บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

น้ำนมเป็นแหล่งโปรตีนที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงสำหรับมนุษย์ เนื่องจากน้ำนมประกอบด้วยกรดอะมิโนและไนโตรเจนที่จำเป็นต่อร่างกาย(Tome'and Debabbi, 1998) อย่างไรก็ตามหลังจากผ่านกระบวนการย่อยในร่างกายพบว่า โปรตีนนมบางส่วนไม่ถูกย่อย และดูดซึมไปใช้ในร่างกายได้)Mahe' *et al*.,1996 ; Tome' and Debabbi, 1998 ; FAO,1991 ; EDA,1997) ดังนั้นการดื่มนมที่ผ่านการย่อยโปรตีนบางส่วนจะช่วยเพิ่มอัตราการย่อยโปรตีนให้แก่ร่างกาย (Giangiacomo *et al*.,1991) อย่างไรก็ตาม การย่อยโปรตีนนั้นมักพบปัญหาการเกิดรสขม เนื่องจากการย่อยโปรตีนจะได้เปปไทด์ขนาดเล็กลง ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่มีค่าไฮโดรโฟบิกสูง ซึ่งจะมีรสขม ส่งผลต่อการยอมรับของผู้บริโภค (Adler-Nissen, 1986 ; Clegg ; Lim, 1974; Sahaand Hayashi, 2001) การควบคุมสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยโปรตีน จะช่วยป้องกันหรือลดระดับความขม (Tamura *et al.,*1990 ; Adler-Nissen,1986) Giangiacomo และคณะ(1991) ศึกษาการผลิตนมยูเอชทีที่ผ่านการย่อยโปรตีนบางส่วนด้วยเอนไซม์ พบว่าการใช้เนื้อสับปะรดร้อยละ1 ผสมกับน้ำนมที่อุณหภูมิ60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา15 นาที จะทำให้โปรตีนมีขนาดเล็กลง โดยเคซีนถูกย่อยไปประมาณร้อยละ 20 นมที่ได้มีความคงตัวและมีกลิ่นรสเป็นที่ยอมรับของผู้ทดสอบ ต่อมา Quattruci และคณะ(1991) ได้นำนมชนิดนี้ไปศึกษาการย่อยในสภาวะจำลอง (In vitro digestation) พบว่าโปรตีนในนมมีอัตราการถูกย่อยมากกว่านมปกติร้อยละ11 และเมื่อทดสอบทางประสาทสัมผัสพบว่า รสชาติกลิ่นรสและเนื้อสัมผัสแตกต่างจากนมปกติเล็กน้อย นมผสมน้ำสับปะรดพาสเจอร์ไรส์ที่ผ่านการย่อยโปรตีนบางส่วน (PMPP) จัดเป็นเครื่องดื่มนมพีเอชต่ำ มีค่าพีเอชประมาณ 4 - 4.2 เครื่องดื่มประเภทนี้มักพบปัญหาการแยกชั้นจากการตกตะกอนของโปรตีนเคซีน

ปัญหาดังกล่าวสามารถป้องกันได้โดยการใช้เพกติน (Herbstreith and Fox, 1999) ซึ่งมีงานวิจัยมากมายที่รายงานเกี่ยวกับกลไกของเพกตินในการให้ความคงตัวแก่โปรตีน ภายใต้สภาวะที่พีเอชต่ำ (Nakamura *et al*., 2003; Laurent and Boulenguer, 2003; Maroziene and Kruif, 2003 and Herbstreith and Fox,1999)

ดังนั้นการผลิตPMPP จำเป็นที่จะต้องศึกษาถึงสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยโปรตีน เพื่อป้องกันการเกิดรสขมพร้อมทั้งพัฒนารสชาดและความคงตัวให้เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

บทตรวจเอกสาร

1. โปรตีนในน้ำนม

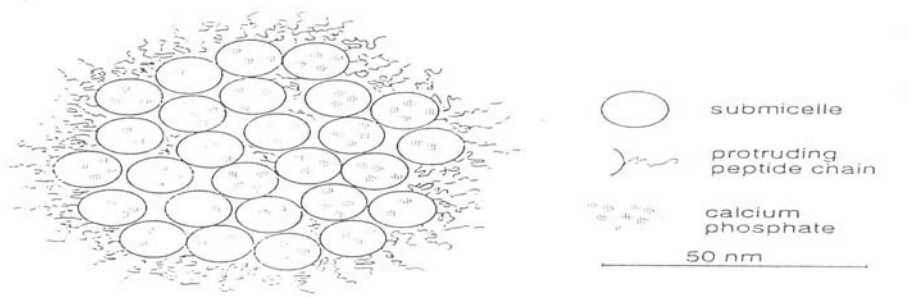
น้ำนมวัว (cow milk) ประกอบด้วยโปรตีนร้อยละ 3.25 โปรตีนที่สำคัญที่พบในน้ำนม ได้แก่ เคซีน (casein) และ เวย์โปรตีน (whey proteins) ซึ่งประกอบด้วยโปรตีนหลัก 2 ชนิดคือ แอลฟาแลกตัลบูมิน (α-lactalbumin) และเบต้าแลกโตโกลบูลีน (β-lactoglobulin) (รัชนี ตัณฑะพานิชกุล,2542)

เคซีน (Casein) มีปริมาณร้อยละ 80 ของโปรตีนในน้ำนม เป็นโปรตีนที่พบในน้ำนมเท่านั้น มีลักษณะเป็นสีขาว ไม่มีกลิ่นรส เป็นตัวที่ทำให้น้ำนมมีสีขาว เคซีนมีความสำคัญต่อความคงตัวของผลิตภัณฑ์นมระหว่างการให้ความร้อน การทำเข้มข้น และการเก็บรักษา นอกจากนี้ยังมีผลต่อคุณสมบัติการไหล (rheologial properties) ของผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวและนมข้น โดยปกติเคซีนอยู่ในรูปของไมเซลล์ซึ่งกระจายเป็นแบบคอลลอยด์ในน้ำนม เคซีนจะมีลักษณะทรงกลมอย่างหยาบ เส้นผ่านศูนย์กลางอยู่ในช่วง 40-300 nm โดยเฉลี่ยประกอบด้วยเคซีนประมาณ 10^4 โมเลกุล เคซีนไมเซลล์มีลักษณะเป็นประจุลบ ภายในไมเซลล์ประกอบด้วยสารอนินทรีย์สำคัญคือ แคลเซียมฟอสเฟตซึ่งมีประมาณ 8 กรัมต่อ100 กรัมเคซีน นอกจากนี้ยังประกอบด้วยโปรตีนอื่นๆอีกเล็กน้อย เช่น โปรตีเอส-เปปโตน (Walstra *et al*., 1999)

เคซีนไมเซลล์ (Casein micelle)

ในน้ำนมมีเคซีนประมาณร้อยละ10 กระจายตัวในนมในรูปเคซีนเดี่ยว เคซีนส่วนใหญ่จะรวมตัวกันอยู่ในรูปของเคซีนไมเซลล์ด้วยพันธะ Hydrophobic interaction, Electrostatic interaction และพันธะไฮโดรเจน (Bilitz and Grosch,1999)

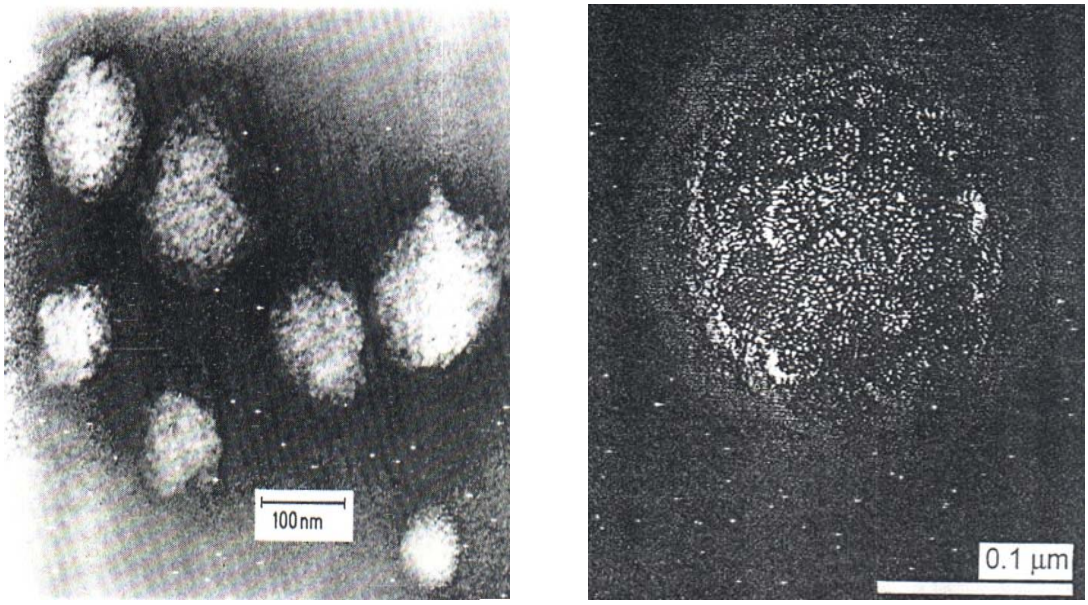
เคซีนไมเซลล์ประกอบด้วยหน่วยย่อยซึ่งเรียกว่า ซับไมเซลล์ (submicell) มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 12-15 nm แต่ละซับไมเซลล์จะประกอบด้วยเคซีน 2-25 โมเลกุลมีรูปทรงกลม ซับไมเซลล์ประกอบด้วยเคซีนชนิดต่างๆ สามารถแบ่งซับไมเซลล์เป็น 2 ชนิด คือชนิดที่มีแคปปา-เคซีน และ ชนิดที่ไม่มีแคปปา-เคซีน ซับไมเซลล์จะรวมตัวกันเป็นกลุ่มด้วยพันธะไฮโดรโฟบิกและ salt bridge โดยมีแคลเซียมฟอสเฟตเป็นตัวเชื่อม ส่วนที่เป็นไฮโดรโฟบิกของโมเลกุล (ซับไมเซลล์ที่มีแคปปา-เคซีน) จะรวมตัวกันอยู่ตรงกลางเป็นแกนของเคซีนไมเซลล์ ขณะที่ส่วนที่เป็นไฮโดรฟิลิก (ซับไมเซลล์ที่ไม่มีแคปปา-เคซีน) จะโอบล้อมอยู่ภายนอก แบบจำลองของเคซีนไมเซลล์แสดงดังภาพที่1 ส่วนที่เป็นไฮโดรฟิลิกด้านc-terminal ของแคปปา-เคซีนจะยื่นออกไปด้านนอกผิวของซับไมเซลล์ (Walstra *et al*.,1999) เคซีนซับไมเซลล์จะหยุดการรวมตัวกันเมื่อไมเซลล์ถูกปกคลุมด้วยซับไมเซลล์ชนิดที่มีแคปปา-เคซีน เพราะ glycopeptide ของแคปปา-เคซีน เป็นส่วนที่เป็นไฮโดรฟิลิก มีลักษณะเป็นเส้นสายยื่นออกไปปกคลุมนอกพื้นผิวของไมเซลล์ป้องกันการเชื่อมกันของเคซีนไมเซลล์ด้วย steric repulsion (Bilitz and Grosch,1999) เมื่อศึกษาลักษณะของเคซีนไมเซลล์โดยใช้กล้องอิเลกตรอน พบว่าเคซีนไมเซลล์มีรูปร่างคล้ายวงลี แสดงดังภาพที่ 2



ภาพที่ 1 แบบจำลองตัดตามขวางของเคซีนไมเซลล์

Figure 1 Model of a cross-section through a casein micelles.

