

การสกัดน้ำอินทผลัม *Phoenix dactylifera* L. ด้วยเอนไซม์เพคตินเนสและการประยุกต์ในเครื่องดื่ม



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2563

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EXTRACTION OF DATE PALM *Phoenix dactylifera* L. JUICE BY PECTINASE AND
APPLICATION IN BEVERAGE



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Food Technology
Department of Food Technology
FACULTY OF SCIENCE
Chulalongkorn University
Academic Year 2020
Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การสกัดน้ำอินทผลัม <i>Phoenix dactylifera</i> L. ด้วย
	เอนไซม์เพคตินเนสและการประยุกต์ในเครื่องดื่ม
โดย	น.ส.พิชญา ตันติธีรบูลย์
สาขาวิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กิติพงศ์ อัศตรกุล

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของ
การศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

.....	คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร.พลกฤษณ์ แสงวณิช)	
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	
.....	ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรภา คงเป็นสุข)	
.....	อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กิติพงศ์ อัศตรกุล)	
.....	กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศศิگانต์ ภู่งษ์ศักดิ์)	
.....	กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รมณี สงวนดีกุล)	

พิจญา ดันดิธีรบุลย์ : การสกัดน้ำอินทผลัม *Phoenix dactylifera* L. ด้วยเอนไซม์เพคตินเนสและการประยุกต์ในเครื่องดื่ม. (EXTRACTION OF DATE PALM *Phoenix dactylifera* L. JUICE BY PECTINASE AND APPLICATION IN BEVERAGE) อ.ที่ปรึกษาหลัก : ผศ. ดร.กิติพงษ์ อัครกุล

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสกัดน้ำอินทผลัมด้วยเอนไซม์เพคตินเนสและประยุกต์ในเครื่องดื่ม โดยศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดน้ำอินทผลัมด้วยเอนไซม์เพคตินเนสและศึกษาปัจจัยที่ใช้ในการสกัดน้ำอินทผลัมซึ่งประกอบด้วยความเข้มข้นของเอนไซม์เพคตินเนส (0 และ 0.1% v/v) อุณหภูมิ (50 60 70 และ 80 องศาเซลเซียส) และระยะเวลาในการบ่มสกัด (60 120 180 และ 240 นาที) ต่อคุณภาพน้ำอินทผลัมสกัด และวิเคราะห์คุณภาพด้านกายภาพและเคมี ซึ่งพิจารณาจากปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ (สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมด) จากผลการทดลองพบว่าภาวะที่เหมาะสมในการสกัดน้ำอินทผลัมคือ การใช้เอนไซม์เพคตินเนสความเข้มข้น 0.1% v/v ที่อุณหภูมิบ่มสกัด 50 องศาเซลเซียส เวลา 60 นาที โดยน้ำอินทผลัมมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 326.33 ± 23.21 mg GAE/100 g fresh wt. และ 1.08 ± 0.04 mg β -CE/100 g fresh wt. ตามลำดับ จากนั้นศึกษาการพัฒนสูตรเครื่องดื่มพร้อมเติมน้ำอินทผลัมสกัดผสมน้ำมะตูมความเข้มข้น 10% w/v และน้ำพุทราความเข้มข้น 10% w/v โดยออกแบบการทดลองแบบผสม (mixture design) และปัจจัยในการศึกษา ได้แก่ น้ำอินทผลัมสกัด 50-70% v/v น้ำมะตูม 15-25% v/v และน้ำพุทรา 15-25% v/v โดยปริมาตรต่อปริมาตร และศึกษาสมบัติทางเคมี กายภาพ และการทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค ผลการทดลองพบว่าสูตรที่ได้คะแนนการยอมรับจากผู้บริโภคมากที่สุด มีสัดส่วนดังนี้ น้ำอินทผลัมสกัด : น้ำมะตูม : น้ำพุทราเท่ากับ 70 : 15 : 15% v/v และเครื่องดื่มพร้อมเติมน้ำอินทผลัมสกัดตัวอย่างนี้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมด ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP เท่ากับ 1023.00 ± 26.77 mg GAE/100 mL 7.02 ± 0.07 mg β -CE/100 mL 1394.79 ± 36.92 mM trolox/100 mL และ 1487.14 ± 10.51 mM trolox/100 mL ตามลำดับ โดยทุก ๆ ตัวอย่างมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในขณะที่ปริมาณกรดทั้งหมดและค่าความเป็นกรด-ด่างของทุกตัวอย่างไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยเลือกสูตรที่ได้คะแนนด้านความชอบโดยรวมจากผู้บริโภคมากที่สุด ไปใช้ในการศึกษาภาวะที่เหมาะสมต่อการแปรรูปด้วยความร้อนด้วยการพาสเจอร์ไรซ์ 2 วิธี คือ การพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิต่ำเวลานาน (LTLT) และการพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิสูงเวลาสั้น (HTST) และศึกษาการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมี กายภาพ และจุลินทรีย์ของเครื่องดื่มพร้อมเติมน้ำอินทผลัมสกัดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในบรรจุภัณฑ์ 2 ชนิด (บรรจุภัณฑ์แบบขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชา) จากผลการทดลองพบว่า การพาสเจอร์ไรซ์ด้วยวิธี HTST ส่งผลให้ตัวอย่างมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด และบรรจุภัณฑ์แบบขวดแก้วสีชาสามารถรักษาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระได้มากกว่าบรรจุภัณฑ์แบบขวดแก้วใส แต่ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมด ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP ค่าความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของทุกตัวอย่างมีแนวโน้มลดลง ในขณะที่ปริมาณกรดทั้งหมด ค่า ΔE^* ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด และปริมาณยีสต์และราของทุกตัวอย่างมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น และไม่พบ *E.coli* และ coliforms ในทุกตัวอย่างระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เมื่อพิจารณาปริมาณยีสต์และราพร้อมกับปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระต่ออายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ พบว่าผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มพร้อมเติมน้ำอินทผลัมสกัดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ด้วยวิธี LTLT และ HTST ที่บรรจุในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชา มีอายุการเก็บรักษาประมาณ 7 สัปดาห์ และตัวอย่างควบคุมมีอายุการเก็บไม่ถึง 1 สัปดาห์ โดยใช้ปริมาณยีสต์และราเป็นเกณฑ์กำหนดอายุการเก็บรักษา ($< 2 \log$ CFU/mL) และพบว่าผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มพร้อมเติมน้ำอินทผลัมสกัดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ด้วยวิธี HTST ที่บรรจุในขวดแก้วสีชาสามารถรักษาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระได้มากที่สุด เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สาขาวิชา เทคโนโลยีทางอาหาร
ปีการศึกษา 2563

ลายมือชื่อนิสิต
ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก

6172167823 : MAJOR FOOD TECHNOLOGY

KEYWORD: Pectinase, Date palm juice, Antioxidant, Antioxidant activity, Extraction

Pitchaya Tuntiteeraboon : EXTRACTION OF DATE PALM *Phoenix dactylifera* L. JUICE BY PECTINASE AND APPLICATION IN BEVERAGE. Advisor: Asst. Prof. KITIPONG ASSATARAKUL

The objectives of this study were to extract date palm juice by pectinase and to study the application of date palm juice extract in ready-to-drink beverage. In the first experiment, the effect of various factors including pectinase concentrations (0 and 0.1% v/v), incubation temperatures (50, 60, 70 and 60 °C) and times (60, 120, 180 and 240 minutes) on quality (antioxidants and antioxidant activity) of date palm juice extract was investigated. The results showed that the use of pectinase at concentration of 0.1% v/v and incubation temperature at 50 °C for 60 minutes was the optimum conditions for date palm extraction with the total phenolic content and total carotenoid content of 326.33±23.21 mg GAE/100 g fresh wt. and 1.08±0.04 mg β-CE/100 g fresh wt., respectively. In order to develop ready-to-drink beverage from date palm juice extract, 10% w/v bael juice concentrate and 10% w/v jujube juice concentrate were used to formulate drink samples by using mixture design. Three factors were date palm juice extract (50-70% v/v), bael juice (15-25% v/v) and jujube juice (15-25% v/v) and samples were evaluated for physiochemical characteristics and sensory properties. It was observed that the 70% v/v date palm juice extract, 15% v/v bael juice and 15% v/v jujube juice had the highest functional characteristics (total phenolic content, total carotenoid content, antioxidant activity by DPPH and FRAP assay with the values of 1023.00±26.77 mg GAE/100 mL, 7.02±0.07 mg β-CE/100 mL, 1394.79±36.92 mM trolox/100 mL and 1487.14±10.51 mM trolox/100 mL, respectively). However, total acidity, pH and total soluble solid were not significantly different among samples (p>0.05). After selection of appropriate formula, the effects of thermal pasteurization (low temperature long time; LTLT and high temperature short time; HTST) and packaging (clear glass bottle and amber glass bottle) were determined on the quality of ready-to-drink beverage from date palm juice extract during cold storage at 4 °C. The result indicated that the sample pasteurized by HTST in amber glass bottle had the highest antioxidant activity. In addition, sample pasteurized by HTST had the highest amount of antioxidants and antioxidant activity whereas amber glass bottle was able to better preserve antioxidants and antioxidant activity than clear glass bottle. Besides, the trend of total phenolic content, total carotenoid content, antioxidant activity by DPPH and FRAP assay, pH and total soluble content decreased whereas total acidity, ΔE* and microbial population had an increasing trend during cold storage. Furthermore, *E. coli* and coliforms were not detected in all samples during storage at 4 °C. Considering yeast and mold count and remaining antioxidants and antioxidant activity, the shelf life of sample pasteurized by LTLT and HTST in clear glass bottle and amber glass bottle was approximately 7 weeks while shelf life less than 1 week was observed in control sample based on the maximum limit of yeast and mold count (<2 log CFU/mL). In overall, ready-to-drink beverage from date palm juice extract pasteurized by HTST in amber glass bottle had the maximum remaining antioxidants and antioxidant activity during storage at 4 °C.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

Field of Study: Food Technology

Student's Signature

Academic Year: 2020

Advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยการสนับสนุนจากทุนอุดหนุนการวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย “ทุน 90 ปี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย” กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช และขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กิติพงศ์ อัครสกุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ เป็นอย่างสูงที่กรุณาให้คำปรึกษาและคำแนะนำอันเป็นประโยชน์ในการวิจัย อีกทั้งช่วยแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ด้วยความเมตตาเสมอมา

ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ เจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการ และเจ้าหน้าที่ประจำภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารทุกท่านที่ให้คำแนะนำและช่วยเหลือตลอดการทำงานวิจัย

ขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรภา คงเป็นสุข, ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศศิกานต์ กุ้พงษ์ศักดิ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รณณี สงวนดีกุล ที่กรุณาเป็นคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์และกรุณาให้คำแนะนำ ตรวจสอบ กลั่นกรอง และแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความถูกต้องสมบูรณ์

ขอขอบคุณเพื่อน พี่ และน้อง ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร และทุกท่านที่คอยเป็นกำลังใจช่วยเหลือ ให้คำปรึกษา และแนะนำเสมอมาตลอดการทำงานวิจัย

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา และครอบครัวที่คอยห่วงใย เป็นกำลังใจ และให้การสนับสนุนเสมอมา

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

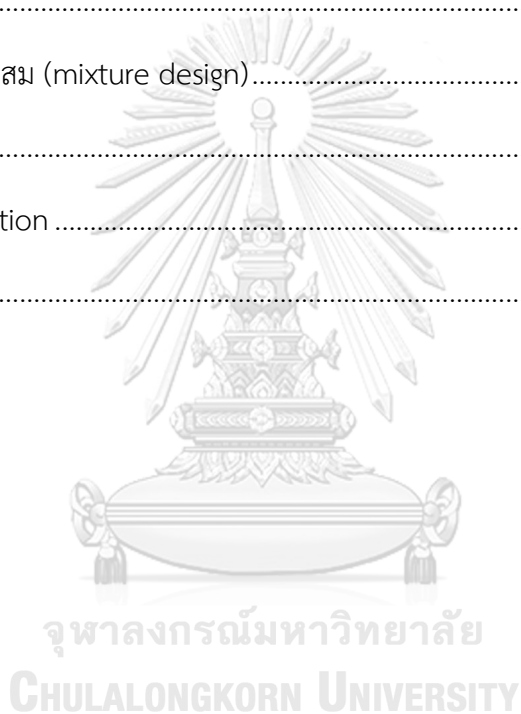
พิชญา ตันติธีรบูลย์

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ง
กิตติกรรมประกาศ.....	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญรูปภาพ.....	ฅ
สารบัญตาราง.....	ญ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
บทที่ 2 วารสารปริทัศน์.....	3
2.1 อินทผลัม.....	3
2.2 มะตูม.....	7
2.3 พุทรา.....	9
2.4 การสกัด.....	10
2.5 เอนไซม์เพคตินเนส.....	12
2.6 น้ำผลไม้.....	15
2.7 อนุมูลอิสระ.....	17
2.8 สารต้านอนุมูลอิสระ.....	18
2.8.1 สารประกอบฟีนอลิก.....	19
2.8.2 สารแคโรทีนอยด์.....	22
2.9 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ.....	25
2.9.1 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH).....	25
2.9.2 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP).....	26

2.10 การแปรรูปอาหารด้วยความร้อน	27
2.10.1 การพาสเจอร์ไรซ์ (Pasteurization).....	28
2.11 บรรจุภัณฑ์.....	29
2.11.1 บรรจุภัณฑ์แก้ว.....	30
บทที่ 3 วิธีการทดลอง	33
3.1 การศึกษาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดน้ำอินทผลัมที่สกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วย.....	36
3.2 การพัฒนาสูตรเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดและวิเคราะห์สมบัติทางเคมีกายภาพ และทดสอบการยอมรับจากผู้บริโภคของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัด	38
3.3 การศึกษาภาวะที่เหมาะสมต่อการแปรรูปด้วยความร้อนและบรรจุภัณฑ์ต่อสมบัติทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ของเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส.....	40
3.4 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ.....	41
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง	42
4.1 การศึกษาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดน้ำอินทผลัมที่สกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วย.....	42
4.2 การพัฒนาสูตรเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดและวิเคราะห์สมบัติทางเคมี กายภาพ และทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัด.....	66
4.3 การศึกษาภาวะที่เหมาะสมต่อการแปรรูปด้วยความร้อนและบรรจุภัณฑ์ต่อสมบัติทางกายภาพ เคมีและจุลินทรีย์ของเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส.....	77
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	107
บรรณานุกรม.....	109
บรรณานุกรม.....	110
ภาคผนวก.....	122
ภาคผนวก ก.....	123
วิธีวิเคราะห์ทางกายภาพ	123

ภาคผนวก ข.....	125
วิธีวิเคราะห์ทางเคมี.....	125
ภาคผนวก ค.....	139
วิธีวิเคราะห์ทางชีวภาพ	139
ภาคผนวก ง	146
การประเมินทางประสาทสัมผัส	146
ภาคผนวก จ.....	147
แผนการทดลองแบบผสม (mixture design).....	147
ภาคผนวก ฉ.....	149
Pectinase specification	149
ประวัติผู้เขียน.....	150



สารบัญรูปภาพ

ภาพที่ 1 ต้นอินทผลัม.....	4
ภาพที่ 2 อินทผลัมสายพันธุ์บาฮี.....	5
ภาพที่ 3 ระยะการสุกของอินทผลัม.....	6
ภาพที่ 4 ผลมะตูม.....	7
ภาพที่ 5 มะตูมแห้ง.....	8
ภาพที่ 6 ผลพุทราจีน.....	9
ภาพที่ 7 พุทราแห้ง.....	10
ภาพที่ 8 การตกตะกอนเนื่องจากการรวมตัวของอนุภาคความขุ่น.....	12
ภาพที่ 9 โครงสร้างเพคตินที่เกิดจากมอนอเมอร์กรดพอลิกลีคูลิโนอิก.....	13
ภาพที่ 10 ปฏิกริยาของเอนไซม์เพคตินเนสกับเพคติกซัสเตรท PG (a), PE (b) และ PL/PGL (c)...	14
ภาพที่ 11 โครงสร้างโมเลกุลของสารประกอบฟีนอลิก.....	20
ภาพที่ 12 การจำแนกชนิดของสารประกอบฟีนอลิกเป็นกลุ่มต่าง ๆ.....	21
ภาพที่ 13 ตัวอย่างโครงสร้างของสารกลุ่มแคโรทีนอยด์.....	23
ภาพที่ 14 โครงสร้างไอโซเมอร์ของเบต้าแคโรทีน.....	24
ภาพที่ 15 สารอนุมูลอิสระมาตรฐาน 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH).....	26
ภาพที่ 16 ฝาเกลียวแบบเกลียวตลอดและแบบแนวปากขวด.....	31
ภาพที่ 17 ฝาจีบแบบ Twist-off crown cap และ Pry off crown cap.....	32

สารบัญตาราง

ตารางที่ 1	วัตถุประสงค์ของกระบวนการพาสเจอร์ไรซ์.....	29
ตารางที่ 2	วิธีสกัดแต่ละสิ่งทดลอง (treatment).....	36
ตารางที่ 3	สัดส่วนของน้ำอินทผลัมสกัด น้ำมะตูม และน้ำพุทราสำหรับสูตรเครื่องดื่มต่าง ๆ	39
ตารางที่ 4	ร้อยละผลได้ของน้ำอินทผลัมที่สกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วยในภาวะการสกัดต่าง ๆ ...	44
ตารางที่ 5	ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำอินทผลัมที่สกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วยในภาวะการสกัดต่าง ๆ.....	47
ตารางที่ 6	ค่า L* ของน้ำอินทผลัมที่สกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วยในภาวะการสกัดต่าง ๆ.....	50
ตารางที่ 7	ค่า a* ของน้ำอินทผลัมที่สกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วยในภาวะการสกัดต่าง ๆ.....	51
ตารางที่ 8	ค่า b* ของน้ำอินทผลัมที่สกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วยในภาวะการสกัดต่าง ๆ	52
ตารางที่ 9	ค่า ΔE^* ของน้ำอินทผลัมที่สกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วยในภาวะการสกัดต่าง ๆ.....	53
ตารางที่ 10	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของน้ำอินทผลัมที่สกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วยในภาวะการสกัดต่าง ๆ.....	56
ตารางที่ 11	ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดของน้ำอินทผลัมที่สกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วยในภาวะการสกัดต่าง ๆ.....	59
ตารางที่ 12	การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ของน้ำอินทผลัมที่สกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วยในภาวะการสกัดต่าง ๆ.....	62
ตารางที่ 13	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) ของน้ำอินทผลัมที่สกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วยในภาวะการสกัดต่าง ๆ.....	65
ตารางที่ 14	ปริมาณกรดทั้งหมด ค่าความเป็นกรด-ต่าง และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำมะตูมและน้ำพุทรา	68
ตารางที่ 15	ปริมาณกรดทั้งหมด ค่าความเป็นกรด-ต่าง และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดผสมน้ำมะตูมและน้ำพุทรา	69
ตารางที่ 16	ค่า L*, a*, b* และ ΔE^* ของเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดผสมน้ำมะตูมและน้ำพุทรา.....	70

ตารางที่ 17 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดของน้ำมะตูมและน้ำพุทรา	71
ตารางที่ 18 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดของเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดผสมน้ำมะตูมและน้ำพุทรา.....	72
ตารางที่ 19 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP ของเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดผสมน้ำมะตูมและน้ำพุทรา.....	73
ตารางที่ 20 คะแนนการทดสอบการยอมรับจากผู้บริโภคต่อเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดผสมน้ำมะตูมและน้ำพุทรา	75
ตารางที่ 21 ปริมาณกรดทั้งหมดของเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดระหว่างการเก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส	79
ตารางที่ 22 ค่าความเป็นกรด-ด่างของเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดระหว่างการเก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส	81
ตารางที่ 23 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดระหว่างการเก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส	83
ตารางที่ 24 ค่า L^* ของเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดระหว่างการเก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส	86
ตารางที่ 25 ค่า a^* ของเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดระหว่างการเก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส	87
ตารางที่ 26 ค่า b^* ของเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดระหว่างการเก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส	88
ตารางที่ 27 ค่า ΔE^* ของเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดระหว่างการเก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส.....	89
ตารางที่ 28 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดระหว่างการเก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส	92
ตารางที่ 29 ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดของเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดระหว่างการเก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส	95

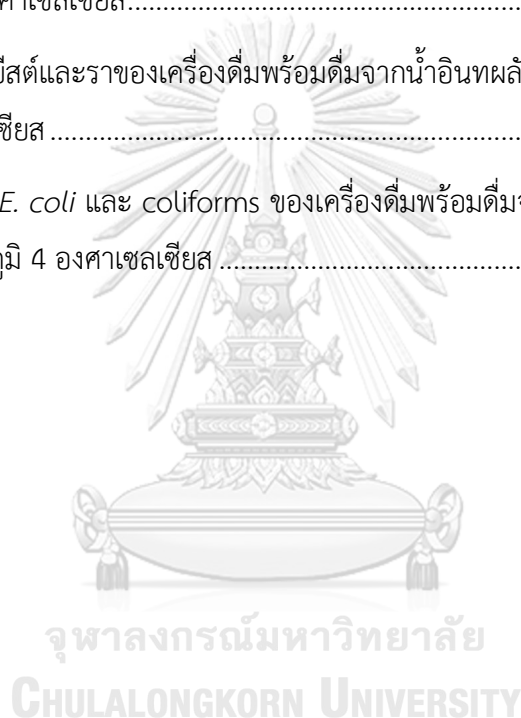
ตารางที่ 30 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ของเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดระหว่างการเก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส..... 98

ตารางที่ 31 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) ของเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดระหว่างการเก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส..... 99

ตารางที่ 32 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส..... 104

ตารางที่ 33 ปริมาณยีสต์และราของเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 105

ตารางที่ 34 ปริมาณ *E. coli* และ coliforms ของเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 106



บทที่ 1

บทนำ

อินทผลัม (date palm) มีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Phoenix dactylifera* L. เป็นพืชตระกูลปาล์มที่สามารถรับประทานผลได้ (Ayyanar และ Ignacimuthu, 2005) มีถิ่นกำเนิดในประเทศแถบตะวันออกกลาง สามารถเจริญเติบโตได้ดีในภูมิภาคที่มีสภาพอากาศร้อนและแห้งแล้งแบบทะเลทราย ผลอินทผลัมมีลักษณะทรงกลมรี ยาวประมาณ 2-4 เซนติเมตร ออกเป็นช่อ รสหวานฉ่ำ มีปริมาณน้ำตาลมากกว่า 50% (Ahmed และ Ahmed, 1995) ผลจะมีสีเขียวเหลืองจนถึงสีส้มแดง ผลอินทผลัมจัดเป็นแหล่งของคาร์โบไฮเดรต เนื่องจากมีน้ำตาลกลูโคส ฟรุคโตส และน้ำตาลซูโครส (Myhara, Karkalas และ Taylor, 1999) โยอาหาร และวิตามิน เช่น วิตามินซี บี1 บี2 เอ วิตามินอี และไนอะซิน แต่มีโปรตีนและไขมันต่ำ และยังอุดมไปด้วยแร่ธาตุต่าง ๆ เช่น แคลเซียม เหล็ก ทองแดง แมกนีเซียม แมงกานีส ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม โซเดียม และสังกะสี (Sawaya และคณะ, 1983) สารพฤกษเคมีในอินทผลัมสามารถแบ่งออกเป็น 3 ประเภทหลัก คือ สารประกอบฟีนอลิก แครโธทีนอยด์ และแทนนิน (Mansouri, 2005) โดยอินทผลัมสามารถรับประทานทั้งในรูปผลสด น้ำคั้น และยังสามารถนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ได้หลายชนิด โดยเฉพาะการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์น้ำอินทผลัม (Anjum และคณะ, 2012) เพื่อให้สามารถเก็บไว้บริโภคได้นานขึ้น เนื่องจากอินทผลัมเป็นผลไม้ที่มีช่วงของการเก็บเกี่ยวและมีอายุสั้น การแปรรูปน้ำอินทผลัมสกัดเป็นการสกัดเอาน้ำออกจากผลของอินทผลัมซึ่งผลอินทผลัมมีเพศดินที่เชื่อมยึดเซลล์ต่าง ๆ ของเนื้อเยื่อไว้จึงทำให้ผลอินทผลัมมีเนื้อสัมผัสที่แน่น ดังนั้นการใช้เอนไซม์เพคติเนสซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาการตัดพันธะในโครงสร้างสารประกอบเพคตินที่ผนังเซลล์พืชทำให้สารประกอบเพคตินมีขนาดโมเลกุลสั้นลง เอนไซม์เพคติเนสและเพคตินจะเคลื่อนที่เข้าใกล้กัน ทำให้เกิดการย่อยสลายลักษณะความคงตัวของเนื้อสัมผัสของผักผลไม้เสียไป ผักผลไม้จะนิ่มลงช่วยเพิ่มปริมาณน้ำผักผลไม้ที่สกัดได้และเกิดการปลดปล่อยสารต่าง ๆ เช่น รงควัตถุ สารต้านอนุมูลอิสระ และสารให้กลิ่นรสภายในเนื้อเยื่อพืชออกมาได้มากกว่าการใช้วิธีบีบอัด (Abbès และคณะ, 2011 และ Zhang, Woodams และ Hang, 2011) เครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำผลไม้สกัดจึงเป็นอีกหนึ่งทางเลือกของผู้บริโภคในปัจจุบันที่ต่างให้ความสนใจต่อสุขภาพ พฤติกรรมการบริโภคจึงเปลี่ยนแปลงไปสู่การเลือกเครื่องดื่มที่มีประโยชน์และดีต่อสุขภาพ โดยเฉพาะเครื่องดื่มจากธรรมชาติ ซึ่งนอกจากจะทำให้ร่างกายสดชื่นและคลายความร้อนยังมีส่วนช่วยบำรุงร่างกายและสะดวกต่อการบริโภคอีกด้วย (ศูนย์วิจัยวิจัยเพื่ออุตสาหกรรม, 2560) จากประโยชน์ของ

อินทผลัมในข้างต้น ผู้วิจัยได้สังเกตเห็นการพัฒนาสูตรเครื่องดื่มให้มีความแปลกใหม่ อีกทั้งยังมีคุณค่าทางโภชนาการเพิ่มขึ้นจึงได้นำสมุนไพรรีกสองชนิด คือ มะตูมและพุทราที่อุดมไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระและวิตามิน เช่น เบต้าแคโรทีน วิตามินบี 1 บี 2 บี 3 และบี 6 มะตูมและพุทราเป็นผลไม้ฤทธิ์เย็นช่วยดับกระหายได้ดีจึงเหมาะแก่การนำมาผลิตเป็นน้ำ (Chen และคณะ, 2017 และ Singh และคณะ, 2012) เมื่อนำมาผสมกับน้ำอินทผลัมสกัดเป็นการเพิ่มรสชาติและกลิ่นรสให้กับน้ำอินทผลัมสกัด แต่อย่างไรก็ตามผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มนี้มีอายุการเก็บสั้นเพียงประมาณ 2 สัปดาห์ แม้จะเก็บไว้ที่อุณหภูมิแช่เย็น 4 องศาเซลเซียส ดังนั้นจึงจำเป็นต้องใช้กระบวนการผลิตที่สามารถยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ให้นานขึ้น เพื่อลดการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและลดการเสื่อมเสียจากสิ่งที่ไม่พึงประสงค์ที่ผู้บริโภคไม่ต้องการ คือ กระบวนการที่ใช้ความร้อน (thermal processing) เช่น การพาสเจอร์ไรซ์ (pasteurization) (Fellows, 2009) ร่วมกับบรรจุภัณฑ์ที่สามารถดึงดูดผู้บริโภคและสามารถเก็บรักษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มพร้อมดื่มไว้ได้ เพื่อให้สอดคล้องกับความต้องการของผู้บริโภคในปัจจุบัน

งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อวิธีการสกัดน้ำอินทผลัมด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วยและพัฒนาสูตรเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดร่วมกับการศึกษาภาวะที่เหมาะสมต่อการแปรรูปด้วยความร้อนและบรรจุภัณฑ์ต่ออายุการเก็บรักษาที่ส่งผลต่อคุณภาพทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัด

บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

2.1 อินทผลัม

อินทผลัม (date palm) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Phoenix dactylifera* L. เป็นพืชชนิดหนึ่งที่อยู่ในตระกูลปาล์ม มีการกระจายพันธุ์ในพื้นที่แถบตะวันออกกลางและอเมริกาใต้ มีหลากหลายสายพันธุ์ทั้งชนิดปลูกเพื่อเป็นไม้ประดับ ซึ่งมีรูปทรงต้นที่สวยงาม ผลมีขนาดเล็ก รสชาติหวาน อุดมด้วยน้ำตาลและวิตามินต่าง ๆ มากมาย อินทผลัมเป็นผลไม้ที่ดีต่อสุขภาพประกอบไปด้วย วิตามินและแร่ธาตุต่าง ๆ มากมาย ได้แก่ วิตามินเอ วิตามินบี 1 วิตามินบี 2 วิตามินบี 6 วิตามินเค แคลเซียม ซัลเฟอร์ เหล็ก แมงกานีส แมกนีเซียม อีกทั้งยังเป็นอาหารที่มีสรรพคุณทางยาช่วยรักษาโรคได้หลายอย่าง การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของอินทผลัมมีค่อนข้างมากโดยพบว่าผลของอินทผลัมมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิด เช่น เบต้าแคโรทีน ลูทีน และซีแซนทีน (Al-shahib และ Marshall, 2003) นอกจากนี้อินทผลัมเป็นผลไม้ที่มีความสำคัญต่อการดำรงชีวิตของชาวไทยที่นับถือศาสนาอิสลาม โดยเฉพาะในเดือนแห่งการถือศีลอด (รอมฎอน) มักจะนิยมบริโภคและมอบผลอินทผลัมแก่กันเพื่อใช้ทดแทนพลังงานที่สูญเสียไปในแต่ละวันจากการถือศีลอด เนื่องจากว่าในผลอินทผลัมนั้นประกอบด้วยน้ำตาลในปริมาณสูงถึง 77% ของน้ำหนักแห้ง ทำให้ผู้บริโภครู้สึกว่าร่ากายหายจากการอ่อนเพลีย อินทผลัมเรียกขานเป็นภาษาท้องถิ่นว่า Khajji หรือ Khajoor (จารุฉัตร, 2558)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของอินทผลัม (ดังภาพที่ 1)

ลำต้น เป็นไม้ยืนต้น มีลำต้นเดี่ยว ตั้งตรง ทรงต้นเป็นเรียวยอด ลำต้นมีลักษณะกลม ๆ เปลือกแข็งและเหนียว มีปุ่มนูนขรุขระ มีรอยของกิ่งก้านที่หลุดออกไป เปลือกมีสีเทาหรือสีน้ำตาลอมดำตามสายพันธุ์ ต้นตัวผู้และต้นตัวเมียอยู่แยกต้นกัน ลำต้นสูงประมาณ 15-25 เมตร

ราก เป็นระบบรากแก้ว มีลักษณะกลม แทงลึกลงในดิน มีรากแขนงและรากฝอยเล็ก ๆ ออกตามแนวราบรอบ ๆ มีสีน้ำตาล

ใบ เป็นใบประกอบแบบขนนก มีก้านยาว โคนก้านใบใหญ่มีหนามแข็งยาวจะแผ่กาบหุ้มลำต้นไว้ ใบเรียงเวียนมีใบย่อยออกเรียงตรงข้ามกัน มีลักษณะรูปหอกทรงรีปลายใบเรียวแหลม มีก้านใบย่อยสั้น โคนใบและปลายใบปลายแหลม ขอบใบเรียบ แผ่นใบเรียบมัน มีสีเขียว

ดอก ออกดอกเป็นช่อ ออกตามซอกใบมีกาบหุ้มดอกสีน้ำตาล มีก้านช่อดอกยาว มีดอกย่อย มีลักษณะทรงกลมเล็ก ๆ มีสีเหลืองนวล เกสรดอกมีสีขาว มีก้านดอกย่อยสั้นจะมีน้ำหวานอยู่

ผล อยู่เป็นพวง มีก้านยาว มีลักษณะทรงกลมรี ผิวเปลือกบางเรียบเป็นมัน ผลอ่อนมีสีเขียว ผลสุกมีสีเหลืองส้ม สีแดงหรือสีน้ำตาลตามสายพันธุ์ มีเนื้อสีเหลือง เนื้อฉ่ำน้ำ มีรสชาติหวานฉ่ำ มีเมล็ดแข็งทรงยาวรีอยู่ข้างในเนื้อ ปริมาณผลผลิตขึ้นอยู่กับสิ่งแวดล้อม สำหรับต้นที่มีอายุ 60 ปีขึ้นไป บางสายพันธุ์ให้ผลผลิต 400-600 กิโลกรัมต่อปี

เมล็ด มีลักษณะทรงยาวรี เมล็ดแข็งมีเปลือกหุ้มเมล็ดมีสีน้ำตาล



ภาพที่ 1 ต้นอินทผลัม

ที่มา : สยามรัฐออนไลน์ (2562)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

อินทผลัมเป็นผลไม้ที่มีหลากหลายพันธุ์และมีมากกว่า 2000 สายพันธุ์ พันธุ์ที่นิยมปลูกกันนั้น ได้แก่

- พันธุ์ Barhee หรือ Barhi (บาร์ฮี) (ดังภาพที่ 2) เป็นพันธุ์ที่เหมาะสมสำหรับการรับประทานผลสดโดยเฉพาะ มีแหล่งกำเนิดในประเทศอิรัก ปัจจุบันมีการปลูกกันแพร่หลายในหลายประเทศ กล่าวกันว่าพันธุ์ Barhi เป็น "แอปเปิลแห่งตะวันออกกลาง"

- พันธุ์ Deglet Nour (เดกเล็ท นัวร์) เป็นพันธุ์รับประทานผลแห้ง มีแหล่งกำเนิดจากประเทศแอลจีเรียและประเทศตูนิเซีย โดยถือว่าเป็น "ราชินีแห่งอินทผลัม" เป็นพันธุ์ที่นิยมส่งออกไปขายต่างประเทศทั่วโลกมากที่สุด รสชาติไม่หวานมากหวานปนมัน ไม่แข็งกระด้าง เหนียวไม่มาก เนื้อนุ่ม

- พันธุ์ Medjool (เมดจูล) บางครั้งเรียกว่า Ambatt (อัมบาต) หรือที่เรียกกันว่า "พันธุ์ 7 เม็ดศอก" เพราะเป็นพันธุ์ที่มีผลขนาดใหญ่ที่สุดในตอนนี้ เป็นพันธุ์รับประทานผลแห้ง มีแหล่งกำเนิดในประเทศโมร็อกโก โดยถือว่าเป็น "ราชาแห่งอินทผลัม" เป็นพันธุ์ที่นิยมส่งขายไปทั่วโลกเช่นเดียวกัน เนื้อนุ่ม เนื้อทราย รสชาติหวานฉ่ำและหวานมาก ๆ

- พันธุ์ Ajwa (อัจวะ) เป็นพันธุ์รับประทานผลแห้ง มีแหล่งกำเนิดอยู่ที่ประเทศซาอุดีอาระเบีย เป็นพันธุ์ที่ปรากฏในคัมภีร์ของอัลกุรอานของศาสนาอิสลาม เนื้อเหนียวหนึบเมื่อแก่ใหม่ ๆ รสชาติจะไม่หวานเหมือนความหวานของอินทผลัมพันธุ์อื่น

- พันธุ์ Mabroom (มับรูม) แหล่งกำเนิดที่มีชื่อเสียงมาจากเมืองมาดีนะห์ ประเทศซาอุดีอาระเบีย

- พันธุ์ Zahidi (ซาฮิดิ) มีแหล่งกำเนิดในประเทศอิรักและอิหร่าน (Amer, 1994)

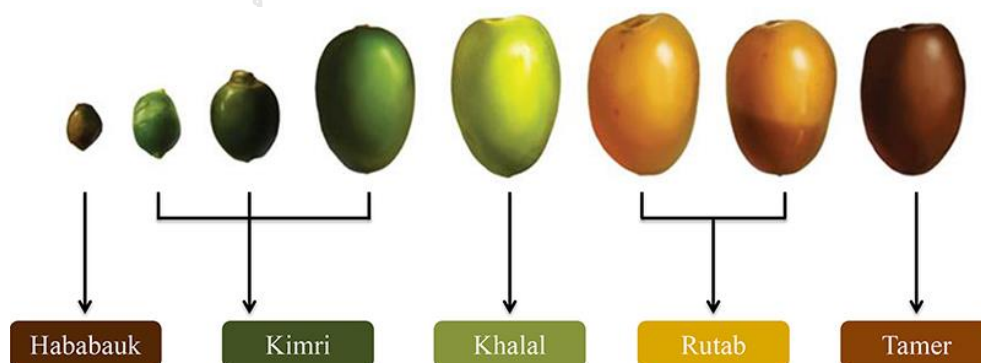


จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ภาพที่ 2 อินทผลัมสายพันธุ์บาฮี
CHULALONGKORN UNIVERSITY
ที่มา : ต้นไม้และสวนออนไลน์ (2561)

การพัฒนาของผลอินทผลัมจะมี 4 ช่วงดังนี้

1. ช่วงผลดิบ (kimri)
2. ช่วงผลโตเต็มที่และเนื้อมีความกรอบ (khlaal)
3. ช่วงผลสุกและมีเนื้อนิ่ม (rutab)
4. ช่วงผลแห้ง (tamar)

ดังแสดงภาพที่ 3 ระยะเวลาในช่วงผลดิบ (kimri) ผลอินทผลัมจะเริ่มมีขนาดใหญ่ขึ้นและมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจนไปถึงช่วงผลโตเต็มที่ (khalal) ซึ่งเมื่อถึงช่วงผลโตเต็มที่แล้วสีของผลอินทผลัมจะเริ่มเปลี่ยนจากสีเขียวไปเป็นสีที่เป็นไปตามแต่ละสายพันธุ์ของอินทผลัมโดยผลจะยังคงแข็งและมีรสฝาดเนื่องจากมีแทนนินอยู่มาก อัตราการเจริญเติบโตของผลและน้ำหนักในช่วงผลโตเต็มที่ที่จะลดลงและน้อยกว่าช่วงผลดิบและเมื่อผลมีขนาดโตและน้ำหนักมากจนเต็มที่ก็จะเริ่มเข้าสู่ช่วงผลสุก (rutab) ซึ่งในช่วงผลสุกนี้สีผิวจะมีลักษณะเข้มขึ้นเป็นสีเหลืองอำพันหรือสีน้ำตาลหรือเกือบดำ ขึ้นกับสายพันธุ์ ผลจะมีลักษณะเริ่มสุกและนิ่มขึ้นผิวเริ่มเหี่ยวย่นและมีแทนนินเพิ่มมากขึ้น ส่วนในช่วงผลแห้ง (tamar) ปริมาณน้ำในผลจะลดลงและมีอัตราส่วนของน้ำตาลต่อน้ำตาลสูงพอที่ไม่ให้เกิดการหมัก (Fayadh และ Al-Showiman, 1990) โดยงานวิจัยนี้เลือกใช้อินทผลัมสายพันธุ์บาฮิระยะผลสุกซึ่งมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ประกอบด้วยน้ำตาล fructose, glucose, mannose และ sucrose มากกว่า 80%ของแห้ง มีปริมาณแร่ธาตุที่มาก ได้แก่ โพแทสเซียม 864 mg/100 g แคลเซียม 70.7 mg/100 g, โซเดียม 32.9 mg/100 g, เหล็ก 0.3-6.03 mg/100 g, สังกะสี 0.5 mg/100 g และ แมกนีเซียม 64.2 mg/100 g (Al-Farsi และ Lee, 2008) และยังมีสารต้านอนุมูลอิสระอีกมากมาย เช่น สารในกลุ่มฟีนอลิก ได้แก่ ferulic, proanthocyanidins, *p*-coumaric และ gallic acid สารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ ได้แก่ quercetin, rutin และ apigenin สารกลุ่มแคโรทีนอยด์ ได้แก่ β -carotene, α -carotene, γ -carotene, lutein, cryptoxanthine และ lycopene เป็นต้น ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้ยังส่งผลต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ และการเกิดออกซิเดชันของเซลล์ในมนุษย์ได้ อินทผลัมถือเป็นผลไม้ชนิดหนึ่งที่มีประโยชน์มากมาย (Maqsood และคณะ, 2020)



ภาพที่ 3 ระยะเวลาการสุกของอินทผลัม

ที่มา : Al-Shwyeh (2019)

2.2 มะตูม

มะตูม มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Aegle marmelos* L. เป็นพืชตระกูลส้ม มะนาว จัดเป็นต้นไม้ขนาดกลาง สามารถเติบโตบริเวณป่าดิบชื้นและบริเวณเนินเขาสูง นิยมปลูกในแถบประเทศอินเดีย ปากีสถาน บังกลาเทศ พม่า อินโดนีเซีย ไทย เป็นต้น ต้นมะตูมเป็นต้นไม้ประจำจังหวัดชัยนาท ถือเป็นไม้มงคลที่นิยมปลูกกันในบริเวณบ้านเพื่อเป็นสิริมงคลอีกด้วย (Disthai, 2017)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของมะตูม

ลำต้น มะตูมเป็นไม้ต้นมีความสูง 10-15 เมตร เปลือกต้นสีเทา แตกเป็นร่องตามยาว

ใบ เป็นใบประกอบแบบนิ้วมือ ออกเรียงสลับ รูปไข่ กว้าง 2-6 เซนติเมตร ยาว 5-14 เซนติเมตร ปลายใบแหลม แผ่นใบบางเรียบเกลี้ยงเป็นมัน ก้านใบย่อยใบปลายจะยาวกว่าใบที่คู่กัน

ดอก ออกเป็นช่อตามซอกใบและปลายกิ่ง กลีบดอกมี 4 กลีบ โคนติดกัน ปลายแยกเป็น 4 แฉก ด้านนอกสีเขียวอ่อน ด้านในสีขาวนวล มีน้ำเมือก และกลิ่นหอม

ผล รูปทรงรี ผิวเรียบเกลี้ยง เปลือกหนา แข็ง ผลอ่อนสีเขียว ผลสุกเป็นสีเขียวแกมเหลืองถึงน้ำตาล เนื้อในสีส้มเหลือง นุ่ม มีเมล็ดจำนวนมาก ดังแสดงในภาพที่ 4



ภาพที่ 4 ผลมะตูม
ที่มา : Disthai (2017)

มะตูมมีรสหวาน กลิ่นหอม มีใยอาหาร และน้ำตาลกลูโคสปริมาณมาก โดยทั่วไปมักนำผลโตเต็มที่ของมะตูมมาฝานเป็นแว่นและตากแห้ง ดังแสดงภาพที่ 5 เนื่องจากผลสดของมะตูมมีอายุการเก็บที่สั้นและเมื่อตากแห้งแล้วทำให้สะดวกในการนำไปใช้งานอื่น ๆ ผลสุกของมะตูมสามารถนำมาทำประโยชน์ได้หลายอย่าง เช่น เครื่องดื่ม ขนมหวาน เนื่องจากมีกลิ่นหอม และมีรสชาติเป็นเอกลักษณ์ (Sarkar และคณะ, 2020) มะตูมยังอุดมไปด้วย วิตามินเอ วิตามินบี วิตามินซี และสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น ฟอลิฟินอล แอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ แทนนิน ยูจีนอล และแคโรทีนอยด์ เป็นต้น โดยมะตูมแห้งมีอนุพันธ์สารประกอบฟีนอลิกมากที่สุด ได้แก่ กรดแกลลิก 500-600 mg/100 g เคอคูมิน 200-300 mg/100 g และกรดวานิลลิก 50-100 mg/100 g รองลงมาเป็นกลุ่มของฟลาโวนอยด์ เช่น รูทีน 30-60 mg/100 g และกลุ่มของแคโรทีนอยด์ เช่น แอลฟาแคโรทีน 40-1700 µg/100 g และเบต้าแคโรทีน 50-150 µg/100 g เป็นต้น สารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ ต้านมะเร็ง ป้องกันเซลล์เกิดการออกซิเดชันจาก ROS (reactive oxygen species) ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการต่าง ๆ ในการดำรงชีวิต โดยมะตูมมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH 30-60% และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP 90-96% (Hazra และคณะ, 2020) และมะตูมมีประโยชน์มากมาย เช่น บำรุงสมอง รักษาโรคอัลไซเมอร์ เป็นยาระบาย ช่วยขับถ่าย รักษาโรคกระเพาะ และบำรุงหัวใจ เป็นต้น



ภาพที่ 5 มะตูมแห้ง
ที่มา : Pobpad (2016)

2.3 พุทรา

พุทรา เป็นทั้งผลไม้ อาหาร และสมุนไพร มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Ziziphus mauritiana* L. มีถิ่นกำเนิดในแถบทวีปเอเชีย

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของพุทราเป็นไม้ยืนต้นผลัดใบขนาดเล็กและขนาดใหญ่ขึ้นอยู่กับแต่ละสายพันธุ์

ลำต้น เป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็กทรงพุ่มทึบสูงประมาณ 5-7 เมตร ลำต้นมีลักษณะกลม ๆ มีหนามแหลมคมออกเป็นคู่ เนื้อไม้แข็งเหนียว เปลือกแข็งมีผิวขรุขระ มีสีน้ำตาล

ใบ เป็นใบเดี่ยว ออกใบสลับตรงข้าม มีลักษณะทรงกลมรี โคนมนปลายเรียวรี ใบด้านบนมีสีเขียว พื้นผิวเป็นมัน ใบด้านล่างมีสีอ่อนกว่า

