

ชุดโครงการวิจัยย่อยที่ 2
กระบวนการทางเอนไซม์สำหรับแปรรูปไชร้ปลั้วหย่อม
***Musa acuminata* AAA Group 'Gross Michel' เพื่อเป็นอาหารที่มีหน้าที่เฉพาะ**
โดย นางสาวสมฤดี ไทพาณิชย์ และ รศ.ดร. ปราณีย์ อำนเป็รื่อง

ตอนที่ 4

สมบัติทางเคมีกายภาพเฉพาะของไชร้ปลั้วหย่อม
***Musa acuminata* AAA Group 'Gross Michel' เพื่อเป็นอาหารที่มีหน้าที่เฉพาะที่ผลิตได้**

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพเฉพาะ ของไชร้ที่ผลิตได้จาก เนื้อกล้วยหอม *Musa acuminata* AAA Group 'Gross Michel' เพื่อเป็นอาหารที่มีหน้าที่เฉพาะ จากการทดลองพบว่าไชร้ที่ผลิตได้มีเส้นใยอาหารทั้งหมด 21.75 % โดยน้ำหนักแห้ง มีฤทธิ์การต้าน ออกซิเดชันเท่ากับ 48.49 $\mu\text{g DPPH}/\mu\text{g fresh weight}$ หรือ 421.42 mM Trolox equivalents/g Fresh weight มีแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติกสำหรับเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* LA5 และ *Bifidobacterium lactis* BB-12 เป็น -0.12 และ 0.30 ตามลำดับ และไชร้ที่ผลิตได้จากเนื้อกล้วย หอมมีสารที่สามารถระเหยได้ทั้งสิ้น 21 ชนิด ที่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ด้วย GC-MS เทคนิค SPME ณ ภาวะที่ทำการศึกษา โดยสารที่สามารถระเหยได้ที่เป็นสารที่ให้กลิ่นรสที่เป็นเอกลักษณ์ ของกล้วยหอม เช่น Isoamyl, butyrate, Isoamyl, acetate, isobutyl, butyrate และ Isopentyl isopentanoate สามารถพบได้ในไชร้ปลั้วหย่อมในปริมาณสูง

บทนำ

การประยุกต์ใช้เอนไซม์จากภายนอกเพื่อย่อยสลายเนื้อเยื่อของกล้วยหอม *Musa acuminata* AAA Group 'Gross Michel' ซึ่งเป็นผลไม้ที่มีเพกทินปริมาณมาก เพื่อช่วยให้ กระบวนการแปรรูปผลไม้มีประสิทธิภาพมากขึ้น ช่วยสกัดเอาองค์ประกอบบางอย่างที่อยู่ภายใน เซลล์ของกล้วยหอม ออกมา เช่น สีส กลิ่นรส และสารประกอบอื่นๆ และเพื่อเป็นอาหารที่มีหน้าที่ เฉพาะ (Functional food) ล้วนทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ชนิดใหม่ๆจากกล้วยหอมที่มีความหลากหลาย มี คุณภาพที่ดี

อาหารที่มีหน้าที่เฉพาะ หมายถึง อาหารที่มีองค์ประกอบตามธรรมชาติ เช่น เส้นใยอาหาร สารพรีไบโอติก และสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งอาหารที่มีหน้าที่เฉพาะได้รับความสนใจในกลุ่มนักวิจัย เพื่อยกระดับคุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหารจากพืชผลไม้ท้องถิ่น เช่น ไซรัปจากเนื้อกล้วยหอม

เส้นใยอาหาร (Dietary fiber)

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

1. เส้นใยอาหารกลุ่มทั่วไป

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

2. เส้นใยอาหารกลุ่มพรีไบโอติก

เส้นใยพรีไบโอติก คือ เส้นใยอาหารจากธรรมชาติซึ่งไม่ถูกย่อยที่ลำไส้ส่วนต้น แต่ถูกส่งไปยังลำไส้ใหญ่เพื่อเป็นอาหารของจุลินทรีย์สุขภาพ ทำให้จุลินทรีย์สุขภาพเจริญ และเพิ่มปริมาณมากขึ้น ส่งผลต่อการรักษาสมดุลของระบบนิเวศน์ของจุลินทรีย์สุขภาพ (probiotic) ในทางเดินอาหาร ได้แก่ *Lactobacillue acidophilus* และ *Bifidobacterium lactis* เป็นต้น ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในลำไส้มนุษย์ตามธรรมชาติ ปริมาณพรีไบโอติกที่แนะนำให้รับประทาน ที่ส่งผลดีต่อระบบทางเดินอาหาร คือ 4 ถึง 5 กรัมต่อวัน (Van และคณะ, 1995)

