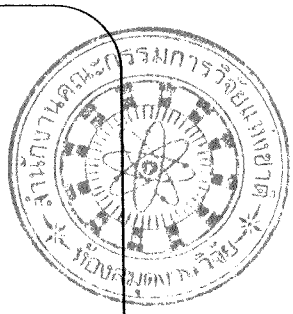
ชุดโครงการวิจัยย่อยที่ 4
การผลิตด้วยเอนไซม์และการหาลักษณะเฉพาะ
ของไซรัปมะตูม *Aegle marmelos* (L.) Correa
Enzymatic Production and Characterization of Bael Fruit
Aegle marmelos (L.) Correa Syrup
โดย นางสาวสุวิมล เจริญสิทธิ์ และ รศ.ดร. ปราณี อ่านเปรื่อง



ตอนที่ 4
การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ ในระหว่างกระบวนการผลิตไซรัปมะตูม

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญในระหว่างกระบวนการผลิตไซรัปมะตูม โดยทดลองแปรรูปไซรัปมะตูมด้วยเอนไซม์เพกทิเนส (Pectinex Ultra SP-L®, 10292 PGU/ml) ที่ความเข้มข้น 2.5% (v/w) ระยะเวลาการย่อย 6 ชั่วโมง พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงปริมาณใยอาหารทั้งหมดในระหว่างกระบวนการผลิตไซรัปมะตูมด้วยเอนไซม์ แต่ไซรัปมะตูมจะมีปริมาณใยอาหารที่ละลายน้ำเพิ่มขึ้นและปริมาณใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำลดลง ส่วนการเปลี่ยนแปลงค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติกพบว่า การผลิตไซรัปมะตูมด้วยเอนไซม์สามารถคงค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติกในเนื้อมะตูมสุกไว้ได้ โดยมีการเปลี่ยนแปลงค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติกในไซรัปมะตูมเพียงเล็กน้อย และเมื่อเปรียบเทียบชนิดสารระเหยจาก SPME/GC/MS chromatogram profile พบว่า ไซรัปมะตูมที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์จะมีชนิดสารระเหยเพิ่มขึ้น

บทนำ

ปัจจุบันผู้บริโภคได้ให้ความสนใจผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติเพิ่มสูงขึ้น โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์ประเภทสารสกัดจากผักและผลไม้ที่ประกอบด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ จากข้อมูลด้านลักษณะเด่นของมะตูมสุกที่มีเนื้อสีส้มอมเหลือง มีกลิ่นรสหอมหวาน ประกอบด้วยสารเมือก โดยมีสารหน้าที่เฉพาะและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญหลายชนิด (Morton, 1987; Roy and Khurdiya, 1995) จะเห็นว่ามะตูมจัดเป็นพืชที่มีศักยภาพในการผลิตเป็นสารสกัด เพื่อพัฒนาเป็นสารปรุงแต่งสี กลิ่น รส และเนื้อสัมผัสในอาหารที่มีหน้าที่เฉพาะ (functional food) เช่น ไอศกรีม เครื่องดื่ม ธัญพืชชนิดแท่ง และผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ การผลิตสารสกัดจากผักและผลไม้ด้วยวิธีทาง

ชีวภาพ โดยใช้เอนไซม์เพกทิเนสย่อยสลายเพกทินที่อยู่ในชั้นผนังเซลล์พืช จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดของเหลวต่างๆ รวมทั้งสารให้สี กลิ่น รส และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (ปราณี, 2547; Pilnik and Voragen, 1993; Mutlu et al., 1999) โดยไม่ต้องผ่านกระบวนการกรองแยกกากหรือใยอาหารออก ทำให้สารสกัดที่ได้ยังคงองค์ประกอบเดิมไว้ และเพิ่มองค์ประกอบใหม่ที่ได้จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญในระหว่างกระบวนการผลิตไซรัปมะตูม เพื่อเพิ่มมูลค่าและแนวทางการใช้ประโยชน์ของมะตูม

