



องค์ประกอบคาร์โบไฮเดรตของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทรีตเปลือกเสาวรสด้วยน้ำกึ่งวิกฤต

สำนักหอสมุดกลาง



โดย  
นางสาวขวัญใจ กลิ่นจกกล

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร

ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2556

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

องค์ประกอบคาร์โบไฮเดรตของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทรีตเปลือกเสาวรสด้วยน้ำกึ่งวิกฤต



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร

ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2556

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

**CARBOHYDRATE COMPOSITION OF PRODUCT FROM SUBCRITICAL WATER  
TREATMENT OF PASSION FRUIT PEEL**

สำนักหอสมุดกลาง



By

**Miss Khwanjai Klinchongkon**

**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree**

**Master of Science Program in Food Technology**

**Department of Food Technology**

**Graduate School, Silpakorn University**

**Academic Year 2013**

**Copyright of Graduate School, Silpakorn University**

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร อนุมัติให้วิทยานิพนธ์เรื่อง “องค์ประกอบคาร์โบไฮเดรตของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทรีตเปลือกเสาวรสด้วยน้ำกึ่งวิกฤต” เสนอ โดย นางสาวขวัญใจ กลิ่นจกกล เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร

.....

สำนักหอสมุด  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปานใจ ธารทัศน์วงศ์)  
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่.....เดือน..... พ.ศ.....

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปราโมทย์ คุ้มจิตรจารุ

คณะกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เอกพันธ์ แก้วมณีชัย)

...../...../.....

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.รังสิณี โสธรวิทย์)

...../...../.....

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปราโมทย์ คุ้มจิตรจารุ)

...../...../.....

54403202: สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร

คำสำคัญ: น้ำกึ่งวิกฤต/เปลือกเสาวรศ/โอลิโกแซคคาไรด์

ขวัญใจ กลิ่นจกกล: องค์ประกอบคาร์โบไฮเดรตของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทรีตเปลือกเสาวรศด้วยน้ำกึ่งวิกฤต. อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: ผศ.ดร.ปราโมทย์ คุ้มจิตรจารุ. 82 หน้า.

เปลือกเสาวรศเป็นของเหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมที่มีสัดส่วนมากถึงประมาณร้อยละ 60 งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อนำน้ำกึ่งวิกฤตซึ่งเป็นเทคโนโลยีสะอาดมาใช้ทรีตเปลือกเสาวรศในช่วงอุณหภูมิ 100 ถึง 245 องศาเซลเซียส ในภาชนะปิดแบบกะ (batch) โดยใช้เปลือกเสาวรศแห้งบด 5 กรัมต่อน้ำ 80 กรัม เนื่องจากอุณหภูมิในระหว่างการทรีตมีค่าไม่คงที่จึงคำนวณอิทธิพลของอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการทรีตในรูปของค่า severity factor ( $R_0$ ) จากผลการศึกษาพบว่า เมื่อค่า  $\ln R_0$  เพิ่มขึ้นจาก 0.1 จนถึง 9.9 ค่าความเป็นกรด-ด่างของตัวอย่างลดลงจาก 4.16 ไปจนถึง 3.76 ในขณะที่ปริมาณของแข็งที่หายไป ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในของเหลวที่ได้มีค่าเพิ่มขึ้น โดยปริมาณของแข็งที่หายไปมีปริมาณสูงสุดถึงร้อยละ 62.7 ที่อุณหภูมิ 245 องศาเซลเซียส ( $\ln R_0$  เท่ากับ 9.9) ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในของเหลวที่ได้มีสูงถึง 28.5 และ 23.2 กรัมกลูโคสต่อเปลือกเสาวรศแห้ง 100 กรัม ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส ( $\ln R_0$  เท่ากับ 6.8) อย่างไรก็ตาม ที่อุณหภูมิสูงกว่า 200 องศาเซลเซียสทำให้ค่าทั้งสองลดลง ซึ่งเป็นผลมาจากการสลายตัวของคาร์โบไฮเดรตไปเป็นสารอื่น โดยพบว่าปริมาณ 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอลดีไฮด์ (5-HMF) มีค่าสูงขึ้นอย่างมากที่อุณหภูมิดังกล่าว เมื่อวิเคราะห์ชนิดของคาร์โบไฮเดรตในของเหลวที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส พบว่ามีโมโนแซคคาไรด์ทั้งหมด 6.1 กรัมต่อเปลือกเสาวรศแห้ง 100 กรัม โดยพบน้ำตาลกลูโคสมากที่สุด และมีโอลิโกแซคคาไรด์ทั้งหมด 21.2 กรัมต่อเปลือกเสาวรศแห้ง 100 กรัม ซึ่งส่วนใหญ่เป็นกาแลกทูโรแนน ไสแลน และแมนแนน นอกจากนี้ยังพบว่าการทรีตเปลือกเสาวรศผงที่ผ่านการร่อนแยกขนาดอนุภาคต่างๆ ที่อุณหภูมิ 245 องศาเซลเซียสนั้น ไม่ได้ส่งผลต่อปริมาณของแข็งที่หายไป และปริมาณ 5-HMF ที่เกิดขึ้น แต่ส่งผลต่อชนิดและขนาดของโอลิโกแซคคาไรด์ที่พบในของเหลว งานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าน้ำกึ่งวิกฤตเป็นเทคโนโลยีที่มีศักยภาพในการผลิตคาร์โบไฮเดรตหลากหลายชนิดจากของเหลือทิ้งอย่างเปลือกเสาวรศนี้ได้

ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ลายมือชื่อนักศึกษา.....

ปีการศึกษา 2556

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ .....

54403202: MAJOR: FOOD TECHNOLOGY

KEYWORD: SUBCRITICAL WATER/PASSION FRUIT PEEL/ OLIGOSACCHARIDE

KHWANJAI KLINCHONGKON: CARBOHYDRATE COMPOSITION OF  
PRODUCT FROM SUBCRITICAL WATER TREATMENT OF PASSION FRUIT PEEL.

THESIS ADVISORS: ASST. PROF. PRAMOTE KHUWIJITJARU, Ph.D. pp. 82

Passion fruit peel is a by-product from juice processing factories which corresponds to *ca.* 60 % of the fruit mass. The aim of this research was to treat passion fruit peel with subcritical water in a temperature range of 100-245 °C in a batch-type reactor using 5 g of dried passion fruit peel and 80 g of water. Because the treatment temperature was not constant, the effect of the treatment temperature and time were combined into the severity factor ( $R_0$ ). Results showed that when the  $\ln R_0$  increased from 0.1 to 9.9, pH of the extract decreased from 4.16 to 3.76, whereas solid loss, total carbohydrate content and reducing sugar content increased. The maximum solid loss was 62.7 % at 245 °C ( $\ln R_0 = 9.9$ ). The treatment at 200 °C ( $\ln R_0 = 6.8$ ) gave the extract with the maximum amounts of the total carbohydrate content (28.5 g/100 g dry sample) and the reducing sugar content (23.2 g/100 g dry sample). However, the values tended to decrease for the treatments at higher than 200 °C. This indicated that carbohydrates may be further degraded into other products. 5-Hydroxymethyl furfuraldehyde (5-HMF) was founded to rapidly increase at these temperatures. Carbohydrate analyses indicated that, at 200 °C, the extract contained of 6.1 g/100 g dry sample of monosaccharides, in which the majority was glucose, and 21.2 g/100 g dry sample of oligosaccharides, in which the main components were galacturonan, xylan, and mannan. In addition, the treatment of the passion fruit peel which was screened into different particle sizes at 245 °C resulted in indifferent solid loss and 5-HMF content, but particle size difference in samples resulted in different type and size of oligosaccharides. This study showed that subcritical water treatment is a promising technology for producing several classes of carbohydrates from by-products such as a passion fruit peel.

---

Department of Food Technology

Graduate School, Silpakorn University

Student's signature .....

Academic Year 2013

Thesis Advisors' signature .....

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปราโมทย์ คุวิจิตรจารุ เป็นอย่างยิ่งที่กรุณาให้คำแนะนำ และเป็นທີ່ปรึกษา ทั้งแนวทางการวิจัย และดูแลการวิจัย จนกระทั่งงานวิจัยในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบคุณคณาจารย์ภาควิชาเทคโนโลยีอาหารทุกท่าน เจ้าหน้าที่สำนักงาน และเจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ทุกคน ที่อำนวยความสะดวก เพื่อให้การดำเนินงานเป็นไปอย่างราบรื่น และประสบความสำเร็จได้

และที่สำคัญที่สุด ขอขอบพระคุณพ่อ แม่ และครอบครัวที่ช่วยส่งเสริม สนับสนุน การศึกษาและทุกสิ่งทุกอย่างมาโดยตลอด ขอขอบคุณน้องไอ นางสาวฐาปณี บุญเกียรติ รวมถึงเพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ ที่คอยให้กำลังใจ คำแนะนำ และให้ความช่วยเหลือแก่ข้าพเจ้า



## สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย .....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ .....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ .....	ช
สารบัญตาราง .....	ฅ
สารบัญภาพ .....	ฉ
บทที่	
1 บทนำ.....	1
ความเป็นมาและที่มาของงานวิจัย .....	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย .....	2
สมมติฐานของการวิจัย .....	2
ขอบเขตของการวิจัย.....	2
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	3
เสาวรส .....	3
คาร์โบไฮเดรตที่เป็นโครงสร้างของผนังเซลล์พืช .....	7
การtrittสารชีวมวลด้วยน้ำกึ่งวิกฤต .....	10
การวิเคราะห์คาร์โบไฮเดรตด้วยโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง.....	13
3 วิธีดำเนินงานวิจัย.....	15
วัตถุดิบ .....	15
สารเคมี.....	15
อุปกรณ์และเครื่องมือ .....	16
วิธีการทดลอง .....	17

บทที่	หน้า
4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง.....	22
องค์ประกอบในเปลือกเสาวรศ .....	22
ผลของอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการทรีต .....	22
องค์ประกอบในเปลือกเสาวรศที่ขนาดอนุภาคต่างๆ.....	42
ผลของขนาดอนุภาคของตัวอย่างที่ใช้ในการทรีต .....	43
5 สรุปผลการทดลอง .....	53
รายการอ้างอิง .....	54
ภาคผนวก ก .....	60
ภาคผนวก ข .....	72
ประวัติผู้วิจัย .....	82



## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1	5
2	6
3	12
4	22
5	24
6	42
7	44
ก. 1	63
ก. 2	65
ก. 3	70
ข. 1	73
ข. 2	74
ข. 3	75
ข. 4	76
ข. 5	77
ข. 6	78
ข. 7	78
ข. 8	79
ข. 9	80

ตารางที่

หน้า

10	ปริมาณ โอลิโกแซคคาไรด์แต่ละชนิดที่พบในเหลวที่ได้จากการทรีตเปลือกเสาวรศ ด้วยน้ำกึ่งวิกฤตที่ขนาดอนุภาคของตัวอย่างต่างๆ.....	81
----	--	----



## สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 เสาวรสพันธุ์สีเหลือง (ซ้าย) และเสาวรสพันธุ์สีม่วง (ขวา)	4
2 โครงสร้างของผนังเซลล์.....	7
3 โครงสร้างของเซลล์โลส .....	8
4 โครงสร้างของเฮมิเซลล์โลส.....	8
5 โมเดลโครงสร้างของเพกติน (a) และ โครงสร้างของน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบ (b).....	9
6 แผนภูมิวิภาคของน้ำ.....	10
7 การเปลี่ยนแปลงของค่าไดอิเล็กทริกสัมพัทธ์และค่าคงที่การแตกตัวของน้ำตาม .....	11
8 การทำปฏิกิริยาระหว่างสาร PMP กับน้ำตาลรีดิวซ์.....	14
9 อุปกรณ์ในการทรีตเปลือกเสาวรสด้วยน้ำกึ่งวิกฤต.....	18
10 อุณหภูมิภายในเวสเซลล์ตั้งแต่เริ่มให้ความร้อนจนถึงอุณหภูมิที่ 245 องศาเซลเซียส และลดอุณหภูมิลงมาจนถึงอุณหภูมิต้อง .....	19
11 อุณหภูมิระหว่างการทรีตตัวอย่างเปลือกเสาวรสด้วยน้ำกึ่งวิกฤตที่อุณหภูมิ 100 (◆), 125 (□), 150 (△), 175 (×), 200 (■), 225 (○) และ 245 (+) องศาเซลเซียส .....	23
12 ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิตับ ค่า $\ln R_0$ .....	24
13 ภาพถ่ายของแข็งที่เหลือและของเหลวที่ได้จากการทรีตด้วยน้ำกึ่งวิกฤตที่ค่า $\ln R_0$ เท่ากับ 0.1 ถึง 9.9 (อุณหภูมิ 100 ถึง 245 องศาเซลเซียส) .....	25
14 ร้อยละของของแข็งที่หายไป (○) และค่าความเป็นกรด-ด่าง (□) ของของเหลวที่ได้ภายหลังจากการทรีตตัวอย่างเปลือกเสาวรสด้วยน้ำกึ่งวิกฤตที่ค่า $\ln R_0$ เท่ากับ 0.1 ถึง 9.9 (อุณหภูมิ 100 ถึง 245 องศาเซลเซียส) .....	28
15 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด (□), ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (△) และปริมาณ 5-HMF (○) ในของเหลวที่ได้จากการทรีตเปลือกเสาวรสด้วยน้ำกึ่งวิกฤตที่ค่า $\ln R_0$ เท่ากับ 0.1 ถึง 9.9 (อุณหภูมิ 100 ถึง 245 องศาเซลเซียส) .....	30
16 ปริมาณโมโนแซคคาไรด์ทั้งหมดและกลูโคส (ก) และปริมาณโมโนแซคคาไรด์ชนิดอื่นๆ (ข) ในของเหลวที่ได้จากการทรีตเปลือกเสาวรสด้วยน้ำกึ่งวิกฤตที่ค่า $\ln R_0$ เท่ากับ 0.1 ถึง 9.9 (อุณหภูมิ 100 ถึง 245 องศาเซลเซียส) .....	33
17 ปริมาณโอลิโกแซคคาไรด์ทั้งหมด, กาแลกทูโรแนน, กลูแคน และไซแลน (ก) และปริมาณโอลิโกแซคคาไรด์ชนิดอื่นๆ (ข) ในของเหลวที่ได้จากการทรีตเปลือกเสาวรสด้วยน้ำกึ่งวิกฤตที่ค่า $\ln R_0$ เท่ากับ 0.1 ถึง 9.9 (อุณหภูมิ 100 ถึง 245 องศาเซลเซียส).....	36

ภาพที่	หน้า
18 โครมาโทแกรมของโมโนแซคคาไรด์ที่พบในตัวอย่าง (เส้นทึบ) กับสารมาตรฐาน โมโนแซคคาไรด์ทั้ง 9 ชนิด (เส้นประ).....	37
19 โครมาโทแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย Size Exclusion Chromatography ของ คาร์โบไฮเดรตในของเหลวที่ได้ .....	40
20 โครมาโทแกรมขนาดของโอลิโกแซคคาไรด์ในของเหลวที่ได้จากการทรีตเปลือก เสาวรสด้วยน้ำกึ่งวิกฤต .....	41
21 อุณหภูมิในระหว่างทรีตตัวอย่างเปลือกเสาวรสด้วยน้ำกึ่งวิกฤตที่อุณหภูมิ 245 องศา เซลเซียส เมื่อใช้อนุภาคขนาด S (×), M (△), L (□), XL (○) และ control (◆).....	43
22 ภาพถ่ายของของแข็งที่เหลือและของเหลวที่ได้จากการทรีตตัวอย่างด้วยน้ำกึ่งวิกฤต โดยที่ตัวอย่างมีขนาดอนุภาคแตกต่างกัน .....	45
23 ร้อยละของของแข็งที่หายไป (ก) และค่าความเป็นกรด-ด่าง ของของเหลวที่ได้ (ข) ภายหลังจากการทรีตตัวอย่างเปลือกเสาวรสด้วยน้ำกึ่งวิกฤต โดยที่ตัวอย่างมีขนาด อนุภาคแตกต่างกัน .....	47
24 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในของเหลวที่ได้จากการทรีต เปลือกเสาวรสด้วยน้ำกึ่งวิกฤต โดยที่ตัวอย่างมีขนาดอนุภาคแตกต่างกัน .....	48
25 ปริมาณ 5-HMF ในของเหลวที่ได้จากการทรีตเปลือกเสาวรสด้วยน้ำกึ่งวิกฤต โดยที่ ตัวอย่างมีขนาดอนุภาคแตกต่างกัน .....	49
26 ปริมาณ โมโนแซคคาไรด์ในของเหลวที่ได้จากการทรีตเปลือกเสาวรสด้วยน้ำกึ่งวิกฤต โดยที่ตัวอย่างมีขนาดอนุภาคแตกต่างกัน .....	50
27 ปริมาณ โอลิโกแซคคาไรด์ในของเหลวที่ได้จากการทรีตเปลือกเสาวรสด้วยน้ำกึ่งวิกฤต โดยที่ตัวอย่างมีขนาดอนุภาคแตกต่างกัน.....	51
28 โครมาโทแกรมของโอลิโกแซคคาไรด์ในของเหลวที่ได้จากการทรีตเปลือกเสาวรสด้วย ขนาดอนุภาคต่างกัน .....	52
ก. 1 กราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสสำหรับวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด .....	64
ก. 2 กราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสสำหรับวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์.....	65
ก. 3 ตัวอย่างโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐาน 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde.....	67
ก. 4 กราฟมาตรฐานของสารละลาย 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde (5-HMF) .....	67

## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ความเป็นมาและที่มาของงานวิจัย

เสาวรสเป็นผลไม้ชนิดหนึ่งที่นิยมนำมาแปรรูปเป็นน้ำผลไม้ โดยแหล่งผลิตเสาวรสที่สำคัญของโลกได้แก่ บราซิล เอกวาดอร์ โคลัมเบีย และเปรู ซึ่งปริมาณผลผลิตทั่วโลกมีประมาณ 1 ล้านตัน (FAO, 2011) และส่วนใหญ่เป็นพันธุ์สีเหลือง แต่ปัจจุบันเสาวรสพันธุ์สีม่วงได้รับความนิยมเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ โดยในตลาดสหรัฐอเมริกามีความต้องการเสาวรสประมาณ 3,000 ตันต่อปี ส่วนประเทศไทยสามารถผลิตเสาวรสพันธุ์สีม่วงเพื่อรับประทานสดได้ประมาณ 500 ตันต่อปี

ในกระบวนการผลิตน้ำเสาวรส เสาวรสทั้งผลจะถูกส่งเข้าเครื่องสกัดน้ำผลไม้ โดยผลจะถูกบีบให้แตกออก ทำให้แยกส่วนเปลือกออกจากส่วนรุ่มเมล็ดได้ จากนั้นเครื่องจะกรองเอาเมล็ดและกากออกจากส่วนที่เป็นน้ำเสาวรส ในงานวิจัยพบว่าส่วนที่เป็นเปลือกและกากซึ่งเป็นของเหลือทิ้ง มีสัดส่วนมากถึงร้อยละ 60 เมื่อเทียบกับน้ำหนักผลทั้งหมด (ณัชชา, 2550; Rebello และ คณะ, 2007) ซึ่งโดยปกติแล้วจะถูกนำไปเป็นอาหารสัตว์ ทั้งนี้ของเหลือทิ้งเหล่านี้เมื่อได้ศึกษาในงานวิจัยแล้วพบว่ามีองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตที่สำคัญอยู่ในปริมาณสูง ได้แก่ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และเพกติน โดยเฉพาะเพกตินที่พบในเปลือกของเสาวรสนั้นสามารถนำมาผลิตเป็นเพกตินที่มีหมู่เมทอกซิลต่ำได้ (Yapo และ Koffi, 2006)

คาร์โบไฮเดรตที่เป็นโครงสร้างของพืช โดยทั่วไปแล้วอยู่ในรูปของโพลีแซคคาไรด์ แต่ถ้าหากนำมาย่อยในสภาวะที่เหมาะสมจะทำให้ได้คาร์โบไฮเดรตที่มีสายสั้นลงจนอยู่ในระดับที่เรียกว่า โอลิโกแซคคาไรด์ หรือสั้นลงจนถึงระดับที่เป็น โมโนแซคคาไรด์ได้ สำหรับกระบวนการย่อยสายโพลีแซคคาไรด์สามารถทำได้โดยใช้กระบวนการต่างๆ เช่น การใช้เอนไซม์ ซึ่งเป็นวิธีการที่ค่อนข้างใช้เวลา การใช้กรด ซึ่งก็มีข้อเสียคือมีกรดตกค้างและส่งผลให้มีต้นทุนในการกำจัดสารเคมีเหล่านี้เพิ่มขึ้น และมีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมอย่างมาก อย่างไรก็ตามยังมีอีกทางเลือกหนึ่งที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมมากกว่า นั่นก็คือ การทรีตด้วยน้ำกึ่งวิกฤต ซึ่งเป็นวิธีที่ช่วยลดปริมาณการใช้สารเคมี เนื่องจากในกระบวนการจะใช้น้ำเพียงอย่างเดียว สามารถนำน้ำที่ใช้แล้วกลับมาใช้ใหม่ได้ และที่สำคัญคือมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคสูง มีงานวิจัยศึกษาการนำเทคนิคน้ำกึ่งวิกฤตมาทรีตวัตถุดิบเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมหลายชนิด เช่น กากส้ม กากหัวบีท และเปลือกไม้ เป็นต้น

เพื่อแปรรูปให้ได้ผลผลิตที่มีมูลค่าเพิ่มขึ้น แต่ยังไม่พบว่ามี การนำเทคนิคนี้มาใช้กับเปลือกเสาวรสดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีแนวคิดในการนำเทคนิคนี้มาใช้กับเปลือกเสาวรสดเพื่อให้ได้ องค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตเพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับวัตถุดิบเหลือทิ้งชนิดนี้

## 1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิ เวลา และขนาดอนุภาคของตัวอย่างที่ใช้ในการทรีตเปลือกเสาวรสดด้วยน้ำกึ่งวิกฤตต่อองค์ประกอบของของเหลวที่ได้จากกระบวนการทรีตเปลือกเสาวรสดด้วยน้ำกึ่งวิกฤต

## 1.3 สมมติฐานของการวิจัย

อุณหภูมิ เวลา และขนาดอนุภาคของตัวอย่างที่ใช้ในการทรีตเปลือกเสาวรสดด้วยน้ำกึ่งวิกฤตมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของของแข็งที่หายไป ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณ 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอลดีไฮด์ (5-HMF) และองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตซึ่งได้แก่ ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด ปริมาณน้ำตาลรีดิคัล โมโนแซคคาไรด์ และโอลิโกแซคคาไรด์ ในของเหลวที่ได้จากกระบวนการทรีตเปลือกเสาวรสดด้วยน้ำกึ่งวิกฤต

## 1.4 ขอบเขตของการวิจัย

การวิจัยในครั้งนี้ทำการศึกษาในเปลือกเสาวรสดละลายสายพันธุ์ และทรีตด้วยน้ำกึ่งวิกฤตในระบบปิดแบบกะ (batch) โดยความดันของระบบเปลี่ยนแปลงตามอุณหภูมิ

## บทที่ 2

### เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 เสาวรส

เสาวรส เป็นผลไม้ที่มีถิ่นกำเนิดอยู่ในทวีปอเมริกาใต้ บริเวณประเทศบราซิล เอกวาดอร์ โคลัมเบีย และเปรู แต่ปัจจุบันพบว่านิยมปลูกกันอย่างแพร่หลายทั้งในสหรัฐอเมริกา เคนยา อินเดีย อินโดนีเซีย ออสเตรเลีย และนิวซีแลนด์ ในปีพุทธศักราช 2554 องค์การอาหารและการเกษตรแห่งสหประชาชาติ (Food and Agriculture Organization of the United Nations หรือ FAO) ได้รายงานปริมาณผลผลิตของเสาวรสจากทั่วโลกว่ามีปริมาณเพิ่มขึ้นจาก 1.05 ล้านตันในปี พุทธศักราช 2548 เป็น 1.27 ล้านตันในปีพุทธศักราช 2553 อย่างไรก็ตามประเทศบราซิลยังถือว่าเป็นผู้ผลิตรายใหญ่ที่สุดของโลก สำหรับประเทศไทยก็เช่นกัน ได้นำเอาเสาวรสมาปลูกเป็นครั้งแรกในปีพุทธศักราช 2498 โดยนิยมปลูกในแถบภาคเหนือ เช่น เชียงราย เชียงใหม่ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เช่น จังหวัดระยอง ปราจีนบุรี (ลพ, ม.ป.ป.) ซึ่งในแต่ละพื้นที่ก็จะมีชื่อพื้นเมืองที่ใช้เรียกเสาวรสแตกต่างกันไป เช่น กะทกรกฝรั่ง กะทกรกสีดา กะทกรกยักษ์ โปรงฟ้า หล้ารอกข้าง ตำลึงฝรั่ง เป็นต้น (ณัชชา, 2550 ; อรทัย และคณะ, 2555)

เสาวรส เป็นไม้เถาเลื้อยคล้ายตำลึง เถาค่อนข้างคดไปงอมา มีหนามเล็ก ๆ ขึ้นอยู่ห่าง ๆ ผลของเสาวรสมีรูปร่างค่อนข้างกลม ผลอ่อนมีสีเขียว เมื่อสุกแล้วจะมีหลายสีแล้วแต่สายพันธุ์ ซึ่งในประเทศไทยนิยมปลูกอยู่ 3 สายพันธุ์ (ภาพที่ 1) คือ (1) พันธุ์ผลสีม่วง (*Passiflora edulis Sims*) เมื่อผลสุกจะมีสีม่วงเข้มผิวเป็นมัน มีรสชาติดีกว่าพันธุ์สีเหลือง มีกรดต่ำ สีสวย และหวาน จึงเหมาะสำหรับรับประทานผลสด ข้อเสียของพันธุ์นี้คือ ค่อนข้างอ่อนแอต่อโรค (2) พันธุ์ผลสีเหลือง (*Passiflora edulis flavicarpa*) มีสีเหลืองขมเมื่อสุก น้ำคั้นของพันธุ์นี้มีกรดมาก เหมาะสำหรับแปรรูปมากกว่าทานสด ข้อดีคือให้ผลดก และมีความต้านทานโรคสูงกว่าพันธุ์สีม่วง และ (3) พันธุ์ลูกผสม เป็นพันธุ์ที่เกิดจากการผสมกันระหว่างพันธุ์สีม่วง กับพันธุ์สีเหลือง ซึ่งรวมข้อดีของทั้งสองพันธุ์ไว้ เวลาสุกมีทั้งผลสีม่วง และผลสีเหลือง เหมาะสำหรับอุตสาหกรรมเพราะสามารถป้อนผลผลิตได้ตลอดทั้งปี (ลพ, ม.ป.ป.)



ภาพที่ 1 เสาวรสพันธุ์สีเหลือง (ซ้าย) และเสาวรสพันธุ์สีม่วง (ขวา)

ที่มา: [http://www.bitoung.com/page\\_preview.php?id=155](http://www.bitoung.com/page_preview.php?id=155) (สืบค้นเมื่อ 3 พฤศจิกายน 2556)

การบริโภคเสาวรสมารถรับประทานผลสดได้ โดยผ่าผลออกแล้วเติมน้ำตาลหรือเกลือเล็กน้อยตรงบริเวณเนื้อในหรือรอกหุ้มเมล็ด (ลักษณะเหมือนกระเปาะน้ำหุ้มเมล็ดอยู่) หรือจะนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น ทำเป็นแยมผลไม้ ไอศกรีม ขนมเค้ก หรือนำมาคั้นเอาแต่น้ำกลายเป็นน้ำเสาวรส ซึ่งมีกลิ่นหอมและมีกรดมาก จึงมักถูกนำมาผสมกับน้ำผลไม้ชนิดอื่นๆ เพื่อเพิ่มกลิ่นรสแก่ผลิตภัณฑ์นั้นๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง การนำไปผสมกับน้ำสับปะรดซึ่งมีรสเปรี้ยวน้อยกว่า (อรทัย และคณะ, 2555)

การบริโภคเสาวรสเป็นที่นิยมมากในต่างประเทศ โดยในตลาดสหรัฐอเมริกามีความต้องการเสาวรสดประมาณ 3,000 ตันต่อปี และสหรัฐอเมริกานี้เองที่เป็นหนึ่งในตลาดส่งออกทั้งเสาวรสดและผลิตภัณฑ์แปรรูปที่สำคัญของประเทศไทย ซึ่งประเทศไทยสามารถส่งเสาวรสดให้สหรัฐอเมริกาได้ปีละกว่า 500 ตัน (สำนักงานนวัตกรรมแห่งชาติ, ม.ป.ป.) ในขณะที่การบริโภคภายในประเทศเอง ยังไม่ค่อยเป็นที่นิยมมากนัก จึงเน้นไปที่การแปรรูปเป็นน้ำผลไม้เพื่อการส่งออกเสียมากกว่า ดังนั้น เสาวรสจึงเป็นที่ต้องการของโรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปหลายแห่งในประเทศไทย โดยความต้องการนี้มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ดังเช่นในปีพุทธศักราช 2529 โรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปมีความต้องการผลเสาวรสเพียง 360 ตัน แต่ภายในระยะเวลาเพียงปีเดียวเท่านั้น ความต้องการเพิ่มสูงขึ้นถึงประมาณ 2,500 ตัน (ธิดารัตน์, 2532)

ในกระบวนการผลิตน้ำเสาวรส เสาวรสทั้งผลจะถูกส่งเข้าเครื่องสกัดน้ำผลไม้ โดยผลจะถูกบีบให้แตกออก ทำให้แยกส่วนเปลือกออกจากส่วนรอกหุ้มเมล็ดได้ จากนั้นเครื่องจะกรองเอาส่วนของเมล็ดและกากออกจากส่วนที่เป็นน้ำเสาวรส สำหรับโรงงานอุตสาหกรรม เปลือกเสาวรสมักจะถูกขายให้กับเกษตรกรเพื่อนำไปใช้เป็นอาหารเลี้ยงสัตว์ เช่น วัว ควาย เป็นต้น แต่จากงานวิจัยหลายงานพบว่า เปลือกของเสาวรสนี้มีประโยชน์มากมายยิ่งกว่าการเป็นแค่อาหารสัตว์

หากมองประโยชน์ในเชิงพาณิชย์ เปลือกเสาวรสเป็นอีกวัตถุดิบหนึ่งที่มีความเป็นไปได้สูงในการผลิตเพกติน เนื่องจากเป็นเศษเหลือที่มีสัดส่วนสูงถึงร้อยละ 50 ถึง 60 ของน้ำหนักผลสดและมีปริมาณเพกตินประมาณร้อยละ 19.1 ของน้ำหนักเปลือกแห้ง โดยเพกตินที่ได้เป็นเพกตินชนิดที่มีปริมาณหมู่เอสเทอร์ต่ำ (low ester pectin or low methoxy pectin) หรือที่เรียกว่าเพกตินชนิด LM (Yapo และ Koffi, 2006) ซึ่งมีประโยชน์ต่อการเพิ่มความหนืดให้กับผลิตภัณฑ์ที่มีปริมาณของแข็งละลายอยู่น้อย เช่น เครื่องดื่มน้ำผลไม้ นมเปรี้ยว โยเกิร์ต เป็นต้น (Kulkarni และ Vijayanand, 2010; Pinheiro และคณะ, 2008)

Yapo และ Koffi (2008) ได้ศึกษาประโยชน์ของเปลือกเสาวรสในแง่ของการเป็นแหล่งวัตถุดิบใหม่ในการผลิตเส้นใยอาหาร โดยนำเปลือกเสาวรสปั่นรู่สีเหลืองมาสกัดด้วยเอทานอลพบว่า มีส่วนของของแข็งที่ไม่ละลายในเอทานอลมากกว่าร้อยละ 73 และส่วนของของแข็งนี้เองซึ่งมีคุณสมบัติเป็นเส้นใยอาหารที่มีความสามารถในการอุ้มน้ำมากกว่า 3 กรัมต่อกรัมของเส้นใย และมีความสามารถในการอุ้มน้ำมันมากกว่า 4 กรัมต่อกรัมของเส้นใย เส้นใยอาหารเป็นสารที่ร่างกายมนุษย์ไม่สามารถย่อยสลายและดูดซึมได้ด้วยตนเอง แต่จุลินทรีย์บางชนิด (probiotics) ที่อยู่ภายในทางเดินอาหารสามารถหมักสารเหล่านี้ได้ ทำให้จุลินทรีย์เหล่านั้นเจริญเติบโตได้ดีขึ้น จึงเป็นประโยชน์แก่มนุษย์ เช่น ช่วยลดอาการท้องผูก รักษาสมดุลน้ำและเกลือแร่ในร่างกาย และช่วยในการดูดซึมแร่ธาตุบางชนิด เช่น แคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก และสังกะสี (พีร์, 2008) จากคุณประโยชน์ดังกล่าว จึงทำให้มีนักวิจัยศึกษาถึงองค์ประกอบต่างๆ ที่พบในเปลือกเสาวรส ซึ่งแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 องค์ประกอบในเปลือกเสาวรสปั่นรู่สีเหลือง

