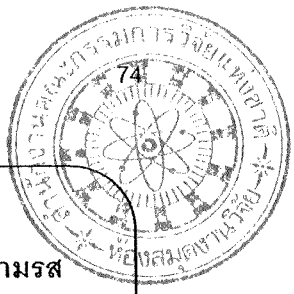


ชุดโครงการวิจัยย่อยที่ 6
การสกัดด้วยเอนไซม์และสมบัติเชิงหน้าที่ของใยอาหารจากพุทราพันธุ์สามรส
Ziziphus mauritiana Lam.
ENZYMATIC EXTRACTION AND FUNCTIONAL PROPERTIES OF DIETARY FIBER FROM JUJUBE *Ziziphus mauritiana* Lam.
โดย นางสาวชมัยพร แรงกลาง และ รศ.ดร. ปราณี อ่านเปรื่อง

ตอนที่ 4
ศึกษาพฤติกรรมการไหลของมิวซิเลจผงและศึกษาภาวะที่เหมาะสม ในการสกัดใยอาหารจากกากพุทรา

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์ เพื่อศึกษาพฤติกรรมการไหลของมิวซิเลจผงและศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดใยอาหารจากกากพุทราที่ผ่านการสกัดมิวซิเลจแล้ว จากการศึกษาพฤติกรรมการไหลของมิวซิเลจผง พบว่ามิวซิเลจมีพฤติกรรมการไหลแบบ pseudoplastic ซึ่งคล้ายกับ กัวร์กัมและพบว่าเมื่อสารละลายมิวซิเลจมีความเข้มข้นสูงขึ้นและค่า pH สูงขึ้น ส่งผลให้ค่าความหนืดมากขึ้นแต่เมื่อเพิ่ม อุณหภูมิส่งผลให้ค่าความหนืดของสารละลายมิวซิเลจลดลง สำหรับการศึกษาภาวะการใช้เอนไซม์เพกทิเนสในการสกัดใยอาหารจากกากพุทรา ในส่วนของการล้างกากพุทรา พบว่าภาวะที่เหมาะสมในการล้างกากพุทราคือล้างกากพุทราด้วยน้ำในอัตราส่วนกากพุทราต่อน้ำ 1:2 จำนวน 3 ครั้ง จากนั้นศึกษาภาวะการสกัดใยอาหารจากกากพุทรา พบว่าภาวการณ์สกัดใยอาหารที่เหมาะสมคือ การสกัดด้วยเอนไซม์ความเข้มข้น 2.0% (v/w) โดยสามารถแบ่งระดับการตัดพันธะไกลโคซิลของพอลิเมอร์ในกากพุทราด้วยเอนไซม์ที่ประเมินจากค่าของน้ำตาลรีดิวซ์ได้เป็น 5 ระดับคือ 1.01, 17.79, 19.29, 22.61 และ 23.98 mg glucose/ g fresh weight โดยใช้เวลาในการย่อยเท่ากับ 0, 0.5,1, 2 และ 4 ชม. ตามลำดับ และพบว่าระยะเวลาการย่อย 4 ชั่วโมง ส่งผลให้ได้ปริมาณใยอาหารละลายน้ำมากกว่าระดับอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) จากนั้นเติมเอนไซม์ลงไป ณ จุดที่ปฏิกิริยาการย่อยสลายเริ่มหยุดนิ่ง พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีค่าสูงขึ้นและเริ่มคงที่ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 6 ชม. จากการทดลองจะได้ใยอาหารผงที่มีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลของพอลิเมอร์ในกากพุทราที่ระยะเวลาการย่อยสลายต่างกัน 3 ระดับคือ ใยอาหารผงที่ย่อยด้วยเอนไซม์ความเข้มข้น 2.0 % (v/w) เป็นระยะเวลา 0, 4 และ 6 ชม.

บทนำ

เพกทิเนสเป็นเอนไซม์หลักที่ใช้ในอุตสาหกรรมการแปรรูปผักและผลไม้ ซึ่งเอนไซม์เพกทิเนสมักใช้ร่วมกับเอนไซม์เซลลูเลสและเฮมิเซลลูเลส เพื่อช่วยปรับปรุงประสิทธิภาพในการสกัดและเพิ่มผลผลิต เพื่อปรับปรุงคุณภาพผลิตภัณฑ์ หรือเพื่อลดส่วนกากทิ้ง โดยเอนไซม์จะช่วยย่อยพอลิแซกคาร์ไรด์ในวัตถุดิบหรือวัสดุที่ใช้ในการแปรรูปผักและผลไม้ (เปี่ยมสุข พงษ์สวัสดิ์, 2551; Alkorta และคณะ, 1998) สำหรับการใช้เอนไซม์เพกทิเนสในกระบวนการผลิตน้ำผลไม้นั้นจะช่วยเพิ่มปริมาณน้ำผลไม้ที่สกัดได้ รวมทั้งสารกลิ่นรส เนื่องจากการสกัดน้ำผลไม้โดยทั่วไปที่ใช้วิธีการบีบอัดทางกายภาพ จะเริ่มต้นด้วยการทำให้เนื้อเยื่อในผนังเซลล์ฉีกขาดและทำให้เล็กลง ผลผลิตจะขึ้นอยู่กับแรงอัดและลักษณะเนื้อผลไม้ ความอ่อนแก่ ความสด โดยถ้าเนื้อสัมผัสแข็ง ผลไม้อ่อน จะสกัดด้วยแรงกลได้ง่าย แต่ถ้าผลไม่นิ่มสุกงอม การบีบอัดจะให้น้ำน้อย ดังนั้นการใช้เอนไซม์จะช่วยให้ได้น้ำมากขึ้นโดยเอนไซม์จะทำหน้าที่ทำลายเนื้อเยื่อเซลล์ผลไม้ ทำให้โครงสร้างเซลล์อ่อนตัว เกิดการปลดปล่อยของเหลวและปล่อยองค์ประกอบสำคัญ เช่น รงควัตถุและสารให้กลิ่นรส นอกจากนั้นเอนไซม์เพกติเนสยังมีบทบาทต่อความใสของน้ำผลไม้ด้วย เนื่องจากกระบวนการผลิตผลไม้ใส มีขั้นตอนการแยกตะกอนแขวนลอยของเพกติน เซลลูโลส ออกไป โดยเซลล์แขวนลอยของคาร์โบไฮเดรตซึ่งเป็นได้ทั้งเพกทินและเซลลูโลสอาจรวมตัวกับโปรตีนจะแยกด้วยวิธีการกรองได้ยาก ดังนั้นการใช้เอนไซม์เพกทิเนสนั้นจะไปช่วยย่อยสลายสารเพกตินให้เปิดออก เพื่อให้โมเลกุลโปรตีนในคอลลอยด์และเพกตินมารวมกันเกิดเป็นโมเลกุลใหญ่ขึ้น ส่งผลให้ง่ายต่อการกรองและการปั่นเหวี่ยงแยกตะกอนออก ทำให้น้ำผลไม้ที่ได้มีความใสมากขึ้น (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2547) มีงานวิจัยที่ศึกษาการใช้เพกทิเนสในการแปรรูปผักและผลไม้ดังนี้

Sreenath, Sudarshanakrishna และ Santhanam (1994) ศึกษาการผลิตน้ำสับปะรดโดยใช้เอนไซม์เซลลูเลสและเพกทิเนส โดยใช้เอนไซม์ความเข้มข้น 0.025% ระยะเวลาการย่อยสลาย 30 นาที ที่อุณหภูมิ 27-30°C พบว่าปริมาณผลผลิตที่ได้หลังจากการใช้เอนไซม์สูงถึงร้อยละ 81-86 ซึ่งมากกว่าน้ำสับปะรดที่ไม่ใช้เอนไซม์ที่ได้ปริมาณผลผลิตร้อยละ 72%

Brasil, Maia และ Figueiredo (1995) ศึกษาการผลิตน้ำฝรั่งโดยใช้เอนไซม์เพกทิเนส พบว่าเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการย่อยสลายจะส่งผลให้ปริมาณผลผลิต และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเพิ่มขึ้น ส่วนค่าความหนืดและค่า pH จะลดลง โดยภาวะที่เหมาะสมในการผลิต คือใช้เอนไซม์ความเข้มข้น 600 ppm ที่อุณหภูมิ 45°C เป็นเวลา 120 นาที ส่งผลให้ได้ปริมาณผลผลิตของน้ำฝรั่งที่ได้สูงถึงร้อยละ 84.70

Alvarez และคณะ (1998) ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำแอปเปิลโดยใช้เอนไซม์เพกทิเนสความเข้มข้น 0-400 ppm ระยะเวลาการย่อยสลายนาน 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 55°C พบว่า

น้ำแอปเปิลที่ได้มีความขุ่น ความหนืด และปริมาณสารเพกตินลดลง อีกทั้งยังช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการกรองด้วย

Bhattacharya และ Rastogi (1998) ศึกษาผลของผลของความเข้มข้นของเอนไซม์ เพกทิเนส ระยะเวลาในการย่อยสลาย และอุณหภูมิ ต่อค่าลักษณะการไหลของเนื้อมะม่วง พบว่า ความเข้มข้นของเอนไซม์ อุณหภูมิและระยะเวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา มีผลต่อพฤติกรรม การไหลของเนื้อมะม่วง โดยเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาในการย่อยสลาย ส่งผลให้ลักษณะการไหลแบบ Pseudoplastic ลดลง และมีลักษณะการไหลใกล้เคียงกับ Newtonian มากขึ้น

Rastogi และ Rashmi (1999) ศึกษาผลของความเข้มข้นของเอนไซม์เพกทิเนสและระยะเวลาในการย่อยสลายต่อลักษณะของน้ำมะม่วง พบว่าภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำมะม่วง คือ การใช้เอนไซม์เพกทิเนสความเข้มข้น 0.14% (v/w) ระยะเวลาในการย่อยสลาย 46.67 นาที ที่อุณหภูมิ 42°C ส่งผลช่วยเพิ่มประมาณผลผลิตของน้ำมะม่วงมากกว่าร้อยละ 64 โดยน้ำมะม่วงที่ได้มีความใสเพิ่มขึ้นมากกว่าร้อยละ 71 ปริมาณแอลกอฮอล์ที่ไม่ละลายน้ำลดลงน้อยกว่าร้อยละ 2 และความหนืดของน้ำมะม่วงลดลงน้อยกว่า 1850 cP

Landbo และ Meyer (2001) ศึกษาการใช้กลุ่มของเอนไซม์ในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากกากแบ็คเคอเรนท์ที่เหลือจากการผลิตเป็นน้ำผลไม้ พบว่าในทุกๆเอนไซม์นั้นสามารถย่อยสะลายผนังเซลล์พืชได้ และพบว่าการใช้เอนไซม์Grindamyl pectinase จะส่งผลให้ได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุด

Al-Hooti และคณะ (2002) ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไซรัปจากผลอินทผลัม โดยใช้เอนไซม์เพกทิเนสและเซลลูเลส 0.5 1.0 และ 2.0% (v/w) ย่อยสลายนาน 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 40°C พบว่าไซรัปที่ได้จากการใช้เอนไซม์มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดสูงถึงร้อยละ 68 ซึ่งมากกว่าไซรัปที่ไม่ใช้เอนไซม์ที่มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดร้อยละ 35 นอกจากนั้นการใช้เอนไซม์ยังช่วยคงลักษณะสีและกลิ่นรสธรรมชาติของอินทผลัมไว้ได้

Barros, Mendes และ Peres (2004) ศึกษาการใช้เอนไซม์ในกลุ่มเพกทิเนสในการผลิตน้ำเชอร์รี่และน้ำสับปะรด พบว่าภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำเชอร์รี่และน้ำสับปะรดคือ การใช้เอนไซม์ความเข้มข้น 20 mg/L ระยะเวลาการย่อยสลายนาน 60 นาที ที่อุณหภูมิ 40°C ส่งผลให้น้ำเชอร์รี่และน้ำสับปะรดมีความหนืด ความขุ่น และปริมาณสารเพกตินลดลง และช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการกรอง

Rai และคณะ (2004) ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำส้มเข้งโดยเอนไซม์เพกทิเนส พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์และอุณหภูมิ ส่งผลให้น้ำส้มเข้งมีความหนืดและปริมาณของแข็งที่ไม่ละลายในแอลกอฮอล์ลดลง และน้ำส้มเข้งมีความใสเพิ่มขึ้น โดยภาวะที่เหมาะสมใน

การผลิตน้ำส้มเข้งคือ การใช้เอนไซม์เพกทิเนสความเข้มข้น 0.0004% (v/w) ระยะเวลาในการย่อยสลาย 99.27 นาที ที่อุณหภูมิ 41.89 °C

Çinar (2005) ศึกษาผลของความเข้มข้นของเอนไซม์เซลลูเลสและเอนไซม์เพกทิเนส รวมทั้งระยะเวลาการสกัดแคโรทีนอยด์จากเปลือกส้ม มันเทศ และแครอท พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์จะช่วยลดระยะเวลาในการสกัดแคโรทีนอยด์จากเปลือกส้ม มันเทศ และ แครอทได้ ซึ่งการเพิ่มระยะเวลาในการสกัดแคโรทีนอยด์จากแครอทนั้นจะส่งผลให้ได้ปริมาณ แคโรทีนอยด์มากกว่าการเพิ่มปริมาณความเข้มข้นของเอนไซม์

Lee และคณะ (2006) ศึกษาผลของความเข้มข้นของเอนไซม์เพกทิเนส ระยะเวลาในการย่อยสลาย และอุณหภูมิ ต่อลักษณะน้ำกล้วย พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาในการย่อยสลาย ส่งผลให้น้ำกล้วยที่ได้สามารถกรองได้ง่ายขึ้น และมีความใสมากขึ้น โดยที่ความหนืดและขุ่นของน้ำกล้วยจะมีค่าลดลง ซึ่งภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำกล้วย คือการใช้เอนไซม์เพกทิเนสความเข้มข้น 0.084% (v/w) ระยะเวลาในการย่อยสลาย 80 นาที ที่อุณหภูมิ 43.2°C

Sun และคณะ (2006) ศึกษาภาวะการใช้เอนไซม์เพกติเนสในการผลิตน้ำแครอท พบว่าภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำแครรอทคือ การใช้เอนไซม์เพกทิเนสความเข้มข้น 100 ml/t เป็นระยะเวลาการย่อยสลายนาน 80 นาที ที่อุณหภูมิ 45°C pH 4.8 ส่งผลให้ได้ปริมาณผลผลิตของ น้ำแครอทมากกว่าร้อยละ 63.5 มีปริมาณเบตาแคโรทีนมากกว่าร้อยละ 63.479 และมีความหนืดน้อยกว่า 2.128 cP

Sakamoto และคณะ (2006) ศึกษาการใช้เอนไซม์ 18 ชนิด สกัดใยอาหารจาก burdock roots และ bamboo shoots พบว่าเอนไซม์ Cellulosin ME ทำให้ใยอาหารที่ได้มีเนื้อสัมผัสอ่อนนุ่มขึ้นมากที่สุด ตามด้วย Pectinase โดยใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ Cellulosin ME ในช่วงความเข้มข้น 0.02-1.0% ระยะเวลาการทำปฏิกิริยา 20 นาที พบว่าความแข็งของใยอาหารจาก burdock roots และ bamboo shoots ลดลงอย่างรวดเร็ว และจากการใช้เอนไซม์ Cellulosin ME ในการสกัดใยอาหาร burdock roots พบว่าช่วยเพิ่มใยอาหารละลายได้จากร้อยละ 0.9 เป็น ร้อยละ 1.4

Abdullah และคณะ (2007) ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการใช้เอนไซม์เพกทิเนสผลิตน้ำมะเฟือง พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาในการย่อยสลาย ส่งผลให้น้ำมะเฟืองมีความขุ่นลดลง มีความใสเพิ่มขึ้น และมีความหนืดลดลง โดยภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำมะเฟืองคือ การใช้เอนไซม์เพกทิเนสความเข้มข้น 0.10% (v/w) ที่อุณหภูมิ 30°C เป็นระยะเวลา 20 นาที

Choudhari และ Ananthanarayan (2007) ศึกษาผลของความเข้มข้นของเอนไซม์เซลลูเลสและเอนไซม์เพกติเนส รวมทั้งระยะเวลาการสกัดไลโคพีนจากมะเขือเทศ พบว่าภาวะที่เหมาะสมในการสกัดไลโคพีนจากมะเขือเทศคือ การใช้เอนไซม์เซลลูเลสเข้มข้น 6.0% (w/w) และเอนไซม์เพกทิ

เนสเข้มข้น 0.5% (w/w) ส่งผลให้ได้ปริมาณไลโคพีนเพิ่มขึ้นสูงสุด 96.33 µg/g และ 90.6 µg/g ตามลำดับ และพบว่าระยะเวลาในการย่อยสลายส่งผลให้ปริมาณไลโคพีนที่สกัดได้มีค่าต่างกัน โดยระยะเวลาที่ให้ปริมาณไลโคพีนเพิ่มขึ้นสูงสุด สำหรับเอนไซม์เซลลูเลสและเอนไซม์เพกทิเนสคือระยะเวลาย่อยสลายนาน 15 นาที และ 20 นาที ตามลำดับ

วิธีการทดลอง

1. วิเคราะห์พฤติกรรมการไหล

เตรียมสารละลายมิวซิเลจเข้มข้น 5%, 7% และ 9% โดยละลายมิวซิเลจผงในน้ำกลั่น เก็บสารละลายไว้ที่อุณหภูมิ 4 ^{0} C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง เพื่อให้สารละลายมิวซิเลจเกิดการ hydration อย่างสมบูรณ์ นำมาศึกษาพฤติกรรมการไหล เปรียบเทียบกับกัวกัม (ความเข้มข้น 0.5%, 1% และ 2% โดยละลายกัวกัมในน้ำกลั่น เก็บสารละลายไว้ที่อุณหภูมิ 4 ^{0} C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง) และแซนแทนกัม (ความเข้มข้น 0.5%, 1% และ 2% โดยละลายแซนแทนกัมในน้ำกลั่น เก็บสารละลายไว้ที่อุณหภูมิ 4^{0}C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง) ด้วยเครื่อง Rheometer โดยใช้ภาวะที่ดัดแปลงจากภาวะของ Medina-Torres และคณะ (2000) รวมทั้งศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นความเป็นกรดด่าง (pH 3 – pH 11 โดยปรับสารละลายให้มีความเป็นกรดด้วย 0.1 M และ 1 M acetic acid และปรับสารละลายให้มีความเป็นด่างด้วย 0.1 M และ 1 M NaOH) และอุณหภูมิ (25^{0}C - 75^{0}C) ต่อค่าความหนืดของสารละลาย

2. ศึกษาภาวะการใช้เอนไซม์เพกทิเนส (Pectinex Ultra SP-L®, 10292 PGU/ml) ในการสกัดใยอาหารจากกากพุทรา

ผลิตใยอาหารจากกากพุทราที่ผ่านการสกัดมิวซิเลจแล้ว ด้วยเอนไซม์เพกทิเนสทางการค้า คือ Pectinex® Ultra SP-L (10292 PGU/ml) ขั้นตอนแรกหาภาวะการล้างกากพุทราเพื่อให้ได้กากพุทราที่บริสุทธิ์ โดยแปรจำนวนครั้งในการล้างกากพุทราออกเป็น 5 ระดับคือ 0, 1, 2, 3 และ 4 ครั้ง ล้างกากพุทราด้วยน้ำในอัตราส่วนกากพุทราต่อน้ำ 1:2 วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ตามวิธีของ Nelson (1944) วัดค่า pH วิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดซิตริกตามวิธีของ AOAC (1995) และวิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ด้วย Hand Refractometer ในหน่วย °Brix ทดลอง 3 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ CRD วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% หลังจากนั้นนำกากพุทราที่ได้มาเติมน้ำในอัตราส่วนกากพุทราต่อน้ำ 1:2 ทำปฏิกิริยาในขวดแก้วสีชาขนาด 500 มิลลิลิตร แบบ batch ที่อุณหภูมิ 32±2°C กวนผสมด้วยความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที แปรความเข้มข้นของเอนไซม์เป็น 7 ระดับคือ 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0,

2.5 และ 3.0% (v/w) และแปรระยะเวลาการทำปฏิกิริยาเป็น 9 ระดับคือ 0, 0.5, 1, 1.5 2, 3, 4, 5 และ 6 ชั่วโมง หยุดปฏิกิริยาเอนไซม์โดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100±5°C เป็นเวลานาน 5 นาที จากนั้นทำให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่อง Hand homogenizer ที่ความเร็ว 16000 รอบต่อนาที นาน 3 นาที วิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (TSS) ด้วย Hand Refractometer ในหน่วย °Brix วัดค่า pH ด้วยเครื่อง pH meter และวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar; RS) ตามวิธีของ Nelson (1944) ที่ทุกภาวะการทดลอง ซึ่งภาวะที่เลือกจะพิจารณาจากระดับการตัดพันธะไกลโคซิลของพอลิเมอร์กากพุทรา โดยประเมินจากค่าของน้ำตาลรีดิวซ์เป็นหลัก ทดลอง 3 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ 7x9 Factorial ในแผนการทดลอง CRD วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

นำภาวะที่เลือกได้มาศึกษาอัตราการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ โดยการเติมเอนไซม์เพิ่มลงไป ณ จุดที่ปฏิกิริยาการย่อยสลายเริ่มหยุดนิ่ง โดยแปรระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา เป็น 8 ระดับคือ 0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 7.0, 8.0 และ 9.0 ชั่วโมง เมื่อได้ภาวะอัตราการย่อยสลายเริ่มคงที่ก็เติมเอนไซม์ลงไปอีกเช่นเดิม โดยแปรระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาต่อไป ซึ่งจะทำเช่นเดียวกันนี้จนกว่าจะพบว่าปฏิกิริยาเริ่มหยุดนิ่งไม่มีการย่อยสลายเกิดขึ้นแม้ว่าจะเติมเอนไซม์ลงไปหรือเพิ่มระยะเวลาการย่อยสลายก็ตาม วิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (TSS) ด้วย Hand Refractometer ในหน่วย °Brix วัดค่า pH ด้วยเครื่อง pH meter และวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar; RS) ตามวิธีของ Nelson (1944) โดยพิจารณาภาวะที่เหมาะสมจากระดับการย่อยสลายที่ประเมินจากค่าของน้ำตาลรีดิวซ์เป็นหลัก ทดลอง 3 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ CRD วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% หลังจากวิเคราะห์ทางสถิติซึ่งประเมินจากค่าของน้ำตาลรีดิวซ์จะได้ตัวแทนภาวะการสกัดที่เหมาะสม นำภาวะที่เลือกได้มาวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารละลายน้ำและใยอาหารไม่ละลายน้ำ ตามวิธีของ AOAC (1995) เพื่อเลือกภาวะการสกัดใยอาหารที่เหมาะสมที่ให้ใยอาหารละลายน้ำสูงสุด

