องค์ประกอบทางเคมีกายภาพบางประการ ปริมาณฟีนอลิกและสมบัติการต้านออกซิเดชันของน้ำอ้อยและสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยน้ำตาลซูโครสในน้ำอ้อยด้วยเอนไซม์อินเวอร์เทส

Physicochemical composition, phenolic content and antioxidant properties of sugarcane juice and optimum condition for hydrolysis of sucrose in sugarcane juice by invertase

ธนากร มณีฉาย[1] และ ประพันธ์ ปิ่นศิโรดม[1]

Tanakorn Maneechai[1] and Praphan Pinsirodom[1]

บทคัดย่อ

การศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพบางประการของน้ำอ้อยจากอ้อย 3 สายพันธุ์ คือ สุพรรณบุรี 50 สุพรรณบุรี 60 และขอนแก่น 3 พบว่าน้ำอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 มีปริมาณของของแข็งที่ละลายได้ และสมบัติการต้านออกซิเดชันโดยวิธี DPPH, FRAP และ ABTS สูงที่สุด ถึงแม้ว่าจะมีปริมาณฟีนอลิกต่ำที่สุดก็ตาม เมื่อนำน้ำอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 มาศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยน้ำตาลซูโครสด้วยเอนไซม์อินเวอร์เทสโดยใช้วิธี Response Surface Methodology แบบ Box-Behnken Design โดยกำหนดปัจจัยของสภาวะในการย่อยคือ ความเข้มข้นของเอนไซม์ เวลา และอุณหภูมิในการเกิดปฏิกิริยา พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยคือ ความเข้มข้นของสารละลายเอนไซม์ 150 units/mL เวลา 1 ชั่วโมง และ อุณหภูมิ 60 ºC ซึ่งให้น้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นเท่ากับ 216.11g/L

ABSTRACT

Some physicochemical properties of sugarcane juice prepared from 3 varieties of sugarcane namely Suphanburi 50, Suphanburi 60 and Khonkaen 3 were investigated. The sugarcane juice from Khonkaen 3 showed the highest content of total soluble solid and antioxidant properties evaluated by DPPH, FRAP and ABTS method, although the phenolic content was found to be the lowest in the sample. The sugarcane juice from Khonkaen 3 was then used as a substrate for the optimization of sucrose hydrolysis by invertase. The response surface methodology with Box-Behnken Design was used to evaluate the optimum condition for the factors of enzyme concentration, reaction time and temperature in sucrose hydrolysis. Results showed that the optimum condition was 150 units/mL of enzyme concentration and 1 hour reaction time at 60 ºC and 216.11g/L reducing sugar was obtained.

Key words: sugarcane, invertase, antioxidant, phenolic content

e-mail: tana_nay7@hotmail.com

[1]คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

Faculty of Agro-industry King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok, 10520

คำนำ

อ้อย (*Saccharum officinarum L.*) เป็นพืชเศรษฐกิจของประเทศไทยที่ใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมการผลิตน้ำตาลทรายและน้ำตาลชนิดอื่นๆ อ้อยที่ใช้ในการบริโภคแบ่งได้เป็น อ้อยเคี้ยว อ้อยคั้นน้ำ และอ้อยอุตสาหกรรม โดยอ้อยอุตสาหกรรมจะมีความหวานมากที่สุด (ฐิติมา, 2552) น้ำอ้อยมีองค์ประกอบของน้ำตาลซูโครส 8-16 % (ปรีชาและสมเกียรติ, 2523) Duarte-Almeida *et al*. (2011) พบว่าอ้อยและผลิตภัณฑ์จากอ้อยมีองค์ประกอบของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชันอยู่ด้วย เช่น สารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ เป็นต้น โดยอ้อยแต่ละสายพันธุ์และผลิตภัณฑ์จากอ้อยแต่ละชนิดจะมีปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพดังกล่าวแตกต่างกัน