Source : Walstra *et al*(1999)



A B

ภาพที่ 2 โครงสร้างของเคซีนไมเซลล์จากกล้องอิเลกตรอน

Figure 2 Electron micrograph of the casein micelles.

Source : A : Webb(1974 sited by Bilitz and Grosch,1999)

B : Fennema(1996)

ชนิดของเคซีน

Walstra และคณะ(1999) กล่าวว่าเคซีนไมเซลล์ประกอบด้วยเคซีน 5 ชนิด คือ แอลฟา$_{s1}$- เคซีน แอลฟา$_{s2}$-เคซีน เบต้า-เคซีน แคปปา-เคซีน และ แกรมมา-เคซีน

แอลฟา$_{s1}$- เคซีน (α_{s1}-casein) เป็นองค์ประกอบหลักของเคซีน ประมาณร้อยละ 40 ของเคซีนทั้งหมด มีน้ำหนักโมเลกุล 23,614 ประกอบด้วยกรดอะมิโน 199 เรซิดิว เป็นไตรโพลีเปปไทด์สายเดียว ประกอบด้วยส่วนที่ไม่ชอบน้ำ 2 ส่วน (hydrophobic regions) สามารถตกตะกอนได้ด้วยแคลเซียมในปริมาณเล็กน้อย แอลฟา$_{s2}$-เคซีน (α_{s2}-casein) มีอยู่ประมาณร้อยละ10 มีน้ำหนักโมเลกุล 25,230 ประกอบด้วยกรดอะมิโน 207 เรซิดิว เบต้า-เคซีน (β-casein) เป็นองค์ประกอบที่พบรองลงมาจาก แอลฟา$_{s1}$-เคซีน มีอยู่ประมาณร้อยละ 36 ของเคซีนทั้งหมด เป็นเปปไทด์สายเดี่ยวมีน้ำหนักโมเลกุล 23,983 ประกอบด้วยกรดอะมิโน 209 เรซิดิว แคปปา-เคซีน (**κ**–casein) มีปริมาณร้อย

ละ 13 ของเคซีนทั้งหมด มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ19,023 ประกอบด้วยกรดอะมิโน 169 เรซิดิว แคปปา-เคซีนมีคุณสมบัติต่างจากเคซีนชนิดอื่น คือ แคปปา-เคซีน สามารถละลายได้ในสารละลายที่มีแคลเซียมไอออนจึงมีบทบาทในการรักษาสภาพของเคซีนไมเซลล์เพราะแคปปา-เคซีนช่วยทำให้ เคซีนชนิดอื่นซึ่งไม่ละลายในสารละลายแคลเซี่ยมสามารถคงตัวอยู่ได้ในไมเซลล์ นอกจากนี้ แคปปา-เคซีน จะถูกไฮโดรไลส์ได้ง่ายด้วยเรนนิน ตรงตำแหน่ง phe105–Met106 ได้เป็น para-kappa–caseinและCMPสำหรับแกรมมา-เคซีน (γ–casein) มีประมาณร้อยละ 3 ของเคซีนทั้งหมด มีน้ำหนักโมเลกุล 20,500 เป็นเคซีนที่แยกได้จากเบต้า-เคซีน ตรงตำแหน่งกรดอะมิโนลำดับที่ 29-209 (Walstra *et al.*,1999)

เวย์โปรตีน (Whey protein)

เวย์โปรตีนมีลักษณะเป็นกลอบบูลาร์โปรตีนส่วนประกอบหลักของเวย์โปรตีนคือเบตา-แลกโตกลอบบูลิน(β-lactoglobulin)และแอลฟา-แลกตัลบูมิน(α-lactalbumin) เบตา-แลกโตกลอบบูลิน มีอยู่ประมาณร้อยละ 50 ของเวย์โปรตีนทั้งหมด (รัชนี ตัณฑะพานิชกุล, 2542) มีน้ำหนักโมเลกุล 18,283 ประกอบด้วยกรดอะมิโน 162 เรซิดิว มีพันธะไดซัลไฟด์ 2 พันธะ และมีหมู่ซัลไฟดริลอิสระ 1 หมู่ ไม่ตกตะกอนในนมที่มีสภาพวะเป็นกรด และไม่ละลายในน้ำบริสุทธิ์ ในน้ำนม β-lactoglobulin มีลักษณะเป็นไดเมอร์ (น้ำหนักโมเลกกุลประมาณ 36,566) ทั้งสองโมเลกุลเชื่อมกันด้วยพันธะไฮโดรโฟบิก จะแยกกันก็ต่อเมื่ออุณหภูมิสูง เมื่อพีเอชต่ำ β-lactoglobulin จะอยู่ในรูปของออกตาเมอร์ (octamer)ส่วน α-lactalbumin มีปริมาณมากรองจาก β-lactoglobulin คือมีอยู่ประมาณร้อยละ 25 ของเวย์โปรตีนทั้งหมด มีน้ำหนักโมเลกุล14,176 ซึ่งต่ำสุดเมื่อเปรียบเทียบกับโปรตีนนมทุกชนิด ประกอบด้วยกรดอะมิโน 123 เรซิดิว โปรตีนอื่นๆที่มีอยู่ในปริมาณน้อยในเวย์ ได้แก่ โบไวนซีรัมอัลบูมิน (Bovine Serum Albumin ; BSA) ซึ่งมีอยู่ปริมาณร้อยละ6 ของเวย์โปรตีนทั้งหมด อิมมิวโนกลอบบูลิน ซึ่งเป็นไกลโคโปรตีนที่มีแอนติบอดี้อยู่เป็นสารที่ให้ภูมิคุ้มกันแก่ลูกโค ในนมน้ำเหลือง(colostrum) จึงมีอิมมิวโนกลอบบูลินอยู่สูง นอกจากนี้ยังมีแลกโตเฟอร์ริน โปรตีเอส–เปปโตน โปรตีนที่

อยู่ในเยื่อบุผิวของเม็ดไขมัน และเอนไซม์ต่างๆ (Walstra *et al*.,1999) ความเข้มข้นของโปรตีนชนิดต่างๆ ที่มีอยู่ในน้ำนม แสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ความเข้มข้นของโปรตีนชนิดต่างๆที่มีในน้ำนม

Table 1 Concentrations of the proteins in milk.

Protein	Concentration (g/L)	Approximate percentage of total protein	
Caseins	24-28		80
α-casein	15-19	42	
α_{s1}-casein	12-15	34	
α_{s2}-casein	3-4	8	
β-casein	9-11	25	
k–casein	3-4	9	
γ-casein	1-2	4	
Whey proteins	5-7		20
β-lactoglobulin	2-4	9	
α-lactalbumin	1-1.5	4	
Protease peptone	0.6-1.8	4	
Blood proteins			
Serum albumin	0.1-0.4	1	
Immunoglobulins	0.6-1.0	2	
Total		100	100

Source: Fennema(1996)

2 . การย่อยและการดูดซึมโปรตีนนม

กรดอะมิโนและไนโตรเจนที่ได้จากการย่อยโปรตีนนมจะถูกลำเลียงไปยังส่วนต่างๆของร่างกาย หลังจากผ่านกระบวนการย่อยต่างๆในทางเดินอาหารได้แก่ การบีบตัวของกระเพาะอาหารและลำไส้ การย่อยภายในลำไส้ และการดูดซึมบริเวณเยื่อเมือกของลำไส้เล็ก (Tome'and Dedabbi,1998) โปรตีนจะถูกย่อยครั้งแรกที่กระเพาะและถูกขับออกไปยังลำไส้เล็ก อัตราการว่างของกระเพาะเป็นกลไกควบคุมการส่งสารอาหารสู่ลำไส้เล็กและดูดซึมตามลำดับ อัตราการว่างของกระเพาะจะขึ้นอยู่กับธรรมชาติของอาหารเป็นของแข็งและของเหลว (Low,199 ; Gaudichon *et al.*,1994 อ้างโดย Tome' and Debabbi,1998) ธรรมชาติและองค์ประกอบของที่รับประทานเป็นตัวที่ปรับอัตราการว่างของกระเพาะ รวมถึงการเคลื่อนไหวของลำไส้เล็กและการหลั่งน้ำย่อยจากตับอ่อน เนื่องจากของแข็งจะเรียงตัวให้เต็มในกระเพาะอาหารได้ช้ากว่าของเหลว ดังนั้นของแข็งจึงถูกขับออกไปสู่ลำไส้เล็กได้ช้ากว่าของเหลว Mahe' และคณะ(1996) ได้ศึกษาการเคลื่อนที่ของโปรตีนนมในทางเดินอาหารของมนุษย์พบว่าเวย์โปรตีนเคลื่อนที่สู่ลำไส้เล็กได้เร็วกว่าเคซีน Mahe'และคณะ(1996) รายงานว่ากระบวนการย่อยโปรตีนทั้ง 2 ชนิดมีความความแตกต่างกัน โดยเคซีนจะตกตะกอนเนื่องจากสภาวะที่เป็นกรดในกระเพาะส่วนเวย์โปรตีนยังอยู่ในรูปของเหลวอยู่ในกระเพาะ และเมื่อเวย์โปรตีนเคลื่อนที่มาเต็มกระเพาะอาหารก็จะถูกขับออกสู่ลำไส้เล็กก่อนเคซีน ขณะที่เคซีนเมื่อตกตะกอนในกระเพาะอาหารจะถูกย่อยด้วยเอนไซม์จากกระเพาะอาหาร ก่อนจะเคลื่อนที่สู่บริเวณลำไส้เล็กตอนต้น เมื่อโปรตีนเคลื่อนที่มาถึงลำไส้เล็กเอนไซม์จากตับอ่อนจะถูกขับมาเพื่อย่อยโปรตีนที่บริเวณลำไส้เล็ก ต่อจากนั้นเยื่อเมือกที่บริเวณลำไส้เล็กซึ่งประกอบด้วย brushborder membrane จะปล่อยเอนไซม์เปปทิเดสเพื่อย่อยโปรตีนอีกครั้งก่อนดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดและลำเลียงไปยังส่วนต่างๆของร่างกาย อย่างไรก็ตามโปรตีนในนมไม่ได้ถูกย่อยและดูดซึมไปใช้ในร่างกายทั้งหมด Tome'และ Dedabbi(1998) รายงานว่าหลังจากที่มนุษย์ดื่มนมแล้วที่บริเวณลำไส้เล็กส่วนดูโอดินัม และเจจูนัมตอนต้น พบกรดอะมิโนร้อยละ 20-40 เปปไทด์ ร้อยละ50-70 และ โปรตีนที่ไม่ผ่านการย่อยประมาณร้อยละ 5-10 Tome' และDedabbi(1998) รายงานว่าไนโตรเจนร้อยละ 85 – 90 จาก

