



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การศึกษาการสกัด องค์ประกอบ และคุณสมบัติเชิงหน้าที่
ของสารสกัดจากไยย่านาง

Study on extraction, composition and functional properties
of Yanang extract

โดย จิตรา สิงห์ทอง และคณะ

พฤษภาคม 2550

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การศึกษาการสกัด องค์ประกอบ และคุณสมบัติเชิงหน้าที่ ของสารสกัดจากไบยานาง

Study on extraction, composition and functional properties of Yanang extract

คณะผู้วิจัย

สังกัด

1. จิตรา สิงห์ทอง

มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

2. สุเวทย์ นิงสานนท์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3. Steve W. Cui

Agriculture and Agri-Food Canada

สนับสนุนโดยสำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

กิตติกรรมประกาศ

(Acknowledgments)

รายงานการวิจัยฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความกรุณาจาก สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา ที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัยเชิงวิชาการ ประเภททุนพัฒนาศักยภาพในการทำงานวิจัยของอาจารย์รุ่นใหม่ ประจำปีงบประมาณ 2548 ผู้วิจัยขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุเวทย์ นิงสานนท์ สังกัดสาขาเทคโนโลยีอาหาร สำนักเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี และ Dr. Steve W. Cui สังกัด Food Research Program, Agriculture and Agri-Food Canada (AAFC), Guelph, Ontario, Canada ที่ช่วยเป็นนักวิจัยพี่เลี้ยง ให้คำแนะนำ ส่งเสริม สนับสนุน และให้กำลังใจในการทำวิจัย จนกระทั่งงานวิจัยและรายงานฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี และคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่กรุณาให้ความร่วมมือและสนับสนุนในงานวิจัยจนสำเร็จลงไปด้วยดี

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณ นายพัฒนศักดิ์ (สามี) และเด็กชายจิรพัส (โชกุน) สิงห์ทอง (บุตร) ที่เป็นกำลังใจสำคัญยิ่งในการทำงานวิจัยและรายงานฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์

จิตรา สิงห์ทอง

พฤษภาคม 2550

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ:	MRG 4880086
ชื่อโครงการ:	การศึกษาการสกัด องค์ประกอบ และคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของสารสกัดจากไยย่านาง
ชื่อนักวิจัยหลัก:	ดร.จิตรา สิงห์ทอง ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี e-mail: jitrawara@agri.ubu.ac.th หรือ jitrawara@yahoo.ca
ชื่อนักวิจัยที่เลี้ยง1:	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุเวทย์ นิงสานนท์ สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร สำนักเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี e-mail: suwayd@sut.ac.th
ชื่อนักวิจัยที่เลี้ยง2:	Dr. Steve W. Cui Food Research Program, Agriculture and Agri-Food Canada, Guelph, ON, Canada e-mail: cuis@agr.gc.ca
ระยะเวลาโครงการ:	2 ปี (มิถุนายน 2548-พฤษภาคม 2550)

วัตถุประสงค์ในงานวิจัยนี้เพื่อศึกษากระบวนการสกัด องค์ประกอบ และคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์ที่ได้จากไยย่านาง พบว่าสภาวะที่เหมาะสมของการสกัด คือ อัตราส่วนของไยย่านางอบแห้งต่อน้ำ ต่อก้อนหมึกที่ใช้ในการสกัด (องศาเซลเซียส) ต่อเวลาที่ใช้ในการสกัด (นาที) ที่ 1:6.6 : 85 : 100 สารสกัดประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์ที่ได้จากไยย่านาง (*Tiliacora triandra* (Colebr.) Dielsa) ซึ่งเป็นผักพื้นบ้านของประเทศไทย คือ ไซแลน ซึ่งมีองค์ประกอบของน้ำตาลทั้งหมดอยู่สูงถึงร้อยละ 70 โดยน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบหลักคือ น้ำตาลไซโรส และมีปริมาณน้ำตาลอื่นๆ รวมทั้งกรดไขมันเพียงเล็กน้อย โครงสร้างหลักคือ น้ำตาลไซโรสที่ต่อกันด้วยพันธะ β -(1 $\rightarrow$ 4) และ β -(1 $\rightarrow$ 3) ซึ่งได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธีเมธิลเลชัน นอกจากนี้ยังวิเคราะห์ด้วย ฟิรเออร์ทรานฟอรั่ม อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (FT-IR spectroscopy) เพื่อเป็นการยืนยันผลที่ได้ สำหรับคุณสมบัติเชิงหน้าที่ พบว่าเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดจากไยย่านางเพิ่มขึ้น ทำให้ค่าความหนืดและความแข็งแรงของเจลเพิ่มขึ้น เมื่อเพิ่มอุณหภูมิจะทำให้ความหนืดลดลง การปรับ pH จะทำให้ค่าความหนืดและความแข็งแรงของเจลสูงขึ้นที่ pH ช่วง 3-5 ความหนืดและความแข็งแรงของเจลจะลดลงเมื่อ pH เพิ่มขึ้นมากกว่า 5 นอกจากนั้นการเติมเกลือ (NaCl) และ แคลเซียมคลอไรด์ (CaCl₂) ยังส่งผลให้ค่าความหนืดและความแข็งแรงของเจลลดลง ส่วนการเติมน้ำตาลส่งผลให้ค่าความหนืดและความแข็งแรงของเจลเพิ่มขึ้น สารละลายของสารสกัดจากไยย่านางแสดงพฤติกรรมการไหลแบบนิวโตเนียน (Newtonian behavior) ที่ความเข้มข้นน้อยกว่าร้อยละ 0.5 และแสดงพฤติกรรมการไหลแบบนอนนิวโตเนียนชนิดเชียร์ธinning (Shear-thinning behavior) ที่ความเข้มข้นมากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 0.5 การใช้สารสกัดจากไยย่านางร้อยละ 1.0 เป็นสารให้ความคงตัวในไอศกรีมช็อคโกแลต มีค่าการยอมรับทางด้านประสาทสัมผัสสูงที่สุด ทั้งคะแนนความชอบโดยรวม สี กลิ่น รส เนื้อสัมผัส และลักษณะปรากฏ ซึ่งไม่แตกต่างจากการใช้สารให้ความคงตัวทางการค้า (คาราจีแนน) นอกจากนี้ไอศกรีมช็อคโกแลตที่ได้จากการใช้สารสกัดจากไยย่านาง มีค่า %Overrun และค่าความหนืดที่เหมาะสม ทำให้ไม่ขึ้นฟูเป็นฟองอากาศมากเกินไป ผลิตภัณฑ์มีผลึกน้ำแข็งเล็กและเนื้อเนียนขึ้น

คำหลัก: ย่านาง ไซแลน กัม ไฮโดรคอลลอยด์

Abstract

Project Code: MRG 4880086
Project Title: Study on extraction, composition and functional properties of Yanang extract.
Main researcher: Jittra Singthong, Ph.D.
Mentor1: Asst. Prof. Suwayd Ningsanond, Ph.D.
School of Food Technology, Institute of Agricultural Technology,
Suranaree University of Technology e-mail: suwayd@sut.ac.th
Mentor2: Adjunct Prof. Steve W. Cui, Ph.D.
Food Research Program, Agriculture and Agri-Food Canada, Guelph, ON,
Canada e-mail: cuis@agr.gc.ca
Project Period: 2 years (June 2005-May 2007)

The aim of this study was to optimize the extraction process of gum or hydrocolloid from Yanang leaves and characterizing its compositional, structural and functional properties. Yanang (*Tiliacora triandra*) is a vegetable and used particularly in the cuisines of the northeast of Thailand. The optimized extraction was solid:water ratio 1:6.6, temperature 85°C and extraction time 100 minutes. The major constituent monosaccharide of Yanang gum was xylose and small amounts of other neutral sugars. The dominant structure was established as β -(1→4) and β -(1→3) linkage using methylation analysis and this structure was confirmed by FT-IR. The FT-IR spectras of Yanang gum was similar to that of xylan. Increasing in Yanang gum concentration increased viscosity and gel strength. Viscosity was decreased at high temperature. Yanang gum also increased viscosity and gel strength under acidic condition (pH 3-5) whereas viscosity and gel strength decreased at pH > 5. The addition of NaCl and CaCl₂ significantly decreased viscosity and gel strength. In addition, the presence of sugar increased viscosity and gel strength with increasing sugar concentration. Yanang gum exhibited shear-thinning flow behavior and the extent of shear-thinning was concentration dependent. The mechanical spectra of Yanang gum at low concentration (0.5%) was typical of semi-dilute to concentrated solution. However, with increasing concentration, the solution tended toward a weak gel behavior. Using Yanang gum is a stabilizer in chocolate ice cream. The results showed that Yanang gum at concentration 1% is accepted by panelist from sensory evaluation including color, odor, favor, appearance, texture and overall acceptance. It was not significantly different from carrageenan that was a commercial stabilizer. Furthermore, Yanang gum gave a suitable viscosity and %overrun in chocolate ice cream that were effective to get a smooth texture and retard recrystallization.

Keywords: Yanang, *Tiliacora triandra*, Xylan, Gum, Hydrocolloid

บทนำ

ย่านาง (Yanang) มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Tiliacora triandra* (Colebr.) Diels จัดอยู่ในวงศ์ Menispermaceae มีชื่อพื้นเมืองว่า เถาย่านาง จ้อยนาง เถาเขียว เถาวัลย์เขียว หย้าภคินี เครือเขางาม ย่านาง ยานาง วันยอ ย่านางเป็นไม้เลื้อยตระกูลเดียวกับเถาวัลย์ มีลักษณะเป็นเถาใบเดี่ยวยาวรี รูปไข่ ใบหนาผิวเรียบเป็นมันมีสีเขียวเข้ม เมื่ออ่อนจะมีขนสีเทาขึ้นตามเถา เถาแก่จะมีผิวเกลี้ยงเหนียว (ภาพที่ 1) ขนาดของใบยาว 5-10 เซนติเมตร กว้าง 2-4 เซนติเมตร ขอบใบเรียบ ก้านใบยาวประมาณ 1 เซนติเมตร ออกดอกสีเหลืองมีขนาดเล็ก ออกเป็นช่อสั้นๆ ตามง่ามใบ ผลกลมใหญ่ เมื่อแก่จัดมีสีเข้ม เมล็ดในมีสีดำ ย่านางเป็นพืชที่พบในแหล่งธรรมชาติบริเวณป่าผสมผลัดใบ ป่าดงดิบ และป่าโปร่งในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ รวมทั้งภาคอื่นก็มีกระจายทั่วไป ย่านางเป็นพืชที่ขึ้นในดินทุกชนิด และปลูกได้ทุกฤดู ขยายพันธุ์โดยการใช้หัวและการเพาะเมล็ด (Smitinand & Larson, 1991)

ชาวอีสานใช้เถาใบอ่อน ใบแก่ตำคั้นเอาน้ำสีเขียวซึ่งมีลักษณะเหนียวและนำไปต้มกับหน่อไม้ปรุงเป็นแกงหน่อไม้ หรือซุบหน่อไม้ บางแห่งนำไปแกงกับซี่เหล็ก นำน้ำคั้นย่านางไปใส่แกงخن อ่อม และหมก ซึ่งเป็นอาหารอีสานอีกด้วย นอกจากนั้นยังพบว่าใบย่านางมีคุณค่าทางสารอาหาร โดยเฉพาะสารเบต้าแคโรทีน แคลเซียม และธาตุเหล็ก ในปริมาณสูง ส่วนรากย่านาง มีสารอัลคาลอยด์หลายชนิด เช่น ทิเรียโครีน (Tiliacrine) ทิเรียโคลินิน (Tiliacrinine) นอร์ทิเรียโครีนิน (Nor-tiliacorinine) เป็นต้น ชาวบ้านมักใช้รากย่านางมาต้มดื่มเพื่อใช้เป็นยาแก้พิษและแก้ไข้เกือบทุกชนิด เช่น ไข้หวัด ไข้สวกอีสุก เป็นต้น (Mahidol, Sahakitpichan, & Ruchirawat, 1994 และ Wiriyaichita & Phuriyakorn, 1981)

สารประกอบประเภทกัม (gums) หรือไฮโดรคอลลอยด์ (hydrocolloids) เป็นโพลีเมอร์ที่มีสายยาวและมีน้ำหนักโมเลกุลสูง เมื่อละลายหรือกระจายตัวอยู่ในน้ำจะช่วยทำให้มีความหนืดเพิ่มขึ้นหรือมีลักษณะเป็นเจล กัมแต่ละชนิดจะมีคุณสมบัติแตกต่างกัน เมื่อนำไปผสมลงในผลิตภัณฑ์อาหารจึงสามารถทำหน้าที่ได้หลายอย่าง เช่น ให้ความข้นหนืดเพิ่มขึ้น (thickeners) เพิ่มความคงตัวของอาหาร (stabilizers) เกิดลักษณะเป็นเจล (gelling agents) และทำให้ผลิตภัณฑ์อาหารมีรูปร่างและลักษณะเนื้อสัมผัสพื้นแปรแตกต่างกัน (texture modifiers) เป็นต้น (Seisum, 2002 และ Norton & Foster, 2002) กัมหรือไฮโดรคอลลอยด์ที่ได้จากพืช จัดเป็นวัตถุเจือปนอาหาร (food additive) หรือสารปรุงแต่งอาหาร (food ingredient) ที่น่าสนใจสำหรับอุตสาหกรรมอาหาร นอกจากนั้นยังเป็นวัตถุเจือปนอาหารหรือสารปรุงแต่งอาหารที่ได้จากธรรมชาติ ซึ่งปลอดภัยสำหรับผู้บริโภค การที่คั้นใบย่านางกับน้ำได้สารละลายข้นหนืด น่าจะเกิดจากสารประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์ที่มีอยู่ในใบย่านาง ดังนั้นใบย่านางน่าจะเป็นแหล่งของกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์ที่ได้จากธรรมชาติอีกชนิดหนึ่งที่น่าสนใจ อย่างไรก็ตามมีข้อมูลเพียงเล็กน้อยที่เกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมี และคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของสารประเภทกัมหรือไฮโดร

คอลลอยด์ในไບยานาง ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเป็นงานวิจัยแรกของการศึกษาสารประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์จากไบยานาง ซึ่งจัดเป็นแหล่งวัตถุดิบแหล่งใหม่จากธรรมชาติ วัตถุประสงค์ในงานวิจัยนี้เพื่อศึกษากระบวนการสกัด องค์ประกอบ และคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์ที่ได้จากไบยานาง นอกจากนั้นผลที่ได้รับอาจนำไปพัฒนาเป็นวัตถุดิบอาหาร หรือสารปรุงแต่งอาหารสำหรับอุตสาหกรรมอาหารต่อไป



ไบยานาง



ภาพที่ 1 ไบยานาง

วัตถุประสงค์

1. ศึกษากระบวนการสกัดที่เหมาะสมสำหรับสกัดสารประเภทกัม หรือไฮโดรคอลลอยด์ ในไบยานาง
2. ศึกษาองค์ประกอบของสารสกัดประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์ที่ได้จากไบยานาง
3. ศึกษาคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของสารสกัดประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์ที่ได้จากไบยานาง
4. ศึกษาการประยุกต์ใช้เบื้องต้นของสารสกัดประเภทกัม หรือไฮโดรคอลลอยด์ที่ได้จากไบยานางในอาหาร

วิธีการทดลอง

1. การเตรียมวัตถุดิบ

ใบย่านาง (ภาพที่ 1) ซึ่งจากตลาดสด อำเภอวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี เลือกเอาเฉพาะใบย่านางแก่ คัดแยกใบที่เน่าเสียและสิ่งปลอมปนทิ้ง ล้างทำความสะอาด ผึ่งให้สะเด็ดน้ำ จากนั้นนำไปอบเพื่อลดปริมาณความชื้นด้วยเครื่องอบลมร้อน (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็น นำไปบดเป็นผงและบรรจุในถุงสุญญากาศเพื่อนำไปศึกษาวิจัยขั้นต่อไป

นำใบย่านางที่ผ่านการอบเพื่อลดปริมาณความชื้นมาวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น ถ้าโปรตีน ไขมัน และเยื่อใย ตามวิธีของ AOAC (1997)

2. กระบวนการสกัด

นำใบย่านางที่ผ่านการอบเพื่อลดปริมาณความชื้นจากข้อ 1 มาสกัดด้วยน้ำสะอาด โดยมีปัจจัยในการศึกษา 3 ปัจจัย ได้แก่

- อัตราส่วนของใบย่านางอบแห้งต่อน้ำ 3 ระดับ คือ 1:5, 1:10 และ 1:15
- อุณหภูมิในการสกัด 3 ระดับ คือ 25, 55 และ 85 องศาเซลเซียส
- ระยะเวลาในการสกัด 3 ระดับ คือ 1, 2 และ 3 ชั่วโมง

โดยวางแผนการทดลองแบบ Central Composite Design (CCD) (Myers, 1995) ดังตารางที่ 1 และ 2 จากนั้นนำส่วนผสมสกัดไปแยกกากโดยการกรองแบบสุญญากาศ (vacuum filter) และเครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง (Centrifuge) โดยใช้ความเร็วรอบ 9,000 รอบต่อนาที (rpm) เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิห้อง เพื่อแยกส่วนใสและกาก นำส่วนใสไปทำให้เข้มข้นโดยการแยกเอาน้ำออกด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศ (rotary evaporator) โดยปริมาตรที่ระเหยประมาณครึ่งหนึ่งของปริมาตรก่อนระเหย แล้วนำไปตกตะกอนด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 โดยใช้ปริมาตรเอทานอล 3 เท่าของน้ำย่านางที่ระเหยได้ ทิ้งไว้ข้ามคืน นำตะกอนที่ได้ไปทำแห้งด้วยเครื่องอบแห้งสุญญากาศ (vacuum oven) นำไปบดและผ่านตะแกรงแยกเบอร์ 100 ขนาด 0.0059 นิ้ว (US Standard Sieve Series, ASTM E11 specifications, Dual Mfg Co., Chicago, USA) จะได้สารสกัดประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์จากใบย่านาง จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาปริมาณผลผลิต (%yield) ความหนืด (viscosity) ด้วยเครื่องวัดความหนืด (Brookfield Viscometer model DV II⁺) และความแข็งแรงของเจล (gel strength) ด้วยเครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส (Universal Testing LLOYD model LR series)

นำข้อมูลที่ได้อาวิเคราะห์ค่าทางสถิติ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Design Expert 6.0.10 เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสารประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์จากไบบานาง โดยเลือกสภาวะการสกัดที่ให้ผลผลิต ความหนืด และค่าความแข็งแรงของเจลสูง เพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

ตารางที่ 1 ค่าของ code level ใน Central Composite Design (3 ปัจจัย)

Treatment	Code level		
	อัตราส่วนย่านางต่อน้ำกลั่น	อุณหภูมิ (°ซ)	เวลา (ชั่วโมง)
1	-1	-1	-1
2	+1	-1	-1
3	-1	+1	-1
4	+1	+1	-1
5	-1	-1	+1
6	+1	-1	+1
7	-1	+1	+1
8	+1	+1	+1
9	0	0	0
10	0	0	0
11	0	0	0
12	0	0	0
13	-1.68	0	0
14	+1.68	0	0
15	0	-1.68	0
16	0	+1.68	0
17	0	0	-1.68
18	0	0	+1.68
19	0	0	0
20	0	0	0

หมายเหตุ: -1 = ระดับต่ำ (lower level)
 0 = ระดับกลาง (center points)
 +1 = ระดับสูง (upper level)

ตารางที่ 2 แผนการทดลองแบบ Central Composite Design

Treatment	ปัจจัย		
	อัตราส่วนย่านางต่อน้ำกลั่น	อุณหภูมิ (° ซ)	เวลา (ชั่วโมง)
1	1:5	25	1
2	1:15	25	1
3	1:5	85	1
4	1:15	85	1
5	1:5	25	3
6	1:15	25	3
7	1:5	85	3
8	1:15	85	3
9	1:10	55	2
10	1:10	55	2
11	1:10	55	2
12	1:10	55	2
13	1:1.6	55	2
14	1:18.4	55	2
15	1:10	5	2
16	1:10	105	2
17	1:10	55	19.2 นาที
18	1:10	55	3 ชั่วโมง 40.8 นาที
19	1:10	55	2
20	1:10	55	2

3. การศึกษาองค์ประกอบทางเคมี

นำสารประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์ที่สกัดได้จากกระบวนการสกัดที่เหมาะสมตามข้อ 2 มาวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น เถ้า ตามวิธีของ AOAC (1997) ปริมาณโปรตีน (N×6.25) ด้วยเครื่อง Automatic Elemental Analyzer (ThermoQuest Italia S.P.A. EA/NA 1110, Strada Rivoltana, Milan, Italy).

ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Total sugar) และปริมาณกรดยูโรนิก (Uronic acid) ด้วยวิธีของ Dubois *et al.* (1956) และ Blumenkrantz & Asboe-Hansen (1973) ตามลำดับ

ปริมาณโมโนแซคคาไรด์หรือน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (monosaccharide compositions) ตามวิธีของ Wood, Weisz, & Blackwell (1994) ด้วยเครื่อง Dionex High Performance Anion-Exchange Chromatography (HPAEC) system (Dionex Canada Ltd., Oakville, Ont., Canada) ที่มีเครื่องตรวจจับแบบ pulsed amperometric detector (PAD) โดยจะทำการไฮโดรไลซิสตัวอย่างด้วยการดซัลฟูริก (H_2SO_4) เข้มข้น 1 โมลาร์ ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมงเพื่อให้ได้โมโนแซคคาไรด์ จากนั้นทิ้งให้เย็น เจือจางด้วยน้ำกลั่น กรองผ่านแผ่นกรองขนาด 0.45 ไมครอน ก่อนนำไปฉีดเข้าที่คอลัมน์ เพื่อวิเคราะห์ปริมาณโมโนแซคคาไรด์เทียบกับสารมาตรฐาน

4. การศึกษาโครงสร้าง

4.1 การศึกษาโครงสร้างด้วยเครื่องฟูริเออร์ทรานสฟอร์ม อินฟราเรดสเปกโตรมิเตอร์

(Fourier Transform Infrared (FT-IR) Spectrometer)

สารสกัดประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์จากไผ่ย่านาง ไผ่เลนทางการค้า 3 ชนิด ได้แก่ ไผ่เลนจากบีชวูด (beechwood xylan, x4252) ไผ่เลนจากบิรชวูด (birchwood xylan, x0502) และไผ่เลนจากโอตสเปลท์ (oat spelts xylan, x0627) จาก Sigma-Aldrich Co. (Steinheim, Germany) นำตัวอย่างทั้ง 4 ชนิด มาอบแห้งและเก็บไว้ในโถดูดความชื้นก่อนการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง FT-IR Spectrometer (FTS 700 FT-IR spectrophotometer, DIGI-LAB, Randolph, MA) โดยใช้แหล่งกำเนิดแสงอินฟราเรดจาก Golden-gate Diamond single reflectance ATR ด้วยเครื่องตรวจจับแสงอินฟราเรดชนิดเทอร์มัลดีเทคเตอร์ (Thermal detector) โดยอาศัยสมบัติที่เกิดการเปลี่ยนแปลงทางความร้อนของสารเมื่อได้รับแสงอินฟราเรด แบบไพโรอิเล็กทริกดีเทคเตอร์ (Pyroelectric detector) โดยใช้สารดีวเทอเรตไตรกลอสซีนซัลเฟต (DTGS detector). โดยบันทึกสเปกตรัมในช่วงกลางระหว่างจำนวนคลื่น (wave number) $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$ (mid infrared region) ที่การแยก (resolution) 4 cm^{-1} และสแกน 128 scans ทำให้ signal-to-noise ratio ดีขึ้น

4.2 การศึกษาโครงสร้างด้วยวิธีเมทิลเลชัน (Methylation analysis)

นำสารประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์ที่สกัดได้มาละลายในน้ำกลั่น และผ่านการแยกด้วยเยื่อบางในน้ำกลั่นเป็นเวลา 3 วัน ที่อุณหภูมิห้อง โดยเยื่อบางมีน้ำหนักโมเลกุล 8,000 ดาลตัน (Spectra/Por[®] RC membrane, Spectrum Laboratories Inc., Rancho Dominguez, CA) จากนั้นทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบระเหิด (freeze drier) นำตัวอย่างที่ได้มาทำการวิเคราะห์โครงสร้างด้วยวิธีเมทิลเลชัน ตามวิธีของ Ciucanu & Kerek (1984) โดยมีการดัดแปลงเล็กน้อย นำตัวอย่างที่ได้ไปบดไล่ความชื้นและเก็บไว้ในโถดูดความชื้นที่มีฟอสฟอรัสเพนทอกไซด์ (P_2O_5) เป็นตัวดูดความชื้นข้ามคืน จากนั้นละลายตัวอย่างในสารละลาย anhydrous DMSO ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยมีการคนอย่างต่อเนื่อง และนำไปผ่านเครื่อง

สั่นด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง (sonicator) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เพื่อให้ตัวอย่างละลายอย่างสมบูรณ์ จากนั้นเติมผง sodium hydroxide (20 มิลลิกรัม) ที่ผ่านการไล่ความชื้น และ methyl iodide (0.3 มิลลิลิตร) โดยมีการคนอย่างต่อเนื่องที่อุณหภูมิห้อง นำ partially methylated polysaccharides ไปสกัดด้วย methylene chloride และกรองผ่าน sodium sulphate column เพื่อกำจัดน้ำ และทำแห้งภายใต้ก๊าซไนโตรเจน นำ dried partially methylated polysaccharides ไปไฮโดรไลซ์ด้วยกรด trifluoroacetic acid (0.5 มิลลิลิตร) ความเข้มข้น 4 โมลาร์ ในหลอดทดลองที่ปิดสนิท ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง จากนั้นทำแห้งภายใต้ก๊าซไนโตรเจน ตัวอย่างที่ได้จะถูกรีดิวซ์ด้วย deuterated sodium borohydride และทำให้เกิดการอะเซทิลเลชัน (acetylation) ด้วย acetic anhydride (0.5 มิลลิลิตร). สารละลายของ partially methylated alditol acetates (PMAA) จะถูกฉีดเข้าเครื่อง Gas Chromatography – Mass Spectrometer (GC-MS system, ThermoQuest Finnigan, San Diego, CA) ที่ใช้คอลัมน์ SP-2330 column (Supelco, Bellefonte, PA) ขนาด 30 × 0.25 มิลลิเมตร หนา 0.2 ไมครอน ที่ช่วงอุณหภูมิ 160-210 องศาเซลเซียส ด้วยอัตรา 2 องศาเซลเซียส/นาที และที่ช่วงอุณหภูมิ 210-240 องศาเซลเซียส ด้วยอัตรา 5 องศาเซลเซียส/นาที และต่อกับเครื่องแมสสเปกโตรมิเตอร์ (MS) โดยมีเครื่องตรวจจับแบบ ion trap MS detector เพื่อช่วยในการยืนยันโครงสร้างหลักของสารประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์ที่สกัดได้จากไบยานาง

5. การศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่

5.1 ความหนืด (viscosity)

นำสารประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์ที่สกัดได้จากไบยานางมาศึกษา คุณสมบัติด้านความหนืดโดยพิจารณาปัจจัยที่มีผลเกี่ยวข้อง คือ ความเข้มข้นของสารไฮโดรคอลลอยด์จากไบยานาง อุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง (pH) แคลเซียมคลอไรด์ โซเดียมคลอไรด์ และความเข้มข้นของน้ำตาล โดยใช้เครื่องวัดความหนืด (Brookfield Viscometer model DV II⁺)

5.2 ความแข็งแรงของเจล (gel strength)

นำสารประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์ที่สกัดได้จากไบยานางมาศึกษา คุณสมบัติด้านความแข็งแรงของเจลโดยพิจารณาปัจจัยที่มีผลเกี่ยวข้อง คือ ความเข้มข้นของสารไฮโดรคอลลอยด์จากไบยานาง ความเป็นกรด-ด่าง (pH) แคลเซียมคลอไรด์ โซเดียมคลอไรด์ และความเข้มข้นของน้ำตาล ด้วยเครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส (Universal Testing LLOYD model LR series)

5.3 คุณสมบัติด้านกระแสวิทยา (rheological properties)

ศึกษาพฤติกรรมการไหลของสารประเภทกัม หรือไฮโดรคอลลอยด์ที่สกัดได้จากไบยานาง โดยใช้เครื่องรีโอมิเตอร์ (ARES controlled strain rheometer ,TA Instruments, New Castle, DE, USA). โดยใช้หัววัดแบบ parallel plate geometry (50 mm diameter, 1.0 mm gap) ทำการวัดทั้ง steady shear flow และ oscillatory measurements

6. การประยุกต์ใช้เบื้องต้น

จากการศึกษาที่ผ่านมา จะทำให้ทราบว่าสารสกัดประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์ในไบยานางช่วยเพิ่มความหนืด และสามารถเกิดเจลได้ ดังนั้นจึงประยุกต์ใช้สารสกัดจากไบยานางเพื่อช่วยเพิ่มความคงตัวในผลิตภัณฑ์ไอศกรีม เปรียบเทียบกับสารเพิ่มความคงตัวทางการค้า (carrageenan) ที่ใช้ในผลิตภัณฑ์ไอศกรีม

6.1 ส่วนผสมของไอศกรีม (ประยุกต์จาก Marshall, 2003)

1) ส่วนผสมของไอศกรีม

1. นำนมโค	500	มิลลิลิตร
2. วิปปิ้งครีม	288	กรัม
3. น้ำตาลทรายขาว	150	กรัม
4. สารให้ความคงตัว		
4.1) คาราจีแนน	0.25, 0.50, 0.75, 1.00	กรัม
4.2) สารสกัดจากไบยานาง	0.25, 0.50, 0.75, 1.00	กรัม
5. ไข่แดง	2	ฟอง
6. ช็อคโกแลต	10	กรัม
7. ผงโกโก้	5	กรัม
8. เกลือ	0.1	กรัม