ฟรุคโตสไซรัป (fructose syrup) นิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่ม เนื่องจากน้ำตาลฟรุคโตสมีความหวานมากกว่าน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลซูโครส การใช้ฟรุคโตสไซรัปทดแทนน้ำตาลซูโครสในบางกรณีจึงเป็นการลดต้นทุนในการผลิตได้ เพราะใช้ในปริมาณที่น้อยกว่าในระดับความหวานที่เท่ากัน ฟรุคโตสไซรัปมีความสามารถในการละลายได้ดีและมีสมบัติป้องกันการตกผลึกของน้ำตาลได้ (Schenck and Hebana, 1992) นอกจากนี้น้ำตาลฟรุคโตสมีค่าดัชนีไกลซิมิค (glycemic index) ต่ำกว่าน้ำตาลกลูโคส (วิภา, 2549)

การผลิตฟรุคโตสไซรัปทำได้ 2 วิธี คือ การย่อยวัตถุดิบแป้งด้วยกรดและการย่อยด้วยเอนไซม์ การใช้กรดจะต้องใช้อุณหภูมิสูง ทำให้เกิดไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัล ซึ่งมีผลทำให้ไซรัปที่ได้มีสีเข้ม (Pabyton *et al*., 2011) สำหรับการย่อยด้วยเอนไซม์ จะไม่มีปัญหาเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงของสี โดยปกติการผลิตฟรุคโตสไซรัปจะใช้แป้งเป็นวัตถุดิบเริ่มต้น และใช้เอนไซม์ 3 ชนิด ได้แก่ อัลฟา-อะไมเลส กลูโคอะไมเลส และกลูโคสไอโซเมอเรส จึงมีแนวความคิดที่จะนำน้ำอ้อยที่มีองค์ประกอบของน้ำตาลซูโครสสูงมาย่อยด้วยเอนไซม์เพียงหนึ่งชนิดแล้วได้เป็นฟรุคโตสไซรัป โดยใช้เอนไซม์อิเวอร์เทส (invertase) ในการย่อยซูโครสให้ได้กลูโคสและฟรุคโตส เมื่อทำให้เข้มข้นขึ้นก็จะได้ฟรุคโตสไซรัป ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกศึกษาอ้อย 2 ประเภท คือ สายพันธุ์ที่ใช้คั้นน้ำได้แก่ พันธุ์สุพรรณบุรี 50 และสุพรรณบุรี 60 และสายพันธุ์ที่ใช้ในอุตสาหกรรมผลิตน้ำตาลทราย ได้แก่ พันธุ์ขอนแก่น 3 โดยศึกษาองค์ประกอบทางเคมีกายภาพ ปริมาณฟีนอลิกและสมบัติการต้านออกซิเดชันในน้ำอ้อย เพื่อเลือกสายพันธุ์ที่เหมาะสมโดยพิจารณาจากองค์ประกอบทางเคมีกายภาพ ปริมาณฟีนอลิกและสมบัติการต้านออกซิเดชัน จากนั้นนำมาศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยน้ำตาลซูโครสในน้ำอ้อยด้วยเอนไซม์อินเวอร์เทส โดยศึกษาปัจจัยของความเข้มข้นของเอนไซม์ เวลา และอุณหภูมิที่เหมาะสมในการย่อย

อุปกรณ์และวิธีการ

1.การเตรียมตัวอย่างน้ำอ้อย

นำอ้อยพันธุ์ต่างๆ (สุพรรณบุรี 50 สุพรรณบุรี 60 และขอนแก่น 3) ในระยะที่ใช้จำหน่ายและส่งโรงงานอุตสาหกรรม โดยมีพื้นที่เพาะปลูกในเขตภาคกลาง (ปทุมธานีและชลบุรี) ผ่านการคั้นน้ำ จากนั้นนำมาพลาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 70 ºC เป็นเวลา 10 นาที (วราวุฒิ, 2545) บรรจุลงในขวด PET เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20ºC ก่อนการทดลองนำมาละลายน้ำแข็งที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำมาเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง ที่ 15,000 xg ที่อุณหภูมิ 4 ºC เป็นเวลา 30 นาที รินส่วนใสสำหรับการทดลองต่อไป (Kadam *et al*., 2008)

2. ศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพบางประการของน้ำอ้อย

วิเคราะห์ค่าสี (L*,a*, b*) โดยใช้เครื่องวัดสี (Hunter Lab UltraScan, สหรัฐอเมริกา) วิเคราะห์ค่าความเป็นกรดด่างด้วยเครื่องวัด pH (SUNTEX SP-701, เยอรมันนี) วิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในตัวอย่างน้ำอ้อยโดยใช้ digital sugar refractometer (MA871 Milwaukee, สหรัฐอเมริกา) วิเคราะห์ปริมาณของแข็งแห้งทั้งหมด (AOAC, 2000) วิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดโดยวิธีไทเทรชัน (AOAC, 2000) และวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดย DNS method ใช้วิธีที่รายงานโดย Nielsen (1998)

3. ศึกษาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันของน้ำอ้อย

3.1 วิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของน้ำอ้อยทั้ง 3 สายพันธุ์ ใช้วิธีตรวจวัดโดย Folin-Ciocalteu method ซึ่งรายงานโดย Singleton and Lamuela-Raventos (1999) วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 nm ด้วย UV-Vis spectrophotometer (SHIMADZU UV-1601, ญี่ปุ่น) และรายงานค่าในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อมิลลิตรตัวอย่าง

3.2 วิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของน้ำอ้อย (2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity) ใช้วิธีที่รายงานโดย Brand-William *et al*. (1995) วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm รายงายในหน่วยของไมโครกรัมสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อมิลลิตรตัวอย่าง

3.3 วิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (Ferric reducing antioxidative power, FRAP) ใช้วิธีที่ดัดแปลงจาก Benzie and Strain (1999) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm และรายงานค่าความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของตัวอย่างในหน่วยของมิลลิกรัมสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อมิลลิตรตัวอย่าง

3.4 วิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS (ABTS radical scavenging activity, ABTS) ใช้วิธีที่ดัดแปลงจาก Arnao (2001) วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 nm รายงานค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ในหน่วยของไมโครกรัมสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อมิลลิตรตัวอย่าง

4. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายน้ำตาลซูโครสในน้ำอ้อยด้วยเอนไซม์อินเวอร์เทส

คัดเลือกตัวอย่างน้ำอ้อยมา 1 สายพันธุ์ โดยพิจารณาจากปัจจัยต่างๆ คือ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด สมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน และความเหมาะสมเชิงเศรษฐศาสตร์

ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายน้ำตาลซูโครสในน้ำอ้อยด้วยเอนไซม์อินเวอร์เทส โดยปิเปตน้ำอ้อยใส่ขวดรูปชมพูขนาด 250 mL ปริมาตร 50 mL เติมสารละลายเอนไซม์อินเวอร์เทส 5 mL กำหนดสภาวะต่างๆ เพื่อเป็นปัจจัย (factors) ที่ศึกษา ได้แก่ ความเข้มข้นของเอนไซม์ ระยะเวลา และอุณหภูมิในการย่อยสลาย โดยใช้วิธี Response Surface Methodology (RSM) แบบ Box-Behnken Design ในการออกแบบการทดลองและหาสภาวะที่เหมาะสม ค่าของแต่ละปัจจัยกำหนดไว้ดัง Table 1 การวิเคราะห์ผลทางสถิติทำโดย RSM ซึ่งจากการวิเคราะห์ค่าตอบสนอง (response) เบื้องต้นพบว่าปัจจัยที่ศึกษาไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำอ้อย จึงใช้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นในการวิเคราะห์ค่าตอบสนอง การทดลองทำซ้ำ 3 ครั้ง ใช้โปรแกรม Design Expert เวอรชั่น 6.0.2 (trial version) ทำให้ได้ การทดลองทั้งหมด 17 การทดลอง เพื่อหาค่าสูงสุดของการทดลองโดยสมการ

$$Y = \beta o+\beta_1X_1+\beta_2X_2+\beta_3X_3+\beta_{11}X_1^2+\beta_{22}X_2^2+\beta_{33}X_3^2+\beta_{12}X_1X_2+\beta_{13}X_1X_3+\beta_{23}X_2X_3$$

Y= ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นหรือสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด

X_1= ความเข้มข้นของเอนไซม์ X_2= ระยะเวลา X_3= อุณหภูมิ β= ค่าสัมประสิทธิ์

Table 1 Independent variable and there factor level

Independent variable	Factor level		
	-1	0	1
Enzyme concentration (units/mL enzyme solution)	50	100	150
Time (hour)	1	3	5
Temperature (ºC)	30	45	60

ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำอ้อยทั้ง 3 พันธุ์ ดังแสดงใน Table 2 จะเห็นได้ว่าอ้อยพันธุ์ที่ใช้ในอุตสาหกรรม คือ ขอนแก่น 3 จะมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้และปริมาณของแข็งแห้งทั้งหมดสูงที่สุด ในขณะที่น้ำอ้อยจากอ้อยพันธุ์สุพรรณบุรี 60 และสุพรรณบุรี 50 จะมีค่าทั้งสองดังกล่าวใกล้เคียงกัน สำหรับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่างน้ำอ้อยทั้ง 3 สายพันธุ์มีค่าต่ำมากคืออยู่ในช่วง 4.8-14.7 g/L ทั้งนี้เนื่องจากองค์ประกอบส่วนใหญ่ที่เป็นของแข็งที่ละลายได้ในน้ำอ้อย คือ น้ำตาลซูโครส โดยมีน้ำตาลกลูโคสและฟรุคโตสเพียงเล็กน้อย (ปรีชาและสมเกียรติ 2523) เมื่อพิจารณาค่าสีของน้ำอ้อยทั้ง 3 สายพันธุ์จะเห็นได้ว่าน้ำอ้อยที่เตรียมได้จากอ้อยพันธุ์สุพรรณบุรี 60 จะมีค่าสว่าง (L*) สูงที่สุด และมีค่าสีแดง (a*) และค่าสีเหลือง (b*) ต่ำที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับลักษณะปรากฏที่สังเกตได้ว่าน้ำอ้อยดังกล่าวมีความเข้มของสีน้อยที่สุดด้วย สำหรับค่า pH และปริมาณกรดทั้งหมดพบว่ามีค่าใกล้เคียงกันในน้ำอ้อยทั้ง 3 สายพันธุ์

Table 2 Physicochemical composition of sugarcane juice from different variety of sugarcanes

Physicochemical composition	variety of sugarcanes		
	Suphanburi 50	Suphanburi 60	Khonkaen 3
Total soluble solids (brix)	17.33±0.15[b]	17.57±0.15[b]	23.27±0.12[a]
Total solids (%)	18.36±0.02[b]	17.95±0.02[c]	23.74±0.02[a]
Reducing sugar content (g/L)	14.66±0.00[a]	8.81±0.00[b]	4.83±0.00[c]
Color L*	75.34±0.49[c]	85.90±0.28[a]	84.39±0.14[b]
a*	25.52±0.21[b]	22.40±0.24[c]	31.56±0.06[a]
b*	-1.31±0.13[a]	-2.45±0.06[c]	-1.95±0.04[b]
pH	5.48±0.01[c]	5.54±0.01[b]	5.65±0.02[a]
Total titratable acidity (%)	0.03±0.00[a]	0.04±0.00[b]	0.05±0.00[c]

[a-c] Means within the same row followed by different letters were significantly different ($p \leq 0.05$).

ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชัน (Table 3) พบว่าน้ำอ้อยทั้ง 3 สายพันธุ์มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$) โดยน้ำอ้อยพันธุ์สุพรรณบุรี 50 มีปริมาณฟีนอลิกสูงที่สุด รองลงมาเป็น สุพรรณบุรี 60 และพันธุ์ขอนแก่น 3 ตามลำดับ ในขณะที่น้ำอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS สูงที่สุด โดยมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (FRAP) สูงสุดแต่แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติกับน้ำอ้อยพันธุ์สุพรรณบุรี 50 จากผลการทดลองจะเห็นว่าในน้ำอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 มีปริมาณฟีนอลิกต่ำแต่สมบัติการต้านออกซิเดชันทุกวิธีสูง เนื่องจากในน้ำอ้อยมีปริมาณสารต้านออกซิเดชันชนิดอื่นประกอบอยู่ด้วยซึ่งไม่ใช่สารประกอบฟีนอลิกเพียงอย่างเดียว เช่น แคโรทีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ วิตามินซี เป็นต้น (Fontana *et al*., 1996; Mao *et al*., 2007and Kadam *et al*., 2008) ซึ่งมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันเช่นกัน ในน้ำอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 อาจมีปริมาณสูงทำให้ผลสมบัติของการต้านออกซิเดชันของน้ำอ้อยสายพันธุ์นี้สูงกว่าสายพันธุ์อื่นและแปรผกผันกับปริมาณฟีนอลิก