โปรตีนนมจะถูกดูดซึมและหมุนเวียนอยู่ภายในร่างกาย บรรจบ ชุณหสวัสดิกุล (2544) ; EDA,(1997) ; FAO(1991) และ Renner(1983) รายงานว่าเมื่อสิ้นสุดกระบวนการการย่อย โปรตีนบางส่วนจะถูกย่อยและดูดซึมไปใช้ได้ ทางโภชนาการเรียกว่า Net Protein Utilization (NPU) แต่มีบางส่วนที่ตกค้างอยู่ นมมี NPU ร้อยละ86 หมายความว่ามีโปรตีนอีกร้อยละ18 ที่ดูดซึมไปใช้ไม่ได้ ส่วนเคซีนมี NPU เพียงร้อยละ7 6 บรรจบ ชุณหสวัสดิกุล (2544) กล่าวว่าเคซีนร้อยละ24 ที่ไม่ถูกดูดซึมจะจับกับน้ำดีเกิดเป็นสารสารประกอบเชิงซ้อนชนิดหนึ่ง มีลักษณะเป็นลิ่มเมือกขดเกลียวหนาเหมือนม้วนเชือกและเกาะติดอยู่ตามผนังเยื่อเมือก หรือบางส่วนถูกแบคทีเรียย่อยสลายทำให้เกิดการบูดเน่าที่ลำไส้ใหญ่ นอกจากนี้สารประกอบเชิงซ้อนนี้ยังเป็น immune complex ที่กระตุ้นปฏิกิริยาภูมิแพ้เฉพาะถิ่นขึ้นที่บริเวณเยื่อบุลำไส้ของมนุษย์ NPU ของโปรตีนนมแสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ค่า Net Protein Utilization (NPU) ของโปรตีนนม

Table 2 Net Protein Utilization (NPU) of milk proteins.

	Net Protein Utilization (NPU)		
	EDA(1997)	FAO(1991)	Renner (1983)
Cow's milk	86.45	82	82
Casein	76	76	76
Whey protein	92	92	92

Source: EDA(1997); FAO(1991) and Renner(1983)

3. สับปะรด (Pineapple)

สับปะรดมีถิ่นกำเนิดอยู่ในเขตร้อนของทวีปอเมริกา โดยบริเวณที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมมี 2 บริเวณคือ 1. บริเวณลุ่มแม่น้ำอเมซอน และ 2. บริเวณทิศตะวันออกของประเทศบราซิล(Collins,1968) ในทางพฤกษศาสตร์จำแนกสับปะรดดังนี้ (จินดารัฐ วีระวุฒิ, 2541)

Kingdom	Plant
Sub- kingdom	Spermatophyta
Class	Angiospermae
Sub-class	Monocotyledonae
Order	Farinosae
Family	Bromeliaceae
Genera	*Ananas* และ *Pseudananas*

วิจิตร วรรณชิต (2529) รายงานว่าสับปะรดที่นิยมรับประทานผลสดมี 2 สกุลคือ Pseudananas ได้แก่ *P.sagenarius* และ สกุลAnanas โดยสกุล Ananas นี้ยังแบ่งเป็นกลุ่มย่อยๆได้ดังนี้

Ananas

- *A. bracteatus*
- *A.bracteatus*
- *A.erectifolius*
- *A.ananassoides*
- *A.comosus* ซึ่งแบ่งออกเป็นอีก 5กลุ่ม ดังนี้
  - Queen group
  - Spanish group
  - Abacaxi group
  - Maipure group
  - Cayenne group ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มย่อยคือ

- Spiny Cayenne มีหนามขอบตลอดขอบใบ และ

- Smooth Cayenne ขอบใบเรียบมีหนามเฉพาะที่โคน และปลายใบ

สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย(Bhattavia) จัดอยู่ในกลุ่ม Smooth Cayenne แสดงดังภาพที่3 มีถิ่นกำเนิดเดิมอยู่บริเวณลุ่มแม่น้ำอะเมซอน สำหรับประเทศไทยมีรายงานว่า ในช่วงแรกที่ได้มีการเพาะปลูกสับปะรดนั้นได้รับพันธุ์มาจากอินโดนีเซีย และอินเดีย สันนิษฐานว่าชื่อ "สับปะรดปัตตาเวีย" นั้นอาจมาจากชาวมาลายูที่นำสับปะรดเข้ามาจากประเทศอินโดนีเซีย ส่วนสับปะรดที่นำมาจากอินเดียนั้นเริ่มแรกเพาะปลูกที่ อำเภอศรีราชา จังหวัดชลบุรี จึงมีชื่อเรียกว่า "สับปะรดศรีราชา" ต่อมาได้มีการนำสับปะรดพันธุ์นี้มาเพาะปลูกที่เขตอำเภอปราณบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ จึงเป็นที่มาของชื่อ "สับปะรดปราณบุรี" (วิจิตร วรรณชิต,2529)

ภาพที่ 3 สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย จาก อำเภอป่าบอน จังหวัดพัทลุง

Figure 3 Smooth Cayenn from Phabon district, Pattalung province.

สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียเป็นที่นิยมปลูกเพื่อส่งโรงงานสับปะรดกระป๋องเพราะขนาดผลใหญ่เฉลี่ยน้ำหนักประมาณ 2.5–3.5 กิโลกรัม เนื้อสีเหลืองอ่อนหวานฉ่ำ แหล่งที่ปลูกกันมากได้แก่ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ชลบุรี เพชรบุรี และลำปาง เป็นต้น นอกจากนี้ก็มีผู้ปลูกกันทั่วๆไปเพื่อขายผลสด ซึ่งก็ได้รับความนิยมเนื่องจากมีรสหวานฉ่ำ ถูกรส

นิยมของคนไทย สับปะรดพันธุ์นี้มีใบสีเขียวเข้ม ผิวใบด้านบนเป็นมันเงา ขอบใบเรียบ กลางใบมักมีสีแดงอมน้ำตาล ปลายใบมีหนามเล็กน้อย ก้านผลสั้น ช่อดอกมีดอกย่อยโดยเฉลี่ยประมา150 ดอก กลีบดอกสีม่วงอมน้ำเงิน ผลมีขนาดและรูปทรงแตกต่างกันไป น่าสังเกตว่าหากผลมีขนาดใหญ่มากก็จะมีรูปทรงโคนใหญ่ปลายเรียว แต่หากเป็นผลเล็กก็มักมีทรงกลมป้อมหรืออาจเป็นทรงกระบอก และเมื่อแก่หรือผลสุกจะมีสีเหลืองตาตื้น แกนหรือไส้ใหญ่แต่ไม่เหนียว เนื้อในของผลสีเหลืองอ่อนหรือเหลืองเข้มในฤดูร้อน (พรชัย เหลืองอาภาพงศ์, 2523 และ วิจิตร วรรณชิต,2529)

องค์ประกอบทางเคมีของสับปะรดจะแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ พื้นที่ที่ใช้เพาะปลูก วิธีปลูกและความอ่อนแก่ของสับปะรดขณะเก็บเกี่ยว (จีราภรณ์ สอดจิตร,2536) องค์ปรองค์ประกอบทางเคมีของสับปะรดผลสุก แสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 องค์ประกอบทางเคมีของสับปะรดผลสุก

Table 3 Chemical composition of ripe pineapple.

Chemical composition	Percentage
Water	81.2 - 86.2
Acidity (% citric acid)	0.60 - 1.62
Total soluble solid	10.8 - 17.5
Fiber	0.3 - 0.61
Ash	3.0 - 0.42
Nitrogen	0.045 - 0.115

Source: Adapted from Dull(1981)

วิจิตต์ วรรณชิต (2529) ระบุว่าสับปะรดแต่ละพันธุ์เมื่อแก่จัด ปริมาณน้ำตาลและกรดแตกต่างกันโดยมีปริมาณน้ำตาลประมาณร้อยละ 8 – 14 ปริมาณกรดร้อยละ 0.5 – 1.5 แตกต่างตามพันธุ์ กรดและน้ำตาลส่วนใหญ่เป็นกรดซิตริกและน้ำตาลซูโครสเป็นตามลำดับ รวีวรรณ ศีลสัตยกุล (2542) และ วิจิตต์ วรรณชิต (2529) กล่าวว่าปริมาณ

คาร์โบไฮเดรตในเนื้อผลไม้มีส่วนสำคัญต่อการเปลี่ยนแปลงเมตาโบลิซึม เมื่อผลไม้แก่หรือสุกจะมีปริมาณแป้งลดลงเพราะเปลี่ยนไปเป็นน้ำตาล รสหวานของผลไม้เกิดจากกลูโคส ฟรุคโตส และ ซูโครส ซึ่งจะหวานมากหรือน้อยขึ้นกับชนิดและปริมาณน้ำตาลแต่ละชนิด อีกส่วนหนึ่งของคาร์โบไฮเดรต คือ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และสารเพคตินที่อยู่ตามผนังเซลล์ มีความสำคัญต่อลักษณะเนื้อผลไม้ แต่ร่างกายไม่สามารถย่อยได้จึงไม่มีความสำคัญในด้านคุณค่าอาหารแต่มีประโยชน์ต่อการขับถ่าย นอกจากนี้เมื่อผลเริ่มแก่จัดจะเกิดกลิ่นหอมของสับปะรด จากสารประกอบพวก ethyl acetate, methyl หรือ ethyl butyrate, methyl caproate, caprylate และ ester ของกำมะถัน สำหรับหลักเกณฑ์ที่ใช้ในการเก็บผลสับปะรดอาจพิจารณาได้จากลักษณะภายนอก ได้แก่ สี โดยสีของตาจะเริ่มเป็นสีเหลือง 2 – 3 ตา แผ่นตาเปิดออก ขนตาสีชมพู ใบเลี้ยงใต้ผลสับปะรดจะเหี่ยว หรือใช้วิธีนับวัน ประมาณ 135 – 165 วันหลังออกดอก