วิธีการทดลอง

1. วัตถุดิบ

เนื้อมะตูมสุกพันธุ์ไข่จากจังหวัดพิจิตรที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 30±2°C เป็นเวลา 10 วัน และผ่านการบดลดขนาดและควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล โดยเติมกรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 0.3% (w/w) ร่วมกับการให้ความร้อนด้วยไอน้ำจนจุดกึ่งกลางของเนื้อมะตูมมีอุณหภูมิ 85°C นาน 3 นาที (Homogenized and antibrowning controlled bael fruit pulp; HABP)

ไซรัปมะตูมที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์เพกทิเนส (Pectinex Ultra SP-L®, 10292 PGU/ml) ที่ความเข้มข้น 2.5% (v/w) ระยะเวลาการย่อย 6 ชั่วโมง ซึ่งเป็นภาวะที่ไซรัปมะตูมมีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลด้วยเอนไซม์สูงสุดในช่วงที่ศึกษาจากตอนที่ 2 (Enzyme treated bael fruit syrup; EBS)

2. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญของไซรัปมะตูม

2.1 วิเคราะห์ปริมาณใยอาหาร ตามวิธีของ A.O.A.C. (1995)

2.2 วิเคราะห์ค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติก โดยเปรียบเทียบความสามารถในการส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียที่เป็นจุลินทรีย์สุขภาพหรือโพรไบโอติก ได้แก่ *L. acidophilus* La5 และ *B. lactis* Bb12 และแบคทีเรียชนิดอื่นในระบบทางเดินอาหาร ได้แก่ *E. coli* ATCC 29922 กับสารที่ไม่ได้เป็นพรีไบโอติก คือ กลูโคส ดัดแปลงวิธีของ Huebner และคณะ (2007)

2.3 วิเคราะห์สารระเหยด้วยวิธี SPME/GC/MS โดยวิธีของ Chen และคณะ (2006)

3. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป Statistic Package for the Social Science (SPSS Version 12.0, USA) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

เมื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณใยอาหาร ค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติก และสารระเหย ในไซรัปมะตูมที่ใช้เวลาในการย่อย 6 ชั่วโมง ซึ่งเป็นภาวะที่ไซรัปมะตูมมีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลด้วยเอนไซม์สูงสุดในช่วงที่ศึกษา เปรียบเทียบกับเนื้อมะตูมสุกตีป่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาลให้ผลการทดลองดังนี้

ปริมาณใยอาหาร

ผลการเปลี่ยนแปลงปริมาณใยอาหารในไซรัปมะตูม เปรียบเทียบกับเนื้อมะตูมสุกตีป่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาล แสดงในตารางที่ 4.1 พบว่า ไซรัปมะตูมมีปริมาณใยอาหารทั้งหมด (TDF) คงที่ แต่มีปริมาณใยอาหารที่ละลายน้ำ (SDF) เพิ่มขึ้น และปริมาณใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ (IDF) ลดลง อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ทั้งนี้เนื่องจากเอนไซม์จะย่อยสารประกอบเพกทินที่ไม่ละลายน้ำให้อยู่ในรูปที่แสดงหมู่ไฮดรอกซิลมากขึ้น ส่งผลให้เพกทินละลายน้ำได้มากขึ้น (Sakamoto et al., 2006)

ตารางที่ 4.1 ผลของการย่อยด้วยเอนไซม์ที่มีต่อปริมาณใยอาหารในไซรัปมะตูม

Sample	TDF (g/100g fw)	SDF (g/100g fw)	IDF (g/100g fw)
HABP	$6.21^{ns} \pm 0.03$	$3.51^{b} \pm 0.08$	$2.70^{a} \pm 0.06$
EBS	$6.12^{ns} \pm 0.17$	$4.58^{a} \pm 0.13$	$1.54^{b} \pm 0.04$

ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขในแนวตั้งที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

