การสกัดเพกทินจากเปลือกโกโก้และการประยุกต์เป็นสารเคลือบบริโภคได้

น.ส.รวิษฎา ผลสิน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2564
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EXTRACTION OF PECTIN FROM COCOA SHELL AND APPLICATION AS EDIBLE COATING

Miss Rawisada Pholsin

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Food Technology
Department of Food Technology
FACULTY OF SCIENCE
Chulalongkorn University
Academic Year 2021
Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การสกัดเพกทินจากเปลือกโกโก้และการประยุกต์เป็นสารเคลือบบริโภคได้
โดย	น.ส.รวิษฎา ผลสิน
สาขาวิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	รองศาสตราจารย์ ดร.กิติพงศ์ อัศตรกุล

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

.... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

(ศาสตราจารย์ ดร.พลกฤษณ์ แสงวณิช)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.... ประธานกรรมการ

(ศาสตราจารย์ ดร.อุบลรัตน์ สิริภัทราวรรณ)

.... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์ ดร.กิติพงศ์ อัศตรกุล)

.... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธนจันทร์ มหาวนิช)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

.... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(รองศาสตราจารย์ ดร.กิติญา วงษ์คำจันทร์ โอราน)

รวิษฎา ผลสิน : การสกัดเพกทินจากเปลือกโกโก้และการประยุกต์เป็นสารเคลือบบริโภคได้. (EXTRACTION OF PECTIN FROM COCOA SHELL AND APPLICATION AS EDIBLE COATING) อ.ที่ปรึกษาหลัก : รศ. ดร.กิติพงศ์ อัศตรกุล

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาวิธีสกัดต่อปริมาณและคุณภาพของเพกทินจากเปลือกโกโก้ ศึกษาสมบัติการเป็นพรีไบโอติก (prebiotic activity) ของเพกทิน และการประยุกต์ใช้เป็นสารเคลือบบริโภคได้ เพื่อยืดอายุการเก็บของมะเขือเทศ โดยศึกษาวิธีสกัด 3 วิธี ดังนี้ วิธีทางเอนไซม์ (แปร 3 ปัจจัย ได้แก่ ปริมาณเอนไซม์เพกทิเนส 0.5 และ 1.0% อุณหภูมิในการบ่ม 40 และ 60 องศาเซลเซียส และเวลาในการบ่ม 120 และ 240 นาที) วิธีทางเคมี (แปร 2 ปัจจัย ได้แก่ ความเป็นกรดเบสของสารละลาย pH 4.0 และ pH 10.0 และอุณหภูมิในการสกัด 60 70 และ 80 องศาเซลเซียส) และวิธีคลื่นอัลตราซาวด์ช่วยสกัด (แปรระยะเวลาโซนิเคชัน 20 30 และ 40 นาที) จากการทดลองพบว่าภาวะที่สามารถสกัดปริมาณเพกทินได้มากที่สุดจากวิธีทางเคมี วิธีทางเอนไซม์ และวิธีคลื่นอัลตราซาวด์ช่วยสกัด คือ การสกัดด้วยปริมาณเอนไซม์ 1.0% v/v อุณหภูมิในการบ่ม 60 องศาเซลเซียส และเวลาในการบ่ม 240 นาที (ร้อยละ 24.38±0.15) การสกัดด้วยสารละลาย pH 4.0 และอุณหภูมิในการสกัด 70 องศาเซลเซียส (ร้อยละ 7.78±0.41) และการสกัดด้วยระยะเวลาโซนิเคชัน 20 นาที (ร้อยละ 14.87±0.19) ตามลำดับ โดยเพกทินที่สกัดจากเปลือกโกโก้ทุกภาวะมีระดับเอสเทอริฟิเคชันมากกว่า 50% ดังนั้นจึงจัดเป็น high methoxyl (HM) pectin จากนั้นศึกษาสมบัติการเป็นพรีไบโอติกและความหนืดของเพกทินที่ได้จากภาวะที่สามารถสกัดเพกทินได้มากที่สุดของแต่ละวิธีการสกัด และพบว่าเพกทินที่สกัดด้วยวิธีคลื่นอัลตราซาวด์ช่วยสกัดมีสมบัติการเป็นพรีไบโอติกสูงที่สุด ในขณะที่การเพิ่มอัตราเฉือนส่งผลให้ความหนืดของเพกทินที่สกัดด้วยวิธีทางเอนไซม์มีค่าลดลงมากที่สุด รองลงมา คือ วิธีคลื่นอัลตราซาวด์ช่วยสกัดและวิธีทางเคมี ตามลำดับ จากการใช้เพกทินที่สกัดด้วยวิธีคลื่นอัลตราซาวด์ช่วยสกัดมาประยุกต์ใช้เป็นสารเคลือบบริโภคได้กับมะเขือเทศ และติดตามการเปลี่ยนแปลงของมะเขือเทศที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ทุก ๆ 3 วัน เป็นเวลา 30 วัน โดยเปรียบกับตัวอย่างควบคุมและมะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ไม่ผสมเพกทิน จากผลการทดลองพบว่าตัวอย่างควบคุมมีน้ำหนักลดลงมากที่สุด (ร้อยละ 5.43±0.16) และมะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ผสมเพกทินมีน้ำหนักลดลงน้อยที่สุด (ร้อยละ 3.22±0.09) ในขณะที่ค่า pH ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด และค่าสีของมะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ผสมเพกทินมีการเปลี่ยนแปลงน้อยที่สุด รวมถึงความแน่นเนื้อ และพบว่าปริมาณไลโคปีนของตัวอย่างควบคุมมีปริมาณเพิ่มขึ้นเร็วกว่ามะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (วิธี DPPH และ FRAP) ของมะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ผสมเพกทินมีการเปลี่ยนแปลงน้อยที่สุดตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา นอกจากนี้ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและปริมาณยีสต์และราของตัวอย่างควบคุมเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และมีปริมาณสูงกว่ามะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ โดยตัวอย่างควบคุม มะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ไม่ผสมเพกทิน และมะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ผสมเพกทินมีอายุการเก็บประมาณ 21 วัน 24 วัน และ 27 วัน ตามลำดับ ดังนั้นการใช้สารเคลือบบริโภคได้ผสมเพกทินสามารถชะลอการเปลี่ยนแปลงคุณภาพด้านต่าง ๆ ของมะเขือเทศระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ได้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สาขาวิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร	ลายมือชื่อนิสิต ....
ปีการศึกษา	2564	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก ....

6370138523 : MAJOR FOOD TECHNOLOGY

KEYWORD: Cocoa shell, Edible coating, Pectin extraction, Tomato, Shelf life

Rawisada Pholsin : EXTRACTION OF PECTIN FROM COCOA SHELL AND APPLICATION AS EDIBLE COATING. Advisor: Assoc. Prof. Dr. KITIPONG ASSATARAKUL, Ph.D.

The objectives of this study were to study extraction methods on quantity and quality of pectin from cocoa shell, study the prebiotic activity of pectin and application of pectin from cocoa shell as edible coating agent to extend the shelf life of tomato. Three extraction methods were enzymatic method (3 variables: pectinase concentration 0.5 and 1.0% v/v, incubation temperature 40 and 60^{o}C, and incubation time 120 and 240 minutes) chemical method (2 variables: pH 4.0 and pH 10.0 and extraction temperatures of 60, 70 and 80^{o}C) and ultrasound-assisted extraction method (sonication time at 20, 30 and 40 minutes). The optimal extraction condition with highest pectin yield of enzymatic method, chemical methods and ultrasound-assisted extraction method were extraction with 1.0% v/v enzyme concentration, incubation temperature 60^{o}C and incubation time 240 minutes (24.38±0.15%), extraction with pH 4.0 solution and extraction temperature 70^{o}C (7.78±0.41%) and extraction by sonication of 20 minutes (14.87±0.19%), respectively. Pectin extracted from cocoa shell from all extraction methods had the degree of esterification greater than 50% which was categorized as high methoxyl (HM) pectin. The prebiotic activity and viscosity of pectin from the optimal extraction conditions with highest pectin yield for each extraction method were studied. The prebiotic activity of pectin extracted using ultrasound-assisted extraction method was found to be the highest. The viscosity of enzymatically extracted pectin was the greatest reduced by increasing shear rate, followed by ultrasound-assisted extraction method and chemical method, respectively. Pectin extracted by ultrasound-assisted extraction method was applied as an edible coating on tomato and quality was evaluated under 4^{o}C every 3 days for 30 days, compared to control sample and tomato coated with edible coating without pectin. The results showed that the control sample had the greatest weight loss (5.43±0.16%) and the tomato coated with pectin-based edible coating had the least weight loss (3.22±0.09%). The results of pH, total soluble solid and color of the tomato coated with pectin-based edible coating showed that there was a minimal change including the firmness. The lycopene content of control sample increased faster than the tomato coated with pectin-based edible coating. The change in total phenolic content and antioxidant activity (DPPH and FRAP methods) of tomato coated with pectin-based edible coating during storage was minimal. In addition, the total viable count and yeast and mold count of control samples increased rapidly and the amount was higher than the tomatoes coated with pectin-based edible coating. The control sample, tomato coated with edible coating without pectin and tomatoes coated with pectin-based edible coating had a shelf life of approximately 21 days, 24 days, and 27 days, respectively. Therefore, using of pectin-based edible coating was able to delay the quality change and extend the shelf life of tomato during storage at 4^{o}C.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Chulalongkorn University

Field of Study:	Food Technology	Student's Signature ....
Academic Year:	2021	Advisor's Signature ....

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้สำเร็จลงได้ด้วยการสนับสนุนจากทุนอุดหนุนการวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย “ทุน 90 ปี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย” กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช และขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.กิติพงศ์ อัศตรกุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษาและคำแนะนำเกี่ยวกับการวิจัย อีกทั้งช่วยแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ด้วยความเมตตาเสมอมา

ขอกราบขอบพระคุณศาสตราจารย์ ดร.อุบลรัตน์ สิริภัทราวรรณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธนจันทร์ มหาวนิช และรองศาสตราจารย์ ดร.กิติญา วงษ์คำจันทร์ ที่กรุณาเป็นคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์และกรุณาให้คำแนะนำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความถูกต้องสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ เจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการ เจ้าหน้าที่ประจำภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารทุกท่าน รวมถึงขอขอบคุณเพื่อน พี่ และน้องในภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารที่ช่วยเหลือและให้คำปรึกษาตลอดการทำวิจัย

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา และครอบครัวที่ให้การช่วยเหลือในเรื่องต่าง ๆ และสนับสนุนตลอดมา

รวิษฎา ผลสิน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย .... ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ .... ง
กิตติกรรมประกาศ .... จ
สารบัญ .... ฉ
สารบัญตาราง .... ฌ
สารบัญรูปภาพ .... ญ
บทที่ 1 1
บทนำ 1
บทที่ 2 3
วารสารปริทัศน์ 3
2.1 โกโก้ 3
2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ 3
2.1.2 สายพันธุ์โกโก้ 6
2.1.3 สายพันธุ์โกโก้ในประเทศไทย 7
2.1.4 การปลูกและการดูแลรักษา 8
2.2 มะเขือเทศ 10
2.3 เพกทิน 11
2.4 พรีไบโอติก 15
2.5 การสกัด 15
2.6 เอนไซม์ 19
2.7 เอนไซม์เพกทิเนส 22

2.8 อนุมูลอิสระ 24
2.9 สารต้านอนุมูลอิสระ 25
2.9.1 สารประกอบฟีนอลิก 26
2.9.2 สารไลโคปีน 28
2.10 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ 29
2.10.1 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) 29
2.10.2 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ferric reducing antioxidant power (FRAP) 30
2.11 บรรจุภัณฑ์ 31
2.11.1 บรรจุภัณฑ์พลาสติก 31
2.11.2 ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ลามิเนต (laminated aluminium foil) 32
บทที่ 3 34
วิธีการทดลอง 34
3.1 การเตรียมตัวอย่างเปลือกโกโก้ 36
3.2 การศึกษาวิธีการสกัดต่อสมบัติของเพกทิน 36
3.3 การวิเคราะห์สมบัติของเพกทินที่สกัดได้ 38
3.4 การศึกษาการใช้เพกทินเป็นสารเคลือบบริโภคได้ 39
3.5 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ 40
บทที่ 4 41
ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง 41
4.1 การศึกษาวิธีการสกัดต่อสมบัติของเพกทิน 41
4.2 การวิเคราะห์ความหนืดและสมบัติการเป็นพรีไบโอติกของเพกทิน 50
4.3 การศึกษาการใช้เพกทินเป็นสารเคลือบบริโภคได้ 53
บทที่ 5 71
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ 71

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บรรณานุกรม.. 73

ภาคผนวก ก.. 85

วิธีวิเคราะห์ทางกายภาพ 85

ภาคผนวก ข 87

วิธีวิเคราะห์ทางเคมี.. 87

ภาคผนวก ค.. 97

วิธีวิเคราะห์ทางชีวภาพ 97

ประวัติผู้เขียน.. 101

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีที่พบในเปลือกโกโก้ 4

ตารางที่ 2 การสกัดเพกทินด้วยวิธีคลื่นอัลตราซาวด์ช่วยสกัด 17

ตารางที่ 3 ประเภทของเอนไซม์ตามลักษณะการทำงาน 21

ตารางที่ 4 ปัจจัยและระดับของการสกัดเพกทินจากเปลือกโกโก้ด้วยวิธีทางเคมี 37

ตารางที่ 5 ปัจจัยและระดับของการสกัดเพกทินจากเปลือกโกโก้ด้วยวิธีทางเอนไซม์........ 38

ตารางที่ 6 ค่าพรีไบโอติกแอกทิวิตีของเพกทินสกัดจากเปลือกโกโก้ด้วยวิธีต่าง ๆ 52

ตารางที่ 7 ค่าความเป็นกรดเบสของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษา 55

ตารางที่ 8 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษา........ 57

ตารางที่ 9 ค่า L*, a*, b* และ ∆E ของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษา........ 59

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สารบัญรูปภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 ต้นโกโก้ 5

ภาพที่ 2 ดอกโกโก้ 5

ภาพที่ 3 ส่วนประกอบของผลโกโก้ 5

ภาพที่ 4 โกโก้สายพันธุ์คริโอลโล 6

ภาพที่ 5 โกโก้สายพันธุ์ฟอรัสเทอร์โร 7

ภาพที่ 6 โกโก้สายพันธุ์ทรีนิตาริโอ 7

ภาพที่ 7 โกโก้สายพันธุ์ลูกผสม ชุมพร 1 8

ภาพที่ 8 โกโก้สายพันธุ์ลูกผสม I.M.1 8

ภาพที่ 9 ผังการปลูกโกโก้แบบพืชเดี่ยว 9

ภาพที่ 10 ผังการปลูกโกโก้แบบพืชร่วม 9

ภาพที่ 11 ผลมะเขือเทศ 10

ภาพที่ 12 โครงสร้างของสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ 11

ภาพที่ 13 โครงสร้างทางเคมีของโมเลกุลเพกทิน 12

ภาพที่ 14 โครงสร้างหลักของโมเลกุลเพกทิน 13

ภาพที่ 15 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า DE และปริมาณเมทอกซิล 13

ภาพที่ 16 การเกิดอันตรกิริยาของเพกทินในอาหาร 15

ภาพที่ 17 วิธีการสกัดแบบต่าง ๆ 18

ภาพที่ 18 ปรากฏการณ์คาวิเตชัน (cavitation) 19

ภาพที่ 19 กลไกการทำลายเซลล์ของคลื่นอัลตราซาวด์ 19

ภาพที่ 20 ความสำคัญของเอนไซม์ต่อพลังงานอิสระที่ใช้ในการสร้างผลผลิต 20

ภาพที่ 21 ปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์กับสารตั้งต้น 21

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาพที่ 22 ปฏิกิริยาของเอนไซม์เพกทิเนสกับซับสเตรท PG (a), PE (b) และ PL/PGL (c) 23
ภาพที่ 23 ผลของอนุมูลอิสระต่อสารชีวโมเลกุลภายในเซลล์ 25
ภาพที่ 24 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบฟีนอลิก 27
ภาพที่ 25 การจำแนกประเภทของสารประกอบฟีนอลิก 28
ภาพที่ 26 โครงสร้างทางเคมีของไลโคปีน... 29
ภาพที่ 27 โครงสร้างทางเคมีของสารอนุมูลอิสระมาตรฐาน 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) 30
ภาพที่ 28 ปฏิกิริยาระหว่างสารประกอบเชิงซ้อน ferric tripyridyltriazine (Fe^{3+}-TPTZ) กับสารต้านอนุมูลอิสระ 30
ภาพที่ 29 โครงสร้างพอลิเมอร์ประเภทเทอร์โมพลาสติก (thermoplastic) และเทอร์โมเซตติง (thermosetting) 32
ภาพที่ 30 ปริมาณเพกทินที่สกัดได้จากเปลือกโกโก้ด้วยวิธีทางเคมี.. 42
ภาพที่ 31 ระดับเอสเทอริฟิเคชันของเพกทินที่สกัดได้จากเปลือกโกโก้ด้วยวิธีทางเคมี 44
ภาพที่ 32 ปริมาณกรดกาแลคทูโรนิกของเพกทินที่สกัดได้จากเปลือกโกโก้ด้วยวิธีทางเคมี.............. 44
ภาพที่ 33 ปริมาณเพกทินที่สกัดได้จากเปลือกโกโก้.. 46
ภาพที่ 34 ระดับเอสเทอริฟิเคชันของเพกทินที่สกัดได้จากเปลือกโกโก้ด้วยวิธีคลื่นอัลตราซาวด์ช่วยสกัด 46
ภาพที่ 35 ปริมาณกรดกาแลคทูโรนิกของเพกทินที่สกัดได้จากเปลือกโกโก้... 47
ภาพที่ 36 ปริมาณเพกทินที่สกัดได้จากเปลือกโกโก้ด้วยวิธีทางเอนไซม์.. 49
ภาพที่ 37 ระดับเอสเทอริฟิเคชันของเพกทินที่สกัดได้จากเปลือกโกโก้ด้วยวิธีทางเอนไซม์ 49
ภาพที่ 38 ปริมาณกรดกาแลคทูโรนิกของเพกทินที่สกัดได้จากเปลือกโกโก้ด้วยวิธีทางเอนไซม์ 50
ภาพที่ 39 พฤติกรรมการไหลของเพกทินที่สกัดจากเปลือกโกโก้ด้วยวิธีต่าง ๆ 51
ภาพที่ 40 การสูญเสียน้ำหนักของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษา.. 54
ภาพที่ 41 ความแน่นเนื้อของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษา.. 62
ภาพที่ 42 ปริมาณไลโคปีนในมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษา.. 63

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาพที่ 43 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษา 65

ภาพที่ 44 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษา................. 66

ภาพที่ 45 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษา 67

ภาพที่ 46 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษา 69

ภาพที่ 47 ปริมาณยีสต์และราของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษา 70

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 1
บทนำ

โกโก้ (cocoa) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Theobroma cocao* L. มีแหล่งกำเนิดอยู่ในบริเวณเขตร้อนชื้นของทวีปอเมริกา ผลโกโก้มีลักษณะรี คล้ายกับผลมะละกอ ความยาวประมาณ 12-30 เซนติเมตร ผลอ่อนมีสีเขียวหรือสีเขียวแดง ผลสุกมีสีเหลือง และสุกจัดเปลี่ยนเป็นสีแดงอมเหลือง หรือสีแดงอมม่วง ตามชนิดหรือสายพันธุ์ เปลือกค่อนข้างหนา ผิวเปลือกขรุขระหรือมีผิวเรียบขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ ในกระบวนการแปรรูปในอุตสาหกรรมโกโก้จะได้เปลือกโกโก้ ซึ่งเป็นส่วนที่ไม่ได้นำไปใช้ประโยชน์ ในเปลือกโกโก้ประกอบด้วยองค์ประกอบทางเคมีที่เป็นประโยชน์หลายชนิด โดยมีใยอาหารเป็นองค์ประกอบที่พบมากที่สุด และมีส่วนประกอบที่เป็นพอลิแซ็กคาไรด์ในปริมาณที่แตกต่างกัน แสดงเป็นร้อยละน้ำหนักแห้ง (% dry weight) ดังนี้ เพกทิน 40-45% กาแลคโตกลูโคแมนแนน 7-10% ไซโลกลูแคน 5-7% กลูคูโรโนอะราบิโนไซแลน 4% และเซลลูโลส 34% (Redgwell และคณะ, 2003) เพกทินเป็นองค์ประกอบที่พบมากที่สุดในเปลือกโกโก้ โดยเพกทินมีสมบัติเป็นสารก่อให้เกิดเจล สารทำให้ข้นหนืด สารที่ทำให้เกิด ความคงตัว (Chan และคณะ, 2013) และสามารถใช้เป็นสารเคลือบบริโภคได้ เพื่อถนอมผักและผลไม้ รักษาเนื้อสัมผัส สี รส และคุณค่าทางโภชนาการ (Mahardiani และคณะ, 2021) เพกทินจึงมีบทบาทสำคัญในอุตสหากรรม ได้แก่ อุตสาหกรรมอาหาร ยา การแพทย์และเครื่องสำอาง เช่น ในอุตสาหกรรมอาหารนิยมใช้เพกทินเพื่อปรับปรุงคุณภาพของอาหาร ได้แก่ ใช้เพกทินเป็นสารทำให้เกิดเจลในผลิตภัณฑ์แยมและขนมหวาน ใช้เพิ่มความหนืดในเครื่องปรุงรสและน้ำเชื่อม ใช้เป็นสารให้ความคงตัวในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต เป็นต้น ในด้านการแพทย์และเครื่องสำอาง นิยมใช้เพกทินมาประยุกต์เป็นผลิตภัณฑ์รักษาบาดแผล เนื่องจากเพกทินมีส่วนช่วยในการสมานบาดแผลและสามารถใช้ได้กับทุกสภาพผิว และเพกทินสามารถใช้ห่อหุ้มสาระสำคัญในกระบวนการผลิตยารักษาโรคท้องร่วงในเด็ก (Brejnholt, 2009) นอกจากนี้เพกทินจัดเป็นพรีไบโอติก ซึ่งร่างกายมนุษย์ไม่สามารถย่อยเพกทินในระบบย่อยอาหารได้ แต่สามารถถูกย่อยด้วยจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่พบในลำไส้ใหญ่ ซึ่งช่วยปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในทางเดินอาหาร เพิ่มการดูดซึมแร่ธาตุ กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย ส่งผลให้ระบบทางเดินอาหารทำงานได้อย่างปกติ ลดปัจจัยเสี่ยงที่ก่อให้เกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด ป้องกันการเกิดโรคมะเร็งลำไส้ และควบคุมกระบวนการเผาผลาญไขมัน (Pokusaeva และคณะ, 2011) การสกัดเพกทินจากเปลือกโกโก้สามารถทำได้หลายวิธี ได้แก่ การสกัดด้วยเอนไซม์ โดยใช้เอนไซม์กลุ่มเพกทิเนส การสกัดด้วยวิธีทางเคมี และการสกัดด้วยวิธีทางกายภาพ เช่น คลื่นอัลตราซาวด์ช่วยสกัดและคลื่นไมโครเวฟช่วยสกัด โดยมีปัจจัยที่ส่งผลต่อการสกัด ได้แก่ อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด ค่าความเป็นกรด-เบสของสารละลาย ระยะเวลาในการโซนิเคชันสำหรับวิธี

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

คลื่นอัลตราซาวด์ช่วยสกัด ความเข้มข้นของเอนไซม์เพกทิเนส เวลาในการบ่ม และอุณหภูมิในการบ่มสำหรับการสกัดด้วยวิธีทางเอนไซม์ ดังนั้นการใช้วิธีการสกัดร่วมกับปัจจัยที่เหมาะสมในการสกัดเพกทินจากเปลือกโกโก้ ส่งผลให้ได้ปริมาณเพกทินและสมบัติของเพกทินที่เหมาะสมต่อการนำไปประยุกต์ใช้เป็นสารเคลือบบริโภคได้ เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาของผักและผลไม้ได้

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาวิธีการสกัดเพกทินจากเปลือกโกโก้ ได้แก่ วิธีทางเอนไซม์ (เอนไซม์เพกทิเนส) วิธีทางเคมี (น้ำกลั่นที่ปรับค่าความเป็นกรด-เบส) และวิธีทางกายภาพ (การใช้คลื่นอัลตราซาวด์ช่วยสกัด) และวิเคราะห์สมบัติของเพกทินที่สกัดได้ เพื่อให้ได้ปริมาณและสมบัติของเพกทินที่เหมาะสมต่อการนำไปประยุกต์ใช้เป็นสารเคลือบบริโภคได้ เพื่อยืดอายุการเก็บรักษา รวมถึงรักษาคุณภาพด้านต่าง ๆ ของมะเขือเทศ ในระหว่างการเก็บที่ 4 องศาเซลเซียส

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 2
วารสารปริทัศน์

2.1 โกโก้

โกโก้ (cocoa) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Theobroma cocao* L. จัดอยู่ในสกุล Sterculiaceae มีแหล่งกำเนิดอยู่ในบริเวณเขตร้อนชื้นของทวีปอเมริกา โดยเฉพาะลุ่มน้ำอะเมซอนและพื้นที่บางส่วนในทวีปอเมริกากลาง

2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ลำต้น (trunk) โกโก้เป็นไม้พุ่มขนาดใหญ่ (ภาพที่ 1) ลำต้นสูงประมาณ 4-20 เมตร ในสภาพธรรมชาติ และ 3-6 เมตร เมื่อนำมาปลูกในแปลงปลูก ลำต้นตั้งตรง เมื่อลำต้นเจริญได้สูงประมาณ 1-2 เมตร ตาที่ยอดจะพัฒนาเป็นกิ่งข้าง (fan branch) 3-5 กิ่ง ซึ่งจุดที่เป็นศูนย์รวมของการแตกกิ่งข้างนี้เรียกว่า คาคบ (jorquette) นอกจากนี้บริเวณลำต้นมีตาที่สามารถเจริญเติบโตเป็นกิ่งกระโดง (chupon) และมีปุ่มตาดอก (flower cushion) กระจายอยู่ทั่วลำต้น

ใบ (leaves) โกโก้เป็นพืชใบเลี้ยงคู่ มีลักษณะเป็นรูปรี มีความกว้างประมาณ 4-20 เซนติเมตร ยาวประมาณ 10-48 เซนติเมตร โคนใบมน ปลายใบแหลม ขอบใบหยักเล็กน้อย และมีเส้นแขนงใบ มีก้านใบยาวประมาณ 1-3 เซนติเมตร นอกจากนี้ความเข้มของแสงมีผลต่อขนาดและความหนาของใบโกโก้ รวมถึงปริมาณคลอโรฟิลล์ (chlorophyll) ในใบโกโก้ โดยโกโก้ที่ปลูกใต้ร่มเงาและโดนแสงแดดน้อย ใบจะมีขนาดใหญ่และมีสีเขียวเข้มกว่าใบโกโก้ที่ปลูกในแปลงที่ได้แสงแดดเต็มที่

ราก (root) รากแก้วของต้นโกโก้จะงอกตามแนวดิ่งลงไปในดินประมาณ 2 เมตร โดยรากแก้วจะพบเฉพาะในต้นโกโก้ที่ปลูกโดยใช้เมล็ดเท่านั้น ส่วนต้นโกโก้ที่ปลูกโดยการตัดชำกิ่งจะมีรากที่พัฒนาจากรากแขนงประมาณ 2-3 ราก มีความยาว 5-6 เมตร

ดอก (flower) ดอกโกโก้จัดเป็นดอกสมบูรณ์เพศ สามารถผสมเกสรได้ด้วยตนเอง ดอกโกโก้เป็นดอกเดี่ยว แต่ออกเป็นกลุ่มชิดกัน 5-15 ดอก ออกดอกตามลำต้นหรือตามกิ่ง ตัวดอกมีขนาดประมาณ 1.0-1.5 เซนติเมตร ประกอบด้วยฐานรองดอก ซึ่งมี 5 แฉก กลีบเลี้ยงสีเขียวอ่อนหรือสีม่วงแดงตามชนิดหรือสายพันธุ์ และกลีบดอก จำนวน 5 กลีบ ขนาดเล็ก และสั้นกว่ากลีบเลี้ยง (ภาพที่ 2)

ผล (pod) มีลักษณะรี คล้ายกับผลมะละกอ ผลออกเป็นผลเดี่ยวหรือเป็นกลุ่มตามกิ่งและลำต้น ความยาวประมาณ 12-30 เซนติเมตร ผลอ่อนมีสีเขียวหรือสีเขียวแดง ผลสุกมีสีเหลือง และสุกจัดเปลี่ยนเป็นสีแดงอมเหลืองหรือสีแดงอมม่วงตามชนิดหรือสายพันธุ์ เปลือกค่อนข้างหนา ผิวเปลือกขรุขระ หรือบางสายพันธุ์มีผิวเรียบ ไม่มีร่อง (ภาพที่ 3) ผลโกโก้จะสุกภายใน 5-6 เดือน ผลอ่อนมีสีเขียว ผลสุกเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอมส้มหรือสีม่วงแดง เยื่อเปลือกด้านในสุดมีสีขาว ภายในมี 20-40

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

เมล็ด ซึ่งเมล็ดโกโก้แต่ละเมล็ดจะห่อหุ้มด้วยเยื่อหุ้ม เรียกว่า mucilage และมีเมือก โดยเมือกเหล่านี้ทำให้เกิดกลิ่นหอมหลังจากการหมักเมล็ดโกโก้ในกระบวนการผลิตช็อกโกแลต

เปลือกโกโก้ (cocoa shell) เปลือกโกโก้เป็นส่วนที่เหลือจากกระบวนการแปรรูปในอุตสาหกรรม เปลือกโกโก้ประกอบด้วยองค์ประกอบทางเคมีที่เป็นประโยชน์หลายชนิด ดังแสดงในตารางที่ 1 โดยใยอาหารเป็นองค์ประกอบที่พบมากที่สุด (Arlorio และคณะ, 2001) นอกจากนี้การวิเคราะห์องค์ประกอบใยอาหารในเปลือกโกโก้แสดงให้เห็นว่า เปลือกโกโก้มีส่วนประกอบที่เป็นพอลิแซ็กคาไรด์ในปริมาณที่แตกต่างกัน แสดงเป็นร้อยละน้ำหนักแห้ง (% dry weight) ดังนี้ เพกทิน (pectin) 40-45% กาแลคโตกลูโคแมนแนน (galactoglucomannan, GGM) 7-10% ไซโลกลูแคน (xyloglucan, XG) 5-7% กลูคูโรโนอะราบิโนไซแลน (glucuronoarabinoxylan, GAX) 4% และเซลลูโลส (cellulose) 34% (Redgwell และคณะ, 2003) เปลือกโกโก้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ ดังนี้

- วัสดุคลุมดินแทนเปลือกไม้ จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่า วัสดุคลุมดินโกโก้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเติบโตของวัชพืชมากกว่าวัสดุคลุมดินจากเปลือกไม้ (Arentoft และคณะ, 2013)
- ส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ขนมข้าวโพด เพื่อเสริมคุณค่าทางอาหาร (Jozinovic และคณะ, 2017) และเติมใยอาหารที่ละลายน้ำ ซึ่งสกัดจากเปลือกโกโก้ลงในมัฟฟิน (muffin) เพื่อเป็นสารทดแทนไขมัน ลดการแข็งตัวระหว่างการเก็บรักษา และทำให้มัฟฟินมีเนื้อสัมผัสที่เหมาะสม
- การผลิตเครื่องดื่มที่มีรสชาติที่เป็นเอกลักษณ์และอุดมไปด้วยใยอาหารจากเปลือกโกโก้
- การผลิตคุกกี้ที่มีความทนทานต่อการแตกหักสูงกว่าคุกกี้ที่ผลิตจากแป้งข้าวสาลี (Handojo และคณะ, 2019)

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีที่พบในเปลือกโกโก้

องค์ประกอบ	ปริมาณ (กรัม/กิโลกรัมน้ำหนักแห้ง)
โปรตีน (protein)	181 ± 8
ไขมัน (fat)	68 ± 2
ใยอาหาร (dietary fiber)	606 ± 6
ความชื้น (moisture)	101 ± 6
พอลิฟีนอล (polyphenols)	18 ± 8
ธีโอโบรมีน (theobromine)	13 ± 2
กรดไฟทิก (phytic acid)	6 ± 1
เถ้า (ash)	81 ± 4

ที่มา: Arlorio และคณะ (2001)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาพที่ 1 ต้นโกโก้

ที่มา: Palangkaset (2018)

ภาพที่ 2 ดอกโกโก้

ที่มา: Medthai (2017)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาพที่ 3 ส่วนประกอบของผลโกโก้

ที่มา: Soares และคณะ (2022)

2.1.2 สายพันธุ์โกโก้

โกโก้แบ่งเป็น 3 สายพันธุ์ ได้แก่

1. สายพันธุ์คริโอลโล (Criollo) เป็นสายพันธุ์ที่มีผลค่อนข้างใหญ่ มีสีแดงหรือสีเหลือง เปลือกบาง ผิวขรุขระ ก้นของผลแหลม (ภาพที่ 4) เมล็ดขนาดใหญ่สีขาวหรือม่วงอ่อน โกโก้สายพันธุ์นี้เป็นพืชที่มีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงได้ไม่ดี ทำให้มีข้อจำกัดในเรื่องพื้นที่ปลูก มีการเจริญเติบโตที่ช้ากว่าสายพันธุ์อื่นๆ ให้ผลผลิตต่ำ และมักถูกโรคของแมลงรบกวนได้ง่าย สายพันธุ์นี้มีแหล่งกำเนิดมาจากอเมริกากลาง และเติบโตส่วนใหญ่ในประเทศโคลัมเบีย เอกวาดอร์ และเวเนซุเอรา

2. สายพันธุ์ฟอรัสเทอโร (Forastero) เป็นสายพันธุ์ที่มีผลสีเขียว เมื่อสุกจะมีสีเหลืองหรือสีแดง (ภาพที่ 5) โดยสายพันธุ์นี้นิยมใช้อย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมช็อกโกแลต เนื่องจากเป็นสายพันธุ์ที่มีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมได้หลากหลายรูปแบบ ให้ผลผลิตสูง ทนต่อโรคและแมลงได้ดี สายพันธุ์นี้นิยมปลูกในประเทศอเมริกาใต้ อเมริกากลาง แอฟริกาตะวันตก และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้

3. สายพันธุ์ทรีนิตาริโอ (Trinitario) เป็นสายพันธุ์ที่มีผลขนาดใหญ่ มีสีเขียวหรือแกมแดง ก้นของผลแหลม ผิวขรุขระ ร่องผลลึก (ภาพที่ 6) นอกจากนี้เมล็ดมีขนาดใหญ่ และมีแหล่งกำเนิดอยู่ทางภาคตะวันออกของป่าอะเมซอน

ภาพที่ 4 โกโก้สายพันธุ์คริโอลโล

ที่มา: Bluekoff (2019)

ภาพที่ 5 โกโก้สายพันธุ์ฟอรัสเทอร์โร
ที่มา: Bluekoff (2019)

ภาพที่ 6 โกโก้สายพันธุ์ทรีนิตาริโอ
ที่มา: Bluekoff (2019)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

2.1.3 สายพันธุ์โกโก้ในประเทศไทย

มีการพัฒนาสายพันธุ์ลูกผสม 2 สายพันธุ์ คือ

1. สายพันธุ์ลูกผสม ชุมพร 1 โกโก้สายพันธุ์นี้ให้ผลผลิตสูงและคุณภาพเมล็ดดี โดยให้ผลผลิตเมล็ดโกโก้แห้งสูงสุดตลอดเวลาการทดลอง 13 ปี ซึ่งสูงกว่าพันธุ์ที่เกษตรกรปลูกประมาณ 31.4% และมีความทนทานต่อโรคกิ่งแห้งค่อนข้างสูง ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ประจำสายพันธุ์ คือ ปลายใบแหลม ใบมีความกว้างเฉลี่ย 12.4 เซนติเมตร มีความยาวเฉลี่ย 34.1 เซนติเมตร ดอกมีสีเขียวอ่อน ๆ ก้านดอกมีสีเขียวยาวประมาณ 1.5 เซนติเมตร ลักษณะผลป้อม ก้นไม่แหลม ผิวผลเรียบ ร่องค่อนข้างตื้น และเมล็ดมีเนื้อสีม่วง (ภาพที่ 7)

