

ผลของไฮโดรคอลลอยด์ต่อเสถียรภาพของเบตาไซยานินจากเปลือกแก้วมังกร

โดย

น.ส.ชนัชฎา พุทธรักษา 6032510723

นาย ชยบดีณก์ ไพบูลย์ 6032511323

น.ส.พัทธมน วุฒินรากร 6032543423

อาจารย์ที่ปรึกษา

ผศ.ดร. ศิริมา พ่วงประพันธ์

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประจำปีการศึกษา 2563

Effect of hydrocolloids on the stability of betacyanins from dragon fruit
(*Hylocereus undatus*) peel

Chanadda Putharaksa

Chayaboldin Paiboon

Patthamon Wutthinarakorn

Project Adviser

Asst.Prof. Sirima Puangpraphant, Ph.D.

Report Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Bachelor of Science Program in Food Technology

Department of Food Technology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2020

หัวข้องานวิจัย ผลของไฮโดรคอลลอยด์ต่อเสถียรภาพของเบตาไซยานินจากเปลือกแก้วมังกร

โดย นางสาวชนัญญา พุทธิรักษา

นายชยบดีณก์ ไพบูลย์

นางสาวพัทธมน วุฒินรากร

สาขาวิชา เทคโนโลยีทางอาหาร

อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศิริมา พ่วงประพันธ์

ปีการศึกษา 2563

ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
อนุมัติให้รายงานฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร
ประจำปีการศึกษา 2563

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.ชนิษฐา ธานานวงศ์)

หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศิริมา พ่วงประพันธ์)

อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ

หัวข้องานวิจัย	ผลของไฮโดรคอลลอยด์ต่อเสถียรภาพของเบตาไซยานินจากเปลือกแก้วมังกร
โดย	นางสาวชนัญญา พุทธิรักษา นายชยบดีณก์ ไพบูลย์ นางสาวพัทธมน วุฒินรากร
สาขาวิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศิริมา พ่วงประพันธ์
ปีการศึกษา	2563

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเสถียรภาพของสารสกัดเบตาไซยานินจากเปลือกแก้วมังกรโดยการเติมสารไฮโดรคอลลอยด์ ทำการทดลองโดยสกัดสารเบตาไซยานินจากเปลือกแก้วมังกรด้วยเอทานอล:น้ำ ในอัตราส่วน 60:40 (v/v) จากนั้นนำไปทำแห้งด้วยการแช่เยือกแข็ง ผสมสารสกัดที่ได้ (0.4% w/v) ในสารละลายไฮโดรคอลลอยด์ ได้แก่ เพคติน และคาร์ราจีแนน ที่ความเข้มข้น 1.0, 1.5 และ 2.0% (w/v) และนำไปเก็บรักษาในที่มืด 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 7 สัปดาห์ โดยวัดค่าต่างๆ สัปดาห์ละ 1 ครั้ง ดังนี้ วัดปริมาณ Betacyanin Content (BC) ด้วยวิธีทางสเปกโทรโฟโตเมตรี คำนวณจลนพลศาสตร์ของการสลายตัวของเบตาไซยานิน (ค่าคงที่อัตราการลดลง (k) และค่าครึ่งชีวิต ($t_{1/2}$) ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด (TPC) และวิเคราะห์คุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay เปรียบเทียบกับสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรที่ไม่เติมสารไฮโดรคอลลอยด์เป็นตัวอย่างควบคุม หลังจากเก็บรักษาเป็นเวลา 7 สัปดาห์ พบว่าสารสกัดเบตาไซยานินจากเปลือกแก้วมังกรที่เติมเพคตินที่ความเข้มข้น 1.0, 1.5 และ 2.0% มีปริมาณ BC (1.36 ± 0.07 , 1.50 ± 0.12 และ 1.77 ± 0.24 mg/100ml) มากกว่าตัวอย่างควบคุม (1.13 ± 0.09 mg/100ml) และตัวอย่างที่เติมคาร์ราจีแนน (1.01 ± 0.15 , 0.53 ± 0.01 และ 1.08 ± 0.05 mg/100ml) อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) และค่า $t_{1/2}$ ในสารสกัดที่เติมเพคติน (17.64 ± 2.37 , 15.82 ± 2.12 และ 16.95 ± 3.39 วัน) มีค่าสูงกว่าสารสกัดที่เติมคาร์ราจีแนน (10.65 ± 4.64 , 3.86 ± 0.62 , 7.50 ± 0.96 วัน) อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) นอกจากนี้ค่า TPC (mM gallic acid/g dry sample extract) ของตัวอย่างที่เติมเพคติน (355.70 ± 12.31 , 407.13 ± 21.63 และ 451.78 ± 9.32) มีค่าสูงกว่าเมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุม (273.67 ± 2.98) และสารสกัดที่เติมคาร์ราจีแนน (175.08 ± 2.61 , 160.84 ± 30.96 และ 125.76 ± 10.07) อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) และคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างที่เติมเพคติน (93.99 ± 0.41 , 92.60 ± 0.52 , 92.01 ± 2.18) สูงกว่าเมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุม (69.65 ± 2.49) และสารสกัดที่เติมคาร์ราจีแนน (76.69 ± 0.21 , 78.96 ± 2.18 , 78.59 ± 1.87) อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) ดังนั้นจากผลการทดลองพบว่าสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรที่เติมเพคตินที่ความเข้มข้น 1% มีค่าครึ่งชีวิตที่สูงที่สุด และมีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด สามารถรักษาเสถียรภาพของสารเบตาไซยานินได้ดี

Project Title	Effect of hydrocolloids on the stability of betacyanins from dragon fruit (<i>Hylocereus undatus</i>) peel
Student	Chanadda Putharaksa Chayaboldin Paiboon Patthamon Wutthinarakorn
Study Program	Bachelor of Science in Food Technology
Advisor	Assistant Professor Sirima Puangpraphant, Ph.D.
Academic Year	2020

Abstract

The objective of this research was to investigate the effect of hydrocolloids on the stability of the dragon fruit peel extract. The betacyanins were extracted from the dragon fruit peels using the 60:40 (v/v) ethanol:water and then freeze-dried. The extract 0.4% (w/v) was then mixed into hydrocolloids solution (pectin and carrageenan) at 1.0%, 1.5% and 2.0% (w/v) respectively, and were stored in dark at 4°C for 7 weeks. Samples were collected once a week to analyze chemical properties such as the betacyanin content (BC), the kinetic analysis of the degradation of betacyanin ($t_{1/2}$, k), total phenolic content (TPC) and antioxidant property using the DPPH assay. All samples were compared to the control sample (the extract without hydrocolloids). After 7 weeks of storage, all the extract mixed with 1.0%, 1.5% and 2.0% (w/v) pectin had BC (1.36 ± 0.07 , 1.50 ± 0.12 , 1.77 ± 0.24 mg/100ml, respectively) significantly ($P \leq 0.05$) higher than control (1.13 ± 0.09 mg/100ml) and the extract mixed with 1.0%, 1.5% and 2.0% (w/v) carrageenan (1.01 ± 0.15 , 0.53 ± 0.01 , 1.08 ± 0.05 mg/100ml, respectively). Pectin mixed samples (1.0%, 1.5% and 2.0% (w/v)) were shown to have significantly ($P \leq 0.05$) longer $t_{1/2}$ (17.64 ± 2.37 , 15.82 ± 2.12 , 16.95 ± 3.39 day, respectively) than carrageenan mixed samples (10.65 ± 4.64 , 3.86 ± 0.62 , 7.50 ± 0.96 day, respectively). TPC of pectin mixed samples (355.70 ± 12.31 , 407.13 ± 21.63 , 451.78 ± 9.32 mM gallic acid/g dry sample extract) also shown to be significantly ($P \leq 0.05$) higher than carrageenan mixed samples (175.08 ± 2.61 , 160.84 ± 30.96 , 125.76 ± 10.07 mM gallic acid/g dry sample extract) and controls (273.67 ± 2.98 mM gallic acid/g dry sample extract). Pectin mixed samples shown to have significantly ($P \leq 0.05$) inhibit DPPH (%) (93.99 ± 0.41 , 92.60 ± 0.52 , 92.01 ± 2.18) higher than carrageenan mixed samples (76.69 ± 0.21 , 78.96 ± 2.18 , 78.59 ± 1.87) and controls (69.65 ± 2.49). The result shows that a 1.0% pectin mixed sample has the longest half-life, highest antioxidant property, and high betacyanins stability.

กิตติกรรมประกาศ

โครงการนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการเรียนการสอนตามหลักสูตรระดับปริญญาบัณฑิตของภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ซึ่งได้รับเงินทุนสนับสนุนจากงบประมาณของโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ ปีการศึกษา 2563 คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โครงการนี้เสร็จสมบูรณ์ได้ทางคณะวิจัยต้องขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.ศิริมา พ่วงประพันธ์ ผู้เป็นอาจารย์ที่ปรึกษาของโครงการที่ได้ให้คำปรึกษา คำแนะนำในการแก้ปัญหาต่างๆ ที่เกิดขึ้นระหว่างการทำการวิจัย รวมทั้งความรู้และแนวคิดที่ผู้วิจัยได้นำไปประยุกต์ใช้ในการศึกษาค้นคว้า ทดลอง จนทำให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ อ.ดร.ศานต์ เศรษฐชัยมงคล ผู้ประสานรายวิชา 2314499 ที่คอยให้ข้อมูลต่างๆ แนะนำแนวทางในการทำงานวิจัยรวมถึงเอกสารที่เกี่ยวข้อง ในการดำเนินการต่างๆ จนดำเนินการได้อย่างราบรื่นตลอดมา รวมถึงคณาจารย์ในภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารทุกท่านที่ได้ประสาทวิชาทั้งหลายก่อเป็นความรู้ความเข้าใจที่สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในงานวิจัยได้ทุกส่วน

ขอขอบพระคุณหัวหน้าห้องปฏิบัติการเคมีทางอาหาร ที่คอยอำนวยความสะดวกและให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ต่างๆ ในห้องปฏิบัติการ บุคลากรในภาควิชา รุ่นพี่ และเพื่อนนิสิต ตลอดจนทุกท่านที่คณะวิจัยไม่สามารถเอ่ยนามได้ครบถ้วน ขอขอบพระคุณที่คอยให้ความสะดวกทุกอย่างจนงานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สุดท้ายนี้ ทางคณะผู้วิจัยหวังว่างานวิจัยนี้ จะเป็นประโยชน์ต่อการศึกษาและการค้นคว้าวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการประยุกต์ใช้สารเบตาไซยานินต่อไปในอนาคต

นางสาวชนัญญา พุทธิรักษา

นายชยบดีณิก ไพบูลย์

นางสาวพัทธมน วุฒินรากร

สารบัญ

หน้า

บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	1
1.3 ขอบเขต/กรอบแนวคิดของการวิจัย	1
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับการวิจัย	1
บทที่ 2 แนวคิด ทฤษฎี และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 แก้วมังกร	2
2.2 เบตาเลน	3
2.3 ไฮโดรคอลลอยด์	6
2.4 ความสัมพันธ์ระหว่างคาร์ราจีแนนกับรงควัตถุในผักผลไม้	13
2.5 ความสัมพันธ์ระหว่างเพคตินกับรงควัตถุในผักผลไม้	13
บทที่ 3 วัสดุ อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย	
3.1 วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการดำเนินงานวิจัย	15
3.1.1 ตัวอย่าง	15
3.1.2 สารเคมี	15
3.1.3 อุปกรณ์และเครื่องมือ	15
3.2 วิธีการทดลอง	16
3.2.1 การสกัดเบตาไซยานินจากเปลือกแก้วมังกร	16
3.2.2 ศึกษาการเพิ่มความเสถียรของสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกร	16
3.2.3 การวิเคราะห์ทางเคมี	17
3.2.3.1 การหาปริมาณ Betacyanin Content (BC)	17
3.2.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content: TPC)	17
3.2.3.3 การวิเคราะห์คุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH radical scavenging Activity	17
3.2.3.4 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP	18
3.2.3.5 การวิเคราะห์จลนพลศาสตร์ของการสลายตัวของเบตาไซยานิน	19

บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล	
4.1 การทดสอบเวลาในการอบแห้งเปลือกแก้วมังกร	20
4.2 การสกัดเบตาไซยานินจากเปลือกแก้วมังกร	21
4.3 การวิเคราะห์ทางเคมีของสารเบตาไซยานินจากเปลือกแก้วมังกร	23
4.3.1 การวิเคราะห์ปริมาณ Betacyanin content	23
4.3.2 การวิเคราะห์เสถียรภาพของเบตาไซยานิน	26
4.3.3 การวิเคราะห์ปริมาณ Total phenolic content	28
4.3.4 การวิเคราะห์คุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity	30
4.4 การเปลี่ยนแปลงของสีของตัวอย่างระหว่างเก็บรักษา	32
บทที่ 5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ	34
เอกสารอ้างอิง	35
ภาคผนวก	
ภาคผนวก ก การวิเคราะห์ค่าทางเคมี	42
ภาคผนวก ข เอกสาร project proposal	47

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 แก้วมังกร	2
2 โครงสร้างทางเคมีของรงควัตถุให้สีในกลุ่มเบตาเลน และโมเลกุลที่เป็นองค์ประกอบ	4
3 Repeating units of carrageenan	9
4 กลไกการเกิดเจลของ Carrageenan	10
5 ชนิดและสมบัติของเพคติน	11
6 กลไกการเกิดเจลของเพคตินชนิด LM	12
7 กลไกการเกิดเจลของเพคตินชนิด HM	12
8 สารสกัดเบตาไซยานินเข้มข้นจากเปลือกแก้วมังกร หลังผ่านกระบวนการทำแห้งด้วยการแช่เยือกแข็ง	22
9 กราฟแสดง %betacyanin retention ของสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรในตัวอย่างควบคุม ในช่วงการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 สัปดาห์	24
10 กราฟแสดง %betacyanin retention ของสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรในสารละลายเพคตินที่ความเข้มข้นต่างกัน ในช่วงการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 สัปดาห์	24
11 กราฟแสดง %betacyanin retention ของสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรในสารละลายคาร์ราจีแนนที่ความเข้มข้นต่างกัน ในช่วงการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 สัปดาห์	25
12 กราฟแสดง Total phenolic content ของสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรเปรียบเทียบระหว่างตัวอย่างที่เติมเพคติน (P), ตัวอย่างที่เติมคาร์ราจีแนน (C) และตัวอย่างควบคุม (Control) ในช่วงการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 สัปดาห์	29
13 กราฟแสดง % Inhibition ของสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรเปรียบเทียบระหว่างตัวอย่างที่เติมเพคติน (P), ตัวอย่างที่เติมคาร์ราจีแนน (C) และตัวอย่างควบคุม (Control) ในช่วงการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 สัปดาห์	31
14 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln \left(\frac{C_t}{C_0} \right)$ กับระยะเวลาในการเก็บรักษาของของสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกร ในสารละลายเพคตินที่ความเข้มข้นต่างกัน ในช่วงการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 สัปดาห์	43
15 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln \left(\frac{C_t}{C_0} \right)$ กับระยะเวลาในการเก็บรักษาของของสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกร ในสารละลายคาร์ราจีแนนที่ความเข้มข้นต่างกัน ในช่วงการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 สัปดาห์	43

- 16 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln \left(\frac{C_t}{C_0} \right)$ กับระยะเวลาในการเก็บรักษาของของสารสกัด 44
จากเปลือกแก้วมังกร ในตัวอย่างควบคุม (Control) ในช่วงการเก็บรักษา
ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 สัปดาห์
- 17 แสดงกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก ที่ความยาวคลื่น 750 nm 45
- 18 แสดงกราฟมาตรฐานในการออกฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระของ FeSO_4 46

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า	
1	ตัวแปรในการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP	18
2	ปริมาณสารเบตาไซยานิน สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity และ FRAP ของสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรที่ผ่านการทำแห้งด้วยเครื่องอบลมร้อนที่เวลาแตกต่างกัน	20
3	ปริมาณร้อยละผลได้ของสารสกัด และความชื้นของสารสกัดเบตาไซยานิน	21
4	ค่าสีของสารสกัดแห้ง	22
5	แสดงปริมาณ Betacyanin content (mg/100ml) ของสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกร ในตัวอย่างควบคุม และตัวอย่างที่เติมสารไฮโดรคอลลอยด์ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน ที่การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 สัปดาห์	23
6	ค่าคงที่อัตราการลดลง (k) และ $t_{1/2}$ ของสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรในตัวอย่างควบคุม และตัวอย่างที่เติมสารไฮโดรคอลลอยด์ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน ที่การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 สัปดาห์	26
7	แสดงค่า total phenolic content (mM gallic acid / g dry sample extract) ของสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรในตัวอย่างควบคุม และตัวอย่างที่เติมสารไฮโดรคอลลอยด์ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน ที่การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 สัปดาห์	28
8	แสดง %inhibition ของสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรในตัวอย่างควบคุม และตัวอย่างที่เติมสารไฮโดรคอลลอยด์ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน ที่การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 สัปดาห์	30
9	ตัวอย่างสารสกัดเบตาไซยานินจากเปลือกแก้วมังกร ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 สัปดาห์	32

บทที่ 1 บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา

สีเป็นปัจจัยแรกที่มีผลต่อประสาทสัมผัสของผู้บริโภค ช่วยเพิ่มความดึงดูดใจในผลิตภัณฑ์อาหาร ทำให้มีการผสมสีลงไปในการอาหารต่างๆ โดยสีที่ใช้ผสมอาหาร แบ่งเป็น 2 ประเภทคือ สีธรรมชาติ และสีสังเคราะห์ แต่การรับประทานสีสังเคราะห์นั้นนอกจากจะไม่มีคุณค่าทางโภชนาการ ยังก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภคได้หากรับประทานในปริมาณมากเกินไป จึงทำให้ความต้องการใช้สีจากธรรมชาติมีมากขึ้น

แก้วมังกร เป็นผลผลิตทางการเกษตรที่มีการบริโภคอย่างแพร่หลายในประเทศไทย สามารถหาได้ง่ายตลอดปี และในปัจจุบันได้มีงานวิจัยเกี่ยวกับแก้วมังกรมากขึ้น พบว่าในเปลือกของแก้วมังกรอุดมไปด้วยสารเบตาไซยานินซึ่งเป็นสารสีแดง เหมาะแก่การนำมาทำเป็นสีผสมอาหาร ทั้งยังมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพสูง ช่วยชะลอความแก่และริ้วรอยต่างๆ รวมถึงชะลอการเสื่อมสภาพของเซลล์สมอง แต่เนื่องจากส่วนเปลือกของแก้วมังกรจัดเป็นของเสียทางการเกษตร ไม่ได้ถูกนำมาใช้ประโยชน์หลังจากบริโภค และเบตาไซยานินเป็นสารที่ไม่เสถียรต่อ ความร้อน กรด แสงและอนุมูลอิสระ อีกทั้งการศึกษาก่อนนำสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรมาประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารยังมีน้อย ดังนั้นวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ คือการเพิ่มเสถียรภาพของสารสกัดเบตาไซยานินจากเปลือกแก้วมังกร โดยใช้สารเพิ่มความคงตัวที่สามารถทำให้เกิดเจลได้ จากนั้นนำมาประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารประเภทเจล

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

- 1) เพื่อศึกษาการเพิ่มเสถียรภาพของเบตาไซยานินจากเปลือกแก้วมังกร ด้วยสารเพิ่มความคงตัวชนิดขึ้นเจลได้ (สารไฮโดรคอลลอยด์)

1.3 ขอบเขต/กรอบแนวคิดของวิจัย

ศึกษาการเพิ่มเสถียรภาพของสารเบตาไซยานินในสารไฮโดรคอลลอยด์ คือ คาร์ราจีแนน และเพคติน ในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 สัปดาห์

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับการวิจัย

- 1) เพิ่มความเสถียรของเบตาไซยานิน และคงความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระไว้ได้
- 2) สามารถนำมาใช้เป็นสารแต่งสีจากธรรมชาติ ลดการใช้สารแต่งสีสังเคราะห์ที่อาจก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค
- 3) เพิ่มคุณค่าทางอาหารและเพิ่มมูลค่าให้แก่ผลิตภัณฑ์
- 4) นำวัสดุเหลือทางการเกษตรทิ้งมาใช้ประโยชน์ได้อย่างสูงสุด

บทที่ 2 แนวคิด ทฤษฎี และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 แก้วมังกร

