม่วง องุ่น แบล็กเคอแรนท์ แบล็กเบอร์รี่ ฝรั่ง ราสเบอร์รี่ และมะนาว เป็นต้น (MacLeod and Snyder, 1985; Maarse, 1991; Sawamura et al., 1991; Pino et al., 2005; Wenguang et al., 2007; Harb et al., 2008) และเมื่อเปรียบเทียบชนิดสารระเหยของมะตูมที่ใช้ในงานวิจัยนี้กับมะตูมสายพันธุ์ที่ปลูกในประเทศศรีลังกาพบว่า มะตูมทั้งสองสายพันธุ์มีสารระเหยหลักในกลุ่มเดียวกันคือ สารกลุ่ม terpenes โดยสารให้กลิ่นรสหลักของมะตูมที่พบในประเทศศรีลังกาได้แก่ limonene, Δ^3 -carene, p-cymene, linalool oxide, linalool, benzyl acetate, benzyl alcohol, 2-phenylethanol, β -ionone, α -phellandrene, 3-methylbutyl acetate และ 3-methyl-2-buten-1-ol (MacLeod and Pieris, 1981; Tokitomo et al., 1982)

ตารางที่ 4.5 ชนิดสารระเหยที่พบในเนื้อมะตูมสุก วิเคราะห์ด้วยวิธี SPME/GC/MS

Peak No.	RI ^{s*}	Compound name	% Peak Area
1	1093	Hexanal	0.93
2	1147	Isoamyl acetate	2.13
3	1202	Limonene	32.48
4	1217	β -Phellandrene	3.13
5	1279	p-Cymene	27.19
6	1295	Acetoin	0.70
7	1379	(E)-2-Octenal	0.60
8	1401	(E,E)-2,4-Heptadienal	1.08
9	1414	Dehydro-p-cymene	1.47
10	1425	Linalool oxide	0.88
11	1432	3,5-Octadiene-2-one	1.44
12	1463	α -Cubebene	1.75
13	1470	trans-p-Mentha-2,8-dienol	0.71
14	1488	Citronellal	1.42
15	1558	β -Cubebene	1.18
16	1594	β -Caryophyllene	1.88
17	1600	Hexadecane	1.71
18	1665	Pulegone	1.71
19	1680	α -Humulene	1.08
20	1729	Verbenone	1.25
21	1751	Carvone	0.98
22	1759	Carvyl acetate	0.82
23	1825	Dihydro- β -Ionone	3.95
24	1840	Geranyl acetone	2.16
25	1947	β -Ionone	2.95
26	1999	Caryophyllene oxide	2.57
27	2015	Humulene oxide	0.78
28	2860	Hexadecanoic acid	0.92

RI^{s*} คือ Retention Indices จากงานวิจัยที่แสดงในขั้นตอนการดำเนินงานวิจัยที่ 3.3.2.8



รูปที่ 4.3 Chromatogram ของสารระเหยที่พบในเนื้อมะตูมสุก วิเคราะห์ด้วยวิธี SPME/GC/MS

จากข้อมูลด้านลักษณะเด่นทางประสาทสัมผัสของเนื้อมะตูมสุกระยะที่ 2 ที่มีสีเหลืองอมส้ม มีกลิ่นหอมและมีรสหวานตามธรรมชาติของมะตูมชัดเจน ไม่มีกลิ่นแปลกปลอม และไม่มีรสฝาด ประกอบกับสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสำคัญที่พบในเนื้อมะตูมได้แก่ โยอาหาร ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน สารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ แคโรทีนอยด์ และวิตามินซี มีปริมาณค่อนข้างสูงเมื่อเปรียบเทียบกับผักและผลไม้ชนิดอื่น นอกจากนี้เนื้อมะตูมยังมีสมบัติเป็นสารฟรีโอบิโอดีทและมีสารระเหยในกลุ่ม terpenes หลายชนิดเป็นองค์ประกอบหลัก จึงอาจกล่าวได้ว่ามะตูมจัดเป็นพืชที่มีศักยภาพในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ปรุงแต่งสีและกลิ่นรสในอาหารที่มีหน้าที่เฉพาะต่อไป

4.3 ภาวะที่เหมาะสมในการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลในเนื้อมะตูม

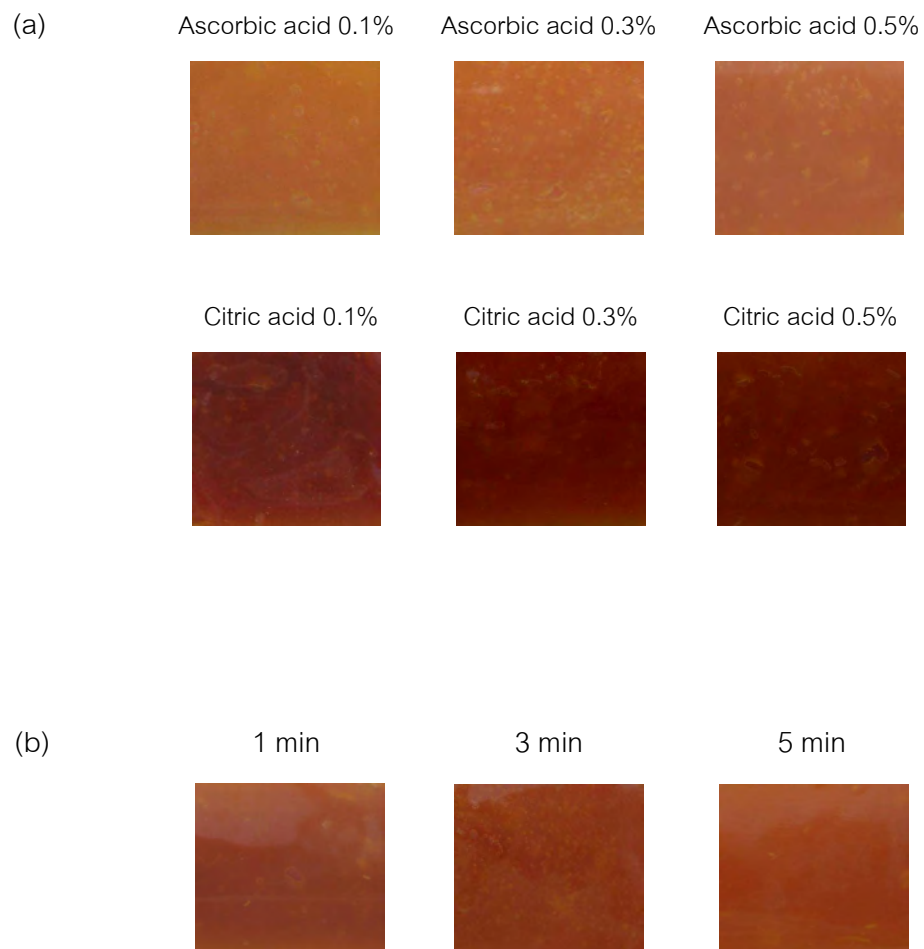
การเตรียมเนื้อมะตูมก่อนย่อยด้วยเอนไซม์ จำเป็นต้องมีการบดลดขนาดเนื้อมะตูมอย่างหยาบก่อน เพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวในการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ โดยหลังการปอกเปลือกและการหั่นเนื้อมะตูมจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอย่างรวดเร็ว การเกิดสีน้ำตาลของเนื้อมะตูมเกิดจากปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่เร่งด้วยเอนไซม์ ซึ่งในผักและผลไม้ส่วนใหญ่จะเกิดจากการทำงานของเอนไซม์ polyphenol oxidase (PPO) เมื่อเซลล์เนื้อเยื่อพืชถูกทำลายทางกล จะทำให้เกิดปฏิกิริยาระหว่างสารประกอบ monophenol ที่อยู่ในเซลล์พืชกับออกซิเจนในอากาศโดยมีเอนไซม์ PPO ทำให้เกิดสาร o-diphenol ซึ่งจะถูกออกซิไดส์ต่อไปเป็น o-quinone จากนั้น quinone ที่เกิดขึ้นจะรวมตัวกันและเกิดปฏิกิริยา Maillard กับกรดอะมิโนหรือสารประกอบฟีนอลอื่นๆได้เป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำตาล (Owusu-apenten, 2005) ส่งผลให้เนื้อมะตูมมีสีเปลี่ยนแปลงไป ทำให้ผลิตภัณฑ์จากมะตูมที่ได้มีคุณภาพลดลง ดังนั้นจึงต้องมีขั้นตอนควบคุมปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลในเนื้อมะตูมก่อนนำไปใช้เป็นวัตถุดิบในการแปรรูปไซรัปมะตูม

จากการศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลในเนื้อมะตูมตีปั่น โดยการเติมกรดอินทรีย์ 2 ชนิด คือ กรดแอสคอร์บิกและกรดซิตริกที่ความเข้มข้นต่างๆ และการให้ความร้อนด้วยไอน้ำที่เวลาต่างๆพบว่า ภาวะการเตรียมเนื้อมะตูมมีผลต่อการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลและการเปลี่ยนแปลงสีของเนื้อมะตูม แสดงในรูปที่ 4.4-4.6 โดยเนื้อมะตูมที่ไม่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอย่างรวดเร็ว เมื่อเนื้อมะตูมเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลจะส่งผลให้ค่าความสว่าง (L^*) และค่าสีเหลือง ($+b^*$) ที่วัดได้มีค่าลดลง ส่วนค่าสีแดง ($+a^*$) มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

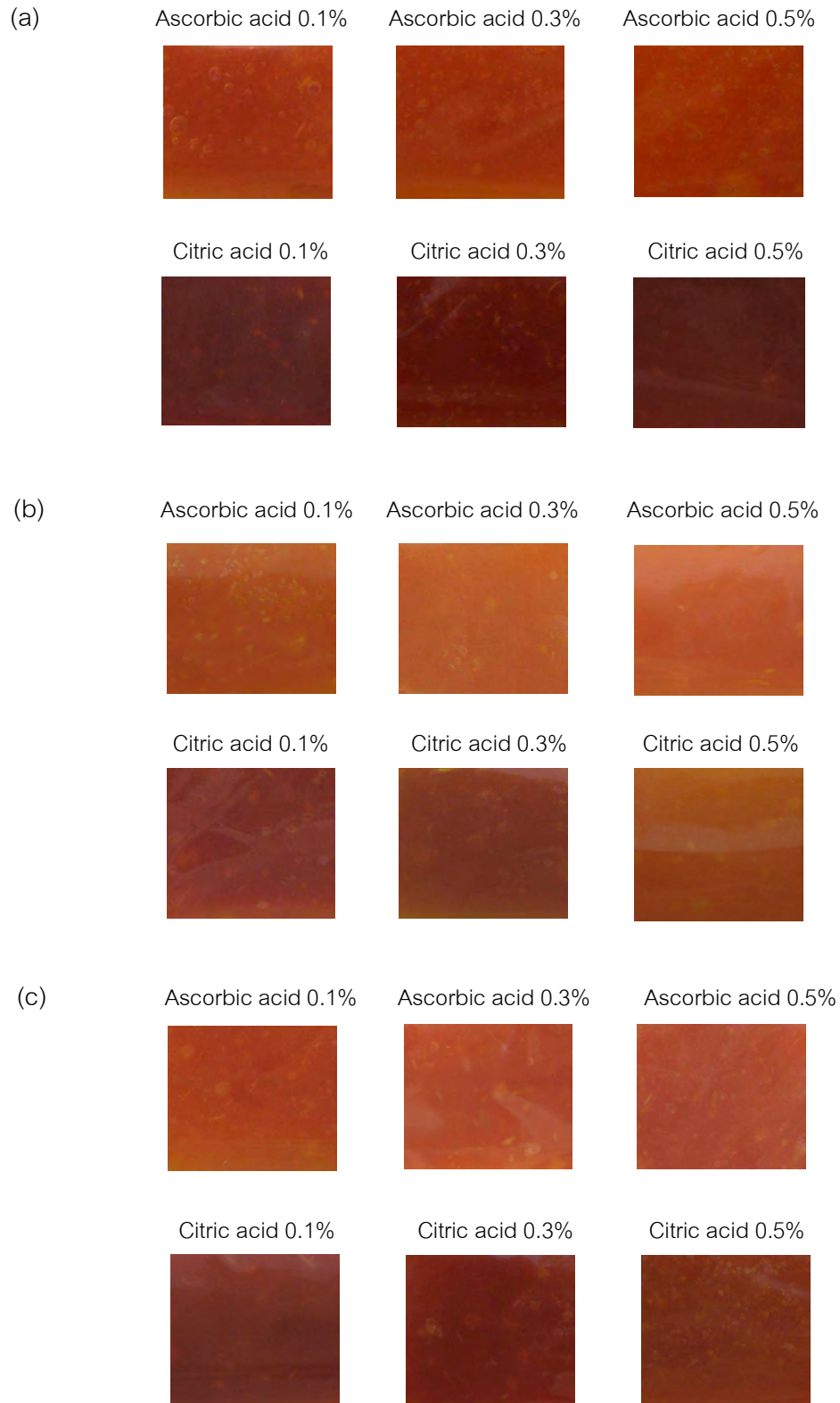


รูปที่ 4.4 สีเนื้อมะตูมตีปั่นที่ไม่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล เก็บที่อุณหภูมิ $10 \pm 2^\circ\text{C}$

นาน 5 วัน



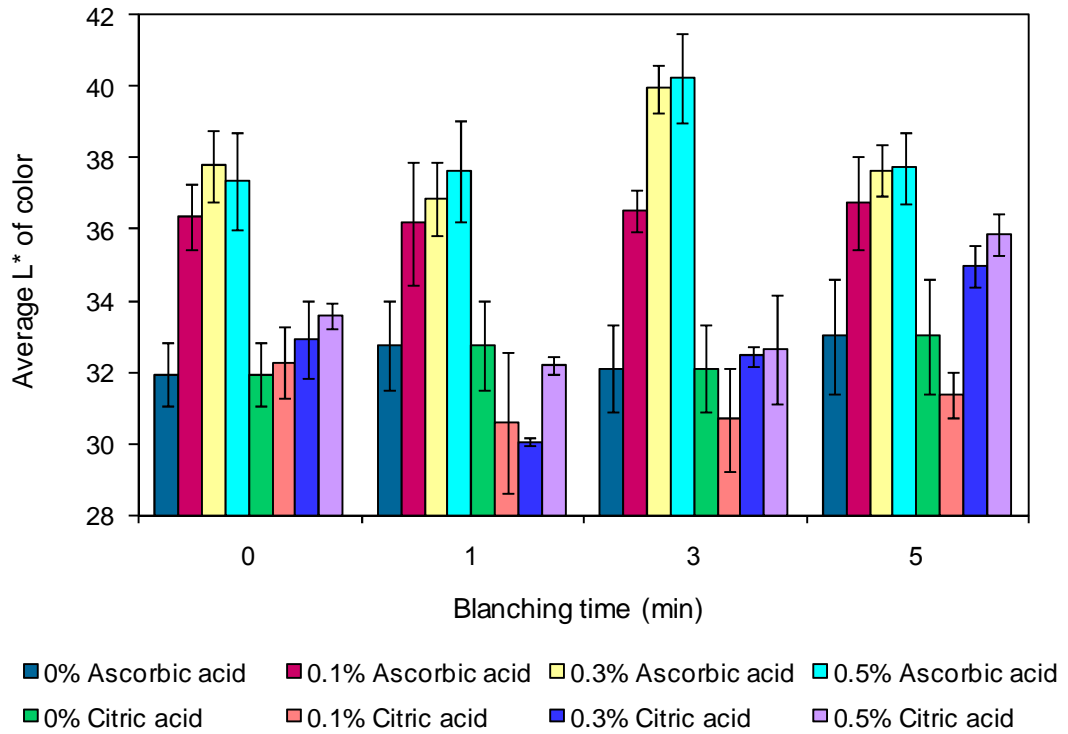
รูปที่ 4.5 สีเนื้อมะตูมตีปั่นที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลด้วย (a) การเติมกรดแอสคอร์บิกและกรดซิตริกที่ความเข้มข้นต่างๆ และ (b) การให้ความร้อนที่เวลาต่างๆ เก็บที่อุณหภูมิ $10 \pm 2^{\circ}\text{C}$ นาน 5 วัน



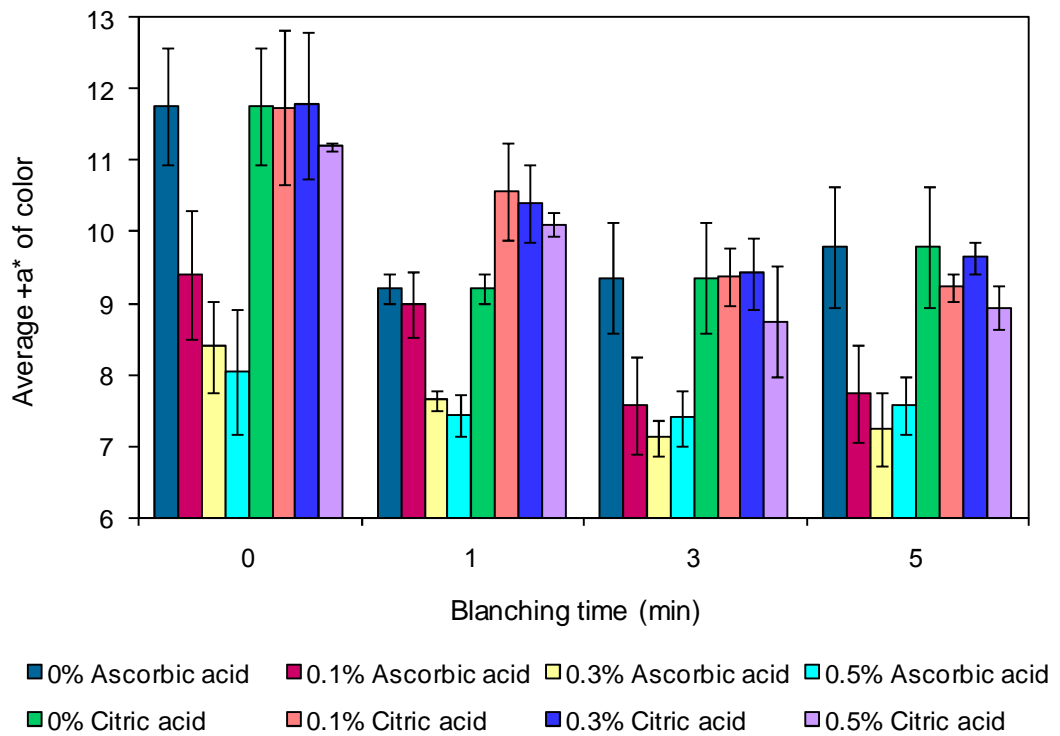
รูปที่ 4.6 สีเนื้อมะตูมตีปั่นที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลด้วยการเติมกรดแอสคอร์บิก และกรดซิตริกที่ความเข้มข้นต่างๆ ควบคุมกับการให้ความร้อนเป็นเวลานาน (a) 1 นาที (b) 3 นาที และ (c) 5 นาที เก็บที่อุณหภูมิ $10 \pm 2^{\circ}\text{C}$ นาน 5 วัน

เมื่อพิจารณาผลของชนิดและปริมาณกรดอินทรีย์ที่ใช้ควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลในเนื้อมะตูมตีปั่นพบว่า ชนิดกรดอินทรีย์มีผลต่อการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลในเนื้อมะตูม การเติมกรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 0.1-0.5% (w/w) มีผลช่วยควบคุมการเกิดสีน้ำตาลในเนื้อมะตูมได้ โดยทำให้เนื้อมะตูมมีค่าความสว่าง (L^*) และสีเหลือง ($+b^*$) เพิ่มขึ้น แต่มีค่าสีแดง ($+a^*$) ลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อมะตูมตีปั่นที่ไม่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล ในขณะที่การเติมกรดซิตริกที่ความเข้มข้นเดียวกันไม่สามารถควบคุมการเกิดสีน้ำตาลได้ (รูปที่ 4.7-4.9) ทั้งนี้เนื่องจากหน้าที่ในการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลของกรด 2 ชนิดนี้ต่างกัน กรดแอสคอร์บิกจะทำหน้าที่เป็นสารรีดิวซ์ โดยจะรีดิวซ์ o-quinone ให้กลับมาอยู่ในรูปของ o-diphenol ทำให้ไม่เกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล ส่วนกรณีกรดซิตริกจะทำหน้าที่เป็นสารป้องกันการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลในกลุ่ม acidulant โดยทำให้ค่า pH ลดลง เมื่อ pH ลดลงต่ำกว่าค่า optimum pH ของเอนไซม์ PPO (pH 5-7) จะช่วยลดแอกทิวิตีของเอนไซม์ได้ (Dris and Jain, 2004) แต่จากการทดลองนี้การใช้กรดซิตริกไม่สามารถควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลได้ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากกรดซิตริกที่ใช้มีปริมาณน้อยเกินไป จึงทำให้เนื้อมะตูมตีปั่นยังมีค่า pH ใกล้เคียงกับ optimum pH ของเอนไซม์ PPO (รูปที่ 4.10) แต่การเติมกรดปริมาณมากเกินไปจะส่งผลให้เนื้อมะตูมมีรสเปรี้ยว ผลิตรสชาติที่ได้ไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ส่วนการเติมกรดแอสคอร์บิกและกรดซิตริกที่ความเข้มข้นสูงขึ้นไปจะไม่ส่งผลต่อการเพิ่มประสิทธิภาพในการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลในเนื้อมะตูม

