

แอนโทไซยานินจากกระเจี๊ยบแดง *Hibiscus sabdariffa* L. เพื่อใช้เป็นสีผสมอาหาร



นางสาวบุศรารัตน์ สายเชื้อ

สถาบันวิทยบริการ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2545

ISBN 974-172-954-5

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ANTHOCYANINS FROM ROSELLE *Hibiscus sabdariffa* L. AS A FOOD COLORANT



Miss Busararat Saicheua

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirments

For the Degree of Master of Science in Food Technology

Department of Food Technology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2002

ISBN 974-172-954-5

หัวข้อวิทยานิพนธ์

แอนโทไซยานินจากกระเจี๊ยบแดง *Hibiscus sabdariffa* L. เพื่อใช้เป็นสี
ผสมอาหาร

โดย

นางสาวบุศรารัตน์ สายเชื้อ

สาขาวิชา

เทคโนโลยีทางอาหาร

อาจารย์ที่ปรึกษา

อาจารย์ ดร. เกียรติศักดิ์ ดวงมาลัย

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็น
ส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(รองศาสตราจารย์ ดร. วันชัย โพธิ์พิจริต)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. วรณา ตูลย์ธัญ)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(อาจารย์ ดร. เกียรติศักดิ์ ดวงมาลัย)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. กัลยา เลหาสงคราม)

..... กรรมการ
(อาจารย์ ดร. ธนจันทร์ มหาวนิช)

บุศรารัตน์ สายเชื้อ : แอนโทไซยานินจากกระเจี๊ยบแดง *Hibiscus sabdariffa* L. เพื่อใช้เป็นสีผสมอาหาร (Anthocyanins from roselle *Hibiscus sabdariffa* L. as a food colorant) อ. ที่ปรึกษา : อ. ดร. เกียรติศักดิ์ ดวงมาลัย จำนวนหน้า 109 หน้า. ISBN 974-172-954-5

ในงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการสกัดแอนโทไซยานินจากกลีบกระเจี๊ยบแดง *Hibiscus sabdariffa* L. การทำแห้งสารละลายสกัดแอนโทไซยานินแบบเยือกแข็ง และการทำเข้มข้นสารละลายสกัดแอนโทไซยานิน รวมทั้งศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็ง และสีแอนโทไซยานินเข้มข้น และทำ model system น้ำหวานโดยใช้สีจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง เทียบกับสี SAN RED RC[®] และสีคาร์โมอิซิน ในขั้นตอนแรกได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดแอนโทไซยานินจากกลีบกระเจี๊ยบแดง พบว่าชนิดของตัวทำละลาย และ pH ที่เหมาะสมคือ น้ำ : เอทานอล (1:1) ปรับ pH เป็น 2.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก อัตราส่วนระหว่างปริมาณกลีบกระเจี๊ยบแดงต่อตัวทำละลายเป็น 1:4 ขั้นตอนต่อมาศึกษาการทำแห้งแบบเยือกแข็งสารละลายสกัดแอนโทไซยานิน จากการศึกษาพบว่าสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งที่ใส่ trehalose และ maltodextrin ที่ระดับความเข้มข้น 2 และ 3% (w/v) เป็น stabilizer มีค่าร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือหลังการทำแห้ง และค่า Degradation Index (DI) ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) เมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุม เมื่อเก็บรักษาสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งเป็นเวลา 15 สัปดาห์ พบว่าในทุกตัวอย่างมีค่าร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือลดลง และเมื่อพิจารณาค่าครึ่งชีวิตของแอนโทไซยานิน พบว่าสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งที่ใส่ maltodextrin ความเข้มข้น 3% (w/v) มีค่าครึ่งชีวิตมากที่สุดคือ 578 วัน ขั้นที่สามศึกษาการทำเข้มข้นสารละลายสกัดแอนโทไซยานินโดยทำเข้มข้นแบบสูญญากาศ พบว่าสภาวะที่เหมาะสมคือ ทำเข้มข้นที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นศึกษาผลของน้ำตาล glucose sucrose และ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 2 และ 3% (w/v) เพื่อเป็น stabilizer ของสีแอนโทไซยานินที่ผ่านการทำเข้มข้น พบว่าสีแอนโทไซยานินเข้มข้นมีค่าร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือหลังทำเข้มข้น และค่า DI ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) เมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุม และเมื่อเก็บรักษาสีแอนโทไซยานินเข้มข้นเป็นเวลา 15 สัปดาห์ พบว่าสีแอนโทไซยานินทำเข้มข้นที่ใส่ maltodextrin ความเข้มข้น 3% (w/v) มีค่าครึ่งชีวิตมากที่สุดคือ 86 วัน เมื่อศึกษานำไปใช้โดยทำ model system น้ำหวาน โดยผสมสี 3 ชนิด คือสีแอนโทไซยานินที่สกัดจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง สี SAN RED RC[®] และสีสังเคราะห์คือสีคาร์โมอิซิน เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 84 วันพบว่าค่า L^* ค่า ΔE^* และค่า hue angle ในน้ำหวานใส่สีแอนโทไซยานินทั้ง 2 ชนิดมีค่าเพิ่มขึ้น แต่ค่า a^* และค่า chroma มีค่าลดลง ในขณะที่น้ำหวานที่ใส่สีคาร์โมอิซินไม่มีการเปลี่ยนแปลงของค่าดังกล่าวข้างต้น ผลการทดสอบด้านประสาทสัมผัสด้านความชอบรวมพบว่าน้ำหวานที่ใส่สีแอนโทไซยานินจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงผู้ทดสอบไม่ยอมรับหลังจากผ่านไป 56 วัน ในขณะที่น้ำหวานที่ใส่สี SAN RED RC[®] และสีคาร์โมอิซินได้รับการยอมรับตลอดระยะเวลา 84 วัน

ภาควิชา เทคโนโลยีทางอาหาร

สาขาวิชา เทคโนโลยีทางอาหาร

ปีการศึกษา 2545

ลายมือชื่อ.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

43723143 : MAJOR FOOD TECHNOLOGY

KEY WORD : ANTHOCYANIN/ *Hibiscus sabdariffa* L.

BUSARARAT SAICHEUA : ANTHOCYANINS FROM ROSELLE *Hibiscus sabdariffa* L. AS A FOOD COLORANT THESIS ADVISOR : KAITTISAK DUANGMAL, Ph.D. , 109 pp. ISBN 974-172-954-5.

The purposes of this research were to study the extraction of anthocyanins from Roselle *Hibiscus sabdariffa* L., anthocyanins stability in freeze dried powder and concentrated extract. A model system of a drink with added anthocyanin colorant was also studied. For anthocyanin extraction, it was found that a suitable solvent was water : ethanol (1:1), mixture adjusted of pH 2.5 by using hydrochloric acid. The ratio of roselle to solvent was 1:4. The effects of stabilizers (trehalose and maltodextrin at the concentration of 2 and 3% (w/v)) compared with control on anthocyanin stability through freeze drying effect were studied. The extract solution mixed with each stabilizer was freeze dried. The result showed that, after freeze drying, the percentage of anthocyanin retention and Degradation Index (DI) value of each treatment did not show a significant difference ($p > 0.05$). After 15 weeks of storage, for all samples, the percentage of anthocyanin retention decreased. Considering the half-life of anthocyanins, the freeze dried anthocyanin colour with 3%(w/v) maltodextrin added showed the highest value at 578 days. To concentrate the extract solution, it was found that the most suitable condition was at 55 °C, 30 min. The effects of stabilizers (glucose, sucrose, trehalose and maltodextrin at concentration of 2 and 3%(w/v)) compared with control were studied. The extract mixed with each stabilizer was concentrated. The results showed that the percentage of anthocyanin retention and DI value of each treatment did not show a significant difference ($p > 0.05$). After 15 weeks of storage, for all samples, the percentage of anthocyanin retention decreased. Considering the half-life of anthocyanins, the concentrated anthocyanin colour with 3%(w/v) maltodextrin added showed the highest value at 86 days. A model system of a drink with added colorants (extract anthocyanin colour (0.1%w/v), SAN RED RC[®] (0.05%w/v) and synthetic carmoesin colour (0.05%w/v)) was studied. After 84 days of storage, the results showed that L*, ΔE* and hue angle values of drinks added extract anthocyanin colour and those added SAN RED RC[®] increased, while a* and chroma value decreased. However, those colour values showed no change in a drink with carmoesin added. The result obtained from sensory evaluation, the overall preference of a drink with extract anthocyanin colour was not acceptable after 56 days of storage, while the drinks with added either SAN RED RC[®] or carmoesin were acceptable through the period of 84 days storage.

Department Food Technology

Student's signature.....

Field of study Food Technology

Advisor's signature.....

Academic year 2002

Co- Advisor's signature.....

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ อ.ดร. เกียรติศักดิ์ ดวงมาลย์ ที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำ และความช่วยเหลืออันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการทำงานวิจัยนี้

ขอขอบพระคุณ ผศ. ดร. วรรรณา ตุลยธัญ รศ.ดร. กัญญา เลาหสงคราม อ.ดร. ธนจันทร์ มหาวิช ที่กรุณาสละเวลามาร่วมสอบวิทยานิพนธ์ และให้คำแนะนำอันเป็นประโยชน์

ขอขอบคุณ บัณฑิตวิทยาลัยที่ให้ทุนสนับสนุนงานวิจัยนี้

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ และคุณแม่ที่ให้ทุนช่วยเหลืองานวิจัย และเป็นกำลังใจให้ตลอดเวลา

ขอบคุณ พี่ออด กฤต และเพื่อนๆ ที่ช่วยเหลือมาตลอด



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

บทที่	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ	ฉ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป	ฅ
บทที่	
1. บทนำ	1
2. วารสารปริทัศน์	3
3. ขั้นตอนการทดลอง	17
4. ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	25
5. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	100
เอกสารอ้างอิง	103
ภาคผนวก	106
ประวัติผู้เขียน	109

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตาราง	หน้า
4.1	ผลของ pH ของตัวทำละลายในการสกัดต่อปริมาณแอนโทไซยานิน ที่สกัดได้.....27
4.2	การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของ pH ของตัวทำละลายในการสกัด ต่อค่าการดูดกลืนแสงต่อกรัมกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง.....28
4.3	การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของ pH ของตัวทำละลายในการสกัด ต่อปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้.....29
4.4	การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของ pH ของตัวทำละลายในการสกัด ต่อร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้.....29
4.5	ผลของชนิดตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดแอนโทไซยานินจากกลีบดอก กระเจี๊ยบแดง.....31
4.6	การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของชนิดตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด ต่อค่าการดูดกลืนแสงต่อกรัมของกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง.....33
4.7	การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของชนิดตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด ต่อปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้.....33
4.8	ผลของอัตราส่วนระหว่างปริมาณกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงกับ ตัวทำละลายที่มีต่อปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้.....34
4.9	การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของอัตราส่วนระหว่างปริมาณ กลีบดอกกระเจี๊ยบแดงกับตัวทำละลายที่มีต่อกรัม ของกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง.....35
4.10	การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของอัตราส่วนระหว่าง ปริมาณกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงกับตัวทำละลายที่มีต่อ ปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้.....36
4.11	ผลของน้ำตาล glucose sucrose และ trehalose และ maltodextrin ต่อร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือ และลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำแห้ง.....38
4.12	ผลของ trehalose และ maltodextrin ต่อปริมาณแอนโทไซยานิน ก่อนและหลังการทำแห้งแบบเยือกแข็ง ร้อยละปริมาณแอนโทไซยานิน คงเหลือหลังการทำแห้งแบบเยือกแข็ง และค่า Degradtion Index (DI).....40

ตาราง	หน้า
4.13	การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของ trehalose และ maltodextrin ต่อร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือหลังการทำแห้งแบบเยือกแข็ง.....40
4.14	การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของ trehalose และ maltodextrin ต่อค่า Degradtion Index (DI) หลังการทำแห้งแบบเยือกแข็ง.....40
4.15	ผลของ trehalose และ maltodextrin ต่อปริมาณความเข้มข้นทั้งหมด (TCD) ก่อน และหลังการทำแห้งแบบเยือกแข็ง.....41
4.16	ผลของ trehalose และ maltodextrin ต่อค่า L* ค่า a* และค่า b* ก่อน และหลังการทำแห้งแบบเยือกแข็ง และค่า ΔE^*43
4.17	ผลของ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 0, 2 และ 3% (w/v) ต่อร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือระหว่างการเก็บรักษาสี่แอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็ง.....46
4.18	ค่า F จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 0, 2 และ 3% (w/v) ต่อค่าร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือระหว่างการเก็บรักษาสี่แอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็ง.....47
4.19	ค่าครึ่งชีวิตของร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือระหว่างการเก็บรักษาสี่แอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็ง.....48
4.20	ค่า water activity (a_w) ของสี่แอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็ง.....49
4.21	ผลของ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 0, 2 และ 3% (w/v) ต่อค่า DI ระหว่างการเก็บรักษาสี่แอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็ง.....52
4.22	ค่า F จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 0, 2 และ 3% (w/v) ต่อค่า DI ระหว่างการเก็บรักษาสี่แอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็ง.....52
4.23	ผลของ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 0, 2 และ 3% (w/v) ต่อค่า PC ระหว่างการเก็บรักษาสี่แอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็ง.....53

สารบัญ (ต่อ)

ญ

ตาราง	หน้า
4.24	ค่า F จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 0, 2 และ 3% (w/v) ต่อค่า PC ระหว่างการเก็บรักษาดีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็ง.....53
4.25	ผลของ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 0, 2 และ 3% (w/v) ต่อค่า TCD ระหว่างการเก็บรักษาดีแอนโทไซยานิน ทำแห้งแบบเยือกแข็ง.....54
4.26	ค่า F จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 0, 2 และ 3% (w/v) ต่อค่า TCD ระหว่างการเก็บรักษาดีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็ง.....55
4.27	ผลของ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 0, 2 และ 3% (w/v) ต่อค่า L* ระหว่างการเก็บรักษาดีแอนโทไซยานิน ทำแห้งแบบเยือกแข็ง.....56
4.28	ค่า F จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 0, 2 และ 3% (w/v) ต่อค่า L* ระหว่างการเก็บรักษาดีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็ง.....57
4.29	ผลของ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 0, 2 และ 3% (w/v) ต่อค่า C* ระหว่างการเก็บรักษาดีแอนโทไซยานิน ทำแห้งแบบเยือกแข็ง.....57
4.30	ผลของ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 0, 2 และ 3% (w/v) ต่อค่า h° ระหว่างการเก็บรักษาดีแอนโทไซยานิน ทำแห้งแบบเยือกแข็ง.....58
4.31	ผลของอุณหภูมิและเวลาในการทำเข้มข้นสารละลายสกัดแอนโทไซยานิน ต่อปริมาณสารละลายสกัดแอนโทไซยานิน และปริมาณแอนโทไซยานิน.....59
4.32	การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของอุณหภูมิและเวลาในการทำเข้มข้น สารละลายสกัดแอนโทไซยานินต่อปริมาณแอนโทไซยานิน.....61

สารบัญ (ต่อ)

ฉ

ตาราง	หน้า
4.33	ผลของน้ำตาล glucose sucrose และ trehalose และ maltodextrin ในการทำเข้มข้นสารละลายสกัดแอนโทไซยานิน ต่อปริมาณแอนโทไซยานิน ก่อนและหลังทำเข้มข้น ร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือหลังทำเข้มข้น และค่า Degradation Index (DI).....64
4.34	การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของน้ำตาล glucose sucrose และ trehalose และ maltodextrin ในการทำเข้มข้นสารละลายสกัด แอนโทไซยานิน ต่อร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือหลังทำเข้มข้น....65
4.35	การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของน้ำตาล glucose sucrose และ trehalose และ maltodextrin ในการทำเข้มข้นสารละลายสกัด แอนโทไซยานิน ต่อค่า DI หลังทำเข้มข้น.....65
4.36	ผลของน้ำตาล glucose sucrose และ trehalose และ maltodextrin ในการทำเข้มข้นสารละลายสกัดแอนโทไซยานิน ต่อค่า TCD ก่อนและหลังทำเข้มข้น.....66
4.37	ผลของน้ำตาล glucose sucrose และ trehalose และ maltodextrin ในการทำเข้มข้นสารละลายสกัดแอนโทไซยานิน ต่อค่า L* ค่า a* และค่า b* ก่อนและหลังทำเข้มข้น และค่า ΔE^*67
4.38	ผลของน้ำตาล glucose sucrose และ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 0, 2 และ 3% (w/v) ต่อค่าร้อยละปริมาณแอนโทไซยานิน ระหว่างการเก็บรักษาสีแอนโทไซยานินเข้มข้น.....72
4.39	ค่า F จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของน้ำตาล glucose sucrose และ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 0, 2 และ 3% (w/v) ต่อค่าร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือ ระหว่างการเก็บรักษาของสีแอนโทไซยานินเข้มข้น.....73
4.40	ค่าครึ่งชีวิตของร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือระหว่าง การเก็บรักษาสีแอนโทไซยานินเข้มข้น.....75

สารบัญ (ต่อ)

ฎ

ตาราง	หน้า
4.41	ผลของน้ำตาล glucose sucrose และ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 0, 2 และ 3% (w/v) ต่อค่า DI ระหว่างการเก็บรักษา สีแอนโทไซยานินเข้มข้น.....76
4.42	ค่า F จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของน้ำตาล glucose sucrose และ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 0, 2 และ 3 (w/v) ต่อค่า DI ระหว่างการเก็บรักษาสีแอนโทไซยานินเข้มข้น.....78
4.43	ผลของน้ำตาล glucose sucrose และ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 0, 2 และ 3% (w/v) ต่อค่า PC ระหว่างการเก็บรักษา สีแอนโทไซยานินเข้มข้น.....79
4.44	ผลของน้ำตาล glucose sucrose และ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 0, 2 และ 3% (w/v) ต่อค่า TCD ระหว่างการเก็บรักษา สีแอนโทไซยานินเข้มข้น.....80
4.45	ค่า F จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของน้ำตาล glucose sucrose และ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 0, 2 และ 3% (w/v) ต่อค่า PC ระหว่างการเก็บรักษาสีแอนโทไซยานินเข้มข้น.....81
4.46	ค่า F จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของน้ำตาล glucose sucrose และ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 0, 2 และ 3% (w/v) ต่อค่า TCD ระหว่างการเก็บรักษาสีแอนโทไซยานินเข้มข้น.....81
4.47	ผลของน้ำตาล glucose sucrose และ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 0, 2 และ 3% (w/v) ต่อค่า L* ระหว่างการเก็บรักษา สีแอนโทไซยานินเข้มข้น.....83
4.48	ผลของน้ำตาล glucose sucrose และ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 0, 2 และ 3% (w/v) ต่อค่า C* ระหว่างการเก็บรักษา สีแอนโทไซยานินเข้มข้น.....84
4.49	ผลของน้ำตาล glucose sucrose และ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 0, 2 และ 3% (w/v) ต่อค่า h° ระหว่างการเก็บรักษา สีแอนโทไซยานินเข้มข้น.....85

สารบัญ (ต่อ)

๖

ตาราง		หน้า
4.50	ค่าร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือเมื่อเก็บรักษาน้ำหวานผสม สีจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง และสี SAN RED RC [®]	87
4.51	ค่า F จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าร้อยละปริมาณแอนโทไซยานิน คงเหลือ และค่า DI เมื่อเก็บรักษาน้ำหวานผสมสีจากกลีบดอก กระเจี๊ยบแดง และสี SAN RED RC [®]	88
4.52	ค่าครึ่งชีวิตของแอนโทไซยานินในน้ำหวานผสมสีจากกลีบดอก กระเจี๊ยบแดง และสี SAN RED RC [®]	88
4.53	ค่า PC ของน้ำหวานผสมสีจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง และ สี SAN RED RC [®] ระหว่างการเก็บรักษา	90
4.54	ค่า F จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า PC เมื่อเก็บรักษา น้ำหวานผสมสีจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง และสี SAN RED RC [®]	90
4.55	ค่า DI เมื่อเก็บรักษาน้ำหวานผสมสีจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง และสี SAN RED RC [®]	91
4.56	ค่า F จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า DI เมื่อเก็บรักษา น้ำหวานผสมสีจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง และสี SAN RED RC [®]	92
4.57	ค่า TCD เมื่อเก็บรักษาน้ำหวานผสมสีจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง และสี SAN RED RC [®]	93
4.58	ค่า F จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า TCD เมื่อเก็บรักษา น้ำหวานผสมสีจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง และสี SAN RED RC [®]	93
4.59	ค่า L* ค่า a* และค่า ΔE^* เมื่อเก็บรักษาน้ำหวานผสมสีจากกลีบ ดอกกระเจี๊ยบแดงสี SAN RED RC [®] และสีคาร์โมอีซิน.....	94
4.60	ค่า C* เมื่อเก็บรักษาน้ำหวานผสมสีจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง สี SAN RED RC [®] และสีคาร์โมอีซิน.....	95
4.61	ค่า h ^o เมื่อเก็บรักษาน้ำหวานผสมสีจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง สี SAN RED RC [®] และสีคาร์โมอีซิน.....	96

สารบัญ (ต่อ)

๗

ตาราง

หน้า

4.62

คุณภาพทางประสาทสัมผัสของน้ำหวานผสมสีจากกลีบดอก
กระเจี๊ยบแดง สี SAN RED RC[®] และสีคารโมอิซิน
ระหว่างการเก็บรักษา.....97



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญภาพ

๓

ภาพประกอบ	หน้า
2.1	โครงสร้างของแอนโทไซยานิน.....4
2.2	โครงสร้างของ cyanidin-3- β -sophoroside.....5
4.1	Absorption spectrum ของสารละลายสกัดแอนโทไซยานิน.....25
4.2	ผลของ pH ของตัวทำละลายในการสกัดต่อปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้.....27
4.3	ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายสกัดแอนโทไซยานินที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรในช่วง pH 1-4.5.....36
4.4	ผลของ trehalose (T) และ maltodextrin (MD) ความเข้มข้น 0, 2 และ 3% (w/v) ต่อค่าร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือระหว่างการเก็บรักษาสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็ง.....48
4.5	ความสัมพันธ์ของค่า water activity กับการเกิดปฏิกิริยาต่าง ๆ.....49
4.6	ผลของอุณหภูมิและเวลาในการทำเข้มข้นสารละลายสกัดแอนโทไซยานินต่อ ปริมาณแอนโทไซยานิน.....60
4.7	กลไกการสลายตัวของแอนโทไซยานิน : (A) flavylium cation, (B) chalcone.....62
4.8	การสลายตัวของ anthocyanidin 3,5-diglucoside ที่ pH 3.7.....62
4.9	ผลของน้ำตาล glucose (G): (a), sucrose (S): (b) และ trehalose (T): (c) และ maltodextrin (MD): (d) ความเข้มข้น 0, 2 และ 3% (w/v) ต่อค่าร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือระหว่างการเก็บรักษาของสีแอนโทไซยานินเข้มข้น.....74
4.10	ผลของน้ำตาล glucose (G): (a), sucrose (S): (b) และ trehalose (T): (c) และ maltodextrin (MD): (d) ความเข้มข้น 0, 2 และ 3% (w/v) ต่อค่า DI ระหว่างการเก็บรักษาสีแอนโทไซยานินเข้มข้น.....77
4.11	ค่าร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือเมื่อเก็บรักษาน้ำหวานผสมสีจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง และสี SAN RED RC [®]88

บทที่ 1

บทนำ

สีเป็นลักษณะปรากฏของอาหารที่มนุษย์มองเห็นและทำให้เกิดความคาดหวังต่อผลิตภัณฑ์ สีมักมีบทบาทสำคัญต่อความพอใจของผู้บริโภคทั้งทางด้านความสวยงาม และแรงจูงใจในการเลือกซื้อผลิตภัณฑ์ แต่กรรมวิธีการผลิตอาหารและการเก็บรักษาทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสี ผู้ผลิตต้องการให้ผลิตภัณฑ์อาหารมีสีคงที่ จึงต้องใช้สีผสมอาหารเพื่อทดแทนสีที่สูญหายหรือเปลี่ยนแปลงไประหว่างการผลิต โดยสีที่นำมาใช้มักเป็นสีสังเคราะห์ (Synthetic colours) ซึ่งผลิตโดยการสังเคราะห์ทางเคมี สีสังเคราะห์ที่ได้รับอนุญาตให้ใช้ในสหรัฐอเมริกา มี 9 ชนิดคือ Blue No. 1, Blue No. 2, Green No. 3, Orange B, Citrus Red No. 2, Red No. 3, Red No. 40, Yellow No. 5 และ Yellow No. 6 [21 CFR Section 74(a)(1994)] แต่เนื่องจากสีที่ได้จากการสังเคราะห์มีอันตรายอันเนื่องมาจากอันตรายของตัวสีเอง โดยอาจก่อให้เกิดมะเร็งที่อวัยวะส่วนใดส่วนหนึ่งของร่างกาย โดยเฉพาะระบบทางเดินอาหารและกระเพาะปัสสาวะ นอกจากนี้ยังอาจมีอันตรายจากสารปนเปื้อน ในสีผสมอาหาร เช่น โครเมียม ตะกั่ว สารหนู การได้รับโลหะหนักเข้าไปในร่างกายในปริมาณมากหรือเป็นประจำ ทำให้เกิดอันตรายต่อร่างกาย ด้วยสีผสมอาหารมีความสำคัญดังที่กล่าวมา กระทรวงสาธารณสุขจึงประกาศให้เป็นอาหารควบคุมเฉพาะ (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข, 2543) จากอันตรายของสีสังเคราะห์ดังกล่าวมา ผู้บริโภคและผู้ผลิตจึงได้ให้ความสนใจสีจากธรรมชาติ เนื่องจากมีความปลอดภัยมากกว่าสีสังเคราะห์

สีแอนโทไซยานินจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่ง เนื่องจากแอนโทไซยานินเป็นแหล่งให้สีแดง ซึ่งเป็นสีธรรมชาติที่ไม่เป็นอันตรายต่อสุขภาพ และเป็นพวก flavonoid สามารถย่อยสลายในระบบทางเดินอาหาร โดยที่โครงสร้างของ A-ring และ B-ring จะเปลี่ยนไปเป็น carbondioxide และ aromatic acids ตามลำดับ ซึ่งสารเหล่านี้ไม่เป็นอันตรายต่อร่างกาย (Delgado-Vargas และคณะ, 2000)

ปัจจุบันมีการใช้สีจากธรรมชาติเพิ่มมากขึ้น ในอิตาลีมีการผลิตสีแอนโทไซยานินจากกากองุ่นตั้งแต่ปี 1879 ซึ่งสีแอนโทไซยานินที่สกัดได้จากกากองุ่นเรียกว่า enocianina และในรัสเซียมีโรงงานผลิตสีแอนโทไซยานินจากผล elderberry (Bridle และ Timberlake, 1997) โดยยุโรปกำหนดรหัสสีแอนโทไซยานินเป็น E163 (Wrolstad, 2000) องค์การอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกา (US.Food and Drug Administration, US.FDA) ได้อนุญาตให้ใช้สีแอนโทไซยานินที่สกัดได้จากกากองุ่นในน้ำอัดลม เครื่องดื่มทั่วไป และเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ ตาม GMP (21 CFR Sec 73.170) (Hallagan, Allen และ Borzelleca, 1995) นอกจากนี้

กากองุ่นแล้วยังมีวัตถุดิบอื่นที่มีความเป็นไปได้ที่สามารถนำมาสกัดแอนโทไซยานินได้ เช่น กะหล่ำปลีแดง (red cabbage) และกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง (roselle)

กลีบดอกกระเจี๊ยบแดงเป็นพืชในเขตร้อน (tropical) ซึ่งเป็นพืชสมุนไพรของไทยชนิดหนึ่ง ส่วนของกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงมีแอนโทไซยานินอยู่ถึง 1.5 กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง (Bridle และ Timberlake, 1997) ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ในการสกัดสีแอนโทไซยานินจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง เพื่อทำสีผสมอาหาร และเนื่องจากผลิตภัณฑ์จากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงมักนำมาคั้นน้ำดื่ม ทำแยม และชา ดังนั้นการผลิตสีจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งเพื่อเพิ่มทางเลือกในการใช้ประโยชน์ และความหลากหลายของผลิตภัณฑ์

ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาและสกัดแอนโทไซยานินจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง การทำเข้มข้น การทำแห้งแอนโทไซยานินแบบเยือกแข็ง การเปลี่ยนแปลงสีระหว่างการเก็บรักษา และการนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

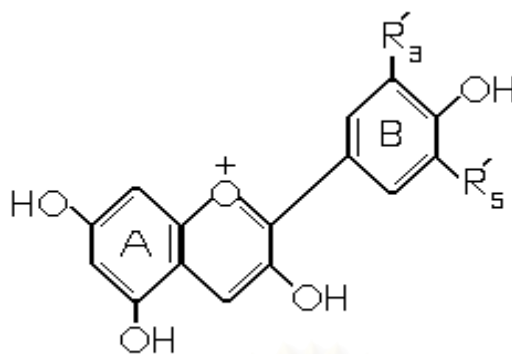
วารสารปริทัศน์

1. กลีบดอกกระเจี๊ยบแดง (Roselle)

กลีบดอกกระเจี๊ยบแดงเป็นแหล่งวัตถุดิบที่มีความเป็นไปได้สูงในการใช้เป็นแหล่งสำหรับสกัดแอนโทไซยานิน เนื่องจากกระเจี๊ยบแดงมีแอนโทไซยานินอยู่สูง กระเจี๊ยบแดงเป็นพืชตระกูล Malvaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Hibiscus sabdariffa* L. จัดเป็นพืชล้มลุก ลำต้นและกิ่งก้านมีสีม่วงแดง ขนาดสูงประมาณ 1-2 เมตร ใบมีอยู่หลายแบบ เช่น แบบขอบใบหยักเว้าลึกสามแฉก หรือแบบขอบใบเรียบ มีก้านใบยาว ดอกเดี่ยวสีชมพู ตรงกลางดอกมีสีเข้ม ออกตามง่ามใบ ผลเป็นรูปวงรี ปลายแหลม หุ้มไว้ด้วยกลีบเลี้ยงสีแดง (สมสุข มัจฉาชีพ, 2542) ในเมืองไทยมีแหล่งปลูกมากที่อำเภอพนัสนิคม จังหวัดฉะเชิงเทรา

2. แอนโทไซยานิน (Anthocyanins)

แอนโทไซยานินเป็นรงควัตถุที่มีสีช่วงสีแดงถึงสีน้ำเงินพบในผัก ผลไม้ และดอกไม้หลายชนิด เช่น ดอกอัญชัน ดอกกระเจี๊ยบแดง ผลองุ่น และ ผลสตอเบอรี่ เป็นต้น แอนโทไซยานินเป็นสารประกอบในกลุ่ม flavonoids มีโครงสร้างหลักเป็น $C_6C_3C_6$ ซึ่งเป็นอนุพันธ์ polyhydroxy และ polymethoxy ของสาร flavylium หรือ 2-phenylbenzopyrylium โมเลกุลประกอบด้วยแอนโทไซยานิดิน หรือเรียกว่า aglycone จับกับน้ำตาลด้วยพันธะ β -glycosidic และมักจับที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 ของโครงสร้างแอนโทไซยานิดิน โดยในธรรมชาติมีแอนโทไซยานินหลายชนิดซึ่งแตกต่างกัน เนื่องจากมีแอนโทไซยานิดินหลายชนิด แอนโทไซยานิดินที่พบมากในธรรมชาติมีอยู่ 6 ชนิด ซึ่งแตกต่างกันตามชนิด และกลุ่มที่เข้าแทนที่ในสูตรโครงสร้างพื้นฐานของแอนโทไซยานิดิน แสดงดังรูปที่ 2.1 (Markakis, 1982)



ชนิดของแอนโทไซยานิดิน	R ₃ '	R ₅ '	Colour
Cyanidin	OH	H	Orange-red
Delphinidin	OH	OH	Blue-red
Malvidin	OCH ₃	OCH ₃	Blue-red
Pelargonidin	H	OCH ₃	Orange
Peonidin	OCH ₃	H	Orange-red
Petunidin	OH	OCH ₃	Blue-red

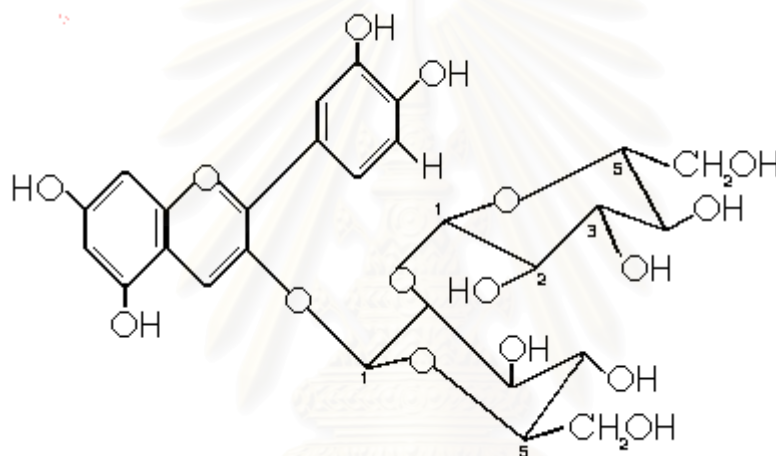
รูปที่ 2.1 โครงสร้างของแอนโทไซยานิดิน (ดัดแปลงจาก Markakis, 1982)

เมื่อพิจารณาจากโครงสร้างของแอนโทไซยานินจะเห็นได้ว่าแอนโทไซยานินขาดอิเล็กตรอนที่ flavylum nuclei จึงทำให้แอนโทไซยานินมีความว่องไวต่อปฏิกิริยาสูง ผลจากปฏิกิริยาจะได้สารประกอบซึ่งมีโครงสร้าง และสีที่ไม่พึงประสงค์ บางครั้งอาจทำให้เกิดสีน้ำตาล

2.1 แอนโทไซยานินหลักที่มีในกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง

Nakamura และคณะ (1990) ได้ศึกษาแอนโทไซยานินหลักที่มีในกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) โดยทำการสกัดแอนโทไซยานินจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงด้วย สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นร้อยละ 0.01 ในเมทานอล จากนั้นนำแอนโทไซยานินมาไฮโดรไลส์ด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 100°C ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1 N เป็นเวลา 60 นาที ทำให้แยกได้ anthocyanidin ซึ่งเป็น aglycone และน้ำตาล จากนั้นหาชนิดของ aglycone โดยทำ paper chromatography ใช้ตัวทำละลาย 3 ระบบคือ กรดไฮโดรคลอริก : กรดอะซิติก : น้ำ (HAW-3) ในอัตราส่วน 3:30:10, กรดฟอร์มิก : กรดไฮโดรคลอริก : น้ำ (FHW) ในอัตราส่วน 5:2:3 และกรดไฮโดรคลอริก : กรดอะซิติก : น้ำ (HAW-2) ในอัตราส่วน 1:5:5 และหาค่า R_f value ของ aglycone เทียบกับ cyanidin ผลการศึกษาพบว่าค่า R_f value ของ cyanidin และ aglycone ของกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง

มีค่าใกล้เคียงกันในตัวทำละลายทั้ง 3 ระบบ ซึ่งชี้ให้เห็นว่า aglycone ของกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง คือ cyanidin จากนั้นตรวจสอบชนิดของน้ำตาลด้วย วิธี gas-liquid chromatography 2 ระบบ คือ n-butanol : ethanol : น้ำ (cellulose BetW) ในอัตราส่วน 4:2:2.2 และ n-butanol : acetic acid : diethyl ether : น้ำ (silica gel BEAW) ในอัตราส่วน 9:6:3:1 หาค่า R_f value ของน้ำตาล จากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงเทียบกับ sophorose (β -1,2), laminaribiose (β -1,3), cellobiose (β -1,4), gentiobiose (β -1,6), maltose (β -1,4) และ isomaltose (β -1,6) พบว่าค่า R_f value ของน้ำตาลจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงใกล้เคียงกับ sophorose (β -1,2) ดังนั้น จึงสรุปได้ว่า แอนโทไซยานินหลักในกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงคือ cyanidin-3- β -sophoroside (รูปที่ 2.2)



รูปที่ 2.2 โครงสร้างของ cyanidin-3- β -sophoroside (Nakamura และคณะ, 1990)

Du และ Francis (1973) ได้ศึกษาหาชนิดแอนโทไซยานินหลักในกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงพันธุ์ *Hibiscus sabdariffa* L. ซึ่งเป็นพันธุ์เดียวกับที่ใช้ในการทดลองนี้ ในขั้นตอนแรกสกัดแอนโทไซยานินด้วย กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1.5 N ในเอทานอล จากนั้นนำสารละลายสกัดแอนโทไซยานินที่ได้มาไฮโดรไลส์ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 2 N และนำไปแช่ใน water bath เป็นเวลาหนึ่งชั่วโมง ทำให้แยกได้แอนโทไซยานิดิน ซึ่งเป็น aglycon และน้ำตาล จากนั้นหาชนิดของ aglycon และน้ำตาลโดยทำโครมาโตกราฟี พบว่าแอนโทไซยานินหลักในกระเจี๊ยบแดงคือ delphinidin-3-glucoside และแอนโทไซยานินที่สำคัญรองลงมาคือ cyanidin-3-glucoside

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงใช้ค่า $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ ของ delphinidin-3-glucoside มีค่า 559 ในการคำนวณปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด

2.2 การวิเคราะห์แอนโทไซยานิน

การวิเคราะห์แอนโทไซยานินสามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม (Francis, 1982) คือ

2.2.1 การวิเคราะห์เชิงคุณภาพ (Qualitative analysis) ซึ่งเป็นการวิเคราะห์หาชนิดแอนโทไซยานิน และชนิดน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบของแอนโทไซยานิน

2.2.2 การวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Quantitative analysis) ซึ่งวิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด โดยแบ่งตามลักษณะตัวอย่างได้เป็น 2 กลุ่ม

2.2.2.1 ตัวอย่างที่มีสารประกอบซึ่งดูดกลืนแสงในช่วงเดียวกับแอนโทไซยานินปนอยู่เล็กน้อยหรือไม่มีเลย

แอนโทไซยานินที่เพิ่งสกัดจากผัก ผลไม้ โดยปกติจะมีสารประกอบซึ่งดูดกลืนแสงช่วงเดียวกับแอนโทไซยานิน ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดอยู่ในช่วงความยาวคลื่น 500-535 นาโนเมตรอยู่น้อย ดังนั้นปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดสามารถคำนวณได้จากหลักการวัดการดูดกลืนแสง

Fuleki และ Francis (1968a) สกัดแอนโทไซยานินจากผล cranberry โดยการใส่เอทานอลกับไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1.5 N ในอัตราส่วน 85:15 โดยปริมาตร เป็นตัวทำละลายในการสกัด ขั้นตอนในการสกัดคือเติมตัวทำละลายลงในตัวอย่างหนัก SW กรัม ปั่นใน Waring blender ด้วยความเร็วสูงสุคนาน 20 วินาที เทตัวอย่างลงในขวดรูปชมพู่ ล้างภาชนะที่ใช้ปั่นด้วยตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด ปิดภาชนะด้วยแผ่น parafilm เก็บไว้ในที่มืดนาน 30 นาที จากนั้นกรองด้วยผ้าขาวบางและล้างภาชนะที่ได้ด้วยตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด นำสารละลายสกัดที่ได้มากรองอีกครั้งด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 โดยอาศัยหลักการ suction วัดปริมาตรสารละลายที่กรองได้ทั้งหมด (TEV) จากนั้นบีบอัดสารละลายที่กรองได้ (SV) ใส่ในขวดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร (DV) จากนั้นปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด เพื่อให้ค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วง 0.3-0.8 เก็บไว้ในที่มืดนาน 2 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดสมดุลของ forms ต่างๆ ของแอนโทไซยานิน จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (O.D.) ที่ความยาวคลื่น 535 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer คำนวณหาปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดจากสูตรที่ (2-1)

$$T_{Acy} = \frac{O.D. \times DV \times 100 \times TEV}{SV \times SW \times E_{1cm}^{1\%} / 10} \quad (2-1)$$

โดยที่

- T_{Acy} คือปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด (มิลลิกรัมแอนโทไซยานินต่อวัตถุดิบ 100 กรัม)
 O.D. คือค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้จากสารละลายสกัดที่เจือจางแล้ว
 DV คือปริมาตรของสารละลายสกัดที่ได้เจือจางแล้ว (มิลลิลิตร)
 SV คือปริมาตรของสารละลายสกัดที่เตรียมสำหรับเจือจาง (มิลลิลิตร)
 TEV คือปริมาตรทั้งหมดของสารละลายสกัดที่ได้ (มิลลิลิตร)
 SW คือน้ำหนักของตัวอย่างที่ใช้สกัด (กรัม)
 $E_{1cm}^{1\%}$ คือ ค่า Extinction coefficient ได้ จาก ค่าเฉลี่ย โดย น้ำหนัก โมเลกุล ของ แอนโทไซยานินทุกตัวที่มีอยู่ในพืชตัวอย่างนั้นๆ

ในกรณีไม่ทราบค่า $E_{1cm}^{1\%}$ ของแอนโทไซยานินในตัวอย่าง Fuleki และ Francis (1968a) แนะนำให้ใช้ค่า $E_{1cm}^{1\%}$ ของผล cranberry แทนในการคำนวณปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด ซึ่งสามารถตัดความผิดพลาดจากการคำนวณทิ้งได้ เมื่อใช้ค่าปริมาณเปรียบเทียบปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้

นอกจากนี้อาจใช้ค่า $E_{1cm}^{1\%}$ ของแอนโทไซยานินของตัวใดตัวหนึ่งที่มีในตัวอย่างในการคำนวณปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดได้

Du และ Francis (1973) คำนวณ ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดของกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง (*Hibiscus sabdariffa* L.) โดยใช้ค่า $E_{1cm}^{1\%}$ ของ delphinidin-3-glucoside ซึ่งเป็นแอนโทไซยานินตัวหนึ่งในกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง มีค่า $E_{1cm}^{1\%}$ เท่ากับ 559

