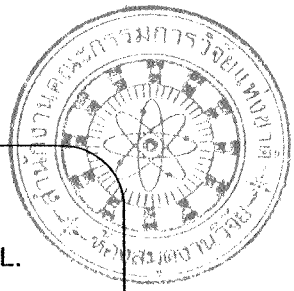


ชุดโครงการวิจัยย่อยที่ 3
ผลของการสกัดด้วยเอนไซม์ต่อสารหน้าที่เฉพาะในฝรั่งแดง *Psidium guajava* L.
EFFECTS OF ENZYMATIC EXTRACTION ON FUNCTIONAL COMPOUNDS IN RED GUAVA *Psidium guajava* L.
โดย นางสาววสาวี ถ้วยทอง และ รศ.ดร. ปราณี อ่านเปรื่อง

ตอนที่ 4

ศึกษาลักษณะเฉพาะของไซรัปฝรั่งแดง

<u>บทคัดย่อ</u>

งานวิจัยส่วนนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาลักษณะเฉพาะของไซรัปฝรั่งแดงที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ เพื่อเป็นข้อมูลยืนยันว่าไซรัปฝรั่งแดงที่ได้สามารถพัฒนาเป็นสารปรุงแต่งสี กลิ่นรส และลักษณะเนื้อสัมผัสในอาหารที่มีหน้าที่เฉพาะ ลักษณะเฉพาะที่ศึกษา ได้แก่ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ ปริมาณไลโคพีน ปริมาณวิตามินซี ขนาดอนุภาค ซึ่งการแปรรูปไซรัปฝรั่งแดงด้วยเอนไซม์ Pectinex® Ultra SP-L แปรความเข้มข้นเอนไซม์ในช่วง 0.25-1% (v/w) แปรเวลาการย่อย 0-480 นาที พบว่า การใช้เอนไซม์เข้มข้น 0.75% (v/w) เวลาการย่อย 0, 30, 90, 240 และ 300 นาที สามารถแบ่งระดับการตัดพันธะไกลโคซิลของพอลิเมอร์ในเนื้อฝรั่งแดงด้วยเอนไซม์ที่ประเมินจากค่าของน้ำตาลรีดิวซ์ได้เป็น 5 ช่วง โดยประมาณคือ 41, 53, 62, 77 และ 86 mg glucose/ g fw จากการศึกษาลักษณะเฉพาะของไซรัปฝรั่งแดงช่วงดังกล่าวพบว่า ไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 240 และ 300 นาทีขึ้นไป มีปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสูงกว่าภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ส่วนที่เวลาการย่อย 240 นาที ไซรัปฝรั่งแดงจะมีขนาดอนุภาคเฉลี่ยเล็กที่สุดคือ 14.67 μm สำหรับผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสพบว่า ไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 240 นาทีขึ้นไป จะมีสีแดงตามธรรมชาติของฝรั่งแดงสด มีกลิ่นหอมหวานและมีรสหวานของฝรั่งแดงชัดเจนและมีเนื้อสัมผัสที่เรียบเนียนมากกว่าไซรัปฝรั่งแดงที่ภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) และจากการทดลองใช้ไซรัปฝรั่งแดงเป็นส่วนผสมในเยลลี่ พบว่า เยลลี่ที่มีส่วนผสมของไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 240 นาทีขึ้นไป มีคะแนนด้านสี กลิ่นรสฝรั่งแดง ลักษณะเนื้อสัมผัส และการยอมรับโดยรวมสูงกว่าภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