แก้วมังกร เป็นผลของต้นไม้ที่มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Hylocereus undatus* (Haw.) (เนื้อสีขาวเปลือกสีแดงอมชมพู) หรือ *H. polyrhizus* (Weber) Britt. & Rose (เนื้อสีแดงเข้มอมม่วง และเปลือกสีแดงอมชมพู) ซึ่งเป็นพืชในวงศ์กระบองเพชร (CACTACEAE) มีถิ่นกำเนิดทางตอนใต้ของประเทศเม็กซิโกและประเทศใกล้เคียง และในประเทศไทยมีการปลูกมาตั้งแต่ พ.ศ. 2540 ซึ่งในระยะแรกผลที่ได้มีรสชาติไม่ค่อยอร่อย แต่ในเวลาต่อมาก็ได้มีการพัฒนาและปรับปรุงสายพันธุ์เพื่อให้มีรสชาติที่ดียิ่งขึ้น ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของแก้วมังกรคือมีลำต้นเป็นปล้องสามเหลี่ยมแยกเป็น 3 แฉก มีลักษณะอวบน้ำ สีเขียวเข้มปนเทา ซึ่งเป็นส่วนของใบที่เปลี่ยนรูปร่างไป ส่วนลำต้นที่แท้จริงอยู่ในตำแหน่งที่เป็นศูนย์กลางของแฉกทั้ง 3 ที่ลำต้นด้านนอกมีหนามเป็นกลุ่มๆ มีรากทั้งในดินและรากอากาศ ดอกของแก้วมังกรเป็นดอกเดี่ยวขนาดใหญ่ มีเกสรเพศผู้จำนวนมาก มีก้านเกสรเพศเมีย 1 อัน ส่วนของกลีบดอกจะอยู่ด้านบนของรังไข่ เมื่อบานมีลักษณะคล้ายปากแตร โดยจะบานในช่วงหัวค่ำจนถึงเช้า มีกลิ่นหอมอ่อนๆ ผลแก้วมังกรเป็นทรงกลม มีเนื้อหลายเมล็ด (berry) ที่ผลมีกลีบ ภายในผลเมื่อผ่าออกจะมีเนื้อสีขาวขุ่น ชมพู แดง หรือแดงอมม่วง (แล้วแต่ชนิด) เมล็ดมีขนาดเล็กสีดำ ลักษณะคล้ายเมล็ดงา (กฤติยา ไชยนอก, 2559) ดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 แก้วมังกร ที่มา: <https://www.idskinexpert.com/knowledge/แก้วมังกรกินแล้วสวย/>

2.1.1 ประโยชน์ของแก้วมังกร

สารสำคัญที่พบในแก้วมังกร คือ สารในกลุ่มเบตาเลน โดยจะพบทั้งในส่วนเปลือก และในเนื้อผลที่มีสีแดงหรือแดง-ม่วง ในทางอุตสาหกรรมนิยมนำสารกลุ่มดังกล่าวมาทำเป็นสีผสมอาหารเพราะมีความปลอดภัยสูง แก้วมังกรเป็นผลไม้ที่ให้พลังงานต่ำ (ประมาณ 50 - 60 กิโลแคลอรี/100 กรัม) น้ำตาลที่พบส่วนใหญ่เป็นน้ำตาลกลูโคส ฟรุคโตส และซูโครส ในเนื้อของแก้วมังกรมีวิตามินซี ไอโอดีน และโพแทสเซียมสูง โดยวิตามินซีมีส่วนช่วยในการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน ไอโอดีนช่วยให้รู้สึกอิ่มนาน และทำให้การขับถ่ายดีขึ้น จึงน่าจะ

เหมาะกับผู้ที่ต้องการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดหรือควบคุมน้ำหนัก แต่อาจต้องระมัดระวังในผู้ที่มีปัญหาเกี่ยวกับหัวใจหรือผู้ที่ต้องควบคุมระดับโพแทสเซียมในเลือด เนื่องจากผลไม้ชนิดนี้มีโพแทสเซียมสูง นอกจากนี้ยังพบสารในกลุ่มโพลีฟีนอลชนิดหนึ่งที่มีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติก กระตุ้นการเจริญเติบโตของโพรไบโอติกในลำไส้ ช่วยในเรื่องการขับถ่าย และในเมล็ดของแก้วมังกรยังอุดมไปด้วยกรดไขมันจำเป็นซึ่งมีประโยชน์ต่อร่างกาย การรับประทานผลแก้วมังกรที่มีเนื้อสีแดงเข้มหรือสีแดงเข้มอมม่วง อาจทำให้อุจจาระหรือปัสสาวะมีสีแดงคล้ายกับมีเลือดปนออกมา หรือที่เรียกว่าภาวะสีเลือดเทียมในปัสสาวะ (pseudohematuria) เนื่องจากในเนื้อของแก้วมังกรมีสารกลุ่มเบตาเลนที่มีสีแดง จึงทำให้อุจจาระหรือปัสสาวะมีสีแดง แต่สารดังกล่าวไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพ (กฤติยา ไชยนอก, 2559)

2.1.2 สมบัติทางเภสัชวิทยา

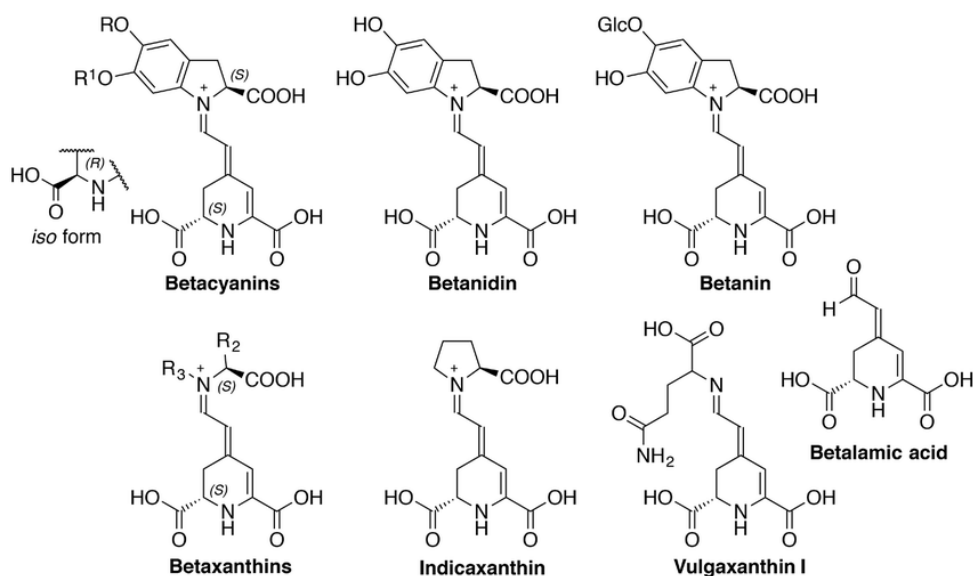
มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในหลอดทดลอง และสัตว์ทดลอง พบว่าแก้วมังกรมีฤทธิ์ต้านจุลชีพก่อโรคหลายชนิด มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ต้านเซลล์มะเร็ง ต้านการอักเสบ ลดไขมันในเลือด ต้านภาวะเบาหวาน ลดภาวะดื้อต่ออินซูลิน และช่วยปกป้องตับจากสารพิษ สำหรับการศึกษาทางคลินิกยังมีค่อนข้างน้อย ซึ่งพบว่าการบริโภคแก้วมังกรจะทำให้ระดับน้ำตาล และไขมันในเลือดลดลง ในส่วนของการศึกษาความเป็นพิษพบว่าเนื้อผลของแก้วมังกร รวมทั้งสารสำคัญอย่างเบตาเลนมีความปลอดภัยสูง และถึงแม้จะไม่มีรายงานความเป็นพิษจากการรับประทานแก้วมังกร แต่ควรระมัดระวังการบริโภคในผู้ที่มีประวัติการแพ้พืชในตระกูลกระบองเพชรและกิมู เพราะอาจทำให้เกิดการแพ้ได้ (กฤติยา ไชยนอก, 2559)

2.2 เบตาเลน (Betalains)

เบตาเลนเป็นกลุ่มของรงควัตถุที่ให้สีแดงและเหลือง ละลายน้ำได้ดี พบเป็นครั้งแรกในบีทรูท (*Beta vulgaris* sp.) ปัจจุบันพบในพืชชนิดอื่น ๆ ในอันดับ Caryophyllales (ชื่อเดิม Centrospermea) จำนวน 13 สกุล เช่น *Aizoaceae*, *Basellaceae*, *Cactaceae*, *Amaranthaceae* และ *Phytolaccaceae* ทั้งในส่วนผล เช่น แก้วมังกร, ผลผักปลังสุก และผลแคคตัส ในดอกไม้ เช่น เฟื่องฟ้า, หงอนไก่, บานไม่รู้โรย, และดอกแคคตัส และในผัก เช่น ผักโขมแดง และเห็ดในสกุลอะมานิต้า (*Amanita*) เป็นต้น (Strack et al., 2003; Stintzing and Carle, 2004) รงควัตถุประเภทนี้ได้รับความสนใจจากนักวิจัยมาเป็นเวลานาน มีการใช้เป็นสารให้สีในอุตสาหกรรมอาหาร และเครื่องสำอางหลายชนิด นอกจากนี้เบตาเลนยังเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพช่วยต้านอนุมูลอิสระ ต้านไวรัส และแบคทีเรีย (Strack et al., 2003; Azeredo, 2009) ในงานวิจัยของ (Cai et al., 2003) ได้รายงานประสิทธิภาพของเบตาเลนในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ดีกว่าสารคาเทชิน (catechin) และวิตามินซี และจากการที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระทำให้มีความสามารถยับยั้งการแบ่งเซลล์ของเนื้องอกหลายชนิด

2.2.1 ประเภทของเบตาเลน

เบตาเลนมักพบในรูปของเกลือที่มีประจุบวก และลบในโมเลกุลเดียวกัน (zwitterions) อยู่ภายในแควคิวโอลของเซลล์พืช (Stintzing and Carle, 2004) มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นอนุพันธ์อิมโมเนียมของกรดเบตาลามิก (betalamic acid) ดังภาพที่ 2 แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม (Strack et al., 2003) เบตาเลนกลุ่มแรก คือ เบตาไซยานิน (betacyanin) ที่ให้สีแดงถึงม่วง ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 535-540 nm มี 4 ชนิดที่พบบ่อย ได้แก่ เบตานิน (betanin-type), บูเจนวิลลีน (bougainvillein-type), กอมพรีนิน (gomphrenin type) และอะมารานทิน (amaranthin-type) ส่วนเบตาเลนกลุ่มที่ 2 คือ เบตาแซนทิน (betaxanthin) ที่ให้สีเหลืองส้ม ดูดกลืนแสงช่วงความยาวคลื่น 475-480 nm ในธรรมชาติเท่าที่มีรายงาน พบเบตาเลนที่เป็นเบตาไซยานินประมาณ 50 ชนิด และเป็นเบตาแซนทินประมาณ 20 ชนิด (Cai et al., 2005) โดยเบตาเลนทั้งสีแดง และสีเหลืองมักเกิดขึ้นอยู่ร่วมกันเหมือนที่พบแอนโทไซยานินอยู่ร่วมกับฟลาโวนอยด์ เช่น ในบีทรูทแดงพบเบตาไซยานิน และเบตาแซนทิน 0.04 - 0.216% และ 0.02 - 0.14% ตามลำดับ แตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ (Nilsson, 1970)



ภาพที่ 2 โครงสร้างทางเคมีของรงควัตถุให้สีในกลุ่มเบตาเลน และโมเลกุลที่เป็นองค์ประกอบ
ที่มา: Quina and Bastos (2017)

2.2.2 เบตาไซยานิน

เบตาไซยานินมีโครงสร้างพื้นฐานประกอบด้วยกรดเบตาลามิกเชื่อมต่อกับ cyclo-3,4-dihydroxyphenyl alanine (Cyclo-Dopa) ถ้าไม่มีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบ เรียกว่า อะไกลโคโคน (aglycone) ซึ่งมักอยู่ในรูปของเบตานิดิน (betanidin) และไอโซเบตานิดิน (isobetanidin) เมื่อหมู่ไฮดรอกซิลในตำแหน่งที่ 5 หรือ 6 ของเบตานิดินถูกแทนที่ด้วยน้ำตาล (glycosylation) ที่แตกต่างกัน ได้เบตาไซยานินชนิดต่าง ๆ เช่น ถ้าน้ำตาลที่เกาะในตำแหน่งที่ 5 เป็นน้ำตาลกลูโคส ได้เบตานิน (betanidin-5-O-glycoside) และไอ

โซเบทานิน (isobetanidin-5-O-B glycoside) ซึ่งพบมากในบัตูท (Stintzing and Carte, 2004) แต่ถ้าน้ำตาลกลูโคสเกาะในตำแหน่งที่ 6 ได้กอมพรีนิน (betanidin-6-O-B-glucoside) ซึ่งพบมากในดอกบานไม่รู้โรย และถ้าน้ำตาลที่เกาะในตำแหน่งที่ 5 เป็น 2-กลูโคโรนิกแอซิด-กลูโคส ได้อะมารานทีน ที่พบในผักโขม เป็นต้น เบตาไซยานินยังอาจมีกรดเป็นองค์ประกอบ โดยเกิดเอซิวเลชันกับหมู่น้ำตาล เช่น celosianin I (4-coumaroyl amaranthin) ที่พบใน *Chenopodium rubrum* และ *Lampranthus Sociorum* และ phyllocactin (6-O malonyl-betanin) ที่พบในแคคตัส (Strack et al., 2003) และผลของการเกิดไกลโคซิเลชัน ทำให้เกิดค่าความยาวคลื่นที่มีการดูดกลืนแสงสูงสุด (maximum absorption wavelength: λ_{max}) ลดต่ำลงประมาณ 6 นาโนเมตร ส่วนการเกิดเอซิวเลชันด้วยกรดไฮดรอกซีซินนามิก (hydroxycinnamic acids) เช่น กรดเฟอร์ริก (ferulic acid) และกรดพาราคูมาริก (para-coumaric acid) ทำให้พบค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดเพิ่มขึ้นอีก 1 ค่าในช่วง 300-330 นาโนเมตร (Stintzing and Carle, 2004) นอกเหนือจากที่พบในช่วงความยาวคลื่น 270-280 นาโนเมตร และ 535-538 นาโนเมตร (Azedo, 2009) แต่ถ้าวเกิดเอซิวเลชันด้วยกรดอะลิฟาติก เช่น กรดมาโลนิก (malonic acid) และกรด 3-ไฮดรอกซี-3-เมทิลกลูตาริก (3-hydroxy-3 methylglutaric acid) ซึ่งไม่มีผลต่อค่าสเปกตรัม

2.2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อเสถียรภาพของเบตาไซยานิน

มีงานวิจัยพบว่าปัจจัยที่มีผลต่อเสถียรภาพของเบตาไซยานิน เช่น pH อุณหภูมิ และแสง ส่งผลต่อการลดลงของเบตาเลน ในสารสกัดสีจากแก้วมังกรเนื้อแดงในระหว่างการเก็บรักษา (Woo et al., 2011)

pH

จากการติดตามผลของ pH ต่อเสถียรภาพของสีของเบตาไซยานินในช่วง 2-6 พบว่าตัวอย่างจากเปลือกแก้วมังกรมีค่าสีสูงกว่าตัวอย่างอื่นๆที่ pH เดียวกัน โดยช่วงค่า pH ที่เหมาะสมต่อเสถียรภาพของสีของเบตาไซยานิน คือ 4-6 (Kunnika and Pranee, 2011) ซึ่งอยู่ในช่วง pH เดียวกันกับงานวิจัยเสถียรภาพของสีของเบตาไซยานินจากแก้วมังกรที่ปลูกในประเทศอิสราเอล (pH 4.5-5.5) (Pedreno and Escribano, 2001) และจากไต้หวัน (pH 5) (Wu et al., 2006)

อุณหภูมิ

จากการติดตามผลของอุณหภูมิต่อเสถียรภาพของสีของเบตาไซยานิน พบว่าการเพิ่มของอุณหภูมิจะเร่งให้โครงสร้างหลักของเบตาไซยานินเปลี่ยนเป็นกรดเบตาลามิก และไซโคลโดปา-5-โอไกลโคไซด์ ซึ่งไม่เสถียร (Herbach et al., 2004) โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อเสถียรภาพของสีของเบตาไซยานินอยู่ที่ไม่สูงกว่า 25 องศาเซลเซียส (Kunnika and Pranee, 2011) และพบว่าสีของเบตาไซยานินที่ 4 องศาเซลเซียสจะลดการลดลงได้ดีกว่าที่ 25 องศาเซลเซียส (Woo et al., 2011)

แสง

จากการศึกษาแสงเป็นปัจจัยหลักของการลดลงของสีของเบตาไซยานิน โดยพบว่าแสงทำให้สีลดลงไปมากกว่า 50% หลังจากเก็บรักษาเป็นเวลา 1 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิห้อง (Woo et al., 2011) นอกจากนี้หากเก็บ

รักษาในที่มีด อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ปริมาณเบตาไซยานินจากเนื้อ และเปลือกแก้วมังกรที่เหลืออยู่จะมีปริมาณคงเหลือมากที่สุด (Hui et al., 2018)

ดังนั้นจึงมีงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับการเพิ่มความเสถียรของเบตาไซยานิน เช่น การเติมกรด แอสคอร์บิกช่วยเพิ่มเสถียรภาพ และยับยั้งผลเสียอันเนื่องมาจาก pH อุณหภูมิ และโลหะหนักได้ (Tang and Norziah, 2007) การห่อหุ้มสารเบตาเลนด้วยแคลเซียมอัลจินेट สามารถรักษาปริมาณของเบตาไซยานิน และสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดไว้ได้ประมาณ 15-60% ขึ้นอยู่กับโครงสร้าง รวมถึงการคงความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Aguirre Calvo et al., 2018) การห่อหุ้มสารเบตาเลนด้วยแซนแทนกัมร่วมกับมอลโทเดกซ์ทริน สามารถรักษาปริมาณของเบตาเลนได้ถึง 65% (Ravichandran et al., 2012) จากงานวิจัยที่กล่าวมาข้างต้นมีการใช้สารไฮโดรคอลลอยด์เพื่อเพิ่มความเสถียรของสารเบตาไซยานิน และเบตาเลน ดังนั้นผู้จัดทำจึงมีความประสงค์ที่จะศึกษาการเพิ่มความเสถียรภาพของเบตาไซยานินด้วยสารเพิ่มความคงตัว (สารไฮโดรคอลลอยด์) ประเภทอื่นที่ขึ้นเจลได้ เช่น คาร์ราจีแนน และเพคติน

2.3 ไฮโดรคอลลอยด์

ไฮโดรคอลลอยด์ (Hydrocolloids) คือ โพลีเมอร์ชนิดชอบน้ำ (hydrophilic) ที่ได้จากพืช สัตว์ จุลินทรีย์ รวมถึงโพลีเมอร์ดัดแปรจากธรรมชาติหรือสังเคราะห์ โดยทั่วไปจะเป็นโมเลกุลที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) และอาจจะเป็น polyelectrolyte อื่นๆ โพลีเมอร์เหล่านี้จะแสดงหน้าที่ที่สำคัญในอาหาร เช่น เป็นสารให้ความหนืด ทำให้เกิดเจล เป็นอิมัลซิไฟเออร์ (emulsifier) และเป็นสารที่ทำให้เกิดความคงตัว เป็นต้น (Phillips and Williams, 2000)

ชนิดของไฮโดรคอลลอยด์สามารถแบ่งได้เป็น 3 กลุ่มตามแหล่งที่มา ได้แก่

- 1) ไฮโดรคอลลอยด์ที่ได้มาจากธรรมชาติ (natural hydrocolloids) ซึ่งได้จากส่วนต่างๆของพืช ได้แก่ เมล็ด ยาง เช่น โลคัสปิ่นกัม (locust bean gum) กัมอาราบิก (gum arabic) ราก ลำต้น เช่น แป้ง หรือได้จากสาหร่ายทะเล เช่น คาร์ราจีแนน (carrageenan) หรือได้จากสัตว์ เช่น ไคติน (chitin) หรือจากกระบวนการหมักโดยเชื้อจุลินทรีย์ เช่น แซนแทนกัม (xanthan gum)
- 2) ไฮโดรคอลลอยด์ที่ดัดแปรจากสารที่ได้จากธรรมชาติ (modified natural hydrocolloids) ได้แก่ อนุพันธ์ของเซลลูโลส เช่น คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (carboxymethyl cellulose: CMC)
- 3) ไฮโดรคอลลอยด์สังเคราะห์ (synthetic hydrocolloids) ได้แก่ โพลีเอทิลีนออกไซด์โพลีเมอร์ (polyethylene oxide polymers)

ส่วนใหญ่ไฮโดรคอลลอยด์ที่นำไปใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหารเป็นไฮโดรคอลลอยด์จากธรรมชาติและดัดแปรจากธรรมชาติ ไฮโดรคอลลอยด์แต่ละชนิดจะมีสมบัติแตกต่างกันเมื่อนำมาใช้จะสามารถทำหน้าที่ได้หลายอย่าง เช่น เป็นสารเพิ่มความคงตัว (stabilizer) สารเพิ่มความหนืด (thickener) สารที่ทำให้เกิดเจล (gelling agent)

ปัจจัยที่ควรพิจารณาในการเลือกใช้ไฮโดรคอลลอยด์

- 1) ลักษณะเนื้อ (body) ที่ต้องการ: ค่าความหนืด (viscosity), คุณสมบัติทางวิทยากระแส (rheology)
- 2) ลักษณะความรู้สึกเมื่อมีอาหารอยู่ในปาก (mouthfeel)
- 3) ลักษณะเนื้อสัมผัส (texture) ของเจลที่ต้องการ: ความแข็งของเจล
- 4) ลักษณะปรากฏที่ต้องการ (appearance): ชุ่น,ใส
- 5) ความคงตัว (stability) ต่อกระบวนการผลิต: ความเค้นเฉือน
- 6) ความคงตัวในการเก็บรักษา: ซินเนอริซิส (syneresis), การแช่แข็ง/การละลาย