โดยใช้สารให้ความคงตัวจากไบยานางที่ปริมาณร้อยละ 0.25, 0.50, 0.75 และ 1.00 เปรียบเทียบกับการใช้สารให้ความคงตัวทางการค้า (คาราจีแนน) ปริมาณร้อยละ 0.25, 0.50, 0.75 และ 1.00 โดยใช้สูตรช็อคโกแลตที่สม่ำเสมอ

2) นำส่วนผสมของเหลวใส่หม้อและไปตั้งไฟ โดยใช้หม้อ 2 ชั้น เพื่อให้ความร้อนผ่านน้ำร้อนและคนตลอดเวลา จนได้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

3) เติมน้ำมันผสมแห้งลงไป คนให้เข้ากัน และละลายเป็นเนื้อเดียวกัน

4) อุณหภูมิที่ 65 องศาเซลเซียส แล้วเทใส่เครื่องปั่นผสม (Blender) ใช้ความเร็วสูงสุด ประมาณ 1 นาที (เติมน้ำแข็งลงในชามนี้)

5) หลังปั่นเทลงหม้อเดิม พาสเจอร์ไรส์ที่ 63 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที แล้วทำให้เย็นทันทีด้วยการหล่อเย็น

6) นำไปวัดค่าความหนืดด้วยเครื่องวัดความหนืด (Brookfield Viscometer model DV II⁺) จากนั้นนำไปแช่เย็นในตู้เย็นเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

7) ปั่นด้วยเครื่องปั่นไอศกรีม โดยปล่อยให้เครื่องปั่นไปเรื่อยๆ จนเครื่องหมุนกลับไปกลับมา แสดงว่าไอศกรีมแข็งตัวแล้ว

8) วัดค่า % Overrun จากนั้นนำไอศกรีมไปแช่แข็งประมาณ 3-4 ชั่วโมงขึ้นไป ไอศกรีมจะแข็งตัวดีขึ้น

9) คำนวณ % Overrun

$$\% \text{ Overrun} = \frac{(\text{ปริมาตรของไอศกรีม} - \text{ปริมาตรของส่วนผสม}) \times 100}{\text{ปริมาตรของส่วนผสม}}$$

10) ทดสอบทางประสาทสัมผัส โดยทดสอบการยอมรับ ใช้วิธีฮีโดนิค (Hedonic Test) ใช้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 25 คน

6.2 การวางแผนการทดลอง

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS for Windows Version 11.0 โดยมีแผนการทดลองแบบ CRD เพื่อศึกษาปริมาณที่เหมาะสมของสารให้ความคงตัวจากไบยานางในการทำไอศกรีมช็อกโกแลตและเนื้อสัมผัสไอศกรีม โดยใช้สารให้ความคงตัวจากไบยานางที่ปริมาณร้อยละ 0.25, 0.50, 0.75 และ 1.00 เปรียบเทียบกับการใช้สารให้ความคงตัวทางการค้า (คาราจีแนน) ปริมาณร้อยละ 0.25, 0.50, 0.75 และ 1.00 โดยใช้สูตรช็อกโกแลตที่สม่ำเสมอ ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ การวิเคราะห์ความแปรปรวน และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี LSD ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. กระบวนการสกัดที่เหมาะสม

ใบย่านางที่ผ่านการอบไล่ความชื้น มีปริมาณความชื้น ถั่ว โปรตีน ไขมัน และเยื่อใย (total dietary fiber) ร้อยละ 10.42, 8.96, 10.04, 2.66 และ 68.30 ตามลำดับ จากนั้น ทำการศึกษากระบวนการสกัดสารประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์จากใบย่านางตามตารางที่ 2 ทำการตรวจสอบคุณสมบัติเบื้องต้น คือ ปริมาณผลผลิต (%yield) ความหนืด (viscosity) และค่าความแข็งแรงของเจล (gel strength) เพื่อใช้ในการวิเคราะห์หาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโดยที่สภาวะการสกัดที่เหมาะสมนั้นจะต้องให้ปริมาณผลผลิต ความหนืด และค่าความแข็งแรงของเจลสูง ผลที่ได้ดังตารางที่ 3

เมื่อนำข้อมูลที่ได้จากตารางที่ 3 มาทำการวิเคราะห์หาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัด โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ Design-Expert 6.0.10 วิเคราะห์ออกมาในรูปของสภาวะที่เหมาะสม (optimized condition) พบว่าสภาวะที่เหมาะสมของการสกัด คือ อัตราส่วนของใบย่านางอบแห้งต่อน้ำ ต่ออุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด (องศาเซลเซียส) ต่อเวลาที่ใช้ในการสกัด (นาที) ที่ 1:6.6 : 85 : 100 ซึ่งเมื่อทำการสกัดที่สภาวะดังกล่าวจะให้สารสกัดประเภทกัมจากใบย่านางในปริมาณที่มาก และมีค่าความหนืด และความแข็งแรงของเจล สูงเมื่อเปรียบเทียบกับสภาวะอื่นๆ ดังสมการ

$$\begin{aligned} \%Yield = & -1.19885 + 0.24383*ratio + 0.035527*temperature + 0.021424*time \\ & - 3.30624*10^{-3}*ratio^2 + 8.88649*10^{-5}*temperature^2 + 6.99380*10^{-6}*time^2 \\ & -2.19167*10^{-3}*ratio*temperature -1.32917*10^{-3}*ratio*time \\ & - 1.17361*10^{-4}*temp*time \quad (R^2 = 0.7952) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} Viscosity = & -3387.79421 + 426.08568*ratio + 58.16183*temperature + 23.89365*time \\ & -20.03240*ratio^2 - 0.38573*temperature^2 - 0.11025*time^2 - 1.24450*ratio*temp + \\ & 0.35202*ratio*time - 0.038440*temperature*time \quad (R^2 = 0.9695) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} Gel \ strength = & +0.44356 + 8.50919*10^{-3}*ratio - 3.66523*10^{-3}*temperature \\ & + 6.28345*10^{-5}*time - 1.50135*10^{-3}*ratio^2 + 6.43246*10^{-5}*temperature^2 \\ & - 9.62905*10^{-6}*time^2 - 1.6716*10^{-4}*ratio*temperature + 1.83633*10^{-4}*ratio*time + \\ & 1.42361*10^{-6}*temperature*time \quad (R^2 = 0.6214) \end{aligned}$$

โดย ratio คือ อัตราส่วนของใบย่านางอบแห้งต่อน้ำ

temperature คือ อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด (องศาเซลเซียส)

time คือ ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด (นาที)

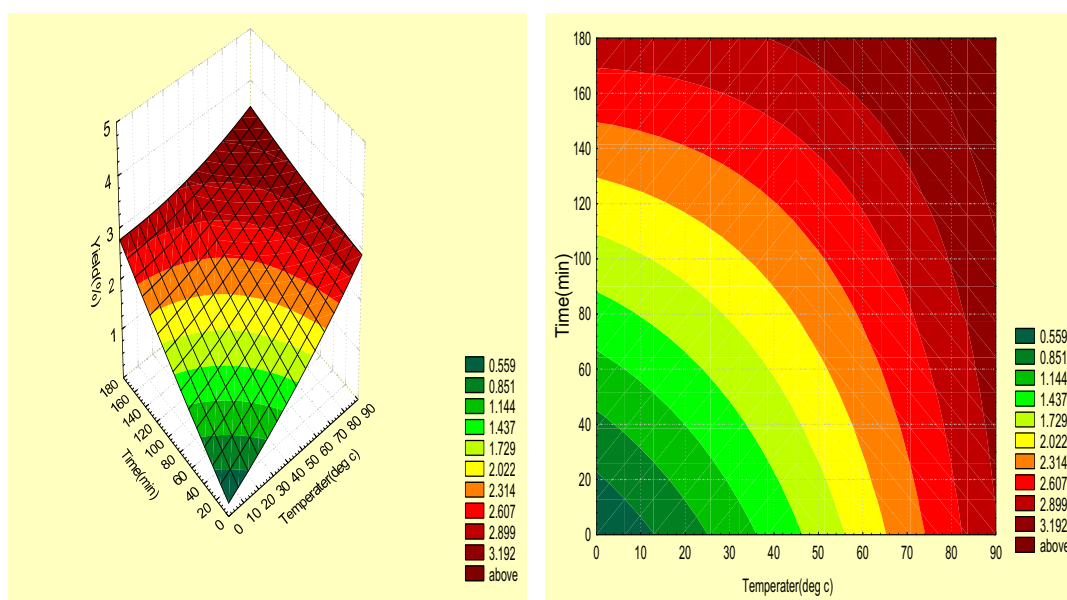
ตารางที่ 3 ปริมาณผลผลิต (%yield) ความหนืด (viscosity) และค่าความแข็งแรงของเจล (gel strength) ของแต่ละสภาวะการสกัด

Treatment	%Yield $\pm$ SD	Viscosity (cP) $\pm$ SD	Gel strength (N) $\pm$ SD
1	1.73 $\pm$ 1.2200	264.00 $\pm$ 4.86220	0.48840 $\pm$ 0.0032
2	1.18 $\pm$ 0.8344	366.40 $\pm$ 14.0627	0.27492 $\pm$ 0.0101
3	2.79 $\pm$ 1.9728	706.67 $\pm$ 1.15470	0.62133 $\pm$ 0.1428
4	2.24 $\pm$ 1.5839	181.67 $\pm$ 2.61020	0.23291 $\pm$ 0.0122
5	2.98 $\pm$ 2.1072	135.60 $\pm$ 1.05830	0.29535 $\pm$ 0.0057
6	2.15 $\pm$ 1.5203	779.73 $\pm$ 5.20510	0.22759 $\pm$ 0.0119
7	4.51 $\pm$ 3.1891	420.80 $\pm$ 4.45420	0.36389 $\pm$ 0.0117
8	1.05 $\pm$ 0.7425	198.93 $\pm$ 6.21400	0.27047 $\pm$ 0.0269
9	2.56 $\pm$ 1.8102	1588.53 $\pm$ 4.40610	0.39189 $\pm$ 0.0082
10	2.02 $\pm$ 1.4284	1434.67 $\pm$ 102.104	0.32598 $\pm$ 0.0000
11	2.45 $\pm$ 1.7324	1623.33 $\pm$ 7.0238	0.4188 $\pm$ 0.02730
12	2.15 $\pm$ 1.5203	1842.00 $\pm$ 8.0000	0.45614 $\pm$ 0.0205
13	2.39 $\pm$ 1.6900	303.20 $\pm$ 0.00000	0.24346 $\pm$ 0.0049
14	1.44 $\pm$ 1.0182	272.27 $\pm$ 2.01330	0.34493 $\pm$ 0.0294
15	2.00 $\pm$ 1.4142	872.67 $\pm$ 14.5717	0.39165 $\pm$ 0.0084
16	2.75 $\pm$ 1.9445	572.00 $\pm$ 2.00000	0.73655 $\pm$ 0.0492
17	2.22 $\pm$ 1.5698	869.33 $\pm$ 6.11010	0.24672 $\pm$ 0.0035
18	2.22 $\pm$ 1.5698	293.87 $\pm$ 1.22200	0.35790 $\pm$ 0.0053
19	2.33 $\pm$ 1.6476	1688.67 $\pm$ 1.15470	0.32206 $\pm$ 0.0009
20	2.01 $\pm$ 1.4213	1736.67 $\pm$ 1.15470	0.33897 $\pm$ 0.0042

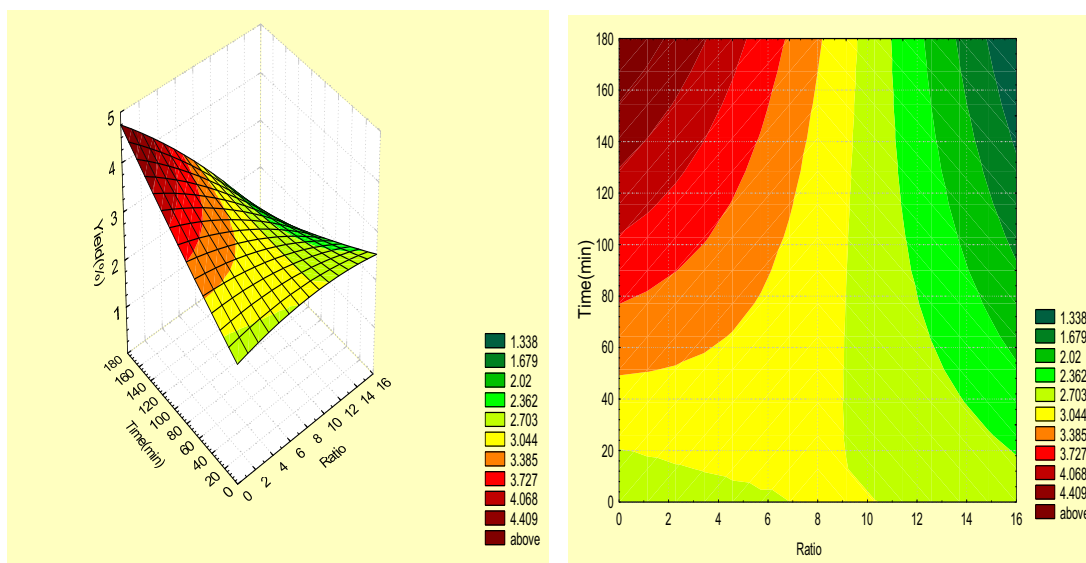
หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

จากสมการสามารถทราบถึงอิทธิพลของ อัตราส่วนของไบยานางอบแห้งต่อน้ำ อุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการสกัดว่ามีผลต่อค่าปริมาณผลผลิต ความหนืด และค่าความแข็งแรงของเจล ไปในทิศทางใด ดังแสดงในภาพที่ 2-10 ซึ่งแสดงในลักษณะกราฟ 3 มิติ และ 2 มิติ (3D surface plots และ contour plots)

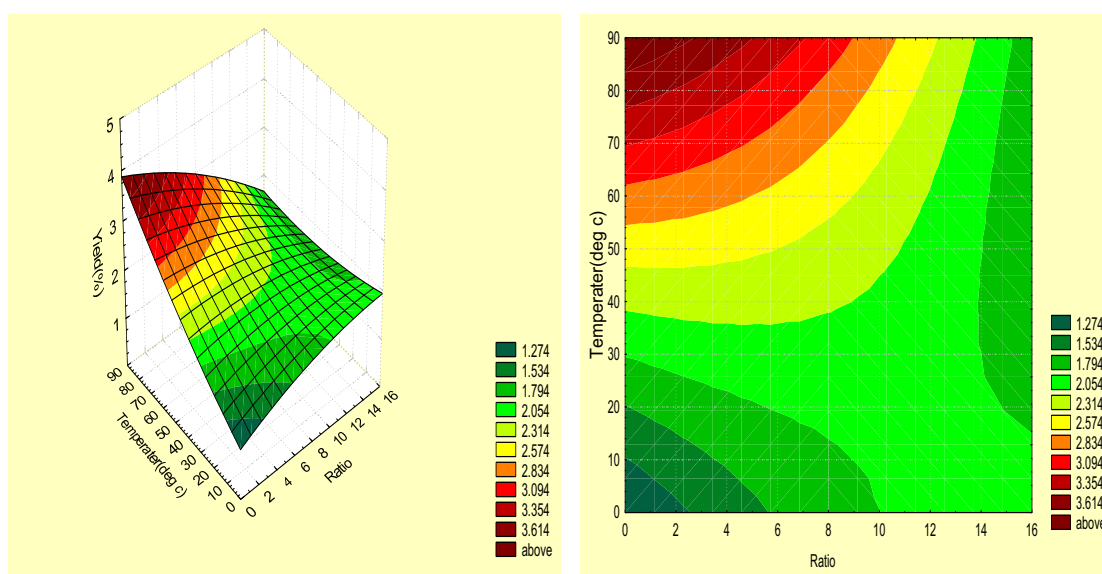
ภาพที่ 2-4 แสดงผลของอัตราส่วน อุณหภูมิ และเวลาในการสกัดต่อค่าปริมาณผลผลิต โดยภาพที่ 2 แสดงแนวโน้มของปริมาณผลผลิต เมื่อกำหนดให้อัตราส่วนในการสกัดคงที่ที่ 1:6.6 พบว่าเมื่อเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้นทำให้ปริมาณผลผลิตมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น และอุณหภูมิในการสกัดเพิ่มขึ้นจะทำให้ปริมาณผลผลิตมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เมื่ออุณหภูมิสูงมากกว่า 85 องศาเซลเซียสจะทำให้ปริมาณผลผลิตมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ภาพที่ 3 แสดงแนวโน้มของปริมาณผลผลิต เมื่อกำหนดให้อุณหภูมิในการสกัดคงที่ที่ 85 องศาเซลเซียส พบว่า เมื่ออัตราส่วนย่านางต่อน้ำเพิ่มขึ้นจะทำให้ปริมาณผลผลิตมีแนวโน้มที่ลดลง และเมื่อเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้นจะทำให้ปริมาณผลผลิตเพิ่มขึ้น ภาพที่ 4 แสดงแนวโน้มของปริมาณผลผลิต เมื่อกำหนดให้เวลาในการสกัดคงที่ที่ 100 นาที พบว่าอัตราส่วนย่านางต่อน้ำในการสกัดที่อัตราส่วนไปย่านางอบแห้งต่อน้ำไม่เกิน 1:8 จะทำให้ได้ปริมาณผลผลิตที่สูง ส่วนอุณหภูมิที่จะให้ปริมาณผลผลิตสูง คืออุณหภูมิในช่วง 60-90 องศาเซลเซียส



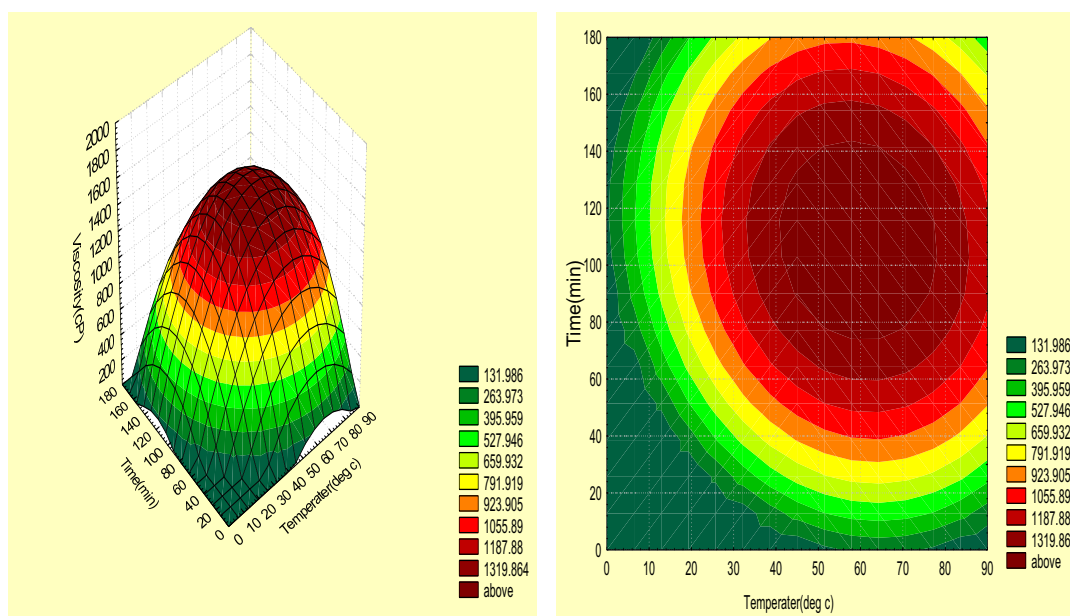
ภาพที่ 2 กราฟ 3D surface plots และ contour plots แสดงแนวโน้มของปริมาณผลผลิต (%yield) เมื่อกำหนดให้อัตราส่วนในการสกัดคงที่ที่ 1:6.6



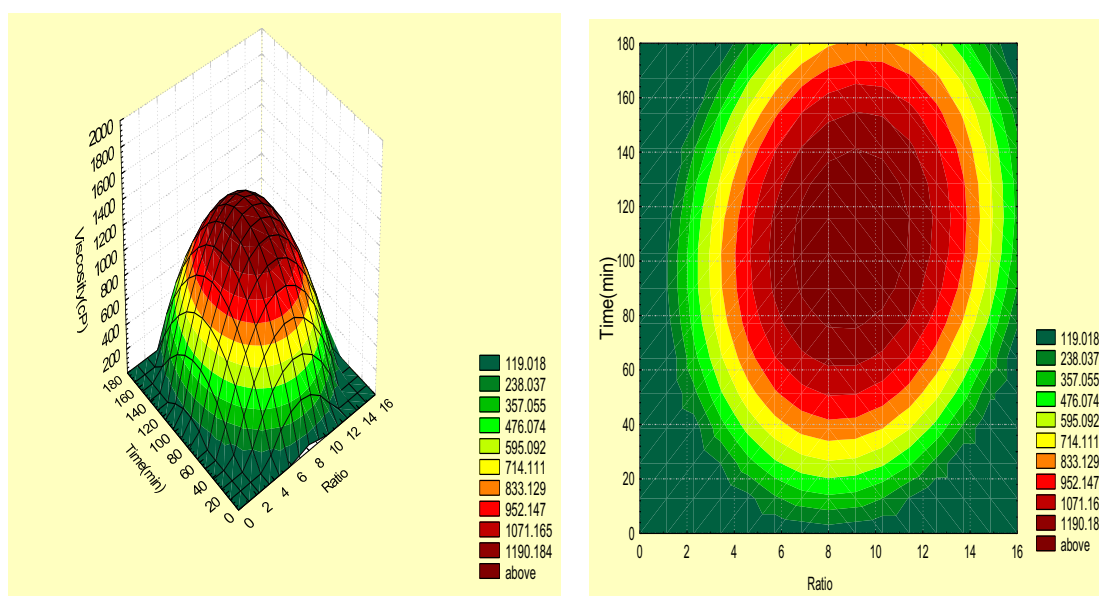
ภาพที่ 3 กราฟ 3D surface plots และ contour plots แสดงแนวโน้มของค่าปริมาณผลผลิต (%yield) เมื่อกำหนดให้อุณหภูมิในการสกัดคงที่ที่ 85 องศาเซลเซียส



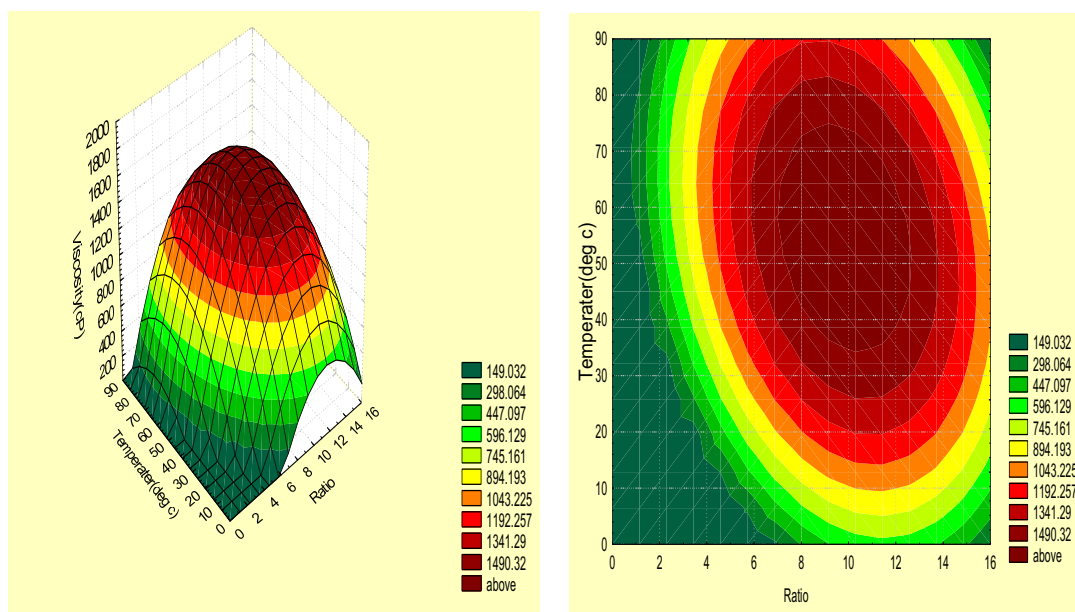
ภาพที่ 4 กราฟ 3D surface plots และ contour plots แสดงแนวโน้มของค่าปริมาณผลผลิต (%yield) เมื่อกำหนดให้เวลาคงที่ที่ 100 นาที



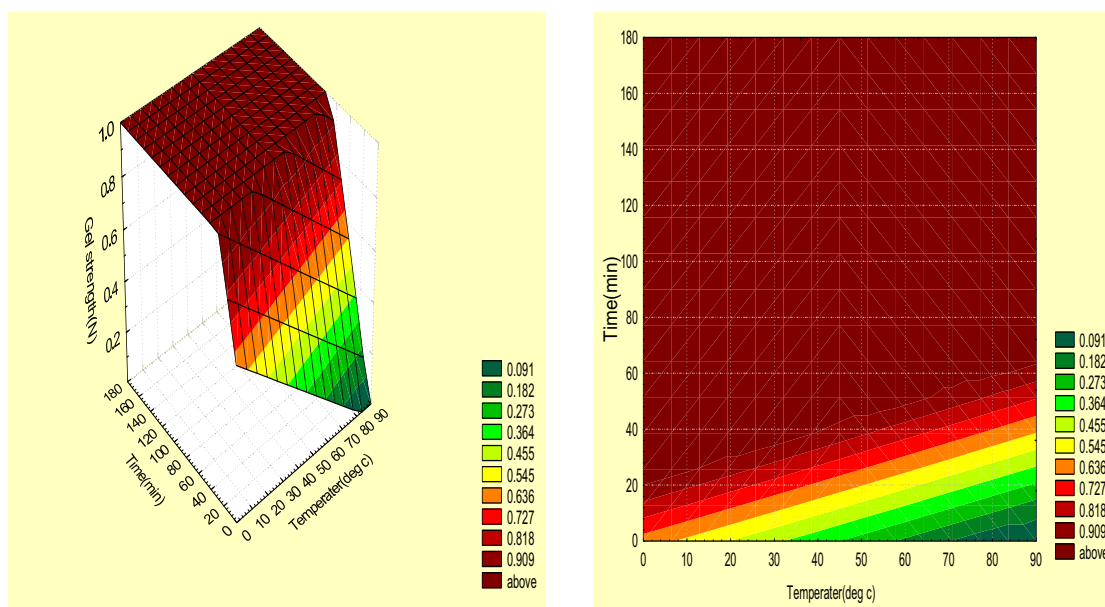
ภาพที่ 5 กราฟ 3D surface plots และ contour plots แสดงแนวโน้มของค่าความหนืด เมื่อ กำหนดให้อัตราส่วนคงที่ที่ 1: 6.6



ภาพที่ 6 กราฟ 3D surface plots และ contour plots แสดงแนวโน้มของค่าความหนืด เมื่อ กำหนดให้อุณหภูมิคงที่ที่ 85 องศาเซลเซียส



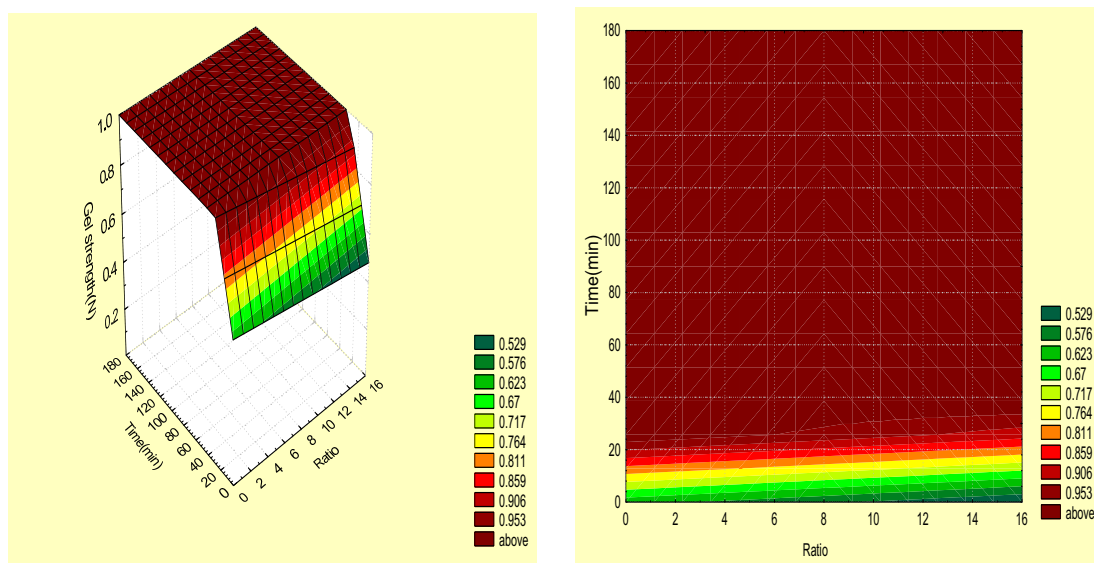
ภาพที่ 7 กราฟ 3D surface plots และ contour plots แสดงแนวโน้มของค่าความหนืด เมื่อกำหนดให้เวลาคงที่ที่ 100 นาที