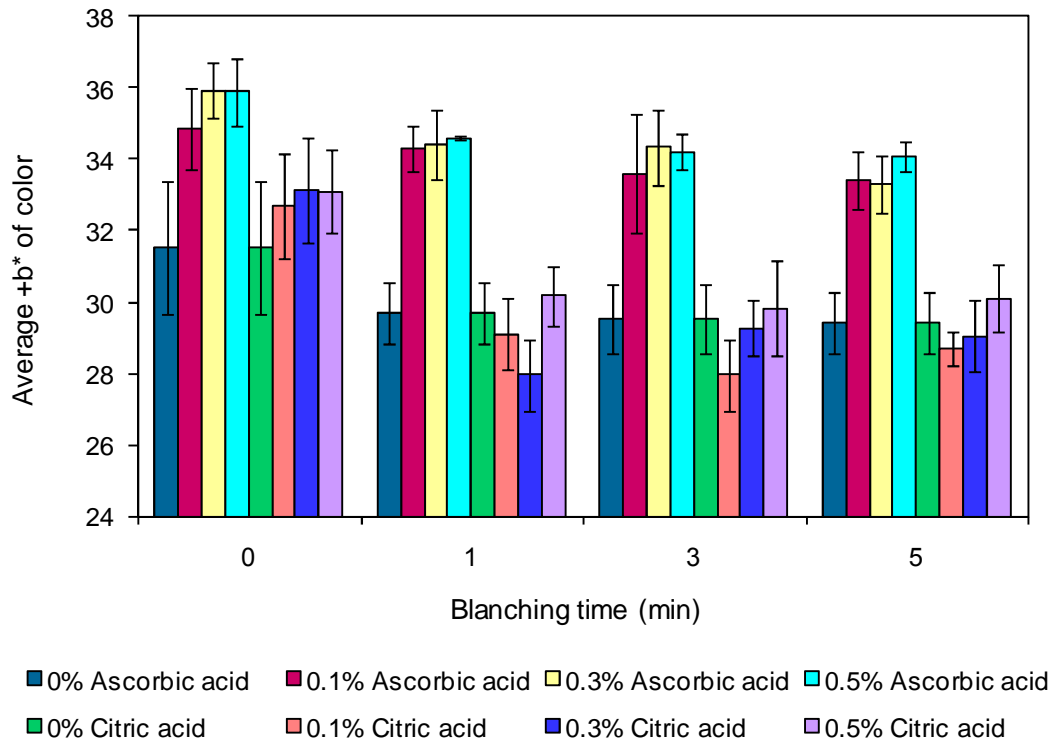
เมื่อพิจารณาผลของการให้ความร้อนด้วยไอน้ำ เพื่อควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลในเนื้อมะตูมตีปั่นพบว่า การให้ความร้อนด้วยไอน้ำจนจุดกึ่งกลางของเนื้อมะตูมมีอุณหภูมิ 85°C นาน 1, 3 และ 5 นาที มีผลช่วยควบคุมการเกิดสีน้ำตาลในเนื้อมะตูมได้เพียงเล็กน้อย โดยทำให้เนื้อมะตูมมีค่าสีแดง ($+a^*$) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แต่มีค่าความสว่าง (L^*) และค่าสีเหลือง ($+b^*$) ไม่แตกต่างกับเนื้อมะตูมตีปั่นที่ไม่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล (รูปที่ 4.7-4.9) เนื่องจากความร้อนทำให้เอนไซม์ PPO เสียสภาพ ส่งผลให้เอนไซม์ไม่สามารถเร่งปฏิกิริยาได้ (Lee and Whitaker, 1995) แต่การเกิดสีน้ำตาลในเนื้อมะตูมอาจเกิดจากปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่ไม่มีเอนไซม์เร่งร่วมด้วย Hutchings และ Fift (1999) รายงานว่า ผลิตรสชาติจากผักและผลไม้หลายชนิด เช่น ผลไม้ตระกูลส้ม ลูกพลัม และแครอท มีสารตั้งต้นเพียงพอต่อการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ไม่มีเอนไซม์เร่งโดยเฉพาะปฏิกิริยา Maillard ส่งผลให้การให้ความร้อนเพียงอย่างเดียวในช่วงเวลาที่ศึกษา ไม่สามารถควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลได้อย่างสมบูรณ์ และเมื่อเพิ่มระยะเวลาการให้ความร้อนกับเนื้อมะตูม จะไม่ส่งผลต่อการเพิ่มประสิทธิภาพในการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลของเนื้อมะตูม ดังนั้นจึงได้ทดลองเติมกรดแอสคอร์บิกและกรดซิตริกควบคู่กับการให้ความร้อน เพื่อทดสอบอิทธิพลร่วมระหว่างชนิดกับปริมาณสารควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล และระยะเวลาที่ให้ความร้อน



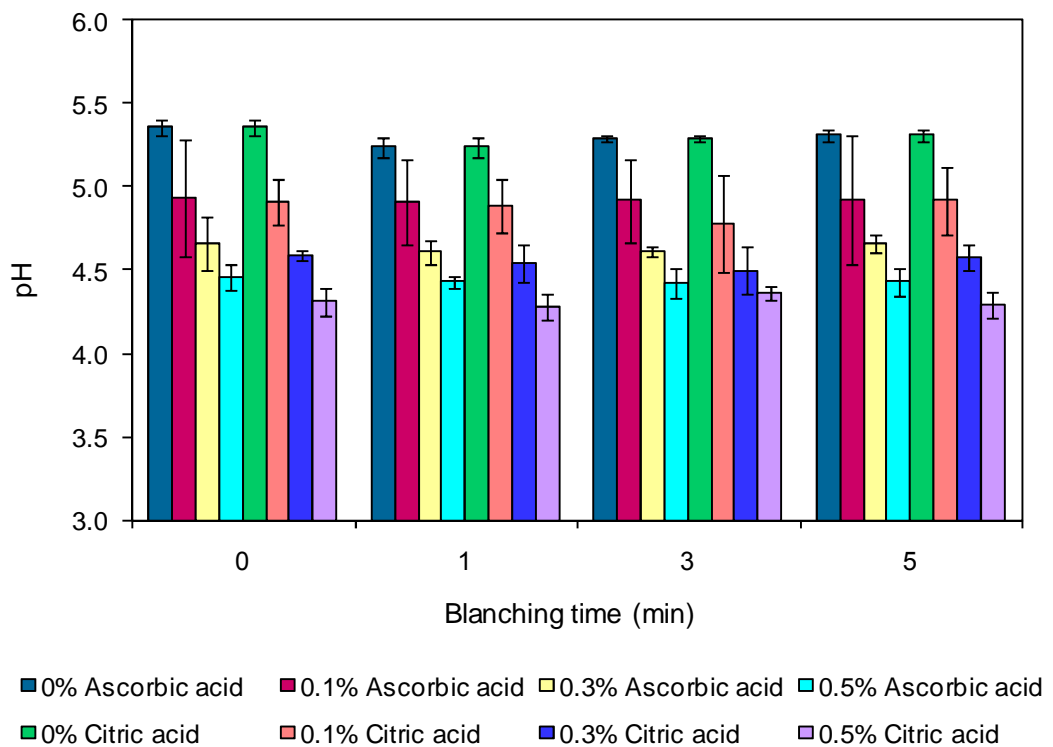
รูปที่ 4.7 ค่าเฉลี่ยความสว่าง (L*) ของเนื้อมะตูมตีป่นที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ



รูปที่ 4.8 ค่าเฉลี่ยสีแดง (+a*) ของเนื้อมะตูมตีป่นที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ



รูปที่ 4.9 ค่าเฉลี่ยสีเหลือง (+b*) ของเนื้อมะตูมตีปั่นที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ



รูปที่ 4.10 ค่า pH ของเนื้อมะตูมตีปั่นที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ

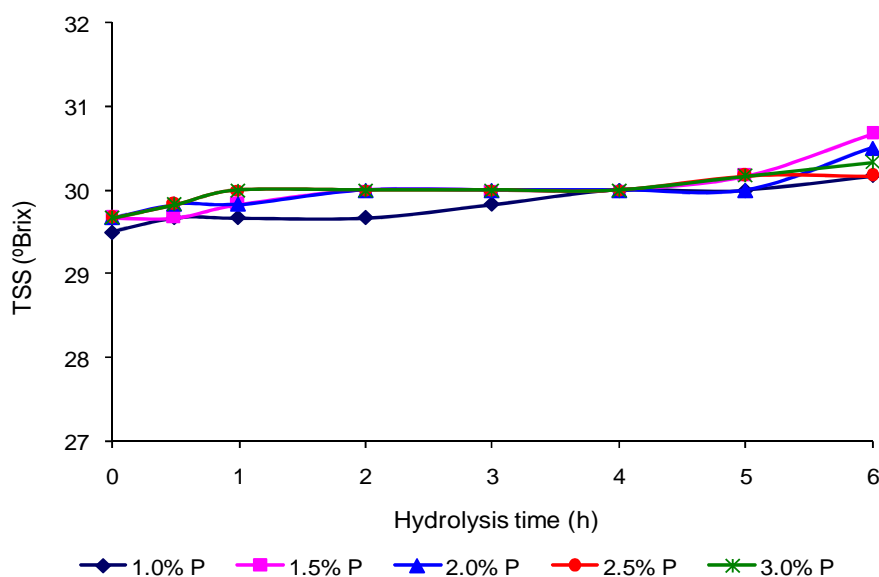
เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ เพื่อทดสอบอิทธิพลร่วมระหว่างชนิดกับปริมาณสารควบคุม การเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล และระยะเวลาที่ให้ความร้อน พบว่า มีอิทธิพลร่วมอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ระหว่างปัจจัยทั้ง 3 ต่อค่าความสว่าง (L^*) และมีอิทธิพลร่วมอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ระหว่าง 2 ปัจจัย ต่อค่าสีแดง ($+a^*$) และค่าสีเหลือง ($+b^*$) จากรูปที่ 4.7-4.9 แสดงให้เห็นว่าการเติมกรดซิตริกควบคู่กับการให้ความร้อนด้วยไอน้ำ ทำให้เนื้อมะตูมมีค่าความสว่าง (L^*) ค่าสีเหลือง ($+b^*$) และค่าสีแดง ($+a^*$) ใกล้เคียงกับเนื้อมะตูมที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลด้วยการให้ความร้อนเพียงอย่างเดียว แต่การเติมกรดแอสคอร์บิกควบคู่กับการให้ความร้อนด้วยไอน้ำ จะช่วยลดการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลในเนื้อมะตูมเมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อมะตูมที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลด้วยการให้ความร้อนเพียงอย่างเดียว และจากผลการทดลองพบว่าการเติมกรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 0.3 และ 0.5% (w/w) ร่วมกับการให้ความร้อนด้วยไอน้ำนาน 3 นาที เนื้อมะตูมตีปั่นจะมีค่าความสว่าง (L^*) และค่าสีเหลือง ($+b^*$) สูงที่สุด ส่วนค่าสีแดง ($+a^*$) จะมีค่าต่ำที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อมะตูมที่ไม่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลและเนื้อมะตูมที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลด้วยการเติมกรดหรือการให้ความร้อนเพียงอย่างเดียว ดังนั้นจึงเลือกใช้การเติมกรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 0.3% (w/w) ร่วมกับการให้ความร้อนด้วยไอน้ำจนจุดกึ่งกลางของเนื้อมะตูมมีอุณหภูมิ 85°C นาน 3 นาที เป็นภาวะที่เหมาะสมในการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลในเนื้อมะตูม เนื่องจากเป็นภาวะที่ใช้กรดที่ความเข้มข้นน้อยกว่า 0.5% (w/w) ผลที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Mao และคณะ (2007) ที่พบว่า การให้ความร้อนควบคู่กับการเติมกรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 0.1% (w/w) มีผลช่วยควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลและเพิ่มคุณภาพโดยรวมของน้ำอ้อยได้ และเมื่อนำภาวะที่เลือกใช้มาตรวจสอบแอกทิวิตีของเอนไซม์ peroxidase (POD) เพื่อยืนยันว่าเป็นภาวะที่สามารถควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลได้พบว่า ไม่พบแอกทิวิตีของเอนไซม์ POD โดยเนื้อมะตูมสุกตีปั่นที่เตรียมได้มีค่า pH เฉลี่ยเท่ากับ 4.61 ซึ่งค่า pH นี้ยังอยู่ในช่วงที่เอนไซม์ Pectinex[®] Ultra SP-L สามารถทำงานได้ดี

4.4 ภาวะการผลิตไซรัปมะตูมด้วยเอนไซม์

การผลิตไซรัปมะตูมโดยใช้เอนไซม์ย่อยส่วนประกอบต่างๆในผนังเซลล์พืช มีจุดประสงค์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดของเหลวต่างๆ รวมทั้งสารให้สี กลิ่นรส และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ จากงานวิจัยนี้ได้ทดลองย่อยเนื้อมะตูมสุกตีปั่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาลที่เตรียมได้จากข้อ 4.3 ด้วยเอนไซม์เพกทิเนสทางการค้าคือ Pectinex[®] Ultra SP-L (10292 PGU/ml) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ประกอบด้วยเอนไซม์หลายชนิดได้แก่ พอลิกลาแลกทูโรเนส เพกทินไลเอส เพกทินเอสเทอเรส เฮมิเซลลูเลส เซลลูเลส โปรตีเอส และอะไมเลส ที่ความเข้มข้น 1.0-3.0% (v/w)

เวลาการย่อย 0-6 ชั่วโมง จากนั้นติดตามผลการเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ และค่าสี และเลือกภาวะที่ไซรัปมีระดับการตัดพันธะไกลโคซิดด้วยเอนไซม์ครอบคลุมจากช่วงต่ำ ไปสูงโดยประเมินจากค่าของน้ำตาลรีดิวซ์ เป็นตัวแทนในการศึกษาลักษณะเฉพาะของไซรัปมะตูม

เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่าปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้พบว่า เวลาการย่อยมีอิทธิพลอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ต่อปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ แต่ไม่พบผลของความเข้มข้นของเอนไซม์และอิทธิพลร่วมอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ต่อปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ จากผลการทดลองรูปที่ 4.11 พบว่า เมื่อเพิ่มระยะเวลาการย่อย ไซรัปมะตูมจะมีปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย เนื่องจากเอนไซม์ที่ใช้มีสมบัติในการย่อยสลายประกอบเพกทิน เมื่อโมเลกุลของสารประกอบเพกทินเกิดการย่อยสลาย จะปลดปล่อยสารที่อยู่ในเซลล์พืชออกมา ทำให้ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้มีค่าเพิ่มขึ้น (Al-Hooti et al., 2002) ส่วนการที่ไซรัปมะตูมมีปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้เพิ่มขึ้นเล็กน้อยอาจเนื่องมาจากโมเลกุลของน้ำที่อยู่ภายในเซลล์ของเนื้อมะตูมถูกปล่อยออกมาด้วย และอาจมีสาเหตุมาจากผลไม้แต่ละชนิดมีลักษณะโครงสร้างและองค์ประกอบที่แตกต่างกัน ทำให้ลักษณะการย่อยสลายประกอบเพกทินต่างกัน ส่งผลให้น้ำและของเหลวละลายที่อยู่ภายในเซลล์ถูกปลดปล่อยออกมาในปริมาณที่แตกต่างกัน (Baumann, 1981)



รูปที่ 4.11 การเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (TSS) ในไซรัปมะตูมที่ได้จากการ

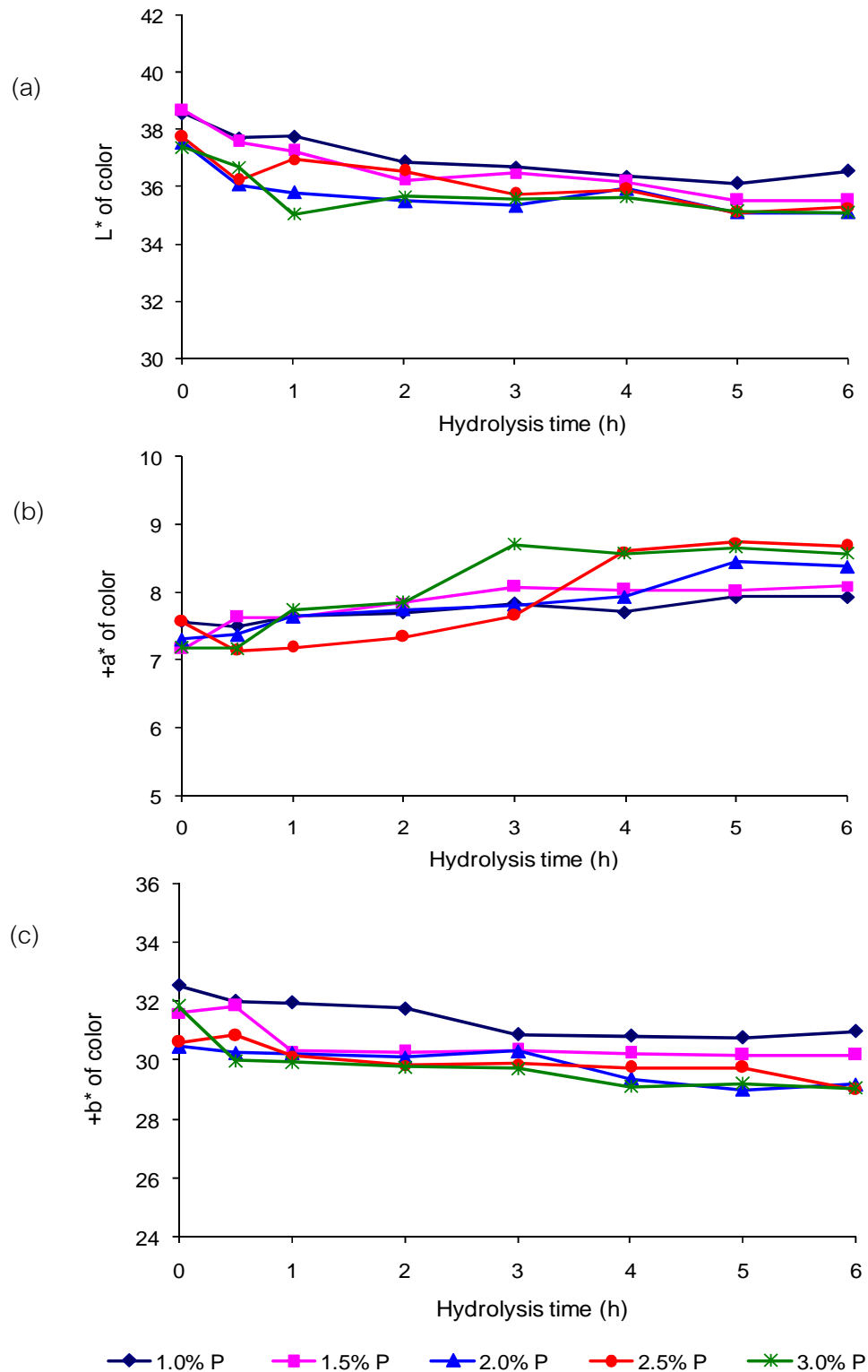
การย่อยด้วยเอนไซม์ Pectinex[®] Ultra SP-L (P) ที่ความเข้มข้นและเวลาการย่อยต่างๆ

สำหรับแนวโน้มในการเปลี่ยนแปลงค่าสีในระบบ $L^* a^* b^*$ ของไซรัปมะตูมที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ที่ภาวะต่างๆ เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่าสีพบว่า ความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาการย่อยมีอิทธิพลอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ต่อค่าความสว่าง (L^*) และค่าสีเหลือง

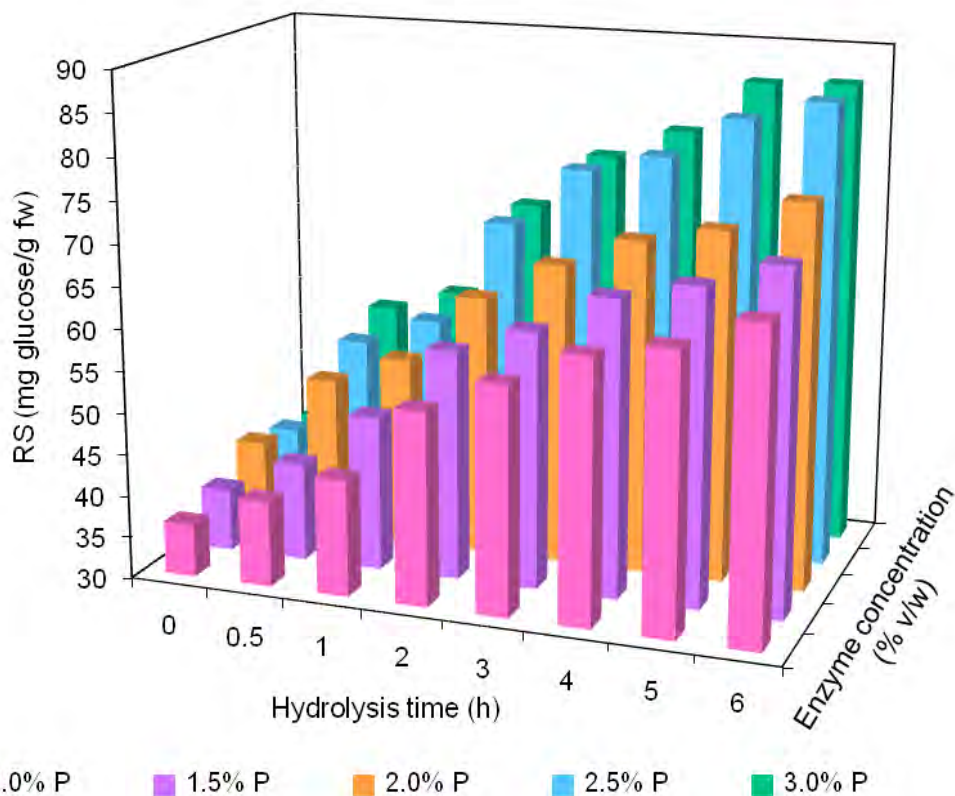
(+b*) ส่วนเวลาการย่อยมีอิทธิพลอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ต่อค่าสีแดง (+a*) แต่ไม่พบผลของอิทธิพลร่วมต่อค่าสว่าง (L*) ค่าสีแดง (+a*) และค่าสีเหลือง (+b*) อย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) จากผลการทดลองรูปที่ 4.12 พบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์จะทำให้ไซรัปมีค่าความสว่าง (L*) และค่าสีเหลือง (+b*) ลดลง ส่วนค่าสีแดง (+a*) มีค่าค่อนข้างคงที่ และเมื่อเพิ่มระยะเวลาการย่อยจะทำให้ไซรัปที่ได้มีค่าความสว่าง (L*) และค่าสีเหลือง (+b*) ลดลง แต่ค่าสีแดง (+a*) จะมีค่าเพิ่มขึ้น