ไฮโดรคอลลอยด์ที่มีลักษณะโครงสร้างที่ต่างกันจะมีสมบัติที่แตกต่างกันดังนี้

โครงสร้างโพลิเมอร์แบบเชิงเส้น (linear): เมื่อละลายน้ำหรือกระจายตัวจะให้ความหนืดสูง เกิดเจลและคืนตัว (retrogradation) ได้ง่าย เช่น อะการ์ (agar), อัลจิเนต (alginate), เซลลูโลส (cellulose) และ เพคติน (pectin) เป็นต้น

โครงสร้างโพลิเมอร์แบบเชิงเส้นที่มีสายกิ่งก้าน (linear with side chains): ให้ความหนืดสูง ปกติไม่เกิดเจล แต่จะเกิดเจลได้เมื่ออยู่ร่วมกับสารประกอบอื่นในสภาวะที่เหมาะสม เช่น กัวร์กัม (guar gum) และ โลคัสบีนกัม (locust bean gum)

โครงสร้างโพลิเมอร์แบบมีกิ่งก้าน (branched chains): ให้ความหนืดต่ำและคงตัวดี ไม่เกิดเจล มีความเหนียว เช่น กัมอาราบิก (gum arabic)

ไฮโดรคอลลอยด์ธรรมชาติ (Natural hydrocolloids)

ไฮโดรคอลลอยด์ที่ได้จากธรรมชาติ แบ่งออกเป็นกลุ่มๆตามแหล่งที่มา ดังนี้

- 1) Seaweed extracts

เป็นกลุ่มของไฮโดรคอลลอยด์ที่สกัดได้จากสาหร่ายทะเล ได้แก่ สาหร่ายสีแดง เช่น คาร์ราจีแนน (carrageenan) อะการ์ (agar) และเฟอเซลลารัน (fucellaran) สาหร่ายสีน้ำตาล ได้แก่ อัลจิเนต (Alginate)

- 2) Plant extract

สารสกัดที่ได้จากพืชและเป็นไฮโดรคอลลอยด์ที่สำคัญคือ เพคติน (pectin) สกัดได้จากผลไม้ตระกูลส้ม และเพคตินยังพบเป็นส่วนประกอบในเนื้อผลไม้บางชนิด เช่น แอปเปิ้ล ฝรั่ง เป็นต้น

- 3) Plant seed gums

เป็นกลุ่มของกาแลคโตแมนแนนกัม (galactomannan gums) ที่สกัดได้จากเมล็ดของพืช Ceratonia และ Cyamopsis เช่น โลคัสบีนกัม (Locust bean gum) และกัวร์กัม (Guar gum) ตามลำดับ

4) Plant exuded gums

เป็นกลุ่มของกัมที่ได้จากยางต้นไม้มีลักษณะเป็น dried resins ซึ่งจะไหลออกมาเมื่อต้นไม้มีบาดแผล กัมในกลุ่มนี้ได้แก่ กัมอาราบิก (Gum arabic), กัมกัตติ (Gum ghatti), กัมคารายา (Gum karaya) และกัมทรากาแคนต์ (Gum tragacanth)

5) Animal-derived

6) Microbial gums

2.3.1 คาร์ราจีแนน (carrageenan)

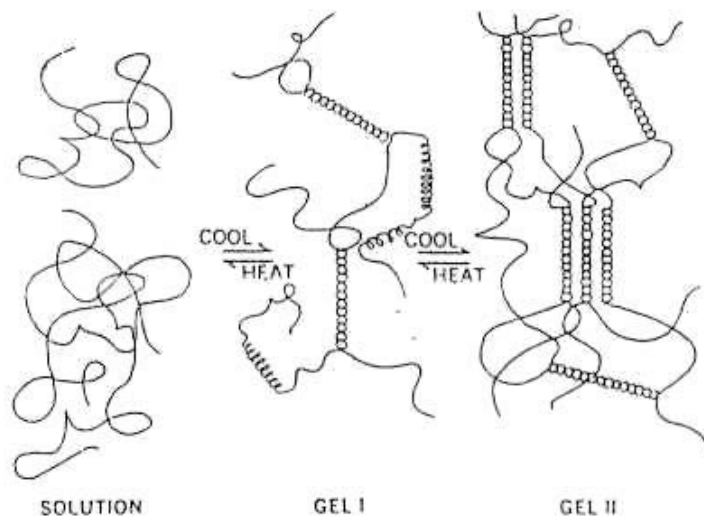
เป็นสารที่สกัดได้จากสาหร่ายทะเลสีแดง (Rhodophyceae) ซึ่งชนิดที่ใช้ผลิตเป็นทางการค้า ได้แก่ *Euchema cottonii* และ *E. spinosum* มีโครงสร้างหลักเป็น กาแลคโตสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก (glycosidic linkage) และเป็นซัลเฟตโพลีแซคคาไรด์ (sulphated polysaccharides) ซึ่งคาร์ราจีแนนทั้ง 3 ชนิดนี้ ประกอบด้วยโครงสร้างของโพลีแซคคาไรด์หลักที่ซ้ำๆ กันหลายหน่วย

แคปปา คาร์ราจีแนน ประกอบด้วย 1,3-linked galactoside มีกลุ่มซัลเฟตที่ตำแหน่งที่ 4 และ 1,4-linked 3,6 anhydro-D-galactose (3,6 AG) โดยมีสารตั้งต้นเป็น μ -carrageenan ถ้ามีปริมาณ anhydride จากการปิดวงเป็น 3,6 anhydride มากถึง 28-35% จะมีผลทำให้ไวต่อโปแตสเซียมและมีความสามารถในการเกิดเจล ถึงแม้จะมีการดัดแปรให้มี 3,6-AG สูงที่สุด แต่อาจจะมีความแตกต่างกันที่จำนวนของซัลเฟตที่ตำแหน่งที่ 4 ใน 1,3-linked galactoside และกลุ่มซัลเฟตที่ตำแหน่งที่ 2 หรือ 6 ใน 1,4-linked galactoside จะทำให้คาร์ราจีแนนชนิดแคปปามีคุณสมบัติแตกต่างกันไป

ไอออตา คาร์ราจีแนน ประกอบด้วย 1,3-linked galactose มีกลุ่มซัลเฟตที่ตำแหน่งที่ 4 และ 1,4-linked 3,6-AG มีกลุ่มซัลเฟตที่ตำแหน่งที่ 2 มีสารตั้งต้นเป็น ν -carrageenan ความแตกต่างระหว่าง anhydride ในคาร์ราจีแนนชนิดแคปปาและไอออตา คือ จำนวนกลุ่มซัลเฟตที่ตำแหน่งที่ 2 ใน 1,4-linked galactoside ของไอออตาจะมีมากกว่าแคปปาประมาณ 25-50% ความไวต่อโปแตสเซียมลดลง ซึ่งจะมีผลทำให้ได้เจลที่อ่อนนุ่ม แต่ถ้ามีซัลเฟตที่ตำแหน่งที่ 2 มากถึง 80% จะไวต่อแคลเซียม

แลมดา คาร์ราจีแนน ประกอบด้วย 1,3-linked galactose ซึ่งมีกลุ่มซัลเฟตที่ตำแหน่งที่ 2 ประมาณ 70% และ 1,4-linked galactose มีกลุ่มซัลเฟตที่ตำแหน่งที่ 6 ซึ่งคาร์ราจีแนน ชนิดนี้จะไม่เกิดการปิดวงเป็น 3,6AG จึงมีผลทำให้ไม่มีคุณสมบัติในการเกิดเจล

ประโยชน์ในผลิตภัณฑ์อาหารหลายชนิด เช่น เจลขนมหวาน, วิปทอปปีง (whipped topping) และผลิตภัณฑ์นมเหลว (fluid milk products)



ภาพที่ 4 กลไกการเกิดเจลของ Carrageenan ที่มา: Rees (1969)

คาร์ราจีแนนส่วนใหญ่จะคงตัวที่ pH เป็นกลางถึงเป็นด่าง ในขณะที่ถ้า pH ต่ำจะเกิดการ ไฮโดรไลซิส ของพันธะไกลโคซิดิก มีผลทำให้สูญเสียความหนืดและการเกิดเจล นอกจากนี้ความร้อนยังเป็นตัวเร่งการเกิด ไฮโดรไลซ์มากขึ้นที่ pH ต่ำ คาร์ราจีแนนสามารถนำมาใช้ร่วมกับวัตถุดิบอื่นๆได้ เช่น แป้ง น้ำตาล กัม เนื่องจากคาร์ราจีแนนมีประจุลบซึ่งจะเข้ากันได้กับสารประจุลบอื่นๆ รวมทั้งกับสารที่ไม่มีประจุ อย่างไรก็ตาม คาร์ราจีแนนจะไม่สามารถเข้ากันได้กับสารประจุบวก เช่น ปฏิกิริยากับเจลาติน และโปรตีนอื่นๆ

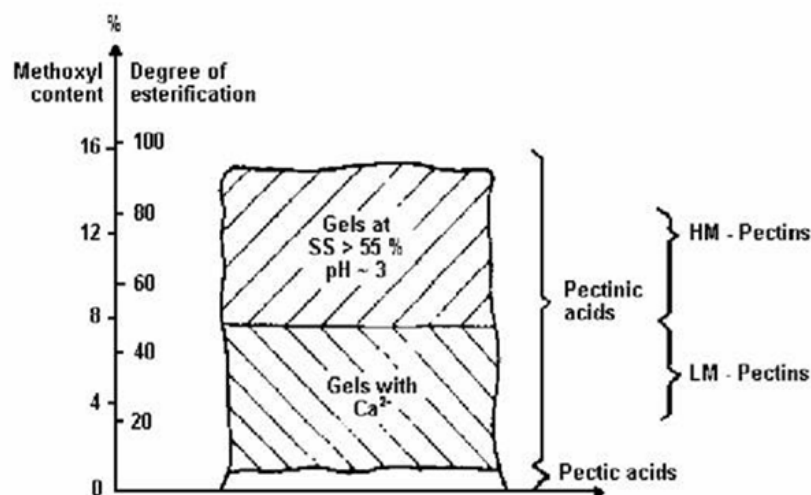
ในการนำคาร์ราจีแนนไปใช้ในอุตสาหกรรมต้องคำนึงถึง Ionic content ของผลิตภัณฑ์นั้นๆด้วย เช่น ใช้คาร์ราจีแนนผสมลงในอาหารที่มีโปรตีน หมูซัลเฟตโมเลกุลของคาร์ราจีแนน จะทำปฏิกิริยากับหมูที่มี ประจุใน

โมเลกุลของโปรตีนได้ ได้แก่ การนำคาร์ราจีแนนไปใช้ประโยชน์ในผลิตภัณฑ์นม เช่น การเติมแคลเซียมในนม, นมช็อคโกแลต, มูสส์, พุดดิ้ง และไอศกรีม ซึ่งจะเติมคาร์ราจีแนนลงในส่วนผสมของไอศกรีมเพื่อเป็นสารเพิ่มความคงตัว ช่วยให้ส่วนผสมของไอศกรีมผสมเป็นเนื้อเดียวกันได้ง่าย และไม่มีส่วนที่เป็นของเหลวแยกตัว ออกมา (whey off) ระหว่างการเก็บรักษา ปริมาณคาร์ราจีแนนที่ใช้ประมาณ 0.01-0.02 % ของส่วนผสม ทั้งหมด นอกจากนี้ยังนำไปใช้ใน Water-based food systems เช่น ผลไม้ในเจล, เครื่องดื่มผลไม้, ใส้พาย และซูริมิ เป็นต้น

2.3.2 เพคติน (Pecti

ได้จากการ breakdown ของโปรโตเพคติน ที่มีอยู่ในเนื้อเยื่อพืช จะประกอบไปด้วย neutral sugars หลายชนิด เช่น แรมโนส, กาแลคโตส, อาราบิโนส และน้ำตาลอื่นๆ จำนวนเล็กน้อย เพคตินเป็นเฮเทอโรโพลิแซคคาไรด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงประกอบด้วยโพลิเมอร์ของ D-galacturonic acid (ประมาณ 65 % โดย

น้ำหนัก) เป็นสายหลักหรือที่เรียกว่า smooth regions และมีกิ่งแขนง (hair regions) อาจเป็นอาราบินอส, กาแลคโตส, แรมโนส และบางส่วนของหมู่คาร์บอกซิล (-COOH) ที่ D-galacturonic acid จะถูกเอสเทอร์ไฟต์ด้วยหมู่เมทิล (-CH₃) เป็นเมทิลเอสเทอร์และมี degree of methylation (DM) แตกต่างกันไป จึงทำให้เพคตินจากวัตถุดิบแต่ละแหล่งมีโครงสร้างที่แตกต่างกันและเป็นโครงสร้างที่ซับซ้อนมาก

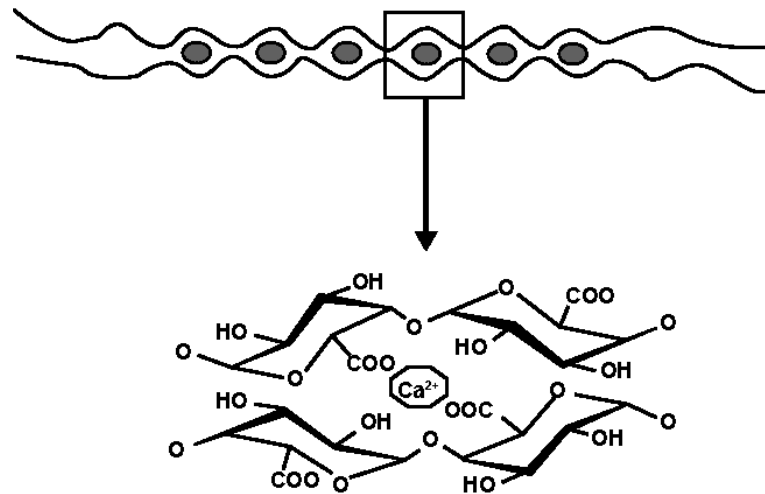


ภาพที่ 5 ชนิดและสมบัติของเพคติน ที่มา: <http://www.genialab.de/inventory/pectinate.htm>

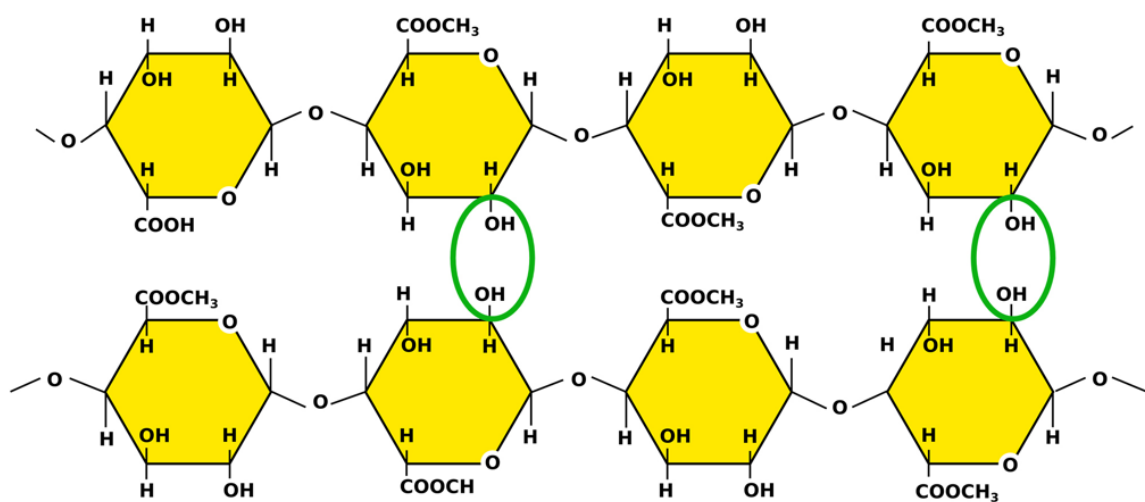
DM คืออัตราส่วนของหมู่ methylated galacturonic acid ต่อหมู่ galacturonic acid ทั้งหมดที่มีอยู่ในโมเลกุลของเพคติน จึงทำให้แบ่งประเภทของเพคตินตามค่า DM ได้เป็น 2 ชนิด คือ ชนิด Low methoxyl (LM) ซึ่งจะมีค่า DM น้อยกว่า 50 % และชนิด high methoxyl (HM) ซึ่งมีค่า DM มากกว่า 50 % (ภาพที่ 5) เพคตินที่สกัดได้จากธรรมชาติจะเป็นชนิด HM ที่มีค่า DM สูงถึง 75 % เมื่อนำมาทำให้เกิดปฏิกิริยาดี-เอสเทอร์ฟิเคชัน จะได้เพคตินชนิด LM เพคตินทั้งชนิด LM และ HM จะมีสมบัติและการนำไปใช้ประโยชน์ที่แตกต่างกัน

เพคตินชนิด LM สามารถเกิดเจลโดยมีปริมาณของ Ca²⁺ และมีของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดตั้งแต่ 10-80 % ที่ pH ช่วงกว้างตั้งแต่ 2.9-5.5 เจลที่ได้จะเป็นชนิด thermoreversible ลักษณะเนื้อสัมผัสของเจลจะมีความอ่อนนุ่มและยืดหยุ่นมากกว่าเจลที่ได้จากเพคตินชนิด HM หรืออะการ์ (ภาพที่ 6)

เพคตินชนิด HM ใช้กับอาหารที่มี pH 2.0-3.5 และต้องมีของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดมากกว่า 55 % ถึงจะเกิดเจลได้ เพคตินชนิดนี้ยังแบ่งย่อยออกเป็นอีก 3 ชนิดตาม gelling time คือ เกิดเจลได้ช้า (slow set) ปานกลาง (medium set) และรวดเร็ว (rapid set) ซึ่งจะแตกต่างกันที่ค่า DM เช่น ชนิดเกิดเจลได้ช้าจะมีค่า DM ประมาณ 60 % และชนิดเกิดเจลได้เร็วมีค่า DM ประมาณ 75 % การนำเพคตินมาใช้ประโยชน์จึงขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์และชนิดของผลิตภัณฑ์อาหาร



ภาพที่ 6 กลไกการเกิดเจลของเพคตินชนิด LM ที่มา: Allwyn Sundar Raj et al. (2012)



ภาพที่ 7 กลไกการเกิดเจลของเพคตินชนิด HM

ที่มา: <https://www.silvateam.com/en/products-and-services/food-ingredients/pectin/what-pectin.html>

เพคตินนิยมใช้ในอาหารประเภท แยม, เจลลี่, ไล้ขนมเบเกอรี่, เครื่องดื่มและผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเนื้อคล้ายเยลลี่ เช่น

- การเติมเพคตินชนิด LM จำนวนเล็กน้อยลงในโยเกิร์ตจะช่วยปรับปรุงลักษณะเนื้อของโยเกิร์ตให้ดีขึ้น
- สำหรับน้ำผลไม้เข้มข้นจะเติมเพคตินชนิด HM เพื่อช่วยเพิ่มความคงตัวให้กับอนุภาคของเนื้อผลไม้ ทำให้อนุภาคกระจายตัวแขวนลอยอยู่ได้โดยไม่ตกตะกอน

- ในน้ำผลไม้ผงสำเร็จรูปจะมีการเติมเพคตินชนิด HM ลงไปเพื่อให้เกิดความรู้เหมือนน้ำผลไม้ธรรมชาติขณะดื่ม
- ในผลิตภัณฑ์เบเกอรี่เช่น แยมที่นำมาเติมในทาร์ตจะให้ลักษณะผิวเรียบเป็นเงาหลังจากอบแล้ว และทนต่อการอบ

2.4 ความสัมพันธ์ระหว่างคาร์ราจีแนนกับรงควัตถุในผักผลไม้

จากงานวิจัยของ Kunnika and Pranee (2011) ทำการศึกษาผลของกรด เกลือ น้ำตาล และสารไฮโดรคอลลอยด์ต่อความคงตัวของสีของเบตาไซยานิน โดยเตรียมสารไฮโดรคอลลอยด์ (สตาร์ชข้าวโพด, แชนแทนกัม และคาร์ราจีแนน) ที่ความเข้มข้น 0.5% ปริมาตร 1L ใส่ในตัวอย่างแก้วมังกรที่เตรียมไว้ เก็บในที่มืด อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน นำมาวัดค่าความคงตัวของสีเบตาไซยานินโดยใช้ค่า a^* พบว่าค่าสีจากตัวอย่างที่เติมสารไฮโดร

คอลลอยด์มีค่าสูงกว่าตัวอย่างที่ไม่ได้เติมสารไฮโดรคอลลอยด์ เนื่องจากการเติมสารไฮโดรคอลลอยด์ นำไปสู่ความสัมพันธ์ของหมู่คาร์บอกซิลิกของคอลลอยด์ กับเบตาไซยานิน โดยจะช่วยป้องกันการรวมตัวกับน้ำ ซึ่งเป็นสาเหตุของการลดลงของเบตาไซยานิน ดังนั้นไฮโดรคอลลอยด์จึงสามารถรักษาความคงตัวของสีไว้ได้นอกจากนี้ ไฮโดรคอลลอยด์ที่เหลืออยู่ยังสามารถเพิ่มความเสถียรของเบตาไซยานินได้อีกด้วย โดยคาร์ราจีแนนสามารถคงค่าสีได้มากกว่าแชนแทนกัม และสตาร์ชข้าวโพด

