การสกัดสารให้ความหวานชนิดไซรัปจากหญ้าหวาน

Extraction of Stevia Syrup

วทันยา ลิมปพยอม[1] ณัฏฐา เลาหกุลจิตต์[1] และ อรพิน เกิดชูชื่น[1]

Limpaphayom, V.[1], Laohakunjit, N.[1] and Kerdchoechuen, O.[1]

Abstract

Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) can control blood sugar and could be consumed as the drinking tea. It is a good source of carbohydrates (53.57%), proteins (13.74%) and fibers (12.99%). However, the sweetener named stevioside could be extracted from stevia leaves. The product of extracted and purified stevioside from stevia leaves as in crystal forms have been used a widely as intensive technique. The purpose of this study was to extract sweetener syrup from dry stevia leaves. For water conditions, ratio of dry stevia leaves to water at 1:35 w/v, with various temperatures at 25 and 65°C for 3 h. The water was evaporated resulting in the stevia syrup which its total soluble solids were 66.7-66.9°Brix. Results showed that stevia syrup at 65°C had a greater %yield (77.05) than stevia syrup at 25°C (70.60). The color of stevia syrup was dark greenish yellow (h° between 82.44-83.88) which stevia syrup at 65°C was brighter (L*) and higher phenolic content than stevia syrup at 25°C.

Keywords: stevia, syrup, water extraction, sweetener

บทคัดย่อ

หญ้าหวาน (*Stevia rebaudiana* Bertoni) มีประโยชน์ช่วยควบคุมน้ำตาลในเลือด นิยมบริโภคในรูปแบบของการชงดื่มเหมือนใบชา ซึ่งหญ้าหวานเป็นแหล่งของคาร์โบไฮเดรต (ร้อยละ 53.57) โปรตีน (ร้อยละ 13.74) และไฟเบอร์ (ร้อยละ 12.99) ยังมีสารให้ความหวานที่เรียกว่า สตีวิโอไซด์ แต่การสกัดสตีวิโอไซด์จากใบหญ้าหวานให้ได้สตีวิโอไซด์บริสุทธิ์นั้นเป็นวิธีการที่ต้องใช้ระยะเวลานานและยุ่งยาก ดังนั้นงานวิจัยนี้เพื่อสกัดไซรัปให้ความหวานจากหญ้าหวานแห้งด้วยน้ำ ในอัตราส่วนใบหญ้าหวานแห้งต่อน้ำเท่ากับ 1:35 (w/v) แปรอุณหภูมิการสกัดที่ 25°C และ 65°C สกัดเป็นเวลา 3 ชั่วโมง ระเหยแห้งได้ไซรัปโดยมีค่าของแข็งละลายน้ำอยู่ในช่วง 66.7-66.9°Brix สารหวานไซรัปที่อุณหภูมิ 65°C มีร้อยละผลผลิต (%yield) สูงกว่าสารหวานไซรัปที่อุณหภูมิ 25°C เท่ากับ 77.05 และ 70.60 ตามลำดับ สีของสารหวานไซรัปมีสีเขียวเหลืองเข้ม (h° มีค่าระหว่าง 82.44-83.88) แต่สารหวานไซรัปที่สกัดอุณหภูมิ 65°C มีค่าความสว่าง (L*) และปริมาณสารฟีนอลิคสูงกว่าสารหวานไซรัปสกัดที่อุณหภูมิ 25°C