จากการติดตามการทำงานของเอนไซม์ โดยพิจารณาจากปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดจากการตัดพันธะไกลโคซิลของพอลิเมอร์ในเนื้อมะตูม เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในไซรัปมะตูมพบว่า ความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาการย่อยมีอิทธิพลอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และพบผลของอิทธิพลร่วมอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ระหว่างปัจจัยทั้งสอง จากผลการทดลองรูปที่ 4.13 พบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาการย่อย ไซรัปมะตูมจะมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ซึ่งปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เพิ่มขึ้น เกิดจากการตัดพันธะไกลโคซิลของพอลิเมอร์ในเนื้อมะตูมที่มากขึ้น โดยเอนไซม์เพกทิเนส เซลลูเลส และเฮมิเซลลูเลส จะย่อยสลายพันธะไกลโคซิลของสารประกอบเพกทิน เซลลูโลส และ เฮมิเซลลูโลส ตามลำดับ ที่บริเวณผนังเซลล์ของเนื้อเยื่อพืช (ปราณี, 2547; Grohmann and Baldwin, 1992; Fanta et al., 1992; Sreenath et al., 1999; Jayani et al., 2005) ทั้งนี้เอนไซม์ Pectinex® Ultra SP-L ประกอบด้วยเอนไซม์หลายชนิดดังกล่าว จึงสามารถช่วยเสริมการย่อยสลายสารประกอบต่างๆ ที่บริเวณผนังเซลล์ของเนื้อเยื่อพืชได้ดีขึ้น (Pilnik and Rombouts, 1979) โดยพบว่าการใช้เอนไซม์ที่ความเข้มข้น 2.5% (v/w) เวลาการย่อยนาน 0-6 ชั่วโมง เป็นภาวะที่ไซรัปมะตูมมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์หรือมีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลครอบคลุมจากช่วงต่ำไปสูง ซึ่งปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้มีค่าไม่แตกต่างกับภาวะที่ใช้เอนไซม์เข้มข้น 3.0% (v/w) อย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) และเมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในไซรัปมะตูมที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์เข้มข้น 2.5% (v/w) ที่เวลาการย่อย 0, 1, 2, 4 และ 6 ชั่วโมง สามารถแบ่งเป็น 5 ช่วง โดยประมาณคือ 39, 55, 68, 77 และ 85 mg glucose/ g fresh weight (fw) แสดงในตารางที่ 4.6 ดังนั้นจึงเลือกใช้เอนไซม์ที่ความเข้มข้น 2.5% (v/w) เวลาการย่อย 0, 1, 2, 4 และ 6 ชั่วโมง เป็นตัวแทนเพื่อศึกษาผลของระดับการตัดพันธะไกลโคซิลของพอลิเมอร์ในเนื้อมะตูมด้วยเอนไซม์ที่มีต่อลักษณะเฉพาะของไซรัปมะตูมในด้านฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ปริมาณแคลโรทีนอยด์ทั้งหมด ขนาดอนุภาค พฤติกรรมการไหล และคุณภาพทางประสาทสัมผัส และเลือกใช้เอนไซม์ที่ความเข้มข้น 2.5% (v/w) เวลาการย่อย 6 ชั่วโมง ซึ่งเป็นภาวะที่ไซรัปมะตูมมีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลด้วยเอนไซม์สูงสุดในช่วงที่ศึกษา

เป็นตัวแทนเพื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณใยอาหาร ค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติก และ สารระเหย เปรียบเทียบกับเนื้อมะตูมสุกตีปั่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาล



รูปที่ 4.12 การเปลี่ยนแปลงค่าสีในระบบ L* a* b* (a) ค่าความสว่าง (L*) (b) ค่าสีแดง (+a*) และ (c) ค่าสีเหลือง (+b*) ของไซรัปมะตูมที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ Pectinex® Ultra SP-L (P) ที่ความเข้มข้นและเวลาการย่อยต่างๆ



รูปที่ 4.13 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (RS) ในไซรัปมะตูมที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ Pectinex® Ultra SP-L (P) ที่ความเข้มข้นและเวลาการย่อยต่างๆ

ตารางที่ 4.6 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในไซรัปมะตูมที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ Pectinex® Ultra SP-L ที่ความเข้มข้น 2.5% (v/w)

Hydrolysis time (h)	Reducing sugars (mg glucose/g fw*)
0	39.25 ^e ±0.45
0.5	51.71 ^d ±0.17
1	55.26 ^d ±1.27
2	68.35 ^c ±0.54
3	75.58 ^b ±2.42
4	77.84 ^b ±0.31
5	82.89 ^a ±3.66
6	85.47 ^a ±3.90

ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขในแนวตั้งที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกั้มีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05)

* fw คือ fresh weight basis

4.5 ลักษณะเฉพาะของไซรัปมะตูมที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์

เมื่อนำไซรัปมะตูมที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ในข้อ 4.4 มาศึกษาลักษณะเฉพาะในด้านต่างๆ รวมทั้งทดลองใช้ไซรัปมะตูมในผลิตภัณฑ์อาหาร เพื่อเป็นข้อมูลยืนยันว่าไซรัปมะตูมที่ได้สามารถพัฒนาเป็นสารปรุงแต่งสี กลิ่นรส และลักษณะเนื้อสัมผัสในอาหารที่มีหน้าที่เฉพาะได้จากผลการศึกษาลักษณะเฉพาะของไซรัปมะตูมที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิดด้วยเอนไซม์ต่างกัน ในด้านฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด ขนาดอนุภาค พฤติกรรมการไหล และการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส พบว่า ไซรัปมะตูมจะมีลักษณะเฉพาะที่แตกต่างกันตามระดับการตัดพันธะไกลโคซิดของพอลิเมอร์ในเนื้อมะตูม โดยเอนไซม์ที่ใช้มีบทบาทสำคัญต่อสมบัติด้านต่างๆของไซรัป ดังนี้

4.5.1 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสำคัญที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชันในเนื้อมะตูม ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ แคโรทีนอยด์ และวิตามินซี (Roy and Khurdiya, 1995) จากการทดลองพบว่า ไซรัปมะตูมที่ใช้เวลาในการย่อย 4 ชั่วโมงขึ้นไป จะมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงกว่าที่ภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ 4.7) เนื่องจากเอนไซม์จะย่อยองค์ประกอบต่างๆบริเวณผนังเซลล์พืชที่ยึดจับสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชันไว้ ทำให้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพถูกปล่อยออกมา (Puupponen-Pimia et al., 2008) ส่งผลให้ไซรัปมะตูมที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิดสูงมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันมากขึ้น โดยค่าฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH และ FRAP จะให้ผลไปในทางเดียวกัน

4.5.2 ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด

แคโรทีนอยด์เป็นรงควัตถุสำคัญที่ทำให้ไซรัปมะตูมมีสีส้มอมเหลือง และมีสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชัน (Bidlack and Wang, 2000) จากผลการทดลองพบว่า ไซรัปมะตูมที่ใช้เวลาในการย่อย 2 ชั่วโมงขึ้นไป มีปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดสูงกว่าที่ภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ 4.7) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Çinar (2005) และ Sun และคณะ (2006) ที่รายงานว่า การสกัดแคโรทีนอยด์โดยใช้เอนไซม์เพกทิเนส เซลลูเลส และเอมิเซลลูเลส จะช่วยสลายผนังเซลล์พืชและปล่อยแคโรทีนอยด์ที่อยู่ในคลอโรพลาสต์หรือโครโมพลาสต์ และอยู่ในช่องเหลวภายในเซลล์ออกมา ทำให้ง่ายต่อการสกัด โดยแคโรทีนอยด์ที่ได้จะอยู่ในรูปธรรมชาติกล่าวคือ ยังคงจับกับโปรตีน กรดไขมัน และคาร์โบไฮเดรตในส่วนขงใยอาหาร ซึ่งแคโรทีนอยด์ที่อยู่ในรูปนี้จะช่วยป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันและการสลายตัว ส่งผลให้แคโรทีนอยด์ที่ได้มีความคงตัวมากขึ้น

ตารางที่ 4.7 สมบัติทางเคมีและกายภาพของไซรัปมะตูมที่มีระดับการตัดพ่นระโกลโคซิลด้วยเอนไซม์ต่างกัน

Physicochemical properties	Hydrolysis time (h)				
	0	1	2	4	6
Antioxidant activities					
DPPH assay (EC ₅₀ , µg fw*/ µg DPPH)	24.56 ^a ±0.48	23.52 ^{a,b} ±0.62	22.98 ^b ±0.57	19.73 ^c ±0.11	18.85 ^c ±1.22
FRAP assay (µM TE** / g fw)	31.30 ^c ±2.19	32.28 ^c ±0.82	34.06 ^{b,c} ±1.35	36.30 ^{a,b} ±1.05	37.63 ^a ±1.59
Total carotenoids					
(µg/g fw)	6.47 ^c ±0.18	7.14 ^b ±0.18	8.01 ^a ±0.15	8.11 ^a ±0.36	8.09 ^a ±0.44
Particle size (µm)					
	84.51 ^a ±0.29	82.76 ^b ±0.58	82.26 ^b ±0.54	81.40 ^c ±0.12	79.92 ^d ±0.06
Flow behavior					
τ ₀ (Pa)	10.74 ^b ±2.48	28.15 ^a ±0.71	29.08 ^a ±1.99	29.52 ^a ±1.76	28.33 ^a ±2.35
K (Pa.s ⁿ)	28.78 ^a ±0.30	14.93 ^b ±1.18	13.23 ^b ±0.94	9.78 ^c ±0.06	7.66 ^d ±0.03
n	0.34 ^c ±0.01	0.38 ^b ±0.00	0.39 ^b ±0.00	0.41 ^{a,b} ±0.01	0.44 ^a ±0.02
η (100 s ⁻¹) (Pa.s)	1.49 ^a ±0.35	1.14 ^b ±0.21	1.07 ^{b,c} ±0.00	0.94 ^{c,d} ±0.05	0.85 ^d ±0.06
Hysteresis loop area (Pa/s)	1439.95 ^a ±53.81	652.57 ^b ±19.02	484.30 ^c ±11.19	423.76 ^c ±26.64	418.70 ^c ±37.95

ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขในแนวนอนที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05)

* fw คือ fresh weight basis, ** TE คือ trolox equivalent

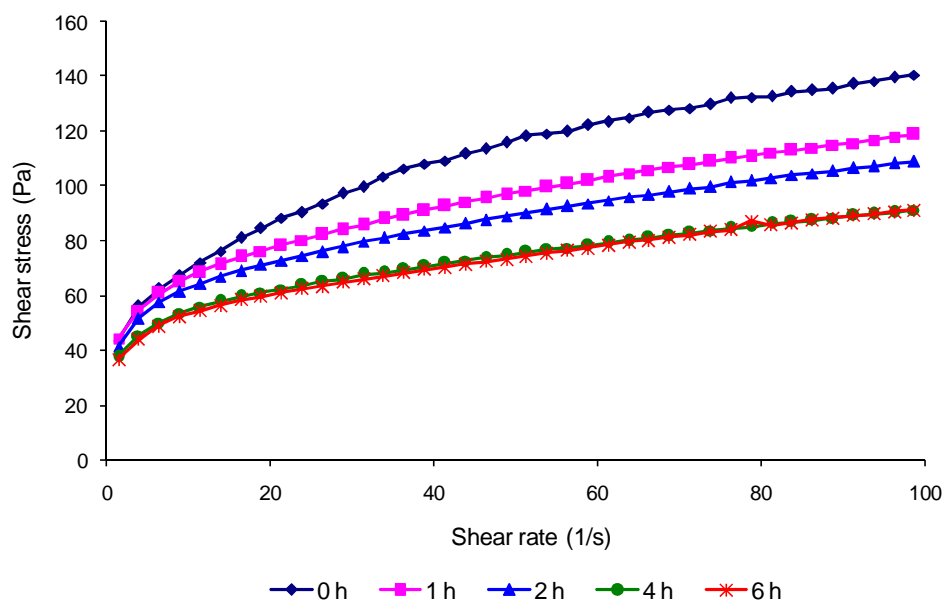
4.5.3 ขนาดอนุภาค

ไซรัปมะตูมที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ จะมีขนาดอนุภาคเฉลี่ยเล็กลงอย่างต่อเนื่อง โดยไซรัปมะตูมที่ใช้เวลาในการย่อย 6 ชั่วโมง จะมีขนาดอนุภาคเฉลี่ยเล็กที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) คือ 79.92 µm (ตารางที่ 4.7) ทั้งนี้เนื่องจากเอนไซม์จะย่อยสารประกอบต่างๆบริเวณผนังเซลล์พืช ได้แก่ เพกทิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส ทำให้ได้พอลิเมอร์ของสารประกอบดังกล่าวที่สั้นลง ส่งผลให้ขนาดอนุภาคที่ได้มีขนาดเล็กลง (Shallom and Shoham, 2003; Jayani et al., 2005, Zhang et al., 2006)

4.5.4 พฤติกรรมการไหล

เมื่อใช้ Herschel-Bulkley model ทำนายพฤติกรรมการไหลของไซรัปมะตูมที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิดต่างกัน แสดงผลในค่าของ yield stress (τ_0), consistency coefficient (K) และ flow behaviour index (n) พบว่า ไซรัปมะตูมที่ทุกเวลาการย่อยจะมีพฤติกรรมการไหลแบบ pseudoplastic with yield stress แสดงในรูปที่ 4.14 โดยไซรัปจะมีค่าความหนืดลดลงเมื่อเพิ่มอัตราเฉือนหรือแสดงสมบัติเป็น shear thinning และมีลักษณะการไหลแบบ thixotropic คือ ไซรัปจะมีความหนืดลดลงเมื่อได้รับอัตราเฉือนที่คงที่ในเวลาที่เพิ่มขึ้น หรือมี hysteresis loop area ระหว่าง upward และ downward flow curves

จากตารางที่ 4.7 แสดงให้เห็นว่า ไซรัปมะตูมที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ จะมีค่า yield stress (τ_0) สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ค่า yield stress คือ แรงที่น้อยที่สุดที่ทำให้ของเหลวเริ่มไหลได้ ทั้งนี้เนื่องจากเพกทินที่ถูกย่อยสลายเกิดการยึดจับเรียงตัวกันใหม่ด้วยพันธะที่แข็งแรงมากขึ้น ดังนั้นจึงต้องใช้แรงมากขึ้นในการทำให้ของเหลวเริ่มไหลได้ (Deman et al., 1976; Brummer, 2006) และเมื่อไซรัปมีระดับการตัดพันธะไกลโคซิดมากขึ้นจะส่งผลให้ค่า consistency coefficient (K) ลดลง และค่า flow behavior index (n) เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ตามลำดับ ค่า n ที่เพิ่มขึ้นแสดงว่าไซรัปมะตูมมีพฤติกรรมการไหลใกล้เคียงกับ Newtonian มากขึ้น (McKenna and Lyng, 2003; Sharoba et al., 2005) สำหรับค่า apparent viscosity (η) หรือ ค่าความหนืดปรากฏที่อัตราเฉือน 100 s^{-1} จะมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เนื่องจากเอนไซม์จะย่อยสลายประกอบเพกทิน ส่งผลให้เพกทินมีความสามารถในการอุ้มน้ำลดลง น้ำอิสระถูกปล่อยออกมา ทำให้ค่าความหนืดลดลง (Bhattacharya and Rastogi, 1998; Lee et al., 2006; Abdullah et al., 2007) ส่วนค่า hysteresis loop area จะมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แสดงว่า ไซรัปมะตูมที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิดสูงจะมีการจัดเรียงตัวของโมเลกุลและอนุภาคบางส่วนที่เปลี่ยนแปลงไปเนื่องจากได้รับแรงเฉือนได้ดีขึ้น ส่งผลให้ไซรัปมะตูมสามารถคืนรูปเดิมได้ดีกว่าภาวะที่ไซรัปมีระดับการตัดพันธะไกลโคซิดต่ำ (Ramos and Ibarz, 1998; Altan et al., 2005; Brummer, 2006) และเมื่อเปรียบเทียบพฤติกรรมการไหลของไซรัปมะตูมกับสารเพิ่มลักษณะเนื้อสัมผัสในอาหารประเภท hydrocolloids พบว่า ไซรัปมะตูมมีพฤติกรรมการไหลคล้ายกับสารกลุ่มแซนแทนกัมและคาราจีแนน โดยมีพฤติกรรมการไหลแบบ pseudoplastic with yield stress และมีลักษณะการไหลแบบ thixotropic (Marcotte et al., 2001; Sharma et al., 2007)



รูปที่ 4.14 Flow curve ของไซรัปมะตูมที่มีระดับการตัดพั้นระไกลโคซิลด้วยเอนไซม์ต่างกัน

4.5.5 คุณภาพทางประสาทสัมผัส

จากการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส ด้วยวิธี QDA ในด้านสี กลิ่นรส และลักษณะเนื้อสัมผัส ของไซรัปมะตูมที่มีระดับการตัดพั้นระไกลโคซิลด้วยเอนไซม์ต่างกัน โดยใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 10 คน ให้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.8 คือ ไซรัปมะตูมที่ใช้เวลาในการย่อย 4 ชั่วโมงขึ้นไป จะมีสีส้มอมเหลืองและมีกลิ่นรสมะตูมชัดเจนกว่าที่ภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ผลที่ได้สอดคล้องกับค่าสีที่วัดได้จากการทดลองข้อ 4.4 ที่พบว่า เมื่อเพิ่มระยะเวลาการย่อยจะทำให้ไซรัปที่ได้มีค่าความสว่าง (L^*) และค่าสีเหลือง ($+b^*$) ลดลง แต่มีค่าสีแดง ($+a^*$) เพิ่มขึ้น และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Mutlu และคณะ (1999) ที่รายงานว่า การใช้เอนไซม์เพกทิเนสช่วยปรับปรุงคุณภาพน้ำแครอท จะทำให้น้ำแครอทที่ได้มีลักษณะปรากฏด้านสีและกลิ่นรสที่ดีขึ้น ส่วนในด้านกลิ่นรสแปลกปลอม ผู้ทดสอบจะรู้สึกถึงกลิ่นรสแปลกปลอมได้บ้างในไซรัปมะตูมที่ทุกเวลาการย่อย และไซรัปมะตูมที่ใช้เวลาในการย่อย 4 ชั่วโมงขึ้นไป จะมีลักษณะเนื้อสัมผัสที่เรียบเนียนมากกว่าและมีเนื้อข้นเหนียวน้อยกว่าไซรัปที่ได้จากภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับผลของขนาดอนุภาคและค่าความหนืดที่พบว่า เมื่อเพิ่มระยะเวลาการย่อยจะทำให้ไซรัปที่ได้มีขนาดอนุภาคเฉลี่ยเล็กลงและมีความหนืดลดลง นอกจากนี้ผู้ทดสอบจะรู้สึกถึงกลิ่นรสที่ตกค้าง (aftertaste) ได้ค่อนข้างชัดเจนในไซรัปมะตูมที่เวลาการย่อย 4 ชั่วโมงขึ้นไป

ตารางที่ 4.8 คะแนนลักษณะทางประสาทสัมผัสของไซรัปมะตูมที่มีระดับการตัดพั้นระไกลโคซิดด้วยเอนไซม์ต่างกัน

Sensory attributes	Hydrolysis time (h)				
	0	1	2	4	6
Color	6.37 ^c ±0.69	6.93 ^b ±1.09	6.95 ^b ±0.85	8.99 ^a ±0.74	8.97 ^a ±0.75
Flavor					
bael fruit flavor	6.47 ^c ±0.94	6.77 ^{b,c} ±1.05	7.05 ^b ±0.98	8.59 ^a ±0.85	8.65 ^a ±1.04
off-flavor*	4.93 ^b ±0.71	5.39 ^a ±0.34	5.56 ^a ±0.35	5.39 ^a ±0.35	5.62 ^a ±0.53
Texture					
smoothness	7.34 ^c ±0.91	7.82 ^b ±1.16	8.02 ^b ±1.11	8.61 ^a ±1.21	8.64 ^a ±1.24
thickness	8.36 ^a ±0.75	7.85 ^b ±0.35	6.62 ^c ±0.61	4.98 ^d ±0.38	4.99 ^d ±0.33
Aftertaste	5.63 ^b ±0.85	5.68 ^b ±0.70	5.99 ^b ±0.90	6.98 ^a ±0.52	6.96 ^a ±0.36

ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขในแนวนอนที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

กำหนดให้ลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านต่างๆของไซรัปมะตูมมีคะแนนสูงสุด 10 คะแนน

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



รูปที่ 4.15 ลักษณะของ (a) เนื้อมะตูมสุกตีปั่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาลเปรียบเทียบกับ (b) ไซรัปมะตูมที่ใช้เวลาในการย่อย 6 ชั่วโมง

เมื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณใยอาหาร ค่าแอกทิวิตีของสารฟรีไบโอติก และสารระเหย ในไซรัปมะตูมที่ใช้เวลาในการย่อย 6 ชั่วโมง ซึ่งเป็นภาวะที่ไซรัปมะตูมมีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลด้วยเอนไซม์สูงสุดในช่วงที่ศึกษา เปรียบเทียบกับเนื้อมะตูมสุกตีปั่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาลให้ผลการทดลองดังนี้

4.5.6 ปริมาณใยอาหาร

ผลการเปลี่ยนแปลงปริมาณใยอาหารในไซรัปมะตูมเปรียบเทียบกับเนื้อมะตูมสุกตีปั่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาล แสดงในตารางที่ 4.9 พบว่า ไซรัปมะตูมมีปริมาณใยอาหารทั้งหมด (TDF) คงที่ แต่มีปริมาณใยอาหารที่ละลายน้ำ (SDF) เพิ่มขึ้น และปริมาณใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ (IDF) ลดลง อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ทั้งนี้เนื่องจากเอนไซม์จะย่อยสารประกอบเพกทินที่ไม่ละลายน้ำให้อยู่ในรูปที่แสดงหมู่ไฮดรอกซิลมากขึ้น ส่งผลให้เพกทินละลายน้ำได้มากขึ้น (Sakamoto et al., 2006)