จากงานวิจัยของ Xie et al. (2018) ทำการศึกษาการเชื่อมคอนตรอยดิน ซัลเฟต เบสกับสารสกัดแอนโทไซยานินจากบลูเบอร์รี่ และหุ้มด้วยแคปปา คาร์ราจีแนนเพื่อเพิ่มเสถียรภาพของแอนโทไซยานิน โดยนำไปเก็บไว้ในสภาวะต่างๆ พบว่าที่ pH 6 อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง retention rate เท่ากับ 94.40% และการเติมโลหะไอออนช่วยรักษา retention ไว้ได้ เนื่องจากโลหะไอออนจะลดแรงผลักระหว่างโมเลกุลของคาร์ราจีแนน ทำให้โครงสร้างเจลมีความเสถียรมากขึ้น ซึ่งโครงสร้างเจlnั้นช่วยป้องกันสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อความเสถียรของแอนโทไซยานิน เช่น อุณหภูมิ, pH, โลหะไอออน เป็นต้น

2.5 ความสัมพันธ์ระหว่างเพคตินกับรงควัตถุในผักผลไม้

จากงานวิจัยของ Guo et al. (2020) ศึกษาผลจากการทำงานร่วมกันของกรดแอสคอร์บิก, Low Methoxy Pectin(LMP) และ EDTA ต่อความคงตัวของสีแดงในเครื่องดื่มปรับกรด โดยทำการทดสอบเสถียรภาพของโพลีแซคคาไรด์ทั้งหมด 13 ชนิด ที่ความเข้มข้น 0.25% (w/w) ผสมกับสารสกัดเบตาไซยานินจากบิทรูทในอัตราส่วน 1:1 ปรับกรดด้วยกรดซิตริกจนได้ pH3.2 นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส 16 ชั่วโมง พบว่าสารละลายผสมระหว่างอัลจินต, ทารากัม, LMP และแชนแทนกัมสามารถช่วยให้สีคงตัวอยู่ได้หลังการเก็บรักษา โดยอัลจินตและLMP สามารถคงสีไว้ได้มากที่สุด จึงนำไปศึกษาต่อโดยนำไปผสมกับกรดแอสคอร์บิกและEDTA พบว่าLMP-กรดแอสคอร์บิก-EDTA สามารถเพิ่มเสถียรภาพของเบตาไซยานินได้อย่างมีนัยสำคัญ

นอกจากนี้ เพคตินสามารถเพิ่มความเสถียร ในการเก็บรักษาของสารละลายปีทรูตได้ ซึ่งอาจเป็น เพราะการลดค่า a_w (Herbach et al., 2006)

จากงานวิจัยของ Puangpraphant et al. (2017) ศึกษาอิทธิพลของเพคตินและรีบาวดีโอไซด์ เอ ต่อ ความเสถียรของสารแอนโทไซยานิน และความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำกระเจี๊ยบ โดย เติร์มตัวอย่างที่แตกต่างกัน 4 ตัวอย่าง ประกอบด้วยน้ำกระเจี๊ยบ, น้ำกระเจี๊ยบ-เพคติน, น้ำกระเจี๊ยบ-รีบาวดี โอไซด์ เอ และน้ำกระเจี๊ยบ-เพคติน-รีบาวดีโอไซด์ เอ นำไปให้ความร้อนที่ 63 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที และเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส หรือที่อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) พบว่าหลังจากการเก็บรักษาใน ตัวอย่างน้ำกระเจี๊ยบ-เพคติน-รีบาวดีโอไซด์ เอ มีค่าครึ่งชีวิตเพิ่มสูงขึ้น และช่วยคงความเสถียรของสารแอนโทไซยานินไว้ได้ โดยสภาวะที่เหมาะสมในการเก็บรักษาคือที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

บทที่ 3 วัสดุ อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการดำเนินงานวิจัย

3.1.1 ตัวอย่าง

- เปลือกแก้วมังกร (*Hylocereus undatus*)

3.1.2 สารเคมี

- กรดแอสคอร์บิก
- คาร์ราจีแนน และ เพคติน
- โซเดียมคาร์บอเนต
- โซเดียมเบนโซเอต
- เมทานอล
- สารละลายกรด Hydrochloric
- สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์
- สารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์
- สารละลาย TPTZ
- สารละลาย $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$
- สารละลาย DPPH radical
- เอทานอล
- Folin-Ciocalteu reagent
- Gallic acid

3.1.3 อุปกรณ์และเครื่องมือ

- Color meter [Hunter Lab] รุ่น Color Quest XE, ColorTec Associates Inc
- Labconco® Mobile Freeze Dryer Lyophilizer Vacuum 77540
- Spectrophotometer U-5100 HITACHI
- เครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน
- เครื่องปั่นเหวี่ยงรอบหมุนสูง [Thermo scientific] sorvall legend XTR
- เครื่องผสมแม่เหล็ก
- ตะแกรงร่อนขนาด 25-mesh sieve
- ตู้บลมร้อน รุ่น Thermotec 2000, Contherm

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 การสกัดเบตาไซยานินจากเปลือกแก้วมังกร

ดัดแปลงจากวิธีของ Kumkom et al. (2018) นำเปลือกแก้วมังกรมาหั่นเป็นชิ้น ขนาดประมาณ 2x2 เซนติเมตร อบด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมาผ่านตะแกรงขนาด 25-mesh sieve (หรือให้มีขนาดเล็กกว่า 0.8 มิลลิเมตร) นำเปลือกอบแห้งที่ผ่านตะแกรงมา 15 กรัม มาสกัดด้วย 300 มิลลิลิตร ของเอทานอล/น้ำในอัตราส่วน 60/40 (v/v) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง กวนสารละลายตลอดเวลาด้วยเครื่องผสมแม่เหล็กที่ความถี่ 200 รอบ/นาที เมื่อครบเวลานำสารละลายไปกรองและปั่นเหวี่ยงที่ความถี่ 10000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที นำส่วนใสที่ได้ไประเหยด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุนที่ 40 องศาเซลเซียส จนมีปริมาตรสุดท้ายเป็น 1 จากนั้นนำมาทำแห้งด้วยวิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Labconco® Mobile Freeze Dryer Lyophilizer Vacuum 77540, USA) ที่ความดันสูญญากาศต่ำกว่า 131×10^{-3} เมกะบาร์ ที่อุณหภูมิ -40 ถึง -60 องศาเซลเซียส นำสารสกัดที่ได้ไปชั่งน้ำหนัก คำนวณผลผลิตที่ได้ %yield นำไปค่าความชื้น (Moisture Content), ค่าสี และปริมาณของเบตาไซยานิน (Betacyanin content) (Stintzing et al., 2002)

3.2.2 ศึกษาการเพิ่มความเสถียรของสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกร

นำสารเพิ่มความคงตัว 2 ชนิด คือ คาร์ราจีแนน (c) และเพคติน (p) ต้มในน้ำด้วยอัตราส่วน 1%, 1.5% และ 2% (w/v) จนสารละลายหมด ปรับ pH ให้อยู่ช่วง pH ประมาณ 4-6 ซึ่งเป็นช่วง pH ที่เหมาะสมสำหรับการคงตัวของสารเบตาไซยานิน โดยใช้กรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ที่ pH 3.9 เป็นตัวปรับ (Kunnika and Pranee, 2011) จากนั้นเติมสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรที่ความเข้มข้น 0.4% (w/v) และเติมโซเดียมเบนโซเอต 0.7(กรัม/ลิตร)(Puangpraphant et al., 2017) ทำการผสมที่อุณหภูมิต่ำกว่า 60 องศาเซลเซียส (Cai and Corke, 1999) จากนั้นปิดผนึก และนำไปเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 สัปดาห์

เก็บตัวอย่างทุกๆ สัปดาห์ เพื่อมาวิเคราะห์ปริมาณของเบตาไซยานิน (BC) (Stintzing et al., 2002), ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (TP) (Bae and Suh, 2007), ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity (สุชาติดา มานอก และปวีณา ลิ้มเจริญ, 2558) และ FRAP (Benzie and Strain, 1996) และความคงตัวในการเก็บรักษา โดยคำนวณ %retention และ $t_{1/2}$ (Cai and Corke, 2000)

3.2.3 การวิเคราะห์ทางเคมี

3.2.3.1 การหาปริมาณ Betacyanin Content (BC)

ดัดแปลงจากวิธีของ Stintzing et al. (2002) นำตัวอย่างไปเจือจางด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ เข้มข้น 0.05 โมลาร์ (pH=6.5) แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 538 นาโนเมตรจากนั้นนำไปคำนวณปริมาณ Betacyanin Content (มิลลิกรัม/ 100 มิลลิลิตร) ตามสมการ

$$\text{Betacyanin Content (มิลลิกรัม/ 100 มิลลิลิตร)} = \frac{A \times MW \times V \times DF \times 100}{\epsilon L}$$

โดย A คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 538 นาโนเมตร

MW คือ มวลโมเลกุลของเบตาไซยานินมีค่าเท่ากับ 550

V คือ ปริมาตรของสารสกัด

DF คือ dilution factor

ϵ คือ ค่าสัมประสิทธิ์การดูดกลืนแสง มีค่าเท่ากับ 65,000 ลิตร/ โมล

L คือ มีค่าเท่ากับ 1.0 เซนติเมตร

3.2.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content: TPC)

ดัดแปลงจากวิธีของ (Bae and Suh, 2007) ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดคำนวณด้วยวิธีของ Folin-Ciocalteu โดยนำน้ำกลั่นปริมาณ 1 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายตัวอย่างปริมาณ 0.4 มิลลิลิตร แล้วเติมสาร Folin-Ciocalteu reagent 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองมาผสมให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ 1 นาที จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3 , ความเข้มข้น 20 กรัม/100 มิลลิลิตร) ปริมาณ 1.5 มิลลิลิตร เมื่อผสมให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ในที่มืด ณ อุณหภูมิห้องนาน 120 นาทีนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 750 นาโนเมตรแล้วคำนวณหาปริมาณความเข้มข้นของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากกราฟมาตรฐานโดยใช้สาร Gallic acid เป็นสารละลายมาตรฐานในช่วง 50-800 (มิลลิกรัม/ลิตร)

3.2.3.3 การวิเคราะห์คุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH radical scavenging Activity

ดัดแปลงจากวิธีของ (สุชาติ มานอก และปวีณา ลัมเจริญ, 2558) เตรียมสารละลาย DPPH radical ในเมทานอลความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ จากนั้นนำสารละลาย DPPH 1 ml ผสมกับสารละลายตัวอย่าง 0.1 ml และเมทานอล 2 ml เขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ในที่มืดประมาณ 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรจากนั้นทำการคำนวณ % inhibition จากสมการ

$$\% \text{ Inhibition} = [1 - (A_{\text{sample}}/A_{\text{control}})] \times 100$$

เมื่อ A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง

A_{control} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH

3.2.3.4 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP

ดัดแปลงจาก (Benzie and Strain, 1996) เตรียมสารละลาย FRAP reagent โดยผสมสารละลาย 300 มิลลิโมลาร์อะซิเตทบัฟเฟอร์ (pH 3.6) สารละลาย 20 มิลลิโมลาร์ $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ และสารละลาย 10 มิลลิโมลาร์ TPTZ ใน 40 มิลลิโมลาร์ HCl ในอัตราส่วน 10: 1: 1 ตามลำดับ จากนั้นเตรียมสารตัวอย่างที่ความเข้มข้น 100 ppm ในเอทานอล ปิเปตสารตัวอย่างผสมกับ FRAP reagent ดังตารางที่ 1 เขย่าให้เข้ากัน และตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 4 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ($n = 3$) คำนวณค่าการดูดกลืนแสงจากสมการ

$$\text{Absorbance} = A - B - C$$

คำนวณความสามารถในการให้อิเล็กตรอน (FRAP value) โดยเปรียบเทียบค่าที่ได้กับกราฟมาตรฐานของ Ferrous Sulfate (FeSO_4) แสดงค่าในรูปของของมิลลิโมลาร์ของ FeSO_4 /กรัมของสารสกัด (mM FeSO_4 /g dry sample)

ตารางที่ 1 ตัวแปรในการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP

ตัวแปร	ส่วนประกอบ
A (Test sample)	Sample ที่ความเข้มข้น 100 ppm 1 ml + FRAP reagent 9 ml
B (Blank)	Sample ที่ความเข้มข้น 100 ppm 1 ml + Acetate buffer 9 ml
C (Control)	Ethanol 1 ml + FRAP reagent 9 ml

3.2.3.5 การวิเคราะห์จลนพลศาสตร์ของการสลายตัวของเบตาไซยานิน

หา %retention จากสมการ

$$\left(\frac{C_t}{C_0}\right) \times 100$$

จากนั้นนำมาพลอตกราฟระหว่าง \ln (% retention) กับเวลาในการเก็บรักษา จะสามารถหาอัตราการลดลงของเบตาไซยานิน ได้จากความชันของกราฟ (Cai and Corke, 2000) จากสมการ

$$\ln \left(\frac{C_t}{C_0}\right) = -kt$$

และจะสามารถหาค่า $t_{1/2}$ ได้จากสมการ (Karangutkar and Ananthanarayan, 2020)

$$t_{1/2} = \frac{\ln(2)}{k}$$

โดย C_0 คือ betacyanin content (BC) เริ่มต้น

C_t คือ betacyanin content (BC) หลังจากผ่านการเก็บรักษาไปเป็นเวลา t

k คือ ค่าคงที่อัตราการลดลง

t คือ ระยะเวลาในการเก็บรักษา

บทที่ 4 ผลการวิจัย และอภิปรายผล

4.1 การทดสอบเวลาในการอบแห้งเปลือกแก้วมังกร

จากการทดลองศึกษาผลของเวลาในการอบแห้งเปลือกแก้วมังกรสดด้วยตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส ที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง จากนั้นนำเปลือกแก้วมังกรที่ผ่านการอบแห้งไปสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล:น้ำ ที่อัตราส่วน 60:40 และคำนวณค่าปริมาณสารเบตาไซยานิน สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity และ FRAP ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ปริมาณสารเบตาไซยานิน สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity และ FRAP ของสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรที่ผ่านการอบแห้งด้วยเครื่องอบลมร้อนที่เวลาแตกต่างกัน

เวลาที่ใช้ทำแห้ง (ชม.)	Betacyanins content (mg/100 mL	Total phenolic content (mM gallic/g. dry sample)	DPPH (% inhibition)	FRAP (mM FeSO ₄ /g. dry sample)
24	3.82	508.93	81.94	195.07
48	4.66	645.33	58.81	107.07

หมายเหตุ: เป็นการทดลองแบบ Pre-Lab เนื่องจากต้องการทดสอบเวลาที่เหมาะสมในการอบ สำหรับเป็นข้อมูลประกอบการเลือกสภาวะในการอบเปลือกแก้วมังกร จึงทำการทดสอบเพียงแค่ซ้ำเดียว

พบว่าปริมาณสารเบตาไซยานิน และสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ที่เวลาอบแห้ง 48 ชั่วโมง มีปริมาณมากกว่า ซึ่งให้ผลการทดลองไปในทางเดียวกันกับงานวิจัยของ Fathordoobady et al. (2016) ที่ทำการอบแห้งเนื้อของแก้วมังกรสีแดงที่ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่ามีปริมาณสารเบตาไซยานินมากกว่าเปลือกแก้วมังกรที่อบที่อุณหภูมิเดียวกันเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และงานวิจัยของ Gengatharan et al. (2016) พบว่า ที่อุณหภูมิ 30 และ 50 องศาเซลเซียส มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของสีของสารสกัดเบตาไซยานิน น้อยมาก ดังนั้นจึงทำให้สารสกัดที่อบเป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมงมีสีแตกต่างกันไม่มาก ซึ่งเปลือกแก้วมังกรที่อบเป็นเวลา 48 ชั่วโมงมีสีที่คล้ำขึ้นเล็กน้อย จึงทำให้ค่าดูดกลืนแสงที่ 538 nm สูงเกินจริงได้ และเมื่อได้รับความร้อนมากขึ้น สาร phylocactin มีแนวโน้มจะเกิดปฏิกิริยา deacylation ซึ่งอาจทำให้เกิดการสร้างใหม่ของสารเบตานิดิน และเบตานิิน และจากงานวิจัยของ Huang et al. (2005) และ วรานนท์ ทองอินลา (2557) ระบุว่า Folin-Ciocalteu reagent ไม่ได้มีความเฉพาะเจาะจงต่อสารประกอบฟีนอลิกเท่านั้น แต่ยังสามารถ

ถูกรีดิวซ์ด้วยสารประกอบที่ไม่ใช่สารประกอบฟีนอลิกได้ เช่น น้ำตาล, aromatic amines และอื่นๆ อีกมากมาย ทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่วัดได้มีค่าสูงกว่าที่มีอยู่จริง

จากผลการทดสอบความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity และ FRAP พบว่า ได้ผลการทดสอบไปในทางเดียวกันกับงานวิจัยของ Réblová Z. (2012) ที่พบว่า การเพิ่มขึ้นของอนุมูลอิสระมีผลต่อการลดลงของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และขึ้นกับความสามารถในการออกซิไดซ์ของสารต้านอนุมูลอิสระแต่ละตัวด้วย นอกจากนี้ Proteggente et al. (2002) ระบุว่า สารในกลุ่ม flavanones มีความสามารถในการให้ไฮโดรเจนอะตอมได้น้อยกว่า จึงทำให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารในกลุ่มนี้มีค่าไม่สัมพันธ์กับปริมาณของฟีนอลิกที่มีอยู่จริง และ Lim et al. (2007) ระบุว่า สารฟีนอลิกบางชนิดในกลางสาธมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำ เนื่องจากการเปลี่ยนโครงสร้างผันกลับไปมา ทำให้ไม่สามารถวัดค่าความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ ดังนั้นการให้ความร้อนที่มากขึ้น (48 ชั่วโมง) อาจส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเบตาไซยานิน ทำให้มีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระลดลง

ดังนั้น ผู้วิจัยจึงเลือกการอบแห้งเปลือกแก้วมังกรสดที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เนื่องจากสารสกัดมีสีแดงมากกว่า และมีฤทธิ์ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสูงกว่า รวมถึงยังเป็นการประหยัดพลังงาน และเวลาที่ใช้ในการอบอีกด้วย

4.2 การสกัดเบตาไซยานินจากเปลือกแก้วมังกร

ทำการสกัดเบตาไซยานินจากเปลือกแก้วมังกรอบแห้ง ด้วยเอทานอล และน้ำในอัตราส่วน 60:40 และทำแห้งด้วยวิธี Freeze dry ทำการวัดค่าปริมาณร้อยละผลได้ของสารสกัด (%yield) และค่าความชื้น ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ปริมาณร้อยละผลได้ของสารสกัด และค่าความชื้นของสารสกัดเบตาไซยานิน

ปริมาณร้อยละผลได้ของสารสกัด (% yield)	1.03 ± 0.10
ความชื้น (%moisture content)	10.84 ± 1.03

งานวิจัยของ Fathordoobady et al. (2016) ซึ่งสกัดเปลือกแก้วมังกรสีแดง ด้วยเอทานอล:น้ำ ในอัตราส่วน 70:30 และ 50:50 ได้ค่า %yield เป็น 3.23±0.39 และ 4.12±0.47 ตามลำดับ และจากงานวิจัยของ Fathordoobady et al. (2019) ซึ่งทำการสกัดเปลือกแก้วมังกรสีแดงด้วยของไหลวิกฤตยิ่งยวด

(supercritical fluid extraction) ได้ค่า %yield ตั้งแต่ 2.15 - 4.01% ซึ่งอาจเป็นผลมาจาก การสูญเสียในระหว่างการทดลอง กล่าวคือ เกิดการสูญเสียเปลือกแห้งบางส่วนไประหว่างขั้นตอนการร่อนผ่านตะแกรง, ขั้นตอนการแยกส่วนใสภายหลังจากการสกัด เป็นต้น นอกจากนี้ในงานวิจัยของ Fathordoobady et al. (2016) ยังมีการใช้อัตราส่วนของเอทานอลแตกต่างกันกับที่ทำการทดลอง รวมถึงมีการใช้ Pectinex enzyme ในการย่อยเพคตินในเปลือกก่อนการสกัดร่วมด้วย โดย Kim et al. (2013) พบว่าการย่อยสลายเมือกจากเพคตินออก จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการสกัด และรักษารสชาติของสารที่ต้องการสกัดไว้ได้อีกด้วย และในงานวิจัยของ Fathordoobady et al. (2019) ทำการสกัดด้วยของไหลยิ่งยวด ซึ่ง Kassama et al. (2008) พบว่าการสกัดด้วยของไหลยิ่งยวดจะสามารถควบคุมปัจจัยที่มีผลต่อการสกัด เช่น ความดัน อุณหภูมิ เวลา ชนิด และร้อยละปริมาณของตัวทำละลายร่วมได้ ทำให้กระบวนการสกัดมีประสิทธิภาพมากขึ้น และรักษาสารประกอบที่ต้องการไว้ได้