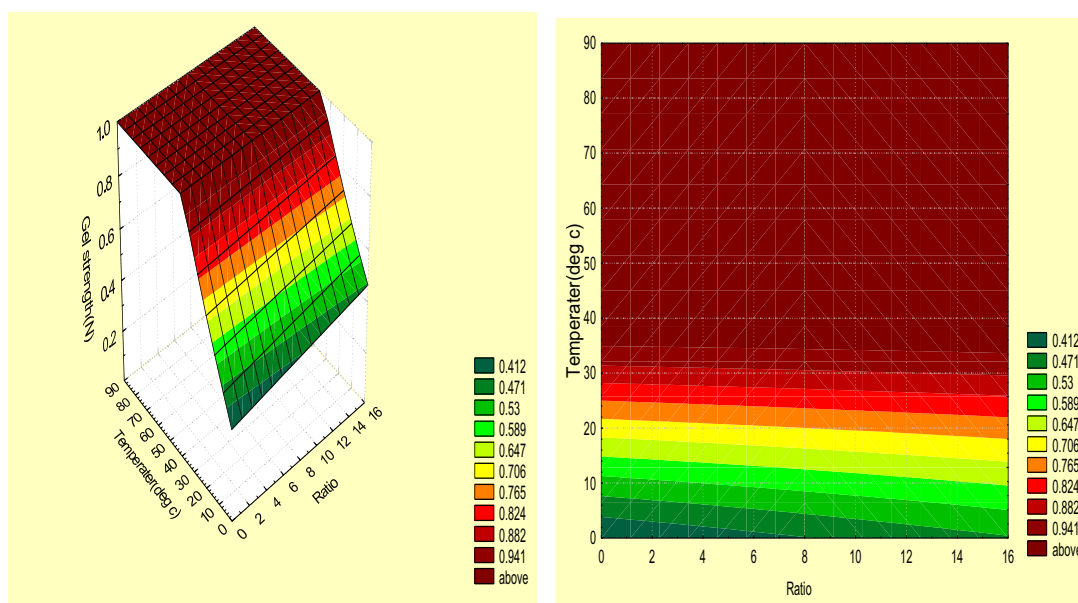
ภาพที่ 8 กราฟ 3D surface plots และ contour plots แสดงแนวโน้มของค่าความแข็งแรงของเจล เมื่อกำหนดให้อัตราส่วนคงที่ที่ 1:6.6

ผลของอัตราส่วน อุณหภูมิ และเวลาในการสกัดต่อค่าความหนืด แสดงดังภาพที่ 5-7 โดยภาพที่ 5 แสดงแนวโน้มของค่าความหนืด เมื่อกำหนดให้อัตราส่วนผงย่านางต่อน้ำในการสกัด คงที่ที่ 1:6.6 จะเห็นว่าเมื่ออุณหภูมิและเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้นจะทำให้ความหนืดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมจะอยู่ในช่วง 35-85 องศาเซลเซียส และเวลาที่เหมาะสมจะอยู่ในช่วง 60-160 นาที ภาพที่ 6 แสดงแนวโน้มของค่าความหนืด เมื่อกำหนดให้อุณหภูมิในการสกัด คงที่ที่ 85 องศาเซลเซียส พบว่าเมื่ออัตราส่วนย่านางต่อน้ำเพิ่มมากขึ้นช่วง 1:6-1:12 จะส่งผลให้มีแนวโน้มของค่าความหนืดที่เหมาะสม ส่วนเวลาที่เหมาะสมจะอยู่ในช่วง 60-150 นาที จะทำให้ได้ค่าความหนืดสูงสุด ภาพที่ 7 แสดงแนวโน้มของค่าความหนืดเมื่อกำหนดให้เวลาคงที่ที่ 100 นาที พบว่าเมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงกว่า 30 องศาเซลเซียส จะให้แนวโน้มค่าความหนืดเพิ่มขึ้น ส่วนอัตราส่วนของย่านางต่อน้ำที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 1:6-1:14

ภาพที่ 8 แสดงแนวโน้มของค่าความแข็งแรงของเจล เมื่อกำหนดให้อัตราส่วนคงที่ที่ 1:6.6 พบว่า เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น จะทำให้ค่าความแข็งแรงของเจลมีแนวโน้มที่ลดลง และเมื่อเวลามากกว่า 20 นาที จะให้ค่าความแข็งแรงของเจลมีแนวโน้มสูงขึ้น ภาพที่ 9 แสดงแนวโน้มของค่าความแข็งแรงของเจล เมื่อกำหนดให้อุณหภูมิคงที่ที่ 85 องศาเซลเซียส พบว่าอัตราส่วนของน้ำต่อย่านางมีผลต่อค่าความแข็งแรงของเจลน้อยมาก และเมื่อเวลาสูงกว่า 20 นาทีก็จะทำให้มีแนวโน้มของค่าความแข็งแรงของเจลที่สูงขึ้น ภาพที่ 10 แสดงแนวโน้มของค่าความแข็งแรงของเจลเมื่อกำหนดให้ค่าเวลาคงที่ที่ 100 นาที พบว่าอัตราส่วนของน้ำต่อย่านางมีผลต่อค่าความแข็งแรงของเจลน้อยมากเช่นกันกับเมื่อกำหนดให้อุณหภูมิคงที่ที่ 85 องศาเซลเซียส และเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 25 องศาเซลเซียสจะให้แนวโน้มของค่าความแข็งแรงของเจลเพิ่มสูงขึ้น



ภาพที่ 9 กราฟ 3D surface plots และ contour plots แสดงแนวโน้มของค่าความแข็งแรง ของเจล เมื่อกำหนดให้อุณหภูมิคงที่ที่ 85 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 10 กราฟ 3D surface plots และ contour plots แสดงแนวโน้มของค่าความแข็งแรงของเจล เมื่อกำหนดให้ค่าเวลาคงที่ที่ 100 นาที

2. องค์ประกอบทางเคมี

สภาวะที่เหมาะสมของการสกัดสารประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์ที่ได้จากไผ่ย่านาง คือ อัตราส่วนของไผ่ย่านางอบแห้งต่อน้ำ ต่อก้อนหมักที่ใช้ในการสกัด (องศาเซลเซียส) ต่อเวลาที่ใช้ในการสกัด (นาที) ที่ 1:6.6 : 85 : 100 ตามลำดับ จากนั้นนำสารสกัดมาศึกษาองค์ประกอบทางเคมี ผลการทดลองดังตารางที่ 3 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด รวมทั้งกรดยูโรนิก ที่พบในสารสกัดมีปริมาณร้อยละ 70 ซึ่งคล้ายคลึงกับปริมาณน้ำตาลที่พบในไซแลนจากบรีชวูด (birchwood xylan) ไซแลนจากโอ๊ตสเปลท์ (oat spelt's xylan) และไซแลนจากเมล็ดฝ้าย (cotton seed xylan) มีปริมาณน้ำตาลร้อยละ 72.0, 73.1 และ 75.0 ตามลำดับ (Sun, Yoshida, Park, & Kusakbe, 2002) ไซแลนจากบรีชวูด และไซแลนจากเมล็ดฝ้าย จะประกอบด้วยน้ำตาลไซโรส (xylose) และกรดยูโรนิก ส่วนไซแลนจากโอ๊ตสเปลท์ นอกจากจะประกอบด้วยน้ำตาลไซโรส และกรดยูโรนิก ยังมีน้ำตาลอะราบินอส (arabinose) และกลูโคส (glucose) เป็นส่วนประกอบด้วย สำหรับปริมาณน้ำตาลใน wheat straw hemicelluloses จะมีปริมาณร้อยละ 70-80 โดยน้ำตาลที่เป็นส่วนประกอบหลักคือ น้ำตาลไซโรส และยังประกอบด้วยน้ำตาลกาแลคโตส (galactose) แมนโนส (mannose) กลูโคส และอะราบินอส ในปริมาณเล็กน้อย รวมทั้งมีปริมาณกรดยูโรนิกร้อยละ 4-5 (Sun, Lawther, & Banks, 1996) การที่มีปริมาณน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว และกรดยูโรนิกในปริมาณแตกต่างกัน เนื่องจากแหล่งวัตถุดิบแตกต่างกัน รวมทั้งวิธีการในการย่อยน้ำตาลทั้งหมดให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (hydrolysis) ปริมาณน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวในสารสกัดประเภทกัมหรือไฮโดร

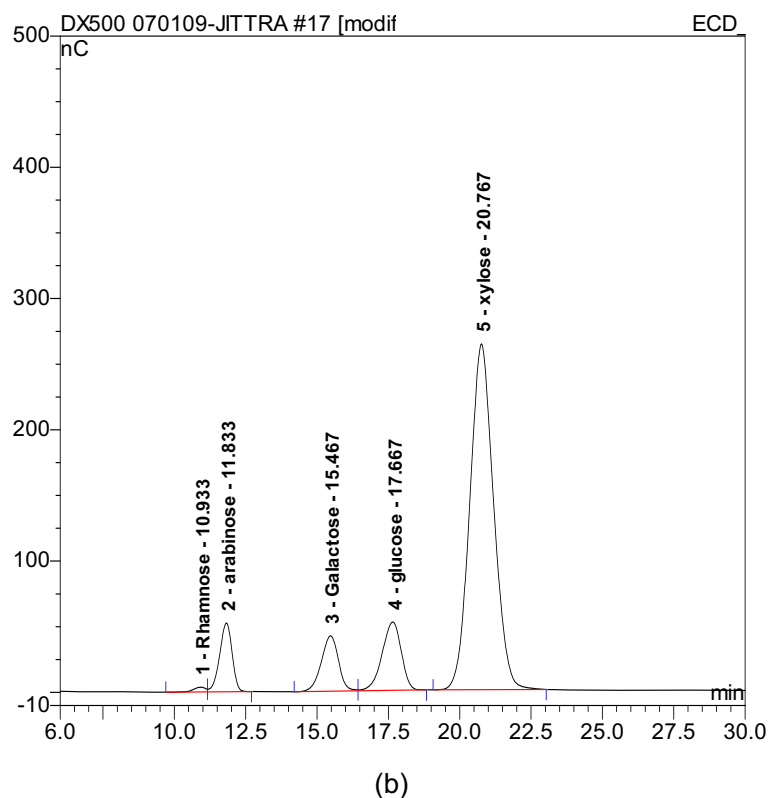
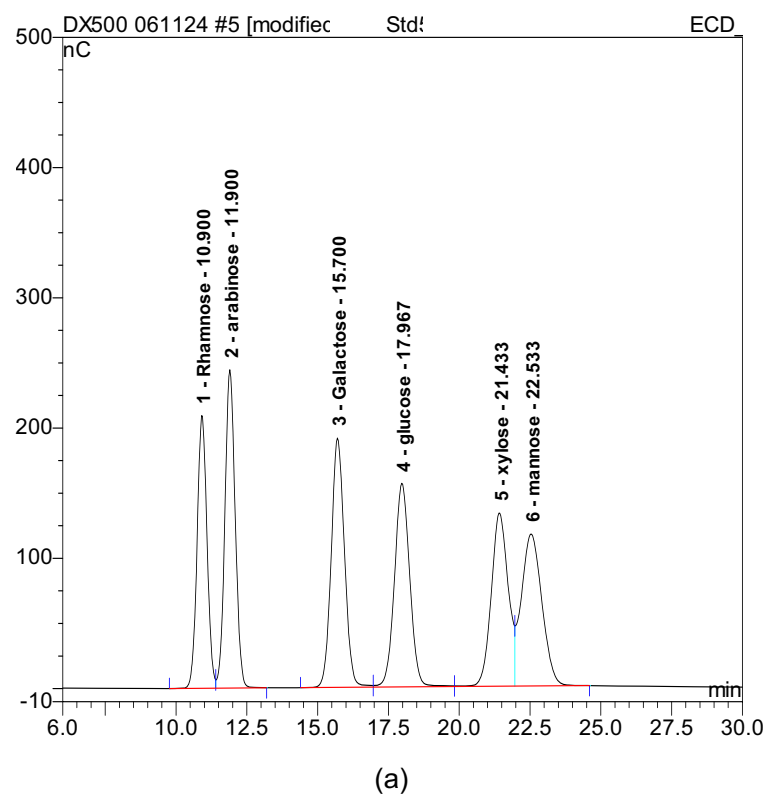
คอลลอยด์ที่ได้จากไบบานางแสดงดังตารางที่ 3 และภาพที่ 11 โดยน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบหลักคือ น้ำตาลไซโรส (ร้อยละ 73) รองลงมาคือน้ำตาลกลูโคส (ร้อยละ 11) ซึ่งน่าจะเป็นสายของกลูแคน (glucan) และมีปริมาณของน้ำตาลอะราบินอสและกาแลคโตสเพียงเล็กน้อย โดยน้ำตาลทั้งสองน่าจะเป็นกึ่งกันของสายหลักในโครงสร้าง (Ebringerová, Hromádková, Petráková, & Hricovíni, 1990; Sun & Sun, 2002)

ตารางที่ 3 องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์จากไบบานาง

องค์ประกอบทางเคมี (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	สารสกัดจากไบบานาง
ความชื้น (Moisture)	7.63±1.32
เถ้า (Ash)	8.46±0.99
โปรตีน (Protein)	6.59±0.07
ไขมัน (Lipid)	1.26±0.97
ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Total sugar) (as xylose equivalent)	59.469±3.449
ปริมาณน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (Monosaccharide)	
Rhamnose	0.272 (0.50)*
Arabinose	3.682 (7.70)
Galactose	3.640 (8.36)
Glucose	5.661(11.04)
Xylose	40.378 (72.90)
กรดยูโรนิก (Uronic acids) (as galacturonic acid)	10.12±1.15

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

* relative %



ภาพที่ 11 โครมาโทแกรมของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว
 (a) โครมาโทแกรมน้ำตาลมาตรฐาน
 (b) โครมาโทแกรมสารสกัดจากไผ่ย่านาง

3. ลักษณะทางโครงสร้าง

3.1 FT-IR spectroscopy

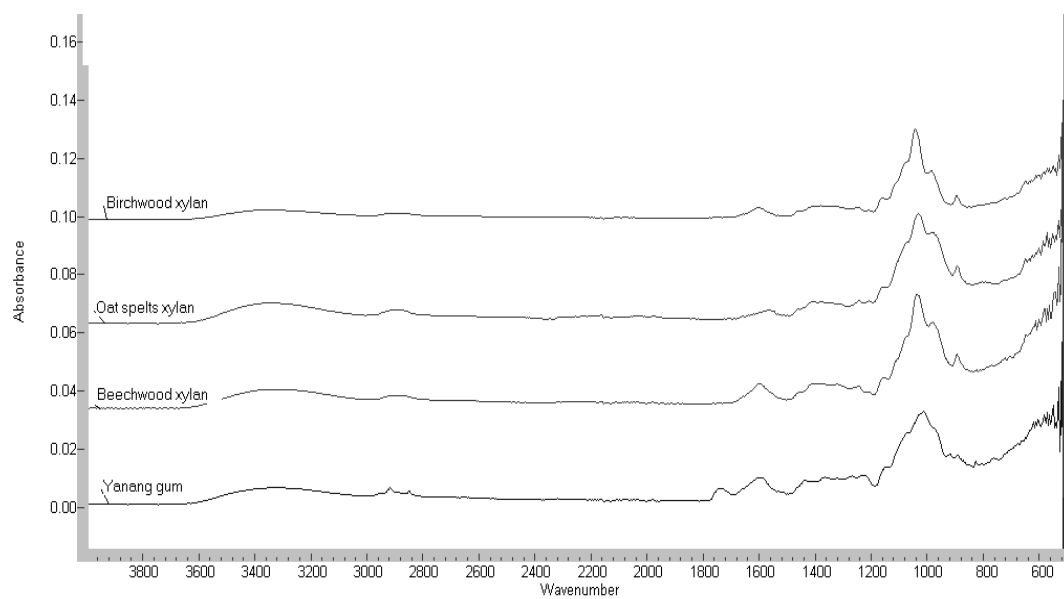
ฟูรีเออร์ทรานสฟอร์ม อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (FT-IR spectroscopy) เป็นเทคนิคที่นิยมใช้ในการวิเคราะห์ ตรวจสอบ พิสูจน์ และศึกษาเกี่ยวกับโมเลกุลของสาร โดยโมเลกุลจะเกิดการสั่น (vibration) หรือเกิดการหมุน (rotation) ทำให้พันธะของโมเลกุลนั้นเกิดการยืด (stretching) หรือเกิดการงอ (bending) สเปกตรัม FT-IR ของสารประเภทคาร์โบไฮเดรตสามารถใช้เป็นเครื่องชี้วัดลักษณะทางโครงสร้าง โดยปกติจำนวนคลื่น หรือ wave number ในช่วงระหว่าง $900\text{--}1200\text{ cm}^{-1}$ จะเรียกว่า fingerprint region เนื่องจากสามารถแยกแยะหมู่ที่ทำหน้าที่เชิงหน้าที่ (functional groups) ในคาร์โบไฮเดรตหรือโพลีแซคคาไรด์ได้ โดยตำแหน่งและความเข้มของสเปกตรัมของแต่ละโพลีแซคคาไรด์จะเฉพาะตัวแตกต่างกัน ดังตารางที่ 4 (Cernà *et al.*, 2003; Kačuráková & Wilson, 2001; Fillippov, 1992) สำหรับสารสกัดประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์ที่ได้จากไผ่ย่านางมีองค์ประกอบหลักของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวคือ น้ำตาลไซโรส เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับไซแลนทางการค้า 3 ชนิด ได้แก่ ไซแลนจากบีชวูด (beechwood xylan, x4252) ไซแลนจากเบิร์ชวูด (birchwood xylan, x0502) และไซแลนจากโอตสเปลท์ (oat speltz xylan, x0627) จาก Sigma-Aldrich Co. (Steinheim, Germany) ซึ่งมีองค์ประกอบหลักคือน้ำตาลไซโรส เช่นเดียวกัน พบว่า สเปกตรัม FT-IR ของสารสกัดประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์ที่ได้จากไผ่ย่านาง และไซแลนทางการค้าทั้ง 3 ชนิด มีลักษณะคล้ายคลึงกัน ดังภาพที่ 12 ดังนั้นสารสกัดประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์ที่ได้จากไผ่ย่านาง น่าจะเป็น ไซแลน (xylan) จากภาพจะเห็นว่าความคมของพีคที่ wave number $1030\text{--}1050\text{ cm}^{-1}$ ระหว่างสารสกัดจากไผ่ย่านางและไซแลนทางการค้าแตกต่างกันเล็กน้อย น่าจะเนื่องมาจากลักษณะทางโครงสร้างและพันธะของไซแลนแตกต่างกัน โดยพีคที่ wave number ประมาณ 1047 cm^{-1} บ่งบอกถึงพันธะ β (1 $\rightarrow$ 4) linkage ในขณะที่พีคที่ wave number ประมาณ $1030\text{--}1066\text{ cm}^{-1}$ บ่งบอกถึงพันธะ β (1 $\rightarrow$ 3) linkage (Kačuráková & Wilson, 2001; Kačuráková, Wellner, Ebringerová, Hromádková, Wilson, & Belton, 1999) โดยโครงสร้างของไซแลนทางการค้า น้ำตาลไซโรสจะเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ β (1 $\rightarrow$ 4) linkage ส่วนพีคของสารสกัดจากไผ่ย่านางจะไม่คมเท่ากับไซแลนทางการค้าในช่วง wave number $1030\text{--}1050\text{ cm}^{-1}$ น่าจะเนื่องมาจากในโครงสร้างหลัก น้ำตาลไซโรสจะเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ β (1 $\rightarrow$ 4) และ β (1 $\rightarrow$ 3) linkage ดังจะกล่าวถึงพันธะของสารสกัดจากไผ่ย่านางด้วยวิธีการเมทิลเลชัน (methylation analysis) ในหัวข้อ 3.2 ต่อไป ทำให้พีคที่ช่วงคลื่นดังกล่าวเหลื่อมล้ำกัน นอกจากนั้น ในพันธะ β (1 $\rightarrow$ 4) xylan ยังมีพีคของช่วงคลื่นที่ 1125, 1089 และ 897 cm^{-1} ที่เด่นชัด (Sun *et al.*, 1996) แต่ถ้าในโครงสร้างมีทั้งพันธะ β (1 $\rightarrow$ 4) และ β (1 $\rightarrow$ 3) linkage พีคที่ช่วงคลื่น 897 และ 904 cm^{-1} จะเหลื่อมล้ำกัน (Kačuráková *et al.*, 1999) สำหรับ

สเปกตรัมในช่วงคลื่นระหว่าง $3600-2500\text{ cm}^{-1}$ จะบ่งบอกถึงการยืดของพันธะโมเลกุลของ O-H (O-H stretching) โดยปกติไฮโดรเจนที่ได้จากการสกัดไฮโดรเจนจากพืช มักจะมีการปนเปื้อนของฟีนอลิก (phenolics) ลิกนิน (lignin) โปรตีน (protein) และเพคติน (pectin) อยู่ด้วย สารฟีนอลิกและโปรตีน จะเกิดสเปกตรัมที่เหลื่อมล้ำกันในช่วงคลื่น $1700-1500\text{ cm}^{-1}$ (Kačuráková & Wilson, 2001; Kačuráková *et al.*, 1999). นอกจากนั้นสเปกตรัมในช่วงคลื่น 1730 และ 1600 cm^{-1} บ่งบอกถึงการดคาร์บอกซิลิก และคาร์บอกซิเลท (carboxylic acid and carboxylate vibration) ที่เป็นส่วนประกอบหลักในเพคติน (Singthong *et al.*, 2004) จากองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากไผ่ย่านางในหัวข้อที่ 2 พบว่ามีกรดยูโรนิกเป็นส่วนประกอบอยู่ด้วย จึงเป็นการยืนยันว่าในโครงสร้างสารสกัดจากไผ่ย่านางมีกรดคาร์บอกซิลิก และอาจมีคาร์บอกซิเลทเป็นส่วนประกอบด้วย ซึ่งถือว่าเป็นส่วนประกอบที่พบในไฮโดรเจนโดยทั่วไป (Åkerholm & Salmén, 2001) จากสเปกตรัมพบว่าความสูงหรือพื้นที่ของพีคในช่วงคลื่น 1730 cm^{-1} ที่บ่งบอกถึงการดคาร์บอกซิลิกในสารสกัดจากไผ่ย่านางสูงกว่าในไฮโดรเจนทางการค้า เนื่องจากไฮโดรเจนทางการค้าจะกอบด้วยน้ำตาลไซโรสเป็นหลัก ดังนั้นสารสกัดจากไผ่ย่านางจึงมีปริมาณกรดยูโรนิกสูงกว่าไฮโดรเจนทางการค้าหรือไฮโดรเจนมาตรฐาน

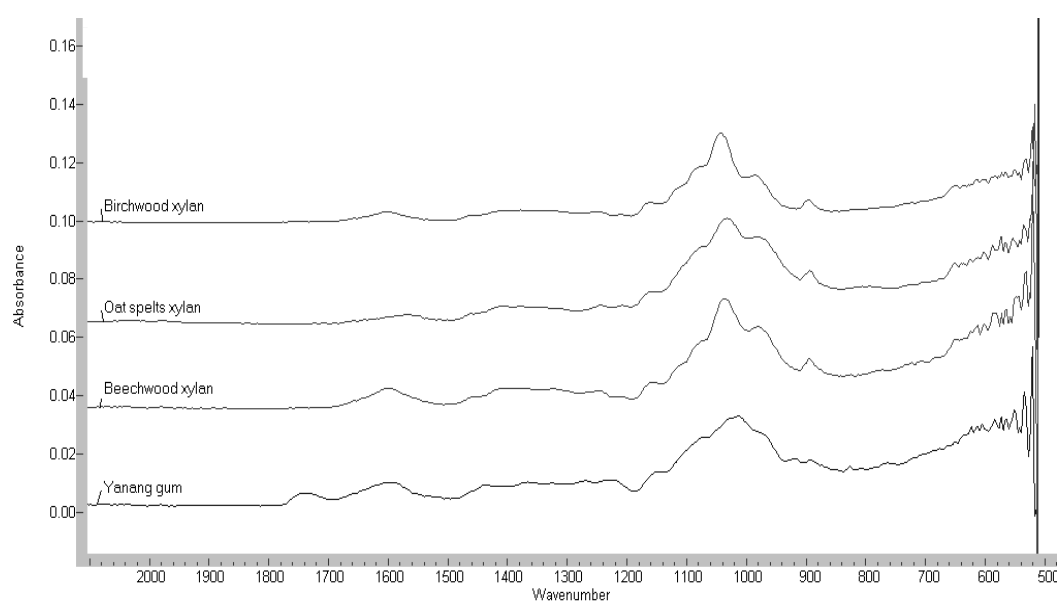
ตารางที่ 4 สเปกตรัม FT-IR ของคาร์โบไฮเดรต: ช่วงคลื่น ความเข้มของสเปกตรัม และหมู่ที่ทำหน้าที่

ช่วงคลื่น (wave number, cm^{-1})	หมู่ที่ทำหน้าที่ (Functional groups)	ความเข้มของสเปกตรัม (Intensity)
3600-2500	O-H stretching	Broad, strong
3000-2800	C-H stretching, symmetric, asymmetric	Sharp, occasionally double overlapping with O-H
1760-1730	C=O, esterified	Strong
1630-1600	COO-asymmetric stretching	Strong
1400	COO-symmetric stretching	Weak
1380	C-H bending	Weak
1300-1000	C=O stretching	Weak
1200-900	Finger print of carbohydrates	Strong
830-500	CCO, COC, symmetrical and asymmetrical ring breathing vibration	Weak

ดัดแปลงจาก Kačuráková *et al.*, 1999 และ Fillippov, 1992



(a)



(b)

ภาพที่ 12 สเปกตรัม FT-IR ของสารสกัดจากไผ่ย่านาง และไซเลน

(a) Full FT-IR spectrum

(b) Expanded FT-IR spectrum

3.2 Methylation analysis

สารสกัดประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์ที่สกัดได้จากไผ่ย่านาง และผ่านการทำให้บริสุทธิ์ด้วยเยื่อบาง นำมาทำการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและโครงสร้างด้วยวิธีเมธิลเลชั่น ตารางที่ 5 แสดงองค์ประกอบของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวของสารสกัดจากไผ่ย่านางทั้งก่อนและหลังการทำให้บริสุทธิ์ (crude และ purified extract) พบว่าสารสกัดประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์ที่สกัดได้จากไผ่ย่านาง และผ่านการทำให้บริสุทธิ์จะมีปริมาณน้ำตาลไซโรส มากขึ้น และมีปริมาณน้ำตาลแรมโนส อะราบินอส กาแลคโตส และกลูโคส ลดลง จากนั้นนำสารสกัดที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์มาหาโครงสร้างหรือรูปแบบพันธะของโมเลกุลในโครงสร้าง ผลที่ได้ดังตารางที่ 6 พบว่าประกอบด้วย Terminal Araf, Terminal Xylp, 1,3- linked Xylp และ 1,4- linked Xylp และมีกิ่งก้านจำนวนเล็กน้อยของ 1,3,5- Araf, 1,2,3- Xylp, 1,2,4- linked Galp, 1,2,3- linked Galp และ 1,3,6-linked Glup รูปแบบพันธะหลักของโมเลกุลในโครงสร้างสารสกัดประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์ที่สกัดได้จากไผ่ย่านางแสดงดังภาพที่ 14 พบว่าจากการวิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี (Gas chromatography; GC) จะมีพีคหลักอยู่สามพีค และเมื่อวิเคราะห์ด้วยแมสสเปกโตรมิเตอร์ (Mass spectrometer; MS) โดยเปรียบเทียบแมสสเปกตรัม (mass spectrum) ที่ได้กับเอกสารอ้างอิงจะทราบถึงรูปแบบการแตกตัวของไอออน (Biermann & McGinnis, 1989)

ภาพที่ 14 (a) แสดงถึง 2,3,4-ไตรเมธิลเพนทิทอล โดยประกอบด้วยการแตกตัวของไอออนแบบ “doublet” เนื่องจากการรีดักซ์ของ permethylated sugar ด้วย NaBD₄ เกิดแบบไม่สมมาตร ทำให้อัตราส่วนของมวลต่อประจุ (m/z) หลักๆ คือ 101, 102, 117, 118, 116 และ 162 แสดงถึง Terminal Xylp รูปแบบการแตกตัวของไอออนของสารสกัดประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์ที่สกัดได้จากไผ่ย่านางจะประกอบด้วยพันธะ 1→3 และ 1→4- linked xylose ภาพที่ 14 (b) แสดงถึง 3-linked pentopyranose โดยประกอบด้วยการแตกตัวของไอออน m/z 233 และ 234 เช่นเดียวกับ m/z 117 และ 118 ในขณะที่ 4-linked pentopyranose ประกอบด้วยการแตกตัวของไอออน m/z 189, 129 และ 118 ดังภาพที่ 14 (c) โดยการแตกตัวของไอออน m/z 118 แสดงถึงคาร์บอนตำแหน่งที่สองถูกเมทอกซิเลท (methoxylated) และการแตกตัวของไอออน m/z 129 เกิดจากการสูญเสียกรดอะซิติกโดยการเกิด β -elimination ของ m/z 189 จากผลที่ได้สามารถบ่งบอกว่า โครงสร้างสายหลักหลักของสารสกัดประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์ที่สกัดได้จากไผ่ย่านางคือ ไซแลน ที่ประกอบด้วย น้ำตาลไซโรส ที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ 1→3 และ 1→4 ไกลโคซิดิก โดยมีสายกิ่งก้านของน้ำตาลอะราบินอส กาแลคโตส และกลูโคส จำนวนเล็กน้อย

ตารางที่ 5 องค์ประกอบของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (Monosaccharide compositions; relative %) ของสารสกัดจากไบยานาง (crude และ purified extract)