ตารางที่ 4.9 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

4.5.7 ค่าแอกทิวิตีของสารฟรีไบโอติก

จากการทดลองเพื่อหาค่าแอกทิวิตีของสารฟรีไบโอติกในไซรัปมะตูมเปรียบเทียบกับเนื้อมะตูมสุกตีปั่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาล แสดงผลในตารางที่ 4.10 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 สูงและต่ำกว่าภาวะที่เลี้ยงในอาหารที่มีกลูโคสเป็นองค์ประกอบ อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ตามลำดับ เมื่อนำค่าจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นภายใน 24 ชั่วโมง ไปคำนวณตามสมการที่แสดงในภาคผนวก ก. 9 เพื่อหาค่าแอกทิวิตีของสารฟรีไบโอติก (รูปที่ 4.16) พบว่าค่าแอกทิวิตีของสารฟรีไบโอติกในไซรัปมะตูมกับเนื้อมะตูมสุกตีปั่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาล มีค่าไม่แตกต่างกัน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการใช้เอนไซม์ในช่วงที่ศึกษาไม่สามารถย่อยองค์ประกอบในเนื้อมะตูมสุกที่เป็นฟรีไบโอติกให้มีโมเลกุลเล็กมากพอที่โพรไบโอติกสามารถใช้ได้มากขึ้น จึงทำให้ค่าแอกทิวิตีของสารฟรีไบโอติกที่ได้มีค่าไม่ต่างกัน โดย *B. lactis* Bb12 จะมีค่าแอกทิวิตีของสารฟรีไบโอติกสูงกว่า *L. acidophilus* La5 แสดงว่า สารฟรีไบโอติกในไซรัปมะตูมและเนื้อมะตูมสุกตีปั่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาลสามารถส่งเสริมการเจริญของ *B. lactis* Bb12 ได้ดีกว่า *L. acidophilus* La5 แต่ไม่ส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียชนิดอื่นในระบบทางเดินอาหาร

ตารางที่ 4.10 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

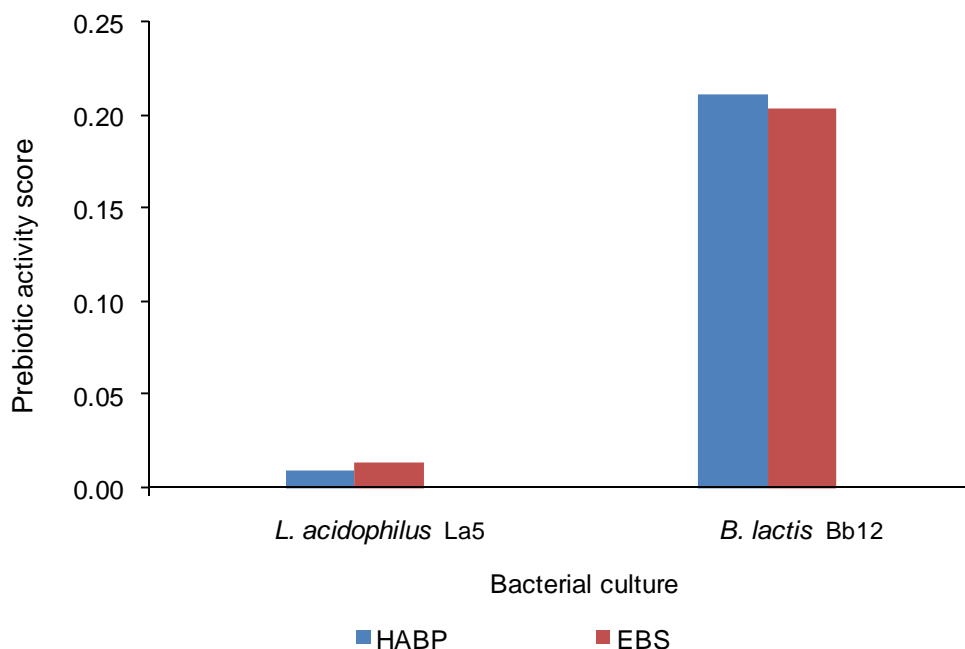
ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขในแนวนอนที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกั้มีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

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

HABP คือ Homogenized and antibrowning controlled bael fruit pulp

EBS คือ Enzyme treated bael fruit syrup



รูปที่ 4.16 ค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติกในไซรัปมะตูมเปรียบเทียบกับเนื้อมะตูมสุกตีปั่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาล
 HABP คือ Homogenized and antibrowning controlled bael fruit pulp
 EBS คือ Enzyme treated bael fruit syrup

4.5.8 สารระเหย

ผลการเปลี่ยนแปลงชนิดของสารระเหยในไซรัปมะตูมเปรียบเทียบกับเนื้อมะตูมสุกตีปั่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาล วิเคราะห์ด้วยวิธี SPME/GC/MS พบว่า ไซรัปมะตูมมีสารระเหยเพิ่มขึ้นทั้งหมด 24 ชนิด แสดงในตารางที่ 4.11 โดยชนิดของสารระเหยที่เพิ่มขึ้นในไซรัปมะตูมส่วนใหญ่จะเป็นสารกลุ่ม terpenes เช่น linalool oxide, linalool, β -elemene และ germacrene-D ซึ่งเป็นสารที่ให้กลิ่นรสในผลไม้หลายชนิด (Maarse, 1991) ทั้งนี้ชนิดของสารระเหยที่เพิ่มขึ้นเกิดจากสารประกอบเพกทินในเนื้อผลไม้ส่วนใหญ่จะเกาะกับเส้นใยเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสที่บริเวณผนังเซลล์ของเนื้อเยื่อผลไม้ ทำให้เกิดการกักเก็บสารให้กลิ่นไว้ในเนื้อเยื่อ ดังนั้นการใช้เอนไซม์ย่อยสารประกอบเพกทินโดยการตัดที่สายโซ่หลักหรือโซ่กิ่งของเพกทิน จะทำให้โครงสร้างของเพกทินเปลี่ยนแปลงไป เพกทินละลายน้ำได้มากขึ้นและยึดจับกับผนังเซลล์โดยรอบอย่างหลวมๆ ทำให้เนื้อเยื่อผลไม้มีความอ่อนตัวมากขึ้น เกิดการปลดปล่อยสารให้กลิ่นของผลไม้ออกมาได้มากกว่าการใช้วิธีบีบอัดทางกายภาพ (ปราณี, 2547; Baumann, 1981; Mutlu et al., 1999) ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับผลการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของไซรัปมะตูมที่พบว่า การใช้เอนไซม์ในกระบวนการผลิตไซรัปมะตูมจะทำให้ไซรัปมีกลิ่นรสมะตูมชัดเจนมากขึ้น

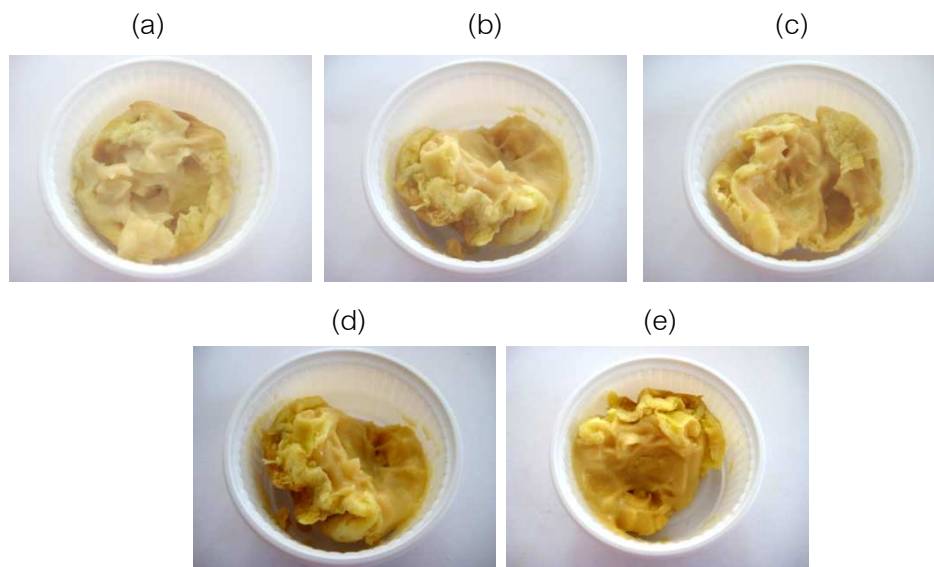
ตารางที่ 4.11 ผลของการย่อยด้วยเอนไซม์ที่มีต่อชนิดของสารระเหยในไซรัปมะตูม

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 จากงานวิจัยที่แสดงในขั้นตอนการดำเนินงานวิจัยที่ 3.3.2.8

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

จากการทดลองใช้ไซรัปมะตูมที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิดด้วยเอนไซม์ต่างกันเป็นสารแต่งกลิ่นรสในผลิตภัณฑ์อาหารประเภทครีมชั้น เพื่อทดแทนการใช้สารปรุงแต่งกลิ่นสังเคราะห์เพิ่มสมบัติเชิงหน้าที่ และคุณค่าทางโภชนาการ ให้กับผลิตภัณฑ์อาหาร โดยใช้เป็นส่วนผสมในไส้ขนมเอแคลร์ปริมาณ 10% โดยน้ำหนักส่วนผสมทั้งหมด แทนการใช้กลิ่นวานิลลาสังเคราะห์ในสูตรต้นแบบ แสดงในรูปที่ 4.17 และประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ที่ได้ด้วยวิธี QDA โดยใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 10 คน ประเมินลักษณะด้านสี กลิ่นรส ลักษณะเนื้อสัมผัส และการยอมรับรวม ผลที่ได้แสดงในตารางที่ 4.12 พบว่า เมื่อใช้ไซรัปมะตูมที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิดต่างกันเป็นส่วนผสมในไส้ขนมเอแคลร์ จะส่งผลให้ไส้ขนมมีสี กลิ่นรส และลักษณะเนื้อสัมผัสต่างกัน ซึ่งผลที่ได้มีแนวโน้มไปในทางเดียวกับการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของไซรัปมะตูม โดยไส้ขนมที่มีส่วนผสมของไซรัปมะตูมที่ใช้เวลาในการย่อย 4 ชั่วโมงขึ้นไป จะมีสีเหลืองนวลอมทองและมีกลิ่นรสมะตูมชัดเจนกว่าที่ภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ส่วนด้านกลิ่นรสแปลกปลอมพบว่า ไส้ขนมที่มีส่วนผสมของไซรัปมะตูมทุกภาวะไม่ทำให้เกิดกลิ่นรสแปลกปลอมในระดับที่ผู้ทดสอบสามารถรู้สึกได้ชัดเจน แต่ผู้ทดสอบจะรู้สึกถึงกลิ่นรสมะตูมที่ตกค้าง (aftertaste) ค่อนข้างมากในไส้ขนมที่มีส่วนผสมของไซรัปมะตูมที่ใช้เวลาในการย่อย 4 ชั่วโมงขึ้นไป ในด้านลักษณะเนื้อสัมผัสพบว่า ไส้ขนมที่มีส่วนผสมของไซรัปมะตูมที่ใช้เวลาในการย่อย 2 ชั่วโมงขึ้นไป จะมีเนื้อสัมผัสที่เรียบเนียนและมีความเป็นเนื้อเดียวกันมากกว่าไซรัปมะตูมที่ภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) และไส้ขนมที่มีส่วนผสมของไซรัปมะตูมที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์จะมีเนื้อสัมผัสที่ข้นเหนียว ไม่เหลวเยิ้ม ไม่แข็งแน่น ในขณะที่ไส้ขนมที่มีส่วนผสมของเนื้อมะตูมสุกตีปั่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาลจะมีเนื้อที่ข้นเหนียวมากกว่า ส่วนด้านการยอมรับรวมพบว่า ผู้ทดสอบให้การยอมรับไส้ขนมเอแคลร์ที่มีส่วนผสมของไซรัปมะตูมที่ใช้เวลาในการย่อย 4 ชั่วโมงขึ้นไปมากกว่าไซรัปมะตูมที่ภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)



รูปที่ 4.17 ลักษณะของไส้ขนมแฉอดที่มีส่วนผสมของ (a) เนื้อมะตูมสุกตีปั่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาล และไซรัปมะตูมที่ใช้เวลาในการย่อย (b) 1 ชั่วโมง (c) 2 ชั่วโมง (d) 4 ชั่วโมง และ (e) 6 ชั่วโมง

ตารางที่ 4.12 คะแนนลักษณะทางประสาทสัมผัสของไส้ขนมแฉอดที่มีไซรัปมะตูมเป็นส่วนผสม

Sensory attributes	Hydrolysis time (h)				
	0	1	2	4	6
Color	2.88 ^c ±0.42	5.83 ^b ±0.92	5.47 ^b ±1.14	8.66 ^a ±0.58	8.78 ^a ±1.07
Flavor					
bael fruit flavor	2.57 ^c ±0.26	6.28 ^b ±1.16	6.09 ^b ±0.78	8.65 ^a ±0.58	8.77 ^a ±0.81
off-flavor*	0.33 ^b ±0.30	0.51 ^b ±0.32	0.41 ^b ±0.30	1.55 ^a ±0.89	1.80 ^a ±1.58
Texture					
smoothness	7.56 ^c ±1.25	7.90 ^{b,c} ±1.12	8.47 ^{a,b} ±1.10	8.84 ^a ±0.98	8.88 ^a ±1.08
thickness	6.95 ^a ±0.21	5.39 ^b ±0.62	5.35 ^b ±0.48	4.95 ^b ±0.57	4.95 ^b ±0.51
Aftertaste	1.73 ^c ±1.35	4.59 ^b ±1.23	4.69 ^b ±1.29	6.53 ^a ±0.96	6.79 ^a ±1.08
Overall acceptability	5.59 ^c ±1.02	6.55 ^b ±0.79	6.57 ^b ±0.91	7.98 ^a ±1.05	7.55 ^a ±1.09

ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขในแนวนอนที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

กำหนดให้ลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านต่างๆของไซรัปมะตูมมีคะแนนสูงสุด 10 คะแนน

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

เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงลักษณะเฉพาะของไซรัปมะตูมในระหว่างกระบวนการผลิต ในด้านฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด ปริมาณใยอาหาร แสดงในตารางที่ 4.13 ค่าแอกทิวิตีของสารฟีนอลิก และสารระเหย แสดงในรูปที่ 4.18 และ 4.19 ตามลำดับ โดยเปรียบเทียบระหว่างเนื้อมะตูมสุก เนื้อมะตูมสุกตีปั่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาล และไซรัปมะตูมที่มีระดับการตัดพันธ์โกลโคซิลด้วยเอนไซม์สูงสุดในช่วงที่ศึกษาพบว่า ไซรัปมะตูมมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH และ FRAP สูงกว่าในเนื้อมะตูมสุก ทั้งนี้เนื่องจากบทบาทของเอนไซม์ดังกล่าวมาแล้ว และมีปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดลดลงเล็กน้อยเนื่องจากแคโรทีนอยด์เป็นรงควัตถุที่สลายตัวได้ง่ายเนื่องจากความร้อน ความเป็นกรดต่าง แสงสว่าง และออกซิเจน (Gross, 1991) ทำให้แคโรทีนอยด์บางส่วนอาจเสียสภาพในระหว่างกระบวนการผลิต และเมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงปริมาณใยอาหารพบว่า ไม่มีการเปลี่ยนแปลงปริมาณใยอาหารทั้งหมดในระหว่างกระบวนการผลิตไซรัปมะตูมด้วยเอนไซม์ เนื่องจากการผลิตไซรัปมะตูมไม่ได้ผ่านกระบวนการกรองแยกกากหรือใยอาหารออก ทำให้ไซรัปยังคงองค์ประกอบเดิมของใยอาหาร แต่มีปริมาณใยอาหารที่ละลายน้ำเพิ่มขึ้นและปริมาณใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำลดลง ส่วนการเปลี่ยนแปลงค่าแอกทิวิตีของสารฟีนอลิกพบว่า กระบวนการผลิตไซรัปมะตูมสามารถคงค่าแอกทิวิตีของสารฟีนอลิกในเนื้อมะตูมสุกไว้ได้ โดยมีการเปลี่ยนแปลงค่าแอกทิวิตีของสารฟีนอลิกในไซรัปมะตูมเล็กน้อย และเมื่อเปรียบเทียบชนิดของสารระเหยที่พบในไซรัปมะตูมกับในเนื้อมะตูมสุกจาก SPME/GC/MS chromatogram profile พบว่า ไซรัปมะตูมที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์จะมีชนิดสารระเหยเพิ่มขึ้น แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงชนิดสารระเหยที่ชัดเจนในเนื้อมะตูมสุกกับเนื้อมะตูมสุกตีปั่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาล จากแนวทางการใช้ประโยชน์และลักษณะเฉพาะของไซรัปมะตูมที่มีสีส้มอมเหลือง มีกลิ่นหอมเป็นเอกลักษณ์ และมีรสหวาน ประกอบด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญหลายชนิดดังกล่าวมาแล้ว จะเห็นได้ว่าไซรัปมะตูมมีแนวโน้มในการใช้เป็นสารปรุงแต่งสี กลิ่นรส และลักษณะเนื้อสัมผัสในอาหารที่มีหน้าที่เฉพาะได้

ตารางที่ 4.13 การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญในระหว่างกระบวนการผลิตไซรัปมะตูม

Bioactive compounds	Sample		
	BP	HABP	EBS
Antioxidant activities			
DPPH assay (EC ₅₀ , µg dw*/ µg DPPH)	6.21 ^b ±0.34	7.30 ^a ±0.14	5.70 ^c ±0.23
FRAP assay (µM TE** / g dw)	102.74 ^b ±3.01	105.27 ^b ±7.38	126.58 ^a ±5.35
Total carotenoids (µg/ g dw)	32.98 ^a ±0.52	21.77 ^c ±0.61	27.21 ^b ±1.50
Total dietary fiber (g/ 100 g dw)	19.84 ^{ns} ±0.04	20.89 ^{ns} ±0.10	20.59 ^{ns} ±0.57
Soluble dietary fiber	11.22 ^b ±0.18	11.81 ^b ±0.29	15.41 ^a ±0.43
Insoluble dietary fiber	8.62 ^a ±0.13	9.08 ^a ±0.19	5.18 ^b ±0.14

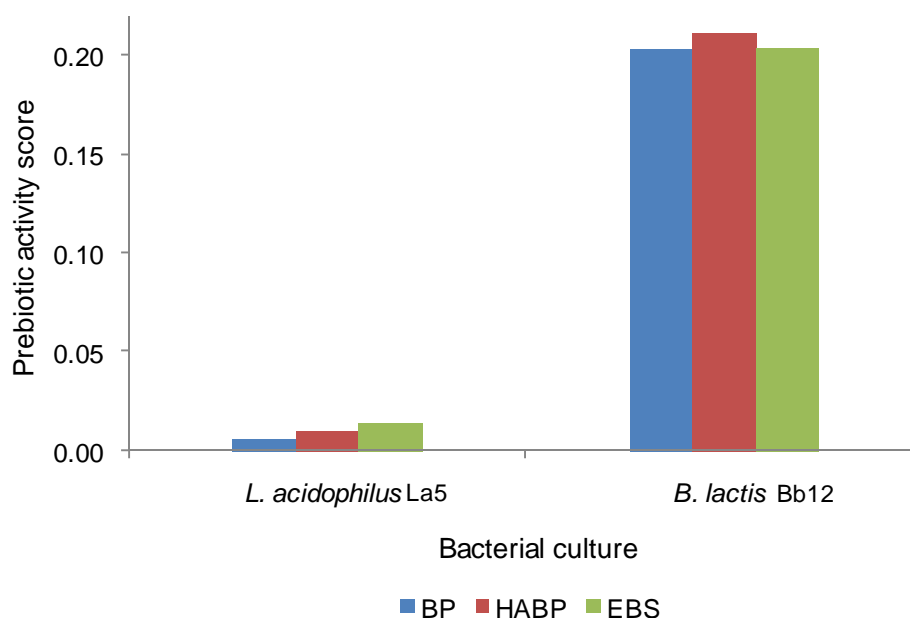
ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขในแนวนอนที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05)

* dw คือ dry weight basis, ** TE คือ trolox equivalent; ^{ns} หมายถึง ค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05)

BP คือ Bael fruit pulp; HABP คือ Homogenized and antibrowning controlled bael fruit pulp

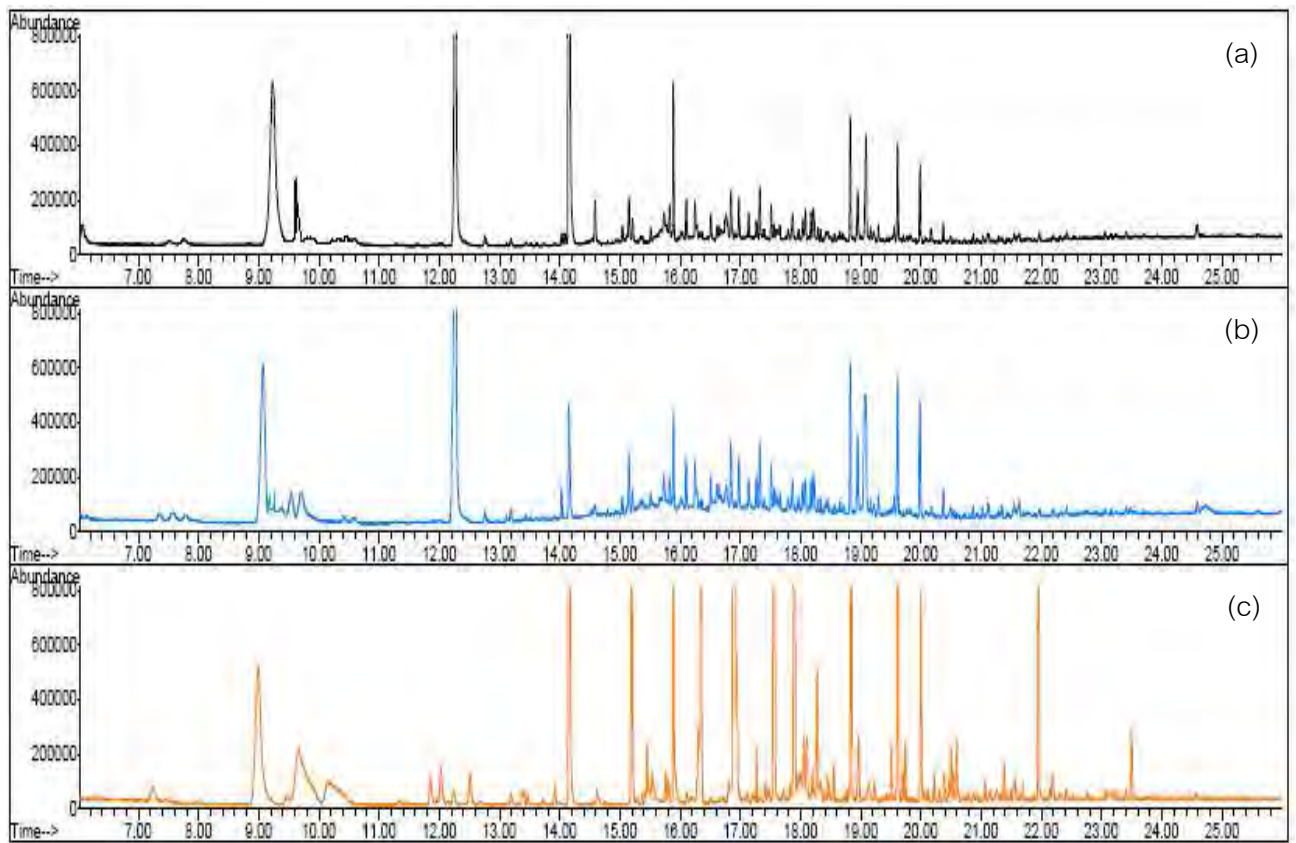
EBS คือ Enzyme treated bael fruit syrup



รูปที่ 4.18 ค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติกในระหว่างกระบวนการผลิตไซรัปมะตูม