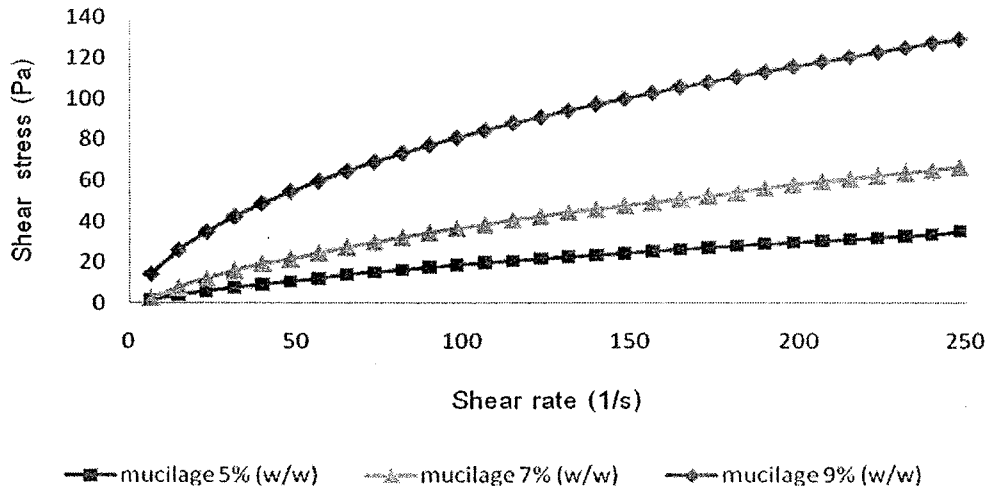
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ศึกษาพฤติกรรมการไหล

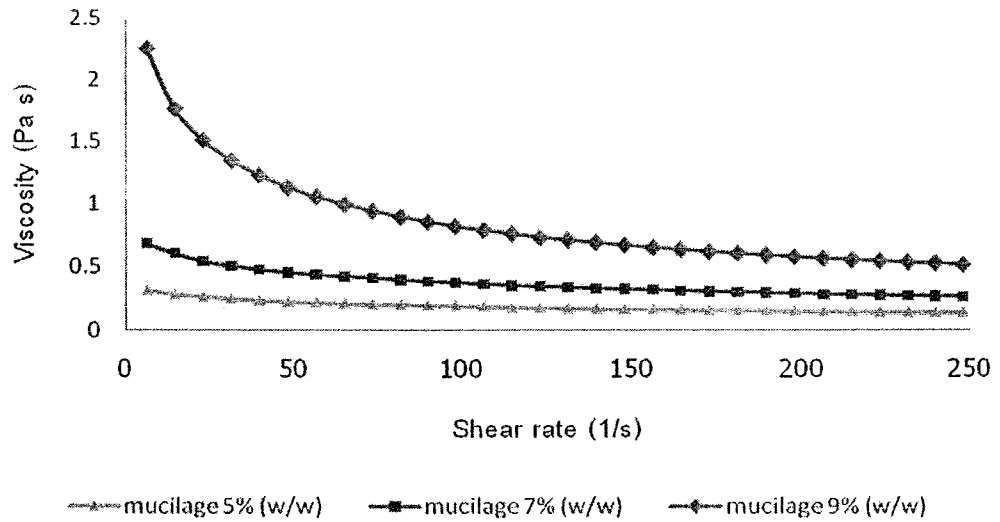
1.1 อิทธิพลของความเข้มข้น (Concentration effect)

เนื่องจากมีรายงานว่า สารละลายมิวซิลจมีความหนืดแตกต่างจากสารละลายแซนแทนกัม ดังรายงานของ Medina-Torres และคณะ (2000) ที่พบว่าสารละลายมิวซิเลจจาก *Opuntia ficus indica* ความเข้มข้น 3% มีความหนืดใกล้เคียงกับสารละลายแซนแทนกัม 10% แต่เนื่องจากมิวซิเลจที่ได้จากพืชต่างชนิดกันจะมีองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกัน อีกทั้งยังมีสมบัติเชิงหน้าที่แตกต่างกันดังที่ศึกษามาข้างต้น ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้ดัดแปรสภาวะการทดลองให้เหมาะสม เพื่อศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นต่อความหนืดของสารละลายมิวซิเลจ เปรียบเทียบกับกัมทางการค้า คือ กัวร์กัมและแซนแทนกัม โดยจะแปรความเข้มข้นของสารละลายมิวซิเลจ สารละลายกัวร์กัมและสารละลายแซนแทนกัมในความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ดังนี้คือ สารละลายมิวซิเลจความเข้มข้น 5%, 7% และ 9% (w/w) สารละลายกัวร์กัมความเข้มข้น 0.5%, 1% และ 2% (w/w) และสารละลายแซนแทนกัมความเข้มข้น 0.5%, 1% และ 2% (w/w) จากการศึกษาพฤติกรรมการไหลของสารละลายมิวซิเลจโดยใช้ Power law model (Ostwald-de-Waele) ทำนายพฤติกรรมการไหล แสดงผลในค่าของ consistency coefficient (K) และ flow behavior index (n) พบว่าสารละลายมิวซิเลจความเข้มข้น 5%, 7% และ 9% (w/w) มีพฤติกรรมการไหลแบบ Pseudoplastic หรือ Shear thinning ดังแสดงในรูปที่ 6.1 โดยเมื่ออัตราเฉือนเพิ่มขึ้นจะส่งผลให้ shear stress เพิ่มขึ้นและสารละลายมิวซิเลจจะมีค่าความหนืดลดลง ทั้งนี้เนื่องจากมิวซิเลจเป็นพอลิเมอร์ที่มีสายโมเลกุลยาวพันกันและกักเก็บน้ำไว้ในโมเลกุลของมัน เมื่อให้แรงน้อยๆพอลิเมอร์เหล่านี้จะมีการเรียงตัวใหม่ในทิศทางเดียวกับแรงที่ให้เข้าไปและจะเกิดการไหลถ้าให้แรงมากๆ การไหลจะมากขึ้นซึ่งความหนืดจะลดลงตามไปด้วย (Marcotte และคณะ, 2001) ซึ่งในอัตราเฉือนเดียวกันค่า shear stress และค่าความหนืดของสารละลายมิวซิเลจที่ความเข้มข้นสูงจะมีค่ามากกว่าสารละลายมิวซิเลจที่มีความเข้มข้นต่ำกว่า ซึ่งจากการใช้ Power law model จะได้ค่า consistency coefficient (K) ซึ่งมีความสัมพันธ์กับความหนืดของของเหลวและ flow behavior index (n) เป็นค่าที่บ่งบอกลักษณะการไหลของของเหลว ดังตารางที่ 6.1 ซึ่งใช้โปรแกรมสำเร็จรูปในการคำนวณค่า โดยค่า consistency coefficient (K) มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อสารละลาย มิวซิเลจมีความเข้มข้นสูงขึ้น อีกทั้งค่า flow behavior index (n) มีค่าน้อยกว่า 1 และจะมีค่าลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารละลายมิวซิเลจสูงมากขึ้น โดยสารละลายมิวซิเลจจะมีพฤติกรรมการไหลคล้ายกับสารละลายกัวร์กัมคือ มีพฤติกรรมการไหลแบบ Pseudoplastic ซึ่งใช้ Power law model (Ostwald-de-Waele) ทำนายพฤติกรรมการไหลเช่นเดียวกัน ดังรูปที่ 6.2 ศศิธร เรืองจักรเพชร และ ปราณี อ่านเปรื่อง (2002b) พบว่ามิวซิเลจจากเมล็ดแมงลักมีพฤติกรรม

การไหลแบบ Pseudoplastic นอกจากนั้น Medina-Torres และคณะ (2000) รายงานว่ามิวซิเลจที่สกัดได้จาก *Opuntia ficus indica* มีพฤติกรรมการไหลแบบ Pseudoplastic เช่นเดียวกันและพบว่าค่าความหนืดของสารละลายมิวซิเลจมีค่าสูงขึ้นตามความเข้มข้นของสารละลายที่เพิ่มขึ้น



(a)



(b)

รูปที่ 6.1 Rheograms ของสารละลายมิวซิเลจที่ความเข้มข้นต่างๆ (a) ความสัมพันธ์ระหว่าง shear stress และ shear rate (b) ความสัมพันธ์ระหว่าง viscosity และ shear rate

ตารางที่ 6.1 ค่า consistency coefficient (K) และ flow behavior index (n) ของสารละลายมิวซิเลจ และสารละลายกัวร์กัมที่ความเข้มข้นต่างๆ

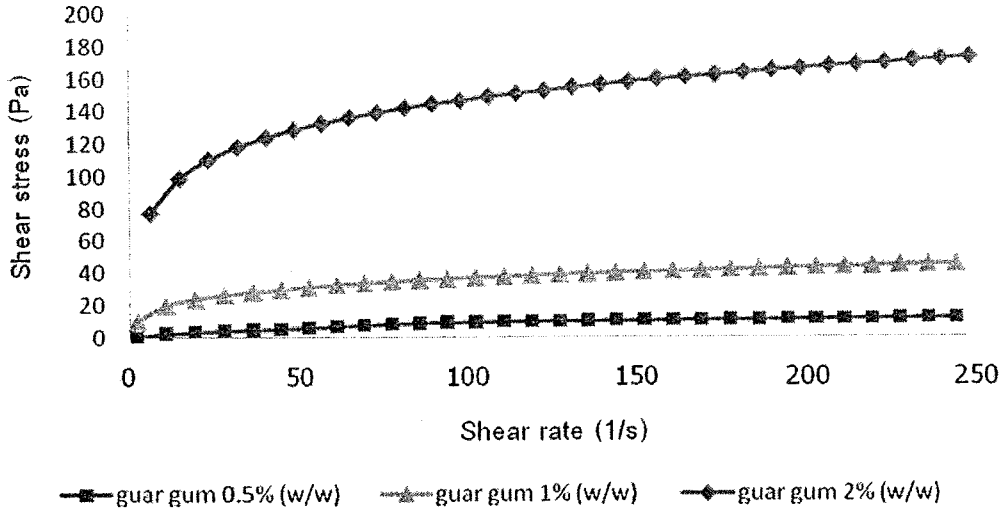
Concentration (w/w)		K (Pa s^n)	n
Mucilage	5%	0.783±0.02	0.689±0.02
	7%	1.746±0.04	0.645±0.06
	9%	6.873±0.03	0.543±0.05
Guar gum	0.5%	1.128±0.02	0.435±0.06
	1%	10.894±0.06	0.261±0.08
	2%	58.258±0.02	0.199±0.03

ตัวเลขในตารางคือค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

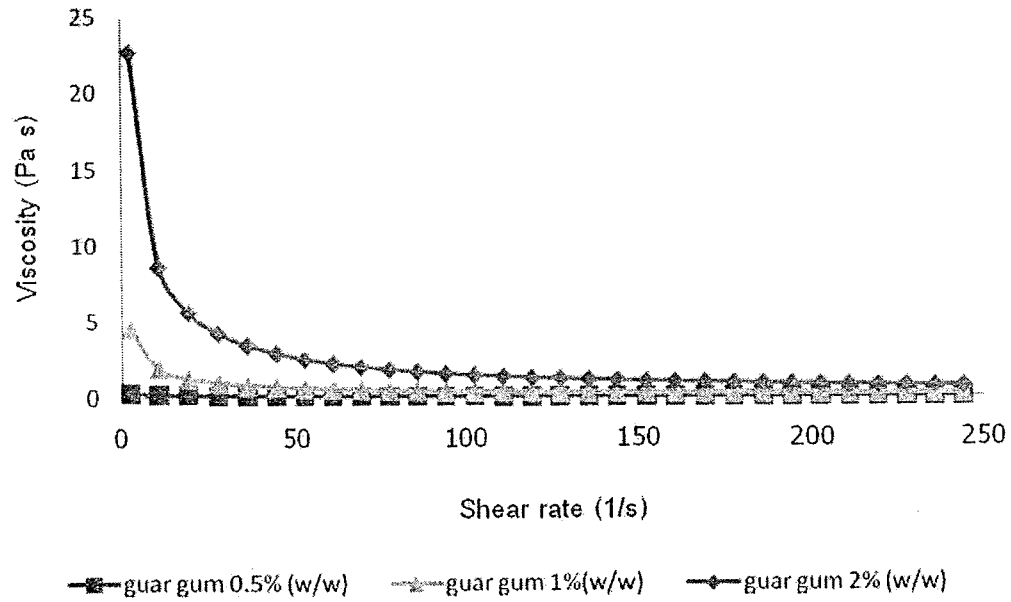
ตารางที่ 6.2 ค่า yield stress (τ_0), consistency coefficient (K) และ flow behavior index (n) ของสารละลายแซนแทนกัมที่ความเข้มข้นต่างๆ