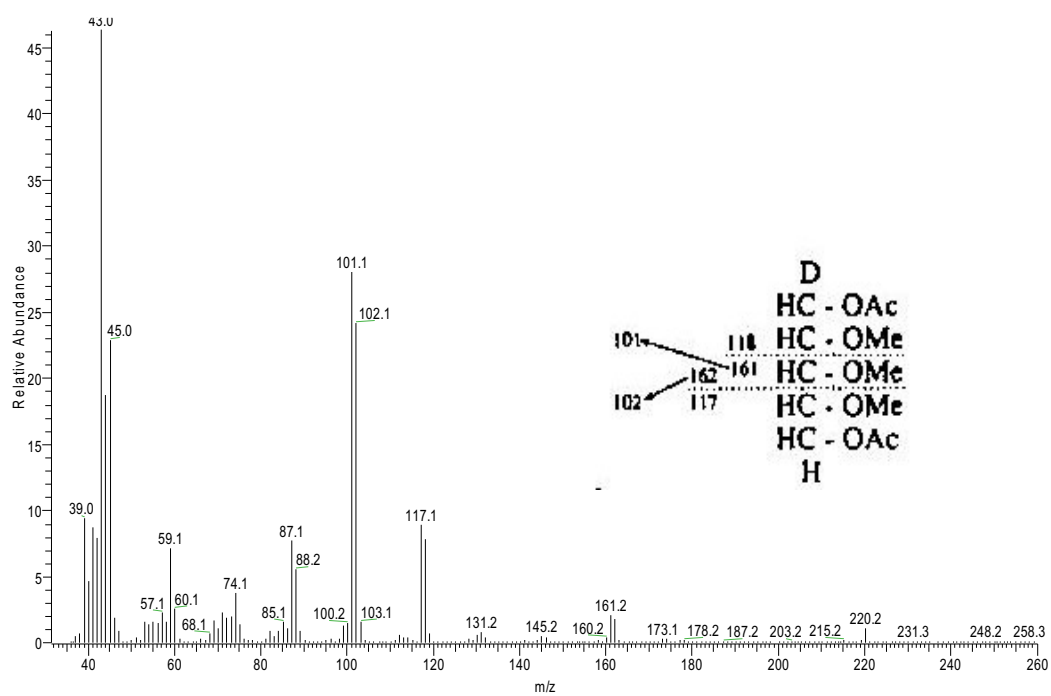
Monosaccharides	Crude extract	Purified extract
Rhamnose	0.530±0.04	0.514±0.03
Arabinose	6.840±0.02	6.379±0.01
Galactose	6.922±0.05	6.052±0.08
Glucose	10.093±0.06	5.084±0.17
Xylose	75.624±1.02	81.972±1.07

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

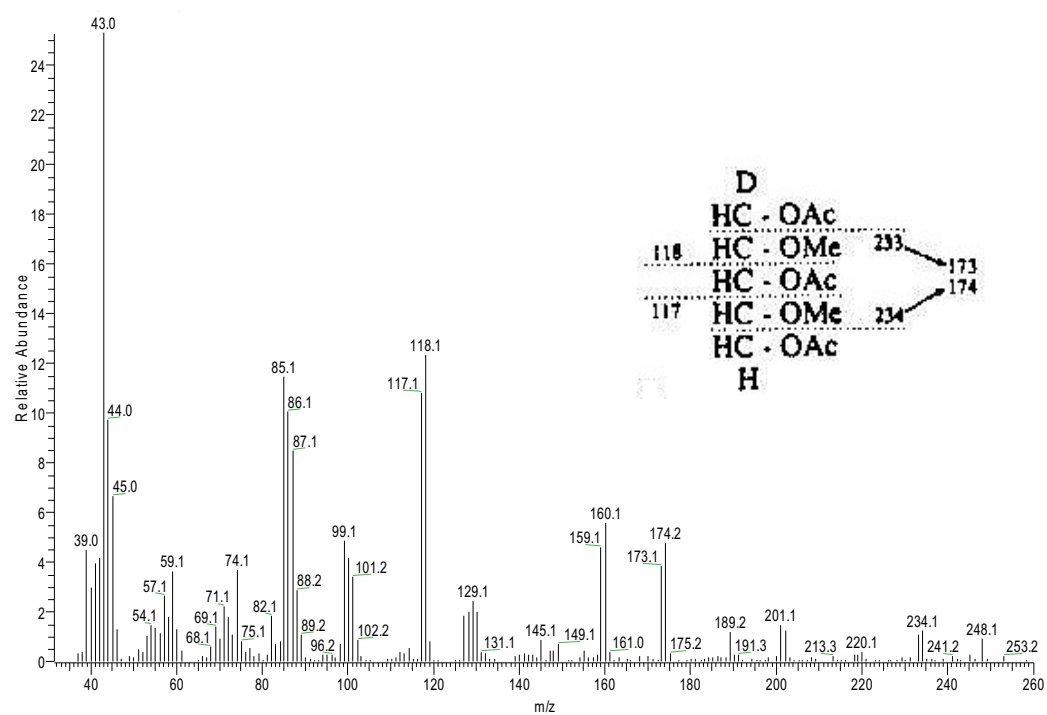
ตารางที่ 6 ส่วนประกอบของพันธะ (relative abundance %) ในสารสกัดจากไบยานาง (purified extract) ด้วยวิธีเมทิลเลชัน (methylation) ร่วมกับ GC-MS partially methylated aditol acetates (PMAA)

Chemical name	Deduced linkage	Relative abundance(%)*
1,4-di-O-acetyl-(1-deuterio)-2,3,5-tri-O-methyl pentitol	Terminal-Araf	5.755
1,3,4,5-tetra-O-acetyl-(1-deuterio)-2-O-methyl pentitol	1,3,5- Araf	0.504
1,5-di-O-acetyl-(1-deuterio)-2,3,4-tri-O-methyl pentitol	Terminal Xylp	14.553
1,3,5-tri-O-acetyl-(1-deuterio)-2,4-di-O-methyl pentitol	1,3- Xylp	21.884
1,4,5-tri-O-acetyl-(1-deuterio)-2,3-di-O-methyl pentitol	1,4- Xylp	49.637
1,2,3,5-tetra-O-acetyl-(1-deuterio)-4-O-methyl pentitol	1,2,3- Xylp	0.549
1,2,4,5-tetra-O-acetyl-(1-deuterio)-3,6-di-O-methyl hexitol	1,2,4- Galp	1.687
1,2,3,5-tetra-O-acetyl-(1-deuterio)-4,6-di-O-methyl hexitol	1,2,3- Galp	3.767
1,3,5,6-tetra-O-acetyl-(1-deuterio)-2,4-di-O-methyl hexitol	1,3,6- Glup	1.663

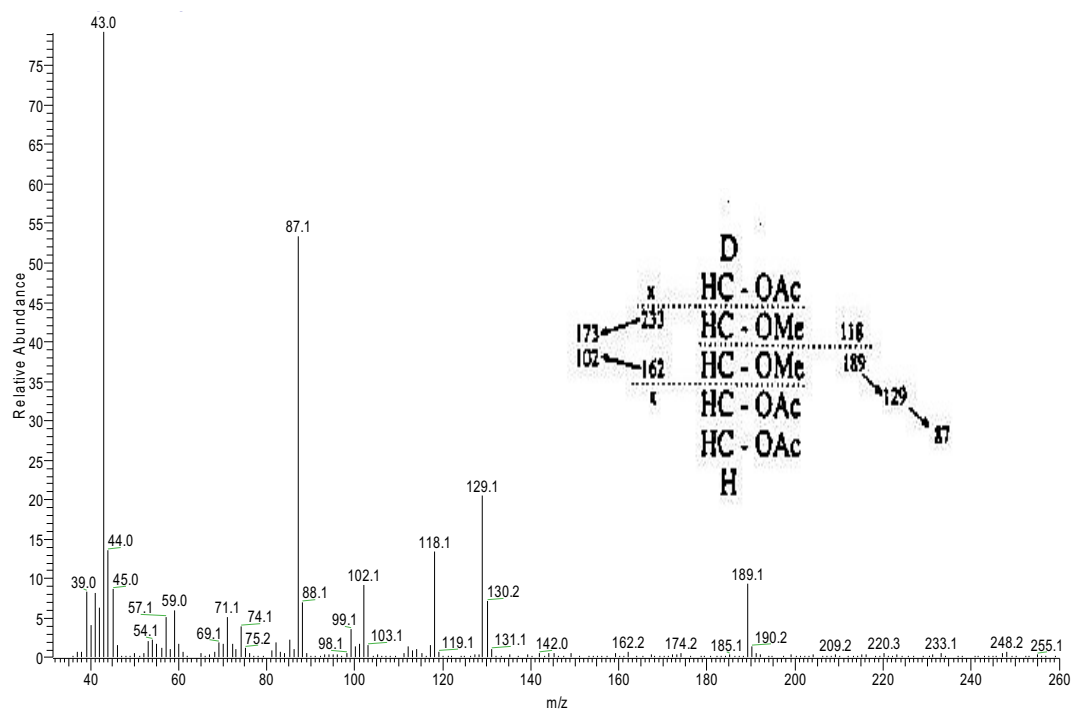
* Relative abundance(%) คำนวณจากอัตราส่วนของพื้นที่ใต้กราฟ



(a)



(b)



(c)

ภาพที่ 14 แมสสเปกตรัม (mass spectrum) ของสารสกัดจากใบย่านาง

(a) แมสสเปกตรัมของ Terminal Xylp

(b) แมสสเปกตรัมของ 1,3- Xylp

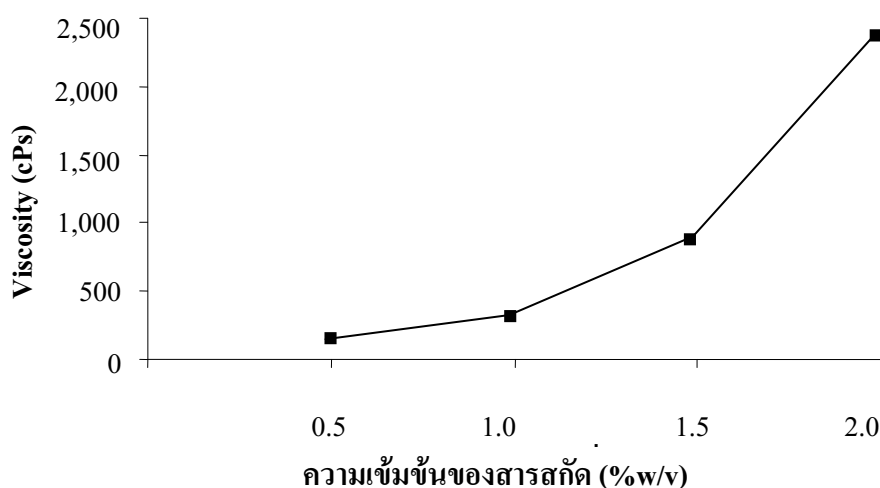
(c) แมสสเปกตรัมของ 1,4- Xylp

4. คุณสมบัติเชิงหน้าที่

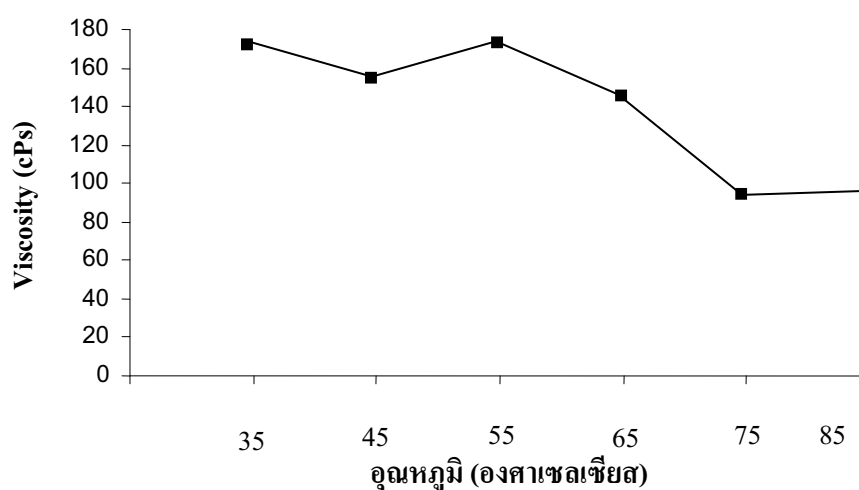
หลังจากที่ได้สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารประเภทกัมที่ได้จากไบยานาง จึงนำสภาวะดังกล่าวมาทำการสกัดสารประเภทกัมเพื่อใช้ในการทดสอบคุณสมบัติด้านความหนืด ความแข็งแรงของเจล และคุณสมบัติด้านกระแสวิทยา

4.1 ความหนืด (viscosity)

จากการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อความหนืดของสารสกัดประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์จากไบยานาง ได้แก่ ความเข้มข้นของสารสกัด อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ความเข้มข้นของ NaCl, CaCl_2 และน้ำตาลซูโครส ได้ผลดังภาพที่ 14-19

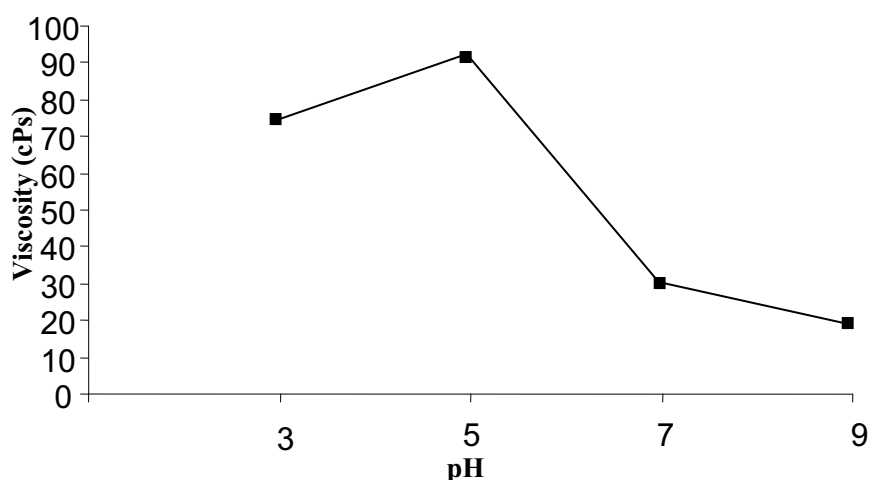


ภาพที่ 14 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดจากไบยานาง ต่อความหนืดที่ความเร็วรอบ 100 rpm และใช้ spindle เบอร์ 2 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 15 ผลของอุณหภูมิต่อความหนืดที่ความเร็วรอบ 100 rpm และ spindle เบอร์ 2 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นของสารสกัด 1%(w/v)

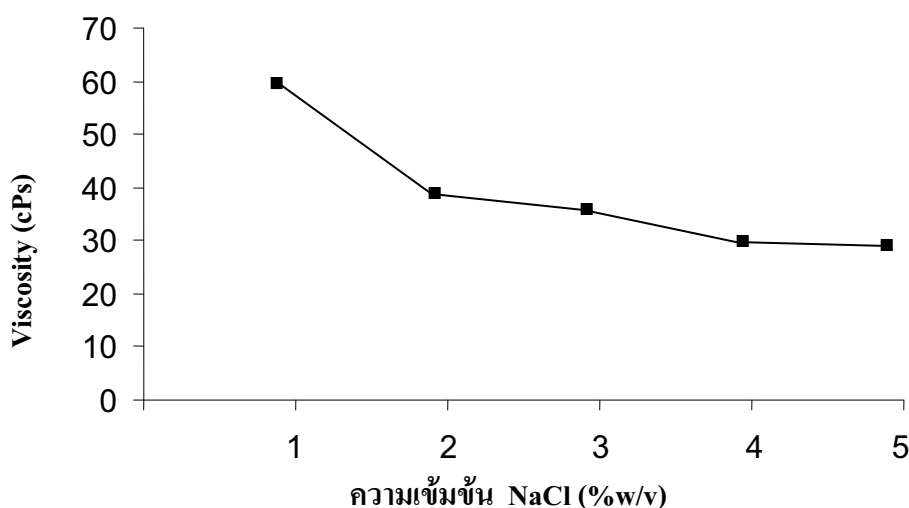
จากการศึกษาผลของความเข้มข้นของสารสกัดประเภทกัมจากไบบานางต่อความหนืด ภาพที่ 14 โดยศึกษาที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 พบว่าเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์จากไบบานางเพิ่มขึ้น ทำให้ความหนืดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5-1.5 ทำให้ความหนืดเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ แต่เมื่อความเข้มข้นมากกว่าร้อยละ 1.5 ความหนืดจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว เมื่อพิจารณาจากกราฟจะเห็นว่ามีความชันมากกว่าช่วงความเข้มข้นแรกๆ เนื่องจากเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์จากไบบานางเพิ่มมากขึ้นทำให้ความสามารถจับกับน้ำได้มากขึ้น ทำให้มีปริมาณน้ำที่ลดลงเป็นผลทำให้ความหนืดเพิ่มขึ้น ภาพที่ 15 แสดงผลของอุณหภูมิต่อความหนืดของสารสกัดประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์จากไบบานางโดยศึกษาที่ระดับอุณหภูมิ 35, 45, 55, 65, 75 และ 85 องศาเซลเซียสพบว่าการเพิ่มอุณหภูมิมีผลทำให้ความหนืดลดลงอย่างช้าๆ ($p \leq 0.05$) โดยที่อุณหภูมิช่วง 35 – 55 องศาเซลเซียสความหนืดจะลดลงอย่างช้าๆ และเมื่ออุณหภูมิมากกว่า 65 องศาเซลเซียส ความหนืดจะลดลงอย่างเห็นได้ชัด เนื่องจากการวัดความหนืดที่อุณหภูมิสูงความร้อนจะทำให้โครงสร้างของเจลเกิดการขยายตัว สารสกัดประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์จับกันได้น้อยลงส่งผลให้ความหนืดลดลง



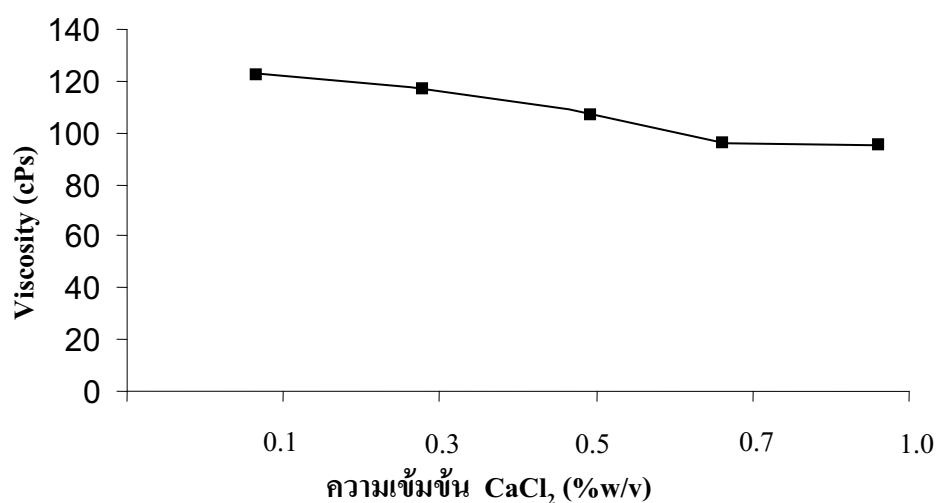
ภาพที่ 16 ผลของ pH ต่อความหนืดที่ความเร็วรอบ 100 rpm และ spindle เบอร์ 2 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นของสารสกัด 1%(w/v)

จากการศึกษาผลของ pH ต่อความหนืดของสารสกัดประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์จากไบบานาง (ภาพที่ 16) โดยศึกษาที่ pH 3, 5, 7 และ 9 พบว่า ความเป็นกรด-ด่าง (pH) มีผลต่อความหนืดของสารสกัดประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์จากไบบานาง ($p \leq 0.05$) โดยที่เมื่อ pH มากกว่า 3 จะทำให้ความหนืดเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจนถึงระดับ pH 5 จะให้ความหนืดสูงสุดและเมื่อ pH มากกว่า 5 ความหนืดจะลดลง อาจเกิดจาก $[OH^-]$ จะไปลดพันธะไฮโดรเจนภายในและระหว่างโมเลกุลของสารสกัดประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์ ซึ่งเป็นไปได้ที่จะทำให้มีการ

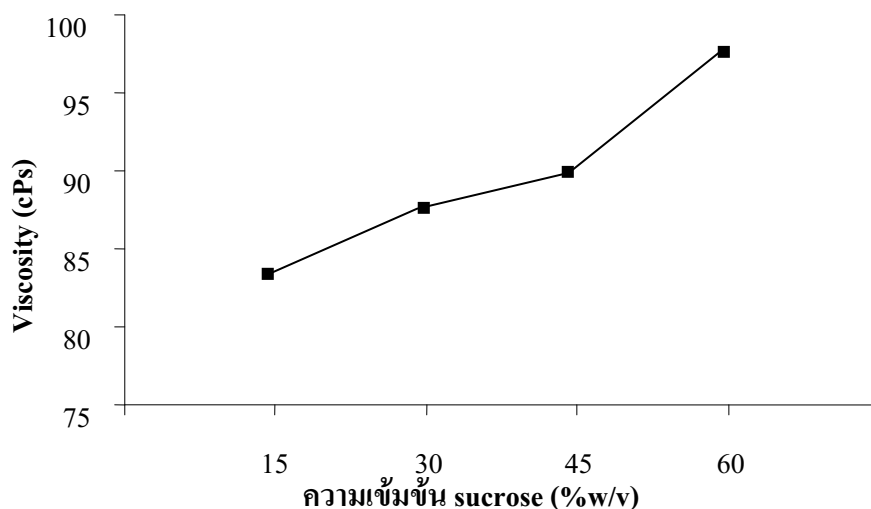
ขยายตัวของโมเลกุลได้เพียงเล็กน้อยในสารละลายที่เป็นเบส เพราะว่าพันธะระหว่างน้ำกับโมเลกุลของสารสกัดประเภทนี้มีเพียงเล็กน้อย แรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลมีน้อยลงส่งผลให้ความหนืดลดลง



ภาพที่ 17 ผลของ NaCl ต่อความหนืดที่ความเร็วรอบ 100 rpm และ spindle เบอร์ 2 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นของสารสกัด 1%(w/v)



ภาพที่ 18 ผลของ CaCl₂ ต่อความหนืดที่ความเร็วรอบ 100 rpm และ spindle เบอร์ 2 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นของสารสกัด 1%(w/v)

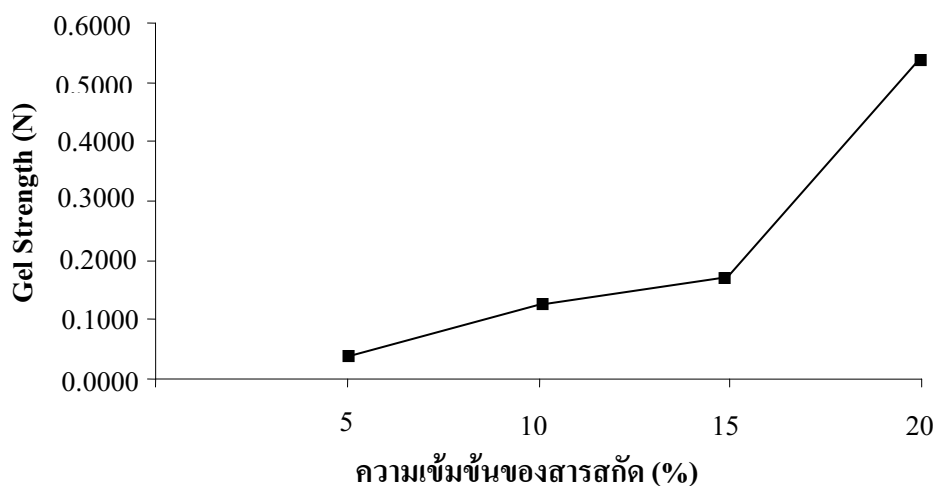


ภาพที่ 19 ผลของน้ำตาลซูโครสต่อความหนืดที่ความเร็วรอบ 100 rpm และ spindle เบอร์ 2 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นของสารสกัด 1%(w/v)

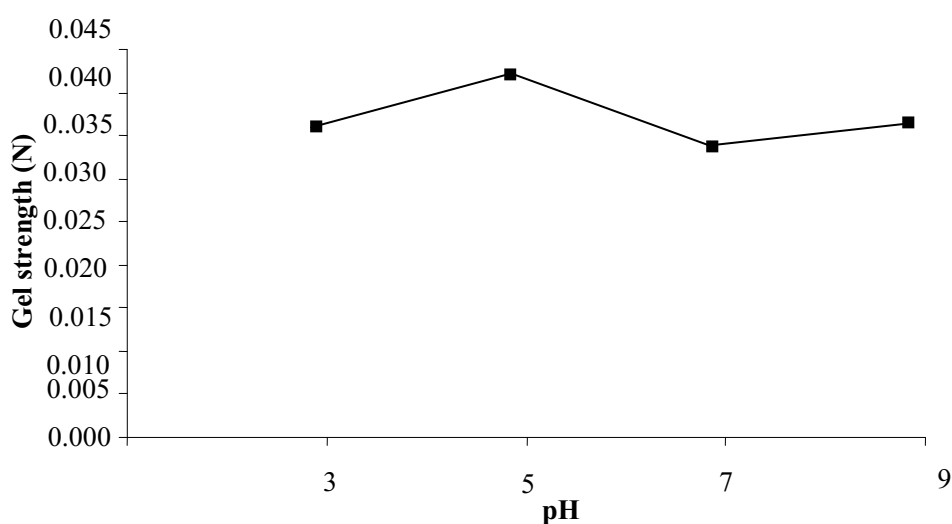
จากการศึกษาผลของเกลือ NaCl, CaCl_2 และ น้ำตาล Sucrose ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อค่าความหนืดของสารสกัดประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์จากไผ่ย่านาง พบว่า การเติม NaCl ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1, 2, 3, 4 และ 5 ส่งผลให้ความหนืดลดลง ($P \leq 0.5$) ดังแสดงในภาพที่ 17 ซึ่งไอออน Na^+ เกิดการผลักรันของตัวมันเองเนื่องจาก NaCl ที่เติมลงไปไม่สามารถแย่งจับกับน้ำแทนสารสกัดประเภทกัมได้หมดซึ่งเป็นผลทำให้ความหนืดลดลง และการเติม CaCl_2 ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.1, 0.3, 0.5, 0.7 และ 1.0 ก็ให้ผลเหมือนกับการเติม NaCl คือ ให้ค่าความหนืดลดลงเมื่อเพิ่มปริมาณความเข้มข้นของ CaCl_2 ดังภาพที่ 18 ดังนั้นอัตราการดูดน้ำของสารสกัดประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์จากไผ่ย่านางจะลดลงเรื่อยๆ เมื่อมีเกลืออยู่ในการละลาย ส่วนผลของน้ำตาล Sucrose ต่อความหนืดของสารสกัดประเภทกัมจากไผ่ย่านางโดยใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลทรายร้อยละ 15, 30, 45 และ 60 (ภาพที่ 19) พบว่า ความเข้มข้นของน้ำตาลมีผลต่อความหนืด โดยเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลจะทำให้ความหนืดของสารสกัดประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์จากไผ่ย่านางเพิ่มขึ้น เนื่องจากการเติมน้ำตาลทำให้มีปริมาณของแข็งมากขึ้นช่วยในการจับกับน้ำและสารสกัดประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์ ส่งผลให้ความหนืดเพิ่มขึ้น

4.2 ความแข็งแรงของเจล (Gel strength)

จากการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อค่าความแข็งแรงของเจล (Gel strength) ของสารสกัดประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์ที่ได้จากไยย่านาง ได้แก่ ผลของความเข้มข้น, ความเป็นกรด-ด่าง (pH), NaCl, CaCl_2 และ น้ำตาลSucrose พบว่าให้ผลดังภาพที่ 20-24



ภาพที่ 20 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดจากไยย่านางที่ระดับความเข้มข้น 5, 10, 15 และ 20 % (w/v) ต่อค่าความแข็งแรงของเจล (Gel strength) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ใช้หัววัด Cylinder probe ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.8 เซนติเมตร ระยะกด 0.6 mm และ Post Speed 20 mm/s

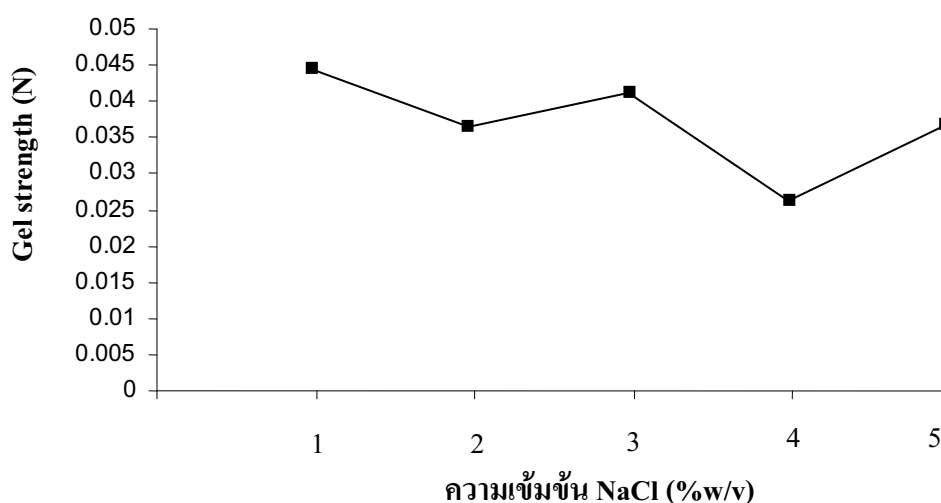


ภาพที่ 21 ผลของ pH ต่อค่าความแข็งแรงของเจลจากสารสกัดจากไยย่านาง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ใช้หัววัด cylinder probe ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.8 เซนติเมตร ระยะกด 0.6 mm และ Post Speed 20 mm/s

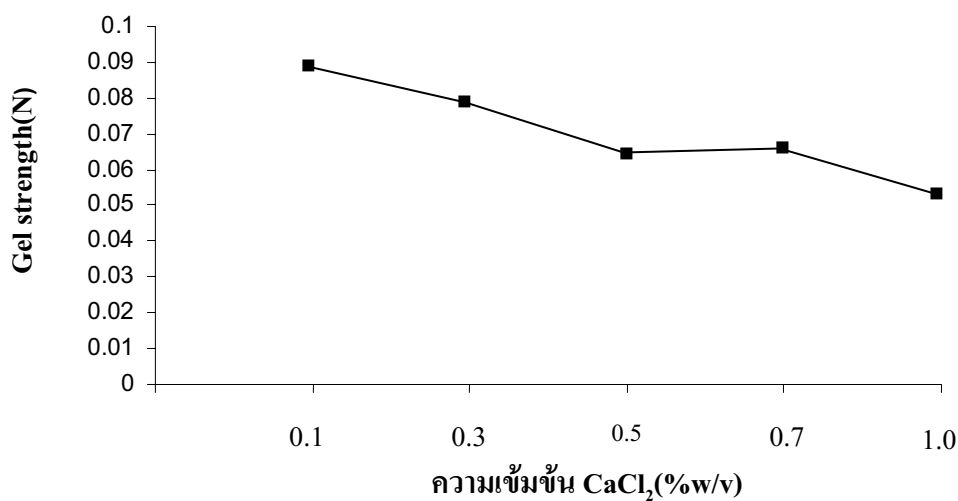
หมายเหตุ : ใช้ความเข้มข้นของสารสกัดจากไยย่านาง 5 % (w/v)