คำสำคัญ: หญ้าหวาน ไซรัป การสกัดด้วยน้ำ สารหวาน

คำนำ

หญ้าหวาน (*Stevia rebaudiana* Bertoni) เป็นพืชพื้นเมืองของปารากวัย บราซิลและประเทศในแถบอเมริกาใต้ ต่อมาได้มีการการปลูกหญ้าหวานในประเทศไทย โดยผลิตหญ้าหวานออกจำหน่ายในลักษณะบรรจุซองขนาดเล็กใช้ชงดื่มเหมือนใบชาเพื่อส่งออกไปยังประเทศญี่ปุ่น ผลวิจัยทางวิทยาศาสตร์แสดงให้เห็นถึงศักยภาพและประโยชน์ของหญ้าหวานที่มีต่อร่างกายมนุษย์ในการควบคุมน้ำตาลในเลือด ประเทศในแถบอเมริกาใต้หลายประเทศได้ใช้สารสกัดจากหญ้าหวานด้วยน้ำเพื่อช่วยรักษาผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานและโรคไฮโปไกลซีเมีย (Misra, 2011) นอกจากนี้ ยังมีรายงานว่าหญ้าหวานที่สกัดด้วยน้ำสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตและการแพร่พันธุ์ของแบคทีเรียที่ทำให้ฟันผุ จึงเป็นเหตุผลที่ดีในการใช้หญ้าหวานเป็นสารให้ความหวานในอาหารที่บริโภคกันอยู่ (สาโรจน์, 2541) หญ้าหวานมีสารให้ความหวานที่เรียกว่า สตีวิโอไซด์ มีลักษณะเป็นผลึกสีขาว โดยเฉลี่ยมีความหวานมากกว่าน้ำตาลทรายประมาณ 200-300 เท่า แต่มีพลังงานต่ำกว่าถึง 300 เท่า มีรสฝาดขม แต่ after taste จืดเล็กน้อยหรือไม่มีรส ไม่เป็นสารก่อมะเร็ง มีความคงตัวสูงต่อสภาพความเป็นกรด-ด่าง และสามารถใช้ได้ในสภาพที่ร้อนหรือเย็น ตลอดจนอุณหภูมิสูงมากขนาดอุณหภูมิที่ใช้ในการอบ ซึ่งปริมาณของสารหวานที่มีในหญ้าหวานมีมากบริเวณใบ แต่ปริมาณไม่แน่นอนขึ้นอยู่กับฤดูกาล อายุของต้นพืช สายพันธุ์ ระยะเวลาในการส่องสว่างของแสงแดดและ

[1] **คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี 83 หมู่ 8 ถนนเทียนทะเล แขวงท่าข้าม เขตบางขุนเทียน กรุงเทพ 10150**

[1] School of Bioresources and Technology, King Mongkut's University of Technology Thonburi, 83 Mu 8, Teintalay Rd., Thakam, Bangkhuntein, Bangkok 10150

อุณหภูมิของอากาศ (Geuns, 2003) สำหรับการสกัดสตีวิโอไซด์ สามารถสกัดโดยใช้น้ำ เมทานอลและเอทานอลเป็นตัวทำละลาย และยังสามารถใช้ supercritical fluid extraction โดยใช้ CO_2 เป็นตัวทำละลายได้ แต่การใช้ CO_2 เพียงชนิดเดียวในการสกัดไม่มีประสิทธิภาพเพียงพอสำหรับการสกัดสารสตีวิโอไซด์ ซึ่งเป็นสารที่มีขั้วได้ เมื่อเทียบกับการใช้เมทานอล เอทานอล น้ำและตัวทำละลายผสมเป็นตัวทำละลายร่วม (Pasquel และคณะ, 2000; Choi และคณะ, 2002; Yoda และคณะ, 2003; Pol และคณะ, 2007) ซึ่งวิธีการสกัดด้วยน้ำเป็นวิธีที่สะดวก ง่าย และมีความปลอดภัยสูงมากต่อผู้บริโภค ในการสกัดสตีวิโอไซด์ นอกจากต้องเลือกตัวทำละลายให้เหมาะสมแล้วยังต้องคำนึงถึงอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการสกัดเพื่อให้สามารถสกัดสตีวิโอไซด์ออกมาให้มากที่สุด จากรายงานวิจัยของ Nishiyama และคณะ (1992) พบว่าการสกัดใบหญ้าหวานแห้งด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 65°C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ให้ปริมาณของสตีวิโอไซด์มากที่สุด และสิ่งสำคัญที่ต้องคำนึงถึงคือ ขนาดอนุภาคของใบหญ้าหวานแห้งก่อนนำมาสกัด ควรให้มีขนาดเล็กโดยการบดละเอียดเพื่อเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวในการสกัด ถึงแม้มีรายงานว่ามีการสกัดสารให้ความหวานจากหญ้าหวาน แต่การสกัดสตีวิโอไซด์จากใบหญ้าหวานให้ได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายอยู่ในรูปของผลึกสตีวิโอไซด์บริสุทธิ์นั้นเป็นวิธีการที่ต้องใช้ระยะเวลานานในการสกัด ยุ่งยาก ประกอบกับการใช้เทคโนโลยีขั้นสูง ทำให้ต้องใช้ต้นทุนในการผลิตค่อนข้างมาก ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงศึกษาการสกัดสตีวิโอไซด์จากหญ้าหวานแห้งด้วยน้ำให้อยู่ในรูปของไซรัป (syrup) และศึกษาปริมาณสารสำคัญ ได้แก่ โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต เยื่อใย เถ้า และ total phenolic ในหญ้าหวาน เพื่อให้เหมาะต่อการบริโภคและการนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