กนกมณฑล ศรศรีวิชัย (2526 อ้างโดย วิจิตต์ วรรณชิต, 2529) กล่าวว่า สับปะรดเป็นไม้ผลประเภท nonclimateric แก่จัดจึงรับประทานได้ โดยใช้ดรรชนีของสีมาตรฐานเป็นเครื่องบอกลำดับการแก่ของผลดังนี้

0 หมายถึงตาทั้งหมดเป็นสีเขียวไม่มีสีเหลือง

1 หมายถึงจำนวนตาที่เปลี่ยนเป็นสีเหลืองไม่เกินร้อยละ20

2 หมายถึงจำนวนตาที่เปลี่ยนเป็นสีเหลืองมากกว่าร้อยละ 20 แต่ไม่เกินร้อยละ 40

3 หมายถึงจำนวนตาที่เปลี่ยนเป็นสีเหลืองมากกว่าร้อยละ 40 แต่ไม่เกินร้อยละ 65

4 หมายถึงจำนวนตาที่เปลี่ยนเป็นสีเหลืองมากกว่าร้อยละ65 แต่ไม่เกินร้อยละ 95

5 หมายถึงจำนวนตาที่เปลี่ยนเป็นสีเหลืองมากกว่าร้อยละ 90 และมีเป็นสีส้มแดง ไม่เกิน ร้อยละ 20

6 หมายถึงจำนวนตาที่เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอมแดงตั้งแต่ร้อยละ 20 - 100

7 หมายถึงผลเน่าเสีย

4. โปรตีเอส (Protease)

โปรตีเอสสามารถแบ่งประเภทตามแหล่ง ได้แก่ สัตว์ พืช และจุลินทรีย์ หรือแบ่งตามลักษณะการทำงานได้แก่ เอนโดโปรตีเอส และ เอกโซโปรตีเอส เอนโดโปรตีเอสจะตัดพันธะเปปไทด์แบบสุ่มตลอดสายเปปไทด์ ขณะที่เอกโซโปรตีเอสจะตัดพันธะเปปไทด์ได้ทีละ1 อะมิโนแอซิด หากตัดพันธะจากปลาย N และจะเรียกชื่อเอนไซม์ชนิดนั้นว่า อะมิโนเปปทิเดส หากตัดพันธะเปปไทด์จากปลาย C จะเรียกชื่อเอนไซม์ว่าคาร์บอกซิเปปทิเดส สำหรับเอนโดโปรตีเอสจะมีบทบาทในอุตสาหกรรมอาหารมากกว่าเอกโซโปรตีเอส โดยเอนโดโปรตีเอส แบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม ตามหมู่ที่ทำหน้าที่เร่งปฏิกริยา (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2543) ดังนี้

4.1 ซีรีนโปรตีเอส (serine protease EC 3.4.21)

4.2 ซีสเตอีนโปรตีเอส (cysteine protease EC 3.4.22)

4.3 แอสปาร์ติกโปรตีเอส (aspartic protease EC 3.4.23)

4.4 เมทาลโลโปรตีเอส (metalloprotease EC 3.4.24)

สำหรับโบรมิเลน(Bromelain) จัดเป็นเอนไซม์กลุ่มซีรีนโปรตีเอส พบได้ตามส่วนต่างๆของต้นสับปะรด ได้แก่ เปลือกผล ลำต้น ก้านและใบ เป็นเอนไซม์ที่มีความจำเพาะสูง (high specificity) โดย เอนไซม์ชนิดนี้เริ่มใช้ในระดับอุตสาหกรรมเมื่อ ค.ศ.1925 โดยนิยมนำไปใช้มากในอุตสาหกรรมเบียร์ การฟอกหนัง การทำให้เนื้อนุ่ม และสารช่วยในระบบการย่อยอาหาร (Collins,1968 ; Perlman 1970 ; Yamada ,1975 and Uhlig,1998) โบรมิเลนมีลักษณะคล้ายกับปาเปน กล่าวคือมีความจำเพาะต่อโปรตีนเป็นเอนไซม์จำพวก sulfhydryl protease ซึ่งจะทำปฏิกิริยาได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 25-60 องศาเซลเซียส ที่พีเอช 6-8 (Heinicke,1953 อ้างโดย Perlman,1970) โบรมิเลนที่ได้จากผล(Fruit bromelain, Juice - bromelain, EC 3.4.22.5) สามารถสกัดได้โดยการตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต เอนไซม์โบรมิเลนรวม (Brom-Complex) ที่ได้นั้นสามารถย่อยโปรตีนหลายชนิด เช่น อัลบูมิน เคซีน และ ฮีโมโกลบิน ทำงานได้ดีในช่วงพีเอช 5.5 - 8.5 (Collins,1968) อุณหภูมิที่เหมาะสมในการย่อยเคซีนคือช่วง 50 - 55 องศาเซลเซียส มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 33,000 พีเอช ที่เหมาะสมในการย่อยเค

ซีน อยู่ในช่วง 6 - 8 (Uhliq,1998) Yamada และคณะ (1976) ศึกษาลักษณะทางเคมีของเอนไซม์โบรมิเลนบริสุทธิ์ที่สกัดจากผลสับปะรด พบว่าในน้ำสับปะรดมี Fruit bromelain; FA2 เป็นเอนไซม์หลัก มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 31,000 มีค่า isoelectric point เท่ากับ 4.6 ชนิดของกรดอะมิโนไม่แตกต่างจากโบรมิเลนที่สกัดจากก้าน Stem bromelain (SB1) แต่ต่างกันตรงที่ FA2 ไม่มีกรดอะมิโนน้ำตาล (amino sugar)และคาร์โบไฮเดรต ดังนั้น FA2 จึงไม่จัดเป็นไกลโคโปรตีน ตารางที่4 แสดงการเปรียบเทียบคุณสมบัติระหว่าง FA2 และ SB1 จากการศึกษาพบว่าหมู่ที่เร่งปฏิกริยาคือ Cys ลำดับกรดอะมิโนบริเวณเร่งปฏิกริยาเป็นดังนี้ Cys-Gly-Ala-CYS พีเอชที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 8-8.3 ตำแหน่งพันธะที่เอนไซม์ตัด คือ Gly-Phe, Phe-Ser และ Tyr-Ile Perlman (1970) รายงานว่า โบรมิเลนจากส่วนของผลจัดเป็นโปรตีนที่มีลักษณะเป็นกรด และมีอะลานีนเป็น NH_2-Terminal

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบสมบัติของโบรมิเลนที่สกัดจากผล และ ก้านของสับปะรด

Table 4 Comparison of the property of fruit (FA2) and stem bromelain (SB1).

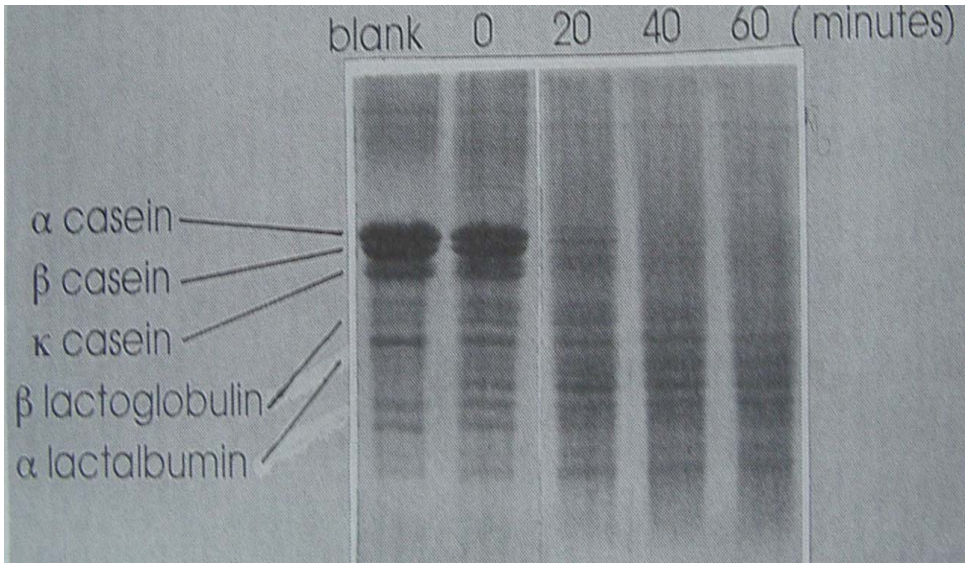
Properties	FA2	SB1
Molecular weight	31,000	28,000
Isoelectric point	4.6	9.55
Carbohydrate (%)	-	21
ตารางที่ 4 (ต่อ)		
Amino-terminal sequence	Ala-Val-Pro-Gln	Val-Pro-Gln
Carboxyl-terminal residue	Gly	Gly
Sequence around the reactive SH- group (CYS)	Pro-Cys-Gly-Ala-CYS	Pro-Cys-Gly-Ala-CYS
pH optima for : casein	8.3	5-6
: hemoglobin	8.0	5-6

ตารางที่ 4 (ต่อ)

Properties	FA2	SB1
Specific activity (unit/mg protein) toward:		
casein	11.6	6.86
0.01M BAEE	12.4	1.10
Hydrolysis of peptide		
Bradykidin	Gly -Phe ↓ Phe - Ser ↓	Phe-Ser ↓
Angiotensin II	Tyr-Ile ↓	several point
Percentage cross-reaction with anti-stem bromelain	20	100

Source : Yamada *et al*(1976)

Giangiacomoและคณะ(1991) รายงานว่าสับปะรดต่างสายพันธุ์กัน และอัตราส่วนบริกซ์/กรด มีผลต่อค่ากิจกรรมการย่อยโปรตีนของเอนไซม์โบรมีเลนในผลสับปะรด โดยพบว่าสับปะรดที่มีค่าอัตราส่วนบริกซ์/กรดมาก ค่ากิจกรรมการย่อยโปรตีนจะน้อยลง นอกจากนี้ยังพบว่าอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมของเอนไซม์โบรมิเลนที่ได้จากผลสับปะรดในการย่อยเคซีน คือ ที่ 60 องศาเซลเซียส เวลา15 นาที Gallagher และคณะ1994))ศึกษาผลของเวลา และความเข้มข้นของเอนไซม์โบรมิเลนต่ออัตราการย่อยเคซีน พบว่า ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์เท่ากัน เมื่อเวลาในการทำกิจกรรมการย่อยนานขึ้นอัตราการย่อยโปรตีนก็เพิ่มมากขึ้นด้วย เช่นเดียวกันเมื่อกำหนดให้เวลาในการดำเนินกิจกรรมนานเท่ากันพบว่าตัวอย่างที่มีความเข้มข้นเอนไซม์มากกว่าจะมีอัตราการย่อยสูงกว่า ผลของเวลาต่อการเปลี่ยนแปลงของรูปแบบโปรตีนแสดงดังภาพที่ 4



ภาพที่ 4 ผลของเวลาต่อรูปแบบโปรตีนนม ด้วยเจลอิเลกโตรโฟรีซีส

Figure 4 The effect of reaction time on protein profile by gel electrophoresis.

Source: Gallagher *et al* (1994)

5. รสขมจากการย่อยโปรตีน

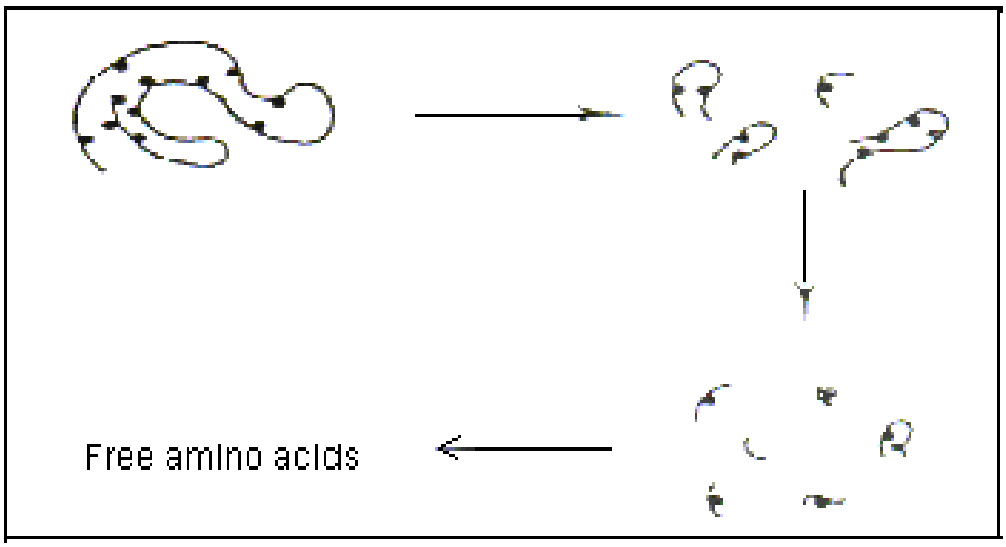
โปรตีนที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์มักมีรส ซึ่งเกิดจากสายเปปไทด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำที่ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่มีค่าไฮโดรโฟบิกสูงเป็นส่วนใหญ่ (Saha and Hayashi, 2001) การผลิตเคซีนไฮโดรไลเสทก็เช่นเดียวกัน เนื่องจากเคซีนเป็นโปรตีนที่มีค่าไฮโดรโฟบิก (hydrophobicity) สูงเมื่อถูกไฮโดรไลส์จึงมีแนวโน้มที่จะได้เปปไทด์ที่มีขนาดเล็กลงประกอบด้วยกรดอะมิโนชนิดไฮโดรโฟบิกมากขึ้นจึงทำให้เกิดรสขม (Adler-Nissen, 1986) Gulgoz และ Solms (1976) ศึกษาเปปไทด์ที่มีรสขม จำนวน 206 ชนิด พบว่าเปปไทด์เหล่านี้จะประกอบด้วยกรดอะมิโนในช่วง2-15 เรซิดิว Tamuraและคณะ (1990) รายงานว่า เปปไทด์ที่ให้รสขมนั้นอย่างน้อยต้องประกอบด้วยคู่ของกรดอะมิโนที่มีค่าไฮโดรโฟบิกสูง หรือคู่ของกรดอะมิโนที่มีค่าไฮโดรโฟบิกสูงกับกรดอะมิโนชนิดเบสิก (basic amino group) จากการศึกษาของ Ney (1971 อ้างโดย Adler-Nissen ,1986) พบว่า เมื่อเติมคู่ของกรดอะมิโนที่มีค่าไฮโดรโฟบิกสูง เช่น ไอโซลิวซีน ที่ตรงปลายสายเตตตะเปปไทด์ที่ไม่มีรสขม ปรากฏว่าเปปไทด์ที่ได้มีรสขมเกิดขึ้น และเมื่อเติมคู่ของกรด

อะมิโนชนิดไฮโดรฟิลิก รสขมก็หายไป Ney (1979 อ้างโดย Saha และ Hayashi, 2001) ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างค่าไฮโดรโฟบิก กับรสขมของเปปไทด์ ค่าที่คำนวณได้เรียกว่าค่าQ (Q value) ซึ่งเป็นค่าเฉลี่ยพลังงานอิสระที่วัดได้จากการเคลื่อนที่ของสายโซ่กรดอะมิโนจากเอทานอลสู่น้ำ มีสมการดังนี้ $Q= \sum 6g/ n$ โดย 6g หมายถึงพลังงานอิสระในการเคลื่อนที่ n คือ จำนวนกรดอะมิโนในสายเปปไทด์ เปปไทด์จะมีรสขมเมื่อมีค่า Q มากกว่า1,400 cal/mol ขึ้นไป ส่วนเปปไทด์ที่ไม่มีรสขมนั้นจะมีค่า Q ต่ำกว่า 1,300 cal/mol ความสัมพันธ์ระหว่างค่า Q กับรสขมที่ได้นี้เรียกว่า กฎ Q (Q rule) โดยกฎ Q สามารถทำนายแนวโน้มของโปรตีนที่จะเกิดเปปไทด์รสขม โดยคำนวณจากค่าไฮโดรโฟบิกของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบ โปรตีนที่มีค่า Q สูง เช่น เคซีน (1,605 cal/mol) โปรตีนถั่วเหลือง (1,540 cal/mol) และ zein(1,480 cal/mol) มักจะให้เปปไทด์ที่มีรสขม ขณะที่โปรตีนจากเนื้อสัตว์ และคอลลาเจน มีค่า Q 1,300 cal/mol และ 1,280 cal/mol ตามลำดับ เมื่อผลิตเป็นโปรตีนไฮโดรไลเสทจะไม่ปรากฏรสขม

Adler-Nissen (1986)กล่าวว่าการที่เปปไทด์มีขนาดใหญ่และมีความขมน้อย เนื่องจาก เปปไทด์ขนาดใหญ่นั้นสามารถปกคลุมขอบเขตสายโซ่ที่เป็นไฮโดรโฟบิกด้วยแรงกระทำระหว่างไฮโดรโฟบิก (hydrophobic interaction) เกิดเป็นเปปไทด์รูปตัว U หรือเป็นก้อน(U - shaped or clusters peptide)แต่เมื่อเปปไทด์เหล่านี้ถูกย่อยต่อไปอีก เปปไทด์ก็จะมีขนาดเล็กลง ส่วนที่เป็นไฮโดรโฟบิกที่มีรสขมถูกเปิดออก มีโอกาสสัมผัสกับต่อมรับรส(taste buds) ที่บริเวณลิ้นความขมจึงเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามเมื่อระดับการย่อยมีมากขึ้น เปปไทด์รสขมก็จะถูกย่อยลงไปอีกจนเป็นเปปไทด์ที่เหลือแต่ปลายที่เป็นกรดอะมิโนชนิดไฮโดรโฟบิกหรือกลายเป็นกรดอะมิโนอิสระแสดงดังภาพที่ 5 ทำให้ความขมค่อยๆลดลงอีกครั้ง ส่วนความยาวของสายเปปไทด์ที่เริ่มเกิดแรงระหว่างไฮโดรโฟบิกแล้วไม่ปรากฏรสขมนั้น ยังไม่สามารถระบุแน่ชัดว่าต้องมีความยาเท่าใด แต่ประมาณได้ว่าอย่างน้อยเปปไทด์นั้นต้องมีจำนวนกรดอะมิโนตั้งแต่ 7 เรซิดิว หรือมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 1000 ขึ้นไป

ระดับการย่อยสลาย (degree of hydrolysis, DH) คือร้อยละของจำนวนเปปไทด์ที่ถูกตัดระหว่างกระบวนการย่อยโปรตีน โดยคำนวณจากปริมาณกรดอะมิโนอิสระที่

วัดได้เทียบกับปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมดของตัวอย่างโปรตีน Adler-Nissen(1986) และ Olsen (1979 อ้างโดย Adler-Nissen , 1986) พบว่า ระดับการย่อยสลาย (DH) มีความสัมพันธ์กับรสขมเมื่อค่า DH ต่ำ เปปไทด์ที่ได้มีขนาดใหญ่ระดับความขมก็จะน้อย ตรงกันข้ามหากมีค่าระดับการย่อยสูง เปปไทด์ก็มีขนาดเล็กลง ความขมก็เพิ่มมากขึ้น



ภาพที่ 5 การเปิดของไฮโดรโฟบิกของสายเปปไทด์เมื่อถูกย่อยด้วยเอนไซม์

Figure 5 Exposure of hydrophobic side regions during enzymatic degradation.

Source: Adler-Nissen(1986)

เอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยโปรตีนมีความสัมพันธ์กับการเกิดรสขม เอนโดโปรตีเอสมักจะสลายพันธะตรงตำแหน่งที่เป็นกรดอะมิโนชนิดไฮโดรโฟบิก ได้เป็นเปปไทด์สายสั้นที่มีกรดอะมิโนไฮโดรโฟบิกอยู่ที่ปลายด้าน C และมีรสขม (Adler-Nissen,1986) Cleg และคณะ(1974) รายงานว่าการย่อยโปรตีนนมด้วยปาเปนจะให้เปปไทด์ที่มีรสขม ซึ่งเป็นกรดอะมิโนตำแหน่งที่ 53-79 ของ เบต้าเคซีน Bachman และFarah(1982) พบว่าเมื่อผสมผลกีวี(*Actinidia chinensis*) กับโปรตีนนมจะได้เปปไทด์ที่มีรสขม เกิดจากการย่อยเคซีนด้วยเอนไซม์โปรตีเอสที่มีอยู่ในผลกีวี Matoba และคณะ (1970 อ้างโดย

Saha และ Hayashi, 2001) แยกเปปไทด์รสขมได้ 3 ชนิด จาก ทริปติกเคซีนไฮโดรไลเสท โดยมีลำดับอะมิโนดังนี้ Gly-Pro-Phe-Pro-Val-Ile , Phe-Phe-Val-Ala-Pro-Phe-Pro-Glu-Val-Phe-Gly-Lys และ Phe-Ala-Lue-Pro-Gln-Tyr-Leu-Lys