องค์ประกอบ (ร้อยละต่อน้ำหนักตัวอย่างแห้ง)	เปลือกเสาวรส	
	ณัชชา (2550)	Pinheiro และคณะ (2008)
ความชื้น	1.70 ± 0.37	9.93 ± 0.12
ไขมัน	1.65 ± 0.77	< 0.10
โปรตีน	1.28 ± 0.28	4.05 ± 0.61
เถ้า	8.90 ± 0.03	7.52 ± 0.02
คาร์โบไฮเดรต	35.35	21.28 ± 0.44
เส้นใยที่ละลายน้ำ	-	19.20 ± 0.02
เส้นใยที่ไม่ละลายน้ำ	-	38.05 ± 0.02
เส้นใยทั้งหมด	51.12	-

ตารางที่ 1 ซึ่งให้เห็นว่าเปลือกเสาวรสมิปริมาณคาร์โบไฮเดรตและปริมาณเส้นใยสูงมาก คือมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตในช่วงร้อยละ 21.28 ถึง 35.35 และปริมาณเส้นใยในช่วงร้อยละ 51.12 ถึง 57.25 นอกจากนี้ Yapo และ Koffi (2008) ได้รายงานองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตในเปลือกเสาวรสที่สกัดด้วยเอทานอลและนำส่วนที่ตกตะกอนนั้นไปย่อยต่อด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดส และโปรตีเอส พบว่า ส่วนที่ตกตะกอนออกมานั้นมีโมโนแซคคาไรด์ที่หลากหลาย ซึ่งได้แก่ กลูโคส แรมโนส ฟรุคโตส อะราบิโนส กาแลกโตส ไซโลส แมนโนส รวมถึงกรดยูโรนิกด้วย ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 โมโนแซคคาไรด์ที่พบในเปลือกเสาวรส

โมโนแซคคาไรด์	ปริมาณ (ร้อยละโดยน้ำหนัก)
แรมโนส	1.8 ± 0.1
ฟรุคโตส	0.6 ± 0.1
อะราบิโนส	2.8 ± 0.2
ไซโลส	9.3 ± 0.4
แมนโนส	3.1 ± 0.1
กาแลกโตส	4.7 ± 0.2
กลูโคส	36.1 ± 1.2
กรดยูโรนิก	21.3 ± 0.8
น้ำตาลทั้งหมด	79.7 ± 1.6

ที่มา: Yapo และ Koffi (2008)

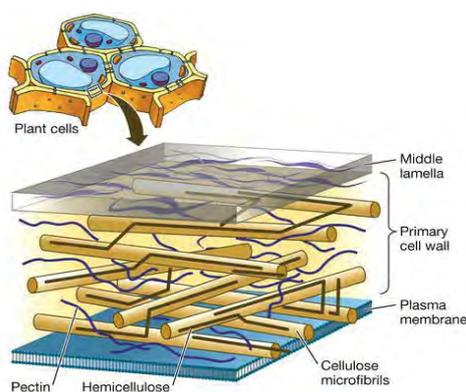
สารประกอบคาร์โบไฮเดรตเหล่านี้ นอกจากจะสร้างพันธะไกลโคซิดิกกับสารประกอบคาร์โบไฮเดรตด้วยกันเองแล้ว ยังสามารถสร้างพันธะไกลโคซิดิกกับสารอื่นที่ไม่ใช่คาร์โบไฮเดรตได้อีกด้วย โดยสารประกอบที่ได้ใหม่นี้เรียกว่า ไกลโคไซด์ (glycosides) ซึ่งส่วนใหญ่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ สามารถนำมาเป็นยารักษาโรคได้ (พรหทัย, 2012)

## 2.2 คาร์โบไฮเดรตที่เป็นโครงสร้างของผนังเซลล์พืช

คาร์โบไฮเดรตเป็นสารที่พบได้ทั้งในพืชและสัตว์ ถือได้ว่าเป็นสารอินทรีย์ที่มีมากที่สุด ในธรรมชาติ คาร์โบไฮเดรตถูกจำแนกออกเป็น 3 พวกใหญ่ๆ โดยอาศัยขนาดของโมเลกุลเป็นเกณฑ์ ได้แก่ โมโนแซคคาไรด์ โอลิโกแซคคาไรด์ และพอลิแซคคาไรด์

โมโนแซคคาไรด์เป็นสารประกอบแอลดีไฮด์หรือคีโตน จัดเป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีโมเลกุลขนาดเล็กที่สุด โดยส่วนใหญ่มีรสหวาน เช่น กลูโคส ฟรุกโตส กาแลคโตส แมนโนส ซึ่งสามารถสร้างพันธะเชื่อมต่อกันเป็นพอลิเมอร์ได้ โดยถ้าหากมีโมเลกุลอยู่ในช่วง 3-20 โมเลกุล เรียกว่าโอลิโกแซคคาไรด์ แต่ถ้าหากมีจำนวนโมเลกุลมากกว่านั้น เรียกว่าพอลิแซคคาไรด์ เช่น แป้ง เซลลูโลส เป็นต้น สำหรับในพืช สามารถพบได้ทั้งคาร์โบไฮเดรตชนิดที่ถูกสะสมไว้เพื่อเป็นอาหาร และคาร์โบไฮเดรตเส้นใย ที่ทำหน้าที่เป็น โครงสร้างของผนังเซลล์พืช ซึ่งหลักๆแล้วได้แก่ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และเพกติน คาร์โบไฮเดรตพวกเส้นใยนี้ไม่ได้จัดเป็นสารอาหารเพราะร่างกายมนุษย์ไม่สามารถย่อยได้ แต่ก็มีประโยชน์ในฐานะเป็นกากอาหารช่วยให้ลำไส้บีบตัวได้ดี และช่วยดูดซับสารพิษบางอย่างไว้ก่อนขับถ่ายออกไป

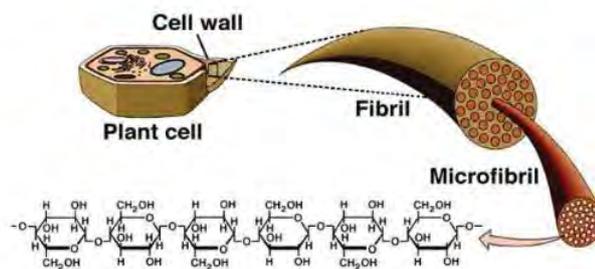
เมื่อพิจารณาโครงสร้างของผนังเซลล์พืชในภาพที่ 2 จะเห็นว่าบริเวณชั้นผนังเชื่อมยึดระหว่างเซลล์หรือที่เรียกว่า มิดเดิลลามেলা (middle lamella) ส่วนใหญ่ประกอบไปด้วยสารเพกติน (ร้อยละ 35) ที่ทำหน้าที่เป็นโครงสร้างของเซลล์และยึดเหนี่ยวเซลล์เข้าด้วยกัน โดยจับกับเซลลูโลส (ร้อยละ 30) เฮมิเซลลูโลส (ร้อยละ 30) และไกลโคโปรตีน (ร้อยละ 5) ของผนังเซลล์พืชที่อยู่ในชั้นปฐมภูมิ (primary cell wall) เพื่อเพิ่มความแข็งแรงให้กับเซลล์พืช (Fischer และ Bennett, 1991)



### ภาพที่ 2 โครงสร้างของผนังเซลล์

ที่มา: <http://biology-forums.com/index.php?action=gallery;sa=view;id=5421> (สืบค้นข้อมูลเมื่อ 7 กันยายน 2554)

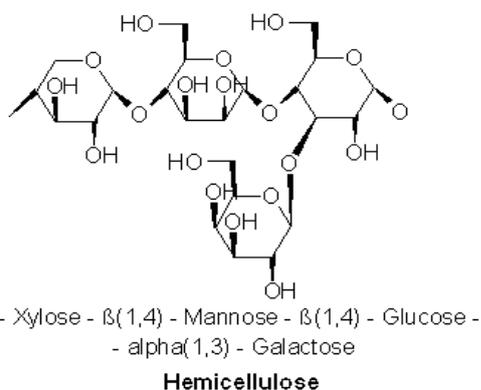
เซลลูโลสเป็นพอลิแซคคาไรด์สายยาวที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ประกอบด้วยหน่วยย่อยที่เป็นน้ำตาลกลูโคสที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิกแบบเบต้า 1,4 โดยทั่วไปในผนังเซลล์จะพบเซลลูโลสในรูปของ microfibrils (ภาพที่ 3) ซึ่งเกิดจากการยึดกันของสายโซ่เซลลูโลสหลายเส้นด้วยพันธะไฮโดรเจนของหมู่ไฮดรอกซิลบนหน่วยกลูโคส ทำให้เซลลูโลสทำปฏิกิริยากับสารต่างๆ ได้ช้า (Fischer และ Bennett, 1991)



### ภาพที่ 3 โครงสร้างของเซลลูโลส

ที่มา: [http://www.bio.miami.edu/dana/226/226F07\\_3.html](http://www.bio.miami.edu/dana/226/226F07_3.html) (สืบค้นข้อมูลเมื่อ 2 พฤศจิกายน 2556)

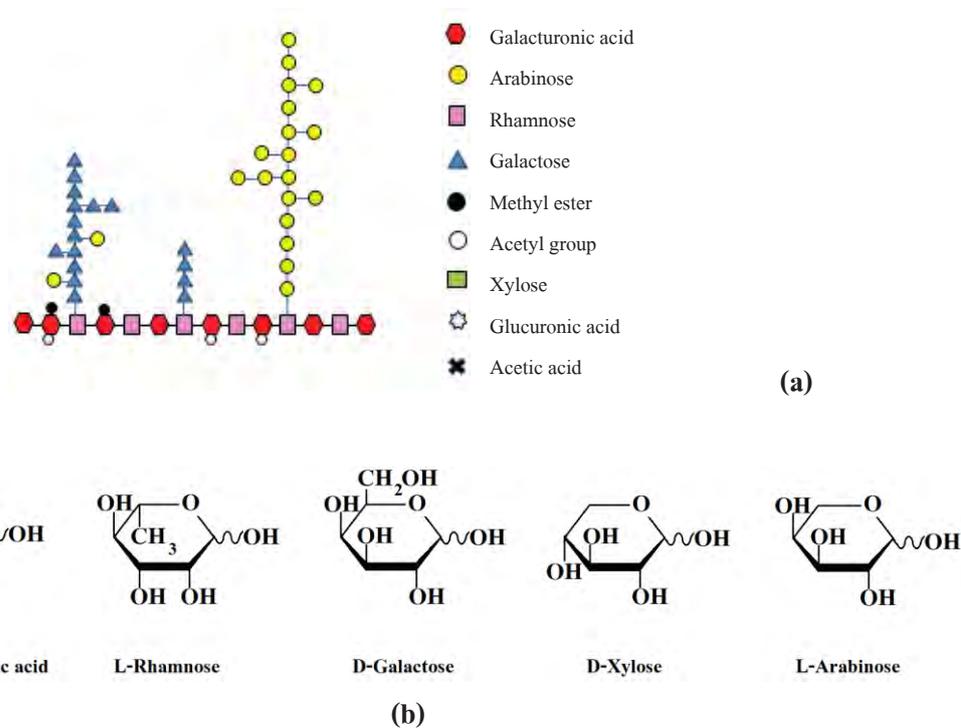
เฮมิเซลลูโลสเป็นพอลิแซคคาไรด์เช่นกัน แต่แตกต่างจากเซลลูโลสตรงที่มีน้ำตาลหลายชนิดเป็นองค์ประกอบ (ภาพที่ 4) โครงสร้างของเฮมิเซลลูโลสประกอบด้วยสายโซ่หลัก ซึ่งแบ่งได้ 3 แบบ คือ ไซแลน (xylan) กลูโคแมนแนน (glucomannans) และกาแลกแตน (galactans) และสายโซ่กิ่งที่เป็น กาแลกโตส (galactose) อะราบิโนส (arabinose) และกรดยูโรนิก (uronic acid) ที่มักถูกเติมหมู่เมทิลลงไป (Fischer และ Bennett, 1991)



### ภาพที่ 4 โครงสร้างของเฮมิเซลลูโลส

ที่มา: <http://en.wikipedia.org/wiki/File:Hemicellulose.png> (สืบค้นข้อมูลเมื่อ 2 พฤศจิกายน 2556)

สำหรับเพกตินนั้นเป็นพอลิแซคคาไรด์ที่ประกอบไปด้วย D - galacturonic acid เป็นส่วนใหญ่ ที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิกตรงตำแหน่งเบต้า 1,4 นอกจากนี้ยังประกอบด้วย L- rhamnose, D -galactose, L- arabinose และ fucose ในปริมาณน้อยเกาะอยู่เป็นสายกิ่ง โดยหมู่คาร์บอกซิลใน D - galacturonic acid บางส่วนจะทำปฏิกิริยาเอสเทอร์ริฟิเคชันกับหมู่เมทิลได้เป็นเมทอกซิลเอสเทอร์ (Belitz และ Grosch, 1999) (ภาพที่ 5) ร้อยละของหมู่เมทอกซิลเหล่านี้เรียกว่า degree of methoxylation เพกตินที่มีหมู่เมทอกซิลน้อยกว่าร้อยละ 50 เป็น low methoxyl (LM) pectins ในขณะที่มากกว่าร้อยละ 50 นั้นเรียกว่า high methoxyl (HM) pectins (Sharma และคณะ, 2006)



ภาพที่ 5 โมเดลโครงสร้างของเพกติน (a) และ โครงสร้างของน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบ (b)  
ที่มา: (a) ดัดแปลงจาก เปี่ยมสุข (2551)

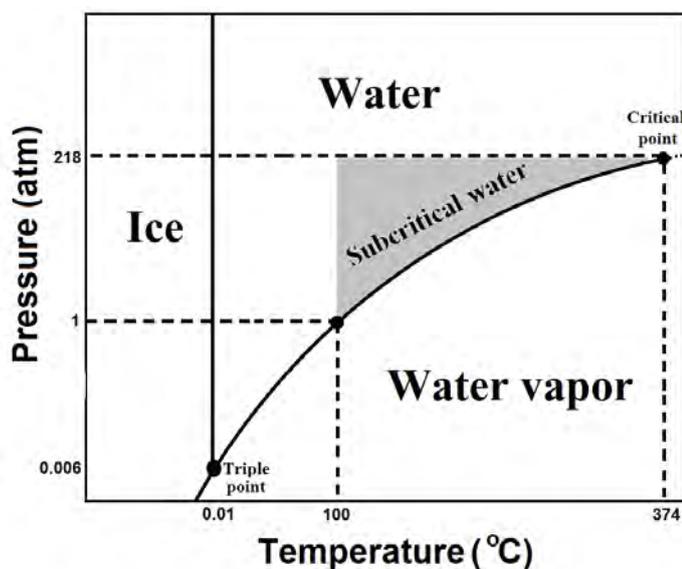
จากที่ได้กล่าวมาแล้ว จะเห็นว่าคาร์โบไฮเดรตที่เป็นโครงสร้างของผนังเซลล์พืช ส่วนใหญ่เป็นพวกพอลิแซคคาไรด์ที่เชื่อมพันธะกันอย่างเหนียวแน่น เพื่อเพิ่มความแข็งแรงให้กับเซลล์พืช อย่างไรก็ตาม ความแข็งแรงของเซลล์พืชอาจสูญเสียไป เมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงขึ้นกับพืช เช่น

การสุกของผลไม้ การได้รับการกระทบกระเทือน เป็นต้น (Fischer และ Bennett, 1991; Vicente และคณะ, 2007)

### 2.3 การทรีตสารชีวมวลด้วยน้ำกึ่งวิกฤต

สารชีวมวล (Biomass) หมายถึง แหล่งทรัพยากรต้นกำเนิดทางชีวภาพ ที่สามารถถูกใช้ได้ในรูปแบบของพลังงานและวัตถุดิบ โดยที่เศษไม้ เศษหญ้า ของเสียจากการเกษตร หรือขยะมูลฝอย ก็ถูกจัดอยู่ในหมวดของสารชีวมวลด้วยเช่นกัน โดยทั่วไป การเปลี่ยนสารชีวมวลให้เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าเพิ่มขึ้น มักนิยมใช้กระบวนการทางเคมี ซึ่งมีความยุ่งยากและซับซ้อน และอาจก่อให้เกิดมลพิษต่อธรรมชาติได้ในภายหลัง หรืออาจมีสารตกค้างอยู่ในผลิตภัณฑ์ ส่งผลต่อผู้บริโภคบริโภคได้ ดังนั้น นักวิจัยส่วนใหญ่จึงให้ความสำคัญกับกระบวนการผลิตที่เป็นมิตรกับธรรมชาติมากขึ้น และการทรีตด้วยน้ำกึ่งวิกฤตก็เป็นอีกหนึ่งวิธีที่ได้รับความสนใจ ในการนำมาใช้แปรรูปสารชีวมวล

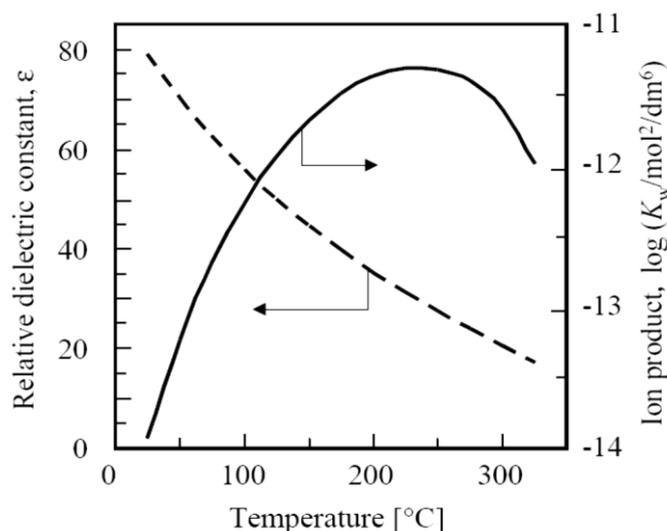
ในแผนภูมิวิภาคของน้ำ (ภาพที่ 6) ซึ่งเป็นการแสดงการเปลี่ยนแปลงสถานะของน้ำตามอุณหภูมิและความดัน จะเห็นว่าน้ำกึ่งวิกฤต (subcritical water) คือน้ำที่มีอุณหภูมิอยู่ในช่วง 100 ถึง 374 องศาเซลเซียส ภายใต้ความดันสูงเพียงพอที่จะรักษาสถานะของเหลวไว้ได้ และในสภาวะนี้เองที่ทำให้ น้ำกึ่งวิกฤตมีคุณสมบัติสำคัญแตกต่างไปจากน้ำที่สภาวะปกติ ซึ่งก็คือ ค่าคงที่ไดอิเล็กทริก (dielectric constant) และค่าคงที่การแตกตัว (ion product)



ภาพที่ 6 แผนภูมิวิภาคของน้ำ

ที่มา: ดัดแปลงจาก Chaplin (2014)

ภาพที่ 7 แสดงให้เห็นว่า ค่าคงที่ไดอิเล็กทริกสัมพัทธ์ของน้ำมีค่าลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ซึ่งก็ทำให้ความเป็นขั้วของโมเลกุลน้ำนั้นลดลงด้วยเช่นกัน จากคุณสมบัติที่เปลี่ยนแปลงไปนี้จึงทำให้น้ำกึ่งวิกฤตมีพฤติกรรมคล้ายกับตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว อย่างเช่น เมทานอล หรือ อะซีโตน ซึ่งสามารถละลายสารประกอบที่ไม่มีขั้วได้ดีกว่าน้ำที่สภาวะปกติมาก ทำให้สามารถสกัดและเข้าทำปฏิกิริยากับสารกลุ่มนี้ได้ดี ในขณะที่ค่าคงที่การแตกตัวของน้ำ ( $K_w$ ) มีค่าเพิ่มขึ้นจาก  $10^{-5}$  ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส ไปเป็น  $10^{-14}$  ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และ  $10^{-12}$  ที่อุณหภูมิ 220 องศาเซลเซียส จนกระทั่งมีค่า  $K_w$  มากที่สุดประมาณ  $6.5 \times 10^{-12}$  ที่อุณหภูมิ 220 องศาเซลเซียส (Clever, 1968) การเพิ่มขึ้นของค่า  $K_w$  นี้ ส่งผลให้โมเลกุลของน้ำแตกตัวเป็นไฮโดรเจนไอออน ( $H^+$ ) และไฮดรอกซีไอออน ( $OH^-$ ) มากขึ้นซึ่งถือว่าเป็นปัจจัยที่สามารถเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสได้ (ปราโมทย์, 2549; Olanrewaju, 2012) อย่างไรก็ตาม ที่อุณหภูมิสูงกว่า 220 องศาเซลเซียสขึ้นไป ค่า  $K_w$  กลับลดลงจนมีค่าประมาณ  $3.5 \times 10^{-14}$  ที่อุณหภูมิ 374 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่จุดวิกฤตของน้ำ (Clever, 1968)



ภาพที่ 7 การเปลี่ยนแปลงของค่าไดอิเล็กทริกสัมพัทธ์และค่าคงที่การแตกตัวของน้ำตาม

อุณหภูมิที่ความดัน 15 เมกะปาสคาล

ที่มา: ปราโมทย์ (2549)

จากคุณสมบัติของน้ำกึ่งวิกฤตเหล่านี้เอง ทำให้มีนักวิจัยหลายคนนำเทคนิคนี้มาศึกษาถึงความสามารถในการทรีตสารชีวมวลต่างๆ เพื่อให้ได้สารประกอบคาร์โบไฮเดรตประเภทต่างๆ ดังตารางที่ 3 เนื่องจากเป็นเทคนิคที่สะอาด อีกทั้งยังช่วยลดปริมาณการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ลงได้

ตารางที่ 3 ตัวอย่างการทรีตสารชีวมวลด้วยน้ำกึ่งวิกฤต

วัตถุดิบ	สภาวะที่ใช้ทรีต	ผลิตภัณฑ์	อ้างอิง
กากชูการ์บีท	140-200 °C, 10 kPa	กลูแคน กาแลกแตน แมนแนน ไชแลน อะราบีแนน และกาแลกทูโรแนน	Martínez และคณะ (2009)
กากมะพร้าว	100 -300 °C	โมนแซคคาไรด์ โอลิโกแซคคาไรด์	อารีวัลย์ (2555)
กากมะพร้าว	100 -200 °C, 30 - 240 นาที	คาร์โบไฮเดรต	Khuwjitjaru และคณะ (2012)
กากเมล็ดแฟลกซ์	150 °C, 170 °C	คาร์โบไฮเดรต ลิกแนน	Ho และคณะ (2007)
กากไม้ซุง	310-320 °C , 25 MPa	โมนแซคคาไรด์ โอลิโกแซคคาไรด์	Matsunaga และคณะ (2008)
ชานอ้อย	200-280 °C	น้ำตาล	Sasaki และคณะ (2003)
เปลือกต้นแฟลกซ์	170-220 °C, 2 MPa	เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ลินิน	Kim และ Mazza (2006)
เปลือกสั้	160-320 °C, 20 MPa	เพกติน เส้นใยอาหาร	Tanaga และคณะ (2012)
เปลือกสั้	140- 200 °C	เพกติกโอลิโกแซคคาไรด์	Martínez และคณะ (2010)
ฟางข้าว	170 - 230 °C, 9 นาที	ไซโลโอลิโกแซคคาไรด์	Ingram และคณะ (2009)
ไม้ปืษญี่ปุ่น	170-290 °C, 10 MPa	กลูแคน ไชแลน	Lü และ Saka (2010)
เศษไม้	325 - 425 °C, 60 วินาที	กลูโคส	Kim และคณะ (2010)

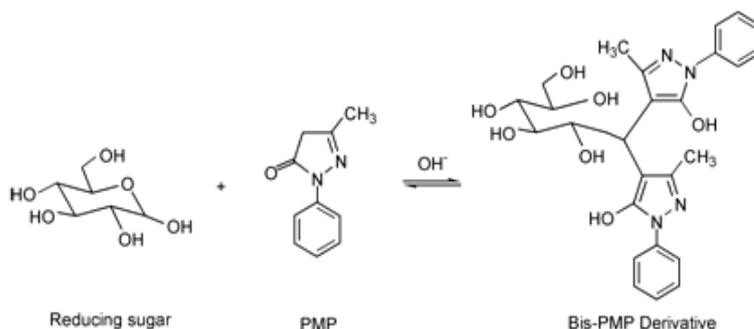
## 2.4 การวิเคราะห์คาร์โบไฮเดรตด้วยโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

การวิเคราะห์คาร์โบไฮเดรตในอาหารเป็นสิ่งสำคัญอย่างยิ่ง ทั้งนี้เพราะว่าคาร์โบไฮเดรตเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญและคาร์โบไฮเดรตบางชนิดยังมีประโยชน์ในแง่ของการเป็นเส้นใยอาหาร นอกจากนี้ยังมีผลต่อการควบคุมคุณภาพและลักษณะของผลิตภัณฑ์อาหาร เช่น เครื่องดื่ม เป็นต้น ดังนั้นเทคนิคที่จะนำมาวิเคราะห์จึงมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่ง

ในปัจจุบันเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Chromatography, HPLC) ถูกนำมาใช้กันอย่างกว้างขวางในการแยกและวิเคราะห์สาร เทคนิคนี้สามารถวิเคราะห์ส่วนประกอบที่ซับซ้อนได้ ดังนั้นจึงถูกนำมาประยุกต์ใช้กับงานในหลายๆ ด้าน เช่น อุตสาหกรรมอาหาร, เกษษกรรม, ชีวภาพ และตัวอย่างด้านสิ่งแวดล้อม HPLC เป็นเทคนิคที่ประยุกต์มาจากทฤษฎีของโครมาโทกราฟีของเหลว (Liquid Chromatography, LC) โดยการแยกสารด้วย LC แบบดั้งเดิมทำได้โดยบรรจุเฟสอยู่หนึ่ง (stationary phase) ในคอลัมน์แก้ว จากนั้นใส่สารที่ต้องการแยกที่ด้านบนของคอลัมน์แล้วชะสารโดยใช้เฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) หรือตัวชะที่เป็นตัวทำละลายที่เหมาะสม ซึ่งอาจเป็นตัวทำละลายตัวเดียว หรือ เป็นสารละลายก็ได้ การไหลของเฟสเคลื่อนที่ที่อาศัยแรงโน้มถ่วง ทำให้การแยกสารใช้เวลานาน ใช้ปริมาณของตัวชะค่อนข้างมาก และต้องเก็บสารที่แยกได้เป็นส่วนๆ เพื่อนำไปวิเคราะห์ต่อไป นอกจากนี้ ประสิทธิภาพของการแยกสารจะเพิ่มขึ้นเมื่ออนุภาคของเฟสอยู่หนึ่งมีขนาดเล็กลง จึงทำให้มีการพัฒนา LC สมัยใหม่ซึ่งนั่นก็คือ HPLC นั่นเอง ใน HPLC จะใช้เฟสอยู่หนึ่งที่มีขนาดเล็กมาก ซึ่งส่งผลให้เกิดการต้านการไหลของเฟสเคลื่อนที่ จึงจำเป็นต้องใช้ความดันสูงเพื่อผลักดันให้เฟสเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์ได้ สารที่ถูกแยกภายในคอลัมน์สามารถถูกตรวจวัด โดยเครื่องตรวจวัดที่เหมาะสมและ output ของเครื่องตรวจวัดเป็นสัญญาณไฟฟ้า และแสดงผลโดยอินทิเกรเตอร์ (integrator) หรือคอมพิวเตอร์ (ศุภลักษณ์, 2552)

Reverse Phase High Performance Chromatography, RP-HPLC เป็นโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงรูปแบบหนึ่งที่ถูกนำมาวิเคราะห์คาร์โบไฮเดรต โดยเทคนิคนี้ใช้เฟสอยู่หนึ่งเป็นสารที่มีสภาพขั้วต่ำ เช่น สารอินทรีย์ประเภท n-alkyl ซึ่งมีคาร์บอน 8 หรือ 18 โมเลกุล เพื่อแยกสารที่มีสภาพขั้วต่ำออกจากกันและใช้เฟสเคลื่อนที่ที่มีสภาพขั้วสูงกว่า เพื่อไล่สารที่ต้องการออกมาจากคอลัมน์ โดยสารที่มีสภาพขั้วต่ำจะออกมาช้ากว่าสารที่มีสภาพขั้วสูงกว่า เครื่องตรวจวัดที่เป็นที่นิยมแบบหนึ่งคือ UV detector ซึ่งสารหรือตัวอย่างที่เหมาะสมกับ detector นี้ ต้องเป็นตัวอย่างที่มีหมู่ที่สามารถให้ค่าการดูดกลืนแสงได้ เรียกว่า chromophore แต่เนื่องจากคาร์โบไฮเดรตเป็นสารที่ไม่สามารถดูดกลืนแสงในช่วง UV ได้ ดังนั้นการวิเคราะห์คาร์โบไฮเดรตด้วยเทคนิคนี้จึงจำเป็นต้องเตรียมอนุพันธ์ (derivatization) เสียก่อน

สาร 1-phenyl-3-methyl-2- pyrazoline-5-one (PMP) เป็นสารชนิดหนึ่งที่มีนิยมนำมาเตรียมอนุพันธ์ของคาร์โบไฮเดรตก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วย RP-HPLC เนื่องจากสารนี้มีหมู่ฟีนิล ซึ่งเป็นหมู่ chromophore ที่สามารถดูดกลืนแสงได้ดีที่ 245 นาโนเมตร ดังนั้นเมื่อนำสารนี้มาเตรียมอนุพันธ์กับคาร์โบไฮเดรตในสถานะต่างก็สามารถทำให้คาร์โบไฮเดรตนั้นๆ ถูกตรวจสอบด้วย UV detector ได้ ซึ่งสาร PMP 2 โมเลกุล จะเข้าทำปฏิกิริยากับคาร์โบไฮเดรตตรงตำแหน่งหมู่รีดิวซ์ ดังภาพที่ 8 Honda และคณะ (1989) เป็นนักวิจัยกลุ่มแรกที่รายงานเกี่ยวกับการนำสาร PMP มาติดในโครงสร้างของโมโนแซคคาไรด์ที่เป็นองค์ประกอบในไกลโคโปรตีน หลังจากนั้นเป็นต้นมาการวิเคราะห์คาร์โบไฮเดรตด้วยวิธีนี้ได้ถูกนำมาใช้มากขึ้น โดยเฉพาะการวิเคราะห์คาร์โบไฮเดรตในตัวอย่างสารสกัดจากพืชและผลไม้ ดังเช่น Yang และคณะ (2005) ได้เคยนำวิธีดังกล่าวมาวิเคราะห์โมโนแซคคาไรด์ใน *Angelica sinensis* ซึ่งเป็นสมุนไพรพื้นบ้านของประเทศจีนที่มีสรรพคุณรักษาโรคที่เกี่ยวข้องกับระบบทางเดินอาหารและสามารถต้านการเกิดมะเร็งได้



ภาพที่ 8 การทำปฏิกิริยาระหว่างสาร PMP กับน้ำตาลรีดิวซ์  
ที่มา: Tian และคณะ (2010)

Size Exclusion Chromatography (SEC) เป็นเทคนิคโครมาโทกราฟีที่อาศัยหลักการแยกสารตามความแตกต่างของขนาดโมเลกุล โดยเฟสอยู่นิ่งที่มักใช้เป็นวัสดุที่มีรูพรุน ซึ่งสารที่มีขนาดใหญ่เกินกว่าที่จะแพร่เข้าไปในรูจะถูกเฟสเคลื่อนที่ชะออกไปก่อน ในขณะที่สารที่มีขนาดเล็กกว่ารูพรุนนั้นจะแทรกเข้าไปข้างในรู ทำให้ใช้เวลานานกว่าที่เฟสเคลื่อนที่ชะสารออกไปจากคอลัมน์ได้ อย่างไรก็ตาม SEC จะไม่มีแรงดึงดูดใดๆระหว่างอนุภาคของเฟสอยู่นิ่งและโมเลกุลของสารที่ต้องการแยก SEC มีประโยชน์มากในการวิเคราะห์ทางชีวเคมีสำหรับสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงๆ เช่น เปปไทด์, โปรตีน, ฮีโมโกลบิน และคาร์โบไฮเดรต เนื่องจากสารที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ก็จะมีน้ำหนักโมเลกุลสูง ดังนั้นระยะเวลาคงค้างของสารตัวอย่างจึงขึ้นอยู่กับน้ำหนักโมเลกุลของสารตัวอย่างด้วย (ศุกลักษณ์, 2552)

### บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย

#### 3.1 วัตถุดิบ

เสาวรสกละสายพันธุ์ (พันธุ์สีเหลือง พันธุ์สีม่วง และพันธุ์ผสม) จากบริษัท คอยคำ  
ผลิตภัณฑ์อาหาร จำกัด สาขาแม่จัน จังหวัดเชียงราย ประเทศไทย

