ผลของการสกัดด้วยเอนไซม์ต่อสารหน้าที่เฉพาะในฝรั่งแดง *Psidium guajava* L.

นางสาววสาวี ถ้วยทอง

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2551
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EFFECTS OF ENZYMATIC EXTRACTION ON FUNCTIONAL COMPOUNDS IN RED GUAVA *Psidium guajava* L.

Miss Wasawee Thuaytong

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science Program in Biotechnology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2008

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของการสกัดด้วยเอนไซม์ต่อสารหน้าที่เฉพาะในฝรั่งแดง *Psidium guajava* L.
โดย	นางสาววสาวี ถ้วยทอง
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	รองศาสตราจารย์ ดร. ปราณี อ่านเปรื่อง

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

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

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

…… ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รมณี สงวนดีกุล)

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

…… กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชื่นจิต ประกิตชัยวัฒนา)

…….กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุภัทรา ลิลิตชาญ)

วสาวี ถ้วยทอง : ผลของการสกัดด้วยเอนไซม์ต่อสารหน้าที่เฉพาะในฝรั่งแดง
Psidium guajava L. (EFFECTS OF ENZYMATIC EXTRACTION ON FUNCTIONAL COMPOUNDS IN RED GUAVA *Psidium guajava* L.)
อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : รศ.ดร. ปราณี อ่านเปรื่อง, 117 หน้า.

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษากระบวนการแปรรูปไซรัปฝรั่งแดงด้วยเอนไซม์และศึกษาลักษณะเฉพาะของไซรัปฝรั่งแดง จากการคัดเลือกระยะการสุกของฝรั่งแดงพบว่า ฝรั่งแดงสุกบ่มที่อุณหภูมิ 30±2ºC เป็นเวลา 7 วัน จะมีสีแดงตามธรรมชาติของฝรั่งแดงสด มีกลิ่นหอมหวานและมีรสหวานของฝรั่งแดงชัดเจน ไม่มีกลิ่นแปลกปลอม มากกว่าระดับอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) ดังนั้นจึงเลือกใช้ฝรั่งแดงสุกระดับนี้เป็นวัตถุดิบในการผลิตไซรัปฝรั่งแดง โดยพบว่าเนื้อฝรั่งแดงมีปริมาณใยอาหารทั้งหมด ใยอาหารที่ละลายน้ำ และใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ เท่ากับ 4.99, 1.27 และ 3.72 g/ 100 g fresh weight (fw) ตามลำดับ มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันเท่ากับ 18.35 µg fw/ µg DPPH หรือ 89.46 µM trolox equivalent/ g fw มีปริมาณฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ ไลโคพีน และวิตามินซีเท่ากับ 163.36 mg gallic acid equivalent/ g fw, 35.85 mg catechin equivalent/ g fw, 849.58 µg/ g fw และ 112 mg/ 100 g fw ตามลำดับ มีค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติกในอินนูลินและฝรั่งแดง เท่ากับ 0.35 และ 0.29 ตามลำดับ โดย *B. lactis* Bb12 เท่ากับ 0.19 และ 0.13 ตามลำดับ โดย *L. acidophilus* La5 เมื่อวิเคราะห์สารระเหยด้วยวิธี SPME/GC/MS พบว่า เนื้อฝรั่งแดงสุกมีสารระเหยทั้งหมด 21 ชนิด โดยมีสารกลุ่ม terpenes เป็นสารระเหยที่ให้กลิ่นรสหลักของฝรั่งแดง และในการทดลองหาภาวะควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลของเนื้อฝรั่งแดง โดยให้ความร้อนด้วยไอน้ำจนเนื้อฝรั่งแดงมีอุณหภูมิ 70-90ºC แปรเวลาการให้ความร้อนในช่วง 0-5 นาที พบว่าการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80ºC นาน 5 นาที เป็นภาวะที่เหมาะสมในการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลในเนื้อฝรั่งแดง และจากการทดลองแปรรูปไซรัปฝรั่งแดงด้วยเอนไซม์ Pectinex® Ultra SP-L ควบคุมอุณหภูมิที่ 32±2ºC แปรความเข้มข้นเอนไซม์ในช่วง 0.25-1% (v/w) แปรเวลาการย่อย 0-480 นาที พบว่า การใช้เอนไซม์เข้มข้น 0.75% (v/w) เวลาการย่อย 0, 30, 90, 240 และ 300 นาที สามารถแบ่งระดับการตัดพันธะไกลโคซิลของพอลิเมอร์ในเนื้อฝรั่งแดงด้วยเอนไซม์ที่ประเมินจากค่าของน้ำตาลรีดิวซ์ได้เป็น 5 ช่วง โดยประมาณคือ 41, 53, 62, 77 และ 86 mg glucose/ g fw จากการศึกษาลักษณะเฉพาะของไซรัปฝรั่งแดงช่วงดังกล่าวพบว่า ไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 240 และ 300 นาทีขึ้นไป มีปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสูงกว่าภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) ส่วนที่เวลาการย่อย 240 นาที ไซรัปฝรั่งแดงจะมีขนาดอนุภาคเฉลี่ยเล็กที่สุดคือ 14.67 µm สำหรับผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสพบว่า ไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 240 นาทีขึ้นไป จะมีสีแดงตามธรรมชาติของฝรั่งแดงสด มีกลิ่นหอมหวานและมีรสหวานของฝรั่งแดงชัดเจนและมีเนื้อสัมผัสที่เรียบเนียนมากกว่าไซรัปฝรั่งแดงที่ภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) จากการเปรียบเทียบปริมาณใยอาหาร ค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติก และสารระเหย ในไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 300 นาทีกับเนื้อฝรั่งแดงสุกตีป่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาลพบว่าไซรัปฝรั่งแดงจะมีปริมาณใยอาหารที่ละลายน้ำ ค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติก และชนิดสารระเหยเพิ่มขึ้น และจากการทดลองใช้ไซรัปฝรั่งแดงที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลด้วยเอนไซม์ต่างกันเป็นส่วนผสมในเยลลี่ พบว่า เยลลี่ที่มีส่วนผสมของไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 240 นาทีขึ้นไป มีคะแนนด้านสี กลิ่นรสฝรั่งแดง ลักษณะเนื้อสัมผัส และการยอมรับโดยรวมสูงกว่าภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$)

ภาควิชา.....เทคโนโลยีชีวภาพ..... ลายมือชื่อนิสิต.....

ปีการศึกษา.....2551..... ลายมือชื่ออ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....

4872451023: MAJOR BIOTECHNOLOGY

KEYWORDS: RED GUAVA/ SYRUP/ ENZYME/ BIOACTIVE COMPOUNDS

WASAWEE THUAYTONG: EFFECTS OF ENZYMATIC EXTRACTION ON FUNCTIONAL COMPOUNDS IN RED GUAVA *Psidium guajava* L.

ADVISOR : ASSOC. PROF. PRANEE ANPRUNG, Ph.D., 117 pp.

The objective of this research was to study the production of red guava (*Psidium guajava* L.) syrup using enzyme processing and the characterization of this syrup. From the selection of the ripeness level, results showed that ripened fruit at 30±2ºC for 7 days had red pulp, fragrant and pleasant flavor and sweet taste significantly higher than other levels ($p \leq 0.05$). Therefore, the red guava at this ripeness level was used as raw material in red guava syrup production. This pulp had total, soluble, and insoluble dietary fiber contents of 4.99, 1.27 and 3.72 g/ 100 g fresh weight (fw), respectively. It was also found that the antioxidant activities, phenolic, flavonoid, lycopene, and ascorbic acid contents were 8.35 µg fw/ µg DPPH or 89.46 µM trolox equivalent/ g fw, 163.36 mg gallic acid equivalent/ g fw, 35.85 mg catechin equivalent/ g fw, 849.58 µg/ g fw and 112 mg/ 100 g fw, respectively. Prebiotic activity scores for *B. lactis* Bb12 of inulin and red guava were 0.35 and 0.29 and *L. acidophilus* La5 of inulin and red guava were 0.19 and 0.13, respectively. A total of 21 volatile compounds were identified by SPME/GC/MS method, and the dominant component of red guava flavor was terpenes. The optimum condition to control browning reaction in red guava pulps was evaluated by varying blanching time during pretreatment (0-5 min for blanching at 70-90ºC). The result showed that browning reaction was controlled when blanching at 80ºC for 5 min. The process conditions (0.25-1% v/w enzyme concentration, 0-240 min hydrolysis time and controlled temperature at 32±2ºC) of red guava syrup treated with Pectinex® Ultra SP-L were studied. The results showed that red guava pulp treated with enzyme concentration of 0.75% and hydrolyzed for 0, 30, 90, 240 and 300 min can be hydrolyzed in five levels different in the amount of reducing sugars (41, 53, 62, 77 and 86 mg glucose/ g fw) released during the treatment. The effect of these treatment conditions on red guava syrup properties showed that syrup at hydrolysis time higher than 240 and 300 min had significantly greater bioactive compounds content than other hydrolysis times ($p \leq 0.05$). The red guava syrup at a hydrolysis time of 240 min had the smallest particle size of 14.67 µm. In addition, red guava syrup at hydrolysis time higher than 240 min also had significantly higher red color, pleasant flavor and smoothness than other hydrolysis times ($p \leq 0.05$). When compare with the homogenized and antibrowning controlled red guava pulp, red guava syrup at 300 min hydrolysis time gave higher in soluble dietary fiber and volatile compounds, but constant in prebiotic activity score. Sensory evaluation on jelly with red guava syrup at hydrolysis time higher than 240 min showed significantly greater scoring in color, red guava flavor, texture, and overall acceptability than other hydrolysis times ($p \leq 0.05$).

Field of Study : Biotechnology Student's Signature : .....

Academic Year : 2008 Advisor's Signature : .....

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร.ปราณี อ่านเปรื่อง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์เป็นอย่างสูง ที่เสนอแนวคิดริเริ่มของงานวิจัยนี้ และได้กรุณาให้คำแนะนำ ข้อคิดเห็น และความช่วยเหลือในทุกด้าน อันเป็นประโยชน์ต่องานวิจัย ตลอดจนปรับปรุงแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆด้วยความเอาใจใส่อย่างดียิ่ง ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ได้ นอกจากนี้ยังได้ให้ความรู้และแนวคิดทางด้านวิชาการ ตลอดจนแนวทางในการดำเนินชีวิต อันเป็นประโยชน์แก่ผู้วิจัยต่อไปในอนาคต

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร.รมณี สงวนดีกุล ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผศ.ดร.ชื่นจิต ประกิตชัยวัฒนา และ ผศ.ดร.สุภัทรา ลิลิตชาญ ที่กรุณาสละเวลามาร่วมเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ กรุณาตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆและให้คำแนะนำอันเป็นประโยชน์ ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.ธวัชชัย ชรินพาณิชกุล และเจ้าหน้าที่ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านเทคโนโลยีอนุภาค คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องวัดขนาดอนุภาค และให้คำแนะนำที่เกี่ยวข้องอันเป็นประโยชน์ต่องานวิจัย

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่หน่วยเครื่องมือกลาง (Central Instrument Facility) คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ได้ให้คำแนะนำและอำนวยความสะดวกในการใช้เครื่อง GC-MS

ขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่และบุคลากร สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพและภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ที่ได้ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกด้านต่างๆตลอดงานวิจัย และขอบคุณเพื่อนปริญญาโท พี่ปริญญาเอก และน้องๆ ทุกคน รวมทั้งเพื่อนสมัยเรียนมัธยมและปริญญาตรี ที่ให้ความช่วยเหลือ ให้คำแนะนำ และให้กำลังใจตลอดมา

ขอขอบคุณ โครงการนวัตกรรมเพื่อยกระดับคุณภาพและความปลอดภัยทางอาหารสู่โครงสร้างเศรษฐกิจยุคใหม่ ทุนวิจัยเงินงบประมาณแผ่นดิน จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ทุนสนับสนุนการทำวิจัยในครั้งนี้

ท้ายสุดนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ขอบคุณพี่สาวและญาติทุกคน ที่คอยเอาใจใส่ ให้ความช่วยเหลือในทุกด้าน และเป็นกำลังใจที่สำคัญยิ่ง รวมทั้งให้การสนับสนุนและส่งเสริมผู้วิจัยจนประสบผลสำเร็จในการศึกษาตลอดมา

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย……	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง……	ฌ
สารบัญภาพ……...	ฏ
บทที่	
1 บทนำ……	1
2 วารสารปริทัศน์……	3
2.1 ฝรั่ง……..	3
2.2 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่พบในเนื้อฝรั่ง…….	9
2.3 สารให้กลิ่นรสในฝรั่งแดง…….	15
2.4 การเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลในผลิตภัณฑ์จากผักและผลไม้…….	15
2.5 การใช้เอนไซม์ในกระบวนการสกัดน้ำผลไม้และสารให้กลิ่นรสจากผลไม้……..	18
3 การดำเนินงานวิจัย……...	26
3.1 ขอบเขตงานวิจัย…….	26
3.2 วัตถุดิบ สารเคมี และอุปกรณ์……	27
3.3 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย……	31
4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง……...	38
4.1 การคัดเลือกระดับความสุกของฝรั่งแดงที่ใช้เป็นวัตถุดิบ……	38
4.2 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารระเหยที่พบในเนื้อฝรั่งแดง……...	40
4.3 ภาวะที่เหมาะสมในการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลในเนื้อฝรั่งแดง……..	46
4.4 ภาวะการผลิตไซรัปฝรั่งแดงด้วยเอนไซม์……..	50
4.5 ลักษณะเฉพาะของไซรัปฝรั่งแดงที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์……..	55
5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ……	68
รายการอ้างอิง……	70
ภาคผนวก……..	83
ภาคผนวก ก วิธีการวิเคราะห์…….	84

หน้า

ภาคผนวก ข แบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส……..…… 101
ภาคผนวก ค เจลลี่ฝรั่งแดง…… 104
ภาคผนวก ง รายละเอียดของเอนไซม์…… 105
ภาคผนวก จ การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ…… 106
ภาคผนวก ฉ รายละเอียดข้อมูลเพิ่มเติม…….. 110
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์……. 117

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	องค์ประกอบทางเคมีของฝรั่ง……	8
2.2	คุณค่าทางโภชนาการของฝรั่งพันธุ์กลมสาลี่ (ต่อ 100 กรัม ในส่วนที่รับประทานได้)……..	8
2.3	ปริมาณไลโคพีนในอาหารชนิดต่างๆ……	11
4.1	สมบัติทางเคมีและกายภาพเบื้องต้นของฝรั่งแดงสุกที่ระดับต่างๆ……..	39
4.2	คะแนนลักษณะทางประสาทสัมผัสของฝรั่งแดงที่ระดับต่างๆ…….……	39
4.3	สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่พบในฝรั่งแดงและฝรั่งขาว……..	41
4.4	เปรียบเทียบจำนวนจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นภายใน 24 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเนื้อฝรั่งแดง ฝรั่งขาว อินนูลินและกลูโคสเป็นองค์ประกอบ……..	43
4.5	ชนิดสารระเหยที่พบในเนื้อฝรั่งแดงและฝรั่งขาว วิเคราะห์ด้วยวิธี SPME/GC/MS……..	45
4.6	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในไซรัปฝรั่งแดงที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ Pectinex® Ultra SP-L ที่ความเข้มข้น 0.75% (v/w) ……..……..	55
4.7	สมบัติทางเคมีและกายภาพของไซรัปฝรั่งแดงที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลด้วยเอนไซม์ต่างกัน.....	58
4.8	คะแนนลักษณะทางประสาทสัมผัสของไซรัปฝรั่งแดงที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลด้วยเอนไซม์ต่างกัน……..……	59
4.9	ผลของการย่อยด้วยเอนไซม์ที่มีต่อปริมาณใยอาหารในไซรัปฝรั่งแดง……..….	60
4.10	เปรียบเทียบจำนวนจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นภายใน 24 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเนื้อฝรั่งแดง ไซรัปฝรั่งแดง อินนูลินและกลูโคสเป็นองค์ประกอบ	61
4.11	ผลของการย่อยด้วยเอนไซม์ที่มีต่อชนิดของสารระเหยในไซรัปฝรั่งแดง ……..	63
4.12	คะแนนลักษณะทางประสาทสัมผัสของเยลลี่ฝรั่งแดง……..	65
4.13	การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญในระหว่างกระบวนการผลิตไซรัปฝรั่งแดง……..	66
จ.1	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าสีในระบบ L* a* b* ของฝรั่งแดงที่ระดับความสุกต่างๆ……	106

ตารางที่ หน้า

จ.2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า pH ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดซิตริก(TA) ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (TSS) และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (RS)ของเนื้อ ฝรั่งแดงที่ระดับความสุกต่างๆ..... 106

จ.3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านสี กลิ่น รส และการยอมรับรวมของฝรั่งแดงที่ระดับความสุกต่างๆ..... 106

จ.4 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นภายใน 24 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเนื้อฝรั่งแดง ฝรั่งขาว อินนูลินหรือกลูโคสเป็นองค์ประกอบ..... 107

จ.5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยความสว่าง (L*) ค่าสีแดง (+a*) และค่าสีเหลือง (+b*) ของฝรั่งแดงตีป่นที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ..... 107

จ.6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (TSS) ค่าสีในระบบ L* a* b* และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (RS) ของไซรัปฝรั่งแดงที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ที่ภาวะต่างๆ..... 107

จ.7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในไซรัปฝรั่งแดงที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ที่ความเข้มข้น 0.75% (v/w)..... 108

จ.8 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (DPPH,FRAP) ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (TPC) ปริมาณฟลาโวนอยด์(FC) ปริมาณวิตามินซี (AAC) ปริมาณไลโคพีน (LP) และขนาดอนุภาค (PS) ของไซรัปฝรั่งแดงที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลด้วยเอนไซม์ต่างกัน..... 108

จ.9 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของคะแนนลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านต่างๆ ของไซรัปฝรั่งแดงที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลด้วยเอนไซม์ต่างกัน 108

จ.10 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของปริมาณใยอาหารทั้งหมด (TDF) ใยอาหารที่ละลายน้ำ (SDF) และใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ (IDF) ในไซรัปฝรั่งแดงกับเนื้อฝรั่งแดง T-test..... 109

จ.11 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นภายใน 24 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อทีมีเนื้อฝรั่งแดง ไซรัปฝรั่งแดง อินนูลิน และกลูโคสเป็นองค์ประกอบ..... 109

ตารางที่		หน้า
จ.12	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของคะแนนลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านต่างๆ ของเยลลี่ฝรั่งแดง.....	109
ฉ.1	ค่า pH และค่าสี L* a* b* ของเนื้อฝรั่งแดงตีป่นที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม.....	111
ฉ.2	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในไซรัปฝรั่งแดงที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ที่ความเข้มข้นและเวลาการย่อยต่างๆ.....	112
ฉ.3	ค่าความสว่าง (L*) ของไซรัปฝรั่งแดงที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ที่ความเข้มข้นและเวลาการย่อยต่างๆ.....	113
ฉ.4	ค่าสีแดง (+a*) ของไซรัปฝรั่งแดงที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ที่ความเข้มข้นและเวลาการย่อยต่างๆ.....	114
ฉ.5	ค่าสีเหลือง (+b*) ของไซรัปฝรั่งแดงที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ที่ความเข้มข้นและเวลาการย่อยต่างๆ.....	115
ฉ.6	ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้(TSS)ในไซรัปฝรั่งแดงที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ที่ความเข้มข้นและเวลาการย่อยต่างๆ.....	116

สารบัญภาพ

รูปที่		หน้า
2.1	ฝรั่ง guava; *Psidium guajava* L.....	4
2.2	กลไกการทำงานของกรดแอสคอร์บิกในการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาล.....	15
2.3	กลไกการเกิดและการควบคุมปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลจากการทำงานของเอนไซม์ PPOด้วยสารรีดิวซ์.....	18
2.4	การจัดเรียงตัวของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และเพคทินในผนังเซลล์.....	19
2.5	สูตรโครงสร้างปฐมภูมิของสารประกอบเพกทิน.....	19
2.6	ปฏิกิริยาของเพคติเนสแต่ละชนิด ลูกศรแสดงตำแหน่งที่เพคติเนสเข้าทำปฏิกิริยากับสารประกอบเพกทิน.....	22
3.1	ขั้นตอนการผลิตไซรัปฝรั่งแดงด้วยเอนไซม์.....	37
4.1	ค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติกในเนื้อฝรั่งแดงและฝรั่งขาวเปรียบเทียบกับอินนูลิน.....	43
4.2	สีเนื้อฝรั่งแดงตีป่นที่ไม่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล เก็บที่อุณหภูมิ 10±2ºC	46
4.3	สีเนื้อฝรั่งแดงตีป่นที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 °C ที่เวลาต่างๆเก็บที่อุณหภูมิ 10±2ºC นาน 10 วัน.....	47
4.4	สีเนื้อฝรั่งแดงตีป่นที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 °C ที่เวลาต่างๆเก็บที่อุณหภูมิ 10±2ºC นาน 10 วัน	47
4.5	สีเนื้อฝรั่งแดงตีป่นที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 °C ที่เวลาต่างๆเก็บที่อุณหภูมิ 10±2ºC นาน 10 วัน	47
4.6	ค่าเฉลี่ยความสว่าง (L*) ของเนื้อฝรั่งแดงตีป่นที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ.....	48
4.7	ค่าเฉลี่ยสีแดง (+a*) ของเนื้อฝรั่งแดงตีป่นที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ.....	49
4.8	ค่าเฉลี่ยสีเหลือง (+b*) ของเนื้อฝรั่งแดงตีป่นที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ.....	49

รูปที่ หน้า

4.9 การเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (TSS) ในไซรัปฝรั่งแดงที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ Pectinex® Ultra SP-L ที่ความเข้มข้นและเวลาการย่อยต่างๆ..... 50

4.10 การเปลี่ยนแปลงค่าสีในระบบ L* a* b* (a) ค่าความสว่าง (L*) (b) ค่าสีแดง (+a*) และ (c) ค่าสีเหลือง (+b*) ของไซรัปฝรั่งแดงที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ Pectinex® Ultra SP-L ที่ความเข้มข้นและเวลาการย่อยต่างๆ..... 53

4.11 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ในไซรัปฝรั่งแดงที่ได้จากการย่อยด้วย Pectinex® Ultra SP-L ที่ความเข้มข้นและเวลาการย่อยต่างๆ..... 54

4.12 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในไซรัปฝรั่งแดงที่ได้จากการเติม Pectinex® Ultra SP-L เพิ่มที่ 300 นาที..... 54

4.13 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในไซรัปฝรั่งแดงที่ได้จากการเติมซับสเตรทเพิ่มที่ 360 นาที 55

4.14 ลักษณะของ (a) เนื้อฝรั่งแดงสุกตีป่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาลเปรียบเทียบกับ(b) ไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 30 นาที (c) 60 นาที (d) 240 นาที (e) 300 นาที..... 59

4.15 ค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติกในฝรั่งแดงเปรียบเทียบกับไซรัปฝรั่งแดงและอินนูลิน..... 62

4.16 ลักษณะของเยลลี่ (a) เนื้อฝรั่งแดง (b) ไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 30 นาที (c) 90 นาที (d) 240 นาที และ (e) 300 นาที..... 65

ก.1 กราฟมาตรฐานของสารละลาย Trolox..... 90

ก.2 กราฟมาตรฐานของสารละลาย Gallic acid..... 91

ก.3 กราฟมาตรฐานของสารละลาย Catechin..... 92

ก.4 กราฟมาตรฐานของสารละลาย Ascorbic acid..... 95

ก.5 กราฟมาตรฐานของสารละลาย Glucose..... 100

ง.1 แอกทิวิตีของเอนไซม์ที่ pH ต่างๆ..... 105

ง.2 แอกทิวิตีของเอนไซม์ที่อุณหภูมิต่างๆ..... 105

บทที่ 1

บทนำ

ฝรั่ง มีถิ่นกำเนิดในเขตร้อนและเขตอบอุ่นของทวีปอเมริกา สามารถปลูกได้ดีในประเทศเขตร้อน ประเทศกึ่งร้อนหรือประเทศที่มีอากาศค่อนข้างอบอุ่น (Adsule และ Kadam, 1995) สำหรับประเทศไทยปลูกได้ในทุกภาค โดยเฉพาะเขตภาคกลาง ได้แก่ นครปฐม ราชบุรี เพชรบุรี สมุทรสาครและสมุทรสงคราม ฝรั่งที่ปลูกในประเทศไทยมีหลายพันธุ์ แต่ที่นิยมใช้รับประทานผลสด ได้แก่ ฝรั่งพันธุ์ที่มีผลใหญ่ ผลดก รสอร่อย เช่น พันธุ์แป้นสีทอง กลมสาลี่ ทูลเกล้า และเวียตนาม นอกจากนี้ยังมีพันธุ์พื้นเมืองต่าง ๆ เช่น พันธุ์อินเดีย พันธุ์จีน เป็นต้น สำหรับฝรั่งที่นำมาใช้แปรรูป ได้แก่ พันธุ์สามสี เบอมองท์ (Beaumount) และคาฮัวลูคา (Kahuakula) เนื่องจากมีสีชมพู เนื้อมาก กลิ่นหอม รสกลมกล่อม ฝรั่งเป็นผลไม้ที่ค่อนข้างจะคุ้นเคยกับชีวิตประจำวันของคนไทย ให้ผลผลิตตลอดทั้งปีและราคาไม่แพง ผลผลิตส่วนใหญ่ใช้บริโภคภายในประเทศ และส่งจำหน่ายต่างประเทศ เป็นผลไม้ที่นิยมบริโภคทั้งผลสดและแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น น้ำฝรั่ง ฝรั่งอบแห้ง และฝรั่งแช่อิ่ม ฝรั่งจัดเป็นผลไม้ที่มีคุณค่าทางอาหารสูงอุดมไปด้วย วิตามินซี วิตามินเอ ใยอาหาร ธาตุเหล็ก แคลเซียม และสารต้านอนุมูลอิสระ ดังนั้น ฝรั่งแดง จึงเป็นผลไม้ที่มีประโยชน์เป็นอย่างมาก สามารถแปรรูปเป็นอาหารที่มีหน้าที่เฉพาะ (functional food) ซึ่งเป็นอาหารที่ให้ประโยชน์ต่อสุขภาพนอกเหนือจากคุณค่าทางโภชนาการพื้นฐาน ส่วนใหญ่เป็นการช่วยลดอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรค เช่น ช่วยลดปริมาณคอเลสเทอรอลในเลือด มีผลต่อการป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง โรคอ้วน โรคเบาหวาน ตลอดจนมีผลต่อการเพิ่มระบบภูมิคุ้มกันให้กับร่างกาย (Benders, 1999; Sanders, 1998) ซึ่งในปัจจุบันมีการให้ความสนใจและมีความต้องการอาหารเพื่อสุขภาพและสารให้กลิ่นรสจากธรรมชาติเพิ่มมากขึ้น เช่น ใช้เป็นส่วนผสมในอาหารเพื่อเพิ่มสีและรสชาติ ใช้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร โดยเฉพาะแนวโน้มการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารในอนาคต นักพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารหลายประเทศต่างสนใจอาหารที่มีหน้าที่เฉพาะกันมากขึ้น เนื่องจากปัญหาทางด้านสุขภาพและโภชนาการของผู้บริโภค ทำให้ผลงานการศึกษาที่เกี่ยวกับสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารให้สี กลิ่นรสจากแหล่งธรรมชาติมีศักยภาพทางการตลาดสูงขึ้น ฝรั่งจึงเป็นผลไม้ที่ได้รับความสนใจอีกชนิดหนึ่งในหลายๆประเทศ จากการเปิดตลาดการค้าเสรีทั่วโลก ทำให้ฝรั่งเป็นสินค้าที่ได้รับความนิยมทั้งในรูปผลไม้สดและผลิตภัณฑ์แปรรูปซึ่งประเทศไทยเป็นประเทศหนึ่งที่ส่งออกผลฝรั่งสดและผลิตภัณฑ์แปรรูปส่งตลาดต่างประเทศ

ฝรั่งแดงสุกประกอบด้วยน้ำ น้ำตาล เซลลูโลส และที่สำคัญ คือ สารเพคติก เมื่อนำเนื้อมาตีปั่นจึงทำให้มีความหนืดสูงและกรองแยกน้ำยาก การผลิตไซรัปฝรั่งแดงโดยการบีบคั้นธรรมดาทำได้ยากและให้ผลผลิตต่ำ การใช้เอนไซม์กับไซรัปฝรั่งแดงเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดของเหลวต่างๆ รวมทั้งสารให้กลิ่นรสและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2547) โดยไม่ต้องผ่านกระบวนการกรองแยกใยอาหารออก ทำให้ไซรัปที่ได้ยังคงองค์ประกอบเดิมของฝรั่งแดงไว้ โดยไซรัปที่ได้จะมีสีแดงตามธรรมชาติของฝรั่งสด ประกอบด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ใยอาหาร และให้กลิ่นรสธรรมชาติที่เป็นเอกลักษณ์ของฝรั่งแดง สามารถใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์อาหารที่มีหน้าที่เฉพาะได้

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษากระบวนการแปรรูปและสารหน้าที่เฉพาะของไซรัปฝรั่งแดง โดยใช้เพคติเนสที่มีชื่อทางการค้าว่า Pectinex ^{TM}Ultra SP-L ช่วยในการสกัด โดยหาภาวะที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ คุณสมบัติของผลิตภัณฑ์ทางด้านกายภาพ ชีวภาพ และการยอมรับทางประสาทสัมผัส เพื่อให้ได้ไซรัปฝรั่งแดงที่มีคุณภาพดี

บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

2.1 ฝรั่ง

ฝรั่ง มีชื่อสามัญ Guava มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Psidium guajava* L. จัดอยู่ในวงศ์ Myrtaceae ถิ่นกำเนิดในประเทศบราซิล แพร่กระจายทั่วไปในประเทศเขตร้อน ตั้งแต่ความสูงจากระดับน้ำทะเลไปจนถึงความสูงประมาณ 2,500 เมตร หรือประเทศเขตกึ่งร้อนที่มีอากาศค่อนข้างอบอุ่น ฝรั่งไม่สามารถทนทานต่อน้ำค้างแข็ง แต่ทนทานได้ดีต่อสภาพน้ำท่วมขังชั่วคราว (Adsule และ Kadam, 1995)

2.1.1 ลักษณะทั่วไปของฝรั่ง

ฝรั่งเป็นไม้ผลที่ทนต่อสภาพความแห้งแล้งได้ดี สามารถขึ้นได้ในดินทุกชนิด สภาพดินควรมีความสมบูรณ์มาก ระบายน้ำได้ดี ดินมีสภาพความเป็นกรดเป็นด่าง 4.5-8.2 มีปริมาณน้ำฝน 1,000-3,000 มิลลิเมตร/ปี ลักษณะต้นฝรั่งเป็นไม้ทรงพุ่มสูงประมาณ 3-5 เมตร จะเริ่มให้ผลเมื่อปลูกได้ประมาณ 1 ปี เริ่มออกดอกจนถึงเก็บผลใช้เวลาประมาณ 4-5 เดือน ผลผลิตประมาณ 170 ผล/ต้น/ ไร่ โดยเฉลี่ยผลละ 300-500 กรัม ฤดูกาลเก็บเกี่ยวปกติอยู่ในช่วงเดือนมีนาคม-พฤษภาคม (มากที่สุด) โดยปกติแล้วฝรั่งจะให้ผลผลิตเกือบตลอดทั้งปี (ไพโรจน์ ผลประสิทธิ์, 2541)

2.1.2 ลักษณะโครงสร้าง (สรัสวดี เผือกสกนธ์, 2531; Ochse และคณะ, 1966)

โครงสร้างทางสัณฐานวิทยาของฝรั่ง (รูปที่ 2.1) มีดังนี้

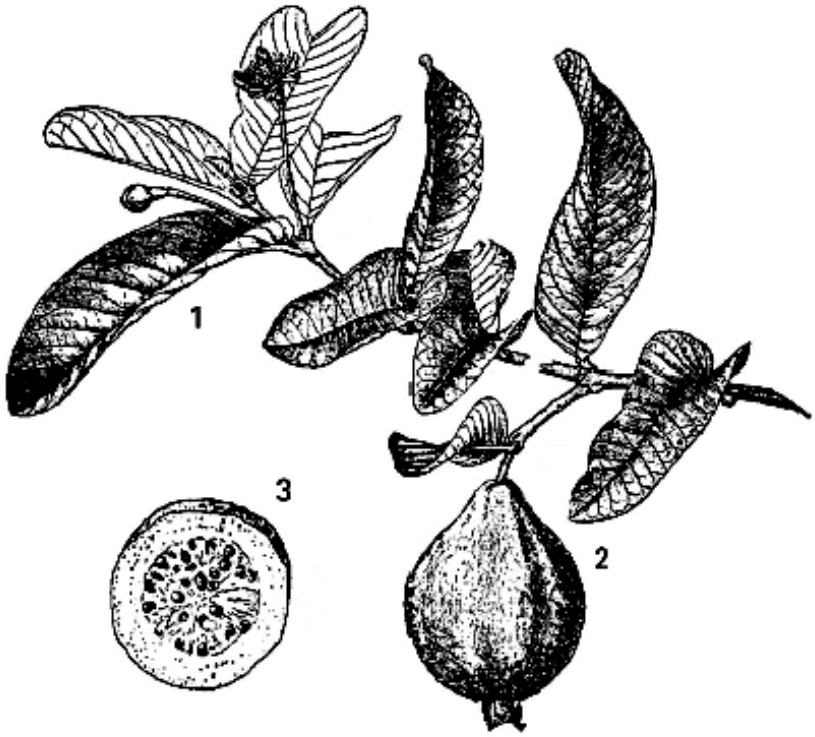
ลำต้น ผิวเปลือกเรียบและแกะออกเป็นแผ่นบางๆ ได้กิ่งอ่อนมีปีกเล็กๆ ทำให้รูปหน้าตัดของกิ่งเป็นรูปสี่เหลี่ยม แต่กิ่งแก่ไม่มีปีก กิ่งอ่อนสีเขียวปนเหลืองหรือแดงเข้ม มีขนปกคลุมหนาแน่น ขนสีขาวแล้วเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลคล้ำ กิ่งแก่สีน้ำตาลปนแดงไม่มีขนปกคลุม แต่มีเซลล์คอร์คกระจายอยู่ทั่วไป

ใบ เรียงแบบตรงข้ามและเกิดใบเป็น 2 แนวหรือแบบตรงข้ามสลับตั้งฉาก ก้านใบยาว 3-10 มิลลิเมตร ด้านบนมีร่องลึกแผ่นใบรูปรีถึงรูปรีค่อนข้างยาว ปลายใบและฐานใบมน ขอบใบเรียบและมีขอบโปร่งใส แผ่นใบยาว 5-15 เซนติเมตร กว้าง 3-7 เวนติเมตร

ดอก เกิดที่ตาข้างมักไม่เกิดที่ตายอด ดอกเดี่ยว หรือ ช่อดอกที่มีจำนวนดอก 2-3 ดอกต่อช่อ ก้านดอกสีเขียวปนเหลือง มีขนอ่อนอยู่หนาแน่น มีใบประดับที่มีขนอ่อนปกคลุม กลีบเลี้ยง 4-6 กลีบ สีเขียวปนเหลือง วงกลีบเลี้ยงไม่หลุดร่วงจนผลแก่ก็ยังคงติดอยู่ กลีบดอก 4-5 กลีบ สี

ขาว รูปไข่กลับ เกสรตัวผู้มีจำนวนมากมาย และแทรกอยู่รอบๆจานวงกลมสีขาว อับเรณูสีเหลืองอ่อน และแตกตามยาว เกสรตัวเมียประกอบด้วยรังไข่ใต้วงกลีบ รังไข่มี 4-5 ช่องเชื่อมติดกัน ก้านเกสรตัวเมียยาวเรียว สีเขียวปนเหลือง ไม่มีขน ยอดเกสรตัวเมียเป็นตุ่มเล็กๆ

ผล แบบผลมีเนื้อหลายเมล็ด รูปกลม รูปไข่ หรือรูปผลสาลี่ ยาว 5-12 เซนติเมตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 5-7 เซนติเมตร ผิวเรียบ สีเขียวอ่อนหรือเหลืองเข้ม เนื้อสีขาว เหลือง ชมพู หรือแดง เนื้อฉ่ำน้ำ ความหนาขึ้นอยู่กับชนิดพันธุ์ กลิ่นหอมรุนแรง รสหวาน เนื้อมักปรากฏเซลล์หินเมล็ด จำนวนมากมาย สีเหลืองอ่อนหรือน้ำตาลปนเหลือง ยาว 0.3-0.5 เซนติเมตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.2-0.3 เซนติเมตร รูปไต เปลือกแข็งมาก คัพภะโค้ง



รูปที่ 2.1 ฝรั่ง guava; *Psidium guajava* L. : 1. กิ่งที่มีใบและดอก 2. กิ่งที่มีใบและผล 3. ผลผ่าตามขวาง ที่มา: (Ochse และคณะ, 1966)

2.1.3 **ชนิดพันธุ์** (สรัสวดี เผือกสกนธ์, 2531)

พันธุ์ฝรั่งแบ่งเป็นกลุ่มตามการใช้ประโยชน์ คือกลุ่มรับประทานผลสด ซึ่งแบ่งเป็นกลุ่มย่อยตามถิ่นเดิมก่อนนำเข้ามาปลูกในประเทศไทย กลุ่มแปรรูป และกลุ่มไม้ประดับ ดังนี้

1. กลุ่มฝรั่งรับประทานผลสด แบ่งออกตามถิ่นเดิม คือ

1.1 ฝรั่งพันธุ์พื้นเมือง มีพันธุ์เดียว คือ พันธุ์ขี้นก เป็นฝรั่งถิ่นเดิมของประเทศไทย ไม่นิยมปลูก แต่แพร่กระจายพันธุ์โดยการถ่ายออกมากับมูลนก มีการเจริญเติบโตช้า ทนทานต่อสภาพแวดล้อมได้ดีมาก ลำต้นแข็งแรง ผลขนาดเล็กมาก ทรงกลม ผิวเรียบ เนื้อสีชมพู เนื้อบาง รสหวานอมเปรี้ยวหรือมีรสฝาดปน เมล็ดจำนวนมากมาย เมล็ดเล็กและแข็ง

1.2 ฝรั่งพันธุ์จีน มีพันธุ์เดียว คือ พันธุ์บางเสาธง หรือ พันธุ์หลวงท่องสื่อ เป็นฝรั่งถิ่นเดิมของประเทศจีน เคยนิยมปลูกบนพื้นที่นาภาคกลางของประเทศไทย ทนทานได้ดีมากต่อสภาพน้ำท่วมขัง ลำต้นแข็งแรง แตกกิ่งก้านสาขาแผ่กว้าง ผลขนาดปานกลางค่อนข้างใหญ่ น้ำหนักผล 300-450 กรัม รูปไข่ค่อนข้างยาว ขั้วผลเรียว ผิวเรียบ สีเขียวจัด ผลสุกสีนวล เนื้อสีขาวนวล หนาปานกลาง กลิ่นหอม รสหวานอมเปรี้ยว รสชาติอร่อย ให้ผลดกมาก

1.3 ฝรั่งพันธุ์เวียดนาม เป็นฝรั่งถิ่นเดิมของประเทศเวียดนาม ทรงต้นแผ่กว้างมาก ลำต้นแข็งแรงมาก ผลขนาดใหญ่ น้ำหนัก 600-1,100 กรัม ผิวขรุขระเล็กน้อย เนื้อหนา กรอบ เมล็ดจำนวนมาก ให้ผลดก แบ่งออกได้หลายพันธุ์ตามรูปร่างลักษณะของผลที่กลายพันธุ์เนื่องมาจากการขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด

1.3.1 พันธุ์กลมสาลี่ ให้ผลดก ปลูกง่าย ให้ผลผลิตเร็วเก็บเกี่ยวได้ตลอดปี ทรงพุ่มสูง 3-5 เมตร กิ่งก้านแผ่กว้าง ใบสีเขียวเข้ม ขอบใบพริ้ว ผลขนาดค่อนข้างใหญ่ น้ำหนัก 300-350 กรัม ผลยาว 8.3 เซนติเมตร กว้าง 10.5 เซนติเมตร ทรงกลมแป้นถึงกลมสูง ปลายผลเรียบ ผิวเรียบถึงขรุขระเล็กน้อย สีเขียวอ่อน เนื้อหนาด้านนอกสีขาวปนเขียว ด้านในสีขาว เนื้อกรอบแน่น ละเอียด ไม่มีกาก รสหวานอมเปรี้ยว มีรสฝาดเล็กน้อย ความหวาน 11.6 องศาบริกซ์ ความแน่นเนื้อ 0.066 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร ผลสุกเนื้ออ่อนนุ่มเป็นทราย ไส้เป็นเนื้อตัน มีกลิ่นหอม เมล็ดขนาดเล็ก จำนวนมาก 200-300 เมล็ด เมล็ดแข็ง สีน้ำตาลอ่อน อายุเก็บเกี่ยว 4-5 เดือนหลังดอกบาน นำเข้าจากประเทศเวียดนามเมื่อปี พ.ศ. 2517