3. การวัดค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติก

คาร์โบไฮเดรตที่เป็นสารพรีไบโอติกแต่ละชนิด จะส่งผลต่อจุลินทรีย์สุขภาพแตกต่างกัน ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการตรวจวัดค่าความสามารถ หรือค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติก โดยดูจากประชากรจุลินทรีย์ อัตราการเจริญ ปริมาณซบสเตรดที่ลดลง หรือปริมาณกรดไขมันสายสั้นที่ถูกสร้างขึ้น อย่างไรก็ตามค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติกที่ได้จะขึ้นกับสายพันธุ์ของจุลินทรีย์สุขภาพด้วย สำหรับการวัดค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติก จากการเปรียบเทียบความสามารถของสาร พรีไบโอติกในการส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียที่เป็นจุลินทรีย์สุขภาพ เช่น *Lactobacilli* และ *Bifidobacteria* สายพันธุ์ต่างๆ และแบคทีเรียชนิดอื่นในระบบทางเดินอาหาร เช่น *E. coli* กับสารที่ไม่ได้เป็นสารพรีไบโอติก เช่น กลูโคส สารที่นำมาทดสอบจะมีค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติกสูง หรือเป็นสารพรีไบโอติกที่ดี ถ้ามีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียที่เป็นจุลินทรีย์

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

DH (1991) ได้รายงานว่ เซลลูโลส และเพกทิน เป็นองค์ประกอบหลักของสารกลุ่มพอลิแซ็กคาไรด์ที่ไม่ใช่แป้งที่พบในเนื้อกล้วย และพบอินนูลินปริมาณเล็กน้อย

Campbell และคณะ (1997); Hogarth และคณะ (2000) ศึกษาชนิดเส้นใยอาหารกลุ่มพรีไบโอติกที่พบในผัก และผลไม้ต่างๆ พบว่า ในเนื้อกล้วย พลัม หอมหัวใหญ่ (onion) หอมแดง (shallot) ชิโครี (chicory) และอาร์ติโชค (artichoke) มีฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์เป็นองค์ประกอบ

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

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

สารต้านอนุมูลอิสระ (Antiradicals)

สารต้านอนุมูลอิสระ คือ สารที่สามารถทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระโดยตรง เพื่อกำจัดอนุมูลให้หมดไป หรือหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ไม่ให้เกิดต่อเนื่อง โดยทำหน้าที่ให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ หรือทำหน้าที่ป้องกันการเกิดกระบวนการออกซิเดชัน ซึ่งเป็นกระบวนการสำคัญที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระ (Gordon, 2001a; Gordon, 2001b; นวลศรี รักษิณธรรม และ อัญชญา เจนวิทีสุข, 2545; โอภา วัชรคุปต์ และคณะ, 2549)

1. สารต้านอนุมูลอิสระที่พบในเนื้อกล้วยหอมทอง

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

2. การตรวจวัดแอกทิวิตีของการต้านอนุมูลอิสระ

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

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

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

สารให้กลิ่นรสในเนื้อกล้วยหอม

1. สารให้กลิ่นรสกล้วยหอม

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

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

2. การตรวจวิเคราะห์องค์ประกอบที่ระเหยได้ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี และแมสสเปกโตรเมตรี (GC-MS)

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

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

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

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

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

วิธีการทดลอง

วัตถุดิบ

ไซรัปกล้วยหอมที่ผลิตได้จากตอนที่ 3 (นำเนื้อกล้วยหอมบดนำเข้าสู่กระบวนการแปรรูปด้วยเอนไซม์ Pectinex Ultra SP-L[®] ปริมาณ 1.5% (v/w) ที่อุณหภูมิ $32 \pm 2^{\circ} \text{C}$ pH 4.64 ± 0.11 นาน 3 ชั่วโมง)

การวิเคราะห์สมบัติทางเคมีกายภาพ

1. ปริมาณเส้นใยอาหารทั้งหมด (Total dietary fiber, TDF)