2. สายพันธุ์ลูกผสม I.M.1 (ภาพที่ 8) โกโก้สายพันธุ์นี้เจริญเติบโตเร็ว ทนแล้ง เหมาะสำหรับการปลูกในเขตภาคกลาง ภาคเหนือและภาคอีสาน ให้ผลผลิตสูง เริ่มออกดอกติดผลและเก็บเกี่ยวได้ในปีที่ 3 หลังจากปลูก เมล็ดแห้ง เมล็ดมีขนาดและคุณภาพตรงกับความต้องการของตลาด

ภาพที่ 7 โกโก้สายพันธุ์ลูกผสม ชุมพร 1
ที่มา: Chumphon Horticultural Research Center (2020)

ภาพที่ 8 โกโก้สายพันธุ์ลูกผสม I.M.1
ที่มา: Kasetnumchok (2018)

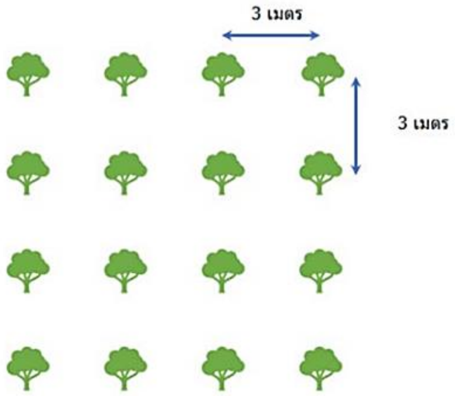
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

2.1.4 การปลูกและการดูแลรักษา

โกโก้สามารถปลูกได้ 2 รูปแบบ ดังนี้

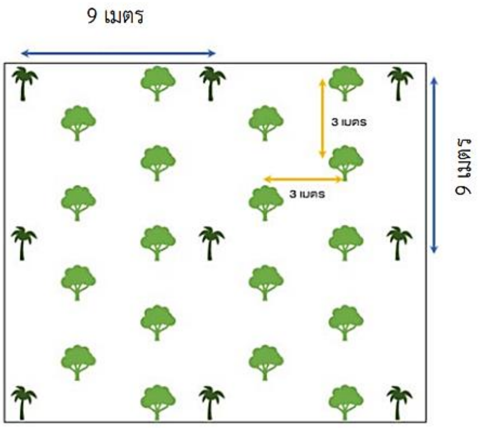
1. การปลูกแบบพืชเดี่ยว เป็นการปลูกแบบกลางแจ้ง และต้องสร้างร่มเงาชั่วคราวให้ต้นกล้าโกโก้ในระยะปีแรก การปลูกแบบพืชเดี่ยวสามารถปลูกได้ 2 รูปแบบ คือ ปลูกระยะห่าง 3x3 หรือ 4x4 เมตร ดังแสดงในภาพที่ 9 ข้อดีของการปลูกแบบพืชเดี่ยว คือ ได้จำนวนต้นต่อพื้นที่มาก และโกโก้ให้ผลผลิตมากกว่าการปลูกแบบพืชร่วมประมาณ 2-3 เท่า

2. การปลูกแบบพืชร่วม เป็นการปลูกแบบอาศัยร่มเงาหรือปลูกร่วมกับพืชเศรษฐกิจชนิดอื่น เช่น ปลูกโกโก้ใต้ร่มเงาต้นยางพารา ต้นมะพร้าว หรือต้นเงาะ ดังแสดงในภาพที่ 10 ข้อควรพิจารณาในการคัดเลือกชนิดของพืชร่มเงา คือ ควรเป็นพืชที่ไม่แย่งสารอาหารกับต้นโกโก้ ไม่ควรทำลายพุ่มโกโก้เสียหาย และพืชร่มเงาควรทำรายได้ให้เกษตรกรอีกทางเลือกหนึ่ง



ภาพที่ 9 ผังการปลูกโกโก้แบบพืชเดี่ยว

ที่มา: สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร (2564)



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ 10 ผังการปลูกโกโก้แบบพืชร่วม

ที่มา: สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร (2564)

ในระยะเริ่มแรกของการปลูกต้นกล้าโกโก้ต้องสร้างร่มเงา โดยการใช้ทางมะพร้าวหรือวัสดุพรางแสง จนกว่าต้นโกโก้จะแข็งแรงและแตกใบใหม่ จึงค่อย ๆ นำวัสดุพรางแสงออก ควรรดน้ำต้นโกโก้ประมาณ 2-3 วันต่อครั้ง สำหรับฤดูแล้งควรคลุมต้นโกโก้ด้วยกาบมะพร้าวหรือใบไม้หนา ๆ เพื่อรักษาความชื้นของดินบริเวณโคนต้น นอกจากนี้หลังจากต้นโกโก้เจริญเติบโตและมีการเก็บเกี่ยวทุก ๆ ปี ความอุดมสมบูรณ์ของดินจะลดลง ดังนั้นจำเป็นต้องใส่ปุ๋ยให้ดิน เพื่อรักษาความอุดมสมบูรณ์ของดิน การให้ปุ๋ยบำรุงดินแก่ต้นโกโก้ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น สายพันธุ์โกโก้ ลักษณะของดิน ลักษณะการปลูกเป็นต้น

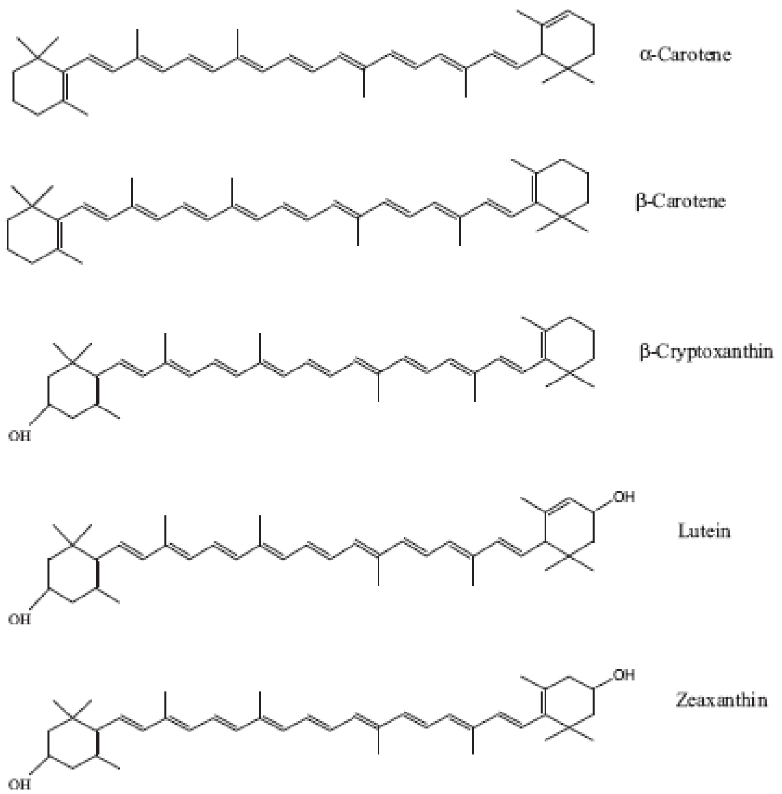
2.2 มะเขือเทศ

มะเขือเทศ (tomato) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Lycopersicon esculentum* Mill. จัดอยู่ในวงศ์มะเขือ (Solanaceae) ซึ่งเป็นวงศ์ของพืชดอก ที่มีความสำคัญทางการเกษตร มะเขือเทศมีถิ่นกำเนิดในทวีปอเมริกาใต้ เป็นพืชล้มลุก อายุเพียง 1 ปี ลำต้นแข็งและตั้งตรง สูง 50-150 เซนติเมตร ลักษณะเป็นพุ่ม มีขนอ่อน ๆ ปกคลุม ใบเป็นใบประกอบแบบขนนก แต่มีความหยักไม่เท่ากัน และใบย่อยมีขนาดไม่เท่ากัน ปลายใบแหลม มีขนอ่อน ๆ ที่ใบ ออกดอกบริเวณซอกใบและออกดอกเป็นช่อหรือดอกเดี่ยว ดอกมีสีเหลือง มีกลีบเลี้ยงสีเขียวประมาณ 5-7 กลีบ ส่วนผลเป็นผลเดี่ยว มีขนาด รูปร่างและสีต่างกัน ผลดิบมีสีเขียวหรือเขียวอมเทา เมื่อสุกจะมีสีเหลือง สีส้ม หรือสีแดง (ภาพที่ 11) เนื้อภายในฉ่ำน้ำ มีรสเปรี้ยว และมีเมล็ดเป็นจำนวนมาก

มะเขือเทศอุดมไปด้วยสารอาหารที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน วิตามิน เช่น วิตามินเอ วิตามินอี วิตามินเค และวิตามินซี และแร่ธาตุ เช่น โซเดียม โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียม นอกจากนี้มะเขือเทศประกอบด้วยสารกลุ่มแคโรนีนอยด์ (carotenoid) หลากหลายชนิด (ภาพที่ 12) ได้แก่ ไลโคปีน (lycopene) เบต้าแคโรทีน (beta-carotene) แอลฟาแคโรทีน (alpha-carotene) ลูทีน (lutein) ซีแซนทิน (zeaxanthin) (Chaudhary และคณะ, 2018)

ภาพที่ 11 ผลมะเขือเทศ

ที่มา: Thaihealth (2014)



ภาพที่ 12 โครงสร้างของสารกลุ่มแคโรทีนอยด์
ที่มา: Ellison (2016)

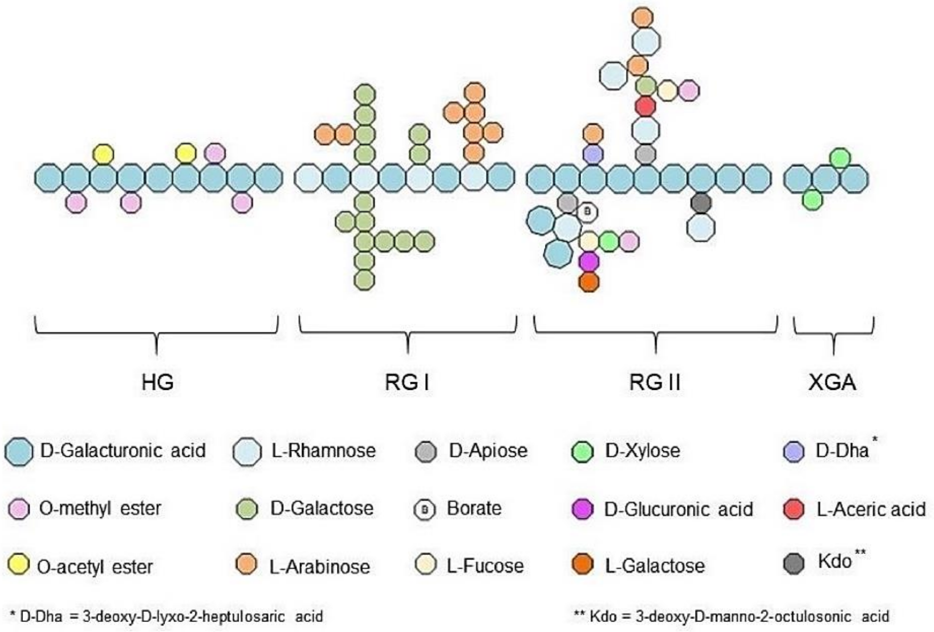
2.3 เพกทิน

เพกทินเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharide) ประเภท heteropolysaccharide เป็นส่วนประกอบในผนังเซลล์ของพืช เช่นเดียวกับเซลลูโลส (cellulose) เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) และลิกนิน (lignin) โดยเพกทินอยู่ในชั้นระหว่างเซลล์หรือจุดเชื่อมต่อระหว่างผนังเซลล์ (middle lamella) มีบทบาทสำคัญในการเจริญเติบโตและพัฒนาการของพืช รวมถึงสร้างความแข็งแรงให้แก่พืช (Wang และคณะ, 2018) เพกทินเป็น heteropolysaccharide ที่มีความซับซ้อน โดยภาพที่ 13 แสดงโครงสร้างทางเคมีของโมเลกุลเพกทิน ซึ่งประกอบด้วยแรมโนกาแลคทูโรแนน I (rhamnogalacturonan I, RG-I) แรมโนกาแลคทูโรแนน II (rhamnogalacturonan II, RG-II) ไซโลกาแลคทูโรแนน (xylogalacturonan, XG) เชื่อมต่อกับฮอโมกาแลคแลคทูโรแนน (homogalacturonan, HG) ซึ่งเป็นโครงสร้างหลักของเพกทิน มีหน่วยย่อย คือ กรดกาแลคทูโรนิก (galacturonic acid) ซึ่งต่อกันด้วยพันธะไกลโคไซด์ชนิดแอลฟา (α-1,4 glycosidic linkages) (ภาพที่ 14) โดยมีหมู่คาร์บอกซิลอิสระ (carboxyl group, COOH) และหมู่คาร์บอกซิลที่รวมอยู่กับหมู่

เมทอกซิล (methoxyl group) ด้วยปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน (esterification) ซึ่งสามารถใช้จำแนกประเภทของเพกทินตามระดับของเอสเทอริฟิเคชันได้ 2 ชนิด (ภาพที่ 15) ดังนี้

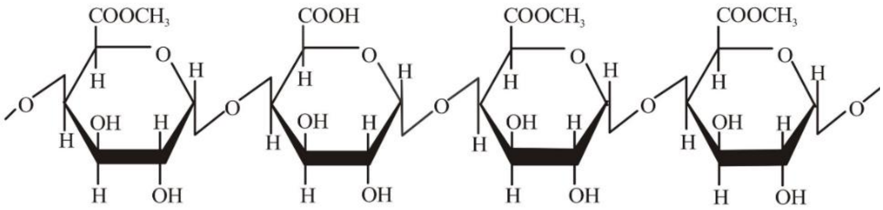
1. เพกทินที่มีปริมาณเมทอกซิลสูง (high methoxyl (HM) pectin) เป็นเพกทินที่มีระดับของเอสเทอริฟิเคชันมากกว่า 50% จะเกิดเจลได้เมื่อมีของแข็งที่ละลายได้ในน้ำ (total soluble solid) มากกว่า 55% (น้ำหนักต่อปริมาตร) เพกทินชนิดนี้จะมีความคงตัว ความหนืดสูง ทำให้เกิดรูปทรง จึงนิยมใช้ในอาหารจำพวกแยม เยลลี่ และผลไม้กวน (องอาจ, 2553)

2. เพกทินที่มีเมทอกซิลต่ำ (low methoxyl (LM) pectin) เป็นเพกทินที่มีระดับของเอสเทอริฟิเคชันต่ำกว่า 50% เกิดเจลได้โดยไม่ต้องมีของแข็งที่ละลายได้ แต่ต้องมีไอออนของโลหะ เช่น แคลเซียมไอออน (Ca^{2+}) และแมกนีเซียมไอออน (Mg^{2+}) เพกทินชนิดนี้มีเนื้อสัมผัสที่อ่อนนุ่มกว่า HM pectin จึงนิยมใช้ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต (องอาจ, 2553)

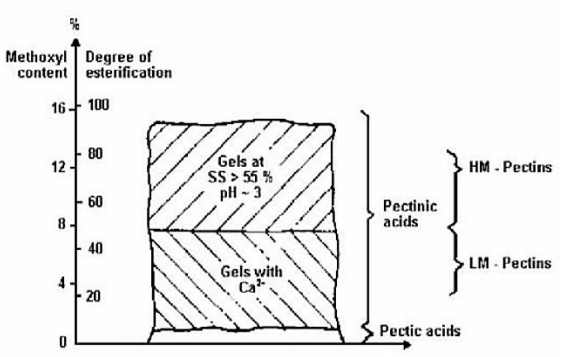


ภาพที่ 13 โครงสร้างทางเคมีของโมเลกุลเพกทิน

ที่มา: Freitas และคณะ (2021)



ภาพที่ 14 โครงสร้างหลักของโมเลกุลเพกทิน
ที่มา: Khan และคณะ (2015)



ภาพที่ 15 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า DE และปริมาณเมทอกซิล
ที่มา: Mukhiddinov และคณะ (2000)

เพกทินมีบทบทสำคัญในด้านอุตสหากรรมอาหาร ยา การแพทย์และเครื่องสำอางค์ เนื่องจากเพกทินสามารถเกิดอันตรกิริยาในอาหารได้ (ภาพที่ 16) เช่น สารก่อให้เกิดเจล (gelling agent) สารทำให้ข้นหนืด (thickening agent) สารที่ทำให้เกิดความคงตัว (stabilizer) (Chan และคณะ, 2013) และใช้เป็นสารเคลือบบริโภคได้ (edible coating) เพื่อถนอมผักและผลไม้ รักษาเนื้อสัมผัส สี รส และคุณค่าทางโภชนาการ (Mahardiani และคณะ, 2021) นอกจากนี้เพกทินจัดเป็นพรีไบโอติก (prebiotic) ประเภทหนึ่ง ซึ่งร่างกายมนุษย์ไม่สามารถย่อยเพกทินในระบบย่อยอาหารได้ แต่สามารถถูกย่อยด้วยจุลินทรีย์โพรไบโอติก (probiotic) บริเวณในลำไส้ใหญ่ ซึ่งช่วยปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในทางเดินอาหาร และกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายส่งผลให้ระบบทางเดินอาหารทำงานได้อย่างปกติ (Wichienchot และคณะ, 2010)

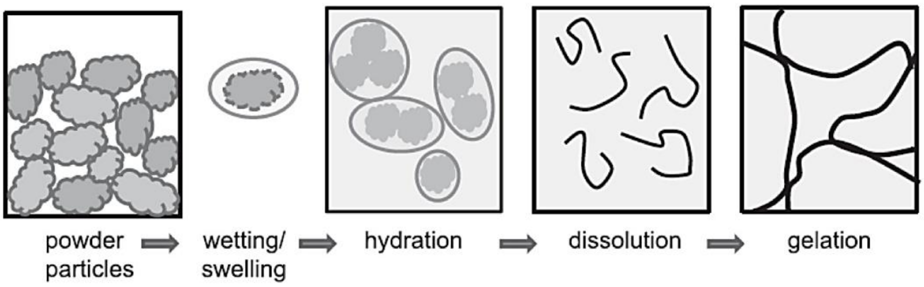
อุตสาหกรรมอาหารนิยมใช้เพกทินเพื่อปรับปรุงคุณภาพของอาหาร ได้แก่ ใช้เป็นสารทำให้เกิดเจลในผลิตภัณฑ์แยมและขนมหวาน ใช้เพกทินเพื่อเพิ่มความหนืดในเครื่องปรุงรส น้ำสลัด และน้ำเชื่อม ใช้เป็นสารให้ความคงตัวในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต นมเปรี้ยว และน้ำผลไม้ และใช้เป็นสารทำให้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

เกิดอิมัลชัน (emulsifying agent) นอกจากนี้เพกทินสามารถใช้เป็นสารทดแทนไขมัน (fat replacer) ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต ไอศกรีม และผลิตภัณฑ์ครีมทาขนมปัง เพื่อลดพลังงานจากไขมัน และช่วยให้เนื้อสัมผัสและลักษณะของอาหารดีขึ้น (Nazir และคณะ, 2017) คุณสมบัติในการเกิดเจลและฟิล์มของเพกทิน จึงนิยมใช้เพกทินประยุกต์ใช้เป็นสารเคลือบบริโภคได้สำหรับการถนอมอาหาร (food preservation) เนื่องจากสารเคลือบบริโภคได้ที่มีส่วนผสมของเพกทินเปลี่ยนแปลงบรรยากาศรอบ ๆ ผลไม้ ปรับเปลี่ยนระดับออกซิเจนภายในผลไม้ ซึ่งส่งผลต่อการจำกัดการเสื่อมสภาพทางสรีรวิทยา (physical degradation) และสามารถช่วยลดการเสื่อมคุณภาพที่เกิดจากการสุกของผลไม้ เช่น เนื้อสัมผัสและการสูญเสียสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive compound) ระหว่างการเก็บรักษา (Suchata และคณะ, 2019) งานวิจัยของ Munoz-labrador และคณะ (2018) ที่ประยุกต์ใช้เพกทินจากผลไม้ตระกูลส้ม (citrus pectin) เป็นสารเคลือบบริโภคได้กับสตรอว์เบอร์รี พบว่า สตรอว์เบอร์รีที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้คงคุณภาพของสีได้ดีกว่าตัวอย่างควบคุม ซึ่งบ่งบอกถึงสารเคลือบบริโภคได้สามารถป้องการสัมผัสของผลไม้กับออกซิเจนในสภาพแวดล้อม และยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation reaction)

เพกทินสามารถใช้ในการผลิตอาหารเพื่อสุขภาพ เช่น ใช้เป็นสารห่อหุ้มโพรไบโอติก เนื่องจากเพกทินช่วยชะลอ และทนต่อน้ำย่อยในระบบทางเดินอาหารได้ดี ส่งผลให้โพรไบโอติกเคลื่อนที่ไปสู่ลำไส้ใหญ่ได้โดยไม่ถูกย่อย (Voo และคณะ, 2011) นอกจากนี้งานวิจัยของ Chotiko และ Sathivel (2016) ศึกษาการใช้สารสกัดรำข้าวร่วมกับเพกทินห่อหุ้มจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* เพื่อเพิ่มความข้นหนืดแก่ระบบทางเดินอาหาร และช่วยจับกับกรดน้ำดี ทำให้ตับดึงคอเลสเตอรอลมาใช้ผลิตน้ำดีใหม่ จึงส่งผลดีต่อการลดลงของระดับคอเลสเตอรอลในเลือดได้

ด้านการแพทย์และเครื่องสำอางค์ นิยมใช้เพกทินมาประยุกต์เป็นผลิตภัณฑ์รักษาบาดแผล เนื่องจากเพกทินมีส่วนช่วยในการสมานบาดแผลและสามารถใช้ได้กับทุกสภาพผิว จึงนิยมใช้เป็นส่วนประกอบในเครื่องสำอางต่าง ๆ นอกจากนี้เพกทินสามารถใช้ห่อหุ้มสาระสำคัญในกระบวนการผลิตยา เช่น ยารักษาโรคท้องร่วงในเด็ก รวมถึงใช้ในกลุ่มอาหารเสริมประเภทใยอาหารผงชงดื่ม เป็นต้น (Brejnholt, 2009)



ภาพที่ 16 การเกิดอันตรกิริยาของเพกทินในอาหาร
ที่มา: Einhorn-Stoll (2018)

2.4 พรีไบโอติก

พรีไบโอติกเป็นอาหารกลุ่มคาร์โบไฮเดรต ได้แก่ โอลิโกแซ็กคาไรด์ (oligosaccharide) เช่น fructo-oligosaccharide (FOS) และ galacto-oligosaccharide (GOS) อินูลิน (inulin) แป้งต้านทานการย่อย (resistant starch) เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส เพกทิน และกัมอะราบิก (gum arabic) ซึ่งร่างกายมนุษย์ไม่สามารถย่อยและไม่ถูกดูดซึมในระบบทางเดินอาหาร แต่สามารถถูกย่อยด้วยแบคทีเรียบริเวณลำไส้ใหญ่ พรีไบโอติกก่อให้เกิดการกระตุ้นการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ในลำไส้ใหญ่หรือโพรไบโอติก เช่น แบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติก (lactic acid bacteria, LAB) ได้แก่ Lactobacillus และ Bifidobacterium ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค (pathogen) ช่วยดูดซึมสารอาหาร คอเลสเตอรอล และสร้างวิตามินที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย นอกจากนี้พรีไบโอติกมีประโยชน์ต่อสุขภาพหลายประการ ได้แก่ ช่วยรักษาสมดุลของแบคทีเรียในลำไส้ เพิ่มการดูดซึมแร่ธาตุ ลดปัจจัยเสี่ยงที่ก่อให้เกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด ป้องกันการเกิดโรคมะเร็งลำไส้ ป้องกันโรคอ้วน และควบคุมกระบวนการเผาผลาญไขมัน (Pokusaeva และคณะ, 2011)

2.5 การสกัด

การสกัด (extraction) เป็นกระบวนการพื้นฐานสำหรับแยกและสกัดสารออกจากแหล่งธรรมชาติหรือสิ่งมีชีวิต เนื่องจากจำเป็นต้องแยกส่วนประกอบทางเคมีที่ต้องการออกมา เพื่อศึกษาสมบัติและลักษณะเฉพาะเพิ่มเติม โดยทั่วไปการสกัดสามารถทำได้หลากหลายวิธี ดังแสดงในภาพที่ 17 เช่น การชง (infusion) การแช่ (maceration) และการต้ม (decoction) เป็นต้น (Belwal และคณะ, 2018) การดำเนินการก่อนการสกัดประกอบด้วยขั้นตอนต่าง ๆ เช่น การล้างทำความสะอาด การทำแห้งหรือการอบแห้ง และการบดตัวอย่างเพื่อให้เป็นเนื้อเดียวกัน การสกัดที่ดี

ควรประหยัดเวลาที่ใช้ในการสกัด ใช้ตัวทำละลายในการสกัดปริมาณน้อย และได้ปริมาณของสารสกัดสูง โดยสามารถแบ่งประเภทของการสกัดได้เป็น 3 ประเภท (Puri และคณะ, 2012) ได้แก่

1. การสกัดด้วยเอนไซม์ เป็นการสกัดโดยใช้เอนไซม์ที่มีคุณสมบัติในการย่อยผนังเซลล์ เพื่อช่วยให้ปลดปล่อยสารได้ดีขึ้นและสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น เอนไซม์ที่นิยมใช้ ได้แก่ เซลลูเลส เฮมิเซลลูเลส และเพกทิเนส ซึ่งนิยมใช้ในการแปรรูปน้ำผลไม้ เพื่อทำลายผนังเซลล์และสกัดน้ำผลไม้ออกมาได้ง่ายขึ้น นอกจากนี้มยุรา และคณะ (2560) ศึกษาผลของเอนไซม์เพกทิเนส รวมถึงอุณหภูมิและระยะเวลาในการบ่มต่อคุณภาพของไซรัปตะขบ และพบว่าเมื่อเพิ่มสัดส่วนของเอนไซม์เพกทิเนสต่อตัวอย่างน้ำตะขบ ส่งผลให้ได้ผลผลิตน้ำตะขบที่สกัดได้มากขึ้น เนื่องจากการใช้เอนไซม์เพกทิเนสทำให้เพกทินถูกทำลาย ของเหลวและสารประกอบต่าง ๆ ภายในเซลล์ถูกปลดปล่อยออกมา ส่งผลให้สกัดน้ำผลไม้ออกมาได้ง่ายขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่า อุณหภูมิและระยะเวลาในการบ่มเป็นปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ (ชิดชัย, 2547)

2. การสกัดด้วยวิธีทางเคมี เป็นวิธีที่นิยมใช้ เนื่องจากเป็นวิธีที่ทำได้ง่ายและให้ปริมาณของสารสกัดสูง สามารถสกัดโดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพในการสกัด เช่น ใช้อะซิโตนผสมกับน้ำเป็นตัวทำละลายในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่ไม่มีขั้ว เช่น เฮกเซนหรือไดคลอโรมีเทน สำหรับสกัดสารประกอบไลโปฟิลิก (lipophilic compounds) และใช้ตัวทำละลายที่มีขั้ว เช่น อะซิโตน เมทานอล หรือเอทานอล สำหรับสกัดสารประกอบที่ชอบน้ำ (hydrophilic compounds) เป็นต้น งานวิจัยของ Vriesmann และคณะ (2011) ศึกษาการสกัดเพกทินจากเปลือกโกโก้ โดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย และแปรอุณหภูมิในการสกัด คือ 50 และ 100 องศาเซลเซียส พบว่า การเพิ่มอุณหภูมิของตัวทำละลายจาก 50 เป็น 100 องศาเซลเซียส ส่งผลให้ปริมาณเพกทินที่สกัดได้มีปริมาณเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 7.5 เป็นร้อยละ 12.6 นอกจากนี้ Sangheetha และคณะ (2019) ศึกษาการสกัดเพกทินจากเปลือกมะม่วง โดยใช้น้ำปรับกรด (acidified water) เป็นตัวทำละลาย และแปรปัจจัยในการสกัด ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-เบสของตัวทำละลาย (pH 1.3 2.5 และ 3.7) อุณหภูมิในการสกัด (60 75 และ 90 องศาเซลเซียส) และเวลาในการสกัด (45 90 135 นาที) ผลวิจัยพบว่า ภาวะการสกัดที่ได้ปริมาณเพกทินสูงที่สุด คือ การสกัดโดยใช้ตัวทำละลาย pH 2.5 อุณหภูมิในการสกัด 90 องศาเซลเซียส และเวลาในการสกัด 135 นาที

3. การสกัดด้วยวิธีทางกายภาพ เป็นวิธีสกัดโดยการให้พลังงาน นิยมใช้ร่วมกับการสกัดด้วยตัวทำละลายเพื่อช่วยเพิ่มการละลายของสาร ส่งผลให้ได้ปริมาณสารสกัดเพิ่มขึ้น ตัวอย่างเช่น

3.1 คลื่นอัลตราซาวด์ช่วยสกัด (ultrasound-assisted extraction, UAE) เป็นวิธีการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงหรืออัลตราโซนิค (ultrasonic) ในช่วงความถี่ 20-2,000 กิโลเฮิร์ตซ์ ร่วมกับตัวทำละลายในการสกัดตัวอย่าง เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสูง เนื่องจากการปล่อยคลื่นเสียงความถี่สูงใน

น้ำหรือตัวทำละลาย ทำให้เกิดฟองแก๊ส ซึ่งเกิดการหดตัวและขยายตัวเป็นวัฏจักรเรียกว่าปรากฏการณ์คาวิเตชัน (cavitation) ดังแสดงในภาพที่ 18 ส่งผลให้พื้นที่ผิวบริเวณผนังเซลล์และภายในเซลล์พืชถูกทำลาย ตัวทำละลายสามารถชะสาระสำคัญออกจากเซลล์พืชที่นำมาสกัดได้ง่ายขึ้น (ภาพที่ 19) (Rodrigues และ Pinto, 2007)

นอกจากนี้นิยมใช้วิธีคลื่นอัลตราซาวด์ช่วยสกัดในการสกัดสารสำคัญจากพืช ได้แก่ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) เป็นต้น น้ำมันจากเมล็ดพืช เช่น น้ำมันคาโนลาจากเมล็ดคาโนลา (canola seed) น้ำมันละหุ่งจากเมล็ดละหุ่ง (castor seed) เป็นต้น รวมถึงใช้วิธีคลื่นอัลตราซาวด์ช่วยสกัดในการสกัดเพกทิน ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 การสกัดเพกทินด้วยวิธีคลื่นอัลตราซาวด์ช่วยสกัด

วัสดุจากพืช	**ภาวะการสกัด**	**สารทำให้เป็นกรด (Acidifying agent)**	**ค่า pH**	**ปริมาณเพกทิน (%)**
เปลือกวอลนัท	เวลา: 10 นาที อุณหภูมิ: NR ความถี่ของคลื่นอัลตราซาวด์: 20 kHz	กรดซิตริก	1.5	12.8
เปลือกมะม่วง	เวลา: 20 นาที อุณหภูมิ: 80 องศาเซลเซียส ความถี่ของคลื่นอัลตราซาวด์: 37 kHz	น้ำมะนาว	2.5	27.0
เปลือกถั่วลิสง	เวลา: 10 นาที อุณหภูมิ: 80 องศาเซลเซียส ความถี่ของคลื่นอัลตราซาวด์: 40 kHz	กรดไฮโดรคลอริก	2.0	1.7
เปลือกแก้วมังกร	เวลา: 25 นาที อุณหภูมิ: 70.8 องศาเซลเซียส ความถี่ของคลื่นอัลตราซาวด์: 37 kHz	กรดซิตริก	2.0	7.5

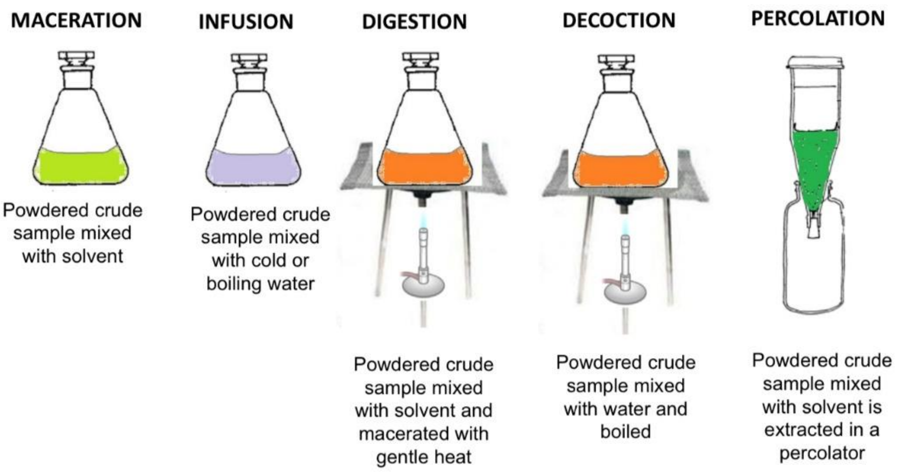
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

กากผลองุ่น	เวลา: 60 นาที อุณหภูมิ: 75 องศาเซลเซียส ความถี่ของคลื่นอัลตราซาวด์: 37 kHz	กรดซิตริก	2.0	32.3
เปลือกขนุน	เวลา: 24 นาที อุณหภูมิ: 60 องศาเซลเซียส ความถี่ของคลื่นอัลตราซาวด์: NR	NR	1.6	14.5

NR: Not recorded

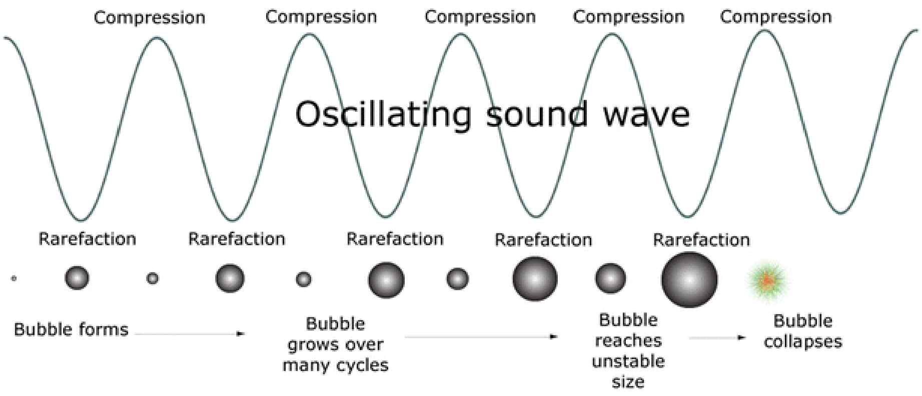
ที่มา: Ranjha และคณะ (2021)

3.2 คลื่นไมโครเวฟช่วยสกัด (microwave-assisted extraction, MAE) เป็นการใช้คลื่นไมโครเวฟช่วยในการสกัด ร่วมกับตัวทำละลาย โดยอาศัยหลักการส่งผ่านคลื่นไมโครเวฟไปยังเซลล์พืช ส่งผลให้น้ำหรือความชื้นในเซลล์พืชสั่นสะเทือนเกิดแรงดันภายในเซลล์ และเกิดความร้อนขึ้นอย่างฉับพลัน ทำให้เซลล์แตกและปล่อยสารสำคัญภายในเซลล์ออกมา (Terigar และคณะ, 2010)



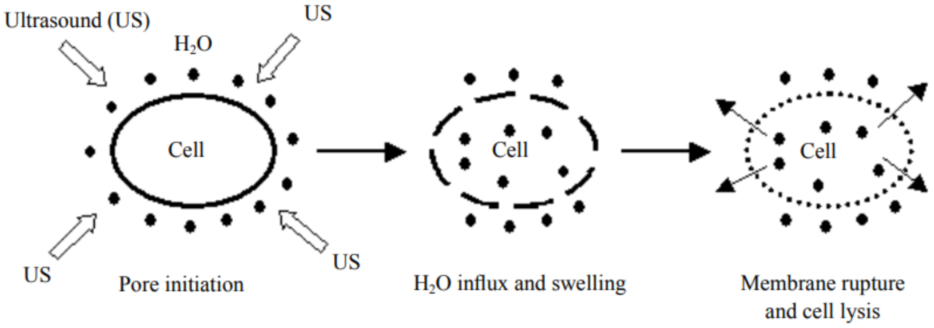
ภาพที่ 17 วิธีการสกัดแบบต่าง ๆ

ที่มา: Belwal และคณะ (2018)



ภาพที่ 18 ปรากฏการณ์คาวิเตชัน (cavitation)

ที่มา: Leong และคณะ (2017)



ภาพที่ 19 กลไกการทำลายเซลล์ของคลื่นอัลตราซาวด์

ที่มา: Nikitenko และ Chemat (2015)

CHULALONGKORN UNIVERSITY

2.6 เอนไซม์

เอนไซม์ (enzyme) คือ โปรตีน (protein) พบในสิ่งมีชีวิตทั้งพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ ซึ่งมีคุณสมบัติในการเร่งปฏิกิริยาต่าง ๆ ของกระบวนการเมแทบอลิซึม (metabolism) ที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ เช่น กระบวนการสลายอาหารเพื่อให้ได้พลังงานหรือแคแทบอลิซึม (catabolism) กระบวนการสร้างพลังงานงานหรือแอนาบอลิซึม (anabolism) รวมถึงกระบวนการสังเคราะห์องค์ประกอบภายในเซลล์ และระบบย่อยอาหารของสิ่งมีชีวิต (Bedford Partridge, 2010) เอนไซม์เร่งปฏิกิริยาโดยการลดพลังงานกระตุ้น (activation energy) ของปฏิกิริยา ส่งผลให้ปฏิกิริยาเกิดเร็วขึ้น (ภาพที่ 20) เอนไซม์มีความจำเพาะต่อสารตั้งต้นหรือสับสเตรต (substrate) โดยทำปฏิกิริยากับสารตั้งต้นบริเวณเร่ง (active site) (ภาพที่ 21) เมื่อเอนไซม์กับสารตั้งต้นรวมตัวกันแล้ว เอนไซม์จะสลายพันธะเคมีภายในโมเลกุลของสารตั้งต้น และสารตั้งต้นกลายเป็นโมเลกุลใหม่ที่มีขนาดเล็กลงหรือผลิตภัณฑ์

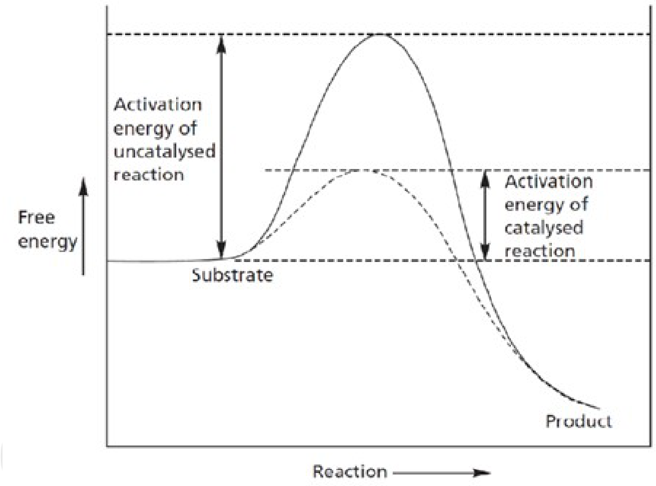
เอนไซม์หลายชนิดทำงานได้ด้วยตัวเอง โดยใช้สมบัติของกรดอะมิโนชนิดต่าง ๆ ที่มีในโมเลกุล แต่บางชนิดต้องอาศัยโมเลกุลอื่นมาช่วยในการทำงาน ซึ่งเรียกโมเลกุลเหล่านี้ว่าโคแฟกเตอร์ (cofactor) ซึ่งการทำงานของเอนไซม์ต้องอาศัยปัจจัยหลายประการ ได้แก่

1. อุณหภูมิ เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น การเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์จะเพิ่มขึ้นจนถึงจุดสูงสุด (optimum temperature) แล้วค่อย ๆ ลดลง ซึ่งจำเพาะตามชนิดของเอนไซม์

2. ค่า pH จุดที่ทำให้เอนไซม์มีการเร่งสูงสุด เรียกว่า optimum pH โดยส่วนใหญ่อยู่ในช่วง pH 6-7.5 ถ้าค่า pH สูงหรือต่ำเกินไป ส่งผลให้เอนไซม์เสียสภาพ (denaturation)

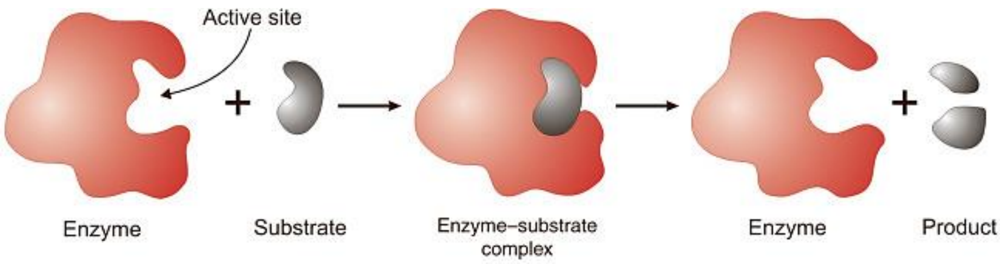
3. ความเข้มข้นของเอนไซม์ ที่ความเข้มข้นของสารตั้งต้นมากเกินพอ อัตราเร็วของปฏิกิริยาจะเพิ่มขึ้น เมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์เพิ่มขึ้น

4. ความเข้มข้นของสารตั้งต้น เมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์คงที่ ความเข้มข้นของสารตั้งต้นที่มีค่าน้อยจะเกิดปฏิกิริยาเร็วกว่าความเข้มข้นของสารตั้งต้นที่มีค่ามาก



ภาพที่ 20 ความสำคัญของเอนไซม์ต่อพลังงานอิสระที่ใช้ในการสร้างผลผลิต

ที่มา: McDonald และคณะ, (2011)



ภาพที่ 21 ปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์กับสารตั้งต้น
ที่มา: Antonio และ Gustavo, (2017)

เอนไซม์สามารถจัดประเภทตามลักษณะการทำงาน โดยสหภาพนานาชาติแห่งชีวเคมี (The International Union of Biochemistry หรือ IUB) ได้จัดกลุ่มเอนไซม์เป็น 6 กลุ่ม และมีหมายเลขเฉพาะเรียกว่ารหัส Enzyme Code, EC ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ประเภทของเอนไซม์ตามลักษณะการทำงาน

ประเภทเอนไซม์	หน้าที่	ตัวอย่าง
ออกซิโดรีดักเตส (oxidoreductases) EC 1.1.1.1	เติมหรือดึงไฮโดรเจนอะตอม	dehydrogenases, oxidases, peroxidases, catalases,
ทรานสเฟอเรส (transferases) EC 2.7.1.2	เคลื่อนย้ายหมู่ต่าง ๆ ระหว่างตัวให้และตัวรับ	transaldolases, transketolases, phosphoryl transferases
ไฮโดรเลส (hydrolases) EC 3.4.17.1	เร่งกระบวนการไฮโดรไลซิส	esterases, glycosidases, peptidases
ไลเอส (lyases) EC 4.1.1.1	เร่งการสลายพันธะเคมีที่นอกเหนือจากการไฮโดรไลซิส	aldolases, hydratases, dehydratases, synthases
ไอโซเมอเรส (isomerases) EC 5.2.1.1	เร่งการย้ายหมู่ฟังก์ชันในโมเลกุลเดียวกันทำให้เกิดไอโซเมอร์ (isomer)	racemases, isomerases, mutases
ไลเกส (ligases) EC 6.4.1.1	เร่งการรวมตัวกันของโมเลกุลโดยการสร้างพันธะใหม่	pyruvate carboxylase

ที่มา: Hu และคณะ (2012)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

อุตสาหกรรมอาหารต่างๆ นิยมใช้เอนไซม์ เช่น อุตสาหกรรมการผลิตแอลกอฮอล์ การผลิตเบเกอรี การผลิตน้ำผลไม้ และอุตสาหกรรมการผลิตนม เป็นต้น เอนไซม์ที่นิยมใช้ มีดังนี้

- โปรตีเอส (protease) เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการสลายพันธะเพปไทด์ (peptide bond) นิยมใช้ย่อยหรือลดปริมาณกลูเตนในผลิตภัณฑ์เบเกอรี (Heredia-Sandoval และคณะ, 2016) นอกจากนี้นิยมใช้โปรตีเอสในกระบวนการหมักซอสถั่วเหลือง เพื่อลดระยะเวลาในการหมัก

- อะไมเลส (amylase) เป็นเอนไซม์ในกลุ่ม glycoside hydrolase มีความสำคัญในการย่อยแป้งและอะไมโลส (amylose) นิยมใช้ในการเพิ่มปริมาณ กลิ่น และรสชาติของผลิตภัณฑ์เบเกอรี และใช้อะไมเลสเพื่อลดการตกผลึกและยืดอายุการเก็บรักษาของขนมปัง (Jegannathan และ Nielsen, 2013)

- เพกทิเนส (pectinase) เป็นเอนไซม์ที่ย่อยเพกทิน พบในพืชชั้นสูงและจุลินทรีย์ นิยมใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตน้ำผลไม้ เนื่องจากเพกทิเนสช่วยให้เนื้อสัมผัสมีความอ่อนตัวและช่วยเพิ่มปริมาณน้ำผลไม้ที่สกัดได้ (สมฤดี, 2555)

- ลิเพส (lipase) เป็นเอนไซม์ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการไฮโดรไลซ์โมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) ได้เป็นกรดไขมันอิสระ (free fatty acid) มีการใช้อย่างแพร่หลายในกระบวนการไฮโดรไลซิสไขมันในนม นอกจากนี้นิยมใช้เพื่อเพิ่มรสชาติของชีส และไฮโดรไลซ์ไขมันของข้าวบาร์เลย์ (barley) เพื่อช่วยเพิ่มกลิ่นหอมในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ (Aravindan และคณะ, 2007)

2.7 เอนไซม์เพกทิเนส

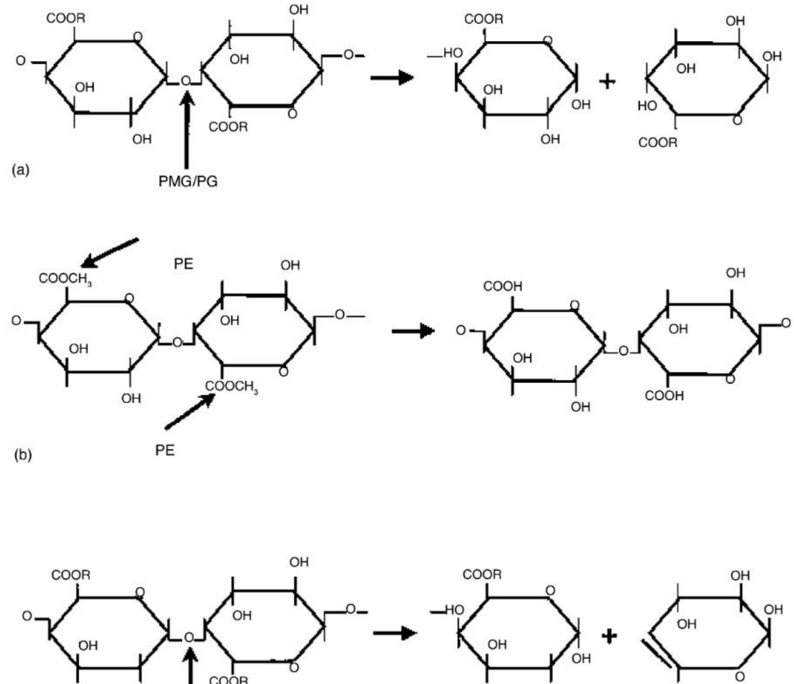
เอนไซม์เพกทิเนส เป็นกลุ่มของเอนไซม์ที่เร่งการสลายตัวของสารเพกทิน โดยปฏิกิริยาดีพอลิเมอไรเซชัน (depolymerization) หรือดีเอสเทอริฟิเคชัน (deesterification) เอนไซม์เพกทิเนสพบทั่วไปในพืชและจุลินทรีย์ และมีความสำคัญต่อพืช เนื่องจากช่วยในการขยายผนังเซลล์และทำให้เนื้อเยื่อพืชบางส่วนอ่อนตัวลงในระหว่างการสุกและการเก็บรักษา นอกจากนี้เอนไซม์เพกทิเนสสามารถเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนสารประกอบเพกทินในผนังเซลล์พืชไปเป็นสารประกอบเพกทินที่มีขนาดโมเลกุลสั้นลง ส่งผลให้เนื้อสัมผัสมีความอ่อนตัวลงและช่วยเพิ่มปริมาณน้ำผลไม้ที่สกัดได้ (สมฤดี, 2555) เอนไซม์เพกทิเนสทางการค้าผลิตได้จากรา แบคทีเรียและยีสต์ ส่วนใหญ่เป็นเชื้อราในสกุล *Aspergillus* และแบคทีเรียสกุล *Bacillus*

ชนิดของเอนไซม์เพกทิเนสแบ่งเป็น 3 ชนิด

1. พอลิกาแลคทูโรเนส (polygalacturonase/ poly-α-1,4-D-galacturonide glycanohydrolase, PG) EC 3.2.1.15 (ภาพที่ 22 (a)) เอนไซม์นี้ทำหน้าที่สลายพันธะ α-1,4 glycosidic ของเพกทิน ส่งผลให้โมเลกุลสั้นลง และได้ผลิตภัณฑ์เป็นกรดกาแลคทูโรนิก นอกจากนี้พอลิกาแลคทูโรเนสมีผลต่อการลดความแน่นเนื้อของผักและผลไม้

2. เพกทินเอสเทอเรส (pectin esterase, PE) EC 3.1.1.11 (ภาพที่ 22 (b)) เป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาการสลายพันธะเอสเทอร์ เพื่อกำจัดหมู่เมทิลออกจากโมเลกุลเพกทิน แต่ไม่มีการย่อยสลายพันธะไกลโคซิดิก ผลิตภัณฑ์ที่ได้ คือ กรดเพกทินิกและเมทานอล

3. เพกเทตไลเอส (pectate lyase/poly-α-1,4-D-galacturonide lyase, PL/PGL) EC 4.2.2.2 (ภาพที่ 22 (c)) เป็นเอนไซม์กลุ่มไลเอส ทำให้เพกทินแยกออกจากกัน ส่งผลให้เพกทินมีโมเลกุลสั้นลง นอกจากนี้การทำงานของเอนไซม์ต้องอาศัย Ca2+



ภาพที่ 22 ปฏิกิริยาของเอนไซม์เพกทิเนสกับซับสเตรท PG (a), PE (b) และ PL/PGL (c)

ที่มา: Jayani และคณะ (2005)

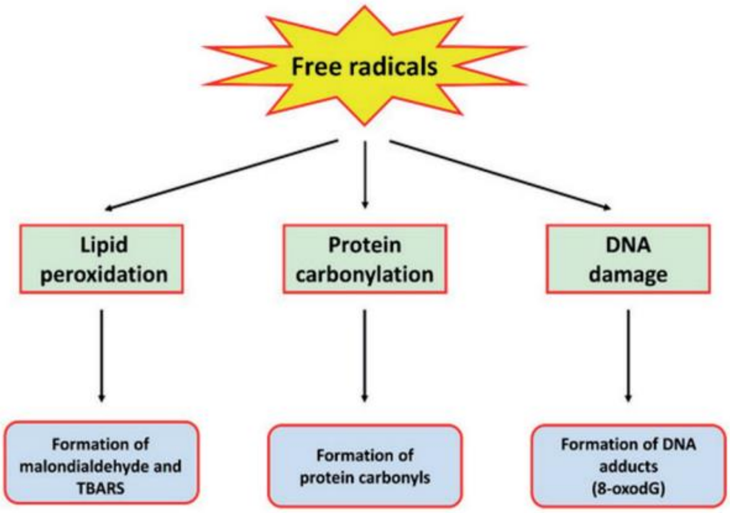
2.8 อนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ (free radical) คือ อะตอม โมเลกุล หรือไอออนที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยว (unpaired electron) อนุมูลอิสระเกิดขึ้นเป็นปกติในร่างกายของสิ่งมีชีวิตและในเซลล์ เช่น กระบวนการทางชีวเคมี กระบวนการเคมีในสิ่งมีชีวิต โดยเฉพาะกระบวนการเมแทบอลิซึม ซึ่งมีอนุมูลอิสระของออกซิเจนที่ไม่เสถียรและไวต่อการเกิดปฏิกิริยา ส่งผลให้ทำปฏิกิริยากับโมเลกุลที่อยู่รอบ ๆ ได้ง่าย โดยการรับหรือให้อิเล็กตรอนของโมเลกุลข้างเคียง เพื่อให้อนุมูลอิสระเสถียร ส่วนโมเลกุลข้างเคียงที่สูญเสียหรือรับอิเล็กตรอนจะกลายเป็นอนุมูลอิสระตัวใหม่ที่ไม่เสถียร และเข้าทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นอย่างต่อเนื่องเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain reaction) ดังแสดงในสมการ 1 และ 2 (บุหรัน , 2556) นอกจากนี้หากปริมาณอนุมูลอิสระมีมากเกินกว่าที่ระบบการต้านอนุมูลอิสระจะจัดการได้ ส่งผลให้เกิดภาวะที่เรียกว่า oxidative stress โดยภาวะนี้หากเกิดขึ้นในระยะเวลาสั้น ๆ จะไม่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพ แต่หากเกิดเป็นเวลานานจะส่งผลกระทบต่าง ๆ ต่อเซลล์สิ่งมีชีวิต (Lobo และคณะ, 2010) โดยภาพที่ 23 แสดงภาวะออกซิเดชันที่ก่อให้เกิดความเสียหายต่อสารชีวโมเลกุลภายในเซลล์ ได้แก่

- ความเสียหายที่เกิดจากออกซิเดชันต่อโปรตีน การเกิดออกซิเดชันของโปรตีนสามารถก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโน การกระจายตัวของสายเพปไทด์ และการสลายของโมเลกุลโปรตีน (proteolysis) ส่งผลให้โปรตีนสูญเสียบทบาททางสรีรวิทยาและชีวเคมี (Kumar, 2011)

- ความเสียหายที่เกิดจากออกซิเดชันต่อไขมัน ไขมันเป็นโครงสร้างหลักของเยื่อหุ้มเซลล์และมีหน้าที่สำคัญในเยื่อหุ้มเซลล์ เมื่อเกิดออกซิเดชันต่อไขมัน ส่งผลให้ลิพิดเมมเบรนไวต่อการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน (lipid peroxidation) ซึ่งเป็นกระบวนการออกซิเดชันที่ทำให้เซลล์เกิดความเสียหาย อาจส่งผลต่อระบบประสาทและหัวใจ (Bagchi และ Puri, 1998)

- ความเสียหายที่เกิดจากออกซิเดชันต่อดีเอ็นเอ (DNA) อนุมูลิสระก่อให้เกิดความเสียหายต่อดีเอ็นเอ เช่น การกลายพันธุ์ (mutation) และผลกระทบทางพันธุกรรม ซึ่งสัมพันธ์กับสาเหตุการเกิดมะเร็งและการชราภาพของเซลล์ (Pandey และ Rizvi, 2010)



ภาพที่ 23 ผลของอนุมูลอิสระต่อสารชีวโมเลกุลภายในเซลล์
ที่มา: Azat Aziz และคณะ (2019)

$R^{\bullet} + O_2 \longrightarrow ROO^{\bullet}$ (สมการ 1)

$ROO^{\bullet} + RH \longrightarrow ROOH + R^{\bullet}$ (สมการ 2)

โดย $R^{\bullet}$ และ $ROO^{\bullet}$ คือ อนุมูลอิสระ
O_2 คือ ออกซิเจน
RH คือ กรดไขมัน
ROOH คือ ไฮโดรเปอร์ออกไซด์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

อนุมูลอิสระ แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม

1. กลุ่มที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบ (radical reactive oxygen species, ROS) ได้แก่ ซูเปอร์ออกไซด์ (superoxide anion radical, $O2^{\bullet-}$) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogenperoxide, H_2O_2) ไฮดรอกซิล (hydroxyl radical, $OH^{\bullet}$) และเพอร์รอกไซด์ (peroxide radical, $ROO^{\bullet}$)

2. กลุ่มที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ (reactive nitrogen species, RNS) ได้แก่ ไนตริกออกไซด์ (nitric oxide radical, NO) เพอร์รอกซีไนเตรท (peroxy nitrate, $ONOO^{-}$) ไนโตรเจนไดออกไซด์ (peroxy nitrate, NO_2) และไดไนโตรเจนไตรออกไซด์ (dinitrogen trioxide, N_2O_3)

2.9 สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) หรือ free-radical scavengers คือ สารที่ป้องกันไม่ให้อนุมูลอิสระก่อตัวขึ้น โดยยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่และการก่อตัวใหม่ของอนุมูลอิสระ เพื่อไม่ให้

ไปทำลายสารประกอบของเซลล์ สารต้านอนุมูลอิสระสามารถให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระ ส่งผลให้อนุมูลอิสระมีความเสียรและไม่สามารถทำปฏิกิริยาต่อไปได้ ร่างกายมนุษย์สามารถสร้างสารต้านอนุมูลอิสระขึ้นมาได้เอง และจะผลิตได้น้อยลงเมื่ออายุเพิ่มขึ้น แต่ไม่เพียงพอต่อการทำงานของระบบการต้านอนุมูลอิสระ จึงต้องบริโภคอาหารที่เป็นแหล่งสารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ ผัก ผลไม้ และธัญพืช ตัวอย่างของสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น พอลิฟีนอล (polyphenol) ไลโคปีน (lycopene) แคโรทีนอยด์ วิตามินซี และวิตามินอี เป็นต้น (Tsao, 2015) การทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระมีหลายรูปแบบ ได้แก่ จับกับโลหะหนักที่ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน (metal chelation) ดักจับอนุมูลอิสระ (free radicals scavenging) ยับยั้งการทำงานของออกซิเจนที่ขาดอิเล็กตรอน (singlet oxygen quenching) และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (enzyme inhibition) เช่น ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ lipoxygenase โดยไปจับกับโลหะของเหล็กที่ทำหน้าที่เป็นโคเฟคเตอร์ (cofactor) ของเอนไซม์ (อนงนาฏ, 2017) สมการ 3 และ 4 แสดงตัวอย่างการดักจับอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระ (บุหรัน, 2556)

$$R^{\bullet} + AH \longrightarrow RH + A^{\bullet} \quad \text{(สมการ 3)}$$

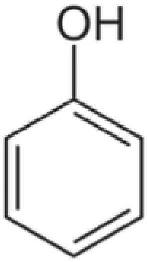
$$RO^{\bullet} + AH \longrightarrow ROH + A^{\bullet} \quad \text{(สมการ 4)}$$

โดย $R^{\bullet}$ และ $RO^{\bullet}$ คือ อนุมูลอิสระ

AH คือ สารต้านอนุมูลอิสระ

2.9.1 สารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound) คือ สารประกอบที่มีวงแหวนอะโรมาติก (aromatic ring) และมีหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) อย่างน้อยหนึ่งหมู่ภายในโมเลกุล (ภาพที่ 24) สารประกอบฟีนอลิกสามารถละลายได้ในน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์ (organic solvent) ส่วนใหญ่สารประกอบฟีนอลิกจะรวมตัวกับน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (glycoside) ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกที่พบในธรรมชาติมีหลายกลุ่มและมีสูตรโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกัน โดยส่วนใหญ่ พบเป็นสารประกอบฟลาโวนอยด์ (flavonoid) นอกจากนี้ยังมีสารประกอบต่าง ๆ เช่น ฟีนอล (phenol) ฟีนิล (phenyl) โพรพานอยด์ (propanoid) ฟีนอลิก (phenolic) คิวโนน (quinine) และโพลีฟีนอลิก (polyphenolic) ได้แก่ ลิกนิน (lignin) เมลานิน (melanin) และแทนนิน (tannin) เป็นต้น



ภาพที่ 24 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบฟีนอลิก
ที่มา: Surkatti และ Al-Zuhair (2018)

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารทุติยภูมิ (secondary metabolite) ที่พืชสร้างขึ้น ส่งผลให้ผักผลไม้มีรสชาติขม และมีส่วนในการเกิดสีของใบ ดอก ผล โดยจะมีปริมาณแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดและสภาวะแวดล้อมในการปลูก ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกมีหน้าที่ในการปกป้องพืชจากสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น ต่อต้านเชื้อรา แบคทีเรีย แมลง รังสียูวีจากแสงแดด และต้านอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจากกระบวนการสังเคราะห์แสง (Manach และคณะ, 2004) นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิกในพืชมีมากกว่า 8,000 ชนิด สามารถแบ่งตามโครงสร้างออกเป็น 5 ประเภท ดังแสดงในภาพที่ 25 ได้แก่

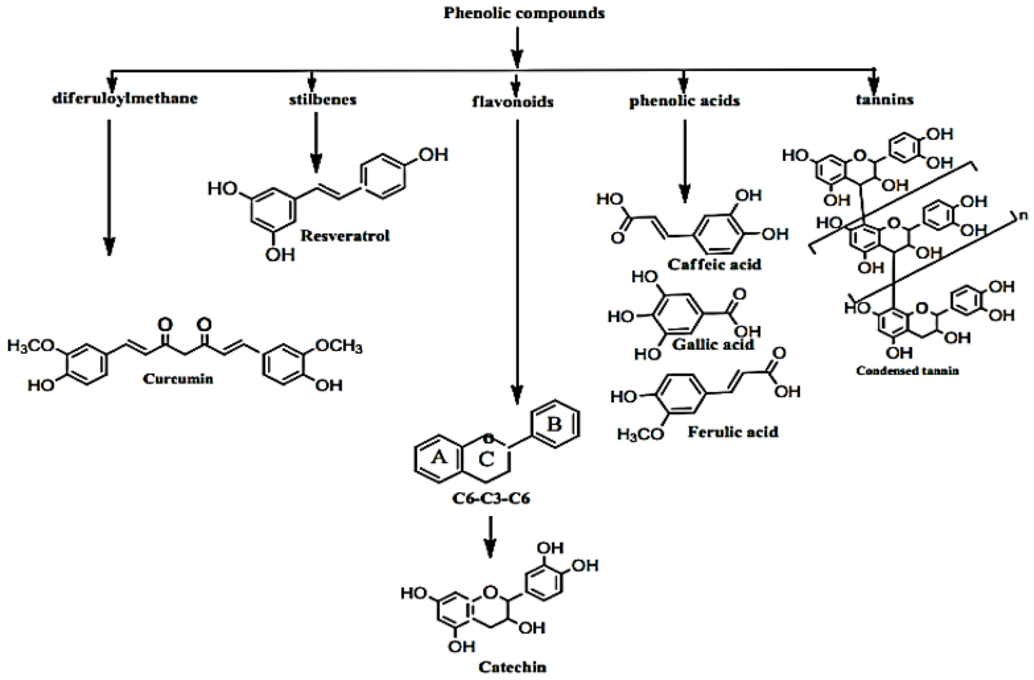
1. ไดเฟอรูโลอิลมีเทน (diferuloylmethane) เช่น สารเคอร์คูมิน (curcumin) ในขมิ้น

2. สทิลบีน (stilbenes) เช่น เรสเวอราทรอล (resveratrol) ในเปลือกองุ่นและถั่วลิสง

3. ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) เป็นสารกลุ่มสำคัญของสารประกอบฟีนอลิก มีโครงสร้างทางเคมีพื้นฐานเป็นฟลาเวน (flavan) ประกอบด้วยคาร์บอน 15 อะตอม เรียงกันเป็นระบบ $C_6C_3C_6$ ฟลาโวนอยด์สามารถแบ่งเป็นกลุ่มย่อยได้หลายกลุ่มตามความแตกต่างของสูตรโครงสร้าง เช่น ฟลาโวน (flavone) ไอโซฟลาโวน (isoflavone) ฟลาวาโนน (flavanone) และแอนโทไซยานิดิน (anthocyanidin) เป็นต้น

4. กรดฟีนอลิก (phenolic acids) เช่น กรดแกลลิค (gallic acid) และกรดเฟอรูริก (ferulic acid)

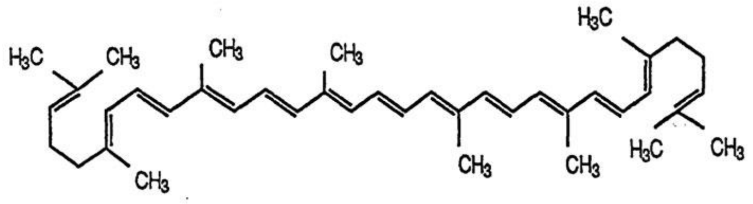
5. แทนนิน (tannins) เป็นพอลิฟีนอล (polyphenol) ที่มีโมเลกุลใหญ่และโครงสร้างซับซ้อน เป็นสารให้รสฝาด (astringency) และรสขม (bitter) พบได้ในพืชหลายชนิด เช่น ใบชา ใบฝรั่ง ใบพลู เป็นต้น



ภาพที่ 25 การจำแนกประเภทของสารประกอบฟีนอลิก
ที่มา: Han และคณะ (2007)

2.9.2 สารไลโคปีน

ไลโคปีนเป็นสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ เป็นสารไฮโดรคาร์บอนชนิดเทอร์พีน มีโครงสร้างเป็นเส้นตรงยาว (ภาพที่ 26) ไลโคปีนเป็นของแข็ง ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น แอลกอฮอล์ เอทิลอีเทอร์ เอทิลอะซีเตต คลอโรฟอร์ม และอะซิโตน ไลโคปีนพบในผักผลไม้สีแดงส้ม ได้แก่ มะเขือเทศ ฟักข้าว แตงโม มะละกอ และพริกหยวก ไลโคปีนเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ช่วยยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ก่อให้เกิดอนูมุลอิสระ ซึ่งส่งผลเสียต่อเซลล์ นอกจากนี้ไลโคปีนช่วยลดความเสี่ยงจากโรคหลอดเลือดอุดตันและโรคหัวใจ บำรุงต่อมลูกหมากและยับยั้งการเกิดมะเร็งต่อมลูกหมาก (Cheng และคณะ, 2017)



ภาพที่ 26 โครงสร้างทางเคมีของไลโคปีน

ที่มา: Kumar และคณะ (2017)

2.10 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

2.10.1 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

เป็นวิธีวิเคราะห์ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้สารอนุมูลอิสระมาตรฐาน คือ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (ภาพที่ 27) เป็นวิธีที่สะดวก ง่ายต่อการวิเคราะห์ ให้ความถูกต้องและแม่นยำสูง DPPH คือ อนุมูลอิสระที่มีความเสถียร (stable free radical) นิยมใช้เป็นตัวชี้วัดความสามารถการต้านอนุมูลอิสระของสารต่าง ๆ สารอนุมูลอิสระ $DPPH^{\bullet}$ ในสารละลายโดยมีตัวทำละลายเป็นเมทานอล (methanol) จะมีสีม่วง เมื่อสูญเสียอิเล็กตรอนอิสระให้สารต้านอนุมูลอิสระจะเปลี่ยนแปลงโครงสร้างอยู่ในรูปออกซิไดซ์หรือสารประกอบที่เสถียร ส่งผลให้สีม่วงของสารละลายจางลง ดังแสดงในสมการ 5

$$DPPH^{\bullet} + AH \longrightarrow DPPH\text{-}H + A^{\bullet} \quad \text{(สมการ 5)}$$

สีม่วง   สีเหลือง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

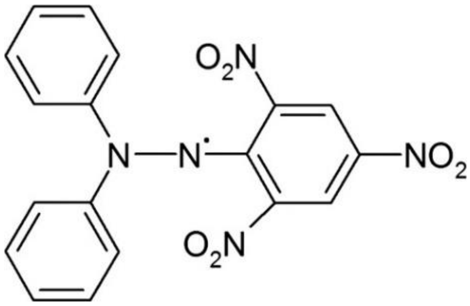
โดย $DPPH^{\bullet}$ คือ สารอนุมูลอิสระ

AH คือ สารต้านอนุมูลอิสระ

$$\%inhibition = [(A_0 - A_1)/A_0] \times 100$$

โดย A_0 คือ ค่าการดูดกลืนแสงตั้งต้น

A_1 คือ ค่าการดูดกลืนแสงหลังจากเติมสารตัวอย่าง



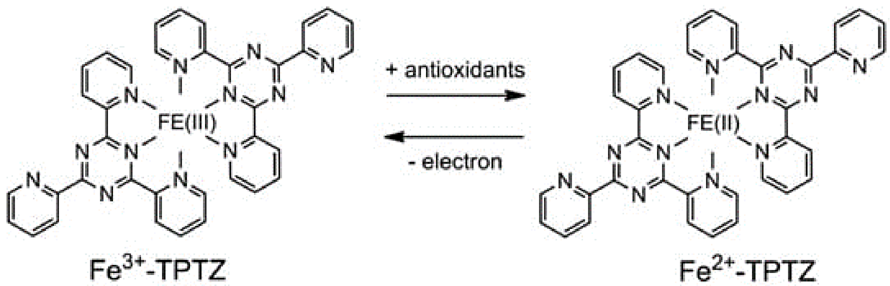
ภาพที่ 27 โครงสร้างทางเคมีของสารอนุมูลอิสระมาตรฐาน 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

ที่มา: Stanjek-Cichoracka และคณะ (2018)

2.10.2 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ferric reducing antioxidant power (FRAP)

เป็นอีกวิธีหนึ่งที่ใช้วัดความสามารถการต้านอนุมูลอิสระ โดยการให้อิเล็กตรอนของสารต้านอนุมูลอิสระ และติดตามการเปลี่ยนแปลงสีของสารประกอบเชิงซ้อน คือ ferric tripyridyltriazine (Fe^{3+}-TPTZ) ในสารละลาย FRAP เมื่อสารประกอบเชิงซ้อนได้รับอิเล็กตรอนจากสารต้านอนุมูลอิสระหรือเกิดปฏิกิริยารีดักชัน (reduction reaction) จะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปสารประกอบเชิงซ้อน ferrous tripyridyltriazine (Fe^{2+}-TPTZ) ที่มีสีม่วงน้ำเงิน ดังแสดงในภาพที่ 28 ซึ่งดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ข้อดีของวิธีนี้ คือ สะดวก รวดเร็ว และมีขั้นตอนในการทดลองไม่ซับซ้อน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 28 ปฏิกิริยาระหว่างสารประกอบเชิงซ้อน ferric tripyridyltriazine (Fe^{3+}-TPTZ) กับสารต้านอนุมูลอิสระ

ที่มา: Abeyrathne และคณะ (2021)

2.11 บรรจุภัณฑ์

บรรจุภัณฑ์เป็นสิ่งห่อหุ้ม ปกป้อง รักษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์ที่บรรจุภายใน ช่วยเพิ่มคุณค่าและความโดดเด่นให้กับผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้สามารถชะลอการเสื่อมเสียคุณภาพ ซึ่งอาจเกิดการเจริญของจุลินทรีย์ ทำให้ผลิตภัณฑ์เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณภาพด้านความปลอดภัย รวมถึงการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบทางเคมีและการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ เช่น สี กลิ่น รส หรือเนื้อสัมผัสเปลี่ยนไป