1.3.2 พันธุ์กลมสาลี่สีทอง ทรงพุ่มไม่ใหญ่นัก กิ่งก้านไม่เกะกะ ให้ผลผลิตเมื่อต้นอายุ 6-8 เดือน ให้ผลผลิตสูงและต่อเนื่องนาน 5-6 ปี ผลขนาดปานกลางน้ำหนัก 240-260 กรัม ทรงผลคล้ายพันธุ์สาลี่ ผิวขรุขระเล็กน้อย ผิวสีทอง เมื่อห่อไม่ขาวซีด เนื้อหวานกรอบ ข้างในเป็นปุยคล้ายกระท้อน เมล็ดจำนวนมากมาย

1.3.3 พันธุ์กลมอัมพร ผลกลมคล้ายผลส้มเขียวหวาน เนื้อมาก เมล็ดน้อย นำเข้าจากประเทศเวียดนามเมื่อปี พ.ศ. 2517

1.3.4 พันธุ์แป้นสีทอง กลายพันธุ์มาจากพันธุ์กลมสาลี่ทรงต้นเป็นพุ่มเตี้ย กิ่งก้านค่อนข้างทอดนอน ติดผลดก ต้องควบคุมให้ติดผลเพียงกิ่งละหนึ่งผลติดผลทั้งปี ให้ผลผลิตเมื่อต้นอายุ 8-9 เดือน ผลขนาดใหญ่ประมาณ 1,000 กรัม ทรงกลมแป้นผิวขรุขระกว่าพันธุ์

กลมสาลี่ เนื้อหนา ละเอียด กรอบ รสหวาน เกือบไม่มีเมล็ด คล้ายพันธุ์บางกอกแอปเปิล ได้รับการขึ้นทะเบียนพันธุ์รับรองจากกรมวิชาการเกษตรแล้ว

1.3.5 พันธุ์ยาวเศวต หรือ ศรีวิชัยหนึ่ง ผลขนาดใหญ่มาก เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 15 เซนติเมตร ทรงผลยาว ผิวสีเขียวอ่อนเกือบขาว รสหวาน

1.3.6 พันธุ์กลมทูลเกล้า หรือ ศรีวิชัยสอง ทรงพุ่มสูง 3-5 เมตร กิ่งก้านแผ่ ใบกลม สีเขียวเข้ม ขอบใบเรียบ ผลขนาดใหญ่ น้ำหนัก 300-400 กรัม ผลยาว 12.3 เซนติเมตร กว้าง 9.8 เซนติเมตร ทรงผลคล้ายพันธุ์กลมสาลี่แต่ค่อนข้างกลมมากกว่า ขั้วผลบุ๋มเล็กน้อย ปลายผลเรียบ ผิวผลเรียบ รสหวานเหมือนพันธุ์ยาวเศวต ความหวาน 8.8 องศาบริกซ์ ความแน่นเนื้อ 0.061 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร เมล็ดขนาดเล็ก จำนวน 200-300 เมล็ด ให้ผลผลิตประมาณ 180 ผลต่อต้นต่อปี หรือน้ำหนัก 31 กิโลกรัมต่อต้นต่อปี นำเข้าจากประเทศเวียดนามเมื่อปี พ.ศ. 2517

1.4 ฝรั่งพันธุ์อินเดีย เป็นฝรั่งถิ่นเดิมของประเทศอินเดีย แบ่งออกได้หลายพันธุ์ ทั้งมีเมล็ดและไร้เมล็ด ดังนี้

1.4.1 พันธุ์ผลกลม ผลขนาดปานกลาง ทรงค่อนข้างกลม ผิวสีเขียว เนื้อสีชมพู เนื้อกรอบ รสหวาน ให้ผลดก

1.4.2 พันธุ์ผลรูปสาลี่ (Karela) ผลขนาดใหญ่ ทรงคล้ายผลสาลี่ ผิวเรียบ เนื้อหนา กรอบ รสหวานอมเปรี้ยวเล็กน้อย ให้ผลดกปานกลาง

1.4.3 พันธุ์ลัคเนาว์เบอร์ 16 ผลขนาดใหญ่ เนื้อหนา กรอบ รสหวานอมเปรี้ยวเล็กน้อย มีเมล็ด ให้ผลดก

1.4.4 พันธุ์อาลาฮามัด ผลขนาดค่อนข้างใหญ่ ผิวค่อนข้างขรุขระ เนื้อหนา กรอบ รสหวานอมเปรี้ยว

1.4.5 พันธุ์อินเดียค่อม ทรงพุ่มสูงประมาณ 2 เมตร ให้ผลครั้งแรกเมื่อต้นอายุ 8-9 ปี ผลขนาดเล็ก เส้นผ่าศูนย์กลาง 5-6 เซนติเมตร ทรงรูปไข่ค่อนข้างยาว ผลอ่อนสีเขียวอ่อน ผลสุกสีเหลืองอ่อน เนื้อหนาปานกลาง เมล็ดเล็กและแข็ง

1.4.6 พันธุ์อีแห้ว (Globe's Own) ลำต้นแข็งแรงมาก และกิ่งก้านแผ่กว้าง ให้ผลไม่ดก ผลขาดเล็กหรือปานกลาง เส้นผ่าศูนย์กลาง 5-7 เซนติเมตร ผิวค่อนข้างขรุขระ เนื้อหนามาก กรอบ รสหวานไม่เปรี้ยวเลย ไม่มีเมล็ด หรือมีเพียงผลละ 4-5 เมล็ด

1.5 ฝรั่งพันธุ์อินโดนีเซีย มีพันธุ์เดียว คือ พันธุ์สาลี่ทอง หรือ Indonesian Seedless เป็นฝรั่งไร้เมล็ด ต้นคล้ายพันธุ์กลมสาลี่ กิ่งมักหักง่าย เพราะผลดกและผลขนาดใหญ่ ให้ผลผลิตเมื่อต้นอายุ 8-10 เดือน ผลขนาดใหญ่ น้ำหนัก 330-350 กรัม ทรงผลคล้ายพันธุ์

กลมสาลี่ ผิวไม่เรียบเป็นปุ่มเล็กน้อย ผลแก่จัดผิวสีเหลืองทอง เนื้อแน่น กรอบ รสหวานอมเปรี้ยวเล็กน้อย ไม่มีไส้ ไม่มีเมล็ด

1.6 ฝรั่งพันธุ์ลูกผสม

1.6.1 พันธุ์บางกอกแอปเปิล เป็นลูกผสมระหว่างพันธุ์อีแห้วเป็นต้นแม่กับชพันธุ์กลมสาลี่เป็นต้นพ่อ ผสมโดยคุณดำรงศักดิ์ วิริยะศิริ ผลขนาดใหญ่คล้ายพันธุ์กลมสาลี่ น้ำหนัก 800-1,100 กรัม ยาว 13 เซนติเมตร ทรงกลมคล้ายผลแอปเปิล ผิวสีเขียวอ่อน เนื้อหนา กรอบ แน่นทั้งผล รสหวานอมเปรี้ยวเล็กน้อย ไม่มีเมล็ดคล้ายพันธุ์อีแห้ว ข้อดี คือ ผลสุกช้าเพราะไม่มีเมล็ด ผลสุกเนื้อไม่เละ กิ่งก้านแข็งแรงและไม่โน้มเหมือนฝรั่งเวียดนาม จึงรับน้ำหนักผลขนาดใหญ่ได้ดี ข้อเสีย คือ ติดผลยาก ทำให้ไม่มีชื่อเสียงเท่าที่ควร

1.6.2 พันธุ์ฝรั่งแดงบางกอก เป็นลูกผสมระหว่างพันธุ์แดงทับทิมสยามเป็นต้นแม่ กับ พันธุ์แป้นสีทองเป็นต้นพ่อ ผสมโดยคุณดำรงศักดิ์ วิริยะศิริ ต้นและใบสีแดงตามพันธุกรรมของพันธุ์แดงทับทิมสยามซึ่งเป็นลูกของฝรั่งประดับจากประเทศฟิลิปปินส์ ที่มีต้น ใบ และผลสีแดง ลูกผสมที่ได้มีขนาดใหญ่ เนื้อหนา แข็งกรอบ

1.6.3 พันธุ์ฝรั่งสามสี เป็นลูกผสมระหว่างพันธุ์แดงทับทิมสยามเป็นต้นแม่ กับ พันธุ์แป้นสีทองเป็นต้นพ่อ ผสมโดยคุณดำรงศักดิ์ วิริยะศิริ ต้นแลพใบสีเขียว ลูกผสมที่ได้มีผลที่มีเนื้อสีชมพูปนแดง เนื้อแน่น กรอบ

2. กลุ่มฝรั่งแปรรูป เป็นฝรั่งนำเข้า มี 2 พันธุ์ คือ พันธุ์โบมองต์ (Beaumont) และพันธุ์คาฮัวคูลา (Kahuakula) มีลำต้นแข็งแรง กิ่งก้านสาขาแผ่กว้าง ให้ผลดก ผลขนาดปานกลาง รูปร่างกลม ผิวเรียบ เนื้อสีชมพู เนื้อไม่แน่น ฉ่ำน้ำมาก กลิ่นหอม

3. กลุ่มฝรั่งประดับ เป็นฝรั่งที่นิยมปลูกเพื่อเป็นไม้ประดับเท่านั้น มี 2 พันธุ์ คือ

3.1 พันธุ์ใบเล็ก ทรงพุ่มขนาดเล็ก ใบขนาดเล็ก ใบแคบ ดอกสีขาว ผลขนาดเล็กมาก ผิวสีเขียวเข้ม ผิวเรียบ เนื้อบาง

3.2 พันธุ์จิ๋วใบจีบ ทรงพุ่มขนาดเล็ก ใบขนาดเล็ก ใบแคบและเป็นจีบ สีเขียวจาง ผลขนาดเล็กมาก ผลกลม ผิวเรียบ เนื้อบาง

2.1.4 **องค์ประกอบของฝรั่ง**

องค์ประกอบหลักที่พบในฝรั่งคือ คาร์โบไฮเดรตประมาณร้อยละ 6-11 ของน้ำหนักผลสด ซึ่งประกอบด้วยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวเป็นส่วนใหญ่ ฝรั่งเป็นผลไม้ที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง โดยเฉพาะวิตามินซีและวิตามินเอ ตารางที่ 2.1 และ 2.2 แสดงองค์ประกอบทางเคมีและคุณค่าทางโภชนาการของฝรั่ง

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบทางเคมีของฝรั่ง

องค์ประกอบ	ปริมาณ
ความชื้น (%)	77.9-86.9
เถ้า (%)	0.51-1.02
ไขมัน (%)	0.10-0.70
โปรตีน (%)	0.82-1.45
เส้นใย (%)	2.0-7.2
น้ำตาล	
น้ำตาลรีดิวซ์ (%)	2.1-6.1
น้ำตาลนอนรีดิวซ์ (%)	1.0-4.5
ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (°Brix)	8.0-12.4
กรดในรูปกรดซิตริก (%)	0.08-2.20
ค่าความเป็นกรดด่าง	4.1-5.4

ที่มา: Adsule และ Kadam (1995)

ตารางที่ 2.2 คุณค่าทางโภชนาการของฝรั่งพันธุ์กลมสาลี่ (ต่อ 100 กรัมในส่วนที่รับประทานได้)

คุณค่าทางโภชนาการ	ปริมาณ
พลังงาน (แคลอรี)	34.00
ความชื้น (%)	89.00
โปรตีน (กรัม)	0.60
ไขมัน (กรัม)	0.10
คาร์โบไฮเดรท (กรัม)	7.80
แคลเซียม (มิลลิกรัม)	2.00
ฟอสฟอรัส (มิลลิกรัม)	12.00
เหล็ก (มิลลิกรัม)	0.40
เบต้า-แคโรทีน (มิลลิกรัม)	21.00
ธัยอะมีน (มิลลิกรัม)	0.05
ไรโบฟลาวิน (มิลลิกรัม)	0.11
ไนอะซีน (มิลลิกรัม)	1.30
วิตามินซี (มิลลิกรัม)	187.00

แหล่งที่มา : http://202.44.14.219/thaiherbkmutt/info.php?id=74

2.1.5 การใช้ประโยชน์จากฝรั่งในประเทศไทย

ฝรั่งเป็นผลไม้ที่สามารถใช้ประโยชน์ได้หลายด้าน ส่วนใหญ่นิยมรับประทานเป็นผลและแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ รวมถึงการใช้ประโยชน์ในด้านสมุนไพร ผลฝรั่งอ่อนมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย สาเหตุท้องเสีย ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย สาเหตุของโรคไทฟอยด์ ผลฝรั่ง พบแทนนิน มีรสฝาด ใช้แก้อาการท้องเสีย วิตามินซีช่วยป้องกัน โรคเลือดออกตามไรฟันและยังช่วยรักษาโรคเหงือกได้เป็นอย่างดี (ชิดพงษ์ กวีวรวุฒิ, 2544; ถนอมจิต สุภาวิตา, 2545)

2.2 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่พบในเนื้อฝรั่ง

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive compounds) คือ สารจากสิ่งมีชีวิตตามธรรมชาติที่มีผลต่อสิ่งมีชีวิตทั้งคน สัตว์ และพืช สารพวกนี้ไม่ได้จัดอยู่ในกลุ่มสารอาหาร เช่น สารต้านอนุมูลอิสระ ช่วยลดปริมาณคอเลสเทอรอลในเลือด ป้องกันการเกิดโรคอ้วน โรคเบาหวาน ตลอดจนมีผลต่อการเพิ่มระบบภูมิคุ้มกันให้กับร่างกาย เป็นต้น ซึ่งสารนั้นจะต้องไม่มีผลทางลบต่อร่างกาย หรือมีผลข้างเคียงน้อยมาก เพราะเมื่อสารนั้นถูกนำมาแปรรูปให้เป็นส่วนประกอบของอาหารหรือยา ย่อมไม่ต้องการให้มีผลกับร่างกาย ยกเว้น เชื้อโรค หรือเซลล์มะเร็งที่เราต้องการขจัดเท่านั้น (Kinsella และคณะ, 1993; Helmja และคณะ, 2007) สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสำคัญที่พบในฝรั่งแดงสามารถแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ๆ ดังนี้

2.2.1 สารกลุ่มที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

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

อาศัยจากทั้งสองหลักการในการวิเคราะห์ (Prior, Wu และ Schaich, 2005) สารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสำคัญที่พบในฝรั่งแดง ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก ไลโคพีนและวิตามินซี

2.2.1.1 สารประกอบฟีนอลิก

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

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

ข. เป็นสารต้านออกซิเดชันโดยหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ โดยทำหน้าที่ให้อิเล็กตรอนหรือไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระ ได้อนุมูลของสารประกอบฟีนอลที่มีความเสถียร

ค. ทำหน้าที่เปลี่ยนรูปวิตามินอีกลับมาใหม่ โดยจะรีดิวซ์อนุมูลของวิตามินอีกลับเป็นวิตามินอีเหมือนเดิม ทำให้วิตามินอีสามารถทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ต่อไป

Mahattanatawee และคณะ (2006) รายงานว่า เนื้อฝรั่งมีสารประกอบฟีนอลปริมาณ 2316-1589 μg GA/ g puree และมีสารประกอบฟีนอลชนิดหลักๆ ได้แก่ ฟลาโวนอยด์และแทนนิน (Seshadri และ Vasishta, 1964; Misra และ Seshadri, 1968)

2.2.1.2 ไลโคพีน

ไลโคพีนเป็นสารอนุพันธุ์ในกลุ่มแคโรทีนอยด์กลุ่มเดียวกันกับ เบต้า-คาโรทีน มีโครงสร้างทางเคมีแบบ unsaturated hydrocarbon ประกอบด้วย พันธะคู่แบบ conjugated 11 คู่ และ unconjugated 2 คู่ ซึ่งเป็นสารให้สีเหลือง ส้มและแดงในผลไม้ เช่น ฝรั่งแดง กรปฟรุ๊ต แอพริคอท ส้ม แตงโม มะละกอ และส่วนใหญ่พบในมะเขือเทศ เป็นต้น (Ishida และ Chapman, 2004)

สารไลโคพีน มีโครงสร้างทางเคมีที่มีพันธะคู่มากทำให้ง่ายต่อการเกิดปฏิกริยากับสารอนุมูลอิสระที่เป็นสารอนุพันธ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน ที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคมะเร็งต่างๆ เช่น มะเร็งทรวงอก มะเร็งปอด มะเร็งต่อมลูกหมาก ลดปัญหาการอุดตันของเส้นเลือดแดง เนื่องจากไลโคพีนไปช่วยเพิ่มปริมาณ LDL cholesterol ในกระแสเลือดโดยไปลดปฏิกิริยาออกซิเดชัน และยังถูกนำมาศึกษาในการเป็นวัคซีนต่อต้านไวรัส HIV และไวรัสตับอักเสบชนิดบีด้วย จากการศึกษาในชายจำนวน 48,000 คน พบว่ารับประทานซอสมะเขือเทศอย่างน้อยสัปดาห์ละ 2 ครั้ง (ปริมาณไลโคพีน 19 mg/day) มีภาวะเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งต่อมลูกหมากน้อยกว่าคนปกติ 16 % (Clinton, 1988) ในการทานอาหารเพื่อให้ได้สารไลโคพีนนั้น จำเป็นต้องนำฝรั่งแดงมาผ่านกระบวนการให้ความร้อน เนื่องจากในธรรมชาติโครงสร้างของสารดังกล่าวจะจับตัวกับสาร

โปรตีน และสามารถแยกตัวออกได้ด้วยความร้อน ซึ่งปริมาณไลโคพีนในตารางที่ 2.3 อาหารที่ผ่านความร้อนจะมีปริมาณไลโคพีนมากกว่า (Clinton, 1988; Ishida และ Chapman, 2004)

ตารางที่ 2.3 ปริมาณไลโคพีนในอาหารชนิดต่างๆ

Food	Lycopene Content (mg/100g wet weight)
Apricot, dried	0.86
Grapefruit, raw pink	3.36
Guava, fresh	5.40
Guava, juice	3.34
Papaya, fresh	2.00-5.30
Tomatoes, fresh	0.88-4.20
Tomato sauce	6.20
Tomato paste	5.40-150.0
Tomato soup, condensed	7.99
Tomato powder, dry or spray dried	112.63-26.49
Tomato juice	5.00-11.60
Sun-dried tomato in oil	46.50
Water melon fresh	2.30-7.20

ที่มา: Clinton (1988)

2.2.1.3 วิตามินซี

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

2.2.2 ใยอาหาร (dietary fiber)

ใยอาหาร (dietary fiber) หมายถึง กลุ่มของคาร์โบไฮเดรตที่ได้จากพืช เป็นส่วนประกอบที่ไม่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ เช่น เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส กัม เพกทิน และลิกนิน เป็นต้น (Holm, 2003) ใยอาหารมีผลต่อระบบสรีรวิทยาของร่างกายหลายด้าน เช่น ลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด ลดระดับน้ำตาล ลดอัตราเสี่ยงการเป็นโรคหัวใจ ลดความอ้วน ป้องกันมะเร็ง ปรับปรุงหน้าที่ของลำไส้ใหญ่ และลดระดับการนำไปใช้ประโยชน์ของสารอาหาร (Fahey, Beverly และ Rusell, 1999) ใยอาหารแบ่งตามการละลายน้ำได้เป็น 2 ประเภท ดังนี้

2.2.2.1 **ใยอาหารที่ละลายน้ำ** (soluble dietary fiber) พบในถั่วบางชนิด ผลไม้ และธัญพืช เช่น ข้าวโอ๊ต ข้าวบาร์เลย์ ใยอาหารชนิดนี้ ถึงแม้จะละลายน้ำได้โดยอยู่ในรูปเจล แต่จะไม่ถูกย่อยโดยเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหารของสัตว์กระเพาะเดี่ยว (Gorinstein และคณะ, 1999; ศศิธร พรหมเมตจิต, กนกวรรณ เตียงธวัช และ ชลทิพา ธนะปุระ, 2534) ได้แก่

ก. กัม เป็นสารประกอบที่มีโมเลกุลของน้ำตาลจำนวนมาก และในหมู่โมเลกุลน้ำตาลบางหมู่มีกลุ่มกรดยูโรนิค ไม่มีโครงสร้างทางเคมีที่แน่นอนสำหรับกัม และกัมบางชนิดก็ไม่ละลายน้ำ

ข. เพกทิน เป็นสารประกอบที่มีโมเลกุลของน้ำตาลจำนวนมาก และในหมู่โมเลกุลของน้ำตาลจำนวนมาก และในหมู่โมเลกุลของน้ำตาลบางหมู่ที่มีกลุ่มเมทิล และกลุ่มกรดยูโรนิค เพกทินบางชนิดไม่ละลายน้ำ เพกทินพบมากในผนังเซลล์พืช ทำหน้าที่ยึดเซลล์ให้เชื่อมติดต่อกัน

ค. มิวซิเลจ เป็น heteropolysaccharide ที่พืชสะสม ถูกหลั่งในเอนโดสเปิร์มของพืชเพื่อทำหน้าที่ป้องกันการเสียน้ำมากเกินไป โซ่โมเลกุลหลัก ประกอบด้วย น้ำตาล กาแลกโทส-แมนโนส กลูโคส-แมนโนส อะราบิโนส-ไซโลส กรดกาแลกทูโรนิก-แรมโนส โดยมีน้ำตาลกาแลกโทส เป็นโซ่ด้านข้าง ซึ่งมิวซิเลจนั้นมีลักษณะโครงสร้างใกล้เคียงกับกัม ได้มีนักวิจัยพยายามแยกกลุ่มของมิวซิเลจและกัมออกจากกัน โดยที่ให้มิวซิเลจเป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่พบในส่วนต่างๆ ของพืช มีหน้าที่ในการเป็นอาหารสำรองหรือกักเก็บน้ำ ส่วนกัมเป็นผลิตภัณฑ์ที่ไหลซึมออกมาภายหลังจากที่พืชเกิดบาดแผลเพื่อป้องกันจุลินทร์ที่จะเข้าไปรบกวนบาดแผล

2.2.2.2 **ใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ** (insoluble dietary fiber) พบในรำธัญพืชต่างๆ เช่น รำข้าวสาลี และถั่วต่างๆ โดยเฉพาะถั่วเปลือกแข็ง ซึ่งแบคทีเรียในลำไส้สามารถย่อยเส้นใยอาหารเหล่านี้ได้บางส่วน เส้นใยกลุ่มนี้จะช่วยเพิ่มปริมาณกากในลำไส้ใหญ่ และช่วยลดอาการท้องผูก (Prosky และ de Vries, 1991; ศศิธร พรหมเมตจิต, กนกวรรณ เตียงธวัช และ ชลทิพา ธนะปุระ, 2534) ได้แก่

ก. เซลลูโลส เป็นส่วนประกอบสำคัญของผนังเซลล์พืช ประกอบด้วยโมเลกุลของกลูโคสเป็นจำนวน 1,000 โมเลกุล คล้ายกับแป้ง (starch) แต่ไม่ถูกย่อยโดยเอนไซม์ ในระบบทางเดินอาหารของสัตว์กระเพาะเดี่ยว

ข. เฮมิเซลลูโลส เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์พืช ประกอบด้วยโมเลกุลของน้ำตาลเชิงเดี่ยว (monosaccharide) ชนิดต่างๆ ตั้งแต่สองชนิดขึ้นไปเป็นจำนวน 100 โมเลกุลที่มีคุณสมบัติในการละลายเหมือนกัน คือ ละลายได้ในสารละลายด่าง น้ำตาลเชิงเดี่ยวนี้แบ่งได้เป็น 2 ชนิดคือ เพนโทแซนส์ (pentosans) และ เฮกโซแซนส์ที่ไม่ใช่เซลลูโลส (non cellulose hexosans) น้ำตาลเชิงเดี่ยวที่พบมากในเฮมิเซลลูโลสคือ ดี-ไซแลนส์ (D-xylans)และ ดี-กลูโค-ดีแมนแนนส์ (D-gluco-D-mannans) และมี side chain เป็นน้ำตาลเชิงเดี่ยวชนิดอื่นๆ เช่น แอล-อะราบิโนส์ (L-arabinoses)

ค. ลิกนิน เป็นสารประกอบเชิงซ้อนของแอลกอฮอล์ที่พืชผลิตเมื่อแก่ขึ้น ทำให้ส่วนต่างๆ ของพืชมีโครงสร้างที่แข็งแรง เช่น เปลือกนอกของธัญพืช ซึ่งถูกทำลายในกระบวนการขัดสี ส่วนประกอบของใยอาหารในอาหาร จะขึ้นอยู่กับ อายุ พันธุ์พืช และส่วนต่างๆ ของพืช

2.2.3 สารกลุ่มพรีไบโอติก

พรีไบโอติก คือ สารหรือองค์ประกอบที่ไม่ถูกย่อยในทางเดินอาหาร มีประโยชน์ คือ ช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตอย่างจำเพาะต่อจุลินทรีย์สุขภาพ หรือ โพรไบโอติกในระบบทางเดินอาหารพรีไบโอติกบางชนิดมีตำแหน่งจับจำเพาะสำหรับจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค (pathogenic bacteria) เช่น ***Salmonella*** และ ***E.coli*** ซึ่งต่อมาจะถูกกำจัดออกจากระบบทางเดินอาหารไปกับอุจจาระ ในขณะที่พรีไบโอติกชนิดอื่นๆก็กระตุ้นการเจริญของโพรไบโอติก เช่น ***Lactobacilli*** และ ***Bifidobacteria*** โดยการเป็นแหล่งอาหารให้กับแบคทีเรียทำให้ลำไส้เกิดความสมดุลและยังช่วยเพิ่มการนำสารอาหารไปใช้ด้วย (Álvarez และ Sánchez, 2006; Reyed, 2007)

2.2.3.1 ชนิดของพรีไบโอติก (Roberfroid และ Delzenne, 1998)

ก. อินนูลิน เป็นสารที่จัดอยู่ในกลุ่ม Fructan (กลุ่มที่เป็นพอลิเมอร์ฟรุกโตสซึ่งมีกลูโคสที่ปลายสายของโมเลกุล) มีพันธะ ß (2-1) ระหว่างฟรุกโตสแต่ละหน่วย มีความยาวของสาย ตั้งแต่ 2-60 ความยาวของสายจะแตกต่างกันไปตามแหล่งที่มาของพืช อากาศ ระยะเวลาการเก็บเกี่ยว และภาวะหลังการเก็บเกี่ยว สามารถพบได้ในพืชหลายชนิด

ข. โอลิโกฟรุกโตส ได้มาจากการใช้เอนไซม์มาไฮโดรไลซ์โมเลกุลอินนูลิน มีความยาวของสาย ตั้งแต่ 2-10 มีความหวานประมาณ 30-60% ของน้ำตาลซูโครส

ค. ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ เป็นพอลิเมอร์ฟรุกโตสซึ่งมีกลูโคสที่ปลายสายของโมเลกุล มีความยาวของสาย น้อยกว่า 5 ส่วนใหญ่ได้มาจากการหมักโดยธรรมชาติของน้ำตาลจากต้นอ้อย

2.2.3.2 **ประโยชน์ของพรีไบโอติก** (Gibson และ Roberfroid, 1995; Reddy, Hamid และ Rao, 1997; ธารารัตน์ *ศุภศิริ*, 2542)

- พรีไบโอติกจะไม่ถูกย่อยสลายและดูดซึมในลำไส้เล็ก แต่จะผ่านไปที่ลำไส้ใหญ่และช่วยเสริมให้มีการเพิ่มจำนวนของโพรไบโอติกให้เกิดภาวะสมดุลในระบบทางเดินอาหาร ช่วยให้ระบบขับถ่ายดี ไม่สะสมสารพิษไว้ตามผนังลำไส้ จึงช่วยให้ร่างกายมีภูมิต้านทานดี มีกลไกช่วยป้องกันมะเร็งในลำไส้ใหญ่

- พรีไบโอติกทำหน้าที่ช่วยเพิ่มการดูดซึมแร่ธาตุแคลเซียม แมกนีเซียม สังกะสี เหล็ก และฟอสเฟต ทำให้เพิ่มความหนาแน่นของมวลกระดูก ป้องกันการเกิดโรคกระดูกพรุน

- พรีไบโอติกจะทำหน้าที่กระตุ้นการทำงานของ ***Bifidobacteria*** และ ***Lactobacillus*** ในลำไส้ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย โดยจะช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโทษ กระตุ้นภูมิคุ้มกันของร่างกาย และช่วยในการดูดซึมไอออน และวิตามิน B_2

- ช่วยลดระดับไตรกีเซอไรด์และลดปริมาณคอเลสเตอรอลในเลือดนำไปสู่การป้องกันและบำบัดโรคต่างๆได้ เช่น ภาวะไขมันในเลือดสูง ภาวะหลอดเลือดแดงแข็ง โรคความดันโลหิตสูง โรคหัวใจขาดเลือด

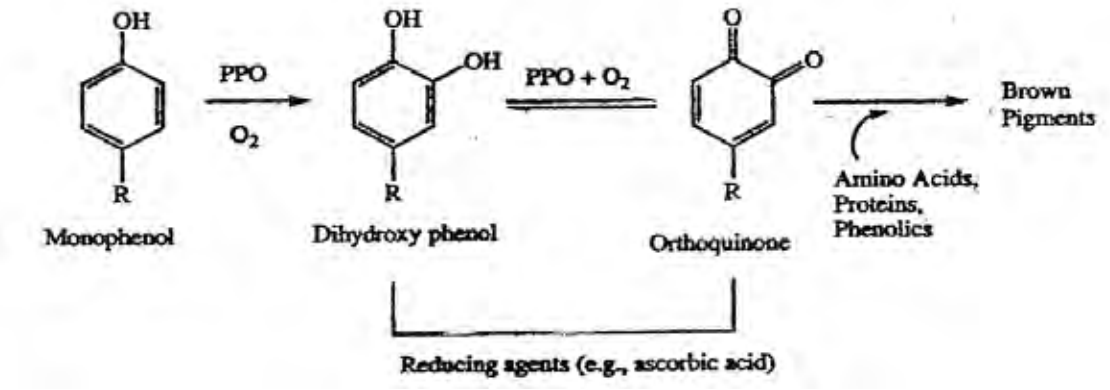
คาร์โบไฮเดรตที่เป็นสารพรีไบโอติก เช่น อินนูลิน โอลิโกฟรุกโตส และ ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ ถือว่าเป็นสารที่ส่งผลดีต่อร่างกายมนุษย์ เนื่องจากจะช่วยส่งเสริมกิจกรรม และการเจริญของแบคทีเรียที่เป็นจุลินทรีย์สุขภาพ เช่น ***Lactobacilli*** และ ***Bifidobacteria*** สายพันธุ์ต่างๆ และช่วยจำกัดจำนวนแบคทีเรียอื่นๆในลำไส้ใหญ่ (Gibson และRoberfroid, 1995) แต่เนื่องจากคาร์โบไฮเดรตที่เป็นสารพรีไบโอติกแต่ละชนิด จะส่งผลต่อจุลินทรีย์สุขภาพแตกต่างกัน ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการตรวจวัดค่าความสามารถ หรือค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติก โดยดูจากประชากรจุลินทรีย์ อัตราการเจริญ ปริมาณซับสเตรตที่ลดลง หรือปริมาณกรดไขมันสายสั้นที่ถูกสร้างขึ้น อย่างไรก็ตามค่าค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติกที่ได้จะขึ้นกับสายพันธุ์ของจุลินทรีย์สุขภาพด้วย

2.3 สารให้กลิ่นรสในเนื้อฝรั่ง

ฝรั่งเป็นผลไม้ที่มีกลิ่นรสเฉพาะ กลิ่นหอมหวาน โดยกลิ่นส่วนใหญ่ได้มาจากส่วนเนื้อฝรั่ง (Gow และ Hsin, 1999) กลิ่นฝรั่งประกอบด้วยสารระเหย ได้แก่ ไฮโดรคาร์บอน เช่น α-pinene, β-caryophellene แอลกอฮอล์ เช่น hexanol, terpineol, cis-3-hexenol เอสเทอร์ เช่น ethyl acetate, cis-hexenyl acetate เป็นต้น (Pino, Marbot และ Vasquez, 2001) จากการศึกษาของ MacLeod และ Troconis, (1982) พบกลุ่มสารให้กลิ่นหลักของฝรั่งเวเนซูเอราได้แก่ 2-methylpropyl acetate, hexyl acetate และ benzaldehyde และงานวิจัยของ Pino, Marbot และ Vasquez, (2002) พบกลุ่มสารให้กลิ่นหลักของฝรั่งคอสตาริก้า ได้แก่ α -pinene, β-caryophyllene, α-terpineol, α -selinene, β-selinene, δ-cadinene, 4,11-selinadiene, และ α -copaene

2.4 การเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลในผลิตภัณฑ์จากผักและผลไม้

การเกิดสีน้ำตาลในผลิตภัณฑ์จากผักและผลไม้ ส่วนใหญ่เกิดจากปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่เร่งด้วยเอนไซม์ โดยเกิดขึ้นกับเนื้อเยื่อพืชเมื่อเซลล์ถูกทำลายทางกล เช่น การปอกเปลือกหรือการหั่นชิ้น ทำให้เกิดปฏิกิริยาของสารประกอบโมโนฟีนอลที่อยู่ในเซลล์พืชสัมผัสกับออกซิเจนในอากาศและมีเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดส (PPO) ทำให้เกิดปฏิกิริยาไฮดรอกซิเลชันได้เป็นออร์โท-ไดฟีนอล (o-diphenol) สารนี้จะถูกออกซิไดส์ต่อให้เป็นออร์โท-ควิโนน (o-quinone) เอนไซม์ PPO อาจมีชื่อเรียกว่า พอลิฟีนอลเลส ฟีนอเลส ไทโรซิเนส ออร์โท-ไดฟีนอลออกซิเดส (o-diphenol oxidase) หรือแคตีคอลออกซเดส (catechol oxidase) ควิโนนที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาที่เร่งด้วยเอนไซม์ PPO นี้ จะรวมตัวกันและเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดกับสารประกอบฟีนอลอื่นๆหรือกับกรดอะมิโนได้เป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำตาล (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2545; Supers, 1993) ดังแสดงในรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.2 กลไกการทำงานของกรดแอสคอร์บิกในการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาล ที่มา : Miller (1998)

2.4.1 การควบคุมปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลในผลิตภัณฑ์จากผักและผลไม้

ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่เร่งด้วยเอนไซม์เมื่อเกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์จากผักและผลไม้ จะทำให้สีเปลี่ยนไปและยังทำให้รสชาติของผลิตภัณฑ์บางชนิดเปลี่ยนแปลงไปด้วย ผลิตภัณฑ์จึงมีคุณภาพลดลงไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค การควบคุมไม่ให้เกิดปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่เร่งด้วยเอนไซม์นี้ทำได้หลายวิธี (Lee และ Whitaker, 1995) เช่น

(1) การใช้ความร้อน

การให้ความร้อนกับผักและผลไม้ เช่น การลวกด้วยไอน้ำ เป็นการช่วยควบคุมหรือยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ PPO เนื่องจากความร้อนทำให้เอนไซม์ซึ่งเป็นโปรตีนเกิดการเสียสภาพ ทั้งนี้เอนไซม์ PPO ในผักและผลไม้ชนิดต่างชนิดกัน จะมีเสถียรภาพต่อความร้อนแตกต่างกัน ดังนั้นจึงต้องใช้อุณหภูมิและเวลาในการให้ความร้อนต่างกัน เอมไซม์ PPO จะถูกทำลายอย่างสมบูรณ์ที่อุณหภูมิ 85 °C ขึ้นไป ดังนั้นจึงไม่จำเป็นต้องใช้อุณหภูมิสูงถึง 100 °C ในการทำลายเอนไซม์ PPO และควรมีการศึกษาอุณหภูมิและระยะเวลาที่เหมาะสมในการทำลายเอนไซม์ในผักหรือผลไม้แต่ละชนิด และภายหลังการลวกแล้วต้องทำให้ผักและผลไม้เย็นลงอย่างรวดเร็วเพื่อรักษาคุณภาพของอาหารไว้ให้ดีที่สุด (Lee, 1992)

Galeazzi, Sgarbieri และ Constantinides (1981) ได้ทำการแยกเอนไซม์ PPO จากกล้วยหอมเขียวค่อม (Dwarf Cavendish) และนำมาทำให้บริสุทธิ์ เพื่อใช้ศึกษาสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ของเอนไซม์ โดยใช้ Catechol เป็นซับสเตรต พบว่าเอนไซม์จะสูญเสียกิจกรรม มากกว่า 90% เมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85 °C นาน 5 นาที และจะถูกยับยั้งการทำงานอย่างสมบูรณ์ เมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 95 °C นาน 5 นาที

(2) การใช้สารเคมี

สารที่ใช้ควบคุมหรือยับยั้งปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลจากเอนไซม์ PPO มีหลายชนิด แต่ที่นิยมใช้ได้แก่ กรดแอสคอร์บิกและกรดซิตริก

กรดแอสคอร์บิก ทำหน้าที่เป็นสารรีดิวซ์ (reducing agent) โดยจะรีดิวซ์ o-quinone ให้กลับมาอยู่ในรูปสารประกอบฟีนอลิกตามเดิม ก่อนที่ o-quinone จะทำปฏิกิริยาต่อไปจนกลายเป็นสารสีน้ำตาล ดังนั้น จึงช่วยชะลอการเกิดสีน้ำตาลได้ กลไกการทำงานของกรดแอสคอร์บิก แสดงในรูปที่ 2.3 แต่อย่างไรก็ตามเมื่อกรดแอสคอร์บิกถูกใช้ในการรีดิวซ์หมดแล้ว o-quinone จะเกิดการสะสมมากขึ้นและเกิดปฏิกิริยาต่อไปจนเกิดเป็นสารสีน้ำตาลในที่สุด ดังนั้นการใช้กรดแอสคอร์บิกควรกำหนดปริมาณให้เหมาะสมและอาจใช้ร่วมกับสารอื่นเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพ โดยสารที่นิยมใช้ร่วมกับกรดแอสคอร์บิก คือ กรดซิตริก (Miller, 1998 : Sapers, 1993)

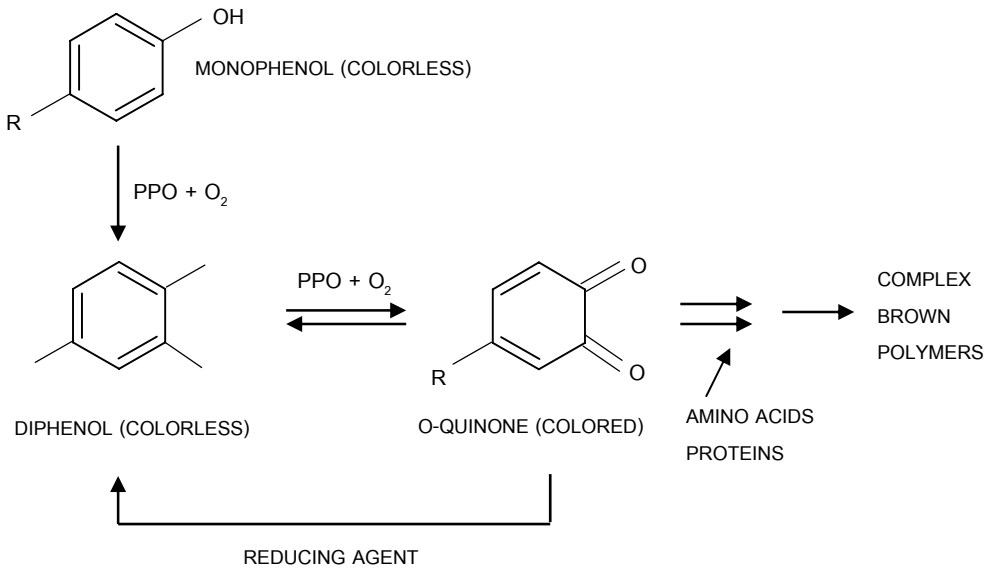
กรดซิตริก สามารถป้องกันการเกิดสีน้ำตาลแบบอาศัยเอนไซม์ โดยทำหน้าที่เป็น acidulant มีบทบาทรักษาค่า pH ในระบบให้ต่ำกว่า optimum pH ของเอนไซม์ PPO ทำให้เอนไซม์ทงานได้ไม่ดี นอกจากนี้กรดซิตริกยังเป็น chelating agent โดยจับกับทองแดงที่อยู่บริเวณ active site ของเอนไซม์ ทำให้สามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ได้ (Sapers, 1993)