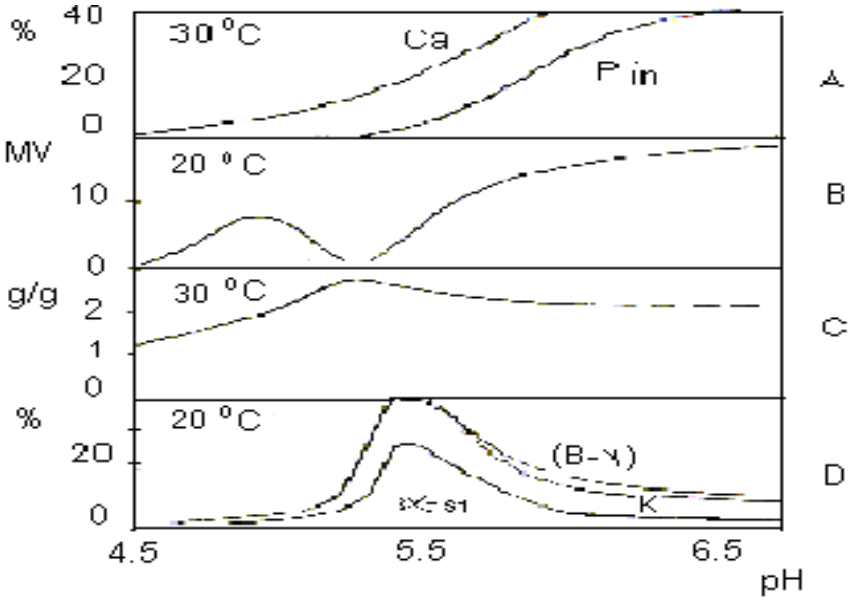
6. เครื่องดื่มนมเปรี้ยว และเพกติน

6.1 เครื่องดื่มนมเปรี้ยว (Acid dairy drinks, ADD)

เครื่องดื่มนมเปรี้ยวนอกจากจะเป็นเครื่องดื่มที่มีคุณค่าทางอาหารแล้ว ยังให้ความสดชื่นแก่ร่างกาย จึงเป็นเครื่องดื่มที่ได้รับความนิยมอย่างกว้างขวาง เครื่องดื่มประเภทนี้สามารถผลิตโดยหมักด้วยจุลินทรีย์ หรือผสมด้วยผลไม้โดยตรง เช่น เนื้อผลไม้ น้ำผลไม้ และน้ำผลไม้เข้มข้น จึงทำให้เครื่องดื่มประเภทนี้มีหลายรูปแบบ เช่น เครื่องดื่มนมผสมผลไม้ (fruit milk drinks) โยเกิร์ต (yoghurt drinks) เครื่องดื่มเวย์ (whey drinks) คีเฟอร์ (kefir) เป็นต้น ลักษณะของเครื่องดื่มคือ เป็นของเหลว มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบสำคัญซึ่งอยู่ในระบบที่มีพีเอชต่ำ ความหนืด (viscosity) และ ความคงตัว (stability) ใกล้เคียงกับนมที่ได้จากธรรมชาติ (Herbstreith and Fox,1999; Laurent and Boulenguer, 2003)

เนื่องจากเครื่องดื่มประเภทนี้มีพีเอชต่ำ ย่อมส่งผลกระทบต่อเคซีนซึ่งเป็นโปรตีนในนม โดยปกติเคซีนจะมีความคงตัวที่พีเอช 6.6 และอยู่รวมกันเป็นไมเซลล์ (micelles) เมื่อพีเอชลดลง ค่า zeta potential (ผลรวมประจุของไมเซลล์) ก็ลดลงด้วยเนื่องจากมีการเพิ่มไฮโดรเจนไอออนให้แก่หมู่แอซิดและหมู่เบสิกของโปรตีน นอกจากนี้การที่พีเอชลดต่ำลงทำให้แคลเซียมไอออน (Ca^{2+})มีกิจกรรมการย่อยโปรตีนเพิ่มขึ้น จะไปจับกับหมู่แอซิดของโปรตีน (Walstra *et al.*, 1999) เมื่อค่า Zeta potential ลดลง จะเหนี่ยวนำให้ไมเซลล์มารวมตัวเป็นกลุ่มขึ้นได้ ที่พีเอช 5.8-5.5 ขนาดของไมเซลล์จะเพิ่มขึ้นจาก 180 nm เป็น1300 nm (Wade *et al.,*1996 อ้างโดย Laurent and Boulenguer,2003) ที่พีเอช 5 – 5.5 แอลฟา-เคซีน และเบตา-เคซีนเกิดการละลายจึงเกิดการจัดเรียงตัวใหม่ของเคซีนภายในไมเซลล์ ทำให้รูปร่างของไมเซลล์เปลี่ยนไปจากเดิม (Dalgleish and Law,1988 อ้างโดย Laurent and Boulenguer, 2003) Walstra

และคณะ(1999) กล่าวว่าที่พีเอช5.3 ส่วนประกอบของเคซีนเกิดการละลายมากที่สุด ดังภาพที่ 6A และ 6D ที่พีเอช 5.25 ไมเซลล์เกิดการพองตัว (swelling) ดังภาพที่ 6C เนื่องจากฟอสเฟตและแคลเซียมเกิดการละลาย โดยเฉพาะฟอสเฟตเกิดการละลายโดยสมบูรณ์ที่พีเอช 5.2 ดังภาพที่ 6A ทำให้พันธะที่แคลเซียมฟอสเฟตยึดระหว่างเคซีนซับไมเซลล์อ่อนลง ไมเซลล์จึงเกิดการพองตัวขึ้น เมื่อพีเอชลดลงถึง 4.6แคลเซียมจะละลายโดยสมบูรณ์ ไอออนของเกลือที่ละลายจะทำหน้าที่เชื่อมหมู่บวกกับหมู่ลบของโปรตีนเข้าด้วยกัน ทำให้โมเลกุลของโปรตีนอยู่ใกล้กันมากขึ้น เมื่อแคลเซียมไอออนละลายออกมาทำให้ไมเซลล์มีค่าประจุลบสูงขึ้น แต่เมื่อพีเอชลดต่ำลงไปอีกค่าประจุจะค่อยๆลดลงกลายเป็นประจุบวกเนื่องจากการเพิ่มไฮโดรเจนไอออน (Walstra *et al*.,1999) ดังภาพที่ 6B Belitz and Grosch (1999) อธิบายว่าในสภาวะที่ระบบเป็นกรดทำให้เคซีนไมเซลล์เป็นประจุบวก และสูญเสียแรงผลักระหว่างอนุภาค ทำให้อัตราการเกาะกลุ่ม ของไมเซลล์จะมากขึ้น



ภาพที่ 6 อิทธิพลของพีเอชต่อคุณสมบัติต่างๆของเคซีนไมเซลล์

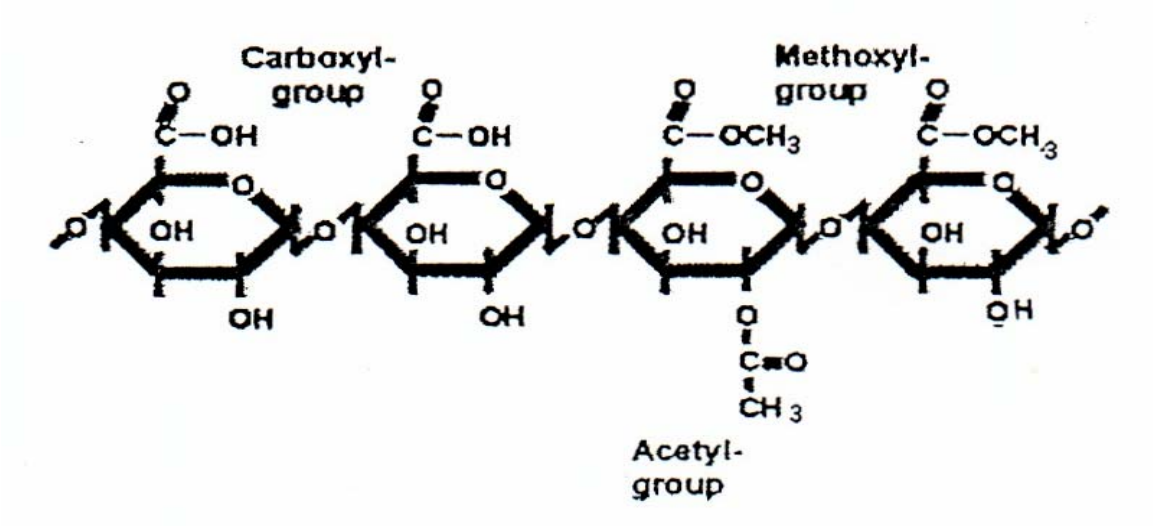
Figure 6 Effect of pH on the properties of casein micelles.

Source: Walstra *et al*(1999)

ดังนั้นในกระบวนการผลิตเครื่องดื่มนมเปรี้ยวนั้นหากไม่เติมสารเพิ่มความคงตัว(stabilizer) เครื่องดื่มที่ได้จะเกิดการแยกชั้น เนื่องจากการรวมตัวและตกตะกอนของเคซีน เพื่อป้องกันการเกิดลักษณะดังกล่าว จึงนิยมใช้เพกติน ซึ่งเป็นสารเพิ่มความคงตัวที่นิยมใช้มากที่สุดในเครื่องดื่มประเภทนี้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเพกตินที่มีหมู่เมทอกซิลสูงจะมีประสิทธิภาพสูงในการป้องกันการรวมตัว และตกตะกอนของเคซีนในนมที่มีพีเอชต่ำ (Laurent and Boulenguer,2003; Maroziene and De Kruif, 2000 and Herbstreith and Fox,1999)

6.2 เพกติน

เพกตินเป็นสารที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อให้เกิดลักษณะเป็นเจล เพิ่มความข้นหนืดและความคงตัว จึงนิยมใช้ในการผลิตแยม เจลลี และมามาร์เลด สามารถทำให้โปรตีนในน้ำนมคงตัวอยู่ได้ภายในสภาวะที่พีเอชต่ำกว่า 4.6 สารประกอบเพกติน เป็นกลุ่มพอลิแซกคาไรด์ที่พบอยู่ในผนังเซลล์พืชทำหน้าที่ยึดเกาะผนังเซลล์ให้ติดกัน สารประกอบเพกตินที่ถูกสร้างขึ้นในพืช คือ โปรโตเพกติน (protopectin) พบมากในผลไม้โดยเฉพาะผลไม้ดิบ สารประกอบเพกตินเป็นพอลิเมอร์สายยาวของกรดกาแล็กทูโรนิก (D-galacturonic acid) ต่อกันด้วยพันธะไกลโคไซด์ที่ตำแหน่ง β(1-4) หมู่คาร์บอกซิล (-COOH) ในโมเลกุลของกรดกาแล็กทูโรนิกบางส่วนจะถูกเอสเทอริไฟด์ด้วยหมู่เมทิล ได้เป็นเมทอกซิลเอสเทอร์ และมีบางส่วนยังคงเหลือเป็นหมู่คาร์บอกซิลอิสระนอกจากนั้นหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) ที่คาร์บอนตำแหน่ง 2 และ 3อาจถูก acetylated (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2545 และ Leroux *et al*., 2003) แสดงโครงสร้างพื้นฐานของเพกตินดังภาพที่ 7



ภาพที่ 7 โครงสร้างพื้นฐานของเพกติน

Figure 7 Basic structure of pectin.

