



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการการพัฒนากระบวนการผลิตสารเสริมใยอาหารจากกากมะพร้าวตัดแปรและ
การประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร

Process development of fiber supplements from modified copra
meal and applications in food products

โดย ทิพวรรณ ทองสุข และคณะ

30 กันยายน 2556

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยนครสวรรค์
วันลงทะเบียน..... ๒๖ มี.ค. ๒๕๕๕
เลขทะเบียน..... ๑.๖๖๑๖๑๒๒
เลขเรียกหนังสือ...จ..... ๑๐
๗๘๑

.H83
ก๔๗๖
๒๕๕๖

โครงการการพัฒนากระบวนการผลิตสารเสริมใยอาหารจากกากมะพร้าวตัดแปรและการ
ประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร

Process development of fiber supplements from modified copra meal and
applications in food products

คณะผู้วิจัย สังกัด

1. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ทิพวรรณ ทองสุข*
2. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สิริลักษณ์ ชัยจำรัส**

*ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร
คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม
มหาวิทยาลัยนเรศวร อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก

**ภาควิชาชีววิทยา
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

สนับสนุนโดยงบประมาณแผ่นดิน มหาวิทยาลัยนเรศวร

บทคัดย่อ

กากมะพร้าวที่สกัดน้ำมันและคั้นน้ำกะทิออกแล้ว เป็นส่วนเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมกะทิ และอุตสาหกรรมน้ำมันมะพร้าว กากมะพร้าวเป็นแหล่งของใยอาหารที่ดี ประกอบด้วยปริมาณใยอาหารทั้งหมดถึง 60.9% ข้อดีสำคัญที่ทำให้กากมะพร้าวเหมาะสมกับการผลิตใยอาหารมากกว่าแหล่งอื่นๆคือ กากมะพร้าวไม่มีลิกนินและมีสีชาวดังนั้นในการเตรียมใยอาหารจากกากมะพร้าวจึงไม่จำเป็นต้องมีขั้นตอนการกำจัดลิกนินและการฟอกสี แม้ว่ากากมะพร้าวเป็นแหล่งของใยอาหารที่ดี การใช้กากมะพร้าวลงในผลิตภัณฑ์อาหารจะทำให้เนื้อสัมผัสแยลงเนื่องจากกากมะพร้าวจะดูดความชื้นจากรอบๆตัวมัน เนื่องจากค่าการอุ้มน้ำที่สูง งานวิจัยนี้ศึกษาการไฮโดรไลซ์หรือย่อยกากมะพร้าวด้วยเอนไซม์แมนนาเนสเพื่อลดค่าการอุ้มน้ำหรือ (Water retention capacity) WRC และค่าการพองตัวหรือ Swelling capacity (SC) ของกากมะพร้าว เพื่อปรับปรุงสมบัติของกากมะพร้าวให้เหมาะสมในการเติมลงไปในการผลิตผลิตภัณฑ์อาหาร ค่า SC และ WRC ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อไฮโดรไลซ์กากมะพร้าวด้วยเอนไซม์ทางการค้าที่มีแอกติวิตี้ของแมนนาเนส การไฮโดรไลซ์กากมะพร้าวด้วยเอนไซม์ทางการค้า Acti SF-R (SF-R) และ E mannanase GMP (E-man) ลดค่า SC และ WRC ของกากมะพร้าวอย่างมีนัยสำคัญ ศึกษาอิทธิพลของปริมาณเอนไซม์ อุณหภูมิและ pH ในการไฮโดรไลซ์ต่อค่า hydrolysis yield, SC, WRC และ BD ของกากมะพร้าวโดยใช้ RSM พบว่าที่สภาวะในการไฮโดรไลซ์กากมะพร้าวด้วยเอนไซม์สองชนิดที่ให้ค่า SC, WRC และ Bulk density (BD) ใกล้เคียงกัน การใช้ SF-R ให้อัตราการไฮโดรไลซ์สูงกว่าทำให้ค่า hydrolysis yield ต่ำกว่าการใช้ E-man Mannobiose เป็น oligosaccharide หลักที่ถูกผลิตขึ้นจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสโดยเอนไซม์ทั้งสองชนิด เมื่อเวลาในการไฮโดรไลซ์นานขึ้นปริมาณ mannose และ mannobiose ใน hydrolysis solution เพิ่มขึ้น สำหรับ E-man ปริมาณ Glucose ไม่เพิ่มขึ้นเพื่อเวลาการไฮโดรไลซ์เพิ่มขึ้นซึ่งแตกต่างจากการใช้ SF-R ที่ปริมาณ Glucose เพิ่มขึ้น การใช้ SF-R ให้ Glucose และ mannose ในสัดส่วนที่สูงกว่าการใช้ E-man

แอกติวิตี้ของ endo- β -mannanase ในเอนไซม์ทางการค้าสำคัญที่สุดต่อการเปลี่ยนแปลง (ลด) สมบัติการอุ้มน้ำของกากมะพร้าว ในขณะที่แอกติวิตี้ของ β -mannosidase มีผลต่อการลดลงของ hydrolysis yield และที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติการอุ้มน้ำน้อยมาก แอกติวิตี้ของ endoglucanase ส่งเสริมอัตราการการไฮโดรไลซิสของกากมะพร้าวแต่ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติการอุ้มน้ำของกากมะพร้าว การใช้กากมะพร้าวตัดแปรด้วยเอนไซม์ในผลิตภัณฑ์ขนมปังทำให้เนื้อสัมผัสและคุณภาพของขนมปังดีกว่าการใช้กากมะพร้าวปกติอย่างมีนัยสำคัญ

การไฮโดรไลซ์กากมะพร้าวถูกนำมาประยุกต์เพื่อเพิ่มผลผลิตน้ำมันมะพร้าวและเพื่อตัดแปรสมบัติของกากมะพร้าวที่ได้ในขั้นตอนเดียว ผลผลิตน้ำมันมะพร้าวเพิ่มขึ้นเมื่อไฮโดรไลซ์มะพร้าวชุดด้วยเอนไซม์ SF-R การศึกษาอิทธิพลของปริมาณเอนไซม์ อุณหภูมิ และ pH ต่อผลผลิตน้ำมันมะพร้าวและสมบัติของกากมะพร้าวที่สภาวะที่เหมาะสมคือ pH 4.0 อุณหภูมิ 37°C ความเข้มข้นของเอนไซม์ 2.2049% (V/W) ของมะพร้าวชุด พบว่าผลผลิตน้ำมันมะพร้าวที่ได้คือ 43.5 \pm 3 mL oil/ 200g coconut meat ซึ่งมากกว่าผลผลิตน้ำมันมะพร้าว (29 \pm 3 mL oil/200g coconut meat) ที่ผลผลิตโดยไม่ใช้เอนไซม์ 40% โดยใช้เวลาในการสกัดน้ำมัน 2 ชั่วโมง Free fatty acid (FFA) และ moisture content ของน้ำมันมะพร้าวที่ผลิตโดยการใช้เอนไซม์ไม่เกินค่ามาตรฐาน ค่า SC และ WRC ของกากมะพร้าวลดลง 51.55% และ 50.23% ตามลำดับ และ bulk density (BD) ของกากมะพร้าวเพิ่มขึ้น 94.64% เมื่อเปรียบเทียบกับกากมะพร้าวปกติ การนำกากมะพร้าวตัดแปรทดแทนแป้งมันสำปะหลัง (10%) ในผลิตภัณฑ์ข้าวเกรียบ และทดแทนแป้งสาลี (5 และ 10%) ในขนมปัง พบว่าให้คุณภาพของผลิตภัณฑ์ดีกว่าการใช้กากมะพร้าวปกติ

คำสำคัญ: กากมะพร้าว ไฮโดรไลซิส เอนไซม์ แมนนานเนส สมบัติกักอุ้มน้ำ น้ำมันมะพร้าว โยอาหาร



Abstract

Coconut residue or copra meal (CM), by-product taken after pressing cream and oil out of the coconut meat, is a good source of dietary fiber. However, high water holding capacity of CM limits the quantity of fiber incorporated into food products. This study focused on the modification of CM physiochemical properties using enzymatic hydrolysis in order to improve its potential utilization as source of food fibers or low-calories bulk ingredients in food applications. Swelling capacity (SC) and water retention capacity (WRC) were reduced significantly using enzymatic hydrolysis by commercial enzymes containing β -mannanase. Influences of enzyme content, hydrolysis temperature and pH on hydrolysis yield, SC, WRC and bulk density (BD) of CM were studied using RSM. The generated quadratic models predicted that Actipro SF-R (SF-R) hydrolyzed CM in higher rate but produced lower hydrolysis yield than E mannanase GMP (E-man) under the condition giving similar SC, WRC and BD. Mannobiose was the major oligosaccharide released from the hydrolysis reactions of both enzymes. As hydrolysis time increased, mannose and mannobiose contents in the hydrolysis solution increased. Glucose content was not increased by prolonging the hydrolysis time by E-man, unlike the hydrolysis reaction by SF-R. Glucose and mannose were released in higher proportion when using SF-R compared to when using E-man. The activity of endo- β -mannanase in the commercial enzymes was the most important for modifying CM hydration properties whereas the presence of β -mannosidase caused major loss in hydrolysis yield without significant changes in CM hydration properties. Partially substituting the modified CM for wheat flour significantly improved bread qualities. The hydrolysis of CM was applied for the production of coconut oil (CO) to increase oil yield and to modify CM at the same time. Enzymatic hydrolysis of coconut meat using SF-R showed to improve CO yield. Influences of enzyme content, hydrolysis temperature and pH on CO yield and the properties of the CM were studied using RSM. Under optimized process conditions (pH 4.0, temperature of 37°C, and enzyme concentration of 2.2049% (V/W) of coconut meat), the yield of the coconut oil (43.5±3 mL oil/ 200g coconut meat) was 40% higher than the control (29±3 mL oil/200g coconut meat) after 2 hr of extraction. Free fatty acid (FFA) and moisture content of the extracted CO were not over Thai Food and Drug Administration.

SC and WRC of the CM decreased by 51.55% and 50.23%, respectively, and bulk density (BD) of the CM increased by 94.64% compared to the untreated CM. Substituting the modified CM (10%) for glutinous flour in crispy rice cakes (Kao Kriab) and for wheat flour in breads improved their qualities compared to the use of the untreated CM.

Keywords: Copra meal; enzymes; mannanase; hydrolysis; hydration properties; coconut oil; dietary fiber



Executive Summary

Dietary fiber has been shown to have important health implications in the prevention for risks of chronic diseases such as cancer, cardiovascular diseases and diabetes mellitus. A study on effectiveness of the dietary fiber component of coconut flour, copra meal after coconut oil was separated by pressing in an expeller, as a functional food showed that the glycemic index of coconut flour supplemented foods decreased with increasing levels of dietary fiber from coconut flour. Moreover, fifteen and 25% dietary fiber from coconut fiber reduced serum total cholesterol, LDL cholesterol and triglycerides of humans with moderately raised serum cholesterol levels.

Thailand is one of the largest exporters of coconut products. Each year abundant amounts of by-product taken after extraction of coconut milk and oil, so called coconut residue or copra meal, are produced. Copra meal (CM) is a good source of dietary fiber. Despite, beneficial effects of dietary fiber from CM and other sources, changes in physical properties and sensory qualities produced by the fibers limit the quantity of fiber incorporation into food products. Since high water holding capacity associated with the fiber, this is deleterious to product texture, as the fiber sorbs moisture from its surrounding.

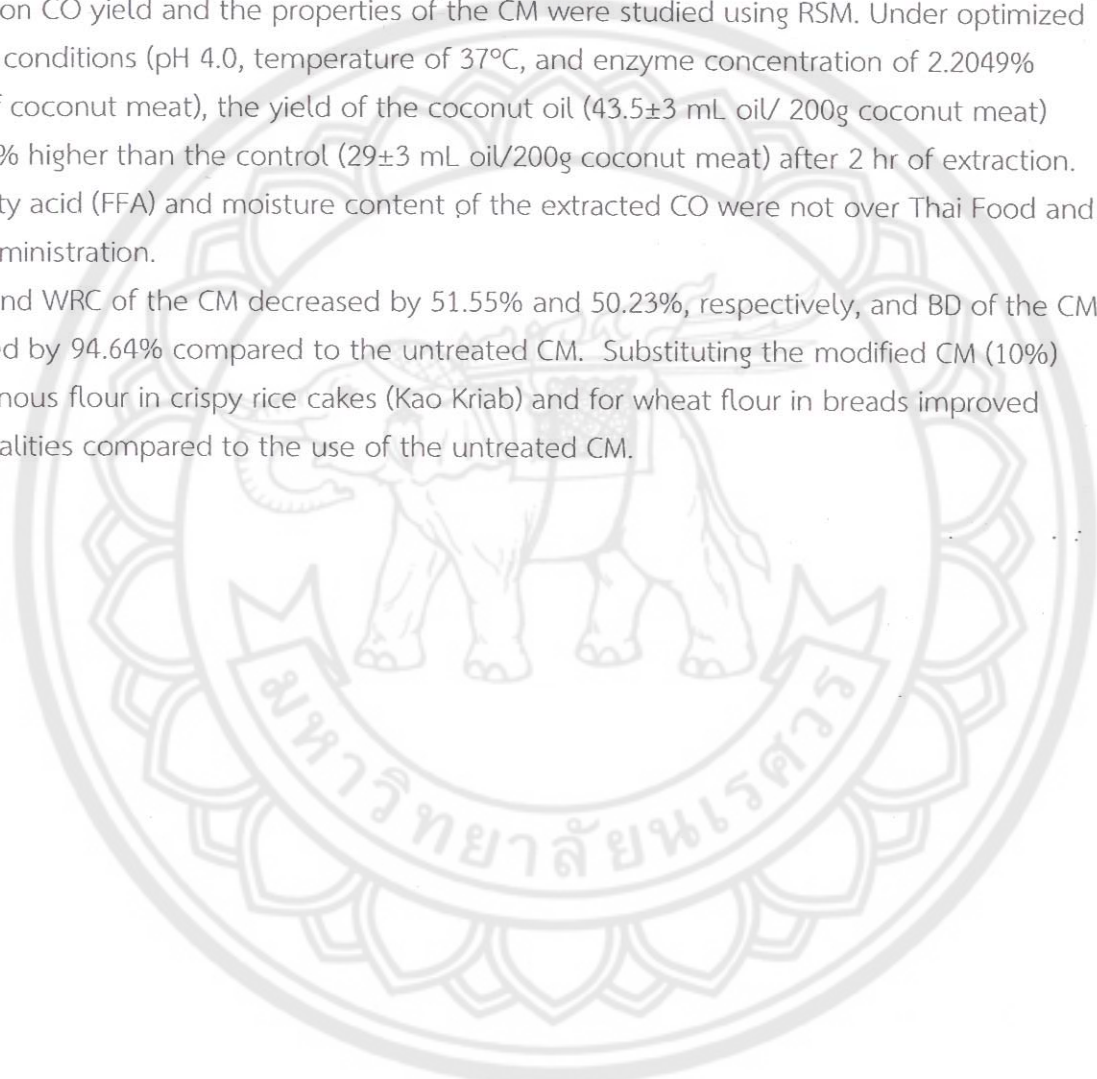
The objective of this study is to investigate modifications of hydration properties of copra meal by enzymatic hydrolysis using commercial enzymes containing mannanase activity. Effects of the hydrolysis of CM using commercial enzymes containing only endo- β -mannanase and that containing both endo- β -mannanase and β -mannosidase on hydration properties of CM were compared. Formations of monosaccharide and oligosaccharide disaccharide were also monitored.

Swelling capacity (SC) water retention capacity (WRC) were reduced significantly using enzymatic hydrolysis by commercial enzymes containing β -mannanase. Influences of enzyme content, hydrolysis temperature and pH on hydrolysis yield, SC, WRC and bulk density (BD) of CM were studied using RSM. The generated quadratic models predicted that Actipro SF-R (SF-R) hydrolyzed CM in higher rate but produced lower hydrolysis yield than E mannanase GMP (E-man) under the condition giving similar SC, WRC and BD. Mannobiose was the major oligosaccharide released from the hydrolysis reactions of both enzymes. As hydrolysis time increased, mannose and mannobiose contents in the hydrolysis solution increased. Glucose content was not increased by prolonging the hydrolysis time by E-man, unlike the hydrolysis reaction by SF-R. Glucose and mannose were released in higher proportion when using SF-R compared to when using E-man. This was due to the presence of β -mannosidase and high activity of endoglucanase and glucoamylase of SF-R. The activity of endo- β -mannanase in the commercial enzymes was the most important for modifying CM hydration properties whereas the presence of β -mannosidase caused major

loss in hydrolysis yield without significant changes in CM hydration properties. Substituting the modified CM for wheat flour significantly improved bread qualities.

The hydrolysis of CM was applied for the production of coconut oil (CO) to increase oil yield and to modify CM at the same time. Since major polysaccharides in matured coconut meat are galactomannans, mannanase was chosen to hydrolyze the coconut meat and facilitate the oil extraction out of the tissues. Enzymatic hydrolysis of coconut meat using SF-R showed to improve CO yield. Influences of enzyme content, hydrolysis temperature and pH on CO yield and the properties of the CM were studied using RSM. Under optimized process conditions (pH 4.0, temperature of 37°C, and enzyme concentration of 2.2049% (V/W) of coconut meat), the yield of the coconut oil (43.5±3 mL oil/ 200g coconut meat) was 40% higher than the control (29±3 mL oil/200g coconut meat) after 2 hr of extraction. Free fatty acid (FFA) and moisture content of the extracted CO were not over Thai Food and Drug Administration.

SC and WRC of the CM decreased by 51.55% and 50.23%, respectively, and BD of the CM increased by 94.64% compared to the untreated CM. Substituting the modified CM (10%) for glutinous flour in crispy rice cakes (Kao Kriab) and for wheat flour in breads improved their qualities compared to the use of the untreated CM.



สารบัญ

	หน้า
บทที่ 1 บทนำ	13
บทที่ 2 ระเบียบวิธีวิจัย	19
บทที่ 3 ผลการศึกษา	23
บทที่ 4 สรุปผลการศึกษา	44
เอกสารอ้างอิงของโครงการวิจัย	45
ภาคผนวก	46



สารบัญตาราง

	หน้า
Table 1.1 Total carbohydrate, total dietary fiber and calorie content of foods containing powdered cellulose compared to normal foods	16
Table 1.2 Hydration properties of fiber from different sources	17
Table 2.1 Activity of commercial enzymes on substrates (cellulose and hemicellulose). β -mannanase activity was determined at optimal pH and temperature of pH 5.0 and 60 °C	19
Table 2.2A Experimental range and levels of independent variables for hydrolysis of CM by Actipro SF-R	20
Table 2.2B Experimental range and levels of independent variables for hydrolysis of CM by Actipro SF	20
Table 2.3 Experimental range and levels of independent variables for hydrolysis of coconut meat by Actipro SF-R to facilitate coconut oil extraction	21
Table 3.1 Experimental design and results obtained by hydrolysis of CM by E Mannanase GMP and by Actipro SF-R; Equations beneath the table indicate relationships between each response and the variables.	24
Table 3.2 Model verification for E-man (1,200 units, 40°C and pH 5.0) and SF-R (579.5 units, 40°C and pH 5.0)	26
Table 3.3 Fat content of modified CM produced from 3 processes (averages of three replicates)	30
Table 3.4 Experimental design and results obtained by hydrolysis of CM by Actipro SF-R; Equations beneath the table indicate relationships between each response and the variables.	31
Table 3.5 Analysis of variances for fitted model for different responses. Equations beneath the table indicate relationships between each response and the variables.	32
Table 3.6 Response values from validation test at optimum condition (pH 4.0, temperature of 37°C, and enzyme concentration of 2.2045 mL /100 g coconut meat) compared to the values calculated from the predicted models and the values obtained from CO using traditional method.	33
Table 3.7 Analysis of coconut oil obtained from enzymatic and traditional method compared to Thai FDA standard	34
Table 3.8 Properties of bread prepared by 5% replacement of wheat flour for untreated and modified CM	35
Table 3.9 Properties of bread prepared by substituting 5 and 10% wheat flour for untreated and modified CM	35
Table 3.10 Properties of crispy rice cakes prepared by substituting 10% of glutinous	36

flour (Kao Kriab) for untreated and modified CM.