การควบคุมหรือยับยั้งเอนไซม์ PPO อาจใช้ 2-3 วิธีร่วมกันได้ การให้ความร้อนยับยั้งเอนไซม์ในน้ำผลไม้และเนื้อผลไม้ตีป่น (puree) หรือการเติมกรดแอสคอร์บิกลงไปทำปฏิกิริยากับ o-quinone เพื่อเปลี่ยนกลับให้เป็น o-diphenol (Mao, Xu และ Que, 2007)

Langdon (1987) ศึกษาผลของการใช้กรดแอสคอร์บิกร่วมกับกรดซิตริกเปรียบเทียบกับการใช้โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ต่อการเกิดสีน้ำตาลในชิ้นมันฝรั่ง โดยนำชิ้นมันฝรั่งมาแช่ในสารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกร่วมกับกรดซิตริก ความเข้มข้นอย่างละ 0.5% เป็นเวลา 1 นาที เปรียบเทียบกับการแช่ในสารละลายโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ความเข้มข้น 0.1% นาน 1 นาที หลังจากนั้นนำชิ้นมันฝรั่งมาเก็บในถุง polyolefin เป็นเวลา 20 วัน ที่อุณหภูมิ 4 °ซ. แล้วนำชิ้นมันฝรั่งที่เก็บไว้มาวัดค่าการเปลี่ยนแปลงของสี (ΔE_{ab}) ด้วยระบบ CIE AB พบว่า ชิ้นมันฝรั่งที่แช่ในสารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกร่วมกับกรดซิตริก สามารถป้องกันการเกิดสีน้ำตาลในชิ้นมันฝรั่งได้อย่างมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับการใช้โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ โดยค่า ΔE_{ab} ของชิ้นมันฝรั่งที่ผ่านการแช่ในสารละลายโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์แล้วเก็บรักษาเป็นเวลา 20 วัน มีค่าเท่ากับ 1.4 และ 1.7 ตามลำดับ

Pizzocaro, Torreggiani และ Gilardi (1993) ศึกษาผลของกรดแอสคอร์บิก กรดซิตริก และเกลือโซเดียมคลอไรด์ ต่อกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ในแอปเปิ้ล (Golden Delicious) พบว่าการจุ่มชิ้นเนื้อแอปเปิ้ลลงในกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 10g/l ร่วมกับกรดซิตริกความเข้มข้น 2g/l หรือกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 10g/l ร่วมกับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.5g/l นาน 5 นาที จะสามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ในแอปเปิ้ลได้ 90-100%

ประสงค์ ศิริวงศ์วิไลชาติ และ ลดาพร ต่อศรีสกุล (2540) ศึกษาผลของการใช้กรดซิตริกและกรดแอสคอบิกต่อการเกิดสีน้ำตาลในฝรั่งแช่อิ่มอบแห้ง พบว่า ถ้าใช้กรดซิตริกร่วมกับกรดแอสคอบิกความเข้มข้น 0.25 และ 0.5 % สามารถป้องกันการเกิดสีน้ำตาลได้ ดังนั้นการใช้กรดซิตริกและกรดแอสคอบิกร่วมกันสามารถป้องกันการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลได้ดียิ่งขึ้น



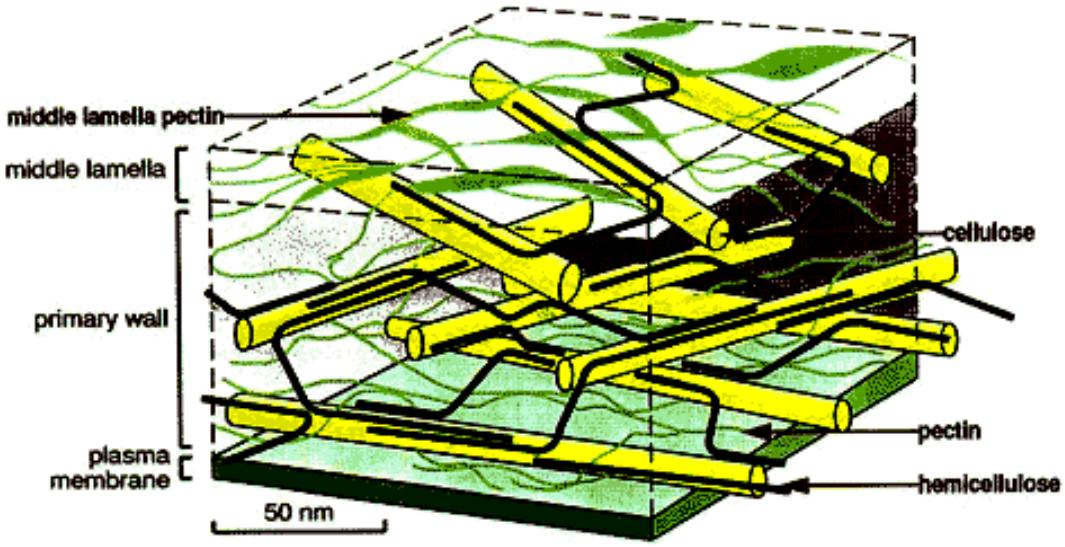
รูปที่ 2.3 กลไกการเกิดและการควบคุมปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลจากการทำงานของเอนไซม์ PPO ด้วยสารรีดิวซ์ (ดัดแปลงจาก Walker, 1977)

2.5 การใช้เอนไซม์ในกระบวนการสกัดน้ำผลไม้และสารให้กลิ่นรสจากผลไม้

ผลไม้เมื่อยังไม่สุก เนื้อจะไม่นิ่ม ปริมาณของเหลวต่ำ สารให้กลิ่นรสมีน้อย การผลิตสารสกัดจากผักและผลไม้ด้วยวิธีทางชีวภาพ โดยใช้เอนไซม์ย่อยส่วนประกอบต่างๆในผนังเซลล์พืช จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดของเหลวต่างๆ รวมทั้งสารให้สี กลิ่น รส และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2547; Pilnik และ Voragen, 1993)

2.5.1 โครงสร้างของผลไม้

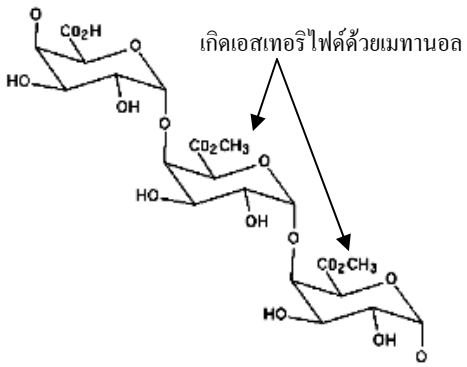
เนื้อเยื่อส่วนที่บริโภคได้ของผลไม้ประกอบด้วย parenchyma cell ในผลไม้แต่ละชนิดจะมีความแตกต่างกันในด้านขนาดและปริมาณ โดยจะมีส่วน active metabolizing protoplast อยู่ประมาณ 5% ของปริมาณเซลล์ทั้งหมด ส่วนที่เหลือส่วนใหญ่จะเป็น water-filled central vacuole ซึ่งภายใน vacuole จะประกอบด้วย น้ำ เกลืออนินทรีย์ กรดอินทรีย์ หยดน้ำมัน น้ำตาล รงควัตถุที่ละลายน้ำได้ กรดอะมิโน และวิตามิน vacuole นี้จะถูกห่อหุ้มด้วย protoplast membrane โดยมีชั้นระหว่างเซลล์ (middle lamella) ที่ประกอบด้วยเพกทินเป็นส่วนใหญ่ ผนังเซลล์ชั้นแรกซึ่งเป็นเจลแข็งของเพกทิน เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และโปรตีนบางชนิด (ภาพที่ 2.4) ผนังเซลล์ชั้นที่สองที่ประกอบด้วยเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส (Grassin และ Fauquembergue, 1996; Hopskin, 1999)



ภาพที่ 2.4 การจัดเรียงตัวของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และเพกทินในผนังเซลล์
ที่มา : Hopskin (1999)

2.5.2 **สารประกอบเพกทิน** (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2547)

สารประกอบเพกทิน คือ พอลีแซกคาไรด์ที่เป็นกรด มีประจุลบ มีมวลโมเลกุลตั้งแต่ 10,000-40,000 และมีลักษณะเป็นคอลลอยด์ โครงสร้างหลักขั้นปฐมภูมิประกอบด้วย ประกอบด้วยสาย α-1,4-D-galacturonan ซึ่งบางส่วนเกิดเอสเทอริไฟด์ด้วยเมทานอล (รูปที่ 2.8)



รูปที่ 2.5 สูตรโครงสร้างปฐมภูมิของสารประกอบเพกทิน
ดัดแปลงจาก: Pilnik และ Rombouts (1979); ปราณี อ่านเปรื่อง (2547)

ดังนั้นสามารถแบ่งสารประกอบเพกทิน ที่พบในผลไม้ตามลักษณะของโครงสร้างหลักได้เป็นโปรโตเพกทิน เพกทิน กรดเพกทินิก และกรดเพกทิก

ก. โปรโตเพกทิน คือ สารประกอบเพกทินต้นตอที่ไม่ละลายน้ำ พบมากในเนื้อผลไม้ดิบ

ข. เพกทิน คือ สารประกอบเพกทินที่หมู่คาร์บอกซิลประมาณ 75% ถูกทำให้เป็นเอสเทอร์ด้วยเมทานอล พบมากในเนื้อผลไม้ที่เริ่มสุกจนสุกงอม

ค. กรดเพกทินิก คือ สารประกอบเพกทินที่มีหมู่เมทิลเอสเทอร์เหลืออยู่เล็กน้อย พบมากในเนื้อผลไม้สุก

ง. กรดเพกทิก คือ สารประกอบเพกทิน หรือพอลิเมอร์ของกรดกาแลกทูโรนิกที่ไม่มีหมู่เมทิลเอสเทอร์ในโมเลกุล

2.5.2 **เพคติเนส** (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2547)

เพคติเนส เป็นกลุ่มเอนไซม์ที่เร่งการย่อยสลายสารประกอบเพกทิน สามารถจำแนกเพคติเนสอย่างกว้างๆได้เป็น 3 กลุ่ม คือ โปรโตเพคติเนส เอสเทอเรส และดีพอลิเมอเลส

ก. โปรโตเพคติเนส คือ เอนไซม์ที่เร่งการสลายโปรโตเพกทินด้วยน้ำ ได้พอลิเมอร์ของเพกทินที่สั้นลง และสามารถละลายน้ำได้มากขึ้น

ข. เอสเทอเรส คือ เอนไซม์ที่เร่งการเกิดปฏิกิริยา Deesterification หรือ Saponification โดยการสลายพันธะเอสเทอร์ของเพกทิน ได้แก่ เพกทินเอสเทอเรส

ค. ดีพอลิเมอเลส คือ เอนไซม์ที่เร่งการสลายพันธะ α (1-4) ไกลโคซิดิกระหว่างกรดกาแลคทูโรนิกของสารประกอบเพกทิน ได้แก่ พอลิกาแลกทูโรเนส เพกเททไลเอส และ เพกทินไลเอส

เอนไซม์เพกทิเนสที่ใช้ทางการค้าส่วนใหญ่ ประกอบด้วยเอนไซม์หลายชนิด โดยมีเอนไซม์กลุ่มเพกทิเนสเป็นหลัก เช่น เอนไซม์พอลิกาแลกทูโรเนส เพกทินไลเอส และเพกทินเอสเทอเรส รวมถึงเอนไซม์ชนิดอื่นได้แก่ เอนไซม์เฮมิเซลลูเลส เซลลูเลส โปรติเอส และอะไมเลส เป็นต้น ซึ่งการทำงานร่วมกันของเอนไซม์เหล่านี้จะช่วยเสริมประสิทธิภาพในการย่อยส่วนประกอบต่างๆในผนังเซลล์พืชได้ดียิ่งขึ้น การผลิตเอนไซม์เพกทิเนสทางการค้าส่วนใหญ่จะผลิตโดยใช้จุลินทรีย์ *Aspergillus niger* และ *Aspergillus aculeatus* (Mutlu และคณะ, 1999)

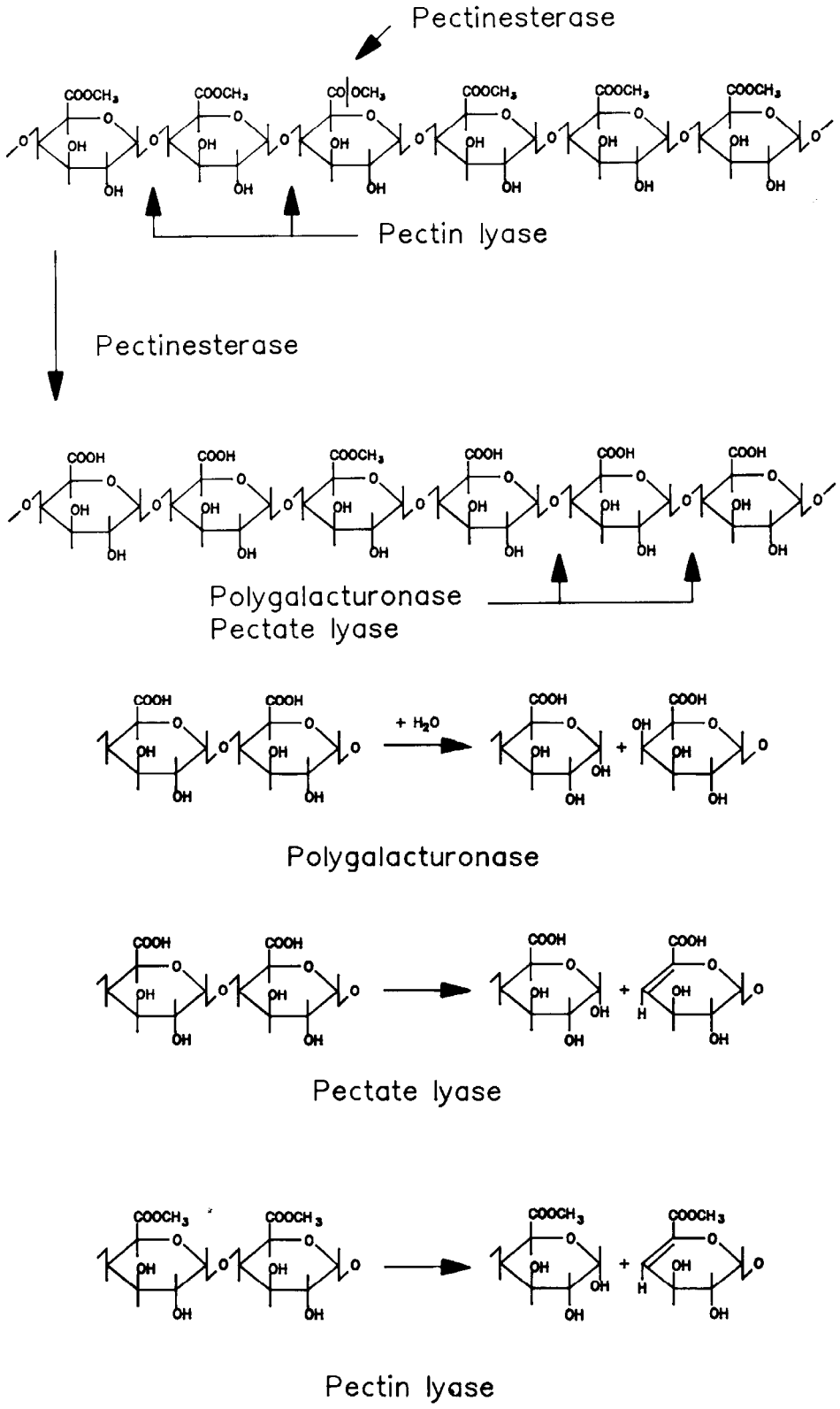
2.5.3 **ปัจจัยที่ควบคุมการทำงานของเอนไซม์เพคติเนส** (Whitaker, 1996; ปราณี อ่านเปรื่อง, 2547)

ก. ปริมาณของซับสเตรตและเอนไซม์ เมื่อปริมาณซับสเตรต และเอนไซม์เพิ่มมากขึ้น โอกาสที่จะเกิดการจับตัวของเอนไซม์และซับสเตรตย่อมมีมากขึ้นด้วย อัตราปฏิกิริยาจึงเกิดได้เร็วขึ้น แต่ถ้าปริมาณซับสเตรตและเอนไซม์ลดลงก็จะทำให้โอกาสที่จะจับตัวกันลดลงด้วย ปฏิกิริยาจึงเกิดได้ช้าลง นั่นคือ อัตราการเร่งปฏิกิริยาจะเพิ่มขึ้นเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณของซับสเตรตหรือปริมาณของเอนไซม์ แต่ถ้ามีปริมาณซับสเตรตมากเกินไปก็ไม่มีผลทำให้ปฏิกิริยาเกิดเร็วขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากไม่มีปริมาณเอนไซม์เพียงพอที่จะทำปฏิกิริยากับซับสเตรตที่มากเกินพอนั้น ในทางตรงข้ามถ้าหากมีเอนไซม์ปริมาณมากเกินพอในปฏิกิริยา ก็ไม่มีผลทำให้อัตราของปฏิกิริยาเกิดเร็วขึ้น เพราะไม่มีซับสเตรตเหลือพอที่จะเข้าทำปฏิกิริยา แต่ถ้าให้เวลาเพิ่มขึ้นจนกระทั่งเอนไซม์หลุดออกจากผลิตภัณฑ์ และสามารถเร่งปฏิกิริยาของซับสเตรตโมเลกุลอื่นก็จะทำให้อัตราของปฏิกิริยาเพิ่มขึ้นได้

ข. อุณหภูมิ โดยปกติอุณหภูมิที่เหมาะต่อการทำงานของเอนไซม์ ทำให้เอนไซม์เร่งปฏิกิริยาได้ดี ถ้าหากอุณหภูมิสูงหรือต่ำกว่านี้ปฏิกิริยาจะลดลง เนื่องจากคุณสมบัติของเอนไซม์ซึ่งเป็นโปรตีนเปลี่ยนแปลงไป ทำให้เอนไซม์ทำงานไม่เต็มที่ และอาจทำให้เสียสภาพได้ในที่อุณหภูมิสูงเกินไป

ค. pH ค่า pH มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์เช่นเดียวกับอุณหภูมิ

ง. ระยะเวลา เมื่อปริมาณซับสเตรต และเอนไซม์คงที่ การเพิ่มระยะเวลาการเกิดปฏิกิริยาย่อยสลาย จะทำให้โอกาสที่จะเกิดการจับตัวของเอนไซม์และซับสเตรตมีมากขึ้น ปฏิกิริยาจึงเกิดได้มากขึ้นด้วย แต่เมื่อถึงจุดหนึ่งการเพิ่มระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาจะไม่มีผลต่อปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น เนื่องจากซับสเตรตของเอนไซม์ชนิดนั้นๆหมด หรือปฏิกิริยาเข้าสู้สมดุล



รูปที่ 2.6 ปฏิกิริยาของเพคติเนสแต่ละชนิด ลูกศรแสดงตำแหน่งที่เพคติเนสเข้าทำปฏิกิริยากับสารประกอบเพกทิน ดัดแปลงจาก: Lea (1995)

2.5.4 การทำงานของเอนไซม์เพกทิเนสในการแปรรูปผลไม้

การใช้เอนไซม์เพกทิเนสในกระบวนการแปรรูป ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงส่วนต่างๆ ของผลไม้ คือ ส่วนที่เป็นน้ำผลไม้ซึ่งเป็นส่วนของน้ำที่อิสระจากโครงสร้างเซลล์ จะมีความหนืดลดลง โดยช่วงแรกที่โปรโตเพกทินเริ่มละลาย ความหนืดจะสูงขึ้น แต่เมื่อผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์อย่างสมบูรณ์ความหนืดสุดท้ายจะลดลง ในขณะที่ส่วนชั้นกลาง (intermediary layer) ซึ่งเป็นชั้นที่มีลักษณะคล้ายเจล มีความหนืด อุ้มน้ำได้ดีเนื่องจากโปรโตเพกทินจับน้ำไว้อยู่ในโครงสร้าง เอนไซม์จะทำหน้าที่ลดปริมาณโปรโตเพกทินที่ไม่ละลาย ซึ่งมีส่วนในการทำลายโครงสร้างเจลและปล่อยน้ำออกมา พร้อมกับเพิ่มสมบัติการซึมผ่านของของแข็ง ส่วนสุดท้ายคือ ส่วนที่เป็นของแข็ง (solid) เป็นส่วนที่ไม่ละลายน้ำ และเป็นโครงสร้างของผักและผลไม้ เอนไซม์จะทำให้โครงสร้างเซลล์อ่อนตัวและปล่อยองค์ประกอบสำคัญ เช่น รงควัตถุและสารให้กลิ่นรส (Kilara, 1982; Pilnik และ Voragen, 1991)

การใช้เอนไซม์ในการผลิตน้ำผลไม้มี 2 รูปแบบ (Baumann, 1981) คือ

1. Mash treatment เป็นวิธีเติมเอนไซม์ลงในเนื้อผลไม้ที่ผ่านการบดมาแล้ว ก่อนนำไปบีบคั้นเพื่อเอาน้ำผลไม้ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อ

- ทำให้ผลไม้สดกลายเป็นของเหลว สำหรับการผลิต pulp ผลไม้และเนกต้า
- เพิ่มปริมาณน้ำผลไม้และช่วยในการสกัดองค์ประกอบอื่นๆ

2. Juice treatment เป็นวิธีเติมเอนไซม์ลงในน้ำผลไม้ที่บีบคั้นออกมาแล้ว โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อ

- ลดความหนืดในน้ำผลไม้เข้มข้น
- ทำให้ใส ช่วยในการกรอง และความคงตัว

ตัวอย่างงานวิจัยที่ศึกษาการใช้เอนไซม์ในกระบวนการสกัดน้ำผลไม้และสารให้กลิ่นรสจากผลไม้ ปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ ซึ่งโดยส่วนมากจะพิจารณาจากปัจจัยด้านความเข้มข้นของเอนไซม์ ระยะเวลาและอุณหภูมิที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา

Sreekantiah, Jaleel และ Rao (1971) ศึกษาการใช้เอนไซม์เพคติโนไลติก (pectinolytic) เข้มข้น 0.2-0.5 % (v/w) ในผลิตน้ำผลไม้จากกล้วยหอม แอปเปิล มะม่วง มะละกอ และขนุน โดยบ่มที่อุณหภูมิ 24-25° C นาน 3-8 ชั่วโมง ได้น้ำผลไม้ 60-87 %, 85.5-91 %, 80 %, 92 %, 85% และ 78 % โดยน้ำหนัก ตามลำดับ

Jaleel และคณะ (1978) ศึกษาการใช้เพคติเนส ในการสกัดน้ำกล้วยหอมโดยแปรความเข้มข้นของเอนไซม์ในช่วง 0.5-2.0% (v/w) เป็นเวลา 5 ชั่วโมง ที่ 25-30° C พบว่าปริมาณเอนไซม์ 0.75-1.0% จะได้น้ำกล้อยหอมมากที่สุด

Viquez, Lastreto และ Cooke (1981) ทดลองใช้เพคติเนสทางการค้า 6 ชนิด ซึ่งประกอบด้วยเพคติเนสในปริมาณแตกต่างกัน คือ Pectinol และ Pectinol D ในการสกัดน้ำกล้วยหอมที่ระยะการสุกต่างกัน พบว่า เอนไซม์ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการใช้สกัดน้ำกล้วย คือ Ultrazyme 100 special และ Clarifine Super ที่ความเข้มข้น 0.01-0.025 % เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ที่ 45˚C pH 4.4-4.6

Sreenath, Nanjudaswamy และ Sreekantiah (1987) ศึกษาการลดความหนืดของน้ำมะม่วงโดยใช้เอนไซม์เพคติเนสและเซลลูเลสชนิดต่างๆทางการค้า พบว่า Ultrazym 100 มีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการลดความหนืด โดยใช้ความเข้มข้น 0.05 % w/v ที่อุณหภูมิ 40˚C เป็นเวลา 30 นาที แล้วหยุดปฏิกิริยาด้วยน้ำเดือดนาน 5-10 นาที ซึ่งสามารถลดความหนืดของน้ำมะม่วงได้ 82 %

อรุณี เพียรทวีรัชต์ และ ปราณี อ่านเปรื่อง (2536) ใช้เพคติเนส เซลลูเลส และ แอมิเลสทางการค้า (Pcetinex Ultra SP-L, Celluclast 1.5L และ Ban 240L ตามลำดับ) เพื่อช่วยในการสกัดน้ำกล้วยหอม โดยใช้กล้วยหอมที่มีความสุกระดับ 7-8 พบว่า การใช้เซลลูเลส 0.06 % ร่วมกับเพคติเนส 0.05 % จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยสลายเนื้อกล้วยหอมได้ โดยพิจารณาจากความหนืดของเนื้อกล้วยหอมที่ลดลง และได้ภาวะที่เหมาะสม คือ ที่อุณหภูมิ 45 ˚C นาน 2 ชั่วโมง และสามารถสกัดสกัดน้ำกล้วยได้ผลผลิตประมาณ 73% โดยน้ำหนัก (v/w)

Hassan และคณะ (1994) ศึกษาการสกัดน้ำสับปะรดโดยใช้เซลลูเลสและเพกทิเนส ที่ภาวะความเข้มข้น 0.025% อุณหภูมิ 27-30 ˚C เป็นเวลา 30 นาที ซึ่งพบว่าได้ผลผลิตสูงถึง 81-86% ซึ่งมากกว่าตัวอย่างที่ไม่ใช้เอนไซม์ คือ 72% พบว่าการใช้เอนไซม์สกัดน้ำสับปะรดจะช่วยเพิ่มผลผลิตและลดความหนืดลงได้

Multlu และคณะ (1999) รายงานว่า การใช้เอนไซม์กลุ่มเพกทิเนสในการผลิตน้ำแครอท นอกจากจะช่วยเพิ่มปริมาณน้ำแครอทที่ได้มากถึง 20% ยังเป็นการเพิ่มปริมาณบีตาแคโรทีนในน้ำแครอท รวมทั้งให้สีและกลิ่นรสของแครอทที่ดีกว่าการไม่ใช้เอนไซม์

Rastogi และ Rashmi (1999) ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการใช้เอนไซม์เพกทิเนสผลิตน้ำมะม่วงเข้มข้น พบว่า ความเข้มข้นของเอนไซม์ อุณหภูมิและระยะเวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา มีผลต่อลักษณะของน้ำมะม่วงเข้มข้นที่ได้ โดยการใช้เอนไซม์เข้มข้น 0.14% (v/w) ที่อุณหภูมิ 42ºC เป็นเวลา 46.67 นาที จะช่วยเพิ่มปริมาณและความใสของน้ำมะม่วงเข้มข้นได้มากกว่า 64 และ 71% ตามลำดับ ส่วนปริมาณแอลกอฮอล์ที่ไม่ละลายน้ำและความหนืดของน้ำมะม่วงมีค่าลดลงน้อยกว่า 2% และ 1850 cP ตามลำดับ

Al-Hooti และคณะ (2002) ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไซรัปจากอินทผลัม โดยใช้เอนไซม์เพกทิเนสและเซลลูเลสเข้มข้น 0.5, 1.0 และ 2.0% (v/w) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 40ºC พบว่า การใช้เอนไซม์จะช่วยเพิ่มปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้เป็น 68% ซึ่งมากกว่าตัวอย่างที่ไม่ใช้เอนไซม์ รวมทั้งช่วยลดความหนืดและคงลักษณะสีและกลิ่นรสธรรมชาติของอินทผลัมไว้ได้

Çinar (2005) ศึกษาผลความเข้มข้นของเอนไซม์เพกทิเนสและ เซลลูเลส รวมทั้งระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดแคโรทีนอยด์จากเปลือกส้ม มันเทศ และแครอท พบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์ จะช่วยลดระยะเวลาในการสกัดแคโรทีนอยด์จากทุกตัวอย่างได้ และในกรณีของแครอทจะเห็นได้ชัดว่า ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดจะมีผลต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ ที่สกัดได้มากกว่าการเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์

Lee, Yusof, Hamid และ Baharin (2006) ใช้เพคติเนส (Pcetinex Ultra SP-L) แอมิเลส (AMG 300L) ทางการค้า ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการทำน้ำกล้วยหอมให้ใสโดยใช้เอนไซม์ พบว่าการใช้เอนไซม์ในภาวะที่แตกต่างกัน จะมีผลต่อความสามารถในการกรอง ความใส ความขุ่น และความหนืดของน้ำกล้วยที่ได้ และภาวะที่เหมาะสมในการทำน้ำกล้วยให้ใส คือ ใช้เอนไซม์เพคติเนสความเข้มข้น 0.084% บ่มที่อุณหภูมิ 43.2 ˚C นาน 80 นาที

Abdullah และคณะ (2007) รายงานว่า ภาวะที่เหมาะสมในการสกัดน้ำมะเฟืองได้แก่ การใช้เอนไซม์เพกทิเนสทางการค้าที่ความเข้มข้น 0.10% (v/v) เป็นเวลา 20 นาที อุณหภูมิ 30ºC ทำให้ได้น้ำมะเฟืองที่มีความหนืดและความขุ่นลดลง

Reddy และ Reddy (2007) ศึกษาการผลิตน้ำมะม่วง โดยใช้เอนไซม์เพคติเนส พบว่า ภาวะที่เหมาะสมในการผลิน้ำมะม่วง ได้แก่ การใช้เอนไซม์เพกทิเนสที่ความเข้มข้น 0.6% (v/v) เป็นเวลา 10 ชั่วโมง อุณหภูมิ 30ºC ทำให้ได้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์ และน้ำมะม่วงมากที่สุด

บทที่ 3

การดำเนินงานวิจัย

3.1 ขอบเขตงานวิจัย

งานวิจัยนี้แบ่งออกเป็น 5 ส่วน คือ

3.1.1 คัดเลือกระดับความสุกของฝรั่งแดงที่ใช้เป็นวัตถุดิบ

งานวิจัยส่วนนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อคัดเลือกระดับความสุกของฝรั่งแดงที่เหมาะสมสำหรับใช้เป็นวัตถุดิบตั้งต้นในการผลิตไซรัปฝรั่งแดง โดยพิจารณาจากผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของเนื้อฝรั่งแดง

3.1.2 ศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารระเหยในเนื้อฝรั่งแดง

งานวิจัยส่วนนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาชนิดและปริมาณของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารระเหยที่พบในเนื้อฝรั่งแดงที่คัดเลือกได้จากข้อ 3.1.1 โดยวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารทั้งหมดแบ่งเป็นใยอาหารที่ละลายน้ำและใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ ปริมาณวิตามินซี ปริมาณไลโคพีน ค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติก และสารระเหยด้วยวิธี Solid-phase microextraction/ gas chromatography/ mass spectrometry (SPME/GC/MS)

3.1.3 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลในเนื้อฝรั่งแดง

งานวิจัยส่วนนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลในเนื้อฝรั่งแดงที่คัดเลือกได้จากข้อ 3.1.1 เพื่อใช้เป็นภาวะในการเตรียมเนื้อฝรั่งแดงตีป่นก่อนย่อยด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนต่อไป โดยมีปัจจัยที่ศึกษา 2 ปัจจัย คือ อุณหภูมิและระยะเวลาการให้ความร้อนด้วยไอน้ำ

3.1.4 ศึกษาภาวะการผลิตไซรัปฝรั่งแดงด้วยเอนไซม์ Pectinex® Ultra SP-L

งานวิจัยส่วนนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาภาวะการผลิตไซรัปฝรั่งแดงด้วยเอนไซม์ โดยมีปัจจัยที่ศึกษา 2 ปัจจัย คือ ความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาที่ใช้ในการย่อย ติดตามการทำงานของเอนไซม์ที่ภาวะต่างๆ จากระดับการตัดพันธะไกลโคซิลของพอลิเมอร์ในเนื้อฝรั่งแดงที่ประเมิน

จากค่าน้ำตาลรีดิวซ์ โดยเลือกภาวะที่ไซรัปฝรั่งแดงมีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลครอบคลุมจากช่วงต่ำไปสูงเป็นตัวแทนในการศึกษาลักษณะเฉพาะของไซรัปฝรั่งแดง

3.1.5 ศึกษาลักษณะเฉพาะของไซรัปฝรั่งแดง

งานวิจัยส่วนนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาลักษณะเฉพาะของไซรัปฝรั่งแดงที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ เพื่อเป็นข้อมูลยืนยันว่าไซรัปฝรั่งแดงที่ได้สามารถพัฒนาเป็นสารปรุงแต่งสี กลิ่น รส และลักษณะเนื้อสัมผัสในอาหารที่มีหน้าที่เฉพาะ ลักษณะเฉพาะที่ศึกษา ได้แก่ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ ปริมาณไลโคพีน ปริมาณวิตามินซี ขนาดอนุภาค ปริมาณใยอาหารทั้งหมดแบ่งเป็นใยอาหารที่ละลายน้ำและใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ ค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติก และสารระเหยด้วยวิธี SPME/GC/MS รวมทั้งประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของไซรัปฝรั่งแดงและทดลองใช้ไซรัปฝรั่งแดงในผลิตภัณฑ์อาหาร

3.2 วัตถุดิบ สารเคมี และอุปกรณ์

3.2.1 วัตถุดิบ

ฝรั่งแดงที่ใช้เป็นวัตถุดิบในงานวิจัย คือ ฝรั่งแดงพันธุ์สามสี (*Psidium guajava* L.) ในระยะการพัฒนาเต็มที่ (อายุการเก็บเกี่ยวเริ่มออกดอกจนถึงเก็บผลใช้เวลาประมาณ 4-5 เดือน) มีลักษณะเปลือกสีเขียวอ่อน น้ำหนักผลประมาณ 300-400 กรัม จากสวนในจังหวัดนครราชสีมา ประเทศไทย

3.2.2 เอนไซม์

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

3.2.3 สายพันธุ์แบคทีเรีย

Bifidobacterium animalis spp. *lactis* Bb12 (Christian Hansen, Denmark)

Lactobacillus acidophilus La5 (Christian Hansen, Denmark)

Escherichia coli ATCC 29922 (Culture Collection Unit, โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์)

3.2.4 สารเคมี

3.2.4.1 <u>การวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดซิตริก</u>

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 <u>การวิเคราะห์ปริมาณใยอาหาร</u>

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 <u>การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน</u>

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 <u>การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก</u>

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 การวิเคราะห์ปริมาณไลโคพีน

Hexane	A.R. grade (BDH, UK)
Acetone	A.R. grade (BDH, UK)
Ethanol	A.R. grade (BDH, UK)
Methyl t-butyl ether	A.R. grade (BDH, UK)
Methanol	A.R. grade (BDH, UK)
Ethyl acetate	A.R. grade (Ajax, Australia)

3.2.4.7 การวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซี

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

3.2.4.8 การวิเคราะห์ค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติก

Agar	A.R grade (HIMEDIA, India)
Ammonium sulphate	A.R. grade (Ajax, Australia)
D-(+)-glucose	A.R. grade (Merck, Germany)
Dipotassium hydrogen orthophosphate	A.R. grade (Ajax, Australia)
Inulin	Food grade (Warcoing, Belgium)
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 สารทดสอบแอกทิวิตีของเอนไซม์เพอออกซิเดส

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>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. ปั๊มสูญญากาศ (Vacuum pump) (GAST รุ่น 1023-V2-G583X, Germany)
3. ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) (Memmert 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. เครื่อง Bio-Rad microplate reader (Tecan Sunrise รุ่น 4294 B, UK)
8. เครื่องชั่งน้ำหนัก ทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Sartorius รุ่น BP3100S, Germany)
9. เครื่องชั่งน้ำหนัก ทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Sartorius รุ่น A2005, Germany)
10. เครื่องปั่นผสม (Philips รุ่น Cucina HR 1799, Netherlands)
11. เครื่อง pH meter (Eutech รุ่น Cyber Scan pH 1000 Bench, Singapore)
12. เครื่อง Rotary vacuum evaporator (Eyela รุ่น SB-651, Japan)
13. เครื่อง Vortex (Labnet รุ่น VX100, USA)
14. เครื่อง Autoclave (TOMY Autoclave รุ่น SS-320, Japan)
15. เครื่อง Incubator (Memmert 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 partical size analyzer (Malvern รุ่น Mastersizer 2000, UK)
20. เครื่อง Magnetic stirrer (Framo®-Gerätetechnik รุ่น M 21/1, Thailand)
21. เครื่อง Hand homogenizer (Ystral homogenizer รุ่น x 10/25, Netherlands)
22. เครื่อง Water bath shaker (GFL รุ่น 1092, Germany)
23. หม้อนึ่งความดัน (National รุ่น SR-TMA18, Japan)
24. Microbiology Anaerobic Jar 2.5 L (Merck, Germany)
25. AnaeroGen™ 2.5 L (Oxoid, UK)
26. เครื่อง High-performance liquid chromatography (HPLC) (Waters 700 Satellite WISP)
27. Reversed phase , polymeric C30 column (4.6 mmx250 mm, S-5)
28. เครื่อง Bio-Rad microplate reader (Tecan Sunrise รุ่น 4294 B, UK)
29. เครื่อง Chroma meter (Minolta รุ่น CR 300, Japan)

3.3 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

3.3.1 คัดเลือกระดับความสุกของฝรั่งแดงที่ใช้เป็นวัตถุดิบ

นำฝรั่งแดงมาล้างทำความสะอาด และบ่มที่อุณหภูมิ 30±2ºC เป็นเวลา 4, 7 และ 10 วัน โดยแบ่งความสุกเป็น 3 ระดับ โดยใช้ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total soluble solid ; TSS) ของเนื้อฝรั่งแดงเป็นตัวกำหนด กำหนดให้ความสุกระดับที่ 1 คือ มี TSS ของเนื้ออยู่ในช่วง 10-11 °Brix ความสุกระดับที่ 2 คือ มี TSS ของเนื้ออยู่ในช่วง 12-13 °Brix และความสุกระดับที่ 3 คือ มี TSS ของเนื้ออยู่ในช่วง 14-15 °Brix วิเคราะห์สมบัติทางเคมีและกายภาพเบื้องต้นของเนื้อฝรั่งแดงทั้ง 3 ระดับ เพื่อนำผลที่ได้มาใช้พิจารณากำหนดเกณฑ์สำหรับคัดเลือกวัตถุดิบในการทดลองแต่ละครั้ง โดยวัดการเปลี่ยนแปลงสี ค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ปริมาณปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดซิตริก ของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ Completely randomized design (CRD) ดังนี้

1. วัดค่าสีด้วยเครื่อง Chroma meter โดยใช้ระบบ L* a* b* (CIE LAB) [L* = 0 (Black); L* = 100 (White), a* (-a* = Green; +a* = Red) และ b* (-b* = Blue; +b* = Yellow) แหล่งกำเนิดแสง D_{65} โดยใช้เครื่อง Minolta รุ่น CR 300 ด้วยระบบ CIE LAB
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 (Atago รุ่น N-1α 0-32°Brix) ในหน่วย °Brix

5. ปริมาณ Reducing sugar โดยวิธีของ Nelson (1944) แสดงในภาคผนวก ก.11

จากนั้นคัดเลือกระดับความสุกของฝรั่งแดงที่เหมาะสม สำหรับใช้เป็นวัตถุดิบตั้งต้นในการผลิตไซรัปฝรั่งแดง โดยนำเนื้อฝรั่งแดงทั้ง 3 ระดับ มาประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้วยวิธีการวิเคราะห์รายละเอียดเชิงปริมาณ (Quantitative descriptive analysis; QDA) ใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 10 คน ประเมินลักษณะด้านสี กลิ่น รส และการยอมรับโดยรวม ของเนื้อฝรั่งแดง 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 ศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารระเหยในเนื้อฝรั่งแดง

นำฝรั่งแดงที่เลือกได้จากข้อ 3.3.1 มาวิเคราะห์ปริมาณของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารระเหย 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.2

3.3.2.2 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (Antioxidant activities)