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

2. ค่าแอกทิวิตีของการต้านอนุมูลอิสระ

2.1 วิธี DPPH

การหาค่าแอกทิวิตีการกำจัดอนุมูลอิสระ ด้วยวิธีที่เกี่ยวข้องกับการกำจัดอนุมูลอิสระ โดยใช้ DPPH เป็นสารอนุมูลอิสระ มีขั้นตอนตามวิธีของ Maisuthisakul และคณะ (2007)

2.2. วิธี ABTS

การหาค่าแอกทิวิตีการกำจัดอนุมูลอิสระ ด้วยวิธีที่เกี่ยวข้องกับการกำจัดอนุมูลอิสระ โดยใช้สารประกอบ ABTS ซึ่งสลายตัวให้อนุมูลเปอร์ออกซีซึ่งเป็นสารอนุมูลอิสระ มีขั้นตอนตามวิธีของ Thaipong และคณะ (2006)

3. ค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติก (Prebiotic activity score)

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

4. สารระเหยได้ (Volatile compounds)

4.1 การเตรียมตัวอย่างโดยเทคนิค solid phase microextraction (SPME)

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

4.2 การวิเคราะห์หาชนิดของสารระเหยได้

การวิเคราะห์หาชนิดของสารระเหยได้ด้วยเทคนิค SPME/GC-MS มีการกำหนดภาวะต่างๆ ดังนี้

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

ข. MS (Mass spectrometry)

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

ผลการทดลอง

ปริมาณเส้นใยอาหารทั้งหมด

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

ค่าแอกทิวิตีของการต้านอนุมูลอิสระ

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

พบว่าไซรัปกล้วยหอมที่ผลิตได้ มีแอกทิวิตีของการต้านอนุมูลสูงกว่าส่วนต่างๆของผลไม้ ผัก และ สมุนไพรหลายชนิด เช่น เนื้อลูกพลับ (1.72 $\mu\text{g DPPH}/\mu\text{g fw}$) เปลือกมังคุด (0.92 $\mu\text{g DPPH}/\mu\text{g fw}$) เมล็ดกระถิน (0.14 $\mu\text{g DPPH}/\mu\text{g fw}$) ผักปลัง (0.68 $\mu\text{g DPPH}/\mu\text{g fw}$) ตับเต่านา (1.22 $\mu\text{g DPPH}/\mu\text{g fw}$) สะเดาดิน (0.16 $\mu\text{g DPPH}/\mu\text{g fw}$) ผักหนาม (0.13 $\mu\text{g DPPH}/\mu\text{g fw}$) ผักพาย (0.13 $\mu\text{g DPPH}/\mu\text{g fw}$) และมะกอก (0.68 $\mu\text{g DPPH}/\mu\text{g fw}$) เป็นต้น เมื่อเปรียบเทียบค่าแอกทิวิตีของการต้านอนุมูลอิสระในรูปของค่า TEAC ของไซรัปกล้วยหอมที่ผลิตได้ กับค่า TEAC ของผลไม้อื่นๆที่มีการระบุว่าผลไม้ที่มีแอกทิวิตีของการต้านอนุมูลอิสระสูง เช่น บลูเบอร์รี่ ซึ่งศึกษาโดย Prior และคณะ (1998) ที่มีค่า TEAC อยู่ในช่วง 13.9–45.9 mM TE/g fw จะเห็นว่าไซรัปกล้วยหอมที่ผลิตได้ มีค่า TEAC สูงกว่าค่า TEAC ของบลูเบอร์รี่มาก ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่า ไซรัปกล้วยหอมที่ผลิตได้ จัดเป็นผลิตภัณฑ์อาหารอีกชนิดหนึ่งที่มีแอกทิวิตีของการต้านอนุมูลอิสระสูง

ตารางที่ 2.1 ปริมาณเส้นใยอาหารทั้งหมด และค่าแอกทิวิตีของการต้านอนุมูลอิสระของไซรัปกล้วยหอม

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

หมายเหตุ: ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขในแนวตั้งที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความหมายแตกต่างกันอย่าง

มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$)

