



วิทยานิพนธ์

ผลของปริมาณโปรตีนในกัมถำรองต่อสมบัติอิมัลชัน
ปริมาณกรดฟีนอลิก และความสามารถต้านออกซิเดชัน

**EFFECT OF PROTEIN CONTENT IN MALVA NUT GUM
(*SCAPHIUM MACROPODUM BEAUM*) ON EMULSIFYING
PROPERTIES, PHENOLIC ACID, AND ANTIOXIDANT
ACTIVITY**

นางสาวชนิษฐ์ ลิ้มปิยะกุล

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พ.ศ. 2551



ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การอาหาร)

ปริญญา

วิทยาศาสตร์การอาหาร

วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง ผลของปริมาณโปรตีนในกัมสำรองต่อสมบัติอิมัลชัน ปริมาณกรดฟีนอลิก และ
ความสามารถต้านออกซิเดชัน

Effect of Protein Content in Malva Nut Gum (*Scaphium Macropodium Beaum*) on
Emulsifying Properties, Phenolic Acid, and Antioxidant Activity

نامผู้วิจัย นางสาวชนันท์ ลิ้มปัทมฉาย

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ธนะบุญย์ สัจจอนันตกุล, Ph.D)

กรรมการ

(อาจารย์มาศอุบล ทองงาม, Ph.D)

กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์กมน จิตประเสริฐ, Ph.D)

หัวหน้าภาควิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ธนะบุญย์ สัจจอนันตกุล, Ph.D)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา วีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ 5 เดือน มิถุนายน พ.ศ. 2551

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ผลของปริมาณโปรตีนในกัมสำรองต่อสมบัติอิมัลชัน ปริมาณกรดฟีนอลิก และความสามารถต้าน
ออกซิเดชัน

Effect of Protein Content in Malva Nut Gum (*Scaphium Macropodium Beaum*) on Emulsifying
Properties, Phenolic Acid, and Antioxidant Activity

โดย

นางสาวชนินันท์ ลิ้มปิยะกุล

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตรการอาหาร)
พ.ศ. 2551

ชนินันท์ ลิ้มปิษฐ์วาลย์ 2551: ผลของปริมาณ โปรตีนในกัมสำรองต่อสมบัติอิมัลชัน ปริมาณกรดฟีนอลิก และความสามารถด้านออกซิเดชัน ปริญาวิทยาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การอาหาร) สาขา วิทยาศาสตร์การอาหาร ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร ประธานกรรมการที่ปรึกษา: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ธนบูลย์ ตั้งจานันคกุล, Ph.D 133 หน้า

การลดปริมาณโปรตีนในผงสำรอง (*Scaphium macropodum Beaum*) ด้วยน้ำกลั่น, เอนไซม์เปปซิน, สารละลาย HCl 0.02 M, เอนไซม์โบรมิเลน และฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.01 M ที่เวลา 16 ชม. อุณหภูมิ 40° ซ พบว่า การใช้สารละลาย HCl 0.02 M สามารถลดปริมาณโปรตีนในผงสำรองได้มากกว่า น้ำกลั่น เอนไซม์โบรมิเลนและ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ตามลำดับ ($P \leq 0.05$) ดังนั้นจึงเตรียมกัมสำรองจาก ผงสำรอง (MG) ผงสำรองที่ล้างด้วยน้ำกลั่น (WMG) และล้างด้วย HCl 0.02 M (AMG) โดยละลายด้วย NaOH 0.05 M ที่ 40° ซ เวลา 16 ชม. และทำแห้งแบบแช่ เยือกแข็ง จากการวิเคราะห์พบว่า MG , WMG และ AMG มีโปรตีน 4.48, 3.49 และ 2.63 % (w/w) ตามลำดับ ($P \leq 0.05$) และมีสารฟีนอลิกทั้งหมด 10.84, 8.01 และ 6.31 % (w/w) ตามลำดับ ($P \leq 0.05$) จากการวิเคราะห์ด้วย HPLC พบว่า WMG มีอัตราส่วนของน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโตส 1.0:1.37:1.35 ซึ่งไม่ต่างจาก MG และ AMG ($P \leq 0.05$) แต่ AMG มีน้ำตาลซูโรไนต์ 16.28 % (w/w) มากกว่าและต่างจาก MG และ WMG ตามลำดับ ($P \leq 0.05$) องค์ประกอบทางเคมีดังกล่าวอาจเป็นผลให้กัมสำรองทั้ง 3 ชนิด มีสมบัติเชิงหน้าที่ต่างกัน

เมื่อวัดความสามารถด้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH พบว่า MG มีความสามารถด้านอนุมูลอิสระ (AE) ดีกว่า WMG และ AMG ($P \leq 0.05$) ซึ่งให้ค่าที่สอดคล้องกับปริมาณฟีนอลิกที่ต่างกัน ($r = 0.835$) ทั้งนี้เมื่อวัดด้วยวิธี ORAC พบว่า MG และ WMG มีความสามารถด้านออกซิเดชัน (AC) ดีกว่า AMG ($P \leq 0.05$) โดย MG มีค่า AC คือ $17 \times 10^3 \mu\text{M Trolox}/100 \text{ g dry weight}$ ซึ่งมีค่าสูงเป็น 1,000 เท่าเมื่อเทียบกับเครื่องเทศทั่วไป เมื่อทำการวัดความหนืด ของสารละลายกัมสำรองที่ 0.5 % (w/v) พบว่า AMG มีความหนืด 29.6 mPa.s มากกว่า MG และ WMG ($P \leq 0.05$) นอกจากนี้กัมสำรองทั้ง 3 ชนิดมีความคงตัวหลังการให้ความร้อนจนถึง 50° ซ ภายใน 30 นาที โดยพบว่าความหนืด ไม่ต่างกับก่อนให้ความร้อน ($P > 0.05$) เมื่อทดสอบความสามารถในการเกิดอิมัลชัน (Emulsion capacity, EC) ประเภท O/W ในอัตราส่วน น้ำ:น้ำมันคือ 9:1 โดยมีกัมในวัฏภาคของน้ำ 0.5 % (w/v) พบว่า MG, WMG และ AMG มีค่า EC ไม่ต่างกัน ($P > 0.05$) ซึ่งแสดงว่าปริมาณโปรตีนที่ต่างกันของกัมสำรองทั้ง 3 ชนิดไม่มีผลต่อค่า EC ของ ระบบอิมัลชันดังกล่าว เมื่อเปรียบเทียบกับกัมทางการค้า พบว่ากัมสำรองทั้ง 3 ชนิดมีค่า EC ไม่ต่างจาก กัวกัม (G) ($P > 0.05$) แต่ดีกว่ากัมอะราบิก (AG) ประมาณ 2 เท่า ($P \leq 0.05$) การทดสอบความคงตัวของอิมัลชันต่อความร้อน (Heat stability) พบว่ามีค่าจากมากไปน้อยคือ AMG, MG > WMG, G > AG อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) การทดสอบ ความคงตัวอิมัลชันต่อเวลา (Storage stability) พบว่ามีค่าจากมากไปน้อยคือ G > AMG > MG > WMG > AG ($P \leq 0.05$) โดยความหนืดของกัมมีความสัมพันธ์กับค่าความคงตัวของอิมัลชันต่อเวลา ($r = 0.981$) ทั้งนี้กัมสำรองมี สมบัติด้านการเกิดอิมัลชันและความคงตัวของอิมัลชันต่อความร้อนไม่ต่างกับกัวกัมและดีกว่ากัมอะราบิก

ลายมือชื่อนิสิต

ลายมือชื่อประธานกรรมการ

4 / มิ.ย. / 51

Chaninun Limpichutchawan 2008: Effect of Protein Content in Malva Nut Gum (*Scaphium Macropodium Beaum*) on Emulsifying Properties, Phenolic Acid, and Antioxidant Activity. Master of Science (Food Science), Major Field: Food Science, Department of Food Science and Technology.
Thesis Advisor: Associate Professor Tanaboon Sajjaanantakul, Ph.D 133 pages.

Malva nut powder (*Scaphium macropodium Beaum*) was treated with distilled water, pepsin, 0.02 M HCl, bromelain and 0.01 M phosphate buffer at 40°C for 16 h to remove native protein. 0.02 M HCl reduced more protein content than distilled water, bromelain and 0.01 M phosphate buffer ($P \leq 0.05$), respectively. Malva nut gum was prepared by solubilized malva nut powder (MG), the water treated (WMG) and acid treated malva nut powder (AMG) with 0.05M NaOH at 40°C for 16 h then freeze dried. Total protein content of malva nut gum, MG, WMG and AMG were 4.48, 3.49 and 2.63 % (w/w) ($P \leq 0.05$), respectively. Total phenolic content of MG, WMG and AMG were 10.84, 8.01 and 6.31 % (w/w) ($P \leq 0.05$), respectively. As analyzed by HPLC, the ratio of galactose, arabinose and rhamnose of WMG was 1.0:1.37:1.35 which was not different from MG and AMG. ($P > 0.05$) The uronide content of AMG was 16.28 % (w/w) which was significantly higher than MG and AMG ($P \leq 0.05$). The differences in chemical compositions could result in different functional properties of these gum.

From the DPPH method, MG had higher antiradical efficiency (AE) than WMG and AMG ($P \leq 0.05$). The AE of malva nut gum had good correlation with phenolic content ($r = 0.835$). For the ORAC method, MG and WMG had significantly higher antioxidant capacity (AC) than AMG ($P \leq 0.05$). The MG had AC of 17×10^8 μ mole Trolox equivalent/ 100 g dry weight which was more than 1,000 times as compare to tropical spices. The viscosity of 0.5 % (w/v) AMG was 29.6 mPa.s which was higher than MG and WMG ($P \leq 0.05$). All malva nut gum retained their viscosity ($P > 0.05$) after heating to 50° C within 30 min, then cooling back to room temperature. The emulsion capacity (EC) of malva nut gum was determined in o/w emulsion of aqueous phase:oil phase (9:1) with 0.5 % (w/v) of gum in aqueous. The EC of MG, WMG and AMG were not significantly different. The EC was not affected by the different in protein content of this gums in the tested emulsion system. When compared to commercial gum all malva nut gum had about the same EC as Guar gum (G) but was about 2 times higher than Arabic gum (AG). The emulsion heat stability was found from high to low as AMG, MG > WMG, G > AG ($P \leq 0.05$). The emulsion storage stability was found from high to low as G > AMG > MG > WMG > AG ($P \leq 0.05$). The emulsion storage stabilities were highly correlated with their viscosity ($r = 0.981$). All malva nut gum exhibited about the same EC and emulsion heat stability as guar gum but better than AG.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

4 / June / 08

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธนะบุญย์ สัจจานันตกุล ประธาน
กรรมการที่ปรึกษาเป็นอย่างสูง ที่ให้คำปรึกษาและคำแนะนำทั้งในส่วนของการเรียนและงานวิจัย
รวมถึงให้คำปรึกษา และสละเวลาตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้เสร็จสมบูรณ์ ขอกราบ
ขอบพระคุณ อ.ดร.มาศอุบล ทองงาม อาจารย์ที่ปรึกษาวิชาเอก และ ผศ.ดร. ภคมน จิตประเสริฐ
อาจารย์ที่ปรึกษาวิชาการ

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านที่อบรม สั่งสอนมาจนถึงบัดนี้ ขอขอบพระคุณ
คุณสุภาวดี แซ่ม ที่ช่วยแนะนำสถานที่ซื้อวัตถุดิบสำรอง

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร เจ้าหน้าที่คณะ
อุตสาหกรรมเกษตร เจ้าหน้าที่ห้องสมุดคณะอุตสาหกรรมเกษตร และเจ้าหน้าที่หอสมุดกลาง ที่ให้
ความรู้ คำแนะนำ และคำปรึกษาต่างๆ เกี่ยวกับเครื่องมือ และข้อมูลที่ใช้ในการทำวิจัย ขอขอบคุณ
พี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ นิสิตปริญญาโทและเอก สาขาวิทยาศาสตร์การอาหารและพัฒนา
ผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตรทุกท่าน ที่ให้คำแนะนำ ให้ความช่วยเหลือ และเป็นกำลังใจเสมอมา
และท้ายที่สุดนี้ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และญาติผู้ใหญ่ทุกท่าน ที่ให้การอบรม
สั่งสอนเสมอมา รวมถึงเพื่อนๆ ทุกคน ที่มอบแรงกายแรงใจให้การสนับสนุน ให้คำปรึกษา และ
เป็นกำลังใจที่ดีตลอดระยะเวลาการศึกษาและการทำวิจัยจนสำเร็จลุล่วงถึงวันนี้

ชนินันท์ ลิ้มปิษฐ์วาลย์

เมษายน 2551

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(3)
สารบัญภาพ	(6)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
โพลีแซคคาไรด์จากพืช	4
สำรียง	10
อิมัลชัน	12
ความสามารถด้านออกซิเดชัน	16
อุปกรณ์และวิธีการ	21
อุปกรณ์	21
วิธีการ	27
ผลและวิจารณ์	42
การลดโปรตีนจากผงสำรียงด้วยน้ำกลั่น เอนไซม์เปปซิน และเอนไซม์โบรมิเลน	42
การเตรียมกัมสำรียงและองค์ประกอบทางเคมีและสมบัติของกัมสำรียง	51
สมบัติด้านอิมัลชันของกัมสำรียงและกัมสำรียงเปรียบเทียบกับกัมทางการค้า	65
การนำไปใช้ประโยชน์	79
สรุป	79
เอกสารอ้างอิง	83
ภาคผนวก	92
ภาคผนวก ก การวิเคราะห์ทางเคมีและทางกายภาพ	93
ภาคผนวก ข การเตรียมกัมจากผงสำรียง	104
ภาคผนวก ค การหาสถานะการเตรียมอิมัลชันน้ำมันในน้ำโดยมีสารละลายกัม สำรียงอยู่ในวัฏภาคของน้ำและมีน้ำมันข้าวโพดเป็นวัฏภาคของ น้ำมัน	111

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
ภาคผนวก ง ผลการทดลองสมบัติทางกายภาพของกัม	115
ภาคผนวก จ การคำนวณในเครื่องวัดการกระจายขนาดของอนุภาค	119
ภาคผนวก ฉ แผนภาพการกระจายตัวของหยคน้ำมันในระบบอิมัลชัน	121
ภาคผนวก ช การวิเคราะห์สารต้านออกซิเดชัน	125
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	129

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	คุณสมบัติและโครงสร้างทางเคมีของโพลีแซคคาไรด์จากพืช	8
2	ปัจจัยหลักที่มีผลต่อความคงตัวของอิมัลชันน้ำมันในน้ำ	16
3	ปริมาณโปรตีนในผงสำรองและเปอร์เซ็นต์โปรตีนที่ลดลงจากวัตถุดิบเริ่มต้น	50
4	ปริมาณผลได้ (% Yield) ของกัมสำรองต่อน้ำหนักของเมล็ดสำรองและผงสำรอง	51
5	องค์ประกอบทางเคมีของของ Malva nut gum (MG), Water treated malva nut gum (WMG) และ Acid treated malva nut gum	54
6	ประสิทธิภาพการเป็นสารต้านออกซิเดชัน (Antiradical efficiency, AE) ของ Malva nut gum (MG), Water treated malva nut gum (WMG) และ Acid treated malva nut gum (AMG) วัดด้วยวิธี DPPH	56
7	ความสามารถต้านออกซิเดชันของส่วนที่ชอบไขมัน (L-ORAC) และส่วนที่ชอบน้ำ (H-ORAC) ของ Malva nut gum (MG), Water treated malva nut gum (WMG) และ Acid treated malva nut gum (AMG) ที่วัดด้วยวิธี ORAC	57
8	ความสามารถต้านออกซิเดชันของส่วนที่ชอบไขมัน (L-ORAC) และส่วนที่ชอบน้ำ (H-ORAC) ของผลไม้ที่วัดด้วยวิธี ORAC	58
9	ค่าแรงตึงผิวและแรงตึงผิวร่วมของของ Malva nut gum (MG), Water treated malva nut gum (WMG) และ Acid treated malva nut gum (AMG) ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 % (w/v) ที่อุณหภูมิ 25° ซ วัดโดย Wilhelmy plate	65
10	ค่า pH ของ Malva nut gum (MG), Water treated malva nut gum (WMG) และ Acid treated malva nut gum (AMG) และกัมทางการค้า ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 % (w/v)	66
11	ค่าแรงตึงผิวและค่าแรงตึงระหว่างผิวร่วมของ MG, WMG, AMG เมื่อเทียบกับกัมทางการค้า G และ X ที่ 0.5 % (w/v) วัดโดย Wilhelmy plate	67
12	ความหนืดของของ MG, WMG, AMG เมื่อเทียบกับกัมทางการค้าที่ความเข้มข้น 0.5 (w/v) วัดโดย Brookfield viscosity ที่อุณหภูมิ 27° ซ	67

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
13	ขนาดและการกระจายตัวของหยดน้ำมัน พื้นที่ผิวจำเพาะและค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของหยดน้ำมันในระบบอิมัลชันของ Malva nut gum (MG), Water treated malva nut gum (WMG) และ Acid treated malva nut gum (AMG) เทียบกับกัมทางการค้า ที่ความเข้มข้นของกัม 0.5 % (w/v) ในอิมัลชันที่มีวัฏภาคของน้ำ:น้ำมัน (9:1) ที่อุณหภูมิ 27° ซ วัดโดย Mastersizer	69
14	ลักษณะของกัมสำรอง Malva nut gum (MG) Water treated malva nut gum (WMG) และ Acid treated malva nut gum (AMG)	79
15	ความหนืดของกัมสำรอง Malva nut gum (MG) Water treated malva nut gum (WMG) และ Acid treated malva nut gum (AMG) ที่ความเข้มข้น 0.5 % (w/v)	80
16	ความสามารถในการต้านออกซิเดชันของกัมสำรอง Malva nut gum (MG) Water treated malva nut gum (WMG) และ Acid treated malva nut gum (AMG) และผลไม้	81
ตารางผนวกที่		
ข1	ปริมาณผลได้ของกัมสำรองในสารละลายต่างกัน อุณหภูมิและเวลาต่างกัน	110
ข2	ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดของกัมสำรองในสารละลาย ที่สภาวะต่างกัน	112
ข3	ปริมาณผลได้ของกัมสำรองที่สภาวะเวลาต่างกัน	113
ข4	ความหนืดของกัมสำรองที่สภาวะเวลาต่างกัน	113
ข5	องค์ประกอบทางเคมีของกัมสำรองที่สภาวะเวลาต่างกัน	114
ค1	การเกิดอิมัลชัน (Emulsion capacity) ของกัมสำรองที่มีวัฏภาคน้ำมัน 10 %	116
ค2	การเกิดอิมัลชัน (Emulsion capacity) ของกัมสำรองที่มีปริมาณน้ำมันต่างกัน	117
ง1	ความหนืดของ MG WMG และ AMG ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ	120
ง2	ความหนืดของ MG WMG และ AMG ที่เข้มข้น 0.5% และมี NaCl 0.04 M	120
ง3	ความหนืดของ MG WMG และ AMG ที่ความเข้มข้น 0.5 % อุณหภูมิต่าง ๆ	120

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
ง4	ความหนืดของ MG WMG และ AMG ก่อนและหลังให้ความร้อน	121
ง5	ความสามารถในการเกิดอิมัลชันของกัมสำรองและกัมทางการค้า	121
ง6	ความคงตัวของอิมัลชันของกัมสำรองและกัมทางการค้าต่อความร้อน	122
ง7	ความคงตัวของอิมัลชันของกัมสำรองและกัมทางการค้าต่อเวลา	122

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แบบจำลองโครงสร้างของผนังเซลล์พืช	5
2	โครงสร้างไกลโคโปรตีนในกัมอะราบิกจากชูดาน: S แทนกรดอะมิโนซีรีน P แทนกรดอะมิโนโพรลีน T แทนกรดอะมิโนทรีโอนีน L แทนกรดอะมิโนไลซีน GAL แทนน้ำตาลกาแลคโตส Ara แทนน้ำตาลอะราบิโนส Rha แทนน้ำตาลแรมนโนสและGluA แทนกรดกลูโคโรนิก	7
3	การสูญเสียความคงตัวของระบบอิมัลชันในอาหารเนื่องจากปัจจัยทางกายภาพ	13
4	แบบจำลองโครงสร้างกัมอะราบิกส่วนโปรตีน-โพลีแซคคาไรด์ (a) แสดงถึงโครงสร้างของกัม ในน้ำ (b) แสดงถึงการจัดเรียงโครงสร้างของกัมที่ผิวร่วมของน้ำมัน	14
5	ปรากฏการณ์ของกัมในระบบอิมัลชัน (a) a sterically stabilized system , (b) an emulsion gel, และ (c) a system flocculated by macromolecule bridging.	15
6	โครงสร้างทางเคมีของ 2',2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl	20
7	แผนภูมิวิธีการลดปริมาณโปรตีนในผงสำรองด้วยวิธีการใช้น้ำกลั่นและเอนไซม์	29
8	แผนภูมิการเปรียบเทียบการลดปริมาณโปรตีนในผงสำรองด้วยบัฟเฟอร์ และเอนไซม์ในบัฟเฟอร์	29
9	แผนภูมิวิธีการเตรียมกัมสำรองจากผงสำรอง	32
10	ปริมาณโปรตีนในผงสำรองที่ลดปริมาณโปรตีนด้วยน้ำกลั่นที่เวลา 10, 16, 24 ชั่วโมง	43
11	ปริมาณโปรตีนในผงสำรองที่ทำการลดปริมาณโปรตีน ด้วยน้ำกลั่น เอนไซม์ เปปซิน และเอนไซม์โบรมิเลนที่เวลา 10, 16, 24 ชั่วโมง	44
12	ปริมาณโปรตีนในผงสำรองที่ลดปริมาณโปรตีนด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.02 M และเอนไซม์เปปซินในสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.02 M เวลา 10, 16, 24 ชั่วโมง	45
13	ปริมาณโปรตีนในผงสำรองที่ลดปริมาณโปรตีนด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.01 M และ เอนไซม์โบรมิเลนในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.01 M ที่เวลา 10, 16, 24 ชั่วโมง	46
14	ปริมาณโปรตีนในผงสำรองที่ลดปริมาณโปรตีนด้วยสารละลายต่าง ๆ ที่เวลา 16 ชั่วโมง	47

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
15	แบบจำลองโครงสร้างของอะราบิโนกาเล็กแทนโปรตีน(A) โครงสร้างแบบ wattle blossom (B) โครงสร้างแบบ twisted hairy rope และ (C) โครงสร้างผ่านการดัดแปลงจาก (A)	48
16	ความหนืดของ Malva nut gum (MG), Water treated malva nut gum (WMG) และ Acid treated malva nut gum (AMG) ที่ระดับความเข้มข้น 0.25-1.0 % (w/v) วัดด้วยเครื่อง Brookfeild viscosity	60
17	ความหนืดของ Malva nut gum (MG), Water treated malva nut gum (WMG) และ Acid treated malva nut gum (AMG) ที่ระดับความเข้มข้น 0.25-1.0 % (w/v) ที่มีปริมาณเกลือ NaCl 40 mM วัดด้วยเครื่อง Brookfeild viscosity	61
18	ผลของอุณหภูมิต่อความหนืดของ Malva nut gum (MG), Water treated malva nut gum (WMG) และ Acid treated malva nut gum (AMG) ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 % (w/v) ที่อุณหภูมิ 25-50° ซ วัดด้วยเครื่อง Brookfield viscometer	63
19	ความหนืดของ Malva nut gum (MG), Water treated malva nut gum (WMG) และ Acid treated malva nut gum (AMG) ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 % (w/v) ก่อนให้ความร้อนจนถึง 50° ซ ในช่วงเวลา 30 นาที วัดความหนืดหลังปล่อยให้เย็น แล้ววัดที่อุณหภูมิ 25° ซ วัดด้วยเครื่อง Brookfield viscometer	63
20	ความสามารถในการเกิดอิมัลชัน (Emulsion capacity) ของ Malva nut gum (MG), Water treated malva nut gum (WMG) และ Acid treated malva nut gum (AMG) เทียบ กับกัมทางการค้า ที่ความเข้มข้นของกัม 0.5 % (w/v) ในอิมัลชันที่มีวัฏภาคของน้ำ:น้ำมัน (9:1)	68
21.1	การกระจายขนาดของหยดน้ำมัน (Size distribution) ที่มี MG 0.5 % (w/v) ในวัฏภาคต่อเนื่อง ในอิมัลชันที่มีวัฏภาคของน้ำ:น้ำมัน (9:1) ที่อุณหภูมิ 27° ซ วัดโดย Mastersizer	71
21.2	การกระจายขนาดของหยดน้ำมัน (Size distribution) ที่มี WMG 0.5 % (w/v) ในวัฏภาคต่อเนื่อง ในอิมัลชันที่มีวัฏภาคของน้ำ:น้ำมัน (9:1) ที่อุณหภูมิ 27° ซ วัดโดย Mastersizer	71

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
21.3	การกระจายขนาดของหยดน้ำมัน (Size distribution) ที่มี AMG 0.5 % (w/v) ในวัฏภาคต่อเนื่อง ในอิมัลชันที่มีวัฏภาคของน้ำ:น้ำมัน (9:1) ที่อุณหภูมิ 27° ซ วัดโดย Mastersizer	72
21.4	การกระจายขนาดของหยดน้ำมัน (Size distribution) ที่มี AG 0.5 % (w/v) ในวัฏภาคต่อเนื่อง ในอิมัลชันที่มีวัฏภาคของน้ำ:น้ำมัน (9:1) ที่อุณหภูมิ 27° ซ วัดโดย Mastersizer	72
22	หยดน้ำมันที่มีสารละลายกัม (ก) MG (ข) WMG (ค) AMG (ง) AG (จ) G (ช) X เข้มข้น 0.5 % (w/v) ในวัฏภาคต่อเนื่องในอิมัลชันที่มีวัฏภาคของน้ำ:น้ำมัน (9:1) อุณหภูมิ 27° ซ	74
23	ความคงตัวของอิมัลชันต่อความร้อน (Heat stability) ของ Malva nut gum (MG), Water treated malva nut gum (WMG) และ Acid treated malva nut gum (AMG) เทียบกับกัมทางการค้า ที่ความเข้มข้นของกัม 0.5 % (w/v) ในอิมัลชันที่มีวัฏภาคของน้ำ:น้ำมัน (9:1) ที่อุณหภูมิ 27° ซ	75
24	ความคงตัวของอิมัลชันต่อเวลา (Storage stability) ของ Malva nut gum (MG), Water treated malva nut gum (WMG) และ Acid treated malva nut gum (AMG) เทียบกับกัมทางการค้า ที่ความเข้มข้นของกัม 0.5 % (w/v) ในอิมัลชันที่มีวัฏภาคของน้ำ:น้ำมัน (9:1) ที่อุณหภูมิ 27° ซ ที่ระยะเวลา 0-48 ชั่วโมง	76
25	ลักษณะปรากฏของอิมัลชัน (Storage stability) ของ MG, WMG, AMG, AG, G และ X (จากซ้าย) เมื่อตั้งทิ้งไว้ที่เวลา 0-48 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้นของกัม 0.5 % (w/v) ในอิมัลชันที่มีวัฏภาคของน้ำ:น้ำมัน (9:1) ที่อุณหภูมิ 27° ซ	77
26	ความหนืดของสารละลายกัมสำรอง Malva nut gum (MG) Water treated malva nut gum (WMG) และ Acid treated malva nut gum (AMG) ที่ความเข้มข้น 0.5 % (w/v)	80
27	สมบัติด้านอิมัลชันของกัมสำรอง Malva nut gum (MG) Water treated malva nut gum (WMG) และ Acid treated malva nut gum (AMG) ที่ความเข้มข้น 0.5 % (w/v)	82

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
28	เปรียบเทียบสมบัติด้านอิมัลชันของกัมตำรอง Malva nut gum (MG) Water treated malva nut gum (WMG) และ Acid treated malva nut gum (AMG) และกัมทางการค้า G และ AG ที่ความเข้มข้น 0.5 % (w/v)	83
ภาพผนวกที่		
ก1	กราฟมาตรฐานของโบรวันซีรัมอัลบูมินสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน	98
ก2	กราฟมาตรฐานของน้ำตาลกาแลคโตสสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรต ทั้งหมด	99
ก3	กราฟมาตรฐานของกรดกาแล็กทูโรนิกสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณกรดกาแล็กทูโรนิก	100
ก4	กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิกสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด	101
ก5	กราฟมาตรฐานน้ำตาลกาแล็กโทส	102
ก6	กราฟมาตรฐานน้ำตาลอะราบินอส	102
ก7	กราฟมาตรฐานน้ำตาลแรมโนส	103
ก8	โครมาโตแกรมน้ำตาลมาตรฐานกาแล็กโทส อะราบินอสและแรมโนส	103
ก9	โครมาโตแกรมของ MG	104
ก10	โครมาโตแกรมของ WMG	104
ก11	โครมาโตแกรมของ AMG	104
ก12	การวิเคราะห์โปรตีนด้วยชุด Micro Kjeldahl ในขั้นตอนการย่อย	106
ก13	การวิเคราะห์โปรตีนด้วยชุด Micro Kjeldahl ในขั้นตอนการกลั่น	106
ค1	อิมัลชันที่กัมตำรองในวิทยาของน้ำร้อยละ 0.25 0.5 และ 1.0 ตามลำดับ จากซ้ายไปขวา	118
ค2	อิมัลชันที่มีอัตราส่วนวิทยาคา:น้ำมัน 50:50 และ 90:10 จากซ้ายไปขวา	118
ฉ1	การกระจายขนาดหยดน้ำมันในระบบอิมัลชันที่มี MG ในวิทยาคาต่อเนื่อง	126
ฉ2	การกระจายขนาดหยดน้ำมันในระบบอิมัลชันที่มี WMG ในวิทยาคาต่อเนื่อง	126

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่		หน้า
ณ3	การกระจายขนาดหยดน้ำมันในระบบอิมัลชันที่มี AMG ในวัฏภาคต่อเนื่อง	126
ณ4	การกระจายขนาดหยดน้ำมันในระบบอิมัลชันที่มี AG ในวัฏภาคต่อเนื่อง	127
ณ5	การกระจายขนาดหยดน้ำมันในระบบอิมัลชันที่มี G ในวัฏภาคต่อเนื่อง	127
ณ7	การกระจายขนาดหยดน้ำมันในระบบอิมัลชันที่มีกัมในวัฏภาคต่อเนื่อง	128
ช1	กราฟมาตรฐานระหว่าง % radical scavenging activity กับความเข้มข้นของสารสกัด MG	130
ช2	กราฟมาตรฐานระหว่าง % radical scavenging activity กับความเข้มข้นของสารสกัด WMG	130
ช3	กราฟมาตรฐานระหว่าง % radical scavenging activity กับความเข้มข้นของสารสกัด AMG	131
ช4	กราฟมาตรฐานของส่วนชอบน้ำของสาร Trolox และ Area under curve	131
ช5	กราฟมาตรฐานของส่วนชอบน้ำมันของสาร Trolox และ Area under curve	132

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

AAPH	=	2',2'-Azobis(2-methylpropionamidine) dihydrochloride
AC	=	Antioxidant capacity
AE	=	Antiradical efficiency
AGPs	=	Arabinogalactan-Protein
Ala	=	Alanine
Araf	=	Arabinofuranose
BHA	=	Butylated hydroxyanisole
BHT	=	Hydroxytoluene
CDTA	=	Cyclohexane-trans-1,2 diamine tetraacetic
DPPH	=	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity assay
DTT	=	Dithiothreitol
EDTA	=	Ethylene diamine tetraacetic
FRAP	=	Ferric ion reducing antioxidant power assay
GalAp	=	Galactorunic acid
Galp	=	Galactopyranose
HCl	=	Hydrochloric acid
HO [•]	=	Hydroxyl radical
H ₂ O ₂	=	Hydrogen peroxide
H-ORAC	=	ORAC value of hydrophilic phase
Hyp	=	Hydroxyproline
Lys	=	Lysine
NaOH	=	Sodium hydroxide
O ₂ ^{•-}	=	Superoxide radical
ORAC	=	Oxygen radical absorbance capacity assay
Pro	=	Proline
Rhamp	=	Rhamnopyranose
ROO [•]	=	Peroxyl radical
RMCD	=	Randomly methylated betacyclodextrin
Ser	=	Serine

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ (ต่อ)

TBHQ	=	tert- butylhydroquinone
TEAC	=	Trolox equivalent antioxidant capacity assay
Thr	=	Theonine
TRAP	=	Total radical trapping antioxidant parameter assay
MG	=	Malva nut gum
WMG	=	Water treated malva nut gum
AMG	=	Acid treated malva nut gum
AG	=	Arabic gum
G	=	Guar gum
X	=	Xanthan gum

**ผลของปริมาณโปรตีนในกัมตำรองต่อสมบัติอิมัลชัน ปริมาณกรดฟีนอลิก และ
ความสามารถต้านออกซิเดชัน**

**Effect of Protein Content in Malva Nut Gum (*Scaphium Macropodium Beaum*) on
Emulsifying Properties, Phenolic Acid, and Antioxidant Activity**

คำนำ

เมล็ดตำรองหรือพุททะลายมีชื่อทางวิทยาศาสตร์คือ *Scaphium macropodium Beaum* และมีชื่อสามัญคือ Malva nut เมล็ดตำรองมีรูปร่างรี มีสีน้ำตาล ผิวขรุขระ เมื่อนำมาแช่น้ำสามารถพองตัวมีขนาดใหญ่ขึ้น 10 เท่าของผลแห้ง เมื่อบดจะมีลักษณะคล้ายเจลใสสีน้ำตาล ในประเทศไทยมีเมล็ดตำรองในป่าทางภาคตะวันออกเฉียงใต้ แก่ง จังหวัดจันทบุรีและตราด นอกจากประเทศไทยแล้วยังพบเมล็ดตำรองได้ในประเทศมาเลเซีย อินโดนีเซีย เวียดนามและจีน เมล็ดตำรองเป็นยาพื้นบ้านที่ใช้กันมาตั้งแต่อดีตใช้ในการป้องกันและรักษาโรคคออักเสบ แก้อาการท้องผูก ปัจจุบันเมล็ดตำรองเป็นที่รู้จักมากขึ้นเนื่องจากการนำผลตำรองมาทำเป็นผลิตภัณฑ์ขี้ผึ้งในน้ำสมุนไพรเพื่อผู้บริโภคที่ให้ความสำคัญกับสุขภาพ จึงมีเมล็ดตำรองและผลิตภัณฑ์ขายในเชิงพาณิชย์มากขึ้น ในขณะที่ผลงานวิจัยทางด้านวิทยาศาสตร์ที่เกี่ยวข้องกับเมล็ดตำรองมีเพียงการนำไปใช้ในการตกกระเจาตัวในเม็ดยา (ธวัชชัย, 2533) และการนำไปใช้เพื่อการอุ้มน้ำในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ (Somboonpanyakul *et al.*, 2007)

ประเทศไทยนำเข้าโพลีแซคคาไรด์จากต่างประเทศเพื่อนำมาใช้เป็นสารเจือปนอาหาร ในอุตสาหกรรมอาหาร โดยโพลีแซคคาไรด์แต่ละชนิดสามารถทำหน้าที่แตกต่างกันเช่น ให้ความหนืด ความคงตัวแก่อาหาร เป็นสารอิมัลซิไฟเออร์ โพลีแซคคาไรด์จัดเป็นคาร์โบไฮเดรตซึ่งเป็นโพลีเมอร์ของน้ำตาล ประกอบด้วยน้ำตาลเพียงชนิดเดียวหรือมีน้ำตาลหลายชนิดเป็นองค์ประกอบก็ได้ โพลีแซคคาไรด์มีที่มาจากหลายแหล่งทั้งพืช สัตว์ จุลินทรีย์และสัตว์ การแยกโพลีแซคคาไรด์จากแหล่งต่าง ๆ นั้นอาจได้สารอื่นร่วมด้วยเช่น โปรตีนและไขมัน (Harris *et al.*, 1995) เนื่องจากผนังเซลล์พืชนอกจากมีโพลีแซคคาไรด์แล้วยังมีโปรตีน ไขมัน ลิกนินและสารประกอบฟีนอลิกเป็นองค์ประกอบร่วมด้วย โพลีแซคคาไรด์ที่มีโปรตีนร่วมด้วยอาจมีผลต่อสมบัติต่าง ๆ เช่น โปรตีนในเพคตินจากชูการ์บีททำหน้าที่ในการยึดจับ (adsorp) ที่ผิวหน้าของน้ำมันทำให้เกิดอิมัลชันได้ (Williams *et al.*, 2005) กัมตำรองมีคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนเป็นองค์ประกอบ 62.0 และ 8.4 %

(w/w) (Somboonpanyakul *et al.*, 2005) จากสมบัติของโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบร่วมกับสารโพลีแซคคาไรด์ ทำหน้าที่ในการยึดจับน้ำมันทำให้เกิดอิมัลชันได้ จึงศึกษาผลของโปรตีนในเมล็ดสำโรงที่เป็นองค์ประกอบร่วมกับสารโพลีแซคคาไรด์จากเมล็ดสำโรงที่อาจมีต่อสมบัติทางด้านอิมัลชัน และศึกษาการเตรียมโพลีแซคคาไรด์จากสำโรงให้อยู่ในรูปแบบของกัม เพื่อให้ง่ายต่อการใช้เป็นสารเจือปนในอุตสาหกรรมอาหาร นอกจากนี้มีการนำเมล็ดสำโรงมาใช้ประโยชน์ในด้านยาสมุนไพร ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาสมบัติในการต้านออกซิเดชันของกัมสำโรง เพื่อทราบถึงประโยชน์ต่อสุขภาพ ซึ่งเป็นสมบัตินอกเหนือจากการเป็นสารเจือปนในอาหาร

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาการลดปริมาณโปรตีนในเมล็ดสำโรงด้วยเอนไซม์เปปซิน เอนไซม์โบรมิเลน น้ำกลั่น ก่อนนำมาเตรียมกัมสำโรง
2. ศึกษาการเตรียมกัมสำโรง และองค์ประกอบทางเคมี ความหนืด สมบัติการเป็นสารต้านออกซิเดชันของกัมสำโรง
3. ศึกษาสมบัติอิมัลชันของกัมสำโรงด้าน ความสามารถในการเกิดอิมัลชัน (Emulsion capacity) ความคงตัวอิมัลชันต่อความร้อน (Heat stability) และความคงตัวอิมัลชันต่อเวลา (Storage stability) โดยเตรียมอิมัลชันจากกัมจากสำโรงและเปรียบเทียบกับกัมทางการค้า

การตรวจเอกสาร

1. โพลีแซคคาไรด์จากพืช (Plant polysaccharide)

โพลีแซคคาไรด์เป็นโพลีเมอร์ของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว โดยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวมาต่อกันมากกว่า 10 โมเลกุลขึ้นไปจึงเกิดเป็นสายโพลีแซคคาไรด์ ในการเรียกชื่อโพลีแซคคาไรด์จะเรียกชื่อตามน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบในสายโพลีเมอร์นั้นแล้วลงท้ายด้วย -an เช่น โพลีแซคคาไรด์ที่มีน้ำตาลกลูโคสเป็นองค์ประกอบเรียกว่า กลูแคน โพลีแซคคาไรด์ที่ประกอบด้วยน้ำตาลกาแลคโตสและน้ำตาลแมนโนสเรียกว่า กาแลคโตแมนแนน เป็นต้น โพลีแซคคาไรด์จากแหล่งที่มาต่างกันทำให้มีองค์ประกอบทางเคมี น้ำหนักโมเลกุล การจัดเรียงตัวของโมเลกุลต่างกัน จึงทำให้สามารถจำแนกโพลีแซคคาไรด์ได้หลายหลักเกณฑ์ โดยอาจจำแนกตามจำนวนชนิดที่เป็นองค์ประกอบของน้ำตาลในสายโพลีแซคคาไรด์ได้เป็น โฮโมโพลีแซคคาไรด์ เช่น อะไมโลส อะไมโลเพคติน และเซลลูโลส ซึ่งมีน้ำตาลกลูโคสเป็นองค์ประกอบเพียงชนิดเดียว เฮเทอโรโพลีแซคคาไรด์ เช่น กลูโคแมนแนน แรมโนกาแลกทูโรแนน เป็นต้น โดยโพลีแซคคาไรด์ที่มาจากส่วนต่าง ๆ ของพืช เช่น เพคติน มาจากผนังเซลล์พืช กัมอะราบิก กัมคารายา มาจากยางไม้ กวักกัม โลคัสบินกัมมาจากส่วนของเมล็ด อาจเรียกโพลีแซคคาไรด์ที่มาจากยางไม้ เมล็ดและสารเมือกจากพืชว่ากัมก็ได้

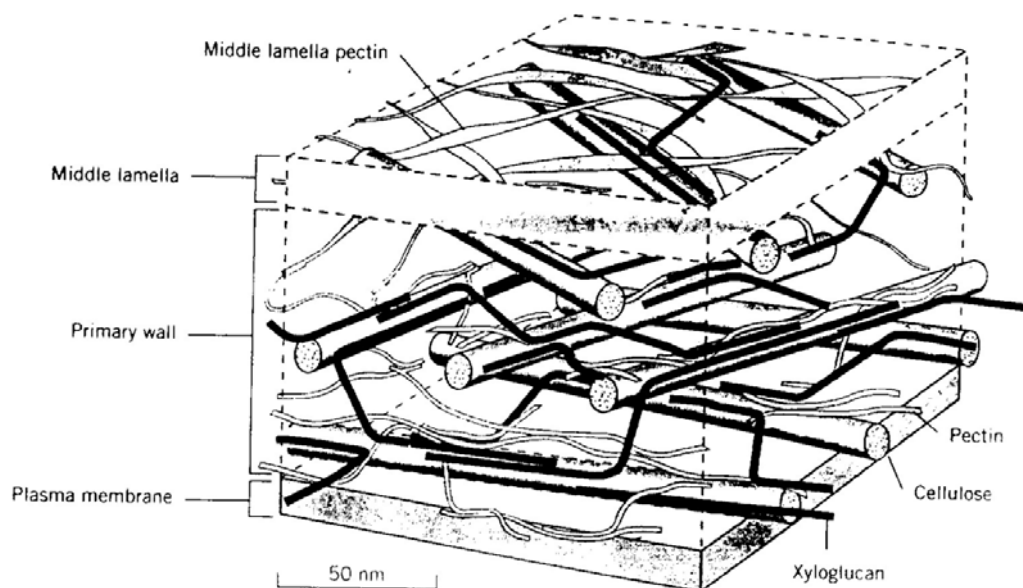
1.1 องค์ประกอบของผนังเซลล์พืช

1.1.1 โพลีแซคคาไรด์ทำหน้าที่เป็นโครงสร้างหลักของผนังเซลล์พืชชั้นสูง ดังภาพที่ 1 โดยทำหน้าที่ให้ความแข็งแรงแก่ผนังเซลล์พืช ในผนังเซลล์พืชมีโพลีแซคคาไรด์มากถึง 90 % โดยประกอบไปด้วยโพลีแซคคาไรด์ชนิดต่าง ๆ ได้แก่

เซลลูโลส เป็นโพลีเมอร์สายตรงขนาดใหญ่ของน้ำตาลกลูโคส มีโครงสร้างที่เป็นระเบียบ ไม่ละลายน้ำ อยู่ในผนังเซลล์พืชชั้นแรก (Primary cell wall) และชั้นที่สอง (Secondary cell wall) โดยพบมากในผนังเซลล์พืชชั้นที่สองเป็นคาร์โบไฮเดรตที่พบมากที่สุดในโลก มนุษย์ไม่มีเอนไซม์ที่สามารถย่อยเซลลูโลสได้ สัตว์กินพืชสามารถย่อยเซลลูโลสได้เนื่องจากในกระเพาะอาหารมีจุลินทรีย์ที่สามารถปล่อยเอนไซม์เพื่อย่อยเซลลูโลสได้ (Whistler and Bemiller, 1999)

เฮมิเซลลูโลส มีโครงสร้างที่หลากหลายขึ้นอยู่กับชนิดของพืช ในผนังเซลล์พืช มีเฮมิเซลลูโลสอยู่ 20-30 % เฮมิเซลลูโลสเป็นโพลีแซคคาไรด์ที่มีโครงสร้างเป็นกิ่งก้าน น้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบได้แก่ ไซโลส กลูโคส อะราบินอส แรมโนสและกาแลคโตส เป็นต้น นอกจากนี้ในผนังเซลล์พืชแล้วยังพบเฮมิเซลลูโลสในเยื่อหุ้มเมล็ดของพืช การแยกเฮมิเซลลูโลสออกจากเนื้อเยื่อของพืชนั้นทำได้โดยการใช้สารละลายต่าง โดยเฮมิเซลลูโลสที่มีโครงสร้างที่เป็นกิ่งก้านมากจะละลายออกมาได้มาก (Whistler and Bemiller, 1999)

เพคติน ซึ่งเป็นองค์ประกอบอยู่ในส่วน middle lamella ของผนังเซลล์พืช เป็นโมเลกุลที่มีโครงสร้างซับซ้อน โดยมีโครงสร้างสายหลักเป็นโพลีเมอร์ของกรดกาแล็กทูโรนิก มีโครงสร้างกิ่งก้านเป็นแรมโนกาแล็กทูโรแนน อะราบินกาแล็กแตน การแยกเพคตินออกจากเซลล์พืชนั้นทำได้โดยการใช้ น้ำ สารละลายคีเลตติ้งและสารละลายกรดเจือจาง (Hopkins and Hüner, 2004)



ภาพที่ 1 แบบจำลองโครงสร้างของผนังเซลล์พืช

ที่มา: Hopkins and Hüner (2004)

1.1.2 ไกลโคโปรตีนที่ผนังเซลล์พืช ไกลโคโปรตีนประกอบด้วยสายโพลีเปปไทด์มาเชื่อมต่อกับโอลิโกแซคคาไรด์หรือโพลีแซคคาไรด์ด้วยพันธะ N-glycosyl หรือพันธะ O-glycosyl

สำหรับในพืชส่วนใหญ่จะเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ O-glycosyl ในผนังเซลล์พืชมีไกลโคโปรตีนเป็นองค์ประกอบอยู่ประมาณ 10% ที่ผนังเซลล์ชั้นแรก โดยไกลโคโปรตีนบางประเภทอาจพบได้ในพืชบางชนิดเท่านั้น ตัวอย่างไกลโคโปรตีนได้แก่

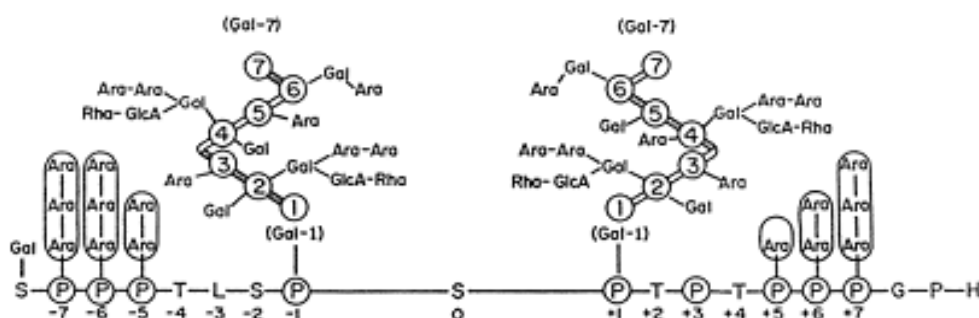
เอ็กเทนซิน (Extensin) เป็นไกลโคโปรตีนที่พบมากในพืช ไม่ละลายน้ำ มี pH อยู่ในช่วงต่ำเนื่องจากมีค่า Isoelectric point ประมาณ 10 ซึ่งขึ้นกับไลซีน (Lys) ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบ มีคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบประมาณ 50% เชื่อมกับสายเปปไทด์ด้วยพันธะ O-glycosyl โครงสร้างของเอ็กเทนซินประกอบด้วยกรดอะมิโนไฮดรอกซีโพรลีน (Hyp) และซีรีน (Ser) เป็นจำนวนมาก บริเวณ repetitive region จะพบกรดอะมิโนโพรลีน (Pro) และ Hyp อย่างหนาแน่น มีน้ำตาลกาแลคโตสโมเลกุลเดียวหรือน้ำตาลอะราบินโนสโมเลกุลเดียวถึงสามโมเลกุลเชื่อมกับ Ser น้ำตาลอะราบินโนสโมเลกุลเชื่อมกับ Hyp ในผนังเซลล์พืชเอ็กเทนซินเชื่อมกันด้วยพันธะโคเวเลนต์และเกิดการเชื่อมข้ามกับเพคตินด้วยแรงทางประจุ ในเซลล์พืชเอ็กเทนซินทำหน้าที่ส่งสัญญาณระหว่างเซลล์ (Johnson *et al.*, 2003)