ดอก ออกเป็นช่อ จะมีดอกอยู่เป็นกระจุก ดอกมีสีขาวแกมเหลือง ดอกเล็ก ๆ กลีบเลี้ยงมีสีเขียวแกมเหลือง มีกลิ่นหอม ก้านดอกยาว ดอกออกตามลำต้น บนกิ่ง หรือบนยอดกิ่ง

ผล มีลักษณะทรงกลมหรือทรงรี ผลเล็กหรือผลใหญ่ ตามสายพันธุ์ ผิวเปลือกบางมันลื่น ผลอ่อนมีสีเขียว เมื่อผลสุกจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองหรือสีแดงเข้มตามสายพันธุ์ ดังแสดงภาพที่ 6 ภายในผลจะมีเนื้อนุ่มชุ่มน้ำ มีสีขาว รสชาติหวานหรือหวานอมเปรี้ยว ตามสายพันธุ์ มีเมล็ดแข็งทรงรี อยู่ข้างในเนื้อ (Ampro health, 2020)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 6 ผลพุทราจีน

ที่มา : Medthai (2013)

ปัจจุบันมีการนำพุทราผลโตเต็มที่มาแปรรูปเป็นพุทราแห้ง ดังแสดงภาพที่ 7 จำหน่ายตามตลาดทั่วไปทำให้ผู้บริโภคหาซื้อได้ง่ายและยังสามารถเก็บไว้ได้เป็นเวลานาน พุทราอุดมไปด้วยวิตามินซี วิตามินบี แคลเซียม เหล็ก แมกนีเซียม กรดฟีนอลิก กรดอะมิโน ซาโปนิน ฟลาโวนอยด์ พอลิแซ็กคาไรด์ เป็นต้น โดยในพุทราแห้งมีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด 200-400 mg/100 g dry weight, ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด 400-800 mg/100 g dry weight, ปริมาณโปรแอนโทไซยานินดีนส์ 20-100 mg/100 g dry weight และปริมาณสารแคโรทีนอยด์ 10-39 mg/100 g dry weight ซึ่งสารเหล่านี้มีความสำคัญในการยับยั้งโรคต่าง ๆ และต้านอนุมูลอิสระ ป้องกันโรคหัวใจและหลอดเลือด เบาหวาน ต้านมะเร็ง และรักษาปัญหาโรคนอนไม่หลับ พุทราถูกนำมาใช้ในการแพทย์แผนจีนเป็นเวลายาวนานเพื่อรักษาโรคต่าง ๆ ข้างต้น ปัจจุบันนิยมนำพุทรามาทำอาหารหลากหลาย เช่น ขนมหวาน เครื่องดื่ม ซุป เป็นต้น (Rashwan และคณะ, 2020)



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
 ภาพที่ 7 พุทราแห้ง
 ที่มา : กู้ดไทยซีฟู้ด (2551)

2.4 การสกัด

การสกัดเป็นขั้นตอนในการสารออกจากแหล่งตามธรรมชาติ การสกัดที่ดีนั้นควรประหยัดเวลาที่ใช้ในการสกัด ใช้ตัวทำละลายในการสกัดปริมาณน้อยและได้ปริมาณของสารสกัดสูง โดยสามารถแบ่งประเภทของการสกัดได้เป็น 3 ประเภท (puri และคณะ, 2012) ได้แก่

1. การสกัดด้วยวิธีทางเคมี เป็นการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ ในการสกัดสาร ซึ่งปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพในการสกัด ได้แก่ ชนิดของตัวทำละลายที่เลือกใช้ โดย

สารประกอบที่ละลายได้ดีในไขมัน (lipophilic compounds) มักถูกสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วต่ำ เช่น เฮกเซนหรือไดคลอโรมีเทน ส่วนสารประกอบที่ละลายได้ดีในน้ำ (hydrophilic compounds) มักถูกสกัดด้วยตัวทำละลายที่มีขั้วสูง เช่น เมทานอลหรือเอทานอล วิธีการสกัดด้วยวิธีทางเคมีเป็นวิธีที่นิยมใช้ในวงกว้าง เนื่องจากเป็นวิธีที่ทำได้ง่ายและให้ปริมาณของสารสกัดสูง

2. การสกัดด้วยวิธีทางกายภาพ เป็นการสกัดโดยการให้พลังงาน นิยมใช้ร่วมกับการสกัดด้วยตัวทำละลายเพื่อช่วยเพิ่มการละลายของสาร ทำให้ได้สารสกัดปริมาณสูงขึ้น เช่น การใช้แรงดันคลื่นอัลตราซาวด์ คลื่นไมโครเวฟ สกัดเย็น เป็นต้น

3. การใช้เอนไซม์ช่วยในการสกัด เป็นการสกัดโดยใช้เอนไซม์ที่มีคุณสมบัติในการย่อยผนังเซลล์พืชมาช่วยในการสกัด โดยเอนไซม์ที่นิยมใช้ ได้แก่ เซลลูเลส เฮมิเซลลูเลส และเพคติเนส ส่งผลให้สารจากธรรมชาติที่ต้องการออกมาจากเซลล์ง่ายขึ้น โดยวิธีนี้มักนำไปใช้ร่วมกับการสกัดด้วยวิธีทางเคมี ปัจจุบันที่ส่งผลถึงประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์นั้น ได้แก่

3.1 ส่วนของพืชที่จะนำมาสกัด จำเป็นที่ต้องทราบก่อนว่าองค์ประกอบหลักของชิ้นส่วนพืชที่จะนำมาสกัดนั้นคืออะไร เพื่อสามารถเลือกชนิดของเอนไซม์ให้เหมาะสมกับส่วนของพืช

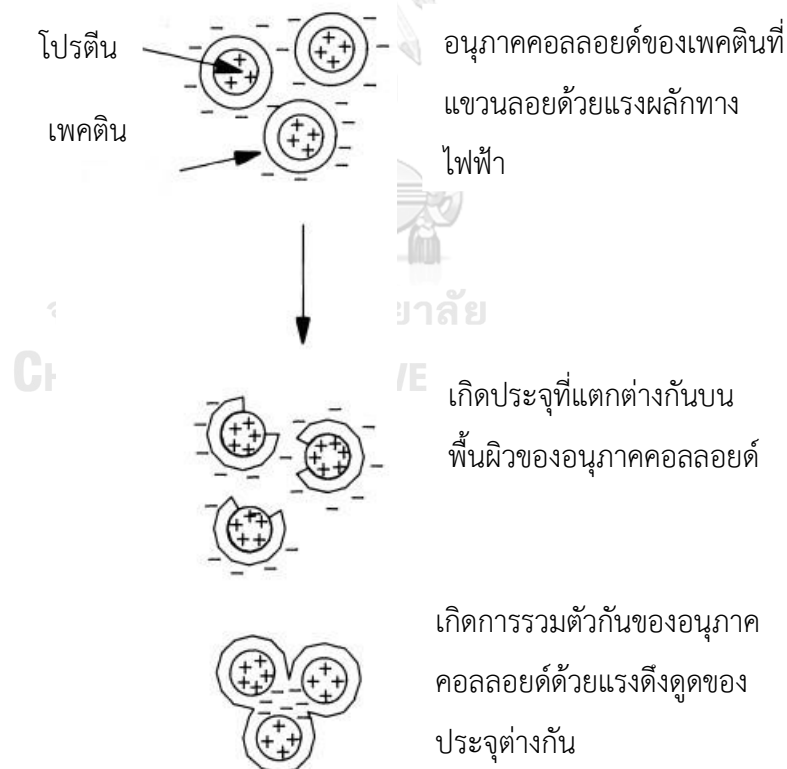
3.2 ชนิดของเอนไซม์ที่เลือกใช้ในการสกัด ควรเลือกให้เหมาะสมกับส่วนของพืชที่จะนำมาสกัดและควรทราบแหล่งที่มาของเอนไซม์ที่เลือกใช้สามารถหาได้จากแหล่งใดบ้างและหน้าที่การทำงานของเอนไซม์เป็นอย่างไร นอกจากนี้เอนไซม์บางชนิดที่มีหน้าที่การทำงานเหมือนกันแต่มาจากแหล่งที่มาต่างกันอาจมีความคงตัว ความจำเพาะในการทำปฏิกิริยากับสารตั้งต้น และอัตราในการเร่งปฏิกิริยาที่ต่างกัน

3.3 สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดและการทำงานของเอนไซม์ ได้แก่ ความเข้มข้นของเอนไซม์ ค่าความเป็นกรด-ด่าง เวลาที่ใช้ในการบ่ม และอุณหภูมิล้วนส่งผลต่อประสิทธิภาพของเอนไซม์ เพื่อให้เอนไซม์สามารถทำงานได้มีประสิทธิภาพสูงสุดและส่งผลให้ประสิทธิภาพในการสกัดดีที่สุด (วีรภัทร, 2014)

ดังนั้นการสกัดควรเลือกวิธีการและศึกษาสิ่งทีนำมาใช้ในการสกัดให้ดีเพื่อให้ได้ประโยชน์และประสิทธิภาพของการทำงานสูงสุด

2.5 เอนไซม์เพคตินเนส

เอนไซม์เพคตินเนส (pectinase) เป็นคอมเพล็กซ์เอนไซม์ เมื่อเซลล์พืชฉีกขาดหรือได้รับการกระทบกระเทือน เอนไซม์เพคตินเนสและเพคตินจะเคลื่อนที่เข้าใกล้กันทำให้เกิดการย่อยสลายลักษณะความคงตัวของเนื้อสัมผัสของผักผลไม้เสียไป ผักผลไม้จะนิ่มลงทำให้สกัดได้ง่ายขึ้น อีกทั้งเป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงสารประกอบเพคตินที่ผนังเซลล์พืชมีผลทำให้สารประกอบเพคตินมีขนาดโมเลกุลสั้นลง ส่งผลให้เนื้อสัมผัสที่แน่นมีความอ่อนตัวช่วยเพิ่มปริมาณน้ำผลไม้ที่สกัดได้ (สมฤดี, 2555) ปัจจุบันได้มีการผลิตเพคตินเนสเพื่อการค้าจากการสกัดจากจุลินทรีย์ ยีสต์ รา และแบคทีเรีย นอกจากนี้กิจกรรมของเอนไซม์เพคตินเนสจะย่อยสลายสารประกอบเพคตินบางส่วนที่ล้อมรอบโมเลกุลของโปรตีนที่แขวนลอยอยู่ทำให้ประจุบวกของโปรตีนที่อยู่ภายในถูกเปิดออกและสามารถเกิดแรงดึงดูดทางไฟฟ้ากับประจุลบของอนุภาคความชุ่มที่อยู่ข้างเคียงได้ และเกิดการรวมตัวขึ้นเป็นอนุภาคที่ใหญ่ขึ้นสามารถตกตะกอนแยกชั้นออกมาด้วยแรงโน้มถ่วงเป็นผลทำให้น้ำผลไม้สูญเสียความชุ่ม ดังแสดงภาพที่ 8 (ปราณี, 2535)



ภาพที่ 8 การตกตะกอนเนื่องจากการรวมตัวของอนุภาคความชุ่ม

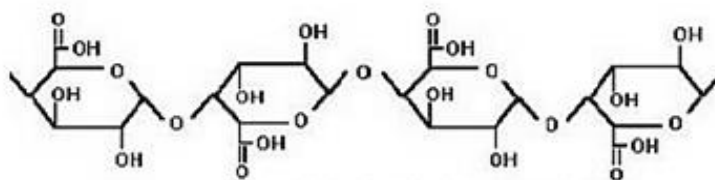
ที่มา : Lea (1995)

เพคติกซับสเตรท (pectic substrate) (อินทาวุธ, 2563)

เพคติกซับสเตรทเป็นพอลิแซคคาไรด์ที่ต่อกันด้วยกรดพอลิกลาแล็กทูลินิกแอซิด (polygalacturonic acid) (ดังแสดงภาพที่ 9) แบ่งเป็น 4 กลุ่ม ดังนี้

1. โปรโตเพคติน (protopectin) พบในพืชที่ยังไม่โตเต็มที่
2. กรดเพคติก (pectic acid) พบในผลไม้ที่สุกมากๆ
3. กรดเพคตินิก (pectinic acid) พบในผลไม้โตเต็มที่ สุกพร้อมทาน

4. เพคติน (pectin) เพคตินเป็นสารพวกคอลลอยด์ ที่ทำให้เกิดเจลระหว่างน้ำตาลและกรดได้ดี นำไปใช้ในการทำแยมและเยลลี่ อีกทั้งเพคตินเป็นสารที่ทำให้น้ำผลไม้มีความข้น โดยเพคตินจะอยู่ที่ผนังเซลล์ของพืชซึ่งประกอบขึ้นจากพอลิเมอร์หลายชนิดรวมตัวกัน ประกอบด้วยเส้นใยของเซลลูโลสต่อเชื่อมกันและฝังตัวในเมทริกซ์ (matrix) ที่ซับซ้อนของเพคติน เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) โปรตีน และฟีนอลิก (phenolics)



รูป 9 Pectin (polygalacturonic acid)

CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาพที่ 9 โครงสร้างเพคตินที่เกิดจากมอนอเมอร์กรดพอลิกลาแล็กทูลินิก

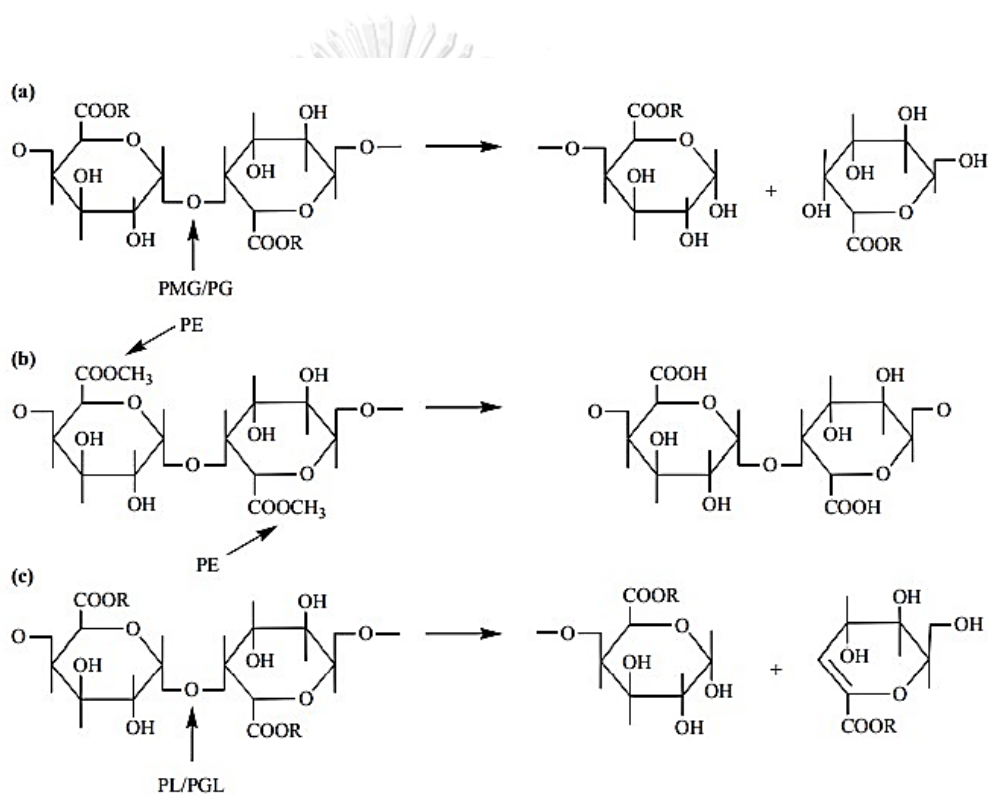
ที่มา : อินทาวุธ (2563)

ชนิดของเอนไซม์เพคตินเนสแบ่งได้ 3 ชนิด

1. พอลิกลาแล็กทูลิเนส (polygalacturonase/poly- α -1,4-D-galacturonide glycanohydrolase, PG) EC 3.2.1.15 (ภาพที่ 10 (a)) เอนไซม์นี้ทำหน้าที่ไฮโดรไลซ์พันธะไกลโคซิดิกในสายเพคตินจากสายยาวให้สั้นลงมีผลต่อการลดความหนืดของผักและผลไม้

2. เพคตินเอสเทอเรส (pectinesterase, PE) EC 3.1.1.11 (ภาพที่ 10 (b)) เอนไซม์นี้จะเร่งปฏิกิริยาการไฮโดรไลซ์พันธะเมทิลเอสเทอร์เพื่อแยกหมู่เมทิลออกจากสายโซ่เพคตินไม่ได้ย่อยสลายพันธะไกลโคซิลมีผลต่อการลดความแน่นเนื้อของผักและผลไม้โดยตรง ผลิตภัณฑ์ที่ได้คือ กรดเพคตินิกและเมทานอล

3. เพคเตทไลเอส (pectate lyase/poly- α -1,4-D-galacturonide lyase, PL/PGL) EC 4.2.2.2 (ภาพที่ 10 (c)) เอนไซม์นี้เป็นกลุ่มไลเอส ทำให้เพคตินแยกออกจากกันส่งผลให้เพคตินมีโมเลกุลเล็กลง หากจะเกิดการ ทำงานของเอนไซม์ต้องมี Ca^{2+} ร่วมด้วย



ภาพที่ 10 ปฏิกิริยาของเอนไซม์เพคตินเนสกับเพคติกซัสเตรท PG (a), PE (b) และ PL/PGL (c)

ที่มา : Lang และ Dörnenburg (2000)

งานวิจัยนี้ได้เลือกใช้เอนไซม์เพคตินเนสชนิดพอลิกลาแล็กตูโรเนส (polygalacturonase, PG) EC 3.2.1.15 เนื่องจากเอนไซม์ชนิดนี้มีการทำงานและมีบทบาทต่ออุตสาหกรรมน้ำผลไม้มากที่สุด กล่าวคือเอนไซม์ชนิดนี้สามารถเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซ์ไกลโคไซด์ที่ตำแหน่ง 1,4- α -D-galacturonic ในโมเลกุลของเพคตินและพอลิกลาแล็กตูโรแนนให้กลายเป็นกรดกาแล็กตูโรนิกซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับ

การสุกของผลไม้ ทำให้น้ำผลไม้ใส เพิ่มปริมาณน้ำผลไม้สกัด และทำให้น้ำผลไม้เปื่อยยุ่ยได้ ในขณะที่ เอนไซม์เพคตินเอสเทอเรส (pectinesterase, PE) EC 3.1.1.11 จะจำเพาะต่อเอสเทอร์ที่มีเมทานอล หรือเอทานอล และผลิตภัณฑ์ที่ได้คือ กรดและแอลกอฮอล์จึงเหมาะสมกับอุตสาหกรรมการหมัก และ เอนไซม์เพคเตทไลเอส (pectate lyase, PL) EC 4.2.2.2 จะทำงานก็ต่อเมื่อต้องมี Ca^{2+} เพื่อดึงหมู่ คาร์บอกซิลบนสายของเพคตินสายหนึ่งให้จับกับหมู่คาร์บอกซิลของสายเพคตินอีกสายหนึ่งให้เกิดเป็น โครงสร้างร่างแห (egg box model) เกิดเป็นสารประกอบแคลเซียมเพคเตทที่ไม่ละลายน้ำ ส่งผลให้ ผนังเซลล์ของผลไม้แข็งแรง แน่น และกรอบ จึงเหมาะกับการทำผักผลไม้ดอง การแช่เยือกแข็ง การ ทำแห้ง และการแปรรูปผักและผลไม้กระป๋อง เป็นต้น

ประโยชน์ของเอนไซม์เพคตินเอส

- ทำให้น้ำผลไม้ใส เพราะเอนไซม์ตัดสายของเพคตินทำให้เซลล์ พืชมีความอ่อนแอ
- เพิ่มผลผลิตให้กับน้ำผลไม้
- ทำให้น้ำผลไม้ใส เพราะเอนไซม์ตัดสายของคาร์โบไฮเดรตที่ทำให้ขุ่นให้เกิดการ ตกตะกอนเพื่อให้ใสขึ้น

2.6 น้ำผลไม้

น้ำผลไม้ หมายถึง น้ำซึ่งมาจากการคั้นหรือสกัดจากผลไม้ชนิดต่าง ๆ เช่น น้ำองุ่น น้ำส้ม และน้ำแอปเปิล เป็นต้น

ประเภทของน้ำผลไม้ (TISTR, 2014)

1. น้ำผลไม้พร้อมดื่ม

น้ำผลไม้ชนิดนี้เป็นน้ำผลไม้ชนิดที่สามารถดื่มได้ทันที มีส่วนผสมของน้ำผลไม้ที่ แตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของผลไม้ที่นำมาเป็นวัตถุดิบและวิธีการผลิตของโรงงาน โดย สามารถแบ่งออกได้เป็นอีก 2 ประเภทย่อย คือ

1.1 น้ำผลไม้ 100% (single strength juice)

1.2 น้ำผลไม้ 25-50% ซึ่งไม่สามารถผลิตเป็นน้ำผลไม้พร้อมดื่ม 100% ต้องเจือจางและปรุงแต่งรสชาติก่อน

2. น้ำผลไม้เข้มข้น

น้ำผลไม้ชนิดนี้ผลิตจากการนำน้ำผลไม้แท้จากธรรมชาติไประเหยน้ำบางส่วนออกไปเพื่อเพิ่มความเข้มข้นเมื่อนำมาบริโภคต้องนำมาผสมน้ำเพื่อเจือจางก่อนน้ำผลไม้เข้มข้นส่วนใหญ่จะถูกนำไปใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่มต่างๆ

3. น้ำผลไม้ปรุงแต่งกลิ่น

น้ำผลไม้ชนิดนี้ผลิตโดยการนำผลไม้หรือเนื้อผลไม้ประมาณ 25% ขึ้นไป เจือสีสังเคราะห์แล้วทำให้เข้มข้นด้วยน้ำตาล โดยก่อนดื่มต้องนำไปผสมน้ำตามอัตราส่วนที่ระบุเพื่อลดความเข้มข้น

4. น้ำผลไม้สำเร็จรูปชนิดผง

น้ำผลไม้ชนิดนี้เป็นน้ำผลไม้ที่ผลิตโดยระเหยน้ำออกจากน้ำผลไม้ที่ผ่านการคั้นแล้ว ทำแห้งแบบพ่นฝอยให้เป็นผงแล้วนำมาบรรจุในถุงขง เพื่อความสะดวกในการบริโภค

5. เนกต้าผลไม้

น้ำผลไม้ชนิดนี้ คือ น้ำผลไม้ที่เติมน้ำและน้ำตาลเข้าไป

6. น้ำเชื่อมผลไม้

น้ำเชื่อมผลไม้ คือ ผลิตภัณฑ์ที่แปรรูปจากผลไม้เป็นการถนอมอาหารโดยการใช้ น้ำตาลความเข้มข้นสูงผสมกับน้ำผลไม้ เพื่อให้เป็นผลิตภัณฑ์น้ำผลไม้เข้มข้นอาจมีลักษณะขุ่นหรือใส มีกลิ่นรสของผลไม้ มีส่วนของน้ำผลไม้ไม่น้อยกว่า 25% และมีปริมาณสารที่ละลายน้ำได้อย่างน้อย 65% หากต้องการดื่มเป็นเครื่องดื่มต้องทำให้เจือจางก่อนดื่ม

ลักษณะของน้ำผลไม้ แบ่งออกเป็น 2 ชนิด

1. น้ำผลไม้แบบใส (clear juice) เช่น น้ำแอปเปิ้ล น้ำองุ่น น้ำลิ้นจี่ ทำให้ใสโดยใช้ เอนไซม์เพคตินเนส โดยเอนไซม์สามารถตัดสายโมเลกุลของคาร์โบไฮเดรตที่เป็นสาเหตุของความขุ่นภายในเซลล์เนื้อเยื่อของผลไม้ทำให้อนุภาคเกิดการรวมตัวกันและตกตะกอน

จากนั้นทำการแยก (separation) ด้วยวิธีต่าง ๆ เช่น การกรองด้วยเยื่อ (membrane filtration) หรือ การหมุนเหวี่ยง (centrifugation) เพื่อให้ได้น้ำผลไม้ที่ใส

2. น้ำผลไม้แบบขุ่น (cloudy juice) ความขุ่นในน้ำผลไม้เกิดขึ้นจากโครงสร้างของเนื้อเยื่อและองค์ประกอบในผลไม้มารวมถึงสารประกอบเพคตินที่ถูกสกัดออกมาและแขวนลอยในน้ำผลไม้ในระหว่างกระบวนการคั้นน้ำผลไม้ ทำให้น้ำผลไม้มีลักษณะขุ่นและมีความหนืด โดยสารประกอบเพคตินที่แขวนลอยและกระจายตัวในน้ำผลไม้เป็นอนุภาคคอลลอยด์ที่พื้นผิวมีประจุลบซึ่งสามารถล้อมรอบโมเลกุลของโปรตีนซึ่งแขวนลอยในน้ำผลไม้ที่มีประจุบวกได้ ทำให้โมเลกุลเชิงซ้อนเหล่านี้มีแรงผลักทางไฟฟ้าของประจุลบ ทำให้สามารถแขวนลอยอยู่ในน้ำผลไม้ได้ด้วยการเคลื่อนที่แบบบราวเนียน ทำให้เกิดความขุ่นและความหนืดมีผลในการช่วยพยุงอนุภาคเหล่านี้ให้สามารถแขวนลอยอยู่ในน้ำผลไม้ได้ดีขึ้น นอกจากนี้ขนาดอนุภาค ความถ่วงจำเพาะ และความหนืดที่เหมาะสมเป็นปัจจัยที่มีผลต่อความคงตัวของอนุภาคในการแขวนลอยอยู่ในน้ำผลไม้ได้เช่นเดียวกัน (Lea, 1995)

2.7 อนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ (free radicals) คือ สารที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว (unpaired electrons) ในอะตอมหรือโมเลกุล พบได้ทุกแห่งทั้งในสิ่งแวดล้อม ในสิ่งมีชีวิต และในเซลล์โดยเฉพาะอย่างยิ่งกระบวนการผลิตพลังงานภายในเซลล์หรือจากกระบวนการเมแทบอลิซึม (metabolism) โดยมีการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนออกจากโมเลกุลของออกซิเจนทำให้อิเล็กตรอนในโมเลกุลออกซิเจนไม่สมดุลกลายเป็นอนุมูลอิสระและว่องไวในการเข้าทำปฏิกิริยามากและสามารถดึงอิเล็กตรอนจากโมเลกุลอื่นมาแทนที่อิเล็กตรอนที่ขาดหายไปเพื่อให้ตัวเองเกิดความสมดุลหรือเสถียรซึ่งปฏิกิริยานี้จะเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่และเกิดขึ้นในเซลล์ตลอดเวลา ดังแสดงในสมการ 1 และ 2 (ไมตรี, 2555)



โดย R^* และ ROO^* คืออนุมูลอิสระ

O_2 คือ ออกซิเจน

RH คือ กรดไขมัน

$ROOH$ คือ ไฮโดรเปอร์ออกไซด์

อนุมูลอิสระจึงเป็นสารพิษต่อเซลล์ของร่างกาย ถ้ามีมากก็เป็นอันตรายได้โดยจะทำลาย ดีเอ็นเอ เยื่อหุ้มเซลล์ และอื่น ๆ ในระยะสั้นอนุมูลอิสระมีผลต่อการอักเสบและการทำลายเนื้อเยื่อ ในระยะยาวมีผลต่อความเสื่อมหรือการแก่ของเซลล์ อนุมูลอิสระถูกสร้างขึ้นมาจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของร่างกายเองและในภาวะที่ผิดปกติ เช่น ภาวะของโรค หรือภาวะที่ร่างกายแวดล้อมด้วยมลพิษ โดยในภาวะที่ผิดปกติจะส่งผลให้ร่างกายเกิดการสะสมของอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นจำเป็นที่ร่างกายต้องหาทางป้องกันการทำลายจากอนุมูลอิสระเหล่านั้น สิ่งที่ร่างกายสร้างขึ้นเพื่อปกป้องตัวเองก็คือระบบต้านอนุมูลอิสระซึ่งประกอบไปด้วยสารหรือเอนไซม์ต่าง ๆ ที่มีความเข้มข้นต่ำ ๆ ก็สามารถจะชะลอหรือป้องกันปฏิกิริยาออกซิเดชันของสาร (substrate) ที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยา โดยสารเหล่านี้จะรวมถึงสารเกือบทุกชนิดในร่างกาย เช่น โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต ดีเอ็นเอ แต่อย่างไรก็ตามมีบางภาวะที่ปริมาณอนุมูลอิสระมีมากเกินไปที่ระบบการต้านอนุมูลอิสระจะจัดการได้ส่งผลให้เกิดภาวะที่เรียกว่า oxidative stress ขึ้น ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อเซลล์สิ่งมีชีวิต เช่น การทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของดีเอ็นเอและโปรตีนก่อให้เกิดผลเสียต่อเซลล์และการทำลายเซลล์ซึ่งเป็นสาเหตุของการแก่ (aging) และหากรุนแรงอาจส่งผลต่อการเกิดเป็นโรคมะเร็งไข้เจ็บต่าง ๆ (Viratwong, 2014)

2.8 สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระทำหน้าที่ป้องกันไม่ให้อนุมูลอิสระก่อตัวขึ้น โดยยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของอนุมูลอิสระและหยุดการก่อตัวใหม่ของอนุมูลอิสระโดยที่สารต้านอนุมูลอิสระจะให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระ จากนั้นอนุมูลอิสระจะมีความเสถียรจึงไม่ทำปฏิกิริยาต่อไป สารต้านอนุมูลอิสระช่วยซ่อมแซมความเสียหายที่เกิดจากตัวอนุมูลอิสระที่ไปทำลายเซลล์ต่าง ๆ ในร่างกายรวมทั้งช่วยกำจัด

และแทนที่โมเลกุลที่ถูกทำลาย สารต้านอนุมูลอิสระพบมากทั่วไปในผักและผลไม้ ตัวอย่างสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น ฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ แคโรทีนอยด์ และแอนโทไซยานิน เป็นต้น (Photong, 2014) สารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้มีกลไกการทำงานต้านอนุมูลอิสระด้วยกันหลายแบบ เช่น ดักจับอนุมูลอิสระ (radical scavenging) การยับยั้งการทำงานของออกซิเจนที่ขาดอิเล็กตรอน (singlet oxygen quenching) จับกับโลหะที่สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ (metal chelation) หยุดปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระ (chain-breaking) เสริมฤทธิ์ (synergism) และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาอนุมูลอิสระ (enzyme inhibition) เป็นต้น ตัวอย่างแสดงการดักจับอนุมูลอิสระแสดงดังสมการ 3 และ 4 (เจนจิรา และ ประสงค์, 2554)



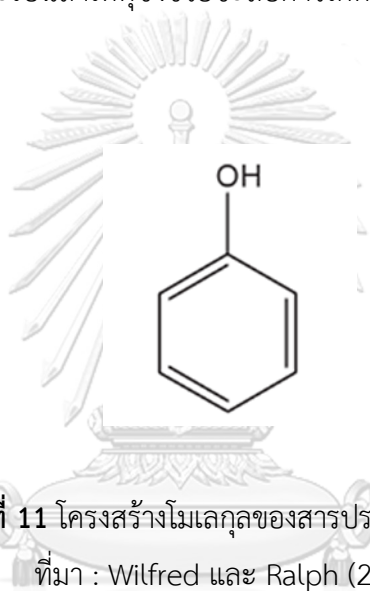
โดย R^{\bullet} และ RO^{\bullet} คือ อนุมูลอิสระ

AH คือ สารต้านอนุมูลอิสระ

2.8.1 สารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound) เป็นสารทุติยภูมิ (secondary metabolites) ละลายน้ำได้ พบได้ทั่วไปในพืชหลากหลายชนิด โดยพืชสร้างสารดังกล่าวขึ้นเพื่อประโยชน์ในการเจริญเติบโต ทำให้พืชแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันของปริมาณและชนิดของสารประกอบฟีนอลิก โครงสร้างโมเลกุลของสารประกอบฟีนอลิกจะมีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH group) อย่างน้อย 1 หมู่ ต่ออยู่กับวงเบนซีน 1 วง ดังแสดงภาพที่ 11 สารประกอบฟีนอลพื้นฐาน คือ สารฟีนอล มักรวมอยู่ในโมเลกุลของน้ำตาลในรูปของไกลโคไซด์ (Wilfred และ Ralph, 2006) ซึ่งปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ควรได้รับต่อวันอยู่ที่ประมาณ 150-1000 มิลลิกรัมต่อวัน (Brat และคณะ, 2006) สามารถพบสารประกอบฟีนอลิกในส่วนประกอบต่าง ๆ ของพืช เช่น เมล็ด ราก ใบ และเปลือก โดยจะพบอนุพันธ์สารประกอบฟีนอลิกหลายชนิด เช่น กรดฟีนอลิก (phenolic acids) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ลิกนิน (lignins) และแอนโทไซยานิน (anthocyanin) ในผลิตภัณฑ์สามารถพบสารกลุ่มฟีนอลิก เช่น เฟอูลูอิก โพรแอนโทไซยานิน และกรดแกลลิก เป็นต้น (Maqsood และคณะ, 2020) โดยความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกเป็นผลมาจากหมู่ไฮดรอกซิล (-OH group) และอะตอมไฮโดรเจนที่ถ่ายโอนให้แก่อนุมูลอิสระ (Chen และคณะ, 1997)

สารประกอบฟีนอลิกจะทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระและไอออนของโลหะที่สามารถเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและโมเลกุลอื่น ๆ เมื่ออนุมูลอิสระได้รับอะตอมของไฮโดรเจนไปแล้วอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกจะไม่ทำปฏิกิริยาอื่นต่อไป เนื่องจากสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระนั้นมีความสัมพันธ์กับโครงสร้างโมเลกุลของสารประกอบฟีนอลิก จำนวนหมู่ไฮดรอกซิลรวมไปถึงความสามารถในการเกิดคอนจูเกชัน (conjugation) และเรโซแนนซ์ (resonance) ในโมเลกุล นอกจากนี้ความเป็นกรดของฟีนอลที่เพิ่มมากขึ้นเป็นผลมาจากเมื่อฟีนอลสูญเสียโปรตอนแล้วจะเปลี่ยนเป็นฟีนอกไซด์ (phenoxide) ซึ่งจะถูกทำให้เสถียรได้ด้วยการเกิดเรโซแนนซ์ จึงสามารถยับยั้งปฏิกิริยาถูกโซ่ที่เหมือนอนุมูลอิสระเป็นสาเหตุซึ่งช่วยชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ (Smith และคณะ, 2005)



ภาพที่ 11 โครงสร้างโมเลกุลของสารประกอบฟีนอลิก

ที่มา : Wilfred และ Ralph (2006)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

การจำแนกชนิดของสารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารต้านออกซิเดชันที่พบมากในอาหารและธรรมชาติมากกว่า 8000 ชนิด เป็นสารทุติยภูมิที่สร้างขึ้นโดยพืชโดยมีโครงสร้างประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซีเกาะอยู่กับวงแหวนเบนซีนสามารถจำแนกชนิดของสารประกอบฟีนอลิกเป็นกลุ่มต่าง ๆ (Rice-Evans, 1995) ดังแสดงภาพที่ 12 ได้แก่

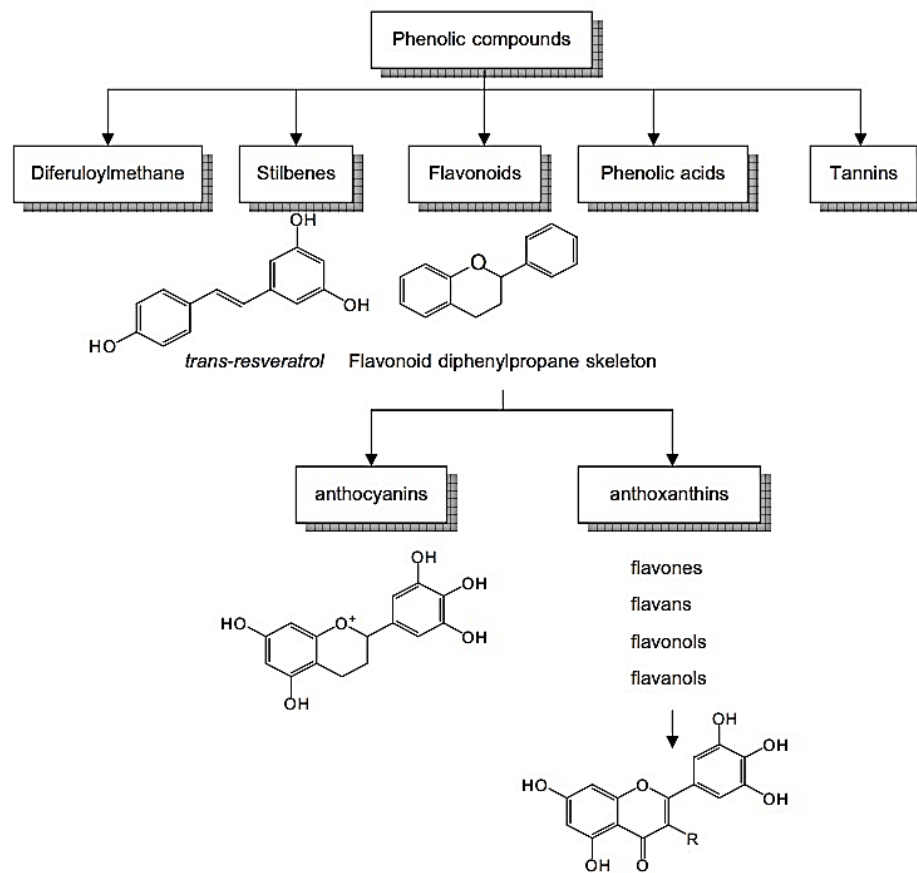
1. กลุ่มกรดฟีนอลิกที่มาจาก hydroxybenzoic acids ได้แก่ กรดแกลลิก (gallic acid) และกรดฟีนอลิกที่มาจาก hydroxycinnamic acid ได้แก่ กรดคาเฟอิก (caffeic acid) กรดเฟอร์ูริก (ferulic acid) และ กรดคูมาริก (coumaric acid)

2. กลุ่มฟลาโวนอยด์เป็นกลุ่มใหญ่ประกอบด้วยกลุ่มฟลาโวนอล ฟลาโวน ฟลาวานอล ไอโซฟลาโวน ฟลาวาโนน และแอนโทไซยานิน

3. กลุ่มสติลเบน (stilbenes) ได้แก่ ทรานส์เรสเวราทรอล สามารถพบได้ในธรรมชาติจะถูกสร้างขึ้นโดยพืช เพื่อป้องกันเชื้อโรค แมลงกัดกิน และป้องกันแสงแดด จึงจัดเป็นสารไฟโตอเล็กซิน (phytoalexins)

4. กลุ่มไดเฟอรูโลอิลมีเทน (diferuloylmethane) ได้แก่ สารคูเคอร์มิน (curcumin) ในขมิ้น

5. กลุ่มแทนนิน เป็นกลุ่มของสารประกอบเชิงซ้อนที่มีมวลโมเลกุลสูงที่ได้จากธรรมชาติเป็นสารที่ทำให้เกิดรสฝาดและมีสีเหลืองจนถึงน้ำตาล นอกจากนี้ยังสามารถทำให้เกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่เร่งด้วยเอนไซม์

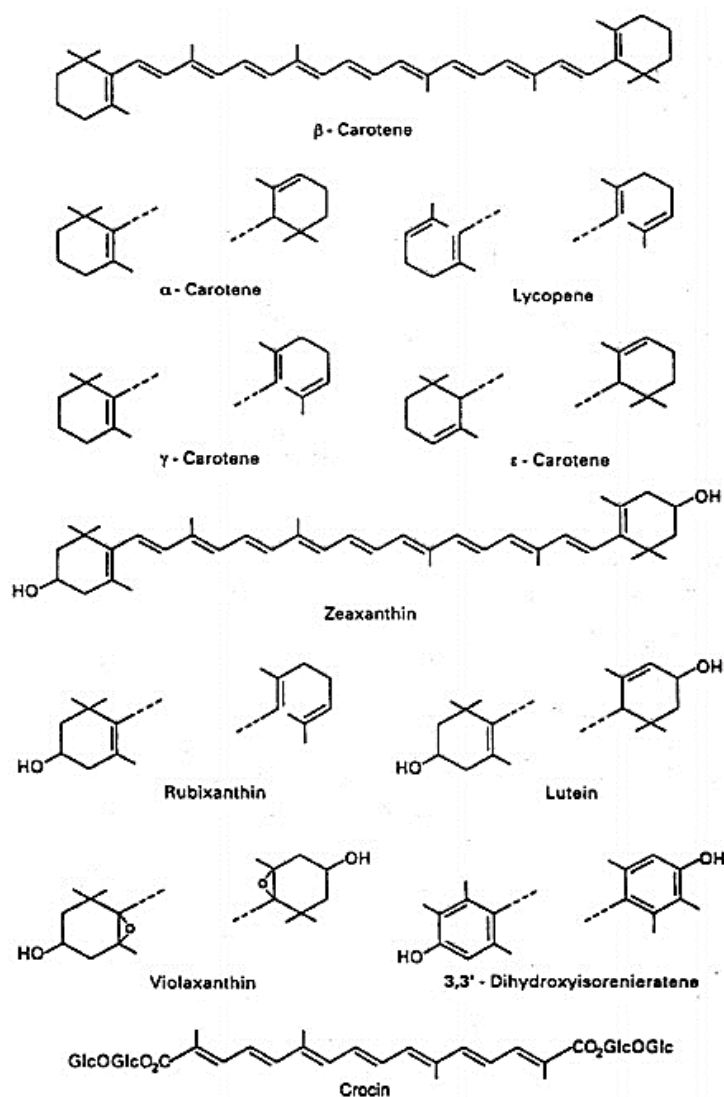


ภาพที่ 12 การจำแนกชนิดของสารประกอบฟีนอลิกเป็นกลุ่มต่าง ๆ

ที่มา : Rice-Evans (1995)

2.8.2 สารแคโรทีนอยด์

แคโรทีนอยด์เป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่ไม่อิ่มตัว (unsaturated hydrocarbon) จำพวก tetraterpenoids (C_{40}) ที่สามารถละลายในไขมันได้ แคโรทีนอยด์เกิดจากไลโคปีน (lycopene) ที่เป็นรงควัตถุพวกแซนโทฟิลล์ (xanthophylls) โดยไลโคปีนมีโครงสร้างทางเคมีที่ประกอบด้วยสายโซ่ไอโซพรีน (isoprene) 8 หน่วย เชื่อมต่อกันแบบหัวต่อกับหาง (head to tail) ซึ่งเป็นพันธะคอนจูเกตที่สมบูรณ์โดยพันธะนี้ทำให้สารประกอบเกิดสีได้ จากนั้นส่วนปลายของโมเลกุลไลโคปีนจะเกิดปฏิกิริยาไซโคลเซชัน (cyclization) กลายเป็นวงแหวน (ring structure) ถ้าเกิดวงแหวน 1 วง ที่ปลายด้านใดด้านหนึ่งของโมเลกุลไลโคปีน จะให้แกรมนาแคโรทีน แต่ถ้าเกิดวงแหวน 2 วง ที่ปลายโมเลกุลทั้ง 2 ด้านจะให้เบต้าแคโรทีน โดยแกรมนาและเบต้าแคโรทีนจะต่างกันที่ตำแหน่งของพันธะคู่ในสายโซ่ ดังแสดงภาพที่ 13 (Britton และ Young, 1995) สารแคโรทีนอยด์สามารถพบได้ทั่วไปในผักและผลไม้ที่มีสีส้ม แดง และเหลือง สารชนิดนี้มีความจำเป็นอย่างมากโดยเฉพาะเบต้าแคโรทีนซึ่งจะเกิดการสลายตัวต่อไปเป็นวิตามิน เอ และวิตามิน เอ นี้จัดเป็นสารพวกไอโซพรีนอยด์แอลกอฮอล์ (isoprenoid alcohol) (C_{20}) ในพืชสารแคโรทีนอยด์จะมีหน้าที่เป็นรงควัตถุที่ใช้ในการสังเคราะห์แสงและเป็นสารที่ให้สีในดอกไม้และผลไม้ส่วนใหญ่ แคโรทีนอยด์ในดอกไม้จะให้สีเหลือง เช่น ดอกแพนซี (pansy) และดอกดาวเรือง แต่ถ้าอยู่ในผลไม้มักจะให้สีส้มหรือแดง เช่น มะเขือเทศและพริก ปัจจุบันมีแคโรทีนอยด์มากกว่า 600 ชนิด