Table 3.11 mono- and oligosaccharide content (mg/ml) in the hydrolysis solution of the from hydrolysis of dried defatted CM using 0.75% HCl 38



สารบัญรูป

	หน้า
Figure 3.1 Effects of temperature and pH on hydrolysis yield and hydration properties of modified CM at constant level of E mannanase	27
Figure 3.2 Effects of E mannanase content and pH on hydrolysis yield and hydration properties of the modified CM at constant temperature.	28
Figure 3.3 Influence of enzyme content, temperature and pH on the oil yield (mL/200g of coconut meat)	32
Figure 3.4 Chromatogram of oligosaccharides profiles of hydrolysis solutions obtained from hydrolysis of dried defatted CM using 0.75% HCl at 77°C (4g : 80 ml 0.75% HCl) for 1, 6 and 24 h. After stopping the reaction and separating the insoluble, pH of the hydrolysis solution was adjusted to 7.0 by NaOH.	37
Figure 3.5 Chromatogram of oligosaccharides profiles of hydrolysis solutions obtained from hydrolysis of dried defatted CM using E-man (25mg/ml) 7.026 mannanase unit dissolved in buffer at 37°C (4g : 80 ml buffer pH 4.0) for 2, 4 and 6 h. After stopping the reaction and separating the insoluble, pH of the hydrolysis solution was adjusted to 7.0 by NaOH (Mannanase activity of 25mg/ml E-Man was 8.76 unit /ml)	39
Figure 3.6 Chromatogram of oligosaccharides profiles of hydrolysis solutions obtained from hydrolysis of dried defatted CM using SF-R of 7.026 mannanase units dissolved in buffer at 37°C (4g : 80 ml buffer pH 4.0) for 2, 4 and 6 h. After stopping the reaction and separating the insoluble, pH of the hydrolysis solution was adjusted to 7.0 by NaOH (Mannanase activity of SF-R was 7.02 unit/ml)	40
Figure 3.7 Sugar (mg/ml) released into the hydrolysis solutions of the hydrolysis of CM by E-man. The hydrolysis condition was S= 3.2% (w/v), E/S=1,092.69 unit/g (β -mannanase activity) at 37 °C and pH 4.0. The values were averages of two replicates.	41
Figure 3.8 Sugar (mg/ml) released into the hydrolysis solutions of the hydrolysis of CM by SF-R. The hydrolysis condition was S= 3.2% (w/v), E/S=1,092.69 unit/g (β -mannanase activity) at 37 °C and pH 4.0. The values were averages of two replicates.	42

บทที่ 1 บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

การบริโภคใยอาหาร (dietary fiber) มีผลดีต่อสุขภาพของผู้บริโภคในแง่การป้องกันโรคเรื้อรังเช่น โรคมะเร็ง โรคหัวใจ และโรคเบาหวาน นอกจากนี้การบริโภคใยอาหารยังเกี่ยวข้องกับการช่วยควบคุมน้ำหนัก และการขับถ่าย (Ang and Crosby, 2005) เดิมพฤติกรรมกรรมการบริโภคของคนในสังคมไทยมีการบริโภคผักและผลไม้จำนวนมาก แต่ปัจจุบันความเป็นอยู่ต้องแข่งขันกับเวลา อาหารจานด่วนที่มีแคลอรีสูงถูกเข้ามาแทนที่อาหารที่กลายเป็นที่นิยมบริโภคเหล่านี้มีส่วนประกอบของแป้ง ไขมัน และน้ำตาลสูงแต่ปริมาณใยอาหารต่ำ เป็นสาเหตุให้คนไทยมีภาวะโภชนาการเกิน ก่อให้เกิดโรคต่างๆตามมามากมาย การเสริมใยอาหารในผลิตภัณฑ์อาหารแปรรูป จึงเป็นทางเลือกหนึ่งของการเพิ่มใยอาหารในมื้ออาหารนั้น ทั้งยังช่วยเพิ่มการใช้ประโยชน์จากส่วนเหลือทิ้งในอุตสาหกรรมอาหารอีกด้วย

วัตถุดิบจากพืชหลายชนิด เช่น ต้นไม้ กากถั่ว ฟางข้าว เป็นแหล่งที่ดีของใยอาหารที่ละลายน้ำไม่ได้ (insoluble fiber) เนื่องจากมีเซลลูโลส (cellulose) ในปริมาณสูงมาก ผงเซลลูโลส (powdered cellulose) ผลิตได้โดยการบดเซลลูโลสบริสุทธิ์ให้มีขนาดหลากหลาย ผงเซลลูโลสเป็นใยอาหารที่ละลายน้ำไม่ได้จะมีความบริสุทธิ์สูงมาก มีการผลิตในเชิงการค้าและถูกใช้ประโยชน์เพื่อเป็นสารทดแทนแป้งและน้ำตาลในผลิตภัณฑ์ที่ใช้แป้งเป็นองค์ประกอบของผลิตภัณฑ์ เช่น ขนมปัง (breads) บัน (buns) เบเกิล (bagels) บิสกิต (biscuits) คุกกี้ (cookies) มัมฟิน (muffins) และแป้งพิซซา และข้อดีที่สำคัญอีกอย่างคือปราศจากแคลอรี (calorie-free) (Ang and Crosby, 2005)

กากมะพร้าวที่สกัดน้ำมันและคั้นน้ำกะทิออกแล้ว เป็นส่วนเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมกะทิและอุตสาหกรรมน้ำมันมะพร้าว พบว่าในประเทศไทยแต่ละปีมีส่วนเหลือทิ้งเหล่านี้ปริมาณหลายล้านตัน กากมะพร้าวเหล่านี้นอกจากถูกใช้เป็นอาหารสัตว์แล้ว ยังสามารถนำมาใช้เป็นแหล่งของใยอาหารที่สำคัญ ซึ่งมีมูลค่าสูงกว่าการขายเป็นอาหารสัตว์ เนื่องจากองค์ประกอบหลักของกากมะพร้าวคือใยอาหาร ลักษณะโครงสร้างของพอลิแซ็กคาไรด์ในกากมะพร้าวเกิดจากการเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ (1-4)-linked β -D-mannosyl residues หมู่ α -D-galactose เชื่อมที่ตำแหน่ง O-6 บางส่วนของสายแมนโนสหลัก กิ่งก้านของกาแลคโตสเหล่านี้ไม่มีรูปแบบที่แน่นอน (Banta, 1998 การวิเคราะห์ องค์ประกอบของกากมะพร้าว หลังจากแยกน้ำมันมะพร้าวออกพบว่าประกอบด้วยปริมาณใยอาหารทั้งหมดถึง 60.9% ในที่นี้เป็นใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ 56.8% และใยอาหารที่ละลายน้ำ 3.8% (Trinidad *et al.*, 2006) แสดงให้เห็นว่ากากมะพร้าวเป็นแหล่งของใยอาหารที่ดี ข้อดีสำคัญที่ทำให้กากมะพร้าวเหมาะสมกับการผลิตใยอาหารมากกว่าแหล่งอื่นๆ คือ กากมะพร้าวไม่มีลิกนินและมีสีชาวดังนั้นในการเตรียมใยอาหารจากกากมะพร้าวจึงไม่จำเป็นต้องมีขั้นตอนการกำจัดลิกนินด้วยต่างและการฟอกสีด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ทำให้ประหยัดเวลาและค่าใช้จ่าย

มีการศึกษาประสิทธิภาพของใยอาหารจากแป้งมะพร้าว (coconut flour) ซึ่งได้จากการนำกากมะพร้าวของอุตสาหกรรมน้ำกะทิมารีดเอาไขมันออกด้วยเครื่องรีดแล้วนำมาเป็นส่วนผสมแทนแป้งเพื่อผลิต functional foods (Trinidad *et al.*, 2006) พบว่าอาหารที่มีการเสริมใยอาหารจากแป้งมะพร้าวมีค่า glycemic index ลดลง ยิ่งปริมาณใยอาหารที่เติมมากขึ้นค่า glycemic index ยิ่งลดลงมากขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าถ้าใช้ใยอาหารจากกากมะพร้าวเติมลงใน functional foods ได้มากถึง 25% ก็จะช่วยลด serum total cholesterol, LDL cholesterol และ triglycerides ของคนที่มีระดับ serum cholesterol ในระดับสูงปาน

กลางได้

แม้ว่ากากมะพร้าวเป็นแหล่งของใยอาหารที่ดีและสามารถนำไปผลิต functional foods ที่มีประสิทธิภาพ การใช้กากมะพร้าวเป็นสารเสริมใยอาหาร โดยการเติมลงในอาหารโดยตรงในปริมาณมากพอ เพื่อให้มีประสิทธิภาพในการเป็น functional foods นั้นเป็นไปได้ยากเนื่องจากการเติมกากมะพร้าวจะเปลี่ยนสมบัติทางกายภาพและสมบัติทางประสาทสัมผัสของอาหาร เนื่องจากค่าสมบัติทางน้ำ (Hydration properties) ได้แก่ค่าการอุ้มน้ำ WHC (water holding capacity) และ WRC (water retention capacity) และค่าการพองตัว SC (swelling capacity) มีค่าสูงมากเมื่อเปรียบเทียบกับใยอาหารจากแหล่งอื่น เนื่องจากค่า WHC ซึ่งมีค่าสูง การเติมกากมะพร้าวลงในผลิตภัณฑ์อาหารจะทำให้เนื้อสัมผัสแข็งเนื่องจากกากมะพร้าวจะดูดความชื้นจากรอบๆตัวมัน ดังนั้นถ้าสามารถเปลี่ยน สมบัติทางน้ำของกากมะพร้าวให้มีค่าลดลงได้ เราก็จะสามารถใช้กากมะพร้าวเติมลงไปในการเป็นแหล่งใยอาหาร หรือทดแทนการใช้แป้งในการผลิตอาหารที่มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตและแคลอรีลดลง ในขณะที่มีใยอาหารในปริมาณเพิ่มขึ้นและมีประสิทธิภาพเป็น functional foods ที่ดี โดยอาหารที่เสริมใยอาหารจากกากมะพร้าวนี้อาจมีสมบัติทางกายภาพ และสมบัติทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์เปลี่ยนแปลงจากสูตรปกติที่น้อยที่สุด

การศึกษาการไฮโดรไลซ์ หรือย่อยกากมะพร้าวด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกและเอนไซม์แมนนาเนสพบว่าสามารถลดค่าการอุ้มน้ำหรือ WHC และ WRC และค่าการพองตัวหรือ SC ของกากมะพร้าว และเมื่อใช้กากมะพร้าวตัดแปรรูปในส่วนผสมของผลิตภัณฑ์ขนมปัง ได้แก่ ขนมปัง และคุกกี้ เพื่อทดแทนแป้งสาลีหรือเพื่อเพิ่มใยอาหาร พบว่าผลิตภัณฑ์ขนมปังและคุกกี้ที่ได้ไม่แตกต่างจากขนมปังและคุกกี้จากสูตรพื้นฐานที่ไม่มีการเติมกากมะพร้าว แสดงว่ากากมะพร้าวที่ผ่านการไฮโดรไลซ์ไม่แสดงลักษณะการอุ้มน้ำ และแย่งจับน้ำจากส่วนผสมอื่นทำให้มีลักษณะปกติระหว่างส่วนผสมส่วนผสมตรงกันข้ามกับกากมะพร้าวปกติ ซึ่งแย่งจับน้ำและพองตัวจนทำแห้งส่วนผสมแห้งและผสมเข้ากันยาก ส่งผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์สุดท้ายซึ่งมีความแตกต่างกันระหว่างตัวอย่างที่ใช้กากมะพร้าวปกติกับกากมะพร้าวตัดแปรรูป (ทิพวรรณ และ รังสิยา 2552)

จากงานวิจัยที่ได้ดำเนินการแล้วพบว่าการตัดแปรรูปโครงสร้างกากมะพร้าวสามารถเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของกากมะพร้าวส่งผลดีต่อการประยุกต์ใช้กากมะพร้าวเป็นสารเสริมใยอาหาร แต่ยังไม่มีการศึกษาข้อมูลพื้นฐานที่จำเป็นในการพัฒนาสถานะและกระบวนการที่เหมาะสมที่สุดในการผลิตกากมะพร้าวตัดแปรรูป การใช้เทคนิคทางสถิติคือ Response surface methodology (RSM) จะทำให้ได้โมเดลเพื่อทำนายการเปลี่ยนแปลงทางเคมีกายภาพที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการไฮโดรไลซิสทำให้สามารถพัฒนาสถานะและกระบวนการที่เหมาะสมที่สุดในการผลิตกากมะพร้าวตัดแปรรูป

มีการใช้เอนไซม์กันอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมอาหารเนื่องจากเป็นเทคโนโลยีที่ไม่มีผลกระทบต่อทำลายสิ่งแวดล้อม ไม่มีสารเคมีตกค้างในกระบวนการผลิตเนื่องจากเป็นสารจากธรรมชาติ เอนไซม์ทางการค้ามีความปลอดภัยและอนุญาตให้ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร เนื่องจากเอนไซม์บริสุทธิ์จึงมีราคาไม่สูงนัก ประกอบกับเอนไซม์มีหน้าที่เร่งปฏิกิริยาจึงไม่จำเป็นต้องใช้ในปริมาณสูง ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ในการใช้ในอุตสาหกรรม ข้อมูลจากงานวิจัยที่จะดำเนินการนี้สามารถใช้เป็นองค์ความรู้ในการพัฒนาเทคนิคของการปรับปรุงคุณภาพใยอาหารจากกากมะพร้าว เพื่อใช้เป็นสารเสริมใยอาหารในผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้ข้อมูลดังกล่าวยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการผลิตสารเสริมใยอาหารจากวัตถุดิบชนิดอื่น เพื่อเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์จากส่วนเหลือทิ้งที่มีราคาถูกจากอุตสาหกรรมแปรรูปผักและผลไม้

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

เพื่อให้ได้สภาวะที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซ์กากมะพร้าวด้วยเอนไซม์ทางการค้าที่มีแอกติวิตี้ของแมนนาเนส

เพื่อเสนอแนะการประยุกต์ใช้การไฮโดรไลซ์กากมะพร้าวด้วยเอนไซม์

ขอบเขตของโครงการวิจัย

ศึกษาอิทธิพลของชนิดของเอนไซม์ อุณหภูมิ และเวลาในการไฮโดรไลซ์กากมะพร้าวด้วยเอนไซม์ต่อสมบัติทางเคมีกายภาพของกากมะพร้าวตัดแปรร

การประยุกต์ใช้การไฮโดรไลซ์กากมะพร้าวด้วยเอนไซม์ในการเพิ่มผลผลิตน้ำมันมะพร้าวและการผลิตกากมะพร้าวตัดแปรร

ศึกษาสมบัติของผลิตภัณฑ์ที่มีการเติมกากมะพร้าวตัดแปรร

การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศ (information) ที่เกี่ยวข้อง

การบริโภคใยอาหาร (dietary fiber) มีผลดีต่อสุขภาพของผู้บริโภคในแง่การป้องกันโรคเรื้อรังเช่น โรคมะเร็ง โรคหัวใจ และโรคเบาหวาน นอกจากนี้การบริโภคใยอาหารยังเกี่ยวข้องกับการช่วยควบคุมน้ำหนักจากการศึกษาของทีมนักวิจัยที่ Jean Mayer USDA Human Nutrition Research on Aging ที่ Tufts University นักวิจัยเหล่านี้วิเคราะห์เอกสารที่ศึกษาผลของใยอาหารต่อความหิว ความอิ่ม (satiety) พลังงานที่ได้รับ (energy intake) และ body composition ของคนสุขภาพดี พบว่าผลการศึกษาร่วมใหญ่ระบุว่า การเสริมใยอาหารเพิ่มความอิ่มหลังมื้ออาหาร (post-meal satiety) และลดความหิวที่ตามมา (subsequent hunger) (Ang and Crosby, 2005)

โดยสรุปจากงานวิจัยที่ตีพิมพ์พบว่าคนปกติที่บริโภคใยอาหารเพิ่มเติม 14 กรัมต่อวันเป็นเวลามากกว่า 2 วันโดยเป็นส่วนหนึ่งของการบริโภคปกติจะสามารถลดพลังงานที่ได้รับจากการบริโภคได้ 10% และสามารถลดน้ำหนักได้ 1.9 กิโลกรัมใน 3.8 เดือน แต่ถ้าเป็นคนอ้วนจะลดได้ถึง 2.4 กิโลกรัมในช่วงเวลาเท่ากัน การเปลี่ยนแปลงของพลังงานที่ได้รับและน้ำหนักตัวเหล่านี้เกิดขึ้นไม่ว่าจะใช้ใยอาหารแบบเป็นสารเสริมใยอาหาร (fiber supplement) หรือรูป high-fiber foods และไม่ว่าจะเป็นในรูปใยอาหารที่ละลายน้ำได้ (soluble) หรือที่ละลายน้ำไม่ได้ (insoluble) งานวิจัยในปัจจุบันที่เกิดขึ้นก็สนับสนุนบทสรุปนี้คือ ยิ่งบริโภคใยอาหารมาก จะช่วยลด caloric intake และช่วยลดน้ำหนักตัว (Ang and Crosby, 2005)

วัตถุดิบจากพืชหลายชนิด เช่น ต้นไม้ กากถั่ว ฟางข้าว เป็นแหล่งที่ดีของใยอาหารที่ละลายน้ำไม่ได้ (insoluble fiber) เนื่องจากมีเซลลูโลสในปริมาณสูง การทำใยอาหารที่ละลายน้ำไม่ได้ให้บริสุทธิ์เพื่อใช้เป็นส่วนประกอบในอาหารนั้นต้องมีการเอาลิกนิน (lignin) ออกโดยการสกัดด้วยด่าง (alkali) ลิกนินเป็นองค์ประกอบที่สำคัญที่ให้ความแข็งแรงแก่เซลล์ของพืช การที่ไม่สามารถกำจัดลิกนินออกจากใยอาหารที่ละลายน้ำไม่ได้ จะทำให้ใยอาหารที่ได้มีลักษณะแข็งเปราะและเปลี่ยนสีได้ง่ายเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน ดังนั้นใยอาหารที่ละลายน้ำไม่ได้ส่วนใหญ่ต้องผ่านการฟอกสีด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

เซลลูโลส (powdered cellulose) ผลิตได้โดยการบดเซลลูโลสบริสุทธิ์ให้มีขนาดหลากหลาย ผงเซลลูโลสเป็นใยอาหารที่ละลายน้ำไม่ได้จะมีความบริสุทธิ์สูงมาก มีระดับเซลลูโลสสูงสุด และมีเฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) ลิกนินและเถ้า (ash) ตกค้างน้อยมากๆ ผงเซลลูโลสถูกใช้ประโยชน์เพื่อเป็นสารทดแทนแป้ง

และน้ำตาลในผลิตภัณฑ์ที่ใช้แป้งเป็นหลัก

Table 1.1 Total carbohydrate, total dietary fiber and calorie content of foods containing powdered cellulose compared to normal foods

Food	Servin g size (g)	Carbohydrate (g)		Dietary fiber (g)		Total Calories (kcal)	
		Cellulos e	Standar d	Cellulose	Standar d	Cellulos e	Standar d
Bread	28	7.5 (46%↓)	14	2.0 (3time↑)	0.6	61 (20%↓)	76
Hamburge r bun	53	18.5 (31%↓)	27	5.5 (4time↑)	1.4	120 (25%↓)	152
Pizza crust (4.9%)	28	7.0 (50%↓)	15	2.0 (3time↑)	0.7	45 (40%↓)	77
Bagel	68	20.7	36	5.4	1.6	115	187
Flour tortilla	36	10.6 (50%↓)	20	6.6 (5time↑)	1.2	61	115
Pasta (dry) (5.2%)	28	10.0 (50%↓)	23	2.0 (1.7time↑)	1.4	71 (28%↓)	115

