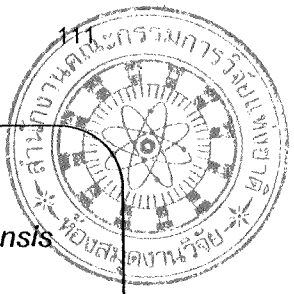


ชุดโครงการวิจัยย่อยที่ 8

การสกัดสารหน้าที่เฉพาะจากแคนตาลูป *Cucumis melo* var. *cantalupensis* พันธุ์ซันเลดี้ด้วยเอนไซม์

ENZYMATIC EXTRACTION OF FUNCTIONAL SUBSTANCES FROM CANTALOUPE *Cucumis melo* var. *cantalupensis* HYBRID SUNLADY

โดย น.ส. นัฏฐพร วุฒิสิทธิ์และ รศ.ดร. ปราณี อ่านเปรื่อง

ตอนที่ 2

การควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลและผลการย่อยสลายเนื้อและรกของแคนตาลูปด้วยเอนไซม์เพคติเนสทางการค้า(Pectinex ® Ultra SP-L)

บทคัดย่อ

จากการศึกษาการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลของแคนตาลูปที่มีอายุการเก็บเกี่ยว 45 วันหลังออกดอก มาบ่มเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิห้อง 30±2°C และควบคุมปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลในเนื้อและรกของแคนตาลูปโดยใช้กรดอินทรีย์ 2 ชนิด คือ กรดแอสคอร์บิกและกรดซิตริก แปรความเข้มข้นกรดในช่วง 0-0.3%(w/w) ร่วมกับการให้ความร้อนด้วยไอน้ำจนจุดกึ่งกลางมีอุณหภูมิ 85°C แปรเวลาการให้ความร้อนในช่วง 0-3 นาที พบว่า ในเนื้อเติมกรดแอสคอร์บิก 0.2%(w/w) ระยะเวลา 3 นาที ส่วนในรกเติมกรดแอสคอร์บิก 0.1%(w/w) ระยะเวลา 2 นาที หลังจากนั้น นำแคนตาลูปที่ได้มาย่อยสลายด้วยเอนไซม์ความเข้มข้น 0-3 %(v/w) ที่ระยะเวลาการย่อยเป็น 0-6 ชั่วโมง โดยแบ่งระดับของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในเนื้อเป็น 6 ระดับ คือ A-F = 37-58 mg glucose/ gFM ส่วนในรก แบ่งเป็น 5 ระดับ คือ A-E= 23-43 mg glucose/ gFM คัดเลือกเป็นตัวแทนเพื่อศึกษาลักษณะเฉพาะในการต้านการออกซิเดชัน ปริมาณเบต้าแคโรทีน วิตามินซี ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด รวมทั้งใยอาหารทั้งหมด และสารระเหย ที่มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อระดับของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เปลี่ยนแปลงไปเมื่อผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ด้วยเอนไซม์เพคติเนสทางการค้า(Pectinex ® Ultra SP-L)