ผลของความเข้มข้นต่อค่าความแข็งแรงของเจล (Gel strength) ของสารสกัดประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์จากไผ่ย่านาง โดยศึกษาที่ความเข้มข้นร้อยละ 5, 10, 15 และ 20 พบว่าความเข้มข้นของสารสกัดประเภทกัมร้อยละ 5 จะให้ค่า Gel strength ต่ำที่สุด และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นขึ้นค่า Gel strength จะเพิ่มขึ้นโดยที่ความเข้มข้นร้อยละ 15 - 20 จะให้ค่า Gel strength เพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด โดยเฉพาะที่ความเข้มข้นร้อยละ 20 จะให้ค่าความแข็งแรงของเจลมากที่สุด เนื่องจากเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดประเภทกัมจะทำให้ความสามารถในการจับกับน้ำได้มากขึ้นซึ่งทำให้มีปริมาณน้ำที่ลดลงเป็นผลทำให้มีค่า Gel strength เพิ่มขึ้น ดังภาพที่ 20

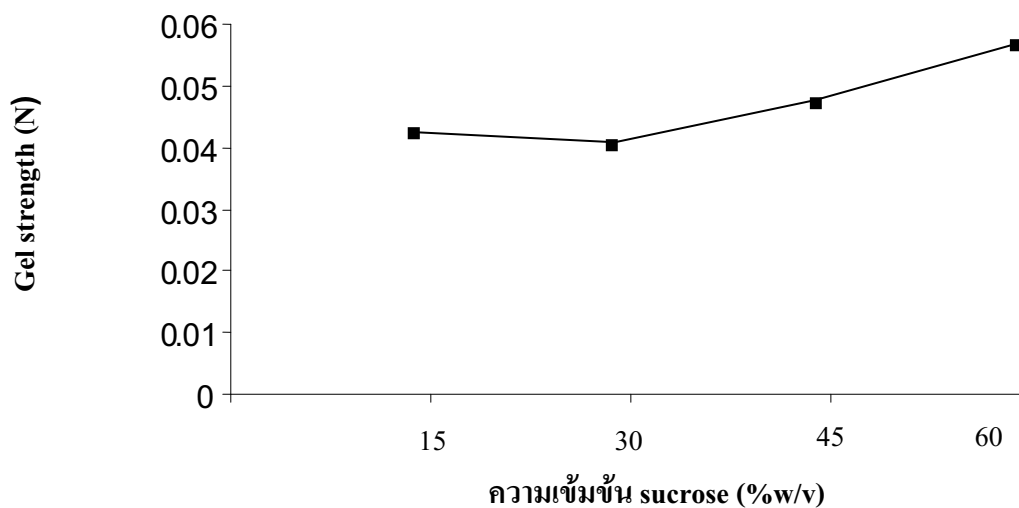
จากการศึกษาผลของ pH ต่อค่า Gel strength ของสารสกัดประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์จากไผ่ย่านาง (ภาพที่ 21) โดยศึกษาที่ pH 3, 5, 7 และ 9 พบว่า pH มีผลต่อค่า Gel strength โดยที่เมื่อ pH มากกว่า 3 จะทำให้เจลมีค่า Gel strength เพิ่มขึ้นจนถึงระดับ pH ที่ 5 จะให้เจลมีค่า Gel strength สูงสุด แต่เมื่อ pH มากกว่า 5 ค่า Gel strength ของเจลจะลดลง ซึ่งสามารถอธิบายได้ในทำนองเดียวกันกับผลต่อความหนืด



ภาพที่ 22 ผลของ NaCl ต่อค่าความแข็งแรงของเจลจากสารสกัดจากไผ่ย่านาง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ใช้หัววัด cylinder probe ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.8 เซนติเมตร ระยะกด 0.6 mm และ Post Speed 20 mm/s
หมายเหตุ : ใช้ความเข้มข้นของสารสกัดจากไผ่ย่านาง 5 % (w/v)



ภาพที่ 23 ผลของ CaCl_2 ต่อค่าความแข็งแรงของเจลจากสารสกัดจากไผ่ย่านาง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ใช้หัวกด cylinder probe ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.8 เซนติเมตร ระยะกด 0.6 mm และ Post Speed 20 mm/s
หมายเหตุ : ใช้ความเข้มข้นของสารสกัดจากไผ่ย่านาง 5 % (w/v)



ภาพที่ 24 ผลของน้ำตาลซูโครสต่อค่าความแข็งแรงของเจลจากสารสกัดจากไผ่ย่านาง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ใช้หัวกด cylinder probe ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.8 เซนติเมตร ระยะกด 0.6 mm และ Post Speed 20 mm/s
หมายเหตุ : ใช้ความเข้มข้นของสารสกัดจากไผ่ย่านาง 5 % (w/v)

จากการศึกษาผลของ NaCl, CaCl_2 และน้ำตาล Sucrose ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อความแข็งแรงของสารสกัดประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์จากไผ่ย่านางพบว่า การเติม NaCl ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1, 2, 3, 4 และ 5 พบว่าความแข็งแรงของเจลมีทั้งเพิ่มและลดแต่ส่วนใหญ่จะมีแนวโน้มลดลง เนื่องจากไอออนของ Na^+ เกิดการผลักรันเนื่องจากไปแย่งจับกับน้ำแทนที่สารสกัดประเภทกัมไม่หมด จึงเกิดการจับกับตัวมันเองส่งผลให้ค่าความแข็งแรงของเจลลดลง ดังภาพที่ 22

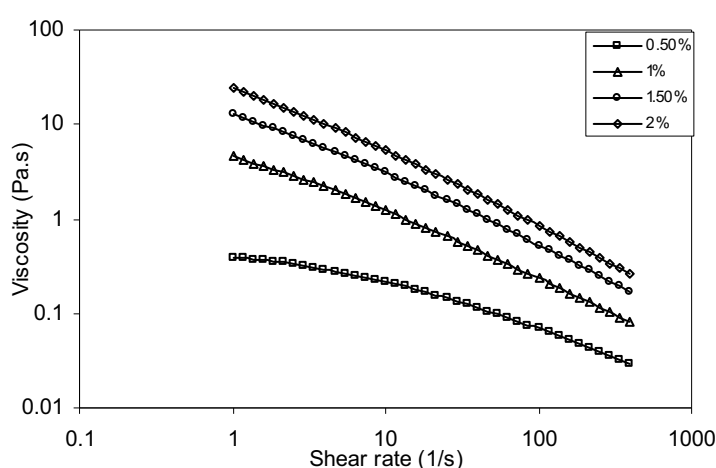
การเติม CaCl_2 ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.1, 0.3, 0.5, 0.7 และ 1.0 ดังภาพที่ 23 พบว่าค่าความแข็งแรงของเจลจะลดลงเรื่อยๆ เนื่องจากไอออนของ Ca^{2+} เกิดการผลักรันเนื่องจาก CaCl_2 ที่เติมไม่สามารถแย่งจับกับน้ำแทนที่สารสกัดประเภทกัมได้หมด ส่งผลให้ค่าความแข็งแรงของเจลจากสารสกัดประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์จากไผ่ย่านางลดลง

การเติมน้ำตาล Sucrose ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 15, 30, 45 และ 50 (ภาพที่ 24) พบว่าความแข็งแรงของเจลมีค่าเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เพราะการเติมน้ำตาลทำให้มีปริมาณของแข็งเพิ่มขึ้นและยังช่วยให้น้ำและสารสกัดประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์จับกันได้ดี

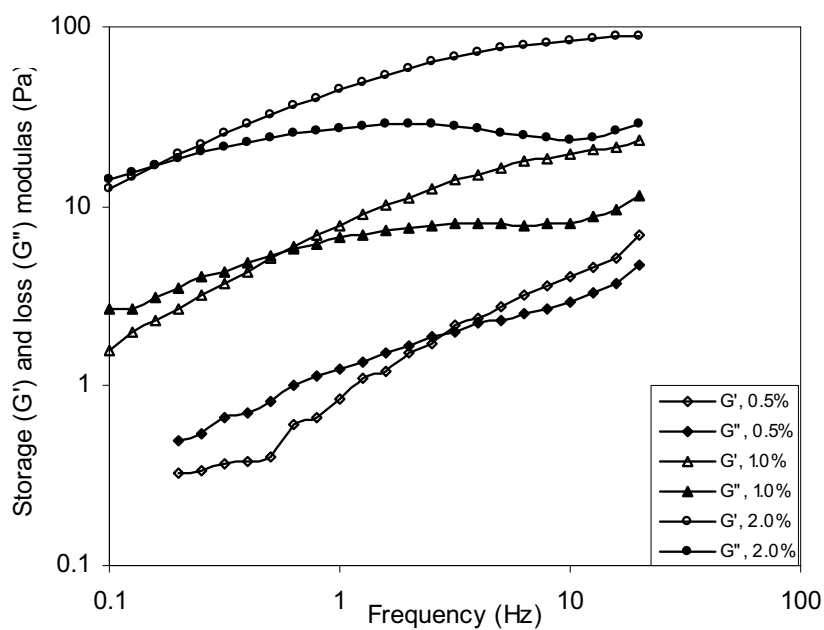
4.3 คุณสมบัติด้านกระแสวิทยา (rheological properties)

ผลของอัตราเจือเจือเจือต่อความหนืดของสารสกัดประเภทกัม หรือไฮโดรคอลลอยด์จากไผ่ย่านางที่ความเข้มข้นระหว่างร้อยละ 0.5-2.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส แสดงดังภาพที่ 25 สารสกัดประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์จากไผ่ย่านางที่ความเข้มข้นสูง ร้อยละ 1.0, 1.5 และ 2.0 จะแสดงพฤติกรรมการไหลเป็นแบบ Shear thinning behavior หมายถึงเมื่ออัตราเฉือนเพิ่มขึ้น ความหนืดมีค่าลดลง ส่วนที่ความเข้มข้นของสารสกัดประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์จากไผ่ย่านางร้อยละ 0.5 จะแสดงพฤติกรรมการไหลแบบ Newtonian behavior ที่อัตราเฉือนต่ำๆ หมายถึงค่าความหนืดไม่ขึ้นอยู่กับอัตราเฉือน ในขณะที่เมื่ออัตราเฉือนเพิ่มขึ้น สารสกัดจะมีพฤติกรรมการไหลเป็นแบบ Shear thinning behavior หมายถึงค่าความหนืดขึ้นอยู่กับอัตราเฉือน โดยอัตราเฉือนเพิ่มขึ้น ความหนืดมีค่าลดลง การเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมการไหลของสารสกัดจากไผ่ย่านางที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน สามารถอธิบายได้ว่าการเพิ่มความเข้มข้นของสารประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์ ทำให้การจัดเรียงตัวของโมเลกุลในสายโพลิเมอร์มีระเบียบมากขึ้น เมื่อให้แรงเฉือนต่อระบบ ทำให้ไปทำลายโครงสร้างที่เป็นระเบียบของสายโพลิเมอร์ ทำให้ความหนืดลดลงเมื่อเพิ่มอัตราเฉือนให้แก่ระบบ (Lapasin & Prici, 1995) สำหรับคุณสมบัติด้านกระแสวิทยาแบบพลศาสตร์ (dynamic หรือ oscillatory rheological behavior) ของสารสกัดประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์จากไผ่ย่านาง แสดงดังภาพที่ 26 ค่าการสูญเสียโมดูลัส (loss modulus; G'') จะมากกว่าค่าโมดูลัสสะสม (storage modulus; G') ที่ความถี่ (frequencies) ต่ำๆ ส่วนที่ความถี่เพิ่มขึ้น ค่าโมดูลัสที่ได้จะตรงกันข้าม โดยค่า G' จะมากกว่าค่า G'' สำหรับทุกความเข้มข้น อย่างไรก็ตามจะพบจุดตัด (cross-over) ของค่า G'

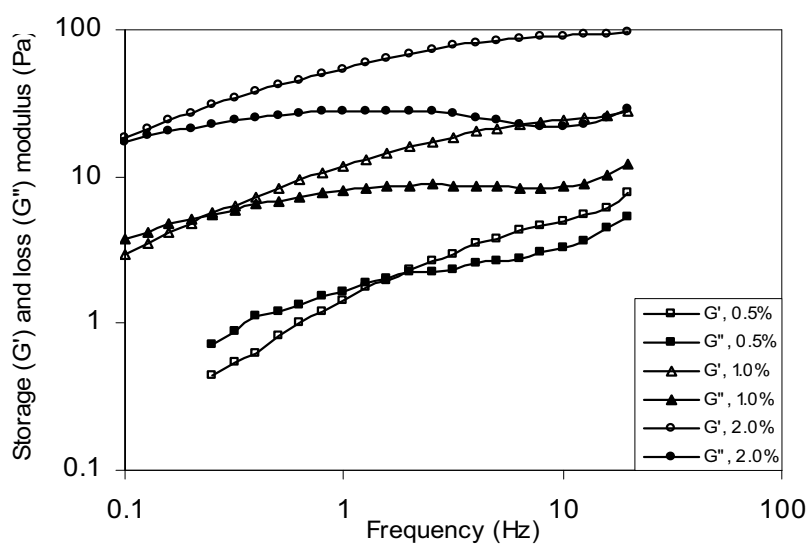
และ G'' ที่ความถี่ 2.5, 0.5 และ 0.15 เฮิร์ต (Hz) สำหรับความเข้มข้นของสารสกัดจากไบยานางร้อยละ 0.5, 1.0 และ 2.0 ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และพบจุดตัดที่ความถี่ 1.5, 0.25 และ 0.1 Hz สำหรับความเข้มข้นของสารสกัดจากไบยานางร้อยละ 0.5, 1.0 และ 2.0 ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส จุดตัดของค่า G' และ G'' ที่ความถี่แตกต่างกัน เป็นตัวชี้บ่งที่ดีถึงคุณสมบัติของสารว่ามีพฤติกรรมเป็นแบบของแข็ง (elastic) หรือของเหลว (viscous) ที่เรียกว่า viscoelastic behavior โดยค่าจุดตัดที่ความถี่ต่ำ บ่งบอกถึงสารนั้นมีพฤติกรรมคล้ายกับของแข็ง (Brito, Sierakowski, Reicher, Feitosa, & Paula, 2005) ค่าโมดูลัสของสารสกัดจากไบยานางที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส มีค่าสูงกว่าที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส แต่ลักษณะของกราฟที่ได้เป็นไปในทิศทางเดียวกัน นอกจากนั้นเมื่อค่าความเข้มข้นของสารสกัดจากไบยานางเพิ่มขึ้น ค่า G' เพิ่มขึ้น และมีค่ามากกว่าค่า G'' แสดงให้เห็นถึงเมื่อความเข้มข้นมากขึ้น โครงร่างของสายโพลิเมอร์มีการจัดเรียงตัวเป็นระเบียบมากขึ้น ซึ่งเป็นตัวชี้บ่งถึงคุณสมบัติของสารว่ามีพฤติกรรมเป็นแบบของแข็ง รวมทั้งสามารถอธิบายการจัดเรียงตัวของโครงสร้างที่เป็นระเบียบเนื่องจากการเพิ่มจำนวนและขนาดของ junction zone (Clark & Ross-Murphy, 1987) คุณสมบัติด้านกระแสวิกขยาแบบพลศาสตร์ของสารสกัดประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์จากไบยานาง นอกจากจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารสกัด ยังขึ้นอยู่กับอุณหภูมิอีกด้วย โดยที่ความเข้มข้นของสารสกัดจากไบยานางสูง จะให้ค่าโมดูลัสที่สูงขึ้น เช่นเดียวกับผลของอัตราเฉือนต่อความหนืด (steady shear flow) ดังที่กล่าวมาข้างต้น ที่ความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มขึ้น ค่าความหนืดเพิ่มขึ้น รวมทั้งค่าโมดูลัสเพิ่มขึ้น เมื่อลดอุณหภูมิ โดยที่อุณหภูมิต่ำ ค่าจุดตัดจะมีค่าความถี่ต่ำกว่าที่อุณหภูมิสูง แสดงให้เห็นถึงคุณสมบัติของสารสกัดมีพฤติกรรมคล้ายของแข็งที่อุณหภูมิต่ำมากกว่าที่อุณหภูมิสูง



ภาพที่ 25 พฤติกรรมการไหล (Steady shear flow) ของสารสกัดประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์ ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส



(a)



(b)

ภาพที่ 26

ผลของความถี่ (Frequency dependence) ต่อค่า storage (G') และ loss (G'') modulus ของสารสกัดประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์ที่มีความเข้มข้นต่างกัน
(a) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (b) ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส

5. การประยุกต์ใช้ในอาหาร (ผลิตภัณฑ์ไอศกรีม)

5.1 %Overrun

ค่า %Overrun คือ การอัดอากาศเข้าไปในส่วนผสมจนทำให้แข็ง ทำให้ปริมาณของไอศกรีมเพิ่มขึ้น เรียกว่า โอเวอร์รัน (Overrun) ซึ่งโดยปกติแล้วเราจะเพิ่มปริมาณของไอศกรีม 2-3 เท่าของส่วนผสม ค่า overrun มักแสดงออกมาเป็น % ของปริมาณที่เพิ่มขึ้นจากปริมาณของส่วนผสม ซึ่งมีสูตรการคำนวณ (Marshall, 2003) ดังนี้

$$\%Overrun = \frac{(\text{ปริมาณของไอศกรีม} - \text{ปริมาณของส่วนผสม})}{\text{ปริมาณของส่วนผสม}} \times 100$$

จากตารางที่ 7 การวิเคราะห์ค่า % Overrun โดยใช้คาราจีแนนและสารสกัดประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์จากไบยานางเป็นสารให้ความคงตัวในไอศกรีมช็อกโกแลต พบว่าสารสกัดจากไบยานางที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.50 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) กับคาราจีแนนที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.25%, 0.50, 0.75% และ 1.00 และกับสารสกัดจากไบยานางที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.25%, 0.75% และ 1.00%

ดังนั้นค่า %Overrun ที่มีค่าสูงที่สุด คือ การใช้สารสกัดจากไบยานางเป็นสารให้ความคงตัวที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.50 และค่า %Overrun ที่มีค่าต่ำที่สุด คือ การใช้คาราจีแนนเป็นสารให้ความคงตัวที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.25

เมื่อนำค่า %Overrun ที่ได้จากการทดลองมาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ %Overrun ระหว่างการใช้สารสกัดจากไบยานางและคาราจีแนนเป็นสารให้ความคงตัว ดังภาพที่ 27 จะเห็นว่าไอศกรีมที่ใช้สารสกัดจากไบยานางเป็นสารให้ความคงตัวจะมีค่า %Overrun ที่สูงกว่าการใช้คาราจีแนน ยกเว้นที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.75 ซึ่งการใช้สารให้ความคงตัวปริมาณร้อยละ 0.50 จะมีความแตกต่างอย่างเห็นได้ชัด การใช้สารสกัดจากไบยานางเป็นสารให้ความคงตัว เมื่อปริมาณสารสกัดจากไบยานางเพิ่มขึ้น ค่า %Overrun จะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นที่ปริมาณร้อยละ 0.50 และลดลงเมื่อปริมาณเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 0.75 สำหรับการใช้คาราจีแนนเป็นสารให้ความคงตัว พบว่าเมื่อปริมาณคาราจีแนนเพิ่มขึ้น ค่า %Overrun มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.50 และลดลงที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.75 และ 1.00 โดยมีค่า %Overrun ไปในทางเดียวกัน แต่สารสกัดจากไบยานางยังคงมีค่า %Overrun สูงกว่าคาราจีแนนอยู่ทุกระดับปริมาณ ยกเว้นที่ปริมาณร้อยละ 0.75

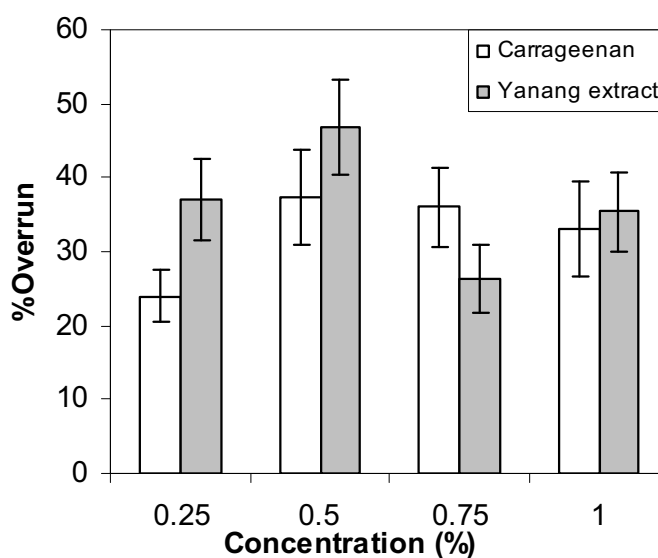
ข้อดีของการใส่สารให้ความคงตัวในไอศกรีมคือ ปรับปรุงเนื้อสัมผัสของไอศกรีม ทำให้ไอศกรีมขึ้นฟูมากขึ้นโดยมีฟองอากาศขนาดเล็กละเอียดแทรกในเนื้อ ทั้งนี้ต้องขึ้นกับการเลือกชนิดของสารให้ความคงตัวที่เหมาะสมในปริมาณที่เหมาะสมด้วย หากใช้สารให้ความคงตัวมากเกินไป อาจจะทำให้ไอศกรีมมีเนื้อสัมผัสที่ไม่ต้องการ เช่น เหนียวหนืดมากเกินไป, ละลายช้าหรือไม่ละลาย, เนื้อแน่นเกินไป และขึ้นฟูต่ำ เป็นต้น (Marshall, 2003)

ตารางที่ 7 ผลการวิเคราะห์ค่า %Overrun จากการใช้โปรแกรม SPSS

สารให้ความคงตัว	ปริมาณที่เติม (%)	Mean $\pm$ Std. Deviation
คาราจีแนน	0.25	24.00 $\pm$ 3.464 ^d
	0.50	37.33 $\pm$ 6.429 ^b
	0.75	36.10 $\pm$ 5.351 ^b
	1.00	33.00 $\pm$ 6.557 ^c
สารสกัดจากไอย่านาง	0.25	36.96 $\pm$ 5.493 ^b
	0.50	46.81 $\pm$ 6.453 ^a
	0.75	26.32 $\pm$ 4.651 ^d
	1.00	35.42 $\pm$ 5.312 ^b

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

a, b, c, d หมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ในแนวดิ่ง



ภาพที่ 27 กราฟแสดงความสัมพันธ์ค่า %Overrun ระหว่างการใช้คาราจีแนนและสารสกัดจากไอย่านางเป็นสารให้ความคงตัวในไอศกรีมช็อกโกแลต

5.2 ค่าความหนืด

จากตารางที่ 8 การวิเคราะห์ค่าความหนืดจากการใช้คาราจีแนนและสารสกัดจากไอย่านางเป็นสารให้ความคงตัวในไอศกรีมช็อกโกแลต พบว่าคาราจีแนนที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.00

มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) กับคาราจีแนนที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.25, 0.05 และ 0.75 และกับสารสกัดจากไบยานางที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.25, 0.50, 0.75 และ 1.00 ดังนั้นค่าความหนืดที่มีค่าสูงที่สุด คือ การใช้คาราจีแนนเป็นสารให้ความคงตัวที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.00 และค่าความหนืดที่มีค่าต่ำที่สุด คือ การใช้สารสกัดจากไบยานางเป็นสารให้ความคงตัวที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.25

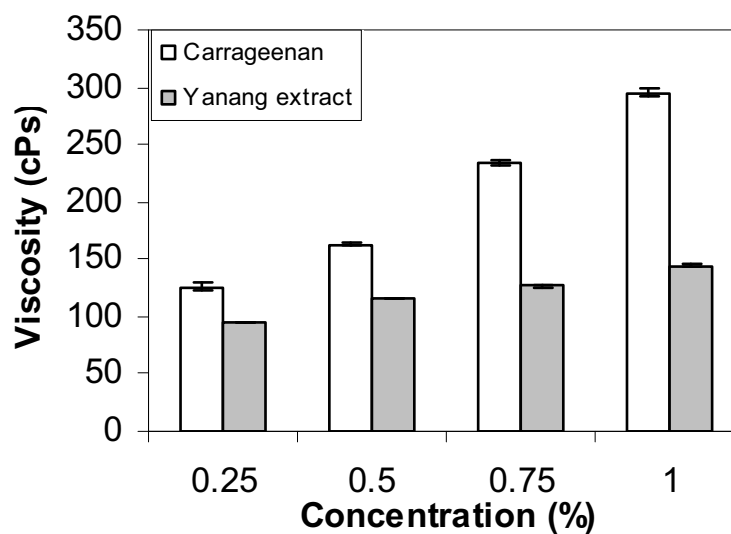
เมื่อนำค่าความหนืดที่ได้จากการทดลองมาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ของค่าความหนืดระหว่างการใช้คาราจีแนนและสารสกัดจากไบยานางเป็นสารให้ความคงตัว ดังภาพที่ 28 จะเห็นว่าไฮดรอกซีคอกแล็ตที่ใช้คาราจีแนนเป็นสารให้ความคงตัวจะมีค่าความหนืดที่สูงกว่าการใช้สารสกัดจากไบยานาง การใช้สารให้ความคงตัวทั้ง 2 ชนิด เมื่อปริมาณเพิ่มขึ้น จะให้ค่าความหนืดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ส่วนสารให้ความคงตัวปริมาณร้อยละ 0.75 และ 1.00 จะมีค่าความหนืดที่ต่างกันมาก โดยไฮดรอกซีคอกแล็ตที่ใช้คาราจีแนนเป็นสารให้ความคงตัวจะมีความหนืดสูงกว่าการใช้สารสกัดจากไบยานางประมาณ 2 เท่า

ตารางที่ 8 ผลการวิเคราะห์ค่าความหนืด จากการใช้โปรแกรม SPSS

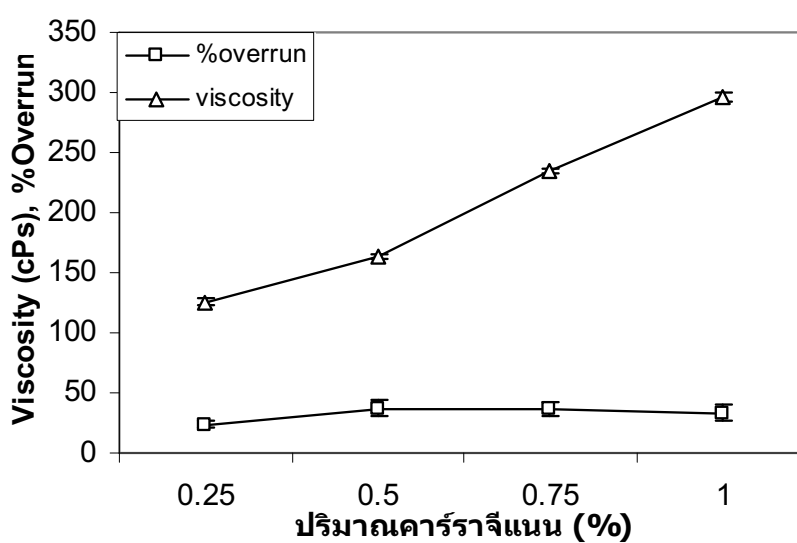
สารให้ความคงตัว	ปริมาณที่เติม (%) w/v	Mean $\pm$ Std. Deviation
คาราจีแนน	0.25	125.76 $\pm$ 2.888 ^d
	0.50	162.88 $\pm$ 1.621 ^c
	0.75	234.36 $\pm$ 1.554 ^b
	1.00	295.46 $\pm$ 3.883 ^a
สารสกัดจากไบยานาง	0.25	95.20 $\pm$ 0.273 ^g
	0.50	126.80 $\pm$ 0.693 ^e
	0.75	115.87 $\pm$ 0.611 ^f
	1.00	144.53 $\pm$ 0.611 ^d

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

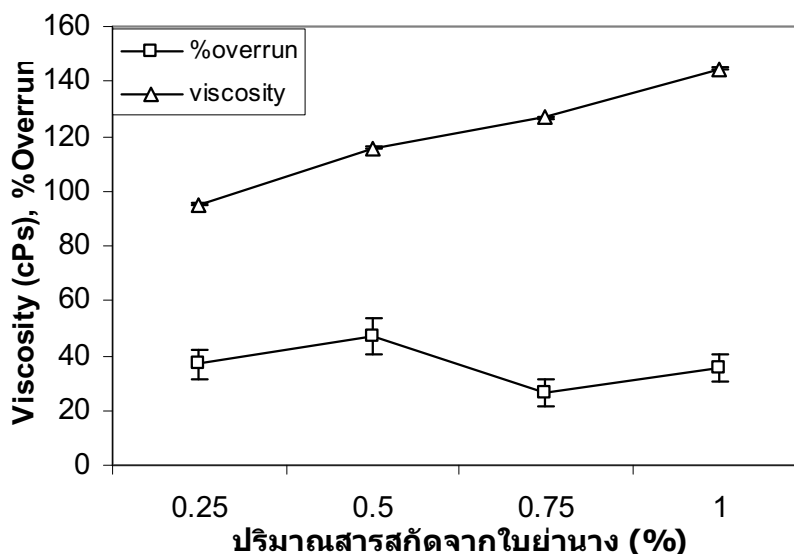
a, b, c, d, e, f, g หมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ในแนวดิ่ง