บทนำ

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

สารต้านออกซิเดชันเป็นกลุ่มสารซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน จึงสามารถป้องกันเซลล์จากการถูกทำลายได้ สารกลุ่มนี้ทำงานโดยการเอาตัวเองเข้ารับอนุมูลอิสระ ทำให้อนุมูลอิสระหมดฤทธิ์และปฏิกิริยาลูกโซ่หยุดลง ขณะเดียวกันสารต้านออกซิเดชันเองก็ถูกทำลายไปด้วย สารต้านออกซิเดชัน จึงมีส่วนช่วยป้องกันหรือลดการเกิดโรคต่างๆ (Temple, 2000) การวิเคราะห์ค่าฤทธิ์ต้านออกซิเดชันมีด้วยกันหลายวิธีขึ้นอยู่กับหลักการที่ใช้ เช่น วิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) และ Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) ซึ่งทั้ง 2 วิธีเป็นกลไกในการส่งผ่านอิเล็กตรอนไปรีดิวซ์สารอื่น โดยวิธี FRAP เป็นการวัดความสามารถรวมในการรีดิวซ์สารประกอบเชิงซ้อนของเหล็ก Fe^{3+}-TPTZ (Ferric tripyridyl triazine) ส่วนวิธี TEAC เป็นการวัดความสามารถในการขจัดอนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ ที่มีสีเขียวปนน้ำเงิน (โอภา วัชระคุปต์ และคณะ, 2549) ส่วนวิธี Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) และ Total radical-trapping antioxidant parameter (TRAP) วิเคราะห์จากการส่งผ่านอะตอมไฮโดรเจน (hydrogen atom transfer, HAT) และวิธี 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) อาศัยจากทั้งสองหลักการในการวิเคราะห์ (Prior, Wu และ Schaich, 2005) สารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสำคัญที่พบในฝรั่งแดง ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก ไลโคพีนและวิตามินซี

สารประกอบฟีนอลิก

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

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

ข. เป็นสารต้านออกซิเดชันโดยหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ โดยทำหน้าที่ให้อิเล็กตรอนหรือไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระ ได้อนุมูลของสารประกอบฟีนอลที่มีความเสถียร

ค. ทำหน้าที่เปลี่ยนรูปวิตามินอีกลับมาใหม่ โดยจะรีดิวซ์อนุมูลของวิตามินอีกลับเป็นวิตามินอีเหมือนเดิม ทำให้วิตามินอีสามารถทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ต่อไป

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

ไลโคพีน

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

สารไลโคพีน มีโครงสร้างทางเคมีที่มีพันธะคู่มากทำให้ง่ายต่อการเกิดปฏิกิริยากับสารอนุมูลอิสระที่เป็นสารอนุพันธ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน ที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคมะเร็งต่างๆ เช่น มะเร็งทรวงอก มะเร็งปอด มะเร็งต่อมลูกหมาก ลดปัญหาการอุดตันของเส้นเลือดแดง เนื่องจากไลโคพีนไปช่วยเพิ่มปริมาณ LDL cholesterol ในกระแสเลือดโดยไปลดปฏิกิริยาออกซิเดชัน และยังถูกนำมาศึกษาในการเป็นวัคซีนต่อต้านไวรัส HIV และไวรัสตับอักเสบชนิดบีด้วย จากการศึกษาในชายจำนวน 48,000 คน พบว่ารับประทานซอสมะเขือเทศอย่างน้อยสัปดาห์ละ 2 ครั้ง (ปริมาณไลโคพีน 19 mg/day) มีภาวะเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งต่อมลูกหมากน้อยกว่าคนปกติ 16 % (Clinton, 1988) ในการทานอาหารเพื่อให้ได้สารไลโคพีนนั้น จำเป็นต้องนำฝรั่งแดงมาผ่านกระบวนการให้ความร้อน เนื่องจากในธรรมชาติโครงสร้างของสารดังกล่าวจะจับตัวกับสารโปรตีน และสามารถแยกตัวออกได้ด้วยความร้อน (Clinton, 1988; Ishida และ Chapman, 2004)

วิตามินซี

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

<u>วิธีการทดลอง</u>

<u>วัตถุดิบ</u>

ไซรัปฝรั่งแดงที่ผลิตได้จากตอนที่ 3 (ไซรัปฝรั่งแดงที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์เข้มข้น 0.75% (v/w) ที่เวลาการย่อย 0, 30, 90, 240 และ 300 นาที ที่อุณหภูมิ 32±2°C)

ศึกษาลักษณะเฉพาะของไซรัปฝรั่งแดง

1. ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (Antioxidant activities)

การเตรียมสารสกัดจากไซรัปฝรั่งเพื่อวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ดัดแปลงจากวิธีของ Maisuthisakul และคณะ (2007) และวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH ดัดแปลงจากวิธีของ Masuda และคณะ (1999); Maisuthisakul และคณะ (2007) และวิธี FRAP ดัดแปลงวิธีของ Benzie และ Strain (1996)

2. ปริมาณฟีนอลิก

วิเคราะห์ปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteau colorimetry จากสารสกัดที่เตรียมได้ในข้อ 3.3.2.2 ตามวิธีของ Marinova และคณะ (2005)