(ที่มา: Ang and Crosby, 2005)

จาก Table 1.1 จะเห็นว่าผลิตภัณฑ์จากแป้งสาลีที่ผลิตโดยการทดแทนแป้งสาลีด้วยผงเซลลูโลสในปริมาณต่างๆและปรับสูตรให้เหมาะสมแล้วทำให้ได้ผลิตภัณฑ์จากแป้งสาลีที่มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตและแคลอรีลดลงในขณะที่มีใยอาหารมีปริมาณเพิ่มขึ้น

กากมะพร้าวที่สกัดน้ำมันและคั้นน้ำกะทิออกแล้วเป็นของเหลือจากอุตสาหกรรมกะทิและอุตสาหกรรมน้ำมันมะพร้าวนอกจากถูกใช้เป็นอาหารสัตว์แล้วยังสามารถนำมาใช้เป็นแหล่งของใยอาหารที่สำคัญซึ่งมีมูลค่าสูงกว่าการขายเป็นอาหารสัตว์เนื่องจากองค์ประกอบหลักของกากมะพร้าวคือใยอาหาร

สายของพอลิแซคคาไรด์ในกากมะพร้าวเกิดจากการเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ (1-4)-linked β -D-mannosyl residues หมู่ alpha -D-galactose เชื่อมที่ตำแหน่ง O-6 บางส่วนของสายแมนโนสหลัก กิ่งก้านของกาแลคโตสเหล่านี้ไม่มีรูปแบบที่แน่นอน ลักษณะโครงสร้างของพอลิแซคคาไรด์ในกากมะพร้าวคล้ายกับพอลิแซคคาไรด์จากแหล่งอื่นๆเช่น locust bean gum, guar gum และเปลือกถั่วเหลืองอย่างไรก็ตามสัดส่วนของแมนโนสกับกาแลคโตสในพอลิแซคคาไรด์ มีความแตกต่างกันไป (11:1 ถึง 90:1) (Banta, 1998) จากการวิเคราะห์องค์ประกอบของกากมะพร้าวหลังจากแยกน้ำมันมะพร้าวออกแล้วพบว่าประกอบด้วยปริมาณใยอาหารทั้งหมดถึง 60.9% ในที่นี้เป็นใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ 56.8% และใยอาหารที่ละลายน้ำ 3.8% (Trinidad et al., 2006) แสดงให้เห็นว่ากากมะพร้าวเป็นแหล่งของใยอาหารที่ดี ข้อดีสำคัญที่ทำให้กากมะพร้าวเหมาะสมกับการผลิตใยอาหารมากกว่าแหล่งอื่นๆคือกากมะพร้าวไม่มีลิกนินและมีสีชาวดังนั้นในการเตรียมใยอาหารจากกากมะพร้าวจึงไม่จำเป็นต้องมีขั้นตอนการกำจัดลิกนินด้วยต่าง และการฟอก

สีด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ทำให้ประหยัดเวลาและค่าใช้จ่าย

มีการศึกษาประสิทธิภาพของใยอาหารจากแป้งมะพร้าว(coconut flour) ซึ่งได้จากการนำกากมะพร้าวจากอุตสาหกรรมน้ำกะทิมารีดเอาไขมันออกด้วยเครื่องรีด แล้วนำมาเป็นส่วนผสมแทนแป้งเพื่อผลิต functional foods (Trinidad *et al.*, 2006) พบว่าอาหารที่มีการเสริมใยอาหารจากแป้งมะพร้าวมีค่า glycemic index ลดลง ยิ่งปริมาณใยอาหารที่เติมมากขึ้นค่า glycemic index ยิ่งลดลงมากขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าถ้าใช้ใยอาหารจากกากมะพร้าวเติมลงใน functional foods ได้มากถึง 25% ก็จะช่วยลด serum total cholesterol, LDL cholesterol และ triglycerides ของคนที่มีระดับ serum cholesterol ในระดับสูงปานกลางได้

การเติมใยอาหารทดแทนแป้งทำได้ในปริมาณต่ำดังตัวอย่างเช่น การใช้เฮมิเซลลูโลสทจากรำข้าวในในผลิตภัณฑ์ขนมปังเพียง 1% ทำให้ขนมปังยุบตัวและแข็งขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (Hu *et al.* 2009)

แม้ว่ากากมะพร้าวเป็นแหล่งของใยอาหารที่ดีและสามารถนำไปผลิต functional foods ที่มีประสิทธิภาพ การใช้กากมะพร้าวเป็นสารเสริมใยอาหารโดยการเติมลงในอาหารโดยตรงในปริมาณมากพอเพื่อให้มีประสิทธิภาพในการเป็น functional foods นั้นเป็นไปได้ยากเนื่องจากการเติมกากมะพร้าวจะเปลี่ยนสมบัติทางกายภาพและสมบัติทางประสาทสัมผัสของอาหาร ดังจะเห็นได้จากค่าสมบัติทางน้ำ (Hydration properties) ได้แก่ค่าการอุ้มน้ำ WHC (water holding capacity) และ WRC (water retention capacity) และค่าการพองตัว SC (swelling capacity) ซึ่งมีค่าสูงมากเมื่อเปรียบเทียบกับใยอาหารจากแหล่งอื่น (Table 1.2) เนื่องจากค่า WHC ซึ่งมีค่าสูง การเติมกากมะพร้าวลงในผลิตภัณฑ์อาหารจะทำให้เนื้อสัมผัสแฉ่ง เนื่องจากกากมะพร้าวจะดูดความชื้นจากรอบๆตัวมัน ดังนั้นถ้าสามารถเปลี่ยนสมบัติทางน้ำของกากมะพร้าวให้มีค่าลดลงได้ เราก็จะสามารถใช้กากมะพร้าวเติมลงไปในการเป็นแหล่งใยอาหารหรือทดแทนการใช้แป้งในการผลิตอาหารที่มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตและแคลอรีลดลง ในขณะที่มีใยอาหารในปริมาณเพิ่มขึ้นและมีประสิทธิภาพเป็น functional foods ที่ดี เช่น มี glycemic index ลดลงและช่วยลด serum total cholesterol, LDL cholesterol และ triglycerides โดยอาหารที่เสริมใยอาหารจากกากมะพร้าวนี้มีสมบัติทางกายภาพและสมบัติทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์เปลี่ยนแปลงจากสูตรปกติที่น้อยที่สุด

Table 1.2 Hydration properties of fiber from different sources

	Hydration properties			
	WHC (g/g)	WRC (g/g)	SC (g/g)	FAC (g/g)
Apple	4.50	3.50	9.00	1.30
Pea	3.50	2.70	5.50	1.00
Wheat	3.10	2.50	7.50	1.30
Carrot	3.80	3.10	7.50	1.20
Sugar Beet	10.10	5.00	10.50	5.10
Coconut fiber	7.11	5.33	20.00	4.80

*** WHC (water holding capacity), WRC (water retention capacity), SC (swelling capacity), FAC (fat absorption capacity) ***
ที่มา: Raghavendra *et al.*, 2006)

เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการทดแทนแป้งด้วยใยอาหารในผลิตภัณฑ์อาหาร เทคนิคที่ใช้ได้แก่ การปรับ ส่วนผสมของผลิตภัณฑ์ ตัวอย่างเช่น การประยุกต์ใช้ผงเซลลูโลสในผลิตภัณฑ์จากแป้งต้องมีการเพิ่มน้ำ และ โปรตีนในสูตรเพื่อรักษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์ให้ใกล้เคียงต้นแบบมากที่สุด (Ang and Crosby 2005)

อีกวิธีการหนึ่งที่ใช้คือ การใช้เทคนิคการเปลี่ยนแปลงขนาดอนุภาคใยอาหารโดยวิธีทางกลเพื่อตัดแปร ใยอาหารเพื่อวัตถุประสงค์เพื่อปรับปรุงสมบัติเชิงหน้าที่เพื่อให้เหมาะสมในการเป็นสารเสริมใยอาหารใน ผลิตภัณฑ์ ดังตัวอย่างเช่น การปรับขนาดอนุภาค (particle size) ของใยอาหารจากชานอ้อยพบว่าสามารถ เพิ่มค่า WHC อย่างไรก็ดีตามผลิตภัณฑ์ขนมปังที่ใช้ใยอาหารตัดแปรใน 5% ยังมีคะแนนความชอบน้อยกว่าสูตร ควบคุม (Songnark and Noomharm, 2003) Onwulata และ Elchediak (2000) ใช้เทคนิค dynamic pulsed pressure เพื่อลดค่า WHC ในผงเซลลูโลสได้ 35% ซึ่งช่วยให้สามารถเพิ่มปริมาณเซลลูโลสที่เติมใน อาหารได้ Chau et al. (2007) ใช้เทคนิค micronization สามารถเพิ่มค่า WHC และเปลี่ยนแปลงสมบัติทาง กายภาพอื่นๆของใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำจากแครอท การตัดแปรสมบัติของใยอาหารอาจทำได้โดยวิธีทางเคมี และพบว่าให้ผลลัพธ์ที่ดีสำหรับใยอาหารจากกากมะพร้าว

การศึกษากาโรไฮโดรไลซ์หรือย่อยกากมะพร้าวด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกพบว่าสามารถลดค่า การอุ้มน้ำหรือ water holding capacity (WHC) และ water retention capacity (WRC) และค่าการพอง ตัว swelling capacity (SC) ของกากมะพร้าว ยิ่งความเข้มข้นของกรดสูง ระยะเวลาในการย่อยนาน และ อุณหภูมิในการย่อยสูง ค่า WHC, WRC และ SC ยิ่งลดลงมากแต่ค่าผลผลิตสุดท้าย (yield) ก็ลดลงตามค่า WHC, WRC และ SC ที่ลดลง เมื่อใช้กากมะพร้าวที่ไฮโดรไลซ์หรือย่อยด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่มีค่า WHC, WRC และ SC ต่ำ $WHC \leq 2.73$ g/g, $WRC \leq 2.10$ g/g, $SC \leq 3.97$ ml/g) เติมในส่วนผสมผลิตภัณฑ์ ขนมอบได้แก่ขนมปัง (ในปริมาณ 10%) และคุกกี้ (ในปริมาณ 30%) เพื่อทดแทนแป้งสาลีหรือเพื่อเพิ่มใย อาหารพบว่าผลิตภัณฑ์ขนมปังและคุกกี้ที่ได้ไม่แตกต่างจากขนมปังและคุกกี้สูตรพื้นฐานที่ไม่มีการเติมกาก มะพร้าว แตกต่างจากการเติมกากมะพร้าวปกติที่ไม่ผ่านการตัดแปรซึ่งเติมในปริมาณเท่ากันแต่ให้ผลิตภัณฑ์ ขนมปังและคุกกี้ที่ไม่เป็นที่ยอมรับและแตกต่างจากขนมปังและคุกกี้สูตรปกติโดยสิ้นเชิง แสดงว่ากากมะพร้าวที่ ผ่านการไฮโดรไลซ์ไม่แสดงลักษณะการอุ้มน้ำ และแย่งจับน้ำจากส่วนผสมอื่นทำให้มีลักษณะปกติระหว่างผสม ส่วนผสม ตรงกันข้ามกับกากมะพร้าวปกติที่ไม่ผ่านการตัดแปรซึ่งแย่งจับน้ำและพองตัวจนทำให้ส่วนผสม แห้งและผสมเข้ากันยาก ส่งผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์สุดท้ายซึ่งมีความแตกต่างกันระหว่างตัวอย่างที่ใช้กาก มะพร้าวปกติกับกากมะพร้าวตัดแปร

บทที่ 2 ระเบียบวิธีวิจัย

2.1 วัตถุดิบ

กากมะพร้าวที่เป็นของเหลือจากกระบวนการผลิตน้ำกะทิแบบอบแห้งได้มาจากโรงงานผลิตน้ำกะทิแห่งหนึ่งในจังหวัดนครปฐม นำมาตัวอย่างมาแยกบรรจุในถุงพลาสติก (polypropylene bags) ปิดสนิทแล้วเก็บที่ 4°C จนกว่าจะนำมาใช้งาน ปริมาณไขมันที่วัดได้ด้วยการผ่านตัวอย่างด้วย petroleum ether ใน Soxhlet apparatus วัดได้ $29.38 \pm 0.10\%$ ส่วนมะพร้าวชุดซื้อมาจากตลาดเทศบาล 3 อ.เมือง จ.พิษณุโลก

2.2 การเตรียมวัตถุดิบ

เพื่อลดปริมาณไขมันในวัตถุดิบ นำกากมะพร้าว (100 g) แช่ใน hexane (1 L) เป็นเวลา 18 ชั่วโมง เมื่อแยก hexane ออกแล้วนำกากมะพร้าวที่ได้มาอบในตู้อบลมร้อน (ShellLab, 1375FX, Cornelis, Oregon) ที่ 45 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมงเพื่อเอา hexane ออก ตามวิธีการของ Raghavendra et al., 2004 ปริมาณไขมันที่วัดได้ในตัวอย่าง defatted CM วัดได้ $8.04 \pm 0.34\%$ นำ defatted CM มาบดในเครื่องบดแล้วร้อนผ่านตะแกรงร่อนขนาด 300 μm pore size จากการวิเคราะห์องค์ประกอบของกากมะพร้าวที่เตรียมได้พบว่ามีปริมาณโปรตีน $9.56 \pm 3.19\%$ ความชื้น $4.08 \pm 2.14\%$ และเส้นใย $1.74 \pm 0.23\%$ ในขณะที่มี total dietary fiber ประมาณ 77%

2.3 เอนไซม์

เอนไซม์ทางการค้าที่มีแอกติวิตี β -mannanase ที่ใช้ในการศึกษาได้แก่

Actipro SF-R หรือ SF-R เป็นเอนไซม์ทางการค้าที่อนุญาตให้ใช้สำหรับอาหาร ผลิตจาก *Aspergillus niger* มีแอกติวิตีของ pectinase และ hemicellulase

E mannanase GMP หรือ E-man เป็นเอนไซม์ทางการค้าที่ผลิตจาก *Trichoderma reesei* มีแอกติวิตีหลักคือ mannanase และมี side activity คือ β -glucanase, xylanase and cellulase

Table 2.1 Activity of commercial enzymes on substrates (cellulose and hemicellulose). β -mannanase activity was determined at optimal pH and temperature of pH 5.0 and 60 °C

Enzyme	Activity (unit)				
	β -mannanase	Endo- β -mannanase*	β -mannosidase	Endoglucanase	Glucoamylase
E-man (25 mg/ml)	57.24	+	nd	726.67	12.37
SF-R	3.60	+	79.45	3,053.33	781.70

nd : not detected

* + means that the enzyme contained endo- β -mannanase activity by showing clearing zone on the endo- β -mannanase assay.

- no clear zone was observed on the endo- β -mannanase assay.

β -mannanase: 1 unit = μmol of mannose equivalent released in 1 min per ml enzyme

β -mannosidase: 1 unit = nmol nitrophenol released in 1 min per ml enzyme

Endoglucanase: 1 unit = $\mu\text{mol}/\text{ml}$ of glucose equivalent released in 1 min per 0.1 ml enzyme

Glucoamylase: 1 unit = nmol nitrophenol released in 1 min per ml enzyme

2.4 ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการไฮโดรไลซิสกากมะพร้าวด้วยเอนไซม์

หาสภาวะที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซิสกากมะพร้าวด้วยเอนไซม์ด้วยวิธีการประเมินพื้นผิวการตอบสนอง (Response surface method) โดยใช้ optimal exact three factor designs (Borkowski, 2003) โดยศึกษา 3 ตัวแปร ได้แก่ อัตราส่วนเอนไซม์ต่อซับสเตรท อุณหภูมิ และ pH Table 2.2 แสดงช่วงการทดลองและระดับของตัวแปรอิสระเพื่อศึกษาการไฮโดรไลซิสกากมะพร้าวด้วยเอนไซม์ E-mannanase และ Actipro SF-R วัดค่าตอบสนองคือค่า hydrolysis yield (%) หรือ Y_1 ค่า Bulk density หรือ Y_2 ค่า Swelling capacity หรือ Y_3 และ ค่า water retention capacity หรือ Y_4 ดังรายละเอียดในภาคผนวก

Table 2.2A Experimental range and levels of independent variables for hydrolysis of CM by Actipro SF-R

Independent variables	Symbol	Range and levels		
		-1	0	1
Enz (ml)(60-1,200 units*)	X_1	0.13	1.38	2.64
temp (°C)	X_2	40	60	80
pH	X_3	4	6	8

Table 2.2B Experimental range and levels of independent variables for hydrolysis of CM by Actipro SF-R

Independent variables	Symbol	Range and levels		
		-1	0	1
Enz (ml)(38-760 units*)	X_1	0.1	0.05	2
temp (°C)	X_2	40	60	80
pH	X_3	4	6	8

*One unit of β -mannanase activity was defined as changes in absorbance at 540 due to the reducing groups formed per minute (0.001 $\Delta A_{540}/\text{min}$) under the assay conditions.