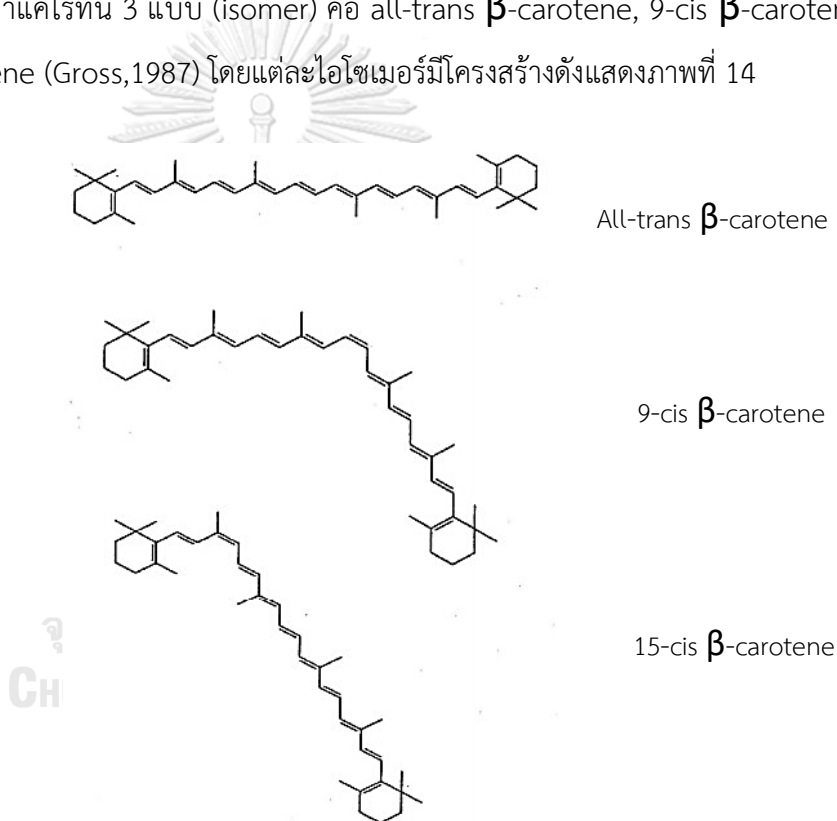
ภาพที่ 13 ตัวอย่างโครงสร้างของสารกลุ่มแคโรทีนอยด์

ที่มา : Britton และ Young (1995)

สารแคโรทีนอยด์ สามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มย่อย คือ กลุ่มแซนโทฟิลล์และแคโรทีน กลุ่มแซนโทฟิลล์ มีสีเหลืองหรือส้ม-เหลืองเป็นสายยาวของไฮโดรคาร์บอนที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบ ซึ่งแซนโทฟิลล์มีหลายชนิดขึ้นอยู่กับระดับการสูญเสียหรือให้อิเล็กตรอนของโมเลกุลเพื่อสร้างความเสถียรให้กับโมเลกุล สารสำคัญในกลุ่มนี้ เช่น ลูทีนและซีแซนทีน เป็นต้น มีประโยชน์ต่อการบำรุงสายตาและช่วยปกป้องจากแสงแดด กลุ่มแคโรทีนเป็นรงควัตถุที่มีสีส้มหรือส้ม-แดงเป็นสายยาวของไฮโดรคาร์บอนมีส่วนช่วยให้พืชเจริญเติบโต สารสำคัญในกลุ่มนี้ เช่น เบต้าแคโรทีนและไลโคปีน

(Anthony, 2018) ในผลอินทผลัมมีสารแคโรทีนอยด์ที่จัดอยู่ในกลุ่มของแคโรทีน คือ เบต้าแคโรทีน และไลโคปีน (Maqsood และคณะ, 2020)

เบต้าแคโรทีนสามารถละลายได้ในน้ำมันและสารละลายอินทรีย์ เช่น อะซิโตน (acetone) แอลกอฮอล์ (alcohol) เบนซีน (benzene) คลอโรฟอร์ม (chloroform) ไดเอทิลอีเทอร์ (diethyl ether) และปิโตรเลียมอีเทอร์ (petroleum ether) สารเบต้าแคโรทีนเป็นสารประกอบประเภทไฮโดรคาร์บอนไม่อิ่มตัว (unsaturated hydrocarbon) ที่ประกอบด้วยสายโซ่คาร์บอน 40 อะตอม มีพันธะคู่ 11 แห่ง สูตรโมเลกุลคือ $C_{40}H_{56}$ เบต้าแคโรทีนบริสุทธิ์จะมีลักษณะเป็นผลึกสีแดงหรือม่วงในธรรมชาติพบผลึกเบต้าแคโรทีน 3 แบบ (isomer) คือ all-trans β -carotene, 9-cis β -carotene และ 15-cis β -carotene (Gross, 1987) โดยแต่ละไอโซเมอร์มีโครงสร้างดังแสดงภาพที่ 14



ภาพที่ 14 โครงสร้างไอโซเมอร์ของเบต้าแคโรทีน
ที่มา : Gross (1987)

เบต้าแคโรทีนที่เกิดในผักหรือผลไม้ตามธรรมชาติมักอยู่ในรูปของทรานซ์ (trans) และ ซิส (cis) ผสมกันแต่ในพืชผักผลไม้กระป๋องจะมีเบต้าแคโรทีนแบบซิสมากกว่า เนื่องจากกระบวนการผลิตอาหารสำเร็จรูปมีการให้ความร้อนทำให้เบต้าแคโรทีนแบบทรานซ์เปลี่ยนเป็นแบบซิส นอกจากความ

ร้อน แสง กรด และตัวทำละลายก็สามารถทำให้เบต้าแคโรทีนแบบทรานซ์เปลี่ยนเป็นแบบซิสได้เช่นกัน (อรชุน, 2536) ในการแปรรูปอาหารส่งผลต่อปริมาณสารแคโรทีนอยด์โดยอาหารที่แคโรทีนอยด์ถูกทำลายทำให้คุณค่าทางโภชนาการของวิตามินเอลดลงด้วย เช่น การทำแห้งจะทำลายสารแคโรทีนอยด์ เนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน ทำให้สีของอาหารซีดลง การให้ความร้อนในสภาวะที่เป็นกรดจะทำให้เปลี่ยนสารแคโรทีนอยด์จากทรานซ์เป็นซิสไอโซเมอร์โดยปฏิกิริยาไอโซเมอไรเซชันของสารแคโรทีนอยด์ทำให้เนื้อผลไม้ซีดจางลง (ปรรัตน์, 2559)

2.9 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสามารถวิเคราะห์ได้จากความสามารถในการเป็นตัวยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของโมเลกุลหรือไอออนที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณเป็นการวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างประเภทต่าง ๆ วิธีที่นิยม เช่น การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH assay) และการวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระ (FRAP assay) ซึ่งวิธีการดังกล่าวข้างต้นจะมีการสร้างอนุมูลอิสระที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนและวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งหรือกำจัดอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างที่สนใจโดยวัดปริมาณอนุมูลอิสระที่ลดลงหรือที่ปริมาณที่เหลือจากการดูดกลืนแสง

2.9.1 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

เป็นวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ซึ่งใช้สารอนุมูลอิสระมาตรฐาน คือ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (ดังแสดงภาพที่ 15) เป็นวิธีที่สะดวกรวดเร็วต่อการวิเคราะห์ที่ให้ความถูกต้องและแม่นยำสูง DPPH คือ อนุมูลอิสระที่มีความเสถียร (stable free radical) เป็นสารที่นิยมนำไปใช้เป็นตัวชี้วัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารที่สนใจใช้หลักการของ DPPH[•] ในรูปของอนุมูลอิสระที่อยู่ในสารละลายจะมีสีม่วงเข้มและดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร การสูญเสียอิเล็กตรอนอิสระให้กับโมเลกุลอื่นโดยมีตัวรับอิเล็กตรอนคือสารต้านอนุมูลอิสระหรือสารสกัดจากผักผลไม้จะเกิดการเปลี่ยนแปลงไปอยู่ในรูปออกซิไดซ์หรือรับอิเล็กตรอนซึ่งการลดลงของอนุมูลอิสระดังกล่าวจะสังเกตได้จากการจางลงของสีม่วงในสารละลาย สามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงที่ความยาวคลื่นที่ 515 นาโนเมตร เป็นตัวชี้วัดของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น หรือก็คือการลดลงของ DPPH ที่มีผลมาจากสารต้านอนุมูลอิสระ (Lebeau และคณะ, 2000) ดังสมการที่ 5



สีม่วง ตัวอย่างทดสอบ สีเหลือง

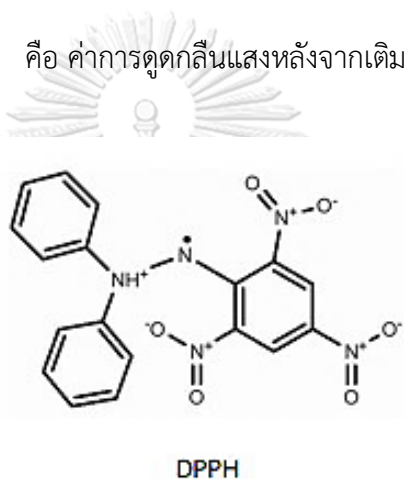
โดย DPPH[•] คือ สารอนุมูลอิสระ

AH คือ สารต้านอนุมูลอิสระ

$$\text{DPPH radical scavenging (\%)} = [(A_0 - A_s) / A_0] \times 100$$

โดย A₀ คือ ค่าการดูดกลืนแสงตั้งต้น

A_s คือ ค่าการดูดกลืนแสงหลังจากเติมสารตัวอย่าง



ภาพที่ 15 สารอนุมูลอิสระมาตรฐาน 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

ที่มา : Lebeau และคณะ (2000)

CHULALONGKORN UNIVERSITY

2.9.2 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP)

หลักการของวิธีนี้จะวัดความสามารถในการให้อิเล็กตรอนของสารต้านอนุมูลอิสระ (คุณสมบัติเป็น reductant) จะใช้หลักการที่แตกต่างจากวิธีการที่กล่าวไปแล้วข้างต้น โดยในสารละลาย FRAP ประกอบด้วย Fe³⁺ และ 2,4,6-tri (2-pyridyl)-1,3,5-triazine (TPTZ) ในสถานะที่เป็นกรด โดย Fe³⁺ ใน FRAP reagent จะรับอิเล็กตรอนจากสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐานหรือในสารสกัดจากสมุนไพรแล้วเปลี่ยนเป็น Fe²⁺ จากนั้นเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับ TPTZ เปลี่ยนเป็นสารประกอบเชิงซ้อนดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร การวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีนี้จะวัดจากการเพิ่มขึ้นของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง Fe²⁺ และ TPTZ

โดยค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่เพิ่มขึ้นที่ความยาวคลื่นดังกล่าวนี้จะใช้เป็นตัวชี้วัดปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น (Sopittummakhun และ Rattanasinganchan, 2017)

2.10 การแปรรูปอาหารด้วยความร้อน

กระบวนการแปรรูปอาหารมีวัตถุประสงค์เพื่อเก็บรักษาอาหารไว้ได้นานหรือเรียกว่าเป็นการถนอมอาหาร โดยที่คุณภาพของอาหารไม่เปลี่ยนแปลงหรือเปลี่ยนแปลงน้อยที่สุด การแปรรูปอาหารด้วยความร้อนเป็นวิธีที่นิยมใช้มากที่สุด เนื่องจากความร้อนมีประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์และสปอร์ของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับวัตถุดิบและช่วยทำลายเอนไซม์ที่พบในผักและผลไม้ได้ (Lewis และ Heppell, 2000)

ปัจจัยที่ต้องควบคุมในกระบวนการแปรรูปและการเก็บรักษา

ในระหว่างกระบวนการแปรรูปและการเก็บรักษาจะต้องควบคุมปัจจัยต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดปฏิกิริยาเคมีและการเพิ่มจำนวนของเชื้อจุลินทรีย์ดังต่อไปนี้

อุณหภูมิ เป็นปัจจัยที่สำคัญที่สุดเนื่องจากอุณหภูมิมีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมี การทำงานของเอนไซม์และการเพิ่มจำนวนของเชื้อจุลินทรีย์ การแปรรูปอาหารไม่ว่าจะเป็นการแช่เย็น การแช่แข็ง การฆ่าเชื้อด้วยความร้อน ล้วนแต่เป็นการแปรรูปที่เกี่ยวกับอุณหภูมิ เนื่องจากอัตราการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิในระหว่างกระบวนการแปรรูปหรือการเก็บรักษาจะมีความสัมพันธ์กับอัตราเร็วของการเกิดปฏิกิริยาเคมีและอัตราเร็วในการทำลายจุลินทรีย์ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและการเจริญของจุลินทรีย์ อุณหภูมิต่ำไม่สามารถทำลายจุลินทรีย์เพียงแต่ยับยั้งการเจริญ ถ้าอาหารแช่เย็นหรือแช่แข็งมีอุณหภูมิสูงขึ้น จุลินทรีย์สามารถเจริญได้ทำให้อาหารเน่าเสียหรือเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค โดยอุณหภูมิที่สูงกว่า 60 องศาเซลเซียส สามารถทำลายจุลินทรีย์ที่ไม่สร้างสปอร์ได้

ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ในอาหาร มีอิทธิพลต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมีและการทำงานของเอนไซม์ตลอดจนการเจริญของจุลินทรีย์ การเปลี่ยนแปลงของความเป็นกรด-ด่างอาจจะเร่งหรือทำให้เกิดปฏิกิริยาเคมีในอาหารข้างลง โดยทั่วไปแบ่งอาหารออกเป็นสองกลุ่มใหญ่ คือ อาหารที่มีความเป็นกรด (acid foods) ซึ่งมีความเป็นกรดต่ำกว่า 4.6 และมีค่า a_w มากกว่า 0.85 เช่น ผักและผลไม้ที่มีรสเปรี้ยว อาหารดอง เป็นต้น และอาหารที่มีความเป็นกรดต่ำ (low acid foods) ซึ่งมีความเป็นกรดสูงกว่า 4.6 อาหารกลุ่มนี้เป็นสถานะที่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ โดยเฉพาะ

จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรครวมทั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดอาหารเน่าเสียจึงมีความเสี่ยงที่จะเน่าเสียได้ง่าย และมีโอกาสที่จะเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคได้มาก หากไม่ได้ผ่านกระบวนการถนอมอาหารที่ถูกต้อง เช่น เนื้อ นม ไข่ ผักบางประเภท เช่น เห็ด หน่อไม้ เป็นต้น

ปริมาณน้ำอิสระ (water activity, a_w) จะมีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาต่าง ๆ เช่น การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน การเกิดสีน้ำตาลในอาหาร การเปลี่ยนสีเขียวของคลอโรฟิลล์และสีม่วงแดงของแอนโทไซยานินในผักและผลไม้รวมไปถึงชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญในอาหารนั้น ๆ และการลดปริมาณน้ำอิสระจะช่วยยืดอายุการเก็บของอาหารได้

ส่วนประกอบของแก๊สในบรรยากาศระหว่างการเก็บรักษา โดยเฉพาะอย่างยิ่งปริมาณของออกซิเจนซึ่งจะมีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาการเติมออกซิเจนต่าง ๆ จึงควรเลือกใช้บรรจุภัณฑ์หรือปรับบรรยากาศที่เหมาะสม เช่น อาหารที่มีไขมันสูงไม่ควรมีออกซิเจนเข้าไปสัมผัสกับอาหาร

2.10.1 การพาสเจอร์ไรซ์ (Pasteurization)

การพาสเจอร์ไรซ์เป็นการใช้ความร้อนที่อุณหภูมิต่ำกว่า 100 องศาเซลเซียส โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อทำลายจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุการเสื่อมเสียในอาหาร จุลินทรีย์ที่ถูกทำลายเป็นพวกเซลล์จุลินทรีย์เท่านั้น โดยจุลินทรีย์ที่หลงเหลือจะอยู่ในสภาพที่อ่อนแอการทำลายจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค (pathogens) เช่น ไทฟอยด์ อหิวา คอตีบ วัณโรค ท้องร่วง เป็นต้น นอกจากนี้ความร้อนยังทำลายเอนไซม์ที่เป็นสาเหตุให้อาหารเกิดลักษณะที่ไม่พึงประสงค์ การพาสเจอร์ไรซ์เป็นวิธีการถนอมอาหาร เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาและทำให้อาหารปลอดภัยต่อการบริโภค จุลินทรีย์ที่อาจจะมีชีวิตรอดจากการทำลายด้วยการพาสเจอร์ไรซ์ คือ จุลินทรีย์ที่ทนความร้อน (thermoduric microorganism) และจุลินทรีย์ที่เจริญที่อุณหภูมิสูง (thermophilic microorganism) จึงต้องเก็บรักษาอาหารที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์แล้วไว้ที่อุณหภูมิต่ำหรือหากต้องการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ต้องใช้วิธีการถนอมอาหารอื่นร่วมด้วย เช่น การลดวอเตอร์แอกทิวิตี (water activity, a_w) การใช้น้ำตาลหรือเกลือ ในปริมาณมาก การปรับกรด การใช้สารกันเสีย เป็นต้น (Srichayet, 2019)

ระดับของอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการพาสเจอร์ไรซ์ แบ่งเป็น 2 ระดับ คือ

1. Low Temperature Long Time (LTLT) เป็นการใช้ความร้อนอุณหภูมิต่ำเป็นเวลานาน เช่น ที่อุณหภูมิ 60-65 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที

2. High Temperature Short Time (HTST) เป็นการใช้ความร้อนอุณหภูมิสูงเป็นเวลาดสั้น เช่น ที่อุณหภูมิ 72-75 องศาเซลเซียส นาน 15-20 วินาที

โดยทั่วไปการยืดอายุการเก็บหรือการแปรรูปอาหารมักจะทำการควบคุมปัจจัยที่ได้กล่าวมาข้างต้นโดยใช้วิธีการผสมผสานหลักการแปรรูปต่าง ๆ เข้าด้วยกัน เช่น หากอาหารมีความเป็นกรด-ด่างสูงกว่า 4.6 จะต้องใช้อุณหภูมิสำหรับฆ่าเชื้อในการทำอาหารกระป๋องสูงกว่า 100 องศาเซลเซียส เพื่อยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคและยับยั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย แต่ถ้าอาหารมีความเป็นกรด-ด่างต่ำกว่า 4.6 จะใช้อุณหภูมิในการฆ่าเชื้อต่ำกว่าหรือเท่ากับ 100 องศาเซลเซียสได้ เช่น สับปะรดกระป๋องจะใช้อุณหภูมิในการฆ่าเชื้อประมาณ 85-90 องศาเซลเซียส เพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ดังแสดงตารางที่ 1 (Tucker และ Featherstone, 2010)

ตารางที่ 1 วัตถุประสงค์ของกระบวนการพาสเจอร์ไรซ์

ประเภทของกระบวนการ	ผลิตภัณฑ์อาหาร	วัตถุประสงค์ของกระบวนการ
กระบวนการพาสเจอร์ไรซ์	อาหารเป็นกรด	ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์
	อาหารปรับกรด	ยับยั้งแบคทีเรีย ยีสต์ และรา
	อาหารกรดต่ำ	ยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค ยับยั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย

ที่มา : ดัดแปลงมาจาก Tucker และ Featherstone (2010)

2.11 บรรจุกัณท์

บรรจุกัณท์ทำหน้าที่ปกป้องผลิตภัณฑ์ที่บรรจุภายในขณะลดการเสื่อมเสียคุณภาพ ซึ่งอาจเกิดจากการเจริญของจุลินทรีย์ ทำให้ผลิตภัณฑ์เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณภาพด้านความปลอดภัยหรือการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางประสาทสัมผัสรวมถึงเกิดการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบทางเคมีและการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ เช่น การบอบช้ำจากการกระแทกระหว่างการขนส่งหรือการเปลี่ยนแปลงทางประสาทสัมผัส เช่น สี กลิ่นรส หรือเนื้อสัมผัสที่ผู้บริโภคไม่ยอมรับ การเลือกใช้บรรจุกัณท์ที่เหมาะสมทำให้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพเหมือนเพิ่งผลิตมาใหม่และช่วยยืดอายุการเก็บรักษาให้นานขึ้น ทำให้จำหน่ายผลิตภัณฑ์ไปได้ไกลขึ้น ช่วยลดต้นทุนการผลิต อีกทั้งยังช่วยเพิ่มมูลค่าและเป็นสื่อนำเสนอข้อมูลผลิตภัณฑ์สร้างความดึงดูดใจต่อผู้บริโภค การเลือกบรรจุกัณท์ที่เหมาะสม นอกจากจะช่วยยืดอายุการเก็บรักษาแล้วยังช่วยลดต้นทุนการใช้บรรจุกัณท์ได้ (ระพีพรรณ, 2563)

บรรจุภัณฑ์มีหน้าที่หลัก 4 ข้อ ได้แก่

1. การบรรจุ (containment) บรรจุภัณฑ์ที่ดีเมื่อบรรจุสินค้าแล้วช่วยไม่ให้สินค้าหก สูญหาย เสียหาย หรือปนเปื้อนที่เป็นผลจากสภาพแวดล้อม
2. การป้องกัน (protection) ได้แก่ การปกป้องหรือป้องกันสินค้าจากน้ำ ไอน้ำ แก๊ส ฝุ่น จุลินทรีย์ และแรงกระทำต่าง ๆ จากภายนอก เช่น แรงกด แรงกระแทก แรงสั่นสะเทือน เป็นต้น
3. การอำนวยความสะดวก (convenience) ได้แก่ ความสะดวกในการเตรียม การปรุงอาหาร การอุ่นอาหาร ขนาดในการรับประทานและขนาดการใช้งาน การจับถือ และการรวมกลุ่มเพื่อบรรจุในบรรจุภัณฑ์ชั้นที่ 2 และ 3 เป็นต้น
4. การสื่อสาร (communication) บรรจุภัณฑ์ทำหน้าที่เป็นนักขายเงียบ (silent salesman) โดยการสื่อสารนี้ต้องคำนึงถึงแบรนด์ โลโก้ ฉลาก รูปทรงของบรรจุภัณฑ์ โดยสามารถสื่อสารข้อมูลกับผู้ซื้อได้ เช่น วิธีการใช้ ส่วนประกอบต่าง ๆ ของผลิตภัณฑ์ อายุการใช้งาน ค่าเดือน เป็นต้น (ศุภณี และ กรรณิการ์, 2557)

สภาพแวดล้อมที่มีผลกระทบต่อบรรจุภัณฑ์มี 3 แบบ ได้แก่

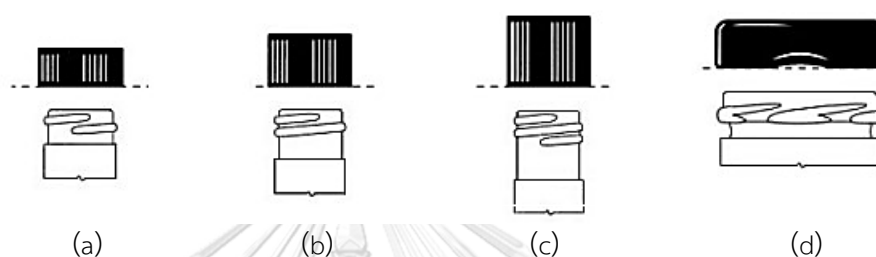
1. สภาพแวดล้อมทางกายภาพ (physical environment) เช่น ความแปรปรวนของบรรจุภัณฑ์ การออกแบบผลิตภัณฑ์
2. สภาพแวดล้อมที่อยู่รอบ ๆ บรรจุภัณฑ์ (ambient environment) เช่น แก๊ส น้ำ ไอน้ำ แสง อุณหภูมิ จุลินทรีย์ ฝุ่น สิ่งสกปรก ไอระเหย
3. สภาพแวดล้อมที่เกิดจากมนุษย์ (human environment) เช่น พฤติกรรมผู้บริโภค กฎหมาย ระเบียบ ข้อบังคับ การออกแบบบรรจุภัณฑ์

2.11.1 บรรจุภัณฑ์แก้ว

บรรจุภัณฑ์แก้วมีความใส แข็งแรง คงรูป ทนต่อความดันภายใน อุณหภูมิ และการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิฉับพลัน (30-80 องศาเซลเซียส) กันไอน้ำและแก๊สได้ดีมากและมีความเฉื่อยต่อการทำปฏิกิริยาเคมีด้วยคุณสมบัติดังกล่าวมาบรรจุภัณฑ์แก้วจึงเหมาะสำหรับการบรรจุผลิตภัณฑ์ที่เป็นกรดหรือมีเกลือเป็นส่วนประกอบในปริมาณสูง เช่น น้ำปลา น้ำผลไม้ นอกจากนั้นยังเหมาะสำหรับการบรรจุที่ต้องผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนทั้งการพาสเจอร์ไรซ์และการสเตอริไรซ์ซึ่งต้องใช้ความร้อนเพื่อทำลายเชื้อจุลินทรีย์และเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็นและด้วยคุณสมบัติในการป้องกัน

ความชื้นและแก๊สออกซิเจนได้ดีทำให้ผลิตภัณฑ์เหม็นหืนช้า ทั้งนี้ประสิทธิภาพการป้องกันการซึมผ่านขึ้นอยู่กับฝาที่ใช้ ซึ่งฝานิยามให้มี 4 ชนิด (งามทิพย์, 2550) ได้แก่

1. ฝาเกลียว (screw cap) แบบเกลียวตลอด (continuous thread closure) (ภาพที่ 16 (a, b และ c)) และแบบตามแนวปากขวด (non-continuous thread) (ภาพที่ 16 (d)) ฝานิดนี้ทำจากเหล็กเคลือบตีบุก อะลูมิเนียม หรือพลาสติก สามารถเปิดด้วยการหมุนฝาให้ครบรอบปากขวด (Pipeline Packaging, 2020)



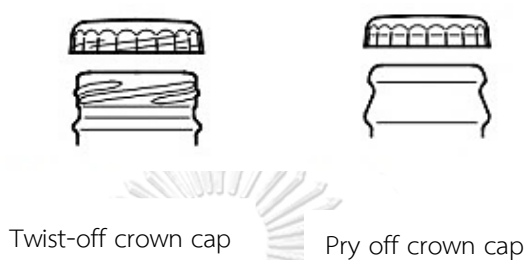
ภาพที่ 16 ฝาเกลียวแบบเกลียวตลอดและแบบแนวปากขวด

ที่มา : Pipeline Packaging (2020)

2. ฝาลัก (lug or twist cap) เป็นฝาที่มีเกลียวไม่ตลอด (interrupted thread) มีเกลียว 4-6 เกลียวและลึนเพื่อยึดกับเกลียวขวด ใต้ฝามีวัสดุยืดหยุ่น (resilient materials หรือ gasket หรือ liner) เพื่อช่วยให้ฝาและปากขวดปิดได้สนิทและป้องกันการทำปฏิกิริยากับผลิตภัณฑ์ ฝาประเภทนี้สามารถเปิดด้วยการหมุนฝา 1/4 หรือ 1/6 รอบ ของปากขวด ฝาลักประเภท Pressure-on Twist-off ต้องหมุนจนมีเสียงอากาศเข้าจึงจะสามารถเปิดฝาได้ใช้สำหรับบรรจุผลิตภัณฑ์ที่ฆ่าเชื้อด้วยเครื่องรีทอร์ตและเก็บในสภาวะสุญญากาศ

3. ฝาเกลียวรีด (roll-on cap) ทำจากอลูมิเนียม รองด้วยวัสดุยืดหยุ่นด้านใน ขึ้นรูปมาแบบผิวเรียบ แล้วใช้ลูกกลิ้งรีดฝารอบปากขวดหรือกระปุกให้สนิท รอยปُرอบฝาใช้สำหรับป้องกันการปลอมปน (tamper-evident) หรือการเปิดใช้ก่อนระยะของลูกกลิ้งรีดฝาดังกล่าวต้องพอดีกับขนาดของปากขวดหรือกระปุก เพื่อไม่ให้เกิดการรั่วซึม เครื่องรีดฝามีทั้งแบบมือจับคั่นโยกและเครื่องรีดฝแบบอัตโนมัติ

4. ฝาจีบ (crown cap) มีทั้งแบบ twist-off crown cap สำหรับใช้กับขวดแก้วที่มีเกลียวรับ และแบบ pry off crown cap ใช้กับขวดแก้วที่ไม่มีเกลียวรับ (ดังแสดงภาพที่ 17) ทำจากเหล็ก เคลือบดีบุกกรองใต้ฝาด้วยวัสดุยืดหยุ่นแบบหล่อติดฝาซึ่งอาจผสมสารดูดซับออกซิเจน เพื่อดูดซับ ปริมาณออกซิเจนบริเวณช่องว่างระหว่างเนื้อผลิตภัณฑ์ ป้องกันการเกิดจุลินทรีย์บนผิวหน้า ผลิตภัณฑ์ (O-I Australia, 2020)



ภาพที่ 17 ฝาจีบแบบ Twist-off crown cap และ Pry off crown cap
ที่มา : O-I Australia (2020)

ฝาโลหะป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำและออกซิเจนได้ดี แต่ฝาพลาสติกยังมีการซึมผ่านของไอน้ำและออกซิเจนเข้ามาในบรรจุภัณฑ์ได้ ดังนั้นวัสดุรองรับใต้ฝาหรือขอบยางด้านข้างสามารถช่วยลดช่องว่างระหว่างฝาและแก้วทำให้บรรจุภัณฑ์ปิดสนิทมีการซึมผ่านที่ลดลง ส่วนฝาโลหะบางชนิดสามารถปิดได้สนิท ส่งผลให้สภาวะภายในบรรจุภัณฑ์จึงเป็นสุญญากาศ (vacuum-type closures)

บทที่ 3

วิธีการทดลอง

วัตถุดิบ

ผลอินทผลัมสด สายพันธุ์บาฮี ระยะผลสุก (rutab stage) (กาญจนบุรี, ประเทศไทย)

มะตูมแห้ง (ตลาดเก่าเยาวราช, กรุงเทพมหานคร, ประเทศไทย)

พุทราแห้ง (ตลาดเก่าเยาวราช, กรุงเทพมหานคร, ประเทศไทย)

สารเคมี

2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Sigma Aldrich, USA)

6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid (trolox) (Sigma Aldrich, USA)

Acetone (RCI Labscan, A.R. Grade, Thailand)

Beta-Carotene (Sigma Aldrich, USA)

Citric acid (C₆H₈O₇) (Union chemical 1986, food grade, Thailand)

Folin-ciocalteu reagent (Loba Chemie, India)

Ferric chloride (POCH S.A., Poland)

Gallic acid (Sigma Aldrich, USA)

Glacial acetic acid (QReC, A.R. grade, New Zealand)

Hydrochloric acid (HCl) (Kemaus, Australia)

Methanol (CH₃OH) (Giant Leo Intertrade, Thailand)

Pectinase (*Aspergillus niger*, EC 3.2.1.15, 60000 IU/mL) (iKnowZyme®, Reach biotechnology, Thailand) (ภาคผนวก ฉ.)

Phenolphthalein (C₂₀H₁₄O₄) (Ajax Finechem, A.R. grade, New Zealand)

Potassium hydrogen phthalate (KHC₈H₄O₄) (Kemaus, Australia)

Sodium acetate trihydrate (CH₃COONa) (Ajax Finechem, A.R. grade, New Zealand)

Sodium carbonate anhydrous (Na₂CO₃) (Kemaus, Australia)

Sodium chloride (NaCl) (Loba Chemie, A.R. grade, India)

Sodium hydroxide (NaOH) (QReC, A.R. grade, New Zealand)

Tartaric acid (QReC, New Zealand)

Tripyridyltriazine (TPTZ) (Sigma Aldrich, USA)

อาหารเลี้ยงเชื้อ

EC broth (Hi-media, India)

Eosin Methylene Blue (EMB) Agar (Hi-media, India)

Lauryl Tryptose Broth (Hi-media, India)

Plate Count Agar (Hi-media, India)

Potato Dextrose Agar (Hi-media, India)

เครื่องมือและอุปกรณ์

กระดาษกรอง เบอร์ 4 (Whatman, Maidstone, UK)

เครื่อง Autoclave (Tomy, รุ่น SX700, Japan)

เครื่อง Centrifuge (Kubota, รุ่น 6000, Japan)

เครื่อง Chroma meter (Monica Minolta รุ่น CR-400, Japan)

เครื่อง Digital refractometer 0-85 °Brix (Hanna, รุ่น HI96801, Thailand)

เครื่อง Laboratory blender (Waring Commercial, รุ่น 8010BU, USA)

เครื่อง pH meter (Mettler toledo, Switzerland)

เครื่อง UV-visible spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific, รุ่น GENESYSTEM 20 Visible, USA)

เครื่อง Vortex mixer (CTL, รุ่น CTL-107, Japan)

เครื่อง Water bath (Mettler, รุ่น WNB 22, Germany)

เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Mettler toledo, รุ่น NewClassic, Switzerland)

เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Mettler toledo, รุ่น MS304S, Switzerland)

จานเลี้ยงเชื้อพลาสติก ขนาด 94x16 มม. (Greiner, Germany)

ตู้ Incubator (Heraeus, รุ่น B5042, Germany)

Thermometer (Ebro รุ่น TFX410, Germany)

การเตรียมวัตถุดิบอินทผลัม

ตัวอย่างผลอินทผลัมสดสายพันธุ์บาฮี ระยะผลสุกอายุ 26-28 สัปดาห์ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 30-35 °Brix ได้จากจังหวัดกาญจนบุรี บรรจุในถุงอลูมิเนียมพอยล์ลามิเนตภายใต้ภาวะสุญญากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ -20 องศาเซลเซียส ก่อนการทดลองขั้นต่อไป นำตัวอย่างออกมาคลายความเย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นล้างให้สะอาดก่อนนำมาทำการทดลอง

ขั้นตอนและวิธีดำเนินการวิจัย

3.1 การศึกษาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดน้ำอินทผลัมที่สกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเอสช่วย

ซึ่งผลอินทผลัมสด 25 กรัม จากนั้นแกะเอาเมล็ดออกและหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ ปั่นผสมเนื้ออินทผลัมและน้ำดื่มปริมาตร 75 มิลลิลิตร (สัดส่วนอินทผลัม:น้ำ เท่ากับ 1:3 w/v) ด้วยเครื่อง laboratory blender (Waring Commercial, รุ่น 8010BU, USA) ให้ละเอียด ในขั้นตอนนี้จะศึกษาวิธีสกัดโดยใช้เอนไซม์เพคตินเอส ปัจจัยในการศึกษามี 3 ปัจจัย ได้แก่ ปริมาณเอนไซม์เพคตินเอส (0% (ตัวอย่างควบคุม) และ 0.1% v/v) อุณหภูมิในการบ่ม (50 60 70 และ 80 องศาเซลเซียส) และระยะเวลาในการบ่ม (60 120 180 และ 240 นาที) ก่อนเติมเอนไซม์ทำการปรับ pH 4 ด้วยกรดซิตริก 0.1% w/v จากนั้นเติมเอนไซม์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิตามที่ระบุไว้ในแต่ละสิ่งทดลอง (ดังแสดงตารางที่ 2) จากนั้นหยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์ โดยแช่ในน้ำอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที และทำให้เย็น (อุณหภูมิประมาณ 37-40 องศาเซลเซียส) จากนั้นทำการปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge (Kubota, รุ่น 6000, Japan) ความเร็วรอบ 2900 rpm เป็นเวลา 10 นาที และกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4

ตารางที่ 2 วิธีสกัดแต่ละสิ่งทดลอง (treatment)

ลำดับที่	ความเข้มข้นของเอนไซม์ (%)	อุณหภูมิในการบ่ม (องศาเซลเซียส)	เวลาในการบ่ม (นาที)
1	0	50	60
2	0	50	60
3	0	50	60
4	0	50	60
5	0	60	120
6	0	60	120
7	0	60	120
8	0	60	120
9	0	70	180

10	0	70	180
11	0	70	180
12	0	70	180
13	0	80	240
14	0	80	240
15	0	80	240
16	0	80	240
17	0.1	50	60
18	0.1	50	60
19	0.1	50	60
20	0.1	50	60
21	0.1	60	120
22	0.1	60	120
23	0.1	60	120
24	0.1	60	120
25	0.1	70	180
26	0.1	70	180
27	0.1	70	180
28	0.1	70	240
29	0.1	80	240
30	0.1	80	240
31	0.1	80	240
32	0.1	80	240

จากนั้นวิเคราะห์สมบัติทางเคมีและกายภาพของตัวอย่างต่าง ๆ ดังนี้

- 3.1.1 ร้อยละผลได้ (%yield) (ภาคผนวก ก.1)
- 3.1.2 ค่า L^* , a^* , b และ ΔE^* (ภาคผนวก ก.2 และ ก.3)
- 3.1.3 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (total soluble solid; °Brix) (ภาคผนวก ข.1)
- 3.1.4 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) (ภาคผนวก ข.2)
- 3.1.5 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดย Folin-Ciocalteu ดัดแปลงตามวิธีของ Parsaei และคณะ, (2013) (ภาคผนวก ข.4)
- 3.1.6 ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดด้วยวิธี Spectrophotometric method (pure solvent; acetone) ดัดแปลงตามวิธีของ Biswas และคณะ, (2011) (ภาคผนวก ข.5)
- 3.1.7 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ดัดแปลงจากวิธีของ Brand-Williams และคณะ, (1995) (ภาคผนวก ข.6)
- 3.1.8 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ferric reducing antioxidant power (FRAP) ดัดแปลงจากวิธีของ Benzie และ Strain, (1996) (ภาคผนวก ข.7)

เลือกภาวะที่เหมาะสมที่สุด 1 ภาวะ จากการทดลองในขั้นตอนนี้ โดยพิจารณาจากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณสารแคโรทีนอยด์ที่มีมากที่สุด เพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

3.2 การพัฒนาสูตรเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดและวิเคราะห์สมบัติทางเคมีกายภาพ และทดสอบการยอมรับจากผู้บริโภคของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัด

ซึ่งมะตูมแห้ง 10 กรัม ตวงน้ำดื่มปริมาตร 100 มิลลิลิตร (สัดส่วนมะตูมแห้ง:น้ำ เท่ากับ 1:10 w/v) และซังพุทราแห้ง 10 กรัม ตวงน้ำดื่มปริมาตร 100 มิลลิลิตร (สัดส่วนพุทราแห้ง:น้ำ เท่ากับ 1:10 w/v) จากนั้นต้มแต่ละตัวอย่างที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นกรองกากทิ้ง เมื่อได้น้ำมะตูมและพุทราแล้วจึงใช้ในการพัฒนาสูตรเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัด โดยแปรสัดส่วนที่เหมาะสมของน้ำอินทผลัมสกัดความเข้มข้น 33.33% w/v น้ำมะตูมความเข้มข้น

10% w/v และน้ำพุทราความเข้มข้น 10% w/v โดยใช้แผนการทดลองแบบผสม (mixture design) (ภาคผนวก จ.) เพื่อให้ได้สูตรที่ผู้บริโภคยอมรับ ดังแสดงตารางที่ 3

ตารางที่ 3 สัดส่วนของน้ำอินทผลัมสกัด น้ำมะตูม และน้ำพุทราสำหรับสูตรเครื่องดื่มต่าง ๆ

สูตรที่	น้ำอินทผลัมสกัด (% v/v)	น้ำมะตูม (% v/v)	น้ำพุทรา (% v/v)
1	70	15	15
2	60	25	15
3	60	15	25
4	50	25	25
5	60	20	20
6 (ตัวอย่างควบคุม)	100	0	0

จากนั้นวิเคราะห์สมบัติทางเคมี ภายนอก และทดสอบการยอมรับจากผู้บริโภค ดังนี้

3.2.1 สมบัติทางเคมี และกายภาพต่าง ๆ ตามข้อที่ 3.1

3.2.2 ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดซิตริก (%กรดซิตริก) (AOAC, 2000) (ภาคผนวก ข.3)

3.2.3 ทดสอบการยอมรับจากผู้บริโภค (consumer test) (ภาคผนวก ง.)

