รายงานการวิจัย

เรื่อง

พัฒนาผลิตภัณฑ์จากน้ำมะขาม เพื่อใช้เป็นยาระบาย

โครงการใน

แผนงานวิจัยบูรณาการเพื่อสร้างมูลค่าเพิ่ม พัฒนาผลิตภัณฑ์ทางยา

และเครื่องสำอางจากพืชเศรษกิจไทย

โดย

ผศ. ดร. มณีวรรณ สุขสมทิพย์

รศ. ดร. อำไพ ปั้นทอง

รศ. ธิติรัตน์ ปานม่วง

ร.ศ. พวงทิพย์ คุณานุสรณ์

ดร. ปริรัตน์ คนสูง

ดร. ณัฏฐิกานต์ จิรัณชนัฐ

รศ. ดร. สุนันท์ พงษ์สามารถ

ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน

ปีงบประมาณ 2549-2551

คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กันยายน 2551

แผนงานการวิจัยเรื่อง : แผนงานวิจัยบูรณาการเพื่อสร้างมูลค่าเพิ่ม พัฒนาผลิตภัณฑ์ทางยาและเครื่องสำอางจากพืชเศรษฐกิจไทย
ชื่อโครงการ : พัฒนาผลิตภัณฑ์จากน้ำมะขาม เพื่อใช้เป็นยาระบาย
ชื่อผู้วิจัย : ผศ.ดร. มณีวรรณ สุขสมทิพย์ รศ.ดร. อำไพ ปั้นทอง
รศ. ธิติรัตน์ ปานม่วง ดร.พวงทิพย์ คุณานุสรณ์ ดร.ปริรัตน์ คนสูง
ดร. ณัฏฐิกานต์ จิรัณชนัฐ รศ.ดร. สุนันท์ พงษ์สามารถ
เดือน-ปี ที่วิจัยเสร็จ : กันยายน 2551

บทคัดย่อ

มะขาม *Tamarindrus indica* L. จำนวน 5 สายพันธุ์ปลูก ได้แก่ มะขามเปรี้ยวยักษ์ มะขามศรีชมภู สีทอง และขันตี จากจังหวัดเพชรบูรณ์ มะขามเปรี้ยว มะขามหวานศรีชมภู และสีทองหนัก จากจังหวัดนครราชสีมา มีองค์ประกอบของสารอินทรีย์ต่างๆ ได้แก่ Tartaric acid malic acid citric acid oxalic aid succinic acid และ fumaric acid ในปริมาณที่แตกต่างกัน พบมีปริมาณกรดอินทรีย์ดังกล่าวเท่ากับ 1.6-17.3% 0.5-2.5% 0.05-0.28% 0.0-0.19% 0.02-0.27% และ 0.0004-0.0044% ตามลำดับ จากการวิเคราะห์โดยเทคนิค HPLC การทดสอบฤทธิ์ยาระบายของน้ำมะขามในหนูขาว โดยวิธี Gastrointestinal motility test ดูการเคลื่อนที่ของผงถ่านในลำไส้เล็กของหนูขาว เทียบกับกลุ่มควบคุมที่ใช้น้ำกลั่น และกลุ่มที่ให้น้ำสกัดลูกพรุน และกรดอินทรีย์ tartaric acid citric acid และ malic acid เป็น positive control พบว่าน้ำสกัดมะขามทั้งชนิดเปรี้ยว และมะขามหวาน ที่ทดสอบมีฤทธิ์การระบายดี น้ำสกัดจากเนื้อมะขาม สามารถนำมาเตรียมผลิตภัณฑ์มะขามในรูปของเยลลี่มะขาม เครื่องดื่มมะขามชนิดผงฟู่ และผงแห้งมะขาม เมื่อนำมาเตรียมเป็นผลิตภัณฑ์ของผงแห้งมะขาม โดยวิธี spray dried โดยใช้มะขามเปรี้ยวยักษ์ ผสมกับขันตี สัดส่วน 1:1 โดยใช้ polysaccharide จากแป้งเมล็ดมะขาม หรือใช้ pectin เป็น carrier จะได้ผงแห้งที่ดี มีปริมาณ tartaric acid สูง 9-12% พบว่าได้ผลิตภัณฑ์ผงมะขามที่ดีผสมกับน้ำได้ง่าย และมีผลการระบายที่ดีขึ้น โดยดูจากการเคลื่อนที่ของผงถ่านในลำไส้เล็กของหนูขาว

Research Program : Integrated research program in developing value added products for pharmaceuticals and cosmetics from Thai plants of commercial importance.

Project Title : The development of tamarind juice for applications as a laxative

Name of investigators : Maneewan Suksomthip, Ampai Panthong, Thitirat Panmuang, Poungthip Kuranusorn, Parirat Khonsung, Natikan Jiranchanut, Sunanta Pongsamart

Year : September, 2011

Abstract

Tamarind pods of five tamarind cultivars, *Tamarindus indica* L. “Prew yak”, “Sri-chompu”, “Sithong”, and “Kunti” from Petchabun province and “ Prew”, “Sri-chompu”, and “Sithong” from Nakorn-Ratchasima (Korat) Province were collected. Organic acids content in tamarind extracts including tartaric acid, malic acid, citric acid, oxalic acid, succinic acid and fumaric acid were analyzed by HPLC technique and found to contain those organic acid at 1.6-17.3%, 0.5-2.5%, 0.05-0.28%, 0.09-0.19%, 0.02-0.27% and 0.0004-0.0044%, respectively. Laxative effect of tamarind extracts was estimated by Gastrointestinal motility test to see motility of small intestine in rats treated with tamarind extract in comparison with control group treated with distilled water and positive control group treated with prun extracts and the group treated with organic acids including tartaric acid, citric acid and malic acid. The results showed that tamarind extracts of sour and sweet type possessed good laxative effect. Extracts of tamarind pulps were use to prepare tamarind jelly, tamarind effervescent tablet and tamarind dry powder products. Dry tamarind powder was prepared by spray drying from the sour tamarind “Prew yek” and the sweet tamarind “Kanti” (1:1) and polysaccharide in tamarind seed powder from tamarind kernel or pectin was use as carrier. The product of tamarind powder contained 9-12% tartaric acid. The tamarind powder product was readily mixed with water, the product possessed good laxative effect in treated rats.

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยครั้งนี้ได้รับการสนับสนุนทุนจากงบประมาณวิจัยของคณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีงบประมาณ 2550-2551 โดยคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ และขอขอบคุณ ผู้ช่วยด้านเทคนิคการวิจัย ได้แก่ นายวิโรจน์ ชัยพรโภคิน น.ส.พจนา แก้วทินกร ที่ช่วยให้งานวิจัย ครั้งนี้สำเร็จด้วยดี

สารบัญ

	หน้า
ชื่อเรื่องและชื่อผู้วิจัย……..	i
บทคัดย่อภาษาไทย…….	ii
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ…….....	iii
กิตติกรรมประกาศ……..……...…….....	iv
สารบัญเรื่อง……...……...…	v
สารบัญตาราง……..……...……	viii
สารบัญภาพ…….....	xi
บทนำ…….….	1
วัตถุประสงค์……...…..……	4
วัสดุและวิธีวิจัย……..…….…….....	5
วัสดุ…….…..…….	5
สารเคมี……..…..…	5
ตัวอย่างพืช……..……	7
การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดอินทรีย์และ polysaccharide ในเนื้อมะขาม …	7
การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของกรดอินทรีย์ในตัวอย่างเนื้อมะขาม……	7
การสกัดพอลิแซ็กคาไรด์และวิเคราะห์สารพอลิแซคคาไรด์จากเนื้อมะขาม ……..	13
การสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเนื้อในเมล็ดมะขาม……	15
การวิเคราะห์พอลิแซ็กคาไรค์จากเนื้อในเมล็ด (Kernel) มะขาม……	16
สมบัติการไหลและความหนืดของพอลิแซ็กคาไรค์ TSP จากเนื้อในเมล็ด (Kernel) มะขาม……..	16
การเตรียมผงมะขามด้วยวิธี spray drying ……..……..….	16
การศึกษาฤทธิ์การระบายของน้ำมะขามและผลิตภัณฑ์ผงแห้งมะขาม…….	17
ศึกษาฤทธิ์ยาระบายของน้ำสกัดมะขามเปรียบเทียบกับ organic acid standard ในหนูขาว (rat)……	17
การทดลองผลของมะขามต่อ isolated rat ileum ของหนูขาว ……..……	19

หน้า

การศึกษาผลของส่วนผสมของกรดอินทรีย์สามชนิดหลักที่พบในน้ำมะขามต่อการเคลื่อนที่ของผงถ่านในลำไส้หนูขาว…….. 20
การศึกษาฤทธิ์ของน้ำมะขามพันธุ์ต่างๆ ในการเพิ่มการเคลื่อนที่ของลำไส้ของหนูขาว…….. 22
การศึกษาฤทธิ์ของผลิตภัณฑ์ผงแห้งมะขามที่พัฒนาสำหรับใช้เป็นผลิตภัณฑ์มะขาม เพื่อเป็น laxative ในสัตว์ทดลองหนูขาว……. 23
การเตรียมน้ำมะขามเข้มข้นเพื่อนำไปทำแห้งแบบพ่น……. 25
การผลิตผงมะขาม โดยใช้เครื่องทำแห้งแบบพ่น (spray dryer)……..….. 26
การพัฒนาเครื่องดื่มมะขามผงฟู่จากผงมะขามที่ได้จากการพ่นแห้ง……. 29
การพัฒนาเยลลี่จากผงมะขามที่ได้จากการพ่นแห้ง…… 34
การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ……...……. 38
ผลการทดลองและวิจารณ์ผล…….…...…. 39
การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดอินทรีย์และ polysaccharide ในเนื้อมะขาม ……..….. 39
การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดอินทรีย์ในเนื้อมะขาม……... 39
การสกัดและการวิเคราะห์ polysaccharide ของเนื้อในเมล็ด (Kernel) มะขาม…… 55
วิธีการสกัดและเปอร์เซ็นต์ yield ของ Tamarind Seed Polysaccharides (TSP)….. 55
การวิเคราะห์องค์ประกอบน้ำตาลของ TSP จากเนื้อในเมล็ดมะขาม…….. 60
การเตรียมผงแห้งมะขามโดยเทคนิคการพ่นแห้ง (Spray drying technique)…… 66
ลักษณะทางกายภาพของผงมะขาม…….. 66
การวิเคราะห์กรดอินทรีย์ในผงมะขาม……. 71
Scanning electron microscopy…… 71
การศึกษาฤทธิ์การระบายของน้ำมะขามและผลิตภัณฑ์ผงแห้งมะขาม……. 76
ผลของน้ำมะขามเปรียบเทียบกับ organic acid standard ต่อการเคลื่อนที่ของลำไส้เล็กในหนูขาว……. 76
การทดสอบฤทธิ์การระบายของผลิตภัณฑ์ผงแห้งมะขาม ต่อการเคลื่อนที่ของผงถ่านในลำไส้เล็กหนูขาว……. 81
การพัฒนาผลิตภัณฑ์ผงฟู่จากมะขาม…….. 86
การผลิตผงมะขาม โดยใช้เครื่องทำแห้งแบบพ่น (spray dryer)……. 87
การพัฒนาเครื่องดื่มมะขามผงฟู่จากผงมะขามที่ได้จากการทำแห้งแบบพ่น…….. 95
การพัฒนาเยลลี่จากผงมะขามที่ได้จากการพ่นแห้ง…… 112

หน้า

คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีเฉพาะสูตรเยลลี่ที่เกิดเจล……..…. 114
การพัฒนาสูตรเยลลี่โดยปรับปรุงความหวานด้วยน้ำตาลชนิดต่างๆ……..….. 114
คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของเยลลี่ที่ใช้น้ำตาลต่างๆ……...…… 121
ประเมินความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์เยลลี่……...… 121
สรุปผลการทดลอง……..….. 129
เอกสารอ้างอิง ……. 131
ภาคผนวก 1……..…… …..…… 137
ภาคผนวก 2…… 159
ภาคผนวก 3……...…… 162
ภาคผนวก 4…… 164
ภาคผนวก 5……... 167
ภาคผนวก 6……... 172
ภาคผนวก 7……... 175
ภาคผนวก 8……... 181

สารบัญตาราง

ตาราง		หน้า
1	ปริมาณกรดอินทรีในเนื้อมะขามสดของมะขามไทยสายพันธุ์ต่างๆ จากจังหวัดนครราชสีมา (โคราช) ……	41
2	ปริมาณกรดอินทรีย์ในเนื้อมะขามสดของมะขามไทยสายพันธุ์ต่างๆ จากจังหวัดเพชรบูรณ์…… ……	42
3	ลักษณะที่เห็นด้วยสายตาและปริมาณที่สกัดได้ของพอลิแซ็กคาไรด์จากเนื้อมะขามที่แยกได้จากเนื้อมะขามจังหวัดเพชรบูรณ์ (P) และ นครราชสีมา (โคราช, K)……...……	44
4	องค์ประกอบน้ำตาลของพอลิแซ็กคาไรด์จากเนื้อมะขามจากจังหวัดเพชรบูรณ์ (P) และ นครราชสีมา (โคราช, K)……..	59
5	ลักษณะ ความหนืด และปริมาณสารสกัดของ Tamarind Seed Polysaccharide (TSP)……...	61
6	องค์ประกอบน้ำตาลของ Tamarind Seed Polysaccharide (TSP) จาก tamarind kernel powder จากจังหวัดเพชรบูรณ์ (P) และ นครราชสีมา (โคราช, K)……	62
7	ส่วนประกอบของ ingredients ใน 1 ลิตร ของสารผสมน้ำมะขามก่อนการทำ spray-drying……	68
8	ลักษณะของผลิตภัณฑ์ผงมะขามหลังการทำ spray drying ……...	69
9	ส่วนประกอบกรดอินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ผงมะขามที่เตรียมโดยวิธี spray drying	72
10	ผลของน้ำมะขามพันธุ์ต่างๆ และกรด 3 ชนิดหลักที่พบในน้ำมะขาม ต่อการเคลื่อนที่ของผงถ่านในลำไส้ของหนูขาว……	77
11	ผลของสารละลายที่ประกอบด้วยกรดทั้ง 3 ชนิดในความเข้มข้นที่พบจริงในมะขามแต่ละพันธุ์ ต่อการเคลื่อนที่ของผงถ่านในลำไส้ของหนูขาว……..	80
12	ผลการทดสอบซ้ำต่อการเคลื่อนที่ของผงถ่านในลำไส้ของหนูขาวของน้ำมะขามพันธุ์ต่างๆ……..…….	82
13	ผลของผลิตภัณฑ์ผงแห้งมะขามต่อการเคลื่อนที่ของผงถ่านในลำไส้ของหนูขาว	83
14	แสดงผลของผลิตภัณฑ์ผงแห้งมะขามต่อการเคลื่อนที่ของผงถ่านในลำไส้ของหนูขาว…….	85
15	คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีและของน้ำมะขามเข้มข้น……	88
16	คุณสมบัติทางกาพภาพและเคมีของผงมะขามที่ได้จากการทำแห้งแบบพ่น*…..	89

ตาราง หน้า

17 ปริมาณความชื้น ความเป็นกรดด่าง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดและปริมาณกรดทาร์ทาริกของผงมะขามที่ผสมมอลโตเด็กซ์ทรินร้อยละ 40……. 90

18 ลักษณะทางกายภาพและเคมีของผงมะขาม เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง ณ วันเริ่มต้น 7 15 และ 30 วัน *……..... 91

19 ลักษณะทางกายภาพและเคมีของผงมะขาม เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส ณ วันเริ่มต้น 7 15 และ 30 วัน *…… 92

20 ผลการวิเคราะห์ด้านจุลชีววิทยาของผงมะขาม เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องที่ระยะเวลาต่างๆ…….…… 93

21 ผลการวิเคราะห์ด้านจุลชีววิทยาของผงมะขาม เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียสที่ระยะเวลาต่างๆ……..….. 94

22 รสชาติ ลักษณะฟอง ปริมาณฟองและระยะเวลาในการยุบตัวของฟองของเครื่องดื่มมะขามผงฟู่สูตรที่ 1-4 ……..….. 96

23 รสชาติ ลักษณะฟอง ปริมาณฟอง และระยะเวลาในการยุบตัวของฟองของเครื่องดื่มมะขามผงฟู่สูตรที่ 5-13…….. 98

24 สี ค่าสี ของผงเครื่องดื่มและเครื่องดื่มมะขามผงฟู่เมื่อละลายน้ำ ลักษณะผงเครื่องดื่ม และกลิ่นของเครื่องดื่มมะขามผงฟู่…… 100

25 ความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณความชื้น และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของเครื่องดื่มมะขามผงฟู่……. 101

26 ร้อยละของปริมาณของแข็งที่ไม่ละลาย (%insoluble solid และเวลาในการละลายของ เครื่องดื่มมะขามผงฟู่…….. 102

27 คะแนนเฉลี่ยความชอบในด้านต่างๆที่ผู้ชิมให้แก่เครื่องดื่มมะขามผงฟู่…….. 104

28 ลักษณะทางกายภาพและเคมีของเครื่องดื่มมะขามผงฟู่สูตรที่ 2 เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง ณ วันเริ่มต้น 7 15 และ 30 วัน *…… 106

29 ลักษณะทางกายภาพและเคมีของเครื่องดื่มมะขามผงฟู่สูตรที่ 2 เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส ณ วันเริ่มต้น 7 15 และ 30 วัน……. 107

30 ผลการวิเคราะห์ด้านจุลชีววิทยาของเครื่องดื่มมะขามผงฟู่ เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง ที่ระยะเวลาต่างๆ…… 108

31 ผลการวิเคราะห์ด้านจุลชีววิทยาของเครื่องดื่มมะขามผงฟู่ เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลาต่างๆ……. 109

32 ผลการเกิดเจลของเยลลี่จากสูตรตำรับต่างๆ…… 113

ตาราง		หน้า
33	ลักษณะที่ปรากฏ การไหวตัว และความคงตัว และรอยตัดของสูตรเยลลี่ที่เกิดเจล…….	115
34	ความเป็นกรดด่าง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และความแข็งของสูตรเยลลี่ที่เกิดเจล…….	116
35	ผลการเกิดเจลของเยลลี่ที่ปรับปรุงความหวานโดยใช้น้ำตาลชนิดต่างๆ….....	117
36	ลักษณะที่ปรากฏ การไหวตัว ความคงตัว และรอยตัดของสูตรเยลลี่ที่ปรับปรุงความหวานโดยใช้น้ำตาลชนิดต่างๆ แล้วเกิดเจล…….	119
37	ความเป็นกรดด่าง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และความแข็งจากการวัดเยลลี่ที่ปรับปรุงความหวานโดยใช้น้ำตาลชนิดต่างๆ แล้วเกิดเจล……	120
38	รสชาติ กลิ่น และสีโดยใช้เครื่องวัดสี Minolta Chromameter ของเยลลี่ 4 สูตรที่เป็นตัวแทนเยลลี่ที่เตรียมจากน้ำตาลชนิดต่างๆ…….	122
39	ปริมาณกรดทาร์ทาริกในเยลลี่มะขาม……..	123
40	คะแนนเฉลี่ยความชอบในด้านต่างๆที่ผู้ชิมให้แก่เยลลี่……	124

สารบัญภาพ

ภาพ		หน้า
1	Fourier transform infrared spectraของ tamarind pulp polysaccharide …….	46
2	Fourier transform infrared spectrum ของ เพคตินจากผลส้ม (citrus fruits)…..	47
3	Fourier transform infrared spectrum ของ tamarind pulp polysaccharideจาก เนื้อมะขามพันธุ์ปลูก “เปรี้ยวยักษ์” (TI-PY/P) จากจังหวัดเพชรบูรณ์ (P)….. ……	48
4	Fourier transform infrared spectrum ของ tamarind pulp polysaccharide จาก เนื้อมะขามพันธุ์ปลูก “เปรี้ยว” (TI-P/K) จากจังหวัดนครราชสีมา (โคราช,K)....	49
5	Fourier transform infrared spectrum ของ tamarind pulp polysaccharide จาก เนื้อมะขามพันธุ์ปลูก “ศรีชมภู” (TI-SP/K) จากจังหวัดนครราชสีมา (โคราช ,K)……	50
6	Fourier transform infrared spectrum ของ tamarind pulp polysaccharide จาก เนื้อมะขามพันธุ์ปลูก “สีทองหนัก” (TI-STH/K) จากจังหวัดนครราชสีมา (โคราช,K)……..……...	51
7	Chromatograms ของ uronic acids standard และ สารละลายจากการย่อยสลาย ของพอลิแซ็กคาไรด์จากเนื้อมะขามชนิดเปรี้ยวต่างพันธุ์ปลูก…….	53
8	Chromatograms ของ uronic acids standard และ สารละลายจากการย่อยสลาย ของพอลิแซ็กคาไรด์จากเนื้อมะขามชนิดหวานต่างสายพันธุ์ปลูก…….	54
9	Chromatogram ของ 0.5% น้ำตาลมาตรฐานผสม 5 ชนิด (A) และ 6 ชนิด (B)…	56
10	Chromatogram ของสารละลายจากการย่อยสลายของ 7.5% พอลิแซ็กคาไรด์ จากเนื้อมะขามชนิดเปรี้ยว *T.indica* “เปรี้ยวยักษ์” (TI-PY/P) จากจังหวัด เพชรบูรณ์ (P)……..	57
11	Chromatogram ของสารละลายจากการย่อยสลายของ 7.5% พอลิแซ็กคาไรด์ จากเนื้อ มะขามชนิดเปรี้ยว *T.indica* “เปรี้ยว” (TI-P/K) จากจังหวัด นครราชสีมา (โคราช, K)…….	57
12	Chromatogram ของสารละลายจากการย่อยสลายของ 7.5% พอลิแซ็กคาไรด์ จากเนื้อมะขามชนิดหวาน *T.indica* “ศรีชมภู” (TI-SP/K) จากจังหวัด นครราชสีมา (โคราช,K)……..	58

ภาพ หน้า

13 Chromatogram ของสารละลายจากการย่อยสลายของ 7.5% พอลิแซ็กคาไรด์จากเนื้อมะขามชนิดหวาน *T.indica* “สีทองหนัก” (TI-STH/K) จากจังหวัดนครราชสีมา (โคราช ,K)…… 58

14 Chromatogram ของสารละลายหลังการย่อยสลาย 0.5% TSP ของมะขามชนิดเปรี้ยว *T.indica* “เปรี้ยวยักษ์” (TI-PY/P) จากจังหวัดเพชรบูรณ์ (P)…… 63

15 Chromatogram ของสารละลายหลังการย่อยสลาย 0.5% TSP ของมะขามชนิดเปรี้ยว *T.indica* “เปรี้ยว” (TI-P/K) จากจังหวัดนครราชสีมา (โคราช,K)……. 63

16 Chromatogram ของสารละลายหลังการย่อยสลาย 0.5% TSP ของมะขามชนิดหวาน *T.indica* “ขันตี” (TI-K/P) จากจังหวัดเพชรบูรณ์ (P) …….. 64

17 Chromatogram ของสารละลายหลังการย่อยสลาย 0.5% TSP ของมะขามชนิดหวาน *T.indica* “ศรีชมภู” (TI-SP/K) จากจังหวัดนครราชสีมา (โคราช,K) **……** 64

18 Chromatogram ของสารละลายหลังการย่อยสลาย 0.5% TSP ของมะขามชนิดหวาน *T.indica* “สีทองหนัก” (TI-STH/K) จากจังหวัดนครราชสีมา (โคราช,K) 65

19 Flow curve ของ 2% Tamarind Seed Polysaccharide (TSP) …….. 67

20 ลักษณะที่เห็นด้วยสายตาของผลิตภัณฑ์ผงมะขามที่เตรียมโดย spray-drying technique …… 70

21 Chromatogram ของกรดอินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ผงมะขามสูตร No.11……. 73

22 Chromatogram ของกรดอินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ผงมะขามสูตร No.12**……..** 73

23 Chromatogram ของกรดอินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ผงมะขามสูตร No.13…….. 74

24 Scanning electron micrographs ของผลิตภัณฑ์ผงมะขามเตรียมโดยวิธี spray-drying……... 75

25 ผลของน้ำมะขามต่อ isolated rat ileum เปรียบเทียบกับ normal saline solution (NSS) ……..…… 79

บทนำ

มะขาม มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Tamarindus indica* Linn. เป็นพืชที่อยู่ในชั้น dicotyledonous วงศ์ Leguminosae, วงศ์ย่อย Caesalpinioideae, สกุล Tamarindus, ชนิด indica. มีชุดโครโมโซม 2n=24 (Purseglove, 1968) มะขามมีถิ่นกำเนิดในป่าที่ราบแห้งแล้งเขตร้อนของทวีปแอฟริกาตะวันออก แล้วกระจายไปตามแถบละตินอเมริกา หมู่เกาะแถบแคริเบียน และทวีปเอเชีย มะขามยังมีถิ่นกำเนิดพบได้ในเขตร้อนของทวีปเอเชียมาเป็นเวลานานมาแล้ว ปัจจุบันได้มีการปลูกมะขามกันอยู่ทุกประเทศในเขตร้อน ประเทศในแถบเอเชียใต้ เช่นอินเดีย ประเทศในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น ไทยและมาเลเซีย (Gamble, 1922; Chaturvedi, 1985) ในประเทศไทยมีการปลูกมะขามเปรี้ยวและมะขามหวานตามจังหวัดต่างๆ มะขามเปรี้ยวสามารถปลูกได้ทั่วไป ส่วนมะขามหวานมีการปลูกมากในภาคกลาง เหนือ และตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย จังหวัดที่มีการปลูกมะขามมาก ได้แก่ เพชรบูรณ์ เลย ลำปาง เชียงใหม่ นครราชสีมา และอุบลราชธานี โดยมะขามที่นิยมปลูกมาก คือ มะขามเปรี้ยวยักษ์ ประกายทอง ขันตี ศรีชมภู หมื่นจง น้ำผึ้ง และอินทผลัม (ชูศักดิ์ สัจจพงษ์, 2550)

มะขามเป็นผลไม้ที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง ผลมะขามประกอบด้วยเนื้อมะขามประมาณ 30-50%, เปลือกประมาณ 11-30% และเมล็ดประมาณ 25-40% (Chapman, 1984, Shankarachrya, 1998) เนื้อมะขามมีปริมาณน้ำต่ำ มีคาร์โบไฮเดรต น้ำตาล โปรตีน วิตามิน เกลือแร่ และกรดอินทรีย์เป็นองค์ประกอบ กรดอินทรีย์ที่พบในมะขาม ได้แก่ กรดออกซาลิก กรดทาร์ทาริก กรดซักซินิก และกรดซิตริก (Lewis and Neelakantan, 1964; Singh, 1973; Anon, 1976) โดยเนื้อมะขามมีปริมาณกรดทาร์ทาริกอยู่ประมาณร้อยละ 10 โพแทสเซียมทาร์เทรตร้อยละ 8 และน้ำตาลอินเวิร์ตร้อยละ 25-40 นอกจากนี้ เนื้อมะขามยังมีสรรพคุณเป็นยาระบาย โดยกรดอินทรีย์ในเนื้อมะขามน่าจะมีฤทธิ์เป็นยาระบาย ดังนั้นจึงนำไปสู่การวิเคราะห์หาปริมาณกรดอินทรีย์ในน้ำสกัดเนื้อมะขามเพื่อที่จะสามารถกำหนดบทบาทของมะขามเมื่อต้องการใช้เป็นยาระบาย

เมล็ดมะขามเป็นส่วนที่เหลือ (by product) ของวัสดุเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์เนื้อมะขาม องค์ประกอบสำคัญในเมล็ดมะขาม คือ พอลิแซ็กคาไรด์ชนิดไซโลกลูแคน ซึ่งสามารถนำมาใช้เป็นส่วนผสมในการเพิ่มความข้นหนืด (Thickening agent) และเป็นสารก่อเจลในอุตสาหกรรมอาหาร (Sone, 1994)

มะขาม (*Tamarindus indica* Linn.) สามารถนำมาใช้ประโยชน์มากมายเกือบทุกส่วนของมะขาม ได้แก่ เนื้อ เมล็ด ใบ ดอก นำมาใช้ประโยชน์ทางอาหาร ยา และเครื่องสำอางได้ หลากหลาย

(Shankaracharya, 1998) ใช้เป็นยาลดไข้ ยาระบายและยาขับลม ยาช่วยย่อย เนื้อมะขามใช้แก้อักเสบ เจ็บคอ ใบและดอกใช้แก้ปวดข้อ ปวดกล้ามเนื้อ แก้ท้องร่วง ริดสรดวงทวาร ตาอักเสบ เมล็ดมะขามใช้แก้ท้องร่วง เปลือกเมล็ดใช้เป็นยาฝาดสมาน เนื้อมะขามมีองค์ประกอบของกรดผลไม้พวก alphahydroxy acid หรือ AHA ที่ใช้มากในเครื่องสำอางต่างๆ มะขามเป็นพืช ประเภทผลไม้ มีการเพาะปลูกมากโดยเฉพาะที่จังหวัดเพชรบูรณ์ มีการปลูกมะขามหวานหลายสายพันธุ์ บางสายพันธุ์มีคุณสมบัติมีฤทธิ์ของการเป็นยาระบายที่ดีมาก มะขามสายพันธุ์ต่างๆที่นิยมปลูกในในประเทศไทย ได้แก่ พันธุ์สีทอง พันธุ์ศรีชมพู เป็นมะขามหวานที่นิยมใช้รับประทาน มะขามเปรี้ยวนิยมใช้สำหรับปรุงรสอาหารหลายชนิด ยังไม่มีการพัฒนาการใช้มะขามเป็นยาระบายอย่างเป็นรูปธรรม ทั้งที่เรานำเข้าน้ำลูกพรุนมาใช้รับประทานแก้ท้องผูกมาเป็นเวลานาน เป็นการเสียเงินตราต่างประเทศโดยไม่จำเป็น ถ้าเราได้พัฒนานำวัตถุดิบที่มีอยู่มากมายในประเทศมาใช้ให้เกิดมูลค่าเพิ่มขึ้น รวมทั้งสามารถพัฒนาเพื่อการส่งออกได้ด้วย จะเกิดประโยชน์แก่ประเทศชาติ เพิ่มศักยภาพเพื่อการแข่งขันของประเทศและช่วยให้เกิดการพัฒนาที่ยั่งยืน การพัฒนาต้องการการวิจัยเพื่อได้ข้อมูลทางวิชาการที่สามารถพัฒนาผลิตภัณฑ์ต่างๆ เหล่านี้ได้ ดังนั้นการศึกษาองค์ประกอบของสารสำคัญในมะขามและฤทธิ์สารในมะขามในการกระตุ้นการขับถ่าย การพัฒนาผลิตภัณฑ์จากน้ำมะขามจึงมีความสำคัญและจำเป็น เพื่อนำไปสู่การพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่ดีมีคุณภาพที่มีมาตรฐานเชื่อถือได้ ปัจจุบันการทำผลิตภัณฑ์น้ำมะขามยังเป็นอุตสาหกรรมชุมชนขนาดเล็กหรือในครัวเรือนที่ยังไม่มีมาตรฐานชัดเจน โครงการวิจัยนี้จะสามารถให้คำตอบที่นำไปสู่การพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่มีมาตรฐานต่อไป

มะขาม (*Tamarindus indica* L.) ในทางยามีข้อบ่งใช้มากมาย ใช้เป็นยาลดไข้ แก้ปวดข้อ ใช้เป็นยาระบาย เป็นยาฆ่าเชื้อ แก้เจ็บคอ ตาอักเสบ เป็นยาขับพยาธิ เป็นยาฆ่าเห็บในสัตว์เลี้ยง ตลอดจนใช้เมล็ดในมะขามเป็นอาหารสัตว์ เป็นต้น ส่วนของเนื้อมะขาม ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตและน้ำตาลจำนวนมากกว่า 60% มีโปรตีน ไฟเบอร์ประมาณ 3% มีไขมันน้อย และยังเป็นแหล่งอาหารที่ดีของแคลเซียม เหล็กและฟอสฟอรัส มีวิตามินที่สำคัญ ได้แก่ niacin thiamine และ riboflavin เป็นต้น ที่น่าสนใจคือ เนื้อมะขามมีกรดอินทรีย์พวก alphahydroxy acid (AHA) ได้แก่ tartaric acid และ citric acid ซึ่งเป็นสารที่นิยมนำมาผสมในเครื่องสำอางที่ใช้เป็น skin whitening และเป็น antiaging/antiwrinkle เป็น skin protection และ astringent โดยในมะขามเป็นสาร tannin และมีสารพวก mucilage และ pectin เป็น moisturizing ในประเทศไทยมีการใช้มะขามรับประทานในครัวเรือนมาแต่โบราณแต่ไม่เป็นที่นิยมกว้างขวาง อีกทั้งยังมิได้มีการศึกษาชัดเจน

เกี่ยวกับฤทธิ์การระบายของมะขามและขนาดที่ใช้ ในตำรับยาโบราณใช้เนื้อมะขามประมาณ 30 กรัม ต้มกับนมประมาณ 550 มล. กรองแยกส่วนน้ำได้เป็น TAMARIND-WHEY ใช้เป็นยาระบาย อย่างไรก็ดีการวิจัยศึกษาการใช้น้ำมะขามเป็นยาระบายยังไม่มีความชัดเจนเพียงพอ การใช้มะขามเป็นยาระบายไม่มีการใช้กันแพร่หลาย เช่นการใช้น้ำลูกพรุนที่มีขายตามท้องตลาด อาจเนื่องจากความไม่สะดวกในการใช้และผลผลิตมะขามมรเฉพาะช่วงฤดูกาลในช่วงเดือน ธันวาคม-มีนาคม มีอุตสาหกรรมการแปรรูปน้ำมะขามส่วนมาก จะเตรียมในรูปของน้ำดื่มประเภทน้ำผลไม้ ไม่ได้เน้นในการใช้เป็นยาระบาย

ได้มีการใช้มะขามทั้งเนื้อ เมล็ด ใบ ดอก และเปลือกของลำต้น และผลิตภัณฑ์ในรูปของน้ำสกัดหรือเถ้า มาใช้ทางยาและเครื่องสำอาง (Morton, 1987) สืบเนื่องมานานในประเทศไทยและหลายประเทศทั่วโลกเช่นเดียวกัน มะขามมีองค์ประกอบต่างๆมากมายที่มีคุณค่าในการใช้เป็นสารอาหารและเครื่องสำอาง (Morton, 1987) โดยมีองค์ประกอบหลักคือ สาร AHA เช่น tartaric acid สาร BHA เช่น citric acid น้ำตาล glucose และ fructose และวิตามิน ได้แก่ ascorbic acid, niacin, thiamine, vitamin A เป็นต้น สารเหล่านี้เหมาะสำหรับการใช้เตรียมผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางสำหรับบำรุงผิว เป็น antiaging antiwrinkle skin lightening and whitening astringent และ moisturizer ในเนื้อมะขามยังมีสาร polysaccharide พวก pectin ที่ใช้เป็นยาระบายได้ดี นอกจากนี้ในเมล็ดมะขามยังมีการนำมาใช้เป็นอาหาร นำมาคั่วใช้แทนกาแฟ ในประเทศไทยมีมะขามเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมทำลูกกวาดมะขามเหลือมากมาย เปลือกของเมล็ดมะขามมีสาร antioxidant ส่วนของ kernel สามารถนำเตรียมเป็นแป้งหรือ pectin ได้ ซึ่งสามารถนำมาใช้เป็นผลิตภัณฑ์อาหารพวกเยลลี่ ใช้เป็น stabilizer ในไอศครีม มายองเนส และเป็นตัวยาช่วยในการเตรียมเภสัชผลิตภัณฑ์ต่างๆ ได้ดี (Morton, 1987)

ปัจจุบันในระดับครัวเรือนมีการใช้ทั้งมะขามหวานและมะขามเปรี้ยวมารับประทาน เมื่อมีอาการท้องผูก แต่ไม่เป็นที่นิยมมากนักเนื่องจากไม่สะดวก จึงทำให้คนส่วนมากซื้อยาระบายรวมทั้งการรับประทานน้ำลูกพรุนช่วยการระบายเมื่อท้องผูก การวิจัยนี้คาดว่าจะสามารถพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำมะขามในรูปแบบที่เหมาะสม ได้แก่ น้ำผลไม้มะขาม น้ำสลัดจากมะขาม เพื่อการใช้เป็นยาระบายที่สะดวกต่อการใช้และรับประทานง่าย

การวิจัยครั้งนี้มีแนวความคิดที่ต้องการนำผลผลิตภาคการเกษตรภายในประเทศมาสร้างมูลค่าเพิ่ม รวมทั้งพัฒนาการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ด้านอาหารและยา ให้มีมาตรฐานจากผลไม้ที่มี

การปลูกมากภายในประเทศและพัฒนาการใช้ประโยชน์ของพืชดังกล่าวได้อย่างมีประสิทธิภาพมากที่สุด

การวิจัยในครั้งนี้มีจุดประสงค์เพื่อทดสอบฤทธิ์การเป็นยาระบายของน้ำมะขามในสัตว์ทดลองหนูขาว เพื่อเป็นข้อมูลมาพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำมะขามในรูปแบบที่เหมาะสมได้มาตรฐานสามารถใช้เป็นยาระบายที่ให้ผลดีและสะดวกในการใช้

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ศึกษาองค์ประกอบของกรดอินทรีย์ในเนื้อมะขามและสารสกัดน้ำมะขามอย่างน้อย 3 สายพันธุ์
2. วิเคราะห์องค์ประกอบ polysaccharide ในเนื้อและเมล็ดมะขาม
3. ศึกษาฤทธิ์การเป็นยาระบายของน้ำสกัดเนื้อมะขามในสัตว์ทดลองหนูขาว (rat) เพื่อหา fraction ของน้ำสกัดที่ให้ผลเป็นยาระบายที่ดี
4. พัฒนาผลิตภัณฑ์มะขามเพื่อใช้เป็นยาระบายที่มีความคงตัวดี รับประทานง่ายและมีรสชาติดีและวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดอินทรีย์ในผลิตภัณฑ์จากมะขาม
5. พัฒนาผลิตภัณฑ์จากน้ำมะขาม 2 ผลิตภัณฑ์ รูปแบบของมะขามผงฟู่หรือเยลลี่จากมะขาม

วัสดุและวิธีวิจัย

1. วัสดุ

1.1 สารเคมี

Chemical	Grade	Supplier/ Manufacture
Acetonitrile	HPLC reagent grade	Labscan., Ireland
Ammonnium dihyrogen orthophosphate	Analytical reagent grade	Ajax Finchem., Australia
Barium hydroxide	Analytical reagent grade	Fisher Scientific., UK.
Citric acid	Analytical reagent grade	Fisher Scientific., UK.
D-arabinose	Analytical reagent grade	Sigma-Aldrich., U.S.A.
D-fructose	Analytical reagent grade	E. Merck., Germany.
D-glucose anhydrate	Analytical reagent grade	E. Merck., Germany.
D-galactose	Analytical reagent grade	E. Merck., Germany.
D-xylose	Analytical reagent grade	E. Merck., Germany.
Ethanol	Commercial grade	The Government Pharmaceutical Organization., Thailand.
Fumaric acid	Analytical reagent grade	Fluka., Switzerland.
Fructose	Food grade	Bakery art., Thailand
Gallic acid	Analytical reagent grade	Sigma-Aldrich., U.S.A.

Chemical	Grade	Supplier/ Manufacture
L-ascorbic acid	Analytical reagent grade	Fisher Scientific., UK.
L-malic acid	Analytical reagent grade	Fluka., Switzerland.
L-rhamnose	Analytical reagent grade	Fluka., Switzerland.
Maltodextrin	Food grade	CT Laboratory., Thailand.
Methanol	HPLC reagent grade	Fisher Scientific., UK.
Orthophophoric acid	Analytical reagent grade	Ajax Finchem., Australia
Oxalic acid	Analytical reagent grade	Fisher Scientific., UK.
Pectin	Food grade	Danisco., Mexico.
Potassium bromide	Analytical reagent grade	E. Merck., Germany.
Sodium bicarbonate	Food grade	Bakery art., Thailand
Silicon dioxide	Commercial grade	Maxway Co., Ltd., Germany.
Sucrose	Food grade	Bakery art., Thailand
Sodium chloride	Analytical reagent grade	E. Merck., Germany.
Sodium dihydrogen phosphate	Analytical reagent grade	E. Merck., Germany.
Succinic acid	Analytical reagent grade	Ajax Finchem., Australia
Sulfuric acid	Analytical reagent grade	J.T. Baker., U.S.A.
Tartaric acid	Analytical reagent grade	Ajax Finchem., Australia

1.2 <u>ตัวอย่างพืช</u> มะขาม *Tamarindus indica* L. สายพันธุ์ปลูกต่อไปนี้

มะขามสายพันธุ์เปรี้ยวยักษ์ (TI-PY/P) ศรีชมภู (TI-SP/K) ขันตี (TI-K/P) สีทองหนัก (TI-STN/K) สีทองเบา (TI-STB/P) จากไร่ชนิกา ของนายบุญเลิศ พุทธเจริญ 319 หมู่ 9 ต.ซับสมอทอด อ. บึงสามพัน จ. เพชรบูรณ์ มะขามสายพันธุ์เปรี้ยว (TI-PY/K) ศรีชมภู (TI-SP/K) สีทองหนัก (TI-STN/K) จากสวนคุณประนอม คงสมภักตร์ 134 หมู่ 2 ต.โป่งตาลอง อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา

2. <u>วิธีดำเนินการวิจัย</u>

2.1 <u>การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดอินทรีย์และ polysaccharide ในเนื้อมะขาม</u>

<u>การเตรียมตัวอย่างเนื้อมะขาม</u>

นำตัวอย่างฝักมะขามมาแยกเปลือกและเมล็ดออกจากเนื้อ นำเนื้อมะขามไปอบแห้งด้วยตู้อบเป่าลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนกระทั่งน้ำหนักคงที่ บันทึกน้ำหนักคำนวณค่าความชื้นของเนื้อมะขาม จากนั้นนำเก็บในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสจนกว่าจะนำมาทดลอง

2.1.1 <u>การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของกรดอินทรีย์ในตัวอย่างเนื้อมะขาม</u>

2.1.1.1 <u>การเตรียมตัวอย่างมะขาม</u>

1) ชั่งน้ำหนักมะขามสายพันธุ์ละ 75 กรัม
2) เติมน้ำ 200 มิลลิลิตร นำไปปั่นด้วยเครื่องปั่น จนได้น้ำมะขามที่มีลักษณะข้นและเนื้อมะขามที่บดละเอียด
3) นำน้ำมะขามและกากตะกอนมะขามใส่ในขวดเซนตริฟิวจ์ ทิ้งไว้ข้ามคืน
4) วันรุ่งขึ้น นำน้ำมะขามไปเซนตริฟิวจ์ที่ 6800xg นาน 20 นาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส
5) เก็บส่วนน้ำใสครั้งที่ 1 วัดปริมาตร นำส่วนของตะกอนถ่ายใส่บีกเกอร์ เติมน้ำ 150 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน
6) นำบีกเกอร์ที่น้ำมะขามไปแช่ในน้ำเดือด เป็นเวลา 1 ชั่วโมง คนทุกๆ 5 นาที
7) ใส่น้ำ 75 มิลลิลิตร เซนตริฟิวจ์ที่ 6800xg นาน 20 นาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส
8) เก็บส่วนน้ำใสครั้งที่ 2 วัดปริมาตร ส่วนของตะกอนแยกเก็บใส่ถุงแช่ในตู้เย็น

9) นำส่วนน้ำใสที่ได้ทั้ง 2 ครั้งมารวมกัน วัดปริมาตร จากนั้นนำไประเหยน้ำออกที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ให้เหลือน้ำมะขามปริมาตรสุทธิ 100 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณกรดอินทรีย์ด้วยวิธี HPLC

2.1.1.2 การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของกรดอินทรีย์ในน้ำสกัดเนื้อมะขามด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography: HPLC)

1) สภาวะที่เหมาะสมของการวิเคราะห์ด้วย HPLC (Chromatographic condition)

ใช้คอลัมน์ C18 (Hypersil gold, 5 µm, 250x4.6 mm. i.d.) ซึ่งเป็นคอลัมน์ที่สามารถใช้วิเคราะห์กรดอินทรีย์ชนิดต่างๆได้ ได้แก่ กรดออกซาลิก ทาร์ทาริก มาลิก ซิตริก ฟูมาริก และซักซินิก โดยใช้เฟสเคลื่อนที่เป็นสารละลายบัฟเฟอร์ 0.5% $(NH_4)H_2PO_4$, pH=2.6 อัตราการไหล 1 มิลลิลิตร/นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ตรวจวิเคราะห์ด้วย UV detector ที่ 210 นาโนเมตร และใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐานภายใน

2) การเตรียมสารละลายกรดอินทรีย์มาตรฐานและสารมาตรฐานภายใน

เตรียมสารละลายมาตรฐาน stock solution โดยละลายกรดอินทรีย์มาตรฐานและสารมาตรฐานภายในด้วยน้ำ Ultra Pure เตรียมสารละลายตั้งต้นของกรดออกซาลิก (OA) ทาร์ทาริก (TA) มาลิก (L-MA) ซิตริก (CA) ฟูมาลิก (FA) และซักซินิก (SA) มีความเข้มข้นเท่ากับ 6, 40, 40, 10, 2 และ 35 กรัม/ลิตร ตามลำดับ เตรียมสารมาตรฐานภายใน กรดแกลลิก (GA) ให้มีความเข้มข้น 0.8 กรัม/ลิตร จากนั้นปิเปตสารละลายตั้งต้นของกรดออกซาลิก ทาร์ทาริก มาลิก ซิตริก ฟูมาลิก และซักซินิก ปริมาตร 1, 1, 1, 1, 1 และ 2 มิลลิลิตรตามลำดับ ใส่ในขวดวัดปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยเฟสเคลื่อนที่จนมีปริมาตรเท่ากับ 10 มิลลิลิตร สำหรับใช้เป็นสารละลาย standard solution เพื่อการวิเคราะห์สารตัวอย่างต่อไป

3) การยืนยันความถูกต้องสมบูรณ์ของวิธีวิเคราะห์ (Analytical Method Validation) ยืนยันความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ที่ใช้ในการศึกษา ดังนี้

3.1) ความจำเพาะเจาะจง (Specificity)

วิธีวิเคราะห์จะมีความจำเพาะเจาะจงต่อสารที่ต้องการแยกเมื่อค่าการแยก (Resolution) มีค่ามากกว่า 1.5 นำสารละลายผสมของกรดอินทรีย์มาตรฐานและสารมาตรฐานภายในที่เตรียมได้จากข้อ 2.2.2 มาเจือจางด้วยเฟสเคลื่อนที่ให้มีความเข้มข้นของกรดออกซาลิก ทาร์ทาริก มาลิก

ซิตริก ฟูมาลิก ซักซินิก และแกลลิก มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.3, 2, 2, 0.5, 0.005, 3.5 และ 0.04 กรัม/ลิตร ตามลำดับ กรองสารละลายผ่าน nylon syringe filter ที่มีรูพรุนขนาด 0.45 ไมครอน และนำไปฉีดเข้าคอลัมน์ HPLC ในปริมาตร 15 ไมโครลิตร โดยปฏิบัติการภายใต้ภาวะที่เหมาะสม คำนวณค่าการแยก (Resolution) จากสูตร

$$R = 2(t_2-t_1)/(W_2+W_1)$$

เมื่อ R คือ ค่า resolution ระหว่างพีคของกรดอินทรีย์ที่สนใจ (พีคที่2) กับพีคสารที่แยกออกมาก่อน (พีคที่1)

t_2 คือ retention time ของพีคที่2

t_1 คือ retention time ของพีคที่1

W_2 คือ ความสูงของพีคที่ 2

W_1 คือ ความสูงของพีคที่ 1

3. 2) <u>ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linearity)</u>

ระหว่างอัตราส่วนพื้นที่ใต้พีคของกรดอินทรีย์มาตรฐานต่อสารมาตรฐานภายใน (Peak area ratio) และความเข้มข้นของกรดอินทรีย์มาตรฐาน เตรียมสารละลายผสมของกรดอินทรีย์มาตรฐานตามตารางข้างล่างนี้ กรองสารละลายผ่าน nylon syringe filter ที่มีรูพรุนขนาด 0.45 ไมครอน และนำไปฉีดเข้าคอลัมน์ HPLC ในปริมาตร 15 ไมโครลิตร โดยปฏิบัติการภายใต้ภาวะที่เหมาะสม ทำการฉีดซ้ำ 3 ครั้งของแต่ละความเข้มข้น concentration 1-5 ตามตารางที่แสดงไว้ นำค่าเฉลี่ยมาสร้างเส้นกราฟความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนพื้นที่ใต้พีค (Peak area ratio) และความเข้มข้นของกรดอินทรีย์มาตรฐาน ใช้ linear regression ในการสร้างสมการเส้นตรง

Standard Mixture	Concentration of organic acid (g/L)						
	OA	TA	L-MA	CA	FA	SA	GA
Concentration 1	0.02	1.00	0.10	0.01	0.0001	0.03	0.04
Concentration 2	0.09	2.25	0.80	0.06	0.0080	0.11	0.04
Concentration 3	0.16	3.50	1.50	0.11	0.0160	0.19	0.04
Concentration 4	0.23	4.75	2.20	0.16	0.0240	0.27	0.04
Concentration 5	0.30	6.00	2.90	0.21	0.0320	0.35	0.04

3.3) <u>ความไวของวิธีวิเคราะห์ (Sensitivity)</u>

ความไวของวิธีวิเคราะห์แสดงถึงค่าความเข้มข้นต่ำสุดของกรดอินทรีย์ที่สามารถวิเคราะห์ได้ถูกต้อง (Limit of Detection, LOD) เตรียมสารละลายผสมของกรดอินทรีย์มาตรฐานของกรดออกซาลิก ทาร์ทาริก มาลิก ซิตริก ฟูมาลิก และซักซินิก ดังข้อ 1. กรองสารละลายผ่าน nylon syringe filter ที่มีรูพรุนขนาด 0.45 ไมครอน และนำไปฉีดเข้าคอลัมน์ HPLC ในปริมาตร 15 ไมโครลิตร โดยปฏิบัติการภายใต้ภาวะที่เหมาะสม โดยทำการฉีดซ้ำ 3 ครั้ง คำนวณค่า LOD ของกรดอินทรีย์แต่ละชนิดดังสูตร

$$LOD\ (ASTM) = C \times (S/N) \times N/H$$

เมื่อ S/N คือ อัตราส่วนระหว่างสัญญาณของกรดอินทรีย์กับสัญญาณรบกวนของเฟสเคลื่อนที่ (signal to noise ratio), S/N = 3.3

C คือ ความเข้มข้นของกรดอินทรีย์

H คือ สัญญาณของกรดอินทรีย์เมื่อทำการวิเคราะห์

N คือ สัญญาณรบกวนของเฟสเคลื่อนที่เมื่อทำการวิเคราะห์

3.4) <u>ความถูกต้องและความเที่ยงตรงของวิธีวิเคราะห์ (Accuracy and Precision)</u>

ความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์แสดงด้วยค่าเปอร์เซ็นต์คืนกลับ (% recovery) ส่วนความเที่ยงตรงของวิธีวิเคราะห์ประกอบด้วยความเที่ยงตรงเมื่อวิเคราะห์ภายในวันเดียวกัน (Intra-day precision) และความเที่ยงตรงเมื่อวิเคราะห์ต่างวันกัน (Inter-day precision) ซึ่งแสดงผลในรูปของเปอร์เซ็นต์ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (% relative standard deviation, %RSD)

3.4.1) <u>ความถูกต้องและเที่ยงตรงเมื่อวิเคราะห์ภายในวันเดียวกัน (Intra-day accuracy and precision)</u>

ความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์แสดงด้วยค่าเปอร์เซ็นต์คืนกลับ (%recovery) โดยใช้สูตร

$$\%\ recovery = (C2 \times 100)/C1$$

เมื่อ C2 คือ ความเข้มข้นของกรดอินทรีย์ที่วิเคราะห์ได้

C1 คือ ความเข้มข้นของกรดอินทีย์ที่มีอยู่จริง

(1) เตรียมสารละลายน้ำสกัดมะขามที่มีสารมาตรฐานภายในที่ความเข้มข้น 0.04 กรัม/ลิตร โดยเจือจางน้ำสกัดมะขามเข้มข้นของมะขามตัวอย่าง ในอัตราส่วนที่เหมาะสมด้วยเฟสเคลื่อนที่

(2) เตรียมสารละลายเข้มข้นของกรดอินทรีย์มาตรฐานมีกรดออกซาลิก ทาร์ทาริก มาลิก ซิตริก ฟูมาลิก ซักซินิกและแกลลิก ดังแสดงไว้ในตาราง นำมาเตรียมสารละลายผสมกรดอินทรีย์มาตรฐาน 3 ความเข้มข้น

Standard Mixture	Concentration of organic acid (g/L)						
	OA	TA	L-MA	CA	FA	SA	GA
Concentration 1	0.03	1.00	0.39	0.02	0.001	0.04	0.04
Concentration 2	0.09	1.51	0.80	0.07	0.003	0.08	0.04
Concentration 3	0.15	2.00	1.20	0.12	0.005	0.12	0.04

(3) เติม (spiked) สารละลายเข้มข้นของกรดอินทรีย์มาตรฐานจากข้อ (2) ลงในสารละลายน้ำสกัดตัวอย่างมะขามผสมจากข้อ (1) โดยเจือจางน้ำมะขามสกัดเข้มข้นของมะขามตัวอย่างและ spiked ด้วยสารละลายผสมของกรดอินทรีย์

กรองสารละลายที่เตรียมได้จากข้อ (1), (2) และ (3) ผ่าน nylon syringe filter ที่มีรูพรุนขนาด 0.45 ไมครอน และนำไปฉีดเข้าคอลัมน์ HPLC ในปริมาตร 15 ไมโครลิตร โดยปฏิบัติการภายใต้ภาวะที่เหมาะสม ทำการฉีดซ้ำ 3 ครั้ง นำค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ไปคำนวณหาความเข้มข้นของกรดอินทรีย์จากตัวอย่างโดยวิเคราะห์

- ความเข้มข้นของกรดอินทรีย์ในสารละลายน้ำสกัดมะขาม (C1)
- ความเข้มข้นของกรดอินทรีย์ในสารละลายผสมของกรดอินทรีย์มาตรฐาน (C2)
- ความเข้มข้นของกรดอินทรีย์ในสารละลายน้ำสกัดตัวอย่างมะขามที่ spiked ด้วยสารละลายผสมของกรดอินทรีย์มาตรฐาน (C3)

นำค่าความเข้มข้นของกรดอินทรีย์ในสารละลายที่วิเคราะห์ได้ (C1, C2 และC3) ไปคำนวณหาค่า % recovery จากสูตร

% recovery = (C3)/(C1+C2) x 100

ถ้าค่า recovery ที่คำนวณได้มีค่าอยู่ในช่วง 75-120% แสดงว่า วิธีวิเคราะห์ยอมรับได้ (AOAC, 2002)

3.4.2) <u>ความเที่ยงตรงเมื่อวิเคราะห์ต่างวันกัน (Inter-day precision)</u>

เตรียมสารละลายผสมของกรดอินทรีย์มาตรฐานจำนวน 5 ความเข้มข้น ในช่วงความเข้มข้น 0.05-0.25 กรัม/ลิตร ของกรดออกซาลิก, 1.60-4.00 กรัม/ลิตร ของกรดทาร์ทาริก, 0.70-1.90 กรัม/ลิตร ของกรดมาลิก, 0.075-0.195 กรัม/ลิตร ของกรดซิตริก, 0.003-0.015 กรัม/ลิตร ของกรดฟูมาลิก, 0.09-0.21 กรัม/ลิตร ของกรดซักซินิก และ 0.04 กรัม/ลิตร ของกรดแกลลิก โดยเตรียมความเข้มข้นละ 3 ตัวอย่าง (n=3) กรองสารละลายผ่าน nylon syringe filter ที่มีรูพรุนขนาด 0.45 ไมครอน และนำไปฉีดเข้าคอลัมน์ใน HPLC ปริมาตร 15 ไมโครลิตร โดยปฏิบัติการภายใต้ภาวะที่เหมาะสมของแต่ละวัน เป็นเวลา 3 วัน ติดต่อกันโดยทำการฉีดซ้ำ 3 ครั้ง นำค่าที่วิเคราะห์ได้ไปคำนวณหาความเข้มข้นของกรดอินทรีย์เทียบกับเส้นกราฟมาตรฐาน

4) <u>การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของกรดอินทรีย์ในตัวอย่างน้ำสกัดมะขาม</u>

นำน้ำสกัดมะขามเข้มข้นพันธุ์ปลูก “เปรี้ยวยักษ์” “ขันตี” จากจังหวัดเพชรบูรณ์ และพันธุ์ปลูก “เปรี้ยว” “ศรีชมภู” “สีทองหนัก” จากจังหวัดนครราชสีมา มาเจือจางด้วยเฟสเคลื่อนที่ในอัตราส่วนที่เหมาะสม นำสารละลายตัวอย่างมะขามแต่ละพันธุ์ปลูกมาเติมด้วยสารมาตรฐานภายในให้มีความเข้มข้น 0.04 กรัม/ลิตร กรองสารละลายผ่าน nylon syringe filter ที่มีรูพรุนขนาด 0.45 ไมครอน และนำไปฉีดเข้าคอลัมน์ HPLC ในปริมาตร 15 ไมโครลิตร โดยปฏิบัติการภายใต้ภาวะที่เหมาะสม ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง จากนั้นนำค่าสัดส่วนพื้นที่ใต้พีค (Peak area ratio) ของกรดอินทรีย์มาตรฐานกับสารมาตรฐานภายในที่วิเคราะห์ได้ไปคำนวณหาความเข้มข้นของกรดอินทรีย์ชนิดต่างๆ ที่พบมีอยู่ในน้ำสกัดมะขามโดยเทียบกับเส้นกราฟมาตรฐาน และรายงานค่าที่วิเคราะห์ได้แสดงเป็นค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

5) การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในตัวอย่างมะขามด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบจำแนกทางเดียว (One-Way Analysis of Variance, ONE-WAY ANOVA) โดยใช้วิธีการของ Tukey (Tukey's HSD) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS 14.0 ผลการวิเคราะห์แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติขององค์ประกอบทางเคมีระหว่างพันธุ์ปลูกของมะขามที่นำมาศึกษา เมื่อ $p<0.05$

2.1.2 การสกัดพอลิแซ็กคาไรด์และวิเคราะห์สารพอลิแซคคาไรด์จากเนื้อมะขาม

นำเนื้อมะขาม 300 กรัม บดละเอียดมาสกัดในน้ำร้อน ปริมาตร 4 เท่าของน้ำหนักมะขาม ใน water bath ที่อุณหภูมิประมาณ 90 องศาเซลเซียส กวนสารสกัดเป็นระยะๆ นาน 1 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเซนตริฟิวจ์ที่ 6800xg นาน 20 นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เก็บส่วนน้ำสกัดครั้งที่ 1 นำตะกอนไปต้มสกัดซ้ำตามวิธีดังกล่าว โดยใช้น้ำปริมาตร 1 ใน 4 ของน้ำที่ใช้สกัดครั้งแรก นำไปเซนตริฟิวจ์ เก็บส่วนน้ำสกัดครั้งที่ 2 รวมกับครั้งที่ 1 นำน้ำที่สกัดได้กรองจนได้น้ำใส นำไประเหยน้ำออกที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสที่ความดันต่ำด้วยเครื่องระเหยน้ำ Rotary evaporator (BUCHI R-200) จนได้สารละลายเข้มข้นแล้วนำมาตกตะกอนพอลิแซ็กคาไรด์ด้วย acid alcohol (4%HCl ใน 75% ethanol) ปริมาตร 3 เท่า และล้างตะกอนด้วย 75%และ95% เอทิลแอลกอฮอล์ ตามลำดับ กรองตะกอนพอลิแซ็กคาไรด์ นำมาอบที่อุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส และบดให้ละเอียด จะได้พอลิแซ็กคาไรด์เป็นผงแห้ง และนำพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้ไปวิเคราะห์หาชนิดของน้ำตาลโดยวิธี HPLC

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของ % yield ของการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเนื้อมะขาม ด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบจำแนกทางเดียว (One-Way Analysis of Variance, ONE-WAY ANOVA) โดยใช้วิธีการของ Tukey (Tukey's HSD) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS 14.0

การวิเคราะห์พอลิแซ็กคาไรค์จากเนื้อมะขาม

2.1.2.1 การวิเคราะห์ FT-IR spectra (Fourier Transform Infrared Spectrometry)

ทำการบดพอลิแซ็กคาไรด์กับผงโพแทสเซียมโบร์ไมด์ (KBr) ที่อบแห้งด้วยอัตราส่วนของโพแทสเซียมโบร์ไมด์:พอลิแซ็กคาไรด์ เท่ากับ 90:10 จนเข้าให้เป็นเนื้อเดียวกัน นำสาร

ผสมมาอัดเป็นแผ่น transparent disk โดยใช้แรงอัดสูง นำแผ่นตัวอย่างที่อัดได้ใส่ลงไปในเครื่อง FT-IR ทำการสแกนโดยใช้ wave number ในช่วง 4000-450 cm^{-1} สแกน 16 ครั้ง ที่ค่า resolution 4 cm^{-1}

2.1.2.2 <u>การวิเคราะห์องค์ประกอบน้ำตาลของพอลิแซ็กคาไรด์จากเนื้อมะขาม</u>

1. การเตรียมตัวอย่าง

เตรียมสารละลาย acid hydrolyzate ของพอลิแซ็กคาไรด์ของเนื้อมะขามให้มีความเข้มข้น 3% ทิ้งให้สารละลายพองตัวเต็มที่ เติมกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) จนสารละลายมีความเข้มข้นสุดท้าย 0.75 M นำไป Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที นำสารละลายที่ได้ไปปรับ pH ให้เป็นกลาง โดยเติมผงแบเรียมไฮดรอกไซด์ทีละน้อยคนจนละลายหมด นำไปปั่นเอาตะกอนแบเรียมซัลเฟตออกด้วยเครื่องเซนตริฟิวจ์ที่ 6800xg นาน 20 นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เก็บส่วนน้ำใสของ acid hydrolyzate วัดปริมาตร ทำการระเหยน้ำออก ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้สารละลายมีปริมาตรสุทธิ 10 มิลลิลิตร เก็บตัวอย่างไว้วิเคราะห์หาชนิดของน้ำตาลด้วยเทคนิค HPLC-ELSD และ HPLC-RID เปรียบเทียบค่า retention time เป็นนาทีของน้ำตาลในตัวอย่างกับน้ำตาล standard เช่น น้ำตาลกลูโคส ฟรุกโทส แรมโนส อราบิโนส ไซโลส กาแลกทูโรนิก และกลูคูโรนิก แอซิด

2. การวิเคราะห์หาองค์ประกอบ uronic acid ได้แก่ glucuronic และ galacturonic acid ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง (HPLC-RID)

ฉีดสารตัวอย่าง acid hydrolyzate ปริมาตร 20 ไมโครลิตรลงในอะมิโนคอลัมน์ (Carbohydrate NH_2 column, 5 μm, 250x4.6 mm. i.d.) โดยใช้เฟสเคลื่อนที่เป็นสารละลายบัฟเฟอร์ NaH_2PO_4, pH=4.6 อัตราการไหล 1.50 มิลลิลิตร/นาที ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส วิเคราะห์ด้วย Refractive Index Detector (RID) เปรียบเทียบค่า retention time เป็นนาทีของน้ำตาลในตัวอย่างกับน้ำตาล standard galacturonic acid และ glucuronic acid

3. การวิเคราะห์หาองค์ประกอบน้ำตาลด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง (HPLC-ELSD)

ฉีดสารตัวอย่าง acid hydrolyzateปริมาตร 5 ไมโครลิตรลงในอะมิโนคอลัมน์ (NH_2 column, 5 μm, 250x4.6 mm. i.d.) ซึ่งเป็นคอลัมน์ที่สามารถใช้วิเคราะห์ชนิดน้ำตาลต่างๆได้ โดย

ใช้เฟสเคลื่อนที่เป็น 90% Acetonitrile ในน้ำ อัตราการไหล 1.90 มิลลิลิตร/นาที ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส วิเคราะห์ด้วย Evaporative Laser Scattering Detector (ELSD) เปรียบเทียบค่า retention time เป็นนาที ของน้ำตาลในตัวอย่างกับน้ำตาล standard ได้แก่ glucose fructose galactose rhamnose arabinose และ xylose

2.2 <u>การสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเนื้อในเมล็ดมะขาม</u>