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

HABP คือ Homogenized and antibrowning controlled bael fruit pulp

EBS คือ Enzyme treated bael fruit syrup

ค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติก

จากการทดลองเพื่อหาค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติกในไซรัปมะตูม เปรียบเทียบกับเนื้อมะตูมสุกตีป่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาล แสดงผลในตารางที่ 4.2 พบว่า อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีไซรัปมะตูมกับเนื้อมะตูมสุกตีป่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบ จะมีจำนวนจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นภายใน 24 ชั่วโมง ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) โดย *L. acidophilus* La5 ที่เลี้ยงในอาหารที่มีไซรัปมะตูมหรือเนื้อมะตูมสุกตีป่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบ มีจำนวนเพิ่มขึ้นภายใน 24 ชั่วโมง ไม่แตกต่างจากภาวะที่เลี้ยงในอาหารที่มีกลูโคสเป็นองค์ประกอบอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ในขณะที่ *B. lactis* Bb12 และ *E. coli* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีไซรัปมะตูมหรือเนื้อมะตูมสุกตีป่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบ มีจำนวนเพิ่มขึ้นภายใน 24

ชั่วโมง สูงและต่ำกว่าภาวะที่เลี้ยงในอาหารที่มีกลูโคสเป็นองค์ประกอบอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ตามลำดับ เมื่อนำค่าจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นภายใน 24 ชั่วโมง ไปคำนวณเพื่อหาค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติก (รูปที่ 4.1) พบว่า ค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติกในไซรัปมะตูมกับเนื้อมะตูมสุกตีป่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาลมีค่าไม่แตกต่างกัน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการใช้เอนไซม์ในช่วงที่ศึกษาไม่สามารถย่อยองค์ประกอบในเนื้อมะตูมสุกที่เป็นพรีไบโอติกให้มีโมเลกุลเล็กมากพอที่โพรไบโอติกสามารถใช้ได้มากขึ้น จึงทำให้ค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติกที่ได้มีค่าไม่ต่างกัน โดย *B. lactis* Bb12 จะมีค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติกสูงกว่า *L. acidophilus* La5 แสดงว่า สารพรีไบโอติกในไซรัปมะตูมและเนื้อมะตูมสุกตีป่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาลสามารถส่งเสริมการเจริญของ *B. lactis* Bb12 ได้ดีกว่า *L. acidophilus* La5 แต่ไม่ส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียชนิดอื่นในระบบทางเดินอาหาร

ตารางที่ 4.2 เปรียบเทียบจำนวนจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นภายใน 24 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเนื้อมะตูมสุกตีป่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาล ไซรัปมะตูม หรือมีกลูโคสเป็นองค์ประกอบ

Bacterial culture	Cell population [$\log_{10}$(cfu/ml)]		
	HABP	EBS	Glucose
L. acidophilus La5	$1.70^{ns} \pm 0.03$	$1.74^{ns} \pm 0.16$	$1.84^{ns} \pm 0.14$
B. lactis Bb12	$2.12^{a} \pm 0.06$	$2.14^{a} \pm 0.04$	$1.87^{b} \pm 0.02$
E. coli ATCC 29922	$1.73^{b} \pm 0.03$	$1.76^{b} \pm 0.05$	$1.88^{a} \pm 0.08$

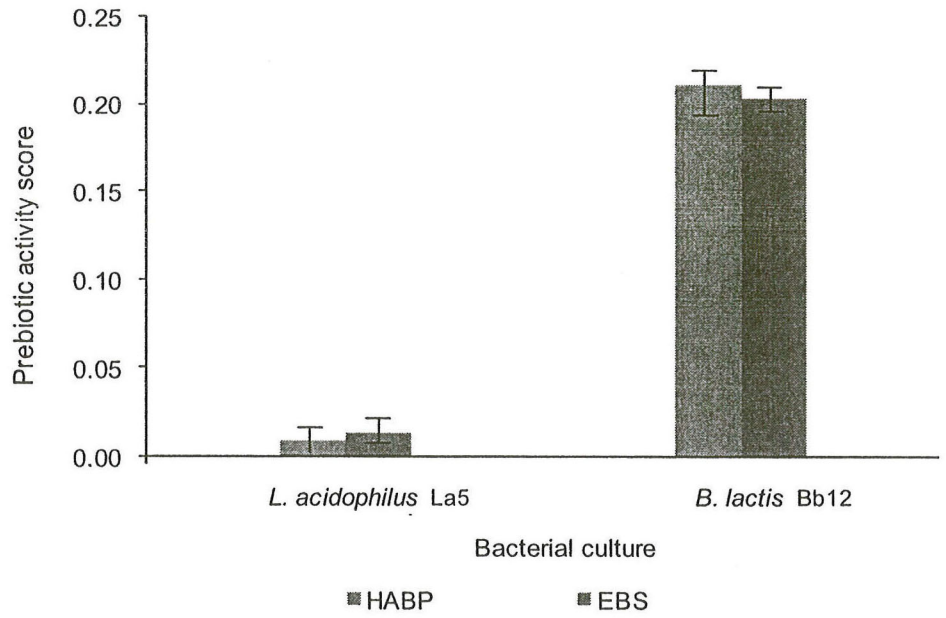
ตัวเลขในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขในแนวนอนที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