เตรียมใบหญ้าหวานแห้งปั่นด้วย blender ให้ละเอียด วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้น (proximate compositions) ได้แก่ ความชื้น โดยการนำตัวอย่างไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 105°C นาน 2 ชั่วโมง ปริมาณโปรตีน โดยวิธี Kjeldahl's method (AOAC, 1990) ปริมาณไขมัน โดยวิธี Gravimetric solvent extraction (AOAC, 1990) ปริมาณเถ้า โดยการเผาตัวอย่างที่อุณหภูมิ 600°C จนเป็นสีขาว (AOAC, 1990) ปริมาณไฟเบอร์ โดยวิธี acid detergent digestion (AOAC, 1990) และปริมาณคาร์โบไฮเดรต (AOAC, 1990)

ศึกษาวิธีการสกัดสารให้ความหวานจากใบหญ้าหวาน โดยนำใบหญ้าหวานแห้งไปสกัดสารให้ความหวานด้วยน้ำในอัตราส่วนใบหญ้าหวานแห้งต่อน้ำเท่ากับ 1:35 (w/v) แปรอุณหภูมิการสกัดที่ 25°C และ 65°C สกัดเป็นเวลา 3 ชั่วโมง ระเหยแห้งด้วย rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 45°C ความดัน 70 mbar ให้อยู่ในรูปของไซรัป จากนั้นนำไปวิเคราะห์สารให้ความหวานสตีวิโอไซด์ไซรัป ได้แก่ ปริมาณของผลิตภัณฑ์ที่ได้ (%Yield) ค่าสี (L*, a*, b* value) โดยใช้เครื่อง Colorimeter (รุ่น MiniScan, HunterLab, USA.) ค่าของแข็งละลายน้ำ (total soluble solids; TSS) ด้วย Refractometer (รุ่น PAL-α, ATAGO, Japan) รายงานผลเป็นองศาบริกซ์ (°Brix) และปริมาณฟีนอลิคทั้งหมด โดยวิธี Folin-Ciocalteu's reagent ซึ่งดัดแปลงมาจากวิธีของ Kim และคณะ (2002) สารละลายตัวอย่างความเข้มข้น 0.1 mg/mL นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 760 นาโนเมตร โดยใช้กรดแกลลิคเป็นสารละลายมาตรฐาน รายงานผลเป็นปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมด (กรัมกรดแกลลิค ต่อ 100 กรัม) และทดสอบทางประสาทสัมผัสทางด้านรสหวาน รสขม กลิ่นรสใบหญ้าหวาน และการยอมรับโดยรวม วิธี Quantitative Descriptive Analysis (QDA) ให้คะแนนแบบ 7 point scoring test วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) และความแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ย (LSD) ของข้อมูลที่ระดับความน่าเชื่อถือ 95% ด้วยโปรแกรม SAS (1997)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ใบหญ้าหวานแห้งมีปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน เยื่อใย เถ้า และคาร์โบไฮเดรต เท่ากับร้อยละ 12.51, 13.74, 1.67, 12.99, 18.28 และ 53.57 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sativa และคณะ (2004), Gisleine และคณะ (2006) และ Manish และ Rema (2006) โดยพบว่า ใบหญ้าหวานแห้งมีร้อยละปริมาณสารต่างๆ อยู่ในช่วง 6.20 - 20.42 (โปรตีน), 2.50 - 5.60 (ไขมัน),13.56 - 18.50 (เยื่อใย), 8.48 - 13.12 (เถ้า) และ 35.20 – 52.80 (คาร์โบไฮเดรต) ซึ่งมีปริมาณองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นสอดคล้องกับหญ้าหวานที่ปลูกในประเทศปารากวัยและอียิปต์ การสกัดสารให้ความหวาน (สตีวิโอไซด์) จากใบหญ้าหวานแห้งด้วยน้ำ โดยใช้อัตราส่วนใบหญ้าหวานแห้งต่อน้ำ เท่ากับ 1:35 (w/v) จากรายงานวิจัยของ Abou-Arab และคณะ (2010) สกัดใบหญ้าหวานแห้งในอัตราส่วนต่อน้ำเป็น 1:15-1:75 (w/v) พบว่า การใช้ปริมาณน้ำในการสกัดมากขึ้น ทำให้ได้ปริมาณของสตีวิโอไซด์มากขึ้น แต่ทำให้ความเข้มข้นของสตีวิโอไซด์ที่สกัดได้ลดลง โดยงานวิจัยนี้ได้สกัดสารให้ความหวานแปรอุณหภูมิ 25°C และ 65°C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นระเหยแห้งโดยควบคุมให้มีค่าการละลายของของแข็งละลายน้ำอยู่