ในการคัดเลือกน้ำอ้อยสำหรับใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตฟรุคโตสไซรัปจะพิจารณาจากปริมาณน้ำตาลซูโครส (ในรูปของของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด) เป็นหลัก ปัจจัยรองลงมาเป็นปริมาณฟีนอลลิกและสมบัติการต้านออกซิเดชัน ซึ่งผลการทดลองข้างต้นน้ำอ้อยจากพันธุ์ขอนแก่น 3 มีความเหมาะสมเนื่องจากมีปริมาณของแข็งที่ละลายและสมบัติการต้านออกซิเดชันในทุกวิธีที่ศึกษาสูงที่สุด

Table 3 Phenolic content and antioxidant properties of sugarcane juice from different variety of sugarcanes

Veriety of sugarcanes	Phenolic content mg eq. gallic/mL	DPPH ug eq. trolox/mL	FRAP mg eq. trolox/mL	ABTS ug eq. trolox/mL
Suphanburi 50	1.99±0.01[a]	171.49±2.32[b]	1.12±0.01[a]	72.69±6.42[c]
Suphanburi 60	1.72±0.01[b]	107.98±7.64[c]	0.92±0.01[b]	100.27±6.43[b]
khonkaen 3	1.04±0.02[c]	188.45±6.11[a]	1.14±0.01[a]	204.00±5.67[a]

[a-c] Means within the same column followed by different letters were significantly different ($p \leq 0.05$).

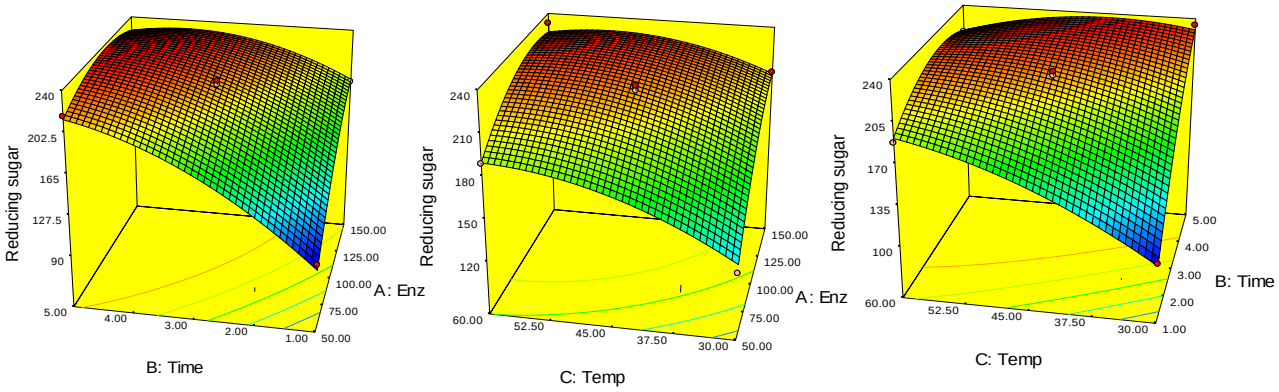
เมื่อทดลองนำน้ำอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 มาผ่านการย่อยสลายน้ำตาลซูโครสด้วยเอนไซม์อินเวอร์เทส โดยใช้ RSM แบบ Box-Behnken Design ทั้งหมด 17 ชุดการทดลอง วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เพิ่มขึ้น ผลการทดลองแสดงดัง Table 4 เมื่อนำผลการทดลองใน Table 4 มาประมวลผลเพื่อหาความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างความเข้มข้นของเอนไซม์ อุณหภูมิ และเวลาในการเกิดปฏิกิริยาต่อค่าตอบสนองได้แก่ ปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้น ได้สมการสำหรับทำนายปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์ดังนี้

$$\text{Reducing sugar} = -384.84 + 2.83X_1 + 104.54X_2 + 9.77X_3 - 0.20X_1X_2 - 0.01X_1X_2 - 0.84X_2X_3 - 0.006X_1^2 - 4.53X_2^2 - 0.05X_3^2$$