การเตรียมสารสกัดจากฝรั่งเพื่อวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ดัดแปลงจากวิธีของ Maisuthisakul และคณะ (2007) และวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH ดัดแปลงจากวิธีของ Masuda และคณะ (1999); Maisuthisakul และคณะ (2007) และวิธี FRAP ดัดแปลงวิธีของ Benzie และ Strain (1996) แสดงในภาคผนวก ก.3

3.3.2.3 ปริมาณฟีนอลิก

วิเคราะห์ปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteau colorimetry จากสารสกัดที่เตรียมได้ในข้อ 3.3.2.2 ตามวิธีของ Marinova และคณะ (2005) แสดงในภาคผนวก ก.4

3.3.2.4 ปริมาณฟลาโวนอยด์

วิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ด้วยวิธี Aluminum chloride colorimetry จากสารสกัดที่เตรียมได้ในข้อ 3.3.2.2 ตามวิธีของ Zhishen และคณะ (1999) แสดงในภาคผนวก ก.5

3.3.2.5 ปริมาณไลโคพีน

วิเคราะห์ปริมาณไลโคพีนด้วย HPLC ตามวิธีของ Shi และคณะ (2008) แสดงในภาคผนวก ก.6

3.3.2.6 ปริมาณวิตามินซี

วิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีด้วยวิธี spectrophotometry ตามวิธีของ Pearson (1976) แสดงในภาคผนวก ก.7

3.3.2.7 ค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติก (Prebiotic activity score)

ค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติก วิเคราะห์โดยเปรียบเทียบความสามารถในการส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียที่เป็นจุลินทรีย์สุขภาพหรือโพรไบโอติก ได้แก่ *L. acidophilus* La5 และ *B. lactis* Bb12 และแบคทีเรียชนิดอื่นในระบบทางเดินอาหาร ได้แก่ *E. coli* ATCC 29922 กับสารพรีไบโอติกทางการค้า คือ อินนูลิน และสารที่ไม่ได้เป็นพรีไบโอติก คือ กลูโคส ดัดแปลงวิธีของ Huebner และคณะ (2007) แสดงในภาคผนวก ก.8

3.3.2.8 สารระเหย (Volatile compounds)

การเตรียมตัวอย่างและภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์สารระเหยด้วยวิธี SPME/GC/MS ทำโดยดัดแปลงจากวิธีของ Jordan และคณะ (2003) แสดงในภาคผนวก ก.9 ส่วนการวิเคราะห์และจำแนกชนิดสารระเหย ทำโดยเปรียบเทียบ mass spectra ของสารที่มี % quality match ตั้งแต่ 80% ขึ้นไปร่วมกันระหว่าง Chemstation Wiley Spectral Library และ National Institute of Standards and Technology (NIST) Library

3.3.3 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลในเนื้อฝรั่งแดง

นำเนื้อฝรั่งแดงที่มีระดับความสุกที่คัดเลือกได้จากข้อ 3.3.1 มาศึกษาภาวะการควบคุมสีน้ำตาลของเนื้อฝรั่งแดง โดยเติมน้ำด้วยอัตราส่วนเนื้อฝรั่งแดง ต่อ น้ำ เท่ากับ 4 ต่อ 1 ตีปั่นเนื้อฝรั่งแดงให้ละเอียดด้วยเครื่องบดผสมอาหาร นาน 2 นาที แยกเอาเม็ดออกด้วยตะแกรง นำไปให้ความร้อนด้วยไอน้ำ แปรการให้ความร้อนด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 3 ระดับ คือ 70, 80 และ 90 °C ที่เวลา 4 ระดับ คือ 0, 1, 3 และ 5 นาที เริ่มจับเวลาเมื่อจุดกึ่งกลางของเนื้อฝรั่งแดงมีอุณหภูมิที่ต้องการและทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็ว วัดการเปลี่ยนแปลงสี โดยใช้เครื่อง Minolta รุ่น CR 300 ระบบ CIE LAB ทุกๆ 0, 5 และ 10 วัน โดยเก็บที่อุณหภูมิ $10 \pm 2^{o}C$ จากนั้นนำภาวะที่เลือกมาทดสอบแอกทิวิตีของ

เอนไซม์เพอออกซิเดส เพื่อยืนยันว่าภาวะที่เลือกใช้สามารถควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลได้ ซึ่งการทดสอบแอกทิวิตีของเอนไซม์เพอออกซิเดสทำโดยดัดแปลงวิธีของ Pearson (1970) แสดงในภาคผนวก ก.10 ขั้นตอนการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลในเนื้อฝรั่งแดงโดยย่อแสดงในรูปที่ 3.1 เลือกภาวะที่เหมาะสมในการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล โดยพิจารณาจากค่าสี เพื่อใช้เป็นภาวะในการเตรียมเนื้อฝรั่งแดงก่อนย่อยด้วยเอนไซม์ต่อไป ทดลอง 3 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ 3x4 Factorial in Completely Randomized Design (CRD) วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3.3.4 ศึกษาภาวะการผลิตไซรัปฝรั่งแดงด้วยเอนไซม์ Pectinex® Ultra SP-L

แปรรูปไซรัปฝรั่งแดงจากเนื้อฝรั่งแดงตีป่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาล ที่เตรียมได้ในขั้นตอนที่ 3.3.3 ด้วยเอนไซม์เพกทิเนสทางการค้าคือ Pectinex® Ultra SP-L (10292 PGU/ml) โดยทำปฏิกิริยาในขวดแก้วสีชาขนาด 500 มิลลิลิตร แบบ batch ควบคุมอุณหภูมิที่ 32±2°C ค่า pH ประมาณ 3.98 และกวนผสมด้วยความเร็ว 100 รอบต่อนาที แปรความเข้มข้นของเอนไซม์เป็น 5 ระดับ คือ 0 , 0.25 , 0.5 , 0.75 และ 1%(v/w) และแปรเวลาการย่อยเป็น 11 ระดับ คือ 0, 30, 60, 90, 120, 180, 240, 300 360 420 และ 480 นาที หยุดปฏิกิริยาเอนไซม์โดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90$\underline{+}$5°C เป็นเวลานาน 5 นาที นำไซรัปที่ได้มาทำให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่อง hand homogenizer ที่ความเร็ว 16000 รอบต่อนาที เป็นเวลานาน 2 นาที ขั้นตอนการผลิตไซรัปฝรั่งแดงด้วยเอนไซม์ โดยย่อแสดงในรูปที่ 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.11 ที่ทุกภาวะการทดลอง ซึ่งภาวะที่เลือกจะพิจารณาจากระดับการตัดพันธะไกลโคซิลครอบคลุมจากช่วงต่ำไปสูง โดยประเมินจากค่าของน้ำตาลรีดิวซ์เป็นหลัก ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ 5x7 Factorial in CRD วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

นำภาวะที่เลือกได้มาศึกษาอัตราการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เพื่อเป็นการยืนยันว่าภาวะที่เลือกเป็นภาวะที่เหมาะสมแล้ว โดยการเติมเอนไซม์เข้มข้น 0.75 %(v/w) เพิ่มลงไป ณ จุดที่ปฏิกิริยาการย่อยสลายเริ่มหยุดนิ่ง และแปรเวลาการย่อยเป็น 7 ระดับ คือ 0, 300, 320, 340, 360, 380 และ 400 นาที และเติมเนื้อฝรั่งแดงวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยพิจารณาภาวะที่

เหมาะสมจากระดับการตัดพันธะไกลโคซิลของพอลิเมอร์ในเนื้อฝรั่งแดง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ CRD วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เพื่อเลือกภาวะที่ไซรัปฝรั่งแดงมีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลครอบคลุมจากช่วงต่ำไปสูง เป็นตัวแทนในการศึกษาลักษณะเฉพาะของไซรัปฝรั่งแดงต่อไป ทดลอง 3 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ 5x7 Factorial in CRD วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3.3.5 ศึกษาลักษณะเฉพาะของไซรัปฝรั่งแดง

ศึกษาลักษณะเฉพาะของไซรัปฝรั่งแดงที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลด้วยเอนไซม์ต่างกันที่ได้จากข้อ 3.3.4 โดยวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันและปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ปริมาณฟลาโวนอยด์ ปริมาณวิตามินซี และปริมาณไลโคพีน ตามการวิเคราะห์ในข้อ 3.3.2 วัดขนาดอนุภาคด้วยเครื่อง Laser particle size analyzer ดัดแปลงภาวะที่ใช้ของ Worrasinchai และคณะ (2006) แสดงในภาคผนวก ก.12 ทดลอง 3 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ CRD และประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของไซรัปฝรั่งแดงด้วยวิธี QDA โดยใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 10 คน ประเมินลักษณะด้านสี กลิ่นรส เนื้อสัมผัส และการยอมรับรวม ตัวอย่างแบบทดสอบแสดงในภาคผนวก ข.2 ทดลอง 2 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ RCBD ส่วนการติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณใยอาหาร ค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติก และสารระเหย ในไซรัปฝรั่งแดงที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลด้วยเอนไซม์สูงสุดในช่วงที่ศึกษา เปรียบเทียบกับเนื้อฝรั่งแดงตีป่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาล ทำตามการวิเคราะห์ในข้อ 3.3.2

ทดลองใช้ไซรัปฝรั่งแดงในผลิตภัณฑ์อาหาร โดยใช้เป็นส่วนผสมในเยลลี่ปริมาณ 10% โดยน้ำหนักส่วนผสมทั้งหมด แทนการใช้กลิ่นรสผลไม้สังเคราะห์ในสูตรต้นแบบ แสดงในภาคผนวก ค และประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ที่ได้ ด้วยวิธี QDA โดยใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 10 คน ประเมินลักษณะด้านสี กลิ่นรส เนื้อสัมผัส และการยอมรับรวม ตัวอย่างแบบทดสอบแสดงในภาคผนวก ข.3 ทดลอง 2 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ RCBD

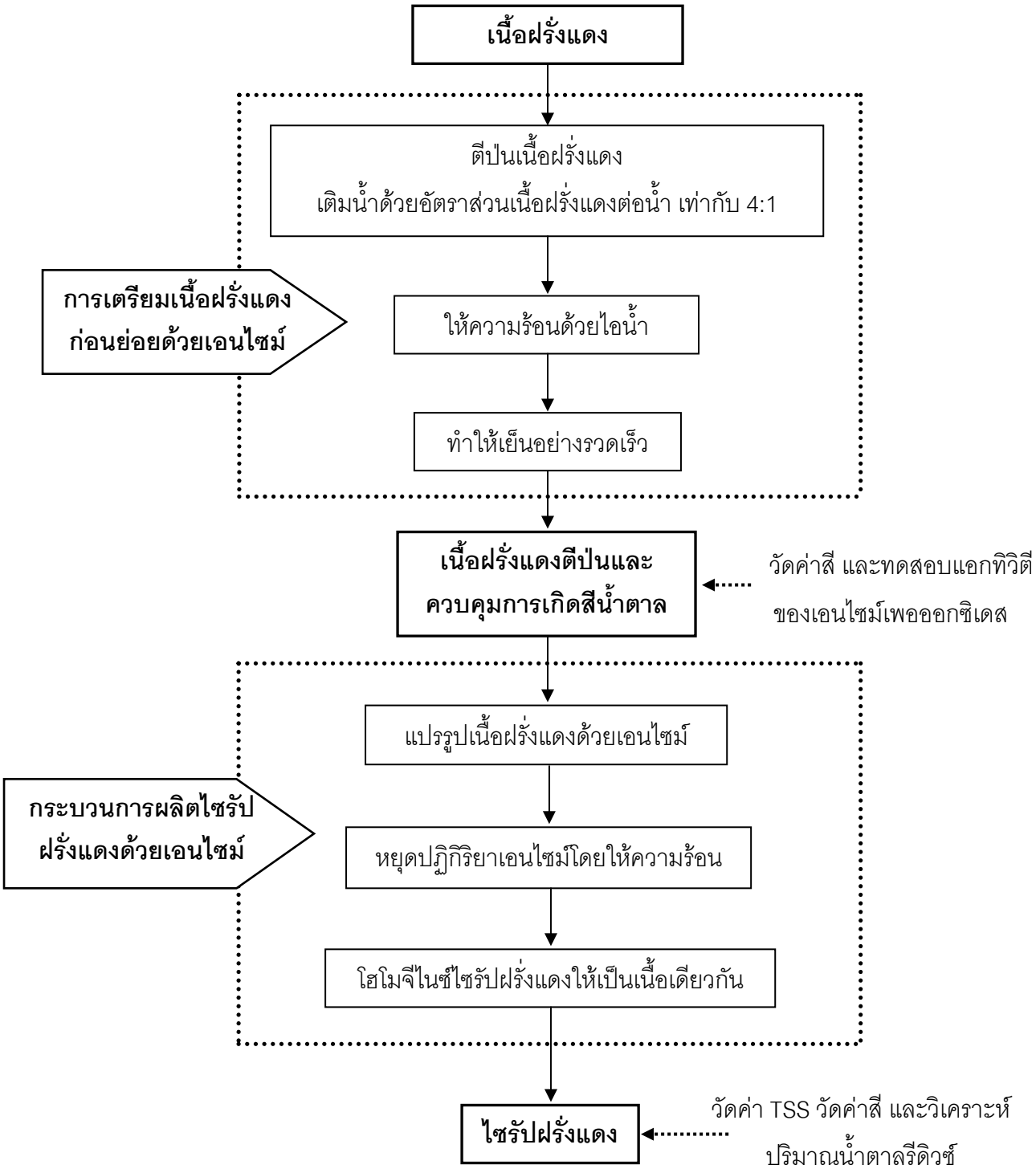
วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range test และ T-test สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณใยอาหาร ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ในงานวิจัยนี้ได้กำหนดคำจำกัดความของเนื้อฝรั่งแดง เนื้อฝรั่งแดงตีป่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาล และไซรัปฝรั่งแดง ดังนี้

เนื้อฝรั่งแดง (Red guava pulp; RP) คือ เนื้อฝรั่งแดงสุกที่ได้จากผลฝรั่งแดงแก่จัดบ่มที่อุณหภูมิ 30±2°C เป็นเวลา 7 วัน จนมีลักษณะสีแดงตามธรรมชาติของฝรั่งสด มีกลิ่นหอมหวานและมีรสหวานของฝรั่งแดงชัดเจน ไม่มีกลิ่นแปลกปลอม และไม่มีรสฝาด

เนื้อฝรั่งแดงตีป่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาล (Homogenized and antibrowning controlled red guava pulp; HABR) คือ เนื้อฝรั่งแดงที่ผ่านการบดลดขนาดและควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลโดยการการให้ความร้อนด้วยไอน้ำ

ไซรัปฝรั่งแดง (Enzyme treated red guava syrup; ERS) คือ ไซรัปหรือของเหลวข้นสีแดงที่ได้จากการย่อยเนื้อฝรั่งแดงตีป่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาล โดยใช้เอนไซม์ที่ระดับการย่อยต่างๆ



รูปที่ 3.1 ขั้นตอนการผลิตไซรัปฝรั่งแดงด้วยเอนไซม์

บทที่ 4

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การคัดเลือกระยะการสุกของฝรั่งแดงที่ใช้เป็นวัตถุดิบ

การผลิตไซรัปฝรั่งแดงจำเป็นต้องมีการคัดเลือกระยะการสุก และการตรวจสอบคุณภาพเบื้องต้นของวัตถุดิบ เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพสม่ำเสมอในทุกครั้งที่ทดลอง ฝรั่งแดงที่ใช้เป็นวัตถุดิบในงานวิจัย คือ ฝรั่งแดงพันธุ์สามสี (*Psidium guajava* L.) ในระยะการพัฒนาเต็มที่ (อายุการเก็บเกี่ยวเริ่มออกดอกจนถึงเก็บผลใช้เวลาประมาณ 4-5 เดือน) มีลักษณะเปลือกสีเขียวอ่อน น้ำหนักผลประมาณ 300-400 กรัม จากผลการทดลองบ่มฝรั่งแดง ที่อุณหภูมิ 30±2ºC เป็นเวลา 4, 7 และ 10 วัน จะได้ผลฝรั่งแดงที่มีความสุกแตกต่างกัน 3 ระยะ โดยใช้ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total soluble solid; TSS) ของเนื้อฝรั่งแดงเป็นตัวกำหนด กำหนดให้ระยะการสุกที่ 1 คือ มี TSS ของเนื้ออยู่ในช่วง 10-11°Brix ระยะการสุกที่ 2 คือ มี TSS ของเนื้ออยู่ในช่วง 12-13 °Brix และระยะการสุกที่ 3 คือ มี TSS ของเนื้ออยู่ในช่วง 14-15 °Brix

จากตารางที่ 4.1 เมื่อนำฝรั่งแดงสุกทั้ง 3 ระยะ มาวิเคราะห์สมบัติทางเคมีและกายภาพเบื้องต้น พบว่า เมื่อระยะการสุกของฝรั่งแดงสูงขึ้น ค่าต่างๆที่วิเคราะห์ ได้แก่ ค่าสีแดง (+a*) ค่าสีเหลือง (+b*) ค่า pH ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แต่ค่าความสว่าง (L*) และปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดซิตริกมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยค่าสีแดง (+a*) และค่าสีเหลือง (+b*) ที่เพิ่มขึ้นเนื่องมาจากโดยทั่วไปปริมาณคลอโรฟิลล์จะลดน้อยลงเมื่อผลไม้เข้าสู่ระยะที่สุกเต็มที่ ในขณะที่สารสีต่างๆ มีปริมาณเพิ่มมากขึ้น ส่วนเนื้อของผลไม้แม้ว่าส่วนใหญ่จะไม่มีคลอโรฟิลล์ แต่มักมีการสร้างสารสีขึ้นในระยะเก็บเกี่ยวเช่นเดียวกัน ซึ่งฝรั่งแดงสุกจะมีไลโคพีน แอนโทไซยานิน และเบต้า-แคโรทีนอยู่มาก (Arthey และ Ashurst , 2001) สำหรับปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดซิตริกจะมีค่าลดลง เนื่องจากผลไม้ส่วนใหญ่เมื่อยังเป็นผลอ่อนมักมีรสเปรี้ยว เนื่องจากการสะสมของกรดอินทรีย์ชนิดต่างๆ ที่พบมาก ได้แก่ กรดซิตริกและกรดมาลิกในแวคิวโอล เมื่อผลพัฒนาเข้าสู่ความบริบูรณ์ปริมาณกรดจะลดลงโดยจะสอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของค่า pH ในเนื้อฝรั่งแดง (Lanzarini และ Pifferi, 1989) เมื่อพิจารณาปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดและน้ำตาลรีดิวซ์ในเนื้อฝรั่งแดงที่ระยะการสุกต่างๆ พบว่าเมื่อฝรั่งแดงสุกมากขึ้น ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดและน้ำตาลรีดิวซ์จะมีค่าสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยมีสาเหตุมาจากในช่วงการสุกของฝรั่งแดง แป้งซึ่งมีอยู่มากในผลไม้ดิบจะเปลี่ยนเป็นน้ำตาลมากขึ้นทำให้ปริมาณแป้งลดลง (Haard และ Chism, 1996)

ตารางที่ 4.1 สมบัติทางเคมีและกายภาพเบื้องต้นของฝรั่งแดงที่ระยะการสุกต่างๆ

Physicochemical characteristics	Ripening levels		
	1	2	3
Color			
L^*	52.65^{a}±0.34	47.34^{b}±0.11	45.67^{c}±0.12
a^*	5.44^{b}±0.11	8.91^{a}±0.11	9.05^{a}±0.07
b^*	5.24^{b}±0.13	6.78^{a}±0.10	6.95^{a}±0.08
pH	3.91^{b}±0.01	4.05^{a}±0.01	4.08^{a}±0.04
Total acidity (%)	0.74^{a}±0.04	0.64^{b}±0.04	0.47^{c}±0.02
Total soluble solids (ºBrix)	10.67^{c}±0.29	12.67^{b}±0.29	14.67^{a}±0.29
Reducing sugar (mg/ml)	45.84^{b}±0.09	47.88^{a}±0.11	48.00^{a}±0.07

ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขในแนวนอนที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

Ripening levels 1, 2 และ 3 คือ ฝรั่งแดงบ่มที่อุณหภูมิ 30±2ºC เป็นเวลา 4, 7 และ 10 วัน

ตารางที่ 4.2 คะแนนลักษณะทางประสาทสัมผัสของฝรั่งแดงที่ระยะการสุกต่างๆ

Ripening levels	Sensory attributes			
	Color	Aroma	Taste	Overall
1	7.03^{b}±0.57	5.78^{c}±0.50	7.70^{b}±0.57	6.78^{c}±0.53
2	8.98^{a}±0.48	9.00^{a}±0.39	8.95^{a}±0.48	9.27^{a}±0.43
3	9.15^{a}±0.33	8.30^{b}±0.33	8.22^{a}±0.75	8.23^{b}±0.81

ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขในแนวตั้งที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

Ripening levels 1, 2 และ 3 คือ ฝรั่งแดงบ่มที่อุณหภูมิ 30±2ºC เป็นเวลา 4, 7 และ 10 วัน

กำหนดให้ลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านต่างๆของฝรั่งแดงมีคะแนนสูงสุด 10 คะแนน

เพื่อคัดเลือกระยะการสุกของฝรั่งแดงที่เหมาะสม สำหรับใช้เป็นวัตถุดิบตั้งต้นในการผลิตไซรัปฝรั่งแดง โดยการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของฝรั่งแดงทั้ง 3 ระยะการสุกด้วยวิธี QDA โดยใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 10 คน ประเมินลักษณะด้านสี กลิ่น รส และการยอมรับรวมของฝรั่งแดง ให้ผลดังตารางที่ 4.2 พบว่า ฝรั่งแดงระยะการสุกที่ 2 มีคะแนนด้านสีและรสไม่แตกต่างจากฝรั่งแดงระยะการสุกที่ 3 แต่มีคะแนนสูงกว่าฝรั่งแดงระยะการสุกที่ 1

นอกจากนี้ฝรั่งแดงระยะการสุกที่ 2 จะมีคะแนนด้านกลิ่น และการยอมรับรวมสูงกว่าฝรั่งแดงระยะการสุกที่ 1 และ 3 อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ดังนั้นจึงเลือกใช้ฝรั่งแดงระยะการสุกที่ 2 เป็นวัตถุดิบตั้งต้นในการผลิตไซรัปฝรั่งแดงในขั้นตอนต่อไป โดยฝรั่งแดงระยะการสุกที่ 2 จะมีสีแดงตามธรรมชาติของฝรั่งแดงสด มีกลิ่นหอมหวานและมีรสหวานของฝรั่งแดงชัดเจน ไม่มีกลิ่นแปลกปลอม เช่น กลิ่นหมัก และกลิ่นเหม็นเขียว และไม่มีรสเฝื่อนฝาด สำหรับการคัดเลือกวัตถุดิบในแต่ละครั้งจะใช้สมบัติทางเคมีและกายภาพเบื้องต้นของฝรั่งแดงระยะการสุกที่ 2 ได้แก่ ค่าสี ค่า pH ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดซิตริก ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในเนื้อฝรั่งแดง เป็นเกณฑ์ในการคัดเลือกวัตถุดิบให้มีความสม่ำเสมอและอยู่ในเกณฑ์เดียวกันทุกครั้งที่ทดลอง

4.2 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารระเหยที่พบในเนื้อฝรั่งแดง

เมื่อนำเนื้อฝรั่งแดงที่คัดเลือกตามเกณฑ์จากข้อ 4.1 มาวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารระเหย พบว่า ฝรั่งแดงประกอบด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ใยอาหาร ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน สารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ ไลโคพีน วิตามินซี สารพรีไบโอติก และสารระเหยที่สำคัญหลายชนิด ซึ่งเฉพาะในงานส่วนนี้ได้ศึกษาเปรียบเทียบกับฝรั่งขาว พันธุ์แป้นสีทองด้วย เนื่องจากเป็นที่นิยมรับประทานทั้งผลสดและแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ อีกทั้งหาได้ง่ายและมีคุณค่าทางอาหารสูงเช่นเดียวกัน

จากผลการทดลองที่แสดงในตารางที่ 4.3 พบว่า ปริมาณใยอาหารทั้งหมดในเนื้อฝรั่งแดงและฝรั่งขาว มีค่าเท่ากับ 4.99 และ 3.28 g/100 g fw ตามลำดับ แบ่งเป็นใยอาหารที่ละลายน้ำ 1.27 และ 1.14 g/100 g fw ตามลำดับ และใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ 3.72 และ 2.14 g/100 g fw ตามลำดับ ซึ่งเมื่อเทียบกับผลไม้บางชนิด เช่น แอปเปิ้ล เงาะ มะม่วง ลิ้นจี่ และสับปะรด (0.54-3.10 g/100 g fw) จัดได้ว่าฝรั่งแดงเป็นผลไม้ที่มีใยอาหารทั้งหมดสูงกว่าผลไม้หลายๆชนิดรวมทั้งฝรั่งขาวด้วย (Gorinstein และคณะ, 1999)

เมื่อวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของเนื้อฝรั่งแดงด้วยวิธี DPPH ซึ่งแสดงในรูปความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่ใช้กำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ได้ 50% ภายในเวลาที่กำหนด (EC_{50}) ทั้งนี้สารต้านอนุมูลอิสระจะมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงเมื่อมีค่า EC_{50} ต่ำ พบว่า ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของฝรั่งแดงและฝรั่งขาว มีค่าเท่ากับ 18.35 และ 22.45 µg fw/µgDPPH ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบกับค่า EC_{50} ของผลไม้ที่ศึกษาโดย Kulkarni, Aradhya และ Divakar (2004) พบว่า ฝรั่งแดงมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระใกล้เคียงกับผลทับทิมพันธุ์ของอินเดีย (16.7 µg fw/µgDPPH) แต่มากกว่าฝรั่งขาว และเมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี FRAP พบว่า ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของฝรั่งแดงและฝรั่งขาว มีค่าเท่ากับ 89.46 และ 78.56 µM TE/ g fw ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบ

กับผลไม้บางชนิด เช่น แบล็คเบอร์รี่ (63.5-91.5 μM TE/ g fw) เบอร์รี่ (10.0-76.2 μM TE/ g fw) มะละกอ (15.57-22.06 μM TE/ g fw) สตรอเบอร์รี่ (7.31-14.22 μM TE/ g fw) (Siriwoharn และคณะ, 2004; Taruscio, Barney และ Exon, 2004; Kobayashi, Wang และ Pomper, 2008; Tulipani และคณะ, 2008) และฝรั่งขาว พบว่า ฝรั่งแดงมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันมากกว่าผลไม้เหล่านี้ ดังนั้น ฝรั่งแดงจึงจัดเป็นพืชที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันค่อนข้างสูง โดยสารต้านอนุมูลอิสระสำคัญที่พบในเนื้อฝรั่งแดง ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ แคโรทีนอยด์ ไลโคพีน วิตามินอี และวิตามินซี เป็นต้น (Escrig และคณะ, 2001; Thaipong และคณะ, 2006)

ตารางที่ 4.3 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่พบในฝรั่งแดงและฝรั่งขาว

Physicochemical characteristics	Content	
	Red guava	White guava
Total dietary fiber (TDF) (g/ 100 g fw[a])	4.99±0.03	3.28±0.04
Soluble dietary fiber (SDF)	1.27±0.09	1.14±0.07
Insoluble dietary fiber (IDF)	3.72±0.09	2.14±0.08
Antioxidant activities		
DPPH assay (EC_{50}, μg fw/ μg DPPH)	18.35±0.05	22.45±0.07
FRAP assay (μM TE[b]/g fw)	89.46±0.12	78.56±0.17
Total phenolics (mg GAE[c]/g fw)	163.36±0.05	145.52±0.08
Total flavonoids (mg CE[d]/g fw)	35.85±0.13	19.06±0.18
Ascorbic acid (mg/g fw)	112.00±0.18	130.00±0.14
Lycopene (μg /g fw)	849.58±0.24	nd

[a]fw = fresh weight basis, [b]TE = Trolox equivalent

[c]mg gallic acid equivalents/100 g weight basis, [d]mg catechin equivalents /100 g weight basis

nd - not detected

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด วิตามินซี และไลโคพีนในเนื้อฝรั่งแดงและฝรั่งขาว พบว่า มีปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 163.36 และ 145.52 mg gallic acid equivalent (GAE)/ g fw ตามลำดับ เมื่อเทียบกับฝรั่งขาวและผลไม้ชนิดอื่น เช่น กล้วย แก้วมังกร ชมพู่ ลังสาด ส้ม มะเฟือง และมังคุด (21-131 mg GAE/100 g) พบว่าฝรั่งแดงมีปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกทั้งหมดมากกว่า (Lim, Lim และ Tee, 2007) ในส่วนของ

ปริมาณฟลาโวนอยด์ที่พบในเนื้อฝรั่งแดงและฝรั่งขาว มีค่าเท่ากับ 35.85 และ 19.06 mg catechin equivalent (CE)/ g fw ตามลำดับ พบว่า ฝรั่งแดงมีปริมาณฟลาโวนอยด์มากว่าฝรั่งขาว และใกล้เคียงกับแอปเปิ้ล ราสเบอร์รี่ เชอร์รี่ องุ่นขาว และพีช (15.0-48.6 mg CE/ g fw) (Marinova, Ribarova และ Atanassova, 2005) ส่วนปริมาณวิตามินซีที่พบในฝรั่งแดงและฝรั่งขาวมีค่าเท่ากับ 112 และ 130 mg/ 100 g fw ตามลำดับ พบว่าในฝรั่งขาวจะมีปริมาณวิตามินซีมากกว่าในฝรั่งแดง ฝรั่งเป็นผลไม้ที่มีปริมาณวิตามินซีสูงเมื่อเทียบกับผลไม้หลายๆชนิด เช่น พีช ลูกพลัมและแนคตารีน (2.5-13.2 mg/100 g) (Gil และคณะ, 2002) และสำหรับไลโคพีนพบในเนื้อฝรั่งแดงเท่านั้น มีค่าเท่ากับ 849.58 µg/ g fw ซึ่งมีมากรองจากมะเขือเทศ และมากกว่ามะละกอถึง 2 เท่า โดยไลโคปีนเป็นสารแคโรทีนอยด์ที่ให้สีแดงแก่พืช ที่พบมากในผักและผลไม้ที่มีสีแดง ชมพู เช่น มะเขือเทศ ฝรั่งแดง แตงโม และมะละกอ เป็นต้น (Rao และ Rao., 2007)

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญในเนื้อฝรั่งแดงอีกชนิดหนึ่ง คือ สารพรีไบโอติก จากการทดลองหาค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติกในเนื้อฝรั่ง โดยศึกษาการเจริญของโพรไบโอติก 2 ชนิด ได้แก่ ***L. acidophilus*** La5 และ ***B. lactis*** Bb12 และแบคทีเรียที่พบในระบบทางเดินอาหาร ได้แก่ ***E. coli*** ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเนื้อฝรั่งแดงและฝรั่งขาวเป็นองค์ประกอบเปรียบเทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอินนูลินซึ่งเป็นสารพรีไบโอติก และกลูโคสซึ่งไม่ได้เป็นสารพรีไบโอติกเป็นองค์ประกอบ ผลแสดงในตารางที่ 4.4 พบว่าทั้ง ***L. acidophilus*** La5 และ ***B. lactis*** Bb12 ที่เลี้ยงในอาหารที่มีอินนูลินเป็นองค์ประกอบ มีจำนวนเพิ่มขึ้นภายใน 24 ชั่วโมงสูงกว่าภาวะที่เลี้ยงในอาหารที่มีเนื้อฝรั่งแดง ฝรั่งขาวและกลูโคสเป็นองค์ประกอบอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ในขณะที่ ***E. coli*** ที่เลี้ยงในอาหารที่มีเนื้อฝรั่งแดงเป็นองค์ประกอบ มีจำนวนเพิ่มขึ้นภายใน 24 ชั่วโมง ไม่แตกต่างจากภาวะที่เลี้ยงในอาหารที่มีฝรั่งขาวและอินนูลินเป็นองค์ประกอบ แต่มีจำนวนน้อยกว่าภาวะที่เลี้ยงในอาหารที่มีกลูโคสเป็นองค์ประกอบอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เนื่องจากสารพรีไบโอติกจะถูกหมักโดยแบคทีเรียในลำไส้ทำให้เป็น short chain fatty acid (SCFA) ซึ่ง SCFA ที่เกิดขึ้นนี้จะทำให้ pH ลดลง มีผลให้เกิดการยับยั้งการเจริญของ ***E. coli*** ได้ (Gibson และ Roberfroid., 1995) และเมื่อนำค่าจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นภายใน 24 ชั่วโมง ไปคำนวณตามสมการที่แสดงในภาคผนวก ก. 8 เพื่อหาค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติก แสดงในรูปที่ 4.1 พบว่าทั้ง ***L. acidophilus*** La5 และ ***B. lactis*** Bb12 มีค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติกในอินนูลินสูงกว่าสารพรีไบโอติกในเนื้อฝรั่งแดงและฝรั่งขาว โดย ***L. acidophilus*** La5 มีค่าเท่ากับ 0.19 0.13 และ 0.11 ตามลำดับ ส่วน ***B. lactis*** Bb12 มีค่าเท่ากับ 0.35 0.29 และ 0.27 ตามลำดับ เนื่องจาก สารประกอบบางชนิดในผลไม้ เช่น วิตามินซี ฟลาโวนอยด์ เทอร์ปีนและกรดไขมัน ส่งผลให้เกิดการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียได้ (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2545; Talcott และคณะ, 2003) อย่างไรก็ตามการที่จะใช้ประโยชน์จากโพรไบโอติกนั้นมีจุดสำคัญ คือ จำนวนเชื้อแบคทีเรียที่มีชีวิตอยู่ในผลิตภัณฑ์ที่บริโภค

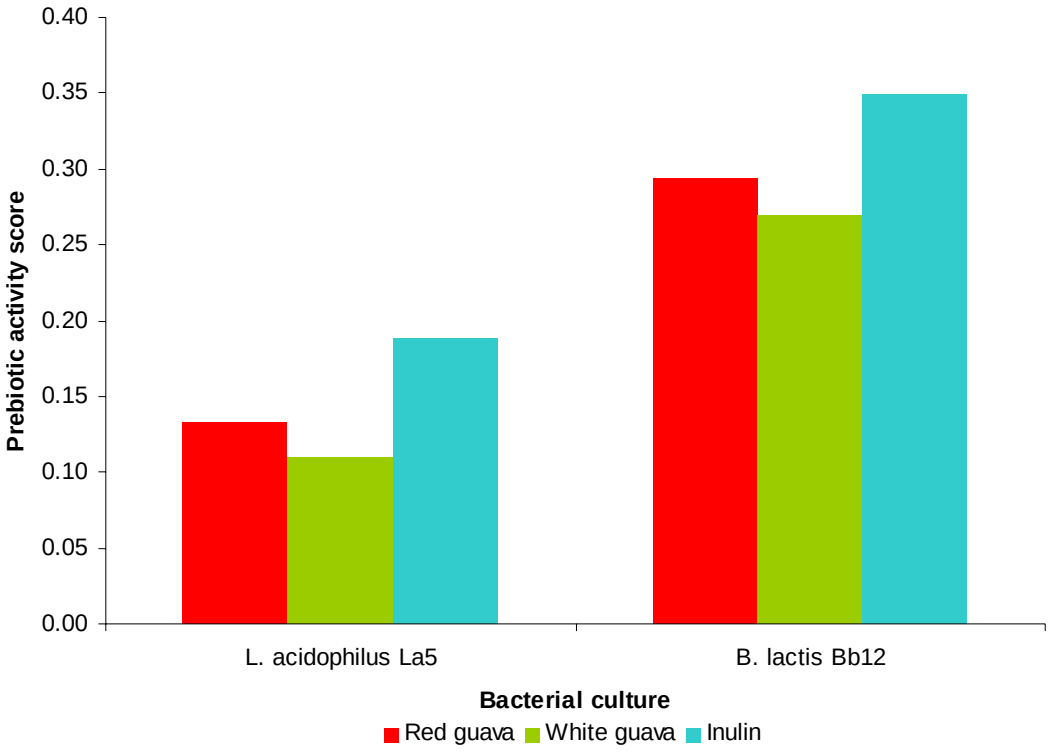
เข้าไปนั้นควรมีอย่างน้อย 1x10^6 cfu/ml ซึ่งถือว่าเป็นระดับที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย (Shah, 2000; Moreno และคณะ, 2006)

ตารางที่ 4.4 เปรียบเทียบจำนวนจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นภายใน 24 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเนื้อฝรั่งแดง ฝรั่งขาว อินนูลินและกลูโคสเป็นองค์ประกอบ

Bacterial culture	Cell population [$\log_{10}$(cfu/ml)]			
	Red guava	White guava	Inulin	Glucose
L. acidophilus La5	7.20^{b}±0.01	7.18^{b}±0.03	7.72^{a}±0.03	6.77^{c}±0.01
B. lactis Bb12	8.62^{b}±0.03	8.59^{b}±0.05	9.16^{a}±0.05	7.05^{c}±0.07
E. coli ATCC 29922	3.16^{b}±0.01	3.17^{b}±0.04	3.18^{b}±0.01	3.34^{a}±0.02

ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขในแนวนอนที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)



รูปที่ 4.1 ค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติกในเนื้อฝรั่งแดงและฝรั่งขาวเปรียบเทียบกับอินนูลิน

จากการวิเคราะห์ชนิดสารระเหยในฝรั่งแดงและฝรั่งขาวด้วยเทคนิค SPME/GC/MS พบว่าฝรั่งแดงและฝรั่งขาวมีสารระเหยทั้งหมด 21 และ 19 ชนิด ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.5 เมื่อพิจารณาค่า % peak area ของโครมาโตรแกรมที่ได้พบว่า cinnamyl alcohol, ethyl benzoate, ß–caryophyllene และ (E)-3-hexenyl acetate มีค่า % peak area สูง จึงคาดว่าน่าจะเป็นสารระเหยหลักในเนื้อฝรั่งแดงและฝรั่งขาว ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Ekundayo และคณะ (1991); Vernin และคณะ (1991). โดยมีสารระเหยในกลุ่ม alcohols esters และ terpenes เป็นองค์ประกอบหลัก สารระเหยหลักในฝรั่งจะเป็นสารระเหยให้กลิ่นแบบ fruity, sweet, green, herbal, wood และ citrus ส่วนใหญ่สารในกลุ่ม ester จะเป็นสารที่ให้กลิ่นเฉพาะในผลไม้เขตร้อน (Jordan และคณะ, 2003) จากงานวิจัยของ Chen, Sheu และ Wu (2006) พบกลุ่มสารระเหยหลักของฝรั่งจากไต้หวัน (cv.Chung-Shan-Yueh-Pa) โดยใช้สารทำละลายและการกลั่นพร้อมกันในการสกัดกลิ่น และวิเคราะห์ชนิดสารระเหยโดยใช้เทคนิค GC-MS ร่วมกับ GC-sniffing พบสารระเหยทั้งหมด 65 ชนิด มีสารระเหยหลัก ดังนี้ α-pinene, 1,8-cineole, nerolidol, ß-caryophyllene, globulol, C_6 aldehydes, C_6 alcohols, ethyl hexanoate และ (Z)-3-hexenyl acetate ส่วนงานวิจัยของ Soares และคณะ (2007) พบกลุ่มสารระเหยหลักของฝรั่งจากบราซิล (cv. Cortibel) ที่ระยะการสุกแตกต่างกัน 3 ระยะ โดยใช้เทคนิค SPME/GC/MS มีสารระเหยหลักดังนี้ (E)-2-hexenal, (Z)-3-hexenal, (Z)-3-hexenyl acetate, (E)-3-hexenyl acetate, caryophyllene, α-humulene และ β-bisabollene หรืองานวิจัยของ Pino, Marbot และ Vazquez (2001) พบกลุ่มสารระเหยหลักของฝรั่งสตรอเบอร์รี่ (*Psidium cattleianum* sabine) โดยใช้สารทำละลายและการกลั่นพร้อมกันในการสกัดกลิ่น และวิเคราะห์ชนิดสารระเหยโดยใช้เทคนิค GC-MS ร่วมกับ GC-sniffing พบสารระเหยทั้งหมด 204 ชนิด เช่น α-pinene, (Z)-3-hexenol, (E)-β-caryophyllene, และ hexadecanoic acid แสดงให้เห็นว่า สายพันธุ์ วิธีและเทคนิคที่ใช้ในการวิเคราะห์ที่แตกต่างก็ส่งผลให้ปริมาณและชนิดของสารระเหยแตกต่างกันด้วย