Do และคณะ (1976) คำนวณปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดของเชอริ โดยใช้ค่า $E_{1cm}^{1\%}$ ของcyanidin-3-galactoside ซึ่งเป็นแอนโทไซยานินตัวหนึ่งในเชอริ มีค่า $E_{1cm}^{1\%}$ เท่ากับ 3.4×10^4

Tulyathan, Duangmal และ Thunpittayakul (1993) คำนวณปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดของดอกอัญชัน โดยใช้ค่า $E_{1cm}^{1\%}$ ของ delphinidin-3-glucoside ซึ่งเป็นแอนโทไซยานินตัวหนึ่งในดอกอัญชัน มีค่า $E_{1cm}^{1\%}$ เท่ากับ 559

Garzon และ Wrolstad (2002) คำนวณ ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดของสตรอเบอร์รี่ โดยใช้ค่า $E_{1cm}^{1\%}$ ของpelargonidin-3-glucoside ซึ่งเป็นแอนโทไซยานินตัวหนึ่งในสตรอเบอร์รี่ มีค่า $E_{1cm}^{1\%}$ เท่ากับ 433.2

ในการคำนวณหาปริมาณแอนโทไซยานินในกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงในงานวิจัยนี้อ้างอิงค่า $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ ในงานวิจัยของ Du และ Francis (1973) ซึ่งหาชนิดของแอนโทไซยานินในกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงได้ค่า $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ เท่ากับ 559 ค่า $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ เป็นเพียง factor มาคำนวณซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้จะสามารถกำจัดความผิดพลาดจากการคำนวณออกไปได้

2.2.2.2 ตัวอย่างที่มีสารประกอบซึ่งดูดกลืนแสงในช่วงเดียวกับแอนโทไซยานินปนอยู่

บางครั้งการคำนวณปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดด้วยวิธี 2.2.2.1 พบว่าเกิดความผิดพลาด เนื่องจากเมื่อเก็บสารละลายสกัด หรือตัวอย่างเป็นระยะเวลาานาน จะเกิดการสลายตัวของแอนโทไซยานินเป็น degradation product ซึ่งสารเหล่านี้จะมีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นใกล้เคียงกับแอนโทไซยานิน ทำให้ปริมาณแอนโทไซยานินที่คำนวณได้ผิดพลาด จากการที่โครงสร้างของแอนโทไซยานินจะเปลี่ยนแปลงเมื่อความเป็นกรดต่างของสารละลายเปลี่ยนแปลง ทำให้สามารถคำนวณปริมาณแอนโทไซยานินได้จากค่าความแตกต่างของการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ระดับ pH ต่างกันได้ ทั้งนี้เพราะค่าการดูดกลืนแสงเนื่องจากการมีสารประกอบอื่นนอกเหนือจากแอนโทไซยานิน ซึ่งดูดกลืนแสงในช่วงเดียวกับแอนโทไซยานินถูกหักล้างไปวิธีการนี้เรียกว่า pH differential method

การเลือกระดับ pH ต้องพิจารณาถึง

- ก. ค่า pH สองค่าที่เลือกนั้นควรให้ค่าการดูดกลืนแสงที่มีผลต่างห่างกันมากที่สุด หลีกเลี่ยงการเลือกช่วง pH บริเวณที่มีความชันสูง ซึ่งจะทำให้ค่าการดูดกลืนแสงเปลี่ยนแปลงได้มากเมื่อ pH เปลี่ยนแปลงเล็กน้อย
- ข. การเปลี่ยนแปลงความเป็นกรดต่างรอบๆ ค่า pH ที่เลือกไม่ควรทำให้ค่าการดูดกลืนแสงเปลี่ยนแปลงมากนัก
- ค. แอนโทไซยานินควรมีเสถียรภาพที่ pH ที่เลือกใช้

Fuleki และ Francis (1968b) หาปริมาณ แอนโทไซยานินทั้งหมดในน้ำ cranberry โดยใช้หลักการ pH differential method โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างในบัฟเฟอร์ของ KCl - HCl ที่ pH 1.0 และของ $\text{CH}_3\text{COONa} - \text{HCl}$ ที่ pH 4.5 ที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร โดยที่ pH 1.0 แอนโทไซยานินอยู่ในรูป flavylium cation ซึ่งให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด และที่ pH 4.5 แอนโทไซยานินจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของ carbinol base ซึ่งให้ค่าการดูดกลืนแสงต่ำสุด ที่ความยาวคลื่นเดียวกัน ดังนั้นสามารถคำนวณ

ปริมาณแอนโทไซยานินจากค่าความแตกต่างของการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นเดียวกันระหว่างสารละลายที่ระดับ pH ต่างกันได้ ด้วยวิธีการนี้ค่าการดูดกลืนแสงเนื่องจากการมีสารประกอบอื่นนอกเหนือจากแอนโทไซยานิน ซึ่งดูดกลืนแสงในช่วงเดียวกับแอนโทไซยานินถูกหักล้างไป

ดังนั้นปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดสามารถคำนวณได้จากสูตรที่ (2-2)

$$T_{Acy} = \frac{\Delta O.D.}{Avg. E_{1cm}^{1\%}} \times 0.1 \quad (2-2)$$

โดยที่

$$\Delta O.D. = T_{O.D. (pH1.0)} - T_{O.D. (pH4.5)}$$

$$T_{O.D.} = O.D. \times DV \times VF$$

DV (Dilution Volume) คือ ปริมาตรสารละลายสกัดที่เจือจางไว้สำหรับวัดค่าการดูดกลืนแสง (มิลลิลิตร)

VF คือ ปริมาตรสารละลายสกัดเริ่มต้น / ปริมาตรสารละลายสกัดตัวอย่าง

การวัดด้วยวิธี pH differential สามารถนำไปคำนวณค่า degree of degradation โดยแสดงในเทอมของค่า Degradation Index ซึ่งเป็นค่าที่บอกสัดส่วนของรงควัตถุแอนโทไซยานินที่เสื่อมสลาย (degrade) ได้

ค่า degree of degradation ได้จากสูตรที่ (2-3)

$$\text{Degradation Index (DI)} = \frac{T_{Acy \text{ by the single pH method}}}{T_{Acy \text{ by the pH differential method}}} \quad (2-3)$$

ในงานวิจัยนี้ใช้วิธี pH differential method ตามวิธีของ Fluleki และ Francis (1968b) ในการหาปริมาณแอนโทไซยานิน โดยเลือกวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ระดับ pH 1.0 และ pH 4.5 ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

2.3 การนำแอนโทไซยานินมาใช้ประโยชน์

ขั้นตอนการนำแอนโทไซยานินมาใช้ประกอบด้วย การสกัด การแยกตัวทำละลายออก การทำเข้มข้น และการทำแห้ง

2.3.1 การสกัดแอนโทไซยานิน

วัตถุดิบที่นำมาสกัดสีแอนโทไซยานินนั้นควรหาได้ง่าย มีปริมาณมาก ราคาไม่แพง ให้ผลผลิตปริมาณสูง สีแอนโทไซยานินที่รู้จักกันทางการค้า ได้แก่ สีแอนโทไซยานินจากกากองุ่นซึ่งเป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมไวน์ สีแอนโทไซยานินที่สกัดได้จากกากองุ่นเรียกว่า encianina (Bridle และ Timberlake, 1997)

ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการสกัดมีอยู่หลายปัจจัย ปัจจัยที่สำคัญ ได้แก่ ชนิดของตัวทำละลาย pH อุณหภูมิ เวลาที่ใช้ในการสกัด อัตราส่วนของตัวทำละลาย ต่อตัวอย่างที่นำมาสกัด

ชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด จากการศึกษาพบว่า การสกัด แอนโทไซยานินนิยมใช้ acidified alcohol เป็นตัวทำละลาย เนื่องจากแอนโทไซยานินจะเสถียร ที่ pH เป็นกรดและละลายได้ดีในตัวทำละลายมีขี้ว ดังเช่นงานวิจัยของ Fuleki และ Francis (1968a) พบว่าการสกัดแอนโทไซยานินจากผล cranberry โดยการใช้เอทานอลกับไฮโดรคลอริก เข้มข้น 1.5 N ในอัตราส่วน 85:15 โดยปริมาตร เป็นตัวทำละลายที่มีประสิทธิภาพสูง ต่อมา มีการศึกษาการใช้กรดหลายชนิดมาทำการสกัดเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการสกัด โดย Metivier, Francis และ Clydesdale (1980) ศึกษาชนิดของตัวทำละลาย และชนิดของกรดในการสกัด แอนโทไซยานินจากกากองุ่นที่เป็นผลพลอยได้จากการผลิตไวน์ ตัวทำละลายที่ใช้คือ เอทานอล เมทานอล และน้ำ กรดที่ใช้ 6 ชนิดคือ ไฮโดรคลอริก ซิตริก ทาทาริก ฟอรั่มิก อะซิติก และโพธิ์ฟอนิก จากการศึกษาพบว่า เมทานอล เป็นตัวทำละลายที่ดีที่สุด โดยมีประสิทธิภาพในการสกัดสูงกว่า เอทานอล และน้ำ ร้อยละ 20 และร้อยละ 73 ตามลำดับ ชนิดของกรดที่ใช้ พบว่า ไฮโดรคลอริกมีประสิทธิภาพในการสกัดสูงที่สุดที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 ในเมทานอล ส่วนกรดอินทรีย์ที่ใช้ พบว่ากรดซิตริกร้อยละ 5 ในเมทานอล และกรดอะซิติกร้อยละ 30 ในน้ำ มีประสิทธิภาพสูงสุด ทั้งนี้ชนิดของตัวทำละลายยังขึ้นกับชนิดของวัตถุดิบด้วย โดยวัตถุดิบต่างชนิดกันตัวทำละลายที่ใช้มีประสิทธิภาพในการสกัดต่างกัน การเลือกชนิดของตัวทำละลายในการสกัดควรคำนึงถึง ความปลอดภัยของตัวทำละลาย ค่าใช้จ่าย และการกัดกร่อน Tulyathan, Duangmal และ Thunpittayakul (1993) ได้ศึกษาชนิดของตัวทำละลายและเวลาในการสกัด แอนโทไซยานินจากดอกอัญชัน โดยแปรชนิดของตัวทำละลายเป็น 5 ชนิด คือ น้ำกลั่น สารละลายกรดไฮโดรคลอริก สารละลายกรดอะซิติก สารละลายกรดฟอรั่มิก สารละลายกรดมาลิก และสารละลายกรดซิตริก และแปรเวลาเป็น 0, 30, 60, 90, 120 และ 150 นาที พบว่า ตัวทำละลายที่ให้ประสิทธิภาพในการสกัดดีที่สุดโดยใช้เวลาน้อยที่สุดคือ สารละลายกรดไฮโดรคลอริก โดยสกัดได้ปริมาณแอนโทไซยานินเท่ากับ 12.40 มิลลิกรัมแอนโทไซยานิน ต่อกรัมตัวอย่างที่เวลา 72.5 นาที

ค่าความเป็นกรดต่าง (pH) ของตัวทำละลายเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อ ปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้ Bronnum-Hansen และ Flink (1986) ศึกษาพบว่า pH ของ ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดมีผลต่อปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้ โดยใช้สารละลาย กรดไฮโดรคลอริกในเอทานอล ในช่วง pH 1-3 สกัดแอนโทไซยานินจากผล elderberry พบว่าสารละลายกรดไฮโดรคลอริกในเอทานอลที่ pH 1.5 มีประสิทธิภาพในการสกัดสูงสุด

และเมื่อ pH เพิ่มขึ้นปริมาณแอนโทไซยานินที่ได้จะลดลง ในขณะที่ Tulyathan, Duangmal และ Thunpittayakul (1993) สกัดแอนโทไซยานินจากดอกอัญชัน โดยแปร pH เป็น 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0 และ 5.5 พบว่า pH ที่ให้ประสิทธิภาพในการสกัดที่ดีที่สุดคือ pH 4.5 ทั้งนี้จะเห็นได้ว่า pH ที่เหมาะสมในการสกัดขึ้นกับชนิดของวัตถุดิบ และแอนโทไซยานินในตัวอย่าง

ปัจจัยที่สำคัญอีกปัจจัยหนึ่งคือ อุณหภูมิ โดย Mok และ Hettiarachchy (1991) ได้ศึกษาผลของอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดแอนโทไซยานินจากเปลือกเมล็ดทานตะวันต่อความเสถียรของสี โดยสกัดที่อุณหภูมิ 65, 80 และ 95°C และวัด rate constant (k) ของการสลายตัวของแอนโทไซยานิน ตัวทำละลายที่ใช้คือน้ำที่มีซัลเฟอร์ไดออกไซด์ความเข้มข้น 0, 500, 1000 และ 2000 ppm ค่า pH 1, 3 และ 5 จากการศึกษาพบว่าค่า rate constant (k) ลดลงเมื่อความเข้มข้นซัลเฟอร์ไดออกไซด์เพิ่ม แต่อย่างไรก็ตามค่า rate constant ก็ไม่แตกต่างกันมีนัยสำคัญเมื่อใช้ความเข้มข้น 500, 1000 และ 2000 ppm การสกัดที่ pH 1.0 และ 5.0 ค่า rate constant ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่แตกต่างกับที่ pH 3.0 อย่างมีนัยสำคัญ อุณหภูมิมีผลต่อการสลายตัวโดยค่า rate constant (k) ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทั้ง 3 อุณหภูมิ โดยที่อุณหภูมิ 65°C มีค่า rate constant (k) 0.0294 h⁻¹ ซึ่งต่ำสุด และที่อุณหภูมิ 95°C มีค่า rate constant (k) 0.4622 h⁻¹ ซึ่งสูงที่สุด แสดงว่าเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นอัตราการสลายตัวของแอนโทไซยานินจะเพิ่มขึ้นด้วย จึงสรุปได้ว่าการสกัดแอนโทไซยานินไม่ควรทำที่อุณหภูมิสูง เนื่องจากจะทำให้แอนโทไซยานินเกิดการสลายตัวได้

อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อตัวอย่างที่นำมาสกัดเป็นปัจจัยที่สำคัญอีกปัจจัยหนึ่งในการสกัดซึ่งเกี่ยวข้องกับการแพร่ของแอนโทไซยานินในตัวอย่างที่นำมาสกัดในตัวทำละลาย จากการทดลองของ Bronnum-Hansen และ Flink (1986) ศึกษาการสกัดแอนโทไซยานินจากผล elderberry โดยใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.1 M ในเอทานอล แปรอัตราส่วนของตัวทำละลายต่อกากเป็น 40:1 20:1 10:1 5:1 และ 2.5:1 จากนั้นหำร้อยละของปริมาณแอนโทไซยานินรวม และปริมาณตัวทำละลายที่ใช้เป็นมิลลิลิตรต่อการสกัดผล elderberry 100 กรัม พบว่าเมื่ออัตราส่วนของตัวทำละลายต่อกาก elderberry ลดลงร้อยละของปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้ลดลงด้วย โดยที่อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อกาก elderberry เท่ากับ 20:1 และ 10:1 มีร้อยละของปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้เป็น 100 และ 99 ตามลำดับ แต่เมื่อพิจารณาสารละลายที่ใช้ในการสกัดกาก elderberry 100 กรัม ที่อัตราส่วน 20:1 ใช้สารละลาย 400 มิลลิลิตร แต่ที่อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อกาก elderberry เป็น 10:1 ใช้สารละลาย 200 มิลลิลิตร ดังนั้นจึงเลือกอัตราส่วนของตัวทำละลายต่อกาก elderberry เท่ากับ 10:1 เนื่องจากให้ผลผลิตรวมสูง คือได้ปริมาณแอนโทไซยานินสูงและใช้ปริมาณตัวทำละลายต่ำกว่า Tulyathan, Duangmal และ Thunpittayakul (1993) ศึกษา

การสกัดแอนโทไซยานินจากดอกอัญชัน โดยแปรอัตราส่วนระหว่างน้ำหนัkdอกอัญชันต่อปริมาณตัวทำละลายเป็น 120:5, 120:4, 120:3, 120:2 และ 120:1 ร่วมกับการเขย่า และไม่เขย่า ขวดขณะสกัด พบว่าอัตราส่วนระหว่างน้ำหนัkdอกอัญชันต่อปริมาณตัวทำละลาย และการเขย่ามีผลต่อปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้ โดยพบว่าอัตราส่วนระหว่างดอกอัญชันต่อปริมาณตัวทำละลายเป็น 120:3 ร่วมกับการเขย่าขณะสกัดให้ประสิทธิภาพดีที่สุด

ขนาดวัตถุดิบ และเวลา Gao และ Mazza (1996) ทำการสกัดแอนโทไซยานินจากเปลือก purple sunflower โดยใช้สารละลายในการสกัด 3 ชนิดคือ เอทานอล : กรดอะซิติก : น้ำ (50:1:49) กรดอะซิติก เข้มข้น 0.01 M และน้ำที่มีซัลเฟอร์ไดออกไซด์ 1000 ppm เมื่อเปรียบเทียบสารละลายที่ใช้สกัด พบว่าน้ำที่มีซัลเฟอร์ไดออกไซด์เข้มข้น 1000 ppm ให้ปริมาณแอนโทไซยานินสูงสุด จากนั้นวิเคราะห์หาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัด คือ เวลาที่ใช้ในการสกัด และขนาดของเปลือก พบว่าเวลาที่ใช้ในการสกัดที่ให้ปริมาณแอนโทไซยานินสูงสุดคือที่ 10 นาที หลังจากนั้นปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้จะเข้าสู่สมดุล เป็นเส้นตรง และเปลือกที่ร่อนด้วยตะแกรงขนาด 40 mesh ได้อนุภาคขนาด 0.42 มิลลิเมตรให้ปริมาณแอนโทไซยานินสูงกว่าเปลือกที่ร่อนด้วยตะแกรงขนาด 20 mesh ซึ่งได้อนุภาคขนาดใหญ่กว่า (0.84 มิลลิเมตร)

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงศึกษาถึงปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดแอนโทไซยานิน โดยปัจจัยที่ศึกษาคือ pH ของตัวทำละลาย ชนิดของตัวทำละลาย และอัตราส่วนระหว่างวัตถุดิบกับตัวทำละลาย เพื่อให้ได้ปริมาณแอนโทไซยานินในสารละลายสกัดสูงสุด

2.3.2 การทำเข้มข้น

Essenlen และ Sammy (1975) ศึกษาอายุการเก็บรักษาของสารละลายกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงเข้มข้น และ กลีบดอกกระเจี๊ยบแดงที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็ง โดยใช้สารละลายเข้มข้นที่มีค่า total soluble solid เท่ากับร้อยละ 9.0 และ pH 2.7 จากนั้นแบ่งสารละลายกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงเข้มข้นเป็นสองส่วน ส่วนหนึ่งเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20°F อีกส่วนนำไปทำแห้งแบบเยือกแข็งที่ -50°F จากนั้นนำผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำแห้งแบบเยือกแข็งเก็บที่อุณหภูมิ $74-78^{\circ}\text{F}$ ตรวจจสอบค่า light transmission เมื่อเก็บเป็นเวลา 18 เดือน พบว่าสารละลายกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็ง มีค่า light transmission ที่ 520 นาโนเมตรเท่ากับ 20.4 และมีรสชาติดี แต่เกิด hygroscopicity ส่วนสารละลายกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงเข้มข้นเมื่อเก็บที่อุณหภูมิ -20°F พบว่าอายุของผลิตภัณฑ์นานถึง 2 ปี

Chandra, Nair และ lezzoni (1993) ทดลองสกัดสีแอนโทไซยานินจาก tart cherry 3 พันธุ์ คือ Montmorency, English Morello (*Prunus cerasus* L.) และ MSU 9(11) จากนั้นทำเข้มข้นโดยใช้ XAD-2 resin และศึกษาผลของชนิด dextrin ต่ออายุการเก็บรักษา สีแอนโทไซยานินจาก tart cherry เข้มข้น โดยแบ่งตัวอย่างเป็น 4 ส่วน คือ ไม้ใส่ dextrin ไม้ใส่ α -cyclodextrin ไม้ใส่ β -cyclodextrin และ maltodextrin ความเข้มข้น 2.5 % (w/v) จากนั้นนำสารละลายที่เตรียมได้มาทำเข้มข้น และอีกส่วนนำมาทำแห้งแบบเยือกแข็ง เก็บเป็นเวลา 12 สัปดาห์ วิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินโดยใช้ HPLC หาพื้นที่ใต้กราฟนำไปคำนวณค่าร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือ จากการทดลองพบว่าทั้งสีแอนโทไซยานินเข้มข้น และสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็ง ในตัวอย่างที่ใส่ α -cyclodextrin β -cyclodextrin และ maltodextrin มีปริมาณ relative anthocyanin ที่เวลา 12 สัปดาห์ มากกว่า ตัวอย่างที่ไม้ใส่ dextrin ใน tart cherry ทั้ง 3 พันธุ์ ดังนั้นการใส่ dextrin ในสารละลายแอนโทไซยานิน ช่วยเพิ่มเสถียรภาพของสีแอนโทไซยานินได้ แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสีแอนโทไซยานินเข้มข้น และสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็ง พบว่าสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็ง มีปริมาณ relative anthocyanin ที่เวลา 12 สัปดาห์ มากกว่าสีแอนโทไซยานินเข้มข้น

2.3.3 การทำแห้ง

การทำแห้งสีแอนโทไซยานินมีหลายวิธี เช่น การทำแห้งแบบพ่นฝอย การทำแห้งแบบเยือกแข็ง งานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับการทำแห้งสีแอนโทไซยานิน ด้วยวิธีต่าง ๆ ดังเช่น

การทำแห้งแบบพ่นฝอย Main, Clydesdale และ Francis (1978) ทำแห้งแบบพ่นฝอยสารละลายแอนโทไซยานินซึ่งสกัดจาก 3 แหล่ง คือเปลือกของงุ่น เปลือกผล cranberry ที่เป็นผลพลอยได้จากโรงงานน้ำผลไม้ และกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง โดยนำวัตถุดิบทั้ง 3 มาสกัดสีแอนโทไซยานิน โดยสกัดแอนโทไซยานินในเปลือกของงุ่น และเปลือกผล cranberry ด้วยสารละลายกรดซิตริกเข้มข้น 0.01% ในเอทานอล และสกัดแอนโทไซยานินจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงด้วยน้ำร้อน จากนั้นนำสารละลายสกัดแอนโทไซยานินมาทำเข้มข้นโดยการระเหยแบบสูญญากาศที่อุณหภูมิ 38°C ผสม dextrin ซึ่งมีค่า Dextrose Equivalent (DE) เป็น 10-13 ลงในสารละลายสกัดที่ทำเข้มข้นแล้ว จากนั้นนำไปทำแห้งแบบพ่นฝอย ทดลองหาอุณหภูมิลมออกของเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอยที่เหมาะสม โดยแปรอุณหภูมิลมออกเป็น 90, 100, 110 และ 120°C วัดค่าปริมาตรสีแอนโทไซยานินผง ความหนาแน่นสีแอนโทไซยานินผง และค่า degradation index (DI) ของสีแอนโทไซยานิน ที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย และวัดร้อยละความชื้นของสีแอนโทไซยานินที่ผ่านการทำแห้ง

แบบพ่นฝอยเทียบกับทางนมผง ผลการทดลองพบว่าอุณหภูมิหมักออก 90°C ให้ผลการทดลองที่ดีกว่าที่ 100°C เนื่องจากให้ค่า DI ต่ำกว่า นั่นคือการสลายตัวของสีแอนโทไซยานินที่ 90°C ต่ำกว่าที่ 100°C นอกจากนี้ พบว่าเมื่ออุณหภูมิหมักสูงมากกว่า 100°C จะทำให้สีแอนโทไซยานินที่ได้มีสีม่วงน้ำเงิน เนื่องจากแอนโทไซยานินเกิดการสลายตัว เมื่อเปรียบเทียบค่า DI ของสีจากทั้งสามแหล่ง พบว่าสีแอนโทไซยานินจากองุ่นมีค่า DI ต่ำที่สุดคือ 1.12 และสีแอนโทไซยานินจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงมีค่า DI เมื่อผ่านการทำแห้งสูงที่สุด คือ 1.26 และเมื่อตรวจสอบผลิตภัณฑ์สุดท้ายพบว่าสีแอนโทไซยานินจากองุ่นมีแอนโทไซยานิน 4.92 มิลลิกรัม/กรัม สีแอนโทไซยานินจาก cranberry มีแอนโทไซยานิน 1.97 มิลลิกรัม/กรัม และสีแอนโทไซยานินจากกลีบดอกกระเจี๊ยบมีแอนโทไซยานิน 0.65 มิลลิกรัม/กรัม

การทำแห้งแบบเยือกแข็ง Bronnum-Hansen และ Flink (1986) ได้ศึกษาการระเหยแบบสุญญากาศ ควบคู่กับการทำแห้งแอนโทไซยานินด้วยวิธีการทำแห้งแบบเยือกแข็ง โดยสกัดแอนโทไซยานินจากผล elderberry (*Sambucus nigra* L.) ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1 M จากนั้นนำมาทำเข้มข้นโดยระเหยแบบสุญญากาศที่ 125 torr 80 องศาเซลเซียส 10 นาที โดยแปรค่า pH เป็น 3 pH คือ 1 2 และ 3 แต่ละ pH ใส่ maltodextrin ความเข้มข้นร้อยละ 1 (%w/v) (DE 20) และไม่ใส่ maltodextrin ตรวจสอบปริมาณแอนโทไซยานิน และค่า degradation index (DI) ในสารละลายสกัด elderberry พบว่าเมื่อทำการระเหยแบบสุญญากาศแล้วสารละลายสกัดเข้มข้นที่มีค่า pH 1 pH 2 ทั้งที่ใส่และไม่ใส่ maltodextrin และ pH 3 ที่ใส่ maltodextrin มีค่าร้อยละของ retention anthocyanin ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่ที่ pH 3 ที่ไม่มี maltodextrin มีค่าร้อยละของ retention anthocyanin ต่ำที่สุดนั่นคือสูญเสียแอนโทไซยานินไปมากที่สุด จึงสรุปได้ว่าการทำเข้มข้นโดยการระเหยแบบสุญญากาศควรทำที่ pH ต่ำ และมี maltodextrin ด้วยเพื่อลดการสูญเสียแอนโทไซยานินไประหว่างการทำเข้มข้น และเมื่อพิจารณาผลของความเข้มข้นของสารละลายแอนโทไซยานิน โดยแปรความเข้มข้นของแอนโทไซยานินเป็น 650, 1275, 2400 และ 5000 มิลลิกรัม แอนโทไซยานินต่อลิตร โดยใส่ maltodextrin ความเข้มข้น 0, 2.5 และ 5.0% (w/v) ทั้งก่อนระเหยแบบสุญญากาศและใส่หลังระเหยแบบสุญญากาศ นำไปทำแห้งแบบเยือกแข็งตรวจสอบ retention anthocyanin และ hydrogen-ion retention ก่อนและหลังทำการระเหย และหลังการทำแห้งแบบเยือกแข็ง ตรวจโครงสร้างทางกายภาพเมื่อทำแห้งแบบเยือกแข็งแล้ว จากการทดลองพบว่าทุกตัวอย่างมีค่า anthocyanin retention สูงกว่า 90% และผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็งมีค่า anthocyanin retention สูงและค่านี้ไม่สัมพันธ์กับความเข้มข้นแอนโทไซยานินเริ่มต้น การทำแห้งแบบเยือกแข็งทำให้สูญเสีย hydrogen ion ทำให้ pH เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับ pH ของสารตั้งต้น แต่เมื่อใส่ maltodextrin ในสารละลายแอนโทไซยานินที่นำไปทำแห้งแบบ

เยือกแข็ง ค่า hydrogen-ion retention จะสูงขึ้นทำให้ pH ลดลง ดังนั้นโครงสร้างทางกายภาพของสีแอนโทไซยานินที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็งสัมพันธ์กับปริมาณ maltodextrin และความเข้มข้นแอนโทไซยานิน โดยเมื่อปริมาณ maltodextrin และความเข้มข้นแอนโทไซยานินเพิ่ม จะมีโครงสร้างทางกายภาพที่ดี โดยที่ความเข้มข้นแอนโทไซยานินสูงสุด (5000 mg Acy/litre) และมีปริมาณ maltodextrin 2.5% ให้โครงสร้างที่ดีที่สุด

maltodextrin เป็นผลิตภัณฑ์ซึ่งได้จากการไฮโดรไลซิสสตาร์ช โดยใช้ความร้อนและกรด หรือ เอนไซม์ 1,4- α -D-glucan glucano hydrolase หรือใช้ควบคู่กันทั้งกรดและเอนไซม์ ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการ hydrolysis ได้แก่ D-glucose maltose oligosaccharides และ polysaccharides ค่าช่วงของการไฮโดรไลซิสแสดงในเทอมของ Dextrose Equivalent (DE) โดยตรวจสอบจาก total reducing power ของน้ำตาลทั้งหมด กำหนดให้ glucose มีค่า DE เท่ากับ 100 โดยทั่วไป maltodextrin มีค่า DE ต่ำกว่า 20 และน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วงระหว่าง polysaccharides และ oligosaccharides สามารถละลายได้ในน้ำ ในอุตสาหกรรมอาหารมีการใช้ maltodextrin ในหลายหน้าที่ เช่น ใช้ใน salad dressing เพื่อทดแทนการใช้ไขมัน ในผลิตภัณฑ์ขนมหวานแช่แข็ง ใช้ maltodextrin ควบคู่กับ cellulose gum เพื่อป้องกันการเกิดผลึกน้ำแข็งขนาดใหญ่เมื่อทำการแช่เยือกแข็งผลิตภัณฑ์ และยังช่วยควบคุมการเกิดผลึกน้ำแข็ง อีกทั้งยังมีการใช้ maltodextrin เพื่อ encapsulate พวก flavor และสี คุณสมบัติที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษา และ เสถียรภาพของ maltodextrin คือ hygroscopicity จากการศึกษาคุณสมบัติการเกิด hygroscopicity ของ D-glucose polymer ชนิดต่างๆ พบว่าการดูดความชื้นจะเพิ่มเมื่อน้ำหนักโมเลกุลลดลง ซึ่งน้ำตาลที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงจะเกิดความชื้นสมดุลได้เร็วกว่า น้ำตาลที่มีโมเลกุลต่ำ ดังนั้น maltodextrin ซึ่งมีโมเลกุลขนาดใหญ่ จึงดูดความชื้นได้น้อย ทำให้ผลิตภัณฑ์มีค่า a_w ต่ำ (Chronakis, 1988)

2.4 เสถียรภาพของแอนโทไซยานิน

เนื่องจากแอนโทไซยานินเกิดการเปลี่ยนแปลง หรือสลายตัวได้ เนื่องจากความเป็นกรดต่าง (pH) อุณหภูมิ แสง กรดแอสคอร์บิก ออกซิเจน และโลหะ เป็นต้น จึงมีการเติมสารหลายชนิดลงในสีแอนโทไซยานินที่สกัดได้ โดยสารแต่ละชนิดให้ผลแตกต่างกัน เช่น

Maccarone, Maccarrone และ Rapisarda (1985) ศึกษาผลการใส่สารประกอบฟีนอลิก เพื่อรักษาเสถียรภาพของแอนโทไซยานินในน้ำส้ม โดยสารประกอบฟีนอลิกที่ใช้คือ rutin และ trans-caffeic acid ปริมาณ 50 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร พบว่าการใช้

trans-caffeic acid ทำให้ค่าครึ่งชีวิตของแอนโทไซยานินสูงกว่าเมื่อใช้ rutin โดยมีค่าครึ่งชีวิตเท่ากับ 90 และ 75 วันตามลำดับ

Lewis, Walker และ Lancaster (1995) ได้ศึกษาถึงผลของน้ำตาลและ polysaccharide ชนิดต่างๆ ต่อความเข้มข้นของแอนโทไซยานิน ชนิดของ polysaccharide ได้แก่ amylose amylopectin และ pectin ความเข้มข้น 1.5% (w/v) ใช้ alpha-cyclodextrin, beta-cyclodextrin และ polydextrose ความเข้มข้น 3% (w/v) น้ำตาล ได้แก่ sucrose, glucose, fructose, maltose ความเข้มข้น 50% (w/v) พบว่าการใช้น้ำตาลให้ผลดีกว่าการใช้ polysaccharide โดยความเข้มข้นของแอนโทไซยานินลดลงเมื่อผสมกับ amylose, amylopectin, alpha และ beta-cyclodextrin ขณะที่ maltose, glucose และ sucrose เพิ่มความเข้มข้นแอนโทไซยานิน

Trehalose เป็นน้ำตาลอีกชนิดที่น่าสนใจ เนื่องจากน้ำตาล trehalose เป็น non-reducing disaccharide จึงไม่เกิดปฏิกิริยา Maillard พบในแบคทีเรีย เห็ด น้ำผึ้ง สามารถใช้เป็น stabilizer สำหรับผลิตภัณฑ์โปรตีนระหว่างช่วงการแช่แข็งหรือการทำแห้ง (Ball, 2000) มีการใช้ trehalose ในผลิตภัณฑ์ขนมอบ ผลิตภัณฑ์สอได้ แต่งหน้าขนม

สำหรับในงานวิจัยนี้มีการใช้ maltodextrin และน้ำตาล trehalose เพื่อรักษาเสถียรภาพของสีแอนโทไซยานินในการทำแห้งแบบเยือกแข็ง และใช้ maltodextrin น้ำตาล trehalose sucrose และ glucose เพื่อรักษาเสถียรภาพของแอนโทไซยานินในสารละลาย สกัดเข้มข้น และศึกษาผลของการใช้ maltodextrin และน้ำตาล trehalose ต่อเสถียรภาพของสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งเมื่อผ่านการเก็บรักษา และศึกษาผลของการใช้ maltodextrin น้ำตาล trehalose sucrose และ glucose ต่อเสถียรภาพของสีแอนโทไซยานินทำเข้มข้นเมื่อผ่านการเก็บรักษา

2.5 สีแอนโทไซยานินที่ทางการค้า

แหล่งของแอนโทไซยานินที่นำมาผลิตเป็นสีแอนโทไซยานินทางการค้า ได้แก่ กากองุ่น, ผล elderberry, red cabbage, blood orange, sweetpotato, black chokeberry, beet และ amaranth จะเห็นได้ว่าแหล่งของแอนโทไซยานินมีมากมาย ซึ่งแต่ละแหล่งก็จะให้สีแตกต่างกันตามชนิดของแอนโทไซยานินในแหล่งนั้น

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้สีแอนโทไซยานินที่สกัดจาก red cabbage มาศึกษาเสถียรภาพใน model system ของน้ำหวานระหว่างกระบวนการเก็บรักษา เพื่อเปรียบเทียบกับสีแอนโทไซยานินจากกระเจี๊ยบแดง เนื่องจากแอนโทไซยานินทางการค้าที่สกัดจาก red cabbage ให้สีแดงอมชมพูซึ่งใกล้เคียงกับสีแอนโทไซยานินจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัสดุดิบ สารเคมี และอุปกรณ์

3.1.1 วัสดุดิบ

ทุกการทดลองใช้ดอกกระเจี๊ยบแดง ดอกกระเจี๊ยบแดง นำมาจากสวนที่อำเภอตาคลี จังหวัดนครสวรรค์ เก็บเกี่ยวในเดือนพฤศจิกายน 2544 นำมาเก็บรักษาโดยแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส

3.1.2 สารเคมี

Potassium chloride	AR. Grade (Merck)
Hydrochloric acid	AR. Grade (Merck)
Potassium hydrogen phthalate	AR. Grade (Merck)
Citric acid	AR. Grade (Merck)
Ethanol (95% (v/v))	food grade
Sodium acetate	AR. Grade (Merck)
Sucrose	AR. Grade (Merck)
Glucose	AR. Grade (Merck)
Trehalose	food grade
Potassium sulfite	AR. Grade (Merck)
Maltodextrin (DE=10-13)	food grade

(MALDEX 100) ได้รับความอนุเคราะห์จาก บริษัท อีสต์เอเชียติก (ประเทศไทย) จำกัด (มหาชน)

สีแอนโทไซยานิน (SAN RED RC[®]) food grade ได้รับความอนุเคราะห์จาก G.S. international Inc.