อะราบินโนกาแลคแทน-โปรตีน (Arabinogalactan-Protein (AGPs)) เป็นสารเชิงซ้อนในผนังเซลล์พืชที่ละลายน้ำได้ อะราบินโนกาแลคแทน-โปรตีนประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตมากถึง 90-99% ในโมเลกุลของ AGPs โพลีแซคคาไรด์ต่อกับสายเปปไทด์ด้วยพันธะ O-glycosyl กรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบใน AGPs ได้แก่ กรดอะมิโนโพรลีน (Pro) และอะราบิน (Ara) เป็นส่วนใหญ่ กรดอะมิโนอื่นได้แก่ Ser, Pro, Ara และทรีโอนีน (Thr) และบริเวณปลายสายหลักของโพลีเปปไทด์มีสมบัติไฮโดรโฟบิก โพลีแซคคาไรด์ที่เป็นองค์ประกอบใน AGPs ได้แก่โพลีเมอร์ของน้ำตาลกาแลคโตสเป็นสายหลักและมีกิ่งก้านเป็นน้ำตาลอะราบินโนสหรือกาแลคโตส AGPs สามารถเกิดการเชื่อมข้ามกับสายของเพคตินในผนังเซลล์พืชด้วยแรงทางประจุ และเกิดโครงสร้างเป็นกระเปาะหรือโพรงรอบบริเวณที่มีการเชื่อมข้าม การย่อยสายเปปไทด์ของ AGPs ทำได้โดยใช้เอนไซม์โปรตีโอไลซิส AGPs ในผนังเซลล์พืชทำหน้าที่ส่งสัญญาณระหว่างเซลล์ ควบคุมระดับน้ำภายในเซลล์ และเป็นสารเริ่มต้นในการสังเคราะห์คาร์โบไฮเดรต หากอยู่บริเวณท่อเอกรทำหน้าที่เป็นสารให้ความหนืดเพื่อให้ละอองเกสรมาติด สมบัติการละลายน้ำของ AGPs ดีกว่าเอ็กเทนซินเนื่องจากมีคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบมากกว่า (Johnson *et al.*, 2003)

ในผนังเซลล์พืชอาจมีไกลโคโปรตีนชนิดอื่น ได้แก่ Proline-Rich Protein, Hybrid-proline Rich Protein และเอ็กแพนซิน (Expansin) เป็นต้น แต่มีในปริมาณน้อยกว่าเอ็กเทน

ซินและ AGPs อี็กเพนซินในพืชมีหน้าที่ช่วยให้สายโพลีเมอร์ของกลูแคนยึดเกาะกับโครงสร้างอื่นภายในเซลล์ได้และช่วยให้เอนไซม์เซลลูเลสย่อยเซลลูโลสในผนังเซลล์ได้ง่ายขึ้น (Estanyol and Puigdomènech, 2000)

นอกจากโพลีแซคคาไรด์และไกลโคโปรตีนแล้วยังมีองค์ประกอบอื่น ได้แก่ แร่ธาตุ ลิกนินและสารประกอบฟีนอลิกซึ่งเกาะกับเฮมิเซลลูโลสด้วยพันธะไฮโดรเจนและสามารถเกิดพันธะเอสเทอร์กับเพคติน นอกจากนี้จะพบโครงสร้างเชิงซ้อนของไกลโคโปรตีนเกาะกับเพคตินในโครงสร้างของผนังเซลล์พืชแล้วอาจพบไกลโคโปรตีนร่วมกับโพลีแซคคาไรด์จากส่วนต่าง ๆ ของพืชได้อีก Goodrum *et al.* (1999) รายงานการพบไกลโคโปรตีนอี็กเพนซินและอะราบีโนการแลกแทนโปรตีนในกัมอะราบิกจากชูดาน



ภาพที่ 2 โครงสร้างไกลโคโปรตีนในกัมอะราบิกจากชูดาน: S แทนกรดอะมิโนซีรีน P แทนกรดอะมิโนโปรลีน T แทนกรดอะมิโนทรีโอนีน L แทนกรดอะมิโนไลซีน GAL แทนน้ำตาลกาแลกโตส Ara แทนน้ำตาลอะราบินอส์ Rha แทนน้ำตาลแรมนโนสและGlcA แทนกรดกลูโคนิก

ที่มา: Goodrum *et al.* (1999)

เมื่อใช้เอนไซม์โปรเนสและไลโมทริปซินตัดสายโพลีเปปไทด์พบว่าโมเลกุลที่ตัดด้วยเอนไซม์โปรเนสได้โมเลกุลที่มีขนาดใหญ่กว่าที่ตัดด้วยไลโมทริปซินเล็กน้อยและได้ทำการศึกษาผลของโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.2 M ที่อุณหภูมิ 50 °C ที่ระยะเวลาต่าง ๆ เพื่อศึกษาผลของการสูญเสียกรดอะมิโนพบว่า มีการสูญเสียกรดอะมิโนไฮดรอกซีโปรลีนที่เชื่อมกับโพลีแซคคาไรด์ด้วยพันธะ O-glycosyl เท่านั้น ที่เวลา 6 ชั่วโมงมีการสูญเสีย 6.4% เมื่อเวลามากขึ้นมีการสูญเสียกรดอะมิโนไฮดรอกซีโปรลีนมากขึ้น แต่ไม่พบ O-glycosyl ที่เชื่อมกับซีรีนและทรีโอนีน จึงกล่าว

ได้ว่าพันธะซิรินและทรีโอนีน-O-glycosyl มีความคงทนในสภาวะต่าง ซึ่งสอดคล้องกับ Betran *et al.* (2005) ศึกษาการใช้แบเรียมไฮดรอกไซด์ 100 ช เป็นเวลา 8 ชั่วโมงและการใช้เอนไซม์โปรเนส ในกัมอะราบิกสายพันธุ์ *Acacia Tortuosa* พบว่า การใช้แบเรียมไฮดรอกไซด์ให้โกลโคโปรตีนที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่กว่าการใช้เอนไซม์โปรเนสและการใช้แบเรียมไฮดรอกไซด์ให้โพลีแซคคาไรด์ที่มีขนาดเล็กกว่าการใช้เอนไซม์โปรเนสซึ่งแบเรียมไฮดรอกไซด์ไม่สามารถทำลายโครงสร้างในส่วนของโปรตีนได้แต่เกิดการทำลายโครงสร้างในส่วนของโพลีแซคคาไรด์ได้

1.2 การใช้ประโยชน์โพลีแซคคาไรด์จากพืช (กัม)

กัมเป็นสารโพลีแซคคาไรด์จากพืชที่ให้ความหนืดหรือมีลักษณะเป็นเจล เมื่อกระจายตัวอยู่ในน้ำ (นิธิยา, 2545) ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ มีการนำกัมมาใช้ ทั้งอุตสาหกรรมอาหาร เครื่องสำอางและทางการแพทย์โดยนำมาใช้เพื่อเป็นสารให้ความหนืด สารให้ความคงตัว สารอิมัลซิไฟเออร์ และสารที่ทำให้เกิดเจล เป็นต้น กัมแต่ละชนิดอาจทำหน้าที่ได้เพียงอย่างเดียว บางชนิดอาจทำได้หลายหน้าที่ ดังตารางที่ 1 แสดงตัวอย่างคุณสมบัติและโครงสร้างทางเคมีของกัมจากพืช

ตารางที่ 1 คุณสมบัติและโครงสร้างทางเคมีของโพลีแซคคาไรด์จากพืช

โพลีแซคคาไรด์	แหล่งที่มา	โครงสร้างหลัก	คุณสมบัติ
เพคติน	กากผลไม้ตระกูลส้ม	สายยาวของกรดกาแล็กทูโรนิก	สารให้ความคงตัวและสารที่ทำให้เกิดเจล
กาแล็กโตแมนแนน	เมล็ดถั่ว โลคัสบีน	สายยาวของน้ำตาลแมนโนส สายแขนงน้ำตาลกาแล็กโทส	สารให้ความคงตัว สารช่วยให้เกิด การอัมม่น้ำ
ไซโลกลูแคน	เมล็ดมะขาม	สายยาวของน้ำตาลกลูโคส สายแขนงน้ำตาลไซโลส	สารให้ความหนืด และสารให้ ความคงตัว
แอลจิเนต	สาหร่ายสีน้ำตาล	ประกอบด้วยน้ำตาลแมนโนส และน้ำตาลกลูโคส	สารให้ความหนืด และสารให้ ความคงตัว
อะการ์	สาหร่ายทะเลสีแดง	กรดกัมมะถันเอสเทอร์ไฟด์ น้ำตาลกาแล็กโทส	สารที่ทำให้เกิดเจล

ที่มา: Waldron *et al.* (2003)

กัมต่างชนิดกันมีคุณสมบัติทางเคมีต่างกัน ได้แก่ ชนิดของน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบ หรืออาจมีองค์ประกอบอื่นร่วมด้วยเช่น โปรตีน ไขมัน ตำแหน่งของพันธะในการต่อกันของน้ำตาล ขนาดของโมเลกุล การจัดเรียงตัวของน้ำตาลภายในสายโพลีเมอร์ต่างกันจึงทำให้คุณสมบัติเชิงหน้าที่ต่างกันเช่น ผลของโครงสร้างต่อความหนืดของกัม โดยกัมที่มีโครงสร้างเป็นสายตรงและโครงสร้างกึ่งก้าน ที่ขนาดน้ำหนักโมเลกุลเท่ากัน ความเข้มข้นเท่ากัน กัมที่มีโครงสร้างสายตรงจะให้ความหนืดมากกว่ากัมที่มีโครงสร้างเป็นกึ่งก้าน การให้ความคงตัวกับอิมัลชันนั้นกัมอาจทำหน้าที่ให้ความหนืดเพื่อให้หยดน้ำมันเคลื่อนที่มารวมกันได้ช้าลงหรือสมบัติการเป็นสารอิมัลซิไฟเออร์ที่ช่วยในการลดแรงดึงผิวที่ผิวร่วมของน้ำกับน้ำมันทำให้น้ำกับน้ำมันรวมตัวกันได้ดีขึ้น

Leroux *et al.* (2003) รายงาน คุณสมบัติการเป็นสารอิมัลซิไฟเออร์ของ Citrus pectin และ Beet pectin ขึ้นอยู่กับน้ำหนักโมเลกุล โปรตีนและหมู่อะซิดิล Brummer *et al.* (2002) ได้ทำการสกัด Fenugreek gum ซึ่งมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบ 34.1% จากนั้นจึงทำการสกัดโปรตีนออกด้วยเอนไซม์โปรเนสได้ Fenugreek gum ที่มีระดับโปรตีน 2.36 และ 0.57% พบว่า Fenugreek gum ที่มีระดับโปรตีนสูงกว่าจะลดแรงดึงผิวระหว่างผิวร่วมของน้ำกับน้ำมันมากกว่า

1.3 การสกัดโพลีแซคคาไรด์จากพืช

โพลีแซคคาไรด์จากพืชนั้นพบได้ในส่วนต่าง ๆ ของพืช ได้แก่ ในผนังเซลล์ โพลีแซคคาไรด์ในผนังเซลล์พืชยึดเกาะกันด้วยโครงสร้างที่ซับซ้อน ในส่วนของยางพืช โพลีแซคคาไรด์ทำหน้าที่ในการปิดบาดแผลเมื่อเซลล์เกิดความเสียหาย การสกัดโพลีแซคคาไรด์ในพืชทำได้โดยใช้เอนไซม์และสารละลายเคมีได้แก่ น้ำ สารละลายกรด สารละลายคีเลตติ้ง (Chelating agents) และสารละลายด่าง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความสามารถในการละลายของโพลีแซคคาไรด์และโครงสร้างในการยึดเกาะของโพลีแซคคาไรด์ในผนังเซลล์พืช ในที่นี้ขอยกตัวอย่างเทคนิคซึ่งเป็นโพลีแซคคาไรด์ในผนังเซลล์พืชยึดเกาะกันด้วยโครงสร้างที่ซับซ้อน

เอนไซม์ที่ใช้ในการสกัดเทคนิคได้แก่ endo-polygalacturonase endo-pectinlyase และ endo-pectatelyase เป็นต้น ผลผลิตที่ได้จากการสกัดด้วยเอนไซม์คือ โอลิโกกาแล็กทูโรไนด์ (Oligogalacturonide) และ แรมโนกาแล็กทูโรไนด์ (Rhamnogalacturonide) นอกจากเอนไซม์แล้ว อาจใช้น้ำหรือบัฟเฟอร์ ได้โพลีแซคคาไรด์ที่ละลายได้ในน้ำ เป็นโพลีแซคคาไรด์ที่เกาะกับผนังเซลล์พืชอย่างไม่แข็งแรง การใช้สารละลายคีเลตติ้ง (Chelating) โดยสารละลายคีเลตติ้งทำหน้าที่

ละลายเพคตินที่ยึดเกาะกับผนังเซลล์พืชด้วยแคลเซียม การใช้สารละลายกรดเจือจางได้แก่ ซัลฟูริก ไนตริก

ฟอสฟอริก อะซีติก และกรดไฮโดรคลอริกที่อุณหภูมิสูง โดยกรดจะทำหน้าที่ไฮโดรไลซิสสารโพรโตเพคตินให้เป็นเพคติน (Pagan *et al.*, 1999) การสกัดด้วยสารละลายต่างเจือจาง ที่อุณหภูมิต่ำ ต่างที่นิยมใช้ได้แก่ โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์และโซเดียมไฮดรอกไซด์ สารละลายต่างทำหน้าที่ละลายเพคตินที่ยึดกับผนังเซลล์พืชด้วยพันธะเอสเทอร์และพันธะไฮโดรเจน นอกจากเพคตินในผนังเซลล์พืชแล้วยังมีเฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลสซึ่งเป็นโพลีแซคคาไรด์ที่มีมากในผนังเซลล์พืช การสกัดเฮมิเซลลูโลสนั้นต้องใช้สารละลายต่างที่มีความเข้มข้นมากกว่าการสกัดเพคติน สารละลายต่างที่ใช้ในการสกัดเฮมิเซลลูโลสมีความเข้มข้น 1-4 M ทั้งนี้ในการสกัดโพลีแซคคาไรด์ นอกจากจะต้องคำนึงถึงสารละลายที่ใช้ในการสกัดแล้ว ยังต้องคำนึงถึงความเข้มข้นและอุณหภูมิที่ใช้ เนื่องจากหากใช้กรดหรือด่างที่มีความเข้มข้นสูงอาจทำให้โครงสร้างของโพลีแซคคาไรด์เสียหายซึ่งอาจมีผลต่อสมบัติเชิงหน้าที่ของโพลีแซคคาไรด์นั้น (Voragen and Pilnik, 1995)

2. ตำรง (*Scaphium macropodum* Beaum)

ตำรงมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Scaphium macropodum* Beaum และมีชื่อพ้องคือ *Sterculia scaphigera* Wall ตำรงจัดอยู่ในวงศ์ Sterculiaceae ตระกูล *Scaphium* ตำรงมีชื่อสามัญคือ Malva nut และมีชื่อเรียกแตกต่างกันไปตามภูมิภาคที่พบ ทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือเรียกว่า ตำรงหรือพุงทลาย ทางภาคใต้เรียก ห้ายเกา พืชในวงศ์นี้เป็นพืชในป่าฝนเขตร้อน พบได้ในเขตประเทศไทย มาเลเซีย อินโดนีเซีย ลาว เวียดนามและจีน ตำรงที่พบในประเทศจีนเรียกว่า Pungdahai และมีชื่อทางวิทยาศาสตร์คือ *Sterculia lychnophora* Hance ในประเทศไทยพบตำรงกระจายอยู่ทั่วไปหลายภูมิภาคและมีความหลากหลายทางสปีชีส์ โดยในภาคตะวันออกเฉียงเหนือพบตำรงสายพันธุ์ *S. scaphigerum* และ *S. macropodum* ในภาคใต้พบ *S. longiflorum* และ *S. linearicarpum* (Yamada *et al.*, 2000)

2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ตำรงเป็นไม้ยืนต้นขนาดกลางถึงใหญ่ พบได้บริเวณเนินเขา มีลำต้นสูงประมาณ 40-45 เมตร ลำต้นตรง ใบเดี่ยวเรียงสลับมีก้านเฉพาะเรือนยอด ออกดอกในช่วงเดือนธันวาคม-

มกราคม ผลจะเริ่มแก่และร่วงในช่วงเดือนมีนาคม-เมษายน ที่บริเวณข้าวผลมีปีกบาง ๆ รูปร่างคล้ายใบเรือ ซึ่งเปลี่ยนแปลงมาจากรังไข่ทำให้ปลิวไปตามลมได้ไกลกว่า 50 เมตรจากต้น เมล็ดสำรองแห้งมีลักษณะกลมรี ผิวหยาบสีน้ำตาลเข้ม ที่เชื่อมเมล็ดชั้นนอกมีสารเมือกจำนวนมาก เมื่อนำเมล็ดไปแช่น้ำจะพองคล้ายเจลลี่ มีขนาดใหญ่กว่าเมล็ดแห้งประมาณ 10 เท่า ในอดีตการกระจายพันธุ์เกิดขึ้นโดยธรรมชาติแต่เนื่องจากเมล็ดสำรองเป็นที่นิยมในการบริโภคมากขึ้นทำให้ต้นสำรองในธรรมชาติถูกทำลายเพื่อเก็บเกี่ยวผลโดยการโค่นต้น หน่วยงานที่เกี่ยวข้องจึงต้องขยายพันธุ์ด้วยการตอนกิ่งและชำกิ่งเพื่อปลูกทดแทนส่วนที่ถูกทำลายไป (มานิชญ์ และคณะ, 2548)

2.2 สมบัติและการใช้ประโยชน์ของสารเมือกจากเชื้อหุ้มเมล็ดชั้นนอกของสำรอง

เมล็ดสำรองจัดเป็นยาสมุนไพรพื้นบ้านที่ใช้ในการรักษาโรคคออักเสบ ร้อนใน กระหายน้ำและช่วยลดอาการท้องผูก (คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, 2543) เนื่องจากเมล็ดสำรองมีสารเมือกจำนวนมากจึงมีการศึกษาองค์ประกอบของน้ำตาลของสารโพลีแซคคาไรด์จากสารเมือกโดย Chen *et al.* (1996) พบว่าสารเมือกของเมล็ดสำรองสายพันธุ์ *Sterculia lychnophora Hance* มีน้ำตาลกลูโคส แลคโตส อะราบินอสและแรมโนส เป็นองค์ประกอบในอัตราส่วน 1.00:1.67:1.01 มีขนาดโมเลกุล 162,200 ดาลตัน และ Somboonpanyakul *et al.* (2005) ได้ศึกษาองค์ประกอบและโครงสร้างของน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบในสารเมือกของสำรองสายพันธุ์ *Scaphium scaphigerum* โดยทำการสกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.05 M ที่อุณหภูมิ 85 °C เวลา 30 นาที แล้วตกตะกอนด้วยเอทานอลได้เป็นกัมสำรอง พบว่าน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบได้แก่ น้ำตาลกลูโคส แลคโตส อะราบินอส และแรมโนส ในอัตราส่วน 1.0:1.1:1.0 มีปริมาณกรดยูโรนิก 6.4% และพอลิแซคคาไรด์ที่เป็นโครงสร้างสายหลักคือ 1,3-linked L-Araf, 1,4-linked D-Galp, 1,4-linked D-GalAp และมีน้ำตาลเป็นกิ่งก้านคือ 1,2,4-linked D-Galp และ 1,2,3,4-linked Rhamp กัมสำรองมีขนาดโมเลกุล 6.65×10^6 เมื่อนำกัมสำรองมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FT-IR Spectroscopy พบว่าให้ค่าสเปกตรัมที่คล้ายกับกัมอะราบิก และองค์ประกอบทางเคมีของกัมสำรองได้แก่ คาร์โบไฮเดรต 62.0 % โปรตีน 8.4 % เถ้า 8.3 %

นอกจากการศึกษาสารโพลีแซคคาไรด์แล้วยังมีการศึกษาสารอัลคาลอยด์ซึ่งเป็นสารที่มีโครงสร้างเป็นวงโดยมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบอยู่ 1 อะตอมหรือมากกว่า ไม่มีสี รสขม สารกลุ่มนี้ส่วนมากเป็นสารพิษที่ได้จากธรรมชาติโดย Wang *et al.* (2003) ศึกษาสารอัลคาลอยด์ใน *Sterculia lychnophora Hance* พบอัลคาลอยด์ 2 ชนิดได้แก่ sterculinine I และ sterculinine II

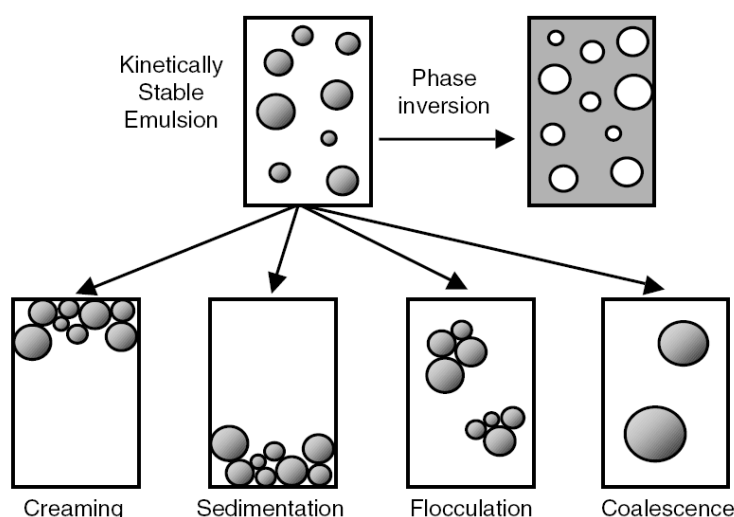
นอกจากนี้ยังพบสารฟีนอลิกเกาะกับน้ำตาล จากการสกัดด้วยเอทานอลพบ kaempferol-3-O- β -D-glucoside จากการสกัดด้วย cyclohexane พบ β -sitosterol และจากการสกัดด้วย n-butanol พบ kaempferol-3-O- β -D-rutinoside.

นอกจากใช้เป็นยาสมุนไพรแล้วปัจจุบันมีการใช้ประโยชน์ของสารเมือกจากเชื้อหุ้มเมล็ดชั้นนอกของสารองเป็นของหวานโดยนำมาใส่ในน้ำสมุนไพรต่าง ๆ และยังมีงานวิจัยที่ได้นำสารเมือกจากสารองไปใช้ประโยชน์อื่นได้แก่ นำไปใช้เป็นสารช่วยในการแตกกระจายตัวในยาเม็ดเทียบกับสตาร์ชข้าวโพด พบว่าการแตกกระจายตัวของยาเม็ดที่มีสารเมือกสารองเป็นสารช่วยแตกกระจายตัว มีอัตราเร็วในการดูดซับน้ำสูงกว่าและเมื่อยาแตกกระจายตัวเร็วกว่าใช้สตาร์ชข้าวโพดที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน (ธวัชชัย, 2533) เนื่องจากคุณสมบัติการอุ้มน้ำของสารเมือกนี้ จึงมีงานวิจัยที่นำสารเมือกนี้ไปใช้ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอก โดยสกัดสารเมือกด้วยน้ำแล้วตกตะกอนด้วยเอทานอลไปใส่ในเบตเตอร์ที่ผลิตจากเนื้อไก่ส่วนอกร่วมกับการใช้เกลือโซเดียมคลอไรด์และฟอสเฟตที่ระดับต่าง ๆ พบว่าสารเมือกจากสารองช่วยให้ผลิตภัณฑ์มีน้ำหนักเพิ่มขึ้นที่ทุกระดับความเข้มข้นของเกลือแต่ทำให้ค่าในการยึดเกาะของโครงสร้าง (Cohesiveness) และค่าแรงเทียบกับการเคี้ยว (chewiness) มีค่าลดลง นอกจากนี้มีการนำสารเมือกจากสารองไปใช้ในไส้กรอกแฟรงเฟอเตอร์ที่ผลิตจากเนื้อไก่ติดกระดูกปน โดยใช้สารเมือกจากสารอง 0, 0.2 และ 0.6% ในสูตรทางการค้าของไส้กรอกพบว่าที่ระดับของสารเมือกจากสารอง 0.2% ลดการสูญเสียน้ำจากการให้ความร้อนกับไส้กรอกมากที่สุดและจากการทดสอบทางประสาทสัมผัสที่ระดับดังกล่าวนี้ให้ค่าความแน่นเนื้อ (Firmness) และให้ค่าความยืดหยุ่น (Elasticity) มาก (Somboonpanyakul *et al.*, 2007)

3. อิมัลชัน

อิมัลชันเป็นระบบการกระจายตัวของของเหลวที่ต่างกัน 2 ชนิดหรือมากกว่า ที่ไม่สามารถรวมเป็นเนื้อเดียวกัน อิมัลชันเป็นระบบที่ไม่คงตัว หรืออาจคงตัวที่ช่วงเวลาหนึ่งแล้วเกิดการแยกชั้น เช่น น้ำกับน้ำมัน เป็นต้น สาเหตุของความไม่คงตัวของอิมัลชันในเชิงเทอร์โมไดนามิกนั้น ประกอบด้วย บริเวณผิวสัมผัสระหว่างน้ำมันและโมเลกุลของน้ำมีแรงดึงผิว (Interfacial tension) ที่ทำให้ไม่สามารถละลายรวมกันได้ ดังนั้นจึงต้องลดผิวสัมผัสระหว่างน้ำมันกับน้ำให้น้อยลง และน้ำมันมีค่าความหนาแน่นน้อยกว่าน้ำจึงทำให้น้ำมันลอยขึ้นสู่ด้านบนผิวหน้าของน้ำ (McClements, 2000) การสูญเสียความคงตัวของอิมัลชันเกิดเนื่องจากปัจจัยทางกายภาพมีลักษณะดังนี้ การเกิดการแยกชั้นของน้ำมันเป็นครีมอยู่ด้านบนของ ๆ เหลว (Creaming) การตกตะกอนของน้ำมันเมื่ออยู่ใน

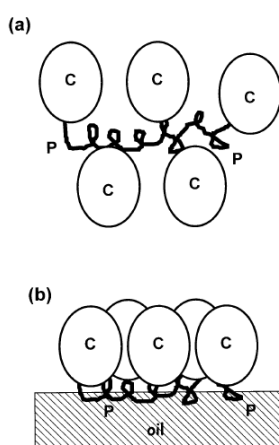
ระบบที่มีค่าความหนาแน่นน้อยกว่า (Sedimentation) การสูญเสียความคงตัวของอิมัลชันทั้ง 2 แบบ ดังกล่าวเกิดเนื่องจากแรงโน้มถ่วง นอกจากนี้ยังมีการสูญเสียความคงตัวของอิมัลชันโดยการหลอมรวมตัวของอนุภาค (Coalescence) และการเกาะกลุ่มกันของอนุภาคที่กระจายตัว (Flocculation) ซึ่งทั้ง 2 แบบนี้เป็นการสูญเสียความคงตัวเนื่องจากเกิดการรวมมวลของหยดน้ำมัน (Droplet aggregation) ดังภาพที่ 3 ระบบอาหารประกอบไปด้วยสารหลายชนิดเช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมัน อยู่ร่วมกันดังนั้นอาหารหลายชนิดจึงเป็นระบบอิมัลชัน



ภาพที่ 3 การสูญเสียความคงตัวของระบบอิมัลชันในอาหารเนื่องจากปัจจัยทางกายภาพ
ที่มา: McClements (2005)

อิมัลชันอาจแบ่งออกเป็น อิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ (oil in water (O/W)) เป็นระบบอิมัลชันที่วัฏภาคต่อเนื่อง (Continuous phase) เป็นน้ำ และวัฏภาคกระจายตัว (Disperse phase) เป็นหยดน้ำมัน อาหารที่มีระบบอิมัลชันแบบนี้ได้แก่ มายองเนสและนม เป็นต้น อิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมัน (Water in oil (W/O)) โดยระบบของน้ำมันเป็นวัฏภาคต่อเนื่อง และมีน้ำเป็นวัฏภาคกระจายตัว ตัวอย่างอาหารที่มีระบบอิมัลชันแบบนี้ได้แก่ เนย มาร์การีน เป็นต้น ในที่นี้ขอกล่าวถึงระบบอิมัลชันแบบน้ำมันในน้ำเท่านั้น การเกิดอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำนั้น ต้องมีสารอิมัลซิไฟเออร์ที่ละลายได้ทั้งในน้ำและน้ำมันช่วยในการเกิดอิมัลชันดังกล่าว โดยสารอิมัลซิไฟเออร์นี้เกิดปฏิกิริยาที่ผิวร่วมระหว่างน้ำและน้ำมัน ทำให้หยดน้ำมันกระจายตัวอยู่ในน้ำได้ สารอิมัลซิไฟเออร์ได้แก่ โมโนกลีเซอไรด์ เลซิธิน และโปรตีน เป็นต้น นอกจากนี้การรักษาคความคงตัวของอิมัลชันในระยะ

ขบวนการนี้อาจต้องใช้สารที่ทำให้เกิดความคงตัวในอาหารร่วมด้วย โดยสารที่ทำให้เกิดความคงตัวในอาหารส่วนใหญ่เป็นสารโพลีเมอร์ทางชีวภาพเช่น โปรตีนและโพลีแซคคาไรด์ เป็นต้น โปรตีนเกิดการยึดจับที่ผิวร่วมระหว่างน้ำมันและน้ำเนื่องจากโมเลกุลของโปรตีนมีส่วนที่ไม่มีขั้วและส่วนที่มีขั้ว ดังนั้นโมเลกุลโปรตีนจึงละลายได้ในน้ำมันและน้ำตามลำดับ ในขณะที่เดียวกันโปรตีนก็ให้สมบัติทางด้านความหนืดและหรือสมบัติการเกิดเจล ซึ่งสมบัติดังกล่าวทำให้หยดนํ้ามันเคลื่อนที่มาเจอกันช้าลง เกิดความคงตัวของระบบอิมัลชัน โพลีแซคคาไรด์ให้ความคงตัวของอาหารในรูปแบบของความหนืดหรือการเกิดเจลในภูมิภาคต่อเนื่อง หรืออาจใช้ทั้งโปรตีนและโพลีแซคคาไรด์ร่วมกันเพื่อรักษาความคงตัวของอิมัลชันโดยอาจทำให้เกิดสารเชิงซ้อนของโปรตีนและโพลีแซคคาไรด์ก็ได้ ในที่นี้ขอกล่าวถึงสารโพลีแซคคาไรด์หรือกัมเพียงเท่านั้น กัมที่ใช้เป็นสารอิมัลซิไฟเออร์และสารให้ความหนืดในระบบอิมัลชันตามลำดับ กัมที่ใช้เป็นสารอิมัลซิไฟเออร์ ได้แก่ กัมอะราบิก เนื่องจากโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบในกัมอะราบิกมีบทบาทในการลดแรงตึงผิวร่วมระหว่างน้ำและน้ำมัน ดังภาพที่ 4 กัมอะราบิกจะหันส่วนด้านที่มีโปรตีนซึ่งแสดงสมบัติทางไฮโดรโฟบิกไปที่ผิวหน้าของน้ำมันและหันด้านคาร์โบไฮเดรตไปที่ผิวหน้าของน้ำ

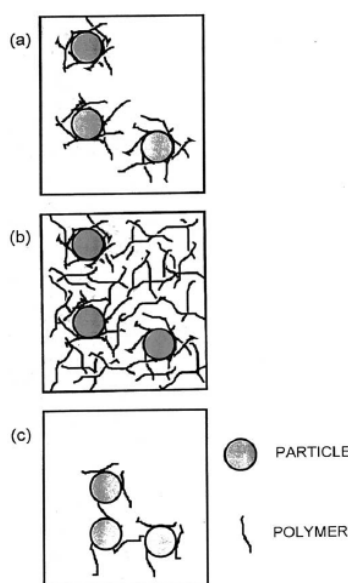


ภาพที่ 4 แบบจำลองโครงสร้างกัมอะราบิกส่วนโปรตีน-โพลีแซคคาไรด์ (a) แสดงถึงโครงสร้างของกัม ในน้ำ (b) แสดงถึงการจัดเรียง โครงสร้างของกัมที่ผิวร่วมของน้ำมัน

ที่มา: Dickinson (2003)

นอกจากกัมอะราบิก ยังมีเพคตินซึ่งเป็นโพลีแซคคาไรด์ที่ได้จากผนังเซลล์พืช การเป็นสารอิมัลซิไฟเออร์ของเพคตินเนื่องจากการมีโปรตีนในโครงสร้าง การมีหมู่อะเซทิลในโครงสร้างซึ่งหมู่อะเซทิลนี้มีบทบาทเป็นหมู่ไฮโดรโฟบิก นอกจากนี้สมบัติของโพลีแซคคาไรด์ที่เป็นสารให้

ความหนืด สารให้ความคงตัวของอาหาร มีผลต่อความคงตัวของอิมัลชัน โพลีแซคคาไรด์ที่นิยมใช้ในการเป็นสารที่ให้ความหนืดของอิมัลชันในอุตสาหกรรมได้แก่ กาแลกโตแมนแนน เป็นโพลิเมอร์ของน้ำตาลแมนโนสเป็นโครงสร้างหลักและมีกิ่งก้านเป็นน้ำตาลกาแลกโตส ตัวอย่างก็มีโครงสร้างเป็นกาแลกโตแมนแนนได้แก่ กวและโลคัสป็น กาแลกโตแมนแนนเป็นโพลิเมอร์ที่ชอบน้ำ ดังนั้นในอุตสาหกรรมอาหารจึงใช้กาแลกโตแมนแนนเป็นสารให้ความหนืดและสารให้ความคงตัวในอาหาร จึงมีบทบาทในการรักษาความคงตัวของระบบอิมัลชัน โดยกาแลกโตแมนแนนเกิดการเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบห่อหุ้มหยดน้ำมันเอาไว้ (Forming liquid crystalline) รูปที่ 5 แสดงรูปแบบของโพลีแซคคาไรด์ในระบบอิมัลชัน ที่ทำให้เกิดปรากฏการณ์ได้ 3 รูปแบบได้แก่ การรักษาความคงตัวโดยโมเลกุลที่ผิวร่วมระหว่างวัฏภาคน้ำมันและน้ำ (Sterically stabilized system) การเกิดเจลที่วัฏภาคของน้ำ (Emulsion gel) และการเกิดการเกาะกลุ่ม (Flocculation) เนื่องจากการเกิดการเชื่อมข้ามของโมเลกุลขนาดใหญ่ที่ผิวของหยดน้ำมัน (Dickinson, 2003)



ภาพที่ 5 ปรากฏการณ์ของกัมในระบบอิมัลชัน (a) a sterically stabilized system , (b) an emulsion gel, และ (c) a system flocculated by macromolecule bridging.

ที่มา: Dickinson (2003)

นอกจากการเติมสารให้ความหนืดของระบบอิมัลชัน ทำให้หยดน้ำมันมารวมกันยากแล้ว ยังมีปัจจัยอื่นที่มีผลต่อความคงตัวของอิมัลชันอีก เช่น ขนาดของหยดน้ำมัน โดยขนาดของหยดน้ำมันอาจเป็นผลจากแรงที่ทำให้ในการผสม (Homogenizer) และธรรมชาติของสารอิมัลซิไฟเออร์ที่มี

อยู่ในระบบอิมัลชัน ธรรมชาติของวิทยาศาสตร์ต่อเนื่องได้แก่ความหนืด เป็นต้น ตารางที่ 2 แสดงปัจจัยที่มีผลต่อความคงตัวของอิมัลชัน

ตารางที่ 2 ปัจจัยหลักที่มีผลต่อความคงตัวของอิมัลชันน้ำมันในน้ำ

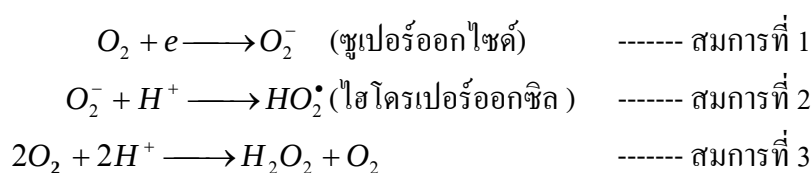
ปัจจัยที่มีผลต่อการกระจายขนาดของหยดน้ำมัน ได้แก่
อุปกรณ์ในการทำให้เกิดอิมัลชัน
ความเข้มข้นของสารอิมัลซิไฟเออร์
ชนิดของสารอิมัลซิไฟเออร์
อัตราส่วนของน้ำมันต่อน้ำ
ปัจจัยอื่น ได้แก่ อุณหภูมิ pH และ ความหนืด
ธรรมชาติของสารคู่จับที่ผิวร่วมระหว่างน้ำมันและน้ำ
ความเข้มข้นและชนิดของสารอิมัลซิไฟเออร์
ชนิดของอันตรกิริยาของสารคู่จับที่ผิวร่วม
การแข่งขันในการคู่จับบริเวณผิวร่วมของสารอิมัลซิไฟเออร์
ธรรมชาติของวิทยาศาสตร์ต่อเนื่อง
สมบัติการไหล (Rheology) คุณภาพตัวทำละลาย ประจุในวิทยาศาสตร์ต่อเนื่องและโพสิเมอร์ที่ละลายน้ำ
ธรรมชาติของวิทยาศาสตร์กระจายตัว
อัตราส่วนระหว่างของแข็งและของเหลวในระบบ
การละลายในวิทยาศาสตร์ต่อเนื่อง

ที่มา: Dickinson (2003)

4. ความสามารถต้านออกซิเดชัน

อนุมูลอิสระหรือสารที่ได้จากกลไกการเกิดออกซิเดชันในเซลล์ต่าง ๆ มีบทบาทในการทำให้เกิดโรคต่าง ๆ มากมาย ได้แก่ โรคมะเร็ง โรคพาร์กินสัน โรคสมองฝ่อ โรคไขข้ออักเสบ การอุดตันของหลอดเลือด ซึ่งอาจนำมาของโรคหัวใจและโรคที่เกิดจากเซลล์หรือเนื้อเยื่อในร่างกายต่อต้านตัวเอง (Autoimmune) และมีส่วนร่วมในกระบวนการเกิดความชรา กลไกการเกิดอนุมูลอิสระนั้นเกิดจากการที่ออกซิเจนสูญเสียอิเล็กตรอน ซึ่งเกิดขึ้นได้ในเซลล์ที่มีการหายใจโดยใช้ออกซิเจน

ทำให้เกิดอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์ (O_2^-) และอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นนี้ต้องแย่งอิเล็กตรอนจากโมเลกุลอื่นเพื่อให้เกิดความเสถียร เช่นแย่งอิเล็กตรอนจากกระบวนการส่งผ่านอิเล็กตรอนของไมโทคอนเดรีย ซูเปอร์ออกไซด์ได้รับโปรตรอนเกิดเป็นอนุมูลไฮโดรเปอร์ออกซิล ($HO_2^{\cdot}$) ซึ่งมีขั้วน้อยและมีความไวต่อปฏิกิริยามากกว่าซูเปอร์ออกไซด์ นอกจากนี้เอนไซม์ซูเปอร์เปอร์ออกไซด์ ดิสมูเทส (Superoxide dismutase) ยังเป็นตัวเร่งที่ทำให้เกิดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ดังสมการที่ 1-3 ซึ่งสารหรืออนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจะไปทำลายเซลล์ทำให้เกิดความเสียหายต่อเซลล์



สารต้านอนุมูลอิสระหรือสารต้านออกซิเดชันจะไปยับยั้งหรือทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของโมเลกุลอื่นช้าลง โดยการให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระเพื่อให้อนุมูลอิสระเกิดความเสถียร ในขณะที่ตัวสารต้านออกซิเดชันที่เกิดการสูญเสียอิเล็กตรอนจะยังคงความเสถียรในโครงสร้างอยู่ เนื่องจากเกิดการรีไซเคิลของอิเล็กตรอนภายในโมเลกุล สารต้านออกซิเดชันแบ่งออกเป็น 2 ประเภทได้แก่ สารต้านออกซิเดชันที่ได้จากการสังเคราะห์ เช่น Butylated hydroxyanisole (BHA) Butylated hydroxytoluene (BHT) และ tert-butyl-hydroquinone (TBHQ) เป็นต้น และสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากธรรมชาติได้แก่ สารโพลีฟีนอลที่พบได้ในพืชทั่วไป ซึ่งแบ่งย่อยตามลักษณะโครงสร้างได้หลายชนิด จากโครงสร้าง องค์ประกอบภายในโครงสร้าง ได้แก่ หมู่แทนที่ หมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่งต่างกัน ทำให้คุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระต่างกัน โดยเรียงตามคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากมากไปน้อยได้ดังนี้ แทนนิน > ฟลาโวนอล > ฟลาโวนอล > กรดฟีนอลิกที่มีโครงสร้างอย่างง่าย (Haslam, 1995 ; Veliloglu *et al.*, 1998 ; Kaur *et al.*, 2001) ตัวอย่างประโยชน์ของสารต้านออกซิเดชันที่มีผลในการลดความเสี่ยงต่อการเป็นโรคนี Heinonen *et al.*, (1998) ได้รายงานความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารแอนโทไซยานิน กรดไฮดรอกซีซินนามิก สารฟลาโวนอลและสาร Flavan-3-ols ในผลไม้ตระกูลเบอร์รี่ทำให้ Low – Density Lipoprotein (LDL) และการเกิดออกซิเดชันของไลโปโซมลดลง Thangapazham *et al.* (2007) พบว่า สารโพลีฟีนอลที่ได้จากชาเขียวและสารเอพิแกลโลคาเทชิน แกลเลทมีคุณสมบัติในการยับยั้งเซลล์มะเร็งเต้านมที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง และเซลล์มะเร็งเต้านมในคนที่ปลูกถ่ายในหนูทดลอง โดยเนื้องอกที่เกิดขึ้นในหนูทดลองมีการเจริญเติบโตช้าลง Lau *et al.* (2005) ได้รายงานผลของสารสกัดโพลีฟีนอลจากผลไม้ตระกูลเบอร์รี่และผักโขมใน

รูปแบบอาหารเสริม ในการยับยั้งการเสื่อมของเส้นประสาทสมองของหนู ซึ่งการเสื่อมของเส้นประสาทนี้จะนำมาซึ่งโรคพาร์กินสันและโรคอัลไซเมอร์

4.1 หลักการในการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ตามหลักในการเกิดปฏิกิริยาแบ่งออกเป็น 2 แบบได้แก่ (Huang *et al.*, 2005; โอภา และคณะ, 2550)

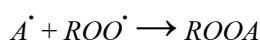
4.1.1 การวิเคราะห์จากการส่งผ่านอะตอมไฮโดรเจน (Hydrogen atom transfer, HAT) ได้แก่วิธี ORAC (Oxygen radical absorbance capacity) และ วิธี TRAP (Total radical-trapping antioxidant parameter) วิธีนี้จะกำจัดอนุมูลอิสระโดยการให้อะตอมไฮโดรเจนดังสมการที่ 4



เมื่อ $X^{\bullet}$ = สารประกอบต่างๆ
 AH = สารต้านออกซิเดชัน

การวัดอะตอมไฮโดรเจนที่มีการส่งผ่านนี้ทำการวัดโดย วัดการเรืองแสงของสารฟลูออเรสเซนซ์ที่ลดลงเมื่อเกิดการออกซิเดชันและเมื่อระบบมีสารต้านออกซิเดชัน สารต้านออกซิเดชันจะไปแย่งจับสารที่เกิดออกซิเดชันกับสารเรืองแสง ทำให้ให้ความเข้มของสารฟลูออเรสเซนซ์ลดลงด้วยความเร็วที่ช้าลงหากไม่มีสารต้านออกซิเดชัน สารฟลูออเรสเซนซ์จะไปจับกับสารออกซิเดชัน ทำให้ความเข้มของสารฟลูออเรสเซนซ์ลดลงอย่างรวดเร็ว โดยสารที่ใช้เป็นสารอนุมูลตั้งต้นคือสารกลุ่มเอโซ (Azo compound) ได้แก่ AAPH สารบ่งชี้ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น (Plobe) ได้แก่สารฟลูออเรสซิน โดย AAPH จะถูกให้ความร้อนเพื่อสร้างอนุมูลเพอร์ออกไซด์ เมื่อใส่ฟลูออเรสซิน และสารต้านออกซิเดชันแล้ว จะเกิดการแย่งกันทำปฏิกิริยากับอนุมูลเพอร์ออกไซด์ โดยสารต้านออกซิเดชันจะทำปฏิกิริยาอย่างรวดเร็วเมื่อสารต้านออกซิเดชันทำปฏิกิริยาจนหมดแล้วสารฟลูออเรสซินจึงเข้าทำปฏิกิริยาต่อ การเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์จึงค่อยๆ ลดลง กลไกการแย่งทำปฏิกิริยาของสารต้านออกซิเดชันและฟลูออเรสซินดังสมการที่ 5-8



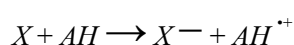


----- สมการที่ 8

เมื่อ PH = สารตัวแทนสารตั้งต้น (oxidized probes)

4.1.2 การวิเคราะห์จากการส่งผ่านอิเล็กตรอนเดี่ยว (Single electron transfer, SAT)

วิธีการนี้เป็นการหาความสามารถในการส่งผ่านอิเล็กตรอนไปรีดิวซ์สารอื่น ได้แก่ โลหะและอนุมูล ปฏิกริยานี้จะมีการเปลี่ยนแปลงสีเมื่อเกิดการแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอน โดยการเปลี่ยนสีมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของสารต้านออกซิเดชัน คือถ้าสารต้านออกซิเดชันมีความเข้มข้นมากสีของสารละลายก็จะลดลงอย่างรวดเร็ว วิธีการในกลุ่มนี้ ได้แก่ total phenols assay by Folin-Ciocalteu reagent (FCR), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity (DPPH) assay, trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay หรือ ABTS และ ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) assay มีกลไกดังสมการที่ 7



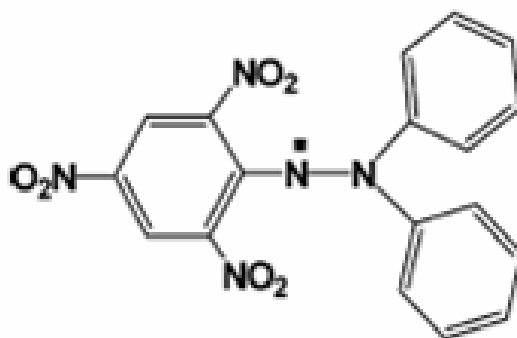
----- สมการที่ 7

ในการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระทำได้ทั้งทางตรงคือ การวัดปริมาณอนุมูลอิสระโดยตรง และการวัดทางอ้อมโดยการวัดจากความเสียหายจากการออกซิเดชันหรือวัดปริมาณสารที่เกี่ยวข้อง ในการวัดโดยตรงทำได้ยากเนื่องจากอนุมูลอิสระมีครึ่งชีวิตที่สั้นมากในระดับวินาที และเครื่องมือที่ใช้ในการวัดมีความยุ่งยาก จึงนิยมการวัดโดยทางอ้อม นอกจากนี้ในการวัดการต้านอนุมูลอิสระควรทำการวัดในหลายวิธีเพื่อตอบในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยรวมของสารต้านออกซิเดชัน ในการทดลองนี้ขอกล่าวถึงเฉพาะวิธี ORAC และวิธี DPPH ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้ในการทดลองนี้

ORAC (Oxygen radical absorbance capacity) เป็นวิธีการวัดความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยการส่งผ่านอะตอมไฮโดรเจน โดยใช้หลักการลดลงของแสงฟลูออเรสเซนซ์เมื่อวัดด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงฟลูออเรสเซนซ์ โดยเมื่อฟลูออเรสซินทำปฏิกิริยากับอนุมูลเพอร์ออกไซด์แล้วความเข้มของแสงจะลดลง หากในระบบมีปริมาณสารต้านออกซิเดชันน้อยจะทำให้ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ลดลงอย่างรวดเร็ว แต่ถ้าปริมาณสารต้านออกซิเดชันมาก ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์จะลดลงช้า เนื่องจากอนุมูลอิสระต้องทำปฏิกิริยากับสารต้าน

ออกซิเดชันจนหมดก่อนแล้วจึงทำปฏิกิริยากับฟลูออเรสซิน วิธีนี้นิยมใช้กันอย่างกว้างขวาง ทั้งในการหาความสามารถในการต้านออกซิเดชันของอาหารและผลิตภัณฑ์อาหารเสริม เนื่องจากเป็นวิธีที่สอดคล้องกับการเกิดออกซิเดชันในร่างกาย

DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity) เป็นวิธีการวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยการส่งผ่านอิเล็กตรอน โดยการยับยั้ง 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical เป็นอนุมูลในโตรเจนที่คงตัว มีสีม่วงเมื่อทำการเติมสารต้านอนุมูลอิสระสีจะค่อย ๆ จางลง เป็นวิธีการวัดที่ง่าย สะดวกโดยใช้เพียงเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โดยวัดการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 515 nm



ภาพที่ 6 โครงสร้างทางเคมีของ 2', 2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl
ที่มา Huang *et al.* (2005)

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. วัตถุดิบ

เมล็ดตำรอกแห้งที่ใช้ในการทดลองซื้อจากมหาวิทยาลัยราชภัฏจันทรบุรี ในเดือนมีนาคม 2549 เมล็ดตำรอกมีขนาด 2.5 x 1.5 ซม. และมีน้ำหนักเฉลี่ย 1.59 กรัม นำเมล็ดตำรอกมากระเทาะแยกเมล็ดออก นำส่วนเปลือกและเชื้อหุ้มเมล็ดไปทำการบด ร่อนผ่านตะแกรงที่มีขนาด 500 ไมโครเมตร ได้เป็นผงตำรอก เก็บไว้ในโถสุญญากาศที่อุณหภูมิห้อง

2. สารเคมี

2.1 สารเคมีในการแยกโปรตีนออกจากตำรอก

2.1.1 กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (Concentrated hydrochloric) 36.5-38% ของ J.T Baker ประเทศสหรัฐอเมริกา

2.1.2 ไดโซเดียมไฮโดรเจนออร์โทฟอสเฟต (Di-sodium hydrogen orthophosphate anhydrous) analytical grade ของ Ajax Finechem ประเทศนิวซีแลนด์

2.1.3 โซเดียมไดไฮโดรเจนออร์โทฟอสเฟต (Sodium di-hydrogen orthophosphate) analytical grade ของ Ajax Finechem ประเทศนิวซีแลนด์

2.1.4 เอนไซม์เปปซิน (Pepsin) (EC 3.4.23.1) ของ Sigma ประเทศสหรัฐอเมริกา

2.1.5 เอนไซม์โบรมิเลน (Bromelain) (EC 3.4.22.32) ของ Sigma ประเทศสหรัฐอเมริกา

2.1.6 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide) analytical grade ของ Mallinckrodt ประเทศสหรัฐอเมริกา

2.1.7 คูมาสซี บลู จี 250 (Coomassie brilliant blue G 250) ของ Fluka ประเทศสวิตเซอร์แลนด์

2.2 สารในเคมีการวิเคราะห์โปรตีน

2.2.1 กรดซัลฟิวริก (Sulfuric acid) Analytical grade 95-97% ของ Merk ประเทศเยอรมนี

2.2.2 กรดบอริก (Boric acid) Analytical grade ของ Ajax Finechem ประเทศนิวซีแลนด์

2.2.3 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide) เช่นเดียวกับข้อ 2.1.6

2.2.4 คอปเปอร์ซัลเฟต (Copper sulfate) ของ Fisher Scientific ประเทศอังกฤษ

2.2.5 โพแทสเซียมซัลเฟต (Potassium sulfate) analytical grade ของ Ajax Finechem ประเทศนิวซีแลนด์

2.2.6 โซเดียมไทโอซัลเฟต (Sodium Thiosulphate) analytical grade ของ Ajax Finechem ประเทศนิวซีแลนด์

2.2.7 โบรโมครีซอลกรีน (Bromocresol green) analytical grade ของ Ajax Finechem ประเทศนิวซีแลนด์

2.2.8 เมทิลเรด (Methyl red) analytical grade ของ Panreac ประเทศสเปน

2.3 สารเคมีการเตรียมกัมสารรองด้วยต่าง

2.3.1 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide) เช่นเดียวกับข้อ 2.1.6

2.3.2 กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (Concentrated hydrochloric) 36.5-38% เช่นเดียวกับข้อ 2.1.1

2.4 สารเคมีในการวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด

2.4.1 ฟีนอล (Phenol) analytical grade ของ Merck ประเทศเยอรมนี

2.4.2 กรดซัลฟิวริกเข้มข้น (Concentrated sulfuric acid) 95-97% เช่นเดียวกับข้อ 2.2.1

2.4.3 น้ำตาลกาแลคโตส (D-galactose) ของ Fluka ประเทศสวิตเซอร์แลนด์ ใช้เป็นสารมาตรฐาน

2.5 สารเคมีในการวิเคราะห์กรดกาแล็กทูโรนิก

2.5.1 โซเดียมเตตระโบเรต (di-sodium tetraborate decahydrate) analytical grade ของ Merck ประเทศเยอรมนี

2.5.2 เมตาไฮดรอกซีไดฟีนิล (m-hydroxydiphenyl) 85% ของ Fluka ประเทศ สวิตเซอร์แลนด์

2.5.3 พริกเข้มข้น (Concentre sulfuric acid) 95-97% เช่นเดียวกับข้อ 2.2.1

2.5.4 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide) เช่นเดียวกับข้อ 2.1.6

2.5.5 กรดกาแล็กทูโรนิก (D-galacturonic acid monohydrate) 98% ของ Sigma ประเทศสหรัฐอเมริกา

2.6 สารเคมีในการวิเคราะห์น้ำตาลด้วย HPLC

2.6.1 กรดซัลฟริกเข้มข้น (Concentre sulfuric acid) 95-97% เช่นเดียวกับข้อ 2.2.1

2.6.2 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide) เช่นเดียวกับข้อ 2.1.6

2.6.3 อะซิโตนไนด์ (Acetonitile) ของ Lab scan

2.6.4 เมทานอล (Methanol) 99 % ของ Lab scan

2.6.5 น้ำตาลกาแล็กโตส (D-galactose) ของ Fluka ประเทศสวิตเซอร์แลนด์ ใช้เป็น สารมาตรฐาน

2.6.6 น้ำตาลอะราบินโนส (L-arabinose) ของ Sigma ประเทศอเมริกา ใช้เป็นสาร มาตรฐาน

2.6.7 น้ำตาลแรมนโนส (L-Rhamnose) ของ Sigma ประเทศอเมริกาใช้เป็นสาร มาตรฐาน

2.7 สารเคมีในการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

2.7.1 โฟลิน- ซีโอเคาเทอ (Folin-Ciocalteu reagent) analytical grade ของ Fluka ประเทศสวิตเซอร์แลนด์

2.7.2 โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium carbonate anhydrous) analytical grade ของ BDH ประเทศอังกฤษ

2.7.3 กรดแกลลิก (Gallic acid) 97% ของ Sigma ประเทศสหรัฐอเมริกา ใช้เป็นสารมาตรฐาน

2.7.4 เมทานอล (Methanol) 99 % ของ Lab scan

2.8 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity assay)

2.8.1 เมทานอล (Methanol) เช่นเดียวกับข้อ 2.6.4.