จากข้อมูลด้านลักษณะเด่นทางประสาทสัมผัสของฝรั่งแดงระยะการสุกที่ 2 จะมีสีแดงตามธรรมชาติของฝรั่งแดงสด มีกลิ่นหอมหวานและมีรสหวานของฝรั่งแดงชัดเจน ไม่มีกลิ่นแปลกปลอม เช่น กลิ่นหมัก กลิ่นเหม็นเขียว และไม่มีรสเฝื่อนฝาด ประกอบด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ ได้แก่ ใยอาหาร ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน สารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ ไลโคพีน และวิตามินซี มีปริมาณค่อนข้างสูงเมื่อเปรียบเทียบกับผักและผลไม้ชนิดอื่น นอกจากนี้ฝรั่งแดงยังมีสมบัติเป็นสารพรีไบโอติกและมีสารระเหยในกลุ่ม alcohols, esters, monoterpenes และ sesquiterpenes หลายชนิดเป็นองค์ประกอบหลัก จึงอาจกล่าวได้ว่าฝรั่งแดงเป็นผลไม้ที่มีศักยภาพในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ปรุงแต่งสีและกลิ่นรสในอาหารที่มีหน้าที่เฉพาะต่อไปได้

ตารางที่ 4.5 ชนิดสารระเหยที่พบในฝรั่งแดงและฝรั่งขาววิเคราะห์ด้วยวิธี SPME/GC/MS

Compounds	RI	% Peak area		Odor description[a]
		Red guava	White guava	
(E)-2-hexenal	847	nd	0.16	fruity, herbal
(Z)-3-hexen-1-ol	851	0.16	0.12	green, fresh
hexan-1-ol	865	0.24	0.57	fruity, floral, sweet, herbal
(E)-3-hexenyl acetate	1005	1.76	4.00	fruity, sweet, green
(Z)-3-hexenyl acetate	1011	3.41	nd	fruity, sweet, green
hexyl acetate	1017	0.86	nd	fruity, sweet, citrus, herbal
(E)-β-ocimene	1037	0.10	nd	herbal, mild, sweet, orange, lemon
ethyl benzoate	1164	11.32	9.82	fruity, sweet
Theaspirane B	1297	0.40	nd	fruity, sweet
cinnamyl alcohol	1335	57.45	41.43	sweet, spicy, green
α-copaene	1372	0.53	1.15	sweet, citrus
dihydro-β-ionone	1448	0.17	nd	fruity
β-caryophyllene	1491	4.32	9.48	green, spicy, woody, fruity, sweet
aromadendrene	1493	1.42	1.48	woody
α-humulene	1495	0.42	1.03	woody
alloaromadendrene	1496	0.30	0.36	woody
β-cubebene	1497	nd	0.18	herbal, woody
γ-muurolene	1498	0.13	nd	herbal, woody, spice
β-selinene	1499	0.16	nd	herbal
α-bisabolene	1505	0.99	2.11	balsamic, spicy
β-bisabolene	1507	0.18	nd	balsamic, herbal
α-elemene	1509	nd	0.24	fruity, sweet, citrus
γ-cadinene	1510	0.32	0.67	Woody, herbal, woody
δ-cadinene	1521	0.13	0.17	thyme, medicine, woody, herbal
(E)-γ-bisabolene	1522	nd	0.22	orange, sweet
nerolidol	1543	nd	0.60	floral
caryophyllene oxide	1564	nd	0.57	fruity, sweet, herbal

[a]Odor description: MacLeod และ Ames (1990); Gallori และคณะ (2001); Engel และคณะ (2002); Jordan และคณะ (2002); Jiang และ Kubota (2004); Chen, Sheu และ Wu (2006)

RI = Kovat's retention indices, nd - not detected

4.3 ภาวะที่เหมาะสมในการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลในเนื้อฝรั่งแดง

การเกิดสีน้ำตาลในเนื้อฝรั่งแดงเกิดจากปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่เร่งด้วยเอนไซม์ โดยเกิดขึ้นกับเนื้อเยื่อพืชเมื่อเซลล์ถูกทำลายทางกล เช่น การปอกเปลือกหรือการหั่นชิ้น ทำให้เกิดปฏิกิริยาของสารประกอบโมโนฟีนอลที่อยู่ในเซลล์พืชสัมผัสกับออกซิเจนในอากาศและมีเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดส (polyphynoloxidase; PPO) ทำให้เกิดปฏิกิริยาไฮดรอกซิเลชันได้เป็นออร์โท-ไดฟีนอล (o-diphenol) สารนี้จะถูกออกซิไดส์ต่อให้เป็นออร์โท-ควิโนน (o-quinone) เอนไซม์ PPO อาจมีชื่อเรียกว่า พอลิฟีนอลเลส ฟีนอเลส ไทโรซิเนส ออร์โท-ไดฟีนอลออกซิเดส (o-diphenol oxidase) หรือแคตีคอลออกซเดส (catechol oxidase) ควิโนนที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาที่เร่งด้วยเอนไซม์ PPO นี้จะรวมตัวกันและเกิดปฏิกิริยากับสารประกอบฟีนอลอื่นๆหรือกับกรดอะมิโนได้เป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำตาล (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2545; Sapers, 1993) ส่งผลให้เนื้อฝรั่งแดงมีสีเปลี่ยนแปลงไป ทำให้ผลิตภัณฑ์จากฝรั่งแดงที่ได้มีคุณภาพลดลง ดังนั้นจึงต้องมีขั้นตอนควบคุมปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลในเนื้อฝรั่งแดงก่อนนำไปใช้เป็นวัตถุดิบในการแปรรูปไซรัปฝรั่งแดง

จากการศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลในเนื้อฝรั่งแดงตีป่น โดยการให้ความร้อนด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 70, 80 และ 90°C นาน 1, 3 และ 5 นาที พบว่าภาวะการเตรียมเนื้อฝรั่งแดงมีผลต่อการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลและการเปลี่ยนแปลงสีของเนื้อฝรั่งแดง แสดงในรูปที่ 4.2-4.5 โดยเนื้อฝรั่งแดงที่ไม่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอย่างช้าๆ เมื่อเนื้อฝรั่งแดงเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลจะส่งผลให้ค่าความสว่าง (L*) ค่าสีแดง (+a*) และค่าสีเหลือง (+b*) ที่วัดได้มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

เมื่อพิจารณาผลของการให้ความร้อนด้วยไอน้ำเพื่อควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลในเนื้อฝรั่งแดงตีป่นพบว่า การให้ความร้อนด้วยไอน้ำจนจุดกึ่งกลางของเนื้อฝรั่งแดงมีอุณหภูมิ 70, 80 และ 90°C นาน 1, 3 และ 5 นาที มีผลช่วยควบคุมการเกิดสีน้ำตาลในเนื้อฝรั่งแดงได้ โดยทำให้เนื้อฝรั่งแดงมีค่าความสว่าง (L*) ค่าสีแดง (+a*) และค่าสีเหลือง (+b*) เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (รูปที่ 4.6-4.8) เนื่องจากความร้อนทำให้เอนไซม์ PPO เสียสภาพ ส่งผลให้เอนไซม์ไม่สามารถเร่งปฏิกิริยาได้ (Lee และ Whitaker, 1995) และช่วยเพิ่มเสถียรภาพให้กับสารประกอบแคโรทีนอยด์ในเนื้อฝรั่งแดงด้วย (Lee, 1992)

รูปที่ 4.2 สีเนื้อฝรั่งแดงตีป่นที่ไม่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล เก็บที่อุณหภูมิ 10 ± 2°C นาน 10 วัน

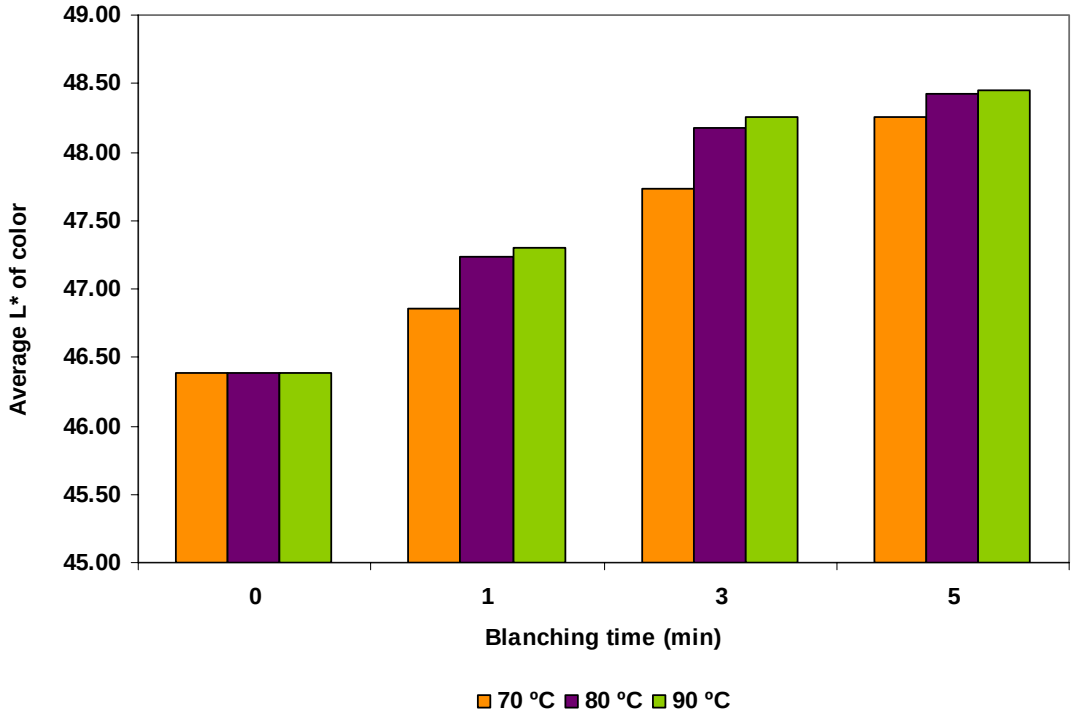
รูปที่ 4.3 สีเนื้อฝรั่งแดงตีป่นที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70°C ที่เวลาต่างๆเก็บที่อุณหภูมิ 10±2°C นาน 10 วัน

รูปที่ 4.4 สีเนื้อฝรั่งแดงตีป่นที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80°C ที่เวลาต่างๆเก็บที่อุณหภูมิ 10±2°C นาน 10 วัน

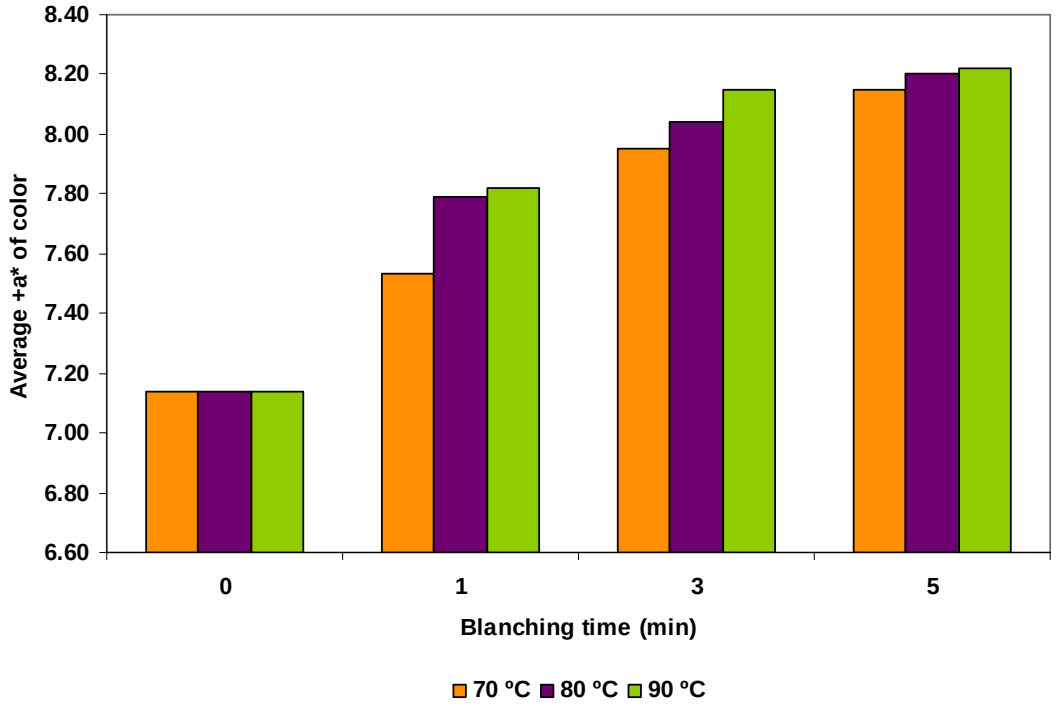
รูปที่ 4.5 สีเนื้อฝรั่งแดงตีป่นที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90°C ที่เวลาต่างๆเก็บที่อุณหภูมิ 10±2°C นาน 10 วัน

เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติเพื่อทดสอบอิทธิพลร่วมระหว่างอุณหภูมิกับระยะเวลาที่ให้ความร้อน พบว่า มีอิทธิพลร่วมอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ระหว่างปัจจัยทั้ง 2 ต่อค่าความสว่าง (L*) ค่าสีแดง (+a*) และค่าสีเหลือง (+b*) จากรูปที่ 4.6-4.8 แสดงให้เห็นว่า การให้ความร้อนด้วยไอน้ำ ทำให้เนื้อฝรั่งแดงมีค่าความสว่าง (L*) ค่าสีแดง (+a*) และค่าสีเหลือง (+b*) เพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) และจากผลการทดลองพบว่าการให้ความร้อนด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 80°C นาน 5 นาที เนื้อฝรั่งแดงตีป่นจะมีค่าความสว่าง (L*) ค่าสีแดง (+a*) และค่าสีเหลือง (+b*) สูงที่สุดไม่แตกต่างจากการให้ความร้อนด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 90°C นาน 5 นาที ดังนั้นจึงเลือกการให้ความร้อนด้วยไอน้ำจนจุดกึ่งกลางของเนื้อฝรั่งแดงมีอุณหภูมิ 80°C นาน 5 นาที เป็นภาวะที่เหมาะสมในการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลในเนื้อฝรั่งแดง เนื่องจากเอนไซม์ PPO จะถูก

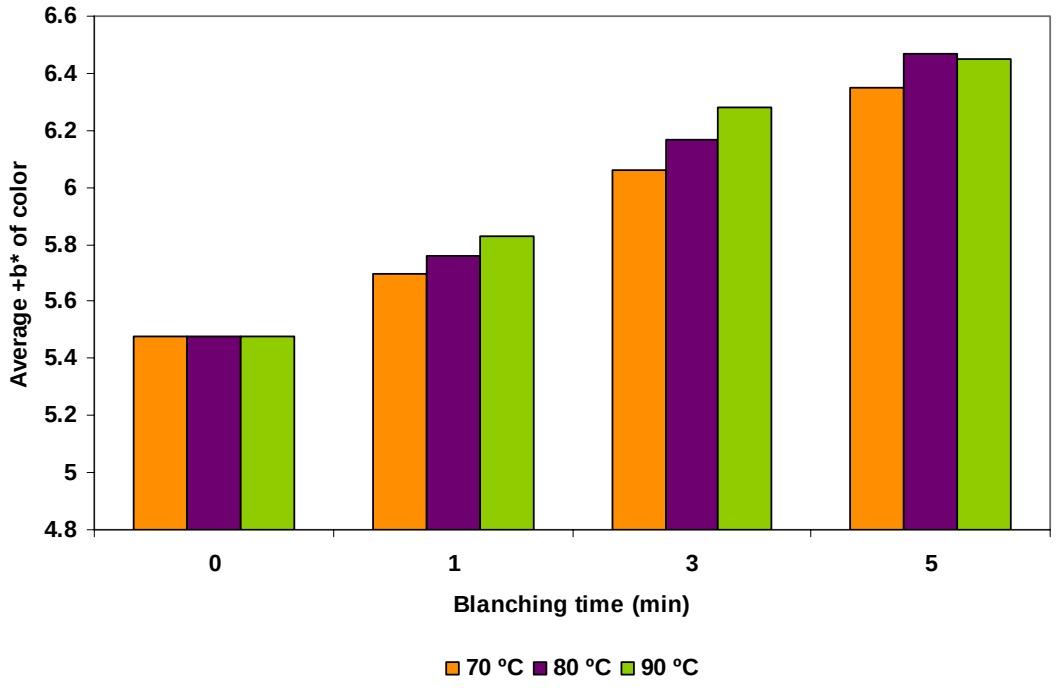
ทำลายอย่างสมบูรณ์ที่อุณหภูมิ 80°C (Sapers, 1993) และเมื่อนำภาวะที่เลือกใช้มาตรวจสอบแอกทิวิตีของเอนไซม์ peroxidase (POD) เพื่อยืนยันว่าเป็นภาวะที่สามารถควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลได้พบว่า ไม่พบแอกทิวิตีของเอนไซม์ POD โดยเนื้อฝรั่งแดงตีป่นที่เตรียมได้มีค่า pH เฉลี่ยเท่ากับ 3.98 ซึ่งค่า pH นี้ยังอยู่ในช่วงที่เอนไซม์ Pectinex® Ultra SP-L สามารถทำงานได้ดี



รูปที่ 4.6 ค่าเฉลี่ยความสว่าง (L*) ของเนื้อฝรั่งแดงตีป่นที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ



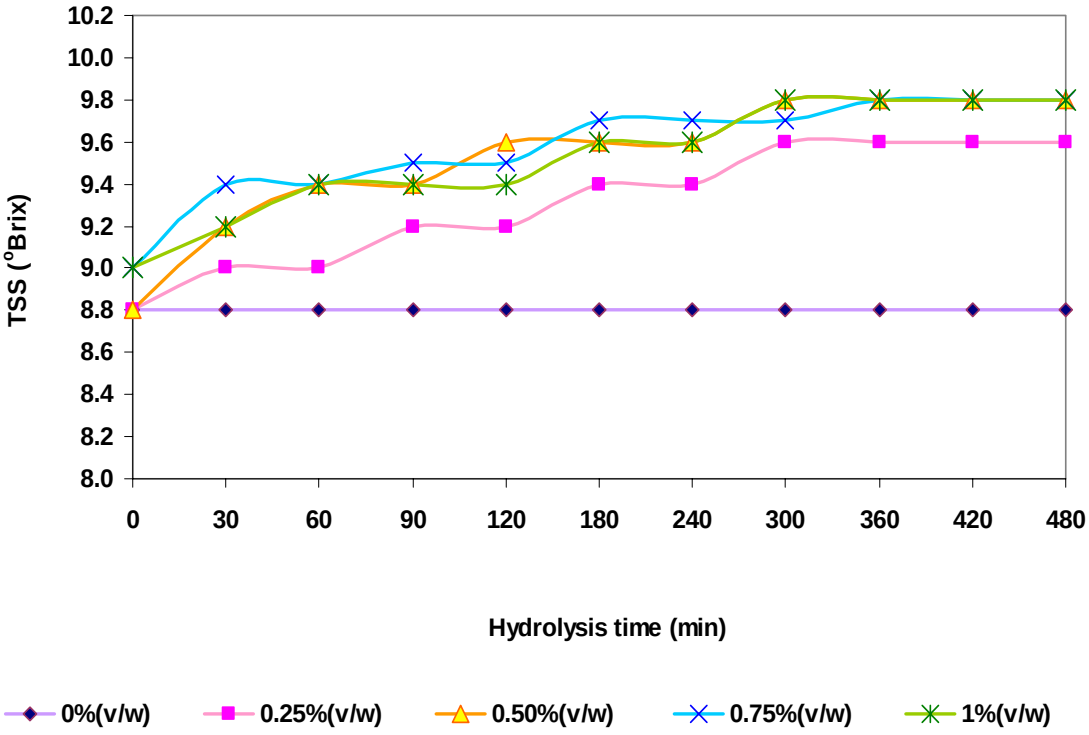
รูปที่ 4.7 ค่าเฉลี่ยสีแดง (+a*) ของเนื้อฝรั่งแดงตีป่นที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ



รูปที่ 4.8 ค่าเฉลี่ยสีเหลือง (+b*) ของเนื้อฝรั่งแดงตีป่นที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ

4.4 ภาวะการผลิตไซรัปฝรั่งแดงด้วยเอนไซม์

การผลิตไซรัปฝรั่งแดงโดยใช้เอนไซม์ย่อยส่วนประกอบต่างๆในผนังเซลล์พืช มีจุดประสงค์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดของเหลวต่างๆ รวมทั้งสารให้สี กลิ่นรส และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ จากงานวิจัยนี้ได้ทดลองย่อยเนื้อฝรั่งแดงตีป่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาลที่เตรียมได้จากข้อ 4.3 ด้วยเอนไซม์เพกทิเนสทางการค้าคือ Pectinex® Ultra SP-L (10292 PGU/ml) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ประกอบด้วยเอนไซม์หลายชนิดได้แก่ พอลิกาแลกทูโรเนส เพกทินไลเอส เพกทินเอสเทอเรส เฮมิเซลลูเลส เซลลูเลส โปรติเอส และอะไมเลส ที่ความเข้มข้น 0-1% (v/w) เวลาการย่อย 0-480 นาที จากนั้นติดตามผลการเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้และค่าสี และเลือกภาวะที่ไซรัปมีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลด้วยเอนไซม์ครอบคลุมจากช่วงต่ำไปสูงโดยประเมินจากค่าของน้ำตาลรีดิวซ์เป็นตัวแทนในการศึกษาลักษณะเฉพาะของไซรัป



รูปที่ 4.9 การเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (TSS) ในไซรัปฝรั่งแดงที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ Pectinex® Ultra SP-L ที่ความเข้มข้นและเวลาการย่อยต่างๆ

เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่าปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ พบว่า ความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาการย่อยมีอิทธิพลอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ต่อปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ และพบผลของอิทธิพลร่วมอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ระหว่างปัจจัยทั้งสอง

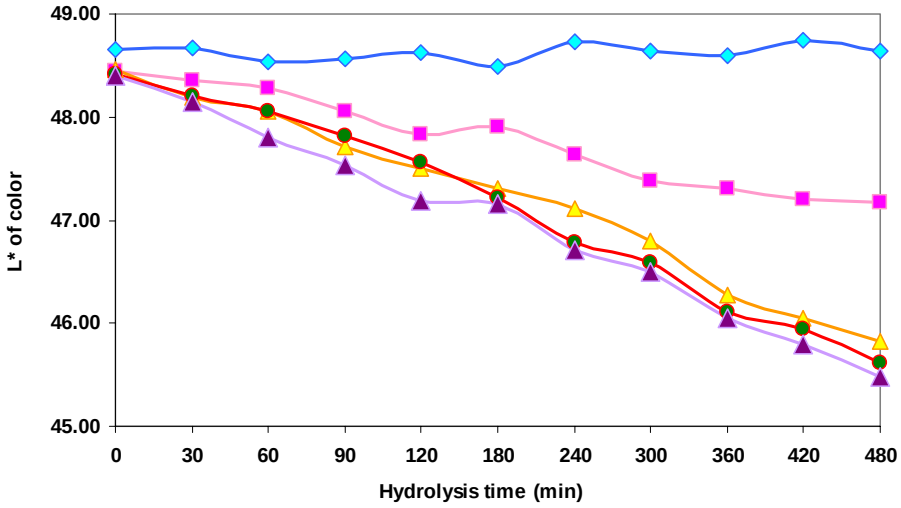
จากผลการทดลองรูปที่ 4.9 พบว่า เมื่อเพิ่มระยะเวลาการย่อยไซรัปฝรั่งแดงจะมีปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย เนื่องจากเอนไซม์ที่ใช้มีสมบัติในการย่อยสารประกอบเพกทิน เมื่อโมเลกุลของสารประกอบเพกทินเกิดการย่อยสลาย จะปลดปล่อยสารที่อยู่ภายในเซลล์พืชออกมา ทำให้ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้มีค่าเพิ่มขึ้น (Al-Hooti และคณะ, 2002) ผลที่ได้สอดคล้องกับการศึกษาของ Thongsombat , Sirichote และ Chanthachum (2007) ซึ่งได้ศึกษาการใช้เพคติเนส 0.15% ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 45^{O}C นาน 2.50 ชั่วโมง ในการผลิตน้ำฝรั่งพร้อมดื่ม พบว่า การใช้เอนไซม์จะทำให้น้ำฝรั่งที่ได้มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้มีค่าเพิ่มขึ้น จาก 9.27 เป็น 11.18^{O}Brix อย่างไรก็ตามจากผลที่ได้จะเห็นว่าปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้เพิ่มขึ้นเล็กน้อยอาจเนื่องมาจากโครงสร้างร่างแหของเพกทินที่อุ้มน้ำถูกทำให้ฉีกขาด โมเลกุลของน้ำที่อยู่ภายในเซลล์ของเนื้อฝรั่งแดงถูกปล่อยออกมาด้วย ส่งผลให้น้ำและของเหลวละลายที่อยู่ภายในเซลล์ถูกปลดปล่อยออกมาในปริมาณที่แตกต่างกัน (Baumann, 1981)

สำหรับแนวโน้มในการเปลี่ยนแปลงค่าสีในระบบ L* a* b* ของไซรัปฝรั่งแดงที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ที่ภาวะต่างๆ เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่าสี พบว่า ความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาการย่อยมีอิทธิพลอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ต่อค่าความสว่าง (L*) ค่าสีแดง (+a*) และค่าสีเหลือง (+b*) และพบผลของอิทธิพลร่วมอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ระหว่างปัจจัยทั้งสอง จากผลการทดลองรูปที่ 4.10 พบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์จะทำให้ไซรัปฝรั่งแดงมีค่าความสว่าง (L*) ลดลง ส่วนค่าสีแดง (+a*) และค่าสีเหลือง (+b*) มีค่าเพิ่มขึ้น และเมื่อเพิ่มระยะเวลาการย่อยจะทำให้ไซรัปที่ได้มีค่าความสว่าง (L*) ลดลง แต่ค่าสีแดง (+a*) และค่าสีเหลือง (+b*) จะมีค่าเพิ่มขึ้น ผลที่ได้สอดคล้องกับการศึกษาของ Hodgson และคณะ (2006) ซึ่งได้ศึกษาการทำน้ำฝรั่งเข้มข้นโดยใช้เพคติเนสทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 50^{O}C นาน 120 นาที พบว่าค่าความสว่าง (L*) ลดลง ส่วนค่าสีแดง (+a*) และค่าสีเหลือง (+b*) มีค่าเพิ่มขึ้นเช่นกัน

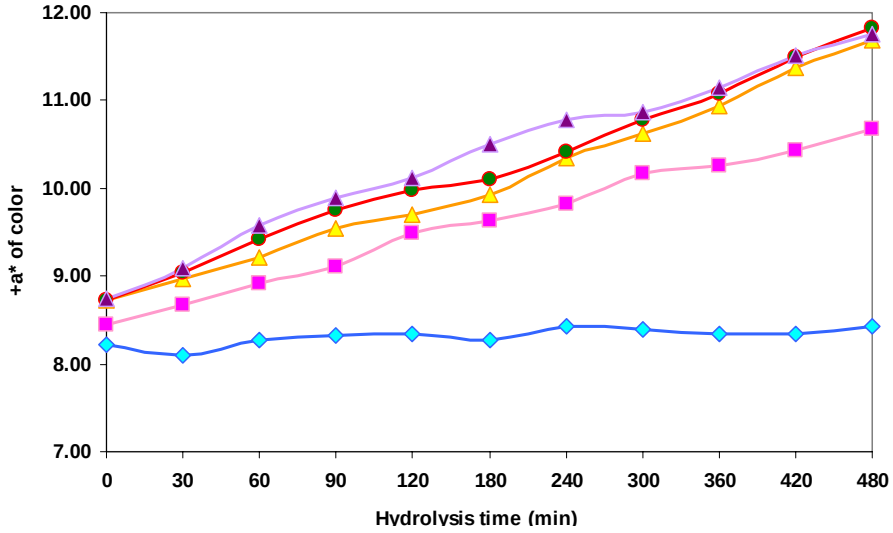
จากการติดตามการทำงานของเอนไซม์ โดยพิจารณาจากปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดจากการตัดพันธะไกลโคซิลของพอลิเมอร์ในเนื้อฝรั่งแดง เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในไซรัปฝรั่งแดง พบว่า ความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาการย่อยมีอิทธิพลอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และพบผลของอิทธิพลร่วมอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ระหว่างปัจจัยทั้งสอง จากผลการทดลองรูปที่ 4.11 พบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาการย่อยไซรัปฝรั่งแดงจะมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Brasil, Maea และ Figueiredo (1995) ได้ศึกษาการใช้เพคติเนส 600 ppm ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 45^{O}C นาน 120 นาที ในการผลิตน้ำฝรั่ง พบว่า เพิ่มปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ขึ้นได้เป็น 57.8 mg/g เมื่อเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ได้ลงเอนไซม์มีน้ำตาลรีดิวซ์เพียง 15.4 mg/g เนื่องจากเกิดการตัดพันธะไกลโคซิลของพอลิเมอร์ในเนื้อฝรั่งแดงที่มากขึ้น

โดยเอนไซม์เพกทิเนส เซลลูเลส และเฮมิเซลลูเลส จะย่อยสลายพันธะไกลโคซิลของสารประกอบเพกทิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส ตามลำดับ ที่บริเวณผนังเซลล์ของเนื้อเยื่อพืช (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2547; Fanta และคณะ, 1992; Sreenath และคณะ, 1999; Jayani, Saxena และ Gupta, 2005) ทั้งนี้เอนไซม์ Pectinex® Ultra SP-L ประกอบด้วยเอนไซม์หลายชนิดดังกล่าว จึงสามารถช่วยเสริมการย่อยสลายสารประกอบต่างๆที่บริเวณผนังเซลล์ของเนื้อเยื่อพืชได้ดีขึ้น (Pilnik และRombouts, 1979) โดยพบว่าการใช้เอนไซม์ที่ความเข้มข้น 0.75% (v/w) เวลาการย่อยนาน 0-480 นาที เป็นภาวะที่ไซรัปฝรั่งแดงมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์หรือมีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลครอบคลุมจากช่วงต่ำไปสูง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้มีค่าไม่แตกต่างกับภาวะที่ใช้เอนไซม์เข้มข้น 1% (v/w) อย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) โดยมีอัตราการย่อยสลายคงที่ ตั้งแต่ 300 นาทีขึ้นไป อาจเนื่องมาจากเอนไซม์ถูกยับยั้งหรือซับเสตรทหมดไป (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2547) ดังนั้น เพื่อเป็นการยืนยันว่าภาวะที่เลือกเป็นภาวะที่เหมาะสม จึงนำไซรัปฝรั่งแดงที่เติมเอนไซม์เข้มข้น 0.75%(v/w) เวลาการย่อย 300 นาที เป็นวัตถุดิบตั้งต้นในการเติมเอนไซม์เพิ่มอีก 0.75%(v/w) จากรูปที่ 4.12 พบว่า การเติมเอนไซม์เพิ่มที่ความเข้มข้น 0.75% (v/w) มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ไม่แตกต่างกับภาวะเดิมที่ใช้เอนไซม์เข้มข้น 0.75% (v/w) อย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) และเมื่อเติมซับสเตรทเพิ่มลงไปที่ระยะเวลาการย่อย 360 นาที จากรูปที่ 4.13 พบว่า ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีค่าเพิ่มสูงขึ้น จึงเป็นการยืนยันได้ว่าภาวะที่เติมเอนไซม์เพิ่ม 0.75% (v/w) เป็นภาวะที่ซับสเตรทหมด และเมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่า ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในไซรัปฝรั่งแดงที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์เข้มข้น 0.75% (v/w) ที่เวลาการย่อย 0, 30, 90, 240 และ 300 นาที สามารถแบ่งเป็น 5 ช่วง โดยประมาณคือ 41, 53, 62, 77 และ 86 mg glucose/ g fresh weight (fw) แสดงในตารางที่ 4.6 ดังนั้นจึงเลือกใช้เอนไซม์ที่ความเข้มข้น 0.75% (v/w) เวลาการย่อย 0, 30, 90, 240 และ 300 นาที เป็นตัวแทนเพื่อศึกษาผลของระดับการตัดพันธะไกลโคซิลของพอลิเมอร์ในเนื้อฝรั่งแดงด้วยเอนไซม์ที่มีต่อลักษณะเฉพาะของไซรัปฝรั่งแดงในด้านฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน สารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ วิตามินซี ปริมาณไลโคพีน ขนาดอนุภาค และคุณภาพทางประสาทสัมผัส และเลือกใช้เอนไซม์ที่ความเข้มข้น 0.75% (v/w) เวลาการย่อย 300 นาที ซึ่งเป็นภาวะที่ไซรัปฝรั่งแดงมีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลด้วยเอนไซม์สูงสุดในช่วงที่ศึกษา เป็นตัวแทนเพื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณใยอาหาร ค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติก และสารระเหย เปรียบเทียบกับเนื้อฝรั่งแดงสุกตีป่น

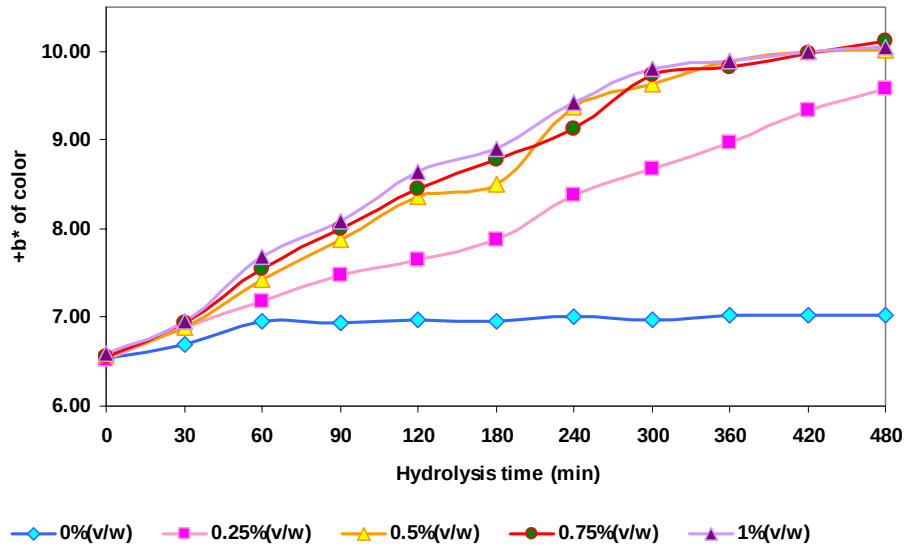
(a)



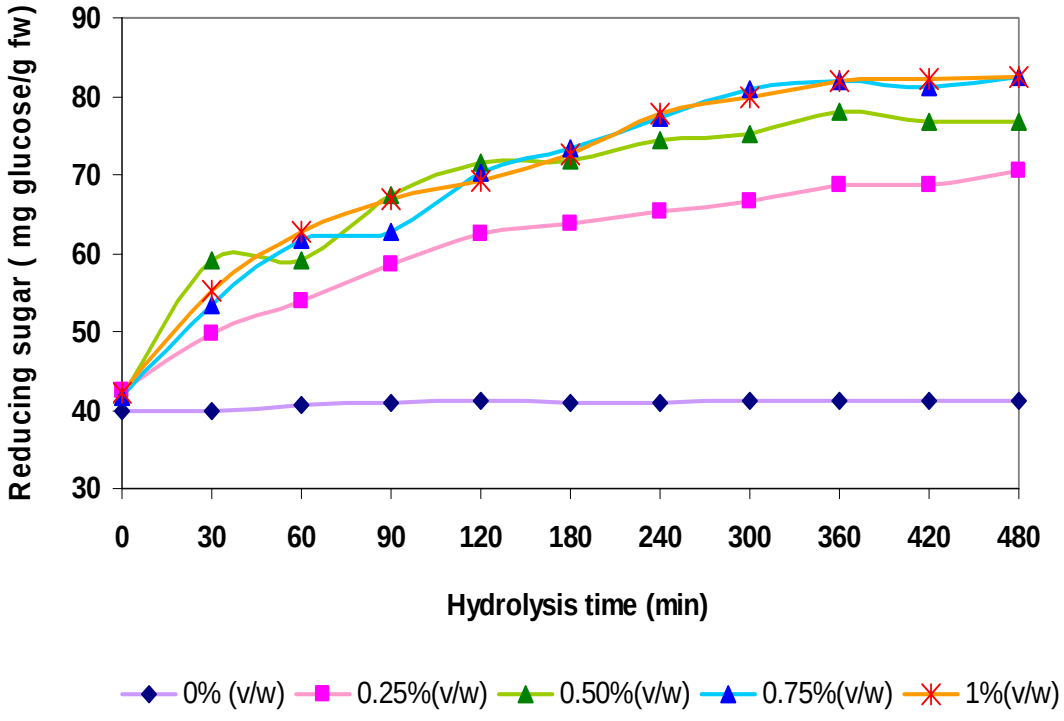
(b)



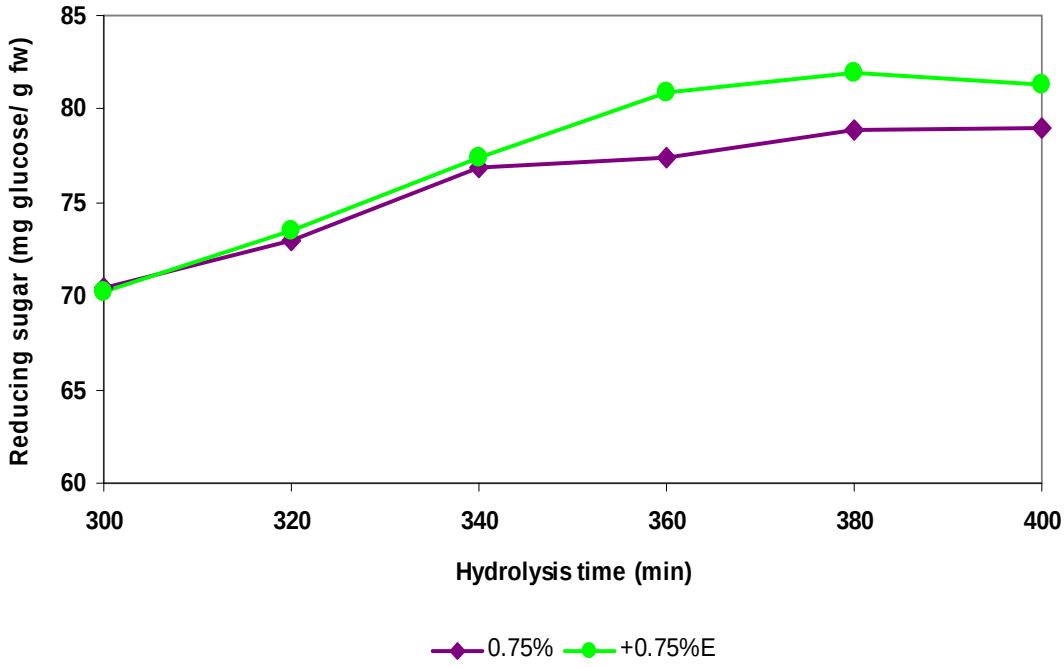
(c)



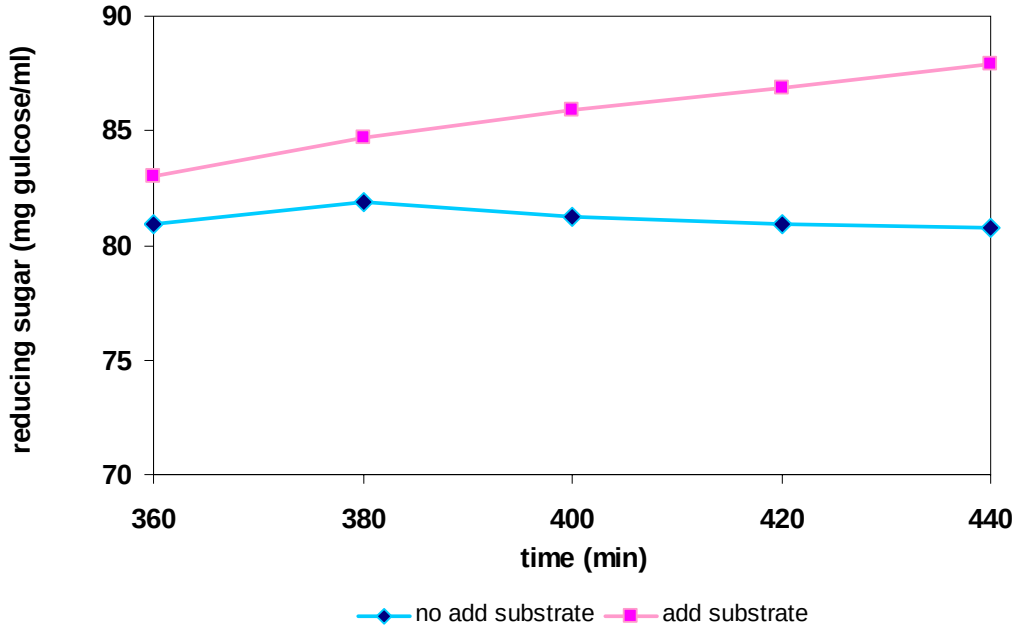
รูปที่ 4.10 การเปลี่ยนแปลงค่าสีในระบบ L* a* b* (a) ค่าความสว่าง (L*) (b) ค่าสีแดง (+a*) และ (c) ค่าสีเหลือง (+b*) ของไซรัปฝรั่งแดงที่ได้จากการย่อยด้วย Pectinex® Ultra SP-L ที่ความเข้มข้นและเวลาการย่อยต่างๆ