สีคาร์โมอีซิน (เลขที่ดัชนีสีที่ 14720) food grade

3.1.3 อุปกรณ์

เครื่องชั่งน้ำหนัก (Sartorius รุ่น 3100S)

Spectrophotometer (Perkin Elmer รุ่น Lambda25)

Blender (Philips รุ่น HR1841)

Refrigerated centrifuge (Thermo IEC รุ่น multi-RF)

Rotary evaporator (BUCHI รุ่น R-200)

Freeze drier (Heto รุ่น Dry Winner 8)

เครื่องวัดสี (Minolta รุ่น CR-310)

pH meter (Scott รุ่น CG825)

3.2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดแอนโทไซยานินจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง

3.2.1 การสกัดแอนโทไซยานินจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง

ขั้นตอนการสกัด ทำตามวิธีของ Tulyathan, Duangmal และ Thunpittayakul (1993) โดยเติมตัวทำละลาย 100 มิลลิลิตรในตัวอย่างหนัก 20 กรัม (SW) ที่ทราบน้ำหนักแน่นอน บดใน Waring blender ด้วยความเร็วสูงสุดนาน 20 วินาที เทตัวอย่างลงในขวดรูปชมพู่ ล้างภาชนะที่ใช้บดด้วยตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด 20 มิลลิลิตร ปิดภาชนะด้วยแผ่น aluminium foil เก็บไว้ในที่มืดนาน 30 นาที จากนั้นกรองด้วยผ้าขาวบาง และล้างกากที่ได้ด้วยตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด 20 มิลลิลิตร นำสารละลายสกัดที่ได้มากรองอีกครั้งด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 โดยอาศัยหลักการ suction วัดปริมาตรสารละลายที่กรองได้ทั้งหมด (TEV) บีบสารละลายที่กรองได้ (SV) ใส่ในขวดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร (DV) จากนั้นปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด เพื่อให้ค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วง 0.3-0.8 เก็บไว้ในที่มืดนาน 2 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดสมดุลของ forms ต่างๆ ของแอนโทไซยานิน จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (O.D.) ที่ความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดด้วยเครื่อง spectrophotometer

คำนวณปริมาณแอนโทไซยานินในสารละลายที่สกัดได้ตามสูตรที่ (3-1)

$$T_{Acy} = O.D. \times DV \times \frac{100}{SV} \times \frac{TEV}{SW} \times \frac{1}{E_{1CM}^{1\%}} \quad (3-1)$$

โดยที่

T_{Acy} มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมแอนโทไซยานินต่อ 100 กรัมกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง
 $E_{1CM}^{1\%}$ คือ ค่า Extinction coefficient ในที่นี้ใช้ค่า $E_{1CM}^{1\%}$ ของ delphinidin-3-glucoside ซึ่งมีค่าเท่ากับ 559 (Du และ Francis , 1973)

3.2.2 ศึกษาผลของ pH ของตัวทำละลายในการสกัด

สกัดแอนโทไซยานินจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง โดยใช้สารละลาย standard buffer (Dawson และคณะ, 1988) ในช่วง pH 1.0-4.5 เป็นตัวทำละลายในการสกัด แปร pH ของสารละลายเป็น 8 ระดับ ใช้ตัวทำละลายในการสกัดดังนี้

สารละลาย 0.2 M KCl - 0.2 M HCl buffer pH 1.0, 1.5 และ 2.2

สารละลาย 0.1 M Potassium hydrogen phthalate - 0.1 M HCl buffer
pH 2.5 และ 3.0

สารละลาย Citric acid – Na₂HPO₄ buffer pH 3.5, 4.0 และ 4.5

วิเคราะห์และประเมินผลเพื่อเลือกระดับ pH ของตัวทำละลายในการสกัดที่ให้ปริมาณแอนโทไซยานินสูงสุด ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test

3.2.3 ศึกษาผลของชนิดตัวทำละลายในการสกัด

สกัดแอนโทไซยานินจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงโดยใช้ตัวทำละลายที่ระดับ pH ที่เลือกได้จากข้อ 3.2.2 แปรชนิดตัวทำละลายในการสกัดเป็น 9 ชนิดดังนี้

น้ำกลั่น (pH 5.6) เป็น control

น้ำกลั่นซึ่งปรับ pH เป็น 2.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1 M

น้ำกลั่นซึ่งปรับ pH เป็น 2.5 ด้วยกรดซิตริกความเข้มข้น 0.1 M

น้ำกลั่น : เอทานอลความเข้มข้น 95% (v/v) (3:1) ปรับ pH เป็น 2.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1 M

น้ำกลั่น : เอทานอลความเข้มข้น 95% (v/v) (3:1) ปรับ pH เป็น 2.5 ด้วยกรดซิตริกความเข้มข้น 0.1 M

น้ำกลั่น : เอทานอลความเข้มข้น 95% (v/v) (1:1) ปรับ pH เป็น 2.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1 M

น้ำกลั่น : เอทานอลความเข้มข้น 95% (v/v) (1:1) ปรับ pH เป็น 2.5 ด้วยกรดซิตริกความเข้มข้น 0.1 M

เอทานอลความเข้มข้น 95% (v/v) ซึ่งปรับ pH เป็น 2.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1 M

เอทานอลความเข้มข้น 95% (v/v) ซึ่งปรับ pH เป็น 2.5 ด้วยกรดซิตริกความเข้มข้น 0.1 M

วิเคราะห์และประเมินผลเพื่อเลือกตัวทำละลายในการสกัดที่ให้ปริมาณแอนโทไซยานินในการสกัดสูงสุด วางแผนการทดลองแบบ CRD ทำการทดลอง 3 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test

3.2.4 ศึกษาผลของอัตราส่วนระหว่างปริมาณกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงกับตัวทำละลาย

สกัดแอนโทไซยานินจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงโดยวิธีการในข้อ 3.2.1 โดยใช้สารละลายที่เลือกได้จากข้อ 3.2.3 แปรอัตราส่วนระหว่างปริมาณกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงกับตัวทำละลายเป็น 4 ระดับคือ 1:1, 1:2, 1:4 และ 1:5 (w/v) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ CRD วิเคราะห์และประเมินผลเพื่อเลือกอัตราส่วนที่ให้ปริมาณแอนโทไซยานินในสารละลายสกัดในระดับสูงสุด เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

3.3 ศึกษาการทำแห้งแบบเยือกแข็งสารละลายสกัดแอนโทไซยานิน

3.3.1 ศึกษาชนิดของ stabilizer ที่เหมาะสมสำหรับการทำแห้งแอนโทไซยานินแบบเยือกแข็ง

เตรียมสารละลายสกัดแอนโทไซยานินจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงด้วยวิธีการในข้อ 3.2.1 โดยใช้สภาวะที่คัดเลือกจากข้อ 3.2.2-3.2.4 ดังนี้ ใช้สารละลายน้ำกลั่น : เอทานอลความเข้มข้น 95% (v/v) (1:1) ปรับ pH เป็น 2.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1 M เป็นตัวทำละลาย โดยอัตราส่วนระหว่างกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงกับตัวทำละลายเป็น 1 ต่อ 4 (w/v) กรองสารละลายที่สกัดได้ด้วยผ้ากรอง นำไปปั่นแยกกากด้วยเครื่อง Refrigerated centrifuge ที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำส่วนใสมาทำการศึกษาต่อไป

เลือกช่วง pH ที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินโดยวิธี pH differential ตามวิธีของ Fuleki และ Francis (1968b) โดยเปิดสารละลายสกัดแอนโทไซยานินที่ได้จากข้างต้น 8 มิลลิลิตร ใส่ในขวดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยสารละลาย standard buffer ที่แปร pH ของสารละลาย standard buffer 5 ระดับดังนี้

สารละลาย 0.2 M KCl - 0.2 M HCl pH 1.0 และ 2.0

สารละลาย 0.1 M Potassium hydrogen phthalate - 0.1 M HCl pH 3.0

สารละลาย 1.0 M CH₃COONa - 1.0 M HCl pH 4.0 และ 4.5

วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร เลือกสองค่า pH ที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงต่างกันมากที่สุดเพื่อใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานินโดยวิธี pH differential

จากนั้นเตรียมสารละลายสกัดแอนโทไซยานินจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงด้วยวิธีการเช่นเดียวกับข้างต้น เลือกชนิด stabilizer ที่เหมาะสมสำหรับเก็บรักษาสีแอนโทไซยานินที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็ง โดยนำสารละลายสกัดที่ได้มาใส่น้ำตาล

glucose, sucrose และ trehalose และ maltodextrin (DE=10-13) ความเข้มข้น 0, 2 และ 3% (w/v) นำไปทำแห้งแบบเยือกแข็งด้วยเครื่อง Freeze Drier ที่อุณหภูมิ -40°C ความดัน 0.01 hPa นำสีแอนโทไซยานินทำแห้งที่ได้ละลายด้วยตัวทำละลายน้ำกลั่น : เอทานอลความเข้มข้น 95% (v/v) (1:1) ปรับ pH เป็น 2.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1 M จากนั้นนำไปวัดปริมาณแอนโทไซยานินด้วยวิธี pH differential คำนวณร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือ (%relative anthocyanin) คุณลักษณะทางกายภาพและการละลายของผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการทำแห้ง เลือกชนิด stabilizer โดยคุณลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการทำแห้ง พิจารณาจากผลิตภัณฑ์ที่ได้แห้งไม่ดูความชื้นกลับ

จากผลการทดลอง พบว่าการใช้ trehalose และ maltodextrin ในสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งให้ผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะทางกายภาพที่ดี จึงใช้เฉพาะ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 2 และ 3% (w/v) เป็น stabilizer เปรียบเทียบกับ control คือสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งที่ไม่ใส่ stabilizer วิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินก่อนและหลังทำแห้งด้วยวิธี pH differential คำนวณร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือ และค่า Degradation Index (DI) ของสีแอนโทไซยานินหลังผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็ง วิเคราะห์ค่า total colour density (TCD) และวัดสีด้วยระบบ CIE $L^*a^*b^*$ (ใช้แหล่งกำเนิดแสง D_{65}) และคำนวณหาค่าความแตกต่างของสีทั้งหมด (ΔE^*) จากสูตร (3-2)

$$\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2} \quad (3-2)$$

โดยที่

ค่า ΔL^* = L^* ของตัวอย่างหลังทำแห้ง - L^* ของตัวอย่างก่อนทำแห้ง

ค่า Δa^* = a^* ของตัวอย่างหลังทำแห้ง - a^* ของตัวอย่างก่อนทำแห้ง

ค่า Δb^* = b^* ของตัวอย่างหลังทำแห้ง - b^* ของตัวอย่างก่อนทำแห้ง

วางแผนการทดลองแบบ Symmetric Factorial Design ขนาด 2x2 และทดลอง 2 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

3.3.2 ศึกษาเสถียรภาพของสีแอนโทไซยานินที่ได้จากการทำแห้งแบบเยือกแข็ง

โดยใช้ trehalose และ maltodextrin เป็น stabilizer

นำสารละลายสกัดแอนโทไซยานินจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงมาทำแห้งแบบเยือกแข็งตามสภาวะในข้อ 3.3.1 โดยใช้ maltodextrin และ trehalose ความเข้มข้น 2 และ 3 % (w/v) เป็น stabilizer เปรียบเทียบกับ control คือสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งที่ไม่ใส่ stabilizer เพื่อศึกษาเสถียรภาพของแอนโทไซยานิน

ที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็ง วัดค่า a_w ของสีแอนโทไซยานินผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็ง โดยเก็บสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งในถุงที่ได้ aluminium บรรจุแบบสุญญากาศ เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง สุ่มตัวอย่างมาวิเคราะห์ ดังต่อไปนี้ โดยสุ่มตัวอย่างมาวิเคราะห์ผล ทุกสัปดาห์เป็นเวลา 15 สัปดาห์

- ก. วิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินด้วยวิธี pH differential (Fuleki และ Francis, 1968b) (ภาคผนวก)
- ข. ปริมาณ ความเข้มสีทั้งหมด (Total Colour Density, TCD) (Somer, 1971; Spayd และ คณะ, 1984) (ภาคผนวก)
- ค. ปริมาณ สี Polymeric (Polymeric Colour, PC) (Somer, 1971; Spayd และ คณะ, 1984) (ภาคผนวก)
- ง. ค่า Degradation Index (DI) (Fuleki และ Francis, 1968b)
- จ. วัดสีระบบ CIE $L^*a^*b^*$ (ใช้แหล่งกำเนิดแสง D_{65}) และคำนวณหาค่า Chroma (C^*) และค่า hue angle (h°) จากสูตร (3-3) และ (3-4)

$$C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2} \quad (3-3)$$

$$h^\circ = \tan^{-1}(b^*/a^*) \quad (3-4)$$
- ฉ. ค่าครึ่งชีวิตของสีแอนโทไซยานินที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็ง (Ozkan, 2002)
- ช. ตรวจปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด ยีสต์ รา (ในวันแรกและวันสุดท้ายของการเก็บรักษา)

วางแผนการทดลองแบบ CRD ทำการทดลอง 2 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

3.4 ศึกษาการทำเข้มข้นสารละลายสกัดแอนโทไซยานิน

3.4.1 ศึกษาชนิดของ stabilizer ที่เหมาะสมสำหรับสีแอนโทไซยานินเข้มข้น

หาสภาวะในการทำเข้มข้นสารละลายสกัดแอนโทไซยานินจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง โดยเตรียมสารละลายสกัดแอนโทไซยานินจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงเช่นเดียวกับการเตรียมตัวอย่างสำหรับการทำแห้งสีแอนโทไซยานินแบบเยือกแข็ง ดังวิธีการในข้อ 3.3.1 จากนั้นนำส่วนใสมาทำเข้มข้นด้วยเครื่องทำเข้มข้นแบบสุญญากาศ (BUCHI, Rotavapor R-200) ที่สภาวะต่างๆ โดยแปรอุณหภูมิ 50, 55 และ 60 องศาเซลเซียส และเวลา 15 และ 30 นาที วัดปริมาณสารละลายสกัดแอนโทไซยานินหลังทำเข้มข้น และปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือด้วยวิธี pH differential วิเคราะห์และประเมินผลเพื่อเลือกสภาวะในการทำเข้มข้น โดยเลือกสภาวะ

ที่ให้สารละลายสกัดแอนโทไซยานินเข้มข้นขึ้น 3 เท่า และปริมาณแอนโทไซยานินในสารละลายสกัดที่ผ่านการทำเข้มข้นมีการสลายตัวต่ำ วางแผนการทดลองแบบ Asymmetric Factorial Design ขนาด 3x2 และทดลอง 2 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

จากนั้นนำสารละลายสกัดแอนโทไซยานิน (13.5 ° Brix) มาทำเข้มข้นด้วยเครื่องทำเข้มข้นแบบสุญญากาศ ใช้สภาวะที่เลือกมาจากการทดลองข้างต้น โดยใช้น้ำตาล glucose, sucrose และ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 2 และ 3% (w/v) เป็น stabilizer เปรียบเทียบกับ control คือสีแอนโทไซยานินทำเข้มข้นที่ไม่ใส่ stabilizer นำสีแอนโทไซยานินที่ผ่านการทำเข้มข้นมาวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินก่อนและหลังทำเข้มข้นด้วยวิธี pH differential นำค่าที่ได้ไปคำนวณร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือ และค่า DI ของสีแอนโทไซยานินหลังผ่านการทำเข้มข้น วิเคราะห์ค่า TCD และวัดสีด้วยระบบ CIE L*a*b* (ใช้แหล่งกำเนิดแสง D₆₅) และคำนวณหาค่าความแตกต่างของสีทั้งหมด (ΔE^*) วางแผนการทดลองแบบ Asymmetric Factorial Design ขนาด 4x2 และทดลอง 2 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

3.4.2 ศึกษาเสถียรภาพของสีแอนโทไซยานินที่ได้จากการทำเข้มข้นโดยใช้น้ำตาล glucose sucrose และ trehalose และ maltodextrin เป็น stabilizer

นำสารละลายสกัดแอนโทไซยานินมาทำเข้มข้นด้วยเครื่องทำเข้มข้นแบบสุญญากาศ โดยใช้น้ำตาล glucose, sucrose และ trehalose และ maltodextrin (DE=10-13) ความเข้มข้น 2 และ 3% (w/v) เป็น stabilizer เปรียบเทียบกับ control คือสีแอนโทไซยานินทำเข้มข้นที่ไม่ใส่ stabilizer ศึกษาเสถียรภาพของสีแอนโทไซยานินที่ผ่านการทำเข้มข้น โดยเก็บสีแอนโทไซยานินเข้มข้นในขวดแก้วสีชาขนาด 5 มิลลิลิตร ปิดด้วยฝาเกลียวพลาสติก มี head space 1.2 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิห้อง สุ่มตัวอย่างมาวิเคราะห์ทุกสัปดาห์ ตลอดเวลา 15 สัปดาห์ โดยวิเคราะห์ ดังข้อ ก-ข ในข้อ 3.3.2

วางแผนการทดลองแบบ CRD ทำการทดลอง 2 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range

3.5 ศึกษาการนำสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งมาใช้ใน model system ผลิตภัณฑ์น้ำหวาน

ทำน้ำหวานโดยใช้ส่วนผสม ดังนี้คือ น้ำตาลทราย 10%(w/v) กรดซิตริก 0.5% (w/v) และสี โดยใช้สี 3 ชนิดคือ สีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งที่คัดเลือกได้จาก ข้อ 3.3 ทั้งนี้แปรความเข้มข้นของสีเพื่อให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีสีใกล้เคียงกัน คือใช้สีที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็ง maltodextrin ความเข้มข้น 3% (w/v) เป็น stabilizer (0.1% w/v) สีแอนโทไซยานิน ทางการค้า (SAN RED RC[®]) 0.05%(w/v) ความเข้มข้นนี้บริษัทแนะนำให้ใช้ และสีสังเคราะห์ (คาร์โมอีซิน, ห้างเรียงตาง) 0.05%(w/v) ปริมาณที่กฎหมายกำหนดให้ใช้ จากนั้นพาสเจอร์น้ำหวานที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เวลา 20 นาที นำน้ำหวาน (pH 3.0) ที่เตรียมได้บรรจุใส่ขวดแก้วใสขนาด 180 มิลลิลิตร ปิดฝาเกลียวพลาสติก บรรจุขณะร้อน มี head space 1 มิลลิลิตร วางแผนการทดลองแบบ CRD ทำการทดลอง 2 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test สุ่มตัวอย่างมาวิเคราะห์ โดยวิเคราะห์ ดังข้อ ก-จ ข้อ 3.3.2

วิเคราะห์และประเมินผลทุกสัปดาห์เป็นเวลา 12 สัปดาห์ สุ่มตัวอย่างมาตรวจปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด และยีสต์ ราทุก 2 สัปดาห์ และประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสทางความชอบด้านสี และความชอบรวมต่อผลิตภัณฑ์น้ำหวาน โดยให้ผู้ทดสอบ 30 คน ประเมินคุณภาพทางความชอบด้านสีแดง และความชอบรวมของสีต่อน้ำหวานผสมสีทั้ง 3 ชนิด ทุก 4 สัปดาห์ระหว่างการเก็บรักษา ใช้การทดสอบแบบ Hedonic scale 9 ระดับ

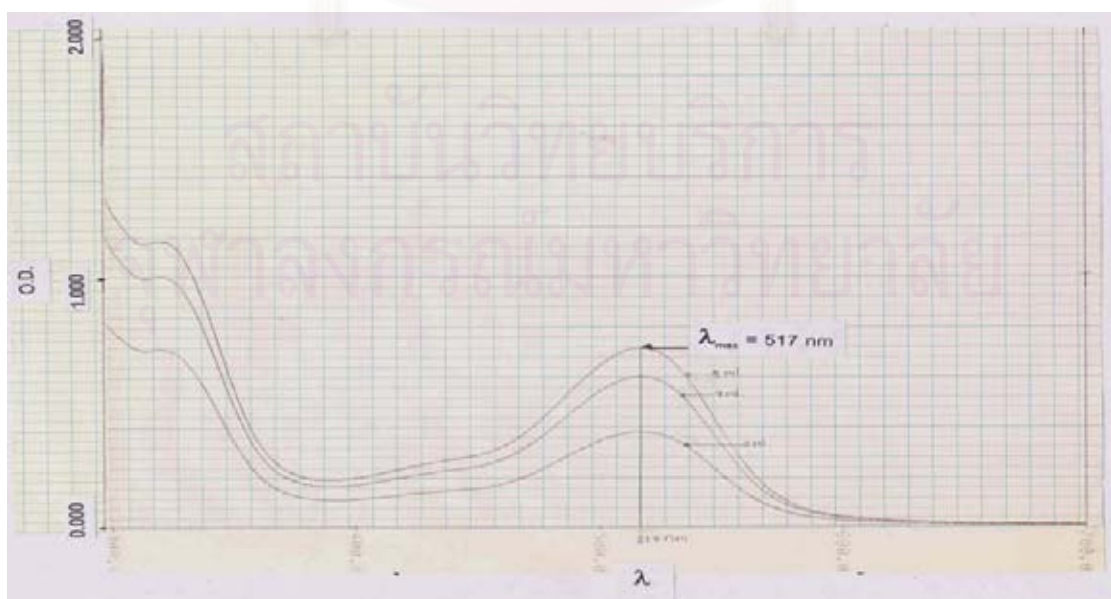
บทที่ 4

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 ศึกษาสภาวะในการสกัดแอนโทไซยานินจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง

4.1.1 การสกัดแอนโทไซยานินจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง

ในการทดลองใช้กลีบดอกกระเจี๊ยบแดงแช่เยือกแข็ง (-18°C) โดยค่าความชื้นประมาณ 86% ขั้นตอนการสกัด ดัดแปลงจากวิธีของ Tulyathan, Duangmal และ Thunpittayakul (1993) โดยเติมตัวทำละลาย 100 มิลลิลิตร ในตัวอย่างหนัก 20 กรัม (SW) ที่ทราบน้ำหนักแน่นอน บั่นใน Waring blender ด้วยความเร็วสูงสุดนาน 20 วินาที เทตัวอย่างลงในขวดรูปชมพู่ ล้างภาชนะที่ใช้บั่นด้วยตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด 20 มิลลิลิตร ปิดภาชนะด้วยแผ่น aluminium foil เก็บไว้ในที่มีदनาน 30 นาที จากนั้นกรองด้วยผ้าขาวบาง และล้างกากที่ได้ด้วยตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด 20 มิลลิลิตร นำสารละลายสกัดที่ได้มากรองอีกครั้งด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 โดยอาศัยหลักการ suction วัดปริมาตรสารละลายที่กรองได้ทั้งหมด (TEV) บีบอัดสารละลายที่กรองได้ (SV) ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร (DV) จากนั้นแปรปริมาตรสารละลายสกัดเป็น 5,7 และ 8 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด เพื่อให้ค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วง 0.3-0.8 เก็บไว้ในที่มีदनาน 2 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดสมดุลของ forms ต่างๆ ของแอนโทไซยานิน จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (O.D.) ที่ความยาวคลื่นในช่วง 300-700 นาโนเมตร เพื่อหาช่วงความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดในช่วง pH 1.0-4.5 แสดงผลดังรูปที่ 4.1



รูปที่ 4.1 Absorption spectrum ของสารละลายสกัดแอนโทไซยานิน

จากรูปที่ 4.1 พบว่าความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด คือ 517 นาโนเมตร ซึ่งค่าความยาวคลื่นที่ได้จะคงที่ ถึงแม้ปริมาณสารละลายสกัดจะเป็น 5,7 และ 8 มิลลิลิตร และการดูดกลืนแสงจะเพิ่มตามปริมาณสารละลายสกัด แต่ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดก็ยังมีค่าเดียว และค่าความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดนั้นยังขึ้นกับชนิดของแอนโทไซยานินด้วย ดังนั้นในการทดลองต่อไปจะวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร และค่า $E_{1\%}^{1\text{CM}}$ ของ delphinidin-3-glucoside ซึ่งมีค่าเท่ากับ 559 เพื่อใช้ในการคำนวณหาปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้ ค่า $E_{1\%}^{1\text{CM}}$ เป็นเพียง factor ซึ่งนำมาคำนวณปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้จะสามารถกำจัดความผิดพลาดจากการคำนวณออกไปได้ ในงานวิจัยนี้อ้างอิงค่า $E_{1\%}^{1\text{CM}}$ จาก Du และ Francis (1973) คำนวณปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดของกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง (*Hibiscus sabdariffa* L.) โดยใช้ค่า E ของ delphinidin-3-glucoside ซึ่งเป็นแอนโทไซยานินตัวหนึ่งในกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง มีค่า E เท่ากับ 559

4.1.2 ศึกษาผลของ pH ของตัวทำละลายในการสกัด

เนื่องจาก pH เป็นปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการสกัด ดังนั้นจึงศึกษาผลของ pH ของตัวทำละลายในการสกัดต่อปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้จากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง โดยใช้สารละลาย standard buffer ในช่วง pH 1.0-4.5 เป็นตัวทำละลายในการสกัดและใช้วิธีการสกัดดังข้อ 4.1.1 ผลแสดงดังตารางที่ 4.1 และรูปที่ 4.2 จากตารางที่ 4.1 จะเห็นว่าไม่ว่าจะใช้หรือไม่ใช้ $E_{1\%}^{1\text{CM}}$ ผลที่ได้มีแนวโน้มเหมือนกัน ทั้งนี้เนื่องจากค่า $E_{1\%}^{1\text{CM}}$ เป็นพจน์ที่ใช้คูณเข้าไปในการหาค่าปริมาณแอนโทไซยานิน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

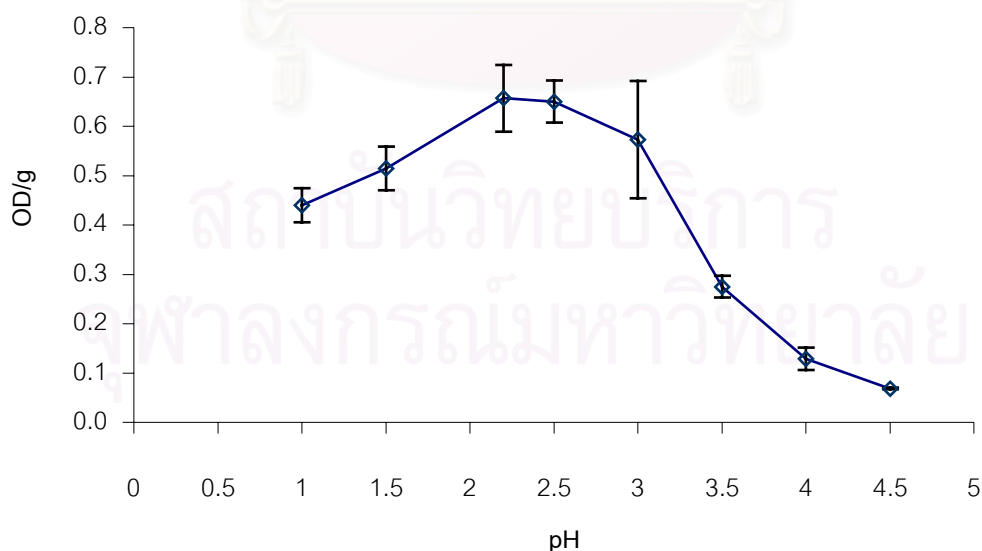
ตารางที่ 4.1 ผลของ pH ของตัวทำละลายในการสกัดต่อปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้

pH	O.D.* /g sample	ปริมาณแอนโทไซยานิน** (มิลลิกรัม delphinidin-3- glucoside ต่อ 100 กรัม กลีบ ดอกกระเจี๊ยบแดง)	ร้อยละปริมาณ แอนโทไซยานิน ที่สกัดได้
1.0	0.440 ^c ± 0.035	78.676 ^c ± 6.234	66.96 ^c ± 5.31
1.5	0.515 ^{bc} ± 0.044	92.054 ^{bc} ± 7.870	78.35 ^{bc} ± 6.70
2.2	0.657 ^a ± 0.067	117.490 ^a ± 12.658	100.00 ^a ± 10.26
2.5	0.650 ^a ± 0.119	116.241 ^a ± 7.657	98.94 ^a ± 6.52
3.0	0.573 ^{ab} ± 0.043	102.450 ^{ab} ± 21.332	87.20 ^{ab} ± 18.15
3.5	0.275 ^d ± 0.022	49.144 ^d ± 3.967	41.83 ^d ± 3.38
4.0	0.129 ^e ± 0.022	23.010 ^e ± 4.031	19.58 ^c ± 3.43
4.5	0.068 ^e ± 0.002	12.229 ^e ± 0.301	10.41 ^c ± 0.26

* วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

** ใช้ E_{1%^{1CM}} ของ delphinidin-3-glucoside ซึ่งมีค่าเท่ากับ 559 (Du และ Francis, 1973)

ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับ (a,b,c ...) ต่างกัน ในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.2 ผลของ pH ของตัวทำละลายในการสกัดต่อปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้

จากผลการทดลอง (ตารางที่ 4.1 และรูปที่ 4.2) แสดงให้เห็นว่า pH ของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดมีผลต่อปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้ โดยปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้ที่ pH ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 4.2 และ 4.3) และเมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้โดยวิธี Duncan's new multiple range test พบว่าตัวทำละลายที่ระดับ pH 2.2 มีประสิทธิภาพในการสกัดแอนโทไซยานินดีที่สุด แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับค่าที่สกัดได้โดยใช้ตัวทำละลายที่ระดับ pH 2.5 และ 3.0 ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 จากกราฟรูปที่ 4.2 พบว่าเมื่อ pH ของตัวทำละลายสูงขึ้น ปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้จะสูงขึ้น แต่เมื่อ pH ของตัวทำละลายสูงกว่า 3.0 ปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้จะลดลง ผลการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัยของ Bronnum-Hansen และ Flink (1986) ศึกษาถึง pH ของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด elderberry ว่ามีผลต่อปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้ โดยใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริกในเอทานอลในช่วง pH 1-3 พบว่าใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริกในเอทานอลที่ระดับ pH 1.5 มีประสิทธิภาพในการสกัดสูงสุด และเมื่อ pH เพิ่มขึ้นปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้จะลดลง

งานของ Tulyathan, Duangmal และ Thunpittayakul (1993) ให้ผลทำนองเดียวกันคือ ในการสกัดแอนโทไซยานินจะมีค่า pH ที่ให้ประสิทธิภาพในการสกัดสูงสุดแค่ pH เดียว ถ้าค่า pH เปลี่ยนแปลง โดยเพิ่มขึ้นหรือลดลงปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้ก็จะลดลง ดังนั้นในงานวิจัยของ Tulyathan, Duangmal และ Thunpittayakul (1993) เมื่อทำการสกัดแอนโทไซยานินจากดอกอัญชัน โดยแปร pH เป็น 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0 และ 5.5 จึงพบว่าค่า pH ที่ให้ปริมาณแอนโทไซยานินสูงที่สุดที่ pH 4.5 Abdel - Aal และ Hucl (1999) สกัดแอนโทไซยานินจาก blue และ purple wheat ด้วยเอทานอล และแปร pH ของตัวทำละลายเป็น pH 1.0-pH 8.0 พบว่าเมื่อค่า pH ของตัวทำละลายในการสกัดเพิ่มขึ้นจาก pH 1.0 ถึง 4.5 ปริมาณแอนโทไซยานินลดลงถึง 94% และที่ค่า pH 1.0 มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด

ตารางที่ 4.2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของ pH ของตัวทำละลายในการสกัดต่อค่าการดูดกลืนแสงต่อกรัมกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง

Source of variance	df	MS
pH	7	0.159*
Error	16	3.970×10^{-3}

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4.3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของ pH ของตัวทำละลายในการสกัดต่อปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้

Source of variance	df	MS
pH	7	5085.526*
Error	16	98.997

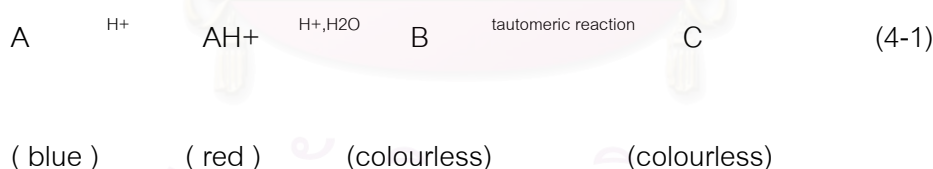
* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4.4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของ pH ของตัวทำละลายในการสกัดต่อร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้

Source of variance	df	MS
pH	7	3684.154*
Error	16	71.718

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

การที่ pH ของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดมีผลต่อปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้ เนื่องจากสภาวะที่สารละลายเป็นกรด โครงสร้างของแอนโทไซยานินจะอยู่ในสมดุล 4 รูป คือ flavylium cation (AH^+) , quinonoidal anhydrobase (A) , carbinol pseudobase (B) และ chalcone (C) (Brouillard และ Delaport, 1977) ดังแสดงในสมการที่ (4-1)



ในสภาวะที่สารละลายมี pH ต่ำ แอนโทไซยานินจะอยู่ในรูป flavylium cation (AH^+) ซึ่งทำให้สารละลายมีสีแดง แต่เมื่อ pH เพิ่มขึ้นในช่วง 5-12 จะเกิดการเปลี่ยนรูปของ flavylium cation (AH^+) ไปอยู่ใน form ที่ไม่ให้สีแดง ทำให้ความเข้มข้นของ flavylium cation (AH^+) ในสารละลายลดลง (Brouillard, 1982) เช่นเดียวกับตัวทำละลายที่ระดับ pH 2.2 แอนโทไซยานินอยู่ในรูปที่ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร แต่เมื่อ pH เพิ่มขึ้นหรือลดลงจาก 2.2 จะเกิดการเลื่อนสมดุลทำให้ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรลดลง ดังนั้นปริมาณแอนโทไซยานินในรูปของ

flavylium cation ที่คำนวณได้จึงลดลง จากผลการทดลองพบว่าสีของสารละลาย แอนโทไซยานินที่สกัดได้จะมีสีน้ำเงินม่วงเมื่อค่า pH เพิ่มขึ้น

ในการทดลองขั้นต่อไปเลือกใช้สารละลายกรด pH 2.5 เป็นตัวทำละลาย ในการสกัด เนื่องจากระดับ pH ที่ให้ปริมาณแอนโทไซยานินในการสกัดไม่แตกต่างกันอย่าง มีนัยสำคัญเมื่อใช้สารละลายกรด pH 2.2 ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 95 ซึ่งเป็น pH ที่ให้ปริมาณ แอนโทไซยานินในสารสกัดสูงสุด และ pH 2.5 นี้ไม่เป็นกรดมากเกินไป และการใช้ pH ที่ต่ำเกินไป อาจมีผลต่อการสลายตัวของแอนโทไซยานิน

4.1.3 ศึกษาผลของชนิดตัวทำละลายในการสกัด

สกัดแอนโทไซยานินจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง โดยใช้สภาวะตามข้อ

4.1.1 เลือก pH ของตัวทำละลายจากข้อ 4.1.2 คือ pH 2.5 ปรับ pH ด้วยกรดไฮโดรคลอริก หรือกรดซิตริก เมื่อพิจารณาถึงชนิดของกรดทั้งสองชนิด ที่ใช้ในการปรับ pH ของตัวทำละลาย พบว่ากรดไฮโดรคลอริกสามารถใช้ปรับ pH ของอาหารได้ ขณะที่กรดซิตริกเองก็มีการใช้ เพื่อปรับ pH ของผลิตภัณฑ์อาหารประเภท เครื่องดื่ม แยม และเยลลี่อยู่แล้ว เพราะฉะนั้น จึงสามารถใช้กรดทั้ง 2 ชนิดในการปรับ pH ตัวทำละลายได้ จากนั้นแปรชนิดตัวทำละลาย ในการสกัดเป็น 9 ชนิดดังนี้

น้ำกลั่น (pH 5.6) เป็น control

น้ำกลั่นซึ่งปรับ pH เป็น 2.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1 M

น้ำกลั่นซึ่งปรับ pH เป็น 2.5 ด้วยกรดซิตริกความเข้มข้น 0.1 M

น้ำกลั่น : เอทานอลความเข้มข้น 95% (v/v) (3:1) ปรับ pH เป็น 2.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 0.1 M

น้ำกลั่น : เอทานอลความเข้มข้น 95% (v/v) (3:1) ปรับ pH เป็น 2.5 ด้วยกรดซิตริก ความเข้มข้น 0.1 M

น้ำกลั่น : เอทานอลความเข้มข้น 95% (v/v) (1:1) ปรับ pH เป็น 2.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 0.1 M

น้ำกลั่น : เอทานอลความเข้มข้น 95% (v/v) (1:1) ปรับ pH เป็น 2.5 ด้วยกรดซิตริก ความเข้มข้น 0.1 M

เอทานอลความเข้มข้น 95% (v/v) ซึ่งปรับ pH เป็น 2.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1 M

เอทานอลความเข้มข้น 95% (v/v) ซึ่งปรับ pH เป็น 2.5 ด้วยกรดซิตริกความเข้มข้น 0.1 M

ผลของชนิดตัวทำละลายที่ใช้ต่อปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้จาก กลีบดอกกระเจี๊ยบแดง แสดงดังตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ผลของชนิดตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดแอนโทไซยานินจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง

ตัวทำละลาย	O.D*./g sample	ปริมาณแอนโทไซยานิน** (มิลลิกรัม delphinidin-3-glucoside ต่อ 100 กรัม กลีบดอกกระเจี๊ยบแดง)
น้ำกลั่น (pH 5.6)	0.407 ^c ± 0.024	72.732 ^c ± 4.325
น้ำซึ่งปรับ pH ด้วยกรดไฮโดรคลอริก	0.7314 ^b ± 0.087	131.331 ^b ± 15.513
น้ำซึ่งปรับ pH ด้วยกรดซิตริก	0.684 ^b ± 0.089	122.509 ^b ± 15.864
น้ำ : เอทานอล (3:1) ซึ่งปรับ pH ด้วยกรดไฮโดรคลอริก	0.753 ^b ± 0.058	134.704 ^b ± 10.400
น้ำ : เอทานอล (3:1) ซึ่งปรับ pH ด้วยกรดซิตริก	0.690 ^b ± 0.062	123.136 ^b ± 10.851
น้ำ : เอทานอล (1:1) ซึ่งปรับ pH ด้วยกรดไฮโดรคลอริก	0.995 ^a ± 0.108	177.950 ^a ± 19.239
น้ำ : เอทานอล (1:1) ซึ่งปรับ pH ด้วยกรดซิตริก	0.765 ^b ± 0.091	136.197 ^b ± 16.950
เอทานอลซึ่งปรับ pH ด้วยกรดไฮโดรคลอริก	1.041 ^a ± 0.032	187.016 ^a ± 7.067
เอทานอลซึ่งปรับ pH ด้วยกรดซิตริก	1.091 ^a ± 0.096	195.792 ^a ± 17.250

* วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

** ใช้ E_{1CM}^{1%} ของ delphinidin-3-glucoside ซึ่งมีค่าเท่ากับ 559 (Du และ Francis , 1973)

ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับ (a,b,c ...) ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เมื่อใช้สารละลายทั้ง 9 ชนิดในการสกัด พบว่าสารละลายสกัดที่ได้ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร แต่ค่าการดูดกลืนแสงต่างกัน เนื่องจากความสามารถในการสกัดของสารละลายแต่ละชนิดต่างกัน เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติ โดยเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้โดยวิธี Duncan's new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 4.6 และ 4.7) พบว่าชนิดของตัวทำละลายในการสกัดมีผลต่อปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้ โดยเมื่อใช้น้ำกลั่น (control) เป็นตัวทำละลายในการสกัดปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้จะต่ำกว่าตัวทำละลายอื่น เนื่องจาก pH ของน้ำกลั่นค่อนข้างเป็นกลาง ซึ่งในช่วง pH 5.6 แอนโทไซยานินจะอยู่ในรูป quinonoidal base ซึ่งมีสีม่วง ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ 517 นาโนเมตรลดลง (Brouillard, 1982)

ในการทดลองแบ่งตัวทำละลายเป็น 3 กลุ่ม ดังนี้ กลุ่มที่ 1 คือน้ำกลั่นซึ่งปรับ pH เป็น 2.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก และกรดซิตริก กลุ่มที่ 2 คือน้ำกลั่นต่อเอทานอลที่อัตราส่วนต่างๆ ซึ่งปรับ pH เป็น 2.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก และกรดซิตริก และกลุ่มที่ 3 คือเอทานอลซึ่งปรับ pH เป็น 2.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก และกรดซิตริก

จากตารางที่ 4.5 จะเห็นได้ว่าเมื่อเพิ่มปริมาณเอทานอลประสิทธิภาพในการสกัดแอนโทไซยานินจะเพิ่มขึ้น เนื่องจากสารละลายที่ใช้เป็นตัวทำละลายในการสกัดมี pH 2.5 เท่ากันจำนวนไฮโดรเจนไอออนในตัวทำละลายจึงควรเท่ากัน ดังนั้นประสิทธิภาพการสกัดจึงขึ้นกับความสามารถในการละลายของแอนโทไซยานิน ซึ่งแอนโทไซยานินมีคุณสมบัติสามารถละลายได้ในตัวทำละลายมีขั้ว และในตัวทำละลายอินทรีย์ ถึงแม้ว่าน้ำจะเป็นตัวทำละลายที่มีความเข้มข้นสูงกว่าเอทานอล แต่เนื่องจากแอนโทไซยานินมีโมเลกุลขนาดใหญ่ และมีประจุบวกเพียงตำแหน่งเดียว เอทานอลซึ่งมีคุณสมบัติเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ และมีขั้วด้วยจึงสามารถละลายแอนโทไซยานินได้มากกว่าน้ำ นอกจากนี้เมื่อเพิ่มปริมาณเอทานอลจะยังผลให้ประสิทธิภาพในการสกัดเพิ่มขึ้น

จากผลการทดลองพบว่าตัวทำละลายในกลุ่มที่ 1 คือน้ำกลั่นซึ่งปรับ pH เป็น 2.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก และกรดซิตริก ให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ส่วนตัวทำละลายในกลุ่มที่ 3 คือเอทานอลซึ่งปรับ pH เป็น 2.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก และกรดซิตริก ก็ให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 จะเห็นได้ว่าการใช้กรดอินทรีย์ หรือกรดอนินทรีย์ ในการสกัดก็ให้ผลไม่แตกต่างกัน ทั้งนี้เนื่องมาจากงานวิจัยนี้ได้ปรับ pH ของตัวทำละลายเป็น 2.5 เท่ากัน ดังนั้นประสิทธิภาพในการสกัดแอนโทไซยานินจึงขึ้นกับชนิดของตัวทำละลายมากกว่าชนิดกรดซึ่งแตกต่างจากงานวิจัยของ Metivier, Francis และ Clydesdale (1980) ศึกษาชนิดของตัวทำละลาย และชนิดของกรดในการสกัดแอนโทไซยานินจากกากองุ่นที่เป็นผลพลอยได้จากการผลิตไวน์ ตัวทำละลายที่ใช้คือ เอทานอล เมทานอล และน้ำ กรดที่ใช้ 6 ชนิดคือ ไฮโดรคลอริก ซิตริก ทาทาริก ฟอรั่มิค อะซิติกและโพธิ์ไออนิก จากการศึกษาพบว่า เมทานอลเป็นตัวทำละลายที่ดีที่สุด โดยมีประสิทธิภาพในการสกัดสูงกว่า เอทานอล และน้ำ ร้อยละ 20 และร้อยละ 73 ตามลำดับ ชนิดของกรดที่ใช้พบว่าไฮโดรคลอริกมีประสิทธิภาพในการสกัดสูงสุดที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 ในเมทานอล ส่วนกรดอินทรีย์ที่ใช้ พบว่ากรดซิตริกร้อยละ 5 ในเมทานอล และกรดอะซิติกร้อยละ 30 ในน้ำมีประสิทธิภาพสูงสุด แต่ทั้งนี้ในงานวิจัยของ Metivier, Francis และ Clydesdale (1980) ไม่ได้ปรับ pH ของตัวทำละลายให้เท่ากัน แต่ดูชนิดของกรดเพียงอย่างเดียว เนื่องจาก pH ก็มีผลต่อประสิทธิภาพในการสกัดด้วย ในงานวิจัยนี้จึง

ปรับ pH ของตัวทำละลายก่อนทำให้ผลที่ได้ขัดแย้งกับงานวิจัยของ Metivier, Francis และ Clydesdale (1980)

แต่ในกลุ่มที่ 2 พบว่าสารละลายน้ำต่อเอทานอล (1:1) ซึ่งปรับ pH เป็น 2.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกให้ผลแตกต่างกับสารละลายในกลุ่มเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ตัวทำละลายที่มีประสิทธิภาพสูงสุดคือ เอทานอลซึ่งปรับ pH เป็น 2.5 ด้วยกรดซิตริก แต่อย่างไรก็ตามผลที่ได้จากการทดลอง พบว่าเมื่อเปรียบเทียบกับค่าที่สกัดได้โดยใช้ เอทานอลซึ่งปรับ pH เป็น 2.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก และน้ำ : เอทานอล (1:1) ปรับ pH เป็น 2.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกจะไม่มี ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากตัวทำละลาย น้ำ : เอทานอล (1:1) ปรับ pH เป็น 2.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก มีผลจากความมีขี้และชนิดของกรดด้วยจึงทำให้ประสิทธิภาพในการสกัดแอนโทไซยานินสูงกว่าจากตัวทำละลายในกลุ่มเดียวกัน

ในการเลือกชนิดตัวทำละลายยังต้องคำนึงถึงต้นทุนในการผลิตด้วย ถึงแม้ว่าตัวทำละลายคือ เอทานอลซึ่งปรับ pH เป็น 2.5 ด้วยกรดซิตริก จะให้ประสิทธิภาพในการสกัดแอนโทไซยานินสูงที่สุด แต่การใช้เอทานอลเพียงอย่างเดียวทำให้ต้นทุนในการผลิตสูง และเมื่อเปรียบเทียบกับค่าที่สกัดได้โดยใช้ตัวทำละลาย น้ำ : เอทานอล (1:1) ปรับ pH เป็น 2.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกก็ไม่มี ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และยังทำให้ต้นทุนในการผลิตถูกลงด้วย ดังนั้นการทดลองขั้นต่อไป จะใช้น้ำ : เอทานอล (1:1) ปรับ pH เป็น 2.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเป็นตัวทำละลาย

ตารางที่ 4.6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของชนิดตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดต่อค่าการดูดกลืนแสงต่อกรัมของกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง

Source of variance	df	MS
solvent	8	0.111*
Error	18	6.608×10^{-3}

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4.7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของชนิดตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดต่อปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้

Source of variance	df	MS
solvent	8	3568.307*
Error	18	215.399

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4.1.4 ศึกษาผลของอัตราส่วนระหว่างปริมาณกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงกับตัวทำละลาย

ปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้เมื่อแปรอัตราส่วนระหว่างปริมาณกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงกับตัวทำละลายเป็น 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 และ 1:5 (w/v) ตามลำดับโดยใช้สารละลาย น้ำกลั่นต่อเอทานอล (1:1) ปรับ pH เป็น 2.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเป็นตัวทำละลายในการสกัด แสดงผลดังตารางที่ 4.8

ตารางที่ 4.8 ผลของอัตราส่วนระหว่างปริมาณกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงกับตัวทำละลายที่มีต่อปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้

อัตราส่วนระหว่าง กลีบดอกกระเจี๊ยบแดง : ตัวทำละลาย (w/v)	O.D.*/g sample	ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด** (มิลลิกรัม delphinidin-3-glucoside ต่อ 100 กรัมกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง)
1:1	0.525 ^d ± 0.043	99.138 ^d ± 7.650
1:2	0.805 ^c ± 0.062	143.981 ^c ± 11.007
1:3	0.882 ^{bc} ± 0.014	157.803 ^{bc} ± 2.623
1:4	0.979 ^{ab} ± 0.043	175.059 ^{ab} ± 7.743
1:5	1.019 ^a ± 0.018	182.194 ^a ± 14.479

* วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

** ใช้ E_{1%¹CM} ของ delphinidin-3-glucoside ซึ่งมีค่าเท่ากับ 559 (Du และ Francis , 1973)

ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับ (a,b,c ...) ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าอัตราส่วนระหว่างปริมาณกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงกับตัวทำละลายมีผลต่อปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้ โดยปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 4.8) เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (ตารางที่ 4.9 และ 4.10) พบว่าอัตราส่วนที่ให้ประสิทธิภาพในการสกัดสูงสุดคือ อัตราส่วนระหว่างปริมาณกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงต่อตัวทำละลายเท่ากับ 1:5 แต่ค่าที่ได้ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับค่าที่สกัดได้โดยใช้อัตราส่วนระหว่างกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงกับตัวทำละลายลดลงจาก 1:5 เป็น 1:4 เมื่ออัตราส่วนระหว่างกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงกับตัวทำละลายเป็น 1:3, 1:2 และ 1:1 ปริมาณแอนโทไซยานินในสารสกัดจะลดลง ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณกลีบดอก

กระเจี๊ยบแดงที่เพิ่มขึ้นทำให้ตัวทำละลายในการสกัดมีปริมาณไม่เพียงพอที่จะสกัดแอนโทไซยานินออกได้หมด

โดยผลการทดลองสอดคล้องกับการทดลองของ Bronnum-Hansen และ Flink (1986) ซึ่งสกัดแอนโทไซยานินจากกาก elderberry โดยใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1 M ในเอทานอล แปรอัตราส่วนของตัวทำละลายต่อกากเป็น 40:1, 20:1, 10:1, 5:1 และ 2.5:1(V/W) พบว่าเมื่ออัตราส่วนของตัวทำละลายต่อกาก elderberry ลดลงปริมาณแอนโทไซยานินจะลดลงด้วย เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Abdel-Aal และ Hucl (1999) ทำการสกัดแอนโทไซยานินจากข้าวสาลี 2 พันธุ์ คือ blue และ purple wheat วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายสกัดที่ความยาวคลื่น 535 นาโนเมตร พบว่าเมื่ออัตราส่วนระหว่างสารละลายต่อตัวอย่างมีค่าเพิ่มขึ้นจาก 3 : 1 เป็น 8 : 1 ค่าการดูดกลืนแสงจะเพิ่มขึ้นด้วย แสดงว่าอัตราส่วนระหว่างตัวทำละลายต่อตัวอย่างจะเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดแอนโทไซยานิน

ดังนั้นอัตราส่วนที่เหมาะสมที่จะใช้ในการทดลองขั้นต่อไปเลือกใช้ อัตราส่วนระหว่างปริมาณกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงต่อตัวทำละลายเป็น 1:4 เนื่องจากใช้ปริมาณตัวทำละลายน้อยกว่า โดยในการสกัดแอนโทไซยานินจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง 20 กรัม อัตราส่วนระหว่างปริมาณกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงต่อตัวทำละลายเป็น 1:4 จะใช้ตัวทำละลายน้อยกว่าการใช้อัตราส่วน 1:5 ถึง 20 มิลลิลิตร แต่ให้ปริมาณแอนโทไซยานินไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อวัดค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (Total Soluble Solid, TSS) ในสารละลายสกัดแอนโทไซยานินที่ใช้อัตราส่วนระหว่างปริมาณกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงต่อตัวทำละลายเป็น 1:4 ได้ TSS เป็น 13.5 °Brix

ในการทดลองขั้นต่อไปจึงใช้น้ำกลั่นต่อเอทานอล (1:1) ปรับ pH เป็น 2.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก และอัตราส่วนระหว่างปริมาณกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงต่อตัวทำละลายเป็น 1:4 เป็นสภาวะในการสกัดแอนโทไซยานินจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง

ตารางที่ 4.9 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของอัตราส่วนระหว่างปริมาณกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงกับตัวทำละลายที่มีต่อกรัมของกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง

Source of variance	df	MS
อัตราส่วน	4	0.115*
Error	10	2.841x 10 ⁻³

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4.10 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของอัตราส่วนระหว่างปริมาณ
กลีบดอกกระเจี๊ยบแดงกับตัวทำละลายที่มีต่อปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้

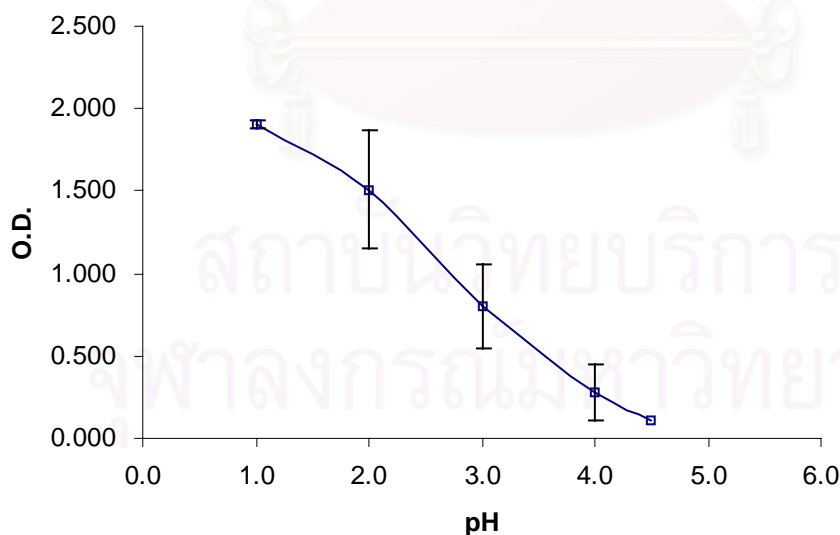
Source of variance	df	MS
อัตราส่วน	4	3251.350*
Error	10	79.840

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4.2 ศึกษาการทำแห้งแบบเยือกแข็งสารละลายสกัดแอนโทไซยานิน

4.2.1 ศึกษาชนิดของ stabilizer ที่เหมาะสมสำหรับสีแอนโทไซยานินแห้งแบบเยือกแข็ง

ในการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินนิยมใช้วิธี pH differential ตามวิธีของ Fuleki และ Francis (1968b) เพราะสามารถกำจัดค่าการดูดกลืนแสงเนื่องจากสาร polymer ที่เกิดจากการสลายตัวของแอนโทไซยานิน ดังนั้นจึงพิจารณาเลือกค่า pH ที่เหมาะสมสองค่าก่อน โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายสกัดแอนโทไซยานินที่มีความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ซึ่งเป็นค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารละลายสกัดแอนโทไซยานินจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง ดังผลการทดลองในข้อ 4.1.1 ในสารละลายบัฟเฟอร์ในช่วง pH 1-4.5 ผลการทดลองแสดงดังในรูปที่ 4.3



รูปที่ 4.3 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายสกัดแอนโทไซยานินที่มีความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร
ในช่วง pH 1-4.5

จากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายสกัดแอนโทไซยานินในช่วง pH 1.0-4.5 พบว่าค่า pH ที่ควรเลือกใช้สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินคือ pH 1.0 และ pH 4.5 เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Tulyathan, Daungmal และ Thunpittayakul (1994) ซึ่งวิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานินในสารละลายสกัดดอกอัญชันด้วยวิธี pH differential เนื่องจากที่ค่า pH ทั้งสอง ให้ค่าการดูดกลืนแสงที่สูงสุดและต่ำที่สุด ส่งผลให้ค่าการดูดกลืนแสงดังกล่าวต่างกันมากที่สุด อีกทั้งค่าการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรดต่างรอบ ๆ ค่า pH ดังกล่าวไม่ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงเปลี่ยนแปลงมากนัก

ดังนั้นเลือก pH 1.0 และ pH 4.5 สำหรับวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินโดยวิธี pH differential ในการหาปริมาณแอนโทไซยานินในกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง

จากนั้นเตรียมสารละลายสกัดแอนโทไซยานินจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงด้วยวิธีการในข้อ 3.2.1 เพื่อศึกษาชนิดน้ำตาลและ maltodextrin ที่จะใช้เป็น stabilizer ในสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็ง นำสารละลายสกัดที่ได้มาเติมน้ำตาล glucose, sucrose และ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 2 และ 3% (w/v) นำไปทำแห้งแบบเยือกแข็งด้วยเครื่อง freeze drier นำสีแอนโทไซยานินที่ได้มาวิเคราะห์ร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือ (% retention anthocyanin) ลักษณะทางกายภาพและการละลายของผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็ง ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.11

จากตารางที่ 4.11 พบว่าชนิดของน้ำตาลและ maltodextrin ที่ความเข้มข้นต่างกัน มีผลต่อร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือ ลักษณะทางกายภาพ และการละลายของผลิตภัณฑ์ โดยสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งที่เติม maltodextrin และ trehalose จะแห้งไม่เกาะติดภาชนะ ในขณะที่การเติมน้ำตาล glucose และ sucrose กลับพบว่าผลิตภัณฑ์จะดูดความชื้นกลับ และเกาะติดภาชนะ เนื่องจากน้ำตาลทั้งสองชนิดนี้มีคุณสมบัติ hygroscopic ด้วยเหตุนี้น้ำตาลทั้งสองชนิดดังกล่าวจึงไม่เหมาะที่จะนำมาใช้เป็น stabilizer ในสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็ง ดังนั้นจึงเลือกใช้ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 2 และ 3 % (w/v) เป็น stabilizer ในการทำสีแอนโทไซยานินแห้งแบบเยือกแข็ง

ตารางที่ 4.11 ผลของน้ำตาล glucose sucrose และ trehalose และ maltodextrin ต่อร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือ และลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำแห้ง

ชนิด stabilizer	ร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือ**			ลักษณะทางกายภาพ			การละลายน้ำ		
	ความเข้มข้นของสารที่ใช้ (w/v)								
	0%	2%	3%	0%	2%	3%	0%	2%	3%
maltodextrin	56.99 ± 0.37	75.16 ± 2.58	77.75 ± 2.36	สีไม่แห้งเกาะ	แห้งเป็นแผ่นขูด	แห้งเป็นแผ่นขูด	ละลายดี	ละลายดี	ละลายดี
				ภาชนะบางส่วน	ออกง่าย	ออกง่าย			
trehalose	56.99 ± 0.37	98.04 ± 0.32	97.54 ± 0.42	สีไม่แห้งเกาะ	สีแห้งเป็นผลึก	สีแห้งเป็นผลึก	ละลายดี	ละลายดี	ละลายดี
				ภาชนะบางส่วน	สีเหลือง	สีเหลือง			
sucrose	56.99 ± 0.37	*	*	สีไม่แห้งเกาะ	สีไม่แห้งเกาะ	สีไม่แห้งเกาะ	ละลายดี	ละลายดี	ละลายดี
				ภาชนะบางส่วน	ภาชนะ	ภาชนะ			
glucose	56.99 ± 0.37	*	*	สีไม่แห้งเกาะ	สีไม่แห้งเกาะ	สีไม่แห้งเกาะ	ละลายดี	ละลายดี	ละลายดี
				ภาชนะบางส่วน	ภาชนะ	ภาชนะ			

*สีเกาะติดภาชนะไม่สามารถขูดออกได้ทำให้ไม่สามารถวิเคราะห์ร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือได้

** วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

การศึกษาผลของ trehalose และ maltodextrin ในการเป็น stabilizer สีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็ง นำสารละลายสกัดแอนโทไซยานิน (13.5 °Brix) มาทำแห้งแบบเยือกแข็ง โดยใช้ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 2 และ 3 % (w/v) เป็น stabilizer วิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินก่อนและหลังทำแห้งด้วยวิธี pH differential นำค่าที่ได้ไปคำนวณร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือ และค่า degradation index (DI) ของสีแอนโทไซยานินหลังผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็ง ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.12

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า การใช้ maltodextrin และ trehalose ที่ความเข้มข้นต่างกันมีผลต่อร้อยละปริมาณ แอนโทไซยานินคงเหลือ และค่า DI อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบ โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test พบว่าค่าดังกล่าวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 4.13 และ 4.14) โดยการเติม stabilizer ทั้งสองชนิดในปริมาณที่สูงขึ้นมีแนวโน้มที่จะทำให้ค่า DI ลดลงเนื่องจาก trehalose และ maltodextrin จะช่วยเพิ่มเสถียรภาพของแอนโทไซยานิน

ค่า DI เป็นค่าที่บอกถึงการสลายตัวของแอนโทไซยานิน โดยคำนวณจาก

$$DI = \frac{\text{ปริมาณแอนโทไซยานินซึ่งวัดด้วยวิธี single pH}}{\text{ปริมาณแอนโทไซยานินซึ่งวัดด้วยวิธี pH differential}}$$

ปริมาณแอนโทไซยานินซึ่งวัดด้วยวิธี pH differential

เนื่องจากการสลายตัวของแอนโทไซยานินก่อให้เกิดสาร polymer ที่มีสีซึ่งสามารถดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นช่วงเดียวกับแอนโทไซยานิน การวัดด้วยวิธี single pH method จะวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ pH สารละลายเท่ากับ 1.0 ซึ่งค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จะเป็นของแอนโทไซยานินบวกกับสีของสาร polymer ที่เกิดจากการสลายตัวของแอนโทไซยานินเอง ขณะที่การวัดปริมาณแอนโทไซยานินโดยวิธี pH differential จะวัดสารละลายแอนโทไซยานินโดยปรับ pH เท่ากับ 1.0 ทำให้แอนโทไซยานินอยู่ในรูป flavylium cation และทำการปรับสารละลายแอนโทไซยานินให้มี pH เท่ากับ 4.5 ซึ่งแอนโทไซยานินจะอยู่ในรูป carbinol base จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงทั้ง 2 pH ไปคำนวณปริมาณแอนโทไซยานิน แล้วนำมาลบกันจะได้ค่าแอนโทไซยานินที่ถูกต้อง ค่าที่ได้ไม่มีผลจากสาร polymer ที่เกิดขึ้น เมื่อนำปริมาณแอนโทไซยานินที่คำนวณได้จากวิธีทั้งสองมาหารกัน ถ้าไม่มีการสลายตัวของแอนโทไซยานิน ค่า DI จะเท่ากับ 1 แต่ถ้าค่า DI มากกว่า 1 แสดงว่าแอนโทไซยานินเกิดการสลายตัว (Fuleki และ Francis, 1968b)

ตารางที่ 4.12 ผลของ trehalose และ maltodextrin ต่อปริมาณแอนโทไซยานินก่อนและหลังการทำแห้งแบบเยือกแข็ง ร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือ และค่า Degradation Index (DI)

ชนิด stabilizer	ความเข้มข้น stabilizer (w/v)	ปริมาณแอนโทไซยานิน* (มิลลิกรัม delphinidin-3-glucoside ต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร)		ร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือจากการทำแห้ง ^{ns}	ค่า Degradation Index (DI) ^{ns}
		ก่อนทำแห้ง	หลังทำแห้ง		
Control	0%	44.089 ± 0.748	41.920 ± 2.994	95.08 ± 5.18	1.14 ± 0.00
Trehalose	2%	43.116 ± 8.006	39.960 ± 3.763	92.68 ± 8.63	1.13 ± 0.02
	3%	39.829 ± 0.564	36.509 ± 0.274	91.66 ± 1.98	1.12 ± 0.00
Maltodextrin	2%	44.406 ± 2.177	39.091 ± 0.343	88.03 ± 5.09	1.14 ± 0.09
	3%	40.526 ± 1.697	31.783 ± 1.560	87.79 ± 3.210	1.12 ± 0.01

*ใช้ E_{1%}^{1CM} ของ delphinidin-3-glucoside ซึ่งมีค่าเท่ากับ 559 (Du และ Francis , 1973)

ns คือ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4.13 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของ trehalose และ maltodextrin ต่อร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือหลังการทำแห้งแบบเยือกแข็ง

Source of variance	df	MS
Stabilizer (A)	4	20.502
Error	5	9.776

ตารางที่ 4.14 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของ trehalose และ maltodextrin ต่อค่า degradation Index (DI) หลังการทำแห้งแบบเยือกแข็ง

Source of variance	df	MS
Stabilizer (A)	4	8.500 × 10 ⁻⁵
Error	5	3.400 × 10 ⁻⁴

จากงานวิจัยของ Main, Clydesdale และ Francis (1978) ซึ่งทำแห้งแบบพ่นฝอยสารละลายแอนโทไซยานินจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง โดยใช้อุณหภูมิหมัก 90°C พบว่าสีแอนโทไซยานินจากกระเจี๊ยบแดงมีค่า DI 1.26 และผลิตภัณฑ์ที่ได้มีสีม่วงน้ำตาลไม่เหมาะสมจะใช้เป็นสีผสมอาหาร ขณะที่ในการทดลองนี้กลับพบว่าค่า DI ที่ได้จะอยู่ในช่วง 1.12-1.14 ซึ่งต่ำกว่างานวิจัยดังกล่าวทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก การใช้ความร้อนในการทำแห้ง

สารละลายแอนโทไซยานิน จะก่อให้เกิดการสลายตัวของแอนโทไซยานินมากกว่า ดังนั้นค่า DI จึงสูง แต่ในงานวิจัยนี้ใช้ freeze dry ในการทำแห้งค่า DI จึงต่ำกว่า

จากผลการทดลองสรุปได้ว่าเมื่อความเข้มข้นของ maltodextrin และ trehalose เพิ่มขึ้น ร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือจะลดลง และพบว่าสีแอนโทไซยานิน ทำแห้งแบบเยือกแข็งที่เติม trehalose มีค่าร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือสูงกว่า สีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งที่เติม maltodextrin แต่ค่าที่ได้ไม่แตกต่างกันอย่าง มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

การทำแห้งแบบเยือกแข็งก็ส่งผลต่อค่าความเข้มสีทั้งหมด (Total Colour Density, TCD) ซึ่งเป็นค่าที่หาได้จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงของแอนโทไซยานิน และ สารประกอบ phenolics อื่นๆ ในสารละลายสกัด เมื่อนำสารละลายสกัดแอนโทไซยานิน มาวัดค่าก่อนและหลังการทำแห้งแบบเยือกแข็ง พบว่าสีแอนโทไซยานินหลังการทำแห้ง แบบเยือกแข็งมีค่า TCD ลดลงจากสีแอนโทไซยานินก่อนการทำแห้งแบบเยือกแข็ง แสดงว่า สารละลายสกัดแอนโทไซยานินที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็งมีความเข้มสีลดลงซึ่งสอดคล้องกับ ปริมาณแอนโทไซยานินที่ลดลงเมื่อผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็ง (ตารางที่ 4.15)

ตารางที่ 4.15 ผลของ trehalose และ maltodextrin ต่อปริมาณความเข้มสีทั้งหมด (TCD) ก่อน และหลังการทำแห้งแบบเยือกแข็ง

ชนิด stabilizer	ความเข้มข้น stabilizer (w/v)	ปริมาณความเข้มสีทั้งหมด (TCD)	
		ก่อนทำแห้ง	หลังทำแห้ง
Control	0%	1.805 ± 0.005	1.732 ± 0.017
Trehalose	2%	1.801 ± 0.192	1.712 ± 0.119
	3%	1.643 ± 0.140	1.614 ± 0.142
Maltodextrin	2%	1.763 ± 0.121	1.593 ± 0.008
	3%	1.580 ± 0.191	1.438 ± 0.025

เมื่อพิจารณาค่าสีที่วัดโดยระบบ CIE L*a*b* ซึ่งให้ผลแสดงดังตารางที่ 4.16 พบว่าสีแอนโทไซยานินที่เติม maltodextrin เมื่อผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็งค่า L* และ a* มีแนวโน้มลดลงจากสารละลายสกัดแอนโทไซยานินก่อนทำแห้งแบบเยือกแข็ง แต่สีแอนโทไซยานินที่เติม trehalose เมื่อผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็งค่า L* และ a* มีแนวโน้ม

เพิ่มขึ้นจากสารละลายสกัดแอนโทไซยานินก่อนทำแห้งแบบเยือกแข็ง ซึ่งแสดงให้เห็นว่า stabilizer ที่ใช้ในการทำแห้งแบบเยือกแข็งมีผลต่อค่าสีของสีแอนโทไซยานินที่ได้ โดยการใช้น maltodextrin จะทำให้สีแอนโทไซยานินที่ได้มีค่าความสว่างและค่าความเป็นสีแดงหลังการทำแห้งลดลง ขณะที่การใช้ trehalose จะทำให้สีแอนโทไซยานินมีค่าความสว่างและค่าความเป็นสีแดงหลังการทำแห้งเพิ่มขึ้น ที่เป็นเช่นนี้เนื่องมาจาก trehalose เป็นน้ำตาล non-reducing และมีคุณสมบัติช่วยเพิ่มความขาวในผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็ง ดังงานวิจัยของ Portmann และ Birch (1996) ที่ทำแห้งแบบเยือกแข็ง puree กล้วย แล้วพบว่าตัวอย่างที่ใส่ trehalose มีค่าความขาวมากกว่าตัวอย่างที่ใส่ manitol และตัวอย่างที่ไม่ได้ใส่อะไรเลย

เมื่อพิจารณาถึงเรื่องสีผู้บริโภคจะไม่สามารถมองค่า L^* , a^* หรือ b^* แยกออกจากกันได้ เนื่องจากตาของผู้บริโภคจะพิจารณาค่าสีซึ่งเกิดจากตัวแปรทั้งระบบพร้อมๆกัน ดังนั้นการพิจารณาค่าสีที่ได้แตกต่างจากตัวอย่างควบคุมหรือไม่ จะพิจารณาจากค่า ΔE^* ซึ่งเป็นค่าความแตกต่างของสีทั้งหมดก่อนและหลังการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง พบว่าสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งที่ใส่ trehalose และไม่ใส่ stabilizer มีค่า ΔE^* น้อยกว่า 2 แสดงว่าสีของผลิตภัณฑ์ไม่แตกต่างกับสารละลายสกัดแอนโทไซยานินก่อนการทำแห้งแบบเยือกแข็ง ทั้งนี้เนื่องจาก trehalose ช่วยเพิ่มความสว่างของผลิตภัณฑ์ทำให้ค่า L^* เมื่อนำไปคำนวณค่า ΔE^* จึงทำให้ค่า ΔE^* ที่ได้น้อยกว่า ในขณะที่สีแอนโทไซยานินที่ใส่ maltodextrin มีค่า ΔE^* มากกว่า 2 แสดงว่าสีของสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งที่ใส่ maltodextrin มีความแตกต่างกับสารละลายสกัดแอนโทไซยานินก่อนการทำแห้งแบบเยือกแข็ง ซึ่งสอดคล้องกับ TCD จากตารางที่ 4.15 โดยตัวอย่างที่ใส่ trehalose และตัวอย่างที่ไม่ใส่ stabiliser จะมีค่า TCD ก่อนและหลังการทำแห้งแตกต่างกันน้อยมากส่งผลให้ค่า ΔE^* ที่ได้น้อยกว่า 2 ในขณะที่ตัวอย่างที่ใส่ maltodextrin มีค่า TCD ก่อนและหลังการทำแห้งแตกต่างกันมากกว่า ค่า ΔE^* ที่ได้จึงมากกว่า 2 (Langdon, 1987)

ตารางที่ 4.15 ผลของ trehalose และ maltodextrin ต่อค่า L* ค่า a* และค่า b* ก่อนและหลังการทำแห้งแบบเยือกแข็ง และค่า ΔE^*

ชนิด stabilize	ความเข้มข้น stabilizer (w/v)	ค่า L*		ค่า a*		ค่า b*		ค่า ΔE^*
		ก่อนทำแห้ง	หลังทำแห้ง	ก่อนทำแห้ง	หลังทำแห้ง	ก่อนทำแห้ง	หลังทำแห้ง	
Control	0%	29.22 ± 1.36	29.74 ± 4.52	73.00 ± 2.10	72.58 ± 2.25	49.92 ± 2.37	47.71 ± 7.77	1.89 ± 0.08
Trehalose	2%	28.14 ± 6.30	29.80 ± 2.69	70.91 ± 7.08	74.79 ± 1.85	48.07 ± 10.76	51.00 ± 4.64	1.67 ± 0.13
	3%	30.65 ± 1.66	31.60 ± 1.52	73.34 ± 3.83	76.28 ± 0.69	52.32 ± 2.84	53.99 ± 2.64	1.89 ± 0.02
Maltodextrin	2%	24.86 ± 6.48	20.89 ± 1.76	65.28 ± 8.65	60.73 ± 2.19	39.23 ± 15.60	35.63 ± 2.95	4.26 ± 0.27
	3%	29.24 ± 0.38	28.02 ± 4.91	71.70 ± 1.31	67.83 ± 5.35	49.84 ± 0.55	47.24 ± 9.04	4.99 ± 0.01

4.2.2 ศึกษาเสถียรภาพของสีแอนโทไซยานินที่ได้จากการทำแห้งแบบเยือกแข็ง โดยใช้ trehalose และ maltodextrin เป็น stabilizer

เตรียมสารละลายสกัดแอนโทไซยานิน (13.5 °Brix) นำไปทำแห้งแบบเยือกแข็ง ดังข้อ 4.2.1 จากนั้นศึกษาเสถียรภาพของแอนโทไซยานินที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็ง โดยใช้ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 0, 2 และ 3% (w/v) เป็น stabilizer โดยเก็บสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งในถุง aluminium foil เคลือบด้วย polyethylene บรรจุแบบสุญญากาศ วิเคราะห์และประเมินผลทุกสัปดาห์ เป็นเวลา 15 สัปดาห์ โดยสุ่มตัวอย่างมาวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดด้วยวิธี pH differential ซึ่งแสดงในรูปของร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือหลังผ่านการเก็บรักษา (%relative anthocyanin) ค่าครึ่งชีวิตของแอนโทไซยานิน ค่า water activity a_w ค่า Degradation Index (DI) ปริมาณสี Polymeric (PC) ปริมาณความเข้มข้นสีทั้งหมด (TCD) และค่าสีในเทอมของค่า L^* Chroma (C^*) และ hue angle (h°) ตรวจปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด ยีสต์ รา ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.17, 4.19, 4.20, 4.21, 4.23, 4.25, 4.27, 4.29 และ 4.30

ผลของร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือหลังผ่านการเก็บรักษา (%relative anthocyanin) แสดงดังตารางที่ 4.17 และรูปที่ 4.4 จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ (ตารางที่ 4.18) พบว่าในช่วง 7 วันแรกค่าร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือของสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งในทุกตัวอย่างไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แต่เมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้น (เริ่มจาก 14 วัน) จนถึง 105 วัน พบว่าค่าร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือของสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งที่ไม่เติม stabilizer มีอัตราการลดลงของค่าร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือที่มากกว่า โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 4.18) แสดงให้เห็นว่าการใส่ trehalose หรือ maltodextrin ในสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งจะช่วยชะลอการลดลงของปริมาณแอนโทไซยานินได้

ตั้งงานวิจัยของ Bronum-Hasen และ Flink (1986) ที่ทำแห้งแบบเยือกแข็งสารละลายสกัดแอนโทไซยานินจาก elderberry โดยเติม maltodextrin ความเข้มข้น 0, 2.5 และ 5% (w/v) แล้วพบว่าสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งที่ไม่เติม maltodextrin มีค่า retention hydrogen ion ต่ำ แสดงว่าเกิดการสูญเสีย hydrogen ion จึงทำให้ pH ของสีแอนโทไซยานินที่ไม่เติม maltodextrin สูงกว่า สีแอนโทไซยานินที่เติม maltodextrin ความเข้มข้น 2.5 และ 5% (w/v) ตามลำดับ จึงสรุปได้ว่าการใส่ maltodextrin จะช่วยลดการสูญเสีย hydrogen ion จึงทำให้ pH ของสีแอนโทไซยานินต่ำกว่าสีแอนโทไซยานินที่ไม่เติม maltodextrin ซึ่งในสภาวะที่มี pH ต่ำสีแอนโทไซยานินจะมีเสถียรภาพดีกว่าในสภาวะที่มี

pH สูง ในการทดลองของ Bronum-Hasen และ Flink (1985) ซึ่งศึกษาการเก็บรักษา สีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งที่ pH 1.0 ถึง pH 5.0 พบว่าเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 24 เดือน สีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งที่ pH 1.0 มีค่าร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือ 93 แต่เมื่อ pH เพิ่มร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือจะลดลง โดยที่ pH 5.0 สีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งมีค่าร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือ 84

เมื่อพิจารณาผลของชนิดและความเข้มข้นของ stabilizer ต่อค่าร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือ พบว่าเมื่อเวลาผ่านไป 105 วัน สีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งที่เติม maltodextrin ความเข้มข้น 2 และ 3% (w/v) จะมีค่าร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือ 66.99 ± 2.45 และ 73.68 ± 3.62 ตามลำดับ ขณะที่สีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งที่เติม trehalose ความเข้มข้น 2 และ 3% (w/v) จะมีค่าร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือ 58.68 ± 17.03 และ 52.52 ± 0.00 ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาค่าครึ่งชีวิตของในสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็ง (ตารางที่ 4.19) พบว่าสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งที่เติม maltodextrin ความเข้มข้น 2 และ 3% (w/v) มีค่าครึ่งชีวิต 408 และ 578 วัน ตามลำดับ ขณะที่สีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งที่เติม trehalose ความเข้มข้น 2 และ 3% (w/v) มีค่าครึ่งชีวิต 315 และ 277 วัน ตามลำดับ ในขณะที่สีแอนโทไซยานินที่ไม่เติม stabilizer มีค่าครึ่งชีวิตเพียง 239 วัน แสดงให้เห็นว่าการใช้ stabilizer จะช่วยชะลอการลดลงของแอนโทไซยานินได้ ซึ่งจะเห็นได้จากการที่มีค่าครึ่งชีวิตเพิ่มขึ้น นอกจากนี้การใช้ maltodextrin จะให้ผลดีกว่าการใช้ trehalose และการใช้ maltodextrin ความเข้มข้นสูงจะดีกว่าความเข้มข้นต่ำ นอกจากนี้เมื่อพิจารณาตารางที่ 4.17 จะพบว่าสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งที่เติม maltodextrin มีอัตราการลดลงของค่าร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือตลอดระยะเวลาการเก็บน้อยกว่า สีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งที่เติม trehalose และไม่เติม stabilizer ทั้งนี้เนื่องจากสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งที่ได้ maltodextrin จะมีค่า water activity (a_w) ต่ำกว่า trehalose และสีแอนโทไซยานินที่ไม่เติม stabilizer แสดงดังตารางที่ 4.20 สีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งที่เติม maltodextrin ความเข้มข้น 2 และ 3% (w/v) มีค่า a_w 0.138 และ 0.115 ตามลำดับ ในขณะที่สีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งที่ได้ trehalose ความเข้มข้น 2 และ 3% (w/v) มีค่า a_w 0.243 และ 0.356 ตามลำดับ แต่สีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งที่ไม่เติม stabilizer มีค่า a_w 0.396 ซึ่งสูงกว่าค่า a_w ของสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งที่ได้ maltodextrin

ค่า a_w จะสัมพันธ์กับอัตราการเกิดปฏิกิริยาต่างๆ ดังรูปที่ 4.5 จะเห็นได้ว่าเมื่อค่า a_w เพิ่มขึ้น อัตราการเกิดปฏิกิริยาเคมีชนิดต่างๆ จะเพิ่มขึ้นด้วย ซึ่งสีแอนโทไซยานิน

ทำแห้งแบบเยือกแข็งที่เติม maltodextrin มีค่า a_w ต่ำ อยู่ในช่วง 0.115-0.138 ซึ่งจากรูปจะเห็นได้ว่าเป็นช่วง a_w ที่เกิดเฉพาะปฏิกิริยา lipid oxidation แต่ในผลิตภัณฑ์นี้ไม่มีไขมันเป็นองค์ประกอบ ที่เป็นเช่นนี้ เนื่องจากที่ค่า a_w ต่ำการเคลื่อนไหวของตัวถูกละลายจะถูกจำกัด จึงเกิดปฏิกิริยาได้ช้าลง ส่วนสีแอนโทไซยานินที่เติม trehalose และไม่เติม stabilizer มีค่า a_w อยู่ในช่วง 0.243 ถึง 0.396 จึงเกิดปฏิกิริยาเคมีต่างๆ ได้ดีกว่า (Hutching, 1999)

ตารางที่ 4.17 ผลของ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 2 และ 3% (w/v) เทียบกับ control ต่อร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือระหว่างการเก็บรักษา สีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็ง

ระยะเวลา (วัน)	% Relative anthocyanin				
	Control	2% Trehalose	3% Trehalose	2% Maltodextrin	3% Maltodextrin
0 ^{ns}	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
7 ^{ns}	86.74 ± 3.73	109.48 ± 15.78	96.37 ± 2.27	92.75 ± 15.24	110.09 ± 19.02
14	80.94 ^b ± 6.45	110.58 ^a ± 13.18	102.91 ^{ab} ± 2.03	99.16 ^{ab} ± 6.53	101.68 ^{ab} ± 11.03
21	72.32 ^b ± 2.91	107.42 ^a ± 9.73	99.25 ^a ± 2.16	95.63 ^{ab} ± 1.30	104.61 ^a ± 17.80
28	79.30 ^c ± 11.17	121.69 ^a ± 11.46	99.21 ^{bc} ± 4.37	90.36 ^{bc} ± 2.54	104.48 ^{ab} ± 6.14
35	75.89 ^c ± 5.42	105.45 ^a ± 9.93	95.61 ^{ab} ± 0.72	90.16 ^b ± 0.79	99.67 ^{ab} ± 4.89
42	74.54 ^b ± 12.01	96.71 ^{ab} ± 6.88	89.48 ^{ab} ± 2.62	90.38 ^{ab} ± 0.79	99.06 ^a ± 14.11
49	68.79 ^c ± 0.52	89.61 ^{ab} ± 5.57	89.93 ^{ab} ± 3.45	81.71 ^b ± 5.65	93.17 ^a ± 2.04
56	69.29 ^b ± 1.24	89.98 ^a ± 4.31	92.54 ^a ± 5.07	80.14 ^{ab} ± 6.89	81.57 ^{ab} ± 4.00
63	55.38 ^b ± 0.00	88.18 ^a ± 7.96	89.43 ^a ± 0.67	79.63 ^a ± 0.70	93.24 ^a ± 12.24
70	54.75 ^c ± 1.38	78.69 ^{ab} ± 7.41	84.10 ^{ab} ± 0.63	76.73 ^b ± 2.28	87.63 ^a ± 4.30
77	61.58 ^b ± 16.92	80.08 ^{ab} ± 6.51	87.73 ^a ± 10.17	69.73 ^{ab} ± 0.61	86.66 ^{ab} ± 4.25
84	60.44 ^c ± 10.49	79.82 ^{ab} ± 7.52	72.88 ^{bc} ± 1.88	69.56 ^{bc} ± 6.31	97.39 ^a ± 6.51
91	51.27 ^b ± 11.48	74.60 ^a ± 14.10	63.47 ^{ab} ± 3.59	73.68 ^{ab} ± 0.65	84.95 ^a ± 5.51
98	41.33 ^b ± 23.30	75.64 ^{ab} ± 15.83	53.29 ^{ab} ± 0.40	70.38 ^{ab} ± 10.20	82.08 ^a ± 0.95
105	48.10 ^b ± 0.00	58.68 ^{ab} ± 17.03	52.52 ^{ab} ± 0.00	66.99 ^{ab} ± 2.45	73.68 ^a ± 3.62

ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับ (a,b,c ...) ต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4.18 ค่า F จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 2 และ 3% (w/v) เทียบกับ control ต่อค่าร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือระหว่างการเก็บรักษาสี่แอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็ง

ระยะเวลา (วัน)	ค่า F ของ % Relative anthocyanin
0	-
7	1.245
14	3.145*
21	4.546*
28	7.894*
35	8.282*
42	2.301*
49	12.146*
56	7.714*
63	10.871*
70	20.372*
77	2.823*
84	7.576*
91	4.346*
98	3.178*
105	3.452*

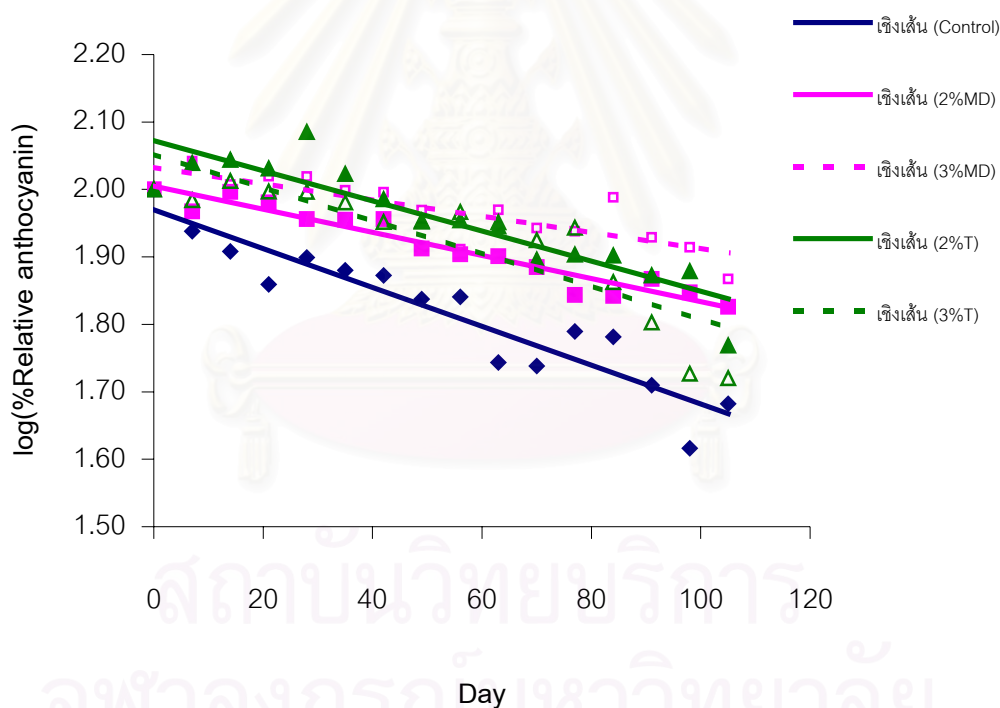
* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

สถาบันนวัตกรรมการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.19 ค่าครึ่งชีวิตของแอนโทไซยานินคงเหลือระหว่างการรักษาเสถียรภาพแอนโทไซยานิน
ทำแห้งแบบเยือกแข็ง

ชนิด stabilizer	ความเข้มข้น	สมการ	R ²	t _{1/2} (วัน)
Control	0%	Y = -0.0029X + 1.9696	0.88	239
Trehalose	2%	Y = -0.0022X + 2.0524	0.82	315
	3%	Y = -0.0025X + 2.0524	0.75	277
Maltodextrin	2%	Y = -0.0017X + 2.0048	0.93	408
	3%	Y = -0.0012X + 2.0332	0.71	578

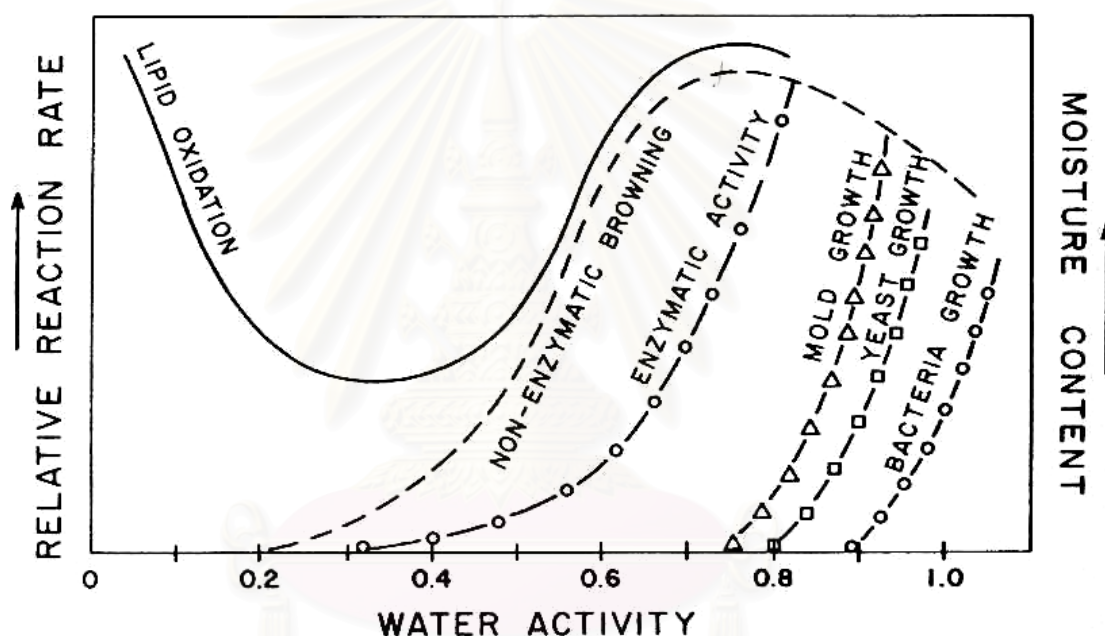
X คือเวลา (วัน), Y คือค่า log ของร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือ



รูปที่ 4.4 ผลของ trehalose (T) และ maltodextrin (MD) ความเข้มข้น 2 และ 3% (w/v) เทียบกับ control ต่อค่าร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือระหว่างการรักษาเสถียรภาพแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็ง

ตารางที่ 4.20 ค่า water activity (a_w) ของสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็ง

ชนิด stabilizer	ความเข้มข้น	ค่า water activity (a_w)
Control	0%	0.396
Trehalose	2%	0.243
	3%	0.356
Maltodextrin	2%	0.138
	3%	0.115



รูปที่ 4.5 ความสัมพันธ์ของค่า water activity กับการเกิดปฏิกิริยาต่าง ๆ (Hutching, 1999)

Bronnum-Hasen และ Flink (1985) ศึกษาการเก็บรักษาสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งที่ a_w ต่างกันตั้งแต่ 0-0.75 พบว่าผลิตภัณฑ์ที่เก็บที่ $a_w \leq 0.31$ จะไม่เกิดการเสื่อมสลายของแอนโทไซยานิน แต่ที่ค่า a_w 0.31-0.5 จะเกิดการเสื่อมสลายของแอนโทไซยานิน ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้

การที่ trehalose และ maltodextrin สามารถลดค่า a_w ของสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งลงได้ต่างกัน เนื่องจากคุณสมบัติการเกิด hygroscopicity ต่างกันนั่นเอง โดยพบว่าน้ำตาลที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงจะเกิดสมดุลความชื้นได้เร็วกว่าน้ำตาลซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ น้ำหนักโมเลกุลของ maltodextrin อยู่ในช่วงระหว่าง polysaccharides