ภาพที่ 28 กราฟแสดงความสัมพันธ์ค่าความหนืดระหว่างการใช้คาราจีแนนและสารสกัดจากใบย่านางเป็นสารให้ความคงตัวในไอศกรีมช็อกโกแลตโดยใช้หัวเข็มเบอร์ 1 และความเร็วรอบที่ 100 rpm ที่อุณหภูมิห้อง



ภาพที่ 29 กราฟแสดงความสัมพันธ์ %Overrun และค่าความหนืดในการใช้คาราจีแนนเป็นสารให้ความคงตัวในไอศกรีมช็อกโกแลต



ภาพที่ 30 กราฟแสดงความสัมพันธ์ %Overrun และค่าความหนืดในการใช้สารสกัดจากใบย่านาง เป็นสารให้ความคงตัวในไอศกรีมช็อกโกแลต

จากภาพที่ 29 การใช้คาราจีแนนเป็นสารให้ความคงตัวในไอศกรีม พบว่าเมื่อปริมาณคาราจีแนนเพิ่มขึ้น ค่าความหนืดจะเพิ่มขึ้นมาก แต่ค่า %Overrun จะเพิ่มขึ้นเล็กน้อยและลดลง เนื่องจากความหนืดสูง จะทำให้การตีปั่น และเกิดฟองอากาศยากขึ้น เพราะฟองอากาศหรือโฟมเป็นก๊าซที่ผสมกระจายตัวอยู่ในของเหลวที่มีความหนืด ดังนั้นฟองอากาศเล็กๆ จะถูกล้อมรอบด้วยฟิล์มบางๆ ของของเหลว จึงทำให้เกิดโฟมขึ้น การเปลี่ยนแปลงแรงตึงผิวจะก่อให้เกิด Make หรือ Break ขึ้นกับโฟมได้ ดังนั้นความหนืดสูงจึงมีแรงตึงผิวมาก ทำให้ไม่เหมาะสมต่อการห่อหุ้มอากาศไว้ได้ สำหรับคาราจีแนนมีความหนืดสูงมาก จึงไม่สามารถห่อหุ้มอากาศไว้ได้ดี ทำให้มีค่า %Overrun ต่ำ

จากภาพที่ 30 การใช้สารสกัดจากใบย่านางเป็นสารให้ความคงตัวในไอศกรีม พบว่าเมื่อปริมาณสารสกัดจากใบย่านางเพิ่มขึ้น ค่าความหนืดจะเพิ่มขึ้นมาก และค่า %Overrun จะเพิ่มขึ้นที่ปริมาณความเข้มข้นร้อยละ 0.50 แล้วลดลง จากการทดลองพบว่าการใช้สารสกัดจากใบย่านางเป็นสารให้ความคงตัวที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.50 จะให้ค่า %Overrun สูงที่สุด แต่มีค่าความหนืดต่ำ เพราะความหนืดในระดับนี้มีความเหมาะสมต่อการขึ้นฟูของโฟม เนื่องจากของเหลวที่มีความหนืดจะมีแรงตึงผิว และที่ความหนืดต่ำจะมีแรงตึงผิวที่ต่ำเช่นกัน จะทำให้ของเหลวมีพื้นที่ผิวเพิ่มขึ้นรอบๆ ฟองอากาศ โดยไม่บีบตัวให้ฟองอากาศแตกเร็วเกินไป ดังนั้นความหนืดที่เหมาะสมที่ทำให้เกิดแรงตึงผิวที่สามารถห่อหุ้มอากาศ และทำให้เกิดโฟมมีความคงตัว คือ การใช้สารให้ความคงตัวจากสารสกัดจากใบย่านางที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.50

5.3 การทดสอบทางประสาทสัมผัส

การทดสอบทางประสาทสัมผัสไอศกรีมช็อคโกแลตที่ใช้คาราจีแนน และสารสกัดจากไบยานางเป็นสารให้ความคงตัว มีการประเมินผลทางประสาทสัมผัส ได้แก่ สี กลิ่น รส เนื้อสัมผัส ลักษณะปรากฏ และความชอบโดยรวม (ตารางที่ 9)

สามารถบอกได้ว่าสารสกัดจากไบยานางที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.00 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) กับคาราจีแนนที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.00 แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq 0.05$) กับคาราจีแนนที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.25, 0.50 และ 1.00 และกับสารสกัดจากไบยานางที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.25, 0.50 และ 0.75

ดังนั้นค่าคะแนนความชอบโดยรวมที่สูงที่สุด คือ การใช้สารสกัดจากไบยานาง หรือคาราจีแนนเป็นสารให้ความคงตัวที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.00 โดยค่าคะแนนทางด้านประสาทสัมผัสของสารสกัดจากไบยานางทุกปัจจัยสูงกว่าคาราจีแนน แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ และค่าคะแนนความชอบโดยรวมที่ต่ำที่สุด คือ การใช้สารสกัดจากไบยานาง หรือคาราจีแนนเป็นสารให้ความคงตัวที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.25

จากตารางที่ 9 แสดงให้เห็นว่าการใช้สารสกัดจากไบยานาง และคาราจีแนนที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.00 เป็นสารให้ความคงตัวในไอศกรีมช็อคโกแลต มีคะแนนความชอบโดยรวมสูงที่สุด เนื่องจากมีคะแนนสี กลิ่น รส เนื้อสัมผัส และลักษณะปรากฏสูง ไอศกรีมช็อคโกแลตที่ได้จากการใช้สารสกัดจากไบยานาง และคาราจีแนนที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.00 นี้ มีค่า %Overrun ต่ำและมีค่าความหนืดสูง ทำให้ไม่ขึ้นฟูเป็นฟองอากาศมากเกินไป จึงมีความรู้สึกแน่นเนื้อและเนียน ดังนั้นผู้บริโภคจึงยอมรับไอศกรีมที่ทำจากสารสกัดจากไบยานาง หรือคาราจีแนนที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.00 มากกว่าการใช้สารสกัดจากไบยานาง หรือคาราจีแนนที่ความเข้มข้นอื่นๆ เนื่องจากเนื้อสัมผัสมีความแน่นเนื้อ และเนียน ไม่เป็นฟองอากาศมาก และไม่เป็เกล็ดน้ำแข็ง ซึ่งจะรู้สึกว่ามีน้ำแข็งเล็กลงและเนื้อเนียนขึ้น สารให้ความคงตัวจะมีคุณสมบัติเป็นเจลในน้ำหรือทำการจับกับน้ำ ซึ่งจะเป็นการเพิ่มความหนืด ทำให้เนื้อสัมผัสเนียน (Marshall, 2003)

ตารางที่ 9 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส

สารและปริมาณสาร	ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส (Sensory evaluation)					
	สี	กลิ่น	รส	เนื้อสัมผัส	ลักษณะปรากฏ	ความชอบโดยรวม
1. คาราจีแนน (0.25%)	6.04±1.360 ^b	5.64±1.616 ^b	6.03±1.524 ^c	6.12±1.524 ^{bcd}	6.31±1.126 ^{bc}	6.01±1.555 ^c
2. คาราจีแนน (0.50%)	6.00±1.701 ^b	6.06±1.385 ^{ab}	6.49±1.426 ^{abc}	5.68±1.702 ^d	5.93±1.668 ^c	6.21±1.516 ^{bc}
3. คาราจีแนน (0.75%)	6.57±1.472 ^a	5.93±1.818 ^{ab}	6.67±1.359 ^{ab}	6.01±1.728 ^{cd}	6.31±1.724 ^{bc}	6.51±1.725 ^b
4. คาราจีแนน (1.00%)	6.77±1.258 ^a	6.35±1.428 ^a	6.88±1.325 ^a	6.95±1.371 ^a	6.64±1.248 ^{ab}	7.26±1.321 ^a
5. สารสกัดจากย่านาง (0.25%)	5.96±1.457 ^b	5.96±1.338 ^{bc}	6.00±1.443 ^c	5.72±1.429 ^d	5.92±1.222 ^c	5.60±1.354 ^c
6. สารสกัดจากย่านาง (0.50%)	6.36±1.114 ^{ab}	5.84±1.434 ^{bc}	6.44±1.417 ^{bc}	5.92±1.631 ^{cd}	6.16±1.179 ^{bc}	6.16±1.748 ^{bc}
7. สารสกัดจากย่านาง (0.75%)	6.40±1.500 ^{ab}	6.12±1.509 ^{bc}	6.56±1.044 ^{bc}	6.52±1.046 ^{bc}	6.36±1.254 ^{bc}	6.56±1.227 ^b
8. สารสกัดจากย่านาง (1.00%)	6.96±1.060 ^a	6.84±1.248 ^a	7.40±0.913 ^a	7.36±1.254 ^a	7.12±1.013 ^a	7.68±0.945 ^a

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

a, b, c, d หมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ในแนวตั้ง

ใช้ผู้ทดสอบ Untrained จำนวน 25 คน

สรุปผลการทดลอง

ย่านาง (*Tiliacora triandra* (Colebr.) Dielsa) จัดเป็นผักพื้นบ้านของประเทศไทย พบมากในภาคตะวันออกเฉียงเหนือหรือภาคอีสานของประเทศไทย นิยมนำใบย่านางแก้มากั้นกับน้ำ จะได้ น้ำสีเขียวซึ่งมีลักษณะเหนียวและนำไปต้มกับหน่อไม้ปรุงเป็นแกงหน่อไม้ หรือซุปรนหน่อไม้ การที่คั้นใบย่านางกับน้ำได้สารละลายชั้นหนืด น่าจะเกิดจากสารประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์ที่มีอยู่ในใบย่านาง ดังนั้นใบย่านางน่าจะเป็นแหล่งของกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์ที่ได้จากธรรมชาติอีกชนิดหนึ่งที่ น่าสนใจ เนื่องจากปลอดภัยสำหรับผู้บริโภค ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษากระบวนการสกัด องค์ประกอบ และคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์ที่ได้จากใบย่านาง จากการศึกษากระบวนการสกัด พบว่าสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดสารประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์จากใบย่านาง คือ อัตราส่วนของใบย่านางอบแห้งต่อน้ำ ต่ออุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด (องศาเซลเซียส) ต่อเวลาที่ใช้ในการสกัด (นาท) ที่ 1:6.6 : 85 : 100 สารสกัดประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์ที่ได้จากใบย่านาง คือ โซแลน ซึ่งมีองค์ประกอบของน้ำตาลทั้งหมดอยู่สูงถึงร้อยละ 70 โดยน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบหลักคือ น้ำตาลไซโรส และมีปริมาณน้ำตาลอื่นๆ ได้แก่ น้ำตาล แรมโนส น้ำตาลอะราบิโนส น้ำตาลกาแลคโตส และน้ำตาลกลูโคส รวมทั้งกรดยูโรนิกเพียงเล็กน้อย โครงสร้างหลักคือ น้ำตาลไซโรสที่ต่อกันด้วยพันธะ β -(1 $\rightarrow$ 4) และ β -(1 $\rightarrow$ 3) ซึ่งได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธีเมธิลเลชัน นอกจากนั้นยังวิเคราะห์ด้วย ฟิวรีเออร์ทรานฟอรั่ม อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (FT-IR spectroscopy) เพื่อเป็นการยืนยันผลที่ได้

สำหรับคุณสมบัติเชิงหน้าที่ พบว่าเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดจากใบย่านางเพิ่มขึ้น ทำให้ค่าความหนืดและความแข็งแรงของเจลเพิ่มขึ้น เมื่อเพิ่มอุณหภูมิจะทำให้ความหนืดลดลง การปรับ pH จะทำให้ค่าความหนืดและความแข็งแรงของเจลสูงขึ้นที่ pH ช่วง 3-5 ความหนืดและความแข็งแรงของเจลจะลดลงเมื่อ pH เพิ่มขึ้นมากกว่า 5 นอกจากนั้นการเติมเกลือ (NaCl) และ แคลเซียมคลอไรด์ (CaCl_2) ยังส่งผลให้ค่าความหนืดและความแข็งแรงของเจลลดลง ส่วนการเติมน้ำตาลส่งผลให้ค่าความหนืดและความแข็งแรงของเจลเพิ่มขึ้น สำหรับคุณสมบัติด้านกระแสวิทยาแบบ steady shear flow behavior พบว่าสารละลายของสารสกัดจากใบย่านางแสดงพฤติกรรมการไหลแบบนิวโตเนียน (Newtonian behavior) ที่ความเข้มข้นน้อยกว่าร้อยละ 0.5 และแสดงพฤติกรรมการไหลแบบนอนนิวโตเนียนชนิดเชียร์ธinning (Shear-thinning behavior) ที่ความเข้มข้นมากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 0.5 ส่วนคุณสมบัติด้านกระแสวิทยาแบบพลศาสตร์ (dynamic หรือ oscillatory rheological behavior) ของสารสกัดประเภทกัมหรือไฮโดรคอลลอยด์จากใบย่านาง พบว่าเมื่อค่าความเข้มข้นของสารสกัดจากย่านางเพิ่มขึ้น ค่าโมดูลัสสะสม (storage modulus; G') เพิ่มขึ้น และมีค่ามากกว่าค่าการสูญเสียโมดูลัส (loss modulus; G'') แสดงให้เห็นถึงเมื่อความเข้มข้นมากขึ้น โครงร่างของสายโพลิเมอร์มีการจัดเรียงตัวเป็นระเบียบมากขึ้น ซึ่งเป็นตัวชี้บ่งถึงคุณสมบัติของสารว่ามีพฤติกรรมเป็นแบบของแข็ง คุณสมบัติด้านกระแสวิทยาแบบพลศาสตร์ของสาร

สกัดจากใบย่านาง นอกจากจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารสกัด ยังขึ้นอยู่กับอุณหภูมิอีกด้วย โดยที่ความเข้มข้นของสารสกัดจากใบย่านางสูง จะให้ค่าโมดูลัสที่สูงขึ้น รวมทั้งค่าโมดูลัสเพิ่มขึ้น เมื่อลดอุณหภูมิ โดยที่อุณหภูมิต่ำ ค่าจุดตัดจะมีค่าความถี่ต่ำกว่าที่อุณหภูมิสูง แสดงให้เห็นถึงคุณสมบัติของสารสกัดมีพฤติกรรมคล้ายของแข็งที่อุณหภูมิต่ำมากกว่าที่อุณหภูมิสูง

การใช้สารสกัดจากใบย่านางร้อยละ 1.0 เป็นสารให้ความคงตัวในไอศกรีมช็อคโกแลต มีค่าการยอมรับทางด้านประสาทสัมผัสสูงที่สุด ทั้งคะแนนความชอบโดยรวม สี กลิ่น รส เนื้อสัมผัส และลักษณะปรากฏ ซึ่งไม่แตกต่างจากการใช้สารให้ความคงตัวทางการค้า (คาราจีแนน) นอกจากนั้น ไอศกรีมช็อคโกแลตที่ได้จากการใช้สารสกัดจากใบย่านาง มีค่า %Overrun และค่าความหนืดที่เหมาะสม ทำให้ไม่ขึ้นฟูเป็นฟองอากาศมากเกินไป ผลิตภัณฑ์มีผลึกน้ำแข็งเล็กลงและเนื้อเนียนขึ้น

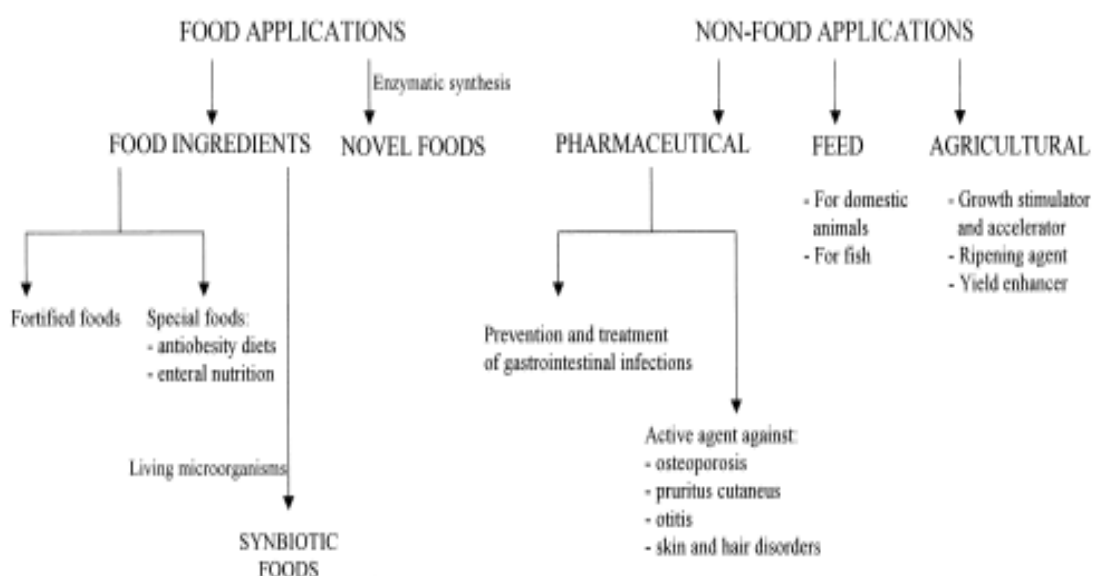
ข้อเสนอแนะสำหรับงานวิจัยในอนาคต

1. น่าจะผลิตเป็นน้ำตาลไซลิทอล (xylitol) ซึ่งเป็นน้ำตาลแอลกอฮอล์ที่ได้จากน้ำตาลไซโรส จัดเป็นสารให้ความหวาน (sweetener) ทดแทนน้ำตาลแต่ไม่ให้พลังงาน (anti-cariogenic properties) เหมาะสำหรับผู้ที่ต้องการควบคุมน้ำหนักหรือผู้ป่วยเฉพาะทาง เช่น เบาหวาน และยังสามารถประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม เช่น หมากฝรั่ง (chewing gum) ที่ไม่ทำให้ฟันผุ และยาสีฟัน (tooth paste) เป็นต้น ดังนั้นไซแลนจากไบยานางน่าจะเป็นแหล่งผลิตไซลิทอลที่ได้จากธรรมชาติ แหล่งใหม่

2. น่าจะผลิตเป็นไซโรโอลิโกแซคคาไรด์ (xylo-oligosaccharides) จัดเป็น sugar oligomers ซึ่งผลิตได้จากไซแลนด้วยการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ กรด หรือความร้อนสูง มีประโยชน์อย่างแพร่หลายทั้งในอุตสาหกรรมอาหารและที่ไม่ใช่อาหาร ดังภาพที่ 31 เช่น เป็นสารให้ความหวาน และจัดเป็น functional foods ที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ เป็นต้น

3. ควรจะมีการศึกษา biological activity ของสารไซแลนที่ได้จากไบยานาง เนื่องจากมีโครงสร้างพันธะแตกต่างจากไซแลนทั่วไป โดยประกอบด้วยพันธะ 1→3 และ 1→4 ไกลโคซิดิก ดังนั้นน่าจะมีความสัมพันธ์ด้าน biological activity แตกต่างกันด้วย

4. น่าจะมีการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมทั้งอาหารและไม่ใช่อาหารหลากหลาย เนื่องจากไซแลนจากไบยานางมีคุณสมบัติเป็นสารเพิ่มความหนืด และน่าจะมีความสัมพันธ์ในการเกิดฟิล์ม (film-forming properties) ดังนั้นน่าจะนำไปใช้เป็นวัตถุเจือปนอาหาร (food additive) หรือสารปรุงแต่งอาหาร (food ingredient) สำหรับในอุตสาหกรรมอาหาร หรือเป็นสารเคลือบ (coating) ทั้งในอุตสาหกรรมอาหารและอุตสาหกรรมบรรจุภัณฑ์หรือไม่ใช่อาหาร เป็นต้น



ภาพที่ 31

การประยุกต์ใช้ไซโรโอลิโกแซคคาไรด์
แหล่งที่มา : Vázquez *et al.* (2000)

เอกสารอ้างอิง

- Åkerholm, M. & Salmén, L. (2001). Interactions between wood polymers studied by dynamic FT-IR spectroscopy. *Polymer*, 42, 963-969.
- AOAC (1997). *Official methods of analysis of AOAC international*. Maryland: AOAC International.
- Biermann, C.J., & McGinnis, G.D. (1989). *Analysis of carbohydrates by GLC and MS*. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Blumenkrantz, N., & Asboe-Hansen, G. (1973). New method for quantitative determination of uronic acids. *Analytical Biochemistry*, 54, 484-489.
- Brito, A.C.F., Sierakowski, M.R., Reicher, F., Feitosa, J.P.A., & Paula, R.C.M. (2005). Dynamic rheological study of *Sterculia striata* and karaya polysaccharides in aqueous solution. *Food Hydrocolloids*, 19, 861-867.
- Cerná, M., Barros, A.S., Nunes, A., Rocha, S.M., Delgadillo, I, Copiková, J., & Coimbra, M.A. (2003). Use of FT-IR spectroscopy as a tool for the analysis of polysaccharide food additives. *Carbohydrate Polymers*, 51, 383-389.
- Ciucanu, I., & Kerek, F. (1984). A simple and rapid method for the permethylation of carbohydrates. *Carbohydrat Research*, 131, 209-217.
- Clark, A.H. & Ross-Murphy, S.B. (1987). Structural and mechanical properties of bio-polymer gels. *Advances in Polymer Science*, 83, 57-192.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28, 350-356.

- Ebringerová, A.; Hromádková, Z.; Prtráková, E. & Hricovíni, M. (1990). Structural features of a water-soluble L-arabino-D-xylan from rye bran. *Carbohydrate Research*, 198, 57-66.
- Filipov, M.P. (1992). Practical infrared spectroscopy of pectic substances. *Food Hydrocolloids*, 6(1), 115-142.
- Kačuráková, M., Wellner, N., Ebringerová, A, Hromádková, Z & Wilson, R.H. (1999). Characterisation of xylan-type polysaccharides and associated cell wall components by FT-IR and FT-Raman spectroscopies. *Food Hydrocolloids*, 13, 35-41.
- Kačuráková, M., & Wilson, R.H. (2001). Developments in mid-infrared FT-IR spectroscopy of selected carbohydrates. *Carbohydrate Polymers*, 44, 291-303.
- Lapasin, R. & Prici, S. (1995). *Rheology of industrial polysaccharides: Theory and applications*. Blankie Academic & Professional, New York.
- Mahidol, C., Sahakitpichan, P. & Ruchirawat, S. (1994). Bioactive natural products from Thai plants. *Journal of Pure and Applied Chemistry*, 66, 2353-2356.
- Marshall, R.T. (2003). *Ice cream*. 6th ed., New York : Kluwer Academic/ Plenum Publishers.
- Myers, R.H. (1995). *Response Surface Methodology : Process and Product in Optimization Using Designed Experiments*. J. Wiley, New York.
- Norton, I.T. and Foster, T.J. (2002). Hydrocolloids in real food systems. In Williams, P.A. and Phillips, G.O., *Gums and Stabilizers for the Food Industry 11* (pp. 4-9). UK : The Royal Society of Chemistry.
- Seisum, D. (2002). Market overview. In Williams, P.A. and Phillips, G.O., *Gums and Stabilizers for the Food Industry 11* (pp. 4-9). UK : The Royal Society of Chemistry.

- Singthong, J., Cui, S.W., Ningsanond, S. & Goff, D.H. (2004). Structural characterization, degree of esterification and some gelling properties of Krueo Ma Noy pectin. *Carbohydrate Polymers*, 58, 391-400.
- Smitinand, T., & Larsen, K. (1991). *Flora of Thailand* (Vol. 5 Part 3). Bangkok: The Forest Herbarium, Royal Forest Department.
- Stat-Ease. (2002). *Design-Expert[®] software version 6*. Stat-Ease, Inc.
- Sun, R., Lawther, J.M., & Banks, W.B. (1996). Fractional and structural characterization of wheat straw hemicelluloses. *Carbohydrate Polymers*, 29, 325-331.
- Sun, R.C., & Sun, X.F. (2002). Fraction and structural characterization of hemicelluloses isolated by alkali and alkaline peroxide from barley straw. *Carbohydrate Polymers*, 49, 415-423.
- Sun, H.-J., Yoshida, S., Park, N.-H. & Kusakabe, I. (2002). Preparation of (1→4)- β -D-xylooligosaccharides from an acidic hydrolysate of cotton-seed xylan: suitability of cotton-seed xylan as a starting material for the preparation of (1→4)- β -D-xylooligosaccharides. *Carbohydrate Research*, 337, 657-661.
- Wiriyaichitra, P. & Phuriyakorn, B. (1981). Alkaloids of *Tiliacora triandra*. *Australian Journal of Chemistry*, 34, 2001-2004.
- Wood, P.J., Weisz, J., & Blackwell, B.A. (1994). Structural studies of (1-3),(1,4)- β -D-glucans by ¹³C-nuclear magnetic resonance spectroscopy and by rapid analysis of cellulose-like regions using high-performance anion-exchange chromatography of oligosaccharides released by lichenase. *Cereal Chemistry*, 71, 301-307.
- Vázquez, M.J., Alonso, J.L., Domínguez, H., & Parajó, J.C. (2000). Xylooligosaccharides: manufacture and applications. *Trend in Food Science & Technology*, 11, 387-393.

ผลลัพธ์ที่ได้จากโครงการวิจัย

1. ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการนานาชาติ

(ระบุชื่อผู้แต่ง ชื่อเรื่อง ชื่อวารสาร ปี เล่มที่ เลขที่ และหน้า)

Singthong, J., Cui, S.W., & Ningsanond, S. (2007). Optimization of extraction process and physicochemical characterization of polysaccharide gum from Yanang (*Tiliacora triandra*) leaves. Food Hydrocolloids. (Submitted)

2. ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการนานาชาติ ซึ่งอยู่ระหว่างการจัดเตรียม manuscript โดยผลงานบางส่วนได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการทุนวิจัยหลังปริญญาเอก สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา

2.1 ชื่อเรื่อง: Rheological properties of Yanang gum (*Tiliacora triandra*)

ชื่อวารสารที่คาดว่าจะตีพิมพ์ในวารสาร: Food Hydrocolloids

2.2 ชื่อเรื่อง: Structural characterization of polysaccharide gum from Yanang (*Tiliacora triandra*) leaves.

ชื่อวารสารที่คาดว่าจะตีพิมพ์ในวารสาร: Carbohydrate Polymers

3. นำเสนอผลงานภาคโปสเตอร์ เรื่อง Optimization of extraction process and physicochemical characterization of polysaccharide gum from Yanang (*Tiliacora triandra*) leaves ในการประชุมวิชาการ Food Innovation Asia 2007 : “Q” Food for Good Life ณ ศูนย์ประชุมไบเทค (BITEC) กรุงเทพฯ ระหว่างวันที่ 14-15 มิถุนายน 2550

ภาคผนวก ก.
Manuscript

**Optimization of extraction process and physicochemical
characterization of polysaccharide gum from Yanang
(*Tiliacora triandra*) leaves**

Jittra Singthong^a, Steve W. Cui^{b*}, Suwayd Ningsanond^c

^aDepartment of Agro-Industry, Faculty of Agriculture, Ubon Ratchathani University,
Warinchamrap, Ubon Ratchathani, 34190, Thailand

^bFood Research Program, Agriculture and Agri-Food Canada, Guelph, Ontario,
N1G 5C9, Canada

^cSchool of Food Technology, Suranaree University of Technology,
Nakhon Ratchasima, 30000, Thailand

*To whom correspondence should be addressed.

Tel 1-519-780-8028

Fax 1-519-829-2600

E-mail : cuis@agr.gc.ca

Abstract

Yanang (*Tiliacora triandra*) is a vegetable used in the cuisines of the northeast of Thailand and Lao. Preliminary experiment revealed that Yanang leaves contain substantial amounts of polysaccharides. This paper reports on the optimized extraction and some physicochemical characterization of polysaccharide gum from Yanang leaves. The optimized extraction was solid:water ratio 1:6.6, temperature 85°C and extraction time 100 minutes. The major constituent monosaccharide of Yanang gum was xylose and small amounts of other neutral sugars. The FT-IR spectra of Yanang gum was similar to that of xylan. Yanang gum exhibited shear-thinning flow behavior and the extent of shear-thinning was concentration dependent. The mechanical spectra of Yanang gum at low concentration (0.5%) was typical of semi-dilute to concentrated solution. However, with increasing concentration, the solution tended toward a weak gel behavior.

Keywords: Yanang, *Tiliacora triandra* , Polysaccharide gum, Xylan

1. Introduction

Yanang, *Tiliacora triandra* (Colebr.) Diels, is in the family of *Menispermaceae*. It is a species of flowering plant native to mainland Southeast Asia, and is widespread in the northeast of Thailand. Yanang is called differently from region to region in Thailand. In the north, it has been called Joy-Nang while Toa-Ya-Nanag, Toa-Wan-Keaw and Toa-Pakinee are called for Yanang in the central Thailand. In the south, Yanang is known as Wan-Yo. Yanang is common in deciduous and dry ever green forests (Smitinand & Larson, 1991). It is a climbing plant with deep green leaves and yellowish flowers (Fig. 1). It is used particularly in the cuisines of the northeast of Thailand and Lao especially in bamboos shoot soup. Chemical analysis revealed that Yanang leaves contain high levels of beta-carotene and minerals, such as calcium and iron. The extract from root of this plant is used as a medicinal herb for treatment of fever, malaria and antipyretic (Wiriyachita & Phuriyakorn, 1981; Asean Center for Biodiversity, 2006). A number of alkaloids, especially bisbenzylisoquinoline alkaloids have been identified: tiliacorinine, tiliacorine and nortiliacorinine (Mahidol, Sahakitpichan, & Ruchirawat, 1994; Wiriyachita & Phuriyakorn, 1981). It also contains polysaccharides.