3. ปริมาณฟลาโวนอยด์

วิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ด้วยวิธี Aluminum chloride colorimetry จากสารสกัดที่เตรียมได้ในข้อ 3.3.2.2 ตามวิธีของ Zhishen และคณะ (1999)

4. ปริมาณไลโคพีน

วิเคราะห์ปริมาณไลโคพีนด้วย HPLC ตามวิธีของ Shi และคณะ (2008)

5. ปริมาณวิตามินซี

วิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีด้วยวิธี spectrophotometry ตามวิธีของ Pearson (1976)

6. ขนาดอนุภาค

วัดด้วยเครื่อง Laser particle size analyzer ดัดแปลงภาวะที่ใช้ของ Worrasinchai และคณะ (2006)

ทดลอง 3 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ CRD และประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของไซรัปฝรั่งแดงด้วยวิธี QDA โดยใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 10 คน ประเมินลักษณะด้านสี กลิ่นรส เนื้อสัมผัส และการยอมรับรวม ทดลอง 2 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ RCBD

ทดลองใช้ไซรัปฝรั่งแดงในผลิตภัณฑ์อาหาร โดยใช้เป็นส่วนผสมในเยลลี่ปริมาณ 10% โดยน้ำหนักส่วนผสมทั้งหมด แทนการใช้กลิ่นรสผลไม้สังเคราะห์ในสูตรต้นแบบ และประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ที่ได้ ด้วยวิธี QDA โดยใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 10 คน ประเมินลักษณะด้านสี กลิ่นรส เนื้อสัมผัส และการยอมรับรวม ทดลอง 2 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ RCBD

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

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการติดตามการทำงานของเอนไซม์ โดยพิจารณาจากปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดจากการตัดพันธะไกลโคซิลของพอลิเมอร์ในเนื้อฝรั่งแดงในตอนที่ 3 เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในไซรัปฝรั่งแดง พบว่า การใช้เอนไซม์ที่ความเข้มข้น 0.75% (v/w) เวลาการย่อยนาน 0-480 นาที เป็นภาวะที่ไซรัปฝรั่งแดงมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์หรือมีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลครอบคลุมจากช่วงต่ำไปสูง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้มีค่าไม่แตกต่างกับภาวะที่ใช้เอนไซม์เข้มข้น 1% (v/w) อย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) โดยมีอัตราการย่อยสลายคงที่ ตั้งแต่ 300 นาทีขึ้นไป และเมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่า ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในไซรัปฝรั่งแดงที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์เข้มข้น 0.75% (v/w) ที่เวลาการย่อย 0, 30, 90, 240 และ 300 นาที สามารถแบ่งเป็น 5 ช่วง โดยประมาณ คือ 41, 53, 62, 77 และ 86 mg glucose/ g fresh weight (fw) แสดงในตารางที่ 3.1 ดังนั้นจึงเลือกใช้เอนไซม์ที่ความเข้มข้น 0.75% (v/w) เวลาการย่อย 0, 30, 90, 240 และ 300 นาที เป็นตัวแทนเพื่อศึกษาผลของระดับการตัดพันธะไกลโคซิลของพอลิเมอร์ในเนื้อฝรั่งแดงด้วยเอนไซม์ที่มีต่อลักษณะเฉพาะของไซรัปฝรั่งแดงในด้านฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน สารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ วิตามินซี ปริมาณไลโคพีน ขนาดอนุภาค และคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ตารางที่ 3.1 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในไซรัปฝรั่งแดงที่ได้จากการย่อยด้วย Pectinex® Ultra SP-L ที่ความเข้มข้น 0.75% (v/w)

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

ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขในแนวตั้งที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$)

* fw คือ fresh weight basis

ลักษณะเฉพาะของไซรัปฝรั่งแดงที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์

ตารางที่ 3.2 สมบัติทางเคมีและกายภาพของไซรัปฝรั่งแดงที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลด้วยเอนไซม์ต่างกัน

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

ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขในแนวนอนที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