2.8.2 2,2-ไดฟีนิล-1-ไพคริล-ไฮดราซิด (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl, DPPH; C₁₈H₁₂N₅O₆: 90%) ยี่ห้อ sigma-aldrich Inc. ประเทศสหรัฐอเมริกา

2.9 สารเคมีสำหรับสกัดและวิเคราะห์ความสามารถด้านออกซิเดชันด้วยวิธี ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity assay)

2.9.1 เฮกเซน (Hexane) ยี่ห้อ J.T. Baker ประเทศ USA.

2.9.2 อะซิโตน (Acetone) ยี่ห้อ Lab scan

2.9.3 กรดอะซิติก (Acetic acid) ยี่ห้อ BDH Labortory Supplies ประเทศอังกฤษ

2.9.4 แทรพโซล แรนดอมลิ เมทิลเลทเทด บีต้าไซโคลเดกทิน (Trappsol® Randomly Methylated Betacyclodextrin, RMCD) Cyclodextrin Technologies Development Inc. ประเทศสหรัฐอเมริกา

2.9.5 ฟลูออเรสซีน (Fluorescence sodium salt) ยี่ห้อ sigma-aldrich Inc. ประเทศสหรัฐอเมริกา

2.9.6 2',2'-อะโซบิส (2-เมทิลโพรพิโอนามิดีน) ไดไฮโดรคลอไรด์ (2',2'-Azobis(2-methylpropionamidine) dihydrochloride, AAPH; $[=NC(CH_3)_2C(=NH)NH_2]_2 \cdot 2HCl$: 97%) ยี่ห้อ sigma-aldrich Inc. ประเทศสหรัฐอเมริกา

2.9.7 โซเดียม ไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (Sodium dihydrogenphosphate) Analytical grade ของ Ajax Finechem ประเทศนิวซีแลนด์

2.9.8 ไดโซเดียมไฮโดรเจนออร์โธฟอสเฟต (Di-sodium hydrogen orthophosphate anhydrous) Analytical grade ของ Ajax Finechem ประเทศนิวซีแลนด์

2.9.9 6-ไฮดรอกซี-2,5,7,8-เตตระเมทิลโครแมน-2-คาร์บอกซีลิก แอซิด (6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid, Trolox) ยี่ห้อ sigma-aldrich Inc. ประเทศเยอรมนี

2.10 วัตถุดิบและสารเคมีที่ใช้ในการวัดสมบัติด้านอิมัลชัน

2.10.1 น้ำมันข้าวโพด ยี่ห้อมาโซลา ชื่อจากซูเปอร์มาร์เก็ต

2.10.2 กัมอะราบิก เป็น Food grade จากบริษัท Shandong duqing Inc. ประเทศจีน

2.10.3 กัวกัม เป็น Food grade จากบริษัท Lab valley Inc. ประเทศไทย

2.10.4 แซนแทนกัม เป็น Food grade จากบริษัท Rhodia food Inc. ประเทศ

สหรัฐอเมริกา

3. อุปกรณ์และเครื่องมือ

3.1 อุปกรณ์งานครัว

3.2 เครื่องชั่งหยابและเครื่องชั่งละเอียด

3.3 ชุดกรองสุญญากาศ

3.4 เครื่องแก้ว

3.5 เทอร์โมมิเตอร์

3.6 เครื่องปั่นผสม (Blender)

3.7 ร่อน 35 mesh (Sieve: Endecotts Ltd., England)

3.8 เครื่องระเหยแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (Rotary evaporator รุ่น R-114, Buchi)

3.9 โถดูดความชื้น (Desiccator)

3.10 เครื่องทำแห้งแบบเยือกแข็ง (Freeze dryer รุ่น FD 2.5, Heto)

3.11 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Digital spectrophotometer รุ่น Spectro 22)

3.12 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)

3.13 เครื่องวัดความหนืด (Brookfield digital rheometer รุ่น DV-III)

3.14 อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์ด้วยวิธี micro Kjeldahl

3.15 pH meter (Jenco ประเทศสหรัฐอเมริกา)

3.16 โซโมจิไนเซอร์ (Ultra Turrax T 25 basic IKA พร้อมหัวปั่นรุ่น S 25 N 18 G)

3.17 เครื่องกวน (Overhead stirrer)

3.18 เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge) ยี่ห้อ Hermle รุ่น Z 200 A

3.19 เครื่องการวิเคราะห์ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง High

Performance Liquid Chromatography: HP 1100, Hewlett Packard, USA.)

3.20 เครื่องวัดขนาดอนุภาค (Mastersizer) ยี่ห้อ Malvern รุ่น 2000MU

3.21 เครื่องวัดแรงตึงผิวแบบเพลต (Wilhelmy plate) เครื่อง Tensiometer ยี่ห้อ Data
physic รุ่น Dcat 11/Dcat 11HR

3.22 กล้องจุลทรรศน์ (Light microscope) ยี่ห้อ Carl Zeiss และ โปรแกรม Image Pro plus 6.0

3.23 เครื่องวัดการดูดกลืนแสงฟลูออเรสเซนซ์ (Fluorescence spectrophotometer:
FLUOstar Optima, BMG) พร้อม well plate สีดำ

วิธีการ

การเตรียมผงสำรอง โดยนำเมล็ดสำรองมากระเทาะแยกเมล็ดออก นำส่วนเปลือกและเชื้อหุ้มเมล็ดไปทำการบด ร่อนผ่านตะแกรงที่มีขนาด 500 ไมโครเมตร ได้เป็น ผงสำรอง เก็บไว้ในโถดูดความชื้น ที่อุณหภูมิห้อง

1. การลดปริมาณโปรตีนในผงสำรอง และการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

การศึกษาวิธีการลดปริมาณโปรตีนในผงสำรองก่อนการเตรียมเป็นกัม ด้วยน้ำกลั่น เอนไซม์เปปซินและเอนไซม์โบรมิเลน เนื่องจากโปรตีนในพืชบางชนิดละลายน้ำได้ และถูกย่อยด้วยเอนไซม์โปรติเอสได้ง่าย นอกจากนี้ยังศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการลดปริมาณโปรตีนในผงสำรอง โดยทำการศึกษาที่เวลา 10, 16 และ 24 ชั่วโมง

1.1 การลดปริมาณโปรตีนด้วยน้ำกลั่น เอนไซม์เปปซินและเอนไซม์โบรมิเลน

1.1.1 การลดปริมาณโปรตีนในผงสำรองด้วยน้ำกลั่น

ทำการลดปริมาณโปรตีนออกจากผงสำรองด้วยน้ำกลั่น โดยอัตราส่วนผงสำรอง : น้ำกลั่น คือ 1:50 (g/ml) ที่อุณหภูมิ 40 ° ซ เป็นเวลา 10, 16 และ 24 ชั่วโมง ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิพร้อมกับการเขย่า กรองแยกตัวอย่างออกจากน้ำกลั่นด้วยชุดกรองสุญญากาศ ล้างผงสำรองด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน น้ำกลั่น:ตัวอย่าง คือ 100:1 (ml/g ของน้ำหนักแห้งตัวอย่าง) (ล้างด้วยจำนวนครั้งเท่ากับการใช้เอนไซม์เพื่อควบคุมการทดลองให้เหมือนกัน) นำน้ำที่ล้างมาวิเคราะห์โปรตีนด้วยสารละลายแบรดฟอร์ด จนไม่พบโปรตีนในน้ำ นำผงสำรองที่แยกได้ ไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 ° ซ (ภาพที่ 7)

1.1.2 การลดปริมาณโปรตีนในผงสำรองด้วยเอนไซม์เปปซินในสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.02 M คัดแปลงจาก (Mou'ecoucou *et al.*, 2004)

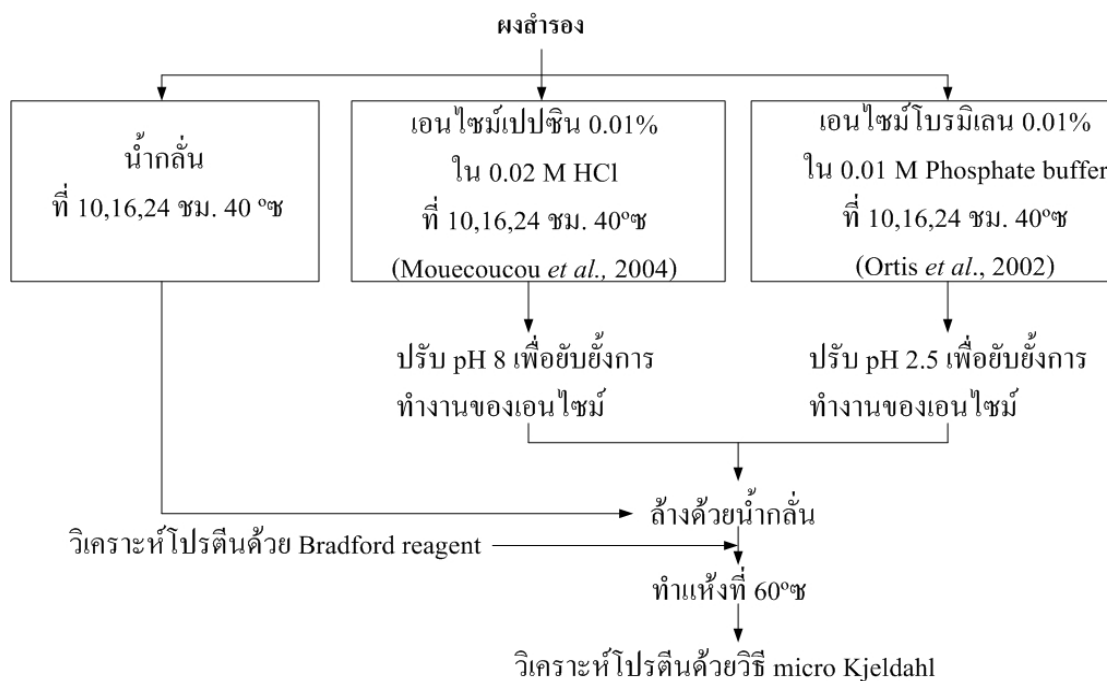
ทำการลดปริมาณโปรตีนในผงสำรองด้วยเอนไซม์เปปซิน โดยอัตราส่วนผงสำรอง : กรดไฮโดรคลอริก 0.02 M (pH 2) คือ 1:50 (g/ml) โดยความเข้มข้นของเอนไซม์เปปซินในกรดไฮโดรคลอริก 0.02 M คือ 0.1 % (w/v) ที่อุณหภูมิ 40 ° ซ เวลา 10, 16 และ 24 ชั่วโมง ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิพร้อมกับการเขย่า การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โดยปรับ pH 8 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 M จากนั้นกรองแยกตัวอย่างออกจากส่วนของเหลวด้วยชุดกรองสุญญากาศล้างผงสำรองด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน น้ำกลั่น:ตัวอย่าง คือ 100:1 (ml/g ของน้ำหนักแห้งตัวอย่าง) นำน้ำที่ล้างมาวิเคราะห์โปรตีนด้วยสารละลายแบรดฟอร์ด จนไม่พบโปรตีนในน้ำ นำผงสำรองที่แยกได้ไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 ° ซ (ภาพที่ 7)

1.1.3 การลดปริมาณโปรตีนออกจากผงสำรองด้วยเอนไซม์โบรมิเลนในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ดัดแปลงจาก (Ortiz *et al.*, 2002)

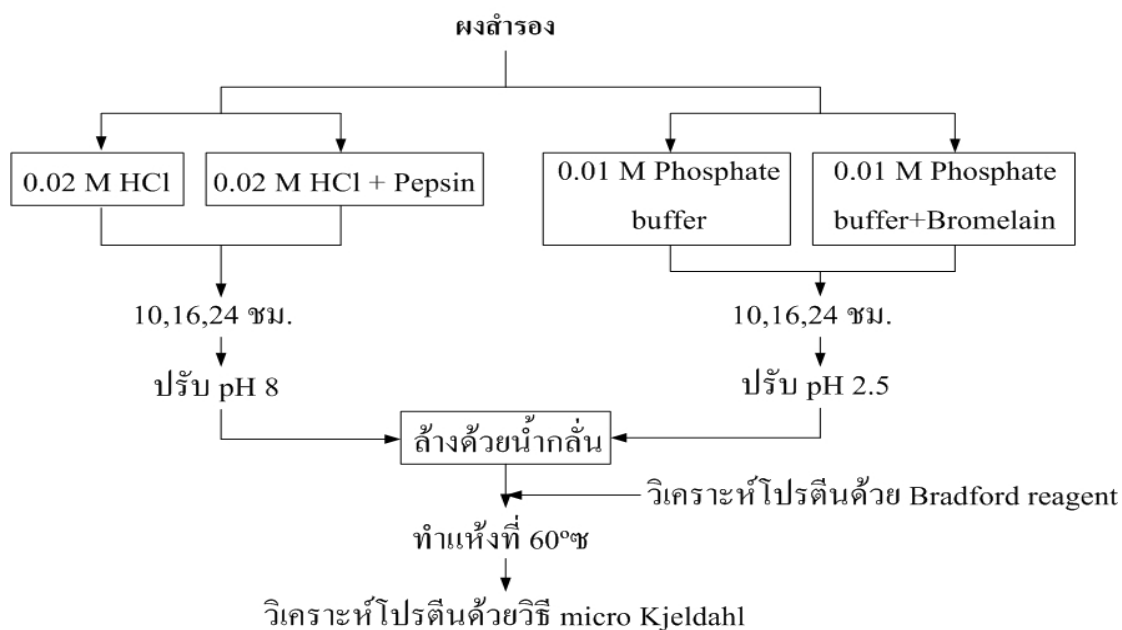
ทำการลดปริมาณโปรตีนออกจากผงสำรองด้วยเอนไซม์โบรมิเลน โดยอัตราส่วนผงสำรอง : บัฟเฟอร์ฟอสเฟส 0.01 M (pH 7.5) คือ 1:50 (g/ml) โดยความเข้มข้นของเอนไซม์โบรมิเลนในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.01 M คือ 0.1 % (w/v) ที่อุณหภูมิ 40 ° ซ เป็นเวลา 10, 16 และ 24 ชั่วโมง ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิพร้อมกับการเขย่า การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทำได้โดย ปรับ pH 2.5 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 1 M จากนั้นขั้นตอนในการทำการทดลองเหมือนกับในหัวข้อการใช้เอนไซม์เปปซิน (ภาพที่ 7)

1.2 การเปรียบเทียบการลดปริมาณโปรตีนด้วยสารละลายบัฟเฟอร์กับเอนไซม์

เนื่องจากสถานะในการใช้เอนไซม์เปปซินเป็นการใช้ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.02 M เป็นบัฟเฟอร์เพื่อให้มีสถานะที่เหมาะสมในการทำงานที่ pH 2 และการใช้เอนไซม์โบรมิเลนจึงใช้ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.01 M เพื่อให้มีสถานะที่เหมาะสมในการทำงานที่ pH 7.5 เพื่อให้ทราบว่าการลดลงของปริมาณโปรตีนในผงสำรองเนื่องมาจากผลของเอนไซม์หรือผลของสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.02 M และฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.01 M ที่ใช้เพื่อให้เกิดสถานะที่เหมาะสมของเอนไซม์นั้น ดังนั้นจึงทำการทดลองเปรียบเทียบการลดปริมาณโปรตีนด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.02 M และสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.01 M โดยขั้นตอนในการทำการทดลองเหมือนกับสถานะที่มีเอนไซม์ (ภาพที่ 8)



ภาพที่ 7 แผนภูมิวิธีการลดปริมาณโปรตีนในผงสํารองด้วยวิธีการใช้น้ำกลั่นและเอนไซม์



ภาพที่ 8 แผนภูมิการเปรียบเทียบการลดปริมาณโปรตีนในผงสํารองด้วยบัฟเฟอร์ และเอนไซม์ในบัฟเฟอร์

1.3 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

1.3.1 การวิเคราะห์โปรตีนในน้ำเลี้ยงผงสำรองด้วยวิธีแบรดฟอร์ด (Bradford, 1976)

นำตัวอย่างน้ำเลี้ยงผงสำรองปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เติมสารละลายคูมาสซี บลู จี 250 ซึ่งเตรียมโดยชั่งสารคูมาสซี บลู จี 250 ละลายในเมทานอล 95% ปริมาตร 50 มิลลิลิตรและกรดฟอสฟอริกเข้มข้น 85 % ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยเติมสารละลายคูมาสซี บลู จี 250 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงในตัวอย่าง เขย่าให้เข้ากัน (Vortex) ทิ้งไว้ 5 นาที แล้วทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ภายในเวลา 1 ชั่วโมงหลังจากการเขย่าให้เข้ากัน

1.3.2 การวิเคราะห์โปรตีนด้วยวิธี Micro Kjeldahl (AOAC 2000)

ชั่งตัวอย่างผงสำรองอบแห้งที่ผ่านการแยกโปรตีนด้วยวิธีต่างๆ 0.05 กรัมลงในฟลasksย่อย เติมโพแทสเซียมซัลเฟต 1.9 กรัม เติม คอปเปอร์ซัลเฟต 0.04 กรัมและเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 4 มิลลิลิตร นำไปให้ความร้อนจนได้เป็นสารละลายสีเขียวใส (ระหว่างให้ความร้อนทำการฉีดน้ำกลั่นเพื่อล้างส่วนที่ติดขอบเครื่องแก้วเป็นระยะ) ทิ้งให้เย็นทำการเติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร เติมสารละลายด่าง ซึ่งประกอบด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และโซเดียมไทโอซัลเฟต 15 มิลลิลิตรลงในฟลaskตัวอย่าง นำฟลaskตัวอย่างไปกลั่น รองรับสิ่งกลั่นด้วยกรดบอริก 4% จำนวน 10 มิลลิลิตรที่เติมอินดิเคเตอร์เมทิลเรดร่วมกับโบรโมครีซอลกรีน กลั่นจนได้สิ่งกลั่น 50 มิลลิลิตร นำสิ่งกลั่นมาไทเทรตด้วยกรดไฮโดรคลอริก 0.02 M แล้วคำนวณตามสมการที่ 8

$$\%N = \frac{(ml \text{ of } HCl - ml \text{ of } HCl \text{ Blank}) \times molarity \times 14.007 \times 100}{mg \text{ of sample}} \quad \text{---- สมการที่ 8}$$

2. การเตรียมกัมสำรอง การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ความสามารถในการต้านออกซิเดชัน และความหนืด

2.1 การเตรียมกัมสำรอง

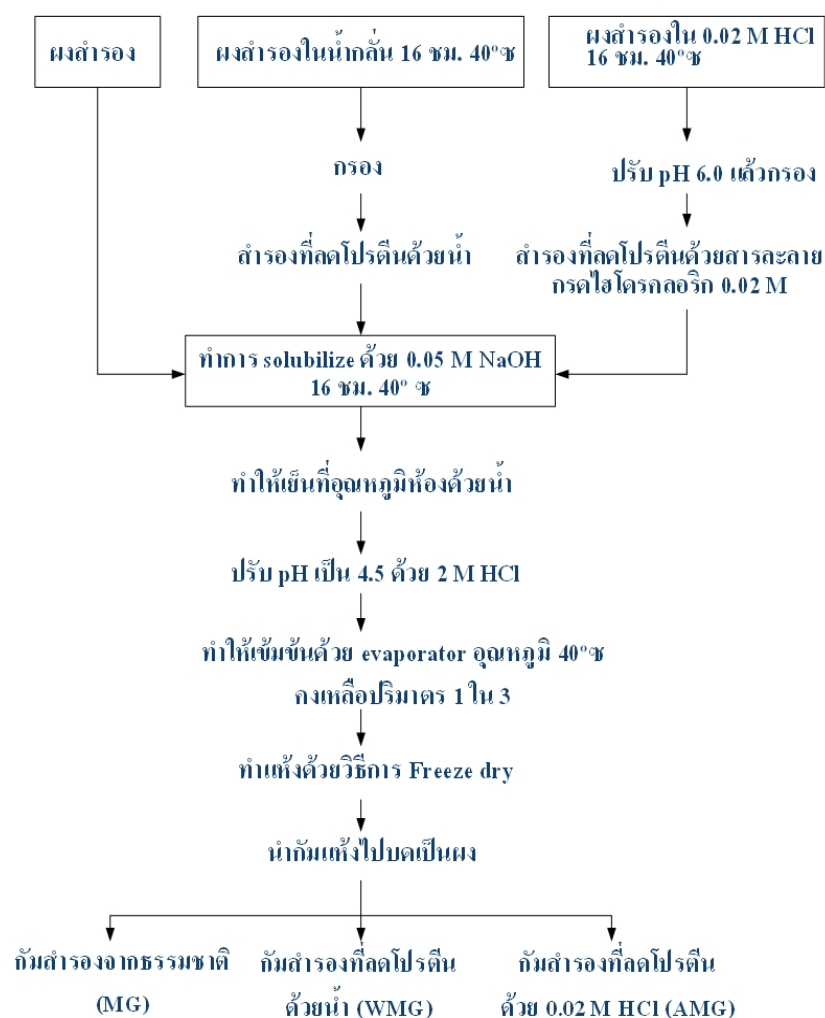
นำผงสำรองที่เตรียมได้จากข้อ 1 ได้แก่ ผงสำรองที่ลดปริมาณโปรตีนด้วยน้ำกลั่นและผงสำรองที่ลดปริมาณโปรตีนด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.02 M มาเตรียมเป็นกัมสำรองที่มีปริมาณโปรตีนต่างกัน วิธีการเตรียมกัมได้มาจากการทำการทดลองเบื้องต้น (ภาคผนวก ข) โดยในการทำการทดลองเบื้องต้นเป็นการหาสารละลายที่นำมาใช้ในการเตรียมกัม ได้แก่ น้ำ สารละลาย CDTA สารละลายกรดไฮโดรคลอริก และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ความเข้มข้นเท่ากัน พบว่า การเตรียมกัมสำรองด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ให้ปริมาณผลได้ (% yield) มากที่สุด ดังนั้นในการทดลองนี้จึงเลือกสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ในการเตรียมกัม

2.1.1 เตรียมกัมสำรองผง (Malva nut powder gum : MG) นำผงสำรองมาละลายในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 70:1 0.05 M (มล) : ตัวอย่าง (กรัม น้ำหนักแห้ง) ที่สภาวะ 40° ซ เป็นเวลา 16 ชั่วโมงในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ทำการเจือจางตัวอย่างด้วยน้ำกลั่นจำนวน 2 เท่าของปริมาตรสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ทั้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ทำการปรับ pH 4.5 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 2 M ระหว่างการปรับ pH ทำการกวนด้วยเครื่องกวน กรองแยกส่วนที่ละลายในอ่างและส่วนกากด้วยผ้ามีสลิน (Muslin) นำตัวอย่างที่ละลายในอ่างไปทำให้เข้มข้นด้วยเครื่องระเหยแบบหมุนภายใต้ระบบสุญญากาศ ที่อุณหภูมิ 40° ซ จนปริมาตรเหลือ 1 ใน 3 จากนั้นนำไปทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบเยือกแข็ง เก็บตัวอย่างกัมแห้งไว้ในโถสุญญากาศ (ภาพที่ 9)

2.1.2 เตรียมกัมสำรองที่ผ่านการแยกโปรตีนด้วยน้ำกลั่น (Water treated malva nut gum: WMG) นำผงสำรองมาทำการลดปริมาณโปรตีนด้วยน้ำกลั่น ในอัตราส่วนน้ำกลั่น: ผงสำรอง คือ 70: 1 (มล) : ตัวอย่าง (กรัม น้ำหนักแห้ง) ที่อุณหภูมิ 40° ซ เวลา 16 ชั่วโมง ในอ่างน้ำร้อน ควบคุมอุณหภูมิพร้อมกับการเขย่า ทำการรินทิ้ง เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ โดยให้ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 0.05 M และให้มีอัตราส่วนของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (มล): ตัวอย่าง (กรัม น้ำหนักแห้ง) คือ 70:1 ที่สภาวะ 40° ซ เป็นเวลา 16 ชั่วโมงในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ทำการเจือจางตัวอย่างด้วยน้ำกลั่นจำนวน 2 เท่าของปริมาตรสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ทั้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ทำการปรับ pH 4.5 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 2 M ระหว่างการปรับ pH

ทำการกวนด้วยเครื่องกวน กรองแยกส่วนที่ละลายในด่างและส่วนกากด้วยผ้ามัดลิน นำตัวอย่างที่ละลายในด่างไปทำให้เข้มข้นด้วยเครื่องระเหยแบบหมุนภายใต้ระบบสุญญากาศ ที่อุณหภูมิ 40° ซ จนปริมาตรเหลือ 1 ใน 3 จากนั้นนำไปทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบเยือกแข็ง เก็บตัวอย่างกัมแห้งไว้ในโถสุญญากาศ (ภาพที่ 9)

2.1.3 เตรียมกัมสำรอนที่ผ่านการแยกโปรตีนด้วยกรดไฮโดรคลอริก 0.02 M (Acid treated malva nut gum: AMG) นำผงสำรอนมาทำการลดปริมาณโปรตีนด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.02 M ที่อุณหภูมิ 40° ซ ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิพร้อมกับการเขย่า เป็นเวลา 16 ชั่วโมง จากนั้นทำการปรับ pH 6 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 M กรองแยกส่วนของเหลวออก จากนั้นทำการเตรียมกัมด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เหมือนกับข้อ 2.1.2 (ภาพที่ 9)



ภาพที่ 9 แผนภูมิวิธีการเตรียมกัมสำรอนจากผงสำรอน

2.2 การวิเคราะห์ทางเคมี

2.2.1 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด (Total carbohydrate) (วิเคราะห์ตามวิธี Dubois *et al.*, 1956)

ปีเปตสารละลายกัมสำร่ง (ที่ได้จากข้อ 2.1) ความเข้มข้น 0.02% (วิธีการเตรียมสารละลายกัมอยู่ในภาคผนวก ก) ลงในหลอดทดสอบ เติมสารละลายฟีนอลเขย่า (Vortex) ให้เข้ากัน เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น อย่างรวดเร็ว นำหลอดทดสอบไปเขย่าในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 30° ซเป็นเวลา 20 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ คำนวณปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดเป็นเปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักแห้ง (w/w) จากกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส (รายละเอียดในการวิเคราะห์แสดงดังภาคผนวก ก)

2.2.2 ปริมาณน้ำตาลยูโรไนด์ทั้งหมด (Total uronide) (วิเคราะห์ตามวิธี Ahmed and Labavitch, 1977)

นำกัมสำร่ง (ที่ได้จากข้อ 2.1) มาย่อยด้วยกรดซัลฟูริก เติมสารละลายโซเดียมเตตระโบเรตในกรดซัลฟูริกเข้มข้น ลดอุณหภูมิทันที ให้ความร้อนโดยการต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที นำมาลดอุณหภูมิอีกครั้ง เติมสารละลายเมตาไฮดรอกซีไดฟีนิล ปลดทิ้งไว้ 15 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ คำนวณปริมาณกรดกาแล็กทูโรนิกเป็นเปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักแห้ง (w/w) จากกราฟมาตรฐานของกรดกาแล็กทูโรนิก (รายละเอียดในการวิเคราะห์แสดงดังภาคผนวก ก)

2.2.3 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลกลูโคส อะราบิโนส และแรมนโนส ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography: HPLC)

โดยทำการวิเคราะห์ที่ศูนย์บริการประกันคุณภาพผลิตภัณฑ์อาหาร สถาบันค้นคว้าและวิจัยพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร

ก. การเตรียมตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ HPLC

นำกัมสำรอง (ได้จากข้อ 2.1) มาสกัดด้วยสารละลายเมทานอล 80 % ที่อุณหภูมิ 30° ซ ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิพร้อมกับการเขย่าเป็นเวลา 15 ชั่วโมง กรองสารสกัดที่ได้เก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4° ซ

ข. การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลด้วย HPLC (AOAC 982.14)

ทำการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลกาแล็กโทส น้ำตาลอะราบิโนสและน้ำตาลแรมโนสด้วยวิธี HPLC มีสภาวะในการวิเคราะห์ ได้แก่ คอลัมน์ชนิด Prevail amino 5u (250 mm, ID. 4.6 mm) มีวัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) 3 ชนิด คือ A : อะซิโตนไนไตรล์ B : เมทานอล C: น้ำ (Deionize water) โดยสัดส่วนที่ใช้เป็นระบบ gradient อัตราเร็วในการไหล 1 มิลลิลิตร/นาที ใช้ตัวอย่าง 10 ไมโครลิตรในการวิเคราะห์แต่ละครั้ง ควบคุมอุณหภูมิภายในคอลัมน์เป็น 50 °ซ ใช้ detector ชนิด RI ใช้เวลาในการวิเคราะห์ 20 นาที เว้นระยะเวลาล้างการวิเคราะห์ 5 นาที ก่อนทำการวิเคราะห์ตัวอย่างต่อไป (แสดงดังภาคผนวก ก)

2.2.4 การวิเคราะห์โปรตีนด้วยวิธี micro Kjeldahl เช่นเดียวกับข้อ 1.4 แต่ใช้ตัวอย่างเป็นกัมสำรองที่ได้จากข้อ 2.1

2.2.5 การสกัดและวิเคราะห์ฟีนอลิกทั้งหมด (Total Phenolic) (Su *et al.*, 2007)

ก. การสกัดฟีนอลิกจากกัมสำรอง

นำกัมสำรอง (ได้จากข้อ 2.1) มาสกัดด้วยสารละลายเมทานอล 80 % ที่อุณหภูมิ 30° ซ ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิพร้อมกับการเขย่าเป็นเวลา 15 ชั่วโมง กรองสารสกัดที่ได้เก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4° ซ

ข. การวิเคราะห์ฟีนอลิกทั้งหมด

นำสารสกัดที่ได้จากข้อ 2.2.5.1 มาวิเคราะห์ฟีนอลิกทั้งหมดดังนี้ ปิเปตสารสกัด 100 ไมโครลิตร ใส่หลอดทดสอบแล้วเติม Folin-Ciocalteu reagent 500 ไมโครลิตร เติมน้ำกลั่น 1.5 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 6 มิลลิลิตร ตามลำดับ ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ คำนวณปริมาณกรดกาแล็กติกเป็นเปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักแห้ง (w/w) จากกราฟมาตรฐานของกรดกาแล็กติก (รายละเอียดในการวิเคราะห์แสดงดังภาคผนวก ก)

2.2.6 การวัดความสามารถต้านออกซิเดชัน

ก. การวัดความสามารถต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity assay)

วิเคราะห์การเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH โดยดัดแปลงจากวิธีของ Singh *et al.* (2002) คือนำสารสกัด ตามข้อ 2.2.5.1 มาเจือจางด้วยเมทานอล ให้มีความเข้มข้นต่างๆ แล้วนำสารสกัดแต่ละความเข้มข้นมา 100 ไมโครลิตร เติมน้ำกลั่น DPPH ที่มีความเข้มข้น 0.1 mM ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เขย่าอย่างรุนแรง ทิ้งไว้ 20 นาที แล้วจึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร แล้วจึงนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้คำนวณเป็น % Radical scavenging activity ดังสมการที่ 9 โดยค่าการดูดกลืนแสงควบคุม (Control OD) หาได้จากการวิเคราะห์ตามวิธีข้างต้นแต่ใช้เมทานอลแทนตัวอย่าง นำค่า % Radical scavenging activity ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ มาสร้างกราฟ เพื่อคำนวณหาความเข้มข้นของสารสกัด (ไมโครกรัมในสารสกัด 1 มิลลิลิตร) ที่สามารถทำให้ค่า % Radical scavenging activity ลดลงร้อยละ 50 (IC₅₀) แล้วนำค่า IC₅₀ มาคำนวณค่าประสิทธิภาพการเป็นสารต้านออกซิเดชัน (Antiradical efficiency, AE) ดังสมการที่ 10

$$\% \text{radical scavenging} = \frac{\text{Control OD} - \text{OD sample}}{\text{Control OD}} \times 100 \quad \text{----- สมการที่ 9}$$

เมื่อ Control OD = ค่าการดูดกลืนแสงควบคุม
 Sample OD = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

$$AE = \frac{1}{IC_{50}} \quad \text{----- สมการที่ 10}$$

เมื่อ AE = Antiradical efficiency
 IC_{50} = ความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถทำให้ค่า
 % Radical scavenging activity ลดลงร้อยละ 50

ข. การสกัดและการวิเคราะห์ความสามารถด้านออกซิเดชันด้วยวิธี ORAC
 (Oxygen radical absorbance capacity) (Prior *et al.* (2003))

วิเคราะห์ความสามารถด้านออกซิเดชันด้วยวิธี ORAC โดยดัดแปลงจากวิธี
 ของ Prior *et al.* (2003) คือนำตัวอย่างแห้งจากข้อ 3.1 มาชั่งให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน 0.500 กรัม ใส่
 ในหลอดสำหรับหมุนเหวี่ยง เดิมเฮกเซน 10 มิลลิลิตร นำไปหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 3500
 รอบต่อนาที (ประมาณ 1570 xg) นาน 15 นาที แล้วจึงแยกเอาส่วนของเฮกเซนออกมา นำส่วนกาก
 ไปสกัดอีกครั้งตั้งแต่ขั้นตอนการเติมเฮกเซน 10 มิลลิลิตร นำไปหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 3500
 รอบต่อนาที (ประมาณ 1570 xg) นาน 15 นาที แล้วจึงแยกเอาส่วนของเฮกเซนออกมา นำส่วนกาก
 ไปสกัดอีกครั้งตั้งแต่ขั้นตอนการเติมเฮกเซนแล้วจึงนำส่วนเฮกเซนที่ได้ทั้ง 2 ส่วน มารวมกันได้เป็น
 สารสกัดส่วนที่ 1 คือส่วนที่ชอบไขมัน (lipophilic) นำส่วนกากที่ได้หลังจากการแยกส่วนเฮกเซน
 ออกแล้วมาระเหยด้วยแก๊สไนโตรเจน (ไนโตรเจนอุตสาหกรรม) ภายในตู้ดูดควันจนแห้ง เติม
 สารละลาย อะซิโตน/น้ำ/กรดอะซิติก (70/29.5/0.5 v/v/v) 10 มิลลิลิตร ทำให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วย
 vortex mixer นาน 30 วินาที แล้วนำไปปั่นสะเทือนด้วยคลื่นเสียง (sonicate) ที่อุณหภูมิ 37 °C นาน
 15 นาที โดยมีเขย่าหลอดตัวอย่างด้วย Vortex mixer เป็นครั้งคราว ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 10
 นาที และมีการเขย่าหลอดตัวอย่างเป็นครั้งคราวเช่นกัน นำไปหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 3500
 รอบต่อนาที นาน 15 นาที แยกส่วนใสออกมาแล้วปรับปริมาตรให้เป็น 25 มิลลิลิตร ได้เป็นสาร
 สกัดส่วนที่ 2 คือส่วนที่ชอบน้ำ (hydrophilic)

การวิเคราะห์สารสกัดส่วนที่ชอบไขมัน (lipophilic) นำสารสกัดมาละลาย เฮกเซนด้วยแก๊สในโตรเจนออกเจนแห้ง เดิมอะซิโตน 250 ไมโครลิตร และสารละลาย RMCD ร้อยละ 7 (ที่ละลายในสารละลายอะซิโตน ร้อยละ 50) ปริมาตร 750 ไมโครลิตร เขย่าจนตัวอย่างละลายหมด (หากต้องการเจือจางตัวอย่างให้เจือจางด้วย RMCD ร้อยละ 7) นำสารสกัดมา 20 ไมโครลิตร ใส่ใน well plate เดิมสารละลายฟลูออเรสซิน 200 ไมโครลิตร โดยใช้สารละลายฟลูออเรสซินที่อุณหภูมิ 37 °ซ นาน 15 นาทีแล้ว หลังจากนั้นนำ well plate ไปใส่ในเครื่องวัดการดูดกลืนแสง ฟลูออเรสเซนซ์ กำหนดให้ป้อนภายในเครื่องเดิมสารละลาย AAPH (ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 7.0 ที่อุณหภูมิ 37 °ซ นาน 30 นาที) (Prior *et al.*, 2003; Prior *et al.*, 2005) ความเข้มข้น 63.4 mM ปริมาตร 75 ไมโครลิตร ลงในหลุมแล้วทำการอ่านค่าความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์สัมพันธ์ (Relative fluorescence intensity) ทันที โดยมีการตั้งค่าความยาวคลื่น excitation เป็น 480 นาโนเมตร และ emission เป็น 520 นาโนเมตร ทำการอ่านค่าทุก 65 วินาที (Cycle time)

การวิเคราะห์ผลทำได้โดยหาพื้นที่ใต้กราฟของสารสกัด จากสมการระหว่างค่าความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์สัมพันธ์กับเวลา ดังแสดงในสมการที่ 20 แล้วนำไปลบออกด้วยพื้นที่ใต้กราฟของ blank แล้วจึงนำค่าไปเทียบกับกราฟมาตรฐาน (กราฟมาตรฐาน และกราฟของตัวอย่าง ดังแสดงในภาคผนวกที่ ๕) โดยการสร้างกราฟมาตรฐานใช้ Trolox แทนสารสกัด และการหาค่า blank ใช้ RMCD ร้อยละ 7 แทนสารสกัด ค่าที่ได้คำนวณแสดงเป็นปริมาณของ Trolox ในหน่วย ไมโครโมลต่อตัวอย่างแห้ง 100 กรัม

$$AUC = (0.5 + f_5/f_4 + f_6/f_4 + f_7/f_4 + \dots + f_i/f_4) \times CT \quad \text{---- สมการที่ 11}$$

เมื่อ AUC = พื้นที่ใต้กราฟ (Area Under Curve)

f_4 = ค่าความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์เริ่มต้นโดยเริ่มอ่านที่รอบที่ 4 (Initial fluorescence reading at cycle 4)

f_i = ค่าความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์เมื่ออ่านรอบที่ i (Fluorescence reading at cycle i)

CT = เวลาที่ใช้ต่อรอบ มีหน่วยเป็นนาที (Cycle time)

การวิเคราะห์สารสกัดส่วนที่ชอบน้ำ (Hydrophilic) มีวิธีการวิเคราะห์เช่นเดียวกับการวิเคราะห์สารสกัดส่วนที่ชอบไขมัน เพียงแตกต่างกันที่ใช้สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 7.0 แทนสารละลาย RMCD ร้อยละ 7 คือ หากต้องเจือจางสารสกัด ให้เจือจางด้วย

ฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 7.0 และเติมสารละลาย AAPH ปริมาตร 37.5 มิลลิลิตร นอกนั้นมีการวิเคราะห์และการตั้งค่าต่างๆ เช่นเดียวกับการวิเคราะห์สารสกัดส่วนที่ขบไขมันการวิเคราะห์ผลทำได้โดยหาพื้นที่ใต้กราฟของสารสกัด จากสมการระหว่างค่าความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์สัมพันธ์กับเวลา ดังแสดงในสมการที่ 20 แล้วนำไปลบออกด้วยพื้นที่ใต้กราฟของ blank แล้วจึงนำค่าไปเทียบกับกราฟมาตรฐาน (กราฟมาตรฐาน และกราฟของตัวอย่าง ดังแสดงในภาคผนวก) โดยการสร้างกราฟมาตรฐานใช้ Trolox แทนสารสกัด และการหาค่า blank ใช้ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 7.0 แทนสารสกัด ค่าที่ได้คำนวณแสดงเป็นปริมาณของ Trolox ในหน่วยไมโครโมลต่อตัวอย่างแห้ง 100 กรัม

2.2.7 การวัดความหนืดของกัมสำรอง

เตรียมสารละลายกัมสำรอง (ที่ได้จากข้อ 2.1) ที่ระดับ 0.5 % โดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย (รายละเอียดการเตรียมสารละลายกัมแสดงดังภาคผนวก ก) ใช้สารละลายกัม 16 มิลลิลิตรวัดความหนืดด้วยเครื่อง Brookfield รุ่น DV-III ความเร็วรอบ 60 รอบ/นาที โดยใช้ภาชนะบรรจุทรงกระบอกและหัวเข็มเบอร์ 00 และใช้เวลาวัดความหนืด 30 วินาที ค่าความหนืดมีหน่วยเป็นมิลลิปาสคาส•วินาที (mPa .s) รายงานผลเป็นค่าความหนืดปรากฏ ยกเว้นแซนแทนกัมใช้หัวเข็มเบอร์ 02

การวัดความหนืดของ MG และ WMG 0.5 % (w/v) ให้มีปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 40 mM โดยการเตรียมกัม MG และ WMG 0.5 กรัม ในสารละลาย NaCl 10 mM (เนื่องจาก MG และ WMG 0.5 % (w/v) ในน้ำกลั่นมีปริมาณ NaCl อยู่ 30 mM) การปรับปริมาณ NaCl นี้เพื่อให้ MG และ WMG 0.5 % (w/v) มีปริมาณ NaCl เท่ากับ AMG 0.5 % (w/v) ในน้ำกลั่น

2.2.8 การวัดค่าแรงตึงผิว (Surface tension) และแรงตึงระหว่างผิวร่วม (Interfacial tension) ของกัมสำรอง

นำสารละลายกัมความเข้มข้น 0.5% (วิธีการเตรียมสารละลายกัมอยู่ในภาคผนวก ก) ใส่ในภาชนะทรงกระบอกสำหรับวัดค่า ทำการวัดค่าด้วยเครื่อง Tensiometer ชนิด Wilhelmy plate โดยมีหลักการคือ นำแผ่นโลหะแพลตตินัม จุ่มลงไปในตัวอย่างเป็นของเหลว แล้วดึงขึ้นมา จะมีของเหลวติดที่ปลายแผ่นโลหะ แล้วนำค่าความกว้าง ความยาวที่ของเหลวติดมา

กับแผ่นโลหะและค่ามุม $\cos \theta$ ระหว่างของเหลวกับแผ่นโลหะ แล้วคำนวณด้วยโปรแกรมของเครื่อง การวัดค่าแรงตึงผิว เป็นการวัดแรงตึงผิวระหว่างตัวอย่างกับอากาศ การวัดแรงตึงระหว่างผิวร่วมเป็นการวัดแรงตึงผิวระหว่างตัวอย่างกับน้ำมัน โดยในการทดลองนี้ใช้น้ำมันข้าวโพดเป็นชั้นของน้ำมัน ทำการวัดแรงตึงผิวและแรงตึงระหว่างผิวรวมที่อุณหภูมิ 25 °C โดยทำการวิเคราะห์ที่ศูนย์ความเป็นเลิศแห่งชาติ ด้านการจัดการสิ่งแวดล้อม

3. การวัดสมบัติด้านอิมัลชันของกัมสำรองเทียบกับกัมทางการค้า

การเตรียมและการวัดสมบัติการเป็นสารอิมัลซิไฟเออร์ (ดัดแปลงจากวิธีของ Cui *et al.*, 1993) การดัดแปลงนี้เป็นการดัดแปลงเรื่องอัตราส่วนของสารละลายกัมกับน้ำมัน จากเดิมมีอัตราส่วน 1:1 ดัดแปลงเป็น 9:1 ในการวัดสมบัติทางอิมัลชันนี้ได้ทำการวัดสมบัติการเป็นสารอิมัลซิไฟเออร์ของกัมสำรอง MG, WMG และ AMG และกัมสำรอง 3 ชนิดเทียบกับกัมอะราบิก กัวกัมและแซนแทนกัม

3.1 การเตรียมอิมัลชันน้ำมันในน้ำ (ดัดแปลงจากวิธีของ Cui *et al.*, 1993)

ปิเปตสารละลายกัมสำรอง (รายละเอียดการเตรียมสารละลายกัมดังภาคผนวก ก) และกัมทางการค้าที่ระดับ 0.5% (วิธีการเตรียมสารละลายกัมอยู่ในภาคผนวก ก) 45 มิลลิตรใส่ในบีกเกอร์ 100 มิลลิตร เติมน้ำมันข้าวโพด 5 มิลลิตร ปั่นผสมด้วย Ultra turrax T 25 ที่ความเร็ว 11,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 1 นาที ที่อุณหภูมิห้อง

3.2 การศึกษาความสามารถในการเกิดอิมัลชัน (Emulsion capacity) (ดัดแปลงจากวิธีของ Cui *et al.*, 1993)