#### 3.2 สารเคมี

##### 3.2.1 สารเคมีทั่วไป

<u>ชื่อสารเคมี</u>	<u>ความบริสุทธิ์</u>	<u>บริษัทผู้ผลิต</u>
1-Phenyl-3-methyl-2- pyrazoline-5-one (PMP)	99 %	Sigma Aldrich, St. Louis, USA
5-Hydroxymethyl-2-furaldehyde (5-HMF)	99 %	Sigma Aldrich, St. Louis, USA
Acetonitrile	99.7 %	Lab-Scan, Bangkok, Thailand
Dinitrosalicylic acid	98 %	Sigma Aldrich, St. Louis, USA
Disodium hydrogen orthophosphate dehydrate	99 %	Ajax, New South Wales, Australia
Distilled water		Better Syndicate, Bangkok, Thailand
Hydrochloric acid	37 %	Merck, Darmstadt, Germany
Methanol	99.9 %	Lab-Scan, Bangkok, Thailand
Patassium sodium tartrate	99-102 %	Ajax, New South Wales, Australia
Phenol	99-100.5 %	Merck, Darmstadt, Germany
Sodium dihydrogen orthophosphate	99-101 %	Ajax, New South Wales, Australia
Sodium hydroxide	≥ 99 %	Merck, Darmstadt, Germany
Sulfuric acid	98 %	Merck, Darmstadt, Germany
Trifluoroacetic acid (TFA)	99 %	Sigma Aldrich, St. Louis, USA

### 3.2.2 สารมาตรฐาน

<u>น้ำตาลมาตรฐาน</u>	<u>ความบริสุทธิ์</u>	<u>บริษัทผู้ผลิต</u>
Arabinose	$\geq 98 \%$	Sigma Aldrich, St. Louis, USA
Fucose	$\geq 98 \%$	
Galactose	$\geq 99 \%$	
Galacturonic acid	$\geq 97 \%$	
Glucose	$\geq 99.5 \%$	
Glucuronic acid	$\geq 98 \%$	
Mannose	$\geq 99 \%$	
Rhamnose	$\geq 99 \%$	
Ribose	$\geq 99 \%$	
Xylose	$\geq 99 \%$	
<u>โอลิโกแซคคาไรด์มาตรฐาน</u>	<u>ความบริสุทธิ์</u>	<u>บริษัทผู้ผลิต</u>
Maltose	$\geq 98 \%$	Sigma Aldrich, St. Louis, USA
Maltotriose	$\geq 98 \%$	
Maltotetraose	$\geq 96 \%$	
Maltopentaose	$\geq 95 \%$	
Maltohexaose	$\geq 93 \%$	
Maltoheptaose	$\geq 94 \%$	

### 3.3 อุปกรณ์และเครื่องมือ

#### 3.3.1 อุปกรณ์ในการสกัดตัวอย่างด้วยน้ำกึ่งวิกฤต ประกอบด้วย

- เครื่องควบคุมอุณหภูมิพร้อม block heater และเทอร์โมคัปเปิล ชนิด type-K

(Nanasiam Intertrade, Bangkok, Thailand)

- เวสเซล รูปทรงกระบอก ทำจากสแตนเลส ความจุ 125 มิลลิลิตร (SUS 316, ทนความดันสูงสุด 20 MPa, ทนอุณหภูมิสูงสุด 260 องศาเซลเซียส, Taiatsu Techno, Tokyo, Japan)

### 3.3.2 เครื่อง High performance liquid chromatography (HPLC) ประกอบด้วย

- Photodiode array UV-Vis detector (SPD-M20A, Shimadzu, Kyoto, Japan)
- Solvent delivery module (LC-20AD, Shimadzu, Kyoto, Japan)
- System controller (รุ่น CBM-20A, Shimadzu, Kyoto, Japan)
- C-18 column (Inertsil ODS 3, 150 × 4.6 mm, Ø 5 µm, GL Sciences, Tokyo, Japan)
- Size Exclusion Chromatography Column (YMC-Pack Diol-60, 500 x 8.0 mm, YMC, Kyoto, Japan)

### 3.3.3 อุปกรณ์และเครื่องมืออื่นๆ

- เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Genesys 10s UV-Vis, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA)
- เครื่องแยกสารแบบหมุนเหวี่ยง (RC6 superspeed, Sorvall, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA)
- เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (Seven Easy pH Meter S20, Mettler-Toledo, Columbus, OH, USA)
- เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง (ED 224S, Sartorius, Göttingen, Germany)
- ตู้อบลมร้อน (FD 115, Binder, Tuttlingen, Germany)
- อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Metrology Lab, Bangkok, Thailand)
- เครื่องแก้วต่างๆ

## 3.4 วิธีการทดลอง

### 3.4.1 การเตรียมตัวอย่าง

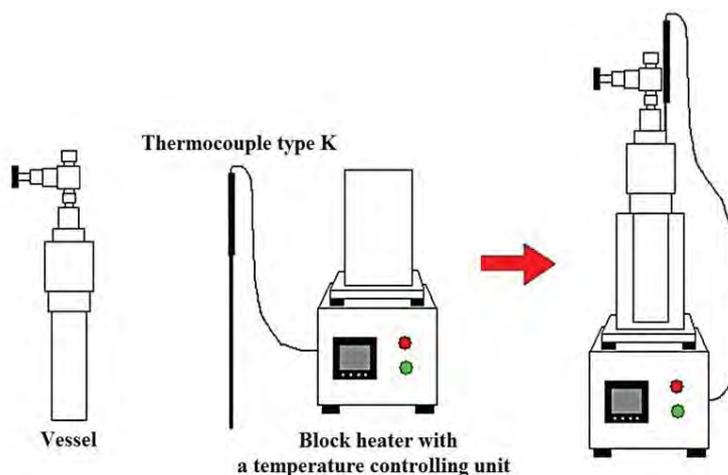
นำเสาวรสมาผ่าออกแล้วควั่นเอาเนื้อและเมล็ดออกไป จากนั้นนำส่วนของเปลือกที่ล้างน้ำสะอาดแล้วมาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆขนาดกว้างประมาณ 1 เซนติเมตร ยาวประมาณ 5 เซนติเมตร ล้างน้ำให้สะอาดแล้วนำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปบดด้วยเครื่องผสมอาหาร (Moulinex optiblend duo, France) ซึ่งมีอัตราการหักขนาดอนุภาคด้วยตะแกรงร่อนพบว่าตัวอย่างที่ได้มีขนาดอนุภาคอยู่ในช่วง 45 ถึง 4,750 ไมครอน แล้วใส่ตัวอย่างลงในกล่องพลาสติกเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง เพื่อรอทำการศึกษาต่อไป

ตัวอย่างเปลือกเสาวรสที่มีขนาดอนุภาคอยู่ในช่วง 45 ถึง 4,750 ไมครอนนี้จะถูกแบ่งออกเป็น 2 ส่วนเท่าๆกัน ส่วนหนึ่งนำไปใช้ในการศึกษาเรื่องผลของอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ใน

การทรีตด้วยน้ำกึ่งวิกฤต และอีกส่วนหนึ่งจะถูกนำไปแยกขนาดอนุภาคด้วยตะแกรงร้อนออกเป็นขนาดต่างๆ ได้แก่ อนุภาคขนาดใหญ่กว่า 45 แต่เล็กกว่า 106 ไมครอน, อนุภาคขนาดใหญ่กว่า 106 แต่เล็กกว่า 250 ไมครอน, อนุภาคขนาดใหญ่กว่า 250 แต่เล็กกว่า 1,000 ไมครอน และอนุภาคขนาดใหญ่กว่า 1,000 แต่เล็กกว่า 4,750 ไมครอน ซึ่งตัวอย่างที่ถูกแยกขนาดอนุภาคแล้วนี้จะนำไปศึกษาเรื่องผลของขนาดอนุภาคของตัวอย่างที่ใช้ในการทรีตด้วยน้ำกึ่งวิกฤต

### 3.4.2 การทรีตเปลือกเสาวรศด้วยน้ำกึ่งวิกฤต

3.4.2.1 นำผงเปลือกเสาวรศแห้งผสมน้ำในสัดส่วน 1:16 (เปลือกเสาวรศ 5 กรัมต่อน้ำ 80 กรัม) ในเวสเซลทนความร้อนและความดัน ปิดเวสเซลแล้วนำไปใส่ block heater (ภาพที่ 9) จากนั้นให้ความร้อนแก่ตัวอย่างที่อุณหภูมิ 100 ถึง 245 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 9 อุปกรณ์ในการทรีตเปลือกเสาวรศด้วยน้ำกึ่งวิกฤต

ในงานวิจัยนี้ ตัวอย่างได้รับความร้อนจาก block heater ที่ถูกควบคุมการให้ความร้อนด้วย temperature controller แบบ PID โดยทำการกำหนดค่า PID ของเครื่องไว้ที่ค่าหนึ่ง เพื่อให้เครื่องมือสามารถให้ความร้อนแก่ตัวอย่างได้อย่างต่อเนื่องจนถึงอุณหภูมิสูงสุดตามที่ต้องการ (245 องศาเซลเซียส) และใช้ค่า PID เดียวกันนี้ ศึกษาที่อุณหภูมิต่างๆด้วย เพื่อควบคุมให้อัตราการเพิ่มความร้อนในแต่ละทรีตเมนต์เป็นไปในรูปแบบเดียวกัน ดังนั้น เวลาที่ทำให้อุณหภูมิตัวอย่างเท่ากับอุณหภูมิที่ต้องการศึกษาจึงไม่เท่ากัน ยกตัวอย่างเช่น เวลาที่ทำให้อุณหภูมิตัวอย่างเท่ากับ 100 องศาเซลเซียส ย่อมน้อยกว่าเวลาที่ทำให้อุณหภูมิตัวอย่างเท่ากับ 125 องศาเซลเซียส เป็นต้น อย่างไรก็ตาม การกำหนดค่า PID นี้ เพื่อให้อุณหภูมิตั้งแต่เริ่มให้ความร้อนจนถึง

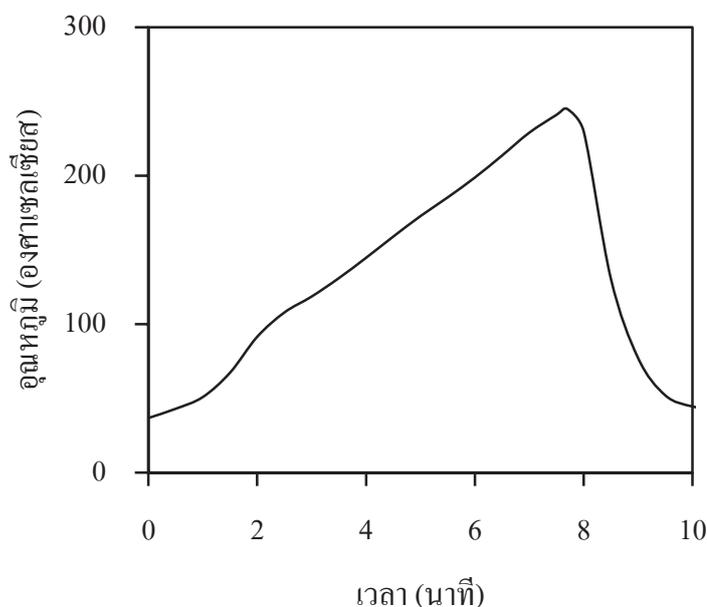
อุณหภูมิที่ 245 องศาเซลเซียสนั้น ใช้เวลาไม่เกิน 10 นาที เพื่อไม่ต้องการให้ตัวอย่างได้รับความร้อนนานจนเกินไป

3.4.2.2 เมื่ออุณหภูมิของตัวอย่างในเวสเซลถึงอุณหภูมิที่ต้องการศึกษาแล้วจึงนำเวสเซลออกจาก block heater จากนั้นเปิดน้ำจากก๊อกให้ไหลผ่านเวสเซลเพื่อลดอุณหภูมิภายในเวสเซลให้มีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้องอย่างรวดเร็ว แล้วจึงเทตัวอย่างออกจากเวสเซล บันทึกอุณหภูมิตั้งแต่เริ่มทรีตตัวอย่างจนถึงเวลาที่ตัวอย่มีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้อง ในการทรีตสารใช้แผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design : CRD) จำนวน 3 ซ้ำ

แต่เนื่องจากการให้ความร้อนภายในเวสเซลมีลักษณะไม่คงที่ (non-isothermal) ดังตัวอย่างในภาพที่ 10 จึงรายงานผลของอุณหภูมิและเวลาในการให้ความร้อนด้วยค่า severity factor ( $R_o$ ) ซึ่งหาได้จากสมการ (1) (Overend และ Chornet, 1987)

$$R_o = \int_0^t \exp\left(\frac{T(t) - 100}{14.75}\right) dt \quad (1)$$

โดยที่  $t$  คือ ระยะเวลาที่ตัวอย่างในเวสเซลมีอุณหภูมิถึงอุณหภูมิที่ต้องการ (นาที)  
 $T$  คือ อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)



ภาพที่ 10 อุณหภูมิภายในเวสเซลตั้งแต่เริ่มให้ความร้อนจนถึงอุณหภูมิที่ 245 องศาเซลเซียส และลดอุณหภูมิลงมาจนถึงอุณหภูมิห้อง

3.4.2.3 กรองตัวอย่างที่ทรีตแล้วด้วยเครื่องกรองสุญญากาศโดยใช้กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 แล้วนำของแข็งที่เหลือบนกระดาษกรองไปวิเคราะห์หาปริมาณของแข็งที่หายไป (solid loss) สำหรับของเหลวนั้นให้นำไปปั่นเหวี่ยงที่  $12,000 \times g$  เป็นเวลา 20 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ปรับปริมาตรของเหลวด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตร 100 มิลลิลิตร เก็บของเหลวที่ได้ในขวดใส่ตัวอย่าง แล้ววัดค่าความเป็นกรด-ด่างของของเหลวหลังจากการทรีต แล้วเก็บที่อุณหภูมิ ต่ำกว่า -18 องศาเซลเซียส เพื่อรอการวิเคราะห์ต่อไป

3.4.2.4 อบของแข็งที่เหลือจากการกรองในข้อ 3.4.2.3 ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นใน โถดูดความชื้นและชั่งน้ำหนัก เพื่อคำนวณหาค่าร้อยละของของแข็งที่หายไป โดยคำนวณจากสมการ (2)

$$\text{ร้อยละของของแข็งที่หายไป} = \left[ 1 - \frac{\text{น้ำหนักของแข็งที่เหลือหลังการทรีต (กรัม)}}{\text{น้ำหนักของแข็งของตัวอย่างเริ่มต้น (กรัม)}} \right] \times 100 \quad (2)$$

### 3.4.3 การย่อยตัวอย่างที่ได้จากการทรีตด้วย Trifluoroacetic acid (TFA) (ดัดแปลงจาก Dai และคณะ, 2010)

ในงานวิจัยครั้งนี้ ต้องการศึกษถึงปริมาณของโอลิโกแซคคาไรด์ทั้งหมดที่พบในของเหลวที่ได้จากการทรีตเปลือกเสาวรศด้วยน้ำกึ่งวิกฤต แต่ในตัวอย่างนั้นมีองค์ประกอบของโมโนแซคคาไรด์หลายชนิด และอาจเป็นไปได้ที่จะทำให้เกิดโอลิโกแซคคาไรด์หลายชนิดด้วยเช่นกัน เนื่องจากไม่สามารถหาสารมาตรฐานของโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีการจัดเรียงตัวแบบจำเพาะเจาะจงของโมโนแซคคาไรด์ในโครงสร้างได้ ดังนั้น จึงใช้การเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างปริมาณโมโนแซคคาไรด์ทั้งหมด ทั้งก่อนและหลังการย่อยด้วยสาร THF เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณโอลิโกแซคคาไรด์ในตัวอย่างแทน

สำหรับการย่อยตัวอย่างที่ได้จากการทรีตด้วย TFA นั้นเริ่มจากดูดตัวอย่างของเหลวที่ได้จากการทรีตด้วยน้ำกึ่งวิกฤตมา 50 ไมโครลิตร นำไปเป่าให้แห้งด้วยก๊าซไนโตรเจน เดิม TFA ความเข้มข้น 2 โมลาร์ ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ลงไป ปิดฝาให้แน่น จากนั้นนำไปให้ความร้อนใน heating block ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1.5 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลาแล้วจึงนำตัวอย่างมาทำให้เย็นอย่างรวดเร็วโดยแช่ในอ่างน้ำแข็ง จากนั้นเติม 2-propanol ปริมาตร 200 ไมโครลิตร นำไปประเหยตัวทำละลายโดยเป่าก๊าซไนโตรเจนลงไปในช่วง ทำเช่นนี้ 3 ครั้งเพื่อกำจัด TFA ออกไป จากนั้นเติมน้ำกลั่น 50 ไมโครลิตรลงไปในตัวอย่งที่กำจัด TFA ออกไปแล้ว

### 3.4.4 การวิเคราะห์ทางเคมี

3.4.3.1 วิเคราะห์ปริมาณสารอาหารในตัวอย่าง (Proximate analysis) (รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ก)

3.4.3.2 วิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด ด้วยวิธีฟีนอลซัลฟูริก (phenol-sulfuric method) (Chaplin และ Kennedy, 1986) ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ โดยใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นสารละลายมาตรฐาน และวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร (รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ก)

3.4.3.3 วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ด้วยวิธีไดโนโตรซาลิไซลิก (Chaplin และ Kennedy, 1986) ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ โดยใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นสารละลายมาตรฐาน และวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร (รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ก)

3.4.3.4 วิเคราะห์ปริมาณสาร 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอลดีไฮด์ (5-hydroxymethyl-2-furaldehyde, 5-HMF) ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ (รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ก)

3.4.3.5 วิเคราะห์ปริมาณ โมโนแซคคาไรด์ที่ได้จากการทรีตตัวอย่างทั้งก่อนและหลังย่อยด้วย TFA โดยการเตรียมอนุพันธ์ด้วย 1-phenyl-3-methyl-2-pyrazoline-5-one (PMP) ก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ ดัดแปลงจากวิธีการของ Honda และคณะ (1997) (รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ก)

3.4.3.6 วิเคราะห์ขนาดโอลิโกแซคคาไรด์ที่ได้จากการทรีตตัวอย่างด้วยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) (รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ก)

### 3.4.5 การวิเคราะห์ทางสถิติ

เปรียบเทียบผลของสภาวะการทรีตเปลือกเสาวรศด้วยน้ำกึ่งวิกฤต โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลในเชิงสถิติด้วยโปรแกรม ANOVA และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของค่าที่วิเคราะห์โดยใช้วิธี Tukey ที่ระดับ  $\alpha = 0.05$

## บทที่ 4

### ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

#### 4.1 องค์ประกอบในเปลือกเสาวรศ

หลังจากที่นำเปลือกเสาวรศ ไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำไปบดให้มีขนาดอนุภาคอยู่ในช่วง 45 ถึง 4,750 ไมครอน พบว่าผงเปลือกเสาวรศที่นำมาศึกษานี้มีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นสารประเภทคาร์โบไฮเดรต (แสดงในตารางที่ 4) ซึ่งมีปริมาณสอดคล้องกับงานวิจัยของณัชชา (2550) และ Pinheiro และคณะ (2008)

ตารางที่ 4 องค์ประกอบในผงเปลือกเสาวรศ

องค์ประกอบ	ร้อยละ (โดยน้ำหนักเปียก) *
ความชื้น	9.4 ± 0.0
ไขมัน	0.4 ± 0.0
โปรตีน	3.9 ± 0.2
เถ้า	6.9 ± 0.1
คาร์โบไฮเดรต**	79.4 ± 0.2

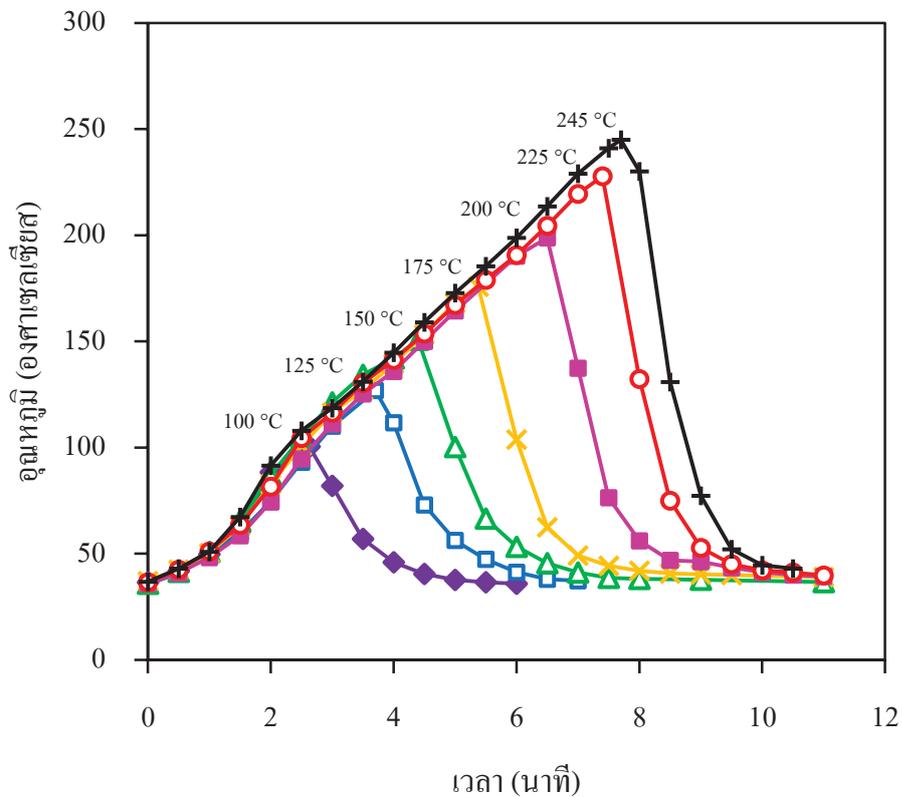
\* ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n = 3)

\*\* คำนวณจาก คาร์โบไฮเดรต = 100 - (ความชื้น+ไขมัน+โปรตีน+เถ้า)

#### 4.2 ผลของอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการทรีต

##### 4.2.1 สถานะในการทรีตเปลือกเสาวรศด้วยน้ำกึ่งวิกฤต

การให้ความร้อนเพื่อให้อุณหภูมิของตัวอย่างในเวสเซลไปถึงอุณหภูมิที่ต้องการ (100 ถึง 245 องศาเซลเซียส) นั้นใช้เวลาไม่เท่ากันดังแสดงในภาพที่ 11 และตารางที่ 5



ภาพที่ 11 อุณหภูมิระหว่างการทรีตตัวอย่างเปลือกเสาวรศด้วยน้ำกึ่งวิกฤตที่อุณหภูมิ 100 (◆), 125 (□), 150 (△), 175 (×), 200 (■), 225 (○) และ 245 (+) องศาเซลเซียส

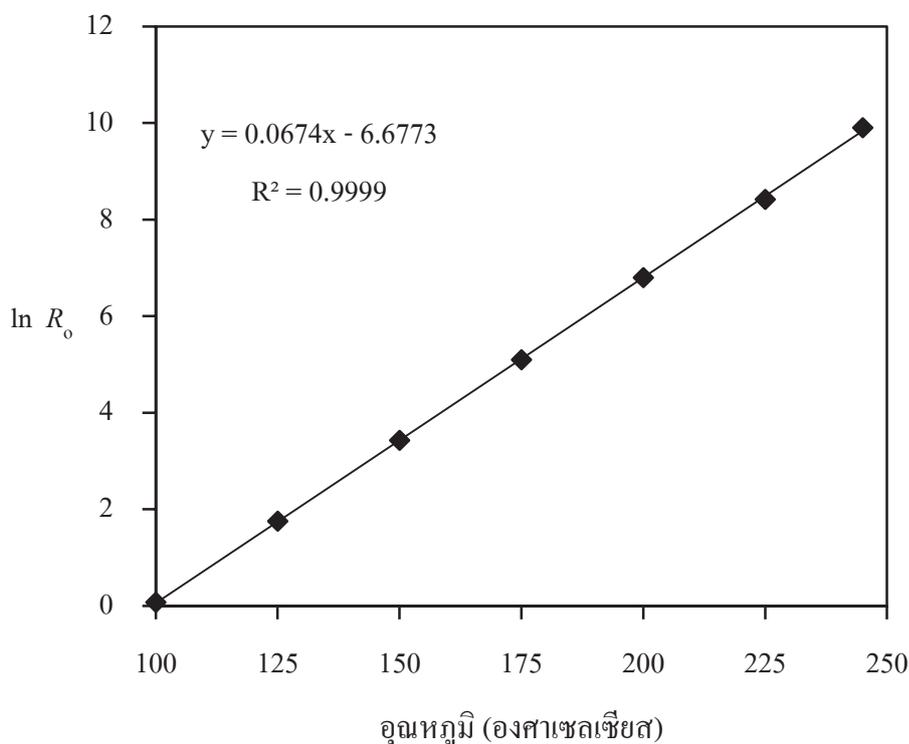
เพื่อเป็นการรวมอิทธิพลของอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ จึงนำอุณหภูมิและระยะเวลาที่ใช้ในการทรีตผงเปลือกเสาวรศของแต่ละทรีตเม้นต์มาคำนวณตามสมการ (1) (Overend และ Chornet, 1987) ทำให้ได้ค่าความรุนแรงของสภาวะน้ำกึ่งวิกฤตในรูปของ severity factor ( $R_0$ ) ซึ่งนิยมใช้ในการรายงานสภาวะของกระบวนการที่เกี่ยวข้องกับอุณหภูมิและเวลาสำหรับการทรีตตัวอย่างด้วยน้ำหรือไอน้ำ (Overend และ Chornet, 1987; Martínez และคณะ, 2009; Martínez และคณะ, 2010) ดังแสดงในตารางที่ 5 ซึ่งพบได้ว่าค่า  $R_0$  เพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิที่ใช้ทรีตตัวอย่าง และเมื่อนำค่า  $\ln R_0$  มาหาความสัมพันธ์กับอุณหภูมิ พบว่าค่า  $\ln R_0$  และอุณหภูมิมีความสัมพันธ์ในลักษณะที่เป็นเส้นตรง ตามภาพที่ 12

ตารางที่ 5 ค่า severity factor ( $R_0$ ) จากการทรีดเปลือกเสาวรศด้วยน้ำกึ่งวิกฤตที่อุณหภูมิต่างๆ

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลาที่ใช้* (นาที)	อัตราการให้ความร้อน** (องศาเซลเซียส/นาที)	$R_0^{**}$	$\ln R_0^{**}$
100	2.5	$26.8 \pm 0.8$	$1.1 \times 10^0 \pm 0.0$	$0.1 \pm 0.0$
125	3.5	$27.2 \pm 0.9$	$5.8 \times 10^0 \pm 1.0$	$1.8 \pm 0.2$
150	4.5	$28.8 \pm 0.3$	$3.1 \times 10^1 \pm 3.8$	$3.4 \pm 0.1$
175	5.5	$27.8 \pm 0.5$	$1.6 \times 10^2 \pm 15.9$	$5.1 \pm 0.1$
200	6.5	$28.5 \pm 2.0$	$9.0 \times 10^2 \pm 103.5$	$6.8 \pm 0.1$
225	7.4	$26.6 \pm 0.7$	$4.5 \times 10^3 \pm 386.7$	$8.4 \pm 0.1$
245	7.6	$29.4 \pm 1.7$	$2.1 \times 10^4 \pm 5,791.6$	$9.9 \pm 0.3$

\* เวลาตั้งแต่เริ่มให้ความร้อนแก่ตัวอย่างจนกระทั่งตัวอย่างมีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิที่ต้องการศึกษา

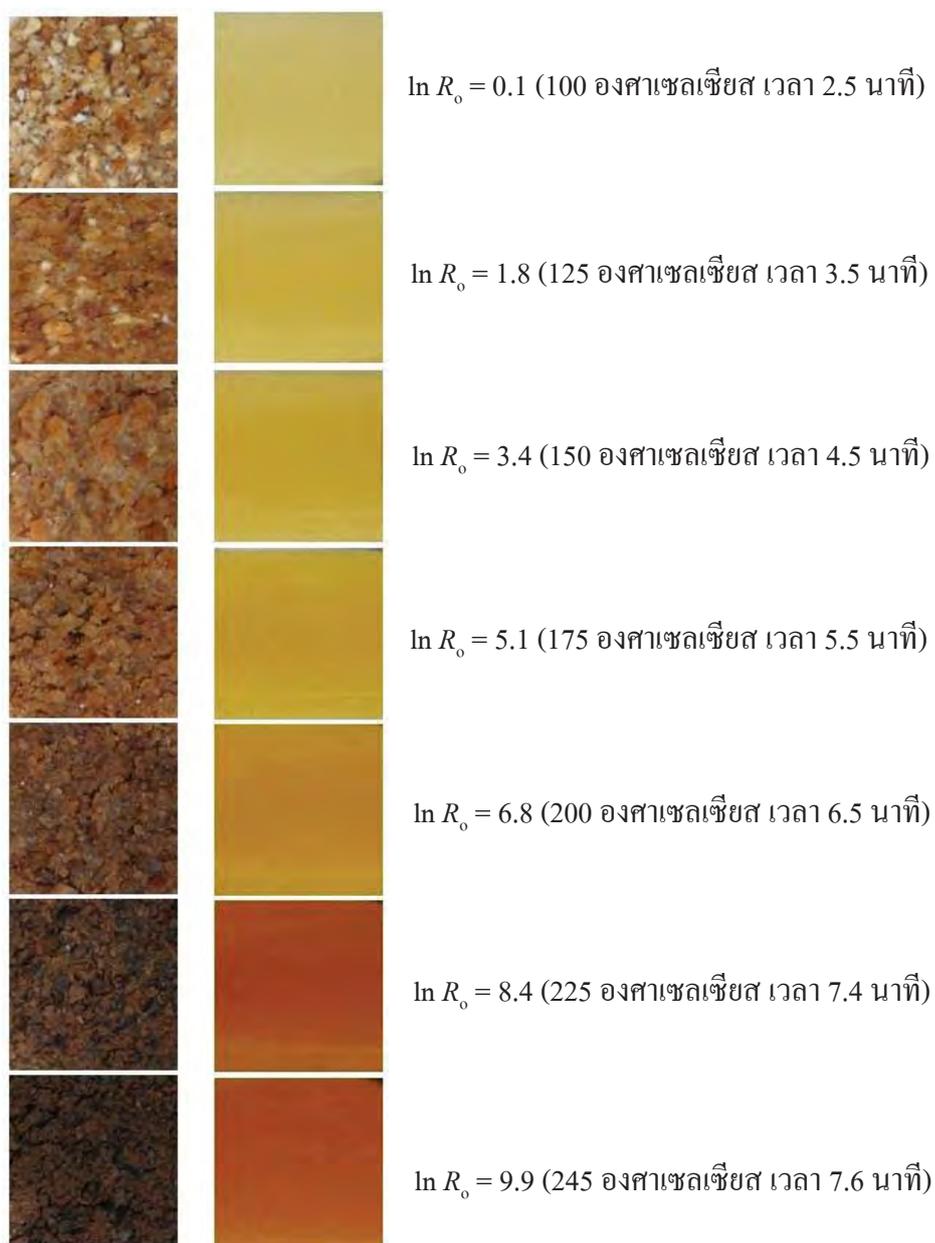
\*\* ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n = 3)



ภาพที่ 12 ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิกับ ค่า  $\ln R_0$

#### 4.2.2 ลักษณะปรากฏของของแข็งที่เหลือและของเหลวที่ได้หลังการทรีต

ของแข็งที่เหลือและของเหลวที่ได้จากการทรีตตัวอย่าง เมื่อผ่านการกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 มีลักษณะปรากฏแสดงดังภาพที่ 13 โดยสภาวะที่ใช้ในการทรีตเปลือกเสาวรศด้วยน้ำกึ่งวิกฤตที่แตกต่างกันส่งผลต่อสีและลักษณะปรากฏของของเหลวและของแข็งที่เหลืออยู่



ภาพที่ 13 ภาพถ่ายของแข็งที่เหลือและของเหลวที่ได้จากการทรีตด้วยน้ำกึ่งวิกฤตที่ค่า  $\ln R_0$  เท่ากับ 0.1 ถึง 9.9 (อุณหภูมิ 100 ถึง 245 องศาเซลเซียส)

จากภาพที่ 13 พบว่าของแข็งที่เหลืออยู่นั้น มีสีน้ำตาลอ่อนไปจนถึงสีน้ำตาลเข้มเมื่อค่า  $\ln R_0$  เพิ่มขึ้นตามลำดับ ที่ค่า  $\ln R_0$  เท่ากับ 0.1 และ 1.8 (อุณหภูมิ 100 และ 125 องศาเซลเซียส) พบว่าของแข็งมีลักษณะทางกายภาพคล้ายกับวัตถุบดตั้งต้น กล่าวคือ เปลือกเสาวรสบางอนุภาค ยังคงแข็งเหมือนกับวัตถุบดตั้งต้นซึ่งเห็นเป็นอนุภาคสีขาวอมเหลือง ในขณะที่บางอนุภาคเริ่มมีการดูดซับน้ำเข้าไปทำให้เกิดความอ่อนนุ่มและมีสีน้ำตาลมากขึ้น แต่เมื่อทรีตตัวอย่างที่ค่า  $\ln R_0$  ตั้งแต่ 3.4 ขึ้นไป (อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส) พบว่าลักษณะของอนุภาคที่แข็งๆเหล่านั้นหายไปจนหมด เหลือเพียงแต่อนุภาคที่มีการดูดซับน้ำเข้าไปจนบวมออกมา และยังคงเห็นอนุภาคขนาดใหญ่อยู่ค่อนข้างมาก อย่างไรก็ตาม ที่ค่า  $\ln R_0$  ตั้งแต่ 6.8 (อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส) ขึ้นไป อนุภาคขนาดใหญ่ที่อุ้มน้ำนั้นถูกทำลายจนทำให้มีขนาดเล็กและละเอียดมากขึ้น สำหรับของเหลวที่ได้เป็นสารละลายสีที่มีสีตั้งแต่เหลืองอ่อนๆไปจนถึงสีน้ำตาลเข้ม โดยเริ่มเห็นความแตกต่างอย่างชัดเจน ตั้งแต่สภาวะที่มีค่า  $\ln R_0$  ตั้งแต่ 6.8 ขึ้นไป