รูปที่ 4.11 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ในไซรัปฝรั่งแดงที่ได้จากการย่อยด้วย Pectinex® Ultra SP-L ที่ความเข้มข้นและเวลาการย่อยต่างๆ



รูปที่ 4.12 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในไซรัปฝรั่งแดงที่ได้จากการเติม Pectinex® Ultra SP-L เพิ่มที่ 300 นาที



รูปที่ 4.13 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในไซรัปฝรั่งแดงที่ได้จากการเติมซับสเตรทเพิ่มที่ 360 นาที

ตารางที่ 4.6 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในไซรัปฝรั่งแดงที่ได้จากการย่อยด้วย Pectinex® Ultra SP-L ที่ความเข้มข้น 0.75% (v/w)

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

ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขในแนวตั้งที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

* fw คือ fresh weight basis

4.5 ลักษณะเฉพาะของไซรัปฝรั่งแดงที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์

เมื่อนำไซรัปฝรั่งแดงที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ในข้อ 4.4 มาศึกษาลักษณะเฉพาะในด้านต่างๆ รวมทั้งทดลองใช้ไซรัปฝรั่งแดงในผลิตภัณฑ์อาหาร เพื่อเป็นข้อมูลยืนยันว่าไซรัปฝรั่งแดงที่ได้สามารถพัฒนาเป็นสารปรุงแต่งสี กลิ่นรส และลักษณะเนื้อสัมผัสในอาหารที่มีหน้าที่เฉพาะได้

จากผลการศึกษาลักษณะเฉพาะของไซรัปฝรั่งแดงที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลด้วยเอนไซม์ต่างกันในด้านสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน สารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ วิตามินซี ไลโคพีน ด้านขนาดอนุภาค และด้านคุณภาพทางประสาทสัมผัส พบว่าไซรัปฝรั่งแดงจะมีลักษณะเฉพาะที่แตกต่างกันตามระดับการตัดพันธะไกลโคซิลของพอลิเมอร์ในเนื้อฝรั่งแดง โดยเอนไซม์ที่ใช้มีบทบาทสำคัญต่อสมบัติด้านต่างๆของไซรัป ดังนี้

4.5.1 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชันในเนื้อฝรั่งแดง ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ ไลโคพีนและวิตามินซี (Mercadante, Steck และ Pfander, 1999) เมื่อวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของเนื้อฝรั่งแดงด้วยวิธี DPPH และ FRAP พบว่า ไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 240 นาทีขึ้นไป จะมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงกว่าที่ภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ 4.7) จากงานวิจัยของ Hartmann และคณะ (2008) ที่รายงานว่าการผลิตน้ำสตรอเบอร์รี่พร้อมดื่มโดยใช้เอนไซม์เพกทิเนส ช่วยเพิ่มปริมาณสารต้านออกซิเดชันได้ถึง 77% มากกว่าตัวอย่างที่ไม่ใช้เอนไซม์ซึ่งได้ 56% เนื่องจากเอนไซม์จะย่อยองค์ประกอบต่างๆ บริเวณผนังเซลล์พืชที่ยึดจับสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชันไว้ ทำให้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพถูกปล่อยออกมา (Dominguez, Navez และ Lama, 1994) ส่งผลให้ไซรัปฝรั่งแดงที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลสูงมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันมากขึ้น โดยค่าฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH และ FRAP จะให้ผลไปในทางเดียวกัน

สารประกอบฟีนอลิกสำคัญที่พบในฝรั่งแดงส่วนใหญ่ ได้แก่ ฟลาโวนอยด์และแทนนิน (Seshadri และ Vasishta, 1964; Misra และ Seshadri, 1968) จากการทดลองพบว่า ไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 240 นาทีขึ้นไป จะมีสารกลุ่มฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าที่ภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ 4.7) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Landbo และ Meyer (2001) ที่รายงานว่า การสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากน้ำแบล็คเคอเรนท์โดยใช้เอนไซม์เพกทิเนสทางการค้า พบว่า การใช้เอนไซม์จะช่วยเพิ่มปริมาณสารประกอบฟีนอลิกได้ 40% เมื่อเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ใช้เอนไซม์

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

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

ไลโคพีนเป็นสารอนุพันธุ์ในกลุ่มแคโรทีนอยด์กลุ่มเดียวกันกับเบต้า-คาโรทีนเป็นรงควัตถุสำคัญที่ทำให้ไซรัปฝรั่งแดงมีสีแดง ส้มและเหลือง และมีสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชัน (Gerster, 1997) จากผลการทดลองพบว่า ไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 240 นาทีขึ้นไป มีปริมาณไลโคพีนสูงกว่าที่ภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ 4.7) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Choudhari และ Ananthanarayan (2007) ที่รายงานว่า การสกัดไลโคพีนจากมะเขือเทศโดยใช้เอนไซม์เพกทิเนสและเซลลูเลสเข้มข้น 0 - 5% (v/w) ทำปฏิกิริยา 0 -180 นาที ที่อุณหภูมิ 60 และ 55°C ตามลำดับ พบว่า การใช้เอนไซม์จะช่วยเพิ่มปริมาณไลโคพีนได้ 712 และ 424 µg/g ตามลำดับ ซึ่งมากกว่าตัวอย่างที่ไม่ใช้เอนไซม์ เนื่องจากเอนไซม์จะช่วยสลายผนังเซลล์พืชและปล่อยไลโคพีนที่อยู่ในคลอโรพลาสต์ และอยู่ในของเหลวภายในเซลล์ออกมาทำให้ง่ายต่อการสกัด (Santamaria และคณะ, 2000) ในการทานอาหารเพื่อให้ได้สารไลโคพีนนั้น จำเป็นต้องนำผักหรือผลไม้นั้นมาผ่านกระบวนการให้ความร้อน เนื่องจากในธรรมชาติโครงสร้างของสารดังกล่าวจะจับตัวกับสารโปรตีนและสามารถแยกตัวออกได้ด้วยความร้อน ดังนั้นอาหารที่ผ่านความร้อนจะมีปริมาณไลโคพีนมากกว่า (Bowen และคณะ, 2002)

4.5.2 ขนาดอนุภาค

ไซรัปฝรั่งแดงที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์จะมีขนาดอนุภาคเฉลี่ยเล็กลงอย่างต่อเนื่อง โดยไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 240 นาที จะมีขนาดอนุภาคเฉลี่ยเล็กที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) คือ 14.67 µm (ตารางที่ 4.7) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ De Carvalho และคณะ (2006) ที่รายงานว่า การใช้เอนไซม์เพกทิเนสเข้มข้น 0.3% (v/w) ทำปฏิกิริยา 40 นาที สามารถลดขนาดอนุภาคน้ำมะนาวได้ดีที่สุด ซึ่งสามารถลดขนาดได้น้อยกว่า 200 µm. ทั้งนี้เนื่องจากเอนไซม์จะย่อยสารประกอบต่างๆบริเวณผนังเซลล์พืช ได้แก่ เพกทิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลสทำให้ได้พอลิเมอร์ของสารประกอบดังกล่าวที่สั้นลง ส่งผลให้ขนาดอนุภาคที่ได้มีขนาดเล็กลง (Jayani, Saxena และ Gupta, 2005)

ตารางที่ 4.7 สมบัติทางเคมีและกายภาพของไซรัปฝรั่งแดงที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลด้วยเอนไซม์ต่างกัน

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

ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขในแนวนอนที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

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

4.5.3 **คุณภาพทางประสาทสัมผัส**

จากการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส ด้วยวิธี QDA ในด้านสี กลิ่นรส ลักษณะเนื้อสัมผัสและการยอมรับรวมของไซรัปฝรั่งแดงที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลด้วยเอนไซม์ต่างกัน โดยใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 10 คน ให้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.8 คือ ไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 240 นาทีขึ้นไป จะมีสีแดงตามธรรมชาติของฝรั่งแดงสด มีกลิ่นหอมหวานและมีรสหวานของฝรั่งแดงชัดเจนกว่าที่ภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ผลที่ได้สอดคล้องกับค่าสีที่วัดได้จากการทดลองข้อ 4.4 ที่พบว่า เมื่อเพิ่มระยะเวลาการย่อยจะทำให้ไซรัปที่ได้มีค่าความสว่าง (L*) ลดลง แต่ค่าสีแดง (+a*) และค่าสีเหลือง (+b*) เพิ่มขึ้น และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Thongsombat , Sirichote และ Chanthachum (2007) พบว่า การใช้เอนไซม์เพกทิเนสช่วยปรับปรุงคุณภาพน้ำฝรั่งพร้อมดื่ม จะทำให้น้ำฝรั่งที่ได้มีลักษณะปรากฏด้านสี กลิ่น รสและลักษณะโดยรวมดีขึ้น ส่วนในด้านกลิ่นรสแปลกปลอม ผู้ทดสอบจะรู้สึกถึงกลิ่นรสแปลกปลอมได้บ้างเล็กน้อย เป็นลักษณะกลิ่นต้มสุกในไซรัปฝรั่งแดงที่ทุกเวลาการย่อย นอกจากนี้ไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 240 นาทีขึ้นไปจะมีลักษณะเนื้อสัมผัสที่เรียบเนียนมากกว่าไซรัปที่ได้จากภาวะอื่น

อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับผลของขนาดอนุภาค พบว่า เมื่อเพิ่มระยะเวลาการย่อย จะทำให้ไซรัปที่ได้มีขนาดอนุภาคเฉลี่ยเล็กลง

ตารางที่ 4.8 คะแนนลักษณะทางประสาทสัมผัสของไซรัปฝรั่งแดงที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลด้วยเอนไซม์ต่างกัน

Sensory attributes	Hydrolysis time (min)				
	0	30	90	240	300
Color	6.25^{d}±0.26	7.10^{c}±046	7.65^{b}±0.34	8.65^{a}±0.67	8.95^{a}±0.72
Flavor					
red guava flavor	6.35^{d}±0.24	7.10^{c}±0.46	7.80^{b}±0.25	8.55^{a}±0.55	8.15^{ab}±0.67
off-flavor*	6.85^{c}±0.41	7.05^{c}±0.44	7.70^{b}±0.26	8.40^{a}±0.61	8.05^{ab}±0.50
Texture					
smoothness	6.25^{d}± 0.54	7.00^{c}± 0.41	7.55^{b}±0.37	8.30^{a}±0.63	7.85^{ab}±0.67
Overall acceptability	6.60^{d}± 0.46	7.10^{c}± 0.46	7.60^{b}±0.32	8.40^{a}±0.61	8.00^{a}±0.60

ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขในแนวนอนที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

กำหนดให้ลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านต่างๆของไซรัปฝรั่งแดงมีคะแนนสูงสุด 10 คะแนน

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

(a) (b) (c) (d) (e)

รูปที่ 4.14 ลักษณะของ (a) เนื้อฝรั่งแดงสุกตีป่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาลเปรียบเทียบกับ (b) ไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 30 นาที (c) 60 นาที (d) 240 นาที (e) 300 นาที

เมื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณใยอาหาร ค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติก และสารระเหยในไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 300 นาที ซึ่งเป็นภาวะที่ไซรัปฝรั่งแดงมีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลด้วยเอนไซม์สูงสุดในช่วงที่ศึกษาเปรียบเทียบกับเนื้อฝรั่งแดงสุกตีป่นให้ผลการทดลองดังนี้

4.5.4 ปริมาณใยอาหาร

ผลการเปลี่ยนแปลงปริมาณใยอาหารในไซรัปฝรั่งแดงเปรียบเทียบกับเนื้อฝรั่งแดงตีป่น แสดงในตารางที่ 4.9 พบว่า ไซรัปฝรั่งแดงมีปริมาณใยอาหารทั้งหมด (TDF) คงที่ แต่มีปริมาณใยอาหารที่ละลายน้ำ (SDF) เพิ่มขึ้น และปริมาณใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ (IDF) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sakamoto, Shibata และ Ishihara (2006) ที่รายงานว่า การสกัดใยอาหารจากรากของต้นบาร์ดอค์กโดยใช้เอนไซม์เพคติเนสเข้มข้น 1% (v/w) ทำปฏิกิริยา 30 นาที สามารถเพิ่มปริมาณใยอาหารที่ละลายน้ำ คือ 0.9% เป็น 1.4% โดยที่มีปริมาณใยอาหารทั้งหมดคงที่ ทั้งนี้เนื่องจากเอนไซม์จะย่อยสารประกอบเพกทินที่ไม่ละลายน้ำให้อยู่ในรูปที่แสดงหมู่ไฮดรอกซิลมากขึ้น ส่งผลให้เพกทินละลายน้ำได้มากขึ้น (Dongowski และ Sembries, 2001)

ตารางที่ 4.9 ผลของการย่อยด้วยเอนไซม์ที่มีต่อปริมาณใยอาหารในไซรัปฝรั่งแดง

Sample	TDF (g/100g fw)	SDF (g/100g fw)	IDF (g/100g fw)
HABR	$5.03^{ns} \pm 0.03$	$1.39^{b} \pm 0.09$	$3.64^{a} \pm 0.05$
ERS	$5.05^{ns} \pm 0.09$	$3.07^{a} \pm 0.06$	$1.98^{b} \pm 0.08$

ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขในแนวนอนที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

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

HABR คือ Homogenized and antibrowning controlled red guava pulp

ERS คือ Enzyme treated red guava syrup

4.5.5 ค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติก

จากการทดลองเพื่อหาค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติกในไซรัปฝรั่งแดงเปรียบเทียบกับเนื้อฝรั่งแดง อินนูลินและกลูโคส แสดงผลในตารางที่ 4.10 พบว่า *L. acidophilus* La5 และ *B. lactis* Bb12 ที่เลี้ยงในอาหารที่มีไซรัปฝรั่งแดงเป็นองค์ประกอบ มีจำนวนเพิ่มขึ้นภายใน 24 ชั่วโมง สูงกว่าภาวะที่เลี้ยงในอาหารที่มีอินนูลินหรือเนื้อฝรั่งแดง หรือกลูโคสเป็นองค์ประกอบอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ในขณะที่ *E.coli* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีกลูโคสเป็น

องค์ประกอบ มีจำนวนเพิ่มขึ้นภายใน 24 ชั่วโมง สูงกว่าภาวะที่เลี้ยงในอาหารที่มีเนื้อฝรั่งแดงหรือไซรัปฝรั่งแดงหรืออินนูลินเป็นองค์ประกอบ เนื่องจากองค์ประกอบสำคัญในเนื้อฝรั่งที่สามารถเป็นพรีไบโอติกได้ คือ สารกลุ่มใยอาหาร Álvarez และ Sánchez (2006) รายงานว่า ใยอาหารกลุ่ม Non-starch polysaccharides (NSP) เช่น เพกทิน มิวซิเลจ เฮมิเซลลูโลส และเซลลูโลสจัดเป็นสารพรีไบโอติก เนื่องจากสารกลุ่มนี้ไม่ถูกย่อยในกระเพาะอาหารหรือลำไส้เล็ก ซึ่งช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตอย่างจำเพาะต่อแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ในระบบทางเดินอาหาร เช่น ***Bifidobacteria*** และ ***Lactobacilli*** โดยการเป็นแหล่งอาหารให้กับแบคทีเรีย ทำให้ลำไส้เกิดความสมดุลและยังช่วยเพิ่มการนำสารอาหารไปใช้ด้วย (Kaur และ Gupta, 2002; Reyed, 2007) เมื่อนำค่าจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นภายใน 24 ชั่วโมง ไปคำนวณตามสมการที่แสดงในภาคผนวก ก. 8 เพื่อหาค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติก (รูปที่ 4.15) พบว่า ค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติกในไซรัปฝรั่งแดงมีค่าสูงกว่าอินนูลินและเนื้อฝรั่งแดง ตามลำดับ เนื่องจากการใช้เอนไซม์ในช่วงที่ศึกษาสามารถย่อยองค์ประกอบในเนื้อฝรั่งแดงที่เป็นพรีไบโอติกให้มีโมเลกุลเล็กมากพอที่โพรไบโอติกสามารถใช้ได้มากขึ้นจึงทำให้ค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติกที่ได้มีค่าสูง (Roberfroid, 2002) โดย ***B. lactis*** Bb12 จะมีค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติกสูงกว่า ***L. acidophilus*** La5 แสดงว่า สารพรีไบโอติกในไซรัปฝรั่งแดง เนื้อฝรั่งแดงและอินนูลินสามารถส่งเสริมการเจริญของ ***B. lactis*** Bb12 ได้ดีกว่า ***L.acidophilus*** La5 แต่ไม่ส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียชนิดอื่นในระบบทางเดินอาหาร

ตารางที่ 4.10 เปรียบเทียบจำนวนจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นภายใน 24 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเนื้อฝรั่งแดง ไซรัปฝรั่งแดง อินูลินและกลูโคสเป็นองค์ประกอบ

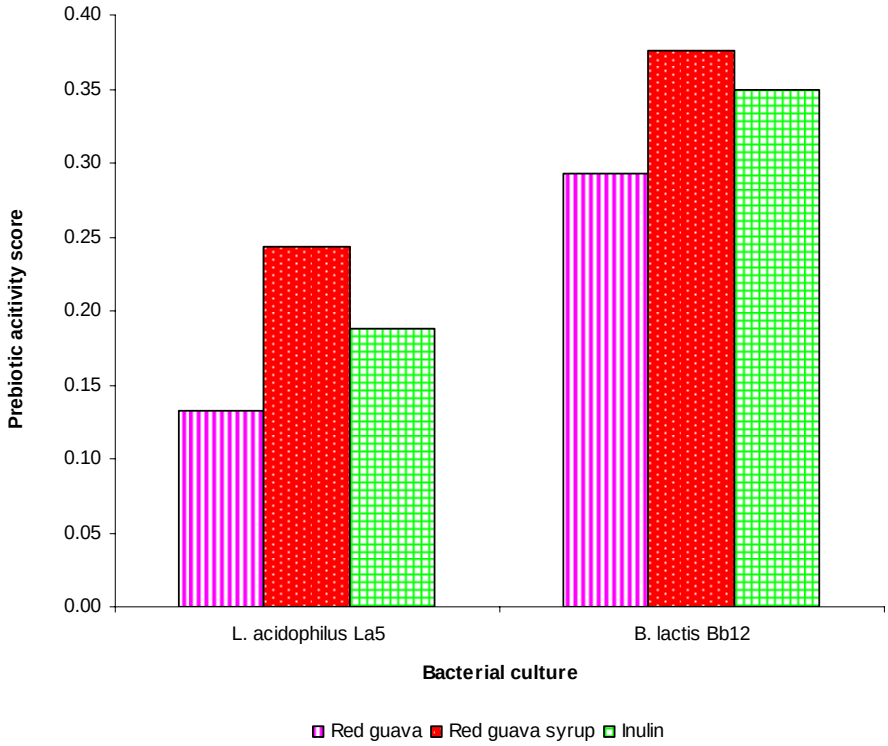
Bacterial culture	Cell population [$\log_{10}$(cfu/ml)]			
	HABR	ERS	Inulin	Glucose
L. acidophilus La5	$7.20^{c}\pm0.01$	$8.64^{a}\pm0.01$	$7.72^{b}\pm0.03$	$6.77^{d}\pm0.01$
B. lactis Bb12	$8.62^{c}\pm0.04$	$9.92^{a}\pm0.01$	$9.16^{b}\pm0.05$	$7.04^{d}\pm0.07$
E. coli ATCC 29922	$3.16^{b}\pm0.01$	$3.14^{b}\pm0.03$	$3.18^{b}\pm0.01$	$3.34^{a}\pm0.01$

ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขในแนวนอนที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$)

HABR คือ Homogenized and antibrowning controlled red guava pulp

ERS คือ Enzyme treated red guava syrup



รูปที่ 4.15 ค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติกในฝรั่งแดงเปรียบเทียบกับไซรัปฝรั่งแดงและอินนูลิน

4.5.6 สารระเหย

ผลการเปลี่ยนแปลงชนิดของสารระเหยในไซรัปฝรั่งแดงเปรียบเทียบกับเนื้อฝรั่งแดง วิเคราะห์ด้วยวิธี SPME/GC/MS พบว่า ไซรัปฝรั่งแดงมีสารระเหยเพิ่มขึ้นทั้งหมด 22 ชนิด แสดงในตารางที่ 4.11 โดยชนิดของสารระเหยที่เพิ่มขึ้นในไซรัปฝรั่งแดงส่วนใหญ่จะเป็นสารกลุ่ม terpenes เช่น β-ionone, α-Ylangene, α-gurjunene, viridiflorene และ cadinadiene เป็นต้น สอดคล้องกับงานวิจัยของ Gunate และคณะ (1990) พบว่าเมื่อใช้เอนไซม์เพคติเนสเพื่อสกัดสารระเหยในองุ่น พบว่ามีสารกลุ่ม terpenes เพิ่มขึ้นมากกว่าสารกลุ่มอื่น เนื่องจากสารประกอบเพกทินในเนื้อผลไม้ส่วนใหญ่จะเกาะกับเส้นใยเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสที่บริเวณผนังเซลล์ของเนื้อเยื่อผลไม้ทำให้เกิดการกักเก็บสารให้กลิ่นไว้ภายในเนื้อเยื่อผลไม้ ดังนั้นการใช้เอนไซม์ย่อยสารประกอบเพกทินโดยการตัดที่สายโซ่หลักหรือโซ่กิ่งของเพกทินจะทำให้โครงสร้างของเพกทินเปลี่ยนแปลงไป เพกทินละลายน้ำได้มากขึ้นและยึดจับกับผนังเซลล์โดยรอบอย่างหลวมๆ ทำให้เนื้อเยื่อผลไม้มีความอ่อนตัวมากขึ้น เกิดการปลดปล่อยสารระเหยของผลไม้ออกมาได้มากกว่าการใช้วิธีบีบอัดทางกายภาพ (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2547; Baumann, 1981; Mutlu และคณะ, 1999) ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับผลการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของไซรัปฝรั่งแดงที่พบว่า การใช้เอนไซม์ในกระบวนการผลิตไซรัปฝรั่งแดงจะทำให้ไซรัปมีกลิ่นรสฝรั่งแดงชัดเจนมากขึ้น

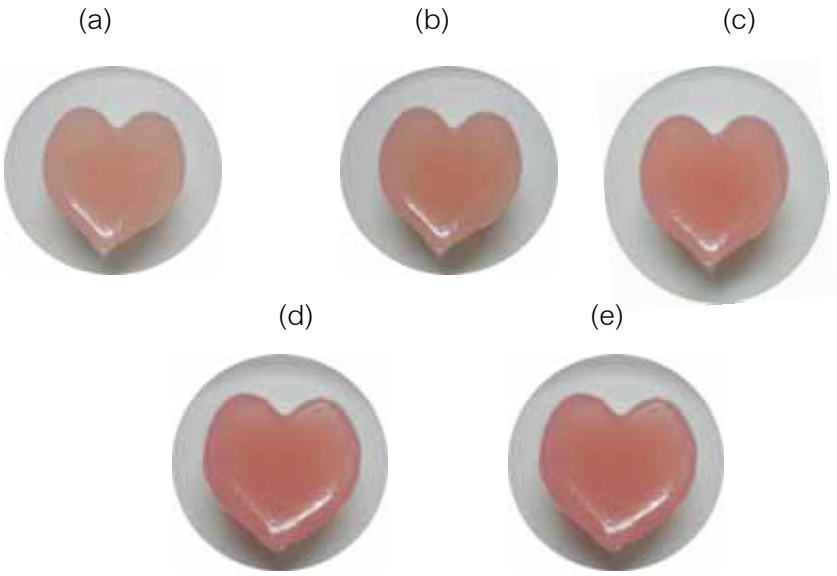
ตารางที่ 4.11 ผลของการย่อยด้วยเอนไซม์ที่มีต่อชนิดของสารระเหยหลักในไซรัปฝรั่งแดง

Compound name	RI	% Peak area		Odor description[a]
		Red guava	Red guava syrup	
ethyl acetate	613	nd	0.25	fruity, sweet
hexanal	803	nd	1.32	green, fruity
2-hexenal	846	nd	1.36	green, banana, cheesy
(Z)-3-hexen-1-ol	851	0.16	nd	green, fresh
hexan-1-ol	865	0.24	nd	fruity, floral, sweet, herbal
(E)-3-hexenyl acetate	1005	1.76	2.66	fruity, sweet, green
(Z)-3-hexenyl acetate	1011	3.41	nd	fruity, sweet, green
hexyl acetate	1017	0.86	nd	fruity, sweet, citrus, herbal
1,8-cineole	1025	nd	0.15	herbal , mint, sweet
(E)-β-ocimene	1037	0.10	3.89	herbal, sweet, orange, lemon
(Z)-β-ocimene	1047	nd	0.31	citrus, herbal
alloocimene	1129	nd	0.07	fresh, grassy
ethyl benzoate	1164	11.32	2.31	fruity, sweet
edulan II	1254	nd	0.39	oriental, tobacco-like
Theaspirane B	1297	0.40	nd	fruity, sweet
β-ionone	1311	nd	2.53	violets, floral, raspberry, woody
cinnamyl alcohol	1335	57.45	0.79	sweet, spicy, green
α-Ylangene	1346	nd	0.19	fruity
cyclosativene	1362	nd	0.10	spicy, warm
α-copaene	1372	0.53	9.19	sweet, citrus
β-gurjunene	1392	nd	0.10	woody
dihydro-beta-ionone	1448	0.17	nd	fruity
α-gurjunene	1490	nd	0.49	mango-like, woody, balsamic
β-caryophyllene	1491	4.32	44.81	green, spicy, woody, fruity, sweet
aromadendrene	1493	1.42	5.95	woody
α-humulene	1495	0.42	5.00	woody
alloaromadendrene	1496	0.30	1.61	woody
epi-bicyclosesquiphellandrene	1497	nd	0.79	woody
γ-muurolene	1498	0.13	0.79	herbal, woody, spice
β-selinene	1499	0.16	0.39	herbal
α-selinene	1500	nd	0.19	dried grass
viridiflorene	1502	nd	1.09	woody
α-muurolene	1503	nd	0.58	woody
α-bisabolene	1505	0.99	0.61	balsamic, spicy
β-bisabolene	1507	0.18	0.56	balsamic, herbal
γ-cadinene	1510	0.32	0.77	woody, herbal, woody
δ-cadinene	1521	0.13	5.21	thyme, medicine, woody, herbal
cadinadiene	1529	nd	2.12	fruity, mango-like, spicy, woody
epi-globulol	1556	nd	0.20	herbal
nerolidol	1563	nd	0.23	waxy, floral
globulol	1580	nd	0.78	herbal
ledol	1598	nd	0.26	sweet
α-cubebene	1641	nd	0.26	herbal, mild, waxy, woody

[a]Odor description: MacLeod และ Ames (1990); Gallori และคณะ (2001); Engel และคณะ (2002); Jordan และคณะ (2002); Jiang และ Kubota (2004); Pino และคณะ (2005); Chen, Sheu และ Wu (2006)

RI = Kovat's retention indices, nd - not detected

จากการทดลองใช้ไซรัปฝรั่งแดงที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลด้วยเอนไซม์ต่างกันเป็นสารแต่งกลิ่นรสในผลิตภัณฑ์อาหาร เพื่อทดแทนการใช้สารปรุงแต่งกลิ่นสังเคราะห์ เพิ่มสมบัติเชิงหน้าที่และคุณค่าทางโภชนาการให้กับผลิตภัณฑ์ โดยใช้เป็นส่วนผสมในเยลลี่ปริมาณ 10% โดยน้ำหนักส่วนผสมทั้งหมด แทนการใช้กลิ่นผลไม้สังเคราะห์ในสูตรต้นแบบ แสดงในรูปที่ 4.16 และประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ที่ได้ด้วยวิธี QDA โดยใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 10 คน ประเมินลักษณะด้านสี กลิ่นรส ลักษณะเนื้อสัมผัส และการยอมรับรวม ผลที่ได้แสดงในตารางที่ 4.12 พบว่า เมื่อใช้ไซรัปฝรั่งแดงที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลต่างกันเป็นส่วนผสมในเยลลี่จะส่งผลให้เยลลี่มีสี กลิ่นรส และลักษณะเนื้อสัมผัสต่างกัน ซึ่งผลที่ได้มีแนวโน้มไปในทางเดียวกับการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของไซรัปฝรั่งแดง โดยเยลลี่ที่มีส่วนผสมของไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 240 นาทีขึ้นไป จะมีสีชมพูอมแดงและมีกลิ่นรสฝรั่งแดงชัดเจนกว่าที่ภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ส่วนด้านกลิ่นรสแปลกปลอมพบว่าเยลลี่ที่มีส่วนผสมของไซรัปฝรั่งแดงทุกภาวะไม่ทำให้เกิดกลิ่นรสแปลกปลอมในระดับที่ผู้ทดสอบสามารถรู้สึกได้ชัดเจน ในด้านลักษณะเนื้อสัมผัส พบว่า เยลลี่ที่มีส่วนผสมของไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 240 นาทีขึ้นไป จะมีเนื้อสัมผัสด้านความเรียบเนียนเป็นเนื้อเดียวกันไม่แยกชั้นมากกว่าไซรัปฝรั่งแดงที่ภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ด้านความยืดหยุ่นของเนื้อเยลลี่ พบว่า เยลลี่ที่มีส่วนผสมของไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 90 นาทีขึ้นไปจะมีความยืดหยุ่นมากกว่าเยลลี่ที่ภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เนื่องจากเอนไซม์จะย่อยสารประกอบเพกทินที่ไม่ละลายน้ำให้อยู่ในรูปที่แสดงหมู่ไฮดรอกซิลมากขึ้น ส่งผลให้เพกทินมีปริมาณหมู่ที่ชอบน้ำมากขึ้น จึงละลายน้ำได้ดีขึ้น เกิดเป็นพอลิเมอร์ที่สามารถรวมตัวกันเป็นโครงสร้างร่างแหที่มีน้ำอยู่ในช่องว่างระหว่างร่างแห ส่งผลให้เยลลี่มีลักษณะของเจลและมีความยืดหยุ่นดี แต่เมื่อระยะเวลาในการย่อยเพิ่มมากขึ้นที่ 300 นาที พบว่า เนื้อเยลลี่ฝรั่งแดงที่ได้จะมีลักษณะเยิ้มน้ำ มีการแยกชั้น อาจเนื่องมากจากส่วนที่ชอบน้ำมากเกินไปส่งผลให้เยลลี่มีลักษณะเยิ้มน้ำ แต่ที่เวลา 360 นาที เยลลี่จะมีความยืดหยุ่นเพิ่มขึ้นอีก อาจเนื่องจากส่วนที่ชอบน้ำจะเกิดการรวมตัวกันเองอีกครั้ง ทำให้เยลลี่มีความยืดหยุ่นเพิ่มขึ้นได้ (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2547) ด้านการยอมรับรวม พบว่า ผู้ทดสอบให้การยอมรับเยลลี่ที่มีส่วนผสมของไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 240 นาทีขึ้นไปมากกว่าไซรัปฝรั่งแดงที่ภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)



รูปที่ 4.16 ลักษณะของเยลลี่ (a) เนื้อฝรั่งแดง (b) ไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 30 นาที (c) 90 นาที (d) 240 นาที และ (e) 300 นาที

ตารางที่ 4.12 คะแนนลักษณะทางประสาทสัมผัสของเยลลี่ฝรั่งแดง

Sensory attributes	Hydrolysis time (min)				
	0	30	90	240	300
Color	$6.25^{d}\pm0.26$	$7.15^{c}\pm053$	$7.60^{b}\pm0.39$	$8.75^{a}\pm0.63$	$8.55^{a}\pm0.60$
Flavor					
red guava flavor	$6.30^{d}\pm0.26$	$7.10^{c}\pm0.46$	$7.70^{b}\pm0.35$	$8.80^{a}\pm0.54$	$8.40^{a}\pm0.77$
off-flavor*	$6.75^{c}\pm0.49$	$7.05^{c}\pm0.52$	$7.65^{b}\pm0.34$	$8.65^{a}\pm0.67$	$8.20^{a}\pm0.71$
Texture					
smoothness	$6.20^{d}\pm 0.54$	$7.00^{c}\pm0.41$	$7.55^{bc}\pm0.28$	$8.50^{a}\pm0.68$	$7.75^{b}\pm1.04$
springiness	$6.65^{c}\pm 0.53$	$7.05^{b}\pm0.87$	$7.50^{a}\pm0.47$	$4.95^{d}\pm0.69$	$6.82^{c}\pm0.57$
Overall acceptability	$6.60^{d}\pm 0.46$	$7.05^{c}\pm 0.64$	$7.65^{b}\pm0.41$	$8.80^{a}\pm0.63$	$7.90^{b}\pm0.32$

ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขในแนวนอนที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$)

กำหนดให้ลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านต่างๆของไซรัปฝรั่งแดงมีคะแนนสูงสุด 10 คะแนน

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

ตารางที่ 4.13 การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญในระหว่างกระบวนการผลิตไซรัปฝรั่งแดง

Bioactive compounds	Sample		
	RP	HABR	ERS[e]
Total dietary fiber (TDF) (g/g fw[a])	4.99[ns]±0.03	5.03[ns] ±0.03	5.12[ns]±0.05
Soluble dietary fiber (SDF)	1.27[b]±0.09	1.39[b] ±0.03	3.18[a]±0.03
Insoluble dietary fiber (IDF)	3.72[a]±0.09	3.64[a] ±0.03	1.94[b]±0.04
Antioxidant activities			
DPPH assay (EC_{50}, µg fw/ µg DPPH)	18.35[a]±0.05	18.31[a]±0.17	13.66[b]±0.22
FRAP assay (µM TE[b]/g fw)	89.46[c]±0.12	90.32[b]±0.08	107.66[a]±0.30
Total phenolics (mg GAE[c]/g fw)	163.36[b]±0.05	162.27[b] ±0.17	196.75[a]±0.17
Total flavonoids (mg CE[d]/g fw)	35.85[b]±0.13	34.51[c] ±0.14	65.49[a]±0.13
Ascorbic acid (mg/g fw)	112.00[a]±0.18	90.56[b]±0.05	80.69 [c]±0.12
Lycopene (µg /g fw)	849.58[c]±0.24	921.67[b]±1.12	1773.08[a]±1.12

[a]FM = fresh mass, [b]TE = Trolox equivalent, [c]mg gallic acid equivalents/100 g fresh mass,

[d]mg catechin equivalents /100 g fresh mass, [ns] คือ ค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05)

[e]ไซรัปฝรั่งแดงที่ย่อยด้วยเอนไซม์ความเข้มข้น 0.75% (v/w) เป็นเวลา 300 นาที

RP คือ Red guava pulp, HABR คือ Homogenized and antibrowning controlled red guava pulp

ERS คือ Enzyme treated red guava syrup

เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงลักษณะเฉพาะของไซรัปฝรั่งแดงในระหว่างกระบวนการผลิตในด้านค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติก แสดงในรูปที่ 4.15 และสารระเหย แสดงในตารางที่ 4.11 โดยเปรียบเทียบระหว่างเนื้อฝรั่งแดงและไซรัปฝรั่งแดงที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลด้วยเอนไซม์สูงสุดในช่วงที่ศึกษา ส่วนด้านฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ ปริมาณวิตามินซี ปริมาณไลโคพีน และปริมาณใยอาหาร แสดงในตารางที่ 4.13 โดยเปรียบเทียบระหว่างเนื้อฝรั่งแดง เนื้อฝรั่งแดงตีป่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาลและไซรัปฝรั่งแดงที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลด้วยเอนไซม์สูงสุดในช่วงที่ศึกษา คือ ไซรัปฝรั่งแดงที่ย่อยด้วยเอนไซม์ความเข้มข้น 0.75% (v/w) เป็นเวลา 300 นาที พบว่า ไซรัปฝรั่งแดงมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสูงกว่าในเนื้อฝรั่งแดงและเนื้อฝรั่งแดงตีป่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาลเป็นส่วนใหญ่ ทั้งนี้เนื่องจากบทบาทของเอนไซม์ดังที่กล่าวมาแล้ว และเมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงปริมาณใย

อาหาร พบว่า ไม่มีการเปลี่ยนแปลงปริมาณใยอาหารทั้งหมดในระหว่างกระบวนการผลิตไซรัปฝรั่งแดงด้วยเอนไซม์เนื่องจากการผลิตไซรัปฝรั่งแดงไม่ได้ผ่านกระบวนการกรองแยกกากหรือใยอาหารออกทำให้ไซรัปยังคงองค์ประกอบเดิมของใยอาหาร แต่มีปริมาณใยอาหารที่ละลายน้ำเพิ่มขึ้นและปริมาณใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำลดลง ส่วนการเปลี่ยนแปลงค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติก พบว่ากระบวนการผลิตไซรัปฝรั่งแดงสามารถเพิ่มค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติกในเนื้อฝรั่งแดงได้ และเมื่อเปรียบเทียบชนิดของสารระเหยที่พบในไซรัปฝรั่งแดงกับในเนื้อฝรั่งแดง จากการวิเคราะห์ด้วยวิธีSPME/GC/MS chromatogram profile พบว่า ไซรัปฝรั่งแดงที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์จะมีชนิดสารระเหยเพิ่มขึ้น จากแนวทางการใช้ประโยชน์และลักษณะเฉพาะของไซรัปฝรั่งแดงจะมีสีแดงตามธรรมชาติของฝรั่งแดงสด มีกลิ่นหอมหวานและมีรสหวานของฝรั่งแดงชัดเจน ประกอบด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญหลายชนิดดังที่กล่าวมาแล้ว จะเห็นได้ว่าไซรัปฝรั่งแดงมีแนวโน้มในการใช้เป็นสารปรุงแต่งสี กลิ่นรส และลักษณะเนื้อสัมผัสในอาหารที่มีหน้าที่เฉพาะได้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

ฝรั่งแดงที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตไซรัปฝรั่งแดง คือ ผลฝรั่งแดงแก่จัดบ่มที่อุณหภูมิ 30±2ºC เป็นเวลา 7 วัน มีเนื้อสีแดงตามธรรมชาติของฝรั่งแดงสด มีกลิ่นหอมหวานและมีรสหวานของฝรั่งแดงชัดเจน ไม่มีกลิ่นแปลกปลอม เช่น กลิ่นหมัก กลิ่นเหม็นเขียว และกลิ่นสาบ และไม่มีรสเฝื่อนฝาด ประกอบด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญหลายชนิดได้แก่ ใยอาหาร ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน สารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ วิตามินซี ไลโคพีน และสารพรีไบโอติก โดยสารระเหยที่เป็นองค์ประกอบหลักของเนื้อฝรั่งแดงสุกคือ สารกลุ่ม terpenes ส่วนภาวะที่เหมาะสมในการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลในเนื้อฝรั่งแดง คือ การให้ความร้อนด้วยไอน้ำจนจุดกึ่งกลางของเนื้อฝรั่งแดงมีอุณหภูมิ 80ºC เป็นเวลานาน 5 นาที และภาวะที่ใช้ในการศึกษาลักษณะเฉพาะของไซรัปฝรั่งแดงคือ การใช้เอนไซม์ที่ความเข้มข้น 0.75% (v/w) เวลาการย่อย 0, 30, 90, 240 และ 300 นาที ซึ่งที่ภาวะนี้สามารถแบ่งระดับการตัดพันธะไกลโคซิลของพอลิเมอร์ในเนื้อฝรั่งแดงโดยประเมินจากค่าน้ำตาลรีดิวซ์ครอบคลุมจากช่วงต่ำไปสูงได้เป็น 5 ช่วง โดยประมาณคือ41, 53, 62, 77 และ 86 mg glucose/ g fresh weight เมื่อพิจารณาลักษณะเฉพาะของไซรัปฝรั่งแดงในช่วงดังกล่าวพบว่า ไซรัปฝรั่งแดงที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลต่างกันจะมีลักษณะเฉพาะที่ต่างกัน โดยเอนไซม์ Pectinex® Ultra SP-L มีบทบาทสำคัญต่อลักษณะเฉพาะของไซรัปฝรั่งแดงดังนี้ ช่วยเพิ่มปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ วิตามินซี ไลโคพีน ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ใยอาหารที่ละลายน้ำ ชนิดสารระเหย และค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติก ส่วนการใช้ไซรัปฝรั่งแดงเป็นส่วนผสมในเยลลี่พบว่า ผู้ทดสอบให้การยอมรับเยลลี่ที่มีส่วนผสมของไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 240 นาทีขึ้นไป มากกว่าที่ภาวะอื่น ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่าไซรัปฝรั่งแดงมีแนวโน้มในการใช้เป็นสารปรุงแต่งสี กลิ่นรส และลักษณะเนื้อสัมผัสในอาหารที่มีหน้าที่เฉพาะ

ข้อเสนอแนะ

จากผลการทดลองสามารถสรุปแนวทางการวิจัยที่อาจศึกษาต่อไปดังนี้

1. ด้านวัตถุดิบ

ควรศึกษาการผลิตไซรัปฝรั่งแดงโดยทดลองใช้ฝรั่งแดงสายพันธุ์อื่นที่มีสมบัติและลักษณะเด่นดีกว่าสายพันธุ์ที่เลือกใช้ เพื่อให้ได้ไซรัปฝรั่งแดงที่มีคุณภาพและมีลักษณะเฉพาะที่ดีขึ้น

2. ด้านกระบวนการผลิต

ควรศึกษาภาวะการผลิตไซรัปฝรั่งแดง โดยทดลองเปลี่ยนชนิดหรือแปรสัดส่วนความเข้มข้นของเอนไซม์ให้เหมาะสมกับองค์ประกอบหลักบริเวณผนังเซลล์ของเนื้อฝรั่งแดง เช่น สารประกอบเพกทิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์และปรับปรุงลักษณะเฉพาะในด้านต่างๆของไซรัปฝรั่งแดงให้ดียิ่งขึ้น

3. ด้านลักษณะเฉพาะของไซรัปฝรั่งแดง

ควรศึกษาลักษณะเฉพาะของไซรัปฝรั่งแดงเพิ่มเติม เช่น การใช้ไซรัปฝรั่งแดงเป็นสารให้สี (colorant) ในผลิตภัณฑ์อาหาร โดยเปรียบเทียบสมบัติด้านต่างๆที่ได้กับสีสังเคราะห์ที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

ชิดพงษ์ กวีวรวุฒิ. 2544. ตำราการใช้ยาและสมุนไพร. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ถนอมจิต สุภาวิตา. 2545. พืชสมุนไพร. สงขลา: โรงพิมพ์แห่งมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ธารารัตน์ ศุภศิริ. 2542. Probiotic: แบคทีเรียเพื่อสุขภาพ. วิทยาศาสตร์ 53(6): 357-360.