หน้าที่ของบรรจุภัณฑ์ มีดังนี้

1. บรรจุหรือห่อหุ้มผลิตภัณฑ์ (containment) บรรจุสินค้าให้อยู่รวมกันเป็นกลุ่มตามรูปร่างของบรรจุภัณฑ์นั้น ๆ

2. ปกป้องและคุ้มครองผลิตภัณฑ์ (protection) บรรจุภัณฑ์ที่ดีต้องปกป้องสินค้าให้อยู่ในสภาพที่สมบูรณ์มากที่สุด โดยสามารถป้องกันน้ำ ความชื้น แสง แก๊ส และแรงกระทำต่าง ๆ เช่น แรงกด แรงกระแทก เป็นต้น

3. นำเสนอผลิตภัณฑ์ (presentation) ควรออกแบบบรรจุภัณฑ์ให้ผู้บริโภคเข้าใจเป็นเอกลักษณ์ มีความโดดเด่นและสามารถดึงดูดผู้บริโภคได้

4. ให้ข้อมูลเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์ (communication) เช่น วิธีใช้ วันหมดอายุ ข้อมูลทางโภชนาการ เป็นต้น

2.11.1 บรรจุภัณฑ์พลาสติก

พลาสติก (plastic) เป็นวัสดุในกลุ่มพอลิเมอร์ สังเคราะห์ได้จากกระบวนการพอลิเมอร์ไรเซชัน (polymerization) มีมวลโมเลกุลสูง พลาสติกสามารถแบ่งตามสมบัติทางความร้อนได้ 2 ประเภท ดังแสดงในภาพที่ 29 ได้แก่

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

1. เทอร์โมเซตติง (thermosetting)

พลาสติกประเภทนี้มีโครงสร้างเป็นแบบร่างแห มีแรงยึดเหนี่ยวระหว่างโมเลกุลที่แข็งแรง หลอมเหลวได้ในขั้นตอนการขึ้นรูปครั้งแรกเท่านั้น และไม่สามารถหลอมเหลวได้อีกเมื่อได้รับความร้อน ทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ ความดัน และปฏิกิริยาเคมี และไม่สามารถเปลี่ยนรูปร่างได้

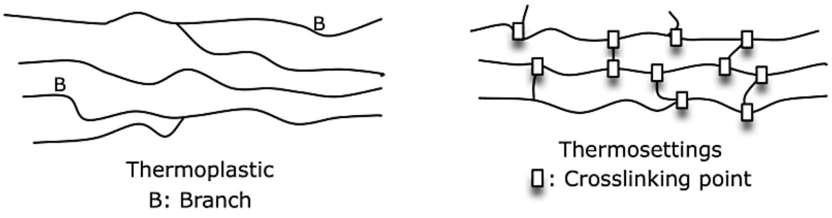
2. เทอร์โมพลาสติก (thermoplastic)

พลาสติกประเภทนี้มีโครงสร้างโมเลกุลของสายโซ่พอลิเมอร์เป็นแบบเส้นตรงหรือแบบกิ่งสั้น ๆ เมื่อได้รับความร้อนจะอ่อนตัว และเมื่อเย็นลงจะแข็งตัว สามารถหลอมเหลวเพื่อขึ้นรูปใหม่ได้โดยไม่ทำให้สมบัติทางเคมีและทางกายภาพ เปลี่ยนแปลงไป พลาสติกประเภทเทอร์โมพลาสติก ได้แก่

- พอลิเอทิลีน (polyethylene, PE) แบ่งเป็นพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ (low-density polyethylene หรือ LDPE) มีความยืดหยุ่นสูง มีความใส ป้องกันการซึมผ่านของความชื้นได้ดี และพอลิเอทิลีนความหนาแน่นสูง (high-density polyethylene หรือ HDPE) มีความแข็งแรงกว่าและโปร่งแสงน้อยกว่า LDPE ป้องกันการซึมผ่านของน้ำและความชื้นได้ดี แต่ป้องกันการซึมผ่านของแก๊สได้ต่ำ

- พอลิสไตรีน (polystyrene, PS) มีลักษณะโปร่งใส แข็งแต่เปราะ ทนต่อกรดและด่าง นิยมใช้ผลิตภาชนะบรรจุของใช้ ใช้ทำชิ้นส่วนอุปกรณ์ไฟฟ้าและอิเล็กทรอนิกส์ เป็นต้น

- พอลิโพรพิลีน (polypropylene, PP) เป็นพลาสติกที่แข็ง ทนต่อแรงกระแทก สารเคมีและความร้อน ไอน้ำสามารถซึมผ่านได้เล็กน้อย นิยมใช้ผลิตภาชนะบรรจุอาหารที่ทนความร้อน เช่น กล่อง จาน ชาม เป็นต้น



ภาพที่ 29 โครงสร้างพอลิเมอร์ประเภทเทอร์โมพลาสติก (thermoplastic) และเทอร์โมเซตติง (thermosetting)

ที่มา: Alves และคณะ (2012)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

2.11.2 ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ลามิเนต (laminated aluminium foil)

ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ลามิเนตประกอบด้วยแผ่นอะลูมิเนียมที่นำมารีดจนบาง มีความหนาน้อยกว่า 150 ไมครอน โดยเคลือบอยู่กับฟิล์มลามิเนต อะลูมิเนียมฟอยล์สามารถนำไปใช้ในการยืดอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ได้ เนื่องจากเป็นวัสดุที่ไม่มีกลิ่นและรส ไม่เป็นพิษ และเหมาะสำหรับใช้เป็นภาชนะบรรจุอาหาร ยา และเครื่องสำอาง (Lamberti และ Escher, 2007) ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ลามิเนต มีคุณสมบัติ ดังนี้

- ป้องกันแสง ซึ่งเป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์ เช่น การเกิดกลิ่นหืนจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน (lipid oxidation) การเปลี่ยนแปลงสีและรสของผลิตภัณฑ์ เป็นต้น

- ป้องกันการซึมผ่านของไขมันได้ดี จึงเหมาะกับการใช้ห่ออาหารประเภทที่มีน้ำมันสูง เช่น เนย เนยแข็ง เป็นต้น

- ไม่ดูดความชื้นและของเหลว จึงไม่หดตัวหรืออ่อนตัว

- มีค่าการนำความร้อนสูง (thermal conductivity) สามารถเกิดความร้อนและเย็นได้อย่างรวดเร็ว จึงเหมาะกับการใช้เป็นภาชนะในการแช่เยือกแข็งหรือการอบด้วยความร้อน และยังทำให้การปิดผนึกด้วยความร้อนเป็นไปอย่างรวดเร็วและมีคุณภาพ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 3
วิธีการทดลอง

วัตถุดิบ

เปลือกโกโก้สายพันธุ์ลูกผสม ชุมพร 1 (น่าน, ประเทศไทย)

ผลมะเขือเทศ (ห้างสรรพสินค้าโลตัส, กรุงเทพมหานคร, ประเทศไทย)

สารเคมี

2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Sigma Aldrich, USA)

6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid (trolox) (Sigma Aldrich, USA)

Acetone (RCI Labscan, A.R. grade, Thailand)

Carbazole (Sigma Aldrich, USA)

Carboxymethyl cellulose, CMC (Ashland, USA)

Ethanol (C_2H_5OH) 95% (DEPTAL-AX, Thailand)

Folin-ciocalteu reagent (Loba Chemie, India)

Ferric chloride (POCH S.A., Poland)

Galacturonic acid (Sigma Aldrich, USA)

Gallic acid (Sigma Aldrich, USA)

Glacial acetic acid (QRëc, A.R. grade, New Zealand)

Glucose powder (Krungthepchemi, Thailand)

Glycerol (Krungthepchemi, Food Grade, Thailand)

Hexane (QRëc, New Zealand)

Hydrochloric acid (HCl) 0.1N (Kemaus, Australia)

Methanol (CH_3OH) (Giant Leo Intertrade, Thailand)

Pectinase (*Aspergillus niger*, EC 3.2.1.15, 60000 IU/มิลลิกรัม) (iKnowZyme®, Reach biotechnology, Thailand)

Phenolphthalein ($C_{20}H_{14}O_4$) (Ajax Finechem, A.R. grade, New Zealand)

Sodium acetate trihydrate (CH_3COONa) (Ajax Finechem, A.R. grade, New Zealand)

Sodium carbonate (Na_2CO_3) (Kemaus, Australia)

Sodium chloride (Kemaus, A.R. grade, Australia)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Sodium hydroxide (NaOH) (QRëc, A.R. grade, New Zealand)

Stearic acid (Krungthepchemi, Thailand)

Sulfuric acid 98% (QRëc, A.R. grade, New Zealand)

Tripyridyltriazine (TPTZ) (Sigma Aldrich, USA)

จุลินทรีย์

Lactobacillus acidophilus TISTR 2365 (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, ปทุมธานี, ประเทศไทย)

Escherichia coli TISTR 117 (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, ปทุมธานี, ประเทศไทย)

อาหารเลี้ยงเชื้อ

Lactobacillus MRS Agar (MRS Agar) (Hi-media, India)

Lactobacillus MRS Broth (MRS Broth) (Hi-media, India)

M9 Minimal Medium Salt (5X) (Hi-media, India)

Plate Count Agar (Standard Methods Agar) (Hi-media, India)

Potato Dextrose Agar (Hi-media, India)

Tryptic Soy Broth (Hi-media, India)

Tryptic Soy Agar (Hi-media, India)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องวัดความหนืด (Anton Paar, รุ่น MCR 102, Austria)

เครื่อง autoclave (Tomy, รุ่น SX700, Japan)

เครื่อง centrifuge (Kubota, รุ่น 6000, Japan)

เครื่อง chroma meter (Monica Minolta รุ่น CR-400, Japan)

เครื่อง digital refractometer (Hanna instruments, รุ่น HI96801, USA)

เครื่อง pH meter (Mettler toledo, Switzerland)

เครื่อง sonicator (Elma, รุ่น E 70 H, Germany)

เครื่อง BioSpectrophotometer Basic (Eppendorf, USA)

เครื่อง texture analyzer (Icon, รุ่น TA.XT2i, England)

เครื่อง vacuum sealer (Multivac, รุ่น A300/16, Germany)

เครื่อง vortex mixer (Onilab, USA)
เครื่อง water bath (Memmert, รุ่น WNB 22, Germany)
เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Mettler toledo, รุ่น NewClassic, Switzerland)
เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Mettler toledo, รุ่น MS304S, Switzerland)
จานเลี้ยงเชื้อพลาสติก ขนาด 94x16 มม. (Greiner, Germany)
ตู้อบลมร้อน (hot air oven) (Contherm, รุ่น thermotic 2000, New Zealand)
ตู้อบสุญญากาศ (vacuum oven) (Hotpack, รุ่น 273600, USA)
ตู้ Incubator (Heraeus, รุ่น B5042, Germany)
Thermometer (Ebro รุ่น TFX410, Germany)

ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 การเตรียมตัวอย่างเปลือกโกโก้

ตัวอย่างเปลือกโกโก้สายพันธุ์ชุมพร 1 ได้จากจังหวัดน่าน ล้างเปลือกโกโก้ด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ 200 ppm และอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อน (Contherm, รุ่น thermotic 2000, New Zealand) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง บดตัวอย่างให้มีขนาดเล็กลงด้วยเครื่องบด และผ่านตะแกรงร่อนขนาด 50 mesh เก็บตัวอย่างในถุงอลูมิเนียมฟอยล์ลามิเนตภายใต้ภาวะสุญญากาศ จากนั้นเก็บตัวอย่างผงเปลือกโกโก้แห้งที่อุณหภูมิ -40 องศาเซลเซียส ก่อนใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.2 การศึกษาวิธีการสกัดต่อสมบัติของเพกทิน

ใช้เปลือกโกโก้จากข้อ 3.1 โดยแปรวิธีการสกัดเพกทิน 3 วิธี ดังนี้

3.2.1 วิธีทางเคมี

ใช้น้ำกลั่นที่ปรับค่าความเป็นกรด-เบส (pH) ให้อยู่ทั้งช่วงกรด คือ pH 4.0 และเบส คือ pH 10.0 โดยใช้กรดไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้น 0.1 M และโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 0.1 M ตามลำดับ แปรอุณหภูมิ 3 ระดับ ได้แก่ 60 70 และ 80 องศาเซลเซียส และควบคุมภาวะการสกัดด้วยความเร็วรอบในการสกัด 150 rpm เป็นเวลา 1 ชั่วโมง โดยรายละเอียดของภาวะการสกัดแสดงดังตารางที่ 4

ชั่งเปลือกโกโก้ 10 กรัม ลงในน้ำกลั่นปริมาตร 200 มิลลิลิตร (อัตราส่วน 1:20 w/v) ปรับ pH ตามที่กำหนดด้วย HCl หรือ NaOH และสกัดเพกทินภายใต้ภาวะที่กำหนด จากนั้นปั่นเหวี่ยงสารละลายเพกทินที่สกัดได้ด้วยความเร็วรอบ 8,000 rpm ณ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แยกส่วนใสออกมาเติมเอทานอล 95% อัตราส่วน 2:1 v/v ผสมให้เข้ากันและวางทิ้งไว้

เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แยกตะกอนเพกทินโดยการปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 8,000 rpm ณ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ล้างตะกอนเพกทินที่ได้ด้วยเอทานอล 95% จำนวน 3 ครั้ง และอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส โดยใช้ตู้อบสุญญากาศ (Hotpack, รุ่น 273600, USA) จากนั้นบดเพกทินอบแห้งและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 50 mesh ตามลำดับ

ตารางที่ 4 ปัจจัยและระดับของการสกัดเพกทินจากเปลือกโกโก้ด้วยวิธีทางเคมี

ลำดับ	**ค่าความเป็นกรด-เบส (pH)**	**อุณหภูมิในการสกัด (องศาเซลเซียส)**
1	4.0	60
2	4.0	70
3	4.0	80
4	10.0	60
5	10.0	70
6	10.0	80

3.2.2 วิธีคลื่นอัลตราซาวด์ช่วยสกัด

เลือกภาวะการสกัดที่เหมาะสม (ค่าความเป็นกรด-เบสและอุณหภูมิในการสกัด) จากวิธีทางเคมี (โดยพิจารณาจากปริมาณเพกทินที่สูงที่สุด) และแปรระยะเวลา 3 ระดับ ได้แก่ 20 30 และ 40 นาที โดยควบคุมการโซนิเคชัน (sonication) ด้วยเครื่อง sonicator (Elma, รุ่น E 70 H, Germany) ในระหว่างการทดลอง จากนั้นดำเนินตามกระบวนการเช่นเดียวกับวิธีทางเคมี

CHULALONGKORN UNIVERSITY

3.2.3 วิธีทางเอนไซม์

ใช้เอนไซม์กลุ่มเพกทิเนส iKnowZyme® PN โดยปัจจัยในการศึกษามี 3 ปัจจัย ได้แก่ ความเข้มข้นของเอนไซม์เพกทิเนส (0.5 และ 1.0% v/v) อุณหภูมิในการบ่ม (40 และ 60 องศาเซลเซียส) และระยะเวลาในการบ่ม (120 และ 240 นาที) เติมเอนไซม์ตามปริมาณที่ระบุไว้ในแต่ละการทดลอง และบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิภายใต้ภาวะที่กำหนด จากนั้นหยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์โดยแช่ในน้ำอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที และทำให้เย็นอย่างรวดเร็ว แยกเพกทินที่สกัดได้โดยการปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge (Kubota, รุ่น 6000, Japan) ความเร็วรอบ 2,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที โดยรายละเอียดของภาวะการสกัดแสดงดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ปัจจัยและระดับของการสกัดเพกทินจากเปลือกโกโก้ด้วยวิธีทางเอนไซม์

ลำดับ	**ความเข้มข้นของเอนไซม์ (%)**	**อุณหภูมิในการบ่ม (องศาเซลเซียส)**	**ระยะเวลาในการบ่ม (นาที)**
1	0.5	40	120
2	0.5	40	240
3	0.5	60	120
4	0.5	60	240
5	1.0	40	120
6	1.0	40	240
7	1.0	60	120
8	1.0	60	240

3.3 การวิเคราะห์สมบัติของเพกทินที่สกัดได้

3.3.1 ร้อยละของเพกทิน (%yield) (ภาคผนวก ก.1)

3.3.2 ระดับของเอสเทอริฟิเคชัน (degree of esterification, %DE) ตามวิธีของ Kazemi และคณะ (2019) และ Pasandide และคณะ (2018) (ภาคผนวก ข.1)

3.3.3 ปริมาณกรดกาแลคทูโรนิก (galacturonic acid content) (ตามวิธีของ Yu และคณะ, 2021 และองอาจ, 2553) (ภาคผนวก ข.2)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

เลือกภาวะของการสกัดเพกทินจากเปลือกโกโก้ที่เหมาะสมที่สุดของแต่ละวิธี จำนวน 1 ภาวะ โดยพิจารณาจากร้อยละของเพกทิน ระดับของเอสเทอริฟิเคชัน และปริมาณกรดกาแลคทูโรนิก เพื่อวิเคราะห์สมบัติต่าง ๆ ดังนี้

- ค่าความหนืด (viscosity) โดยใช้ Advanced Rotational Rheometer (ตามวิธีของ Yu และคณะ, 2021) (ภาคผนวก ก.2)
- การเป็นพรีไบโอติก (prebiotic activity) (ตามวิธีของ Huebner และคณะ, 2008) (ภาคผนวก ค.1)

เลือกภาวะของการสกัดเพกทินจากเปลือกโกโก้ที่เหมาะสมที่สุด 1 ภาวะ โดยพิจารณาจากสมบัติการเป็นพรีไบโอติก (prebiotic activity) ที่สูงที่สุด เพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

3.4 การศึกษาการใช้เพกทินเป็นสารเคลือบบริโภคได้

3.4.1 การเตรียมสารเคลือบบริโภคได้จากเพกทิน (ดัดแปลงตามวิธีของ Mahardiani และคณะ, 2021)

ชั่งเพกทินโดยใช้ความเข้มข้น 10% w/v เติมลงในน้ำกลั่น ปริมาตร 500 มิลลิลิตร ให้ความร้อน ณ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที เติมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (carboxymethyl cellulose, CMC) 2% w/v ผสมให้เข้ากัน จากนั้นเติมกลีเซอรอล (glycerol) 2% w/v และโพแทสเซียมซอร์เบต (potassium sorbate) 0.5% w/v หลังจากสารทั้งหมดละลายหมดแล้ว เติมกรดสเตียริก (stearic acid) 0.5% w/v กวนให้เป็นเนื้อเดียวกัน และวางทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

3.4.2 การใช้สารเคลือบบริโภคได้กับมะเขือเทศ และติดตามการเปลี่ยนแปลง

จุ่มมะเขือเทศลงในสารละลายของสารเคลือบบริโภคได้ เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยบรรจุตัวอย่างในถุงพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ (low density polyethylene, LDPE) ขนาด 12×18 นิ้ว ติดตามการเปลี่ยนแปลงของมะเขือเทศ และเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม (ไม่มีการจุ่มสารเคลือบบริโภคได้) และมะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ที่ไม่ใส่เพกทินทุก ๆ 3 วัน จนครบ 30 วัน ดังนี้

- การสูญเสียน้ำหนัก (weight loss) ของมะเขือเทศ
- ค่าความเป็นกรด-เบส (pH) (ภาคผนวก ข.3)
- ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (total soluble solid, ^{o}Brix) (ภาคผนวก ข.4)
- ค่าสี (ภาคผนวก ก.3)
- ความแน่นเนื้อ (firmness) (ภาคผนวก ก.4)
- ปริมาณไลโคปีน (lycopene content) (ตามวิธีของ Suwanaruang, 2016) (ภาคผนวก ข.5)
- ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic content) ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetry (ดัดแปลงตามวิธีของ Hikmawanti และคณะ, 2020) (ภาคผนวก ข.6)
- ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (ดัดแปลงตามวิธีของ Sucheta และคณะ, 2019) (ภาคผนวก ข.7) และวิธี ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) (ดัดแปลงตามวิธีของ Benzie และ Strain, 1996) (ภาคผนวก ข.8)
- ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (total viable count) (AOAC, 2000) (ภาคผนวก ค.2) และปริมาณยีสต์และรา (yeast and mold count) (AOAC, 2000) (ภาคผนวก ค.3)

3.5 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ออกแบบการทดลองแบบ 2x3 Factorial in Completely Randomized Design (CRD) สำหรับการทดลอง ข้อ 3.2.1 และออกแบบการทดลองแบบ 2x2x2 Factorial in CRD สำหรับการทดลองข้อ 3.2.3 ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance, ANOVA) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 22 และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Tukey’s (HSD) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การศึกษาวิธีการสกัดต่อสมบัติของเพกทิน

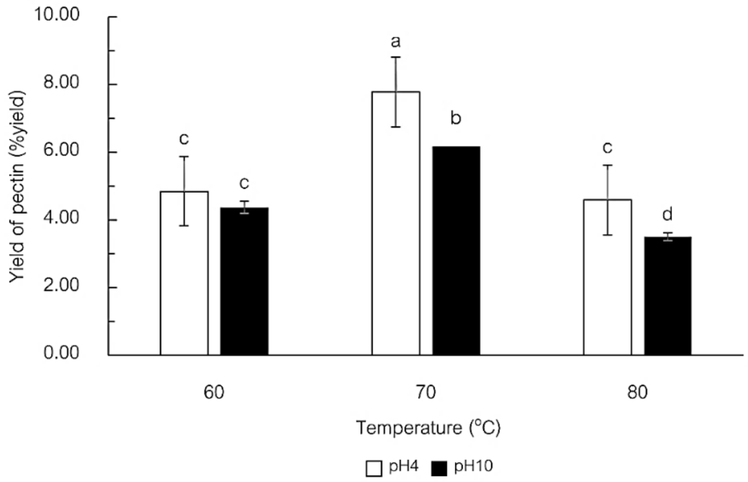
4.1.1 การสกัดด้วยวิธีทางเคมี

จากการศึกษาการสกัดเพกทินจากเปลือกโกโก้ด้วยวิธีทางเคมี โดยแปรค่าความเป็นกรด-เบสของสารละลาย ได้แก่ pH 4.0 และ pH 10.0 แปรอุณหภูมิในการสกัด 3 ระดับ ได้แก่ 60 70 และ 80 องศาเซลเซียส และควบคุมภาวะการสกัดด้วยความเร็วรอบในการสกัด 150 rpm เป็นเวลา 1 ชั่วโมง พบว่าเพกทินที่สกัดได้จากเปลือกโกโก้มีปริมาณเพกทินอยู่ในช่วงร้อยละ 3.50±0.04 ถึง 7.78±0.41 มีระดับของเอสเทอริฟิเคชันอยู่ในช่วงร้อยละ 50.73±0.87 ถึง 84.07±0.97 และมีปริมาณกรดกาแลคทูโรนิกอยู่ในช่วง 14.96±0.81 ถึง 35.70±1.67 µg/mL ภาวะที่สามารถสกัดปริมาณเพกทินจากเปลือกโกโก้ได้มากที่สุด คือ การสกัดด้วยสารละลาย pH 4.0 และอุณหภูมิในการสกัด 70 องศาเซลเซียส โดยเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดจาก 60 เป็น 70 องศาเซลเซียส ปริมาณเพกทินที่สกัดได้มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ดังแสดงในภาพที่ 30 เนื่องจากอุณหภูมิที่สูงขึ้นช่วยในการละลายของเพกทินและส่วนประกอบอื่น ๆ ของเพกทินที่อยู่ในผนังเซลล์ของพืช เช่น โปรโทเพกทิน (protopectin) ส่งผลให้ปริมาณเพกทินที่สกัดได้มีค่าเพิ่มขึ้น (Greve และคณะ, 1994) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Vriesmann และคณะ (2011) ที่ศึกษาการสกัดเพกทินจากเปลือกโกโก้โดยใช้อุณหภูมิในการสกัด ได้แก่ 50 และ 100 องศาเซลเซียส และสกัดเป็นเวลา 90 นาที โดยพบว่าเมื่อใช้อุณหภูมิในการสกัดสูงขึ้น ส่งผลให้ได้ปริมาณเพกทินมากขึ้นจากร้อยละ 7.5 เป็นร้อยละ 12.6 นอกจากนี้ในภาวะการสกัดที่อุณหภูมิต่ำอาจไม่เพียงพอต่อการไฮโดรไลซิส (hydrolysis) ของโปรโทเพกทิน ซึ่งเป็นรูปแบบของเพกทินที่ไม่ละลายน้ำ (El-Nawawi and Shehata, 1987) ในขณะที่การสกัดเพกทินที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส พบว่า ปริมาณเพกทินที่สกัดได้มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เนื่องจากการสกัดที่อุณหภูมิสูงมากเกินไปก่อให้เกิดการไฮโดรไลซิสของเพกทินไปเป็นน้ำตาลสายสั้น ซึ่งไม่สามารถตกตะกอนโดยใช้เอทานอล ส่งผลให้ปริมาณเพกทินที่สกัดได้มีค่าลดลง (Canteri-Schemin และคณะ, 2005)

เมื่อพิจารณาผลของค่า pH ต่อปริมาณเพกทินที่สกัดจากเปลือกโกโก้พบว่า การสกัดด้วยสารละลาย pH 4.0 ได้ปริมาณเพกทินสูงกว่า pH 10.0 ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัยของ Ojeda และคณะ (2016) โดยระบุว่า ปริมาณเพกทินที่สูงขึ้น เมื่อค่า pH ของสารละลายที่ใช้สกัดลดลงหรือมีความเป็นกรดสูงขึ้น อาจสัมพันธ์กับการไฮโดรไลซิสที่เพิ่มขึ้นในพันธะของโปรโทเพกทิน ซึ่งเปลี่ยนเป็นเพกทินที่สามารถละลายน้ำได้ นอกจากนี้การใช้ความร้อนร่วมกับ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารละลายที่เป็นกรด ช่วยสลายพันธะไฮโดรเจน (hydrogen bond) และพันธะเอสเทอร์ (ester bond) ที่เชื่อมระหว่างเพกทินกับผนังเซลล์ และเพิ่มอัตราการแพร่และการสกัดเพกทิน ส่งผลให้ปริมาณเพกทินที่สกัดได้มีค่าเพิ่มขึ้น (Hamidon และ Zaidel, 2017) จากงานวิจัยของ Vriesmann และคณะ (2012) ที่ศึกษาการสกัดเพกทินจากเปลือกโกโก้ โดยใช้กรดซิตริกเป็นตัวทำละลาย และแปรค่า pH ได้แก่ pH 1.0 2.0 และ 3.0 พบว่า การสกัดเพกทินโดยใช้กรดซิตริก pH 1.0 ได้ปริมาณเพกทินสูงที่สุด ซึ่งผลการทดลองเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับงานวิจัยของ Hamidon และ Zaidel (2017) ที่ศึกษาการสกัดเพกทินจากเปลือกมันเทศ (sweet potato) โดยแปรค่า pH ของสารละลายให้อยู่ในช่วง pH 1.0 ถึง 3.0 และพบว่า เมื่อ pH ของสารละลายมีค่าลดลงจาก pH 3.0 เป็น pH 1.0 เพกทินที่สกัดได้จากเปลือกมันเทศมีปริมาณสูงขึ้น เนื่องจากสารละลายมีความเป็นกรดสูงขึ้น ช่วยไฮโดรไลซิสพันธะไฮโดรเจนที่เชื่อมระหว่างเพกทินกับผนังเซลล์ ส่งผลให้ปริมาณเพกทินเพิ่มขึ้น



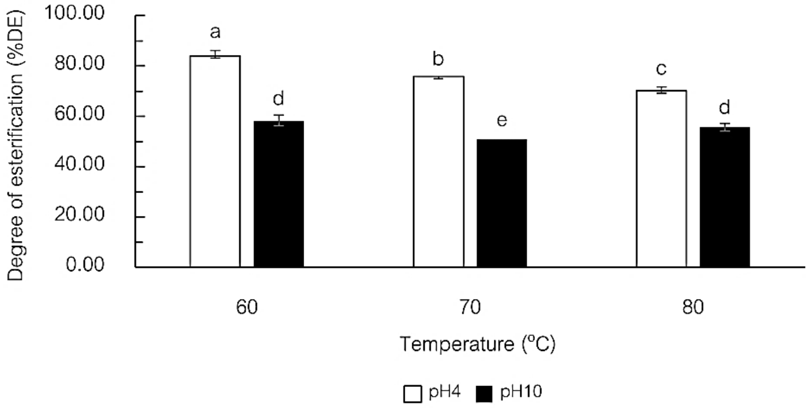
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาพที่ 30 ปริมาณเพกทินที่สกัดได้จากเปลือกโกโก้ด้วยวิธีทางเคมี

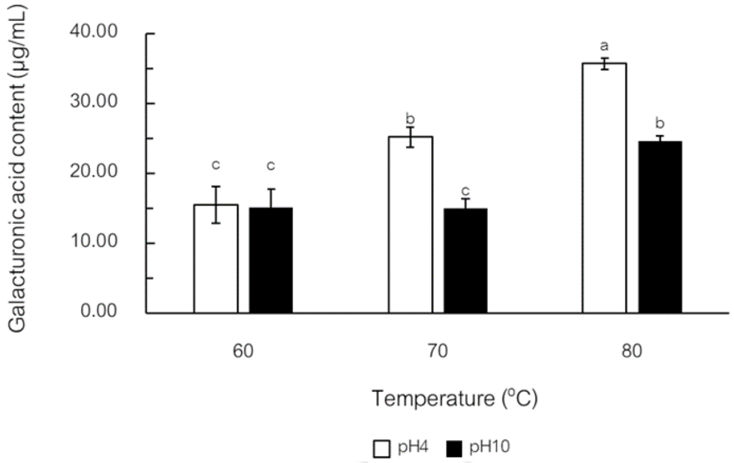
นอกจากนี้จากการศึกษาผลของอุณหภูมิและค่า pH ต่อสมบัติของเพกทินที่สกัดจากเปลือกโกโก้พบว่า การสกัดที่ภาวะแตกต่างกัน ส่งผลให้ระดับของเอสเทอริฟิเคชันมีค่าต่างกัน ดังแสดงในภาพที่ 31 โดยเพกทินที่สกัดได้จากเปลือกโกโก้จากทุกภาวการณ์สกัดมีระดับของเอสเทอริฟิเคชันมากกว่า 50% ดังนั้นจึงจัดเป็น HM pectin ซึ่งเป็นประเภทของเพกทินที่มีความคงตัวและมีความหนืดสูง และไม่จำเป็นต้องใช้ไอออนของโลหะหนักในการเกิดเจล (องอาจ, 2553) โดยเพกทินจากการสกัดด้วยภาวะกรด (pH 4.0) มีระดับของเอสเทอริฟิเคชันสูงกว่าการสกัดที่ภาวะเบส (pH 10.0) อย่างมีนัยสำคัญ ($p \le 0.05$) เนื่องจากในภาวะเบสสามารถเร่งการเกิดการสลายหมู่เอสเทอร์ (de-esterification) ส่งผลให้เพกทินที่สกัดได้มีระดับของเอสเทอริฟิเคชันต่ำ (Yu และคณะ,

2021) นอกจากนี้เพกทินที่สกัดที่อุณหภูมิต่ำมีระดับของเอสเทอริฟิเคชันสูงกว่าเพกทินที่สกัดที่อุณหภูมิสูง เนื่องจากอุณหภูมิในการสกัดสูงขึ้นก่อให้เกิดการย่อยสลายเพกทินระหว่างกระบวนการสกัด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kulkarni และ Vijayanand (2010) ที่ศึกษาผลของภาวะการสกัดต่อสมบัติและคุณภาพของเพกทินจากเปลือกเสาวรส (passion fruit) โดยใช้อุณหภูมิในการสกัด ได้แก่ 70 80 90 และ 98.7 องศาเซลเซียส และพบว่า เมื่อใช้อุณหภูมิในการสกัดสูงขึ้น ระดับของเอสเทอริฟิเคชันและปริมาณหมู่เมทอกซิลมีค่าลดลง นอกจากนี้ Yu และคณะ (2021) ที่ศึกษาการสกัดเพกทินจากเปลือก Finger citron pomace โดยแปรอุณหภูมิในการสกัด ได้แก่ 60 70 และ 80 องศาเซลเซียส และสกัดทั้งในภาวะกรดและภาวะเบส โดยผลการทดลองพบว่า เพกทินที่สกัดด้วยภาวะกรดมีระดับของเอสเทอริฟิเคชันสูงกว่าการสกัดที่ภาวะเบส และเมื่อใช้อุณหภูมิในการสกัดสูงขึ้น ส่งผลให้ระดับของเอสเทอริฟิเคชันมีค่าลดลง

กรดกาแลคทูโรนิกเป็นองค์ประกอบหลักของโมเลกุลเพกทิน ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของน้ำตาลกาแลคโทส (galactose) และมีโครงสร้างเป็นสายตรง (linear chain) (Mohnen, 2008) การใช้ภาวะการสกัดที่แตกต่างกัน ส่งผลให้ปริมาณกรดกาแลคทูโรนิกของโมเลกุลเพกทินที่สกัดได้มีค่าต่างกัน เนื่องจากโมเลกุลเพกทินถูกทำลายโครงสร้างทางเคมีในระหว่างกระบวนการสกัดมากน้อยต่างกัน (องอาจ, 2553) จากภาพที่ 32 พบว่า เพกทินที่สกัดได้จากเปลือกโกโก้ทุกภาวะการสกัดมีองค์ประกอบของกรดกาแลคทูโรนิกอยู่ในช่วง 14.96±0.81 ถึง 35.70±1.67 μg/mL และการสกัดที่อุณหภูมิ 70 และ 80 องศาเซลเซียส พบว่า เพกทินที่ได้จากการสกัดที่ภาวะเบส (pH 10.0) มีปริมาณกรดกาแลคทูโรนิกของโมเลกุลเพกทินลดลงจากการสกัดที่ภาวะกรด (pH 4.0) อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยลดลงจากช่วง 25.21±0.77 ถึง 35.70±1.67 μg/mL เป็น 14.96±0.81 ถึง 24.65±1.23 μg/mL เนื่องจากการสกัดเพกทินในภาวะเบสก่อให้เกิดปฏิกิริยา β-elimination ซึ่งเป็นหนึ่งในกลไกการย่อยสลายเพกทิน และปฏิกิริยานี้สามารถตัดฮอโมกาแลคทูโรแนน (homogalacturonan) ที่เป็นแกนหลักของโมเลกุลเพกทินให้กลายเป็นโอลิโกเมอร์ของพอลิกาแลคทูโรนิก และ rhamnogalacturonan I (RG-I) ซึ่งไม่สามารถตรวจวัดได้ที่ความยาวคลื่นสำหรับการตรวจวัดกรดกาแลคทูโรนิก ส่งผลให้ปริมาณกรดกาแลคทูโรนิกที่วัดได้มีค่าลดลง (Fracasso และคณะ, 2018) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Garna และคณะ (2007) ที่ศึกษาการสกัดเพกทินจากกากแอปเปิล (apple pomace) โดยแปรค่า pH ของสารละลาย (pH 1.5 และ 2.0) และอุณหภูมิในการสกัด (80 และ 90 องศาเซลเซียส) และพบว่าเพกทินที่ได้จากการสกัดโดยใช้สารละลาย pH 1.5 มีปริมาณกรดกาแลคทูโรนิกสูงกว่าการสกัดโดยใช้สารละลาย pH 2.0 นอกจากนี้เมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดจาก 80 เป็น 90 องศาเซลเซียส ปริมาณกรดกาแลคทูโรนิกมีค่าเพิ่มขึ้น เนื่องจากอุณหภูมิที่สูงขึ้นเร่งการไฮโดรไลซิสของพันธะภายในโมเลกุลเพกทิน ส่งผลให้มีปริมาณกรดกาแลคทูโรนิกเพิ่มขึ้น (Fraeye และคณะ, 2007)