นำเนื้อในเมล็ด (Kernel) ของมะขามมาบดให้ละเอียด ด้วยเครื่อง blender และแช่ในน้ำแล้วนำไปโม่ด้วยเครื่องโม่ นำผงเปียกของเมล็ดมะขามที่โม่ได้ไปอบในตู้อบอุณหภูมิ 60 -70 องศาเซลเซียส จนแห้ง จากนั้นนำไปโม่แบบแห้งด้วยเครื่องโม่ให้เป็นผงอีกครั้งจะได้ Tamarind Kernel Powder (TKP)

ทำการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จาก Tamarind Kernel Powder ด้วยการต้ม TKP 100 กรัม ด้วยน้ำร้อน ปริมาตร 40 เท่าของน้ำหนัก TKP คนเป็นระยะๆ ที่อุณหภูมิ 90-95 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง นำไปเซนตริฟิวจ์ที่ 6800xg นาน 20 นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เก็บน้ำใสครั้งที่ 1 นำตะกอนมาสกัดซ้ำในน้ำร้อน ปริมาตรครึ่งเท่าของน้ำสกัดครั้งแรก ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง นำไปเซนตริฟิวจ์ที่ 6800xg นาน 20 นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เก็บน้ำใสครั้งที่ 2 รวมกับน้ำใสครั้งแรกผสมเข้าด้วยกัน วัดปริมาตร นำน้ำสกัดที่ได้ไประเหยน้ำออกเหลือปริมาณครึ่งหนึ่ง และนำส่วนน้ำเข้มข้นไปตกตะกอนพอลิแซ็กคาไรด์ใน 95%ของเอทิลแอลกอฮอล์ที่เย็นปริมาตร 1.5 เท่า ได้ตะกอน Tamarind Seed Polysaccharide (TSP) กรองตะกอน TSP ที่ได้ ผ่านผ้าไนลอน นำไปอบที่อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส และบดให้ละเอียด ได้ผง TSP มีลักษณะเป็นผงของแข็งสีขาวขุ่น นำไปละลายน้ำ วัดความหนืด(Brookfield, LVDV-I+, USA) และ ทดสอบคุณลักษณะการไหล โดยใช้เครื่อง Rheometer (Rheowin-RV1, Germany) และนำไปวิเคราะห์หาชนิดของน้ำตาล และนำไปทดลองการใช้ TSP ผสมกับน้ำมะขามในการช่วยเตรียมผงแห้งมะขาม

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของ % yield ของการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเนื้อในเมล็ดมะขาม ด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบจำแนกทางเดียว (One-Way Analysis of Variance, ONE-WAY ANOVA) โดยใช้วิธีการของ Tukey (Tukey's HSD) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS 14.0

2.2.1 <u>การวิเคราะห์พอลิแซ็กคาไรด์จากเนื้อในเมล็ด (Kernel) มะขาม</u>

การวิเคราะห์องค์ประกอบน้ำตาลของพอลิแซ็กคาไรด์จากเนื้อในเมล็ดมะขาม

1. การเตรียมตัวอย่าง

เตรียมสารละลาย acid hydrolyzate ของพอลิแซ็กคาไรด์ TSP ของเนื้อในเมล็ด(Kernel) มะขามให้มีความเข้มข้น 1 % จากนั้นทำตามวิธี 2.1.2.2 ข้อ 1

2. การวิเคราะห์หาองค์ประกอบน้ำตาลด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง (HPLC-ELSD)

ใช้วิธีการเดียวกันกับวิธี 2.1.2.2 ข้อ 3

2.2.2 <u>สมบัติการไหลและความหนืดของพอลิแซ็กคาไรด์ TSP จากเนื้อในเมล็ด (Kernel) มะขาม</u>

ทำการละลายพอลิแซ็กคาไรด์ TSP ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ นำไปทดสอบสมบัติการไหลและวัดความหนืดที่ shear rate 0-6000 1/s ด้วยเครื่อง Rheometer ใช้ sensor ชนิด 35/1 Ti

2.3 <u>การเตรียมผงมะขามด้วยวิธี spray drying</u>

2.3.1 <u>การสกัดน้ำมะขาม</u>

นำเนื้อมะขามพันธุ์ปลูก “เปรี้ยวยักษ์” และ “ขันตี” อย่างละ 60 กรัม เติมน้ำ 500 มิลลิลิตร ปั่นให้ละเอียด นำไปอุ่นในน้ำเดือด 1 ชั่วโมง คนทุกๆ 5 นาที แล้วแช่ทิ้งข้ามคืนในตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นนำไปเซนตริฟิวจ์ที่ 6800xg นาน 20 นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เก็บส่วนน้ำใส นำตะกอนไปสกัดซ้ำโดยใช้น้ำ 500 มิลลิลิตร อุ่นในน้ำเดือดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง คนเป็นระยะๆ เซนตริฟิวจ์อีกครั้ง เก็บส่วนน้ำใส ทั้งสองครั้ง มารวมกันวัดปริมาตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้น้ำมะขามปริมาตรสุทธิ 1000 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้เตรียมผงมะขามต่อไป

2.3.2 <u>การเตรียมผงมะขาม</u>

สูตรตำรับของผงมะขามประกอบด้วย ingredient ต่างๆ ดังนี้

Ingredients	Function	Content (g)
Tamarind extracted	Main component laxative	30
Tamarind seed polysaccharide (TSP)* or Pectin*	Carrier	5-10
Maltodextrin	Carrier	15-25
Silicon dioxide	Flow aid	0.30
Fructose	Flavor	1.35
Sodium chloride	Flavor	0.45

* สารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากเนื้อในเมล็ดมะขาม หรือ เพคติน นำไป autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 1.02 Kgf/cm^2 นาน 30 นาที

ผสมน้ำมะขามกับสาร พอลิแซ็กคาไรด์ TSP จากเนื้อในเมล็ดมะขามเป็น carrier หรือ เพคติน และ carrier ตัวที่สอง Maltodextrin ให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกัน และเติมสารช่วยการกระจาย Silicon dioxide และน้ำตาล คนให้เป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นนำไปทำเป็นผงแห้งด้วยเครื่อง Mini Spray Dryer (Buchi Mini Spray Dryer B-290, Switzerland) โดยกำหนด air inlet 140 องศาเซลเซียส air outlet 80 องศาเซลเซียส aspirator 90 ลูกบาศก์เมตร/ชั่วโมง pump 2.76 มิลลิลิตร/นาที ผงพ่นแห้งมะขามที่ได้นำไปศึกษาลักษณะ particle พื้นผิวภายนอก (particle surface) ด้วยเครื่อง scanning electron microscope

2.4 <u>การศึกษาฤทธิ์การระบายของน้ำมะขามและผลิตภัณฑ์ผงแห้งมะขาม</u>

2.4.1 <u>ศึกษาฤทธิ์ยาระบายของน้ำสกัดมะขามเปรียบเทียบกับ organic acid standard ในหนูขาว (rat)</u>

ศึกษาฤทธิ์ laxative จากน้ำสกัดเนื้อมะขามในหนูขาว (rat) โดยใช้น้ำสกัดเนื้อมะขามความเข้มข้น 20% (w/v) ในน้ำกลั่น แยกกากโดย วิธีกรองด้วยผ้า 2 ชั้น จนได้น้ำค่อนข้างใส นำส่วนน้ำมา

ทดสอบในหนูขาว ดูผลการเป็น laxative โดยดูระยะทางการเคลื่อนที่ของ charcoal ที่ไปได้ไกลกว่ากลุ่ม control ในลำไส้เล็กหนูโดยใช้น้ำกลั่นเป็น control และน้ำลูกพรุนเป็น positive control

<u>ตัวอย่างมะขาม</u>

มะขามสุกสายพันธุ์เปรี้ยวยักษ์ มะขามหวานขันตี ศรีชมพู สีทองเบา และสีทองหนัก

<u>สัตว์ทดลอง</u>

หนูขาว (Sprague-Dawley) เพศผู้ อายุ 7-8 สัปดาห์ น้ำหนัก 200-260 กรัม จำนวน 102 ตัว แบ่งเป็น 17 กลุ่ม กลุ่มละ 6 ตัว

<u>วิธีทดลอง</u>

ดัดแปลงจากแบบทดสอบการเคลื่อนที่ของทางเดินอาหาร (Gastrointestinal motility test) ของ Vankatesan *et al*. (2005)

1. อดอาหารหนูก่อนทดลอง 16-18 ชม.
2. หนูทุกตัวจะได้รับการทดสอบโดยการป้อนทางปากโดยใช้เข็มป้อน (feeding needle) โดยหนูทุกตัวจะได้รับสารแต่ละชนิดในปริมาตร 10 มิลลิลิตร/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม
3. แบ่งหนูเป็นกลุ่มต่างๆ ดังนี้
    a. หนูกลุ่มที่ 1 ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุม จะได้รับน้ำกลั่น
    b. หนูกลุ่มที่ 2 จะได้รับน้ำลูกพรุน ขนาด 8.4 มิลลิลิตร/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ซึ่งเป็น 10 เท่าของขนาดที่คนน้ำหนัก 50 กก. รับประทาน (ปกติคนรับประทานน้ำลูกพรุน 1 ขวดในขนาด 42 มล.)
    c. หนูกลุ่มที่ 3, 5 และ 7 จะได้รับ tartaric acid, citric acid หรือ malic acid ในขนาด 10 มิลลิลิตร/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ตามลำดับ
    d. หนูกลุ่มที่ 4, 6 และ 8 จะได้รับ tartaric acid, citric acid หรือ malic acid ในขนาด 100 มิลลิลิตร/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ตามลำดับ
    e. หนูกลุ่มที่ 9-13 จะได้รับน้ำมะขามพันธุ์ต่างๆ ในขนาด 2 มิลลิลิตร/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม (ความเข้มข้นเท่ากับน้ำมะขาม 20% w/v)
    f. หนูกลุ่มที่ 14 และ 15 จะได้รับน้ำมะขามเปรี้ยวยักษ์ ในขนาด 8 และ 10 มิลลิลิตร/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ตามลำดับ

g. หนูกลุ่มที่ 16 และ 17 จะได้รับน้ำมะขามขันตี ในขนาด 8 และ 10 มิลลิลิตร/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ตามลำดับ

4. หลังจากนั้น 30 นาที หนูทุกตัวจะได้รับ 3% suspension ของผงถ่านใน 0.5% carboxymethylcellulose โดยแต่ละตัวจะได้รับในปริมาตร 1 มิลลิลิตร โดยใช้เข็มป้อนทางปาก
5. หลังจากทิ้งไว้ 15 นาที หนูทุกตัวจะถูกทำการุณยฆาตโดยใช้ยาสลบอีเทอร์
6. ตัดลำไส้ตั้งแต่ pylorus จนถึง caecum แล้ววัดระยะการเคลื่อนที่ของผงถ่านจาก pylorus เพื่อเปรียบเทียบระยะทางที่ผงถ่านเคลื่อนที่ไปได้ของหนูแต่ละกลุ่ม

2.4.2 <u>การทดลองผลของมะขามต่อ isolated rat ileum ของหนูขาว (Madeira *et al*., 2002)</u>

<u>สัตว์ทดลอง</u>

หนูขาว (Sprague-Dawley) เพศผู้ อายุ 7-8 สัปดาห์ น้ำหนัก 200-260 กรัม

<u>วิธีทดลอง</u>

1. อดอาหารหนูก่อนทดลอง 16-18 ชม.
2. ฆ่าหนูแล้วทำการแยก ileum ออกมาแช่ใน Tyrode's solution จากนั้นทำการแยก connective tissue ออกแล้วตัด ileum ออกเป็นชิ้นยาวประมาณ 1 ซม.
3. นำ tissue ที่ได้ไปแขวนไว้ใน chamber ที่บรรจุ Tyrode's solution โดยปลายข้างหนึ่งต่อเข้ากับ force transducer ซึ่งต่อกับเครื่อง polygraph โดยมี tension 0.5 กรัม
4. ควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ให้ 95% ออกซิเจนตลอดเวลาที่ทำการศึกษา incubate tissue นาน 30 นาที
5. ทดสอบการตอบสนองของ tissue ด้วย acetylcholine ขนาด 20 ng/ml bath จากนั้นล้าง tissue ด้วย Tyrode's solution
6. หยดน้ำมะขามพันธุ์ที่ต้องการทดสอบในปริมาตรที่ทำให้เกิดการตอบสนองของ tissue
7. สังเกตผลของน้ำมะขามต่อการหดตัวของ tissue ที่เกิดขึ้น จากนั้นล้าง tissue ด้วย Tyrode's solution

8. หยดน้ำเกลือในปริมาตรที่เท่ากับปริมาตรของน้ำมะขามที่ทำให้เกิดการตอบสนองของ tissue สังเกตผลที่เกิดขึ้น

2.4.3 <u>การศึกษาผลของส่วนผสมของกรดอินทรีย์สามชนิดหลักที่พบในน้ำมะขามต่อการเคลื่อนที่ของผงถ่านในลำไส้หนูขาว</u>

<u>สัตว์ทดลอง</u>

หนูขาว (Sprague-Dawley) ตัวผู้ อายุ 7-8 สัปดาห์ น้ำหนัก 270-310 กรัม จำนวน 36 ตัว แบ่งเป็น 6 กลุ่ม กลุ่มละ 6 ตัว

<u>วิธีทดลอง</u>

ดัดแปลงจาก แบบทดสอบการเคลื่อนไหวของทางเดินอาหาร (Gastrointestinal motility test) ของ Vankatesan *et al* (2005)

1. อดอาหารหนูก่อนทดลอง 16-18 ชม.
2. หนูทุกตัวจะได้รับสารทดสอบทางปากโดยใช้เข็มป้อน (feeding needle) โดยหนูทุกตัวจะได้รับสารแต่ละชนิดในปริมาตร 10 มิลลิลิตร/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม
3. แบ่งหนูเป็นกลุ่มต่างๆดังนี้
    a. หนูกลุ่มที่ 1 ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุม จะได้รับน้ำกลั่น
    b. หนูกลุ่มที่ 2 จะได้รับน้ำลูกพรุน ขนาด 8.4 มิลลิลิตร/น้ำหนักตัว1 กิโลกรัม ซึ่งเป็น10 เท่าของขนาดที่คนน้ำหนัก 50 กก. รับประทาน (ปกติคนรับประทานน้ำลูกพรุน 1 ขวด ในขนาด 42 มล.)
    c. หนูกลุ่มที่ 3-6 จะได้รับส่วนผสมของกรด 3 ชนิดที่พบในมะขามพันธุ์เปรี้ยวยักษ์และขันตี (ตามสัดส่วนที่ได้จากการวิเคราะห์ปริมาณในตัวอย่างมะขาม 2 ชุด)

- จากผลวิเคราะห์ ตัวอย่างชุดที่ 1 น้ำมะขาม 70 % w/v

Tamarind cultivar	Organic acid		
	Oxalic acid (mg/ml)	Tartaric acid (mg/ml)	Malic acid (mg/ml)
มะขามเปรี้ยวยักษ์ (TI-PY/P)	0.86	161.43	3.51
ขันตี (TI-K/P)	0.68	18.37	8.66

- จากผลวิเคราะห์ ตัวอย่างชุดที่ 2 น้ำมะขาม 30 % w/v

Tamarind cultivar	Organic acid		
	Oxalic acid (mg/ml)	Tartaric acid (mg/ml)	Malic acid (mg/ml)
มะขามเปรี้ยวยักษ์ (TI-PY/P)	0.352	63.382	0.563
ขันตี (TI-K/P)	0.367	10.124	3.536

โดยให้น้ำมะขามในขนาด 2 มิลลิลิตร/น้ำหนักตัว1 กิโลกรัม จะมีปริมาณกรดอินทรีย์ดังนี้

- เปรี้ยวยักษ์ตามผลการวิเคราะห์ตัวอย่างชุดที่ 1 ประกอบด้วย Oxalic acid + Tartaric acid + Malic acid = 1.72 + 322.86 + 7.02 mg
- เปรี้ยวยักษ์ตามผลการวิเคราะห์ตัวอย่างชุดที่ 2 ประกอบด้วย Oxalic acid + Tartaric acid + Malic acid = 0.704 + 126.764 + 1.126 mg
- ขันตีตามผลการวิเคราะห์ตัวอย่างชุดที่ 1 ประกอบด้วย Oxalic acid + Tartaric acid + Malic acid = 1.36 + 36.74 + 17.32 mg
- ขันตีตามผลการวิเคราะห์ตัวอย่างชุดที่ 2 ประกอบด้วย Oxalic acid + Tartaric acid + Malic acid = 0.734 + 20.248 + 7.072 mg

4. หลังจากนั้น 30 นาที หนูทุกตัวจะได้รับ 3% suspension ของผงถ่านใน 0.5% carboxymethylcellulose โดยแต่ละตัวจะได้รับในปริมาตร 1 มิลลิลิตร โดยใช้เข็มป้อน
5. หลังจากทิ้งไว้ 15 นาที หนูทุกตัวจะถูกทำการุณยฆาตโดยใช้ยาสลบอีเทอร์
6. ตัดลำไส้เล็กตั้งแต่ pylorus จนถึง caecum แล้ววัดระยะการเคลื่อนที่ของผงถ่านจาก pylorus เพื่อเปรียบเทียบระยะทางที่ผงถ่านเคลื่อนที่ไปได้ของหนูแต่ละกลุ่ม

2.4.4 <u>การศึกษาฤทธิ์ของน้ำมะขามพันธุ์ต่างๆ ในการเพิ่มการเคลื่อนที่ของลำไส้ของหนูขาว</u>

<u>ตัวอย่างน้ำมะขาม</u>

การเตรียมน้ำสกัดเนื้อมะขาม โดยใช้น้ำสกัดเนื้อมะขามความเข้มข้น 20% (w/v) ในน้ำกลั่น แยกกากโดยวิธี centrifuge ที่ 1700xg ที่ 4 °C นาน 20 นาที แยกส่วยน้ำใสมาทดสอบในหนูขาว ตัวอย่างมะขามที่ทดสอบได้แก่ มะขามเปรี้ยวยักษ์ มะขามหวานขันตี มะขามศรีชมพู มะขามสีทองหนักและสีทองเบา จากจังหวัดเพชรบูรณ์

<u>สัตว์ทดลอง</u>

หนูขาว (Sprague-Dawley) ตัวผู้ น้ำหนัก 230-400 กรัม จำนวน 36 ตัว แบ่งเป็น 7 กลุ่ม กลุ่มละ 6 ตัว

<u>วิธีทดลอง</u>

ดัดแปลงจาก แบบทดสอบการเคลื่อนไหวของทางเดินอาหาร (Gastrointestinal motility test) ของ Vankatesan *et al.* (2005)

1. อดอาหารหนูก่อนทดลอง 16-18 ชม.
2. หนูทุกตัวจะได้รับสารทดสอบทางปากโดยใช้เข็มป้อน (feeding needle) โดยหนูทุกตัวจะได้รับสารแต่ละชนิดในปริมาตร 10 มิลลิลิตร/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม
3. แบ่งหนูเป็นกลุ่มต่างๆดังนี้
    a. หนูกลุ่มที่ 1 ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุม จะได้รับน้ำกลั่น
    b. หนูกลุ่มที่ 2 จะได้รับน้ำลูกพรุน ขนาด 8.4 มิลลิลิตร/น้ำหนักตัว1 กิโลกรัม ซึ่งเป็น10 เท่าของขนาดที่คนน้ำหนัก 50 กก. รับประทาน (ปกติคนรับประทานน้ำลูกพรุน 1 ขวด ในขนาด 42 มล.)

c. หนูกลุ่มที่ 3-7 จะได้รับน้ำมะขามพันธุ์ต่างๆ ในขนาด 2 มิลลิลิตร/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม

4. หลังจากนั้น 30 นาที หนูทุกตัวจะได้รับ 3% suspension ของผงถ่านใน 0.5% carboxymethylcellulose โดยแต่ละตัวจะได้รับในปริมาตร 1 มิลลิลิตร โดยใช้เข็มป้อนทางปาก
5. หลังจากทิ้งไว้ 15 นาที หนูทุกตัวจะถูกทำการุณยฆาตโดยใช้ยาสลบอีเทอร์
6. ตัดลำไส้เล็กตั้งแต่ pylorus จนถึง caecum แล้ววัดระยะการเคลื่อนที่ของผงถ่านจาก pylorus เพื่อเปรียบเทียบระยะทางที่ผงถ่านเคลื่อนที่ไปได้ของหนูแต่ละกลุ่ม

2.4.5 <u>การศึกษาฤทธิ์ของผลิตภัณฑ์ผงแห้งมะขามที่พัฒนาสำหรับใช้เป็นผลิตภัณฑ์มะขาม เพื่อเป็น laxative ในสัตว์ทดลองหนูขาว</u>

<u>สัตว์ทดลอง</u>

หนูขาว (Sprague-Dawley) ตัวผู้ น้ำหนัก 200-320 กรัม จำนวน 30 ตัว แบ่งเป็น 5 กลุ่ม กลุ่มละ 6 ตัว

<u>ผลิตภัณฑ์ผงแห้งมะขาม</u>

ผลิตภัณฑ์ผงแห้งมะขาม เตรียมจากมะขามพันธุ์เปรี้ยวยักษ์ผสมกับมะขามหวานขันตี 1: 1 (มีประมาณรวมเนื้อมะขามคิดเป็น 50% ของผงแห้งมะขาม) โดยมี polysaccharide pectin และ maltodextrin เป็น carrier โดยวิธี spray dried ได้ผลิตภัณฑ์ No.13 ทำมาทดสอบฤทธิ์ยาระบายในหนูขาว

<u>วิธีทดลอง</u>

ดัดแปลงจาก แบบทดสอบการเคลื่อนไหวของทางเดินอาหาร (Gastrointestinal motility test) ของ Vankatesan *et al.* (2005)

1. อดอาหารหนูก่อนทดลอง 16-18 ชม.
2. หนูทุกตัวจะได้รับสารทดสอบทางปากโดยใช้เข็มป้อน (feeding needle) โดยหนูทุกตัวจะได้รับสารแต่ละชนิดในปริมาตร 10 มิลลิลิตร/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม
3. แบ่งหนูเป็นกลุ่มต่างๆดังนี้

a. หนูกลุ่มที่ 1 ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุม จะได้รับน้ำกลั่น
b. หนูกลุ่มที่ 2 จะได้รับน้ำลูกพรุน ขนาด 8.4 มิลลิลิตร/น้ำหนักตัว1 กิโลกรัม ซึ่งเป็น10 เท่าของขนาดที่คนน้ำหนัก 50 กก. รับประทาน (ปกติคนรับประทานน้ำลูกพรุน 1 ขวด ในขนาด 42 มล.)
c. หนูกลุ่มที่ 3-5 จะได้รับผลิตภัณฑ์มะขาม (เทียบเท่าน้ำมะขาม 8, 4 และ 2 มล/กก ตามลำดับ) ในขนาด 4.9689, 2.4840 และ 1.2420 กรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ตามลำดับ

4. หลังจากนั้น 30 นาที หนูทุกตัวจะได้รับ 3% suspension ของผงถ่านใน 0.5% carboxymethylcellulose โดยแต่ละตัวจะได้รับในปริมาตร 1 มิลลิลิตร โดยใช้เข็มป้อน
5. หลังจากทิ้งไว้ 15 นาที หนูทุกตัวจะถูกทำการุณยฆาตโดยใช้ยาสลบอีเทอร์
6. ตัดลำไส้เล็กตั้งแต่ pylorus จนถึง caecum แล้ววัดระยะการเคลื่อนที่ของผงถ่านจาก pylorus เพื่อเปรียบเทียบระยะทางที่ผงถ่านเคลื่อนที่ไปได้ของหนูแต่ละกลุ่ม

2.5 การเตรียมผลิตภัณฑ์มะขามผงฟู่และเยลลี่จากมะขาม

2.5.1 การเตรียมน้ำมะขามเข้มข้นเพื่อนำไปทำแห้งแบบพ่น

ในการวิจัยนี้เลือกใช้มะขามเปรี้ยว จากจังหวัดนครราชสีมา (โคราช) *Tamarindus indica* L. , “Priao” (TI-P/K) เป็นวัตถุดิบในสกัดน้ำมะขาม

ขั้นตอนการเตรียมน้ำมะขามเข้มข้น

2.5.1.1 นำมะขามแกะเปลือก แยกรก เมล็ด และสิ่งแปลกปลอมต่างๆ ออก

2.5.1.2 สกัดมะขามด้วยน้ำร้อนอุณหภูมิเริ่มต้น 80 องศาเซลเซียส ในอัตราส่วนน้ำหนักมะขามต่อน้ำที่ใช้สกัดทั้งหมด 1:5 โดยแบ่งน้ำเป็น 4 ส่วน แบ่งสกัด 4 รอบ ดังนี้

รอบที่ 1 ใช้น้ำส่วนที่ 1 แช่มะขามเปียกประมาณ 1 ชั่วโมง คนทุกๆ 10 นาที คั้นและกรองด้วยตะแกรงหยาบ

รอบที่ 2 ใช้น้ำส่วนที่ 2 แช่กากมะขามที่เหลือจากการสกัดรอบที่ 1 และสกัดเช่นเดียวกับรอบที่ 1

รอบที่ 3 ใช้น้ำส่วนที่ 3 แช่กากมะขามที่เหลือจากการสกัดรอบที่ 2 และสกัดเช่นเดียวกับรอบที่ 1

รอบที่ 4 นำน้ำมะขามที่สกัดได้จากการสกัดรอบที่1 2 และ 3 รวมกัน แล้วกรองผ่านถุงผ้าดิบ นำกากที่เหลือในถุงผ้าดิบ มาสกัดด้วยน้ำส่วนที่ 4 สกัดเช่นเดียวกับรอบที่ 1 แล้วกรองผ่านถุงผ้าดิบอีกครั้ง

2.5.1.3 รวมน้ำมะขามที่สกัดได้จากข้อ 2.5.1.2 นำน้ำมะขามไปหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องเซนตริฟิวจ์ ความเร็ว 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที นำเฉพาะส่วนใสของน้ำมะขามมาทำให้เข้มข้นด้วยเครื่องระเหยแบบหมุนภายใต้ความดันต่ำ (rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส หมุนด้วยความเร็ว 100 รอบต่อนาที จนเหลือน้ำหนักน้ำมะขามเข้มข้น 1/5 ของน้ำหนักน้ำที่ใช้สกัดเริ่มต้น

2.5.2 <u>ประเมินคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของน้ำมะขามเข้มข้น</u>

นำน้ำมะขามเข้มข้นจากข้อ 2.5.1.3 มาประเมินคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีดังนี้

2.5.2.1 ลักษณะทางกายภาพ

1. สังเกตสีด้วยตาเปล่าและดมกลิ่น
2. วัดค่าสีของน้ำมะขามเข้มข้นด้วยเครื่องวัดสี Minolta Chromameter โดย การวัดสีดังกล่าวใช้ระบบสีของฮันเตอร์ (Hunter Color System) ประกอบ ด้วย ตัวแปรของสี 3 ตัว คือ L*, a* และ b*ซึ่งมีความหมายดังนี้

L* คือค่าความสว่างของสี ซึ่งมีค่าจาก 0 คือสีดำ จนถึง 100 คือสีขาว

a* คือค่าที่บ่งบอกความเป็นสีเขียวและสีแดง ที่อยู่ในตัวอย่าง โดยค่า a+ แสดงถึงความเป็นสีแดง และค่า a- แสดงความเป็นสีเขียว

b* คือค่าที่บ่งบอกความเป็นสีเหลืองและสีน้ำเงิน ที่อยู่ในตัวอย่าง โดยค่า b+ แสดงถึงความเป็นสีเหลือง และค่า b- แสดงความเป็นสีน้ำเงิน

2.5.2.2 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (total soluble solid) โดยใช้เครื่องรีแฟคโตมิเตอร์ (hand refractometer)

2.5.2.3 ความเป็นกรดด่าง (pH) โดยใช้เครื่องพีเอชมิเตอร์ (pH meter)

2.5.2.4 ปริมาณกรดทาร์ทาริกโดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง (high performance liquid chromatography: HPLC) (Gomis, 1992; Zhanguo, 2002; ขวัญเรือน ยิ้มพิมพ์ใจ, 2548; คัทลียา ลีวงศ์พันธ์ และนลินา เล้าเรืองศิลป์ชัย, 2547; จันคนา บูรณะโอสถ, 2536; ดวงสมร ลิมปิติ, 2545;วิโรจน์ ชัยพรโภคิน, 2008) วิเคราะห์หาปริมาณกรด tartaric ในน้ำมะขาม โดยนำค่าสัดส่วนพื้นที่ใต้ยอดแหลมของกราฟ จาก HPLC chromatogram ของกรดทาร์ทาริกในน้ำมะขามเข้มข้นกับสารมาตรฐาน ภายใน (internal standard) มาคำนวณหาความเข้มข้นของกรดทาร์ทาริกที่มีอยู่ในน้ำมะขามเข้มข้น โดยเทียบกับเส้นกราฟมาตรฐาน โดยการวิเคราะห์ใช้ระบบดังนี้

- คอลัมน์ (column) : C18 (Hypersil gold, 5 micron,250 mm x 4.6 mm)
- เฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) : 0.5 Ammoniumdihydrogenphosphate pH 2.6
- ความยาวคลื่นที่ใช้ตรวจสอบ(detector wavelength) : 210 นาโนเมตร (UV Detector)
- อัตราการไหล (flow rate) : 1 มิลลิลิตรต่อนาที
- อุณหภูมิในการฉีดสาร (temperature) : 25 องศาเซลเซียส
- สารมาตรฐานภายใน (internal standard) : กรดแกลลิก (gallic acid)

เจือจางน้ำมะขามที่สกัดได้ ด้วยเฟสเคลื่อนที่ในสัดส่วนที่เหมาะสม และเติมสารมาตรฐานภายใน (gallic acid) ความเข้มข้น 0.04 g/L กรองผ่าน nylon syring filter (0.45µm) และฉีดตัวอย่างปริมาตร 15 µl เข้า HPLC column ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

2.5.3 <u>การผลิตผงมะขาม โดยใช้เครื่องทำแห้งแบบพ่น (spray dryer)</u>

2.5.3.1 สภาวะในการทำแห้งแบบพ่นและการเตรียมตัวอย่าง (วีรวิทย์ ปองเปี่ยม, 2547; สุนทรี วราอุบล, 2537; สุเมธ ตันตระเธียร และคณะ, 2548)

นำน้ำมะขามเข้มข้นที่ได้จากข้อ 2.5.1 มาเติมมอลโตเด็กซ์ตรินปริมาณร้อยละ 10 20 30 และ 40 ของน้ำหนักน้ำมะขามเข้มข้นเริ่มต้น ทำให้แห้งเป็นผงมะขามด้วยเครื่องทำแห้งแบบพ่น (spray dryer) ที่อุณหภูมิลมเข้า 130 องศาเซลเซียส อุณหภูมิลมออก 90 องศา

เซลเซียส อัตราการป้อนสารเข้าเครื่อง 3 มิลลิลิตรต่อนาที ความดัน 6 บาร์ อุณหภูมิตัวอย่าง 80 องศาเซลเซียส

2.5.3.2 ประเมินคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของผงมะขามที่ได้จากการพ่นแห้ง

นำผงมะขามที่ได้จากข้อ 2.5.3.1 มาประเมินคุณสมบัติทางกายภาพ ดังนี้

1. ลักษณะทางกายภาพ (ขวัญตา ณัฐชยางกุล, 2546; เพียง อุดมเกียรติกุล, 2534; วีรวิทย์ ปองเปี่ยม, 2547)
   - สังเกตสีด้วยตาเปล่าและดมกลิ่น
   - วัดค่าสีของน้ำมะขามเข้มข้นด้วยเครื่องวัดสี Minolta Chromameter
2. ลักษณะผงมะขาม สังเกตขนาด การเกาะตัว ตำแหน่งของผงในเครื่องทำแห้งแบบพ่น
3. การละลายน้ำของผงมะขาม (สุนทรี วราอุบล, 2537; วีระวิทย์ ปองเปี่ยม, 2547)
   - เวลาในการละลายน้ำที่อุณหภูมิห้องและที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส โดยชั่งผงมะขาม น้ำหนัก 1 กรัม ละลายในน้ำอุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสปริมาตร 10 มิลลิลิตร กวนให้ละลายโดยใช้เครื่อง magnetic stirrer สังเกตด้วยตาจนผงมะขามละลายหมด บันทึกเวลาที่ผงมะขาม ละลายหมด
   - ค่าการละลาย ทำการศึกษาโดยวัดในรูปของร้อยละของปริมาณของแข็งที่ไม่ละลาย (% insoluble solid) โดยชั่งผงมะขาม 1 กรัม ให้ทราบน้ำหนัก เติมลงในน้ำเดือด 10 มิลลิลิตร คนให้ทั่วเป็นเวลา 30 วินาที กรองขณะร้อนผ่านกระดาษกรองวัตแมนเบอร์ 41 ซึ่งอบที่อุณหภูมิ 100 ± 2 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่แล้ว ใช้เครื่องดูดสุญญากาศช่วยกรองล้างตะกอนที่ค้างอยู่บนกระดาษกรองด้วย น้ำร้อนอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส จนกระทั่งไม่มีน้ำตาลเหลืออยู่ ซึ่งทดสอบโดยวิธีของโมลิช (Molisch) โดยนำน้ำล้างตะกอน 2 มิลลิลิตร เติมสารละลายแอลฟาแนฟทอล (α-naphthol) ในเอทานอลร้อยละ 5 จำนวน 2 หยด เขย่า แล้วค่อยๆ รินกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1 มิลลิลิตร ลงที่ข้างๆ ด้านในของหลอดทดลอง จะต้องไม่เกิดวงแหวนสีม่วงแล้วนำกระดาษกรองพร้อมส่วนที่ไม่ละลายไปอบให้แห้งในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 100 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นในเดซิกเคเตอร์

จนถึงอุณหภูมิห้องแล้วนำไปชั่งคำนวนค่าการละลายในรูปของร้อยละของปริมาณของแข็งที่ไม่ละลาย โดย

$$\% \text{ insoluble solid} = \frac{(A_1-A_2)}{A_3} \times 100$$

A_1 = น้ำหนักของกระดาษกรองหลังอบ

A_2 = น้ำหนักของกระดาษกรองก่อนอบ

A_3 = น้ำหนักผงมะขาม

4. ร้อยละของน้ำหนักผงมะขามที่ผลิตได้ (% yield)

นำผงมะขามที่ได้จากการทำแห้งแบบพ่นมาคำนวณน้ำหนักโดยคิดเป็นร้อยละของน้ำหนักผงมะขามที่ผลิตได้ คำนวณโดย

$$\% \text{ yield} = \frac{\text{น้ำหนักผงมะขาม}}{(\text{น้ำหนักน้ำมะขามเข้มข้น} + \text{น้ำหนักมอลโตเด็กซ์ตริน})} \times 100$$

2.5.3.3 ประเมินคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของผงมะขามที่มีลักษณะทางกายภาพที่ดีที่สุด

คัดเลือกผงมะขามที่มีลักษณะทางกายภาพที่ดีที่สุดจากการประเมินในข้อ 2.5.3.2 มาวิเคราะห์เพิ่มเติมได้แก่

1. ปริมาณความชื้นโดยใช้เครื่องวิเคราะห์ความชื้น (moisture balance)
2. ความเป็นกรดด่าง (pH) โดยละลายผงมะขาม 1 กรัมในน้ำ 10 มิลลิลิตร วัดโดยใช้เครื่องพีเอชมิเตอร์ (pH meter)
3. ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (total soluble solid) โดยละลายผงมะขาม 1 กรัม ในน้ำ 10 มิลลิลิตร โดยใช้เครื่องรีแฟคโตมิเตอร์
4. ปริมาณกรดทาร์ทาริกโดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง (high performance liquid chromatography, HPLC)

2.5.3.4 การศึกษาความคงตัวของผงมะขาม

1. คัดเลือกผงมะขามที่มีคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีที่ดีที่สุดจากข้อ 2.5.3.2 มาศึกษาความคงตัวของผงมะขาม เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องและที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน
2. ประเมินคุณสมบัติทางกายภาพ เคมี ของผงมะขาม ในช่วงเวลา 0, 7, 15 และ 30 วัน เช่นเดียวกับในข้อ 2.5.3.2 และ 2.5.3.3
3. วิเคราะห์ด้านจุลชีววิทยาของผงมะขามผง ในช่วงเวลา 0, 7 15 และ 30 วัน ดังนี้ (รายละเอียดและวิธีวิเคราะห์อยู่ในภาคผนวก 8)
    - การวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (total plate count)
    - การวิเคราะห์จำนวนยีสต์และรา (yeast and mold count)
    - การวิเคราะห์จำนวนแบคทีเรียโคลิฟอร์มทั้งหมด (total coliform) และ *Escherichia coli*
    - การวิเคราะห์ *Staphylococcus aureus*

2.5.4 <u>การพัฒนาเครื่องดื่มมะขามผงฟู่จากผงมะขามที่ได้จากการพ่นแห้ง</u>

2.5.4.1 ศึกษาหาสัดส่วนที่เหมาะสมของสารก่อฟอง (พรศักดิ์ ศรีอมรศักดิ์, 2547; Macewan, 1953; The United States Pharmacopoeia, 2005)

นำผงมะขามที่มีลักษณะทางกายภาพที่ดีที่สุดจากข้อ 2.5.3.2 มาพัฒนาสูตรเครื่องดื่มมะขามผงฟู่ โดยปรับสัดส่วนของสารก่อฟองฟู่ ได้แก่ โซเดียมไบคาร์บอเนต และกรดซิตริก โดยแบ่งการทดลองเป็น 4 สูตร แต่ละสูตรประกอบด้วยส่วนประกอบดังตารางต่อไปนี้

ตารางแสดง ส่วนประกอบของสูตรเครื่องดื่มมะขามผงฟู่ที่ปรับสัดส่วนของสารก่อฟองฟู่

ส่วนประกอบ	สูตร 1 (กรัม)	สูตร 2 (กรัม)	สูตร 3 (กรัม)	สูตร 4 (กรัม)
ผงมะขาม	3.75	3.75	3.75	3.75
โซเดียมไบคาร์บอเนต	0.13	0.26	0.39	0.52
กรดซิตริก	0.10	0.20	0.30	0.40
น้ำตาลซูโครส	4.00	4.00	4.00	4.00
โซเดียมคลอไรด์ (เกลือ)	0.13	0.13	0.13	0.13

2.5.4.2 ขั้นตอนการเตรียมเครื่องดื่มมะขามผงฟู่

1. บดส่วนผสมต่างๆให้ละเอียด แล้วชั่งส่วนประกอบต่างๆ ได้แก่ ผงมะขาม โซเดียมไบคาร์บอเนต กรดซิตริก น้ำตาลซูโครส และเกลือ ตามสัดส่วนที่กำหนดในตารางส่วนประกอบ
2. ผสมผงมะขาม กรดซิตริก น้ำตาลซูโครส และเกลือ แบบ geometric dilution
3. เติมโซเดียมไบคาร์บอเนต ลงในส่วนผสมข้อ 2 ผสมให้เข้ากัน
4. บรรจุผงเครื่องดื่มลงในถุงลามิเนตและปิดผนึกแบบสูญญากาศ

2.5.4.3 ประเมินคุณสมบัติของเครื่องดื่มมะขามผงฟู่

ชั่งผงเครื่องดื่มที่ผลิตได้แต่ละสูตรแล้วนำมาละลายในน้ำอุณหภูมิห้องปริมาตร 30 มิลลิลิตร กวนให้ละลายโดยใช้เครื่อง magnetic stirrer กวนเป็นเวลา 5 นาที แล้วประเมินคุณสมบัติดังนี้

1. รสชาติ โดยการชิม
2. ลักษณะฟองที่เกิดขึ้น โดยสังเกตขนาดและสีของฟองที่เกิดขึ้นด้วยตาเปล่า

3. ปริมาณฟองที่เกิดขึ้นในช่วงแรกของการเกิดฟอง โดยการสังเกต
4. ระยะเวลาในการยุบตัวของฟอง โดยจับช่วงเวลาตั้งแต่เกิดจนกระทั่งฟองยุบ

2.5.4.4 พัฒนาสูตรเครื่องดื่มมะขามผงฟู่โดยปรับปรุงความหวานด้วยสารให้ความหวานชนิดต่างๆ

1. ปรับสัดส่วนของสารให้ความหวานแต่ละชนิดโดยเลือกสูตรเครื่องดื่มมะขามผงฟู่ที่ดีที่สุดจากข้อ 2.5.4.3 มาปรับปรุงความหวานด้วยสารให้ความหวานชนิดต่างๆ แทนน้ำตาลซูโครส ได้แก่ น้ำตาลฟรุกโตส และสารให้ความหวานตราสวิซซี่ ซึ่งเป็นวัตถุให้ความหวานแทนน้ำตาล ประกอบด้วย แลกโตส 96.1 % แอสปาร์แตม 1.7 % และ อะซีซัลเฟม เค 1.7 % โดยปรับสัดส่วนของสารให้ความหวานต่างๆ แทนการใช้น้ำตาลซูโครส ในสูตรเครื่องดื่มมะขามผงฟู่ที่เลือกจากข้อ 2.5.4.3 ดังนี้
   - น้ำตาลฟรุกโตส น้ำหนัก 2 3 และ 4 กรัม
   - สารให้ความหวานตราสวิซซี่ 0.15 0.25 และ 0.35
   - น้ำตาลซูโครสผสมกับสารให้ความหวานตราสวิซซี่ใน อัตราส่วน 1 : 0.15 2 : 0.15 และ 3 : 0.15 กรัม
2. ขั้นตอนการเตรียมเครื่องดื่มมะขามผงฟู่
   เตรียมเครื่องดื่มมะขามผงฟู่โดยใช้สารให้ความหวานชนิดต่างๆ ตามสัดส่วนที่กำหนดในข้อ 1 ขั้นตอนการเตรียมเช่นเดียวกับข้อ 2.5.4.2
3. ประเมินคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของเครื่องดื่มมะขามผงฟู่ที่มีการปรับปรุงความหวานด้วยสารให้ความหวานชนิดต่างๆ เช่นเดียวกับข้อ 2.5.4.3

2.5.4.5 คัดเลือกสูตรเครื่องดื่มมะขามผงฟู่ที่เป็นตัวแทนของสูตรเครื่องดื่มที่เตรียมจากสารให้ความหวานแต่ละชนิด

คัดเลือกสูตรเครื่องดื่มมะขามผงฟู่ 5 สูตร ที่เป็นตัวแทนของสูตรเครื่องดื่มที่เตรียมจากสารให้ความหวานแต่ละชนิด ซึ่งมีคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพที่ดีจากการประเมินในข้อ 2.5.4.3 และ 2.5.4.4 ข้อ 3 ดังนี้

1. ตัวแทนของสูตรเครื่องดื่มที่ใช้น้ำตาลซูโครส 2 สูตร เพื่อเป็นตัวแทนของสูตรที่มีความหวานมากและความหวานน้อยอย่างละ 1 สูตร
2. ตัวแทนของสูตรเครื่องดื่มที่ใช้น้ำตาลฟรุกโตส 1 สูตร
3. ตัวแทนของสูตรเครื่องดื่มที่ใช้สารให้ความหวานตราสวิซซี่ 1 สูตร
4. ตัวแทนของสูตรเครื่องดื่มที่ใช้น้ำตาลซูโครสผสมสารให้ความหวานตราสวิซซี่ 1 สูตร

2.5.4.6 ประเมินคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของสูตรเครื่องดื่มที่ถูกคัดเลือก 5 สูตร

1. สีของเครื่องดื่มมะขามผงฟู่เมื่อละลายน้ำแล้ว โดยการสังเกตด้วยตาเปล่าและการวัดโดยใช้เครื่องวัดสี Minolta Chromameter
2. สีของผงเครื่องดื่ม โดยการสังเกตด้วยตาเปล่าและการวัดโดยใช้เครื่องวัดสี Minolta Chromameter
3. ลักษณะของผงของเครื่องดื่ม
4. กลิ่น โดยการดม
5. ความเป็นกรด-ด่าง (pH) โดยใช้เครื่องพีเอชมิเตอร์ (pH meter)
6. ปริมาณความชื้น โดยใช้เครื่องวิเคราะห์ความชื้น (moisture balance)
7. ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (total soluble solid) โดยใช้เครื่องรีแฟคโตมิเตอร์ (hand refractometer)
8. การละลายน้ำที่อุณหภูมิห้องและที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส วิธีการวัดเช่นเดียวกับข้อ 2.5.3.2 ข้อ 3

2.5.4.7 ประเมินความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มมะขามผงฟู่

นำเครื่องดื่มมะขามผงฟู่ทั้ง 5 สูตรจากข้อ 2.5.4.5 มาประเมินความพึงพอใจโดยใช้วิธีให้คะแนนการยอมรับของผลิตภัณฑ์ในด้านต่างๆ โดยผู้ประเมินกึ่งฝึกฝน 10 ราย ให้คะแนนความชอบต่อผลิตภัณฑ์ ตั้งแต่ 1- 5 โดยคะแนน 1 = ไม่ชอบมากที่สุด และคะแนน 5 = ชอบมากที่สุด ดังนี้

1. สีและลักษณะที่ปรากฏให้เห็นภายนอกของผงเครื่องดื่ม
2. สีและลักษณะที่ปรากฏให้เห็นภายนอกของผงเครื่องดื่มเมื่อละลายน้ำ
3. กลิ่นของผงเครื่องดื่มเมื่อละลายน้ำ
4. รสชาติของเครื่องดื่ม
5. ลักษณะการเกิดฟอง
6. ความชอบโดยรวม

2.5.4.8 การศึกษาความคงตัวของเครื่องดื่มมะขามผงฟู่

1. คัดเลือกเครื่องดื่มมะขามผงฟู่ที่มีคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีที่ดีที่สุดจากข้อ 2.5.4.6 มาศึกษาความคงตัวของเครื่องดื่มมะขามผง เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องและที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน
2. ประเมินคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของเครื่องดื่มมะขามผงฟู่ ในช่วงเวลา 0, 7, 15 และ 30 วัน เช่นเดียวกับข้อ 4.6.2-4.6.7 และวิเคราะห์เพิ่มเติมในด้านปริมาณกรดทาร์ทาริกโดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง (high performance liquid chromatography, HPLC)
3. วิเคราะห์ด้านจุลชีววิทยาของเครื่องดื่มมะขามผงฟู่ ในช่วงเวลา 0, 7, 15 และ 30 วัน เช่นเดียวกับในข้อ 2.5.3.4 ข้อ 3

2.5.5 <u>การพัฒนาเยลลี่จากผงมะขามที่ได้จากการพ่นแห้ง</u>

2.5.5.1 ศึกษาหาสัดส่วนที่เหมาะสมของ น้ำตาลซูโครส ผงมะขาม และเพกติน

นำผงมะขามที่มีลักษณะทางกายภาพที่ดีที่สุดจากข้อ 2.5.3.2 มาพัฒนาสูตรเยลลี่มะขาม โดยปรับสัดส่วนของน้ำตาลซูโครส ผงมะขาม และเพกติน ที่ทำให้เกิดการแข็งตัวของเยลลี่ โดยวางแผนการทดลองแบบ symmetric factorial design ขนาด 3*3*3 จำนวนการทดลองทั้งหมด 27 สูตร ทดลอง 2 ซ้ำ โดยปรับเปลี่ยนปริมาณน้ำตาลซูโครส ผงมะขาม และเพกติน ดังนี้

- น้ำตาลซูโครส ร้อยละ 35, 40 และ 45 โดยน้ำหนัก
- ผงมะขาม ร้อยละ 3, 6 และ 9 โดยน้ำหนัก
- เพกติน ร้อยละ 0.8, 1.0 และ 1.2 โดยน้ำหนัก

และเติมเกลือร้อยละ 0.1 และปรับปริมาตรให้ครบด้วยน้ำ

2.5.5.2 ขั้นตอนการเตรียมเยลลี่

1. ชั่งส่วนประกอบต่างๆได้แก่ น้ำตาลซูโครส ผงมะขาม เพกติน เกลือ และน้ำ ตามสัดส่วน ที่กำหนด
2. ละลายเพกตินกับน้ำตาลซูโครสบางส่วนในน้ำโดยใช้ magnetic stirrer คนจนเพกตินพองตัวดี
3. เติมน้ำตาลส่วนที่เหลือลงในส่วนสารละลายเพกติน คนจนน้ำตาลละลายหมด
4. เติมผงมะขามลงในส่วนผสมข้อ 2 คนจนผงมะขามละลายหมด
5. ต้มเดือดนาน 10 นาที
6. บรรจุเยลลี่ขณะร้อนลงในภาชนะที่ทำความสะอาดแล้ว ตั้งทิ้งไว้ให้เกิดเจล ที่อุณหภูมิห้อง 3 ชั่วโมง

2.5.5.3 ประเมินผลการเกิดเจลของเยลลี่

สังเกตจากการแข็งตัวของเยลลี่ที่เตรียมได้ เมื่อตั้งทิ้งไว้ให้เกิดเจลที่อุณหภูมิห้อง 3 ชั่วโมง โดยเอียงภาชนะ ถ้าแข็งตัวตามรูปภาชนะ แสดงว่าเกิดเจล ถ้ามีลักษณะเป็นสารละลายน้ำเชื่อมข้นหนืดไหลตามการเอียง แสดงว่าไม่เกิดเจล

2.6.5.4 ประเมินคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีเฉพาะสูตรเยลลี่ที่เกิดเจล

เลือกเฉพาะสูตรเยลลี่ที่เกิดเจลจากข้อ 2.5.5.3 มาประเมินดังนี้

1. ลักษณะที่ปรากฏโดยสังเกตด้วยตาเปล่า ได้แก่ สี ความใส
2. การไหวตัว ความคงตัว โดยการกดด้วยช้อน
3. รอยตัดด้วยช้อน ใช้ช้อนตัดเยลลี่ สังเกตความเรียบคมของรอยตัด ความคงรูปของรอยตัด การเหนียวติดช้อนของเนื้อเยลลี่
4. ความเป็นกรด-ด่าง (pH) โดยละลายเนื้อเยลลี่ 10 กรัม ในน้ำเดือด 20 มิลลิลิตร วัดโดยใช้เครื่องพีเอชมิเตอร์ (pH meter)
5. ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (total soluble solid) โดยใช้เครื่องรีแฟคโตมิเตอร์ (hand refractometer)
6. ความแข็ง (hardness) โดยใช้เครื่องวัดเนื้อสัมผัส (texture analyzer)

ใช้เครื่องวัดเนื้อสัมผัส (texture analyzer) วัดค่าความแข็งของเจล (hardness) ของเยลลี่ โดยใช้หัว P100 (100 mm. diameter cylinder stainless) วัดลักษณะเนื้อสัมผัสในระบบ TPA ทดลองซ้ำ 3 ครั้ง เตรียมตัวอย่างโดยตัดเยลลี่เป็นชิ้นลูกบาศก์ขนาด 1x1x1 นิ้ว เพื่อใช้ในการทดลอง โดยตั้งค่า parameter ของเครื่องดังนี้

Parameter

Pre test speed	2.0	mm/s
Test speed	2.0	mm/s
Post test speed	2.0	mm/s
Rupture test dish	1%	
Distance	30%	

Trigger

Type	Auto
Force	5 g
Stop plot at final	

2.5.5.5 พัฒนาสูตรเยลลี่โดยปรับปรุงความหวานด้วยน้ำตาลชนิดต่างๆ

1. ปรับสัดส่วนของสารให้ความหวานแต่ละชนิด

เลือกสูตรเยลลี่ที่ดีที่สุดจากข้อ 2.5.5.4 มาปรับปรุงความหวาน โดยใช้น้ำตาลชนิดต่างๆ ได้แก่ น้ำตาลซูโครส น้ำตาลฟรุกโตส โดยปรับสัดส่วนของน้ำตาล ดังนี้

- น้ำตาลฟรุกโตส ในสัดส่วนร้อยละ 50 60 และ 70 ของน้ำหนักน้ำตาลซูโครสที่ใช้ในสูตรที่เลือกจากข้อ 2.5.5.4
- น้ำตาลฟรุกโตสผสมกับน้ำตาลซูโครส ในสัดส่วนร้อยละ 25:37.5 โดยน้ำหนักของน้ำตาลซูโครสที่ใช้ในสูตรที่เลือกจากข้อ 2.5.5.4
- น้ำตาลฟรุกโตสผสมกับน้ำตาลซูโครส ในสัดส่วนร้อยละ 50 : 25 โดยน้ำหนักของน้ำตาลซูโครสที่ใช้ในสูตรที่เลือกจากข้อ 2.5.5.4

2. ขั้นตอนการเตรียมเยลลี่

เตรียมเยลลี่โดยใช้สารให้ความหวานชนิดต่างๆ ตามสัดส่วนจากข้อ 1 โดยขั้นตอนการเตรียมเป็นเช่นเดียวกับข้อ 2.5.5.2 จากนั้นเคี่ยวเยลลี่ให้เดือดจนกระทั่งวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับสูตรเยลลี่ ที่เลือกจากข้อ 2.5.5.4 แล้วบรรจุเยลลี่ขณะร้อนลงในภาชนะตั้งทิ้งไว้ให้เกิดเจล ที่อุณหภูมิห้อง 3 ชั่วโมง

3. ประเมินผลการเกิดเจลของเยลลี่ เช่นเดียวกับข้อ 2.5.5.3
4. ประเมินคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีเช่นเดียวกับข้อ 2.5.5.4 เฉพาะสูตรที่เกิดเจล

2.5.5.6 เลือกสูตรเยลลี่ที่เป็นตัวแทนของสูตรเยลลี่ที่เตรียมจาก สารให้ความหวานแต่ละชนิด

คัดเลือกสูตรเยลลี่ 4 สูตร ที่เป็นตัวแทนของสูตรเยลลี่ที่เตรียมจากสารให้ความหวานแต่ละชนิด ซึ่งมีคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีที่ดีจากการประเมินในข้อ 2.5.5.4 และ 2.5.5.5 ข้อ 4 ดังนี้

1. ตัวแทนของเยลลี่ที่ใช้น้ำตาลซูโครส 2 สูตร เพื่อเป็นตัวแทนของสูตรเยลลี่ที่มีความหวานมากและความหวานน้อยอย่างละ 1 สูตร
2. ตัวแทนของเยลลี่ที่ใช้น้ำตาลฟรุกโตส 1 สูตร
3. ตัวแทนของเยลลี่ที่ใช้น้ำตาลซูโครสผสมน้ำตาลฟรุกโตส 1 สูตร

2.5.5.7 ประเมินคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของเยลลี่ที่ใช้น้ำตาลต่างๆ ดังนี้

1. รสชาติและกลิ่น โดยการชิมและดม
2. ค่าสี โดยใช้เครื่องวัดสี Minolta chromameter
3. ปริมาณกรดทาร์ทาริกโดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง (high performance liquid chromatography, HPLC)

2.5.5.8 ประเมินความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์เยลลี่

นำเยลลี่ทั้ง 4 สูตรจากข้อ 2.5.5.6 มาประเมินความพึงพอใจโดยใช้วิธีให้คะแนน การยอมรับของผลิตภัณฑ์ในด้านต่างๆ โดยผู้ประเมินกึ่งฝึกฝน 10 ราย ให้คะแนนความชอบต่อผลิตภัณฑ์ ตั้งแต่ 1- 5 โดยคะแนน 1 = ไม่ชอบมากที่สุด และคะแนน 5 = ชอบมากที่สุด ดังนี้

1. สี ลักษณะที่ปรากฏให้เห็นภายนอก
2. กลิ่นของเยลลี่
3. รสชาติของเยลลี่
4. เนื้อสัมผัสขณะรับประทาน
5. รอยตัดเยลลี่ด้วยช้อน
6. ความชอบโดยรวม

2.5.6 <u>การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ</u>

ใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบจำแนกทางเดียว (One-Way Analysis of variance, ONE-WAY ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างคู่ด้วยวิธี Duncan 's Multiple Range Test ผลการวิเคราะห์แสดงค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

1. การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดอินทรีย์ และ polysaccharide ในเนื้อมะขาม

การวิจัยได้นำมะขามตัวอย่าง คือ *Tamarindus indica* L. สายพันธุ์ปลูก ได้แก่ มะขามเปรี้ยวยักษ์ (TI-PY/P) มะขามหวานศรีชมพู (TI-SP/P) สีทองหนัก (TI-STN/P) สีทองเบา (TI-STB/P) จากจังหวัดเพชรบูรณ์ และมะขามเปรี้ยว (TI-P/K) มะขามศรีชมพู (TI-SP/K) สีทองหนัก (TI-STN/K) จากจังหวัดนครราชสีมา (โคราช) มาศึกษาวิจัย ได้ผลการวิจัยดังต่อไปนี้

1.1 การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดอินทรีย์ในเนื้อมะขาม

การวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของกรดอินทรีย์ (organic acid) ที่เป็นองค์ประกอบของมะขามโดยเทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC) โดยใช้เครื่อง HPLC instrument (class VP, system controller, Shimadzu, Japan) ใช้ column C18 Hypersil Gold 250x4.6 mm และ UV-Vis Detector SPD-10 Avvp โดยใช้ condition ที่พัฒนาจากงานวิจัยของ Zhanguo (2002) และ Khanthapok (2007) ดังต่อไปนี้

HPLC parameter	Optimized condition
Column	C18 column (5µm, 250x4.6 mm)
Mobile phase	0.5% $(NH_4)H_2PO_4$ (w/v),pH 2.6
Flow rate	1 ml/min
Time	25 min
Detector	UV-detector at 210 nm
Temperature	25 °C
Internal Standard	Gallic acid

จากการวิเคราะห์หปริมาณและองค์ประกอบของกรดอินทรีย์ของน้ำสกัดเนื้อมะขามชนิดเปรี้ยวและชนิดหวาน ต่างสายพันธุ์ ที่เก็บรวบรวมจากจังหวัดนครราชสีมา (โคราช) ดังแสดงไว้ใน

ตารางที่ 1 และตัวอย่างมะขามเปรี้ยวและหวานต่างสายพันธุ์จากจังหวัดเพชรบูรณ์ ดังแสดงไว้ในตารางที่ 2 ด้วยเทคนิค HPLC พบว่าประกอบด้วยกรดอินทรีย์ 6 ชนิด ได้แก่ กรด Oxalic (OA) กรด tartaric (TA) กรด L-Malic (MA) กรด citric (CA) กรด fumaric (FA) และกรด succinic (SA) และพบว่ากรด Tartaric เป็นองค์ประกอบหลักที่พบมากที่สุด ทั้งในมะขามชนิดเปรี้ยวและชนิดหวาน ซึ่งมะขามชนิดเปรี้ยวจะมีปริมาณของกรด Tartaric สูงมากกว่ามะขามชนิดหวาน 4-8 เท่า (ตารางที่ 1 และ 2) ในขณะที่กรดอินทรีย์ชนิดอื่นๆ พบในปริมาณแตกต่างกัน ทั้งในชนิดเปรี้ยวและหวาน ปริมาณกรดอินทรีย์ที่พบมากถัดมาคือ กรด malic ส่วนที่พบจำนวนน้อย คือ กรด fumaric การวิเคราะห์เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการแยกกรดอินทรีย์แต่ละชนิดและการยืนยันความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ ได้แก่ specificity, linearity, sensitivity ตลอดจน accuracy และ precision ดังแสดงไว้ใน ภาคผนวกที่ 1

ลักษณะเด่นของมะขาม คือ เนื้อมะขามมีกรดอินทรีย์สูง โดยเนื้อมะขามชนิดเปรี้ยวมีปริมาณกรดทาร์ทาริกสูงถึง 12.20-23.80 % ซึ่งสูงกว่าพืชชนิดอื่นๆที่มีการศึกษาไว้ (Ulrich, 1970) นอกจากกรดทาร์ทาริกแล้วยังมีกรดอินทรีย์ชนิดอื่นๆ ที่พบในมะขาม คือ กรดออกซาลิก กรดแอสคอบิก ซักซินิก ซิตริก และควินิก (Lewis, Neelakantan, 1964; Anon, 1976) โดยกรดแอสคอบิกที่พบในมะขามจะมีปริมาณน้อยมาก ประมาณ 2-20 มิลลิกรัม/100 กรัม (Lefevre, 1971) สำหรับการทดลองนี้กรดอินทรีย์ที่พบในเนื้อมะขาม คือ กรดออกซาลิก ทาร์ทาริก มาลิก ซิตริก และซักซินิก แต่ไม่พบกรดแอสคอบิกตามข้อมูลที่มีการรายงานไว้แล้ว มีนักวิจัยแต่ละกลุ่มได้รายงานปริมาณของกรดทาร์ทาริกในเนื้อมะขามที่มีค่าแตกต่างกันไป ได้แก่ Hasan และ Ijaz (1972) พบว่าในเนื้อมะขามเปรี้ยวในประเทศปากีสถานมีปริมาณกรดทาร์ทาริกประมาณ 8.40-12.40% ปริมาณกรดทาร์ทาริกของมะขามในประเทศไทยพบมี 2.50-11.30% โดยมะขามชนิดหวานมีปริมาณกรดทาร์ทาริกน้อยกว่ามะขามชนิดเปรี้ยว คือ มีค่าต่ำกว่า 2.00-3.20% (Feungchan *et al*., 1996) ขณะที่การรายงานของชูศักดิ์ สัจจพงษ์และคณะ (2542) พบว่ามะขามชนิดเปรี้ยวมีปริมาณกรดทาร์ทาริกปะมาณ 12.00-17.00%

เมื่อนำข้อมูลของคณะผู้วิจัยต่างๆ ที่มีรายงานไว้แล้วมาเปรียบเทียบข้อมูลที่ได้จากการทดลองในครั้งนี้พบว่ามะขามชนิดเปรี้ยว “เปรี้ยวยักษ์” (จ.เพชรบูรณ์) “เปรี้ยว” (จ.นครราชสีมา) มีปริมาณของกรดทาร์ทาริกใกล้เคียงกับค่าที่ชูศักดิ์ สัจจพงษ์และคณะ (2542) ได้รายงานไว้ มะขามชนิดหวาน “ขันตี” (จ.เพชรบูรณ์) “ศรีชมภู” (จ.นครราชสีมา) มีปริมาณกรดทาร์ทาริกใกล้เคียงกับค่าที่

ตารางที่ 1 ปริมาณกรดอินทรีในเนื้อมะขามสดของมะขามไทยสายพันธุ์ต่างๆ จากจังหวัดนครราชสีมา (โคราช)

T.indica Cultivars	Organic acids, mean (SD)					
	mg/100g					
	OA	TA	SA	FA	L-MA	CA
มะขามเปรี้ยว TI-P/K	92.667 (0.445)	8993.523 (57.778)	160.850 (4.338)	0.421 (0.002)	575.997 (1.799)	52.208 (0.703)
ศรีชมพู TI-SP/K	119.009 (1.042)	2402.317 (1.992)	205.433 (7.613)	1.130 (0.017)	1141.025 (1.619)	80.994 (1.077)
สีทองหนัก TI-STN/K	163.231 (3.428)	1607.168 (34.288)	235.369 (9.136)	3.218 (0.068)	1696.244 (22.277)	79.362 (3.791)

ตารางที่ 2 ปริมาณกรดอินทรีย์ในเนื้อมะขามสดของมะขามไทยสายพันธุ์ต่างๆ จากจังหวัดเพชรบูรณ์

T.indica Cultivars	Organic acids, mean (SD)					
	mg/100g					
	OA	TA	SA	FA	L-MA	CA
เปรี้ยวยักษ์ TI-PY/P	95.781 (2.854)	17301.310 (281.46)	-	1.337 (0.019)	615.938 (18.668)	231.000 (23.71)
ศรีชมพู TI-SP/P	127.518 (8.565)	2173.550 (87.365)	17.895 (3.111)	0.919 (0.024)	1340.118 (76.407)	60.917 (1.009)
สีทองหนัก TI-STN/P	163.773 (2.856)	2309.131 (52.674)	204.422 (8.259)	4.430 (0.175)	1786.720 (2.022)	238.996 (4.044)
ขันตี TI-K/P	100.854 (0.825)	2785.641 (0.219)	217.191 (2.093)	2.215 (0.057)	971.124 (4.027)	87.261 (0.517)
สีทองเบา TI-STB/P	192.424 (0.128)	2245.743 (47.406)	275.483 (8.695)	4.180 (0.062)	2457.860 (7.148)	280.148 (6.500)

Feungchan และคณะ (1996) ได้รายงานไว้ ส่วนมะขามชนิดหวาน “สีทองหนัก” มีปริมาณ กรดทาร์ทาริกน้อยที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับมะขามพันธุ์ปลูกอื่นและเปรียบเทียบค่าที่ได้รายงานไว้แล้ว