Source : Herbstreith and Fox (2003)

6.2.1 ชนิดของเพกติน

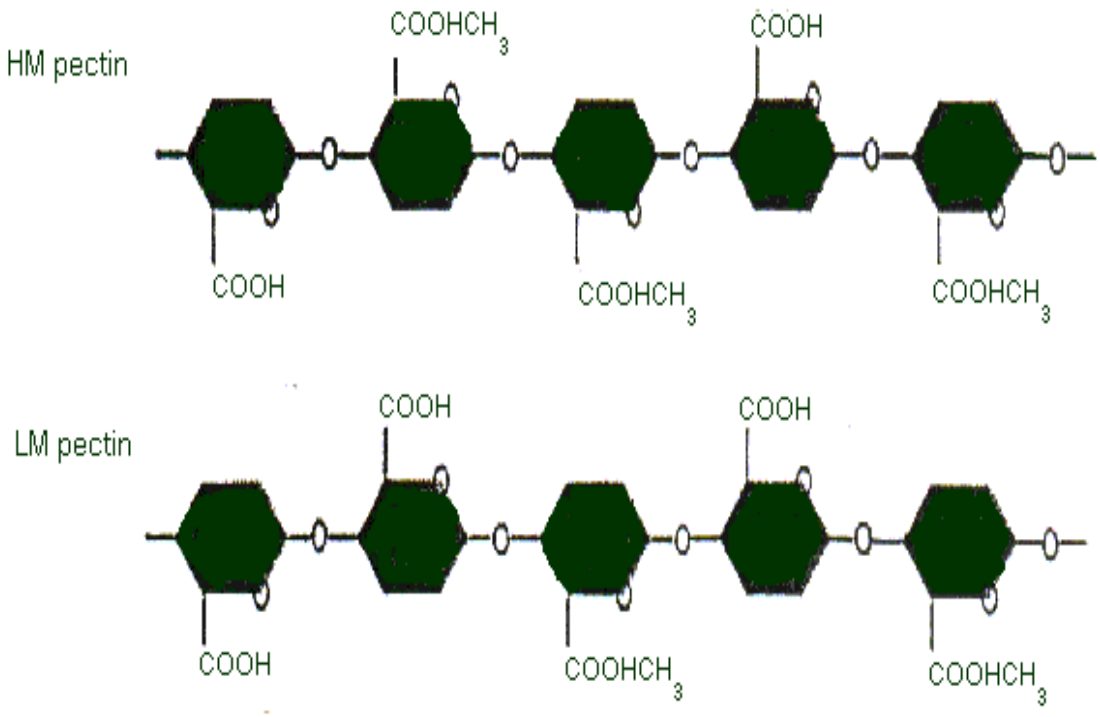
ในโมเลกุลของสารประกอบเพกตินที่สกัดได้จากธรรมชาติยังมีน้ำตาลชนิดอื่นๆปนอยู่ด้วย เช่น น้ำตาลไซโลส กาแล็กโทส อะราบิโนส เป็นต้น โดยโมเลกุลของน้ำตาลจะเกาะตัวกันเป็นสายแขนง น้ำหนักโมเลกุลของสารประกอบเพกตินอยู่ในช่วง300-800 หน่วยต่อโมเลกุล สารประกอบเพกตินเป็นกลุ่มของสารประกอบเชิงซ้อน แบ่งออกได้ดังนี้ (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2545 และ Uhlig,1998)

6.2.1.1 โปรโตเพกตินเป็นสารประกอบเพกตินที่ไม่ละลายน้ำและพบมากในผลไม้ดิบ ในโมเลกุลของโปรโตเพกตินมีหมู่เมทอกซิลอยู่ประมาณร้อยละ 9-12 หากเกิดปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันสมบูรณ์ จะมีหมู่เมทอกซิลอยู่ในโมเลกุลของโปรโตเพกตินประมาณร้อยละ 16 จัดว่ามี degree of methoxylation เป็นร้อยละ 100 แต่จะไม่เกิดขึ้นในธรรมชาติ ระหว่างกระบวนการสุกของผลไม้โปรโตเพกตินจะถูกไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์หรืออาจใช้ด่างจะทำให้หมู่เมทิลถูกแยกออกไปบางส่วน ได้เป็นหมู่คาร์

บอกซิลอิสระ เรียกว่า กรดเพกตินิก (pectinic acid) เป็นสารประกอบเพกตินที่ละลายน้ำได้

6.2.1.2 กรดเพกตินิก เป็นสารประกอบเพกตินหรือเป็นพอลิเมอร์ของกรดกาแล็กทูโรนิกที่มีหมู่เมทิลเอสเทอร์เหลืออยู่บางส่วน เมื่อถูกไฮโดรไลซ์เอาหมู่เมทิลออกจนหมดได้เป็นกรดเพกติก (pectic acid)

6.2.1.3 กรดเพกติก เป็นสารประกอบเพกตินหรือเป็นสายพอลิเมอร์ของกรดกาแล็กทูโรนิกที่ไม่หมู่เมทิลเอสเทอร์อยู่ในโมเลกุล ดังนั้นสารประกอบเพกตินหรือเพกตินจึงเป็นชื่อเรียกรวมๆ ของกรดเพกตินิกที่มีร้อยละของหมู่เมทอกซิล หรือ degree of methoxylation แตกต่างกัน โดย HM (high methyl) คือเพกตินที่มี degree of methoxylation มากกว่าหรือเท่ากับ ร้อยละ 50 และ LM (low methyl) คือเพกตินที่มี degree of methoxylation น้อยกว่าร้อยละ 50 แสดงโครงสร้างของ HM และ LM เพกติน ดังภาพที่ 8



ภาพที่ 8 โครงสร้างเพกตินชนิด High methyl และ Low methyl

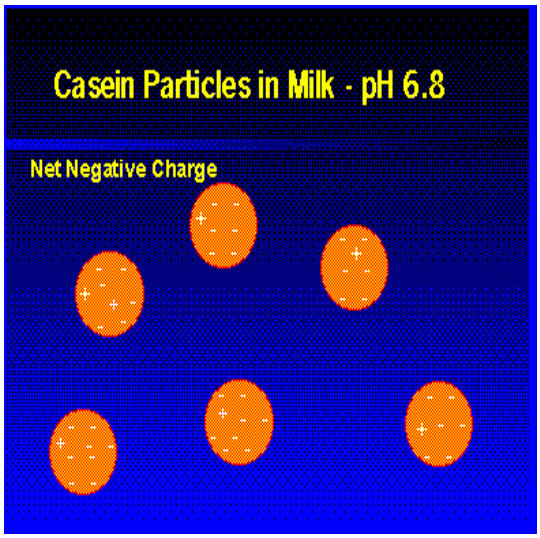
Figure 8 Structure of High methyl and Low methyl pectin.

Source : International Pectin Producers Association(2003)

เพกตินที่มีประสิทธิภาพสูงในการป้องกันการรวมตัวและตกตะกอนของเคซีนในเครื่องดื่มนมพีเอชต่ำคือ เพกตินที่มีหมู่เมทอกซิลสูง (HM pectin) (Laurent and Boulenguer, 2003; Herbstreith and Fox,1999) Maroziene and De Kruif (2000) ศึกษาอิทธิพลของเพกติน 3 ชนิด ได้แก่ HM-pectin, LM-pectin และ LMA (low methoxyl amidated-pectin)ต่อความคงตัวของนมโดยวัดขนาดของอนุภาคคอลลอยด์ที่เกิด interaction กับเพกติน พบว่าเมื่อเติม HM-pectin ในปริมาณน้อยในนมที่มีพีเอช 5.3จะทำให้ได้อนุภาคคอลลอยด์ขนาดใหญ่ ต่างจากเพกตินอีกสองชนิด แม้เพิ่มปริมาณก็ไม่ทำให้ได้อนุภาคที่ใหญ่เท่ากับ HM-pectin ดังนั้น ปริมาณเพกตินที่ใช้เพื่อยึดเกาะได้รอบอนุภาคเพิ่มขึ้นดังนี้ HM < LMA < LM

6.2.2 กลไกการเพิ่มความคงตัวของเพกติน

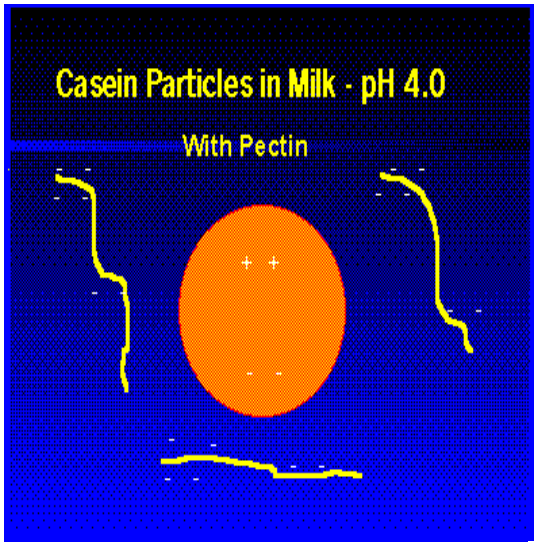
โปรตีนในน้ำนมตามธรรมชาติซึ่งมีพีเอช 6.5-6.7 โปรตีนในน้ำนมจะมีประจุลบ และมีแรงผลักซึ่งกันและกัน จึงทำให้โปรตีนไม่เกิดการตกตะกอน เมื่ออนุภาคโปรตีนเสียสภาพความเป็นประจุลบ จากการที่ระบบมีพีเอชลดลง (เนื่องจากการหมักโดยจุลินทรีย์ หรือ การเติมสารที่มีความเป็นกรดลงไป) โปรตีนจะมีประจุอ่อนลงจนถึงจุดที่รวมตัวกับน้ำได้น้อยที่สุด ที่เรียกว่าจุดไอโซอิเร็คตริก (isoelectric point) ที่พีเอช 4.6 เมื่อพีเอชลดลงต่ำกว่า 4.6 โปรตีนจะมีประจุเป็นบวกโครงสร้างของโปรตีนจะเกิดการเปลี่ยนแปลง และเกิดการจับตัวกันโดยปราศจากแคลเซียม และเกิดเป็นเจลในที่สุด (Herbstreith and Fox,1999) แสดงดังภาพที่ 9 ลักษณะเช่นนี้สามารถป้องกันได้โดยการเติมเพกติน เพกตินจะช่วยรักษาระบบคอลลอยด์ ทำให้โปรตีนมีความคงตัวโดยประจุลบของเพกตินจะมาปกคลุมรอบอนุภาคของโปรตีนด้วย electrostatic attraction อนุภาคโปรตีนที่ถูกปกคลุมด้วยเพกตินจะเสมือนว่ากลับมามีประจุลบอีกครั้งหนึ่ง ประจุลบจะทำให้เกิดแรงผลักทางประจุ(electrostati repulsion) ระหว่างอนุภาคทำให้โปรตีนสามารถแขวนลอยอยู่ในระบบได้ เครื่องดื่มที่ได้ก็จะมีความคงตัว (Herbstreith and Fox,1999 and Nakamura *et al.*, 2003) แสดงดังภาพที่ 10



ภาพที่ 9 การกระจายตัวของเคซีนไมเซลล์ในนม A : การกระจายตัวของเคซีนไมเซลล์ในนมปกติ (พีเอช 6.8) B : การรวมตัวของเคซีนไมเซลล์ที่พีเอช 4

Figure 9 Distribution of casein micelles in milk. A : Distribution of casein micelles in milk at pH 6.8. B : Coagulation of casein micelles at pH 4.