ให้ผู้ทดสอบชิมเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัด 6 ตัวอย่าง (6 สูตร) และให้คะแนนความชอบ (rating test) 1-9 คะแนน ในแต่ละคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์ตามความรู้สึกของผู้ทดสอบมากที่สุด ทดสอบจากผู้บริโภคจำนวน 30 คน ในการยอมรับด้านรสชาติ กลิ่น สี และความชอบโดยรวมและกำหนดระดับคะแนน ดังนี้

คะแนน 1	เท่ากับ	ไม่ชอบมากที่สุด
คะแนน 2	เท่ากับ	ไม่ชอบมาก
คะแนน 3	เท่ากับ	ไม่ชอบปานกลาง
คะแนน 4	เท่ากับ	ไม่ชอบเล็กน้อย
คะแนน 5	เท่ากับ	เฉย

คะแนน 6	เท่ากับ	ชอบเล็กน้อย
คะแนน 7	เท่ากับ	ชอบปานกลาง
คะแนน 8	เท่ากับ	ชอบมาก
คะแนน 9	เท่ากับ	ชอบมากที่สุด

เลือกสูตรที่ผู้บริโภคยอมรับมากที่สุดจากการทดลองในขั้นตอนนี้ โดยพิจารณาจากคะแนนความชอบโดยรวมที่มากที่สุด เพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

3.3 การศึกษาภาวะที่เหมาะสมต่อการแปรรูปด้วยความร้อนและบรรจุภัณฑ์ต่อสมบัติทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ของเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

หาภาวะที่เหมาะสมในการพาสเจอร์ไรซ์ โดยแปรปัจจัยที่ศึกษาเป็น 3 ปัจจัย ได้แก่ อุณหภูมิสูงเวลาสั้น (HTST) (อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เวลา 20 วินาที) อุณหภูมิต่ำเวลานาน (LTLT) (อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียส เวลา 30 นาที) (ดัดแปลงจาก Sanchez และคณะ, 2020) และไม่ผ่านการแปรรูปด้วยความร้อน (ตัวอย่างควบคุม) จากนั้นบรรจุผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มพร้อมดื่มจากอินทผลัมสกัดลงในบรรจุภัณฑ์ขวด 2 ชนิด คือขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชา จากนั้นเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และติดตามการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ ทุก ๆ 1 สัปดาห์

วิเคราะห์สมบัติทางเคมี กายภาพ และจุลินทรีย์ ดังนี้

- 3.3.1 สมบัติทางเคมี และกายภาพต่าง ๆ ตามข้อที่ 3.2
- 3.3.2 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (AOAC, 2000) (ภาคผนวก ค.1)
- 3.3.3 ปริมาณยีสต์และรา (AOAC, 2000) (ภาคผนวก ค.2)
- 3.3.4 ปริมาณ *Escherichia coli* และ coliforms ตามวิธีการของ BAM (2001) (ภาคผนวก ค.3)

3.4 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ออกแบบการทดลองแบบ 2x4x4 factorial in completely randomized design (CRD) สำหรับการทดลองข้อ 3.1 และออกแบบการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) สำหรับการทดลองข้อ 3.2 และ 3.3 ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance, ANOVA) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 22 (statistical package for social sciences) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Tukey's (HSD) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ



บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การศึกษาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดน้ำอินทผลัมที่สกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วย

4.1.1 ค่าร้อยละผลได้ของน้ำอินทผลัมสกัด

ผลการทดลองการศึกษาค่าร้อยละผลได้ของน้ำอินทผลัมสกัดด้วยวิธีการสกัดแบบใช้เอนไซม์เพคตินเนสช่วย ดังแสดงตารางที่ 4 ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ของอุณหภูมิในการบ่มสกัดและเวลาต่อค่าร้อยละของน้ำอินทผลัมที่สกัดตัวอย่างควบคุมและน้ำอินทผลัมที่สกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วย พบว่าปัจจัยด้านเอนไซม์ อุณหภูมิ และเวลาที่มีอิทธิพลต่อร้อยละผลได้ โดยค่าร้อยละผลได้ของน้ำอินทผลัมสกัดตัวอย่างควบคุมมีค่าอยู่ในช่วง 54.60 ± 2.15 ถึง 70.14 ± 4.91 และค่าร้อยละผลได้ของน้ำอินทผลัมที่สกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วยมีค่าอยู่ในช่วง 63.22 ± 3.54 ถึง 81.25 ± 1.70 ภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดน้ำอินทผลัมคือภาวะที่สกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วยที่อุณหภูมิในการบ่มสกัด 60 องศาเซลเซียส เวลา 240 นาที ซึ่งได้ค่าร้อยละผลได้มากที่สุด (81.25%) และพบว่าตัวอย่างควบคุมมีค่าร้อยละผลได้น้อยกว่าตัวอย่างน้ำอินทผลัมที่สกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วย Bourvellec และคณะ (2005) อธิบายว่าค่าเพิ่มขึ้นของผลได้ของตัวอย่างที่สกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วยเป็นผลเนื่องจากเอนไซม์เพคตินเนสสามารถทำลายเพคตินในส่วนของผนังเซลล์ชั้นแรกและผนังเชื่อมยึดระหว่างเซลล์ ทำให้ของเหลวที่อยู่ภายในเซลล์ออกมาสู่ภายนอก ซึ่งของเหลวนี้เป็นสารสำคัญที่สะสมอยู่ในส่วนของเนื้อผลไม้ จึงส่งผลต่อผลได้ที่มากขึ้นและปริมาณสารสำคัญที่ได้จากการสกัดมากขึ้นเช่นกัน

เมื่อเพิ่มอุณหภูมิและเวลาในการบ่มสกัดตัวอย่างน้ำอินทผลัมด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วยจาก 50 องศาเซลเซียส เวลา 60 นาที เป็น 60 องศาเซลเซียส เวลา 240 นาที พบว่าร้อยละของผลได้เพิ่มขึ้นจาก 65.94% เป็น 81.25% ตามลำดับ แสดงว่าปัจจัยด้านอุณหภูมิและเวลาในการบ่มส่งผลให้ค่าร้อยละผลได้ของน้ำอินทผลัมสกัดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยการเพิ่มของอุณหภูมิเป็นการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเอนไซม์ให้ย่อยพอลิแซ็กคาไรด์ของเพคตินที่ผนังเซลล์ของผลไม้ ทำให้โครงสร้างของผลไม้จากที่มีความแข็ง อ่อนนุ่มลง และสกัดได้ง่ายขึ้น สารประกอบต่าง ๆ ที่อยู่ภายในเซลล์ผลไม้ จะถูกปลดปล่อยออกมาได้มากกว่าตัวอย่างควบคุมที่ไม่ได้

สกัดด้วยเอนไซม์ เนื่องจากตัวอย่างควบคุมไม่มีตัวช่วยในการทำลายโครงสร้างที่แข็งแรงของผลไม้ ทำให้สารประกอบต่าง ๆ ภายในเซลล์ผลไม้ถูกปลดปล่อยออกมาได้น้อยกว่า ในทางกลับกัน เมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการบ่มสกัดสูงกว่า 60 องศาเซลเซียส พบว่าร้อยละของผลได้ลดลง เนื่องจากอุณหภูมิในการบ่มสูงเกินภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ เอนไซม์ได้รับพลังงานจลน์มากขึ้นจากการเพิ่มอุณหภูมิ ทำให้โครงสร้างของเอนไซม์และพันธะระหว่างโมเลกุลของเอนไซม์ถูกทำลาย ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Abdullah และคณะ (2021) ที่ศึกษาการสร้างแบบจำลองและการเพิ่มประสิทธิภาพของน้ำมะม่วงหิมพานต์สกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเอสช่วย (ปัจจัยในการศึกษา ได้แก่ อุณหภูมิ 30-50 องศาเซลเซียส เวลา 20-60 นาที และความเข้มข้นของเอนไซม์เพคตินเอส 0.08-0.1% และพบว่าอุณหภูมิในการบ่ม เวลา และความเข้มข้นของเอนไซม์ มีผลต่อผลได้ของน้ำมะม่วงหิมพานต์สกัด เมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการบ่มและความเข้มข้นของเอนไซม์ส่งผลให้ผลได้เพิ่มขึ้น โดยที่อุณหภูมิในการบ่มที่ 48 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นของเอนไซม์เพคตินเอส 0.1% มีค่าของผลได้มากที่สุด (83.40%) ซึ่งผลได้ของน้ำมะม่วงหิมพานต์สกัด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

Khandare และคณะ (2011) รายงานผลความเข้มข้นของเอนไซม์เพคตินเอสต่อน้ำแครอทม่วงสกัดว่า ตัวอย่างควบคุมที่สกัดด้วยวิธีบีบอัดมีค่าผลได้ 45% ในขณะที่ตัวอย่างน้ำแครอทม่วงสกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเอสช่วยมีค่าผลได้ที่มากกว่า โดยค่าผลได้มากที่สุดมีค่าเท่ากับ 64% ที่ภาวะสกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเอสช่วยความเข้มข้น 0.2% อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที ผลได้ของน้ำแครอทม่วงที่เพิ่มขึ้น เป็นผลมาจากการย่อยสลายของเพคติน และทำลายโครงสร้างผนังเซลล์ของแครอทด้วยเอนไซม์เพคตินเอส ร่วมกับความร้อนในการบ่มสกัด ที่ช่วยเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสทำให้ของเหลวภายในเซลล์ถูกปลดปล่อยออกมาได้มากขึ้นกว่าวิธีที่สกัดโดยปราศจากเอนไซม์

ตารางที่ 4 ร้อยละผลได้ของน้ำอินทผลัมที่สกัดด้วยเอโนไซม์เพคตินเนสช่วยในภาวะการสกัดต่าง ๆ

		ผลได้น้ำอินทผลัมสกัด (%)							
		เอโนไซม์เพคตินเนส 0.1 v/v							
เวลา (นาที)	ตัวอย่างควบคุม	50 °C	60 °C	70 °C	80 °C	50 °C	60 °C	70 °C	80 °C
60		58.49±6.16 ^{B, b}	59.03±0.98 ^{B, b}	65.96±5.54 ^{A, a}	61.49±5.33 ^{A, ab}	65.94±4.47 ^{B, b}	69.44±5.20 ^{B, ab}	77.81±7.91 ^{A, a}	66.09±2.15 ^{A, b}
120		62.26±1.54 ^{AB, ab}	61.81±1.96 ^{B, ab}	64.48±3.91 ^{A, a}	60.92±2.15 ^{A, b}	68.84±2.71 ^{B, ab}	72.92±6.13 ^{B, a}	73.75±6.16 ^{A, a}	64.94±2.93 ^{AB, b}
180		67.92±1.54 ^{A, a}	66.67±1.70 ^{AB, a}	57.22±4.48 ^{B, b}	56.90±1.41 ^{B, b}	75.36±6.23 ^{AB, a}	78.47±2.60 ^{AB, a}	71.30±2.37 ^{AB, ab}	64.94±3.54 ^{AB, b}
240		69.81±2.67 ^{A, a}	70.14±4.91 ^{A, a}	56.76±1.03 ^{B, b}	54.60±2.15 ^{B, b}	80.43±1.77 ^{A, a}	81.25±1.70 ^{A, a}	67.22±5.96 ^{B, b}	63.22±3.54 ^{B, b}

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (^{A-B}) หมายถึง ค่าเฉลี่ยของแต่ละสตรมมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (^{a-b}) หมายถึง ค่าเฉลี่ยของแต่ละแถวความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

4.1.2 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำอินทผลัมสกัด

ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในน้ำทั้งหมดใช้บ่งชี้ความเข้มข้นของอาหารเหลว ของแข็งที่ละลายได้ในน้ำคั้นจากผักและผลไม้ ซึ่งเป็นผลรวมของของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ได้แก่ น้ำตาลชนิดต่าง ๆ เช่น น้ำตาลซูโครส น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลฟรุกโทส และกรดอินทรีย์ เป็นต้น สามารถใช้เป็นดัชนีวัดความแก่อ่อนของผักผลไม้ จากการศึกษาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดน้ำอินทผลัมด้วยวิธีการสกัดแบบใช้เอนไซม์เพคตินเนสช่วยต่อปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด พบว่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) น้ำอินทผลัมสกัดมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดระหว่าง 6.4 ± 0.05 ถึง 6.8 ± 0.08 องศาบริกซ์ ดังแสดงตารางที่ 5 เมื่อสกัดน้ำอินทผลัมด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วยที่อุณหภูมิในการบ่มสกัด 60 องศาเซลเซียส เวลา 240 นาที ส่งผลให้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดมากที่สุด (6.8 ± 0.08 องศาบริกซ์) เนื่องจากเอนไซม์เพคตินเนสสามารถไฮโดรไลซ์ผนังเซลล์และเนื้อเยื่อเซลล์ของผลไม้ส่งผลให้ปริมาณสารสำคัญและปริมาณของแข็งที่ละลายได้ที่อยู่ภายในเซลล์ถูกปลดปล่อยออกมาอย่างอิสระ และที่ภาวะการสกัดนี้ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดสอดคล้องกับร้อยละผลได้ที่มีความมากที่สุดจึงส่งผลให้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้มากที่สุดเช่นกัน จากผลการทดลองนี้มีทิศทางเดียวกันกับผลการทดลองของ Siddiq และคณะ (2018) ที่ศึกษาผลของเอนไซม์เพคตินเนสต่อปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำบลูเบอร์รี่สกัด และพบว่าตัวอย่างควบคุมและตัวอย่างน้ำบลูเบอร์รี่สกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วยมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดมีค่าอยู่ในช่วง 7.41 ถึง 7.44 องศาบริกซ์

เมื่อศึกษาภาวะในการบ่มสกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วย พบว่าตัวอย่างควบคุมมี ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดน้อยกว่าตัวอย่างที่สกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วย โดยการสกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วยส่งผลให้ตัวอย่างควบคุมและตัวอย่างที่สกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วยที่อุณหภูมิในการบ่มสกัด 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเพิ่มขึ้นจาก 6.5 เป็น 6.7 องศาบริกซ์ ตามลำดับ เอนไซม์เพคตินเนสสามารถตัดสายโมเลกุลของเพคติน ทำให้สารที่เป็นของแข็งที่ละลายน้ำได้ถูกปลดปล่อยออกมา จึงทำให้ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้เพิ่มขึ้นสอดคล้องกับผลการทดลองของ Norjana และ Noor Aziah (2011) ที่รายงานว่าความเข้มข้นของเอนไซม์เพคตินเนสที่เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในน้ำทุเรียนเพิ่มขึ้นโดยที่ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของตัวอย่างควบคุมมีค่า 6.5 องศาบริกซ์ ในขณะที่ตัวอย่างน้ำทุเรียนสกัดด้วยเอนไซม์ช่วยมีค่า 9.0 องศาบริกซ์ ตามลำดับ การเพิ่มขึ้นขององศาบริกซ์เมื่อสกัดด้วย

เอนไซม์เพคตินเอสที่ความเข้มข้นมากขึ้นเป็นผลจากความเข้มข้นของเอนไซม์ที่มากขึ้น ทำให้ประสิทธิภาพการทำลายเนื้อเยื่อเพิ่มขึ้น องค์ประกอบของของแข็งที่ละลายน้ำได้ในเนื้อเยื่อของผลไม้ จึงถูกปลดปล่อยออกมาได้มากกว่าตัวอย่างควบคุมที่สกัดโดยปราศจากเอนไซม์



ตารางที่ 5 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำอินทผลัมที่สกัดด้วยเอโนไซม์เพคตินเนสช่วยในภาวะการสกัดต่าง ๆ

ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (°Brix)								
เวลา (นาที)	ตัวอย่างควบคุม				เอโนไซม์เพคตินเนส 0.1% v/v			
	50 °C ^{ns}	60 °C ^{ns}	70 °C ^{ns}	80 °C ^{ns}	50 °C ^{ns}	60 °C ^{ns}	70 °C ^{ns}	80 °C ^{ns}
60 ^{NS}	6.5±0.08	6.5±0.05	6.7±0.08	6.6±0.05	6.6±0.08	6.6±0.05	6.7±0.05	6.7±0.08
120 ^{NS}	6.6±0.14	6.5±0.05	6.5±0.12	6.5±0.12	6.6±0.12	6.7±0.08	6.7±0.08	6.6±0.05
180 ^{NS}	6.6±0.08	6.5±0.05	6.5±0.09	6.5±0.08	6.7±0.16	6.7±0.05	6.6±0.05	6.6±0.08
240 ^{NS}	6.7±0.16	6.7±0.05	6.5±0.08	6.4±0.05	6.7±0.12	6.8±0.08	6.6±0.08	6.5±0.09

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษร ^{NS} หมายถึง ค่าเฉลี่ยของแต่ละแถวแน่นอนไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตัวอักษร ^{ns} หมายถึง ค่าเฉลี่ยของแต่ละสัปดาห์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

4.1.3 ค่า L^* , a^* , b^* และ ΔE^* ของน้ำอินทผลัมสกัด

สีเป็นสมบัติทางกายภาพที่มองเห็นได้ของอาหารและมีบทบาทต่อความพึงพอใจของผู้บริโภค จากตารางที่ 6 ซึ่งเป็นการศึกษาค่าความสว่างของน้ำอินทผลัมที่สกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วยใน ภาวะการสกัดต่าง ๆ พบว่า ค่า L^* (บ่งบอกถึง ความสว่างของตัวอย่าง ค่า L^* มีค่ามากที่สุดเท่ากับ 100 หมายถึง สว่างมาก และมีค่าน้อยสุด เท่ากับ 0 หมายถึง สีดำ) ของตัวอย่างควบคุมมีค่าน้อยกว่าน้ำ อินทผลัมที่สกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วย โดยค่า L^* มีค่าอยู่ระหว่าง 78.78 ± 0.39 ถึง 94.58 ± 0.02 ขณะที่การเพิ่มอุณหภูมิในการบ่มสกัดจาก 50 องศาเซลเซียส ถึง 80 องศาเซลเซียส ส่งผลให้ค่า L^* มี ค่าลดลงในทุก ๆ ตัวอย่าง เนื่องจากปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาล ดังนั้นปัจจัยด้านเอนไซม์และอุณหภูมิ ในการบ่มสกัดมีผลต่อค่า L^* (ความสว่าง) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) การ เพิ่มขึ้นของค่า L^* ในตัวอย่างน้ำอินทผลัมที่สกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วย เป็นผลจากการที่เอนไซม์ เพคตินเนสสามารถทำให้โมเลกุลของโปรตีนในคอลลอยด์และเพคตินรวมตัวเกิดเป็นโมเลกุลใหญ่และ ตกตะกอน ทำให้น้ำผลไม้ที่ได้ใสขึ้น (Nighojkar และคณะ, 2019)

จากการศึกษาค่า a^* ที่บ่งบอกถึงความเป็นสีเขียวและสีแดง (a^* เป็นบวก หมายถึง สีแดง และค่า a^* ที่เป็นลบ หมายถึง สีเขียว) และขึ้นอยู่กับความสุขของผลอินทผลัมที่นำมาสกัด พบว่า ค่า a^* มีค่าอยู่ในช่วง -14.32 ± 0.40 ถึง -21.49 ± 0.04 ดังแสดงตารางที่ 7 โดยมีค่าเป็นลบหมายถึง ตัวอย่างน้ำอินทผลัมสกัดมีสีไปในทิศทางสีเขียว และค่า b^* บ่งบอกถึงความเป็นสีเหลืองและน้ำเงิน (b^* เป็นบวก หมายถึง สีเหลือง และค่า b^* เป็นลบ หมายถึง สีน้ำเงิน) โดยพบว่าค่า b^* มีค่าอยู่ ในช่วง 48.23 ± 0.07 ถึง 84.98 ± 0.03 ดังแสดงตารางที่ 8 ซึ่งมีค่าเป็นบวกหมายถึงตัวอย่างน้ำ อินทผลัมสกัดมีสีไปในทิศทางสีเหลือง นอกจากนี้ค่า ΔE^* (บ่งบอกถึง ความแตกต่างของสี ค่า ΔE^* มาก แสดงถึง ตัวอย่างมีสีแตกต่างจากค่าเริ่มต้นมาก และค่า ΔE^* น้อย แสดงถึงความแตกต่างของสี จากค่าเริ่มต้นน้อย) มีค่าอยู่ในช่วง 0.20 ± 0.07 ถึง 20.95 ± 0.34 ดังแสดงตารางที่ 9

จากผลการทดลองของ Norjana และ Noor Aziah (2011) ที่ศึกษาการสกัดน้ำทุเรียนด้วย เอนไซม์เพคตินเนสช่วยต่อค่าสีที่ภาวะการสกัดที่ด้วยเอนไซม์เพคตินเนสเข้มข้น 0.075% อุณหภูมิบ่ม สกัด 38.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ถึง 3 ชั่วโมง พบว่า ภายหลังจาก 2 ชั่วโมงของการบ่มสกัด ค่า L^* (ความสว่าง) มีค่าลดลง เนื่องจากการให้ความร้อนเป็นเวลานาน ทำให้เกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ไม่ เกี่ยวข้องกับเอนไซม์มากขึ้น ส่งผลให้ค่า L^* ลดลง และ Lee และคณะ (1999) ยังพบว่ากระบวนการ พาสเจอร์ไร้น้ำเกรปฟรุ้ตส่งผลให้ค่า L^* ลดลงเช่นกัน โดยอธิบายว่า กระบวนการแปรรูปด้วยความ ร้อน ทำให้เกิดการตกตะกอนของอนุภาคบางส่วนในน้ำผลไม้ อนุภาคเกิดการเสียสภาพและไม่คงตัว

ในขณะที่ Markakis และคณะ (1957) ศึกษาปัจจัยที่ทำให้เกิดการเสื่อมสลายของรังควัตถุสีของน้ำสตอเบอร์รี่ พบว่าปัจจัยที่ทำให้เกิดการเสื่อมสลายของสารแอนโทไซยานินที่เป็นรงควัตถุสีแดงที่พบในสตอเบอร์รี่ คือ อุณหภูมิ เวลา และออกซิเจน เมื่อทดลองให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 ถึง 60 ชั่วโมง พบว่าอุณหภูมิที่สูงและการให้ความร้อนเป็นเวลานาน ส่งผลให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งรงควัตถุตามธรรมชาติไวต่อการเกิดออกซิเดชันจึงเป็นสาเหตุให้รงควัตถุถูกทำลาย ซึ่งสอดคล้องกับผลวิจัยนี้ โดยเมื่อต้มตัวอย่างที่อุณหภูมิมากกว่า 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 ถึง 240 นาที ส่งผลให้ค่าความสว่างของสี L^* ลดลง เนื่องจากสารแคโรทีนอยด์ที่เป็นรงควัตถุ (สารสีเหลือง) ในอินทผลัมเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันจากกระบวนการสกัด



ตารางที่ 6 ค่า L* ของน้ำอินทผลัมที่สกัดด้วยเอโนไซม์เพคตินเนสช่วยในภาวะการสกัดต่าง ๆ

		L*							
		ตัวอย่างควบคุม							
		เอโนไซม์เพคตินเนส 0.1% v/v							
เวลา (นาที)		50 °C	60 °C	70 °C	80 °C	50 °C	60 °C	70 °C	80 °C
60		91.13±0.05 ^{B, a}	90.50±0.04 ^{B, ab}	85.44±0.03 ^{A, b}	79.50±0.38 ^{A, c}	93.56±0.30 ^{B, a}	92.96±0.02 ^{B, a}	86.87±0.04 ^{A, b}	84.61±0.20 ^{A, b}
120		91.32±0.04 ^{B, a}	90.58±0.16 ^{B, ab}	85.16±0.06 ^{A, b}	79.24±0.17 ^{A, c}	93.91±0.06 ^{AB, a}	93.16±0.03 ^{AB, a}	86.68±0.17 ^{A, b}	84.34±0.24 ^{A, b}
180		91.66±0.07 ^{AB, a}	91.62±0.01 ^{A, a}	84.72±0.02 ^{B, b}	78.91±0.43 ^{AB, c}	94.21±0.03 ^{A, a}	93.24±0.0 ^{A, a}	85.96±0.02 ^{AB, b}	83.30±0.12 ^{B, b}
240		92.13±0.05 ^{A, a}	91.08±0.03 ^{A, a}	84.61±0.11 ^{B, b}	78.78±0.39 ^{B, c}	94.58±0.02 ^{A, a}	93.49±0.02 ^{A, a}	85.85±0.02 ^{B, b}	83.26±0.06 ^{B, b}

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (^{A-B}) หมายถึง ค่าเฉลี่ยของแต่ละสดมภ์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (^{a-c}) หมายถึง ค่าเฉลี่ยของแต่ละแถวมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 7 ค่า a* ของน้ำอินทผลัมที่สกัดด้วยเอโนไซม์เพคตินเนสช่วยในภาวะการสกัดต่าง ๆ

a*

เวลา (นาที)	ตัวอย่างควบคุม					เอโนไซม์เพคตินเนส 0.1% v/v				
	50 °C	60 °C	70 °C	80 °C	80 °C	50 °C	60 °C	70 °C	80 °C	80 °C
60	-16.70±0.0 ^{NS, b}	-20.17±0.01 ^{NS, c}	17.41±0.20 ^{B, b}	-14.32±0.40 ^{A, a}	-18.42±0.02 ^{A, a}	-20.19±0.02 ^{AB, b}	-19.83±0.01 ^{NS, ab}	-18.57±0.34 ^{C, a}		
120	-16.69±0.03 ^{NS, a}	-20.71±0.01 ^{NS, c}	-17.77±0.05 ^{B, b}	-16.50±0.27 ^{B, a}	-18.61±0.01 ^{A, ab}	-20.92±0.01 ^{A, c}	-19.17±0.10 ^{NS, b}	-17.57±0.33 ^{B, a}		
180	-16.65±0.06 ^{NS, a}	-20.55±0.04 ^{NS, c}	-16.12±0.08 ^{A, a}	-18.45±0.06 ^{C, b}	-21.49±0.02 ^{B, c}	-21.03±0.01 ^{B, c}	-19.16±0.04 ^{NS, b}	-16.47±0.36 ^{A, a}		
240	-16.58±0.03 ^{NS, a}	-20.80±0.01 ^{NS, b}	-17.98±0.01 ^{AB, ab}	-16.36±0.13 ^{B, a}	-21.49±0.04 ^{B, b}	-21.16±0.05 ^{B, b}	-19.15±0.03 ^{NS, a}	-21.44±0.09 ^{D, b}		

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษร ^{NS} หมายถึง ค่าเฉลี่ยของแต่ละสตรมภ์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05)

ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (^{A-B}) หมายถึง ค่าเฉลี่ยของแต่ละสตรมภ์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p≤0.05)

ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (^{a-c}) หมายถึง ค่าเฉลี่ยของแต่ละแถวความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p≤0.05)

ตารางที่ 8 ค่า b* ของน้ำอินทผลัมที่สกัดด้วยเอโนไซม์เพคตินเนสช่วยในภาวะการสกัดต่าง ๆ

b*

เวลา (นาที)	ตัวอย่างควบคุม						เอโนไซม์เพคตินเนส 0.1% v/v					
	50 °C	60 °C	70 °C	80 °C	50 °C	60 °C	70 °C	80 °C	50 °C	60 °C	70 °C	80 °C
60	64.64±0.37 ^{NS, c}	84.16±0.01 ^{NS, a}	73.25±0.01 ^{A, b}	48.23±0.07 ^{D, d}	75.24±0.08 ^{B, b}	84.94±0.04 ^{NS, a}	58.71±0.04 ^{NS, d}	61.23±0.09 ^{AB, c}				
120	64.63±0.30 ^{NS, c}	84.52±0.04 ^{NS, a}	70.37±0.07 ^{B, b}	56.39±0.03 ^{C, d}	75.70±0.09 ^{B, b}	84.83±0.05 ^{NS, a}	58.81±0.02 ^{NS, c}	57.17±0.02 ^{B, c}				
180	64.62±0.29 ^{NS, b}	84.57±0.04 ^{NS, a}	57.43±0.02 ^{C, c}	61.49±0.04 ^{B, b}	82.31±0.01 ^{A, a}	84.98±0.03 ^{NS, a}	58.84±0.02 ^{NS, c}	66.31±0.06 ^{A, b}				
240	64.71±0.05 ^{NS, c}	84.44±0.02 ^{NS, a}	71.30±0.05 ^{B, b}	66.52±0.03 ^{A, c}	82.42±0.06 ^{A, a}	84.97±0.03 ^{NS, a}	58.94±0.03 ^{NS, b}	56.31±0.04 ^{B, b}				

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษร ^{NS} หมายถึง ค่าเฉลี่ยของแต่ละสตรมไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05)

ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (^{A-D}) หมายถึง ค่าเฉลี่ยของแต่ละสตรมมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p≤0.05)

ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (^{a-b}) หมายถึง ค่าเฉลี่ยของแต่ละแถวและแถวอนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p≤0.05)

ตารางที่ 9 ค่า ΔE^* ของน้ำอินทผลัมที่สกัดด้วยเอโนไซม์เพคตินเนสช่วยในภาวะการสกัดต่าง ๆ

		ΔE^*							
		เอโนไซม์เพคตินเนส 0.1% v/v							
เวลา (นาที)		50 °C	60 °C	70 °C	80 °C	50 °C	60 °C	70 °C	80 °C
60	0.00±0.00	19.83±0.36 ^{B, a}	10.35±0.40 ^{A, b}	20.26±0.59 ^{A, a}	11.01±0.29 ^{B, b}	20.68±0.33 ^{B, a}	7.95±0.33 ^{AB, c}	7.59±0.45 ^{C, c}	
120	0.20±0.07 ^{B, d}	20.29±0.34 ^{A, a}	8.34±0.30 ^{C, c}	14.47±0.44 ^{B, b}	11.57±0.28 ^{B, b}	20.73±0.32 ^{B, a}	7.73±0.38 ^{B, c}	10.13±0.51 ^{B, b}	
180	0.53±0.09 ^{B, d}	20.30±0.34 ^{A, a}	9.66±0.35 ^{B, c}	12.74±0.50 ^{C, b}	18.57±0.36 ^{A, b}	20.90±0.34 ^{A, a}	8.15±0.35 ^{A, c}	8.01±0.47 ^{C, c}	
240	1.02±0.32 ^{A, d}	20.22±0.35 ^{A, a}	9.41±0.33 ^{B, c}	12.49±0.49 ^{C, b}	18.73±0.31 ^{A, b}	20.95±0.34 ^{A, a}	8.14±0.34 ^{A, c}	12.40±0.34 ^{A, bc}	

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (^{A-C}) หมายถึง ค่าเฉลี่ยของแต่ละส้อมมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (^{a-d}) หมายถึง ค่าเฉลี่ยของแต่ละแถวมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

4.1.4 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของน้ำอินทผลัมสกัด

ผลอินทผลัมมีองค์ประกอบของสารกลุ่มฟีนอลิก เช่น เพลอลูอิก โพรแอนโทไซยานินดิน และกรดแกลลิก เป็นต้น (Maqsood และคณะ, 2020) จากการศึกษาภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดน้ำอินทผลัมที่สกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วยต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของน้ำอินทผลัมสกัดในภาวะต่าง ๆ พบว่าปัจจัยด้านเอนไซม์ อุณหภูมิ และเวลาในการบ่มสกัดมีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดยมีค่าระหว่าง 134.67 ± 14.34 ถึง 326.33 ± 23.21 mg gallic acid equivalent (GAE)/100 g fresh weight ดังแสดงตารางที่ 10 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในภาวะการสกัดต่าง ๆ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) จากการศึกษาเกี่ยวกับปัจจัยของอุณหภูมิและเวลาในการบ่มสกัดต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของน้ำอินทผลัมสกัด พบว่าที่อุณหภูมิบ่มสกัด 50 องศาเซลเซียส เวลา 60 นาที ตัวอย่างควบคุมมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดน้อยกว่าตัวอย่างน้ำอินทผลัมที่สกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วย โดยมีค่าเท่ากับ 313.00 ± 22.73 และ 326.33 ± 23.21 mg GAE/100 g fresh wt. ตามลำดับ ที่ภาวะการสกัดนี้ ส่งผลให้ตัวอย่างที่สกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด โดยที่ตัวอย่างที่สกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้น 4.25% ซึ่งเป็นผลมาจากการย่อยพอลิแซ็กคาไรด์ของเอนไซม์เพคตินเนส ทำให้ผนังเซลล์ของผลไม้ถูกทำลายและทำให้สารประกอบฟีนอลิกที่อยู่ภายในเซลล์ออกมามากขึ้น จากผลการทดลองของ Khandare และคณะ (2011) พบว่าเมื่อสกัดน้ำแครอทม่วงด้วยเอนไซม์เพคตินเนส ส่งผลให้ตัวอย่างมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสารแอนโทไซยานินมีค่ามากขึ้น ผลการทดลองที่แตกต่างกันนี้สามารถเกิดขึ้นได้ เนื่องจากแหล่งที่มาของเอนไซม์และสภาวะแวดล้อมที่แตกต่างกัน เช่น ค่าความเป็นกรด-ด่าง ความเข้มข้นของเอนไซม์ ความแรงของไอออน อุณหภูมิ และเวลาในการบ่ม เป็นต้น จากผลการทดลองเมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของเอนไซม์เพคตินเนสในการสกัดจาก 0.1 เป็น 0.2% ส่งผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้นจาก 300 เป็น 382 mg GAE/100 mL ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองนี้ที่ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของตัวอย่างน้ำอินทผลัมที่สกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วยมีค่ามากกว่าตัวอย่างควบคุม

ในทางกลับกันเมื่อเพิ่มอุณหภูมิและเวลาในการบ่มสกัดส่งผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีค่าลดลง แสดงว่าอุณหภูมิและเวลาในการบ่มมีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยที่อุณหภูมิบ่มสกัด 50 องศาเซลเซียส เวลา 60 นาที และ 80 องศาเซลเซียส เวลา 240 นาที ของตัวอย่างควบคุม มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 313.00 ± 22.73 และ 144.67 ± 12.47

mg GAE/100 g fresh wt. ตามลำดับ และที่อุณหภูมิบ่มสกัด 50 องศาเซลเซียส เวลา 60 นาที และ 80 องศาเซลเซียส เวลา 240 นาทีของตัวอย่างที่สกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 326.33 ± 23.21 และ 134.67 ± 14.34 mg GAE/100 g fresh wt. ตามลำดับ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลง เมื่อเพิ่มอุณหภูมิและเวลาในการบ่มสกัด เนื่องจากเอนไซม์จากสภาวะภายนอกหรือเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดส (polyphenol oxidase, PPO) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิกกับออกซิเจน ปฏิกิริยานี้ทำให้เกิดกลิ่นรสผิดปกติได้ ส่งผลเสียต่อคุณค่าทางอาหาร (Rodríguez-Verástegui และคณะ, 2016) จากการศึกษาผลของปัจจัยในการสกัดไซรัปอินทผลัมต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสารต้านอนุมูลอิสระของ Abbès และคณะ (2013) พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของไซรัปอินทผลัมมีค่าอยู่ในช่วง 368.35 ถึง 529.29 mg GAE/100 g db. ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในตัวอย่างควบคุมมีมากกว่าตัวอย่างที่สกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วยและมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) การลดลงของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของตัวอย่างที่สกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วยเป็นผลเนื่องจากเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเอนไซม์ ทำให้เกิดการสลายตัวของโครงสร้างของเอนไซม์และเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของพอลิฟีนอล ในขณะเดียวกัน Landbo และ Meyer (2004) พบว่าปัจจัยที่ส่งผลต่อการทำงานของเอนไซม์มีผลต่อการสกัดปริมาณสารสำคัญ คือ การเพิ่มระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ อุณหภูมิ และเวลา ทำให้ปริมาณสารแอนโทไซยานินลดลง เนื่องจากเกิดการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ ไปทำลายโครงสร้างสารประกอบแอนโทไซยานิน เป็นสาเหตุให้เกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลจากเอนไซม์ ทำให้สารแอนโทไซยานินไม่เสถียรและปริมาณสารแอนโทไซยานินที่สกัดได้จึงลดลง

ตารางที่ 10 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของน้ำอินทผลัมที่สกัดด้วยเอโนไซม์เพคตินเอสช่วยในภาวะการสกัดต่าง ๆ

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (mg GAE/100 g fresh weight*)

เวลา (นาที)	ตัวอย่างควบคุม					เอโนไซม์เพคตินเอส 0.1% v/v				
	50 °C	60 °C	70 °C	80 °C	50 °C	60 °C	70 °C	80 °C		
60	313.00±22.73 ^{A,a}	271.33±22.48 ^{A,b}	258.00±8.16 ^{A,c}	199.67±10.27 ^{A,d}	326.33±23.21 ^{A,a}	288.00±14.72 ^{A,b}	243.00±32.66 ^{A,c}	178.00±16.33 ^{A,d}		
120	303.00±21.60 ^{AB,a}	269.67±12.47 ^{AB,b}	241.33±4.71 ^{AB,c}	178.00±16.33 ^{AB,d}	318.00±14.72 ^{AB,a}	273.00±10.80 ^{AB,b}	231.33±13.12 ^{AB,c}	161.33±20.95 ^{AB,d}		
180	291.33±18.41 ^{BC,a}	261.33±10.27 ^{BC,b}	234.67±10.27 ^{BC,c}	154.67±8.50 ^{BC,d}	303.00±24.49 ^{BC,a}	263.00±18.71 ^{BC,b}	221.33±6.24 ^{BC,c}	148.00±10.80 ^{BC,d}		
240	281.33±24.94 ^{C,a}	259.67±16.50 ^{C,b}	229.67±13.12 ^{C,c}	144.67±12.47 ^{C,d}	286.33±10.27 ^{C,a}	261.33±28.96 ^{C,b}	194.67±6.24 ^{C,c}	134.67±14.34 ^{C,d}		

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (^{A-C}) หมายถึง ค่าเฉลี่ยของแต่ละสตรรมี่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (^{a-d}) หมายถึง ค่าเฉลี่ยของแต่ละแถวความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

* mg GAE/100 g fresh weight = mg gallic acid equivalent/100 g fresh weight

4.1.5 ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดของน้ำอินทผลัมสกัด

ผลอินทผลัมนึ่งมีองค์ประกอบของสารแคโรทีนอยด์ที่จัดอยู่ในกลุ่มของแคโรทีน คือ เบต้าแคโรทีนและไลโคปีน (Maqsood และคณะ, 2020) จากการศึกษาภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดน้ำอินทผลัมที่สกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วยต่อปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดของน้ำอินทผลัมสกัดในภาวะต่าง ๆ พบว่าปัจจัยด้านเอนไซม์ อุณหภูมิ และเวลาในการบ่มสกัดมีอิทธิพลต่อปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมด โดยมีค่าระหว่าง 0.33 ± 0.12 ถึง 1.08 ± 0.04 mg β -CE/100 g fresh weight ดังแสดงตารางที่ 11 ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดของตัวอย่างที่ภาวะการสกัดต่าง ๆ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) จากการศึกษาเกี่ยวกับปัจจัยด้านอุณหภูมิและเวลาในการบ่มสกัดต่อปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดของน้ำอินทผลัมสกัด พบว่าภาวะการสกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วยที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที ส่งผลให้ตัวอย่างมีปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดมากที่สุด (1.08 ± 0.04 mg β -CE/100 g fresh wt.) จากภาวะการสกัดนี้จึงเป็นตัวบ่งชี้ในการเลือกภาวะการสกัดที่เหมาะสมที่ส่งผลให้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดมากที่สุด ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระนี้มีกลไกที่สำคัญและเป็นประโยชน์กับร่างกายของมนุษย์ Aust และคณะ (2001) รายงานว่าการบริโภคอาหารที่อุดมไปด้วยสารแคโรทีนอยด์ สามารถชะลอการเสื่อมสภาพของเซลล์ในร่างกายและลดความเสี่ยงในการเกิดโรคทางสายตา มะเร็ง และหัวใจ อีกทั้งสารแคโรทีนอยด์ยังจัดว่าเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ช่วยปกป้องเซลล์และเนื้อเยื่อจากการถูกทำลายด้วยอนุมูลอิสระ จากผลการทดลองพบว่าที่อุณหภูมิในการบ่มสกัด 70 องศาเซลเซียส เวลา 240 นาที ส่งผลให้ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดของตัวอย่างน้ำอินทผลัมที่สกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วยเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมมีค่าเพิ่มขึ้นจาก 0.33 ± 0.06 mg β -CE/100 g fresh wt. เป็น 0.48 ± 0.04 mg β -CE/100 g fresh wt. แสดงให้เห็นว่าปัจจัยของเอนไซม์มีผลต่อปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมด โดยตัวอย่างที่สกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วยมีปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดเพิ่มขึ้น 31.25% การเพิ่มขึ้นของปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดของตัวอย่างที่สกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วยเป็นผลจากเอนไซม์เกิดการไฮโดรไลซิสเพคตินและเซลลูโลสของอินทผลัมทำให้สารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดที่อยู่ภายในเซลล์คลอโรพลาสต์และในเซลล์ของเหลวถูกปลดปล่อยออกมา Abbès และคณะ (2013) พบว่าการสกัดไซรัปอินทผลัมด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วยที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที ส่งผลให้ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดของตัวอย่างที่สกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วยมีค่ามากกว่าตัวอย่างควบคุมที่ภาวะการสกัดเดียวกันโดยมีค่าเท่ากับ 0.215 ± 0.008 และ 0.157 ± 0.018 mg/100 g fresh weight ตามลำดับ ในขณะที่เดียวกันผลการทดลองของ Nath และ

คณะ (2016) ที่ศึกษาการสกัดสารแคโรทีนอยด์จากพริกแดง พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์ เพคตินเนสในการสกัดจาก 0.1% เป็น 0.3% ส่งผลให้ปริมาณสารแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้น 33% เนื่องจาก เอนไซม์เพคตินเนส ช่วยให้เนื้อเยื่อของพริกอ่อนนุ่มและสามารถทำลายผนังเซลล์ของพริก สารแคโรทีนอยด์ที่อยู่ภายในเซลล์จึงถูกปลดปล่อยออกมา แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพในการสกัดมากขึ้น ซึ่ง สอดคล้องกับผลงานวิจัยนี้ เมื่อสกัดน้ำอินทผลัมด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วยที่อุณหภูมิบ่มสกัด 50 และ 60 องศาเซลเซียส ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดมีมากกว่า น้ำอินทผลัมสกัดตัวอย่างควบคุม แต่ ในทางกลับกัน เมื่อเพิ่มอุณหภูมิบ่มสกัดเป็น 70 และ 80 องศาเซลเซียส และเพิ่มเวลาในการบ่มสกัด พบว่าปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดของตัวอย่างมีค่าลดลง Choudhari และ Ananthanarayan (2007) กล่าวว่า การลดลงของปริมาณสารแคโรทีนอยด์เมื่อใช้เวลาในการบ่มนานขึ้น เป็นผลจากเกิด การออกซิเดชันของแคโรทีนอยด์ เนื่องจากสารแคโรทีนอยด์จัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีความไวต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน



ตารางที่ 11 ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดของน้ำอินทผลัมที่สกัดด้วยเอโซลเพคตินละลายในภาวะการสกัดต่าง ๆ

ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมด (mg β -CE/100 g fresh weight*)		เอโซลเพคติน 0.1% v/v						
ตัวอย่างควบคุม								
เวลา (นาที)	50 °C	60 °C	70 °C	80 °C	50 °C	60 °C	70 °C	80 °C
60	1.05±0.05 ^{A,a}	0.74±0.02 ^{A,b}	0.56±0.04 ^{A,c}	0.54±0.02 ^{A,c}	1.08±0.04 ^{A,a}	0.76±0.02 ^{A,b}	0.62±0.04 ^{A,c}	0.59±0.02 ^{A,c}
120	0.99±0.12 ^{A,a}	0.70±0.06 ^{A,b}	0.53±0.01 ^{A,c}	0.50±0.04 ^{A,c}	1.05±0.04 ^{A,a}	0.72±0.02 ^{A,b}	0.56±0.05 ^{B,c}	0.55±0.05 ^{A,c}
180	0.96±0.02 ^{B,a}	0.62±0.02 ^{B,b}	0.44±0.04 ^{B,c}	0.39±0.03 ^{B,c}	0.99±0.03 ^{AB,a}	0.66±0.01 ^{B,b}	0.49±0.04 ^{C,c}	0.46±0.04 ^{B,c}
240	0.90±0.06 ^{C,a}	0.54±0.09 ^{C,b}	0.33±0.06 ^{C,c}	0.33±0.12 ^{B,c}	0.96±0.07 ^{B,a}	0.58±0.04 ^{C,b}	0.48±0.04 ^{C,c}	0.41±0.02 ^{C,c}

ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (^{A-C}) หมายถึง ค่าเฉลี่ยของแต่ละสัปดาห์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (^{a-c}) หมายถึง ค่าเฉลี่ยของแต่ละแถวความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

* mg β -CE/100 g fresh weight = mg β -carotene equivalent/100 g fresh weight

4.1.6 การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ของน้ำอินทผลัมสกัด

การศึกษาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดน้ำอินทผลัมด้วยวิธีการสกัดแบบใช้เอนไซม์เพคตินเนสช่วยต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ทำโดยการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ซึ่งเป็นการทดสอบด้วยวิธีทางเคมี โดยใช้สารที่มีคุณสมบัติเป็นอนุมูลอิสระในที่นี้ก็คือ อนุมูลอิสระ DPPH[•] ซึ่งเป็นสารสังเคราะห์ที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระที่คงตัวและมีสีม่วง เมื่อ DPPH[•] ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระที่ละลายด้วยแอลกอฮอล์หรือสารที่ให้อิเล็กทรอนิกส์จะทำให้สีม่วงจางลงจนเป็นสีเหลือง ทำให้สามารถหาการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างได้จากการคำนวณสีที่จางลงของการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (Lee และคณะ, 2018) จากผลการทดลองพบว่าน้ำอินทผลัมสกัดมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ระหว่าง 243.23 ± 16.66 ถึง 514.06 ± 17.94 mM trolox/100 g fresh wt. จากการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ดังแสดงตารางที่ 12 พบว่าภาวะการสกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วยที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เวลา 60 นาที ส่งผลให้ตัวอย่างมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH มากที่สุด (514.06 ± 17.94 mM trolox/100 g fresh wt.) ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำอินทผลัมสกัด

จากผลการทดลองที่อุณหภูมิบ่มสกัด 50 องศาเซลเซียส เวลา 60 นาที ตัวอย่างควบคุมมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH น้อยกว่าตัวอย่างน้ำอินทผลัมที่สกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วย โดยมีค่าเท่ากับ 495.73 ± 14.36 และ 514.06 ± 17.94 mM trolox/100 g fresh wt. ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าปัจจัยด้านเอนไซม์มีผลต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และเมื่อเพิ่มอุณหภูมิและเวลาในการบ่มสกัด พบว่าตัวอย่างมีค่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ลดลง ตัวอย่างน้ำอินทผลัมสกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วยเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการบ่มสกัดจาก 60 เป็น 70 องศาเซลเซียส และเพิ่มเวลาในการบ่มสกัดจาก 180 เป็น 240 นาที ส่งผลให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ลดลงจาก 420.31 ± 7.14 เป็น 291.35 ± 19.14 mM trolox/100 g fresh wt. ตามลำดับ ซึ่งฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ลดลง 30.68% จากผลการทดลองอธิบายได้ว่าปัจจัยด้านอุณหภูมิและเวลาในการบ่มสกัดมีอิทธิพลต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งผลการทดลองพบว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH มีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกันกับสารต้านอนุมูลอิสระ กล่าวคือปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมีความสัมพันธ์ต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH โดยสามารถบ่งชี้ว่าอนุพันธ์ของฟีนอลิกเป็นตัวการสำคัญในการทำงานของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ซึ่งใน

ผลอินทผลัมมีสารในกลุ่มฟีนอลิกที่เป็นอนุพันธ์ของไฮดรอกซีซินนามิก คือ ferulic และ *p*-cumaric และอนุพันธ์ของไฮดรอกซีเบนโซอิก คือ gallic acid จึงอธิบายได้ว่าสารที่เป็นอนุพันธ์ของไฮดรอกซีซินนามิกมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ดีกว่าสารที่เป็นอนุพันธ์ของไฮดรอกซีเบนโซอิก เนื่องจากหมู่ฟังก์ชันของโครงสร้างในวงแหวนฟีนอลมีผลต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และตำแหน่ง para- ของ curmaric ที่เป็นอนุพันธ์ของไฮดรอกซีซินนามิกส่งผลต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่เพิ่มขึ้นมากกว่าตำแหน่ง meta- และ ortho- (Jing และคณะ, 2012) จากผลการทดลองของ Neagu และคณะ (2014) ที่เปรียบเทียบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของมะเขือเทศที่เป็นตัวอย่างควบคุมและตัวอย่างที่สกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วย พบว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH เพิ่มขึ้นจาก 10.95 μM trolox/100 g เป็น 17.05 μM trolox/100 g ตามลำดับ สาเหตุที่ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นมีความเกี่ยวข้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิก โดยสมบัติในการต้านออกซิเดชันนั้นมีความสัมพันธ์กับโครงสร้างโมเลกุลของสารประกอบฟีนอลิก จำนวนหมู่ไฮดรอกซิล รวมไปถึงความสามารถในการเกิดคอนจูเกชันและเรโซแนนซ์ในโมเลกุล ส่งผลให้ตัวอย่างที่มีปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกมากมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมากขึ้นด้วย ในขณะที่ Thitiratsakul และ Anprung (2014) ศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดลำไยด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วยต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และพบว่าเมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของเอนไซม์เพคตินเนสจาก 0.5% ถึง 3.0% และเพิ่มเวลาในการบ่มสกัดจาก 0.5 ถึง 5 ชั่วโมง ทำให้ระดับการย่อยสลายของเนื้อลำไยและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้น ระดับการย่อยสลายของเนื้อลำไยมากที่สุด คือ 21% ส่งผลให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH มากที่สุดเช่นกัน เนื่องจากเอนไซม์เพคตินเนสไฮโดรไลซ์ผนังเซลล์ของพืชในสภาวะโปรโตเพคตินที่มีสารต้านอนุมูลอิสระอยู่ให้ถูกปลดปล่อยออกมา และการสกัดโดยใช้เอนไซม์เพคตินเนสช่วย ยังช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดสารชีวภาพจากพืชและเพิ่มผลได้ให้มากขึ้นด้วย (Wang และคณะ, 2011)

แต่ในทางกลับกันเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดน้ำอินทผลัมด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วยส่งผลให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ลดลง ตามลำดับ ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมด การลดลงของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเป็นผลมาจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิกที่ถูกกระตุ้นโดยอุณหภูมิออกซิเจน และแสง (Gião และคณะ, 2013)

ตารางที่ 12 การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ของน้ำอินทผลัมที่สกัดด้วยเอโนไซม์เพคตินเนสช่วยในภาวะการสกัดต่าง ๆ

เวลา (นาที)	ตัวอย่างควบคุม				เอโนไซม์เพคตินเนส 0.1% v/v			
	50 °C	60 °C	70 °C	80 °C	50 °C	60 °C	70 °C	80 °C
60	495.73±14.36 ^{A, a}	413.23±30.15 ^{A, b}	374.48±4.57 ^{A, c}	323.65±21.30 ^{A, d}	514.06±17.94 ^{A, a}	426.77±17.10 ^{A, b}	359.90±14.77 ^{A, c}	294.06±28.74 ^{A, d}
120	479.06±35.59 ^{AB, a}	405.10±13.78 ^{AB, b}	347.40±1.06 ^{AB, c}	318.85±11.64 ^{AB, d}	513.65±11.09 ^{A, a}	424.48±3.90 ^{A, b}	338.23±13.59 ^{AB, c}	273.02±14.74 ^{AB, d}
180	470.52±38.81 ^{B, a}	401.98±15.53 ^{AB, b}	332.81±20.10 ^{B, c}	305.52±16.16 ^{B, d}	496.35±24.44 ^{B, a}	420.31±7.14 ^{AB, b}	311.35±33.82 ^{B, c}	265.31±12.79 ^{B, d}
240	415.94±11.37 ^{C, a}	392.40±4.40 ^{B, b}	324.48±21.62 ^{C, c}	284.90±36.55 ^{C, d}	452.40±16.33 ^{C, a}	411.15±7.91 ^{B, b}	291.35±19.14 ^{C, c}	243.23±16.66 ^{C, d}