เนื้อมะขามและน้ำสกัดเนื้อมะขาม มีการนำมาใช้บำบัดอาการท้องผูกนานมาแล้ว กรดอินทรีย์ในเนื้อมะขามอาจเป็นสารออกฤทธิ์สำคัญช่วยการระบาย โดยการไปเพิ่มการบีบตัวของลำไส้ จึงน่าสนใจศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณกรดอินทรีย์ในเนื้อมะขามและฤทธิ์การระบายของมะขามทั้งสายพันธุ์เปรี้ยวและพันธุ์หวานที่ปลูกในประเทศไทย โดยเฉพาะที่จังหวัดเพชรบูรณ์และจังหวัดนครราชสีมาที่ปลูกกันมาก และนำมาทำการศึกษาในการวิจัยครั้งนี้ โดยการศึกษาในสัตว์ทดลองหนูขาว (rat) ซึ่งจะศึกษาฤทธิ์การระบายของน้ำสกัดจากเนื้อมะขามต่างสายพันธุ์ และจากผลิตภัณฑ์ที่เตรียมจาก น้ำสกัดเนื้อมะขาม เตรียมเป็นผลิตภัณฑ์ในรูปของผงแห้ง นำมาทดสอบฤทธิ์การระบายเปรียบเทียบกับน้ำสกัดของเนื้อมะขาม

1.2 <u>การสกัดและการวิเคราะห์ polysaccharide ในเนื้อมะขาม (pulp)</u>

โดยเลือกตัวอย่างมะขามชนิดเปรี้ยวยักษ์จากจังหวัดเพชรบูรณ์ที่มีปลูกมากและราคาถูก และมะขามเปรี้ยวและมะขามหวานจากจังหวัดนครราชสีมานำมาศึกษา

1.2.1 <u>เปอร์เซ็นต์ yield ของพอลิแซ็กคาไรด์จากเนื้อมะขาม</u>

ลักษณะพอลิแซ็กคาไรด์จากเนื้อมะขาม และเปอร์เซ็นต์ yield ที่สกัดได้จากมะขามชนิดเปรี้ยว “เปรี้ยวยักษ์” (จ.เพชรบูรณ์) “เปรี้ยว” (จ.นครราชสีมา) และชนิดหวาน “ศรีชมภู” และ “สีทองหนัก” (จ.นครราชสีมา) แสดงตารางที่ 3 ตามลำดับ

เปอร์เซ็นต์ yield ของการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์เนื้อมะขามสายพันธุ์ปลูกศรีชมภู (จ.นครราชสีมา) มีเปอร์เซ็นต์ yield ของการสกัดสูงที่สุดและมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากสายพันธุ์ปลูกสีทองหนัก (จ.นครราชสีมา) และ มะขามเปรี้ยวยักษ์ (จ.เพชรบูรณ์) เปอร์เซ็นต์ yield ของพอลิแซ็กคาไรด์ในเนื้อมะขามเปรี้ยว (จ.นครราชสีมา) สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเทียบกับเนื้อมะขามเปรี้ยวยักษ์(จ.เพชรบูรณ์) ซึ่งเปอร์เซ็นต์ yield ของการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ของพืชขึ้นอยู่กับกรรมวิธีในการสกัด วิธีสกัด สารเคมีที่ใช้ ชนิดของพืช และตำแหน่งของเซลล์พืชที่นำมาสกัด สิ่งเหล่านี้ล้วนทำให้ได้พอลิแซ็กคาไรด์มีสมบัติต่างกันอีกด้วย

1.2.2 <u>การวิเคราะห์องค์ประกอบพอลิแซ็กคาไรด์ของเนื้อมะขาม</u>

<u>การวิเคราะห์โดย FT-IR ของพอลิแซ็กคาไรด์ของเนื้อมะขาม</u>

สเปคตรัมอินฟาเรดของพอลิแซ็กคาไรด์เนื้อมะขามที่วิเคราะห์โดย Fourier Transform Infrared Spectrometry (FT-IR) ทดลองโดยนำพอลิแซ็กคาไรด์เนื้อมะขามมาบดผสมรวมกับโพแทสเซียมโบรไมด์แล้วอัดให้เป็นแผ่น เส้นกราฟสเปคตรัมของพอลิแซ็กคาไรด์เนื้อมะขามชนิดเปรี้ยว ได้แก่ มะขามเปรี้ยวยักษ์ (จ.เพชรบูรณ์) มะขามเปรี้ยว (จ.นครราชสีมา) และชนิด

ตารางที่ 3 ลักษณะที่เห็นด้วยสายตาและปริมาณที่สกัดได้ของพอลิแซ็กคาไรด์จากเนื้อมะขามที่แยกได้จากเนื้อมะขามจังหวัดเพชรบูรณ์ (P) และ นครราชสีมา (โคราช, K)

T.indica Cultivars	Appearance of polysaccharide isolated	Aqueous dispersion of polysaccharide	% yield of polysaccharide (mean (SD))
Type sour			
"Priao-yak" (TI-PY/P)	grayish white powder	grayish white opaque	1.74[c] (0.03)
"Priao" (TI-P/K)	light brown powder	brown opaque	2.44[ab] (0.16)
Type sweet			
"Srichomphu" (TI-SP/K)	brown powder	brown opaque	2.75[a] (0.20)
"Sithong-nak" (TI-STH/K)	brown powder	brown opaque	1.98[bc] (0.30)

a,b,c show significant difference between cultivar at $P<0.05$

หวาน ได้แก่ ศรีชมภูและสีทองหนัก (จ.นครราชสีมา) ถูกนำมาเปรียบเทียบกับสเปคตรัมของสารมาตรฐานเพคติน แสดงในรูปที่ 1

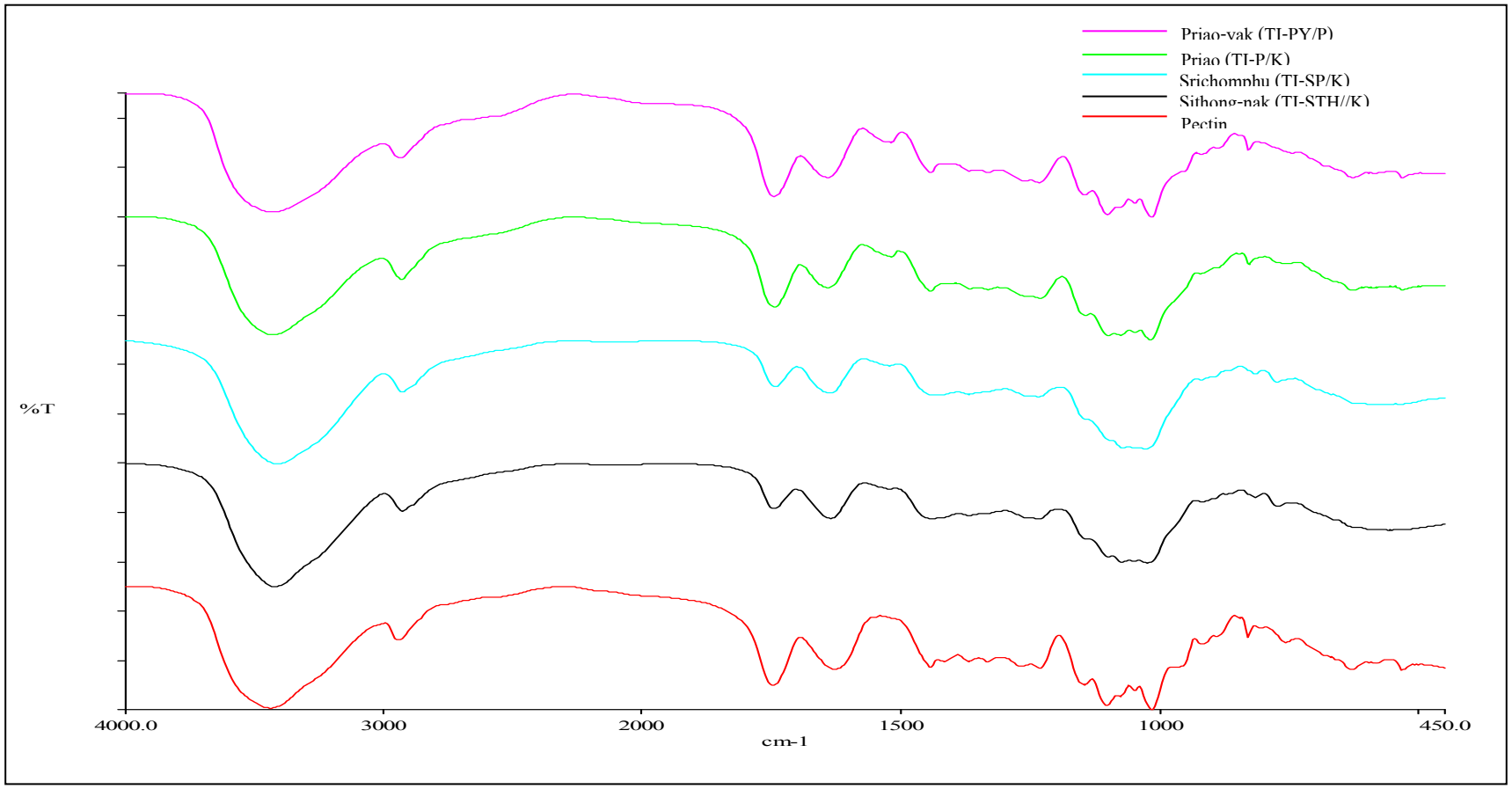
จากรูปที่ 1 สเปคตรัมอินฟาเรดของมะขามชนิดเปรี้ยว “เปรี้ยวยักษ์” (จ.เพชรบูรณ์) “เปรี้ยว” (จ.นครราชสีมา) และชนิดหวาน “ศรีชมภู” และ “สีทองหนัก” (จ.นครราชสีมา) มีลักษณะคล้ายกันกับสเปคตรัมอินฟาเรดของเพคติน จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าพอลิแซ็กคาไรด์ของเนื้อมะขามแต่ละสายพันธุ์ปลูกมีส่วนประกอบของเพคติน (pectic polysaccharides) ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Kulkarni (1997) ซึ่งพบว่าเนื้อมะขามประกอบไปด้วยเพคติน กรดทาร์ทาริก และโพแทสเซียมไบทาร์เทรต

จากรูปที่ 2-6 แสดงสเปคตรัมอินฟาเรดของเพคตินใน citrus fruit เปรียบเทียบกับ polysaccharide จากเนื้อมะขามชนิดเปรี้ยว “เปรี้ยวยักษ์” (จ.เพชรบูรณ์) “เปรี้ยว” (จ.นครราชสีมา) และชนิดหวาน “ศรีชมภู” และ “สีทองหนัก” (จ.นครราชสีมา) ตามลำดับ

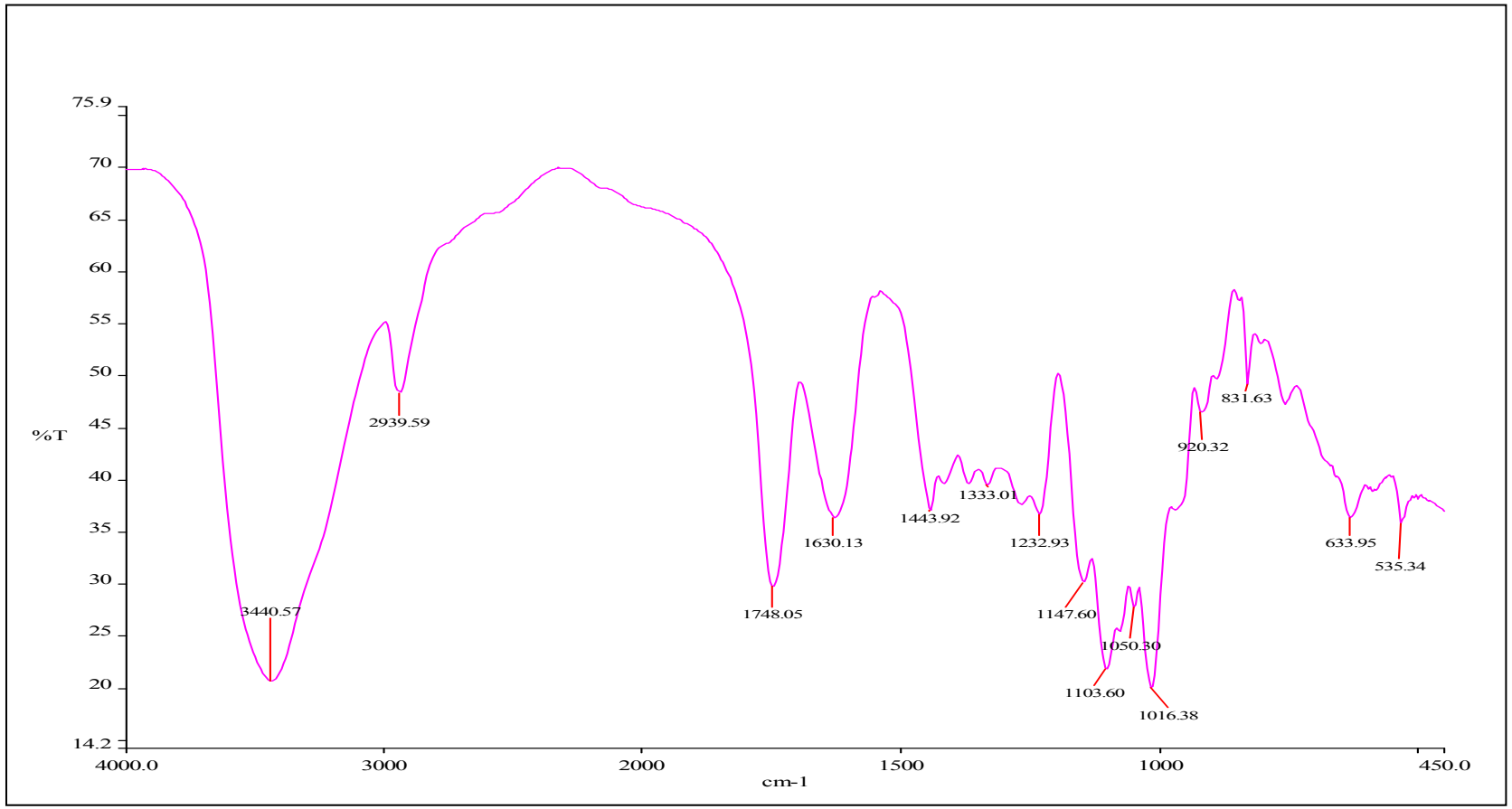
<u>การวิเคราะห์น้ำตาลพวก uronic acids ด้วยเทคนิค HPLC-RID</u>

ภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการใช้เทคนิค HPLC เพื่อการวิเคราะห์น้ำตาลพวก uronic acids มีสภาวะดังต่อไปนี้

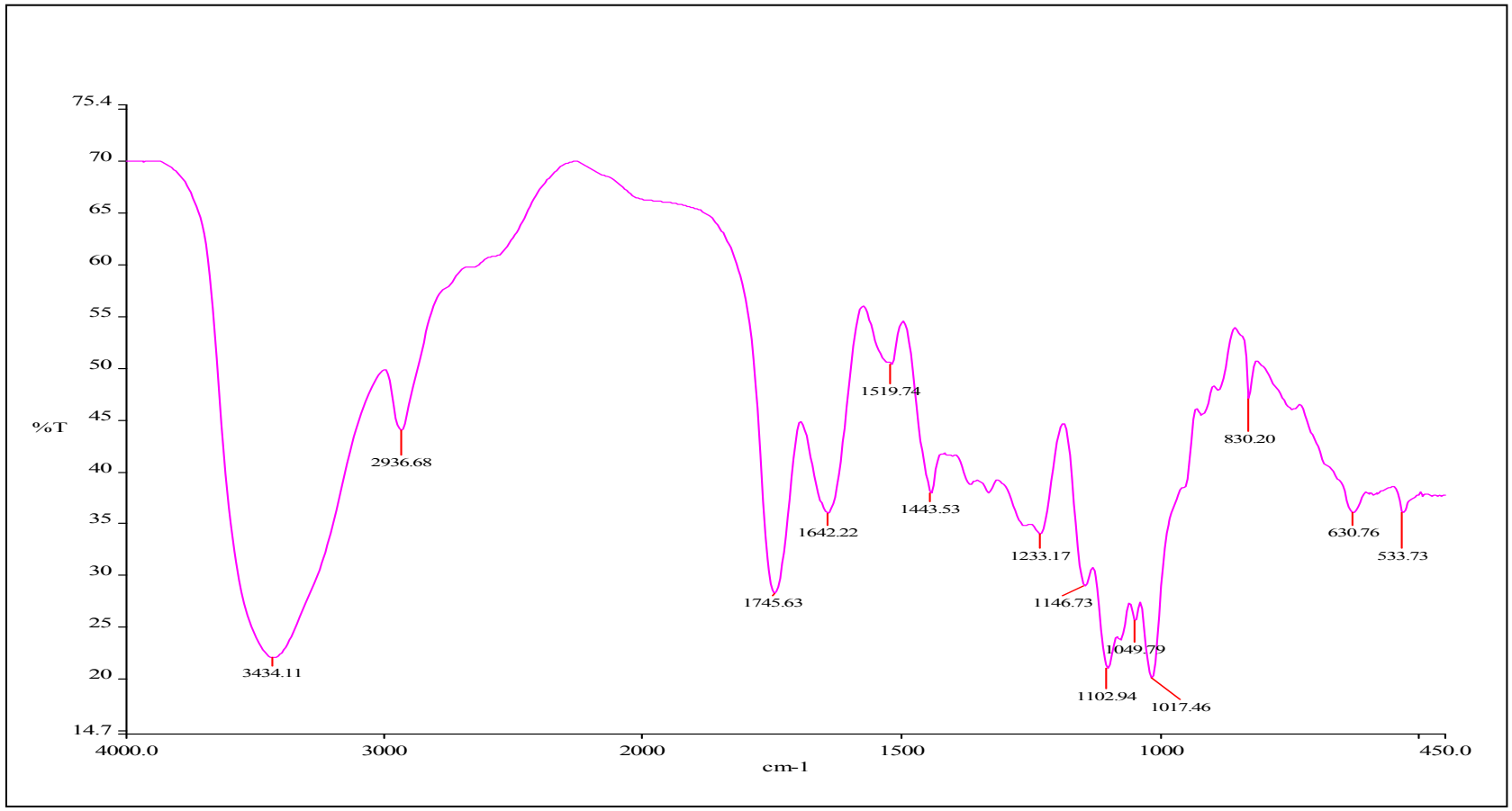
HPLC parameters	Optimized condition
Column	Amino column (Carbohydrate-NH_2, 250x4.6 mm.)
Mobile phase	NaH_2PO_4, pH=4.6
Flow rate	1.50 mL/min
Time	25 min
Detector	Refractive Index Detector (RID)
Temperature	35 °C



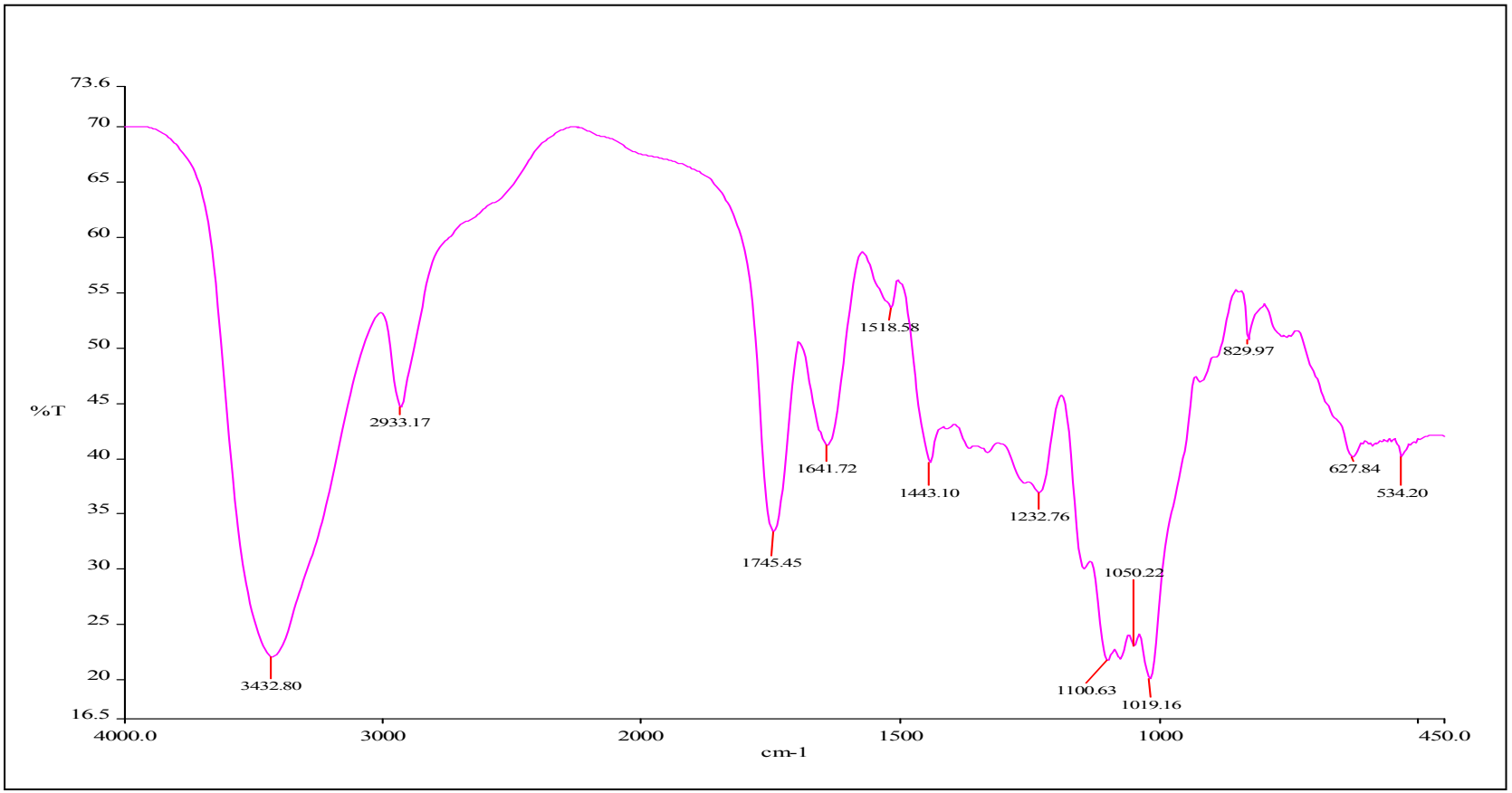
รูปที่ 1 Fourier transform infrared spectraของ tamarind pulp polysaccharide จากเนื้อมะขามพันธุ์ปลูกชนิดต่างๆ จากเส้นบนสุดแสดง spectrum ของมะขาม “เปรี้ยวยักษ์” จากเพชรบูรณ์ (P), “เปรี้ยว”, “ศรีชมภู” และ “สีทองหนัก” จากนครราชสีมา (โคราช,K) เปรียบเทียบกับเพคตินจากผลส้ม (citrus fruits) ของเส้นล่างสุด



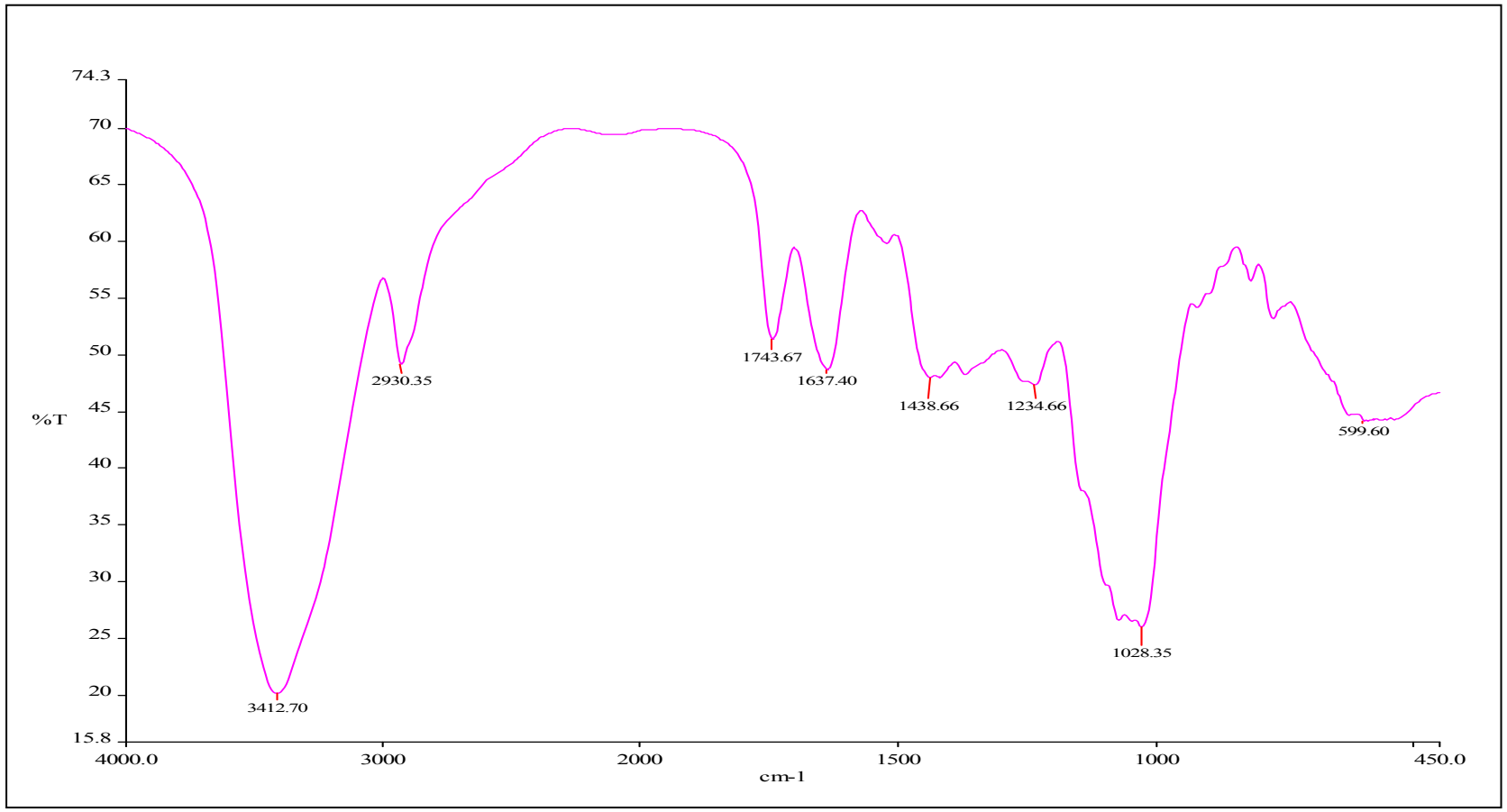
รูปที่ 2 Fourier transform infrared spectrum ของ เพคตินจากผลส้ม (citrus fruits)



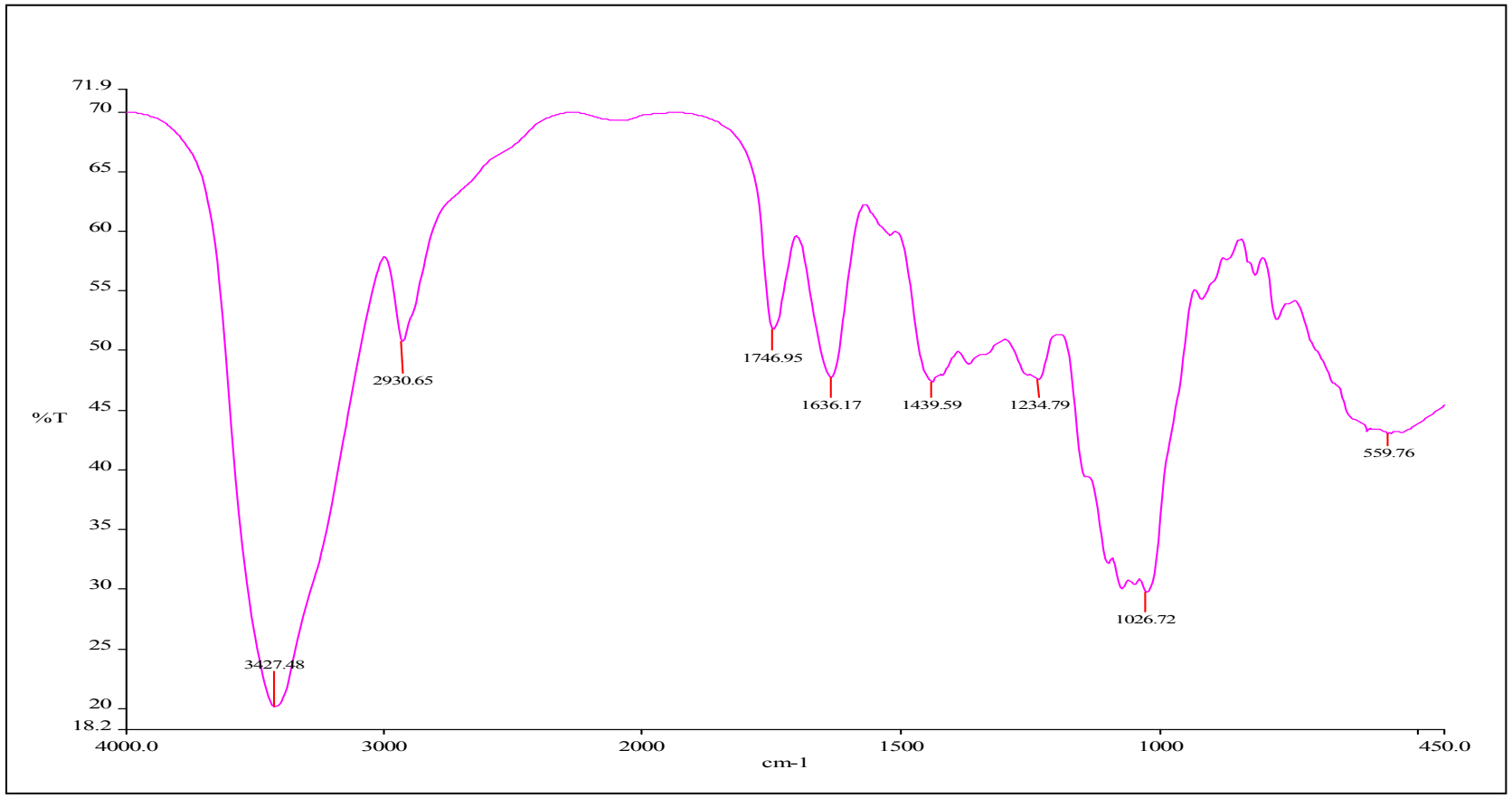
รูปที่ 3 Fourier transform infrared spectrum ของ tamarind pulp polysaccharide จากเนื้อมะขามพันธุ์ปลูก “เปรี้ยวยักษ์” (TI-PY/P) จากจังหวัดเพชรบูรณ์ (P)



รูปที่ 4 Fourier transform infrared spectrum ของ tamarind pulp polysaccharide จากเนื้อมะขามพันธุ์ปลูก “เปรี้ยว” (TI-P/K) จากจังหวัดนครราชสีมา (โคราช,K)



รูปที่ 5 Fourier transform infrared spectrum ของ tamarind pulp polysaccharide จากเนื้อมะขามพันธุ์ปลูก “ศรีชมภู” (TI-SP/K) จากจังหวัดนครราชสีมา (โคราช,K)



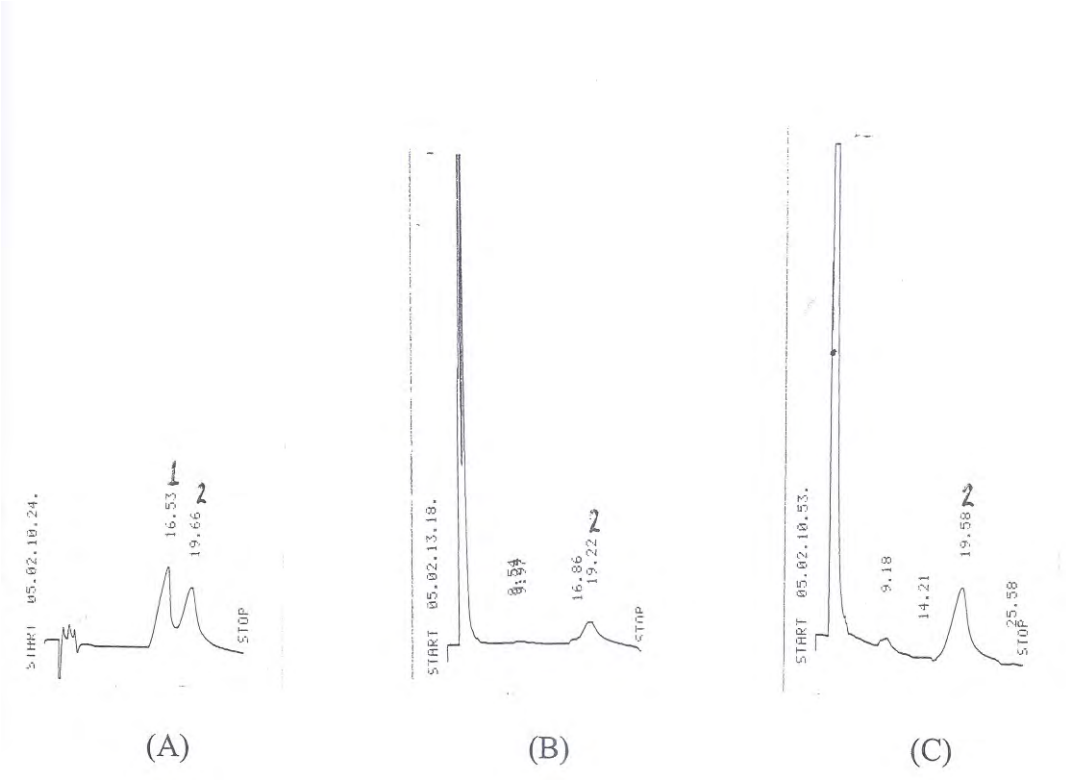
รูปที่ 6 Fourier transform infrared spectrum ของ tamarind pulp polysaccharide จากเนื้อมะขามพันธุ์ปลูก “สีทองหนัก” (TI-STH/K) จากจังหวัดนครราชสีมา (โคราช,K)

สารละลายพอลิแซ็กคาไรด์เนื้อมะขามหลังการย่อยด้วยกรด จะได้สารละลายของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว จากนั้นนำมาวิเคราะห์หาน้ำตาล uronic acids ด้วยเทคนิค HPLC โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานและโครมาโทแกรมของสารละลายจากการย่อยสลายพอลิแซ็กคาไรด์เนื้อมะขามด้วยกรดซัลฟูริกของมะขามชนิดเปรี้ยวพันธุ์ปลูก มะขามเปรี้ยวยักษ์ (จ.เพชรบูรณ์) มะขามเปรี้ยว (จ.นครราชสีมา) และชนิดหวานพันธุ์ปลูก ศรีชมภูและสีทองหนัก (จ.นครราชสีมา) ดังแสดงในรูปที่ 7 และ 8 ตามลำดับ สารละลายจากการย่อยสลายพอลิแซ็กคาไรด์เนื้อมะขามของมะขามชนิดเปรี้ยว “เปรี้ยวยักษ์” (จ.เพชรบูรณ์) “เปรี้ยว” (จ.นครราชสีมา) พบมี 1 พีคที่มี retention time ใกล้เคียงกับ standard น้ำตาลกาแลกทูโรนิก ขณะที่สารละลายจากการย่อยสลายพอลิแซ็กคาไรด์เนื้อมะขามของมะขามชนิดหวาน “ศรีชมภู” และ “สีทองหนัก” (จ.นครราชสีมา) พบมี 2 พีค ซึ่งพีคที่ 1 ไม่สามารถสรุปได้ว่าเป็นพีคของน้ำตาลกลูคูโรนิก แต่พีคที่ 2 เป็นพีคที่มี retention time ใกล้เคียงกับ standard น้ำตาลกาแลกทูโรนิก อาจสรุปได้ว่าพอลิแซ็กคาไรด์จากเนื้อมะขามมีส่วนประกอบของน้ำตาลกาแลกทูโรนิก

<u>การวิเคราะห์องค์ประกอบ neutral sugars ด้วยเทคนิค HPLC-ELSD</u>

ภาวะที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการวิเคราะห์องค์ประกอบน้ำตาลด้วยเทคนิค HPLC-ELSD มีสภาวะดังนี้

HPLC parameters	Optimized condition
Column	Amino column (250x4.6 mm.)
Mobile phase	90% acetonitrile in water
Flow rate	1.90 mL/min
Time	12 min
Detector	Evaporative Laser Scattering detector (ELSD)
Temperature	80°C



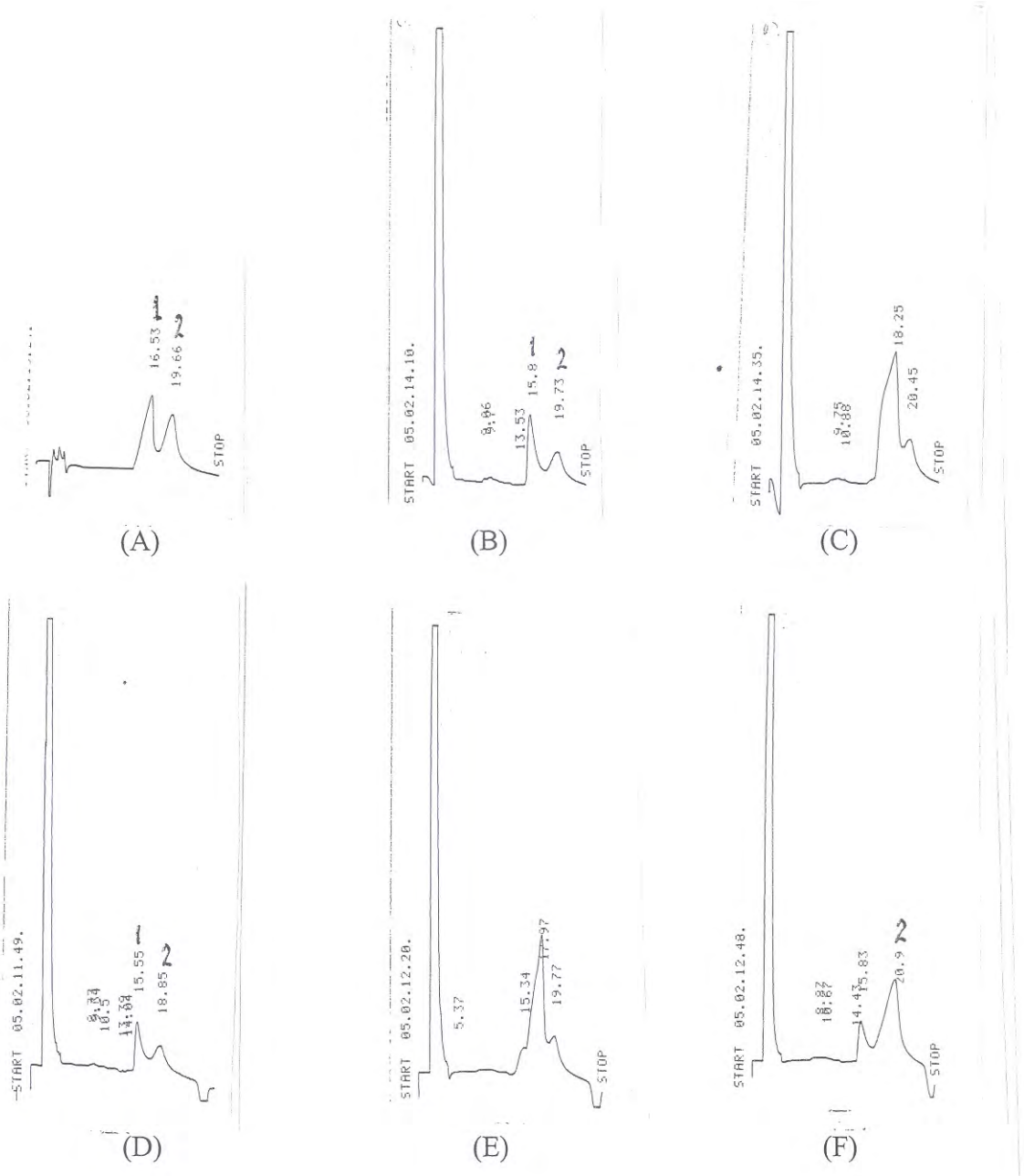
รูปที่ 7 Chromatograms ของ uronic acids standard และ สารละลายจากการย่อยสลายของพอลิแซ็กคาไรด์จากเนื้อมะขามชนิดเปรี้ยวต่างพันธุ์ปลูก

(A) glucuronic acid และ galacturonic acid standard

(B) “เปรี้ยวยักษ์” (TI-PY/P)

(C) “เปรี้ยว” (TI-P/K)

Peaks: 1 = glucuronic acid (Glc A) 2 = galacturonic acid (Gal A)



รูปที่ 8 Chromatograms ของ uronic acids standard และ สารละลายจากการย่อยสลายของพอลิแซ็กคาไรด์จากเนื้อมะขามชนิดหวานต่างสายพันธุ์ปลูก

(A) glucuronic acid และ galacturonic acid standard

(B) “ศรีชมภู” (TI-SP/K)

(C) “ศรีชมภู” (TI-SP/K) spiked ด้วย Glc A

(D) “สีทองหนัก” (TI-STH/K)

(E) “สีทองหนัก” (TI-STH/K) spiked ด้วย Glc A

(F) “สีทองหนัก” (TI-STH/K) spiked ด้วย Gal A

Peaks: 1 = glucuronic acid (Glc A) 2 = galacturonic acid (Gal A)

แสดงภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการใช้เทคนิค HPLC-ELSD เพื่อการวิเคราะห์องค์ประกอบน้ำตาล จากรูปที่ 9 แสดงโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมของน้ำตาลชนิดต่างๆ รูปที่ 9 (A) ประกอบด้วยน้ำตาลแรมโนส, ไซโลส, อราบิโนส, ฟรุตโตส และกลูโคส ความเข้มข้น 5 กรัม/ลิตร มี retention time ที่ 3.316, 3.983, 4.700, 5.850 และ 7.183 นาทีตามลำดับ ส่วนรูปที่ 9 (B) ประกอบด้วยน้ำตาลแรมโนส, ไซโลส, อราบิโนส, ฟรุตโตส กลูโคสและกาแลกโทส ความเข้มข้น 5 กรัม/ลิตร มี retention time ที่ 3.316, 4.000, 4.750, 5.900 7.283 และ 7.966 นาทีตามลำดับ

การวิเคราะห์องค์ประกอบน้ำตาลของพอลิแซ็กคาไรด์เนื้อมะขาม

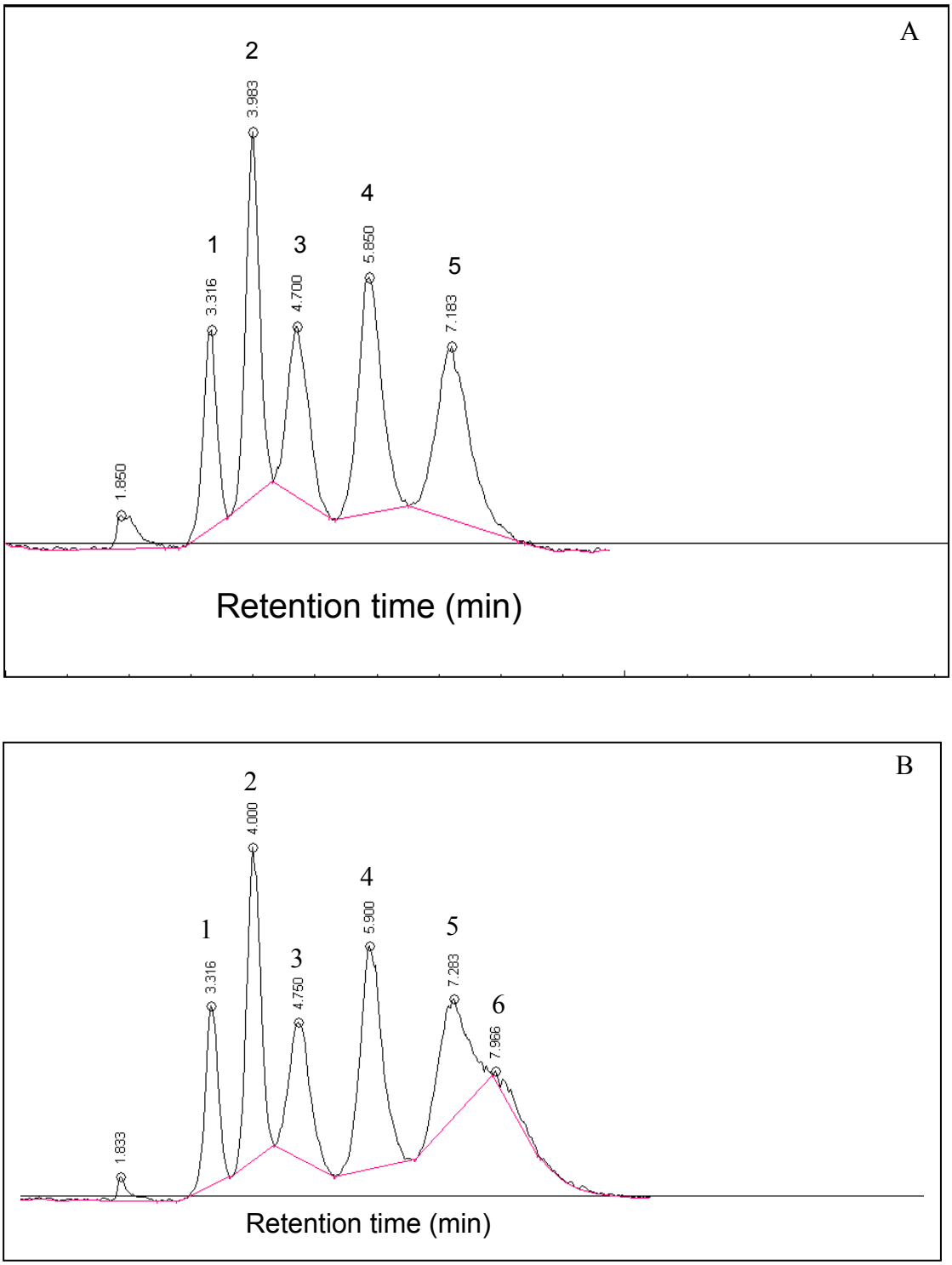
โครมาโทแกรมของสารละลายจากการย่อยสลายพอลิแซ็กคาไรด์เนื้อมะขามด้วยกรดซัลฟูริกของมะขามชนิดเปรี้ยว “เปรี้ยวยักษ์” (จ.เพชรบูรณ์) “เปรี้ยว” (จ.นครราชสีมา) และชนิดหวาน “ศรีชมภู” และ “สีทองหนัก” (จ.นครราชสีมา) ดังแสดงในรูปที่ 10-13 ตามลำดับ โดยนำมาเปรียบเทียบกับโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานน้ำตาลผสม จากรูปที่ 10-13 และตารางที่ 4 แสดงให้เห็นว่าสารละลายจากการย่อยสลายพอลิแซ็กคาไรด์เนื้อมะขามของมะขามเปรี้ยวยักษ์ (จ.เพชรบูรณ์) พบมี 5 พีคที่มี retention time ใกล้เคียงกับ standard น้ำตาลแรมโนส, ไซโลส, อราบิโนส, กลูโคส/กาแลกโทส ขณะที่ของมะขามเปรี้ยว (จ.นครราชสีมา) มี 6 พีคที่มี retention time ใกล้เคียงกับ standard น้ำตาลแรมโนส, ไซโลส, อราบิโนส, ฟรุตโตส กลูโคสและกาแลกโทส นอกเหนือจากนั้น สารละลายจากการย่อยสลายพอลิแซ็กคาไรด์เนื้อมะขามของมะขามชนิดหวาน ศรีชมภูและสีทองหนัก (จ.นครราชสีมา) มี 6 พีคที่มี retention time ใกล้เคียงกับ standard น้ำตาลแรมโนส, ไซโลส, อราบิโนส, ฟรุตโตส กลูโคสและกาแลกโทส

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบ uronic acids และ neutral sugars ในสารละลายหลังการย่อยพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยกรดของมะขามชนิดเปรี้ยวและชนิดหวาน ซึ่งประกอบด้วยพีคที่มี retention time ใกล้เคียงกับ standard น้ำตาลกรดกาแลกทูโรนิก แอซิด และพีคของน้ำตาล neutral sugars เช่นน้ำตาลแรมโนส, ไซโลส, อราบิโนส, ฟรุตโตส กลูโคสและกาแลกโทส ดังนั้นพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดได้จากเนื้อมะขามที่มีพันธุ์ปลูกต่างกันและปลูกที่สถานที่ต่างกัน ต่างก็ประกอบไปด้วยพอลิแซ็กคาไรด์พวกเพคติน (pectic polysaccharides)

2. การสกัดและการวิเคราะห์ polysaccharide ของเนื้อในเมล็ด (Kernel) มะขาม

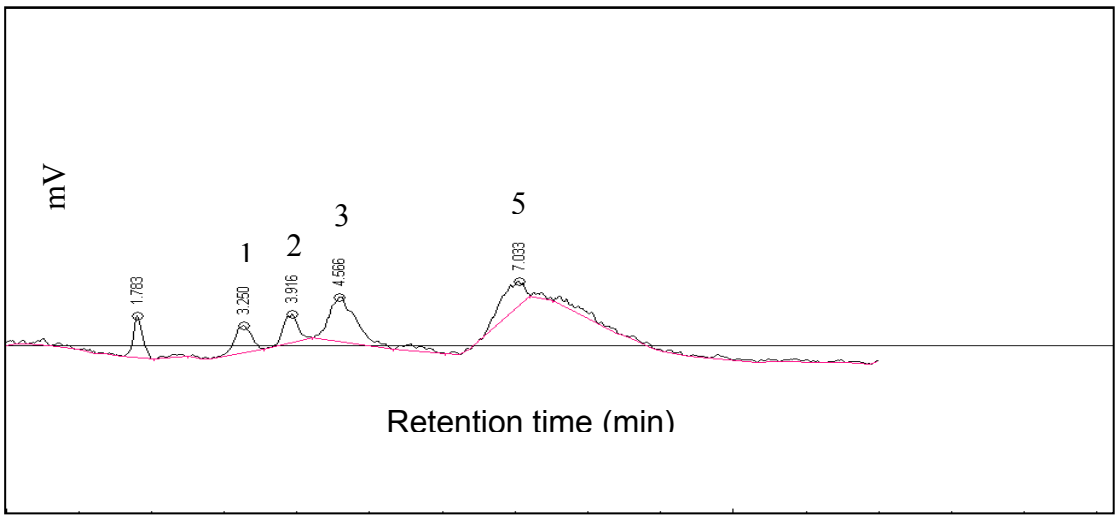
2.1 วิธีการสกัดและเปอร์เซ็นต์ yield ของ Tamarind Seed Polysaccharides (TSP)

สกัด TSP โดยการต้มน้ำร้อนกับผงที่บดละเอียดของเนื้อในเมล็ดมะขาม สารสกัดที่ได้มีสีขุ่น มีความหนืด นำมาหมุนเหวี่ยงที่ 6,800 xg เป็นเวลา 30 นาที นำส่วนน้ำใสที่ได้ไประเหยน้ำออก จนได้น้ำสกัดเข้มข้นและนำมาตกตะกอน TSP ด้วย 1.5 เท่าของเอทิลแอลกอฮอล์ กรองตะกอนที่ได้ผ่านผ้าไนลอนเก็บตะกอน TSP และอบให้แห้ง



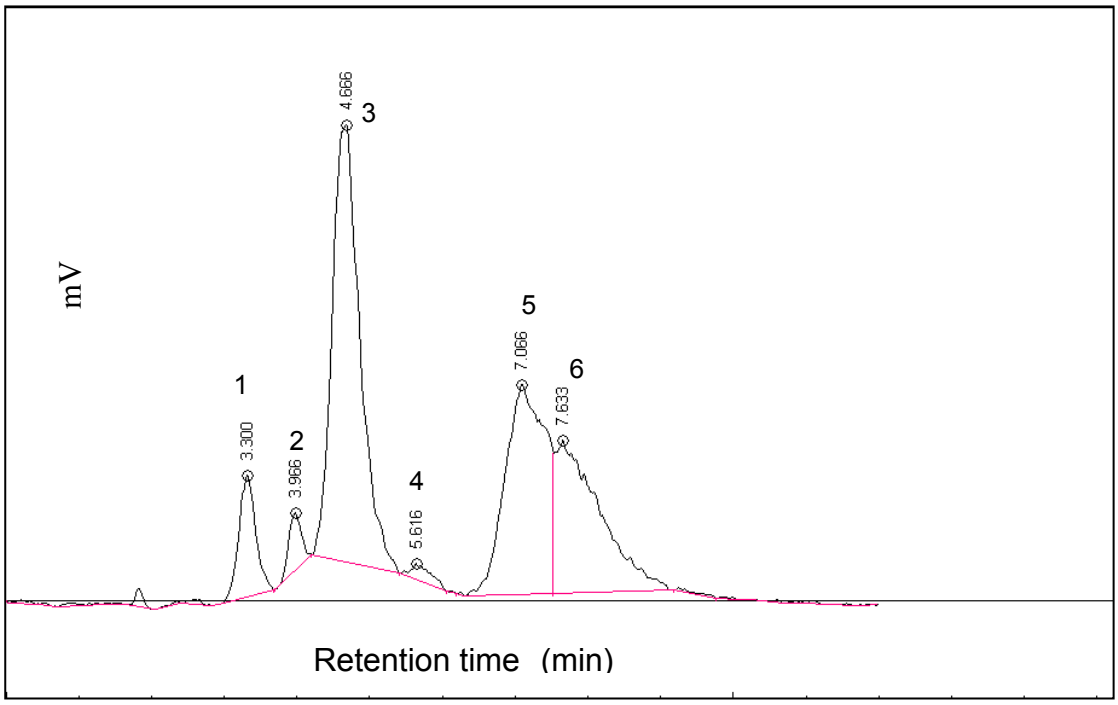
รูปที่ 9 Chromatogram ของ 0.5% น้ำตาลมาตรฐานผสม 5 ชนิด (A) และ 6 ชนิด (B).

Peak: 1=rhamnose, 2=xylose, 3=arabinose, 4=fructose, 5=glucose, 6=galactose



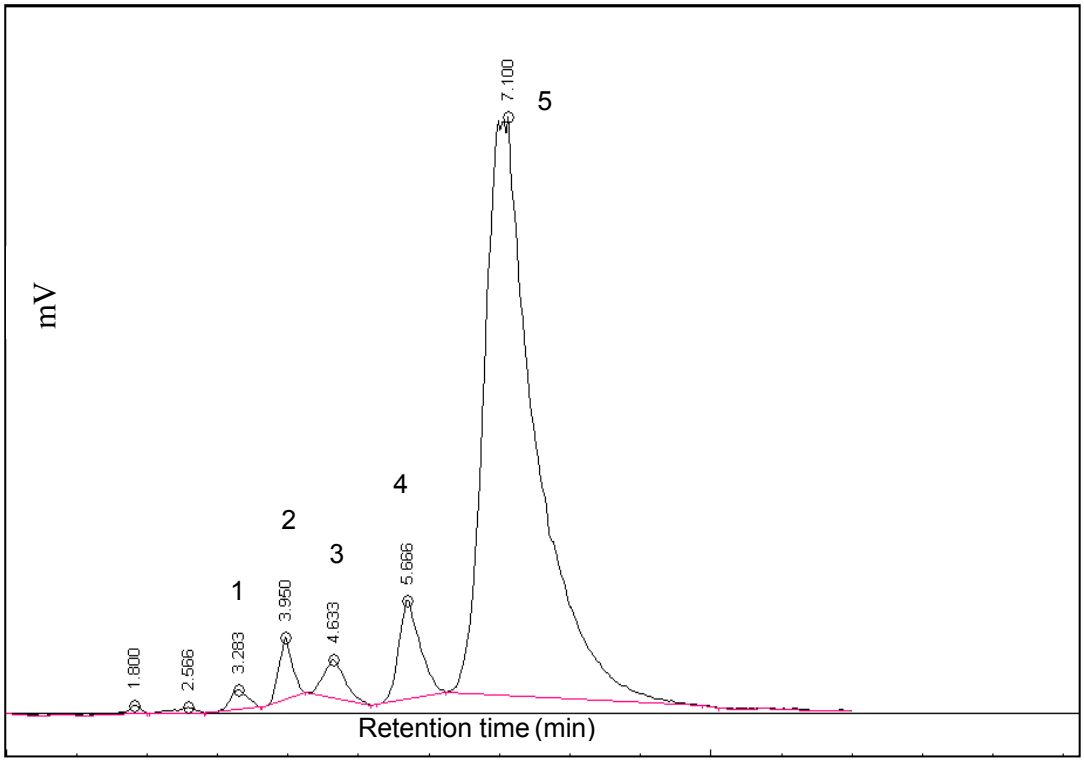
รูปที่ 10 Chromatogram ของสารละลายจากการย่อยสลายของ 7.5% พอลิแซ็กคาไรด์จากเนื้อมะขามชนิดเปรี้ยว *T.indica* "เปรี้ยวยักษ์" (TI-PY/P) จากจังหวัดเพชรบูรณ์ (P)

Peaks: 1=rhamnose, 2=xylose, 3=arabinose, 5=glucose

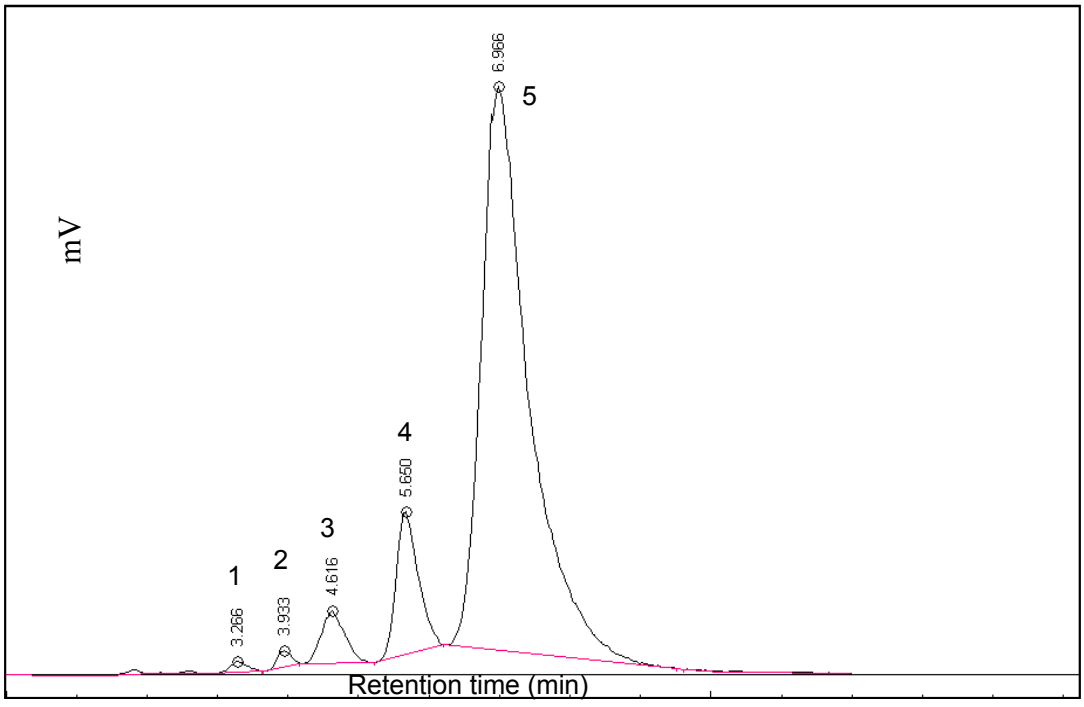


รูปที่ 11 Chromatogram ของสารละลายจากการย่อยสลายของ 7.5% พอลิแซ็กคาไรด์จากเนื้อมะขามชนิดเปรี้ยว *T.indica* "เปรี้ยว" (TI-P/K) จากจังหวัดนครราชสีมา (โคราช,K)

Peaks: 1=rhamnose, 2=xylose, 3=arabinose, 5=glucose, 6=galactose



รูปที่ 12 Chromatogram ของสารละลายจากการย่อยสลายของ 7.5% พอลิแซ็กคาไรด์จากเนื้อมะขามชนิดหวาน *T.indica* "ศรีชมภู" (TI-SP/K) จากจังหวัดนครราชสีมา (โคราช,K) Peaks: 1=rhamnose, 2=xylose, 3=arabinose, 4=fructose, 5=glucose/galactose



รูปที่ 13 Chromatogram ของสารละลายจากการย่อยสลายของ 7.5% พอลิแซ็กคาไรด์จากเนื้อมะขามชนิดหวาน *T.indica* "สีทองหนัก" (TI-STH/K) จากจังหวัดนครราชสีมา (โคราช ,K) Peaks: 1=rhamnose, 2=xylose, 3=arabinose, 4=fructose, 5=glucose/galactose

ตารางที่ 4 องค์ประกอบน้ำตาลของพอลิแซ็กคาไรด์จากเนื้อมะขามจากจังหวัดเพชรบูรณ์ (P) และนครราชสีมา (โคราช, K)

T.indica Cultivars	Type of sugars (retention time, min)
Type “sour”	
Priao-yak (TI-PY/P)	rhamnose (3.250) ,xylose (3.916) ,arabinose (4.566), glucose (7.033), galactose(7.333)
Priao (TI-P/K)	rhamnose (3.300) ,xylose (3.966) ,arabinose (4.666), fructose (5.616) ,glucose (7.066), galactose(7.633)
Type “sweet”	
Srichomphu (TI-SP/K)	rhamnose (3.283) ,xylose (3.950) ,arabinose (4.633), fructose (5.666) ,glucose (7.100)
Sithong-nak (TI-STH/K)	rhamnose (3.266) ,xylose (3.933) ,arabinose (4.616), fructose (5.650) ,glucose (6.966)

ลักษณะที่เห็นด้วยสายตาของ TSP และ เปอร์เซ็นต์ yield ของการสกัดมะขามชนิดเปรี้ยว “เปรี้ยวยักษ์” (จ.เพชรบูรณ์) “เปรี้ยว” (จ.นครราชสีมา) และชนิดหวาน “ขันตี” (จ.เพชรบูรณ์) “ศรีชมภู” และ “สีทองหนัก” (จ.นครราชสีมา) แสดงตารางที่ 5

เปอร์เซ็นต์ yield ของการสกัด TSP ของมะขามพันธุ์ปลูกขันตี (จ.เพชรบูรณ์) มีเปอร์เซ็นต์ yield การสกัดสูงที่สุด และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับมะขามเปรี้ยวยักษ์ (จ.เพชรบูรณ์)มะขามเปรี้ยว (จ.นครราชสีมา) และสีทองหนัก (จ.นครราชสีมา) มะขามชนิดเปรี้ยวมีเปอร์เซ็นต์ yield ของการสกัด TSP น้อยกว่ามะขามชนิดหวาน ในการทดลองนี้ได้เปอร์เซ็นต์ yield ของการสกัด TSP ประมาณ 48-61% ซึ่งมีค่าสูงกว่าที่เคยรายงานไว้ของ Suttananta (1986) ที่สกัดด้วยวิธีเดียวกัน

สารละลาย TSP ของมะขามพันธุ์ปลูกทุกชนิด เมื่อนำมาละลายน้ำ ได้สารละลายมีขาวขุ่นและมีความหนืดแสดงดังตารางที่ 5

2.2 <u>การวิเคราะห์องค์ประกอบน้ำตาลของ TSP จากเนื้อในเมล็ดมะขาม</u>

ภาวะที่เหมาะสมของการวิเคราะห์องค์ประกอบน้ำตาลด้วยเทคนิค HPLC-ELSD ใช้วิธีการเดียวกันกับการวิเคราะห์ polysaccharide ในเนื้อมะขาม

<u>การวิเคราะห์องค์ประกอบน้ำตาลของ TSP</u>

โครมาโทแกรมของสารละลายหลังการย่อยสลาย TSP ด้วยกรดซัลฟูริกของมะขามชนิดเปรี้ยว “เปรี้ยวยักษ์” (จ.เพชรบูรณ์) “เปรี้ยว” (จ.นครราชสีมา) และชนิดหวาน “ขันตี” (จ.เพชรบูรณ์) “ศรีชมภู” และ “สีทองหนัก” (จ.นครราชสีมา) แสดงในรูปที่ 14-18 เปรียบเทียบกับโครมาโทแกรมของสารละลายผสมของน้ำตาลมาตรฐาน จากรูปที่ 14-18 และตารางที่ 6 พบว่าสารละลายหลังการย่อยสลาย TSP ของมะขามชนิดเปรี้ยวและชนิดหวาน พบมี 2 พีคที่มี retention time ใกล้เคียงกับน้ำตาลมาตรฐานไซโลส และกลูโคส จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า TSP ของมะขามชนิดเปรี้ยวและชนิดหวาน ประกอบด้วยน้ำตาลไซโลสและกลูโคส