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

เมื่อนำไซรัปฝรั่งแดงที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ในตารางที่ 3.1 มาศึกษาลักษณะเฉพาะในด้านต่างๆ รวมทั้งทดลองใช้ไซรัปฝรั่งแดงในผลิตภัณฑ์อาหาร เพื่อเป็นข้อมูลยืนยันว่าไซรัปฝรั่งแดงที่ได้สามารถพัฒนาเป็นสารปรุงแต่งสี กลิ่นรส และลักษณะเนื้อสัมผัสในอาหารที่มีหน้าที่เฉพาะได้ จากผลการศึกษาลักษณะเฉพาะของไซรัปฝรั่งแดงที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลด้วยเอนไซม์ต่างกันในด้านสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน สารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ วิตามินซี ไลโคพีน ด้านขนาดอนุภาค และด้านคุณภาพทางประสาทสัมผัส พบว่า ไซรัปฝรั่งแดงจะมีลักษณะเฉพาะที่แตกต่างกันตามระดับการตัดพันธะไกลโคซิลของพอลิเมอร์ในเนื้อฝรั่งแดง โดยเอนไซม์ที่ใช้มีบทบาทสำคัญต่อสมบัติด้านต่างๆของไซรัปดังนี้

1. สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชันในเนื้อฝรั่งแดง ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ ไลโคพีนและวิตามินซี (Mercadante, Steck และ Pfander, 1999) เมื่อวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของเนื้อฝรั่งแดงด้วยวิธี DPPH และ FRAP พบว่า ไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 240 นาทีขึ้นไป จะมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงกว่าที่ภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ 3.2) จากงานวิจัยของ Hartmann และคณะ (2008) ที่รายงานว่า การผลิตน้ำสตรอเบอร์รี่พร้อมดื่มโดยใช้เอนไซม์เพกทิเนส ช่วยเพิ่มปริมาณสารต้านออกซิเดชันได้ถึง 77% มากกว่าตัวอย่างที่ไม่ใช้เอนไซม์ซึ่งได้ 56% เนื่องจากเอนไซม์จะย่อยองค์ประกอบต่างๆ บริเวณผนังเซลล์พืชที่ยึดจับสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชันไว้ ทำให้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพถูกปล่อยออกมา (Dominguez, Navez และ Lama, 1994) ส่งผลให้ไซรัปฝรั่งแดงที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลสูงมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันมากขึ้น โดยค่าฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH และ FRAP จะให้ผลไปในทางเดียวกัน

สารประกอบฟีนอลิกสำคัญที่พบในฝรั่งแดงส่วนใหญ่ ได้แก่ ฟลาโวนอยด์และแทนนิน (Seshadri และ Vasishta, 1964; Misra และ Seshadri, 1968) จากการทดลองพบว่า ไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 240 นาทีขึ้นไป จะมีสารกลุ่มฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าที่ภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ 3.2) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Landbo และ Meyer (2001) ที่รายงานว่า การสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากน้ำแบล็คเคอเรนท์โดยใช้เอนไซม์เพกทิเนสทางการค้า พบว่า การใช้เอนไซม์จะช่วยเพิ่มปริมาณสารประกอบฟีนอลิกได้ 40% เมื่อเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ใช้เอนไซม์

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

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

ไลโคพีนเป็นสารอนุพันธุ์ในกลุ่มแคโรทีนอยด์กลุ่มเดียวกันกับเบต้า-คาโรทีนเป็นรงควัตถุสำคัญที่ทำให้ไซรัปฝรั่งแดงมีสีแดง ส้มและเหลือง และมีสมบัติเป็นสารแอนติออกซิแดนท์ (Gerster, 1997) จากผลการทดลองพบว่า ไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 240 นาทีขึ้นไป มีปริมาณไลโคพีนสูงกว่าที่ภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ 3.2) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Choudhari และ Ananthanarayan (2007) ที่รายงานว่า การสกัดไลโคพีนจากมะเขือเทศโดยใช้เอนไซม์เพกทิเนสและเซลลูเลสเข้มข้น 0 - 5% (v/w) ทำปฏิกิริยา 0 -180 นาที ที่อุณหภูมิ 60 และ 55°C ตามลำดับ พบว่า การใช้เอนไซม์จะช่วยเพิ่มปริมาณไลโคพีนได้ 712 และ 424 µg/g ตามลำดับ ซึ่งมากกว่าตัวอย่างที่ไม่ใช้เอนไซม์ เนื่องจากเอนไซม์จะช่วยสลายผนังเซลล์พืชและปล่อยไลโคพีนที่อยู่ในคลอโรพลาสต์ และอยู่ในของเหลวภายในเซลล์ออกมาทำให้ง่ายต่อการสกัด (Santamaria และคณะ, 2000) ในการทานอาหารเพื่อให้ได้สารไลโคพีนนั้น จำเป็นต้องนำผักหรือผลไม้นั้นมาผ่านกระบวนการให้ความร้อน เนื่องจากในธรรมชาติโครงสร้างของสารดังกล่าวจะจับตัวกับสารโปรตีนและสามารถแยกตัวออกได้ด้วยความร้อน ดังนั้นอาหารที่ผ่านความร้อนจะมีปริมาณไลโคพีนมากกว่า (Bowen และคณะ, 2002)

2. ขนาดอนุภาค

ไซรัปฝรั่งแดงที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์จะมีขนาดอนุภาคเฉลี่ยเล็กลงอย่างต่อเนื่อง โดยไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 240 นาที จะมีขนาดอนุภาคเฉลี่ยเล็กที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) คือ 14.67 µm (ตารางที่ 3.2) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ De Carvalho และคณะ (2006) ที่รายงานว่า การใช้เอนไซม์เพกทิเนสเข้มข้น 0.3% (v/w) ทำปฏิกิริยา 40 นาที สามารถลดขนาดอนุภาคน้ำมะนาวได้ดีที่สุด ซึ่งสามารถลดขนาดได้น้อยกว่า 200 µm. ทั้งนี้เนื่องจากเอนไซม์จะย่อยสารประกอบต่างๆบริเวณผนังเซลล์พืช ได้แก่ เพกทิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลสทำให้ได้พอลิเมอร์ของสารประกอบดังกล่าวที่สั้นลง ส่งผลให้ขนาดอนุภาคที่ได้มีขนาดเล็กลง (Jayani, Saxena และ Gupta, 2005)

3. คุณภาพทางประสาทสัมผัส

3.1 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของไซรัปฝรั่งแดง

จากการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส ด้วยวิธี QDA ในด้านสี กลิ่นรส ลักษณะเนื้อสัมผัสและการยอมรับรวมของไซรัปฝรั่งแดงที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลด้วยเอนไซม์ต่างกัน โดยใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 10 คน ให้ผลการทดลองดังตารางที่ 3.3 คือ ไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 240 นาทีขึ้นไป จะมีสีแดงตามธรรมชาติของฝรั่งแดงสด มีกลิ่นหอมหวานและมีรสหวานของฝรั่งแดงชัดเจนกว่าที่ภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ผลที่ได้สอดคล้องกับค่าสีที่วัดได้จากการทดลองตอนที่ 3.3 พบว่า เมื่อเพิ่มระยะเวลาการย่อยจะทำให้ไซรัปที่ได้มีค่าความสว่าง (L^*) ลดลง แต่ค่าสีแดง ($+a^*$) และค่าสีเหลือง ($+b^*$) เพิ่มขึ้น และ

สอดคล้องกับงานวิจัยของ Thongsombat , Sirichote และ Chanthachum (2007) ที่รายงานว่า การใช้เอนไซม์เพกทิเนสช่วยปรับปรุงคุณภาพน้ำฝรั่งพร้อมดื่ม จะทำให้น้ำฝรั่งที่ได้มีลักษณะปรากฏด้านสี กลิ่น รสและลักษณะโดยรวมดีขึ้น ส่วนในด้านกลิ่นรสแปลกปลอม ผู้ทดสอบจะรู้สึกถึงกลิ่นรสแปลกปลอมได้บ้างเล็กน้อย เป็นลักษณะกลิ่นต้มสุกในไซรัปฝรั่งแดงที่ทุกเวลาการย่อย นอกจากนี้ไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 240 นาทีขึ้นไปจะมีลักษณะเนื้อสัมผัสที่เรียบเนียนและการยอมรับรวมมากกว่าไซรัปที่ได้จากภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับผลของขนาดอนุภาค พบว่าเมื่อเพิ่มระยะเวลาการย่อยจะทำให้ไซรัปที่ได้มีขนาดอนุภาคเฉลี่ยเล็กลง

ตารางที่ 3.3 คะแนนลักษณะทางประสาทสัมผัสของไซรัปฝรั่งแดงที่มีระดับการตัดพันธะไกล-โคซิลด้วยเอนไซม์ต่างกัน