ภาพที่ 31 ระดับเอสเทอริฟิเคชันของเพกทินที่สกัดได้จากเปลือกโกโก้ด้วยวิธีทางเคมี



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

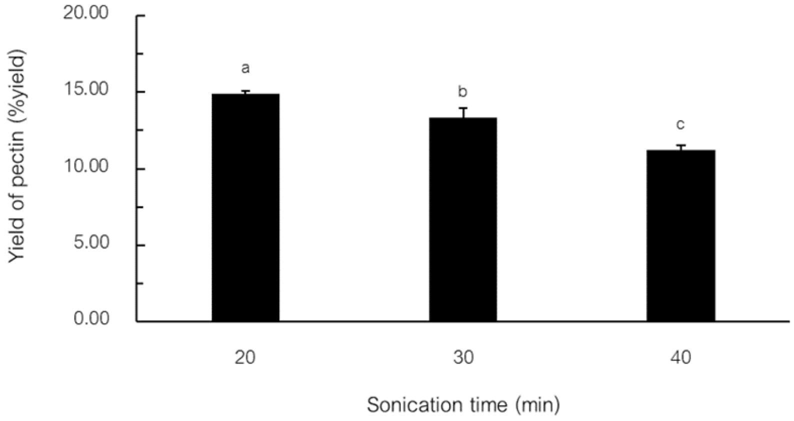
ภาพที่ 32 ปริมาณกรดกาแลคทูโรนิกของเพกทินที่สกัดได้จากเปลือกโกโก้ด้วยวิธีทางเคมี

4.1.2 การสกัดด้วยวิธีคลื่นอัลตราซาวด์ช่วยสกัด

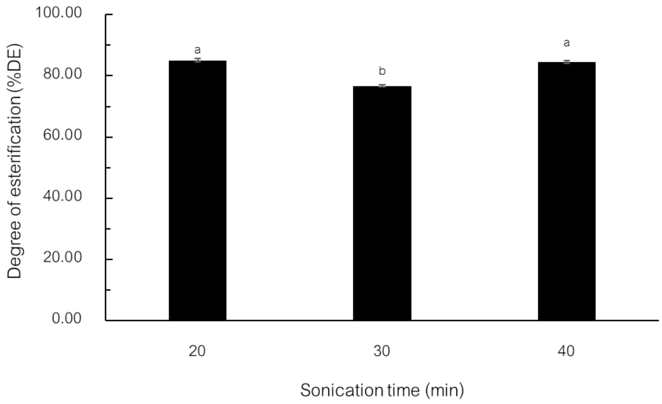
คลื่นอัลตราซาวด์ช่วยสกัดเป็นการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงหรืออัลตราโซนิค ร่วมกับตัวทำละลายในการสกัดตัวอย่าง โดยคลื่นเสียงความถี่สูงทำให้เกิดฟองแก๊สในตัวทำละลาย ซึ่งก่อให้เกิดปรากฏการณ์คาวิเตชัน (cavitation) ส่งผลให้พื้นที่ผิวบริเวณผนังเซลล์และภายในเซลล์พืชถูกทำลาย ตัวทำละลายสามารถละลายสาระสำคัญออกจากเซลล์พืชที่นำมาสกัดได้ง่ายขึ้น จากการศึกษาระยะเวลาในการทำโซนิเคชัน 3 ระดับ ได้แก่ 20 30 และ 40 นาที ร่วมกับการใช้ภาวะการสกัดที่เหมาะสมที่สุดจากวิธีสกัดทางเคมี คือ อุณหภูมิในการสกัด 70 องศาเซลเซียส และค่าความเป็นกรด-เบสของสารละลายเท่ากับ pH 4.0 พบว่า เพกทินที่สกัดได้จากเปลือกโกโก้มีปริมาณเพกทินอยู่ในช่วงร้อยละ 11.23±0.30 ถึง 14.87±0.19 มีระดับของเอสเทอริฟิเคชันอยู่ในช่วงร้อยละ

76.72±0.36 ถึง 85.08±0.57 และปริมาณกรดกาแลคทูโรนิกอยู่ในช่วง 16.44±0.37 ถึง 39.35±0.86 µg/mL โดยภาวะที่สามารถสกัดปริมาณเพกทินได้มากที่สุดจากวิธีคลื่นอัลตราซาวด์ช่วยสกัด คือ ระยะเวลาโซนิเคชัน 20 นาที ซึ่งได้ปริมาณเพกทินมากที่สุดร้อยละ 14.87±0.19 โดยมีระดับของเอสเทอริฟิเคชันและปริมาณกรดกาแลคทูโรนิกเท่ากับร้อยละ 85.08±0.57 และ 16.44±0.37 µg/mL ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 33 การเพิ่มระยะเวลาโซนิเคชันส่งผลให้ได้ปริมาณเพกทินลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เนื่องจากระยะเวลาโซนิเคชันที่มากเกินไป อาจก่อให้เกิดการทำลายโครงสร้างของโมเลกุลเพกทิน รวมถึงการสลายตัวของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ส่งผลให้เพกทินที่สกัดได้มีปริมาณลดลง (Wang และคณะ, 2012) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Bagherian และคณะ (2011) ที่ศึกษาการใช้วิธีคลื่นอัลตราซาวด์ช่วยสกัดเพื่อสกัดเพกทินจากเปลือกเกรปฟรุต (grapefruit*)* โดยแปรระยะเวลาโซนิเคชัน ได้แก่ 10 15 20 25 28 และ 30 นาที ใช้อุณหภูมิในการสกัด 70 องศาเซลเซียส และพบว่า เมื่อเพิ่มระยะเวลาโซนิเคชันจาก 10 เป็น 15 20 และ 25 นาที ตามลำดับ ปริมาณเพกทินที่สกัดได้มีค่าเพิ่มขึ้น แต่หลังจากเพิ่มระยะเวลาโซนิเคชันมากกว่า 25 นาที ปริมาณเพกทินที่สกัดได้มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจากเกิดการทำลายโครงสร้างของโมเลกุลเพกทินระหว่างกระบวนการโซนิเคชัน นอกจากนี้การสกัดด้วยวิธีคลื่นอัลตราซาวด์ช่วยสกัดได้ปริมาณเพกทินสูงกว่าการสกัดด้วยวิธีทางเคมี เนื่องจากแรงดันที่เกิดจากปรากฏการณ์คาวิเตชันสามารถเร่งการปลดปล่อยและการแพร่ของสารภายในเซลล์ ซึ่งทำให้การถ่ายโอนมวล (mass transfer) เพิ่มขึ้น ปริมาณเพกทินที่สกัดได้ด้วยวิธีคลื่นอัลตราซาวด์ช่วยสกัดจึงมีปริมาณเพิ่มขึ้น (Khedmat และคณะ, 2019)

เมื่อพิจารณาผลของการสกัดเพกทินด้วยวิธีคลื่นอัลตราซาวด์ช่วยสกัดต่อสมบัติของเพกทิน พบว่า เพกทินที่สกัดได้จากเปลือกโกโก้ทุกภาวะการสกัดมีระดับของเอสเทอริฟิเคชันมากกว่า 50% จึงจัดเป็น HM pectin ดังแสดงในภาพที่ 34 และเมื่อเพิ่มระยะเวลาโซนิเคชันจาก 20 นาที เป็น 40 นาที ปริมาณกรดกาแลคทูโรนิกของโมเลกุลเพกทินมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ดังแสดงในภาพที่ 35 เนื่องจากการโซนิเคชันก่อให้เกิดการตัดพันธะภายในโมเลกุลเพกทิน ส่งผลให้มีปริมาณกรดกาแลคทูโรนิกเพิ่มขึ้น (Ogutu และ Mu, 2017) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Bagherian และคณะ (2011) ที่ศึกษาการทำโซนิเคชันแบบต่อเนื่อง (continuous sonication) และไม่ต่อเนื่อง (intermittent sonication) เพื่อสกัดเพกทินจากเปลือกเกรปฟรุต โดยแปรระยะเวลาโซนิเคชัน 3 ระดับ ได้แก่ 20 30 และ 40 นาที และพบว่า เมื่อเพิ่มระยะเวลาโซนิเคชันทั้งการทำโซนิเคชันแบบต่อเนื่องและการทำโซนิเคชันแบบไม่ต่อเนื่อง ส่งผลให้ปริมาณกรดกาแลคทูโรนิกเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด ($p \leq 0.05$)

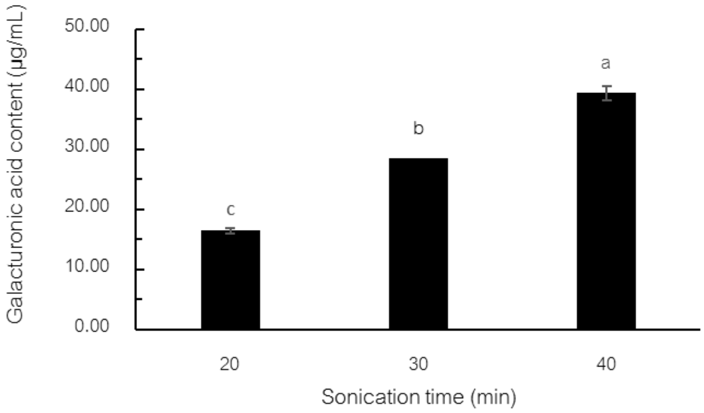


ภาพที่ 33 ปริมาณเพกทินที่สกัดได้จากเปลือกโกโก้
ด้วยวิธีคลื่นอัลตราซาวด์ช่วยสกัด



CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาพที่ 34 ระดับเอสเทอริฟิเคชันของเพกทินที่สกัดได้จากเปลือกโกโก้
ด้วยวิธีคลื่นอัลตราซาวด์ช่วยสกัด



ภาพที่ 35 ปริมาณกรดกาแลคทูโรนิกของเพกทินที่สกัดได้จากเปลือกโกโก้ ด้วยวิธีคลื่นอัลตราซาวด์ช่วยสกัด

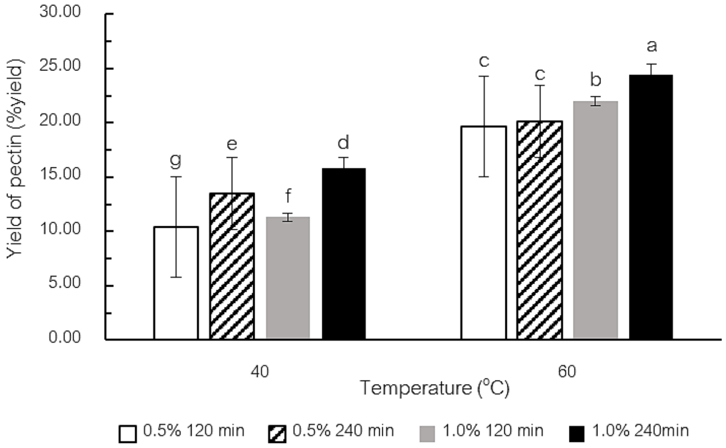
4.1.3 การสกัดด้วยวิธีทางเอนไซม์

การสกัดด้วยวิธีทางเอนไซม์ เป็นการใช้เอนไซม์ไฮโดรไลซ์ผนังเซลล์พืชและเพิ่มการซึมผ่านของเซลล์ การสกัดด้วยเอนไซม์ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของเอนไซม์ อุณหภูมิ เวลา และชนิดของเอนไซม์ (Poojary และคณะ, 2017) โดยงานวิจัยนี้ใช้เอนไซม์เพกทิเนสในการสกัดเพกทินจากเปลือกโกโก้ และแปรปัจจัยในการสกัด 3 ปัจจัย ได้แก่ ความเข้มข้นของเอนไซม์เพกทิเนส ได้แก่ ร้อยละ 0.5 และร้อยละ 1.0 v/v อุณหภูมิในการบ่ม ได้แก่ 40 และ 60 องศาเซลเซียส และเวลาในการบ่ม ได้แก่ 120 และ 240 นาที และพบว่าเพกทินที่สกัดได้จากเปลือกโกโก้มีปริมาณเพกทินอยู่ในช่วงร้อยละ 10.39±0.40 ถึง 24.38±0.15 มีระดับของเอสเทอริฟิเคชันอยู่ในช่วงร้อยละ 64.60±0.46 ถึง 87.87±0.12 และปริมาณกรดกาแลคทูโรนิกอยู่ในช่วง 12.93±0.81 ถึง 49.78±0.56 µg/mL โดยภาวะที่สามารถสกัดปริมาณเพกทินได้มากที่สุดจากการสกัดด้วยวิธีทางเอนไซม์ คือ การใช้ปริมาณเอนไซม์เพกทิเนสร้อยละ 1.0 v/v อุณหภูมิในการบ่ม 60 องศาเซลเซียส และเวลาในการบ่ม 240 นาที ซึ่งได้ปริมาณเพกทินมากที่สุดร้อยละ 24.38±0.15 โดยมีระดับของเอสเทอริฟิเคชันและปริมาณกรดกาแลคทูโรนิกเท่ากับร้อยละ 87.87±0.12 และ 49.78±0.56 µg/mL ตามลำดับ (ภาพที่ 36) เมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการบ่มจาก 40 เป็น 60 องศาเซลเซียส ส่งผลให้ปริมาณเพกทินที่สกัดได้มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยเพิ่มขึ้นจากช่วงร้อยละ 10.39±0.40 ถึง 15.81±0.30 เป็นช่วงร้อยละ 19.64±0.19 ถึง 24.38±0.15 เนื่องจากการเพิ่มอุณหภูมิทำให้ประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์เพิ่มขึ้น และเป็นการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเอนไซม์ให้ย่อยพอลิแซ็คคาไรด์ของเพกทินออกมาได้มากขึ้น (Daniel และคณะ, 2010) จากงานวิจัยของ Abdullah และคณะ (2021) ที่ศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพของการสกัดน้ำมะม่วงหิมพานต์

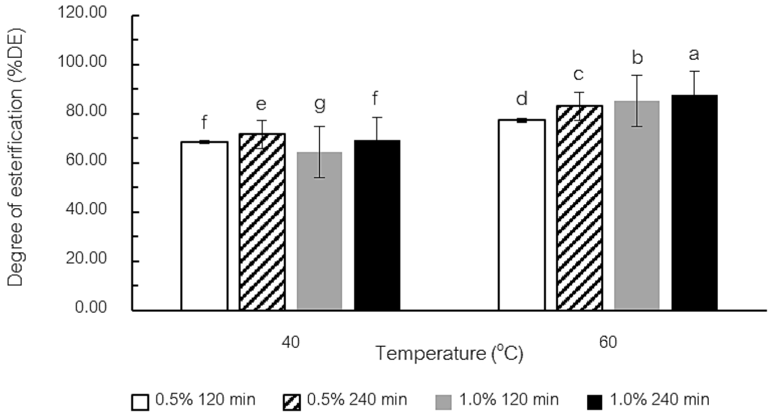
(cashew apple juice) ด้วยการใช้เอนไซม์เพกทิเนส โดยแปรอุณหภูมิในการบ่มในช่วง 30 ถึง 50 องศาเซลเซียส พบว่าการเพิ่มอุณหภูมิในการบ่ม ส่งผลให้ได้ผลผลิตน้ำมะม่วงหิมพานต์เพิ่มขึ้น เนื่องจากอุณหภูมิที่สูงขึ้นเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเอนไซม์เพกทิเนส ส่งผลให้เพกทินถูกย่อย ของเหลวและสารประกอบต่าง ๆ ภายในเซลล์พืชละลายออกมาได้มากขึ้น จึงสกัดน้ำผลไม้ได้ปริมาณมากขึ้น ซึ่งอุณหภูมิในการบ่มที่ 48 องศาเซลเซียส ให้ผลผลิตน้ำมะม่วงหิมพานต์สูงที่สุด นอกจากนี้ ชิดชัย และคณะ (2547) ที่ศึกษาการพัฒนาไซรัปเข้มข้นจากกล้วยหอมทองโดยใช้เอนไซม์ โดยแปรอุณหภูมิในการบ่ม ได้แก่ 40 45 50 55 และ 60 องศาเซลเซียส พบว่าการเพิ่มอุณหภูมิในการบ่มจาก 40 เป็น 45 และ 50 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ส่งผลให้ได้ปริมาณน้ำกล้วยหอมทองและปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้สูงขึ้น แต่หลังจากเพิ่มอุณหภูมิในการบ่มมากกว่า 50 องศาเซลเซียส ปริมาณน้ำกล้วยหอมทองและปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้มีแนวโน้มลดลง เนื่องจากการเสียสภาพการทำงานของเอนไซม์

นอกจากนี้การเพิ่มเวลาในการบ่มจาก 120 เป็น 240 นาที ส่งผลให้ปริมาณเพกทินที่สกัดได้มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เนื่องจากการเพิ่มเวลาในการบ่มช่วยเพิ่มระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์กับสารตั้งต้น (substrate) หรือเพกทิน ส่งผลให้ปริมาณเพกทินที่สกัดได้มีค่าเพิ่มขึ้น (Daniel และคณะ, 2010) และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์เพกทิเนสจากร้อยละ 0.5 เป็นร้อยละ 1.0 v/v ส่งผลให้ปริมาณเพกทินที่สกัดได้มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เนื่องจากปริมาณเอนไซม์มากขึ้นทำให้อัตราการเกิดปฏิกิริยาเพิ่มขึ้น เพราะมีโมเลกุลของเอนไซม์สำหรับเกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลของสารตั้งต้นหรือเพกทินมากขึ้น (Bettelheim และคณะ, 2009) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของมยุรา และคณะ (2560) ที่ศึกษาผลของเอนไซม์เพกทิเนสต่อคุณภาพของไซรัปตะขบ (*Muntingia Calabura* L.) โดยแปรความเข้มข้นของเอนไซม์ (ร้อยละ 0.5 และ 1.0 v/v) และเวลาในการบ่ม (120 และ 240 นาที) และพบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์ และเวลาในการบ่ม ส่งผลให้ผลผลิตน้ำตะขบที่สกัดได้เพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิในการบ่ม เวลาในการบ่ม และความเข้มข้นของเอนไซม์เพกทิเนส เป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อการสกัดเพกทินด้วยวิธีทางเอนไซม์

จากการทดลองผลของการสกัดเพกทินด้วยวิธีวิธีทางเอนไซม์ต่อสมบัติของเพกทินพบว่า เพกทินที่สกัดได้จากเปลือกโกโก้จากทุกภาวะการสกัดมีระดับของเอสเทอริฟิเคชันมากกว่า 50% ดังนั้นจึงจัดเป็น HM pectin (ภาพที่ 37) นอกจากนี้เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์เพกทิเนส อุณหภูมิ และเวลาในการบ่ม เป็นการเร่งปฏิกิริยาการทำงานของเอนไซม์เพกทิเนสในการตัดพันธะไกลโคซิดิก (glycosidic bond) ภายในโมเลกุลเพกทินและทำให้เกิดการแตกหักของโมเลกุล ส่งผลให้ปริมาณกรดกาแลคทูโรนิกเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (ภาพที่ 38)

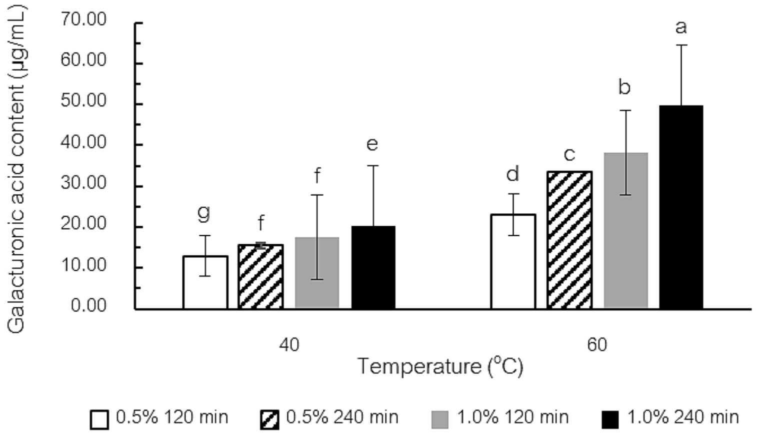


ภาพที่ 36 ปริมาณเพกทินที่สกัดได้จากเปลือกโกโก้ด้วยวิธีทางเอนไซม์



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาพที่ 37 ระดับเอสเทอริฟิเคชันของเพกทินที่สกัดได้จากเปลือกโกโก้ด้วยวิธีทางเอนไซม์



ภาพที่ 38 ปริมาณกรดกาแลคทูโรนิกของเพกทินที่สกัดได้จากเปลือกโกโก้ด้วยวิธีทางเอนไซม์

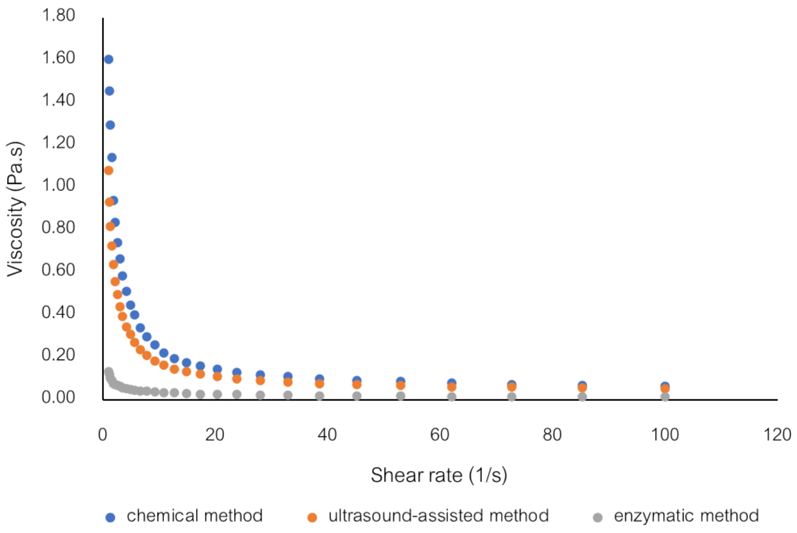
จากการศึกษาวิธีการสกัดต่อสมบัติของเพกทินจากเปลือกโกโก้ ได้ภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดเพกทิน ซึ่งได้ปริมาณเพกทินสูงที่สุด ดังนี้ ภาวะที่เหมาะสมที่สุดของการสกัดด้วยวิธีทางเอนไซม์ คือ การใช้ปริมาณเอนไซม์ร้อยละ 1.0 v/v อุณหภูมิในการบ่ม 60 องศาเซลเซียส และเวลาในการบ่ม 240 นาที ได้ปริมาณเพกทินมากที่สุดร้อยละ 24.38±0.15 ในขณะที่ภาวะที่เหมาะสมที่สุดจากวิธีทางเคมี คือ การสกัดด้วยสารละลาย pH 4.0 และอุณหภูมิในการสกัด 70 องศาเซลเซียส ซึ่งได้ปริมาณเพกทินมากที่สุดร้อยละ 7.78±0.41 และภาวะที่เหมาะสมที่สุดจากวิธีคลื่นอัลตราซาวด์ช่วยสกัด คือ การใช้ระยะเวลาโซนิเคชัน 20 นาที ซึ่งได้ปริมาณเพกทินมากที่สุดร้อยละ 14.87±0.19 จากนั้นวิเคราะห์สมบัติของเพกทินที่ได้จากภาวะที่เหมาะสมที่สุดต่อการสกัดเพกทินจากเปลือกโกโก้ของแต่ละวิธี ดังนี้ ความหนืดและสมบัติการเป็นพรีไบโอติก (prebiotic activity)

Chulalongkorn University

4.2 การวิเคราะห์ความหนืดและสมบัติการเป็นพรีไบโอติกของเพกทิน

พฤติกรรมการไหลของเพกทินที่สกัดด้วยวิธีต่าง ๆ แสดงดังในภาพที่ 39 โดยความหนืดของเพกทินมีค่าลดลง เมื่ออัตราเฉือนเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับของไหลแบบซูโดพลาสติก (pseudoplastic fluid) หรือเรียกว่า shear thinning fluid ซึ่งความแข็งแรงของพันธะระหว่างโมเลกุลเพกทินค่อย ๆ อ่อนลงในระหว่างการทดสอบ (Yu และคณะ, 2021) เมื่อเพิ่มอัตราเฉือนส่งผลให้ความหนืดของเพกทินที่สกัดด้วยวิธีทางเอนไซม์มีค่าลดลงมากที่สุด รองลงมา คือ เพกทินจากการสกัดด้วยวิธีคลื่นอัลตราซาวด์ช่วยสกัดและวิธีทางเคมี ตามลำดับ ความหนืดของเพกทินที่สกัดด้วยวิธีทางเอนไซม์มีค่าลดลงมากที่สุด เนื่องจากการสกัดด้วยเอนไซม์เป็นการตัดพันธะไกลโคซิดิกภายในโมเลกุลเพกทินและทำให้โครงสร้างโมเลกุลของเพกทินเกิดการแตกหัก ส่งผลให้ความหนืดของเพกทินมีค่าลดลง นอกจากนี้การสกัดด้วยวิธีทางเอนไซม์อาจนำไปสู่การเสื่อมสภาพและการสูญเสียสมบัติของเพกทินได้

(Munarin และคณะ, 2012) จากงานวิจัยของ Yu และคณะ, (2021) ที่ศึกษาการสกัดเพกทินจาก Finger citron pomace โดยใช้วิธีการสกัด 3 วิธี ได้แก่ วิธีทางเคมี วิธีคลื่นอัลตราซาวด์ช่วยสกัด และวิธีคลื่นไมโครเวฟช่วยสกัด (microwave-assisted method) และศึกษาพฤติกรรมการไหลของเพกทินพบว่า พฤติกรรมการไหลของเพกทินเป็นของไหลแบบซูโดพลาสติก เมื่อเพิ่มอัตราเฉือน ความหนืดของเพกทินมีค่าลดลง โดยเพกทินที่สกัดด้วยวิธีคลื่นอัลตราซาวด์ช่วยสกัดมีความหนืดลดลงมากกว่าเพกทินที่สกัดด้วยวิธีทางเคมี แสดงให้เห็นว่าคลื่นอัลตราซาวด์ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงมวลโมเลกุล (molecular weight, Mw) และค่าการกระจายตัว (polydispersity) ของเพกทิน



ภาพที่ 39 พฤติกรรมการไหลของเพกทินที่สกัดจากเปลือกโกโก้ด้วยวิธีต่าง ๆ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

จากการศึกษาสมบัติการเป็นพรีไบโอติกของเพกทินจากเปลือกโกโก้ที่สกัดได้ด้วยวิธีต่าง ๆ ได้แก่ วิธีทางเคมี วิธีคลื่นอัลตราซาวด์ช่วยสกัด และวิธีทางเอนไซม์ โดยวัดการเจริญเติบโตของเชื้อ *L. acidophilus* TISTR 2365 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ที่ผสม 1% w/v เพกทินจากการสกัดด้วยวิธีต่าง ๆ และอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ที่ผสม 1% w/v กลูโคส และวัดการเจริญเติบโตของเชื้อ *E. coli* TISTR 117 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ M9 Minimal Medium Salt (5X) ที่ผสม 1% w/v เพกทินจากการสกัดด้วยวิธีต่าง ๆ และอาหารเลี้ยงเชื้อ M9 Minimal Medium Salt (5X) ที่ผสม 1% w/v กลูโคส วัดการเจริญเติบโตของเชื้อที่ 0 และ 24 ชั่วโมง เพื่อนำมาคำนวณค่าพรีไบโอติกแอกทิวิตี (prebiotic activity score) ดังแสดงในตารางที่ 6 พบว่า เพกทินจากเปลือกโกโก้ที่สกัดได้ด้วยวิธีทางเคมี วิธีคลื่นอัลตราซาวด์ช่วยสกัด และวิธีทางเอนไซม์ มีค่าพรีไบโอติกแอกทิวิตี เท่ากับ 0.03±0.01 0.32±0.03 และ 0.16±0.03 ตามลำดับ โดยเพกทินที่สกัดด้วยวิธีคลื่นอัลตราซาวด์ช่วยสกัดมีค่าพรีไบโอติกแอกทิวิตีสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) นอกจากนี้เพกทินที่สกัดได้จากทุกวิธี

การสกัดมีค่าแอกทิวิตีเป็นบวก แสดงว่าเพกทินจากเปลือกโกโก้มีคุณสมบัติในการเป็นพรีไบโอติก (นัชชา และคณะ, 2562) การสกัดเพกทินด้วยวิธีการสกัดที่ต่างกัน ส่งผลให้โครงสร้างทางเคมีของโมเลกุลเพกทินต่างกัน ซึ่งส่งผลต่อคุณสมบัติความเป็นพรีไบโอติกและความจำเพาะต่อการไฮโดรไลซิสของเอนไซม์ในระบบเมแทบอลิซึมของแบคทีเรีย (Barrangou และคณะ, 2003) จากงานวิจัยของ Huebner และคณะ, (2008) ที่ศึกษาสมบัติการเป็นพรีไบโอติกของพรีไบโอติกทางการค้า (commercial prebiotics) ได้แก่ NutraFlora P-95, Raftilose P95, Inulin-S และ Raftiline HP พบว่า NutraFlora P-95, Raftilose P95, Inulin-S และ Raftiline HP มีค่าพรีไบโอติกแอกทิวิตีเท่ากับ 0.19±0.00 0.30±0.01 0.45±0.01 และ 0.42±0.01 ตามลำดับ และเมื่อทดสอบผลของอุณหภูมิ (85 องศาเซลเซียส) และค่า pH (pH 4.0) ต่อสมบัติการเป็นพรีไบโอติกพบว่าพรีไบโอติกทางการค้ามีค่าพรีไบโอติกแอกทิวิตีลดลง เท่ากับ 0.13±0.01 0.17±0.01 0.34±0.03 และ 0.36±0.04 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิ ค่า pH รวมถึงวิธีการสกัดส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีของเพกทิน และสมบัติการเป็นพรีไบโอติกของเพกทิน ซึ่งส่งผลต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

ตารางที่ 6 ค่าพรีไบโอติกแอกทิวิตีของเพกทินสกัดจากเปลือกโกโก้ด้วยวิธีต่าง ๆ

วิธีการสกัดเพกทินจากเปลือกโกโก้	ค่าพรีไบโอติกแอกทิวิตี (prebiotic activity score)
วิธีทางเคมี	0.03 ± 0.01^{c}
วิธีคลื่นอัลตราซาวด์ช่วยสกัด	0.32 ± 0.03^{a}
วิธีทางเอนไซม์	0.16 ± 0.03^{b}

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

จากการวิเคราะห์ความหนืดและสมบัติการเป็นพรีไบโอติกของเพกทินจากการสกัดด้วยวิธีต่าง ๆ จึงเลือกภาวะของการสกัดเพกทินจากเปลือกโกโก้ที่เหมาะสมที่สุด 1 ภาวะ โดยพิจารณาจากค่าความเป็นพรีไบโอติกที่มีมากที่สุด คือ เพกทินที่ได้จากการสกัดด้วยวิธีคลื่นอัลตราซาวด์ช่วยสกัด นอกจากนี้เพกทินที่สกัดได้จัดเป็นเพกทินประเภท HM pectin ซึ่งสามารถเกิดการเชื่อมกันของโมเลกุล โดยการสร้างพันธะไฮโดรเจน (hydrogen bond) และปฏิกิริยาไฮโดรโฟบิก (hydrophobic interaction) ระหว่างโมเลกุลเพกทิน และเกิดเป็นโครงสร้างที่สามารถป้องกันการซึมผ่านของแก๊ส (Thakur และคณะ, 1997) จึงใช้เพกทินจากภาวะการสกัดนี้ในการศึกษาการใช้เพกทินเป็นสารเคลือบบริโภคได้กับมะเขือเทศ และติดตามการเปลี่ยนแปลงคุณภาพด้านต่าง ๆ ดังนี้ การสูญเสียน้ำหนักของมะเขือเทศ ค่าความเป็นกรด-เบส ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด ค่าสี ความแน่นเนื้อ ปริมาณไลโคปีน ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (วิธี DPPH และ FRAP)

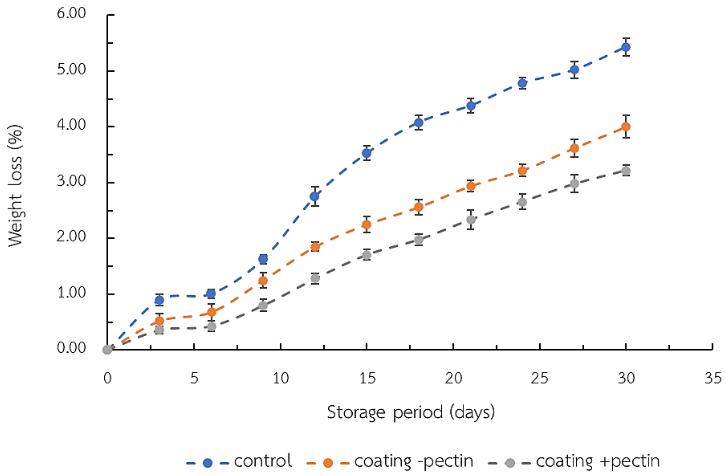
ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด และปริมาณยีสต์และรา โดยติดตามการเปลี่ยนแปลงทุก ๆ 3 วัน จนครบ 30 วัน

4.3 การศึกษาการใช้เพกทินเป็นสารเคลือบบริโภคได้

4.3.1 การสูญเสียน้ำหนัก (weight loss) ของผลมะเขือเทศ

การสูญเสียน้ำหนักเป็นปัจจัยในการกำหนดคุณภาพของมะเขือเทศหลังการเก็บเกี่ยว (Sogvar และคณะ, 2016) การสูญเสียน้ำหนักเกิดจากความแตกต่างของแรงดันไอน้ำระหว่างผิวของผลไม้กับสิ่งแวดล้อมโดยรอบ ส่งผลให้เกิดการสูญเสียความชื้นและน้ำหนัก รวมถึงความแน่นเนื้อของผลไม้ (Brasil และ Siddiqui, 2018) จากการศึกษาการใช้เพกทินเป็นสารเคลือบบริโภคได้กับมะเขือเทศ และติดตามการเปลี่ยนแปลงคุณภาพด้านต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ทุก ๆ 3 วัน เป็นเวลา 30 วัน พบว่ามะเขือเทศสูญเสียน้ำหนักเพิ่มขึ้นระหว่างการเก็บรักษา ดังแสดงในภาพที่ 40 โดยการลดลงของน้ำหนักมะเขือเทศเกิดจากการสูญเสียน้ำเนื่องจากการคายน้ำ ซึ่งสัมพันธ์กับกระบวนการเมแทบอลิซึม (metabolism) และการเสื่อมสภาพของผนังเซลล์ ส่งผลให้น้ำระเหยออกจากเซลล์พืชได้ง่ายขึ้น (Zhang และคณะ, 2017) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างตัวอย่างควบคุมและมะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ผสมเพกทินและไม่ผสมเพกทินพบว่า ตัวอย่างควบคุมมีการสูญเสียน้ำหนักเพิ่มขึ้นมากที่สุด และเมื่อสิ้นสุดเก็บเก็บรักษาในวันที่ 30 พบว่าตัวอย่างควบคุมมีการสูญเสียน้ำหนักมากที่สุด (ร้อยละ 5.43±0.16) รองลงมา คือ มะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ไม่ผสมเพกทิน (ร้อยละ 4.00±0.20) ในขณะที่มะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ผสมเพกทินมีการสูญเสียน้ำหนักน้อยที่สุด (ร้อยละ 3.22±0.09) เนื่องจากสารเคลือบบริโภคได้ผสมเพกทินเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ สามารถเกิดการสร้างพันธะไฮโดรเจนกับคิวทิเคล (cuticle) บนเปลือกของผลไม้ หรือระหว่างโมเลกุลของสารเคลือบบริโภคได้ผสมเพกทิน นอกจากนี้สามารถเกิดการสร้างพันธะไฮโดรเจนระหว่างหมู่เมทอกซิลของโมเลกุลเพกทินประเภท HM pectin และเกิดเป็นโครงสร้างที่มีลักษณะเป็นโครงข่ายพันธะไฮโดรเจน (hydrogen-bonded network) ซึ่งเป็นการกีดขวางและจำกัดการแลกเปลี่ยนแก๊ส นอกจากนี้สารเคลือบบริโภคได้ผสมเพกทินทำหน้าที่เป็นเยื่อกึ่งซึมผ่านได้ (semipermeable membrane) ส่งผลให้ลดการสูญเสียน้ำหนักในระหว่างกระบวนการเก็บรักษา (Arnon และคณะ, 2015) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kumar และ Saini, (2021) ที่ศึกษาการใช้เวย์โปรตีนไอโซเลต (whey protein isolate) ผสมแซนแทนกัม (xanthan gum) และน้ำมันกานพลู (clove oil) เป็นสารเคลือบบริโภคได้กับมะเขือเทศและพบว่าสารเคลือบบริโภคได้สามารถช่วยลดการสูญเสียน้ำหนักของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษาได้ นอกจากนี้ Aguilar และคณะ (2018) ที่ศึกษาผลของการใช้สารเคลือบบริโภคได้ที่ผสมไคโตซาน (chitosan) กับสตรอว์เบอร์รีและเก็บรักษาในกล่องพลาสติกที่อุณหภูมิ 5 และ 20 องศาเซลเซียส พบว่าตัวอย่าง