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

HABP คือ Homogenized and antibrowning controlled bael fruit pulp

EBS คือ Enzyme treated bael fruit syrup



รูปที่ 4.1 ค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติกในไซรัปมะตูมเปรียบเทียบกับเนื้อมะตูมสุกตีป่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาล

HABP คือ Homogenized and antibrowning controlled bael fruit pulp

EBS คือ Enzyme treated bael fruit syrup

สารระเหย

ผลการเปลี่ยนแปลงชนิดของสารระเหยในไซรัปมะตูมเปรียบเทียบกับเนื้อมะตูมสุกตีป่นและควบคุมการเกิดสีน้ำตาล วิเคราะห์ด้วยวิธี SPME/GC/MS พบว่า ไซรัปมะตูมมีสารระเหยเพิ่มขึ้นทั้งหมด 24 ชนิด แสดงในตารางที่ 4.3 โดยชนิดของสารระเหยที่เพิ่มขึ้นในไซรัปมะตูมส่วนใหญ่จะเป็นสารกลุ่ม terpenes เช่น linalool oxide, linalool, β-elemene และ germacrene-D ซึ่งเป็นสารที่ให้กลิ่นรสในผลไม้หลายชนิด (Maarse, 1991) ทั้งนี้ชนิดของสารระเหยที่เพิ่มขึ้นเกิดจากสารประกอบเพกทินในเนื้อผลไม้ส่วนใหญ่จะเกาะกับเส้นใยเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสที่บริเวณผนังเซลล์ของเนื้อเยื่อผลไม้ ทำให้เกิดการกักเก็บสารให้กลิ่นไว้ภายในเนื้อเยื่อ ดังนั้นการใช้เอนไซม์ย่อยสารประกอบเพกทินโดยการตัดที่สายโซ่หลักหรือโซ่กิ่งของเพกทิน จะทำให้โครงสร้างของเพกทินเปลี่ยนแปลงไป เพกทินละลายน้ำได้มากขึ้นและยึดจับกับผนังเซลล์โดยรอบอย่างหลวมๆ ทำให้เนื้อเยื่อผลไม้มีความอ่อนตัวมากขึ้น เกิดการปลดปล่อยสารให้กลิ่นของผลไม้ออกมาได้มากกว่าการใช้วิธีบีบอัดทางกายภาพ (ปราณี, 2547; Baumann, 1981; Mutlu et al., 1999)