ค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติก

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

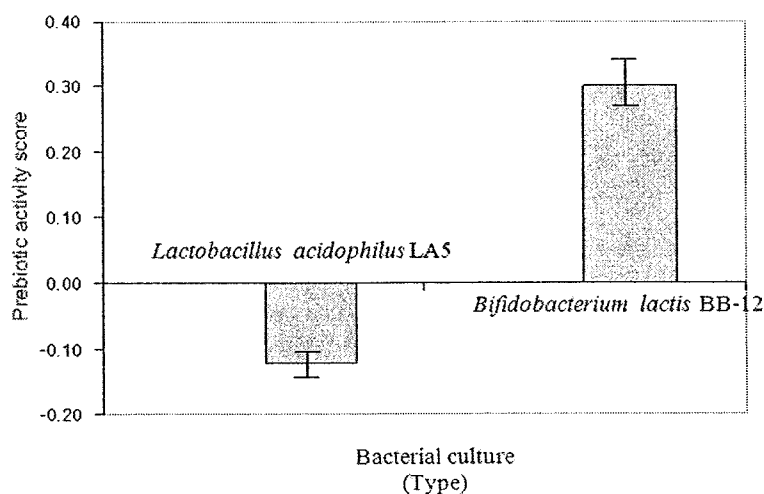
ตารางที่ 2.2 จำนวนประชากรของเซลล์แบคทีเรียที่เพิ่มขึ้นใน 24 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงในอาหาร MRS ที่มีกลูโคส หรือมีเนื้อกล้วยหอมสุกกระยะต่างๆเป็นองค์ประกอบ

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

หมายเหตุ : ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

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



รูปที่ 2.1 แอกทิวิตีของสารพรีไบโอติกของไซรัปกล้วยหอม

สารระเหยได้

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

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

สรุปผลการทดลอง

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

ตารางที่ 2.3 องค์ประกอบที่ระเหยได้ในไซรัปกล้วยหอม

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

เอกสารอ้างอิง

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

- Homme, C. L., Puigserver, A., and Biagini, A. 2003. Effect of food-processing on the degradation of fructooligosaccharides in fruit. *Food Chemistry*. 82: 533–537.
- Huebner, J., Wehling, R. L., and Hutkins, R. W. 2007. Functional activity of commercial prebiotics. *International Dairy Journal*. 17 (7): 770-775.
- Kanazawa, K., and Sakakibara, H. 2000. High content of dopamine, a strong antioxidant, in Cavendish banana. *Journal of Agricultural and Chemistry*. 48: 844-848.
- MAHATTANATAWEE, K., PEREZ-CACHO, P.R., DAVENPORT, T. and ROUSEFF, R. 2007. Comparison of three lychee cultivar odor profiles using gas chromatography-olfactometry and gas chromatography-sulfur detection. *J. Agric. Food Chem.* 55, 1939–1944.
- Maisuthisakul, M., Suttajit, M., and Pongsawatmanit, R. 2007. Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants *Food Chemistry*. 100: 1409–1418.
- Marie, C.M., Christelle, P. and Valetie, G. 2002. Determination of ethyl phenol compound in wine by headspace solid-phase micro extraction, *Journal of Chromatography A*. 458:111-117.
- Michael, H.G. 2001. Measuring antioxidant activity. *Antioxidants in Food: Practical Applications*, 71-84. New York: CRC Press.
- Nijssen, L. M., Visscher, C. A. Maarse, H., Willemsens, L.C., and Boelens, M.H. 1996. *Volatile Compounds in Foods Qualitative and Quantitative Data*. 7 th ed. TNO Nutrition and Food Research Institute. Zeist. The Netherlands.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., and Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*. 26: 1231-1237.
- Spiller, G. A., Ahipley, E. A., and Blake, J. A. 1978. Recent progress in dietary fiber in human nutrition. *Critical Review of Food Science and Nutrition*. 10: 31.
- Thaipong, K., Boonprakkob, U., Ckrosby, K., Cisneros-Zevallos, L., and Byrne, D.H. 2006. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*. 19: 669-675.

- Thebaudin, J. Y., Lefebvre, A. C., Harrington, M., and Bourgeois, C. M. 1997. Dietary fibres: Nutritional and technological interest. *Trends in Food Science & Technology*. 8 (2): 41-48.
- Tressl, R., and Jennings, W. G. 1972. Production of volatile compounds in the ripening banana. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 20 (2): 189-192.
- Van, L. J., Coussement, P., DeLeenheer, L., Hoebregs, H., and Smits, G. 1995. On the presence of inulin and oligofructose as natural ingredients in the Western diet. *CRC Critical Reviews in Food Science & Nutrition*. 35: 525-552.