BP คือ Bael fruit pulp; HABP คือ Homogenized and antibrowning controlled bael fruit pulp

EBS คือ Enzyme treated bael fruit syrup



รูปที่ 4.19 เปรียบเทียบ SPME/GC/MS Chromatogram profile ของ (a) เนื้อมะตูมสุก
(b) เนื้อมะตูมสุกตีปั่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาล และ (c) ไช้รำมะตูม

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

มะตูมที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตไซรัปมะตูมคือ ผลมะตูมแก่จัดบ่มที่อุณหภูมิ $30 \pm 2^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 10 วัน ลักษณะเปลือกภายนอกเป็นสีส้มอมเหลือง เริ่มมีสีน้ำตาลเล็กน้อย ($\text{°h} = 83.56$) เนื้อภายในมีสีเหลืองอมส้ม มีกลิ่นหอมและมีรสหวานของมะตูมชัดเจน ไม่มีกลิ่นแปลกปลอม และไม่มึนฝืด ประกอบด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญหลายชนิดได้แก่ โยอาหาร ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน สารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ แคโรทีนอยด์ วิตามินซี และสารฟิโอบิโอดีทิก โดยสารระเหยที่เป็นองค์ประกอบหลักของเนื้อมะตูมสุกคือ สารกลุ่ม terpenes ส่วนภาวะที่เหมาะสมในการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลในเนื้อมะตูมคือ การเติมกรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 0.3% (w/w) ร่วมกับการให้ความร้อนด้วยไอน้ำจุนจุดกึ่งกลางของเนื้อมะตูมมีอุณหภูมิ 85°C เป็นเวลานาน 3 นาที และภาวะที่ใช้ในการศึกษาลักษณะเฉพาะของไซรัปมะตูมคือ การใช้เอนไซม์ที่มีความเข้มข้น 2.5% (v/w) เวลาการย่อย 0, 1, 2, 4 และ 6 ชั่วโมง ซึ่งที่ภาวะนี้สามารถแบ่งระดับการตัดพันธะไกลโคซิดของพอลิเมอร์ในเนื้อมะตูม โดยประเมินจากค่าน้ำตาลรีดิวซ์ครอบคูลุมจากช่วงต่ำไปสูงได้เป็น 5 ช่วง โดยประมาณคือ 39, 55, 68, 77 และ 85 mg glucose/ g fresh weight เมื่อพิจารณาถึงลักษณะเฉพาะของไซรัปมะตูมในช่วงดังกล่าวพบว่า ไซรัปมะตูมที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิดต่างกันจะมีลักษณะเฉพาะที่ต่างกัน โดยเอนไซม์ Pectinex[®] Ultra SP-L มีบทบาทสำคัญต่อลักษณะเฉพาะของไซรัปมะตูมดังนี้ ช่วยเพิ่มปริมาณแคโรทีนอยด์ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน โยอาหารที่ละลายน้ำ ชนิดสารระเหย ค่า yield stress (τ_0) และ ค่า flow behavior index (n) ทำให้ไซรัปมะตูมมีสีส้มอมเหลืองและมีกลิ่นรสมะตูมชัดเจนมากขึ้น มีเนื้อสัมผัสที่เรียบเนียนและค่อนข้างข้นเหนียว นอกจากนี้ยังช่วยลดขนาดอนุภาค ค่า consistency coefficient (K) ค่า apparent viscosity (η) และค่า hysteresis loop area โดยไซรัปมะตูมยังคงพฤติกรรมไหลแบบ pseudoplastic with yield stress ลักษณะการไหลแบบ thixotropic และค่าแอกทิวิตีของสารฟิโอบิโอดีทิก ส่วนการใช้ไซรัปมะตูมเป็นส่วนผสมในไอศกรีมพบว่า ผู้ทดสอบให้การยอมรับไอศกรีมที่มีส่วนผสมของไซรัปมะตูมที่ใช้เวลาในการย่อย 4 ชั่วโมงขึ้นไป มากกว่าที่ภาวะอื่น ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่าไซรัปมะตูมมีแนวโน้มในการใช้เป็นสารปรุงแต่งสี กลิ่นรส และลักษณะเนื้อสัมผัสในอาหารที่มีหน้าที่เฉพาะ

ข้อเสนอแนะ

จากผลการทดลองสามารถสรุปแนวทางการวิจัยที่อาจศึกษาต่อไปดังนี้

1. ด้านวัตถุดิบ

ควรศึกษาการผลิตไซรัปมะตูมโดยทดลองใช้มะตูมสายพันธุ์อื่นที่มีสมบัติและลักษณะเด่นดีกว่าสายพันธุ์ที่เลือกใช้ เพื่อให้ได้ไซรัปมะตูมที่มีคุณภาพและมีลักษณะเฉพาะที่ดีขึ้น

2. ด้านกระบวนการผลิต

2.1 ควรศึกษาภาวะการผลิตไซรัปมะตูม โดยทดลองเปลี่ยนชนิดหรือแปรสัดส่วนความเข้มข้นของเอนไซม์ให้เหมาะสมกับองค์ประกอบหลักบริเวณผนังเซลล์ของเนื้อมะตูม เช่น สารประกอบเพกทิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ และปรับปรุงลักษณะเฉพาะในด้านต่างๆของไซรัปมะตูมให้ดียิ่งขึ้น

2.2 ควรศึกษาการใช้เอนไซม์ที่มีค่าแอกทิวิตีสูงกว่าในช่วงที่ศึกษา เพื่อให้ได้ไซรัปมะตูมที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิดสูงขึ้น ซึ่งอาจทำให้เห็นการเปลี่ยนแปลงลักษณะเฉพาะของไซรัปมะตูมในด้านต่างๆโดยเฉพาะพฤติกรรมการไหลและค่าแอกทิวิตีของสารฟรีโบไอติกที่ชัดเจนมากขึ้น

3. ด้านลักษณะเฉพาะของไซรัปมะตูม

ควรศึกษาลักษณะเฉพาะของไซรัปมะตูมเพิ่มเติม เช่น การใช้ไซรัปมะตูมเป็นสารให้สี (colorant) และสารเพิ่มลักษณะเนื้อสัมผัส (texture enhancer) ในผลิตภัณฑ์อาหาร โดยเปรียบเทียบสมบัติด้านต่างๆที่ได้กับสีสังเคราะห์และสารไฮโดรคอลลอยด์ที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

- กองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข. 2530. ตารางแสดงคุณค่าทางโภชนาการอาหาร. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์กระทรวงสาธารณสุข.
- ธีรพร กงบังเกิด และ ชนิษฐา มาน้อย. 2545. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์โครงการศึกษาการประมวลสถานภาพของมะตูมในปัจจุบัน. กรุงเทพมหานคร: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย.
- นิตา หงษ์วิวัฒน์ และ ทวีทอง หงษ์วิวัฒน์. 2550. ผลไม้ 111 ชนิด คุณค่าอาหารและการกิน. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์แสงแดด.
- ปราณี อานเบ็รื่อง. 2547. เอนไซม์ทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- พเยาว์ เหมือนวงษ์ญาติ. 2537. สมุนไพรก้าวใหม่. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์เมดิคัลมีเดีย.
- วรรณดา ตัญญ์. 2549. เคมีอาหารของคาร์โบไฮเดรต. กรุงเทพมหานคร: แอคทีฟพริ้นท์.
- โสภา วัชรคุปต์, ปรีชา บุญจุง, จันทนา บุญยะรัตน์ และมาลีรักษ์ อัดตัสสินทอง. 2549. สารต้านอนุมูลอิสระ Radical Scavenging Agent. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: พี. เอส. พริ้นท์.

ภาษาอังกฤษ

- Abdullah, A. G. L., Sulaiman, N. M., Aroua, M. K., and Megat Mohd Noor, M. J. 2007. Response surface optimization of conditions for clarification of carambola fruit juice using a commercial enzyme. Journal of Food Engineering. 81: 65-71.
- Acree, T. and Arn, H. 2004. Flavonet Datu Inc., Geneva, NY. Accessed on line at <http://www.flavornet.org>.
- Al-Hooti, S. N., Sidhu, J. S., Al-Saqer, J. M., and Al-Othman, A. 2002. Chemical composition and quality of date syrup as affected by pectinase/cellulase enzyme treatment. Food Chemistry. 79: 215-220.
- Alkorta, I., Garbisu, C., Llama, M. J., and Serra, J. L. 1998. Industrial applications of pectic enzymes: a review. Process Biochemistry. 33: 21-28.

- Almeida, M. E. M. and Nogueira, J. N. 1995. The control of polyphenol oxidase activity in fruits and vegetables: a study of interactions between the chemical compounds used and heat treatment. Plant Foods for Human Nutrition. 47: 245-256.
- Altan, A., Kus, S., and Kaya, A. 2005. Rheological behavior and time dependent characterization of Gilaboru juice (*Viburnum opulus* L.). Food Science and Technology International. 11(2): 129-137.
- Álvarez, E. E. and Sánchez, P. G. 2006. Dietary fibre. Nutrición Hospitalaria. 21: 60-71.
- Alvarez, S., Alvarez, R., Riera, F. A., and Coca, J. 1998. Influence of depectinization on apple juice ultrafiltration. Colloid and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. 138: 377-382.
- American Association of Cereal Chemists. 2001. The definition of dietary fibre. Report of the Dietary Fibre Definition Committee to the Board of Directors of the AAC. 1: 10.
- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis of the AOAC International. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D. C.
- Arseculeratne, S. N., Gunatilaka, A. A. L., and Panabokke, R. G. 1981. Studies on medicinal plants of Srilanka: occurrence of pyrolizidine alkaloids and hepatotoxic properties in some traditional medicinal herbs. Journal of Ethnopharmacology. 4: 159-177.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., and Idaomar, M. 2008. Biological effects of essential oils - A review. Food and Chemical Toxicology. 46: 446-475.
- Baumann, J. W. 1981. Application of enzymes in fruit juice technology. In G. G. Birch, N. Blakebrough, and K. J. Parker (ed.), Enzymes and Food Processing, pp. 129-146. England: Applied Science Publishers.
- Benders, D. A. and Bender, A. E. 1999. Benders' Dictionary of Nutrition and Food Technology. Cambridge: CRC Press.
- 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.
- Bhattacharya, S. and Rastogi, N. K. 1998. Rheological properties of enzyme-treated mango pulp. Journal of Food Engineering. 36: 249-262.

- Bidlack, W. R. and Wang, W. 2000. Designing functional foods to enhance health. In W. R. Bidlack (ed.), Phytochemicals as Bioactive Agents, pp.241-266. Lancaster: Technomic.
- Bouayed, J., Piri, K., Rammal, H., Dicko, A., Desor, F., Younos, C., and Soulimani, R. 2007. Comparative evaluation of the antioxidant potential of some Iranian medicinal plants. Food Chemistry. 104: 364–368.
- Boulanger, R. and Crouzet, J. 2000. Free and bound flavour components of Amazonian fruits: 3-glycosidically bound components of cupuacu. Food Chemistry. 70: 463-470.
- Brummer, R. 2006. Rheology Essentials of Cosmetic and Food Emulsions. Heidelberg: Springer.
- Cai, Y., Luo, Q., Sun, M., and Corke, H. 2004. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. Life Sciences. 74: 2157-2184.
- Chanai Noysang. 1998. The phytochemical studies of Thai bael fruits, *Aegle Marmelos Correa (L.)*. M.Sc. Thesis. Mahidol University.
- 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.
- Choi, H. S. 2003. Character impact odorants of *Citrus* Hallabong [(*C. unshiu* Marcov x *C. sinensis* Osbeck) x *C. reticulata* Blanco] cold-pressed peel oil. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 51: 2687-2692.
- Choudhari, S. M. and Ananthanarayan, L. 2007. Enzyme aided extraction of lycopene from tomato tissues. Food Chemistry. 102: 77-81.
- Chow, J. 2002. Probiotics and prebiotics: A brief overview. Journal of Renal Nutrition. 12(2): 76-86.
- Chung, T.Y., Eiserich, J. P., and Shibamoto, T. 1993. Volatile compounds isolated from edible Korean chamchwi (*Aster scaber* Thunb). Journal of Agricultural and Food Chemistry. 41: 1693-1697.
- Çinar, I. 2005. Effects of cellulase and pectinase concentrations on the colour yield of enzyme extracted plant carotenoids. Process Biochemistry. 40: 945-949.

- Culleré, L., Escudero, A., Cacho, J., and Ferreira, V. 2004. Gas chromatography-olfactometry and chemical quantitative study of the aroma of six premium quality Spanish aged red wines. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 52: 1653-1660.
- Davies, N. W. 1990. Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicone and carbowax 20M phases. Journal of Chromatography A. 503:1-24.
- Demar, J. M., Voisey, P. W., Rasper, V. F., and Stanley, D. W. 1976. Rheology and Texture in Food Quality. Westport, Connecticut: The AVI Publishing company, Inc.
- De Vrese, M. and Schrezenmeir. 2008. Probiotics, prebiotics, and synbiotics. Advances in Biochemical Engineering/ Biotechnology. 111: 1-66.
- Douglas, L. C. and Sanders, M. E. 2008. Probiotics and prebiotics in dietetics practice. Journal of the American Dietetic Association. 108(3): 510-521.
- Dris, R. and Jain, S. M. 2004. Production Practices and Quality Assessment of Food Crops. Netherlands: Kluwer Academic Publishers.
- Dykes, L. and Rooney, L. W. 2007. Phenolic compounds in cereal grains and their health benefits. Cereal Foods World. 52(3): 105-111.
- Fanta, N., Quaas, A., Zulueta, P., and Pérez, L. M. 1992. Release of reducing sugars from *Citrus* seedlings, leaves and fruits. Effect of treatment with pectinase and cellulase from *Alternaria* and *Trichoderma*. Phytochemistry. 31(10): 3359-3364.
- Ferreira, V., Aznar, M., Lopez, R., and Cacho, J. 2001. Quantitative gas chromatography-olfactometry carried out at different dilutions of an extract. Key differences in the odor profiles of four high-quality Spanish aged red wines. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 49: 4818-4824.
- Galeazzi, M. A. and Sgarbieri, V. C. 1981. Substrate specificity and inhibitor of polyphenoloxidase (PPO) from a dwarf variety of banana (*Musa cavendishii* L). Journal of Food Science. 46: 1404-1406.
- Gopalan C., Ramasastri, B. V., and Balasubramanian, S. C. 1978. Nutritive Value of Indian Foods. Hyderabad: ICMR.

- Grohmann, K. and Baldwin, E. A. 1992. Hydrolysis of orange peel with pectinase and cellulase enzymes. Biotechnology Letters. 14(12): 1169-1174.
- Gross, J. 1991. Pigments in Vegetables: Chlorophylls and Carotenoids. New York: Van Nostrand Reinhold.
- Haard, N. F. and Chism, G. W. 1996. Characteristics of edible plant tissues. In O. R. Fennema (ed.), Food chemistry, pp. 943-1007. New York: Marcel Dekker.
- Harb, J., Bisharat, R., and Streif, J. 2008. Changes in volatile constituents of blackcurrants (*Ribes nigrum* L. cv. 'Titania') following controlled atmosphere storage. Postharvest Biology and Technology. 47: 271-279.
- Hill, R. A. 1993. Terpenoids. In R. H. Thomson (ed.), The Chemistry of Natural Products, pp. 106-139. London: Blackie academic & Professional.
- Högnadóttir, A. and Russell, R.L. 2003. Identification of aroma active compounds in orange essence oil using gas chromatography - olfactometry and gas chromatography - mass spectrometry. Journal of Chromatography A. 998: 201-211.
- Hopkins, W. G. 1999. Introduction to Plant Physiology. New York: John Wiley and Sons, Inc.
- Huebner, J., Wehling, R. L., and Hutkins, R. W. 2007. Functional activity of commercial prebiotics. International Dairy Journal. 17: 770-775.
- Huebner, J., Wehling, R. L., Parkhurst, A., and Hutkins, R. W. 2008. Effect of processing conditions on the prebiotic activity of commercial prebiotics. International Dairy Journal. 18: 287-293.
- Hutchings, J. B. and Fift, F. 1999. Food Color and Appearance. 2nd ed. Gaithersburg, Maryland: Aspen Publishers Inc.
- Inocent, G., Ejoh, R. A., Issa, T. S., Schweigert, F. J., and Tchouanguep, M. F. 2007. Carotenoids content of some locally consumed fruits and yams in Cameroon. Pakistan Journal of Nutrition. 6(5): 497-501.
- Jayani, R. S., Saxena, S., and Gupta, R. 2005. Microbial pectinolytic enzymes: A review. Process Biochemistry. 40: 2931-2944.
- Jayaweera, D. M. A. 1981. Medicinal plants (indigenous and exotic) used in Ceylon Part 3. A Publication of National Science Council of Sri Lanka, Colombo.

- Kandlakunta, B., Rajendran, A., and Thingnganing, L. 2008. Carotene content of some common (cereals, pulses, vegetables, spices and condiments) and unconventional sources of plant origin. Food Chemistry. 106: 85-89.
- Karunanayake, E. H., Welihinda, J., Sirimanne, S. R., and Sinnadorai, G. 1984. Oral hypoglycaemic activity of some medicinal plants of Srilanka. Journal of Ethnopharmacology. 11: 223-231.
- Kashyap, D. R., Vohra, P. K., Chopra, S., and Tewari, R. 2001. Applications of pectinases in the commercial sector: a review. Bioresource Technology. 77: 215-227.
- Kilara, A. 1982. Enzymes and their uses in the processed apple industry: A review. Process Biochemistry. 17: 35-41.
- Klesk, K., Quian, M., and Martin, R. R. 2004. Aroma extract dilution analysis of cv. meeker (*Rubus idaeus* L.) red raspberries from Oregon and Washington. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 52(16): 5155-5161.
- Kocsis, N., Amtmann, M., Mednyánszky, Z., and Korány, K. 2002. GC-MS investigation of the aroma compounds of Hungarian Red Paprika (*Capsicum annuum*) cultivars. Journal of Food Composition and Analysis. 15:195-203.
- Kohara, K., Sakamoto, Y., Hasegawa, H., Kozuka, H., Sakamoto, K., and Hayata Y. 2006. Fluctuations in volatile compounds in leaves, stems, and fruits of growing coriander (*Coriandrum sativum* L.) plants. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science. 75(3): 267-269.
- Kolida, S., Tuohy, K., and Gibson, G. R. 2002. Prebiotic effect of inulin and oligofructose. British Journal of Nutrition. 87(2): S193-S197.
- Lee, C. Y. and Whitaker, J. R. 1995. Enzymatic Browning and Its Prevention. Washington D.C.: American Chemical Society.
- Lee, S. J. and Noble, A. C. 2003. Characterization of odor-active compounds in Californian Chardonnay wines using GC-olfactometry and GC-mass spectrometry. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 51: 8036-8044.
- 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.

- Maarse, H. 1991. Volatile Compounds in Foods and Beverages. New York: Marcel Dekker.
- MacLeod, A. and Snyder, C. H. 1985. Volatile components of two cultivars of mango from Florida. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 33: 380.
- MacLeod, A. J. and Pieris, N. M. 1981. Volatile flavor components of beli fruit (*Aegle marmelos*) and a processed product. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 29: 1262-1264.
- Maisuthisakul, P., Pasuk, S., and Ritthiruangdej, P. 2008. Relationship between antioxidant properties and chemical composition of some Thai plants. Journal of Food Composition and Analysis. 21: 229-240.
- Maisuthisakul, P., Suttajit, M., and Pongsawatmanit, R. 2007. Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants. Food Chemistry. 100: 1409–1418.
- Mao, L. C., Xu, Y. Q., and Que, F. 2007. Maintaining the quality of sugarcane juice with blanching and ascorbic acid. Food Chemistry. 104: 740-745.
- Marcotte, M., Hoshahili, A. R. T., and Ramaswamy, H. S. 2001. Rheological properties of selected hydrocolloids as a function of concentration and temperature. Food Research International. 34: 695-703.
- Marinova, D., Ribarova, F., and Atanassova, M. 2005. Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy. 40 (3): 255-260.
- 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.
- Mau, J. L., Ko, P. T., and Chyau, C. C. 2003. Aroma characterization and antioxidant activity of supercritical carbon dioxide extracts from *Terminalia catappa* leaves. Food Research International. 36: 97-104.
- McCord, J. D. and Kilara, A. 1983. Control of enzymatic browning in processed mushrooms (*Agaricus bisporus*). Journal of Food Science. 48: 1479-1483.

- McKenna, B. M. and Lyng, L. G. 2003. Introduction to food rheology and its measurement. In B. M. McKenna (ed.), Texture in Food, pp. 130-158. Cambridge: Woodhead Publishing Limited.
- 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.
- Nagaraju, N. and Rao, K. N. 1990. A survey of plant crude drugs of Rayalaseema, Andhra Pradesh Indian. Journal of Ethnopharmacology. 29: 137-158.
- Nawirska, A. and Kwaśniewska. M. 2005. Dietary fibre fractions from fruit and vegetable processing waste. Food Chemistry. 91: 221-225.
- Nelson, N. 1944. A photometric adaptation of the Somogyi method for determination of glucose. Journal of Biological Chemistry. 153: 375-380.
- Nishimura, O. 1995. Identification of the characteristic odorants in fresh rhizomes of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) using aroma extract dilution analysis and modified multidimensional gas chromatography-mass spectroscopy. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 43: 2941-2945.
- Ong, P. K. C. and Acree, T. E. 1999. Similarities in the aroma chemistry of Gewürztraminer variety wines and lychee (*Litchi chinesis* Sonn.) fruit. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 47: 665-670.
- Ou, B., Huang, D., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J. A., and Deemer, E. K. 2002. Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: a comparative study. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 50: 3122-3128.
- Owusu-Apenten. 2005. Introduction to Food Chemistry. Boca Raton: CRC Press.
- Pande, N. C., Singh, A. R., Maurya, V. N., and Katiyar, R. K. 1986. Studies on the biochemical changes in bael (*Aegle marmelos* Correa) fruit. Progressive Horticulture. 18(1-2): 29-34.