ปิเปตอิมัลชันที่เตรียมในข้อ 3.1 ปริมาตร 10 มิลลิตร นำไปเซนตริฟิวส์ที่ความเร็วรอบ 2750 รอบ/นาที (ประมาณ 1300 xg) เป็นเวลา 5 นาที วัดความสูงของชั้นอิมัลชันในหลอดทดลองขนาด 16x160 มิลลิเมตร คำนวณการเกิดอิมัลชันตามสมการที่ 12

$$\frac{\text{ความสูงของชั้นอิมัลชัน}}{\text{ความสูงของชั้นของเหลวทั้งหมด}} \times 100\% \text{ ----- สมการที่ 12}$$

3.3 ความคงตัวของอิมัลชันต่อความร้อน (Heat stability) (ดัดแปลงจากวิธีของ Cui *et al.*, 1993)

ปิเปตอิมัลชันที่เตรียมในข้อ 3.1 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ไปให้ความร้อนที่ 80° ซ เป็นเวลา 30 นาที ทำให้เย็นด้วยน้ำจืดอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้อง นำไปเซนตริฟิวส์ที่ความเร็วรอบ 2750 รอบ/นาที เป็นเวลา 5 นาที วัดความสูงของชั้นอิมัลชันในหลอดทดลองขนาด 12x160 มิลลิเมตร คำนวณความคงตัวของอิมัลชันดังสมการที่ 13

$$\frac{\text{ความสูงของชั้นอิมัลชันที่คงอยู่}}{\text{ความสูงของชั้นของเหลวทั้งหมด}} \times 100\% \text{ ----- สมการที่ 13}$$

3.4 ความคงตัวของอิมัลชันต่อเวลา (Storage stability)

ปิเปตอิมัลชันที่เตรียมในข้อ 3.1 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทำการวัดความสูงของชั้นอิมัลชันในหลอดทดลองขนาด 12x160 มิลลิเมตรที่เวลา 30, 60, 120, 180 นาที 24 และ 48 ชั่วโมง คำนวณการเกิดอิมัลชันดังนี้คำนวณความคงตัวของอิมัลชันตามสมการที่ 14

$$\frac{\text{ความสูงของชั้นอิมัลชันที่คงอยู่}}{\text{ความสูงของชั้นของเหลวทั้งหมด}} \times 100\% \text{ ----- สมการที่ 14}$$

3.5 การวัดขนาดการกระจายตัวของอนุภาค (Particle size distribution)

นำอิมัลชันที่เตรียมดังข้อ 3.3.1.1 ทำการวัดขนาดและการกระจายตัวของอนุภาคด้วยเครื่อง Master sizer 2000 MU (Malvern Instruments Ltd, Malvern, UK) โดยทำการวัดขนาดและการกระจายตัวของอนุภาคทันทีหลังจากเตรียมตัวอย่าง ทำการเจือจางตัวอย่างทุกตัวอย่างด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วนตัวอย่าง:น้ำกลั่น 1:200 และกำหนดค่า refractive index ของน้ำและน้ำมันข้าวโพดคือ 1.33 และ 1.46 ตามลำดับ กำหนดค่า Sample measurement time 12 s ค่า Sample measurement snap คือ 12000 โดยทำการทดลอง 2 ซ้ำ

3.6 การถ่ายภาพระบบอิมัลชันด้วยกล้อง (Light microscope)

นำอิมัลชันที่เตรียมดังข้อ 3.1 ทำการเจือจางตัวอย่างด้วยน้ำกลั่น 120 เท่า หยดตัวอย่างลงในสไลด์ หลุมจนเต็มแล้วปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ (Cover glass) ปิดขอบสไลด์ด้วยเลกเกอร์เพื่อป้องกันการระเหยของน้ำ หลังจากเตรียมอิมัลชันแล้วทำการถ่ายภาพทันทีด้วยกล้องจุลทรรศน์ (Light microscope: Carl Zeiss) กำลังขยายเลนส์วัตถุ 10 x กำหนดค่า PVW และ ACQ resolution คือ 682 x 512 และกำหนดค่า Capture depth 8 bit-mono

4. การวิเคราะห์ทางสถิติ

ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design, CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan (Duncan's Multiple Range Test, DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยใช้โปรแกรม SPSS

ผลและวิจารณ์

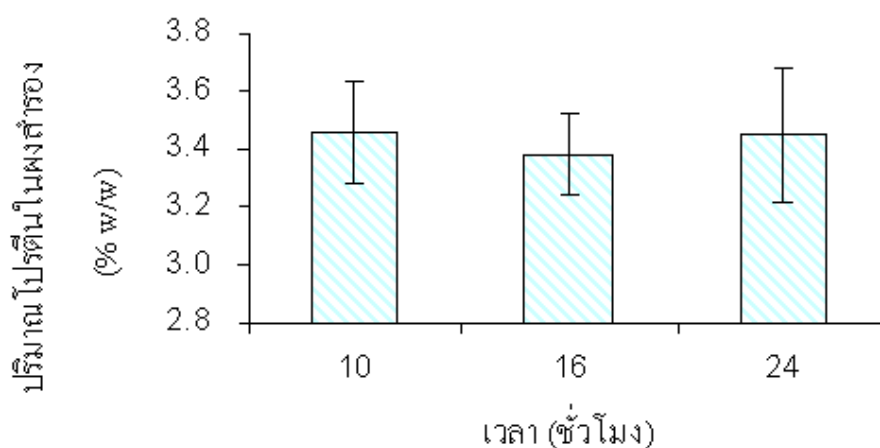
นำเมล็ดตำรอมากระเทาะแยกเมล็ดทิ้ง แล้วนำส่วนเปลือกและเยื่อหุ้มเมล็ดมาบดได้เป็นผงตำรอม โดยคิดปริมาณผลได้ของผงตำรอมจากเมล็ดแห้ง คือ 28.4 % (w/w) แล้วนำผงตำรอมมาใช้เป็นวัตถุดิบในงานวิจัยนี้

การลดปริมาณโปรตีนหรือการสกัดแยกโปรตีนในผนังเซลล์พืชนั้นอาจทำได้หลายวิธีโดยการใช้สารเคมีหรือเอนไซม์โปรตีนเอสต่าง ๆ ได้แก่ สารละลายโซเดียมคลอไรด์ ในกรณีที่โปรตีนเกาะกับโพลีเมอร์ในผนังเซลล์พืชด้วยพันธะไอออนิก ใช้สารละลาย EDTA และสารละลาย CDTA หรือใช้ 1,4-dithiothreitol (DTT) ทำลายพันธะพันธะไดซัลไฟด์ ที่เกิดจากอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนและโปรตีน สารละลายบอเรตสามารถทำลายโครงสร้างกิ่งก้านของไกลโคโปรตีนที่เกาะกับสารโกลิแซคคาไรด์ในผนังเซลล์พืชได้ (Robertson *et al.*, 1997) ในกระบวนการทำโกลิแซคคาไรด์ที่สกัดจากผนังเซลล์พืชให้บริสุทธิ์นั้น ทำได้โดยการใช้เอนไซม์โปรตีนเอสในการลดปริมาณโปรตีน เช่น เอนไซม์ปาเปน เปปซินและทริปซิน เป็นต้น (Harris *et al.*, 1995) และในงานวิจัยนี้ได้เลือกใช้เอนไซม์เปปซินและเอนไซม์โบรมิเลนเนื่องจาก สภาวะในใช้เอนไซม์เปปซิน ซึ่งใช้ในสภาวะสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.02 M และการใช้เอนไซม์โบรมิเลนในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่สภาวะเป็นกลาง โดยสภาวะดังกล่าวทำลายโครงสร้างของโกลิแซคคาไรด์น้อยกว่าสภาวะต่าง จากการทำการทดลองเบื้องต้นพบว่า สภาวะต่างจะทำลายโครงสร้างของโกลิแซคคาไรด์จากเมล็ดตำรอม โดยเอนไซม์เปปซินเป็นเอนไซม์ที่ย่อยพันธะเปปไทด์ของกรดอะมิโนที่เป็นวง ในขณะที่เอนไซม์โบรมิเลนย่อยพันธะเปปไทด์ที่ไม่จำเพาะ (Neilands and Stumpf, 1958) โดยในงานวิจัยนี้ต้องการลดปริมาณโปรตีนในผงตำรอมให้ต่างกัน 2 ระดับเพื่อนำไปเตรียมกัมตำรอมต่อไป

1. การลดโปรตีนจากผงตำรอมด้วยน้ำกลั่น เอนไซม์เปปซิน และเอนไซม์โบรมิเลน

นอกจากการศึกษาผลของ น้ำกลั่น เอนไซม์เปปซิน และเอนไซม์โบรมิเลนที่นำมาใช้ในการลดปริมาณโปรตีนในผงตำรอมแล้วในการทดลองนี้ยังได้ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการลดปริมาณโปรตีนด้วยสารดังกล่าว โดยทำการทดลองที่เวลา 10, 16 และ 24 ชั่วโมง พบว่า น้ำกลั่นให้ผลของปริมาณโปรตีนที่คงเหลืออยู่ในผงตำรอมไม่แตกต่างกัน ($P>0.05$) การลดปริมาณโปรตีนด้วยน้ำกลั่นได้ผงตำรอมที่มีปริมาณโปรตีนลดลงประมาณ 28 % จากปริมาณโปรตีนในวัตถุดิบผง

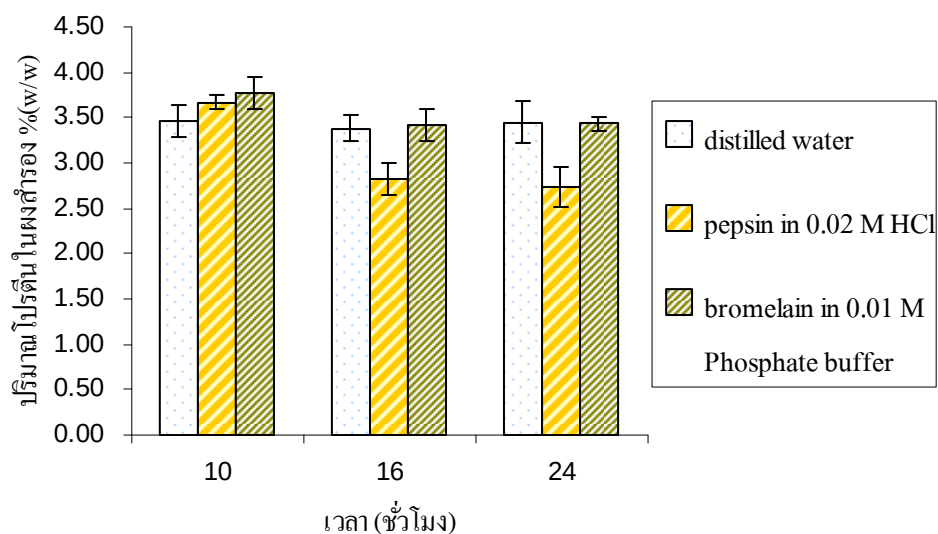
สารอง ในทุกเวลาที่ใช้ในการทดลอง แสดงว่าน้ำที่อุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการทดลองสามารถชะโปรตีนออกได้บ้างและอาจเป็นโปรตีนอิสระที่จะออกได้ง่าย (ภาพที่ 10)



ภาพที่ 10 ปริมาณโปรตีนในผงสารองที่ลดปริมาณโปรตีนด้วยน้ำกลั่นที่เวลา 10, 16, 24 ชั่วโมง

สำหรับการใช้เอนไซม์เปปซินในสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.02 M และเอนไซม์โบรมิเลนในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.01 M พบว่า ที่เวลา 16 และ 24 ชั่วโมง เอนไซม์เปปซินในสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.02 M สามารถลดปริมาณโปรตีนได้ดีกว่าน้ำกลั่นและเอนไซม์โบรมิเลน ($P < 0.05$) ดังภาพที่ 11 และเมื่อพิจารณาการลดลงของปริมาณโปรตีนในผงสารองที่เวลา 16 และ 24 ชั่วโมง ดังนั้นจึงเลือกเวลาในการลดปริมาณโปรตีนในผงสารองที่เวลา 16 ชั่วโมง

นอกจากเวลาที่เหมาะสมในการลดปริมาณโปรตีนแล้ว ชนิดของบัฟเฟอร์ที่ใช้ก็มีผลเช่นกัน ดังนั้นเพื่อให้ทราบว่าการลดลงของปริมาณโปรตีนด้วยเอนไซม์เปปซินในสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.02 M นั้น เป็นผลเนื่องมาจากเอนไซม์เปปซินหรือเป็นผลจากสภาวะกรดที่ใช้เพื่อให้เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์เปปซิน ในขณะที่ผลการลดปริมาณโปรตีนด้วยเอนไซม์โบรมิเลนซึ่งเป็นเอนไซม์โปรติเอสเช่นกันนั้นน้อยกว่าการลดปริมาณโปรตีนด้วยเอนไซม์เปปซินในสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.02 M ดังนั้นจึงนำผลจากข้อมูลดังกล่าวมาศึกษาผลของบัฟเฟอร์ โดยทำการเปรียบเทียบผลของสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.02 M กับเอนไซม์เปปซินในสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.02 M ที่เวลา 10, 16 และ 24 ชั่วโมง และผลของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.01 M กับเอนไซม์โบรมิเลนในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.01 M ที่เวลา 10, 16 และ 24 ชั่วโมง ในข้อ 1.1 แล 1.2



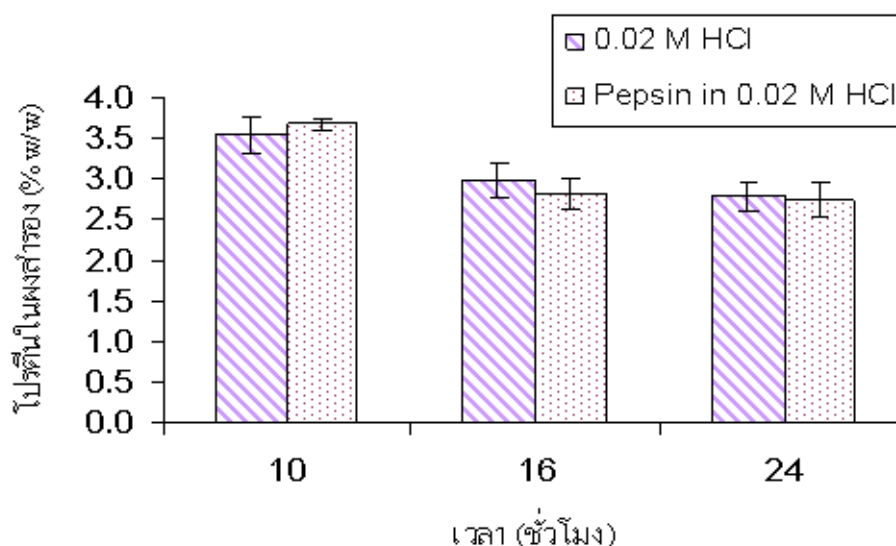
ภาพที่ 11 ปริมาณโปรตีนในผงสำรองที่ทำการลดปริมาณโปรตีน ด้วยน้ำกลั่น เอนไซม์เปปซินและเอนไซม์โบรมิเลนที่เวลา 10, 16, 24 ชั่วโมง

1.1 การเปรียบเทียบการลดปริมาณโปรตีนในผงสำรองด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.02 M และเอนไซม์เปปซินในกรดไฮโดรคลอริก 0.02 M

ในการทดลองนี้ทำการเปรียบเทียบการลดปริมาณโปรตีนในผงสำรองด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.02 M และเอนไซม์เปปซินในกรดไฮโดรคลอริก 0.02 M ที่อุณหภูมิ 40° ซ ที่เวลา 10, 16 และ 24 ชั่วโมง เพื่อให้ทราบผลของการลดลงของปริมาณโปรตีนในผงสำรองเป็นผลเนื่องจากเอนไซม์หรือเป็นผลจากสภาวะกรดไฮโดรคลอริก 0.02 M พบว่า ปริมาณโปรตีนในผงสำรองที่เวลา 10 ชั่วโมง ในการใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.02 M และการใช้เอนไซม์มีค่า 3.56 และ 3.67 % (w/w) ตามลำดับ ที่สภาวะ 16 ชั่วโมง ปริมาณโปรตีนในผงสำรองในสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.02 M และการทดลองที่ใช้เอนไซม์ คือ 2.99 และ 2.86 % (w/w) ตามลำดับและในสภาวะ 24 ชั่วโมงปริมาณโปรตีนในผงสำรองในสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.02 M และการทดลองที่ใช้เอนไซม์มีค่า 2.79 และ 2.73 % (w/w) ตามลำดับ โดยที่ ปริมาณโปรตีนในผงสำรองที่ใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.02 M ที่เวลา 10 ชั่วโมงมีความแตกต่างจากที่เวลา 16 และ 24 ชั่วโมงอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) (ภาพที่ 12)

เมื่อพิจารณาที่เวลาเดียวกัน การใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.02 M และการใช้ เอนไซม์เปปซินในสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.02 M พบว่าไม่มีความแตกต่างกัน ($P>0.05$) ดังนั้นการลดลงของปริมาณโปรตีนอาจเป็นผลมาจากสภาวะกรดที่ใช้

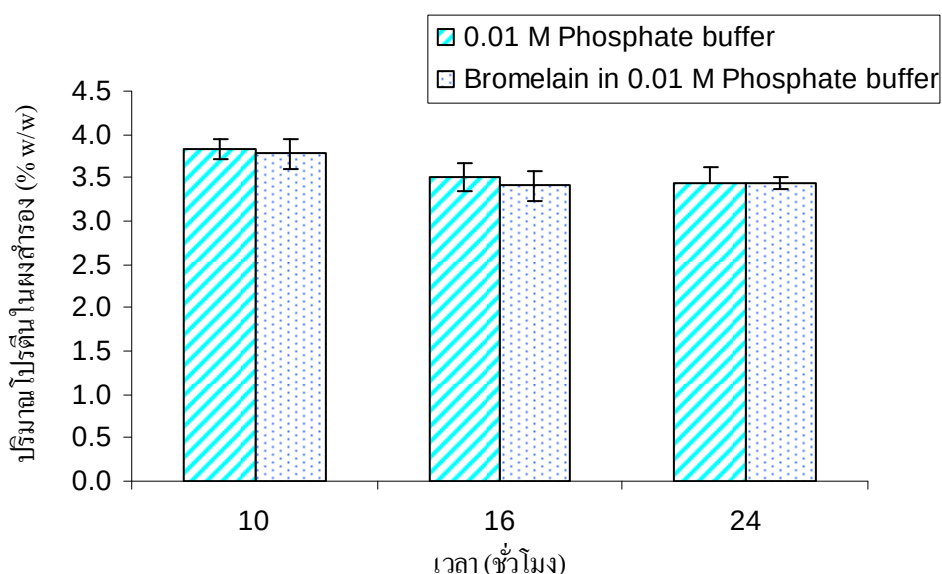
ทั้งนี้การทดลองที่ใช้กรดไฮโดรคลอริก 0.02 M มีผลทำให้ปริมาณโปรตีนลดลงเมื่อใช้ เวลามากขึ้น อาจเนื่องมาจากการเกิดการทำลายโครงสร้างของโพลีแซคคาไรด์ในสภาวะสารละลาย กรดไฮโดรคลอริก 0.02 M โดยพันธะไกลโคไลซิสเกิดไฮโดรไลซิสที่สภาวะ pH ต่ำ และการเพิ่ม อุณหภูมิมีผลทำให้อัตราการเกิดการทำลายโครงสร้างได้ดีขึ้น (Whistler and Bemiller, 1997) จึงทำ ให้โปรตีนที่ติดอยู่กับสายโพลีแซคคาไรด์ที่เกิดการไฮโดรไลซิสด้วยกรดเป็นสายที่สั้นลง แล้ว ละลายอยู่ในสารละลายกรดที่ชะทิ้งไปจึงทำให้ปริมาณโปรตีนที่คงเหลือในผงสำรองที่แยกโปรตีน ด้วยสภาวะกรดลดลง สอดคล้องกับ Bhat and Tharanathan (1986) ที่ทำการสกัดโพลีแซคคาไรด์ จากกระเจียบเขียวด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1 M มีผลทำให้ปริมาณโปรตีนในโพลีแซคคาไรด์ในกระเจียบเขียวลดลง



ภาพที่ 12 ปริมาณโปรตีนในผงสำรองที่ลดปริมาณโปรตีนด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.02 M และเอนไซม์เปปซินในสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.02 M เวลา 10, 16, 24 ชั่วโมง

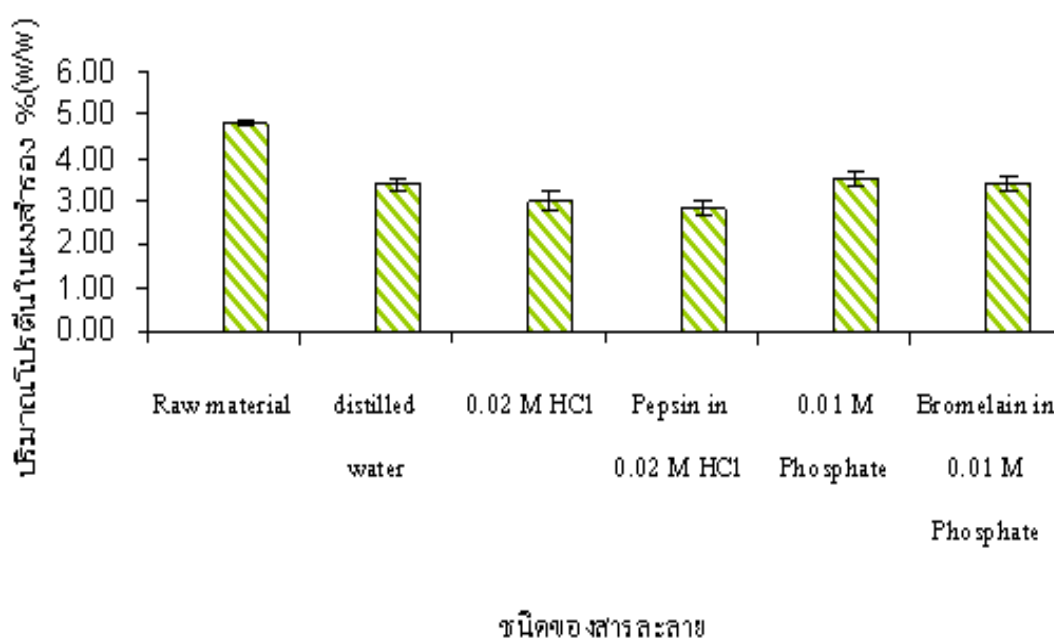
1.2 การเปรียบเทียบการลดปริมาณโปรตีนในผงสํารองด้วยด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.01 M และการใช้เอนไซม์โบรมิเลนในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.01 M

การทดลองนี้ได้ทำการลดปริมาณโปรตีนในผงสํารองด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.01 M เปรียบเทียบกับเอนไซม์โบรมิเลนในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.01 M ที่อุณหภูมิ 40° ซ เวลา 10, 16 และ 24 ชั่วโมง เพื่อให้ทราบว่าการลดลงของปริมาณโปรตีนในผงสํารองเป็นผลเนื่องจากเอนไซม์หรือฟอสเฟตบัฟเฟอร์ จากการทดลองพบว่าการลดปริมาณโปรตีนในผงสํารองด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.01 M และการใช้เอนไซม์โบรมิเลนในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.01 M ที่เวลาเดียวกันไม่มีความแตกต่างกัน ($P > 0.05$) โดยปริมาณโปรตีนในผงสํารองที่เวลา 16 และ 24 ชั่วโมงมีปริมาณน้อยกว่าที่เวลา 10 ชั่วโมงอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) ดังภาพที่ 13 ทั้งนี้อาจเนื่องจากฟอสเฟตบัฟเฟอร์ไม่ทำลายโครงสร้างของโพลีแซคคาไรด์ จึงทำให้เอนไซม์โบรมิเลนเข้าไปย่อยโปรตีนที่ยึดเกาะกับโพลีแซคคาไรด์ได้ยาก เนื่องจากปริมาณของโพลีแซคคาไรด์ที่มากกว่าปริมาณโปรตีน จึงขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ต่อพันธะเปปไทด์ของโปรตีน



ภาพที่ 13 ปริมาณโปรตีนในผงสํารองที่ลดปริมาณโปรตีนด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.01 M และเอนไซม์โบรมิเลนในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.01 M ที่เวลา 10, 16, 24 ชั่วโมง

ทั้งนี้จากการลดปริมาณโปรตีนในผงสํารองด้วยเอนไซม์เปปซิน เอนไซม์โบรมิเลนที่เวลา 16 และ 24 ชั่วโมง มีปริมาณโปรตีนที่คงเหลืออยู่ในผงสํารองน้อยกว่าที่เวลา 10 ชั่วโมงอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) แต่ที่เวลา 16 และ 24 ชั่วโมง ไม่มีความแตกต่างกัน จึงเลือกที่จะเปรียบเทียบข้อมูลการแยกโปรตีนด้วยน้ำกลั่น สารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.02 M เอนไซม์เปปซินในสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.02 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.01 M และเอนไซม์โบรมิเลนในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.01 M ที่เวลา 16 ชั่วโมง เพื่อการเลือกใช้สารละลายที่เหมาะสมในการลดปริมาณโปรตีนในผงสํารอง (ภาพที่ 14) และนำผงสํารองไปใช้ในการเตรียมกัมที่มีปริมาณโปรตีนต่างกันต่อไป



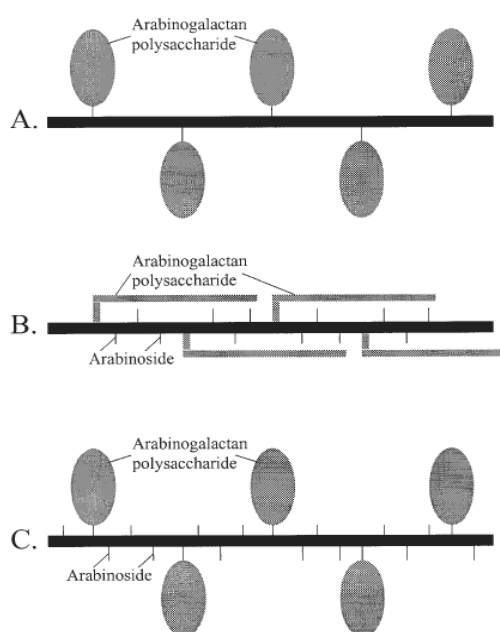
ภาพที่ 14 ปริมาณโปรตีนในผงสํารองที่ลดปริมาณโปรตีนด้วยสารละลายต่าง ๆ ที่เวลา 16 ชั่วโมง

ในการลดปริมาณโปรตีนด้วยสารละลายต่าง ๆ ที่เวลา 16 ชั่วโมง 40°C (ภาพที่ 13) พบว่าในเอนไซม์เปปซินในสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.02 M ทำให้มีปริมาณโปรตีนเหลือน้อยที่สุด (ตารางที่ 3) โดยสามารถลดปริมาณโปรตีนได้ 41.34 % จากวัตถุดิบ เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าให้ผลไม่ต่างจากการใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.02 M

ดังนั้นจึงเลือกสภาวะการเตรียมผงสํารองเพื่อใช้ในการเตรียมกัมจากผงสํารองต่อไป ดังนั้นคือ ผงสํารองที่เป็นวัตถุดิบเริ่มต้น ผงสํารองที่ผ่านการลดปริมาณโปรตีนด้วยน้ำกลั่นและผง

สารองที่ผ่านการลดปริมาณโปรตีนด้วยกรดไฮโดรคลอริก 0.02 M ที่อุณหภูมิ 40° ซ เป็นเวลา 16 ชั่วโมง

จากการลดปริมาณโปรตีนในผงสำรองด้วยสภาวะที่ใช้เอนไซม์เปปซินในกรดไฮโดรคลอริก 0.02 M และเอนไซม์โบรมิเลนในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.01 M โดยผลของการลดปริมาณโปรตีนด้วยเอนไซม์มีค่าไม่แตกต่างกันกับผลการลดปริมาณโปรตีนด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.02 M และการลดปริมาณโปรตีนด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.01 M ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากโครงสร้างเชิงซ้อนของโปรตีน-โพลีแซคคาไรด์ทำให้เอนไซม์โปรติเอสเข้าไปทำลายโครงสร้างของโปรตีนได้ยาก ตัวอย่างโปรตีนและโพลีแซคคาไรด์เชิงซ้อนที่มีอยู่ในผนังเซลล์พืชได้แก่ เอ็กเทนซิน และอะราบินอกาเล็กแตนโปรตีน (AGPs) เป็นต้น AGPs มีโครงสร้างเป็นโปรตีนที่มีสายของน้ำตาลอะราบินอกาเล็กแตนมาเกาะ ดังภาพที่ 15 นอกจากโครงสร้างเชิงซ้อนของโปรตีน-โพลีแซคคาไรด์ที่มีในธรรมชาติแล้ว ในอาหารซึ่งเป็นระบบเชิงซ้อนมีทั้งสารโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตก็อาจเกิดอันตรกริยากันได้เช่นกัน



ภาพที่ 15 แบบจำลองโครงสร้างของอะราบินอกาเล็กแตนโปรตีน(A) โครงสร้างแบบ wattle blossom (B) โครงสร้างแบบ twisted hairy rope และ (C) โครงสร้างผ่านการดัดแปลงจาก (A)

ที่มา: Showalter (2001)

Moue'ecoucou *et al.* (2004) รายงานผลของการใช้กัมอะราบิก, เพคติน (LM pectin) และไซแลน (Xylan) ที่ระดับ 0-50 % (w/w) ในการทำอันตรกริยากับโปรตีนจากถั่วเกิดเป็นโครงสร้างเชิงซ้อนของโพลีแซคคาไรด์กับโปรตีน แล้วทำการย่อยโปรตีน 2 ครั้ง เป็นการเลียนแบบการย่อยในร่างกายมนุษย์ โดยการย่อยครั้งที่ 1 คือ ทำการย่อยโครงสร้างเชิงซ้อนของโพลีแซคคาไรด์และโปรตีนด้วยเอนไซม์เปปซิน จากนั้นนำไปย่อยในครั้งที่ 2 ด้วยเอนไซม์ทริปซินและโคโมทริปซิน โดยมีโปรตีนจากถั่วที่ไม่เกิดโครงสร้างเชิงซ้อนกับเพคตินและไซแลน เป็นการทดลองควบคุมพบว่า เมื่อใช้กัมอะราบิก เพคติน และไซแลนปริมาณมากขึ้น ทำให้การย่อยโปรตีนด้วยเอนไซม์ได้น้อยลง เช่นเดียวกันกับ Polovic *et al.* (2007) พบว่าเอนไซม์เปปซินสามารถย่อยโปรตีนได้น้อยในสารเชิงซ้อนโพลีแซคคาไรด์กับโปรตีน โดยทำการเปรียบเทียบการย่อยของเอนไซม์เปปซินในสารสกัดที่เป็นโครงสร้างเชิงซ้อนของโพลีแซคคาไรด์กับโปรตีน และสารสกัดโปรตีน พบว่าเอนไซม์เปปซินย่อยสารสกัดโปรตีนได้ดีกว่าสารเชิงซ้อนของโพลีแซคคาไรด์กับโปรตีน นอกจากนี้ผู้วิจัยได้นำสารสกัดโปรตีนนี้มาทำอันตรกริยากับเพคตินเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของโพลีแซคคาไรด์และโปรตีน แล้วนำมาทำการย่อยด้วยเอนไซม์เปปซินพบว่าเอนไซม์เปปซินย่อยสารเชิงซ้อนโพลีแซคคาไรด์กับโปรตีนได้น้อยกว่าการย่อยสารสกัดโปรตีน Duodu *et al.* (2002) ได้ทำการย่อยโปรตีนด้วยเอนไซม์เปปซิน ในแป้งจากเมล็ดข้าวฟ่าง (Whole grain flour) ที่ผ่านการทำให้สุก พบว่า การทำให้สุกมีผลทำให้เอนไซม์เปปซินย่อยโปรตีนในแป้งด้วยลดลง จึงทำการย่อยแป้งในเมล็ดข้าวฟ่างที่ผ่านการทำให้สุกด้วยเอนไซม์เอมิเลส (amylase) ซึ่งเป็นการย่อยพันธะไกลโคซิดิกของแป้งก่อน แล้วจึงใช้เอนไซม์เปปซินย่อยโปรตีน พบว่า เอนไซม์เปปซินสามารถย่อยโปรตีนในเมล็ดข้าวฟ่างที่ผ่านการทำให้สุกได้มากขึ้นเมื่อใช้เอนไซม์เอมิเลสย่อยแป้งก่อน นอกจากนี้โครงสร้างของเยื่อหุ้มเมล็ด (Pericarp) ก็มีผลทำให้เอนไซม์เปปซินย่อยโปรตีนในแป้งเมล็ดข้าวฟ่างได้น้อยกว่าการแยกเยื่อหุ้มเมล็ดออกก่อนการบดแป้ง ทั้งนี้เนื่องจากผลของสารโพลีฟีนอลที่ยึดเกาะอยู่กับโครงสร้างของเยื่อหุ้มเมล็ด เมื่อทำการลดปริมาณสารโพลีฟีนอลในแป้งเมล็ดข้าวฟ่างให้น้อยลงมีผลทำให้การย่อยโปรตีนในแป้งเมล็ดข้าวฟ่างด้วยเอนไซม์เปปซินได้ดีขึ้น

นอกจากนี้ในผงสำรองมีสารประกอบฟีนอลิกเป็นองค์ประกอบ โดย ธวัชชัย (2533) ได้รายงานการตรวจพบสารแทนนินในผงสำรอง สารแทนนินเป็นสารประกอบฟีนอลิกดังนั้นจึงอาจมีผลต่อการย่อยโปรตีนของเอนไซม์ Liahiry *et al.* (1977) ทำการแยกกรดคลอโรจินิก (Chlorogenic acid) จากโปรตีนที่ได้จากใบพืชสายพันธุ์ alfalfa พบว่า เอนไซม์ทริปซิน โคโมทริปซินสามารถย่อยโปรตีนจากใบพืชที่แยกกรดคลอโรจินิกออกไปได้มากกว่า และพบโปรตีนที่มีโมเลกุลเล็กละลายออกมากับกรดคลอโรจินิก การเกิดสารเชิงซ้อนของโปรตีนและสารฟีนอลิกนี้ทำให้เอนไซม์ย่อย

โปรตีนได้น้อยลง เช่นเดียวกับ Kumar (1983) ทำการย่อยโปรตีนจากสารสกัดจากใบ Fodder 3 สายพันธุ์ ด้วยเอนไซม์เปปซินพบว่า เปอร์เซ็นต์การย่อยโปรตีนลดลงเมื่อสารสกัดมีปริมาณแทนนินมากขึ้น ทั้งนี้สารแทนนินสามารถเกิดสารเชิงซ้อนกับโปรตีนซึ่งในที่นี้คือเอนไซม์เปปซิน เกิดเป็นสารเชิงซ้อนที่ไม่ละลายน้ำและสูญเสียความสามารถในการย่อยโปรตีน

ตารางที่ 3 ปริมาณโปรตีนในผงสำรองและเปอร์เซ็นต์โปรตีนที่ลดลงจากวัตถุดิบเริ่มต้น

ตัวอย่าง (เวลาและสภาวะการแยก โปรตีน)	ปริมาณโปรตีน % (w/w)	เปอร์เซ็นต์โปรตีนลดลงจาก วัตถุดิบเริ่มต้น
วัตถุดิบเริ่มต้น	4.79 ^g	
สภาวะเวลา 10 ชั่วโมง		
น้ำกลั่น	3.46 ^c	27.77
กรดไฮโดรคลอริก 0.02 M	3.54 ^{cde}	26.10
เปปซินในกรดไฮโดรคลอริก 0.02 M	3.67 ^{def}	23.38
ฟอสเฟตบัฟเฟอร์	3.85 ^f	19.62
โบรมิเลนในฟอสเฟตบัฟเฟอร์	3.77 ^f	21.28
สภาวะเวลา 16 ชั่วโมง		
น้ำกลั่น	3.38 ^c	29.44
กรดไฮโดรคลอริก 0.02 M	2.99 ^b	37.58
เปปซินในกรดไฮโดรคลอริก 0.02 M	2.81 ^{ab}	41.34
ฟอสเฟตบัฟเฟอร์	3.51 ^{cde}	26.72
โบรมิเลนในฟอสเฟตบัฟเฟอร์	3.38 ^{cde}	28.81
สภาวะเวลา 24 ชั่วโมง		
น้ำกลั่น	3.45 ^{cd}	27.97
กรดไฮโดรคลอริก 0.02 M	2.79 ^a	41.75
เปปซินในกรดไฮโดรคลอริก 0.02 M	2.73 ^a	43.01
ฟอสเฟตบัฟเฟอร์	3.44 ^c	28.18
โบรมิเลนในฟอสเฟตบัฟเฟอร์	3.43 ^{ef}	27.97

หมายเหตุ ตัวเลขที่ตามด้วยอักษรต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

2. การเตรียมกัมสำรวจ องค์ประกอบทางเคมีและสมบัติของกัมสำรวจ

ผงสำรวจที่นำมาใช้เตรียมกัมได้แก่ ผงสำรวจตามธรรมชาติ และผงสำรวจที่ทำการลดโปรตีนด้วยน้ำกลั่นและสารละลายกรดเจือจาง (ได้จากผลการทดลองข้อ 1) โดยทำการเตรียมด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.05 M ที่เวลา 16 ชั่วโมง อุณหภูมิ 40 ° ซ (วิธีการเตรียมกัมนี้ได้จากการทดสอบเบื้องต้นดังแสดงในภาคผนวก ข) และเรียกกัมสำรวจดังนี้ กัมสำรวจตามธรรมชาติ (MG) กัมสำรวจที่ผ่านการแยกโปรตีนด้วยน้ำ (WMG) และกัมสำรวจที่ผ่านการแยกโปรตีนด้วยกรด (AMG) ทั้งนี้ได้ปริมาณผลได้ (% Yield) ของกัมสำรวจต่อน้ำหนักแห้งของผงสำรวจ ดังนี้ 65.34, 64.36 และ 73.73 % (ตารางที่ 4) ปริมาณผลได้ของกัมสำรวจเทียบกับน้ำหนักเมล็ดสำรวจแห้งพบว่าทั้ง MG, WMG และ AMG ให้ปริมาณผลได้ไม่ต่างกับกัมสำรวจที่สกัดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ของ Somboonpanyakul *et al.*, (2005) ที่ได้ทำการการสกัดกัมสำรวจด้วยวิธีการสกัดแบบตามลำดับ (Sequential extraction) โดยทำการสกัดเมล็ดสำรวจด้วยน้ำ จากนั้นเหวี่ยงแยกสำรวจส่วนที่ไม่ละลายน้ำมาทำการสกัดด้วยกรด และทำการเหวี่ยงแยกสำรวจส่วนที่ไม่ละลายในกรดมาทำการสกัดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.05 M พบว่า การสกัดสำรวจด้วยน้ำ และกรดให้ปริมาณผลได้คือ 1 และ 6 % ของน้ำหนักเมล็ดแห้ง ตามลำดับ ในขณะที่การสกัดกัมด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์มีปริมาณผลได้ 20 % โดยเทียบกับน้ำหนักเมล็ดแห้งเริ่มต้น (Somboonpanyakul *et al.*, 2007)

ตารางที่ 4 ปริมาณผลได้ (% Yield) ของกัมสำรวจต่อน้ำหนักของเมล็ดสำรวจและผงสำรวจ

ตัวอย่าง	% Yield ต่อน้ำหนักเมล็ดสำรวจ	% Yield ต่อน้ำหนักผงสำรวจ
MG	18.84 ^a ±0.60	65.34 ^a ±2.07
WMG	18.56 ^a ±0.01	64.36 ^a ±3.50
AMG	21.26 ^a ±1.43	73.73 ^a ±4.95

หมายเหตุ ในการเตรียมกัมสำรวจนั้นเตรียมจากผงแห้งซึ่งผ่านการบดแยกจากเมล็ดแห้ง

ตัวเลขที่ตามด้วยอักษรต่างกันในแต่ละตัว มีความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P≤0.05)

2.1 องค์ประกอบทางเคมีของกัมสำรอง

เตรียมกัมสำรองจากผงสำรองที่มีปริมาณโปรตีนต่างกันแล้วนำมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี โดย MG, WMG และ AMG มีความชื้น (Moisture content) 5.79, 6.68 และ 6.51 % (w/w) ตามลำดับ การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด (Total carbohydrate) ซึ่งประกอบด้วยน้ำตาลที่เป็นกลาง น้ำตาลรีดิซ และน้ำตาลที่มีหมู่คาร์บอกซิลิก ได้ผลดังตารางที่ 5 โดยมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดในช่วง 27-28 % (w/w) ซึ่งไม่แตกต่างกัน ($P>0.05$) ซึ่งให้ค่าน้อยกว่า Somboonpanyakul *et al.*, 2007 ที่รายงานปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดของกัมสำรองที่สกัดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ คือ 62 % ทั้งนี้เนื่องจาก ในการสกัดโพลีแซคคาไรด์จากสำรองดังกล่าวเป็นการสกัดแบบลำดับส่วน (Sequential extraction) โดยทำการสกัดด้วยน้ำแล้วนำสำรองส่วนที่ไม่ละลายน้ำมาทำการสกัดด้วยกรดและสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ตามลำดับ โดยในขั้นตอนการสกัดด้วยน้ำ และสารละลายกรดอาจทำการละลายหรือชะให้สารอื่นที่มีในเมล็ดสำรองเช่น โปรตีน ไขมันและสารฟีนอลิก ออกไปบางส่วน จึงทำให้กัมสำรองส่วนที่สกัดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์มี Total carbohydrate มาก

เมื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลกลูโคส โทส อะราบิโนสและแรมนโนสด้วยเครื่อง HPLC พบว่า อัตราส่วนของน้ำตาลกลูโคส (Gal): น้ำตาลอะราบิโนส (Ara): น้ำตาลแรมนโนส (Rha) พบว่า MG, WMG มีค่าใกล้เคียงกันในขณะที่ AMG อัตราส่วนของน้ำตาลแรมนโนสลดลงเนื่องจากผลของสภาวะกรดเจือจางที่ใช้ในการลดปริมาณโปรตีนของกัมมีผลในการตัดพันธะไกลโคซิดิกของน้ำตาลแรมนโนส จึงทำให้มีปริมาณน้ำตาลแรมนโนสน้อยลง Coenen *et al.* (2007) กล่าวว่า พันธะไกลโคซิดิกต่างชนิดกัน เกิดการไฮโดรไลซ์ด้วยกรดต่างกัน โดยพันธะไกลโคซิดิกระหว่าง GalA มีความทนต่อการไฮโดรไลซ์ด้วยกรดดีกว่า พันธะไกลโคซิดิกระหว่าง GalA กับ Rha ในการเลือกวิเคราะห์ปริมาณของน้ำตาลชนิดดังกล่าวเนื่องจากเป็นน้ำตาลที่มีมากในกัมสำรอง โดย Somboonpanyakul *et al.*, 2007 พบว่าอัตราส่วน Gal:Ara:Rha ของกัมสำรองส่วนที่สกัดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์คือ 1.0:1.1:1.0 และ Chen *et al.* (1996) ได้รายงานอัตราส่วน Gal : Ara : Rha ของกัมจากเมล็ดสำรองสายพันธุ์ *Sterculia lychnophora Hance* ที่ทำการสกัดด้วยน้ำ ดังนี้ 1.01:1.67:1.00 โดยอัตราส่วนของน้ำตาลดังกล่าวเป็นไปในทิศทางเดียวกันคือ มีปริมาณน้ำตาลอะราบิโนสมาก

เมื่อทำการวิเคราะห์น้ำตาลยูโรไนด์ (Uronide content) โดยเทียบกับสารมาตรฐานกรดกา-แล็กทูโรนิก ซึ่งเป็นการวัดน้ำตาลที่มีหมู่คาร์บอกซิลิกในโครงสร้าง ผลการวิเคราะห์พบว่า มีปริมาณ 10.42, 13.74 และ 16.28 % (w/w) ตามลำดับ โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) โดย AMG ให้ผลของน้ำตาลที่เป็นกรดมากที่สุด ทั้งนี้อาจเนื่องจากการสลายที่เป็นกรดไปทำลายพันธะเอสเทอร์ของหมู่เมทิลเอสเทอร์ ที่เกาะกับหมู่คาร์บอกซิลิกในโครงสร้างของน้ำตาล จึงทำให้มีปริมาณน้ำตาลที่มีสถานะเป็นกรดมีจำนวนมากขึ้น (Voragen and Pinik, 1995) โดยในเพคตินมีหมู่เมทิลโดยเกิดพันธะเอสเทอร์ที่ตำแหน่งหมู่คาร์บอกซิลิกได้ สำหรับในกัมสำรองยังไม่มีรายงานการตรวจวัดปริมาณของหมู่เมทิลมาก่อน

จากการวิเคราะห์โปรตีนด้วยวิธี micro kjeldahl โดยกัมสำรองที่ได้มีปริมาณโปรตีนต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) โดย MG, WMG และ AMG มีปริมาณโปรตีนดังนี้ 4.48, 3.49 และ 2.63 ตามลำดับ เนื่องจากผลของการลดปริมาณโปรตีนในผงสำรองก่อนนำมาเตรียมเป็นกัม ทำให้กัมสำรองมีโปรตีนลดลงโดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ที่ลดลงจากผงสำรอง 22.1 และ 41.3 % ตามลำดับ Somboonpanyakul *et al.* (2005) รายงานปริมาณโปรตีนในกัมสำรองที่เตรียมด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เท่ากับ 8.3% (w/w)

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารอินทรีย์ที่พบในเนื้อเยื่อพืชซึ่งเกิดจาก ของพืช กระบวนการเมตาบอลิซึมลำดับที่ 2 ของพืช (Secondary metabolite) สารประกอบฟีนอลิกประกอบด้วยวงอะโรมาติก (Aromatic) มีหมู่ไฮดรอกซิลมาเกาะตั้งแต่ 1 หมู่ขึ้นไป ชนิดและปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกในพืชและส่วนต่าง ๆ ของพืชแต่ละชนิดจะแตกต่างกันไปในผนังเซลล์ของพืชจะพบกรดฟีนอลิกที่มีโครงสร้างอย่างง่าย ที่ละลายน้ำได้จนถึงโพลีเมอร์ของกรดฟีนอลิกที่ไม่ละลายน้ำซึ่งทำหน้าที่เสริมความแข็งแรงให้แก่ผนังเซลล์พืช ป้องกันอันตรายให้แก่เซลล์พืช ช่วยในการเจริญเติบโตและขยายพันธุ์ โดยอาจเกาะอยู่กับโพลีแซคคาไรด์ในผนังเซลล์พืชหรือเกาะอยู่กับไกลโคโปรตีนในผนังเซลล์พืชและเนื่องจากกัมสำรองเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากพืช ดังนั้นอาจพบสารประกอบฟีนอลิกได้ รัชชัย (2533) ได้รายงานการตรวจพบสารแทนนินในเมล็ดสำรอง โดยสารแทนนินเป็นสารประกอบฟีนอลิกที่มีขนาดใหญ่ ละลายน้ำได้และพบมากในใบชา นอกจากนี้ Wang *et al.* (2003) ได้รายงานการตรวจพบสาร kaempferol-3-O- β -D-glucoside ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลิกในกลุ่มของสารฟลาโวนอยด์ โดยสาร kaempferol เกาะอยู่กับโครงสร้างน้ำตาล ดังนั้นจึงทำการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน พบว่า MG, WMG และ AMG มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

($P \leq 0.05$) โดย MG มีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดมากกว่า WMG และ AMG ตามลำดับ โดยกัม
 สำรองที่ผ่านกระบวนการลดปริมาณโปรตีนด้วยน้ำและด้วยสารละลายกรดเจือจางทำให้สารแทน
 นินและสารประกอบฟีนอลิกบางชนิดที่ละลายได้ในน้ำละลายออกมา ดังนั้นในขั้นตอนดังกล่าวอาจ
 ทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในกัมสำรองลดลง

ตารางที่ 5 องค์ประกอบทางเคมีของของ Malva nut gum (MG), Water treated malva nut gum
 (WMG) และ Acid treated malva nut gum

องค์ประกอบทางเคมี	ปริมาณ (% w/w)* (โดยน้ำหนักแห้ง)		
	MG	WMG	AMG
คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด	28.38 ^a ±1.09	29.47 ^a ±2.32	27.38 ^a ±2.33
น้ำตาลที่เป็นกลาง			
น้ำตาลกลูโคส (Gal)	2.86 ^a ±0.08	3.49 ^b ±0.05	2.82 ^a ±0.30
น้ำตาลอะราบิโนส (Ara)	3.75 ^a ±0.21	4.79 ^b ±0.00	4.44 ^{ab} ±0.45
น้ำตาลเรมโนส (Rha)	4.18 ^b ±0.14	4.71 ^c ±0.45	3.64 ^a ±0.00
Gal:Ara:Rha	1.0:1.31:1.46	1.0:1.37:1.35	1.0:1.57:1.29
กรดกลูโคนิก	10.42 ^a ±1.05	13.74 ^b ±0.55	16.28 ^c ±0.70
โปรตีน	4.48 ^c ±0.19	3.49 ^b ±0.22	2.63 ^a ±0.07
ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด	10.84 ^c ±0.56	8.01 ^b ±1.57	6.31 ^a ±0.25

หมายเหตุ * หมายถึงค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวเลขในแนวนอนที่ตามด้วยอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
 ($P \leq 0.05$)