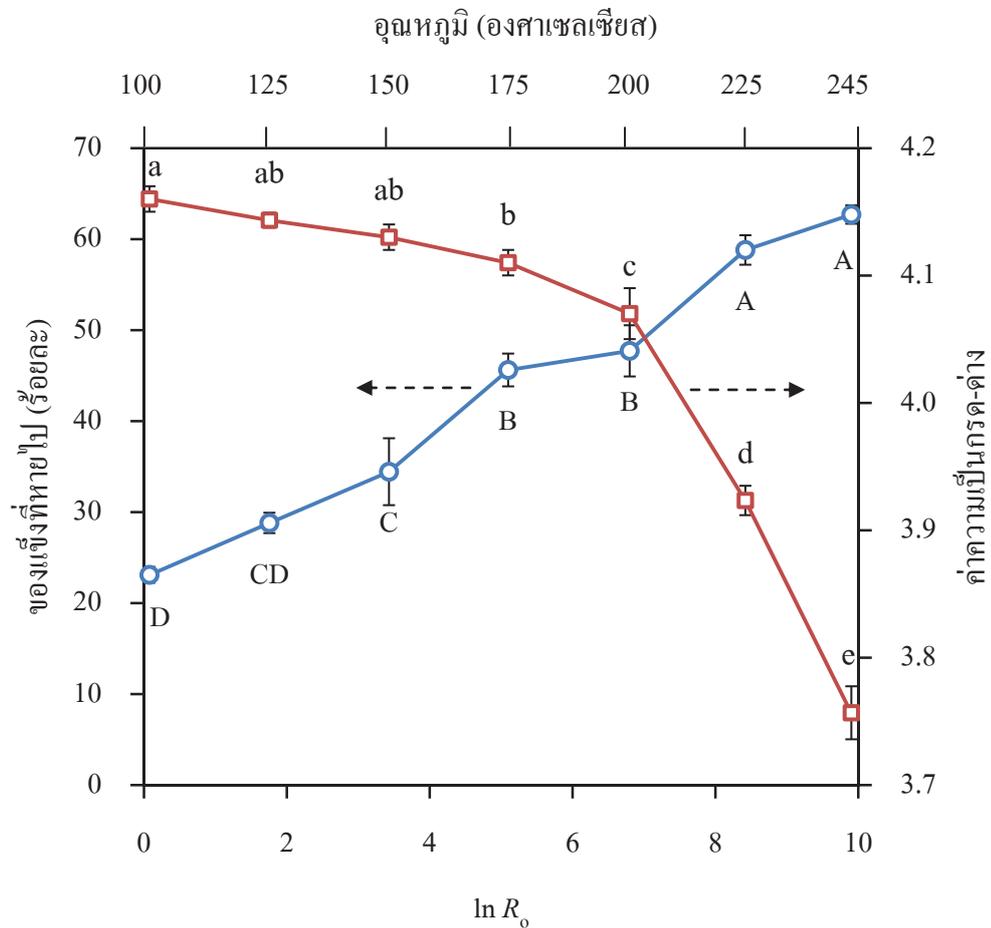
ลักษณะการอุ้มน้ำที่พบในของแข็งที่เหลือจากการทรีตเปลือกเสาวรสบ น่าจะเป็นผลมาจากเพคตินที่มีปริมาณมากถึงร้อยละ 19.1 โดยน้ำหนักของเปลือกเสาวรสบแห้ง (Yapo และ Koffi, 2006) ซึ่งเป็นเส้นใยอาหารที่ละลายน้ำได้และสามารถอุ้มน้ำได้มากกว่า 3 กรัมต่อกรัมของเส้นใย (Yapo และ Koffi, 2008) อย่างไรก็ตาม เมื่อ  $\ln R_0$  มีค่าตั้งแต่ 5.1 (อุณหภูมิ 175 องศาเซลเซียส) ขึ้นไป โครงสร้างของเพคตินถูกทำลายด้วยน้ำกึ่งวิกฤตมากขึ้น ดังนั้นจึงส่งผลให้ลักษณะของการอุ้มน้ำของของแข็งที่เหลือจากการทรีตเปลือกเสาวรสบเริ่มหายไปจนเกือบไม่พบลักษณะดังกล่าวในของแข็งที่เหลือจากการทรีตเปลือกเสาวรสบที่  $\ln R_0$  เท่ากับ 9.9 (อุณหภูมิ 245 องศาเซลเซียส) ซึ่งเป็นสภาวะที่รุนแรงที่สุดของการทดลองครั้งนี้ นอกจากนี้ ของแข็งยังมีขนาดเล็ก และเนื้อละเอียดมากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Kobayashi และคณะ (2009) ที่พบว่าไม้ที่ผ่านการทรีตด้วยน้ำกึ่งวิกฤต (อุณหภูมิ 150 ถึง 250 องศาเซลเซียส) มีขนาดลดลงเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา เนื่องจากองค์ประกอบในไม้เกิดการสลายตัวเป็นสารประกอบที่ละลายน้ำได้

สำหรับของเหลวสีที่มีสีตั้งแต่เหลืองอ่อนๆไปจนถึงสีน้ำตาลเข้มนั้น น่าจะเป็นผลมาจากการมีผลิตภัณฑ์ใหม่ๆเกิดขึ้น เช่น 5-HMF ซึ่งสารนี้เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลชนิดที่ไม่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ อันได้แก่ ปฏิกิริยาการเกิดคาราเมล (caramelization) และปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction)

### 4.2.3 ปริมาณของแข็งที่หายไปและค่าความเป็นกรด-ด่างของของเหลวที่ได้

เมื่อนำเปลือกเสาวรศที่ผ่านการทรีตไปอบแห้งจนน้ำหนักคงที่ จากนั้นนำน้ำหนักสุดท้ายมาคำนวณร้อยละของของแข็งที่หายไป จากภาพที่ 14 พบว่าค่า  $\ln R_0$  ที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ปริมาณของแข็งที่หายไปมีปริมาณเพิ่มขึ้นด้วยเช่นกัน (ร้อยละ 23.1 ที่ค่า  $\ln R_0$  เท่ากับ 0.1 ถึงร้อยละ 62.7 ที่ค่า  $\ln R_0$  เท่ากับ 9.9) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าน้ำกึ่งวิกฤตมีความสามารถในการทำลายโครงสร้างของเปลือกเสาวรศที่มีองค์ประกอบเป็นสาร โมเลกุลใหญ่อย่างเช่น พอลิแซคคาไรด์ ซึ่งปกติแล้วไม่ละลายน้ำ ให้เปลี่ยนเป็นสารที่มีโมเลกุลขนาดเล็กและสามารถละลายน้ำได้ เช่น โอลิโกแซคคาไรด์ โมโนแซคคาไรด์ และอนุพันธ์ของแซคคาไรด์ ส่งผลให้ปริมาณของแข็งที่หายไปมีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อสภาวะที่ใช้ในการทรีตรุนแรงมากขึ้น (Olanrewaju, 2012; Sasaki, 2000) เช่นเดียวกับการทรีตกากชุกการบีบและเปลือกส้มด้วยน้ำกึ่งวิกฤต ที่พบว่าเมื่อทรีตตัวอย่างที่อุณหภูมิสูงขึ้น ปริมาณของแข็งที่หายไปก็มีค่าเพิ่มขึ้นด้วยเช่นกัน (Martínez และคณะ, 2009; Martínez และคณะ, 2010)

เมื่อนำของเหลวที่ได้จากการทรีตเปลือกเสาวรศด้วยน้ำกึ่งวิกฤตไปวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) พบว่า ของเหลวมีความเป็นกรดเพิ่มขึ้นตามความรุนแรงในการทรีต โดยที่ค่า  $\ln R_0$  เท่ากับ 0.1 ถึง 9.9 มีค่าความเป็น กรด-ด่างลดลงจาก 4.2 ไปจนถึง 3.8 ตามลำดับ ซึ่งแสดงในภาพที่ 14 การเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-ด่างนี้ เป็นผลมาจากการเกิดผลิตภัณฑ์ที่มีคุณสมบัติเป็นกรดขึ้นมาในระหว่างที่มีการทรีตตัวอย่าง เนื่องจากหมู่แอลดีไฮด์หรือคีโตนในโครงสร้างของคาร์โบไฮเดรตสามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันจนเกิดเป็นกรดคาร์บอกซิลิกหรือกรดอินทรีย์ได้ (Novotný และคณะ, 2008) นอกจากนี้ยังอาจเป็นผลที่มาจากการทำลายโครงสร้างของเพคตินซึ่งส่วนใหญ่เป็นพอลิเมอร์ของกรดกาแลกทูโรนิก ทำให้มีปริมาณกรดกาแลกทูโรนิกในของเหลวเพิ่มขึ้นด้วยเช่นกัน การเกิดผลิตภัณฑ์ที่เป็นกรดนี้สอดคล้องกับการทดลองของ Lü และ Saka (2010) ที่พบกรดอะซีติก (acetic acid), กรดฟอร์มิก (formic acid), กรดแลกติก (lactic acid) และกรดไกล โคลิก (glycolic acid) ในของเหลวที่ได้จากการทรีตไม้ Japanese beech ด้วยน้ำกึ่งวิกฤต

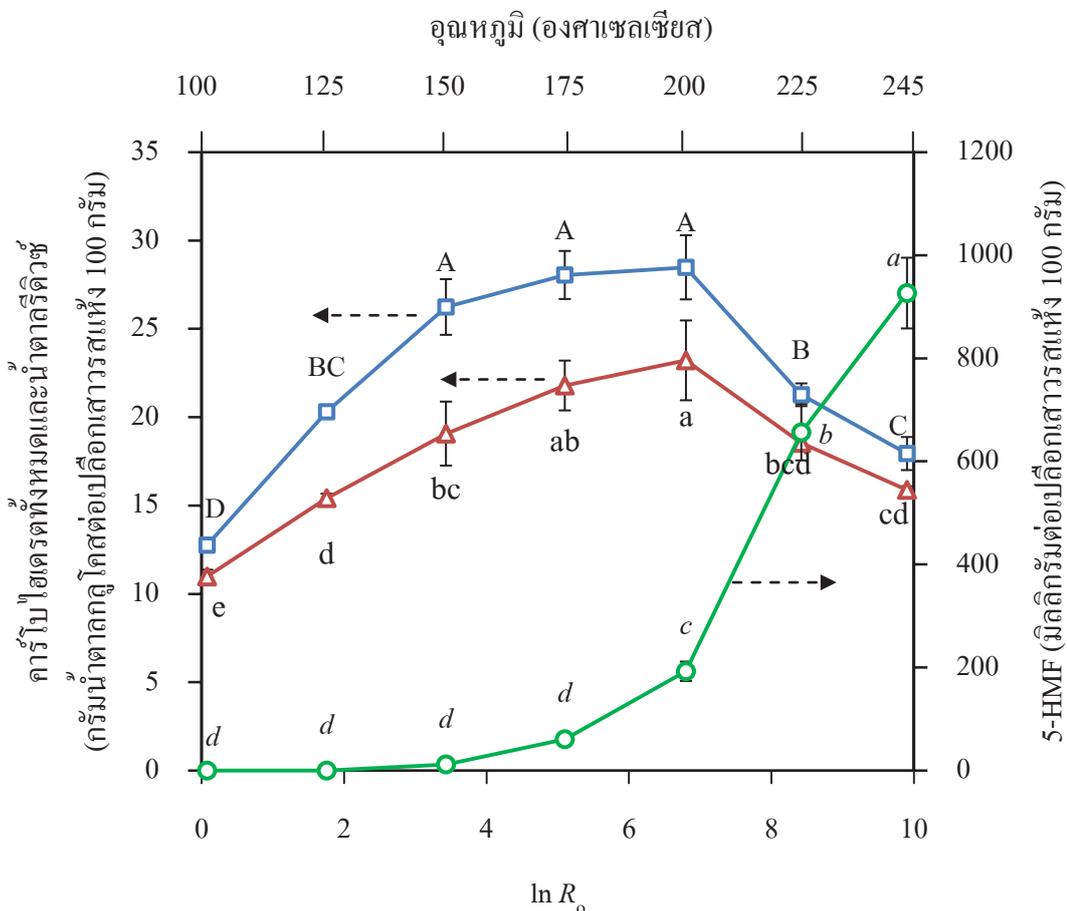


ภาพที่ 14 ร้อยละของของแข็งที่หายไป (○) และค่าความเป็นกรด-ด่าง (□) ของของเหลวที่ได้  
 ภายหลังจากการทรีตตัวอย่างเปลือกเสาวรสที่ค่า  $\ln R_0$  เท่ากับ 0.1 ถึง 9.9 (อุณหภูมิ  
 100 ถึง 245 องศาเซลเซียส)  
 อักษรภาษาอังกฤษพิมพ์ใหญ่และพิมพ์เล็กที่แตกต่างกัน หมายถึงค่าเฉลี่ยของปริมาณ  
 ร้อยละของของแข็งที่หายไป และค่าเฉลี่ยของค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่แตกต่างกันอย่าง  
 มีนัยสำคัญทางสถิติ (Tukey,  $\alpha = 0.05$ ) ตามลำดับ

#### 4.2.4 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณสาร 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอลดีไฮด์ (5-HMF) ในของเหลวที่ได้

เมื่อนำของเหลวที่ได้จากการทรีตมาวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดด้วยวิธีฟีนอลซัลฟูริก และวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธีไดโนโตรซาลิไซลิกแอซิด (DNS) พบว่าที่ค่า  $\ln R_0$  เท่ากับ 0.1 ถึง 3.4 (อุณหภูมิ 100 ถึง 150 องศาเซลเซียส) ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยเพิ่มขึ้นจาก 12.8 กรัม น้ำตาลกลูโคสต่อเปลือกเสาวรสแห้ง 100 กรัม ไปจนถึง 26.2 กรัม น้ำตาลกลูโคสต่อเปลือกเสาวรสแห้ง 100 กรัม และค่อยๆ เพิ่มขึ้นต่อไปอีกจนถึง 28.5 กรัม น้ำตาลกลูโคสต่อเปลือกเสาวรสแห้ง 100 กรัม ที่ค่า  $\ln R_0$  เท่ากับ 6.8 (อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส) หลังจากนั้นคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดก็ลดลงจนเหลือปริมาณเท่ากับ 18.0 กรัม น้ำตาลกลูโคสต่อเปลือกเสาวรสแห้ง 100 กรัม ที่ค่า  $\ln R_0$  เท่ากับ 9.9 (อุณหภูมิ 245 องศาเซลเซียส) สำหรับการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ก็พบว่า ปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงที่  $\ln R_0$  เท่ากับ 0.1 ถึง 3.4 โดยค่าอยู่ในช่วง 11.0 ถึง 19.1 กรัม น้ำตาลกลูโคสต่อเปลือกเสาวรสแห้ง 100 กรัม และค่อยๆ เพิ่มขึ้นต่อไปอีกจนมีปริมาณสูงสุดเท่ากับ 23.2 กรัม น้ำตาลกลูโคสต่อเปลือกเสาวรสแห้ง 100 กรัม ที่ค่า  $\ln R_0$  เท่ากับ 6.8 หลังจากนั้นปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ก็ลดลงจนเหลือ 15.9 กรัม น้ำตาลกลูโคสต่อเปลือกเสาวรสแห้ง 100 กรัม ที่ค่า  $\ln R_0$  เท่ากับ 9.9 เช่นเดียวกับการเปลี่ยนแปลงปริมาณของคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด (ภาพที่ 15)

ที่อุณหภูมิสูงขึ้น โมเลกุลของน้ำจะแตกตัวเป็นไฮโดรเจนไอออน ( $H^+$ ) และไฮดรอกไซด์ไอออน ( $OH^-$ ) มากขึ้น ซึ่งทำให้น้ำในสภาวะกึ่งวิกฤตมีคุณสมบัติเหมือนกรดแก่หรือเบสแก่สามารถเร่งกระบวนการไฮโดรไลซ์สารพอลิแซคคาไรด์ที่เป็นโครงสร้างของเปลือกเสาวรสให้เกิดเป็นสารแซคคาไรด์ขนาดเล็กๆ ที่สามารถละลายน้ำออกมาได้ อย่างไรก็ตาม การทรีตสารประกอบคาร์โบไฮเดรตที่สภาวะรุนแรงมากขึ้น ก็ส่งผลกระทบต่อการสลายตัวของคาร์โบไฮเดรตด้วยเช่นกัน (Olanrewaju, 2012; Chuntanapum และคณะ, 2008) ดังนั้น จึงเป็นเหตุผลที่ทำให้พบปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดและน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นในช่วงที่  $\ln R_0$  มีค่าเท่ากับ 0.1 ถึง 6.8 (อุณหภูมิ 100 ถึง 200 องศาเซลเซียส) แต่กลับลดปริมาณลงเมื่อค่า  $\ln R_0$  มากกว่าช่วงดังกล่าว (อุณหภูมิมากกว่า 200 องศาเซลเซียส)



ภาพที่ 15 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด (□), ปริมาณน้ำตาลรีดิวิซ์ (△) และปริมาณ 5-HMF (○) ในของเหลวที่ได้จากการทรีตเปลือกเสาวรสดด้วยน้ำกึ่งวิกฤตที่ค่า  $\ln R_0$  เท่ากับ 0.1 ถึง 9.9 (อุณหภูมิ 100 ถึง 245 องศาเซลเซียส)

อักษรภาษาอังกฤษพิมพ์ใหญ่ พิมพ์เล็ก และตัวเอียงที่แตกต่างกัน หมายถึงค่าเฉลี่ยของปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด, ปริมาณน้ำตาลรีดิวิซ์ และปริมาณ 5-HMF ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Tukey,  $\alpha = 0.05$ ) ตามลำดับ

5-HMF เป็นสารสำคัญที่เกิดจากการสลายตัวของน้ำตาลในสภาวะที่มีความร้อนสูง (caramelization) และยังสามารถเกิดจากการที่น้ำตาลได้รับความร้อนในภาวะที่มีน้ำกับกรดอะมิโน (Maillard reaction) ในงานวิจัยครั้งนี้ จึงได้ตรวจสอบ 5-HMF ด้วยเช่นกัน โดยพบว่า เมื่อทรีตเปลือกเสาวรสที่ค่า  $\ln R_0$  เท่ากับ 0.1 และ 1.8 (อุณหภูมิ 100 และ 125 องศาเซลเซียส) ไม่ปรากฏ 5-HMF ในตัวอย่าง แต่พบที่ค่า  $\ln R_0$  ตั้งแต่ 3.4 (อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส) ขึ้นไป และปริมาณที่ตรวจพบอยู่ในช่วง 12.0 ถึง 926.3 มิลลิกรัมต่อเปลือกเสาวรสแห้ง 100 กรัม (ภาพที่ 15) อย่างที่กล่าวไว้แล้วว่า สาร 5-HMF นี้เกิดจากปฏิกิริยาการสลายตัวของน้ำตาล โดยเป็นน้ำตาลเฮกโซสหรือน้ำตาลที่มีคาร์บอน 6 อะตอม เช่น น้ำตาลกลูโคส แมนโนส กาแลกโตส ที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการให้ความร้อน ซึ่งปกติน้ำตาลเหล่านี้มีอุณหภูมิที่จะทำให้เกิดการสลายตัวมากกว่า 125 องศาเซลเซียส จากผลการวิเคราะห์ครั้งนี้ยังได้สอดคล้องกับหลายงานวิจัยที่ผ่านมา ที่กล่าวถึงการพบสาร 5-HMF ในของเหลวที่ได้จากการสกัดสารชีวมวลที่มีคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบหลัก (Binder และ Raines, 2009; Lü และ Saka, 2010; Sasaki และคณะ, 2000; Olanrewaju, 2012; อารีวัลย์, 2555)

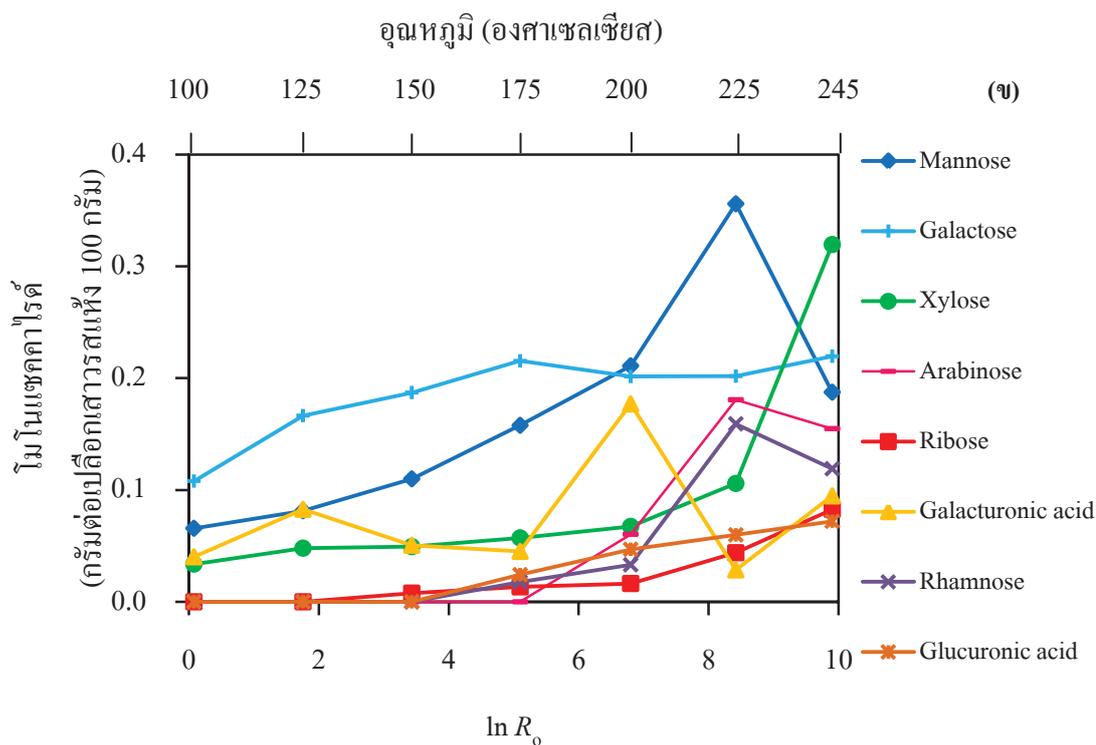
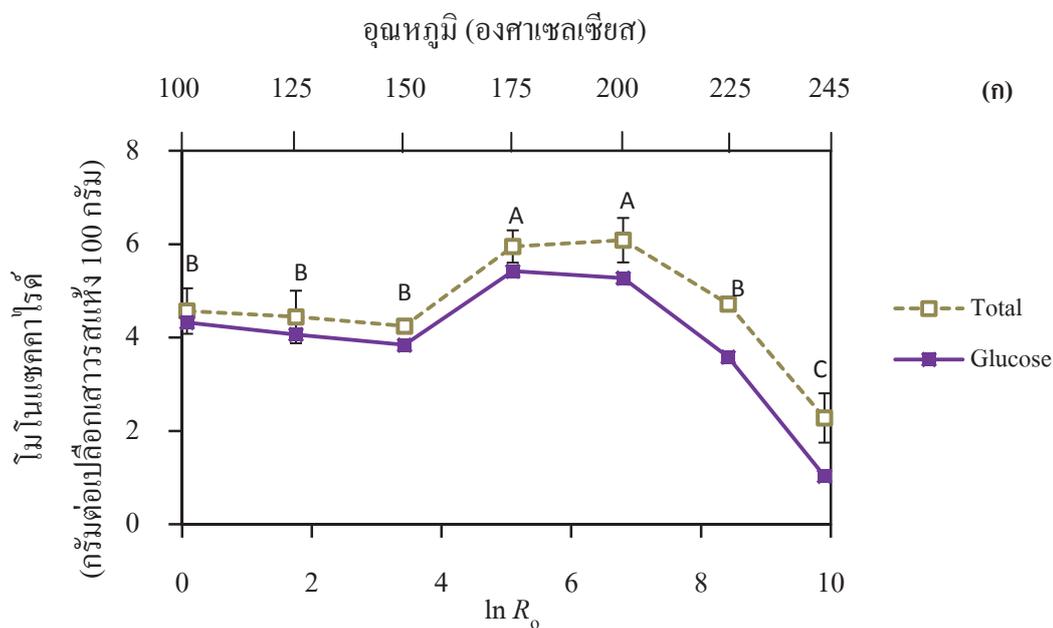
#### 4.2.5 โมโนแซคคาไรด์ในของเหลวที่ได้

เมื่อนำของเหลวที่ได้จากการทรีตเปลือกเสาวรสด้วยน้ำกึ่งวิกฤตที่ค่า  $\ln R_0$  ต่างๆ ไปวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของโมโนแซคคาไรด์ PMP และวิเคราะห์ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) โดยเทียบกับโมโนแซคคาไรด์มาตรฐาน 9 ชนิด ซึ่งได้แก่ แมนโนส ไรโบส แรมโนส กาแลกทูโรนิก กลูคูโรนิก กลูโคส กาแลกโตสไซโลส และอะราบินอส

จากการวิเคราะห์พบว่า ที่ค่า  $\ln R_0$  เท่ากับ 0.1 ถึง 9.9 (อุณหภูมิ 100 ถึง 245 องศาเซลเซียส) มีปริมาณโมโนแซคคาไรด์ทั้งหมดอยู่ในช่วง 2.3 ถึง 6.1 กรัมต่อเปลือกเสาวรสแห้ง 100 กรัม โดยที่ค่า  $\ln R_0$  เท่ากับ 0.1 ถึง 3.4 (อุณหภูมิ 100 ถึง 150 องศาเซลเซียส) ปริมาณโมโนแซคคาไรด์ทั้งหมดไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งมีค่าประมาณ 4.3 ถึง 4.6 กรัมต่อเปลือกเสาวรสแห้ง 100 กรัม แต่เมื่อค่า  $\ln R_0$  มากกว่า 3.4 ขึ้นไป พบว่า ปริมาณโมโนแซคคาไรด์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นด้วยเช่นกัน โดยมีปริมาณสูงสุดอยู่ที่ค่า  $\ln R_0$  เท่ากับ 6.8 (อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส) อย่างไรก็ตามเมื่อเพิ่มสภาวะที่รุนแรงมากขึ้น (ค่า  $\ln R_0$  มากกว่า 6.8 ขึ้นไป) ปริมาณโมโนแซคคาไรด์ทั้งหมดลดลงอย่างรวดเร็วดังภาพที่ 16 ก ซึ่งการเปลี่ยนแปลงนี้สอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์อีกด้วย

กลูโคสเป็นโมโนแซคคาไรด์ที่พบในปริมาณสูงที่สุดในทุกๆสถานะ โดยพบว่ามีปริมาณร้อยละ 44.8 ถึง 98.4 ของปริมาณโมโนแซคคาไรด์ทั้งหมดที่พบในของเหลวที่ได้หลังการทรีตด้วยน้ำกึ่งวิกฤต และยังพบว่าเมื่อเพิ่มสถานะให้รุนแรงมากขึ้น ปริมาณกาแลคโตส แมนโนส ไชโลส และ อะราบินอส ก็เพิ่มขึ้นด้วยเช่นกันภาพที่ 16 ข นอกจากนี้ยังพบไรโบส แรมโนส กาแลคทูโรนิก และกลูคูโรนิกอีกด้วย ซึ่งแสดงค่าที่พบไว้ในตารางภาคผนวก ข ผลการทดลองในครั้งนี้ยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Yapo และ Koffi (2008) ที่ได้รายงานเกี่ยวกับองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดที่ได้จากการย่อยเปลือกเสาวรสว่า โมโนแซคคาไรด์ที่พบเป็นจำนวนมาก คือ กลูโคส (ร้อยละ 36.1) และกรดยูโรนิก (ร้อยละ 21.3) นั้นแสดงให้เห็นว่าเปลือกเสาวรสมิโครงสร้างที่ประกอบด้วยเซลลูโลสและเพกติน (ร้อยละ 19.1) เป็นส่วนใหญ่

โดยทั่วไปในผนังเซลล์ประกอบด้วยเซลลูโลสหลายๆเส้น ยึดกันด้วยพันธะไฮโดรเจน ทำให้โครงสร้างมีความแข็งแรง ยากต่อการเกิดปฏิกิริยา แต่สำหรับการศึกษานี้พบว่า แม้เปลือกเสาวรสถูกทรีตด้วยน้ำกึ่งวิกฤตในสถานะที่ไม่รุนแรงนัก ( $\ln R_0$  เท่ากับ 0.1 ถึง 3.4) แต่ก็ยังสามารถให้ปริมาณกลูโคสได้ถึงประมาณร้อยละ 4 (ปริมาณสูงสุดที่พบคือประมาณร้อยละ 6) ซึ่งน่าจะเป็นสาเหตุมาจากเปลือกเสาวรสที่นำมาศึกษาเป็นเปลือกที่มาจากผลที่สุกแล้ว ซึ่งโครงสร้างของผนังเซลล์ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ที่มีอยู่ในเปลือกเสาวรสเอง (Hoebler และคณะ, 1989; Fischer และ Bennett, 1991; Vicente และคณะ, 2007) จึงทำให้เกิดโมโนแซคคาไรด์อย่างเช่น กลูโคส ในตัวอย่างตั้งต้นได้



ภาพที่ 16 ปริมาณ โมโนแซคคาไรด์ทั้งหมดและกลูโคส (ก) และปริมาณ โมโนแซคคาไรด์ชนิดอื่นๆ (ข) ในของเหลวที่ได้จากการทรีดเปลือกเสาวรสดด้วยน้ำกึ่งวิกฤตที่ค่า  $\ln R_0$  เท่ากับ 0.1 ถึง 9.9 (อุณหภูมิ 100 ถึง 245 องศาเซลเซียส)

อักษรภาษาอังกฤษพิมพ์ใหญ่ที่แตกต่างกัน หมายถึง ค่าเฉลี่ยของโมโนแซคคาไรด์ทั้งหมดที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Tukey,  $\alpha = 0.05$ )