สมการดังกล่าวมีค่า R^2 (Regression coefficients) =0.99 โดยอิทธิพลของปัจจัยที่มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของน้ำตาลรีดิวซ์เรียงลำดับจากมากไปน้อย คือ เวลา ความเข้มข้นของเอนไซม์ และอุณหภูมิ โดยเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์ อุณหภูมิ และเวลามากขึ้น ปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์ก็เพิ่มขึ้นเช่นกัน

Table 4 Total experiments unit and response of reducing sugar content

No.	Enzyme concentration	Time	Temperature	Reducing sugar content (g/L)
1	0	0	0	215.68±4.61
2	0	1	-1	234.08±4.93
3	0	0	0	216.61±4.57
4	-1	0	1	189.92±2.66
5	1	-1	0	189.73±2.32
6	0	0	0	219.11±1.18
7	1	0	-1	206.17±0.90
8	-1	-1	0	103.94±0.90
9	-1	0	-1	129.18±1.06
10	0	-1	1	188.85±3.30
11	0	1	1	215.46±2.46
12	0	-1	-1	105.64±0.31
13	1	1	0	221.99±3.78
14	0	0	0	219.18±0.55
15	-1	1	0	217.62±1.97
16	0	0	0	210.22±4.31
17	1	0	1	232.38±2.43



a b c

Figure 1 Response surface plot for the effect of a) enzyme solution(units/mL)/time(hour), b) enzyme solution(units/mL)/temperature(°C) and c) time(hour)/temperature(°C) on the reducing sugar content

Figure 1 เป็นกราฟ 3 มิติของพื้นที่ผิวตอบสนองที่แสดงผลของปัจจัยที่ศึกษาต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เกิดขึ้น โดยแต่กราฟจะแสดงผลของปัจจัยในการทดลอง 2 ปัจจัยและกำหนดให้ปัจจัยที่เหลือคงที่ Figure 1(a) ผลของความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาที่อุณหภูมิคงที่ (45ºC) แสดงค่าสูงสุดของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์อยู่ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ในช่วง 100-150 units/mL เวลาอยู่ในช่วง 3-5 ชั่วโมง Figure 1(b) ผลของความเข้มข้นของเอนไซม์และอุณหภูมิที่เวลาคงที่ (3 ชั่วโมง) แสดงค่าสูงสุดของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์อยู่ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ในช่วง 100-150 units/mL อุณหภูมิอยู่ในช่วง 45-60ºC Figure 1(c) ผลของเวลาและอุณหภูมิที่ความเข้มข้นของเอนไซม์คงที่ (100 units/mL) แสดงค่าสูงสุดของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์อยู่ที่ เวลาอยู่ในช่วง 3-5 ชั่วโมง และอุณหภูมิอยู่ในช่วง 45-60ºC เมื่อนำกราฟทั้ง 3 มาทำนายสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยซูโครสในน้ำอ้อยด้วยเอนไซม์อินเวอร์เทสโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปและกำหนดเกณฑ์ (criteria) ของแต่ละปัจจัยเพื่อให้ได้สภาวะที่เหมาะสมตามความต้องการไว้ดังนี้ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ให้ได้สูงสุด ความเข้มข้นของเอนไซม์และอุณหภูมิอยู่ในช่วงของการทดลองและใช้เวลาน้อยที่สุดในการย่อยเนื่องจากลดระยะเวลาการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ รวมถึงลดเวลาในการใช้พลังงานให้ได้มากที่สุดโดยที่ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ไม่ลดลงมากนัก สภาวะที่เหมาะสมแสดงดัง Table 5 กล่าวคือ ความเข้มข้นของเอนไซม์ 150 units/mL เวลา 1 ชั่วโมง และอุณหภูมิ 60 ºC ซึ่งสภาวะนี้โปรแกรมสำเร็จรูปได้ทำการพยากร์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีค่า 215.99 g/Lซึ่งความพึงพอใจของกระบวนการหรือสภาวะดังกล่าว (desirability) อยู่ที่ 0.928 เมื่อทำการทวนสอบสภาวะที่ทำนายได้ดังกล่าวผลปรากฏว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นป็น 216.11g/L

Table 5 optimum condition for hydrolysis of sucrose in sugarcane juice by invertase