1. บทนำ

แคนตาลูป เป็นแตงเทศชนิดหนึ่งอยู่ในตระกูล *Cucurbitaceae* มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Cucumis melo* var. *cantalupensis* เป็นผลไม้ที่สามารถบ่มให้สุกได้ (climateric fruit) ในการเตรียมตัวอย่างแคนตาลูปเมื่อมีการหั่นและปั่นทำให้แคนตาลูปเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลมากขึ้น ซึ่งในผักและผลไม้ส่วนใหญ่เกิดการทำงานของเอนไซม์ polyphenol oxidase (PPO) เมื่อเนื้อเยื่อถูกทำลายทางกล เกิดปฏิกิริยาระหว่างสารประกอบ monophenol ที่อยู่ในเซลล์พืชกับออกซิเจนในอากาศโดยเอนไซม์ PPO ทำให้เกิดสาร o-diphenol ซึ่งถูกออกซิไดซ์ต่อให้เป็น o-quinone จากนั้น quinine ที่เกิดขึ้นจะรวมตัวกันและเกิดปฏิกิริยา Maillard กับกรดอะมิโนหรือสารประกอบฟีนอลอื่น ๆ ได้สารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำตาล(Owusu-apenten,2005) ดังนั้นจึงต้องมีการควบคุมปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลในเนื้อและรกของแคนตาลูปก่อนนำไปใช้ในการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ โดยใช้ความร้อนร่วมกับการสารเคมี คือกรดแอสคอร์บิกทำหน้าที่เป็นสารรีดิวซ์ โดยจะรีดิวซ์ o-quinone ให้กลับมาอยู่ในรูปของสารประกอบฟีนอล ก่อนที่ o-quinone จะทำปฏิกิริยาต่อไปจนกลายเป็นสารสีน้ำตาล ส่วน กรดซิตริกทำหน้าที่เป็นสารป้องกันการเกิดสีน้ำตาลโดยลดค่า pH ให้ต่ำกว่าค่า optimum pH ของเอนไซม์ PPO ส่งผลให้เอนไซม์มีแอกทิวิตีลดลง(El-Shimi, 1993; Sapers และ Miller,1995; Sapers และคณะ, 1989;) และนำมาสกัดด้วยเอนไซม์ในกลุ่มเพกทิเนสมีจุดประสงค์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดสารหน้าที่เฉพาะต่าง ๆ เช่น ฤทธิ์ในการต้านการออกซิเดชัน ปริมาณเบต้าแคโรทีน วิตามินซี สารฟีนอลิกทั้งหมด สารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด รวมทั้งใยอาหารทั้งหมด แยกเป็นใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำและใยอาหารที่ละลายน้ำ และสารระเหย โดยเอนไซม์เพกทิเนสทางการค้า Pectinex® Ultra SP-L (10,292 PGU/ml) ผลิตจากเชื้อกลุ่ม *Aspergillus aculeatus* (Najafian และคณะ,2009) ประกอบด้วยเอนไซม์พอลิกาแลกทูโรเนส เพกทินไลเอส เพกทินเอสเทอเรส เป็นหลัก โดยมีเอนไซม์เฮมิเซลลูเลส เซลลูเลส โปรติเอส และ อะไมเลส ช่วยเสริมการย่อยสลายโมเลกุลต่างๆที่บริเวณผนังเซลล์ของพืช (Mutlu และคณะ ,1999) เป็นของเหลวสีน้ำตาลเข้ม และมีกลิ่นหมักเล็กน้อย มี pH ประมาณ 4.5 สามารถละลายน้ำได้ดีที่ทุกความเข้มข้น (Wilkins และคณะ ,2007)

2. วิธีการทดลอง

2.1 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล

นำแคนตาลูปที่คัดเลือกระดับการสุกได้แล้วทั้งเนื้อและรกของแคนตาลูป มาหาภาวะที่เหมาะสมในการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล โดยใช้สารควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล 2 ชนิด คือ กรดแอสคอร์บิก และกรดซิตริก ร่วมกับการให้ความร้อนด้วยไอน้ำ โดยบดละเอียดด้วยเครื่องปั่นผสมนาน 3 นาที แปรปริมาณสารควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ใช้เป็น 4 ระดับ คือ 0,

0.1, 0.2 และ 0.3% (w/w) แปรระยะแวลาในการให้ความร้อนเป็น 4 ระดับ คือ 0, 1, 2 และ 3 นาที สำหรับเนื้อ และรก ตามลำดับ เริ่มจับเวลาเมื่อจุดกึ่งกลางของตัวอย่างมีอุณหภูมิ 85°C และทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็ว วัดค่าสีในระบบ L* a* b* ด้วยเครื่อง Chroma meter แหล่งกำเนิดแสง D_{65} ที่ทุกภาวะการทดลอง จากนั้นนำภาวะที่เลือกมาทดสอบแอกทิวิตีของเอนไซม์เพอออกซิเดส เพื่อยืนยันว่าภาวะที่เลือกใช้สามารถควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลได้ ซึ่งการทดสอบแอกทิวิตีของเอนไซม์เพอออกซิเดสทำโดยดัดแปลงวิธีของ Pearson (1970)

2.2 ผลการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เพคติเนสทางการค้า(Pectinex ® Ultra SP-L)

นำแคนตาลูปทั้งเนื้อและรกที่ผ่านการควบคุมการเกิดสีน้ำตาลมาย่อยสลายด้วยเอนไซม์เพกทิเนสทางการค้าคือ Pectinex® Ultra SP-L จาก Novozymes Switzerland AG, Dittengen, Switzerland โดยทำปฏิกิริยาในขวดแก้วสีชาขนาด 250 มิลลิลิตร แบบ batch ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 ±5 องศาเซลเซียส และกวนผสมด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที แปรความเข้มข้นของเอนไซม์เป็น 7 ระดับ คือ 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 และ 3.0% (v/w) และแปรเวลาการย่อยเป็น 9 ระดับ คือ 0, 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 5 และ 6 ชั่วโมง หยุดปฏิกิริยาเอนไซม์โดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 95±5 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 5 นาที และติดตามการย่อยสลายด้วยเอนไซม์จากปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar; RS) ตามวิธีของ Nelson (1944)