Polysaccharides/hydrocolloids are used as food ingredients in the food industry because of their ability to modify/control the functional properties of food systems. The food hydrocolloid industry represents a market of over US\$ 3.0 billion (Seisum, 2002; Norton & Foster, 2002). Most important properties of hydrocolloids are their viscosity (including thickening and gelling) and water binding. Other significant functions include emulsion, stabilization, prevention of ice recrystallization and improvement of organoleptic properties.

Polysaccharides extracted from plant are interesting additives for several industries, in particular for the food industry. These polysaccharides have the advantage

of being regarded as natural products for many consumers. Yanang's leaves can form viscous in water. The viscosity contributing components (hydrocolloid/gum) in Yanang could be another source of natural polysaccharide. However, there is no information available in the literature on the chemical composition and functional properties of this material. The current paper is for the first time to explore the potential use of this new material. The aim of this study was to optimize the extraction process of polysaccharides from Yanang leaves and characterise its physicochemical properties.

2. Materials and Methods

2.1 Preparation of plant material

Yanang leaves, procured from a farmer's market in the Northeast of Thailand (Ubon Ratchthani province), were cleaned with water to remove dust and infected leaves then dried at 60°C for 3 hours. The dried leaves were ground and stored at room temperature in a vacuum packed container before use.

Dried Yanang leaves were analyzed for moisture, ash, protein, lipid and fiber contents according to the methods of AOAC (1997).

2.2 Extraction optimization

The extraction was carried out under various conditions according to the central composite design (CCD) with a quadratic model (Myers, 1995). The effect of three independent variables, i.e. solid:water ratio, X_1 (1:5-1:15), temperature, X_2 (25-85 °C) and Time, X_3 (60-180 min) were determined, and the detailed experimental design is shown in Table 1. The independent variables were coded to three levels of -1, 0, +1. The dependent variables were the yield (Y_1) and viscosity (Y_2), which represent both quality

of the gum. The optimum conditions for extraction of polysaccharides were determined by response surface methodology. All experimental data were statistically analyzed by Design-Expert[®] software (Version 6.0.10, Stat-Ease, Inc., US). The mixture was filtered through a vacuum filter and centrifuged at 10,000 rpm for 15 min. The supernatant was concentrated before being precipitated with three volume of ethanol 95% (w/v). The precipitate was dried in a vacuum oven and ground to obtain a crude extract.

Yield and apparent viscosity were used as criteria for the selection of the extraction conditions. Apparent viscosity was measured using Brookfield Viscometer model DV-II⁺.

2.3 Chemical composition

Moisture and ash content were determined according to the AOAC methods (AOAC, 1997). Protein content was converted from nitrogen content ($N \times 6.25$), which was determined using an Automatic Elemental Analyzer (ThermoQuest Italia S.P.A. EA/NA 1110, Strada Rivoltana, Milan, Italy).

Total sugars and uronic acid content were determined using the method of Dubois, Gilles, Hamilton, Rebers, & Smith (1956) and Blumenkrantz & Asboe-Hansen (1973), respectively.

Monosaccharide compositions were analyzed using a Dionex HPAEC system (Dionex Canada Ltd., Oakville, Ont., Canada) equipped with pulsed amperometric detector (PAD) as previously described by Wood, Weisz, & Blackwell (1994). In this method, the polysaccharide was hydrolyzed in 1M H₂SO₄ for 2 h at 100 °C to give constituent monosaccharides. The hydrolysate was cooled, diluted with water, filtrated through a 0.45 µm filter before injected into the HPAEC column.

2.4 FT-IR spectroscopic method

Yanang gum, xylan from beechwood (x4252), xylan from birchwood (x0502) and xylan from oat spelts (x0627) from Sigma-Aldrich Co. (Steinheim, Germany) were dried and stored in desiccators prior to FT-IR analysis. FT-IR spectra were recorded using a Golden-gate Diamond single reflectance ATR on a FTS 700 FT-IR spectrophotometer with DTGS detector (DIGI-LAB, Randolph, MA). The spectra were recorded at the absorbance mode from 4000 to 400 cm^{-1} (mid infrared region) at the resolution of 4 cm^{-1} and 128 scans were collected to obtain a high signal-to-noise ratio (Singthong, Cui, & Ningsanond, 2004). At least triplicate spectra readings for each sample were performed.

2.5 Rheological properties

All rheological measurements were determined on a ARES controlled strain rheometer (TA Instruments, New Castle, DE, USA). A parallel plate geometry (50 mm diameter, 1.0 mm gap) was used for both steady shear and oscillatory measurements. Steady shear viscosity was determined at various concentrations. Plots were made of the log apparent viscosity vs. log shear rate (from 1 to 400 1/s). The viscoelastic properties, such as storage modulus (G') and loss modulus (G''), were determined through small amplitude oscillatory test at frequencies from 0.1 to 20 Hz. Prior to any dynamic experiments, a strain sweep test at a constant frequency of 0.1 Hz was conducted to determine the linear viscoelastic region. All oscillatory tests were performed at a strain value of 0.02 (2%)(within the linear viscoelastic region).

3. Results and discussion

3.1 Optimized Extraction

The effects of extraction conditions on the yield and apparent viscosity of extracted Yanang polysaccharides are shown in Table 2. Table 3 summarizes the results of each dependent variable with their coefficients of determination (R^2). The statistical analysis indicated that the proposed model was adequate, possessing no significant lack of fit and with satisfactory values of the R^2 for all of the responses. The R^2 values for yields and viscosity were 0.80 and 0.97, respectively. The optimized condition were 1:6.6, 85°C and 100 minutes for ratio of dried Yanang leaves powder to water, extraction temperature and extraction time, respectively.

The effect of the ratio of dried Yanang to water, extraction temperature and time on %yield is shown in Fig. 2, 3 and 4, respectively. The interaction of variable factors was statistically significant with R^2 value of 0.80. The ratio of dried Yanang to water was the major factor effecting the yield of the extraction. The highest yield was obtained at the ratio of 1:6.6, extraction temperature 85°C and 100 minutes of extraction time. Figure 2 is the response surface plot illustrating the effect of extraction temperature and time on yield at the constant ratio of 1:6.6. The interaction between extraction temperature and time gave rise to the higher yield at high temperature and long time region. In other word, high temperature and long time produced more extracted Yanang polysaccharides. Figure 3 displays response surface plots illustrating the effect of ratio and extraction time on yield at constant temperature (85°C). The higher yield was obtained at low ratio and longer extraction time. Figure 4 revealed the effect of the ratio and extraction temperature on yield at constant extraction time (100 minutes). A higher yield was obtained at low ratio of water to solid and high extraction temperature.

The effect of the ratio of dried Yanang to water, extraction temperature and time on viscosity is shown in Fig. 5, 6 and 7. The interaction of variable factors is statistically significant with R^2 value of 0.97. The highest viscosity was also obtained under the same optimum condition for yield at the ratio of 1:6.6, extraction temperature 85°C and 100 minutes of extraction time. Figure 5 showed the response surface plots illustrating the effect of extraction temperature and time on viscosity at constant the ratio (1:6.6). The interaction between extraction temperature and time gave rise to the higher viscosity at high temperature and long time. This is consistent with the effect of temperature and time on yield. Higher temperature and longer extraction time gave higher yield of Yanang polysaccharide, which is responsible for the high viscosity. Figure 6 displayed response surface plots of the effect of the ratio and extraction time on viscosity at constant temperature (85°C). The higher viscosity was obtained at medium ratio and long extraction time (60-140 minutes). The effect of the ratio and extraction temperature on viscosity at constant extraction time is shown in Figure 7. The higher viscosity was obtained at high ratio of dried Yanang leaves powder to water and wide range of extraction temperature.

3.2 Chemical compositions

Dried Yanang leaves contained, on average, 10.42% moisture, 8.96% ash, 10.04% protein, 2.66% lipid and 68.30 % total dietary fiber. The extracted Yanang gum with optimum conditions was selected for further characterization. The total sugar content including uronic acid was ~70% (Table 4), and the value was similar to those of birchwood xylan (72.0% sugar content), oat spelt xylan (73.1%) and cotton seed xylan (75.0%) (Sun, Yoshida, Park, & Kusakbe, 2002). Birchwood and cotton-seed xylan contained only xylose and uronic acid. By contrast, oat-spelt xylan contained not only

xylose and uronic acid but also arabinose and glucose. The total sugar of wheat straw hemicelluloses were about 70-80% which mainly consisted of xylose (68.5-79.5 relative%) whereas galactose, glucose and mannose were observed as minor sugar constituents. Arabinose appeared in noticeable amounts (9.2-16.5 relative%) and uronic acid content averaged about 4-5% of wheat straw hemicelluloses (Sun, Lawther, & Banks, 1996). The difference observed in monosaccharide and uronic acid contents could be due to raw material and dissimilarities in the hydrolysis procedures. The monosaccharide compositions of Yanang gum is mainly consisted of xylose (ca. 73 relative%) followed by glucose (ca. 11 relative%), which is presumably as glucan (Table 4). Arabinose and galactose appeared as a noticeable quantity. The lower of arabinose content may be indicating a lower degree of branching of the xylan chains (Ebringerová, Hromádková, Petráková, & Hricovíni, 1990; Sun & Sun, 2002).

3.3 FT-IR spectroscopy

The FT-IR spectra of carbohydrate is used to determine their structural features. The wave number between 950 and 1200 cm^{-1} is often called the fingerprint of molecule because it allows the identification of major chemical groups in polysaccharides: the position and intensity of the bands that are specific for each polysaccharide (Cernà *et al.*, 2003; Kačuráková & Wilson, 2001). Since monosaccharide composition analysis revealed that Yanang gum is mainly composed of xylose, FT-IR spectra of Yanang gum were compared against three commercial xylan standards (Fig.8). It was found that the FT-IR spectra of Yanang gum exhibited similarities in absorption pattern to xylan, confirming the preliminary conclusion derived from chemical composition analysis (Table 4) that the polysaccharide gum from Yanang leaves is a xylan. The broader band of absorption between 3600 and 2500 cm^{-1} was due to O-H stretching whereas an intense

ring and (COH) side group band at $\sim 1047\text{ cm}^{-1}$ dominates the spectrum of xylan with β (1 $\rightarrow$ 4) backbone (xylan standards) while in the β (1 $\rightarrow$ 3) linked xylan two partially overlapping bands at ~ 1066 and 1030 cm^{-1} are found instead (Kačuráková & Wilson, 2001; Kačuráková, Wellner, Ebringerová, Hromádková, Wilson, & Belton, 1999). There is a broadening of these bands of Yanang gum which could be caused by mixed β (1 $\rightarrow$ 4) linked with β (1 $\rightarrow$ 3) linked xylans (Ebringerová, Hromádková, Kačuráková, & Antal, 1994; Kačuráková *et al.*, 1999). Moreover, in β (1 $\rightarrow$ 4) xylans the dominant band positions are those of the glycosidic link and ring vibrations at 1125 and 1089 cm^{-1} . The sharp band at $\sim 897\text{ cm}^{-1}$ corresponding to the C-1 group frequencies or ring frequency which is characteristic of β -glycosidic linkages between the sugar units (Sun *et al.*, 1996). The difference in the anomeric region is a band position of 897 cm^{-1} for β (1 $\rightarrow$ 4) linked backbone of xylan standards and the broadening of bands between 897 and 904 cm^{-1} for the remaining xylan mixed β (1 $\rightarrow$ 4) linked with β (1 $\rightarrow$ 3) linked backbone of Yanang gum (Kačuráková *et al.*, 1999). Xylan-type polysaccharides isolated from plant are usually contaminated with phenolics, lignin, protein and pectin. The phenolic and proteins have specific absorption bands in the $1700\text{-}1500\text{ cm}^{-1}$ region (Kačuráková & Wilson, 2001; Kačuráková *et al.*, 1999). The FT-IR spectrum of pectins are usually overlapped by the uronic acid carboxyl and carboxylate vibrations at around 1730 and 1600 cm^{-1} (Singthong *et al.*, 2004). This is in agreement with the literature, where these bands are assigned to different vibrations from the carboxylic acid (and carboxylate ion) group in the 4-O-methyl-uronic acid substituents in the xylan (Åkerholm & Salmén, 2001). The high intensity of band around 1730 cm^{-1} indicated a higher content of uronic acid than xylan standards.

3.4 Rheological properties

The effect of shear rate on viscosity for polysaccharide gum from Yanang leaves of 0.5-2.0% (w/v) at 25°C is shown in Fig. 9. A shear thinning flow behavior was observed at high concentrations (1-2%). However, the flow behavior of Yanang gum at concentration of 0.5% showed Newtonian flow behavior at low shear rate region whereas shear thinning flow behavior was observed at higher shear rate region. The change of flow behaviors of Yanang gum at different concentrations could be explained by the concentration effect of polysaccharides that are known to be able to form ordered structures through intermolecular entanglements. The application of a shear force to the concentrated polymer system will cause the disruptions of ordered structures, which would lead to a decreased viscosity with increased shear rate. (Lapasin & Prich, 1995).

The mechanical spectra of Yanang gum at different concentrations are shown in Fig. 10. The loss modulus (G'') was higher than the storage modulus (G') at low frequencies and the reverse was observed at higher frequencies for all three concentrations. However the cross-over of G' and G'' occurred at frequencies of 2.5, 0.5 and 0.15 Hz for 0.5, 1.0 and 2.0% concentration, respectively. When the experiments carried out at lower temperature, the cross-over frequency shifted to lower region, indicating stronger elastic component (Brito, Sierakowski, Reicher, Feitosa, & Paula, 2005). The moduli of Yanang gum at 5°C was higher than at 25°C, although the nature of the mechanical spectrum remained the same. On the other hand, increasing Yanang gum concentration, G' becomes greater than G'' indicating a clear tendency to form macromolecular networks. The increase in G' with increasing concentration may be explained by the increase in both the number and the average size of junction points (Clark & Ross-Murphy, 1987). The mechanism spectra of 1.0 and 2.0% Yanang gum at

both 25 and 5°C exhibited a weak gel structure as its G' was much greater than the corresponding G'' and the two moduli was crossover at low frequency. The gel strength observed for 1.0 and 2.0% Yanang gum is consistent with the previous observation by steady shear measurement in which the apparent higher viscosity was attributed to the higher effective concentration of Yanang gum.

4. Conclusion

The optimized extraction condition of polysaccharide gum from Yanang leaves was identified as 1:6.6, 85°C and 100 minutes for dried Yanang leave to water ratio, extraction temperature and extraction time, respectively. The major constituent monosaccharide of Yanang gum was xylose, together with small amounts of rhamnose, arabinose, glucose and galactose. The FT-IR spectra revealed that Yanang gum had a similar structure to xylan. The rheological behaviors of Yanang gum were showed that Yanang gum exhibited a non-newtonian shear-thinning flow behavior at 0.5% and above. The mechanical spectra in the linear viscoelastic region, as a function of Yanang gum concentration and temperature were studied. The cross-over frequency shifted to lower region at lower temperature and/or higher concentration, demonstrating stronger elastic component. This research just started the exploration of material. Further research is undergoing in order to elucidate the structure and functional properties of polysaccharide gum from Yanang leaves.

Acknowledgements

The authors would like to thank the Thailand Research Fund (TRF) and the Commission on Higher Education, Ministry of Education, Thailand for financial support. The technical assistant of Mrs Cathy Wang from the Food Research Program, Agriculture and Agri-Food Canada in Guelph is greatly appreciated.

References

- Åkerholm, M. & Salmén, L. (2001). Interactions between wood polymers studied by dynamic FT-IR spectroscopy. *Polymer*, 42, 963-969.
- AOAC (1997). *Official methods of analysis of AOAC international*. Maryland: AOAC International.
- Asean Center for Biodiversity. (2006). *Checklist of Medicinal Plants in Southeast Asea* [online]. Available from: http://www.aseanbiodiversity.org/medicinal_plants/page8.htm [2006, Sept 7].
- Blumenkrantz, N., & Asboe-Hansen, G. (1973). New method for quantitative determination of uronic acids. *Analytical Biochemistry*, 54, 484-489.
- Brito, A.C.F., Sierakowski, M.R., Reicher, F., Feitosa, J.P.A., & Paula, R.C.M. (2005). Dynamic rheological study of *Sterculia striata* and karaya polysaccharides in aqueous solution. *Food Hydrocolloids*, 19, 861-867.
- Cerná, M., Barros, A.S., Nunes, A., Rocha, S.M., Delgadillo, I, Copíková, J., & Coimbra, M.A. (2003). Use of FT-IR spectroscopy as a tool for the analysis of polysaccharide food additives. *Carbohydrate Polymers*, 51, 383-389.
- Clark, A.H. & Ross-Murphy, S.B. (1987). Structural and mechanical properties of bio-polymer gels. *Advances in Polymer Science*, 83, 57-192.

- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28, 350-356.
- Ebringerová, A.; Hromádková, Z.; Prtráková, E. & Hricovíni, M. (1990). Structural features of a water-soluble L-arabino-D-xylan from rye bran. *Carbohydrate Research*, 198, 57-66.
- Ebringerová, A.; Hromádková, Z.; Kačuráková, M. & Antal, M. (1994). Quaternized xylans: synthesis and structural characterization. *Carbohydrate Polymers*, 24, 301-308.
- Kačuráková, M., Wellner, N., Ebringerová, A, Hromádková, Z & Wilson, R.H. (1999). Characterisation of xylan-type polysaccharides and associated cell wall components by FT-IR and FT-Raman spectroscopies. *Food Hydrocolloids*, 13, 35-41.
- Kačuráková, M., & Wilson, R.H. (2001). Developments in mid-infrared FT-IR spectroscopy of selected carbohydrates. *Carbohydrate Polymers*, 44, 291-303.
- Lapasin, R. & Pricl, S. (1995). *Rheology of industrial polysaccharides: Theory and applications*. Blankie Academic & Professional, New York.
- Mahidol, C., Sahakitpichan, P. & Ruchirawat, S. (1994). Bioactive natural products from Thai plants. *Journal of Pure and Applied Chemistry*, 66, 2353-2356.
- Myers, R.H. (1995). *Response Surface Methodology : Process and Product in Optimization Using Designed Experiments*. J. Wiley, New York.
- Norton, I.T. and Foster, T.J. (2002). Hydrocolloids in real food systems. In Williams, P.A. and Phillips, G.O., *Gums and Stabilizers for the Food Industry 11* (pp. 4-9). UK : The Royal Society of Chemistry.

- Seisum, D. (2002). Market overview. In Williams, P.A. and Phillips, G.O., *Gums and Stabilizers for the Food Industry 11* (pp. 4-9). UK : The Royal Society of Chemistry.
- Singthong, J., Cui, S.W., Ningsanond, S. & Goff, D.H. (2004). Structural characterization, degree of esterification and some gelling properties of Krueo Ma Noy pectin. *Carbohydrate Polymers*, 58, 391-400.
- Smitinand, T., & Larsen, K. (1991). *Flora of Thailand* (Vol. 5 Part 3). Bangkok: The Forest Herbarium, Royal Forest Department.
- Stat-Ease. (2002). *Design-Expert® software version 6*. Stat-Ease, Inc.
- Sun, R., Lawther, J.M., & Banks, W.B. (1996). Fractional and structural characterization of wheat straw hemicelluloses. *Carbohydrate Polymers*, 29, 325-331.
- Sun, R.C., & Sun, X.F. (2002). Fraction and structural characterization of hemicelluloses isolated by alkali and alkaline peroxide from barley straw. *Carbohydrate Polymers*, 49, 415-423.
- Sun, H-J., Yoshida, S., Park, N-H. & Kusakabe, I. (2002). Preparation of (1→4)-β-D-xylooligosaccharides from an acidic hydrolysate of cotton-seed xylan: suitability of cotton-seed xylan as a starting material for the preparation of (1→4)-β-D-xylooligosaccharides. *Carbohydrate Research*, 337, 657-661.
- Wiriyachitra, P. & Phuriyakorn, B. (1981). Alkaloids of *Tiliacora triandra*. *Australian Journal of Chemistry*, 34, 2001-2004.
- Wood, P.J., Weisz, J., & Blackwell, B.A. (1994). Structural studies of (1-3),(1,4)-β-D-glucans by ¹³C-nuclear magnetic resonance spectroscopy and by rapid analysis of cellulose-like regions using high-performance anion-exchange chromatography of oligosaccharides released by lichenase. *Cereal Chemistry*, 71, 301-307.

Legend for Figures

- Figure 1 Yanang leaves.
- Figure 2 Response surface and contour plots of the effect of extraction temperature and time on yield at the ratio 1:6.6.
- Figure 3 Response surface and contour plots of the effect of the ratio of dried Yanang to water and extraction time on yield at extraction temperature 85°C.
- Figure 4 Response surface and contour plots of the effect of dried Yanang to water and extraction temperature on yield at extraction time 100 minutes.
- Figure 5 Response surface and contour plots of the effect of extraction temperature and time on viscosity at the ratio 1:6.6.
- Figure 6 Response surface and contour plots of the effect of the ratio of dried Yanang to water and extraction time on viscosity at extraction temperature 85°C.
- Figure 7 Response surface and contour plots of the effect of dried Ya-Nang to water and extraction temperature on viscosity at extraction time 100 minutes.
- Figure 8 Fourier transform infrared spectra of Polysaccharide gum from Yanang leaves and xylans. (a) Full FT-IR spectrum, (b) Expanded FT-IR spectrum.
- Figure 9 Steady shear flow curves of polysaccharide gum from Yanang leaves at different concentrations at 25°C.

Figure 10 Frequency dependence of storage (G') and loss (G'') modulus of polysaccharide gum from Yanang leaves at different concentrations: (a) 25°C; (b) 5°C.



Figure 1

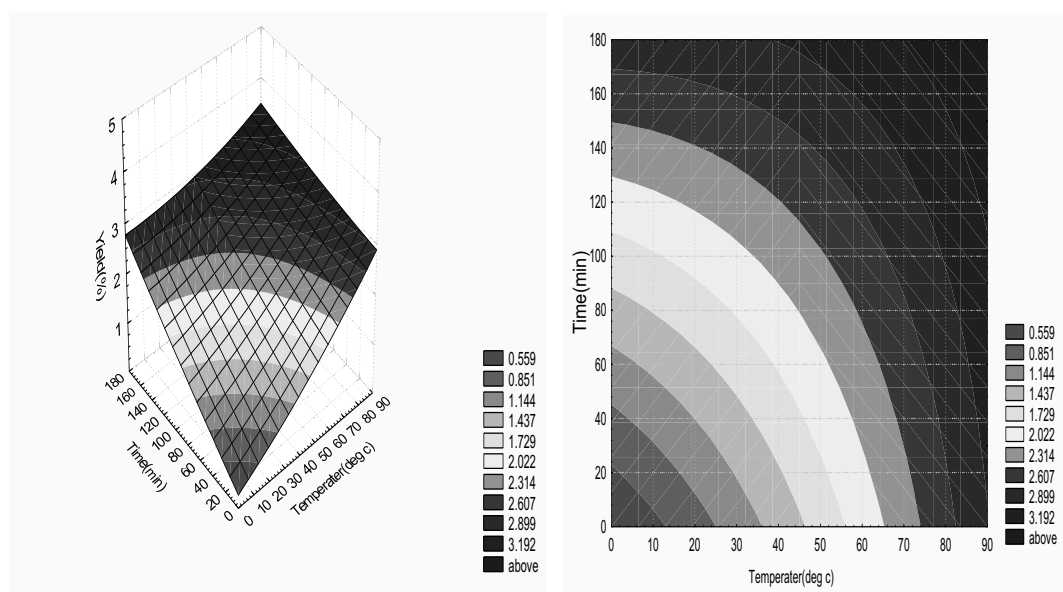


Figure 2

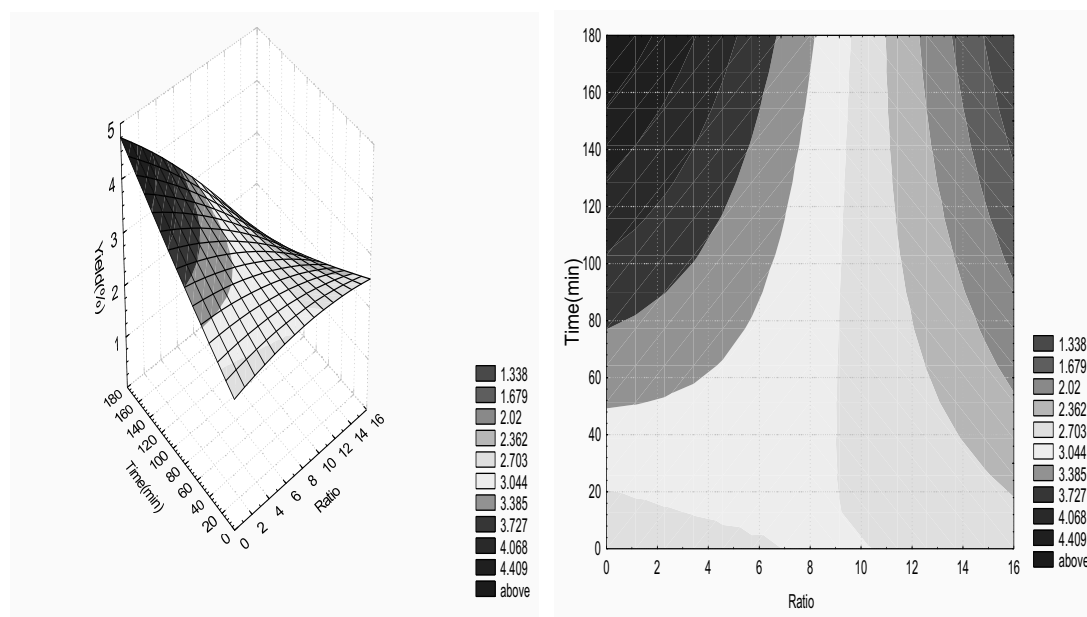


Figure 3

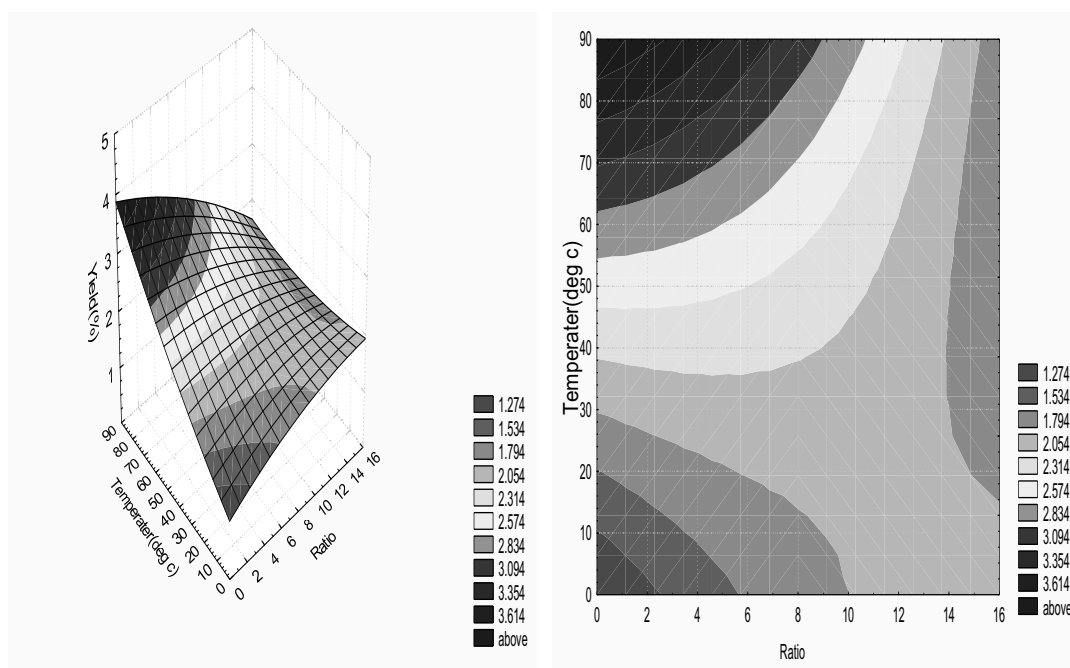


Figure 4

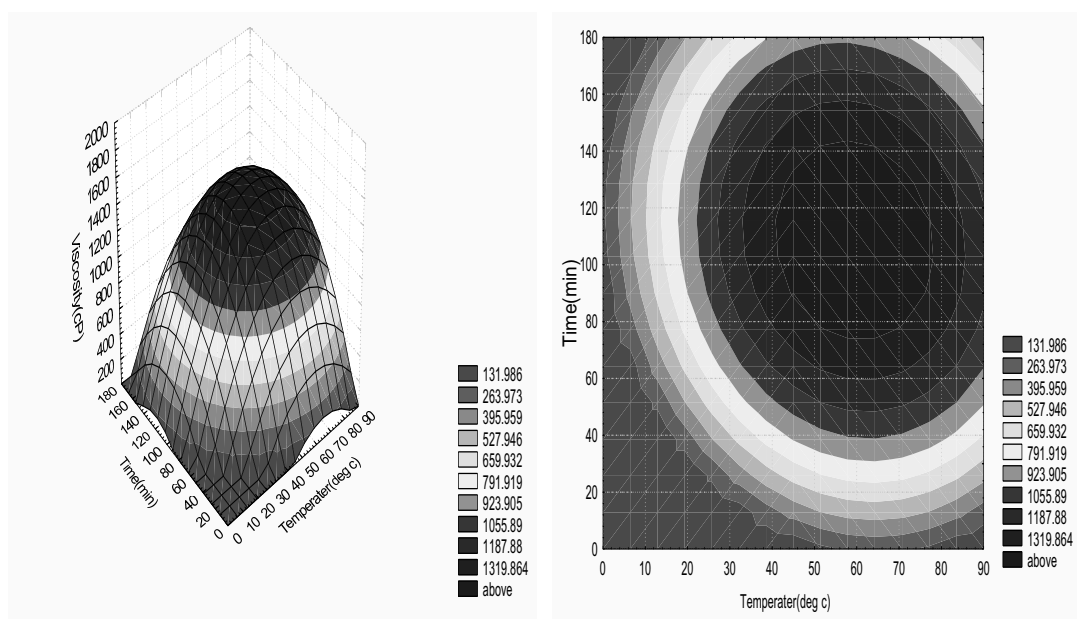


Figure 5

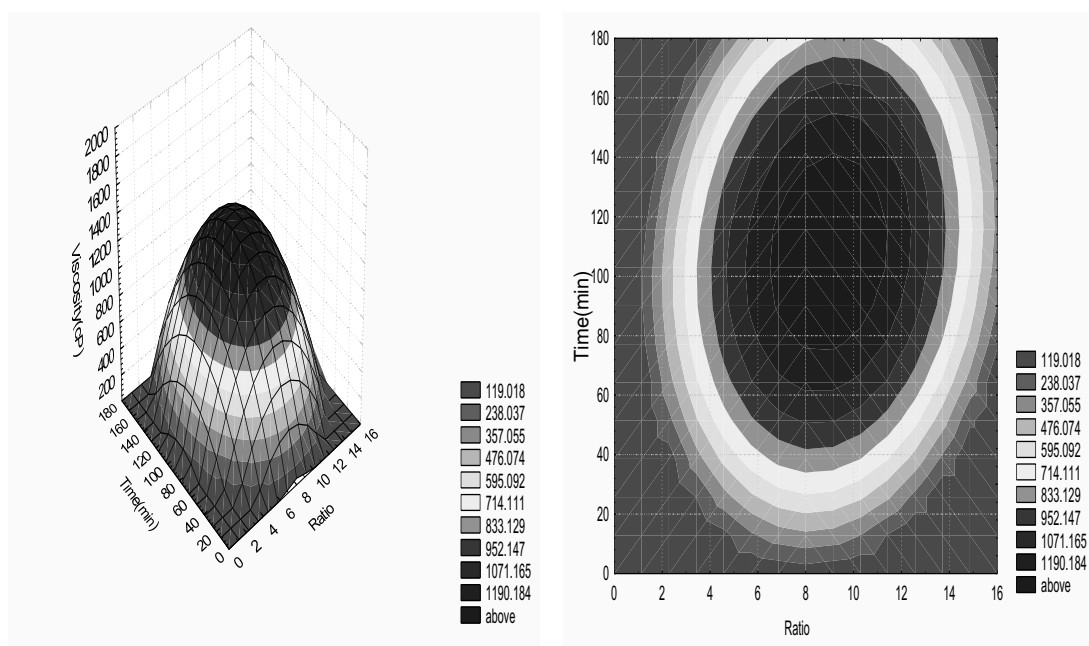


Figure 6

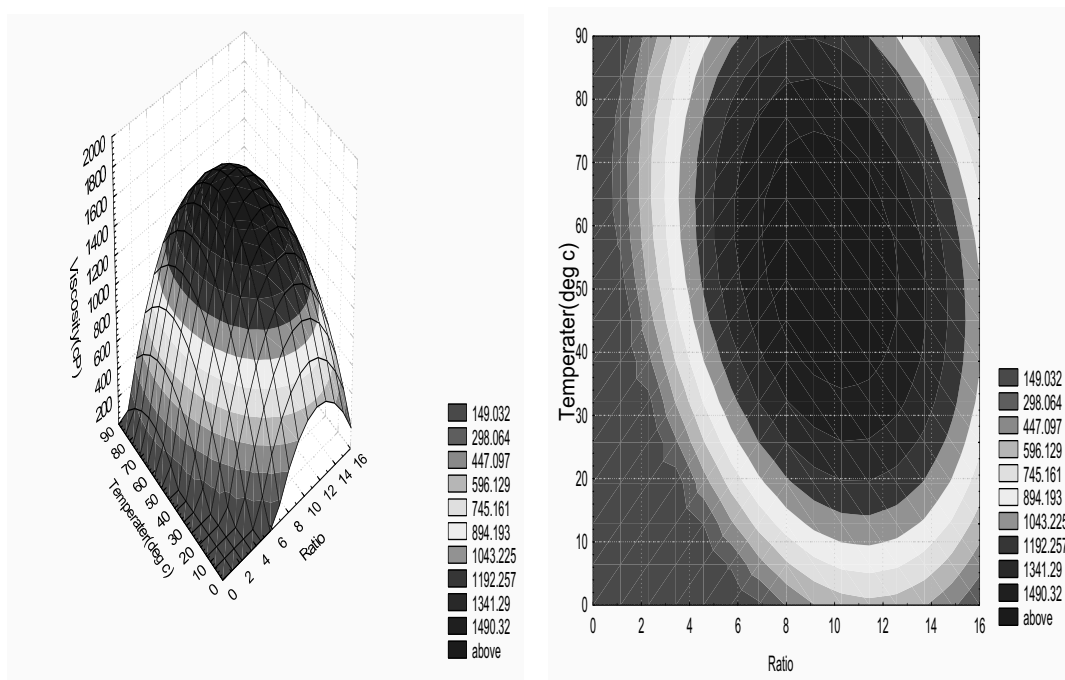
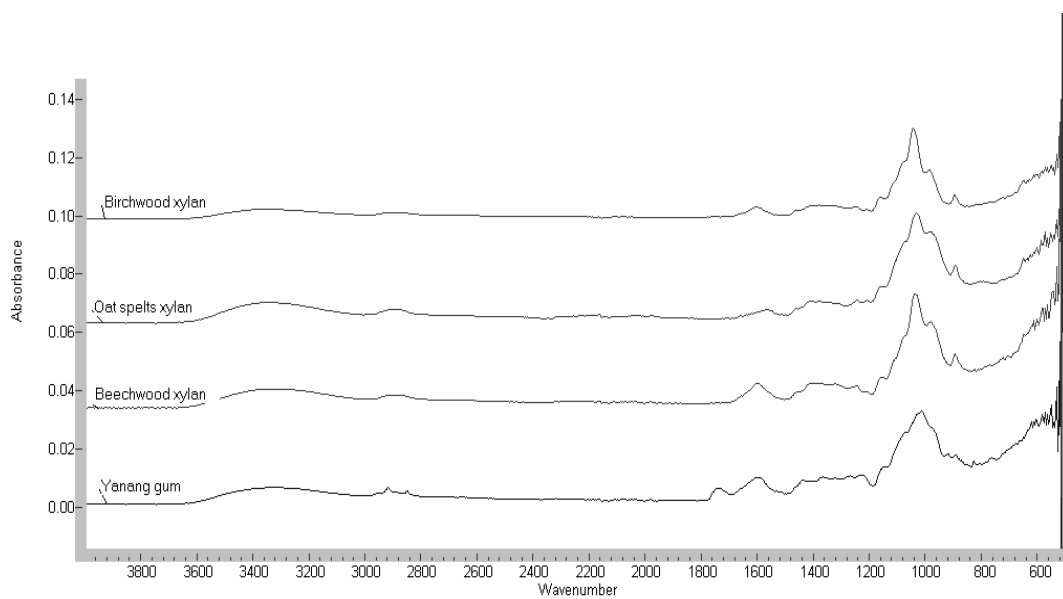
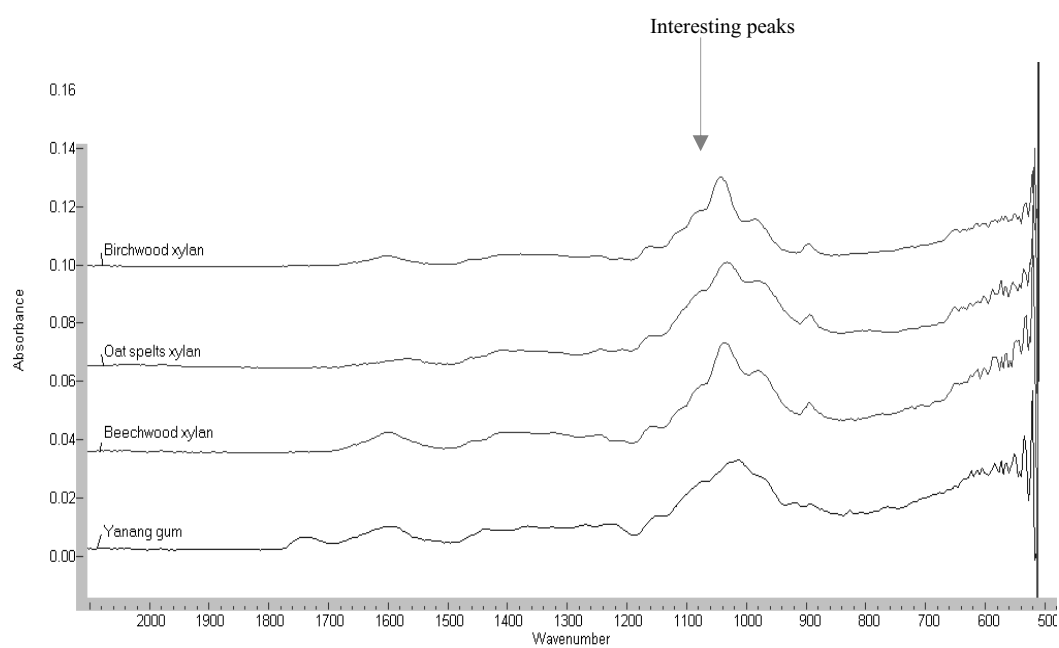


Figure 7

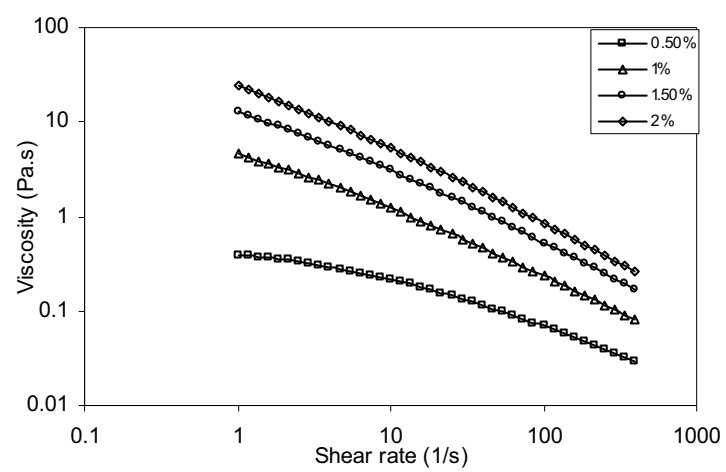


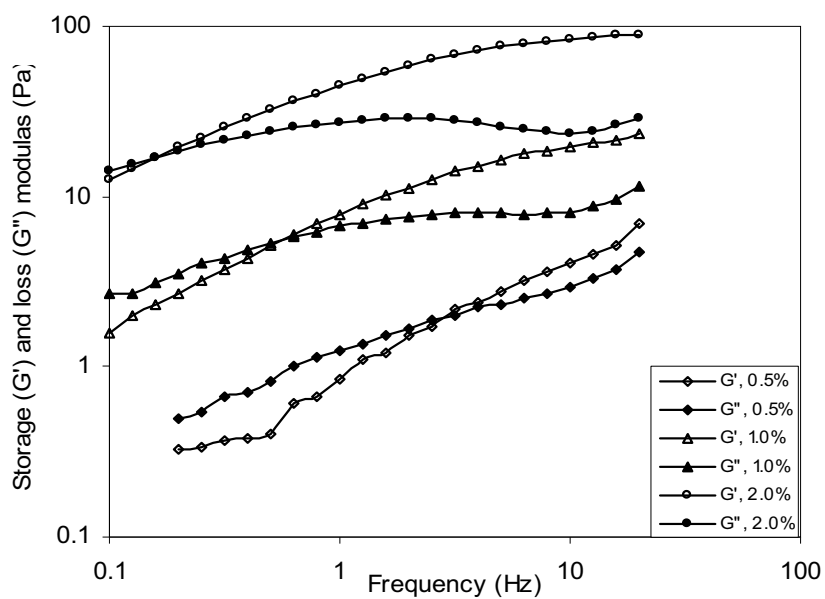
(a)



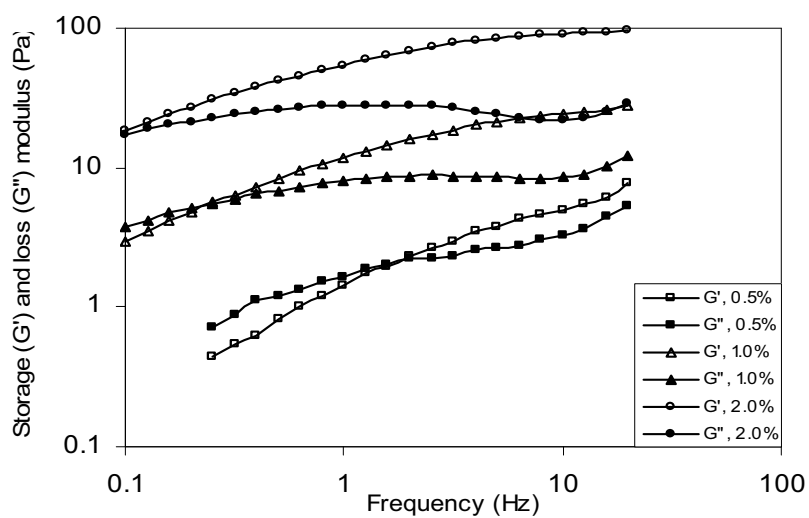
(b)

Figure 8

**Figure 9**



(a)



(b)

Fig. 10

Table 1 The central composite experimental design (in coded level of three variables) employed for extraction of Yanang gum.

Treatment	Extraction conditions		
	solid:water ratio (X_1)	Temperature (X_2)	Time (X_3)
1	1:5 (-1)	25 (-1)	60 (-1)
2	1:15 (+1)	25 (-1)	60 (-1)
3	1:5 (-1)	85 (+1)	60 (-1)
4	1:15 (+1)	85 (+1)	60 (-1)
5	1:5 (-1)	25 (-1)	180 (+1)
6	1:15 (+1)	25 (-1)	180 (+1)
7	1:5 (-1)	85 (+1)	180 (+1)
8	1:15 (+1)	85 (+1)	180 (+1)
9	1:10 (0)	55 (0)	120 (0)
10	1:10 (0)	55 (0)	120 (0)
11	1:10 (0)	55 (0)	120 (0)
12	1:10 (0)	55 (0)	120 (0)
13	1:1.6 (-1.68)	55 (0)	120 (0)
14	1:18.4 (+1.68)	55 (0)	120 (0)
15	1:10 (0)	5 (-1.68)	120 (0)
16	1:10 (0)	105 (+1.68)	120 (0)
17	1:10 (0)	55 (0)	19.2 (-1.68)
18	1:10 (0)	55 (0)	220.8 (+1.68)
19	1:10 (0)	55 (0)	120 (0)
20	1:10 (0)	55 (0)	120 (0)

+ = upper level, - = lower level and 0 = center points

ratio is dried Yanang leaves : water

Temperature is the extraction temperature (°C)

Time is the extraction time (min)

Figures in parentheses denote coded level of variables.

Table 2 Effect of extraction conditions on %yield and viscosity of extracted Yanang gums.

Treatment	Independent variables			Dependent variables	
	Ratio (X ₁)	Temp. (X ₂)	Time (X ₃)	%Yield (Y ₁)	Viscosity* (Y ₂)
1	1:5 (-1)	25 (-1)	60 (-1)	1.73	264.00
2	1:15 (+1)	25 (-1)	60 (-1)	1.18	366.40
3	1:5 (-1)	85 (+1)	60 (-1)	2.79	706.67
4	1:15 (+1)	85 (+1)	60 (-1)	2.24	181.67
5	1:5 (-1)	25 (-1)	180 (+1)	2.98	135.60
6	1:15 (+1)	25 (-1)	180 (+1)	2.15	779.73
7	1:5 (-1)	85 (+1)	180 (+1)	4.51	420.80
8	1:15 (+1)	85 (+1)	180 (+1)	1.05	198.93
9	1:10 (0)	55 (0)	120 (0)	2.56	1588.53
10	1:10 (0)	55 (0)	120 (0)	2.02	1434.67
11	1:10 (0)	55 (0)	120 (0)	2.45	1623.33
12	1:10 (0)	55 (0)	120 (0)	2.15	1842.00
13	1:1.6 (-1.68)	55 (0)	120 (0)	2.39	303.20
14	1:18.4 (+1.68)	55 (0)	120 (0)	1.44	272.27
15	1:10 (0)	5 (-1.68)	120 (0)	2.00	872.67
16	1:10 (0)	105 (+1.68)	120 (0)	2.75	572.00
17	1:10 (0)	55 (0)	19.2 (-1.68)	2.22	869.33
18	1:10 (0)	55 (0)	220.8 (+1.68)	2.22	293.87
19	1:10 (0)	55 (0)	120 (0)	2.33	1688.67
20	1:10 (0)	55 (0)	120 (0)	2.01	1736.67

* 1.0% sample (w/v) using spindle number 2 speed 100 rpm. The viscosities (cPs) of sample were measured by Brookfield Viscometer model DV-II⁺.

Table 3 Response surface model for extraction process of Yanang gums.

Response	Quadratic polynomial model	R ²	Significance
%Yield (Y ₁)	$Y_1 = -1.19885 + 0.24383X_1 + 0.035527 X_2$ $+ 0.021424 X_3 - 3.30624 \times 10^{-3} X_1^2 +$ $8.88649 \times 10^{-5} X_2^2 + 6.99380 \times 10^{-6} X_3^2 -$ $2.19167 \times 10^{-3} X_1 X_2 - 1.32917 \times 10^{-3} X_1 X_3 -$ $1.17361 \times 10^{-4} X_2 X_3$	0.80	0.0279
Viscosity (Y ₂)	$Y_2 = -3387.79421 + 426.08568X_1 +$ $58.16183X_2 + 23.89365X_3 - 20.03240X_1^2 -$ $0.38573X_2^2 - 0.11025X_3^2 - 1.24450X_1X_2 +$ $0.35202 X_1 X_3 - 0.038440X_2X_3$	0.97	0.0001

Table 4 Chemical compositions of Yanang gums.

Composition (%)	Yanang gum
Moisture	7.63±1.32
Ash	8.46±0.99
Protein	6.59±0.07
Lipid	1.26±0.97
Total sugar (as xylose equivalent)	59.47±3.45
Uronic acid (as galacturonic acid equivalent)	10.12±1.15
Monosaccharide (relative %)	
Rhamnose	0.50±0.08
Arabinose	7.70±0.18
Galactose	8.36±0.64
Glucose	11.04±0.54
Xylose	72.90±0.71

ภาคผนวก ข.
ผลงานภาคโปสเตอร์



สมาคมสภาวิชาการอุตสาหกรรมเกษตร
AGRO-INDUSTRY ACADEMIC COUNCIL ASSOCIATION

April 15, 2007

Dear Authors,

We are pleased to inform you that your paper, titled "**Optimization of Extraction Process and Physicochemical Characterization of Polysaccharide Gum from Yanang (*Tiliacora triandra*) Leaves,**" has been accepted for poster presentation at Food Innovation Asia 2007: "Q" Food for Good Life, held together with ProPak Asia 2007, at BITEC, Bangkok during June 14-15, 2007.

For your presentation, an acrylic board with dimension of (h x w) 1.25 x 1.0 m. will be provided. Deadline for full paper submission online is on May 15, 2007 at <http://iat.sut.ac.th> (after April 18, 2007). A guideline for full paper preparation is attached with this letter together with the revised version of your abstract. Online registration (will also be available at <http://iat.sut.ac.th>) to attend the conference is required before May 30, 2007. Please be informed that **there will be no on-site registration at the conference.**

We are looking forward to seeing you.

Sincerely yours,

S. Ningsanond

Suwayd Ningsanond, Ph.D.
President,
Agro-Industry Academic Council Association

Institute of Agricultural Technology
Suranaree University of Technology
Nakhon Ratchasima 30000
Thailand
Tel: 66 44 224152, Fax: 66 44 224150
E-mail: suwayd@sut.ac.th, suwayd@yahoo.com

Poster Presentation

Optimization of Extraction Process and Physicochemical Characterization of Polysaccharide Gum from Yanang (*Tiliacora triandra*) Leaves

Jittra Singthong,¹ Suwayd Ningsanond,² and Steve W. Cui³

¹Department of Agro-Industry, Faculty of Agriculture, Ubon Ratchathani University, Warinchanrap, Ubon Ratchathani 34190, Thailand

²School of Food Technology, Institute of Agricultural Technology, Suranaree University of Technology, Nakhon Ratchasima 30000, Thailand

³Food Research Program, Agriculture and Agri-Food Canada, Guelph, Ontario, N1G 5C9, Canada

Abstract

Yanang (*Tiliacora triandra*) is a vegetable used in the cuisines of the northeast of Thailand and Laos. Preliminary experiment revealed that Yanang leaves contained substantial amounts of polysaccharides. This paper reported the optimized extraction and some physicochemical characters of polysaccharide gum from Yanang leaves. The optimized extraction was at the solid:water ratio of 1:6.6, temperature of 85°C, and extraction time of 100 minutes. The major constituent monosaccharides of Yanang gum were xylose and small amounts of other neutral sugars. The FT-IR spectra of Yanang gum was similar to that of xylan. Yanang gum exhibited shear-thinning flow behavior and the extent of shear-thinning was concentration dependent. The mechanical spectra of Yanang gum at low concentration (0.5%) was typical of semi-dilute to concentrated solution. However, with increasing concentration, the solution tended toward a weak gel behavior.

Keywords: Yanang, *Tiliacora triandra*, Polysaccharide gum, Xylan, Yanang (*Tiliacora triandra*) Leaves



Optimization of Extraction Process and Physicochemical Characterization of Polysaccharide Gum from Yanang (*Tiliacora triandra*) Leaves

Jittra Singthong¹, Suwayd Ningsanond² and Steve W. Cui³

¹Department of Agro-Industry, Faculty of Agriculture, Ubon Ratchathani University, Warincharap, Ubon Ratchathani, 34190, Thailand

²School of Food Technology, Institute of Agricultural Technology, Suranaree University of Technology, Nakhon Ratchasima, 30000, Thailand

³Food Research Program, Agriculture and Agri-Food Canada, Guelph, Ontario, N1G 5C9, Canada



Abstract

Yanang (*Tiliacora triandra*) is a vegetable used in the cuisines of the northeast of Thailand and Lao. Preliminary experiment revealed that Yanang leaves contain substantial amounts of polysaccharides. This paper reported the optimized extraction and some physicochemical character of polysaccharide gum from Yanang leaves. The optimized extraction was at the solid:water ratio of 1:6.6, temperature of 85°C, and extraction time of 100 minutes. The major constituent monosaccharides of Yanang gum were xylose and small amounts of other neutral sugars. The FT-IR spectra of Yanang gum was similar to that of xylan. Yanang gum exhibited shear-thinning flow behavior and the extent of shear-thinning was concentration dependent. The mechanical spectra of Yanang gum at low concentration (0.5%) was typical of semi-dilute to concentrated solution. However, with increasing concentration, the solution tended toward a weak gel behavior.

Keywords: Yanang, *Tiliacora triandra*, Polysaccharide gum, Xylan, Yanang (*Tiliacora triandra*) leaves

Introduction

Yanang, *Tiliacora triandra* (Colebr.) Diels, is in the family of *Menispermaceae*. It is a species of flowering plant native to mainland Southeast Asia, and is widespread in the northeast of Thailand. It is used particularly in the cuisines of the northeast of Thailand and Laos especially in bamboos shoot soup. Chemical analysis revealed that Yanang leaves contain high levels of beta-carotene and minerals, such as calcium and iron. The extract from root of this plant is used as a medicinal herb for treatment of fever, malaria and antipyretic (Wiriyachita and Phuriyakorn, 1981, Asean Center for Biodiversity, 2006). Yanang's leaves can form viscous in water. The viscosity contributing components (hydrocolloid/gum) in Yanang could be another source of natural polysaccharide. The aim of this study was to optimize the extraction process of polysaccharides from Yanang leaves and characterise its physicochemical properties.

Materials and Methods

1. Extraction optimization

Yanang leaves, procured from a farmer's market in the Northeast of Thailand (Ubon Ratchathani province), were cleaned with water to remove dust and infected leaves then dried at 60°C for 3 hours. The extraction was carried out under various conditions according to the central composite design (CCD) with a quadratic model (Myers, 1995). The effect of three independent variables, i.e. solid:water ratio, X1 (1:5-1:15), temperature, X2 (25-85 °C) and Time, X3 (60-180 min) were determined, and the detailed experimental design is shown in Table 1. The independent variables were coded to three levels of -1, 0, +1. The dependent variables were the yield (Y1) and viscosity (Y2), which represent both quality of the gum. The optimum conditions for extraction of polysaccharides were determined by response surface methodology. All experimental data were statistically analyzed by Design-Expert® software (Version 6.0.10, Stat-Ease, Inc., US).

2. Chemical composition

Moisture, protein and ash content were determined according to the AOAC methods (AOAC, 1997). Total sugars and uronic acid content were determined using the method of Dubois, *et al.* (1956) and Blumenkrantz and Asboe-Hansen (1973), respectively. Monosaccharide compositions were analyzed using a Dionex HPAEC system (Dionex Canada Ltd., Oakville, Ont., Canada) equipped with pulsed amperometric detector (PAD) as previously described by Wood, *et al.* (1994).

3. FT-IR spectroscopic method

Yanang gum and xylan standards were dried and stored in desiccators prior to FT-IR analysis. FT-IR spectra were recorded using a Golden-gate Diamond single reflectance ATR on a FTS 700 FT-IR spectrophotometer with DTGS detector (DIGILAB, Randolph, MA).

4. Rheological properties

All rheological measurements were determined on a ARES controlled strain rheometer (TA Instruments, New Castle, DE, USA). A parallel plate geometry (50 mm diameter, 1.0 mm gap) was used for both steady shear and oscillatory measurements.

Results and Discussion

The optimized condition were 1:6.6, 85°C, and 100 minutes for ratio of dried Yanang leaves powder to water, extraction temperature and extraction time, respectively. The major constituent monosaccharide of Yanang gum was xylose, together with small amounts of rhamnose, arabinose, glucose and galactose. The FT-IR spectra revealed that Yanang gum had a similar structure to xylan.

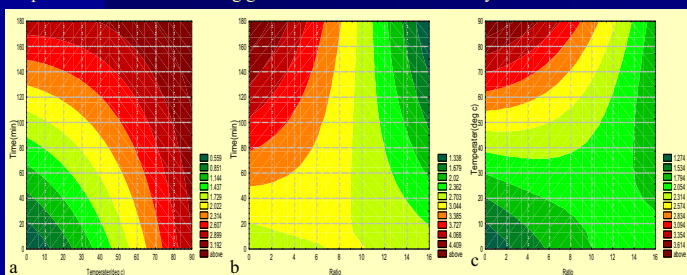


Fig. 1 Contour plots of the effect of the ratio, extraction temperature and time on yield. (a) at the ratio of 1:6.6, (b) at temperature of 85 °C, (c) at time of 100 min

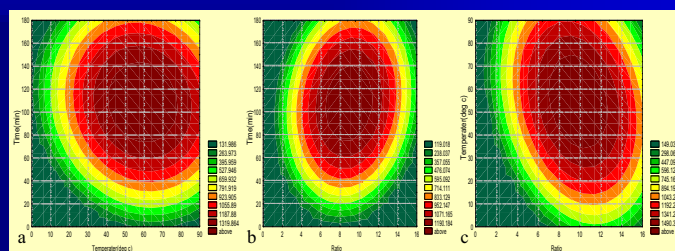


Fig. 2 Contour plots of the effect of the ratio, extraction temperature and time on viscosity. (a) at the ratio of 1:6.6, (b) at temperature of 85 °C, (c) at time of 100 min

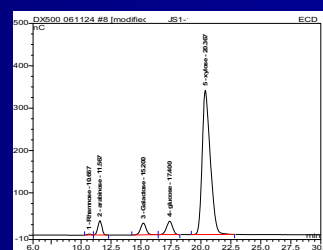


Fig. 3 Chromatogram of Monosaccharides.

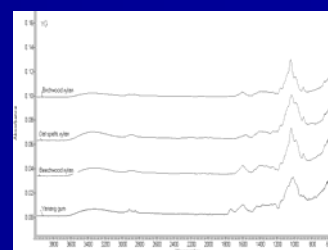


Fig. 4 FT-IR of Yanang gum and xylans.

The rheological behaviors of Yanang gum were showed that Yanang gum exhibited a non-newtonian shear-thinning flow behavior at 0.5% and above. The mechanical spectra in the linear viscoelastic region, as a function of Yanang gum concentration and temperature were studied. The cross-over frequency shifted to lower region at lower temperature and/or higher concentration, demonstrating stronger elastic component.

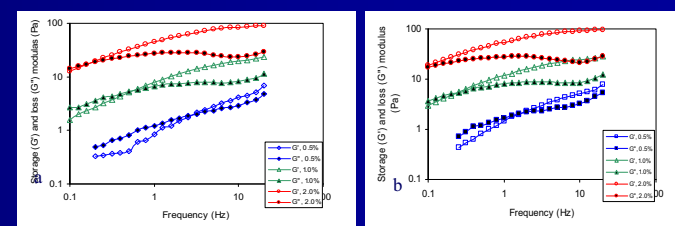


Fig. 4 Frequency dependence of G' and G'' of Yanang gum at different concentration. (a) 25°C, (b) 5°C

Conclusion

The optimized extraction condition of Yanang gum was identified as 1:6.6, 85°C and 100 minutes for the ratio, extraction temperature and extraction time, respectively. The major constituent monosaccharide of Yanang gum was xylose, together with small amounts of rhamnose, arabinose, glucose and galactose. The FT-IR spectra revealed that Yanang gum had a similar structure to xylan. The rheological behaviors of Yanang gum were showed that Yanang gum exhibited a shear-thinning flow behavior. The cross-over frequency shifted to lower region at lower temperature and/or higher concentration, demonstrating stronger elastic component.

Acknowledgements

The authors would like to thank the Thailand Research Fund (TRF) and the Commission on Higher Education, Ministry of Education, Thailand for financial support.

References

- AOAC (1997). *Official methods of analysis of AOAC international*. AOAC International, Maryland.
- Stat-Ease. (2002). *Design-Expert® software version 6*. Stat-Ease, Inc.