#### 4.2.6 โอลิโกแซคคาไรด์ในของเหลวที่ได้

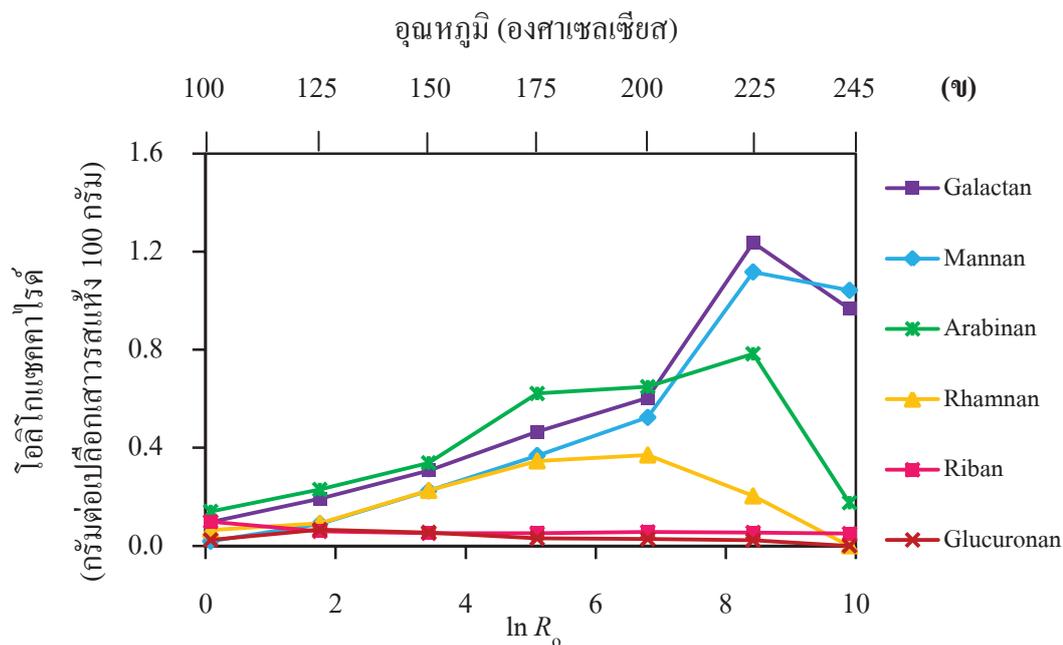
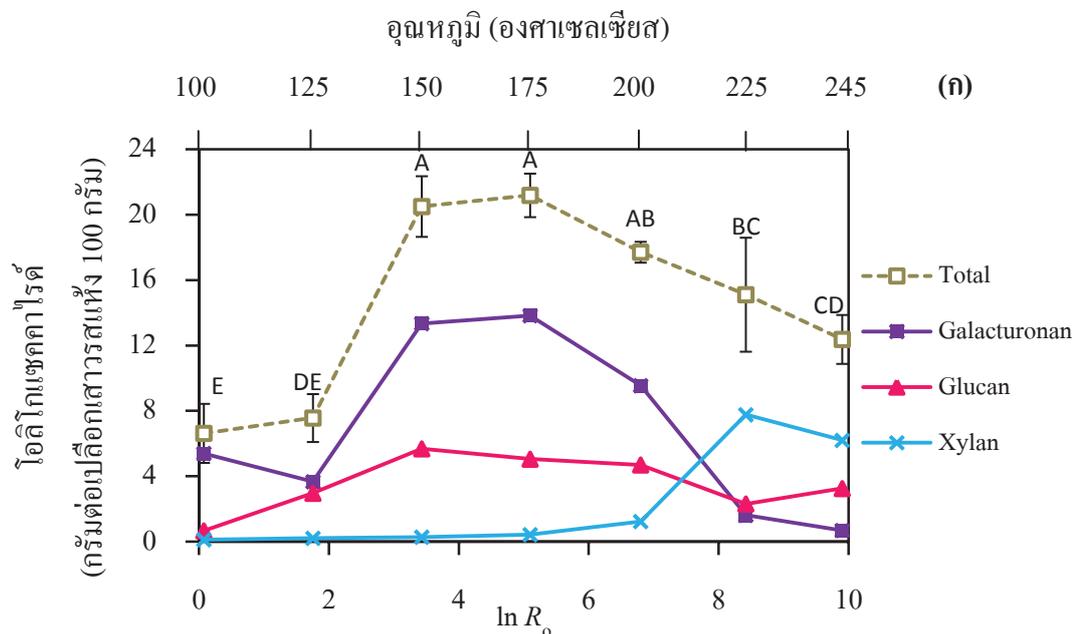
ความแตกต่างระหว่างปริมาณโมโนแซคคาไรด์ในของเหลวที่ได้จากการทรีตเปลือกเสาวรสน้ำกึ่งวิกฤตกับปริมาณโมโนแซคคาไรด์ในของเหลวที่ได้จากการทรีตเปลือกเสาวรสน้ำกึ่งวิกฤตที่ผ่านการย่อยด้วย TFA แล้ว คือ ปริมาณโอลิโกแซคคาไรด์ทั้งหมดซึ่งแสดงไว้ในภาพที่ 17 ก พบว่าที่ค่า  $\ln R_0$  เท่ากับ 0.1 ถึง 1.8 (อุณหภูมิ 100 ถึง 125 องศาเซลเซียส) มีปริมาณโอลิโกแซคคาไรด์ทั้งหมดไม่ค่อยแตกต่างกันมากนัก โดยมีค่าอยู่ในช่วง 6.6 ถึง 7.6 กรัมต่อเปลือกเสาวรสน้ำ 100 กรัม แต่ปริมาณโอลิโกแซคคาไรด์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อค่า  $\ln R_0$  มากกว่า 1.8 และมีค่าสูงสุดที่ค่า  $\ln R_0$  เท่ากับ 5.1 (อุณหภูมิ 175 องศาเซลเซียส) โดยมีปริมาณเท่ากับ 21.2 กรัมต่อเปลือกเสาวรสน้ำ 100 กรัม อย่างไรก็ตาม ปริมาณโอลิโกแซคคาไรด์ทั้งหมดนี้ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อค่า  $\ln R_0$  มากกว่า 5.1 ขึ้นไป

เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงปริมาณของโอลิโกแซคคาไรด์ในแต่ละชนิดจะพบว่า กาแลกทูโรแนนเป็นโอลิโกแซคคาไรด์ที่พบในปริมาณสูงที่สุด โดยที่ค่า  $\ln R_0$  เท่ากับ 0.1 ถึง 9.9 มีปริมาณกาแลกทูโรแนนอยู่ในช่วง 0.7 ถึง 13.8 กรัมต่อเปลือกเสาวรสน้ำ 100 กรัม เมื่อทรีตตัวอย่างที่ค่า  $\ln R_0$  เท่ากับ 0.1 และ 1.8 (อุณหภูมิ 100 และ 125 องศาเซลเซียส) ปริมาณกาแลกทูโรแนนที่พบในตัวอย่างไม่มีความแตกต่างกัน โดยคงระดับอยู่ที่ 3.7 ถึง 5.4 กรัมต่อเปลือกเสาวรสน้ำ 100 กรัม แต่เมื่อทรีตตัวอย่างที่ค่า  $\ln R_0$  เท่ากับ 3.4 (อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส) ปริมาณกาแลกทูโรแนนเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัดเจน โดยมีปริมาณ 13.3 กรัมต่อเปลือกเสาวรสน้ำ 100 กรัม และเพิ่มปริมาณไปจนถึง 13.8 กรัมต่อเปลือกเสาวรสน้ำ 100 กรัม ที่ค่า  $\ln R_0$  เท่ากับ 5.1 (อุณหภูมิ 175 องศาเซลเซียส) อย่างไรก็ตาม เมื่อสภาวะการทรีตตัวอย่างมีค่า  $\ln R_0$  สูงกว่า 5.1 ขึ้นไป ปริมาณกาแลกทูโรแนนกลับลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ในทำนองเดียวกันนั้น ที่ค่า  $\ln R_0$  เท่ากับ 0.1 ถึง 3.4 (อุณหภูมิ 100 ถึง 150 องศาเซลเซียส) ปริมาณกลูแคนก็เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว จากปริมาณ 0.7 ไปจนถึง 5.7 กรัมต่อเปลือกเสาวรสน้ำ 100 กรัม และลดลงอย่างช้าๆเมื่อสภาวะการทรีตมีค่า  $\ln R_0$  มากกว่า 3.4 ขึ้นไป จากผลการศึกษาในครั้งนี้ สอดคล้องกับงานวิจัยที่พบว่า การทรีตกากชูการ์บีทหรือเปลือกส้มด้วยน้ำกึ่งวิกฤตที่อุณหภูมิในช่วง 160 ถึง 175 องศาเซลเซียส ทำให้ได้ปริมาณโอลิโกแซคคาไรด์สูงที่สุดซึ่งส่วนใหญ่เป็นกาแลกทูโรแนน (Martínez และคณะ, 2009; Martínez และคณะ, 2010)

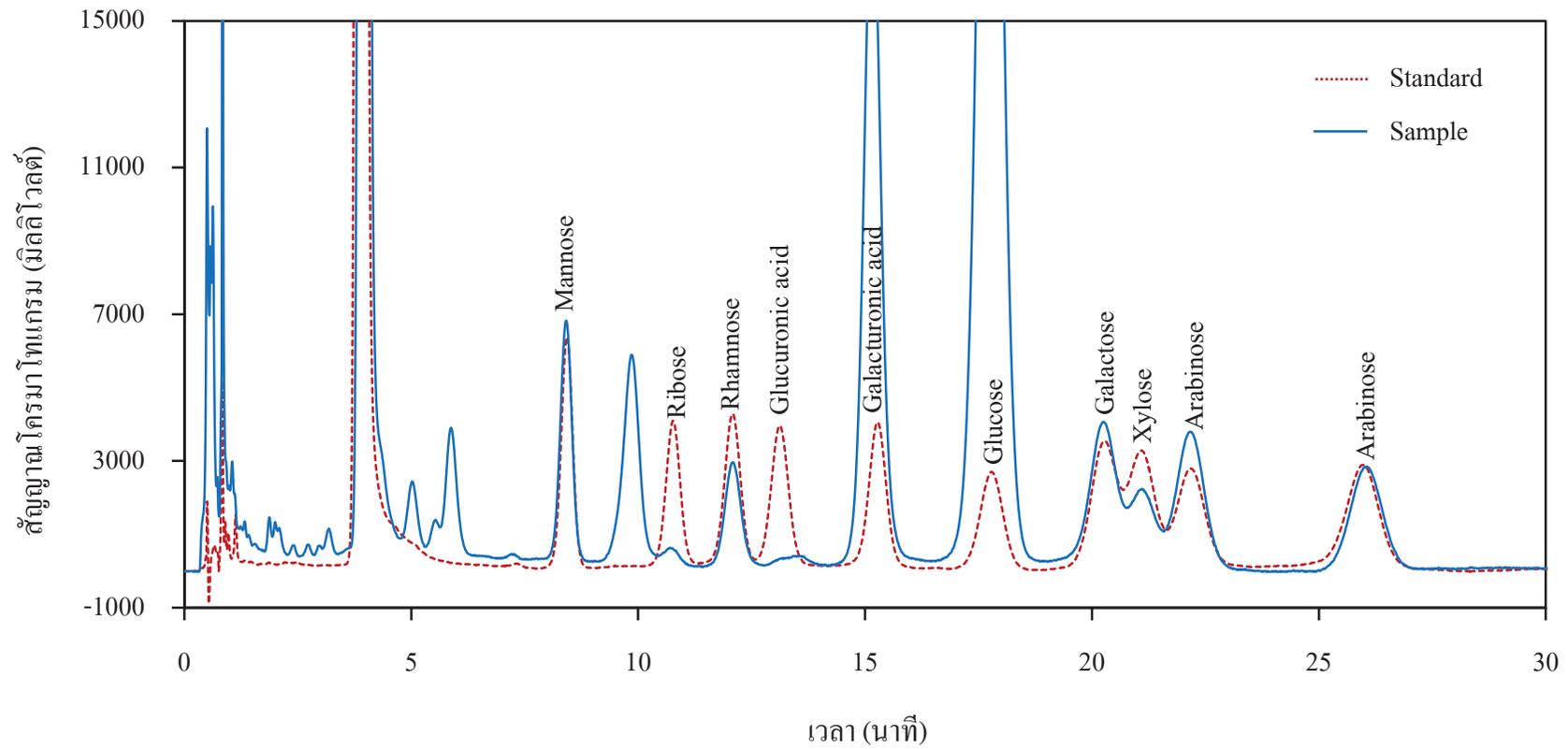
นอกจากกาแลกทูโรแนนและกลูแคนแล้ว ยังพบไซแลนในปริมาณมากด้วยเช่นกัน โดยปริมาณที่พบสูงสุดอยู่ที่ 7.8 กรัมต่อเปลือกเสาวรสน้ำ 100 กรัม แต่รูปแบบการเปลี่ยนแปลงของปริมาณไซแลนตามสภาวะการทรีตมีความแตกต่างจากกาแลกทูโรแนนและกลูแคน กล่าวคือ ไซแลนถูกพบมากขึ้นอย่างเห็นได้ชัดเจนที่สภาวะก่อนข้างรุนแรง จากภาพที่ 17 ก พบว่า ที่ค่า  $\ln R_0$

เท่ากับ 0.1 ถึง 6.8 (อุณหภูมิ 100 และ 200 องศาเซลเซียส) ยังไม่ส่งผลให้ปริมาณไฮโดรคาร์บอนเพิ่มขึ้นแต่อย่างใด แต่เมื่อค่า  $\ln R_0$  เท่ากับ 8.4 (อุณหภูมิ 225 องศาเซลเซียส) ปริมาณไฮโดรคาร์บอนกลับเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งรูปแบบการเปลี่ยนแปลงของไฮโดรคาร์บอนนี้ยังคล้ายคลึงกับรูปแบบการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแมนแนน กาแลกแตน และอะราบีแนน ดังแสดงในภาพที่ 17 ข การพบไฮโดรคาร์บอนและโมโนแซคคาไรด์ชนิดอื่นๆนี้ เป็นการยืนยันว่า นอกจากเซลลูโลสและเพกตินแล้ว โครงสร้างของเปลือกสวารสยังประกอบด้วยเฮมิเซลลูโลส ซึ่งในโมเลกุลของเฮมิเซลลูโลสเป็นเฮทเทอโรพอลิแซคคาไรด์ที่ประกอบด้วยน้ำตาลหลายชนิด (Fischer และ Bennett, 1991)

หากประมาณว่า ผลรวมของโมโนแซคคาไรด์และโอลิโกแซคคาไรด์ทั้งหมดที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย HPLC คือ ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดที่มีอยู่ในตัวอย่างแต่ละทรีตเมนต์ ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธีฟีนอลซัลฟูริกเช่นกัน อย่างไรก็ตาม แม้ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดที่ได้จากการคำนวณทั้งสองวิธีมีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงตามสภาวะความรุนแรงของน้ำวิกฤตเหมือนกัน แต่ค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย HPLC มักมีค่าต่ำกว่าค่าที่ได้จากวิธีฟีนอลซัลฟูริกเสมอ ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณโมโนแซคคาไรด์และโอลิโกแซคคาไรด์ทั้งหมด คำนวณมาจากผลรวมของโมโนแซคคาไรด์แต่ละชนิด แต่ในงานวิจัยนี้ใช้สารมาตรฐานโมโนแซคคาไรด์ในการวิเคราะห์ด้วย HPLC เพียง 9 ชนิด ดังนั้น จึงไม่สามารถระบุชนิดและปริมาณของโมโนแซคคาไรด์อื่นๆที่นอกเหนือจากนี้ได้แม้ว่าพบโมโนแซคคาไรด์อื่นๆในตัวอย่างด้วยก็ตาม ซึ่งแสดงดังภาพที่ 18



ภาพที่ 17 ปริมาณ โอดีโกแซคคาไรด์ทั้งหมด, กาแลกทูโรแนน, กลูแคน และไซแลน (ก) และ ปริมาณ โอดีโกแซคคาไรด์ชนิดอื่นๆ (ข) ในของเหลวที่ได้จากการทรีตเปลือกเสารสด้วย น้ำกึ่งวิกฤตที่ค่า  $\ln R_0$  เท่ากับ 0.1 ถึง 9.9 (อุณหภูมิ 100 ถึง 245 องศาเซลเซียส) อักษรภาษาอังกฤษพิมพ์ใหญ่ที่แตกต่างกัน หมายถึง ค่าเฉลี่ยของโอดีโกแซคคาไรด์ ทั้งหมดที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Tukey,  $\alpha = 0.05$ )



ภาพที่ 18 โครมาโทแกรมของโมโนแซคคาไรด์ที่พบในตัวอย่าง (เส้นทึบ) กับสารมาตรฐานโมโนแซคคาไรด์ทั้ง 9 ชนิด (เส้นประ)

#### 4.2.7 ขนาดของสายโอลิโกแซคคาไรด์ที่พบในของเหลว

ปริมาณโอลิโกแซคคาไรด์ในข้อที่ 4.2.6 นั้น เป็นค่าที่ได้จากความแตกต่างระหว่างปริมาณโมโนแซคคาไรด์ในของเหลวที่ได้จากการทรีตเปลือกเสาวรสดด้วยน้ำกึ่งวิกฤตกับปริมาณโมโนแซคคาไรด์ในของเหลวที่ได้จากการทรีตเปลือกเสาวรสดด้วยน้ำกึ่งวิกฤตที่ผ่านการย่อยด้วย TFA แล้ว จึงทำให้ไม่สามารถบ่งบอกถึงขนาดสายของโอลิโกแซคคาไรด์ในแต่ละทรีตเมนต์ได้ แต่เมื่อนำของเหลวที่ได้ไปวิเคราะห์ด้วย Size Exclusion Chromatography จึงสามารถทำให้เห็นถึงความแตกต่างของขนาดโอลิโกแซคคาไรด์ได้ดังภาพที่ 19

ในการวิเคราะห์ด้วย Size Exclusion Chromatography นี้ สารที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่จะถูกสารละลายที่เป็นเฟสเคลื่อนที่ชะออกมาจากคอลัมน์ก่อนสารที่มีโมเลกุลขนาดเล็กกว่า จากภาพที่ 19 จะเห็นว่า โครมาโทแกรมของของเหลวในแต่ละทรีตเมนต์ประกอบด้วยพีค 2 กลุ่มใหญ่ๆ นั่นคือ พีคตรงตำแหน่งที่เวลาประมาณ 10 ถึง 13 นาที และที่เวลาประมาณ 15 ถึง 16 นาที เมื่อเทียบกับสารมาตรฐานคาร์โบไฮเดรตที่มี degree of polymerisation (DP) 1 ถึง 7 แล้ว สามารถระบุได้ว่า พีคตรงตำแหน่งนาที่ที่ 16 และ 15 คือ คาร์โบไฮเดรตที่มี DP1 และ DP2 ตามลำดับ ในขณะที่พีคตรงตำแหน่งนาที่ที่น้อยกว่า 13 ลงไป คือ คาร์โบไฮเดรตที่มีขนาดใหญ่กว่า DP7 ขึ้นไป

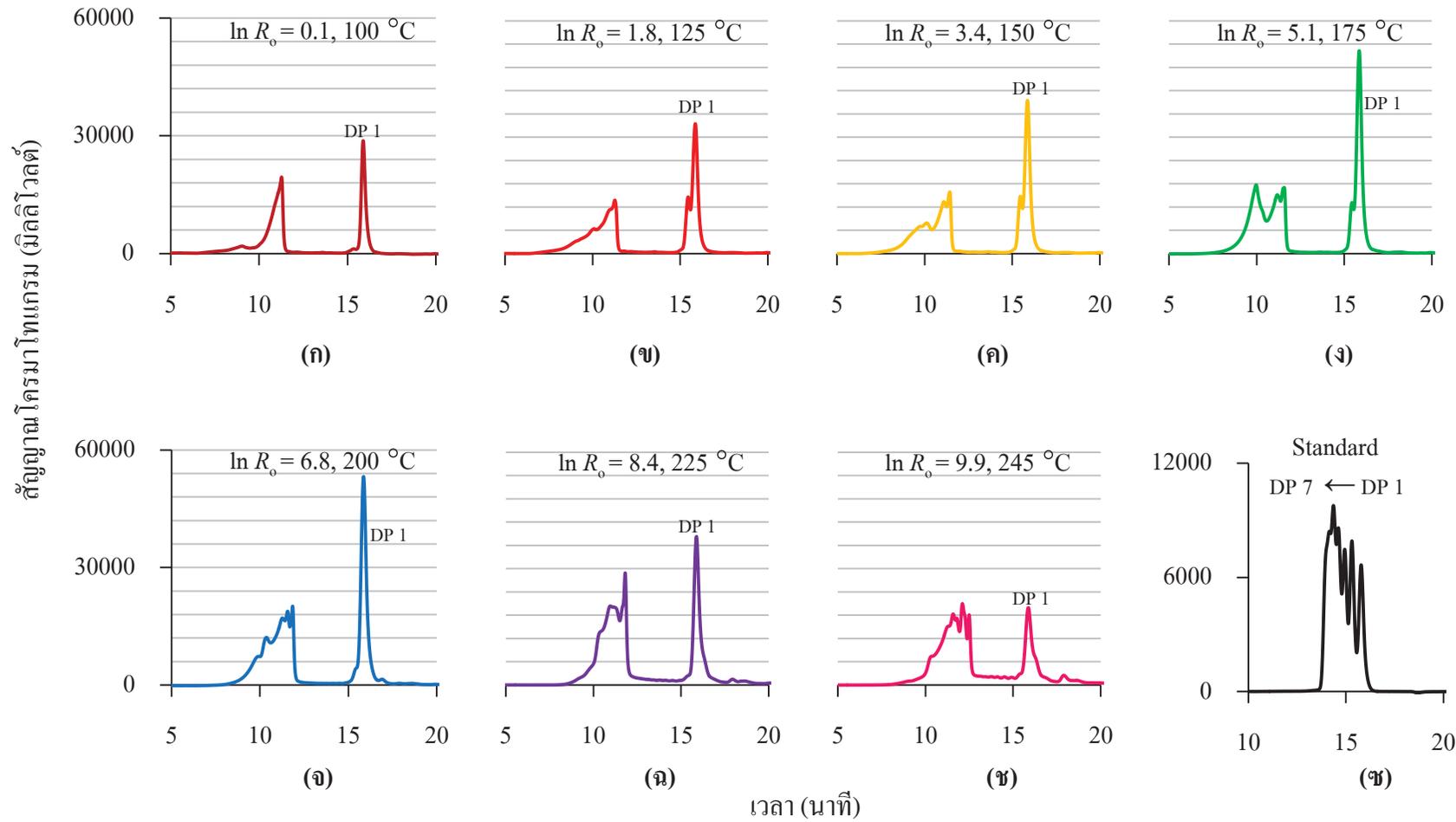
เมื่อพิจารณาที่พีค DP1 ของแต่ละทรีตเมนต์ พบว่า มีความสัมพันธ์กับปริมาณ โมโนแซคคาไรด์ทั้งหมดที่พบในของเหลว (ข้อ 4.2.5) กล่าวคือ ที่ค่า  $\ln R_0$  เท่ากับ 6.8 (อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส) มีปริมาณโมโนแซคคาไรด์ทั้งหมดสูงที่สุด ซึ่งจากโครมาโทแกรมก็แสดงให้เห็นเหมือนกันว่าที่ทรีตเมนต์นี้มีสัญญาณของโครมาโทแกรมสูงที่สุดเช่นกัน นั่นเป็นการยืนยันได้ว่ารูปแบบของโครมาโทแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย Size Exclusion Chromatography สามารถบอกลักษณะของคาร์โบไฮเดรตที่พบในแต่ละทรีตเมนต์ได้ และเมื่อพิจารณาพีคตรงตำแหน่งประมาณนาที่ที่ 10 หรือพีคของโอลิโกแซคคาไรด์ที่มี DP มากกว่า 7 ขึ้นไป พบว่า เมื่อสภาวะความรุนแรงของน้ำกึ่งวิกฤตสูงขึ้น พีคตรงตำแหน่งนี้ก็แตกออกมากขึ้นด้วยเช่นกัน โดยทำให้เกิดพีคที่ปรากฏหลังนาที่ที่ 10 ออกไปเรื่อยๆ ซึ่งหมายความว่า ที่สภาวะความรุนแรงสูงขึ้น ทำให้เกิดโอลิโกแซคคาไรด์สายสั้นลงนั่นเอง

แม้ว่าผลการทดลองในข้อ 4.2.6 แสดงให้เห็นว่า การทรีตตัวอย่างเปลือกเสาวรสดด้วยน้ำกึ่งวิกฤตที่ค่า  $\ln R_0$  เท่ากับ 9.9 (อุณหภูมิ 245 องศาเซลเซียส) ไม่ได้เป็นสภาวะที่ทำให้ได้ปริมาณโอลิโกแซคคาไรด์รวมสูงที่สุด (12.4 กรัมต่อเปลือกเสาวรสดแห้ง 100 กรัม ปริมาณสูงที่สุดคือ 21.2 กรัมต่อเปลือกเสาวรสดแห้ง 100 กรัมที่ค่า  $\ln R_0$  เท่ากับ 5.1 หรืออุณหภูมิ 175 องศาเซลเซียส) แต่จากภาพที่ 20 แสดงให้เห็นว่า ที่สภาวะนี้ส่งผลให้เกิดโอลิโกแซคคาไรด์สายสั้นๆมากขึ้น ซึ่งถ้าหากพิจารณา

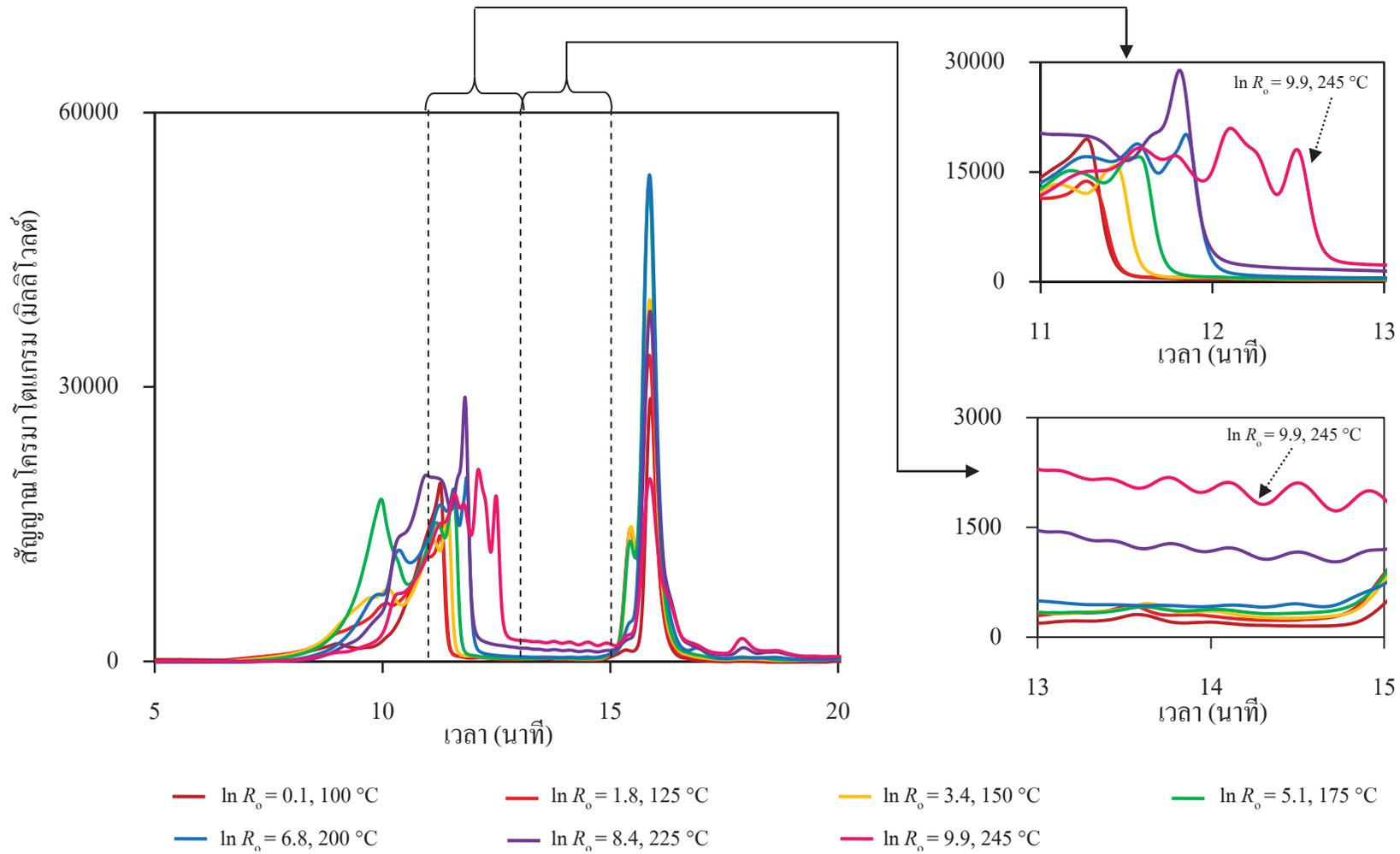
ในแง่ของการเป็นพรีไบโอติกส์แล้ว จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อร่างกายสามารถนำโอลิโกแซคคาไรด์สายสั้นๆ ไปใช้ได้ง่ายกว่าโอลิโกแซคคาไรด์สายยาว ซึ่งจะทำได้ผลผลิตเป็นกรดไขมันสายสั้นๆ เช่น กรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก กรดบิวทิริก เป็นต้น กรดเหล่านี้มีประสิทธิภาพในการเข้ายึดเกาะกับผนังลำไส้เพื่อป้องกันการลุกลามของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคด้วย (Bornet และคณะ, 2002)

การเลือกโอลิโกแซคคาไรด์เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในแง่ของการเป็นวัตถุเติมแต่งในอาหารควรพิจารณาถึงการกระจายของขนาดสายโอลิโกแซคคาไรด์ด้วย กล่าวคือ ควรให้มีความหลากหลายของขนาดสาย ตั้งแต่สายสั้นไปจนถึงสายยาว (Gullón และคณะ, 2009; Fanaro และคณะ, 2005) เนื่องจากโอลิโกแซคคาไรด์สายยาวอาจส่งผลข้างเคียงต่อผู้บริโภคได้ เช่น ทำให้เกิดอาการท้องอืด อีกรทั้ง โอลิโกแซคคาไรด์ที่มีอยู่ในอาหารตามธรรมชาติ เช่น ในนม ก็มีกาแลกโตโอลิโกแซคคาไรด์สายสั้น (ร้อยละ 90) และฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์สายยาว (ร้อยละ 10) ผสมรวมกัน (Fanaro และคณะ, 2005)

นอกจากนี้ เมื่อพิจารณาตัวอย่างของเหลวที่ได้จากการทรีตเปลือกเสาวรสดด้วยน้ำกึ่งวิกฤตที่ค่า  $\ln R_0$  เท่ากับ 9.9 (อุณหภูมิ 245 องศาเซลเซียส) จะเห็นว่า โอลิโกแซคคาไรด์ที่พบมากที่สุด คือ ไซแลน ซึ่งเป็นโอลิโกแซคคาไรด์ที่ราคาสูงเมื่อเปรียบเทียบกับโอลิโกแซคคาไรด์ชนิดอื่นๆ (Vegas และคณะ, 2006) และยังถูกนำมาศึกษากันอย่างกว้างขวางถึงประสิทธิภาพในการเป็นพรีไบโอติกส์ ดังเช่น ในงานวิจัยของ Mäkeläinen และคณะ (2009) กล่าวไว้ว่า ไซแลน ทำให้ปริมาณจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายสกุล *Bifidobacterium* มีจำนวนมากขึ้น รวมถึงมีความคงตัวได้ที่อุณหภูมิสูงและที่ช่วงค่าความเป็นกรด-ด่างกว้าง นอกจากนี้ ไซแลน ยังมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ป้องกันการเกิดคอเลสเตอรอลอุดตันในเส้นเลือด กระตุ้นให้ลำไส้มีการดูดซึมแร่ธาตุมากขึ้น (Gullón และคณะ, 2009) ดังนั้นจึงเลือกสถานะการทดลองนี้ สำหรับการศึกษาคผลของขนาดอนุภาคของตัวอย่างที่ใช้ในการทรีตต่อไป



ภาพที่ 19 โครมาโทแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย Size Exclusion Chromatography ของคาร์โบไฮเดรตในของเหลวที่ได้จากการทรีตเป็ลือกเสาวรสดด้วยน้ำกึ่งวิกฤต (ก-ข) และสารมาตรฐานคาร์โบไฮเดรต DP 1-7 (ข)



ภาพที่ 20 โครมาโทแกรมขนาดของโอลิโกแซคคาไรด์ในของเหลวที่ได้จากการทรีตเปิ้ลือกเสาวรสน้ำกึ่งวิกฤต

### 4.3 องค์ประกอบในเปลือกเสาวรสีที่ขนาดอนุภาคต่างๆ

ตามที่ได้กล่าวไว้ในหัวข้อ 3.4.1 ถึงวิธีการเตรียมตัวอย่างเพื่อใช้ศึกษาในงานวิจัยครั้งนี้ว่า ตัวอย่างเปลือกเสาวรสีถูกนำมาทำให้แห้งแล้วจึงนำไปบดด้วยเครื่องผสมอาหาร โดยตัวอย่างที่บดได้ มีขนาดอนุภาคอยู่ในช่วง 45 ถึง 4,750 ไมครอน และแบ่งตัวอย่างออกเป็น 2 ส่วนเท่าๆกัน ซึ่งส่วนหนึ่งได้ถูกนำไปใช้ในการศึกษาเรื่องผลของอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการทรีตด้วยน้ำกึ่งวิกฤตแล้ว

สำหรับการทดลองในส่วนนี้เป็นการศึกษาเรื่องอิทธิพลของขนาดอนุภาคของผงเปลือกเสาวรสีซึ่งมีผลต่อองค์ประกอบคาร์โบไฮเดรตที่ได้ในของเหลว โดยได้นำตัวอย่างเปลือกเสาวรสีแห้งในส่วนที่เหลือ (ที่แบ่งไว้แล้วจากการทดลองแรก) มาปริมาณ 500 กรัม จากนั้นร่อนตัวอย่างด้วยตะแกรงร่อนเพื่อแบ่งขนาดอนุภาคของตัวอย่างออกเป็น 4 ระดับ ได้แก่ อนุภาคขนาดใหญ่กว่า 45 แต่เล็กกว่า 106 ไมครอน (S), อนุภาคขนาดใหญ่กว่า 106 แต่เล็กกว่า 250 ไมครอน (M), อนุภาคขนาดใหญ่กว่า 250 แต่เล็กกว่า 1,000 ไมครอน (L) และอนุภาคขนาดใหญ่กว่า 1,000 แต่เล็กกว่า 4,750 ไมครอน (XL) ซึ่งเมื่อทำการร่อนแบ่งตัวอย่างออกเป็นขนาดต่างๆแล้วพบว่า ตัวอย่างที่มีขนาดอนุภาค S, M, L และ XL มีสัดส่วนถึงร้อยละ 7.7, 9.2, 32.3 และ 51.0 ตามลำดับ สำหรับตัวอย่างควบคุม (control) นั่นก็คือ อนุภาคขนาดใหญ่กว่า 45 แต่เล็กกว่า 4,750 ไมครอน และเมื่อนำตัวอย่างที่ขนาดอนุภาคต่างๆเหล่านี้ ไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางอาหาร พบว่า องค์ประกอบส่วนใหญ่ยังคงเป็นคาร์โบไฮเดรตเช่นกัน แต่ปริมาณที่พบในแต่ละขนาดนั้นแตกต่างกันดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 องค์ประกอบในผงเปลือกเสาวรสีที่ขนาดอนุภาคต่างๆ