เนื่องจากในผนังเซลล์พืชอาจมีสารประกอบฟีนอลิกเกาะกับโครงสร้างของโพลีแซค
 คาไรด์และหรือสารประกอบฟีนอลิกอาจเกาะอยู่กับโปรตีนในพืชก็ได้ แนวโน้มของปริมาณฟี
 นอลิกทั้งหมดและปริมาณโปรตีนในกัมสำรองเป็นไปในทิศทางเดียวกัน ดังนั้นโปรตีนที่ลดลง
 ในกัมสำรองน่าจะเป็นโปรตีนขนาดเล็กที่ชะออกมาได้ง่ายด้วยน้ำและสารละลายกรดเจือจาง เมื่อ
 วิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ (Correlation) ของปริมาณโปรตีนและปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดพบว่า
 ปริมาณโปรตีนในกัมสำรองมีความสัมพันธ์กับปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด ($r = 0.846$)

สอดคล้องกับ Liahiriy *et al.* (1977) ทำการแยกกรดคลอโรจินิก (Chlorogenic acid) จากสารสกัดโปรตีนที่ได้จากใบพืชสายพันธุ์ alfalfa พบว่า ในส่วนของกรดคลอโรจินิกที่แยกออกมา มีโปรตีนที่มีโครงสร้างขนาดเล็กร่วมอยู่ด้วย

2.2 การวัดความสามารถต้านออกซิเดชัน

สารประกอบฟีนอลิกที่มีในพืชตามธรรมชาติ นั้นมีสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชันที่ได้จากธรรมชาติ และสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชันนี้แตกต่างกันไปตามโครงสร้างและองค์ประกอบภายใน โครงสร้างของสารประกอบนั้น ดังที่มีผู้ศึกษามาก่อนหน้านี้ในการพบสารแทนนินและสารแคมเฟอร์อล (Kaempferol) ประกอบกับลักษณะการใช้ประโยชน์ในการเป็นยาพื้นบ้าน และยังไม่มีการศึกษาผลในการเป็นสารต้านออกซิเดชันของเมล็ดสำรองมาก่อนในงานวิจัยนี้จึงได้ทำการศึกษาสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชันของกัมสำรอง เพื่อเป็นทางเลือกในการนำไปใช้ประโยชน์และอยู่ในรูปของสารเจือปนอาหาร (Food additive) ที่ใช้อย่าง

2.2.1 ความสามารถต้านอนุมูลอิสระวัดด้วยวิธี DPPH

นำกัมสำรอง MG, WMG และ AMG มาทำการสกัดเพื่อวิเคราะห์ความสามารถต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH ตามวิธีการทดลองข้อ 2.2.5 ก แล้วเจือจางให้แต่ละตัวอย่างมีความเข้มข้นแตกต่างกันแล้วทำการวัดความสามารถต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ตามวิธีการทดลองข้อ 2.2.6 ก นำค่าที่ได้มาคำนวณเป็นค่า % radical scavenging activity นำค่าที่ได้ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันมาสร้างกราฟเพื่อกำหนดค่าความเข้มข้นของสารสกัด (ไมโครกรัมในสารสกัดกัมสำรอง 1 มิลลิลิตร) ที่สามารถทำให้ค่า % radical scavenging activity ลดลงร้อยละ 50 (IC_{50}) หลังจากนั้นนำค่า IC_{50} ที่ได้มาคำนวณเป็นค่าประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Antiradical efficiency, AE) (ตารางที่ 6) ค่า AE บ่งบอกถึงความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ หากมีค่ามากแสดงว่ามีประสิทธิภาพมาก ดังในการทดลองนี้ทำการศึกษาความสามารถต้านอนุมูลอิสระของกัม MG, WMG และ AMG พบว่า MG มีค่า AE มากกว่า WMG และ AMG อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) เมื่อวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ (Correlation) ของค่า AE และปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดพบว่า ค่า AE ของกัมสำรองมีความสัมพันธ์กับปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด ($r = 0.835$) ค่าสหสัมพันธ์ (Correlation) ของค่า AE และปริมาณโปรตีนในกัมสำรองพบว่า ค่า AE ของกัมสำรองมีความสัมพันธ์กับปริมาณโปรตีนในกัมสำรอง ($r = 0.665$) ค่า AE ของกัมสำรองมีแนวโน้มใน

ทิศทางเดียวกับค่าฟีนอลิกทั้งหมด ซึ่งวัดโดยใช้กรดแกลลิก เป็นสารมาตรฐาน เช่นเดียวกับ ปริมาณโปรตีนในสารอง ทั้งนี้ในขั้นตอนการลดปริมาณโปรตีนในผงสารองด้วยน้ำ และสารละลาย กรดไฮโดรคลอริก 0.02 M มีผลทำให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดลดลง จึงส่งผลถึงค่าความสามารถใน การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ให้น้อยลงด้วย

สอดคล้องการทดลองของ Rangkadilok *et al.* (2007) ซึ่งได้ศึกษากิจกรรมของ สารต้านออกซิเดชันในเนื้อและเมล็ดลำไยพันธุ์ต่างๆ พบว่าสมบัติของการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ วัดด้วยวิธี DPPH มีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกับแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของกรดแกลลิก เนื่องมาจากสารสกัดลำไยที่มีสารประกอบฟีนอลิก เช่นกรดแกลลิกในปริมาณมาก จะส่งผลให้ มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่วัดด้วยวิธี DPPH มากด้วย

ตารางที่ 6 ประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Antiradical efficiency, AE) ของ Malva nut gum (MG), Water treated malva nut gum (WMG) และ Acid treated malva nut gum (AMG) วัดด้วยวิธี DPPH

ตัวอย่าง	ประสิทธิภาพการเป็นสารต้านออกซิเดชัน Antiradical Efficiency, AE
MG	0.00122 ^b
WMG	0.00089 ^a
AMG	0.00074 ^a

หมายเหตุ ตัวเลขในแนวตั้งที่ตามด้วยอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P≤0.05)

2.2.2 ความสามารถต้านออกซิเดชันวัดด้วยวิธี ORAC

ทำการทดสอบการเป็นสารต้านออกซิเดชันด้วยวิธี ORAC โดยแบ่งการสกัด สารออกเป็นส่วนของไขมัน (lipophilic) และส่วนของน้ำ (hydrophilic) มาวิเคราะห์ตามวิธีการ ทดลองข้อ 2.2.6 ข ได้เป็นความสามารถต้านออกซิเดชันของส่วนที่ไขมัน (L-ORAC) และ ส่วนที่น้ำ (H-ORAC) ค่าความสามารถในการต้านออกซิเดชัน (Antioxidant Capacity, AC)

ของส่วนที่ชอบไขมัน และส่วนที่ชอบน้ำ มีหน่วยเป็นไมโครโมลของสาร Trolox (TE) ต่อน้ำหนักแห้งของตัวอย่าง 100 กรัม เนื่องด้วยธรรมชาติของสารคือกัมสารองอยู่ในรูปผงแห้ง โดยแสดงผลดังตารางที่ 7 สาเหตุที่ต้องทำการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันทั้งในส่วนที่ชอบไขมัน และส่วนที่ชอบน้ำเนื่องจากต้องการทราบว่านอกจากสารกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ที่ละลายได้ในน้ำแล้ว ยังมีสารอื่นที่มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันที่ไม่ละลายน้ำแต่ละลายในไขมันหรือไม่ จากผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 7 พบว่าสารสกัดในส่วนที่ชอบไขมันมีความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชันน้อยมากเมื่อเทียบกับสารสกัดส่วนที่ชอบน้ำ ดังนั้นสารส่วนใหญ่ในกัมสารองที่มีสมบัติในการต้านออกซิเดชันเป็นสารที่ละลายได้ในน้ำ ตัวอย่างสารประกอบฟีนอลิกที่ละลายได้ในน้ำ ได้แก่ สารฟีนอลิก สารฟลาโวนอยด์และแทนนิน เป็นต้น ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ รัชชัย, (2533) และ Wang *et al.* (2003) ที่รายงานการพบสารแทนนินและสารแคมเฟอรอล ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลิกในกลุ่มฟลาโวนอยด์

ตารางที่ 7 ความสามารถต้านออกซิเดชันของส่วนที่ชอบไขมัน (L-ORAC) และส่วนที่ชอบน้ำ (H-ORAC) ของ Malva nut gum (MG), Water treated malva nut gum (WMG) และ Acid treated malva nut gum (AMG) ที่วัดด้วยวิธี ORAC

หน่วย : ไมโครโมลของสาร Trolox ต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง)

ตัวอย่าง	L-ORAC	H-ORAC
MG	8.47 ^b	17 x10 ^{8(b)}
WMG	4.49 ^a	14 x10 ^{8(b)}
AMG	4.44 ^a	6.8x10 ^{8(a)}

หมายเหตุ ตัวเลขในแนวตั้งที่ตามด้วยอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P≤0.05)

ในการทดลองนี้ค่า L-ORAC ที่ได้มีค่าน้อยมากเมื่อเทียบกับค่า H-ORAC ดังนั้นจึงขอกล่าวถึงผลของค่า H-ORAC ซึ่งน่าจะมีผลต่อค่า AC โดยรวมของกัมสารองมากกว่าค่า L-ORAC ผลการทดลองจากตารางที่ 7 พบว่า MG มีค่า AC ดีกว่า WMG และ AMG ซึ่งมีแนวโน้มในทิศทางเดียวปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและการวัดความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH แต่ไม่เหมือนกันเสียทีเดียว เนื่องจากความสามารถต้านออกซิเดชันไม่ได้ขึ้นกับสารใด

สารหนึ่งเท่านั้น แต่มีสารหลายชนิดที่ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการต้านออกซิเดชัน เมื่อวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์พบว่า ค่า H-ORAC มีความสัมพันธ์กับปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ($r = 0.567$) และมีความสัมพันธ์กับค่า AE ($r = 0.222$) ในขณะที่ ค่า H-ORAC มีความสัมพันธ์กับปริมาณโปรตีน ($r = 0.815$) แสดงว่าการลดปริมาณโปรตีนมีผลทำให้สมบัติการต้านออกซิเดชันที่วัดด้วยวิธี ORAC ของกัมสำรองลดลง ในขณะที่สมบัติการต้านออกซิเดชันที่วัดด้วยวิธี ORAC มีค่าความสัมพันธ์กับค่าการต้านออกซิเดชันที่วัดด้วยวิธี DPPH น้อย ทั้งนี้การวัดความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH และ ORAC นั้น Huang *et al.* (2005) ได้กล่าวว่าวิธี ORAC เป็นวิธีที่เหมาะสมในการเปรียบเทียบความสามารถต้านออกซิเดชันที่มีต่อร่างกายและเหมาะสมกว่าวิธี DPPH เนื่องจากวิธี DPPH เหมาะกับการวัดความสามารถในการต้านออกซิเดชันในพืชเท่านั้น ไม่เหมาะในการเปรียบเทียบผลของสารต้านออกซิเดชันที่มีต่อร่างกาย ดังนั้นกัมสำรองมีสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชัน สอดคล้องกับการใช้ประโยชน์ของสำรองในการเป็นยาพื้นบ้าน เมื่อเปรียบเทียบความสามารถต้านออกซิเดชันของกัมสำรองที่วัดด้วยวิธี ORAC ในส่วนของ H-ORAC กับผลไม้ (ตารางที่ 8) พบว่ากัมสำรอง มีค่า H-ORAC มากกว่าแสดงว่ากัมสำรองมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันได้ดีกว่าผลไม้ นอกจากผลไม้แล้วกัมสำรองยังมีความสามารถต้านออกซิเดชันได้ดีกว่าเครื่องเทศบางชนิด Su *et. al.* (2007) รายงานความสามารถในการต้านออกซิเดชันโดยรวม (Total antioxidant capacity) ซึ่งเป็นผลรวมของ L-ORAC และ H-ORAC ของ Oregano และ Cinamon ดังนี้ 1.23×10^5 และ 1.07×10^5 ไมโครโมลของสาร Trolox ต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง กัมสำรองมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันมากกว่าเครื่องเทศดังกล่าว 1,000 เท่า ทั้งนี้ความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชันขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่มีในพืชชนิดนั้น Henning *et al.* (2003) พบว่า เมื่อปริมาณสารคาเฟอีนในชาเขียวและชาดำมีปริมาณลดลง ทำให้สารฟลาโวนอลมีปริมาณลดลงและความสามารถในการต้านออกซิเดชันที่วัดด้วยวิธี ORAC ลดลง

2.3 ความหนืดของกัมสำรอง Malva nut gum (MG), Water treated malva nut gum (WMG) และ Acid treated malva nut gum (AMG)

การใช้โพลีแซคคาไรด์ในอาหารเพื่อทำให้อาหารมีลักษณะปรากฏที่ดี เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ดังนั้นจึงต้องคำนึงถึงคุณสมบัติที่ต้องการในอาหาร สมบัติเชิงหน้าที่ของโพลีแซคคาไรด์ที่นำไปใช้ในระบบของอาหาร ได้แก่ ความหนืด การรักษาความคงตัวของระบบอิมัลชัน สารที่

ทำให้เกิดเจล เป็นต้น ดังนั้นการเลือกใช้โพลีแซคคาไรด์เพื่อให้ตรงตามสมบัติที่ต้องการจึงต้องเลือกชนิดและปริมาณของโพลีแซคคาไรด์ที่มีสมบัติดังต้องการ

ตารางที่ 8 ความสามารถต้านออกซิเดชันของส่วนที่ชอบไขมัน (L-ORAC) และส่วนที่ชอบน้ำ (H-ORAC) ของผลไม้ ที่วัดด้วยวิธี ORAC

(หน่วย : ไมโครโมลของสาร Trolox ต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง)

ตัวอย่าง	L-ORAC	H-ORAC	อ้างอิง
Cherries	17.0	3344	Wu <i>et al.</i> (2004)
Orange	29.0	1785	Wu <i>et al.</i> (2004)
Pineapple	29.0	765	Wu <i>et al.</i> (2004)
Tangerine	7.0	1613	Wu <i>et al.</i> (2004)

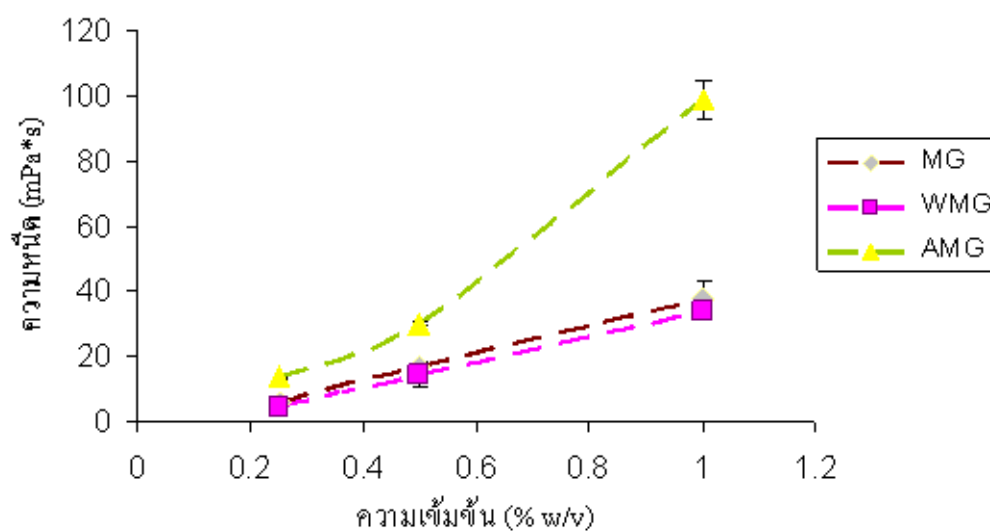
2.3.1 ความหนืดของ MG WMG และ AMG ที่ความเข้มข้น 0.25-1 % (w/v)

ทำการวัดความหนืดของ MG WMG และ AMG ที่ความเข้มข้น 0.25-1 % (w/v) การใช้กัมเป็นสารให้ความหนืดในอุตสาหกรรมอาหาร โดยทั่วไปใช้ที่ความเข้มข้น 0.25-0.5% (Whistler and Bemiller, 1999) ดังนั้นในการการวัดสมบัติด้านความหนืดของกัมสำรองจึงวัดในช่วงความเข้มข้นดังกล่าว ความหนืดของกัมสำรองทั้ง MG WMG และ AMG มีความหนืดเพิ่มขึ้นเมื่อมีความเข้มข้นของกัมมากขึ้น โดยวัดที่แรงเฉือน (Shear rate) 74 s^{-1} เมื่อโพลีเมอร์กระจายตัวอยู่ในน้ำหรือตัวทำละลายในปริมาณมากขึ้น โอกาสในการเกิดอันตรกิริยาระหว่างสายของโพลีแซคคาไรด์มีมากกว่า Random coil อาจเกิดเป็นโครงสร้างตาข่ายขึ้นการต้านการไหลจึงมากขึ้น (Whistler and Bemiller, 1999) และการที่โพลีแซคคาไรด์กัมมีหมู่ไฮดรอกซิลอยู่บนสายของโพลีเมอร์ ซึ่งหมู่ไฮดรอกซิลสามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนกับน้ำ ดังนั้นเมื่อโมเลกุลของโพลีแซคคาไรด์มากขึ้น การเกิดพันธะไฮโดรเจนกับน้ำจึงมากขึ้นทำให้รูปแบบของการไหลของน้ำเปลี่ยนไป (Kar and Arslan, 1999) โดยที่ระดับความเข้มข้นเท่ากันความหนืดของ MG และ WMG มีความแตกต่างกับ AMG อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) โดย AMG มีความหนืดมากกว่า MG และ WMG 1.5-2.8 เท่า ในช่วงความเข้มข้น 0.25-1 % (w/v) ดังภาพที่ 16

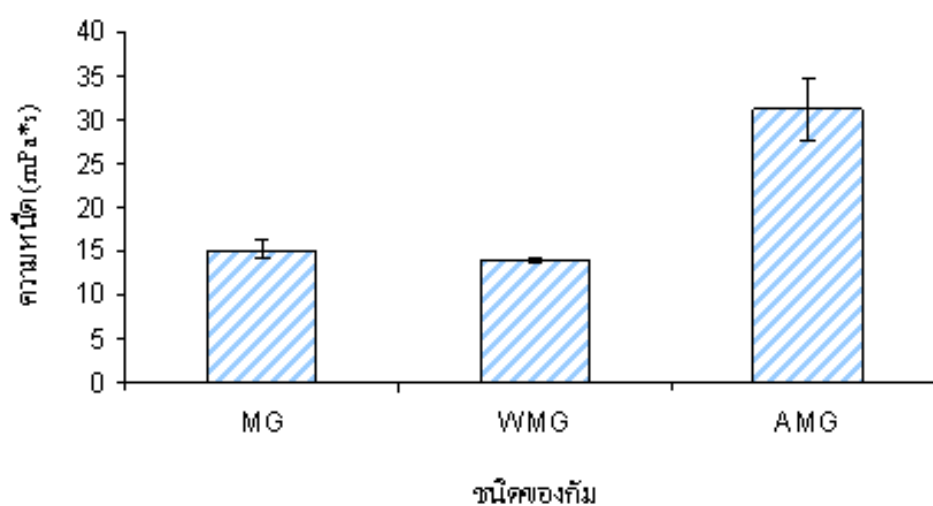
ทั้งนี้ปัจจัยที่มีผลต่อความหนืดของสารโพลีแซคคาไรด์กัมได้แก่ ชนิดของกัม ขนาดของอนุภาค อุณหภูมิ ค่า pH และ ปริมาณและชนิดของเกลือ เป็นต้น เนื่องจาก วรรณญา และ คณะ (2548) ได้ศึกษาสมบัติทางวิทยากระแส (Rheology) ของกัมตำรอง วัดความหนืดด้วยเครื่อง Paar Physica MCR300 หัววัดแบบ Plate and plate ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 50 มม. โดยทำการวัดที่ shear rate $0.1-200 \text{ s}^{-1}$ พบว่าสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ที่ 50 mM ทำให้กัมตำรองที่ 2 % (w/v) มีค่า Storage modulus มากกว่า กัมตำรองในน้ำกลั่นที่ความเข้มข้นเดียวกัน ที่อุณหภูมิ $25-85^{\circ} \text{C}$ โดยค่า Storage modulus บ่งบอกถึงการคงรูปของของไหล (Rigid) ดังนั้นเมื่อของไหลมีค่า Storage modulus มาก การต้านทานการไหลมาก กัมตำรองที่มี NaCl 50 mM จึงมีความหนืดมากกว่ากัมตำรองในน้ำกลั่น ขณะที่การเตรียมกัมตำรองทั้ง MG, WMG และ AMG นั้น จากการคำนวณมีเกลือโซเดียมคลอไรด์เกิดขึ้นในขั้นตอนการทำให้เป็นกลาง (Neutralize) โดยเป็นการทำปฏิกิริยาของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์และกรดไฮโดรคลอริกเกิดเป็นเกลือโซเดียมคลอไรด์ โดยที่ระดับความเข้มข้นของกัมที่ 0.5 % (w/v) นั้น MG มีความเข้มข้นของเกลือ 30 mM WMG มีความเข้มข้นของเกลือ 30 mM และ AMG มีความเข้มข้นของเกลือ 40 mM การที่ AMG มีความเข้มข้นของเกลือมากกว่าเนื่องจากการปรับให้เป็นกลางทั้งในขั้นตอนการลดปริมาณโปรตีนด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.02 M และในขั้นตอนการเตรียมกัมด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ดังนั้นเพื่อศึกษาผลของปริมาณเกลือในกัมตำรอง จึงทำการวัดความหนืดของกัมตำรองทั้ง 3 ชนิดที่ความเข้มข้นของกัมคือ 0.5 % (w/v) และมีปริมาณเกลือ NaCl 40 mM เท่ากัน โดยการเตรียมสารละลายกัม MG, WMG 0.5 % (w/v) ในสารละลายเกลือ NaCl 10 mM และเตรียม AMG 0.5 % (w/v) ในน้ำกลั่น แล้วนำมาวัดความหนืดโดยวัดที่แรงเฉือน (Shear rate) 74 s^{-1}

จากการวัดความหนืดของกัมตำรองทั้ง 3 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้นของกัมและปริมาณเกลือเท่ากันนั้น AMG ยังคงมีความหนืดมากกว่า MG และ WMG อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) โดยความหนืดของกัมที่มีเกลือ 40 mM มีความหนืดเท่ากับที่มีเกลือ 30 mM อาจเนื่องมาจากความเข้มข้นของเกลือที่ระดับต่างกัน 10 mM หรือที่ระดับต่ำกว่าไม่มีผลกระทบต่อความหนืดของกัมตำรองที่วัดโดยเครื่อง Brookfield viscometer ที่ระดับแรงเฉือน 74 s^{-1} (ภาพที่ 17)

ทั้งนี้ความหนืดของ AMG ที่มากกว่า MG และ WMG อาจเนื่องจาก องค์ประกอบทางเคมีของ AMG ที่มีปริมาณน้ำตาลยูโรไนด์ มากกว่า MG และ WMG น้ำตาลยูโรไนด์มีหมู่คาร์บอกซิล ซึ่งมีประจุ สามารถเกิดอันตรกิริยากับน้ำได้ดี ดังนั้นน้ำตาลยูโรไนด์อาจทำให้ AMG อุ่นน้ำได้ดี มีความสามารถต้านทานการไหลมากกว่าจึงมีความหนืดมากกว่า MG และ WMG



ภาพที่ 16 ความหนืดของ Malva nut gum (MG), Water treated malva nut gum (WMG) และ Acid treated malva nut gum (AMG) ที่ระดับความเข้มข้น 0.25-1.0 % (w/v) วัดด้วยเครื่อง Brookfeild viscometer

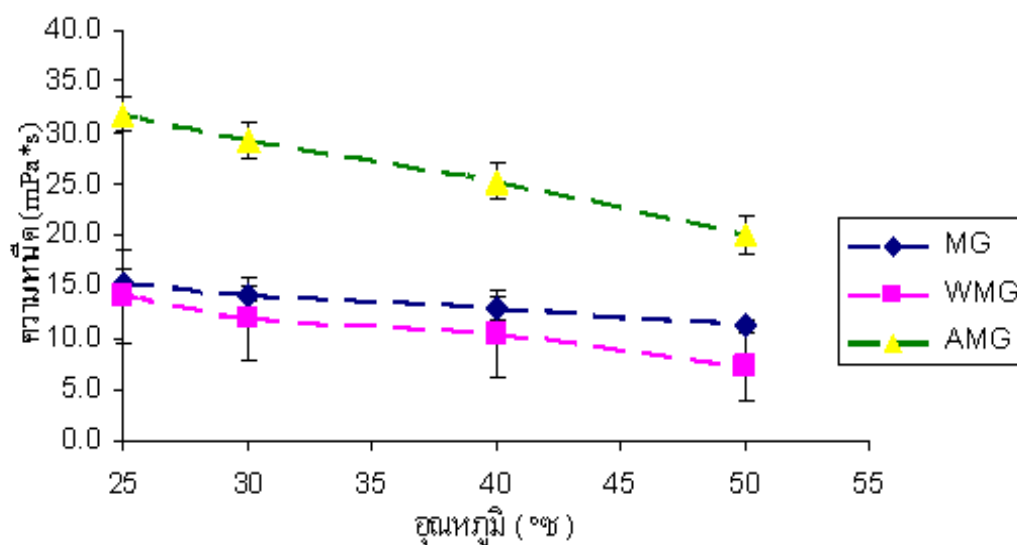


ภาพที่ 17 ความหนืดของ Malva nut gum (MG), Water treated malva nut gum (WMG) และ Acid treated malva nut gum (AMG) ที่ระดับความเข้มข้น 0.25-1.0 % (w/v) ที่มีปริมาณเกลือ NaCl 40 mM วัดด้วยเครื่อง Brookfeild viscometer

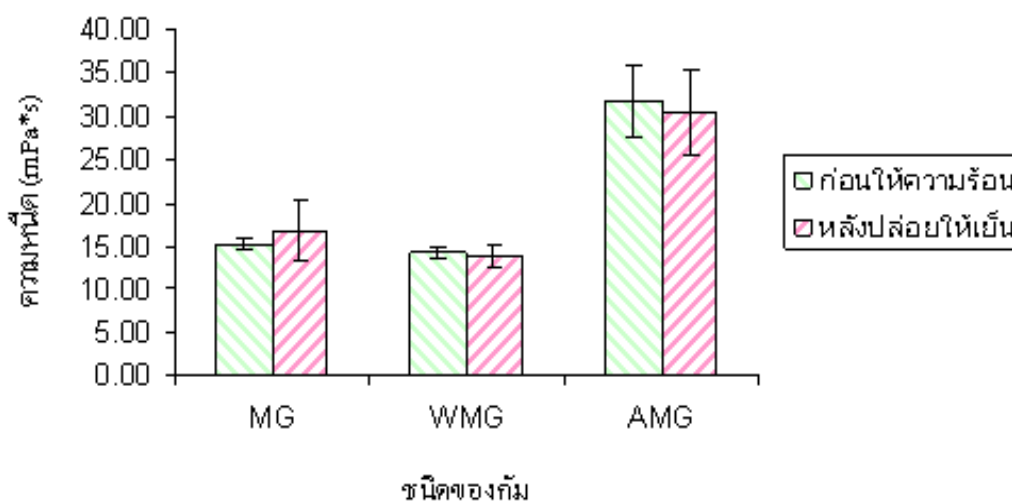
2.3.2 ความหนืดของกัมสำรอง Malva nut gum (MG), Water treated malva nut gum (WMG) และ Acid treated malva nut gum (AMG) ที่อุณหภูมิ 25-50° ซ

ทำการวัดความหนืดของกัมสำรองทั้ง 3 ชนิด ที่อุณหภูมิ 30, 40 และ 50 ° ซ หลังจากนั้นตั้งตัวอย่างกัมทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำกลับมาวัดความหนืดอีกครั้ง โดยเมื่อทำการวัดความหนืดที่ 30, 40 และ 50 ° ซ พบว่า อุณหภูมิสูงขึ้นความหนืดของกัมสำรองทั้ง 3 ชนิด ที่ความเข้มข้น 0.5 % (w/v) มีค่าลดลง ดังภาพที่ 18 ที่อุณหภูมิเดียวกันความหนืดของ MG และ WMG มีค่าไม่แตกต่างกันแต่จะมีค่าน้อยกว่า AMG อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) MG, WMG และ AMG 0.5 % (w/v) ที่อุณหภูมิ 25° ซ มีความหนืดมากกว่าที่อุณหภูมิ 40 และ 50° ซ อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) ทั้งนี้ความร้อนทำให้ความหนืดลดลงเนื่องจากการเพิ่มขึ้นของพลังงานความร้อน (Thermal energy) ทำให้ระยะห่างระหว่างโมเลกุล (Intermolecular distance) มีมากขึ้น จากการขยายตัวของความร้อน (Thermal expansion) (Kar and Arslan, 1999)

หลังจากทำการวัดความหนืดที่อุณหภูมิ 50° ซ แล้วนำตัวอย่างสารละลายกัมมาปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำกัมสำรองดังกล่าวมาวัดความหนืดอีกครั้งพบว่าความหนืดของกัมสำรองหลังจากให้ความร้อนยังคงความหนืดโดยไม่มีความแตกต่างกันกับก่อนการให้ความร้อน โดย AMG ยังคงมีความหนืดมากกว่า MG และ WMG ทั้งก่อนและหลังให้ความร้อนอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) ดังภาพที่ 18 แสดงให้เห็นว่ากัมสำรอง MG WMG และ AMG มีความคงตัวหลังการให้ความร้อน โดยยังคงรักษาสสมบัติทางด้านความหนืดหลังผ่านความร้อนได้ ทั้งนี้อาจเนื่องจากที่อุณหภูมิ 50° ซ ไม่สามารถทำลายโครงสร้างหรือพันธะไกลโคซิดิกของกัมสำรองได้อีก ทั้งชนิดของน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบในโพลีแซคคาไรด์จากสำรองได้แก่ น้ำตาลกาแล็กโทส น้ำตาลอะราบินอส (Somboonpanyakul *et al.*, 2005) เป็นน้ำตาลที่เป็นกลาง (Neutral sugar) โดยโพลีเมอร์ของน้ำตาลที่เป็นกลางจะมีความคงทนต่อความร้อนมากกว่าน้ำตาลที่เป็นกรดและน้ำตาลดังกล่าวยังเป็นองค์ประกอบของสารโพลีแซคคาไรด์จำพวกเฮมิเซลลูโลส ซึ่งเป็นโพลีแซคคาไรด์ที่มีมากเป็นอันดับสอง ในผนังเซลล์พืชและมีความคงทนต่อความร้อน และในการสกัดสารเฮมิเซลลูโลสออกจากผนังเซลล์พืชจะต้องสกัดด้วยค่าที่อุณหภูมิสูง (Spiridon and Popa, 2005) ดังนั้นการลดลงของความหนืดของกัมสำรองโดยอาจเนื่องจากระยะห่างระหว่างโมเลกุลเมื่อมีการให้ความร้อนแต่เมื่อลดอุณหภูมิลง สายโพลีเมอร์ของโพลีแซคคาไรด์สามารถเคลื่อนที่กลับเข้ามาใกล้กันได้อีกครั้งจึงทำให้ความหนืดของกัมยังคงเดิม



ภาพที่ 18 ผลของอุณหภูมิต่อความหนืดของ Malva nut gum (MG), Water treated malva nut gum (WMG) และ Acid treated malva nut gum (AMG) ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 % (w/v) ที่อุณหภูมิ 25-50° ซ วัดด้วยเครื่อง Brookfield viscometer



ภาพที่ 19 ความหนืดของ Malva nut gum (MG), Water treated malva nut gum (WMG) และ Acid treated malva nut gum (AMG) ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 % (w/v) ก่อนให้ความร้อนจนถึง 50 ° ซ ในช่วงเวลา 30 นาที วัดความหนืดหลังปล่อยให้เย็นแล้ววัดที่อุณหภูมิ 25° ซ วัดด้วยเครื่อง Brookfield viscometer

2.2.3 แรงตึงผิว (Surface tension) และแรงตึงระหว่างผิวร่วม (Interfacial tension) ของสารละลายกัมสำรอง

ค่าแรงตึงผิว (Surface tension) และแรงตึงที่ผิวร่วมระหว่างวัฏภาค (Interfacial tension) ค่าแรงตึงผิวเป็นแรงระหว่างสารละลายกับอากาศ แรงตึงผิวร่วมเป็นแรงระหว่างวัฏภาคสองวัฏภาคที่อยู่ร่วมกัน ถ้าแรงตึงที่ผิวร่วมระหว่างวัฏภาคมีค่าน้อยทำให้การรวมกันระหว่างวัฏภาคได้ดีขึ้น โดยค่าแรงตึงผิวของน้ำคือ 72.5 mN/m ค่าแรงตึงที่ผิวร่วมระหว่างน้ำและน้ำมันคือ 20.4 mN/m ที่อุณหภูมิ 25° ซ เมื่อละลายสารจำพวกไฮโดรคอลลอยด์หรือกัมพบว่าวัฏภาคของน้ำมีค่าแรงตึงผิวและแรงตึงที่ผิวร่วมระหว่างน้ำกับน้ำมันลดลงแต่ถ้าความเข้มข้นของกัมมากขึ้น กัมมีความหนืดมากหรือเกิดเจลก็จะทำให้แรงตึงผิวและแรงตึงที่ผิวร่วมมากขึ้น (Huang *et al.*, 2001) นอกจากสมบัติทางกายภาพจะมีผลต่อค่าแรงตึงผิวและแรงตึงที่ผิวร่วมแล้ว สมบัติทางเคมีที่เป็นองค์ประกอบของกัมก็มีผลต่อค่าแรงตึงผิวและค่าแรงตึงที่ผิวร่วม โดยโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของกัมมีผลทำให้ค่าแรงตึงผิวลดลง เช่น flaxseed gums ที่มีปริมาณโปรตีนต่างกัน มีค่าแรงตึงผิวต่างกันโดย flaxseed gums ที่มีปริมาณโปรตีนมากค่าแรงตึงผิวลดลง นอกจากนี้อีกองค์ประกอบอื่นของกัมที่มีผลต่อแรงตึงผิว เช่น สารกลุ่มไฮโดรโฟบิก (Hydrophobic group) ได้แก่ เมทิล (Methyl) และ อะเซทิล (Acetyl) ทำให้แรงตึงผิวลดลง (Cui, 2001)

ผลของแรงตึงผิวและแรงตึงที่ผิวร่วมของกัมสำรอง ดังแสดงตารางที่ 9 โดยเรียงจากน้อยไปมากคือ WMG MG และ AMG ซึ่งไม่ได้เป็นไปตามปริมาณของโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบดังสมมติฐาน โดยโปรตีนมากค่าแรงตึงผิวและแรงตึงที่ผิวร่วมน้อย WMG มีค่าโปรตีนน้อยกว่า MG แต่มีค่าแรงตึงผิวน้อยและแรงตึงที่ผิวร่วมน้อยกว่า ทั้งนี้อาจเป็นเพราะโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบในโครงสร้างของโพลีแซคคาไรด์ของกัมสำรองนั้นอาจถูกบดบังด้วยโครงสร้างของโพลีแซคคาไรด์จึงไม่แสดงความเป็นไฮโดรโฟบิกในส่วนของโปรตีนออกมา หรือโครงสร้างของโปรตีนไม่เชื่อมต่อกับโครงสร้างทางเคมีของโพลีแซคคาไรด์ (Garti *et al.*, 1997)

Brummer *et al.*, (2003) ทำการสกัด fenugreek gum ซึ่งเป็นโพลีแซคคาไรด์ชนิดกาเล็กโดแมนแนน แล้วนำสารสกัดโพลีแซคคาไรด์และสารสกัดโพลีแซคคาไรด์ที่ข่อยโปรตีนออกบางส่วนด้วยเอนไซม์โปรเนส พบว่าสารสกัดหยาบของโพลีแซคคาไรด์และสารสกัดโพลีแซคคาไรด์ที่ทำให้บริสุทธิ์บางส่วนมีค่าแรงตึงผิวและแรงตึงผิวร่วมไม่แตกต่างกัน

ตารางที่ 9 ค่าแรงดึงผิวและแรงดึงผิวรวมของของ Malva nut gum (MG), Water treated malva nut gum (WMG) และ Acid treated malva nut gum (AMG) ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 % (w/v) ที่อุณหภูมิ 25° ซ วัดโดย Wilhelmy plate

ตัวอย่าง	แรงดึงผิว mN/m	แรงดึงผิวรวม mN/m
MG	53.3	9.8
WMG	45.9	9.0
AMG	62.8	14.5

ทั้งนี้การที่ AMG มีค่าแรงดึงผิวและแรงดึงผิวรวมมากกว่า WMG และ MG นั้น อาจเนื่องมาจากความหนืด ที่ระดับความเข้มข้นของกัมที่ใช้ในการวัดค่าแรงดึงผิวนั้น AMG มีความหนืดมากกว่า MG และ WMG เมื่อความหนืดเพิ่มขึ้นทำให้ค่าแรงดึงผิวและแรงดึงผิวรวมมากขึ้น (Brummer *et al.*, 2003)

3. สมบัติด้านอิมัลชันของกัมสำรองและกัมสำรองเปรียบเทียบกับกัมทางการค้า

ศึกษาสมบัติทางกายภาพของกัมสำรองในด้านอิมัลชันโดยทำการทดสอบที่ระดับความเข้มข้น 0.5 % (w/w) ของกัมสำรองที่เตรียมด้วยสภาวะต่าง ๆ และทดสอบเปรียบเทียบกับกัมทางการค้าได้แก่ กัมอะราบิก (AG) นิยมใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องดื่ม ทำหน้าที่เป็นสารอิมัลซิเอร์ โดยมีส่วนของโปรตีนได้แก่ อะราบิโนกาแลคแตนโปรตีนอยู่ในโครงสร้างจึงทำให้กัมอะราบิกมีคุณสมบัติในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ กัวกัม (G) และกัมแซนแทน (X) เป็นกัมที่นิยมใช้ในการให้ความหนืดในอุตสาหกรรม โดยในด้านอิมัลชันนั้นกัวกัมทำหน้าที่ในการรักษาความคงตัวของอิมัลชันโดยการเกิดชั้นที่เป็นระเบียบของโพลีเมอร์ (Liquid crystalline former) รอบหยดน้ำมัน ในขณะที่แซนแทนรักษาความคงตัวของอิมัลชันด้วยความหนืดลดการเคลื่อนที่ของหยดน้ำมัน และในการทดลองนี้ทำการทดลองกับระบบอิมัลชันชนิด น้ำมันในน้ำเนื่องจากกัมที่ใช้กระจายตัวได้ในน้ำ ดังนั้นน้ำจึงเป็นวัฏภาคต่อเนื่อง โดยมีหยดน้ำมันเป็นวัฏภาคกระจายตัวและในการทดลองนี้ใช้กัมที่มีค่า pH แตกต่างกันเล็กน้อยตามชนิดของกัมแสดงดังตารางที่ 10

ตารางที่ 10 ค่า pH ของ Malva nut gum (MG), Water treated malva nut gum (WMG) และ Acid treated malva nut gum (AMG) และกัมทางการค้า ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 % (w/v)

ชนิดของกัม	pH
MG	5.8
WMG	6.1
AMG	6.3
AG	6.1
G	6.3
X	6.6

นอกจากนี้ปัจจัยในการเกิดและการรักษาความคงตัวของอิมัลชันยังมีผลของสมบัติทางกายภาพของกัม ได้แก่ แรงตึงผิวและแรงตึงที่ผิวร่วม มีผลกับการเกิดอิมัลชันโดยในการวัดค่าแรงตึงผิวของของเหลว นิยมใช้เครื่อง Wilhelmy plate จากตารางที่ 11 ได้แสดงค่าแรงตึงระหว่างผิวร่วมของกัมทางการค้า ได้แก่ กัมอะราบิก กัวกัมและแซนแทนกัม โดยการวัดด้วยเครื่อง wilhelmy plate ทั้งนี้ข้อมูลที่ได้นี้เป็นข้อมูลที่รวบรวมและเพื่อให้เห็นแนวโน้มค่าแรงตึงที่ผิวร่วมของกัมทางการค้าเท่านั้น หลังจากการเกิดอิมัลชันแล้วระบบอิมัลชันจะต้องรักษาความคงตัวเพื่อไม่ให้เกิดการแยกชั้น ในการรักษาความคงตัวของอิมัลชันอาจทำได้โดยการให้ความหนืดแก่ระบบเพื่อหน่วงการเคลื่อนที่ของหยदन้ำมัน ทำให้การเคลื่อนมารวมกันของหยदन้ำมัน ไม่เกิดขึ้นหรือเกิดช้าลง ตารางที่ 12 แสดงค่าความหนืดของสารละลายกัมที่ใช้ในการทดลองนี้ ได้แก่ MG, WMG, AMG, AG, G และ X ที่ระดับ 0.5 % (w/v) โดยแสดงค่าเป็นค่าความหนืดปรากฏ (appearance viscosity) วัดด้วยเครื่อง Brookfield DV III ที่อุณหภูมิ 25° ซ แรงเฉือน 74 s⁻¹

ตารางที่ 11 ค่าแรงตึงผิวและค่าแรงตึงระหว่างผิวร่วมของ MG, WMG, AMG เมื่อเทียบกับกัมทางการค้า G และ X ที่ 0.5 % (w/v) วัดโดย Wilhelmy plate

ชนิดของกัม	แรงตึงผิว (mN/m)	แรงตึงที่ผิวร่วม (mN/m)	อ้างอิง
MG	53.3	9.8	-
WMG	45.9	9.0	-
AMG	62.8	14.5	-
G	-	23.5	Garti <i>et al.</i> (1999a)
X	-	19.4	Garti <i>et al.</i> (1999a)

ตารางที่ 12 ความหนืดของ MG, WMG, AMG เมื่อเทียบกับกัมทางการค้าที่ความเข้มข้น 0.5 (w/v) วัดโดย Brookfield viscosity ที่อุณหภูมิ 27° ซ

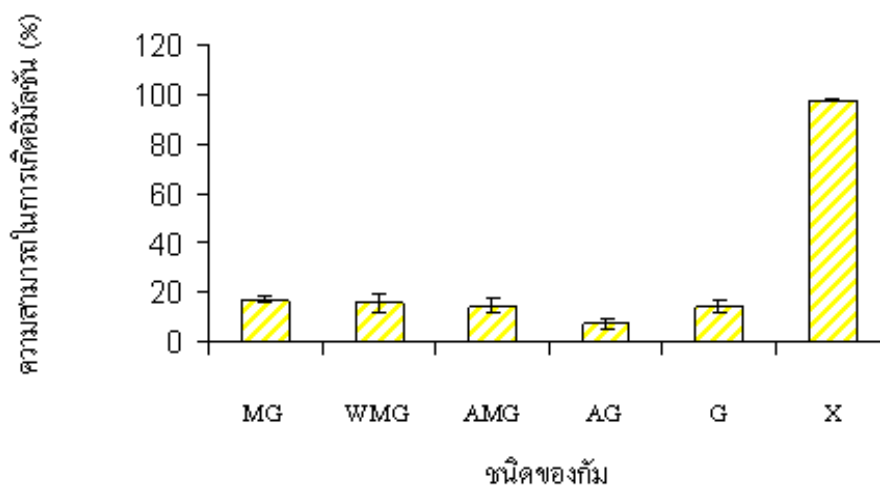
ชนิดของกัม	ความหนืด (mPa.s)
MG	17.0 ^c
WMG	14.2 ^b
AMG	29.6 ^d
AG	1.9 ^a
G	77.4 ^e
X	333 ^f

หมายเหตุ ตัวเลขในแนวดิ่งที่ตามด้วยอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P≤0.05)

3.1 ความสามารถในการเกิดอิมัลชัน (Emulsion capacity)

3.1.1 การวัดการเกิดอิมัลชันหลังจากหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่อง Centrifuge

ความสามารถในการเกิดอิมัลชัน โดยมีสารละลายกัมอยู่ในวัฏภาคของน้ำและน้ำมันข้าวโพดเป็นวัฏภาคของน้ำมัน เปรียบเทียบกับกัมทางการค้าพบว่ากัมจากสาร MG, WMG และ AMG ให้ผลความสามารถในการเกิดอิมัลชันไม่ต่างกัน ($P>0.05$) และให้ผลไม่ต่างกับกัวกัม เมื่อเปรียบเทียบกับกัมอะราบิก กัมสารองมีความสามารถในการเกิดอิมัลชันได้ดีกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\leq 0.05$) เมื่อเทียบกับแซนแทนกับแซนแทนกัมพบว่ากัมสารองมีให้ผลน้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ($P\leq 0.05$) ทั้งนี้เนื่องจากที่ระดับความเข้มข้นของกัม 0.5 % แซนแทนกัมเกิดเป็นเจลให้ความหนืดมากกว่ากัมสารองประมาณ 20 เท่าและมากกว่ากัวกัม 3 เท่า ดังนั้นแรงเหวี่ยงที่ใช้ในการทำให้เกิดการแยกชั้นอาจไม่เพียงพอที่จะทำให้หยดนํ้ามันเคลื่อนที่มารวมกันเนื่องจากความหนืดที่มากจึงไม่เกิดการเคลื่อนที่ของหยดนํ้ามันจึงทำให้อิมัลชันไม่เกิดการแยกชั้น



ภาพที่ 20 ความสามารถในการเกิดอิมัลชัน (Emulsion capacity) ของ Malva nut gum (MG),

Water treated malva nut gum (WMG) และ Acid treated malva nut gum (AMG) เทียบกับกัมทางการค้า ที่ความเข้มข้นของกัม 0.5 % (w/v) ในอิมัลชันที่มีวัฏภาคของน้ำ:น้ำมัน (9:1)

3.1.2 การกระจายตัวของหยดน้ำมันในระบบอิมัลชัน (Particle size distribution)

การกระจายตัวของขนาดของหยดน้ำมันในระบบอิมัลชันของกัมตำรองและกัมที่ใช้ทางการค้า โดยใช้หลักการวัดแบบการกระจายของแสง (Light scattering) โดยส่องแสงเลเซอร์ผ่านอนุภาค (Laser diffraction) แล้วทำการคำนวณตามสมการทางคณิตศาสตร์จากรูปแบบการกระจายตัวของแสงที่ผ่านอนุภาค โดยคำนวณจากความแตกต่างของค่า refractive index ของอนุภาคและตัวกลางที่ใช้ในการกระจายตัว ในที่นี้อนุภาคคือหยดน้ำมันข้าวโพดและตัวกลางที่ใช้ในการกระจายตัวคือน้ำและทำการทดสอบหลังจากเตรียมอิมัลชันทันทีเพื่อตรวจสอบขนาดของหยดน้ำมันซึ่งมีผลต่อการเกิดอิมัลชัน โดยอิมัลซิไฟเออร์ที่เคลื่อนที่เข้าดูซับที่ผิวน้ำมันอย่างรวดเร็วทำให้หยดน้ำมันที่ได้มีขนาดเล็กและให้ค่าการกระจายตัวที่สม่ำเสมอ

ตารางที่ 13 ขนาดและการกระจายตัวของหยดน้ำมัน พื้นที่ผิวจำเพาะและค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของหยดน้ำมันในระบบอิมัลชันของ Malva nut gum (MG), Water treated malva nut gum (WMG) และ Acid treated malva nut gum (AMG) เทียบกับกัมทางการค้า ที่ความเข้มข้นของกัม 0.5 % (w/v) ในอิมัลชันที่มีอัตราส่วนของน้ำ:น้ำมัน (9:1) ที่อุณหภูมิ 27° ซ วัดโดย Mastersizer

กัม	Span	d(3,2) (μm)	d(0.9) (μm)
MG	2.75 ^b	11.53 ^a ± 1.45	93.20 ^{ab} ± 1.36
WMG	1.89 ^a	10.83 ^a ± 1.135	65.93 ^{ab} ± 1.36
AMG	5.32 ^c	13.22 ^{ab} ± 2.52	209.77 ^c ± 50.01
AG	1.61 ^a	15.73 ^b ± 0.98	92.76 ^{ab} ± 0.32
G	2.52 ^b	10.24 ^a ± 0.07	78.34 ^a ± 2.12
X	2.0 ^a	19.28 ^c ± 0.58	138.85 ^b ± 15.50

หมายเหตุ ตัวเลขในแนวนอนที่ตามด้วยอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P ≤ 0.05)

การวัดขนาดและการกระจายขนาดของหยดน้ำมันในอิมัลชัน วัดด้วยเครื่อง Mastersizer โดยทำการทดลองทันทีหลังจากเตรียมอิมัลชันด้วย Ultra turrax T 25 แล้วเจือจาง