- Pearson, D. 1970. The Chemical Analysis of Food. 6th ed. New York: Chemical Publishing.
- Pearson, D. 1976. The Chemical Analysis of Foods. Edinburgh: Churchill Livingstone.
- Petsev, D. N. 2004. Emulsions: Structure Stability and Interactions. Amsterdam: Elsevier Academic Press.
- Pilnik, W. and Rombouts, F. M. 1979. Pectic enzymes. In J. M. V. Blanshard; J. R. Mitchell (eds.), Polysaccharides in Food, pp. 109-126. London: Butterworths.
- Pilnik, W. and Voragen, A. G. J. 1991. The significance of endogenous and exogenous pectic enzyme in fruit and vegetable processing. In P. F. Fox (ed.), Food Enzymology, pp. 303-336. London: Elsevier Science Publishers LTD.
- Pilnik, W. and Voragen, A. G. J. 1993. Pectic enzymes in fruit juice and vegetable juice manufacture. In G. Reeds (ed.), Enzymes in Food Processing, pp. 363-399. New York: Academic Press.
- Pino, J. A., Mesa, J., Muñoz, Y., Martí, M. P., and Marbot, R. 2005. Volatile components from mango (*Mangifera indica* L.) cultivars. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 53: 2213-2223.
- Píry, J., Pribela, A., Ďurčanská, J., and Farkaš, P. 1995. Fractionation of volatiles from blackcurrant (*Ribes nigrum* L.) by different extractive methods. Food Chemistry. 54: 73-77.
- Prior, R. L., Wu, X., and Schaich, K. 2005. Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 53(10): 4290-4302.
- Puupponen-Pimia, R., Nohynek, L., Ammann, S., Oksman-Caldentey, K. M., and Buchert, J. 2008. Enzyme-assisted processing increases antimicrobial and antioxidant activity of bilberry. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 56: 681-688.
- Ramos, A. M. and Ibarz, A. 1998. Thixotropy of orange concentrate and quince puree. Journal of Texture Studies. 29: 313-324.
- Ramulu, P. and Rao, P. U. 2003. Total, insoluble and soluble dietary fiber contents of Indian fruits. Journal of Food Composition and Analysis. 16: 677-685.

- 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.
- Ray, B. and Bhunia, A. 2008. Fundamental Food Microbiology. Boca Raton: CRC Press.
- Richardson, T. and Hyslop, D. B. 1985. Enzymes. In O. R. Fennema (ed.), Food Chemistry, pp. 371-476. New York: Marcel Dekker.
- Roberfroid, M. 1993. Dietary fibre, inulin, and oligofructose: A review comparing their physiological effects. CRC Critical Review of Food Science and Nutrition. 33: 103-148.
- Roberfroid, M. B. 2000. Prebiotics and probiotics: are they functional food?. The American Journal of Clinical Nutrition. 71: 1682S–1687S.
- Rodríguez, R., Jiménez, A., Fernández-Bolaños, J., Guillén, R., and Heredia, A. 2006. Dietary fibre from vegetable products as source of functional ingredients. Trends in Food Science and Technology. 17(1): 3-15.
- Rolin, C., Nielsen, B. U., and Glahn, P. 1998. Pectin. In S. Dumitriu (ed.), Polysaccharides: Structural Diversity and Functional Versatility, p. 388. New York: Marcel Dekker.
- Roy, S. K. 1998. Bael fruit. In P. E. Shaw; H. T. Chan; S. Nagy (eds.), Tropical and Subtropical Fruits, pp. 217-260. Florida: Agacience Inc.
- Roy, S. K. and Khurdiya, D. S. 1995. Other subtropical fruit. In D.K. Salunkhe; S. S. Kadam (eds.), Handbook of Fruit Science and Technology: Production, Composition, Storage and Processing, pp. 539-543. New York: Marcel Dekker.
- Rychlik, M., Schieberle, P., and Grosch, W. 1998. Compilation of odor thresholds, odour qualities and retention indices of key food odorants. Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie: Garching, Germany.
- Sakamoto, K., Shibata, K., and Ishihara, M. 2006. Decreased Hardness of dietary fiber-rich foods by the enzyme-infusion method. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. 70(7): 1564-1570.

- Sanders, M. E. 1998. Overview of functional foods: emphasis on probiotic bacteria. International Dairy Journal. 8: 341-347.
- Sawamura, M., Shichiri, K., Ootani, Y., and Zheng, X. H. 1991. Volatile constituents of several varieties of pummelos and characteristics among citrus species. Journal of Agricultural and Biological Chemistry. 55 (10): 2571-2578.
- Scheneeman, B. O. 1987. Soluble vs. insoluble fibre-different physiological responses. Food Technology. 41: 81-82.
- Schramm, L. L. 2005. Emulsions, Foams, and Suspensions: Fundamentals and Applications. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co.KGaA.
- Selli, S., Cabaroglu, T., Canbas, A., Erten, H., Nurgel, C., Lepoutre, J. P., and Gunata, Z. 2004. Volatile composition of red wine from cv. Kalecik Karasi grown in central Anatolia. Food Chemistry. 85: 207-213.
- Shallom, D. and Shoham, Y. 2003. Microbial hemicellulases. Current Opinion in Microbiology. 6: 219-228.
- 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.
- Sharoba, A. M., Senge, B., El-Mansy, H.A., Bahlol, H. EIM., and Blochwitz, R. 2005. Chemical, sensory and rheological properties of some commercial German and Egyptian tomato ketchups. European Food Research and Technology. 220: 142-151.
- Shewfelt, R. L. 1993. Measuring quality and maturity. In R. L. Shewfelt; S. E. Prussia (eds.), Postharvest Handling a Systems Approach, pp. 99-119. California: Academic press Inc.
- Siddappa, G. S. 1958. The polyphenols in Bilwa preserve (*Aegle marmelos*). Journal of Food Science and Technology (Mysore). 7: 186.
- Singh, R. N. and Roy, S. K. 1984. The Bael: Cultivation and Processing. New Delhi: ICAR.
- Singh, Y. N. 1986. Traditional medicine in Fiji: Some herbal folk cures used by Fiji Indians. Journal of Ethnopharmacology. 15: 57-88.

- Slavin, J. 2003. Impact of the proposed definition of dietary fiber on nutrient databases. Journal of Food Composition and Analysis. 16: 287-291.
- Smirnoff, N. 2000. Ascorbate biosynthesis and function in photoprotection. Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B - Biological Sciences. 355: 1455-1464.
- Sreenath, H. K., Koegel, R. G., Jeffries, T. W., and Straub, R. J. 1999. Enzymic saccharification of alfalfa fibre after liquid hot water pretreatment. Process Biochemistry. 35: 33-41.
- Subhadrabandhu, S. 2001. Under-Utilized Tropical Fruits of Thailand. Food and Agriculture Organization of the United Nations Regional Office for Asia and the Pacific, Bangkok, Thailand.
- Sun, Y., Wang, Z., Wu, J., Chen, F., Liao, X., and Hu, X. 2006. Optimising enzymatic maceration in pretreatment of carrot juice concentrate by response surface methodology. International Journal of Food Science and Technology. 41: 1082-1089.
- Szafranek, B., Chrapkowska, K., Pawińska, M., and Szafranek, J. 2005. Analysis of leaf surface sesquiterpenes in potato varieties. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 53: 2817-2822.
- Talcott, S. T. and Howard, L. R. 1999. Phenolic autooxidation is responsible for color degradation in processed carrot puree. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 47: 2109-2115.
- Thompson, A. K. 1996. Postharvest Technology of Fruit and Vegetables. Cambridge. MA.: Blackwell Science. Ltd.
- Tokitomo, Y., Shimono, Y., Kobayashi, A., and Yamanishi, T. 1982. Aroma components of bael fruit (*Aegle marmelos* CORREA). Journal of Agricultural and Biological Chemistry. 46 (7): 1873-1877.
- Tressl, R., Bahri, D., and Engel, K. H. 1982. Formation of eight-carbon and ten-carbon components in mushrooms (*Agaricus campestris*). Journal of Agricultural and Food Chemistry. 30: 89-93.

- Umano, K., Hagi, Y., and Shibamoto, T. 2002. Volatile chemicals identified in extracts from newly hybrid citrus, Dekopon (*Shiranuhi mandarin* Suppl. J.). Journal of Agricultural and Food Chemistry. 50: 5355-5359.
- Umano, K. and Shibamoto, T. 1987. Analysis of headspace volatiles from overheated beef fat. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 35: 14-18.
- Vámos-Vigyázó, L. 1981. Polyphenol oxidase and peroxidase in fruits and vegetables. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 15: 49-127.
- Venter, C. S. 2007. Prebiotics: an update. Journal of Family Ecology and Consumer Sciences. 35: 17-25.
- Walker, J.R.L. 1977. Enzymatic browning in foods, its chemistry and control. Food Technology in Newzealand. 12: 19-25.
- Waterhouse, A. L. 2005. Determination of total phenolics. In R. E. Wrolstad; T. E. Acree; E. A. Decker; M. H. Penner; D. S. Reid; S. J. Schwartz; C. F. Shoemaker; D. Smith; P. Sporns (eds.), Handbook of Food Analytical Chemistry: Pigments, Colorants, Flavors, Texture, and Bioactive Food Components, pp. 463-481. New Jersey: John Wiley and Sons.
- Wenguang, J., Wenlai, F., Yan, X., Guang'ao, Z., Jiming, L., and Ying, Y. 2007. Analysis of free terpenoids in *Vitis vinifera* using solvent assisted flavour evaporation and gas chromatography-tandem mass spectrometry. Chinese Journal of Chromatography. 25 (6): 881–886.
- Whitaker, J. R. 1996. Enzymes. In O. R. Fennema (ed.), Food Chemistry, pp.453-472. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Wong, S. P., Leong, L. P., and Koh, J. H. W. 2006. Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. Food Chemistry. 99: 775-783.
- Worrasinchai, S., Suphantharika, M., Pinjai, S., and Jamnong, P. 2006. β -Glucan prepared from spent brewer's yeast as a fat replacer in mayonnaise. Food Hydrocolloids. 20: 68-78.
- Wu, S., Krings, U., Zorn, H., and Berger, R. G. 2005. Volatile compounds from the fruiting bodies of beefsteak fungus *Fistulina hepatica* (Schaeffer: Fr.) Fr. Food Chemistry. 92: 221–226.

Zhang, Y. H. P., Himmel, M. E., and Mielenz, J. R. 2006. Research review paper: Outlook for cellulase improvement: Screening and selection strategies. Biotechnology Advances. 24: 452-481.

Zhishen, J., Mengcheng, T., and Jianming, W. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food Chemistry. 64: 555-559.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

วิธีการวิเคราะห์

ก.1 การวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดซิตริก

ตามวิธีของ A.O.A.C. (1995)

สารเคมี

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

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง

วิธีวิเคราะห์

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

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

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

ปริมาณกรดที่ไตเตรตได้ทั้งหมด (%)

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

โดยที่มีลลิวคิววาเลนซ์ของกรดซิตริก (Milliequivalent of citric acid monohydrate) = 0.07

ก.2 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น

ตามวิธีของ A.O.A.C. (1995)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

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

วิธีวิเคราะห์

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

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

ก.3 การวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารทั้งหมด ใยอาหารที่ละลายน้ำ และใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ (Total, Soluble, and Insoluble dietary fiber; TDF, SDF, and IDF)

ตามวิธีการของ A.O.A.C. (1995)

สารเคมี

1. 95% Ethanol
2. 78% Ethanol
3. Acetone
4. Phosphate buffer 0.08 M pH 6:
เตรียมโดยละลาย Na_2HPO_4 1.4 g และ NaH_2PO_4 9.68 g ในน้ำกลั่น 700 ml
ปรับปริมาตรสุดท้ายให้เป็น 1 L ด้วยน้ำกลั่น วัด pH
5. เอนไซม์ Termamyl[®]
6. เอนไซม์ Protease[®]
7. เอนไซม์ Amyloglucosidase[®]
8. 0.275 M Sodium hydroxide (NaOH)

9. 0.325 M Hydrochloric acid (HCl)

10. Celite

อุปกรณ์และเครื่องมือ

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

การเตรียมตัวอย่าง

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

วิธีวิเคราะห์

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

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

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

$$\text{โดยกำหนดให้ } P = \text{น้ำหนักโปรตีน (mg)}$$

$$A = \text{น้ำหนักเถ้า (mg)}$$

$$B = \text{blank (mg)} \quad (B = \text{น้ำหนักกากเฉลี่ย (mg)} - P_B - A_B)$$

$$P_B = \text{น้ำหนักโปรตีนของ blank (mg)}$$

$$A_B = \text{น้ำหนักเถ้าของ blank (mg)}$$

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

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

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

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

สำหรับปริมาณใยอาหารทั้งหมด (%TDF) หาได้จาก %IDF + %SDF

ก.4 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

ก.4.1 การเตรียมสารสกัด

ดัดแปลงวิธีของ Masuda และคณะ (1999)

สารเคมี

1. 95% Ethanol

อุปกรณ์และเครื่องมือ

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

วิธีการเตรียม

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

ก.4.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH

ตามวิธีของ Maisuthisakul และคณะ (2007)

สารเคมี

1. Methanol
2. 5 mM DPPH in methanol

อุปกรณ์และเครื่องมือ

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

วิธีวิเคราะห์

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

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

โดยกำหนดให้ A_0 คือ ค่า absorbance ของสารละลาย DPPH (control)

A_1 คือ ค่า absorbance ของสารสกัดที่มีการเติมสารละลาย DPPH

A_s คือ ค่า absorbance ของสารสกัดที่ผ่านการเจือจางแต่ไม่มีการเติมสารละลาย DPPH

สร้างกราฟระหว่างปริมาณของสารอนุมูลอิสระ DPPH ที่ลดลง และความเข้มข้นของสารสกัดจากเนื้อมะตูม เพื่อหาปริมาณของสารสกัดที่สามารถลดความเข้มข้นของสารอนุมูลอิสระ DPPH ได้ 50% เรียกว่า EC_{50}

ก.4.3 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี FRAP

ตามวิธีของ Benzie และ Strain (1996)

สารเคมี

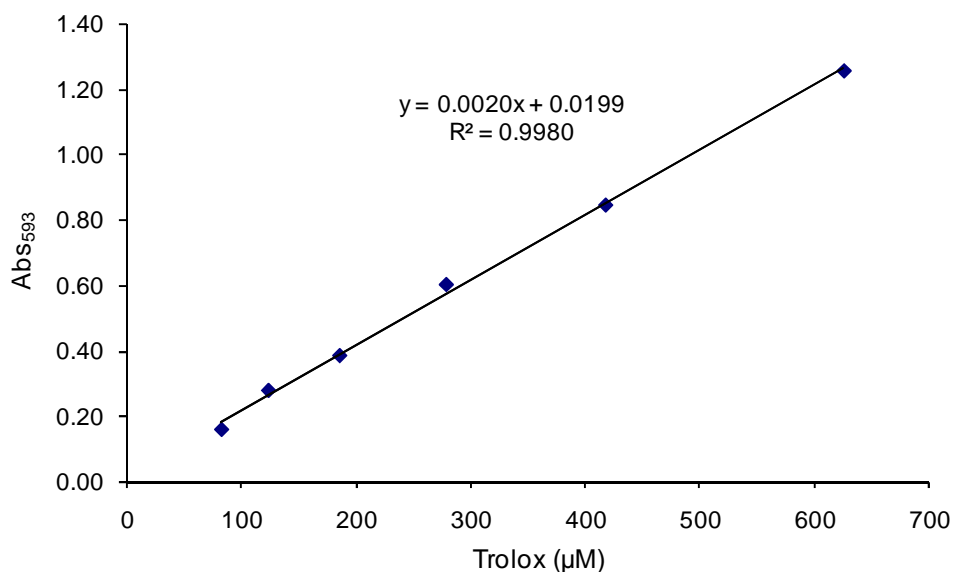
1. Trolox
2. Methanol
3. Stock solutions :
 - Acetate buffer: ปิเปต acetic acid 1.6 ml ปรับปริมาณเป็น 100 ml ด้วยน้ำกลั่น และนำมาผสมกับ sodium acetate trihydrate 0.3 g
 - Ferric chloride solution: ชั่ง ferric chloride 270 mg ปรับปริมาณเป็น 50 ml ด้วยน้ำกลั่น
 - TPTZ solution: 100 mM HCl 4 ml ผสมกับน้ำกลั่น 6 ml = 40 mM HCl
เติม TPTZ 31.2 mg ลงใน 40 mM HCl 10 ml
4. Fresh working solution (FRAP solution) :
acetate buffer 25 ml + Ferric chloride solution 2.5 ml + TPTZ solution 2.5 ml
(อุณหภูมิอุณหภูมิ 37 °C ก่อนใช้ จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแดง)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

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

วิธีวิเคราะห์

1. ผสมสารสกัดจากมะตูมปริมาณ 50 μ l กับ FRAP solution 950 μ l ทิ้งไว้ 4 นาที ในที่มีด สีจะเปลี่ยนเป็นสีม่วง
2. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm (colored product; ferrous tripyridyltriazine complex) โดยใช้ methanol เป็น blank
3. สร้างกราฟมาตรฐานโดยใช้ Trolox ความเข้มข้นในช่วง 82 ถึง 625 μ M Trolox แสดงผลในรูปของ μ M trolox equivalent (TE)/g fresh weight (fw) (dilute ตัวอย่าง ถ้าค่า FRAP ที่วัดได้เกินช่วง linear range ของกราฟมาตรฐาน)



รูปที่ ก.1 กราฟมาตรฐานของสารละลาย Trolox

ก.5 การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิก

ตามวิธีของ Waterhouse (2005)

สารเคมี

1. Folin-Ciocalteu's phenol reagent
2. Gallic acid
3. สารละลาย Sodium carbonate: ละลาย anhydrous sodium carbonate 200 g ใน deionised water 800 ml และนำไปต้ม หลังจากเย็น เติมเกล็ด sodium carbonate ลงไปเล็กน้อย ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง จากนั้นกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman No. 1 และปรับปริมาตรด้วย deionised water เป็น 1 L

อุปกรณ์และเครื่องมือ

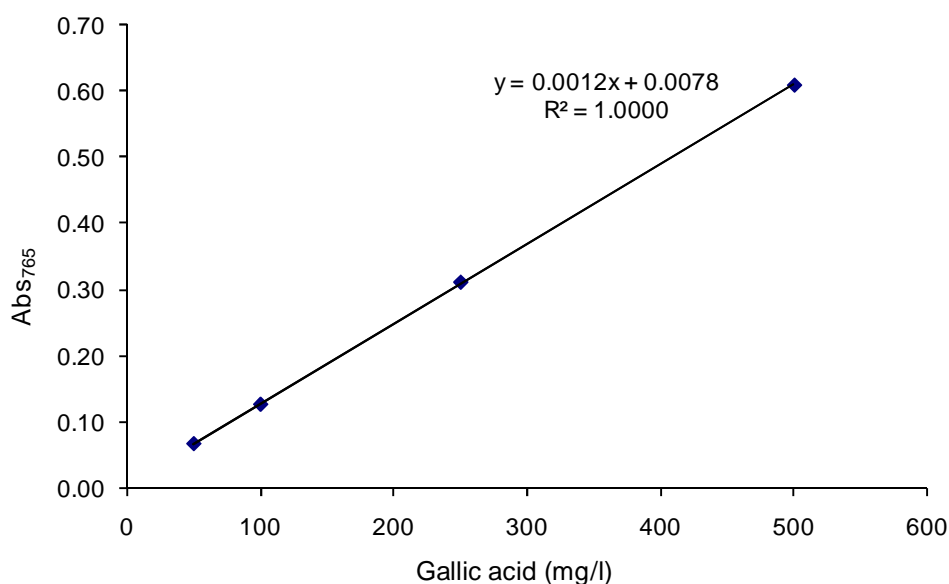
1. เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง
2. เครื่อง Spectrophotometer

วิธีวิเคราะห์

1. ใส่สารสกัดจากมะตูมที่เตรียมได้จากข้อ ก.4.1 20 µl ลงใน cuvette (1 cm, 2 ml) เติม deionised water 1.58 ml ตามด้วย Folin-Ciocalteu's phenol reagent 100 µl ผสมให้เข้ากัน และทิ้งไว้ 1-8 นาที
2. เติมสารละลาย Sodium carbonate 300 µl ผสมให้เข้ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 2 ชั่วโมง ในที่มืด

3. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm โดยใช้ deionised water เป็น blank และคำนวณปริมาณฟีนอลิกจากกราฟมาตรฐาน

4. สร้างกราฟมาตรฐานโดยใช้ gallic acid ความเข้มข้นในช่วง 50 ถึง 500 mg/l แสดงผลในรูปของ mg gallic acid equivalent (GAE)/ 100 g fresh weight (fw)



รูปที่ ก.2 กราฟมาตรฐานของสารละลาย Gallic acid

ก.6 การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์

ตามวิธีของ Zhishen และคณะ (1999)

สารเคมี

1. 10% Aluminum chloride (AlCl_3)
2. Catechin
3. 1 M Sodium hydroxide (NaOH)
4. 5% Sodium nitrite (NaNO_2)