และ oligosaccharides ซึ่งมากกว่า trehalose (MW 342.3) ที่เป็นน้ำตาล disaccharides ดังนั้น maltodextrin จึงมี hygroscopicity น้อยกว่า trehalose ซึ่งในระบบที่มี hygroscopicity ต่ำกว่าจะเกิดปฏิกิริยากับ free water ในระบบได้น้อยกว่า นั่นคือยังคงเหลือ free water สูงกว่าระบบจึงมี a_w สูงกว่า แต่ maltodextrin มีคุณสมบัติแตกต่างจากน้ำตาลชนิดอื่น โดย maltodextrin จะช่วยลดค่า a_w ของผลิตภัณฑ์ได้ (Chronakis, 1998) จึงทำให้สีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งที่ใส่ maltodextrin มีค่า a_w ต่ำกว่าสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งที่ใส่ trehalose และสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งที่ไม่ใส่ stabilizer ดังนั้นสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งที่ใส่ maltodextrin จึงมีเสถียรภาพดีที่สุด (ตารางที่ 4.17, 4.19 และรูปที่ 4.5)

การลดลงของร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือเมื่อเก็บรักษา แสดงว่าแอนโทไซยานินในผลิตภัณฑ์ลดลง แต่การลดลงนั้นอาจเกิดได้จากสองกลไก คือเกิดจากการสลายตัวของแอนโทไซยานินเอง หรือเกิดจากปฏิกิริยา polymerization ของแอนโทไซยานิน ซึ่งการสลายตัวของแอนโทไซยานิน วัดได้จากค่า DI ในขณะที่การเกิดปฏิกิริยา polymerization ของแอนโทไซยานินวัดได้จากค่า PC

ตารางที่ 4.21 แสดงค่า DI ของสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งระหว่างการเก็บรักษา พบว่าเมื่อเก็บสีแอนโทไซยานินเป็นเวลา 105 วัน ค่า DI เพิ่มขึ้นเล็กน้อย โดยค่า DI ที่เพิ่มขึ้นแสดงว่าแอนโทไซยานินเกิดการเสื่อมสลายเพิ่มขึ้น แต่สีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งที่ใส่ maltodextrin ความเข้มข้น 3% (w/v) กลับมีค่า DI ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 4.22) แม้จะเก็บเป็นระยะเวลา นานขึ้น (105 วัน) ขณะที่ตัวอย่างอื่นกลับมีค่า DI เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเก็บรักษา เป็นเวลา 105 วัน แสดงว่าสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งที่ใส่ maltodextrin ความเข้มข้น 3% (w/v) เกิดการสลายตัวของแอนโทไซยานินต่ำมากตลอดระยะเวลาการเก็บ 105 วัน

เมื่อพิจารณาค่า PC (ตารางที่ 4.23) พบว่าเมื่อเก็บสีแอนโทไซยานิน ทำแห้งแบบเยือกแข็งเป็นระยะเวลานานขึ้น ค่า PC ในสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็ง ที่ใส่ maltodextrin และ trehalose ความเข้มข้น 2 และ 3% (w/v) มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 4.24) ในขณะที่ปริมาณแอนโทไซยานิน มีค่าลดลง ทั้งนี้เนื่องจากแอนโทไซยานินบางส่วนเกิดปฏิกิริยา polymerization ได้ polymeric pigments ซึ่งปริมาณ polymeric pigments สามารถวิเคราะห์ได้โดยการฟอกสีแอนโทไซยานิน ด้วยสารประกอบ sulfite ในการทดลองนี้ใช้ potassium metabisulfite ($K_2S_2O_5$) ซึ่งเป็น สารประกอบ sulfite ประเภทหนึ่งเป็นสารฟอกสีแอนโทไซยานิน โดยเมื่อละลาย $K_2S_2O_5$ ในน้ำ จะได้ HSO_3^- ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับคาร์บอนตำแหน่งที่ 4 ของแอนโทไซยานินได้สารประกอบ

chromen-4 (or2) –sulfonic acid ซึ่งเป็นสารประกอบไม่มีสี แต่ polymeric pigments จะไม่ถูกฟอกสีด้วยสารประกอบประเภทนี้ จึงสามารถวิเคราะห์ค่า PC ได้ (Somer, 1971)

นอกจากนี้ยังพบว่าสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งที่ไม่เติม stabilizer มีอัตราการเพิ่มขึ้นของค่า PC มากที่สุด ในขณะที่ตัวอย่างที่มีการเติม maltodextrin ความเข้มข้น 3% (w/v) มีอัตราการเพิ่มของ ค่า PC ต่ำสุด แสดงว่าการเติม maltodextrin และ trehalose ช่วยชะลอการเกิดปฏิกิริยา polymerization ของแอนโทไซยานินได้

ผลการทดลองเมื่อวิเคราะห์ ค่า DI และค่า PC จะให้ผลในแนวโน้มสอดคล้องกับการลดลงของร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือ (ตารางที่ 4.16) โดยร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือในสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งที่เติม stabilizer มีค่ามากกว่าสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งที่ไม่เติม stabilizer และสีแอนโทไซยานินที่เติม maltodextrin ความเข้มข้น 3% (w/v) จะให้ผลดีที่สุด เมื่อพิจารณาทั้งค่าร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือ ค่า DI และค่า PC



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.21 ผลของ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 2 และ 3% (w/v) เทียบกับ control ต่อค่า DI ระหว่างการเก็บรักษาสี่แอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็ง

ระยะเวลา (วัน)	ค่า DI				
	Control	2% Trehalose	3% Trehalose	2% Maltodextrin	3% Maltodextrin
0	1.12 ^{bc} ± 0.03	1.13 ^b ± 0.02	1.12 ^b ± 0.00	1.14 ^{bc} ± 0.01	1.12 ^{ns} ± 0.01
7	1.13 ^{bc} ± 0.00	1.12 ^b ± 0.01	1.12 ^b ± 0.01	1.13 ^{bc} ± 0.01	1.09 ^{ns} ± 0.04
14	1.10 ^c ± 0.02	1.11 ^b ± 0.00	1.10 ^b ± 0.01	1.12 ^{bc} ± 0.00	1.12 ^{ns} ± 0.00
21	1.11 ^c ± 0.03	1.12 ^b ± 0.00	1.16 ^b ± 0.06	1.12 ^c ± 0.00	1.10 ^{ns} ± 0.02
28	1.12 ^{bc} ± 0.01	1.11 ^b ± 0.00	1.16 ^b ± 0.09	1.20 ^{abc} ± 0.12	1.18 ^{ns} ± 0.06
35	1.18 ^{abc} ± 0.07	1.16 ^b ± 0.06	1.10 ^b ± 0.00	1.14 ^{abcd} ± 0.00	1.15 ^{ns} ± 0.06
42	1.19 ^{abc} ± 0.08	1.19 ^b ± 0.05	1.21 ^b ± 0.13	1.17 ^{abc} ± 0.06	1.13 ^{ns} ± 0.00
49	1.21 ^{abc} ± 0.08	1.20 ^b ± 0.09	1.18 ^b ± 0.07	1.20 ^{abc} ± 0.07	1.15 ^{ns} ± 0.00
56	1.27 ^{abc} ± 0.16	1.19 ^b ± 0.08	1.22 ^b ± 0.00	1.20 ^{abc} ± 0.09	1.19 ^{ns} ± 0.05
63	1.19 ^{abc} ± 0.00	1.26 ^b ± 0.05	1.22 ^b ± 0.00	1.19 ^{abcd} ± 0.11	1.20 ^{ns} ± 0.11
70	1.26 ^{abc} ± 0.10	1.15 ^b ± 0.00	1.22 ^b ± 0.00	1.30 ^{ab} ± 0.07	1.28 ^{ns} ± 0.00
77	1.49 ^a ± 0.02	1.19 ^b ± 0.03	1.34 ^{ab} ± 0.28	1.24 ^{abc} ± 0.12	1.27 ^{ns} ± 0.06
84	1.36 ^{abc} ± 0.00	1.27 ^b ± 0.16	1.37 ^{ab} ± 0.35	1.22 ^{abc} ± 0.05	1.33 ^{ns} ± 0.24
91	1.45 ^{ab} ± 0.00	1.19 ^b ± 0.11	1.35 ^{ab} ± 0.00	1.28 ^a ± 0.01	1.36 ^{ns} ± 0.33
98	1.48 ^a ± 0.48	1.20 ^b ± 0.08	1.39 ^{ab} ± 0.00	1.23 ^{abc} ± 0.06	1.42 ^{ns} ± 0.00
105	1.39 ^{abc} ± 0.00	1.48 ^a ± 0.06	1.54 ^a ± 0.11	1.25 ^{abc} ± 0.13	1.42 ^{ns} ± 0.38

ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับ (a,b,c ...) ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4.22 ค่า F จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 2 และ 3% (w/v) เทียบกับ control ต่อค่า DI ระหว่างการเก็บรักษาสี่แอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็ง

ความเข้มข้น (w/v)	ค่า F	
	Trehalose	Maltodextrin
0%	2.15*	2.15*
2%	2.83*	1.37*
3%	2.01*	1.21

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4.23 ผลของ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 2 และ 3% (w/v) เทียบกับ control ต่อค่า PC ระหว่างการเก็บรักษาสี่แอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็ง

ระยะเวลา (วัน)	ค่า PC				
	Control	2% Trehalose	3% Trehalose	2% Maltodextrin	3% Maltodextrin
7	0.195 ^e ± 0.067	0.263 ^c ± 0.044	0.317 ^{ab} ± 0.000	0.235 ^{ef} ± 0.039	0.222 ^b ± 0.029
14	0.219 ^{de} ± 0.079	0.296 ^{abc} ± 0.079	0.222 ^b ± 0.012	0.218 ^f ± 0.007	0.326 ^{ab} ± 0.000
21	0.275 ^{cde} ± 0.040	0.286 ^{bc} ± 0.031	0.256 ^b ± 0.062	0.247 ^{def} ± 0.010	0.268 ^{ab} ± 0.058
28	0.285 ^{cde} ± 0.023	0.314 ^{abc} ± 0.000	0.260 ^b ± 0.071	0.233 ^{ef} ± 0.049	0.316 ^{ab} ± 0.046
35	0.320 ^{bcde} ± 0.045	0.351 ^{abc} ± 0.040	0.258 ^b ± 0.100	0.296 ^{bcdef} ± 0.000	0.255 ^{ab} ± 0.000
42	0.339 ^{abcde} ± 0.060	0.326 ^{abc} ± 0.022	0.254 ^b ± 0.103	0.310 ^{bcdef} ± 0.072	0.287 ^{ab} ± 0.066
49	0.345 ^{abcd} ± 0.016	0.352 ^{abc} ± 0.029	0.306 ^a ± 0.000	0.272 ^{cdef} ± 0.040	0.276 ^{ab} ± 0.011
56	0.366 ^{abc} ± 0.072	0.344 ^{abc} ± 0.011	0.286 ^b ± 0.093	0.302 ^{bcdef} ± 0.039	0.324 ^{ab} ± 0.044
63	0.377 ^{abc} ± 0.000	0.399 ^{abc} ± 0.005	0.265 ^b ± 0.000	0.344 ^{abcde} ± 0.066	0.313 ^{ab} ± 0.089
70	0.371 ^{abc} ± 0.007	0.358 ^{abc} ± 0.000	0.279 ^b ± 0.000	0.359 ^{abc} ± 0.062	0.330 ^{ab} ± 0.000
77	0.402 ^{abc} ± 0.072	0.361 ^{abc} ± 0.000	0.295 ^{ab} ± 0.017	0.363 ^{abc} ± 0.000	0.320 ^{ab} ± 0.000
84	0.476 ^a ± 0.046	0.414 ^{ab} ± 0.099	0.304 ^{ab} ± 0.003	0.353 ^{abcd} ± 0.081	0.330 ^{ab} ± 0.083
91	0.443 ^{ab} ± 0.071	0.395 ^{abc} ± 0.092	0.342 ^{ab} ± 0.089	0.386 ^{ab} ± 0.050	0.307 ^{ab} ± 0.005
98	0.450 ^{ab} ± 0.118	0.413 ^{ab} ± 0.072	0.310 ^{ab} ± 0.000	0.434 ^a ± 0.000	0.337 ^{ab} ± 0.075
105	0.470 ^a ± 0.000	0.439 ^a ± 0.077	0.430 ^a ± 0.066	0.433 ^a ± 0.053	0.366 ^a ± 0.031

ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับ (a,b,c ...) ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4.24 ค่า F จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 2 และ 3% (w/v) เทียบกับ control ต่อค่า PC ระหว่างการเก็บรักษาสี่แอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็ง

ความเข้มข้น (w/v)	ค่า F	
	Trehalose	Maltodextrin
0%	4.007*	4.007*
2%	4.554*	1.579*
3%	1.144*	1.411*

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลของ maltodextrin และ trehalose ความเข้มข้น 2 และ 3% (w/v) ต่อค่า TCD ระหว่างการเก็บรักษาสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็ง (ตารางที่ 4.25) จะเห็นว่าเมื่อเก็บรักษาสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งเป็นระยะเวลาสั้นขึ้น ค่า TCD จะลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 4.26) เนื่องจากเกิดการสลายตัวของแอนโทไซยานินระหว่างการเก็บรักษานั้นเอง

ตารางที่ 4.25 ผลของ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 2 และ 3% (w/v) เทียบกับ control ต่อค่า TCD ระหว่างการเก็บรักษาสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็ง

ระยะเวลา (วัน)	ค่า TCD				
	Control	2% Trehalose	3% Trehalose	2% Maltodextrin	3% Maltodextrin
0	1.732 ^a ± 0.017	1.712 ^{abcd} ± 0.119	1.614 ^a ± 0.142	1.593 ^{ab} ± 0.008	1.438 ^{ab} ± 0.025
7	1.532 ^{ab} ± 0.153	1.613 ^{abcd} ± 0.000	1.641 ^a ± 0.044	1.488 ^{abcd} ± 0.106	1.551 ^a ± 0.160
14	1.258 ^b ± 0.491	1.742 ^{abc} ± 0.442	1.569 ^{ab} ± 0.163	1.656 ^a ± 0.122	1.408 ^{ab} ± 0.035
21	1.233 ^{bc} ± 0.023	1.798 ^{ab} ± 0.554	1.477 ^{abc} ± 0.159	1.543 ^{abc} ± 0.165	1.437 ^{ab} ± 0.035
28	1.378 ^b ± 0.152	1.895 ^a ± 0.000	1.416 ^{bcd} ± 0.097	1.519 ^{abc} ± 0.285	1.398 ^{ab} ± 0.055
35	1.316 ^b ± 0.000	1.482 ^{abcd} ± 0.000	1.396 ^{bcd} ± 0.032	1.552 ^{abc} ± 0.000	1.266 ^b ± 0.000
42	1.319 ^b ± 0.010	1.485 ^{abcd} ± 0.403	1.342 ^{cde} ± 0.040	1.356 ^{abcde} ± 0.000	1.266 ^b ± 0.015
49	1.295 ^b ± 0.071	1.376 ^{abcd} ± 0.132	1.273 ^{de} ± 0.081	1.247 ^{bcdefg} ± 0.148	1.243 ^{bc} ± 0.251
56	1.243 ^b ± 0.186	1.241 ^{abcd} ± 0.123	1.094 ^{fg} ± 0.000	1.273 ^{bcdef} ± 0.086	1.253 ^b ± 0.116
63	1.159 ^{bc} ± 0.000	1.293 ^{abcd} ± 0.073	1.201 ^{ef} ± 0.000	1.203 ^{cdefg} ± 0.044	1.039 ^{cd} ± 0.000
70	1.091 ^{cd} ± 0.055	1.202 ^{abcd} ± 0.000	0.956 ^{gh} ± 0.000	1.118 ^{defg} ± 0.193	1.038 ^{cd} ± 0.000
77	1.066 ^{cd} ± 0.086	1.148 ^{bcd} ± 0.192	1.022 ^{fg} ± 0.018	1.072 ^{efg} ± 0.000	1.225 ^{bc} ± 0.000
84	1.045 ^{cd} ± 0.064	1.038 ^{cd} ± 0.000	0.939 ^{gh} ± 0.101	1.040 ^{efg} ± 0.055	1.046 ^{cd} ± 0.023
91	0.862 ^{cde} ± 0.144	1.070 ^{cd} ± 0.512	0.802 ^{hi} ± 0.015	0.894 ^{fg} ± 0.179	0.844 ^{de} ± 0.096
98	0.750 ^{de} ± 0.192	1.017 ^d ± 0.371	0.747 ⁱ ± 0.000	0.879 ^g ± 0.395	0.888 ^{de} ± 0.080
105	0.666 ^e ± 0.000	1.019 ^{cd} ± 0.492	0.755 ^j ± 0.000	0.944 ^{fg} ± 0.095	0.775 ^e ± 0.000

ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับ (a,b,c ...) ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4.26 ค่า F จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 2 และ 3% (w/v) เทียบกับ control ต่อค่า TCD ระหว่างการเก็บรักษาสี่แวนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็ง

ความเข้มข้น (w/v)	ค่า F	
	Trehalose	Maltodextrin
0%	5.961*	5.961*
2%	2.054*	5.539*
3%	29.042*	13.914*

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เพื่อเป็นการพิสูจน์ว่าการลดลงของค่า TCD หรือการลดลงของปริมาณแอนโทไซยานินในตัวอย่างมีความสัมพันธ์กับค่าสีหรือไม่ จึงทดลองนำสี่แวนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งไปวัดสีด้วยระบบ CIE L*a*b* และคำนวณค่า Chroma (C*) และ hue angle (h°) แสดงผลดังตารางที่ 4.27, 4.29 และ 4.30 พบว่าค่า L* มีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 4.25) เมื่อเก็บเป็นระยะเวลาเพิ่มขึ้น ซึ่งค่า L* เป็นค่าที่บอกถึงความสว่างของผลิตภัณฑ์ แสดงว่าสี่แวนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งมีความสว่างลดลง ซึ่งสอดคล้องกับการเพิ่มของค่า PC (ตารางที่ 4.23) โดยค่า PC ที่เพิ่มขึ้นจะทำให้สี่แวนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งมีสีน้ำตาลมากขึ้น ค่าความสว่างจึงลดลงแต่ทั้งนี้จะเห็นผลชัดเจนเฉพาะเมื่อเติม maltodextrin แต่ในกรณีใช้ trehalose จะไม่ค่อยเห็นผลเนื่องจาก trehalose จะช่วยเพิ่มความขาวในผลิตภัณฑ์

เมื่อพิจารณาค่า C* ซึ่งเป็นค่าที่แสดงถึงความอิ่มตัวของสี พบว่าเมื่อเก็บเป็นระยะเวลาเพิ่มขึ้นค่า C* มีแนวโน้มลดลง แสดงว่าปริมาณความเข้มข้นสีในสี่แวนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งลดลง (ตารางที่ 4.29) ซึ่งสอดคล้องกับการลดลงของค่า TCD และร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือ (ตารางที่ 4.25 และ 4.17)

เมื่อพิจารณาค่า h° ซึ่งเป็นค่าที่บอกถึงสีของผลิตภัณฑ์ พบว่าค่า h° ของสี่แวนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็ง แสดงผลดังตารางที่ 4.30 จะเห็นได้ว่าในทุกตัวอย่างค่า h° จะไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก โดยมีค่าอยู่ในช่วง 24-40 ซึ่งเป็นมุมที่อยู่ในช่วงสีแดง และสีของทุกตัวอย่างจึงไม่แตกต่างกัน แสดงว่าในระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่ได้ยังคงมีสีแดงอยู่

คุณภาพทางจุลินทรีย์ของสี่แวนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งจากการตรวจสอบไม่พบแบคทีเรีย ยีสต์ และรา ตลอดอายุการเก็บรักษา

จากที่กล่าวมาข้างต้นจึงสรุปได้ว่าสีแอนโทไซยานินที่เติม maltodextrin ความเข้มข้น 3% (w/v) จะให้ผลดีที่สุด เมื่อพิจารณาทั้งค่าร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือ ค่าครึ่งชีวิตของแอนโทไซยานิน ค่า DI และค่า PC

ตารางที่ 4.27 ผลของ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 2 และ 3% (w/v) เทียบกับ control ต่อค่า L* ระหว่างการเก็บรักษาสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็ง

ระยะเวลา (วัน)	ค่า L*				
	Control	2% Trehalose	3% Trehalose	2% Maltodextrin	3% Maltodextrin
0	27.95 ^{ns} ± 4.52	29.80 ^a ± 2.69	31.60 ^{ab} ± 1.53	20.89 ^c ± 1.75	28.03 ^a ± 4.91
7	30.24 ^{ns} ± 4.43	28.15 ^{ab} ± 4.55	32.31 ^a ± 0.61	24.58 ^{abc} ± 0.25	23.04 ^{ab} ± 4.74
14	32.50 ^{ns} ± 0.92	25.16 ^{ab} ± 2.20	31.13 ^{abcd} ± 0.22	23.79 ^{abc} ± 0.26	25.16 ^{ab} ± 3.61
21	30.47 ^{ns} ± 4.79	24.18 ^{ab} ± 2.11	30.37 ^{abcde} ± 0.22	22.61 ^{bc} ± 1.95	24.98 ^{ab} ± 2.46
28	32.75 ^{ns} ± 5.15	24.67 ^b ± 0.82	28.71 ^{de} ± 3.54	23.98 ^{abc} ± 0.44	25.73 ^{ab} ± 2.53
35	29.98 ^{ns} ± 6.48	25.26 ^{ab} ± 0.04	32.14 ^a ± 0.23	24.79 ^{abc} ± 0.53	26.82 ^{ab} ± 1.80
42	31.05 ^{ns} ± 3.39	25.34 ^{ab} ± 2.21	31.69 ^{ab} ± 0.23	23.25 ^{abc} ± 0.82	25.71 ^{ab} ± 4.05
49	32.39 ^{ns} ± 5.09	25.00 ^{ab} ± 2.18	31.35 ^{abc} ± 0.22	24.04 ^{abc} ± 2.08	26.44 ^{ab} ± 2.60
56	29.30 ^{ns} ± 4.60	25.05 ^{ab} ± 0.01	30.10 ^{abcde} ± 0.01	25.13 ^{ab} ± 4.42	26.72 ^{ab} ± 1.84
63	28.21 ^{ns} ± 4.07	26.37 ^{ab} ± 0.71	29.95 ^{abcde} ± 0.25	25.63 ^{ab} ± 2.21	24.69 ^{ab} ± 0.52
70	27.09 ^{ns} ± 4.26	24.42 ^b ± 0.25	29.01 ^{cde} ± 0.52	25.77 ^{ab} ± 0.43	23.15 ^{ab} ± 0.13
77	26.79 ^{ns} ± 4.21	26.04 ^{ab} ± 0.93	29.66 ^{bcde} ± 0.33	25.91 ^{ab} ± 0.04	21.86 ^{ab} ± 2.15
84	26.83 ^{ns} ± 2.71	26.80 ^{ab} ± 2.21	29.28 ^{bcde} ± 0.21	25.31 ^{ab} ± 0.67	21.84 ^{ab} ± 2.15
91	28.97 ^{ns} ± 4.55	26.25 ^{ab} ± 2.16	28.04 ^e ± 0.20	24.01 ^{abc} ± 2.07	20.82 ^b ± 2.05
98	27.17 ^{ns} ± 4.27	26.35 ^{ab} ± 2.17	30.24 ^{abcde} ± 0.21	25.94 ^a ± 3.74	24.14 ^{ab} ± 2.37
105	27.86 ^{ns} ± 4.38	22.12 ^b ± 1.93	30.08 ^{abcde} ± 0.10	24.17 ^{abc} ± 0.69	22.04 ^{ab} ± 2.17

ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับ (a,b,c ...) ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4.28 ค่า F จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 2 และ 3% (w/v) เทียบกับ control ต่อค่า L* ระหว่างการเก็บรักษา สีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็ง

ความเข้มข้น (w/v)	ค่า F	
	Trehalose	Maltodextrin
0%	0.445	0.445
2%	1.089*	1.403*
3%	3.161*	1.149*

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4.29 ผลของ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 2 และ 3% (w/v) เทียบกับ control ต่อค่า C* ระหว่างการเก็บรักษา สีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็ง

ระยะเวลา (วัน)	ค่า C*				
	Control	2% Trehalose	3% Trehalose	2% Maltodextrin	3% Maltodextrin
0	86.93 ± 6.14	90.54 ± 4.15	93.47 ± 2.09	70.42 ± 3.38	82.72 ± 9.55
7	90.38 ± 6.26	88.38 ± 5.39	88.85 ± 6.33	75.48 ± 3.06	73.85 ± 10.55
14	92.32 ± 0.41	86.38 ± 3.09	92.80 ± 3.42	73.55 ± 2.23	80.04 ± 9.94
21	87.74 ± 3.75	85.32 ± 2.95	93.51 ± 3.44	75.19 ± 3.26	77.08 ± 4.64
28	90.86 ± 3.99	78.12 ± 6.96	83.75 ± 12.67	72.47 ± 2.25	79.24 ± 4.76
35	79.06 ± 5.20	78.36 ± 7.76	95.57 ± 3.47	76.21 ± 7.38	82.16 ± 3.29
42	87.01 ± 0.51	86.91 ± 3.10	95.23 ± 3.48	70.30 ± 4.16	86.66 ± 2.77
49	90.60 ± 3.95	85.94 ± 3.05	94.50 ± 3.45	77.64 ± 3.40	81.73 ± 4.92
56	85.48 ± 3.63	83.43 ± 0.07	85.61 ± 5.36	81.50 ± 7.03	83.71 ± 0.08
63	83.69 ± 2.02	79.20 ± 6.03	84.47 ± 4.80	69.88 ± 1.39	79.25 ± 0.58
70	79.24 ± 3.65	74.15 ± 6.46	83.24 ± 4.35	70.09 ± 1.82	78.45 ± 5.33
77	78.53 ± 3.60	79.67 ± 4.48	88.40 ± 0.84	69.65 ± 0.56	66.28 ± 4.05
84	75.50 ± 5.20	84.78 ± 3.04	86.75 ± 3.18	72.48 ± 1.19	71.79 ± 4.21
91	89.33 ± 3.96	84.18 ± 2.94	84.71 ± 3.13	73.55 ± 6.29	69.44 ± 4.01
98	86.63 ± 3.75	83.80 ± 2.97	87.40 ± 3.17	58.17 ± 3.12	78.05 ± 4.57
105	74.71 ± 3.39	73.80 ± 3.94	87.85 ± 0.40	68.18 ± 4.42	73.33 ± 4.25

ตารางที่ 4.30 ผลของ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 2 และ 3% (w/v) เทียบกับ control ต่อค่า h° ระหว่างการเก็บรักษาสี่แอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็ง

ระยะเวลา (วัน)	ค่า h°				
	Control	2% Trehalose	3% Trehalose	2% Maltodextrin	3% Maltodextrin
0	33.19 ± 3.48	34.25 ± 1.77	35.28 ± 1.08	30.38 ± 1.17	34.68 ± 3.04
7	34.74 ± 3.13	32.86 ± 3.78	33.24 ± 3.47	31.53 ± 1.69	31.92 ± 2.49
14	36.26 ± 0.02	32.08 ± 1.96	33.91 ± 0.59	28.68 ± 5.14	33.23 ± 2.44
21	33.51 ± 1.20	31.07 ± 1.93	34.05 ± 0.59	31.20 ± 0.84	33.32 ± 1.44
28	35.05 ± 1.23	32.89 ± 4.53	35.95 ± 1.28	26.99 ± 1.06	33.11 ± 1.43
35	24.79 ± 0.23	33.40 ± 4.13	35.40 ± 0.60	33.89 ± 2.91	34.44 ± 0.06
42	33.19 ± 0.91	32.01 ± 1.96	34.84 ± 0.60	29.40 ± 5.52	37.03 ± 2.87
49	34.70 ± 1.22	31.91 ± 1.96	34.75 ± 0.60	32.21 ± 0.85	33.30 ± 1.44
56	33.13 ± 1.20	30.74 ± 0.36	36.42 ± 3.43	34.28 ± 0.74	37.62 ± 4.38
63	31.88 ± 0.28	34.28 ± 3.59	35.85 ± 3.82	33.94 ± 9.98	34.05 ± 1.38
70	37.94 ± 1.27	32.15 ± 6.35	35.50 ± 3.13	41.74 ± 2.12	33.16 ± 1.07
77	37.66 ± 1.26	34.94 ± 3.57	33.56 ± 0.58	38.94 ± 0.25	34.23 ± 1.46
84	37.18 ± 1.53	32.14 ± 1.96	34.38 ± 0.59	36.51 ± 0.17	31.42 ± 1.39
91	35.56 ± 1.24	31.44 ± 1.94	33.70 ± 0.59	33.09 ± 0.68	30.34 ± 1.37
98	34.17 ± 1.21	31.82 ± 1.95	35.34 ± 0.60	49.74 ± 0.93	31.44 ± 1.39
105	37.04 ± 1.26	34.19 ± 4.17	34.31 ± 0.38	37.03 ± 1.44	30.60 ± 1.37

4.3 ศึกษาการทำเข้มข้นสารละลายสกัดแอนโทไซยานิน

4.3.1 ศึกษาชนิดของ stabilizer ที่เหมาะสมสำหรับสีแอนโทไซยานินเข้มข้น

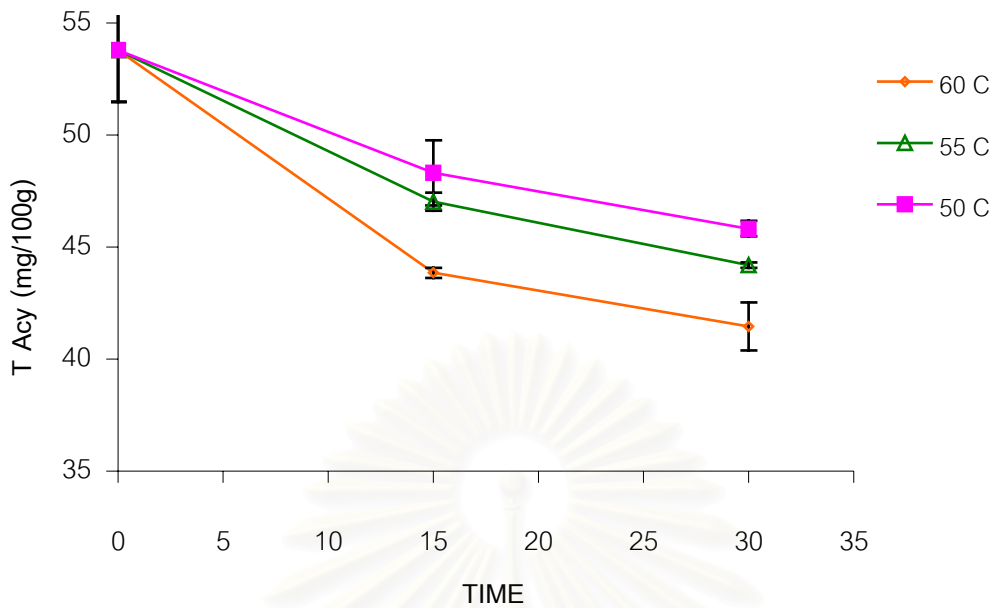
ในการทำเข้มข้นสารละลายสกัดแอนโทไซยานิน ต้องศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการทำเข้มข้น เตรียมสารละลายสกัดแอนโทไซยานินจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง (ดังข้อ 3.3.1) โดยใช้สารละลายน้ำต่อเอทานอล (1:1) ปรับ pH เป็น 2.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก เป็นตัวทำละลาย อัตราส่วนระหว่างกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงกับตัวทำละลายเป็น 1 ต่อ 4 กรองสารละลายที่สกัดได้ด้วยผ้ากรอง นำไปปั่นแยกกากด้วยเครื่อง Refrigerated centrifuge ที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบ ต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำส่วนใสมาทำเข้มข้นด้วยเครื่องทำเข้มข้นแบบสุญญากาศ โดยแปรอุณหภูมิ 50 55 และ 60 องศาเซลเซียส และเวลาที่ 0, 15 และ 30 นาที วัดปริมาณสารละลายสกัดแอนโทไซยานิน หลังทำเข้มข้น และปริมาณแอนโทไซยานินด้วยวิธี pH differential เพื่อเลือกสภาวะในการทำเข้มข้นที่เหมาะสมผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.31 และ รูปที่ 4.6

ตารางที่ 4.31 ผลของอุณหภูมิและเวลาในการทำเข้มข้นสารละลายสกัดแอนโทไซยานินต่อปริมาณสารละลายสกัดแอนโทไซยานิน และปริมาณแอนโทไซยานิน

อุณหภูมิ (°C)	เวลา (นาที)	ปริมาณสารละลายสกัด แอนโทไซยานินเข้มข้น (มิลลิลิตร)	ปริมาณแอนโทไซยานิน** (มิลลิกรัม delphinidin-3-glucoside ต่อ 100 กรัมวัตถุดิบ)
control	0	230	53.779 ^a ± 2.309
50	15	190	48.301 ^b ± 1.455
	30	136	45.818 ^{bc} ± 0.348
55	15	123	47.026 ^b ± 0.411
	30	70	44.186 ^{cd} ± 0.126
60	15	124	43.851 ^{cd} ± 0.221
	30	67	41.458 ^d ± 1.075

**ใช้ E_{1CM}^{1%} ของ delphinidin-3-glucoside ซึ่งมีค่าเท่ากับ 559 (Du และ Francis , 1973)

ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับ (a,b,c ...) ต่างกันในสมมุติเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.6 ผลของอุณหภูมิและเวลาในการทำเข้มข้นสารละลายสกัดแอนโทไซยานินต่อปริมาณแอนโทไซยานิน

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเวลาในการทำเข้มข้นสารละลายสกัดแอนโทไซยานินมีผลต่อปริมาณแอนโทไซยานิน โดยปริมาณแอนโทไซยานินในสารละลายสกัดที่ผ่านการทำเข้มข้นที่เวลา 15 และ 30 นาที มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 4.32) เมื่อพิจารณาสารละลายสกัดแอนโทไซยานินหลังผ่านการทำเข้มข้นเป็นเวลา 30 นาที พบว่าที่อุณหภูมิ 60 และ 55 องศาเซลเซียส มีปริมาณสารละลายสกัดเป็น 67 และ 70 มิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งแสดงว่าการทำเข้มข้นที่อุณหภูมิ 60 และ 55 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาทีทำให้สารละลายสกัดแอนโทไซยานินเข้มข้นขึ้น 3 เท่าของสารละลายสกัดแอนโทไซยานินเริ่มต้น แต่ถ้าใช้เวลาในการทำเข้มข้นนาน 45 นาที แอนโทไซยานินจะลดลงอย่างรวดเร็ว (ร้อยละ 35 ของปริมาณแอนโทไซยานินเริ่มต้น) ดังนั้นจึงเลือกเวลาในการทำเข้มข้น 30 นาที แต่เนื่องจากการทำเข้มข้นที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็น 30 นาที ทำให้ปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือต่ำกว่าการทำเข้มข้นที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที เนื่องจากแอนโทไซยานินเกิดการสลายตัวเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น โดยการทำเข้มข้นที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส 30 นาที แอนโทไซยานินสลายตัวร้อยละ 22.91 ในขณะที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที แอนโทไซยานินสลายตัวร้อยละ 17.84

เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Chigurupati, Saiki, Gayser Jr. และ Dask (2002) ซึ่งศึกษาถึงผลของอุณหภูมิต่ออัตราการสลายตัวของสี red cabbage โดยเก็บรักษา

สี red cabbage (pH 3.0) ที่อุณหภูมิ 23 ± 1.0 องศาเซลเซียส 37 ± 0.5 องศาเซลเซียส และ 50 ± 0.05 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 วัน พบว่าการสลายตัวของสี red cabbage เพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น โดยที่อุณหภูมิ 23 ± 1.0 องศาเซลเซียส สี red cabbage เกิดการสลายตัวร้อยละ 1.2 ± 0.1 แต่ที่อุณหภูมิ 50 ± 0.05 องศาเซลเซียสสี red cabbage จะเกิดการสลายตัวเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 9.0 ± 0.9

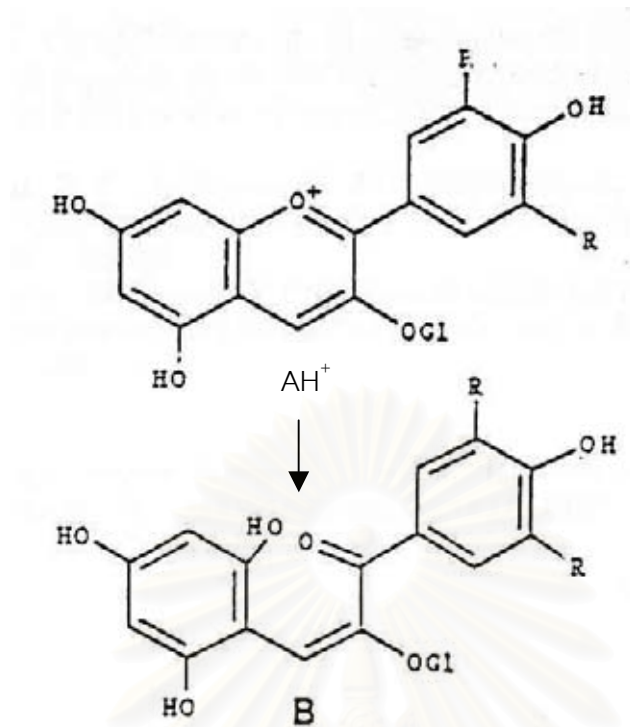
ซึ่งกลไกการสลายตัวของแอนโทไซยานินเนื่องจากอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นยังไม่เป็นที่แน่ชัด แต่มีสองกลไกที่น่าสนใจคือ เมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นจะทำให้ heterocycle เปิดออกเป็น chalcone ซึ่งไม่มีสี (Chandra, Nair และ Iezzoni, 1993) (รูปที่ 4.7) และอีกกลไกหนึ่งคือ จากการศึกษาของ Hrazdina (1971) ถึงการสลายตัวของสีโดยใช้สารตั้งต้นคือ 3,5-di-(o- β -D-glucosyl)-7-hydroxycoumarin พบว่ากลไกการสลายตัวเป็น ดังรูปที่ 4.8 โดย flavylum form (I) จะถูกเปลี่ยนรูปไปเป็น anhydrobase (II) และ intermediate structures จากนั้นจึงเกิดการแตกพันธะเป็น coumarin derivative (III) และ B-ring (IV) ของแอนโทไซยานิน โดยการสลายตัวดังกล่าวนี้มีความร้อนเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

ดังนั้นเมื่อพิจารณาจากความสามารถในการทำเข้มข้น และปริมาณแอนโทไซยานินหลังจากผ่านการทำเข้มข้น การทดลองขั้นต่อไปจึงเลือกใช้สภาวะในการทำเข้มข้นที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เวลา 30 นาที

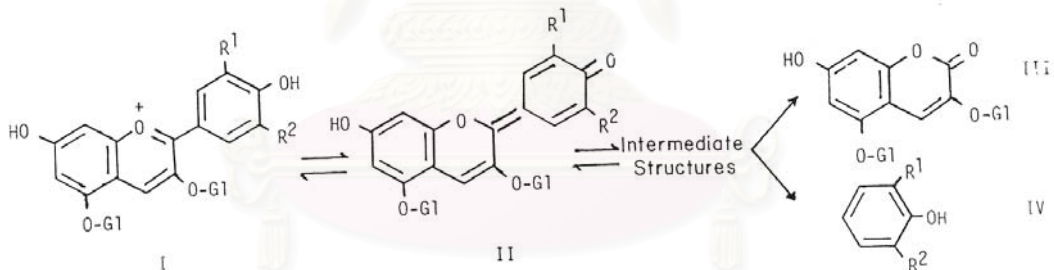
ตารางที่ 4.32 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของอุณหภูมิและเวลาในการทำเข้มข้น สารละลายสกัดแอนโทไซยานินต่อปริมาณแอนโทไซยานิน

Source of variance	df	MS
อุณหภูมิ และเวลา	6	31.532*
Error	7	1.279

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.7 กลไกการสลายตัวของแอนโทไซยานิน : (AH⁺) flavylum cation, (B) chalcone (Chandra, Nair และ lezzoni, 1993)



รูปที่ 4.8 การสลายตัวของ anthocyanidin 3,5-diglucoside ที่ pH 3.7 (Markakis, 1982)

จากนั้นเตรียมสารละลายสกัดแอนโทไซยานินจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง ด้วยวิธีการในข้อ 3.2.1 เพื่อศึกษาผลของน้ำตาล glucose, sucrose และ trehalose และ maltodextrin ที่ใช้เป็น stabilizer ในสีแอนโทไซยานินเข้มข้น นำสารละลายสกัดแอนโทไซยานิน มาทำเข้มข้นด้วยเครื่องทำเข้มข้นแบบสุญญากาศ โดยใช้สภาวะที่เลือกมาจากการทดลองข้างต้น คือ อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เวลา 30 นาที โดยใช้น้ำตาล glucose, sucrose และ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 2 และ 3% (w/v) เป็น stabilizer วิเคราะห์ปริมาณ แอนโทไซยานินก่อนและหลังทำเข้มข้นด้วยวิธี pH differential นำค่าที่ได้ไปคำนวณ

ร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือ และค่า DI ของสีแอนโทไซยานินหลังผ่านการทำเข้มข้น ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.33

จากตารางที่ 4.33 พบว่าค่าร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือ และ ค่า DI ของสารละลายสกัดแอนโทไซยานินที่ผ่านการทำเข้มข้นที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เวลา 30 นาที โดยใช้ น้ำตาล glucose sucrose และ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 2 และ 3 % (w/v) เป็น stabilizer ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 95 (ตารางที่ 4.34 และตารางที่ 4.35) แสดงว่าน้ำตาล glucose sucrose และ trehalose และ maltodextrin ไม่สามารถช่วยรักษาเสถียรภาพของแอนโทไซยานิน ในกระบวนการทำเข้มข้น โดยการใช้น้ำตาลแต่ละชนิด และ maltodextrin ที่ความเข้มข้น 2 และ 3% ก็ไม่ได้ให้ผลที่แตกต่างกัน แต่อย่างไรก็ตาม stabilizer ที่ใช้ก็อาจมีผลต่อเสถียรภาพของแอนโทไซยานินในช่วงของการเก็บรักษาก็อาจเป็นไปได้