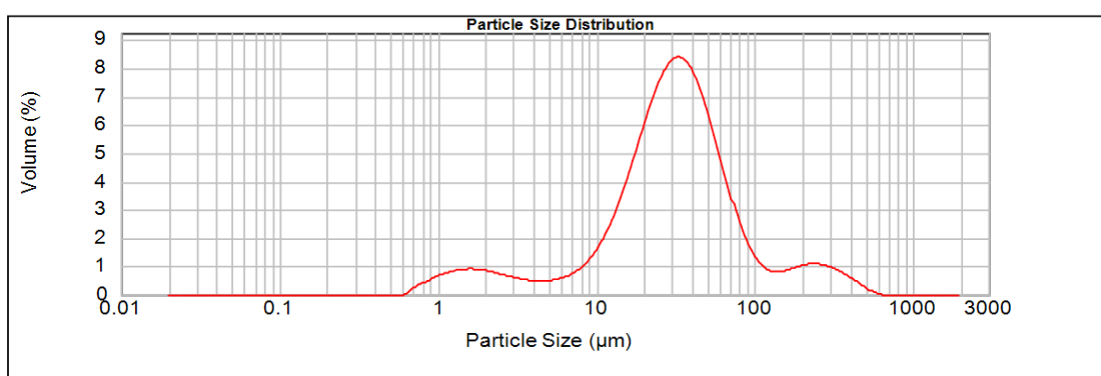
ตัวอย่าง 200 เท่า ใช้ปริมาณตัวอย่างหลังจากเจือจาง 600 มิลลิลิตร โดยเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของหยดน้ำมันซึ่งคำนวณจากพื้นที่ผิว (The surface area mean diameter) แทนด้วยสัญลักษณ์ $d(3,2)$ มีหน่วยเป็นไมโครเมตร (μm) พบว่า G, MG และ WMG ให้ขนาดของหยดน้ำมันมีขนาดใกล้เคียงกัน การที่ค่าไม่ต่างกันอาจเนื่องจากการเคลื่อนที่ของกัมแต่ละชนิดไปที่ผิวรอยต่อระหว่างน้ำและน้ำมันไม่ต่างกัน และขนาดของหยดน้ำมันเล็กกว่า AMG, AG และ X

นอกจากพิจารณาจากขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยที่คำนวณจากพื้นที่ผิวแล้ว ได้พิจารณาขนาดของหยดน้ำมันจากค่าเปอร์เซ็นต์ไทล์ที่ 90 ($d(0.9)$) ซึ่งหมายถึง ในระบบอิมัลชันมีหยดน้ำมันขนาดเล็กกว่าขนาดของหยดน้ำมันที่เปอร์เซ็นต์ไทล์ที่ 90 นี้อยู่ 90 % จากการทดลอง พบว่า MG และ WMG มีขนาดของหยดน้ำมัน $d(0.9)$ เล็กกว่า AMG อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) และเมื่อพิจารณาเทียบกับกัมทางการค้าพบว่า MG, WMG ไม่ต่างจาก AG, G และ X ($P > 0.05$)

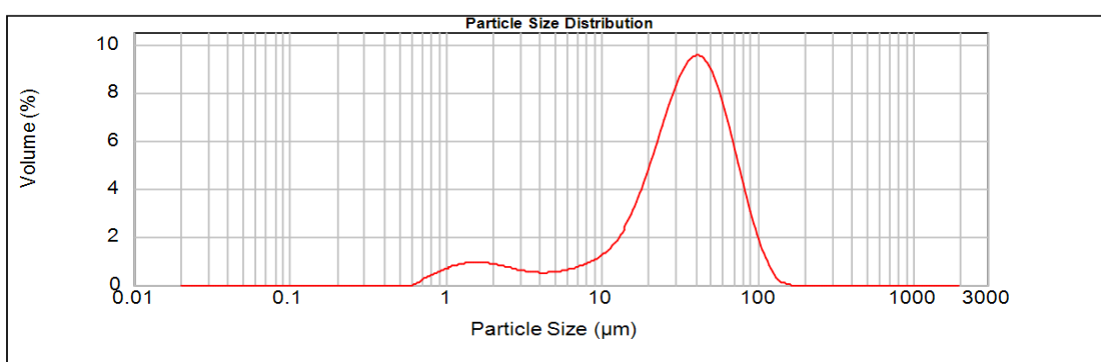
เมื่อพิจารณาขนาดของหยดน้ำมันในอิมัลชัน ($d(3,2)$) ของกัมทางการค้า พบว่า G ให้ขนาดเฉลี่ยของอนุภาคหยดน้ำมันเล็กกว่ากัม AG และ X ตามลำดับ โดย X ให้ขนาดอนุภาคขนาดใหญ่กว่ากัมชนิดอื่น สอดคล้องกับ Huang *et al.* (2001) ทั้งนี้อาจเนื่องจากแรงที่ใช้ในการผสมอิมัลชัน (Homogenize) มีขนาดเท่ากันในทุกความหนืดแต่ประสิทธิภาพในของแรงในการผสมอิมัลชันที่มีความหนืดมากกว่าอาจลดลงจึงทำให้ได้ขนาดของหยดน้ำมันขนาดใหญ่ โดย Huang *et al.* (2001) พบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของแซนแทนกัมในวัฏภาคต่อเนื่อง ความหนืดของวัฏภาคต่อเนื่องมากขึ้นแรงที่ใช้ในการผสมอิมัลชันเท่ากันทุกความเข้มข้นของกัม ระบบอิมัลชันที่มีความเข้มข้นของกัมมากจะได้ขนาดของหยดน้ำมันที่มีขนาดใหญ่ขึ้น

จากค่าการกระจายขนาดของอนุภาค (Span) ซึ่งบอกถึงรูปแบบของขนาดอนุภาคในอิมัลชันหากขนาดของขนาดหยดน้ำมันมีความสม่ำเสมอ (Monodisperse) คือขนาดของหยดน้ำมันมีค่าใกล้เคียงกัน ค่าการกระจายขนาดจะมีค่าน้อย หากรูปแบบการกระจายขนาดของหยดน้ำมันในอิมัลชันไม่สม่ำเสมอ ขนาดของหยดน้ำมันมีความแตกต่างทางขนาดมาก จะให้ค่าการกระจายขนาดของอนุภาคสูง โดย AMG มีการกระจายขนาดของหยดน้ำมันมากกว่า MG และ WMG ($P \leq 0.05$) และมากกว่า AG, G และ X ($P \leq 0.05$) นอกจากนี้อาจดูการกระจายขนาดของหยดน้ำมันได้จากกราฟการกระจายขนาดดังภาพที่ 21 แสดงค่าการกระจายตัวของอิมัลชันที่มี MG, WMG, AMG และ AG อยู่ในวัฏภาคต่อเนื่อง การเลือกแสดงการกระจายขนาดของหยดน้ำมันในอิมัลชันของ MG, WMG, AMG และ AG เนื่องจาก MG, WMG และ AMG มีความแตกต่างกันทั้งใน

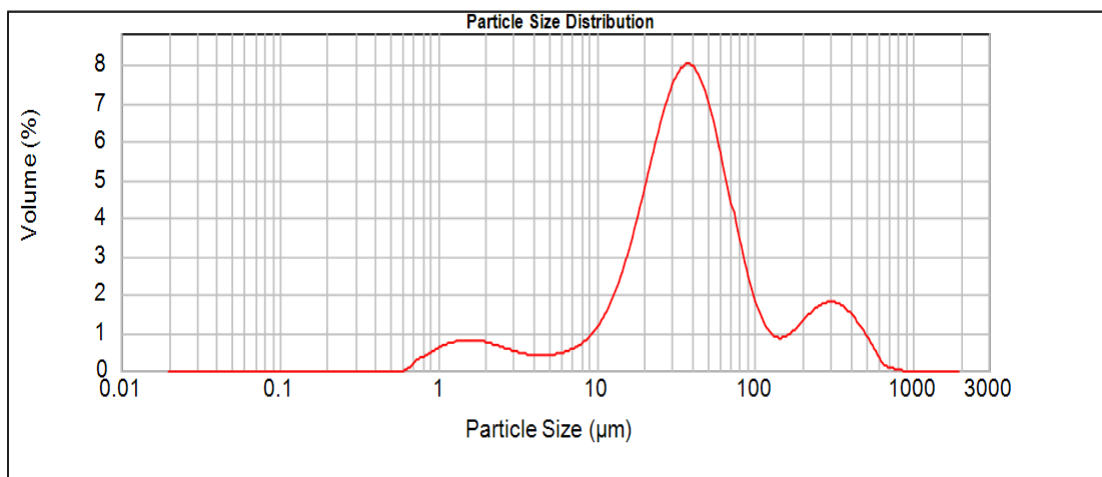
เรื่องของความหนืดและปริมาณโปรตีนของกัมสำรองและสำหรับ AG นั้นเป็นกัมทางการค้าที่ใช้ในการเป็นสารอิมัลซิไฟเออร์ จากการกระจายขนาดของหยดน้ำมันใน WMG และ AG มีลักษณะการกระจายขนาดคล้ายกัน และให้การกระจายขนาดน้อยกว่าหรือขนาดของหยดน้ำมันมีความสม่ำเสมอกว่า MG และ AMG โดย MG และ AMG มียอดกราฟ (Peak) ที่เกิดขึ้นชัดเจนทั้งด้านซ้ายและขวาจากยอดกราฟที่สูงและใหญ่ที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับค่า Span ทั้งนี้ในสถานะและการวัดผลและสถานะที่ทำการศึกษาปริมาณโปรตีนที่ต่างกันของกัมสำรองอาจไม่มีผลต่อการเกิดอิมัลชัน โดยขนาดและการกระจายขนาดไม่ต่างกันมากนัก (การกระจายขนาดของหยดน้ำมันที่มีกัม WMG, G และ X ในวิภูภาคต่อเนื่องแสดงที่ภาคผนวก ข)



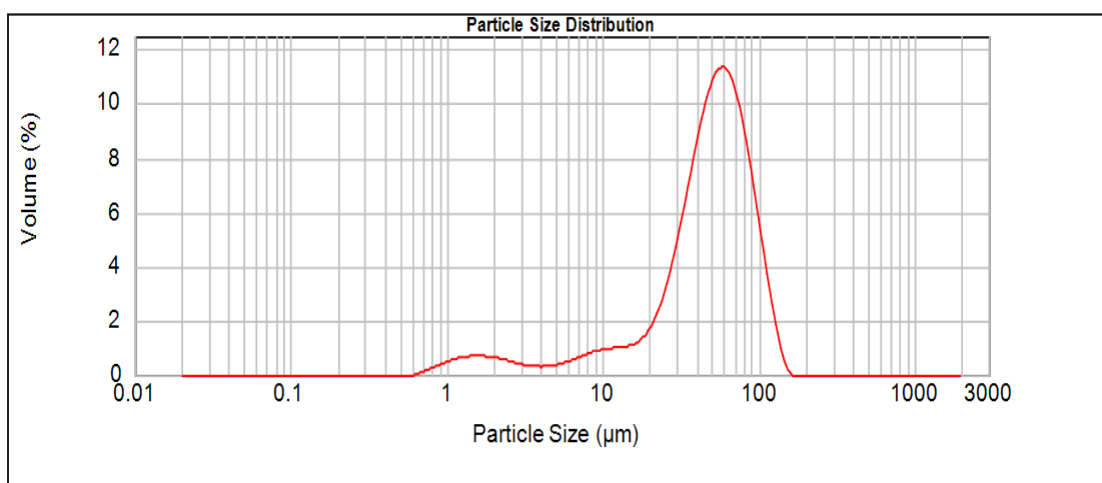
ภาพที่ 21.1 การกระจายขนาดของหยดน้ำมัน (Size distribution) ที่มี MG 0.5 % (w/v) ในวิภูภาคต่อเนื่อง ในอิมัลชันที่มีวิภูภาคของน้ำ:น้ำมัน (9:1) ที่อุณหภูมิ 27° ซ วัดโดย Mastersizer



ภาพที่ 21.2 การกระจายขนาดของหยดน้ำมัน (Size distribution) ที่มี WMG 0.5 % (w/v) ในวิภูภาคต่อเนื่อง ในอิมัลชันที่มีวิภูภาคของน้ำ:น้ำมัน (9:1) ที่อุณหภูมิ 27° ซ วัดโดย Mastersizer



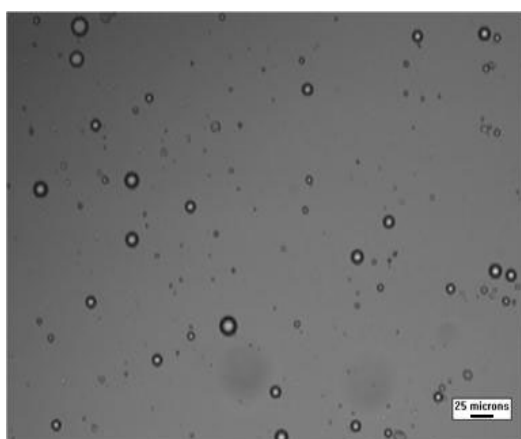
ภาพที่ 21.3 การกระจายขนาดของหยดน้ำมัน (Size distribution) ที่มี AMG 0.5 % (w/v) ในวัฏภาค
ต่อเนื่อง ในอิมัลชันที่มีวัฏภาคของน้ำ:น้ำมัน (9:1) ที่อุณหภูมิ 27° ซ วัดโดย
Mastersizer



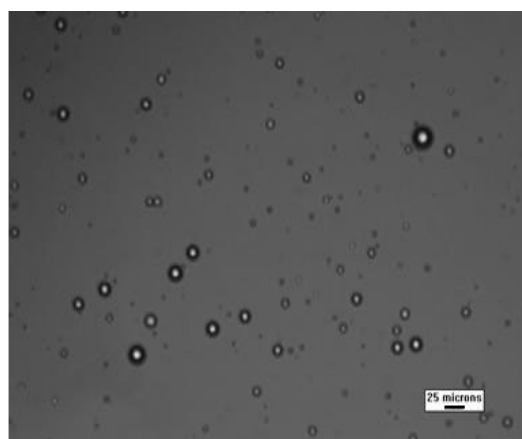
ภาพที่ 21.4 การกระจายขนาดของหยดน้ำมัน (Size distribution) ที่มี AG 0.5 % (w/v) ในวัฏภาค
ต่อเนื่อง ในอิมัลชันที่มีวัฏภาคของน้ำ:น้ำมัน (9:1) ที่อุณหภูมิ 27° ซ วัดโดย
Mastersizer

3.1.3 ภาพของหยดน้ำมันในระบบอิมัลชันที่กัมละลายอยู่ในวัฏภาคต่อเนื่อง

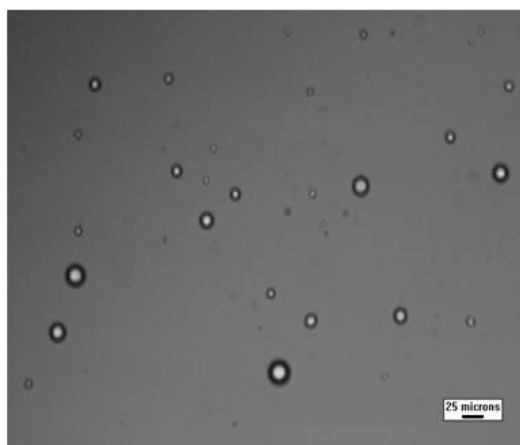
ทำการถ่ายภาพขนาดของหยดน้ำมันในอิมัลชันที่มีกัมชนิดต่าง ๆ ละลายอยู่ในวัฏภาคต่อเนื่องเข้มข้น 0.5 % (w/v) โดยทำการเจือจางเพื่อลดความหนาแน่นของหยดน้ำมันด้วยน้ำกลั่น 120 เท่า แล้วทำการถ่ายภาพทันทีหลังจากผสม ดังรูปที่ 22 เห็นได้ว่าหยดน้ำมันในสารละลายกัมแต่ละชนิดมีขนาดใกล้เคียงกันและในสารละลายกัมอะราบิก ดังภาพที่ 22 (ง) เป็นสารละลายกัมที่มีความหนืดน้อยที่สุดหยดน้ำมันจะเคลื่อนที่มารวมกันได้ดี เมื่อหยดน้ำมันเคลื่อนที่มารวมกันจะเกิดหยดน้ำมันที่มีขนาดใหญ่ แม้ว่าประสิทธิภาพในการปั่นผสมเท่ากัน และกัมอะราบิกมีความหนืดน้อยกว่ากัมชนิดและแรงตึงผิวร่วมใกล้เคียงกับกัมชนิดอื่น แต่ได้หยดน้ำมันขนาดใหญ่กว่ากัมที่มีแรงตึงผิวร่วมใกล้เคียงกัน เพราะความหนืดที่น้อยจึงไม่สามารถที่จะหน่วงหยดน้ำมันให้เจอกันช้าลง จึงทำให้การรักษาความคงตัวของอิมัลชัน ไม่ดีเกิดการแยกชั้นเร็ว



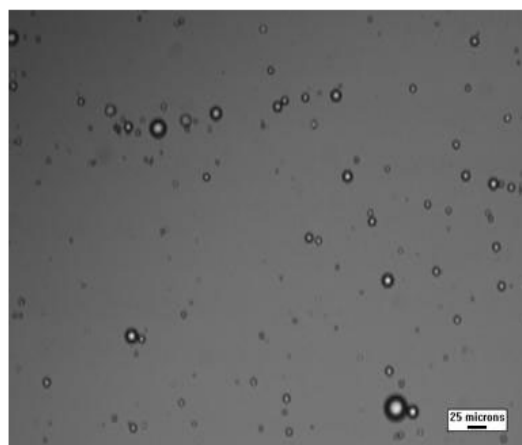
(น) MG



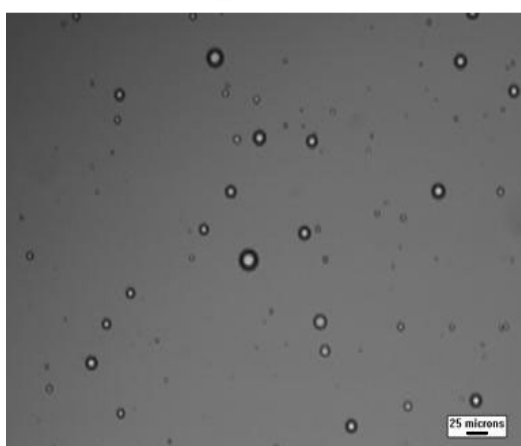
(ข) WMG



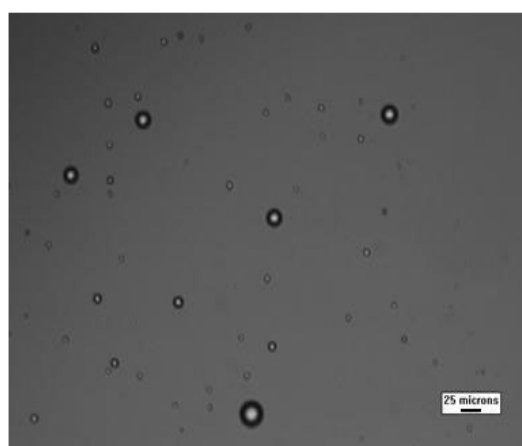
(ค) AMG



(ง) AG



(จ) G

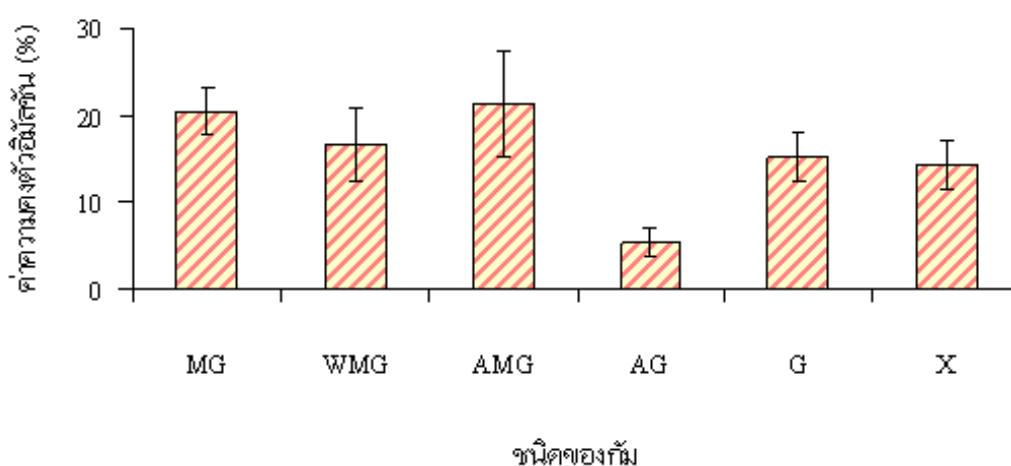


(ช) X

ภาพที่ 22 หยดน้ำมันที่มีสารละลายกัม (น) MG (ข) WMG (ค) AMG (ง) AG (จ) G (ช) X เข้มข้น 0.5 % (w/v) ในวัฏภาคต่อเนื่องในอิมัลชันที่มีวัฏภาคของน้ำ:น้ำมัน (9:1) อุณหภูมิ 27° ซ

3.2 ความคงตัวของอิมัลชันต่อความร้อน (Heat stability)

ความสามารถในการคงตัวอิมัลชันต่อความร้อนที่อุณหภูมิ 80° ซ เป็นเวลา 30 นาที โดยมีสารละลายกัมอยู่ในวัฏภาคของน้ำและน้ำมันข้าวโพดเป็นวัฏภาคของน้ำมันสารละลายกัมจากสารองที่เตรียมด้วยสภาวะต่างกันเปรียบเทียบกับกัมทางการค้า AMG ให้ความคงตัวต่อความร้อนไม่ต่างกับ MG และให้ผลดีกว่า WMG อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกัมทางการค้า AMG และ MG มีความคงตัวของอิมัลชันต่อความร้อนดีกว่า G, X และ AG อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

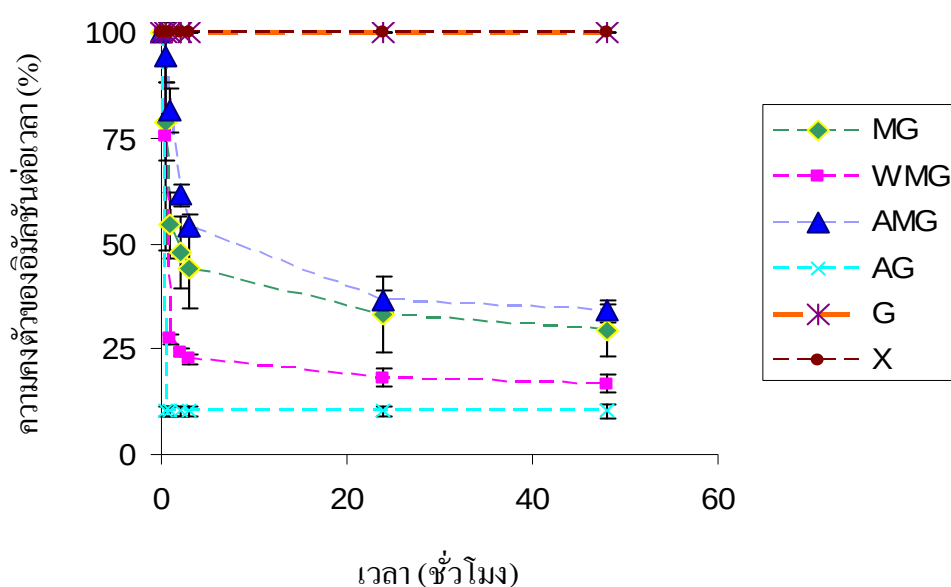


ภาพที่ 23 ความคงตัวของอิมัลชันต่อความร้อน (Heat stability) ของ Malva nut gum (MG), Water treated malva nut gum (WMG) และ Acid treated malva nut gum (AMG) เทียบกับกัมทางการค้า ที่ความเข้มข้นของกัม 0.5 % (w/v) ในอิมัลชันที่มีวัฏภาคของน้ำ:น้ำมัน (9:1) ที่อุณหภูมิ 27° ซ

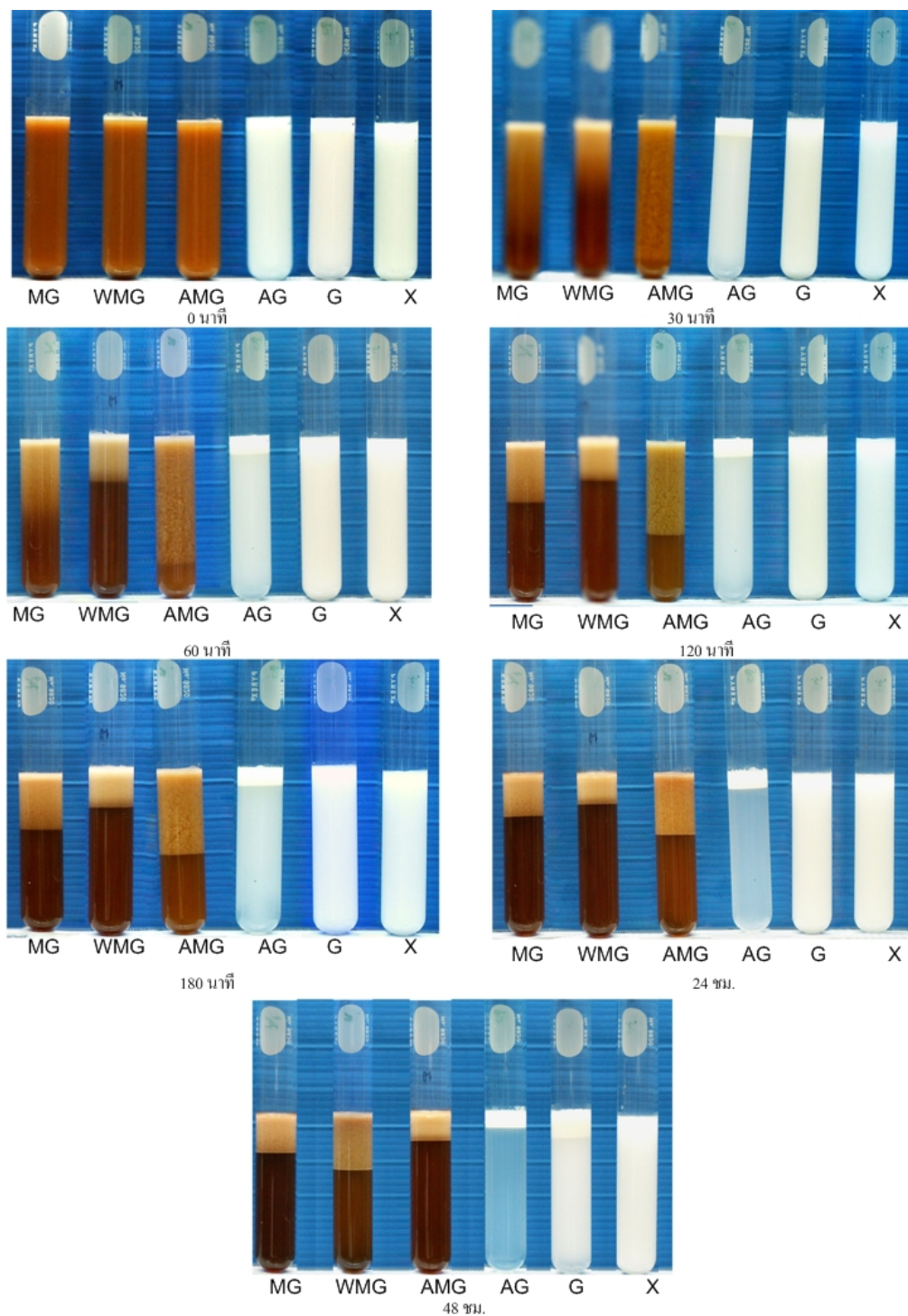
ทั้งนี้การรวมกันของหยดนํ้ามัน ทำให้เกิดการแยกชั้นเป็นชั้นครีมเมื่อให้ความร้อน อาจเนื่องจากขณะให้ความร้อนความหนืดของวัฏภาคต่อเนื่องลดลง โดยขณะให้ความร้อนทำให้เกิดระยะห่างระหว่างสายของโพลีเมอร์ที่มีอยู่ในวัฏภาคต่อเนื่อง ทำหยดนํ้ามันเคลื่อนที่มาเจอกันได้ง่าย ในระหว่างการให้ความร้อน และเนื่องจากหยดนํ้ามันมีน้ำหนักเบากว่าวัฏภาคต่อเนื่องจึงแยกเป็นชั้นครีมอยู่ด้านบน

3.3 ความคงตัวของอิมัลชันต่อเวลา

ความคงตัวของอิมัลชันต่อเวลาของอิมัลชัน ทดสอบโดยมีกัมอยู่ในวัฏภาคของต่อเนื่อง และใช้น้ำมันข้าวโพดเป็นวัฏภาคกระจายตัว โดยทำการทดสอบเปรียบเทียบระหว่างสารละลายกัมจากสารองที่เตรียมด้วยสภาวะต่างกันและกัมทางการค้า พบว่า MG, WMG และ AMG ให้ความคงตัวของอิมัลชันลดลงอย่างรวดเร็วใน 3 ชั่วโมงแรกของการเตรียมอิมัลชัน แต่ยังคงให้ความคงตัวดีกว่า AG ที่เวลา 48 ชั่วโมง สารละลายกัมจากสารองให้ความคงตัวของอิมัลชันดีกว่ากัมอะราบิก โดยเรียงจากความสามารถในการให้ความคงตัวของอิมัลชันต่อเวลาของกัมจากมากไปน้อยอย่างมีความแตกต่างทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ดังนี้ $X, G > AMG > MG > WMG > AG$ ดังภาพที่ 23 -24



ภาพที่ 24 ความคงตัวของอิมัลชันต่อเวลา (Storage stability) ของ Malva nut gum (MG), Water treated malva nut gum (WMG) และ Acid treated malva nut gum (AMG) เทียบกับกัมทางการค้า ที่ความเข้มข้นของกัม 0.5 % (w/v) ในอิมัลชันที่มีวัฏภาคของน้ำ:น้ำมัน (9:1) ที่อุณหภูมิ 27° ซ ที่ระยะเวลา 0-48 ชั่วโมง



ภาพที่ 25 ลักษณะปรากฏของอิมัลชัน (Storage stability) ของ MG, WMG, AMG, AG, G และ X (จากซ้าย) เมื่อตั้งทิ้งไว้ที่เวลา 0-48 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้นของกัม 0.5 % (w/v) ในอิมัลชัน ที่มีอัตราส่วนของน้ำ:น้ำมัน (9:1) ที่อุณหภูมิ 27° ซ

ในขั้นตอนการเก็บรักษาน้ำมันอัลซันนั้นความหนืดในของวิภูภาคต่อเนื่องเป็นปัจจัยสำคัญในการรักษาความคงตัว และเนื่องจาก X และ G มีความหนืดมาก จึงหน่วงการเคลื่อนที่ของหยดน้ำมันได้ดี จึงทำให้การรักษาความคงตัวของอิมัลชันได้ เช่นเดียวกับ AMG ที่รักษาความคงตัวของอิมัลชันได้ดีกว่า WMG และ MG โดยความหนืดของกัมเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับค่าความคงตัวของอิมัลชัน เมื่อหาความสัมพันธ์ทางสถิติของความหนืดของกัมและความคงตัวของอิมัลชัน ต่อเวลาพบว่า ความคงตัวของอิมัลชันต่อเวลามากขึ้นเมื่อความหนืดมากขึ้น ($r = 0.981$) ปริมาณโปรตีนและความสามารถในการเกิดอิมัลชันมีค่าสหสัมพันธ์ คือ 0.507

ในการทดลองนี้วัดความสามารถในการเกิดอิมัลชันและความคงตัวต่อความร้อนและความคงตัวของอิมัลชันต่อเวลา ที่มีสารละลายกัมสำรองทั้ง 3 ชนิด กัมอะราบิก กัว และแซนแทนกัมเป็นวิภูภาคต่อเนื่องในระบบอิมัลชัน นอกจากชนิดของกัมที่มีผลต่อการเกิดและการรักษาความคงตัวของอิมัลชันแล้ว ความหนืดก็เป็นปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดและการรักษาความคงตัวของอิมัลชัน โดยการทดลองนี้กำหนดปริมาณกัมเพื่อให้สะดวกต่อการใช้งาน โดยใช้สารละลายกัมที่ 0.5 % (w/v) ปริมาณกัมที่ใช้เท่ากันแต่กัมแต่ละชนิดให้ความหนืดไม่เท่ากัน ดังนั้นผลของการเกิดการรักษาความคงต่อความร้อนและการรักษาความคงต่อเวลาของอิมัลชันในการทดลองนี้ จึงอาจเป็นผลในเรื่องของความหนืด ทำให้ผลของปริมาณโปรตีนต่อสมบัติอิมัลชันดังกล่าวไม่ชัดเจน

นอกจากนี้ความเหมาะสมของปริมาณการใช้กัมแต่ละชนิดในระบบอิมัลชันอาจไม่เท่ากัน Chanamai and McClements (2001) พบว่าการใช้กัมอะราบิก 20 % (w/v) สามารถทำให้เกิดและรักษาความคงตัวของอิมัลชันน้ำในน้ำมัน โดยที่มีปริมาณน้ำมัน 12.5 % ในระบบอิมัลชัน ในขณะที่ Velez *et al.* (2003) พบว่าการใช้กัวและแซนแทนที่ความเข้มข้น 0.1 % (w/v) สามารถลดการเกิดการรวมตัวของหยดน้ำมันเป็นชั้นครีมได้ ในระบบอิมัลชันที่มีปริมาณน้ำมัน 10 % ดังนั้นนอกจากพิจารณาปริมาณการใช้กัมแล้วอาจต้องพิจารณาในเรื่องของความหนืดของกัมที่มีต่อระบบอิมัลชันด้วย

4. การนำไปใช้ประโยชน์

การใช้กัมในทางอุตสาหกรรมอาหารมีวัตถุประสงค์เพื่อให้ความคงตัวแก่อาหาร ความหนืด การเกิดและการรักษาความคงตัวของอิมัลชัน เพื่อให้อาหารมีคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสที่ดีในระยะเวลาที่กำหนด กัมที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหารได้แก่ กัมอะราบิก กัวกัม แซน

แทนกัมและโลคัสบีนกัน ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาสมบัติทางกายภาพของกัมสำรองและกัมสำรองที่ผ่านการดัดแปร โดยการลดปริมาณโปรตีนในกัมสำรอง เพื่อเป็นความรู้พื้นฐานในการใช้กัมสำรองในเชิงการค้าต่อไป โดยในการทดลองนี้ได้เตรียมกัมสำรอง 3 ชนิด ได้แก่ Malva nut gum (MG) Water treated malva nut gum (WMG) และ Acid treated malva nut gum (AMG)

ลักษณะทั่วไป

ตารางที่ 14 ลักษณะของกัมสำรอง Malva nut gum (MG) Water treated malva nut gum (WMG) และ Acid treated malva nut gum (AMG)

คุณลักษณะ	กัมสำรองทั้ง 3 ชนิด
ลักษณะปรากฏของผงกัม	ผงแห้งสีน้ำตาลเข้ม
ความชื้น	5.5-6.5 % (w/w)
การกระจายตัวในน้ำ	กระจายตัวได้ในน้ำที่มีการกวนอย่างรวดเร็ว
ลักษณะปรากฏของสารละลายกัม 0.5 % (w/v)	สารละลายสีน้ำตาลใส
pH ของสารละลายกัม 0.5 % (w/v) ที่ 25° ซ	4.5-6.5
กลิ่นของสารละลายกัม	มีกลิ่นตามธรรมชาติของสำรอง

จากการสังเกต การละลายของกัมสำรองในน้ำ เมื่อไม่มีการกวน พบว่า AMG ละลายได้ดีกว่า MG และ WMG ที่อุณหภูมิและเวลาเดียวกัน สารละลายกัมสำรองที่ได้มีสารแขวนลอยอยู่บ้างเล็กน้อย สารละลายกัมสำรองมีสีน้ำตาลเข้มอาจนำไปใช้ในอาหารที่มีสีเหลือง และสีน้ำตาล เช่น ผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ ผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ หรืออาจใช้เป็นสารให้สีน้ำตาลแก่ผลิตภัณฑ์

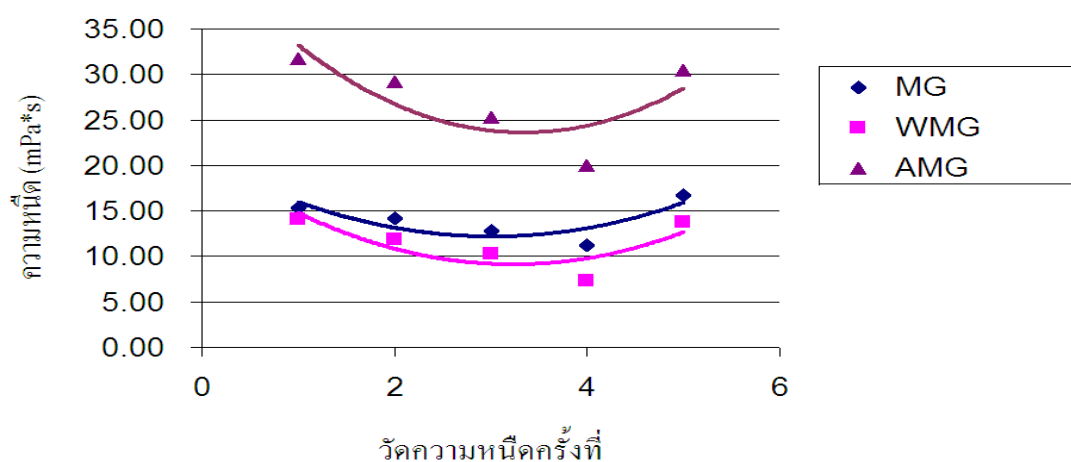
ความหนืด

เมื่อเปรียบเทียบความหนืดของกัมสำรองทั้ง 3 ชนิดกับกัมทางการค้าได้แก่ กัวกัมและกัมอะราบิก ที่อุณหภูมิและความเข้มข้นเดียวกัน พบว่า กัมสำรองมีความหนืดน้อยกว่ากัวกัมแต่มากกว่ากัมอะราบิก (ตารางที่ 15) เมื่อเพิ่มอุณหภูมิจนถึง 50° ซ กัมสำรองมีความหนืดลดลงไม่เกิน 50 % จากความหนืดที่อุณหภูมิห้อง และเมื่อปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิห้องแล้ววัดความหนืดอีกครั้ง กัมสำรองทั้ง 3 ชนิด มีค่าความหนืดกลับคืนประมาณ 98 % หลังจากให้ความร้อนแล้วปล่อยให้เย็น

ที่อุณหภูมิห้อง แสดงว่ากัมสารองมีความคงตัวหลังจากให้ความร้อน (Thermo reversible) ดังภาพที่ 26 จึงเหมาะสมกับผลิตภัณฑ์ที่ต้องผ่านความร้อน เช่น ผลิตภัณฑ์ซอสสปาเก็ตตี้กระป๋อง ที่ต้องผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อด้วยความร้อน โดยขณะให้ความร้อนผลิตภัณฑ์อาจมีความหนืดเปลี่ยนแปลงบ้าง หลังจากนั้นเมื่อผลิตภัณฑ์อยู่ที่อุณหภูมิห้องจะมีความหนืดใกล้เคียงกับก่อนให้ความร้อน

ตารางที่ 15 ความหนืดของกัมสารอง Malva nut gum (MG) Water treated malva nut gum (WMG) และ Acid treated malva nut gum (AMG) ที่ความเข้มข้น 0.5 % (w/v)

กัมสารอง 0.5 % (w/v)	ความหนืด (mPa.s) ที่อุณหภูมิห้อง
MG	17.0
WMG	14.2
AMG	29.6
Arabic gum	1.9
Guar gum	77.4



ภาพที่ 26 ความหนืดของสารละลายกัมสารอง Malva nut gum (MG) Water treated malva nut gum (WMG) และ Acid treated malva nut gum (AMG) ที่ความเข้มข้น 0.5 % (w/v)

หมายเหตุ การวัดความหนืดครั้งที่ 1, 2, 3, 4 และ 5 เป็นการวัดความหนืดที่อุณหภูมิห้อง 30, 40, 50 และอุณหภูมิห้อง ตามลำดับ

ความสามารถต้านออกซิเดชัน

นอกจากนี้กัมสำรองทั้ง 3 ชนิดยังมีความสามารถในการต้านออกซิเดชัน เมื่อวัดความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี ORAC ซึ่งเป็นค่าที่บอกถึงความสามารถต้านออกซิเดชันที่ให้ผลโดยตรงกับร่างกาย พบว่า MG และ WMG มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันได้มากกว่ากว่า AMG และมากกว่าผลไม้บางชนิดซึ่งมีการอ้างถึงความสามารถในการต้านออกซิเดชัน (ตารางที่ 16) ความสามารถในการต้านออกซิเดชันของกัมสำรองนั้นเป็นเนื่องจากสารพฤษเคมีซึ่งมีประโยชน์ในการเป็นสารต้านออกซิเดชัน ที่มีผลดีต่อร่างกาย ดังนั้นในการเลือกใช้กัมสำรองจึงอาจเป็นการเพิ่มคุณสมบัติให้กับผลิตภัณฑ์ได้ สารพฤษเคมีดังกล่าวนี้เป็นสารที่ทำให้เกิดสีน้ำตาลในกัมสำรอง ซึ่งอาจเป็นข้อจำกัดในการใช้งานในบางผลิตภัณฑ์ แต่มีข้อดีในด้านการต้านออกซิเดชันที่ยังไม่มีการรายงานในกัมทางการค้าชนิดใด

ตารางที่ 16 ความสามารถในการต้านออกซิเดชันของกัมสำรอง Malva nut gum (MG) Water treated malva nut gum (WMG) และ Acid treated malva nut gum (AMG) และผลไม้

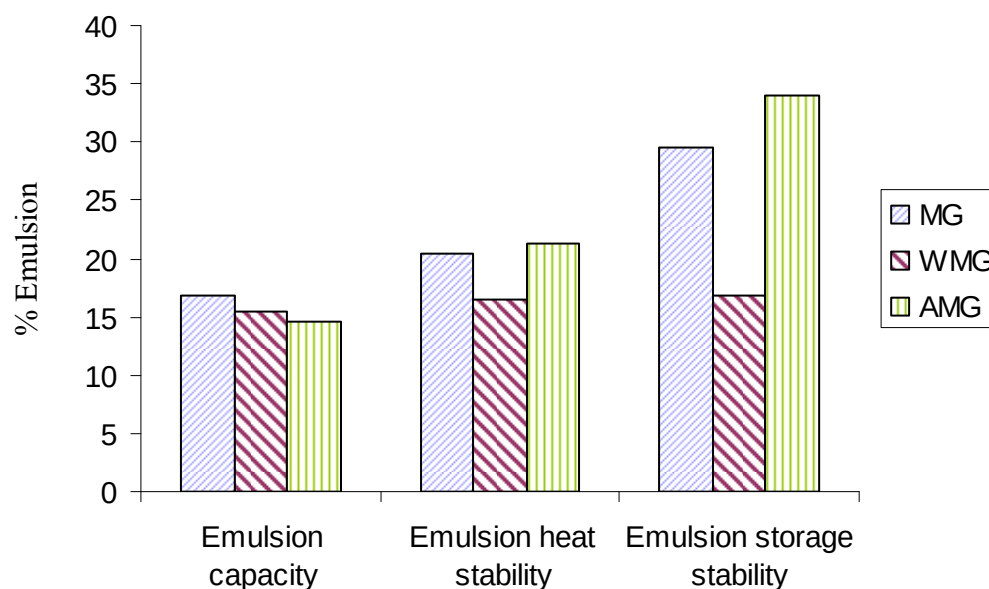
(หน่วย : ไมโครโมลของสาร Trolox ต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง)

ตัวอย่าง	H-ORAC
MG	17×10^8
WMG	14×10^8
AMG	6.8×10^8
Chery	3344
Orange	1785
Pineapple	765
Tangerine	1613

หมายเหตุ ค่า H-ORAC ในผลไม้อ้างอิงจาก Wu *et al.* (2004)

สมบัติอิมัลชัน

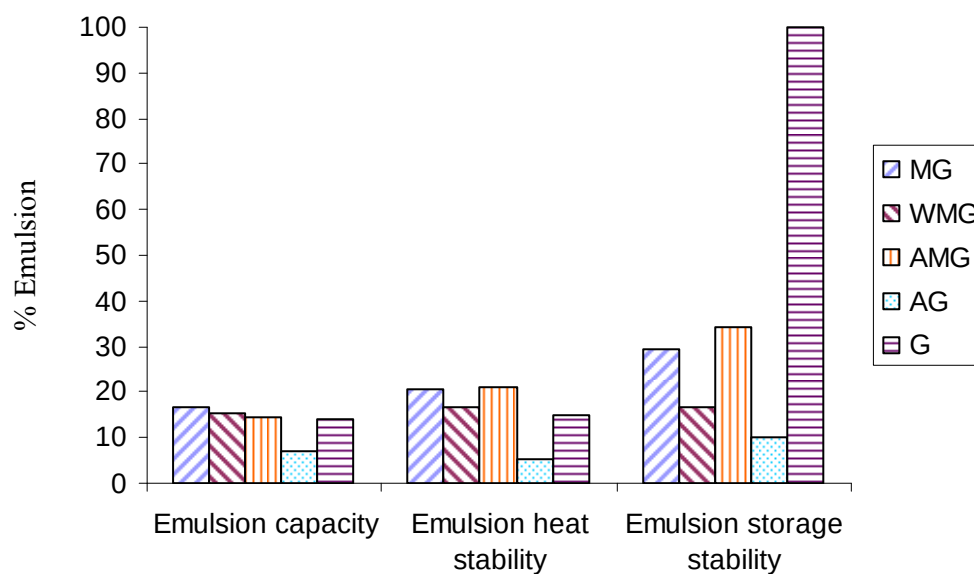
เมื่อวัดสมบัติทางด้านอิมัลชันดังต่อไปนี้ การเกิดอิมัลชัน การรักษาความคงตัวของอิมัลชัน ต่อความร้อนที่อุณหภูมิ 80 °ซ 0.5 ชั่วโมง และความคงของอิมัลชันต่อเวลา 48 ชั่วโมง ของ MG, WMG และ AMG โดยมีความเข้มข้นของกัม 0.5 % (w/v) ในวัฏภาคของน้ำ ในอัตราส่วนน้ำ:น้ำมัน (9:1) ประเภท O/W โดยกัมสำรองทั้ง 3 ชนิด มีความสามารถการเกิดอิมัลชันใกล้เคียงกัน AMG ให้ ความคงตัวของอิมัลชันต่อความร้อนและความคงตัวต่อเวลาดีกว่า MG และ WMG (ภาพที่ 27) (แสดงเป็นค่า %Emulsion เป็นค่าที่ได้จาก (ความสูงของชั้นของอิมัลชัน/ความสูงของชั้นของเหลว ทั้งหมด) x 100) เมื่อเปรียบเทียบกับกัมทางการค้า ได้แก่ กัวกัมและกัมอะราบิก พบว่า กัมสำรองทั้ง 3 ชนิด ให้การเกิดอิมัลชันและความคงตัวของอิมัลชันต่อความร้อนและเวลาดีกว่ากัมอะราบิก (ภาพที่ 28) นอกจากนี้จากการวัดการกระจายขนาดของหยดน้ำมันในอิมัลชัน ด้วยเครื่อง Mastersizer ที่อุณหภูมิห้อง พบว่า WMG ให้ค่าการกระจายขนาดของหยดน้ำมันในอิมัลชัน ใกล้เคียงกับกัมอะราบิก ที่ความเข้มข้นและระบบอิมัลชันเดียวกัน โดยกัมอะราบิกเป็นกัมที่ใช้เป็น สารอิมัลซิไฟเออร์ทางการค้า



ภาพที่ 27 สมบัติด้านอิมัลชันของกัมสำรอง Malva nut gum (MG) Water treated malva nut gum (WMG) และ Acid treated malva nut gum (AMG) ที่ความเข้มข้น 0.5 % (w/v)

เมื่อเปรียบเทียบความคงตัวของระบบอิมัลชันต่อเวลาที่เวลา 48 ชม. กัวกัมให้ความคงตัว ดีกว่ากัมสำรองเนื่องจากกัวกัมมีความหนืดมากกว่ากัมสำรอง 3 เท่า (ภาพที่ 28) ดังนั้นอาจนำกัม

สารองไปใช้ในอาหารที่ไม่ต้องการความหนืดมาก ทั้งนี้ระบบอิมัลชันดังกล่าวเป็นอิมัลชันน้ำมันในน้ำโดยอัตราส่วนของน้ำมันน้อยกว่าน้ำ โดยมีกัมสารองกระจายตัวในน้ำ ดังนั้นตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารที่สามารถนำกัมสารองไปใช้ได้แก่ ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่ม เช่น กาแฟกระป๋อง น้ำสลัดชนิดใสที่มีน้ำมันน้อย เป็นต้น



ภาพที่ 28 เปรียบเทียบสมบัติด้านอิมัลชันของกัมสารอง Malva nut gum (MG) Water treated malva nut gum (WMG) และ Acid treated malva nut gum (AMG) และกัมทางการค้า G และ AG ที่ความเข้มข้น 0.5 % (w/v)

สรุป

1. การลดปริมาณโปรตีนในผงสำรองโดยใช้ น้ำกลั่น เอนไซม์เปปซินและเอนไซม์โบรมิเลนที่เวลา 10, 16 และ 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 40 ° ซ พบว่า น้ำกลั่น เอนไซม์เปปซินและเอนไซม์โบรมิเลนที่เวลา 16 และ 24 ชั่วโมงสามารถลดปริมาณโปรตีนดีกว่า ที่เวลา 10 ชั่วโมง อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) เมื่อพิจารณาที่เวลา 16 ชั่วโมงพบว่า เอนไซม์เปปซินสามารถลดปริมาณโปรตีนได้มากกว่า น้ำและเอนไซม์โบรมิเลนอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) (29.44, 41.34 และ 28.18 % (w/w) ตามลำดับ) โดยน้ำและเอนไซม์โบรมิเลนไม่ต่างกัน ($P > 0.05$)