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (^{A-C}) หมายถึง ค่าเฉลี่ยของแต่ละสตรมมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (^{a-d}) หมายถึง ค่าเฉลี่ยของแต่ละแถวแวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

4.1.7 การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) ของน้ำอินทผลัมสกัด

การศึกษาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดน้ำอินทผลัมด้วยวิธีการสกัดแบบใช้เอนไซม์เพคตินเนสช่วยต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP เป็นอีกวิธีหนึ่งที่ใช้ในการตรวจสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยอาศัยปฏิกิริยารีดอกซ์และติดตามการเปลี่ยนแปลงสีของสารประกอบเชิงซ้อน เมื่อสารประกอบเชิงซ้อน ferric tripyridyltriazine (Fe^{3+} -TPTZ) ได้รับอิเล็กตรอนจากสารต้านอนุมูลอิสระ แล้วจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปสารประกอบเชิงซ้อน ferrous tripyridyltriazine (Fe^{2+} -TPTZ) ที่มีสีม่วงน้ำเงิน (Abbès และคณะ, 2013) จากผลการทดลองพบว่าน้ำอินทผลัมสกัดมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ระหว่าง 240.98 ± 34.49 ถึง 595.38 ± 12.38 mM trolox/100 g fresh wt. ดังแสดงตารางที่ 13

ภาวะการสกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วยที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที ส่งผลให้ตัวอย่างมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP มากที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 595.38 ± 12.38 mM trolox/100 g fresh wt. ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำอินทผลัมสกัด ซึ่งอธิบายได้ว่าสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดรวมไปถึงสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ในผลอินทผลัม ได้แก่ quercetin, rutin, apigenin และ proanthocyanin มีโครงสร้างเป็นไกลโคไซด์ที่สามารถละลายน้ำได้จึงส่งผลต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP และฟลาโวนอยด์มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ กล่าวคือสามารถยับยั้งปฏิกิริยา fenton ที่เป็นปฏิกิริยาออกซิเดชันระหว่างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และโลหะหนักที่จะก่อให้เกิด hydroxyl radical ได้ ดังนั้นสารในกลุ่มนี้จึงมีความสัมพันธ์กับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP (Puppo, 1992) จากผลการทดลองพบว่าตัวอย่างควบคุมมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP น้อยกว่าตัวอย่างน้ำอินทผลัมที่สกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วยมีค่าเท่ากับ 565.50 ± 23.18 และ 595.38 ± 12.38 mM trolox/100 g fresh wt. ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าปัจจัยด้านเอนไซม์มีผลต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสอดคล้องกับผลงานวิจัยของ Khalil (2011) ที่ศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ของสารสกัดองุ่นแต่ละสายพันธุ์ และพบว่าตัวอย่างที่สกัดด้วยเอนไซม์มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมากกว่าตัวอย่างควบคุม โดยฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างที่สกัดด้วยเอนไซม์มีค่ามากที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ $1345.17 \mu\text{M trolox/g db}$. ซึ่งฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมีความสัมพันธ์กับสารต้านอนุมูลอิสระ ในขณะเดียวกันเมื่อเพิ่มอุณหภูมิและเวลาในการบ่มสกัด ส่งผลให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ลดลง ตัวอย่างน้ำอินทผลัมที่สกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วยเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการบ่มสกัดจาก 60 เป็น 70 องศาเซลเซียส และเพิ่มเวลาใน

การบ่มสกัดจาก 180 เป็น 240 นาที มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ลดลงจาก 490.74 ± 13.07 เป็น 308.60 ± 33.82 mM trolox/100 g fresh wt. ตามลำดับ ส่งผลให้ตัวอย่างมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ลดลง 37.12% แสดงให้เห็นว่าปัจจัยด้านอุณหภูมิและเวลาในการบ่มสกัดมีผลต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกับผลการทดลองของ Gani และคณะ (2020) ที่ศึกษาภาวะในการสกัดที่เหมาะสมต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP โดยแปรภาวะการสกัดที่ความเข้มข้นของเอนไซม์เพคตินเนส 0.4 ถึง 2.4% อุณหภูมิในการบ่มสกัด 20 ถึง 70 องศาเซลเซียส เวลา 13 ถึง 147 นาที และพบว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิและเวลาในการสกัดน้ำลูกแพร์ ตัวอย่างที่สกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วยมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่าตัวอย่างควบคุม ($19.30 \pm 0.30\%$ และ $20.30 \pm 0.10\%$ ตามลำดับ) ซึ่งอธิบายได้ว่ามีปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารต้านอนุมูลอิสระเกิดขึ้นในกระบวนการสกัด การให้ความร้อนและเวลาที่มากขึ้นระหว่างการสกัดทำให้สารต้านอนุมูลอิสระในพืชเกิดการออกซิไดซ์ ดังนั้นฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจึงลดลง



ตารางที่ 13 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) ของน้ำอินทผลัมที่สกัดด้วยเอโนไซม์เพคตินเนสช่วยในภาวะการสกัดต่าง ๆ

ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP (mM trolox/100 g fresh weight)								
เวลา (นาที)	ตัวอย่างควบคุม							
	เอโนไซม์เพคตินเนส 0.1% v/v							
	50 °C	60 °C	70 °C	80 °C	50 °C	60 °C	70 °C	80 °C
60	565.50±23.18 ^{A, a}	497.17±16.48 ^{A, b}	389.31±13.25 ^{A, c}	312.05±5.22 ^{A, d}	595.38±12.38 ^{A, a}	519.55±7.75 ^{A, b}	358.00±4.40 ^{A, c}	291.81±2.48 ^{A, d}
120	558.36±7.00 ^{AB, a}	487.17±25.75 ^{AB, b}	385.98±5.125 ^{A, c}	298.95±15.24 ^{AB, d}	569.43±12.96 ^{AB, a}	509.67±31.43 ^{AB, b}	339.19±12.70 ^{AB, c}	271.10±19.80 ^{AB, d}
180	539.07±21.58 ^{BC, a}	477.17±43.91 ^{BC, b}	374.79±9.45 ^{B, c}	273.36±17.56 ^{BC, d}	553.83±20.11 ^{BC, a}	490.74±13.07 ^{BC, b}	323.83±46.39 ^{BC, c}	253.00±23.70 ^{BC, d}
240	501.33±20.61 ^{C, a}	466.69±5.84 ^{C, b}	352.64±41.28 ^{C, c}	268.24±16.26 ^{C, d}	520.38±6.74 ^{C, a}	477.64±28.80 ^{C, b}	308.60±33.82 ^{C, c}	240.98±34.49 ^{C, d}

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (^{A-C}) หมายถึง ค่าเฉลี่ยของแต่ละสตรมมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (^{a-d}) หมายถึง ค่าเฉลี่ยของแต่ละแถวและแถวบนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

การศึกษาภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดน้ำอินทผลัมสกัดที่สกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วยพบว่าร้อยละผลได้ ค่าสี ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมด ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในขณะที่ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดน้ำอินทผลัม คือการสกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วยที่อุณหภูมิบ่มสกัด 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที โดยที่ภาวะการสกัดนี้ส่งผลให้ร้อยละผลได้เท่ากับ 65.94 ± 4.47 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 6.6 ± 0.08 °Brix ค่า L^* เท่ากับ 93.56 ± 0.30 ค่า a^* เท่ากับ -18.42 ± 0.02 ค่า b^* เท่ากับ 75.24 ± 0.08 (ตัวอย่างน้ำอินทผลัมสกัดมีสีเหลืองแกมเขียว) และเมื่อพิจารณาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ พบว่าที่ภาวะการสกัดนี้ส่งผลให้น้ำอินทผลัมสกัดมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด โดยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 326.33 ± 23.21 mg GAE/100 g fresh wt. สารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 1.08 ± 0.04 mg/100 g fresh wt. ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH เท่ากับ 514.06 ± 17.94 mM trolox/100 g fresh wt. และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP เท่ากับ 595.38 ± 12.38 mM trolox/100 g fresh wt. จึงเลือกภาวะการสกัดนี้ใช้ในการทดลองขั้นต่อไป ซึ่งผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าปัจจัยที่ศึกษาในการสกัด ซึ่งได้แก่ เอนไซม์ อุณหภูมิ และเวลาในการบ่ม ส่งผลต่อประสิทธิภาพในการสกัดเมื่อเลือกใช้ภาวะการสกัดที่เหมาะสมต่อตัวอย่าง อีกทั้งการสกัดน้ำผลไม้ด้วยเอนไซม์เพคตินเนสยังสามารถเพิ่มคุณภาพให้กับน้ำผลไม้ได้มากขึ้น ดังนั้นการศึกษาวិธีการสกัดและภาวะการสกัดที่เหมาะสมจึงมีความสำคัญในอุตสาหกรรมเพื่อผลิตและพัฒนาเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพต่อไป

4.2 การพัฒนาสูตรเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดและวิเคราะห์สมบัติทางเคมี กายภาพ และทดสอบการยอมรับของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัด

พืชสมุนไพรเป็นส่วนหนึ่งของชีวิตคนไทยมาอย่างช้านานเป็นส่วนประกอบของอาหารและเครื่องดื่มในชีวิตประจำวันที่ทำให้ความอร่อยและคุณประโยชน์แก่ร่างกาย เช่น เครื่องดื่มยา น้ำพริก น้ำมะตูม และน้ำพุทรา เป็นต้น ปัจจุบันเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพได้รับความนิยมมากขึ้น เนื่องจากผู้บริโภคส่วนใหญ่ตื่นตัวเรื่องโรคมัยต่าง ๆ เป็นผลให้ผู้บริโภคหันมาใส่ใจสุขภาพในแง่ของคุณค่าทางอาหาร ความปลอดภัยและผลของสารอาหารต่อสุขภาพ ดังนั้นงานวิจัยในส่วนนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาสูตรเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดผสมน้ำมะตูมและน้ำพุทราให้มีความน่าสนใจ อร่อย เป็นที่ยอมรับแก่ผู้บริโภค และมีคุณค่ามากขึ้น

การทดลองนี้เป็นการพัฒนาสูตรเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัด โดยแปรสัดส่วนที่เหมาะสมของน้ำอินทผลัมสกัดความเข้มข้น 33.33% w/v น้ำมะตูมความเข้มข้น 10% w/v และน้ำพุทราความเข้มข้น 10% w/v โดยใช้แผนการทดลองแบบผสม (mixture design) ซึ่งเป็นการทดลองวิเคราะห์ค่าผลตอบที่เป็นฟังก์ชันของเปอร์เซ็นต์ของส่วนประกอบ (components) มีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจการยอมรับและเพื่อประมาณค่าพารามิเตอร์ของแต่ละส่วนประกอบที่จะทำให้ผลการยอมรับมีค่าที่ดีที่สุด (Myers และคณะ, 2016) โดยปัจจัยในการศึกษา ได้แก่ น้ำอินทผลัมสกัด (50-70%) น้ำมะตูม (15-25%) และน้ำพุทรา (15-25%) โดยปริมาตรต่อปริมาตร และมีตัวอย่างทดลองทั้งหมด 5 ตัวอย่าง และตัวอย่างควบคุม 1 ตัวอย่างคือ น้ำอินทผลัมสกัด 100%

4.2.1 ปริมาณกรดทั้งหมด ค่าความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัด

ความเป็นกรด คือคุณลักษณะสำคัญอย่างหนึ่งของอาหาร เนื่องจากสามารถส่งผลต่อคุณสมบัติต่าง ๆ เช่น รส กลิ่น และลักษณะของอาหาร ไม่ว่าจะพบในอาหารตามธรรมชาติหรือเกิดขึ้นเมื่อผ่านกระบวนการ เช่น การหมัก การเติมแต่งในอาหาร ความเป็นกรดถือเป็นเกณฑ์ชี้วัดคุณภาพอาหารอย่างหนึ่งและเป็นวิธีมาตรฐานที่ใช้ในการถนอมอาหาร จากการวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมด ค่าความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของสูตรเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัด พบว่าปริมาณกรดทั้งหมดและค่าความเป็นกรด-ด่าง ของตัวอย่างทั้ง 6 ตัวอย่าง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แต่ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยที่ตัวอย่างควบคุมมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดมากที่สุด เนื่องจากตัวอย่างควบคุมเป็นน้ำอินทผลัม 100% ดังแสดงตารางที่ 15 เนื่องจากปริมาณกรดทั้งหมด ค่าความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด มีความสัมพันธ์กันในเชิงของปริมาณน้ำตาลและความเป็นกรดในแต่ละส่วนประกอบ โดยน้ำมะตูมมีปริมาณกรดทั้งหมดเท่ากับ $0.10 \pm 0.01\%$ กรดซิตริก ค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 4.75 ± 0.12 และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 2.6 ± 0.25 °Brix ในขณะที่น้ำพุทรา มีปริมาณกรดทั้งหมดเท่ากับ $0.19 \pm 0.03\%$ กรดซิตริก ค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 4.06 ± 0.08 และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 1.1 ± 0.10 °Brix ดังตารางที่ 14 โดยปริมาณกรดทั้งหมดและค่าความเป็นกรด-ด่างของผลิตภัณฑ์เป็นผลมาจากในผลอินทผลัม มะตูม และพุทรา มีกรดซิตริกประกอบอยู่และการปรับค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยกรดซิตริกก่อนการสกัดน้ำอินทผลัมด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วยเพื่อปรับสภาพเอนไซม์ช่วยย่อย

และทำลายลิกนินที่มีสมบัติห่อหุ้มหรือเคลือบโครงสร้างของเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส และเพื่อเพิ่มขนาดรูพรุนของตัววัตถุดิบและลดการเกิดผลึกของเซลลูโลส ทำให้เอนไซม์สามารถเข้าถึงวัตถุดิบได้ การปรับสภาพด้วยกรดนี้เป็นกระบวนการที่กรดถูกใช้เพื่อเร่งการแตกแยกของพันธะเคมีผ่านปฏิกิริยาการทดแทนนิวคลีโอไฟล์ิกด้วยการเติมองค์ประกอบของน้ำหรือเรียกว่าแอซิดไฮโดรไลซิส (acid hydrolysis) (Palmqvist และ Hahn-Hagerdal, 2002) รวมถึงค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำมะตูมและน้ำพุทรามีค่าใกล้เคียงกับน้ำอินทผลัมสกัด

ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดคือผลรวมของของแข็งที่ละลายได้ในน้ำทั้งหมดใช้บ่งชี้ความเข้มข้นของอาหารเหลว จากผลการทดลองพบว่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของตัวอย่างสูตรที่ 6 มีค่ามากที่สุด เนื่องจากเป็นน้ำอินทผลัมสกัด 100% และอินทผลัมเป็นผลไม้ที่มีปริมาณน้ำตาลมาก และเมื่อเพิ่มปริมาณน้ำมะตูมและน้ำพุทราตั้งแต่ 15-25% โดยปริมาตรต่อปริมาตร ลงในน้ำอินทผลัมสกัดพบว่าในแต่ละสูตรมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดแตกต่างกันเล็กน้อย เนื่องจากปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในน้ำมะตูมและน้ำพุทราที่มีปริมาณน้อยจึงไม่ส่งผลเมื่อผสมลงไป ในน้ำอินทผลัมสกัดในปริมาณที่แตกต่างกัน จากผลการทดลองนี้เป็นไปในทิศทางเดียวกันกับผลการทดลองของ Tanasombun และ Pichaiyongvongdee (2015) ที่ศึกษาพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำลูกเดือยพร้อมดื่มผสมน้ำใบบำนางเข้มข้น และพบว่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของผลิตภัณฑ์ทุกตัวอย่างไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) เมื่อเพิ่มปริมาณน้ำใบบำนางเข้มข้นตั้งแต่ 10-50% โดยปริมาตร เนื่องจากปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดในน้ำใบบำนางเข้มข้นมีปริมาณน้อยมากจึงไม่มีผลเมื่อผสมลงไป ในปริมาณที่แตกต่างกัน

ตารางที่ 14 ปริมาณกรดทั้งหมด ค่าความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำมะตูมและน้ำพุทรา

ตัวอย่าง	ปริมาณกรดทั้งหมด (%กรดซิตริก)	ค่าความเป็นกรด-ด่าง	ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (°Brix)
น้ำมะตูม	0.10±0.01	4.75±0.12	2.6±0.25 ^b
น้ำพุทรา	0.19±0.03	4.06±0.08	1.1±0.10 ^b

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางที่ 15 ปริมาณกรดทั้งหมด ค่าความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดผสมน้ำมะตูมและน้ำพุทรา

สูตรที่ (น้ำอินทผลัมสกัด : น้ำมะตูม : น้ำพุทรา)	ปริมาณกรด ทั้งหมด (%กรดซิตริก) ^{ns}	ค่าความเป็น กรด-ด่าง ^{ns}	ปริมาณของแข็งที่ ละลายได้ทั้งหมด (°Brix)
1 (70% : 15% : 15% v/v)	0.14±0.03	4.51±0.32	6.9±0.45 ^b
2 (60% : 25% : 15% v/v)	0.15±0.02	4.56±0.28	6.4±0.80 ^b
3 (60% : 15% : 25% v/v)	0.14±0.02	4.49±0.33	6.3±0.87 ^b
4 (50% : 25% : 25% v/v)	0.14±0.02	4.53±0.30	6.2±0.97 ^b
5 (60% : 20% : 20% v/v)	0.14±0.02	4.53±0.30	6.6±0.71 ^b
6 (ตัวอย่างควบคุม)	0.14±0.06	4.52±0.31	8.0±0.33 ^a

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษร^{ns} หมายถึง ค่าเฉลี่ยของแต่ละสูตรไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (^{a-b}) หมายถึง ค่าเฉลี่ยของแต่ละสูตรมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

4.2.2 ค่าสี L*, a*, b* และ ΔE^* ของเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัด

สีหรือรงควัตถุเป็นสมบัติทางกายภาพอย่างหนึ่งของอาหาร ทั้งอาหารที่ได้จากธรรมชาติและอาหารที่ได้จากการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ สีเป็นปัจจัยสำคัญที่ผู้บริโภคใช้ในการตัดสินใจเลือกซื้อ ซึ่งการยอมรับสีของอาหารของผู้บริโภคจะแตกต่างกันออกไป รงควัตถุที่มีอยู่ในอาหารตามธรรมชาติ เช่น คลอโรฟิลล์ แคโรทีนอยด์ แอนโทไซยานิน เป็นต้น (Tanaka และคณะ, 2008) จากผลการทดลองพบว่าเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดสูตรที่ 1 ถึง 6 มีค่า L* a* และ ΔE^* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq 0.05$) ในขณะที่ค่า b* ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ดังแสดงตารางที่ 16 เนื่องจากอินทผลัม มะตูม และพุทราเป็นผลไม้ที่มีรงควัตถุที่มีสีเหลืองเป็นพื้นฐาน เครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดสูตรที่ 6 มีค่า L* (ความสว่าง) และ b* มากที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 93.56 ± 0.03 และ 75.24 ± 0.08 ตามลำดับ และมีค่า a* น้อยที่สุด (-18.42 ± 0.02) ซึ่งบ่งบอกความเป็นสีเหลืองและเขียวของตัวอย่าง และตัวอย่างสูตรที่ 1 ถึง 5 ซึ่งเป็นสูตรที่มีส่วนผสมของน้ำมะตูมและน้ำพุทรา มีค่า L* (ความสว่าง) และ b* น้อย และค่า a* มาก เมื่อเทียบกับสูตรที่ 6 โดยตัวอย่างสูตรที่ 1 ถึง 5 มีค่า L* อยู่ในช่วง 44.67 ± 6.55 ถึง 53.33 ± 4.64 มีค่า b* มีค่าอยู่ในช่วง 38.00 ± 19.03 ถึง 49.33 ± 5.44 และมีค่า a* อยู่ในช่วง 12.33 ± 4.99 ถึง

19.00±6.38 (บ่งบอกถึงความเป็นสีแดงและเหลืองของตัวอย่าง) เนื่องจากน้ำมะตูมมีสีน้ำตาลแกมเหลืองเข้มทำให้ส่งผลต่อค่าสีของผลิตภัณฑ์อย่างชัดเจน นอกจากนี้ค่า ΔE^* ซึ่งเป็นการแสดงถึงความแตกต่างของสี โดยพบว่าตัวอย่างสูตรที่ 2 และสูตรที่ 4 มีสัดส่วนของน้ำมะตูมมาก จึงส่งผลให้ค่า ΔE^* มากด้วย โดยมีค่าเท่ากับ 69.97±21.60 และ 69.07±17.50 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับค่า L^* ที่น้อย เมื่อเปรียบเทียบกับสูตรควบคุม (ค่า ΔE^* มาก หมายถึง ตัวอย่างมีสีแตกต่างจากค่าเริ่มต้นมาก)

ตารางที่ 16 ค่า L^* , a^* , b^* และ ΔE^* ของเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดผสมน้ำมะตูมและน้ำพุทรา

สูตรที่ (น้ำอินทผลัมสกัด : น้ำมะตูม : น้ำพุทรา)	L^*	a^*	b^*	ΔE^*
1 (70% : 15% : 15% v/v)	53.33±4.64 ^b	12.33±4.99 ^a	38.33±8.73 ^b	62.66±10.99 ^e
2 (60% : 25% : 15% v/v)	46.33±8.38 ^b	17.33±6.18 ^a	38.00±19.03 ^b	69.97±21.60 ^a
3 (60% : 15% : 25% v/v)	51.33±3.40 ^b	12.67±3.86 ^a	40.00±13.95 ^b	63.17±14.78 ^d
4 (50% : 25% : 25% v/v)	44.67±6.55 ^b	16.67±4.50 ^a	41.33±15.69 ^b	69.07±17.50 ^b
5 (60% : 20% : 20% v/v)	48.00±3.56 ^b	19.00±6.38 ^a	49.33±5.44 ^b	64.40±9.03 ^c
6 (ตัวอย่างควบคุม)	93.56±0.03 ^a	-18.42±0.02 ^b	75.24±0.08 ^a	0.00±0.00 ^f

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (^{a-f}) หมายถึง ค่าเฉลี่ยของแต่ละสูตรมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

4.2.3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดของเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัด

อิทธิพลของชนิดและสัดส่วนของส่วนประกอบของเครื่องดื่มส่งผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) จากผลการทดลองพบว่าน้ำมะตูมมีปริสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 828±10.40 mg GAE/100 mL และ 4.71±0.06 mg β -CE/100 mL ตามลำดับ ในขณะที่น้ำพุทรา มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 124.67±12.77 mg GAE/100 mL และ 0.67±0.04 mg β -CE/100 mL ตามลำดับ ดังแสดงตารางที่ 17 และพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดแปรผันตามสัดส่วนของน้ำมะตูม

และน้ำพุทรา โดยปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของตัวอย่างมีค่าระหว่าง 364.67 ± 17.00 ถึง 1291.33 ± 41.70 mg GAE/100 mL และสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดมีค่าระหว่าง 1.09 ± 0.10 ถึง 7.55 ± 0.51 mg β -CE/100 mL ดังแสดงตารางที่ 18 และพบว่าตัวอย่างสูตรที่ 4 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดมากที่สุดโดยมีค่าเท่ากับ 1291.33 ± 41.70 mg GAE/100 mL และ 7.55 ± 0.51 mg β -CE/100 mL ตามลำดับ เนื่องจากตัวอย่างสูตรที่ 4 มีสัดส่วนของน้ำมะตูม 25% และน้ำพุทรา 25% ซึ่งเป็นสัดส่วนที่มากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับสูตรอื่น ๆ รองลงมาคือ ตัวอย่างสูตรที่ 2 ที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 1206.33 ± 12.47 mg GAE/100 mL และ 7.06 ± 1.05 mg β -CE/100 mL ตามลำดับ โดยมีสัดส่วนของน้ำมะตูม 25% และน้ำพุทรา 15% และตัวอย่างสูตรที่ 6 (ตัวอย่างควบคุม) มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดน้อยที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 364.67 ± 17.00 mg GAE/100 mL และ 1.09 ± 0.10 mg β -CE/100 mL ตามลำดับ จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการพัฒนาสูตรเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดผสมน้ำมะตูมและพุทรา สามารถส่งเสริมคุณค่าโดยเพิ่มปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระให้กับตัวอย่าง เนื่องจากมะตูมและพุทราเป็นสมุนไพรที่มีสารต้านอนุมูลอิสระและมีคุณค่าทางโภชนาการซึ่งเป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภค

ตารางที่ 17 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดของน้ำมะตูมและน้ำพุทรา

ตัวอย่าง	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (mg GAE/100 mL*)	ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมด (mg β -CE/100 mL*)
น้ำมะตูม	828.00 ± 10.40	4.71 ± 0.06
น้ำพุทรา	124.67 ± 12.77	0.67 ± 0.04

ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

* mg GAE/100 mL = mg gallic acid equivalent/100 mL

* mg β -CE/100 mL = mg β -carotene equivalent/100 mL

ตารางที่ 18 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดของเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดผสมน้ำมะตูมและน้ำพุทรา

สูตรที่ (น้ำอินทผลัมสกัด : น้ำมะตูม : น้ำพุทรา)	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ทั้งหมด (mg GAE/100 mL)	ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ ทั้งหมด (mg β -CE/100 mL)
1 (70% : 15% : 15% v/v)	1023.00±26.77 ^b	7.02±0.07 ^{ab}
2 (60% : 25% : 15% v/v)	1206.33±12.47 ^a	7.06±1.05 ^{ab}
3 (60% : 15% : 25% v/v)	973.00±10.80 ^b	5.56±0.25 ^b
4 (50% : 25% : 25% v/v)	1291.33±41.70 ^a	7.55±0.51 ^a
5 (60% : 20% : 20% v/v)	994.67±31.18 ^b	6.18±0.04 ^{ab}
6 (ตัวอย่างควบคุม)	364.67±17.00 ^c	1.09±0.10 ^c

ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (^{a-c}) หมายถึง ค่าเฉลี่ยของแต่ละสูตรมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

* mg GAE/100 mL = mg gallic acid equivalent/100 mL

* mg β -CE/100 mL = mg β -carotene equivalent/100 mL

4.2.4 การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP ของเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัด

จากการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP ของเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัด พบว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP ของเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดมีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมด เนื่องจากคุณสมบัติทางชีวภาพของสารต้านอนุมูลอิสระมีความสัมพันธ์กับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ กล่าวคือสารประกอบฟีนอลิกในมะตูมและพุทราที่มีอนุพันธ์ของไฮดรอกซีซินนามิก คือ *p*-coumaric และอนุพันธ์ของไฮดรอกซีเบนโซอิก คือ gallic acid และ vanillic acid โดยสารอนุพันธ์ของไฮดรอกซีซินนามิกส่งผลให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH ดีกว่าอนุพันธ์ไฮดรอกซีเบนโซอิก (Jing และคณะ, 2012) และสารแคโรทีนอยด์ในมะตูมเป็นกลุ่มแคโรทีนซึ่งมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดีกว่ากลุ่มแซนโทฟิลล์ เนื่องจากกลุ่มแคโรทีนมีโครงสร้างที่พันธะคู่ที่มีการคอนจูเกตอย่างสมบูรณ์ (Miller, 1996) ในขณะที่กลุ่มของแซนโทฟิลล์มีกลุ่มของไฮดรอกซิลที่มาก่อกับวง

แหวนทำให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระลดลง อีกทั้งสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ในมะตูม ได้แก่ rutin ยังส่งผลต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP เนื่องจากเป็นสารชนิดไกลโคไซด์ที่ละลายน้ำได้ดี จากผลการทดลองพบว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของตัวอย่างมีค่าระหว่าง 525.52 ± 27.99 ถึง 1535.13 ± 36.80 mM trolox/100 mL และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ของตัวอย่างมีค่าระหว่าง 603.95 ± 50.36 ถึง 1633.57 ± 15.43 mM trolox/100 mL ดังแสดงตารางที่ 19 โดยตัวอย่างสูตรที่ 4 มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP มากที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 1535.13 ± 36.80 mM trolox/100 mL และ 1633.57 ± 15.43 mM trolox/100 mL ตามลำดับ รองลงมา คือตัวอย่างสูตรที่ 2 ที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP เท่ากับ 1530.21 ± 38.30 และ 1600.24 ± 37.15 mM trolox/100 mL ตามลำดับ และตัวอย่างสูตรที่ 6 (ตัวอย่างควบคุม) มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP น้อยที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 525.52 ± 27.99 mM trolox/100 mL และ 603.95 ± 50.36 mM trolox/100 mL ตามลำดับ ซึ่งน้ำมะตูมและน้ำพุทรา ประกอบด้วยสารต้านอนุมูลอิสระมากมายหลายชนิดจึงส่งผลให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดที่มีการผสมน้ำมะตูมและน้ำพุทรา มีค่าเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 19 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP ของเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดผสมน้ำมะตูมและน้ำพุทรา

สูตรที่ (น้ำอินทผลัมสกัด : น้ำมะตูม : น้ำพุทรา)	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH (mM trolox/100 mL)	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี FRAP (mM trolox/100 mL)
1 (70% : 15% : 15% v/v)	1394.79 ± 36.92^{bc}	1487.14 ± 10.51^{bc}
2 (60% : 25% : 15% v/v)	1530.21 ± 38.30^a	1600.24 ± 37.15^{ab}
3 (60% : 15% : 25% v/v)	1211.46 ± 60.88^c	1289.52 ± 66.52^d
4 (50% : 25% : 25% v/v)	1535.13 ± 36.80^a	1633.57 ± 15.43^a
5 (60% : 20% : 20% v/v)	1505.00 ± 15.59^{ab}	1394.29 ± 45.27^{cd}
6 (ตัวอย่างควบคุม)	525.52 ± 27.99^d	603.95 ± 50.36^e

ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (a-e) หมายถึง ค่าเฉลี่ยของแต่ละสูตรมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

4.2.5 การทดสอบการยอมรับจากผู้บริโภค

ผลการทดสอบการยอมรับจากผู้บริโภค โดยการให้คะแนนคุณลักษณะต่าง ๆ ได้แก่ สี กลิ่น รสหวาน รสเปรี้ยว กลิ่นรส และความชอบโดยรวม พบว่าคะแนนความชอบของคุณลักษณะต่าง ๆ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ดังแสดงตารางที่ 20 จากผลการทดสอบการยอมรับจากผู้บริโภค พบว่าผลคะแนนความชอบด้านสีมีค่าระหว่าง 5.54 ± 1.99 ถึง 7.13 ± 1.27 คะแนน (อยู่ในระดับเฉลี่ยถึงชอบปานกลาง) ในขณะที่คะแนนความชอบด้านกลิ่นมีค่าระหว่าง 5.77 ± 1.86 ถึง 6.66 ± 1.18 คะแนน คะแนนความชอบด้านรสหวานมีค่าระหว่าง 5.00 ± 1.60 ถึง 6.20 ± 1.55 คะแนน คะแนนความชอบด้านรสเปรี้ยวมีค่าระหว่าง 5.22 ± 1.63 ถึง 6.00 ± 1.82 คะแนน คะแนนความชอบด้านกลิ่นรสมีค่าระหว่าง 5.59 ± 1.70 ถึง 6.24 ± 1.61 คะแนน และความเนนความชอบโดยรวมมีค่าระหว่าง 5.41 ± 1.55 ถึง 6.50 ± 1.61 คะแนน (อยู่ในระดับเฉลี่ยถึงชอบเล็กน้อย) โดยตัวอย่างสูตรที่ 4 มีคะแนนความชอบด้านกลิ่นรสและความชอบโดยรวมน้อยที่สุด (5.59 ± 1.70 และ 5.41 ± 1.55 คะแนน ตามลำดับ) เนื่องจากมีปริมาณของส่วนผสมน้ำมะตูมและพุทรามากที่สุด (25% v/v และ 25% v/v ตามลำดับ) และมีปริมาณน้ำอินทผลัมสกัดน้อยที่สุด 50% v/v เนื่องจากน้ำมะตูมและน้ำพุทราที่มีกลิ่นสมุนไพรเฉพาะตัว เมื่อผสมในปริมาณที่มากอาจทำให้กลิ่นคล้ายกับยาสมุนไพรจึงทำให้ดื่มยาก อีกทั้งปริมาณน้ำอินทผลัมสกัดน้อยที่สุดจึงทำให้ตัวอย่างมีรสชาติที่หวานน้อยไม่กลมกล่อม ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Tanasombun และ Pichaiyongvongdee (2015) ที่ศึกษาพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำลูกเต๋อยพร้อมดื่มผสมน้ำใบย่านางเข้มข้น พบว่าตัวอย่างน้ำลูกเต๋อยผสมน้ำใบย่านางเข้มข้น 10% มีคะแนนความชอบโดยรวมเท่ากับ 7.54 ± 1.17 คะแนน ขณะเดียวกันน้ำลูกเต๋อยผสมน้ำใบย่านางเข้มข้น 50% มีคะแนนความชอบโดยรวมเท่ากับ 5.71 ± 1.72 คะแนน แสดงให้เห็นว่าการผสมน้ำใบย่านางที่ความเข้มข้นมากขึ้น ส่งผลต่อการยอมรับของผู้ทดสอบชิมลดลง เนื่องจากน้ำใบย่านางมีรสชาติและกลิ่นที่เหม็นเขียว ในทางกลับกันเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัด ตัวอย่างสูตรที่ 1 มีคะแนนความชอบด้านกลิ่นรสและความชอบโดยรวม จากผู้บริโภคมามากที่สุดโดยมีค่าเท่ากับ 6.24 ± 1.61 และ 6.50 ± 1.61 คะแนน ตามลำดับ เนื่องจากเป็นสูตรเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดผสมน้ำมะตูมและน้ำพุทราที่มีสัดส่วนของน้ำอินทผลัมมากที่สุดคือ 70% และมีสัดส่วนของน้ำมะตูมและน้ำพุทราน้อยที่สุด (15% v/v และ 15% v/v ตามลำดับ) ส่งผลให้สูตรนี้มีรสชาติหวาน กลมกล่อม และมีกลิ่นรสของน้ำมะตูมและน้ำพุทราน้อยที่สุดจึงทำให้สูตรนี้ดื่มง่าย

ตารางที่ 20 คะแนนการทดสอบการยอมรับจากผู้บริโภคต่อเครื่องต้มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดผสมน้ำมะตูมและน้ำพุทรา

สูตรที่		สี	กลิ่น	รสหวาน	รสเปรี้ยว	กลิ่นรส	ความชอบโดยรวม
(น้ำอินทผลัมสกัด : น้ำมะตูม : น้ำพุทรา)							
1	(70% : 15% : 15% v/v)	6.92±1.44 ^a	6.51±1.45 ^a	6.20±1.55 ^a	6.00±1.82 ^a	6.24±1.61 ^a	6.50±1.61 ^a
2	(60% : 25% : 15% v/v)	7.13±1.23 ^a	6.66±1.18 ^a	5.83±1.56 ^a	5.70±1.62 ^{ab}	5.98±1.52 ^{ab}	5.97±1.56 ^{ab}
3	(60% : 15% : 25% v/v)	7.12±1.09 ^a	6.41±1.61 ^{ab}	5.66±1.75 ^{ab}	5.83±1.80 ^{ab}	5.98±1.83 ^{ab}	6.00±1.68 ^{ab}
4	(50% : 25% : 25% v/v)	7.13±1.27 ^a	6.14±1.35 ^{ab}	5.00±1.60 ^b	5.22±1.63 ^b	5.59±1.70 ^b	5.41±1.55 ^b
5	(60% : 20% : 20% v/v)	6.62±1.11 ^a	6.38±1.56 ^{ab}	5.94±1.54 ^a	5.96±1.68 ^{ab}	5.96±1.81 ^{ab}	5.96±1.64 ^{ab}
6	(ตัวอย่างควบคุม)	5.54±1.99 ^b	5.77±1.86 ^b	5.91±1.89 ^a	5.53±2.04 ^{ab}	6.21±2.00 ^{ab}	5.87±2.15 ^{ab}

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (^{a,b}) หมายถึง ค่าเฉลี่ยของแต่ละสูตรมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

จากการศึกษาการพัฒนาสูตรเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดผสมน้ำมะตูมและน้ำพุทราโดยออกแบบการทดลองแบบผสม (mixture design) พบว่าตัวอย่างแต่ละสูตรมีปริมาณกรดทั้งหมดและค่าความเป็นกรด-ด่างของทุกตัวอย่างไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ในขณะที่ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ค่าสี ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และสูตรที่ได้คะแนนการยอมรับจากผู้บริโภคมากที่สุดมีส่วนของน้ำอินทผลัมสกัด : น้ำมะตูม : น้ำพุทรา เท่ากับ 70 : 15 : 15% v/v โดยที่ตัวอย่างสูตรนี้มีปริมาณกรดทั้งหมดเท่ากับ 0.14 ± 0.03 %กรดซิติค ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 4.51 ± 0.32 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 6.9 ± 0.45 ค่า L^* เท่ากับ 53.33 ± 4.64 ค่า a^* เท่ากับ 12.33 ± 4.99 ค่า b^* เท่ากับ 38.33 ± 8.73 (ตัวอย่างมีสีน้ำตาลแกมเหลือง) ค่า ΔE^* เท่ากับ 62.66 ± 10.99 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 1023 ± 26.77 mg GAE/100 mL ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 7.02 ± 0.07 mg β -CE/100 mL ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH เท่ากับ 1394.79 ± 36.92 mM trolox/100 mL ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP เท่ากับ 1487.14 ± 10.51 mM trolox/100 mL คะแนนความชอบโดยรวมเท่ากับ 6.50 ± 1.61 คะแนน เมื่อพิจารณาจากคะแนนความชอบโดยรวม จึงเลือกเครื่องดื่มสูตรที่ 1 นี้เพื่อใช้ในการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดที่มีอายุการเก็บรักษาที่เหมาะสมต่อไป และเมื่อพิจารณาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระร่วมด้วยพบว่าไม่มีความแตกต่างจากสูตรที่ 4 ที่มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด ดังนั้นเครื่องดื่มสูตรที่ 1 จึงเหมาะสมต่อการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์นำออกสู่ตลาด เนื่องจากเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค มีรสชาติที่ดี และยังอุดมด้วยสารต้านอนุมูลอิสระอีกด้วย

4.3 การศึกษาภาวะที่เหมาะสมต่อการแปรรูปด้วยความร้อนและบรรจุภัณฑ์ต่อสมบัติทางกายภาพ เคมีและจุลินทรีย์ของเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

การแปรรูปด้วยความร้อนเป็นการถนอมอาหารเพื่อทำลายจุลินทรีย์ที่ก่อโรค รวมทั้งจุลินทรีย์และเอนไซม์ที่ทำให้อาหารเสื่อมเสีย จุดประสงค์ของการถนอมอาหารด้วยวิธีนี้คือเพื่อเก็บรักษาอาหารไว้บริโภคนอกฤดูกาล เพื่อความมั่นคงทางอาหาร (food security) ซึ่งสามารถกระจายอาหารไปสู่ที่ต่าง ๆ เพื่อบรรเทาสถานการณ์ที่ทำให้อาหารขาดแคลน เพื่อเก็บรักษาผลิตผลที่ผลิตได้มากกว่าที่ใช้บริโภค และเพื่อความสะอาด เป็นต้น สาเหตุที่ทำให้อาหารเน่าเสียมาจากเอนไซม์ที่อยู่ในอาหารและจุลินทรีย์จากสภาพแวดล้อม ดังนั้นการแปรรูปด้วยความร้อนจึงเป็นอีกหนึ่งวิธีที่นิยมใช้ในการถนอมอาหารและยืดเวลาการเก็บรักษาให้ยาวนานขึ้นในการผลิตผลิตภัณฑ์บรรจุภัณฑ์เป็นอีกหนึ่งปัจจัยสำคัญที่ควรคำนึงถึง เนื่องจากบรรจุภัณฑ์เป็นปัจจัยที่สำคัญต่อคุณภาพและอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ ชนิดของบรรจุภัณฑ์ที่ใช้มีสมบัติที่แตกต่างกันออกไป เช่น สมบัติป้องกันการซึมผ่านออกซิเจน สมบัติป้องกันการซึมผ่านคาร์บอนไดออกไซด์ สมบัติป้องกันการซึมผ่านไนโตรเจน สมบัติป้องกันการซึมผ่านไอน้ำ สมบัติการต้านแรงกระแทก ความใส อุณหภูมิจุดเดือด และจุดหลอมเหลว เป็นต้น ขวดแก้วมีสมบัติป้องกันการซึมผ่านของแก๊สและไอน้ำได้ดี มีความใส มีอุณหภูมิจุดเดือด และจุดหลอมเหลวที่มาก ดังนั้นการพิจารณาเลือกวิธีการแปรรูปด้วยความร้อนและบรรจุภัณฑ์ที่เหมาะสมจึงต้องคำนึงถึงประโยชน์ คุณค่าทางอาหารที่ยังคงเหลืออยู่ ความเหมาะสม คุณสมบัติ การคงสภาพคุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหาร และการยืดอายุการเก็บ เพื่อให้เกิดประโยชน์ต่อผู้ประกอบการและผู้บริโภคมากที่สุด

4.3.1 ปริมาณกรดทั้งหมดของเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

จากการวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดของเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสที่บรรจุลงในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชา พบว่าปริมาณกรดทั้งหมดของทุกตัวอย่างมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นระหว่างการเก็บรักษา โดยเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์และบรรจุในบรรจุภัณฑ์ทั้ง 2 ชนิดมีปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยมีค่าเริ่มต้นอยู่ในช่วง 0.10 ± 0.01 ถึง 0.11 ± 0.01 %กรดซิตริก ดังแสดงตารางที่ 21 ปริมาณกรดทั้งหมดของตัวอย่างควบคุมที่บรรจุในขวด

แก้วใสและขวดแก้วสีขามีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1 จนถึงสัปดาห์ที่ 9 เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษา โดยพบว่าปริมาณกรดทั้งหมดของตัวอย่างควบคุมที่บรรจุในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีขามีค่าเท่ากับ 0.38 ± 0.01 และ 0.39 ± 0.01 %กรดซิตริก ตามลำดับเมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษา แสดงให้เห็นว่าตัวอย่างควบคุมที่ไม่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ด้วยความร้อนมีการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์จากจุลินทรีย์ เนื่องจากมีอัตราการผลิตกรดที่มากขึ้น (เกิดการหมัก) และเกิดแก๊ส ดังนั้นพาสเจอร์ไรส์มีผลต่อระยะเวลาการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ เนื่องจากการพาสเจอร์ไรส์สามารถทำลายจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุการเสื่อมเสียในอาหาร อีกทั้งยังเป็นการช่วยถนอมอาหาร (Fellows, 2009) ในขณะที่ตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ด้วยวิธีอุณหภูมิต่ำเวลานาน (low temperature long time; LTLT) และอุณหภูมิสูงเวลาสั้น (high temperature short time; HTST) มีปริมาณกรดเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยจากเริ่มต้น และเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษาที่สัปดาห์ที่ 9 เครื่องดื่มที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ด้วยวิธี LTLT ที่บรรจุในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีขา มีปริมาณกรดทั้งหมดเท่ากับ 0.12 ± 0.03 และ 0.11 ± 0.01 %กรดซิตริก ตามลำดับ ในขณะที่เครื่องดื่มที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ด้วยวิธี HTST ที่บรรจุในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีขามีปริมาณกรดทั้งหมด 0.13 ± 0.01 และ 0.13 ± 0.01 %กรดซิตริก ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Majumdar และคณะ (2010) ที่ศึกษาคุณภาพของน้ำสัระแหนที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์และการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 180 วัน โดยพบว่าปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาจาก 0.25 ถึง 0.32% ซึ่งการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยของปริมาณกรดทั้งหมดนี้ไม่ส่งผลต่อคุณภาพหรือการยอมรับของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์

ตารางที่ 21 ปริมาณกรดทั้งหมดของเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดระหว่างการเก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ระยะเวลา การเก็บรักษา (สัปดาห์) ^{ns}	ปริมาณกรดทั้งหมด (%กรดซิตริก)					
	ชนิดของบรรจุภัณฑ์					
	ขวดแก้วใส			ขวดแก้วสีชา		
ตัวอย่าง ควบคุม	LTLT	HTST	ตัวอย่าง ควบคุม	LTLT	HTST	
0	0.11±0.01	0.10±0.01	0.10±0.01	0.11±0.01	0.10±0.01	0.10±0.01
1	0.11±0.01 ^a	0.10±0.01 ^{ab}	0.12±0.01 ^a	0.09±0.01 ^b	0.10±0.01 ^{ab}	0.11±0.01 ^a
2	0.18±0.01 ^a	0.11±0.01 ^b	0.11±0.01 ^b	0.18±0.01 ^a	0.11±0.01 ^b	0.11±0.01 ^b
3	0.27±0.01 ^a	0.10±0.01 ^d	0.13±0.01 ^c	0.20±0.01 ^b	0.10±0.01 ^d	0.13±0.01 ^c
4	0.34±0.01 ^a	0.11±0.01 ^c	0.12±0.01 ^c	0.25±0.01 ^b	0.11±0.01 ^c	0.12±0.01 ^c
5	0.32±0.01 ^a	0.12±0.01 ^{de}	0.14±0.01 ^c	0.26±0.01 ^b	0.11±0.01 ^e	0.13±0.01 ^{cd}
6	0.39±0.01 ^a	0.10±0.01 ^d	0.13±0.02 ^c	0.31±0.01 ^b	0.11±0.01 ^{cd}	0.11±0.01 ^{cd}
7	0.36±0.01 ^a	0.11±0.01 ^c	0.11±0.01 ^c	0.30±0.01 ^b	0.10±0.01 ^c	0.12±0.01 ^c
8	0.37±0.01 ^a	0.10±0.01 ^c	0.14±0.01 ^b	0.36±0.01 ^a	0.08±0.01 ^d	0.11±0.01 ^c
9	0.38±0.01 ^a	0.12±0.03 ^b	0.13±0.01 ^b	0.39±0.01 ^a	0.11±0.01 ^b	0.13±0.01 ^b