รหัส ตัวอย่าง	ขนาดอนุภาค (x) (ไมครอน)	องค์ประกอบทางอาหาร (ร้อยละ โดยน้ำหนักเปียก) *				
		ความชื้น	ไขมัน	โปรตีน	เถ้า	คาร์โบไฮเดรต**
S	45 < x < 106	12.4 ± 0.0	0.5 ± 0.1	4.7 ± 0.0	6.6 ± 0.0	75.8 <sup>C</sup> ± 0.0
M	106 < x < 250	12.7 ± 0.0	0.5 ± 0.1	4.9 ± 0.0	7.6 ± 0.0	74.3 <sup>D</sup> ± 0.0
L	250 < x < 1,000	11.6 ± 0.0	0.3 ± 0.0	4.7 ± 0.0	6.7 ± 0.0	76.7 <sup>B</sup> ± 0.1
XL	1,000 < x < 4,750	11.9 ± 0.1	0.2 ± 0.0	4.2 ± 0.0	7.2 ± 0.3	76.4 <sup>B</sup> ± 0.2
control	45 < x < 4,750	9.4 ± 0.0	0.4 ± 0.0	3.9 ± 0.2	6.9 ± 0.1	79.4 <sup>A</sup> ± 0.2

\* ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n = 2)

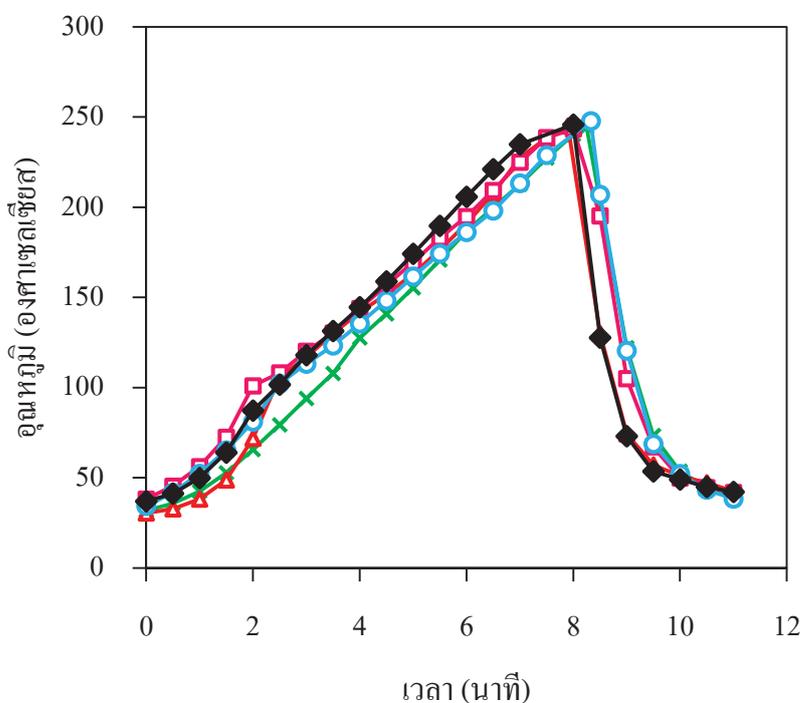
\*\* คำนวณจาก คาร์โบไฮเดรต = 100 - (ความชื้น+ไขมัน+โปรตีน+เถ้า)

อักษรภาษาอังกฤษพิมพ์ใหญ่ที่แตกต่างกัน หมายถึงค่าเฉลี่ยของปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Tukey,  $\alpha = 0.05$ ) ตามลำดับ

#### 4.4 ผลของขนาดอนุภาคของตัวอย่างที่ใช้ในการทรีต

##### 4.4.1 สถานะในการทรีตเปลือกเสาวรสน้ำกึ่งวิกฤตที่อุณหภูมิ 245 องศาเซลเซียส

แม้ว่าผงเปลือกเสาวรสน้ำได้ถูกแยกออกเป็นขนาดต่างๆแล้ว แต่รูปแบบการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของตัวอย่างที่อยู่ในเวสเซลขณะทรีตด้วยน้ำกึ่งวิกฤตที่อุณหภูมิ 245 องศาเซลเซียสก็ไม่มี ความแตกต่างจากการทรีตตัวอย่างควบคุม (control) ซึ่งแสดงในภาพที่ 21 อีกทั้งค่า  $\ln R_0$  ที่คำนวณ ได้ก็ยังคงใกล้เคียงกันด้วย โดยค่าอยู่ในช่วง 9.8 ถึง 9.9 ดังตารางที่ 7



ภาพที่ 21 อุณหภูมิในระหว่างทรีตตัวอย่างเปลือกเสาวรสน้ำกึ่งวิกฤตที่อุณหภูมิ 245 องศาเซลเซียส เมื่อใช้อนุภาคขนาด S (x), M (Δ), L (□), XL (○) และ control (◆)

ตารางที่ 7 ค่า severity factor ( $R_o$ ) จากการทรีดเปลือกเสาวรศที่มีขนาดอนุภาคต่างกันที่อุณหภูมิ 245 องศาเซลเซียส

รหัสตัวอย่าง	ขนาดอนุภาค (x) (ไมครอน)	อัตราการให้ความร้อน * (องศาเซลเซียส/นาที)	$R_o^{**}$	$\ln R_o^{**}$
S	$45 < x < 106$	$28.0 \pm 0.3$	$1.8 \times 10^4 \pm 2,379.7$	$9.8 \pm 0.1$
M	$106 < x < 250$	$28.7 \pm 0.7$	$1.8 \times 10^4 \pm 1,931.4$	$9.8 \pm 0.1$
L	$250 < x < 1,000$	$25.7 \pm 0.7$	$2.0 \times 10^4 \pm 2,089.2$	$9.9 \pm 0.1$
XL	$1,000 < x < 4,750$	$25.5 \pm 0.6$	$2.0 \times 10^4 \pm 3,565.9$	$9.9 \pm 0.2$
control	$45 < x < 4,750$	$29.4 \pm 1.7$	$2.1 \times 10^4 \pm 5,791.6$	$9.9 \pm 0.3$

\* คำนวณจากช่วงเวลาที่เริ่มให้ความร้อนแก่ตัวอย่างจนกระทั่งตัวอย่างมีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิที่ต้องการศึกษา

\*\* ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n = 3)

#### 4.3.2 ลักษณะปรากฏของของแข็งที่เหลือและของเหลวที่ได้หลังการทรีด

ของแข็งที่เหลือและของเหลวที่ได้จากการทรีดตัวอย่างที่มีขนาดอนุภาคต่างกัน มีลักษณะปรากฏแสดงดังภาพที่ 22 โดยพบว่าขนาดอนุภาคไม่ส่งผลให้สีของของเหลวแตกต่างกันมากนัก กล่าวคือ ของเหลวที่ได้มีสีน้ำตาลเข้ม สำหรับทุกขนาดอนุภาคที่ทำการศึกษา อย่างไรก็ตาม หากพิจารณาลักษณะของของแข็งที่เหลือ พบว่า การทรีดตัวอย่างที่มีขนาดอนุภาค S และ M ส่งผลให้ของแข็งที่เหลือมีสีน้ำตาลอย่างสม่ำเสมอ ในขณะที่การทรีดตัวอย่างที่มีขนาดอนุภาค L และ XL นั้น ส่งผลให้ของแข็งที่เหลือ มีสีน้ำตาลเข้มไม่สม่ำเสมอ และยังพบลักษณะการอุ้มน้ำของเปลือกเสาวรศอย่างชัดเจน

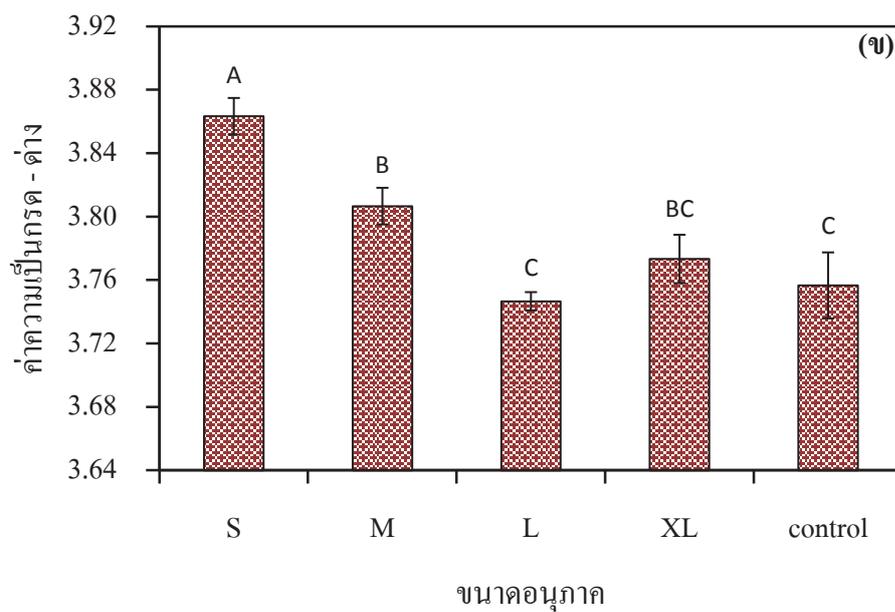
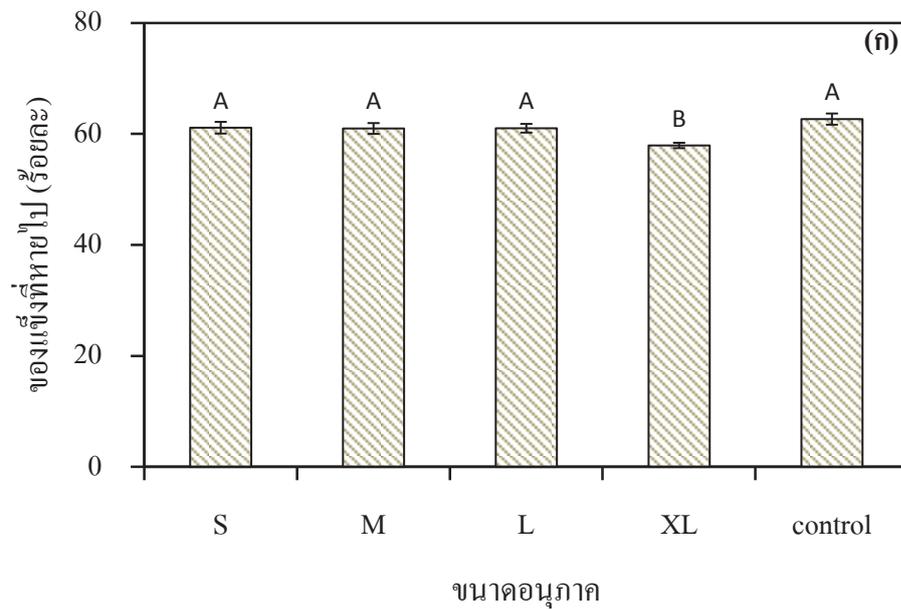


ภาพที่ 22 ภาพถ่ายของของแข็งที่เหลือและของเหลวที่ได้จากการทรีตตัวอย่างด้วยน้ำกึ่งวิกฤต โดยที่ตัวอย่างมีขนาดอนุภาคแตกต่างกัน

#### 4.3.3 ปริมาณของแข็งที่หายไปและค่าความเป็นกรด-ด่างของของเหลวที่ได้

การทรีตตัวอย่างที่มีขนาดอนุภาค S, M และ L ทำให้ปริมาณของแข็งที่หายไปมีมากถึงร้อยละ 61.1, 61.0 และ 61.0 ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับ control (ร้อยละ 62.7) ในขณะที่ตัวอย่าง XL มีปริมาณของแข็งที่หายไปต่ำกว่าทรีตเม้นต์อื่นๆ (ร้อยละ 57.94) ดังภาพที่ 23 ก และเมื่อนำของเหลวที่ได้จากการทรีตเปลือกเสาวรศด้วยน้ำกึ่งวิกฤตไปวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (ภาพที่ 23 ข) พบว่า การทรีตเปลือกเสาวรศที่มีขนาดอนุภาค S, M, L และ XL มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 3.86, 3.81, 3.75 และ 3.77 ตามลำดับ ซึ่งพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างมวลและปริมาตรของสสารแล้ว พบว่า ที่น้ำหนักของสสารเท่ากัน สสารที่มีขนาดอนุภาคเล็กกว่าจะมีปริมาตรมากกว่าสสารที่มีอนุภาคขนาดใหญ่ ซึ่งในการทดลองครั้งนี้ พบว่า การผสมตัวอย่างขนาด S, M, L และ XL กับน้ำ ก่อนนำไปทรีตด้วยน้ำกึ่งวิกฤตนั้น ปริมาตรของตัวอย่างที่ใช้ลดลงตามลำดับเช่นกัน ที่อนุภาคขนาด S มีปริมาตรของตัวอย่างค่อนข้างมาก เมื่อผสมตัวอย่างกับน้ำ ทำให้ได้ของผสมที่มีลักษณะข้นและหนืดขึ้นเล็กน้อย ซึ่งอาจเป็นสาเหตุให้การทรีตด้วยน้ำกึ่งวิกฤตเป็นไปอย่างไม่ทั่วถึง ส่งผลให้เกิดผลิตภัณฑ์ที่เป็นกรดน้อยลง ดังนั้นจึงเห็นว่าที่ทรีตเม้นต์นี้มีค่าความเป็นกรด-ด่างสูงที่สุด (ภาพที่ 23 ข) ในทางกลับกัน การทรีตตัวอย่างที่มีอนุภาคขนาด XL กลับให้ค่าความเป็นกรด-ด่างสูงกว่าอนุภาคขนาด L ทั้งนี้ น่าจะเป็นผลมาจากองค์ประกอบส่วนใหญ่ของตัวอย่างที่มีขนาดอนุภาค XL เป็นส่วนที่มาจากผิวของเปลือกเสาวรศซึ่งเป็น โครงสร้างที่แข็งแรงจึงทำให้ถูกทำลายด้วยน้ำกึ่งวิกฤตได้ยากกว่า

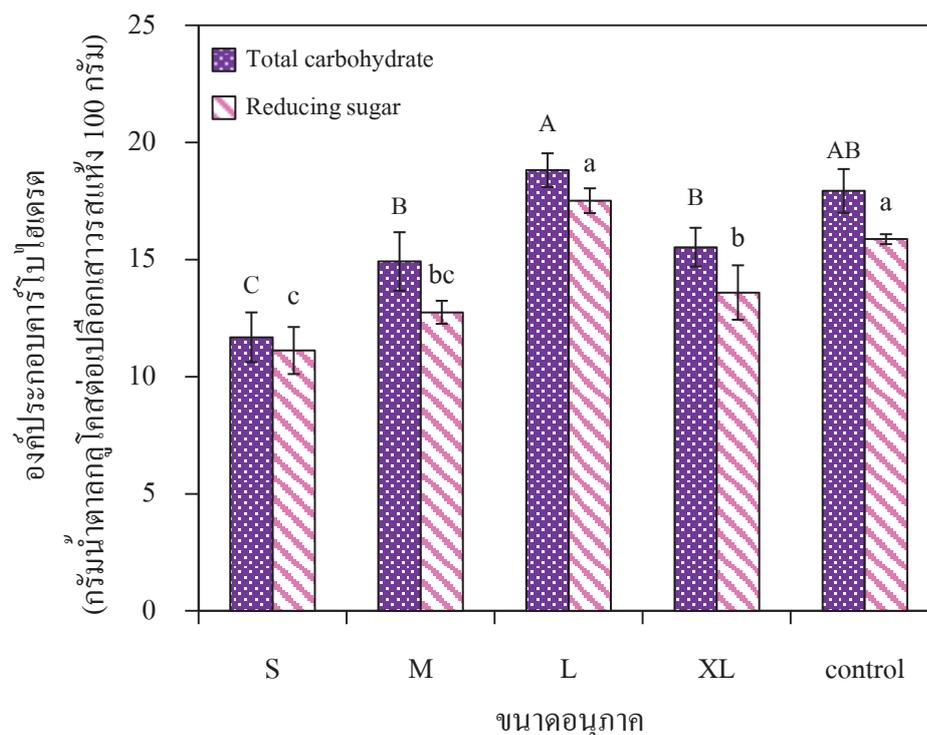


ภาพที่ 23 ร้อยละของของแข็งที่หายไป (ก) และค่าความเป็นกรด-ด่าง ของของเหลวที่ได้ (ข) ภายหลังจากการทรีตตัวอย่างเปลือกเสาวรศด้วยน้ำกึ่งวิกฤต โดยที่ตัวอย่างมีขนาดอนุภาคแตกต่างกัน

อักษรภาษาอังกฤษพิมพ์ใหญ่และพิมพ์เล็กที่แตกต่างกัน หมายถึงค่าเฉลี่ยของปริมาณร้อยละของของแข็งที่หายไป และค่าเฉลี่ยของค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Tukey,  $\alpha = 0.05$ ) ตามลำดับ

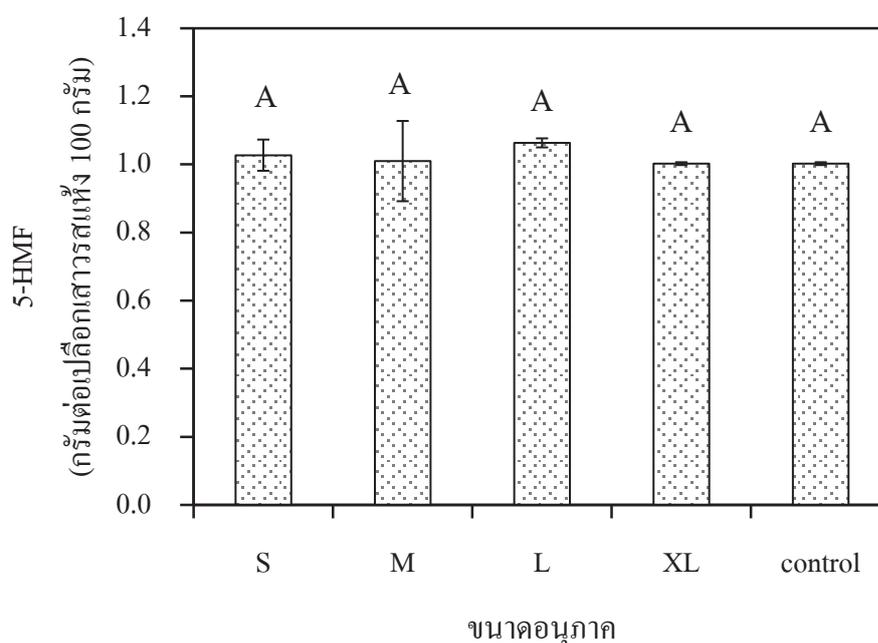
#### 4.3.4 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณ 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอลดีไฮด์ (5-HMF) ในของเหลวที่ได้

เมื่อนำของเหลวที่ได้จากการทรีตมาวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ พบว่า การทรีตเปลือกเสาวรสที่มีขนาดอนุภาค S, M, L และ XL มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดเท่ากับ 11.7, 14.9, 18.8 และ 15.5 กรัม น้ำตาลกลูโคสต่อเปลือกเสาวรสแห้ง 100 กรัม ตามลำดับ และยังมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 11.1, 12.8, 17.5 และ 13.6 กรัม น้ำตาลกลูโคสต่อเปลือกเสาวรสแห้ง 100 กรัม ตามลำดับ จากข้อมูลดังกล่าว จะเห็นว่าการทรีตเปลือกเสาวรสที่มีขนาดอนุภาค L ให้ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุด (ภาพที่ 24) ซึ่งสัมพันธ์กับค่าความเป็นกรดที่เพิ่มขึ้นก่อนหน้านี้ (ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 3.75)



ภาพที่ 24 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในของเหลวที่ได้จากการทรีตเปลือกเสาวรสด้วยน้ำกึ่งวิกฤต โดยที่ตัวอย่างมีขนาดอนุภาคแตกต่างกัน อักษรภาษาอังกฤษพิมพ์ใหญ่และพิมพ์เล็กที่แตกต่างกัน หมายถึงค่าเฉลี่ยของปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Tukey,  $\alpha = 0.05$ )

แม้ว่าผลการทดลองที่กล่าวมาข้างต้น แสดงให้เห็นว่าขนาดอนุภาคของตัวอย่างส่งผลต่อปริมาณของแข็งที่หายไป, ค่าความเป็นกรด-ด่าง, ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ แต่กลับไม่ส่งผลต่อปริมาณ 5-HMF ที่เกิดขึ้น เนื่องจากค่าของ 5-HMF ที่พบอยู่ในช่วง 1.0 ถึง 1.1 กรัมต่อเปลือกเสาวรสแห้ง 100 กรัม ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ดังแสดงในภาพที่ 25

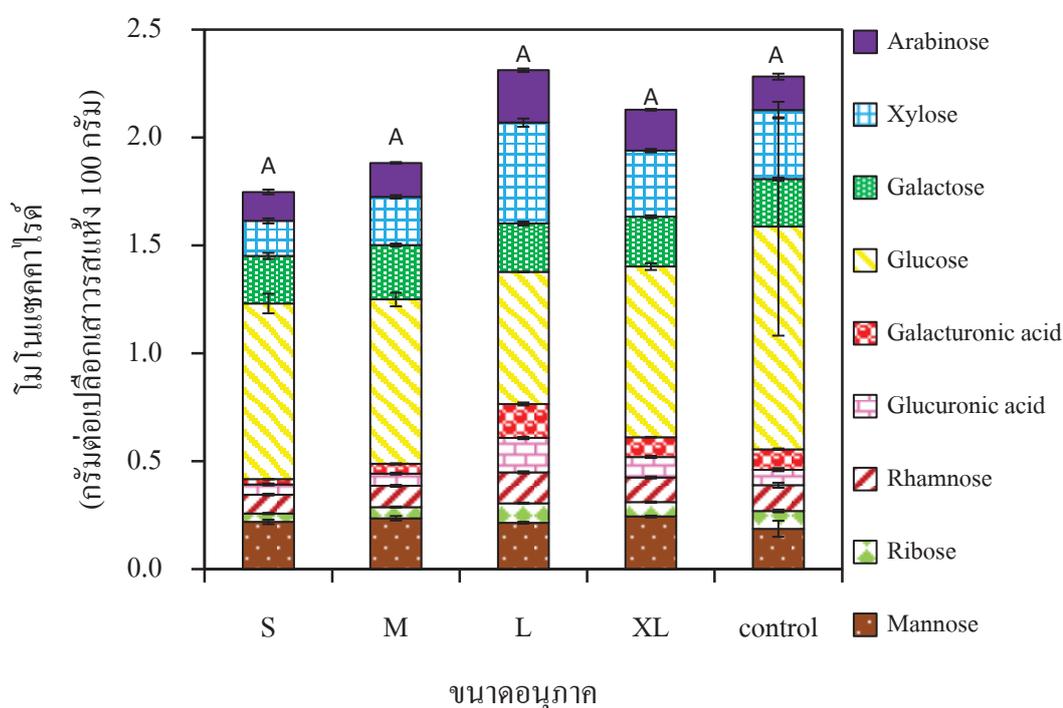


ภาพที่ 25 ปริมาณ 5-HMF ในของเหลวที่ได้จากการทรีตเปลือกเสาวรสด้วยน้ำกึ่งวิกฤต โดยที่ตัวอย่างมีขนาดอนุภาคแตกต่างกัน  
อักษรภาษาอังกฤษพิมพ์ใหญ่ที่แตกต่างกัน หมายถึงค่าเฉลี่ยของปริมาณ 5-HMF ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Tukey,  $\alpha = 0.05$ )

#### 4.3.5 โมโนแซคคาไรด์, โอลิโกแซคคาไรด์ และขนาดของสายโอลิโกแซคคาไรด์ในของเหลวที่ได้

ภาพที่ 26 แสดงถึงปริมาณโมโนแซคคาไรด์แต่ละชนิดที่พบในของเหลวที่ได้จากการทรีตเปลือกเสาวรสด้วยน้ำกึ่งวิกฤต โดยที่ตัวอย่างมีขนาดอนุภาคแตกต่างกัน ซึ่งแสดงในรูปแบบของแผนภูมิแท่งแบบเรียงซ้อน โดยความสูงของแผนภูมิแสดงถึงปริมาณโมโนแซคคาไรด์ทั้งหมดที่พบในทรีตเม้นต่างๆ ซึ่งจากภาพจะเห็นว่า การทรีตเปลือกเสาวรสที่มีขนาดอนุภาค L ให้ปริมาณโมโนแซคคาไรด์รวมทั้งหมดสูงที่สุด (2.3 กรัมต่อเปลือกเสาวรสแห้ง 100 กรัม) รองลงมาคือที่

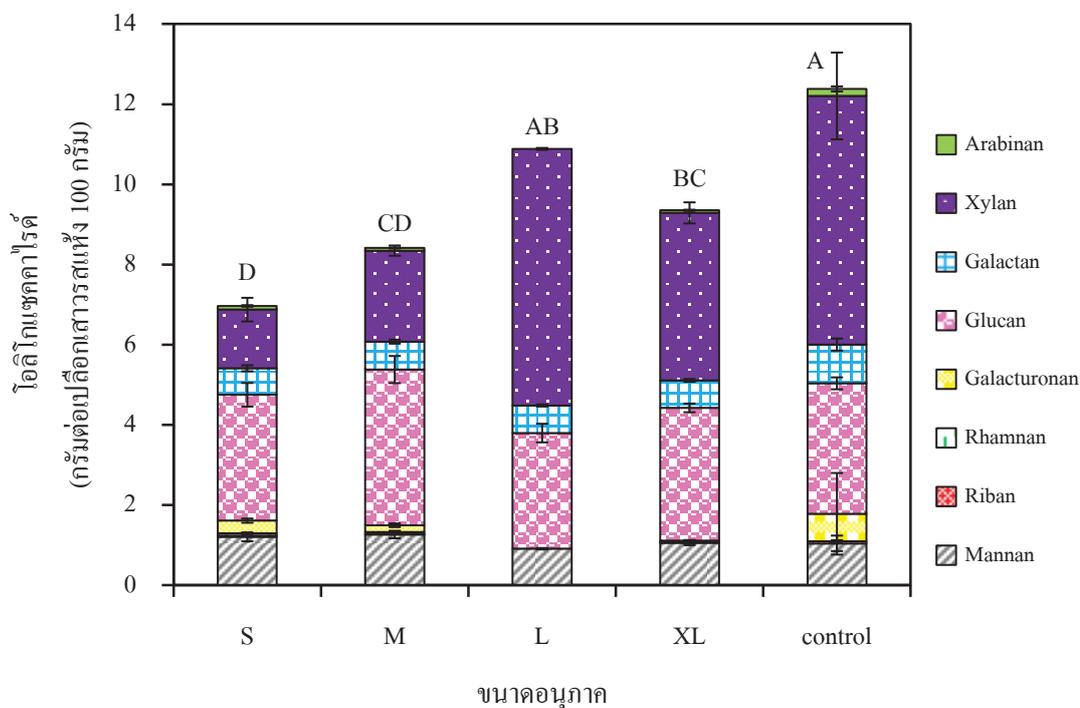
ขนาดอนุภาค XL (2.1 กรัมต่อเปลือกเสาวรสแห้ง 100 กรัม), ขนาดอนุภาค M (1.9 กรัมต่อเปลือกเสาวรสแห้ง 100 กรัม) และขนาดอนุภาค S (1.8 กรัมต่อเปลือกเสาวรสแห้ง 100 กรัม) ตามลำดับ เช่นเดียวกับผลการทดลองในข้อ 4.1.5 ที่พบว่า กลูโคส เป็นโมโนแซคคาไรด์ที่ถูกรับ ในปริมาณมากที่สุดสำหรับทุกๆ ทรีตเมนต์ แต่เมื่อพิจารณาจากภาพที่ 26 แล้วจะเห็นว่า การทรีต เปลือกเสาวรสที่มีขนาดอนุภาค L ส่งผลให้อะราบินอส, ไซโลส, กาแลกทูโรนิก, กลูคูโรนิก, แรรม โนส และไรโบส ถูกรับในปริมาณมากขึ้น



ภาพที่ 26 ปริมาณ โมโนแซคคาไรด์ในของเหลวที่ได้จากการทรีตเปลือกเสาวรสดด้วยน้ำกึ่งวิกฤต โดยที่ตัวอย่างมีขนาดอนุภาคแตกต่างกัน  
อักษรภาษาอังกฤษพิมพ์ใหญ่ที่แตกต่างกัน หมายถึงค่าเฉลี่ยของปริมาณ โมโนแซคคาไรด์ทั้งหมดที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Tukey,  $\alpha = 0.05$ )

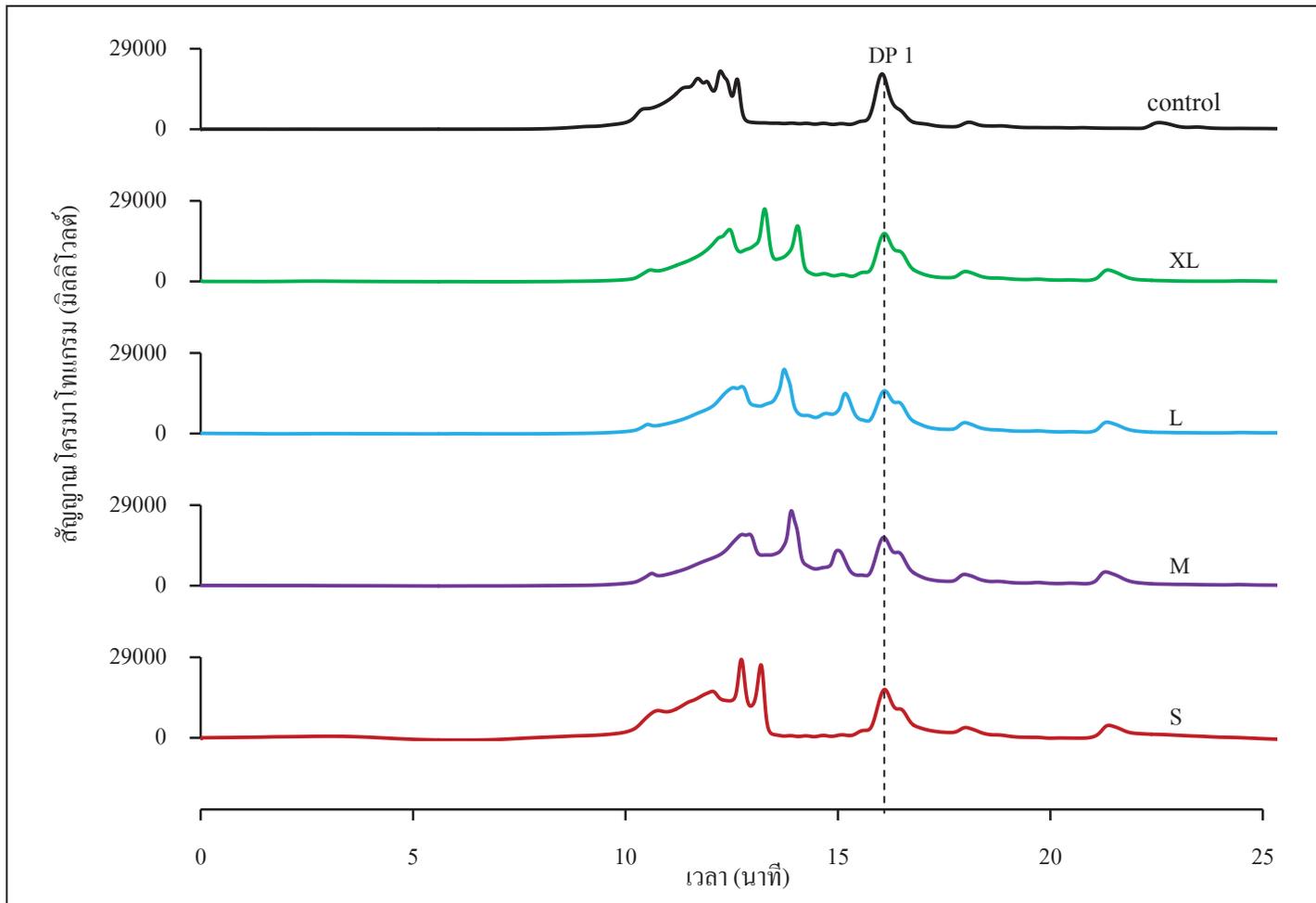
อย่างไรก็ตาม การพบปริมาณ โมโนแซคคาไรด์สูงที่สุดเมื่อทรีตตัวอย่างที่มีขนาดอนุภาค L นี้ ได้สอดคล้องกับปริมาณ โอลิโกแซคคาไรด์สูงสุดด้วยเช่นกัน (10.9 กรัมต่อเปลือกเสาวรสแห้ง 100 กรัม) จากภาพที่ 27 แสดงให้เห็นว่า มีโอลิโกแซคคาไรด์เพียง 4 ชนิดเท่านั้นที่ถูกรวบรวม ซึ่งได้แก่ ไซเลน (6.4 กรัมต่อเปลือกเสาวรสแห้ง 100 กรัม), กลูแคน (2.9 กรัมต่อเปลือก