เมื่อเปรียบเทียบการใช้เอนไซม์กับบัฟเฟอร์ โดยการใช้เอนไซม์เปปซินเทียบกับสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.02 M ค่า pH 2.0 และเอนไซม์โบรมิเลน เทียบกับสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.01 M pH 7.5 พบว่า การลดลงของปริมาณโปรตีนโดยการใช้เอนไซม์เปปซินไม่แตกต่างกันกับการใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.02 M ($P > 0.05$) เช่นเดียวกับการใช้เอนไซม์โบรมิเลนและฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ดังนั้นจึงเลือกการลดปริมาณโปรตีนในผงสำรองด้วย น้ำกลั่น และสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.02 M เพื่อใช้เตรียมกัมสำรอง ด้วยการละลายในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.05 M 40 ° ซ เวลา 16 ชั่วโมง

2. จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี MG, WMG และ AMG พบว่ากัมสำรองทั้ง 3 ชนิด มีปริมาณโปรตีน และสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ให้ผลต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) โดยเรียงลำดับจากมากไปน้อยคือ MG, WMG และ AMG โดยมีปริมาณโปรตีนดังนี้ 4.48, 3.49 และ 2.63 % (w/w) และสารประกอบฟีนอลิก 10.84, 8.01 และ 6.31 % (w/w) ตามลำดับ ($P \leq 0.05$)

เมื่อวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาล กาแล็กโทส อะราบินอสและแรมโนส ของกัมสำรองทั้ง 3 ชนิด ด้วย HPLC พบว่า กัมสำรองทั้ง 3 ชนิดมีอัตราส่วนของน้ำตาลดังกล่าวใกล้เคียงกัน WMG มีอัตราส่วนของน้ำตาลดังกล่าวคือ 1.0:1.37:1.35และมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดไม่ต่างกัน ($P > 0.05$) แต่มีปริมาณน้ำตาลยูโรโนดทั้งหมดต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) มีค่าจากน้อยไปมากคือ MG, WMG และ AMG คือ 10.42, 13.74 และ 16.28 % (w/w) ตามลำดับ ($P \leq 0.05$)

3. เมื่อวัดความหนืดของกัมสารองทั้ง 3 ชนิด ที่ 0.5 % (w/v) ด้วย Brookfield viscometer พบว่า AMG ให้ความหนืดมากกว่า MG และ WMG อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) ดังนี้ 29.6, 17.0 และ 14.2 mPa.s โดยที่ MG และ WMG ไม่ต่างกัน ($P > 0.05$) เมื่อวัดความหนืดของกัมสารองทั้ง 3 ชนิด ก่อนและหลังให้ความร้อนจนถึง 50° ซ ภายใน 30 นาที แล้วนำกลับมาวัดความหนืดอีกครั้งที่ อุณหภูมิห้องพบว่า ความหนืดของกัมสารองทั้ง 3 ชนิด ก่อนและหลังให้ความร้อนไม่ต่างกัน ($P > 0.05$)

เมื่อวัดความหนืดที่อุณหภูมิ 30, 40 และ 50° ซ พบว่า ที่อุณหภูมิ 50° ซ MG, WMG และ AMG มีความหนืดลดลง 26, 50 และ 38 % เมื่อเทียบกับการวัดความหนืดที่อุณหภูมิห้องก่อนให้ความร้อน ทั้งนี้ที่ทุกอุณหภูมิ AMG มีความหนืดมากกว่า MG และ WMG อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

ค่าแรงตึงผิวและแรงตึงที่ผิวร่วมระหว่างน้ำกับน้ำมันของกัมสารองทั้ง 3 ชนิดวัดโดย เครื่อง Wilhelmy plate พบว่า WMG มีค่าแรงตึงผิวและแรงตึงที่ผิวร่วม 45.9 และ 9.0 mN/m ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่า MG และ AMG ตามลำดับ

4. เมื่อวัดความสามารถต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH โดยแสดงเป็นค่าประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Antiradical Efficiency, AE) พบว่า MG มีค่า AE มากกว่า WMG และ AMG อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) ดังนี้ 0.0012, 0.0088 และ 0.0074 ตามลำดับ โดย WMG และ AMG มีค่า AE ไม่ต่างกัน ($P > 0.05$)

เมื่อวัดความสามารถในการต้านออกซิเดชัน (Antioxidant capacity, AC) ด้วยวิธี ORAC ส่วนของสารสกัดที่ละลายในน้ำพบว่า MG และ WMG มีค่า AC ไม่ต่างกันคือ 17×10^8 และ 14×10^8 ไมโครกรัม Trolox ต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ และมากกว่า AMG อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) และมีค่ามากกว่าเครื่องเทศโดยทั่วไป 1,000 เท่า Su *et. al.*, (2007)

5. จากการวัดสมบัติด้านอิมัลชันของกัมสารอง ชนิดน้ำมันในน้ำ โดยมีกัมอยู่ในวัฏภาคของน้ำ 0.5 % (w/v) และมีอัตราส่วนของน้ำ:น้ำมัน คือ 9:1 พบว่า MG, WMG และ AMG มีความสามารถในการเกิดอิมัลชัน (Emulsion capacity) ไม่ต่างกัน ($P > 0.05$) และเมื่อเทียบกับกัมทาง

การค้ำ พบว่า MG, WMG และ AMG มีความสามารถในการเกิดอิมัลชัน ไม่ต่างจากกัม (G) ($P > 0.05$) แต่ดีกว่ากัมอะราบิก (AG) อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) (MG, WMG, AMG, G > AG)

เมื่อพิจารณา ขนาดของหยดน้ำมันในอิมัลชัน วัดด้วยเครื่อง Mastersizer 2000 พบว่า MG, WMG และ AMG มีขนาดของหยดน้ำมัน ไม่ต่างกัน ($P > 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบขนาดของหยดน้ำมัน กับกัมทางการค้ำพบว่า MG, WMG, AMG และ G มีขนาดของหยดน้ำมัน ไม่ต่างกัน ($P > 0.05$) โดยหยดน้ำมันมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางอยู่ในช่วง 10.5-15.5 ไมโครเมตร และมีขนาดของหยดน้ำมัน เล็กกว่า AG อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

เมื่อพิจารณาสมบัติความคงตัวต่อความร้อนของอิมัลชัน (Heat stability) พบว่า AMG มีความคงตัวของอิมัลชันต่อความร้อน ไม่ต่างจาก MG ($P > 0.05$) และให้ผลดีกว่า WMG อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกัมทางการค้ำพบว่า AMG มีความคงตัวต่อความร้อนดีกว่า G และ AG อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) และ WMG มีความคงตัวต่อความร้อนเท่ากับ G และมากกว่า AG อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) (AMG, MG > WMG, G > AG)

สมบัติความคงตัวของอิมัลชันต่อเวลา (Storage stability) จนถึงเวลา 48 ชั่วโมง พบว่า AMG มีความคงตัวต่อเวลาดีกว่า MG และ WMG อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) และ MG มีความคงตัวต่อเวลาดีกว่า WMG อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับกัมทางการค้ำพบว่า G มีความคงตัวต่อเวลาดีกว่า AMG, MG, WMG ตามลำดับ ($P \leq 0.05$) แต่ AMG, MG, WMG มีความคงตัวต่ออิมัลชันดีกว่า AG อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) (G > AMG > MG > WMG > AG)

6. กัมสารองทั้ง 3 ชนิดมีปริมาณโปรตีนต่างกันแต่ให้ผลการเกิดอิมัลชันไม่ต่างกัน ในระบบอิมัลชันและการวัดในการทดลองนี้ โปรตีนอาจไม่มีผลต่อการเกิดอิมัลชัน ปัจจัยที่มีผลต่อความคงตัวของอิมัลชันทั้งด้านความร้อนและเวลาอาจเป็นผลเนื่องจากความหนืด โดย AMG มีความหนืดมากกว่า MG และ WMG จึงให้ผลด้านความคงตัวดีกว่า

การเกิดอิมัลชันและการให้ความคงตัวต่อเวลาของอิมัลชันที่มีแซนแทนกัม (X) 0.5 % (w/v) อัตราส่วนของน้ำมัน:น้ำ (9:1) ให้ผลดีกว่ากัมสารองทั้ง 3 ชนิด เนื่องมาจากความหนืดที่มากกว่ากัมสารองมากจึงให้ผลการเกิดอิมัลชันและความคงตัวของอิมัลชันต่อเวลาดีกว่ากัมสารอง

เอกสารอ้างอิง

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. 2543. สมุนไพร..ไม่พ้นบ้าน. พิมพ์ครั้งที่ 1. บริษัท
ประชาชน กรุงเทพฯ

ธวัชชัย ทิพย์ทินกร. 2533. การศึกษาคุณสมบัติการเป็นสารช่วยแตกกระจายตัวในยาเม็ดของ
เนื้อผลตำรอง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

มานิชญ์ ภูทฤณย์ เพิ่มศักดิ์ สุทธิวาริ และสมหวัง วิเชียรฉันท. 2546. ศึกษาการเจริญเติบโตของ
ตำรองจากการขยายพันธุ์ด้วยการตอนกิ่งและตัดชำกิ่ง. วารสารวิจัยและฝึกอบรม สถาบัน
เทคโนโลยีราชมงคล. 6(3): 57-68

วรัญญา สุภมิตร, ภาวินี ภูศรี และ ปริญดา เพ็ญโรจน์. 2548. การศึกษาสมบัติทางกระแสวิทยา
ของกัมพจากผลตำรอง. แหล่งที่มา: http://www.irpus.org/project_file/2548_2006-08-25_I4803052.pdf. asp. 21 มกราคม 2549.

โอภา วัชรคุปต์, ปรีชา บุญจง, จันทนา บุญรัตน์ และมาลีรักษ์ อัดดีสินทอง. 2550. สารต้านอนุมูล
อิสระ. พิมพ์ครั้งที่ 2. นิวไทยมิตรการพิมพ์. กรุงเทพฯ

Ahmed, A., E. Rayah and J.M. Labavitch. 1977. A simplified method for accurate determination
Of cell wall uronide content. **J. Food Biochem.** 1: 361-365.

AOAC. 2000. Official methods of analysis of AOAC International, 17th ed. W, Horwitz ed.
Association of Official Analytical Chemists. Gaithersburg, MD. USA.

Beltran, O., G.L.D. Pinto., M. Martinez., L. Picton and C. Cozic. 2005. Fractionation and
characterization of gum from Acacia tortuosa. Effect of enzymatic and alkaline
treatments. **Carbohydr. Polym.** 62: 239-244.

- Bhat, U.R. and R.N. Thaaranathan. 1986. Fractionation of okra mucilage and structural investigation of an acidic polysaccharide. **Carbohydr. Res.** 148:143-147
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal. Biochem.** 72: 248-254.
- Brummer, Y., W. Cui. and Q. Wang. 2002. Extraction, purification and physicochemical characterization of fenugreek gum. **Food Hydrocolloids.** 17: 229-236.
- Cai, Y. Z., M. Sun., J. Xing., Q. Luo. and H. Corke. 2006. Structure-radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants. **Life Sciences.** 78: 2872-2888.
- Chen, J.M., P.R. Cao and H.T. Song. 1996. Purification and properties of polysaccharide PP III From *Sterculia lyncophora* Hance. **Zhongguo Zhongyao Zazhi.** 21(1): 39-41.
 Abstrac, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?CMD=Display&DB=pubmed>.
 July 27, 2004.
- Chanamai and D.J. McClements. 2001. Depletion flocculation of beverage emulsions by gum arabic and modified starch. **J. Food Sci.** 66 (3): 457-463. Cited. Tse KY, and GA .Reineccius. 1995. **Methods to predict the physical stability of flavor cloud emulsion.: Physical chemistry, modification, and proces.** American Chemical Society, Washington, D.C.
- Coenen, G.J., E.J. Bakx, R.P. Verhoef, H.A. Schols, A.G.J. Voragen. 2007. Identification of the connecting linkage between homo- or xylogalacturonan and rhamnogalacturonan type I. **Carbohydr. Polym.** 70: 224-235

- Cui, S.W. 2001. **Polysaccharide gums from agricultural products**. Technomic publishing company, Inc., Pennsylvania.
- Cui, W., N.A.M. Eskin and C.G. Biliaderis. 1993. Chemical and physical properties of Yellow Mustard (*Sinapis alba* L.) mucilage. **Food Chem.** 46: 169-176.
- Dickinson, E. 2003. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed system. **Food Hydrocolloids**. 17: 25-39
- Duodu, K.G., A. Nunest, I. Delgadillot., M.L. Parkert, E.N.C. Millst., P.S. Beltont and J.R.N. Taylor. 2002. Effect of grain structure and cooking on sorghum and maize in vitro protein digestibility. **J. Cereal Sci.** 35: 161-174
- Dubois, M., K. A. Hamilton., P.A. Rebers and F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sygars and related substances. **Anal. Chem.** 28: 350-356.
- Estanylo, M. J. and P. Puigdomenech. 2000. Plant cell wall glycoproteins and their genes. **Plant Physiol. Biochem.** 38: 97-108.
- Garti, N., Z. Madar., A. Aserin and B. Sternheim. 1997. Fenugreek galactomannan as food emulsifiers. **LWT**. 30: 305-311
- Garti, N., Y. Slavin, A. Aserin, Y. Slavin and A. Aserin. 1999. Surface and emulsification properties of a new gum extracted from *Portulaca oleracea* L. **Food Hydrocolloids** 13 : 145–155
- Garti, N., Y. Slavin, A. Aserin, Y. Slavin and A. Aserin. 1999a. Surface and emulsification properties of a new gum extracted from *Portulaca oleracea* L. **Food Hydrocolloids**

13 : 145–155. *Cited* Reichman, D. (1992). **Characterization of hydrocolloid surface activity and interactions with monomeric emulsifiers at the interface**. PhD Thesis, University of Jerusalem, Jerusalem, Israel.

Goodrum , L.J., A. Patelb., J.F. Leykamc and M.J. Kieliszewski. 2000. Gum arabic glycoprotein contains glycomodules of both extension and arabinogalactan-glycoproteins.

Phytochem. 54: 99-106

Harris, P., A. Morrison., and C. Dacombe. 1995. A practical approach to polysaccharide analysis, pp. 578-606. In A.M. Stephen, **Food polysaccharide and their applications**. Marcel Dekker. Inc. New York.

Haslan, E. 1996. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action.

J. Nat. Prod. 59: 205-215

Henning S. M., F. L Claudia, H. W. Lee, A. A. Youssefian, V. L. W. Go, D. Heber. 2003.

Catechin content of 18 teas and a green tea extract supplement correlates with the antioxidant capacity. **J. Nutri and Cancer.** 45 (2): 226-235

Heinonen, I.M., A.S. Meyer and E.N. Frankel. 1998. Antioxidant activity of berry phenolics on human low-density lipoprotein and liposome oxidation. **J. Agric Food Chem.**

46: 4107-4112

Hopkins, W.G. and M.P.A. Hüner. 2004. Cell, tissues, and organs: the architecture of plants.

Introduction to plant physiology. John Wiley & Sons, Inc., Denver

Huang, X., Y. Kakuda., and W. Cui. 2001. Hydrocolloids in emulsions: particle size distribution and interfacial activity. **Food Hydrocolloids.** 15: 533-542

- Huang, D., B. Ou and R. L. Prior. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **J. Agric. Food Chem.** 53: 1841-1856.
- Johnson, K. L., B. J. Jones., C. J. Shulrz and A. Bacic. 2003. Non - enzymic cell wall (glycol) proteins, pp. 111-145. *In* J.K.C. Rose. **The plant cell wall Annual plant reviews volume 8.** CRC Press, Oxford.
- Kar, F. and A. Arslan. 1999. Effect of temprtature and concentration on viscosity of orange peel pectin solutions and intrinsic viscosity-molecular weight relationship. **Carbohydr. Polym.** 40: 277-284
- Kaur, C. and H.C. Kapoor. 2001. Antioxidants in fruits and vegetables in the millennium's health. **International Journal of Food Science and Technology.** 36: 703-725.
- Kumar, R. 1983. Chemical and Biochemical Nature of Fodder Tree Leaf Tannins. **J. Agric Food Chem.** 31:1364-1366
- Lahiry, N.L., L.D. Satterlee., H.W. Hsu and G.W. Wallace. 1977. Characterization of the chlorogenic acid binding fraction in leaf protein concentration. **J. Food Sci.** 42: 83-85.
- Lau, F.C., B. Shukitt-Hale, J.A. Joseph. 2005. The beneficial effects of fruit polyphenols on brain aging. **Neurobiology of Aging** 26S: S128–S132
- Leroux, J., V. Langendorff., G. Schick., V. Vaishnav and J. Mazoyer. 2003. Emulsion stabilizing properties of pectin. **Food Hydrocolloids.** 17: 455-462.
- Levigne S., M-C. Ralet., J-F. Thibault. 2002. Characterisation of pectins extracted from fresh sugar beet under different condition using an experimental design. **Carbohydr. Polym.** 49: 145-153

- McClements, D.J. 2000. Comments on viscosity enhancement and depletion flocculation by polysaccharide. **Food Hydrocolloids**. 14: 173-177
- McClements, D.J. 2005. **Food Emulsions Principles, Practices, and Techniques**. 2nd ed. CRC Press. Florida.
- Mou'ecoucou, J., C. Villaume., C. Sanchez and L. M'ejean. 2004. Effects of gum arabic, low methoxy pectin and xylan on in vitro digestibility of peanut protein. **Food Res. Int.** 37: 777-783
- Neiland J.B. and P.K. Stumpf. 1958. **Enzyme chemistry**. John wiley and sons, Inc. California
- Ortiz, S.E.M., and J.R. Wagner. 2002. Hydrolysates of native and modified soy protein isolates: structural characteristics, solubility and foaming properties. **Food Res. Int.** 35: 511-518
- Pagán, J., A. Ibarz, M. Llorca and L. Coll. 1999. Quality of industrial pectin extracted from peach pomace at different pH and temperatures. **J. Sci Food Agric.** 79: 1038-1042.
- Prior, R. L., H. Hoang, L. Gu, X. Wu, M. Bacchiocca, L. Howard, M. Hampsch-Woodill, D. Huang, B. Ou and R. Jacob. 2003. Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORACFL)) of plasma and other biological and food samples. **J. Agric. Food Chem.** 51: 3273-3279.
- Prior, R. L., X. Wu and K. Schaich. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplement. **J. Agric. Food Chem.** 53: 4290-4302.
- Polovic N., M. Blanusa, M. Gavrovic-Jankulovic, M. Atanaskovic-Markoview, L. Burazerz, R. Jankov and T. Cirkovic Velickovic. 2007. A matrix effect in pectin-rich fruits hampers

digestion of allergen by pepsin in vivo and in vitro. **Clinical & Experimental Allergy**. 37, 764–771

Rangkadilok, N., S. Sitthimonchai, L. Worasuttayangkurn, C. Mahidol, M. Ruchirawat and J. Satayavivad. 2007. Evaluation of free radical scavenging and antityrosinase activities of standardized longan fruit extract. **Food Chem Toxicol**. 45: 328-336.

Robertson, D., G.P. Mitchell, J.S. Gilroy., G.P. Bolwell, and A.R. Slabas. 1997. Differential extraction and protein sequencing reveals major differences in patterns of primary cell wall proteins from plant. **J. of Biological Chem**. 272: 15841-15848

Singh, R. P., K. N. Chidambara Murthy and G. K. Jayaprakasha. 2002. Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. **J. Agric. Food Chem**. 50: 81-86.

Showalter A.M. 2001. Arabinogalactan-proteins: structure, expression and function. *Cell Mol Life Sci*. 58 : 1399–1417

Somboonpanyakul, P., Q. Wang ., W. Cui., S. Barbut., P. Jantawat. 2005a. Malva nut gum. (Part I): Extraction and physicochemical characterization. **Carbohydr. Polym**. 64 (2): 247-253

Somboonpanyakula, P., S. Barbutb., P. Jantawata. and N. Chinprahast. 2007. Textural and sensory quality of poultry meat batter containing malva nut gum, salt and phosphate. **LWT** 4 (3): 498-505

Spiridon, I. and V.I. Popa. 2005. Hemicellulose: structure and properties, pp. 475-489. In Severian dimitriu. **Polysaccharides structural diversity and functional versatility 2nd** ed. Marcel Dekker. New York.

- Staub, A.M. 1965. Removal of protein : Sevag method, pp. 5-6. In Roy L. Whistler, J.N. BeMiller and M.L. Wolfrom. **Method in carbohydrate chemistry Vol. 5**. Academic Press. New York .
- Stephen, A.M. and S.C. Churms. 1995. Gum and mucilage, pp. 377-440. In A.M. Stephen, ed. **Food polysaccharide and their applications**. Marcel dekker. Inc. New York.
- Su, L., J-J. Yin., D. Charles., K. Zhou., J. Moore., and L. Yu. 2007. Total phenolic contents, chelating capacities, and radical-scavenging properties of black peppercorn, nutmeg, rosehip, cinnamon and oregano leaf. **Food Chem.** 100: 990-997
- Thangapazham, R.L., A.K. Singh., A. Sharma., J. Warren., J.P. Gaddipati and R.K. Maheshwari. 2007. Green tea polyphenols and its constituent epigallocatechin gallate inhibits proliferation of human breast cancer cells in vitro. **Cancer Letters.** 245: 232–241.
- Velez, G., M.A. Fernandez, J. Munoz, P.A. Williams and R.J. English. 2003. Role of hydrocolloids in the creaming of oil in water emulsion. **J. Agric Food Chem.** 51: 265-269
- Velioglu, Y.S., G. Mazza., L. Gao and B.D. Oomah. 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetable and grain product. **J. Agric food chem.** 46: 4113-4117.
- Voragen, A.G.J. and W. Pilnik. 1995. Pectin, pp. 287-339. In A.M. Stephen, ed. **Food polysaccharide and their applications**. Marcel dekker. Inc. New York.
- Wang, R. F., X-W. Yanga., C-M. Maa., M-Y. Shanga., J-Y. Lianga., X. Wang, S-Q. Caia and Y. Shoyama. 2003. Alkaloids from the seeds of *Sterculia lychnophora* (Pangdahai) **Phytochem.** 63: 475–478.

- Waldron, K.W., M.L. Parker and A.C. Smith. 2003. Plant cell walls and food quality. **Food Sci. Food Safety**. 2: 101-119.
- Williams, P.A., C. Sayers, C. Viebke and C. Senan. 2005. Elucidation of the emulsification properties of sugar beet pectin. **J. Agric. Food Chem.** 53: 3592-3597
- Whistler, R.L. and J.N. Bemiller. 1999. **Carbohydrate chemistry for food scientists**. Eagan press. Minnesota.
- Wood, P. J., Weisz, J., & Blackwell, B. A. (1994). Structural studies of (1, 3),(1,4)- b-D-glucans by ¹³C-nuclear magnetic resonance spectroscopy and by rapid analysis of cellulose-like regions using high-performance anionexchange chromatography of oligosaccharides released by lichenase. **Cereal Chem.** 71: 301-309
- Wu, x., G. R., Beecher, J. M. Holden., D. B. Haytowitz, S. E. Gebhardt and R. L. Prior. 2004. Lipophilic and Hydrophilic Antioxidant Capacities of Common Foods in the United States. **J. Agric. Food Chem.** 52: 4026-4037
- Yamada, T., A. Itoh¹., M.Kanzaki¹., T. Yamakura¹., E. Suzuki & P.S. Ashton. 2000. Local and geographical distributions for a tropical tree genus, *Scaphium* (Sterculiaceae) in the Far East. **Plant Ecology**. 148: 23–30
- Zykwinska, A., C. Rondeau-Mouro., C. Garnier., J.F. Thibaut. and M.C. Ralet. 2006. Alkaline extractability of pectin arabinan and galactan and their mobility in sugar beet and potato cell walls. **Carbohydr. Polym.** 65: 510-5

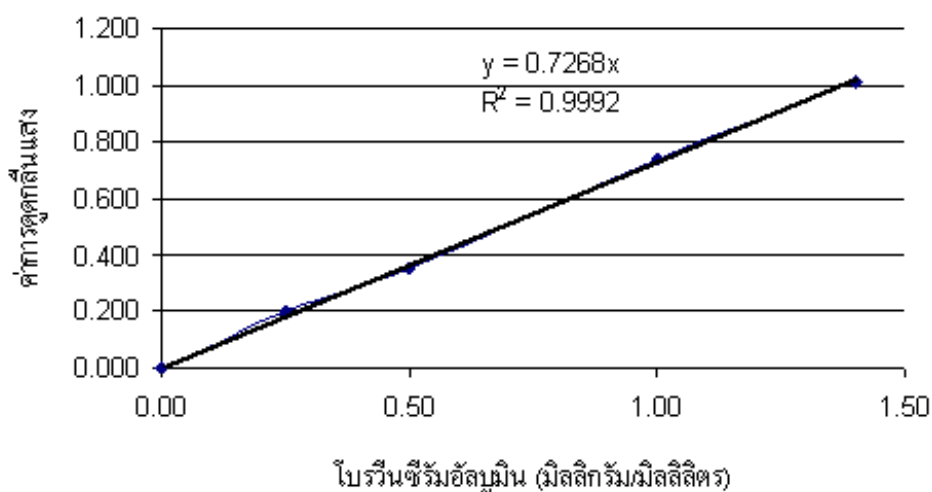
ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์ทางเคมีและทางกายภาพ

1. การวิเคราะห์โปรตีนในน้ำล้างผงสารองด้วยวิธีแบรดฟอร์ด (Bradford, 1976)

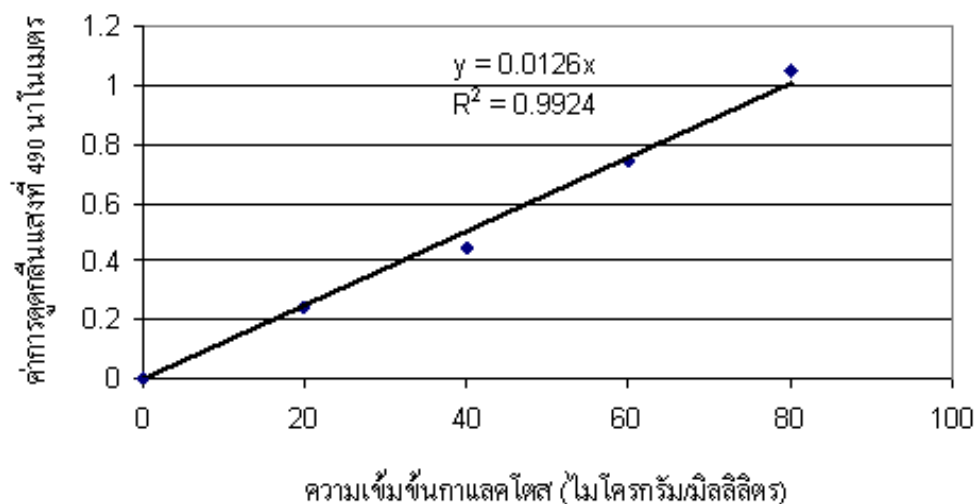
นำตัวอย่างน้ำล้างผงสารองปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เติมสารละลายคูมาสซี บลู จี 250 ซึ่งเตรียมโดยชั่งสารคูมาสซี บลู จี 250 ละลายในเมทานอล 95% ปริมาตร 50 มิลลิลิตรและกรดฟอสฟอริกเข้มข้น 85 % ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยเติมสารละลายคูมาสซี บลู จี 250 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงในตัวอย่าง เขย่าให้เข้ากัน (Vortex) ทิ้งไว้ 5 นาที แล้วทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ภายในเวลา 1 ชั่วโมงหลังจากการเขย่าให้เข้ากัน



ภาพผนวกที่ ก1 กราฟมาตรฐานของโปรตีนซีรัมอัลบูมินสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

2. คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด (Total carbohydrate) (วิเคราะห์ตามวิธีDubois *et al.*, 1956)

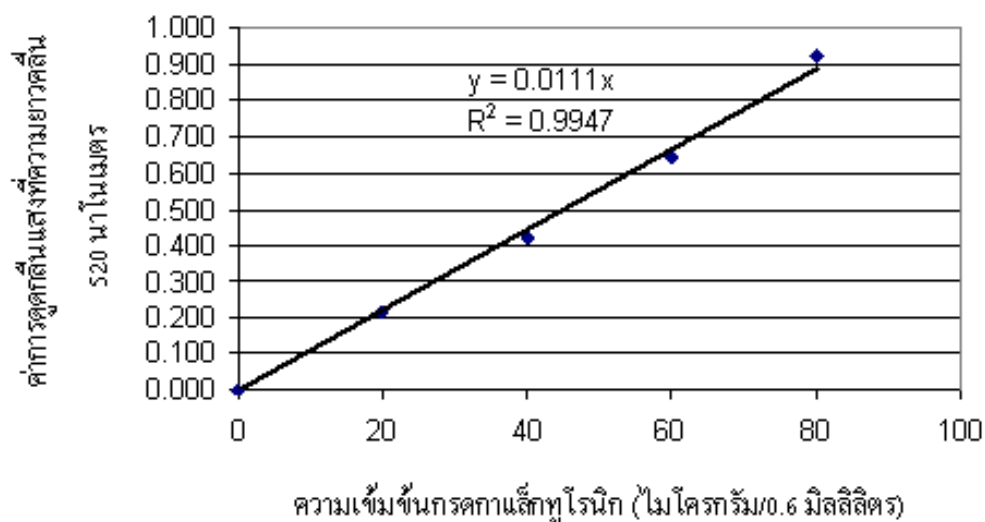
ปิเปตสารละลายกัมสารองความเข้มข้น 0.02% (วิธีเตรียมแสดงในข้อ) 1 มิลลิลิตรในหลอดที่ 1, 2 และ 3 และเติมน้ำกลั่นปริมาตร 1 มิลลิลิตร ในหลอดที่ 4 (Blank) เติมสารละลายฟีนอลเข้มข้น 5 % ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดสอบ 4 หลอด เขย่าให้เข้ากัน เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 5 มิลลิลิตร อย่างรวดเร็ว เขย่าให้เข้ากัน (Vortex) นำไปไว้ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 25° ซ โดยทำการเขย่าในเป็นเวลา 20 นาที เขย่าให้เข้ากัน (Vortex) อีกครั้ง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ กำหนดปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดเป็นเปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักแห้ง (w/w) จากกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส



ภาพผนวกที่ ก2 กราฟมาตรฐานของน้ำตาลกาแลคโตสสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด

3. กรดกลูโคส (วิเคราะห์ตามวิธี Ahmed and Labavitch, 1977)

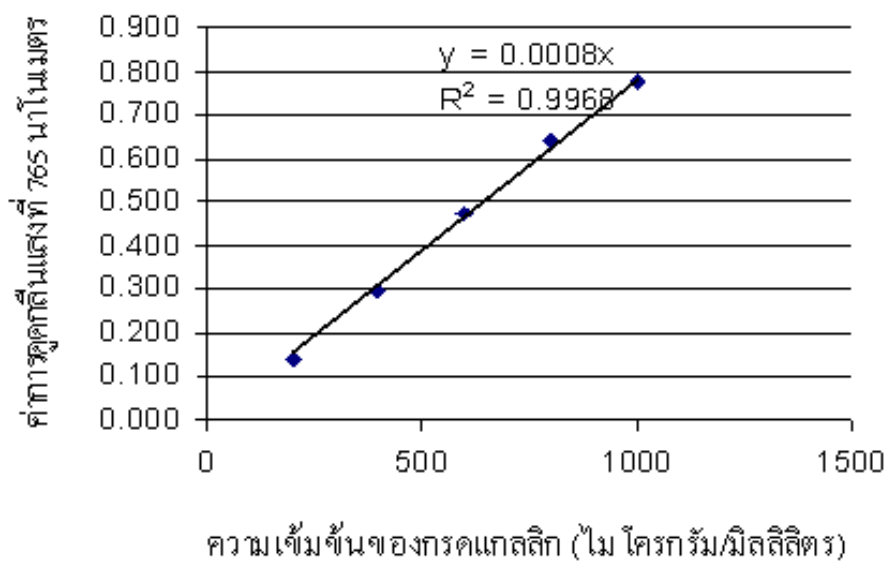
ชั่งกัมสารทองที่อยู่ในรูปผงแห้ง 0.005 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 25 มิลลิลิตร เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น(เข้มข้น) 2 มิลลิลิตร วางบีกเกอร์ลงในอ่างน้ำแข็งที่อยู่บนเครื่องกวน (magnetic stirrer) กวนเบา ๆ 5 นาที หยคน้ำกลั่น 0.5 มิลลิลิตร กวนเบา ๆ เป็นเวลา 5 นาที หยคน้ำกลั่น 0.5 มิลลิลิตร อีกครั้ง กวนต่อจนกัมละลายหมด กรองสารละลายที่ได้ด้วย sinter glass G 4 รินสารละลายสีน้ำตาลใสลงในขวดปรับปริมาตร 25 มิลลิลิตร จะได้สารละลายกัมสารทองเข้มข้น 0.02 % ใส่ในหลอดทดสอบ 4 หลอด ๆ ละ 0.6 มิลลิลิตร เติมสารละลายโซเดียมเตตระโบเรต 0.0125 M ในกรดซัลฟูริกเข้มข้นปริมาตร 3.6 มิลลิลิตรในทุกหลอด เขย่า (Vortex) ให้เข้ากัน ใส่หลอดทดสอบทั้งหมดลงไปในอ่างน้ำแข็ง เมื่อเย็นแล้วนำมาให้ความร้อนในอ่างน้ำร้อนอุณหภูมิ 100° ซ เป็นเวลา 10 นาที ลดอุณหภูมิทันทีอีกครั้งในอ่างน้ำแข็ง เติมสารละลายเมตาไฮดรอกซีไดฟีนิล (0.15% *m*-hydroxydiphenyl ใน 0.5% โซเดียมไฮดรอกไซด์) 60 ไมโครลิตรลงในหลอดทดสอบที่ 1, 2 และ 3 และเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.5% ปริมาตร 60 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดสอบที่ 4 (Blank) เขย่าหลอดทดสอบทั้ง 4 หลอด ทิ้งไว้ 15 นาทีที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ คำนวณปริมาณกรดกลูโคสเป็นเปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักแห้ง (w/w) จากกราฟมาตรฐานของกรดกลูโคส



ภาพผนวกที่ ก3 กราฟมาตรฐานของกรดกาแล็กติกสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณกรดกาแล็กติก
โรนิก

4. การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic) (ดัดแปลงจาก Su *et al.*, 2007)

ปีเปตสารสกัดฟีนอลิกจากกัมสำรอง 100 ไมโครลิตรใส่ในหลอดทดสอบที่ 1, 2, 3 และหลอดที่ 4 เติมสารละลายเมทานอลเข้มข้น 80 % ปริมาตร 100 ไมโครลิตร (Blank) เติมสารฟอลิน-ซีโอเคาทุล 500 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน (Vortex) เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้น 20 % ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 6 มิลลิลิตร ตามลำดับ ตั้งที่อุณหภูมิห้อง 2 ชั่วโมง แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์ คำนวณปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเป็นเปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักแห้ง (w/w) จากกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก



ภาพผนวกที่ ก4 กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิกสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

5. การวิเคราะห์น้ำตาลด้วย HPLC (AOAC 982.14)

HPLC มีสถานะในการวิเคราะห์ ได้แก่

Column : Prevail amino 5u (250 mm, ID. 4.6 mm)

Mobile phase

A : อะซิโตนไนไตรล์

B : เมทานอล

C: น้ำ (Deionize water)

โปรแกรมที่ใช้: gradient Elution Analysis

Flow rate 1 มิลลิลิตร/นาที

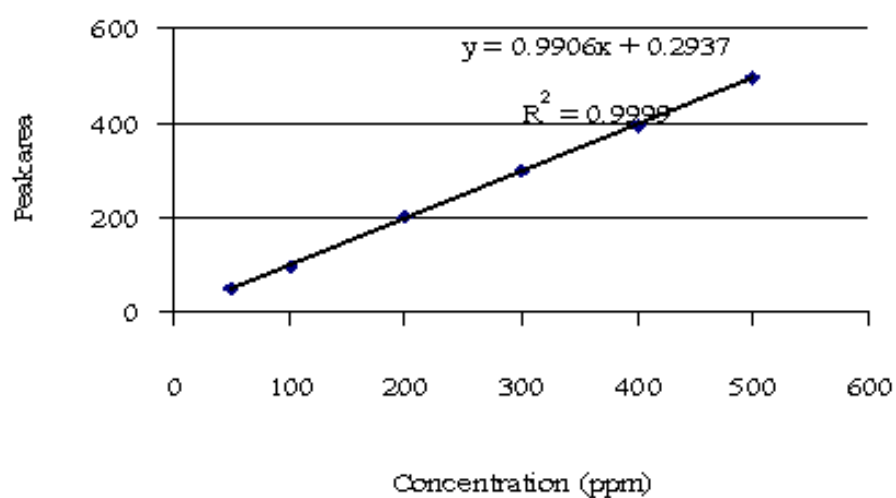
Sample 10 ไมโครลิตร

อุณหภูมิภายในคอลัมน์เป็น 50 °ซ

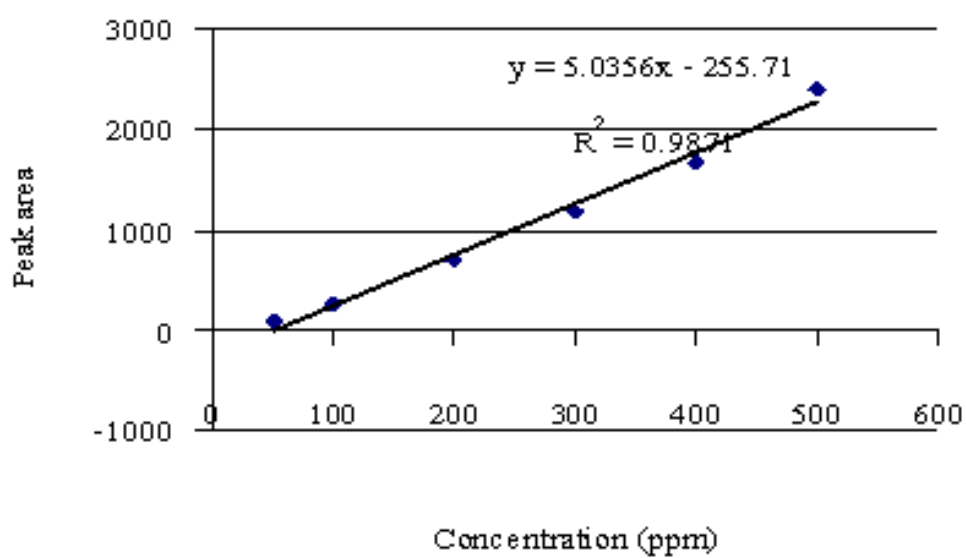
Detector: ELSD

Stop time: 19

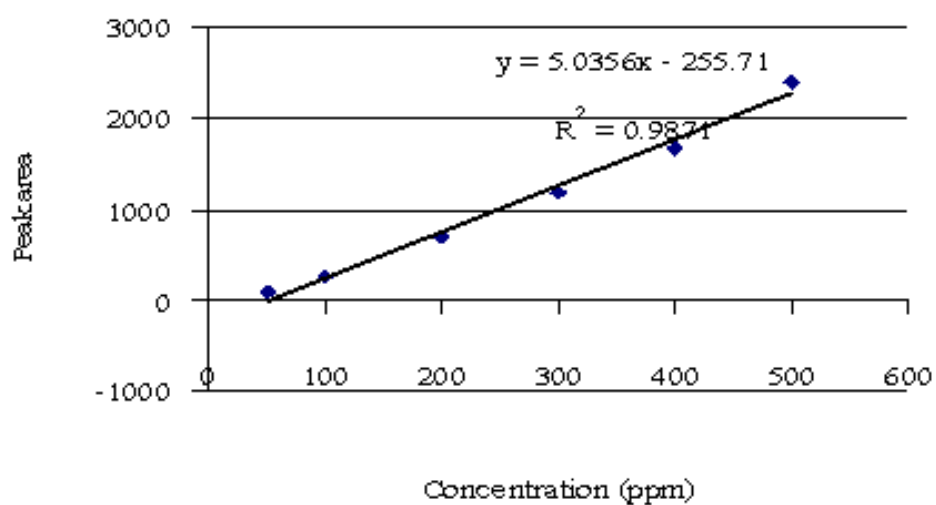
Post time: 5



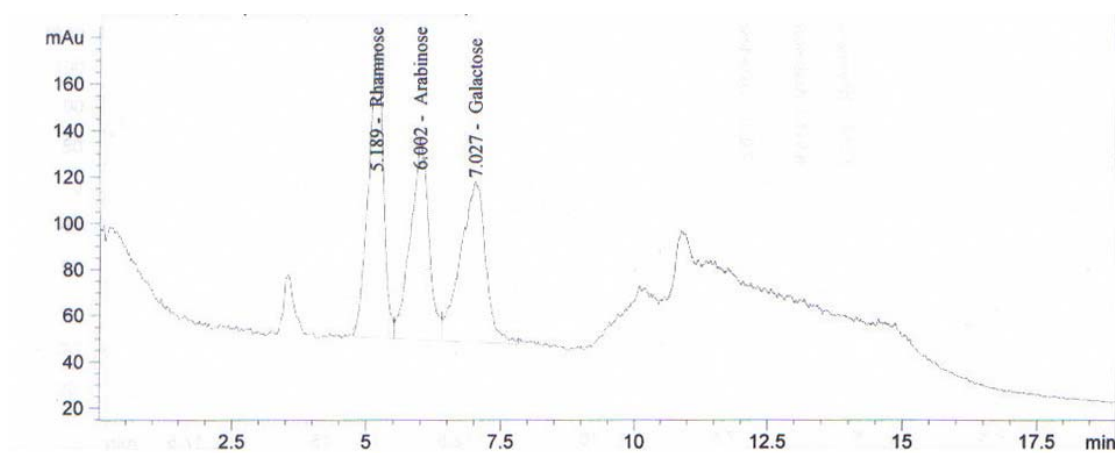
ภาพผนวกที่ ก5 กราฟมาตรฐานน้ำตาลกาแล็กโทส



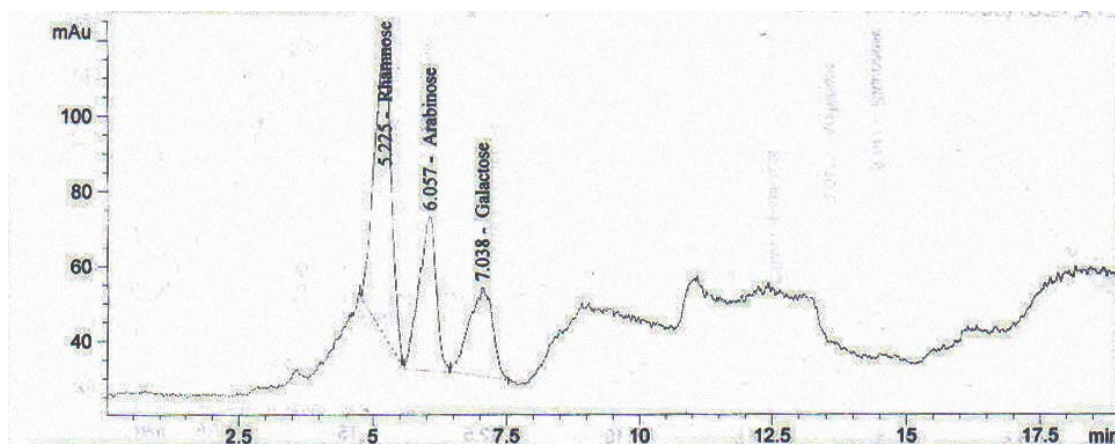
ภาพผนวกที่ ก6 กราฟมาตรฐานน้ำตาลอะราบิโนส



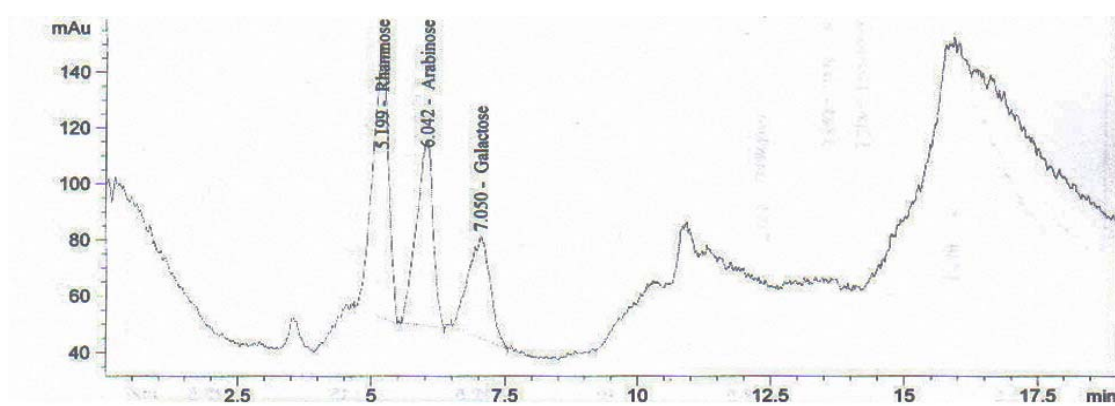
ภาพผนวกที่ ก7 กราฟมาตรฐานน้ำตาลแรมโนส



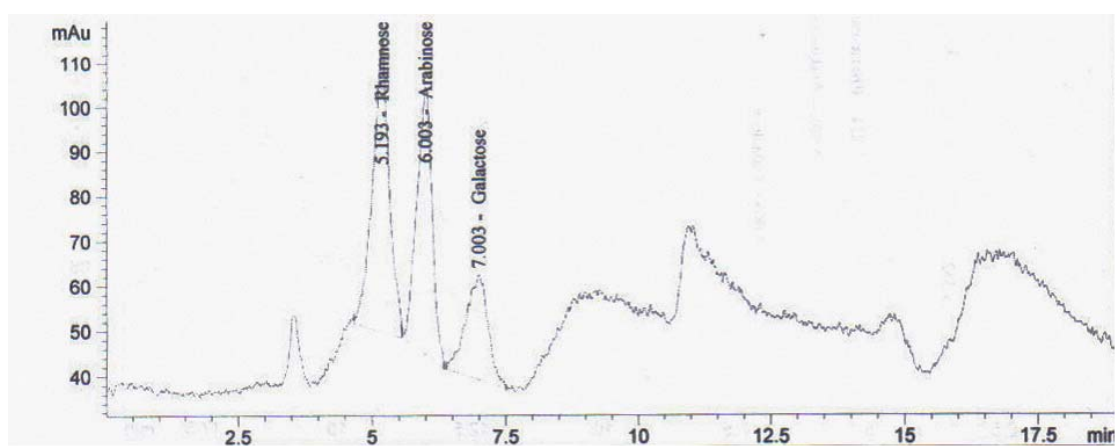
ภาพผนวกที่ ก8 โครมาโตแกรมน้ำตาลมาตรฐานกาแล็กโทส อะราบินโนสและแรมโนส



ภาพผนวกที่ ก9 โครมาโตแกรมของ MG



ภาพผนวกที่ ก10 โครมาโตแกรมของ WMG



ภาพผนวกที่ ก11 โครมาโตแกรมของ AMG

6. การเตรียมสารละลายกัม

6.1 เตรียมสารละลายกัมสารองเข้มข้น 0.02 % โดยชั่งกัมสารองในรูปผงแห้ง 0.02 กรัม ด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง ค่อย ๆ เทลงในบีกเกอร์ที่บรรจุน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร เพื่อไม่ให้กัมเกาะกัน เป็นก้อน กัมจะเริ่มดูดน้ำ ใช้แท่งแก้วคนเพียงเล็กน้อย เทใส่ขวดปริมาตร ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร เทใส่ขวดดูแรน (Duran) ให้ความร้อนที่ 40° ซ เป็นเวลา 30 นาที นำออกมาตั้งที่ อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12 ชั่วโมง กวนด้วยเครื่องกวน (Magnetic stirrer) เป็นเวลา 15 นาที

6.2 การเตรียมสารละลายกัมสารองเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ทางกายภาพ

เตรียมสารละลายกัมสารองเข้มข้น 0.5 % โดยชั่งกัมสารองในรูปผงแห้ง 0.5 กรัม ด้วย เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง ค่อย ๆ เทลงในบีกเกอร์ที่บรรจุน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร เพื่อไม่ให้กัมเกาะกันเป็น ก้อน กัมจะเริ่มดูดน้ำ ใช้แท่งแก้วคนเพียงเล็กน้อย เทใส่ขวดปริมาตร ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร เทใส่ขวดดูแรน (Duran) ให้ความร้อนที่ 40° ซ เป็นเวลา 30 นาที นำออกมาตั้งที่ อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12 ชั่วโมง กวนด้วยเครื่องกวน (Magnetic stirrer) เป็นเวลา 15 นาที

7. การวิเคราะห์โปรตีนด้วยวิธี Micro Kjeldahl (AOAC 2000)