2.5 การไฮโดรไลซิสเนื้อมะพร้าวด้วยเอนไซม์ Actipro SF-R ต่อผลผลิต

น้ำมันมะพร้าว

หาสภาวะที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซิสเนื้อมะพร้าวด้วยเอนไซม์ Actipro SF-R ต่อผลผลิตน้ำมันมะพร้าว ด้วยวิธีการประเมินพื้นผิวการตอบสนอง (Response surface method) โดยใช้ optimal exact three factor designs (Borkowski, 2003) โดยศึกษา 3 ตัวแปร ได้แก่ อัตราส่วนเอนไซม์ต่อซับสเตรท อุณหภูมิ และ pH Table 2.4 แสดงช่วงการทดลองและระดับของตัวแปรอิสระเพื่อศึกษาการไฮโดรไลซิสเนื้อมะพร้าวด้วยเอนไซม์ Actipro SF-R วัดค่าตอบสนองคือค่า Y_1 คือ yield coconut oil (ml), Y_2 คือ %FFA, Y_3 คือ %moisture ของ coconut oil, Y_4 คือ Coconut meal(dry)(g), Y_5 คือ Swelling capacity (ml/g), Y_6 คือ Water retention capacity (g/g), Y_7 คือ Bulk density (g/ml)

Table 2.3 Experimental range and levels of independent variables for hydrolysis of coconut meat by Actipro SF-R to facilitate coconut oil extraction

Independent variables	Symbol	Range and levels		
		-1	0	1
Enz/Substrate (%)	X1	0.01	2.005	4
temp (°C)	X2	25	45	65
pH	X3	4	6	8

เนื้อมะพร้าวชูดเริ่มต้น 200 กรัม

2.6 การวัดสมบัติทางเคมีกายภาพของกากมะพร้าว

ก่อนการวัดสมบัติเคมีกายภาพนำตัวอย่างกากมะพร้าวตัดแปรมาทำให้แห้ง บดด้วยเครื่องบด นำตัวอย่างที่ได้มาผ่านตะแกรงร่อน เก็บตัวอย่างที่มีขนาดระหว่าง 250 และ 400 μm เพื่อศึกษา hydration properties

Swelling capacity (SC) ของกากมะพร้าวตัดแปรในน้ำวัดโดยใช้ bed volume technique และคำนวณในหน่วยปริมาตรของของตัวอย่างที่อุ้มน้ำต่อน้ำหนักแห้งของตัวอย่างตามวิธีการของ Robertson et al. (2000)

Water retention capacity (WRC) คือปริมาณน้ำที่จับกับใยอาหารหลังจากการปั่นเหวี่ยง หน่วยของ WRC บอกในหน่วยกรัมของน้ำต่อน้ำหนักแห้งของตัวอย่างเริ่มต้นตามวิธีการของ Robertson et al. (2000) ซึ่งตัวอย่างกากมะพร้าวตัดแปรผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 30 ml ใน centrifuge tube หลังจากตั้งทิ้งไว้ 18 ชั่วโมง นำ centrifuge tube ปั่นเหวี่ยงในเครื่องปั่นเหวี่ยง (Sorvall, Biofuge Stratus, Germany) ที่ 3,000xg เป็นเวลา 20 นาที หลังจากแยกส่วนน้ำออกนำ pellet (ส่วนตะกอน) ซึ่งน้ำหนักแล้วนำไปอบแห้งในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 °C เป็นเวลา 8 ชั่วโมง ก่อนบันทึกน้ำหนักแห้งที่ได้แล้วนำไปคำนวณค่า

Loose bulk density ของผงคือการวัดความหนาแน่นเมื่อตัวอย่างผงถูกเทลงในภาชนะ bulk density (BD) วัดในหน่วยกรัมต่อมิลลิลิตร(g/ml) ตามวิธีของ Chau et al. (2006)

2.7 Determination of sugar content in the hydrolysis solution

วิเคราะห์ Sugar profile ในน้ำหมักโดย HPLC (Shimadzu, Kyoto, Japan) กรองตัวอย่างน้ำหมักที่ปรับ pH ให้เป็นกลางแล้ว (2 ml) ผ่าน 0.45 μm filter ฉีดตัวอย่าง (10 μL) ที่ผ่านการกรองแล้วเข้าไปใน HPLC column (Rezex RSO oligosaccharide Ag+ column, 200 mm x 10 mm, Phenomenex, Torrance, CA) ใช้ HPLC-grade water เป็น mobile phase ที่อัตราการไหล 0.3 ml/min ที่อุณหภูมิ 75 °C วัดสัญญาณโดยใช้ refractive index detector ที่ detection limit เท่ากับ 0.01 mmol/L

ใช้ D-mannose (Merck, Germany), 1,4-beta-D-mannobiose and 1,4-beta-D-mannotriose and 1,4-beta-D-mannotetraose (Megazyme, Australia) เป็น external standard

2.8 Monosaccharide compositions of CM

สกัดแยกใยอาหารจากกากมะพร้าวอบแห้ง นำตัวอย่างมาย่อยด้วย 72% H_2SO_4 ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 30°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นเติมน้ำกลั่น 87 ml แล้วนำไป autoclave ที่ 120°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ปรับ pH ของสารละลายให้เป็นกลางโดยใช้ $Ba(OH)_2$ กรองสารละลายผ่านแผ่นกรอง (0.45 μm) วิเคราะห์ monosaccharide compositions โดย ion chromatography system (ICS 3000)

2.9 Utilization of the modified CM in crispy rice cakes

สูตรมาตรฐานข้าวเกรียบประกอบด้วยแป้งมันสำปะหลัง 45% แป้งข้าวเหนียว 25% กุ้ง 30% น้ำ 20% น้ำตาล 3.79% กระทียม 2.76% พริกไทย 1.38% ผงฟู 0.1% และเกลือ 0.92% นำกากมะพร้าวตัดแปรและกากมะพร้าวปกติที่มีขนาดเท่ากันมาแทนแป้งมันสำปะหลังในปริมาณ 10% ผสมส่วนผสมกับน้ำเดือด ปั่นเป็นแท่งแล้วนึ่งเป็นเวลา 45 นาที ก่อนทิ้งไว้ที่ 4°C เป็นเวลา 18 ชั่วโมง หั่นข้าวเกรียบหนา 0.1-0.3 cm แล้วทอดเป็นเวลา 3 นาที วัดเนื้อสัมผัสโดยใช้ Texture analyzer (Brookfield Model QTS25, Middleboro, MA) โดยใช้หัว 2 mm ϕ stainless steel probe อัตราเร็วในการเคลื่อนที่ของ probe 0.5 mm/sec ค่า firmness วัดจาก compression force

2.10 Utilization of the modified CM in bread

นำกากมะพร้าวตัดแปรและกากมะพร้าวปกติที่มีขนาดเท่ากันมาแทนแป้งสาลี สมบัติของขนมปังวัดจาก Loaf volume (g) loaf volume (ml) และ specific volume (ml/g) หั่นขนมปังเป็นชิ้นหนา 2.5 cm แยกขอบออกแล้วนำไปวัดค่า firmness โดยใช้ texture analyzer (Brookfield Model QTS25, Middleboro, MA) โดยใช้ 38.1 mm ϕ Perspex cylinder probe กดกลางชิ้นของแผ่นขนมปังลง 40% (จาก 25 mm เป็น 10 mm) อัตราเร็วในการเคลื่อนที่ของ probe 2 mm/sec ค่า firmness วัดจาก maximal force ที่ทำให้ขนมปังเสียรูปวัดค่าซ้ำจากแผ่นขนมปัง 5 ชิ้น แล้วนำผลมาหาค่าเฉลี่ย

บทที่ 3 ผลการศึกษา

3.1 ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการไฮโดรไลซิสกากมะพร้าวด้วยเอนไซม์

ศึกษาอิทธิพลของปริมาณเอนไซม์ (X_1) อุณหภูมิ (X_2) และ พีเอช (X_3) ต่อสมบัติทางกายภาพของกากมะพร้าวตัดแปรด้วยเอนไซม์ E-man และ SF-R โดยใช้แบบทดลอง 3 ตัวแปรสำหรับ RSM แผนการทดลองและผลการทดลองแสดงไว้ใน Table 3.1

เพื่อทดสอบความเหมาะสมของโมเดล (eq. 1-10) ได้ทำ residual analysis โดยพบว่ากราฟ Normal probability plot ของ residuals มีการกระจายตัวอยู่ในแนวเส้นตรงแสดงว่า normal assumption มีความถูกต้อง และกราฟระหว่าง residuals กับ predicted responses มีการกระจายตัวแบบสุ่ม ซึ่งบ่งบอกว่าโมเดลมีความถูกต้องสูง กราฟทั้งสองแบบมีรูปแบบเดียวกันสำหรับความตอบสนอง Y_1, Y_2, Y_3, Y_4, Y_5 บ่งบอกว่าโมเดลที่สร้างขึ้นมีความน่าเชื่อถือค่าตอบสนองที่ทำนายจากสมการมีความสอดคล้องกับค่าจริงสูง

ทำการทดลองเพื่อทดสอบความเที่ยงตรงของโมเดลพบว่าค่าตอบสนองที่วัดได้จากการทดลองมีความสอดคล้องกับค่าตอบสนองที่ทำนายโดยโมเดล Table 3.2 แสดงผลการทดสอบโมเดลสำหรับการไฮโดรไลซิสกากมะพร้าวด้วยเอนไซม์ทั้งสองชนิด

เมื่ออุณหภูมิในการไฮโดรไลซิสเพิ่มขึ้น SC, WRC และ hydrolysis yield เพิ่มขึ้น ส่วน BD มีค่าลดลง ช่วงพีเอชที่เหมาะสมที่ให้ค่า SC, WRC ต่ำและ BD มีค่าสูงคือช่วง 4 และช่วงอุณหภูมิ 40-46°C สำหรับอิทธิพลของปริมาณเอนไซม์พบว่าค่า SC, WRC ต่ำลงและ BD มีค่าสูงขึ้นเมื่อปริมาณเอนไซม์เพิ่มขึ้น (Figure 3.1 และ 3.2)

เมื่อพิจารณาค่าตอบสนองที่โมเดลทำนายได้ที่สภาวะ pH (5.0) temperature (40°C) และ β -mannanase activity (700 units) ค่า hydrolysis rate ที่วัดจากอัตราการผลิตน้ำตาลรีดิซซ์ของ E-man มีค่าน้อยกว่าค่า hydrolysis rate ของ SF-R (28.52% and 71.62% ตามลำดับ) ขณะที่ค่า hydrolysis yield ของ E-man สูงกว่า SF-R (78.36% และ 50.66% ตามลำดับ) ที่สภาวะนี้ค่า SC มีค่า 95.35% สำหรับ E-man และ 84.28% สำหรับ SF-R ขณะที่ค่า WRC มีค่าใกล้เคียงกัน (66.79% และ 65.94% สำหรับ E-man และ SF-R ตามลำดับ) BD มีค่า 136.06% และ 126.46% สำหรับ E-man และ SF-R ตามลำดับ การใช้เอนไซม์ทางการค้าทั้งสองชนิดในปริมาณที่ให้ค่าแอกติวิตี้ของ β -mannanase activity เท่ากับ 700 units ให้ค่า SC WRC และ BD ใกล้เคียงกัน อย่างไรก็ตามการไฮโดรไลซ์ด้วย SF-R ให้ hydrolysis yield น้อยกว่า E-man เนื่องจาก hydrolysis rate มีค่าสูง

Table 3.1 Experimental design and results obtained by hydrolysis of CM by E Mannanase GMP and by Actipro SF-R; Equations beneath the table indicate relationships between each response and the variables.

Runs	Variables			Responses for E-man					Responses for SF-R				
	X ₁	X ₂	X ₃	Y ₁	Y ₂ *	Y ₃ *	Y ₄ *	Y ₅ *	Y ₁	Y ₂ *	Y ₃ *	Y ₄ *	Y ₅ *
1	0.2912	-1	-1	27.42	77.37	52.39	91.67	59.23	57.13	58.19	133.77	78.33	54.84
2	-1	0.2912	-1	7.48	93.38	50.43	110.00	98.10	9.06	90.34	101.58	100.00	94.95
3	-1	-1	0.2912	4.12	95.81	49.97	121.67	94.22	5.53	96.39	96.68	113.33	100.02
4	-0.1925	1	-0.1925	10.90	97.24	54.07	113.33	107.98	17.38	94.52	91.44	109.58	101.90
5	-0.1925	-0.1925	1	11.66	93.05	52.35	118.33	80.31	4.68	91.69	98.52	108.33	99.26
6	1	-0.1925	-0.1925	72.06	61.15	66.60	81.67	46.54	56.27	56.98	116.14	85.00	82.03
7	-1	1	1	2.68	98.23	50.46	116.67	93.43	10.66	94.28	90.58	116.67	107.68
8	1	1	-1	21.21	95.25	58.23	116.67	101.03	0.62	99.38	95.25	100.00	109.52
9	1	-1	1	15.65	83.44	49.54	111.67	83.24	17.52	85.27	96.06	117.50	103.38
10	1	1	1	5.40	100.77	53.08	115.00	110.21	11.28	89.24	92.94	113.33	109.43

Sugar content (mg/ml) in liquid fraction of the hydrolysis mixture after 6 h

Y₁ is reducing sugar production rate (mg mannose eq./g dry copra meal •min)

*The values are in percentage of those of untreated samples: 4.53 g for dried CM weight after hydrolysis (Y₁), 0.17 g/ml for bulk density (Y₂), 15 ml/g for swelling capacity (Y₃) and 11.95 g/g for water retention capacity (Y₅)

The quadratic models generated for E-man hydrolysis:

$$Y_1 = 41.3446 + 17.7907x_1 - 4.7488x_2 - 6.4197x_3 + 9.0989x_1^2 - 7.3048x_1x_2 + 23.1779x_2^2 - 9.2739x_1x_3 + 6.7606x_2x_3 - 19.0858x_3^2 \quad (1)$$

$$Y_2 = 78.3669 - 8.7903x_1 + 6.9692x_2 + 4.3775x_3 - 5.3546x_1^2 + 7.4618x_1x_2 + 11.2373x_2^2 + 3.7585x_1x_3 - 4.3860x_2x_3 + 9.6697x_3^2 \quad (2)$$

$$Y_3 = 127.2882 + 14.3882x_1 - 12.5964x_2 + 9.2342x_3 + 7.9576x_1^2 - 12.5580x_1x_2 - 13.5931x_2^2 - 5.4252x_1x_3 + 11.0794x_2x_3 - 16.5964x_3^2 \quad (3)$$

$$Y_4 = 97.0960 - 6.6532x_1 + 4.2504x_2 + 7.3345x_3 - 4.0480x_1^2 + 7.3686x_1x_2 + 8.7379x_2^2 - 0.7154x_1x_3 - 6.6190x_2x_3 + 9.9182x_3^2 \quad (4)$$

$$Y_5 = 68.9473 - 11.1579x_1 + 14.7332x_2 + 3.6797x_3 - 4.2091x_1^2 + 9.2422x_1x_2 + 20.9639x_2^2 + 11.4557x_1x_3 - 9.9104x_2x_3 + 6.7153x_3^2 \quad (5)$$

The quadratic models generated for SF-R hydrolysis:

- (6) $Y_1 = 36.8441 + 14.1557x_1 - 10.1116x_2 - 10.3125x_3 + 1.0948x_1^2 - 11.1846x_1x_2 - 7.7104x_2^2 - 2.1187x_1x_3 + 17.5812x_2x_3 - 17.3479x_3^2$
- (7) $Y_2 = 74.1339 - 10.1939x_1 + 9.0382x_2 + 7.0233x_3 - 2.3494x_1^2 + 7.2670x_1x_2 + 10.7142x_2^2 + 3.2369x_1x_3 - 12.2552x_2x_3 + 8.1050x_3^2$
- (8) $Y_3 = 108.5021 + 5.6336x_1 - 9.3609x_2 - 8.6864x_3 - 2.2616x_1^2 - 1.9871x_1x_2 - 6.8109x_2^2 - 2.2715x_1x_3 + 10.7029x_2x_3 - 0.0603x_3^2$
- (9) $Y_4 = 96.0172 - 6.1843x_1 + 4.5360x_2 + 11.1224x_3 + 0.6202x_1^2 + 1.3829x_1x_2 + 9.0164x_2^2 + 3.1314x_1x_3 - 7.5889x_2x_3 + 1.2767x_3^2$
- (10) $Y_5 = 86.3736 - 5.4486x_1 + 9.7615x_2 + 11.5914x_3 + 5.2335x_1^2 + 4.8392x_1x_2 + 6.4579x_2^2 + 0.5794x_1x_3 - 12.3708x_2x_3 + 0.1129x_3^2$

๑ ๐๐
๒๘๑
.H๒3
นศ๑๙๖
๒.๕๕๖

๑. ๖๖๙๖๙๒๒



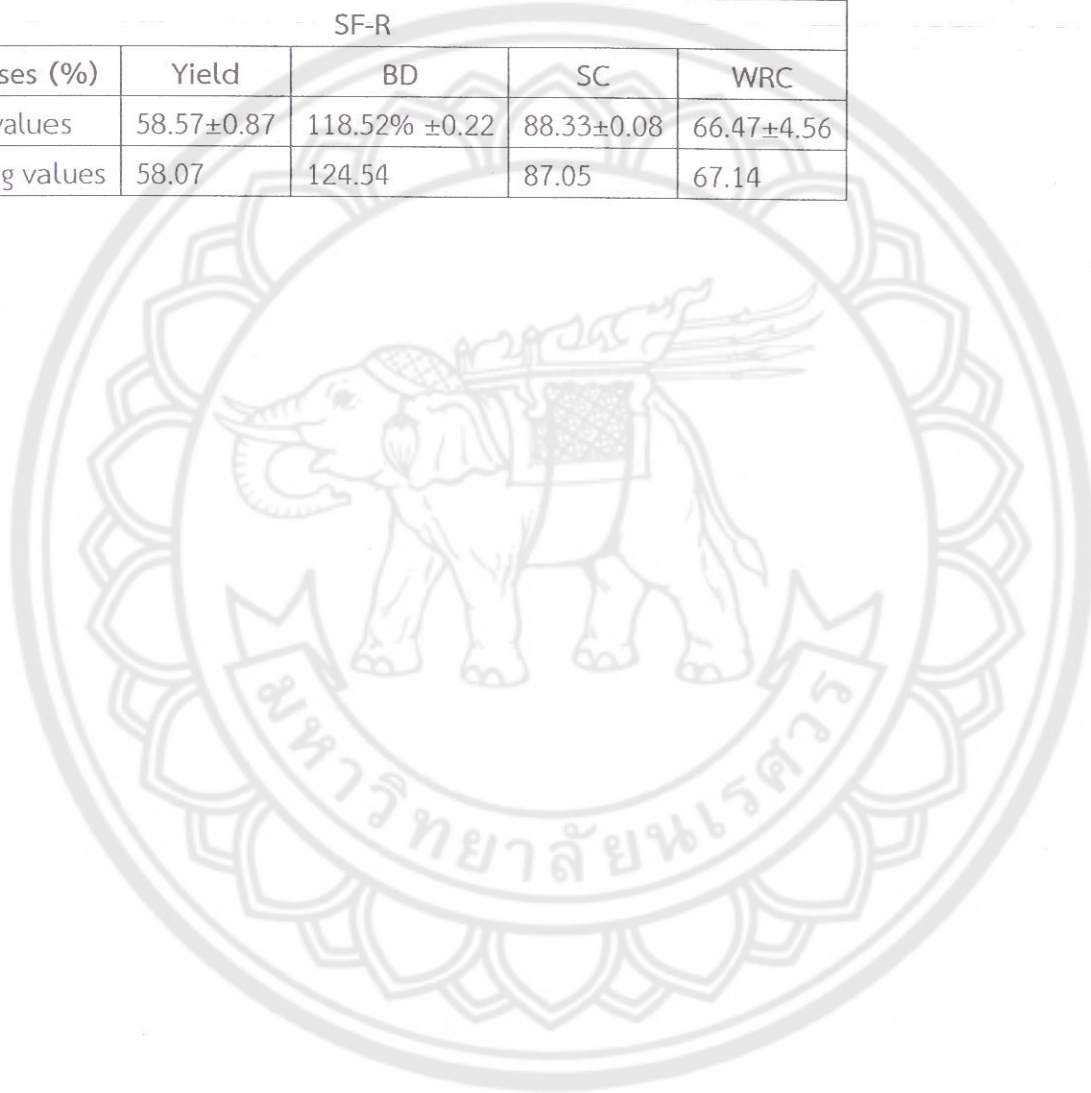
๒๕ สำนักหอสมุด

๒๖ ม.ค. ๒๕๕๕



Table 3.2 Model verification for E-man (1,200 units, 40°C and pH 5.0) and SF-R (579.5 units, 40°C and pH 5.0)

E-man				
Responses (%)	Yield	BD	SC	WRC
Testing values	54.44±0.34	163.54% ±6.71	74.82±1.31	41.21±2.73
Predicting values	57.18	163.54	79.37	39.72
SF-R				
Responses (%)	Yield	BD	SC	WRC
Testing values	58.57±0.87	118.52% ±0.22	88.33±0.08	66.47±4.56
Predicting values	58.07	124.54	87.05	67.14



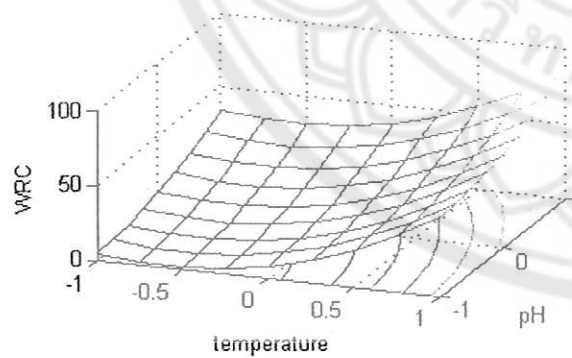
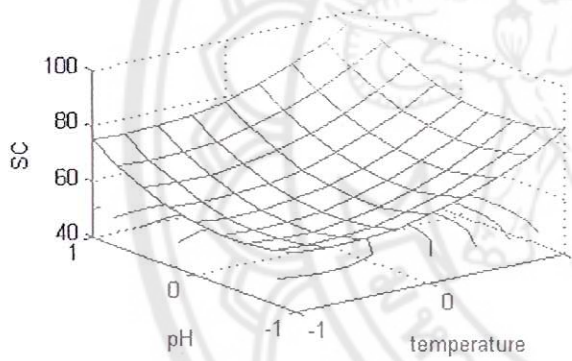
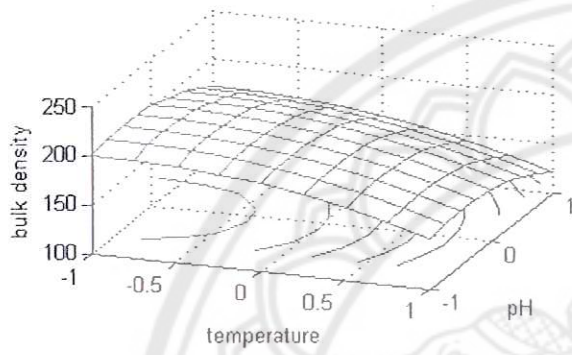
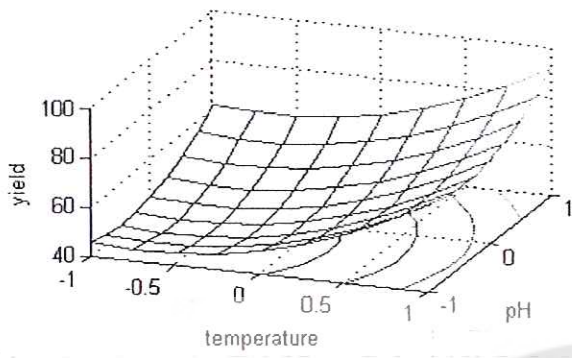