ตารางที่ 4 ค่าสีของสารสกัดแห้ง

L*	a*	b*
25.14 ± 7.42	31.02 ± 8.18	11.41 ± 4.45



ภาพที่ 8 สารสกัดเบตาไซยานินเข้มข้นจากเปลือกแก้วมังกร หลังผ่านกระบวนการทำแห้งด้วยการแช่เยือกแข็ง

จากตารางที่ 4 ทำการวัดค่าสีของสารสกัดแห้งหลังการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ด้วยการวัดระบบสีแบบ CIE โดยมีค่า L* บ่งบอกถึงความสว่างของสี ค่า a* บ่งบอกค่าสีจากสีเขียว (-a*) จนถึงสีแดง (a*) และค่า b* บ่งบอกค่าสีจากสีน้ำเงิน (-b*) จนถึงสีเหลือง (b*) พบว่าสารสกัดแห้งที่ได้มีค่าสีแดงหรือค่า a* สูงกว่าค่าจากงานวิจัยของ Hui et al. (2018) ซึ่งมีค่า a* เป็น 13.10 และมีค่าใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Pedreno and Esclibano. (2001) ซึ่งมีค่า a* เป็น 35.53 แสดงถึงสารสกัดที่ได้ มีปริมาณของสีแดงที่มาก เหมาะแก่การนำไปใช้ศึกษาต่อ

4.3 การวิเคราะห์ทางเคมีของสารเบตาไซยานินจากเปลือกแก้วมังกร

4.3.1 การวิเคราะห์ปริมาณ Betacyanin content

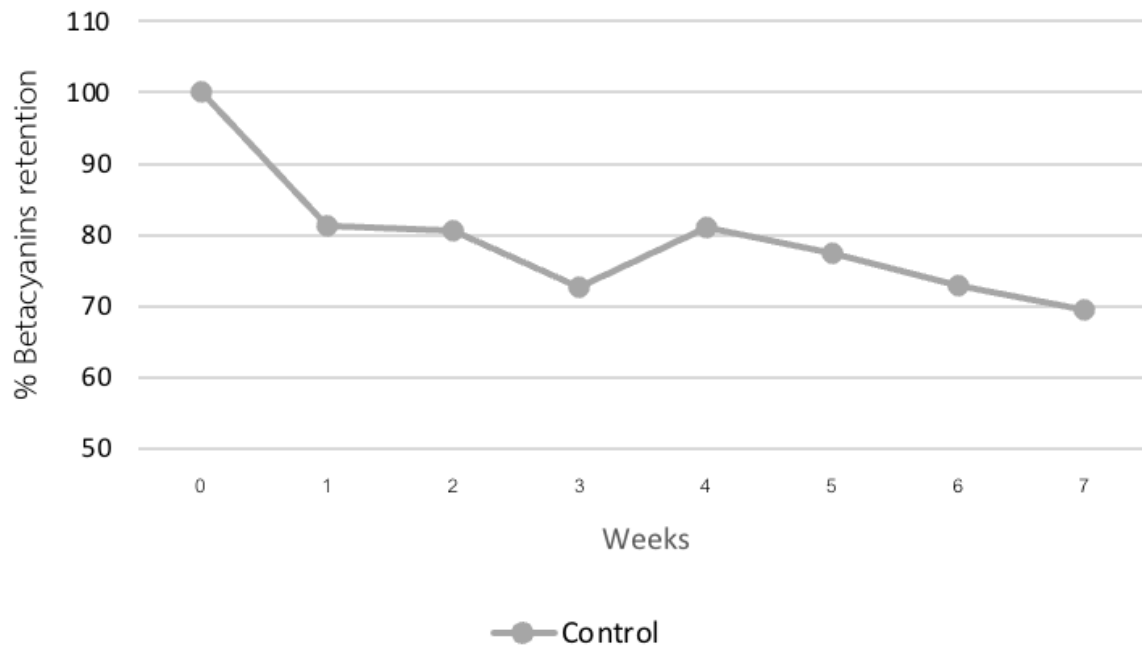
ในการทดลองในตอนต้นที่ 4.3.1 ทำการวิเคราะห์ปริมาณ Betacyanin content (mg/100ml) ของสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรในตัวอย่างที่เติมสารไฮโดรคอลลอยด์ ได้แก่ เพคติน และคาร์ราจีแนนที่ความเข้มข้น 1% 1.5% และ 2% (w/v) เปรียบเทียบตัวอย่างควบคุมที่ไม่มีการเติมสารไฮโดรคอลลอยด์ ที่การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 สัปดาห์ ให้ผลดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 แสดงปริมาณ Betacyanin content (mg/100ml) ของสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรในตัวอย่างควบคุม และตัวอย่างที่เติมสารไฮโดรคอลลอยด์ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน ที่การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 สัปดาห์

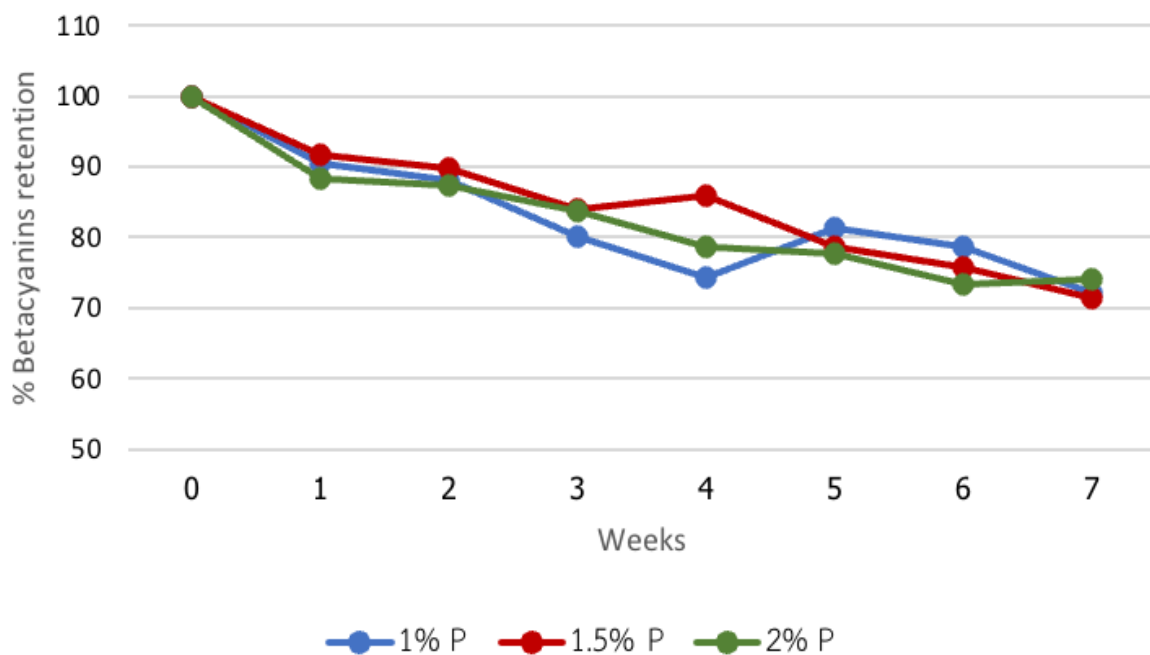
สัปดาห์	Control	1% Pectin	1.5% Pectin	2% Pectin	1% Carra geenan	1.5% Carra geenan	2% Carra geenan
0	1.63 ^{a,C} ±0.24	1.89 ^{a,BC} ±0.06	2.10 ^{a,AB} ±0.03	2.39 ^{a,A} ±0.03	1.71 ^{a,C} ±0.08	1.73 ^{a,C} ±0.19	2.35 ^{a,A} ±0.13
1	1.32 ^{ab,DE} ±0.16	1.71 ^{ab,BC} ±0.02	1.92 ^{b,AB} ±0.02	2.11 ^{ab,A} ±0.12	1.26 ^{b,E} ±1.33	1.44 ^{ab,CDE} ±0.21	1.61 ^{b,BCD} ±0.14
2	1.31 ^{ab,C} ±1.88	1.66 ^{bc,B} ±0.07	1.88 ^{bc,AB} ±0.01	2.09 ^{ab,A} ±0.04	1.26 ^{b,C} ±0.09	1.17 ^{b,C} ±0.08	1.35 ^{c,C} ±0.01
3	1.18 ^{b,C} ±0.07	1.51 ^{bcd,BC} ±0.07	1.76 ^{cd,AB} ±0.05	2.00 ^{ab,A} ±0.47	1.18 ^{b,C} ±0.18	1.15 ^{bc,C} ±0.01	1.29 ^{cd,BC} ±0.03
4	1.32 ^{ab,B} ±0.19	1.40 ^{d,B} ±0.10	1.80 ^{bc,A} ±0.00	1.88 ^{b,A} ±0.10	1.16 ^{b,B} ±0.12	1.20 ^{b,B} ±0.02	1.17 ^{cde,B} ±0.10
5	1.26 ^{ab,BC} ±0.09	1.53 ^{bcd,AB} ±0.09	1.64 ^{de,A} ±0.08	1.86 ^{b,A} ±0.01	1.02 ^{b,CD} ±0.03	0.78 ^{cd,D} ±0.36	1.18 ^{cde,BC} ±0.05
6	1.19 ^{b,C} ±0.10	1.48 ^{cd,B} ±0.16	1.58 ^{ef,AB} ±0.07	1.75 ^{b,A} ±0.08	1.01 ^{b,C} ±0.01	0.46 ^{d,D} ±0.18	1.12 ^{de,C} ±0.00
7	1.13 ^{b,CD} ±0.09	1.36 ^{d,BC} ±0.07	1.50 ^{f,AB} ±0.12	1.77 ^{b,A} ±0.24	1.01 ^{b,D} ±0.15	0.53 ^{d,E} ±0.01	1.08 ^{e,CD} ±0.05

หมายเหตุ: อักษรภาษาอังกฤษ ABC... ที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงถึงค่าเฉลี่ยที่ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) ภายในระยะเวลาการเก็บเดียวกัน

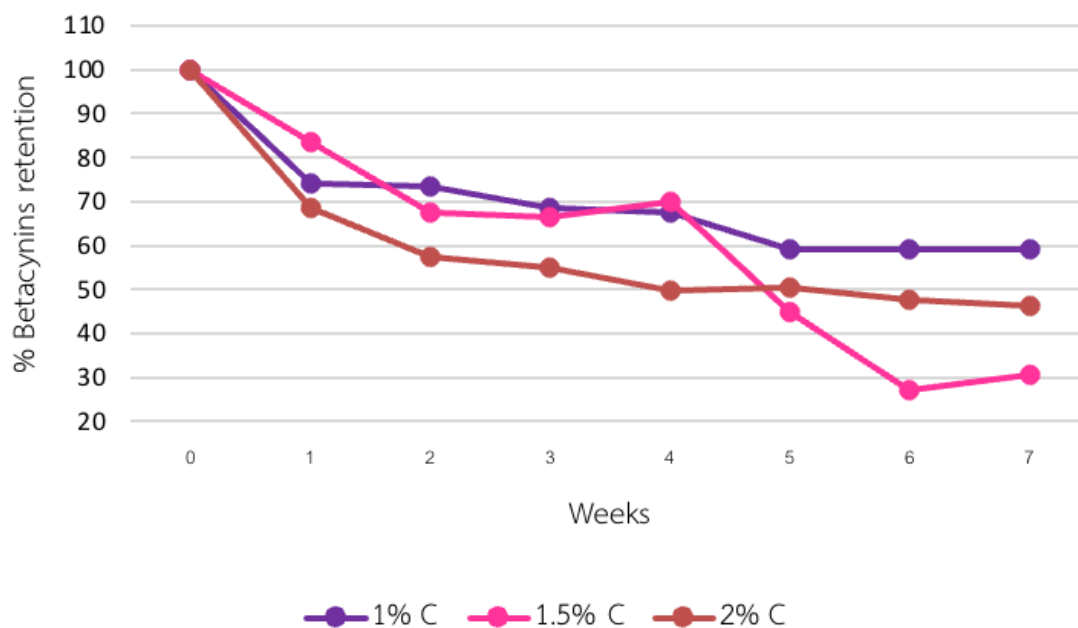
อักษรภาษาอังกฤษ abc... ที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) ในตัวอย่างชนิดเดียวกัน



ภาพที่ 9 กราฟแสดง %betacyanin retention ของสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกร ในช่วงการเก็บรักษาที่ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 สัปดาห์



ภาพที่ 10 กราฟแสดง %betacyanin retention ของสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกร ในสารละลายเพคตินที่ ความเข้มข้นต่างกัน ในช่วงการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 สัปดาห์



ภาพที่ 11 กราฟแสดง %betacyanin retention ของสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกร ในสารละลายคาร์ราจีแฉนที่ความเข้มข้นต่างกัน ในช่วงการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 สัปดาห์

พบว่า ชนิด และความเข้มข้นของสารไฮโดรคอลลอยด์ รวมถึงระยะเวลาในการเก็บรักษา มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของสารเบตาไซยานินจากเปลือกแก้วมังกรอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

อิทธิพลจากการเติมเพคติน พบว่าสารละลายเพคตินที่ความเข้มข้น 1% 1.5% และ 2% สามารถรักษาเสถียรภาพของสารเบตาไซยานินจากเปลือกแก้วมังกรได้ โดยมี %betacyanin retention คงอยู่เท่ากับ 72.22, 71.53 และ 74.17 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมซึ่งมี %betacyanin retention คงอยู่เท่ากับ 69.40 ซึ่งการคงตัวของสารนี้อาจเป็นผลมาจากปฏิกิริยาการจับกันระหว่างสารเบตาไซยานินและเพคติน Guo et al. (2020) นอกจากนี้เพคตินยังเป็นพอลิเมอร์ประจุลบซึ่งเป็นไปได้ว่าความสามารถในการรักษาความคงตัวของเบตาเลนนั้นเกี่ยวข้องกับความหนาแน่นของประจุลบของเพคติน Marchuk et al. (2019) และการเติมเพคตินยังอาจเป็นการเพิ่ม polygalacturonate group ที่สามารถเกิดปฏิกิริยาโดยตรงกับสารเบตาไซยานินได้ Aguirre Calvo et al. (2019) และการเกิดโครงสร้างเจลของเพคตินยังช่วยลดค่า a_w ซึ่งจะช่วยปกป้องสารเบตาไซยานินจากการทำปฏิกิริยากับน้ำได้

อิทธิพลจากการเติมคาร์ราจีแฉน พบว่าสารละลายคาร์ราจีแฉนที่ความเข้มข้น 1% 1.5% และ 2% สามารถรักษาเสถียรภาพของสารเบตาไซยานินจากเปลือกแก้วมังกรได้น้อยกว่าตัวอย่างควบคุมซึ่งมี %betacyanin retention คงอยู่เท่ากับ 69.40 โดยสารสกัดเบตาไซยานินที่เติมคาร์ราจีแฉน 1%, 1.5% และ 2% มี %betacyanin retention คงอยู่เพียง 59.03, 30.64 และ 46.11 ตามลำดับ ซึ่งให้ผลไปในทางเดียวกันกับงานวิจัยของ Guo et al (2020) ซึ่งพบว่าสารสกัดเบตาไซยานินจากบีทรูทมี %betacyanin retaining มากกว่าสารสกัดจากบีทรูทที่เติมคาร์ราจีแฉน 0.25% ในอัตราส่วน 1:1 และจากงานวิจัยของ

Kunnika and Pranee (2011) ที่ทำการเติมคาร์ราจีแนนที่ความเข้มข้น 0.5% ใส่ในสารสกัดแก้วมังกร พบว่าค่า a^* จากตัวอย่างที่เติมสารไฮโดรคอลลอยด์มีค่าสูงกว่าตัวอย่างที่ไม่ได้เติมสารไฮโดรคอลลอยด์ เนื่องจากการเติมสารไฮโดรคอลลอยด์ อาจนำไปสู่การสร้างพันธะระหว่างหมู่คาร์บอกซิลิกของคอลลอยด์ กับสารเบตาไซยานิน โดยจะช่วยป้องกันการรวมตัวกับน้ำ ซึ่งเป็นสาเหตุในการลดลงของเบตาไซยานิน ดังนั้นไฮโดรคอลลอยด์จึงสามารถรักษาความคงตัวของสีไว้ได้ นอกจากนี้จากงานวิจัยของ Hui et al. (2018) ยังพบว่าผลจากการเติมกัวร์กัมซึ่งเป็นไฮโดรคอลลอยด์ประเภทหนึ่ง สามารถเพิ่มเสถียรภาพของเบตาไซยานินได้ที่ความเข้มข้น 0.1 และ 0.5% และมีเสถียรภาพลดลงที่ความเข้มข้น 1% เนื่องจากอาจมีความเข้มข้นของกัวร์กัมมากเกินไปจากผลที่ได้ งานวิจัยนี้ได้เลือกใช้ความเข้มข้นของคาร์ราจีแนนที่ 1-2% ซึ่งอาจเป็นความเข้มข้นที่มากเกินไปจนทำให้เกิดการรบกวนต่อเสถียรภาพของสารเบตาไซยานินได้

4.3.2 การวิเคราะห์เสถียรภาพของเบตาไซยานิน

จากการวิเคราะห์เสถียรภาพของสารเบตาไซยานินของสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกร โดยทำการวิเคราะห์จลนพลศาสตร์ของการสลายตัวของเบตาไซยานิน ดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ค่าคงที่อัตราการลดลง (k) และ $t_{1/2}$ ของสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรในตัวอย่างควบคุม และตัวอย่างที่เติมสารไฮโดรคอลลอยด์ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน ที่การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 สัปดาห์

Treatment	k	$t_{1/2}$
Pectin1%	0.04 ^a ±0.00	17.64 ^{a,b} ±2.37
Pectin1.5%	0.04 ^a ±0.00	15.82 ^{a,b} ±2.12
Pectin2%	0.04 ^a ±0.01	16.95 ^{a,b} ±3.39
Carrageenan1%	0.06 ^{a,b} ±0.03	10.65 ^{b,c} ±4.64
Carrageenan1.5%	0.18 ^c ±0.03	3.86 ^c ±0.62
Carrageenan2%	0.09 ^b ±0.01	7.50 ^c ±0.96
Control	0.04 ^a ±0.01	18.73 ^a ±5.70

พบว่าตัวอย่างสารสกัดที่มีการเติมเพคติน มีค่าคงที่อัตราการลดลง (k) ต่ำกว่าตัวอย่างสารสกัดที่เติมคาร์ราจีแนนอย่างมีนัยสำคัญ ยกเว้นที่ความเข้มข้น 1% ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) และเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม พบว่าค่า k ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) และค่าครึ่งชีวิตของตัวอย่างสารสกัดที่มีการเติมเพคตินให้ผลไปในทางเดียวกันกับค่า k คือ สารสกัดที่มีการเติมเพคตินมีค่าสูงกว่าตัวอย่างสารสกัดที่มีการเติมคาร์ราจีแนนอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) ยกเว้นตัวอย่างที่เติมคาร์ราจีแนนที่ความ

เข้มข้น 1% ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) และมีค่าน้อยกว่าตัวอย่างควบคุม แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

จากผลการทดลองพบว่าเพคตินสามารถรักษาเสถียรภาพได้ดี แต่มีค่าไม่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุม ซึ่งอาจเป็นเพราะปริมาณเบตาไซยานินเริ่มต้นในตัวอย่างที่เติมเพคตินมีค่าสูง เมื่อคำนวณเป็นค่าคงที่อัตราการลดลงและค่าครึ่งชีวิตจึงทำให้มีค่าไม่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุม นอกจากนี้อาจเป็นเพราะปฏิกิริยาการสลายตัวของสารเบตาไซยานินส่วนใหญ่เกิดจากปฏิกิริยา oxidation ดังนั้นการเติมสารไฮโดรคอลลอยด์เพื่อให้เกิดการสร้างพันธะไฮโดรเจน เพื่อป้องกันการเกิดปฏิกิริยากับน้ำ จึงไม่สามารถป้องกันการสลายตัวของสารเบตาไซยานินได้ดีเท่าที่ควร Hui et al. (2018)

4.3.3 การวิเคราะห์ปริมาณ Total phenolic content

ในการทดลองตอนที่ 4.3.3 ทำการวิเคราะห์ปริมาณ Total phenolic content ของสารเบตาไซยานินจากเปลือกแก้วมังกรในตัวอย่างที่เติมสารไฮโดรคอลลอยด์ ได้แก่ เพคติน และคาร์ราจีแนนที่ความเข้มข้น 1% 1.5% และ 2% (w/v) เปรียบเทียบตัวอย่างควบคุมที่ไม่มีการเติมสารไฮโดรคอลลอยด์ ที่การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 สัปดาห์ ให้ผลดังแสดงในตารางที่ 7

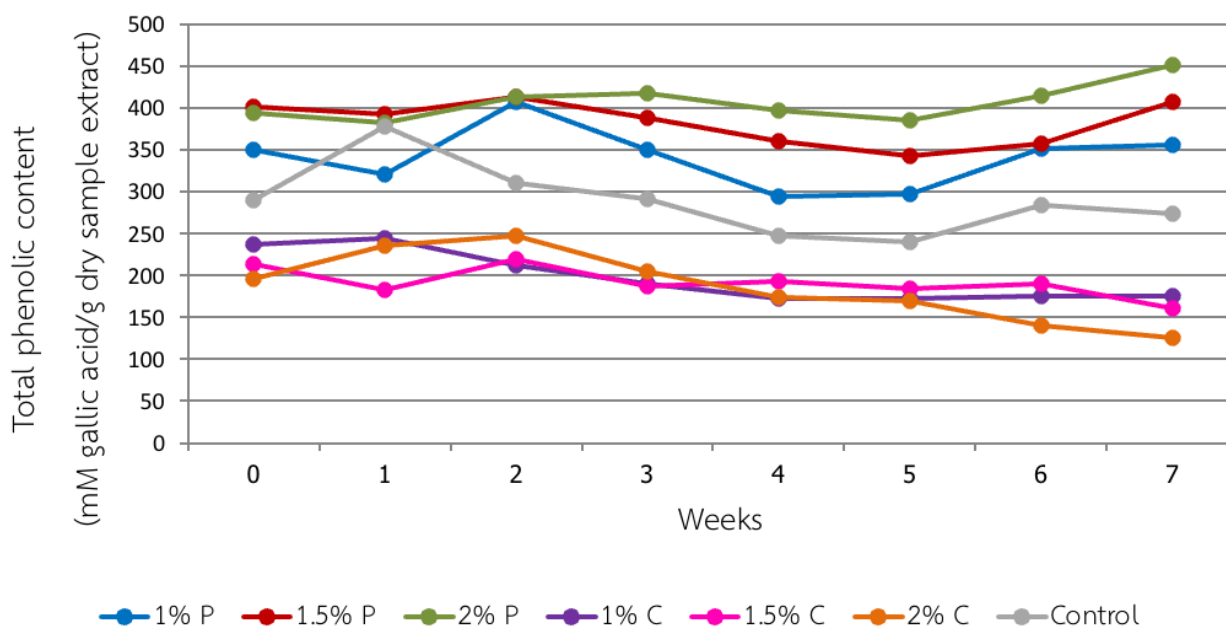
ตารางที่ 7 แสดงค่า total phenolic content (mM gallic acid / g dry sample extract) ของสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรในตัวอย่างควบคุม และตัวอย่างที่เติมสารไฮโดรคอลลอยด์ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน ที่การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 สัปดาห์

สัปดาห์	Control	1% Pectin	1.5% Pectin	2% Pectin	1% Carra-geenan	1.5% Carra-geenan	2% Carra-geenan
0	290.29 ^{ab,AB} ±12.31	350.69 ^{a,AB} ±53.41	401.60 ^{a,A} ±6.61	394.48 ^{a,A} ±20.11	236.75 ^{ab,AB} ±26.86	214.06 ^{a,B} ±58.93	196.13 ^{ab,B} ±13.43
1	378.12 ^{a,A} ±32.04	321.57 ^{a,AB} ±6.08	392.63 ^{a,A} ±55.28	383.40 ^{a,A} ±25.36	244.45 ^{a,AB} ±17.53	183.39 ^{a,B} ±57.63	235.96 ^{a,AB} ±50.35
2	310.60 ^{ab,B} ±32.82	407.66 ^{a,A} ±47.74	412.93 ^{a,A} ±5.97	412.94 ^{a,A} ±29.84	212.67 ^{abc,C} ±43.46	220.05 ^{a,C} ±6.90	248.22 ^{a,BC} ±17.34
3	292.14 ^{ab,C} ±13.43	350.69 ^{a,B} ±8.95	388.94 ^{a,A} ±6.34	417.95 ^{a,A} ±3.36	190.78 ^{bc,D} ±22.94	186.82 ^{a,D} ±14.73	204.57 ^{ab,D} ±2.23
4	247.30 ^{b,D} ±7.46	294.51 ^{a,C} ±13.80	360.45 ^{a,B} ±1.12	398.17 ^{a,A} ±32.82	172.97 ^{c,E} ±9.32	193.54 ^{a,E} ±5.97	173.50 ^{bc,E} ±1.86
5	240.70 ^{b,D} ±2.61	297.41 ^{a,C} ±18.65	342.78 ^{a,B} ±7.46	386.04 ^{a,A} ±10.44	172.05 ^{c,E} ±3.54	183.91 ^{a,E} ±8.02	169.15 ^{bc,E} ±5.78
6	284.22 ^{ab,C} ±0.00	351.75 ^{a,B} ±1.49	357.81 ^{a,B} ±13.80	414.78 ^{a,A} ±2.61	174.95 ^{c,D} ±6.53	189.72 ^{a,D} ±16.22	136.97 ^{c,E} ±29.28
7	273.67 ^{ab,D} ±2.98	355.70 ^{a,C} ±12.31	407.13 ^{a,B} ±21.63	451.78 ^{a,A} ±9.32	175.08 ^{c,E} ±2.61	160.84 ^{a,EF} ±30.96	125.76 ^{c,F} ±10.07

หมายเหตุ: อักษรภาษาอังกฤษ ABC... ที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงถึงค่าเฉลี่ยที่ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) ภายในระยะเวลาการเก็บเดียวกัน

อักษรภาษาอังกฤษ abc... ที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) ในตัวอย่างชนิดเดียวกัน

พบว่าชนิด ความเข้มข้น และระยะเวลาในการเก็บรักษามีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณ Total phenolic content (TPC) ของสารสกัดอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) โดยตัวอย่างสารสกัดที่เติมเพคตินที่ความเข้มข้น 2% มีค่า TPC สูงที่สุด และตัวอย่างสารสกัดที่เติมเพคตินที่ความเข้มข้น 1 และ 1.5% มีค่า TPC สูงกว่าตัวอย่างที่เติมคาร์ราจีแนน และตัวอย่างควบคุม อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับงานวิจัยของ Poiana et al. (2013) ซึ่งพบว่าความเข้มข้นของเพคตินที่เพิ่มขึ้นในตัวอย่างแยมแบล็คเบอร์รี่ ส่งผลให้ค่า TPC เพิ่มขึ้นด้วยในระหว่างการเก็บรักษา และงานวิจัยของ Maier et al. (2009) พบว่าสารสกัด grape pomace ในเจลเพคตินมีค่า TPC เพิ่มขึ้น ระหว่างเก็บรักษาทั้งในสภาวะที่มีแสงและในที่มืด นอกจากนี้ Vernhet et al. (1996) พบว่าปฏิกิริยาระหว่าง เพคติน-ฟีนอลิก สามารถใช้เป็นสารปกป้องสารในกลุ่มพอลิฟีนอลได้ เนื่องจากการจับกันของพันธะไฮโดรเจนระหว่างอะตอมออกซิเจนในเพคตินและหมู่ไฮดรอกซิลของสารฟีนอลิก และการเกิดการดัดคู่ระหว่างโมเลกุลที่ไม่ชอบน้ำ



ภาพที่ 12 กราฟแสดง Total phenolic content ของสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกร เปรียบเทียบระหว่างตัวอย่างที่เติมเพคติน (P), ตัวอย่างที่เติมคาร์ราจีแนน (C) และตัวอย่างควบคุม (Control) ในช่วงการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 สัปดาห์

4.3.4 การวิเคราะห์คุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity

ในการทดลองตอนที่ 4.3.4 ทำการวิเคราะห์ %inhibition ซึ่งแสดงถึงฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารเบตาไซยานินจากเปลือกแก้วมังกรในตัวอย่างที่เติมสารไฮโดรคอลลอยด์ ได้แก่ เพคติน และคาร์ราจีแนนที่ความเข้มข้น 1% 1.5% และ 2% (w/v) เปรียบเทียบตัวอย่างควบคุมที่ไม่มีการเติมสารไฮโดรคอลลอยด์ ที่การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 สัปดาห์ ให้ผลดังแสดงในตารางที่ 8

ตารางที่ 8 แสดง %inhibition ของสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรในตัวอย่างควบคุม และตัวอย่างที่เติมสารไฮโดรคอลลอยด์ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน ที่การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 สัปดาห์

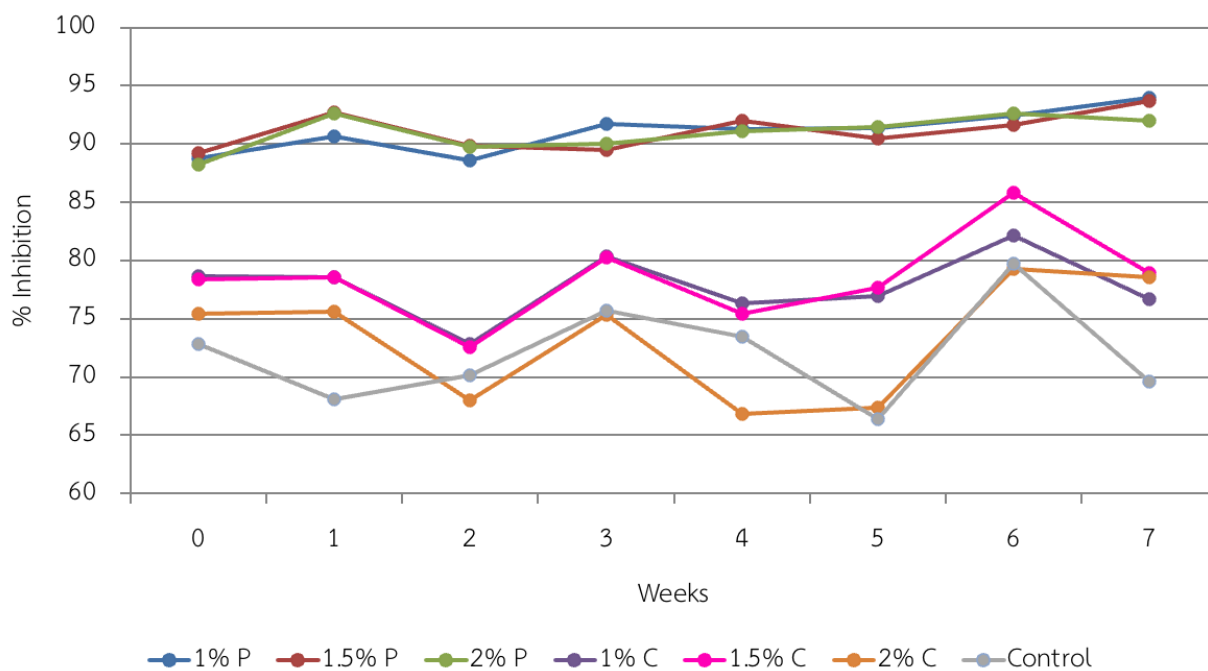
สัปดาห์	Control	1% Pectin	1.5% Pectin	2% Pectin	1% Carra-geenan	1.5% Carra-geenan	2% Carra-geenan
0	72.87 ^{abc,B} ±1.87	88.78 ^{c,A} ±2.38	89.88 ^{a,A} ±1.04	88.20 ^{c,A} ±0.31	78.66 ^{ab,B} ±2.18	78.37 ^{bc,B} ±4.66	75.44 ^{abc,B} ±4.25
1	68.11 ^{bc,C} ±3.42	90.69 ^{c,A} ±1.97	89.52 ^{a,A} ±1.97	92.60 ^{a,A} ±0.52	78.59 ^{ab,B} ±0.83	78.59 ^{bc,B} ±2.90	75.59 ^{abc,B} ±3.84
2	70.16 ^{bc,B} ±5.29	88.56 ^{bc,A} ±1.45	92.01 ^{a,A} ±0.52	89.74 ^{bc,A} ±0.21	72.87 ^{c,B} ±1.66	72.58 ^{c,B} ±1.24	67.96 ^{bc,B} ±6.12
3	75.73 ^{ab,C} ±1.76	91.72 ^{abc,A} ±0.10	90.47 ^{a,A} ±0.83	90.03 ^{bc,A} ±1.24	80.35 ^{ab,B} ±1.66	80.28 ^{ab,B} ±1.56	75.29 ^{abc,C} ±3.21
4	57.84 ^{d,D} ±3.84	91.28 ^{abc,A} ±0.52	91.64 ^{a,A} ±0.41	91.13 ^{ab,A} ±0.10	76.32 ^{bc,B} ±0.72	75.44 ^{bc,B} ±2.18	66.79 ^{c,C} ±0.72
5	66.35 ^{c,C} ±5.29	91.35 ^{abc,A} ±0.21	93.70 ^{a,A} ±1.04	91.50 ^{ab,A} ±0.21	76.98 ^{bc,B} ±2.03	77.64 ^{bc,B} ±0.52	67.38 ^{bc,C} ±8.40
6	79.76 ^{a,C} ±1.24	92.45 ^{ab,A} ±0.93	88.20 ^{a,A} ±0.31	92.60 ^{a,A} ±0.52	82.18 ^{a,B,C} ±2.80	85.78 ^{a,B} ±2.28	79.26 ^{a,C} ±2.38
7	69.65 ^{bc,C} ±2.49	93.99 ^{a,A} ±0.41	92.60 ^{a,A} ±0.52	92.01 ^{ab,A} ±2.18	76.69 ^{bc,B} ±0.21	78.96 ^{b,B} ±2.18	78.59 ^{ab,B} ±1.87

หมายเหตุ: อักษรภาษาอังกฤษ ABC... ที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงถึงค่าเฉลี่ยที่ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) ภายในระยะเวลาการเก็บเดียวกัน

อักษรภาษาอังกฤษ abc... ที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) ในตัวอย่างชนิดเดียวกัน

พบว่าชนิด ความเข้มข้น และระยะเวลาในการเก็บรักษามีอิทธิพลต่อคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) พบว่าตัวอย่างสารสกัดที่เติมเพคตินมีแนวโน้มของค่า %inhibition สูงขึ้น หลังเก็บรักษาเป็นเวลา 7 สัปดาห์ ซึ่งเพคตินที่ความเข้มข้น 1% ให้ค่าสูงสุด ตามด้วยความเข้มข้น 1.5% และ 2% ตามลำดับ แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) โดยค่า %inhibition ที่มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น แสดงถึงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่เพิ่มขึ้น อาจเป็นผลเนื่องจากเพคติน

สามารถออกฤทธิ์ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ขึ้นอยู่กับโครงสร้างของเพคติน และมีแนวโน้มว่าฤทธิ์ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของเพคติน จะทำงานได้ดีในความหนืดที่ไม่สูงมาก Ro et al. (2013) และจากงานวิจัยของ Nicoli et al. (1999) และ Saenz et al. (2009) ได้กล่าวถึงฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่เพิ่มขึ้น อาจเป็นเพราะสารประกอบใหม่ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาต่าง ๆ หรือการก่อตัวของสารโพลีฟีนอล ซึ่งมีฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในระหว่างการเก็บรักษา


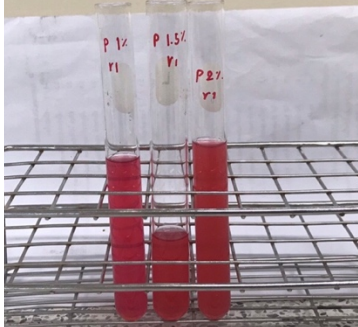
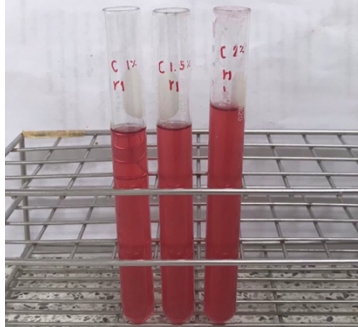

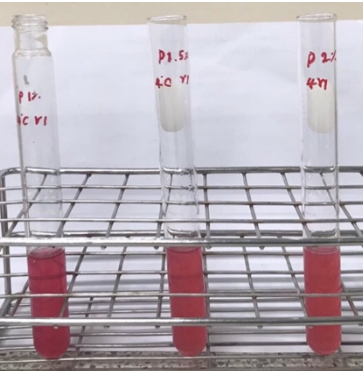
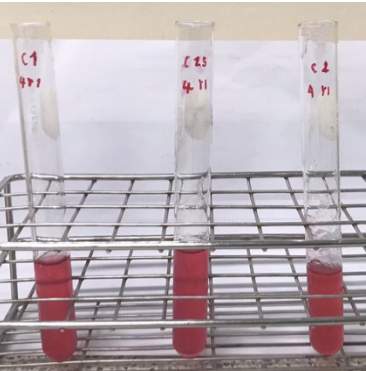

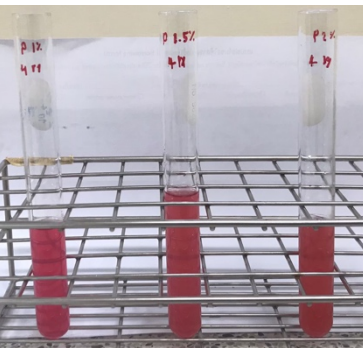
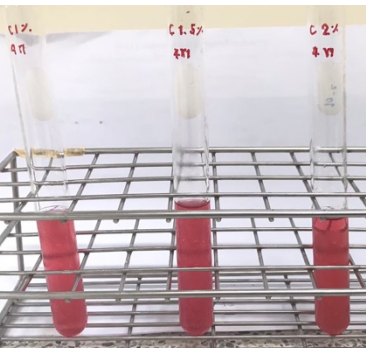

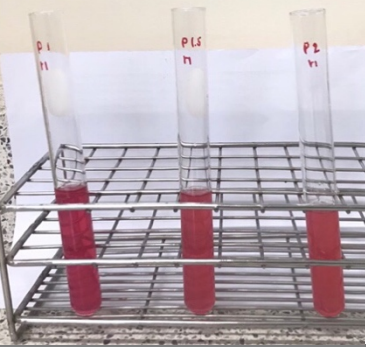
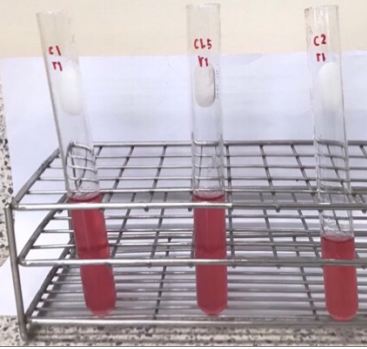



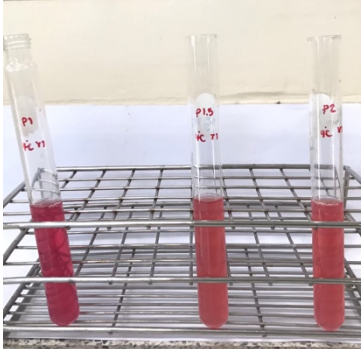
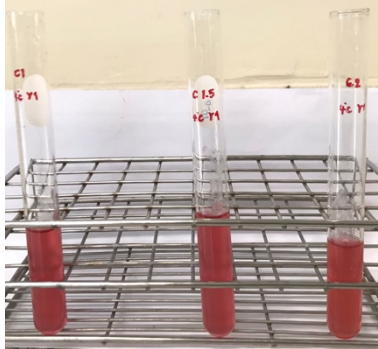

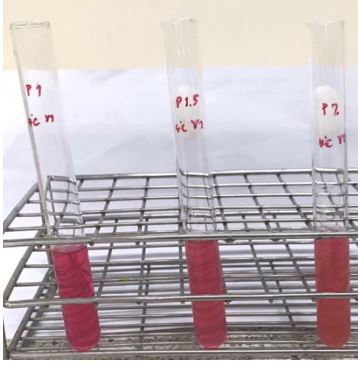
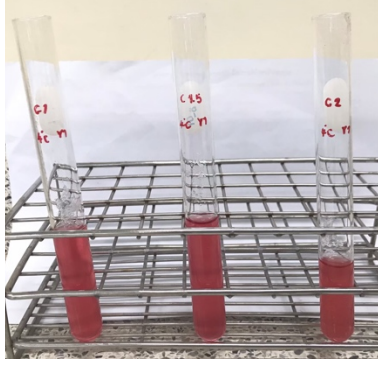

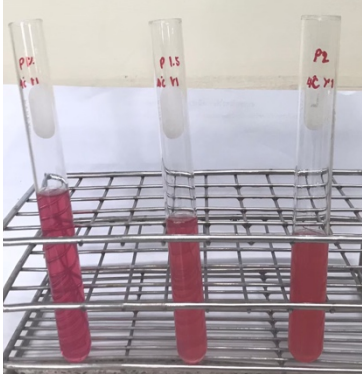
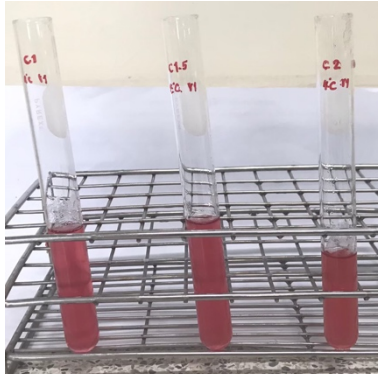

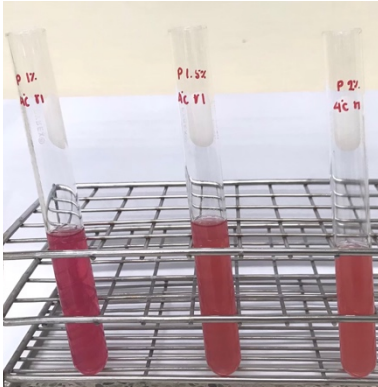
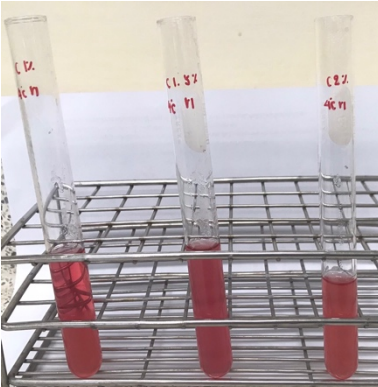
ภาพที่ 13 กราฟแสดง % Inhibition ของสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกร เปรียบเทียบระหว่างตัวอย่างที่เติมเพคติน (P), ตัวอย่างที่เติมคาร์ราจีแนน (C) และตัวอย่างควบคุม (Control) ในช่วงการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 สัปดาห์