การศึกษาพอลิแซ็กคาไรด์ของเนื้อในเมล็ดมะขาม (TSP) พบว่าเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ชนิดไซโลกลูแคน (Xyloglucan) ที่มีน้ำตาลไซโลส กลูโคส และกาแลกโทสเป็นองค์ประกอบ ในการทดลองนี้พบว่าสารละลายหลังการย่อยสลาย TSP ของมะขามชนิดเปรี้ยวและชนิดหวานประกอบด้วยน้ำตาลไซโลสและกลูโคส มีรายงานของนักวิจัยแต่ละกลุ่มได้รายงานอัตราส่วนของน้ำตาลไซโลส กลูโคส และกาแลกโทสที่เป็นองค์ประกอบของ TSP แตกต่างกันไป ได้แก่ Iain และ Edward (1984) ศึกษาองค์ประกอบของ TSP ด้วยวิธี X-ray diffraction พบว่า TSP มีน้ำตาลกลูโคส: ไซโลส: กาแลกโทส ในอัตราส่วน 4:3:1 ขณะที่ Mary และคณะ (1991) ได้รายงานองค์ประกอบ TSP ด้วยวิธี small angle X-ray diffraction พบว่ามีน้ำตาลกลูโคส: ไซโลส: กาแลกโทส ในอัตราส่วน 1:2.25:2.8 นอกเหนือจากนั้น Savur (1959) ทำการย่อย TSP ด้วยกรด พบว่า TSP ประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคส: ไซโลส: กาแลกโทส: อราบิโนส ในอัตราส่วน 8:2:4:1 แต่ในขณะที่

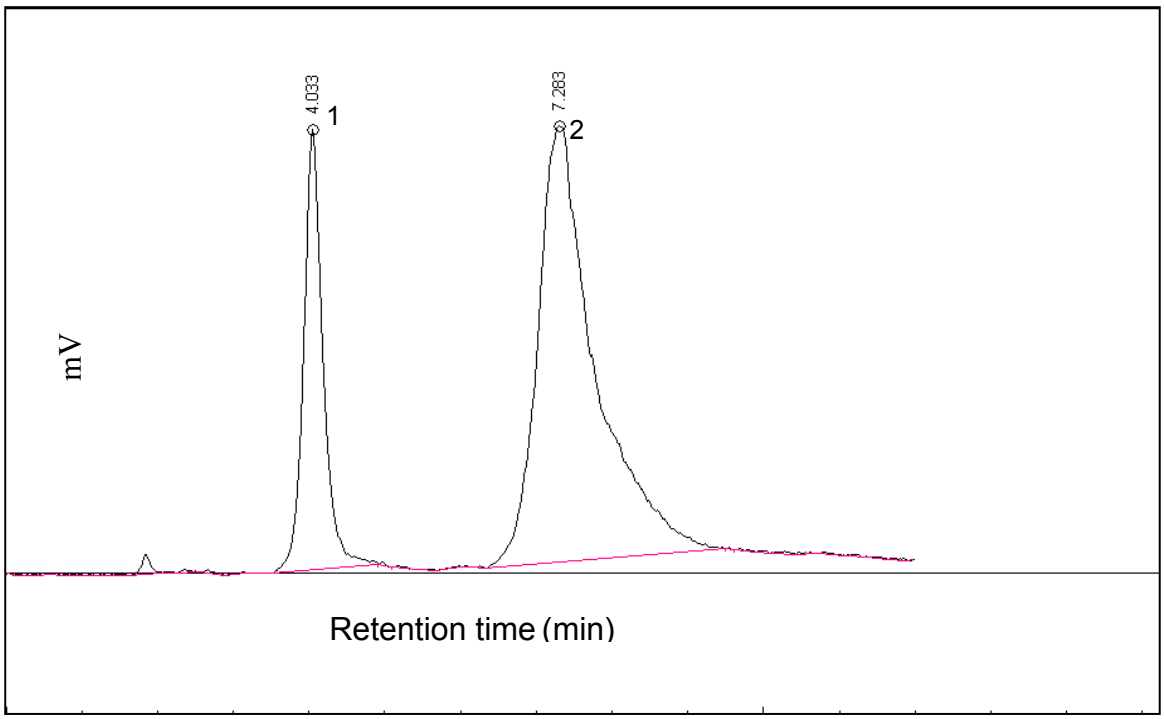
ตารางที่ 5 ลักษณะ ความหนืด และปริมาณสารสกัดของ Tamarind Seed Polysaccharide (TSP) จาก tamarind kernel powder จากจังหวัดเพชรบูรณ์ (P) และนครราชสีมา (โคราช, K)

TSP of *T.indica* Cultivars	Appearance of TSP powder	Viscosity of 2% TSP in water, cps (At shear rate 2840 1/s)	% yield of TSP (mean (SD))
Type sour			
"Priao-yak" (TI-PY/P)	creamy white powder	35.36	48.34[c] (0.89)
"Priao" (TI-P/K)	creamy white powder	106.12	48.43[c] (2.98)
Type sweet			
"Khantee" (TI-K/P)	creamy white powder	73.08	60.25[a] (0.50)
"Srichomphu" (TI-SP/K)	creamy white powder	45.07	58.09[ab] (1.37)
"Sithong-nak" (TI-STH/K)	creamy white powder	70.62	55.34[b] (1.85)

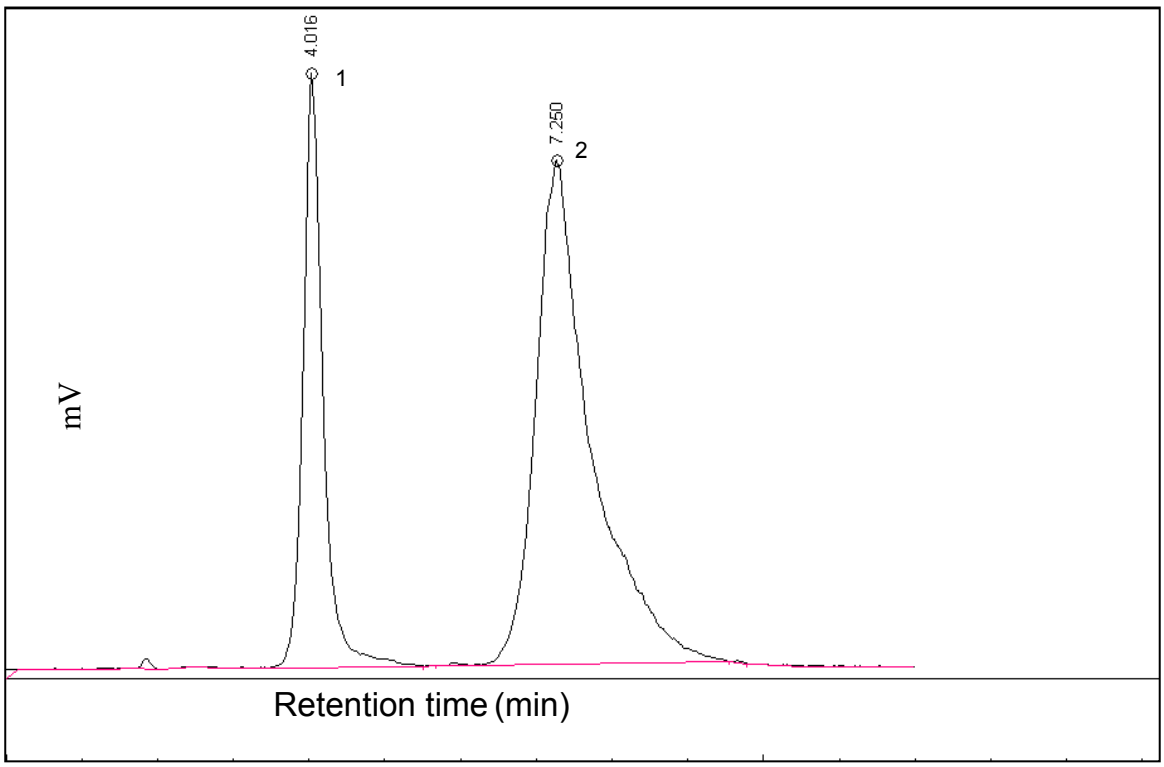
a,b,c show significant difference between cultivar at $P<0.05$

ตารางที่ 6 องค์ประกอบน้ำตาลของ Tamarind Seed Polysaccharide (TSP) จาก tamarind kernel powder จากจังหวัดเพชรบูรณ์ (P) และ นครราชสีมา (โคราช, K)

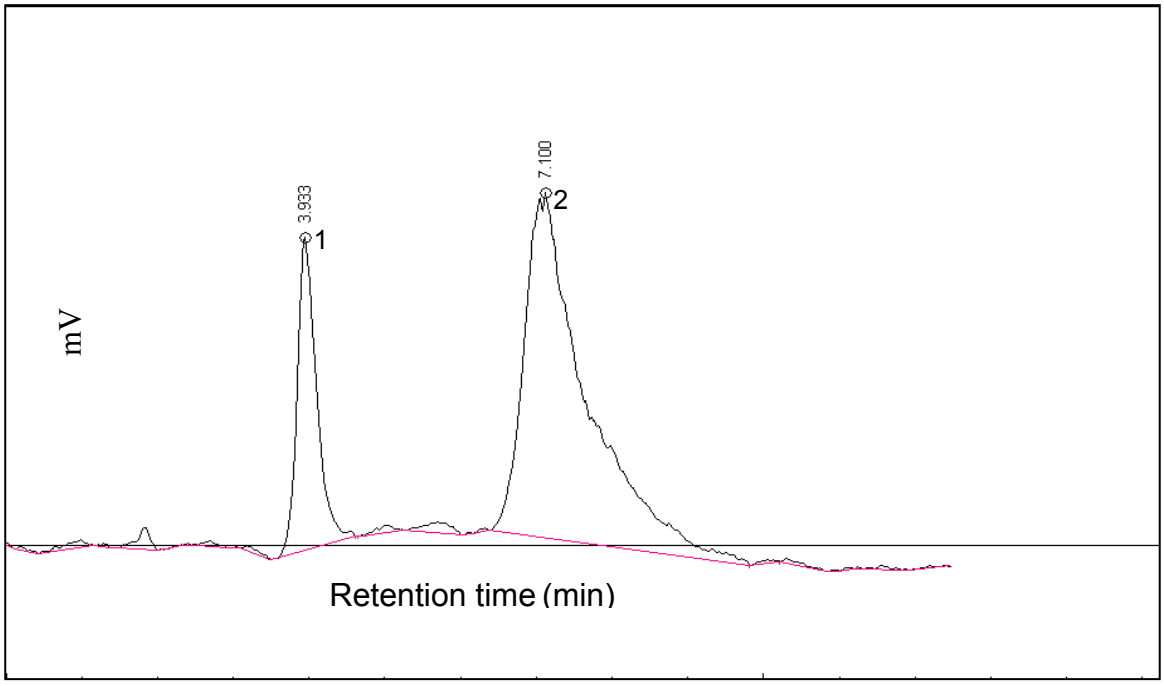
TSP of *T.indica* Cultivars	Type of sugars (retention time, min)
Type sour	
"Priao-yak" (TI-PY/P)	xylose (4.033) , glucose (7.283)
"Priao" (TI-P/K)	xylose (4.033) , glucose (7.250)
Type sweet	
"Khantee" (TI-K/P)	xylose (3.933) , glucose (7.100)
"Srichomphu" (TI-SP/K)	xylose (4.000) , glucose (7.183)
"Sithong-nak" (TI-STH/K)	xylose (4.100) , glucose (7.383)



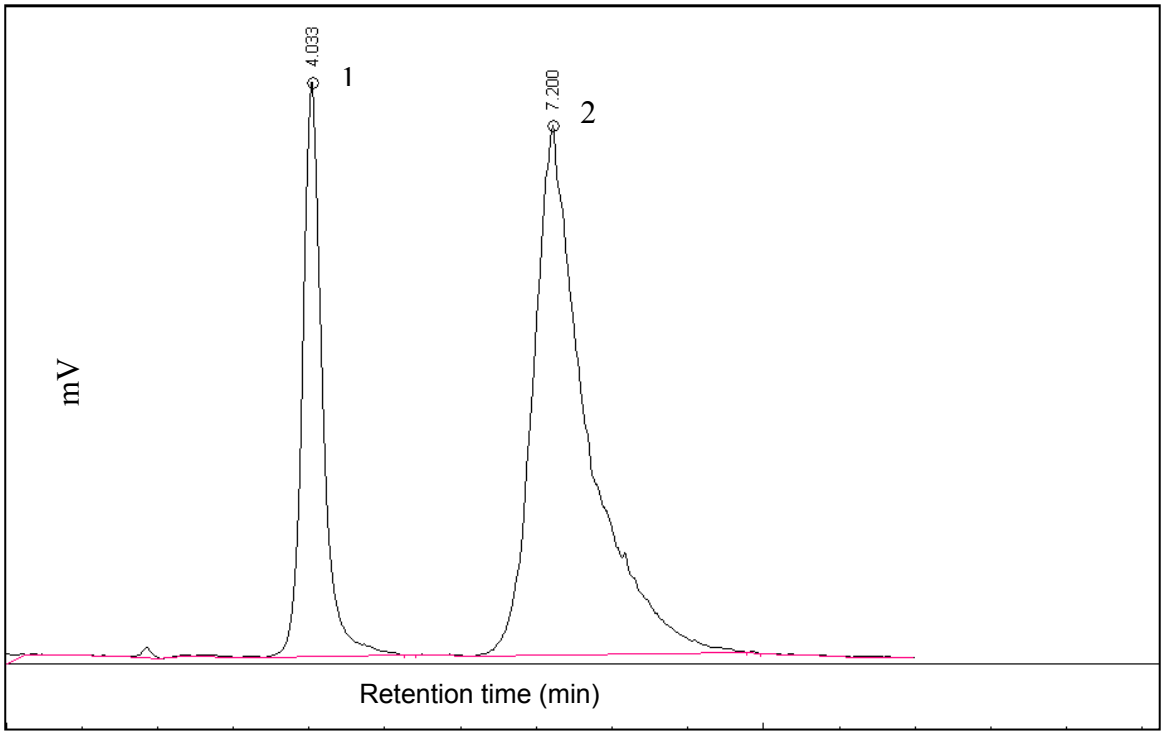
รูปที่ 14 Chromatogram ของสารละลายหลังการย่อยสลาย 0.5% TSP ของมะขามชนิดเปรี้ยว *T.indica* “เปรี้ยวยักษ์” (TI-PY/P) จากจังหวัดเพชรบูรณ์ (P) Peaks: 1=xylose, 2=glucose



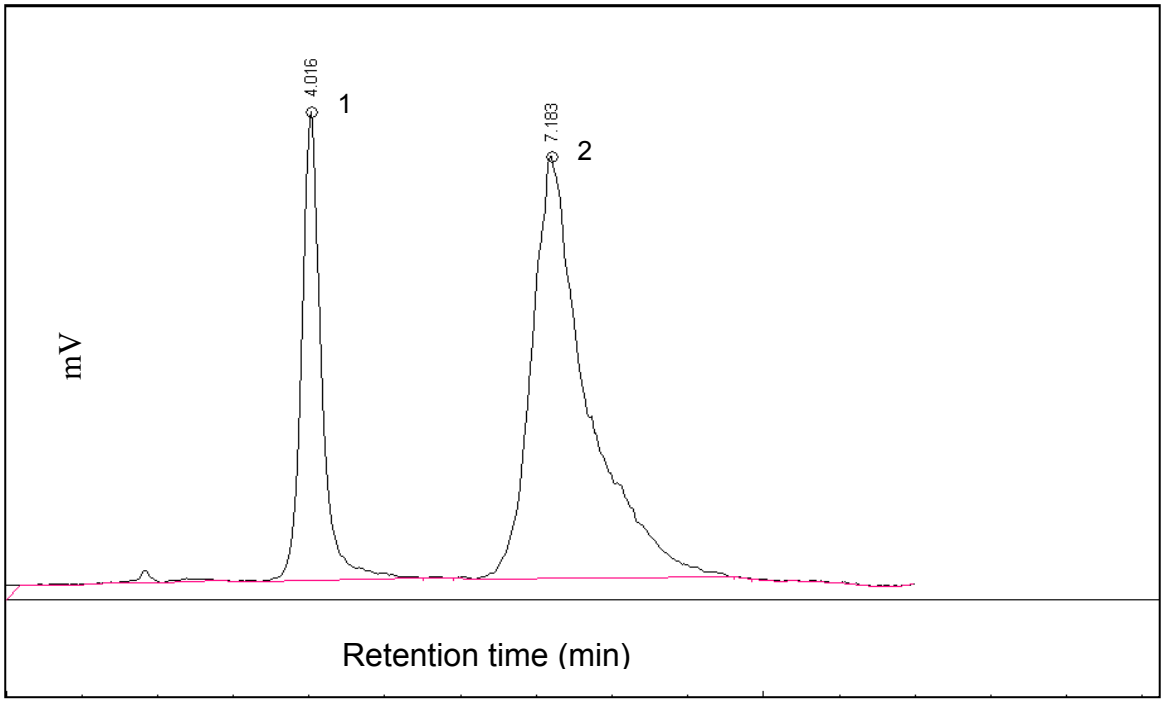
รูปที่ 15 Chromatogram ของสารละลายหลังการย่อยสลาย 0.5% TSP ของมะขามชนิดเปรี้ยว *T.indica* “เปรี้ยว” (TI-P/K) จากจังหวัดนครราชสีมา (โคราช,K) Peaks: 1=xylose, 2=glucose



รูปที่ 16 Chromatogram ของสารละลายหลังการย่อยสลาย 0.5% TSP ของมะขามชนิดหวาน *T.indica* “ขันตี” (TI-K/P) จากจังหวัดเพชรบูรณ์ (P) Peaks: 1=xylose, 2=glucose



รูปที่ 17 Chromatogram ของสารละลายหลังการย่อยสลาย 0.5% TSP ของมะขามชนิดหวาน *T.indica* “ศรีชมภู” (TI-SP/K) จากจังหวัดนครราชสีมา (โคราช,K) Peaks: 1=xylose, 2=glucose



รูปที่ 18 Chromatogram ของสารละลายหลังการย่อยสลาย 0.5% TSP ของมะขามชนิดหวาน *T.indica* "สีทองหนัก" (TI-STH/K) จากจังหวัดนครราชสีมา (โคราช,K)

Peaks: 1=xylose, 2=glucose

Macros (1992) ทำการศึกษาด้วยวิธีเดียวกัน พบว่า TSP ประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคส: ไซโลส: กาแลกโทส ในอัตราส่วน 4:3.0-3.1:1.4 ซึ่งสอดคล้องกับผลของ Iain และ Edward (1984)

เมื่อนำข้อมูลของคณะผู้วิจัยต่างๆ ที่มีการรายงานไว้เปรียบเทียบกับข้อมูลที่ได้จากการทดลองนี้พบว่า TSP ของมะขามชนิดเปรี้ยวและชนิดหวาน ประกอบด้วยน้ำตาลไซโลสและกลูโคส อาจจะพบกาแลกโทสเล็กน้อย สังเกตได้จากพีคของน้ำตาลกลูโคส มี tailing ซึ่งคอลัมน์ที่ใช้และวิธีการที่ใช้นี้ ไม่สามารถแยกน้ำตาลกลูโคสและกาแลกโทสออกจากกันได้อย่างชัดเจน เพราะสูตรโครงสร้างของน้ำตาลทั้ง 2 ชนิดนี้คล้ายกันมาก อย่างไรก็ตามผลการทดลองนี้ก็สอดคล้องกับรายงานวิจัยหลายคณะก่อนหน้านี้ว่าพอลิแซ็กคาไรด์ของเนื้อในเมล็ดมะขาม (TSP) เป็นพอลิแซ็กคาไรด์ชนิดไซโลกลูแคน (Xyloglucan)

<u>สมบัติการไหลและความหนืดของ TSP</u>

Flow curve ของ TSP ของมะขามชนิดเปรี้ยว “เปรี้ยวยักษ์” (จ.เพชรบูรณ์) “เปรี้ยว” (จ.นครราชสีมา) และชนิดหวาน “ขันตี” (จ.เพชรบูรณ์) “ศรีชมภู” และ “สีทองหนัก” (จ.นครราชสีมา) แสดงในรูปที่ 19 ที่ความเข้มข้นของ 2 เปอร์เซ็นต์ (w/v) TSP ของทั้งมะขามชนิดเปรี้ยวและชนิดหวาน พบว่ามีพฤติกรรมการไหลแบบ Pseudoplastic Flow ชนิด shear thinning

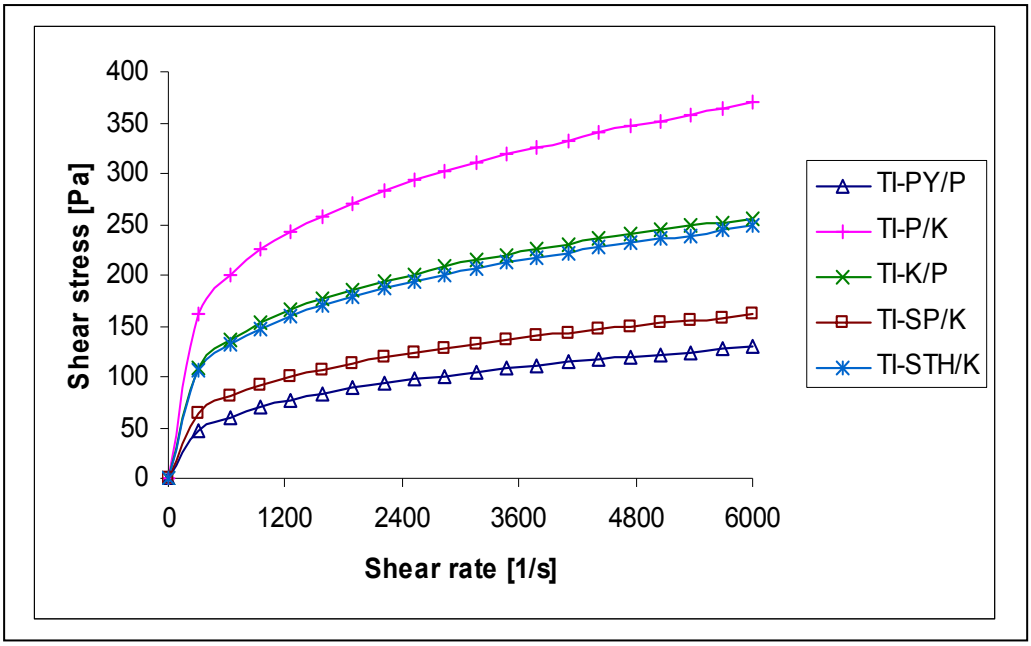
ความหนืดของสารละลาย 2 เปอร์เซ็นต์ (w/v) TSP ของมะขามชนิดเปรี้ยว “เปรี้ยวยักษ์” (จ.เพชรบูรณ์) “เปรี้ยว” (จ.นครราชสีมา) และชนิดหวาน “ขันตี” (จ.เพชรบูรณ์) “ศรีชมภู” และ “สีทองหนัก” (จ.นครราชสีมา) ที่ shear rate = 2840 1/s มีค่าความหนืดเท่ากับ 35.36, 106.12, 73.08, 45.07 และ 70.62 ตามลำดับ

3. <u>การเตรียมผงแห้งมะขามโดยเทคนิคการพ่นแห้ง (Spray drying technique)</u>

3.1 <u>ลักษณะทางกายภาพของผงมะขาม</u>

ทำการพัฒนาสูตรการเตรียมผงมะขามตามตารางที่ 7 และสูตรอื่นๆ แสดงใน ภาคผนวก 2 ลักษณะภายนอกของผงมะขาม และค่าความชื้นของผงมะขามแสดงในตารางที่ 8 ผลิตภัณฑ์ผงมะขามจากสูตรเตรียมผงมะขาม 3 สูตร ที่กระจายตัวได้ง่ายในน้ำร้อน ได้แก่ Product No.11, 12 และ 13 แสดงไว้ในรูปที่ 20

ผงมะขามสูตรที่ 11 ในสารละลาย 1 ลิตร ประกอบด้วยเนื้อมะขามเปรี้ยวยักษ์ และขันตี (จ.เพชรบูรณ์) อย่างละ 15 กรัม/ลิตร น้ำตาลฟรุกโตส 1.35 กรัม/ลิตร โซเดียมคลอไรด์ 0.45 กรัม/ลิตร มอลโตเดกซ์ตริน 25 กรัม/ลิตร และซิลิคอนไดออกไซด์ 0.3 กรัม/ลิตร นำไปพ่นแห้งในเครื่อง Spray dryer (Buchi B-290) ผงมะขามที่ได้มีความชื้น 9.76 เปอร์เซ็นต์ เป็นอนุภาคขนาดเล็กเกาะกันอยู่จำนวนมาก มีสีเหลือง ผงมะขามดูดความชื้นจับตัวกันเป็นก้อนแข็งได้อย่างรวดเร็ว



รูปที่ 19 Flow curve ของ 2% Tamarind Seed Polysaccharide (TSP) ของมะขามพันธุ์ปลูก “เปรี้ยวยักษ์” (TI-PY/P), “ขันตี” (TI-K/P) จากจังหวัดเพชรบูรณ์ และมะขามพันธุ์ปลูก “เปรี้ยว” (TI-P/K), “ศรีชมภู” (TI-SP/K), “สีทองหนัก” (TI-STH/K) จากจังหวัดนครราชสีมา (โคราช,K)

ตารางที่ 7 ส่วนประกอบของ ingredients ใน 1 ลิตร ของสารผสมน้ำมะขามก่อนการทำ spray-drying

Formula No.	Tamarind extracts* (g/L)	Fructose (g/L)	NaCl (g/L)	SiO_2 (g/L)	TSP (g/L)	Pectin (g/L)	Maltodextrin (g/L)
1	30	1.35	0.45	0.30	10	-	-
2	30	1.35	0.45	0.30	-	10	-
3	30	1.35	0.45	0.30	-	-	10
4	30	1.35	0.45	-	6	4	-
5	30	1.35	0.45	0.30	6	4	-
6	30	1.35	0.45	0.30	6	4	15
7	30	1.35	0.45	0.30	6	-	19
8	30	1.35	0.45	0.30	10	-	15
9	30	1.35	0.45	0.30	5	-	15
10	30	1.35	0.45	0.30	5	-	20
11	30	1.35	0.45	0.30	-	-	25
12	30	1.35	0.45	0.30	5	-	25
13	30	1.35	0.45	0.30	-	5	25

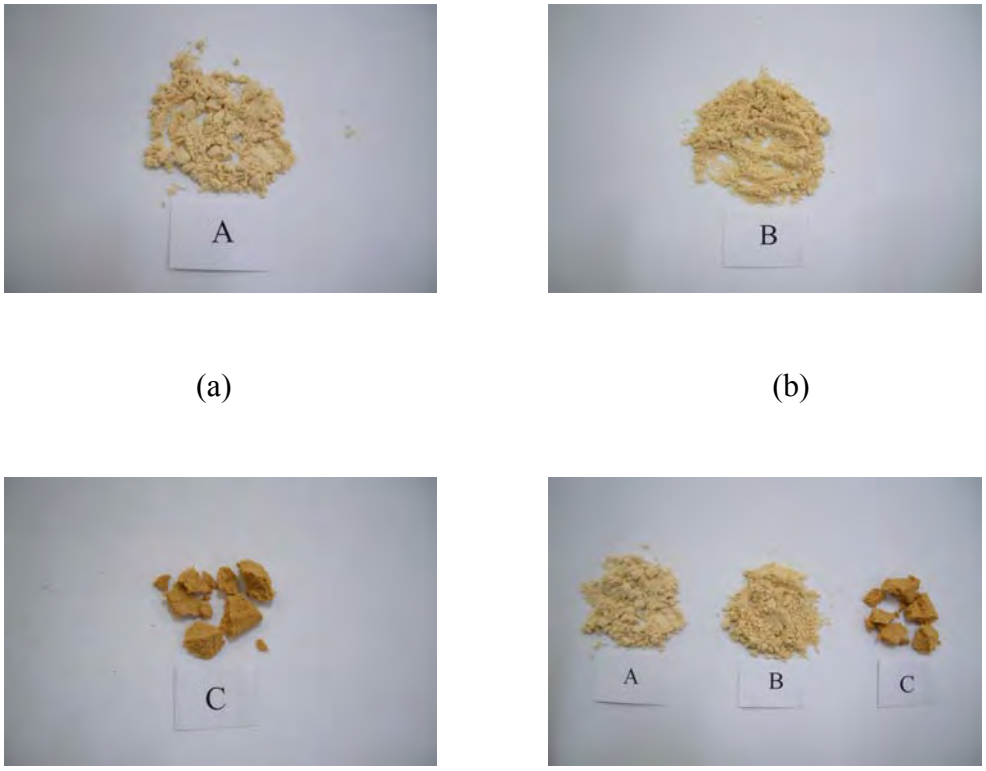
* Tamarind extract composed of TI-PY/P and TI-K/P each of 15 g/L

TSP (Formula No.6-10, 12) and pectin (Formula No.13) were autoclave at 121°C 30 minutes, pressure 1.02 Kgf/cm2 before mixed in tamarind mixture.

ตารางที่ 8 ลักษณะของผลิตภัณฑ์ผงมะขามหลังการทำ spray drying

Product No.	Appearance tamarind powder product after spray drying	% yield (SD)	%moisture Content (SD)	Dispersibility of 10% product in hot water (time in min)
1	Dry yellow powder, small particle, agglomerate, absorb moisture	24.2	8.75	difficult (50)
2	Dry yellow powder, small particle, easily agglomerate, absorb moisture rapidly	42.25	9.89	easy (15)
3	Wet yellow powder	35.35	ND	easy (10)
4	Dry yellow powder, small particle, agglomerate, absorb moisture	17.16	8.65	difficult (40)
5	Dry yellow powder, small particle, agglomerate, absorb moisture	27.06	8.58	difficult (30)
6	Dry yellow powder, easily agglomerate, absorb moisture rapidly	45.10	10.97	difficult (20)
7	Dry yellow powder, small particle, agglomerate, absorb moisture	25.64	8.73	difficult (20)
8	Dry yellow powder, small particle, absorb moisture	33.33	9.08	difficult (30)
9	Dry yellow powder, small particle, easily agglomerate, absorb moisture rapidly	21.08 (0.52)	9.76 (0.10)	difficult (25)
10	Dry yellow powder, small particle, easily agglomerate, absorb moisture	40.20 (0.57)	8.92 (0.04)	difficult (20)
11	Dry yellow powder, small particle, easily agglomerate, absorb moisture	46.17 (0.99)	9.76 (0.08)	easy (5)
12	Dry light yellow powder, fine particle	46.35 (1.58)	8.05 (0.02)	easy (10)
13	Dry light yellow powder, fine particle	47.62 (1.67)	8.30 (0.20)	easy (10)

Product No.9-13 was done in triplicate, ND = not determined



(a) (b)

(c) (d)

รูปที่ 20 ลักษณะที่เห็นด้วยสายตาของผลิตภัณฑ์ผงมะขามที่เตรียมโดย spray-drying technique

(a) Product No.12 (b) Product No.13 (c) Product No.11

(d) เปรียบเทียบผลิตภัณฑ์ผงมะขามจาก 3 สูตรที่ใช้เตรียมผงมะขาม

ผงมะขามสูตรที่ 12 ในสารละลาย 1 ลิตร ประกอบด้วยเนื้อมะขามเปรี้ยวยักษ์ และขันตี (จ.เพชรบูรณ์) อย่างละ 15 กรัม/ลิตร น้ำตาลฟรุกโตส 1.35 กรัม/ลิตร โซเดียมคลอไรด์ 0.45 กรัม/ลิตร มอลโตเดกซ์ตริน 25 กรัม/ลิตร TSP 5 กรัม/ลิตร และซิลิคอนไดออกไซค์ 0.3 กรัม/ลิตร นำไปพ่นแห้งในเครื่อง Spray dryer (Buchi B-290) ผงมะขามที่ได้มีความชื้น 8.05 เปอร์เซ็นต์ เป็นอนุภาคขนาดเล็กแห้งและละเอียด มีสีเหลืองนวล ละลายได้ดีในน้ำร้อน

ผงมะขามสูตรที่ 13 ในสารละลาย 1 ลิตร ประกอบด้วยเนื้อมะขามเปรี้ยวยักษ์ และขันตี (จ.เพชรบูรณ์) อย่างละ 15 กรัม/ลิตร น้ำตาลฟรุกโตส 1.35 กรัม/ลิตร โซเดียมคลอไรด์ 0.45 กรัม/ลิตร มอลโตเดกซ์ตริน 25 กรัม/ลิตร เพคติน 5 กรัม/ลิตร และซิลิคอนไดออกไซค์ 0.3 กรัม/ลิตร นำไปพ่นแห้งในเครื่อง Spray dryer (Buchi B-290) ผงมะขามที่ได้มีความชื้น 8.30 เปอร์เซ็นต์ เป็นอนุภาคขนาดเล็กแห้งและละเอียด มีสีเหลืองนวล ละลายได้ดีในน้ำร้อน

การวิจัยได้นำผลิตภัณฑ์ของสูตร 13 ไปทดสอบฤทธิ์การระบายในสัตว์ทดลองหนูขาว (rat) ดูฤทธิ์การระบายจากระยะทางการเคลื่อนที่ของผงถ่าน (charcoal) ในลำไส้หนูหลังการป้อนให้กินผลิตภัณฑ์ผงแห้งมะขาม

3.2 <u>การวิเคราะห์กรดอินทรีย์ในผงมะขาม</u>

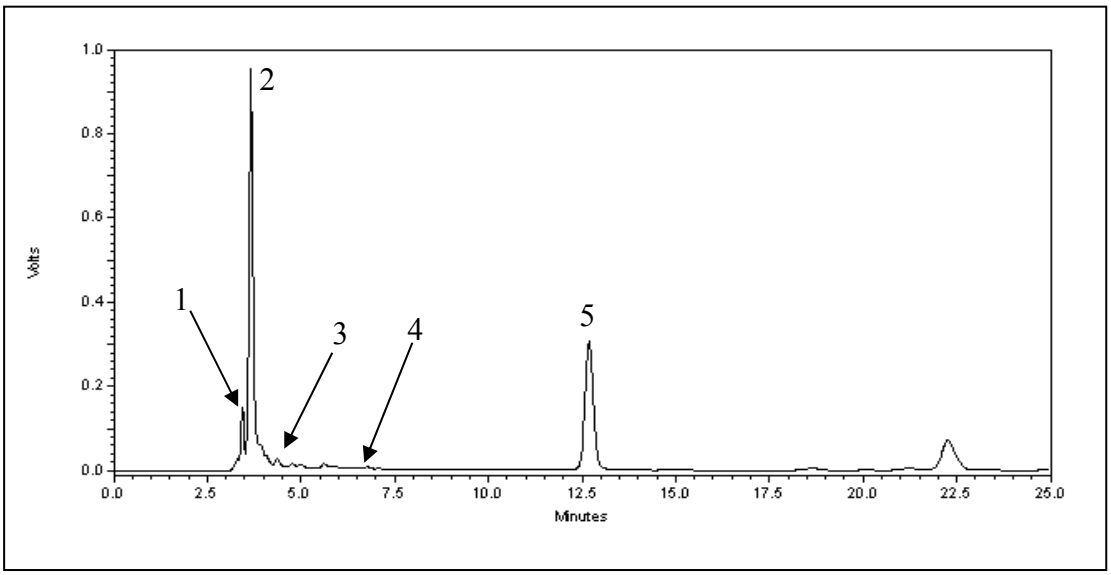
ตารางที่ 9 แสดงปริมาณกรดอินทรีย์ในผงมะขาม สูตรที่ 11,12,13 และรูปที่ 21-23 แสดงโครมาโทแกรมของการวิเคราะห์กรดอินทรีย์ในผงมะขาม สูตรที่ 11,12,13 ตามลำดับ

3.3 <u>Scanning electron microscopy</u>

ทำการถ่ายรูปเพื่อดูลักษณะอนุภาคภายนอกและขนาดอนุภาคของผงมะขามสูตรที่ 12 และ 13 ด้วยกล้อง scanning electron microscope ภาพจากกล้อง scanning electron microscope ของผงมะขามแสดงในรูปที่ 24 เนื่องจากสูตรที่ 11 จะดูดความชื้นเร็วมากจึงไม่สามารถทำการถ่ายรูปดูลักษณะภายนอกขออนุภาคได้

ตารางที่ 9 ส่วนประกอบกรดอินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ผงมะขามที่เตรียมโดยวิธี spray drying

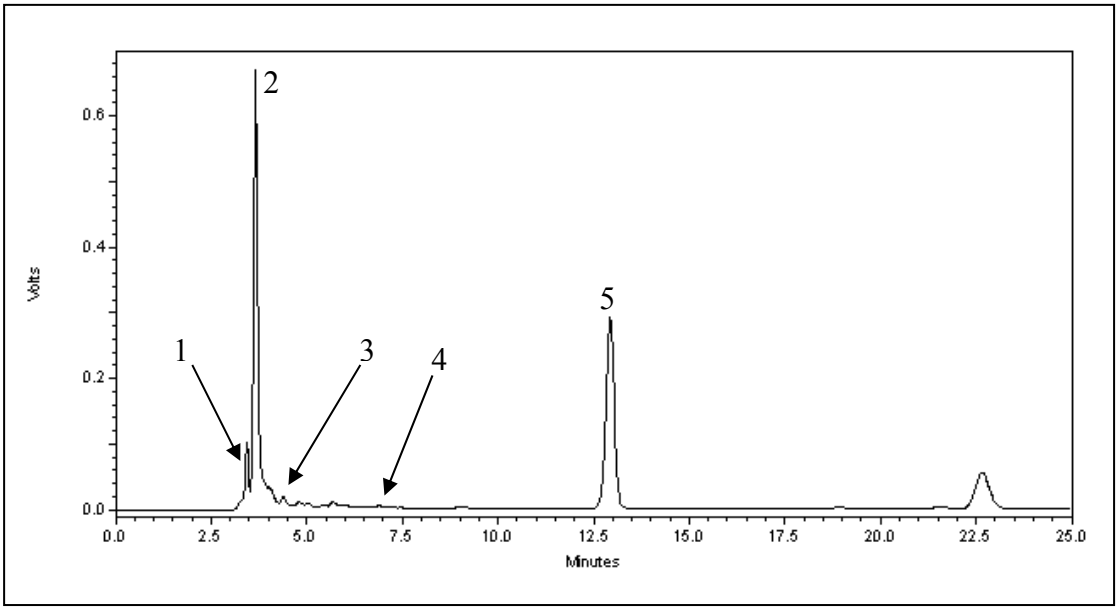
Product No.	Organic acids in tamarind powder (mg/100g)					
	mean (SD), N=3					
	OA	TA	SA	FA	L-MA	CA
11	288.75 (5.30)	15796.20 (100.32)	-	-	332.42 (4.15)	173.25 (8.49)
12	202.80 (0.65)	11931.65 (139.52)	-	-	225.25 (15.46)	162.42 (18.76)
13	311.40 (5.58)	9295.65 (3.75)	-	-	169.27 (5.64)	134.67 (1.73)



รูปที่ 21 Chromatogram ของกรดอินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ผงมะขามสูตร No.11

Peaks: 1 Oxalic acid (OA), 2 Tartartic acid (TA), 3 L-malic acid (L-MA),

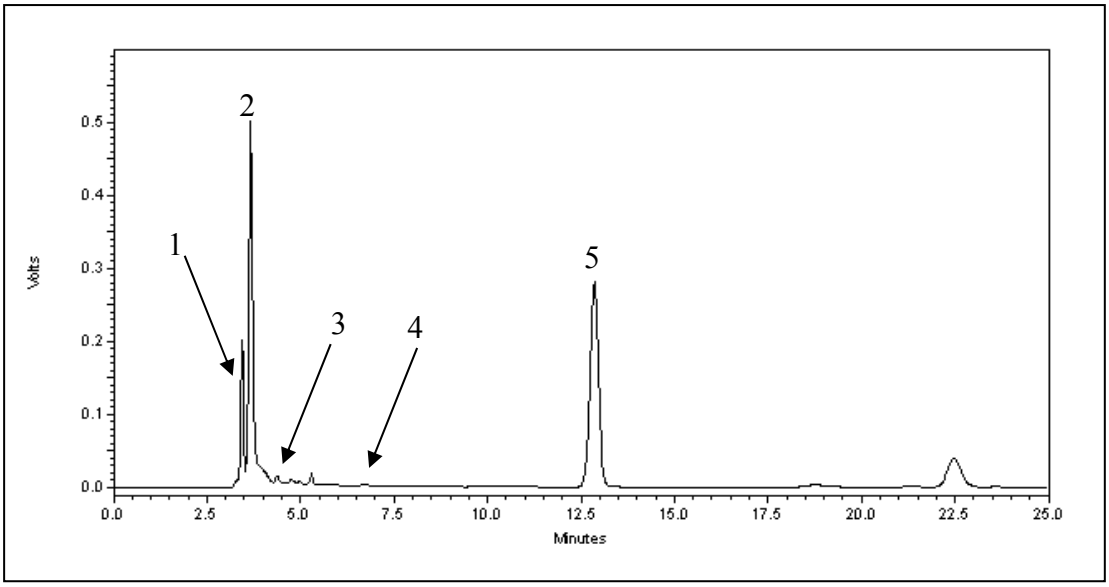
4 Citric acid (CA) and 5 Gallic acid (GA)



รูปที่ 22 Chromatogram ของกรดอินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ผงมะขามสูตร No.12

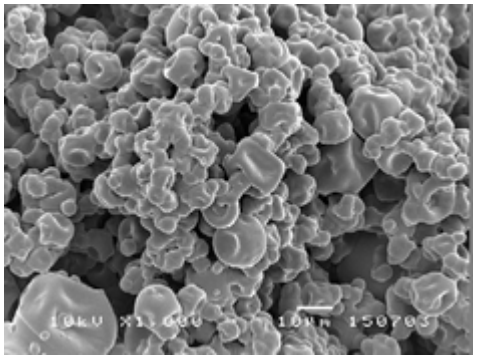
Peaks: 1 Oxalic acid (OA), 2 Tartartic acid (TA), 3 L-malic acid (L-MA),

4 Citric acid (CA) and 5 Gallic acid (GA)

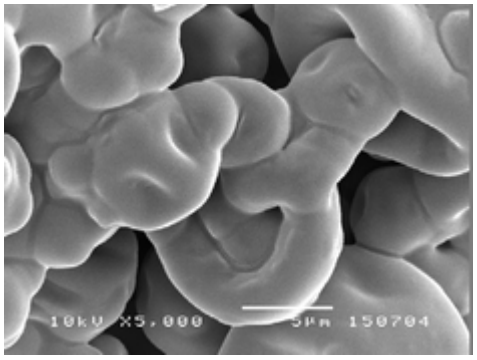


รูปที่ 23 Chromatogram ของกรดอินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ผงมะขามสูตร No.13

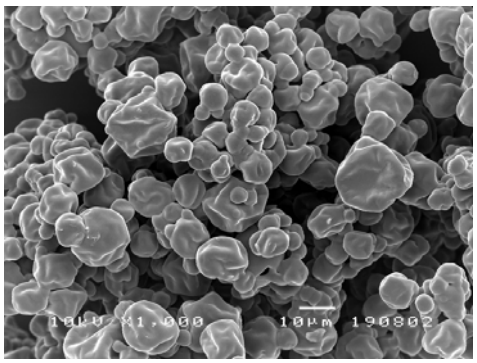
Peaks: 1 Oxalic acid (OA), 2 Tartartic acid (TA), 3 L-malic acid (L-MA), 4 Citric acid (CA) and 5 Gallic acid (GA)



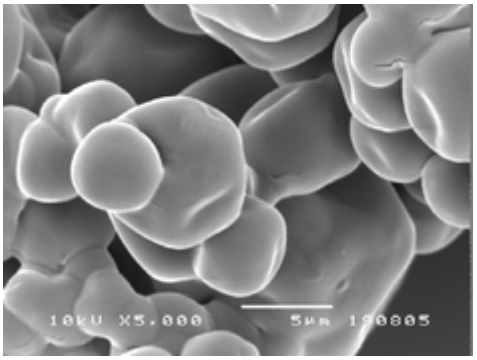
(A1)



(A2)



(B1)



(B2)

รูปที่ 24 Scanning electron micrographs ของผลิตภัณฑ์ผงมะขามเตรียมโดยวิธี spray-drying

(A1) Product No.12 (x1000) (A2) Product No.12 (x5000)

(B1) Product No.13 (x1000) (B2) Product No.13 (x5000)

4. <u>การศึกษาฤทธิ์การระบายของน้ำมะขามและผลิตภัณฑ์ผงแห้งมะขาม</u>

4.1 <u>ผลของน้ำมะขามเปรียบเทียบกับ organic acid standard ต่อการเคลื่อนที่ของลำไส้เล็กในหนูขาว</u>

ผลการทดลองในตารางที่ 10 แสดงให้เห็นว่าน้ำลูกพรุนในขนาดเป็น 10 เท่าของขนาดรับประทานในคน มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของผงถ่านในลำไส้ของหนูขาวเท่ากับ 63.94±7.40 ซึ่งสูงกว่าเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของผงถ่านในลำไส้ของหนูขาวในกลุ่มควบคุม (47.68±1.72) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p=0.000) ในทำนองเดียวกัน มะขามเปรี้ยวยักษ์ และมะขามพันธุ์ขันตีในขนาด 2 มิลลิลิตร/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของผงถ่านในลำไส้ของหนูขาวเท่ากับ 57.96±7.92 และ 58.19±9.48 ตามลำดับซึ่งสูงกว่าเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของผงถ่านในลำไส้ของหนูขาวในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p=0.016 สำหรับมะขามเปรี้ยวยักษ์ และ p=0.014 สำหรับมะขามพันธุ์ขันตี) เช่นเดียวกัน ส่วนมะขามอีก 3 พันธุ์ คือมะขามพันธุ์ศรีชมภู มะขามพันธุ์สีทองเบา และมะขามพันธุ์สีทองหนักในขนาด 2 มิลลิลิตร/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม รวมทั้งมะขามเปรี้ยวยักษ์ และมะขามพันธุ์ขันตีในขนาดสูงถึง8 และ 10 มิลลิลิตร/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของผงถ่านในลำไส้ของหนูขาวไม่แตกต่างของกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ขนาดที่สูงมากของน้ำมะขามไม่ทำให้เกิดการเคลื่อนที่ของงถ่านในลำไส้ได้มากขึ้น

สำหรับผลของกรด 3 ชนิด ที่พบในมะขาม ต่อการเคลื่อนที่ของผงถ่านในลำไส้ของหนูขาว (ตารางที่ 10) พบว่ากรดทั้ง 3 ชนิด คือ Tartaric acid, Citric acid และ Malic acid ในขนาด 100 ml/kg มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของผงถ่านในลำไส้ของหนูขาวเท่ากับ 62.56±13.77, 60.45±4.50 และ 57.03±5.01 ตามลำดับซึ่งสูงกว่าเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของผงถ่านในลำไส้ของหนูขาวในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p=0.001 สำหรับ Tartaric acid, p=0.003 สำหรับ Citric acid และ p=0.028 สำหรับ Malic acid) ในขณะที่เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของผงถ่านในลำไส้ของหนูขาวของกรดทั้ง 3 ชนิดในขนาด 10 mg/kg ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

จากการทดลองจะเห้นได้ว่า มะขามเปรี้ยวยักษ์ และมะขามพันธุ์ขันตีในขนาด 2 มิลลิลิตร/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม มีผลเพิ่มการเคลื่อนไหวของลำไส้ได้ดีกว่าพันธุ์อื่น จึงได้นำมาทำการศึกษาต่อเพื่อหาความสัมพันธุ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำมะขามทั้ง 2 พันธุ์ เป็น 8 และ 10 มิลลิลิตร/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม แต่พบว่าการเคลื่อนไหวของลำไส้หนูขาว ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งนี้อาจมีผลมาจากน้ำมะขามทั้ง 2 พันธุ์ มีลักษณะหนืดข้นมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งมะขามเปรี้ยวยักษ์ ดังนั้นการเพิ่มความเข้มข้นของมะขามทั้ง 2 พันธุ์ โดยการเพิ่มปริมาตรขึ้น อาจ

ตารางที่ 10 ผลของน้ำมะขามพันธุ์ต่างๆ และกรด 3 ชนิดหลักที่พบในน้ำมะขาม ต่อการเคลื่อนที่ของผงถ่านในลำไส้ของหนูขาว

กลุ่ม	เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่	P value
Control (distilled water)	47.68±1.72	
น้ำลูกพรุน 10 เท่า ขนาดรับประทานในคน	63.94±7.40*	0.000
Tartaric acid 10 mg/ml	51.65±7.54	0.344
Tartaric acid 100 mg/ml	62.56±13.77*	0.001
Citric acid 10 mg/ml	51.11±9.58	0.413
Citric acid 10 mg/ml	60.45±4.50*	0.003
Malic acid 10 mg/ml	49.11±7.10	0.733
Malic acid 100 mg/ml	57.03±5.01*	0.028
มะขามเปรี้ยวยักษ์ (TI-PY/P) 2 มล/กก	57.96±7.92*	0.016
มะขามพันธุ์ขันตี (TI-K/P)2 มล/กก	58.19±9.48*	0.014
มะขามพันธุ์ศรีชมภู (TI-SP/P) 2 มล/กก	53.56±7.84	0.162
มะขามพันธุ์สีทองเบา (TI-STB/P) 2 มล/กก	47.26±7.88	0.919
มะขามพันธุ์สีทองหนัก (TI-STN/P) 2 มล/กก	49.12±2.15	0.731
มะขามเปรี้ยวยักษ์ 8 มล/กก	49.67±4.40	0.634
มะขามเปรี้ยวยักษ์ 10 มล/กก	53.12±5.30	0.195
มะขามขันตี 8 มล/กก	45.70±4.20	0.635
มะขามขันตี 10 มล/กก	54.91±6.92	0.086

Data = mean±SD

N=6, * significant difference from control; $p<0.05$

ทำให้การเคลื่อนที่ของน้ำมะขามออกจากกระเพาะอาหาร (gastric emptying time) เพื่อไปออกฤทธิ์ที่ลำไส้ เกิดขึ้นได้น้อยลง (จากการสังเกตพบว่ามีน้ำมะขามและผงถ่านคั่งอยู่ในกระเพาะอาหารของหนุขาวจนกระเพาะบวมใหญ่ขึ้นอย่างมาก

จะทำการศึกษาเพื่อพิสูจน์ว่ากรดทั้ง 3 ชนิดนี้ หรือสารอื่นๆที่อยู่ในมะขามเป็นสารที่ออกฤทธิ์เพิ่มการเคลื่อนที่ของลำไส้ โดยจะหาความสัมพันธ์ระหว่างสารละลายที่ประกอบด้วยกรดทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ Tartaric Oxalic และ Malic acid ในความเข้มข้นที่วิเคราะห์พบจริงในมะขามแต่ละพันธุ์ ต่อผลการเคลื่อนที่ของผงถ่าน ในลำไส้เล็กของหนูขาว และทดสอบฤทธิ์ในการเพิ่มการเคลื่อนไหวของ isolated rat ilium ของหนูขาวควบคู่ไปด้วย

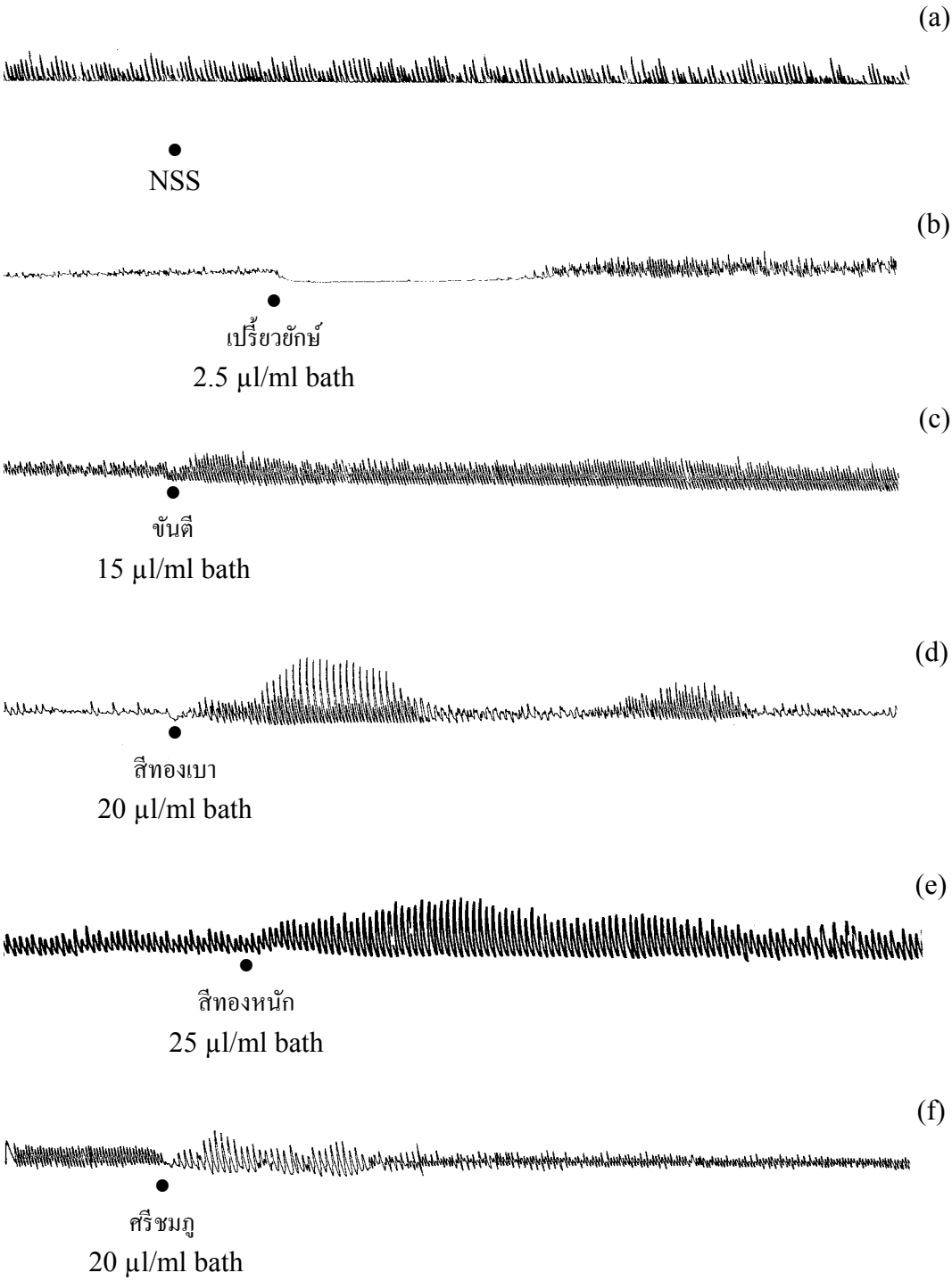
4.1.1 <u>ผลของน้ำมะขามต่อ isolated rat ilieum</u>

เมื่อหยดน้ำมะขามลงใน tissue chamber พบว่า isolated rat ileum มีการคลายตัวในระยะแรก ตามมาด้วยการหดตัวเพิ่มขึ้น และมี peristalsis เพิ่มขึ้นด้วย โดยปริมาตรของน้ำมะขามพันธุ์ต่างๆที่ทำให้เกิดการตอบสนองนั้นไม่เท่ากันและ ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างการตอบสนองกับปริมาตรของน้ำมะขาม ในขณะที่น้ำเกลือในปริมาตรเท่ากับปริมาตรน้ำมะขามที่ใช้ไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงใดๆ (รูปที่ 25)

จากผลการทดลองที่ได้ แสดงให้เห็นว่าน้ำมะขามมีผลเพิ่มการหดตัวของลำไส้และเพิ่ม peristalsis ใน isolated rat ileum ซึ่งฤทธิ์ดังกล่าวน่าจะเป็นประโยชน์ในการนำน้ำมะขามมาใช้เป็นยาระบายได้ดี

4.1.2 <u>การศึกษาส่วนผสมของกรดอินทรีย์ 3 ชนิด หลักที่พบในน้ำมะขามต่อการเคลื่อนที่ของผงถ่านในลำไส้ของหนูขาว</u>

จากการทดลองเพื่อทดสอบฤทธิ์ในการเพิ่มการเคลื่อนไหวของลำไส้ของหนูขาวของสารละลายที่ประกอบด้วยกรดทั้ง 3 ชนิดในความเข้มข้นที่พบจริงในมะขามแต่ละพันธุ์เทียบกับน้ำลูกพรุน แสดงผลในตารางที่ 11 พบว่าน้ำลูกพรุนในขนาดเป็น 10 เท่าของขนาดรับประทานในคนมีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของผงถ่านในลำไส้ของหนูขาวเท่ากับ 58.95$\pm$4.51 ซึ่งสูงกว่าเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของผงถ่านในลำไส้ของหนูขาวในกลุ่มควบคุม (41.13$\pm$4.23) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.001$) ในทำนองเดียวกัน กรดในปริมาณจากผลวิเคราะห์ครั้งที่ 2 ของมะขามเปรี้ยวยักษ์และขันตีในขนาด 2 มิลลิลิตร/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของผงถ่านในลำไส้ของหนูขาวเท่ากับ 49.68$\pm$7.48 และ 51.57$\pm$4.98 ตามลำดับซึ่งสูงกว่าเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของผงถ่านในลำไส้ของหนูขาวในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.012$ สำหรับมะขามเปรี้ยวยักษ์



รูปที่ 25 ผลของน้ำมะขามต่อ isolated rat ileum เปรียบเทียบกับ normal saline solution (NSS) ใน control (a), สายพันธุ์เปรี้ยวยักษ์ (b), มะขามหวานขันตี (c), สีทองเบา (d), สีทองหนัก (e), และศรีชมพู (f)

ตารางที่ 11 ผลของสารละลายที่ประกอบด้วยกรดทั้ง 3 ชนิดในความเข้มข้นที่พบจริงในมะขามแต่ละพันธุ์ ต่อการเคลื่อนที่ของผงถ่านในลำไส้ของหนูขาว

กลุ่ม	น้ำหนัก (กรัม)	เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่	P value
Control (distilled water)	294.67	41.13±4.23	
น้ำลูกพรุน 10 เท่า ขนาดรับประทานในคน	287.00	58.95±4.51*	0.000
ปริมาณกรดจากผลวิเคราะห์ 1 ของเปรี้ยวยักษ์ ชุด 1 2 ml/kg (OA+TA+MA=1.72+322.86+7.02 mg)	294.67	39.72±4.66	0.662
ปริมาณกรดจากผลวิเคราะห์ 2 ของมะขามเปรี้ยวยักษ์ชุด 2 2 ml/kg (OA+TA+MA=0.704+126.76+1.126 mg)	291.00	49.68±7.48*	0.012
ปริมาณกรดจากผลวิเคราะห์ 1 ของมะขามพันธุ์ขันตีชุด 1 2 ml/kg (OA+TA+MA=1.36+36.74+17.32 mg)	274.33	45.95±6.51	0.141
ปริมาณกรดจากผลวิเคราะห์ 2 ของมะขามพันธุ์ขันตีชุด 2 2 ml/kg (OA+TA+MA=0.734+20.248+7.072 mg)	308.67	51.57±4.98*	0.003

Data = mean ± SD

N=6, * significant difference from control; $p<0.05$

และ p=0.003 สำหรับมะขามพันธุ์ขันตี) ส่วนกรดในปริมาณจากผลวิเคราะห์ครั้งที่ 1 ของมะขามเปรี้ยวยักษ์และขันตี ไม่พบความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม

จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่า กรดในปริมาณตามการวิเคราะห์ครั้งที่ 2 ของมะขามเปรี้ยวยักษ์และขันตีมีผลเพิ่มการเคลื่อนที่ของลำไส้ได้ดีกว่ากลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตาม กรดในปริมาณจากผลวิเคราะห์ครั้งที่ 1 กลับไม่ทำให้เกิดการเคลื่อนไหวของลำไส้เปลี่ยนแปลง เมื่อพิจารณาถึงปริมาณของกรดทั้ง 3 ชนิดที่มีในน้ำมะขามพบว่า ปริมาณของ tartaric acid มีมากที่สุด รองลงมาคือ malic acid และ oxalic acid ตามลำดับ ซึ่งปริมาณของกรดทั้ง 3 ชนิดนี้ในผลวิเคราะห์ครั้งที่ 1 ซึ่งเตรียมให้มีความเข้มข้นมากกว่าในผลวิเคราะห์ครั้งที่ 2 จึงเห็นว่า หากใช้ปริมาณกรดเข้มข้นมากจากผลวิเคราะห์ครั้งที่ 1 จะไม่มีผลเพิ่มการเคลื่อนไหวของลำไส้มากขึ้น ดังนั้นปริมาณที่เหมาะสมของกรดทั้ง 3 ชนิด ที่มีผลเพิ่มการเคลื่อนไหวของลำไส้และควรใช้กรดปริมาณที่ต่ำกว่า เช่นในผลวิเคราะห์ครั้งที่ 2

4.1.3 <u>การทดสอบฤทธิ์การระบายของน้ำมะขามต่างสายพันธุ์ต่อการเคลื่อนที่ของผงถ่านในลำไส้หนูขาว</u>

ผลการทดลองในตารางที่ 12 แสดงให้เห็นว่าน้ำลูกพรุนในขนาดเป็น 10 เท่าของขนาดรับประทานในคน มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของผงถ่านในลำไส้ของหนูขาวเท่ากับ 47.50±4.31 ซึ่งสูงกว่าเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของผงถ่านในลำไส้ของหนูขาวในกลุ่มควบคุม (38.86±6.23) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p=0.005) แต่ไม่แตกต่างจากการให้น้ำมะขามโดยเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของผงถ่านในลำไส้ของหนูขาวที่ได้รับน้ำมะขามพันธุ์ต่างๆ ที่ทำการทดสอบซ้ำใหม่ ในทำนองเดียวกันน้ำมะขามพันธุ์สีทองหนัก สีทองเบา ขันตี เปรี้ยวยักษ์ และศรีชมภู ในขนาด 2 มิลลิลิตร/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของผงถ่านในลำไส้ของหนูขาวเท่ากับ 47.40±4.04, 45.24±2.38, 49.72±5.15, 49.43±4.81 และ 50.87±6.51 ตามลำดับซึ่งสูงกว่าเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของผงถ่านในลำไส้ของหนูขาวในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p=0.005 สำหรับพันธุ์สีทองหนัก, p=0.032 สำหรับพันธุ์สีทองเบา, p=0.001 สำหรับพันธุ์ขันตีและเปรี้ยวยักษ์ และ p=0.000 สำหรับพันธุ์ศรีชมภู)

4.2 <u>การทดสอบฤทธิ์การระบายของผลิตภัณฑ์ผงแห้งมะขาม ต่อการเคลื่อนที่ของผงถ่านในลำไส้เล็กหนูขาว</u>

ผลการทดลองในตารางที่ 13 แสดงให้เห็นว่าน้ำลูกพรุนในขนาดเป็น 10 เท่าของขนาดรับประทานในคน มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของผงถ่านในลำไส้ของหนูขาวเท่ากับ 59.33±3.88 ซึ่ง

ตารางที่ 12 ผลการทดสอบซ้ำต่อการเคลื่อนที่ของผงถ่านในลำไส้ของหนูขาวของน้ำมะขามพันธุ์ต่างๆ

กลุ่ม	น้ำหนัก (กรัม)	เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่	P value
Control (distilled water)	308.00	38.86±6.23	-
น้ำลูกพรุน 10 เท่า ขนาดรับประทานในคน	298.33	47.50±4.31*	0.005
มะขามพันธุ์สีทองหนัก 2 มล/กก	279.67	47.40±4.04	0.005
มะขามพันธุ์สีทองเบา 2 มล/กก	305.33	45.24±2.38*	0.032
มะขามพันธุ์ขันตี 2 มล/กก	305.67	49.72±5.15*	0.001
มะขามพันธุ์เปรี้ยวยักษ์ 2 มล/กก	312.67	49.43±4.81*	0.001
มะขามพันธุ์ศรีชมภู 2 มล/กก	252.00	50.87±6.51*	0.000