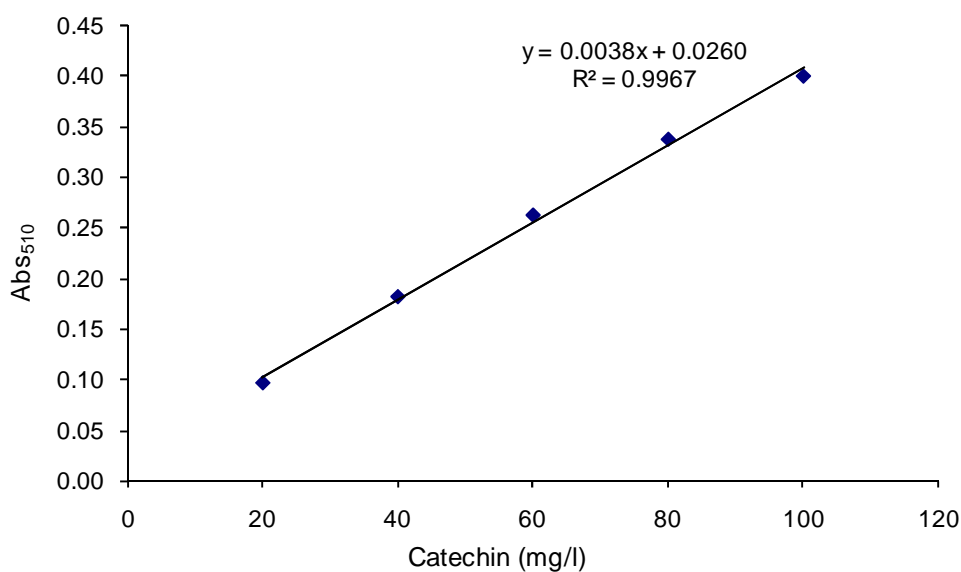
อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง
2. เครื่อง Spectrophotometer

วิธีวิเคราะห์

1. ใส่สารสกัดจากมะตูมที่เตรียมได้จากข้อ ก.4.1 1 ml ลงใน volumetric flask ขนาด 10 ml ที่มี deionise water อยู่ 4 ml ทำในที่มืด

2. เติม 5% NaNO₂ 0.3 ml ทิ้งไว้ 5 นาที แล้วเติม 10% AlCl₃
3. เมื่อถึงนาทีที่ 6 เติม NaOH ความเข้มข้น 1 M 2 ml และปรับปริมาตรเป็น 10 ml ด้วย deionised water
4. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 nm โดยใช้ deionised water เป็น blank และคำนวณปริมาณฟลาโวนอยด์จากกราฟมาตรฐาน
5. สร้างกราฟมาตรฐานโดยใช้ catechin ความเข้มข้นในช่วง 20 ถึง 100 mg/l แสดงผลในรูปของ mg catechin equivalent (CE)/ 100 g fresh weight (fw)



รูปที่ ก.3 กราฟมาตรฐานของสารละลาย Catechin

ก.7 การวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์

ตามวิธีของ Gross (1991); Talcott และ Howard (1999)

สารเคมี

1. Acetone
2. Ethanol
4. Butylated hydroxytoluene (BHT)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง
2. เครื่อง Spectrophotometer

วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งเนื้อมะตูมมา 2 g สกัดด้วย acetone:ethanol (1:1) ที่มี BHT 200 mg/l ปริมาตร 25 ml ทำในที่มืด
2. กรองผ่านกระดาษกรอง Whatman No. 4 เก็บส่วนของเหลวไว้ ล้างส่วนกากด้วย acetone:ethanol (1:1) ที่มี BHT จนส่วนกากไม่มีสี นำส่วนใสที่ได้ทั้งหมดมารวมกันและปรับปริมาตรให้เป็น 100 ml
3. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 470 nm และคำนวณปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดจากสมการ

$$\mu\text{g carotenoid /g} = \frac{A \times V \times 10^6}{A_{1\text{ cm}}^{1\%} \times 100 \times G}$$

- โดยกำหนดให้
- | | |
|-------------------------|--|
| A | คือ ค่า absorbance ของตัวอย่างที่ 470 nm |
| V | คือ ปริมาตรทั้งหมดของสารที่สกัดได้ |
| $A_{1\text{ cm}}^{1\%}$ | คือ ค่า extinction coefficient for a mixture of solvents arbitrarily กำหนดให้มีค่าเท่ากับ 2500 |
| G | คือ น้ำหนักตัวอย่าง (g) |

ก.8 การวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซี

ตามวิธีของ Pearson (1976)

สารเคมี

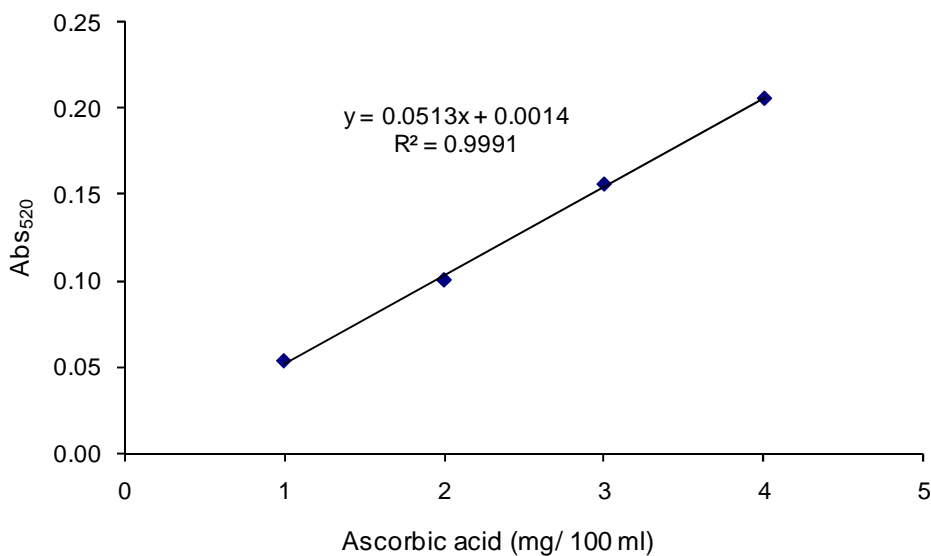
1. 0.4% Oxalic acid
2. 0.0012% 2,6-Dichlorophenolindophenol
3. Ascorbic acid

อุปกรณ์และเครื่องมือ

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

วิธีวิเคราะห์

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



รูปที่ ก.4 กราฟมาตรฐานของสารละลาย Ascorbic acid

ก.9 การวิเคราะห์ค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติก (Prebiotic activity score)

ดัดแปลงวิธีของ Huebner และคณะ (2007)

เชื้อแบคทีเรีย

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

อาหารเลี้ยงเชื้อ

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

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

อุปกรณ์และเครื่องมือ

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

การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

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

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

2. *E. coli* ATCC 29922

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

วิธีวิเคราะห์

1. ถ่ายเชื้อ *L. acidophilus* La5 และ *B. lactis* Bb12 ที่เตรียมได้ปริมาณ 1% (v/v) ลงในอาหารเหลว MRS ที่มีกลูโคส 1% (w/v) หรือ ตัวอย่างที่ต้องการตรวจสอบ 1% (w/v) และ *E. coli* ที่เตรียมได้ปริมาณ 1% (v/v) ลงใน Minimal Medium Broth ที่มีกลูโคส 1% (w/v) หรือ ตัวอย่างที่ต้องการตรวจสอบ 1% (w/v)
2. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C ที่ภาวะบรรยากาศ
3. หลังจากบ่มนาน 0 และ 24 ชั่วโมง นับจำนวนคอโลนีบน MRS agar สำหรับเชื้อ *L. acidophilus* La5 และบน TSA สำหรับเชื้อ *E. coli* และหาค่าเอกทิวติของสารฟรีไบโอติกในตัวอย่างที่นำมาตรวจสอบโดยคำนวณจากสมการ

ค่าแอกทิวิตีของสารฟรีไบโอติก

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

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

ก.10 การวิเคราะห์สารระเหย (Volatile compounds)

ดัดแปลงจากภาวะของ Chen และคณะ (2006)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. ขวด Headspace vial
2. SPME Fiber Holder ชนิด Polydimethylsiloxane (PDMS 100 μ m)
3. เครื่อง GC-MS

การเตรียมตัวอย่าง

1. สุ่มตัวอย่างเนื้อมะตูมสดมาตีปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นผสม
2. สุ่มตัวอย่างออกมา 1.00 \pm 0.01g ใส่ในขวด Headspace vial ขนาด 25 ml และปิดฝาให้สนิท พยายามใช้เวลาให้น้อยที่สุด
3. นำตัวอย่างในขวด Headspace vial ไปบ่มที่อุณหภูมิ 60 $^{\circ}$ C นาน 10 นาที และใช้ SPME Fiber Holder ในการ absorb ตัวอย่าง เป็นเวลานาน 20 นาที และ desorb ตัวอย่าง ที่อุณหภูมิ 200 $^{\circ}$ C นาน 5 นาที ก่อนเข้าเครื่อง GC-MS ต่อไป

ภาวะที่ใช้วิเคราะห์

การวิเคราะห์หาชนิดสารระเหยด้วยเทคนิค SPME/GC/MS กำหนดภาวะที่ใช้ ดังนี้

ก. GC (Gas chromatography)

1. Column: Capillary column, HP-Inowax, 0.25 mm i.d. \times 30 m \times 0.25 μ m
2. Injection port temperature: 200 $^{\circ}$ C, detector port temperature: 260 $^{\circ}$ C
3. Carrier gas and flow rate: Helium, 5.7ml/ min
4. Column temperature programmer: Isothermal โดยเริ่มต้นที่อุณหภูมิ 50 $^{\circ}$ C นาน 10 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิเป็น 240 $^{\circ}$ C ด้วยอัตรา 15 $^{\circ}$ C/ min และคงอุณหภูมิที่ 240 $^{\circ}$ C นาน 10 นาที

ข. MS (Mass spectrometry)

1. Electron impact (EI) mode: 70 eV
2. Ion source temperature: 230°C
3. Quadrupole temperature: 150°C
4. Mass range m/z: 10–350
5. EM voltage: 1741.2 V

ก.11 การทดสอบค่าแอกทิวิตีของเอนไซม์เพออกซิเดส

ดัดแปลงวิธีของ Pearson (1970)

สารเคมี

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

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 2 ตำแหน่ง

การเตรียมตัวอย่าง

1. ตีปั่นเนื้อมะตูมกับ deionised water ในอัตราส่วนเนื้อมะตูมต่อน้ำ เท่ากับ 2:1 ด้วยเครื่องปั่นผสม แล้วกรองแยกกากออก นำส่วนใสมาทดสอบปฏิกิริยาเอนไซม์

วิธีทดสอบ

1. เตรียม blank โดยใส่ตัวอย่างที่เตรียมไว้ 0.5 ml ลงในหลอดทดลองที่มี deionised water 2 ml เขย่าให้เข้ากัน ใช้เป็นหลอดเปรียบเทียบสี
2. ใส่ตัวอย่างที่เตรียมไว้ 0.5 ml ลงในหลอดทดลอง แล้วเติม 1% Guaiacol (in 50% Ethanol) จำนวน 1 ml ลงไป โดยไม่ต้องเขย่าและผสม
3. เติมสารละลาย 0.08% Hydrogen peroxide จำนวน 1 ml ตามลงไป โดยไม่ต้องเขย่าและผสม
4. ผสมสารละลายในหลอดทดลองโดยจับหลอดทดลองคว่ำไปมา และสังเกตสีที่เกิดขึ้น โดยเปรียบเทียบกับหลอดที่เป็น blank ถ้าไม่มีสีเกิดขึ้นภายใน 3.5 นาที แสดงว่าไม่มีแอกทิวิตีของเอนไซม์เพออกซิเดส และถ้าเกิดสีหลังจาก 3.5 นาที แสดงว่าไม่มีแอกทิวิตีของเอนไซม์เพออกซิเดสเช่นเดียวกัน

ก.12 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

ตามวิธีของ Nelson (1944)

สารเคมี

1. Ammonium molybdate ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$)
2. Anhydrous sodium dihydrogen phosphate (NaH_2PO_4)
3. Anhydrous sodium sulphate (Na_2SO_4)
4. Copper sulphate pentahydrate ($\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$)
5. Potassium sodium tartrate ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6$)
6. Sodium hydroxide (NaOH)
7. Sulfuric acid (H_2SO_4)
8. Sodium arsenate ($\text{Na}_2\text{HASO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$)
9. D-(+)-glucose

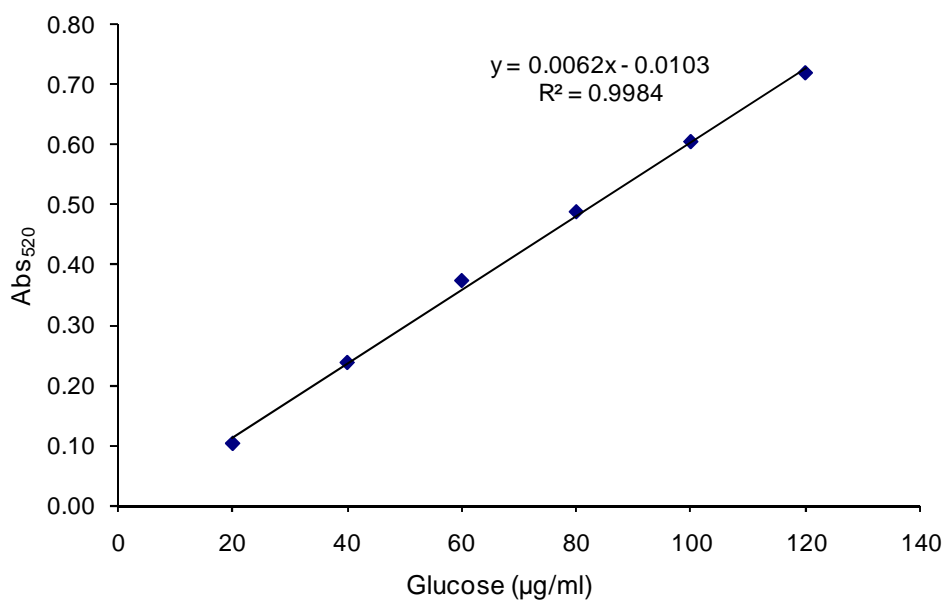
อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง
2. เครื่อง Spectrophotometer

วิธีวิเคราะห์

1. เตรียมสารละลาย Alkaline copper reagent โดยละลาย NaH_2PO_4 14 g และ $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6$ 20 g ในน้ำกลั่น 350 ml เติม NaOH ความเข้มข้น 1 N ปริมาตร 50 ml เติม 10% $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ปริมาตร 20 ml และเติม Anhydrous Na_2SO_4 50 g ผสมให้เข้ากัน แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนมีปริมาตรสุดท้ายเป็น 500 ml ทิ้งไว้ 1-2 วันในขวดสีชา
2. เตรียมสารละลาย Asenomolydate reagent โดยละลาย $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 25 g ในน้ำกลั่น 400 ml เติม Conc. H_2SO_4 21 ml และสารละลาย $\text{Na}_2\text{HASO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (ได้จาก $\text{Na}_2\text{HASO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 3 g ในน้ำกลั่น 12.5 ml) ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 1-2 วันในขวดสีชา
3. เตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคสเข้มข้น 20-120 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ปิเปตสารละลายแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 1 ml จากนั้นเติมสารละลาย Alkaline copper reagent ปริมาตร 1 ml นำไปต้มในน้ำเดือดนาน 10 นาที ทำให้เย็น เติม Asenomolydate reagent ที่เจือจางด้วยสารละลาย H_2SO_4 ความเข้มข้น 1.5 N ในอัตราส่วน 1:2 ปริมาตร 1 ml และเติมน้ำกลั่นปริมาตร 3 ml จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 nm
4. ใช้น้ำกลั่นเป็น Blank โดยผ่านขั้นตอนเช่นเดียวกับข้อ 3
5. นำค่าที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐาน

6. การวิเคราะห์ตัวอย่างให้ทำการเจือจางจนได้ความเข้มข้นที่เหมาะสม จากนั้นนำไปวิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 3



รูปที่ ก.5 กราฟมาตรฐานของสารละลาย Glucose

ก.13 การวัดขนาดอนุภาค (Particle size)

ดัดแปลงจากภาวะของ Worrasinchai และคณะ (2006)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่อง Laser particle size analyzer

ภาวะที่ใช้วิเคราะห์

- | | |
|----------------------|-----------------|
| 1. Distribution | by volume |
| 2. Refractive index | 1.520 |
| 3. Laser obscuration | 10±1 % |
| 4. Pump speed | 2,500 rpm |
| 5. Absorption | 0.1 |
| 6. Dispersant Name | distilled water |

ก.14 การศึกษาพฤติกรรมการไหล (Rheological behavior)

ดัดแปลงจากภาวะของ Bhattacharya และ Rastogi (1998); Sharoba และคณะ (2005)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่อง Rheometer

ภาวะที่ใช้วิเคราะห์

1. ใช้หัววัด cone and plate geometry sensor (40 mm diameter, 4° cone angle)
2. ตั้งค่า gap distance เท่ากับ 150 μm
3. กำหนดอุณหภูมิที่ใช้ในการทดลองเท่ากับ 25°C
4. ตั้งค่าอัตราเฉือนในช่วง 0.1-100 s^{-1} ภายในเวลา 180 s

คำนวณค่า yield stress (τ_0), consistency coefficient (K) และ flow behaviour index

(n) จาก Herschel-Bulkley model: $\tau = \tau_0 + K\dot{\gamma}^n$ และคำนวณค่าความหนืดปรากฏหรือ

apparent viscosity (η) ที่อัตราเฉือน 100 s^{-1} จากสมการ $\eta = (\tau_0/\dot{\gamma}) + K\dot{\gamma}^{n-1}$

ภาคผนวก ข

แบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ข.1 แบบทดสอบที่ใช้ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของเนื้อมะตูมพันธุ์ไข่

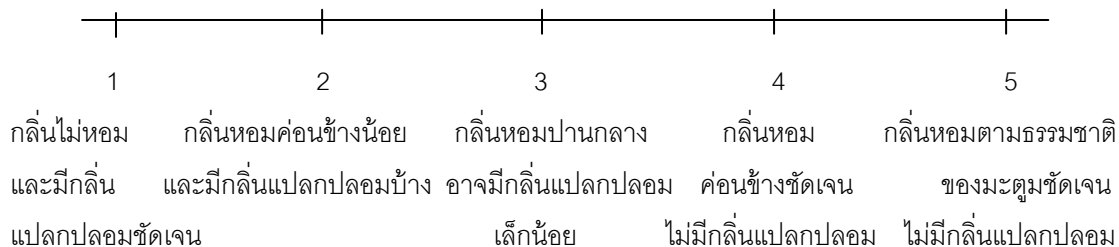
ชื่อ.....วันที่.....รหัสตัวอย่าง.....

คำแนะนำ กรุณาพิจารณาลักษณะต่างๆของเนื้อมะตูมแล้วลงผลการทดสอบที่ตรงตามความรู้สึกของท่านมากที่สุด โดยเขียนกากบาท (x) ตรงตำแหน่งที่ท่านตัดสินใจลงในแบบทดสอบในด้านกลิ่นแปลกปลอม หากมีคุณาระบุกลิ่นที่พบด้วย

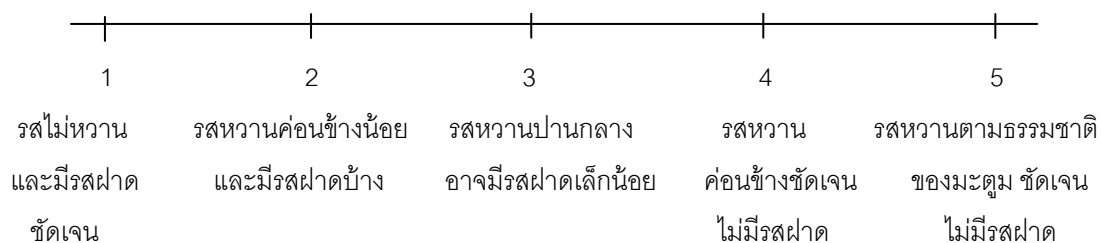
1. สีเนื้อมะตูม



2. กลิ่น



3. รส



ข้อเสนอแนะ

ข.2 แบบทดสอบที่ใช้ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของไชรี่ปะตูม

ชื่อ.....วันที่.....รหัสตัวอย่าง.....

คำแนะนำ กรุณาพิจารณาลักษณะต่างๆของไชรี่ปะตูมแล้วลงผลการทดสอบที่ตรงตามความรู้สึกของท่านมากที่สุด โดยเขียนกากบาท (x) ตรงตำแหน่งที่ท่านตัดสินใจลงในแบบทดสอบ ในด้านกลิ่นแปลกปลอม หากมีกลิ่นระบุงกลิ่นที่พบด้วย

1. สี

2. กลิ่นรส (โดยการดมและรับประทาน)

2.1 กลิ่นรสมะตูม

2.2 กลิ่นรสแปลกปลอม (เช่น กลิ่นหมัก กลิ่นสาบ รสฝืดปนฝาด และกลิ่นรสไม่ปกติ ระบุไม่ได้)

3. ลักษณะเนื้อสัมผัส (โดยการสัมผัสด้วยลิ้นและเพดาน)

3.1 ความเรียบเนียน

3.2 ความข้นเหนียว

4. สิ่งตกค้าง (aftertase)

ชื่อเสนอแนะ

ข.3 แบบทดสอบที่ใช้ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของไอศกรีมมะตูมที่ทำเป็นไอศกรีมเอแคลร์

ชื่อ.....วันที่.....รหัสตัวอย่าง.....