ตารางที่ 4.33 ผลของน้ำตาล glucose sucrose และ trehalose และ maltodextrin ในการทำเข็มสารละลายสกัดแอนโทไซยานิน ต่อปริมาณแอนโทไซยานิน ก่อนและหลังทำเข้มข้น ร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือหลังทำเข้มข้นและค่า Degradation Index (DI)

ชนิด stabilizer	ความเข้มข้น stabilizer (w/v)	ปริมาณแอนโทไซยานิน** (มิลลิกรัมต่อ สารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร)		ร้อยละปริมาณ แอนโทไซยานินคงเหลือ จากการทำแห้ง ^{ns}	ค่า Degradation Index (DI) ^{ns}
		ก่อนทำแห้ง	หลังทำแห้ง		
		Control	0%		
Glucose	2%	42.024 ± 1.122	41.782 ± 0.996	99.42 ± 1.07	1.12 ± 0.02
	3%	40.083 ± 1.119	39.472 ± 1.094	98.48 ± 0.68	1.10 ± 0.01
Sucrose	2%	40.452 ± 1.142	35.666 ± 1.137	88.17 ± 7.38	1.12 ± 0.02
	3%	40.564 ± 3.985	35.864 ± 1.112	88.41 ± 14.24	1.11 ± 0.00
Trehalose	2%	45.811 ± 0.654	41.879 ± 3.157	91.42 ± 5.59	1.12 ± 0.02
	3%	46.146 ± 2.330	42.341 ± 0.996	91.75 ± 6.80	1.10 ± 0.01
Maltodextrin	2%	42.140 ± 1.629	36.162 ± 0.638	85.81 ± 1.80	1.09 ± 0.01
	3%	46.348 ± 5.460	40.929 ± 7.474	88.31 ± 5.76	1.09 ± 0.02

**ใช้ E_{1CM}^{1%} ของ delphinidin-3-glucoside ซึ่งมีค่าเท่ากับ 559 (Du และ Francis , 1973)

ns คือ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4.34 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของน้ำตาล glucose sucrose และ trehalose และ maltodextrin ในการทำเข้มข้นสารละลายสกัดแอนโทไซยานิน ต่อร้อยละ ปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือหลังทำเข้มข้น

Source of variance	df	MS
Stabilizer (A)	8	43.187
Error	9	46.775

ตารางที่ 4.35 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของน้ำตาล glucose sucrose และ trehalose และ maltodextrin ในการทำเข้มข้นสารละลายสกัดแอนโทไซยานิน ต่อค่า DI หลังทำเข้มข้น

Source of variance	df	MS
Stabilizer (A)	8	2.625×10^{-4}
Error	9	1.944×10^{-4}

เมื่อพิจารณาค่า total colour density (TCD) พบว่าค่า TCD หลังทำเข้มข้นสารละลายสกัดแอนโทไซยานินในทุกตัวอย่างมีค่า TCD ลดลง (ตารางที่ 4.36) การที่สีแอนโทไซยานินหลังการทำเข้มข้นมีค่า TCD ลดลง แสดงว่าสารละลายสกัดแอนโทไซยานินที่ผ่านการทำเข้มข้นมีความเข้มสีลดลง ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณแอนโทไซยานินในสารละลายสกัดที่ลดลงหลังผ่านการทำเข้มข้น (ตารางที่ 4.33) และค่าสีที่วัดโดยระบบ CIE L*a*b* จากตารางที่ 4.37 พบว่าสีแอนโทไซยานินที่ใส น้ำตาล glucose sucrose และ trehalose และ maltodextrin เมื่อผ่านการทำเข้มข้น มีค่า L* และ a* เพิ่มขึ้นจากสารละลายสกัดแอนโทไซยานินก่อนทำเข้มข้น โดยค่า L* เพิ่มขึ้นแสดงว่าตัวอย่างมีความสว่างเพิ่มขึ้น ส่วนค่า a* ที่เพิ่มขึ้นแสดงว่าตัวอย่างมีสีแดงเพิ่มขึ้น ซึ่งเกิดจากการให้ความร้อนทำให้แอนโทไซยานินเกิดการสลายตัว จึงทำให้สารละลายสกัดมีความสว่างและค่าสีแดงเพิ่มขึ้นด้วย

เมื่อคำนวณค่า ΔE^* พบว่าทุกตัวอย่างมีค่า $\Delta E^* > 2$ แสดงว่าสารละลายสกัดแอนโทไซยานินหลังทำเข้มข้นมีสีแตกต่างกับสารละลายสกัดก่อนทำเข้มข้น

จากการทดลองเมื่อพิจารณาค่าร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือ ค่า DI และค่า TCD จึงสรุปได้ว่าน้ำตาล glucose, sucrose และ trehalose และ maltodextrin ไม่ช่วยในการรักษาเสถียรภาพของแอนโทไซยานินเมื่อผ่านการทำเข้มข้น

ตารางที่ 4.36 ผลของน้ำตาล glucose sucrose และ trehalose และ maltodextrin ในการทำเข้มข้นสารละลายสกัดแอนโทไซยานิน ต่อค่า TCD ก่อนและหลังทำเข้มข้น

ชนิด stabilizer	ความเข้มข้น stabilizer (w/v)	ปริมาณความเข้มข้นทั้งหมด (TCD)	
		ก่อนทำแห้ง	หลังทำแห้ง
Control	0%	1.814 ± 0.129	1.780 ± 0.066
Glucose	2%	1.832 ± 0.038	1.822 ± 0.077
	3%	1.681 ± 0.295	1.441 ± 0.247
Sucrose	2%	1.763 ± 0.067	1.688 ± 0.146
	3%	1.600 ± 0.188	1.500 ± 0.312
Trehalose	2%	2.080 ± 0.462	1.824 ± 0.160
	3%	1.929 ± 0.165	1.698 ± 0.367
Maltodextrin	2%	1.912 ± 0.060	1.387 ± 0.239
	3%	2.074 ± 0.218	1.418 ± 0.190

ตารางที่ 4.37 ผลของน้ำตาล glucose sucrose และ trehalose และ maltodextrin ในการทำเข้มข้นสารละลายสกัดแอนโทไซยานิน ต่อค่า L* ค่า a* และค่า b* ก่อนและหลังทำเข้มข้น และค่า ΔE^*

ชนิด stabilize	ความเข้มข้น stabilizer (w/v)	ค่า L*		ค่า a*		ค่า b*		ค่า ΔE^*
		ก่อนทำแห้ง	หลังทำแห้ง	ก่อนทำแห้ง	หลังทำแห้ง	ก่อนทำแห้ง	หลังทำแห้ง	
Control	0%	30.69 ± 2.08	34.02 ± 0.55	74.72 ± 0.66	75.34 ± 0.09	52.44±3.61	58.25±0.93	8.94 ± 0.00
Glucose	2%	30.51 ± 0.44	32.89 ± 1.20	74.10 ± 0.40	73.71 ± 0.41	52.17±0.78	56.19±2.23	4.68 ± 1.63
	3%	32.20 ± 2.55	38.38 ± 4.07	75.73 ± 1.45	76.17 ± 2.38	55.03±4.37	64.16±4.85	11.08 ± 1.30
Sucrose	2%	29.82 ± 0.12	34.78 ± 1.08	72.53 ± 0.81	75.08 ± 0.12	50.93±0.23	59.49±1.85	10.21 ± 1.98
	3%	31.68 ± 2.10	36.13 ± 2.85	75.34 ± 1.19	76.28 ± 2.82	54.13±3.70	61.49±4.34	8.68 ± 1.20
Trehalose	2%	29.78 ± 0.95	32.47 ± 3.35	74.16 ± 0.34	74.62 ± 1.31	50.90±1.71	55.60±5.62	8.73 ± 0.00
	3%	29.94 ± 1.02	34.75 ± 1.69	74.81 ± 0.01	75.56 ± 0.18	51.87±0.80	59.35±2.61	12.01 ± 0.00
Maltodextrin	2%	29.39 ± 3.48	36.75 ± 1.00	72.50 ± 3.47	76.52 ± 0.86	50.25±5.99	62.54±1.14	21.49 ± 0.00
	3%	26.32 ± 1.10	35.87 ± 0.53	68.69 ± 0.03	75.56 ± 1.48	44.27±2.89	61.18±1.19	20.65 ± 1.18

4.3.2 ศึกษาเสถียรภาพของสีแอนโทไซยานินที่ได้จากการทำเข้มข้นโดยใช้น้ำตาล

glucose, sucrose และ trehalose และ maltodextrin เป็น stabilizer

ศึกษาเสถียรภาพของแอนโทไซยานินที่ผ่านการทำเข้มข้น โดยใช้น้ำตาล

glucose sucrose และ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 2 และ 3% (w/v) เป็น stabilizer โดยเก็บสีแอนโทไซยานินเข้มข้นในขวดแก้วสีชาขนาด 5 มิลลิลิตร ปิดด้วยฝาเกลียวพลาสติก มี head space 1.2 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิห้อง (30°C) สุ่มตัวอย่างมาวิเคราะห์ทุกสัปดาห์ เป็นเวลา 15 สัปดาห์ โดยวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดของสีแอนโทไซยานินทำเข้มข้นด้วยวิธี pH differential แล้วแสดงในรูปของร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือ (% relative anthocyanin) ค่าครึ่งชีวิตของแอนโทไซยานิน ค่า Degradation Index (DI) ปริมาณสี Polymeric (PC) และปริมาณความเข้มข้นสีทั้งหมด (TCD) ตรวจปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด ยีสต์ รา ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.38, 4.40, 4.41, 4.43 และ 4.44

สีแอนโทไซยานินเข้มข้นที่ใส่ glucose, sucrose และ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 2 และ 3% (w/v) เป็น stabilizer เมื่อเก็บเป็นเวลา 105 วัน มีค่าร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือลดลง จากตารางที่ 4.38 และรูปที่ 4.9 การใช้น้ำตาล glucose, sucrose และ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 2 และ 3% (w/v) เป็น stabilizer ในสีแอนโทไซยานินเข้มข้นไม่ได้ช่วยชะลอการลดลงของปริมาณแอนโทไซยานินเมื่อเทียบกับสีแอนโทไซยานินเข้มข้นที่ไม่ได้ใส่น้ำตาล (control) โดยพบว่าในทุกสัปดาห์ที่ทำกรวิเคราะห์ในทุกตัวอย่างมีปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 4.39) ซึ่งขัดแย้งกับงานวิจัยของ Lewis, Walker และ Lancaster (1995) ที่ได้ศึกษาถึงผลของน้ำตาลและ polysaccharide ชนิดต่างๆ ต่อความเข้มข้นสีของแอนโทไซยานิน โดยชนิดของ polysaccharide ที่ใช้ได้แก่ amylose amylopectin และ pectin ความเข้มข้น 1.5% (w/v) alpha-cyclodextrin, beta-cyclodextrin และ polydextrose ความเข้มข้น 3% (w/v) น้ำตาลที่ใช้ได้แก่ sucrose, glucose, fructose, maltose ความเข้มข้น 50% (w/v) ผลการศึกษาพบว่ากรใช้น้ำตาลให้ผลดีกว่ากรใช้ polysaccharide โดยความเข้มข้นสีของแอนโทไซยานินลดลงเมื่อเติม amylose, amylopectin, alpha และ beta-cyclodextrin ขณะที่ maltose, glucose และ sucrose กลับช่วยเพิ่มความเข้มข้นสีแอนโทไซยานิน ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากในสภาวะที่แอนโทไซยานินอยู่ในสารละลายที่เป็นกรด แอนโทไซยานินจะมีโครงสร้าง 4 รูปคือ quinonoid base (A) flavylium cation (AH⁺) pseudobase หรือ carbinol (PB) และ chalcone (C) ซึ่งกลไกการสลายตัวของแอนโทไซยานินเกิดได้ดังนี้

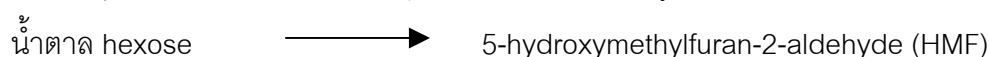


ในสารละลายที่ pH ต่ำแอนโทไซยานินจะอยู่ในรูป flavylium cation (AH^+) ซึ่งทำให้สารละลายมีสีแดง และเมื่อพิจารณาจากกลไก (b) พบว่าสามารถใช้ป้องกันการสลายตัวของแอนโทไซยานินได้ โดยกำจัดน้ำออกเพื่อช่วยลดปฏิกิริยา hydration ดังนั้นการใส่น้ำตาลลงในสีแอนโทไซยานินจะช่วยลดค่า a_w ในผลิตภัณฑ์ลง เนื่องจากน้ำตาลเข้าไปจับน้ำจึงช่วยลดปฏิกิริยา hydration ได้ ทำให้แอนโทไซยานินเสถียรขึ้น และอีกปัจจัยหนึ่งคือน้ำตาลเป็น copigment ชนิดหนึ่ง ซึ่งสามารถเกิด copigmentation กับแอนโทไซยานินได้ โดยส่วนของ aromatic residues ของ copigment จะจับกับ pyrilium ring ของ flavylium cation แอนโทไซยานินจึงมีเสถียรภาพดีขึ้น

ในงานวิจัยของ Lewis, Walker และ Lancaster (1995) ใช้ sucrose, glucose และ maltose 50% (w/v) แต่ในงานวิจัยนี้ใช้ glucose และ sucrose ความเข้มข้น 2 และ 3% (w/v) จึงไม่เพียงพอที่จะช่วยรักษาเสถียรภาพของแอนโทไซยานินได้

การใช้น้ำตาลเป็น stabilizer ถึงแม้ว่าค่าร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือจะไม่แตกต่างจาก control ในแต่ละสัปดาห์ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา แต่อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาค่าครึ่งชีวิตของแอนโทไซยานิน พบว่าน้ำตาลมีผล (ตารางที่ 4.40)

เมื่อพิจารณาชนิดของ stabilizer ต่อเสถียรภาพของสีแอนโทไซยานินที่ได้จากการทำเข้มข้น จากตารางที่ 4.38 ซึ่งแสดงค่าร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินระหว่างการเก็บรักษาสีแอนโทไซยานินเข้มข้น โดยพบว่าการใช้น้ำตาล trehalose และ maltodextrin จะมีอัตราการลดลงของแอนโทไซยานินต่ำกว่าเมื่อเก็บรักษาเทียบกับการใช้น้ำตาล glucose และ sucrose และเมื่อพิจารณาค่าครึ่งชีวิตของแอนโทไซยานิน (ตารางที่ 4.40) พบว่าการใช้น้ำตาล trehalose และ maltodextrin จะมีค่าครึ่งชีวิตของแอนโทไซยานินสูงกว่า ค่าที่ได้จากการใช้น้ำตาล glucose และ sucrose ทั้งนี้เนื่องจากในสภาวะที่มีความเป็นกรดสูง และได้รับความร้อน น้ำตาลจะเกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายด้วยกรด (acid catalyz) ซึ่งมีกลไกดังนี้



ซึ่ง furfural และ HMF ทำให้แอนโทไซยานินเกิดการเสื่อมสลาย ดังนั้นงานวิจัยของ Daravingas และ Cain (1968) ได้ศึกษาถึงผลของ glucose และผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการสลายตัวของน้ำตาลนั้นก็คือ HMF และ furfural ต่อร้อยละรงควัตถุคงเหลือ (%relative pigment) ในสารละลาย citrate buffer pH 3.25 ซึ่งมี cyanidin-3-di-glucoside เก็บที่อุณหภูมิ

50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน พบว่าอัตราการลดลงของร้อยละรงควัตถุคงเหลือในตัวอย่างที่ใส่ 0.1 M furfural มีอัตราการลดลงของร้อยละรงควัตถุคงเหลือมากที่สุด รองลงมาคือ 0.1 M HMF 0.1 M levulinic acid, 0.1 M formic acid และ 0.1 M glucose ตามลำดับ

ในขณะที่ trehalose เป็นน้ำตาล non-reducing disaccharide โดยมีน้ำตาล glucose ต่อกันด้วยพันธะ α -1,1 ซึ่งทำให้น้ำตาล trehalose มีเสถียรภาพดีกว่าน้ำตาล glucose และ sucrose เมื่อพิจารณา maltodextrin พบว่า maltodextrin เป็นสารโมเลกุลใหญ่ น้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วงระหว่าง polysaccharides และ oligosaccharides ดังนั้นจะถูกไฮโดรไลสเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวได้ยากกว่าน้ำตาล sucrose จึงทำให้เกิด HMF หรือ furfural ได้น้อย แอนโทไซยานินจึงไม่สลายตัวมาก

ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า การใส่น้ำตาล trehalose และ maltodextrin จะช่วยเพิ่มเสถียรภาพของสีแอนโทไซยานินเข้มข้นเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 105 วัน และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Chandra, Nair และ Iezzoni (1993) ศึกษาการทำเข้มข้นโดยใช้ XAD-2 resin และศึกษาผลของชนิด dextrin ต่ออายุการเก็บรักษาสีแอนโทไซยานินจาก tart cherry โดยแบ่งตัวอย่างเป็น 4 ส่วน คือ ไม่ใส่ dextrin ใส่ α -cyclodextrin β -cyclodextrin และ maltodextrin ความเข้มข้น 2.5% (w/v) จากนั้นนำสารละลายที่เตรียมได้มาทำเข้มข้นและอีกส่วนนำมาทำแห้งแบบเยือกแข็ง เก็บเป็นเวลา 12 สัปดาห์ นำไปวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินด้วย HPLC โดยหาพื้นที่ใต้กราฟนำไปคำนวณค่าร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือ พบว่าทั้งสีแอนโทไซยานินเข้มข้น และสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งในตัวอย่างที่ใส่ α -cyclodextrin β -cyclodextrin และ maltodextrin มีปริมาณร้อยละแอนโทไซยานินคงเหลือที่เวลา 12 สัปดาห์ มากกว่าตัวอย่างที่ไม่ใส่ dextrin ในทุกตัวอย่าง ดังนั้นการใส่ dextrin ในสารละลายแอนโทไซยานิน จึงช่วยเพิ่มเสถียรภาพของสีแอนโทไซยานินได้ แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสีแอนโทไซยานินเข้มข้น และสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็ง พบว่าสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งมีปริมาณร้อยละแอนโทไซยานินคงเหลือที่เวลา 12 สัปดาห์ มากกว่าสีแอนโทไซยานินเข้มข้น

จากตารางที่ 4.40 ค่าครึ่งชีวิตของสีแอนโทไซยานินเข้มข้นที่เติม maltodextrin ความเข้มข้น 3% (w/v) จะมีค่าครึ่งชีวิตสูงสุดคือ 86 วัน ซึ่งผลที่ได้มีแนวโน้มเช่นเดียวกับสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็ง

จากนั้นพิจารณาค่า DI (ตารางที่ 4.41) ซึ่งบอกถึงการสลายตัวของแอนโทไซยานิน โดยที่ค่า DI เพิ่มขึ้นแสดงว่าแอนโทไซยานินเกิดการเสื่อมสลายเพิ่มขึ้น พบว่าเมื่อเก็บสีแอนโทไซยานินเป็นเวลา 105 วัน สีแอนโทไซยานินเข้มข้นมีค่า DI เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 4.42) เมื่อพิจารณา

รูปที่ 4.10 เห็นได้ว่าอัตราการเพิ่มขึ้นของค่า DI ของสีแอนโทไซยานินเข้มข้นที่ไม่ใส่น้ำตาล มีค่าเพิ่มขึ้นสูงสุด แสดงว่าแอนโทไซยานินเกิดการเสื่อมสลายมากที่สุด ซึ่งผลสอดคล้องกับการลดลงของร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือ (ตารางที่ 4.38)



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.38 ผลของน้ำตาล glucose sucrose และ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 2 และ 3% (w/v) เทียบกับ control ต่อค่าร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินระหว่างการเก็บรักษาดีแอนโทไซยานินเข้มข้น

ระยะเวลา (วัน)	% Relative anthocyanin								
	Control	2% Glucose	3% Glucose	2% Sucrose	3% Sucrose	2% Trehalose	3% Trehalose	2% Maltodextrin	3% Maltodextrin
0 ^{ns}	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
7 ^{ns}	90.40 ± 9.69	91.63 ± 5.36	72.93 ± 8.25	97.39 ± 0.80	109.53 ± 28.31	93.79 ± 7.73	85.56 ± 11.61	104.87 ± 21.76	86.51 ± 17.12
14 ^{ns}	77.72 ± 14.78	75.95 ± 12.80	67.80 ± 12.90	83.60 ± 15.33	75.73 ± 19.58	88.40 ± 25.31	72.65 ± 14.37	75.61 ± 9.16	62.36 ± 4.16
21 ^{ns}	67.52 ± 11.13	61.30 ± 3.00	58.30 ± 1.10	66.23 ± 0.70	61.93 ± 16.01	75.31 ± 25.62	63.97 ± 7.97	69.26 ± 16.75	56.60 ± 2.41
28 ^{ns}	54.48 ± 4.60	54.18 ± 1.52	45.66 ± 5.39	60.15 ± 0.69	53.02 ± 13.71	58.88 ± 11.88	51.34 ± 11.48	57.74 ± 12.23	48.04 ± 1.31
35 ^{ns}	48.03 ± 6.91	43.61 ± 1.38	36.96 ± 9.31	51.95 ± 0.59	44.06 ± 11.39	50.65 ± 11.09	41.74 ± 10.77	47.53 ± 9.89	39.72 ± 4.45
42 ^{ns}	47.14 ± 14.75	38.23 ± 0.49	30.40 ± 6.87	42.64 ± 4.08	34.45 ± 8.90	52.48 ± 3.96	40.90 ± 15.30	50.71 ± 0.89	36.34 ± 7.12
49 ^{ns}	42.94 ± 0.00	27.19 ± 6.73	26.25 ± 8.32	37.73 ± 1.54	26.51 ± 6.85	42.70 ± 9.80	33.45 ± 8.14	37.87 ± 10.88	30.26 ± 5.45
56 ^{ns}	29.60 ± 4.91	27.95 ± 1.41	25.36 ± 9.59	33.52 ± 2.59	21.87 ± 5.65	32.07 ± 12.57	28.75 ± 12.81	36.97 ± 18.89	25.45 ± 3.08
63 ^{ns}	29.78 ± 7.43	24.48 ± 1.64	16.92 ± 1.76	30.27 ± 0.24	31.29 ± 8.09	19.87 ± 1.50	25.16 ± 11.20	21.89 ± 0.39	23.66 ± 6.23
70 ^{ns}	28.98 ± 0.31	23.02 ± 2.63	23.14 ± 3.69	26.12 ± 2.21	23.54 ± 6.09	18.96 ± 1.43	27.47 ± 0.65	24.67 ± 10.89	26.56 ± 4.85
77 ^{ns}	22.01 ± 8.59	18.85 ± 0.90	15.49 ± 5.93	23.05 ± 0.50	20.19 ± 5.22	17.78 ± 1.34	23.03 ± 0.54	18.85 ± 8.50	22.94 ± 3.76
84 ^{ns}	19.94 ± 0.22	19.18 ± 0.41	12.35 ± 3.81	21.78 ± 1.11	11.74 ± 3.03	19.79 ± 7.65	21.71 ± 0.51	15.94 ± 12.53	21.50 ± 3.93
91 ^{ns}	13.56 ± 3.73	14.60 ± 1.14	12.32 ± 5.86	21.26 ± 2.31	9.03 ± 2.33	23.97 ± 0.64	18.44 ± 0.43	20.59 ± 0.36	18.06 ± 3.30
98 ^{ns}	15.61 ± 7.26	11.31 ± 0.52	10.84 ± 5.34	15.62 ± 1.69	10.32 ± 2.63	17.72 ± 12.94	17.51 ± 2.73	16.40 ± 12.74	17.45 ± 1.14
105 ^{ns}	12.34 ± 5.54	9.22 ± 3.11	11.62 ± 1.21	12.53 ± 1.36	9.92 ± 2.57	12.68 ± 7.16	9.82 ± 4.56	19.23 ± 0.34	8.51 ± 3.70

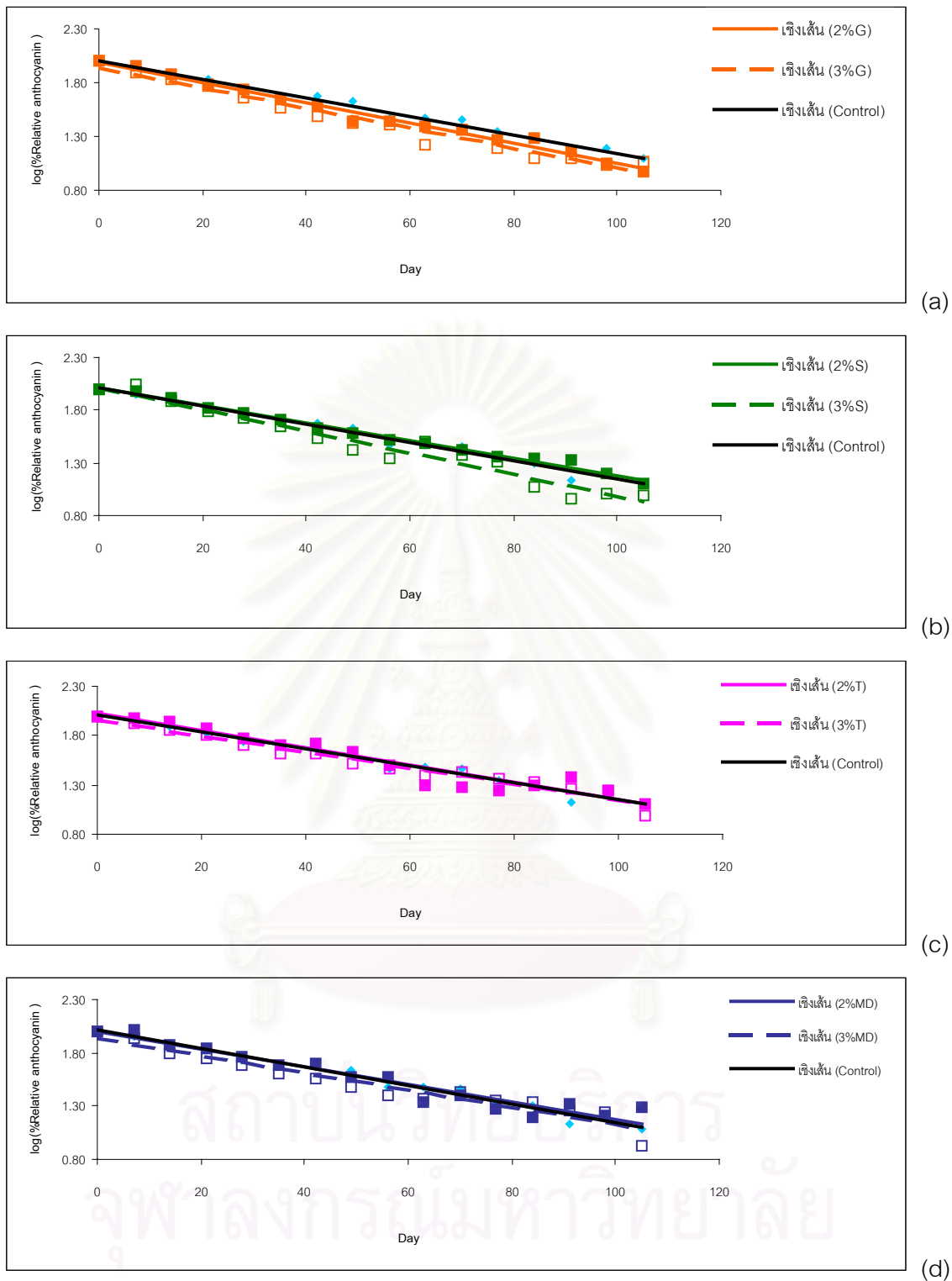
ns คือ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4.39 ค่า F จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของน้ำตาล glucose sucrose และ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 2 และ 3% (w/v) เทียบกับ control ต่อค่าร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือระหว่างการเก็บรักษาของสีแอนโทไซยานินเข้มข้น

ระยะเวลา (วัน)	ค่า F ของ % Relative anthocyanin
0	-
7	0.705
14	0.424
21	0.313
28	0.417
35	0.532
42	0.632
49	0.405
56	0.246
63	0.916
70	0.188
77	0.367
84	0.293
91	0.712
98	0.182
105	1.494

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

สถาบันนวัตกรรมการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.9 ผลของน้ำตาล glucose (G): (a), sucrose (S): (b) และ trehalose (T): (c) และ maltodextrin (MD): (d) ความเข้มข้น 2 และ 3% (w/v) เทียบกับ control ต่อค่าร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือระหว่างการเก็บรักษาของสีแอนโทไซยานินเข้มข้น

เมื่อพิจารณาค่าครึ่งชีวิตของแอนโทไซยานินระหว่างการเก็บรักษาของสีแอนโทไซยานินทำเข้มข้น ดังตารางที่ 4.40 พบว่าสีแอนโทไซยานินเข้มข้นที่ใส่ maltodextrin ความเข้มข้น 3%(w/v) มีค่าครึ่งชีวิตสูงที่สุดคือ 86 วัน จึงสรุปได้ว่าการใช้ maltodextrin เป็น stabilizer ในสีแอนโทไซยานินเข้มข้นจะช่วยชะลอการลดลงของปริมาณแอนโทไซยานิน เมื่อเทียบกับสีแอนโทไซยานินเข้มข้นที่ไม่ได้ใส่น้ำตาล (control)

ตารางที่ 4.40 ค่าครึ่งชีวิตของแอนโทไซยานินระหว่างการเก็บรักษาสีแอนโทไซยานินเข้มข้น

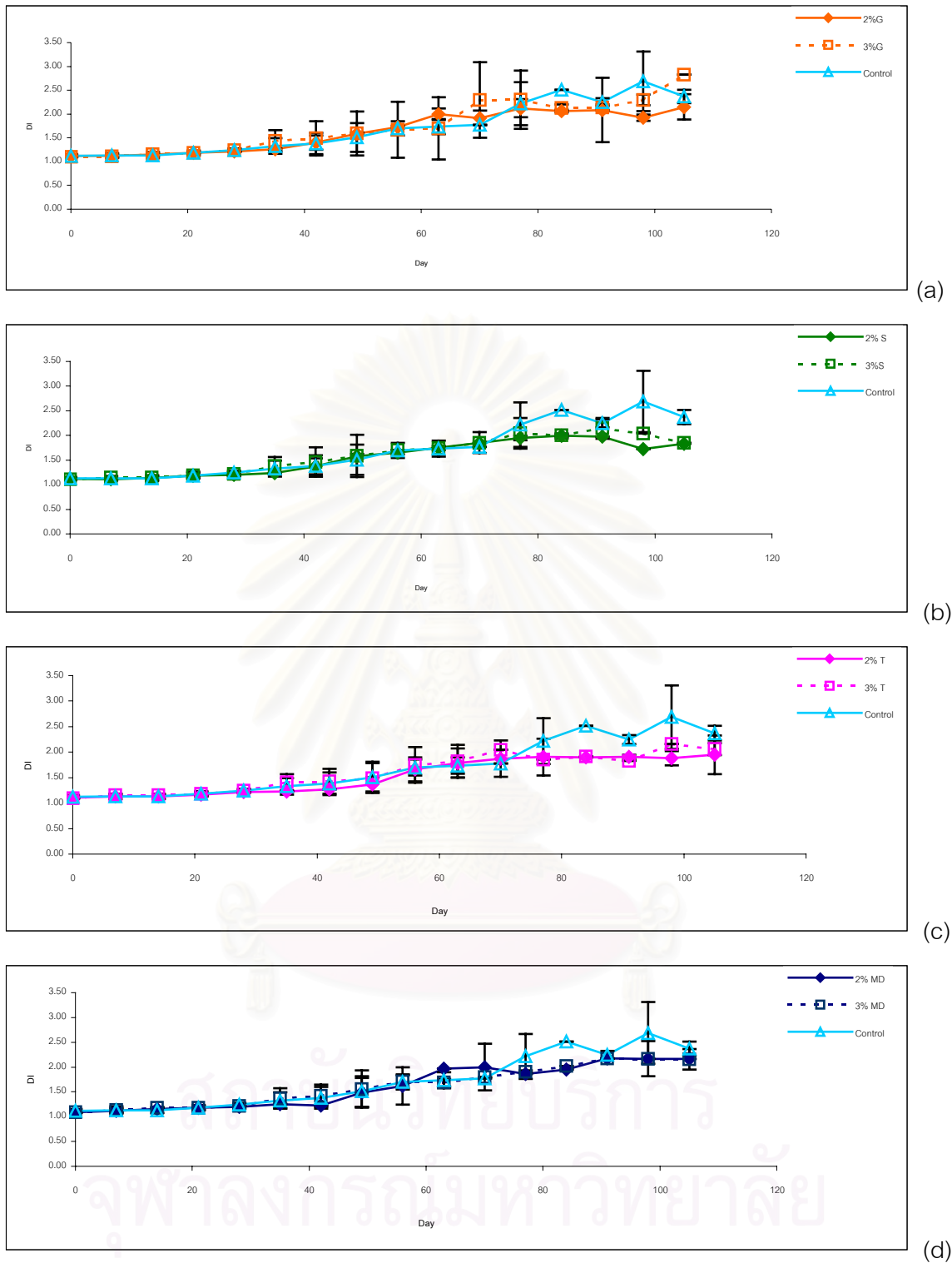
ชนิด stabilizer	ความเข้มข้น	สมการ	R ²	t _{1/2} (วัน)
Control	0%	Y = -0.0087X + 2.0098	0.98	80
Glucose	2%	Y = -0.0094X + 1.9929	0.98	74
	3%	Y = -0.0093X + 1.9332	0.97	74
Sucrose	2%	Y = -0.0083X + 2.0109	0.99	84
	3%	Y = -0.0104X + 2.0207	0.96	67
Trehalose	2%	Y = -0.0087X + 2.0190	0.93	80
	3%	Y = -0.0082X + 1.9643	0.96	84
Maltodextrin	2%	Y = -0.0082X + 1.9970	0.94	84
	3%	Y = -0.0081X + 1.9334	0.93	86

X คือเวลา (วัน), Y คือค่า log ของร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือ

ตารางที่ 4.41 ผลของน้ำตาล glucose sucrose และ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 2 และ 3% (w/v) เทียบกับ control ต่อค่า DI ระหว่างการเก็บรักษา สีแอมโทไซยานินเข้มข้น

ระยะเวลา (วัน)	ค่า DI								
	Control	2% Glucose	3% Glucose	2% Sucrose	3% Sucrose	2% Trehalose	3% Trehalose	2% Maltodextrin	3% Maltodextrin
0	1.12 ^e ± 0.04	1.12 ^d ± 0.02	1.10 ^d ± 0.01	1.12 ^f ± 0.02	1.11 ^g ± 0.00	1.11 ^d ± 0.02	1.10 ^f ± 0.01	1.09 ^d ± 0.01	1.09 ^g ± 0.02
7	1.13 ^e ± 0.05	1.12 ^d ± 0.01	1.11 ^d ± 0.04	1.11 ^f ± 0.00	1.15 ^g ± 0.02	1.13 ^d ± 0.00	1.15 ^{ef} ± 0.03	1.12 ^d ± 0.04	1.14 ^g ± 0.07
14	1.13 ^e ± 0.05	1.15 ^d ± 0.03	1.15 ^d ± 0.05	1.14 ^f ± 0.04	1.14 ^g ± 0.04	1.13 ^d ± 0.04	1.16 ^{ef} ± 0.01	1.15 ^d ± 0.01	1.18 ^{fg} ± 0.02
21	1.18 ^{de} ± 0.05	1.19 ^d ± 0.00	1.18 ^d ± 0.03	1.18 ^f ± 0.01	1.19 ^{fg} ± 0.07	1.16 ^d ± 0.03	1.18 ^{ef} ± 0.04	1.18 ^d ± 0.03	1.18 ^{fg} ± 0.04
28	1.24 ^{cde} ± 0.04	1.22 ^d ± 0.00	1.24 ^d ± 0.02	1.20 ^{ef} ± 0.02	1.22 ^{fg} ± 0.04	1.22 ^d ± 0.02	1.24 ^{ef} ± 0.01	1.20 ^d ± 0.04	1.22 ^{fg} ± 0.01
35	1.33 ^{cde} ± 0.16	1.26 ^d ± 0.02	1.44 ^{cd} ± 0.23	1.24 ^{ef} ± 0.00	1.38 ^{efg} ± 0.17	1.23 ^{cd} ± 0.01	1.41 ^{def} ± 0.16	1.26 ^{cd} ± 0.01	1.37 ^{efg} ± 0.20
42	1.38 ^{cde} ± 0.22	1.40 ^{cd} ± 0.13	1.49 ^{cd} ± 0.36	1.37 ^{def} ± 0.16	1.46 ^{defg} ± 0.30	1.27 ^{cd} ± 0.00	1.43 ^{def} ± 0.24	1.23 ^d ± 0.00	1.42 ^{defg} ± 0.22
49	1.51 ^{cde} ± 0.31	1.59 ^{bcd} ± 0.02	1.59 ^{bcd} ± 0.46	1.58 ^{bcd} ± 0.04	1.58 ^{cdef} ± 0.43	1.37 ^{bcd} ± 0.14	1.49 ^{cde} ± 0.29	1.49 ^{cd} ± 0.29	1.56 ^{cdef} ± 0.38
56	1.70 ^{cd} ± 0.15	1.73 ^{abc} ± 0.03	1.67 ^{bcd} ± 0.59	1.65 ^{abcd} ± 0.04	1.71 ^{bcd} ± 0.00	1.66 ^{abc} ± 0.23	1.75 ^{bcd} ± 0.35	1.62 ^{bc} ± 0.25	1.71 ^{bcd} ± 0.13
63	1.74 ^{bc} ± 0.16	2.00 ^{ab} ± 0.12	2.16 ^{abc} ± 0.00	1.75 ^{abcd} ± 0.04	1.74 ^{abcde} ± 0.00	1.79 ^{ab} ± 0.29	1.82 ^{abc} ± 0.32	1.97 ^{ab} ± 0.00	1.69 ^{bcd} ± 0.08
70	1.77 ^{bc} ± 0.00	1.92 ^{ab} ± 0.15	2.30 ^{ab} ± 0.79	1.85 ^{abc} ± 0.01	1.85 ^{abcd} ± 0.21	1.87 ^a ± 0.36	2.04 ^{ab} ± 0.00	2.00 ^{ab} ± 0.47	1.80 ^{abcd} ± 0.00
77	2.22 ^{ab} ± 0.451	2.12 ^a ± 0.19	2.30 ^{ab} ± 0.61	1.95 ± 0.05	2.04 ^{ab} ± 0.31	1.90 ^a ± 0.36	1.86 ^{abc} ± 0.00	1.86 ^{ab} ± 0.00	1.91 ^{abc} ± 0.02
84	2.515 ^a ± 0.00	2.07 ^a ± 0.03	2.13 ^{abc} ± 0.07	1.99 ^a ± 0.05	2.00 ^{abc} ± 0.02	1.90 ^a ± 0.00	1.92 ^{ab} ± 0.00	1.95 ^{ab} ± 0.00	2.03 ^{ab} ± 0.00
91	2.25 ^a ± 0.08	2.08 ^a ± 0.67	2.14 ^{abc} ± 0.06	1.98 ^{ab} ± 0.00	2.14 ^a ± 0.21	1.91 ^a ± 0.04	1.83 ^{abc} ± 0.00	2.18 ^a ± 0.00	2.18 ^a ± 0.00
98	2.69 ^a ± 0.62	1.92 ^{ab} ± 0.07	2.30 ^{ab} ± 0.12	1.72 ^{abcd} ± 0.00	2.04 ^{ab} ± 0.00	1.88 ^a ± 0.14	2.16 ^a ± 0.00	2.17 ^a ± 0.00	2.17 ^a ± 0.35
105	2.37 ^a ± 0.14	2.15 ^a ± 0.26	2.70 ^a ± 0.00	1.84 ^{abc} ± 0.00	1.85 ^{abcd} ± 0.00	1.95 ^a ± 0.38	2.06 ^{ab} ± 0.12	2.17 ^a ± 0.00	2.16 ^a ± 0.20

* ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับ (a,b,c ...) ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ



รูปที่ 4.10 ผลของน้ำตาล glucose (G): (a), sucrose (S): (b) และ trehalose (T): (c) และ maltodextrin (MD): (d) ความเข้มข้น 2 และ 3% (w/v) เทียบกับ control ต่อค่า DI ระหว่างการเก็บรักษาสี่แฉกโทไซยานินเข้มข้น

ตารางที่ 4.42 ค่า F จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของน้ำตาล glucose sucrose และ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 2 และ 3 (w/v) เทียบกับ control ต่อค่า DI ระหว่างการเก็บรักษาสี่แอนโทไซยานินเข้มข้น

ความเข้มข้น (%)	ค่า F			
	Glucose	Sucrose	Trehalose	Maltodextrin
0	11.892*	11.892*	11.892*	11.892*
2	8.628*	7.255*	6.719*	13.004*
3	5.160*	8.765*	10.685*	11.714*

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เมื่อพิจารณาค่า PC (ตารางที่ 4.43) ซึ่งแสดงถึงการเกิด polymerization พบว่าค่า PC ในสี่แอนโทไซยานินเข้มข้นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 4.45) แสดงว่าในช่วงเก็บรักษาเกิด polymerization ขึ้นในสี่แอนโทไซยานินเข้มข้น ซึ่งจะทำให้ปริมาณ polymeric color เพิ่มขึ้น ซึ่งผลสอดคล้องกับร้อยละแอนโทไซยานินคงเหลือที่ลดลง เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Spayd, Nagel, Hayrynen และ Drake (1984) ที่ศึกษาถึงเสถียรภาพของสีในน้ำ apple และ pear บั่นกับน้ำผลไม้ซึ่งมีแอนโทไซยานิน โดยนำน้ำ apple และ pear บั่นกับน้ำผลไม้ที่มีแอนโทไซยานิน ได้แก่ น้ำองุ่น น้ำเชอรั้ น้ำ red raspberry และ black raspberry ความเข้มข้น 5, 10 และ 20 %(w/v) เก็บที่ 25 องศาเซลเซียส เวลา 48 สัปดาห์ตรวจสอบความขุ่น ปริมาณแอนโทไซยานิน และ polymeric color ผลการทดลองพบว่าในทุกตัวอย่าง เมื่อเก็บเป็นเวลา 48 สัปดาห์ค่าความขุ่นจะเพิ่มขึ้น ในขณะที่ปริมาณแอนโทไซยานินลดลง และค่า polymeric color เพิ่มขึ้น