Figure 3.1 Effects of temperature and pH on hydrolysis yield and hydration properties of modified CM at constant level of E mannanase

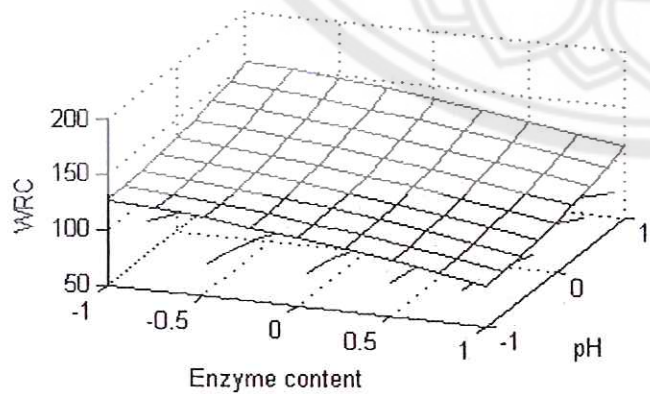
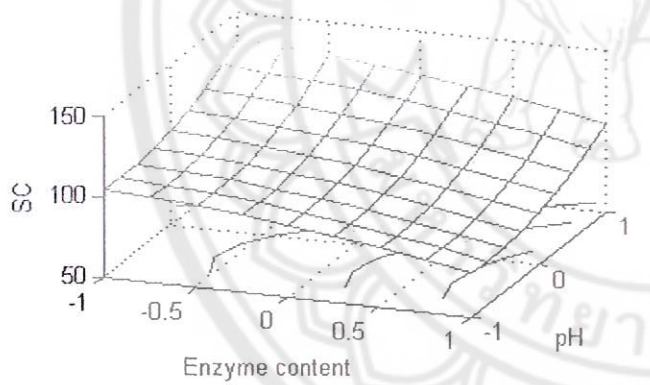
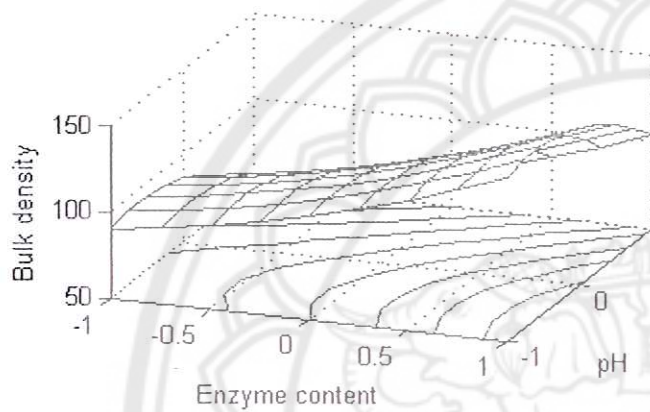
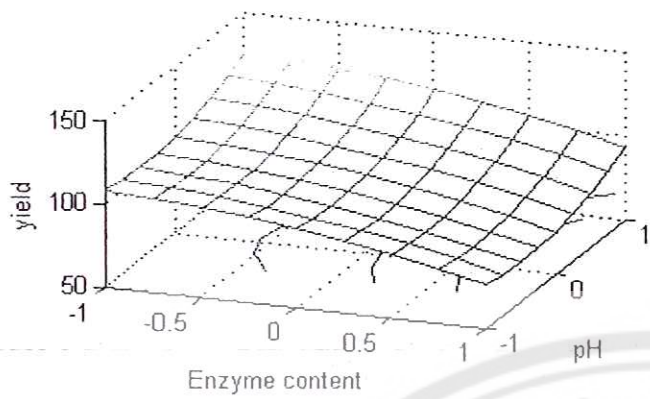
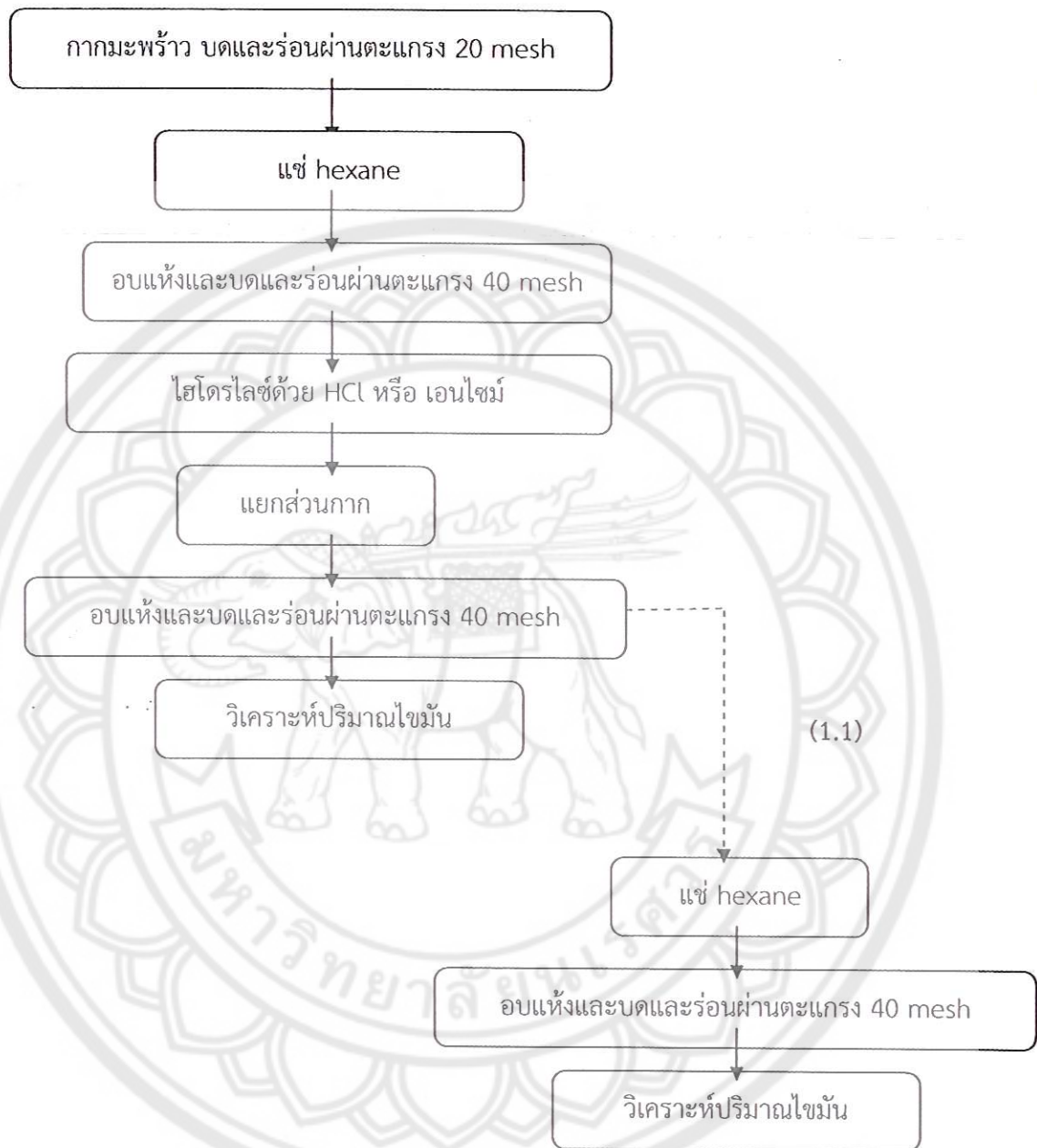


Figure 3.2 Effects of E mannanase content and pH on hydrolysis yield and hydration properties of the modified CM at constant temperature.

3.2 พัฒนาการกระบวนการผลิตกากมะพร้าวตัดแปร

แผนภาพกระบวนการผลิต 1



แผนภาพกระบวนการผลิต 2



Table 3.3 Fat content of modified CM produced from 3 processes (averages of three replicates)

	ปริมาณไขมัน (%)					
	untreat	Eman	SF-R	HCl* 1h	HCl* 6h	HCl *24h
กระบวนการผลิต 1	8.44	19.99	25.12	12.44	15.76	18.20
กระบวนการผลิต 1.1	nd	nd	4.98	nd	nd	Nd
กระบวนการผลิต 2	nd	nd	1.55	nd	nd	2.01

*เตรียมโดยแช่สารละลาย HCL (0.5%) ที่ 90°C

การย่อยกากด้วยเอนไซม์หรือกรดก่อนการสกัดด้วยเฮกเซนทำให้ปริมาณไขมันในกากมะพร้าวลดลงอย่างมีนัยสำคัญ โดยยังคงมีผลให้เกิดการลดลงของ SW และ WRC และการเพิ่มขึ้นของBD โดยกากมะพร้าวตัดแปรที่เตรียมโดยใช้ HCL โดยกระบวนการผลิต 2 มีค่า SC WRC และ BD เป็น 7.5 ml/g, 4.55 g/g และ 0.27 g/ml SC ของตัวอย่างควบคุมคือ 15-16 ml/g WRC เป็น 11-12 g/g และ BD เป็น 0.14-0.15 g/ml) ดังนั้นการผลิตกากมะพร้าวตัดแปรจึงไม่ต้องลดปริมาณไขมันในกากมะพร้าวก่อนการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ หลังจากย่อยแล้วจึงลดปริมาณไขมันโดยการแช่เฮกเซนจึงจะได้กากมะพร้าวตัดแปรที่มีปริมาณไขมันต่ำ (Table 3.3)

3.3 การไฮโดรไลซ์เนื้อมะพร้าวด้วยเอนไซม์ Actipro SF-R ต่อผลผลิตน้ำมันมะพร้าว

Table 3.4 แสดงผลการวัดค่าตอบสนองคือค่า Y1 คือ coconut oil yield (ml) Y2 คือ Coconut meal yield (g) Y3 คือ Swelling capacity (ml/g) Y4 คือ Water retention capacity (g/g) Y5 คือ Bulk density (g/ml) จากการศึกษาอิทธิพลของ 3 ตัวแปร ได้แก่ อัตราส่วนเอนไซม์ต่อซบสเตรท อุณหภูมิ และ pH โมเดล quadratic แสดงความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระกับค่าการตอบสนองแสดงใน eq.(11) ถึง (15)

Table 3.4 Experimental design and results obtained by hydrolysis of CM by Actipro SF-R; Equations beneath the table indicate relationships between each response and the variables.

Runs	Variables			Responses				
	X1	X2	X3	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5
1	1	0	0	21.70	16.88	12.75	5.30	0.27
2	0	1	0	30.50	29.13	16.25	7.94	0.21
3	0	0	1	38.00	24.76	16.875	7.98	0.19
4	-1	-1	-1	29.70	35.93	18.75	10.74	0.16
5	1	-1	-1	42.00	19.73	9.06	4.28	0.28
6	-1	1	-1	19.35	40.92	16.25	8.62	0.15
7	-1	-1	1	11.70	26.85	25.5	12.37	0.17
8	1	1	-1	35.55	13.74	7.81	4.13	0.27
9	1	-1	1	14.10	24.94	18.75	8.51	0.20
10	-1	1	1	6.60	29.79	22	11.36	0.15
11	1	1	1	27.45	27.41	16.875	6.33	0.21

$$Y_1 = 34.92 + 6.47X_1 - 1.07X_2 - 8.34X_3 - 19.69X_1^2 + 2.79X_1X_2 - 3.35X_2^2 - 0.65X_1X_3 + 3.13X_2X_3 + 11.42X_3^2 \quad (11)$$

$$Y_2 = 24.46 - 5.96X_1 + 0.55X_2 - 0.17X_3 - 1.62X_1^2 - 1.43X_1X_2 + 4.11X_2^2 + 4.88X_1X_3 + 0.80X_2X_3 + 0.46X_3^2 \quad (12)$$

$$Y_3 = 14.99 - 3.75X_1 - 1.14X_2 + 3.91X_3 + 1.51X_1^2 + 0.36X_1X_2 + 2.40X_2^2 + 0.78X_1X_3 - 0.20X_2X_3 - 2.02X_3^2 \quad (13)$$

$$Y_4 = 7.37 - 2.48X_1 - 0.68X_2 + 1.35X_3 + 0.41X_1^2 + 0.10X_1X_2 + 1.25X_2^2 + 0.26X_1X_3 - 0.11X_2X_3 - 0.74X_3^2 \quad (14)$$

$$Y_5 = 0.22 + 0.04X_1 - 0.004X_2 - 0.02X_3 + 0.01X_1^2 + 0.004X_1X_2 - 0.01X_2^2 - 0.02X_1X_3 - 0.0004X_2X_3 - 0.02X_3^2 \quad (15)$$

Table 3.5 Analysis of variances for fitted model for different responses. Equations beneath the table indicate relationships between each response and the variables.

Response	Source	Df	Sum of squares	Mean squares	F value	Pr > F
Oil yield (mL/200g) (Y_1)	Lack of Fit	1	52.92	52.92	10.35	0.0082
	Pure Error	11	56.24	5.11		
	Total Model	9	2556.90	0.96	31.22	<0.0001
	R-Square = 0.9590					
(Y_2)	Lack of Fit	1	27.68	27.68	8.49	0.0141
	Pure Error	11	35.85	3.26		
	Total Model	9	1216.43	0.95	25.53	<0.0001
	R-Square					
(Y_3)	Lack of Fit	1	0.04	0.04	0.01	0.9055
	Pure Error	11	26.20	2.38		
	Total Model	9	533.16	0.95	27.09	<0.0001
	R-Square = 0.9531					
(Y_4)	Lack of Fit	1	2.48	2.48	5.19	0.0437
	Pure Error	11	5.21	0.47		
	Total Model	9	152.52	0.95	26.51	<0.0001
	R-Square = 0.9521					
(Y_5)	Lack of Fit	1	0.00	0.00	1.71	0.2174
	Pure Error	11	0.00	0.00		
	Total Model	9	0.04	0.96	31.07	<0.0001
	R-Square = 0.9589					

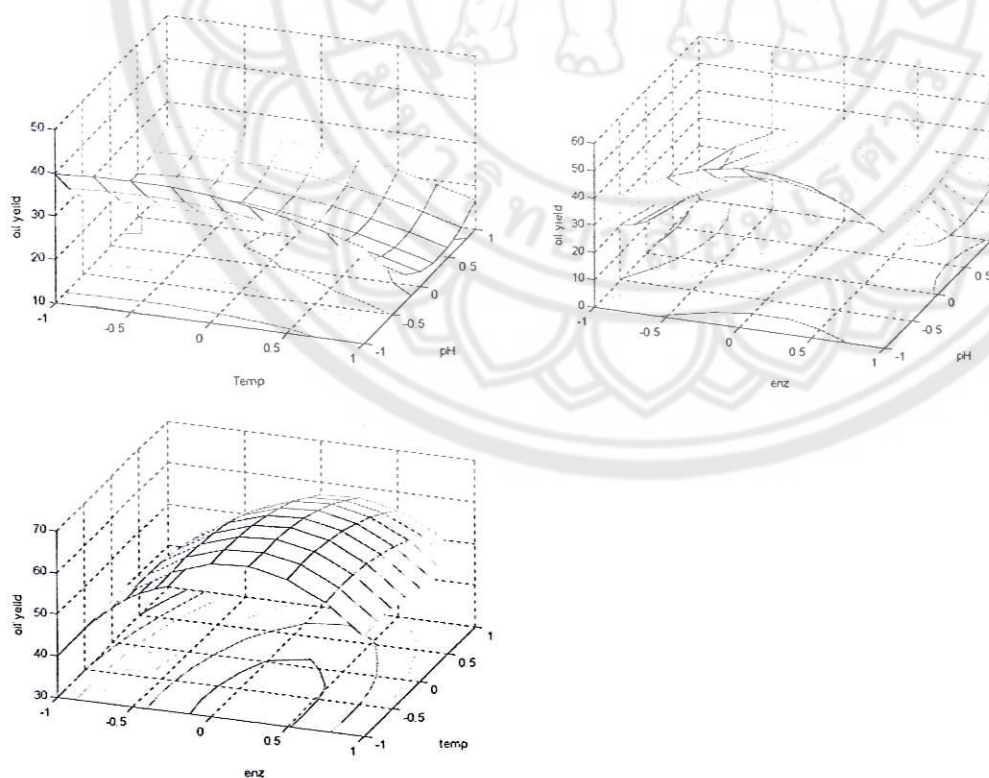


Figure 3.3 Influence of enzyme content, temperature and pH on the oil yield (mL/200g of coconut meat)

Table 3.6 แสดงค่าการตอบสนองของ validation test ที่สภาวะที่เหมาะสมที่สุดเปรียบเทียบกับค่าที่ได้จากการคำนวณโดยใช้โมเดล และค่าที่ได้จากวิธีการดั้งเดิม ค่าผลผลิตน้ำมัน (oil yield) ที่สภาวะที่เหมาะสมที่สุดของ validation test มีค่าต่ำกว่าค่าที่คำนวณจากโมเดล ความแปรปรวนนี้อาจเกิดจากการที่จะแยกน้ำมันออกจากครีมมีความยากทำให้ค่าความแปรปรวนสูง อย่างไรก็ตามค่าผลผลิตน้ำมันที่ได้จากวิธีที่ใช้เอนไซม์ (43.5 ± 3 mL oil/ 200g coconut meat) มีค่าสูงกว่าค่าผลผลิตน้ำมันที่ได้จากวิธีการดั้งเดิม (29 ± 3 mL oil/200g coconut meat) ประมาณ 40% แสดงให้เห็นว่าวิธีการใช้เอนไซม์มีประสิทธิภาพในการช่วยสกัดน้ำมันมะพร้าว

Table 3.6 Response values from validation test at optimum condition (pH 4.0, temperature of 37°C, and enzyme concentration of 2.2045 mL /100 g coconut meat) compared to the values calculated from the predicted models and the values obtained from CO using traditional method.

	CO yield (mL/200g coconut meat)	CM yield (g/200g coconut meat)	SC (mL/g)	WRC (g/g)	BD (g/mL)
Models	56.32	25.74	10.03	5.79	0.2240
Validation test	43.5 ^b	24.44	9.69 ^a	5.36 ^a	0.2398 ^b
Traditional method	29 ^a	25.98	20 ^b	10.77 ^b	0.1232 ^a

Means within the same column on the second and third row with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$.