เสาวรสแห้ง 100 กรัม), แมนแนน (0.9 กรัมต่อเปลือกเสาวรสแห้ง 100 กรัม) และกาแลกแตน (0.7 กรัมต่อเปลือกเสาวรสแห้ง 100 กรัม)



ภาพที่ 27 ปริมาณ โอลิโกแซคคาไรด์ในของเหลวที่ได้จากการทรีตเปลือกเสาวรสด้วยน้ำกึ่งวิกฤต โดยที่ตัวอย่างมีขนาดอนุภาคแตกต่างกัน อักษรภาษาอังกฤษพิมพ์ใหญ่ที่แตกต่างกัน หมายถึงค่าเฉลี่ยของปริมาณ โอลิโกแซคคาไรด์ทั้งหมดที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Tukey,  $\alpha = 0.05$ )

เมื่อเปรียบเทียบขนาดของสาย โอลิโกแซคคาไรด์ในตัวอย่างเปลือกเสาวรสที่ถูกแบ่งออกเป็นขนาดต่างๆ กับตัวอย่างเปลือกเสาวรสที่ไม่ได้แยกขนาด พบว่า การทรีตตัวอย่างที่แบ่งออกเป็นขนาดต่างๆ ทำให้ได้โอลิโกแซคคาไรด์สายสั้นๆมากขึ้น โดยเฉพาะตัวอย่างเปลือกเสาวรสที่มีขนาดอนุภาค M และ L ดังแสดงในภาพที่ 28



ภาพที่ 28 โครมาโทแกรมของโพลิโกลแซคคาไรด์ในของเหลวที่ได้จากการทรีตเป็ลือกเสาวรสที่มีขนาดอนุภาคต่างกัน

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาพบว่าอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการทรีตเปลือกเสาวรสดด้วยน้ำกึ่งวิกฤตมีผลต่อเปลือกเสาวรสดและองค์ประกอบของของเหลวที่ได้ กล่าวคือ เมื่อสภาวะของการทรีตมีความรุนแรงมากขึ้น (อุณหภูมิสูงขึ้น) โครงสร้างของเปลือกเสาวรสดที่สูญเสียองค์ประกอบที่เป็นของแข็งมากขึ้นด้วยเช่นกัน และลักษณะของของแข็งที่เหลืออยู่ก็มีขนาดอนุภาคที่เล็กลง อีกทั้งมีสีน้ำตาลเข้มมากขึ้น ในทำนองเดียวกัน ของเหลวที่ได้ก็มีสีน้ำตาลเข้มมากขึ้นตามความรุนแรงของสภาวะที่ใช้ทรีต สำหรับองค์ประกอบที่เป็นคาร์โบไฮเดรตที่ละลายอยู่ในของเหลวนั้น จากการวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ พบว่า มีค่าเพิ่มขึ้นจาก 12.8 ไปจนถึง 28.5 กรัมกลูโคสต่อ 100 กรัมเปลือกเสาวรสดแห้ง และเพิ่มจาก 11.0 ไปจนถึง 23.2 กรัมกลูโคสต่อ 100 กรัมเปลือกเสาวรสดแห้ง ตามลำดับ โดยสภาวะที่ทำให้ได้ปริมาณสูงสุดคือการทรีตที่ค่า  $\ln R_0$  เท่ากับ 6.8 หรือที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส อย่างไรก็ตาม เมื่อทรีตที่อุณหภูมิสูงกว่านี้ค่าทั้งสองได้ลดลงเนื่องจากเกิดการสลายตัวไปเป็นสาร 5-HMF ที่มีสีน้ำตาลและละลายน้ำได้ โดยปริมาณที่ตรวจพบอยู่ในช่วง 12.0 ถึง 926.3 มิลลิกรัมต่อเปลือกเสาวรสดแห้ง 100 กรัม (ที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียสขึ้นไป) เมื่อวิเคราะห์ชนิดของคาร์โบไฮเดรตในของเหลว พบว่า เป็นโมโนแซคคาไรด์ 6.1 กรัมต่อ 100 กรัมเปลือกเสาวรสดแห้ง (ที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส) โดยมีปริมาณกลูโคสมากที่สุดในทุกๆ สภาวะที่ศึกษา และเป็นโอลิโกแซคคาไรด์ 21.2 กรัมต่อ 100 กรัมเปลือกเสาวรสดแห้ง (ที่อุณหภูมิ 175 องศาเซลเซียส) ซึ่งประกอบด้วยกาแลกทูโรแนนเป็นส่วนใหญ่ นอกจากนี้ ยังพบไซแลน และแมนแนน มีปริมาณเพิ่มตามสภาวะที่รุนแรงขึ้น

แม้ว่าการแยกขนาดอนุภาคของตัวอย่างเปลือกเสาวรสดแห้งออกเป็นขนาดต่างๆก่อนทำการทรีตด้วยน้ำกึ่งวิกฤตนั้น ไม่ส่งผลต่อปริมาณของแข็งที่หายไปและปริมาณ 5-HMF ที่เกิดขึ้น แต่กลับส่งผลต่อชนิดและขนาดของโอลิโกแซคคาไรด์ที่พบในของเหลว ซึ่งผลจากการทดลองครั้งนี้สามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในการแปรรูปวัตถุดิบเหลือทิ้งจากธรรมชาติหรือจากโรงงานอุตสาหกรรมที่มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูงให้กลายเป็นโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีมูลค่าเพิ่มขึ้นได้

### รายการอ้างอิง

- ณัชชา บุญปลื้ม. 2550. การประเมินคุณค่าทางโภชนาการและสารต้านอนุมูลอิสระในวัสดุเหลือทิ้งจากการทำน้ำเสาวรส. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- ธิดารัตน์ ไชยเสน. 2532. อุตสาหกรรมน้ำเสาวรส. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 27. วันที่ 30 มกราคม - 1 กุมภาพันธ์ 2532. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 83-91.
- ปราโมทย์ คูวิจิตรจารุ. 2549. น้ำกึ่งวิกฤติ (subcritical water) และการใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหาร. วารสารจารย์พา Food & Health. 90: 51-53.
- เปี่ยมสุข พงษ์สวัสดิ์. 2551. เอนไซม์ตัดแปรคาร์โบไฮเดรตในอุตสาหกรรม. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ. 389 หน้า.
- พรหทัย กันแก้ว. 2012. ประโยชน์จากไกลโคไซด์. วารสารมาตรวิทยา. 69(14): 10-15.
- พีร์ เหมะรัชตะ. 2008. ความสำคัญของ Probiotics ต่อการแพทย์. จุฬาลงกรณ์เวชสาร. 52(8): 193-204.
- ลพ ภาภูตานนท์. ไม่ปรากฏปีที่พิมพ์. การปลูกกระทกรกฝรั่ง. ศูนย์ข้อมูลทางการเกษตร สำนักส่งเสริมและฝึกอบรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. [http://www.eto.ku.ac.th/neweto/e-book/plant/tree\\_fruit/fruit4.pdf](http://www.eto.ku.ac.th/neweto/e-book/plant/tree_fruit/fruit4.pdf). สืบค้นข้อมูลเมื่อ 25 ธันวาคม 2555
- ศุภลักษณ์ ศรีจรรย์. 2552. โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง. พิมพ์ครั้งที่ 1. โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- สำนักงานนวัตกรรมแห่งชาติ. ไม่ปรากฏปีที่พิมพ์. โครงการนำร่องการผลิตเสาวรสในระดับฟาร์มโดยใช้พันธุ์สีม่วงปลอดโรคไวรัส. [http://www.nia.or.th/projects\\_the\\_royal/](http://www.nia.or.th/projects_the_royal/) สืบค้นข้อมูลเมื่อ 20 มกราคม 2557
- อรทัย เนียมสุวรรณ นฤมล เล็งนนท์ กรกนก ยิ่งเจริญ และ พัชรินทร์ สิงห์คำ. 2555. พฤกษศาสตร์พื้นบ้านของพืชกินได้จากป่าชายเลนและป่าชายหาดบริเวณเขาสทิงพระ จังหวัดสงขลา. วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 40 (3): 981-991.
- อารีวัลย์ ปกป้อง. 2555. การผลิตโพลิโกแซคคาไรด์จากกากมะพร้าวโดยการไฮโดรไลซิสด้วยน้ำกึ่งวิกฤติ. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยศิลปากร.

- A.O.A.C. 1990. Official method of analysis. Association of Official Analytical Chemists. 18<sup>th</sup> ed. Washington DC.
- A.O.A.C. 2000. Official method of analysis. Association of Official Analytical Chemists. 17<sup>th</sup> ed. Washington DC.
- Belitz, H.D. and Grosch, W. 1999. Food Chemistry. 2<sup>nd</sup> ed. Springer, New York.
- Binder, J.B. and Raines, R.T. 2009. Simple chemical transformation of lignocellulosic biomass into furans for fuels and chemicals. *Journal of the American Chemical Society*. 131(5): 979-1985.
- Bornet, F.R.J., Meflah, K. and Menanteau, J. 2002. Enhancement of gut immune functions by short-chain fructooligosaccharides and reduction of colon cancer risk. *Bioscience Microflora*. 21(1): 55-62.
- Chaplin, M. 2014. Water structure and science. Available from <http://www1.lsbu.ac.uk/water/phase.html>. Accessed February 23, 2014.
- Chaplin, M.F. and Kennedy, J.F. 1986. Carbohydrate analysis: a practical approach. IRL Press, Washington DC.
- Chuntanapum, A., Yong, T.L.K., Miyake, S. and Matsumura, Y. 2008. Behavior of 5-HMF in subcritical and supercritical water. *Industrial and Engineering Chemistry Research*. 47: 2956-2962.
- Clever, H.L. 1968. The ion product constant of water. *Journal of Chemical Education*. 45(4): 231-235.
- Dai, J., Wu, Y., Chen, S.W., Zhu, S., Yin, H.P., Wang, M., Tang, J. 2010. Sugar compositional determination of polysaccharides from *Dunaliella salina* by modified RP-HPLC method of precolumn derivatization with 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone. *Carbohydrate Polymers*. 82: 629-635.
- Fanaro, S., Boehm, G., Garssen, J., Knol, J., Mosca, F., Stahl, B. and Vigi, V. 2005. Galactooligosaccharides and long-chain fructo-oligosaccharides as prebiotics in infant formulas: A review. *Acta Pædiatric*. 94 (449): 22-26.
- FAO, Committee on Commodity Problems, Intergovernmental Group on Bananas and Tropical Fruits. 5th Session. Yaoundé. Cameroon. 3-5 May 2011. 2011, Tropical Fruits

- Compendium. Available from <http://www.fao.org/docrep/meeting/022/am481t.pdf>. Accessed February 3, 2014.
- Fischer, R.L. and Bennett, A.B. 1991. Role of cell wall hydrolases in fruit ripening. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 42: 675-703.
- Gullón, P., Gullón, B., Moure, A., Alonso, J.L., Domínguez, H. and Parajó, J.C. 2009. Manufacture of prebiotics from biomass sources. pp. 535-589 In Charalampopoulos, D. and Rastall, R.A. (eds.) *Prebiotics and Probiotics Science and Technology*. 2<sup>nd</sup> ed. Springer, New York.
- Ho, C.H.L., Cacace, J.E. and Mazza, G. 2007. Extraction of lignans, proteins and carbohydrates from flaxseed meal with pressurized low polarity water. *LWT - Food Science and Technology*. 40: 1637-1647.
- Hoebler, C., Barry, J.L., David, A. and Laval, J.D. 1989. Rapid acid hydrolysis of plant cell wall polysaccharides and simplified quantitative determination of their neutral monosaccharides by gas-liquid chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 37(2): 360-367.
- Honda, S., Akao, E., Suzuki, S., Okuda, M., Kakehi, K. and Nakamura, J. 1989. High-performance liquid chromatography of reducing carbohydrates as strongly ultraviolet-absorbing and electrochemically sensitive 1-phenyl-3methyl-5-pyrazolone derivatives. *Analytical Biochemistry*. 180: 351-357.
- Honda, S., Togashi, K., and Taga, A. 1997. Unusual separation of 1-phenyl-3- methyl-5-pyrazolone derivatives of aldoses by capillary zone electrophoresis. *Journal of Chromatography*. 791: 307-311.
- Ingram, T., Rogalinski, T., Bockemühl, V., Antranikian, G. and Brunner, G. 2009. Semi continuous liquid hot water pretreatment of rye straw. *Journal of Supercritical Fluids*. 48: 238-246.
- Khuwijtjaru, P., Watsanit, K. and Adachi, S. 2012. Carbohydrate content and composition of product from subcritical water treatment of coconut meal. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. 18: 225-229.
- Kim, J.W. and Mazza, G. 2006. Optimization of extraction of phenolic compounds from flax

- shives by pressurized low-polarity water. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54: 7575-7584.
- Kim, K., Eom, I., Lee, S., Cho, S., Choi, I. and Choi, W. J. 2010. Applicability of sub- and supercritical water hydrolysis of woody biomass to produce monomeric sugars for cellulosic bioethanol fermentation. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. 16: 918-922.
- Kobayashi, N., Okada, N., Hirakawa, A., Sato, T., Kobayashi, J., Hatano, S., Itaya, Y. and Mori, S. 2009. Characteristics of solid residues obtained from hot-compressed-water treatment of woody biomass. *Industrial and Engineering Chemistry Research*. 48: 373-379.
- Kulkarni, S. G., and Vijayanand, P. 2010. Effect of extraction conditions on the quality characteristics of pectin from passion fruit peel (*Passiflora edulis f. flavicarpa L.*). *LWT - Food Science and Technology*. 43(7): 1026-1031.
- Lü, X. and Saka, S. 2010. Hydrolysis of Japanese beech by batch and semi-flow water under subcritical temperatures and pressures. *Biomass and Bioenergy*. 34: 1089-1097.
- Mäkeläinen, H., Juntunen, M. and Hasselwander, O. 2009. Prebiotic potential of xylo-oligosaccharides. pp. 245-258 In Charalampopoulos, D. and Rastall, R.A. (eds.) *Prebiotics and Probiotics Science and Technology*. 2<sup>nd</sup> ed. Springer, New York.
- Martínez, M., Yáñez, R., Alonsó, J.L. and Parajó, J. C. 2010. Chemical production of pectic oligosaccharides from orange peel wastes. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 49(18): 8470-8476.
- Martínez, M., Gullón, B., Schols, H.A., Alonsó, J. L. and Parajó, J. C. 2009. Assessment of the production of oligomeric compounds from sugar beet pulp. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 49: 4681-4687.
- Matsunaga, M., Matsui, H., Otsuka, Y. and Yamamoto, S. 2008. Chemical conversion of wood by treatment in a semi-batch reactor with subcritical water. *Journal of Supercritical Fluids*. 44: 364-369.
- Novotný, O., Cejpek, K. and Velišek, J. 2008. Formation of carboxylic acids during degradation of monosaccharides. *Czech Journal of Food Science*. 26(2): 117-131.
- Olanrewaju, K.B. 2012. Reaction kinetics of cellulose hydrolysis in subcritical and supercritical

- water. Ph.D. Dissertation. The Graduate College of The University of Iowa, USA.
- Overend, R.P., and Chornet, E. 1987. Fractionation of lignocellulosics by steam-aqueous pretreatments. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*. 321: 526-536.
- Pinheiro, E.R., Silva, I.M.D.A., Gonzaga, L.V., Amante, E.R., Tefilo, R.F., Ferreira, M.M.C., and Amboni, R.D.M.C. 2008. Optimization of extraction of high-ester pectin from passion fruit peel (*Passiflora edulis flavicarpa*) with citric acid by using response surface methodology. *Bioresource Technology*. 99(13): 5561-5566.
- Rebello, B.M., Moreno, S.R.F, Ribeiro, C.G., Neves, R.F., Fonseca, A.S., Caldas, L.Q.A, Filho, M.B. and Medeiros, A.C. 2007. Effect of a peel passion fruit flour (*Passiflora edulis f. flavicarpa*) extract on the labeling of blood constituents with Technetium-99m and on the morphology of red blood cells. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 50: 153-159.
- Sasaki, M., Adschiri, T., and Arai, K. 2003. Fractionation of sugarcane bagasse by hydrothermal treatment. *Bioresource Technology*. 86: 301-304.
- Sasaki, M., Fang, Z., Fukushima, Y., Adschiri, T. and Arai, K. 2000. Dissolution and hydrolysis of cellulose in subcritical and supercritical water. *Industrial and Engineering Chemistry Research*. 39: 2883-2890.
- Sharma, B.R., Naresh, L., Dhuldhoya, N.C., Merchant, S.U. and Marchent, U.C. 2006. An overview on pectins. 44-51.
- Tanaka, M., Takamizu, A., Hoshino, M., Sasaki, M. and Goto, M. 2012. Extraction of dietary fiber from *Citrus junos* peel with subcritical water. *Food and Bioproducts Processing*. 90: 180-186.
- Tian, L.M., Qiu, X.M., Pan, Z.J., Lü, Y., Yang, X.B. 2010. Development of a new HPLC technique for analyzing monosaccharide composition and its application in the quality control of *Silybum marianum* polysaccharide. *Acta Pharmacologica Sinica*. 45: 498-504.
- Vegas, R., Luque, S., Alvarez, J.R., Alonso, J.L., Domínguez, H. and Parajó, J.C. 2006. Membrane-assisted processing of xylooligosaccharide-containing liquors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54: 5430-5436.
- Vicente, A.R., Saladi, M., Rose, J.K.C. and Labavitch, J.M. 2007. The linkage between

cell wall metabolism and fruit softening: looking to the future. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 87: 1435-1448.

Yang X., Zhao, Y., Wang, Q., Wang, H., Mei, Q. 2005. Analysis of the monosaccharide components in *Angelica* polysaccharides by high-performance liquid chromatography. *Analytical Sciences*. 21: 1177-1180.

Yapo, B.M. and Koffi, K.L. 2006. Yellow passion fruit rinds-A potential source of low-methoxyl pectin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54(7): 2738-2744.

Yapo, B.M. and Koffi, K.L. 2008. Dietary fiber components in yellow passion fruit rinds-A potential fiber source. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56: 5880-5883.

ภาคผนวก ก

**ภาคผนวก ก**  
**วิธีการวิเคราะห์**

**1. การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (ดัดแปลงจาก AOAC, 2000)**

- 1.1 อบ moisture can ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นใน โถดูดความชื้นและชั่งน้ำหนัก
- 1.2 ชั่งตัวอย่างใส่ใน moisture can ประมาณ 5 กรัม แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นใน โถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนัก
- 1.3 นำไปอบอีกครั้งที่สภาวะเดิม ปล่อยให้เย็นใน โถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนัก ทำซ้ำจนกว่าน้ำหนักจะคงที่
- 1.4 คำนวณหาปริมาณความชื้นจากสูตร

$$\text{ร้อยละของความชื้น} = \frac{(\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ}) \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

**2. การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (AOAC, 1990)**

- 2.1 ชั่งตัวอย่างใส่ thimble ประมาณ 2-5 กรัม แล้วนำทั้ง thimble นั้นไปใส่ในเครื่อง Soxhlet extractor
- 2.2 ชั่งน้ำหนักของ extraction cup แล้วเติมตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ลงไป ปริมาตร 50 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปใส่ในเครื่อง extraction unit
- 2.3 ทำการสกัด (boiling) นาน 90 นาที และทำการชะล้าง (rinsing) นาน 180 นาที
- 2.4 นำ extraction cup ไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที เพื่อระเหยตัวทำละลายออกไป
- 2.5 นำไปเก็บไว้ในโถดูดความชื้น ทิ้งไว้ให้เย็นและนำมาชั่งน้ำหนัก
- 2.6 คำนวณหาปริมาณไขมันจากสูตร

$$\text{ร้อยละของความชื้น} = \frac{\text{น้ำหนักไขมัน} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

### 3. การวิเคราะห์โปรตีน (AOAC, 2000)

3.1 ชั่งตัวอย่าง 0.5-1 กรัม ใส่ลงใน Kjeldahl flask เติม anhydrous  $\text{CuSO}_4$  0.1 กรัม anhydrous  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  2 กรัม และ conc.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  25 มิลลิลิตร ใส่ antibumping chip 2-3 เม็ดลงใน Kjeldahl flask

3.2 ตั้งอุณหภูมิของเครื่องย่อยไว้ที่ 180 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 20 นาที และเปลี่ยนระดับอุณหภูมิเป็น 380 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมงหรือจนกว่าสารละลายใส ทิ้งให้สารละลายเย็น

3.3 ติดตั้งเครื่องมือกลั่นให้ปลายของ condenser จุ่มลงในสารละลายกรดบอริกความเข้มข้นร้อยละ 4 ปริมาตร 25 มิลลิลิตร หยดเมทิลเรด 2-3 หยด

3.4 เติม NaOH ร้อยละ 50 ปริมาตร 50-70 มิลลิลิตร ลงใน Kjeldahl flask โดยขั้นตอนนี้ NaOH ถูกเติมโดยเครื่องกลั่น

3.5 เก็บสารละลายที่กลั่นได้ จากนั้นไตเตรตด้วยสารละลายมาตรฐาน HCl เข้มข้น 0.1 N จนได้จุดยุติเป็นสีชมพู

3.6 คำนวณร้อยละของไนโตรเจนในตัวอย่าง แล้วใช้ conversion factor เท่ากับ 6.25 หาร้อยละของโปรตีนในตัวอย่าง

$$\text{ร้อยละของไนโตรเจน} = \frac{(\text{มิลลิลิตร HCl} - \text{มิลลิลิตร Blank}) \times \text{Normality of HCl} \times 14.007 \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (มิลลิกรัม)}}$$

$$\text{ร้อยละของโปรตีน} = \text{ร้อยละของไนโตรเจน} \times 6.25$$

หมายเหตุ ใช้น้ำกลั่นเป็น Blank ชั่งน้ำหนักให้ใกล้เคียงกับตัวอย่าง และสารละลายมาตรฐาน HCl ต้องเทียบมาตรฐานกับสารละลายมาตรฐาน 0.1 N NaOH โดยมี phenolphthalein เป็น indicator

### 4. การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (Ash) (ดัดแปลงจาก AOAC, 2000)

4.1 เผาด้วยกระบี่อบเคลือบในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง นำออกจากเตาเผาเก็บไว้ในโถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็นลงจนถึงอุณหภูมิห้อง ชั่งน้ำหนัก ทำซ้ำจนกระทั่งน้ำหนักคงที่ (ในแต่ละซ้ำต่างกันไม่เกิน 3 มิลลิกรัม) บันทึกผล

4.2 ชั่งตัวอย่างละเอียดประมาณ 2 กรัม ลงในถ้วยกระบี่อบเผาบนเตาไฟฟ้าจนหมดควัน

4.3 นำไปเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส จนกระทั่งได้เถ้าสีอ่อนหรือสีขาวสม่ำเสมอ นำออกจากเตาเผา เก็บไว้ในโถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็นลงจนถึงอุณหภูมิห้อง ชั่งน้ำหนัก ทำซ้ำจนกระทั่งน้ำหนักคงที่ (ในแต่ละซ้ำต่างกันไม่เกิน 3 มิลลิกรัม)

4.4 คำนวณหาปริมาณเถ้าจากสูตร

$$\text{ร้อยละของเถ้า} = \frac{\text{น้ำหนักของส่วนที่เหลือจากการเผา} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

## 5. การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดด้วยวิธีฟินอลซัลฟูริก (Phenol-sulfuric method) (Chaplin และ Kennedy, 1986)

5.1 การเตรียมกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส

5.1.1 นำสารละลายกลูโคสปริมาตร 200 ไมโครลิตร ใส่หลอดทดลองขนาด 16 × 150 มิลลิเมตร

5.1.2 เติมสารละลายฟินอล (Phenol) ร้อยละ 5 ปริมาตร 200 ไมโครลิตร

5.1.3 เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น ปริมาตร 1 มิลลิตร ผสมให้เข้ากัน

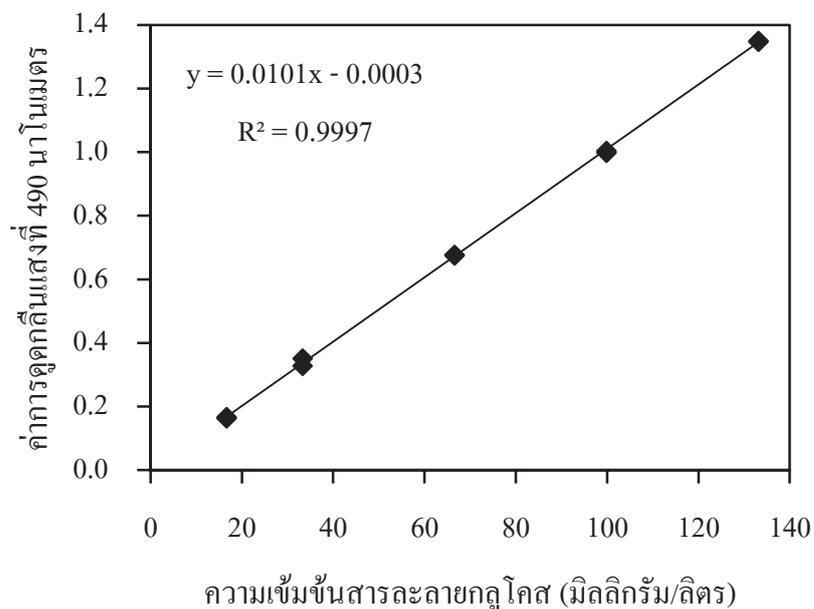
5.1.4 นำตัวอย่างไปใส่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

5.1.5 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร

5.1.6 นำค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส (มิลลิกรัมต่อลิตร) หาความสัมพันธ์ในรูปของสมการเส้นตรง

ตาราง ก. 1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายกลูโคสที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร

สารละลายกลูโคส (มิลลิกรัม/ลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 490 นาโนเมตร	
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2
16.64	0.163	0.167
33.28	0.328	0.351
66.56	0.677	0.675
99.84	1.004	0.998
133.13	1.350	1.347



ภาพ ก. 1 กราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสสำหรับวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด

## 5.2 วิธีการวิเคราะห์ตัวอย่าง

5.2.1 เจือจางของเหลวที่ได้จากการทรีต 200 เท่า

5.2.2 วิเคราะห์เช่นเดียวกับสารมาตรฐานในข้อ 5.1.1 – 5.1.5

5.2.3 คำนวณปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดเทียบกับกราฟมาตรฐาน โดยรายงานผลในหน่วยกรัมต่อเปลือกเสาวรสแห้ง 100 กรัม

## 6. วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ด้วยวิธี Dinitrosalicylic method (Chaplin และ Kennedy, 1986)

### 6.1 การเตรียมสารละลาย Dinitrosalicylic acid (DNS)

ผสม Dinitrosalicylic acid 0.25 กรัม, Potassium sodium tartrate 75 กรัม ในสารละลาย NaOH ความเข้มข้น 2 โมลาร์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

### 6.2 การเตรียมกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส

6.2.1 นำสารละลายกลูโคสปริมาตร 200 ไมโครลิตร ใส่หลอดทดลองขนาด 16 × 150 มิลลิเมตร

6.2.2 เติมสารละลาย Dinitrosalicylic acid (DNS) 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

6.2.3 นำตัวอย่างไปใส่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็น

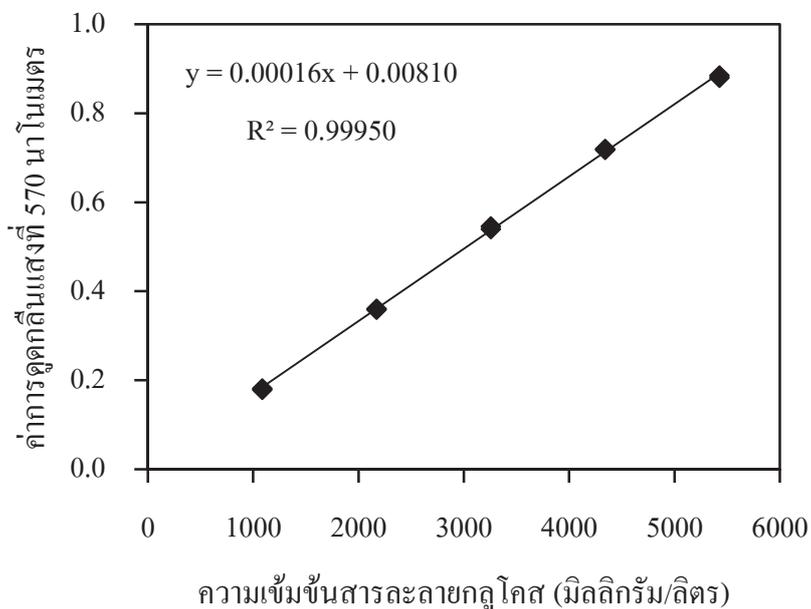
เวลา 10 นาที ทำให้เย็นอย่างรวดเร็ว

6.2.4 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร

6.2.5 นำค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส (มิลลิกรัมต่อลิตร) หาความสัมพันธ์ในรูปของสมการเส้นตรง

ตาราง ก. 2 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายกลูโคสที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร

สารละลายกลูโคส (มิลลิกรัม/ลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 570 นาโนเมตร	
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2
1085	0.179	0.182
2170	0.361	0.359
3255	0.546	0.540
4340	0.720	0.718
5425	0.885	0.880



ภาพ ก. 2 กราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสสำหรับวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์

### 6.3 วิธีการวิเคราะห์ตัวอย่าง

6.3.1 เจือจางของเหลวที่ได้จากการทรีต 4 เท่า

6.3.2 วิเคราะห์เช่นเดียวกับสารมาตรฐานในข้อ 6.2.1 – 6.2.5

6.3.3 คำนวณปริมาณน้ำตาลรีดิวิซ์เทียบกับกราฟมาตรฐาน โดยรายงานผลในหน่วยกรัมต่อเปลือกเสาวรสนแห้ง 100 กรัม

## 7. การวิเคราะห์ปริมาณไฮดรอกซีเมทิล เฟอฟูรอลดีไฮด์ (5-hydroxymethyl-2-Furaldehyde, 5-HMF) ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)

### 7.1 สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์

Column	C-18 column (Inertsil ODS 3, 150 × 4.6 mm, Ø 5 µm, GL Sciences, Tokyo, Japan)
Mobile phase	Water : Methanol (90:10), isocratic elution mode
Flow rate	1.00 ml/min
UV detector	285 nm
Oven temperature	40 °C

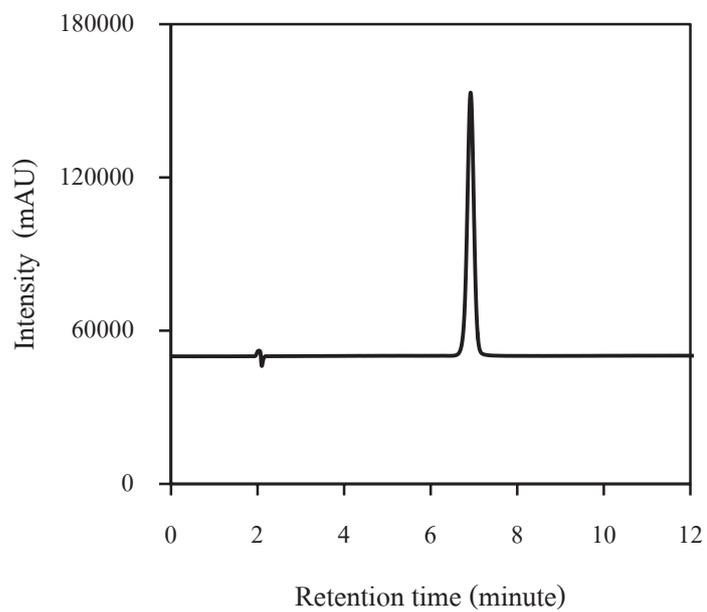
สำหรับ mobile phase คือ น้ำกลั่นและเมทานอลต้องกรองผ่านกระดาษกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร และกำจัดฟองก๊าซออกด้วยอ่างอัลตราโซนิก เป็นเวลา 15 นาทีก่อนนำไปใช้

### 7.2 การเตรียมกราฟมาตรฐาน

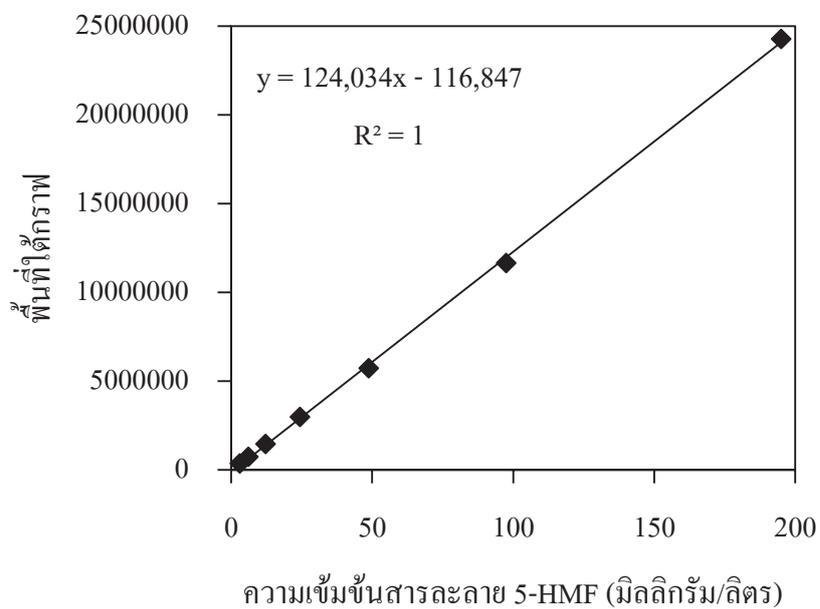
7.2.1 เตรียมสารละลายของสารมาตรฐาน คือ 5-Hydroxymethyl-2-Furaldehyde (5-HMF) ความเข้มข้น 3.00 – 195.00 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย

7.2.2 กรองสารละลายมาตรฐานที่เตรียมไว้ผ่าน syringe filter ขนาด 0.45 ไมโครเมตร ฉีดตัวอย่างปริมาตร 20 ไมโครลิตรเข้าเครื่อง HPLC

7.2.3 นำค่าพื้นที่ใต้กราฟและความเข้มข้นของ 5-Hydroxymethyl-2-Furaldehyde (5-HMF) หาความสัมพันธ์ในรูปของสมการเส้นตรง



ภาพ ก. 3 ตัวอย่าง โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐาน 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde (5-HMF)



ภาพ ก. 4 กราฟมาตรฐานของสารละลาย 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde (5-HMF)

### 7.3 วิธีการวิเคราะห์ตัวอย่าง

7.3.1 กรองตัวอย่างที่ได้ผ่าน syringe filter ขนาด 0.45 ไมโครเมตร ฉีดตัวอย่าง ปริมาตร 20 ไมโครลิตรเข้าเครื่อง HPLC

7.3.2 เปรียบเทียบกับค่า retention time กับสารมาตรฐานและคำนวณปริมาณสาร 5-Hydroxymethyl-2-Furaldehyde (5-HMF) จากสมการที่ได้จากกราฟมาตรฐาน โดยรายงานผลใน หน่วยกรัมต่อเปลือกเสาวรศแห้ง 100 กรัม

## 8. การวิเคราะห์โมโนแซคคาไรด์ในของเหลวที่ได้จากการทรีตโดยการทำอนุพันธ์ด้วย 1-phenyl-3-methyl-2- pyrazoline-5-one (PMP) ก่อนที่จะนำไปวิเคราะห์ต่อด้วยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลว สมรรถนะสูง (HPLC) ดัดแปลงจากวิธีการของ Honda และคณะ (1997)

8.1 การวิเคราะห์ตัวอย่างโดยทำอนุพันธ์ด้วย 1-phenyl-3-methyl-2- pyrazoline-5-one (PMP)

8.1.1 คุดของเหลวที่ได้จากการทรีตและสารละลายน้ำตาลฟุกโทส (internal standard) ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร มาอย่างละ 50 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองขนาด 12×100 มิลลิเมตร

8.1.2 เติม NaOH ความเข้มข้น 0.3 M ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงไปผสมให้เข้ากัน จากนั้นคุดสารละลายออกมา 50 ไมโครลิตร ใส่ขวดสีชาขนาด 4 มิลลิลิตร ที่มีฝาปิด

8.1.3 เติม PMP ความเข้มข้น 0.5 M (ในเมทานอล) ปริมาตร 50 ไมโครลิตรผสมให้เข้ากันอีกครั้ง

8.1.4 ให้ความร้อนในอ่างควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที หลังจากนั้นรอให้ตัวอย่างเย็นที่อุณหภูมิห้อง

8.1.5 เติม HCl ความเข้มข้น 0.3 M ปริมาตร 50 ไมโครลิตร เพื่อปรับค่า pH ของตัวอย่างให้เป็นกลาง

8.1.6 นำตัวอย่างไปทำแห้งโดยการเป่าด้วยก๊าซไนโตรเจน

8.1.7 เติมน้ำกลั่นและคลอโรฟอร์มอย่างละ 1 มิลลิลิตร จากนั้นเขย่าให้ทั่วขวด แล้วตั้งทิ้งไว้ให้สารสกัดเกิดการแยกชั้น

8.1.8 คุดสารละลายใสชั้นบนออกมา แล้วกรองผ่าน syringe filter ขนาด 0.45 ไมโครเมตรก่อนนำไปวิเคราะห์ต่อด้วย HPLC

## 8.2 การเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 6.7)

ผสม Disodium hydrogen orthophosphate dehydrate ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) 6.3955 กรัม กับ Sodium dihydrogen orthophosphate ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) 10.5060 กรัม ในน้ำกลั่นปริมาตร 900 มิลลิลิตร วัดค่า pH ให้ได้ค่า 6.7 หาก pH ยังไม่ได้ค่าตามต้องการ ให้ปรับด้วย 1 M HCl หรือ 1 M NaOH จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

## 8.3 สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์ (HPLC)

Column	C-18 column (Inertsil ODS 3, $150 \times 4.6$ mm, $\text{Ø}$ 5 $\mu\text{m}$ , GL Sciences, Tokyo, Japan)
Mobile phase	Phosphate buffer pH 6.7 : Acetonitrile (85:15), isocratic elution mode
Flow rate	3.00 ml/min
UV detector	245 nm
Oven temperature	40 °C

ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ต้องกรองผ่านกระดาษกรองขนาด 0.22 ไมโครเมตร สำหรับอะซีโตไนล์ต้องกรองผ่านกระดาษกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร จากนั้นกำจัดฟองก๊าซของ Mobile phase ออกด้วยอ่างอัลตราโซนิก เป็นเวลา 15 นาทีก่อนนำไปใช้

## 8.4 การเตรียมกราฟมาตรฐาน

8.4.1 เตรียมสารละลายของโมโนแซคคาไรด์ ดังต่อไปนี้ แมนโนส ไรโบส แรมโนส กาแลกทูโรนิก กลูคูโรนิก กลูโคส กาแลกโตส ซาโลส อะราบีโนส และฟูโคส (internal standard) โดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย

8.4.2 นำสารละลายของสารมาตรฐาน มาทำอนุพันธ์ด้วย PMP ตามวิธี 8.1

8.4.3 กรองสารละลายมาตรฐานที่เตรียมไว้ผ่าน syringe filter ขนาด 0.45 ไมโครเมตร ฉีดตัวอย่างปริมาตร 20 ไมโครลิตรเข้าเครื่อง HPLC

8.4.4 นำค่าพื้นที่ที่ได้กราฟของโมโนแซคคาไรด์แต่ละตัวเทียบกับพื้นที่ที่ได้กราฟของฟูโคส จากนั้นนำอัตราส่วนที่ได้นี้ไปสร้างกราฟความสัมพันธ์กับความเข้มข้นในรูปของสมการเส้นตรง

ตาราง ก. 3 สารมาตรฐาน โมโนแซคคาไรด์

สารมาตรฐาน โมโนแซคคาไรด์	สมการเส้นตรง	R- square	LOD (ratio)	LOD (mg/l)
แมนโนส	$y = 0.0128x + 0.0162$	$R^2 = 0.9986$	0.1214	8.2071
ไรโบส	$y = 0.0099x + 0.0146$	$R^2 = 0.9997$	0.0468	3.2276
แรมโนส	$y = 0.0082x - 0.0056$	$R^2 = 0.9987$	0.0602	7.9905
กลูคูโรนิก	$y = 0.0069x + 0.0084$	$R^2 = 0.9988$	0.0687	8.7665
กาแลกทูโรนิก	$y = 0.0067x - 0.0051$	$R^2 = 0.9976$	0.0797	12.6093
กลูโคส	$y = 0.0041x + 0.1780$	$R^2 = 0.9893$	1.6526	357.6676
กาแลกโตส	$y = 0.0063x - 0.0040$	$R^2 = 0.9987$	0.0522	8.9633
ไซโลส	$y = 0.0069x - 0.0252$	$R^2 = 0.9963$	0.0635	12.8207
อะราบิโนส	$y = 0.0068x - 0.0182$	$R^2 = 0.9960$	0.0604	11.5935

### 9. การวิเคราะห์ปริมาณโอลิโกแซคคาไรด์ในของเหลวที่ได้จากการทรีต

ปริมาณ โอลิโกแซคคาไรด์ในตัวอย่างหาได้จากสมการต่อไปนี้

$$\text{ปริมาณ โอลิโกแซคคาไรด์} = M_2 - M_1$$

โดย  $M_1$  = ปริมาณโมโนแซคคาไรด์ก่อนย่อยตัวอย่างด้วย TFA

$M_2$  = ปริมาณโมโนแซคคาไรด์หลังย่อยตัวอย่างด้วย TFA

### 10. การวิเคราะห์เพื่อการตรวจสอบปริมาณร้อยละของโมโนแซคคาไรด์ที่เหลือหลังการย่อยด้วย TFA

10.1 เตรียมสารละลายของโมโนแซคคาไรด์ ดังต่อไปนี้ แมนโนส ไรโบส แรมโนส กาแลกทูโรนิก กลูคูโรนิก กลูโคส กาแลกโตส ไซโลส อะราบิโนส และฟูโคส (internal standard)

โดยให้แต่ละชนิดมีความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร

10.2 ทำการย่อยสารละลายของโมโนแซคคาไรด์ตามขั้นตอนในบทที่ 3 ข้อ 3.4.3

10.3 วิเคราะห์ปริมาณโมนิแซคคาไรด์หลังการย่อย ตามขั้นตอนในข้อ 8.1

10.4 คำนวณค่าร้อยละของโมนิแซคคาไรด์ที่เหลือหลังการย่อย ดังสมการต่อไปนี้

$$\text{ร้อยละของโมนิแซคคาไรด์ที่เหลือ} = \frac{C_2}{C_1} \times 100$$

โดย  $C_1$  = ความเข้มข้นของโมนิแซคคาไรด์ก่อนย่อยด้วย TFA

$C_2$  = ความเข้มข้นของโมนิแซคคาไรด์หลังย่อยด้วย TFA

## 11. การวิเคราะห์ขนาดของโอลิโกแซคคาไรด์ในของเหลวที่ได้จากการทรีตด้วยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)

11.1 สภาพที่ใช้ในการวิเคราะห์

Column	Size Exclusion Chromatography Column (YMC-Pack Diol-60, 500 x 8.0 mm, YMC, Kyoto, Japan)
Mobile phase	Water, isocratic elution mode
Flow rate	1.00 ml/min
Detection	RI detector
Oven temperature	room temperature (~ 25 °C)

11.2 กรองตัวอย่างผ่าน syringe filter ขนาด 0.45 ไมโครเมตร ฉีดตัวอย่างปริมาตร 20 ไมโครลิตรเข้าเครื่อง HPLC

ภาคผนวก ข

ภาคผนวก ข  
รายละเอียดผลการทดลอง

1. ผลของอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการทรีต

ตาราง ข. 1 ปริมาณของแข็งที่หายไปและ pH ของของเหลวที่ได้จากการทรีตเปลือกเสาวรสดด้วย น้ำกึ่งวิกฤตที่ค่า  $\ln R_0$  ต่างๆ

$\ln R_0$	ของแข็งที่หายไป (ร้อยละ)*	pH*
0.1	23.1 <sup>D</sup> ± 0.9	4.16 <sup>A</sup> ± 0.01
1.8	28.8 <sup>CD</sup> ± 1.1	4.14 <sup>AB</sup> ± 0.01
3.4	34.4 <sup>C</sup> ± 3.7	4.13 <sup>AB</sup> ± 0.01
5.1	45.6 <sup>B</sup> ± 1.8	4.11 <sup>B</sup> ± 0.01
6.8	47.7 <sup>B</sup> ± 2.8	4.07 <sup>C</sup> ± 0.02
8.4	58.8 <sup>A</sup> ± 1.6	3.92 <sup>D</sup> ± 0.01
9.9	62.7 <sup>A</sup> ± 1.0	3.76 <sup>E</sup> ± 0.02

\*ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n = 3)

อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในกลุ่มเดียวกัน หมายถึง ค่าเฉลี่ยตามแนวคอลัมน์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Tukey,  $\alpha = 0.05$ )

ตาราง ข. 2 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์และไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอลดีไฮด์ (5-HMF) ในของเหลวที่ได้จากการทรีตเปลือกเสาวรสดด้วยน้ำกึ่งวิกฤตที่ค่า  $\ln R_0$  ต่างๆ

$\ln R_0$	กรัมกลูโคสต่อ 100 กรัม		มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม
	เปลือกเสาวรสดแห้ง		เปลือกเสาวรสดแห้ง
	คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด*	น้ำตาลรีดิวซ์*	5-HMF*
0.1	12.8 <sup>D</sup> ± 0.4	11.0 <sup>E</sup> ± 0.4	nd
1.8	20.3 <sup>BC</sup> ± 0.4	15.4 <sup>D</sup> ± 0.3	nd
3.4	26.2 <sup>A</sup> ± 1.6	19.1 <sup>BC</sup> ± 1.8	12.0 <sup>D</sup> ± 3.0
5.1	28.0 <sup>A</sup> ± 1.4	21.8 <sup>AB</sup> ± 1.4	60.8 <sup>D</sup> ± 6.3
6.8	28.5 <sup>A</sup> ± 1.8	23.2 <sup>A</sup> ± 2.3	192.6 <sup>C</sup> ± 18.8
8.4	21.3 <sup>B</sup> ± 0.6	18.5 <sup>BCD</sup> ± 0.4	656.2 <sup>B</sup> ± 54.5
9.9	17.9 <sup>C</sup> ± 0.9	15.9 <sup>CD</sup> ± 0.2	926.3 <sup>A</sup> ± 68.6

\*ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n = 3)

nd หมายถึง ไม่สามารถคำนวณค่าได้เนื่องจากไม่พบสารในสภาวะที่ใช้ในการทรีต

อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน หมายถึง ค่าเฉลี่ยตามแนวคอลัมน์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Tukey,  $\alpha = 0.05$ )

ตาราง ข. 3 ปริมาณโมนแซคคาไรด์และโอลิโกแซคคาไรด์ทั้งหมดในเหลวที่ได้จากการทรีต  
เปลือกเสาวรศด้วยน้ำกึ่งวิกฤตที่ค่า  $\ln R_0$  ต่างๆ

$\ln R_0$	กรัมต่อ 100 กรัมเปลือกเสาวรศแห้ง	
	โมนแซคคาไรด์*	โอลิโกแซคคาไรด์*
0.1	4.6 <sup>B</sup> ± 0.5	6.6 <sup>E</sup> ± 1.8
1.8	4.5 <sup>B</sup> ± 0.6	7.6 <sup>DE</sup> ± 1.5
3.4	4.3 <sup>B</sup> ± 0.1	20.5 <sup>A</sup> ± 1.9
5.1	6.0 <sup>A</sup> ± 0.4	21.2 <sup>A</sup> ± 1.3
6.8	6.1 <sup>A</sup> ± 0.5	17.7 <sup>AB</sup> ± 0.6
8.4	4.7 <sup>B</sup> ± 0.1	15.1 <sup>BC</sup> ± 3.5
9.9	2.3 <sup>C</sup> ± 0.5	12.4 <sup>CD</sup> ± 1.5

\*ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n = 3)

อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน หมายถึง ค่าเฉลี่ยตามแนวคอลัมน์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Tukey,  $\alpha = 0.05$ )

ตาราง ข. 4 ปริมาณ โมนแซคคาไรด์แต่ละชนิดที่พบในเหลวที่ได้จากการทรีตเปลือกเสาวรสด้วยน้ำกึ่งวิกฤตที่ค่า  $\ln R_0$  ต่างๆ

$\ln R_0$	กรัมต่อ 100 กรัมเปลือกเสาวรสดแห้ง								
	แมนโนส*	ไรโบส*	แรมโนส*	กลูคูโรนิก*	กาแลกทูโรนิก*	กลูโคส*	กาแลกโตส*	ไซโลส*	อะราบีโนส*
0.1	0.17 <sup>D</sup> ± 0.03	nd	nd	nd	0.04 <sup>CD</sup> ± 0.01	4.3 <sup>AB</sup> ± 0.51	0.11 <sup>C</sup> ± 0.01	0.03 <sup>C</sup> ± 0.00	nd
1.8	0.08 <sup>D</sup> ± 0.02	nd	nd	nd	0.08 <sup>BC</sup> ± 0.01	4.07 <sup>B</sup> ± 0.55	0.17 <sup>B</sup> ± 0.03	0.05 <sup>C</sup> ± 0.00	nd
3.4	0.11 <sup>CD</sup> ± 0.00	0.01 <sup>C</sup> ± 0.01	nd	nd	0.05 <sup>BCD</sup> ± 0.03	3.84 <sup>B</sup> ± 0.11	0.19 <sup>AB</sup> ± 0.00	0.05 <sup>C</sup> ± 0.00	nd
5.1	0.16 <sup>BC</sup> ± 0.01	0.01 <sup>C</sup> ± 0.00	0.02 <sup>C</sup> ± 0.00	0.02 <sup>C</sup> ± 0.00	0.05 <sup>CD</sup> ± 0.00	5.42 <sup>A</sup> ± 0.34	0.22 <sup>A</sup> ± 0.00	0.06 <sup>C</sup> ± 0.00	nd
6.8	0.21 <sup>B</sup> ± 0.01	0.02 <sup>C</sup> ± 0.00	0.03 <sup>C</sup> ± 0.01	0.05 <sup>B</sup> ± 0.01	0.18 <sup>A</sup> ± 0.02	5.28 <sup>A</sup> ± 0.41	0.20 <sup>AB</sup> ± 0.02	0.07 <sup>BC</sup> ± 0.01	0.06 <sup>C</sup> ± 0.01
8.4	0.36 <sup>A</sup> ± 0.01	0.04 <sup>B</sup> ± 0.00	0.16 <sup>A</sup> ± 0.01	0.06 <sup>AB</sup> ± 0.01	0.03 <sup>D</sup> ± 0.00	3.59 <sup>B</sup> ± 0.05	0.20 <sup>AB</sup> ± 0.00	0.11 <sup>B</sup> ± 0.00	0.18 <sup>A</sup> ± 0.01
9.9	0.19 <sup>B</sup> ± 0.04	0.08 <sup>A</sup> ± 0.01	0.12 <sup>B</sup> ± 0.01	0.07 <sup>A</sup> ± 0.01	0.09 <sup>B</sup> ± 0.00	1.03 <sup>C</sup> ± 0.51	0.22 <sup>A</sup> ± 0.01	0.32 <sup>A</sup> ± 0.04	0.15 <sup>B</sup> ± 0.01

\*ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n = 3)

nd หมายถึง ไม่สามารถคำนวณค่าได้เนื่องจากไม่พบสารในสภาวะที่ใช้ในการทรีต

อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในกลุ่มเดียวกัน หมายถึง ค่าเฉลี่ยตามแนวคอลัมน์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Tukey,  $\alpha = 0.05$ )

ตาราง ข. 5 ปริมาณ โอลิโกแซคคาไรด์แต่ละชนิดที่พบในเหลวที่ได้จากการทรีตเปลือกเสาวรศด้วยน้ำกึ่งวิกฤตที่ค่า  $\ln R_0$  ต่างๆ

$\ln R_0$	กรัมต่อ 100 กรัมเปลือกเสาวรศแห้ง								
	แมนแนน*	ไรเบน*	แรมแนน*	กลูคูโรแนน*	กาแลกทูโรแนน*	กลูแคน*	กาแลกแตน*	ไซเลน*	อะราบีแนน*
0.1	0.02 <sup>D</sup> ± 0.01	0.10 ± 0.02	0.06 <sup>CD</sup> ± 0.01	0.02 <sup>CD</sup> ± 0.00	5.40 <sup>C</sup> ± 1.15	0.67 <sup>D</sup> ± 0.55	0.10 <sup>E</sup> ± 0.05	0.12 <sup>B</sup> ± 0.04	0.14 <sup>C</sup> ± 0.04
1.8	0.09 <sup>CD</sup> ± 0.03	0.06 ± 0.02	0.09 <sup>C</sup> ± 0.02	0.07 <sup>A</sup> ± 0.00	3.67 <sup>CD</sup> ± 0.77	2.96 <sup>BC</sup> ± 1.43	0.19 <sup>DE</sup> ± 0.01	0.21 <sup>B</sup> ± 0.00	0.23 <sup>C</sup> ± 0.01
3.4	0.22 <sup>BCD</sup> ± 0.03	0.05 ± 0.01	0.23 <sup>B</sup> ± 0.02	0.05 <sup>AB</sup> ± 0.00	13.34 <sup>A</sup> ± 0.94	5.68 <sup>A</sup> ± 0.73	0.31 <sup>CDE</sup> ± 0.05	0.28 <sup>B</sup> ± 0.03	0.34 <sup>BC</sup> ± 0.03
5.1	0.37 <sup>BC</sup> ± 0.06	0.05 ± 0.01	0.35 <sup>A</sup> ± 0.07	0.03 <sup>BC</sup> ± 0.00	13.83 <sup>A</sup> ± 1.97	5.05 <sup>AB</sup> ± 0.99	0.47 <sup>CD</sup> ± 0.07	0.43 <sup>B</sup> ± 0.04	0.62 <sup>AB</sup> ± 0.09
6.8	0.52 <sup>B</sup> ± 0.08	0.06 ± 0.01	0.37 <sup>A</sup> ± 0.03	0.03 <sup>BCD</sup> ± 0.01	9.55 <sup>B</sup> ± 1.18	4.70 <sup>AB</sup> ± 0.26	0.60 <sup>BC</sup> ± 0.09	1.24 <sup>B</sup> ± 0.41	0.65 <sup>AB</sup> ± 0.08
8.4	1.12 <sup>A</sup> ± 0.19	0.05 ± 0.03	0.20 <sup>B</sup> ± 0.03	0.02 <sup>CD</sup> ± 0.01	1.62 <sup>D</sup> ± 0.87	2.31 <sup>CD</sup> ± 0.39	1.24 <sup>A</sup> ± 0.28	7.77 <sup>A</sup> ± 2.13	0.78 <sup>A</sup> ± 0.27
9.9	1.04 <sup>A</sup> ± 0.19	0.05 ± 0.03	0.00 <sup>D</sup> ± 0.00	0.00 <sup>D</sup> ± 0.01	0.69 <sup>D</sup> ± 1.02	3.25 <sup>BC</sup> ± 0.15	0.97 <sup>AB</sup> ± 0.15	6.20 <sup>A</sup> ± 1.08	0.18 <sup>C</sup> ± 0.06

\*ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n = 3)

อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน หมายถึง ค่าเฉลี่ยตามแนวคอลัมน์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Tukey,  $\alpha = 0.05$ )

## 2. ผลของขนาดอนุภาคของตัวอย่างที่ใช้ในการทรีต

ตาราง ข. 6 ปริมาณของแข็งที่หายไปและ pH ของของเหลวที่ได้จากการทรีตเปลือกเสาวรสดด้วยน้ำกึ่งวิกฤตที่ขนาดอนุภาคของตัวอย่างต่างๆ

รหัสตัวอย่าง	ขนาดอนุภาค (x) (ไมครอน)	ของแข็งที่หายไป (ร้อยละ)*	pH*
S	45 < x < 106	61.1 <sup>A</sup> ± 1.1	3.86 <sup>A</sup> ± 0.01
M	106 < x < 250	61.0 <sup>A</sup> ± 1.0	3.81 <sup>B</sup> ± 0.01
L	250 < x < 1,000	61.0 <sup>A</sup> ± 0.8	3.75 <sup>C</sup> ± 0.01
XL	1,000 < x < 4,750	57.9 <sup>B</sup> ± 0.5	3.77 <sup>BC</sup> ± 0.02
control	45 < x < 4,750	62.7 <sup>A</sup> ± 1.0	3.76 <sup>C</sup> ± 0.02

\*ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n = 3)

อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในกลุ่มเดียวกัน หมายถึง ค่าเฉลี่ยตามแนวคอลัมน์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Tukey,  $\alpha = 0.05$ )

ตาราง ข. 7 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด น้ำตาลรีดิวิซซ์และไฮดรอกซีเมทิล เฟอฟูรอลดีไฮด์ (5-HMF) ในของเหลวที่ได้จากการทรีตเปลือกเสาวรสดด้วยน้ำกึ่งวิกฤตที่ขนาดอนุภาคของตัวอย่างต่างๆ

รหัส ตัวอย่าง	ขนาดอนุภาค (x) (ไมครอน)	กรัมกลูโคสต่อ 100 กรัม เปลือกเสาวรสดแห้ง		กรัมต่อ 100 กรัม เปลือกเสาวรสดแห้ง
		คาร์โบไฮเดรต ทั้งหมด*	น้ำตาลรีดิวิซซ์*	5-HMF*
S	45 < x < 106	11.7 <sup>C</sup> ± 1.1	11.1 <sup>C</sup> ± 1.0	1.03 <sup>A</sup> ± 0.05
M	106 < x < 250	14.9 <sup>B</sup> ± 1.3	12.8 <sup>BC</sup> ± 0.5	1.01 <sup>A</sup> ± 0.12
L	250 < x < 1,000	18.8 <sup>A</sup> ± 0.8	17.5 <sup>A</sup> ± 0.5	1.06 <sup>A</sup> ± 0.01
XL	1,000 < x < 4,750	15.5 <sup>B</sup> ± 0.8	13.6 <sup>B</sup> ± 1.2	1.00 <sup>A</sup> ± 0.00
control	45 < x < 4,750	17.9 <sup>AB</sup> ± 0.9	15.9 <sup>A</sup> ± 0.2	0.96 <sup>A</sup> ± 0.07

\*ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n = 3)

อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในกลุ่มเดียวกัน หมายถึง ค่าเฉลี่ยตามแนวคอลัมน์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Tukey,  $\alpha = 0.05$ )

ตาราง ข. 8 ปริมาณโมนแซคคาไรด์และโอลิโกแซคคาไรด์ทั้งหมดในเหลวที่ได้จากการทรีต  
เปลือกเสาวรสน้ำกึ่งวิกฤตที่ขนาดอนุภาคของตัวอย่างต่างๆ

รหัส ตัวอย่าง	ขนาดอนุภาค (x) (ไมครอน)	กรัมต่อ 100 กรัมเปลือกเสาวรสนแห้ง	
		โมนแซคคาไรด์*	โอลิโกแซคคาไรด์*
S	45 < x < 106	1.8 <sup>A</sup> ± 0.1	7.0 <sup>D</sup> ± 0.3
M	106 < x < 250	1.9 <sup>A</sup> ± 0.1	8.4 <sup>CD</sup> ± 0.6
L	250 < x < 1,000	2.3 <sup>A</sup> ± 0.1	10.9 <sup>AB</sup> ± 0.3
XL	1,000 < x < 4,750	2.1 <sup>A</sup> ± 0.0	9.4 <sup>BC</sup> ± 0.4
control	45 < x < 4,750	2.3 <sup>A</sup> ± 0.5	12.4 <sup>A</sup> ± 1.5

\*ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n = 3)

อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในกลุ่มเดียวกัน หมายถึง ค่าเฉลี่ยตามแนวคอลัมน์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Tukey,  $\alpha = 0.05$ )

ตาราง ข. 9 ปริมาณ โมโนแซคคาไรด์แต่ละชนิดที่พบในเหลวที่ได้จากการทรีตเปลือกเสาวรสดด้วยน้ำกึ่งวิกฤตที่ขนาดอนุภาคของตัวอย่างต่างๆ

ขนาดอนุภาค (x) (ไมครอน)	กรัมต่อ 100 กรัมเปลือกเสาวรสดแห้ง								
	แมนโนส*	ไรโบส*	แรมโนส*	กลูคูโรนิก*	กาแลกทูโรนิก*	กลูโคส*	กาแลกโตส*	ไซโลส*	อะราบิโนส*
45 < x < 106	0.219 <sup>B</sup> ± 0.011	0.039 <sup>D</sup> ± 0.003	0.088 <sup>C</sup> ± 0.004	0.047 <sup>C</sup> ± 0.004	0.024 <sup>D</sup> ± 0.004	0.814 <sup>A</sup> ± 0.045	0.220 <sup>B</sup> ± 0.014	0.162 <sup>D</sup> ± 0.012	0.134 <sup>D</sup> ± 0.011
106 < x < 250	0.236 <sup>AB</sup> ± 0.010	0.052 <sup>C</sup> ± 0.003	0.098 <sup>C</sup> ± 0.005	0.057 <sup>C</sup> ± 0.005	0.045 <sup>C</sup> ± 0.005	0.762 <sup>A</sup> ± 0.032	0.252 <sup>A</sup> ± 0.007	0.223 <sup>C</sup> ± 0.008	0.157 <sup>C</sup> ± 0.004
250 < x < 1,000	0.216 <sup>B</sup> ± 0.004	0.090 <sup>A</sup> ± 0.003	0.143 <sup>A</sup> ± 0.005	0.159 <sup>A</sup> ± 0.005	0.158 <sup>A</sup> ± 0.005	0.611 <sup>B</sup> ± 0.001	0.225 <sup>B</sup> ± 0.009	0.467 <sup>A</sup> ± 0.019	0.243 <sup>A</sup> ± 0.008
1,000 < x < 4,750	0.244 <sup>A</sup> ± 0.004	0.067 <sup>B</sup> ± 0.003	0.114 <sup>B</sup> ± 0.005	0.095 <sup>B</sup> ± 0.005	0.091 <sup>B</sup> ± 0.005	0.790 <sup>A</sup> ± 0.016	0.231 <sup>AB</sup> ± 0.007	0.306 <sup>B</sup> ± 0.008	0.189 <sup>B</sup> ± 0.004

\*ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n = 3)

อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน หมายถึง ค่าเฉลี่ยตามแนวคอลัมน์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Tukey,  $\alpha = 0.05$ )

ตาราง ข. 10 ปริมาณ โอลิโกแซคคาไรด์แต่ละชนิดที่พบในเหลวที่ได้จากการทรีตเปลือกเสาวรสด้วยน้ำกึ่งวิกฤตที่ขนาดอนุภาคของตัวอย่างต่างๆ

ขนาดอนุภาค (x) (ไมครอน)	กรัมต่อ 100 กรัมเปลือกเสาวรสดแห้ง								
	แมนแนน*	ไรเบน*	แรมแนน*	กลูคูโรแนน*	กาแลกทูโรแนน*	กลูแคน*	กาแลกแตน*	ไซแลน*	อะราบิแนน*
45 < x < 106	1.204 <sup>AB</sup> ± 0.112	0.030 <sup>A</sup> ± 0.003	0.059 <sup>A</sup> ± 0.005	nd	0.315 <sup>A</sup> ± 0.053	3.140 <sup>B</sup> ± 0.295	0.661 ± 0.075	1.463 <sup>D</sup> ± 0.295	0.092 ± 0.020
106 < x < 250	1.263 <sup>A</sup> ± 0.093	0.012 <sup>B</sup> ± 0.006	0.046 <sup>A</sup> ± 0.012	nd	0.172 <sup>B</sup> ± 0.046	3.884 <sup>A</sup> ± 0.339	0.696 ± 0.051	2.271 <sup>C</sup> ± 0.128	0.065 ± 0.013
250 < x < 1,000	0.908 <sup>C</sup> ± 0.018	nd	nd	nd	nd	2.886 <sup>B</sup> ± 0.232	0.688 ± 0.026	6.402 <sup>A</sup> ± 0.024	nd
1,000 < x < 4,750	1.051 <sup>BC</sup> ± 0.055	nd	0.015 <sup>B</sup> ± 0.010	nd	0.045 <sup>C</sup> ± 0.014	3.311 <sup>AB</sup> ± 0.109	0.687 ± 0.035	4.178 <sup>B</sup> ± 0.263	0.064 ± 0.015

\*ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n = 3)

nd หมายถึง ไม่สามารถคำนวณค่าได้เนื่องจากไม่พบสารในสภาวะที่ใช้ในการทรีต

อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน หมายถึง ค่าเฉลี่ยตามแนวคอลัมน์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Tukey,  $\alpha = 0.05$ )

### ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล (ภาษาไทย) นางสาวขวัญใจ กลิ่นจงกล  
 (ภาษาอังกฤษ) MISS KHWANJAI KLINCHONGKON  
 ที่อยู่ 12 หมู่ 3 ตำบลแควอ้อม อำเภออัมพวา จังหวัดสมุทรสงคราม 75110

### ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2553 สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร  
 คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยศิลปากร  
 พ.ศ. 2554 ศึกษาต่อในระดับปริญญาโท สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร  
 บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

### การเสนอผลงาน

14-15 มิถุนายน 2555

เสนอผลงานวิจัยแบบโปสเตอร์เรื่อง “ Subcritical water treatment of passion fruit peel ” ในการประชุมวิชาการนานาชาติ Food Innovation Asia Confernce 2012 ครั้งที่ ๑ ศูนย์นิทรรศการและการประชุมไบเทค บางนา กรุงเทพฯ

28 กุมภาพันธ์-1 มีนาคม 2556

เสนอผลงานวิจัยแบบโปสเตอร์เรื่อง “ องค์ประกอบคาร์โบไฮเดรตของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทรีตเปิ้ลอกเสาวรสดด้วยน้ำกึ่งวิกฤต ” ในการประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 27 มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก