

การสกัดแอนไฮโซยานินส์จากดอกถั่วลิสง (*Clitoria ternatea* L.)

นายเกียรติศักดิ์ ดวงมาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

มหาวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2535

ISBN 974-579-951-3

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

018063 110314366

Extraction of anthocyanins from blue pea (*Clitoria ternatea* L.)

Mr. Kaittisak Duangmal

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science

Department of Food Technology

Graduate School

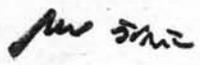
Chulalongkorn University

1992

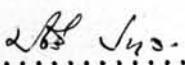
ISBN 974-579-951-3

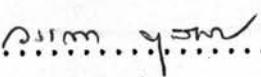
หัวข้อวิทยานิพนธ์ การสกัดแอนโธไซยานินส์จากดอกอัญชัน (*Clitoria ternatea* L.)
โดย นายเกียรติศักดิ์ ดวงมลายี่
ภาควิชา เทคโนโลยีทางอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรรณมา ตูลยชัย
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม รองศาสตราจารย์ ดร.ชัยยุทธ ฉัญนิทยากุล

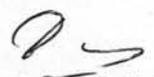
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัย
เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

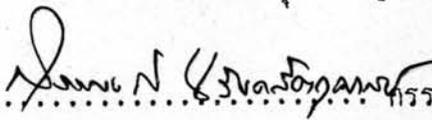

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(ศาสตราจารย์ ดร.ถาวร วิชรไวย)

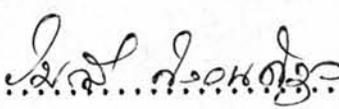
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์


..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.พัชรี ปานกุล)


..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรรณมา ตูลยชัย)


..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(รองศาสตราจารย์ ดร.ชัยยุทธ ฉัญนิทยากุล)


..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สรุพงศ์ นวังคลัตถุศาสน์)


..... กรรมการ
(อาจารย์ ดร.รณณี สงวนดีกุล)

เกษรติศักดิ์ ดวงมาลัย : การสกัดแอนโทไซยานินส์จากดอกอัญชัน (*Clitoria ternatea* L.) (EXTRACTION OF ANTHOCYANINS FROM BLUE PEA (*Clitoria ternatea* L.))
 อ.ที่ปรึกษา : ผศ.ดร.วรรณภา ตลุยชัย และ รศ.ดร.ชัยยุทธ วัฒนียากุล, 92 หน้า, ISBN 974-579-951-3

งานวิจัยนี้มุ่งประสงค์เพื่อศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดแอนโทไซยานินส์จากดอกอัญชัน และศึกษาเสถียรภาพของสารละลายสกัดแอนโทไซยานินส์ ซึ่งพบว่าภาวะที่เหมาะสมในการสกัดแอนโทไซยานินส์จากดอกอัญชันเพื่อให้ได้ปริมาณแอนโทไซยานินส์สูงสุด คือใช้สารละลายกรด hydrochloric pH 4.5 เป็นตัวทำละลายในการสกัด โดยมีอัตราส่วนระหว่างตัวทำละลายกับดอกอัญชันแห้งเท่ากับ 120:3 ใช้เวลาในการสกัด 73 นาที และการเขย่าในระหว่างการสกัดสามารถสกัดแอนโทไซยานินส์ได้มากกว่าเมื่อไม่มีการเขย่าในระหว่างการสกัดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 การสกัดหนึ่งครั้งจะให้ปริมาณแอนโทไซยานินส์มากกว่าร้อยละ 90 เมื่อศึกษาผลของอุณหภูมิในการเก็บสารละลายสกัดแอนโทไซยานินส์ พบว่าการเก็บสารละลายสกัดที่อุณหภูมิห้องเย็น (4 ± 1 °C) ให้ผลในการลดการลดลงของปริมาณแอนโทไซยานินส์ทั้งหมด (TAcY) และให้ผลในการลดการเพิ่มขึ้นของปริมาณ polymeric colour (PC) ได้ดีกว่าการเก็บสารละลายสกัดที่อุณหภูมิห้อง (30 ± 1 °C) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยที่ค่าครึ่งชีวิตของสารละลายสกัดมีค่า 81 และ 48 วัน ตามลำดับ ส่วนผลของการใช้วัตถุเจือปนอาหารในการรักษาเสถียรภาพของสารละลายสกัด พบว่าการใช้ glutathione ร่วมกับ tartaric acid สามารถลดการลดลงของปริมาณ TAcY และระดับที่เหมาะสมคือ 20:400 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร โดยพิจารณาจากผลในการลดการลดลงของปริมาณ TAcY และผลในการลดการเพิ่มขึ้นของปริมาณ PC นอกจากนี้ยังพบว่า การเติมสารประกอบ phenolics (caffeic acid, rutin และ (+)-catechin) ในสารละลายสกัดจะสามารถลดการลดลงของปริมาณ TAcY ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แต่การใช้สารประกอบ phenolics จะให้ผลเร่งการเพิ่มขึ้นของปริมาณ PC ในสารละลายสกัด โดยเฉพาะเมื่อมีการใช้ (+)-catechin เมื่อพิจารณาค่าครึ่งชีวิตของสารละลายสกัดที่มีการใช้วัตถุเจือปนอาหาร พบว่ามีค่ามากกว่า 98 วัน

ภาควิชา.....เทคโนโลยีทางอาหาร
 สาขาวิชา.....เทคโนโลยีทางอาหาร
 ปีการศึกษา.....2534

ลายมือชื่อนิสิต.....เกษรติศักดิ์ ดวงมาลัย
 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....วิมล งาม
 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

C226239 : MAJOR FOOD TECHNOLOGY

KEY WORD : ANTHOCYANINS/Clitoria ternatea L.

KAITTISAK DUANGMAL : EXTRACTION OF ANTHOCYANINS FROM BLUE PEA
(Clitoria ternatea L.) THESIS ADVISOR : ASSIST. PROF. VANNA
TELYATHAN, Ph.D., ASSOC. PROF. CHAIYUTE THUNPITHAYAKUL, Ph.D.
92 pp. ISBN 974-579-951-3

The purposes of this research were to study extraction conditions of anthocyanins from blue pea (Clitoria ternatea L.) and storage stability of the liquid extract. For maximum yield, it was found that hydrochloric at pH 4.5 was the most effective solvent. Optimum extraction time and ratio of HCl to dry blue pea (% moisture, db = 10.3) were 73 minutes and 120:3, respectively. More than 90% of anthocyanins was in the first extract and shaking during extraction had significant effect ($p < 0.05$) on the anthocyanins content. Keeping the extract at low temperature ($4 \pm 1^\circ\text{C}$) resulted in higher total anthocyanins (TAcY) and lower polymeric colour (PC) than those at high temperature ($30 \pm 1^\circ\text{C}$). The half-lives of the extracts at $4 \pm 1^\circ\text{C}$ and $30 \pm 1^\circ\text{C}$ were 81 and 48 days, respectively.

Glutathione and tartaric acid, as food additives, significantly retarded ($p < 0.05$) the decreasing of TAcY; and the optimum ratio of glutathione to tartaric acid that gave the extract the highest TAcY and lowest PC content was 20 to 400 mg. per 100 ml. liquid extract. Caffeic acid, rutin and (+)-catechin also significantly retarded ($p < 0.05$) the decreasing of TAcY. But the phenolics, especially (+)-catechin, accelerated the accumulation of PC content. This study showed that caffeic acid and rutin at 40 mg. per 100 ml. liquid extract could efficiently be used as food additives for the liquid extract. The half-lives of all the extracts using food additive were more than 98 days.

ภาควิชา เทคโนโลยีชีวภาพทางอาหาร
สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพทางอาหาร
ปีการศึกษา 2534

ลายมือชื่อนิติกร เกียรติศักดิ์ ธรรมสาร
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา วรณม ชูวงษ์
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม 2

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.วรรณมา ตลยชัย และ รศ.ดร.ชัยยทช ฉัญนิทยากุล ที่กรุณา
ให้คำปรึกษา คำแนะนำ และความช่วยเหลืออันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการทำงานวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.พัชรี ปานกุล ผศ.ดร.สุรพงศ์ นวังคส์ตฤศาสน์ และ
ดร.รมณี สงวนดีกุล ที่กรุณาสละเวลามาร่วมเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และให้คำแนะนำ
อันเป็นประโยชน์

ขอขอบคุณ Dr. Jun-Ichi Tanaka มหาวิทยาลัยริวกิว ประเทศญี่ปุ่น ที่ให้สารเคมี
(caffeic acid) สำหรับใช้ในการทดลอง

ขอขอบคุณ บัณฑิตวิทยาลัยที่ท่านสนับสนุนงานวิจัยนี้

ขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่ให้ความช่วยเหลือ อำนวยความสะดวกในการทำ
วิทยานิพนธ์

และสุดท้ายนี้ ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่ให้ทุนช่วยเหลืองานวิจัย และให้
กำลังใจ ทำให้สามารถทำงานสำเร็จได้ในที่สุด

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญรูป.....	ญ
บทที่	
1. บทนำ.....	1
2. วารสารปริทัศน์.....	3
3. ขั้นตอนการทดลอง.....	16
4. ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง.....	21
5. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....	82
เอกสารอ้างอิง.....	84
ภาคผนวก.....	89
ประวัติผู้เขียน.....	92

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 ความชื้นของคอกอัญชันสดและแห้ง.....	21
4.2 ปริมาณแอนไฮโดรซัยยานินส์ (dry basis) ในคอกอัญชันสดและแห้ง.....	25
4.3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนการสกัดแอนไฮโดรซัยยานินส์เมื่อใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายในการสกัด.....	26
4.4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนการสกัดแอนไฮโดรซัยยานินส์เมื่อใช้สารละลายกรด HCl เป็นตัวทำละลายในการสกัด.....	26
4.5 ผลของ pH ของตัวทำละลายในการสกัดต่อปริมาณแอนไฮโดรซัยยานินส์ที่สกัดได้.....	27
4.6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของ pH ของตัวทำละลายในการสกัด.....	29
4.7 ผลของชนิดตัวทำละลายในการสกัดและเวลาในการสกัดต่อปริมาณแอนไฮโดรซัยยานินส์ที่สกัดได้.....	30
4.8 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของชนิดตัวทำละลายในการสกัดและเวลาในการสกัด	32
4.9 ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการสกัดกับปริมาณแอนไฮโดรซัยยานินส์ที่สกัดได้.....	33
4.10 ผลของอัตราส่วนระหว่างตัวทำละลายในการสกัดกับปริมาณคอกอัญชันร่วมกับการเขย่าในระหว่างการสกัดที่มีต่อปริมาณแอนไฮโดรซัยยานินส์ที่สกัดได้.....	34
4.11 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของอัตราส่วนระหว่างตัวทำละลายในการสกัดกับปริมาณคอกอัญชันร่วมกับการเขย่าในระหว่างการสกัด.....	35
4.12 ผลการ pasteurization ต่อเสถียรภาพของแอนไฮโดรซัยยานินส์.....	38
4.13 ปริมาณ relative TAc (%) ของสารละลายสกัดแอนไฮโดรซัยยานินส์ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิห้องเย็น.....	40
4.14 ค่า F จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของ relative TAc (%) ของสารละลายสกัดแอนไฮโดรซัยยานินส์ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิห้องเย็น... ..	41
4.15 ปริมาณ PC ของสารละลายสกัดแอนไฮโดรซัยยานินส์ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิห้องเย็น.....	45
4.16 ปริมาณ TCD ของสารละลายสกัดแอนไฮโดรซัยยานินส์ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิห้องเย็น.....	47
4.17 ค่า F จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของ TCD และ PC ของสารละลายสกัดแอนไฮโดรซัยยานินส์ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิห้องเย็น.....	48

ตารางที่ (ต่อ)

หน้า

4.18	ความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารละลายสกัดที่มีการใช้สาร glutathione ร่วมกับ tartaric acid ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้องเย็น.....	50
4.19	pH ของสารละลายสกัดที่มีการใช้สาร glutathione ร่วมกับ tartaric acid ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้องเย็น.....	50
4.20	ปริมาณ relative TAc (%) ของสารละลายสกัดแอนไฮโซยานินส์ที่ปริมาณ glutathione 10 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้องเย็น.....	52
4.21	ค่า F จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของ relative TAc (%) ของสารละลายสกัดแอนไฮโซยานินส์ที่ปริมาณ glutathione 10 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้องเย็น.....	53
4.22	ปริมาณ relative TAc (%) ของสารละลายสกัดแอนไฮโซยานินส์ที่ปริมาณ glutathione 20 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้องเย็น.....	54
4.23	ค่า F จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของ relative TAc (%) ของสารละลายสกัดแอนไฮโซยานินส์ที่ปริมาณ glutathione 20 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้องเย็น.....	55
4.24	ปริมาณ PC ของสารละลายสกัดแอนไฮโซยานินส์ที่มีการใช้ glutathione ร่วมกับ tartaric acid ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้องเย็น.....	60
4.25	ปริมาณ TCD ของสารละลายสกัดแอนไฮโซยานินส์ที่มีการใช้ glutathione ร่วมกับ tartaric acid ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้องเย็น.....	61
4.26	ค่า F จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของ TCD และ PC ของสารละลายสกัดแอนไฮโซยานินส์ที่มีการใช้ glutathione ร่วมกับ tartaric acid ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้องเย็น.....	62
4.27	ความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารละลายสกัดที่มีการใช้สารประกอบ phenolics ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้องเย็น.....	64
4.28	pH ของสารละลายสกัดที่มีการใช้สารประกอบ phenolics ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้องเย็น.....	64