นิธิยา รัตนาปนนท์. 2545. เคมีอาหาร. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์โอดียนสโตร์.

ประสงค์ ศิริวงศ์วิไลชาติ และ ลดาพร ต่อศรีสกุล. 2540. ผลของกรดซิตริกและโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ต่อการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลในฝรั่งแช่อิ่มอบแห้ง. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยศิลปากร.

ปราณี อ่านเปรื่อง. 2547. เอนไซม์ทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

พเยาว์ เหมือนวงษ์ญาติ. 2537. สมุนไพรก้าวใหม่. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์เมดิกัลมีเดีย.

ไพโรจน์ ผลประสิทธิ์. 2541. รวมกลยุทธฝรั่ง. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: เจริญรัฐการพิมพ์.

ศศิธร พรหมเมตจิต, กนกวรรณ เตียงธวัช และ ชลทิพา ธนะปุระ. 2534. เส้นใยอาหารชนิดละลายน้ำได้และไม่ละลายในผลไม้บางชนิด. โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์. ภาควิชาอาหารเคมี คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สมุนไพรไทย. [online]. Available from http://202.44.14.219/thaiherbkmutt/info.php?id=74 [3, May 2009]

สรัสวดี เผือกสกนธ์. 2531. ฝรั่ง. กรุงเทพมหานคร: สหมิตรออฟเซท.

อรุณี เพียรทวีรัชต์ และ ปราณี อ่านเปรื่อง. 2536. ผลของเพคติเนส เซลลูเลส และ อะมัยเลส ต่อการผลิตน้ำกล้วยหอม. อาหาร 23 (3): 188-196.

โอภา วัชระคุปต์, ปรีชา บุญจูง, จันทนา บุณยะรัตน์ และมาลีรักษ์ อัตต์สินทอง. 2549. สารต้านอนุมูลอิสระ Radical Scavenging Agent. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: พี. เอส. พริ้นท์.

ภาษาอังกฤษ

Adsule, R. N., and Kadam, S. S. 1995. Guava. In D. K. Salunkhe, and S. S. Kadam (ed), Handbook of Fruit Science and Technology: Production, Composition, Storage and Processing, pp.419-433. New York: Marcel Dekker.

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.

Álvarez, E. E., and Sánchez, P. G. 2006. Dietary fiber. Nutrición Hospitalaria 21: 60-71.

AOAC. 1995. Official Methods of Analysis of the AOAC International. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D. C.

Arthey, D., and Ashurst, P. R. 2001. Fruit Processing. New York: An aspen publication.

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.

Benders, D. A. 1999. Functional Foods. New York: 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.

Brasil, I. B., Maea, G. A., and Figueiredo, R. W. 1995. Physical-chemical changes during extraction and clarification of guava juice. Food Chemistry 54(4): 383-386.

Bowen, P., Chen, L., Stacewicz, S. M., Duncan, C., Sharifi, R., Ghosh, L., Kim, H. S., Christov, T. K., and Van, B. R. 2002. Tomato sauce supplementation and prostate cancer: lycopene accumulation and modulation of biomarkers of carcinogenesis. Experimental Biology and Medicine 227(10): 886–893.

Chen, H. C., Sheu, M. J., and Wu, C. M. 2006. Characterization of volatiles in guava (*Psidium guajava* L. cv. Chung-Shan-Yueh-Pa) fruit from Taiwan. Journal of Food and Drug Analysis 14(4): 398-402.

Choudhari, S. M., and Ananthanarayan, L. 2007. Enzyme aided extraction of lycopene from tomato tissues. Food Chemistry 102: 77-81.

Çinar, I. 2005. Effects of cellulase and pectinase concentrations on the colour yield of enzyme extracted plant carotenoids. Process Biochemistry 40: 945-949.

Clinton,.S. K. 1988. Lycopene: Chemistry, biology and implication for human health and disease. Nutrition Review 56 (2): 35-51.

De Carvalho, L. M. J., Borchetta, R., and da Silva, É. M. M. 2006. Effect of Enzymatic Hydrolysis on Particle Size Reduction in Lemon Juice (Citrus limon, L.), cv. Tahiti. Brazilian Journal of Food Technology 9(4): 277-282.

Delia, B. R., and Padula, M. 1986. Characterisation of the carotenoids and assessment of the vitamin a value of Brazilian guavas (*Psidium guajava* L.). Food Chemistry 20(1):11-19.

Dominguez, H., Navez, M. J., and Lama, J. M. 1994. Enzymatic pretreatment to enhance oil extraction from fruits and oil seeds: a review. Food Chemistry 94: 271–286.

Dongowski, G., and Sembries, S. 2001. Effects of commercial pectolytic and cellulolytic enzyme preparations on the apple cell wall. Journal of Agricultural and Food Chemistry 49: 4236-4242.

Dykes, L., and Rooney, L. W. 2007. Phenolic compounds in cereal grains and their health benefits. Cereal Foods World 52(3): 105-111.

Ekundayo, O., Ajani, F., Seppaenen-Laakso, T., and Laakso, I. 1991. Volatile constituents of *Psidium guajava* L. (guava) fruit. Journal of Flavour and Fragrance 6(3): 233-236.

Engel, E., Baty, C., LeCorre, D., Souchon, I., and Martin, N. 2002. Flavor-active compounds potentially implicated in cooked cauliflower acceptance. Journal of Agricultural and Food Chemistry 50: 6459-6467.

Escrig A. J., Rincon M., Pulido R., and Calixto F. S. 2001. Guava fruit (*Psidium guajava* L.) as a new source of antioxidant dietary fiber. Journal of Agricultural and Food Chemistry 49: 5489-5493.

Fahey, J. W., Beverly, A. C., and Rusell, R. M. 1999. Methods for assessing the biological effects of specific plant components. Nutrition Reviews 57: S34-S40.

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.

Galeazzi, M. A. M., Sgarbieri, V. C., and Constantinides, S. M. 1981. Isolation, purification and physiochemical characterization of polyphenol oxidase (PPO) from a dwarf variety of banana (*Musa cavendishii* L.). Journal of Food Science 46: 150-155.

Gallori, S., Flamini, G., Bilia, A. R., Morelli, I., Landini, A., and Vincieri, F. F. 2001. Chemical composition of some traditional herbal drug preparations: Essential oil and aromatic water of costmary (*Balsamita suaveolens* Pers.). Journal of Agricultural and Food Chemistry 49: 5907-5910.

Gerster, H. 1997. The Potential Role of Lycopene for Human Health. Journal of The American College of Nutrition 16(2): 109-126.

Gibson, G. R., and Roberfroid, M. B. 1995. Dietary modulation of human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. The Journal of Nutrition 125: 1401-1412.

Gil, M. I., Tomas-Barberan, F. A., Hess-Pierce, B., and Kader, A. A. 2002. Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids, and vitamin C contents of nectarine, peach, and plum cultivars from California. Journal of Agricultural and Food Chemistry 50: 4976-4982.

Gorinstein, S., Zemser, M., Haruenkit, R., Chuthakorn, R., Grauer, F., Belloso, M. O., and Trakhtenberg, S. 1999. Comparative content of total polyphenols and dietary fiber in tropical fruits and persimmon. The Journal of Nutritional Biochemistry 10(6): 367-371.

Gow, C. Y., and Hsin, T. L. 1999. Changes in volatile flavor components of guava juice with high-pressure treatment and heat processing and during storage. Journal of Agricultural and Food Chemistry 47: 2082-2087.

Grassin, C., and Fauquembergue, P. 1996. Fruit juices. In T. Godfray and S. West (eds.), Industrial Enzymology, pp. 208-224. New York: Stockton Press.

Gunata, Y. Z., Bayonove, C. L., Cordonnier, R. E., Arnaud, A., and Galzy, P. 1990. Hydrolysis of grape monoterpenyl glycosides by *Candida molischiana* and *Candida wickerhamii* β-glucosidases. Journal of Agricultural and Food Chemistry 50: 499-506.

Haard, N. F., and Chism, G. W. 1996. Characteristics of edible plant tissues. In O. R. Fennema (ed.), Food Chemistry, pp. 89-96. New York: Marcel Dekker.

Hartmann, A., Claus-Dieter P., Andlauer, W. Dietrich, H., and Ludwig, M. 2008. Influence of processing on quality parameters of strawberries. Journal of Agricultural and Food Chemistry 56(20): 9484-9489.

Hassan, K. S., Kadambi, R. S., and Krishnaswamy, S. 1994. Improvement of juice recovery from pineapple pulp/residue using cellulases and pectinases. Journal of Fermentation and Bioengineering 78(6): 486-488.

Helmja, K., Vaher, M., Gorbatsova, J., and Kaljurand, M. 2007. Characterization of bioactive compounds contained in vegetables of the Solanaceae family by capillary electrophoresis. Proceedings of the Estonian Academy of Sciences Chemistry 56: 172-186.

Hodgson, A. S., Chan, H. T., Cavaletto, C. G., and Perera, C. O. 2006. Physical-chemical characteristics of partially clarified guava juice and concentrate , Journal of Food Science 55(6): 1757 – 1758.

Holm, F. 2003. Functional Food Ingredients Cardiovascular Health. Denmark: Food Group Denmark

Hopkins, W. G. 1999. Introduction to Plant Physiology. New York: John Wiley and Sons.

Huebner, J., Wehling, R. L., and Hutkins, R. W. 2007. Functional activity of commercial prebiotics. International Dairy Journal 17: 770-775.

Ishida, B. K., and Chapman, M. N. 2004. A comparison of carotenoid content and total antioxidant activity catsup from several commercial sources in the United State. Journal of Agricultural and Food Chemistry 52 (26): 8017- 8020.

Jaleel, S. A., Basappa, S. C., Ramesh, A., and Sreekantiah, K. R. 1978. Developmental studies on emzymatic processing of banana (*Musa cavendishii*). I. Lavoratory Investigation. Indian Food Packer 32 (2): 17-20.

Jayani, R. S., Saxena, S., and Gupta, R. 2005. Microbial pectinolytic enzymes: A review. Process Biochemistry 40: 2931-2944.

Jiang, L., and Kubota, K. 2004. Differences in the volatile components and their odor characteristics of green and ripe fruits and dried pericarp of Japanese Pepper (*Xanthoxylum piperitum* DC.). Journal of Agricultural and Food Chemistry 52: 4197-4200.

Jordan, M. J., Margaria, C. A., Shaw, P. E., and Goodner, K. L. 2002. Aroma active components in aqueous kiwi fruit essence and kiwi fruit puree by GC-MS and multidimensional GC/GC-O. Journal of Agricultural and Food Chemistry 50(19): 5386-5390.

Jordan, M. J., Margaria, C. A., Shaw, P. E., and Goodner, K. L. 2003. Volatile components and aroma active compounds in aqueous essence and fresh pink guava fruit puree (*Psidium guajava* L.) by GC-MS and multidimensional GC/ GC-O. Journal of Agricultural and Food Chemistry 51(5): 1421 -1426.

Kaur, N., and Gupta, A. K. 2002. Applications of inulin and oligofructose in health and nutrition. Journal of Biosciences 27(7): 703-714.

Kilara, A. 1982. Enzymes and their uses in the processed apple industry: A review. Process Biochemistry 17: 35-41.

Kinsella, J. E., Frankel, E., German, B., and Kanner, J. 1993. Possible mechanism for the protection role of antioxidants in wine and plant food. Food Technology 4: 85-9.

Kobayashi, H., Wang, C., and Pomper, K. W. 2008. Phenolic content and antioxidant capacity of pawpaw fruit (*Asimina triloba* L.) at different ripening stages. HortScience 43(1): 268–270.

Kulkarni, A. P., Aradhya, S. M., and Divakar, S. 2004. Isolation and identification of a radical scavenging antioxidant – punicalagin from pith and carpellary membrane of pomegranate fruit. Food Chemistry 87: 552-557.

Landbo, A. K., and Meyer, A. S. 2001. Enzyme-extraction of antioxidative phenols from black currant juice press residues (*Ribes nigrum*). Journal of Agricultural and Food Chemistry 49: 3169- 3177.

Langdon, T. T. 1987. Preventing of browning in fresh prepared potatoes without the use of sulfating agents. Food Technology 41(5): 64-67.

Lanzarini, G., and Pifferi, P. G. 1989. Biotechnology Application in Beverage Production. London: Elsevier applied sciences.

Lea, A. G. H. 1995. Enzymes in the production of beverages and fruit juices. In G. A. Tucker, and L. F. L. Woods (eds.), Enzymes in Food Processing, pp. 223-249. London: Blackie Academic & Professional.

Lee, C. Y. 1992. Browning reaction: Enzymic. In Y. Hui (ed.), Encyclopedia of Food Science and Technology, pp. 123-134. New York: John Wiley & Sons D.C.

Lee, C. Y. and Whitaker, J. R. 1995. Enzymatic Browning and Its Prevention. Washington D.C.: American Chemical Society.

Lee, W. C., Yusof, S., Hamid, N. S. A., and Baharin, B. S. 2006. Optimizing conditions for enzymatic clarification of banana juice using response surface methodology (RSM). Journal of Food Engineering 73: 55-63.

Lim, Y. Y., Lim, T. T., and Tee, J. J. 2007. Antioxidant properties of several tropical fruits: A comparative study. Food Chemistry 103(3): 1003-1008.

MacLeod, A. J., and Troconis, N. G. 1982. Volatile flavor components of guava. Phytochemistry 21:1339-1342.

MacLeod, G., and Ames, J. M. 1990. Volatile components of starfruit. Phytochemistry 29: 165-172.

Mahattanatawee, K., Manthey, J. A., Luzio, G., Talcott, S. T., Goodner, K., and Baldwin, E. A. 2006. Total antioxidant activity and fiber content of select Florida-Grow tropical fruits. Journal of Agricultural and Food Chemistry 54(19): 7355-7363.

Maisuthisakul, P., Suttajit, M., and Pongsawatmanit, R. 2007. Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants. Food Chemistry 100: 1409–1418.

Mandalari, G., Bennett, R. N., Kirby, A. R., Lo Curto, R. B., Bisignano, G., Waldron, K. W., and Faulds C. B. 2006. Enzymatic hydrolysis of flavonoids and pectic oligosaccharides from bergamot (Citrus bergamia Risso) peel. Journal of Agricultural and Food Chemistry 54: 8307-8313.

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.

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.

Marks, H. 1993. Biological functions of vitamins. In O. P. Berry (ed), The Technology of Vitamins in Food, pp. 167-175. London: Kluwer Academic.

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 Agricaultural and Food Chemistry 47: 1749-1754.

Mercadante, A. Z., Steck, A., and Pfander, H. 1999. Carotenoids from guava (*Psidium guajava* L): Isolation and structure elucidation. Journal of Agricultural and Food Chemistry 47: 145–151.

Miean, K. H, and Mohamed, S. 2001. Flavonoid (myricetin, quercetin, kaempferol, luteolin and apigenin) content of edible tropical plants. Journal of Agricultural and Food Chemistry 49: 3106–3112.

Miller, D. D. 1998. Food Chemistry. New York: John Wiley & Sons.

Misra, K., and Seshadri, T. R. 1968. Chemical components of the fruits of *Psidium guajava*. Phytochemistry 7:641-45.

Moreno, Y., Collado, M. C., Ferrús, M. A., Cobo, J. M., Hernández, E., and Hernández, M. 2006. Viability assessment of lactic acid bacteria in commercial dairy products stored at 4ºC using LIVE/DEAD® BacLight™ staining and conventional plate counts. International Journal of Food Science & Technology 41:275–280.

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.

Nelson, N. 1944. A photometric adaptation of the Somogyi method for determination of glucose. Journal of Biological Chemistry 153: 375-380.

Ochse, J. J., Soule, M. J., Dijkman, M. J., and Wehlburg, C. 1961. Tropical and subtropical agriculture. New York: Macmillan.

Pearson, D. 1970. The Chemical Analysis of Food. 6th ed. New York: Chemical.

Pearson, D. 1976. The Chemical Analysis of Foods. Edinburgh: Churchill Livingstone.

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. 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., Marbot, R., and Vazquez, C. 2001. Characterization of volatiles in strawberry guava (*Psidium cattleianum* Sabine) fruit. Journal of Agricultural and Food Chemistry 49(12): 5883-5887.

Pino, J. A., Marbot, R., and Vasquez, C. 2002. Characterization of volatiles in Costa Rican guava [*Psidium* friedrichsthalianum (Berg) Niedenzu] fruit. Journal of Agricultural and Food Chemistry 50(21): 6023-6026.

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.

Pizzocaro, F., Torreggiani, D., and Gilardi, G. 1993. Inhibition of apple polyphenoloxidase (PPO) by ascorbic acid, citric acid and sodium chloride. Journal of Food Processing and Preservation 17(1): 21-30.

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.

Prosky, L., and De Vries, J. 1991. Controlling Dietary Fiber in Food Product. New York: Van Nostrand.

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, A. V., and Rao, L. G. 2007. Carotenoids and human health. Pharmacological Research 55(3): 207-216.

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.

Reddy, L. V., and Reddy, V. S. 2007. Production of ethanol from mango (*Mangifera indica* L.) fruit juice fermentation. Research Journal of Microbiology 2(10): 763-769.

Reddy, B. S., Hamid, R., and Rao, C. V. 1997. Effect of dietary oligofructose and inulin on colonic preneoplastic aberrant crypt foci inhibition. Carcinogenesis 18 (7): 1371-1374.

Reyed, R. M. 2007. The role of bifidobacteria in health. Research Journal of Medicine and Medical Sciences 2(1): 14-24.

Rice-Evans, C. 1999. Screening of phenolics and flavonoids for antioxidant activity. In L. Packer, M. Hiramatsu, and T. Yoshikawa (eds), Antioxidant Food Supplements in Human Health, pp. 239-253. USA: Acadamic press.

Roberfroid, M. B. 2002. Functional food concept and its application to prebiotics. Journal of Digestive and Liver Disease 34: 105-110.

Roberfroid, M. B., and Delzenne, N. M. 1998. Dietary fructans. Annual Review of Nutrition 18: 117-143.

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 Journal of Dairy 8: 341-347.

Santamaria, R. L., Reyes-Duarte, M. D., Barzana, E., Fernando, D., Gama, F. M., and Mota, M. 2000. Selective enzyme-mediated extraction of capsaicinoids and carotenoids from chilli guajillo puya (*Capsicum annuum* L.) using ethanol as solvent. Journal of Agricultural and Food Chemistry 48: 3063–3067.

Sapers, G. M. 1993. Browning of food: Control by sulfites, antioxidants, and other means. Food Technology 47: 75-84.

Seshadri, T. R., and Vasishta, K. 1964. Polyphenolic components of guava fruits. Current Science 33: 334-335.

Shah, N. P. 2000. Probiotic bacteria: Selective enumeration and survival in dairy foods. Journal of Dairy Science 83: 894–907.

Shi, J., Dai, Y., Kakuda, Y., Mittal, G., and Xue, S. J. 2008. Effect of heating and exposure to light on the stability of lycopene in tomato puree. Food Control 19: 514–520.

Siriwoharn, T., Wrolstad, R. E., Finn, C. E., and Pereira, C. B. 2004. Influence of cultivar, maturity, and sampling on blackberry (*Rubus L. Hybrids*) anthocyanins, polyphenolics, and antioxidant properties. Journal of Agricultural and Food Chemistry 52(26): 8021–8030.

Soares, F. D., Pereira, T., Marques, M. O. M., and Monteiro, A. R. 2007. Volatile and non-volatile chemical composition of the white guava fruit (*Psidium guajava*) at different stages of maturity. Food Chemistry 100(1): 15-21.

Sreekantiah, K. R., Jaleel, S. A., and Rao, T. N. R. 1971. Utilization of fungal enzymes of the liquefaction of soft fruit and extraction and clarification of fruit juice. Journal Food Science and Technology 8 (1): 201–205.

Sreenath, H. K., Nanjundaswamy, A. M., and Sreekantiah, K. R. 1987. Effect of various cellulases and pectinases on viscosity reduction of mango pulp. Journal of Food Science 52: 230-231.

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.

Talcott, S. T., Percival, S. S., Pittet–Moore, J., and Celoria, C. 2003. Phytochemical composition and antioxidant stability of fortified yellow passion fruit (Passiflora edulis). Journal of Agricultural and Food Chemistry 51:935–941.

Taruscio, T. G., Barney, D. L., and Exon, J. 2004. Content and profile of flavonoid and phenolic acid compounds in conjunction with the antioxidant capacity for a variety of Northwest *Vaccinium* Berries. Journal of Agricultural and Food Chemistry 52(10): 3169-3176.

Temple, N. J. 2000. Antioxidants and disease: More questions than answers. Nutrition Research 20: 449–459.

Thongsombat, W., Sirichote, A., and Chanthachum, S. 2007. The production of guava juice fortified with dietary fiber. The Songklanakarin Journal of Science and Technology 29: 187-196.

Thaipong, K., Boonprakkob, U., Ckrosby, K., Cisneros-Zevallos, L., and Byrne, D.H. 2006. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. Journal of Food Composition and Analysis 19: 669-675.

Tulipani, S., Mezzetti, B., Capocasa, F., Bompadre, S., Beekwilder, J., Ric de Vos, C.H., Capanoglu, E., Bovy, A., and Battino, M. 2008. Antioxidants, phenolic compounds, and nutritional quality of different strawberry genotypes. Journal of Agricultural and Food Chemistry 56(3): 696–704.

Vernin, G., Verin, E., Vernin, C., and Metzger, J. 1991. Extraction and GC-MS-SPECMA data bank analysis of the aroma of *Psidium guajava* L. fruit from Egypt. Journal of Flavour Fragance 6(2): 143-148.

Viquez, F., Lastreto, C., and Cooke, R. D. 1981. A study of the production of clarified banana juice using pectinolytic enzymes. Journal Food Technology 16: 115-125.

Walker, J. R. L. 1977. Enzymatic browning in foods, its chemistry and control. Food Technology in Newzealand 12: 19-25.

Whitaker, J. R. 1996. Enzymes. In O. R. Fennema (ed.), Food Chemistry, pp.453-472. New York: Marcel Dekker.

Wilson, C. W., and Shaw, P. E. 1978. Terpene hydrocarbons from *Psidium guajava*. Phytochemistry 17: 1435-1436.

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.

Yusof, S., and Ibrahim, N. 1994. Quality of sour sop juice pectinase enzyme treatment. Food Chemistry 51: 81 – 83.

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

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 ($KHC_8H_4O_4$)
3. Phenolphthalein indicator

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง

วิธีวิเคราะห์

1. คำนวณความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายมาตรฐาน NaoH โดยไตเตรทกับสารละลายมาตรฐาน $KHC_8H_4O_4$ โดยใช้ phenolphthalein เป็น indicator

$$\text{N NaOH} = \frac{\text{น้ำหนักของ } KHC_8H_4O_4 \text{ (g)} \times 1000}{\text{ปริมาตรของ NaOH (ml)} \times 204.22}$$

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 (%)

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

โดยที่มิลลิอิควิวาเลนซ์ของกรดซิตริก (Milliequvalent of citric acid monohydrate) = 0.07

ก.2 การวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารทั้งหมด ใยอาหารที่ละลายน้ำ และใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ (Total, Soluble, and Insoluble dietary fiber; TDF, SDF, and IDF)

ตามวิธีการของ A.O.A.C. (1995)

<u>สารเคมี</u>

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

<u>อุปกรณ์และเครื่องมือ</u>

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

<u>การเตรียมตัวอย่าง</u>

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 ที่ชั่งน้ำหนักแล้ว ที่มี Celite ประมาณ 0.1 mg ลงในขวด suction flask และเก็บส่วนที่กรองได้เพื่อนำไปหาใยอาหารที่ละลายน้ำต่อไป

8. ล้างกากที่ได้ด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 10 ml 2 รอบ (เพื่อแยกส่วนใยอาหารที่ละลายน้ำเก็บไว้) 95% Ethanol ปริมาตร 10 ml 2 รอบ และ Acetone ปริมาตร 10 ml 2 รอบ

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

10. นำกากที่ได้จากซ้ำที่ 1 ไปหาปริมาณโปรตีนตามวิธีของ A.O.A.C. นำกากที่ได้จากซ้ำที่ 2 ไปหาปริมาณเถ้า เพื่อคำนวณหาปริมาณใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ (IDF) โดยใช้สูตร

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

โดยกำหนดให้ P = น้ำหนักโปรตีน (mg)

A = น้ำหนักเถ้า (mg)

B = blank (mg) (B = น้ำหนักกากเฉลี่ย (mg) - P_B - A_B)

P_B = น้ำหนักโปรตีนของ blank (mg)

A_B = 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) และทำให้ร้อนจน สารละลายมีอุณหภูมิ 60°C

13. ทิ้งไว้ให้ตกตะกอนที่อุณหภูมิห้อง นานประมาณ 60 นาที แล้วกรองสารละลายผ่าน crucible ที่ชั่งน้ำหนักแล้ว 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.3 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

ก.3.1 การเตรียมสารสกัด

ดัดแปลงวิธีของ Masuda และคณะ (1999)

<u>สารเคมี</u>

1. 95% Ethanol

<u>อุปกรณ์และเครื่องมือ</u>

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

วิธีการเตรียม

1. สุ่มตัวอย่างเนื้อฝรั่งแดงสดมาตีป่นให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นผสมนาน 2 นาที
2. เติม 95% ethanol ปริมาตร 300 ml ลงในเนื้อฝรั่งแดงที่ผ่านการตีป่นปริมาณ 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.3.2 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. เตรียมสารสกัดจากเนื้อฝรั่งแดงที่เจือจางด้วย methanol ในอัตราส่วนต่างๆ
2. นำสารสกัดที่เจือจางแล้วแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 4.9 ml ผสมกับสารละลาย DPPH in methanol ความเข้มข้น 5 mM ปริมาตร 100 µl ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลานาน 30 นาที
3. วัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 517 nm ด้วยเครื่อง spectrophotometer โดยใช้ methanol เป็น blank

ปริมาณของสารอนุมูลอิสระ DPPH ที่ลดลง (DPPH radical-scavenging activity) ของตัวอย่างสารสกัดจากฝรั่งแดงที่แต่ละความเข้มข้นสามารถคำนวณได้จากสูตร

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

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 และความเข้มข้นของสารสกัดจากเนื้อฝรั่งแดง เพื่อหาปริมาณของสารสกัดที่สามารถลดความเข้มข้นของสารอนุมูลอิสระ DPPH ได้ 50% เรียกว่า EC_{50}

ก.3.3 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี FRAP

ตามวิธีของ Benzie และ Strain (1996)

<u>สารเคมี</u>

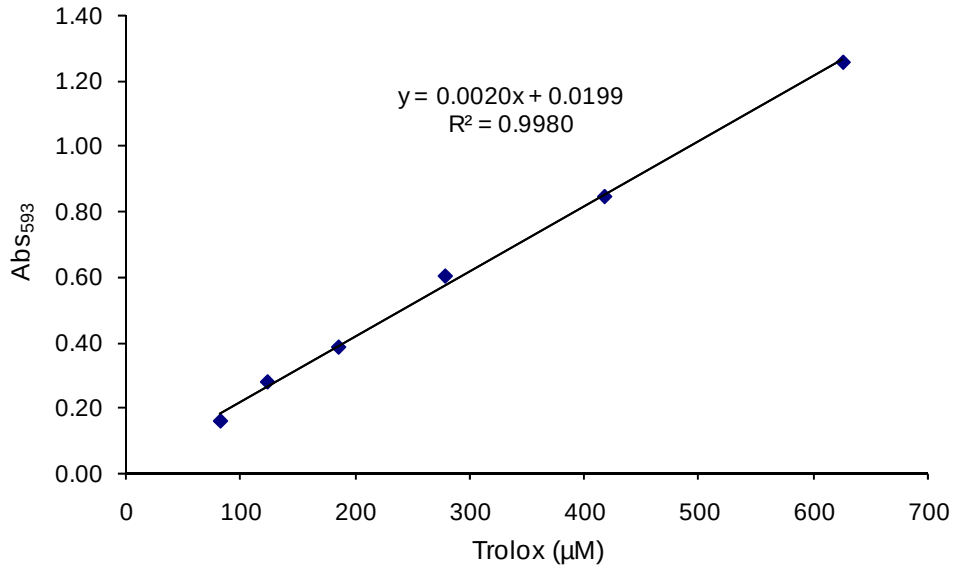
1. Trolox
2. Methanol
3. Stock solutions :
   - Acetate buffer: ปิเปต acetic acid 1.6 ml ปรับปริมาตรเป็น 100 ml ด้วยน้ำกลั่น และนำมาผสมกับ sodium acetate trihydrate 0.3 g
   - Ferric chloride solution: ชั่ง ferric chloride 270 mg ปรับปริมาตรเป็น 50 ml ด้วยน้ำกลั่น
   - TPTZ solution: 100 mM HCl 4 ml 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
   (อุ่นที่อุณหภูมิ 37 °C ก่อนใช้ จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแดง)

<u>อุปกรณ์และเครื่องมือ</u>

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

วิธีวิเคราะห์

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



รูปที่ ก.1 กราฟมาตรฐานของสารละลาย Trolox

ก.4 การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิก

ตามวิธีของ Marinova และคณะ (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

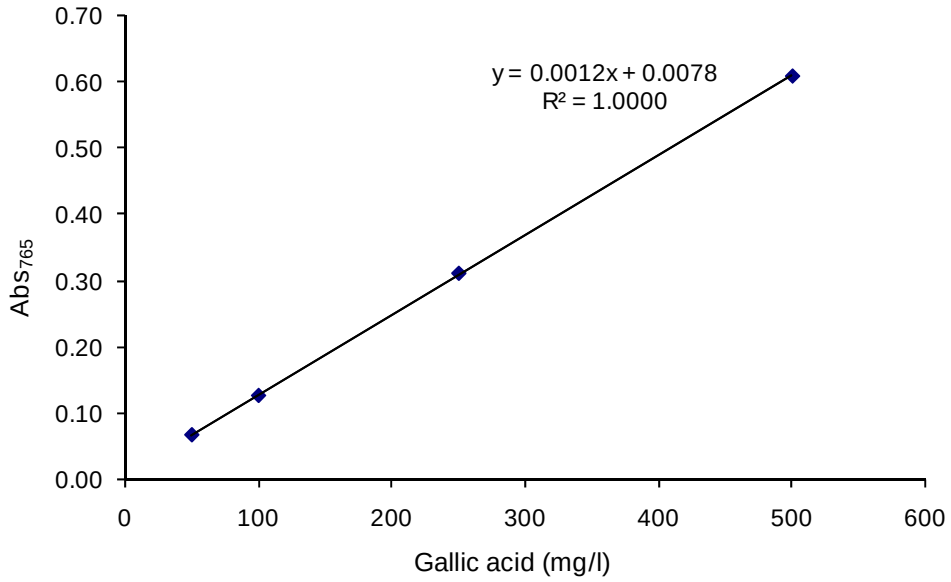
ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง จากนั้นกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman No. 1 และปรับปริมาตรด้วย deionised water เป็น 1 L

<u>อุปกรณ์และเครื่องมือ</u>

1. เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง
2. เครื่อง Spectrophotometer

<u>วิธีวิเคราะห์</u>

1. ใส่สารสกัดจากฝรั่งแดงที่เตรียมได้จากข้อ 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.5 การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์

ตามวิธีของ Zhishen และคณะ (1999)

สารเคมี

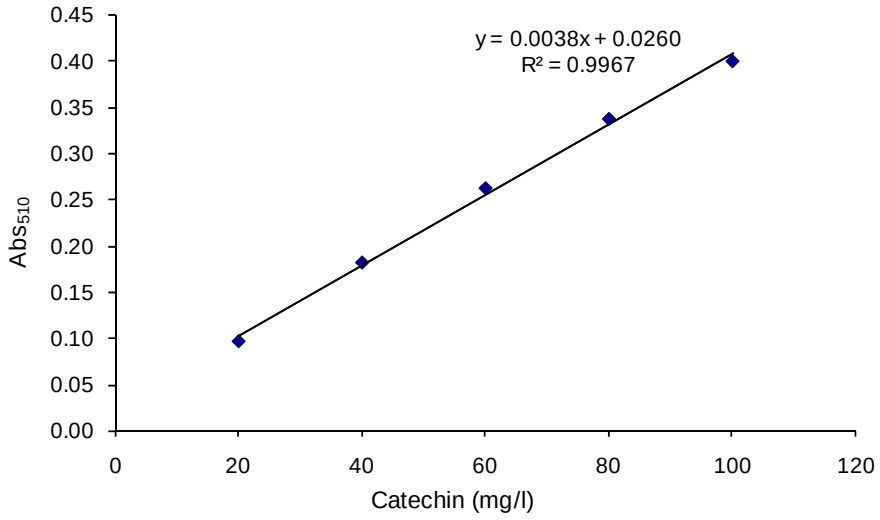
1. 10% Aluminum chloride ($AlCl_3$)
2. Catechin
3. 1 M Sodium hydroxide (NaOH)
4. 5% Sodium nitrite ($NaNO_2$)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง
2. เครื่อง Spectrophotometer

วิธีวิเคราะห์

1. ใส่สารสกัดจากฝรั่งแดงที่เตรียมได้จากข้อ ก.4.1 1 ml ลงใน volumetric flask ขนาด 10 ml ที่มี deionise water อยู่ 4 ml ทำในที่มืด
2. เติม 5% $NaNO_2$ 0.3 ml ทิ้งไว้ 5 นาที แล้วเติม10% $AlCl_3$
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.6 การวิเคราะห์ปริมาณไลโคพีน

ดัดแปลงจากวิธีของ Shi และคณะ (2008)

สารเคมี

1. Hexane
2. Acetone
3. Ethanol
4. methyl t-butyl ether
5. methanol
6. ethyl acetate

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. คอลัมม์ชนิด reverse phase C_{30}ขนาด 4.6 x 250 มิลลิเมตร
2. เครื่อง HPLC

การเตรียมตัวอย่าง

1. สุ่มตัวอย่างออกมา 10 g ผสมกับ hexane, acetone, ethanol solution (2:1:1 v/v/v) ปริมาตร 50 ml ปิดด้วยอลูมิเนียมฟอย
2. นำตัวอย่างไปกวนผสม 10 นาที เติมน้ำกลั่น 15 ml และกวนผสมอีก 5 นาที ตัวอย่างจะเกิดการแยกชั้น (polar กับ non- polar) นำส่วนที่แยกชั้นด้านบน (hexane phase) ไปวิเคราะห์ด้วย HPLC

ภาวะที่ใช้วิเคราะห์

การวิเคราะห์ไลโคพีนด้วยเครื่อง HPLC ภายใต้สภาวะคอลัมม์ชนิด reverse phase C_{30} ขนาด 4.6 x 250 มิลลิเมตร สารละลายตัวพา คือ methyl t-butyl ether/methanol/ethyl acetate (40:50:10, v/v) ที่อุณหภูมิ 20 ^{O}C อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที เครื่องตรวจวัดชนิด UV tunable absorbance detector ที่ 472 นาโนเมตร

ก.7 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

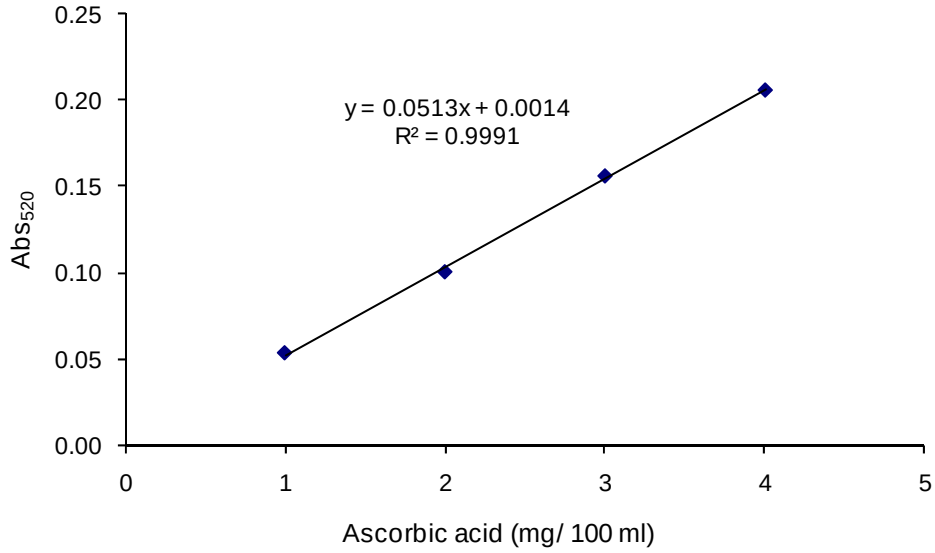
2. ตีป่นเนื้อฝรั่งแดง 50 g ในสารละลาย 0.4% oxalic acid ปริมาตร 350 ml นาน 3 นาที

ด้วยเครื่องปั่นผสม ทำในที่มืด

3. ปิเปตตัวอย่างที่ได้มา 1 ml เติมน้ำกลั่น 9 ml ปรับค่าการดูดกลืนแสงให้เป็นศูนย์

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

5. คำนวณค่า L_1- L_x แล้วนำไปอ่านค่าความเข้มข้นของวิตามินซีจากกราฟมาตรฐาน ascorbic acid



รูปที่ ก.4 กราฟมาตรฐานของสารละลาย Ascorbic acid

ก.8 การวิเคราะห์ค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติก (Prebiotic activity score)

ดัดแปลงวิธีของ Huebner และคณะ (2007)