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษร ^{ns} หมายถึง ค่าเฉลี่ยของตัวอย่างในแต่ละสัปดาห์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (^{a-e}) หมายถึง ค่าเฉลี่ยของแต่ละแถวแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

4.3.2 ค่าความเป็นกรด-ด่างของเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

จากการศึกษาผลของการพาสเจอร์ไรซ์และบรรจุภัณฑ์ต่อค่าความเป็นกรด-ด่างของเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างของทุกตัวอย่างมีแนวโน้มแปรผกผันกับปริมาณกรดทั้งหมด โดยทุกตัวอย่างมีค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) และมีค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นอยู่ในช่วง 4.35 ± 0.01 ถึง 4.37 ± 0.01 ดังแสดงตารางที่ 22 ค่าความเป็นกรด-ด่างของตัวอย่างควบคุมที่บรรจุในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีขามีแนวโน้มลดลงเรื่อย ๆ ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1 จนถึงสัปดาห์ที่ 9 เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษา พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างของตัวอย่างควบคุมที่บรรจุในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีขามีค่าเท่ากับ 3.81 ± 0.03 และ 3.82 ± 0.05 ตามลำดับ ในขณะที่ตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ด้วยวิธี LTLT และ HTST มีค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงเพียงเล็กน้อยจากเริ่มต้น และเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษาที่สัปดาห์ที่ 9 เครื่องดื่มที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ด้วยวิธี LTLT ที่บรรจุในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีขามีค่าเท่ากับ 4.30 ± 0.02 และ 4.32 ± 0.03 ตามลำดับ และเครื่องดื่มที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ด้วยวิธี HTST ที่บรรจุในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีขามีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 4.31 ± 0.01 และ 4.34 ± 0.01 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Majumdar และคณะ (2010) ที่ศึกษาคุณภาพของน้ำสละแช่เย็นที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์และการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 180 วัน โดยพบว่าปริมาณกรดทั้งหมดมีค่าเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ในขณะที่ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาจาก 4.0 เป็น 3.93 ซึ่งค่าความเป็นกรด-ด่างมีความสัมพันธ์กับปริมาณกรดทั้งหมด หากปริมาณกรดทั้งหมดยิ่งมาก ส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่างยิ่งลดต่ำลง

ตารางที่ 22 ค่าความเป็นกรด-ด่างของเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดระหว่างการเก็บรักษา
ในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ระยะเวลา การเก็บรักษา (สัปดาห์) ^{ns}	ค่าความเป็นกรด-ด่าง					
	ชนิดของบรรจุภัณฑ์					
	ขวดแก้วใส			ขวดแก้วสีชา		
ตัวอย่าง ควบคุม	LTLT	HTST	ตัวอย่าง ควบคุม	LTLT	HTST	
0	4.37±0.01	4.35±0.01	4.36±0.01	4.37±0.01	4.35±0.01	4.36±0.01
1	4.27±0.02 ^b	4.35±0.01 ^a	4.36±0.02 ^a	4.26±0.02 ^b	4.35±0.01 ^a	4.36±0.02 ^a
2	3.87±0.02 ^b	4.38±0.01 ^a	4.36±0.01 ^a	3.96±0.01 ^b	4.35±0.01 ^a	4.36±0.01 ^a
3	3.85±0.01 ^b	4.32±0.01 ^a	4.35±0.01 ^a	3.86±0.02 ^b	4.35±0.02 ^a	4.35±0.01 ^a
4	3.84±0.01 ^b	4.32±0.02 ^a	4.35±0.02 ^a	3.86±0.02 ^b	4.36±0.02 ^a	4.35±0.01 ^a
5	3.83±0.01 ^b	4.32±0.02 ^a	4.35±0.01 ^a	3.84±0.02 ^b	4.36±0.04 ^a	4.35±0.03 ^a
6	3.80±0.01 ^b	4.32±0.01 ^a	4.32±0.04 ^a	3.84±0.03 ^b	4.36±0.04 ^a	4.35±0.03 ^a
7	3.81±0.02 ^b	4.30±0.02 ^a	4.32±0.01 ^a	3.83±0.02 ^b	4.34±0.03 ^a	4.35±0.01 ^a
8	3.80±0.01 ^b	4.30±0.08 ^a	4.31±0.03 ^a	3.83±0.05 ^b	4.34±0.02 ^a	4.34±0.05 ^a
9	3.81±0.03 ^b	4.30±0.02 ^a	4.31±0.01 ^a	3.82±0.05 ^b	4.32±0.03 ^a	4.34±0.01 ^a

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษร ^{ns} หมายถึง ค่าเฉลี่ยของตัวอย่างในแต่ละสัปดาห์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (^{a-b}) หมายถึง ค่าเฉลี่ยของแต่ละแถวแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

4.3.3 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของเครื่องต้มพร้อมต้มจากน้ำอินทผลัมสกัด ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

จากการวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของเครื่องต้มพร้อมต้มจากน้ำอินทผลัมสกัดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์และบรรจุลงในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชา พบว่าทุกตัวอย่างมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของทุกตัวอย่างมีแนวโน้มลดลงเล็กน้อยระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยเครื่องต้มพร้อมต้มจากน้ำอินทผลัมสกัดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์และบรรจุในบรรจุภัณฑ์ทั้ง 2 ชนิด มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเริ่มต้นอยู่ในช่วง 6.9 ± 0.06 ถึง 7.2 ± 0.06 °Brix ดังแสดงตารางที่ 23 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของตัวอย่างควบคุมที่บรรจุในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชา มีแนวโน้มลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษาพบว่า ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของตัวอย่างควบคุมที่บรรจุในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชามีค่าเท่ากับ 6.6 ± 0.06 และ 6.7 ± 0.15 °Brix ตามลำดับ ในขณะที่ตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ด้วยวิธี LTLT และ HTST มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดค่อนข้างคงที่จากเริ่มต้น และเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษาที่สัปดาห์ที่ 9 เครื่องต้มที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ด้วยวิธี LTLT ที่บรรจุในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชามีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 6.8 ± 0.06 และ 6.8 ± 0.10 °Brix ตามลำดับ และเครื่องต้มที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ด้วยวิธี HTST ที่บรรจุในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชามีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 6.8 ± 0.01 และ 6.8 ± 0.17 °Brix ตามลำดับ ซึ่งปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดมีความสัมพันธ์กับปริมาณกรดทั้งหมดและค่าความเป็นกรด-ด่าง หากปริมาณกรดทั้งหมดยิ่งมาก ส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่างและปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ยิ่งลดต่ำลง เนื่องจากการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์จากจุลินทรีย์จำพวกแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่ใช้น้ำตาลในการเจริญและเกิดการหมัก จึงทำให้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดและค่าความเป็นกรด-ด่างลดลง ในขณะที่ปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 23 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของเครื่องต้มพร้อมต้มจากน้ำอินทผลัมสกัดระหว่างการเก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ระยะเวลาการเก็บรักษา (สัปดาห์) ^{ns}	ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (°Brix)					
	ชนิดของบรรจุภัณฑ์					
	ขวดแก้วใส			ขวดแก้วสีชา		
ตัวอย่างควบคุม	LTLT	HTST	ตัวอย่างควบคุม	LTLT	HTST	
0	7.2±0.06	6.9±0.06	6.9±0.06	7.2±0.06	6.9±0.06	6.9±0.06
1	7.1±0.10	6.8±0.06	6.9±0.01	7.2±0.06	6.9±0.06	6.9±0.01
2	7.1±0.06	6.8±0.06	6.8±0.06	7.2±0.12	6.9±0.06	6.9±0.10
3	7.0±0.06	6.8±0.06	6.8±0.06	7.1±0.10	6.9±0.06	6.9±0.10
4	7.0±0.10	6.8±0.06	6.8±0.01	7.1±0.06	6.9±0.12	6.9±0.06
5	6.9±0.01	6.8±0.06	6.8±0.01	7.1±0.10	6.9±0.10	6.9±0.01
6	6.9±0.06	6.8±0.06	6.8±0.06	7.0±0.12	6.8±0.17	6.9±0.10
7	6.7±0.06	6.8±0.10	6.8±0.06	6.8±0.38	6.8±0.20	6.9±0.12
8	6.6±0.06	6.8±0.01	6.8±0.06	6.7±0.15	6.8±0.17	6.9±0.10
9	6.6±0.06	6.8±0.06	6.8±0.01	6.7±0.15	6.8±0.10	6.8±0.17

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษร ^{ns} หมายถึง ค่าเฉลี่ยของตัวอย่างในแต่ละสัปดาห์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

4.3.4 ค่า L^* a^* b^* และ ΔE^* ของเครื่องต้มพร้อมต้มจากน้ำอินทผลัมสกัดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

จากการวิเคราะห์ค่าสีของเครื่องต้มพร้อมต้มจากน้ำอินทผลัมสกัดร่วมกับการพาสเจอร์ไรซ์และบรรจุภัณฑ์ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าค่า L^* เริ่มต้นของทุกตัวอย่างมีค่าอยู่ในช่วง 52.14 ± 1.99 ถึง 58.61 ± 1.51 และค่า b^* เริ่มต้นมีค่าอยู่ในช่วง 67.52 ± 1.98 ถึง 70.59 ± 0.02 โดยที่ค่า L^* และ b^* ของทุกตัวอย่างมีแนวโน้มลดลงระหว่างการเก็บรักษา ดังแสดงตารางที่ 24 และ 26 ตามลำดับ ในขณะที่ค่า a^* เริ่มต้นของทุกตัวอย่างมีค่าอยู่ในช่วง 28.66 ± 0.02 ถึง 29.70 ± 0.01 โดยค่า a^* ของทุกตัวอย่างมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ดังแสดงตารางที่ 25

โครงสร้างของสารแคโรทีนอยด์ที่เป็นรงควัตถุมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน แคโรทีนอยด์เป็นสารที่ไวต่อสภาพแวดล้อม เช่น ออกซิเจน ความร้อน เป็นต้น ส่งผลให้ค่า b^* ที่บ่งบอกความเป็นสีเหลืองมีค่าลดลง และค่า a^* ที่บ่งบอกความเป็นสีแดงมีค่ามากขึ้นเนื่องจากปฏิกิริยาของเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดส (polyphenol oxidase, PPO) หรือปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่เกี่ยวกับเอนไซม์นี้เป็นปฏิกิริยาออกซิเดชันจะเกิดขึ้นเมื่อสารที่ทำปฏิกิริยา (substrate) และออกซิเจนเข้ามาสัมผัสกัน ซึ่งการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวส่งผลให้ค่า ΔE^* มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในทุกตัวอย่างระหว่างการเก็บรักษา ดังแสดงตารางที่ 27 สำหรับตัวอย่างที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ขวดแก้วสีชา มีการเปลี่ยนแปลงของค่าสีน้อยกว่าตัวอย่างที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ขวดแก้วใส รวมถึงวิธีการพาสเจอร์ไรซ์ด้วยวิธี HTST ส่งผลให้ตัวอย่างมีค่าสีเปลี่ยนแปลงน้อยกว่าตัวอย่างจากวิธีการพาสเจอร์ไรซ์แบบ LTLT โดยค่า ΔE^* ของตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ด้วยวิธี LTLT ที่บรรจุในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชา มีค่าอยู่ในช่วง 2.90 ± 0.63 ถึง 8.57 ± 1.40 และ 0.62 ± 0.40 ถึง 5.71 ± 1.43 ตามลำดับ ในขณะที่ค่า ΔE^* ของตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ด้วยวิธี HTST ที่บรรจุในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชามีค่าอยู่ในช่วง 1.16 ± 0.21 ถึง 6.66 ± 3.14 และ 0.65 ± 0.14 ถึง 4.81 ± 3.15 ตามลำดับ ขวดแก้วสีชาสามารถป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำและกลิ่นได้ดี จึงสามารถเก็บความสดใหม่ของผลิตภัณฑ์ที่บรรจุอยู่ภายในได้นาน แต่ทั้งนี้ขึ้นกับความสนิทของฝาที่ปิดภาชนะซึ่งขวดแก้วสีชามีฝาปิดแบบฝาเกลียวพลาสติกจึงสามารถเป็นทางผ่านของแก๊สได้ซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย เมื่อเทียบกับบรรจุภัณฑ์ขวดแก้วใสที่แสงสามารถส่องผ่านได้เต็มที่รวมถึงวิธีการพาสเจอร์ไรซ์ด้วยวิธี HTST ที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ในอาหารได้จึงทำให้วิธีการพาสเจอร์ไรซ์นี้ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของสีน้อยกว่าการพาสเจอร์ไรซ์ด้วยวิธี LTLT โดยผลการทดลองนี้สอดคล้องกับผลการ

ทดลองของ Lee และ Chen (2002) ที่ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสารสีและสารแคโรทีนอยด์ในน้ำส้มที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์และเก็บรักษาในขวดพลาสติกที่อุณหภูมิ 4.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 สัปดาห์ และพบว่าตัวอย่างน้ำส้มมีค่า L^* a^* และ b^* ลดลง ในขณะที่ค่า ΔE^* เพิ่มขึ้น โดยค่าสีมีความสัมพันธ์กับการลดลงของปริมาณสารแคโรทีนอยด์ที่เป็นรงควัตถุในน้ำส้ม



ตารางที่ 24 ค่า L* ของเครื่องตีพร้อมตีมาจากน้ำอินทผลัมสกัดระหว่างการศึกษาในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

L*

ระยะเวลาการเก็บรักษา (สัปดาห์)	ขนาดของบรรจุภัณฑ์			ขนาดแก้วใส			ขนาดแก้วสีชา		
	ตัวอย่างควบคุม	LTLT	HTST	ตัวอย่างควบคุม	LTLT	HTST	ตัวอย่างควบคุม	LTLT	HTST
0	58.61±1.51 ^a	52.14±1.99 ^c	55.14±2.99 ^b	58.61±1.51 ^a	52.14±1.99 ^c	55.14±2.99 ^b	58.61±1.51 ^a	52.14±1.99 ^c	55.14±2.99 ^b
1	56.21±2.01 ^a	51.21±0.01 ^b	54.21±3.01 ^a	56.21±2.01 ^a	51.21±0.01 ^b	54.21±3.01 ^a	57.71±0.51 ^a	51.56±1.57 ^b	54.87±2.67 ^a
2	55.71±1.51 ^{ab}	50.92±0.04 ^d	53.71±0.51 ^{bcd}	55.71±1.51 ^{ab}	50.92±0.04 ^d	53.71±0.51 ^{bcd}	57.21±0.01 ^a	51.06±1.07 ^{cd}	54.67±1.55 ^{abc}
3	55.21±1.01 ^b	50.21±0.01 ^c	53.65±0.47 ^b	55.21±1.01 ^b	50.21±0.01 ^c	53.65±0.47 ^b	57.02±0.18 ^a	50.56±0.57 ^c	54.72±0.01 ^b
4	54.71±0.51 ^{ab}	50.71±0.51 ^c	52.71±0.49 ^{bc}	54.71±0.51 ^{ab}	50.71±0.51 ^c	52.71±0.49 ^{bc}	57.36±0.64 ^a	51.68±2.46 ^{bc}	53.00±0.11 ^{bc}
5	53.71±0.49 ^b	49.93±0.05 ^d	51.77±0.55 ^c	53.71±0.49 ^b	49.93±0.05 ^d	51.77±0.55 ^c	56.16±1.05 ^a	49.93±0.06 ^d	53.90±0.01 ^b
6	53.03±0.18 ^c	48.88±0.10 ^e	50.93±0.39 ^d	53.03±0.18 ^c	48.88±0.10 ^e	50.93±0.39 ^d	55.93±0.28 ^a	48.93±0.06 ^e	54.55±0.34 ^b
7	51.03±0.18 ^b	46.84±0.06 ^c	53.71±1.49 ^a	51.03±0.18 ^b	46.84±0.06 ^c	53.71±1.49 ^a	54.93±0.72 ^a	48.01±0.02 ^c	52.65±0.25 ^{ab}
8	50.23±0.02 ^c	45.51±0.39 ^e	49.68±0.36 ^c	50.23±0.02 ^c	45.51±0.39 ^e	49.68±0.36 ^c	53.88±0.67 ^a	47.51±0.48 ^d	51.70±0.30 ^b
9	48.73±0.52 ^c	44.77±0.35 ^e	48.73±0.09 ^c	48.73±0.52 ^c	44.77±0.35 ^e	48.73±0.09 ^c	52.88±0.33 ^a	46.73±0.29 ^d	50.58±0.18 ^b

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (a-e) หมายถึง ค่าเฉลี่ยของแต่ละแถวและแถวบนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

ตารางที่ 25 ค่า a^* ของเครื่องตีพร้อมตีมาจากน้ำอินทผลัมสกัดระหว่างการศึกษาในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ระยะเวลาการ		ชนิดของบรรจุภัณฑ์					
เก็บรักษา		ขวดแก้วใส			ขวดแก้วสีชา		
(สัปดาห์) ^{ns}		ตัวอย่างควบคุม	LTLT	HTST	ตัวอย่างควบคุม	LTLT	HTST
0		28.66±0.02	29.46±0.01	29.70±0.01	28.66±0.02	29.46±0.01	29.70±0.01
1		29.14±0.50	29.54±0.01	29.74±0.02	29.16±0.52	29.62±0.01	29.72±0.01
2		29.16±0.48	30.29±0.15	29.86±0.02	29.67±0.03	29.67±0.02	29.92±0.05
3		29.22±0.50	30.46±0.02	29.97±0.02	29.70±0.01	29.68±0.01	29.73±0.04
4		29.32±0.01	30.45±0.01	30.27±0.03	29.16±0.52	29.56±0.04	30.10±0.01
5		29.52±0.16	30.96±0.52	30.33±0.01	29.74±0.02	29.71±0.01	30.03±0.02
6		29.65±0.04	30.99±0.49	29.78±0.04	29.82±0.01	29.72±0.02	29.97±0.02
7		30.15±0.47	31.05±0.44	30.15±0.01	29.84±0.01	29.79±0.05	30.14±0.01
8		30.25±0.36	31.47±0.05	29.88±0.06	29.94±0.01	29.89±0.04	30.17±0.02
9		30.75±0.14	32.57±0.95	30.06±0.14	30.02±0.01	29.96±0.03	30.27±0.28

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษร ^{ns} หมายถึง ค่าเฉลี่ยของตัวอย่างในแต่ละสัปดาห์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตารางที่ 26 ค่า b* ของเครื่องตีพร้อมตีมาจากน้ำอินทผลัมสกัดระหว่างการเก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

b*

ระยะเวลาการเก็บรักษา (สัปดาห์)	ขนาดแก้วใส			ขนาดแก้วสีชา		
	ตัวอย่างควบคุม	LTLT	HTST	ตัวอย่างควบคุม	LTLT	HTST
0	70.59±0.02 ^a	67.52±1.98 ^b	69.98±0.54 ^a	70.59±0.02 ^a	67.52±1.98 ^b	69.98±0.54 ^a
1	70.56±0.01 ^a	67.50±0.01 ^c	69.46±0.02 ^b	69.86±0.08 ^{ab}	67.44±2.04 ^c	69.46±0.52 ^b
2	70.52±0.01 ^a	67.49±0.01 ^{bc}	69.40±0.05 ^{ab}	69.84±0.09 ^{ab}	67.32±2.01 ^c	69.26±0.52 ^{ab}
3	70.51±0.01 ^a	67.29±0.06 ^c	68.97±0.47 ^{bc}	69.82±0.06 ^{ab}	67.30±2.01 ^c	69.31±0.47 ^{ab}
4	70.46±0.01 ^a	67.39±0.01 ^c	68.75±0.55 ^b	69.85±0.09 ^a	67.46±0.02 ^c	68.86±0.02 ^b
5	70.33±0.02 ^a	67.16±0.03 ^c	68.74±0.54 ^{ab}	69.77±0.02 ^{ab}	67.21±2.00 ^{bc}	68.91±0.03 ^{ab}
6	70.27±0.02 ^a	67.04±0.01 ^c	68.66±0.46 ^{ab}	69.22±0.52 ^a	67.11±1.20 ^{bc}	69.19±0.45 ^a
7	70.15±0.04 ^a	66.97±0.02 ^b	68.81±0.61 ^a	69.13±0.43 ^a	66.81±0.90 ^b	68.82±0.02 ^a
8	70.11±0.02 ^a	66.86±0.02 ^c	68.62±0.42 ^b	69.08±0.38 ^{ab}	66.77±0.86 ^c	68.77±0.03 ^{ab}
9	70.03±0.02 ^a	66.29±0.09 ^c	68.22±0.20 ^b	69.05±0.35 ^{ab}	66.66±0.75 ^c	68.67±0.07 ^b

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (a-c) หมายถึง ค่าเฉลี่ยของแต่ละแถวและแนวอนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

ตารางที่ 27 ค่า ΔE^* ของเครื่องตีพิมพ์พร้อมตีพิมพ์จากน้ำอินทผลัมสกัดระหว่างการศึกษาการเก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ระยะเวลาการเก็บรักษา (สัปดาห์)		ΔE^*					
		ชนิดของบรรจุภัณฑ์			ชนิดแก้วสีชา		
		ขวดแก้วใส		ขวดแก้วสีชา			
		ตัวอย่างควบคุม	LTLT	HTST	ตัวอย่างควบคุม	LTLT	HTST
0		0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
1		2.48±0.59 ^{ab}	2.90±0.63 ^a	1.16±0.21 ^c	1.64±0.42 ^{bc}	0.62±0.40 ^c	0.65±0.14 ^c
2		2.98±0.09 ^a	3.06±0.81 ^a	2.57±1.51 ^{ab}	2.21±0.97 ^b	1.17±0.86 ^c	1.64±0.41 ^c
3		3.49±0.40 ^a	3.46±0.97 ^a	2.78±1.72 ^b	2.40±1.14 ^b	1.68±1.34 ^c	3.06±0.42 ^a
4		3.96±0.98 ^a	3.52±0.94 ^{ab}	3.78±2.59 ^{ab}	2.50±1.00 ^c	2.07±0.16 ^c	3.16±2.15 ^b
5		5.01±1.92 ^a	3.85±0.72 ^b	4.00±3.31 ^b	3.26±1.92 ^c	2.35±1.93 ^d	3.19±1.32 ^c
6		5.69±1.64 ^a	4.47±1.00 ^b	4.41±3.52 ^b	3.34±1.64 ^c	3.48±1.79 ^c	3.43±0.59 ^c
7		7.74±1.74 ^a	6.07±1.39 ^b	4.72±1.64 ^c	4.14±0.85 ^{cd}	4.48±1.65 ^c	3.53±2.45 ^d
8		8.54±1.52 ^a	7.30±1.26 ^b	5.64±2.77 ^c	5.14±0.87 ^c	5.02±2.11 ^c	3.89±3.07 ^d
9		10.12±0.92 ^a	8.57±1.40 ^b	6.66±3.14 ^c	6.10±1.81 ^{cd}	5.71±1.43 ^d	4.81±3.15 ^e

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (^{a-c}) หมายถึง ค่าเฉลี่ยของแต่ละแถวและแถวบนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

4.3.5 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของเครื่องต้มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัด ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของเครื่องต้มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์และบรรจุในบรรจุภัณฑ์ 2 ชนิด (ขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชา) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ดังแสดงตารางที่ 28 โดยพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของทุกตัวอย่างมีแนวโน้มลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาเป็นผลจากการเกิดกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และการเกิดปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันที่มากขึ้นระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Laorko และคณะ (2013) ที่ศึกษาอายุการเก็บรักษาต่อคุณภาพของน้ำสับปะรดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ และพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 68.71 ± 1.67 mg/100 mL เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 6 เดือน ที่อุณหภูมิ 4, 27 และ 37 องศาเซลเซียส ส่งผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลง โดยที่ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของตัวอย่างน้ำสับปะรดที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ลดลงน้อยกว่าตัวอย่างที่เก็บรักษาที่ 27 และ 37 องศาเซลเซียส ซึ่งมีค่าลดลงเท่ากับ 11.2% 14.9% และ 15.3% ตามลำดับ

เครื่องต้มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ด้วยวิธี HTST และบรรจุในขวดแก้วสีชาสามารถรักษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดไว้ได้มากที่สุด โดยเมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษาตัวอย่างที่สัปดาห์ที่ 9 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 586.33 ± 15.28 mg GAE/100 mL และพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงประมาณ 49.87% จากปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเริ่มต้น ในขณะที่ตัวอย่างเครื่องต้มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ด้วยวิธี HTST ที่บรรจุในขวดแก้วใสสามารถรักษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดไว้ได้น้อยกว่า โดยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงประมาณ 64.12% จากปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเริ่มต้น (419.67 ± 12.58 mg GAE/100 mL) รองลงมาคือตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ด้วยวิธี LTLT ที่บรรจุในขวดแก้วสีชาและขวดแก้วใสมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงประมาณ 50.09% และ 66.59% จากปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเริ่มต้น (574.67 ± 15.28 และ 384.67 ± 12.58 mg GAE/100 mL ตามลำดับ) และตัวอย่างควบคุมที่บรรจุในขวดแก้วสีชาและขวดแก้วใสมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกลดลง 52.64% และ 67.54% จากปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเริ่มต้น (556.33 ± 7.64 และ 381.33 ± 17.56 mg GAE/100 mL

ตามลำดับ) เมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษาตัวอย่างในสัปดาห์ที่ 9 แสดงให้เห็นว่าชนิดของบรรจุภัณฑ์มีผลต่อระยะเวลาเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ โดยที่ขวดแก้วสีชาสามารถป้องกันแสงที่ก่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งสีชาสามารถป้องกันช่วงแสงที่มองเห็นได้มากกว่าขวดแก้วใส ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Srivastava และคณะ (2007) ที่ศึกษาผลของภาวะการเก็บรักษาต่อสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดบลูเบอร์รี่ที่บรรจุในขวดแก้ว ที่อุณหภูมิ -20, 6, 23 และ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 วัน และพบว่าที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ส่งผลให้ตัวอย่างมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกลดลงเล็กน้อย ในขณะที่อุณหภูมิ 23 และ 35 องศาเซลเซียส ส่งผลให้ตัวอย่างมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกลดลงมากกว่า 50% ซึ่งแสดงให้เห็นว่าที่อุณหภูมิสูงในระหว่างการเก็บและระยะเวลาเก็บที่นานมีผลต่อการเกิดออกซิเดชันของสารต้านอนุมูลอิสระส่งผลให้สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลง



ตารางที่ 28 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของเครื่องต้มพร้อมดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดระหว่างการรักษาในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (mg GAE/100 mL)						
ระยะเวลา	ชนิดของบรรจุภัณฑ์					
การเก็บรักษา (สัปดาห์)	ขวดแก้วใส			ขวดแก้วสีชา		
	ตัวอย่างควบคุม	LTLT	HTST	ตัวอย่างควบคุม	LTLT	HTST
0	1174.67±10.41 ^a	1151.33±7.64 ^b	1169.67±7.64 ^{ab}	1174.67±10.41 ^a	1151.33±7.64 ^b	1169.67±7.64 ^{ab}
1	1066.33±7.64 ^{cd}	1038.00±18.03 ^d	1073.00±13.23 ^{bc}	1103.00±15.00 ^{ab}	1124.67±10.41 ^a	1126.33±7.64 ^a
2	963.00±5.00 ^b	946.33±7.64 ^b	969.67±10.41 ^b	1056.33±15.28 ^a	1079.67±12.58 ^a	1081.33±10.41 ^a
3	874.67±7.64 ^b	853.00±5.00 ^b	891.33±10.41 ^b	1006.33±7.64 ^a	1024.67±7.64 ^a	1033.00±10.00 ^a
4	781.33±7.64 ^{cd}	768.00±13.23 ^d	804.67±10.41 ^c	956.33±7.64 ^b	983.00±10.00 ^a	984.67±7.64 ^a
5	688.00±10.00 ^{bc}	668.00±5.00 ^c	706.33±7.64 ^b	861.33±5.77 ^a	881.33±12.58 ^a	883.00±10.00 ^a
6	603.00±5.00 ^{cd}	591.33±7.64 ^d	618.00±13.23 ^c	766.33±7.64 ^b	793.00±10.00 ^a	803.00±5.00 ^a
7	561.33±5.77 ^{cd}	556.33±7.64 ^d	586.33±10.41 ^c	671.33±12.58 ^b	691.33±10.41 ^{ab}	701.33±7.64 ^a
8	496.33±7.64 ^{bc}	473.00±13.23 ^c	516.33±12.58 ^b	618.00±13.23 ^a	628.00±10.00 ^a	638.00±13.23 ^a
9	381.33±17.56 ^c	384.67±12.58 ^{bc}	419.67±12.58 ^b	556.33±7.64 ^a	574.67±15.28 ^a	586.33±15.28 ^a

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (^{a-d}) หมายถึง ค่าเฉลี่ยของแต่ละแถวและจำนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

* mg GAE/100 mL = mg gallic acid equivalent/100 mL

4.3.6 ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดของเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัด ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

แคโรทีนอยด์พบมากในผักผลไม้ที่มีสี แดง ส้ม เหลือง และเขียว แคโรทีนเป็นสารโมเลกุลใหญ่ที่มีสูตรทางเคมีคือ $C_{40}H_{56}$ และมีคุณสมบัติเป็นโปรวิตามินเอ และเมื่อแคโรทีนแตกตัวจะได้วิตามินเอ แคโรทีนบริสุทธิ์จะมีผลึกเป็นสีแดงทับทิม ไม่ละลายในน้ำ แต่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ แคโรทีนจะถูกออกซิไดส์ได้ง่ายโดยออกซิเจนในอากาศ (Dumbravă และคณะ, 2012) จากการวิเคราะห์ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดของเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์และบรรจุในบรรจุภัณฑ์ 2 ชนิด (ขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชา) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดของทุกตัวอย่างมีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกับสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดของทุกตัวอย่างมีแนวโน้มลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ดังแสดงตารางที่ 29 ขณะที่เครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ด้วยวิธี HTST ที่บรรจุในขวดแก้วสีชามีปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดมากที่สุด (3.25 ± 0.03 mg β -CE/100 mL) เมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษาในสัปดาห์ที่ 9 และพบว่าปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดลดลงประมาณ 54.74% จากปริมาณสารแคโรทีนอยด์เริ่มต้น ในขณะที่ตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ด้วยวิธี HTST ที่บรรจุในขวดแก้วใสสามารถรักษาปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดไว้ได้น้อยกว่า โดยที่ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดลดลงประมาณ 92.48% จากสารแคโรทีนอยด์เริ่มต้น (0.54 ± 0.01 mg β -CE/100 mL) เมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษาในสัปดาห์ที่ 9 รองลงมาคือตัวอย่างเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ด้วยวิธี LTLT ที่บรรจุในขวดแก้วสีชาและขวดแก้วใสมีปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดลดลงประมาณ 54.85% และ 92.97% จากปริมาณสารแคโรทีนอยด์เริ่มต้น ตามลำดับ และตัวอย่างควบคุมที่บรรจุในขวดแก้วสีชาและขวดแก้วใสมีปริมาณสารแคโรทีนอยด์ลดลงประมาณ 56.23% และ 93.77% จากปริมาณสารแคโรทีนอยด์เริ่มต้น ตามลำดับ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประโยชน์ต่อร่างกายมนุษย์ หากในผลิตภัณฑ์มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระลดลง 50% จากเริ่มต้น เป็นผลให้ผู้บริโภคไม่ยอมรับในคุณค่าทางอาหารของผลิตภัณฑ์ จากผลการทดลองของ Choi และคณะ (2002) ที่ศึกษาอายุการเก็บรักษาต่อปริมาณสารแคโรทีนอยด์ในน้ำส้มเสริมวิตามินซี และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4.5 องศาเซลเซียส พบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษา 7 วัน ส่งผลให้ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดในตัวอย่างน้ำส้มเสริมวิตามินซี และตัวอย่างควบคุมลดลง 2.8 และ 6.6% ตามลำดับ ในขณะที่ผลการทดลองของ Plaza และคณะ (2011) พบว่าน้ำส้มที่ผ่านการพาส

เจอไรซ์ เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 40 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ส่งผลให้ตัวอย่างมีปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดลดลง 16.90% เนื่องจากสารแคโรทีนอยด์เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันจากกระบวนการผลิตและกระบวนการเก็บรักษา การพาสเจอไรซ์ด้วยวิธี HTST เป็นการแปรรูปด้วยความร้อนที่มีประสิทธิภาพทำให้ผลิตภัณฑ์ปลอดภัยและสามารถรักษาคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสและคุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์ได้ดี แต่สารแคโรทีนอยด์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีความไวต่อแสง ความร้อน และออกซิเจนสูงจึงถูกออกซิไดซ์ได้ง่าย



ตารางที่ 29 ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดของเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดระหว่างการรักษาเก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ระยะเวลา การเก็บรักษา (สัปดาห์)	ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมด (mg β -CE/100 mL)								
	ขวดแก้วใส			ชนิดของบรรจุภัณฑ์			ขวดแก้วสีชา		
	ตัวอย่างควบคุม	LTLT	HTST	ตัวอย่างควบคุม	LTLT	HTST	ตัวอย่างควบคุม	LTLT	HTST
0	7.22±0.07 ^a	7.11±0.01 ^b	7.18±0.01 ^{ab}	7.22±0.07 ^a	7.11±0.01 ^b	7.18±0.01 ^{ab}	7.22±0.07 ^a	7.11±0.01 ^b	7.18±0.01 ^{ab}
1	6.05±0.02 ^b	6.17±0.07 ^b	6.13±0.02 ^b	6.96±0.05 ^a	6.98±0.17 ^a	6.13±0.02 ^b	6.96±0.05 ^a	6.98±0.17 ^a	7.06±0.04 ^a
2	5.50±0.01 ^c	5.59±0.03 ^c	5.65±0.06 ^{bc}	5.78±0.01 ^{ab}	5.82±0.04 ^{ab}	5.65±0.06 ^{bc}	5.78±0.01 ^{ab}	5.82±0.04 ^{ab}	5.97±0.09 ^a
3	4.52±0.01 ^e	4.62±0.02 ^d	4.72±0.03 ^c	5.25±0.02 ^b	5.29±0.04 ^b	4.72±0.03 ^c	5.25±0.02 ^b	5.29±0.04 ^b	5.38±0.06 ^a
4	3.57±0.01 ^d	3.61±0.02 ^d	3.64±0.01 ^d	4.86±0.03 ^c	4.94±0.03 ^b	3.64±0.01 ^d	4.86±0.03 ^c	4.94±0.03 ^b	5.03±0.05 ^a
5	2.78±0.07 ^c	2.81±0.05 ^c	2.88±0.02 ^c	4.31±0.05 ^b	4.41±0.01 ^{ab}	2.88±0.02 ^c	4.31±0.05 ^b	4.41±0.01 ^{ab}	4.53±0.05 ^a
6	2.58±0.04 ^c	2.63±0.05 ^c	2.67±0.01 ^c	3.72±0.01 ^b	3.79±0.05 ^{ab}	2.67±0.01 ^c	3.72±0.01 ^b	3.79±0.05 ^{ab}	3.82±0.02 ^a
7	1.40±0.01 ^d	1.45±0.02 ^d	1.57±0.04 ^c	3.62±0.01 ^b	3.69±0.05 ^{ab}	1.57±0.04 ^c	3.62±0.01 ^b	3.69±0.05 ^{ab}	3.71±0.03 ^a
8	0.90±0.03 ^c	0.95±0.02 ^{bc}	1.01±0.05 ^b	3.55±0.02 ^a	3.58±0.01 ^a	1.01±0.05 ^b	3.55±0.02 ^a	3.58±0.01 ^a	3.60±0.03 ^a
9	0.45±0.02 ^d	0.50±0.02 ^{cd}	0.54±0.01 ^c	3.16±0.03 ^b	3.21±0.05 ^{ab}	0.54±0.01 ^c	3.16±0.03 ^b	3.21±0.05 ^{ab}	3.25±0.03 ^a

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (^{a-d}) หมายถึง ค่าเฉลี่ยของแต่ละแถวและแนวอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

* mg β -CE/100 mL = mg β -carotene equivalent/100 mL

4.3.7 การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) ของเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

จากการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP ของเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์และบรรจุในบรรจุภัณฑ์ 2 ชนิด (ขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชา) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ดังแสดงตารางที่ 30 และตารางที่ 31 ตามลำดับ พบว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP ของทุกตัวอย่างมีแนวโน้มลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เช่นเดียวกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมด โดยฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH เริ่มต้นของทุกตัวอย่างมีค่าอยู่ในช่วง 1421.88 ± 6.25 ถึง 1448.96 ± 9.55 mM trolox/100 mL และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP เริ่มต้นของทุกตัวอย่างมีค่าอยู่ในช่วง 1419.55 ± 4.12 ถึง 1430.26 ± 14.43 mM trolox/100 mL เครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ด้วยวิธี HTST และที่บรรจุในขวดแก้วสีชามีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP มากที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 763.54 ± 13.01 mM trolox/100 mL และ 786.21 ± 3.57 mM trolox/100 mL ตามลำดับ และมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระลดลงที่ 46.85% และ 44.94% จากฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเริ่มต้น ตามลำดับ เมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษาในสัปดาห์ที่ 9 รองลงมาคือเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ด้วยวิธี LTLT ที่บรรจุในขวดแก้วสีชาและขวดแก้วใส (751.04 ± 36.62 และ 640.63 ± 25.00 mM trolox/100 mL ตามลำดับ) และตัวอย่างควบคุมที่บรรจุในขวดแก้วสีชาและขวดแก้วใส (744.79 ± 19.09 และ 638.54 ± 13.01 mM trolox/100 mL ตามลำดับ) โดยการลดลงของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระระหว่างการเก็บรักษาเป็นผลมาจากปฏิกิริยาการออกซิเดชันที่ถูกระงับโดยเอนไซม์ PPO เมื่อตัวอย่างผ่านกระบวนการที่ทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ PPO ลดลง ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Santhirasegaram และคณะ (2015) ที่ศึกษาการแปรรูปด้วยความร้อนต่อคุณภาพของน้ำมะม่วง และพบว่าตัวอย่างน้ำมะม่วงที่ผ่านการแปรรูปด้วยความร้อนมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมากกว่าตัวอย่างควบคุม เนื่องจากการแปรรูปด้วยความร้อนสามารถยับยั้งการทำงานของพอลิฟีนอลออกซิเดส จึงป้องกันการเสื่อมสลายของพอลิฟีนอลได้ ในขณะที่เดียวกันผลการทดลองของ Geraldi และคณะ (2021) พบว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ของตัวอย่างน้ำองุ่นบราซิลที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์และเก็บ

รักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระลดลงจาก 1626.31 ± 95.32 เป็น $1551.95 \pm 65.61 \mu\text{mol TE}/100 \text{ mL}$ เนื่องจากเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดสกระตุ้นการทำงานจากกระบวนการ ส่งผลให้สารแอนโทไซยานินที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระในองุ่นบราซิลลดลง ทำให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ลดลงด้วย ขณะที่ปัจจัยด้านชนิดของบรรจุภัณฑ์ส่งผลต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระระหว่างการเก็บรักษาเช่นกัน โดยผลการทดลองพบว่าขวดแก้วสีชาสามารถรักษาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์ได้มากกว่าขวดแก้วใส เนื่องจากขวดแก้วใสแสงสามารถส่งผ่านทะลุได้มากกว่า 90% และขวดแก้วสีชาแสงสามารถผ่านได้น้อยกว่า 1% จึงสามารถป้องกันแสงกระทบต่อผลิตภัณฑ์ได้ดีกว่า ซึ่งแสงเป็นอีกหนึ่งสาเหตุในการเกิดออกซิเดชันของสารต้านอนุมูลอิสระและส่งผลกระทบต่อปริมาณของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ



ตารางที่ 30 ผลการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ของเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดระหว่างการรักษาเก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (mM trolox/100 mL)						
ระยะเวลาการเก็บรักษา (สัปดาห์)	ชนิดของบรรจุภัณฑ์					
	ขวดแก้วใส			ขวดแก้วสีชา		
	ตัวอย่างควบคุม	LTLT	HTST	ตัวอย่างควบคุม	LTLT	HTST
0	1448.96±9.55 ^a	1421.88±6.25 ^b	1436.46±9.55 ^{ab}	1448.96±9.55 ^a	1421.88±6.25 ^b	1436.46±9.55 ^{ab}
1	1317.71±26.02 ^b	1305.21±15.73 ^b	1321.88±16.54 ^b	1369.79±13.01 ^a	1371.88±12.50 ^a	1382.29±15.73 ^a
2	1180.21±15.73 ^b	1194.79±13.01 ^b	1213.33±31.81 ^b	1311.46±26.02 ^a	1309.38±12.50 ^a	1321.88±12.50 ^a
3	1128.13±22.53 ^b	1094.79±26.02 ^b	1138.54±15.73 ^b	1240.63±12.50 ^a	1263.54±15.73 ^a	1288.54±9.55 ^a
4	1059.38±28.64 ^b	1023.96±21.95 ^b	1076.04±19.09 ^b	1184.38±12.50 ^a	1196.88±12.50 ^a	1207.29±26.02 ^a
5	1001.04±23.66 ^b	934.38±12.50 ^c	1023.96±15.73 ^b	1121.88±12.50 ^a	1134.38±12.50 ^a	1144.79±26.02 ^a
6	873.96±26.02 ^b	869.79±15.73 ^b	886.46±9.55 ^b	1059.38±12.50 ^a	1071.88±12.50 ^a	1082.29±26.02 ^a
7	757.29±19.09 ^b	748.96±20.09 ^b	761.46±13.01 ^b	936.46±20.09 ^a	944.79±19.09 ^a	961.46±13.01 ^a
8	694.79±19.09 ^b	684.38±16.54 ^b	711.46±7.22 ^b	809.38±16.54 ^a	819.79±19.09 ^a	836.46±7.22 ^a
9	638.54±13.01 ^b	640.63±25.00 ^b	646.88±6.25 ^b	744.79±19.09 ^a	751.04±36.62 ^a	763.54±13.01 ^a

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (^{a-c}) หมายถึง ค่าเฉลี่ยของแต่ละแถวและแนวอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

ตารางที่ 31 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) ของเครื่องต้มพร้อมต้มจากน้ำอินทผลัมสกัดระหว่างการรักษา
รักษาในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP (mM trolox/100 mL)						
ระยะเวลา	ชนิดของบรรจุภัณฑ์					
การเก็บรักษา (สัปดาห์)	ขวดแก้วใส			ขวดแก้วสีชา		
	ตัวอย่างควบคุม	LTLT	HTST	ตัวอย่างควบคุม	LTLT	HTST
0	1430.26±14.43 ^a	1419.55±4.12 ^b	1427.88±10.31 ^{ab}	1430.26±14.43 ^a	1419.55±4.12 ^b	1427.88±10.31 ^{ab}
1	1323.12±17.62 ^c	1345.74±4.12 ^{bc}	1369.55±8.99 ^{ab}	1381.45±5.46 ^a	1385.02±8.99 ^a	1393.36±12.88 ^a
2	1257.64±7.14 ^c	1287.40±12.54 ^b	1294.55±8.99 ^b	1283.83±8.99 ^b	1323.12±12.54 ^a	1325.50±3.57 ^a
3	1150.50±7.14 ^d	1183.83±5.46 ^c	1196.93±3.57 ^{ab}	1186.21±7.14 ^c	1212.40±7.43 ^b	1248.12±14.87 ^a
4	943.36±3.57 ^d	962.40±14.43 ^{cd}	986.21±6.19 ^{bc}	981.45±10.91 ^{bc}	1000.50±10.71 ^{ab}	1024.31±5.46 ^a
5	857.64±6.19 ^d	860.02±10.31 ^d	912.40±5.46 ^c	933.83±17.62 ^{bc}	954.07±10.71 ^{ab}	967.17±14.87 ^a
6	819.55±5.46 ^c	825.50±9.45 ^c	862.40±17.98 ^b	855.26±5.46 ^b	861.21±9.45 ^b	896.93±9.45 ^a
7	723.12±10.91 ^d	729.07±6.19 ^d	758.83±14.43 ^c	819.55±5.46 ^b	825.50±9.45 ^b	857.64±7.14 ^a
8	677.88±7.43 ^c	688.60±8.99 ^c	699.31±5.46 ^c	796.93±7.14 ^b	812.40±5.46 ^{ab}	827.88±11.48 ^a
9	588.60±10.91 ^c	594.55±14.43 ^c	613.60±8.99 ^c	754.07±3.57 ^b	761.21±14.29 ^{ab}	786.21±3.57 ^a

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (^{a-d}) หมายถึง ค่าเฉลี่ยของแต่ละแถวและแนวอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

4.3.8 การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (total viable count) ปริมาณยีสต์และรา (yeast and mold count) และปริมาณ *E. coli* และ coliforms ของเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