คำแนะนำ กรุณาพิจารณาลักษณะต่างๆของตัวอย่าง โดยพิจารณาเฉพาะส่วนของไอศกรีมที่มีไอศกรีมมะตูมเป็นส่วนผสม แล้วลงผลการทดสอบที่ตรงตามความรู้สึกของท่านมากที่สุด โดยเขียนกากบาท (x) ตรงตำแหน่งที่ท่านตัดสินใจลงในแบบทดสอบ ในด้านกลิ่นแปลกปลอม หากมีกรุนาระบุงกลิ่นที่พบด้วย

1. สี

0 5 10
สีขาว สีเหลืองอ่อน สีเหลืองอมทอง

2. กลิ่นรส (โดยการดมและรับประทาน)

2.1 กลิ่นรสมะตูม

0 5 10
ไม่มีกลิ่นรสมะตูมเลย มีกลิ่นรสมะตูมปานกลาง มีกลิ่นรสมะตูมชัดเจนมาก

2.2 กลิ่นรสแปลกปลอม (เช่น กลิ่นหมัก กลิ่นสาบ รสเฝื่อนฝาด และกลิ่นรสไม่ปกติ ระบุไม่ได้)

0 5 10
ไม่มีกลิ่นรสแปลกปลอมเลย มีกลิ่นรสแปลกปลอมบ้าง มีกลิ่นรสแปลกปลอมชัดเจน

3. ลักษณะเนื้อสัมผัส (โดยการสัมผัสด้วยลิ้นและเพดาน)

3.1 ความเรียบเนียน

0 5 10
หยาบ ไม่เรียบเนียน ค่อนข้างเรียบเนียน เรียบเนียนมาก

3.2 ความชื้นเหนียว

0 5 10
เนื้อเหลวมาก เนื้อชื้นเหนียว ไม่เหลวเยิ้ม ไม่แข็งแน่น เนื้อชื้นเหนียวมาก

4. สิ่งตกค้าง (aftertaste)

0 5 10
ไม่มีกลิ่นรสมะตูมติดลิ้น เพดาน ปาก มีกลิ่นรสมะตูมติดลิ้น เพดาน ปาก ปานกลาง มีกลิ่นรสมะตูมติดลิ้น เพดาน ปาก มาก

5. การยอมรับรวม (overall acceptability)

0 5 10
ไม่ชอบเลย เฉยๆ ชอบมาก

ข้อเสนอแนะ _____

ภาคผนวก ค

สูตรไส้ขนมแฉ�ลล์

อุปกรณ์

กระทะทองเหลือง

ไม้พาย

เครื่องชั่งน้ำหนัก

ส่วนผสม

แป้งข้าวโพด (ตรา ซุปเปอร์ไฟน์)	30	กรัม
น้ำตาลทราย (ตรา มิตรผล)	113	กรัม
นมสด (ตรา โพรโมสต์)	375	กรัม
ไข่ไก่ เบอร์ 2 (ตรา ซีพี)	135	กรัม (2 ฟองครึ่ง)
เนยสดชนิดเค็ม (ตรา ออร์คิด)	15	กรัม
ไซรัปมะตูม	10%	ของน้ำหนักส่วนผสมทั้งหมด

วิธีทำ

ผสมส่วนผสมทุกอย่างเข้าด้วยกัน ใส่ลงในกระทะทองเหลือง เปิดไฟอ่อน ใช้ไม้พายคนตลอดเวลาจนกระทั่งส่วนผสมสุกขึ้นและเข้ากันดี ใส่ไซรัปมะตูมและคนให้เข้ากัน ปิดไฟรอให้เย็นแล้วนำไปบรรจุในแป้งแฉ�ลล์

ภาคผนวก ง

รายละเอียดของเอนไซม์

เอนไซม์เพกทิเนสทางการค้า Pectinex® Ultra SP-L

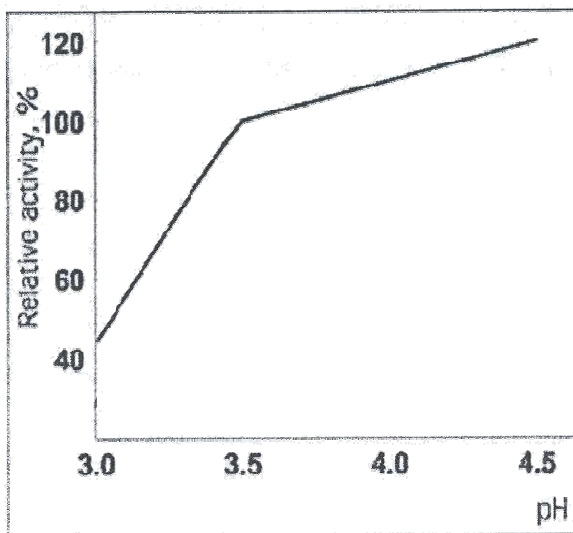
Pectinex® Ultra SP-L เป็นเอนไซม์ที่มีแอกทิวิตีของเพกทิเนสสูง ผลิตจากเชื้อกลุ่ม *Aspergillus aculeatus* สายพันธุ์ที่ผ่านการคัดเลือกแล้ว ประกอบด้วยเอนไซม์พอลิกลาแลกทูโรเนส เพกทินไลเอส เพกทินเอสเทอเรส เป็นหลัก โดยมีเอนไซม์เฮมิเซลลูเลส เซลลูเลส โปรติเอส และ อะไมเลส ช่วยเสริมการย่อยสลายโมเลกุลต่างๆที่บริเวณผนังเซลล์ของพืช

ลักษณะปรากฏ: เป็นของเหลวสีน้ำตาลเข้ม และมีกลิ่นหมักเล็กน้อย มี pH ประมาณ 4.5 สามารถละลายน้ำได้ดีที่ทุกความเข้มข้น

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

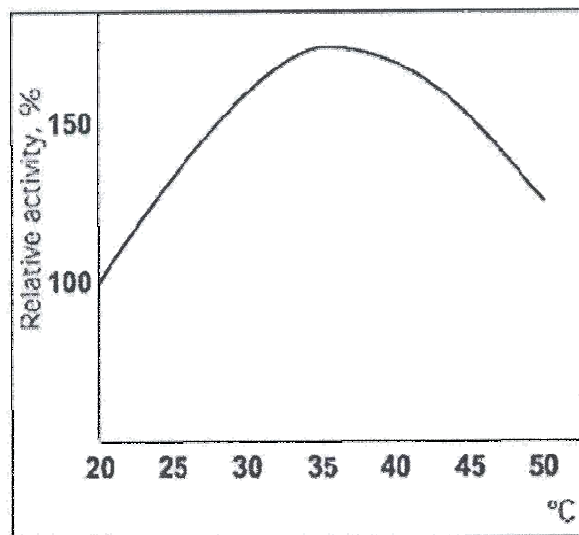
ข้อกำหนด: สามารถใช้ในอาหารได้ รับรองโดย FAO/WHO, JECFA และ FCC

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



รูปที่ ง.1 แอกทิวิตีของเอนไซม์ที่ pH ต่างๆ

Polygalacturonase activity at 20°C



รูปที่ ง.2 แอกทิวิตีของเอนไซม์ที่อุณหภูมิต่างๆ

Polygalacturonase activity at pH 3.5

(ดัดแปลงจาก Novozymes, Enzyme Information)

ภาคผนวก จ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ตารางที่ จ.1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าสีในระบบ L* a* b* ของเปลือกมะตูม
ที่ระดับความสุกต่างๆ

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

* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ จ.2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าสีในระบบ L* a* b* ของเนื้อมะตูม
ที่ระดับความสุกต่างๆ

Source of variance	df	MS				
		L*	a*	b*	C*	°h
Ripening levels	2	124.403*	16.326*	6.757*	2.251*	51.582*
Error	6	0.220	0.372	0.317	0.265	1.034

* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ จ.3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า pH ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดซิตริก
(TA) และปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (TSS) ของเนื้อมะตูมที่ระดับ
ความสุกต่างๆ

Source of variance	df	MS		
		pH	TA	TSS
Ripening levels	2	0.18*	0.048*	7.000*
Error	6	0.001	0.001	0.583

* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ๑.4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านสี กลิ่น และรสชาติของเนื้อมะตูมที่ระดับความสุกต่างๆ

Source of variance	df	MS		
		Internal color	Aroma	Taste
Ripening levels	2	4.965*	4.263*	5.733*
Panelist	9	0.217	0.139	0.242
Error	18	0.166	0.141	0.113

* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ๑.5 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นภายใน 24 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเนื้อมะตูมหรือมีกลูโคสเป็นองค์ประกอบด้วยวิธี T-test

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

ตารางที่ ๑.6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยความสว่าง (L*) ค่าสีแดง (+a*) ค่าสีเหลือง (+b*) และค่า pH ของเนื้อมะตูมตีปั่นที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ

Source of variance	df	MS			
		L*	+a*	+b*	pH
Blanching time (A)	3	8.647*	18.878*	38.511*	0.021
Acid type (B)	1	354.048*	66.600*	253.240*	0.116*
Acid concentration (C)	3	57.694*	8.311*	32.777*	3.964*
AxB	3	9.165*	1.066*	5.170*	0.002
AxC	9	3.064*	0.964*	0.771	0.003
BxC	3	39.984*	8.246*	28.765*	0.024
AxBxC	9	2.541*	0.265	0.936	0.001
Error	64	1.247	0.382	1.103	0.022

* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ๑.7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (TSS) ค่าสีในระบบ L* a* b* และปริมาณน้ำตาลรีดิวิซ (RS) ของไซรัปมะตูมที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ที่ภาวะต่างๆ

Source of variance	df	MS				
		TSS	L*	+a*	+b*	RS
Enzyme concentration (A)	4	0.153	7.703*	0.362	11.711*	1032.471*
Hydrolysis time (B)	7	0.728*	10.356*	2.588*	5.531*	2907.177*
AxB	28	0.28	0.397	0.268	0.405	25.201*
Error	80	0.269	1.197	0.355	1.175	4.585

* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ๑.8 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในไซรัปมะตูมที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ที่ความเข้มข้น 2.5% (v/w)

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

* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ๑.9 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (AA) ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด (TC) และขนาดอนุภาค (PS) ของไซรัปมะตูมที่มีระดับการตัดพั้นระไกลโคซิดด้วยเอนไซม์ต่างกัน

Source of variance	df	MS			
		AA		TC	PS
		DPPH	FRAP		
Hydrolysis time	4	18.671*	21.200*	1.609*	8.603*
Error	10	0.490	2.192	0.084	0.146

* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ๑.10 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของพฤติกรรมกรไหลของไซรัปมะตูมที่มีระดับการตัดพั้นระไกลโคซิดด้วยเอนไซม์ต่างกัน

Source of variance	df	MS				Hysteresis loop area
		τ_0	K	n	η	
Hydrolysis time	4	130.583*	137.010*	0.003*	0.119*	375221.217*
Error	5	3.845	0.473	0.000	0.005	1106.459

* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ๑.11 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของคะแนนลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านต่างๆ ของไซรัปมะตูมที่มีระดับการตัดพันธุ์ไกลโคซิลด้วยเอนไซม์ต่างกัน

Source of variance	df	MS					
		Color	Bael fruit flavor	Off-flavor	Smoothness	Thickness	Aftertaste
Hydrolysis time	4	15.463*	10.816*	0.728*	3.005*	24.658*	4.508*
Panelist	9	2.157*	3.369*	0.372	5.494*	0.602*	1.258*
Error	36	0.334	0.342	0.195	0.226	0.179	0.291

* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ๑.12 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของปริมาณใยอาหารทั้งหมด (TDF) ใยอาหารที่ละลายน้ำ (SDF) และใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ (IDF) ในไซรัปมะตูมกับเนื้อมะตูมสุกที่ปั่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาลด้วยวิธี T-test

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

ตารางที่ ๑.13 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นภายใน 24 ชั่วโมงเมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเนื้อมะตูมสุกที่ปั่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาลไซรัปมะตูม หรือมีกลูโคสเป็นองค์ประกอบ

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

* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ๑.14 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของคะแนนลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านต่างๆ
ของไส้ขนมแฉอดที่มีไซรัปมะตูมเป็นส่วนผสม

Source of variance	df	MS						
		Color	Bael fruit flavor	Off-flavor	Smoothness	Thickness	After taste	Overall acceptability
Hydrolysis time	4	60.762*	63.745*	4.876*	3.398*	6.838*	40.962*	8.777*
Panelist	9	1.271	0.914	1.344*	3.673*	0.269	3.435*	1.251
Error	36	0.636	0.526	0.554	0.617	0.243	0.907	0.889

* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ๑.15 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของการเปลี่ยนแปลงฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (AA)
ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด (TC) และใยอาหาร (DF) ในระหว่างกระบวนการผลิต
ไซรัปมะตูม

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

* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ภาคผนวก จ**รายละเอียดข้อมูลเพิ่มเติม**

ตารางที่ ๑.1 ค่า pH และค่าสี L* a* b* ของเนื้อมะตูมตีป่นที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ
เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม (control) (ค่าสีที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยที่วัดทุกๆ 0, 3 และ 5 วัน)

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

ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขในแนวตั้งที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ๑.2 ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (TSS) ในไซรัปมะตูมที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ที่มีความเข้มข้นและเวลาการย่อยต่างๆ

Enzyme concentration (% v/w)	TSS (°Brix)							
	Hydrolysis time (h)							
	0	0.5	1	2	3	4	5	6
1.0	29.5 ^b ±0.5	29.7 ^{a,b} ±0.6	29.7 ^{a,b} ±0.6	29.7 ^{a,b} ±0.6	29.8 ^{a,b} ±0.3	30.0 ^{a,b} ±1.0	30.0 ^{a,b} ±0.9	30.2 ^{a,b} ±1.2
1.5	29.7 ^{a,b} ±0.3	29.7 ^{a,b} ±0.3	29.8 ^{a,b} ±0.3	30.0 ^{a,b} ±0.5	30.0 ^{a,b} ±0.5	30.0 ^{a,b} ±0.5	30.2 ^{a,b} ±0.8	30.7 ^a ±0.8
2.0	29.7 ^{a,b} ±0.3	29.8 ^{a,b} ±0.3	29.8 ^{a,b} ±0.3	30.0 ^{a,b} ±0.5	30.0 ^{a,b} ±0.5	30.0 ^{a,b} ±0.0	30.0 ^{a,b} ±0.0	30.0 ^{a,b} ±0.5
2.5	29.7 ^{a,b} ±0.6	29.8 ^{a,b} ±0.3	30.0 ^{a,b} ±0.5	30.0 ^{a,b} ±0.5	30.0 ^{a,b} ±0.0	30.0 ^{a,b} ±0.5	30.2 ^{a,b} ±0.8	30.2 ^{a,b} ±0.8
3.0	29.7 ^{a,b} ±0.3	29.8 ^{a,b} ±0.3	30.0 ^{a,b} ±0.0	30.0 ^{a,b} ±0.5	30.0 ^{a,b} ±0.5	30.0 ^{a,b} ±0.0	30.2 ^{a,b} ±0.3	30.3 ^{a,b} ±0.3

ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขทั้งหมดที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ๓.3 ค่าความสว่าง (L*) ของไซรัปมะตูมที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ที่ความเข้มข้นและเวลาการย่อยต่างๆ

Enzyme concentration (% v/w)	L* of color							
	Hydrolysis time (h)							
	0	0.5	1	2	3	4	5	6
1.0	38.57 ^{a,b} ±1.01	37.69 ^{a,b,c,d,e} ±2.08	37.75 ^{a,b,c} ±1.36	36.88 ^{a,b,c,d,e,f,g,h} ±0.47	36.69 ^{a,b,c,d,e,f,g,h} ±0.50	36.36 ^{c,d,e,f,g,h} ±1.02	36.11 ^{c,d,e,f,g,h} ±0.99	36.55 ^{a,b,c,d,e,f,g,h} ±1.04
1.5	38.66 ^a ±1.54	37.58 ^{a,b,c,d,e} ±1.60	37.25 ^{a,b,c,d,e,f,g,h} ±0.99	36.21 ^{c,d,e,f,g,h} ±0.31	36.47 ^{b,c,d,e,f,g,h} ±0.56	36.17 ^{c,d,e,f,g,h} ±0.40	35.51 ^{e,f,g,h} ±1.50	35.53 ^{d,e,f,g,h} ±0.52
2.0	37.53 ^{a,b,c,d,e,f} ±0.37	36.06 ^{c,d,e,f,g,h} ±0.77	35.79 ^{c,d,e,f,g,h} ±0.31	35.49 ^{e,f,g,h} ±0.59	35.34 ^{f,g,h} ±1.21	35.94 ^{c,d,e,f,g,h} ±0.79	35.09 ^h ±0.92	35.10 ^h ±0.09
2.5	37.74 ^{a,b,c,d} ±1.04	36.21 ^{c,d,e,f,g,h} ±1.24	36.96 ^{a,b,c,d,e,f,g,h} ±1.06	36.55 ^{a,b,c,d,e,f,g,h} ±1.39	35.73 ^{c,d,e,f,g,h} ±0.69	35.90 ^{c,d,e,f,g,h} ±0.82	35.10 ^h ±0.40	35.29 ^{g,h} ±0.46
3.0	37.38 ^{a,b,c,d,e,f,g} ±1.67	36.67 ^{a,b,c,d,e,f,g,h} ±2.70	35.04 ^h ±1.74	35.65 ^{c,d,e,f,g,h} ±0.52	35.59 ^{c,d,e,f,g,h} ±0.98	35.64 ^{c,d,e,f,g,h} ±1.14	35.14 ^h ±0.88	35.10 ^h ±0.65

ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขทั้งหมดที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p≤0.05)

ตารางที่ ๑.4 ค่าสีแดง (+a*) ของไซรัปมะตูมที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ที่ความเข้มข้นและเวลาการย่อยต่างๆ

Enzyme concentration (% v/w)	+a* of color							
	Hydrolysis time (h)							
	0	0.5	1	2	3	4	5	6
1.0	7.56 ^{a,b,c,d,e,f} ±0.15	7.50 ^{b,c,d,e,f} ±0.36	7.64 ^{a,b,c,d,e,f} ±0.10	7.70 ^{a,b,c,d,e,f} ±0.41	7.83 ^{a,b,c,d,e,f} ±0.29	7.71 ^{a,b,c,d,e,f} ±0.57	7.93 ^{a,b,c,d,e,f} ±0.44	7.94 ^{a,b,c,d,e,f} ±0.97
1.5	7.31 ^f ±0.29	7.31 ^{a,b,c,d,e,f} ±0.29	7.31 ^{a,b,c,d,e,f} ±0.29	7.31 ^{a,b,c,d,e,f} ±0.29	7.31 ^{a,b,c,d,e,f} ±0.29	7.31 ^{a,b,c,d,e,f} ±0.29	7.31 ^{a,b,c,d,e,f} ±0.29	7.31 ^{a,b,c,d,e,f} ±0.29
2.0	7.16 ^{d,e,f} ±0.93	7.63 ^{c,d,e,f} ±0.62	7.62 ^{a,b,c,d,e,f} ±0.42	7.85 ^{a,b,c,d,e,f} ±0.74	8.08 ^{a,b,c,d,e,f} ±0.51	8.03 ^{a,b,c,d,e,f} ±1.07	8.02 ^{a,b,c,d} ±0.55	8.09 ^{a,b,c,d,e} ±0.28
2.5	7.56 ^{a,b,c,d,e,f} ±0.39	7.14 ^f ±1.05	7.19 ^{e,f} ±0.84	7.34 ^{d,e,f} ±0.79	7.65 ^{a,b,c,d,e,f} ±0.34	8.61 ^{a,b} ±0.57	8.74 ^a ±0.48	8.68 ^{a,b} ±0.32
3.0	7.18 ^{e,f} ±1.01	7.17 ^{e,f} ±1.10	7.74 ^{a,b,c,d,e,f} ±0.66	7.86 ^{a,b,c,d,e,f} ±0.70	8.71 ^{a,b} ±0.43	8.57 ^{a,b,c} ±0.36	8.66 ^{a,b} ±0.27	8.57 ^{a,b,c} ±0.09

ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขทั้งหมดที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p≤0.05)

ตารางที่ ๑.5 ค่าสีเหลือง (+b*) ของไซรัปมะตูมที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ที่ความเข้มข้นและเวลาการย่อยต่างๆ

Enzyme concentration (% v/w)	+b* of color							
	Hydrolysis time (h)							
	0	0.5	1	2	3	4	5	6
1.0	32.53 ^a ±1.48	32.00 ^{a,b} ±2.61	31.96 ^{a,b,c} ±1.25	31.76 ^{a,b,c,d} ±1.90	30.88 ^{a,b,c,d,e} ±0.40	30.83 ^{a,b,c,d,e} ±0.82	30.77 ^{a,b,c,d,e} ±0.74	30.98 ^{a,b,c,d,e} ±0.57
1.5	31.60 ^{a,b,c,d} ±1.40	31.84 ^{a,b,c,d} ±1.03	30.31 ^{b,c,d,e} ±1.11	30.29 ^{b,c,d,e} ±0.31	30.35 ^{b,c,d,e} ±0.42	30.22 ^{b,c,d,e} ±0.43	30.19 ^{b,c,d,e} ±0.52	30.18 ^{b,c,d,e} ±0.36
2.0	30.47 ^{a,b,c,d,e} ±1.00	30.26 ^{b,c,d,e} ±0.60	30.24 ^{b,c,d,e} ±0.41	30.09 ^{b,c,d,e} ±0.24	30.31 ^{b,c,d,e} ±0.53	29.37 ^e ±0.90	29.00 ^e ±0.71	29.18 ^e ±0.45
2.5	30.60 ^{a,b,c,d,e} ±1.97	30.84 ^{a,b,c,d,e} ±0.60	30.15 ^{b,c,d,e} ±1.29	29.84 ^{b,c,d,e} ±1.81	29.88 ^{b,c,d,e} ±0.82	29.76 ^{c,d,e} ±0.28	29.74 ^{d,e} ±1.02	29.01 ^a ±0.31
3.0	31.85 ^{a,b,c,d} ±0.77	30.00 ^{b,c,d,e} ±2.53	29.95 ^{b,c,d,e} ±0.26	29.78 ^{c,d,e} ±0.09	29.72 ^{d,e} ±1.58	29.11 ^e ±0.93	29.21 ^e ±0.76	29.06 ^e ±0.74

ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขทั้งหมดที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p≤0.05)

ตารางที่ ๑. 6 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซิงในไซรัปมะตูมที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ที่ความเข้มข้นและเวลาการย่อยต่างๆ

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

ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขทั้งหมดที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p≤0.05)

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวสุวิมล เจริญสิทธิ เกิดวันที่ 19 พฤษภาคม พ.ศ. 2527 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต จากภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล เมื่อปีการศึกษา 2548 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยในปีการศึกษา 2549

รายการสิ่งตีพิมพ์และเผยแพร่

1. Charoensiddhi, S. and Anprung, P. 2008. Bioactive compounds and volatile compounds of Thai bael fruit (*Aegle marmelos* (L.) Correa) as a valuable source for functional food ingredients. International Food Research Journal. 15(3). (inpress)
2. สุวิมล เจริญสิทธิ และ ปราณีย์ อ่านเปรื่อง. 2551. สมบัติทางเคมีและกายภาพของไฮโดรไลเสตมะตูม (*Aegle marmelos* (L.) Correa) ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์. ใน การประชุมวิชาการและเสนอผลงานวิจัยพืชเขตร้อนและกึ่งร้อน ครั้งที่ 2 (ภาคบรรยาย). วันที่ 21 สิงหาคม 2551 ณ โรงแรม เดอะทวิน ทาวเวอร์ กรุงเทพมหานคร.