ควบคุมที่เก็บรักษาทั้งอุณหภูมิ 5 และ 20 องศาเซลเซียส มีการสูญเสียน้ำหนักมากที่สุด ในขณะที่สตรอว์เบอร์รีที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ผสมไคโตซานมีการสูญเสียน้ำหนักน้อยที่สุด เนื่องจากสารเคลือบบริโภคได้ผสมไคโตซานทำหน้าที่เป็นสารป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำและแก๊ส ซึ่งลดการสูญเสียน้ำจากการคายน้ำ (Khalifa และคณะ, 2016)



ภาพที่ 40 การสูญเสียน้ำหนักของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษา

4.3.2 ค่าความเป็นกรด-เบส (pH)

ค่า pH เป็นค่าที่บ่งบอกความเป็นกรดเบส ซึ่งมีผลต่อรสชาติและกลิ่นรสของผลไม้ จากการวัดค่า pH ระหว่างการเก็บรักษามะเขือเทศพบว่า ค่า pH ของมะเขือเทศทั้งตัวอย่างควบคุม มะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ผสมเพกทินและไม่ผสมเพกทิน มีค่าเพิ่มขึ้นระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ดังแสดงในตารางที่ 7 โดยค่า pH เริ่มต้นอยู่ในช่วง 3.85±0.01 ถึง 3.94±0.01 เมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษาในวันที่ 30 ตัวอย่างควบคุมมีค่า pH เพิ่มขึ้นมากที่สุดถึง 4.45±0.00 ในขณะที่มะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ไม่ผสมเพกทินและผสมเพกทิน มีค่า pH เท่ากับ 4.34±0.01 และ 4.26±0.01 ตามลำดับ การเพิ่มขึ้นของค่า pH เป็นผลมาจากการย่อยสลายกรดอินทรีย์ (organic acid) เพื่อใช้สำหรับกระบวนการเมแทบอลิซึมในระหว่างกระบวนการหายใจของพืช ส่งผลให้กรดอินทรีย์มีปริมาณลดลงและค่า pH เพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษา (Wu และคณะ, 2016) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Vignesh และ Bindu, (2019) ที่ศึกษาการใช้สารเคลือบบริโภคได้ที่มีส่วนผสมของเจลาติน (gelatin) ไคโตซาน และแป้งมันสำปะหลัง กับ

มะเขือเทศ และพบว่ามะเขือเทศ ที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้มีการเปลี่ยนแปลงของค่า pH น้อยที่สุด ในขณะที่ตัวอย่างควบคุมมีการเปลี่ยนแปลงของค่า pH มากที่สุดในระหว่างการเก็บรักษา

ตารางที่ 7 ค่าความเป็นกรดเบสของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษา

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	**ค่าความเป็นกรด-เบส**		
	ตัวอย่างควบคุม	**มะเขือเทศเคลือบสารเคลือบบริโภคได้ไม่ผสมเพกทิน**	**มะเขือเทศเคลือบสารเคลือบบริโภคได้ผสมเพกทิน**
0	3.94±0.01^{a}	3.94±0.00^{a}	3.85±0.01^{b}
3	3.99±0.01^{a}	3.97±0.01^{b}	3.91±0.01^{c}
6	4.03±0.01^{a}	3.99±0.01^{b}	3.95±0.01^{c}
9	4.08±0.01^{b}	4.12±0.01^{a}	4.04±0.01^{c}
12	4.11±0.00^{a}	4.13±0.02^{a}	4.07±0.01^{b}
15	4.19±0.01^{a}	4.18±0.01^{a}	4.11±0.01^{b}
18	4.27±0.01^{a}	4.21±0.01^{b}	4.14±0.01^{c}
21	4.30±0.01^{a}	4.25±0.01^{b}	4.17±0.01^{c}
24	4.34±0.01^{a}	4.28±0.01^{b}	4.20±0.01^{c}
27	4.40±0.01^{a}	4.30±0.01^{b}	4.23±0.01^{c}
30	4.45±0.00^{a}	4.34±0.01^{b}	4.26±0.01^{c}

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษรที่แตกต่างกัน ($^{a-c}$) หมายถึง ค่าเฉลี่ยของแต่ละแถวแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

4.3.3 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด

ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดใช้บ่งชี้ความเข้มข้นของของเหลว เช่น น้ำเชื่อมและน้ำผลไม้ ซึ่งเป็นผลรวมของของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ได้แก่ น้ำตาลชนิดต่าง ๆ เช่น น้ำตาลซูโครส น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลฟรักโทส รวมถึงกรดอินทรีย์ เช่น กรดซิตริกและกรดแลคติก และแร่ธาตุต่างๆ นอกจากนี้สามารถใช้ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดเป็นดัชนีวัดความแก่และอ่อน (maturity index) ของและผักผลไม้ ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดของมะเขือเทศเริ่มต้นอยู่ในช่วง 3.67±0.06 ถึง 3.73±0.06 ดังแสดงในตารางที่ 8 และมีค่าเพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษา เมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษา ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดในตัวอย่างควบคุม มะเขือเทศที่เคลือบ

สารเคลือบบริโภคได้ไม่ผสมเพกทิน และมะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ผสมเพกทิน มีค่าเพิ่มขึ้นเป็น 5.77±0.06 5.40±0.00 และ 5.10±0.00 ตามลำดับ โดยตัวอย่างควบคุมมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดเพิ่มขึ้นมากที่สุด ในขณะที่มะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ผสมเพกทินมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดเพิ่มขึ้นน้อยที่สุด เนื่องจากสารเคลือบ บริโภคได้ลดการผลิตเอทิลีน ลดอัตราการหายใจ และชะลอการสังเคราะห์สารเมแทบอไลต์ (metabolites) ซึ่งทำให้ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดมีค่าต่ำ นอกจากนี้สารเคลือบบริโภคได้ทำหน้าที่เป็นฟิล์มกึ่งซึมผ่าน (semi-permeable film) ส่งผลให้เกิดการปรับเปลี่ยนสภาพแวดล้อมภายในผลไม้โดยการลดปริมาณออกซิเจนและเพิ่มการผลิตคาร์บอนไดออกไซด์ (Kumar และ Saini, 2021) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Yan และคณะ, (2019) ที่ศึกษาผลของสารเคลือบบริโภคได้ผสมไคโตซานต่อคุณภาพและสารเมแทบอไลต์ของสตรอว์เบอร์รีระหว่างการเก็บรักษา และพบว่าสารเคลือบบริโภคได้มีประสิทธิภาพในการลดการสูญเสียน้ำและความแน่นเนื้อ รวมถึงชะลอการเพิ่มขึ้นของปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดและปริมาณกรดทั้งหมด (total acidity content)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 8 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษา

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (^{o}Brix)		
	ตัวอย่างควบคุม	มะเขือเทศเคลือบสารเคลือบบริโภคได้ไม่ผสมเพกทิน	มะเขือเทศเคลือบสารเคลือบบริโภคได้ผสมเพกทิน
0	3.73±0.06^{a}	3.67±0.06^{a}	3.70±0.00^{a}
3	4.37±0.06^{a}	3.90±0.00^{b}	3.80±0.00^{c}
6	4.50±0.00^{a}	4.30±0.00^{b}	4.13±0.06^{c}
9	4.63±0.06^{a}	4.40±0.00^{b}	4.30±0.00^{c}
12	4.83±0.06^{a}	4.67±0.06^{b}	4.47±0.06^{c}
15	5.17±0.06^{a}	4.87±0.06^{b}	4.67±0.06^{c}
18	5.37±0.06^{a}	4.97±0.06^{b}	4.73±0.00^{c}
21	5.43±0.06^{a}	5.10±0.00^{b}	4.87±0.06^{c}
24	5.60±0.00^{a}	5.23±0.06^{b}	4.93±0.06^{c}
27	5.67±0.06^{a}	5.30±0.00^{b}	5.03±0.06^{c}
30	5.77±0.06^{a}	5.40±0.00^{b}	5.10±0.00^{c}

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษรที่แตกต่างกัน ($^{a-c}$) หมายถึง ค่าเฉลี่ยของแต่ละแถวแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

4.3.4 ค่าสี

สี (color) เป็นตัวบ่งชี้คุณภาพที่สำคัญของมะเขือเทศ และเป็นปัจจัยสำคัญในการเลือกซื้อสินค้า แสดงถึงความสดใหม่รสชาติ และคุณภาพของผักผลไม้ การประเมินสีและการวัดค่าสีจึงเป็นกระบวนการที่สำคัญสำหรับอุตสาหกรรมอาหาร การเปลี่ยนแปลงสีเป็นสัญญาณที่บ่งบอกถึงการสุกที่เกิดขึ้น เนื่องจากผลของเอทิลีนที่เร่งการผลิตไลโคปีนในภาวะที่มีออกซิเจน (Vunnam และคณะ, 2014) นอกจากนี้การเกิดสีน้ำตาลที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ (enzymatic browning) เป็นสาเหตุสำคัญของการเสื่อมคุณภาพของผลไม้ ซึ่งเกิดจากเอนไซม์เพอร์ออกซิเดส (peroxidase) และพอลิฟีนอลออกซิเดส (polyphenol oxidase) การเปลี่ยนแปลงสีของมะเขือเทศแสดงให้เห็นโดยค่า L* a* b* และ ∆E ดังแสดงในตารางที่ 9 ค่า L* คือ ระดับความเข้มของความสว่างและความมืด (จากสีขาวเป็นสีดำ) a* คือ ความแตกต่างของสีแดงและสีเขียว b* คือ ความแตกต่างของสีน้ำเงินและสีเหลือง และ ∆E คือ ค่าความแตกต่างของสี โดยค่า L* เริ่มต้นอยู่ในช่วง 44.65±0.37 ถึง

44.91±1.04 และมีค่าลดลงในระหว่างการเก็บรักษา เมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษาในวันที่ 30 พบว่าตัวอย่างควบคุมมีค่า L* ลดลงมากที่สุดเท่ากับ 30.81±0.09 ในขณะที่มะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ไม่ผสมเพกทินและผสมเพกทินมีค่า L* เท่ากับ 33.09±0.08 และ 36.57±0.09 ตามลำดับ การลดลงของความสว่างเห็นได้ชัดในตัวอย่างควบคุม ดังนั้นมะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้มีความสว่างมากกว่าตัวอย่างควบคุม และมะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ผสมเพกทินมีความสว่างมากที่สุด สำหรับค่า a* เริ่มต้นอยู่ในช่วง 20.56±0.20 ถึง 20.89±0.01 เมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษาในวันที่ 30 พบว่าตัวอย่างควบคุมมีค่า a* สูงที่สุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 35.77±0.05 ในขณะที่มะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ไม่ผสมเพกทินและผสมเพกทินมีค่า a* เท่ากับ 33.85±0.08 และ 31.58±0.08 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าสารเคลือบบริโภคได้ผสมเพกทินมีผลต่อการรักษาการเปลี่ยนแปลงของสีในระหว่าง การเก็บรักษา นอกจากนี้ค่า b* เริ่มต้นอยู่ในช่วง 30.47±0.40 ถึง 30.74±0.03 และมีค่าลดลงในระหว่างการเก็บรักษา เมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษาในวันที่ 30 พบว่าตัวอย่างควบคุมมีค่า b* ลดลงมากที่สุด เท่ากับ 14.31±0.09 ในขณะที่มะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ไม่ผสมเพกทินและผสมเพกทินมีค่า b* เท่ากับ 16.24±0.08 และ 18.41±0.07 ตามลำดับ โดยมะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ผสมเพกทินมีค่า b* ลดลงน้อยที่สุด ซึ่งการลดลงของค่า b* เกิดจากการผลิตเม็ดสีแคโรทีนอยด์ในผลมะเขือเทศ (Palou และคณะ, 1999) นอกจากนี้ ΔE ของตัวอย่างควบคุมมีค่ามากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับมะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ผสมเพกทิน เมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษา ตัวอย่างควบคุมมีค่า ΔE เท่ากับ 25.97±0.07 ในขณะที่มะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ไม่ผสมเพกทินและผสมเพกทินมีค่า ΔE เท่ากับ 21.54±0.63 และ 18.48±0.13 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Athmaselvi และคณะ, (2013) ที่ศึกษาการใช้ว่านห่างจระเข้เป็นสารเคลือบบริโภคได้สำหรับมะเขือเทศ โดยพบว่าตัวอย่างควบคุม (มะเขือเทศไม่เคลือบว่านห่างจระเข้) เสื่อมสภาพอย่างรวดเร็ว โดยมีการสูญเสียมวล การเปลี่ยนแปลงของสี และสุกเร็วขึ้น ในขณะที่มะเขือเทศที่เคลือบด้วยว่านห่างจระเข้สูญเสียมวลน้อย มีการเปลี่ยนแปลงของสีน้อย และสุกช้าลง แสดงให้เห็นว่า การใช้สารเคลือบบริโภคได้ผสมว่านห่างจระเข้ช่วยชะลอการเปลี่ยนแปลงของสี รวมถึงยืดอายุการเก็บรักษาของมะเขือเทศได้

ตารางที่ 9 ค่า L*, a*, b* และ ΔE ของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษา

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	ตัวอย่างควบคุม	มะเขือเทศเคลือบสารเคลือบบริโภคได้ไม่ผสมเพกทิน	มะเขือเทศเคลือบสารเคลือบบริโภคได้ผสมเพกทิน
	L*		
0	44.65±0.37^{a}	44.91±1.04^{a}	44.82±0.16^{a}
3	43.84±0.04^{b}	44.63±0.03^{a}	44.69±0.37^{a}
6	42.43±0.10^{b}	42.55±0.36^{b}	44.52±0.61^{a}
9	42.48±0.07^{b}	40.32±0.31^{c}	43.34±0.64^{a}
12	40.61±0.38^{b}	39.67±0.64^{c}	42.60±0.32^{a}
15	36.90±0.39^{c}	39.25±0.05^{b}	41.71±0.13^{a}
18	36.16±0.34^{c}	38.92±0.15^{b}	41.14±0.19^{a}
21	34.95±0.07^{c}	37.95±0.06^{b}	40.06±0.07^{a}
24	33.81±0.09^{c}	36.95±0.10^{b}	39.57±0.09^{a}
27	32.34±0.11^{c}	35.12±0.10^{b}	38.13±0.05^{a}
30	30.81±0.09^{c}	33.09±0.08^{b}	36.57±0.09^{a}
	a*		
0	20.89±0.01^{a}	20.75±0.05^{ab}	20.56±0.20^{b}
3	23.56±0.18^{a}	22.56±0.37^{b}	21.99±0.50^{b}
6	25.59±0.10^{a}	24.87±0.62^{a}	23.72±0.17^{b}
9	28.38±0.26^{a}	27.17±0.70^{b}	25.06±0.09^{c}
12	29.89±0.21^{a}	28.77±0.21^{a}	25.77±0.97^{b}
15	31.69±0.13^{a}	29.98±0.03^{b}	27.21±0.07^{c}
18	32.07±0.15^{a}	30.06±0.10^{b}	27.61±0.14^{c}
21	32.75±0.16^{a}	30.59±0.07^{b}	28.21±0.08^{c}
24	33.88±0.12^{a}	31.11±0.10^{b}	29.01±0.11^{c}
27	34.95±0.07^{a}	32.40±0.08^{b}	30.13±0.05^{c}
30	35.77±0.05^{a}	33.85±0.08^{b}	31.58±0.08^{c}
	b*		
0	30.47±0.40^{a}	30.71±0.43^{a}	30.74±0.03^{a}

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

3	27.27±0.28^{b}	29.34±0.41^{a}	29.52±0.57^{a}
6	25.20±0.29^{c}	27.13±0.32^{b}	28.75±0.56^{a}
9	22.78±0.23^{b}	26.54±0.43^{a}	26.63±0.40^{a}
12	21.16±0.33^{b}	26.17±0.79^{a}	25.13±0.68^{a}
15	19.23±1.08^{b}	20.23±0.27^{b}	22.07±0.23^{a}
18	18.99±0.50^{c}	19.66±0.15^{b}	21.84±0.17^{a}
21	18.21±0.15^{c}	18.92±0.50^{b}	21.12±0.10^{a}
24	17.43±0.06^{c}	18.11±0.09^{b}	20.27±0.07^{a}
27	16.81±0.09^{c}	17.87±0.09^{b}	19.47±0.13^{a}
30	14.31±0.09^{c}	16.24±0.08^{b}	18.41±0.07^{a}
		ΔE	
0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
3	4.28±0.12^{a}	2.46±0.29^{b}	2.02±0.25^{b}
6	7.42±0.26^{a}	6.08±0.15^{b}	4.66±0.33^{c}
9	10.96±0.21^{a}	8.75±0.71^{b}	6.28±0.50^{c}
12	13.58±0.29^{a}	10.65±0.20^{b}	7.98±0.47^{c}
15	17.42±0.30^{a}	15.09±0.30^{b}	11.36±0.09^{c}
18	18.14±0.17^{a}	16.77±0.21^{b}	11.94±0.35^{c}
21	19.62±0.16^{a}	15.44±0.49^{b}	13.19±0.03^{c}
24	21.36±0.20^{a}	16.76±0.57^{b}	14.44±0.04^{c}
27	23.15±0.14^{a}	18.95±0.56^{b}	16.23±0.08^{c}
30	25.97±0.07^{a}	21.54±0.63^{b}	18.48±0.13^{c}

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

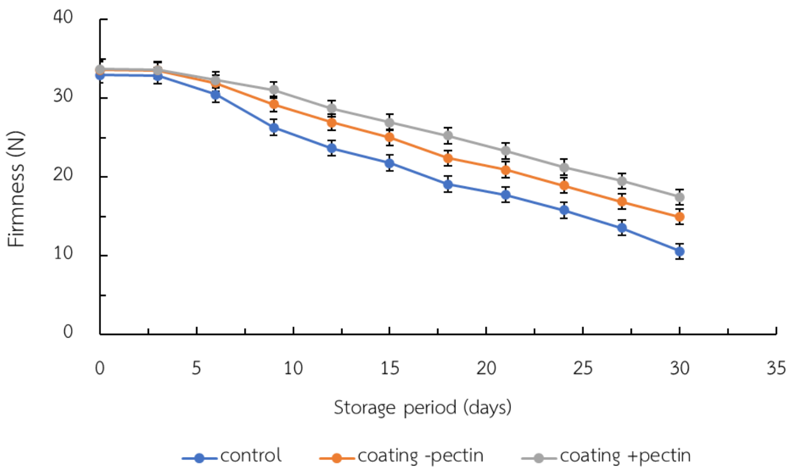
ตัวอักษรที่แตกต่างกัน ($^{a-c}$) หมายถึง ค่าเฉลี่ยของแต่ละแถวแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

4.3.5 ความแน่นเนื้อ

การอ่อนตัวลงของผลไม้เกิดจากการเสื่อมสภาพของโครงสร้างของเซลล์ องค์ประกอบของผนังเซลล์ และสารที่อยู่ระหว่างเซลล์ (Alenazi และคณะ, 2020) ปัจจัยหลักที่ส่งผลต่อความแน่นเนื้อ คือ การสูญเสียความชื้นและการสูญเสียมวล ความแน่นเนื้อเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อการยอมรับของผู้บริโภค และเป็นตัวบ่งชี้กิจกรรมของเอนไซม์พอลิกาแลคทูโรเนสและเพกทินเอสเทอเรส

ซึ่งเกี่ยวข้องโดยตรงกับการสลายตัวของเพกทินในผักและผลไม้ และทำให้องค์ประกอบของผนังเซลล์เสื่อมลง นอกจากนี้เฮมิเซลลูโลสสามารถถูกทำลายและเกิดพอลิเมอไรเซชันระหว่างการสุก นำไปสู่การสลายตัวของผนังเซลล์ (Changwal และคณะ, 2021) ความแน่นเนื้อเริ่มต้นของทุกตัวอย่างอยู่ในช่วง 32.982±0.38 ถึง 33.727±0.29 นิวตัน ดังแสดงในภาพที่ 41 โดยความแน่นเนื้อของตัวอย่างควบคุมมีค่าลดลงมากที่สุดในระหว่างการเก็บรักษา ในขณะที่มะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ผสมเพกทินมีความแน่นเนื้อลดลงน้อยที่สุด เมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษาในวันที่ 30 พบว่า ความแน่นเนื้อของตัวอย่างควบคุม มะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ไม่ผสมเพกทิน และมะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ผสมเพกทิน มีค่าลดลงเท่ากับ 10.553±0.48 14.948±0.11 และ 17.451±0.22 นิวตัน ตามลำดับ โดยมะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ผสมเพกทินมีความแน่นเนื้อมากที่สุดหลังสิ้นสุดการเก็บรักษา เนื่องจากสารเคลือบบริโภคได้ผสมเพกทินทำหน้าที่เป็นเยื่อกึ่งซึมผ่านได้ ซึ่งเป็นการจำกัดการแลกเปลี่ยนแก๊สออกซิเจน (oxygen, O_2) และคาร์บอนไดออกไซด์ (carbon dioxide, CO_2) ส่งผลให้ชะลอการเกิดกระบวนการเมแทบอลิซึม รวมถึงชะลอการทำงานของเอนไซม์ที่มีผลต่อการเสื่อมสภาพของโครงสร้างของผนังเซลล์ ได้แก่ พอลิกาแลคทูโรเนส บีตากาแลคโทซิเดส (beta-galactosidase) และเพกทินเอสเทอเรส ดังนั้นสารเคลือบบริโภคได้ผสมเพกทินสามารถชะลอการเสื่อมสภาพของผนังเซลล์ ลดการสูญเสียมวล รวมถึงลดการสูญเสียน้ำหนักของมะเขือเทศได้ (Thakur และคณะ, 2018) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Tanada-Palmu และ Grosso, (2005) ที่ศึกษาผลของฟิล์มเคลือบบริโภคได้จากกลูเตนข้าวสาลีต่อคุณภาพของสตรอว์เบอร์รีแช่เย็น (*Fragaria ananassa*) และเก็บรักษาเป็นเวลา 16 วัน ที่อุณหภูมิ 7 ถึง 10 องศาเซลเซียส พบว่าเมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษาสตรอว์เบอร์รีแช่เย็นที่เคลือบด้วยฟิล์มบริโภคได้จากกลูเตนข้าวสาลีมีความแน่นเนื้อสูงกว่าตัวอย่างควบคุม นอกจากนี้ Kumar และ Saini (2021) ที่ศึกษาการใช้เวย์โปรตีนไอโซเลตผสมแซนแทนกัม และน้ำมันกานพลู เป็นสารเคลือบบริโภคได้กับมะเขือเทศ และเก็บรักษาเป็นเวลา 15 วัน ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส พบว่าเมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษา ตัวอย่างควบคุมมีความแน่นเนื้อลดลงเหลือ 8.83 นิวตัน ในขณะที่มะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้มีความแน่นเนื้อลดลงเหลือ 14.63 นิวตัน แสดงให้เห็นว่า การเคลือบสารเคลือบบริโภคได้ช่วยรักษาความแน่นเนื้อของมะเขือเทศในระหว่างการเก็บรักษาได้

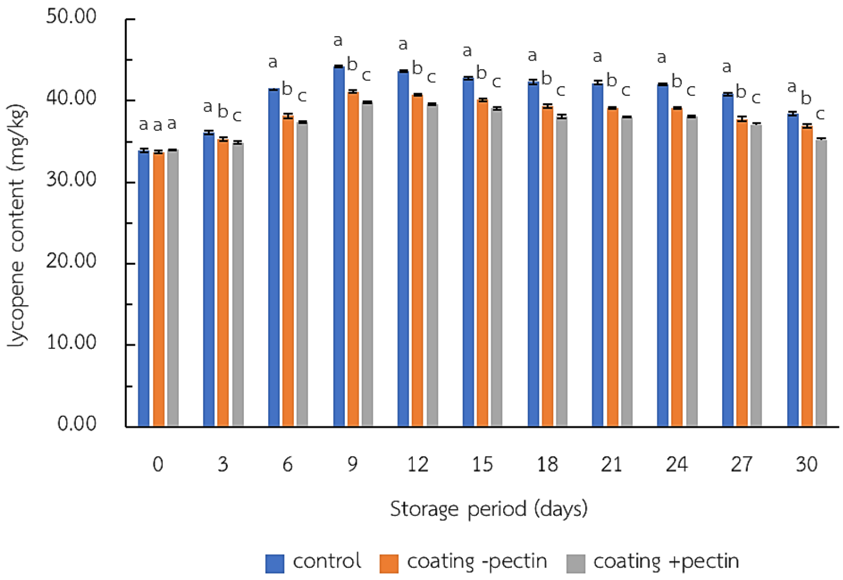


ภาพที่ 41 ความแน่นเนื้อของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษา

4.3.6 ปริมาณไลโคปีน

ไลโคปีนเป็นเม็ดสีแดง (red pigment) ซึ่งเป็นเม็ดสีหลักของมะเขือเทศ ปริมาณไลโคปีนมีค่าแตกต่างกันตามระยะการเจริญเติบโตและสภาพการเจริญเติบโต (Javanmardi and Kubota, 2006) ปริมาณไลโคปีนจะมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อการสุกเพิ่มขึ้น ส่งผลให้มะเขือเทศเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีแดง (Kaur และคณะ, 2006) ปริมาณไลโคปีนเริ่มต้นของทุกตัวอย่างอยู่ในช่วง 33.71±0.17 ถึง 33.98±0.06 mg/kg ดังแสดงในภาพที่ 42 ระหว่างการเก็บรักษาปริมาณไลโคปีนในตัวอย่างควบคุมมีค่าเพิ่มขึ้นเร็วกว่ามะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ และถึงระดับสูงสุดในวันที่ 9 ของการเก็บรักษา ซึ่งมีปริมาณไลโคปีนเท่ากับ 44.20±0.06 mg/kg ในขณะที่มะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ไม่ผสมเพกทินและมะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ผสมเพกทินมีปริมาณไลโคปีนเท่ากับ 41.13±0.17 และ 39.85±0.11 mg/kg ตามลำดับ โดยมะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ผสมเพกทินมีปริมาณไลโคปีนเพิ่มขึ้นน้อยที่สุด และมีการเปลี่ยนแปลงของปริมาณไลโคปีนน้อยที่สุดในระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งการเพิ่มขึ้นของปริมาณไลโคปีนมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของเอทิลีน ซึ่งเกี่ยวข้องกับการกระตุ้นเอนไซม์ lycopene synthase ในกระบวนการสังเคราะห์ไลโคปีนของมะเขือเทศ (Javanmardi and Kubota, 2006) นอกจากนี้มะเขือเทศเป็นผลไม้ที่สามารถบ่มให้สุกได้หรือเรียกว่า climacteric fruit ซึ่งมีอัตราการหายใจและการสังเคราะห์เอทิลีนเพิ่มขึ้นระหว่างกระบวนการสุกของผลไม้ และมีการสลายตัวของคลอโรฟิลล์ในระยะสุกเต็มที่ก่อให้เกิดการสะสมของสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ เช่น เบต้าแคโรทีนและไลโคปีน (Rabinowitch และคณะ, 1975) นอกจากนี้มะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ผสมเพกทินมีปริมาณไลโคปีนเพิ่มขึ้นน้อยกว่าตัวอย่างควบคุม เนื่องจากสารเคลือบบริโภคได้ผสมเพกทินจำกัดการแลกเปลี่ยนแก๊สและก่อให้เกิดการปรับเปลี่ยนบรรยากาศโดยรอบของมะเขือเทศให้กลายเป็นสภาวะกึ่งไร้อากาศ

(semi-anaerobic condition) ส่งผลให้กิจกรรมการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ลดลง ดังนั้นปริมาณการสังเคราะห์เอทิลีนและปริมาณไลโคปีนจึงมีค่าลดลง (Both และคณะ, 2016) เมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษาในวันที่ 30 ปริมาณไลโคปีนในตัวอย่างควบคุม มะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ไม่ผสมเพกทิน และมะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ผสมเพกทิน มีปริมาณไลโคปีนเท่ากับ 38.43±0.26 36.91±0.28 และ 35.17±0.30 mg/kg ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Khatri และคณะ, (2020) ที่ศึกษาประสิทธิภาพในการใช้เจลว่านหางจะเข้ผสมไคโตซานเป็นสารเคลือบบริโภคได้ในการยืดอายุการเก็บรักษาผลมะเขือเทศหลังการเก็บเกี่ยว และพบว่ามะเขือเทศที่เคลือบเจลว่านหางจะเข้ผสมไคโตซานปริมาณไลโคปีนค่อย ๆ เพิ่มขึ้น และเพิ่มขึ้นช้ากว่าตัวอย่างควบคุม เนื่องจากการเคลือบด้วยช่วยชะลอกระบวนการสุกและการแลกเปลี่ยนแก๊สของผลมะเขือเทศ



CHULALONGKORN UNIVERSITY

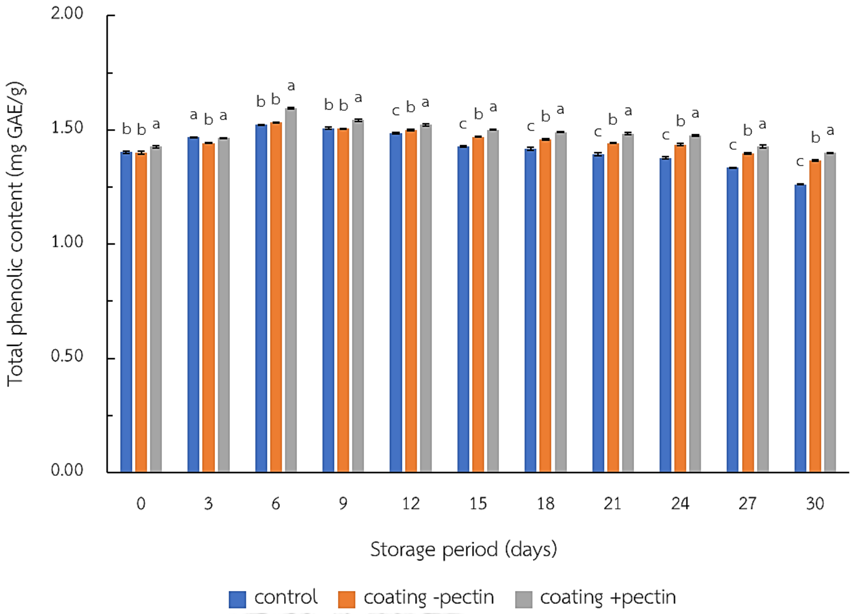
ภาพที่ 42 ปริมาณไลโคปีนในมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษา

4.3.7 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารประกอบที่มีหมู่ฟีนอลและเป็นองค์ประกอบสำคัญของพืช สารประกอบฟีนอลิกจัดเป็นสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิที่พบมากที่สุดในพืช มีบทบาทสำคัญในการสร้างเม็ดสี การพัฒนาของพืช และการป้องกันพืชจากเชื้อโรค (pathogen) นอกจากนี้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกขึ้นอยู่กับชนิดและสายพันธุ์พืช สภาพแวดล้อม และอุณหภูมิ (Kumar และ Saini, 2021) ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในมะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้เพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัดในช่วงแรกของการเก็บรักษา ดังแสดงภาพที่ 43 โดยเฉพาะมะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ผสมเพกทินปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมีค่าเพิ่มขึ้นสูงสุดถึง 1.596±0.00

mg GAE/g ในวันที่ 6 ของการเก็บรักษา ในขณะที่ตัวอย่างควบคุมมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 1.522±0.00 mg GAE/g เนื่องจากสารเคลือบก่อให้เกิดความเครียดจากปัจจัยทางกายภาพ (abiotic stress) ซึ่งสอดคล้องกับการผลิตสารทุติยภูมิเพิ่มขึ้นในผลไม้ (Dávila-Aviña และคณะ, 2014) หลังจากวันที่ 6 ของการเก็บรักษา ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของทุกตัวอย่างมีค่าลดลง เนื่องจากอัตราการหายใจสูงขึ้นในระหว่างการเก็บรักษา โดยตัวอย่างควบคุมมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกลดลงอย่างเห็นได้ชัด เมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษาในวันที่ 30 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในตัวอย่างควบคุมมีค่าลดลงเท่ากับ 1.262±0.00 mg GAE/g ในขณะที่มะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ไม่ผสมเพกทินและผสมเพกทินมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 1.366±0.00 และ 1.400±0.00 mg GAE/g ตามลำดับ โดยมะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ผสมเพกทินมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Khaliq และคณะ, (2019) ที่ศึกษาผลของการเคลือบเจลว่านหางจระเข้ที่อุดมด้วยสารสกัดของ *Fagonia indica* ต่อสมบัติทางเคมีและกายภาพของผลละมุด (sapodilla fruit) หลังการเก็บเกี่ยว และพบว่าการเคลือบเจลว่านหางจระเข้ช่วยรักษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของผลละมุดในระหว่างการเก็บรักษาได้ นอกจากนี้ Sucheta และคณะ, (2019) ที่ศึกษาผลของการใช้สารเคลือบบริโภคได้ที่มีส่วนผสมของเพกทิน แป้งข้าวโพด และผงบีทรูท พบว่า การเคลือบมะเขือเทศด้วยสารเคลือบบริโภคได้ที่มีส่วนผสมของเพกทิน แป้งข้าวโพด และผงบีทรูท ช่วยรักษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในมะเขือเทศได้ดีกว่าตัวอย่างควบคุม ส่งผลให้มะเขือเทศที่สารเคลือบบริโภคได้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงหลังจากสิ้นสุดการเก็บรักษา