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1.1 โครงสร้างแอนไฮโซยานินส์และแอนไฮโซยานินส์.....	5
4.1 Absorption spectrum ของสารละลายสกัดแอนไฮโซยานินส์.....	23
4.2 First derivative ของเส้นกราฟในรูปที่ 4.1.....	24
4.3 ผลของ pH ของตัวทำละลายในการสกัดต่อปริมาณแอนไฮโซยานินส์ที่สกัดได้.....	28
4.4 ผลของชนิดตัวทำละลายในการสกัดต่อปริมาณแอนไฮโซยานินส์ที่สกัดได้.....	31
4.5 ผลของอัตราส่วนระหว่างตัวทำละลายในการสกัดกับปริมาณคออกัญชันต่อปริมาณแอนไฮโซยานินส์ที่สกัดได้.....	36
4.6 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายสกัดแอนไฮโซยานินส์ที่ความยาวคลื่น 543 นาโนเมตร.....	37
4.7 ค่าครึ่งชีวิตของสารละลายสกัดแอนไฮโซยานินส์.....	42
4.8 กลไกการสลายตัวของแอนไฮโซยานินส์.....	43
4.9 การฟอกสีแอนไฮโซยานินส์ด้วยสารประกอบ sulfite.....	46
4.10 ผลการใช้ tartaric acid เป็นวัตถุเจือปนในสารละลายสกัดที่ระดับ glutathione 10 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร.....	56
4.11 ผลการใช้ tartaric acid เป็นวัตถุเจือปนในสารละลายสกัดที่ระดับ glutathione 20 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร.....	57
4.12 L-Glutathione reduced.....	58
4.13 ผลการใช้ caffeic acid เป็นวัตถุเจือปนในสารละลายสกัด.....	70
4.14 ผลการใช้ rutin เป็นวัตถุเจือปนในสารละลายสกัด.....	71
4.15 ผลการใช้ (+)-catechin เป็นวัตถุเจือปนในสารละลายสกัด.....	72
4.16 สูตรโครงสร้างของสารประกอบ phenolics ที่ใช้เป็นวัตถุเจือปนในสารละลายสกัด	74
4.17 โครงสร้างของสารประกอบระหว่างแอนไฮโซยานินส์กับ rutin ตามแนวความคิดของ Scheffeldt และ Hrazdina (1978).....	76
4.18 โครงสร้างของสารประกอบระหว่างแอนไฮโซยานินส์กับ rutin ตามแนวความคิดของ Maccarone, Maccarrone และ Rapisarda (1985).....	76
4.19 โครงสร้างของสารประกอบระหว่างแอนไฮโซยานินส์กับ caffeic acid ตามแนวความคิดของ Maccarone, Maccarrone และ Rapisarda (1985)...	76
4.20 ปฏิกิริยา condensation ระหว่างแอนไฮโซยานินส์กับ (+)-catechin.....	77

ตารางที่ (ต่อ)

หน้า

4.29 ปริมาณ relative TAcY (%) ของสารละลายสกัดแอนไฮโซยานินส์ที่ปริมาณ
วัตถุเจือปนอาหาร 40 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร ระหว่างการเก็บที่
อุณหภูมิห้องเย็น..... 66

4.30 ค่า F จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของ relative TAcY (%) ของ
สารละลายสกัดแอนไฮโซยานินส์ที่ปริมาณวัตถุเจือปนอาหาร 40 มิลลิกรัมต่อ
สารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้องเย็น..... 67

4.31 ปริมาณ relative TAcY (%) ของสารละลายสกัดแอนไฮโซยานินส์ที่ปริมาณ
วัตถุเจือปนอาหาร 80 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร ระหว่างการเก็บที่
อุณหภูมิห้องเย็น..... 68

4.32 ค่า F จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของ relative TAcY (%) ของ
สารละลายสกัดแอนไฮโซยานินส์ที่ปริมาณวัตถุเจือปนอาหาร 80 มิลลิกรัมต่อ
สารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้องเย็น..... 69

4.33 ปริมาณ PC ของสารละลายสกัดแอนไฮโซยานินส์ที่มีการใช้สารประกอบ phenolics
ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้องเย็น..... 79

4.34 ปริมาณ TCD ของสารละลายสกัดแอนไฮโซยานินส์ที่มีการใช้สารประกอบ phenolics
ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้องเย็น..... 80

4.35 ค่า F จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของ TCD และ PC ของสารละลายสกัด
แอนไฮโซยานินส์ที่มีการใช้สารประกอบ phenolics ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ
ห้องเย็น..... 81