Sensory attributes	Hydrolysis time (min)				
	0	30	90	240	300
Color	$6.25^{d}\pm0.26$	$7.10^{c}\pm046$	$7.65^{b}\pm0.34$	$8.65^{a}\pm0.67$	$8.95^{a}\pm0.72$
Flavor					
red guava flavor	$6.35^{d}\pm0.24$	$7.10^{c}\pm0.46$	$7.80^{b}\pm0.25$	$8.55^{a}\pm0.55$	$8.15^{ab}\pm0.67$
off-flavor*	$6.85^{c}\pm0.41$	$7.05^{c}\pm0.44$	$7.70^{b}\pm0.26$	$8.40^{a}\pm0.61$	$8.05^{ab}\pm0.50$
Texture					
smoothness	$6.25^{d}\pm 0.54$	$7.00^{c}\pm 0.41$	$7.55^{b}\pm0.37$	$8.30^{a}\pm0.63$	$7.85^{ab}\pm0.67$
Overall acceptability	$6.60^{d}\pm 0.46$	$7.10^{c}\pm 0.46$	$7.60^{b}\pm0.32$	$8.40^{a}\pm0.61$	$8.00^{a}\pm0.60$

ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขในแนวนอนที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

กำหนดให้ลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านต่างๆของไซรัปฝรั่งแดงมีคะแนนสูงสุด 10 คะแนน

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

3.2 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของเยลลี่ฝรั่งแดง

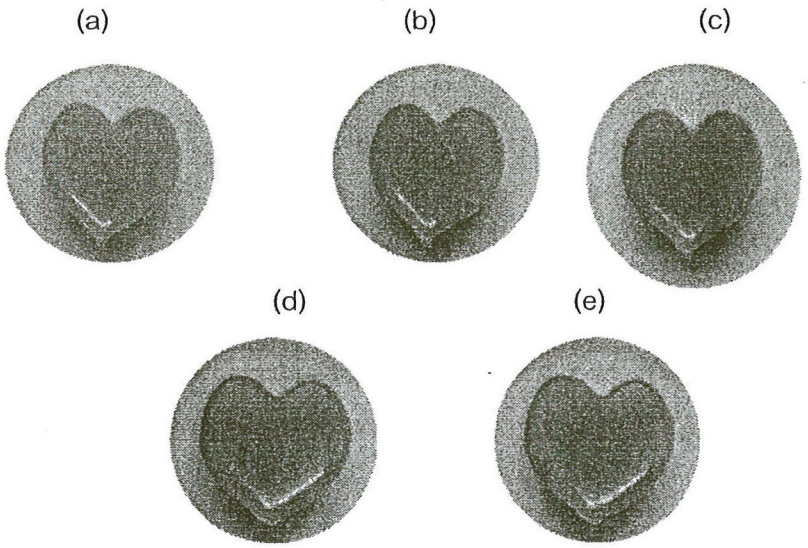
จากการทดลองใช้ไซรัปฝรั่งแดงที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลด้วยเอนไซม์ต่างกันเป็นสารแต่งกลิ่นรสในผลิตภัณฑ์อาหาร เพื่อทดแทนการใช้สารปรุงแต่งกลิ่นสังเคราะห์ เพิ่มสมบัติเชิงหน้าที่และคุณค่าทางโภชนาการให้กับผลิตภัณฑ์ โดยใช้เป็นส่วนผสมในเยลลี่ปริมาณ 10% โดยน้ำหนักส่วนผสมทั้งหมด แทนการใช้กลิ่นผลไม้สังเคราะห์ในสูตรต้นแบบ แสดงในรูปที่ 3.1 และประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ที่ได้ด้วยวิธี QDA โดยใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 10 คน ประเมินลักษณะด้านสี กลิ่นรส ลักษณะเนื้อสัมผัส และการยอมรับรวม ผลที่ได้แสดงในตารางที่ 3.4 พบว่า เมื่อใช้ไซรัปฝรั่งแดงที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลต่างกันเป็น

ส่วนผสมในเยลลี่จะส่งผลให้เยลลี่มีสี กลิ่นรส และลักษณะเนื้อสัมผัสต่างกัน ซึ่งผลที่ได้มีแนวโน้มไปในทางเดียวกับการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของไซรัปฝรั่งแดง โดยเยลลี่ที่มีส่วนผสมของไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 240 นาทีขึ้นไป จะมีสีชมพูอมแดงและมีกลิ่นรสฝรั่งแดงชัดเจนกว่าที่ภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ส่วนด้านกลิ่นรสแปลกปลอมพบว่าเยลลี่ที่มีส่วนผสมของไซรัปฝรั่งแดงทุกภาวะไม่ทำให้เกิดกลิ่นรสแปลกปลอมในระดับที่ผู้ทดสอบสามารถรู้สึกได้ชัดเจน ในด้านลักษณะเนื้อสัมผัส พบว่า เยลลี่ที่มีส่วนผสมของไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 240 นาทีขึ้นไป จะมีเนื้อสัมผัสด้านความเรียบเนียนเป็นเนื้อเดียวกันไม่แยกชั้นมากกว่าไซรัปฝรั่งแดงที่ภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ด้านความยืดหยุ่นของเนื้อเยลลี่ พบว่า เยลลี่ที่มีส่วนผสมของไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 90 นาทีขึ้นไปจะมีความยืดหยุ่นมากกว่าเยลลี่ที่ภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เนื่องจากเอนไซม์จะย่อยสารประกอบเพกทินที่ไม่ละลายน้ำให้อยู่ในรูปที่แสดงหมู่ไฮดรอกซิลมากขึ้น ส่งผลให้เพกทินมีปริมาณหมู่ที่ชอบน้ำมากขึ้น จึงละลายน้ำได้ดีขึ้น เกิดเป็นพอลิเมอร์ที่สามารถรวมตัวกันเป็นโครงสร้างร่างแหที่มีน้ำอยู่ในช่องว่างระหว่างร่างแห ส่งผลให้เยลลี่มีลักษณะของเจลและมีความยืดหยุ่นดี แต่เมื่อระยะเวลาในการย่อยเพิ่มมากขึ้นที่ 300 นาที พบว่า เนื้อเยลลี่ฝรั่งแดงที่ได้จะมีลักษณะเยิ้มน้ำ มีการแยกชั้น อาจเนื่องมากจากส่วนที่ชอบน้ำมากเกินไปส่งผลให้เยลลี่มีลักษณะเยิ้มน้ำ แต่ที่เวลา 360 นาที เยลลี่จะมีความยืดหยุ่นเพิ่มขึ้นอีก อาจเนื่องจากส่วนที่ชอบน้ำจะเกิดการรวมตัวกันเองอีกครั้ง ทำให้เยลลี่มีความยืดหยุ่นเพิ่มขึ้นได้ (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2547) ด้านการยอมรับรวม พบว่า ผู้ทดสอบให้การยอมรับเยลลี่ที่มีส่วนผสมของไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 240 นาทีขึ้นไปมากกว่าไซรัปฝรั่งแดงที่ภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 3.4 คะแนนลักษณะทางประสาทสัมผัสของเยลลี่ฝรั่งแดง

Sensory attributes	Hydrolysis time (min)				
	0	30	90	240	300
Color	$6.25^{d} \pm 0.26$	$7.15^{c} \pm 053$	$7.60^{b} \pm 0.39$	$8.75^{a} \pm 0.63$	$8.55^{a} \pm 0.60$
Flavor					
red guava flavor	$6.30^{d} \pm 0.26$	$7.10^{c} \pm 0.46$	$7.70^{b} \pm 0.35$	$8.80^{a} \pm 0.54$	$8.40^{a} \pm 0.77$
off-flavor*	$6.75^{c} \pm 0.49$	$7.05^{c} \pm 0.52$	$7.65^{b} \pm 0.34$	$8.65^{a} \pm 0.67$	$8.20^{a} \pm 0.71$
Texture					
smoothness	$6.20^{d} \pm 0.54$	$7.00^{c} \pm 0.41$	$7.55^{bc} \pm 0.28$	$8.50^{a} \pm 0.68$	$7.75^{b} \pm 1.04$
springiness	$6.65^{c} \pm 0.53$	$7.05^{b} \pm 0.87$	$7.50^{a} \pm 0.47$	$4.95^{d} \pm 0.69$	$6.82^{c} \pm 0.57$
Overall acceptability	$6.60^{d} \pm 0.46$	$7.05^{c} \pm 0.64$	$7.65^{b} \pm 0.41$	$8.80^{a} \pm 0.63$	$7.90^{b} \pm 0.32$

ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน /ค่าตัวเลขในแนวนอนที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) กำหนดให้ลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านต่างๆของไซรัปฝรั่งแดงมีคะแนนสูงสุด 10 คะแนน *กลิ่นรสแปลกปลอม (off-flavor): มีกลิ่นรสแปลกปลอมชัดเจน (0 คะแนน) –ไม่มีกลิ่นรสแปลกปลอมเลย (10 คะแนน)