ในส่วน of ตัวอย่างควบคุม และตัวอย่างสารสกัดที่เติมคาร์ราจีแนน พบว่าตัวอย่างทั้งสองชนิดมีแนวโน้มของค่า %inhibition ไม่ชัดเจน ซึ่งอาจเกิดจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน หรือเกิดการรวมตัวระหว่างสารสีกับสารประกอบฟีนอลิกอื่นๆ ทำให้ค่าที่ได้ไม่คงที่ Reque et al. (2014) นอกจากนี้จะเห็นว่า %inhibition ของทั้งสองตัวอย่างมีค่าค่อนข้างใกล้เคียงกัน ซึ่งอาจเป็นผลจากสถานะที่ใช้ในการเก็บรักษาตัวอย่าง เก็บที่อุณหภูมิต่ำ ในที่มีด ทำให้สารเบตาไซยานินซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระนั้นค่อนข้างเสถียร จึงยังสามารถรักษาความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระไว้ได้

4.4 การเปลี่ยนแปลงของสีของตัวอย่างระหว่างเก็บรักษา

ตารางที่ 9 ตัวอย่างสารสกัดเบตาไซยานินจากเปลือกแก้วมังกร ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 สัปดาห์

Week	Control	Pectin	Carageenan
0			
1			
2			
3			

Week	Control	Pectin	Carageenan
4			
5			
6			
7			

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากการทดสอบเสถียรภาพของสารเบตาไซยานินจากเปลือกแก้วมังกรที่เติมสารไฮโดรคอลลอยด์ระหว่างการเก็บรักษาในที่มีด อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 สัปดาห์ เป็นไปตามวัตถุประสงค์ที่กำหนดไว้ คือ สารสกัดเบตาไซยานินที่เติมเพคตินสามารถรักษาเสถียรภาพของสารเบตาไซยานินได้ดี เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม และตัวอย่างที่เติมคาร์ราจีแนน โดยมีปริมาณสารเบตาไซยานินคงเหลือมากที่สุด มีค่าครึ่งชีวิตที่สูง มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและมีฤทธิ์ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดซึ่งมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นในระหว่างการเก็บรักษา

นอกจากนี้ที่สารสกัดเบตาไซยานินจากเปลือกแก้วมังกรที่เติมเพคตินที่ความเข้มข้น 1% สามารถรักษาเสถียรภาพของสารเบตาไซยานินได้ดีที่สุด เมื่อพิจารณาจากปริมาณสารเบตาไซยานินคงเหลือหลังผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 7 สัปดาห์ มีค่าเป็น 1.36 ± 0.07 mg/100ml และมีค่าครึ่งชีวิตสูง 17.64 ± 2.37 วัน รวมถึงสามารถรักษาคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ดี โดยมี %inhibition สูงที่สุดเท่ากับ $93.99 \pm 0.41\%$

จากงานวิจัยนี้ยังไม่มีการศึกษาเกี่ยวกับการนำสารสกัดไปประยุกต์ใช้เป็นสารแต่งสีจากธรรมชาติในผลิตภัณฑ์อาหารที่มีไฮโดรคอลลอยด์เป็นส่วนประกอบ รวมถึงปัจจัยอื่นๆที่อาจส่งผลกระทบต่อเสถียรภาพของสารเบตาไซยานินที่เติมสารไฮโดรคอลลอยด์ เช่น ค่า a_w หรือผลของอุณหภูมิในระดับการพาสเจอร์ไรส์ และอาจทำการศึกษาการเติม food additive อื่นๆนอกเหนือจากการวิจัยต่อเสถียรภาพของสารเบตาไซยานินเพิ่มเติมต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- กฤติยา ไชยนอก. (2559). แก้วมังกร. จุลสารข้อมูลสมุนไพร 33(4).
<https://pharmacy.mahidol.ac.th/th/knowledge/article/366/แก้วมังกร/>
- ดุษฐ์ อุดภาพ. (ม.ป.ป.). สมบัติทางเคมีของคาร์โบไฮเดรต-ไฮโดรคอลลอยด์ และการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม. [ออนไลน์]. สืบค้นจาก
<https://eu.lib.kmutt.ac.th/elearning/Courseware/BCT611/chapter4.html>. [9 เมษายน 2563]
- ทัตดาว ภาษีผล. (2557). ปีตาเลน: การสกัดและการวิเคราะห์. ว.วิทย. มข. 42(4): 718-729.
http://scijournal.kku.ac.th/files/Vol_42_No_4_P_718-729.pdf
- พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนานพนธ์. (ม.ป.ป.). เพคติน (Pectin). [ออนไลน์]. สืบค้นจาก
<http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0430/pectin-เพคติน>. [2 กันยายน 2563]
- วรานนท์ ทองอินลา, ชลธิชา วรณวิมลรักษ์ และภารดี ช่วยบำรุง. (2557). ความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผลไม้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี DMPD กับปริมาณฟีนอลิก วิตามินซี วิตามินอี และเบต้าแคโรทีน. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา. 19(2): 94-104.
- สายสมร พูลพันธ์. (2547). ผลของสารที่ทำให้เกิดเจลต่อคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มเยลลี่รสสมผสม สตรอว์เบอร์รี่ (วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยศิลปากร.
- สุชาดา มานอก และปวีณา ลิ้มเจริญ. (2558). การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดสมุนไพรในตำรับยาหอมเทพจิตร. ก้าวทันโลกวิทยาศาสตร์. 15(1): 106-117.
<http://sci.bsru.ac.th/sciweb/e-magazine/15-1/chapter-10.pdf>
- Aguirre Calvo, T.R., Perullini, M. and Santagapita, P.R. (2018). Encapsulation of betacyanins and polyphenols extracted from leaves and stems of beetroot in Ca(II)-alginate beads: structural study. *Journal of Food Engineering*. 235: 32-40.
 doi: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.04.015>
- Aguirre Calvo, T.R., Santagapita, P.R. and Perullini, M. (2019). Functional and structural effects of hydrocolloids on Ca(II)-alginate beads T containing bioactive compounds extracted from beetroot. *LWT-Food Science and Technology*. 111: 520–526.
 doi: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.05.047>
- Allwyn Sundar Raj, A., Rubila, S., Jayabalan, R. and Ranganathan, T.V. (2012). A Review on Pectin: Chemistry due to General Properties of Pectin and its Pharmaceutical Uses. *Open Access Scientific Reports*. 1(12): 1-4. doi:10.4172/scientificreports.550
- Azeredo, H.M.C. (2009). Betalains: properties, sources, applications, and stability – a review. *Inter Journal of Food Science and Technology*. 44(12): 2365-2376.

- doi:<https://www.researchgate.net/deref/http%3A%2F%2Fdx.doi.org%2F10.1111%2Fj.1365-2621.2007.01668.x>
- Bae, S., and Suh, H. (2007). Antioxidant activities of five different mulberry cultivars in Korea. *LWT- Food Science and Technology*. 40: 955-962. doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2006.06.007>
- Benzie, I. F. 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: 70-76. doi:<https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Cai, Y., and Corke, H. (1999). Amaranthus Betacyanin Pigments Applied in Model Food System. *Journal of Food science*. 5(64): 869-873. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1999.tb15930.x>
- Cai, Y., and Corke, H. (2000). Production and Properties of Spray-dried Amaranthus Betacyanin Pigments. *Sensory and Nutritive Qualities of Food*. 6(65): 1248-1252. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb10273.x>
- Cai, Y., and Corke, H. (2001). Effect of postharvest treatment on Amaranthus betacyanin degradation evaluated by visible/near-infrared spectroscopy. *Journal of Food Science*. 66: 1112-1118. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2001.tb16090.x>
- Cai, Y.Z., Sun, M. and Corke, H. (2003). Antioxidant activity of betalains from plants in the Amaranthaceae. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 51(8): 22A88-2294. doi:<https://doi.org/10.1021/jf030045u>
- Cai, Y.Z., Sun, M. and Corke, H. (2005). Characterization and application of betalain pigments from plants of the Amaranthaceae. *Trends in Food Sci Tech*. 16(9): 370-376. doi:<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2005.03.020>
- Esquivel, P., Stintzing, F. C., and Carle, R. (2007). Pigment pattern and expression of colour in fruits from different *Hylocereus* sp. genotypes. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 8: 451-457. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ifset.2007.03.022>
- Fathordoobady, F., Manap, M. Y., Selamat, J. and Singh, A. P. (2019). Development of supercritical fluid extraction for the recovery of betacyanins from red pitaya fruit (*Hylocereus polyrhizus*) peel: a source of natural red pigment with potential antioxidant properties. *International Food Research Journal* 26(3): 1023-1034.

- Fathordoobady, F., Mirhosseini, H., Selamat, J. and Manap, M. Y. (2016). Effect of solvent type and ratio on betacyanins and antioxidant activity of extracts from *Hylocereus polyrhizus* flesh and peel by supercritical fluid extraction and solvent extraction. *Food Chemistry*. 202: 70-80. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.121>
- Gengatharan, A., Dykes, G.A., Choo, W.S. (2016). Stability of betacyanin from red pitahaya (*Hylocereus polyrhizus*) and its potential application as a natural colourant in milk. *International Journal of Food Science and Technology*. 51: 427-434. doi: 10.1111/ijfs.12999
- Guo, Q., Zhang, Z., Dadmohammadi, Y., Li, Y. and Abbasspourrad, A. (2020). Synergistical Effects of Ascorbic Acid, Low Methoxy Pectin, and EDTA on Stabilizing the Natural Red Colors in Acidified Beverages. (Master of Professional Studies in Agriculture and Life Sciences, Cornell University).
- Herbach, K. M., Stintzing, F. C. and Carle, R. (2004). Thermal degradation of betacyanins in juice from purple pitaya (*Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose) monitored by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometric analyses. *European Food Research Technology*. 219(4): 377-385. doi:10.1007/s00217-004-0948-8
- Herbach, K.M., Stintzing, F.C. and Carle, R. (2006). Betalain Stability and Degradation Structural and Chromatic Aspects. *Journal of Food Science*. 4(71): 41-50. doi:10.1111/j.1750-3841.2006.00022.x
- Huang, D., Ou, B., & Prior, R.L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53(6): 1841-1856. doi:<https://doi.org/10.1021/jf030723c>
- Karangutkar, A.V., and Ananthanarayan L. (2020). Co-crystallization of *Basella rubra* extract with sucrose: Characterization of co-crystals and evaluating the storage stability of betacyanin pigment. *Journal of Food Engineering*. 271: 1-12. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.109776>
- Kassama, L. S., Shi, J. and Mittal, G. S. (2008). Optimization of supercritical fluid extraction of lycopene from tomato skin with central composite rotatable design model. *Separation and Purification Technology*. 60(3): 278-284. doi:<https://doi.org/10.1016/j.seppur.2007.09.005>
- Kim, J.H., Lee, H.J., Park, Y., Ra, K.S., Shin, K.S., Yu, K.W., and Suh, H.J. (2013). Mucilage removal from cactu cladodes (*Opuntia humifusa* Raf.) by enzymatic traetment to improve extraction efficiency and radical scavenging activity. *LWT-Food Science and Technology*. 51: 337-342. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2012.10.009>

- Kumkom, S., Prakitchaiwattana, C., and Puangpraphant, S. (2018). Effect of ethanol/water extraction ratio on betacyanin content of red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) peel and inhibition of the extract against pathogenic bacteria. The 20th Food Innovation Asia Conference 2018 (FIAC 2018). 381-388.
- Kunnika, S. and Pranee, A. (2011). Influence of enzyme treatment on bioactive compounds and colour stability of betacyanin on flesh and peel of red dragon fruit *Hylocereus polyrhizus* (Webber) Britton and Rose. *International Food Research Journal*. 18(4): 1437-1448. doi:[http://www.ifrj.upm.edu.my/18%20\(04\)%202011/\(33\)IFRJ-2011-077.pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/18%20(04)%202011/(33)IFRJ-2011-077.pdf)
- Leong, H.Y., Ooi, C.W., Law, C.L., Julkifle, A.L., Pan, G.T. and Show, P.L. (2018). Investigation of betacyanins stability from peel and flesh of red-purple pitaya with food additives supplementation and pH treatments. *LWT-Food Science and Technology*. 98:546-558. doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.09.021>.
- Leong, H.Y., Ooi, C.W., Law, C.L., Julkifle, A.L., Ling, T.C. and Show, P.L. (2018). Application of liquid biphasic flotation for betacyanins extraction from peel and flesh of *Hylocereus polyrhizus* and antioxidant activity evaluation. *Journal of Separation and Purification Technology*. 201: 156-166. doi: <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2018.03.008>.
- Lim, Y.Y., Lim, T.T., and Tee, J.J. (2007). Antioxidant properties of several tropical fruits: a comparative study. *Food Chemistry*. 103(3): 1003-1008. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.08.038>
- Maier, T., Fromm, M., Schieber, A., Kammerer, D.R. and Carle R. (2009). Process and storage stability of anthocyanins and non-anthocyanin phenolics in pectin and gelatin gels enriched with grape pomace extracts. *Eur Food Res Technol*. 229: 949-960. doi: 10.1007/s00217-009-1134-9
- Marchuk, M., Selig, M.J., Celli, G.B., Lawrence, P., Smilgies, D.M., and Abbaspourrad A. (2019). Mechanistic investigation via QCM-D into the color stability imparted to betacyanins by the presence of food grade anionic polysaccharides. *Food hydrocolloids*. 93: 226-234. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.01.057>
- Nicoli, M.C., Anese, M. and Parpinel, M., 1999, Influence of processing on the antioxidant properties of fruit and vegetables. *Trends Food Sci Technol*, 10: 94–100. doi: [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(99\)00023-0](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(99)00023-0)
- Nilsson, T. (1970). Studies into the pigments in beetroot (*Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris* var. *rubra* L.). *Lantbrukshogskolans Annaler*. 36: 179–219

- Pedreno, M. and Escribano, J. (2001). Correlation between antiradical activity and stability of betanine from *Beta vulgaris* L roots under different pH, temperature and light condition. *Journal of Science of Food and Agriculture* 81: 627-631.
doi:<https://doi.org/10.1002/jsfa.851>
- Phillips, G.O. and Williams, P.A. (2000). *Handbook of hydrocolloids*. New York. CRC press. pp. 87-213.
- Poiana, M.A., Munteanu, M.F., Borden, D.M., Gligor, R. and Alexa, E. (2013). Assessing the effects of different pectins addition on color quality and antioxidant properties of blackberry jam. *Journal of chemistry central*. 7:121.
doi: <http://journal.chemistrycentral.com/content/7/1/121>
- Proteggente, A.R., Pannala, A.S., Paganga, G., Buren, L.V., Wagner, E., Wiseman, S., Van de Put, E. (2002). The antioxidant activity of regularly consumed fruit and vegetables reflects their phenolic and vitamin C composition. *Free Radicals Research*. 36(2): 217-233.
doi:<https://doi.org/10.1080/10715760290006484>
- Puangpraphant, S., Chantasuwanno, C., Rinthapol, N. and Heinchasri, P. (2017). Influence of pectin and rebaudioside A on the stability of anthocyanins and antioxidant activity of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) juice. *Acta Horti*. 1179, 277-284.
doi:10.17660/ActaHort.2017.1179.43
- Quina, F.H. and Bastos, E.L. (2017). Chemistry Inspired by the Colors of Fruits, Flowers and Wine. *Journal of Anais da Academia Brasileira de Ciências*. 90(1 Suppl. 1): 681-695
doi: <http://dx.doi.org/10.1590/0001-3765201820170492>
- Ravichandran, K., Ravichandran, P., Saw, N.M.M.T., Gabr, A.M.N., Ahmed, A.R., Knorr, D. and Smetanska, I. (2014). Effect of different encapsulation agents and drying process on stability of betalains extract. *Journal of Food Science and Technology*. 51(9): 2216-2221. doi:10.1007/s13197-012-0728-6
- Reque, P.M., Steffens, R.S., Jablonski, A., Flores, S.H., Rios, A.O., and de Jong, E.V. (2014). Cold storage of blueberry (*Vaccinium* spp.) fruits and juice: anthocyanin stability and antioxidant activity. *J. Food Compos. Anal.* 33 (1),111– 116
<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2013.11.007>
- Réblová, Z. (2012). Effect of temperature on the antioxidant activity of phenolic acids. *Czech Journal Food Science*. 30: 171–177. Doi: <https://doi.org/10.17221/57/2011-CJFS>

- Rees, R.A. (1969). Structure Conformation and Mechanism in the Formation of Polysaccharide Gels and Networks. edited by Wolfrom, M.L., Tipson, R.S. and Horton, D. New York. Academic Press. pp. 104-148.
- Ro, J., Kim, Y., Kim, H., Jang, S.B., Lee, H.J., Chakma, S., Jeong, J.H. and Lee, J. (2013). Anti-oxidative activity of pectin and its stabilizing effect on retinyl palmitate. *Korean J. Physiol. Pharmacol.* 17: 197–201. doi: <https://dx.doi.org/10.4196%2Fkjpp.2013.17.3.197>
- Saenz, C., Tapia, S., Chavez, J. and Robert, P. (2009). Microencapsulation by spray drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*). *Food Chem.* 114: 616–622. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.095>
- Stintzing, F.C. and Carle, R. (2004). Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. *Trends in Food Sci Tech.* 15(1): 19-38. doi:<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2003.07.004>
- Stintzing, F.C., Schieber, A., and Carle, R. (2002). Betacyanins in fruits from red-purple pitaya, *Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton and Rose. *Journal of Food Chemistry.* 77: 101-106. doi:[https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00374-0](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00374-0)
- Strack, D., Vogt, T. and Schliemann, W. (2003). Recent advances in betalain research. *Journal of Phytochem.* 62(3): 247-269. doi:[https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(02\)00564-2](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(02)00564-2)
- Tang, C.S. and Norziah, M.H. (2007). Stability of Betacyanin Pigment from Red Purple Pitaya Fruit (*Hylocereus polyrhizus*): Influence of pH, Temperature, Metal Ions and Ascorbic Acid. *Indonesian Journal of Chemistry.* 7(3): 327-331. doi:<http://doi.org/10.22146/ijc.21678>
- Thomus, W.R. (1992). "Carrageenan," in *Thickening and Gelling Agents for Foods*. Edited by Imeson, A., London, Blackie Academic & Professional, pp. 25-39.
- Vernhet, A., Pellerin, P., Prieur, C., Oszmianski, J., and Moutounet, M. (1996). Charge properties of some grape and wine polysaccharide and polyphenolic fractions. *American Journal of Enology and Viticulture.* 47: 25-30.
- Woo, K.K., Ngou, F.H., Ngo, L.S., Soong, W.K. and Tang, P.Y. (2011). Stability of Betalain Pigment from Red Dragon Fruit (*Hylocereus polyrhizus*). *American Journal of Food Technology.* 6(2): 140-148. doi:10.3923/aift.2011.140.148

Wu. L., Hsu. H., Chen, Y., Chiu, C., Lin, Y. and Ho. A. (2006). Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya. *Journal of Food Chemistry*. 95(2): 319-327.

doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.01.002>

Xie, C., Wang, Q., Ying, R., Wang, Y., Wang, Z. and Huang, M. (2020). Binding a chondroitin sulfate-based nanocomplex with kappa-carragenan to enhance the stability of anthocyanins. *Journal of Food Hydrocolloids*. 100: 105448.

doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105448>

ภาคผนวก ก
การวิเคราะห์ค่าทางเคมี

1. การคำนวณปริมาณสารเบตาไซยานิน (Betacyanin content)

$$\text{จากสมการ Betacyanin Content (มิลลิกรัม/ 100 มิลลิลิตร)} = \frac{A \times MW \times V \times DF \times 100}{\epsilon L}$$

ในตัวอย่างควบคุมที่สัปดาห์ที่ 0 วัดค่า absorbance ได้เป็น 0.566 จะมี

$$\begin{aligned} \text{Betacyanin Content (มิลลิกรัม/ 100 มิลลิลิตร)} &= \frac{0.566 \times 550 \times 1.5 \times 2 \times 100}{65000 \times 1} \\ &= 1.45 \text{ mg/100ml} \end{aligned}$$

2. การวิเคราะห์จลนพลศาสตร์ของการสลายตัวของเบตาไซยานิน

$$\text{จากสมการ} \quad \left(\frac{C_t}{C_0}\right) \times 100$$

จะได้ค่า betacyanin retention โดยที่ตัวอย่างควบคุมในสัปดาห์ที่ 0 มีค่า betacyanin retention

$$\text{เป็น} \quad \left(\frac{1.45}{1.45}\right) \times 100 = 100\%$$

และเมื่อนำไปพลอตกราฟระหว่าง $\ln(\% \text{ retention})$ กับเวลาในการเก็บรักษา จะสามารถหาอัตราการลดลงของเบตาไซยานิน ได้จากความชันของกราฟ