Enzyme Concentration (units/mL enzyme solution)	Time (hour)	Temperature (ºC)	Reducing sugar content (g/L)	Desirability
150	1	60	215.99	0.928

สรุป

น้ำอ้อยจากอ้อยสายพันธุ์ขอนแก่น 3 มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ รวมถึงสมบัติการต้านออกซิเดชันมากกว่าน้ำอ้อยจากอ้อยสายพันธุ์สุพรรณบุรี 50 และสุพรรณบุรี 60 ซึ่งเหตุผลดังกล่าวจึงคัดเลือกน้ำอ้อยสายพันธุ์นี้มาศึกษาสภาวะการย่อยน้ำตาลซูโครสด้วยเอนไซม์อินเวอร์เทสโดยติดตามน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้น พบว่าความเข้มข้นของเอนไซม์ 150 units/mL ของสารละลายเอนไซม์ เวลาในการเกิดปฏิกิริยา 1 ชั่วโมง และอุณหภูมิ 60 ºC เป็นสภาวะที่เหมาะสมโดยได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 216.11g/L

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ดร. ธงชัย พุฒทองศิริ คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้คำปรึกษาในส่วนของการวางแผนการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

ฐิติมา วีระศิลป์. 2552. **การทำไร่อ้อย**. สำนักพิมพ์เกษตรการพิมพ์, กรุงเทพฯ.

ปรีชา สุริยพันธุ์ และสมเกียรติ พัฒนาเมธีกูร. 2523. **อ้อย**. เล่มที่ 1. ธนประดิษฐ์การพิมพ์, กรุงเทพฯ.

วราวุฒิ ครูส่ง. 2545. การผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากน้ำอ้อย. **การพัฒนาอุตสาหกรรมขนาดกลางและขนาดเล็ก**. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

วิภา สุโรจนะเมธากุล. 2549. ค่าดัชนีไกลเซมิก. **วารสารอาหาร**. 3:183-187.

AOAC. 2000. **Associateion of official Chemistry**. Official Method of Analysis, Inc, Viginia. 1298 p.

Arnao, M.B., A. Cano, and M. Acosta, 2001. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. **Food Chemistry**. 73: 239–244.

Benzie, I.F.F., and J.J. Strain. 1999. Ferric reducing/antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. **Methods in Enzymology**. 225:15-27.

Brand-William, W., M.E. Cuvelier, and C. Berset. 1995. Use of a free redical methods to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**. 28:25-30.

Duarte-Almeida, J.M., A. Salatino, M.I. Genovese, and F.M. Lajolo. 2011. Phenolic composition and antioxidant activity of culms and sugarcane (*Saccharum officinarum L.*) products. **Food Chemistry**. 125:660-664.

Fontana, J.D., B. Czeczuga, T.M.B. Bonfim, M.B. Chociai, B.H. Oliveira, M.F. Guimarfies a and M. Baron. 1996. Bioproduction of carotenoids: the comparative use of raw sugarcane juice and depolymerized bagasse by *Phaffia rhodozyma*. **Bioresource Technology**. 58:121-125

Schenck, F. W., and R.E. Hebeda. 1992. **Starch Hydrolysis Products**. VCH Publishers, Inc.

Kadam, U.S., S.B. Ghosh, S. De, P. Suprasanna, T.P.A. Devasagayam, and V.A Bapat. 2008. Antioxidant activity in sugarcane juice and its protective role against radiation induced DNA damage. **Food Chemistry**. 106:1154-1160.

Mao, L.C., Y.Q. Xu, and F. Que. 2007. Maintaining the quality of sugarcane juice with blanching and ascorbic acid. **Food Chemistry**. 104:740–745

Nielsen, S.S. 1998. **Food Analysis**. 2nd edn. Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg.

Pabyton, G.C., F.N. Wiggers, R.A. Silva, J.L.L. Filho, and M.C.B. Pimentel. 2011. Kinetics and bioreactor studies of immobilized invertase on polyurethane rigid adhesive foam. **Bioresource Technology**. 102:513-518.

Singleton, R.M. and Lamuela-Raventos 1999. Analysis of total phenal and other oxidantion substrates and antioxdants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Method in Enzymology**. 299: 152-178