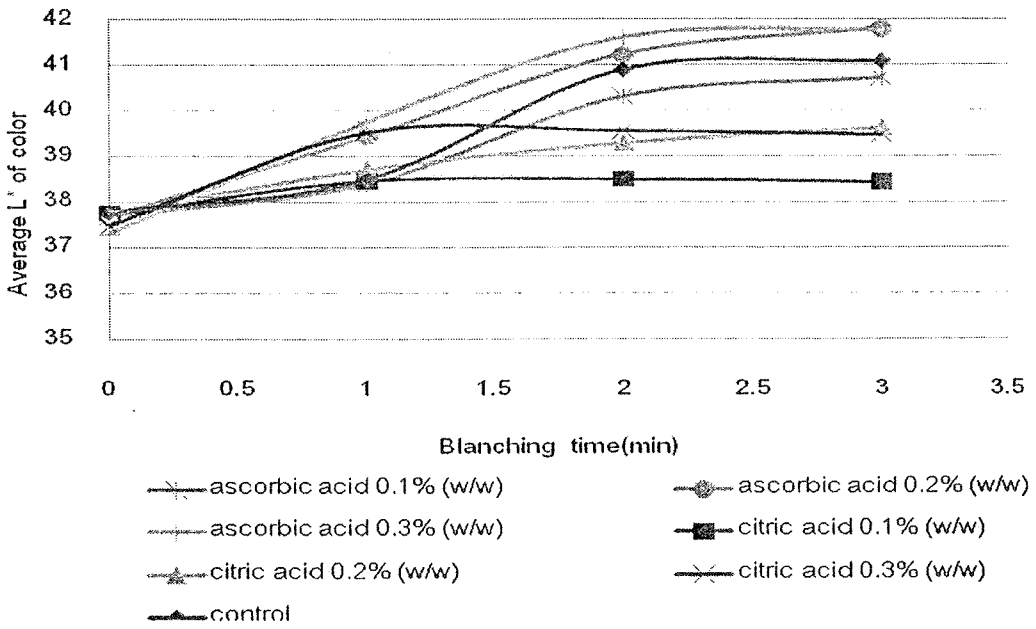
3. ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

3.1 ภาวะที่เหมาะสมในการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล

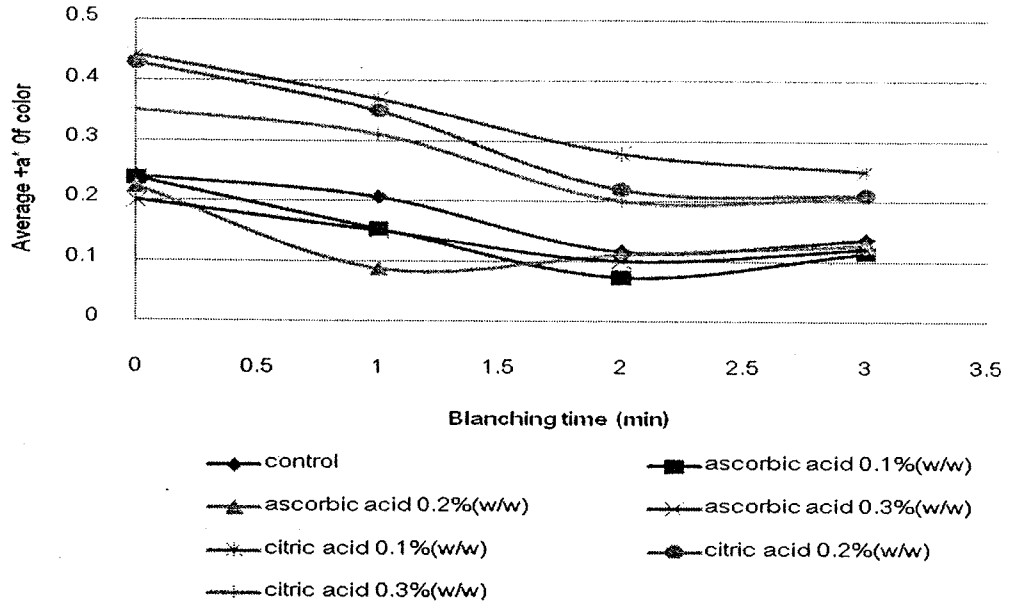
การเตรียมแคนตาลูปก่อนลงเอนไซม์ ต้องมีการปั่นละเอียดก่อนเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวในการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ เมื่อมีการหั่นและปั่นทำให้แคนตาลูปเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลมากขึ้น ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีทั้งในเนื้อและรกของแคนตาลูป ดังนั้นจึงต้องมีการควบคุมปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลในเนื้อและรกของแคนตาลูปก่อนนำไปใช้ในการย่อยสลายด้วยเอนไซม์

การทดลองเลือกใช้กรดอินทรีย์ 2 ชนิด คือ กรดแอสคอร์บิก และกรดซิตริก ซึ่งมีหน้าที่ในการควบคุมปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลต่างกัน กรดแอสคอร์บิกทำหน้าที่เป็นสารรีดิวซ์ โดย o-quinone ให้กลับมาอยู่ในรูปของ o-diphenol ทำให้ไม่เกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล ส่วนกรณีกรดซิตริกทำหน้าที่เป็นสารป้องกันการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลในกลุ่ม acidulant โดยทำให้ค่า pH ลดลง เมื่อ pH ต่ำกว่าค่า optimum pH ของเอนไซม์ PPO (pH 5-7) จะช่วยลดแอคติวิตีของเอนไซม์ได้ ร่วมกับการให้ความร้อนจนจุดกึ่งกลางมีอุณหภูมิ 85 °C เพื่อทดสอบอิทธิพลร่วมระหว่างชนิดกับปริมาณสารควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลและระยะเวลาในการให้ความร้อน พบว่าเนื้อแคนตาลูปเมื่อเติมกรดซิตริกควบคู่กับการให้ความร้อนด้วยไอน้ำทำให้มีค่าความสว่าง (L*) ค่าสีเหลือง (+b*) และค่าสีแดง(+a*)

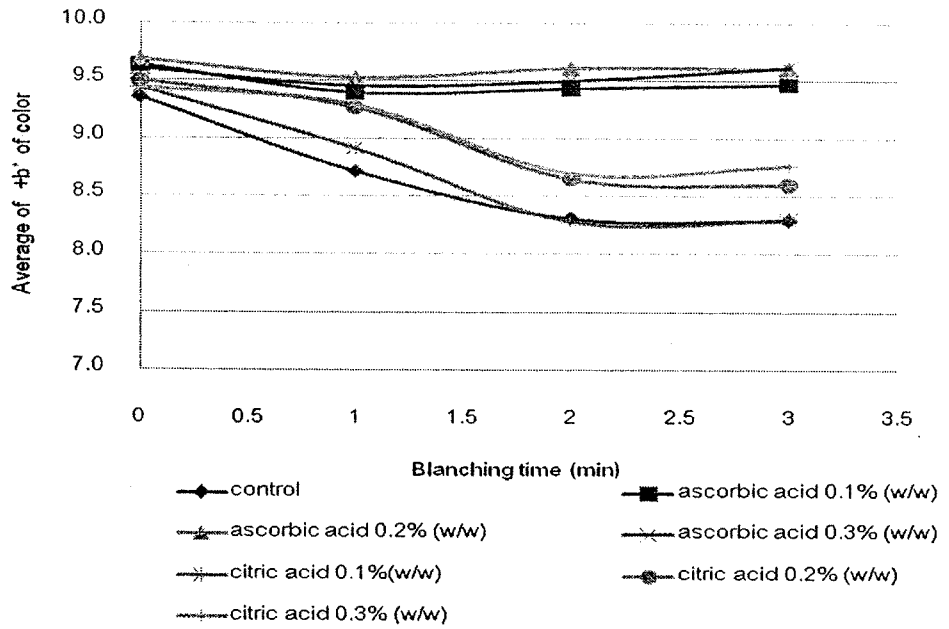
ใกล้เคียงกับที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลด้วยการให้ความร้อนเพียงอย่างเดียว เนื่องจากกรดซิตริกที่ใช้มปริมาณน้อยเกินไป จึงทำให้ยังมีค่า pH ใกล้เคียงกับ optimum pH ของเอนไซม์ PPO แต่การเติมกรด ซิตริกในปริมาณมากเกินไป ส่งผลให้แคนตาลูปมีรสเปรี้ยวมีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภค แต่การเติมกรดแอสคอร์บิกควบคู่กับการให้ความร้อนจะช่วยลดปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลเมื่อเทียบกับที่ผ่านการให้ความร้อนเพียงอย่างเดียว จากผลการทดลองพบว่า การเติมกรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 0.2 และ0.3 %(w/w) ร่วมกับการให้ความร้อนด้วยไอน้ำนาน 3 นาที โดยเนื้อจะมีค่าความสว่าง(L*) และค่าสีเหลือง (+b*) สูงที่สุด ส่วนค่าสีแดง(+a*) จะมีค่าต่ำที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ($p \leq 0.05$) ดังนั้นจึงเลือกการเติมกรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 0.2%(w/w) ร่วมกับการให้ความร้อนด้วยไอน้ำเป็นเวลา 3 นาที เนื่องจากภาวะในการใช้กรดน้อยกว่า 0.3%(w/w) และเมื่อนำภาวะที่ได้ไปทดสอบแอกติวิตีของเอนไซม์ peroxidase (POD). เพื่อเป็นการยืนยันว่าเป็นภาวะที่สามารถควบคุมปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลได้ พบว่าไม่พบแอคติวิตีของเอนไซม์ POD แสดงผลของค่าเฉลี่ยความสว่าง (L*) ค่าสีแดง (+a*) และค่าสีเหลือง(+b*) ของเนื้อ แคนตาลูปที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ ดังรูปที่ 8.1-8.3



รูปที่ 8.1 ค่าเฉลี่ยความสว่าง (L*) ของเนื้อแคนตาลูปที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ

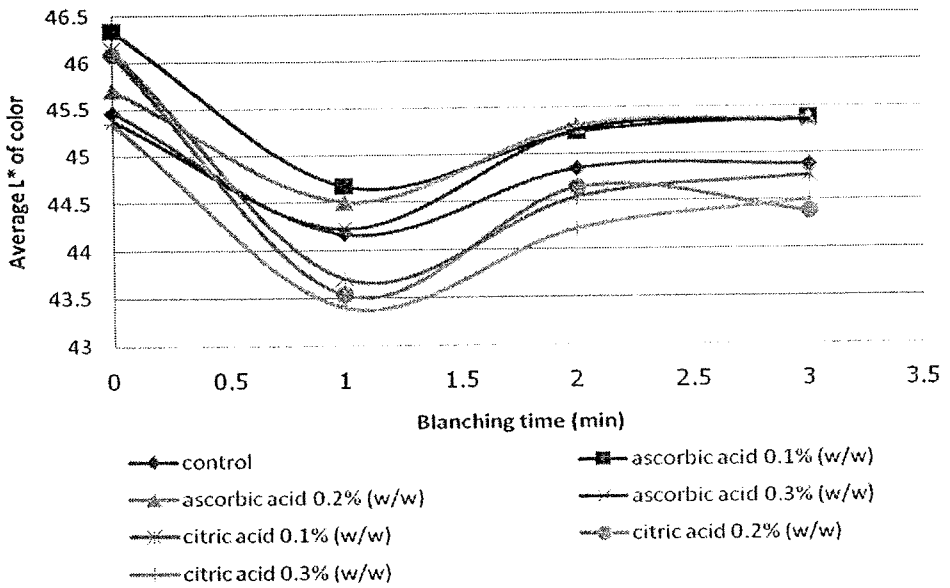


รูปที่ 8.2 ค่าเฉลี่ยสีแดง (+a*) ของเนื้อแคนตาลูปที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ

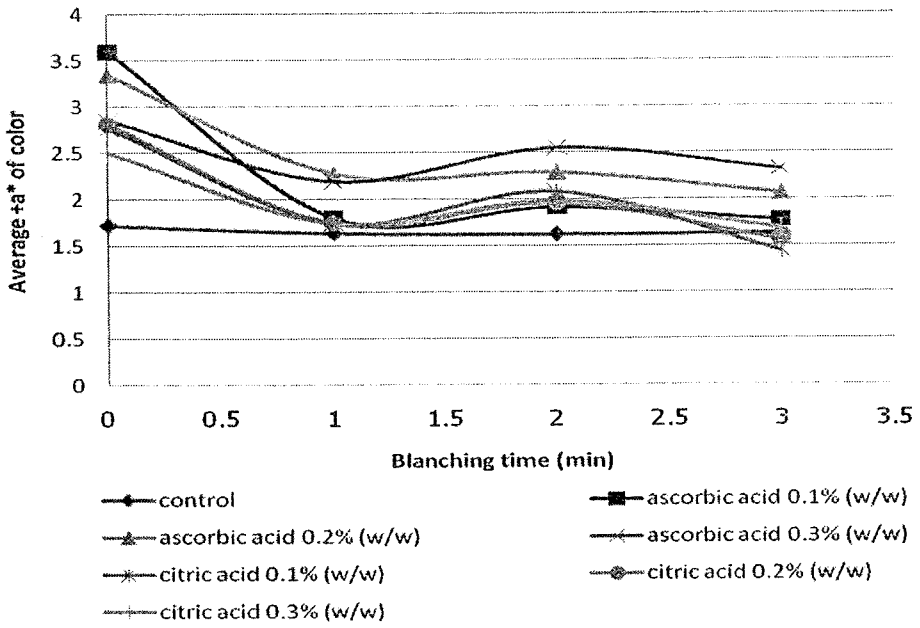


รูปที่ 8.3 ค่าเฉลี่ยสีเหลือง (+b*) ของเนื้อแคนตาลูปที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ

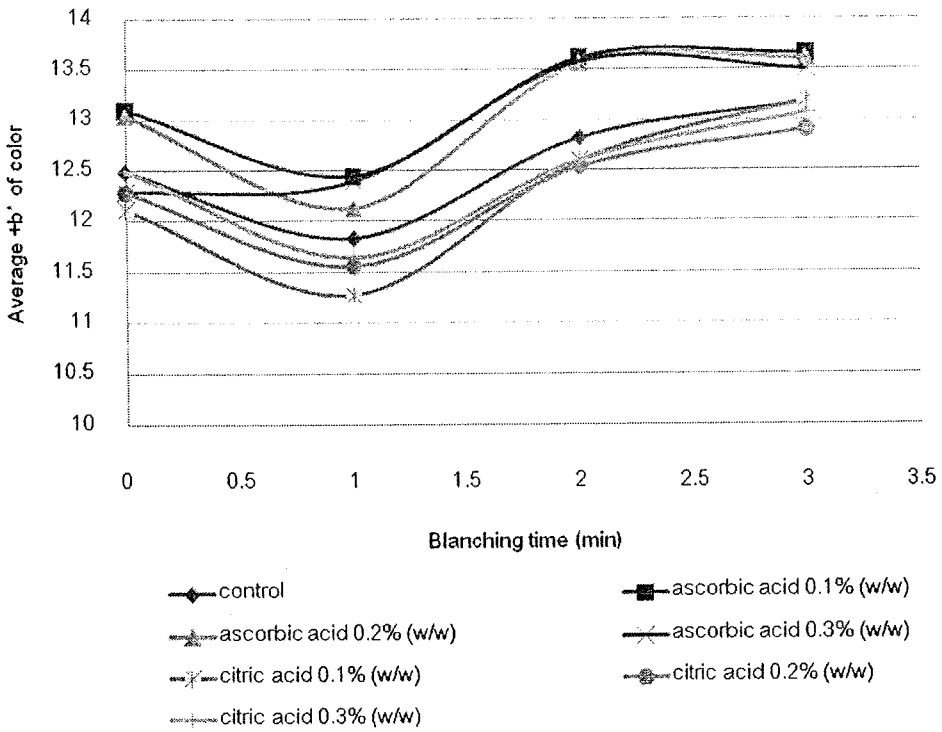
สำหรับในรกพบว่าการเติมกรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 0.1-0.3 %(w/w) ร่วมกับการให้ความร้อนด้วยไอน้ำนาน 2 นาที โดยเนื้อจะมีค่าความสว่าง(L*) และค่าสีเหลือง (+b*) สูงที่สุด ส่วนค่าสีแดง (+a*) จะมีค่าต่ำที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ($p \leq 0.05$) ดังนั้นจึงเลือกการเติมกรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 0.1%(w/w) ร่วมกับการให้คามร้อนด้วยไอน้ำเป็นเวลา 2 นาที เนื่องจากภาวะในการใช้กรดน้อยกว่า 0.2 และ 0.3%(w/w) และเมื่อนำภาวะที่ได้ไปทดสอบแอกติวิตีของเอนไซม์ POD เพื่อเป็นการยืนยันว่าเป็นภาวะที่สามารถควบคุมปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลได้ พบว่าไม่พบแอคติวิตีของเอนไซม์ POD แสดงผลของค่าเฉลี่ยความสว่าง (L*) ค่าสีแดง (+a*) และค่าสีเหลือง(+b*) ของรกแคนตาลูปที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ ดังรูปที่ 8.4-8.6



รูปที่ 8.4 ค่าเฉลี่ยความสว่าง (L*) ของรกแคนตาลูปที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ



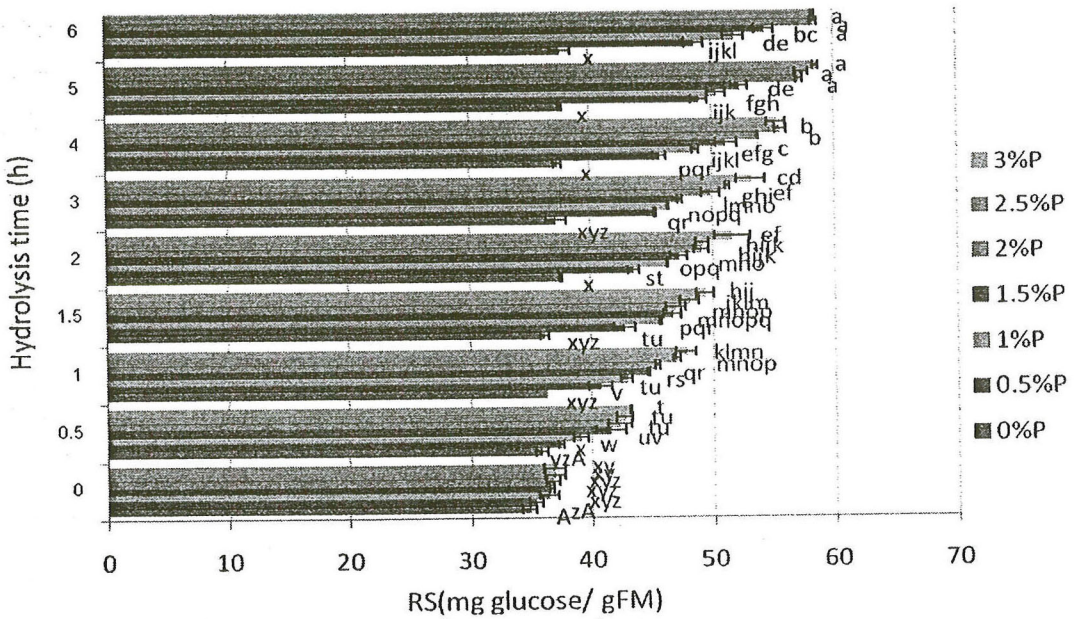
รูปที่ 8.5 ค่าเฉลี่ยสีแดง (+a*) ของรกแคนตาลูปที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ



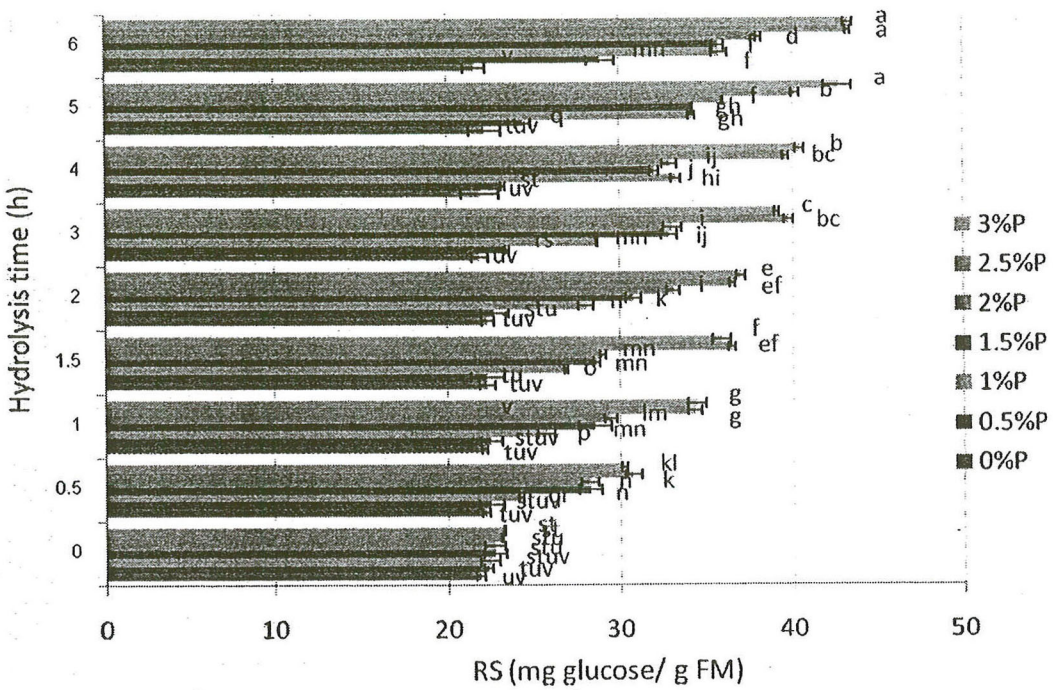
รูปที่ 8.6 ค่าเฉลี่ยสีเหลือง (+b*) ของรกแคนตาลูปที่ผ่านการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ภาวะต่างๆ

3.2 ผลการย่อยสลายเนื้อและรกของแคนตาลูปที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เพคติเนสทางการค้า(Pectinex ® Ultra SP-L)

จากการติดตามการทำงานของเอนไซม์เพกทิเนสทางการค้า Pectinex® Ultra SP-L โดยพิจารณาจากปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในเนื้อและรกของแคนตาลูปแสดงผลดังรูปที่ 8.7 และ 8.8 ตามลำดับ พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาการย่อยส่งผลให้ในเนื้อและรกของแคนตาลูปส่งผลให้มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ($p \leq 0.05$) ทั้งนี้เนื่องจาก Pectinex® Ultra SP-L ซึ่งประกอบเอนไซม์หลายชนิด คือ พอลิกาแลกทูโรเนส เพกทินไลเอส เพกทินเอสเทอเรส เฮมิเซลลูเลส เซลลูเลส โปรติเอส และ อะไมเลส จะย่อยสลายพันธะไกลโคซิลของสารประกอบเพกทิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส ที่บริเวณผนังเซลล์ของเนื้อเยื่อผลไม้ ส่งผลให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงขึ้น (Grohman and Baldwin,1992; Multu และคณะ,1999)



รูปที่ 8.7 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์(RS) ในเนื้อแคนตาลูปที่ได้ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ Pectinex Ultra SP-L®ที่ความเข้มข้นและเวลาการย่อยต่างๆ



รูปที่ 8.8 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์(RS) ในรกแคนตาลูปที่ได้ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ Pectinex Ultra SP-L®ที่ความเข้มข้นและเวลาการย่อยต่างๆ

ตารางที่ 8.1 ผลการแบ่งระดับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในเนื้อและรกที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ Pectinex Ultra SP-L® ความเข้มข้น 0-3%(v/w) ที่ระยะเวลาการย่อยเป็น 0-6 ชั่วโมง

Code	RS(mgglucose/gFM)	
	flesh	placenta
A	37-38	23-24
B	42-43	28-30
C	45-47	32-36
D	48-49	38-40
E	50-53	41-43
F	57-58	

โดยพบว่าการใช้เอนไซม์ความเข้มข้นตั้งแต่ 0-3% v/w ระยะเวลาในการย่อย 0-6 ชั่วโมง เป็นภาวะที่มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์หรือมีระดับการตัดพันธะไกลโคซิลครอบคลุมจากช่วงต่ำไปสูง ในเนื้อและรกมีช่วง 37- 58และ 23- 43 mg glucose/ g FM ตามลำดับ โดยแบ่งเป็น code ดังนี้เนื้อเป็น A-F ส่วน รกเป็น A-E แสดงในตารางที่ 8.1 โดย codeเดียวกันแทนปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ไม่แตกต่าง

กันอย่างมีนัยสำคัญ($p>0.05$) ส่วนcodeต่างกันแสดงว่ามีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ($p\leq0.05$) คัดเลือกเป็นตัวแทนเพื่อศึกษาผลของระดับการตัดพันธะไกลโคซิลของพอลิเมอร์ในเนื้อและรกของแคนตาลูปที่มีต่อลักษณะเฉพาะในด้านฤทธิ์ในการต้านการออกซิเดชัน ปริมาณเบต้าแคโรทีน วิตามินซี ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด รวมทั้งใยอาหารทั้งหมด และสารระเหย ที่มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อระดับของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เปลี่ยนแปลงไป

4. สรุปผลการทดลอง

ทั้งเนื้อและรกของแคนตาลูปที่ผ่านการควบคุมปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลโดยใช้กรดอินทรีย์ 2 ชนิด คือ กรดแอสคอร์บิกและกรดซิตริก พบว่า ในเนื้อเติมกรดแอสคอร์บิก 0.2%(w/w) ระยะเวลา 3 นาที ส่วนในรกเติมกรดแอสคอร์บิก 0.1%(w/w) ระยะเวลา 2 นาที เป็นภาวะที่เหมาะสมในการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล หลังจากนั้น นำแคนตาลูปที่ได้มาย่อยสลายด้วยเอนไซม์สามารถแบ่งระดับของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในเนื้อเป็น 6 ระดับ คือ A-F = 37-58 mg glucose/ gFM ส่วนในรก แบ่งเป็น 5 ระดับ คือ A-E= 23-43 mg glucose/ gFM ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารหน้าที่เฉพาะต่อไป

5. เอกสารอ้างอิง

El-Shimi, N.M., 1993. Control of enzymatic browning in apple slices by using ascorbic acid under different conditions. Plant Foods for Human Nutrition. 43: 71-76.

Grohmann, K. and Baldwin, E. A. 1992. Hydrolysis of orange peel with pectinase and cellulase enzymes. Biotechnology Letters. 14(12): 1169-1774.

Mutlu, M., Sariglo, K., Demir, N., Ercan, M. T., and Acar , J. 1999. The use of commercial pectinase in fruit juice industry.Partl: viscosimetric determination of enzyme activity. Journal of Food Engineering. 14: 147-150.

Najafian, L., Ghodsvali, A., Haddad Khodaparast, M. H., and Diosady, L.L. 2009. Aqueous extraction of virgin olive oil using industrial enzymes. Food Research International. 42: 171-175.

Nelson, N. 1944. Determination of glucose. Journal Biological and Chemistry. 153: 375-380.

Pearson, D. 1970. The Chemical Analysis of Food. 6th ed. New York: Chemical Publishing.

Sapers, G.M., and Miller, R.L. 1995. Heated Ascorbic/Citric Acid Solution as Browning Inhibitor for Pre-Peeled Potatoes. Journal of Food Science. 60(4): 762-766.

Sapers, G. M., Hicks, K.B., Phillips, J.P., Garzarella, L., Pondish, D.L., Matulaitis, McCormack, T.J., Sondey, S.M., Seib, P.A., and Ei-Atawy, Y.S. 1989. Control of Enzymatic Browning in Apple with Ascorbic Acid Derivatives, Polyphenol Oxidase Inhibitors,

and Complexing Agents. Journal of Food Science. 54(4): 997-1002.

Wilkins, M. R., Widmer, W. W., Grohmann, K., and Cameron, R. G. 2007. Hydrolysis of grapefruit peel waste with cellulose and pectinase enzymes. Bioresource Technology. 98: 1596-1601.