รูปที่ 3.1 ลักษณะของเยลลี่ (a) เนื้อฝรั่งแดง (b) ไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 30 นาที (c) 90 นาที (d) 240 นาที และ (e) 300 นาที

สรุปผลการทดลอง

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่าภาวะที่ใช้ในการศึกษาลักษณะเฉพาะของไซรัปฝรั่งแดงคือ การใช้เอนไซม์ที่ความเข้มข้น 0.75% (v/w) เวลาการย่อย 0, 30, 90, 240 และ 300 นาที ซึ่งที่ภาวะนี้สามารถแบ่งระดับการตัดพันธะไกลโคซิลของพอลิเมอร์ในเนื้อฝรั่งแดง โดยประเมินจากค่าน้ำตาลรีดิวซ์ครอบคลุมจากช่วงต่ำไปสูงได้เป็น 5 ช่วง โดยประมาณคือ 41, 53, 62, 77 และ 86 mg glucose/ g fresh weight เมื่อพิจารณาลักษณะเฉพาะของไซรัปฝรั่งแดงในช่วงดังกล่าว พบว่า ไซรัปฝรั่งแดงที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลต่างกันจะมีลักษณะเฉพาะที่ต่างกัน โดยเอนไซม์ Pectinex® Ultra SP-L มีบทบาทสำคัญต่อลักษณะเฉพาะของไซรัปฝรั่งแดงดังนี้ ไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 240 นาทีขึ้นไป จะมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันเท่ากับ 14.15 µg fw/ µg DPPH หรือเท่ากับ 107.71 µM TE/ g fw สารประกอบฟีนอลิก เท่ากับ 196.52 mg GAE/g fw ไลโคพีน เท่ากับ 1778.30 µg/g fw และมีขนาดอนุภาคเฉลี่ยเล็กที่สุดคือ 14.67 µm ไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 300 นาทีขึ้นไป มีปริมาณฟลาโวนอยด์ เท่ากับ 65.49 mg CE/g fw แต่จะมีปริมาณวิตามินซีลดลงเมื่อระยะเวลาในการย่อยเพิ่มมากขึ้น

การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของไซรัปฝรั่งแดง พบว่า ไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 240 นาทีขึ้นไป จะมีสีแดงตามธรรมชาติของฝรั่งแดงสด มีกลิ่นหอมหวานและมีรสหวานของฝรั่งแดงชัดเจนกว่าที่ภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ส่วนในด้านกลิ่นรสแปลกปลอม ผู้ทดสอบจะรู้สึกถึงกลิ่นรสแปลกปลอมได้บ้างเล็กน้อย นอกจากนี้ไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 240 นาทีขึ้นไปจะมีลักษณะเนื้อสัมผัสที่เรียบเนียนและการยอมรับรวมมากกว่าไซรัปที่ได้จากภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ส่วนการใช้ไซรัปฝรั่งแดงเป็นส่วนผสมในเยลลี่ พบว่า ผู้ทดสอบให้การยอมรับเยลลี่ที่มีส่วนผสมของไซรัปฝรั่งแดงที่ใช้เวลาในการย่อย 240 นาทีขึ้นไปมากกว่าที่ภาวะอื่นทั้งทางด้านสี กลิ่นรส และลักษณะเนื้อสัมผัส ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่าไซรัปฝรั่งแดงมีแนวโน้มในการใช้เป็นสารปรุงแต่งสี กลิ่นรส และลักษณะเนื้อสัมผัสในอาหารที่มีหน้าที่เฉพาะได้

เอกสารอ้างอิง

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

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

Benzie, I. F. F. and Strain, J. J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "Antioxidant Power" the FRAP assay. Analytical Biochemistry 239: 70-76.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Marinova, D., Ribarova, F., and Atanassova, M. 2005. Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy 40(3): 255-260.

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

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

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

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

Prior. R. L., Wu, X., and Schaich, K. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. Journal of Agricultural and Food Chemistry 53(10): 4290-4302.

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

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

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

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

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

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

Worrasinchai, S., Suphantharika, M., Pinjai, S., and Jamnong, P. 2006. β-Glucan prepared from spent brewer's yeast as a fat replacer in mayonnaise. Food Hydrocolloids 20: 68-78.

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

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