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

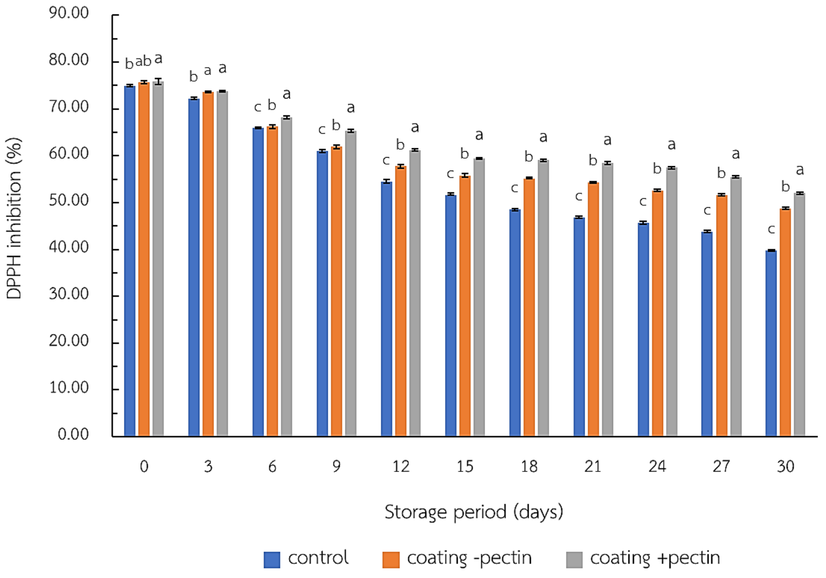


ภาพที่ 43 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษา

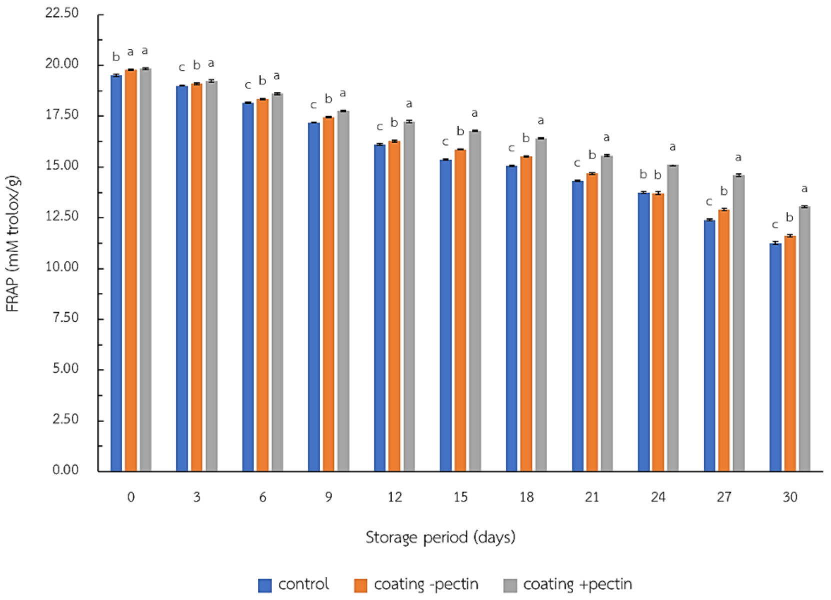
4.3.8 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) และวิธี ferric ion reducing antioxidant power (FRAP)

จากการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (ภาพที่ 44) และ FRAP (ภาพที่ 45) ของตัวอย่างควบคุม มะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ไม่ผสมเพกทิน และมะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ผสมเพกทินระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่า ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH เริ่มต้นอยู่ในช่วงร้อยละ 74.97±0.24 ถึง 75.84±0.61 และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP เริ่มต้นอยู่ในช่วง 19.52±0.06 ถึง 19.83±0.06 mM trolox/g ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของทุกตัวอย่างมีค่าลดลงในระหว่างการเก็บรักษา เมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษาในวันที่ 30 ตัวอย่างควบคุมมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระลดลงมากที่สุด โดยลดลงจากร้อยละ 74.97±0.24 เหลือร้อยละ 39.77±0.23 สำหรับวิธี DPPH และลดลงจาก 19.52±0.06 เป็น 11.26±0.07 mM trolox/g สำหรับวิธี FRAP ในขณะที่มะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ไม่ผสมเพกทินมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระลดลงจากร้อยละ 75.68±0.31 เหลือร้อยละ 48.72±0.29 สำหรับวิธี DPPH และลดลงจาก 19.79±0.02 เป็น 11.62±0.06 mM trolox/g สำหรับวิธี FRAP และสำหรับมะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ผสมเพกทินมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระลดลงน้อยที่สุดในระหว่างการเก็บรักษา โดยมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระลดลงจากร้อยละ 75.84±0.61 เหลือร้อยละ 52.04±0.37 สำหรับวิธี DPPH และลดลงจาก 19.83±0.06 เป็น 13.05±0.04 mM trolox/g สำหรับวิธี FRAP ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในมะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ผสม

เพกทินมีการเปลี่ยนแปลงน้อยที่สุด เนื่องจากการเคลือบช่วยชะลอการชราภาพหรือการเสื่อมสลายของเนื้อเยื่อพืช (senescence) ในระหว่างการเก็บรักษา (Mohamed และคณะ, 2017) ส่งผลให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมีการเปลี่ยนแปลงน้อยกว่าตัวอย่างควบคุม แสดงให้เห็นว่าการใช้สารเคลือบบริโภคได้ผสมเพกทินช่วยชะลอการลดลงของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของมะเขือเทศได้ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sucheta และคณะ, (2019) ที่ศึกษาผลของการใช้สารเคลือบบริโภคได้ที่มีส่วนผสมของแป้งข้าวโพด เพกทินทางการค้า และผงบีทรูท เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาของมะเขือเทศ โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระทุก ๆ 5 วัน เป็นเวลา 30 วัน และพบว่า ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของมะเขือเทศมีค่าลดลงอย่างต่อเนื่องหลังจากเก็บรักษาเป็นเวลา 10 วัน โดยตัวอย่างควบคุมมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระลดลงมากที่สุด และมะเขือเทศที่สารเคลือบบริโภคได้มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระลดลงน้อยกว่าตัวอย่างควบคุม แสดงให้เห็นว่าสารเคลือบบริโภคได้ที่มีส่วนผสมของแป้งข้าวโพด เพกทินทางการค้า และผงบีทรูท สามารถชะลอการลดลงของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในมะเขือเทศได้



ภาพที่ 44 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษา



ภาพที่ 45 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษา

4.3.9 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (total viable count) และปริมาณยีสต์และรา (yeast and mold count)

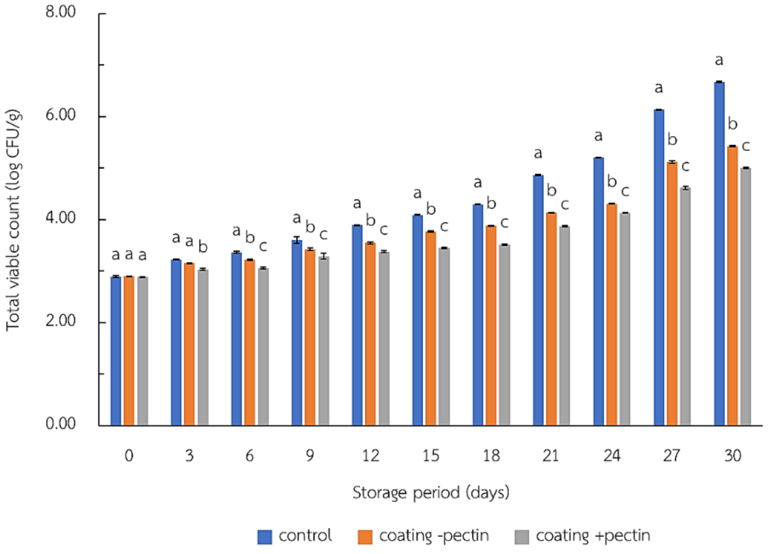
การเสื่อมเสียของอาหาร (food spoilage) มีสาเหตุหลัก คือ จุลินทรีย์ ได้แก่ แบคทีเรีย รา และยีสต์ (บุษกร, 2545) ซึ่งเกิดการปนเปื้อนและเพิ่มจำนวนขึ้นในอาหาร ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ ได้แก่ กลิ่นและรสผิดปกติ เช่น กลิ่นเหม็นเปรี้ยว กลิ่นแอลกอฮอล์ และกลิ่นแก๊สไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) เกิดฟองแก๊ส และการเปลี่ยนแปลงของสี ซึ่งแบคทีเรียบางชนิดสามารถสร้างรงควัตถุได้ เช่น แคโรทีนอยด์และแบคทิริโอคลอโรฟิลล์ (bacteriochlorophyll) การเปลี่ยนแปลงเหล่านี้ทำให้คุณภาพของอาหารเปลี่ยนไปจนไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค นอกจากนี้การเสื่อมเสียของอาหารเนื่องจากจุลินทรีย์มักเกิดกับอาหารที่มีความชื้นสูงหรือเป็นอาหารที่มีองค์ประกอบเป็นแหล่งอาหารสำหรับจุลินทรีย์ และอาจเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคหากเป็นการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรค (pathogen) ซึ่งก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ (food poisoning)

จากการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของมะเขือเทศที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน พบว่า ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของตัวอย่างควบคุม มะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ไม่ผสมเพกทิน และมะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ผสมเพกทินมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเริ่มต้นอยู่ในช่วง 2.88±0.01 ถึง 2.90±0.00 log CFU/g (ภาพที่ 46) และในระหว่างเก็บรักษา ตัวอย่างควบคุมมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นสูงกว่ามะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ทั้งไม่ผสมเพกทินและผสมเพกทิน และมะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้

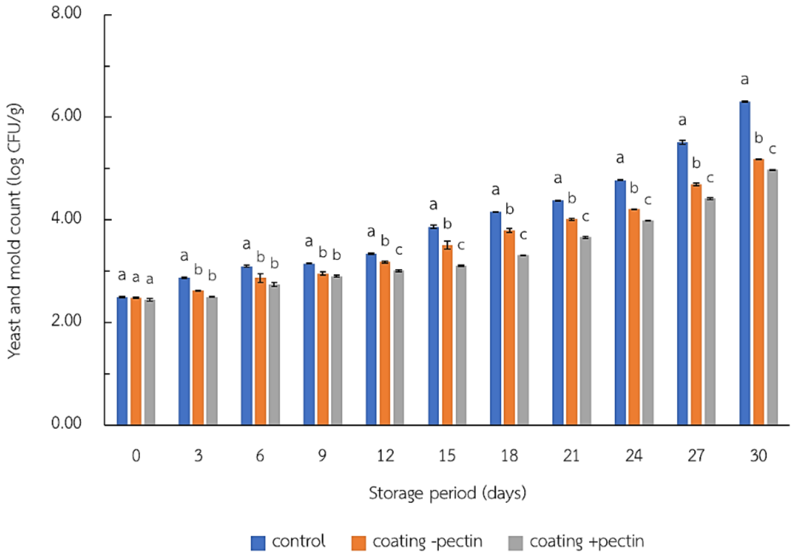
ผสมเพกทินมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นน้อยที่สุด เมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษาในวันที่ 30 ตัวอย่างควบคุมมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดมากที่สุด ซึ่งมีปริมาณเท่ากับ 6.68±0.01 log CFU/g ในขณะที่มะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ไม่ผสมเพกทินและผสมเพกทิน มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเท่ากับ 5.43±0.01 และ 5.00±0.01 log CFU/g ตามลำดับ โดยมะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ผสมเพกทินมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดน้อยที่สุด เนื่องจากสารเคลือบบริโภคได้ผสมเพกทินจำกัดปัจจัยในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ได้แก่ ออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ (Ghorbani และคณะ, 2021) รวมถึงสารเคลือบบริโภคได้ผสมเพกทินมีส่วนผสมของโพแทสเซียมซอร์เบต (potassium sorbate) ซึ่งเป็นวัตถุเจือปนอาหาร (food additive) และใช้เป็นสารกันเสีย (preservative) นอกจากนี้มีส่วนผสมของกรดสเตียริก (stearic acid) ซึ่งเป็นกรดไขมันและไม่ละลายในน้ำ จึงสามารถป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำ ซึ่งเป็นปัจจัยสำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Vieira และคณะ, (2016) ที่ศึกษาการใช้สารเคลือบบริโภคได้ไคโตซานผสมสารสกัดจากว่านหางจระเข้ต่อคุณภาพของผลบลูเบอร์รี (blueberry) หลังการเก็บเกี่ยว และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส โดยพบว่าผลบลูเบอร์รีที่เคลือบด้วยสารเคลือบบริโภคได้มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นน้อยกว่าตัวอย่างควบคุม นอกจากนี้งานวิจัยของ Amarillas และคณะ, (2018) ที่ศึกษาผลของสารเคลือบบริโภคได้ที่มีไคโตซานผสมกับไลติกแบคทีเรียโอเฟจ (lytic bacteriophage) ต่อเชื้อ *Escherichia coli* O157:H7 บนผิวมะเขือเทศ พบว่า สารเคลือบที่รับประทานได้ที่มีไคโตซานผสม lytic bacteriophage มีผลทำให้ระดับการเจริญของแบคทีเรียลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม แสดงให้เห็นว่าสารเคลือบบริโภคได้มีศักยภาพในการเพิ่มความปลอดภัยของอาหารระหว่างการเก็บรักษา เมื่อพิจารณาอายุการเก็บรักษาของมะเขือเทศพบว่ามะเขือเทศที่มีปริมาณจุลินทรีย์มากกว่า 5 log CFU/g จะเกิดการเน่าเสียอย่างเห็นได้ชัด ซึ่งจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย ได้แก่ *Aeromonas veronii, Bacillus* sp., *Neisseria* sp., *Pseudomonas fluorescens* เป็นต้น (Agbabiaka และคณะ, 2015) ดังนั้นตัวอย่างควบคุม มะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ไม่ผสมเพกทิน และมะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ผสมเพกทินมีอายุการเก็บประมาณ 21 วัน (4.87±0.01 log CFU/g) 24 วัน (4.31±0.01 log CFU/g) และ 27 วัน (4.62±0.04 log CFU/g) ตามลำดับ

จากการวิเคราะห์ปริมาณยีสต์และราของมะเขือเทศที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 วัน พบว่าปริมาณยีสต์และราของตัวอย่างควบคุม มะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ไม่ผสมเพกทินและมะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ผสมเพกทิน มีปริมาณยีสต์และราเริ่มต้นอยู่ในช่วง 2.44±0.02 ถึง 2.49±0.01 log CFU/g (ภาพที่ 47) ในระหว่างเก็บรักษาตัวอย่างควบคุมมีปริมาณยีสต์และราเพิ่มขึ้นสูงกว่ามะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ทั้งไม่ผสมเพกทินและผสมเพกทิน เมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษาในวันที่ 30 ตัวอย่างควบคุมมีปริมาณยีสต์และรามากที่สุด

ซึ่งมีปริมาณเท่ากับ 6.30±0.01 log CFU/g ในขณะที่มะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ไม่ผสมเพกทินและผสมเพกทินมีปริมาณยีสต์และราเท่ากับ 5.18±0.01 และ 4.98±0.00 log CFU/g ตามลำดับ โดยมะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ผสมเพกทินมีปริมาณยีสต์และราเพิ่มขึ้นน้อยที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sheikh และคณะ, (2021) ที่ศึกษาผลของการใช้สารเคลือบบริโภคได้ที่ผลิตจากการผสมไคโตซานและน้ำมันหอมระเหยเปลือกส้มหวานต่อผลมะเขือเทศสด และพบว่า สารเคลือบบริโภคได้สามารถจำกัดการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus* spp. และ *Penicillium* spp. ในผลมะเขือเทศสดได้ นอกจากนี้ Salas-Mendez และคณะ, (2019) ที่ศึกษาการใช้สารเคลือบบริโภคได้นาโนลามิเนตผสมสารสกัดจาก *Flourensia cernua* กับผลมะเขือเทศ พบว่าสารเคลือบบริโภคได้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการแพร่กระจายของเชื้อรา ยีสต์ และจุลินทรีย์ที่ใช้ออกซิเจน (aerobic microorganisms) ในผลมะเขือเทศ



ภาพที่ 46 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษา



ภาพที่ 47 ปริมาณยีสต์และราของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษา

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาวิธีการสกัดเพกทินจากเปลือกโกโก้ ได้แก่ วิธีทางเอนไซม์ วิธีทางเคมี และวิธีคลื่นอัลตราซาวด์ช่วยสกัด และวิเคราะห์สมบัติของเพกทินที่สกัดได้ พบว่าภาวะที่สามารถสกัดปริมาณเพกทินได้มากที่สุดจากวิธีทางเคมี คือ การสกัดด้วยสารละลาย pH 4.0 และอุณหภูมิในการสกัด 70 องศาเซลเซียส โดยที่ภาวะนี้สามารถสกัดได้ปริมาณเพกทินร้อยละ 7.78±0.41 มีระดับของเอสเทอริฟิเคชันร้อยละ 75.83±0.97 และปริมาณกรดกาแลคทูโรนิก 25.21±0.77 μg/mL ในขณะที่ภาวะที่สามารถสกัดปริมาณเพกทินได้มากที่สุดจากวิธีทางเอนไซม์ คือ การสกัดด้วยปริมาณเอนไซม์ 1.0% v/v อุณหภูมิในการบ่ม 60 องศาเซลเซียส และเวลาในการบ่ม 240 นาที โดยภาวะนี้สามารถสกัดได้ปริมาณเพกทินร้อยละ 24.38±0.15 มีระดับของเอสเทอริฟิเคชันร้อยละ 87.87±0.12 และปริมาณกรดกาแลคทูโรนิก 49.78±0.56 μg/mL และภาวะที่สามารถสกัดปริมาณเพกทินได้มากที่สุดจากวิธีคลื่นอัลตราซาวด์ช่วยสกัด คือ การสกัดด้วยระยะเวลาโซนิเคชัน 20 นาที ได้ปริมาณเพกทินร้อยละ 14.87±0.19 มีระดับของเอสเทอริฟิเคชันร้อยละ 85.08±0.57 และปริมาณกรดกาแลคทูโรนิก 16.44±0.37 μg/mL ซึ่งเพกทินที่สกัดจากเปลือกโกโก้ทุกภาวะมีระดับเอสเทอริฟิเคชันมากกว่า 50% ดังนั้นจึงจัดเป็น high methoxyl (HM) pectin โดยสมบัติการเป็นพรีไบโอติกและค่าความหนืดของเพกทินที่ได้จากภาวะที่สามารถสกัดเพกทินได้มากที่สุดของแต่ละวิธีการสกัด พบว่าเพกทินจากเปลือกโกโก้ที่สกัดได้ด้วยวิธีทางเคมี วิธีคลื่นอัลตราซาวด์ช่วยสกัด และวิธีทางเอนไซม์ มีค่าพรีไบโอติกแอกทิวิตี เท่ากับ 0.03±0.01 0.32±0.03 และ 0.16±0.03 ตามลำดับ โดยเพกทินที่สกัดด้วยวิธีคลื่นอัลตราซาวด์ช่วยสกัดมีค่าพรีไบโอติกแอกทิวิตีสูงที่สุด ในขณะที่การเพิ่มอัตราเฉือนส่งผลให้ความหนืดของเพกทินที่สกัดด้วยวิธีทางเอนไซม์มีค่าลดลงมากที่สุด รองลงมา คือ วิธีคลื่นอัลตราซาวด์ช่วยสกัดและวิธีทางเคมี ตามลำดับ

จากการใช้เพกทินที่สกัดด้วยวิธีคลื่นอัลตราซาวด์ช่วยสกัดมาประยุกต์ใช้เป็นสารเคลือบบริโภคได้กับมะเขือเทศ และติดตามการเปลี่ยนแปลงของมะเขือเทศที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ทุก ๆ 3 วัน เป็นเวลา 30 วัน โดยเปรียบกับตัวอย่างควบคุมและมะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ไม่ผสมเพกทิน พบว่าตัวอย่างควบคุมมีน้ำหนักลดลงมากที่สุด เท่ากับร้อยละ 5.43±0.16 และมะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ผสมเพกทินมีน้ำหนักลดลงน้อยที่สุด เท่ากับร้อยละ 3.22±0.09 เมื่อเก็บอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน ในขณะที่ค่า pH ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด และค่าสีของมะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ผสมเพกทินมีการเปลี่ยนแปลงน้อยที่สุด รวมถึงความแน่นเนื้อ และพบว่าปริมาณไลโคปีนของ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตัวอย่างควบคุมมีปริมาณเพิ่มขึ้นเร็วกว่าตัวอย่างอื่น ๆ และเพิ่มขึ้นสูงสุดในวันที่ 9 ของการเก็บรักษา ซึ่งมีค่าเท่ากับ 44.20 mg/kg ในขณะที่ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระวิธี DPPH และ FRAP ของมะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ผสมเพกทินมีการเปลี่ยนแปลงน้อยที่สุดตลอดการเก็บรักษา นอกจากนี้ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด และปริมาณยีสต์และราของตัวอย่างควบคุมเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และมีปริมาณสูงกว่ามะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ โดยตัวอย่างควบคุม มะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ไม่ผสมเพกทิน และมะเขือเทศที่เคลือบสารเคลือบบริโภคได้ผสมเพกทินมีอายุการเก็บประมาณ 21 วัน 24 วัน และ 27 วัน ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่า การใช้สารเคลือบบริโภคได้ผสมเพกทินสามารถชะลอการเปลี่ยนแปลงคุณภาพด้านต่าง ๆ ของมะเขือเทศระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ได้

ข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้ศึกษาการสกัดเพกทินจากเปลือกโกโก้ด้วยวิธีทางเอนไซม์ วิธีทางเคมี และวิธีคลื่นอัลตราซาวด์ช่วยสกัด ซึ่งเพกทินที่สกัดได้จากเปลือกโกโก้เป็นเพกทินประเภท HM pectin ซึ่งมีความคงตัวและมีความหนืดสูง ดังนั้นควรศึกษาการนำเพกทินไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารอื่น ๆ เช่น ผลิตภัณฑ์แยมและเยลลี นอกจากนี้เพกทินที่สกัดได้จากเปลือกโกโก้มีคุณสมบัติในการเป็นพรีไบโอติก ดังนั้นควรศึกษาการประยุกต์ใช้เพกทินในการผลิตอาหารเสริมสุขภาพ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บรรณานุกรม

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รายการอ้างอิงภาษาไทย

ชิดชัย ปัญญาสวรรค์. 2547. การพัฒนาไซรัปเข้มข้นจาก กล้วยหอมทองโดยการใช้เอนไซม์. วิทยานิพนธ์ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

นัชชา นิลจันทึก, สำรวย เชือกรัมย์, สุธิดา กังขุดทด. 2562. ความสามารถในการเป็นพรีไบโอติกของแก่นตะวัน. วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา. 4(2), 18-24.

บุษกร อุตรภิชาติ. 2545. จุลชีววิทยาทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 3. สงขลา: มหาวิทยาลัยทักษิณ.

บุหรัน พันธุ์สวรรค์. 2556. อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 21(3), 275-286.

มยุรา วชิรศักดิ์ชัย, อรวัลภ์ อุปถัมภานนท์, สุนัน ปานสาคร. 2560. ผลของเอนไซม์เพคติเนส อุณหภูมิและระยะเวลาในการบ่มต่อคุณภาพไซรัปจากตะขบ. แก่นเกษตร. 45(3), 401-408.

สมฤดี ไทพาณิชย์. 2555. กระบวนการแปรรูปด้วยเอนไซม์และการทำแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอยของไซรัปขนุนชนิดผง. วารสารเทคโนโลยีอาหาร. (1)7, 31-39.

องอาจ เด็ดดวง. 2553. การเปรียบเทียบเพคตินสกัดจากฝรั่งสามชนิดกับเพคตินมาตรฐาน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.

อนงนาฎ ไพนุพงศ์. 2560. อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระกับสุขภาพ. วรสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 1(2), 20-27.

Bluekoff. 2019. What are the different varieties of cacao?. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: https://www.bluekoff.com. [19 มีนาคม 2565].

Chumphon Horticultural Research Center. 2020. Chumphon Hybrid Cocoa 1. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: https://www.doa.go.th/hc/chumphon/. [19 มีนาคม 2565].

Kasetnumchok. 2018. การปลูกโกโก้. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: https://www.kasetnumchok.com/การปลูกโกโก้/. [19 มีนาคม 2565].

Medthai. 2017. โกโก้ สรรพคุณและประโยชน์ของโกโก้ 15 ข้อ!. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://medthai/โกโก้/. [19 มีนาคม 2565].

Palangkaset. 2018. ปลูกต้นโกโก้ ไม้ผลเศรษฐกิจตัวใหม่ ให้ผลตอบแทนดี มีตลาด รับซื้อแน่นอน 5 ปี. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: https://www.palangkaset.com/เมืองไม้ผล/ปลูกต้นโกโก้/. [19 มีนาคม 2565].

Thaihealth. 2014. 'มะเขือเทศ' ผลไม้ของทุกเพศ-ทุกวัย. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: https://www.thaihealth.or.th. [19 มีนาคม 2565].

รายการอ้างอิงภาษาอังกฤษ

Abdullah, S., Pradhan, R.C., Pradhan, D. and Mishra, S. 2021. Modeling and optimization of pectinase-assisted low-temperature extraction of cashew apple juice using artificial neural network coupled with genetic algorithm. Food Chemistry. 339, 1-10.

Abeyrathne, E.D.N.S., Nam, K., Ahn, D.U. 2021. Analytical Methods for Lipid Oxidation and Antioxidant Capacity in Food Systems. Antioxidants. 10, 1587.

Alves, P., Ferreira, P., Gil, M.H. 2012. Biomedical Polyurethane-Based Materials. Polyurethane: Properties, Structure and Application. New York: Nova Publishers.

Antonio, B., Gustavo, B. 2017. Enzymes. Medical Biochemistry. 153-175.

Aravindan, R., Anbumathi, P., Viruthagiri, T., 2007. Lipase applications in food industry. Indian Journal of Biotechnology. 6(2), 141-158.

Arentoft, B.W., Ali, A., Streibig, J.C., Andreasen, C. 2013. A new method to evaluate the weed-suppressing effect of mulches: A comparison between spruce bark and cocoa husk mulches. Weed Research. 53, 169-175.

Arlorio, M., Coisson, J.D., Restani, P., Martelli, A. 2001. Characterization of pectins and some secondary compounds from Theobroma cacao hulls. Journal Food Science. 66(5), 653-656.

Arnon, H., Granit, R., Porat, R., Poverenov, E. 2015. Development of polysaccharides-based edible coatings for citrus fruits: a layer-by-layer approach. Food Chemistry. 166, 465-472.

Azat Aziz, M., Shehab Diab, A., Abdulrazak Mohammed, A. 2019. Antioxidant Categories and Mode of Action. Antioxidants. 1-20.

Bagchi K, Puri S. 1998. Free radicals and antioxidants in health and disease: A review. Eastern Mediterranean Health Journal. 4(2), 350-360.

Bagherian, H., Ashtiani, F.Z., Fouladitajar, A., Mohtashamy, M. 2011. Comparisons between conventional, microwave-and ultrasound assisted methods for extraction of pectin from grapefruit. Chemical Engineering and Processing: Process Intensification. 50, 1237-1243.

Bedford, M.R. and G.G. Partridge. 2010. Enzymes in farm animal nutrition. 2ed. MPG Books Group, Bodmin, UK.

Belwal, T., Ezzat, S., Rastrelli, L., Bhatt, I., Daglia, M., Baldi, A., Devkota, H.P., Orhan, I., Patra, J., Gitishree Das, Anandharamakrishnan, C., Gómez-Gómez, L., Nabavi, S.F., Nabavi, S., Atanasov, A. 2018. A critical analysis of extraction techniques used for botanicals: Trends, priorities, industrial uses and optimization strategies. Trends in Analytical Chemistry. 100, 82-102.

Both, V., Thewes, F.R., Brackmann, A., Ferreira, Dd.F., Pavanello, E.P., Wagner, R. 2016. Effect of low oxygen conditioning and ultralow oxygen storage on the volatile profile, ethylene production and respiration rate of 'Royal Gala' apples. Scientia Horticulturae. 209, 156-164.

Brasil, I.M., Siddiqui, M. 2018. Chapter 1-Postharvest Quality of Fruits and Vegetables: An Overview, Preharvest Modulation of Postharvest Fruit and Vegetable Quality. Academic Press. 1-40.

Brejnholt, S. M. 2009. Pectin. In A. Imeson (Ed.), Food Stabilisers, Thickeners and Gelling Agents (pp. 237-265). USA: Blackwell Publishing Ltd.

Canteri-Schemin M.H., Ramos Fertonani H.C., Waszczynskyj N., Wosiacki G. 2005. Extraction of pectin from apple pomace. Brazilian Archives of Biology and Technology. 48(2), 259-266.

Chan, S.-Y., Choo, W.-S. 2013. Effect of extraction conditions on the yield and chemical properties of pectin from cocoa husks. Food Chemistry. 141, 3752-3758.

Chaudhary, P., Sharma, A., Singh, B., Nagpal, A.K. 2018. Bioactivities of phytochemicals present in tomato. Journal of Food Science and Technology. 55(8), 2833-2849.

Cheng, H.M. Koutsidis, G., Lodge, J.K. Ashor, A., Siervo, M., Lara, J. 2017. Tomato and lycopene supplementation and cardiovascular risk factors: A systematic review and meta-analysis. Atherosclerosis. 257, 100-108.

Chotiko, A., Sathivel, S. 2016. Development of a combined low-methoxyl-pectin and rice- bran-extract delivery system to improve the viability of *Lactobacillus plantarum* under acid and bile conditions. LWT-Food Science and Technology. 66, 420-427.

Einhorn-Stoll, U. 2018. Pectin-water interactions in foods-From powder to gel. Food Hydrocolloids. 78, 109-119.

El-Nawawi, S.A., Shehata, F.R. 1987. Extraction of pectin from Egyptian orange peel. Factors affecting the extraction. Biological Wastes. 20, 281-290.

Ellison, S.L. 2016. Carotenoids: Physiology. Encyclopedia of Food and Health. 670-675.

Fracasso, A.F., Perussello, C.A., Carpine, D., Petkowicz, C.L.D.O., Haminiuk, C.W.I. 2018. Chemical modification of citrus pectin: Structural, physical and rheologial implications. International Journal of Biological Macromolecules. 109, 784-792.

Fraeye, I., De Roeck, A., Duvetter, T., Verlent, I., Hendrickx, M., Van Loey, A. 2007. Influence of pectin properties and processing conditions on thermal pectin degradation. Food Chemistry. 105, 555-563.

Freitas, C.M.P., Coimbra, J.S.R., Souza, V.G.L., Sousa, R.C.S. 2021. Structure and Applications of Pectin in Food, Biomedical, and Pharmaceutical Industry: A Review. Coatings. 11, 922.

Garna, H., Mabon, N., Robert, C., Cornet, C., Nott, K., Legros, H., et al. 2007. Effect of extraction conditions on the yield and purity of apple pomace pectin precipitated but not washed by alcohol. Journal of Food Science. 72(1), C1-C9.

Ghorbani, Ehsan., Dabbagh Moghaddam, A., Sharifan, A., Kiani, H. 2021. Emergency Food Product Packaging by Pectin-Based Antimicrobial Coatings Functionalized by Pomegranate Peel Extracts. Journal of Food Quality. 1-10.

Greve, L.C., McArdle, R.N., Gohlke, J.R., Labavitch, J.M. 1994. Impact of heating on carrot firmness: Changes in cell wall components. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 42, 2900-2906.

Han, X., Shen, T., Lou, H. 2007. Dietary Polyphenols and Their Biological Significance. International Journal of Molecular Sciences. 8, 950-988.

Handojo, L., Triharyogi, H., Indarto, A. 2019. Cocoa bean shell waste as potential raw material for dietary fiber powder. International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture. 8, 485-491.

Hamidon, N.H., Zaidel, D.N.A. 2017. Effect of extraction conditions on pectin yield extracted from sweet potato peels residues using hydrochloric acid. Chemical Engineering Transactions. 56, 979-984.

Heredia-Sandoval, N.G., Valencia-Tapia, M.Y., Calderón de la Barca, A.M., Islas-Rubio, A.R., 2016. Microbial proteases in baked goods: modification of gluten and effects on immunogenicity and product quality. Foods. 5(3), 59.

Hu, Q-N., Zhu, H., Li, X., Zhang, M., Deng, Z., Yang, X., Deng, Z. 2012. Assignment of EC Numbers to Enzymatic Reactions with Reaction Difference Fingerprints. PLoS ONE. 7(12), e52901.

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

Jegannathan, K.R., Nielsen, P.H., 2013. Environmental assessment of enzyme use in industrial production-a literature review. Journal of Cleaner Production. 42, 228-240.

Jozinovic, A., Panak Balentic, J., Ackar, D., Babic, J., Pajin, B., Milicevic, B., Guberac, S., Subaric, D. 2017. Cocoa husk application in enrichment of extruded snack products. In Proceedings of the Fourth International Congress on Cocoa Coffee and Tea. 68.

Kazemi, M., Khodaiyan, F., Hosseini, S.S. 2019. Eggplant peel as a high potential source of high methylated pectin: Ultrasonic extraction optimization and characterization. LWT - Food Science and Technology. 105, 182-189.

Khalifa, I., Barakat, H., El-Mansy, H. A., Soliman, S. A. 2016. Enhancing the keeping quality of fresh strawberry using chitosan-incorporated olive processing wastes. Food Bioscience. 13, 69-75.

Khedmat, L., Izadi, A., Mofid, V., Mojtahedi, S.Y. 2020. Recent advances in extracting pectin by single and combined ultrasound techniques: A review of techno-functional and bioactive health-promoting aspects. Carbohydrate Polymer. 229, 115474.

Kulkarni, S. G., and Vijayanand, P. 2010. Effect of extraction conditions on the quality characteristics of pectin from passion fruit peel (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* L.). LWT-Food Science and Technology. 43(7), 1026-1031.

Kumar, S. 2011. Free radicals and antioxidants: Human and food system. Advanced in Applied Science Research. 2(1), 129-135.

Kumar, V.N.P., Elango, P., Asmathulla, S., Kavimani, S. 2017. A Systematic Review on Lycopene and its Beneficial Effects. Biomedical and Pharmacology Journal. 10(4), 2113-2120.

Lamberti, M., Escher, F. 2007. Aluminium foil as a food packaging material in comparison with other materials. Food Reviews International. 23(4), 407-433.

Leong, T., Juliano, P., Knoerzer, K. 2017. Advances in Ultrasonic and Megasonic Processing of Foods. Food Engineering Reviews. 9, 237-256.

Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., Chandra, N. 2010. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy* Reviews. 4(8), 118-126.

Mahardiani, L., Larasati, R., Susilowati, E., hastuti, B., Azizah, N.L. 2021. Potential edible coating of pectin obtained from banana peel for fruit preservation. Journal of Physics: Conference Series. 1912.

Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., Jiménez, L. 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. The American Journal of Clinical Nutrition. 79(5), 727-747.

McDonald, P., R. A. Edwards, J. F. D. Greenhalgh, C. A. Morgan, L. A. Sinclair, R. G. Wilkinson. 2011. Animal Nutrition (7th ed). Pearson, Harlow, England. 692.

Mohamed E. I. Badawy., Entsar I. Rabea., Mahmoud A. M. El-Nouby., Rania I. A. Ismail., Nehad E.M. Taktak. 2017. Strawberry Shelf Life, Composition, and Enzymes Activity in Response to Edible Chitosan Coatings. International Journal of Fruit Science. 17(2), 117-136.

Mohnen, D. 2008. Pectin structure and biosynthesis. Current Opinion in Plant Biology. 11(3), 266-277.

Mukhiddinov, Z.K; et al. 2000. Isolation and structural characterization of a pectin homo and ramnogalacturonan. Talanta. 53, 171-176.

Munarin, F., Tanzi, M.C., Petrini, P. 2012. Advances in biomedical applications of pectin gels. International Journal of Biological Macromolecules. 51, 681-689.

Muñoz-Labrador, A., Moreno, R., Villamiel, M., Montilla, A. 2018. Preparation of citrus pectin gels by power ultrasound and its application as an edible coating in strawberries. Journal of the Science of Food and Agriculture. 98, 4866-4875.

Nazir, A., Asghar, A., Aslam Maan, A. 2017. Food Gels: Gelling Process and New Applications. In Advances in Food Rheology and Its Applications. 335-353.

CHULALONGKORN UNIVERSITY

Nikitenko, S.I., Chemat, F. 2015. Ultrasound in Process Engineering New Look at Old Problems. Green Process Engineering. 145-165.

Ogutu, F.O., Mu, T-H. 2017. Ultrasonic degradation of sweet potato pectin and its antioxidant activity. Ultrasonics Sonochemistry. 38, 726-734.

Ojeda, K.A., Marsiglia, D.E., Ramirez, M.C., Sanchez, E. 2016. Pectin extraction from cocoa pod husk (*Theobroma cacao L.*) by hydrolysis with citric and acetic acid. International Journal of ChemTech Research. 9(7), 497-507.

Palou, E., Lopez-Malo, A., Barbosa-Canovas, G.V., Welti-Chanes, J., Swanson, B.G. 1999. Polyphenoloxidase activity and color of blanched and high hydrostatic pressure treated banana puree. Food Science and Technology. 64, 42-45.

Pandey KB, Rizvi SI. 2010. Markers of oxidative stress in erythrocytes and plasma during aging in humans. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 3(1), 2-12.

Pasandide, B., Khodaiyan, F., Mousavi, Z., Hosseini, S.S. 2018. Pectin extraction from citron peel: optimization by Box-Behnken response surface design. Food Science and Biotechnology. 27, 997-1005.

Pokusaeva, K., Fitzgerald, G.F., Van Sinderen, D., 2011. Carbohydrate metabolism in Bifidobacteria. Genes and Nutrition. 6(3), 285-306.

Poojary, M.M., Orlien, V., Passamonti, P., Olsen, K. 2017. Enzyme-assisted extraction enhancing the umami taste amino acids recovery from several cultivated mushrooms. Food Chemistry. 234, 236-244.

Puri, M., Sharma, D., Barrow, C.J. 2012. Enzyme-assisted extraction of bioactives from plants. Trends Biotechnol. 30(1), 37-44.

Ranjha, M.M.A.N., Irfan, S., Lorenzo, J.M., Shafique, B., Kanwal, R., Pateiro, M., Arshad, R.N., Wang, L., Nayik, G.A., Roobab, U., Aadil, R.M. 2021. Sonication, a Potential Technique for Extraction of Phytoconstituents: A Systematic Review. Processes. 9, 1406.

Redgwell, R., Trovato, V., Merinat, S., Curti, D., Hediger, S., Manez, A. 2003. Dietary fibre in cocoa shell: characterisation of component polysaccharides. Food Chemistry. 81, 103-112.

Rodrigues, S., Pinto, G.A.S. 2007. Ultrasound extraction of phenolic compounds from coconut (*Cocos nucifera*) shell powder. Journal of Food Engineering. 80, 869-872.

Sangheetha, S., Illeperuma1, D.C.K., Navaratne, A.N., Jayasinghe, C. 2018. Effect of pH, Temperature and Time Combinations on Yield and Degree of Esterification of Mango Peel Pectin: A Box-Behnken Design Based Statistical Modelling. Tropical Agricultural Research. 30(2), 1-12.

Soares, T.F., Oliveira, M.B.P.P. 2022. Cocoa By-Products: Characterization of Bioactive Compounds and Beneficial Health Effects. Molecules. 27, 1625.

Sogvar, O.B., Koushesh Saba, M., Emamifar, A. 2016. Aloe vera and ascorbic acid coatings maintain postharvest quality and reduce microbial load of strawberry fruit. Postharvest Biology and Technology. 114, 29-35.

Stanjek-Cichoracka, A., Zeglen, S., Ramos, P., Pilawa, B. 2018. Effect of ultraviolet irradiation on free radical scavenging activity of immunosuppressants used in lung transplantation and comparative electron paramagnetic resonance study of kinetics of their interactions with model free radicals. Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics. 43, 385-392.

Sucheta, Chaturvedi, K., Sharma, N., Yadav, S.K. 2019. Composite edible coatings from commercial pectin, corn flour and beetroot powder minimize post-harvest decay, reduces ripening and improves sensory liking of tomatoes. International Journal of Biological Macromolecules. 133, 284-293.

Surkatti, R., Al-Zuhair, S. 2018. Microalgae cultivation for phenolic compounds removal. Environmental Science and Pollution Research. 25, 33936-33956.

Tanada-Palmu, P.S. and Grosso, C.R. 2005. Effect of Edible Wheat Gluten-Based Films and Coatings on Refrigerated Strawberry (*Fragaria ananassa*) Quality. Postharvest Biology and Technology. 36, 199-208.

Terigar, B.G., Balasubramanian, S., Boldor, D. 2010. An analysis of the microwave dielectric properties of solvent-oil feedstock mixtures at 300–3000 MHz. Bioresource Technology. 101, 6510-6516.

Thakur, R., Pristijono, P., Golding, J.B., Stathopoulos, C.E., Scarlett, C.J., Bowyer, M. 2018. Development and application of rice starch based edible coating to improve the post-harvest storage potential and quality of plum fruit (*Prunus salicina*). Scientia Horticulturae. 237, 59-66.

Tsao, R. 2015. Synergistic interactions between antioxidants used in food preservation. Handbook of Antioxidants for Food Preservation. 335-347.

Vieira, J.M., Flores-Lopez, M.L., Rodriguez, D.J., Sousa, M.C., Vicente, A.A., Martins, J.T. 2016. Effect of chitosan-Aloe Vera coating on postharvest quality of blueberry (*Vaccinium corymbosum*) fruit. Postharvest Biology Technoly. 116, 88-97.

Voo, W.-P., Ravindra, P., Tey, B.-T., Chan, E.-S. 2011. Comparison of alginate and pectin based beads for production of poultry probiotic cells. Journal of Bioscience and Bioengineering. 111(3), 294-299.

Vriesmann, L., Petkowicz, C. 2013. Highly acetylated pectin from cacao pod husks (*Theobroma cacao* L.) forms gel. Food Hydrocolloids. 33, 58-65.

Vunnam, R., Hussain, A., Nair, G., Bandla, R., Gariepy, Y., Donnelly, D.J., Ragha-van, G.S.V. 2014. Physico-chemical changes in tomato with modified atmosphere storages and UV treatment. Journal of Food Science and Technology. 51, 2106-2112.

Wang, W., Chen, W., Zou, M., Lv, R., Wang, D., Hou, F., Feng, H., Ma, X., Zhong, J., Ding, T., Ye, X., Liu, D. 2018. Applications of power ultrasound in oriented modification and degradation of pectin: A review. Journal of Food Engineering. 234, 98-107.

Wang, X-S., Wu, Y-F., Dai, S-L., Chen, R., b, Shao, Y. 2012. Ultrasound-assisted extraction of geniposide from *Gardenia jasminoides*. Ultrasonics Sonochemistry. 19, 1155-1159.

Wichienchot, S., Jatupornpipat, M., Rastall, R. A. 2010. Oligosaccharides of pitaya (dragon fruit) flesh and their prebiotic properties. Food Chemistry. 120(3), 850-857.

Wu, S., Lu, M., Wang, S. 2016. Effect of oligosaccharides derived from Laminaria japonica-incorporated pullulan coatings on preservation of cherry tomatoes. Food Chemistry. 199, 296-300.

Yan, J., Luo, Z., Banb, Z., Lu, H., Li, D., Yang, S.M.A.D., Li, L. 2019. The effect of the layer by layer (LBL)edible coatings on strawberry quality and metabolites during storage. Postharvest Biology and Technology. 147, 29-38.

Yu, M., Xia, Y., Zhou, M., Guo, Y., Zheng, J., Zhang, Y. 2021. Effects of different extraction methods on structural and physicochemical properties of pectins from finger citron pomace. Carbohydrate Polymers. 258, 117662.

Zhang, J., Zeng, L., Sun, H., Zhang, J., Chen, S. 2017. Using chitosan combined treatment with citric acid as edible coatings to delay postharvest ripening process and maintain tomato (*Solanum lycopersicon* Mill.) quality. Journal of Food and Nutrition Research. 5, 144-150.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ก
วิธีวิเคราะห์ทางกายภาพ

ก.1 การวิเคราะห์ร้อยละผลได้ (%yield)

คำนวณปริมาณเพกทินที่สกัดได้จากเปลือกโกโก้ โดยเปรียบเทียบกับตัวอย่างผงเปลือกโกโก้แห้ง ดังนี้

$$\text{ร้อยละของเพกทิน} = \left(\frac{\text{น้ำหนักเพกทินแห้ง (กรัม)}}{\text{น้ำหนักผงเปลือกโกโก้แห้ง (กรัม)}} \right) \times 100$$

ก.2 การวิเคราะห์ความหนืดของเพกทิน

วิเคราะห์ความหนืดของเพกทินด้วยเครื่องวัดความหนืด (Anton Paar, รุ่น MCR 102, Austria)

ก.3 ค่า L* a* b* และ ∆E ของมะเขือเทศ

วัดสีของผลมะเขือเทศด้วยเครื่อง Chroma meter (Monica Minolta รุ่น CR-400, Japan) และบันทึกค่า L* a* b* และ ∆E โดยปรับมาตรฐานของเครื่องวัดก่อนวัดตัวอย่างทุกครั้ง

โดย ค่า L* แสดงถึง ค่าความสว่าง (lightness) มีค่าตั้งแต่ 0-100

0 แสดงถึง สีดำ

100 แสดงถึง สีขาว

ค่า a* แสดงถึง ค่าสีแดงและสีเขียว (redness/greenness)

+a* แสดงถึง สีแดง

-a* แสดงถึง สีเขียว

ค่า b* แสดงถึง ค่าสีเหลืองและสีน้ำเงิน (yellowness/blueness)

+b* แสดงถึง สีเหลือง

-b* แสดงถึง สีน้ำเงิน

ค่า ∆E แสดงถึง ความแตกต่างของสี สามารถคำนวณค่าความแตกต่างของสี ดังสมการ

$$\Delta E = [(L^*_1 - L^*_2)^2 + (a^*_1 - a^*_2)^2 + (b^*_1 - b^*_2)^2]^{1/2}$$

โดย subscript 1 คือ ค่าสีเริ่มต้นของตัวอย่าง

subscript 2 คือ ค่าสีที่วัดได้ในแต่ละครั้งของตัวอย่าง

ก.4 ความแน่นเนื้อ (firmness) ของมะเขือเทศ

วัดความแน่นเนื้อของมะเขือเทศด้วยเครื่อง texture analyzer (Icon, รุ่น TA.XT2i, England) โดยใช้หัววัดแบบทรงกระบอก (cylinder probe) เส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 6 มิลลิเมตร และบันทึกค่าความแน่นเนื้อเป็นหน่วยนิวตัน (newton, N)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ข
วิธีวิเคราะห์ทางเคมี

ข.1 ระดับของเอสเทอริฟิเคชัน (degree of esterification, %DE) ตามวิธีของ Kazemi และคณะ (2019) และ Pasandide และคณะ (2018)

อุปกรณ์

1. บิวเรต
2. ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ขนาด 125 มิลลิลิตร

สารเคมี

1. Hydrochloric acid (HCl) 0.1N (Kemaus, Australia)
2. Sodium hydroxide (NaOH) (QRëc, A.R. grade, New Zealand)
3. Phenolphthalein ($C_{20}H_{14}O_4$) (Ajax Finechem, A.R. grade, New Zealand)

วิธีการเตรียมสารละลาย 0.1M NaOH

ละลาย NaOH ปริมาณ 0.4 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งเพกทิน 20 มิลลิกรัม เติมเอทานอล 2 มิลลิลิตร และน้ำปราศจากไอออน 20 มิลลิลิตร กวนจนเพกทินละลาย
2. เติม phenolphthalein 3-5 หยด ไทเทรตสารละลายเพกทินด้วย 0.1 M NaOH จนกระทั่งสารละลายเพกทินเป็นสีชมพู (ปริมาตร NaOH ที่ใช้ คือ V_1)
3. เติม 0.1 M NaOH ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และกวนสารละลายเป็นเวลา 20 นาที จากนั้นเติม 0.1 M HCl ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และไทเทรตอีกครั้งด้วย 0.1 M NaOH จนกระทั่งสารละลายเพกทินเป็นสีชมพู (ปริมาตร NaOH ที่ใช้ คือ V_2)
4. คำนวณ %DE ดังสูตร

$$\%DE = \left(\frac{V_2}{V_2 + V_1} \right) \times 100$$

เมื่อ V_1 คือ ปริมาตร NaOH ที่ใช้ในการไทเทรตครั้งแรก

V_2 คือ ปริมาตร NaOH ที่ใช้ในการไทเทรตครั้งที่สอง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ข.2 ปริมาณกรดกาแลคทูโรนิก (galacturonic acid content) (ตามวิธีของ Yu และคณะ, 2021 และองอาจ, 2553)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่อง BioSpectrophotometer Basic (Eppendorf, USA)
2. เครื่อง vortex mixer (Onilab, USA)
3. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Mettler toledo, รุ่น NewClassic, Switzerland)
4. ขวดปรับปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร
5. ขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร

สารเคมี

1. Carbazole (Sigma Aldrich, USA)
2. Galacturonic acid (Sigma Aldrich, USA)
3. Sodium hydroxide (NaOH) (QRëc, A.R. grade, New Zealand)
4. Sulfuric acid 98% (QRëc, A.R. grade, New Zealand)

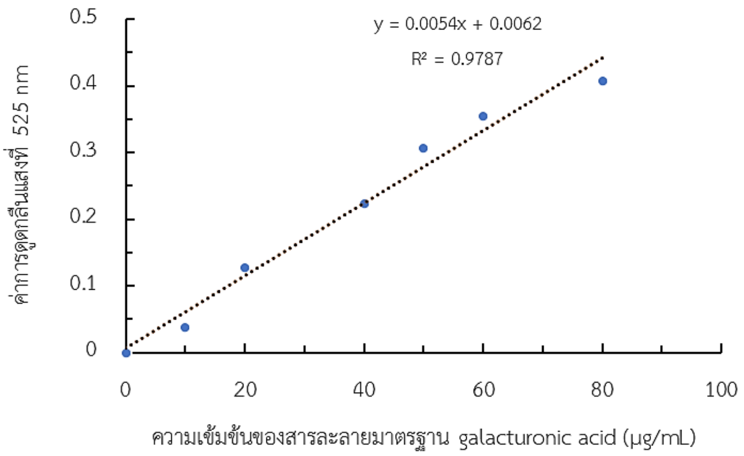
วิธีการเตรียมสารละลาย 0.05M NaOH

ละลาย NaOH ปริมาณ 0.2 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

วิธีการเตรียมสารละลายมาตรฐาน galacturonic acid และการสร้างกราฟมาตรฐาน

1. ละลาย galacturonic acid 0.1 กรัม ใน 0.05M NaOH ปริมาตร 10 มิลลิลิตร
2. ปิเปตต์สารละลายข้อ 1 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น
3. ปิเปตต์สารละลายข้อ 2 ปริมาตร 1, 2, 4, 5, 6 และ 8 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร อย่างละ 1 ขวด และปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น
4. ปิเปตต์สารละลายในแต่ละความเข้มข้นจากข้อ 3 ใส่ลงในหลอดทดลองขนาดกลาง จำนวน 3 หลอด ๆ ละ 2 มิลลิลิตร เติมสารละลาย carbazole เข้มข้น 0.1% w/v ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในแต่ละหลอดทดลอง และเขย่าให้เข้ากัน จากนั้นเติมสารละลาย sulfuric acid ปริมาตร 12 มิลลิลิตร ลงในแต่ละหลอด เขย่าให้เข้ากัน และบ่มในที่มืด เป็นเวลา 25 นาที

5. วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 525 นาโนเมตร แล้วสร้างกราฟมาตรฐาน แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น (แกน X) กับค่าการดูดกลืนแสง (แกน Y)



ภาพที่ ข.1 กราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณกรดกาแลคทูโรนิก

วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งเพกทิน 0.1 กรัม ผสมกับสารละลาย 0.05M NaOH ใส่ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยสารละลาย 0.05M NaOH และวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที
2. ปิเปตต์สารละลายเพกทินจากข้อ 1 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เจือจางด้วยน้ำกลั่นจนมีปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร
3. ปิเปตต์สารละลายเจือจางจากข้อ 2 ใส่ลงในหลอดทดลองขนาดกลางจำนวน 3 หลอด ๆ ละ 2 มิลลิลิตร เติมสารละลาย carbazole เข้มข้น 0.1% w/v ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในแต่ละหลอดทดลอง และเขย่าให้เข้ากัน จากนั้นเติมสารละลาย sulfuric acid ปริมาตร 12 มิลลิลิตร ลงในแต่ละหลอด เขย่าให้เข้ากัน และบ่มในที่มืด เป็นเวลา 25 นาที
4. วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 525 นาโนเมตร และคำนวณปริมาณกรดกาแลคทูโรนิกจากกราฟมาตรฐาน

ข.3 ค่าความเป็นกรด-เบส (pH)

วัดค่าความเป็นกรด-เบสด้วยเครื่อง pH meter (Mettler toledo, Switzerland)

ข.4 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (total soluble solid, ^{o}Brix)

วัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดด้วยเครื่อง digital refractometer (Hanna instruments, รุ่น HI96801, USA) ที่ความเข้มข้น 0-85 ^{o}Brix

ข.5 ปริมาณไลโคปีน (lycopene content) (ตามวิธีของ Suwanaruang, 2016)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่อง BioSpectrophotometer Basic (Eppendorf, USA)
2. เครื่อง vortex mixer (Onilab, USA)
3. เครื่อง water bath (Memmert, รุ่น WNB 22, Germany)
4. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Mettler toledo, รุ่น NewClassic, Switzerland)

สารเคมี

1. Acetone (RCI Labscan, A.R. grade, Thailand)
2. Ethanol (C_2H_5OH) 95% (DEPTAL-AX, Thailand)
3. Hexane (QRëc, New Zealand)

วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่าง 0.1 กรัม ผสมน้ำกลั่นปริมาตร 1 มิลลิลิตร และบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
2. เติม hexane: ethanol: acetone ในอัตราส่วน 2:1:1 v/v ปริมาตร 8 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันอย่างรวดเร็ว และบ่มในที่ที่ปราศจากแสงอย่างน้อย 10 นาที
3. เติมน้ำกลั่นปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน และบ่มเป็นเวลา 10 นาที
4. วัดค่าการดูดกลืนแสงส่วนใสด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 503 นาโนเมตร และคำนวณปริมาณไลโคปีน ดังสูตร

$$\text{lycopene content (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)} = (A_{503})\ (137.4)$$

ข.6 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic content) ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetry (ดัดแปลงตามวิธี ของ Hikmawanti และคณะ, 2020)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่อง BioSpectrophotometer Basic (Eppendorf, USA)

2. เครื่อง vortex mixer (Onilab, USA)
3. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Mettler toledo, รุ่น NewClassic, Switzerland)
4. ขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร

สารเคมี

1. Folin-ciocalteu reagent (Loba Chemie, India)
2. Gallic acid (Sigma Aldrich, USA)
3. Sodium carbonate (Na_2CO_3) (Kemaus, Australia)

วิธีการเตรียมสารละลาย 10% w/v sodium carbonate

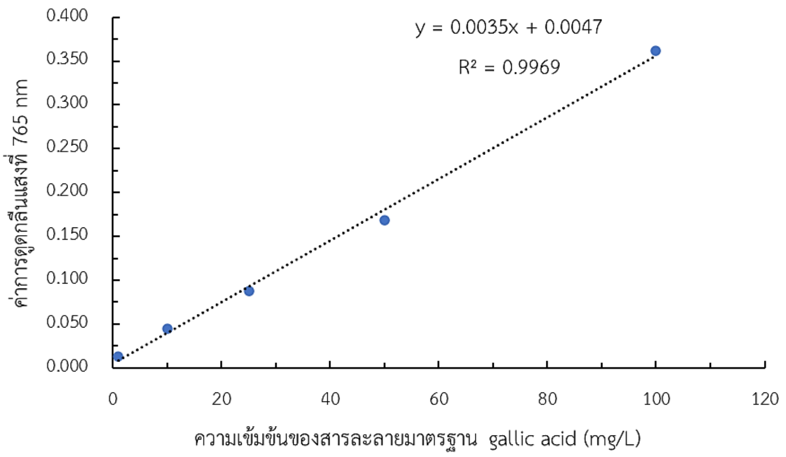
ละลาย sodium carbonate 10 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

วิธีการเตรียมสารละลาย 10% w/v Folin-ciocalteu reagent

ละลาย Folin-ciocalteu reagent 10 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

วิธีการเตรียมสารละลายมาตรฐาน gallic acid และการสร้างกราฟมาตรฐาน

1. ละลาย gallic acid 0.1 กรัม ในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร (ได้ความเข้มข้นเท่ากับ 1000 มิลลิกรัม/ลิตร)
2. ปิเปตต์สารละลายข้อ 1 ปริมาตร 0.1, 1.0, 2.5, 5.0 และ 10.0 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น (ได้ความเข้มข้นของสารละลาย gallic acid 1, 10, 25, 50 และ 100 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ)
3. ปิเปตต์สารละลาย gallic acid ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมน้ำกลั่นปริมาตร 10 มิลลิลิตร และสารละลาย 10% w/v Folin-ciocalteu reagent ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน และบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติม 10% w/v sodium carbonate ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน และบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 10 นาที
4. วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร โดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวอ้างอิง (เพื่อปรับค่าการดูดกลืนแสงให้เท่ากับ 0) และสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย gallic acid (แกน X) และค่าการดูดกลืนแสง (แกน Y) แสดงดังภาพที่ ข.2



ภาพที่ ข.2 กราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

วิธีวิเคราะห์

1. ปิเปตต์ตัวอย่าง 0.5 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 10 มิลลิลิตร
2. เติมสารละลาย 10% w/v Folin-ciocalteu reagent ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน และบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติม 10% w/v sodium carbonate ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน และบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที
3. วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร โดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวอ้างอิง (เพื่อปรับค่าการดูดกลืนแสงให้เท่ากับ 0) และคำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากกราฟมาตรฐาน

ข.7 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (ดัดแปลงตามวิธีของ Sucheta และคณะ, 2019)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. ขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร
2. เครื่อง BioSpectrophotometer Basic (Eppendorf, USA)
3. เครื่อง vortex mixer (Onilab, USA)
4. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Mettler toledo, รุ่น NewClassic, Switzerland)

สารเคมี

1. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Sigma Aldrich, USA)
2. Methanol (CH_3OH) (Giant Leo Intertrade, Thailand)

วิธีวิเคราะห์

1. เตรียมสารละลาย DPPH โดยชั่ง DPPH 0.004 กรัม ละลายใน methanol จากนั้นเทลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วย methanol
2. ผสมสารละลายในข้อ 1 ปริมาตร 3 มิลลิลิตร กับ methanol ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 513 นาโนเมตร (A_0) โดยใช้ methanol เป็นตัวอย่างอ้างอิง (เพื่อปรับค่าการดูดกลืนแสงให้เท่ากับ 0)
3. ปิเปตต์ตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายในข้อ 1 ปริมาตร 3 มิลลิลิตร และวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 513 นาโนเมตร (A_1)
4. คำนวณหาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ดังสูตร

$$\%\text{inhibition} = [(A_0 - A_1)/ A_0] \times 100$$

เมื่อ A_0 คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH

A_1 คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

ข.8 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) (ดัดแปลงตามวิธีของ Benzie และ Strain, 1996)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

1. ขวดปรับปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร
2. ขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร
3. เครื่อง BioSpectrophotometer Basic (Eppendorf, USA)
4. เครื่อง vortex mixer (Onilab, USA)
5. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Mettler toledo, รุ่น NewClassic, Switzerland)

สารเคมี

1. 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid (trolox) (Sigma Aldrich, USA)
2. Ferric chloride (POCH S.A., Poland)
3. Glacial acetic acid (QRëc, A.R. grade, New Zealand)

4. Hydrochloric acid (HCl) 0.1N (Kemaus, Australia)
5. Methanol (CH_3OH) (Giant Leo Intertrade, Thailand)
6. Sodium acetate trihydrate (CH_3COONa) (Ajax Finechem, A.R. grade, New Zealand)
7. Tripyridyltriazine (TPTZ) (Sigma Aldrich, USA)

วิธีเตรียมสารละลาย FRAP

1. เตรียมสารละลาย acetate buffer โดยผสม sodium acetate trihydrate 0.3 กรัม และ glacial acetic acid ปริมาตร 1.6 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร
2. เตรียมสารละลาย ferric chloride โดยละลาย ferric chloride 0.054 กรัม ในน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร
3. เตรียมสารละลาย TPTZ โดยละลาย TPTZ 0.0312 กรัม ใน 0.04M HCl ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร
4. เตรียมสารละลาย FRAP โดยผสม acetate buffer 100 มิลลิลิตร ferric chloride 10 มิลลิลิตร และ TPTZ 10 มิลลิลิตร ตามลำดับ
5. บ่มใน water bath ณ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5-10 นาที
6. วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ($A_{initial}$) โดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวอย่างอ้างอิง (เพื่อปรับค่าการดูดกลืนแสงให้เท่ากับ 0)

วิธีการเตรียมสารละลายมาตรฐาน trolox และการสร้างกราฟมาตรฐาน

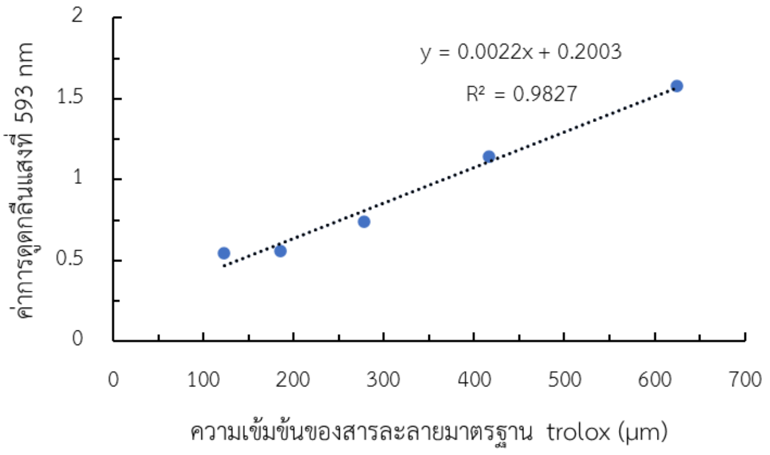
1. ชั่ง trolox 0.025 กรัม ละลายด้วย methanol จากนั้นเทลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร ด้วย methanol (ได้ความเข้มข้นเท่ากับ 10,000 µM trolox)
2. เจือจางสารละลาย trolox ดังแสดงในตารางที่ ข.1
3. ปิเปตต์สารละลาย trolox ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย FRAP ปริมาตร 4.75 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและบ่มในที่มืด เป็นเวลา 30 นาที
4. วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร (A_{final}) โดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวอย่างอ้างอิง (เพื่อปรับค่าการดูดกลืนแสงให้เท่ากับ 0) คำนวณค่า $A_{difference}$ ดังสูตร

$$A_{difference} = A_{final} - A_{initial}$$

5. สร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย trolox (แกน X) และค่าการดูดกลืนแสง (แกน Y) แสดงดังภาพที่ ข.3

ตารางที่ ข.1 วิธีเตรียมสารละลายมาตรฐาน trolox

ความเข้มข้นเริ่มต้น (μM)	**ปริมาตร trolox (มิลลิลิตร)**	**ปริมาตร methanol (มิลลิลิตร)**	**ความเข้มข้นสุดท้าย (μM)**
10,000	5	5	5,000
5,000	5	5	2,500
2,500	5	5	1,250
1,250	5	5	625
625	4	2	417
417	4	2	278
278	4	2	185
185	4	2	123
123	4	2	82



ภาพที่ ข.3 กราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ferric ion reducing antioxidant power (FRAP)

วิธีวิเคราะห์

1. เตรียมสารละลาย FRAP และวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ($A_{initial}$) โดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวอย่างอ้างอิง (เพื่อปรับค่าการดูดกลืนแสงให้เท่ากับ 0)
2. ปิเปตต์ตัวอย่างปริมาตร 250 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย FRAP จากข้อ 1 ปริมาตร 4.75 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน และบ่มในที่มืด เป็นเวลา 30 นาที
3. วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร (A_{final}) โดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวอย่างอ้างอิง (เพื่อปรับค่าการดูดกลืนแสงให้เท่ากับ 0)
4. คำนวณค่า $A_{difference}$ จากนั้นคำนวณฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระโดยใช้ค่า $A_{difference}$ ที่ได้จากตัวอย่างเทียบกับ $A_{difference}$ ของกราฟมาตรฐาน ดังแสดงในภาพที่ ข.3

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ค
วิธีวิเคราะห์ทางชีวภาพ

ค.1 การวิเคราะห์สมบัติการเป็นพรีไบโอติก (prebiotic activity) ของเพกทิน

จุลินทรีย์

1. *Lactobacillus acidophilus* TISTR 2365 (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, ปทุมธานี, ประเทศไทย)
2. *Escherichia coli* TISTR 117 (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, ปทุมธานี, ประเทศไทย)

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

1. Glucose powder (Krungthepchemi, Thailand)
2. Lactobacillus MRS Agar (MRS Agar) (Hi-media, India)
3. Lactobacillus MRS Broth (MRS Broth) (Hi-media, India)
4. M9 Minimal Medium Salt (5X) (Hi-media, India)
5. Tryptic Soy Broth (Hi-media, India)
6. Tryptic Soy Agar (Hi-media, India)

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลาย

1. ชั่ง Lactobacillus MRS Agar 33.58 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร และชั่ง Tryptic Soy Agar 20.0 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร บรรจุในขวดรูปชมพู่ ปิดด้วยจุกสำลี และนำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และวางทิ้งไว้ จนอุณหภูมิลดลงถึง 45 องศาเซลเซียส จากนั้นเทลงในจานเพาะเชื้อปริมาตร 15-20 มิลลิลิตร และเขย่าหมุนจานเพาะเชื้อให้อาหารเลี้ยงเชื้อกระจายตัวและปล่อยให้อาหารแข็งตัว ตามลำดับ
2. ชั่ง Lactobacillus MRS Broth 27.58 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร และชั่ง Tryptic Soy Broth 15.0 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร บรรจุในขวดรูปชมพู่ ปิดด้วยจุกสำลี และนำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

3. ชั่ง M9 Minimal Medium Salt (5X) 28.2 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร บรรจุในขวดรูปชมพู่ ปิดด้วยจุกสำลี และนำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที
4. ชั่งกลูโคส 5.0 กรัม ผสม Lactobacillus MRS Broth 27.58 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร บรรจุในขวดรูปชมพู่ ปิดด้วยจุกสำลี และนำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที
5. ชั่งกลูโคส 5.0 กรัม ผสม M9 Minimal Medium Salt (5X) 28.2 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร บรรจุในขวดรูปชมพู่ ปิดด้วยจุกสำลี และนำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

การวิเคราะห์

1. นำเชื้อ *L. acidophilus* TISTR 2365 มา streak บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS Agar บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในสภาวะไม่มีออกซิเจน จากนั้นถ่ายเชื้อลงใน MRS Broth และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในสภาวะไม่มีออกซิเจน
2. นำเชื้อ *E. coli* TISTR 117 มา streak บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic Soy Agar (TSA) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่สภาวะบรรยากาศ จากนั้นถ่ายเชื้อลงใน Tryptic Soy Broth (TSB) และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่สภาวะบรรยากาศ
3. ถ่ายเชื้อ *L. acidophilus* TISTR 2365 ปริมาตร 1% v/v ลงในอาหารเหลว MRS broth ที่มีกลูโคส 1% หรือเพกทิน 1% w/v บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในสภาวะไม่มีออกซิเจน และถ่ายเชื้อ *E. coli* TISTR 117 ปริมาตร 1% v/v ลงในอาหารเหลว M9 Minimal Medium Salt (5 X) ที่มีกลูโคส 1% w/v หรือเพกทิน 1% w/v บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่สภาวะบรรยากาศ จากนั้นวัดความหนาแน่นของเซลล์ที่ 0 และ 24 ชั่วโมง โดยพิจารณาจากค่าการดูดกลืนแสง (optimal density, O.D.) ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร และคำนวณค่าพรีไบโอติกแอกทิวิตี ดังสูตร

Prebiotic activity score =

$$\left[\frac{\text{(probiotic log (O.D.) on the prebiotic at 24 h - probiotic log (O.D.) on the prebiotic at 0 h)}}{\text{(probiotic log (O.D.) on glucose at 24 h - probiotic log (O.D.) on glucose at 0 h)}}\right] -$$

$$\left[\frac{\text{(enteric log (O.D.) on the prebiotic at 24 h - enteric log (O.D.) on the prebiotic at 0 h)}}{\text{(enteric log (O.D.) on glucose at 24 h - enteric log (O.D.) on glucose at 0 h)}}\right]$$

ค.2 การตรวจนับปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดตามวิธีของ AOAC, (2005)

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

1. Sodium chloride (Kemaus, A.R. grade, Australia)
2. Plate Count Agar (Standard Methods Agar) (Hi-media, India)

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลาย

1. ละลาย sodium chloride 0.85 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร และฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที
2. ชั่ง plate count agar 23.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร บรรจุในขวดรูปชมพู่ ปิดด้วยจุกสำลี และนำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

การวิเคราะห์

การตรวจนับปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดด้วยวิธี pour plate โดยเจือจางตัวอย่างด้วยน้ำเกลือความเข้มข้น 0.85% w/v ในระดับที่เหมาะสม และปิเปตต์มา 1 มิลลิลิตร ลงในจานเพาะเชื้อ แล้วนำอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยการ autoclave แล้ว ตั้งทิ้งไว้จนอุณหภูมิลดลงจนถึง 45 องศาเซลเซียส เทลงไปบนตัวอย่างในจานเพาะเชื้อ ปริมาตร 15-20 มิลลิลิตร เขย่าหมุนจานเพาะเชื้อให้ตัวอย่างกระจายตัว ปล่อยให้อาหารแข็งตัว และบ่มจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้นภายในช่วง 25-250 โคโลนี และรายงานค่าเป็น colony forming units/g (CFU/g)

ค.3 การตรวจนับปริมาณยีสต์และราตามวิธีของ AOAC, (2005)

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Sodium chloride (Kemaus, A.R. grade, Australia)
2. Potato Dextrose Agar (Hi-media, India)

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลาย

1. ละลาย sodium chloride 0.85 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร และฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที
2. ชั่ง potato dextrose agar 39.0 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร บรรจุในขวดรูปชมพู่ ปิดด้วยจุกสำลี และนำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และวางทิ้งไว้จนอุณหภูมิลดลงถึง 45 องศาเซลเซียส จากนั้นเทลงในจานเพาะเชื้อปริมาตร 15-20 มิลลิลิตร และเขย่าหมุนจานเพาะเชื้อให้อาหารเลี้ยงเชื้อกระจายตัวและปล่อยให้อาหารแข็งตัว ตามลำดับ

การวิเคราะห์

การตรวจนับปริมาณยีสต์และราด้วยเทคนิค spread plate โดยเจือจางตัวอย่างด้วยน้ำเกลือความเข้มข้น 0.85% w/v ในระดับที่เหมาะสม และปิเปตต์มา 0.1 มิลลิลิตร ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar จากนั้นใช้แท่งแก้วรูปสามเหลี่ยมที่ผ่านการฆ่าเชื้อเกลี่ยตัวอย่างให้กระจายทั่วผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้น และรายงานค่าเป็น colony forming units/g (CFU/g)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	รวิษฎา ผลสิน
วัน เดือน ปี เกิด	3 กรกฎาคม 2540
สถานที่เกิด	ภูเก็ต
วุฒิการศึกษา	สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต จากภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2562 และเข้าศึกษาในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2563
ที่อยู่ปัจจุบัน	199/1 บริษัทมันนี่รูม จำกัด ซอยจินดาถวิล ถนนสี่พระยา แขวงมหาพฤฒาราม เขตบางรัก จังหวัดกรุงเทพมหานคร 10500
ผลงานตีพิมพ์	รวิษฎา ผลสิน และกิติพงศ์ อัศตรกุล. 2565. ผลของอุณหภูมิและค่า pH ต่อการสกัดและสมบัติของเพกทินจากเปลือกโกโก้. ใน: เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 60: สาขาวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ, หน้า 85-91.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University