กลไกการเสื่อมเสียที่เกิดขึ้นจากเชื้อจุลินทรีย์เป็นปัจจัยหลักที่พบมากและมีความสำคัญในผลิตภัณฑ์อาหาร เนื่องจากมีผลต่ออายุการเก็บรักษาอาหารโดยตรงและเป็นปัจจัยบ่งชี้ด้านความปลอดภัยของผู้บริโภค ดังนั้นอาหารหลาย ๆ ชนิดจึงมักถูกกำหนดอายุด้วยปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์และในมาตรฐานของผลิตภัณฑ์อาหารต่าง ๆ มักจะกำหนดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่เกินระดับที่อันตรายไว้ด้วย ซึ่งการที่อาหารเน่าเสียจากเชื้อจุลินทรีย์เกิดจากการเจริญและเพิ่มจำนวนของเชื้อจุลินทรีย์ ทำให้อาหารเกิดการเปลี่ยนแปลงในรูปแบบต่าง ๆ ไป เช่น กลิ่นผิดปกติ สีเปลี่ยน มีจุดตำหนิเกิดขึ้น เป็นต้น ซึ่งส่วนใหญ่การเน่าเสียจากจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารหมดอายุการเก็บรักษามักจะเกิดกับอาหารที่มีปริมาณความชื้นสูงหรือเป็นอาหารที่มีองค์ประกอบที่เป็นแหล่งอาหารสำหรับเชื้อจุลินทรีย์มาก จึงมักจะพบการเน่าเสียจากเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารสดต่าง ๆ เช่น ผัก ผลไม้ นมสด และเนื้อสัตว์ ทั้งนี้การเน่าเสียจะเกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ 3 ประเภทหลัก ได้แก่ แบคทีเรีย ยีสต์ และรา (บุษกร, 2545)

จากการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์และบรรจุในบรรจุภัณฑ์ 2 ชนิด ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ดังแสดงตารางที่ 32 พบว่าปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของตัวอย่างควบคุมที่บรรจุในขวดแก้วสีชาและขวดแก้วใส มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นจาก 1.39 ± 0.12 เป็น 6.18 ± 0.10 และ 7.06 ± 0.08 log CFU/mL ตามลำดับ เมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษาในสัปดาห์ที่ 9 ซึ่งตัวอย่างควบคุมมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดมากกว่าเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ด้วยวิธี LTLT และ HTST สำหรับตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ด้วยวิธี LTLT ที่บรรจุในขวดแก้วสีชาและขวดแก้วใส เริ่มมีการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในสัปดาห์ที่ 6 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 1.02 ± 0.03 และ 1.10 ± 0.14 log CFU/mL ตามลำดับ และตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ด้วยวิธี HTST ที่บรรจุในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชา เริ่มมีการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในสัปดาห์ที่ 6 และ 7 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 1.65 ± 0.07 และ 1.00 ± 0.01 log CFU/mL ตามลำดับ ทั้งนี้การพาสเจอร์ไรซ์เป็นการให้ความร้อนแก่ผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิและระยะเวลาที่สามารถทำลายจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคและจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสียบางประเภทได้ ทั้งนี้พิจารณาอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขที่กำหนด

ไว้ว่าในอาหารที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างน้อยกว่า 4.6 ในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิทต้องมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่เกิน 4 log CFU/mL (สำนักอาหาร, 2562) ดังนั้นหากในผลิตภัณฑ์มีปริมาณจุลินทรีย์ปนเปื้อนมากกว่าระดับดังกล่าวจะส่งผลให้ผลิตภัณฑ์เกิดการเน่าเสียอย่างเห็นได้ชัด จุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย เช่น *Pseudomonas*, *Moraxella* และ *Flavobacterium* เป็นต้น (ยุทธนา, 2553) โดยผลการทดลองพบว่าอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ของตัวอย่างควบคุมที่บรรจุในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชาเท่ากับ 2 สัปดาห์ (3.39 ± 0.12 log CFU/mL) และ 3 สัปดาห์ (3.57 ± 0.04 log CFU/mL) ตามลำดับ ในขณะที่ตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ด้วยวิธี LTLT ที่บรรจุในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชามีอายุการเก็บรักษานานกว่าตัวอย่างควบคุม โดยมีอายุการเก็บรักษาเป็นเวลา 8 สัปดาห์ (3.21 ± 0.13 log CFU/mL) และ 9 สัปดาห์ (3.98 ± 0.03 log CFU/mL) ตามลำดับ และตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ด้วยวิธี HTST ที่บรรจุในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชามีอายุการเก็บรักษายาวนานที่สุด ซึ่งมีอายุการเก็บรักษาไม่น้อยกว่า 9 สัปดาห์ (3.22 ± 0.06 และ 2.98 ± 0.03 log CFU/mL ตามลำดับ)

จากการวิเคราะห์ปริมาณยีสต์และราของเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัด ที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์และบรรจุในบรรจุภัณฑ์ที่แตกต่างกัน ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ดังแสดงตารางที่ 33 พบว่าปริมาณยีสต์และราของตัวอย่างควบคุมที่บรรจุในขวดแก้วสีชาและขวดแก้วใสมีปริมาณเพิ่มขึ้นจาก 2.40 ± 0.13 เป็น 5.16 ± 0.02 และ 6.04 ± 0.06 log CFU/mL ตามลำดับ เมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษาในสัปดาห์ที่ 9 โดยที่ตัวอย่างควบคุมมีปริมาณยีสต์และรามากกว่าตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ด้วยวิธี LTLT และ HTST สำหรับตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ด้วยวิธี LTLT ที่บรรจุในขวดแก้วใสเริ่มมีการเจริญเติบโตของยีสต์และราในสัปดาห์ที่ 6 (1.00 ± 0.01 log CFU/mL) ในขณะที่ตัวอย่างที่บรรจุในขวดแก้วสีชาเริ่มมีการเจริญเติบโตของยีสต์และราในสัปดาห์ที่ 7 โดยมีปริมาณยีสต์และราเท่ากับ 1.15 ± 0.21 log CFU/mL และตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ด้วยวิธี HTST ที่บรรจุในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชาเริ่มมีการเจริญเติบโตของยีสต์และราในสัปดาห์ที่ 7 (1.50 ± 0.28 และ 1.00 ± 0.01 log CFU/mL ตามลำดับ) จากประกาศกระทรวงสาธารณสุขที่กำหนดไว้ว่าในอาหารที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างน้อยกว่า 4.6 ในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท คือปริมาณยีสต์และราไม่เกิน 2 log CFU/mL (สำนักอาหาร, 2562) พบว่าตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ด้วยวิธี LTLT และ HTST ที่บรรจุในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชามีอายุการเก็บรักษา 7 สัปดาห์ (1.85 ± 0.21 , 1.50 ± 0.28 , 1.93 ± 0.04 และ 1.65 ± 0.07 log CFU/mL ตามลำดับ) และเมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษาใน

สัปดาห์ที่ 9 พบว่าทุกตัวอย่างมีปริมาณยีสต์และราเกินค่าคุณภาพมาตรฐาน โดยมีปริมาณยีสต์และราอยู่ในช่วง 2.57 ± 0.12 ถึง 6.04 ± 0.06 log CFU/mL

ผลการทดลองของ Sanchez และคณะ (2020) ที่ศึกษาการพาสเจอร์ไร้น้ำเสาวรส พบว่าการพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 82 องศาเซลเซียส เวลา 20 วินาที อุณหภูมิ 82 องศาเซลเซียส เวลา 40 วินาที และอุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียส เวลา 30 นาที สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ ยีสต์และราได้ เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม ในขณะที่ Vegara และคณะ (2013) ที่ศึกษาผลของการพาสเจอร์ไรซ์น้ำทับทิมต่ออายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 และ 25 องศาเซลเซียส พบว่าที่อุณหภูมิในการเก็บรักษา 5 และ 25 องศาเซลเซียส มีการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ยีสต์ และราในตัวอย่างควบคุมมากกว่าตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ โดยที่ตัวอย่างควบคุมมีปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น 5.23 ± 0.04 log CFU/mL และตัวอย่างน้ำทับทิมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ด้วยวิธี HTST มีอายุการเก็บรักษา 120 วัน ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส ($<10^3$ CFU/mL) และตัวอย่างน้ำทับทิมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ด้วยวิธี LTLT มีอายุการเก็บรักษา 28 วัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ($<10^3$ CFU/mL) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์มีผลต่ออายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ ในขณะเดียวกัน Geremias-Andrade และคณะ (2020) ที่ศึกษาภาวะการเก็บรักษาต่ออายุการเก็บรักษาของน้ำอ้อย พบว่าตัวอย่างที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและปริมาณยีสต์และราน้อยกว่า 4 และ 3 log CFU/mL ที่อายุการเก็บรักษา 94 วัน เนื่องจากกระบวนการผลิตใช้เทคนิคการถนอมอาหารอย่างผสมผสาน (hurdle technology) โดยมีการปรับค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยกรดซิตริก การพาสเจอร์ไรซ์ การใช้บรรจุภัณฑ์ปลอดเชื้อ และอุณหภูมิในการเก็บรักษาโดยที่ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นจาก <1 เป็น 2.1 log CFU/mL และปริมาณยีสต์และราเพิ่มขึ้นจาก <1 เป็น 1.4 log CFU/mL จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าวิธีการผลิตมีผลต่ออายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ และในทิศทางเดียวกันนี้ ผลการทดลองของ Yasmin และคณะ (2010) พบว่าน้ำผลไม้ที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง 4.3 ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เวลา 5 วินาที และบรรจุตัวอย่างน้ำผลไม้ลงในขวดแก้ว สามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 วัน โดยในช่วงเวลานี้ไม่มีการเจริญของจุลินทรีย์ ยีสต์ และรา

จากการวิเคราะห์ปริมาณ *E. coli* และ coliforms พบว่าไม่พบ *E. coli* และ coliforms ในทุกตัวอย่างระหว่างการเก็บรักษา ดังแสดงตารางที่ 34 ซึ่งโดยทั่วไปสามารถใช้จุลินทรีย์เหล่านี้เป็นการบ่งชี้ถึงกระบวนการผลิตที่ถูกสุขลักษณะและเพียงพอได้อีกด้วย (Gomez และคณะ, 2010) การเลือกใช้วิธีการแปรรูปด้วยความร้อนและบรรจุภัณฑ์ให้เหมาะสมกับผลิตภัณฑ์อาหาร จึงมีความสำคัญ

ต่อการยืดอายุการเก็บรักษาของอาหาร คุณสมบัติการป้องกันการซึมผ่านของออกซิเจนของบรรจุภัณฑ์ เป็นปัจจัยที่สำคัญส่งผลต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ยีสต์ และราที่อยู่ในผลิตภัณฑ์อาหาร ภายหลังจากผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อมาแล้ว เนื่องจากจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเสื่อมเสียและจุลินทรีย์ก่อโรคสำคัญในน้ำผลไม้ส่วนใหญ่เป็นจุลินทรีย์ที่ต้องการออกซิเจน ดังนั้นผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดควรผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ด้วยวิธี HTST และบรรจุในขวดแก้วสีชาเพื่อคงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ที่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

จากการพิจารณาปริมาณยีสต์และราร่วมกับปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ พบว่าผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ด้วยวิธี LTLT และ HTST ที่บรรจุในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชามีอายุการเก็บรักษาเป็นเวลา 7 สัปดาห์นับจากวันที่ผลิต และตัวอย่างควบคุมมีอายุการเก็บไม่ถึง 1 สัปดาห์ โดยใช้ปริมาณยีสต์และราเป็นเกณฑ์กำหนดอายุการเก็บรักษา ($<2 \log$ CFU/mL) จากอายุการเก็บรักษาดังกล่าวของตัวอย่างเมื่อพิจารณาร่วมกับปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่หลงเหลืออยู่ พบว่าตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ด้วยวิธี LTLT ที่บรรจุในขวดแก้วใสมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารแคโรทีนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP เหลืออยู่ 48.32%, 20.39%, 52.67% และ 51.36% ตามลำดับ ขณะที่ตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ด้วยวิธี LTLT ที่บรรจุในขวดแก้วสีชามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารแคโรทีนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP เหลืออยู่ 50.13%, 21.87%, 53.01% และ 53.14% ตามลำดับ ส่วนตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ด้วยวิธี HTST ที่บรรจุในขวดแก้วใสมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารแคโรทีนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP เหลืออยู่ 60.05%, 51.90%, 66.45% และ 58.15% ตามลำดับ และตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ด้วยวิธี HTST ที่บรรจุในขวดแก้วสีชามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารแคโรทีนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP เหลืออยู่ 59.96%, 51.67%, 66.93% และ 60.06% ตามลำดับ ดังนั้นจะเห็นได้ว่าวิธีการพาสเจอร์ไรซ์และชนิดของบรรจุภัณฑ์มีผลต่อการเก็บรักษาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์ จึงสรุปได้ว่าผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ด้วยวิธี HTST ที่บรรจุในขวดแก้วสีชาและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สามารถเก็บรักษาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระได้มากที่สุดและมีอายุการเก็บรักษาเป็นเวลา 7 สัปดาห์นับจากวันที่ผลิต

จากการพิจารณาคุณสมบัติต่าง ๆ ดังกล่าว ส่งผลให้ผู้บริโภคจะได้รับประโยชน์และความปลอดภัยจากผลิตภัณฑ์นี้

ตารางที่ 32 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ระยะเวลา การเก็บรักษา (สัปดาห์)	ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (log CFU/mL)					
	ชนิดของบรรจุภัณฑ์					
	ขวดแก้วใส			ขวดแก้วสีชา		
ตัวอย่าง ควบคุม	LTLT	HTST	ตัวอย่าง ควบคุม	LTLT	HTST	
0	1.39±0.12	ND	ND	1.39±0.12	ND	ND
1	2.39±0.12	ND	ND	2.09±0.12	ND	ND
2	3.39±0.12	ND	ND	3.11±0.10	ND	ND
3	4.02±0.09	ND	ND	3.57±0.04	ND	ND
4	4.52±0.74	ND	ND	4.02±0.09	ND	ND
5	5.27±0.02	ND	ND	4.29±0.08	ND	ND
6	5.41±0.02	1.10±0.14	1.00±0.01	5.06±0.08	1.02±0.03	ND
7	6.04±0.06	2.10±0.14	1.81±0.05	5.35±0.07	1.93±0.04	1.65±0.07
8	6.22±0.06	3.21±0.13	2.80±0.14	5.98±0.03	2.74±0.06	2.24±0.34
9	7.06±0.08	4.22±0.06	3.22±0.06	6.18±0.10	3.98±0.03	2.98±0.03

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ND : ไม่สามารถวัดได้

ตารางที่ 33 ปริมาณยีสต์และราของเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ระยะเวลา การเก็บรักษา (สัปดาห์)	ปริมาณยีสต์และราทั้งหมด (log CFU/mL)					
	ชนิดของบรรจุภัณฑ์					
	ขวดแก้วใส			ขวดแก้วสีชา		
ตัวอย่าง ควบคุม	LTLT	HTST	ตัวอย่าง ควบคุม	LTLT	HTST	
0	2.40±0.13	ND	ND	2.40±0.13	ND	ND
1	2.95±0.07	ND	ND	2.69±0.13	ND	ND
2	3.28±0.03	ND	ND	2.99±0.12	ND	ND
3	3.80±0.14	ND	ND	3.28±0.03	ND	ND
4	4.16±0.06	ND	ND	3.71±0.15	ND	ND
5	4.24±0.09	ND	ND	4.17±0.12	ND	ND
6	4.63±0.21	1.00±0.01	ND	4.31±0.08	ND	ND
7	5.04±0.06	1.85±0.21	1.50±0.28	4.80±0.14	1.15±0.21	1.00±0.01
8	5.22±0.06	2.45±0.21	2.24±0.34	5.02±0.03	2.19±0.16	2.09±0.12
9	6.04±0.06	3.35±0.07	3.04±0.06	5.16±0.02	2.80±0.14	2.57±0.12

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ND : ไม่สามารถวัดได้

ตารางที่ 34 ปริมาณ *E. coli* และ coliforms ของเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดระหว่าง การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ระยะเวลาการ เก็บรักษา (สัปดาห์)	ปริมาณ <i>E. coli</i> และ coliform (MPN/mL)					
	ชนิดของบรรจุภัณฑ์					
	ขวดแก้วใส			ขวดแก้วสีชา		
ตัวอย่าง ควบคุม	LTLT	HTST	ตัวอย่าง ควบคุม	LTLT	HTST	
0	<3	<3	<3	<3	<3	<3
1	<3	<3	<3	<3	<3	<3
2	<3	<3	<3	<3	<3	<3
3	<3	<3	<3	<3	<3	<3
4	<3	<3	<3	<3	<3	<3
5	<3	<3	<3	<3	<3	<3
6	<3	<3	<3	<3	<3	<3
7	<3	<3	<3	<3	<3	<3
8	<3	<3	<3	<3	<3	<3
9	<3	<3	<3	<3	<3	<3

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อคุณภาพของน้ำอินทผลัมสกัด พบว่าร้อยละผลได้ ค่าสี ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมด ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในขณะที่ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดน้ำอินทผลัมคือที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์เพคตินเนส 0.1% v/v ที่อุณหภูมิบ่มสกัด 50 องศาเซลเซียส เวลา 60 นาที โดยที่ภาวะการสกัดนี้ส่งผลให้น้ำอินทผลัมสกัดมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด โดยปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดมีค่าเท่ากับ 326.33 ± 23.21 mg GAE/100 g fresh wt. และ 1.08 ± 0.04 mg β -CE/100 g fresh wt. ตามลำดับ ดังนั้นการศึกษาวิธีการสกัดและภาวะการสกัดที่เหมาะสมจึงมีความสำคัญในอุตสาหกรรมเพื่อผลิตและพัฒนาเครื่องดื่มต่อไป เมื่อศึกษาการพัฒนาสูตรเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดผสมน้ำมะตูมและน้ำพุทราโดยออกแบบการทดลองแบบผสม (mixture design) พบว่าสูตรที่ได้คะแนนการยอมรับจากผู้บริโภคมากที่สุด มีสัดส่วนดังนี้ น้ำอินทผลัมสกัด : น้ำมะตูม : น้ำพุทรา เท่ากับ 70 : 15 : 15% v/v และเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดนี้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมด ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP เท่ากับ 1023.00 ± 26.77 mg GAE/100 mL, 7.02 ± 0.07 mg β -CE/100 mL, 1394.79 ± 36.92 mM trolox/100 mL และ 1487.14 ± 10.51 mM trolox/100 mL ตามลำดับ โดยแต่ละตัวอย่างมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในขณะที่ปริมาณกรดทั้งหมด ค่าความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของทุกตัวอย่างไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) จากนั้นศึกษาคุณภาพของเครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดร่วมกับการแปรรูปด้วยความร้อนและบรรจุภัณฑ์ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยพบว่าบรรจุภัณฑ์แบบขวดแก้วสีชาสามารถรักษาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระได้มากกว่าบรรจุภัณฑ์แบบแก้วใส และตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์มีอายุการเก็บที่นานกว่าตัวอย่างควบคุม และพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมด ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP ค่าความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของทุกตัวอย่างมี

แนวโน้มลดลง ในขณะที่ปริมาณกรดทั้งหมด ค่า ΔE^* ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด และปริมาณยีสต์และราของทุกตัวอย่างมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น และไม่พบ *E. coli* และ coliforms ในทุกตัวอย่างระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากปัจจัยต่าง ๆ ที่ได้กล่าวมาข้างต้นส่งผลต่ออายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ โดยที่ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ด้วยวิธี HTST ที่บรรจุในขวดแก้วสีชาและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สามารถเก็บรักษาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระได้มากที่สุด และมีอายุการเก็บรักษาเป็นเวลา 7 สัปดาห์นับจากวันที่ผลิต โดยพิจารณาจากปริมาณยีสต์และราที่มีปริมาณไม่เกิน 2 log CFU/mL ร่วมกับปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่หลงเหลืออยู่ในผลิตภัณฑ์

ข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้ศึกษาภาวะของการสกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเนสช่วยต่อคุณภาพของน้ำอินทผลัมสกัด เอนไซม์เพคตินเนสสามารถไฮโดรไลซ์พันธะไกลโคซิดิกในสายเพคตินจากสายยาวให้สั้นลง มีผลต่อการลดความแน่นเนื้อของผักและผลไม้ทำให้สกัดง่ายขึ้น และยังส่งผลให้สารสำคัญต่าง ๆ ที่อยู่ภายในเซลล์ผลไม้ถูกปลดปล่อยออกมามากขึ้น โดยที่เอนไซม์แต่ละชนิดมีหน้าที่และบทบาทที่ต่างกัน ดังนั้นควรนำเอนไซม์ชนิดอื่นมาศึกษาร่วมด้วย เพื่อเป็นการส่งเสริมการทำงานของเอนไซม์และเพื่อเพิ่มคุณภาพให้กับน้ำผลไม้สกัด และควรศึกษาภาวะการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิต่าง ๆ เพิ่มเติมเพื่อดูแนวโน้มและเปรียบเทียบคุณสมบัติด้านต่าง ๆ ของผลิตภัณฑ์

บรรณานุกรม



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บรรณานุกรม

รายการอ้างอิงภาษาไทย

- ก๊วดไทยซีฟู้ด. (2551). อาหารแห้งเพื่อสุขภาพ: พุทราจีน. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <https://www.goodthaiseafood.com/product/72617/พุทราจีน>. [5 กรกฎาคม 2564].
- งามทิพย์ ภู่วโรดม. (2550). การบรรจุอาหาร (Food packaging). พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร : เอส.พี.เอ็ม.
- จารุฉัตร เชนยทิพย์. (2558). วิจัยและพัฒนาพันธุ์อินทผลัม. กรมวิชาการเกษตร.
- เจนจิรา จิรัมย์ และ ประสงค์ สีหานาม. (2554). อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ : แหล่งที่มา และกลไกการเกิดปฏิกิริยา. วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยราชภัฏกาฬสินธุ์, 1(1); 59-70.
- ต้นไม้และสวนออนไลน์. (2561). ไซ 5 ปัญหา อินทผลัมเพาะเนื้อเยื่อ คำตอบที่คนปลูกอินทผลัมควร รู้. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <https://www.tonmailaesuan.com/2018/01/5.html>. [11 พฤษภาคม 2564].
- บุษกร อุตริชาติ. (2545). จุลชีววิทยาทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 3. สงขลา : มหาวิทยาลัยทักษิณ.
- ปราณี อ่านเปรี๊ยะ. (2535). เอนไซม์ทางอาหารตอนที่ 1. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ปรรัตน์ ศุภมิตรโยธิน. (2559). การเปลี่ยนแปลงของผักและผลไม้จากการแปรรูป. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <https://www.slideshare.net/GawewatDechaapinun/4-58311070>. [11 พฤษภาคม 2564].
- ไมตรี สุทธิจิตต์. (2555). อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ. พิมพ์ครั้งที่ 1. เชียงใหม่ : สำนักพิมพ์ นวัตกรรมสุขภาพ.
- ยุทธนา พิมพ์ศิริพล. (2553). เทคนิคการประเมินอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 1. เชียงใหม่ : นพบุรีการพิมพ์.

- ระพีพรรณ สายแวว. (2563). เทคนิคการเลือกบรรจุภัณฑ์สำหรับผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำพื้นเมือง. กองวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ กรมประมง.
- วีรภัทร วิโนทพรรษ. (2014). การประยุกต์ใช้เอนไซม์ในรูปอิสระและรูปตรึงสำหรับการสกัดสารธรรมชาติจากพืช. *Thai Bulletin of Pharmaceutical Sciences*, 9(1); 57-70.
- ศุภณี เรียบเลิศศิริ และ กรรณิการ์ ยี่มณาค. (2557). Plastic Packaging and the Shelf Life of Food. ภาควิชาเทคโนโลยีการบรรจุและวัสดุ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ศูนย์วิจัยเพื่ออุตสาหกรรมอาหาร. (2560). ตลาดเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพจากธรรมชาติในประเทศไทย. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://fic.nfi.or.th/MarketOverviewDomesticDetail.php?id=139>. [7 พฤษภาคม 2564].
- สยามรัฐออนไลน์. (2562). เปิดไรซ์มิลอินทผลัม สวนแห่งแรก จ.ราชบุรี. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <https://siamrath.co.th/n/95093>. [11 พฤษภาคม 2564].
- สมฤดี ไทพาณิชย์. (2555). กระบวนการแปรรูปด้วยเอนไซม์และการทำแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอยของไซรัปขนุนชนิดผง. *วารสารเทคโนโลยีการอาหาร*, (1)7; 31-39.
- สำนักอาหาร. (2562). คู่มือ: รายการตรวจวิเคราะห์อาหารควบคุมเฉพาะและอาหารกำหนดคุณภาพมาตรฐาน 9 ประเภท. สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา.
- อรชุน เลียววัฒนผล. (2536). ต้านโรคต้านมะเร็งด้วยเบต้าแคโรทีน. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร : รวมพรรณ.
- อินทาวุธ สรรพพรสถิตย์. (2563). Hydrolases and its application. Food enzymes. ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- Ampro health. (2020). สรรพคุณและประโยชน์ของพุทราจีน. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <https://amprohealth.com/magazine/jujube/>. [5 กรกฎาคม 2564].
- Disthai. (2017). มะตูม ประโยชน์ดีๆ สรรพคุณเด่นๆ และข้อมูลงานวิจัย. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <https://www.disthai.com/มะตูม/>. [5 กรกฎาคม 2564].

Medthai. (2013). พุทราสรรพคุณและประโยชน์ของพุทราจีน 23 ข้อ!. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <https://medthai.com/พุทราจีน/>. [5 กรกฎาคม 2564].

Pobpad. (2016). มะตูมกับสรรพคุณทางยา. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <https://www.pobpad.com/มะตูมกับสรรพคุณทางยา>. [5 กรกฎาคม 2564].

รายการอ้างอิงภาษาอังกฤษ

Abbès, F., Bouaziz, M.A., Blecker, C., Masmoudi, M., Attia, H. and Besbes, S. (2011). Date syrup: Effect of hydrolytic enzymes (pectinase/cellulase) on physicochemical characteristics, sensory and functional properties. *LWT- Food Science and Technology*, 44(8); 1827-1834.

Abbès, F., Kchaou, W., Blecker, C., Ongena, M., Lognay, G., Attia, H. and Besbes, S. (2013). Effect of processing conditions on phenolic compounds and antioxidant properties of date syrup. *Industrial Crops and Products*, 44, 634–642.

Abdullah, S., Pradhan, R.C., Pradhan, D. and Mishra, S. (2021). Modeling and optimization of pectinase-assisted low-temperature extraction of cashew apple juice using artificial neural network coupled with genetic algorithm. *Food Chemistry*, 339, 1-10.

Ahmed, I.A. and Ahmed, W.K. (1995). Chemical composition of date varieties as influenced by the stage of ripening. *Food Chemistry*, 54(3); 305-309.

Al-Farsi, M. and Lee, C.Y. (2008). Nutritional and functional properties of dates: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48(10); 877-887.

Al-Shahib, W. and Marshall, R.J. (2003) The fruit of the date palm: its possible use as the best food for the future?, *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 54(4); 247-259.

Al-Shwyeh, A.H. (2019). Date palm (*Phoenix dactylifera* L.) fruit as potential antioxidant and antimicrobial agents. *Journal of Pharmacy and Bioallied Science*, 11(1); 1-11.

- Amer, W.M. (1994). The date palm in ancient history. Botany department, Faculty of science, Cairo University.
- Anjum, F.M., Bukhat, S.I., El-Ghorab, A.H., Khan, M.I., Nadeem, M., Hussain, S. and et al. (2012). Phytochemical characteristics of date palm (*Phoenix dactylifera*) fruit extracts. *Journal of Food Science*, 22(3); 117-127.
- Anthony, K. (2018). Carotenoids: Everything You Need to Know. [online]. source: <https://www.healthline.com/health/carotenoids>. [11 May 2021].
- Assirey, E.A.R. (2015). Nutritional composition of fruit of 10 date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cultivars grown in Saudi Arabia. *Journal of Taibah University for Science*, 9, 75-79.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). (1995). Official Method of Analysis of AOAC International. 15th edition. Washington D.C.: The Association of Official Analytical Chemists.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). (2000). Official Method of Analysis of AOAC International. 17ed edition. Virginia: The Association of Official Chemists.
- Aust, O., Sies, H., Stahl, W. and Polidori, M.C. (2001). Analysis of lipophilic antioxidants in human serum and tissues: tocopherols and carotenoids. *Journal of Chromatography A*, 936 (1-2); 83-93.
- Ayyanar, M. and Ignacimuthu, S. (2005). Traditional knowledge of kani tribals in Kouthalai of Tirunelveli hills, Tamil Nadu, India. *Journal of Ethnopharmacology*, 102(2); 246-255.
- Bacteriological Analytical Manual. (2001). U.S. Food and Drug Administration. USA: Center for Food Safety and Applied Nutrition.
- Benzie, I.F. and Strain, J.J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1); 70-76.

- Biswas, A.K., Sahoo, J. and Chatli, M.K. (2011). A simple UV-Vis spectrophotometric method for determination β -carotene content in raw carrot, sweet potato and supplemented chicken meat nuggets. *LWT-Food Science and Technology*, 44(8); 1809-1813.
- Bourvellec, L.C., Bouchet, B. and Renard, C.M.G.C. (2005). Non-covalent interaction between procyanidins and apple cell wall material. Part III: Study on model polysaccharides. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1725(1); 10–18.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. and Berset, C.L.W.T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28(1); 25-30.
- Brat, P., Georgé, S., Bellamy, A., Chaffaut, D.L., Scalbert, A., Mennen, L. and et al. (2006). Daily polyphenol intake in France from fruit and vegetables. *The Journal of Nutrition*, 136(9); 2368–2373.
- Britton, G., and Young, A. (1995). Carotenoids in Photosynthesis. UK: Springer-Science and Business Media.
- Chen, J.H. and Ho, C.T. (1997). Antioxidant activities of caffeic acid and its related hydroxycinnamic acid compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(7); 2374-2378.
- Chen, J., Liu, X., Li, Z., Qi, A., Yao, P., Zhou, Z. and et al. (2017). A review of dietary *ziziphus jujuba* fruit (Jujube): Developing health food supplements for brain protection. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1-10.
- Choi, M.H., Kim, G.H. and Lee, H. S. (2002). Effects of ascorbic acid retention on juice color and pigment stability in blood orange (*Citrus sinensis*) juice during refrigerated storage. *Food Research International*, 35(8); 753-759.
- Choudhari, M.S. and Ananthanarayan, L. (2007). Enzyme aided extraction of lycopene from tomato tissues. *Food Chemistry*, 102(1); 77-81.

- Dumbravă, D.G., Moldovan, C., Raba, D. and Popa, M.V. (2012). Vitamin C, chlorophylls, carotenoids and xanthophylls content in some basil (*Ocimum basilicum* L.) and rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) leaves extracts. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, 18(3); 253-258.
- Fayadh, J.M. and Al-Showiman, S.S. (1990). Chemical composition of date palm (*Phoenix dactylifera* L.). *Journal of The Chemical Society of Pakistan*, 12(1); 84-103.
- Fellows, P.J. (2009). Food processing technology. 3rd edition. UK: Woodhead Publishing.
- Gani, G., Naik, H.R., Jan, N., Bashir, O., Hussain, S.Z., Rather, A.H. and et al. (2020). Physicochemical and antioxidant properties of pear juice prepared through pectinase enzyme assisted extraction from *William Bartlett* variety. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(4); 743-757.
- Geraldi, M.V., Cazarin, C.B.B., Dias-Audibert, F.L., Pereira, A.G., Carvalho, G.G., Kabuki, D.Y. and et al. (2021). Influence of high isostatic pressure and thermal pasteurization on chemical composition, color, antioxidant properties and sensory evaluation of jaboticaba juice. *LWT-Food Science and Technology*, 139(1); 1-10.
- Geremias-Andrade, I.M., Rocheto, A.C., Gallo, F.A. and Petrus, R.R. (2020). The shelf life of standardized sugarcane juice stored under refrigeration. *Food Science and Technology*, 40(1); 95-101.
- Gião, S.M., Pereira, I.C., Pintado, E.M. and Malcata, F.X. (2013). Effect of technological processing upon the antioxidant capacity of aromatic and medicinal plant infusions: From harvest to packaging. *LWT-Food Science and Technology*, 50(1); 320-325.
- Gomez, A.L., Chumillas, M.R. and Sanchez, Y.Y.B. (2010). Packaging and the shelf life of orange juice. Food engineering and agricultural equipment department, Technical University of Cartagena.
- Gross, J. (1987). Pigment in fruits. Orlando: Academic Press.

- Hazra, S.K., Sarkar, T., Salauddin, M., Sheikh, H.I., Pati, S. and Chakraborty, R. (2020). Characterization of phytochemicals, minerals and in vitro medicinal activities of bael (*Aegle marmelos* L.) pulp and differently dried edible leathers. *Heliyon*, 6(10); 1-13.
- Institute of Scientific and Technological Research in Thailand (TISTR). (2014). Drinking fruit juice value. [online].
source: http://www.tistr-foodprocess.net/fruit/article_fruit/article_fruit1.html. [11 May 2021].
- Jing, P., Zhao, S., Jian, W., Qian, B., Dong, Y. and Pang, J. (2012). Quantitative Studies on Structure-DPPH• Scavenging Activity Relationships of Food Phenolic Acids. *Molecules*, 17(11); 12910-12924.
- Khalil, J. (2011). Pulsed Electric Field (P.E.F) and pectinase for the extraction of polyphenols from grape pomace and peel. Food science and technology department, University of Nebraska–Lincoln.
- Khandare, V., Waliab, S., Singh, M. and Kaur, C. (2011). Black carrot (*Daucus carota* ssp. *sativus*) juice: Processing effects on antioxidant composition and color. *Food and Bioproducts Processing*, 89(4); 482–486.
- Landbo, A. and Meyer, S.A. (2004). Effects of different enzymatic maceration treatments on enhancement of anthocyanins and other phenolics in black currant juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 5(4); 503–513.
- Lang, C. and Dörnenburg, H. (2000). Perspectives in the biological function and the technological application of polygalacturonases. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 53(4); 366-75.
- Laorko, A., Tongchitpakdee, S. and Youravong, W. (2013). Storage quality of pineapple juice non-thermally pasteurized and clarified by microfiltration. *Journal of Food Engineering*, 116(2); 554-561.
- Lea, A. (1995). *Enzymes in Food Processing*. 2nd Edition. Boston: Springer.

- Lebeau, J., Furman, C., Bernier, J.L., Duriez, P., Teissier, E. and Cotelle, N. (2000). Antioxidant properties of di-tert-butyl hydroxylated flavonoids. *Free Radical Biology and Medicine*, 29(9); 900-912.
- Lee, H.S. and Chen, C.S. (1998). Rates of vitamin c loss and discoloration in clear orange juice concentrate during storage at temperatures of 4–24 °C. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(11); 4723-4727.
- Lee, V.S., Chen, C.R., Lio, Y.W., Tzen, J.T. and Chang, C.I. (2008). Structural determination and DPPH radical-scavenging activity of two acylated flavonoid tetraglycosides in oolong tea (*Camellia sinensis*). *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 56(6); 851-853.
- Lewis, M. and Heppell, N. (2000). Continuous thermal processing of foods pasteurization and UHT sterilization. USA: Gaithersburg.
- Majumdar, T.K., Vasudish, C.R., Premavalli, K.S. and Bawa, A.S. (2010). Studies on processing and storage stability of ashground-mint leaves juice. *Journal of Food Processing and Preservation*, 34(2); 549-556.
- Mansouri, A., Embarek, G., Kokkalou, E. and Kefalas, P. (2005). Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food chemistry*, 89(3); 411-420.
- Maqsood, S., Adiamo, O., Ahmad, M. and Mudgil, P. (2020). Bioactive compounds from date fruit and seed as potential nutraceutical and functional food ingredients. *Food Chemistry*, 308, 1-18.
- Miller, N.J., Sampson, J., Candeias, L.P., Bramley, P.M. and Rice-Evans, C.A. (1996). Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. *FEBS Letters*, 384(3); 240-242.
- Myers, R.H., Montgomery, D.C. and Anderson-Cook, C.M. (2016). Response surface methodology: process and product optimization using designed experiments. 4th edition. USA: Wiley.

- Myhara, R.M., Karkalas, J. and Taylor, M.S. (1999). The composition of maturing Omani dates. *Journal of Science and Food Agriculture*, 79, 1345-1350.
- Nath, P., Kaur, C., Rudra, G.S. and Varghese, E. (2016). Enzyme-assisted extraction of carotenoid-rich extract from red capsicum (*Capsicum annuum*). *National Academy of Agricultural Sciences*, 5(2); 193–204.
- Neagu, D., Leopold, F.L. and Thonart, P. (2014). Enzyme-assisted extraction of carotenoids and phenolic derivatives from tomatoes. *Bulletin UASVM Animal Science and Biotechnologies*, 71(1); 20-26.
- Nighojkar, A., Patidar, K.M. and Nighojkar, S. (2019). 8-Pectinases: production and applications for fruit juice beverages. *Processing and Sustainability of Beverages*, 2, 235-273.
- Norjana, I. and Noor Aziah, A.A. (2011). Quality attributes of durian (*Durio zibethinus* Murr.) juice after pectinase enzyme treatment. *International Food Research Journal*, 18(3); 1117-1122.
- O-I Australia. (2020). Anatomy of glass container: The component of a grand design in glass packaging. [online]. source: <https://recycleglass.com.au/glass-making/anatomy>. [11 May 2021].
- Palmqvist, E. and Hahn-Hagerdal, B. (2002). Fermentation of lignocel-lulosic hydrolysates. I: inhibition and detoxification. *Bioresource Technology*, 74(1); 17-24.
- Parsaei, P., Karimi, M., Asadi, Y.S. and Rafieian-kopaei, M. (2013). Bioactive components and preventive effect of green tea (*Camellia sinensis*.) extract on post-laparotomy intra-abdominal adhesion in rats. *International Journal of Surgery*, 11(9); 811-815.
- Photong, P. (2014). Antioxidants help fight the disease. [online]. source: [http://www.stou.ac.th/study/sumrit/12-55\(500\)/page2-12-55\(500\).html](http://www.stou.ac.th/study/sumrit/12-55(500)/page2-12-55(500).html). [11 May 2021].
- Pipeline Packaging. (2020). Common GPI/SPI Neck Finishes. [online]. source: www.pipelinepackaging.com/capand-neck-finishes. [11 May 2021].

- Plaza, L., Sánchez-Moreno, C., Ancos, B., Elez-Martínez, P., Martín-Belloso, O. and Cano, M.P. (2011). Carotenoid and flavanone content during refrigerated storage of orange juice processed by high-pressure, pulsed electric fields and low pasteurization. *LWT - Food Science and Technology*, 44(4); 834-839.
- Puppo, A. (1992). Effect of flavonoids on hydroxyl radical formation by fenton-type reactions; influence of the iron chelator. *Phytochemistry*, 31(1); 85-88.
- Puri, M., Sharma, D. and Barrow, C.J. (2012). Enzyme-assisted extraction of bioactives from plants. *Trends Biotechnol*, 30(1); 37-44.
- Rashwan, A.K., Karim, N., Shishir, M.R.I., Bao, T., Lu, Y. and Chen, W. (2020). Jujube fruit: A potential nutritious fruit for the development of functional food products. *Journal of Functional Foods*, 75, 1-16.
- Rice-Evans, C.A. (1995). The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Radical Research*, 22(4); 3785-93.
- Rodríguez-Verástegui, L.L., Martínez-Hernández, G.B., Castillejo, N., Gómez, P.A., Artés, F. and Artés-Hernández, F. (2016). Bioactive compounds and enzymatic activity of red vegetable smoothies during storage. *Food Bioprocess Technology*, 9, 137-146.
- Sanchez, B.A.O., Celestino, S.M.C., Gloria, M.B.D.A., Celestino, I.C., Lozada, M.I.O., Júnior, S.D.A. and et al. (2020). Pasteurization of passion fruit *Passiflora setacea* pulp to optimize bioactive compounds retention. *Food Chemistry: X*, 6, 1-9.
- Santhirasegaram, V., Razali, Z., George, D.S. and Somasundram, C. (2015). Comparison of UV-C treatment and thermal pasteurization on quality of Chokanan mango (*Mangifera indica* L.) juice. *Food and Bioprocess Processing*, 94, 313-321.

- Sarkar, T., Salauddin, M. and Chakraborty, R. (2020). In-depth pharmacological and nutritional properties of bael (*Aegle marmelos*): A critical review. *Journal of Agriculture and Food Research*, 2, 1-22.
- Sawaya, W., Khalil, J., Safi, W. and Al-Shalhat, A. (1983). Physical and chemical characterization of three Saudi date cultivars at various stages of development. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*, 16(2); 87-92.
- Siddiq, M., Dolan, K.D., Perkins-Veazie, P. and Collins, J.K. (2018). Effect of pectinolytic and cellulytic enzymes on the physical, chemical, and antioxidant properties of blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) juice. *LWT - Food Science and Technology*, 92, 127-132.
- Singh, A., Kumar, S. and Sharma, H.K. (2012). Effect of enzymatic hydrolysis on the juice yield from bael fruit (*Aegle marmelos* Correa) pulp. *American Journal of Food Technology*, 7(2); 62-72.
- Smith, A.H., Zoetendal, E. and Mackie, R.I. (2005). Bacterial mechanisms to overcome inhibitory effects of dietary tannins. *Microbial Ecology*, 50(2); 197–205.
- Sopittummakhun, K. and Rattanasinganchan, P. (2017). Extraction and determination of antioxidant activity in herbal plant. *Journal of Science and Technology Huachiew Chalermprakiat University*, 1(3); 86-94.
- Srichayet, P. (2019). Principles of food processing to extend product's shelf life. *Journal of the Institute of Food Research and Product Development Kasetsart University*, 49(1); 12-19.
- Srivastava, A., Akoh, C.C., Yi, W., Fischer, J. and Krewer, G. (2007). Effect of storage conditions on the biological activity of phenolic compounds of blueberry extract packed in glass bottles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 2705-2713.

- Tanaka, Y., Sasaki, N. and Ohmiya, A. (2008). Biosynthesis of plant pigments: anthocyanins, betalains and carotenoids. *The Plant Journal*, 54(4); 733-749.
- Thanasombun, P. and Pichaiyongvongdee, S. (2015). Development of job's tears drinking with concentrated Bai-Ya-Nang (*Tiliacora triandra* Diels.). *SDU Research Journal*, 8(2); 53-65.
- Thitiratsakul, B. and Anprung, P. (2014). Prebiotic activity score and bioactive compounds in longan (*Dimocarpus longan* Lour.): influence of pectinase in enzyme-assisted extraction. *Journal of Food Science and Technology*, 51(9); 1947–1955.
- Tucker, G. and Featherstone, S. (2010). *Essential of thermal processing*. Wiley-blackwell.
- Vegara, S., Martí, N., Mena, P., Saura, D. and Valero, M. (2013). Effect of pasteurization process and storage on color and shelf-life of pomegranate juices. *LWT- Food Science and Technology*, 54(2); 592-596.
- Viratwong, P. (2014). free radicals /antioxidants. [online]. source: <http://www.gpo.or.th/rdi/html/antioxidants.html>. [11 May 2021].
- Wang, Y., Zu, Y., Long, J., Fu, Y., Li, S., Zhang, D. and et al. (2011). Enzymatic water extraction of taxifolin from wood sawdust of *Larix gmelini* (Rupr.) Rupr. and evaluation of its antioxidant activity. *Food Chemistry*, 126(3); 1178–1185.
- Wilfred, V. and Ralph, N. (2006). *Phenolic Compound Biochemistry*. USA: Springer.
- Yasmin, A., Massod, S. and Abid, H. (2010). Biochemical analysis and sensory evaluation of naturally preserved sugarcane juice. *Pakistan Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 43(3); 144-145.
- Zhang, H., Woodams, E.E. and Hang, Y.D. (2011). Influence of pectinase treatment on fruit spirits from apple mash, juice and pomace. *Process Biochemistry*, 46(10); 1909 – 1913.



ภาคผนวก ก

วิธีวิเคราะห์ทางกายภาพ

ก.1 การวิเคราะห์ร้อยละผลได้ (%yield)

เทน้ำอินทผลัมปั่นที่ได้จากการนำอินทผลัมปั่นผสมกับน้ำอย่างละเอียดเทลงในกระบอกตวงเพื่อวัดปริมาตรน้ำอินทผลัมเริ่มต้น จากนั้นนำน้ำอินทผลัมปั่นนี้มาสกัดด้วยเอนไซม์เพคตินเอสซัยและเทลงในกระบอกตวงเพื่อวัดปริมาตรน้ำอินทผลัมที่สกัดได้และวิเคราะห์ร้อยละผลได้ของน้ำอินทผลัมสกัด โดยคำนวณจากสมการ (จิตชัย, 2547) ดังนี้

$$\text{ร้อยละผลได้ของน้ำอินทผลัมสกัด} = \frac{\text{ปริมาตรน้ำอินทผลัมที่สกัดได้}}{\text{ปริมาตรน้ำอินทผลัมเริ่มต้น}} \times 100$$

ก.2 ค่า L* a* และ b* ของน้ำอินทผลัมสกัด

วัดสีของน้ำอินทผลัมสกัดด้วยเครื่อง Chroma meter (Monica Minolta รุ่น CR-400, Japan) ระบบสี CIE และบันทึกค่า L* a* และ b* โดยปรับมาตรฐานเครื่องก่อนการวัดตัวอย่างทุกครั้ง

โดย ค่า L* แสดงถึง ค่าความสว่าง (lightness) มีค่าตั้งแต่ 0 - 100

0 แสดงถึง สีดำ

100 แสดงถึง สีขาว

ค่า a* แสดงถึง ค่าสีแดงและเขียว (redness/greenness)

+a* แสดงถึง สีแดง

- a* แสดงถึง สีเขียว

ค่า b* แสดงถึง ค่าสีเหลืองและสีน้ำเงิน (yellowness/blueness)

+b* แสดงถึง สีเหลือง

- b* แสดงถึง สีน้ำเงิน

ก.3 ค่า ΔE^* (ความแตกต่างของสี)

วัดค่าสีของน้ำอินทผลัมสกัดด้วยเครื่อง Chroma meter (Monica Minolta รุ่น CR-400, Japan) ระบบ CIE และบันทึกค่า L^* , a^* และ b^* โดยปรับมาตรฐานเครื่องก่อนการวัดทุกครั้ง แล้วคำนวณค่าความแตกต่างของสี (ΔE^*) แสดงดังสมการที่ ก.1

$$\Delta E^* = [(L^*_1 - L^*_2)^2 + (a^*_1 - a^*_2)^2 + (b^*_1 - b^*_2)^2]^{1/2} \quad \text{สมการที่ ก.1}$$

โดยกำหนดให้ subscript 1 คือ ค่าสีเริ่มต้นของตัวอย่าง

subscript 2 คือ ค่าสีที่วัดได้ในแต่ละครั้งของตัวอย่าง

ภาคผนวก ข

วิธีวิเคราะห์ทางเคมี

ข.1 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด ($^{\circ}$ Brix)

วัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดด้วย เครื่อง digital refractometer (HI96801, Hanna, Thailand) ที่ความเข้มข้น 0-85 $^{\circ}$ Brix

ข.2 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)

วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ด้วยเครื่อง pH meter (Mettler toledo, Switzerland)

ข.3 การหาปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดซิตริก (%กรดซิตริก) (AOAC, 2000)

อุปกรณ์

1. บิวเรต
2. ขวดรูปชมพู่ขนาด 125 mL

สารเคมี

1. Phenolphthalein ($C_{20}H_{14}O_4$) (A.R. grade, Ajax Finechem, New Zealand)
2. Sodium hydroxide (NaOH) (A.R. grade, QReC, New Zealand)
3. Potassium hydrogen phthalate ($KHC_8H_4O_4$) (Kemaus, Australia)

การหาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลาย sodium hydroxide 0.1 N

1. อบ potassium hydrogen phthalate ($KHC_8H_4O_4$) ที่ใส่บนกระดาษฟิวส์ที่ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง และปล่อยให้เย็นใน desiccator
2. ชั่งน้ำหนักให้ได้แน่นอน 0.8 g ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 mL
3. เติมน้ำกลั่น 25 mL

4. ไตเตรทกับสารละลาย sodium hydroxide 0.1 N โดยใช้ phenolphthalein เป็นอินดิเคเตอร์

วิธีการวิเคราะห์

1. ปิเปตตัวอย่างน้ำอินทผลัมสกัด 5 mL ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 mL และหยด phenolphthalein 1-2 หยด เขย่าให้เข้ากัน
2. ไตเตรทกับสารละลายมาตรฐาน sodium hydroxide 0.1 N จนได้จุดยุติเป็นสีชมพู

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณทั้งหมดในรูปกรดซิตริก (ร้อยละ)} = \frac{\text{ไตเตอร์} \times N \times n \times 100}{\text{ปริมาตรตัวอย่าง}}$$

เมื่อ N คือ ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ (นอร์มอล)

n คือ มิลลิอิกิววาเลนต์ของกรดซิตริก
(milliequivalent weight of citric acid) เท่ากับ 0.07

ข.4 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดย Folin-Ciocalteu ตามวิธีของ Parsaei และคณะ, (2013)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่อง UV-visible spectrophotometer (Thermo Spectronic, Genesys 10 uv, USA)
2. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (NewClassic, Mettler, Switzerland)

สารเคมี

1. Gallic acid (Sigma Aldrich, USA)
2. Sodium carbonate (Na_2CO_3) (Kemaus, Australia)

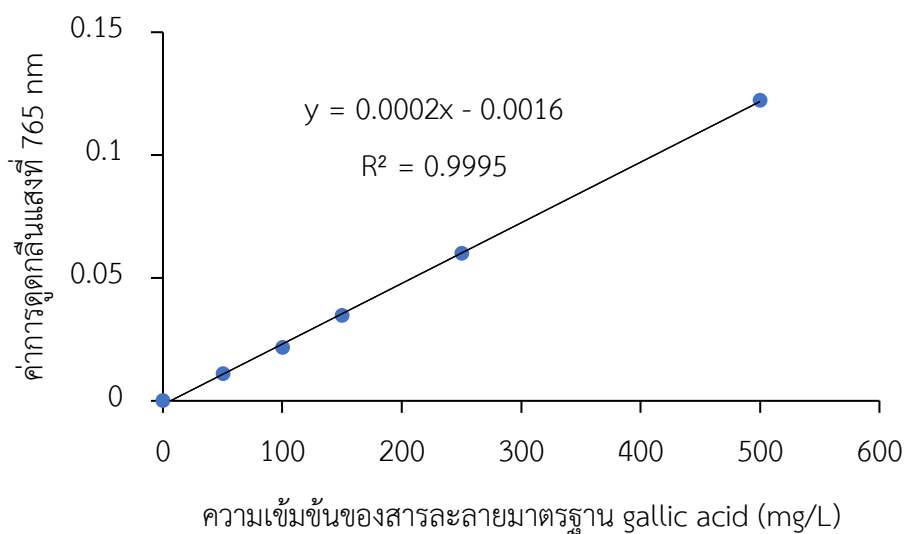
3. Folin-Ciocalteu reagent (Loba Chemie, India)
4. Methanol (CH₃OH) (Giant Leo Intertrade, Thailand)

วิธีการเตรียมสารละลาย sodium carbonate 7.5%

- ละลาย sodium carbonate 7.5 g ในน้ำกลั่น 100 mL

วิธีการเตรียมสารละลายมาตรฐาน gallic acid และการสร้างกราฟมาตรฐาน

1. ละลาย gallic acid 0.5 g ใน methanol ปริมาตร 10 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตรรวมเป็น 100 mL (จะได้ความเข้มข้นเท่ากับ 5 g/L)
2. ปิเปตสารละลาย gallic acid ที่เตรียมไว้ในข้อ 1 ปริมาตร 0, 0.5, 1, 1.5, 2.5 และ 5 mL ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 50 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น (จะได้ความเข้มข้นของ gallic acid เท่ากับ 0, 50, 100, 150, 250 และ 500 mg/L ตามลำดับ)
3. ผสมสารละลายที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาตร 100 μ L กับน้ำกลั่นปริมาตร 7 mL และสาร Folin-Ciocalteu reagent ปริมาตร 500 μ L ในขวดปรับปริมาตร 10 mL ผสมให้เข้ากันทิ้งไว้ 3-5 นาที จากนั้นปิเปตสารละลาย sodium carbonate 7.5% ปริมาตร 400 μ L เติมลงในสารละลาย ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น ผสมให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ 30 นาที ในที่มืด
4. วัดค่าการดูดกลืนแสงสารละลายมาตรฐานที่ความยาวคลื่น 765 nm โดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวอ้างอิง (เพื่อปรับค่าการดูดกลืนแสงให้เท่ากับ 0)
5. สร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน gallic acid (แกน X) กับค่าการดูดกลืนแสง (แกน Y) แสดงดังรูปที่ ข.1



ภาพที่ ข.1 กราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

วิธีวิเคราะห์

1. ปิเปตตัวอย่างปริมาตร 100 μL ลงในขวดปรับปริมาตร 10 mL
2. เติมน้ำกลั่นปริมาตร 7 mL และสาร Folin-Ciocalteu reagent ปริมาตร 500 μL ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 3-5 นาที
3. ปิเปตสารละลาย sodium carbonate 7.5% ปริมาตร 400 μL เติมลงในสารละลาย ผสมให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ 30 นาที ในที่มืด
4. วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 765 nm และคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดยใช้ค่าการดูดกลืนแสงที่ได้เทียบกับกราฟมาตรฐาน

ข.5 ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมด (total carotenoid content) ด้วยวิธี Spectrophotometric method ดัดแปลงตามวิธีของ Biswas และคณะ (2011)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่อง Centrifuge (Hettich zentrifugen 19, Germany)
2. เครื่อง UV-visible spectrophotometer (Thermo Spectronic, Genesys 10 uv, USA)
3. เครื่อง Vortex mixer (CTL, CTL-107, Japan)
4. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (NewClassic, Mettler, Switzerland)

สารเคมี

1. Beta-Carotene (Sigma-Aldrich, Germany)
2. Acetone (A.R. Grade, RCI Labscan, Thailand)

วิธีการเตรียมสารละลายมาตรฐาน beta-carotene และการสร้างกราฟมาตรฐาน

1. ชั่ง beta-carotene มา 0.1 g ละลายใน acetone ปริมาตร 100 mL แล้วใส่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 mL ผสมให้เข้ากัน สารละลายที่ได้มีความเข้มข้นเท่ากับ 1000 µg/mL
2. เตรียมสารละลาย beta-carotene ใน acetone และเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 0, 0.03, 0.062, 0.125, 0.25, 0.5, 1, 2, 4 และ 8 µg/mL ดังแสดงในตารางที่ ข.1

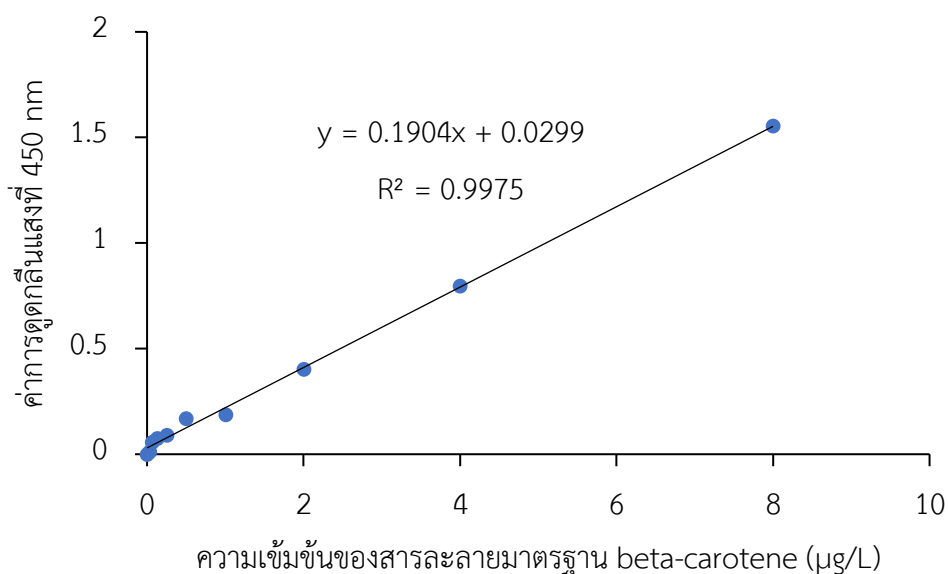
ตารางที่ ข.1 วิธีเตรียมสารละลายมาตรฐาน beta-carotene

ความเข้มข้นเริ่มต้น ($\mu\text{g/mL}$)	ปริมาตร beta-carotene (mL)	ปริมาตรอะซิโตน (mL)	ความเข้มข้นสุดท้าย ($\mu\text{g/mL}$)
1000	0.5	5	100
100	2.5	5	50
50	2.5	4	32
32	2	4	16
16	2	4	8
8	2	4	4
4	2	4	2
2	2	4	1
1	2	4	0.5
0.5	2	4	0.25
0.25	2	4	0.125
0.125	2	4	0.062
0.062	2	4	0.03

3. วัดค่าดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานที่ความยาวคลื่น 450 nm โดยใช้ acetone เป็นตัวอ้างอิง (เพื่อปรับค่าการดูดกลืนแสงให้เท่ากับ 0)
4. สร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน beta-carotene (แกน X) กับค่าการดูดกลืนแสง (แกน Y) แสดงดังรูปที่ ข.2

วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่าง 1 g เติม acetone ปริมาตร 5 mL จากนั้นนำไปเขย่าผสมบนเครื่อง vortex ที่ความเร็วสูงเป็นเวลา 10 นาที และปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็วรอบ 1300x g เป็นเวลา 10 นาที
2. ปิเปตสารละลายส่วนใส (ด้านบน) เก็บไว้ในหลอดทดลอง สกัดส่วนกากด้านล่างด้วย acetone โดยปิเปต acetone ปริมาตร 5 mL (ทำเช่นเดิมกับข้อ 1. จำนวน 3 ครั้ง หรือจนกว่ากากจะมีสีซีด) และเก็บสารละลายส่วนใสรวมกัน
3. กรองสารละลายส่วนใสที่สกัดได้ (ด้านบน) ด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1
4. วัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 450 nm และคำนวณปริมาณสารแคโรทีนอยด์จากกราฟมาตรฐานของ beta-carotene แสดงดังรูปที่ ข.2



ภาพที่ ข.2 กราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารแคโรทีนอยด์

ข.6 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ดัดแปลงจากวิธีของ Brand-Williams และคณะ, (1995)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่อง UV-visible spectrophotometer (Thermo Spectronic, Genesys 10 uv, USA)
2. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (NewClassic, Mettler, Switzerland)

สารเคมี

1. 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid (trolox) (Sigma Aldrich, USA)
2. 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Sigma Aldrich, USA)
3. Methanol (CH₃OH) (Giant Leo Intertrade, Thailand)

วิธีการเตรียมสารละลาย DPPH

1. เตรียม stock solution โดยชั่ง DPPH มา 24 mg ละลายใน methanol 50 mL เติงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 mL และปรับปริมาตรด้วย methanol จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้นของ DPPH เท่ากับ 6×10^{-4} M และเก็บสารละลาย DPPH ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ไม่เกิน 5 วัน
2. เตรียม daily solution โดยปิเปตสารละลาย DPPH จากข้อ 1 มา 10 mL ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 50 mL แล้วปรับให้มีปริมาตรเป็น 50 mL ด้วย methanol จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้นของ DPPH เท่ากับ 1.2×10^{-4} M ใช้ daily solution ในการวิเคราะห์ต่อไป (ค่าดูดกลืนแสง daily solution (A_{initial}) ควรมีค่าประมาณ 1.1 ถ้าหากค่าการดูดกลืนแสงมากหรือน้อยกว่า 1.1 ให้เติม methanol หรือสารละลาย DPPH จากข้อ 1 ตามลำดับ เพื่อปรับค่า A_{initial})

วิธีการเตรียมสารละลายมาตรฐาน trolox

1. ชั่ง trolox มา 25 mg ละลายใน methanol ปริมาตร 10 mL แล้วใส่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 mL ผสมให้เข้ากัน สารละลายที่ได้มีความเข้มข้นเท่ากับ 10000 μM
2. เจือจางสารละลาย trolox ความเข้มข้น 10000 μM ด้วย methanol จนได้ความเข้มข้นในช่วง 82-625 μM ดังแสดงในตารางที่ ข.2

ตารางที่ ข.2 วิธีเตรียมสารละลายมาตรฐาน trolox

ความเข้มข้นเริ่มต้น (μM)	ปริมาตร trolox (mL)	ปริมาตร methanol (mL)	ความเข้มข้นสุดท้าย (μM)
10000	5	5	5000
5000	5	5	2500
2500	5	5	1250
1250	5	5	625
625	4	2	417
417	4	2	278
278	4	2	185
185	4	2	123
123	4	2	82

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

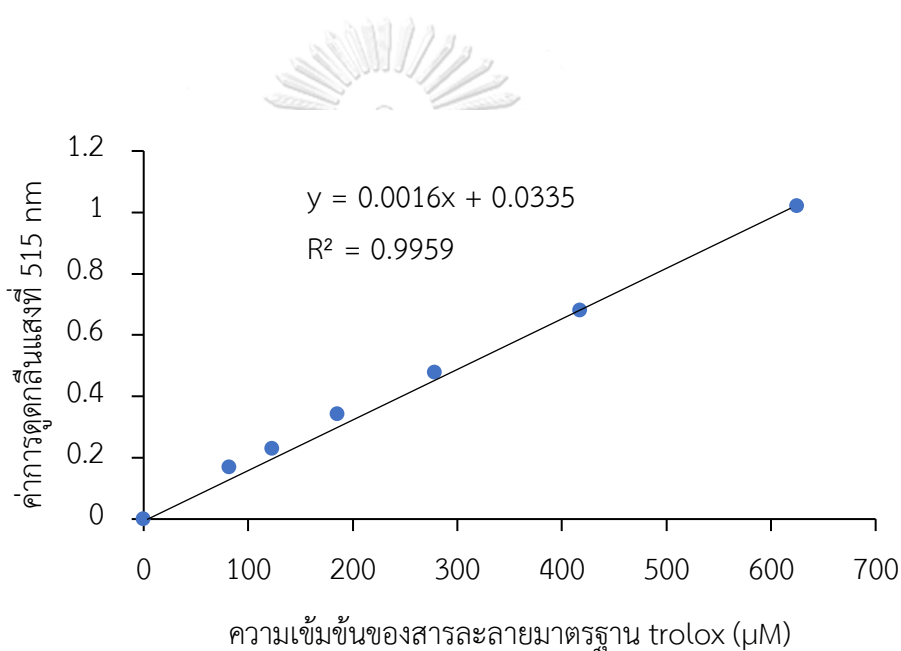
วิธีวิเคราะห์และการสร้างกราฟมาตรฐาน

1. ปิเปตตัวอย่าง (ในการสร้างกราฟมาตรฐานจะใช้ trolox แทนตัวอย่าง) 250 μL ผสมกับ สารละลาย DPPH 4.75 mL ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 นาที
2. วัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 515 nm โดยใช้ methanol เป็นตัวอ้างอิง (เพื่อปรับค่าการดูดกลืนแสงให้เท่ากับ 0)

3. หักลบค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH (A_{initial} ควรมีค่าการดูดกลืนแสงประมาณ 1.1) ด้วยค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากตัวอย่าง (A_{final} ควรมีค่าการดูดกลืนแสงประมาณ 0.6-0.7) และได้เป็นผลต่างของค่าการดูดกลืนแสง ($A_{\text{difference}}$)

$$A_{\text{difference}} = A_{\text{initial}} - A_{\text{final}}$$

4. คำนวณหาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้ค่า $A_{\text{difference}}$ ที่ได้จากตัวอย่างไปเทียบกับ $A_{\text{difference}}$ ของกราฟมาตรฐานของ trolox ดังแสดงในรูปที่ ข.3



ภาพที่ ข.3 กราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี

2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

ข.7 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ferric reducing antioxidant power (FRAP) ดัดแปลง จากวิธีของ Benzie และ Strain, (1996)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่อง UV-visible spectrophotometer (Thermo Spectronic, Genesys 10 uv, USA)
2. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (NewClassic, Mettler, Switzerland)

สารเคมี

1. 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid (trolox) (Sigma Aldrich, USA)
2. Sodium acetate trihydrate (CH_3COONa) (A.R. grade, Ajax Finechem, New Zealand)
3. Tripyridyltriazine (TPTZ) (Sigma Aldrich, USA)
4. Ferric chloride (POCH S.A., Poland)
5. Glacial acetic acid (A.R. grade, QReC, New Zealand)
6. Hydrochloric acid (HCl) 0.1 M (Kemaus, Australia)
7. Methanol (CH_3OH) (Giant Leo Intertrade, Thailand)

วิธีการเตรียมสารละลาย hydrochloric acid (HCl) ความเข้มข้น 0.04 M

- ละลาย hydrochloric acid (HCl) ความเข้มข้น 0.1 M ปริมาตร 4 mL ในน้ำ 6 mL

วิธีการเตรียมสารละลาย FRAP

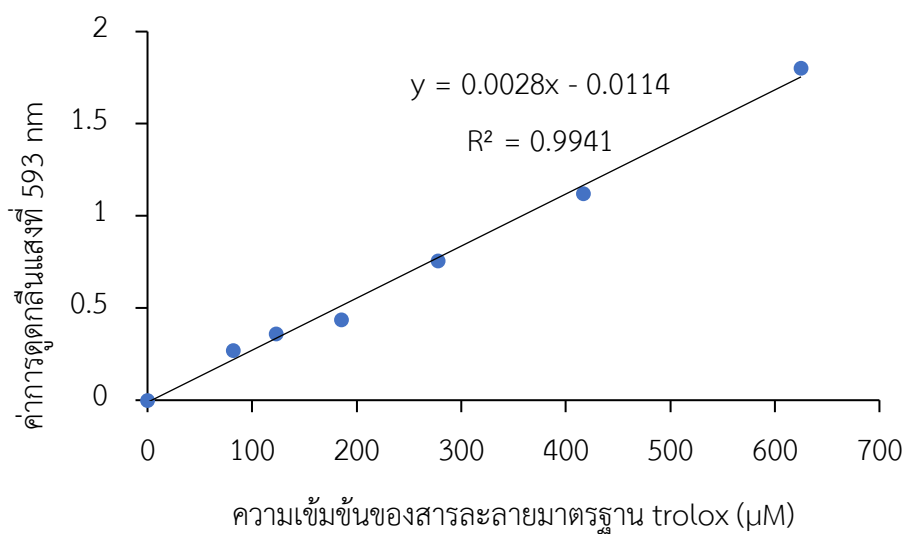
1. เตรียมสารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์โดยผสม sodium acetate trihydrate 0.3 g และ glacial acetic acid ปริมาตร 1.6 mL แล้วปรับให้มีปริมาตรเป็น 100 mL ด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 mL
2. เตรียมสารละลาย ferric chloride โดยละลาย ferric chloride 0.27 g ในน้ำกลั่น ปริมาตร 50 mL ในขวดปรับปริมาตรขนาด 50 mL
3. เตรียมสารละลาย TPTZ โดยเติม TPTZ ปริมาณ 0.0312 g ลงในสารละลาย hydrochloric acid (HCl) ความเข้มข้น 0.04 M ปริมาตร 10 mL ในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 mL
4. เตรียมสารละลาย FRAP โดยผสมอะซิเตตบัฟเฟอร์ 25 mL ferric chloride 2.5 mL และ TPTZ 2.5 mL ตามลำดับ
5. เตรียมสารละลายมาตรฐาน trolox ที่ความเข้มข้นในช่วง 82-625 μM

วิธีวิเคราะห์

1. ให้ความร้อนสารละลาย FRAP ที่ 37 องศาเซลเซียส ในอ่างให้ความร้อนซึ่งจะใส่น้ำตาลอมแดง
2. ปิเปตตัวอย่าง 50 μL (ในการสร้างกราฟมาตรฐานจะใช้ trolox แทนตัวอย่าง) เจือจางด้วยน้ำกลั่น 450 μL เติมสารละลาย FRAP 950 μL ที่งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 4 นาที
3. วัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 593 nm ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวอ้างอิง (เพื่อปรับค่าการดูดกลืนแสงให้เท่ากับ 0)
4. หักลบค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากตัวอย่าง (A_{final}) กับค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย FRAP (A_{initial}) จะได้ผลต่างของค่าการดูดกลืนแสง ($A_{\text{difference}}$)

$$A_{\text{difference}} = A_{\text{final}} - A_{\text{initial}}$$

5. คำนวณหาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้ค่า $A_{\text{difference}}$ ที่ได้จากตัวอย่างเทียบกับ $A_{\text{difference}}$ ของกราฟมาตรฐานของ trolox ดังแสดงในรูปที่ ข.4



ภาพที่ ข.4 กราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี

ferric reducing antioxidant power (FRAP)

CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาคผนวก ค

วิธีวิเคราะห์ทางชีวภาพ

ค.1 การตรวจนับปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดตามวิธีของ AOAC, (2005)

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Sodium chloride (NaCl) (A.R. grade, Loba Chemie, India)
2. Plate Count Agar (PCA) (Hi-media, India)

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ และสารละลาย

1. ละลาย sodium chloride 0.85 g ในน้ำกลั่น 100 mL และฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที
2. ชั่ง plate count agar (PCA) 23.50 g ละลายในน้ำกลั่น 1000 mL บรรจุใน flask ปิดด้วยจุกสำลี และนำไปฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

การวิเคราะห์

การตรวจนับปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดด้วยวิธี pour plate โดยเจือจางตัวอย่างน้ำอินทผลัม สกัดด้วยน้ำเกลือความเข้มข้น 0.85% w/v ในระดับที่เหมาะสม และปิเปตมา 1 mL ลงในจานเพาะเชื้อ แล้วนำอาหารเลี้ยงเชื้อ (PCA) ที่เป็นวุ้นหลอมละลายที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และตั้งทิ้งไว้จนอุณหภูมิลดลงจนถึง 45 องศาเซลเซียส เทลงไปในตัวอย่างในจานเพาะเชื้อ ปริมาตร 15-20 mL เขย่าหมุนจานเพาะเชื้อให้ตัวอย่างน้ำอินทผลัมสกัดกระจายตัว ปล่อยให้อาหาร แข็งตัว บ่มจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนับจำนวนโคโลนีที่ เกิดขึ้นภายในช่วง 25-250 โคโลนี และรายงานค่าเป็น colony forming units/mL (CFU/mL)

ค.2 การตรวจนับปริมาณยีสต์และราตามวิธีของ AOAC, (2005)

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

1. Sodium chloride (NaCl) (A.R. grade, Loba Chemie, India)
2. Potato Dextrose Agar (Hi-media, India)
3. Tartaric acid (QReC, New Zealand)

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลาย

1. ละลาย sodium chloride 0.85 g ในน้ำกลั่น 100 mL และฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที
2. ละลาย tartaric acid 10 g ในน้ำกลั่น 100 mL และฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที
3. ชั่ง potato dextrose agar (PDA) 39 g ละลายในน้ำกลั่น 1000 mL บรรจุใน flask ปิดด้วยจุกสำลีหลังจากนั้นนำไปฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และตั้งทิ้งไว้จนอุณหภูมิลดลงจนถึง 45 องศาเซลเซียส ปรับค่า pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อ (PDA) ด้วยสารละลาย tartaric acid ความเข้มข้น 10% w/v ในอัตราส่วน 1:100 mL เขย่าให้เข้ากัน เทลงในจานเพาะเชื้อปริมาตร 15-20 mL เขย่าหมุนจานเพาะเชื้อให้อาหารเลี้ยงเชื้อกระจายตัวและปล่อยให้ อาหารแข็งตัว

การวิเคราะห์

การตรวจนับปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดด้วยเทคนิค spread plate โดยเจือจางตัวอย่างน้ำ อินทผลัมสกัดด้วยน้ำเกลือความเข้มข้น 0.85% w/v ในระดับที่เหมาะสม และปิเปตมา 0.1 mL ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (PDA) จากนั้นใช้แท่งแก้วรูปสามเหลี่ยมที่ผ่านการฆ่าเชื้อเกลี่ยตัวอย่างน้ำอินทผลัม ให้กระจายทั่วผิวหน้า บ่มจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนับ จำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้น และรายงานค่าเป็น colony forming units/mL (CFU/mL)

ค.3 ปริมาณ *Escherichia coli* และ coliforms ตามวิธีการของ BAM (2001)

อาหารเลี้ยงเชื้อ และสารเคมี

1. Sodium chloride (NaCl) (A.R. grade, Loba Chemie, India)
2. EC broth (Hi-media, India)
3. Eosin Methylene Blue Agar (EMB) (Hi-media, India)
4. Lauryl Tryptose Broth (Hi-media, India)

วิธีการเตรียมสารละลาย 0.85% (w/v) sodium chloride

ซึ่ง sodium chloride ปริมาณ 0.85 g ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 100 mL จะได้สารละลาย sodium chloride ความเข้มข้น 0.85% (w/v) จากนั้นฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 15 นาที

วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ lauryl tryptose broth

ซึ่ง lauryl tryptose broth ปริมาณ 35.6 g ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 mL และบรรจุในขวดเก็บสารปิดฝา จากนั้นฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 15 นาที

วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ brilliant green lactose bile broth

ซึ่ง brilliant green lactose bile broth ปริมาณ 40 g ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 mL และบรรจุในขวดเก็บสารปิดฝา จากนั้นฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 15 นาที

วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ EC broth

ซึ่ง EC broth ปริมาณ 37 g ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 mL และบรรจุในขวดเก็บสารปิดฝา จากนั้นฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 15 นาที

วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ EMB agar

ชั่ง eosin methylene blue agar (EMB agar) ปริมาณ 35.96 g ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 mL และบรรจุในขวดเก็บสารปิดฝา จากนั้นฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 15 นาที และตั้งทิ้งไว้จนอุณหภูมิลดลงถึง 45 องศาเซลเซียส จึงเทลงในจานเพาะเชื้อปริมาตรจานละ 15-20 mL และหมุนจานเพาะเชื้อเพื่อให้อาหารเลี้ยงเชื้อกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอจนทั่วและตั้งทิ้งไว้ให้อาหารแข็งตัว

วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA slant

ชั่ง plate count agar (PCA) ปริมาณ 23.5 g ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 mL และบรรจุในขวดเก็บสาร (Duran bottle) ปิดฝา จากนั้นฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 15 นาทีและตั้งทิ้งไว้จนอุณหภูมิลดลงถึง 45 องศาเซลเซียส จึงปิเปตลงในหลอดทดลองหลอดละ 9 mL และปิดฝา เอียงหลอดทดลองลงและตั้งทิ้งไว้ให้อาหารแข็งตัว

วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ tryptone broth

ชั่ง tryptone broth ปริมาณ 15 g ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 mL และบรรจุในขวดเก็บสาร (duram bottle) ปิดฝา จากนั้นฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 15 นาที

การวิเคราะห์ด้วยวิธี 3-tube MPN

Presumptive test

1. เตรียมหลอดทดลองโดยมีหลอดดักแก๊ส (durham tube) วางคว่ำอยู่ภายใน จากนั้นปิเปตอาหารเลี้ยงเชื้อ lauryl tryptose broth ลงในหลอดทดลองปริมาตรหลอดละ 9 mL ปิดฝา จึงคว่ำและหงายหลอดทดลองเพื่อไม่ให้มีฟองอากาศเหลืออยู่ภายในหลอดดักแก๊ส
2. เจือจางตัวอย่างน้ำอินทผลัมสกัด ให้มีระดับความเจือจาง 10^{-1} , 10^{-2} และ 10^{-3} ด้วย 0.85% (w/v) Sodium chloride จากนั้นให้ทำ 3-tube MPN

3. ปิเปตตัวอย่างที่เจือจางจากข้อที่ 2 ลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ lauryl tryptose broth ที่เตรียมจากข้อที่ 1 ความเจือจางละ 3 หลอด รวมเป็น 9 หลอด ผสมโดยใช้เครื่อง vortex mixer (ฟองอากาศต้องไม่เหลืออยู่ภายในหลอดดักแก๊ส) และบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 24-48 ชั่วโมง

4. คัดเลือกหลอดที่เกิดแก๊ส และบันทึกผล โดยหลอดที่เกิดแก๊สให้ผลเป็นบวก (positive) และ หลอดที่ไม่เกิดแก๊สให้ผลเป็นลบ (negative) จากนั้นเปรียบเทียบผลการทดลองกับตาราง ที่ ค.1 โดยค่าที่ได้เป็น presumptive coliforms แสดงผลเป็น MPN/mL ของตัวอย่าง จากนั้นให้นำหลอดทดลองที่ให้ผลเป็นบวกไปทดสอบในขั้นต่อไป

Confirmed test สำหรับเชื้อ coliforms

1. เตรียมหลอดทดลองโดยมีหลอดดักแก๊สวางคว่ำอยู่ภายใน จากนั้นปิเปตอาหารเลี้ยงเชื้อ brilliant green lactose bile broth ลงในหลอดทดลองปริมาตรหลอดละ 9 mL ปิดฝา จึงคว่ำ และหงายหลอดทดลองเพื่อไม่ให้มีฟองอากาศเหลืออยู่ภายในหลอดดักแก๊ส

2. ถ่ายเชื้อจากหลอดทดลองในขั้น presumptive test ที่ให้ผลเป็นบวกลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ brilliant green lactose bile broth ที่เตรียมจากข้อที่ 1 ผสมโดยใช้เครื่อง vortex mixer (ฟองอากาศต้องไม่เหลืออยู่ภายในหลอดดักแก๊ส) และบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 48 ชั่วโมง

3. คัดเลือกหลอดที่เกิดแก๊สและบันทึกผล โดยหลอดที่เกิดแก๊สให้ผลเป็นบวก และหลอดที่ไม่เกิดแก๊สให้ผลเป็นลบ จากนั้นเปรียบเทียบผลการทดลองกับตารางที่ ค.1 โดยค่าที่ได้เป็น confirmed coliforms แสดงผลเป็น MPN/mL ของตัวอย่าง

ตารางที่ ค.1 การวิเคราะห์ด้วยวิธี 3-tube MPN ที่ตัวอย่างความเข้มข้น 10^{-1} , 10^{-2} และ 10^{-3} เพื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองและแสดงผลเป็น MPN/mL ที่ค่าความเชื่อมั่น 95%

Pos. tubes			MPN/mL	Conf. Lim.		Pos. tubes			MPN/mL	Conf. lim.	
10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}		Low	High	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}		Low	High
0	0	0	<3.0	--	9.5	2	2	0	21	4.5	42
0	0	1	3.0	0.15	9.6	2	2	1	28	8.7	94
0	1	0	3.0	0.15	11	2	2	2	35	8.7	94
0	1	1	6.1	1.2	18	2	3	0	29	8.7	94
0	2	0	6.2	1.2	18	2	3	1	36	8.7	94
0	3	0	9.4	3.6	38	3	0	0	23	4.6	94
1	0	0	3.6	0.17	18	3	0	1	38	8.7	110
1	0	1	7.2	1.3	18	3	0	2	64	17	180
1	0	2	11	3.6	38	3	1	0	43	9	180
1	1	0	7.4	1.3	20	3	1	1	75	17	200
1	1	1	11	3.6	38	3	1	2	120	37	420
1	2	0	11	3.6	42	3	1	3	160	40	420
1	2	1	15	4.5	42	3	2	0	93	18	420
1	3	0	16	4.5	42	3	2	1	150	37	420
2	0	0	9.2	1.4	38	3	2	2	210	40	430
2	0	1	14	3.6	42	3	2	3	290	90	1000
2	0	2	20	4.5	42	3	3	0	240	42	1000
2	1	0	15	3.7	42	3	3	1	460	90	2000
2	1	1	20	4.5	42	3	3	2	1100	180	4100
2	1	2	27	8.7	94	3	3	3	<1100	420	--

ที่มา : BAM (2001)

Confirmed test สำหรับเชื้อ fecal coliforms และ *E. coli*

1. เตรียมหลอดทดลองโดยมีหลอดดักแก๊สวางคว่ำอยู่ภายใน จากนั้นเปิดอาหารเลี้ยงเชื้อ EC broth ลงในหลอดทดลองปริมาตรหลอดละ 9 mL ปิดฝา จึงคว่ำและหงายหลอดทดลองเพื่อไม่ให้มีฟองอากาศเหลืออยู่ภายในหลอดดักแก๊ส
2. ถ่ายเชื้อจากหลอดทดลองในขั้น presumptive test ที่ให้ผลเป็นบวกลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ EC broth ที่เตรียมจากข้อที่ 1 ผสมโดยใช้เครื่อง vortex mixer (ฟองอากาศต้องไม่เหลืออยู่ภายในหลอดดักแก๊ส) และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 48 ชั่วโมง
3. คัดเลือกหลอดที่เกิดแก๊สและบันทึกผล โดยหลอดที่เกิดแก๊สให้ผลเป็นบวกและหลอดที่ไม่เกิด แก๊สให้ผลเป็นลบ จากนั้นเปรียบเทียบผลการทดลองกับตารางที่ ค.1 โดยค่าที่ได้เป็น confirmed fecal coliforms แสดงผลเป็น MPN/mL ของตัวอย่าง

Completed test สำหรับเชื้อ *E. coli*

1. ใช้ loop ถ่ายเชื้อจากหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ EC broth ที่เกิดแก๊สจากข้อที่ 3 มา streak บน ผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ EMB agar และบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง หาก ตรวจพบโคโลนีของเชื้อที่มีลักษณะเป็นสีม่วงหรือดำ หรือมีลักษณะมันวาวคล้ายโลหะ (metallic sheen) ให้เลือกโคโลนีดังกล่าวมา streak บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA slant และบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง เพื่อนำไปทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีต่อไป
2. ใส่เชื้อใน PCA slant จากข้อที่ 1 ลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ tryptone broth และบ่มที่ อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง จากนั้นหยดสาร Kovac's reagent ปริมาตร 0.2-0.3 mL โดยหลอดที่เกิดวงแหวนสีแดงให้ผลเป็นบวก และหลอดที่ไม่เกิดให้ผลเป็นลบ จากนั้นเปรียบเทียบผลการทดลองกับตารางที่ ค.1 โดยค่าที่ได้เป็น confirmed *E. coli* แสดงผลเป็น MPN/mL ของตัวอย่าง

ภาคผนวก ง

การประเมินทางประสาทสัมผัส

แบบทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค

ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัด

เพศ () ชาย () หญิง อายุ..... วันที่

คำชี้แจง กรุณาทดสอบชิม “เครื่องดื่มพร้อมดื่มจากน้ำอินทผลัมสกัด” แล้วให้คะแนนความชอบในแต่ละคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์ตามความรู้สึกของผู้ทดสอบมากที่สุด ซึ่งวิธีการชิมแต่ละตัวอย่างให้้วนปากด้วยน้ำสะอาดทุกครั้งก่อนจะชิมตัวอย่างต่อไป กำหนดให้

- | | | | |
|---|-----------------|---|--------------|
| 1 | ไม่ชอบมากที่สุด | 6 | ชอบเล็กน้อย |
| 2 | ไม่ชอบมาก | 7 | ชอบปานกลาง |
| 3 | ไม่ชอบปานกลาง | 8 | ชอบมาก |
| 4 | ไม่ชอบเล็กน้อย | 9 | ชอบมากที่สุด |
| 5 | เฉยๆ | | |

คุณลักษณะ	รหัสตัวอย่าง					
1. สี						
2. กลิ่น						
3. รสหวาน						
4. รสเปรี้ยว						
5. กลิ่นรส						
6. ความชอบโดยรวม						

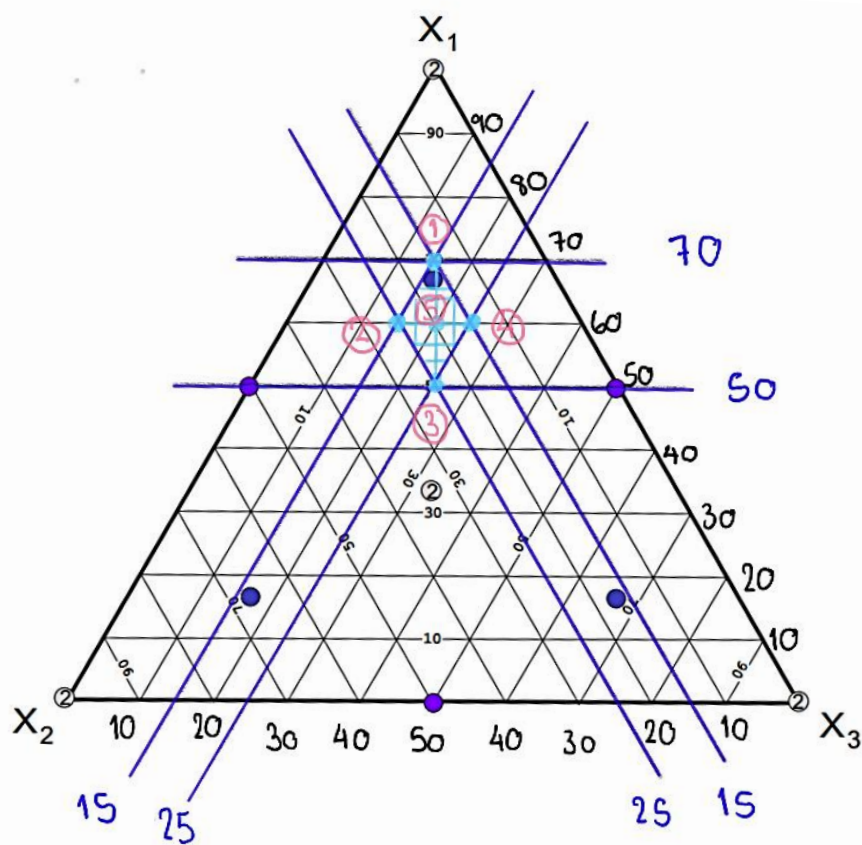
ข้อเสนอแนะ.....

.....

ภาคผนวก จ

แผนการทดลองแบบผสม (mixture design)

แปรสัดส่วนที่เหมาะสมของน้ำอินทผลัมสกัดความเข้มข้น 33.33% w/v น้ำมะตูมความเข้มข้น 10% w/v และน้ำพุทราความเข้มข้น 10% w/v ปัจจุบันในการศึกษา ได้แก่ น้ำอินทผลัมสกัด (X_1) 50-70% น้ำมะตูม (X_2) 15-25% และน้ำพุทรา (X_3) 15-25% v/v



ภาพที่ จ.1 ออกแบบการทดลองแบบผสม (mixture design)



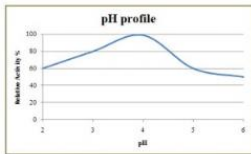
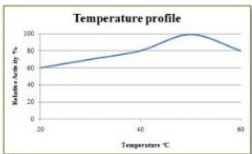


ตารางที่ จ.1 สัดส่วนของน้ำอินทผลัมสกัด น้ำมะตูม และน้ำพุทราสำหรับสูตรเครื่องดื่มต่าง ๆ

สูตรที่	น้ำอินทผลัมสกัด (X_1) (% v/v)	น้ำมะตูม (X_2) (% v/v)	น้ำพุทรา (X_3) (% v/v)
1	70	15	15
2	60	25	15
3	60	15	25
4	50	25	25
5	60	20	20
6 (ตัวอย่างควบคุม)	100	0	0



ภาคผนวก จ

Pectinase specification

iKnowZyme PN CONCENTRATED PECTINASE		iKnowZyme PN CONCENTRATED PECTINASE	
			
PRODUCT DESCRIPTION			
iKnowZyme® PN is obtained by deep fermentation of <i>Aspergillus Niger</i> . It can be widely used in manufacture of juice, vegetable juice and vine processing. It also be used in the process of feed, preservative for wood, etc.			
PROPERTIES			
Appearance	Liquid		
Color	Brown		
Solubility	Soluble in water		
HS Code	35079010		
EC Code	EC 3.2.1.15		
			
PRODUCT TYPE			
Series Type	Activity (IU/ml)	Recommended Dosage (of raw material)	
Liquid type	60,000	0.03 - 0.1 (%W/W)	
PN	Unit definition	Conditions	
	The amount of enzyme needed to hydrolyze 1 mg of galacturonic acid from 1 mg pectin in one hour at pH3.5, 50 °C by Standard:QB1502-92	Adjusting pH to 3.5 – 6.0 Temp: 40 – 60 °C Time : 30 – 100 minutes Note : The time depends on customers process	
BENEFITS			
<ul style="list-style-type: none"> ➢ Reduce viscosity and improve ultra-filtration rate ➢ Improve the performance juice, reduce juice expressed time. ➢ Enhance fruit flavor ➢ Increase fruit juice yield, reduce second sediment, and improve product quality 			
STORAGE CONDITION, SHELF LIFE AND PACKAGING			
30 kgs/drum, 1125 kgs/IBC			
Guarantee to retained 95% activity after a storage period of 9 months at room temperature (25 °C) (Avoid long-term storage above 30 °C or under direct sunlight)			
SAFETY AND PRECAUTION			
Enzyme preparations belong to protein, which may induce sensitization and cause allergic type reactions in sensitized individuals. Prolonged contact may cause minor irritation for skin, membrane of nose, so any direct contiguity with human body should be avoided. If irritation or allergic response for skin or eyes develops, consult a doctor.			
			
REACH BIOTECHNOLOGY CO., LTD. 229/14 ,Rat Phatthana Road, Rat Phatthana, Saphan Sung ,Bangkok, 10240 Thailand. +66 29173298-9, Fax +66 29173195, www.iknowzyme.com, E-mail: Anong.k@iknowzyme.com		REACH BIOTECHNOLOGY CO., LTD. 229/14 ,Rat Phatthana Road, Rat Phatthana, Saphan Sung ,Bangkok, 10240 Thailand. +66 29173298-9, Fax +66 29173195, www.iknowzyme.com, E-mail: Anong.k@iknowzyme.com	

ภาพที่ จ.1 รายละเอียดของเอนไซม์เพคตินเนสจากบริษัท Reach biotechnology Co., LTD.

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	พิชญา ตันติธีรบุญย์
วัน เดือน ปี เกิด	31 มีนาคม 2538
สถานที่เกิด	กรุงเทพมหานคร
วุฒิการศึกษา	สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต จากสาขาวิชาวิศวกรรมแปรรูปอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เมื่อปีการศึกษา 2559 และเข้าศึกษาในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2561
ที่อยู่ปัจจุบัน	41-43 ถนนตรีมิตร แขวงสัมพันธวงศ์ เขตสัมพันธวงศ์ จังหวัดกรุงเทพมหานคร 10100
ผลงานตีพิมพ์	Tuntiteeraboon, P., Jafari, S. and Assatarakul, K. (2021). Process optimization for pectinase-assisted extraction on quality of date palm juice. In Proceedings of the 23rd Food Innovation Asia Conference; 17-18 June 2021; Bangkok, Thailand. p. 109-116.