ค่า SC, WRC และ BD ของกากมะพร้าวตัดแปรที่ได้จากวิธีการใช้เอนไซม์มีค่าใกล้เคียงกับค่าที่คำนวณโดยใช้โมเดลแสดงให้เห็นว่าโมเดลที่สร้างมีความสามารถในการทำนายค่าจริงได้ดี กากมะพร้าวตัดแปรที่ได้จากวิธีการใช้เอนไซม์มีค่า SC และ WRC น้อยกว่า ส่วนมีค่า BD สูงกว่า กากมะพร้าวที่ได้จากวิธีการดั้งเดิม บ่งบอกว่ากากมะพร้าวตัดแปรที่ได้จากการใช้วิธีการใช้เอนไซม์มีการอุ้มน้ำ (ดูจากค่า SC และ WRC ที่ลดลง) น้อยกว่ากากมะพร้าวที่ได้จากการใช้วิธีการดั้งเดิม โดยมีการแพ็คตัวกันแน่นขึ้น (ดูจากค่า BD ที่สูงขึ้น)

Table 3.7 แสดงปริมาณความชื้น และค่า acid value ของน้ำมันมะพร้าวที่ได้จากวิธีการใช้เอนไซม์และวิธีดั้งเดิมเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐาน ปริมาณความชื้นและค่า acid value ของน้ำมันมะพร้าว เป็นข้อมูลสำคัญในการบ่งบอกคุณภาพของน้ำมัน ค่า acid value ที่ต่ำบ่งบอกถึงอายุการเก็บที่จะนานเนื่องจากโอกาสการเกิดออกซิเดชันหรือการหืนมีน้อยลง ค่าปริมาณความชื้นและค่า acid value ของน้ำมันมะพร้าวที่ได้จากวิธีการใช้เอนไซม์มีค่าต่ำกว่าค่ามาตรฐานแสดงว่าวิธีการใช้เอนไซม์นอกจากมีประโยชน์ในการเพิ่มผลผลิตน้ำมัน ลดค่าการอุ้มน้ำของกากมะพร้าวที่เหลือจากการสกัดน้ำมัน วิธีการนี้ยังไม่มีผลในการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของน้ำมันเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำมันที่ได้จากวิธีการดั้งเดิม

Table 3.7 Analysis of coconut oil obtained from enzymatic and traditional method compared to Thai FDA standard

Analysis	Untreated	Treated	Thai FDA
Moisture content(%wt)	0.03 ^{ns}	0.07 ^{ns}	0.2
Acid value (mg KOH/g oil)	1.32 ^a	1.81 ^b	4.0

Means followed by the same letter within row are non-significantly different ($P < 0.05$).

3.4 การประยุกต์ใช้กากมะพร้าวตัดแปรในผลิตภัณฑ์อาหาร

Utilization of the modified CM in bread

Table 3.8 แสดงสมบัติของขนมปังที่เตรียมโดยการแทนแป้งสาลีด้วยกากมะพร้าวปกติและกากมะพร้าวตัดแปรที่ได้จากการผลิตน้ำมันมะพร้าวโดยใช้เอนไซม์ SF-R ในปริมาณ 5 และ 10% เปรียบเทียบกับขนมปังปกติ ค่าปริมาตรของก้อนขนมปังต่อน้ำหนักของขนมปังที่มีการทดแทนแป้งสาลีด้วยกากมะพร้าวมีค่าลดลง ปริมาตรของก้อนขนมปังขึ้นอยู่กับปริมาณกลูเตน การแทนที่แป้งสาลีด้วยกากมะพร้าวมีผลทำให้ปริมาณกลูเตนลดลงจึงส่งผลต่อการลดลงของปริมาตรของขนมปัง ค่า firmness ของขนมปังที่ใช้กากมะพร้าวตัดแปรทดแทนแป้งสาลีที่ 5% สูงกว่าค่า firmness ของเนื้อขนมปังปกติ ที่ 10% ค่า firmness ของเนื้อขนมปังที่ใช้กากมะพร้าวตัดแปรมีค่าต่ำกว่าขนมปังที่ใช้กากมะพร้าวปกติ เนื่องจากค่าการอุ้มน้ำของกากมะพร้าวปกติมีค่าสูง กากมะพร้าวจึงแย่งจับน้ำกับองค์ประกอบอื่นๆ ทำให้เนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์มีลักษณะแข็งกระด้าง ในขณะที่กากมะพร้าวตัดแปรมีค่าการอุ้มน้ำลดลงดังนั้นผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพจึงน้อยกว่าเมื่อใช้กากมะพร้าวปกติ

Table 3.9 แสดงสมบัติของขนมปังที่เตรียมโดยการแทนแป้งสาลีด้วยกากมะพร้าวปกติและกากมะพร้าวตัดแปรที่ได้จากการไฮโดรไลซ์กากมะพร้าวด้วยเอนไซม์ E-man ในปริมาณ 5% ปริมาตรก้อนขนมปังลดลงเมื่อมีการทดแทนแป้งขนมปังด้วยกากมะพร้าว การลดลงของปริมาตรก้อนขนมปังน้อยลงเมื่อใช้กากมะพร้าวตัดแปรเปรียบเทียบกับเมื่อใช้กากมะพร้าวปกติ ค่า firmness ของเนื้อขนมปังเมื่อใช้กากมะพร้าวตัดแปรด้วยเอนไซม์ E-man ไม่แตกต่างจากค่า firmness ของขนมปังปกติ

Table 3.8 Properties of bread prepared by 5% replacement of wheat flour for untreated and modified CM

Sample	Specific Volume (ml/g)	Crumb firmness (g)	
		Day 0	Day 2
Control	3.48±0.01 ^c	278.33±9.45 ^a	1152.67±179.17 ^a
Untreated [#]	2.76±0.16 ^a	819.67±16.56 ^b	3152.67±198.43 ^b
E-man*	3.14±0.02 ^b	303.50±9.19 ^a	1141.00±2.83 ^a
Untreated [#]	79.31%	294.49%	273.51%
E-man*	90.23%	109.04%	98.99%

[#] Properties of the untreated CM were 16.53 ml/g for SC, 12.40 g/g for WRC and 0.16 g/ml for BD

*Hydrolysis of CM was done using E-man (1200 units/5 g dried CM) at pH 4.0 and 40°C for 6 h and the properties of the treated CM were 13.26 ml/g for SC, 3.99 g/g for WRC and 0.26 g/ml for BD

The values reported in percentage were compared to the control.

Table 3.9 Properties of bread prepared by substituting 5 and 10% wheat flour for untreated and modified CM

Samples		Specific volume	Crumb firmness
Control (without substitution)		100 ^{a,A}	100 ^{b,C}
5% substitution	untreated	80.99 ^b	161.2 ^a
	modified	80.28 ^b	168.4 ^a
10% substitution	untreated	65.58 ^B	429 ^A
	modified	65.04 ^B	308.17 ^B

*The values was calculated in proportion to the values of the control

Means followed by the same letter within column are non-significantly different ($P < 0.05$).

*Modified CM was prepared by hydrolyzing coconut meat using SF-R (pH 4.0, temperature of 37°C, and enzyme concentration of 2.2045 mL /100 g coconut meat for 2 h and the properties of the treated CM were 9.69 ml/g for SC, 5.36 g/g for WRC and 0.24 g/ml for BD. Properties of the untreated CM were 20 ml/g for SC, 10.77 g/g for WRC and 0.12 g/ml for BD.

Utilization of the modified CM in crispy rice cakes

Table 3.10 แสดงสมบัติของข้าวเกรียบที่เตรียมโดยการแทนที่แป้งข้าวเหนียวในปริมาณ 10% ด้วยกากมะพร้าวตัดแปรที่ได้จากการผลิตน้ำมันมะพร้าวโดยใช้เอนไซม์ SF-R พบว่าค่า firmness ของข้าวเกรียบที่ใช้กากมะพร้าวตัดแปรไม่แตกต่างจากค่า firmness ของข้าวเกรียบสูตรปกติ ในขณะที่การแทนที่แป้งข้าวเหนียวในปริมาณ 10% ด้วยกากมะพร้าวตัดแปรและกากมะพร้าวปกติไม่มีผลต่อค่าการพองตัวของข้าวเกรียบ

Table 3.10 Properties of crispy rice cakes prepared by substituting 10% of glutinous flour (Kao Kriab) for untreated and modified CM.

Sample	Hardness (G)	Expansion
control	320.5 ^a	50.57 ^{ns}
untreated	497.0 ^b	48.47 ^{ns}
modified	385.0 ^a	48.31 ^{ns}

Means followed by the same letter within column are non-significantly different ($P < 0.05$).

*Modified CM was prepared by hydrolyzing coconut meat using SF-R (pH 4.0, temperature of 37°C, and enzyme concentration of 2.2045 mL /100 g coconut-meat for 2 h and the properties of the treated CM were 9.69 mL/g for SC, 5.36 g/g for WRC and 0.24 g/ml for BD. Properties of the untreated CM were 20 mL/g for SC, 10.77 g/g for WRC and 0.12 g/ml for BD.

3.5 องค์ประกอบของน้ำย่อยกากมะพร้าวและแนวโน้มการประยุกต์ใช้

จากการวิเคราะห์ monosaccharide profile ของกากมะพร้าวพบว่า monosaccharides หลักของกากมะพร้าวคือ mannose (381.46 mg/g dried CM) และ glucose (288.99 mg/g dried CM) ขณะที่ arabinose galactose และ xylose มีอยู่ในปริมาณน้อยกว่ามาก (10.46, 6.97 และ 6.21 mg/g of dried CM ตามลำดับ) ดังนั้นผลิตภัณฑ์หลักที่เป็นไปได้ที่เกิดจากการไฮโดรไลซ์กากมะพร้าวโดยกรดและเอนไซม์ ได้แก่ mannose, glucose และ manno-oligosaccharide และจากการวิเคราะห์ปริมาณ monosaccharide และ oligosaccharide ในน้ำหมักโดยใช้เทคนิค HPLC ด้วยคอลัมน์ Rezex RSO oligosaccharide Ag+ column พบว่าผลิตภัณฑ์ของปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของกากมะพร้าวปรากฏในตำแหน่ง retention times ของสารมาตรฐาน glucose, mannose, 1,4-beta-D-mannobiose และ 1,4-beta-D-mannotriose โดยพีคของสารมาตรฐาน glucose ปรากฏที่ retention time ประมาณ 40-41 นาที mannose ปรากฏที่ retention time ประมาณ 37 นาที ในขณะที่พีคของสารมาตรฐาน mannobiose, mannotriose, และ mannotetraose ปรากฏที่ retention time ประมาณ 32, 28 และ 25 นาที ตามลำดับ พีคของน้ำตาลที่ปรากฏที่ retention time ประมาณ 35-36 นาทีซึ่งปรากฏใน chromatogram ของน้ำย่อยไม่ว่าจะเตรียมด้วยวิธีใดไม่ตรงกับพีคของสารมาตรฐานที่มี ซึ่งอาจเป็นโอลิโกแซคคาไรด์ชนิดอื่นที่ไม่มีสารมาตรฐานที่ใช้ในงานวิจัยนี้

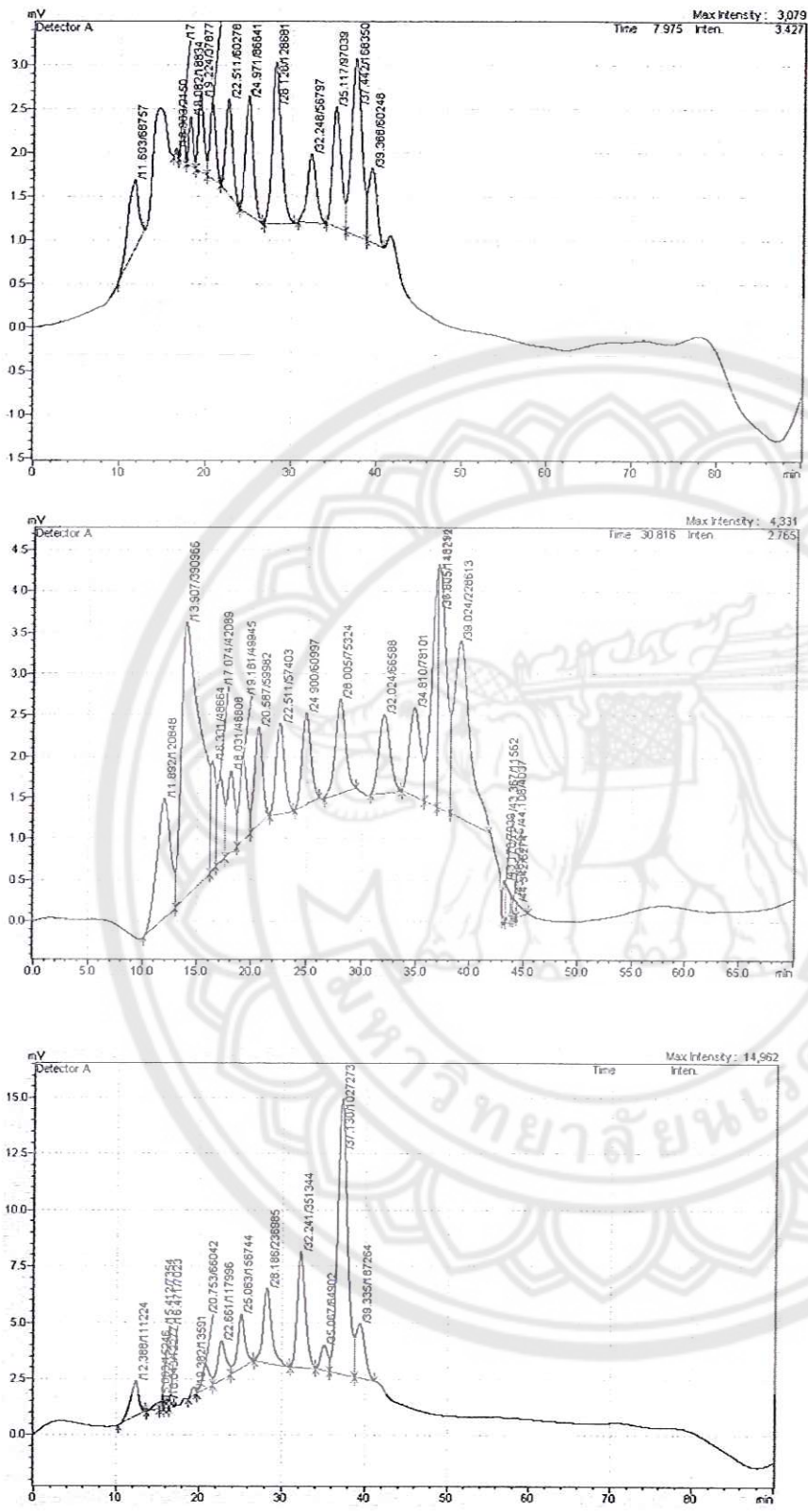


Figure 3.4 Chromatogram of oligosaccharides profiles of hydrolysis solutions obtained from hydrolysis of dried defatted CM using 0.75% HCl at 77°C (4g : 80 ml 0.75% HCl) for 1, 6 and 24 h. After stopping the reaction and separating the insoluble, pH of the hydrolysis solution was adjusted to 7.0 by NaOH.

Figure 3.4 แสดงว่าการไฮโดรไลซ์กากมะพร้าวด้วย 0.75% HCl เป็นเวลา 6 ชั่วโมง สร้าง mannose, mannobiose, mannotriose , mannotetraose ใน hydrolysis solution และมีการตรวจพบแมนโนโอลิโกแซคคาไรด์ ที่มี DP > 4 แมนโนโอลิโกแซคคาไรด์ ที่มี DP 2 ถึง 6 มีปริมาณใกล้เคียงกัน ในขณะที่ปริมาณน้ำตาลแมนโนสมีปริมาณสูงสุด เมื่อเวลาในการไฮโดรไลซ์เพิ่มขึ้น (24 ชั่วโมง) แมนโนสมีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับปริมาณแมนโนสที่ 6 ชั่วโมง ในขณะที่ปริมาณแมนโนโอลิโกแซคคาไรด์ที่มี DP สูงขึ้นมีปริมาณลดลงตามลำดับ Table 3.11 สรุปปริมาณ mono- และ oligosaccharide

Table 3.11 mono- and oligosaccharide content (mg/ml) in the hydrolysis solution of the from hydrolysis of dried defatted CM using 0.75% HCl

Hydrolysis time (h)	Glucose	Mannose	Mannobiose	Mannotriose	Mannotetraose	others
1	2.318	1.164	0.210	0.467	0.320	DP 5-9
6	2.254	1.560	0.238	0.297	0.215	DP 5-8
24	2.210	4.041	1.065	0.812	0.608	DP 5-8

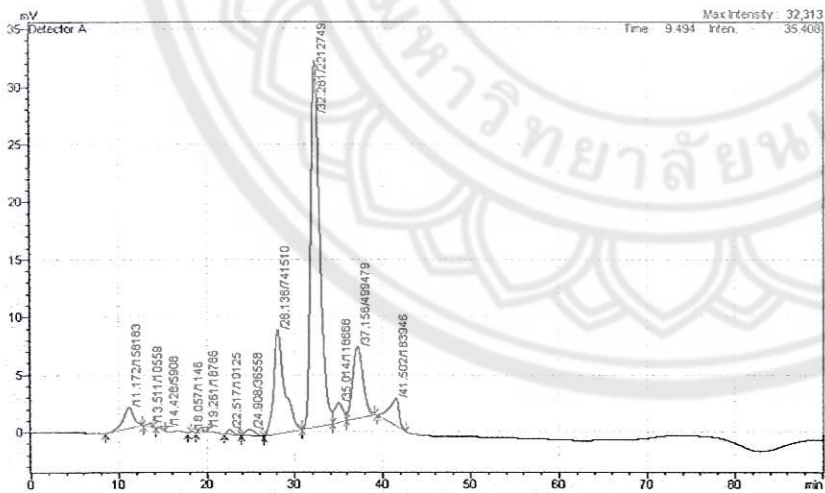
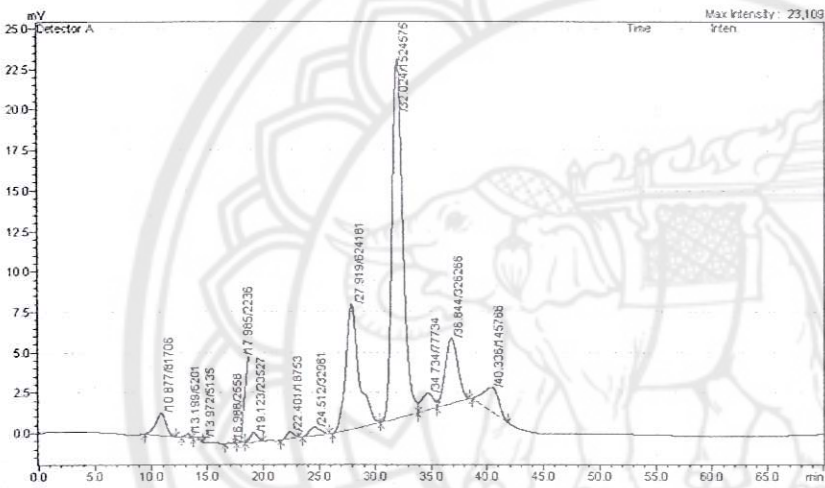
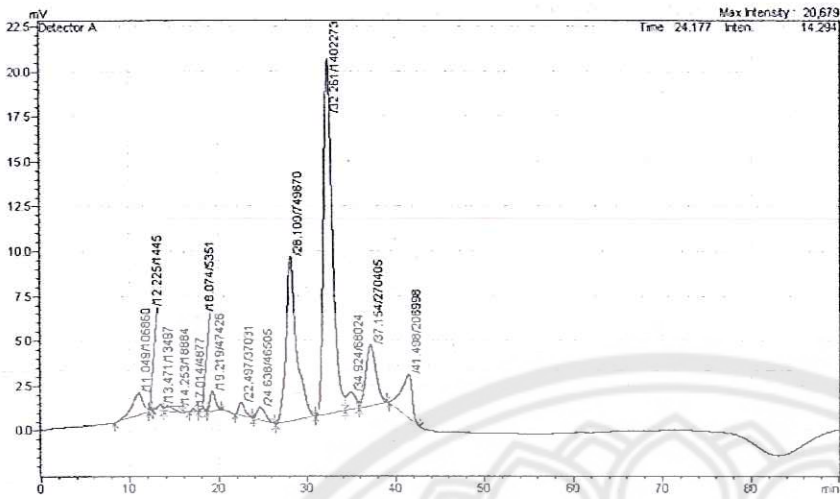