7.1 ชั่งตัวอย่างผงสารองอบแห้งที่ผ่านการแยกโปรตีนด้วยวิธีต่างๆ 0.05 กรัมลงในพลาสติก ย่อย เติมโพแทสเซียมซัลเฟต 1.9 กรัม เติม คอปเปอร์ซัลเฟต 0.04 กรัมและเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 4 มิลลิลิตร นำไปให้ความร้อนจนได้เป็นสารละลายสีเขียวใส (ระหว่างให้ความร้อนทำการฉีดน้ำกลั่น เพื่อล้างส่วนที่ติดขอบเครื่องแก้วเป็นระยะ) ทิ้งให้เย็นทำการเติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร จะได้ สารละลายสีใส จากนั้นจึงทำการเติมสารละลายต่าง ซึ่งประกอบด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และ โซเดียมไทโอซัลเฟต 15 มิลลิลิตรลงในพลาสติกตัวอย่าง (ต้องเติมน้ำก่อนเติมต่างเสมอ มิฉะนั้น สารละลายที่ผ่านการย่อยจะพุ่งหกออกมาได้) นำพลาสติกตัวอย่างไปกลั่น รองรับสิ่งกลั่นด้วยกรด บอริก 4% จำนวน 10 มล.ที่เติมอินดิเคเตอร์ เมทิลเรดร่วมกับโบรโมครีซอลกรีน กลั่นจนได้สิ่งกลั่น 50 มล. นำสิ่งกลั่นมาไทเทรตด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.02 M แล้วทำการคำนวณดังสูตร

$$\text{ร้อยละของไนโตรเจน} = \frac{(\text{ml. of HCl} - \text{ml. of HCl Blank}) \times \text{molarity} \times 14.007 \times 100}{\text{mg. of sample}}$$

mg. of sample

ร้อยละของโปรตีนในตัวอย่าง = ร้อยละของไนโตรเจน $\times 6.25$



ภาพผนวกที่ ก12 การวิเคราะห์โปรตีนด้วยชุดMicro Kjeldahl ในขั้นตอนการย่อย



ภาพผนวกที่ ก13 การวิเคราะห์โปรตีนด้วยชุดMicro Kjeldahl ในขั้นตอนการกลั่น

7.2 การทำมาตรฐานกรดที่ใช้ในการไทเทรต (AOAC 2000)

ชั่งโซเดียมคาร์บอเนตที่ปราศจากน้ำประมาณ 0.025 กรัม ละลายน้ำ 25 มิลลิลิตร ใน ฟลาสก์ 300 มิลลิลิตร หยดเมทิลออเรนจ์ซึ่งเป็นอินดิเคเตอร์ แล้วจึงทำการไทเทรตด้วยกรดไฮโดร คลอริกจนกระทั่งสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตที่มีเมทิลออเรนจ์เป็นอินดิเคเตอร์เปลี่ยนเป็นสีใ สวาว นำสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตที่มีเมทิลออเรนจ์เป็นอินดิเคเตอร์ที่ผ่านการไทเทรตไปต้ม 2 นาทีแล้วทิ้งให้เย็น จึงนำมาไทเทรตอีกครั้ง แล้วคำนวณดังสูตร

$$\text{Molar of standardize acid (mol/l)} = \frac{\text{g of sodium carbonate} \times 100}{\text{ml of acid} \times 105.988}$$

ภาคผนวก ข
การเตรียมกัมจากผงตำรอน

1. การเตรียมโพลีแซคคาไรด์จากผงสำรองด้วยสารละลายต่างกัน

การสกัดโพลีแซคคาไรด์โพลีแซคคาไรด์จากพืชนั้นสามารถสกัดได้ด้วย น้ำ สารละลายบัฟเฟอร์ สารละลายกรดและสารละลายด่าง ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของโพลีแซคคาไรด์และโครงสร้างของโพลีแซคคาไรด์ที่ยึดเกาะกับองค์ประกอบอื่นในโครงสร้างของเซลล์พืช

ดังนั้นจึงทำการทดลองเตรียมโพลีแซคคาไรด์จากผงสำรองด้วยน้ำกลั่น สารละลายโซเดียมอีดีทีเอ (Sodium) เข้มข้น 0.05 M สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.05 M และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.05 M ที่เวลา 4 และ 8 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้องและที่ 40° ซ โดยทำการควบคุมเวลา นำไปกรองด้วยผ้ามัสลิน (มีการปรับ pH ให้เป็นกลางก่อนกรอง) นำกากที่เหลือไปอบแห้งเพื่อหาปริมาณที่ละลายได้เป็นร้อยละของน้ำหนักแห้ง นำส่วนที่กรองได้ไปหาปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดเป็นร้อยละของน้ำหนักแห้ง

เปรียบเทียบผลของปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดของการเตรียมโพลีแซคคาไรด์ด้วยสารละลายต่างกัน โดยวางแผนการทดลองแบบ Complete Randomize Design ทำการทดลอง 2 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) และวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยด้วย Duncan's Multiple Range Test

การเตรียมโพลีแซคคาไรด์จากผงสำรองด้วยสารละลายที่ต่างกันที่เวลาและอุณหภูมิต่างกัน ให้ปริมาณผลได้โดยเทียบกับน้ำหนักผงสำรองแห้งเริ่มต้น ดังตาราง ภาคผนวกที่ ข 1 โดยที่ระยะเวลา 4 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง ผงสำรองละลายได้ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ มากที่สุด และการละลายไม่แตกต่างกันในน้ำกลั่น สารละลาย EDTA และสารละลายกรดไฮโดรคลอริก เมื่อทำการละลายที่อุณหภูมิ 40° ซ เวลา 4 ชั่วโมง ผงสำรองละลายได้ดีขึ้นเมื่ออุณหภูมิมากขึ้นและยังคงละลายได้มากที่สุดในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ระดับเวลา 8 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง ผงสำรองละลายได้ดีที่สุดในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ และละลายได้มากกว่าที่ 4 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้องแต่ไม่แตกต่างกันที่อุณหภูมิ 40° ซ ในขณะที่ในสารละลายชนิดอื่นไม่แตกต่างกันทั้งที่ 4 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้องและที่อุณหภูมิ 40° ซ เมื่อทำการละลายผงสำรองที่เวลา 8 ชั่วโมง อุณหภูมิ 40° ซ พบว่าปริมาณของผงสำรองละลายได้ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ได้มากที่สุดและมากกว่าที่ระดับเวลา 4 ชั่วโมงทั้งที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ 40° ซ และที่ระดับเวลา 8 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง ตามลำดับ การละลายในสารละลายของผงสำรองในสารละลายต่าง ๆ จะเพิ่มขึ้นตาม

เวลาและอุณหภูมิโดยละลายมากที่สุดในการละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.05 M น้ำกลั่น
สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.05 M และในการละลาย EDTA เข้มข้น 0.05 M ตามลำดับ

ตารางผนวกที่ ข1 ปริมาณผลได้ของกัมสำรวจในการละลายต่างกัน อุณหภูมิและเวลาต่างกัน

สารละลายที่ใช้เตรียมกัมสำรวจ	ปริมาณผลได้ (ร้อยละของน้ำหนักแห้ง)
ที่เวลา 4 ชั่วโมง อุณหภูมิห้อง	
น้ำกลั่น	9.03 ^{cdef}
0.05 M EDTA	3.40 ^{ab}
0.05 M HCl	6.21 ^{abcde}
0.05 M NaOH	17.0 ^{gh}
ที่เวลา 4 ชั่วโมง 40° ซ	
น้ำกลั่น	12.48 ^{fg}
0.05 M EDTA	5.38 ^{abcd}
0.05 M HCl	10.29 ^{def}
0.05 M NaOH	21.78 ^h
ที่เวลา 8 ชั่วโมง อุณหภูมิห้อง	
น้ำกลั่น	8.20 ^{bcdef}
0.05 M EDTA	3.82 ^{abc}
0.05 M HCl	5.40 ^{abcd}
0.05 M NaOH	21.88 ^h
ที่เวลา 8 ชั่วโมง 40° ซ	
น้ำกลั่น	11.47 ^{ef}
0.05 M EDTA	2.12 ^a
0.05 M HCl	7.07 ^{abcdef}
0.05 M NaOH	35.24 ⁱ

หมายเหตุ ตัวเลขในแนวนอนที่ตามด้วยอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
($P \leq 0.05$)

ในการสกัดโพลีแซคคาไรด์จากผนังเซลล์ของพืชนั้นอาจสกัดได้ด้วยน้ำ สารละลายคิเลเตอร์และสารละลายต่าง ซึ่งในผนังเซลล์พืชอาจประกอบด้วยโพลีแซคคาไรด์หลายกลุ่ม หากเป็นโพลีแซคคาไรด์ในผนังเซลล์พืชปฐมภูมิที่เกาะอยู่กับโครงสร้างของเซลลูโลสด้วยพันธะไฮโดรเจน เช่น เฮมิเซลลูโลส กลุ่มเพคติกที่มีน้ำตาลกาแลคโตสและน้ำตาลอะราบิโนสเป็นโครงสร้างกึ่งก้าน ทำให้การสกัดด้วยน้ำ สารละลายคิเลเตอร์ จะได้ปริมาณผลได้น้อย การสกัดด้วยสารละลายต่างมีผลทำให้เกิดการทำลายโครงสร้างของโพลีแซคคาไรด์ โดยปรากฏการณ์ β -elimination โดยจะเกิดได้ดีขึ้นเมื่อ pH สูงขึ้น ดังนั้นในการละลายผงสำรองด้วยต่างทำให้ได้ปริมาณผลได้ในการละลายมากกว่าในน้ำกลั่น สารละลายคิเลเตอร์และในสารละลายกรดรวมถึงการวัดปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดในสารละลายต่าง ๆ ที่ใช้ในการละลายผงสำรองที่ให้ผลไปในทิศทางเดียวกัน โดยที่เวลาและอุณหภูมิเดียวกัน สารละลายต่างในที่นี้คือสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการละลายผงสำรองมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดมากกว่าในน้ำ สารละลายกรดและสารคิเลเตอร์ซึ่งในที่นี้ใช้สารละลาย EDTA และที่เวลาเดียวกันแต่อุณหภูมิต่างกัน สารละลายต่างให้ปริมาณผลคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดมากกว่าที่อุณหภูมิต่ำ ดังตารางที่ 2 Agata *et al.*, 2006 พบว่าการสกัดสารเพคติกที่มีน้ำตาลกาแลคโตสและน้ำตาลอะราบิโนสเป็นโครงสร้างกึ่งก้านของชูการ์บีทและมันฝรั่งด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่อุณหภูมิสูงมีความเหมาะสมในการสกัดสารเพคติกที่มีน้ำตาลกาแลคโตสและน้ำตาลอะราบิโนสเป็นโครงสร้างกึ่งก้านหรือที่เรียกว่า Rhamnogalactan I โดยส่วนของกึ่งก้านที่มีน้ำตาลกาแลคโตสและน้ำตาลอะราบิโนสยังคงอยู่ แต่ต่างไปทำลายโครงสร้างของสายหลักที่เป็นสายโพลีเมอร์เส้นตรงของน้ำตาลกาแล็กทูโรแนน และพบว่าเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นจะพบเซลลูโลสในตัวอย่างได้น้อยลง

จากการทดลองสกัดโพลีแซคคาไรด์ด้วยสารละลายต่างกันดังกล่าว พบว่าสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เวลา 8 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 40° ซ ให้ปริมาณผลที่ได้มากและปริมาณคาร์โบไฮเดรตมากที่สุดจึงเลือกใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่อุณหภูมิ 40° ซ มาทำการศึกษาการละลายของผงสำรอง ทำการวิเคราะห์ปริมาณผลได้ ความหนืดและปริมาณองค์ประกอบทางเคมี โดยทำการทดลองที่เวลาต่างกันคือที่เวลา 8 12 และ 16 ชั่วโมง ดังข้อ 2

ตารางผนวกที่ ข2 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดของกัมสำรองในสารละลาย ที่สภาวะต่างกัน

ผงสำรองที่อยู่ในสารละลาย	ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด (ร้อยละของน้ำหนักแห้ง)*
ที่เวลา 4 ชั่วโมง อุณหภูมิห้อง	
น้ำกลั่น	4.00 ^b ±0.16
0.05 M EDTA	1.81 ^a ±0.06
0.05 M HCl	1.93 ^a ±0.9
0.05 M NaOH	12.10 ^d ±0.42
ที่เวลา 4 ชั่วโมง 40° ซ	
น้ำกลั่น	4.61 ^b ±0.4
0.05 M EDTA	1.71 ^a ±0.04
0.05 M HCl	2.10 ^a ±0.06
0.05 M NaOH	14.50 ^c ±0.38
ที่เวลา 8 ชั่วโมง อุณหภูมิห้อง	
น้ำกลั่น	4.60 ^b ±0.43
0.05 M EDTA	2.41 ^a ±0.19
0.05 M HCl	2.00 ^a ±0.22
0.05 M NaOH	14.67 ^c ±1.84
ที่เวลา 8 ชั่วโมง 40° ซ	
น้ำกลั่น	5.83 ^c ±0.82
0.05 M EDTA	2.00 ^a ±0.06
0.05 M HCl	2.31 ^a ±0.08
0.05 M NaOH	18.89 ^f ±1.40

หมายเหตุ * หมายถึงค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวเลขในแนวนอนที่ตามด้วยอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P ≤ 0.05)

2. การละลายผงสำรองด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่อุณหภูมิ 40° ซ ที่เวลาต่างกัน

ทำการละลายผงสำรองด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.05 M ที่อุณหภูมิ 40° ซ ในอ่างควบคุมอุณหภูมิโดยมีการเขย่าตลอด เวลาที่ใช้ในการละลายได้แก่ 8 12 และ 16 ชั่วโมง ทั้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เติมน้ำกลั่นเพื่อลดความหนืดโดยเติมน้ำกลั่น 2 เท่าของปริมาตรสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ จากนั้นทำการปรับ pH 4.5 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 2 M โดยมีการกวนตลอดการปรับ pH กรองด้วยผ้าฝ้ายกลั่น ทำให้เข้มข้นขึ้นด้วยเครื่องระเหยแบบหมุนที่สูญญากาศโดยลดปริมาตรของเหลวลงเหลือ 1 ใน 3 จากนั้นนำไปทำแห้งแบบเยือกแข็ง

ตารางผนวกที่ ข3 ปริมาณผลได้ของกัมสำรองที่สภาวะเวลาต่างกัน

เวลา (ชม.)	ปริมาณผลได้ของกัมสำรอง % (w/w) *
8	38.81 ^a ±4.30
12	41.20 ^a ±2.37
16	53.57 ^b ±3.38

หมายเหตุ * หมายถึงค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวเลขในแนวนอนที่ตามด้วยอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P ≤ 0.05)

ตารางผนวกที่ ข4 ความหนืดของกัมสำรองที่สภาวะเวลาต่างกัน

เวลา (ชม.)	ความหนืด (mPa.s)*
8	20.73 ^a ±1.88
12	23.23 ^a ±2.87
16	58.66 ^b ±3.46

หมายเหตุ * หมายถึงค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ในที่นี้วัดความหนืดที่ 2 % กัมสำรอง

ตัวเลขในแนวนอนที่ตามด้วยอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P ≤ 0.05)

ตารางผนวกที่ ข5 องค์ประกอบทางเคมีของกัมสารรองที่สภาวะเวลาต่างกัน

องค์ประกอบทางเคมี	ปริมาณ (% w/w)*		
	สภาวะ 8 ชม.	สภาวะ 12 ชม.	สภาวะ 16 ชม.
คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด	24.97 ^b ±1.64	19.94 ^a ±0.67	25.15 ^b ±0.93
กรดกลูโคโนอิก	13.71 ^a ±0.52	14.39 ^a ±0.55	18.54 ^b ±1.97
โปรตีน	4.65 ^a ±0.17	4.75 ^a ±0.16	4.96 ^a ±0.22

หมายเหตุ * หมายถึงค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวเลขในแนวนอนที่ตามด้วยอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P ≤ 0.05)

การเตรียมกัมสารรองด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.05 M ที่อุณหภูมิ 40° ซ ที่เวลา 8 12 และ 16 ชั่วโมง พบว่าที่เวลา 16 ชั่วโมงให้ปริมาณผลได้มากกว่าที่เวลา 12 และ 8 ชั่วโมงตามลำดับอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยที่เวลา 16 ชั่วโมงให้ปริมาณผลได้มากกว่าที่เวลา 12 ชั่วโมงคิดเป็น 1.3 เท่า และที่เวลา 8 ชั่วโมงคิดเป็น 1.38 เท่า เช่นเดียวกับความหนืดกัมสารรองที่เตรียมที่เวลา 16 ชั่วโมงให้ความหนืดมากกว่าที่เตรียมที่เวลา 12 และ 8 ชั่วโมงอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยมีความหนืดมากกว่าคิดเป็น 2.3 และ 2.8 เท่า เมื่อเทียบกับการเตรียมกัมสารรองที่เวลา 12 และ 8 ชั่วโมง ตามลำดับ โดยที่องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดของกัมสารรองที่เตรียมที่เวลา 16 และ 12 ชั่วโมงไม่แตกต่างกัน เช่นเดียวกับปริมาณโปรตีน ในขณะที่ปริมาณกรดกลูโคโนอิกมีปริมาณมากขึ้นเมื่อเวลาในการเตรียมมากขึ้น ทั้งนี้เมื่อเวลามากขึ้นการทำลายโครงสร้างของโพลีแซคคาไรด์ที่เกาะกันด้วยพันธะที่แข็งแรงในผนังเซลล์พืชของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นไปได้มากขึ้นจึงทำให้ได้ปริมาณผลได้มากขึ้น ดังนั้นในการทดลองนี้จึงเลือกใช้สภาวะการเตรียมกัมสารรองด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่อุณหภูมิ 40° ซ เวลา 16 ชั่วโมง ในการทำการทดลองต่อไปและกัมที่ได้จะเป็นสารสกัดกัมหยาบ (Crude Polysaccharide) ซึ่งอาจมีสารประกอบฟีนอลิกและโปรตีนเป็นองค์ประกอบในกัม

ภาคผนวก ค

การหาสภาวะการเตรียมอิมัลชันน้ำมันในน้ำโดยมีสารละลายกัมสารองอยู่ในวัฏภาคของน้ำและมี
น้ำมันข้าวโพดเป็นวัฏภาคของน้ำมัน

1. การหาปริมาณที่เหมาะสมของกัมสารองในระบบอิมัลชันที่มีน้ำมันอยู่ร้อยละ 10

ทำการเตรียมสารละลายกัมในน้ำร้อยละ 0.25 0.5 และ 1.0 โดยวิธีการเตรียมเช่นเดียวกับภาคผนวก ก 5.2 จากนั้นทำการเตรียมอิมัลชันโดยให้สารละลายกัมในน้ำเป็นวัฏภาคของน้ำและใช้น้ำมันข้าวโพดเป็นวัฏภาคของน้ำมัน โดยวิธีการเตรียมเช่นเดียวกับในหัวข้อวิธีการข้อ 3.3.1.1 และทำการวิเคราะห์การเกิดอิมัลชัน (Emulsion capacity) แล้วคำนวณดังสมการ

$$\frac{\text{ความสูงของชั้นอิมัลชัน}}{\text{ความสูงของชั้นของเหลวทั้งหมด}} \times 100\%$$

โดยวางแผนการทดลองแบบ Complete Randomize Design ทำการทดลอง 2 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) และวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยด้วย Duncan's Multiple Range Test

ตารางผนวกที่ ก1 การเกิดอิมัลชัน (Emulsion capacity) ของกัมสารองที่มีวัฏภาคน้ำมัน 10 %

ปริมาณกัมสารองในวัฏภาคของน้ำ	การเกิดอิมัลชัน % (Emulsion capacity)*
0.25	11.52 ^a ±0.99
0.50	17.14 ^b ±1.87
1.0	17.55 ^b ±3.10

หมายเหตุ * หมายถึงค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวเลขในแนวนอนที่ตามด้วยอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P≤ 0.05)

2. การหาปริมาณที่เหมาะสมของวัฏภาคน้ำมันในระบบอิมัลชันที่มีสารละลายกัมสารองในระบบ

ทำการเตรียมสารละลายกัมในน้ำร้อยละ 0.5 โดยวิธีการเตรียมเช่นเดียวกับภาคผนวก ก 5.2 จากนั้นทำการเตรียมอิมัลชันโดยให้สารละลายกัมในน้ำเป็นวัฏภาคของน้ำและใช้น้ำมันข้าวโพดเป็นวัฏภาคของน้ำมันโดยหาปริมาณที่เหมาะสมของน้ำมันในระบบอิมัลชัน โดยทำการเตรียม

อิมัลชัน โดยมีวัฏภาคของน้ำ : วัฏภาคน้ำมัน ดังนี้ 90:10 และ 50:50 โดยวิธีการเตรียมเช่นเดียวกับในหัวข้อวิธีการข้อ 3.3.1.1 และทำการวิเคราะห์การเกิดอิมัลชัน (Emulsion capacity) แล้วคำนวณดังสมการ

$$\frac{\text{ความสูงของชั้นอิมัลชัน}}{\text{ความสูงของชั้นของเหลวทั้งหมด}} \times 100\%$$

ทำการทดลอง 2 ซ้ำ และทำการทดสอบสมมติฐานแบบสองข้าง (Two-Sided Test) และใช้สถิติทดสอบแบบ T-Test

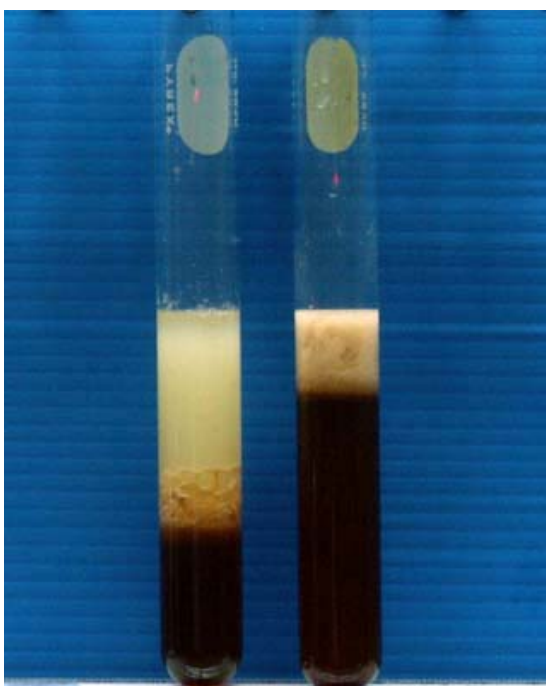
ตารางผนวกที่ ค2 การเกิดอิมัลชัน (Emulsion capacity) ของกัมสารองที่มีปริมาณน้ำมันต่างกัน

วัฏภาคของน้ำ: วัฏภาคน้ำมัน	การเกิดอิมัลชัน % (Emulsion capacity)*
90:10	14.49±1.48
50:50	8.97±0.72

ในการหาความปริมาตรร้อยละของกัมที่เหมาะสมในระบบอิมัลชันที่มีวัฏภาคของน้ำ:น้ำมัน 90:10 โดยในวัฏภาคของน้ำมีปริมาณกัมอยู่ร้อยละ 0.025 0.5 และ 1.0 ในการทำให้เกิดอิมัลชันโดยการคำนวณเป็นร้อยละความสูงของอิมัลชันที่เกิดขึ้นพบว่าที่ปริมาณกัมสารองร้อยละ 0.5 และ 1.0 ให้ร้อยละของการเกิดอิมัลชันได้ไม่แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แต่ให้การเกิดอิมัลชันได้มากกว่าที่ปริมาณกัมร้อยละ 0.025 แตกต่างกันดังตารางที่ภาคผนวกค 1 ดังนั้นจึงเลือกกัมสารองที่ปริมาณร้อยละ 0.5 มาทำการหาอัตราส่วนที่เหมาะสมของวัฏภาคน้ำที่มีกัมสารองละลายอยู่ต่อวัฏภาคของน้ำมันในการเกิดอิมัลชัน โดยกำหนดอัตราส่วนของวัฏภาคของน้ำ: วัฏภาคน้ำมัน 90:10 และ 50:50 พบว่าที่อัตราส่วนของวัฏภาคน้ำมันที่น้อยกว่าวัฏภาคน้ำให้การเกิดอิมัลชันได้ดีกว่า ดังนั้นในการทดลองนี้จึงใช้อัตราส่วนของวัฏภาคน้ำ:น้ำมัน 90:10 ในการทำการทดลอง



ภาพผนวกที่ ค1 อิมัลชันที่กัมสารองในวัฏภาคของน้ำร้อยละ 0.25 0.5 และ 1.0 ตามลำดับ จากซ้ายไปขวา



ภาพผนวกที่ ค2 อิมัลชันที่มีอัตราส่วนวัฏภาคน้ำ:น้ำมัน 50:50 และ 90:10 จากซ้ายไปขวา

ภาคผนวก ง

ผลการทดลองสมบัติทางกายภาพของกัม

ตารางผนวกที่ ๑1 ความหนืดของ MG WMG และ AMG ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้นของกัม	ความหนืด (mPa.s)		
	MG	WMG	AMG
0.25	5.69 ^a ±0.37	4.79 ^a ±0.33	13.43 ^b ±2.13
0.5	17.02 ^a ±0.64	14.21 ^a ±0.79	29.58 ^b ±4.08
1.0	37.53 ^a ±5.78	33.67 ^a ±5.0	98.72 ^b ±2.27

หมายเหตุ ตัวเลขในแนวนอนที่ตามด้วยอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P≤ 0.05)

ตารางผนวกที่ ๑2 ความหนืดของ MG WMG และ AMG ที่เข้มข้น0.5% และมี NaCl 0.04 M

ชนิดของกัม	ความหนืด (mPa.s)
MG	15.17 ^a ±1.13
WMG	13.97 ^a ±0.27
AMG	31.13 ^b ±3.60

หมายเหตุ ตัวเลขในแนวดิ่งที่ตามด้วยอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P≤ 0.05)

ตารางผนวกที่ ๑3 ความหนืดของ MG WMG และ AMG ที่ความเข้มข้น 0.5 % อุณหภูมิต่าง ๆ

อุณหภูมิ (° ซ)	ความหนืด (mPa.s)		
	MG	WMG	AMG
25	15.33 ^a ±1.64	14.08 ^a ±1.34	31.73 ^b ±4.59
30	14.22 ^a ±1.78	11.87 ^a ±0.78	29.23 ^b ±4.04
40	12.75 ^a ±1.66	10.28 ^a ±1.51	25.25 ^b ±4.30
50	11.21 ^b ±1.80	7.25 ^a ±0.57	19.93 ^c ±3.43

หมายเหตุ ตัวเลขในแนวนอนที่ตามด้วยอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P≤ 0.05)

ตารางผนวกที่ 4 ความหนืดของ MG WMG และ AMG ก่อนและหลังให้ความร้อน

สภาวะ	ความหนืด (mPa.s)		
	MG	WMG	AMG
ที่ 25° ซ ก่อนให้ความร้อน	15.33 ^a ±1.64	14.08 ^a ±1.34	31.73 ^b ±4.59
ที่ 25° ซ หลังให้ความร้อน	16.75 ^a ±3.71	13.75 ^a ±1.49	30.45 ^b ±4.92

หมายเหตุ ตัวเลขในแนวดิ่งที่ตามด้วยอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
(P≤ 0.05)

ตารางผนวกที่ 5 ความสามารถในการเกิดอิมัลชันของกัมสำรองและกัมทางการค้า

ชนิดของกัม	ร้อยละของการเกิดอิมัลชัน
MG	16.86 ^b ±1.22
WMG	15.42 ^b ±3.64
AMG	14.51 ^b ±2.62
AG	7.17 ^a ±2.23
G	14.18 ^b ±2.34
X	97.84 ^c ±0.75

หมายเหตุ ตัวเลขในแนวดิ่งที่ตามด้วยอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
(P≤ 0.05)

ตารางผนวกที่ 6 ความคงตัวของอิมัลชันของกัมสำรองและกัมทางการค้าต่อความร้อน

ชนิดของกัม	ร้อยละความคงตัวของอิมัลชันต่อความร้อน
MG	20.41 ^{cd} ±2.77
WMG	16.54 ^b ±4.32
AMG	21.25 ^d ±6.21
AG	5.35 ^a ±1.62
G	15.11 ^b ±2.79
X	14.25 ^b ±2.83

หมายเหตุ ตัวเลขในแนวดิ่งที่ตามด้วยอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
($P \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ 7 ความคงตัวของอิมัลชันของกัมสำรองและกัมทางการค้าต่อเวลา

เวลา (ชม.)	ความคงตัวของอิมัลชัน					
	MG	WMG	AMG	AG	G	X
0	100 ^a ±00	100 ^a ±00	100 ^a ±00	100 ^a ±00	100 ^a ±00	100 ^a ±00
0.5	78.13 ^b ±9.18	75.34 ^b ±27.01	94.40 ^c ±27.01	10.21 ^a ±1.07	100 ^c ±00	100 ^c ±00
1.0	54.29 ^c ±7.88	27.21 ^b ±1.01	81.65 ^d ±5.16	10.21 ^a ±1.07	100 ^c ±00	100 ^c ±00
2.0	47.87 ^c ±8.33	24.26 ^b ±0.85	61.52 ^d ±2.54	10.21 ^a ±1.07	100 ^c ±00	100 ^c ±00
3.0	44.17 ^c ±9.50	22.67 ^b ±1.26	54.14 ^d ±2.61	10.21 ^a ±1.07	100 ^c ±00	100 ^c ±00
24	33.16 ^c ±8.83	18.13 ^b ±2.21	36.47 ^c ±2.36	10.21 ^a ±1.07	100 ^d ±00	100 ^d ±00
48	29.52 ^c ±6.24	16.76 ^b ±2.20	34.01 ^d ±2.65	10.21 ^a ±1.07	100 ^c ±00	100 ^c ±00

หมายเหตุ ตัวเลขในแนวนอนที่ตามด้วยอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
($P \leq 0.05$)

ภาคผนวก จ

การคำนวณในเครื่องวัดการกระจายขนาดของอนุภาค

ในการวัดขนาดและการกระจายขนาดของอนุภาคโดยเครื่อง Mastersizer รุ่น 2000 MU ยี่ห้อ Malvern ประเทศอังกฤษ โดยค่าที่แสดงในการวัดขนาดและการกระจายขนาดของอนุภาค ในการทดลองนี้คือ

ค่า $D(v,0.5)$ คือ เป็นค่ามัธยฐานของค่าเฉลี่ยขนาดของหยดน้ำมันมีหน่วยเป็นไมครอนที่มีขนาดหยดน้ำมันเล็กกว่าค่า $D(v,0.5)$ อยู่ร้อยละ 50 และมีขนาดของหยดน้ำมันที่ใหญ่กว่าอยู่อีกร้อยละ 50 หรือเรียกว่าค่าเปอร์เซนไทล์ที่ 50

ค่าการกระจายขนาดของหยดน้ำมัน (Span) เป็นค่าที่วัดการกระจายขนาด โดยการกระจายแคบจะให้ค่าน้อยและหากมีการกระจายกว้างจะให้ค่ามากซึ่งคำนวณจาก

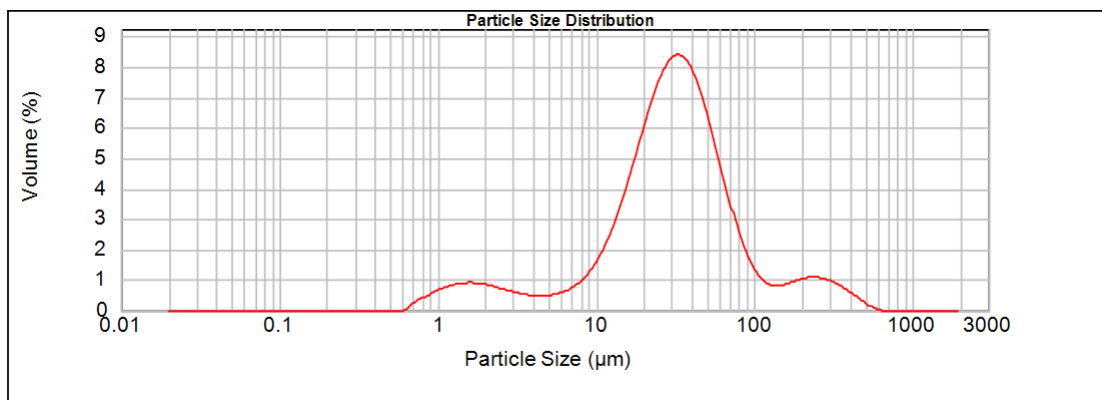
$$\frac{\text{percentile}90 - \text{percentile}10}{\text{percentile}50}$$

ค่า $D(3,2)$ คือ ค่าเส้นผ่านศูนย์กลางพื้นที่ผิวเฉลี่ยของขนาดหยดน้ำมัน (The surface area mean diameter) มีหน่วยเป็นไมครอนหรือเรียกว่าค่าเฉลี่ยของซอเตอร์ (Sauter mean) คำนวณจาก

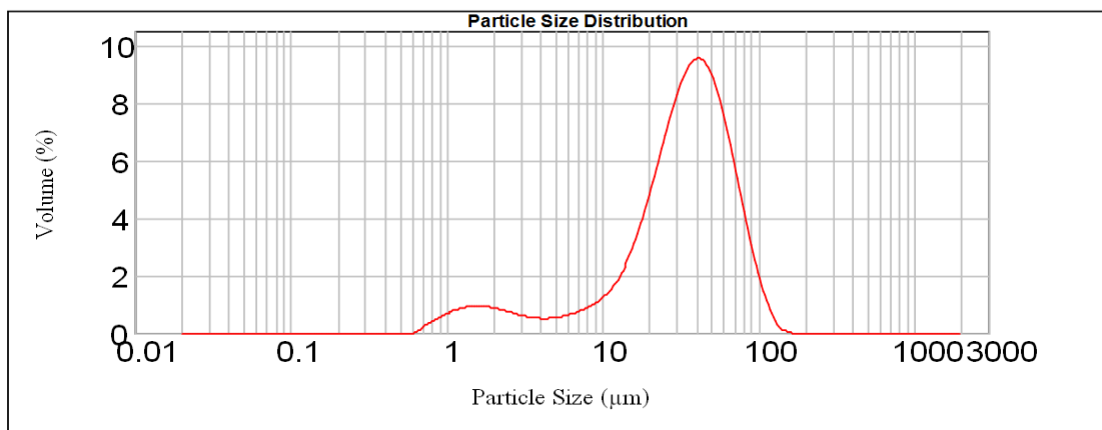
$$D(3,2) = \frac{\sum_i n_i d_i^3}{\sum_i n_i d_i^2} (\mu m)$$

ภาคผนวก จ

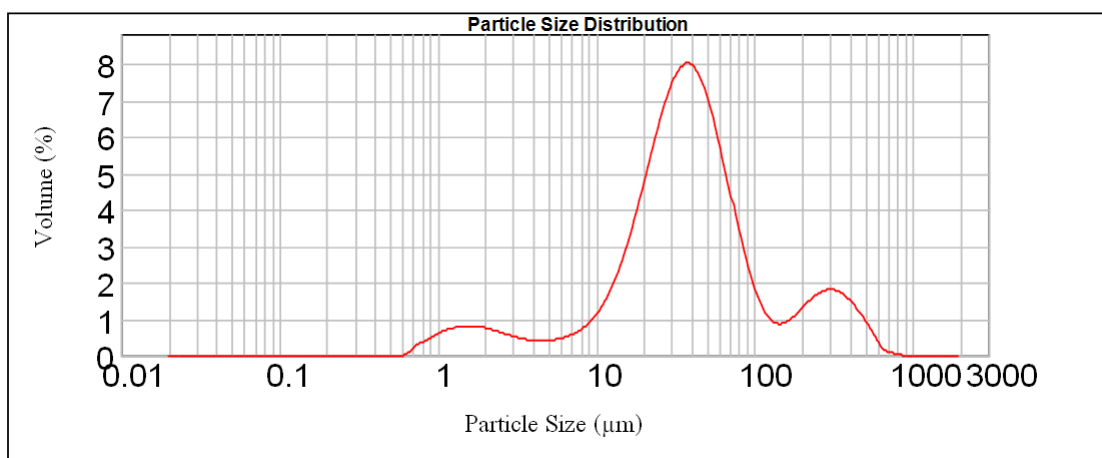
แผนภาพการกระจายตัวของหยดน้ำมันในระบบอิมัลชัน



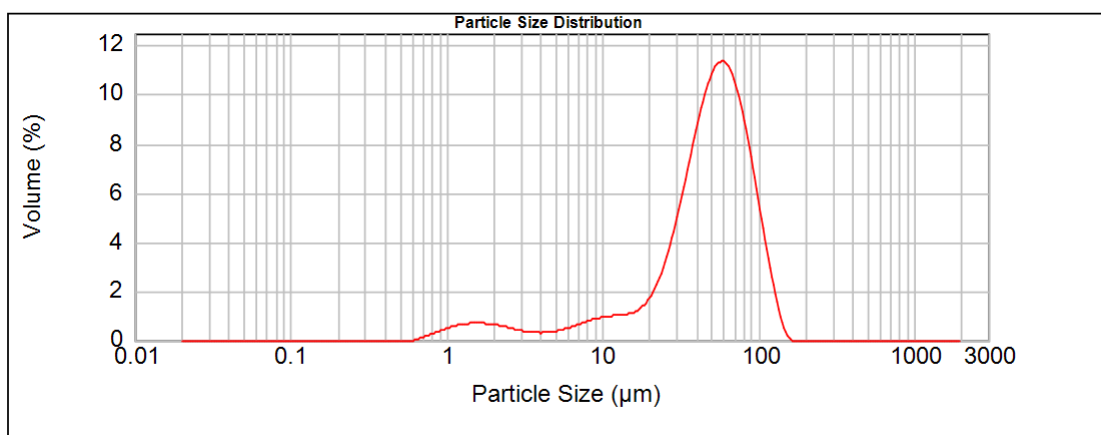
ภาพผนวกที่ ๑1 การกระจายขนาดหยดน้ำมันในระบบอิมัลชันที่มี MG ในวัฏภาคต่อเนื่อง



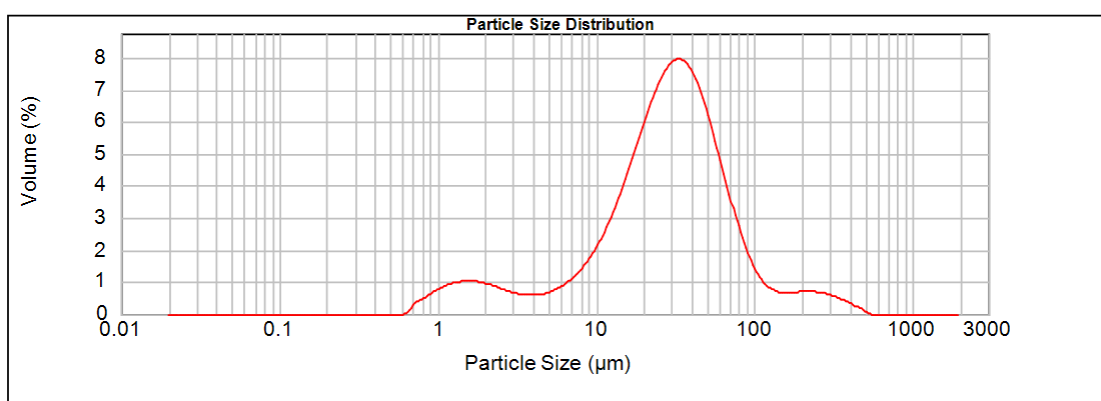
ภาพผนวกที่ ๑2 การกระจายขนาดหยดน้ำมันในระบบอิมัลชันที่มี WMG ในวัฏภาคต่อเนื่อง



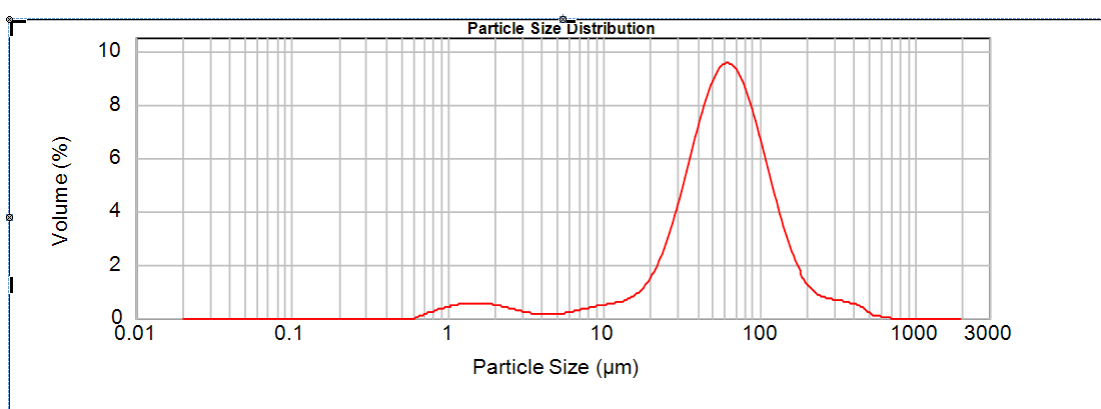
ภาพผนวกที่ ๑3 การกระจายขนาดหยดน้ำมันในระบบอิมัลชันที่มี AMG ในวัฏภาคต่อเนื่อง



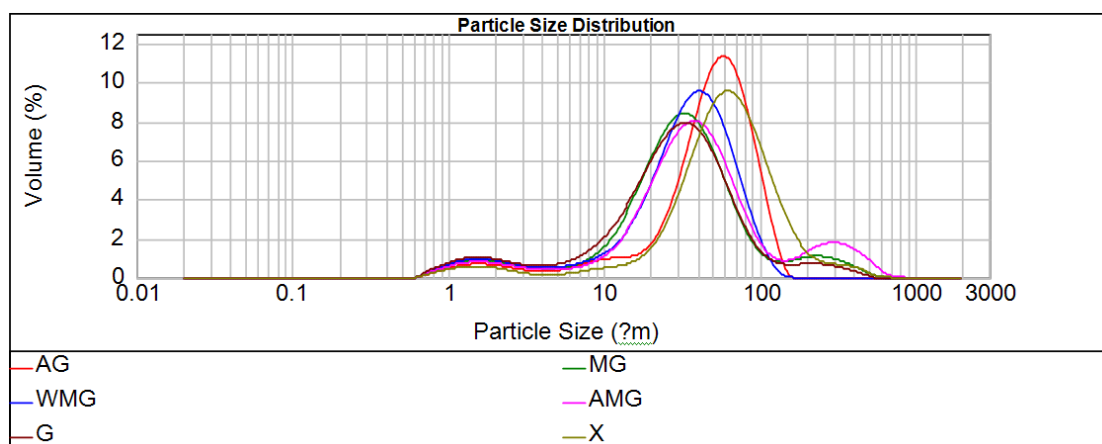
ภาพผนวกที่ จ4 การกระจายขนาดหยดน้ำมันในระบบอิมัลชันที่มี AG ในวัฏภาคต่อเนื่อง



ภาพผนวกที่ จ5 การกระจายขนาดหยดน้ำมันในระบบอิมัลชันที่มี G ในวัฏภาคต่อเนื่อง



ภาพผนวกที่ จ6 การกระจายขนาดหยดน้ำมันในระบบอิมัลชันที่มี X ในวัฏภาคต่อเนื่อง



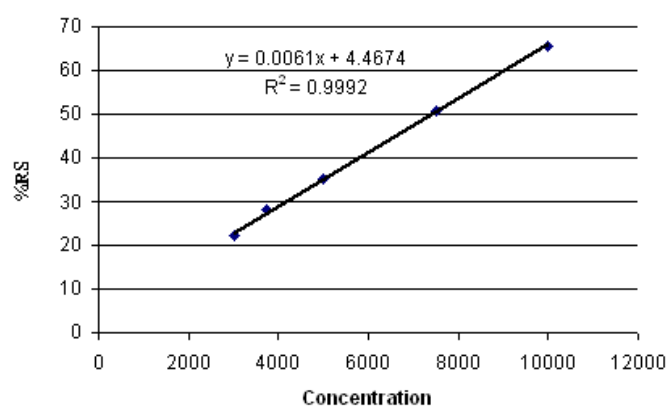
ภาพผนวกที่ ๗ การกระจายขนาดหยดนํ้ามันในระบบอิมัลชันที่มีกัมในวัฏภาคต่อเนื่อง

ภาคผนวก ข

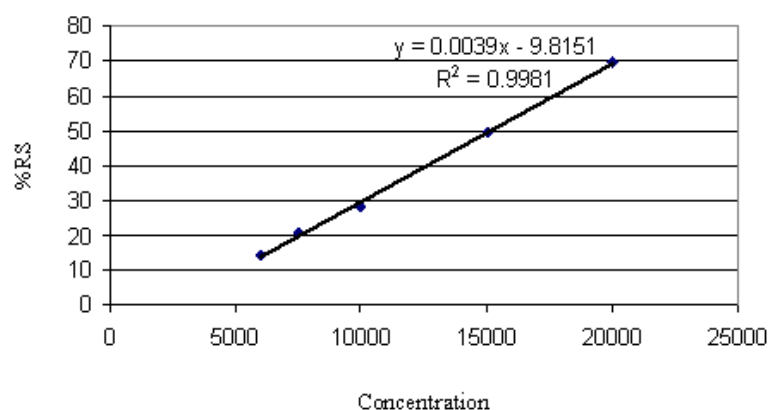
การวิเคราะห์สารต้านออกซิเดชัน

1. การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

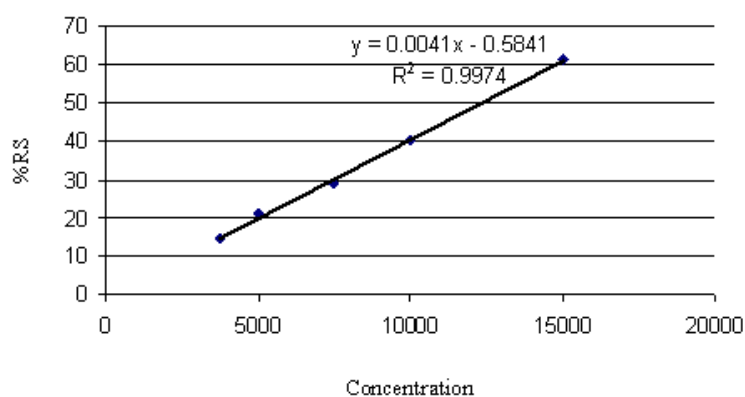
2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity (DPPH) assay (ดัดแปลงจาก Singh *et al.*, 2002) ภาคผนวก ค. แสดงกราฟการหาความเข้มข้นของสารสกัดและค่า % radical scavenging activity



ภาพผนวกที่ ข1 กราฟมาตรฐานระหว่าง % radical scavenging activity กับความเข้มข้นของสารสกัด MG

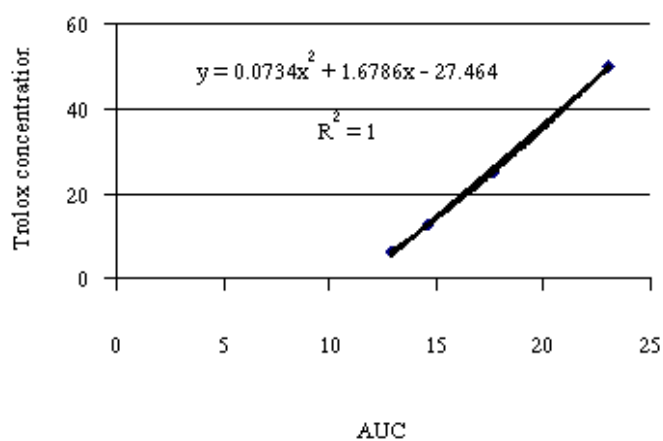


ภาพผนวกที่ ข2 กราฟมาตรฐานระหว่าง % radical scavenging activity กับความเข้มข้นของสารสกัด WMG

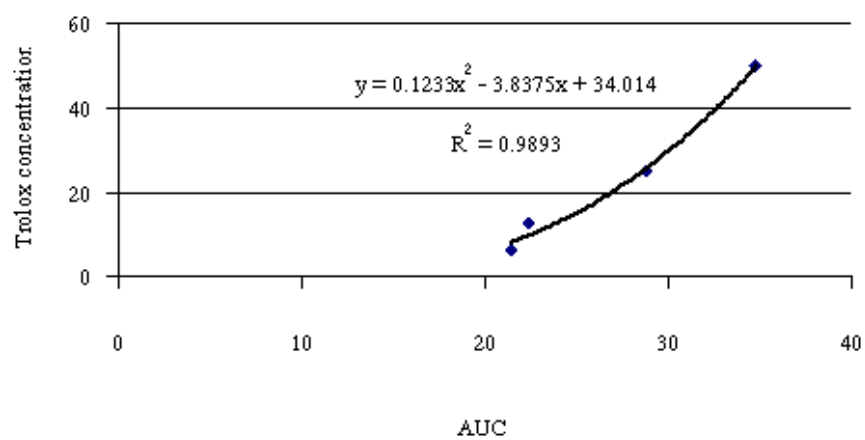


ภาพผนวกที่ ข3 กราฟมาตรฐานระหว่าง % radical scavenging activity กับความเข้มข้นของสารสกัด AMG

การวิเคราะห์สารต้านออกซิเดชันด้วยวิธี ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity)
(ดัดแปลงจาก Prior *et al.*, 2003)



ภาพผนวกที่ ข4 กราฟมาตรฐานของส่วนขอบน้ำของสาร Trolox และ Area under curve



ภาพผนวกที่ ๕ กราฟมาตรฐานของส่วนขบน้ำมันของสาร Trolox และ Area under curve

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นางสาวชนินันท์ ลิ้มปัทมฉาย
วัน เดือน ปี ที่เกิด	วันที่ 11 กันยายน 2524
สถานที่เกิด	จังหวัดชัยนาท
ประวัติการศึกษา	จบมัธยมศึกษาจากโรงเรียนสามเสนวิทยาลัย วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตรการอาหารและ โภชนาการ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	-
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	-
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	-
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	-