Data = mean ± SD

N=6, * significant difference from control; $p<0.05$

ตารางที่ 13 ผลของผลิตภัณฑ์ผงแห้งมะขามต่อการเคลื่อนที่ของผงถ่านในลำไส้ของหนูขาว

กลุ่ม	น้ำหนัก (กรัม)	เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่	P value
Control (distilled water)	247.67±24.21	52.66±2.75	-
น้ำลูกพรุน 10 เท่า ขนาดรับประทานในคน	253.67±37.30	59.33±3.88*	0.000
ผลิตภัณฑ์เทียบเท่าน้ำมะขาม 8 มล/กก	230.67±12.75	75.48±2.36*	0.000
ผลิตภัณฑ์เทียบเท่าน้ำมะขาม 4 มล/กก	251.67±36.01	64.32±2.56*	0.000
ผลิตภัณฑ์เทียบเท่าน้ำมะขาม 2 มล/กก	253.00±26.22	57.25±2.08*	0.008

Data = mean ± SD

N=6, * significant difference from control; $p<0.05$

สูงกว่าเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของผงถ่านในลำไส้ของหนูขาวในกลุ่มควบคุม (52.66±2.75) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p=0.000) และแตกต่างจากเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของผงถ่านในลำไส้ของหนูขาวที่ได้รับผลิตภัณฑ์เทียบเท่ากับน้ำมะขาม 8 และ 4 มิลลิลิตร/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม (p=0.000 และ 0.004 ตามลำดับ) สำหรับผลิตภัณฑ์เทียบเท่าน้ำมะขาม 8, 4 และ 2 มิลลิลิตร/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของผงถ่านในลำไส้ของหนูขาวเท่ากับ 75.484.±2.36, 64.32±2.56 และ 57.25±2.08 ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของผงถ่านในลำไส้ของหนูขาวในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (p=0.000, 0.000 และ 0.008 ตามลำดับ) จากผลการทดลองแสดงว่าผลิตภัณฑ์น้ำมะขามที่เตรียมขึ้นเมื่อนำมาใช้ในขนาดที่เทียบเท่ากับน้ำมะขาม 4 และ 8 มล/น้ำหนักตัว 1 กก. มีผลช่วยเพิ่มการเคลื่อนที่ของลำไส้หนูได้ดีขึ้นแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลิตภัณฑ์ผงแห้งมะขามที่เตรียมโดยวิธี spray dried คือผลิตภัณฑ์ No 13 ซึ่งสามารถวิเคราะห์โดยวิธี HPLC พบว่ามีองค์ประกอบของกรด Tartaric Malic และ Citric เท่ากับ 9.3, 0.169 และ 0.135 g/100g ตามลำดับ การใช้ผลิตภัณฑ์ผงแห้งมะขามในน้ำ ขนาด 4 และ 8 มล/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม มีผลทำให้ระยะทางการเคลื่อนที่ของผงถ่านไปได้ไกลกว่า เมื่อเทียบกับน้ำลูกพรุนซึ่งใช้เป็น positive control (ตารางที่ 13) จากผลการทดลอง แสดงให้เห็นว่าผลิตภัณฑ์ผงแห้งมะขามน่าจะมีศักยภาพนำมาใช้เป็นยาระบายได้ดี เช่นเดียวกันหรือดีกว่าน้ำลูกพรุน

ผลิตภัณฑ์งแห้งมะขามในขนาดที่สูง 8 มล/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม มีผลทำให้ผงถ่านเคลื่อนที่ไปได้ไกลมากที่สุดถึง 75.48±0.97% ซึ่งต่างจากน้ำสกัดมะขามยิ่งขนาดสูงจะไม่ทำให้เกิดการเคลื่อนที่ได้ดี (ตารางที่ 10) ดังนั้นผลิตภัณฑ์ผงแห้งมะขามจึงมีแนวโน้มที่ดี ที่สามารถนำมาพัฒนาใช้เป็นอาหารเพื่อสุขภาพได้ ในตารางที่ 14 แสดงผลของผลิตภัณฑ์ผงแห้งมะขามที่ให้ในขนาด 4.9689 กรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม จะมีผลทำให้มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของลำไส้เล็กหนูขาว ถึง 75.48±0.97 ซึ่งดีกว่าน้ำลูกพรุนที่ให้ในขนาด 10 เท่า ซึ่งเป็น positive control พบทำให้มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของผงถ่าน 59.33±1.58 ในขณะที่น้ำกลั่น ซึ่งเป็น control มีระยะทาง (เปอร์เซ็นต์) การเคลื่อนที่ของผงถ่านที่ 50.88±1.34 ซึ่งจากการทดลองนี้พบว่าการให้ในขนาดลดลงครึ่งหนึ่งหรือให้ 4 มก/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม (เท่ากับขนาด 2.48 กรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ก็จะให้ผลเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของผงถ่านได้ไกลกว่า (64.32±2.56) กลุ่ม positive control แล้ว ดังนั้นการให้ผลิตภัณฑ์ผงแห้งมะขามขนาด 2.48 กรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม หรือน้อยกว่า ก็อาจจะเพียงพอ ทำให้เกิดการระบายท้องช่วยการขับถ่ายได้

ตารางที่ 14 แสดงผลของผลิตภัณฑ์ผงแห้งมะขามต่อการเคลื่อนที่ของผงถ่านในลำไส้ของหนูขาว

กลุ่ม	น้ำหนัก (กรัม)	เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่	P value
Control (distilled water)	249.25	50.88±1.34	-
น้ำลูกพรุน 10 เท่า ขนาดรับประทานในคน	246.75	59.33±1.58*	0.000
ผลิตภัณฑ์ผงมะขาม 4.9689 g/kg	228.5	75.48±0.97*	0.000

Data = mean ± SD

N=6, * significant difference from control; $p<0.05$

Dose ที่ให้ 4.9689 g/kg เทียบเท่ากับน้ำมะขามขนาดสูงสุดที่เคยทำคือ 8 ml/kg

น้ำมะขาม 8 ml/kg คิดแล้วมีเนื้อผงแห้งมะขาม 2.4 กรัม จึงใช้ผลิตภัณฑ์น้ำหนัก 4.9689 กรัม

Volume 10 mg/ml

ถ้าหนูหนัก 200 g ได้ volume 2 ml

เตรียม 0.4969 g/ml

5. <u>การพัฒนาผลิตภัณฑ์ผงฟู่จากมะขาม</u>

ในการวิจัยนี้เลือกใช้มะขามเปรี้ยว TI-P/K จากจังหวัดนครราชสีมา (โคราช) เนื่องจากมีราคาถูกและมีความเปรี้ยวสูง จึงน่าจะมีกรดผลไม้ตามธรรมชาติมากเพียงพอในการเป็นส่วนประกอบสำคัญในการพัฒนาสูตรตำรับเครื่องดื่มมะขามผงฟู่และเยลลี่ โดยในการทดลองใช้ส่วนเนื้อของผลแก่ของมะขาม

ทำการประเมินคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของน้ำมะขามเข้มข้น โดยนำน้ำมะขามเข้มข้นมาประเมินคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพ ได้แก่ สี กลิ่น ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ความเป็นกรดด่าง ปริมาณกรดทาร์ทาริก แสดงผลในตารางที่ 15

การสกัดน้ำมะขามนิยมใช้น้ำเป็นตัวทำละลายเนื่องจากมีความปลอดภัยต่อการนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อาหาร อีกทั้งกรดทาร์ทาริกที่มีในเนื้อมะขามซึ่งเป็นสารสำคัญในการออกฤทธิ์ช่วยให้ระบายสามารถละลายได้ดีในน้ำ (กรดทาร์ทาริก 1 กรัม ละลายได้ในน้ำธรรมดา 0.75 มิลลิลิตร ละลายได้ในน้ำร้อนอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส 0.50 มิลลิลิตร) (Marydele, 2001; Wade และ Weller, 1994) น้ำมะขามเข้มข้นที่สกัดได้มีลักษณะเป็นสารละลายสีน้ำตาลแดงเข้ม กลิ่นหอมมะขามเนื่องจากมีสารพวกน้ำมันหอมระเหยเป็นองค์ประกอบ โดย Lee, Swords และ Hunter (1975) ได้ศึกษาโดยใช้ gas chromatography และ mass spectroscopy พบว่าสารให้กลิ่นในเนื้อมะขามสุกมีประมาณ 61 ชนิด สารที่สำคัญได้แก่ 2-acetyl-furan ให้ลักษณะกลิ่นที่เรียกว่า balsamic-simmamic ความเป็นกรดด่างของน้ำมะขามเข้มข้นเท่ากับ 1.943 ทำให้มีรสเปรี้ยวจัด ปริมาณของแข็งที่ละลายทั้งหมดเท่ากับ 49.67 องศาบริกซ์ ซึ่งมากกว่าน้ำมะขามที่สกัดโดยสุกัญญา ธนพัฒนากุล และคณะ (2544) ที่มีปริมาณของแข็งที่ละลายทั้งหมดเท่ากับ 27 องศาบริกซ์ ทำให้น้ำมะขามเข้มข้นที่สกัดได้ในการทดลองนี้มีลักษณะเป็นสารละลายข้นหนืด วิเคราะห์ปริมาณกรดทาร์ทาริกในน้ำมะขามเข้มข้น 1 กรัม มีค่า 187.2 มิลลิกรัม สำหรับกรดทาร์ทาริกเป็นกรดที่ พบมากที่สุดในมะขามชนิดเปรี้ยว มีปริมาณ 12.20-23.80 %ของเนื้อมะขาม ซึ่งสูงกว่าพืชชนิดอื่นๆที่มีการศึกษาไว้ (Ulrich, 1970) มีนักวิจัยแต่ละกลุ่มได้รายงานปริมาณของกรดทาร์ทาริกในเนื้อมะขามที่มีค่าแตกต่างกันไป ได้แก่ Shri *et al*. (1976) พบว่าเนื้อมะขามมีปริมาณกรดทาร์ทาริก 8-18 % ของเนื้อมะขาม ส่วน Hasan และ Ijaz (1972) พบว่าในเนื้อมะขามเปรี้ยวในประเทศปากีสถานมีปริมาณกรดทาร์ทาริก 8.40-12.40% ของเนื้อมะขาม ในประเทศไทยพบว่ามะขามมีปริมาณกรดทาร์ทาริก 2.50-11.30 % ของเนื้อมะขาม โดยมะขามชนิดหวานมีปริมาณกรดทาร์ทาริกน้อยกว่ามะขามชนิดเปรี้ยว คือ มีค่าต่ำกว่าร้อยละ 2.00-3.20% (Feungchan, Yimsawat และ Kitpowsong, 1996) ขณะที่

ชูศักดิ์ สัจจพงษ์ (2542) พบว่ามะขามชนิดเปรี้ยวมีปริมาณกรดทาร์ทาริก 12.00-17.00 % ของเนื้อมะขาม

5.1 <u>การผลิตผงมะขาม โดยใช้เครื่องทำแห้งแบบพ่น (spray dryer)</u> ได้เตรียมผลิตภัณฑ์ผงมะขามและประเมินคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์ได้ผลต่อไปนี้

5.1.1 การประเมินคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของผงมะขามที่ได้จากการทำแห้งแบบพ่นพบว่าผลิตภัณฑ์ของผงมะขามลักษณะทางกายภาพ ได้แก่ สี กลิ่น จากการสังเกตและดมกลิ่น ค่าสีของผงมะขาม ลักษณะผงมะขาม ค่าการละลายแสดงในรูปร้อยละของปริมาณของแข็งที่ไม่ละลาย (% insoluble solid) และเวลาในการละลาย และร้อยละของน้ำหนักของผงมะขามที่ผลิตได้ (%yield) แสดงผลในตารางที่ 16

5.1.2 การประเมินคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของผงมะขามที่มีลักษณะทางกายภาพที่ดีที่สุด ทำการคัดเลือกผงมะขามที่มีลักษณะทางกายภาพที่ดีที่สุด พบว่าผงมะขามที่ได้จากเตรียมโดยใช้น้ำมะขามเข้มข้นผสมมอลโตเด็กซ์ตรินร้อยละ 40 มีลักษณะผงที่ดีที่สุด มี % yield มากที่สุด จึงนำมาประเมินเพิ่มเติม ได้แก่ปริมาณความชื้น ความเป็นกรดด่าง (pH) ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (total soluble solid) และปริมาณกรดทาร์ทาริก แสดงผลในตารางที่ 17

5.1.3 การศึกษาความคงตัวของผงมะขามผงมะขามจากน้ำมะขามเข้มข้นผสมมอลโตเด็กซ์ตรินร้อยละ 40 เป็นสูตรที่เหมาะสมที่สุด เนื่องจากมีลักษณะผงที่ละเอียดร่วน ไม่เกาะกันเป็นก้อน ชื้นน้อย ได้น้ำหนักมะขามผงที่ผลิตได้มากที่สุด นำผงมะขามดังกล่าวมาศึกษาความคงตัว โดยประเมินคุณสมบัติทางกาพภาพ เคมี และจุลชีววิทยา เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องและ ที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน โดยผลการประเมินทางกายภาพและเคมี ได้แก่ สี กลิ่น ค่าสี ลักษณะผงมะขาม เวลาในการละลาย ค่าการละลาย ปริมาณความชื้น ความเป็นกรดด่าง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และปริมาณกรด ทาร์ทาริก แสดงผลในตารางที่ 18 และ 19 ส่วนผลการประเมินทางจุลชีววิทยาไม่พบยีสต์ รา *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* พบแบคทีเรียชนิดโคลิฟอร์มน้อยกว่า 2 MPN/g พบเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดชนิดมีโซไฟล์น้อยกว่า 10 cfu /g แสดงผลในตารางที่ 20 และ 21

ตารางที่ 15 คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีและของน้ำมะขามเข้มข้น

คุณสมบัติทางกายภาพและเคมี	ผลการทดลอง*
สี (จากการสังเกต)	สีน้ำตาลแดงเข้ม
กลิ่น	กลิ่นหอมมะขาม
ค่าสี	
L*	33.72 (0.02)
a *	+41.54 (0.04)
b *	+57.19 (0.03)
ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (°brix)	49.67 (0.58)
ความเป็นกรดด่าง (pH)	1.943 (0.039)
ปริมาณกรดทาร์ทาริก (มิลลิกรัม/1 กรัมน้ำมะขาม (ในน้ำมะขามเข้มข้น 1 กรัม)	187.2 (0.2)

* ค่าเฉลี่ยที่ได้จากการวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง และค่าในวงเล็บแสดงค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางที่16 คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของผงมะขามที่ได้จากการทำแห้งแบบพ่น*

ร้อยละของมอลโตเด็กซ์ตริน	กลิ่น	สี	ค่าสี*			ลักษณะผงมะขาม	ร้อยละของปริมาณของแข็งที่ไม่ละลาย (% insoluble solid)	เวลาในการละลาย (วินาที)		ร้อยละผงมะขามที่ได้ (% Yield) (กรัม)
			L*	a*	b*			น้ำที่อุณหภูมิห้อง	น้ำที่อุณหภูมิ 80°C	
10	หอมกลิ่นมะขาม	สีน้ำตาลอ่อน	54.91 (0.02)	+9.01 (0.06)	+18.06 (0.18)	ผงขนาดใหญ่ เกาะกันเป็นก้อน ชื้นมาก ผงที่ได้เกาะติดผนังของเครื่องพ่น ต้องขูดออก	0.0998 (0.0282)	143 (11)	73 (11)	5.126 (0.101)
20	หอมกลิ่นมะขาม	สีน้ำตาลอ่อน	56.74 (0.40)	+8.18 (0.54)	+16.62 (1.62)	ผงขนาดใหญ่ เกาะกันเป็นก้อน ชื้นมาก ผงที่ได้เกาะติดผนังของเครื่องพ่น ต้องขูดออก	0.1999 (0.1130)	170 (7)	100 (7)	5.699 (0.214)
30	หอมกลิ่นมะขาม	สีน้ำตาลอ่อน	57.97 (0.04)	+8.87 (0.02)	+19.41 (0.04)	ผงขนาดใหญ่ปนขนาดเล็ก เกาะกันเป็นก้อนบางส่วน ชื้นมาก ผงที่ได้เกาะติดผนังของเครื่องพ่น ต้องขูดออก	0.2699 (0.0423)	168 (11)	105 (7)	11.550 (1.067)
40	หอมกลิ่นมะขาม	สีน้ำตาลอ่อน	77.32 (0.03)	+4.29 (0.01)	+16.10 (0.02)	ผงขนาดเล็ก ร่วนละเอียด ชื้นเล็กน้อย ผงที่ได้เกาะติดผนังของเครื่องพ่น ต้องขูดออก	1.1485 (0.1003)	138 (11)	80 (1)	29.369 (1.540)

*ค่าเฉลี่ยได้จากการวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง และ ค่าในวงเล็บแสดงค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางที่ 17 ปริมาณความชื้น ความเป็นกรดด่าง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดและปริมาณกรดทาร์ทาริกของผงมะขามที่ผสมมอลโตเด็กซ์ทรินร้อยละ 40

คุณสมบัติ	ผลการทดลอง*
ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)	2.24(0.07)
ความเป็นกรดด่าง (pH)	2.627 (0.023)
ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (°brix)	2.8 (0.3)
ปริมาณกรดทาร์ทาริก (มิลลิกรัม) (ในผงมะขาม 1 กรัม)	160.6 (0.8)

*ค่าเฉลี่ยได้จากการวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง และ ค่าในวงเล็บแสดงค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางที่ 18 ลักษณะทางกายภาพและเคมีของผงมะขาม เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง ณ วันเริ่มต้น 7 15 และ 30 วัน *

เวลา	สีของผงมะขาม				ลักษณะผงมะขาม	กลิ่น	ความชื้น	pH	ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (° brix)	ร้อยละของปริมาณของแข็งที่ไม่ละลาย	ค่าการละลาย		ปริมาณกรดทาร์ทาริก ในผงมะขาม 1 กรัม (มิลลิกรัม)
	จากการสังเกต	ค่าสี									อุณหภูมิห้อง	น้ำ 80 องศาเซลเซียส	
		L*	a*	b*									
เริ่มต้น	สีน้ำตาลอ่อน	77.31 (1.68)	+4.29 (0.29)	+16.12 (0.47)	ผงขนาดเล็ก ร่วน ไม่เกาะเป็นก้อน	กลิ่นหอมมะขาม	2.24[a] (0.07)	2.627[a] (0.023)	2.8[a] (0.3)	1.1422[a] (0.0718)	138[a] (8)	83[a] (6)	160.6[a] (0.8)
วันที่ 7	สีน้ำตาล	72.70 (1.59)	+4.90 (0.25)	+15.66 (0.35)	ผงขนาดเล็ก เกาะเป็นก้อน	กลิ่นหอมมะขาม	3.14[b] (0.08)	2.633[a] (0.014)	2.7[a] (0.3)	1.2520[ab] (0.0654)	187[b] (8)	145[b] (9)	158.8[a] (0.6)
วันที่ 15	สีน้ำตาล	70.82 (0.09)	+5.73 (0.03)	+17.45 (0.04)	ผงขนาดเล็ก เกาะเป็นก้อน	กลิ่นหอมมะขาม	3.51[c] (0.07)	2.654[a] (0.037)	2.5[a] (0.5)	1.2683[ab] (0.0841)	192[b] (10)	158[b] (10)	157.8[b] (0.4)
วันที่ 30	สีน้ำตาล	68.17 (0.14)	+6.76 (0.01)	+16.72 (0.24)	ผงขนาดเล็ก เกาะเป็นก้อน	กลิ่นหอมมะขาม	3.69[d] (0.11)	2.663[a] (0.040)	2.7[a] (0.3)	1.3239[b] (0.0456)	212[c] (13)	157[b] (13)	155.9[c] (0.2)

*ค่าเฉลี่ยที่ได้จากการวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง และค่าในวงเล็บคือค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

[abcd] เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยตามแนวตั้ง โดยอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 19 ลักษณะทางกายภาพและเคมีของผงมะขาม เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส ณ วันเริ่มต้น 7 15 และ 30 วัน *

เวลา	สีของผงมะขาม				ลักษณะผงมะขาม	กลิ่น	ความชื้น	pH	ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (° brix)	ร้อยละของปริมาณของแข็งที่ไม่ละลาย	ค่าการละลาย		ปริมาณกรดทาร์ทาริกในผงมะขาม 1 กรัม (มิลลิกรัม)
	จากการสังเกต	ค่าสี									อุณหภูมิห้อง	น้ำ 80 องศาเซลเซียส	
		L	a	b									
เริ่มต้น	สีน้ำตาลอ่อน	77.31 (1.68)	+4.29 (0.29)	+16.12 (0.47)	ผงขนาดเล็ก ร่วน ไม่เกาะเป็นก้อน	กลิ่นหอมมะขาม	2.24 [a] (0.07)	2.627 [a] (0.023)	2.8 [a] (0.3)	1.1422 [a] (0.0718)	138 [a] (8)	83 [a] (6)	160.6 [a] (0.8)
วันที่ 7	สีน้ำตาลอ่อน	73.78 (0.26)	+4.91 (0.03)	+16.37 (0.53)	ผงขนาดเล็ก ร่วน ไม่เกาะเป็นก้อน	กลิ่นหอมมะขาม	2.88 [b] (0.03)	2.635 [a] (0.016)	2.8 [a] (0.3)	1.1446 [a] (0.1644)	142 [a] (3)	82 [a] (3)	159.8 [a] (0.7)
วันที่ 15	สีน้ำตาลอ่อน	73.80 (0.55)	+4.64 (0.05)	+15.57 (0.17)	ผงขนาดเล็ก ร่วน ไม่เกาะเป็นก้อน	กลิ่นหอมมะขาม	3.11 [c] (0.05)	2.646 [a] (0.014)	2.7 [a] (0.3)	1.2447 [a] (0.0541)	147 [a] (8)	88 [ab] (6)	158.7 [ab] (1.1)
วันที่ 30	สีน้ำตาล	73.48 (1.66)	+5.26 (0.47)	+16.78 (0.69)	ผงขนาดเล็กบางส่วนเกาะเป็นก้อน	กลิ่นหอมมะขาม	3.30 [d] (0.05)	2.645 [a] (0.023)	2.5 [a] (0.5)	1.2682 [a] (0.0791)	167 [b] (8)	97 [b] (8)	157.5 [ab] (1.0)

*ค่าเฉลี่ยที่ได้จากการวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง และค่าในวงเล็บคือค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

[abcd] เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยตามแนวตั้ง โดยอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 20 ผลการวิเคราะห์ด้านจุลชีววิทยาของผงมะขาม เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องที่ระยะเวลาต่างๆ

การวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา	ระยะเวลาที่เก็บตัวอย่างไว้ ณ อุณหภูมิห้อง			
	เริ่มต้น	7 วัน	15 วัน	30 วัน
จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดชนิดมีโซไฟล์ (cfu /g)[1]	< 10	< 10	< 10	< 10
จำนวนยีสต์และรา (cfu /g)[1]	< 10	< 10	< 10	< 10
จำนวนโคลิฟอร์มทั้งหมด (MPN /g)[2]	< 2	< 2	< 2	< 2
จำนวน *E.coli*	ไม่พบเชื้อ	ไม่พบเชื้อ	ไม่พบเชื้อ	ไม่พบเชื้อ
จำนวน *S.aureus* (cfu /g)[1]	ไม่พบเชื้อ	ไม่พบเชื้อ	ไม่พบเชื้อ	ไม่พบเชื้อ

[1] cfu / g = colony forming unit ต่อผงมะขาม 1 กรัม

[2] MPN / g = Most Probable Number ต่อผงมะขาม 1 กรัม

ตารางที่ 21 ผลการวิเคราะห์ด้านจุลชีววิทยาของผงมะขาม เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียสที่ระยะเวลาต่างๆ

การวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา	ระยะเวลาที่เก็บตัวอย่างไว้ ณ อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส			
	เริ่มต้น	7 วัน	15 วัน	30 วัน
จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดชนิดมีโซไฟล์ (cfu /g)[1]	< 10	< 10	< 10	< 10
จำนวนยีสต์และรา (cfu /g)[1]	< 10	< 10	< 10	< 10
จำนวนโคลิฟอร์มทั้งหมด (MPN /g)[2]	< 2	< 2	< 2	< 2
จำนวน *E.coli*	ไม่พบเชื้อ	ไม่พบเชื้อ	ไม่พบเชื้อ	ไม่พบเชื้อ
จำนวน *S.aureus* (cfu /g)[1]	ไม่พบเชื้อ	ไม่พบเชื้อ	ไม่พบเชื้อ	ไม่พบเชื้อ

[1] cfu / g = colony forming unit ต่อผงมะขาม 1 กรัม

[2] MPN / g = Most Probable Number ต่อผงมะขาม 1 กรัม

การทำผงมะขามโดยใช้เครื่องทำแห้งแบบพ่น เลือกใช้มอลโตเด็กซ์ทรินเป็นสารเพิ่มปริมาณ (drying aid) เนื่องจากหาซื้อได้ง่าย ราคาไม่แพง ลักษณะเป็นผงสีขาว ละลายน้ำได้ดี ให้สารละลายใส ไม่มีสี (Wade, 1994) ช่วยเพิ่มความคงตัวของสารให้กลิ่นรสระหว่างกระบวนการทำแห้ง และช่วยลดการดูดความชื้นของผลิตภัณฑ์แห้งที่ได้ (Juan และคณะ, 1987; Bangs และ Reineccius, 1981) ในการศึกษานี้ นำน้ำมะขามเข้มข้นที่สกัดได้มาเติมมอลโตเด็กซ์ทรินร้อยละ 10 20 30 และ 40 พบว่าผงมะขามที่ได้จากการเตรียมโดยเติมมอลโต เด็กซ์ทรินร้อยล 40 ได้ผงมะขามที่ลักษณะดีที่สุด ผงมีขนาดเล็ก ร่วนละเอียด สีน้ำตาลอ่อน หอมกลิ่นมะขาม ปริมาณความชื้นร้อยละ 2.24 เมื่อละลายน้ำมีความเป็นกรดด่าง 2.627 ค่าการละลายในรูปร้อยละของปริมาณของแข็งที่ไม่ละลายเท่ากับ 1.1485 เวลาในการละลายน้ำอุณหภูมิห้องและน้ำอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสเท่ากับ 138 และ 80 วินาที ตามลำดับ และน้ำหนักผงมะขามที่ผลิตได้มากที่สุดคือร้อยละ 29.369 ส่วนโทนสีของผงมะขามที่ได้จากการสังเกตด้วยตาเปล่าและการวัดค่าสีด้วยเครื่องวัดสี มีลักษณะเป็นสีน้ำตาลเช่นเดียวกับน้ำมะขามเข้มข้น เนื่องจากสารให้สีในน้ำมะขามเป็นกลุ่มแคโรทีนอยด์และคลอโรฟิลล์ เมื่อถูกความร้อนจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันระหว่างการทำแห้งและจากปฏิกิริยาจากเอนไซม์ที่หลงเหลืออยู่ในมะขามทำให้เกิดสีน้ำตาล (ปวลี วงษ์มา, 2542) สีของผงมะขามที่เติมมอลโตเด็กซ์ทรินร้อยละ 40 จะมีสีโทนน้ำตาลอ่อนที่สุด เนื่องจากมีปริมาณน้ำมะขามน้อยแต่ปริมาณมอลโตเด็กซ์ทรินมากเมื่อเทียบกับสัดส่วนอื่นๆ

5.2 การพัฒนาเครื่องดื่มมะขามผงฟู่จากผงมะขามที่ได้จากการทำแห้งแบบพ่น

สัดส่วนที่เหมาะสมของสารก่อฟองฟู่ พบว่าเครื่องดื่มมะขามผงฟู่ทุกสูตรจะเติมผงมะขาม 3.75 กรัม น้ำตาลซูโครส 4.00 กรัม และเกลือ 0.13 กรัม เท่ากัน และแปรปริมาณสารก่อฟองฟู่เป็น 4 สูตร โดยมีอัตราส่วนของโซเดียมไบคาร์บอเนตต่อกรดซิตริกเท่ากับ 0.13:0.10 0.26:0.20 0.39:0.30 และ 0.52:0.40 ตามลำดับ เมื่อผสมเครื่องดื่มมะขามผงฟู่แบบ geometric dilution ได้ทั้งหมด 4 สูตร(ตารางที่ 22) บรรจุผงเครื่องดื่มลงในถุงลามิเนตและนำมาประเมินคุณสมบัติต่างๆ

5.2.1 คุณสมบัติทางกายภาพของเครื่องดื่มมะขามผงฟู่

ประเมินคุณสมบัติผงเครื่องดื่มแต่ละสูตรในด้านรสชาติ ลักษณะฟองที่เกิดขึ้น ปริมาณฟองที่เกิดขึ้นในช่วงแรกของการเกิดฟอง และเวลาในการเกิด/ยุบของฟอง แสดงผลในตาราง ที่ 22 จากผลการประเมินพบว่าเครื่องดื่มมะขามผงฟู่มีรสชาติ

ตารางที่ 22 รสชาติ ลักษณะฟอง ปริมาณฟองและระยะเวลาในการยุบตัวของฟองของเครื่องดื่มมะขามผงฟู่สูตรที่ 1-4

สูตรที่[1]	รสชาติ[2]		ลักษณะฟอง	ปริมาณฟอง (มล)*	ระยะเวลาในการยุบตัวของฟอง (นาที:วินาที)
	ความเปรี้ยว	ความหวาน			
1	++	++	เนื้อฟองละเอียด สีน้ำตาลอ่อน ฟองฟู่ขึ้นทันทีเมื่อเทลงน้ำ ฟองค่อยๆ ยุบ	17(3)[a]	5:40 [a]
2	++	++	เนื้อฟองละเอียด สีน้ำตาลอ่อน ฟองฟู่ขึ้นทันทีเมื่อเทลงน้ำ ฟองค่อยๆ ยุบ	33(3)[b]	7:17 [b]
3	++	++	เนื้อฟองละเอียด สีน้ำตาลอ่อน ฟองฟู่ขึ้นทันทีเมื่อเทลงน้ำ แต่ฟองยุบช้า	42(3)[c]	12:35 [c]
4	++	++	เนื้อฟองละเอียด สีน้ำตาลอ่อน ฟองฟู่ขึ้นทันทีเมื่อเทลงน้ำ แต่ฟองยุบช้า	57(3)[d]	17:05 [d]

[1]สูตรที่ 1-4 มีปริมาณผงมะขาม 3.75 กรัม น้ำตาลซูโครส 4.00 กรัม และโซเดียมคลอไรด์ 0.13 กรัม เท่ากันทุกสูตร แตกต่างกันที่สัดส่วนของสารก่อฟองคือโซเดียมไบคาร์บอเนตต่อกรดซิตริก ดังนี้ 0.13:0.10 0.26:0.20 0.39:0.30 0.52:0.40 ตามลำดับ

[2] รสชาติ แสดงในรูป ความเปรี้ยว + = เปรี้ยวน้อย ++ = เปรี้ยวปานกลาง +++ = เปรี้ยวมาก
ความหวาน + = หวานน้อย ++ = หวานปานกลาง +++ = หวานมาก

*ค่าเฉลี่ยที่ได้จากการวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง และค่าในวงเล็บแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

[abcd]เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยตามแนวตั้ง โดยอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เปรี้ยวหวาน เนื้อฟองละเอียด สีน้ำตาลอ่อน ฟองฟูขึ้นทันทีเมื่อเทผงเครื่องดื่มลงน้ำ ปริมาณฟอง 17-57 มิลลิลิตร ระยะเวลาในการยุบตัวของฟองอยู่ระหว่าง 5 นาที 40 วินาที ถึง 17 นาที 5 วินาที) โดยสูตรที่ 1 และ2 ฟองจะค่อยๆยุบ ในช่วง 5-7 นาที ส่วนสูตรที่ 3 และ 4 ฟองจะยุบช้า ในช่วง 12-17 นาที

5.2.2 <u>การพัฒนาสูตรเครื่องดื่มมะขามผงฟู่โดยปรับปรุงความหวานด้วยสารให้ความหวานชนิดต่างๆ</u>

เลือกสูตรเครื่องดื่มมะขามผงฟู่ที่ดีที่สุด จากข้อ 5.2.1 โดยจากผลการประเมินพบว่าเครื่องดื่มมะขามผงฟู่สูตรที่ 1 มีลักษณะดีที่สุดคือ รสชาติเปรี้ยวหวานตามลักษณะของน้ำมะขาม เนื้อฟองละเอียด ปริมาณฟองที่เกิดน้อยสุด และใช้ระยะเวลาในการเกิดฟองจนกระทั่งฟองยุบตัวลงน้อยที่สุด นำมาปรับปรุงความหวานโดยปรับเปลี่ยนชนิดและปริมาณของน้ำตาลต่างๆ ได้แก่ น้ำตาลซูโครส น้ำตาลฟรุกโตส และสารให้ความหวานสวิซซี่ ดังต่อไปนี้

1. ใช้น้ำตาลฟรุกโตสเป็นสารให้ความหวาน พัฒนาได้ 3 สูตรในตารางที่ 23 (สูตรที่ 5-7)
2. ใช้สารให้ความหวานตราสวิซซี่ พัฒนาได้ 3 สูตร ในตารางที่ 23 (สูตรที่ 8-10)
3. ใช้น้ำตาลซูโครสผสมสารให้ความหวานตราสวิซซี่ พัฒนาได้ 3 สูตรในตารางที่ 23 (สูตรที่ 11-13)

นำแต่ละสูตรเครื่องดื่มมาประเมินในด้านรสชาติ ลักษณะฟองที่เกิดขึ้น ปริมาณฟองที่เกิดขึ้นในช่วงแรกของการเกิดฟอง และเวลาในการยุบตัวของฟอง เช่นเดียวกับข้อ 5.2.1 แสดงผลในตารางที่ 23

5.2.3 <u>คัดเลือกสูตรเครื่องดื่มมะขามผงฟู่ที่เป็นตัวแทนของสูตรเครื่องดื่มที่เตรียมจาก สารให้ความหวานแต่ละชนิด</u>

ตัวแทนของสูตรเครื่องดื่มมะขามผงฟู่ที่มีสารให้ความหวานเป็นน้ำตาลซูโครส 2 สูตร ได้แก่เครื่องดื่มสูตรที่ 1 และ 2 เนื่องจากทั้งสองสูตรใช้ระยะเวลาในการยุบตัวของฟอง และปริมาณฟองน้อยกว่าสูตรที่ 3 และ 4 โดยสูตรที่ 1 ใช้ระยะเวลาในการยุบตัวของฟองน้อยที่สุด 340 วินาที หรือ 5 นาที 40 วินาที ส่วนสูตรที่ 2 ใช้ระยะเวลาในการยุบตัวของฟองน้อยเป็นลำดับที่ 2 คือ 437 วินาที หรือ 7 นาที 17 วินาที ส่วนสูตรที่ 3 และ 4 ใช้ระยะเวลาในการยุบตัวของฟองมากกว่า 10 นาที ในด้านปริมาณฟองเลือกสูตรที่ 1 และ 2 เป็นตัวแทนของสูตรฟองน้อย

ตารางที่ 23 รสชาติ ลักษณะฟอง ปริมาณฟอง และระยะเวลาในการยุบตัวของฟองของเครื่องดื่มมะขามผงฟูสูตรที่ 5-13

สูตรที่	รสชาติ		ลักษณะฟอง	ปริมาณฟอง (มล)*	ระยะเวลาในการยุบตัวของฟอง (นาที:วินาที)
	ความเปรี้ยว	ความหวาน			
5	+++	+	เนื้อฟองละเอียด สีน้ำตาลอ่อน ฟองฟูขึ้นทันทีเมื่อเทลงน้ำ ฟองค่อยๆ ยุบ	16(1)[a]	5:40 [a]
6	++	++	เนื้อฟองละเอียด สีน้ำตาลอ่อน ฟองฟูขึ้นทันทีเมื่อเทลงน้ำ ฟองค่อยๆ ยุบ	17(1)[a]	5:13[a]
7	++	+++	เนื้อฟองละเอียด สีน้ำตาลอ่อน ฟองฟูขึ้นทันทีเมื่อเทลงน้ำ ฟองค่อยๆ ยุบ	17(2)[a]	5:40[a]
8	+++	+	เนื้อฟองละเอียด สีน้ำตาลอ่อน ฟองฟูขึ้นทันทีเมื่อเทลงน้ำ ฟองค่อยๆ ยุบ	17(3)[a]	5:42[a]
9	++	++	เนื้อฟองละเอียด สีน้ำตาลอ่อน ฟองฟูขึ้นทันทีเมื่อเทลงน้ำ ฟองค่อยๆ ยุบ	17(1)[a]	5:07[a]
10	++	+++	เนื้อฟองละเอียด สีน้ำตาลอ่อน ฟองฟูขึ้นทันทีเมื่อเทลงน้ำ ฟองค่อยๆ ยุบ	18(3)[a]	5:47[a]
11	+++	+	เนื้อฟองละเอียด สีน้ำตาลอ่อน ฟองฟูขึ้นทันทีเมื่อเทลงน้ำ ฟองค่อยๆ ยุบ	17(3)[a]	5:23[a]
12	++	++	เนื้อฟองละเอียด สีน้ำตาลอ่อน ฟองฟูขึ้นทันทีเมื่อเทลงน้ำ ฟองค่อยๆ ยุบ	16(1)[a]	5:18[a]
13	++	+++	เนื้อฟองละเอียด สีน้ำตาลอ่อน ฟองฟูขึ้นทันทีเมื่อเทลงน้ำ ฟองค่อยๆ ยุบ	18(1)[a]	5:37[a]

[1]ทุกสูตรมีปริมาณผงมะขาม 3.75 กรัม โซเดียมไบคาร์บอเนต 0.13 กรัม กรดซิตริก 0.10 กรัม และโซเดียมคลอไรด์ 0.13 กรัม เท่ากันทุกสูตร แตกต่างกันที่สารให้ความหวาน โดยสูตรที่ 5-7 ใช้น้ำตาลฟรุกโตส สูตรที่ 8-10 ใช้ สารให้ความหวานตราสวิซซี่ สูตรที่ 11-13 ใช้น้ำตาลซูโครสผสมสารให้ความหวานตราสวิซซี่

[2] รสชาติ แสดงในรูป ความเปรี้ยว + = เปรี้ยวน้อย ++ = เปรี้ยวปานกลาง +++ = เปรี้ยวมาก

ความหวาน + = หวานน้อย ++ = หวานปานกลาง +++ = หวานมาก

*ค่าเฉลี่ยที่ได้จากการวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง และค่าในวงเล็บแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

[abcd]เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยตามแนวตั้ง โดยอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

และสูตรฟองมากตามลำดับ เพื่อใช้เปรียบเทียบความชอบว่าผู้ชิมชอบเครื่องดื่มแบบมีฟองมากหรือน้อยต่อไป ในด้านรสชาติและลักษณะฟองทั้งสูตรที่ 1-4 มีลักษณะไม่แตกต่างกันคือ เครื่องดื่มมีรสชาติเปรี้ยวหวาน และเนื้อฟองละเอียด สีน้ำตาลอ่อน ฟองฟู่ขึ้นทันทีเมื่อเทลงน้ำ

เลือกตัวแทนของสูตรเครื่องดื่มมะขามผงฟู่ที่มีสารให้ความหวานเป็นน้ำตาลฟรุกโตส 1 สูตร ได้แก่เครื่องดื่มสูตรที่ 6 เนื่องจากมีรสชาติดีกว่าคือสูตรที่ 5 ซึ่งมีรสชาติเปรี้ยวมากเกินไปและสูตรที่ 7 ซึ่งมีรสชาติหวานมากเกินไป ในส่วนลักษณะฟอง ปริมาณฟอง และเวลาในการเกิด/ยุบของฟอง ทั้งสูตรที่ 5-7 มีลักษณะไม่แตกต่างกันคือ เนื้อฟองละเอียด สีน้ำตาลอ่อน ฟองฟู่ขึ้นทันทีเมื่อเทลงน้ำ ปริมาณฟอง 16-17 มิลลิลิตร ระยะเวลาในการยุบตัวของฟองใกล้เคียงกัน

เลือกตัวแทนของสูตรเครื่องดื่มมะขามผงฟู่ที่มีสารให้ความหวานตราสวิซซี่ 1 สูตร ได้แก่เครื่องดื่มสูตรที่ 9 เนื่องจากมีรสชาติดีกว่าคือสูตรที่ 8 ซึ่งมีรสชาติเปรี้ยวมากเกินไปและสูตรที่ 10 ซึ่งมีรสชาติหวานมากเกินไป ในส่วนลักษณะฟอง ปริมาณฟอง และระยะเวลาในการยุบตัวของฟอง ทั้งสูตรที่ 8-10 มีลักษณะไม่แตกต่างกันคือ เนื้อฟองละเอียด สีน้ำตาลอ่อน ฟองฟู่ขึ้นทันทีเมื่อเทลงน้ำ ปริมาณฟอง 16-18 มิลลิลิตร ระยะเวลาในการยุบตัวของฟองใกล้เคียงกัน

เลือกตัวแทนของสูตรเครื่องดื่มมะขามผงฟู่ที่มีสารให้ความหวานเป็นน้ำตาลซูโครสผสมสารให้ความหวานตราสวิซซี่ 1 สูตร ได้แก่เครื่องดื่มสูตรที่ 12 เนื่องจากมีรสชาติดีกว่าคือสูตรที่ 11 ซึ่งมีรสชาติเปรี้ยวมากเกินไปและสูตรที่ 13 ซึ่งมีรสชาติหวานมากเกินไป ในลักษณะฟอง ปริมาณฟอง และระยะเวลาในการยุบตัวของฟอง ทั้งสูตรที่ 11-13 มีลักษณะไม่แตกต่างกันคือ เนื้อฟองละเอียด สีน้ำตาลอ่อนฟองฟู่ขึ้นทันทีเมื่อเทลงน้ำ ปริมาณฟอง 16-17 มิลลิลิตร เวลาในการเกิด/ยุบของฟองใกล้เคียงกัน

ทำการประเมินคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของสูตรเครื่องดื่มที่ถูกคัดเลือกได้ 5 สูตร โดยนำเครื่องดื่มมะขามผงฟู่ที่เป็นตัวแทนของสูตรเครื่องดื่มมะขามผงฟู่ที่มีสารให้ความหวานแต่ละชนิดรวมทั้งหมด 5 สูตร นำมาประเมินในด้านสีของผงเครื่องดื่ม สีของเครื่องดื่มเมื่อละลายน้ำ ลักษณะผงเครื่องดื่ม กลิ่น แสดงผลในตารางที่ 24 ความเป็นกรดด่าง ปริมาณความชื้น ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด แสดงผลในตารางที่ 25 และการละลายน้ำ แสดงผลในตารางที่ 26

ตารางที่ 24 สี ค่าสี ของผงเครื่องดื่มและเครื่องดื่มมะขามผงฟู่เมื่อละลายน้ำ ลักษณะผงเครื่องดื่ม และกลิ่นของเครื่องดื่มมะขามผงฟู่

สูตรที่[1]	ผงเครื่องดื่ม				เครื่องดื่มมะขามผงฟู่				ลักษณะผงเครื่องดื่ม	กลิ่นของเครื่องดื่ม
	สี	ค่าสี*			สี	ค่าสี				
		L*	a*	b*		L*	a*	b*		
1	สีน้ำตาลอ่อน	81.74 (0.27)	+2.78 (0.04)	+11.73 (0.03)	สีน้ำตาลใส	84.35 (0.01)	+1.04 (0.01)	+33.99 (0.01)	ผงละเอียด ร่วน ไม่เกาะตัวเป็นก้อน	กลิ่นหอมมะขาม
2	สีน้ำตาลอ่อน	83.18 (0.10)	+2.69 (0.02)	+11.65 (0.01)	สีน้ำตาลใส	78.43 (0.05)	+3.14 (0.03)	+38.05 (0.01)	ผงละเอียด ร่วน ไม่เกาะตัวเป็นก้อน	กลิ่นหอมมะขาม
6	สีน้ำตาลอ่อน	79.49 (0.09)	+2.68 (0.04)	+11.39 (0.03)	สีน้ำตาลใส	84.18 (0.03)	+1.10 (0.02)	+34.21 (0.05)	ผงละเอียด เกาะเป็นก้อนบางส่วน	กลิ่นหอมมะขาม
9	สีน้ำตาล	75.81 (0.03)	+4.69 (0.04)	+17.14 (0.03)	สีน้ำตาลใส	79.37 (0.02)	+2.29 (0.02)	+35.29 (0.01)	ผงขนาดใหญ่ เกาะกันเป็นก้อน ชื้นสูง	กลิ่นหอมมะขาม
12	สีน้ำตาลอ่อน	81.65 (0.04)	+2.85 (0.04)	+11.83 (0.04)	สีน้ำตาลใส	80.94 (0.06)	+2.14 (0.15)	+36.00 (0.01)	ผงละเอียด ร่วน ไม่เกาะตัวเป็นก้อน	กลิ่นหอมมะขาม

[1] สูตรที่ 1 และ 2 เป็นตัวแทนของเครื่องดื่มที่ใช้น้ำตาลซูโครส สูตรที่ 6 เป็นตัวแทนของเครื่องดื่มที่ใช้น้ำตาลฟรุกโตส สูตรที่ 9 เป็นตัวแทนของเครื่องดื่มที่ใช้สารให้ความหวานตราสวิซซี่ สูตรที่ 12 ตัวแทนของเครื่องดื่มที่ใช้น้ำตาลซูโครสผสมสารให้ความหวานสวิซซี่

*ค่าเฉลี่ยได้จากการวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง และค่าในวงเล็บแสดงค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางที่ 25 ความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณความชื้น และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของเครื่องดื่มมะขามผงฟู่

สูตรที่	ปริมาณความชื้น	ความเป็นกรดด่าง (pH)	ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (องศาบริกซ์)
1	2.69 (0.03) [a]	2.979 (0.005) [a]	17.3 (0.6) [a]
2	2.66 (0.06) [a]	3.189 (0.011) [b]	18.7 (0.6) [a]
6	2.90 (0.03) [b]	2.977 (0.006) [a]	9.0 (1.0) [b]
9	3.46 (0.05) [c]	2.979 (0.011) [a]	1.3 (0.6) [c]
12	2.74 (0.05) [a]	2.976 (0.010) [a]	12.7 (1.2) [d]

[1] สูตรที่ 1 และ 2 เป็นตัวแทนของเครื่องดื่มที่ใช้น้ำตาลซูโครส สูตรที่ 6 เป็นตัวแทนของเครื่องดื่มที่ใช้น้ำตาลฟรุกโตส สูตรที่ 9 เป็นตัวแทนของเครื่องดื่มที่ใช้สารให้ความหวานตราสวิซซี่ สูตรที่ 12 ตัวแทนของเครื่องดื่มที่ใช้น้ำตาลซูโครสผสมสารให้ความหวานสวิซซี่

[*]ค่าเฉลี่ยที่ได้จากการวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง ค่าในวงเล็บแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

[abcd]เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยตามแนวตั้ง โดยอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 26 ร้อยละของปริมาณของแข็งที่ไม่ละลาย (% insoluble solid และเวลาในการละลายของ เครื่องดื่มมะขามผงฟู่

สูตรที่	ร้อยละของปริมาณของแข็ง ที่ไม่ละลาย (% insoluble solid)	เวลาในการละลาย(วินาที)	
		น้ำที่อุณหภูมิห้อง	น้ำที่อุณหภูมิ 80°C
1	0.6987 (0.0190) [a]	170 (26) [a]	137 (13) [a]
2	0.8887 (0.0289) [b]	167 (8) [b]	129 (7) [a]
6	0.7627 (0.0247) [cd]	163 (10) [b]	168 (8) [b]
9	0.7990 (0.0191) [d]	197 (8) [c]	163 (13) [b]
12	0.7353 (0.0151) [ac]	175 (5) [b]	148 (3) [a]

[1] สูตรที่ 1 และ 2 เป็นตัวแทนของเครื่องดื่มที่ใช้น้ำตาลซูโครส สูตรที่ 6 เป็นตัวแทนของเครื่องดื่มที่ใช้น้ำตาลฟรุกโตส สูตรที่ 9 เป็นตัวแทนของเครื่องดื่มที่ใช้สารให้ความหวานตราสวิซซี่ สูตรที่ 12 ตัวแทนของเครื่องดื่มที่ใช้น้ำตาลซูโครสผสมสารให้ความหวานสวิซซี่

[*] ค่าเฉลี่ยที่ได้จากการวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง ค่าในวงเล็บแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

[abc] เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยตามแนวตั้ง โดยอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

5.2.4 <u>ความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มมะขามผงฟู่</u>

นำเครื่องดื่มมะขามผงฟู่ทั้ง 5 สูตร ซึ่งเป็นตัวแทนของเครื่องดื่มมะขามผงฟู่ที่เตรียมจากสารให้ความหวานแต่ละชนิด ได้แก่ น้ำตาลซูโครส (สูตรที่ 1 และ 2) น้ำตาลฟรุกโตส (สูตรที่ 6) สารให้ความหวานตราสวิซซี่ (สูตรที่ 9) และน้ำตาลซูโครสผสมสารให้ความหวานสวิซซี่ (สูตรที่12) มาประเมินความพึงพอใจใช้วิธีให้คะแนนความยอมรับของผลิตภัณฑ์ในด้านต่างๆ โดยผู้ประเมินกึ่งฝึกฝน 10 ราย ให้คะแนนความชอบต่อรสชาติของผลิตภัณฑ์ ตั้งแต่ 1- 5 โดยคะแนน 1 = ไม่ชอบมากที่สุด และคะแนน 5 = ชอบมากที่สุด ผลการประเมินแสดงในตารางที่ 27

1. สีและลักษณะที่ปรากฏให้เห็นภายนอกของผงเครื่องดื่ม

คะแนนความชอบต่อสีและลักษณะที่ปรากฏให้เห็นภายนอกของผงเครื่องดื่มสูตรที่เตรียมโดยใช้น้ำตาลซูโครสและสูตรที่เตรียมโดยใช้น้ำตาลซูโครสผสมสารให้ความหวานสวิซซี่มีค่ามากกว่าสูตรที่เตรียมจากน้ำตาลฟรุกโตส และสารให้ความหวานสวิซซี่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

2. สีและลักษณะที่ปรากฏให้เห็นภายนอกของผงเครื่องดื่มเมื่อละลายน้ำ

คะแนนความชอบต่อสีและลักษณะที่ปรากฏให้เห็นภายนอกของเครื่องดื่มเมื่อละลายน้ำแล้วของสูตรที่เตรียมจากน้ำตาลซูโครส (สูตรที่ 2) ได้คะแนนมากที่สุด แต่ในทางสถิติพบว่ามีค่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

3. กลิ่นของเครื่องดื่ม

คะแนนความชอบต่อกลิ่นของเครื่องดื่มที่เตรียมจากน้ำตาลซูโครส (สูตรที่ 2) ได้รับคะแนนความชอบมากที่สุด แต่ในทางสถิติคะแนนไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 จากสูตรที่เตรียมจากน้ำตาลฟรุกโตส ส่วนสูตรที่เตรียมจากสารให้ความหวานสวิซซี่ได้รับคะแนนความชอบน้อยที่สุด

4. รสชาติของเครื่องดื่ม

คะแนนความชอบต่อรสชาติของเครื่องดื่มที่เตรียมจากน้ำตาลซูโครส (สูตรที่ 2) ได้รับคะแนนความชอบมากที่สุด แต่ในทางสถิติคะแนนไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 จากสูตรที่เตรียมจากน้ำตาลซูโครส (สูตรที่ 1) ซึ่งมีปริมาณฟองน้อยกว่าสูตรที่ 2 ส่วนสูตรที่เตรียมจากสารให้ความหวานสวิซซี่ได้รับคะแนนความชอบน้อยที่สุด

ตารางที่ 27 คะแนนเฉลี่ยความชอบในด้านต่างๆที่ผู้ชิมให้แก่เครื่องดื่มมะขามผงฟู่

ค่าเฉลี่ยของคะแนนความชอบ	สูตรเครื่องดื่ม				
	สูตรที่ 1	สูตรที่ 2	สูตรที่ 6	สูตรที่ 9	สูตรที่ 12
สีและลักษณะของผงเครื่องดื่ม	4.00 (1.16) [a]	3.80 (0.63) [a]	2.20 (1.03) [b]	1.40 (0.69) [b]	3.40 (1.35) [a]
สีและลักษณะของเครื่องดื่มที่ละลายน้ำ	3.60 (0.97) [a]	4.00 (0.94) [a]	3.50 (1.27) [a]	3.50 (1.27) [a]	3.20 (1.23) [a]
กลิ่นของเครื่องดื่ม	3.50 (0.71) [ab]	4.20 (0.92) [a]	3.50 (1.08) [ab]	2.30 (0.95) [c]	3.10 (1.29) [bc]
รสชาติของเครื่องดื่ม	3.80 (0.63) [ab]	4.30 (1.25) [a]	2.50 (1.27) [c]	2.20 (1.55) [c]	2.90 (1.45) [bc]
ลักษณะการเกิดฟอง	3.60 (1.17) [a]	3.60 (1.43) [a]	2.70 (0.95) [ab]	2.30 (1.16) [b]	2.80 (0.92) [ab]
ความชอบโดยรวม	3.60 (1.35) [ab]	4.30 (1.06) [a]	2.60 (0.84) [b]	1.50 (1.08) [c]	3.00 (1.16) [b]

[*]คะแนนความชอบจัดลำดับจาก 1-5 ตั้งแต่คะแนนไม่ชอบมากที่สุดถึงชอบมากที่สุด ค่าในวงเล็บแสดงค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

[abc]เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของคะแนนตามแนวนอน โดยอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

5. ลักษณะการเกิดฟอง

คะแนนความชอบต่อลักษณะการเกิดฟองของเครื่องดื่มที่เตรียมจากน้ำตาลซูโครสทั้งสูตรที่ 1 (ฟองน้อย) และสูตรที่ 2 (ฟองมาก) ได้รับคะแนนความชอบเท่ากัน ซึ่งมากกว่าสูตรอื่นๆ ส่วนสูตรที่เตรียมจากสารให้ความหวาน สวิซซี่ได้รับคะแนนความชอบน้อยที่สุด

6. ความชอบโดยรวม

คะแนนความชอบโดยรวมของเครื่องดื่มที่เตรียมจากน้ำตาลซูโครสสูตรที่ 2 ได้รับคะแนนความชอบมากที่สุด แต่ในทางสถิติคะแนนความชอบไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 จากสูตรที่เตรียมจากน้ำตาลซูโครสสูตรที่ 1 ส่วนสูตรที่เตรียมจากสารให้ความหวานสวิซซี่ได้รับคะแนนความชอบน้อยที่สุด

5.2.5 <u>การศึกษาความคงตัวของเครื่องดื่มมะขามผงฟู่</u>

เลือกเครื่องดื่มมะขามผงฟู่ที่มีคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีที่ดีที่สุดโดยจากผลการประเมินพบว่าสูตรเครื่องดื่มมะขามผงฟู่สูตรที่ 1 และ 2 มีลักษณะผงร่วน ละเอียด ไม่เกาะเป็นก้อน กลิ่นหอมมะขาม โดยสูตรที่ 2 แม้จะมีค่าการละลายในรูปปริมาณของแข็งที่ไม่ละลายมากที่สุดแต่ระยะเวลาในการละลายน้อยที่สุด แต่จากการประเมินความพึงพอใจพบว่า เครื่องดื่มมะขามผงฟู่สูตรที่ 2 ได้รับความชอบมากที่สุด จึงคัดเลือกเครื่องดื่มมะขามผงฟู่สูตรที่ 2 เพื่อศึกษาความคงตัวของผลิตภัณฑ์เมื่อเก็บเครื่องดื่มมะขามผงฟู่ที่เก็บไว้อุณหภูมิห้องและที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส ในช่วงเวลา 0 7 15 และ 30 วัน โดยประเมินคุณสมบัติทางกายภาพ เคมี ได้แก่ สีของผงเครื่องดื่ม ลักษณะของผงเครื่องดื่ม กลิ่น ปริมาณความชื้น ความเป็นกรดด่าง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และปริมาณกรดทาร์ทาริก แสดงผลในตารางที่ 28 และ 29 ส่วนผลการประเมินด้านจุลชีววิทยาไม่พบแบคทีเรียชนิดโคลิฟอร์ม *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ส่วนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดชนิดมีโซไฟล์ ยีสต์และรา มีน้อยกว่า 10 cfu/g ผลดังตารางที่ 30 และ 31

สำหรับการพัฒนาผลิตภัณฑ์ให้เป็นอาหารฟังก์ชัน สารสกัดจากพืชถูกนำมาใช้ประโยชน์ ในด้านการป้องกัน รักษา หรือส่งเสริมสุขภาพอย่างต่อเนื่องโดยเฉพาะการพัฒนาสูตรตำรับ รูปแบบต่างๆ ผลิตภัณฑ์ฟองฟู่เป็นผลิตภัณฑ์รูปแบบหนึ่งที่มีการพัฒนานำเอาสารสกัดจากพืชมาเตรียมเป็นส่วนประกอบ เพื่อปรับปรุงรสชาติให้น่ารับประทานมากขึ้น มีการละลายที่ดีขึ้น เหมาะกับผู้ที่ไม่สามารถกลืนหรือเคี้ยวได้ เนื่องจากผลิตภัณฑ์

ตารางที่ 28 ลักษณะทางกายภาพและเคมีของเครื่องดื่มมะขามผงฟู่สูตรที่ 2 เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง ณ วันเริ่มต้น 7 15 และ 30 วัน *

เวลา	สีของผงเครื่องดื่ม				ลักษณะผง	กลิ่น	ความชื้น	pH	ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (°brix)	ปริมาณกรดทาร์ทาริกในเครื่องดื่มผง 1 กรัม (มิลลิกรัม)
	จากการสังเกต	ค่าสี								
		L	a	b						
วันเริ่มต้น	สีน้ำตาลอ่อน	83.18 (0.10)	2.69 (0.02)	11.65 (0.01)	ผงละเอียดร่วนดี ไม่เกาะเป็นก้อน	กลิ่นหอมมะขาม	2.66 [a] (0.06)	3.189 [a] (0.011)	18.7 [a] (0.6)	67.7 [a] (0.1)
วันที่ 7	สีน้ำตาลอ่อน	80.92 (0.04)	3.49 (0.01)	12.15 (0.01)	ผงละเอียดร่วนดี ไม่เกาะเป็นก้อน	กลิ่นหอมมะขาม	2.82 [b] (0.04)	3.211 [b] (0.007)	18.8 [a] (0.3)	67.4 [b] (0.1)
วันที่ 15	สีน้ำตาล	77.86 (0.04)	3.95 (0.03)	13.12 (0.03)	ผงละเอียด บางส่วนเกาะเป็นก้อน	กลิ่นหอมมะขาม	2.96 [c] (0.27)	3.213 [b] (0.007)	18.5 [a] (0.5)	67.5 [ab] (0.2)
วันที่ 30	สีน้ำตาล	75.94 (0.02)	4.43 (0.04)	13.34 (0.01)	ผงละเอียด บางส่วนเกาะเป็นก้อน	กลิ่นหอมมะขาม	3.30 [d] (0.05)	3.31 [c] (0.012)	18.2 [a] (0.3)	66.9 [c] (0.1)

*ค่าเฉลี่ยที่ได้จากการวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง และค่าในวงเล็บคือค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

[abcd] เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยตามแนวตั้ง โดยอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 29 ลักษณะทางกายภาพและเคมีของเครื่องดื่มมะขามผงฟู่สูตรที่ 2 เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส ณ วันเริ่มต้น 7 15 และ 30 วัน

เวลา	สีของผงเครื่องดื่ม				ลักษณะผง	กลิ่น	ความชื้น	pH	ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (°brix)	ปริมาณกรดทาร์ทาริกในเครื่องดื่มผง 1 กรัม (มิลลิกรัม)
	จากการสังเกต	ค่าสี								
		L	a	b						
วันเริ่มต้น	สีน้ำตาลอ่อน	83.18 (0.10)	2.69 (0.02)	11.65 (0.01)	ผงละเอียดร่วนดี ไม่เกาะเป็นก้อน	กลิ่นหอมมะขาม	2.66[a] (0.06)	3.189[a] (0.011)	18.7[a] (0.6)	67.7[a] (0.1)
วันที่ 7	สีน้ำตาลอ่อน	82.45 (0.37)	2.88 (0.03)	12.55 (0.02)	ผงละเอียดร่วนดี ไม่เกาะเป็นก้อน	กลิ่นหอมมะขาม	2.74[a] (0.06)	3.155[b] (0.009)	18.7[a] (0.3)	67.3[b] (0.2)
วันที่ 15	สีน้ำตาลอ่อน	81.94 (0.10)	3.28 (0.03)	12.45 (0.02)	ผงละเอียดร่วนดี ไม่เกาะเป็นก้อน	กลิ่นหอมมะขาม	2.87[b] (0.07)	3.186[a] (0.009)	18.2[a] (0.3)	66.6[c] (0.2)
วันที่ 30	สีน้ำตาลอ่อน	80.73 (0.03)	3.31 (0.02)	12.26 (0.02)	ผงละเอียด บางส่วนเกาะเป็นก้อน	กลิ่นหอมมะขาม	3.09[c] (0.04)	3.203[a] (0.006)	18.3[a] (0.6)	66.9[bc] (0.3)

*ค่าเฉลี่ยที่ได้จากการวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง และค่าในวงเล็บคือค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

[abc] เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยตามแนวตั้ง โดยอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

a.