Figure 3.5 Chromatogram of oligosaccharides profiles of hydrolysis solutions obtained from hydrolysis of dried defatted CM using E-man (25mg/ml) 7.026 mannanase unit dissolved in buffer at 37°C (4g : 80 ml buffer pH 4.0) for 2, 4 and 6 h. After stopping the reaction and separating the insoluble, pH of the hydrolysis solution was adjusted to 7.0 by NaOH (Mannanase activity of 25mg/ml E-Man was 8.76 unit /ml)

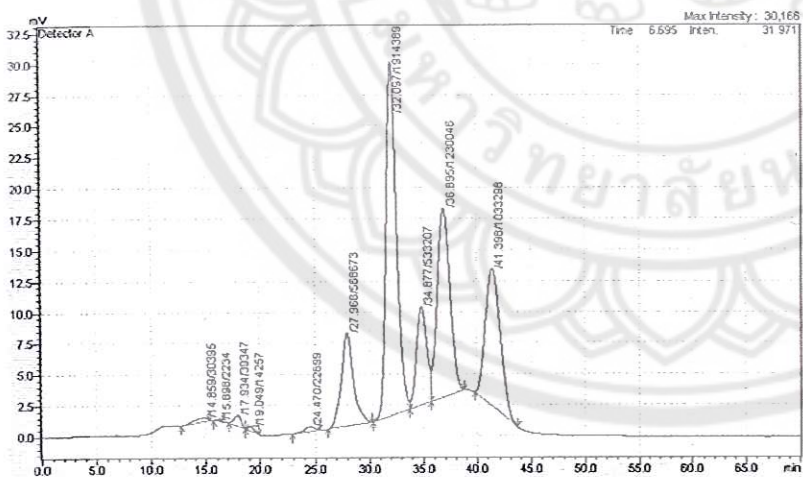
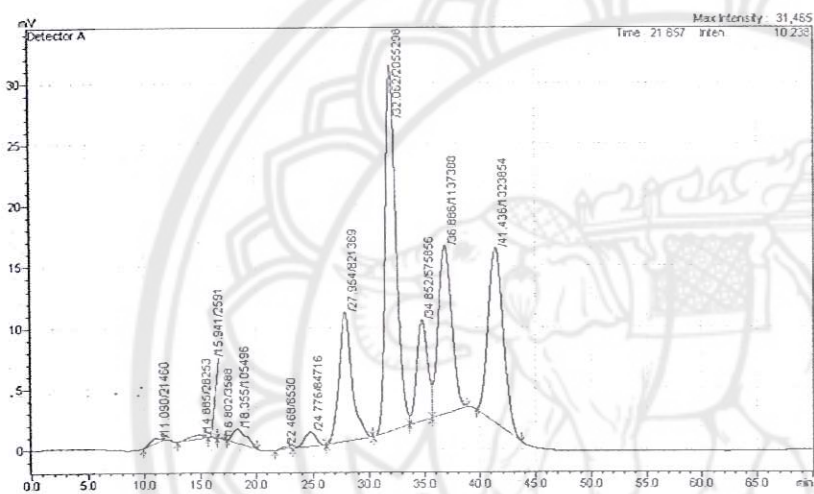
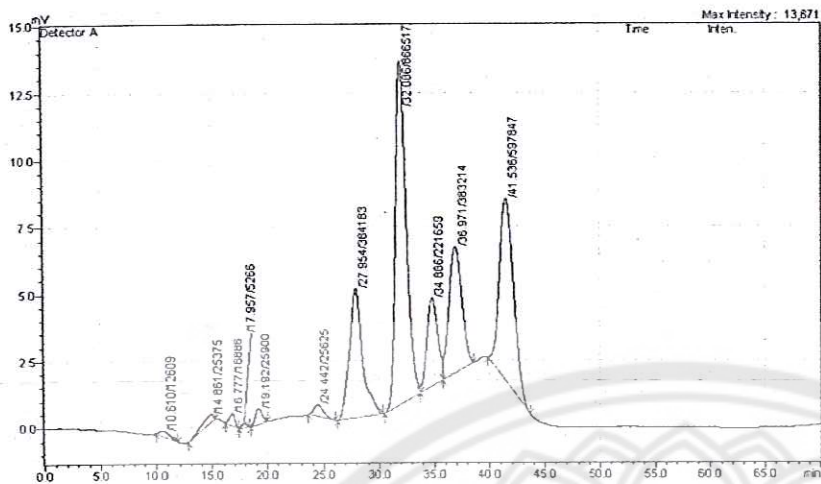


Figure 3.6 Chromatogram of oligosaccharides profiles of hydrolysis solutions obtained from hydrolysis of dried defatted CM using SF-R of 7.026 mannanase units dissolved in buffer at 37°C (4g : 80 ml buffer pH 4.0) for 2, 4 and 6 h. After stopping the reaction and separating the insoluble, pH of the hydrolysis solution was adjusted to 7.0 by NaOH (Mannanase activity of SF-R was 7.02 unit/ml)

ผลิตภัณฑ์หลักจากการไฮโดรไลซ์กากมะพร้าวด้วย E-man คือ mannobiose (Figure 3.5) เนื่องจาก E-man มีแอกติวิตี้ของ β -mannosidase ในปริมาณน้อยมาก แมนโนสจึงไม่ใช่ผลิตภัณฑ์หลักของปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส น้ำตาลแมนโนส mannobiose และ mannotriose เพิ่มขึ้นเมื่อเวลาในการไฮโดรไลซิสมากขึ้น

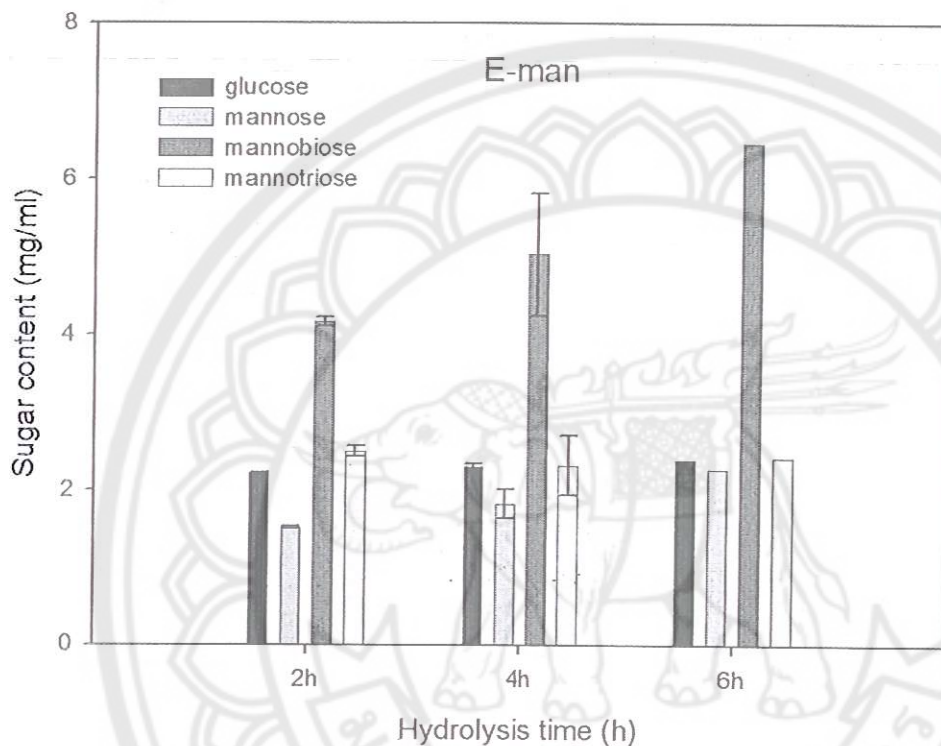


Figure 3.7 Sugar (mg/ml) released into the hydrolysis solutions of the hydrolysis of CM by E-man. The hydrolysis condition was S= 3.2% (w/v), E/S=1,092.69 unit/g (β -mannanase activity) at 37 °C and pH 4.0. The values were averages of two replicates.

เช่นเดียวกับการไฮโดรไลซ์โดย E-man การไฮโดรไลซ์กากมะพร้าวโดยใช้ SF-R ให้ผลิตภัณฑ์หลักคือ mannobiose เนื่องจาก มีแอกติวิตี้ของ endo- β -mannanase แต่การไฮโดรไลซ์กากมะพร้าวโดยใช้ SF-R ให้แมนโนสในปริมาณสูงกว่าการใช้ E-man เนื่องจาก SF-R มีแอกติวิตี้ของ β -mannosidase ในปริมาณมาก พิกของ unknown ที่ retention time ประมาณ 41 และ 35 นาที มีปริมาณสูง รูปแบบของน้ำตาลโอลิโกแซคคาไรด์ที่ผลิตจากการไฮโดรไลซ์กากมะพร้าวโดยใช้ SF-R ที่เวลาการไฮโดรไลซิสต่างๆ มีรูปแบบเดียวกัน โดยปริมาณน้ำตาลใน hydrolysis solution สูงขึ้นเมื่อเวลาในการไฮโดรไลซิสมากขึ้น (Figure 3.6)

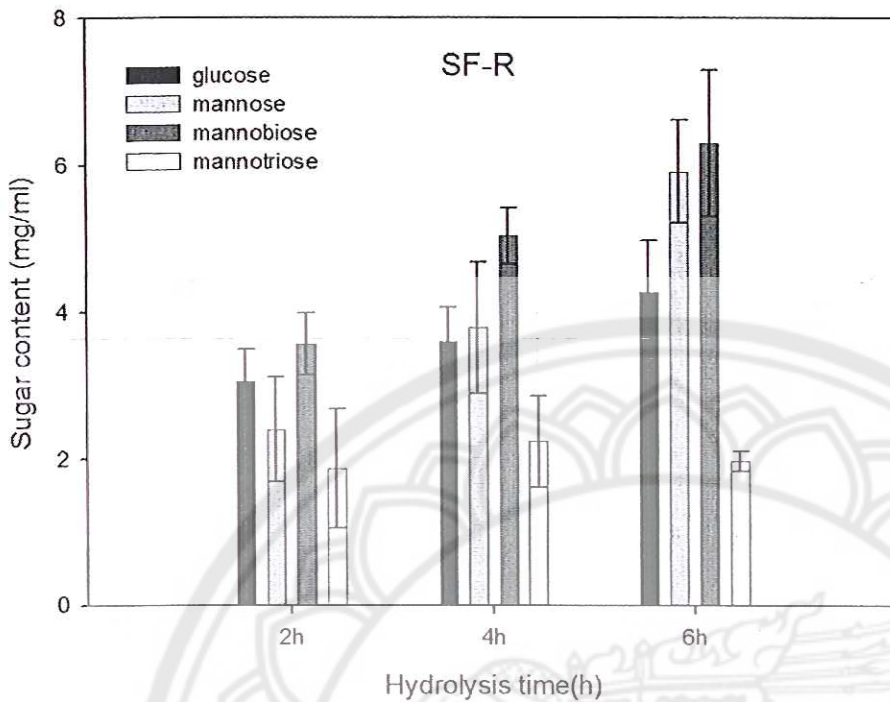


Figure 3.8 Sugar (mg/ml) released into the hydrolysis solutions of the hydrolysis of CM by SF-R. The hydrolysis condition was S= 3.2% (w/v), E/S=1,092.69 unit/g· (β-mannanase activity) at 37 °C and pH 4.0. The values were averages of two replicates.

การไฮโดรไลซ์กากมะพร้าวด้วยเอนไซม์ทั้งสองชนิดผลิต monosaccharide (glucose and mannose), mannobiose และ mannotriose Figure 3.8 แสดงปริมาณของผลิตภัณฑ์เหล่านี้ manno-oligosaccharides อื่นๆที่มี DP>3 มีน้อยกว่าปริมาณที่ตรวจวัดได้ Mannobiose เป็น oligosaccharide หลักที่เกิดขึ้นจากการไฮโดรไลซ์กากมะพร้าวด้วยเอนไซม์ทั้งสองชนิด เมื่อเวลาในการไฮโดรไลซิสเพิ่มขึ้น ปริมาณ mannose และ mannobiose เพิ่มขึ้น ปริมาณ glucose ไม่เพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการไฮโดรไลซิส โดย E-man เพิ่มขึ้น แตกต่างจากการไฮโดรไลซิสโดย SF-R สังเกตได้ว่าปริมาณ mannobiose โดยเอนไซม์ทั้งสองชนิดมีปริมาณใกล้เคียงกัน อย่างไรก็ตามปริมาณ monosaccharides (glucose และ mannose) มีสัดส่วนที่สูงกว่าเมื่อใช้ SF-R เนื่องจาก SF-R มีแอกติวิตีของ β-mannosidase และมีแอกติวิตีของ endoglucanase และ glucoamylase ในปริมาณสูง ปริมาณ mannotriose ที่ผลิตโดย SF-R น้อยกว่า ปริมาณ mannose และ mannobiose บ่งบอกว่า SF-R ไฮโดรไลซ์พอลิแซ็กคาไรด์ในกากมะพร้าวจนได้ monosaccharides ในสัดส่วนที่สูงกว่าเมื่อใช้ E-man ซึ่งให้ mannobiose เป็นผลิตภัณฑ์หลัก เนื่องจาก E-man มีแอกติวิตีของ endo-β-mannanase แต่มีแอกติวิตีของ β-mannosidase ในปริมาณน้อยจนวัดไม่ได้ β-mannosidase เร่งปฏิกิริยาการสลาย β-1,4-linked mannose residues จากจากปลายด้าน non-reducing beta-D-mannose residues ใน beta-D-mannosides ดังนั้นการใช้ SF-R ทำให้สายพอลิแซ็กคาไรด์ถูกย่อยสลายจนได้ monosaccharide ในอัตราสูงกว่าการใช้ E-man ขณะที่การลดลงของ hydration properties ของกากมะพร้าวน้อยกว่าการใช้ E-man แสดงว่าแอกติวิตีของ β-mannosidase ใน SF-R ไม่ช่วยการลดลงของค่าการอุ้มน้ำของกากมะพร้าวแต่ทำให้เกิดการย่อยกากมะพร้าวในอัตราสูง

มีการศึกษาพบว่า mannooligosaccharides เช่น mannobiose และ mannotriose มีส่วนช่วยการเจริญของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในทางเดินอาหาร (Kurakake et al. 2006) จึงมีโอกาสนำ mannooligosaccharides ที่เกิดจากไฮโดรไลซ์กากมะพร้าวด้วยเอนไซม์และกรดนี้ในการผลิตอาหารสุขภาพต่อไป



บทที่ 4 สรุปผลการศึกษา

Enzymatic hydrolysis using mannanase significantly decreased SC and WRC of CM approximately 25% and 60% for E man and 12% and 35% for SF-R, respectively, at the same hydrolysis condition giving the same hydrolysis yield of approximately 50% (pH 5.0, temperature of 40°C and hydrolysis time of 6 h). The changes in the hydration properties indicated the loss in the ability to hold water of CM. At this condition BD of CM increased by 60% and 18% for E-man and SF-R, respectively, indicating the decrease in particle internal porosity and surface area of the CM or the increase in cell compactness which in turn limited the ability of CM to hold water. The changes in the hydration properties of the modified CM were due to the structural disruption of CM as indicated by monosaccharide and oligosaccharides detected in the supernatant of the reaction mixture from enzymatic hydrolysis of CM.

Partial substitution of the modified CM for wheat flour significantly improved bread qualities. The enzymatic method is also an effective for increasing yield of coconut oil. The optimal condition of highest yield is pH 4.0, temperature of 37°C, and enzyme concentration of 2.2049% (V/W) of coconut meat (mannanase activity of 232,019.22 unit). In addition it can improve the hydration properties of copra meal such as swelling capacity and water retention capacity for utilizations in food products.

Enzymatic hydrolysis of CM not only modified CM properties, it also produced significant amounts of mannobiose of approximately 123 and 126 and mannotriose of 46 and 40 mg/g dried CM by using E-man and SF-R, respectively. These hydrolysis products could be applied as health beneficial products.

เอกสารอ้างอิงของโครงการวิจัย

ทิพวรรณ ทองสุข และ รังสิยา เขียวบ้านยาง, รายงานโครงการการศึกษาการดัดแปรโครงสร้างของกากมะพร้าวเพื่อใช้เป็นสารเสริมใยอาหารในผลิตภัณฑ์อาหาร .(2552) โครงการสนับสนุนการพัฒนาเทคโนโลยีของอุตสาหกรรมไทย (ITAP) สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ

Ang, J.F. & Crosby, G.A. (2005). Formulating reduced-calorie foods with powdered cellulose. *Food Technology*, **59**, 35-38.

Banta, C. LL. (1998). Copra Meal Hyrdolysis: A Review. *Phil. Journal of coconut studies*, **23(1)**, 1-3.

Chau, C.F., Wang, Y.T. & Wen, Y.L. (2007). Different micronization methods significantly improve the functionality of carrot insoluble fibre. *Food Chemistry*, **100(4)**, 1402-1408.

Chau, C., Wen, Y. & Wang, Y. (2006). Improvement of the functionality of a potential fruit insoluble fibre by micron technology. *International Journal of Food Science and Technology*, **41**, 1054-1060.

Hu, G., Huang, S., Cao, S. & Ma, Z. (2009). Effect of enrichment with hemicellulose from rice bran on chemical and functional properties of bread. *Food Chemistry*, **115(3)**, 839-842.

Kurakake, M., Sumida, T., Masuda, D., Oonishi, S. & Komaki, T. (2006). Production of Galacto-manno-oligosaccharides from Guar Gum by β -Mannanase from *Penicillium oxalicum* SO. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **54 (20)**, 7885-7889.

Onwulata, C.I. & Elchediak, E. (2000). Starches and fibres treated by dynamic pulsed pressure. *Food Research International*, **33(5)**, 367-374.

Robertson, J.A., de Monredon, F.D., Dysseler, P., Guillon, F., Amado, R. & Thibault, J. (2000). Hydration Properties of Dietary Fibre and Resistant Starch: a European collaborative study. *LWT - Food Science and Technology*, **33(2)**, 72-79.

Sangnark, A. & Noomhorm, A. (2003). Effect of particle sizes on functional properties of dietary fiber prepared from sugarcane bagasse. *Food Chemistry*, **80**, 221-229.

Trinidad, T.P., Mallillin, A.C., Valdez, D.H., Loyola, A.S., Askali-Mercado, F.C., Castillo, J.C., Encabo, R.R., Masa, D.B., Maglaya, A.S. & Chua, M.T. (2006). Dietary fiber from coconut flour: A functional food. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, **7(4)**, 309-317.

FerVIAAP 2013

The 5th International Conference on Fermentation
Technology for Value Added Agricultural Products

with Joint Session from
Research Group for Development of Microbial Hydrogen
Production Process from Biomass - Khon Kaen University



BOOK OF MANUSCRIPTS

August 21st - 23rd, 2013

Centara Hotel & Convention Centre, Khon Kaen, Thailand

Fer3 P3	Levan production by <i>Bacillus atrophaeus</i> NRRL NRS-213 <i>Surat Laowongpanit, Phakphimol Piwpan, Adisak Jaturapiree and Phimchanok Jaturapiree</i>	332
Fer4 P2	Variant detection of Variable Number Tandem Repeat Loci of <i>Listeria innocua</i> by high resolution DNA melting analysis <i>Krittaporn Thanatsang, Panusanan Silamat, Chirapiphat Phraephaisarn, Mongkol Vesaratchavest, Rutjāwate Taharnklaew and Suwimon Keeratipibul</i>	338
Fer4 P3	Effect of solvent extraction on the biological activity and natural compounds of <i>Moringa oleifera</i> Lam. leaves extracts <i>Surapong Watjanawanitprapa, Nonthat Towanabut, Phanee Rattanachaisit and Jirasak Kongkiattikajorn</i>	343
Fer4 P6	Isolation and identification of diesel degrading photosynthetic bacteria from fresh water source <i>Jiraporn Yukolphanchkit and Kobchai Pattaragulwanit</i>	350
Fer4 P8	Flavonoids metabolism by <i>Enterococcus</i> sp. MRG-2 and <i>Lactococcus lactis</i> MRG-IF-4 <i>Nayoung Kim, Mihyang Kim and Jaehong Han</i>	355
Fer4 P10	Synthesis and rat prostate 5-alpha reductase inhibitions of methylated quercetin derivatives <i>Youngrong Park, Yong-ung Kim and Jaehong Han</i>	362
Fer4 P11	Enhancing coconut oil extraction by mannanase and utilization of the copra meal <i>Srisuchada Tasri, Sirilux Chaijamrus and Tipawan Thongsook</i>	366
Fer4 P12	Investigation of effective media for <i>in vitro</i> propagation of <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni <i>Nguyen Thanh Huy and Tran Thi Xuan Mai</i>	372

Enhancing coconut oil extraction by mannanase and utilization of the copra meal

Srisuchada Tasri¹, Sirilux Chaijamrus² and Tipawan Thongsook^{1,*}

¹ Department of Agro-Industry, Faculty of Agriculture Natural Resources and Environment, Naresuan University, Phitsanulok 65000.

² Department of Biology, Faculty of Science, Naresuan University, Phitsanulok 65000.

*Corresponding author : tipawant@nu.ac.th

Abstract

Coconut oil (CO) is made from matured coconut meats and the coconut residue or copra meal (CM) rich in dietary fiber is obtained as a by-product. An environmental friendly method such as enzymatic techniques can be used to improve CO extraction. The technique not only increased the oil yield but also modified the CM by reducing its hydration properties which enabled the utilization as a source of fiber in food products. Since major polysaccharides in matured coconut meat are galactomannans, mannanase was chosen to hydrolyze the coconut meat and facilitate the oil extraction out of the tissues. A commercial enzyme containing high activity of β -mannanase namely ACTIPRO SF-R, a food grade enzyme derived from a selected strain of *Aspergillus niger*, showed to improve CO yield. Influences of enzyme content, hydrolysis temperature and pH on CO yield and the properties of the CM were studied using response surface methodology (RSM). Under optimized process conditions (pH 4.0, temperature of 37°C, and enzyme concentration of 2.2049% (V/W) of coconut meat), the yield of the coconut oil (43.5±3 mL oil/ 200g coconut meat) was 50% higher than the control (29±3 mL oil/200g coconut meat) after 2 hr of extraction. Free fatty acid (FFA) and moisture content of the extracted CO were not over Thai Food and Drug Administration.

Swelling capacity (SC) water retention capacity (WRC) of the CM decreased by 51.55% and 50.23%, respectively, and bulk density (BD) of the CM increased by 94.64% compared to the untreated CM.

Substituting the modified CM (10%) for glutinous flour in crispy rice cakes (Kao Kriab) and for wheat flour in breads improved their qualities compared to the use of the untreated CM.

Keywords: Mannanase, coconut oil, copra meal, dietary fiber, hydration properties

1. Introduction

Coconut oil (CO) is made from matured coconut meats. Health benefits of CO are from vitamins and nutrition and secondary minerals such as potassium, phosphorus, and vitamins such as niacin and riboflavin (1). CO has been used for cooking oil, raw material for manufacture and treatment of illness and wound healing. It also can be ingredient in cosmetics to moisturize skin and hair.

Enzymatic method is an environmental friendly method to enhance extraction of the oil from coconut meat. Major polysaccharide in coconut meat is made up of (1→4) – linked β -D-mannosyl residues and a few α -1,6 galactose units attached to the O-6 position of some of the mannose building blocks (2). Mannanases are hydrolytic enzymes which catalyze the random cleavage of β -1,4 mannosidic linkages of mannan, galactomannan, glucomannan and galactoglucomannan (3). The hydrolysis of polysaccharide in coconut meat by mannanase will ease the oil extraction from the meat.

This method not only increased the oil yield but also modified properties of coconut residue or copra meal (CM) by reducing its hydration properties. CM is rich

in dietary fiber with insoluble fiber of 58.8 %. By reducing the hydration properties of the CM, this source of dietary fiber can be incorporated into food products with less alteration of product qualities.

The objective of the present study was to determine optimum conditions for CO extraction by enzymatic method using a food grade commercial enzyme containing mannanase and utilization of the modified CM in food products.

2. Materials and Methods

The matured coconut meats were obtained from a local market in Phitsanulok, Thailand.

Actipro SF-R or SF-R, enzyme preparation for food use contained pectinase and hemicellulase and derived from a selected strain of *Aspergillus niger*.

Methods

The optimal exact three factor designs was used to experimental design in this studied according to Borkowski, 2003. The production of CO was performed by the Actipro SF-R. Influences of three factors including enzyme:substrate (E/S) ratio of 0.01 to 4% of coconut meat (V/W), temperature of 25 to 65 °C and pH of 4 to 8 on oil yield and properties of CM, were investigated. Table 1 shows experimental range and levels of independent variables for hydrolysis of coconut meat by SF-R. Figure 1 shows production of CO by enzymatic hydrolysis.

Table 1. Experimental range and levels of independent variables for hydrolysis of coconut meat by Actipro SF-R

Independent variables	Symbol	Range and levels		
		-1	0	1
Enzyme/Substrate (%)	X ₁	0.01	2.005	4
Temperature (°C)	X ₂	25	45	65
pH	X ₃	4	6	8

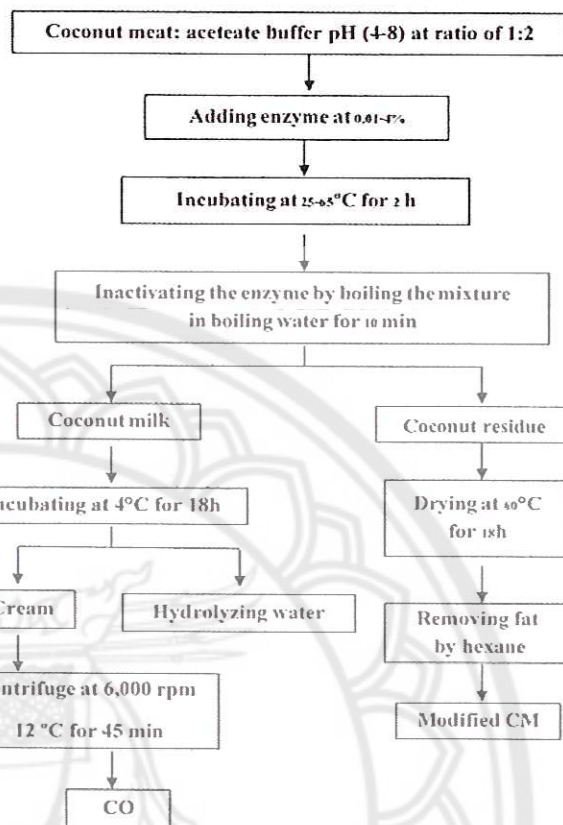


Figure 1 Production method of CO and CM

Determination of enzyme activity

Mannanase was assayed by measuring the reducing sugars using dinitrosalicylic acid (DNS) method. The enzyme solution contained 0.025 ml of enzyme and 0.475 mL of 0.5% (w/v) locust bean gum (substrate), prepared in acetate buffer pH 5. The mixture was stand for 1 min. Then 0.5 mL of DNS reagent was added and the mixture was boiled for 5 min. The solution was measured at 540 nm.

One unit of β -mannanase activity was defined as changes in absorbance at 540 nm due to the reducing groups formed per minute (0.1 $\Delta A_{540}/\text{min}$) under the assay conditions.

Determination of oil yield

The oil yield was the volume of the oil produced and expressed as ml per 200 g of coconut meat.

Determination of CM yield (g/200 g of coconut meat)

CM yield was dried CM weight after hydrolysis and expressed as gram per 200 g of coconut meat

Determination of physicochemical properties of CM

Swelling capacity (SC) of the modified CM in water was measured in terms of the bed volume technique and calculated in ml hydrated sample per g dry matter as described by (4).

Water retention capacity (WRC) was the quantity of water that remains bound to the hydrated fiber following the application of centrifugation. Results were expressed as g water per g dry matter of original substrate as described by Robertson et al. (2000).

Bulk density of powders is a measured density after a powder is freely poured into a container. The bulk density (BD) is expressed in grams per milliliter (g/mL) (5).

Utilization of the modified CM in crispy rice cakes

Standard formula of crispy rice cakes based on tapioca starch 45%, glutinous flour 25%, shrimp 30%, water 20%, sugar 3.79%, garlic 2.76%, pepper 1.38%, baking powder 0.1% and salt 0.92%. The untreated or modified CM of the same particle size was added to the formula for substituting tapioca starch at 10%. All ingredients were mixed in boiling water. The mixture was steamed for 45 min and stand for 4°C for 18 hr. Crispy rice cakes were sliced into 0.1-0.3 cm thickness and fried for 3 min. The texture of product was measured by Texture analyzer (Brookfield Model QTS25, Middleboro, MA) equipped with 2 mm φ stainless steel probe. The distance between the probe and the samples was 10 cm and 0.5 mm/sec speed. The compression force was reported by hardness.

Utilization of the modified CM in bread

A baking test was carried out in which untreated or treated CM of the same particle size was added to the bread for substituting wheat flour. Loaf volume (g), loaf volume (ml), specific volume (ml/g) were determined. Bread slices (2.5 cm thickness) without their crusts were used to determine bread firmness. Firmness were measured using a texture analyzer (Brookfield Model QTS25, Middleboro, MA) equipped with 38.1 mm φ Perspex cylinder probe. The center of the bread slice was subjected to 40% deformation (from 25 mm to 10 mm) at the test speed of 2 mm/sec and the maximal force needed to break through the bread slices was used to quantify the bread firmness. A total of 5 replicates were used for each treatment and the results averaged.

3. Result and Discussion

Factors influenced CO production by enzymatic method

For all responses, the models did not show lack of fit (p-value > 0.01) excepting for Y_1 and the high R^2 values as shown in Table 2. Equations (1) to (5) indicate relationships between each response and the variables. Figure 2 shows influence of the variables on the oil yield. As the enzyme content increased, the oil yield increased but if the enzyme content was over 2.2049% (V/W) of coconut meat (mannanase activity of 232,019.22 units) the oil yield decreased. The model for oil yield, Y_1 , predicted the optimum condition given the highest oil yield at pH 4.0, temperature of 37°C, and enzyme concentration of 2.2049% (V/W) of coconut meat.

$$Y_1 = 34.92 + 6.47x_1 - 1.07x_2 - 8.34x_3 - 19.69x_1^2 + 2.79x_2x_1 - 3.35x_2^2 - 0.66x_3x_1 + 3.13x_3x_2 + 11.43x_3^2 \dots\dots\dots(1)$$

$$Y_2 = 24.46 - 5.96x_1 + 0.55x_2 - 0.17x_3 - 1.62x_1^2 - 1.4x_2x_1 + 4.11x_2^2 + 4.89x_3x_1 + 0.8x_3x_2 + 0.46x_3^2 \dots\dots\dots(2)$$

$$Y_3 = 14.99 - 3.75x_1 + 1.14x_2 + 3.91x_3 + 1.51x_1^2 + 0.36x_2x_1 + 2.40x_2^2 + 0.78x_3x_1 - 0.20x_3x_2 - 2.02x_3^2 \dots\dots\dots(3)$$

$$Y_4 = 7.37 - 2.48x_1 - 0.68x_2 + 1.35x_3 + 0.41x_1^2 + 0.10x_2x_1 + 1.25x_2^2 + 0.26x_3x_1 - 0.11x_3x_2 - 0.74x_3^2 \dots\dots\dots(4)$$

$$Y_5 = 0.22 + 0.04x_1 - 0.004x_2 - 0.02x_3 + 0.01x_1^2 + 0.004x_2x_1 - 0.01x_2^2 - 0.02x_3x_1 - 0.0004x_3x_2 - 0.02x_3^2 \dots\dots\dots(5)$$

Table 2. Analysis of variances for fitted models for different responses.

Responses	Lack of Fit		R-Square
	Source	Pr > F	
CO Yield(Y ₁)	10.35	0.0082	0.96
CM Yield(Y ₂)	8.49	0.0141	0.95
SC(Y ₃)	0.01	0.9005	0.95
WRC (Y ₄)	5.19	0.0437	0.95
BD (Y ₅)	1.71	0.2174	0.96

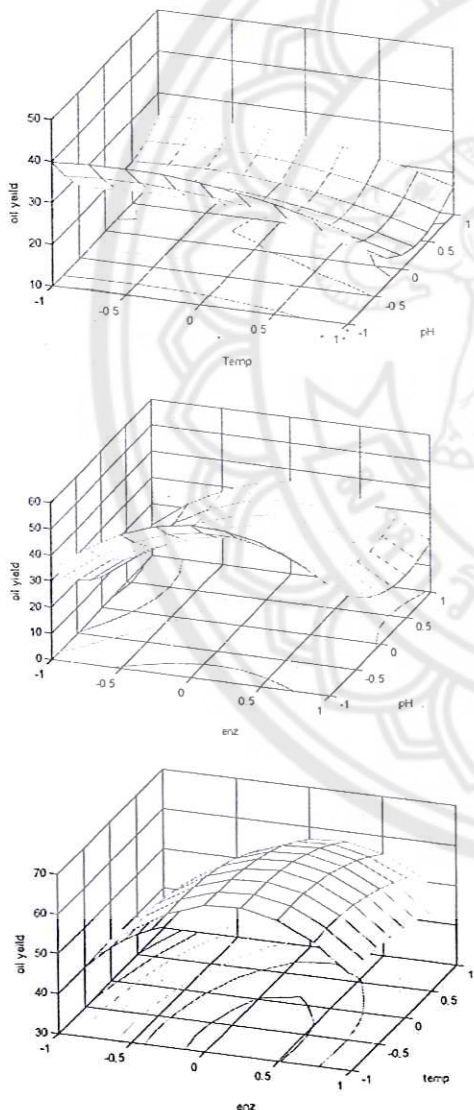


Figure 2. Influences of enzyme content, temperature and pH on the oil yield (ml/200g of coconut meat)

Table 3 shows response values from validation test at optimum condition compared to the values calculated from the predicted models and the values obtained from CO using traditional method. The oil yield at the optimum condition lowered than the values predicted by the model. This variation was probable caused by the difficulties during separating of the oil out of the cream. However, the oil yield obtained by enzymatic method (43.5±3 mL oil/ 200g coconut meat) was 50% higher than the oil yield (29±3 mL oil/200g coconut meat) obtained by the traditional method (without enzymatic treatment) indicating that enzymatic treatment of the coconut meat is an effective method for increasing yield of coconut oil.

Table 3. Response values from validation test at optimum condition (pH 4.0, temperature of 37°C, and enzyme concentration of 2.2045% compared to the values calculated from the predicted models and the values obtained from CO using traditional method.

	CO yield (mL/200g coconut meat)	CM yield (g/200g coconut meat)	SC (ml/g)	WRC (g/g)	BD (g/ml)
Models	56.32	25.74	10.03	5.79	0.2240
Validation test	43.5 ^b	24.44	9.69 ^a	5.36 ^a	0.2398 ^b
Traditional method	29 ^a	25.98	20 ^b	10.77 ^b	0.1232 ^a

Means within the same column on the second and third row with different superscripts are significantly different at p<0.05.

SC, WRC and BD values of the modified CM obtained from the enzymatic method were similar to those obtained from the predicted models indicated that the models represent well with the raw data. The modified CM obtained from the enzymatic method showed significantly lower SC and WRC values compared to those of CM obtained from the traditional method, whereas BD value was significantly increased indicated that the modified CM adsorbed less water (low SC and WRC) and compacted more than the untreated CM (high BD).

Table 4 shows moisture content and acid value of coconut oil obtained by enzymatic and traditional method compared to those of Thai FDA(5). Moisture content and acid value are important quality characteristic for oil and fats. The low value will increase the shelf life by preventing oxidation and rancidity processes. The moisture content of CO obtained from enzymatic method was not different from that obtained from tradition method whereas acid value was slightly higher.

Table 4. Analysis of coconut oil obtained from enzymatic and traditional method compared to Thai FDA standard

Analysis	Untreated	Treated	Thai FDA
Moisture content(%wt)	0.03 ^{ns}	0.07 ^{ns}	0.2
Acid value (mg KOH/g oil)	1.32 ^a	1.81 ^b	4.0

Means followed by the same letter within row are non-significantly different ($P < 0.05$).

Utilization of the modified CM in crispy rice cakes

Table 5 shows properties of crispy rice cakes prepared by substituting 10% of glutinous flour (Kao Kriab) for untreated and modified CM. The highest hardness was observed for samples prepared from the untreated CM. There was no difference between hardness of control and that of modified CM samples. There was no difference in expansion of all samples.

Table 5 Properties of crispy rice cakes prepared by substituting 10% of glutinous flour (Kao Kriab) for untreated and modified CM.

Sample	Hardness (G)	Expansion
control	320.5 ^a	50.57 ^{ns}
untreated	497.0 ^b	48.47 ^{ns}
modified	385.0 ^a	48.31 ^{ns}

Means followed by the same letter within column are non-significantly different ($P < 0.05$).

Utilization of the modified CM in bread

Table 6 shows properties of bread prepared by substituting 5% and 10% wheat flour for untreated and modified CM. Specific volume of bread loaf decreased and crumb firmness increased as CM was substituting for wheat flour. The volume of bread depends significantly on the quantity of gluten. Substituting wheat flour with CM reduced gluten content as a result the bread volume decreased. There was no difference in crumb firmness for bread prepared from untreated and modified CM at 5% substitution. At 10% substitution, crumb firmness of bread prepared by the modified CM was less than that prepared from the untreated CM. High hydration properties of the untreated CM had negative effects on product qualities especially during dough development because of the competition for water between fiber and dough components. The untreated CM completed with other ingredients for water resulted in the adverse effects on the bread qualities as the SW and WRC were reduces this effect was less.

Table 6. Properties of bread prepared by substituting 5 and 10% wheat flour for untreated and modified CM

Samples		Specific volume	Crumb firmness
Control (without substitution)		100 ^{a,A}	100 ^{b,C}
5% substitution	untreated	80.99 ^b	161.2 ^a
	modified	80.28 ^b	168.4 ^a
10% substitution	untreated	65.58 ^B	429 ^A
	modified	65.04 ^B	308.17 ^B

*The values was calculated in proportion to the values of the control.

Means followed by the same letter within column are non-significantly different ($P < 0.05$).

4. Conclusion

The enzymatic method is an effective for increasing yield of coconut oil. The optimal condition of highest yield is pH 4.0, temperature of 37°C, and enzyme concentration of 2.2049% (V/W) of coconut meat (mannanase activity of 232,019.22

unit). In addition it can improve the hydration properties of copra meal such as swelling capacity and water retention capacity for utilizations in food products.

5. Acknowledgement

The research was financially supported by Naresuan University research fund (Project R2555B041).

6. References

- (1) Bawalan DD, Chapman KR. Virgin coconut oil production manual for micro and village-scale processing. Bangkok FAO: Regional Office for Asia and the Pacific, 2006. P. 112
- (2) Banta C LL. Copra Meal Hyrdolysis: A Review. The Philippine Journal of Coconut Studies. 1998; 23(1): 1-3.
- (3) Titapoka S, Keawsompong S, Haltrich D, Nitisinprasert S. Selection and characterization of mannanaseproducing bacteria useful for the formation of prebiotic manno-oligosaccharides from copra meal, World J. Microbiol. Biotechnol. 2008; 24(8): 1425-1433.
- (4) Robertson JA, de Monredon FD, Dysseler P, Guillon F, Amado R, Thibault J. Hydration Properties of Dietary Fibre and Resistant Starch: a European Collaborative Study. LWT - Food Science and Technology. 2000; 33(2): 72-79.
- (5) Chau C, Wen Y, Wang Y. Improvement of the functionality of a potential fruit insoluble fibre by micron technology. International Journal of Food Science and Technology. 2006;41: 1054-1060.
- (6) Thai Food and Drug Administration. Coconut oil. 1981;57