<u>เชื้อแบคทีเรีย</u>

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

<u>อาหารเลี้ยงเชื้อ</u>

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

-	D-(+)-glucose	2.0	g
-	Ammonium sulphate ($(NH_4)_2SO_4$)	1.0	g
-	Dipotassium hydrogen orthophosphate (K_2HPO_4)	7.0	g
-	Magnesium sulfate ($MgSO_4$)	0.5	g
-	น้ำ	1	L

<u>อุปกรณ์และเครื่องมือ</u>

1. เครื่องชั่งน้ำหนัก ทศนิยม 2 ตำแหน่ง

2. เครื่อง Autoclave
3. เครื่อง Incubator
4. Microbiological Anaerobic Jar 2.5 L
5. AnaeroGen™ 2.5 L (gas pack)

<u>การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย</u>

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

นำ ***L. acidophilus*** La5 และ ***B. lactis*** Bb12 มา streak บน MRS agar และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37ºC เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง โดย ***L. acidophilus*** La5 บ่มที่ภาวะบรรยากาศ และเชื้อ ***B. lactis*** Bb12 บ่มที่ภาวะไม่มีออกซิเจนใน anaerobic jar จากนั้นถ่ายเชื้อจำนวน 1 โคโลนี ลงใน MRS broth ปริมาตร 10 ml และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37ºC เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่ภาวะบรรยากาศ

2. ***E. coli*** ATCC 29922

นำเชื้อ ***E. coli*** มา streak บน Tryptic Soy Agar (TSA) และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37ºC เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ที่ภาวะบรรยากาศ จากนั้นถ่ายเชื้อจำนวน 1 โคโลนี ลงใน Tryptic Soy Broth (TSB) ปริมาตร 10 ml เลี้ยงโดยให้อากาศด้วยการเขย่าด้วย orbital shaker 200 rpm ที่อุณหภูมิ 37ºC เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และถ่ายเชื้อ ***E. coli*** จาก TSB ปริมาณ 1% (v/v) ลงใน Minimal Medium Broth ปริมาตร 10 ml เลี้ยงโดยให้อากาศด้วยการเขย่าด้วย orbital shaker 200 rpm ที่อุณหภูมิ 37ºC เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

<u>วิธีวิเคราะห์</u>

1. ถ่ายเชื้อ ***L. acidophilus*** La5 และ ***B. lactis*** Bb12 ที่เตรียมได้ปริมาตร 1% (v/v) ลงในอาหารเหลว MRS 10 ml ที่มีกลูโคส 1% (w/v) หรือ อินนูลิน 1% (w/v) หรือ ตัวอย่างที่ต้องการตรวจสอบ 1% (w/v) และ ***E. coli*** ที่เตรียมได้ปริมาณ 1% (v/v) ลงใน Minimal Medium Broth 10 ml ที่มีกลูโคส 1% (w/v) หรือ อินนูลิน 1% (w/v) หรือ ตัวอย่างที่ต้องการตรวจสอบ 1% (w/v)
2. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37ºC
3. หลังจากบ่มนาน 0 และ 24 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีบน MRS agar สำหรับเชื้อ ***L. acidophilus*** La5 และ ***B. lactis*** Bb12 โดยจะนับเฉพาะจานอาหารที่มีจำนวนเซลล์ระหว่าง 30-300 เซลล์ ดังนั้นเพื่อให้จำนวนโคโลนีที่เจริญบนจานอาหารอยู่ในช่วงดังกล่าว ควรทำการเจือจางเชื้อเริ่มต้นโดยใช้ สารละลายเปปโตน 0.1% เพาะจุลินทรีย์จากตัวอย่างที่มีระดับการเจือจางเหมาะสม โดยปิเปตเชื้อ ***L. acidophilus*** La5 และ ***B. lactis*** Bb12 1 ml หยดไปบนจานอาหารแล้วเทอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar ที่มีอุณหภูมิประมาณ 44 – 46 °C ลงไป ผสม

เชื้อจุลินทรีย์กับให้เข้าอาหารโดยแกว่งจานอาหารไป-มาเบาๆ ทิ้งให้อาหารแข็งตัวแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37ºC เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีบน MRS agar

สำหรับ *E. coli* เจือจางเชื้อเริ่มต้นโดยใช้สารละลายเปปโตน 0.1% ทำการเพาะเชื้อจุลินทรีย์จากตัวอย่างที่มีระดับการเจือจางเหมาะสม โดยปิเปตเชื้อ *E. coli* 0.1 ml หยดไปบน TSA และทำการเกลี่ยตัวอย่างให้กระจายทั่วผิวหน้าอาหารด้วย sterile spreader นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37ºC เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีบน TSA และหาค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติกในตัวอย่างที่นำมาตรวจสอบโดยคำนวณจากสมการ

ค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติก

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

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

ก.9 การวิเคราะห์สารระเหย (Volatile compounds)

ดัดแปลงจากภาวะของ Jordan และคณะ (2003)

<u>อุปกรณ์และเครื่องมือ</u>

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

<u>การเตรียมตัวอย่าง</u>

1. สุ่มตัวอย่างเนื้อฝรั่งแดงสดมาตีป่นให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นผสม
2. สุ่มตัวอย่างออกมา 1.00±0.01g ใส่ในขวด Headspace vial ขนาด 25 ml และปิดฝาให้สนิท พยายามใช้เวลาให้น้อยที่สุด
3. นำตัวอย่างในขวด Headspace vial ไปบ่มที่อุณหภูมิ 60ºC นาน 10 นาที และใช้ SPME Fiber Holder ในการ absorb ตัวอย่าง เป็นเวลานาน 20 นาที และ desorb ตัวอย่างที่อุณหภูมิ 200ºC นาน 5 นาที ก่อนเข้าเครื่อง GC-MS ต่อไป

<u>ภาวะที่ใช้วิเคราะห์</u>

การวิเคราะห์หาชนิดสารระเหยด้วยเทคนิค SPME/GC/MS กำหนดภาวะที่ใช้ ดังนี้

ก. GC (Gas chromatography)

1. Column: Capillary column, HP-Inowax, 0.25 mm i.d. × 30 m × 0.25 μm

2. Injection port temperature: 200ºC, detector port temperature: 260ºC

3. Carrier gas and flow rate: Helium, 5.7ml/ min

4. Column temperature programmer: Isothermal โดยเริ่มต้นที่อุณหภูมิ 50ºC นาน 10 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิเป็น 240ºC ด้วยอัตรา 15ºC/ min และคงอุณหภูมิที่ 240ºC นาน 10 นาที

ข. MS (Mass spectrometry)

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

ก.10 การทดสอบค่าแอกทิวิตีของเอนไซม์เพอร์ออกซิเดส

ดัดแปลงวิธีของ Pearson (1970)

<u>สารเคมี</u>

1. 1% Guaiacol (in 50% Ethanol)
2. 0.08% Hydrogen peroxide

<u>อุปกรณ์และเครื่องมือ</u>

1. เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 2 ตำแหน่ง

<u>การเตรียมตัวอย่าง</u>

ตีป่นเนื้อฝรั่งแดงกับ deionised water ในอัตราส่วนเนื้อฝรั่งแดงต่อน้ำ เท่ากับ 2:1 ด้วยเครื่องปั่นผสม แล้วกรองแยกกากออก นำส่วนใสมาทดสอบปฏิกิริยาเอนไซม์

<u>วิธีทดสอบ</u>

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 และสังเกตสีที่เกิดขึ้นโดยเปรียบเทียบกับหลอดที่เป็น blank ถ้าไม่มีสีเกิดขึ้นภายใน 3.5 นาที แสดงว่าไม่มีแอกทิ

วิตีของเอนไซม์เพอร์ออกซิเดส และถ้าเกิดสีหลังจาก 3.5 นาที แสดงว่าไม่มีแอกทิวิตีของเอนไซม์เพอร์ออกซิเดสเช่นเดียวกัน

ก.11 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

ตามวิธีของ Nelson (1944)

<u>สารเคมี</u>

1. Ammonium molybdate ($(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$)
2. Anhydrous sodium dihydrogen phosphate (NaH_2PO_4)
3. Anhydrous sodium sulphate (Na_2SO_4)
4. Copper sulphate pentahydrate ($CuSO_4\ 5H_2O$)
5. Potassium sodium tartrate ($KNaC_4H_4O_6$)
6. Sodium hydroxide (NaOH)
7. Sulfuric acid (H_2SO_4)
8. Sodium arsenate ($Na_2HASO_4.7H_2O$)
9. D-(+)-glucose

<u>อุปกรณ์และเครื่องมือ</u>

1. เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง
2. เครื่อง Spectrophotometer

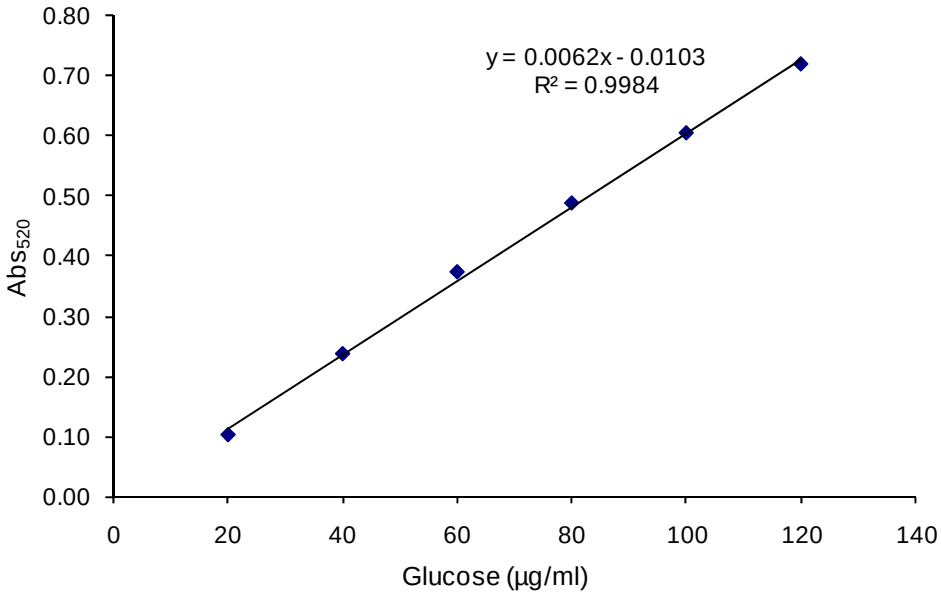
<u>วิธีวิเคราะห์</u>

1. เตรียมสารละลาย Alkaline copper reagent โดยละลาย NaH_2PO_4 14 g และ $KNaC_4H_4O_6$ 20 g ในน้ำกลั่น 350 ml เติม NaOH ความเข้มข้น 1 N ปริมาตร 50 ml เติม 10% $CuSO_4\ 5H_2O$ ปริมาตร 20 ml และเติม Anhydrous Na_2SO_4 50 g ผสมให้เข้ากัน แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนมีปริมาตรสุดท้ายเป็น 500 ml ทิ้งไว้ 1-2 วันในขวดสีชา

2. เตรียมสารละลาย Asenomolydate reagent โดยละลาย $(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$ 25 g ในน้ำกลั่น 400 ml เติม Conc. H_2SO_4 21 ml และสารละลาย $Na_2HASO_4.7H_2O$ (ได้จาก $Na_2HASO_4.7H_2O$ 3 g ในน้ำกลั่น 12.5 ml) ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 1-2 วันในขวดสีชา

3. เตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคสเข้มข้น 20-120 µg/ 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.12 การวัดขนาดอนุภาค (Particle size)

ดัดแปลงจากภาวะของ Worrasinchai และคณะ (2006)

<u>อุปกรณ์และเครื่องมือ</u>

1. เครื่อง Laser particle size analyzer

<u>ภาวะที่ใช้วิเคราะห์</u>

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

ภาคผนวก ข

แบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ข.1 แบบทดสอบที่ใช้ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของฝรั่งแดง

ชื่อ.....วันที่.....รหัสตัวอย่าง……..

คำแนะนำ กรุณาพิจารณาลักษณะต่างๆของฝรั่งแดงแล้วลงผลการทดสอบที่ตรงตามความรู้สึกของท่านมากที่สุด โดยเขียนกากบาท (✕) ตรงตำแหน่งที่ท่านตัดสินใจลงในแบบทดสอบ ในด้านกลิ่นแปลกปลอม หากมีกรุณาระบุกลิ่นที่พบด้วย

1. **สี**

0 — 5 — 10

สีแดงอ่อนซีด ไม่เป็นธรรมชาติของฝรั่งสด | สีแดง | สีแดงเข้ม ตามธรรมชาติของฝรั่งสด

2. **กลิ่นรส** (โดยการดมและรับประทาน)

กลิ่นรสฝรั่งแดง

0 — 5 — 10

ไม่มีกลิ่นรสฝรั่งแดงเลย มีกลิ่นรสแปลกปลอมปะปน | มีกลิ่นรสฝรั่งแดงปานกลาง | มีกลิ่นรสฝรั่งแดงชัดเจนมาก ไม่มีกลิ่นรสแปลกปลอมปะปน

(กลิ่นแปลกปลอม เช่น กลิ่นหมัก กลิ่นสาบ รสเฝื่อนฝาด และกลิ่นรสไม่ปกติ ระบุไม่ได้)

3. **ลักษณะเนื้อสัมผัสด้านความเรียบเนียน** (โดยการสัมผัสด้วยลิ้นและเพดาน)

0 — 5 — 10

หยาบ ไม่เรียบเนียน มีลักษะเป็นเม็ดทราย | ค่อนข้างเรียบเนียน | เรียบเนียนมาก ไม่มีลักษะเป็นเม็ดทราย

4. **การยอมรับรวม** (overall acceptability)

0 — 5 — 10

ไม่ชอบเลย | เฉยๆ | ชอบมาก

ข้อเสนอแนะ

_____

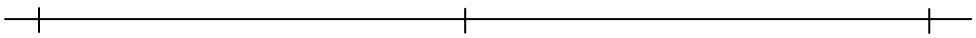
_____

ข.2 แบบทดสอบที่ใช้ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของไซรัปฝรั่งแดง

ชื่อ.....วันที่.....รหัสตัวอย่าง……..

คำแนะนำ กรุณาพิจารณาลักษณะต่างๆของไซรัปฝรั่งแดงแล้วลงผลการทดสอบที่ตรงตามความรู้สึกของท่านมากที่สุด โดยเขียนกากบาท (✕) ตรงตำแหน่งที่ท่านตัดสินใจลงในแบบทดสอบ ในด้านกลิ่นแปลกปลอมหากมีกรุณาระบุกลิ่นที่พบด้วย

1. **สี**

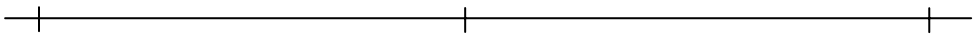


0 5 10

สีแดงอ่อนซีด ไม่เป็นธรรมชาติของฝรั่งสด — สีแดง — สีแดงเข้ม ตามธรรมชาติของฝรั่งสด

2. **กลิ่นรส** (โดยการดมและรับประทาน)

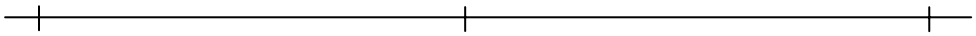
2.1 **กลิ่นรสฝรั่งแดง**



0 5 10

ไม่มีกลิ่นรสฝรั่งแดงเลย — มีกลิ่นรสฝรั่งแดงปานกลาง — มีกลิ่นรสฝรั่งแดงชัดเจนมาก

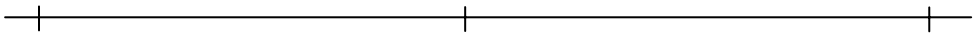
2.2 **กลิ่นรสแปลกปลอม** (เช่น กลิ่นหมัก กลิ่นสาบ รสเฝื่อนฝาด และกลิ่นรสไม่ปกติ ระบุไม่ได้)



0 5 10

มีกลิ่นรสแปลกปลอมชัดเจน — มีกลิ่นรสแปลกปลอมบ้าง — ไม่มีกลิ่นรสแปลกปลอมเลย

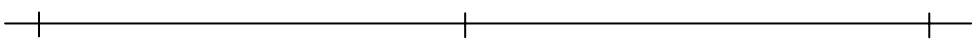
3. **ลักษณะเนื้อสัมผัสด้านความเรียบเนียน** (โดยการสัมผัสด้วยลิ้นและเพดาน)



0 5 10

หยาบ ไม่เรียบเนียน อาจมีชิ้นกาก เนื้อฝรั่งปน — ค่อนข้างเรียบเนียน เป็นเนื้อเดียวกัน — เรียบเนียนมาก เป็นเนื้อเดียวกันไม่แยกชั้น

4. **การยอมรับรวม** (overall acceptability)



0 5 10

ไม่ชอบเลย — เฉยๆ — ชอบมาก

ข้อเสนอแนะ

_____

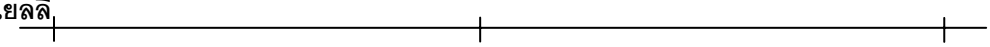
_____

ข.3 แบบทดสอบที่ใช้ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของเยลลี่ฝรั่งแดง

ชื่อ.....วันที่.....รหัสตัวอย่าง……..

คำแนะนำ กรุณาพิจารณาลักษณะต่างๆของตัวอย่าง โดยพิจารณาเยลลี่ที่มีไซรัปฝรั่งแดงเป็นส่วนผสม แล้วลงผลการทดสอบที่ตรงตามความรู้สึกของท่านมากที่สุด โดยเขียนกากบาท (×) ตรงตำแหน่งที่ท่านตัดสินใจลงในแบบทดสอบ ในด้านกลิ่นแปลกปลอม หากมีกรุณาระบุกลิ่นที่พบด้วย

1. **สีเยลลี่**



0 5 10

สีชมพูอ่อนไม่เป็นธรรมชาติ อาจมีสีอื่นปะปน — สีแดงอมชมพู — สีแดงตามธรรมชาติของฝรั่งสด

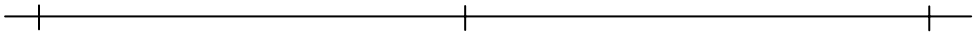
2. **กลิ่นรสเยลลี่** (โดยการดมและรับประทาน)

2.1 กลิ่นรสฝรั่งแดง

0 5 10

ไม่มีกลิ่นรสฝรั่งแดงเลย — มีกลิ่นรสฝรั่งแดงปานกลาง — มีกลิ่นรสฝรั่งแดงชัดเจนมาก

2.2 กลิ่นรสแปลกปลอม (เช่น กลิ่นหมัก กลิ่นสาบ รสเฝื่อนฝาด และกลิ่นรสไม่ปกติ ระบุไม่ได้)

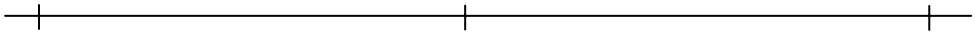


0 5 10

มีกลิ่นรสแปลกปลอมเลย — มีกลิ่นรสแปลกปลอมบ้าง — ไม่มีกลิ่นรสแปลกปลอมชัดเจน

3. **ลักษณะเนื้อสัมผัสของเยลลี่** (โดยการสัมผัสด้วยลิ้นและเพดาน)

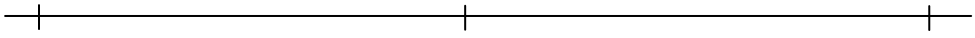
3.1 ความเรียบเนียนของเนื้อเยลลี่



0 5 10

หยาบ ไม่เรียบเนียน — ค่อนข้างเรียบเนียน — เรียบเนียนมาก

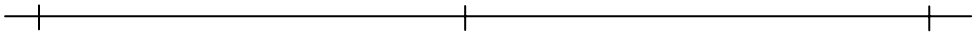
3.2 ความยืดหยุ่นของเนื้อเยลลี่



0 5 10

มีน้ำเยิ้ม แยกชั้น — เนื้อข้นเหนียว ยืดหยุ่นปานกลาง — เนื้อนุ่มและยืดหยุ่นตามลักษณะของเยลลี่ผลไม

4. **การยอมรับรวม** (overall acceptability)



0 5 10

ไม่ชอบเลย — เฉยๆ — ชอบมาก

ข้อเสนอแนะ _____

_____

ภาคผนวก ค

เจลลี่ฝรั่งแดง

อุปกรณ์

หม้อ

ทัพพี

เครื่องชั่งน้ำหนัก

ส่วนผสม

ผงวุ้น	1	ช้อนโต๊ะ
เจลลี่ผง (เจลาติน)	1/2	ช้อนโต๊ะ
น้ำ	500	กรัม
น้ำตาลทราย	300	กรัม
ไซรัปฝรั่งแดง	10% ของน้ำหนักส่วนผสมทั้งหมด	

วิธีทำ

ละลายผงวุ้นและเจลลี่ผง (เจลาติน) กับน้ำคนให้เข้ากัน นำไปตั้งไฟปานกลาง คนตลอดเวลาพอเดือด ใส่ไซรัปฝรั่งแดงและน้ำตาลทราย จัดใส่พิมพ์และแช่ให้เย็นก่อนนำเสิร์ฟ

ภาคผนวก ง

รายละเอียดของเอนไซม์

เอนไซม์เพกทิเนสทางการค้า Pectinex® Ultra SP-L

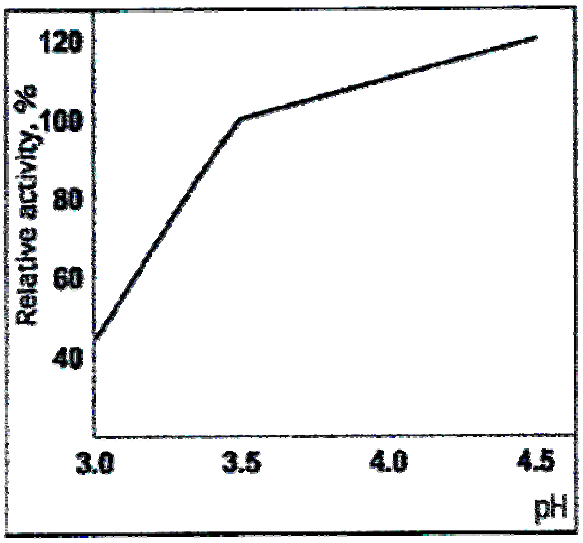
Pectinex® Ultra SP-L เป็นเอนไซม์ที่มีแอกทิวิตีของเพกทิเนสสูง ผลิตจากเชื้อกลุ่ม *Aspergillus aculeatus* สายพันธุ์ที่ผ่านการคัดเลือกแล้ว ประกอบด้วยเอนไซม์พอลิกาแลกทูโรเนส เพกทินไลเอส เพกทินเอสเทอเรส เป็นหลัก โดยมีเอนไซม์เฮมิเซลลูเลส เซลลูเลส โปรติเอส และอะไมเลส ช่วยเสริมการย่อยสลายโมเลกุลต่างๆที่บริเวณผนังเซลล์ของพืช

ลักษณะปรากฏ: เป็นของเหลวสีน้ำตาลเข้ม และมีกลิ่นหมักเล็กน้อย มี pH ประมาณ 4.5 สามารถละลายน้ำได้ดีที่ทุกความเข้มข้น

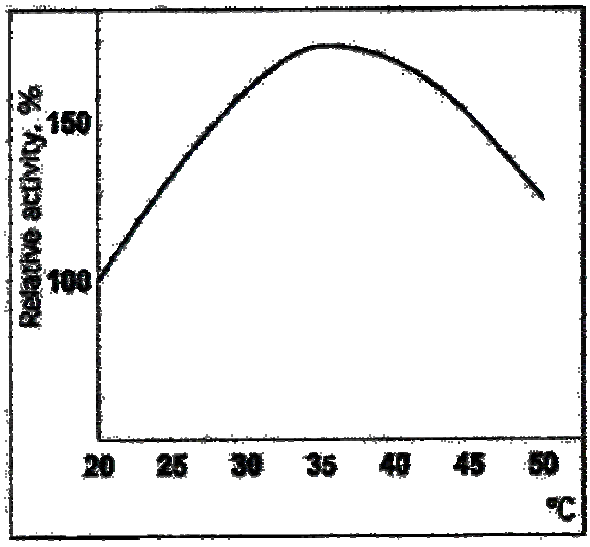
แอกทิวิตีของเอนไซม์โดยทั่วไป: 26,000 PGU/ml (pH 3.5) ค่าแอกทิวิตีของเอนไซม์พิจารณาโดยวัดความหนืดของสารละลายกรดเพกทิกที่ลดลง ที่อุณหภูมิ 20ºC pH 3.5

ข้อกำหนด: สามารถใช้ในอาหารได้ รับรองโดย FAO/WHO, JECFA และ FCC

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



รูปที่ ง.1 แอกทิวิตีของเอนไซม์ที่ pH ต่างๆ
Polygalacturonase activity at 20ºC



รูปที่ ง.2 แอกทิวิตีของเอนไซม์ที่อุณหภูมิต่างๆ
Polygalacturonase activity at pH 3.5

(ดัดแปลงจาก Novozymes, Enzyme Information)

ภาคผนวก จ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ตารางที่ จ.1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าสีในระบบ L* a* b* ของเนื้อฝรั่งแดงที่ระดับความสุกต่างๆ

Source of variance	df	MS		
		L*	a*	b*
Ripening levels	2	39.853*	12.548*	2.656*
Error	6	0.047	0.010	0.011

* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ จ.2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า pH ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดซิตริก (TA) ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (TSS) และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (RS)ของเนื้อฝรั่งแดงที่ระดับความสุกต่างๆ

Source of variance	df	MS			
		pH	TA	TSS	RS
Ripening levels	2	0.72*	0.055*	12.00*	4.413*
Error	6	0.001	0.001	0.083	0.008

* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ จ.3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านสี กลิ่น รสและการยอมรับรวมของฝรั่งแดงที่ระดับความสุกต่างๆ

Source of variance	df	MS			
		color	aroma	taste	overall
Ripening levels	2	14.008*	29.258*	3.908*	16.975*
Panelist	9	0.200	0.194	0.407	0.226
Error	18	0.231	0.194	0.427	0.456

* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ จ.4 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นภายใน 24 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเนื้อฝรั่งแดง ฝรั่งขาว อินนูลินและกลูโคสเป็นองค์ประกอบ

Source of variance	df	MS		
		La5	Bb12	*E. coli*
Media	3	0.674*	3.604*	0.028*
Error	8	0.001	0.003	0.001

* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ จ.5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยความสว่าง (L*) ค่าสีแดง (+a*) และค่าสีเหลือง (+b*) ของฝรั่งแดงตีป่นที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ

Source of variance	df	MS		
		L*	+a*	+b*
Blanching time (A)	3	7.439*	1.965*	1.593*
Blanching temperature(B)	2	0.295*	0.063*	0.042*
AxB	6	0.051*	0.016*	0.007*
Error	24	0.001	0.001	0.001

* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ จ.6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (TSS) ค่าสีในระบบ L* a* b* และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (RS) ของไซรัปฝรั่งแดงที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ที่ภาวะต่างๆ

Source of variance	df	MS				
		TSS	L*	+a*	+b*	RS
Enzyme concentration (A)	4	3.644*	15.210*	23.166*	18.702*	5174.007*
Hydrolysis time (B)	10	0.792*	6.388*	8.458*	14.715*	1333.035*
AxB	40	0.061*	0.570*	0.484*	0.786*	95.031*
Error	110	0.011	0.0000794	0.0000624	0.006	26.578

* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ จ.7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในไซรัปฝรั่งแดงที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ที่ความเข้มข้น 0.75% (v/w)

Source of variance	df	MS
Hydrolysis time	10	609.309*
Error	22	20.314

* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ จ.8 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (DPPH,FRAP) ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (TPC) ปริมาณฟลาโวนอยด์(FC) ปริมาณวิตามินซี (AAC) ปริมาณไลโคพีน (LP) และขนาดอนุภาค (PS) ของไซรัปฝรั่งแดงที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลด้วยเอนไซม์ต่างกัน

Source of variance	df	MS						
		DPPH	FRAP	TPC	FC	AAC	LP	PS
Hydrolysis time	4	12.747*	177.290*	633.770*	15.673*	54.348*	383666.394*	21828.091*
Error	9	0.106	0.013	0.011	0.011	0.017	9.515	1.070

* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ จ.9 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของคะแนนลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านต่างๆ ของไซรัปฝรั่งแดงที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลด้วยเอนไซม์ต่างกัน

Source of variance	df	MS				
		Color	Red guava flavor	Off-flavor	Smoothness	Overall acceptability
Hydrolysis time	4	12.209*	7.519*	4.242 *	5.932*	4.998*
Panelist	9	0.546*	0.192	0.402	0.324	0.481*
Error	36	0.205	0.224	0.190	0.279	0.194

* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ จ.10 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของปริมาณใยอาหารทั้งหมด (TDF) ใยอาหารที่ละลายน้ำ (SDF) และใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ (IDF) ในไซรัปฝรั่งแดงกับเนื้อฝรั่งแดง T-test

		t	df	Sig. (2-tailed)
TDF	Equal variances assumed	0.738	2	0.533
SDF	Equal variances assumed	9.890	2	0.012
IDF	Equal variances assumed	23.201	2	0.004

ตารางที่ จ.11 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นภายใน 24 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อทีมีเนื้อฝรั่งแดง ไซรัปฝรั่งแดง อินนูลิน และกลูโคสเป็นองค์ประกอบ

Source of variance	df	MS		
		La5	Bb12	*E. coli*
Media	3	1.938*	4.437*	0.056*
Error	8	0.002	0.002	0.002

* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ จ.12 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของคะแนนลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านต่างๆ ของเยลลี่ฝรั่งแดง

Source of variance	df	MS					
		Color	Red guava flavor	Off-flavor	Smoothness	springiness	Overall acceptability
Hydrolysis time	4	10.376*	9.826*	5.929*	6.871*	2.574*	7.217*
Panelist	9	0.391	0.247	0.445	0.572	0.701*	0.491*
Error	36	0.219	0.261	0.282	0.425	0.197	0.201

* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ภาคผนวก ฉ

รายละเอียดข้อมูลเพิ่มเติม

ตารางที่ ฉ.1 ค่าสี L* a* b* ของเนื้อฝรั่งแดงตีป่นที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม (control)

Blanching Time (min)	Temperature ^{O}C	Average of color in 10 days		
		L*	+a*	+b*
control		47.43^{e}±0.02	7.57^{g}±0.03	5.54^{i}±0.02
0	70^{O}C	46.38^{h}±0.02	7.14^{h}±0.01	5.47^{i}±0.01
	80^{O}C	46.85^{g}±0.04	7.53^{g}±0.01	5.70^{h}±0.01
	90^{O}C	47.73^{d}±0.01	7.96^{d}±0.02	6.06^{e}±0.01
1	70^{O}C	48.26^{b}±0.02	8.14^{b}±0.02	6.35^{b}±0.01
	80^{O}C	46.37^{h}±0.04	7.13^{h}±0.01	5.47^{i}±0.02
	90^{O}C	47.23^{f}±0.01	7.80^{f}±0.01	5.77^{g}±0.01
3	70^{O}C	48.17^{c}±0.01	8.04^{c}±0.01	6.16^{d}±0.02
	80^{O}C	48.44^{a}±0.04	8.20^{a}±0.02	6.47^{a}±0.01
	90^{O}C	46.38^{h}±0.02	7.15^{h}±0.02	5.48^{i}±0.01
5	70^{O}C	47.31^{e}±0.02	7.82^{e}±0.03	5.83^{f}±0.01
	80^{O}C	48.25^{b}±0.01	8.15^{b}±0.02	6.28^{c}±0.01
	90^{O}C	48.45^{a}±0.03	8.22^{a}±0.01	6.45^{a}±0.03

ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขในแนวตั้งที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ฉ.2 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในไซรัปฝรั่งแดงที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ที่ความเข้มข้นและเวลาการย่อยต่างๆ

Enzyme concentration (% v/w)	Reducing sugars (mg glucose/ g fresh weight)										
	Hydrolysis time (min)										
	0	30	60	90	120	180	240	300	360	420	480
0.25	42.56^{g}±0.49	49.72^{f}±0.34	53.94^{e}±0.42	58.49^{de}±0.36	62.40^{cd}±0.37	63.70^{bc}±0.32	65.32^{ab}±0.27	66.62^{a}±0.29	68.58^{a}±0.22	68.58^{a}±0.28	70.53^{a}±0.31
0.50	41.58^{g}±0.29	59.14^{f}±0.39	59.14^{e}±0.39	67.27^{de}±0.26	71.50^{cd}±0.26	71.83^{bc}±0.29	74.43^{ab}±0.31	75.08^{a}±0.29	78.01^{a}±0.32	76.71^{a}±0.26	76.71^{a}±0.27
0.75	41.58^{g}±0.23	53.29^{f}±0.27	61.75^{e}±028	62.72^{de}±0.25	70.20^{cd}±0.29	73.45^{bc}±0.32	77.36^{ab}±0.26	86.33^{a}±0.23	84.42^{a}±0.27	81.26^{a}±0.32	82.56^{a}±0.31
1	42.23^{g}±0.32	55.24^{f}±0.27	62.72^{e}±0.28	66.95^{de}±0.26	69.23^{cd}±0.29	72.48^{bc}±0.30	77.68^{ab}±0.33	79.96^{a}±0.28	81.92^{a}±0.29	82.23^{a}±0.25	82.56^{a}±0.27

ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขทั้งหมดที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ฉ.3 ค่าความสว่าง (L*) ของไซรัปฝรั่งแดงที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ที่ความเข้มข้นและเวลาการย่อยต่างๆ

Enzyme concentration (% v/w)	L* of color										
	Hydrolysis time (min)										
	0	30	60	90	120	180	240	300	360	420	480
0.25	48.45^{a}±0.01	48.36^{b}±0.03	48.28^{c}±0.01	48.05^{d}±0.02	47.84^{e}±0.03	47.90^{f}±0.02	47.63^{g}±0.03	47.38^{h}±0.01	47.30^{i}±0.01	47.20^{j}±0.02	47.17^{k}±0.2
0.50	48.46^{a}±0.02	48.20^{b}±0.02	48.04^{c}±0.03	47.72^{d}±0.01	47.50^{e}±0.01	47.30^{f}±0.03	47.12^{g}±0.01	46.80^{h}±0.03	46.28^{i}±0.03	46.06^{j}±0.02	45.83^{k}±0.02
0.75	48.42^{a}±0.03	48.20^{b}±0.02	48.05^{c}±0.02	47.81^{d}±0.01	47.56^{e}±0.02	47.21^{f}±0.01	46.79^{g}±0.03	46.59^{h}±0.01	46.11^{i}±0.02	45.94^{j}±0.03	45.62^{k}±0.01
1	48.40^{a}±0.02	48.14^{b}±0.03	47.80^{c}±0.01	47.54^{d}±0.02	47.19^{e}±0.01	47.16^{f}±0.01	46.71^{g}±0.01	46.51^{h}±0.02	46.05^{i}±0.01	45.78^{j}±0.01	45.49^{k}±0.02

ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขทั้งหมดที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ฉ.4 ค่าสีแดง (+a*) ของไซรัปฝรั่งแดงที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ที่ความเข้มข้นและเวลาการย่อยต่างๆ

Enzyme concentration (% v/w)	(+a*) of color										
	Hydrolysis time (min)										
	0	30	60	90	120	180	240	300	360	420	480
0.25	8.44^{k}±0.02	8.66^{j}±0.01	8.91^{i}±0.02	9.11^{h}±0.01	9.49^{g}±0.02	9.62^{f}±0.02	9.83^{e}±0.04	10.17^{d}±0.02	10.24^{c}±0.02	10.43^{b}±0.03	10.68^{a}±0.02
0.50	8.72^{k}±0.03	8.97^{j}±0.03	9.22^{i}±0.01	9.55^{h}±0.02	9.69^{g}±0.02	9.92^{f}±0.02	10.34^{e}±0.02	10.63^{d}±0.02	10.94^{c}±0.01	11.38^{b}±0.02	11.68^{a}±0.01
0.75	8.73^{k}±0.02	9.04^{j}±0.02	9.43^{i}±0.01	9.75^{h}±0.01	9.97^{g}±0.03	10.10^{f}±0.01	10.41^{e}±0.02	10.78^{d}±0.02	11.08^{c}±0.02	11.50^{b}±0.03	11.83^{a}±0.01
1	8.75^{k}±0.02	9.09^{j}±0.02	9.58^{i}±0.03	9.89^{h}±0.01	10.11^{g}±0.01	10.51^{f}±0.01	10.80^{e}±0.03	10.87^{d}±0.02	11.15^{c}±0.01	11.52^{b}±0.02	11.76^{a}±0.02

ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขทั้งหมดที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ฉ.5 ค่าสีเหลือง (+b*) ของไซรัปฝรั่งแดงที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ที่ความเข้มข้นและเวลาการย่อยต่างๆ

Enzyme concentration (% v/w)	(+b*) of color										
	Hydrolysis time (min)										
	0	30	60	90	120	180	240	300	360	420	480
0.25	6.52^{k}±0.02	6.88^{j}±0.04	7.18^{i}±0.03	7.47^{h}±0.01	7.64^{g}±0.03	7.88^{f}±0.03	8.38^{e}±0.03	8.68^{d}±0.01	8.97^{c}±0.01	9.34^{b}±0.02	9.56^{a}±0.02
0.50	6.58^{k}±0.02	6.88^{j}±0.02	7.43^{i}±0.01	7.88^{h}±0.02	8.36^{g}±0.01	8.51^{f}±0.02	9.36^{e}±0.02	9.64^{d}±0.02	9.89^{c}±0.02	9.98^{b}±0.03	10.01^{a}±0.01
0.75	6.56^{k}±0.01	6.95^{j}±0.01	7.55^{i}±0.02	7.98^{h}±0.02	8.44^{g}±0.03	8.78^{f}±0.02	9.12^{e}±0.02	9.74^{d}±0.02	9.82^{c}±0.04	9.98^{b}±0.02	10.12^{a}±0.01
1	6.25^{k}±0.04	6.96^{j}±0.02	7.69^{i}±0.01	8.08^{h}±0.01	8.64^{g}±0.01	8.90^{f}±0.04	9.43^{e}±0.03	9.81^{d}±0.02	9.89^{c}±0.01	10.00^{b}±0.01	10.04^{a}±0.03

ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขทั้งหมดที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ฉ. 6 ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (TSS)ในไซรัปฝรั่งแดงที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ที่ความเข้มข้นและเวลาการย่อยต่างๆ

Enzyme concentration (% v/w	TSS (°Brix)										
	Hydrolysis time (min)										
	0	30	60	90	120	180	240	300	360	420	480
0.25	8.80^{f}±0.1	9.00^{e}±0.2	9.00^{d}±0.1	9.20^{cd}±0.1	9.20^{c}±0.2	9.40^{b}±0.1	9.40^{b}±0.1	9.60^{a}±0.2	9.60^{a}±0.2	9.60^{a}±0.2	9.60^{a}±0.1
0.50	8.80^{f}±0.1	9.20^{e}±0.2	9.40^{d}±0.1	9.36^{cd}±0.1	9.60^{c}±0.2	9.60^{b}±0.1	9.60^{b}±0.1	9.80^{a}±0.2	9.80^{a}±0.2	9.80^{a}±0.1	9.80^{a}±0.2
0.75	8.80^{f}±0.2	9.20^{e}±0.1	9.40^{d}±0.1	9.36^{cd}±0.1	9.60^{c}±0.2	9.60^{b}±0.2	9.60^{b}±0.1	9.80^{a}±0.1	9.80^{a}±0.2	9.80^{a}±0.1	9.80^{a}±0.2
1	9.00^{f}±0.2	9.20^{e}±0.1	9.40^{d}±0.1	9.40^{cd}±0.2	9.53^{c}±0.2	9.60^{b}±0.1	9.60^{b}±0.1	9.80^{a}±0.1	9.80^{a}±0.2	10.0^{a}±0.1	10.0^{a}±0.1

ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขทั้งหมดที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาววสาวี ถ้วยทอง เกิดวันที่ 12 มิถุนายน พ.ศ. 2525 ที่จังหวัดสระบุรี สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต จากสาขาวิชาเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี เมื่อปีการศึกษา 2547 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยในปีการศึกษา 2548

รายการสิ่งตีพิมพ์และเผยแพร่

1. วสาวี ถ้วยทอง และ ปราณี อ่านเปรื่อง. 2551. สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารให้กลิ่นของฝรั่งขาวและฝรั่งแดง (*Psidium guajava* L.). ใน การประชุมวิชาการและเสนอผลงานวิจัยพืชเขตร้อนและกึ่งร้อน ครั้งที่ 2 (ภาคบรรยาย). วันที่ 21 สิงหาคม 2551 ณ โรงแรม เดอะทวิน ทาวเวอร์ กรุงเทพมหานคร.