Source: Hoejgaard(2003)



ภาพที่1 0 กลไกของเพกตินในการให้ความคงตัวแก่เคซีนไมเซลล์ที่พีเอช 4

Figure10 Mechanism of pectin for casein micelles stabilizing at pH 4.

Source: Hoejgaard(2000)

6.3 ปัจจัยที่สำคัญต่อการทำงานของเพกตินในนมพีเอชต่ำ

ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการทำงานของเพกตินในการเพิ่มความคงตัวให้แก่นมที่มีพีเอชต่ำ มีดังต่อไปนี้

6.3.1 พีเอช เนื่องจากพีเอชมีผลต่อการละลายของเพกติน เพกตินจะเริ่มจับกับเคซีนที่พีเอช 5.3 หากสูงกว่านี้เพกตินจะไม่จับกับเคซีน (Maroziene and De Kruif, 2000) ค่าพีเอชของผลิตภัณฑ์ควรอยู่ในช่วง 3.9-4.4 ซึ่งเป็นช่วงที่เพกตินให้ผลดีในการเพิ่มความคงตัวแก่ผลิตภัณฑ์ (Herbstreith and Fox,1999) อนุภาคโปรตีนจะกระจายตัวอยู่ในนม โดยมีเพกตินที่พีเอชอยู่ในช่วง 3.9-4.4 หากพีเอชน้อยกว่านี้อนุภาคโปรตีนจะไม่กระจายตัวอย่างอิสระ แต่จะเคลื่อนที่มารวมกลุ่มกันเนื่องจากการเชื่อมกันของเพกตินระหว่างอนุภาคโปรตีน นอกจากนี้การที่พีเอชลดลงต่ำมากทำให้โปรตีนมีความเป็นประจุบวกแรงมากขึ้น ส่งผลให้เกิดแรงดึงดูดกับเพกตินอย่างรุนแรงสามารถทำให้อนุภาคเคซีนไมเซลล์เคลื่อนที่เข้าหากันและเกาะกลุ่มกันมากขึ้น

6.3.2 โปรตีน หากในน้ำนมมีปริมาณโปรตีนมากต้องใช้ปริมาณเพกตินมากขึ้นเพื่อให้เพียงพอในการโอบล้อมอนุภาคโปรตีน (Herbstreith and Fox,1999)

6.3.3 ขนาดอนุภาค ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญในการผลิตโยเกิร์ต ขนาดอนุภาคโปรตีนขึ้นอยู่กับสภาวะในการหมัก (อุณหภูมิ เวลา และชนิดแบคทีเรีย) การหมักที่เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วจะทำให้ได้โปรตีนที่มีอนุภาคขนาดใหญ่ ซึ่งยากต่อการรักษาสภาพความคงตัวในระบบ และต้องใช้เพกตินในปริมาณมากเพื่อให้เกิดความคงตัว แต่ถ้าหากระยะเวลาในการหมักนานส่งผลให้ได้ขนาดอนุภาคโปรตีนเล็กเกินไป พื้นที่ผิวสัมผัสมากขึ้นต้องใช้เพกตินในปริมาณมาก เพื่อโอบล้อมอนุภาคโปรตีนได้พอดี (Herbstreith and Fox,1999)

6.3.4 โฮโมจีไนเซชั่น มีความสำคัญอย่างมากต่อการให้ความคงตัว เนื่องจากแรงเฉือนสูง (high shear-force)จากการโฮโมจีไนเซชั่นจะทำให้เพกตินกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอบนพื้นผิวอนุภาคโปรตีนช่วยรักษาระบบคอลลอยด์ให้คงตัว (Herbstreith and Fox,1999)

6.3.5 ความร้อน ในกระบวนการผลิตเครื่องดื่มนมเปรี้ยวจำเป็นต้องใช้ความร้อนในการควบคุมจำนวนจุลินทรีย์ ช่วยยืดอายุการเก็บรักษาแก่ผลิตภัณฑ์ เพื่อป้องกันการเสียสภาพความคงตัวของโปรตีนจากความร้อน จึงต้องมีเพกตินในปริมาณที่เพียงพอ (Herbstreith and Fox, 1999)

6.3.6 แคลเซียม เครื่องดื่มที่มีแคลเซียมมาก จำเป็นต้องใช้เพกตินมากขึ้นด้วย เนื่องจากแคลเซียมสามารถชักนำให้เกิดการรวมตัวของไมเซลล์ได้ (Herbstreith and Fox, 1999)

6.3.7 น้ำ ในการผลิตเครื่องดื่มนมพีเอชต่ำทางการค้านั้นจะมีปริมาณ milk solid not fat (MSNF) อยู่ในช่วงร้อยละ 1 - 8.5 การเจือจางด้วยน้ำจะทำให้ความคงตัวของผลิตภัณฑ์ลดลงเนื่องจากน้ำจะไปลดความแรงของประจุ (ionic strength) ทำให้แรงผลักระหว่างประจุน้อยลง (Laurent and Boulenguer, 2003)

6.4 วิธีการวัดความคงตัวของเครื่องดื่มนมเปรี้ยว

6.4.1 วัดความหนืด (viscosity measurement)

Nakamura และคณะ(2003) ศึกษาความคงตัวของเครื่องดื่มโยเกิร์ต ที่มี milk solid not fat ร้อยละ 8 พีเอช 3.4-4.4 เพกตินร้อยละ 0.4 โดยวัดความหนืดด้วยเครื่องวัดความหนืด B-type Viscometer Model BM (Tokimec Inc, Japane) ใช้ roter เบอร์ 1 อัตราเร็ว 60 rpm/min ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส พบว่าตัวอย่างเครื่องดื่มโยเกิร์ตที่เติมเพกติน จะให้ค่าความหนืดต่ำกว่า ตัวอย่างที่ไม่เติมเพกติน ทุกช่วงพีเอช (3.4-4.4) และที่พีเอช 4.4 จะได้ค่าความหนืดต่ำที่สุดสำหรับตัวอย่างที่เติมเพกติน Herbstreith and Fox(1999) ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเพกติน และความหนืด ในเครื่องดื่มนมพีเอชต่ำ milk solid not fat ร้อยละ 10 พีเอช 4 พบว่า ที่เพกตินร้อยละ 0.3 จะให้ค่าความหนืดแก่เครื่องดื่มต่ำที่สุด จากผลการทดลองสามารถอธิบายได้ว่าในระบบที่ใช้เพกตินปริมาณน้อยเกินไป อนุภาคโปรตีนสามารถมารวมกลุ่มกันเนื่องจากเกิด briding flocculation โดยเพกตินจะทำให้ค่าความหนืดสูงขึ้น แต่เมื่อเพิ่มปริมาณเพกตินจนถึงระดับที่เหมาะสม เพกตินจะมีเพียงพอในการโอบล้อมอนุภาค

โปรตีน เกิดแรงผลักซึ่งกันและกันระหว่างอนุภาคโปรตีน ทำให้การรวมกลุ่มของโปรตีนมีน้อย อนุภาคโปรตีนจะเคลื่อนที่อย่างอิสระจึงทำให้ค่าความหนืดที่น้อยที่สุด หากเพิ่มเพกตินมากเกินไป อนุภาคโปรตีนถูกตรึงด้วยโครงตาข่ายที่เป็นเจลของเพกติน การเพิ่มปริมาณเพกตินจะทำให้ความข้นหนืดสูงขึ้น อย่างไรก็ตามผลิตภัณฑ์นั้นจะเป็นที่ยอมรับหรือไม่ขึ้นกับความต้องการเฉพาะของผู้บริโภค

6.4.2 การวัดน้ำหนักของส่วนที่ตกตะกอน (Weight fraction)

Nakamuraและคณะ(2003) ศึกษาความคงตัวของเครื่องดื่มโยเกิร์ต ที่มี milk solid not fat ร้อยละ 8 พีเอช 3.4-4.4 และผสมสารเพกตินที่ความเข้มข้นต่างๆ โดย นำตัวอย่างเครื่องดื่มนมพีเอชต่ำมา 50 กรัม หมุนเหวี่ยงที่ 2000g เป็นเวลา 20 นาที รินของเหลวออก แล้วตั้งไว้ 20 นาที ที่อุณหภูมิห้อง แล้วจึงรินของเหลวที่เหลือ ชั่งน้ำหนักตะกอน (weight sediment) รายงานผลเป็นร้อยละของน้ำหนักทั้งหมด หากไม่เกินร้อยละ 5 ถือว่าตัวอย่างมีความคงตัว

$$WF = \frac{WS \times 100}{50}$$

จากผลการทดลองพบว่า เพกตินร้อยละ 0.4 สามารถให้ความคงตัวได้ดีแก่ตัวอย่างนมในช่วงพีเอช3.6-4.4และเพกตินร้อยละ0.5สามารถให้ความคงตัวแก่ตัวอย่างได้ครอบคลุมช่วงพีเอชตั้งแต่ 3.4-4.4

6.4.3 การวัดความคงตัวของผลิตภัณฑ์ในช่วงอายุการเก็บรักษา

ในช่วงอายุการเก็บรักษาสามารถวัดความคงตัวของเครื่องดื่มนมพีเอชต่ำได้โดยบรรจุตัวอย่าง 15 มล.ในหลอด Turbiscan MA จำนวน 1000 หลอด เมื่อครบ 14 วัน วัดส่วนสูงของส่วนใส (clear supernatant) เทียบกับส่วนสูงทั้งหมดของตัวอย่างโดยใช้ไม้บรรทัด ถ้าส่วนใสมีมากกว่าร้อยละ 5 หมายความว่าตัวอย่างนั้นไม่คงตัว Laurent and Boulenguer(2003)

วัตถุประสงค์

1 เพื่อศึกษาปริมาณเอนไซม์จากน้ำสับปะรดที่เหมาะสมในการย่อยโปรตีนบางส่วนในน้ำนม

2 เพื่อศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการย่อยโปรตีนบางส่วนในนม

3 เพื่อศึกษาความคงตัวของผลิตภัณฑ์ ศึกษาอายุการเก็บรักษา

4 เพื่อศึกษาการยอมรับผลิตภัณฑ์ของผู้บริโภค