ตารางที่ 4.3 ผลของการย่อยด้วยเอนไซม์ที่มีต่อชนิดของสารระเหยในไซรัปมะตูม

Compound name	RIs*	% Peak Area	
		HABP	EBS
Isoamyl acetate	1147	1.86	-
Limonene	1202	36.48	9.46
β-Phellandrene	1217	5.16	-
β-cis-Ocimene	1245	-	0.69
3-Methyl-2-butenyl acetate	1266	-	0.95
p-Cymene	1279	29.96	-
α-Terpinolene	1297	-	0.90
4-Methylpentan-1-ol	1301	0.96	-
cis-Rose-oxide	1338	-	0.29
Dehydro-p-cymene	1414	1.99	-
Linalool oxide	1425	-	5.09
α-Cubebene	1463	-	0.42
α-Copaene	1536	1.46	0.35
β- Cubebene	1558	1.32	-
Linalool	1565	-	7.62
β-Elemene	1570	-	2.37
β-Caryophyllene	1594	1.93	21.56
Citronellyl acetate	1607	-	0.27
Aromadendrene	1650	-	0.71
Pulegone	1665	1.71	-
α-Humulene	1680	1.11	7.00
α-Amorphene	1691	-	0.37
Verbenone	1729	1.16	-
Bicyclogermacrene	1738	-	1.28
trans-Pyranoid linalool oxide	1747	-	1.13
Carvone	1751	0.87	-
trans-Carvyl acetate	1759	0.89	-
Germacrene-D	1772	-	7.44
Methyl laurate	1813	-	0.49
Dihydro-β-ionone	1825	3.63	6.31
Geranyl acetone	1840	2.27	1.08
β-Ionone	1947	3.31	12.11
Tridecanol	1952	-	0.35
Dihydro-β-Ionol	1991	-	0.70
Caryophyllene oxide	1999	3.10	-
cis-Nerolidol	2010	-	0.43
Pentadecanol	2035	-	0.29
Methyl cinnamate	2056	-	0.82
Elemol	2069	-	0.37
Methyl palmitate	2170	-	0.43
Methyl palmitoleate	2237	-	0.72
2,4-Di-tert-butylphenol	2243	-	5.79
Hexadecanoic acid	2860	0.81	-

*RIs คือ Retention Indices

HABP คือ Homogenized and antibrowning controlled bael fruit pulp; EBS คือ Enzyme treated bael fruit syrup

สรุปผลการทดลอง

เอนไซม์ Pectinex® Ultra SP-L มีบทบาทสำคัญต่อลักษณะเฉพาะของไซรัปมะตูมดังนี้ ช่วยเพิ่มปริมาณใยอาหารที่ละลายน้ำและชนิดสารระเหย และคงค่าแอกทิวิตีของสารพรีไบโอติก ซึ่งจะเห็นได้ว่าไซรัปมะตูมมีแนวโน้มในการใช้เป็นสารปรุงแต่งสี กลิ่นรส และลักษณะเนื้อสัมผัสในอาหารที่มีหน้าที่เฉพาะ

เอกสารอ้างอิง

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

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

Baumann, J. W. 1981. Application of enzymes in fruit juice technology. In G.G. Birch, N. Blakebrough, and K.J. Parker (ed.), Enzymes and Food Processing, pp. 129-146. England: Applied Science Publishers.

Chen, J. L., Yan, S., Feng, Z., Xiao, L., and Hu, X. S. 2006. Changes in the volatile compounds and chemical and physical properties of Yali pear (*Pyrus bertschneideri* Reld) during storage. Food Chemistry. 97: 248-255.

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

Maarse, H. 1991. Volatile Compounds in Foods and Beverages. New York: Marcel Dekker.

Morton. J. F. 1987. Fruits of Warm Climates. Winterville, N.C.: Creative Resource Systems Inc.

Mutlu, M., Sarioğlu, K., Demir, N., Ercan, M. T., and Acar, J. 1999. The use of commercial pectinase in fruit juice industry. Part I: viscosimetric determination of enzyme activity. Journal of Food Engineering. 41: 147-150.

Pilnik, W. and Voragen, A. G. J. 1993. Pectic enzymes in fruit juice and vegetable juice manufacture. In Reeds, G. (ed.), Enzymes in Food Processing, pp. 363-399. New York: Academic Press.

Roy, S. K. and Khurdiya, D. S. 1995. Other subtropical fruit. In D.K. Salunkhe; S. S. Kadam (ed.), Handbook of Fruit Science and Technology: Production, Composition, Storage and Processing, pp. 539-543. New York: Marcel Dekker.

Sakamoto, K., Shibata, K., and Ishihara, M. 2006. Decreased Hardness of dietary fiber-rich foods by the enzyme-infusion method. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. 70(7): 1564-1570.