ในช่วง 66.50-66.90°Brix เนื่องจากเป็นค่าของสารละลายที่อยู่ในรูปแบบของไซรัป พบว่า สารหวานไซรัปที่สกัดที่อุณหภูมิ 65°C ให้ปริมาณร้อยละของผลผลิตสูงกว่าสารหวานไซรัปที่สกัดที่อุณหภูมิ 25°C คือ 77.05 และ 70.60 ตามลำดับ เนื่องจากอุณหภูมิมีผลต่อการสกัดสตีวิโอไซด์ เมื่อพืชที่นำมาสกัดถูกบดให้มีขนาดเล็กลง ทำให้ตัวทำละลายเข้าสู่ใบพืช ในขณะที่ตัวถูกละลายในใบพืชออกสู่ผิวหน้าหรือช่องว่างของพืช และการใช้อุณหภูมิสูงในการสกัดทำให้สัมประสิทธิ์ของการแพร่สูงขึ้น เกิดการถ่ายเทมวลสารของตัวถูกละลายจากผิวหน้าของพืชเข้าสู่สารละลายได้เร็วขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับรายงานวิจัยของ Nishiyama และคณะ (1992) และเมื่อวัดค่าสีของสารหวานไซรัปพบว่า สารหวานไซรัปที่สกัดที่อุณหภูมิ 65°C มีค่าความสว่าง (L*) (71.94) มากกว่าสารหวานไซรัปที่สกัดที่อุณหภูมิ 25°C (66.05) โดยสีของสารหวานไซรัปที่สกัดได้จากทั้งสองอุณหภูมิมีเฉดสีเขียวเหลืองเข้ม และเมื่อนำสารหวานไซรัปที่ได้ไปศึกษาปริมาณสารฟีนอลิคพบว่า สารหวานไซรัปที่สกัดที่อุณหภูมิ 65°C ให้ปริมาณสารฟีนอลิคสูงกว่าสารหวานไซรัปที่สกัดที่อุณหภูมิ 25°C คือ 94.50 g/100g และ 89.35 g/100g ตามลำดับ เนื่องจากการใช้อุณหภูมิสูงและระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดนาน ช่วยเพิ่มความสามารถในการสกัดสารฟีนอลิคได้ แต่ต้องควบคุมความร้อน อัตราการเขย่า และระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดให้คงที่ เพื่อหลีกเลี่ยงการสลายตัวของสารฟีนอลิค โดยพบว่า เมื่อสกัดสารฟีนอลิคโดยควบคุมอุณหภูมิของน้ำด้วย water bath เขย่าแบบคงที่ที่อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 50 นาที ทำให้ได้ปริมาณของสารฟีนอลิคสูงที่สุด (Shi และคณะ, 2005; Quiros และคณะ, 2010) ส่วนรสชาติของสารหวานไซรัปที่สกัดที่อุณหภูมิ 25°C และ 65°C ให้รสหวานช้ากว่าน้ำตาลทรายแต่คงความหวานได้นานกว่า และมีกลิ่นไอของใบหญ้าหวานที่ให้ความรู้สึกหวานชุ่มคอคล้ายกับชะเอม

สรุปผล

การสกัดสารให้ความหวาน (สตีวิโอไซด์) จากใบหญ้าหวานแห้งด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 65°C ได้ปริมาณร้อยละของผลผลิต (%yield) มากกว่าการสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 25°C จากลักษณะปรากฏของสารหวานไซรัปมีสีเขียวเหลืองเข้ม และปริมาณสารฟีนอลิคของสารหวานไซรัปที่สกัดที่อุณหภูมิ 65°C สูงกว่าสารหวานไซรัปที่สกัดที่อุณหภูมิ 25°C และการสกัดด้วยน้ำยังมีความปลอดภัยในการบริโภคอีกด้วย

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากโครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษา และการพัฒนามหาวิทยาลัยแห่งชาติของสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา และมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

เอกสารอ้างอิง

สาโรจน์ ศิริศันสนียกุล, 2541, หญ้าหวานสตีเวีย, ส่งเสริมเทคโนโลยี, 25(139): 160-163.

Abou-Arab, A.E., Abou-Arab, A.A. and Abu-Salem, M.F., 2010, Physico-chemical Assessment of Natural Sweeteners Steviosides Produced from *Stevia rebaudiana* Bertoni Plant, African Journal of Food Science, 4(5): 269- 281.

AOAC, 1990, Official Methods of Analysis, 15th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.