Concentration (w/w)		τ_0 (Pa)	K (Pa s^n)	n
Xanthan gum	0.5%	0.019±0.04	1.588±0.04	0.283±0.01
	1%	0.337±0.01	3.296±0.01	0.310±0.07
	2%	0.399±0.04	7.155±0.03	0.289±0.05

ตัวเลขในตารางคือค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน



(a)

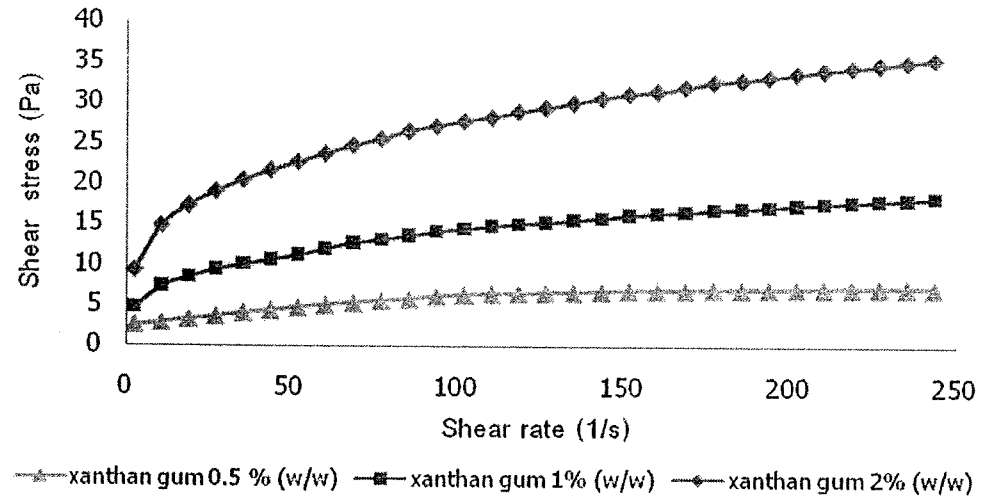


(b)

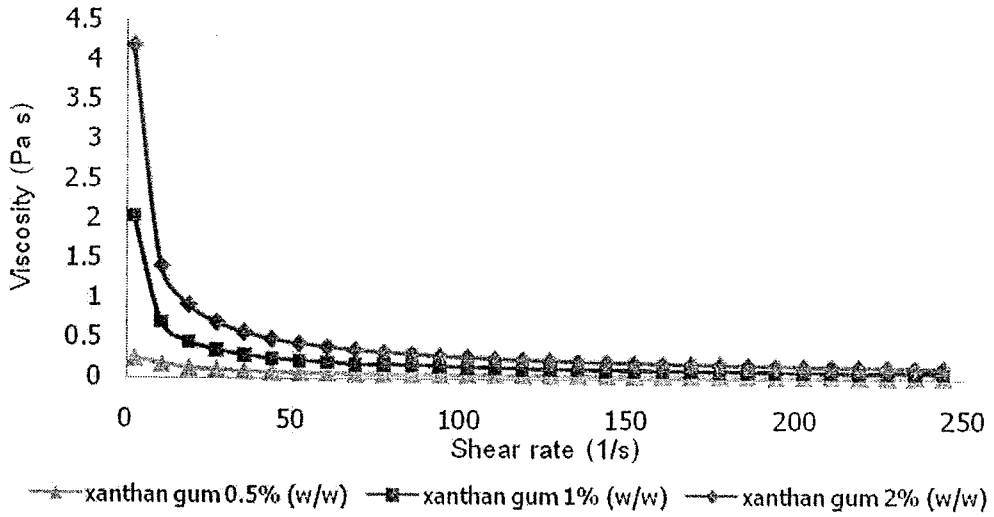
รูปที่ 6.2 Rheograms ของสารละลายก้วกัมที่ความเข้มข้นต่างๆ (a) ความสัมพันธ์ระหว่าง shear stress และ shear rate (b) ความสัมพันธ์ระหว่าง viscosity และ shear rate

สำหรับสารละลายแซนแทนกัมเมื่อใช้ Herschel-Bulkley model ทำนายพฤติกรรมการไหล แสดงผลในค่าของ yield stress (τ_0), consistency coefficient (K) และ flow behavior index (n) พบว่าสารละลายแซนแทนกัมความเข้มข้น 0.5%, 1% และ 2% มีพฤติกรรมการไหลแบบ

Pseudoplastic with yield stress ดังรูปที่ 6.3 โดย ค่า yield stress (τ_0) คือ แรงที่น้อยที่สุดที่ทำให้ของเหลวเริ่มไหลได้ และพบว่าเมื่อสารละลายมีความเข้มข้นสูงขึ้นจะส่งผลให้ค่า yield stress (τ_0) สูงขึ้นด้วยเช่นกัน ดังตารางที่ 6.2



(a)

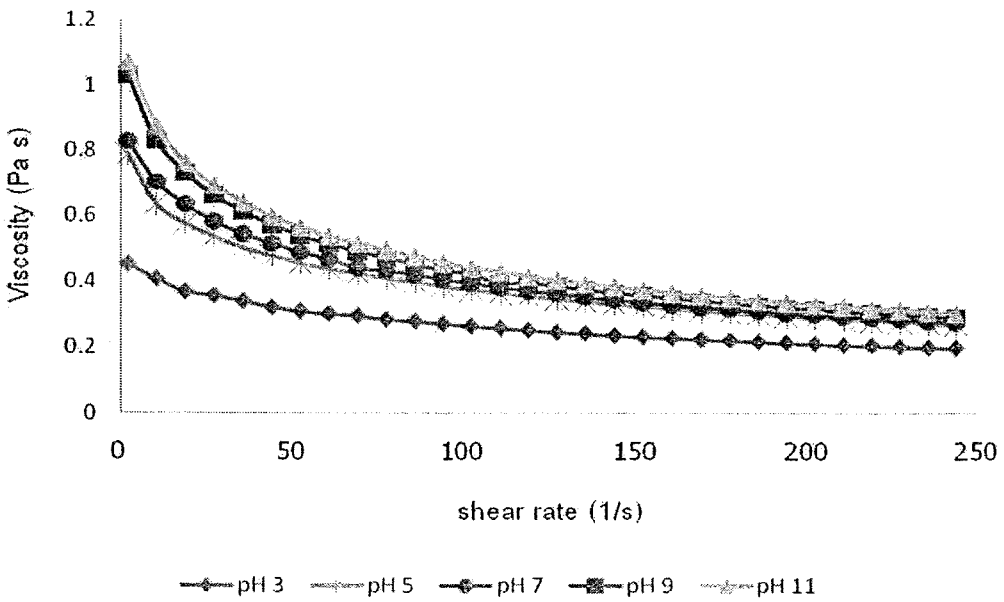


(b)

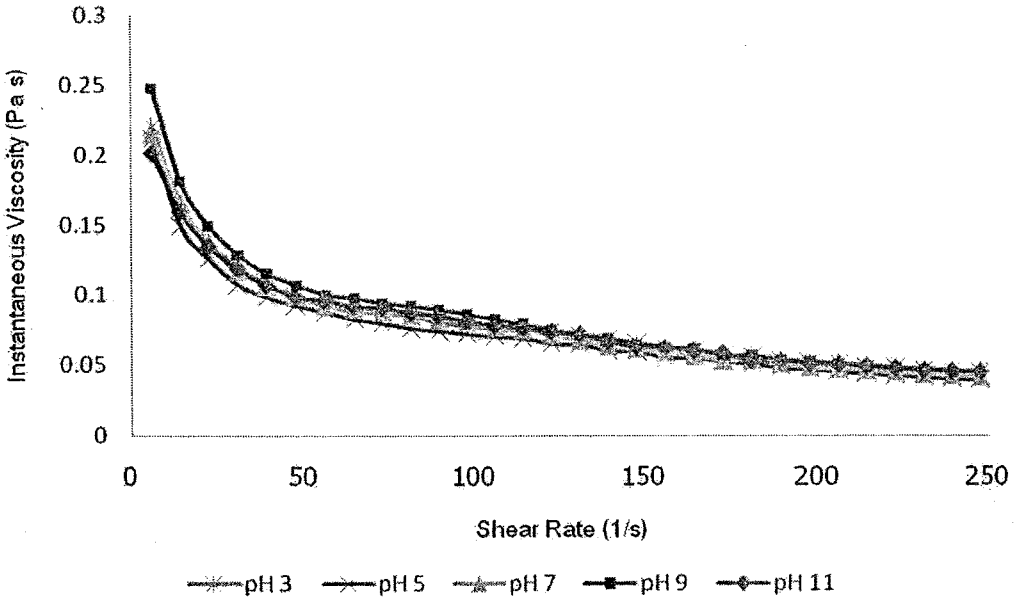
รูปที่ 6.3 Rheograms ของสารละลายแซนแทนกัมที่ความเข้มข้นต่างๆ (a) ความสัมพันธ์ระหว่าง shear stress และ shear rate (b) ความสัมพันธ์ระหว่าง viscosity และ shear rate

2.2 อิทธิพลของความเป็นกรดด่าง (Effect of pH)