เมื่อพิจารณาค่า TCD ซึ่งบอกถึงปริมาณสีของผลิตภัณฑ์ พบว่าผลของน้ำตาล glucose, sucrose และ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 2 และ 3 % (w/v) เทียบกับ control ต่อค่า TCD ระหว่างการเก็บรักษาสี่แอนโทไซยานินเข้มข้น แสดงดังตารางที่ 4.44 โดยจะเห็นได้ว่าเมื่อเก็บรักษาสี่แอนโทไซยานินเข้มข้นเป็นระยะเวลาสั้นขึ้น จะพบค่า TCD จะมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 4.46) เนื่องจากความเข้มข้นสีในผลิตภัณฑ์จะลดลง เพราะปริมาณแอนโทไซยานินลดลงระหว่างการเก็บรักษา

ตารางที่ 4.43 ผลของน้ำตาล glucose sucrose และ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 2 และ 3% (w/v) เทียบกับ control ต่อค่า PC ระหว่างการเก็บรักษา สีแอนโทไซยานินเข้มข้น

ระยะเวลา (วัน)	ค่า PC								
	Control	2% Glucose	3% Glucose	2% Sucrose	3% Sucrose	2% Trehalose	3% Trehalose	2% Maltodextrin	3% Maltodextrin
7	0.303 ^g ± 0.000	0.341 ^f ± 0.102	0.284 ^h ± 0.008	0.320 ^f ± 0.004	0.344 ^d ± 0.005	0.312 ^e ± 0.056	0.275 ^f ± 0.050	0.240 ^f ± 0.014	0.318 ^f ± 0.113
14	0.379 ^{fg} ± 0.019	0.389 ^f ± 0.008	0.271 ^{hi} ± 0.015	0.370 ^f ± 0.014	0.499 ^{bcd} ± 0.128	0.413 ^{de} ± 0.064	0.408 ^{ef} ± 0.030	0.331 ^{ef} ± 0.005	0.327 ^f ± 0.027
21	0.485 ^{ef} ± 0.076	0.501 ^{ef} ± 0.031	0.286 ^h ± 0.023	0.444 ^{ef} ± 0.043	0.410 ^{cd} ± 0.183	0.458 ^{de} ± 0.039	0.502 ^{def} ± 0.114	0.397 ^{de} ± 0.025	0.454 ^{ef} ± 0.066
28	0.484 ^{ef} ± 0.036	0.537 ^{ef} ± 0.204	0.354 ^g ± 0.001	0.506 ^{ef} ± 0.014	0.486 ^{bcd} ± 0.231	0.547 ^{cde} ± 0.034	0.461 ^{ef} ± 0.229	0.476 ^{cde} ± 0.029	0.436 ^{ef} ± 0.009
35	0.626 ^{de} ± 0.124	0.607 ^{def} ± 0.100	0.387 ^g ± 0.001	0.578 ^{def} ± 0.094	0.592 ^{abcd} ± 0.185	0.645 ^{cd} ± 0.081	0.668 ^{cde} ± 0.148	0.507 ^{cd} ± 0.008	0.530 ^{de} ± 0.104
42	0.617 ^{de} ± 0.109	0.717 ^{cdef} ± 0.071	0.246 ⁱ ± 0.001	0.669 ^{cde} ± 0.073	0.718 ^{abcd} ± 0.236	0.637 ^{cd} ± 0.000	0.706 ^{cde} ± 0.127	0.504 ^{cd} ± 0.000	0.612 ^{cd} ± 0.045
49	0.708 ^{cde} ± 0.161	0.812 ^{bcde} ± 0.005	0.529 ^e ± 0.052	0.798 ^{abcd} ± 0.076	0.792 ^{abcd} ± 0.219	0.792 ^{bc} ± 0.069	0.751 ^{bcde} ± 0.193	0.611 ^c ± 0.129	0.687 ^c ± 0.087
56	0.758 ^{cd} ± 0.074	0.924 ^{abcd} ± 0.117	0.478 ^f ± 0.004	0.709 ^{bcde} ± 0.250	0.837 ^{abc} ± 0.222	0.910 ^{ab} ± 0.039	0.856 ^{abcd} ± 0.252	0.624 ^c ± 0.118	0.761 ^{bc} ± 0.000
63	0.863 ^{bc} ± 0.147	1.016 ^{abc} ± 0.127	0.520 ^e ± 0.000	0.815 ^{abcd} ± 0.061	1.023 ^a ± 0.000	1.021 ^{ab} ± 0.064	0.892 ^{abc} ± 0.243	0.793 ^b ± 0.000	0.864 ^{ab} ± 0.045
70	0.810 ^{bcd} ± 0.000	0.938 ^{abcd} ± 0.117	0.607 ^d ± 0.003	0.880 ^{abc} ± 0.123	0.879 ^{ab} ± 0.101	0.908 ^{ab} ± 0.066	0.868 ^{abcd} ± 0.000	0.831 ^{ab} ± 0.165	0.934 ^a ± 0.000
77	0.934 ^{abc} ± 0.140	1.096 ^{abc} ± 0.205	0.664 ^c ± 0.003	0.942 ^{ab} ± 0.134	0.849 ^{abc} ± 0.144	1.087 ^a ± 0.234	1.035 ^{abc} ± 0.236	0.805 ^b ± 0.051	0.949 ^a ± 0.001
84	0.924 ^{abc} ± 0.000	1.079 ^{abc} ± 0.316	0.721 ^b ± 0.016	0.894 ^{abc} ± 0.264	0.909 ^{abc} ± 0.000	1.087 ^a ± 0.184	0.931 ^{abc} ± 0.000	0.811 ^{ab} ± 0.023	1.003 ^a ± 0.000
91	1.007 ^{ab} ± 0.066	1.215 ^a ± 0.164	0.709 ^b ± 0.016	1.024 ^a ± 0.000	0.925 ^{abc} ± 0.358	1.104 ^a ± 0.227	1.167 ^a ± 0.000	0.948 ^{ab} ± 0.033	0.928 ^a ± 0.000
98	1.096 ^a ± 0.000	1.117 ^{ab} ± 0.291	0.709 ^b ± 0.001	1.041 ^a ± 0.000	0.881 ^{abc} ± 0.313	1.030 ^{ab} ± 0.000	1.115 ^{ab} ± 0.018	0.967 ^a ± 0.076	0.963 ^a ± 0.147
105	1.035 ^{ab} ± 0.156	1.264 ^a ± 0.151	0.820 ^a ± 0.001	0.993 ^a ± 0.000	1.021 ^{ac} ± 0.000	1.077 ^a ± 0.032	1.165 ^a ± 0.195	0.969 ^a ± 0.000	0.982 ^a ± 0.077

* ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับ (a,b,c ...) ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4.44 ผลของน้ำตาล glucose sucrose และ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 2 และ 3% (w/v) เทียบกับ control ต่อค่า TCD ระหว่างการเก็บรักษา สีแอนโทไซยานินเข้มข้น

ระยะเวลา (วัน)	ค่า TCD								
	Control	2% Glucose	3% Glucose	2% Sucrose	3% Sucrose	2% Trehalose	3% Trehalose	2% Maltodextrin	3% Maltodextrin
0	1.780 ^a ± 0.066	1.822 ^a ± 0.077	1.441 ^a ± 0.247	1.688 ^a ± 0.146	1.500 ^a ± 0.312	1.824 ^a ± 0.160	1.698 ^a ± 0.367	1.387 ^a ± 0.239	1.418 ^a ± 0.190
7	1.483 ^b ± 0.334	1.624 ^{ab} ± 0.175	1.275 ^a ± 0.202	1.628 ^a ± 0.218	1.357 ^{ab} ± 0.193	1.759 ^{ab} ± 0.572	1.472 ^{abc} ± 0.037	1.197 ^{ab} ± 0.136	1.135 ^{abc} ± 0.049
14	1.454 ^b ± 0.232	1.466 ^{bc} ± 0.082	1.241 ^a ± 0.122	1.440 ^{ab} ± 0.185	1.202 ^{abc} ± 0.163	1.553 ^{abc} ± 0.361	1.497 ^{ab} ± 0.190	1.140 ^{ab} ± 0.013	1.259 ^{ab} ± 0.010
21	1.295 ^{bc} ± 0.156	1.304 ^{cd} ± 0.030	0.984 ^b ± 0.012	1.241 ^{bc} ± 0.197	1.180 ^{abc} ± 0.092	1.385 ^{abcd} ± 0.302	1.304 ^{bcd} ± 0.066	1.062 ^{bd} ± 0.125	1.142 ^{abc} ± 0.234
28	1.121 ^{cd} ± 0.126	1.146 ^{de} ± 0.210	0.887 ^{bc} ± 0.131	1.054 ^{cd} ± 0.043	1.160 ^{abc} ± 0.155	1.320 ^{abcd} ± 0.326	1.166 ^{cde} ± 0.238	1.049 ^{bd} ± 0.205	0.966 ^{bcd} ± 0.233
35	1.102 ^{cde} ± 0.222	1.014 ^{ef} ± 0.030	0.846 ^{bc} ± 0.031	1.058 ^{cd} ± 0.245	1.025 ^{bcd} ± 0.164	1.278 ^{abcd} ± 0.503	0.998 ^{def} ± 0.180	0.938 ^{bdef} ± 0.209	0.939 ^{bcd} ± 0.243
42	0.924 ^{def} ± 0.043	0.958 ^{efg} ± 0.068	0.783 ^{bcd} ± 0.016	0.934 ^{df} ± 0.031	0.881 ^{cde} ± 0.097	1.194 ^{abcd} ± 0.000	0.940 ^{ef} ± 0.113	0.974 ^{bde} ± 0.000	0.836 ^{cde} ± 0.227
49	0.857 ^{def} ± 0.051	0.855 ^{fgh} ± 0.037	0.735 ^{cde} ± 0.017	0.893 ^{df} ± 0.114	0.872 ^{cde} ± 0.143	1.064 ^{bcd} ± 0.319	0.891 ^{efg} ± 0.056	0.794 ^{defg} ± 0.098	0.832 ^{cde} ± 0.177
56	0.812 ^{defg} ± 0.004	0.843 ^{fgh} ± 0.042	0.674 ^{cdef} ± 0.005	0.844 ^{df} ± 0.159	0.771 ^{de} ± 0.117	0.957 ^{cd} ± 0.344	0.843 ^{efgh} ± 0.132	0.695 ^{efg} ± 0.133	0.717 ^{def} ± 0.175
63	0.806 ^{defg} ± 0.052	0.820 ^{fgh} ± 0.080	0.675 ^{cdef} ± 0.000	0.812 ^{dfg} ± 0.004	0.647 ^e ± 0.000	0.959 ^{cd} ± 0.281	0.788 ^{fghi} ± 0.112	0.672 ^{efg} ± 0.000	0.717 ^{def} ± 0.145
70	0.821 ^{defg} ± 0.000	0.715 ^{ghij} ± 0.047	0.662 ^{cdef} ± 0.056	0.758 ^{dfgh} ± 0.086	0.742 ^{de} ± 0.025	0.839 ^{cd} ± 0.160	0.842 ^{efgh} ± 0.000	0.689 ^{efg} ± 0.111	0.722 ^{def} ± 0.000
77	0.669 ^{fg} ± 0.000	0.744 ^{ghi} ± 0.062	0.612 ^{def} ± 0.027	0.741 ^{fgh} ± 0.086	0.716 ^{de} ± 0.012	0.715 ^d ± 0.083	0.778 ^{fghi} ± 0.021	0.635 ^{fg} ± 0.049	0.786 ^{cdef} ± 0.000
84	0.786 ^{efg} ± 0.000	0.720 ^{ghij} ± 0.074	0.561 ^{def} ± 0.021	0.698 ^{fgh} ± 0.081	0.664 ^e ± 0.155	0.803 ^d ± 0.293	0.792 ^{fghi} ± 0.000	0.606 ^{fg} ± 0.191	0.765 ^{def} ± 0.014
91	0.631 ^{fg} ± 0.121	0.648 ^{hij} ± 0.142	0.518 ^{ef} ± 0.105	0.705 ^{fgh} ± 0.000	0.569 ^e ± 0.177	0.757 ^d ± 0.287	0.594 ^{ghi} ± 0.000	0.583 ^g ± 0.113	0.515 ^{ef} ± 0.000
98	0.500 ^g ± 0.000	0.544 ^{ij} ± 0.129	0.525 ^{ef} ± 0.034	0.533 ^{gh} ± 0.000	0.553 ^e ± 0.155	0.846 ^{cd} ± 0.000	0.479 ⁱ ± 0.000	0.518 ^g ± 0.184	0.500 ^{ef} ± 0.000
105	0.521 ^g ± 0.087	0.492 ^j ± 0.129	0.450 ^f ± 0.000	0.477 ^h ± 0.000	0.636 ^e ± 0.000	0.723 ^d ± 0.000	0.514 ^{hi} ± 0.124	0.554 ^g ± 0.000	0.457 ^f ± 0.163

* ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับ (a,b,c ...) ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4.45 ค่า F จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของน้ำตาล glucose sucrose และ trehalose และ malodextrin ความเข้มข้น 2 และ 3% (w/v) เทียบกับ control ต่อค่า PC ระหว่างการเก็บรักษาสีแอนโทไซยานินเข้มข้น

ความเข้มข้น (w/v)	ค่า F			
	Glucose	Sucrose	Trehalose	Maltodextrin
0%	13.690*	13.690*	13.690*	13.690*
2%	7.164*	9.125*	13.455*	24.690*
3%	277.240*	2.721*	6.626*	27.974*

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4.46 ค่า F จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของน้ำตาล glucose sucrose และ trehalose และ malodextrin ความเข้มข้น 2 และ 3% (w/v) เทียบกับ control ต่อค่า TCD ระหว่างการเก็บรักษาสีแอนโทไซยานินเข้มข้น

ความเข้มข้น (w/v)	ค่า F			
	Glucose	Sucrose	Trehalose	Maltodextrin
0%	15.134*	15.134*	15.134*	15.134*
2%	28.977*	15.984*	2.972*	7.330*
3%	18.238*	8.140*	12.638*	6.557*

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เมื่อวัดสีด้วยระบบ CIE $L^*a^*b^*$ นำมาคำนวณค่า C^* และ h° พบว่าค่า L^* ลดลงเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 105 วัน (ตารางที่ 4.47) แสดงว่าความสว่างในสีแอนโทไซยานินเข้มข้นลดลง ซึ่งสอดคล้องกับค่า PC ที่เพิ่มขึ้น (ตารางที่ 4.43) โดยค่า PC ที่เพิ่มขึ้นจะทำให้สีแอนโทไซยานินทำเข้มข้นมีสีน้ำตาลมากขึ้น ค่าความสว่างจึงลดลงเมื่อเก็บรักษาและค่า C^* ซึ่งแสดงถึงความอิ่มตัวของสี (ตารางที่ 4.48) พบว่าเมื่อเก็บเป็นระยะเวลาเพิ่มขึ้นค่า C^* มีแนวโน้มลดลง แสดงว่าปริมาณความเข้มสีในสีแอนโทไซยานินทำเข้มข้นลดลง ซึ่งสอดคล้องกับการลดลงของค่า TCD และร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือ (ตารางที่ 4.44 และ 4.38)

เมื่อพิจารณาค่า h° ซึ่งเป็นค่าที่บอกถึงสีของสีแอนโทไซยานินทำเข้มข้น (ตารางที่ 4.49) จะเห็นได้ว่าในทุกตัวอย่างค่า h° จะไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก โดยมีค่าอยู่ในช่วง

34-40 ซึ่งเป็นมุมที่อยู่ในช่วงสีแดง ส่งผลให้สีของทุกตัวอย่างจึงไม่แตกต่างกัน แสดงว่า
ในระหว่างการเก็บรักษา ผลิตภัณฑ์ที่ได้ยังคงมีสีแดงอยู่

คุณภาพทางจุลินทรีย์ของสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็ง
จากการตรวจสอบไม่พบแบคทีเรีย ยีสต์ และรา ตลอดอายุการเก็บรักษา



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.47 ผลของน้ำตาล glucose sucrose และ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 2 และ 3% (w/v) เทียบกับ control ต่อค่า L* ระหว่างการเก็บรักษา สีแอนโทไซยานินเข้มข้น

ระยะเวลา (วัน)	ค่า L*								
	Control	2% Glucose	3% Glucose	2% Sucrose	3% Sucrose	2% Trehalose	3% Trehalose	2% Maltodextrin	3% Maltodextrin
0	34.02 ^a ± 0.54	32.89 ^a ± 1.20	38.39 ^a ± 4.07	34.78 ^a ± 1.07	36.13 ^a ± 2.86	32.47 ± 3.35	34.76 ^a ± 1.69	36.75 ^a ± 1.00	35.87 ± 0.52
7	33.24 ^a ± 1.73	31.72 ^{ab} ± 2.38	35.65 ^{ab} ± 4.15	32.93 ^{ab} ± 1.51	35.36 ^{ab} ± 2.67	31.75 ± 4.24	34.01 ^a ± 0.28	36.61 ^a ± 0.98	36.01 ± 0.25
14	31.60 ^{abc} ± 1.15	31.03 ^{abc} ± 1.27	34.89 ^{ab} ± 4.25	32.51 ^{abcd} ± 1.51	33.30 ^{abc} ± 2.73	31.04 ± 3.58	31.60 ^c ± 0.88	34.78 ^b ± 1.67	34.34 ± 2.38
21	31.71 ^{ab} ± 1.38	30.50 ^{abc} ± 0.88	34.12 ^{ab} ± 3.98	32.13 ^{abcd} ± 1.80	31.97 ^{abc} ± 2.36	31.21 ± 3.05	31.23 ^{cd} ± 0.74	34.16 ^{bc} ± 0.75	33.37 ± 3.34
28	31.99 ^{ab} ± 1.16	29.04 ^{bc} ± 1.27	34.81 ^{ab} ± 4.06	32.87 ^{abc} ± 1.35	32.87 ^{abc} ± 2.42	30.35 ± 3.48	32.81 ^b ± 0.23	32.72 ^{cd} ± 0.47	32.60 ± 1.43
35	30.52 ^{bcd} ± 1.11	29.67 ^{bc} ± 1.30	34.80 ^{ab} ± 4.06	31.73 ^{abcde} ± 1.31	31.18 ^{abc} ± 2.30	28.12 ± 3.22	29.80 ^{defg} ± 0.21	32.93 ^{cd} ± 0.47	32.60 ± 1.43
42	29.54 ^{bcd} ± 1.07	29.42 ^{bc} ± 1.29	33.52 ^{ab} ± 3.91	31.07 ^{bcd} ± 1.28	31.20 ^{abc} ± 2.30	26.79 ± 3.07	30.87 ^{cde} ± 0.22	32.91 ^{cd} ± 0.47	31.79 ± 1.39
49	29.40 ^{bcd} ± 1.07	28.20 ^c ± 1.23	32.13 ^{ab} ± 3.75	30.88 ^{bcd} ± 1.27	32.92 ^{abc} ± 2.64	26.39 ± 3.03	30.76 ^{cde} ± 0.22	32.50 ^d ± 0.46	31.96 ± 1.40
56	29.33 ^{bcd} ± 1.06	28.97 ^{bc} ± 1.27	31.60 ^{ab} ± 3.69	29.14 ^{ef} ± 1.20	32.37 ^{abc} ± 2.59	26.57 ± 3.05	30.04 ^{def} ± 0.21	32.47 ^d ± 0.46	31.69 ± 1.39
63	29.31 ^{bcd} ± 1.06	28.37 ^c ± 1.24	30.99 ^{ab} ± 0.67	30.39 ^{bcd} ± 1.25	28.41 ^{bc} ± 1.89	25.35 ± 2.91	30.80 ^{ce} ± 0.22	32.73 ^{cd} ± 0.47	30.99 ± 1.36
70	29.29 ^{bcd} ± 1.06	28.91 ^{bc} ± 1.26	30.78 ^{ab} ± 2.10	30.73 ^{bcd} ± 1.27	29.69 ^{bc} ± 0.80	25.67 ± 2.94	28.90 ^{gh} ± 0.21	32.37 ^d ± 0.46	31.96 ± 1.40
77	28.86 ^{cd} ± 1.05	29.44 ^{bc} ± 1.29	31.02 ^{ab} ± 3.62	29.72 ^{cdef} ± 1.22	30.70 ^{bc} ± 0.22	25.64 ± 2.94	28.65 ^{gh} ± 0.20	32.31 ^d ± 0.46	31.69 ± 1.39
84	28.74 ^d ± 1.04	30.15 ^{abc} ± 1.32	33.01 ^{ab} ± 3.85	29.63 ^{def} ± 1.22	30.97 ^{bc} ± 0.43	25.61 ± 2.94	29.20 ^{gh} ± 0.21	31.97 ^d ± 0.46	33.69 ± 1.47
91	28.79 ^{cd} ± 1.04	29.49 ^{abc} ± 1.29	32.89 ^{ab} ± 3.84	28.72 ^{ef} ± 1.18	31.31 ^{abc} ± 0.44	25.68 ± 2.89	28.03 ^h ± 0.20	31.77 ^d ± 0.45	32.05 ± 1.40
98	28.55 ^d ± 1.04	28.40 ^c ± 1.24	29.90 ^{ab} ± 3.49	27.74 ^f ± 1.14	29.93 ^c ± 0.42	29.60 ± 3.39	28.51 ^h ± 0.20	31.92 ^d ± 0.46	32.70 ± 1.43
105	28.15 ^d ± 1.56	30.58 ^{bc} ± 1.34	29.13 ^b ± 3.40	30.39 ^{bcd} ± 1.25	28.27 ^c ± 2.26	27.40 ± 3.14	30.07 ^{def} ± 0.21	31.29 ^d ± 0.38	34.49 ± 1.51

* ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับ (a,b,c ...) ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4.48 ผลของน้ำตาล glucose sucrose และ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 2 และ 3% (w/v) เทียบกับ control ต่อค่า C* ระหว่างการเก็บรักษา สีแอนโทไซยานินเข้มข้น

ระยะเวลา (วัน)	ค่า C*								
	Control	2% Glucose	3% Glucose	2% Sucrose	3% Sucrose	2% Trehalose	3% Trehalose	2% Maltodextrin	3% Maltodextrin
0	95.23 ± 0.64	92.46 ± 1.35	99.60 ± 4.95	95.79 ± 1.05	97.86 ± 4.74	93.10 ± 4.40	96.09 ± 1.76	98.83 ± 1.38	97.22 ± 1.90
7	93.18 ± 1.96	90.17 ± 3.22	95.98 ± 5.40	92.39 ± 1.53	96.32 ± 4.11	91.10 ± 5.63	94.37 ± 0.14	97.75 ± 0.78	96.77 ± 0.57
14	90.58 ± 1.50	88.68 ± 2.20	94.54 ± 6.63	91.30 ± 0.93	93.02 ± 5.16	89.83 ± 5.13	90.34 ± 1.19	95.29 ± 1.57	93.95 ± 3.65
21	89.84 ± 1.49	87.32 ± 1.10	93.05 ± 5.55	90.42 ± 2.29	90.74 ± 4.41	89.14 ± 4.44	89.48 ± 0.31	93.39 ± 0.19	91.97 ± 3.94
28	90.12 ± 1.19	84.27 ± 2.06	92.88 ± 5.57	90.56 ± 1.01	91.03 ± 4.48	87.96 ± 4.74	91.31 ± 0.24	91.09 ± 0.08	90.88 ± 2.29
35	87.60 ± 1.12	85.85 ± 2.11	92.53 ± 5.51	89.38 ± 0.92	89.29 ± 4.31	83.84 ± 4.36	86.86 ± 0.21	91.10 ± 0.09	89.96 ± 2.25
42	86.63 ± 1.12	84.81 ± 2.09	90.63 ± 5.35	84.29 ± 0.96	87.98 ± 4.27	80.47 ± 4.44	88.06 ± 0.22	91.07 ± 0.08	88.44 ± 2.22
49	86.07 ± 1.11	81.21 ± 1.94	89.33 ± 5.24	79.46 ± 0.94	88.93 ± 4.30	80.14 ± 4.37	88.79 ± 0.22	90.78 ± 0.08	88.69 ± 2.26
56	85.39 ± 1.11	81.62 ± 1.99	88.35 ± 5.14	77.71 ± 0.86	88.60 ± 4.28	79.70 ± 4.31	87.89 ± 0.22	90.07 ± 0.07	88.41 ± 2.24
63	84.58 ± 1.10	82.67 ± 1.96	82.41 ± 5.51	80.90 ± 0.99	80.43 ± 8.70	76.64 ± 4.24	88.12 ± 0.22	89.66 ± 0.07	84.16 ± 2.17
70	83.79 ± 1.09	82.27 ± 2.00	85.43 ± 2.38	80.09 ± 0.84	85.63 ± 2.89	77.26 ± 4.24	86.96 ± 0.20	87.94 ± 0.08	82.80 ± 2.09
77	82.70 ± 1.09	81.54 ± 1.95	84.10 ± 5.01	76.92 ± 0.84	84.14 ± 2.02	77.18 ± 4.09	85.11 ± 0.20	87.48 ± 0.10	83.52 ± 2.07
84	80.53 ± 1.06	88.66 ± 2.03	86.51 ± 5.05	76.04 ± 0.78	83.27 ± 0.38	76.85 ± 4.15	84.36 ± 0.21	82.22 ± 0.09	82.15 ± 2.03
91	79.31 ± 1.05	80.41 ± 1.93	80.99 ± 4.94	76.03 ± 0.83	78.67 ± 0.34	76.50 ± 3.53	81.49 ± 0.20	80.84 ± 0.09	81.73 ± 2.02
98	77.90 ± 1.00	78.53 ± 1.91	80.45 ± 4.63	73.05 ± 0.80	78.02 ± 0.35	76.88 ± 4.31	79.42 ± 0.19	80.06 ± 0.09	81.26 ± 2.01
105	77.64 ± 0.41	77.13 ± 2.00	82.24 ± 4.75	80.52 ± 0.87	75.00 ± 3.70	76.26 ± 3.92	77.49 ± 0.22	79.55 ± 0.82	78.90 ± 2.06

ตารางที่ 4.47 ผลของน้ำตาล glucose sucrose และ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 2 และ 3% (w/v) เทียบกับ control ต่อค่า h° ระหว่างการเก็บรักษา สีแอนโทไซยานินเข้มข้น

ระยะเวลา (วัน)	ค่า h°								
	Control	2% Glucose	3% Glucose	2% Sucrose	3% Sucrose	2% Trehalose	3% Trehalose	2% Maltodextrin	3% Maltodextrin
0	37.71 ± 0.41	37.12 ± 0.68	40.08 ± 1.25	38.39 ± 0.91	38.91 ± 1.03	36.63 ± 2.29	38.14 ± 1.16	39.25 ± 0.20	39.00 ± 0.01
7	37.55 ± 1.24	36.95 ± 1.62	38.96 ± 2.30	37.56 ± 1.26	38.78 ± 1.47	36.49 ± 3.03	37.99 ± 0.27	39.55 ± 0.75	39.30 ± 0.04
14	36.61 ± 0.87	36.65 ± 0.67	38.80 ± 2.12	37.29 ± 1.27	37.67 ± 1.16	36.09 ± 2.43	36.68 ± 0.66	38.38 ± 1.21	38.41 ± 1.33
21	36.92 ± 1.15	36.54 ± 0.66	38.74 ± 1.80	37.50 ± 1.54	36.89 ± 1.08	36.56 ± 1.90	36.49 ± 0.74	38.34 ± 0.74	37.87 ± 2.25
28	37.18 ± 1.00	35.88 ± 0.80	39.03 ± 1.80	37.92 ± 1.34	37.78 ± 1.09	36.05 ± 2.54	37.48 ± 0.20	37.61 ± 0.59	37.41 ± 0.81
35	36.39 ± 0.99	36.21 ± 0.80	38.60 ± 1.80	36.94 ± 1.33	36.37 ± 1.07	34.88 ± 2.51	35.71 ± 0.19	37.82 ± 0.59	37.17 ± 0.81
42	36.64 ± 1.00	36.30 ± 0.81	38.16 ± 1.79	38.23 ± 1.35	36.81 ± 1.08	36.93 ± 2.57	36.31 ± 0.19	37.61 ± 0.59	37.37 ± 0.81
49	36.65 ± 1.00	34.79 ± 0.79	37.80 ± 1.78	38.69 ± 1.35	36.46 ± 1.08	36.47 ± 2.56	35.76 ± 0.19	37.55 ± 0.59	37.96 ± 0.82
56	36.84 ± 1.00	35.73 ± 0.80	37.34 ± 1.78	37.79 ± 1.34	36.43 ± 1.08	36.21 ± 2.55	36.12 ± 0.19	37.27 ± 0.59	37.72 ± 0.82
63	36.87 ± 1.00	34.37 ± 0.79	39.20 ± 1.10	39.21 ± 1.36	36.84 ± 1.79	36.99 ± 2.57	36.02 ± 0.19	37.29 ± 0.59	38.70 ± 0.82
70	36.87 ± 1.00	35.63 ± 0.80	37.76 ± 3.21	37.11 ± 1.33	35.54 ± 0.58	36.73 ± 2.56	34.62 ± 0.19	37.49 ± 0.59	37.52 ± 0.82
77	37.16 ± 1.00	34.90 ± 0.79	38.64 ± 1.80	37.58 ± 1.34	36.09 ± 0.60	35.54 ± 2.53	35.07 ± 0.19	38.23 ± 0.59	36.74 ± 0.81
84	37.10 ± 1.00	32.66 ± 0.77	37.62 ± 1.78	36.86 ± 1.33	36.72 ± 0.20	36.19 ± 2.55	36.22 ± 0.19	38.09 ± 0.59	36.43 ± 0.81
91	37.25 ± 1.00	35.07 ± 0.79	39.99 ± 1.81	37.64 ± 1.34	39.21 ± 0.20	36.30 ± 1.15	35.97 ± 0.19	38.34 ± 0.59	36.50 ± 0.81
98	36.56 ± 0.99	35.61 ± 0.80	36.78 ± 1.77	37.69 ± 1.34	37.80 ± 0.20	37.47 ± 2.58	35.61 ± 0.19	38.19 ± 0.59	36.65 ± 0.81
105	36.54 ± 1.28	38.89 ± 0.82	36.99 ± 1.77	37.44 ± 1.34	37.92 ± 1.09	34.47 ± 2.49	39.05 ± 0.20	38.53 ± 0.39	39.41 ± 0.83

4.4 ศึกษาการนำสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งมาใช้ใน model system ผลิตภัณฑ์น้ำหวาน

เตรียมน้ำหวานโดยใช้ส่วนผสม ดังนี้ น้ำตาลทราย 10%(w/v) กรดซิตริก 0.5%(w/v) และสี โดยใช้สี 3 ชนิดคือ สีแอนโทไซยานินจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงทำแห้งแบบเยือกแข็ง (0.1%w/v) โดยเลือกจากข้อ 4.3.4 คือใช้ maltodextrin ความเข้มข้น 3% (w/v) เป็น stabilizer สี SAN RED RC[®] 0.05%(w/v) ซึ่งเป็นสีแอนโทไซยานินทางการค้า สกัดจาก red cabbage และสีคาร์โมอิซิน (0.05%w/v) ซึ่งเป็นสีสังเคราะห์ โดยสาเหตุที่ความเข้มข้นของสีต่างกันก็เพื่อให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีสีใกล้เคียงกัน จากนั้นพาสเจอร์น้ำหวานที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เวลา 20 นาที นำน้ำหวานที่เตรียมได้บรรจุขณะร้อนใส่ขวดแก้วใสขนาด 180 มิลลิลิตร มี head space 1 มิลลิลิตร ปิดด้วยฝาเกลียวพลาสติก เก็บที่อุณหภูมิห้อง (30°C) สุ่มตัวอย่างน้ำหวานซึ่งผสมสีแอนโทไซยานินจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง และสี SAN RED RC[®] มาวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานิน และคำนวณเป็นร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือ ปริมาณความชื้นทั้งหมด (TCD) ปริมาณสี polymeric (PC) และค่า Degradation Index (DI) ทุกสัปดาห์เป็นเวลา 12 สัปดาห์

จากนั้นสุ่มตัวอย่างน้ำหวานซึ่งผสมสีแอนโทไซยานินจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง สี SAN RED RC[®] และสีคาร์โมอิซิน มาวัดสีด้วยระบบ CIE L*a*b* และแสดงในเทอมของค่า L* และ a* และคำนวณค่า ΔE^* , C* และ h° วิเคราะห์และประเมินผลทุกสัปดาห์เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ตรวจปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด และยีสต์รา ทุก 2 สัปดาห์ ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านสี และความชอบรวมต่อผลิตภัณฑ์ทุก 4 สัปดาห์ โดยใช้ผู้ทดสอบ 30 คน

พิจารณาค่าร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือของน้ำหวานที่ได้สีแอนโทไซยานิน ระหว่างการเก็บรักษาตลอดระยะเวลา 12 สัปดาห์ (ตารางที่ 4.50 และรูปที่ 4.11) พบว่าเมื่อเก็บรักษาน้ำหวานซึ่งผสมสีแอนโทไซยานินจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง และสี SAN RED RC[®] ผลิตภัณฑ์จะมีค่าร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 4.52) และน้ำหวานที่ผสมสีแอนโทไซยานินจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงมีแนวโน้มการลดลงของร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือมากกว่าน้ำหวานที่ผสมสี SAN RED RC[®]

การที่ร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือของสีจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงลดลงมากกว่าสี SAN RED RC[®] อาจเป็นไปได้ว่าจากงานวิจัยของ Du และ Francis (1973) ได้ศึกษาแอนโทไซยานินในกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง พบว่ามีแอนโทไซยานินคือ cyanidin-3-glucoside และ delphinidin-3-glucoside ซึ่งจะเห็นได้ว่าน้ำตาลที่มากเกาะ

จะเกาะที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 เพียงอย่างเดียว แต่ใน red cabbage มีแอนโทไซยานินคือ cyanidin-3,5-diglucoside และ cyanidin-3-sophoroside-5-glucoside (Dyrby, Westergaard, Stapelfeldt, 2001) ซึ่งมีน้ำตาลมาเกาะที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 และ 5 การที่มีน้ำตาลมาเกาะมากขึ้นทำให้สีมีเสถียรภาพมากขึ้น ดังนั้นอาจทำให้น้ำหวานที่ผสมสีแอนโทไซยานินจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง จึงมีร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือลดลงมากกว่าน้ำหวานที่ผสมสี SAN RED RC[®] หรืออาจเป็นไปได้ว่า สี SAN RED RC[®] มีการใช้สารช่วยชะลอการลดลงของแอนโทไซยานิน

ตารางที่ 4.50 ค่าร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือเมื่อเก็บรักษาน้ำหวานผสมสีจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง และสี SAN RED RC[®]

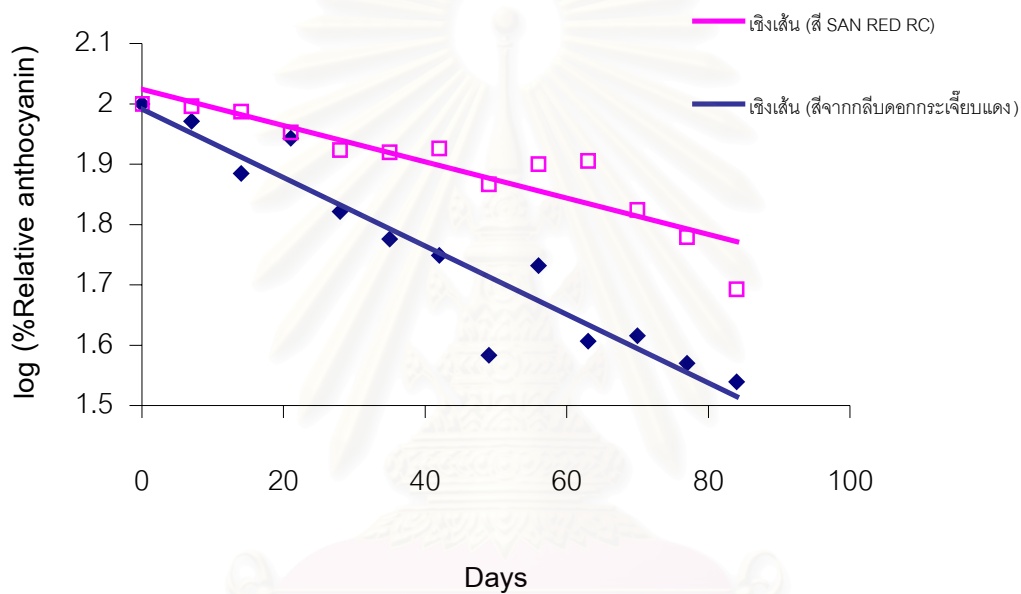
ระยะเวลา (วัน)	ร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือ	
	สีจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง	สี SAN RED RC [®]
0	100.00 ^a ± 0.00	100.00 ^a ± 0.00
7	93.57 ^a ± 8.16	97.13 ^a ± 0.60
14	76.67 ^{bc} ± 3.22	97.06 ^{ab} ± 0.50
21	87.66 ^{ab} ± 11.87	89.64 ^{abc} ± 1.60
28	66.29 ^{cd} ± 5.80	83.84 ^{bcd} ± 7.97
35	59.70 ^d ± 7.68	83.05 ^{bcd} ± 5.56
42	56.10 ^d ± 3.46	84.32 ^{bcd} ± 0.25
49	38.31 ^e ± 0.72	73.53 ^{def} ± 9.65
56	53.95 ^d ± 5.58	79.46 ^{cde} ± 1.40
63	40.42 ^e ± 3.20	80.41 ^{de} ± 14.63
70	41.29 ^e ± 5.80	66.74 ^{ef} ± 6.68
77	37.16 ^e ± 5.13	60.10 ^{gf} ± 4.49
84	34.60 ^e ± 4.10	49.26 ^g ± 3.38

ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับ (a,b,c ...) ต่างกันในสมมติเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4.51 ค่า F จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือเมื่อเก็บรักษาน้ำหวานผสมสีจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง และสี SAN RED RC[®]

ชนิดสี	ร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือ
สีจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง	30.59*
สี SAN RED RC [®]	12.35*

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.11 ค่าร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือเมื่อเก็บรักษาน้ำหวานผสมสีจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง และสี SAN RED RC[®]

ตารางที่ 4.52 ค่าครึ่งชีวิตของแอนโทไซยานินในน้ำหวานผสมสีจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง และสี SAN RED RC[®]

สี	สมการ	R ²	ค่าครึ่งชีวิต (วัน)
สีจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง	$Y = -0.0057X + 1.9914$	0.91	122
สี SAN RED RC [®]	$Y = -0.0030X + 2.0239$	0.84	231

X คือเวลา (วัน), Y คือค่า log ของร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือ

เมื่อนำค่าร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือมาสร้างกราฟ (รูปที่ 4.11) และคำนวณหาค่าครึ่งชีวิตของแอนโทไซยานินในน้ำหวานผสมสีแอนโทไซยานิน จากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง และสี SAN RED RC[®] จะเห็นได้ว่าน้ำหวานผสมสีแอนโทไซยานินจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงมีค่าครึ่งชีวิตของแอนโทไซยานิน น้อยกว่าน้ำหวานที่ผสมสี SAN RED RC[®] โดยมีค่าครึ่งชีวิตเป็น 122 และ 231 วันตามลำดับ

เมื่อพิจารณาค่า PC (ตารางที่ 4.53) ซึ่งแสดงถึงการเกิด polymerization ของแอนโทไซยานินในระหว่างการเก็บรักษา จะเห็นได้ว่ามีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 4.54) แสดงว่าแอนโทไซยานินเกิด polymerization มากขึ้นเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลาเพิ่มขึ้น โดยน้ำหวานซึ่งผสมสี SAN RED RC[®] มีอัตราการเพิ่มของค่า PC สูงกว่าน้ำหวานซึ่งผสมสีจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง ในขณะที่เดียวกัน ก็มีค่าร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือมากกว่าด้วย ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก สี SAN RED RC[®] มีปริมาณแอนโทไซยานินอยู่มากกว่า เพราะฉะนั้นจึงเกิด polymerization ได้มากกว่า แต่แอนโทไซยานินที่เหลืออยู่ก็ยังมีมาก จึงทำให้ค่าร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือ และค่า PC ของสี SAN RED RC[®] มากกว่าสีจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง หรืออาจเป็นไปได้ว่าสี SAN RED RC[®] เป็นสีทางการค้า จึงมีการผสมสารเพื่อเพิ่มเสถียรภาพของแอนโทไซยานินทำให้สีมีเสถียรภาพดีเมื่อเก็บรักษา

ตารางที่ 4.53 ค่า PC ของน้ำหวานผสมสีจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง และสี SAN RED RC[®] ระหว่างการเก็บรักษา

ระยะเวลา (วัน)	ค่า PC	
	สีจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง	สี SAN RED RC [®]
7	0.023 ^c ± 0.002	0.021 ^f ± 0.010
14	0.026 ^c ± 0.005	0.023 ^{ef} ± 0.003
21	0.021 ^c ± 0.005	0.032 ^{def} ± 0.002
28	0.025 ^c ± 0.011	0.050 ^{bcde} ± 0.016
35	0.031 ^{bc} ± 0.007	0.048 ^{cdef} ± 0.011
42	0.030 ^c ± 0.001	0.052 ^{bcd} ± 0.012
49	0.031 ^{bc} ± 0.004	0.048 ^{cdef} ± 0.015
56	0.049 ^a ± 0.002	0.069 ^{abc} ± 0.012
63	0.047 ^a ± 0.005	0.077 ^{ab} ± 0.018
70	0.044 ^{ab} ± 0.004	0.072 ^{abc} ± 0.009
77	0.049 ^a ± 0.007	0.082 ^a ± 0.010
84	0.054 ^a ± 0.006	0.085 ^a ± 0.009

ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับ (a,b,c ...) ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4.54 ค่า F จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า PC เมื่อเก็บรักษา น้ำหวานผสมสีจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง และสี SAN RED RC[®]

ชนิดสี	PC
สีจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง	9.166*
สี SAN RED RC [®]	7.360*

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เมื่อพิจารณาค่า DI (ตารางที่ 4.55) ซึ่งค่า DI นี้บอกถึงการสลายตัวของแอนโทไซยานิน โดยถ้าค่า DI เพิ่มขึ้นแสดงว่าแอนโทไซยานินเกิดการสลายตัวเพิ่มมากขึ้น ทำให้ค่าร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือลดลง จากการทดลองนี้พบว่าค่า DI ของน้ำหวานที่ผสมสีทั้ง 2 ชนิดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลาเพิ่มขึ้น (ตารางที่ 4.56) ซึ่งสอดคล้องกับร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือและค่า TCD ที่ลดลง (ตารางที่ 4.57)

ตารางที่ 4.55 ค่า DI เมื่อเก็บรักษาน้ำหวานผสมสีจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง และสี SAN RED RC[®]

ระยะเวลา (วัน)	ค่า DI	
	สีจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง	สี SAN RED RC [®]
0	1.22 ^{abcd} ± 0.03	1.43 ^{bc} ± 0.05
7	1.22 ^{abcd} ± 0.02	1.45 ^{bc} ± 0.02
14	1.22 ^{abcd} ± 0.06	1.13 ^d ± 0.02
21	1.07 ^e ± 0.02	1.40 ^{bc} ± 0.04
28	1.22 ^{abcd} ± 0.02	1.46 ^{bc} ± 0.12
35	1.28 ^{abc} ± 0.04	1.42 ^{bc} ± 0.06
42	1.28 ^{abc} ± 0.01	1.44 ^{bc} ± 0.01
49	1.14 ^{de} ± 0.03	1.47 ^{bc} ± 0.09
56	1.20 ^{bcd} ± 0.01	1.45 ^{bc} ± 0.01
63	1.15 ^{cde} ± 0.15	1.39 ^c ± 0.04
70	1.35 ^a ± 0.04	1.50 ^{bc} ± 0.01
77	1.27 ^{abcd} ± 0.06	1.52 ^{ab} ± 0.01
84	1.30 ^{ab} ± 0.02	1.63 ^a ± 0.04

ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับ (a,b,c ...) ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4.56 ค่า F จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่า DI เมื่อเก็บรักษา น้ำหวานผสมสีจาก กลีบดอกกระเจี๊ยบแดง และสี SAN RED RC[®]

ชนิดสี	ค่า DI
สีจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง	3.89*
สี SAN RED RC [®]	9.81*

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

นอกจากค่า TCD ซึ่งเป็นค่าที่บอกถึงความเข้มสีทั้งหมดในผลิตภัณฑ์ แล้วยังสามารถพิจารณาสีของผลิตภัณฑ์ได้จากค่าสีทางกายภาพ ซึ่งในการทดลองนี้ใช้การวัดสี ด้วยระบบ CIE L*a*b*

เมื่อพิจารณาค่าสีในระบบ CIE L*a*b* พบว่า ค่า L* ของน้ำหวานที่ผสมสีทั้ง 2 ชนิดมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ในระหว่างการเก็บรักษา (ตารางที่ 4.59 และ 4.60) ซึ่งสอดคล้องกับค่า TCD ที่ลดลง (ตารางที่ 4.57) ผลที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Shi, Lin และ Francis (1992) ที่ศึกษาการทำ Model system เครื่องดื่ม โดยปรับ pH เป็น 3.5, 4.5 และ 5.5 ผสมสีซึ่งสกัดจาก *Tradescantia pallida*, สี cyanidin-3-glucoside และ enocyanin แล้วพบว่าในระหว่างการเก็บรักษาค่า L (ในระบบ hunter) ของตัวอย่างจะมีค่าเพิ่มขึ้น เนื่องจากปริมาณสี (pigment content) ในระบบลดลง ทำให้การส่องผ่านของแสงดีขึ้น ค่า L จึงเพิ่มขึ้น ขณะที่น้ำหวานซึ่งผสมสีคาร์โมอีซิน จะมีค่า L* ลดลงอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เนื่องจากสีคาร์โมอีซิน เป็นสีสังเคราะห์การสลายตัวจึงต่างกับสีแอนโทไซยานินทำให้ค่า L* ลดลงเมื่อเก็บรักษา และเมื่อพิจารณาค่า a* พบว่าค่า a* ในน้ำหวานผสมสีจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง และสี SAN RED RC[®] มีแนวโน้มลดลงในระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งสอดคล้องกับค่า PC ที่เพิ่มขึ้น (ตารางที่ 4.53) แสดงว่าผลิตภัณฑ์มีสีน้ำตาลเพิ่มขึ้น แต่ในน้ำหวานที่ผสมสีคาร์โมอีซินเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 84 วัน กลับมีค่า a* ไม่เปลี่ยนแปลงโดยค่าดังกล่าว จะอยู่ในช่วง 77.00 - 78.83

แต่การมองเห็นสีไม่สามารถแยกค่า L* และ a* ออกจากกันได้ ต้องพิจารณาจากค่าสีทั้งระบบ โดยคำนวณค่า ΔE^* (ตารางที่ 4.59) ซึ่งเป็นค่าที่บอกถึงการเปลี่ยนแปลงของสี พบว่าน้ำหวานที่ผสมสีคาร์โมอีซินจะไม่มี การเปลี่ยนแปลงของค่าดังกล่าวเมื่อเทียบกับการเก็บรักษาในวันแรก น้ำหวานที่ผสมสีจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง และ

สี SAN RED RC[®] เกิดการเปลี่ยนแปลงของสี โดยค่า ΔE^* เพิ่มขึ้นระหว่างการเก็บรักษา โดยน้ำหวานที่ผสมสีจากดอกกระเจี๊ยบแดงมีค่าสีเปลี่ยนแปลงมากที่สุด

ตารางที่ 4.57 ค่า TCD เมื่อเก็บรักษาน้ำหวานผสมสีจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง และสี SAN RED RC[®]

ระยะเวลา (วัน)	ค่า TCD	
	สีจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง	สี SAN RED RC [®]
0	0.192 ^a ± 0.008	0.448 ^{ab} ± 0.000
7	0.115 ^{cd} ± 0.013	0.464 ^a ± 0.034
14	0.138 ^{bc} ± 0.006	0.456 ^{ab} ± 0.017
21	0.168 ^{cd} ± 0.000	0.455 ^{ab} ± 0.007
28	0.192 ^a ± 0.001	0.454 ^{ab} ± 0.008
35	0.139 ^b ± 0.023	0.448 ^{ab} ± 0.017
42	0.132 ^{cd} ± 0.003	0.450 ^{ab} ± 0.034
49	0.110 ^d ± 0.015	0.436 ^{abc} ± 0.005
56	0.121 ^{cd} ± 0.008	0.438 ^{abc} ± 0.003
63	0.123 ^e ± 0.008	0.381 ^{cd} ± 0.026
70	0.105 ^e ± 0.011	0.392 ^{bcd} ± 0.011
77	0.100 ^e ± 0.006	0.345 ^{de} ± 0.046
84	0.093 ^e ± 0.009	0.318 ^e ± 0.060

ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับ (a,b,c ...) ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4.58 ค่า F จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่า TCD เมื่อเก็บรักษาน้ำหวานผสมสีจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง และสี SAN RED RC[®]

ชนิดสี	TCD
สีจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง	30.645*
สี SAN RED RC [®]	6.082*

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4.59 ค่า L* ค่า a* และ ค่า ΔE^* เมื่อเก็บรักษาน้ำหวานผสมสีจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง สี SAN RED RC[®] และสีคาริโมอีน

ระยะเวลา (วัน)	ค่า L*			ค่า a*			ค่า ΔE^*		
	สีจากกลีบดอก กระเจี๊ยบแดง	สี SAN RED RC [®]	สีคาริโมอีน	สีจากกลีบดอก กระเจี๊ยบแดง	สี SAN RED RC [®]	สีคาริโมอีน	สีจากกลีบดอก กระเจี๊ยบแดง	สี SAN RED RC [®]	สีคาริโมอีน
0	90.09 ± 0.01	73.15 ± 0.95	55.63 ± 0.01	19.17 ± 0.00	53.86 ± 0.72	77.00 ± 0.00	-	-	-
7	91.81 ± 0.00	74.77 ± 0.01	55.25 ± 0.00	18.03 ± 0.01	53.92 ± 0.01	78.13 ± 0.00	2.08 ± 0.00	1.82 ± 0.76	1.91 ± 0.01
14	92.91 ± 0.00	74.24 ± 0.01	55.26 ± 0.02	16.99 ± 0.01	53.09 ± 0.00	77.91 ± 0.05	3.66 ± 0.01	1.35 ± 1.17	2.49 ± 0.09
21	92.57 ± 0.01	74.53 ± 0.00	55.96 ± 0.01	16.68 ± 0.03	53.03 ± 0.00	78.83 ± 0.04	3.54 ± 0.02	1.70 ± 1.07	3.42 ± 0.01
28	92.95 ± 0.00	75.32 ± 0.00	55.18 ± 0.01	14.33 ± 0.00	52.93 ± 0.02	77.63 ± 0.07	5.63 ± 0.00	2.42 ± 1.09	2.25 ± 0.03
35	92.61 ± 0.08	75.45 ± 0.04	54.20 ± 0.20	14.38 ± 0.03	52.76 ± 0.06	77.66 ± 0.01	5.44 ± 0.02	2.58 ± 1.07	2.51 ± 0.23
42	92.65 ± 0.00	74.06 ± 0.02	53.92 ± 0.03	14.45 ± 0.02	52.72 ± 0.01	77.86 ± 0.02	5.43 ± 0.01	1.53 ± 1.06	1.19 ± 0.04
49	95.35 ± 0.01	75.57 ± 0.01	54.52 ± 0.02	9.27 ± 0.01	51.37 ± 0.01	77.64 ± 0.06	11.22 ± 0.00	3.49 ± 1.17	1.28 ± 0.05
56	94.29 ± 0.00	75.51 ± 0.00	55.56 ± 0.01	11.52 ± 0.01	50.95 ± 0.01	77.39 ± 0.01	8.74 ± 0.01	3.76 ± 1.16	3.54 ± 0.01
63	94.62 ± 0.00	75.68 ± 0.00	54.98 ± 0.03	10.22 ± 0.00	50.06 ± 0.01	77.64 ± 0.01	10.04 ± 0.00	4.82 ± 1.00	2.54 ± 0.03
70	95.00 ± 0.01	76.93 ± 0.19	55.60 ± 0.00	9.53 ± 0.01	48.05 ± 0.01	77.36 ± 0.02	10.82 ± 0.02	7.18 ± 1.15	3.24 ± 0.01
77	95.30 ± 0.00	76.49 ± 0.52	53.50 ± 0.00	8.38 ± 0.01	48.16 ± 1.15	77.61 ± 0.01	11.99 ± 0.00	6.69 ± 2.47	2.27 ± 0.01
84	95.62 ± 0.01	76.46 ± 0.01	54.43 ± 1.41	8.34 ± 0.02	48.98 ± 0.01	77.65 ± 0.01	12.17 ± 0.02	5.91 ± 1.14	1.55 ± 1.09

เมื่อนำค่าสีที่วัดในระบบ CIE L*a*b* ,มาคำนวณเป็นค่า C* ซึ่งแสดงถึงความเข้มของสีในผลิตภัณฑ์ (ตารางที่ 4.60) และค่า h° ซึ่งเป็นค่าที่แสดงถึงเฉดสี (shade) ของผลิตภัณฑ์ (ตารางที่ 4.61) พบว่าน้ำหวานซึ่งผสมสีจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง และสี SAN RED RC[®] มีค่า C* ลดลง แสดงว่าน้ำหวานมีสีแดงลดลงในระหว่างเก็บรักษา ซึ่งสอดคล้องกับการลดลงของค่าร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือและค่า TCD แต่ในสีคาร์โมอีซิน ค่า C* ไม่มีการเปลี่ยนแปลง และเมื่อพิจารณา h° พบว่าน้ำหวานที่ผสมสีจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงมีค่า h° เพิ่มขึ้นจาก 13.37 เป็น 26.77 เมื่อเก็บเป็นระยะเวลา 84 วัน แสดงว่าผลิตภัณฑ์มีเฉดสีแดงลดลง ส่วนน้ำหวานที่ผสมสี SAN RED RC[®] และสีคาร์โมอีซิน พบว่าค่า h° ไม่มีการเปลี่ยนแปลงในระหว่างการเก็บรักษา โดยค่า h° ของสี SAN RED RC[®] อยู่ในช่วง 358.23 ถึง 0.66 ซึ่งอยู่ในช่วงเฉดสีแดงม่วง และสีคาร์โมอีซิน มีค่า h° 28.14 ถึง 30.41 ซึ่งเป็นเฉดสีแดง

ตารางที่ 4.60 ค่า C* เมื่อเก็บรักษาน้ำหวานผสมสีจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง สี SAN RED RC[®] และสีคาร์โมอีซิน

ระยะเวลา (วัน)	ค่า C*		
	สีจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง	สี SAN RED RC [®]	สีคาร์โมอีซิน
0	19.70 ± 0.00	53.86 ± 0.72	89.21 ± 0.01
7	18.54 ± 0.01	53.92 ± 0.01	89.45 ± 0.00
14	17.40 ± 0.01	53.09 ± 0.00	88.86 ± 0.02
21	17.19 ± 0.03	53.03 ± 0.00	89.40 ± 0.04
28	14.95 ± 0.00	52.93 ± 0.02	88.71 ± 0.05
35	14.94 ± 0.01	52.76 ± 0.06	88.80 ± 0.06
42	14.94 ± 0.02	52.72 ± 0.01	89.92 ± 0.00
49	10.14 ± 0.00	51.37 ± 0.01	89.76 ± 0.05
56	12.25 ± 0.01	50.95 ± 0.01	87.82 ± 0.00
63	11.07 ± 0.00	50.07 ± 0.01	88.59 ± 0.01
70	10.43 ± 0.01	48.07 ± 0.00	87.93 ± 0.02
77	9.40 ± 0.00	48.17 ± 1.14	89.99 ± 0.01
84	9.34 ± 0.02	48.98 ± 0.01	89.95 ± 0.00

ตารางที่ 4.61 ค่า h° เมื่อเก็บรักษาน้ำหวานผสมสีจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง สี SAN RED RC[®] และสีคาร์โมอีซิน

ระยะเวลา (วัน)	ค่า h°		
	สีจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง	สี SAN RED RC [®]	สีคาร์โมอีซิน
0	13.37 ± 0.02	0.37 ± 0.25	30.32 ± 0.01
7	13.58 ± 0.03	-0.15 ± 0.02	29.14 ± 0.00
14	12.46 ± 0.03	0.39 ± 0.00	28.76 ± 0.05
21	14.02 ± 0.05	-0.02 ± 0.00	28.14 ± 0.01
28	16.56 ± 0.00	-0.02 ± 0.02	28.94 ± 0.03
35	15.73 ± 0.24	0.11 ± 0.01	29.02 ± 0.08
42	14.85 ± 0.07	0.11 ± 0.00	30.02 ± 0.02
49	24.03 ± 0.09	0.13 ± 0.00	30.12 ± 0.02
56	19.93 ± 0.02	0.38 ± 0.02	28.22 ± 0.01
63	22.65 ± 0.03	-1.27 ± 0.00	28.79 ± 0.01
70	24.01 ± 0.07	-1.73 ± 0.09	28.39 ± 0.00
77	26.96 ± 0.10	-0.54 ± 1.73	30.41 ± 0.00
84	26.77 ± 0.02	0.66 ± 0.01	30.32 ± 0.01

จากการวิเคราะห์สีของน้ำหวานที่ผสมสีทั้ง 3 ชนิดจะเห็นได้ว่า น้ำหวานที่ผสมสีจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงมีค่าสีเปลี่ยนแปลงมากที่สุด แต่การเปลี่ยนแปลงนี้ก็ไม่มากพอที่ผู้บริโภคจะมองเห็น ดังจะเห็นได้จากผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส (ตารางที่ 4.62)

จากการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสทางด้านสีของน้ำหวาน โดยให้ผู้ทดสอบ 30 คน ประเมินความชอบสีแดง และความชอบรวมของสีต่อน้ำหวานผสมสีทั้ง 3 ชนิด ทุก 4 สัปดาห์ระหว่างการเก็บรักษา ใช้การทดสอบแบบ Hedonic scale 9 ระดับ พบว่า น้ำหวานทั้ง 3 ตัวอย่างได้คะแนนความชอบด้านสีแดงสูงที่สุดหลังจากเก็บรักษาไว้ 4 สัปดาห์ (28 วัน) เนื่องจากระหว่างการเก็บรักษาความสว่างของผลิตภัณฑ์จะเพิ่มขึ้น ทำให้ผู้ทดสอบเห็นสีแดงได้ชัดเจนกว่าในวันแรก แต่เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลานานขึ้น คะแนนด้านสีแดงในทุกตัวอย่างจะลดลง และเมื่อแยกพิจารณาแต่ละตัวอย่าง จะเห็นว่าน้ำหวานที่ผสมสีจาก

กลีบดอกกระเจี๊ยบแดง จะได้รับคะแนนด้านความชอบสีแดงน้อยกว่าตัวอย่างอื่นๆ ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา

เมื่อพิจารณาความชอบรวมของสีต่อน้ำหวานที่ผสมสีทั้ง 3 ชนิด พบว่าผู้ทดสอบจะให้การยอมรับน้ำหวานที่ผสมสีจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงถึงวันที่ 56 ของการเก็บรักษาเท่านั้น ขณะที่น้ำหวานที่ผสมสี SAN RED RC[®] และสีคาร์โมอิซิน ยังคงได้รับการยอมรับตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากในระหว่างการเก็บรักษาแอนโทไซยานินเกิดการสลายตัวมากทำให้น้ำหวานที่ผสมสีจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงจะมีแอนโทไซยานินเหลืออยู่น้อย ทำให้ผู้ทดสอบมองเห็นสีแดงในผลิตภัณฑ์ได้น้อยลง

แต่เมื่อนำคะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสที่ได้ไปเปรียบเทียบกับค่า ΔE^* ซึ่งได้จากการวัดทางกายภาพ จะเห็นว่าในน้ำหวานที่ผสมสีทั้ง 3 ชนิดเกิดการเปลี่ยนแปลงของสีขึ้นก่อนที่ผู้ทดสอบจะสามารถระบุได้ โดยในน้ำหวานที่ผสมสีจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง เมื่อทดสอบทางประสาทสัมผัสผู้ทดสอบจะให้การยอมรับถึงวันที่ 56 แต่จากค่า ΔE^* พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของสีตั้งแต่วันที่ 7 ของการเก็บรักษา ส่วนน้ำหวานที่ผสมสี SAN RED RC[®] และสีคาร์โมอิซินผู้ทดสอบจะให้การยอมรับตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ทั้งๆ ที่เมื่อพิจารณาค่า ΔE^* แล้วพบว่ามีเปลี่ยนแปลงของสีตั้งแต่วันที่ 28 และ 14 ของการเก็บรักษาตามลำดับ

ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าถึงแม้จะเกิดการเปลี่ยนแปลงของสีทั้ง 3 ชนิดในระหว่างการเก็บรักษา แต่ผู้บริโภคก็ยังให้การยอมรับ

ตารางที่ 4.62 คุณภาพทางประสาทสัมผัสของน้ำหวานผสมสีจากกลีบดอกกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง สี SAN RED RC[®] และสีคาร์โมอิซินระหว่างการเก็บรักษา

คุณภาพทางประสาทสัมผัส	ระยะเวลา (วัน)	สีจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง	สี SAN RED RC [®]	สีคาร์โมอิซิน
ความชอบสีแดง	0	3.6 ± 1.5	5.5 ± 1.6	8.0 ± 0.9
	28	5.9 ± 1.2	7.3 ± 1.2	8.7 ± 0.9
	56	1.9 ± 0.8	6.1 ± 1.4	8.1 ± 0.6
	84	2.5 ± 1.2	2.5 ± 1.5	8.2 ± 0.6
ความชอบรวม	0	6.2 ± 1.5	6.1 ± 1.5	5.3 ± 2.5
	28	5.6 ± 2.0	6.4 ± 1.9	5.6 ± 2.4
	56	5.2 ± 1.7	6.0 ± 1.7	5.3 ± 2.4
	84	4.4 ± 2.0	7.0 ± 1.4	6.7 ± 1.7

กล่าวโดยสรุปในการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของแอนโทไซยานินนั้นทำได้ใน 2 ลักษณะ คือทางเคมี และทางกายภาพ ทางเคมีนั้นจะวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินด้วยวิธี pH differential ซึ่งแสดงในรูปของร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือ (%relative anthocyanin) ซึ่งจากงานวิจัยนี้ จะเห็นได้ว่าเมื่อเก็บรักษาสีแอนโทไซยานินเป็นเวลานานขึ้น ค่าร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือจะลดลง แสดงว่าปริมาณแอนโทไซยานินในผลิตภัณฑ์ลดลง แต่การลดลงนั้นอาจเกิดได้จากสองกลไก คือเกิดจากการสลายตัวของแอนโทไซยานินเอง หรือเกิดจากปฏิกิริยา polymerization ซึ่งการสลายตัวของแอนโทไซยานินวัดได้จากค่า DI โดยถ้าค่า DI เพิ่มขึ้น แสดงว่าแอนโทไซยานินเกิดการสลายตัวเพิ่มขึ้น ในขณะที่การเกิดปฏิกิริยา polymerization ของแอนโทไซยานินวัดได้จากค่า PC ซึ่งการเพิ่มขึ้นของค่า DI และค่า PC ในสีแอนโทไซยานินเมื่อเก็บรักษาสอดคล้องกับค่าร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือที่ลดลง

ค่าร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือนี้ยังสอดคล้องกับค่าความเข้มของสีของผลิตภัณฑ์ด้วย โดยค่าสีนี้สามารถพิจารณาได้ 2 ลักษณะ คือพิจารณาจากปริมาณความเข้มสีทั้งหมด (TCD) ซึ่งบอกถึงปริมาณความเข้มสีทั้งหมดในผลิตภัณฑ์ และพิจารณาโดยการวัดทางกายภาพ คือการวัดสีด้วยระบบ CIE L*a*b*

จากงานวิจัยนี้พบว่าค่า TCD จะลดลงเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา นานขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณแอนโทไซยานินที่ลดลง แสดงว่าเมื่อปริมาณแอนโทไซยานินในผลิตภัณฑ์ลดลงจะทำให้ปริมาณความเข้มสีลดลงด้วย

เพื่อพิสูจน์ว่าการลดลงของค่า TCD หรือการลดลงของสี มีความสัมพันธ์กับการรับรู้สีหรือไม่ จึงทดลองนำสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งไปวัดสีด้วยระบบ CIE L*a*b* และคำนวณค่า Chroma (C*) จะเห็นว่าเมื่อเก็บรักษาสีแอนโทไซยานินเป็นระยะเวลา นานขึ้น ค่า L* มีแนวโน้มลดลง ซึ่งค่า L* เป็นค่าที่บอกถึงความสว่างของผลิตภัณฑ์ แสดงว่าสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งมีความสว่างลดลง ซึ่งสอดคล้องกับการเพิ่มของค่า PC นั้นแสดงว่าแอนโทไซยานินเกิดปฏิกิริยา polymerization ได้ polymeric pigment ซึ่งทำให้สีแอนโทไซยานินมีสีน้ำตาลมากขึ้น ค่าความสว่างจึงลดลง

เมื่อพิจารณาค่า C* ซึ่งเป็นค่าที่แสดงถึงความอิ่มตัวของสี พบว่าเมื่อเก็บเป็นระยะเวลา นานขึ้นค่า C* มีแนวโน้มลดลง แสดงว่าปริมาณความเข้มสีในสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งลดลง ซึ่งสอดคล้องกับการลดลงของค่า TCD และร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือ

เมื่อพิจารณาเรื่องสี ผู้บริโภคจะไม่สามารถบอกค่า colour value (L*, a* หรือ b*) แยกออกจากกันได้ เนื่องจากสายตาของผู้บริโภคจะพิจารณาผลลัพธ์ที่เกิดจาก

colour value พร้อมๆกัน ดังนั้นการพิจารณาว่าสีที่ได้แตกต่างจากตัวอย่างควบคุมหรือไม่ จะพิจารณาจากค่า ΔE^* ซึ่งคือค่า ความแตกต่างของสีทั้งหมด โดยเปรียบเทียบสีของตัวอย่าง เทียบกับตัวอย่างควบคุม ซึ่งถ้าค่า ΔE^* มากกว่า 2 แสดงว่าสีของสีแอนโทไซยานินแตกต่าง จากตัวอย่างควบคุม

จากข้างต้นจะเห็นได้ว่าการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของ แอนโทไซยานินทั้งสองแบบมีความเกี่ยวข้องกัน และสามารถอธิบายเชื่อมโยงกันได้ ทำให้ การวิเคราะห์ผลครอบคลุมยิ่งขึ้น



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

1. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดแอนโทไซยานินจากกระเจี๊ยบแดง

- สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดแอนโทไซยานินจากกระเจี๊ยบแดง เพื่อให้ได้ประสิทธิภาพในการสกัดแอนโทไซยานินสูงสุดคือ ใช้น้ำกลั่น : เอทานอล (1:1) ปรับ pH เป็น 2.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเป็นตัวทำละลาย และอัตราส่วนระหว่างปริมาณกระเจี๊ยบแดงต่อตัวทำละลายเป็น 1 : 4 สารละลายสกัดที่ได้มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ในการเลือกชนิดของตัวทำละลายนี้ นอกจากจะพิจารณาถึงประสิทธิภาพในการสกัด ยังต้องคำนึงถึงต้นทุนในการผลิต และความปลอดภัยของผู้บริโภคด้วย

2. ศึกษาการทำแห้งแอนโทไซยานินแบบเยือกแข็ง

- ในการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินนิยมใช้วิธี pH differential เพราะสามารถกำจัดค่าการดูดกลืนแสงเนื่องจากสาร polymer ที่เกิดจากการสลายตัวของแอนโทไซยานิน จากการทดลองพบว่าค่า pH ที่ควรเลือกใช้สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินคือ pH 1.0 และ pH 4.5 เนื่องจากที่ค่า pH ทั้งสอง ให้ค่าการดูดกลืนแสงที่สูงที่สุด และต่ำที่สุดส่งผลให้ค่าการดูดกลืนแสงดังกล่าวต่างกันมากที่สุด อีกทั้งค่าการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรดต่างรอบ ๆ ค่า pH ดังกล่าวไม่ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงเปลี่ยนแปลงมากนัก ดังนั้นเลือก pH 1.0 และ pH 4.5 สำหรับวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินโดยวิธี pH differential ในการหาปริมาณแอนโทไซยานินในกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง

- ศึกษาชนิดน้ำตาล และ maltodextrin ที่จะใช้เป็น stabilizer ในสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็ง โดยน้ำตาลที่ใช้ในงานวิจัยนี้ได้แก่ glucose, sucrose และ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 2 และ 3% (w/v) พบว่าสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งที่เติม maltodextrin และ trehalose จะแห้งไม่เกาะติดภาชนะ ในขณะที่การเติมน้ำตาล glucose และ sucrose กลับพบว่าผลิตภัณฑ์จะดูดความชื้นกลับ และเกาะติดภาชนะ ด้วยเหตุนี้ น้ำตาล glucose และ sucrose จึงไม่เหมาะที่จะนำมาใช้เป็น stabilizer ในสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็ง ดังนั้นจึงเลือกใช้ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 2 และ 3% (w/v) เป็น stabilizer ในการทำสีแอนโทไซยานินแห้งแบบเยือกแข็ง

- ศึกษาเสถียรภาพของสีแอนโทไซยานินที่ได้จากการทำแห้งแบบเยือกแข็ง โดยใช้ trehalose และ maltodextrin เป็น stabilizer จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าการใช้ trehalose และ maltodextrin เป็น stabilizer จะช่วยชะลอการลดลงของแอนโทไซยานิน

ได้ โดยสีแอนโทไซยานินที่เติม maltodextrin ความเข้มข้น 3% (w/v) จะให้ผลดีที่สุด เมื่อพิจารณาทั้งค่าร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือ ค่า DI ค่า PC

3. ศึกษาการทำเข้มข้นสารละลายสกัดแอนโทไซยานิน

- สภาวะในการทำเข้มข้นที่เหมาะสมคือ ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เวลา 30 นาที ทำให้สารละลายสกัดแอนโทไซยานินเข้มข้นขึ้น 3 เท่า

- ศึกษาชนิดของ stabilizer ที่เหมาะสมสำหรับสีแอนโทไซยานินเข้มข้น โดยใช้น้ำตาล glucose sucrose และ trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 2 และ 3 % (w/v) เป็น stabilizer พบว่าค่าร้อยละปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือ และ ค่า DI ของ สารละลายสกัดแอนโทไซยานินที่ผ่านการทำเข้มข้น ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 95 แสดงว่าน้ำตาล glucose sucrose และ trehalose และ maltodextrin ไม่ช่วยในการรักษาเสถียรภาพของแอนโทไซยานินเมื่อผ่านการทำเข้มข้น โดยการใช้น้ำตาล แต่ละชนิด และ maltodextrin ที่ความเข้มข้น 2 และ 3% ก็ไม่ได้ให้ผลที่แตกต่างกัน

- ศึกษาเสถียรภาพของสีแอนโทไซยานินที่ได้จากการทำเข้มข้น โดยใช้น้ำตาล glucose, sucrose และ trehalose และ maltodextrin เป็น stabilizer จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าการใช้น้ำตาล trehalose และ maltodextrin ความเข้มข้น 2 และ 3% (w/v) เป็น stabilizer ในสีแอนโทไซยานินเข้มข้นจะช่วยชะลอการลดลงของปริมาณแอนโทไซยานิน เมื่อเทียบกับสีแอนโทไซยานินเข้มข้นที่ไม่ได้ใส่น้ำตาล (control) และเติมน้ำตาล glucose และ sucrose โดยพบว่าค่าครึ่งชีวิตของสีแอนโทไซยานินเข้มข้นที่เติม trehalose และ maltodextrin จะสูงกว่าที่เติม glucose และ sucrose ซึ่งผลที่ได้เป็นไปในแนวโน้มเดียวกันกับสีแอนโทไซยานินที่ได้จากการทำแห้งแบบเยือกแข็ง

4. ศึกษาการนำสีแอนโทไซยานินทำแห้งแบบเยือกแข็งมาใช้ใน model system ผลิตภัณฑ์น้ำหวาน

- การลดลงของปริมาณ แอนโทไซยานินในน้ำหวานที่ผสมสี แอนโทไซยานินจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงจะมากกว่าในน้ำหวานผสมสี SAN RED RC[®] จะเห็นได้จากค่าครึ่งชีวิตของแอนโทไซยานินในน้ำหวานผสมสีจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงมีค่า 122 วัน แต่ในน้ำหวานผสมสี SAN RED RC[®] มีค่าครึ่งชีวิต 231 วัน ซึ่งค่าครึ่งชีวิตที่ต่างกันนี้มีผลต่อการยอมรับของผู้ทดสอบ โดยน้ำหวานที่ผสมสีจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงผู้ทดสอบให้การยอมรับถึงวันที่ 56 ของการเก็บรักษา แต่น้ำหวานผสมสี SAN RED RC[®] ผู้ทดสอบให้การยอมรับตลอดอายุการเก็บรักษา ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากในน้ำหวานผสมสีจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงเมื่อเก็บรักษาปริมาณแอนโทไซยานินจะลดลงมาก และค่าครึ่งชีวิตต่ำ ทำให้สีของน้ำหวานอ่อนมากจนผู้ทดสอบไม่ให้การยอมรับ

5.2 ข้อเสนอแนะ

ในงานวิจัยนี้ใช้น้ำตาล trehalose และ maltodextrin ในการรักษาเสถียรภาพของสีแอนโทไซยานินที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็ง ดังนั้นสิ่งที่น่าศึกษาต่อไปคือ การใช้สารเคมีประเภท antioxidant ร่วมกับ น้ำตาล trehalose และ maltodextrin เพื่อช่วยให้สีแอนโทไซยานินที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็งมีเสถียรภาพดีขึ้น



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

- สมสุข มัจฉาชีพ. 2542. พืชสมุนไพร. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร : บริษัทรุ่งศิลป์การพิมพ์.
- คณะกรรมการอาหารและยา, สำนักงาน. 2543. ขนมเด็กใส่สี. นนทบุรี: กองเผยแพร่และควบคุม
การโฆษณา กระทรวงสาธารณสุข.
- Abdel-Aal, E. S. M., and Hucl, P. 1999. A rapid method for qualifying total anthocyanins in blue
aleurone and purple pericarp wheats. Cereal Chemistry 76: 350-354.
- Ball, P. 2000. Nature fresh and dry[Online]. (n.d.) Available from: [http://www.nature.com/nsu/nsu-
pf/000720/000720-3.html](http://www.nature.com/nsu/nsu-pf/000720/000720-3.html)[2003, Much 14]
- Bridle, P., and Timberlake, C. F. 1997. Anthocyanins as natural food colours-selected aspects. Food
Chemistry 58: 103-109.
- Bronnum-Hansen, K., and Flink, J. M. 1985. Anthocyanin colorants from *Elderberry (Sambucus nigra
L.)*. 3. Storage stability of the freeze dried product. Journal of Food Technology 20: 725-
733.
- Bronnum-Hansen, K., and Flink, J. M. 1986. Anthocyanin colorants from *Elderberry (Sambucus nigra
L.)* IV. Further studies on production of liquid extracts, concentrates and freeze dried
powders. Journal of Food Technology 21: 605-614.
- Brouillard, R. 1982. Chemical structure of anthocyanins. In P. Markakis (ed.), Anthocyanins as Food
Colors, pp. 163-178. New York: Academic Press.
- Chandra, A.; Nair, M. G.; and Iezzoni, A. F. 1993. Isolation and stability from tart cherries (*Prunus
cerasus L.*). Journal of Agriculture and Food Chemistry 41: 1062-1065.
- Chigurupati, N.; Saiki, L.; Gayser Jr, C.; and Dash, A.K. 2002. Evaluation of red cabbage dye as a
potential natural color for pharamaceutical use. International Journal of Pharmaceutics 24:
293-299.
- Chronakis, I. S. 1988. On the molecular characteristics, compositional property, and structural-
functional mechanisms functional mechanisms of maltodextrin : a review. Critical Reviews in
Food Science 38: 599-637.
- Daravingas, G., and Cain, R. F. 1986. Thermal degradation of black raspberry anthocyanin pigment in
model system. Journal of Food Science 33: 138-143.
- Delgado-Vargas, F.; Jimenez, A. R.; and Paredes-Lopez, O. 2000. Natural pigments: carotenoids,
anthocyanins and betalains – characteristics, biosynthesis, processing and stability Critical
Reviews in Food Science and Nutrition 40: 173-289.
- Do, J. Y.; Potewiratananond, S.; Salunke, D. K.; and Rahman, A. R. 1976. Freeze dehydrated
compressed sour cherries II stability of anthocyanins during storage. Journal of Food
Technology 11: 265-272.

- Du, C. T., and Francis, F. J. 1973. Anthocyanins of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). Journal of Food Science 38: 810-813.
- Dyrby, M.; Westergaard, N.; and Stapelfeldt, H. 2001. Light and heat sensitivity of red cabbage extract in soft drink model systems. Food Chemistry 72: 431-437.
- Esselen, W. B., and Sammy, G. M. 1975. Application for roselle as a red food colorant. Food Product Development 10: 37-40.
- Fuleki, T., and Francis, F. J. 1968a. Quantitative methods for anthocyanins. 1.Extraction and determination of total anthocyanin in cranberries. Journal of Food Science 33: 72-77.
- Fuleki, T., and Francis, F. J. 1968b. Quantitative methods for anthocyanins. 2.Determination of total anthocyanin and degradation index for cranberry juice. Journal of Food Science 33: 78-83.
- Garzon, G. A., and Wrolstad, R. E. 2002. Comparison of the stability of pelargonidin-based anthocyanins in strawberry juice and concentrate. Food Chemistry and Toxicology 67: 1288-1299.
- Gao, L., and Mazza, G. 1996. Extraction of anthocyanin pigments from Purple sunflower hulls. Journal of Food Science 61: 600-603.
- Hallagan, J. B.; Allen, D. C.; and Borzelleca, J. F. 1995. The safety and regulatory status of food, drug and cosmetics colour additives exempt from certification. Food Chemistry 33: 515-528.
- Hrazdina, G. 1971. Phytochemistry 10: 1125-1130. Cited in Markakis, P. 1982. Stability of anthocyanins in food. In P. Markakis (ed.), Anthocyanins as Food Colors, pp. 163-178. New York: Academic Press.
- Hutchings, J. B. 1999. Food color mechanisms. In Hutching (ed.), Food Color and Appearance, pp. 453-592. Maryland: Aspen publication Inc.
- Langdon, T. T. 1987. Preventing of browning in fresh prepared potatoes without the use of sulfiting agents Food Technology 18: 64-67.
- Lewis, C. E.; Walker, R. L.; and Lancaster, J. E. 1995. Effect of polysaccharides on the colour of anthocyanins. Food Chemistry 54: 315-319.
- Maccarone, E.; Maccarrone, A.; and Rapisarda, P. 1985. Stabilization of anthocyanins of blood orange fruit juice. Journal of Food Science 50: 901-904.
- Main, J. H.; Clydesdale, F. M.; and Francis, F. J. 1978. Spray drying anthocyanin concentrates for use as food colorants. Journal of Food Science 46: 1693-1694, 1697.
- Markakis, P. 1982. Stability of anthocyanins in food. In P. Markakis (ed.), Anthocyanins as Food Colors, pp. 163-178. New York: Academic Press.

- Metivier, R. P.; Francis, F. J.; and Clydesdale, F. M. 1980. Solvent extraction of anthocyanins from wine pomace. Journal of Food Science 45: 1099-1100.
- Mok, C., and Hettiarachchy, N. S. 1991. Heat stability of Sunflower-hull anthocyanin pigment. Journal of Food Science 56: 553-555.
- Nakamura, Y.; Hidaka, M.; Masaki, H.; Seto, H.; and Uozumi, T. 1990. Major anthocyanin of the flowers of Hibiscus (*Hibiscus rosa-sinensis* L.). Agriculture and Biological Chemistry 54: 3345-3346.
- Ozhan, M. 2002. Degradation of anthocyanins in sour cherry and pomegranate juices by hydrogen peroxide in the presence of added ascorbic acid Food Chemistry 78: 499-504.
- Shi, Z.; Lin, M.; and Francis, F. J. 1992. Stability of anthocyanins from *Tradescania pallida*. Journal of Food Science 57: 758-760.
- Somer, T.C. 1971. The polymeric nature of wine pigments. Phytochemistry 10: 2175-2186.
- Spayd, S. E.; Nagel, C. W.; Hayrynen, L. D.; and Drake, S. R. 1984. Color stability of apple and pear juices blended with fruit juices containing anthocyanins. Journal of Food Science 49: 411-414.
- Tulyathan, V.; Dunagmal, K.; and Thunpittayakut, C. 1993. Anthocyanin extractive from blue pea flowers (*Clitoria Ternatea* L.) Thai Journal of Agriculture and Science 26: 171-183.
- Tulyathan, V.; Dunagmal, K.; and Thunpittayakut, C. 1994. Stability of anthocyanin of blue pea flowers (*Clitoria Ternatea* L.) liquid extract Thai Journal of Agriculture and Science 27: 151-162.
- Wrolstad, R. E. 2000. Anthocyanins. In G. L. Lauro and F. J. Francis (ed.), Natural Food Colorants Science and Technology, pp. 237-255. Chicago: IFC Basic Symposium Series.



ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก

1. ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด (T Acy) ดัดแปลงจากวิธีของ Tulyathan, Dunagmal และ Thunpittayakut (1993)

- เจือจางตัวอย่างด้วยสารละลาย KCl – HCl buffer (0.2 M KCl : 0.2 M HCl = 25.67) pH 1.0 ในอัตราส่วน 1 : 20
- เจือจางตัวอย่างด้วยสารละลาย CH₃COONa – HCl buffer (1 M CH₃COONa : 1 M HCl : water = 100:60:90) pH 4.5 ในอัตราส่วน 1 : 20
- เก็บสารละลายทั้งสองไว้ในที่มืดนาน 2 ชั่วโมง
- วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 543 นาโนเมตร โดยใช้ น้ำ กลั่น เป็น blank
- คำนวณปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดจากสูตร (1)

$$T O . D . = O . D . \times D V \times V F$$

โดยที่ O.D. คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

DV คือ dilution volume

VF คือ volume factor

$$O . D . = T O . D . \text{ pH } 1.0 - T O . D . \text{ pH } 4.5$$

$$T \text{ Acy} = \frac{\Delta O.D.}{\text{Avg. } E_{1\text{cm}}^{1\%}} \times 0.1 \quad (1)$$

ในการคำนวณ Relative T Acy ไม่จำเป็นต้องใช้ค่า $E_{1\text{cm}}^{1\%}$

2. ความเข้มข้นของสีทั้งหมด (TCD) ดัดแปลงมาจากวิธีของ Somers (1971) และ Spayd และคณะ (1984)

- เจือจางตัวอย่างด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1 : 10
- วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 420 520 และ 700 นาโนเมตร
- คำนวณ TCD จากสูตร (2)

$$\text{TCD} = (\text{Abs}420 + \text{Abs}520) - 2\text{Abs}700 \quad (2)$$

3. ความเข้มข้นของสี polymeric (PC) ดัดแปลงจากวิธีของ Somers (1971) และ Spayd และคณะ (1984)

- เจือจางตัวอย่างด้วยสารละลาย $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_5$ ความเข้มข้นร้อยละ 20 น้ำหนักต่อปริมาตร) ในอัตราส่วน 1 : 1 และเก็บสารละลายที่อุณหภูมิประมาณ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
- วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 420 520 และ 700 นาโนเมตร
- คำนวณ PC จากสูตร (3)

$$\text{PC} = (\text{Abs}420 + \text{Abs}520) - 2\text{Abs}700 \quad (3)$$

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวบุศรารัตน์ สายเชื้อ เกิดวันที่ 13 กันยายน 2522 ที่จังหวัดนครสวรรค์
สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีทางอาหาร
คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เมื่อปีการศึกษา 2542



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย