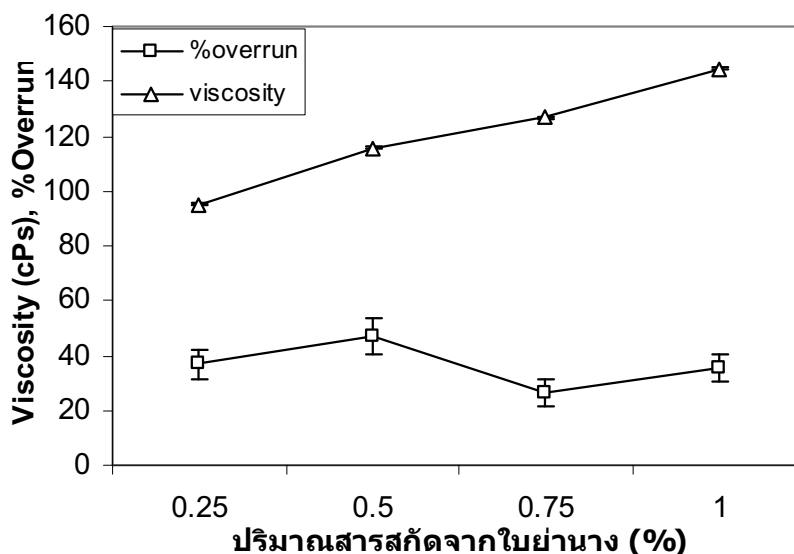




ภาพที่ 30 กราฟแสดงความสัมพันธ์ %Overrun และค่าความหนืดในการใช้สารสกัดจากใบย่านาง เป็นสารให้ความคงตัวในไอศกรีมช็อกโกแลต

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 ฟิวรีเออร์ทรานฟอร์ม 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

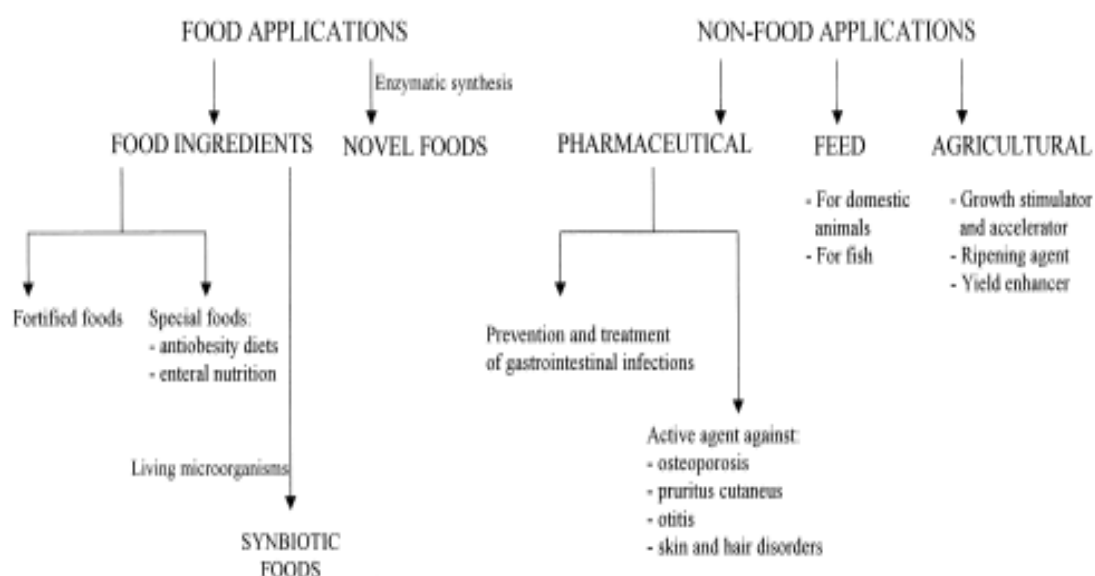
ข้อเสนอแนะสำหรับงานวิจัยในอนาคต

1. น่าจะผลิตเป็นน้ำตาลไซลิตอล (xylitol) ซึ่งเป็นน้ำตาลแอลกอฮอล์ที่ได้จากน้ำตาลไซโรส จัดเป็นสารให้ความหวาน (sweetener) ทดแทนน้ำตาลแต่ไม่ให้พลังงาน (anti-cariogenic properties) เหมาะสำหรับผู้ที่ต้องการควบคุมน้ำหนักหรือผู้ป่วยเฉพาะทาง เช่น เบาหวาน และยังสามารถประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม เช่น หมากฝรั่ง (chewing gum) ที่ไม่ทำให้ฟันผุ และยาสีฟัน (tooth paste) เป็นต้น ดังนั้นไซแลนจากไบยานางน่าจะเป็นแหล่งผลิตไซลิตอลที่ได้จากธรรมชาติ 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 ดังนั้นน่าจะมีคุณสมบัติด้าน biological activity แตกต่างกันด้วย