ตารางที่ 30 ผลการวิเคราะห์ด้านจุลชีววิทยาของเครื่องดื่มมะขามผงฟู่ เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง ที่ระยะเวลาต่างๆ

การวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา	ระยะเวลาที่เก็บตัวอย่างไว้ ณ อุณหภูมิห้อง			
	เริ่มต้น	7 วัน	15 วัน	30 วัน
จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดชนิดมีโซไฟล์ (cfu /g)[1]	< 10	< 10	<10	<10
จำนวนยีสต์และรา (cfu /g)[1]	< 10	< 10	< 10	< 10
จำนวนโคลิฟอร์มทั้งหมด (MPN /g)[2]	< 2	< 2	< 2	< 2
จำนวน *E.coli*	ไม่พบเชื้อ	ไม่พบเชื้อ	ไม่พบเชื้อ	ไม่พบเชื้อ
จำนวน *S.aureus* (cfu /g)[1]	ไม่พบเชื้อ	ไม่พบเชื้อ	ไม่พบเชื้อ	ไม่พบเชื้อ

[1]cfu / g = colony forming unit ต่อเครื่องดื่มมะขามผงฟู่ 1 กรัม

[2] MPN / g = Most Probable Number ต่อเครื่องดื่มมะขามผงฟู่ 1 กรัม

ตารางที่ 31 ผลการวิเคราะห์ด้านจุลชีววิทยาของเครื่องดื่มมะขามผงฟู่ เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลาต่างๆ

การวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา	ระยะเวลาที่เก็บตัวอย่างไว้ ณ อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส			
	เริ่มต้น	7 วัน	15 วัน	30 วัน
จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดชนิดมีโซไฟล์ (cfu /g)[1]	< 10	< 10	< 10	< 10
จำนวนยีสต์และรา (cfu /g)[1]	< 10	< 10	< 10	< 10
จำนวนโคลิฟอร์มทั้งหมด (MPN /g)[2]	< 2	< 2	< 2	< 2
จำนวน *E.coli*	ไม่พบเชื้อ	ไม่พบเชื้อ	ไม่พบเชื้อ	ไม่พบเชื้อ
จำนวน *S.aureus* (cfu /g)[1]	ไม่พบเชื้อ	ไม่พบเชื้อ	ไม่พบเชื้อ	ไม่พบเชื้อ

[1] cfu / g = colony forming unit ต่อเครื่องดื่มมะขามผงฟู่ 1 กรัม

[2] MPN / g = Most Probable Number ต่อเครื่องดื่มมะขามผงฟู่ 1 กรัม

ฟองฟู่ต้องนำมาละลายน้ำก่อนรับประทาน หลักการของปฏิกิริยาฟองฟู่เกิดจากสารที่มีฤทธิ์เป็นกรดและสารกลุ่มไบคาร์บอเนตหรือคาร์บอเนตทำปฏิกิริยาคาร์บอเนชันในน้ำอย่างรวดเร็ว และมีการปลดปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ออกมา

ในการศึกษานี้ สูตรพื้นฐานของเครื่องดื่มมะขามผงฟู่เลือกใช้กรดซิตริกในรูป anhydrous เป็นสารให้กรด เนื่องจากมีการละลายน้ำดีมาก และเป็นที่นิยมใช้ในสูตรตำรับผลิตภัณฑ์ฟองฟู่ทั่วไป ใช้สารโซเดียมไบคาร์บอเนตเป็นแหล่งของคาร์บอนไดออกไซด์ เนื่องจากให้ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์มาก (52 %w/w CO_2) ละลายน้ำได้ดี ราคาถูก ความชื้นต่ำ (พรศักดิ์ ศรีอมรศักดิ์, 2547; Bertuzzi, 2005) อาจมีการนำสารในกลุ่มโปแตสเซียมไบคาร์บอเนตแทน การใช้โซเดียมไบคาร์บอเนตได้ แต่ไม่นิยมเนื่องจากหากในปฏิกิริยาคาร์บอเนชันมีปริมาณของ โปแตสเซียมไบคาร์บอเนตมากเกิน อาจไปทำปฏิกิริยากับกรดทาร์ทาริกในมะขามเกิดการตกตะกอนของเกลือโปแตสเซียมทาร์เทรตได้ (Macewan, 1953) โดยสัดส่วนของกรดซิตริกและโซเดียมไบคาร์บอเนตในแต่ละสูตรที่ใช้ในการทดลอง จะทำปฏิกิริยาพอดีกันเมื่อคำนวณตามน้ำหนักโมเลกุลของแต่ละสาร โดยกรดซิตริก 1 โมล (น้ำหนัก 192 กรัม) ทำปฏิกิริยาพอดีกับโซเดียมไบคาร์บอเนต 3 โมล (น้ำหนัก 252 กรัม) โดยทั่วไปอาจเติมกรดซิตริกให้เหลือจากการทำปฏิกิริยา เพื่อเพิ่มรสเปรี้ยวให้กับตำรับ แต่เนื่องจากผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มมะขามผงฟู่มีรสชาติที่เปรี้ยวจากผงมะขามอยู่แล้ว จึงไม่จำเป็นต้องเติมกรดให้เกินอีก (Bertuzzi, 2005) ในการวิจัยได้ปรับอัตราส่วนของสารก่อฟองฟู่เป็น 4 แบบ เพื่อดูลักษณะการเกิดฟองที่เพิ่มขึ้นตามปริมาณสารก่อฟองที่เพิ่มขึ้น โดยแต่ละแบบโซเดียมไบคาร์บอเนตจะทำปฏิกิริยาพอดีกับกรดซิตริก

โดยทั่วไปกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์ผงฟู่มีหลายวิธี ได้แก่ การผสมโดยตรง การตอกเพื่อทำในรูปแบบเม็ด (direct compression) การเตรียมเป็นแกรนูล (wet or dry granulation) ได้ออกมาเป็นผงแห้ง หรือการเตรียมแกรนูลแบบพ่นแห้ง (พรศักดิ์ ศรีอมรศักดิ์, 2547; Bertuzzi, 2005; Macewan, 1953) สำหรับในการทดลองเลือกใช้วิธีการผสมแห้ง โดยผสมส่วนประกอบต่างๆ เข้าด้วยกันโดยใช้หลัก geometric dilution เนื่องจากลักษณะของผงมะขามที่ทำแห้งแบบพ่นที่ใช้เป็นส่วนประกอบสำคัญดูดความชื้น และการเตรียมตำรับผลิตภัณฑ์โดยวิธีการอื่นๆ ต้องใช้ระยะเวลานานร่วมกับการใช้ความร้อนในการอบแห้งซึ่งจะทำให้ผงมะขามละลายเยิ้มเหลว เหนียวเป็นก้อน ไม่สามารถทำเป็นผงแห้งได้

เครื่องดื่มมะขามผงฟู่ทั้ง 4 สูตร (สูตรที่ 1-4) มีลักษณะผงสีน้ำตาลร่วนละเอียด ไม่เกาะตัวเป็นก้อน เมื่อสังเกตลักษณะการเกิดฟองด้วยตาเปล่า จะเห็นว่าเกิดฟองฟู่ขึ้นทันทีเมื่อเทผงเครื่องดื่มลงน้ำ ฟองมีสีน้ำตาลอ่อน ขนาดเล็กละเอียด ปริมาณฟองมาก 17-57 มิลลิลิตรและฟองค่อยๆ ยุบตัวอย่างช้าๆ โดยระยะเวลาการยุบตัวของฟองนาน 5 นาที 40

วินาที ถึง 17 นาที 5 วินาที ซึ่งแปรตามสัดส่วนสารก่อฟองที่เพิ่มขึ้นในสูตรที่ 1-4 ตามลำดับ การศึกษาเบื้องต้น ได้มีการทดลองสังเกตลักษณะฟองที่เกิดขึ้น โดยเติมส่วนประกอบต่างๆ ยกเว้นผงมะขาม พบว่าฟองเครื่องดื่มมีขนาดเล็กและใหญ่ปนกัน ใช้เวลาการเกิดจนยุบของฟองประมาณ 40 วินาที ได้สารละลายใสไม่มีตะกอน แต่เมื่อมีการเติมผงมะขาม หรือทดลองเติมน้ำมะขามเข้มข้นแทนผงมะขาม ผลิตภัณฑ์ฟองฟู่จะมีฟองขนาดเล็กละเอียด ปริมาณฟองมาก และใช้เวลาตั้งแต่การเกิดจนยุบตัวของฟองนานเช่นเดียวกับผลการทดลองข้างต้น เนื่องจากปฏิกิริยาคาร์บอเนชันเกิดอย่างรุนแรงและรวดเร็ว ทำให้ผงเครื่องดื่มบางส่วนเปียกน้ำ (hydrating) อย่างรวดเร็ว เครื่องดื่มเกิดชั้นของสารละลายของน้ำมะขามเข้มข้นกั้นไว้ ขัดขวางการแพร่ของน้ำที่จะเข้ามาทำละลายผงเครื่องดื่มส่วนที่เหลือ ทำให้การแตกตัวและการละลายผงเครื่องดื่มใช้เวลานาน นอกจากนี้ปฏิกิริยาคาร์บอเนชันที่เกิดอย่างรุนแรงและรวดเร็ว ทำให้เกิดชั้นของฟองที่หนาผงเครื่องดื่มบางส่วนถูกกักไว้ในฟอง ทำให้การแตกตัวและการละลายผงเครื่องดื่มใช้เวลานาน นอกจากนี้สารสกัดจากพืชมักมีซาโปนิน (saponin) เป็นองค์ประกอบ ทำให้แนวโน้มการเกิดฟองมีปริมาณมากกว่าปกติ การแก้ปัญหาดังกล่าวอาจทำโดยการเคลือบสารสกัดจากพืชหรือสารที่มี ฤทธิ์เป็นกรด เพื่อให้กรดถูกปลดปล่อยออกมาจากสารเคลือบอย่างช้าๆ ป้องกันการเกิดปฏิกิริยา คาร์บอเนชันที่รุนแรง (Mercati, 2008) แต่การเคลือบต้องคำนึงถึงความสามารถในการละลายในตัวทำละลายของผลิตภัณฑ์ฟองฟู่ และระยะเวลาในการแพร่ของกรดเพื่อออกมาทำปฏิกิริยากับด่างในสารละลายเพื่อให้เกิดฟอง โดยต้องมีการทดสอบการละลายในภาวะเดียวกับที่ผู้บริโภคจะรับประทานผลิตภัณฑ์ฟองฟู่นั้น (Hansa, 2008) แต่ผลิตภัณฑ์ฟองฟู่บางประเภทต้องการให้ฟองเกิดขึ้นนานๆ เพื่อให้เพิ่มรสชาติและความน่าสนใจ ขณะรับประทาน เช่น ผลิตภัณฑ์ฟองฟู่ประเภทธัญพืช (cereal food) (Hansa, 2008)

การประเมินความพึงพอใจของเครื่องดื่มมะขามผงฟู่ที่ถูกคัดเลือกมา 5 สูตร ซึ่งเป็นตัวแทนของสูตรเครื่องดื่มที่มีสารให้ความหวานแต่ละชนิด ได้แก่ สูตรที่ 1 2 6 9 และ 12 โดย สูตรที่ 1 6 9 และ 12 มีปริมาณฟองไม่ต่างกันเนื่องจากมีสัดส่วนของสารก่อฟองเท่ากัน ส่วนสูตรที่ 2 มีสัดส่วนของสารก่อฟองมากกว่า ทำให้มีปริมาณฟองมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ผลการประเมินความพึงพอใจพบว่าคะแนนการยอมรับในลักษณะการเกิดฟองของสูตรที่ 1 และ 2 เท่ากัน ส่วนในหัวข้ออื่นๆ ได้แก่ สีผงเครื่องดื่ม กลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวมพบว่าสูตรที่ 2 ได้คะแนนการยอมรับมากที่สุด แสดงว่าผู้ทดสอบไม่สนใจว่ามีปริมาณฟองมากหรือน้อย แต่ดูองค์ประกอบโดยรวมของเครื่องดื่ม

ในด้านการศึกษาความคงตัวของเครื่องดื่มผงฟู่ ที่มีลักษณะดี และเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคมากที่สุด โดยเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วันพบว่าผงเครื่องดื่มมีค่าสี L* ลดลง ค่าสี a* และ b* เพิ่มขึ้น หมายถึงผงเครื่องดื่มมีสีน้ำตาล เข้มข้น โดยผงเครื่องดื่มที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเริ่มเกาะตัวเป็นก้อนในวันที่ 15 ในขณะที่ผง เครื่องดื่มที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส เริ่มมีการเกาะตัวเป็นก้อนในวันที่ 30 โดยทั้ง 2 สภาวะผงมะขามมีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของปริมาณความชื้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เช่นเดียวกัน แต่ที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส จะเพิ่มในอัตราที่น้อยกว่า ที่อุณหภูมิห้อง แสดงว่าการเก็บผงเครื่องดื่มไว้ในที่อุณหภูมิต่ำจะทำให้คงลักษณะทางกายภาพที่ดีของผงเครื่องดื่มได้ดีกว่าที่อุณหภูมิสูง

เมื่อนำผงเครื่องดื่มที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียสมาวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา ในวันเริ่มต้น วันที่ 7 วันที่ 15 และวันที่ 30 ไม่พบแบคทีเรียชนิดโคลิฟอร์ม *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ส่วนยีสต์และรา พบน้อยกว่า 10 cfu/g ส่วนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดชนิดมีโซไฟล์ (เชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 30-40 องศาเซลเซียส) พบน้อยกว่า 10 cfu/g ซึ่งตามมาตรฐานของประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 214 พ.ศ. 2543 เรื่องเครื่องดื่มในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท มิได้กำหนดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดไว้ จึงใช้เกณฑ์อ้างอิงของมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนสำหรับมะขามผงสำเร็จรูปคือ มีได้ไม่เกิน $1x10^4$ โคโลนีต่ออาหาร 1 กรัม (กระทรวงสาธารณสุข, 2543; กระทรวงอุตสาหกรรม, 2549) แสดงว่า ผงเครื่องดื่มดังกล่าว ทั้งที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน มีความปลอดภัยจากเชื้อจุลินทรีย์

6. <u>การพัฒนาเยลลี่จากผงมะขามที่ได้จากการพ่นแห้ง</u>

การทอสอบสัดส่วนที่เหมาะสมของ น้ำตาลซูโครส ผงมะขาม และเพกติน เพื่อพัฒนาสูตรตำรับเยลลี่ โดยศึกษาสัดส่วนที่เหมาะสมของ น้ำตาลซูโครสร้อยละ 35-45 ผงมะขามร้อยละ 3-9 และเพกตินร้อยละ 0.8-1.2 โดยน้ำหนัก วางแผนการทดลองแบบ symmetric factorial design ขนาด 3*3*3 จำนวนการทดลอง ทดลอง 2 ซ้ำ และเตรียมเยลลี่ตามขั้นตอนการเตรียมโดยใช้สัดส่วนต่างๆ ของน้ำตาลซูโครส ผงมะขาม และเพกติน ได้ทั้งหมด 27 สูตร บรรจุใส่ภาชนะ ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 3 ชั่วโมง ได้ผลจากการ ประเมินการเกิดเจลของเยลลี่ โดยสังเกตจากการแข็งตัวของเยลลี่ที่เตรียมได้ พบว่าเยลลี่ทั้งหมด 27 สูตร สามารถเกิดเจลได้ 13 สูตรได้แก่ สูตรที่ 7 8 10 13 14 16 17 19 20 22 23 25 และ 26 ดังผลในตารางที่ 32

ตารางที่ 32 ผลการเกิดเจลของเยลลี่จากสูตรตำรับต่างๆ

สูตรที่	ส่วนประกอบในสูตรเยลลี่			การเกิดเจล*
	ร้อยละของน้ำตาลซูโครส	ร้อยละของเพกติน	ร้อยละของผงมะขาม	
1	35	0.8	3	N
2	35	0.8	6	N
3	35	0.8	9	N
4	35	1.0	3	N
5	35	1.0	6	N
6	35	1.0	9	N
7	35	1.2	3	G
8	35	1.2	6	G
9	35	1.2	9	N
10	40	0.8	3	G
11	40	0.8	6	N
12	40	0.8	9	N
13	40	1.0	3	G
14	40	1.0	6	G
15	40	1.0	9	N
16	40	1.2	3	G
17	40	1.2	6	G
18	40	1.2	9	N
19	45	0.8	3	G
20	45	0.8	6	G
21	45	0.8	9	N
22	45	1.0	3	G
23	45	1.0	6	G
24	45	1.0	9	N
25	45	1.2	3	G
26	45	1.2	6	G
27	45	1.2	9	N

*การเกิดเจล : N = ไม่เกิดเจล G = เกิดเจล

6.1 <u>คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีเฉพาะสูตรเยลลี่ที่เกิดเจล</u>

นำเยลลี่ทั้ง 13 สูตรมาประเมินคุณสมบัติทางกายภาพและเคมี ได้แก่ ลักษณะที่ปรากฏได้แก่ สี ความใส การไหวตัว ความคงตัว รอยตัดด้วยช้อน แสดงผลในตารางที่ 33 วัดความเป็นกรดด่าง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และความแข็งของเยลลี่ แสดงผลในตารางที่ 34

จากผลการประเมินพบว่าเยลลี่ส่วนใหญ่มีสีใสเป็นประกาย คงตัวดีที่อุณหภูมิห้อง รอยตัดเรียบ คงรูป ไม่เหนียวติดช้อน ความเป็นกรดด่างของสูตรเยลลี่ที่สามารถเกิดเจลได้อยู่ระหว่าง 2.253 – 2.883 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของสูตรเยลลี่ที่สามารถเกิดเจลได้อยู่ระหว่าง 50.5 – 61.2 องศาบริกซ์ ความแข็งของสูตรเยลลี่ที่สามารถเกิดเจลได้อยู่ระหว่าง 1697.50 – 2308.97 กรัม โดยจะพบว่าเยลลี่สูตรที่ 10 เนื้อเยลลี่จะนิ่มที่สุดโดยมีความแข็งน้อยที่สุดคือ 1697.50 กรัม แต่เนื่องจากเนื้อเยลลี่จะมีลักษณะเป็นน้ำไหลเยิ้มบางส่วนเมื่อตั้งทิ้งไว้ ไม่คงตัว ไม่เหมาะสำหรับนำมาปรับปรุงต่อ จึงมาพิจารณาสูตรเยลลี่ที่มีความนิ่มรองลงมาได้แก่สูตรที่ 13 14 7 8 16 17 และ 19 เรียงลำดับความแข็งของ เยลลี่จากน้อยไปหามาก แต่ในทางสถิติพบว่าแต่ละสูตรมีความแข็งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยสูตรที่ 13 มีความแข็งน้อยกว่าสูตรอื่นๆ แต่ใกล้เคียงกับความแข็งของสูตรที่ 14 แต่สูตรที่ 14 ใส่ผงมะขามร้อยละ 6 ซึ่งมากกว่าสูตรที่ 13 จึงพิจารณาเลือกสูตรที่ 14 เป็นต้นแบบในการปรับปรุงสูตรต่อไป เนื่องจากมีปริมาณผงมะขามในสูตรส่วนประกอบมากกว่า ทำให้ได้ปริมาณของกรดทาร์ทาริกในเยลลี่มากกว่า

6.2 <u>การพัฒนาสูตรเยลลี่โดยปรับปรุงความหวานด้วยน้ำตาลชนิดต่างๆ</u>

การเลือกสูตรเยลลี่ที่ดีที่สุด โดยผลการทดลองพบว่าเยลลี่สูตรที่ 14 เหมาะสมที่สุดในการเป็นเยลลี่ต้นแบบในการปรับปรุงความหวานต่อไป โดยสูตรเยลลี่ประกอบด้วยน้ำตาลซูโครสร้อยละ 40 เพคตินร้อยละ 1 และผงมะขามร้อยละ 6 เนื่องจากเยลลี่ที่ได้มีสีและลักษณะปรากฏที่ดี ได้แก่ เนื้อเยลลี่เป็นสีน้ำตาลเข้ม ใสเป็นประกาย คงตัวดีที่อุณหภูมิห้อง รอยตัดเรียบคงรูป ไม่เหนียวติดช้อน มีความแข็งน้อย และใส่ผงมะขามมาก จึงนำสูตรเยลลี่ดังกล่าวมาปรับปรุงความหวานโดยปรับสัดส่วนของน้ำตาลซูโครสและน้ำตาลฟรุกโตส เตรียมเยลลี่ได้ทั้งหมด 5 สูตร และนำมาประเมินการเกิดเจล พบว่าเยลลี่ทั้ง 5 สูตรได้แก่ สูตรที่ 28-32 สามารถเกิดเจลได้ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 3 ชั่วโมง ผลดังตารางที่ 35

ตารางที่ 33 ลักษณะที่ปรากฏ การไหวตัว และความคงตัว และรอยตัดของสูตรเยลลี่ที่เกิดเจล

สูตรที่[1]	สี	ความใส	การไหวตัว ความคงตัว	รอยตัดด้วยช้อน
7	สีน้ำตาลเข้ม	ใสเป็นประกาย	ไหวตัวน้อย คงตัวดีที่อุณหภูมิห้อง	รอยตัดเรียบ คงรูป ไม่เหนียวติดช้อน
8	สีน้ำตาลเข้ม	ใสเป็นประกาย	ไหวตัวน้อย คงตัวดีที่อุณหภูมิห้อง	รอยตัดเรียบ คงรูป ไม่เหนียวติดช้อน
10	สีน้ำตาลเข้ม	ใสเป็นประกาย	ไหวตัวดี ไม่คงตัวที่อุณหภูมิห้อง	รอยตัดเรียบ ไม่คงรูป เหนียวติดช้อนเล็กน้อย
13	สีน้ำตาลเข้ม	ใสเป็นประกาย	ไหวตัวน้อย คงตัวดีที่อุณหภูมิห้อง	รอยตัดเรียบ คงรูป ไม่เหนียวติดช้อน
14	สีน้ำตาลเข้ม	ใสเป็นประกาย	ไหวตัวน้อย คงตัวดีที่อุณหภูมิห้อง	รอยตัดเรียบ คงรูป ไม่เหนียวติดช้อน
16	สีน้ำตาลเข้ม	ใสเป็นประกาย	ไม่ไหวตัว คงตัวดีที่อุณหภูมิห้อง	รอยตัดเรียบ คงรูป ไม่เหนียวติดช้อน
17	สีน้ำตาลเข้ม	ใสเป็นประกาย	ไม่ไหวตัว คงตัวดีที่อุณหภูมิห้อง	รอยตัดเรียบ คงรูป ไม่เหนียวติดช้อน
19	สีน้ำตาลเข้ม	ใสเป็นประกาย	ไม่ไหวตัว คงตัวดีที่อุณหภูมิห้อง	รอยตัดเรียบ คงรูป ไม่เหนียวติดช้อน
20	สีน้ำตาลเข้ม	ใสเป็นประกาย	ไม่ไหวตัว คงตัวดีที่อุณหภูมิห้อง	รอยตัดเรียบ คงรูป ไม่เหนียวติดช้อน
22	สีน้ำตาลเข้ม	ใสเป็นประกาย	ไม่ไหวตัว คงตัวดีที่อุณหภูมิห้อง	รอยตัดเรียบ คงรูป ไม่เหนียวติดช้อน
23	สีน้ำตาลเข้ม	ใสเป็นประกาย	ไม่ไหวตัว คงตัวดีที่อุณหภูมิห้อง	รอยตัดเรียบ คงรูป ไม่เหนียวติดช้อน
25	สีน้ำตาลเข้ม	ใสเป็นประกาย	ไม่ไหวตัว คงตัวดีที่อุณหภูมิห้อง	รอยตัดเรียบ คงรูป ไม่เหนียวติดช้อน
26	สีน้ำตาลเข้ม	ใสเป็นประกาย	ไม่ไหวตัว คงตัวดีที่อุณหภูมิห้อง	รอยตัดเรียบ คงรูป ไม่เหนียวติดช้อน

[1]สูตรที่ 7-8 เตรียมจากน้ำตาลซูโครสร้อยละ 35 สูตรที่ 10-17 เตรียมจากน้ำตาลซูโครสร้อยละ 40 และ สูตรที่ 19-26 เตรียมจากน้ำตาลซูโครสร้อยละ 45

ตารางที่ 34 ความเป็นกรดด่าง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และความแข็งของสูตรเยลลี่ที่เกิดเจล

สูตรที่[1]	ความเป็นกรดด่าง* (pH)	ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด * (องศาบริกซ์)	ความแข็ง* (กรัมแรง)
7	2.883 (0.009) [a]	50.2 (0.3) [a]	2184.50 (6.79) [ac]
8	2.395 (0.009) [b]	50.7 (0.3) [a]	2192.33 (6.72) [ac]
10	2.818 (0.010) [c]	54.2 (0.3) [b]	1697.50(114.51) [b]
13	2.798 (0.012) [c]	54.5 (0.5) [bc]	2156.50 (10.77) [a]
14	2.354 (0.007) [b]	55.0 (0.0) [bc]	2164.43 (8.60) [a]
16	2.703 (0.073) [d]	54.7 (0.6) [bc]	2193.27 (9.10) [ac]
17	2.368 (0.006) [b]	55.2 (0.3) [c]	2207.97 (12.01) [ac]
19	2.546 (0.010) [e]	58.7 (0.6) [d]	2217.73 (8.06) [ac]
20	2.284 (0.017) [fg]	60.0 (1.0) [e]	2228.73 (2.91) [cd]
22	2.588 (0.008) [e]	60.2 (0.3) [e]	2277.17 (9.70) [de]
23	2.303 (0.012) [f]	60.8 (0.3) [ef]	2290.90 (3.66) [e]
25	2.487 (0.006) [h]	60.2 (0.3) [e]	2293.17 (5.76) [e]
26	2.253 ± (0.056) [g]	61.2 ± 0.8 [f]	2308.97 ± 11.62 [e]

[1]สูตรที่ 7-8 เตรียมจากน้ำตาลซูโครสร้อยละ 35 สูตรที่ 10-17 เตรียมจากน้ำตาลซูโครสร้อยละ 40 และ สูตรที่ 19-26 เตรียมจากน้ำตาลซูโครสร้อยละ 45

*ค่าเฉลี่ยที่ได้จากการวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง และค่าในวงเล็บแสดงค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

[abcdefgh]เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยตามแนวตั้ง โดยอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 35 ผลการเกิดเจลของเยลลี่ที่ปรับปรุงความหวานโดยใช้น้ำตาลชนิดต่างๆ

สูตรที่	น้ำหนักของน้ำตาลซูโครส (กรัม)	น้ำหนักของน้ำตาลฟรุกโตส (กรัม)	การเกิดเจล*
28	-	20	G
29	-	24	G
30	-	28	G
31	10	15	G
32	20	10	G

*การเกิดเจล : N = ไม่เกิดเจล G = เกิดเจล

นำเยลลี่ทั้ง 5 สูตรมาประเมินคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีได้แก่ ลักษณะที่ปรากฏได้แก่ สี ความใส การไหวตัว ความคงตัว รอยตัดด้วยช้อน แสดงผลในตารางที่ 36 วัดความเป็นกรดด่าง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และความแข็งของเยลลี่ แสดงผลในตารางที่ 37

การคัดเลือกของสูตรเยลลี่ที่เตรียมจากสารให้ความหวานแต่ละชนิดพบว่าสูตรเยลลี่ 4 สูตร ที่เป็นตัวแทนของสูตรเยลลี่ที่เตรียมจากน้ำตาลแต่ละชนิดที่มีคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีที่ดีที่สุด ดังนี้

1. ตัวแทนของเยลลี่ที่ใช้น้ำตาลซูโครส 2 สูตร ได้แก่ สูตรที่ 8 และ 14

จากผลการทดลองตารางที่ 34 พบว่าเยลลี่สูตรที่ 10 13 14 7 และ 8 เป็นสูตรที่มีความแข็งน้อยกว่าสูตรอื่นๆ ได้แก่ 1697.50 2164.43 2184.50 และ 2192.33 กรัม เรียงตามลำดับจากน้อยไปมาก โดยสูตรที่ 10 แม้จะมีความแข็งน้อยที่สุด แต่เนื้อเยลลี่ไม่คงตัว มีน้ำไหลเยิ้มบางส่วนเมื่อตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง จึงไม่เลือกเป็นตัวแทน ส่วนสูตรที่ 7 และ 8 มีความแข็งใกล้เคียงกัน แต่สูตรที่ 8 ใส่ปริมาณของผงมะขามมากกว่าคือร้อยละ 6 จึงเลือกสูตรที่ 8 เป็นตัวแทน ส่วนสูตรที่ 13 และ 14 มีความแข็งใกล้เคียงกัน แต่สูตรที่ 14 ใส่ปริมาณของผงมะขามมากกว่าคือร้อยละ 6 จึงเลือกสูตรที่ 14 มาเป็นตัวแทนของเยลลี่ ที่เตรียมจากน้ำตาลซูโครส

2. ตัวแทนของเยลลี่ที่ใช้น้ำตาลฟรุกโตส 1 สูตร ได้แก่ เยลลี่สูตรที่ 30

จากผลการทดลองตารางที่ 37 พบว่าเยลลี่สูตรที่ 30 29 และ 28 เป็นสูตรที่มีความแข็ง 2275.30 2337.50 และ 2348.20 กรัม เรียงตามลำดับจากน้อยไปมาก ส่วนคุณสมบัติด้านอื่นๆ ได้แก่ เนื้อเยลลี่เป็น สีน้ำตาลใสเป็นประกายคงตัวดีที่อุณหภูมิห้อง รอยตัดด้วยช้อนเรียบ ไม่เหนียวติดช้อน ความเป็นกรดด่าง และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดไม่ต่างกันในแต่ละสูตร จึงเลือกสูตรที่ 30 ซึ่งมีความแข็งน้อยที่สุดเป็นตัวแทนของ เยลลี่ที่เตรียมจากน้ำตาล ฟรุกโตส

3. ตัวแทนของเยลลี่ที่ใช้น้ำตาลซูโครสผสมน้ำตาลฟรุกโตส1สูตรได้แก่ เยลลี่สูตรที่ 31

จากผลการทดลองตารางที่ 37 พบว่าเยลลี่สูตรที่ 31 มีความแข็งและใกล้เคียงกับสูตรที่ 30 ซึ่งเป็นตัวแทนของเยลลี่ที่เตรียมจากน้ำตาลฟรุกโตส จึงเลือกสูตรที่ 31 เป็นตัวแทนของเยลลี่ที่เตรียมจากน้ำตาลซูโครสผสมน้ำตาลฟรุกโตส

ตารางที่ 36 ลักษณะที่ปรากฏ การไหวตัว ความคงตัว และรอยตัดของสูตรเยลลี่ที่ปรับปรุงความหวานโดยใช้น้ำตาลชนิดต่างๆ แล้วเกิดเจล

สูตรที่[1]	สี	ความใส	การไหวตัว ความคงตัว	รอยตัดด้วยช้อน
28	สีน้ำตาลแดงเข้ม	ใสเป็นประกาย	ไม่ไหวตัว คงตัวดีที่อุณหภูมิห้อง	รอยตัดเรียบ คงรูป ไม่เหนียวติดช้อน
29	สีน้ำตาลแดงเข้ม	ใสเป็นประกาย	ไม่ไหวตัว คงตัวดีที่อุณหภูมิห้อง	รอยตัดเรียบ คงรูป ไม่เหนียวติดช้อน
30	สีน้ำตาลแดงเข้ม	ใสเป็นประกาย	ไหวตัวน้อย คงตัวดีที่อุณหภูมิห้อง	รอยตัดเรียบ คงรูป ไม่เหนียวติดช้อน
31	สีน้ำตาลแดงเข้ม	ใสเป็นประกาย	ไหวตัวน้อย คงตัวดีที่อุณหภูมิห้อง	รอยตัดเรียบ คงรูป ไม่เหนียวติดช้อน
32	สีน้ำตาลแดงเข้ม	ใสเป็นประกาย	ไหวตัวน้อย คงตัวดีที่อุณหภูมิห้อง	รอยตัดเรียบ คงรูป ไม่เหนียวติดช้อน

[1]สูตรที่ 28-30 ใช้น้ำตาลฟรุกโตส สูตรที่ 31-32 ใช้น้ำตาลซูโครสผสมน้ำตาลฟรุกโตส เป็นสารให้ความหวาน

ตารางที่ 37 ความเป็นกรดด่าง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และความแข็งจากการวัดเยลลี่ที่ปรับปรุงความหวานโดยใช้น้ำตาลชนิดต่างๆ แล้วเกิดเจล

สูตรที่	ความเป็นกรดด่าง* (pH)	ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด* (°brix)	ความแข็ง* (กรัมแรง)
28	2.354 (0.009)[a]	55.2 (0.3)[a]	2348.20 (6.71)[a]
29	2.378 (0.007)[b]	55.5 (0.5)[a]	2337.50 (4.65)[a]
30	2.395 (0.006)[c]	55.0 (0.0)[a]	2275.30 (5.48)[b]
31	2.405 (0.006)[c]	55.3 (0.3)[a]	2273.67 (10.10)[b]
32	2.444 (0.007)[d]	55.0 (0.0)[a]	2239.23 (7.46)[c]

[1]สูตรที่ 28-30 ใช้น้ำตาลฟรุกโตส สูตรที่ 31-32 ใช้น้ำตาลซูโครสผสมน้ำตาลฟรุกโตส เป็นสารให้ความหวาน

*ค่าเฉลี่ยที่ได้จากการวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง และค่าในวงเล็บแสดงค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

[abcd] เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยตามแนวตั้ง โดยอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

6.3 คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของเยลลี่ที่ใช้น้ำตาลต่างๆ

ได้ผลคือ เมื่อนำสูตรเยลลี่ที่ได้รับการคัดเลือกจากข้อ 6.2 มาประเมินผลด้านรสชาติและกลิ่น วัดค่าสี แสดงผลในตารางที่ 38 และวิเคราะห์ปริมาณกรดทาร์ทาริก แสดงผลในตารางที่ 39

6.4 ประเมินความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์เยลลี่

นำเยลลี่ทั้ง 4 สูตรซึ่งเป็นตัวแทนของเยลลี่ที่เตรียมจากน้ำตาลแต่ละชนิดได้แก่ น้ำตาลซูโครส (สูตรที่ 8 และ 14) น้ำตาลฟรุกโตส (สูตรที่ 30) และน้ำตาลซูโครสผสมน้ำตาลฟรุกโตส (สูตรที่ 31) มาประเมิน ความพึงพอใจใช้วิธีให้คะแนนความยอมรับของผลิตภัณฑ์ในด้านต่างๆ โดยผู้ประเมินกึ่งฝึกฝน 10 ราย ให้คะแนนความชอบต่อรสชาติของผลิตภัณฑ์ ตั้งแต่ 1- 5 โดยคะแนน 1 = ไม่ชอบมากที่สุด และคะแนน 5 = ชอบมากที่สุด ผลการประเมินแสดงในตารางที่ 40

1. สี ลักษณะที่ปรากฏให้เห็นภายนอก

คะแนนความชอบต่อสีและลักษณะที่ปรากฏให้เห็นภายนอกของเยลลี่ ที่เตรียมจากน้ำตาลฟรุกโตส มีค่าน้อยกว่าเยลลี่ที่เตรียมจากน้ำตาลซูโครส และน้ำตาลซูโครสผสมน้ำตาล ฟรุกโตส อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

2. กลิ่นของเยลลี่

คะแนนความชอบต่อกลิ่นของเยลลี่ที่เตรียมจากน้ำตาลซูโครส น้ำตาลฟรุกโตส และน้ำตาลซูโครสผสมน้ำตาลฟรุกโตส ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

3. รสชาติของเยลลี่

คะแนนความชอบต่อรสชาติของเยลลี่ที่เตรียมจากน้ำตาลซูโครส น้ำตาลฟรุกโตส และน้ำตาลซูโครสผสมน้ำตาลฟรุกโตส ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4. เนื้อสัมผัสขณะรับประทาน

คะแนนความชอบต่อเนื้อสัมผัสของเยลลี่ที่เตรียมจากน้ำตาลซูโครสได้รับคะแนนความชอบมากที่สุด แต่ในทางสถิติคะแนนความชอบไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 จากสูตรเยลลี่ที่เตรียมจากน้ำตาลซูโครสผสมน้ำตาลฟรุกโตส

ตารางที่ 38 รสชาติ กลิ่น และสีโดยใช้เครื่องวัดสี Minolta Chromameter ของเยลลี่ 4 สูตร ที่เป็นตัวแทนเยลลี่ที่เตรียมจากน้ำตาลชนิดต่างๆ

สูตรที่	สารให้ความหวานที่ใช้	กลิ่น	รสชาติ	ค่าสี*		
				L	a	b
8	น้ำตาลซูโครส ร้อยละ 35	ไม่มีกลิ่นมะขาม	เปรี้ยวหวานจัด	37.76 (0.60)	8.16 (0.80)	13.97 (1.03)
14	น้ำตาลซูโครส ร้อยละ 40	ไม่มีกลิ่นมะขาม	เปรี้ยวหวานจัด	38.42 (0.04)	6.87 (0.13)	14.58 (0.27)
30	น้ำตาลฟรุกโตส	ไม่มีกลิ่นมะขาม	เปรี้ยวหวานจัด	39.74 (0.57)	10.65 (0.19)	12.95 (0.34)
31	น้ำตาลซูโครสผสมน้ำตาลฟรุกโตส	ไม่มีกลิ่นมะขาม	เปรี้ยวหวานจัด	37.07 (0.62)	7.78 (0.77)	13.31 (0.97)

*ค่าเฉลี่ยที่ได้จากการวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง และค่าในวงเล็บแสดงค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางที่ 39 ปริมาณกรดทาร์ทาริกในเยลลี่มะขาม

สูตรที่	สารให้ความหวานที่ใช้	ปริมาณกรดทาร์ทาริกในเนื้อเยลลี่ 1 กรัม (มิลลิกรัม)	น้ำหนักเฉลี่ยของเยลลี่ในแต่ละการทดลอง (กรัม)	ปริมาณกรดทาร์ทาริกในเนื้อเยลลี่แต่ละสูตร (มิลลิกรัม)
8	น้ำตาลซูโครสร้อยละ 35	16.2 [a] (1.0)	56.4692[a] (0.0851)	914.8[a] (1.4)
14	น้ำตาลซูโครสร้อยละ 40	15.4 [a] (0.1)	55.9894[a] (0.1302)	863.4[b] (2.0)
30	น้ำตาลฟรุกโตส	21.6 [b] (1.0)	38.5496[b] (0.0755)	832.7[c] (1.6)
31	น้ำตาลซูโครสผสมน้ำตาลฟรุกโตส	19.3 [c] (0.1)	44.0512[c] (0.0543)	850.2[b] (1.0)

*ค่าเฉลี่ยที่ได้จากการวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง และค่าในวงเล็บแสดงค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

[abc]เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของคะแนนตามแนวนอน โดยอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 40 คะแนนเฉลี่ยความชอบในด้านต่างๆที่ผู้ชิมให้แก่เยลลี่

ความชอบ	ค่าเฉลี่ยของคะแนน			
	สูตร 8	สูตร 14	สูตร 30	สูตร 31
สีและลักษณะที่ปรากฏให้เห็นภายนอก	4.00 (1.16)[a]	4.00 (0.94)[a]	2.70 (1.06)[b]	3.90 (0.99)[a]
กลิ่นของเยลลี่	3.40 (0.97)[a]	3.40 (1.08)[a]	4.10 (0.99)[a]	3.90 (1.19)[a]
รสชาติของเยลลี่	4.00 (0.82)[a]	4.00 (0.67)[a]	3.10 (1.19)[a]	3.80 (1.14)[a]
เนื้อสัมผัสขณะรับประทาน	4.10 (0.99)[ac]	4.20 (1.03)[ac]	3.10 (1.29)[b]	3.60 (0.69)[bc]
รอยตัดเยลลี่ด้วยช้อน	3.90 (0.88)[a]	3.80 (0.92)[a]	3.30 (1.41)[a]	3.80 (0.79)[a]
ความชอบโดยรวม	3.70 (0.94)[a]	4.00 (0.82)[a]	2.40 (0.84)[b]	3.70 (1.16)[a]

[*]คะแนนความชอบจัดลำดับจาก 1-5 ตั้งแต่คะแนนไม่ชอบมากที่สุดถึงชอบมากที่สุด ค่าในวงเล็บแสดงค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

[abc]เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของคะแนนตามแนวนอน โดยอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

5. <u>รอยตัดเยลลี่ด้วยช้อน</u>

คะแนนความชอบต่อรอยตัดของเยลลี่ที่เตรียมจากน้ำตาลซูโครส น้ำตาลฟรุกโตส และน้ำตาลซูโครสผสมน้ำตาลฟรุกโตสไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

6. <u>ความชอบโดยรวม</u>

คะแนนความชอบโดยรวมของเยลลี่เตรียมจากน้ำตาลซูโครสได้รับคะแนนความชอบมากที่สุด แต่ในทางสถิติคะแนนความชอบไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 จากสูตรเยลลี่ที่เตรียมจากน้ำตาลซูโครสผสมน้ำตาลฟรุกโตส ส่วนเยลลี่ที่เตรียมจากน้ำตาลฟรุกโตสได้รับคะแนนความชอบน้อยที่สุด ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 จากสูตรเยลลี่ที่เตรียมจากน้ำตาลซูโครส และน้ำตาลซูโครสผสมน้ำตาลฟรุกโตส

การพัฒนาสูตรเยลลี่ที่ทำจากผลไม้ องค์ประกอบที่สำคัญคือกรด น้ำตาล น้ำและสารก่อเจล ซึ่งต้องมีสัดส่วนที่เหมาะสมจึงจะสามารถเกิดเจลได้ กรดที่ใช้ส่วนใหญ่จะเป็นกรดที่มี อยู่ในผลไม้นั้นๆ เช่น กรดซิตริก กรดทาร์ทาริก กรดมาลิค เป็นต้น น้ำตาลที่ใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์เยลลี่ตามประกาศสาธารณสุข ฉบับที่ 213 พ.ศ. 2543 เรื่อง แยม เยลลี่ และมาร์มาเลด ในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท กำหนดห้ามมิให้ใช้สารให้ความหวานชนิดอื่นๆ แทนน้ำตาล (กระทรวงสาธารณสุข, 2543) ในการวิจัยนี้จึงเลือกใช้น้ำตาลซูโครส และน้ำตาลฟรุกโตส เป็นสารให้ความหวาน โดยส่วนใหญ่ใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลตั้งแต่ 50 องศาบริกซ์ สารก่อเจลที่ใช้มีหลายชนิด เช่น เจลาติน อะการ์ คาราจีแนน และเพกติน เป็นต้น โดยแต่ละชนิดจะใช้ปริมาณและสภาวะการก่อเจลต่างกัน ในการวิจัยนี้เลือกใช้เพกตินเป็นสารก่อเจล เนื่องจากเพกตินเป็นองค์ประกอบที่มีอยู่ในมะขาม (Shri *et al*., 1979) และมีคุณสมบัติช่วยระบาย โดยใช้เพกตินชนิดเมทอกซีสูง (HM) ระดับ Degree of esterification (DE) มากกว่าร้อยละ 70 สามารถเกิดเจลได้ต้องใช้น้ำตาลและกรดที่เหมาะสม (Acoata *et al*., 2008; Royer *et al*., 2006) ปริมาณเพกตินที่ใช้ตั้งแต่ 0.4 % ขึ้นไป (อุไรรัช บูรณะคงคาตรี , 2538; Nawawi และ Heikel, 1997) โดยใช้ระยะเวลาในการแข็งตัวของเจล 20-250 วินาที (Crandall and Wicker, 1986) แต่ในการทดลองนี้พบว่าสูตรเยลลี่ที่เตรียมจะใช้เวลาในการเกิดเจลมากว่า 10 นาที อาจเนื่องจากการพัฒนาเยลลี่นี้หวังผลเพื่อใช้เป็นอาหารฟังก์ชัน โดยเน้นการใส่ปริมาณผงมะขามให้ได้มากที่สุด เพื่อให้มีปริมาณกรดทาร์ทาริก มากเพียงพอต่อการช่วยระบาย โดยที่ผู้บริโภครับประทานเยลลี่น้อยที่สุด จึงทำให้สัดส่วนขององค์ประกอบในสูตรเยลลี่แตกต่างไปจากการทดลองที่ผ่านมา ทำให้ระยะเวลาที่ใช้ในการเกิดเจลแตกต่างกัน โดยผลการทดลองพบว่า สูตรเยลลี่ทั้งหมด 27 สูตร สามารถเกิดเจลได้ 13 สูตร ได้แก่ สูตรที่ 7 8 10 13 14 16 17 19 20 22 23 25 และ 26 (ตารางที่ 32)

เพกตินชนิดเมทอกซีสูงสามารถทำให้เกิดเจลได้จากการละลายของเพกตินในน้ำ สร้างเป็นโครงร่างตาข่ายและพันธะระหว่างสายเพกตินซึ่งเกิดจากพันธะไฮโดรเจนและแรง Hydrophobic Interaction (HI) เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลและปริมาณกรดเพิ่มขึ้น (pH ต่ำลง) การละลายของเพกตินลดลงแต่พันธะระหว่างสายเพกตินเพิ่มขึ้น (Bemillier, 1986; Crandall และ Wicker,1986) ดังนั้นที่ระดับความเข้มข้นของน้ำตาลหนึ่งๆ ซึ่งทำให้มีน้ำเหลือเพียงพอที่จะทำให้เพกตินละลายหมด จะพบว่าเจลเกิดได้ดีขึ้นและความแข็งแรงของเจลเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเพิ่มขึ้น เนื่องจากน้ำตาลละลายน้ำได้ดีกว่าเพกติน สมดุลระหว่างอิออนบวกของน้ำกับอิออนลบบนสายเพกตินถูกรบกวนโดยน้ำตาลซึ่งทำให้สายเพกตินถูกผลักเข้าใกล้กันมากขึ้น เป็นผลให้ เกิดแรง HI และพันธะไฮโดรเจนระหว่างสายเพกตินเพิ่มขึ้น หากความเข้มข้นน้ำตาลเพิ่มขึ้นจนกระทั้งความเข้มข้นของน้ำตาลสูงถึงระดับที่มีน้ำเหลือไม่เพียงพอต่อการละลายของเพกติน บางส่วน ที่ระดับนี้ปริมาณเพกตินที่ละลายจะลดลงหรือผงเพกตินเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลสูงขึ้น ทำให้ความสามารถในการเกิดเจลและความแข็งแรงของเจลลดลง การที่ pH ลดลง (ปริมาณกรดเพิ่มขึ้น) เพกตินจะเกิดการแตกตัวน้อยลง เนื่องจากเมื่อเพกตินละลายในน้ำ หมู่ COOH บนสายจะแตกตัวให้ COO^- และ H^+ และเมื่ออยู่ในภาวะเป็นกรด กรดจะ ionize ให้ อิออนบวก (ไฮโดรเจนอิออน) ทำให้เพกตินเกิดการ ionize ลดลง ส่งผลให้เพกตินมีแรงผลักระหว่างสายน้อยลง ทำให้เพกตินเข้าใกล้กันและเกิดพันธะภายในโครงร่างแหมากขึ้น (Crandall และ Wicker, 1986) จากผลการทดลองพบว่าเยลลี่ที่ใส่ผงมะขามร้อยละ 6-9 และน้ำตาลซูโครส ร้อยละ 35-45 มีช่วงความเข้มข้นของน้ำตาลโดยดูจากค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด เท่ากับ 50-61 องศาบริกซ์ และช่วงที่ทำให้เกิดเจลที่ pH 2.253-2.883 ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของอุไรรัช บูรณะคงคาตรี(2538) ซึ่งทดสอบการเกิดเจลโดยใช้เพกตินชนิดเมทอกซี สูง สามารถเกิดเจลในช่วง pH 2.0-3.0 ในช่วงความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส 50-70 องศาบริกซ์ กรณีสูตรที่ใส่ผงมะขามร้อยละ 9 ซึ่งไม่สามารถเกิดจากแข็งตัวของเจลในทุกระดับปริมาณของน้ำตาลซูโครส และเพกติน อาจเนื่องจากความเข้มข้นของน้ำตาลไม่เพียงพอหรือค่า pH ต่ำมากเกินไป (ปริมาณกรดมาก) ทำให้การเกิด ionization ของเพกตินต่ำกว่าที่ภาวะ pH สูง จึงมีแรงผลักระหว่างสายเพกตินน้อยกว่า โอกาสที่เพกตินจะเข้ามาใกล้กันจนเกิดเป็นร่างแหเจลจึงมีน้อยกว่า เป็นผลให้ต้องการปริมาณน้ำตาลเพิ่มมากขึ้นเพื่อช่วยในการทำให้สายเพกตินเข้าใกล้กันมากขึ้นจนเกิดแรง HI ระหว่างสายเพกตินพอเพียงต่อการเกิดเจล สอดคล้องกับผลการทดลองของ Nelson และคณะ (1977) ที่รายงานว่าเพกตินชนิดเมทอกซีสูงที่มีค่า DE ตั้งแต่ 70 สามารถเกิดเจลโดยใช้น้ำตาลได้ เมื่อมี pH ในช่วง 3.0-3.4 ดังนั้นอาจมีการศึกษาเพิ่มเติมโดยเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลที่ใช้ในสูตรเยลลี่ เพื่อศึกษาการเจลเมื่อ pH สูงมากๆ แต่ในกรณีการเพิ่มความเข้มข้นน้ำตาลมากขึ้นในระดับหนึ่ง พบว่าไม่เกิดเจลที่ทุกระดับ pH เนื่องจากน้ำส่วนใหญ่ที่มีอยู่ จะไปละลายน้ำตาล ทำให้มีน้ำไม่เพียงพอต่อการพองตัวและการละลายของเพกติ กล่าวคือเมื่อความเข้มข้นน้ำตาลสูงมากกว่า 70 องศาบริกซ์ จะทำให้ผงเพกตินส่วนใหญ่ไม่ละลาย

น้ำ ทำให้ไม่มีสายโซ่ของเพกตินในสารละลายน้ำตาลเพียงพอต่อการเกิดโครงร่างแห จึงไม่สามารถเกิดเจล

เมื่อพิจารณาในเรื่องความแข็งของเยลลี่โดยใช้เครื่องวัดเนื้อสัมผัส (Texture Analyzer) จากผลการทดลองพบว่าสูตรเยลลี่มีความแข็งในช่วง 2,156-2,348 กรัม สูตรที่มีปริมาณเพกตินคงที่ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาล pH จะมีค่าต่ำลง ทำให้ความแข็งของเยลลี่จะเพิ่มขึ้น เนื่องจากที่ระดับ pH ต่ำ การ ionization เกิดขึ้นได้น้อยกว่าที่ระดับ pH สูง ทำให้แรงผลักระหว่างสายเพกตินน้อย โอกาสที่สายเพกตินเข้าใกล้กันจนเกิดเป็นโครงร่างตาข่ายเจลมีมากขึ้น ความแข็งของเยลลี่จึงลดลง ในทำนองเดียวกันกับที่ระดับความเข้มข้นของน้ำตาลคงที่ การเพิ่มปริมาณเพกตินทำให้ความแข็งเพิ่มขึ้น เนื่องจากมีปริมาณสารก่อเจลเพิ่มขึ้น ความแข็งแรงของเจลจึงเพิ่มขึ้น

เมื่อพิจารณาความแข็งของเยลลี่ในช่วง pH และความเข้มข้นน้ำตาลเดียวกัน จะเห็นว่า สูตรเยลลี่ที่ใช้น้ำตาลฟรุกโตสเป็นสารให้ความหวานจะมีความแข็งมากกว่าสูตรเยลลี่ที่ใช้น้ำตาลซูโครส เนื่องจากน้ำตาลฟรุกโตสมีความหวานมากกว่าน้ำตาลซูโครส 2 เท่า จึงใช้ในปริมาณที่น้อยกว่า อีกทั้งน้ำตาลฟรุกโตสเป็นน้ำตาลโมเลกุลเชิงเดี่ยว ทำให้มวลโมเลกุลน้อยกว่า แต่ต้องเคี่ยวนานกว่าเพื่อให้ได้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 55 องศาบริกซ์ซึ่งเท่ากับสูตรเยลลี่ต้นแบบที่ใช้น้ำตาลซูโครส ทำให้ปริมาณน้ำในองค์ประกอบเยลลี่น้อยลง จึงมีความแข็งเพิ่มขึ้น รวมทั้งน้ำตาลต่างชนิดกันจะมีผลต่อแรง HI ต่างกัน โดยขึ้นกับโครงสร้าง 3 มิติของน้ำตาลที่เข้าไปทำปฏิกิริยากับน้ำซึ่งล้อมรอบหมู่เมทธิล หากระยะห่างระหว่างหมู่ไฮดรอกซิลของน้ำและน้ำตาลมีค่าใกล้เคียง 4.36 องศา จะสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดแรง HI ได้มาก (Oakenfull และSmith, 1984) ความแข็งของเจลจึงเพิ่มขึ้น

ในการปรับปรุงรสชาติของเยลลี่โดยใช้น้ำตาลฟรุกโตส พบว่าสามารถเกิดเจลได้ในช่วง pH 2.35-2.44 มีช่วงความเข้มข้นของน้ำตาลโดยดูจากค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 55-55.3 องศาบริกซ์ สอดคล้องกับผลการทดลองของอุไรรัช บูรณะคงคาตรี (2538) โดยเกิดเจลซึ่งใช้น้ำตาลฟรุกโตส ที่ช่วง pH 2.0-3.0 และความเข้มข้นของน้ำตาล 50-70 องศาบริกซ์

จะเห็นได้ว่าการเกิดเจลซึ่งใช้เพกตินเมทอกซีสูง มีช่วงความเข้มข้นของน้ำตาลและ pH ที่เหมาะสมในการเกิดเจลแตกต่างกัน หากต้องการผลิตภัณฑ์อาหารเจลที่มีรสชาติเปรี้ยวจัดหรือหวานจัดสามารถใช้น้ำตาลซูโครสและน้ำตาลฟรุกโตส ในการเตรียมเจลได้ เนื่องจากสามารถเกิดเจลได้ในช่วง pH ต่ำ (2.0-3.0) และช่วงความเข้มข้นของน้ำตาล 50-70 องศาบริกซ์

ในด้านการปรับปรุงความหวานของเยลลี่ แม้จะมีใช้น้ำตาลฟรุกโตสแทนน้ำตาลซูโครสเพื่อหวังผลในแง่การลดปริมาณแคลอรี่ของเยลลี่ แต่สูตรเยลลี่ที่ใช้น้ำตาลซูโครสได้รับความนิยมจากผู้ทดสอบมากกว่า แต่ในทางสถิติพบว่าคะแนนความชอบในทุกๆ ด้าน ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ระหว่างเยลลี่ที่ใช้น้ำตาลฟรุกโตส และเยลลี่ที่ใช้น้ำตาลซูโครส

จะเห็นได้ว่าสูตรอาหารฟังก์ชันในรูปแบบเครื่องดื่มมะขามผงฟู่และเยลลี่มะขามในการวิจัยเป็นการพัฒนาในด้านการปรับส่วนประกอบพื้นฐานของสูตรตำรับ ดังนั้นอาจมีการวิจัยเพิ่มเติมสำหรับเครื่องดื่มมะขามผงฟู่ อาจมีการเติมสารช่วยต่าง ๆ ในตำรับเพิ่มเติม เพื่อลดการดูดความชื้นหรือสามารถตอกเป็นเม็ดฟู่ ซึ่งเป็นอีกรูปแบบหนึ่งที่น่าสนใจและสร้างแรงดึงดูดต่อผู้บริโภค สำหรับผลิตภัณฑ์เยลลี่ อาจมีการปรับเปลี่ยนสารก่อเจลเป็นชนิดอื่นๆ เพื่อพัฒนา ลักษณะทางกายภาพของเยลลี่ให้ใกล้เคียงกับผลิตภัณฑ์ที่มีในท้องตลาดต่อไป นอกจากนี้การนำผลิตภัณฑ์ไปทดสอบผลด้านการช่วยระบายหรือประโยชน์ของมะขามด้านต่างๆ เพิ่มเติมในผู้บริโภคจริง จะช่วยให้ผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาขึ้นนี้ใช้ประโยชน์ได้ตามวัตถุประสงค์ของการวิจัยต่อไป

สรุปผลการทดลอง

1. ชนิดและปริมาณกรดอินทรีย์ในเนื้อมะขาม จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC ซึ่งมีความถูกต้องสมบูรณ์เหมาะสำหรับใช้ในงานวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณกรดอินทรีย์ในเนื้อมะขาม

กรดอินทรีย์หลักที่พบในตัวอย่างเนื้อมะขามทั้งชนิดเปรี้ยวและชนิดหวาน คือ กรดทาร์ทาริก โดยที่ปริมาณกรดทาร์ทาริกในมะขามเปรี้ยวยักษ์ (จ.เพชรบูรณ์) มีปริมาณกรดทาร์ทาริกสูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกว่ามะขามเปรี้ยว (จ.นครราชสีมา) และมะขามชนิดหวานทุกพันธุ์ปลูกที่นำมาทดลอง พบว่ามะขามชนิดหวานพันธุ์ปลูกสีทองหนัก (จ.นครราชสีมา) มีปริมาณกรดออกซาลิก มาลิก ฟูมาลิกและซักซินิกสูงที่สุด

2. เปอร์เซ็นต์ yield ของสารสกัดมะขามชนิดเปรี้ยว “เปรี้ยวยักษ์” (จ.เพชรบูรณ์) “เปรี้ยว” (จ.นครราชสีมา) และชนิดหวาน “ศรีชมภู” และ “สีทองหนัก” (จ.นครราชสีมา) มีค่าเท่ากับ 1.74±0.03%, 2.44±0.16%, 2.75±0.20% และ 1.98±0.30% ตามลำดับ จากการวิเคราะห์พอลิแซ็กคาไรด์เนื้อมะขาม ด้วยเทคนิค FT-IR พบว่า สเปคตรัมอินฟาเรดของมะขามทุกพันธุ์ปลูกมีลักษณะคล้ายกันกับสเปคตรัมอินฟาเรดของสารมาตรฐานเพคตินจากผลของพวก citrus ยิ่งไปกว่านั้น การวิเคราะห์หาชนิดน้ำตาลกาแลกทูโรนิกในพอลิแซ็กคาไรด์เนื้อมะขาม ก็พบว่าพอลิแซ็กคาไรด์เนื้อมะขามทุกพันธุ์ปลูกมีน้ำตาลกาแลกทูโรนิกเป็นองค์ประกอบ ดังนั้นพอลิแซ็กคาไรด์เนื้อมะขามที่สกัดได้เป็นพอลิแซ็กคาไรด์พวกเพคติน (pectic polysaccharides)

3. เปอร์เซ็นต์ yield ของสารสกัดเมล็ดมะขามชนิดเปรี้ยว “เปรี้ยวยักษ์” (จ.เพชรบูรณ์) “เปรี้ยว” (จ.นครราชสีมา) และชนิดหวาน “ขันตี” (จ.เพชรบูรณ์) “ศรีชมภู” และ “สีทองหนัก” (จ.นครราชสีมา) มีค่าเท่ากับ 48.34±0.89%, 48.43±2.98%, 60.25±0.50%, 58.09±1.37% และ 55.34±1.85% ตามลำดับ

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบน้ำตาลของ TSP ของมะขามทุกพันธ์ปลูก พบว่าประกอบด้วยน้ำตาลไซโลสและกลูโคส ดังนั้นพอลิแซ็กคาไรด์จากเนื้อในเมล็ด (Kernel) มะขามที่สกัดได้เป็นพอลิแซ็กคาไรด์ชนิดไซโลกลูแคน (xyloglucan)

4. สูตรการเตรียมผงมะขามที่สารละลาย 1 ลิตร ประกอบด้วยเนื้อมะขามเปรี้ยวยักษ์ และเนื้อมะขามหวานพันธุ์ปลูกขันตีอย่างละ 15 กรัม/ลิตร ฟรุกโตส 1.35 กรัม/ลิตร โซเดียมคลอไรด์ 0.45 กรัม/ลิตร มอลโตเดกซ์ตริน 25 กรัม/ลิตร พอลิแซ็กคาไรด์จากเนื้อในเมล็ดมะขาม (TSP) 5 กรัม/ลิตร และซิลิกอนไดออกไซด์ 0.3 กรัม/ลิตร นำไปพ่นแห้งในเครื่อง Spray dryer ผลิตภัณฑ์ผงมะขามที่ได้ 3 สูตร ได้แก่ No11 12 และ 13 มีลักษณะเป็นผงแห้งขนาดเล็กละเอียด มีสีเหลืองนวล มีความชื้น 8.05±0.02% ผงมะขาม 10 กรัมสามารถกระจายตัวละลายได้หมดในน้ำร้อน 100 มิลลิลิตร ในเวลา 10 นาที ผลิตภัณฑ์ผงมะขามที่เตรียมได้ มีปริมาณของกรดทาร์ทาริค 9.3-15.8% มีกรดมาลิค 0.17-0.33% กรดออกซาลิค 0.20-0.31% และกรดซิตริก 0.13-0.17% ตามลำดับ

5. การทดสอบฤทธิ์ยาระบายของน้ำมะขาม พบว่าการเตรียมน้ำมะขามในความเข้มข้นของมะขาม 20-30 % w/v โดยใช้น้ำสกัดแล้วปั่นแยกตะกอนจนได้น้ำใส นำไปทดสอบในสัตว์ทดลองหนูขาว (rat) โดยการป้อนน้ำมะขามทางปาก และติดตามดูระยะทางที่ผงถ่านเคลื่อนที่ไปในลำไส้หนู จะเห็นผลของการกระตุ้นให้ผงถ่านเคลื่อนที่ไปได้ไกลกว่า เมื่อเพิ่มการให้น้ำมะขามเทียบกับกลุ่ม control ที่ให้น้ำกลั่น และได้ผลดีกว่ากลุ่ม positive control ที่ใช้น้ำลูกพรุน ผลิตภัณฑ์มะขามผงสูตรที่ 13 ให้ผลของฤทธิ์การเป็นยาระบายที่ดี และเมื่อเพิ่มขนาดที่ให้มากขึ้นจะทำให้เพิ่มระยะทางการเคลื่อนที่ของ charcoal ยาวขึ้นด้วย แสดงว่าผลิตภัณฑ์ที่เตรียมได้มีฤทธิ์ทำให้การเคลื่อนที่ในลำไส้เล็กหนูเพิ่มขึ้น ซึ่งก็คือผลของการออกฤทธิ์เป็น laxative ของผลิตภัณฑ์ได้ผลที่น่าพอใจ ผลิตภัณฑ์มะขามผงสามารถใช้เป็น laxative ได้จริง ที่น่าจะมีประโยชน์ใช้เป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ

6. ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มมะขามผงฟู่เตรียมโดยนำผงมะขามที่ผลิตได้มาพัฒนาเป็นเครื่องดื่มมะขามผงฟู่ โดยสูตรที่ใช้มะขามผง 3.75 กรัม โซเดียมไบคาร์บอเนต 0.26 กรัม กรดซิตริก 0.13 กรัม น้ำตาล 4.00 กรัม เป็นสูตรที่มีคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีที่ดีที่สุด และได้รับคะแนนการยอมรับมากที่สุดจากผู้ทดสอบ

7. ผลิตภัณฑ์เยลลี่มะขาม สูตรที่มีส่วนผสมของผงมะขามร้อยละ 6 น้ำตาลซูโครส ร้อยละ 40 และเพกตินร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก เป็นสูตรที่มีคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีดีที่สุด และได้รับคะแนนการยอมรับมากที่สุดจากผู้ทดสอบ

เอกสารอ้างอิง

ภาษาไทย

ขวัญตา ณัฐชยางกุล. 2546. การเปรียบเทียบคุณภาพของนมถั่วเหลืองผงคืนรูปที่ได้จากการอบแห้งโดยใช้เทคนิคแบบพ่นฝอย แบบพ่นกระจายโฟม และแบบเยือกแข็ง. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ขวัญเรือน ยิ้มพิมพ์ใจ. 2548. การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพ เคมี และชีวภาพของเนื้อมะขามหวานพันธุ์ต่างๆ และมะขามเปรี้ยว. ปริญญานิพนธ์ สาขาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

คัทลียา ลีวงศ์พันธ์ และ นลินา เล้าเรืองศิลป์ชัย. 2547. การวิเคราะห์กรดแกลลิกในสารสกัดมะขามป้อมด้วยวิธีไฮเปอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทรกราฟีที่ผ่านการตรวจสอบความถูกต้อง. ปริญญานิพนธ์ สาขาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

จันคนา บูรณะโอสถ. 2536. ความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการจับของยากับพลาสมาโปรตีนและความถูกต้องของวิธีการแยกพลาสมาโปรตีนในการวิเคราะห์หาปริมาณยาในพลาสมาโดยไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทรกราฟี. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ดวงสมร ลิมปิติ. 2545. HPLC: ทฤษฎี เครื่องมือ และการประยุกต์ใช้ในงานวิเคราะห์ยา. เชียงใหม่: โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ชูศักดิ์ สัจจพงษ์. 2550. มะขาม พืชสร้างอนาคต. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์มติชน

วิโรจน์ ชัยพรโภคิน. 2008. การวิเคราะห์หาปริมาณกรดอินทรีย์ในน้ำสกัดมะขามและการเตรียมผงมะขาม. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาชีวเคมี คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วีระวิทย์ ปองเปี่ยม. 2547. การผลิตน้ำมะตูมผงโดยใช้เครื่องทำแห้งแบบพ่นกระจาย. ปริญญานิพนธ์ สาขาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

สุนทรี วราอุบล. 2537. การทำแห้งน้ำมะนาวแบบเยือกแข็ง. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สุเมธ ตันตระเธียร, ปราณี จิระกิตติเจริญ, รังสิมา ธรรมวิริยานนท์ และ ศจีพร ธรรมสะเร. 2548. การทำผงรสไก่จากน้ำนิ่งไก่โดยการทำแห้งแบบพ่นกระจาย. วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์ 4: 203-210.

สุกัญญา ธนพัฒนากุล, พันทิพา ศิริธเนศ และสุชาดา ม่วงไหม. 2544. การผลิตมะขามผงโดยใช้เครื่องอบแห้งไมโครเวฟสูญญากาศและเครื่องอบแห้งแบบลูกกลิ้งหมุน. ปริญญานิพนธ์ สาขาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

สาธารณสุข, กระทรวง. 2543. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 213 เรื่อง แยม เยลลี่ และมาร์มาเลด ในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท. นนทบุรี: กระทรวงสาธารณสุข.

ปวลี วงษ์มา. 2542. การผลิตน้ำเชื่อมมะขามด้วยเพคติเนสและเซลลูเลสสำหรับใช้เป็นเครื่องดื่มน้ำมะขามอัดแก๊ส. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

เพียง อุดมเกียรติกุล. 2534. การเตรียมสีผสมอาหารชนิดผงจากธรรมชาติโดยวิธีสเปรย์ดราย. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาอาหารเคมี คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

พรศักดิ์ ศรีอมรศักดิ์. 2547. แนวทางการตั้งตำรับยารูปแบบฟองฟู่. วารสารไทยไกษัชยนิพนธ์ 1(2):11-19.

อุไรรัช บูรณะคงคาตรี. 2538. ผลของ pH ความเข้มข้นและชนิดน้ำตาลต่อความแข็งแรงของเจลเพกตินชนิดเมทอกซีสูง. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ภาษาอังกฤษ

Anon 1976. *Tamaridus indica* L. In the wealth of India (Raw materials series) Vol. X, pp.122-144. New Delhi: Conucil of Scientific and Industrial Research.

Acoata, O., Viquez, F. and Cubero, E. 2008. Optimisation of low calorie mixed fruit jelly by response surface methodology. Food Quality and Preference 19: 79-85.

Bangs, W. E. and Reineccius, G.A. 1981. Influence of dryer infeed matrices on the retention of volatile flavour compounds during spray drying. Journal of Food Science. 47: 254-259.

Bemiller, J. N. 1986. An introduction to pectins:structure and properties. In Fishmand M. L. and Jen, J. J. (eds.), Characterization of pectins. The United State o American: Am. Chem. Soc. 2-7.