Choi, Y., Kim, I., Yoon, K., Lee, S., Kim, C. and Yoo, K., 2002, Supercritical Fluid Extraction and Liquid Chromatographic-Electrospray Mass Spectrometric Analysis of Stevioside from *Stevia rebaudiana* Leaves, Chromatographia, 55: 617-620.

Geuns, M.C., 2003, Stevioside, Phytochemistry, 64: 913–921.

Gisleine, E.C., Abdol, H.A, Caudio, C.A., Letícia, A.F.F., Gilson, T., Mirian, H.T., Wilson, E.F. and Roberto, B.B., 2006, Investigation of the Tolerability of Oral Stevioside in Brazilian Hyperlipidemic Patients, International Journal of Archives of Biology and Technology, 49(4): 583-587.

Kim, D.O. and Lee, C.Y., 2002, Extraction and Isolation of Polyphenolics, Current Protocols in Food Analytical Chemistry, R. E., Wrolstad., New York, 1121-1122.

Manish, T. and Rema, S., 2006, Preliminary Studies on *Stevia rebaudianci* Leaves Proximal Composition, Mineral Analysis and Phytochemical Screening, Journal of Medical Sciences, 6: 321-326.

Misra, H., Soni, M., Silawat, N., Mehta, D., Mehta, B.K. and Jain, D.C., 2011, Antidiabetic Activity of Medium-polar Extract from the Leaves of *Stevia rebaudiana* Bert. (Bertoni) on Alloxan-induced Diabetic Rats, Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences, 3(2): 242–248.

Nishiyama, P., Alvarez, M. and Vieira, L.G., 1992, Quantitative Analysis of stevioside in the Leaves of *Stevia rebaudiana* by Near Infrared Reflectance Spectroscopy, Journal of the Science of Food and Agriculture, 59: 277-281.

Pasquel, A., Meireles, M., Marques, M. and Petenate, A., 2000, Extraction of stevia Glycosides with CO_2 + water, CO_2 + ethanol, and CO_2 + water + ethanol, Brazilian Journal of Chemical Engineering, 17: 1-16.

Pol, J., Ostra, E.V., Karasek, P., Roth, M., Karolinka, B. and Kotlarikova, P., 2007, Comparison of two Different Solvents Employed for Pressurized Fluid Extraction of Stevioside from *Stevia rebaudiana*: Methanol Versus water, Analytical and Bioanalytical Chemistry, 388: 1847-1857.

Quiros, A.R.B., Lage-Yusty, M.A. and Lopez-Hernandez, J., 2010, Determination of Phenolic Compounds in Macroalgae for Human Consumption, Food Chemistry, 121: 634-638.

Savita, S.M., Sheela, K. and Sunanda, S., 2004, *Stevia Rebaudiana*-A Functional Component for Food Industry, Journal of Human Ecology, 15: 261-264.

Shi, J., Nawaz, H., Pohorly, J., Mittal, G., KaKuda, Y. and Jiang, Y., 2005, Extration of Polyphenolics from Plant Material for Functional Foods-Engineering and Technology, Food Reviews International, 21: 139-166.

Yoda, S., Marques, M., Petenate, A. and Meireles, M., 2003, Supercritical Fluid Extraction from *Stevia rebaudiana* Bertoni Using CO_2 and CO_2 + water: Extraction Kinetics and Identification of Extracted Components, Journal of Food Engineering, 57: 125-134.

Table 1 Chemical composition of dry stevia leaves

Sample	Moisture (%)	Protein (%)	Fat (%)	Carbohydrate (%)	Fiber (%)	Ash (%)
Dry stevia leaves	12.51±0.09	13.74±0.47	1.67±0.09	53.57±0.34	12.99±0.47	18.28±0.05

Table 2 Physical properties and phenolic content of stevia extract

Temperature	°Brix	%Yield	Color					Total phenolic
			L*	a*	b*	c*	h°	(g/100g)
25°C	66.80	70.60^{b}±0.50	66.05^{b}±0.10	7.55^{a}±0.03	56.87	57.37	82.44^{b}±0.03	89.35^{b}±4.15
65°C	66.60	77.05^{a}±1.45	71.94^{a}±0.59	6.03^{b}±0.45	56.14	56.46	83.88^{a}±0.40	94.50^{a}±1.10
F-test	ns	**	**	**	ns	ns	**	**
%C.V.	0.15	1.45	0.60	4.15	0.70	1.15	0.10	0.56
LSD	1.91	2.46	0.94	0.64	0.89	1.48	0.19	1.07

Remark: ** a, b, c,… letters of the same column are significantly different at $p \leq 0.05$; ns = Non Significant