4. น่าจะมีการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมทั้งอาหารและไม่ใช่อาหารหลากหลาย เนื่องจากไซแลนจากไบยานางมีคุณสมบัติเป็นสารเพิ่มความหนืด และน่าจะมีคุณสมบัติในการเกิดฟิล์ม (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. & 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.
- 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

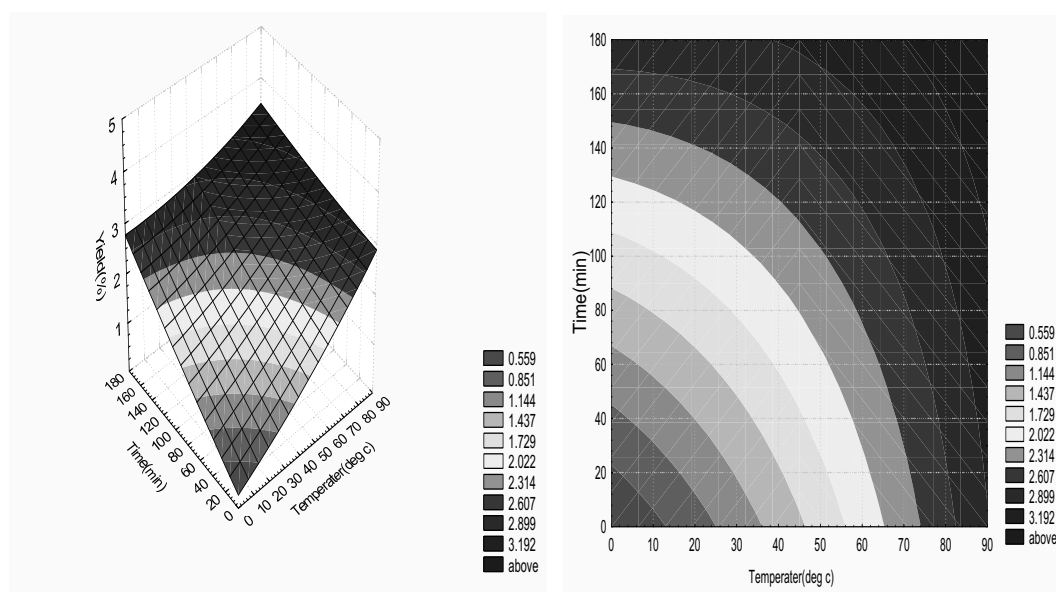


Figure 2

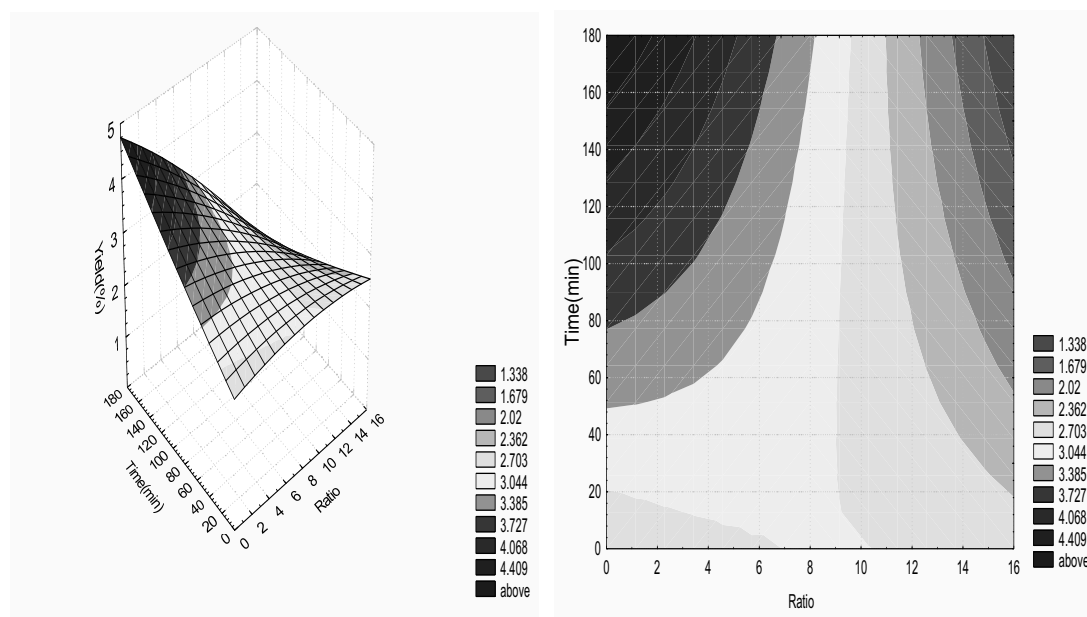


Figure 3

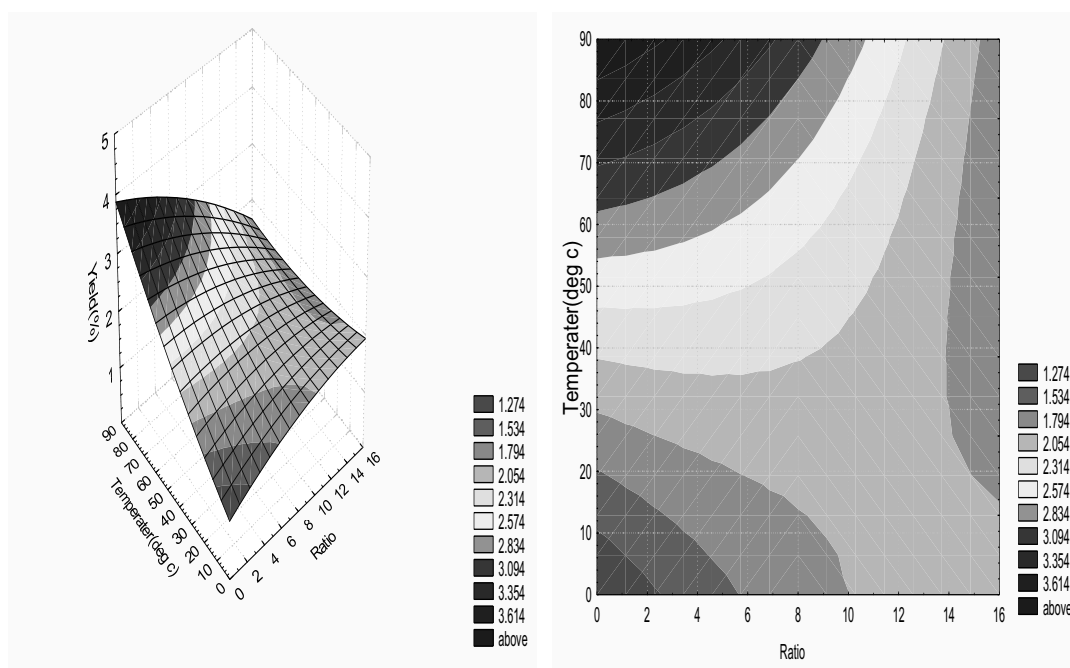


Figure 4

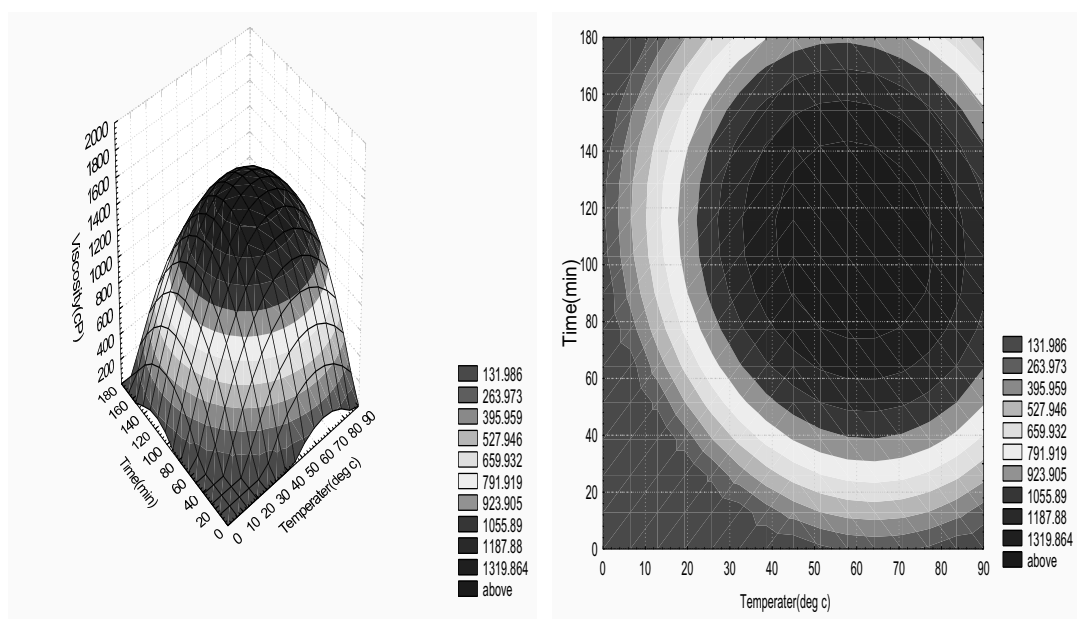


Figure 5

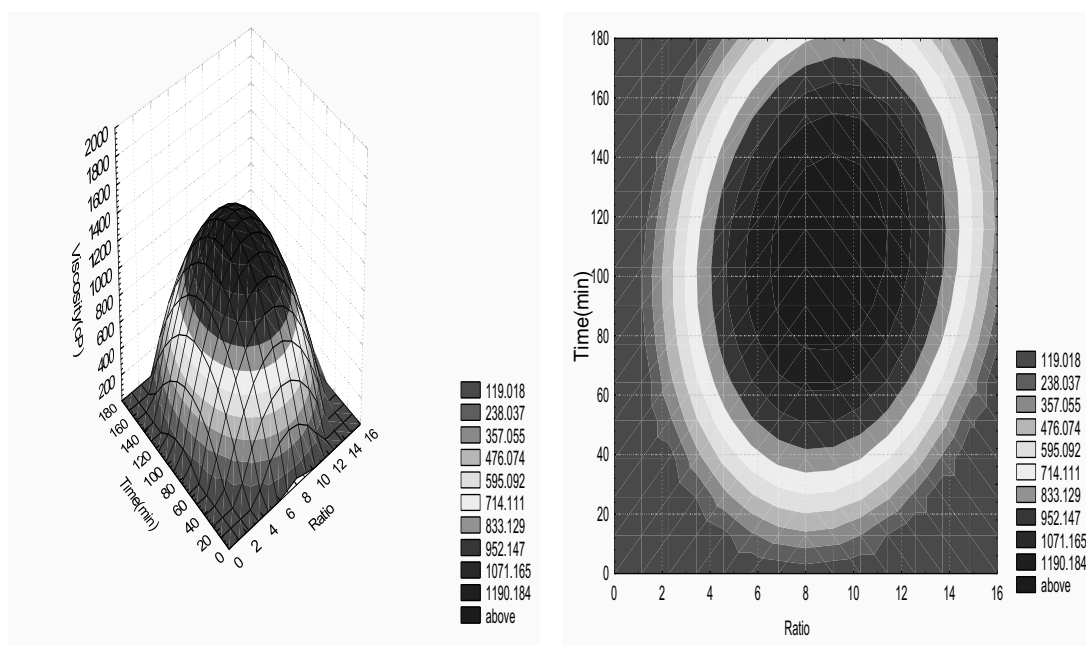


Figure 6

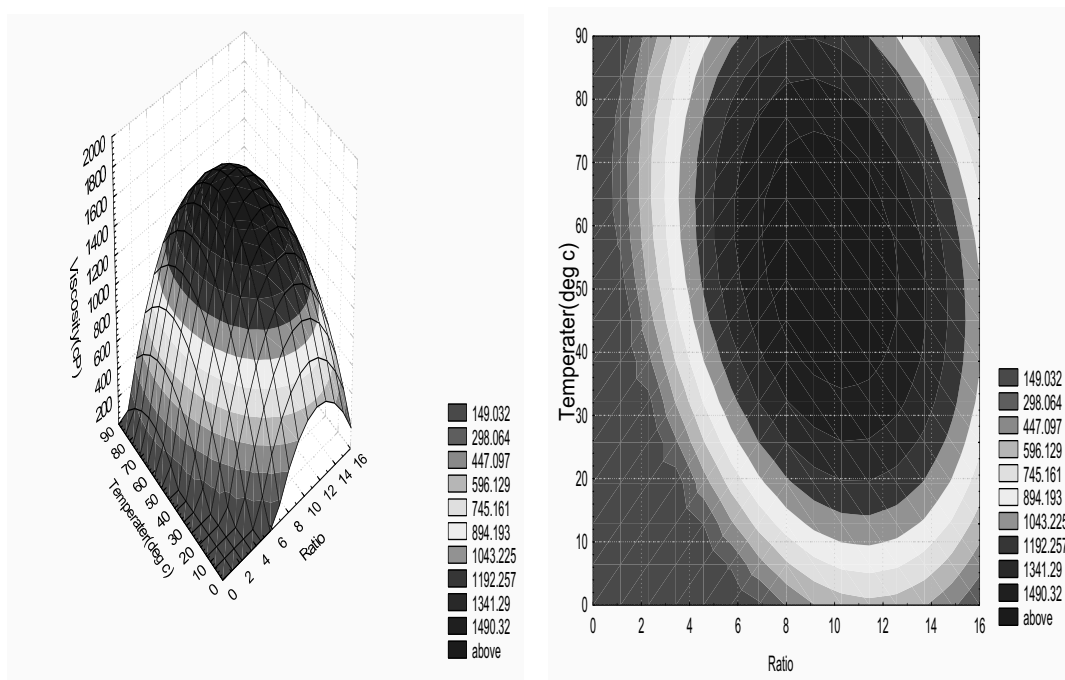
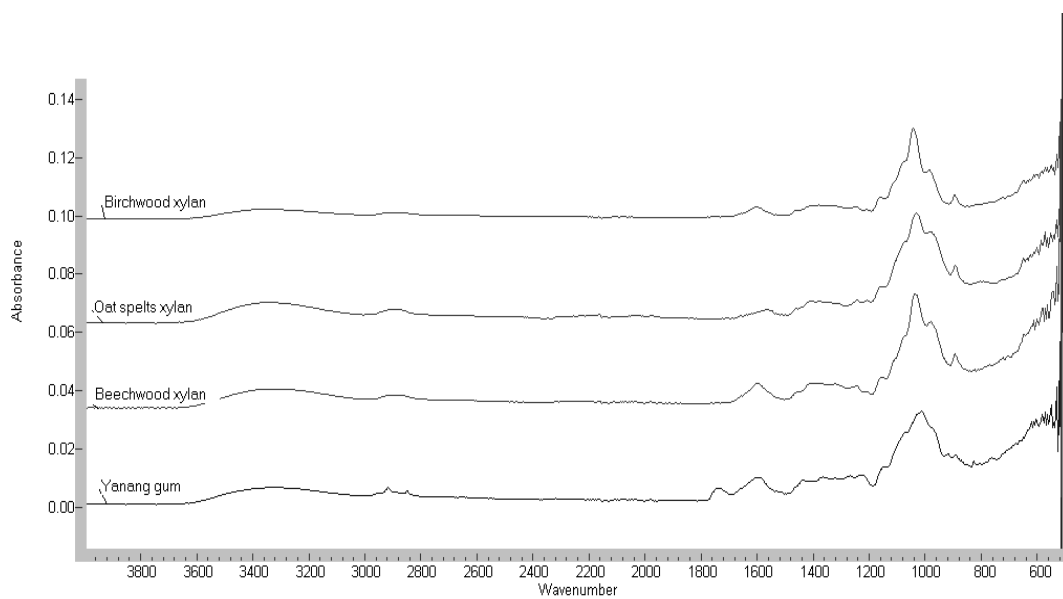
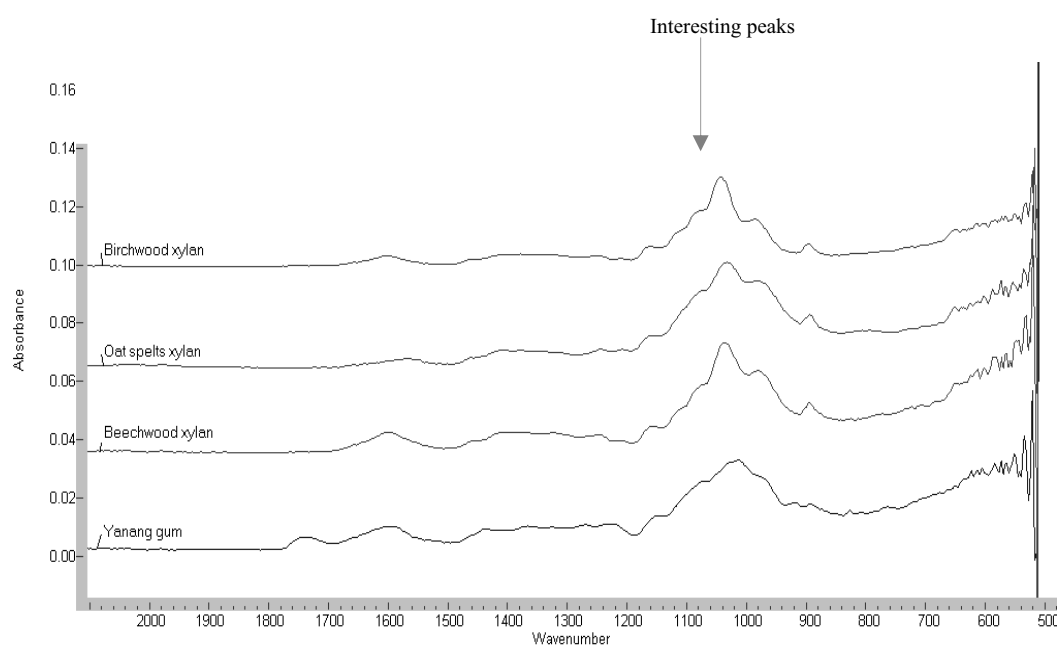


Figure 7

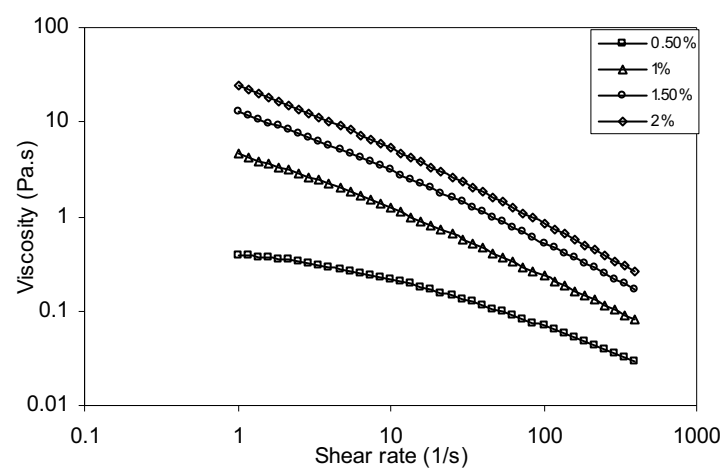


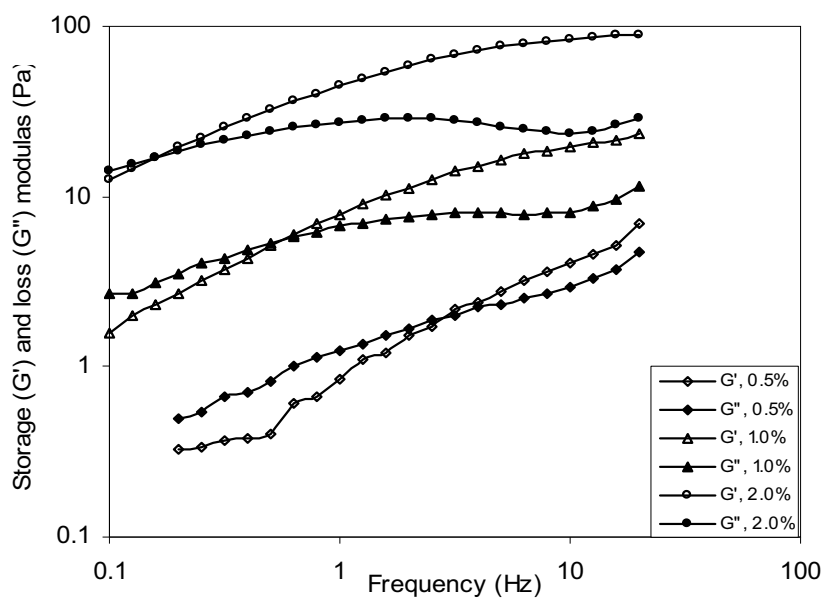
(a)



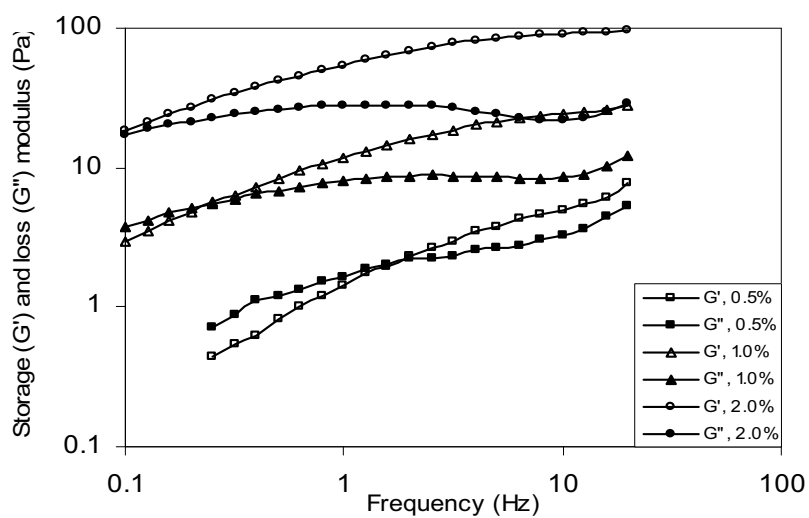
(b)

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 (DIGI-LAB, 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.

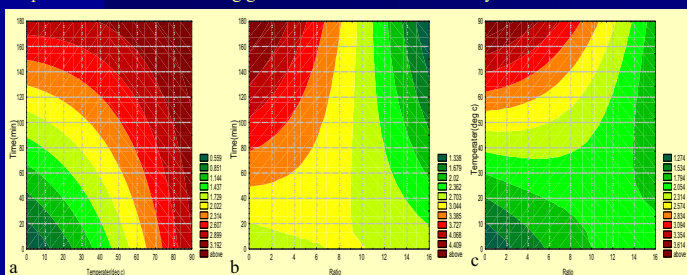


Fig. 1 Contour plots of the effect of the ratio, extraction temperature and time on yield. (a) at the ratio of 1:6.6, (b) at temperature of 85 °C, (c) at time of 100 min

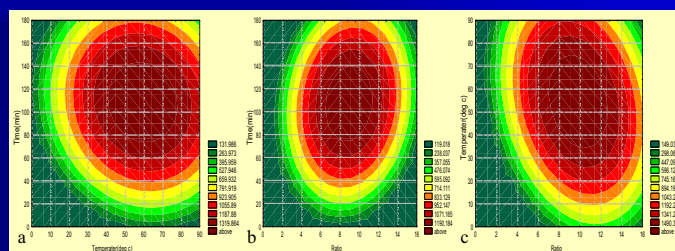


Fig. 2 Contour plots of the effect of the ratio, extraction temperature and time on viscosity. (a) at the ratio of 1:6.6, (b) at temperature of 85 °C, (c) at time of 100 min

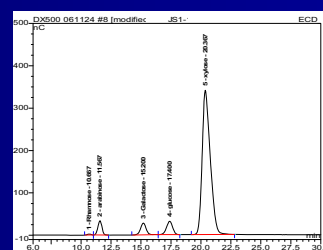


Fig. 3 Chromatogram of Monosaccharides.

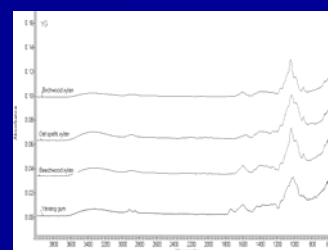


Fig. 4 FT-IR of Yanang gum and xylans.

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.

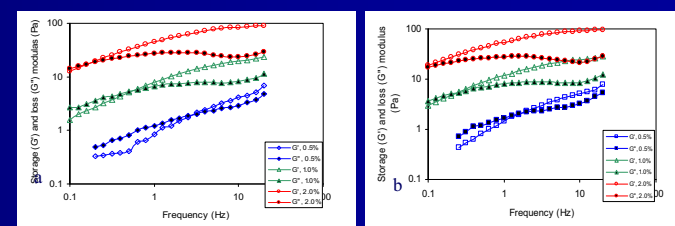


Fig. 4 Frequency dependence of G' and G'' of Yanang gum at different concentration. (a) 25°C, (b) 5°C

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.