Bertuzzi, G. 2005. Effervescent granulation. In D. M. Parikh, Handbook o pharmaceutical granulation technology, pp.365-383. The United State o American: Taylor & Francis.

Crandall, P. G. and Wicker, L. 1986. Pectin Substances in fresh and preserved fruits and vegetables. In Fishmand, M. L. and Jen, J. J. (eds.), Characterization of pectins. The United State of American: Am. Chem. Soc. 89-90.

Chapman, K.R. 1984. Tamarind. Tropical Tree Fruits for Australia. Complied by P.E. Page., Queensland Department of Primary Industries.

Chaturvedi, A.N. 1985. Firewood farming on the degraded lands of the Gangetic plain. U.P. Forest Bulletin. Lucknow: India Government of India Press.

Edward, D.T. and Iain, E.P. 1984. X-ray diffraction studies on the xyloglucan from tamarind (*Tamarindus indica*) seed. FEBS Letters. 181: 300-302

Hasan, S.K. and Ijaz, S. 1972. Tamarind. Science Industry (Karachi) 9: 131-137.

Feungchan, S., Yimsawat, T., and Kitpowsong, P. 1996. Evalution of tamarind cultivars on the chemical composition of pulp. Thai Journal of Agricultural Science 1: 28-33.

Gomis, D. B. 1992. HPLC analysis of organic acids. In Nollet, L. M. L, Food and analysis by HPLC. The United State of American: Marcel dekker.371-385.

Hansa, J. D. 2008. Effervescent Food Products. United States: The Quaker Oats

Khanthapok, P. 2007. DNA fingerprint and chemical assessment of selected tamarind cultivars with high laxative activity. M.Sc. Thesis in Biotechnology, Faculty of Science, Chulalongkorn University.

Kulkarni, M.G., Nene, S.N., Thakar, M.J., Saikwad, B.G. Process for the recovery of tartaric acid and other products from tamarind pulp. U.S. Patent 5994533.

Lee, P. L., Swords, G. and Hunter, G. L. K. 1975. Volatile constituents of tamarind. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 23: 1195-1199.

Leung, W.T. and Flores, M. 1961. Table for Use in Latin America. Food Composition. National Institute of Health, Bethesda, Md.

Lewis, Y.S., and Neelakantan, S. 1964. The chemistry, biochemistry and technology of tamarind. Journal of Science and Industrial Research 23:204.

Morton, J. 1987. Tamarind. In: Fruits of warm climates. Creative Resource System, Inc., Maimi, FL.: 115-121.

Marcos Buckeridge, S., Dalva Roha, C., Grant Reid, J.S., Sonia Dietrich, M.C. 1992. Xyloglucan structure and post-germinative metabolism in seeds of *Capaifera langsdorfii* from savanna and forest polpulations. Journal of Physiologia Plantarum 86: 145-151.

Marydele, J. N. 2001. The merck index. 13th ed. The United State of American: Merck & Co.

Macewan, P. 1953. Pharmaceutical formulas. London: The chemist and drugist. pp 131-145.

Mercati, V. 2008. Effervescent compositions containing dried fruit juices. Aboca: Societa' Agricola S. p. A.

Nawawi, S. A. and Heikel, Y.A. 1997. Factors affecting gelation of high-ester citrus pectin. Process Biochemistry 32(5): 381-385.

Oakenfull, D. G. 1987. Gelling agents. CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition 26(1):1-25

Purseglove, J.W. 1987. Tropical Crops Dicotyledons. Longman Science and Technology: 204-206.

Royer, G., Madieta, E., Symoneaux, R. and Jourjon, F. 2006. Preliminary study of the production of apple pomace and quince jelly. LWT 39: 1022-1025.

Shri, Y. R., et al. 1976. The wealth of India. New Delhi: Pulbication and Information Directorate. 114-122.

Savur, G.R. 1959. Characterization of Tamarind Seed Polysaccharides Journal of Indian Chem Soc 19: 67-70.

Shankaracharya, N.B. 1998. Tamarind-chemistry, technology and use-a critical appraisal. Journal of Food Technology 35: 193-208.

Singh, P.P. 1973. Oxalic content of Indian foods. Plant Foods for Human Nutrition 22: 1573-9104.

Sone, Y. and Sato, K. 1994. Measurement of oligosaccharides derived from tamarind xyloglucan by competitive ELISA assay. Journal of Bioscience Biotechnology and Biochemistry 58: 2295-2296.

S.V.F. Madeira, *et al*. 2002. Relaxant effects of the essential oil of oeimum gratissimum on isolated ileum of the quinea pig, Journal of Ethnopharmacol 81, 1-4.

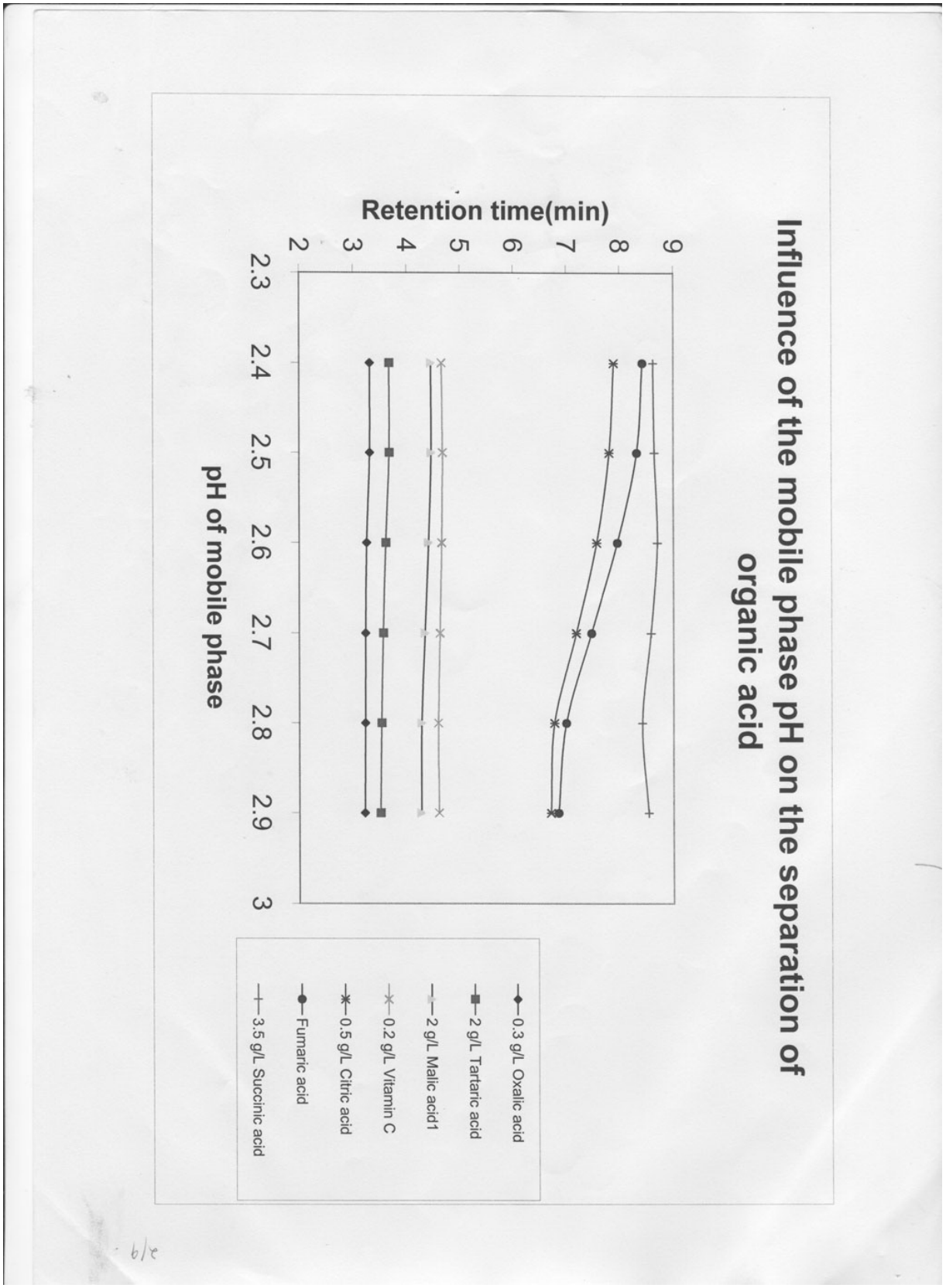
Ulrich, R. 1970. Organic acids. In Hulme, A.C. (ed.), The biochemistry of fruits and their products. Vol. 1, pp.89-118. New York: Academic Press.

Venkatesan *et al*. 2005. Anti-diarrhoeal potential of asparagus racemosus wild root extracts in laboratory animals. Journal of. Pharmacy & Pharmaceutical. Sciences (www.cspscanada.org) 8(1): 39-45.

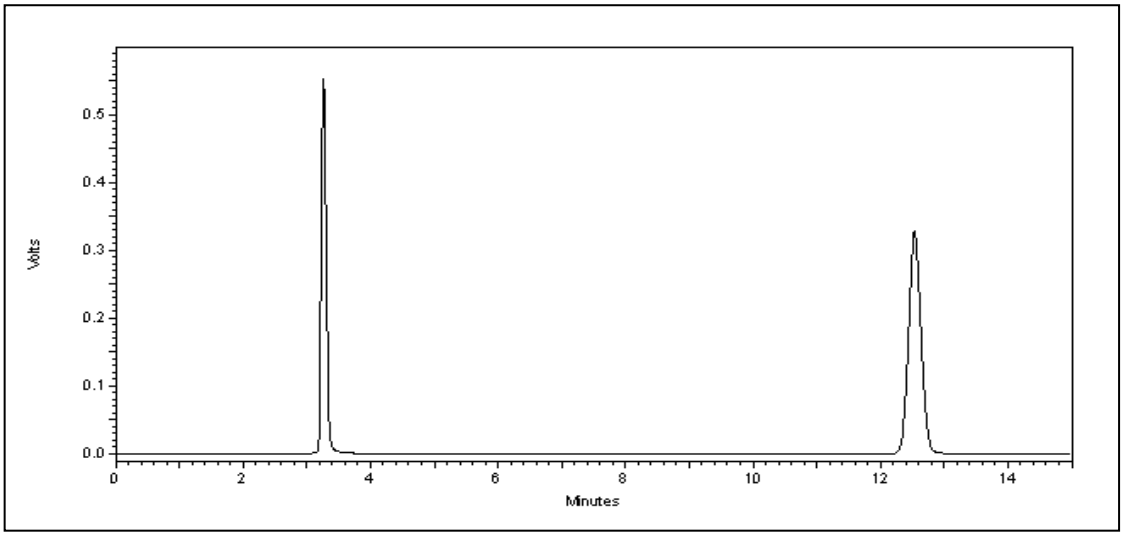
Zhanguo, C., and Jiuru, L. 2002. Stimultaneous and direct determination of oxalic acid, tartaric acid, malic acid, vitamin C, citric acid and succinic acid in Fructus mume by reversed-phase high-performance liquid chromatography. Journal of Chromatographic Science 40:35-39.

ภาคผนวก

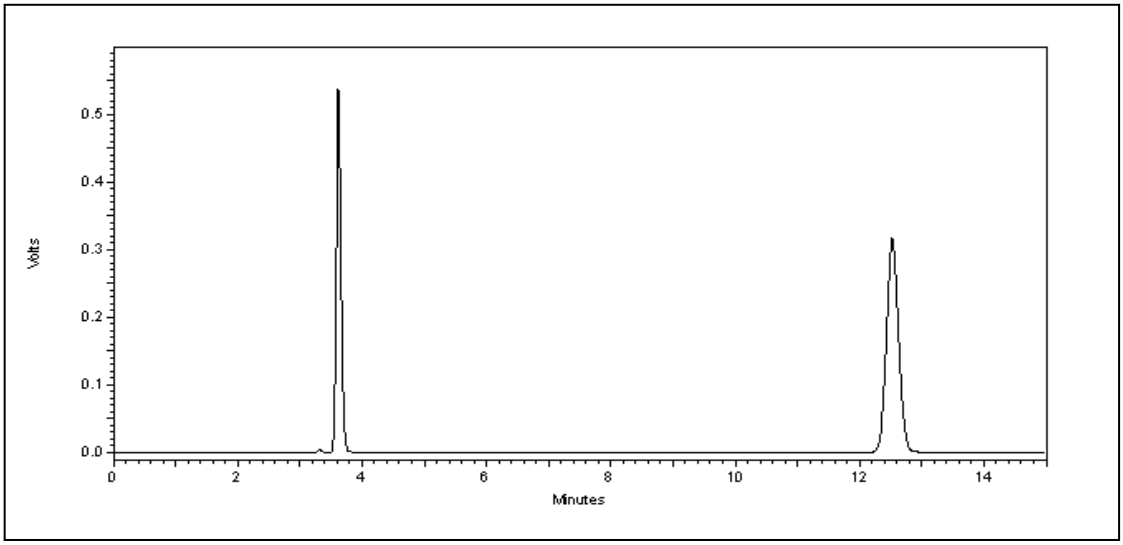
ภาคผนวก 1


Influence of the mobile phase pH on the separation of organic acid
Retention time(min)
9
8
7
6
5
4
3
2
2.3
2.4
2.5
2.6
2.7
2.8
2.9
3
pH of mobile phase
0.3 g/L Oxalic acid
2 g/L Tartaric acid
2 g/L Malic acid1
0.2 g/L Vitamin C
0.5 g/L Citric acid
Fumaric acid
3.5 g/L Succinic acid

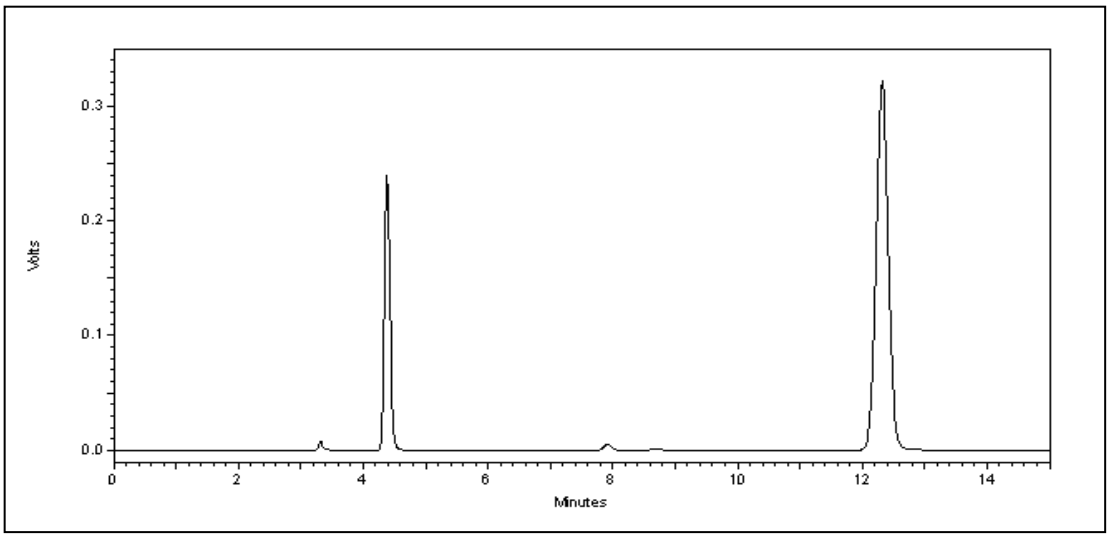
HPLC chromatogram of standard organic acid



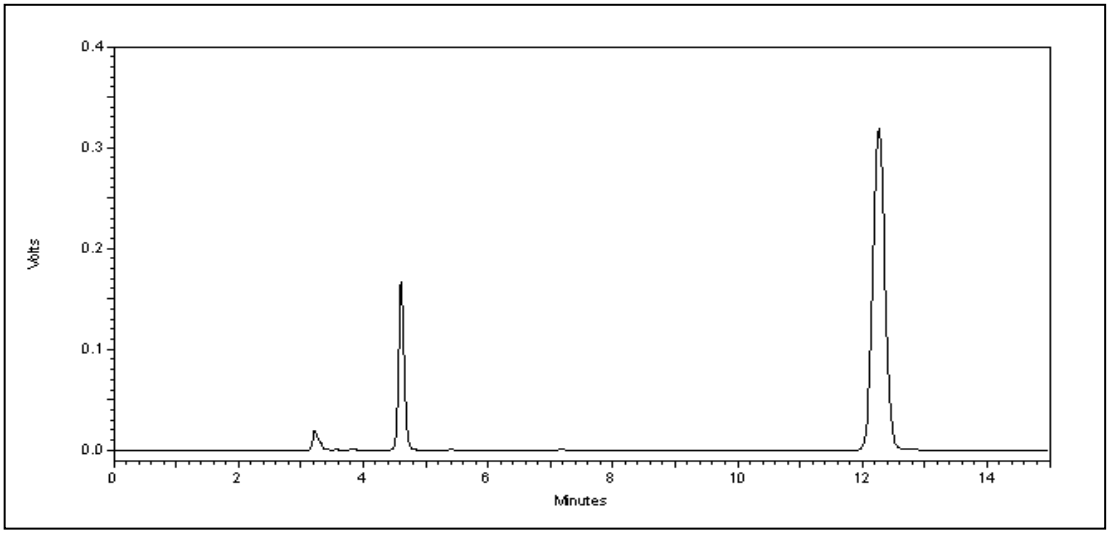
Chromatogram of standard oxalic acid (OA)



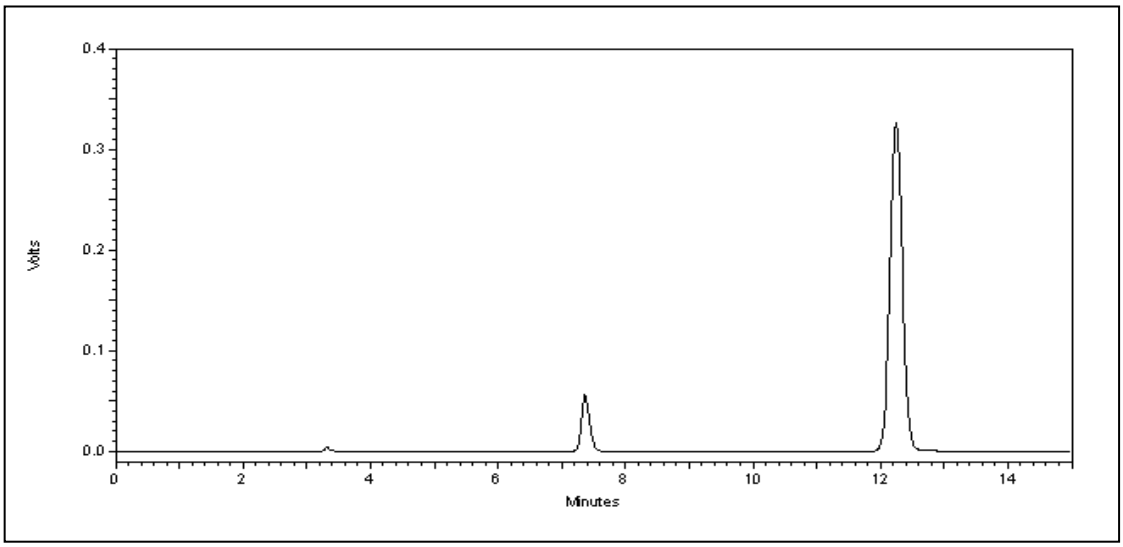
Chromatogram of standard tartaric acid (TA)



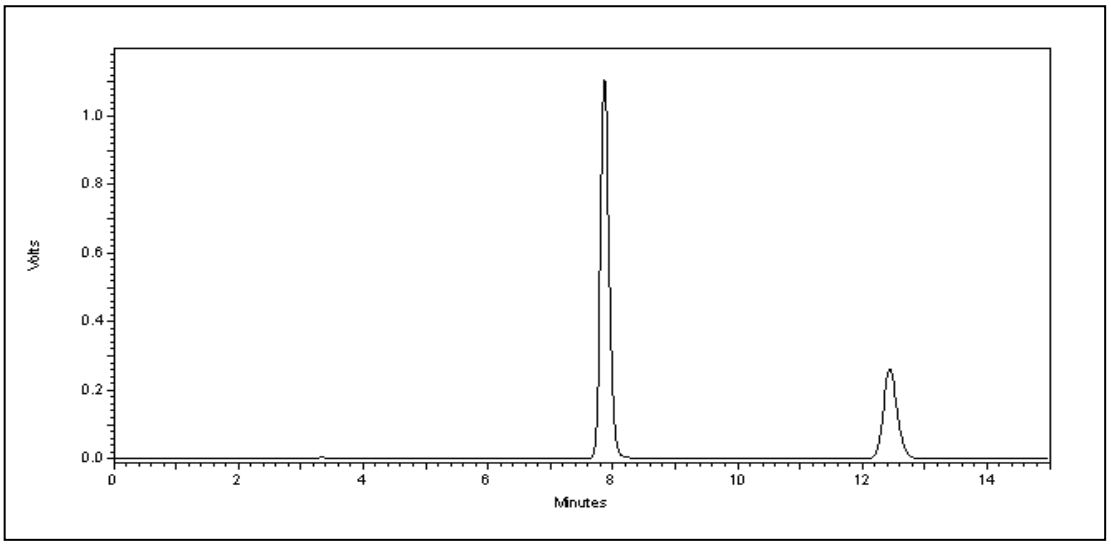
Chromatogram of standard L-malic acid (L-MA)



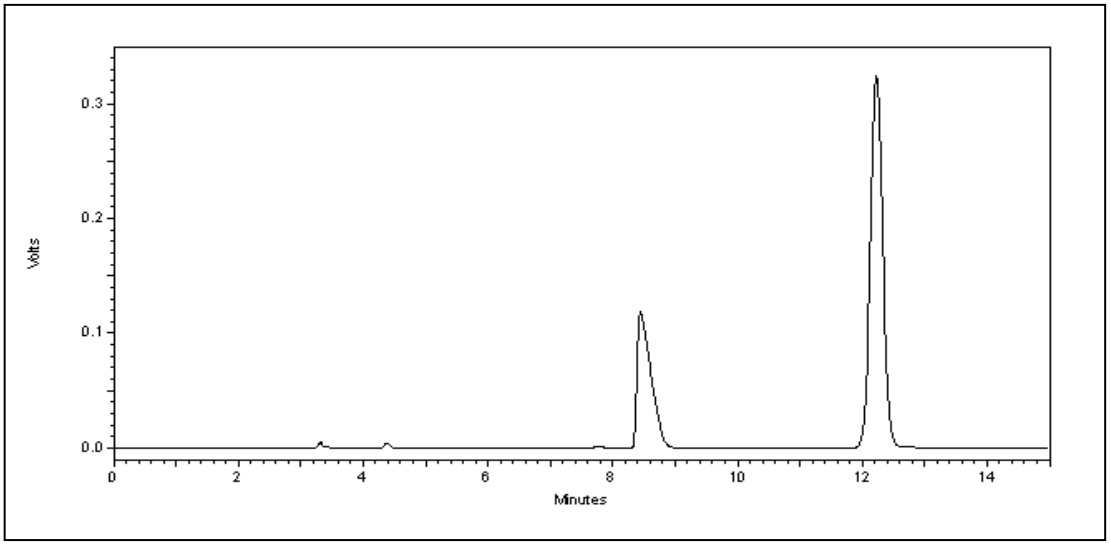
Chromatogram of standard Ascorbic acid (AA)



Chromatogram of standard citric acid (CA)



Chromatogram of standard fumaric acid (FA)



Chromatogram of standard succinic acid (SA)

2/10

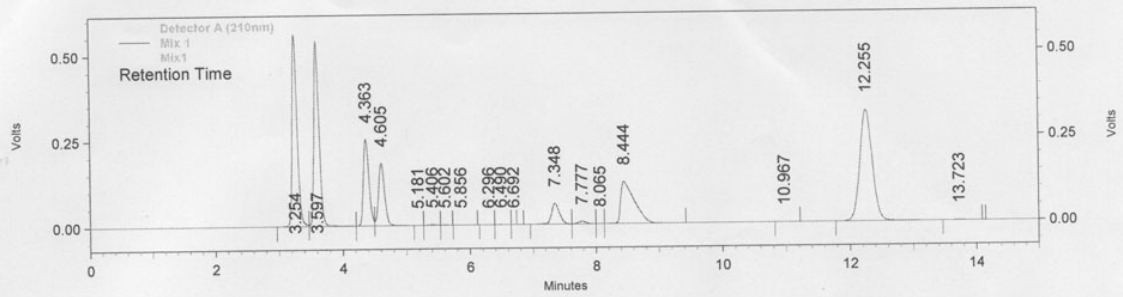
Internal Standard

Shimadzu CLASS-VP V 6.13 SP1

Report **Page 1 of 1**

Mix Standard Acid

Method Name: D:\Vee\Method\vee_run25min.met
Data Name: D:\Vee\2-04-50-2.6\Mix1
User: System
Acquired: 4/2/2007 1:40:53 PM
Printed: 7/11/2007 4:46:26 PM



Detector A (210nm)

Pk #	Name	Retention Time	Area
1	0.3 g/L Oxalic acid	3.254	3068891
2	2 g/L Tartaric acid	3.597	3031751
3	2 g/L L-Malic acid	4.363	1537939
4	0.2 g/L Vitamin C	4.605	1202794
12	0.5 g/L Citric acid	7.348	522912
13	Fumaric acid	7.777	60891
15	3.5 g/L Succinic acid	8.444	1823914
17	0.04 g/L Gallic acid	12.255	4441781
Totals			15690873

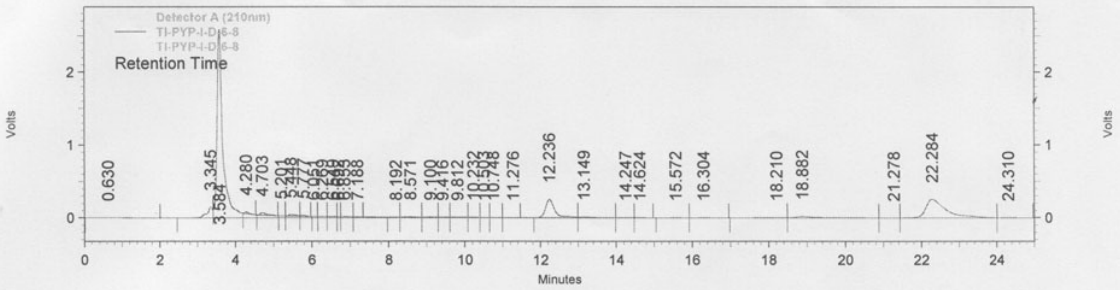
2/19

Shimadzu CLASS-VP V 6.13 SP1 *Internal Standard*

Report **Page 1 of 2**

Method Name: D:\Vee\Method\vee_run25min.met
Data Name: D:\Vee\11-07-50(AC-PYP4)\TI-PYP-I-D-6-8
User: System
Acquired: 7/11/2007 1:17:58 PM
Printed: 7/11/2007 4:39:07 PM

เปรียบเทียบ ก. เพราะมาตรฐาน
(Dilute 6 เท่า เพื่อหาปริมาณ L-MA, CA)



Detector A (210nm)

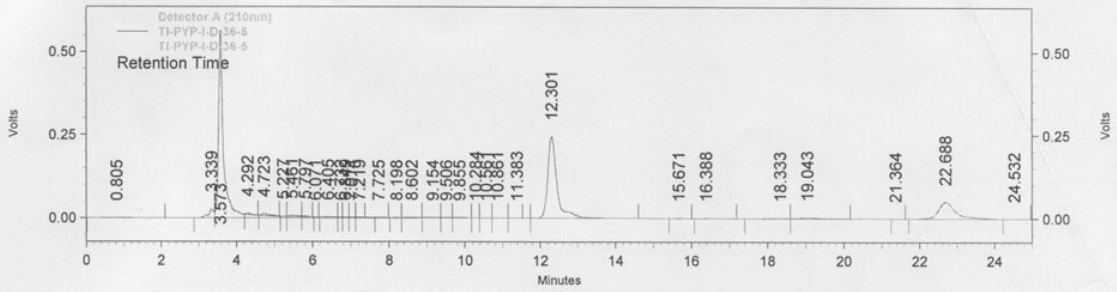
Pk #	Name	Retention Time	Area
1		0.630	91132
2		3.345	1554626
3		3.584	33435778
4	L-MA	4.280	173572
5		4.703	427047
6		5.201	10715
7		5.448	306362
8		5.777	114440
9		6.051	1980
10		6.269	26362
11		6.549	43898
12		6.692	8978
13	CA	6.853	49144
14		7.188	19995
15		8.192	10316
16		8.571	122510
17		9.100	69411
18		9.416	41207
19		9.812	55283
20		10.232	14204
21		10.503	11637
22		10.748	9114
23		11.276	1108
24	CA	12.236	4243203
25		13.149	272219
26		14.247	27103
27		14.624	17542
28		15.572	25996
29		16.304	34537
30		18.210	137878
31		18.882	667579
32		21.278	33819
33		22.284	9412918
34		24.310	69135
Totals			51540748

1/15

Shimadzu CLASS-VP V 6.13 SP1 *Internal Standard*

Report **Page 1 of 1**

Method Name: D:\Vee\Method\vee_run25min.met
Data Name: D:\Vee\10-07-50(AC-TIPYP3)\TI-PYP-I-D-36-5 เปรี้ยวยักษ์ จ.เพชรบูรณ์
User: System
Acquired: 7/10/2007 12:03:20 PM (Dilute 36 เท่า เพื่อหาปริมาณ DA, TA, SA)
Printed: 7/11/2007 4:38:06 PM



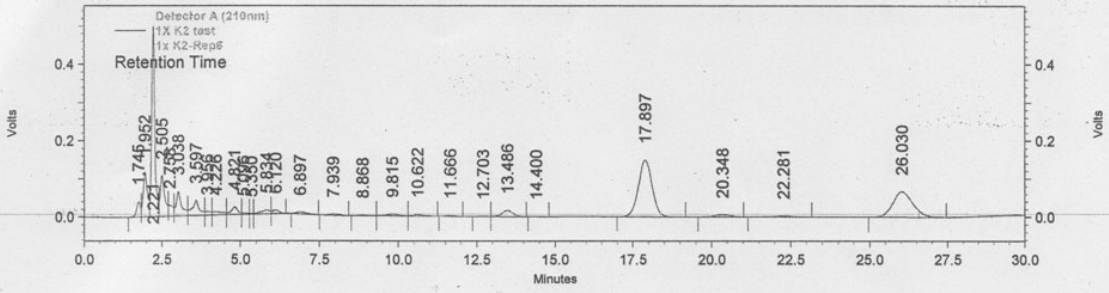
Detector A (210nm)

Pk #	Name	Retention Time	Area
1		0.805	19268
2	DA	3.339	262542
3	TA	3.573	5970872
4		4.292	32545
5		4.723	74230
6		5.227	1934
7		5.461	50280
8		5.797	19308
9		6.071	280
10		6.405	13064
11		6.732	1740
12		6.849	3798
13		7.014	3655
14		7.219	3806
15		7.725	779
16		8.198	1117
17	SA	8.602	17450
18		9.154	14632
19		9.506	8360
20		9.855	13512
21		10.284	3041
22		10.561	5196
23		10.861	4371
24		11.383	554
25	GA	12.301	4207860
26		15.671	2882
27		16.388	4511
28		18.333	13679
29		19.043	80936
30		21.364	341
31		22.688	1589668
32		24.532	4217
Totals			12430427

Shimadzu CLASS-VP V 6.13 SP1 *Internal Standard*

Report **Page 1 of 1**

Method Name: D:\Un 250mm\Method\run_cal.met
Data Name: D:\Un 250mm\accuracy 3-11-49\Sample\1x K2-Rep6
User: System
Acquired: 11/3/2006 8:20:56 PM
Printed: 11/9/2006 3:06:36 PM



Detector A (210nm)

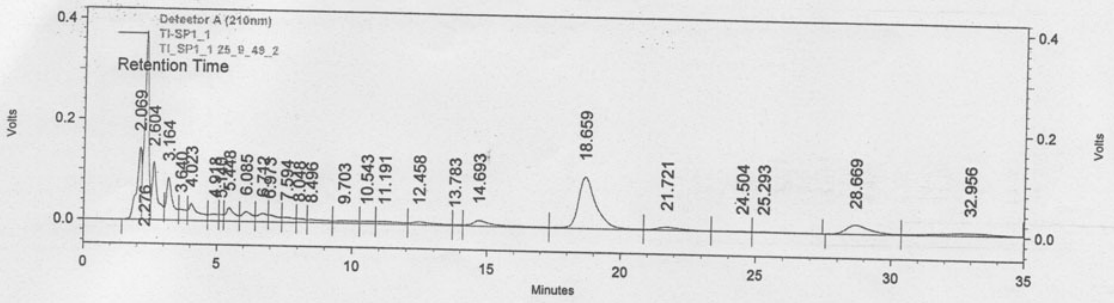
Pk #	Retention Time	Area
1	1.745	346019
4	2.505	1070465
5	2.758	282709
7	3.597	618529
9	4.226	186897
10	4.821	290926
11	5.096	44755
12	5.350	11717
13	5.834	191611
14	6.120	135915
16	7.939	83837
17	8.868	55921
18	9.815	149989
19	10.622	88808
20	11.666	40599
21	12.703	13555
22	13.486	377379
23	14.400	7417
24	Gallic acid — 17.897	4497899
25	20.348	196886
26	22.281	125836
27	26.030	2991612
Totals		11809283

HPLC profile ของน้ำสกัดมะขามพันธุ์ขันตี (TI-K/P)

Shimadzu CLASS-VP V 6.13 SP1

Report **Page 1 of 1** ***Internal Standard***

Method Name: D:\Un 250mm\Method\run_cal.met
Data Name: C:\CLASS-VP\un3221\sample 25degree\TI_SP1_1 25_9_49_2
User: System
Acquired: 9/25/2006 3:39:41 PM
Printed: 11/8/2006 5:04:23 PM



Detector A (210nm)

Pk #	Retention Time	Area
1	2.069	1795084
2	2.276	4214459
3	2.604	1642292
4	3.164	1380687
5	3.640	398131
6	4.023	851647
7	4.918	306817
8	5.140	132590
9	5.448	590709
10	6.085	512689
11	6.712	407926
12	6.973	329551
13	7.594	275244
14	8.048	164999
15	8.496	276719
16	9.703	265262
17	10.543	154223
18	11.191	284621
19	12.458	331386
20	13.783	44071
21	14.693	637167
22	Gallic acid — 18.659	4644301
23	21.721	377939
24	24.504	73033
25	25.293	98305
26	28.669	1118604
27	32.956	703128
Totals		22011584

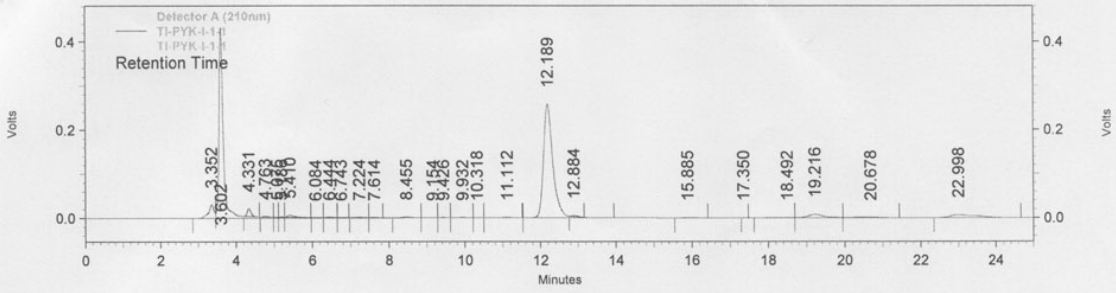
รูปที่ HPLC profile ของน้ำสกัดมะขามพันธุ์ศรีชมภู (TI-SP/P)

2/11

Shimadzu CLASS-VP V 6.13 SP1 *Internal Standard*

Report **Page 1 of 1**

Method Name: D:\Vee\Method\vee_run25min.met
Data Name: D:\Vee\12-06-50(AC-TYK)\TI-PYK-I-1-1 เปรี้ยวมักม์ จ.นครราชสีมา
User: System
Acquired: 6/12/2007 10:47:22 AM
Printed: 7/11/2007 4:44:22 PM



Detector A (210nm)

Pk #	Name	Retention Time	Area
1	OA	3.352	302763
2	TA	3.602	3672339
3	L-MA	4.331	122242
4		4.763	16274
5		5.075	2961
6		5.186	5944
7		5.410	60984
8		6.084	2982
9		6.444	16780
10		6.743	3109
11	CA	7.224	14827
12	FA	7.614	6574
13	SA	8.455	22751
14		9.154	5812
15		9.426	6213
16		9.932	10777
17		10.318	1469
18		11.112	15826
19	GA	12.189	4480171
20		12.884	25135
21		15.885	3657
22		17.350	390
23		18.492	9551
24		19.216	205627
25		20.678	48361
26		22.998	310305

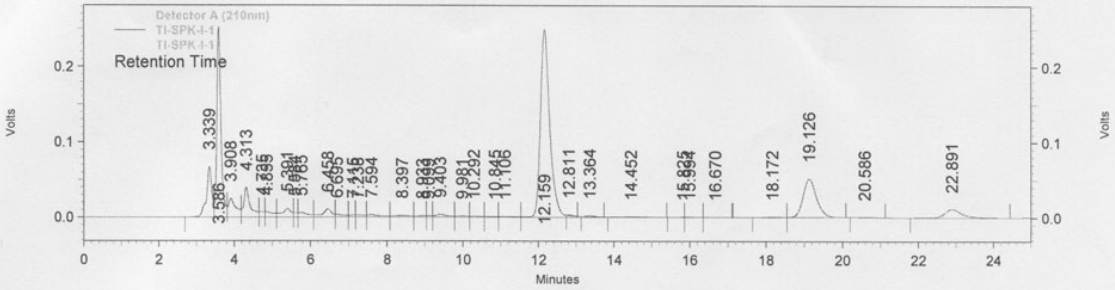
Totals			9373826

2/12

Shimadzu CLASS-VP V 6.13 SP1 *Internal Standard*

Report **Page 1 of 1**

Method Name: D:\Vee\Method\vee_run25min.met
Data Name: D:\Vee\13-06-50(AC-TISPK)\TI-SPK-I-1 ศรีรมย์ จ.นครราชสีมา
User: System
Acquired: 6/13/2007 10:27:16 AM
Printed: 7/11/2007 4:45:03 PM



Detector A (210nm)

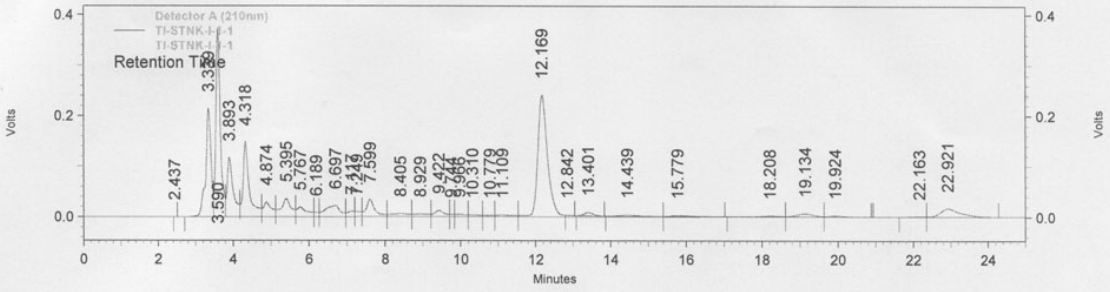
Pk #	Name	Retention Time	Area
1	OA	3.339	656237
2	TA	3.586	1903317
3		3.908	340634
4	L-MA	4.313	449050
5		4.735	63798
6		4.855	100966
7		5.391	187180
8		5.584	38179
9		5.765	103789
10		6.458	179547
11		6.695	56588
12		7.115	28071
13	CA	7.238	45351
14	FA	7.594	72949
15	SA	8.397	63878
16		8.933	31994
17		9.099	15818
18		9.403	76443
19		9.981	32593
20		10.292	24882
21		10.845	18523
22		11.106	27548
23	CA	12.159	4377441
24		12.811	5567
25		13.364	23900
26		14.452	22921
27		15.825	3536
28		15.994	5994
29		16.670	4189
30		18.172	16318
31		19.126	1241125
32		20.586	13725
33		22.891	371302
Totals			10603354

2/13

Shimadzu CLASS-VP V 6.13 SP1 *Internal Standard*

Report **Page 1 of 1**

Method Name: D:\Vee\Method\vee_run25min.met
Data Name: D:\Vee\11-06-50(AC-TISTNK)\TI-STNK-I-1-1 สักองหัก จ.นครราชสีมา
User: System
Acquired: 6/11/2007 1:05:01 PM
Printed: 7/11/2007 4:43:47 PM

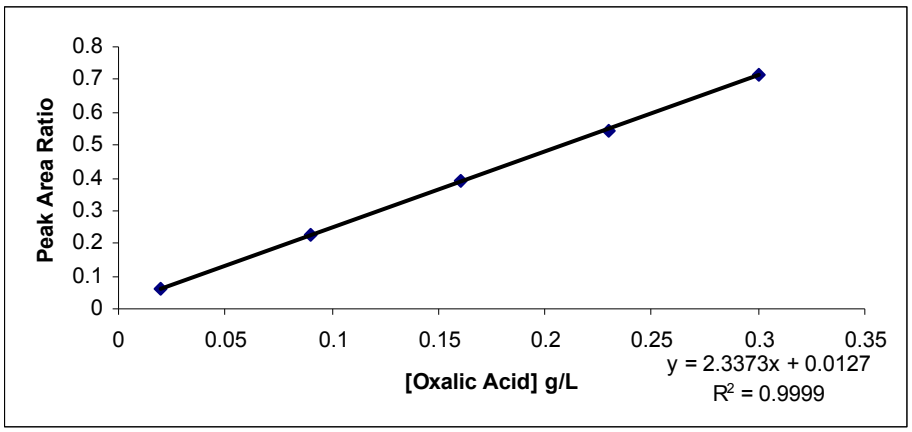


Detector A (210nm)

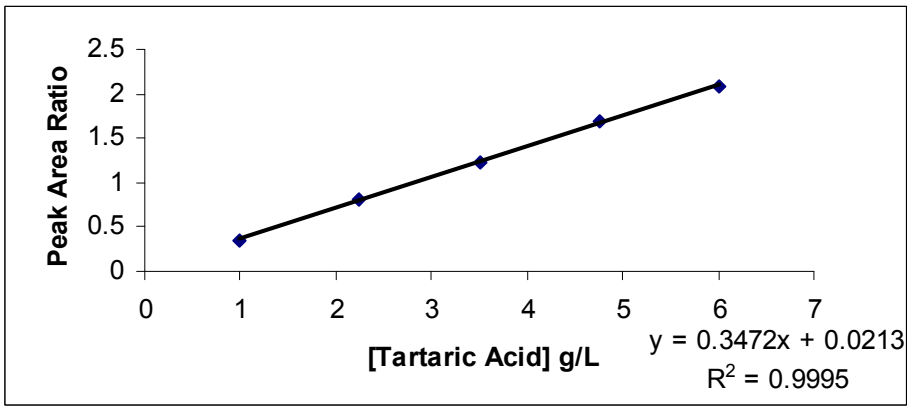
Pk #	Name	Retention Time	Area
1		2.437	43
2	OA	3.339	2114968
3	TA	3.590	3094337
4		3.893	1283537
5	L-MA	4.318	1678130
6		4.874	430347
7		5.395	641530
8		5.767	361290
9		6.189	65312
10		6.697	593122
11		7.117	130940
12	CA	7.249	112442
13	FA	7.599	539376
14	SA	8.405	199569
15		8.929	150275
16		9.422	225049
17		9.744	35899
18		9.966	90780
19		10.310	73147
20		10.779	50994
21		11.109	105167
22	GA	12.169	4743230
23		12.842	1788
24		13.401	109425
25		14.439	74546
26		15.779	57939
27		18.208	55089
28		19.134	187449
29		19.924	55249
30		22.163	20330
31		22.921	609507

Totals			17890806

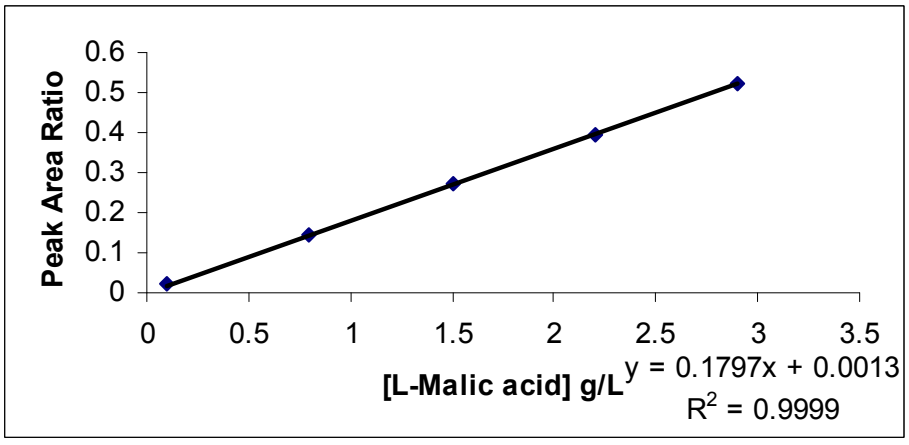
Standard curve of organic acid



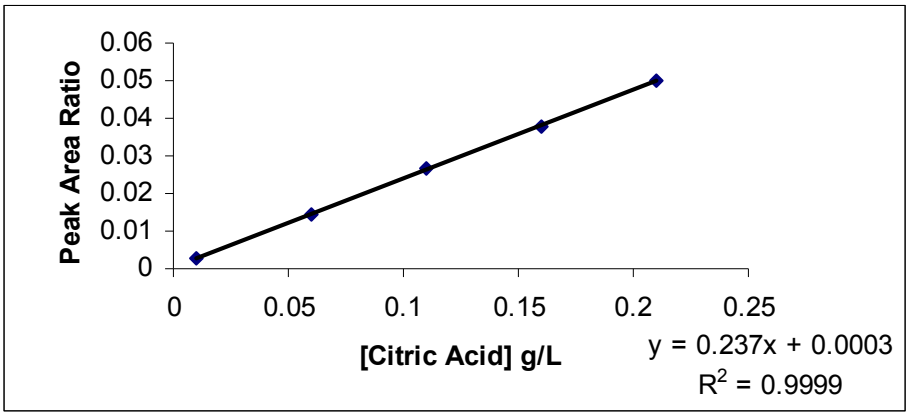
Standard curve of oxalic acid



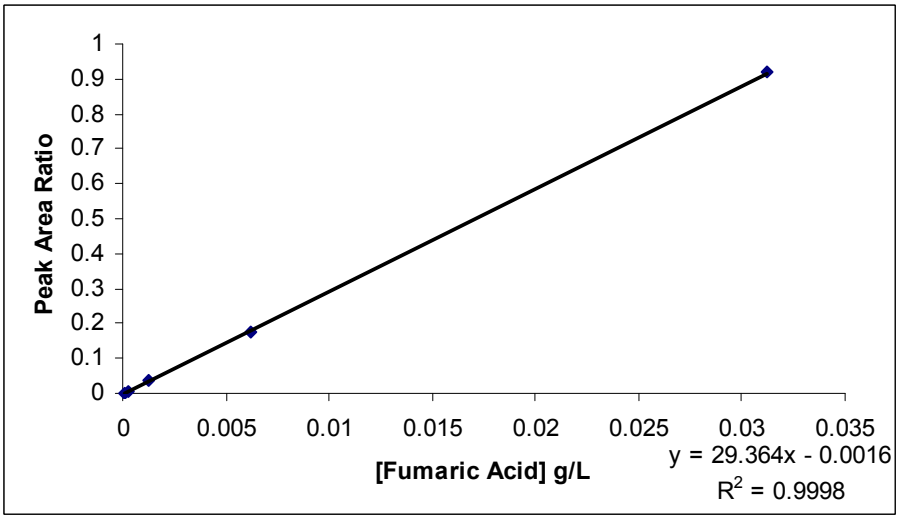
Standard curve of tartaric acid



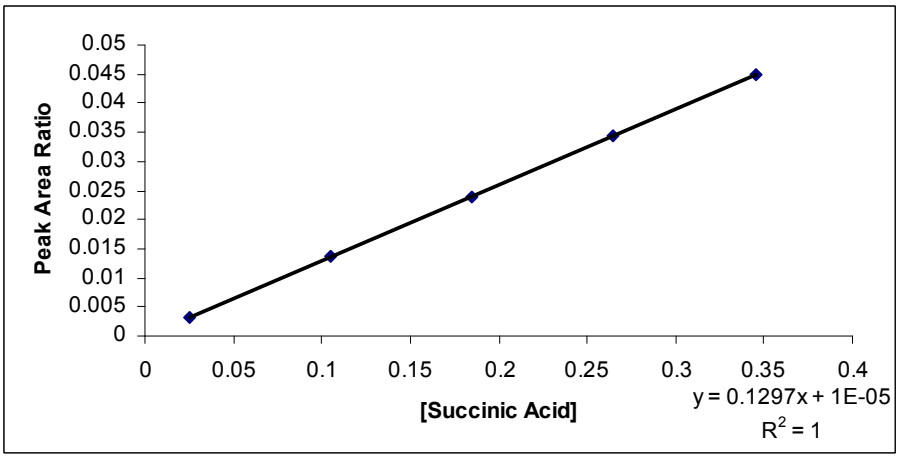
Standard curve of L-malic acid



Standard curve of citric acid



Standard curve of fumaric acid



Standard curve of succinic acid

Linear range, limit of detection (LOD) of organic acids and precision values

Acids	Linear range(g/L)	Regression equation[a]	r	LOD[b] (mg/L)	Precision (%RSD)	
					Intraday	Interday
OA	0.02000-0.30000	y=2.3373x+0.01270	0.9999	0.09	0.40-1.65	0.59-1.45
TA	1.00000-6.00000	y=0.3472x+0.02130	0.9995	0.88	0.43-1.66	0.95-1.65
L-MA	0.10000-2.90000	y=0.1797x+0.00130	0.9999	1.28	0.40-1.61	0.48-1.33
CA	0.01000-0.21000	y=0.2370x+0.00030	0.9999	1.44	0.33-1.56	0.54-1.33
FA	0.00005-0.03125	y=29.364x-0.00160	0.9998	0.02	0.37-1.06	0.34-4.11
SA	0.02500-0.34500	y=0.1297x+0.00001	1.0000	1.56	0.43-1.73	0.70-1.70

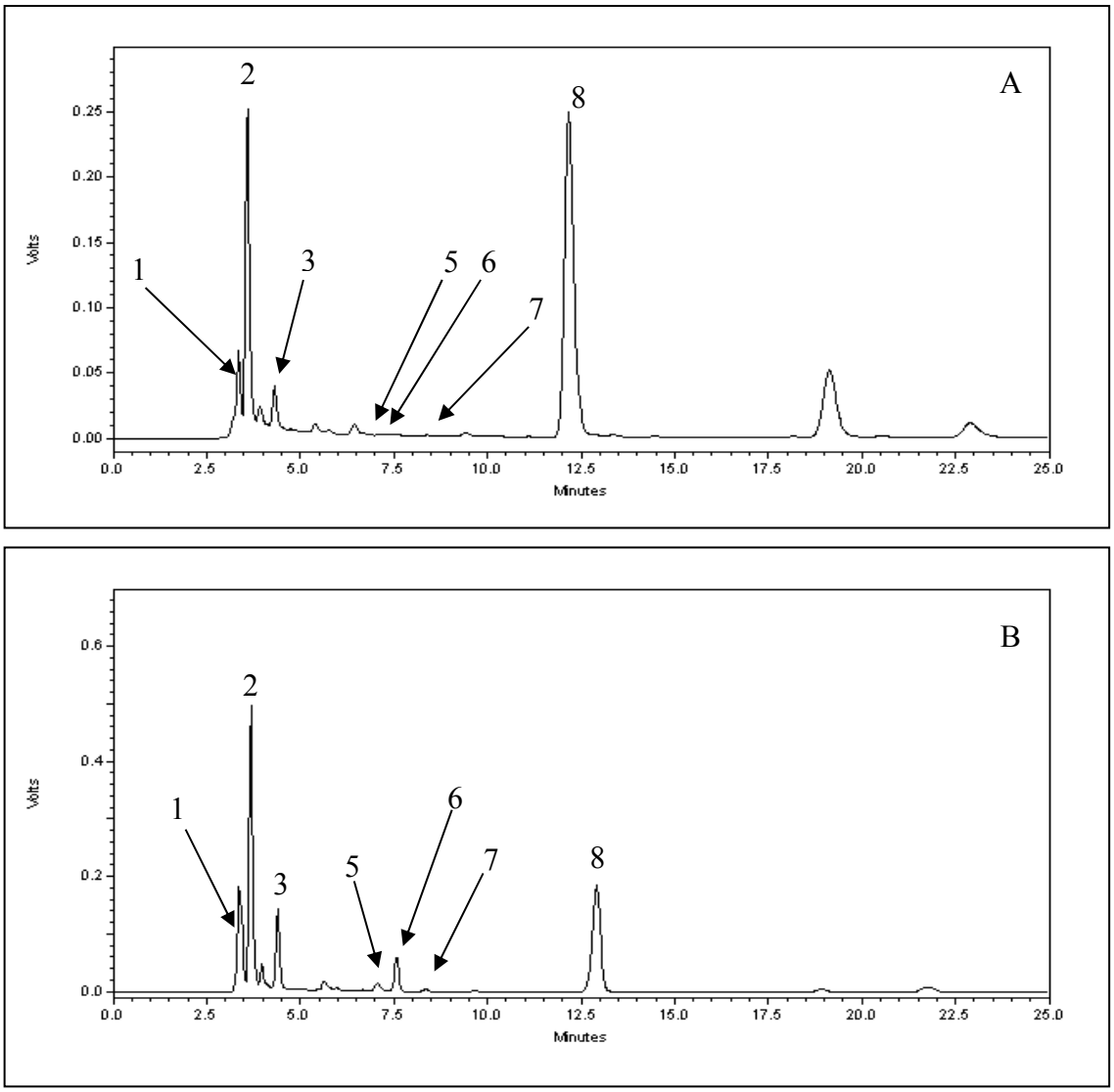
[a] y: peak area ratio, x: contentration, g/L.

[b] Limit of detection (LOD) calculated as S/N = 3.3.

Recovery of organic acids added to the tamarind pulp (TI-SP/K) extracts

Organic acids	Original (g/L)	Added (g/L)	Found[a] (g/L)	Recovery (%)	RSD (%)
OA	0.06	0.03	0.09	106.67	2.80
		0.09	0.15	103.26	3.44
		0.15	0.22	107.33	0.68
TA	1.36	1.00	2.37	101.50	0.22
		1.51	2.86	99.47	0.50
		2.00	3.27	95.50	0.47
L-MA	0.57	0.39	0.97	102.56	1.44
		0.80	1.39	102.50	0.94
		1.20	1.82	104.17	0.99
CA	0.04	0.02	0.06	104.35	5.00
		0.07	0.10	92.86	1.50
		0.12	0.15	94.17	2.00
FA	0.0006	0.0010	0.0015	92.78	1.73
		0.0030	0.0035	97.39	0.29
		0.0050	0.0055	97.80	0.73
SA	0.10	0.04	0.14	97.5	1.43
		0.08	0.17	92.5	2.35
		0.12	0.22	103.33	0.18

[a] Values are expressed mean of the three replications



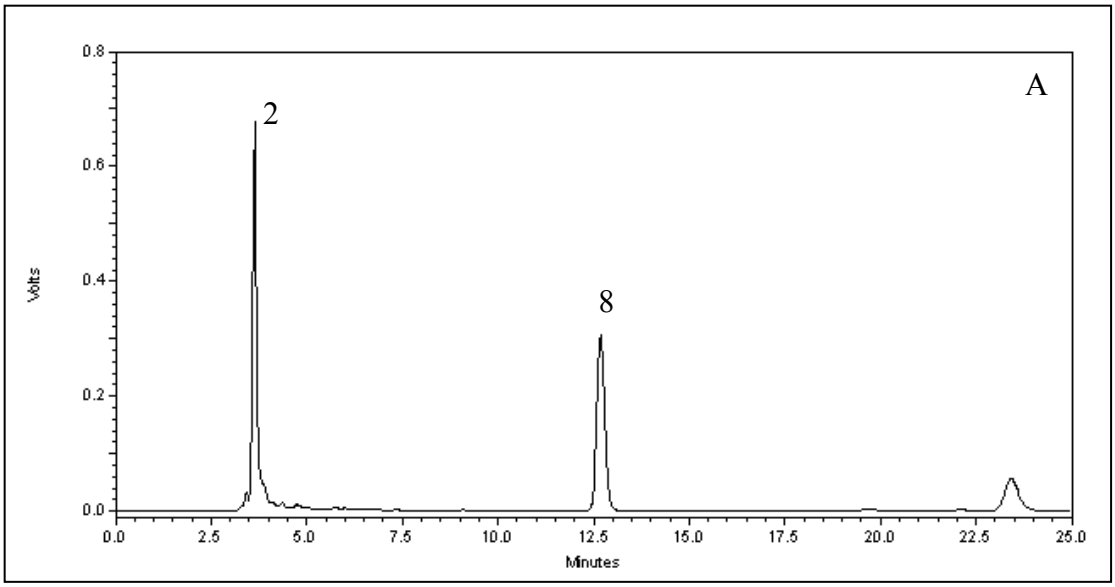
Chromatograms ของกรดอินทรีย์ในน้ำสกัดของเนื้อมะขามหวาน *T.indica* "ศรีชมภู" (TI-SP/K) จากนครราชสีมา (โคราช,K)

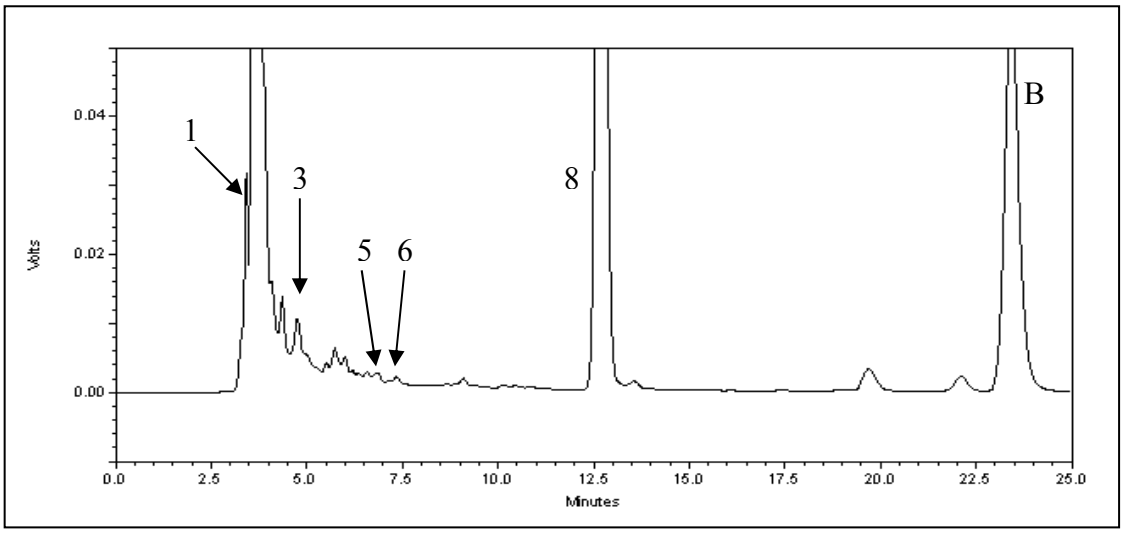
(A) chromatogram ของน้ำสกัดมะขาม

(B) chromatogram ของน้ำสกัดมะขามเติม (spiked) ด้วยกรดอินทรีย์มาตรฐานผสม

Peaks: 1 oxalic acid (OA), 2 tartaric acid (TA), 3 L-malic acid (L-MA),

5 citric acid (CA), 6 fumaric acid (FA), 7 succinic acid (SA) and 8 gallic acid (GA)



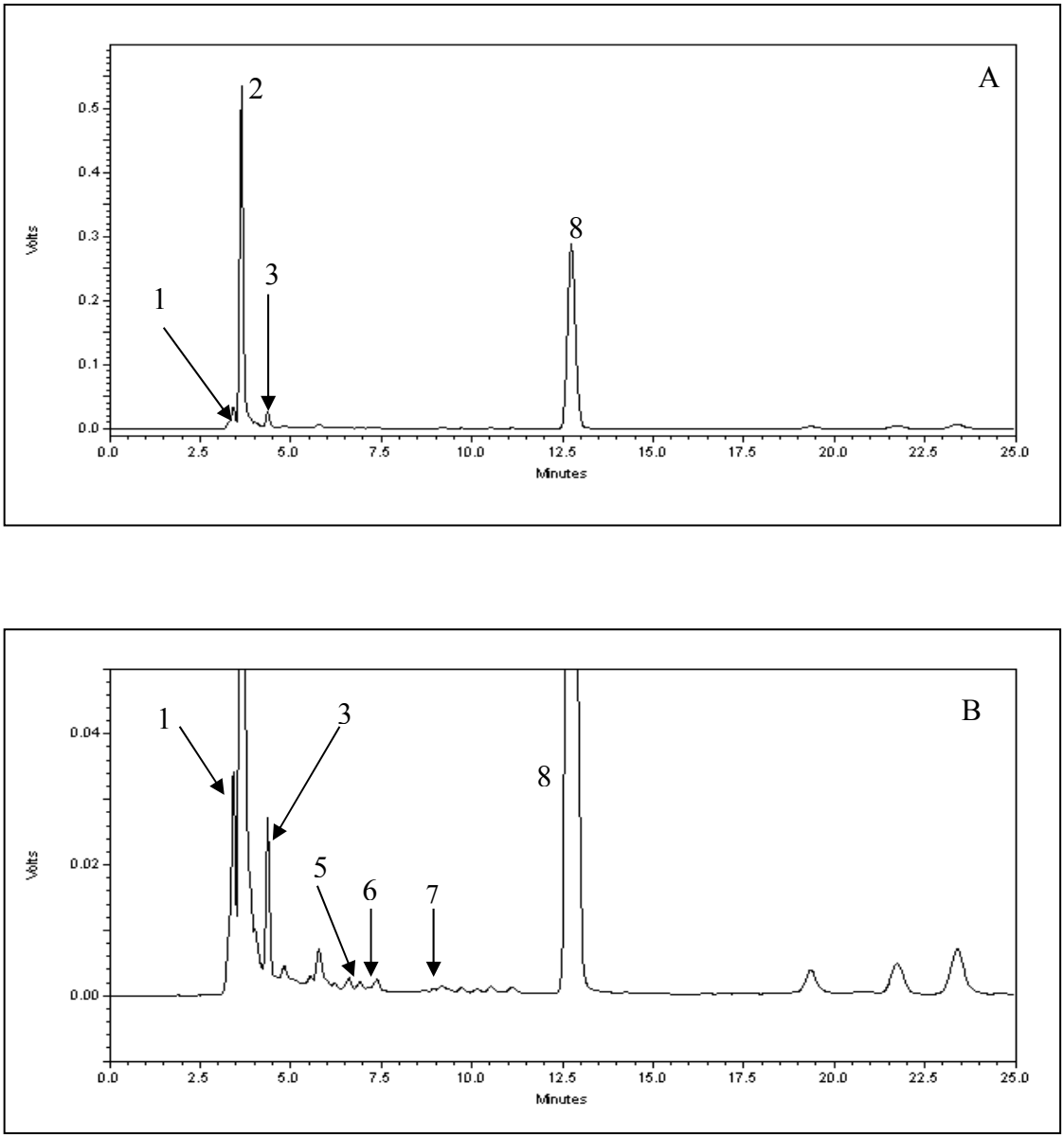


Chromatograms ของกรดอินทรีย์ในน้ำสกัดของเนื้อมะขามเปรี้ยว *T.indica* “เปรี้ยวยักษ์” (TI-PY/P) จากเพชรบูรณ์ (P)

(A) chromatogram ของน้ำสกัดเนื้อมะขาม

(B) ภาพขยาย chromatogram ของ (A)

Peaks: 1 oxalic acid (OA), 2 tartaric acid (TA), 3 L-malic acid (L-MA), 5 citric acid (CA), 6 fumaric acid (FA) and 8 gallic acid (GA)