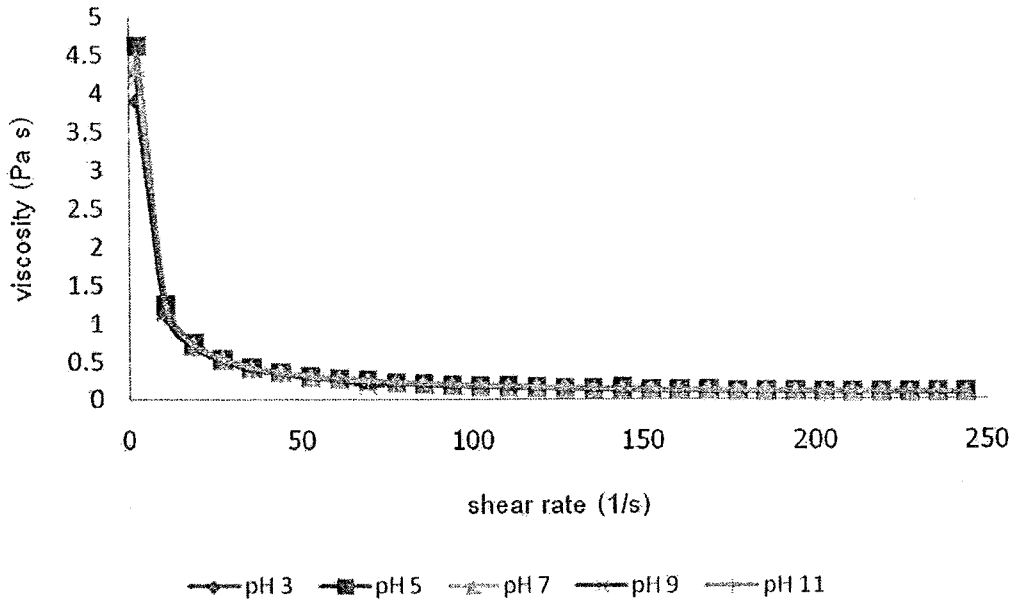
จากการศึกษาค่าความหนืดของสารละลายมิวซิเลจในภาวะค่าความเป็นกรดด่างต่างกัน (pH 3 – pH 11) เปรียบเทียบกับสารละลายกัวร์กัมและแซนแทนกัม ซึ่งศึกษาอิทธิพลของความเป็นกรดด่างของสารละลายมิวซิเลจความเข้มข้น 7% (w/w) เปรียบเทียบกับกัวร์กัมและแซนแทนกัมความเข้มข้น 0.5% (w/w) โดยวัดที่อัตราเฉือนในช่วง 0.1-250 s^{-1} ที่อุณหภูมิ 25^{0}C ภายในเวลา 180 วินาที พบว่าเมื่อค่าความเป็นกรดด่างเพิ่มขึ้นส่งผลให้สารละลายมิวซิเลจมีความหนืดสูงขึ้น โดยในภาวะการเป็นกรดสูง (pH 3) สารละลายมิวซิเลจจะมีค่าความหนืดต่ำที่สุด ดังรูปที่ 4 แสดงให้เห็นว่าสารละลายมิวซิเลจไม่เหมาะสมกับภาวะความเป็นกรดสูง เนื่องจากเมื่ออยู่ในภาวะกรดสูง กรดจะไปไฮโดรไลซ์โครงสร้างที่เป็นพอลิเมอร์ของมิวซิเลจทำให้พอลิเมอร์มีสายสั้นลง มีแรงต้านทานการไหลได้น้อยลงจึงทำให้สารละลายมิวซิเลจมีความหนืดลดลง และจากการศึกษาค่าความหนืดของสารละลายกัวร์กัมและแซนแทนกัม พบว่าเมื่อค่าความเป็นกรดด่างเพิ่มขึ้นจะไม่ส่งผลต่อความหนืดของสารละลายกัวร์กัมและแซนแทนกัมมากนัก ดังรูปที่ 6.5 และรูปที่ 6.6 เนื่องจากกัวร์กัมและแซนแทนกัมทนต่อภาวะการเป็นกรดสูงได้ดี ดังนั้นในภาวะการเป็นกรดสูงจึงพบว่ากัวร์กัมและแซนแทนกัมนั้นมีค่าความหนืดไม่แตกต่างจากภาวะการเป็นด่าง (Wang, Ellis และ Ross-Murphy, 2000; Nussinovitch, 1997) Medina-Torres และคณะ (2000) รายงานว่าค่าความหนืดของสารละลายมิวซิเลจจาก *Opuntia ficus indica* มีค่าสูงขึ้นตามค่า pH ของสารละลายที่เพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับการศึกษาของ Chen และ Chen (2001) ที่พบว่าเมื่อสารละลายมิวซิเลจจาก green laver มีค่า pH สูงขึ้นส่งผลให้ค่าความหนืดของสารละลายเพิ่มขึ้น



รูปที่ 6.4 ความสัมพันธ์ระหว่าง viscosity และ shear rate ของสารละลายมิวซิเลจที่ pH ต่างๆ



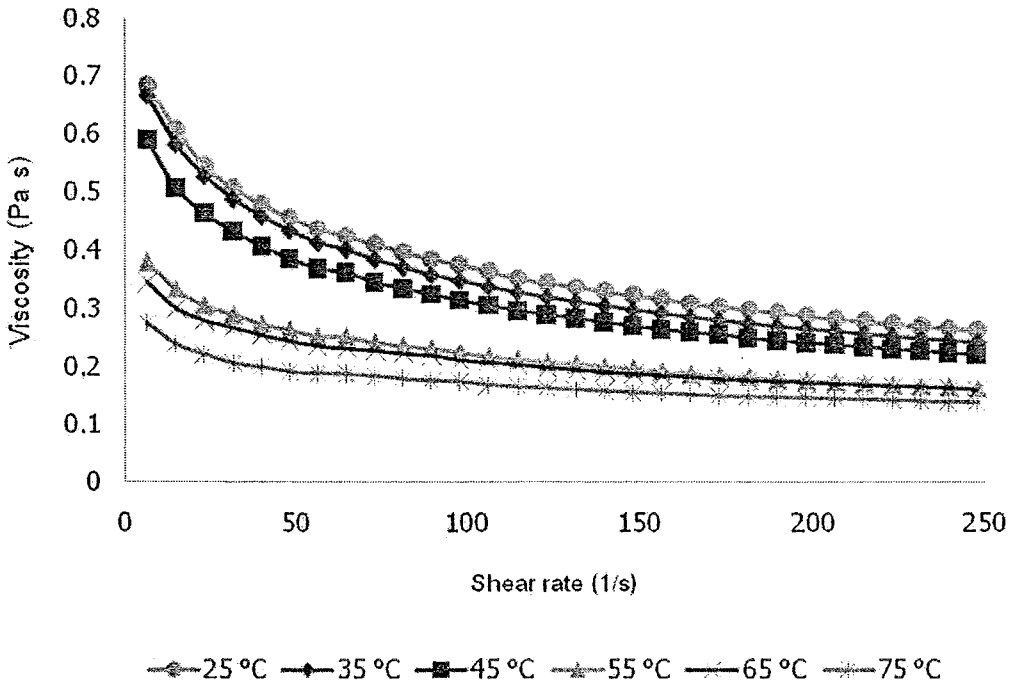
รูปที่ 6.5 ความสัมพันธ์ระหว่าง viscosity และ shear rate ของสารละลายกัวร์กัมที่ pH ต่างๆ



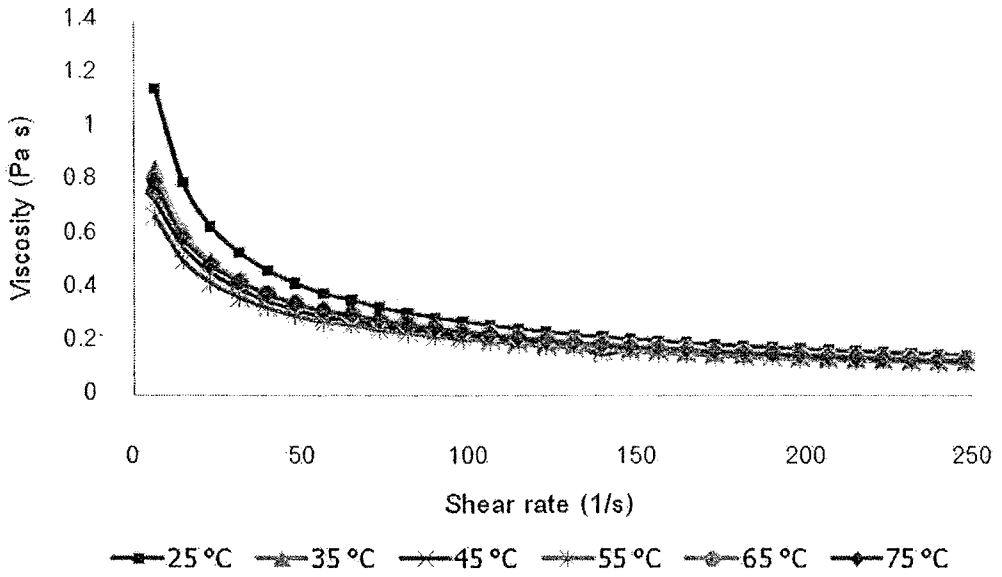
รูปที่ 6.6 ความสัมพันธ์ระหว่าง viscosity และ shear rate ของสารละลายแซนแทนกัมที่ pH ต่างๆ

2.3 **อิทธิพลของอุณหภูมิ** (Temperature effect)

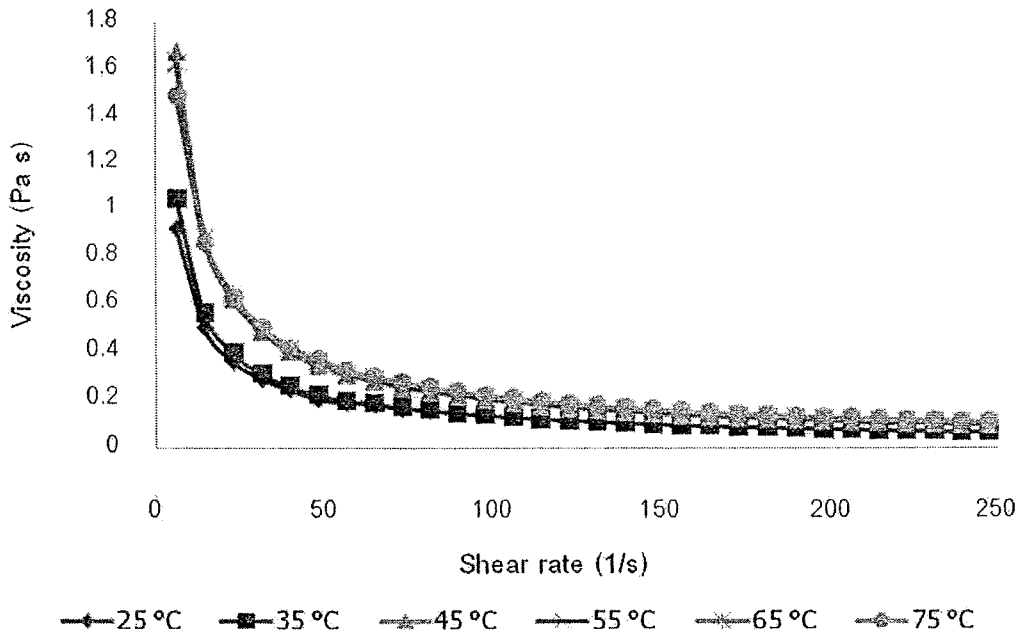
เมื่อศึกษาการเพิ่มอุณหภูมิในช่วงอุณหภูมิ 25^{0}C ถึง 75^{0}C ต่อค่าความหนืดของสารละลายมิวซิเลจความเข้มข้น 7% (w/w) เปรียบเทียบกับกัวร์กัมและแซนแทนกัมความเข้มข้น 0.5% (w/w) โดยวัดที่อัตราเฉือนในช่วง 0.1-250 s^{-1} ภายในเวลา 180 วินาที พบว่าความหนืดของสารละลายมิวซิเลจมีค่าลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ดังรูปที่ 6.7 Medina-Torres และคณะ (2000) รายงานว่าค่าความหนืดของสารละลายมิวซิเลจจาก *Opuntia ficus indica* มีค่าลดลงเมื่ออุณหภูมิของสารละลายเพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับรายงานของ Chen และ Chen (2001) ที่พบว่าเมื่ออุณหภูมิของสารละลายมิวซิเลจจาก green laver เพิ่มขึ้นส่งผลให้ค่าความหนืดของสารละลายลดลงเช่นกัน ทั้งนี้เนื่องจากเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นจะส่งผลให้สารพอลิเมอร์มีโครงสร้างเป็น random coil ทำให้การจับเกาะกันลดลง (inter molecular interaction) เป็นผลให้ความหนืดของสารละลายลดลง สำหรับสารละลายกัวร์กัมและแซนแทนกัมการเพิ่มอุณหภูมิไม่ส่งผลต่อความหนืดมากนัก เนื่องจากกัวร์กัมและแซนแทนกัมมีความเสถียรต่ออุณหภูมิสูงได้ดี (Nussinovitch, 1997) ดังรูปที่ 6.8 และ 6.9



รูปที่ 6.7 ความสัมพันธ์ระหว่าง viscosity และ shear rate ของสารละลายมิวซิเลจที่อุณหภูมิต่างๆ



รูปที่ 6.8 ความสัมพันธ์ระหว่าง viscosity และ shear rate ของสารละลายกัวร์กัมที่อุณหภูมิต่างๆ



รูปที่ 6.9 ความสัมพันธ์ระหว่าง viscosity และ shear rate ของสารละลายแซนแทนกัมที่อุณหภูมิต่างๆ

จากพฤติกรรมการไหลที่ศึกษามาพบว่ามิวซิเลจมีพฤติกรรมการไหลแบบ Psuedoplastic และพบว่าค่าความเป็นกรดด่างและอุณหภูมิมีผลต่อค่าความหนืดของสารละลายมิวซิเลจ โดยเมื่ออุณหภูมิสูงจะส่งผลให้ความหนืดของสารละลายมิวซิเลจลดลง และเมื่อสารละลายมิวซิเลจอยู่ในภาวะกรดสูงจะส่งผลให้ค่าความหนืดลดลง ดังนั้นเมื่อจะนำมิวซิเลจไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร สามารถนำมิวซิเลจไปใช้ได้กับผลิตภัณฑ์อาหารที่มีค่าความเป็นกรดไม่สูงมากนัก นอกจากนั้นต้องควบคุมอุณหภูมิให้เหมาะสมกับการใช้งานมิวซิเลจ

2. ศึกษาภาวะการใช้เอนไซม์เพกทิเนส (Pectinex Ultra SP-L®, 10292 PGU/ml) ในการสกัดใยอาหารจากกากพุทรา

เนื่องจากกากพุทราที่ได้จากการสกัดมิวซิเลจแล้วมีองค์ประกอบของเพกทินที่ไม่ละลายในปริมาณสูง อีกทั้งยังประกอบด้วยเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ดังนั้นจึงใช้เอนไซม์ Pectinex® Ultra SP-L ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ประกอบด้วยเอนไซม์หลายชนิด ได้แก่ พอลิกาแลกทูโรเนส เพกทินไลเอส เพกทินเอสเทอเรส เฮมิเซลลูเลส เซลลูเลส โปรติเอส และอะไมเลส ในการสกัดใยอาหารจาก กากพุทรา เพื่อช่วยเสริมกันเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายสารประกอบเพกทิน เซลลูโลสและ เฮมิเซลลูโลสในกากพุทรา นอกจากนั้นเอนไซม์ Pectinex® Ultra SP-L ยังเป็นเอนไซม์ที่สามารถใช้ในอาหารได้ ซึ่งรับรองโดย FAO/WHO, JECFA และ FCC

สำหรับขั้นตอนแรกคือการศึกษาภาวะการล้างกากพุทราที่ผ่านการสกัดมิวซิเลจออกแล้ว เพื่อให้ได้กากพุทราที่บริสุทธิ์ โดยแปรจำนวนครั้งในการล้างกากพุทราออกเป็น 5 ระดับคือ 0, 1, 2, 3 และ 4 ครั้ง ล้างกากพุทราด้วยน้ำในอัตราส่วนกากพุทราต่อน้ำ 1:2 เมื่อวิเคราะห์ปริมาณ น้ำตาลรีดิวซ์ วัดค่า pH วิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดซิตริก และวิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (TSS) พบว่าเมื่อเพิ่มจำนวนครั้งในการล้างกากพุทราส่งผลให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดซิตริก และปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้มีค่าลดลง ในขณะที่ค่า pH มีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้น ดังตารางที่ 6.3 ทั้งนี้เนื่องมาจากการล้างกากพุทราเป็นขั้นตอนในการกำจัดองค์ประกอบที่ไม่ต้องการและจุลินทรีย์ก่อโรคออกจากใยอาหาร โดยในขั้นตอนการล้างน้ำตาลและกรดจะถูกกำจัดออกไปทำให้ใยอาหารที่ได้มีความบริสุทธิ์มากขึ้น (Larrauri และคณะ, 1996) ซึ่งจากการวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าภาวะที่เหมาะสมในการล้างกากพุทราคือการล้างกากพุทราจำนวน 3 ครั้ง

ตารางที่ 6.3 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดซิตริก ค่า pH และปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (TSS)

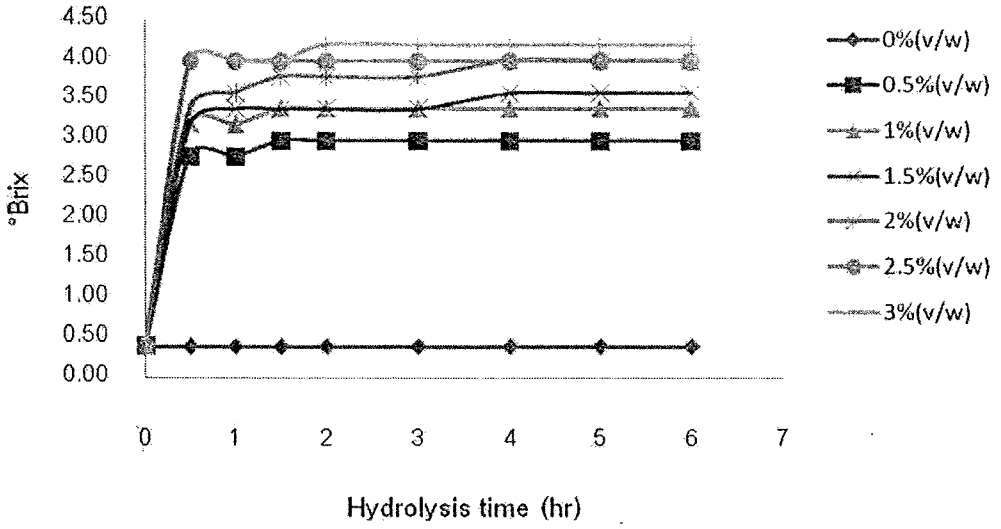
จำนวนครั้งที่ล้าง	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (mg glucose/g FW)	ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดซิตริก (%)	pH	TSS (^{0}Brix)
0	14.91^a ± 0.04	1.67^a ± 0.04	3.76^e ± 0.04	1.8
1	9.00^b ± 0.04	1.30^b ± 0.04	4.43^d ± 0.04	1.2
2	5.78^c ± 0.04	0.95^c ± 0.04	4.94^c ± 0.04	0.8
3	1.30^d ± 0.04	0.70^d ± 0.04	5.54^b ± 0.04	0.4
4	0.91^d ± 0.04	0.60^d ± 0.04	5.61^a ± 0.04	0.4

ตัวเลขในตารางคือค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขในแนวตั้งที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

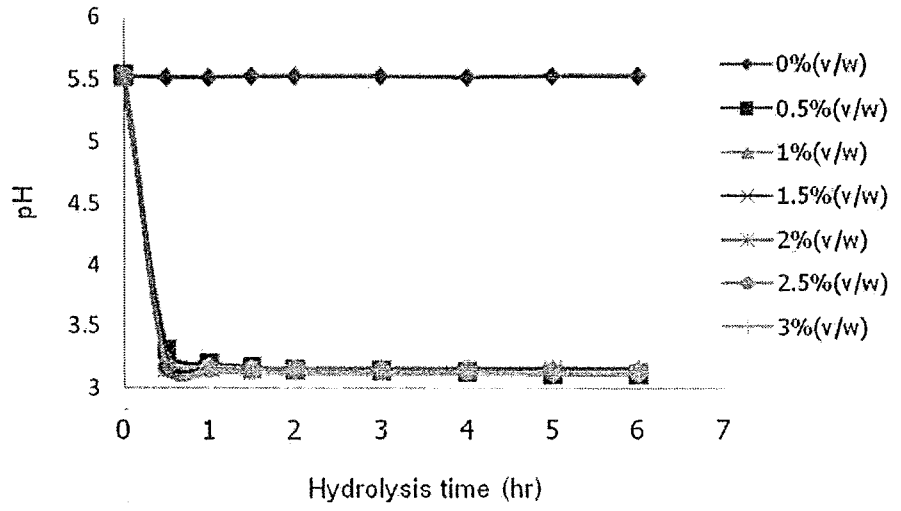
จากการศึกษาภาวะการใช้เอนไซม์เพกทิเนสทางการค้าคือ Pectinex® Ultra SP-L ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ประกอบด้วยเอนไซม์หลายชนิด ได้แก่ พอลิกาแลกทูโรเนส เพกทินไลเอส เพกทินเอสเทอเรส เฮมิเซลลูเลส เซลลูเลส โปรติเอส และอะไมเลส ในการสกัดใยอาหารจากกากพุทราที่ผ่านการสกัดมิวซิเลจแล้ว โดยแปรความเข้มข้นเอนไซม์ในช่วง 0-3.0% (v/w) และแปรระยะเวลาการทำปฏิกิริยาในช่วง 0-6 ชั่วโมง นำมาวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ และค่า pH ได้ผลดังนี้คือ

จากการติดตามการทำงานของเอนไซม์โดยพิจารณาจากปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ในกากพุทรา พบว่าเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาในการย่อยเพิ่มมากขึ้นส่งผลให้ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้มีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 6.10 เนื่องจากเอนไซม์ Pectinex® Ultra SP-L ที่ประกอบด้วยเอนไซม์หลายชนิด จะช่วยเสริมกันเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายสารประกอบเพกทิน เซลลูโลส และ เฮมิเซลลูโลส จึงส่งผลทำให้อัตราการละลายของสารประกอบเพกทินในกากพุทราเพิ่มขึ้น และในขณะเดียวกันส่วนของน้ำในกากพุทราจะถูกปลดปล่อยออกมาได้ง่ายและมากขึ้น เมื่อโครงสร้างร่างแหของเพกทินที่อุ้มน้ำถูกทำให้ฉีกขาด และได้สารประกอบเพกทินที่สามารถละลายน้ำได้มากขึ้นด้วย ดังนั้น ของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้จึงสูงขึ้น ซึ่งผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับการศึกษาของ Brasil และคณะ (1995) ที่ศึกษาการใช้เอนไซม์เพกติเนสในการผลิตน้ำฝรั่ง พบว่าการใช้เอนไซม์จะทำให้น้ำฝรั่งที่ได้มีปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้เพิ่มขึ้น



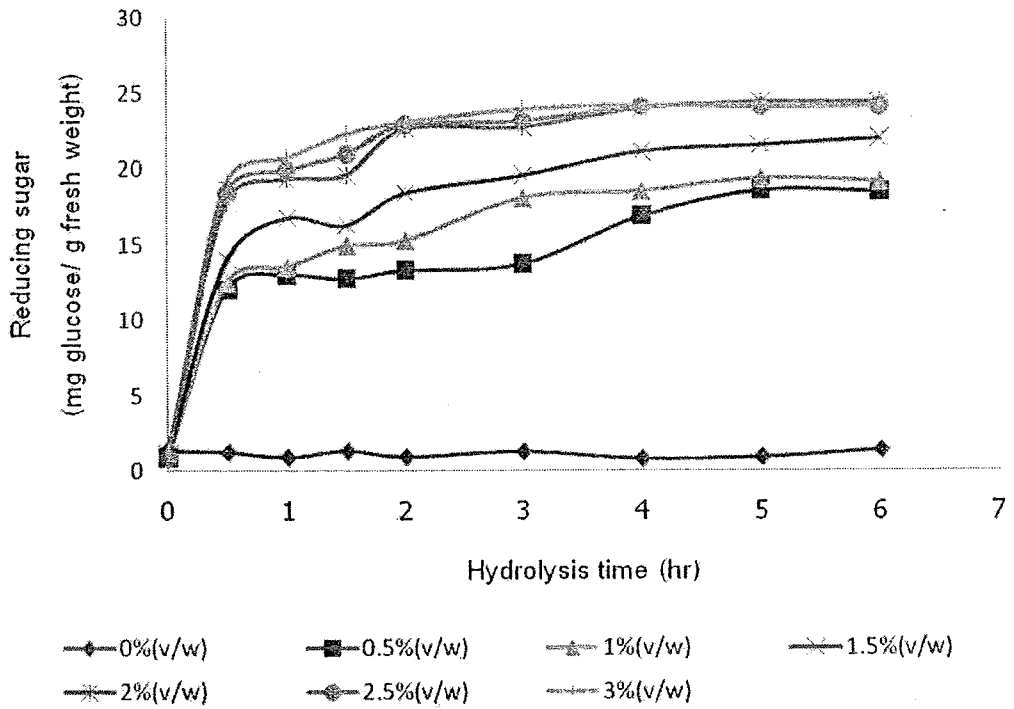
รูปที่ 6.10 ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ในกากพุทราที่ได้จากกระบวนการทางเอนไซม์ที่ภาวะต่างๆ

จากการติดตามการทำงานของเอนไซม์ โดยพิจารณาจากค่า pH พบว่าเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาในการย่อยสลายเพิ่มมากขึ้นจะส่งผลให้ค่า pH ลดลง เนื่องจากเอนไซม์จะแยกหมู่เมธิลออกจากเพกทินโดยการไฮโดรไลซ์พันธะเอสเทอร์ ได้เป็นกรดเพคติก กรดเพคตินิก เอนไซม์ในกลุ่มนี้ได้แก่ เพกทินเอสเทอเรส (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2547) ดังรูปที่ 6.11 และจากการทดลองจะเห็นได้ว่า pH ที่ลดลงนั้นยังอยู่ในช่วง pH ที่เอนไซม์ Pectinex® Ultra SP-L สามารถทำงานได้ (pH 3 – pH 4.5) ดังนั้นจึงไม่มีผลกระทบต่อการย่อยสลายกากพุทรา



รูปที่ 6.11 ค่า pH ในกากพุทราที่ได้จากกระบวนการทางเอนไซม์ที่ภาวะต่างๆ

จากการติดตามการทำงานของเอนไซม์โดยพิจารณาจากปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดจากการตัดพันธะไกลโคซิลของพอลิเมอร์ในในกากพุทรา เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในกากพุทรา พบว่าความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาในการย่อยสลายมีอิทธิพลอย่างมีนัยสำคัญต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ($p \leq 0.05$) และพบผลของอิทธิพลร่วมอย่างมีนัยสำคัญระหว่างปัจจัยทั้งสอง ($p \leq 0.05$) จากผลการทดลองพบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อย ส่งผลให้กากพุทราที่ได้มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เพิ่มขึ้นนี้เกิดจากการตัดพันธะไกลโคซิลของพอลิเมอร์ในกากพุทรามากขึ้น โดยการทำงานของเอนไซม์เพกทิเนส เซลลูเลส และเฮมิเซลลูเลส ที่ย่อยสลายพันธะไกลโคซิลของสารประกอบเพกทิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส ตามลำดับ ที่บริเวณผนังเซลล์ของเนื้อเยื่อพืช (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2547; Grohmann และ Baldwin, 1992; Sreenath และคณะ, 1999; Jayani และคณะ, 2005) ดังแสดงในรูปที่ 6.12



รูปที่ 6.12 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในกากพุทราที่ได้จากกระบวนการทางเอนไซม์ที่ภาวะต่างๆ

จากการวิเคราะห์ทางสถิติเมื่อพิจารณาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในกากพุทราที่ได้จากกระบวนการทางเอนไซม์ที่ภาวะต่างๆ พบว่าการใช้เอนไซม์เพกทิเนสที่ความเข้มข้น 2.0% (v/w) ระยะเวลาการย่อย 0-6 ชม. เป็นภาวะที่ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในช่วงกว้าง ซึ่งปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้มีค่าไม่แตกต่างกับภาวะที่ใช้เอนไซม์ความเข้มข้น 2.5 (v/w) และ 3.0 (v/w) อย่างมี

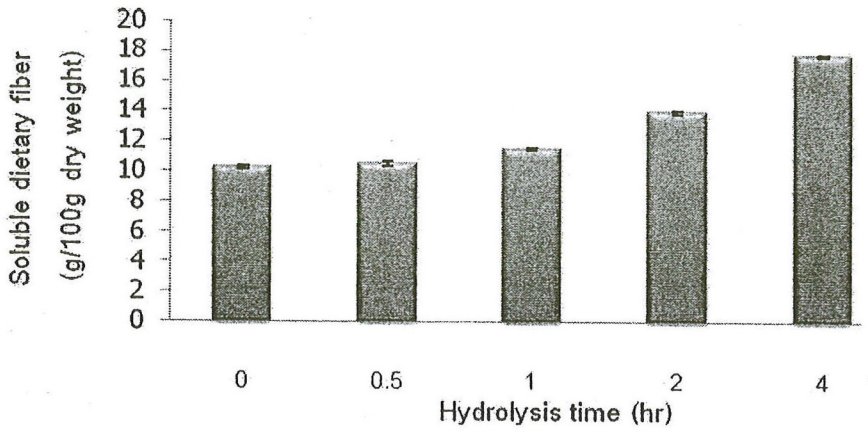
นัยสำคัญ ($p>0.05$) และเมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในกากพุทราที่ได้จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ความเข้มข้น 2.0 (v/w) สามารถแบ่งระดับการย่อยด้วยเอนไซม์โดยประเมินในค่าของน้ำตาลรีดิวซ์ได้ 5 ระดับ คือ 1.01, 17.79, 19.29, 22.61 และ 23.98 mg glucose/ g fresh weight ซึ่งใช้เวลาในการย่อยเท่ากับ 0, 0.5,1, 2 และ 4 ชม. ตามลำดับ ดังตารางที่ 6.4 ดังนั้นจึงเลือกเอนไซม์ความเข้มข้น 2.0 (v/w) เวลาการย่อยสลาย 0, 0.5, 1, 2 และ 4 ชม. เป็นตัวแทนเพื่อศึกษาผลของระดับการตัดพันธะไกลโคซิลของพอลิเมอร์ในกากพุทราต่อปริมาณใยอาหารละลายน้ำและใยอาหารไม่ละลายน้ำ พบว่าเมื่อระยะเวลาการย่อยสลายเพิ่มมากขึ้นหรือเมื่อมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงขึ้นจะส่งผลให้ได้ปริมาณใยอาหารละลายน้ำเพิ่มขึ้นและส่งผลให้ปริมาณใยอาหารไม่ละลายน้ำลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) ดังรูปที่ 6.13 และ 6.14 ทั้งนี้เนื่องมาจากเอนไซม์ได้เข้าไปย่อยสารประกอบพวกเพกทินที่ไม่ละลายให้เป็นเพกทินละลายได้ซึ่งจะมีหมู่ไฮดรอกซิลเพิ่มมากขึ้น จึงทำให้มีความสามารถในการละลายน้ำได้มากขึ้น (Sakamoto และคณะ, 2006) ซึ่งจากการศึกษา พบว่าภาวะการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ที่ความเข้มข้น 2.0% (v/w) เป็นระยะเวลา 4 ชม. ส่งผลให้ได้ปริมาณใยอาหารละลายน้ำสูงและมีปริมาณใยอาหารไม่ละลายน้ำต่ำกว่าระดับอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

ตารางที่ 6.4 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในกากพุทราที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ความเข้มข้น 2.0% (v/w)

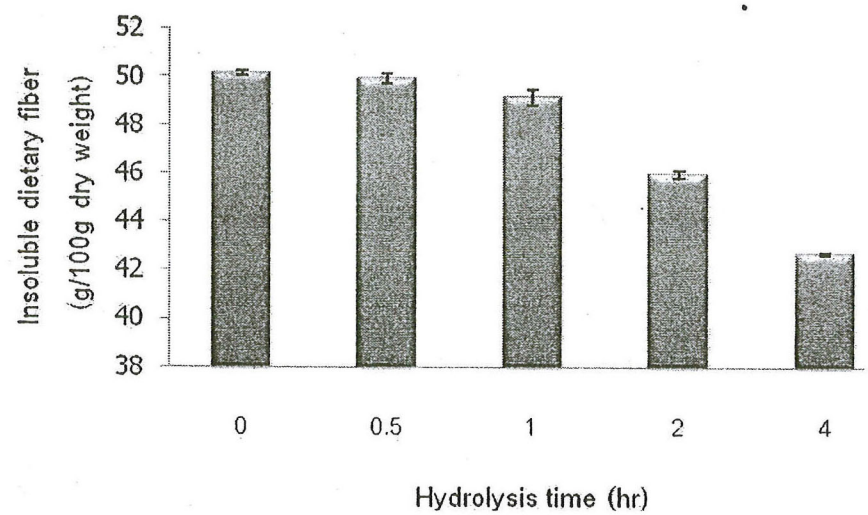
ระยะเวลาการย่อยสลาย (hr)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (mg glucose/g fresh weight)
0	$1.02^{e} \pm 0.27$
0.5	$17.79^{d} \pm 0.17$
1.0	$19.29^{c} \pm 0.13$
1.5	$19.59^{c} \pm 0.20$
2	$22.61^{b} \pm 0.15$
3	$22.74^{b} \pm 0.21$
4	$23.98^{a} \pm 0.19$
5	$24.38^{a} \pm 0.20$
6	$24.40^{a} \pm 0.23$

ตัวเลขในตารางคือค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าตัวเลขในแนวตั้งที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$)



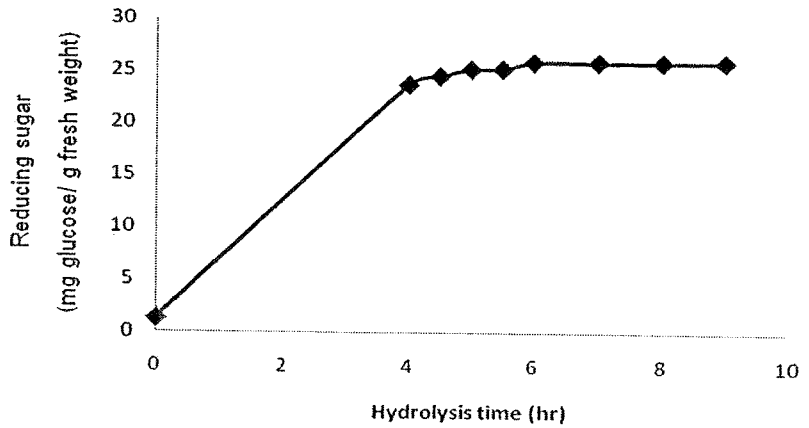
รูปที่ 6.13 ปริมาณใยอาหารละลายน้ำในกากพุทราจากภาวการณ์ย่อยสลายด้วยเอนไซม์ความเข้มข้น 2.0% (v/w) ที่ระยะเวลาต่างๆ



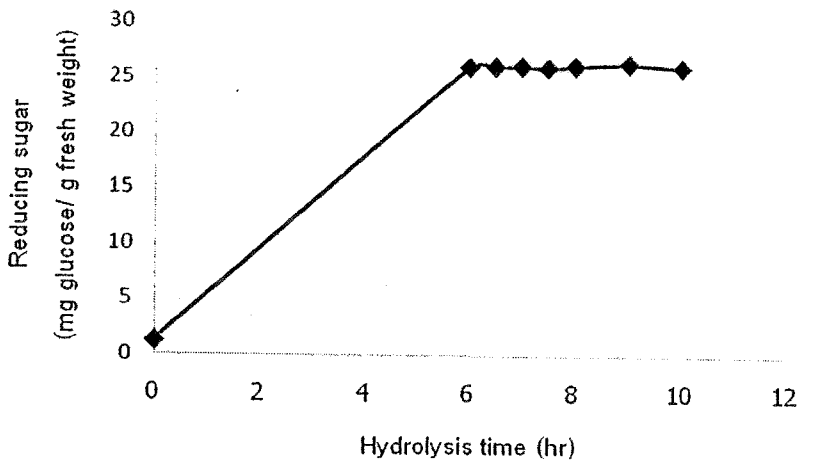
รูปที่ 6.14 ปริมาณใยอาหารไม่ละลายน้ำในกากพุทราจากภาวะการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ความเข้มข้น 2.0% (v/w) ที่ระยะเวลาต่างๆ

การศึกษาอัตราการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ โดยการเติมเอนไซม์เพิ่มลงไป ณ จุดที่ปฏิกิริยาการย่อยสลายเริ่มหยุดนิ่ง ทั้งนี้เพื่อศึกษาว่าเมื่อเติมเอนไซม์ลงไป ณ จุดที่ปฏิกิริยาการย่อยสลายเริ่มหยุดนิ่งจะมีการย่อยสลายเกิดขึ้นอีกหรือไม่ ซึ่งถ้าหากมีการย่อยสลายเกิดขึ้น แสดงว่าเอนไซม์ถูกยับยั้งโดยผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น แต่ถ้าหากไม่มีการย่อยสลายเกิดขึ้นแสดงว่าปริมาณซับสเตรตได้หมดลงจึงไม่มีปฏิกิริยาการย่อยสลายเกิดขึ้น โดยการทดลองจะเติมเอนไซม์ความเข้มข้น 2% (v/w) เพิ่มที่เวลาการย่อยสลาย 4 ชม. โดยใช้เวลาในการย่อยสลาย 0-9 ชม. จากการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ พบว่าเมื่อระยะเวลาการย่อยเพิ่มขึ้นส่งผลให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีค่าสูงขึ้นอย่าง

มีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) และเริ่มคงที่ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 6 ชม. ดังรูปที่ 6.15 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการที่ปฏิกิริยาการย่อยสลายเริ่มหยุดนิ่งหรือปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มคงที่นั้นเกิดขึ้นเนื่องมาจากเอนไซม์ถูกยับยั้งโดยผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2547) จากนั้นได้เติมเอนไซม์ความเข้มข้น 2% (v/w) ลงไปที่เวลาการย่อยสลาย 6 ชม (เป็นระยะเวลาที่ปฏิกิริยาการย่อยสลายเริ่มหยุดนิ่ง) โดยใช้เวลาในการย่อยสลาย 0-10 ชม. จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์คงที่ไม่เพิ่มขึ้นหรือไม่มีความแตกต่างจากการลงเอนซ์ไซม์ที่เวลาการย่อยสลาย 6 ชม ถึงแม้ว่าจะใช้ระยะเวลาการย่อยสลายนานถึง 10 ชม. ดังรูปที่ 6.16 ดังนั้นจึงแสดงให้เห็นว่าปริมาณซับสเตรตได้หมดลงจึงไม่มีปฏิกิริยาการย่อยสลายเกิดขึ้น



รูปที่ 6.15 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในกากพุทราที่เติมเอนไซม์ความเข้มข้น 2% (v/w) เพิ่มที่เวลาการย่อยสลาย 4 ชม.



รูปที่ 6.16 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในกากพุทราที่เติมเอนไซม์ความเข้มข้น 2% (v/w) เพิ่มที่เวลาการย่อยสลาย 6 ชม.

จากภาวะการย่อยสลายกากพุทราด้วยเอนไซม์ข้างต้นจะได้ระดับการตัดพันธะไกลโคซิลของพอลิเมอร์ในกากพุทราด้วยเอนไซม์ในระดับต่างๆ โดยใช้ระยะเวลาการย่อยสลายที่แตกต่างกัน ซึ่งจากการทดลองจะได้ระดับการตัดพันธะไกลโคซิลของพอลิเมอร์ในกากพุทราที่ระยะเวลาการย่อยสลายต่างกัน 3 ระดับคือ การย่อยสลายด้วยเอนไซม์ความเข้มข้น 2.0% (v/w) เป็นระยะเวลา 0, 4 และ 6 ชม.

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาพฤติกรรมการไหลของสารละลายมิวซิเลจ พบว่าสารละลายมิวซิเลจมีพฤติกรรมการไหลแบบ Pseudoplastic เช่นเดียวกับกัวร์กัม ส่วนแซนแทนกัมมีพฤติกรรมการไหลแบบ Pseudoplastic with yield stress และพบว่าความเข้มข้นของสารละลาย ค่าความเป็นกรดด่างและอุณหภูมิ มีผลต่อค่าความหนืดของสารละลายมิวซิเลจ โดยเมื่อความเข้มข้นของสารละลายมิวซิเลจสูงขึ้นส่งผลให้ค่าความหนืดมากขึ้นเช่นเดียวกับสารละลายกัวร์กัมแซนแทนกัม แต่เมื่อเพิ่มค่าความเป็นกรดด่างและเพิ่มอุณหภูมิส่งผลให้ความหนืดลดลง ส่วนสารละลายกัวร์กัมและแซนแทนกัมการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดด่างและอุณหภูมิไม่มีอิทธิพลต่อค่าความหนืด สำหรับการศึกษาภาวะการใช้เอนไซม์เพกทิเนสในการสกัดใยอาหารจากกากพุทราที่ผ่านการสกัดมิวซิเลจแล้ว พบว่าเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาในการทำปฏิกิริยาเพิ่มมากขึ้นปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้มีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้น ในขณะที่ค่า pH มีแนวโน้มที่ลดลง โดยภาวะการสกัดใยอาหารที่เหมาะสม คือการใช้เอนไซม์ที่ความเข้มข้น 2.0% (v/w) ระยะเวลาการย่อยสลาย 0-6 ชั่วโมง ซึ่งจะให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในช่วงกว้าง และจากการวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารละลายน้ำและใยอาหารไม่ละลายน้ำ พบว่าระยะเวลาการย่อย 4 ชั่วโมง ส่งผลให้ได้ปริมาณใยอาหารละลายน้ำสูงที่สุดและมีปริมาณใยอาหารไม่ละลายน้ำน้อยที่สุด จากการศึกษาอัตราการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ โดยการเติมเอนไซม์เพิ่มลงไป ณ จุดที่ปฏิกิริยาการย่อยสลายเริ่มหยุดนิ่ง พบว่าเมื่อระยะเวลาการย่อยเพิ่มขึ้นส่งผลให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีค่าสูงขึ้นและเริ่มคงที่ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 6 ชม. และเมื่อเติมเอนไซม์ ณ จุดที่ปฏิกิริยาการย่อยสลายเริ่มหยุดนิ่ง (ที่ 6 ชม.) พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์คงที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลง ดังนั้นจากการทดลองจะได้ระดับการตัดพันธะไกลโคซิลของพอลิเมอร์ในกากพุทราที่ระยะเวลาการย่อยสลายต่างกัน 3 ระดับคือ การย่อยสลายด้วยเอนไซม์ความเข้มข้น 2.0% (v/w) เป็นระยะเวลา 0, 4 และ 6 ชม.

เอกสารอ้างอิง

เปี่ยมสุข พงษ์สวัสดิ์. 2551. เอนไซม์ดัดแปรคาร์โบไฮเดรตในอุตสาหกรรม. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

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

ศศิธร เรืองจักรเพ็ชร และ ปราณี อ่านเปรื่อง. 2002b. ลักษณะเฉพาะทางกายภาพของผงเมือกเมล็ดแมงลัก. อาหาร 32(3): 144-153.

Abdullah, A. G. L., Sulaiman, N. M., Aroua, M. K., and Megat Mohd Noor, M. J. 2007. Response surface optimization of conditions for clarification of carambola fruit juice using a commercial enzyme. Journal of Food Engineering 81: 65-71.

Al-Hooti, S. N., Sidhu, J. S., Al-Saqer, J. M., and Al-Othman, A. 2002. Chemical composition and quality of date syrup as affected by pectinase/cellulase enzyme treatment. Food Chemistry 79: 215-220.

Alkorta, I., Garbisu, C., Llama, M. J., and Serra, J. L. 1998. Industrial applications of pectic enzymes: a review. Process Biochemistry 33: 21-28.

Alvarez, S., Alvarez, R., Riera, F. A., and Coca, J. 1998. Influence of depectinization on apple juice ultrafiltration. Colloid and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects 138: 377-382.

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

Barros, S. T. D., Mendes, E. S., and Peres, L. 2004. Influence of depectinization in the ultrafiltration of west Indian cherry (*Malpighia glabra* L.) and pineapple (*Ananas comosus* (L.) Meer) juices. Ciênc. Tecnol. Aliment. Campinas 24(2): 194-201.

Bhattacharya, S. and Rastogi, N. K. 1998. Rheological properties of enzyme-treated mango pulp. Journal of Food Engineering 36: 249-262.

Brasil, I. M., Maia, G. A., and Figueiredo, R. W. 1995. Physical-chemical changes drying extraction and clarification of guava juice. Food Chemistry 54(4): 383-386.

Chen, R. H., and Chen, W. Y. 2001. Rheology properties of the water-soluble mucilage of a green laver, *Monostroma nitidium*. Journal of Applied Phycology 13: 481-488.

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

Çinar, I. 2005. Effects of cellulase and pectinase concentrations on the colour yield of enzyme extracted plant carotenoids. Process Biochemistry 40: 945-949.

Grigelmo-Miguel, N., Ibarz-Ribas, A., and Martin-Belloso, O. 1999. Rheology of peach dietary fiber suspensions. Journal of Food Engineering 39: 91-99.

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

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

Larrauri, J.A., Ruprrez, B., and Suara-Calixto, F. 1996. Mango peels as a new tropical fibre: preparation and characterization. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie 29:729-733.

Larrauri, J.A, 1999. New approaches in the preparation of high dietary fiber powders from fruit by product. Trends in Food Science. & Technology 10:3-8.

Lee, W. C., Yusof, S., Hamid, N. S. A., and Baharin, B. S. 2006. Optimizing conditions for enzymatic clarification of banana juice using response surface methodology (RSM). Journal of Food Engineering 73: 55-63.

Marcotte, M., Hoshahili, A. R. T., and Ramaswamy, H. S. 2001. Rheological properties of selected hydrocolloids as a function of concentration and temperature. Food Research International 34: 695-703.

Medina-Torres, L., Brito-De La Fuente E., Torrestiana-Sanchez, B. and Katthain, R. 2000. Rheological properties of the mucilage gum (*Opuntia ficus indica*). Food Hydrocolloids 14: 417-424.

Nelson, N. 1944. A photometric adaptation of the Somogyi method for determination of glucose. Journal of Biological Chemistry 153: 375-380.

Nussinovitch, A. 1997. Hydrocolliod Applications: Gum Technology in the Food and Other Industries. USA. Chapman and Hall.

Petsev, D. N. 2004. Emulsions: Structure Stability and Interactions. Amsterdam: Elsevier Academic Press.

Rai, P., Majumdar, G. C., Dasgupta, S., and De, S. 2004. Optimizing pectinase usage in pretreatment of mosambi juice for clarification by response surface methodology. Journal of Food Engineering 64: 397-403.

Rao, M. A. 1999. Rheology of Fluid and Semisolid Foods: Principles and Applications. Gaithersburg: An Aspen publication.

Rastogi, N. K. and Rashmi, K. R. 1999. Optimisation of enzymatic liquefaction of mango pulp by response surface methodology. European Food Research and Technology 209: 57–62.

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

Schramm, L. L. 2005. Emulsions, Foams, and Suspensions: Fundamentals and Applications. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co.KGaA.

Sharma, B. R., Dhuldhoya, N. C., Merchant, S. U., and Merchant, U. C. 2007. Hydrocolloids: efficient rheology control additives. Science Tech Entrepreneur February Issue: 1-9.

Sreenath, H. K., Sudarshanakrishna, K. S., and Santhanam, K. 1994. Improvement of juice recovery from pineapple pulp/residue using cellulases and pectinases. Journal of Fermentation and Bioengineering 78(6): 486-488.

Sun, Y., Wang, Z., Wu, J., Chen, F., Liao, X., and Hu, X. 2006. Optimising enzymatic maceration in pretreatment of carrot juice concentrate by response surface methodology. International Journal of Food Science and Technology 41: 1082-1089.

Wang, Q., Ellis, P. R. and Ross-Murphy, S. B. 2000. The stability of guar gum in an aqueous system under acidic conditions. Food Hydrocolloids 14: 129-134.