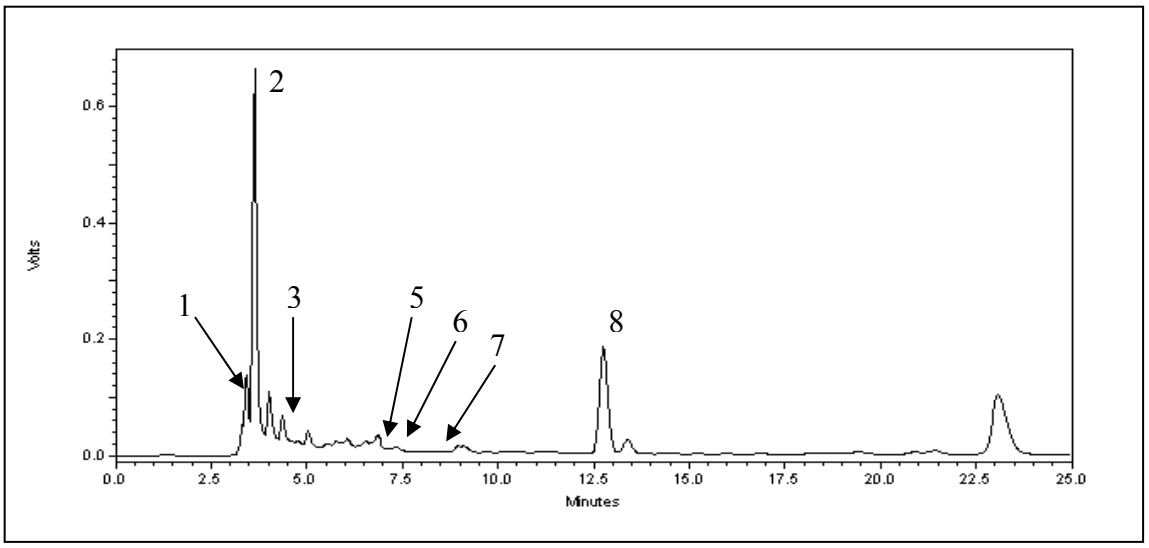
Chromatograms ของกรดอินทรีย์ในน้ำสกัดของเนื้อมะขามเปรี้ยว *T.indica* “เปรี้ยว” (TI-P/K) จากนครราชสีมา (โคราช,K)

(A) chromatogram ของน้ำสกัดเนื้อมะขาม

(B) ภาพขยาย chromatogram ของ (A)

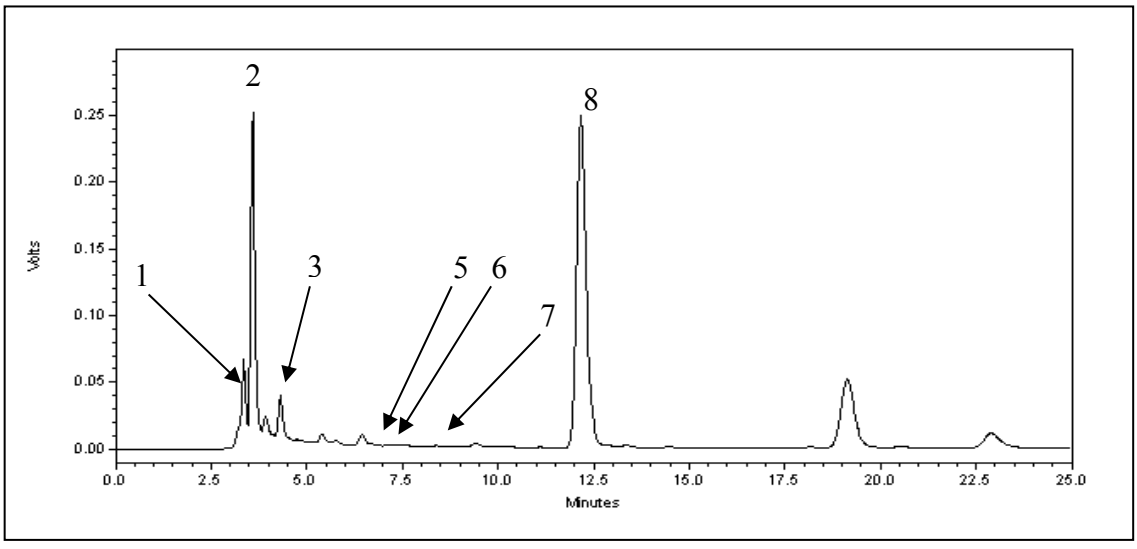
Peaks: 1 oxalic acid (OA), 2 tartaric acid (TA), 3 L-malic acid (L-MA),

5 citric acid (CA), 6 fumaric acid (FA), 7 succinic acid (SA) and 8 gallic acid (GA)



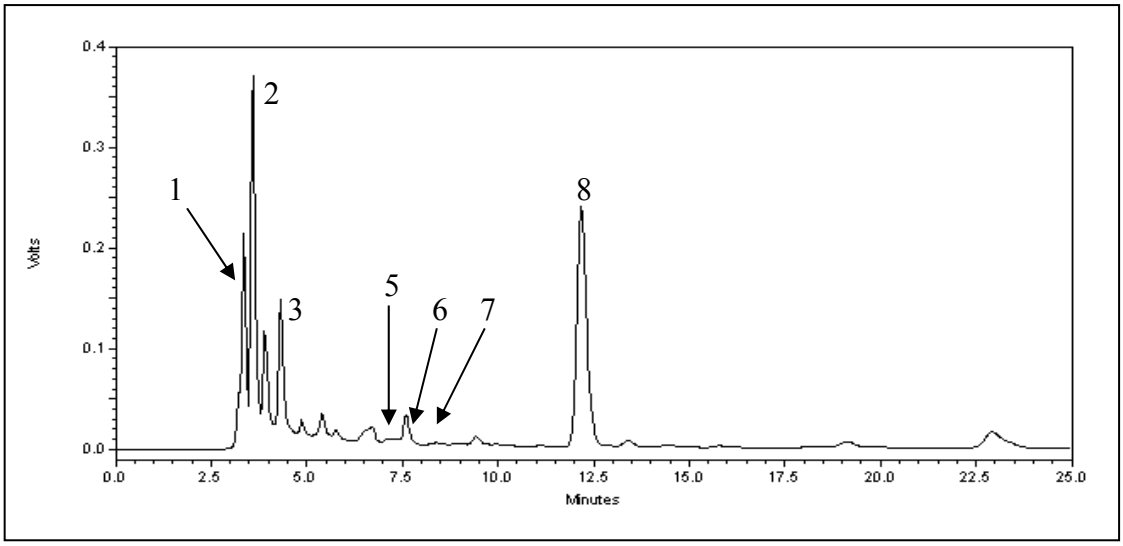
Chromatogram ของกรดอินทรีย์ในน้ำสกัดของเนื้อมะขามหวาน *T.indica* “ขันตี” (TI-K/P) จาก เพชรบูรณ์ (P)

Peaks: 1 oxalic acid (OA), 2 tartaric acid (TA), 3 L-malic acid (L-MA),
5 citric acid (CA), 6 fumaric acid (FA), 7 succinic acid (SA) and 8 gallic acid (GA)



Chromatogram ของกรดอินทรีย์ในน้ำสกัดของเนื้อมะขามหวาน *T.indica* “ศรีชมภู” (TI-SP/K) จาก นครราชสีมา (โคราช,K)

Peaks: 1 oxalic acid (OA), 2 tartaric acid (TA), 3 L-malic acid (L-MA),
5 citric acid (CA), 6 fumaric acid (FA), 7 succinic acid (SA) and 8 gallic acid (GA)



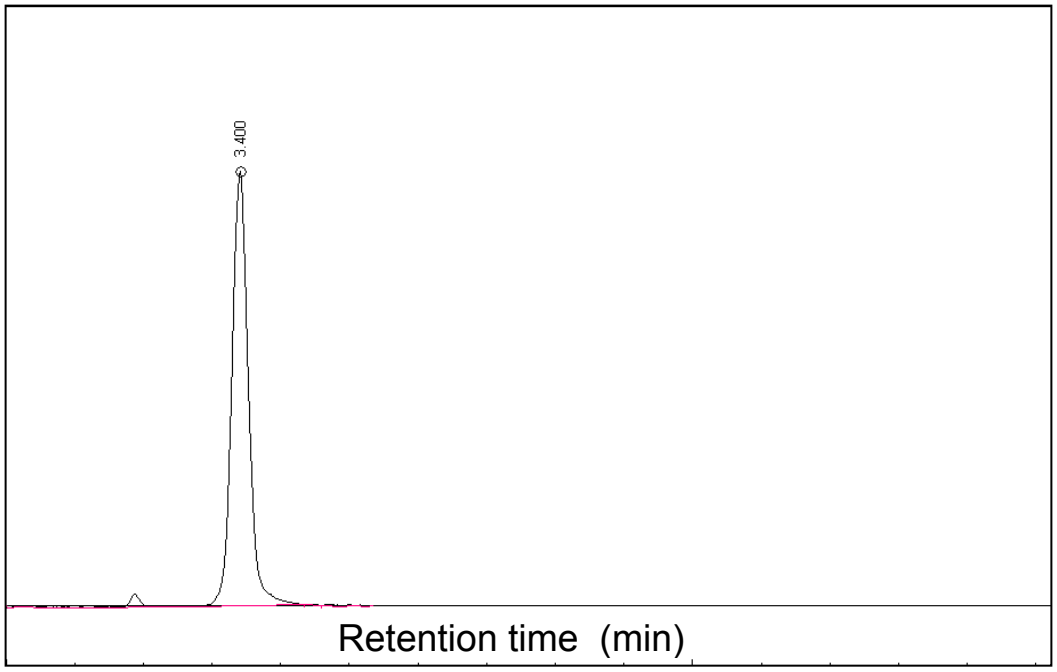
Chromatogram ของกรดอินทรีย์ในน้ำสกัดของเนื้อมะขามหวาน *T.indica* "สีทองหนัก" (TI-STH/K) จากนครราชสีมา (โคราช,K)

Peaks: 1 oxalic acid (OA), 2 tartaric acid (TA), 3 L-malic acid (L-MA),

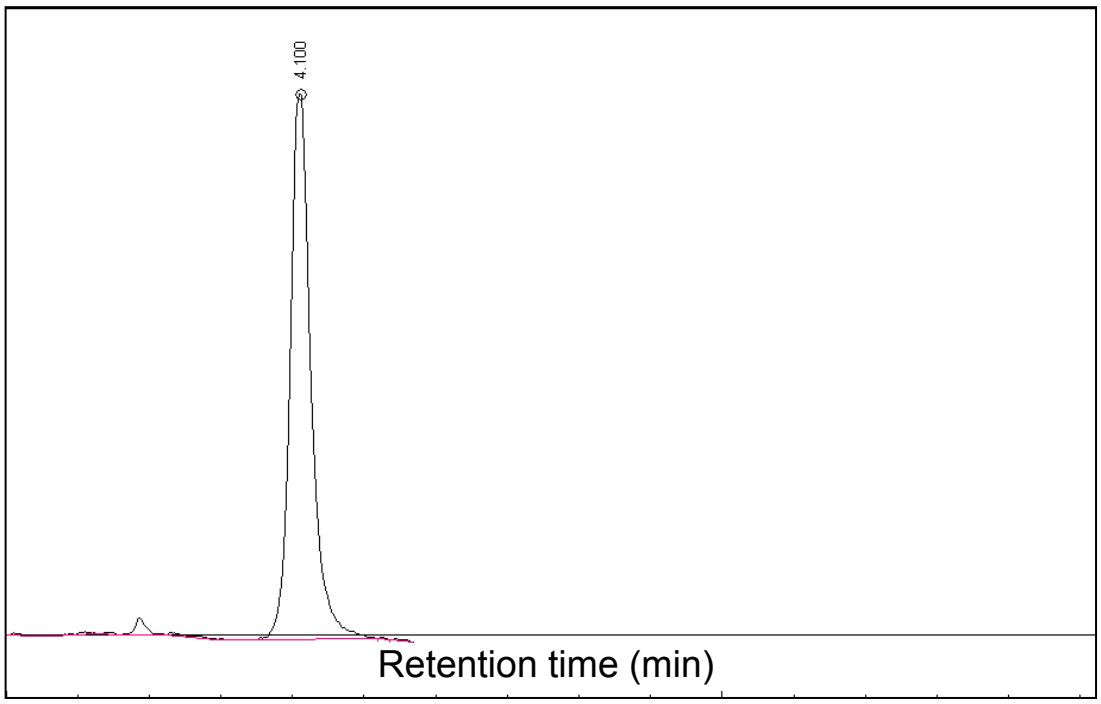
5 citric acid (CA), 6 fumaric acid (FA), 7 succinic acid (SA) and 8 gallic acid (GA)

ภาคผนวก 2

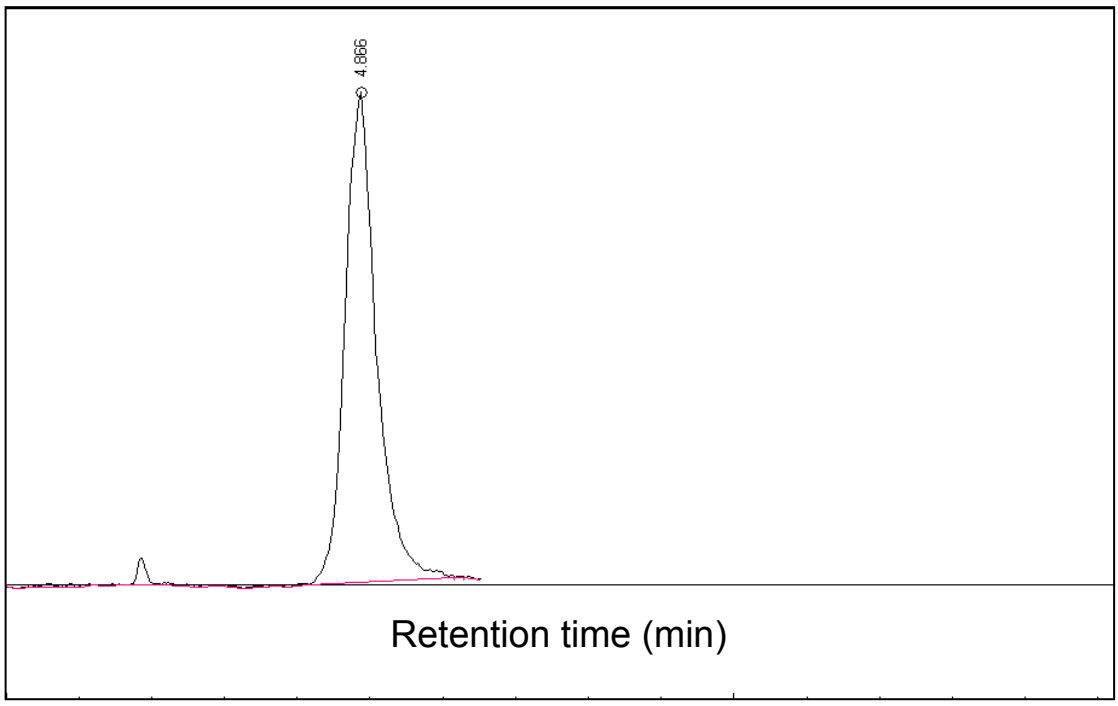
HPLC Chromatogram of standard sugar (ELSD)



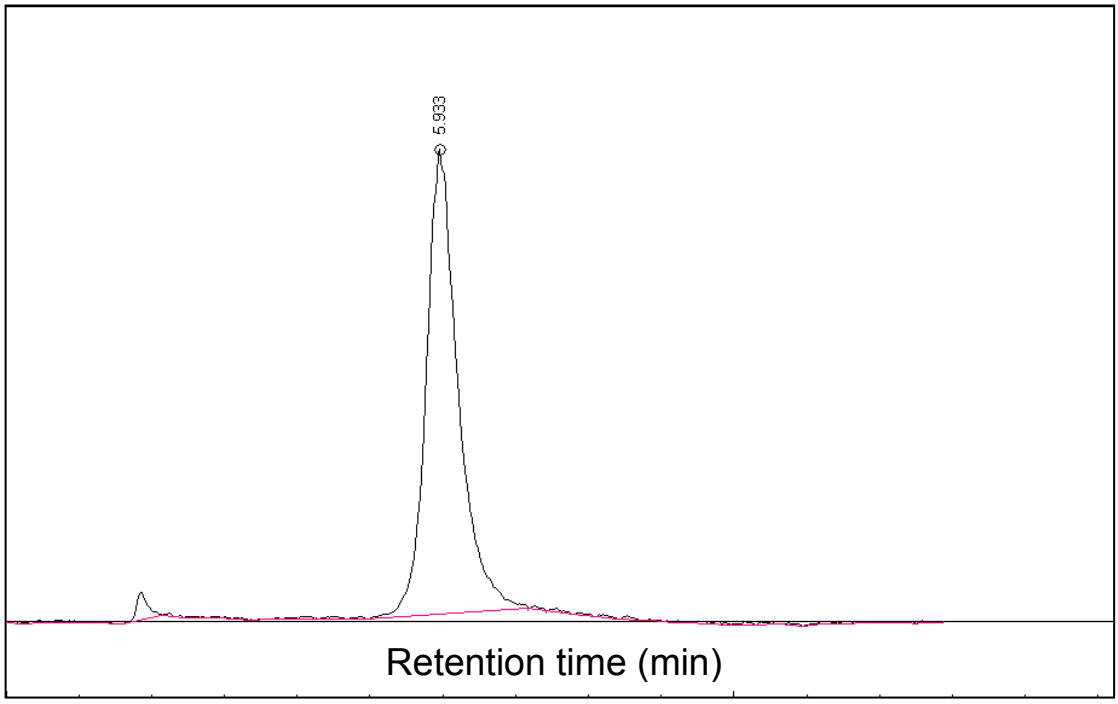
Chromatogram of 0.5% Rhamnose



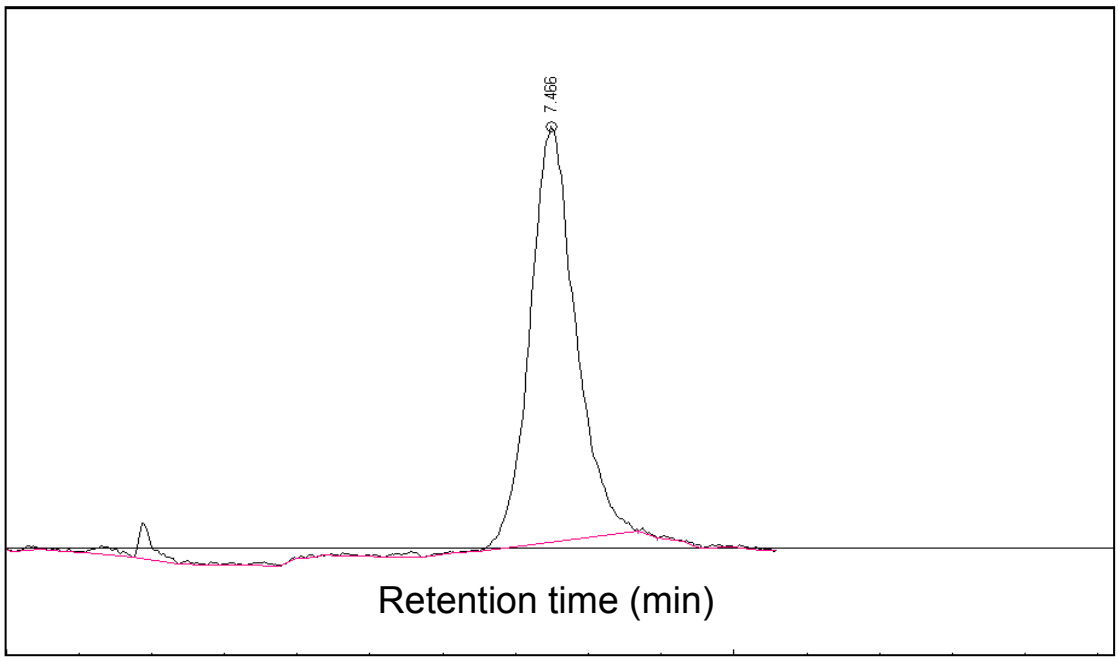
Chromatogram of 0.5% Xylose



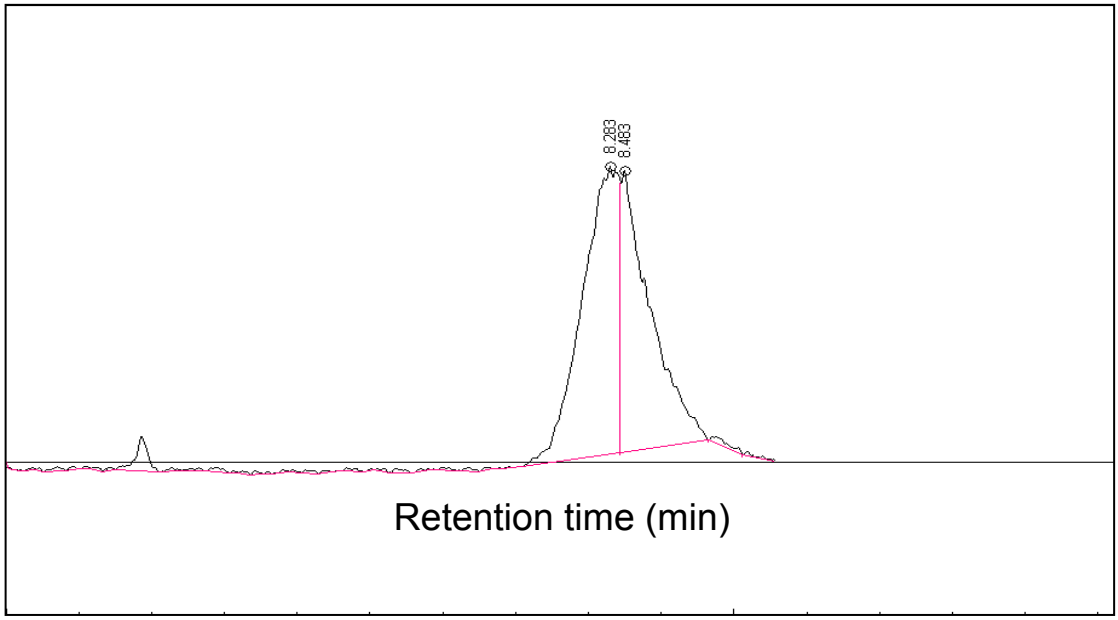
Chromatogram of 0.5% Arabinose



Chromatogram of 0.5% Fructose



Chromatogram of 0.5% Glucose



Chromatogram of 0.5% Galactose

ภาคผนวก 3

ตาราง 1 Formulation of tamarind powder and appearance of tamarind powder products by spray drying technique

Product No.	Formula	Appearance tamarind powder product after spray drying	%moisture content	Solubility in 10% in hot water (min)
1	TI-PY/P 150 g/L + 5 g/L TSP	Wet yellow powder	ND	40
2	TI-PY/P 150 g/L + 10 g/L TSP	Wet yellow powder	ND	50
3	TI-PY/P 60 g/L + 10 g/L TSP	Wet yellow powder	ND	50
4	TI-PY/P 50 g/L + 10 g/L TSP	Wet yellow powder	ND	50
5.	TI-PY/P 50 g/L + 10 g/L Maltodextrin	Wet yellow powder	ND	50
6.	TI-PY/P 40 g/L + 10 g/L TSP	Yellow powder, easily agglomerate, absorb moisture rapidly	ND	50
7.	TI-PY/P 40 g/L + 6 g/L TSP + 0.25 g/L Silicon dioxide	Wet yellow powder	ND	50
8.	TI-PY/P 40 g/L + 10 g/L TSP+ 0.25 g/L Silicon dioxide	Yellow powder, easily agglomerate, absorb moisture rapidly	ND	50
9.	TI-PY/P 40 g/L + 10 g/L TSP+ 0.50 g/L Silicon dioxide	Yellow powder, easily agglomerate, absorb moisture rapidly	ND	40
10.	TI-PY/P 30 g/L + 10 g/L TSP	Dry yellow powder, small particle, agglomerate	8.15	40
11.	TI-K/P 30 g/L + 5 g/L TSP + 10 g/L Maltodextrin	Wet yellow powder	ND	20
12.	TI-K/P 30 g/L + 8 g/L TSP + 7 g/L Maltodextrin	Wet yellow powder	ND	30

ตาราง 1 (ต่อ) Formulation of tamarind powder and appearance of tamarind powder products by spray drying technique

Product No.	Formula	Appearance tamarind powder product after spray drying	%moisture content	Solubility in 10% in hot water (min)
13.	TI-K/P 30 g/L + 5 g/L TSP + 5 g/L Maltodextrin + 0.3 g/L Silicon dioxide	Wet yellow powder	ND	25
14.	TI-PY/P 15g/L, TI-K/P 15 g/L* + 1.35 g/L Fructose + 0.45 g/L NaCl + 6 g/L TSP+ 4 g/L Pectin	Dry yellow powder, small particle, easily agglomerate, absorb moisture	8.35	25
15.	TI-PY/P 15g/L, TI-K/P 15 g/L + 1.35 g/L Fructose + 0.45 g/L NaCl + 8 g/L TSP*+ 2 g/L Pectin + 0.3 g/L Silicon dioxide	Yellow powder, small particle, easily agglomerate, absorb moisture	8.45	35
16.	TI-PY/P 15g/L, TI-K/P 15 g/L + 1.35 g/L Fructose + 0.45 g/L NaCl + 5 g/L TSP*+ 6 g/L Pectin + 0.3 g/L Silicon dioxide	Yellow powder, small particle, easily agglomerate, absorb moisture rapidly	9.68	25

Tamarind extracts, TSP and *pectin were autoclaved 121°C 30 minutes, before mixed in tamarind mixture.

ND = not determined

ภาคผนวก 4

แบบประเมินผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส
" เครื่องดื่มมะขามผงฟู "

วันที่ทดสอบ.....

ชื่อผู้ทดสอบ.....

กรุณาระบุความชอบในแต่ละคุณลักษณะ โดยทำเครื่องหมายถูกในช่องว่าง ซึ่งเรียงลำดับความชอบมากที่สุดทางด้านซ้ายมือ (หมายเลข 5) ถึงไม่ชอบมากที่สุดทางด้านขวามือ (หมายเลข1) และดื่มน้ำกลั้วคอก่อนการทดสอบถัดไปทุกครั้ง

1. สีและลักษณะที่ปรากฏของผงเครื่องดื่ม

รหัสผลิตภัณฑ์	ชอบมากที่สุด ⟶ ไม่ชอบมากที่สุด				
	5	4	3	2	1

ข้อเสนอแนะเพิ่มเติม

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

นำผงเครื่องดื่มใส่ลงในน้ำที่เตรียมไว้ พร้อมคนให้ละลายจนหมด แล้วประเมินผล

2. สีและลักษณะที่ปรากฏของน้ำมะขาม (ความใส)

รหัสผลิตภัณฑ์	ชอบมากที่สุด ⟶ ไม่ชอบมากที่สุด				
	5	4	3	2	1

ข้อเสนอแนะเพิ่มเติม

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

3. กลิ่นของน้ำมะขาม (กลิ่นหอมมะขาม)

รหัสผลิตภัณฑ์	ชอบมากที่สุด ⟶ ไม่ชอบมากที่สุด				
	5	4	3	2	1

ข้อเสนอแนะเพิ่มเติม

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

4. รสชาติของน้ำมะขาม (เปรี้ยว หวาน เค็ม กลมกล่อม)

รหัสผลิตภัณฑ์	ชอบมากที่สุด ⟶ ไม่ชอบมากที่สุด				
	5	4	3	2	1

ข้อเสนอแนะเพิ่มเติม

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

5. ลักษณะการเกิดฟองของน้ำมะขาม

รหัสผลิตภัณฑ์	ชอบมากที่สุด ⟶ ไม่ชอบมากที่สุด				
	5	4	3	2	1

ข้อเสนอแนะเพิ่มเติม

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

6. ความชอบโดยรวมของน้ำมะขาม (ลักษณะของผลิตภัณฑ์โดยรวม สีและลักษณะที่ปรากฏภายนอก กลิ่น รสชาติ ลักษณะการเกิดฟอง)

รหัสผลิตภัณฑ์	ชอบมากที่สุด ⟶ ไม่ชอบมากที่สุด				
	5	4	3	2	1

ข้อเสนอแนะเพิ่มเติม

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

กรุณาเรียงลำดับความชอบของท่านในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มมะขามผงฟู่ โดย<u>ชอบมากที่สุด</u>เป็นลำดับที่ 5 และตัวอย่างที่ท่าน<u>ชอบน้อยที่สุด</u>เป็นลำดับที่ 1

รหัสตัวอย่าง	**ลำดับความชอบ**

ขอขอบคุณที่ให้ความร่วมมือ

ภาคผนวก 5

ผลการประเมินผลทางประสาทสัมผัสของเครื่องดื่มมะขามผงฟู่

ตารางภาคผนวกที่ 5-1 ความถี่ของคะแนนความชอบในสีและลักษณะที่ปรากฏให้เห็นภายนอกของผงเครื่องดื่มที่ผู้ชิมให้แก่เครื่องดื่มมะขามผงฟู่

สีและลักษณะที่ปรากฏให้เห็นภายนอก	ความถี่ของคะแนน*				
	สูตร	สูตร	สูตร	สูตร	สูตร
5 (ชอบมากที่สุด)	0	1 (10)	5 (50)	1 (10)	3 (30)
4 (ชอบ)	0	6 (60)	1 (10)	3 (30)	2 (20)
3 (เฉยๆ)	1 (10)	3 (30)	3 (30)	3 (30)	1 (10)
2 (ไม่ชอบ)	2 (20)	0	1 (10)	3 (30)	4 (40)
1 (ไม่ชอบมากที่สุด)	7 (70)	0	0	0	0

*ค่าในวงเล็บแสดงร้อยละของความถี่

ตารางภาคผนวกที่ 5-2 ความถี่ของคะแนนความชอบในสีและลักษณะที่ปรากฏให้เห็นภายนอกของผงเครื่องดื่มเมื่อละลายน้ำ ที่ผู้ชิมให้แก่เครื่องดื่มมะขามผงฟู่

สีและลักษณะที่ปรากฏให้เห็นภายนอก	ความถี่ของคะแนน*				
	สูตร	สูตร	สูตร	สูตร	สูตร
5 (ชอบมากที่สุด)	2 (20)	3 (30)	2 (20)	2 (20)	1 (10)
4 (ชอบ)	4 (40)	5 (50)	3 (30)	4 (40)	4 (40)
3 (เฉยๆ)	2 (20)	1 (10)	4 (40)	2 (20)	2 (20)
2 (ไม่ชอบ)	1 (10)	1 (10)	1 (10)	1 (10)	1 (10)
1 (ไม่ชอบมากที่สุด)	1 (10)	0	0	1 (10)	1 (10)

*ค่าในวงเล็บแสดงร้อยละของความถี่

ตารางภาคผนวกที่ 5-3 ความถี่ของคะแนนความชอบในกลิ่นที่ผู้ชิมให้แก่เครื่องดื่มมะขามผงฟู่

สีและลักษณะที่ปรากฏให้เห็นภายนอก	ความถี่ของคะแนน*				
	สูตร	สูตร	สูตร	สูตร	สูตร
5 (ชอบมากที่สุด)	0	5 (50)	0	2 (20)	1 (10)
4 (ชอบ)	1 (10)	2 (20)	6 (60)	3 (30)	3 (30)
3 (เฉยๆ)	3 (30)	3 (30)	3 (30)	3 (30)	4 (40)
2 (ไม่ชอบ)	4 (40)	0	1 (10)	2 (20)	0
1 (ไม่ชอบมากที่สุด)	2 (20)	0	0	0	2 (20)

*ค่าในวงเล็บแสดงร้อยละของความถี่

ตารางภาคผนวกที่ 5-4 ความถี่ของคะแนนความชอบในรสชาติที่ผู้ชิมให้แก่เครื่องดื่มมะขามผงฟู่

สีและลักษณะที่ปรากฏให้เห็นภายนอก	ความถี่ของคะแนน*				
	สูตร	สูตร	สูตร	สูตร	สูตร
5 (ชอบมากที่สุด)	1 (10)	7 (70)	1 (10)	0	1 (10)
4 (ชอบ)	2 (20)	1 (10)	6 (60)	3 (30)	3 (30)
3 (เฉยๆ)	0	0	3 (30)	2 (20)	4 (40)
2 (ไม่ชอบ)	2 (20)	2 (20)	0	2 (20)	0
1 (ไม่ชอบมากที่สุด)	5 (50)	0	0	3 (30)	2 (20)

*ค่าในวงเล็บแสดงร้อยละของความถี่

ตารางภาคผนวกที่ 5-5 ความถี่ของคะแนนความชอบในลักษณะการเกิดฟองที่ผู้ชิมให้แก่เครื่องดื่มมะขามผงฟู่

สีและลักษณะที่ปรากฏให้เห็นภายนอก	ความถี่ของคะแนน*				
	สูตร	สูตร	สูตร	สูตร	สูตร
5 (ชอบมากที่สุด)	0	3 (30)	3 (30)	0	0
4 (ชอบ)	2 (20)	4 (40)	2 (20)	2 (20)	2 (20)
3 (เฉยๆ)	2 (20)	0	3 (30)	4 (40)	5 (50)
2 (ไม่ชอบ)	3 (30)	2 (20)	2 (20)	3 (30)	2 (20)
1 (ไม่ชอบมากที่สุด)	3 (30)	1 (10)	0	1 (10)	1 (10)

*ค่าในวงเล็บแสดงร้อยละของความถี่

ตารางภาคผนวกที่ 5-6 ความถี่ของคะแนนความชอบในความชอบโดยรวมที่ผู้ชิมให้แก่เครื่องดื่มมะขามผงฟู่

สีและลักษณะที่ปรากฏให้เห็นภายนอก	ความถี่ของคะแนน				
	สูตร	สูตร	สูตร	สูตร	สูตร
5 (ชอบมากที่สุด)	0	5 (50)	3 (30)	0	1 (10)
4 (ชอบ)	1 (10)	3 (30)	4 (40)	2 (20)	3 (30)
3 (เฉยๆ)	1 (10)	1 (10)	3 (30)	7 (70)	2 (20)
2 (ไม่ชอบ)	3 (30)	1 (10)	0	0	3 (30)
1 (ไม่ชอบมากที่สุด)	5 (50)	0	0	1 (10)	1 (10)

*ค่าในวงเล็บแสดงร้อยละของความถี่

ตารางผนวกที่ 5-7 การวิเคราะห์การแจกแจงของคะแนนความชอบในด้านต่างๆที่ผู้ชิมให้แก่เครื่องดื่มมะขามผงฟู่(N =10)

การประเมินทางประสาทสัมผัส	F	p
สีและลักษณะที่ปรากฏให้เห็นภายนอกของผงเครื่องดื่ม	12.209	0.001
สีและลักษณะที่ปรากฏให้เห็นภายนอกของผงเครื่องดื่มเมื่อละลายน้ำแล้ว	0.633	0.642
กลิ่นของผลิตภัณฑ์	4.757	0.003
รสชาติของผลิตภัณฑ์	4.847	0.002
ลักษณะการเกิดฟอง	2.573	0.050
ความชอบโดยรวม	9.057	0.001

*ค่าเฉลี่ยคะแนนความชอบในรสชาติแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยคะแนนความชอบในสีและลักษณะที่ปรากฏให้เห็นภายนอกของผงเครื่องดื่มที่ผู้ชิมให้แก่เครื่องดื่มมะขามผงฟู่ต่างๆกัน

สูตร	1	8	7	6	9
ค่าเฉลี่ยคะแนน**	1.40	2.20	4.00	3.80	3.40

**ค่าเฉลี่ยที่ขีดเส้นใต้ต่อกันแสดงว่า ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยคะแนนความชอบในสีและลักษณะที่ปรากฏให้เห็นภายนอกของผงเครื่องดื่มเมื่อละลายน้ำแล้ว ที่ผู้ชิมให้แก่เครื่องดื่มมะขามผงฟู่ต่างๆกัน

สูตร	1	8	7	6	9
ค่าเฉลี่ยคะแนน**	3.50	4.00	3.60	3.50	3.20

**ค่าเฉลี่ยที่ขีดเส้นใต้ต่อกันแสดงว่า ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยคะแนนความชอบในกลิ่นของผลิตภัณฑ์ ที่ผู้ชิมให้แก่เครื่องดื่มมะขามผงฟู่ต่างๆกัน

สูตร	1	9	7	8	6
ค่าเฉลี่ยคะแนน**	2.30	3.10	3.50	3.50	4.20

**ค่าเฉลี่ยที่ขีดเส้นใต้ต่อกันแสดงว่า ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยคะแนนความชอบในรสชาติ ที่ผู้ชิมให้แก่เครื่องดื่มมะขามผงฟู่ต่างๆกัน

สูตร	1	8	9	7	6
ค่าเฉลี่ยคะแนน**	2.20	2.50	2.90	3.80	4.30

**ค่าเฉลี่ยที่ขีดเส้นใต้ต่อกันแสดงว่า ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยคะแนนความชอบลักษณะการเกิดฟอง ที่ผู้ชิมให้แก่เครื่องดื่มมะขามผงฟู่ต่างๆกัน

สูตร	1	8	9	6	7
ค่าเฉลี่ยคะแนน**	2.30	2.70	2.80	3.60	3.60

**ค่าเฉลี่ยที่ขีดเส้นใต้ต่อกันแสดงว่า ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยคะแนนความชอบโดยรวม ที่ผู้ชิมให้แก่เครื่องดื่มมะขามผงฟู่ต่างๆกัน

สูตร	1	8	9	7	6
ค่าเฉลี่ยคะแนน**	1.50	2.60	3.00	3.60	4.30

**ค่าเฉลี่ยที่ขีดเส้นใต้ต่อกันแสดงว่า ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ภาคผนวก 6

แบบประเมินผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส
" เยลลี่มะขาม "

วันที่ทดสอบ.....

ชื่อผู้ทดสอบ.....

กรุณาระบุความชอบในแต่ละคุณลักษณะโดยทำเครื่องหมายถูกในช่องว่าง ซึ่งเรียงลำดับความชอบมากที่สุดทางด้านซ้ายมือ (หมายเลข 5) ถึงไม่ชอบมากที่สุดทางด้านขวามือ (หมายเลข1) และดื่มน้ำกลั้วคอก่อนการทดสอบถัดไปทุกครั้ง

7. สีและลักษณะที่ปรากฏให้เห็นภายนอก (ความใส การไหวตัว ความคงตัวที่อุณหภูมิห้อง)

รหัสผลิตภัณฑ์	ชอบมากที่สุด ⟶ ไม่ชอบมากที่สุด				
	5	4	3	2	1

ข้อเสนอแนะเพิ่มเติม

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

2. กลิ่นของผลิตภัณฑ์ (กลิ่นหอมมะขาม)

รหัสผลิตภัณฑ์	ชอบมากที่สุด ⟶ ไม่ชอบมากที่สุด				
	5	4	3	2	1

ข้อเสนอแนะเพิ่มเติม

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

3. รสชาติของผลิตภัณฑ์ (เปรี้ยว หวาน เค็ม กลมกล่อม)

รหัสผลิตภัณฑ์	ชอบมากที่สุด ⟶ ไม่ชอบมากที่สุด				
	5	4	3	2	1

ข้อเสนอแนะเพิ่มเติม

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

4. เนื้อสัมผัสขณะรับประทาน (ความอ่อนนุ่ม ความสากลิ้น ความหนืด)

รหัสผลิตภัณฑ์	ชอบมากที่สุด ⟶ ไม่ชอบมากที่สุด				
	5	4	3	2	1

ข้อเสนอแนะเพิ่มเติม

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

5. รอยตัดเยลลี่ด้วยช้อนหรือมีด (ความเรียบคมของรอยตัด ไม่เหนียวติดช้อนหรือมีด)

รหัสผลิตภัณฑ์	ชอบมากที่สุด ⟶ ไม่ชอบมากที่สุด				
	5	4	3	2	1

ข้อเสนอแนะเพิ่มเติม

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

6. ความชอบโดยรวม (ลักษณะของผลิตภัณฑ์โดยรวม สีและลักษณะที่ปรากฏภายนอก กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส รอยตัดด้วยช้อนหรือมีด)

รหัสผลิตภัณฑ์	ชอบมากที่สุด ⟶ ไม่ชอบมากที่สุด				
	5	4	3	2	1

ข้อเสนอแนะเพิ่มเติม

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

กรุณาเรียงลำดับความชอบของท่านในผลิตภัณฑ์เยลลี่มะขาม โดย<u>ชอบมากที่สุด</u>เป็นลำดับที่ 5 และตัวอย่างที่ท่าน<u>ชอบน้อยที่สุด</u>เป็นลำดับที่ 1

รหัสตัวอย่าง	**ลำดับความชอบ**

ขอขอบคุณที่ให้ความร่วมมือ

ภาคผนวก 7

ผลการประเมินผลทางประสาทสัมผัสของเยลลี่มะขาม

ตารางภาคผนวกที่ 7-1 ความถี่ของคะแนนความชอบในสีและลักษณะที่ปรากฏให้เห็นภายนอกที่ผู้ชิมให้แก่เยลลี

สีและลักษณะที่ปรากฏให้เห็นภายนอก	ความถี่ของคะแนน*			
	สูตร 8	สูตร 14	สูตร 30	สูตร 31
5 (ชอบมากที่สุด)	5 (50)	4 (40)	1 (10)	3 (30)
4 (ชอบ)	1 (10)	2 (20)	1 (10)	4 (40)
3 (เฉยๆ)	3 (30)	4 (40)	2 (20)	2 (20)
2 (ไม่ชอบ)	1 (10)	0	6 (60)	1 (10)
1 (ไม่ชอบมากที่สุด)	0	0	0	0

*ค่าในวงเล็บแสดงร้อยละของความถี่

ตารางภาคผนวกที่ 7-2 ความถี่ของคะแนนความชอบในกลิ่นที่ผู้ชิมให้แก่เยลลี่

สีและลักษณะที่ปรากฏให้เห็นภายนอก	ความถี่ของคะแนน*			
	สูตร 8	สูตร 14	สูตร 30	สูตร 31
5 (ชอบมากที่สุด)	2 (20)	2 (20)	4 (40)	3 (30)
4 (ชอบ)	1 (10)	2 (20)	4 (40)	5 (50)
3 (เฉยๆ)	6 (60)	4 (40)	1 (10)	1 (10)
2 (ไม่ชอบ)	1 (1)	2 (20)	1(10)	0
1 (ไม่ชอบมากที่สุด)	0	0	0	1 (10)

*ค่าในวงเล็บแสดงร้อยละของความถี่

ตารางภาคผนวกที่7-3 ความถี่ของคะแนนความชอบในรสชาติที่ผู้ชิมให้แก่เยลลี

สีและลักษณะที่ปรากฏให้เห็นภายนอก	ความถี่ของคะแนน*			
	สูตร 8	สูตร 14	สูตร 30	สูตร 31
5 (ชอบมากที่สุด)	3 (30)	2 (20)	2 (20)	3 (30)
4 (ชอบ)	4 (40)	6 (60)	1 (10)	4 (40)
3 (เฉยๆ)	3 (30)	2 (20)	3 (30)	1 (10)
2 (ไม่ชอบ)	0	0	4 (40)	2 (20)
1 (ไม่ชอบมากที่สุด)	0	0	0	0

*ค่าในวงเล็บแสดงร้อยละของความถี่

ตารางภาคผนวกที่ 7-4 ความถี่ของคะแนนความชอบในเนื้อสัมผัสขณะรับประทานที่ผู้ชิมให้แก่เยลลี

สีและลักษณะที่ปรากฏให้เห็นภายนอก	ความถี่ของคะแนน*			
	สูตร 8	สูตร 14	สูตร 30	สูตร 31
5 (ชอบมากที่สุด)	5 (50)	5 (50)	1 (10)	0
4 (ชอบ)	1 (10)	3 (30)	4 (40)	7 (70)
3 (เฉยๆ)	4 (40)	1 (10)	1 (10)	2 (20)
2 (ไม่ชอบ)	0	1 (10)	3 (30)	1 (10)
1 (ไม่ชอบมากที่สุด)	0	0	1 (10)	0

*ค่าในวงเล็บแสดงร้อยละของความถี่

ตารางภาคผนวกที่ 7-5 ความถี่ของคะแนนความชอบในรอยตัดด้วยช้อนที่ผู้ชิมให้แก่เยลลี

สีและลักษณะที่ปรากฏให้เห็นภายนอก	ความถี่ของคะแนน*			
	สูตร 8	สูตร 14	สูตร 30	สูตร 31
5 (ชอบมากที่สุด)	2 (20)	2 (20)	3 (30)	2 (20)
4 (ชอบ)	6 (60)	5 (50)	2 (20)	4 (40)
3 (เฉยๆ)	1 (10)	2 (20)	0	4 (40)
2 (ไม่ชอบ)	1 (10)	1 (10)	5 (50)	0
1 (ไม่ชอบมากที่สุด)	0	0	0	0

*ค่าในวงเล็บแสดงร้อยละของความถี่

ตารางภาคผนวกที่ 7-6 ความถี่ของคะแนนความชอบในความชอบโดยรวมที่ผู้ชิมให้แก่เยลลี

สีและลักษณะที่ปรากฏให้เห็นภายนอก	ความถี่ของคะแนน*			
	สูตร 8	สูตร 14	สูตร 30	สูตร 31
5 (ชอบมากที่สุด)	2 (20)	3 (30)	0	3 (30)
4 (ชอบ)	4 (40)	4 (40)	1 (10)	3 (30)
3 (เฉยๆ)	3 (30)	3 (30)	3 (30)	2 (20)
2 (ไม่ชอบ)	1 (10)	0	5 (50)	2 (20)
1 (ไม่ชอบมากที่สุด)	0	0	1 (10)	0

*ค่าในวงเล็บแสดงร้อยละของความถี่

ตารางผนวกที่ 7-7 การวิเคราะห์การแจกแจงของคะแนนความชอบในด้านต่างๆที่ผู้ชิมให้แก่เยลลี (N =10)

การประเมินทางประสาทสัมผัส	F	p
สีและลักษณะที่ปรากฏให้เห็นภายนอก	3.723	0.020
กลิ่นของผลิตภัณฑ์	1.123	0.353
รสชาติของผลิตภัณฑ์	1.904	0.146
เนื้อสัมผัสขณะรับประทาน	2.444	0.080
รอยตัดเยลลีด้วยช้อนหรือมีด	0.691	0.563
ความชอบโดยรวม	5.632	0.003*

*ค่าเฉลี่ยคะแนนความชอบในรสชาติ แตกต่าง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยคะแนนความชอบในสีและลักษณะที่ปรากฏให้เห็นภายนอก ที่ผู้ชิมให้แก่เยลลีสูตรต่างๆกัน

สูตร	8	14	31	30
ค่าเฉลี่ยคะแนน**	4.00	4.00	3.90	2.70

**ค่าเฉลี่ยที่ขีดเส้นใต้ต่อกันแสดงว่า ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยคะแนนความชอบในกลิ่น ที่ผู้ชิมให้แก่เยลลีสูตรต่างๆกัน

สูตร	8	14	30	31
ค่าเฉลี่ยคะแนน**	3.40	3.40	4.10	3.90

**ค่าเฉลี่ยที่ขีดเส้นใต้ต่อกันแสดงว่า ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยคะแนนความชอบในรสชาติ ที่ผู้ชิมให้แก่เยลลีสูตรต่างๆกัน

สูตร	8	14	30	31
ค่าเฉลี่ยคะแนน**	4.00	4.00	3.10	3.80

**ค่าเฉลี่ยที่ขีดเส้นใต้ต่อกันแสดงว่า ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยคะแนนความชอบในเนื้อสัมผัสขณะรับประทาน ที่ผู้ชิมให้แก่เยลลีสูตรต่างๆกัน

สูตร	8	14	31	30
ค่าเฉลี่ยคะแนน**	4.10	4.20	3.60	3.10

**ค่าเฉลี่ยที่ขีดเส้นใต้ต่อกันแสดงว่า ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยคะแนนความชอบในลักษณะของรอยตัดเยลลีด้วยช้อน ที่ผู้ชิมให้แก่เยลลีสูตรต่างๆกัน

สูตร	8	14	30	31
ค่าเฉลี่ยคะแนน**	3.90	3.80	3.30	3.80

**ค่าเฉลี่ยที่ขีดเส้นใต้ต่อกันแสดงว่า ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยคะแนนความชอบโดยรวม ที่ผู้ชิมให้แก่เยลลีสูตรต่างๆกัน

สูตร	8	14	31	30
ค่าเฉลี่ยคะแนน**	3.70	4.00	3.70	2.40

**ค่าเฉลี่ยที่ขีดเส้นใต้ต่อกันแสดงว่า ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ภาคผนวก 8

วิธีการวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา

การวิเคราะห์ทำในลักษณะที่ปราศจากเชื้อ (aseptic technique) เตรียมจานเพาะเชื้อ (Petri dishes) ชนิดแก้ว ปิเปตขนาด 1 และ 10 มิลลิลิตร โดยนำไปอบฆ่าเชื้อในตู้อบไฟฟ้า (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ต่อไป

1. การวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (total plate count)

1.1 เตรียมตัวอย่างโดยชั่งผงมะขาม 10 กรัม ละลายในน้ำ 100 มิลลิลิตร จะได้ตัวอย่างความเจือจางเท่ากับ 1:10 (10^{-1})

1.2 เจือจางตัวอย่าง ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตร 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน จะได้ตัวอย่างความเจือจางเท่ากับ 1:100 (10^{-2})

1.3 ปิเปตตัวอย่างที่เจือจางเป็น 1:100 จากข้อ 1.2 ปริมาตร 1 มิลลิลิตรใส่ในสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตร 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน จะได้ตัวอย่างความเจือจางเท่ากับ 1:1000 (10^{-3})

1.4 ปิเปตตัวอย่างที่ถูกเจือจางเป็นความเจือจางต่างๆ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในจานเพาะเชื้อความเจือจางละ 2 จาน

1.5 เทอาหารเลี้ยงเชื้อเพลตเคาต์ อะการ์ (plate count agar) ที่มีอุณหภูมิประมาณ 45-55 องศาเซลเซียส ลงในจานเพาะเชื้อจานละ 15-20 มิลลิลิตร แล้วหมุนจานไปในทิศทางที่เป็นรูปหมายเลขแปด เพื่อให้ตัวอย่างผสมกับอาหารและกระจายไปทั่วจาน แล้วตั้งทิ้งไว้ให้แข็ง

1.6 กลับจานเพาะเชื้อแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48ชั่วโมง

1.7 นับโคโลนีในจานเพาะเชื้อโดยเลือกจานที่มีโคโลนีประมาณ 30-300 โคโลนี

1.8 หาค่าเฉลี่ยของจำนวนโคโลนีที่นับได้ คูณด้วย dilution factor แล้วรายงานผล โดยรายงานเป็นจำนวนโคโลนี/ กรัม หรือ colony forming unit (CFU/g) ของตัวอย่างผงมะขาม

2. การวิเคราะห์จำนวนยีสต์และรา (yeast and mold count)

วิธีการวิเคราะห์เช่นเดียวกับการหาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในข้อ 1 แต่เปลี่ยนอาหารเลี้ยงเชื้อจาก เพลตเคาท์อะการ์ เป็น ซาโบรัวเดกซ์โทรสอะการ์ (sabouraud dextrose agar) หรือ มอลต์อะการ์ (malt agar) หรือ โปเตโตเดกซ์โทรสอะการ์ (potato dextrose agar) ที่ปรับความเป็นกรดด่างเป็น 3.5 นำไปอบเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-5 วัน นับจำนวนโคโลนีในจานเพาะเชื้อ หาค่าเฉลี่ยจำนวนโคโลนีใน 1 จาน และคำนวณค่า CFU ต่อกรัมตัวอย่าง

3. การวิเคราะห์จำนวนแบคทีเรียโคลิฟอร์มทั้งหมด (total coliform) และ *Escherichia coli*

เตรียมตัวอย่างที่ใช้ทดสอบโดยชั่งผงมะขาม 10 กรัม ละลายในน้ำ 100 กรัม เพื่อนำไปทดสอบต่อไป

3.1. <u>การทดสอบขั้นต้น (presumptive coliform)</u>

3.1.1 ปิเปตตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร, 1 มิลลิลิตร และตัวอย่างที่มีความเจือจาง 1:100 มา 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อแล็กโทสบรอท (lactose broth) ที่มีหลอดดักก๊าซ (durham tube) วางคว่ำอยู่ ตัวอย่างละ 5 หลอด

3.1.2 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35±1 องศาเซลเซียส

3.1.3 อ่านผลการทดลองหลังจากบ่มเชื้อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตการเจริญจากความขุ่นและและมีก๊าซเกิดขึ้นในหลอดดักก๊าซ

3.1.4 บ่มหลอดที่ไม่ให้ผลบวกต่อไปเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และอ่านผลเช่นเดียวกันอีกครั้ง

3.2 <u>การทดสอบขั้นยืนยัน (confirm test)</u>

3.2.1 ใช้ห่วงเขี่ยเชื้อ ถ่ายเชื้อจากหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อแล็กโทสบรอท ที่ให้ผลบวกลงในหลอดอาหารเพาะเชื้อบริลลิแอนต์กรีนแล็กโทสไบล์บรอท (brilliant green lactose bile broth) ที่มีหลอดดักก๊าซอยู่หลอดต่อหลอด

3.2.2 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง หลอดอาหารที่อ่านผลเป็นบวก อาหารเพาะเชื้อจะขุ่นและมีก๊าซเกิดขึ้นในหลอดดักก๊าซ

3.2.3 นำค่าหลอดที่ให้ผลบวกจากทุกความเจือจางไปอ่านค่าปริมาณโคลิฟอร์มจากตารางเอ็มพีเอ็น จะได้ค่าเอ็มพีเอ็นของโคลิฟอร์มต่อตัวอย่าง 1 กรัม

3.3 <u>การทดสอบขั้นสมบูรณ์ของการวิเคราะห์ *E. coli*</u>

3.3.1 นำหลอดอาหารเพาะเชื้อบริลลิแอนต์กรีนแล็กโทสไบล์บรอท ที่ให้ผลบวกแต่ละหลอดมา steak ลงบนอาหารเพาะเชื้ออีเอ็มบีอะการ์ (eosin methylene blue agar, EMB agar)

3.3.2 บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.3.3 สังเกตลักษณะโคโลนีของ *E. coli* มีวาวโลหะออกสีเขียวเมื่อสะท้อนแสง (metallic sheen) ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของ *E.coli*

3.3.4 เลือกโคโลนีที่มีลักษณะเฉพาะของ *E.coli* บนอาหารเพาะเชื้อ EMB นำไปทดสอบด้วยชุด IMVIC ดังนี้

3.1.4.1 การทดสอบอินโดล (Indole test)

เพาะโคโลนีลงในอาหารเลี้ยงเชื้อทริปโตนบรอท ความเข้มข้นร้อยละ 1 (1% tryptose broth) นำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เติมสารละลายโคแวคส์ ปริมาณ 0.2-0.3

มิลลิลิตร ลงในหลอด เขย่าเบาๆ ผลของ *E.coli* คือเกิดชั้นสีแดงด้านบนของอาหารเลี้ยงเชื้อ (ผลบวก)

3.1.4.2 การทดสอบเอ็มอาร์ (methyl red test)

เพาะโคโลนีลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อเอ็มอาร์-วีพีบรอท (MR-VP broth) นำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วเติมสารละลายเมธิลเรดจำนวน 5 หยด ลงในหลอด เขย่าแรงๆ ผลของ *E.coli* คืออาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนเป็นสีแดง (ผลบวก)

3.1.4.3 การทดสอยวีพี (voges-proskauer test)

เพาะโคโลนีลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อเอ็มอาร์-วีพีบรอท (MR-VP broth) นำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วเติมสารละลายแอลฟาแนฟทอลปริมาณ 0.6 มิลลิลิตร และสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 40 ปริมาณ 0.2 มิลลิลิตร ลงในหลอด เขย่าและตั้งทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง ผลของ *E.coli* คืออาหารเลี้ยงเชื้อไม่เปลี่ยนเป็นสีแดง (ผลลบ)

3.1.4.4 การทดสอบการใช้ซิเตรต (citrate test)

เพาะโคโลนีลงในอาหารเลี้ยงเชื้อซิมมอนส์ซิเตรต อะการ์ Simmon's citrate agar นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ผลของ *E.coli* คืออาหารเลี้ยงเชื้อมีสีเขียวเช่นเดิม (ผลลบ)

4. การวิเคราะห์ *Staphylococcus aureus*

4.1 ใช้ห่วงเขี่ยเชื้อ (loop) จุ่มลงในตัวอย่าง แล้วนำมา steak ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ mannitol salt egg yolk (MS-EY) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

สังเกตโคโลนีที่มีสีเหลืองล้อมด้วยโซนสีขุ่นขาวซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของ *S.aureus* หากโคโลนีที่เกิดขึ้น ไม่สามารถบ่งบอกชัดเจนได้ ให้ใช้ loop ถ่ายเชื้อลงในหลอดแก้วที่บรรจุพลาสมาของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม 0.5 มิลลิลิตร นำไปแช่ในเครื่องอังน้ำอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ถ้าพลาสมาไม่มีการจับตัวเป็นก้อนหลังเวลาผ่านไป 3 ชั่วโมง จนถึง 24 ชั่วโมง แสดงว่าไม่มี *S.aureus* ชนิด coagulase positive

ส่วนประกอบและวิธีเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. <u>เพลตเคาต์อะการ์ (plate count agar)</u> ประกอบด้วย

tryptone	5.0	กรัม
yeast extract	2.5	กรัม

dextrose	1.0	กรัม
agar	15.0	กรัม

เตรียมโดยการชั่งเพลตเคาต์อะการ์ 23.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ต้มให้ละลายหมด ปรับปริมาตเป็น 1000 มิลลิลิตร เทใส่ภาชนะที่เหมาะสม และนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งอัดไอ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

2. ซาโบรัว เด็กซ์โทรส อะการ์ (sabauraud dextrose agar) ประกอบด้วย

peptone	10.0	กรัม
dextrose	40.0	กรัม
agar	15.0	กรัม

เตรียมโดยการชั่งซาโบรัว เดกซ์โทรส อะการ์ 65 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ต้มจนละลายหมดและปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร เทใส่ภาชนะที่เหมาะสม ฆ่าเชื้อในเครื่องนึ่งอัดไอ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

3. แล็กโทสบรอท (lactose broth) ประกอบด้วย

beef extract	3.0	กรัม
peptone	5.0	กรัม
lactose	5.0	กรัม

เตรียมโดยการชั่งแลกโทสบรอท 13 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร เทใส่ในหลอดแก้วขนาด 16 × 150 มิลลิลิตร หลอดละ 10 มิลลิลิตร และใส่หลอดดักก๊าซ 1 หลอด ในลักษณะคว่ำหลอด นำไปฆ่าเชื้อในเครื่องนึ่งอัดไอ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

4. บริลลิแอนต์กรีนแลคโทสไบล์บรอท (brilliant green lactose bile broth) ประกอบด้วย

peptone	10.0	กรัม
lactose	10.0	กรัม
ox gall	20.0	กรัม
brilliant green	0.0133	กรัม

เตรียมโดยการละลายส่วนผสมในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร เทใส่ในหลอดแก้วขนาด 16 × 150 มิลลิลิตร หลอดละ 10 มิลลิลิตร และใส่หลอดดักก๊าซ 1 หลอด ในลักษณะคว่ำหลอด นำไปฆ่าเชื้อในเครื่องนึ่งอัดไอ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

5. อีเอ็มบีอะการ์ (eosin methylene blue, EMB agar) ประกอบด้วย

peptone	10.0	กรัม
lactose	5.0	กรัม

sucrose	5.0	กรัม
dipotassium hydrogen phosphate	2.0	กรัม
eosin Y	0.4	กรัม
methylene blue	0.065	กรัม
agar	15.0	กรัม

เตรียมโดยการละลายส่วนผสมในน้ำกลั่น ต้มให้ละลายหมด ปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร เทใส่ภาชนะที่เหมาะสม นำไปฆ่าเชื้อในเครื่องนึ่งอัดไอ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที เขย่าให้เข้ากันและเทใส่จานเพาะเชื้อ

6. ทริปโตนบรอทความเข้มข้นร้อยละ 1 (1% tryptone broth) ประกอบด้วย

เตรียมโดยการละลายทริปโตน 10 กรัมในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร เทใส่ในหลอดแก้วขนาด 13 × 100 มิลลิลิตร หลอดละ 3 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อในเครื่องนึ่งอัดไอ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

7. เอ็มอาร์-วีพีบรอท (MR-VP broth) ประกอบด้วย

peptone	5.0	กรัม
glucose	5.0	กรัม
dipotassium hydrogen phosphate	5.0	กรัม

เตรียมโดยการละลายทริปโตน 10 กรัมในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร เทใส่ในหลอดแก้วขนาด 13 × 100 มิลลิลิตร หลอดละ 3 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อในเครื่องนึ่งอัดไอ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

8. ซิมมอนส์ซิเตรต อะการ์ (Simmon's citrate agar) ประกอบด้วย

sodium chloride	5.0	กรัม
magnesium sulphated heptahydrate	0.2	กรัม
ammonium dihydrogen phosphate	1.0	กรัม
sodium citrate	5.0	กรัม
bromthymol blue	0.08	กรัม
agar	15.0	กรัม

เตรียมโดยการละลายทริปโตน 10 กรัมในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร เทใส่ในหลอดแก้วขนาด 13 × 100 มิลลิลิตร หลอดละ 3 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อในเครื่องนึ่งอัดไอ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

ตารางภาคผนวกที่ 8-1 ตารางแปรผลปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์มวัดโดยวิธีเอ็มพีเอ็นโดยการเจือจาง 5 หลอด เมื่อเพาะตัวอย่าง 0.1, 0.01 และ 0.001 กรัม ในอาหารเลี้ยงเชื้อ

Combination Of Positive	MPN Index			Combination Of Positive	MPN Index		
	MPN/g	Lower	Upper		MPN/g	Lower	Upper
0-0-0	< 2	-	6.8	4-0-3	25	9.8	70
0-0-1	1.8	0.09	6.8	4-1-0	17	6.0	40
0-1-0	1.8	0.09	6.9	4-1-1	21	6.8	42
0-1-1	3.6	0.7	10	4-1-2	26	9.8	70
0-2-0	3.7	0.7	10	4-1-3	31	10	70
0-2-1	5.5	1.8	15	4-2-0	22	6.8	50
0-3-0	5.6	1.8	15	4-2-1	26	9.8	70
1-0-0	2.0	0.1	10	4-2-2	32	10	70
1-0-1	4.0	0.7	10	4-2-3	38	14	100
1-0-2	6.0	1.8	15	4-3-0	27	9.9	70
1-1-0	4.0	0.7	12	4-3-1	33	10	70
1-1-1	6.1	1.8	15	4-3-2	39	14	100
1-1-2	8.1	3.4	22	4-4-0	34	14	100
1-2-0	6.1	1.8	15	4-4-1	40	14	100
1-2-1	8.2	3.4	22	4-4-2	47	15	120
1-3-0	8.3	3.4	22	4-5-0	41	14	100
1-3-1	10	3.5	22	4-5-1	48	15	120
1-4-0	11	3.5	22	5-0-0	23	6.8	70
2-0-0	4.5	0.79	15	5-0-1	31	10	70
2-0-1	6.8	1.8	15	5-0-2	43	14	100
2-0-2	9.1	3.4	22	5-0-3	58	22	150
2-1-0	6.8	1.8	17	5-1-0	33	10	100
2-1-1	9.2	3.4	22	5-1-1	46	14	120
2-1-2	12	4.1	26	5-1-2	63	22	150
2-2-0	9.3	3.4	22	5-1-3	84	34	220
2-2-1	12	4.1	26	5-2-0	49	15	150
2-2-2	14	5.9	36	5-2-1	70	22	170
2-3-0	12	4.1	26	5-2-2	94	34	230
2-3-1	14	5.9	36	5-2-3	120	36	250
2-4-0	15	5.9	36	5-2-4	150	58	400
3-0-0	7.8	2.1	22	5-3-0	79	22	220
3-0-1	11	3.5	23	5-3-1	110	34	250
3-0-2	13	5.6	35	5-3-2	140	52	400
3-1-0	11	3.5	26	5-3-3	180	70	400
3-1-1	14	5.6	36	5-3-4	210	70	400
3-1-2	17	6.0	36	5-4-0	130	36	400
3-2-0	14	5.7	36	5-4-1	170	58	400
3-2-1	17	6.8	40	5-4-2	220	70	440
3-2-2	20	6.8	40	5-4-3	280	100	710
3-3-0	17	6.8	40	5-4-4	350	100	710
3-3-1	21	6.8	40	5-4-5	430	150	1100
3-3-2	24	9.8	70	5-5-0	240	70	710
3-4-0	21	6.8	40	5-5-1	350	100	1100
3-4-1	24	9.8	70	5-5-2	540	150	1700
3-5-0	25	9.8	70	5-5-3	920	220	2600
4-0-0	13	4.1	35	5-5-4	1600	400	4600
4-0-1	17	5.9	36	5-5-5	>1600	700	-