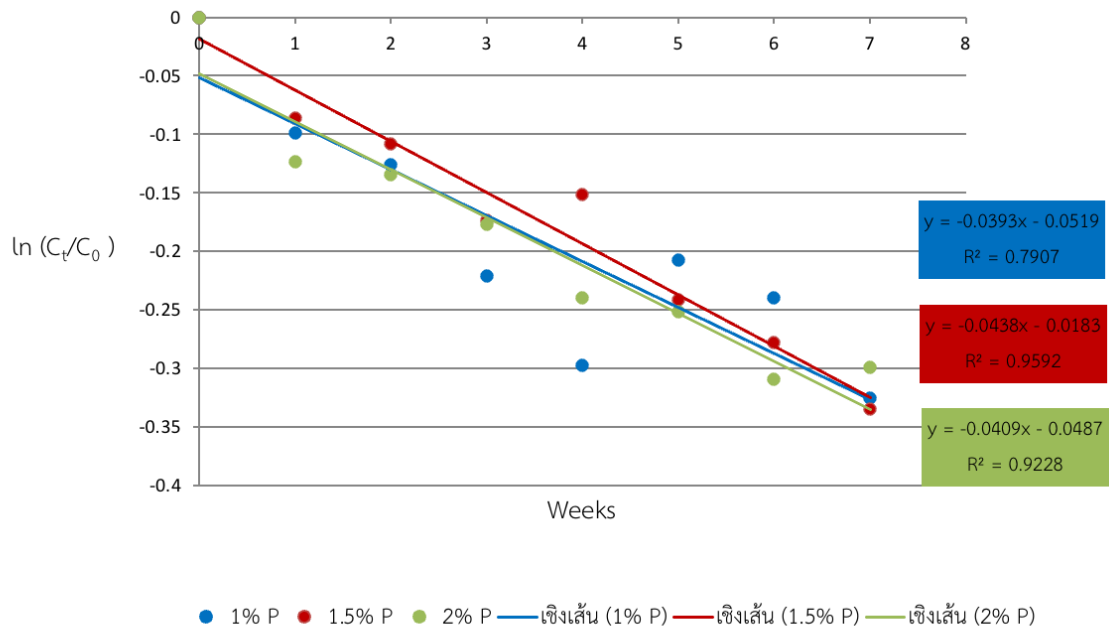
$$\text{จากสมการ} \quad \ln\left(\frac{C_t}{C_0}\right) = -kt$$

โดย C_0 คือ betacyanin content (BC) เริ่มต้น

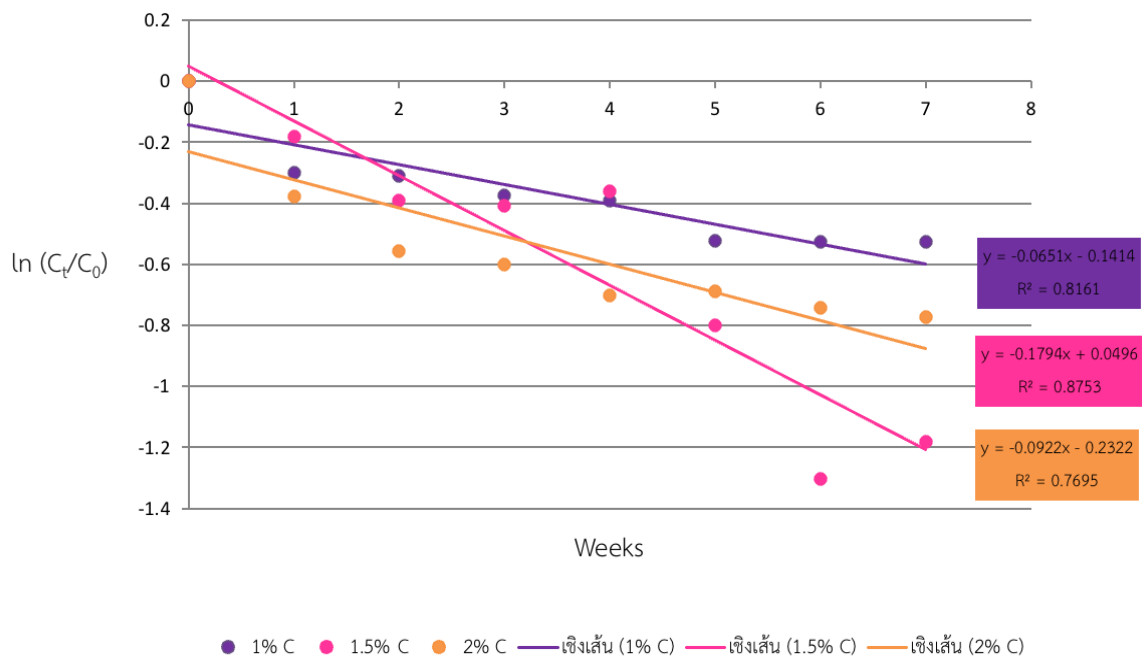
C_t คือ betacyanin content (BC) หลังจากผ่านการเก็บรักษาไปเป็นเวลา t

k คือ ค่าคงที่อัตราการลดลง

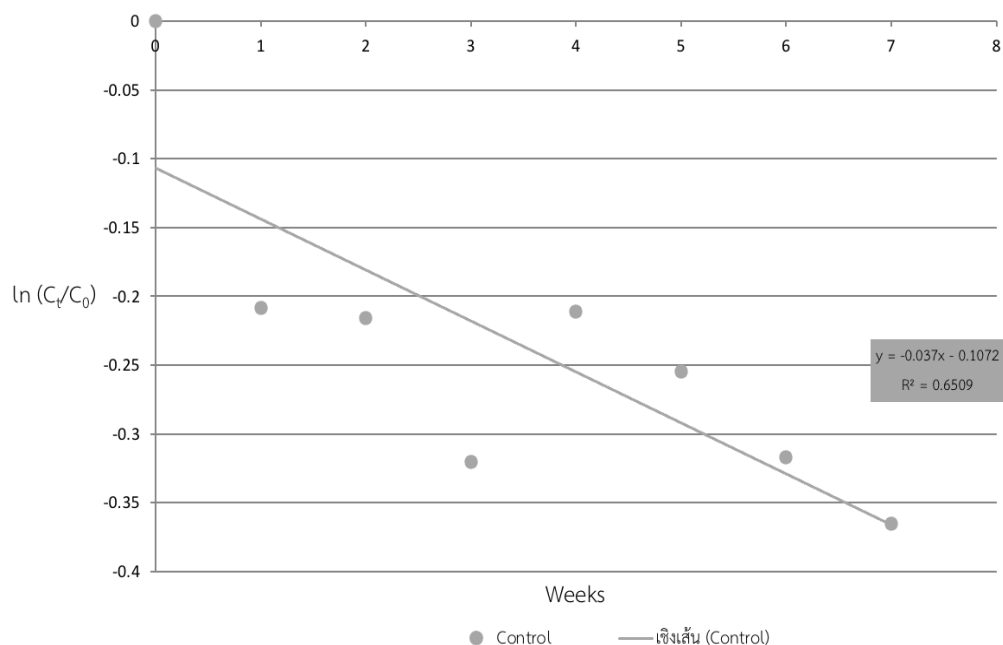
t คือ ระยะเวลาในการเก็บรักษา



ภาพที่14 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln\left(\frac{C_t}{C_0}\right)$ กับระยะเวลาในการเก็บรักษาของของสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกร ในสารละลายเพคตินที่ความเข้มข้นต่างกัน ในช่วงการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 สัปดาห์



ภาพที่15 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln\left(\frac{C_t}{C_0}\right)$ กับระยะเวลาในการเก็บรักษาของของสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกร ในสารละลายคาร์ราจีแนนที่ความเข้มข้นต่างกัน ในช่วงการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 สัปดาห์



ภาพที่16 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln\left(\frac{C_t}{C_0}\right)$ กับระยะเวลาในการเก็บรักษาของของสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกร ในตัวอย่างควบคุม (Control) ในช่วงการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 สัปดาห์

จากภาพที่16 ตัวอย่างควบคุมมี $k = 0.037$

$$\text{คำนวณค่า } t_{1/2} \text{ จากสมการ } t_{1/2} = \frac{\ln(2)}{k}$$

$$\text{โดยตัวอย่างควบคุมมีค่า } t_{1/2} = \frac{\ln(2)}{0.037} = 18.73 \text{ วัน}$$

3. การคำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content)

ในตัวอย่างควบคุมที่สัปดาห์ที่ 0 วัดค่า absorbance ได้เป็น 0.479 จากการเจือจาง 2 เท่า
นำไปเทียบกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก $y = 2.3696x - 0.0548$

$$\text{จะได้ค่าความเข้มข้นของ TPC เมื่อเทียบกับกรดแกลลิก} = \left(\frac{0.479 - 0.0548}{2.3696}\right) \times 2$$

$$= 0.45054 \text{ mM gallic acid}$$

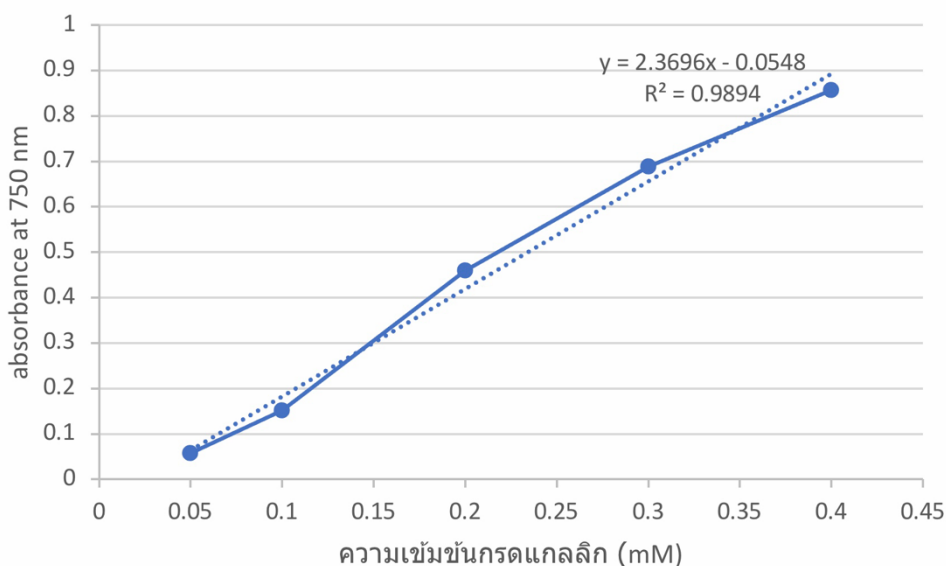
นำมาเทียบเพื่อรายงานผลเป็นต่อ g dry sample extract

จากการเตรียมตัวอย่าง 80 ml มีสารสกัดแห้ง 0.32 g

นำตัวอย่างมา 0.4ml มีสารสกัดแห้ง 0.0016 g

ในสารสกัดแห้ง 0.0016 g มีปริมาณ TPC เป็น 0.45054 mM gallic acid

ในสารสกัดแห้ง 1 g มีปริมาณ TPC เป็น 281.59 mM gallic acid/ g dry sample extract



ภาพที่17 แสดงกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก ที่ความยาวคลื่น 750 nm

4. การคำนวณความสามารถในการออกฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH radical scavenging

จากสมการ% Inhibition = $[1 - (A_{\text{sample}}/A_{\text{control}})] \times 100$

ในตัวอย่างควบคุมที่สัปดาห์ที่ 0 วัดค่า absorbance ได้เป็น 0.194 จะมี

$$\begin{aligned} \% \text{inhibition} &= \left[1 - \left(\frac{0.194}{0.682} \right) \right] \times 100 \\ &= 71.55\% \end{aligned}$$

5. การคำนวณความสามารถในการออกฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี FRAP

ในตัวอย่างเปลือกอบแห้งที่อบเป็นเวลา 48 ชั่วโมง วัดค่า absorbance ได้เป็น 0.246 จากการเจือจาง 10 เท่า

นำไปเทียบกราฟมาตรฐาน FeSO_4 $y = 1.9085x - 0.0052$

จะได้ค่าความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเทียบกับความสามารถของ FeSO_4

$$\text{ตามสมการ} = \left(\frac{0.246 - 0.0052}{1.9085} \right) \times 10$$

$$= 0.31622 \text{ mM gallic acid}$$

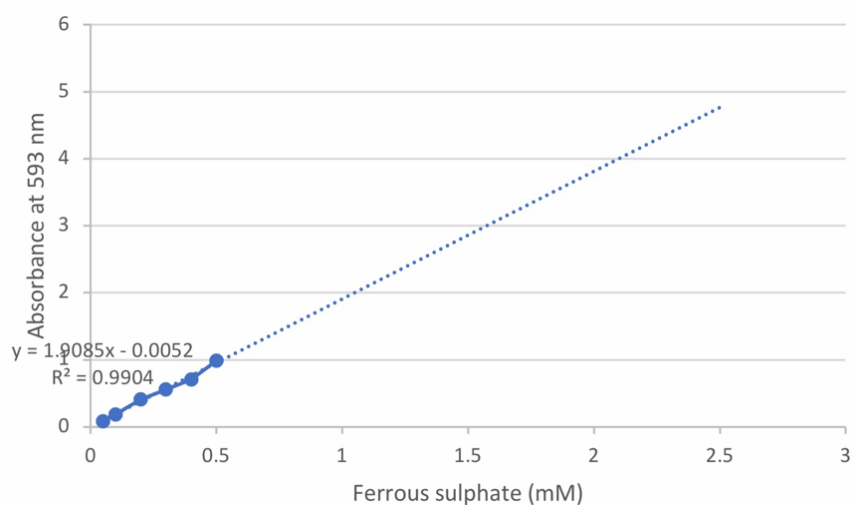
นำมาเทียบเพื่อรายงานผลเป็นต่อ g dry sample

จากสารละลายตัวอย่าง 110 ml มีเปลือกอบแห้ง 15 g

นำสารละลายตัวอย่างมา 1 ml มีเปลือกอบแห้ง 0.136 g

ในเปลือกอบแห้ง 0.136 g สามารถออกฤทธิ์ได้ 0.31622 mM FeSO₄

ในเปลือกอบแห้ง 1 g สามารถออกฤทธิ์ได้ 193.04 mM FeSO₄/g dry sample



ภาพที่18 แสดงกราฟมาตรฐานในการออกฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระของ FeSO₄

ภาคผนวก ข
เอกสาร project proposal

โครงการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์
ปีงบประมาณ 2562
ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์

ชื่อโครงการ เสถียรภาพ ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และการประยุกต์ใช้เป็นสารแต่งสีของเบตาไซยานินจากเปลือกแก้วมังกร
Stability, antioxidant capacity and application as colorant of betacyanin from dragon fruit peel

ชื่อนิติกรร่วมโครงการ

1. น.ส.ชนันฎา พุทธิรักษา	6032510723
2. นาย ชยบดีณก์ ไพบูลย์	6032511323
3. น.ส.พัทธมน วุฒินรากร	6032543423

อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ อ.ดร. ศิริมา พวงประพันธ์

มูลเหตุจูงใจในการเสนอโครงการ

สีเป็นปัจจัยแรกที่มีผลต่อประสาทสัมผัสของผู้บริโภค ช่วยเพิ่มความดึงดูดใจในผลิตภัณฑ์อาหาร ทำให้มีการผสมสีลงไปในอาหารต่างๆ โดยสีที่ใช้ผสมอาหาร แบ่งเป็น 2 ประเภทคือ สีธรรมชาติ และสีสังเคราะห์ แต่การรับประทานสีสังเคราะห์นั้นนอกจากจะไม่มีคุณค่าทางโภชนาการ ยังก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภคได้ หากรับประทานในปริมาณมากเกินไป จึงทำให้ความต้องการใช้สีจากธรรมชาติมีมากขึ้น

แก้วมังกร เป็นผลผลิตทางการเกษตรที่มีการบริโภคอย่างแพร่หลายในประเทศไทย และในปัจจุบันได้มีงานวิจัยเกี่ยวกับแก้วมังกรมากขึ้น พบว่าในเปลือกของแก้วมังกรอุดมไปด้วยสารเบตาไซยานินซึ่งเป็นสารสีแดง เหมาะแก่การนำมาทำเป็นสีผสมอาหาร ทั้งยังมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพสูง ช่วยชะลอความแก่และริ้วรอยต่างๆ รวมถึงชะลอการเสื่อมสภาพของเซลล์สมอง แต่เนื่องจากส่วนเปลือกของแก้วมังกรมีรสชาติที่ไม่เป็นที่ยอมรับของคนทั่วไป และเบตาไซยานินเป็นสารที่ไม่เสถียรต่อ ความร้อน กรด แสงและออกซิเจน อีกทั้งการศึกษาการนำสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรมาประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารยังมีน้อย ดังนั้นวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ คือการเพิ่มเสถียรภาพของสารสกัดเบตาไซยานินจากเปลือกแก้วมังกร โดยใช้สารเพิ่มความคงตัวที่สามารถทำให้เกิดเจลได้ จากนั้นนำมาประยุกต์ใช้ในอาหารประเภทเยลลี่

ความเป็นมาและความสำคัญ

แก้วมังกร (Dragon fruit)

แก้วมังกร (*Hylocereus*) อยู่ในวงศ์ Cactaceae เป็นพืชมีต้นกำเนิดจากประเทศเม็กซิโก อเมริกากลาง และอเมริกาใต้ (นิตดา หงส์วิวัฒน์ และทวีทอง หงส์วิวัฒน์, 2550) แก้วมังกรมีศักยภาพในการปลูกเป็นไม้ผลเศรษฐกิจของประเทศไทย เนื่องจากการปลูกดูแลรักษาไม่ยุ่งยาก และยังให้ผลผลิตที่ค่อนข้างคุ้มค่า เนื่องจากสภาพภูมิอากาศของประเทศไทยเหมาะสมกับการเจริญเติบโตของแก้วมังกร (สุทธิศักดิ์ บุญยาคุณานนท์, 2553) โดยส่วนของเนื้อมากกว่ารับประทานสุกแล้วยังสามารถแปรรูปแก้วมังกรเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เช่น แยมแก้วมังกร, ฟรุตสลัดแก้วมังกร, เยลลี่แก้วมังกร เป็นต้น การใช้ประโยชน์จากแก้วมังกรจึงมีเพียงการนำเนื้อจากผลไม้ไปรับประทานสดหรือแปรรูปเป็นอาหารและขนมต่าง ๆ ขณะที่ส่วนเปลือกแก้วมังกรจัดเป็นเศษเหลือทิ้งทางการเกษตรที่มีปริมาณมาก และมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นทุกปี เปลือกแก้วมังกรซึ่งไม่ได้ถูกนำมาใช้ประโยชน์อย่างเต็มที่นั้น สามารถนำมาสกัดทำเป็นสีจากธรรมชาติเพื่อใช้ผสมในอาหารหรือเครื่องสำอาง (นิตดา และทวีทอง, 2550) ในเปลือกแก้วมังกรมีสารสำคัญที่พบหลักๆ ได้แก่ เพคติน (pectin), แคโรทีนอยด์ (carotenoid), คลอโรฟิลล์ (chlorophyll), แอนโทไซยานิน (anthocyanin), โพลีฟีนอล (polyphenol) และเบตาเลน (betalain)

เบตาเลน (Betalain)

เบตาเลน (betalain) เป็นรงควัตถุธรรมชาติที่พบเฉพาะในพืช *Caryophyllales* ได้แก่ บีท (beetroot), หงอนไก่, บานไม่รู้โรย, เฟื่องฟ้า, แก้วมังกร และเห็ด *Amanita* เบตาเลนแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มคือ เบตาไซยานิน (betacyanin) ที่ให้สีในช่วงสีแดงถึงสีม่วงและเบตาแซนทิน (betaxanthin) ที่ให้สีเหลืองส้ม (Stintzing and Carle, 2004) เบตาเลนเป็นอนุพันธ์อิมโมเนียมของกรดเบตาลามิก เบตาไซยานินจะอยู่ในรูปที่มีน้ำตาลมาต่อได้เป็นไกลโคไซด์ (glycoside) ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็น 5-o-glucoside ส่วนเบตาแซนทินจะมีเอมีน หรือกรดอะมิโนมาต่ออยู่ด้วย (Cai et al., 2001) นอกจากนี้จะมีความสามารถในการดูดกลืนแสงได้ดี เบตาเลนยังมีความสามารถในการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดีกว่าแคทเทคิน (catechin) และวิตามินซีอีกด้วย (Kanner et al., 2001) และยังสามารถยับยั้งการแบ่งเซลล์ของเนื้องอกหลายชนิดได้ (Muntha Reddy et al., 2005) รวมถึงการเป็นสารต้านไวรัสและแบคทีเรียอีกด้วย

ปัจจัยต่างๆ เช่น pH อุณหภูมิ และแสง ส่งผลต่อการลดลงของเบตาเลน ในสารสกัดสีจากแก้วมังกรเนื้อแดงในระหว่างการเก็บรักษา (Woo et al., 2011) ดังนั้นจึงมีงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับการเพิ่มความเสถียรของเบตาไซยานิน เช่น การเติมกรดแอสคอร์บิกช่วยเพิ่มเสถียรภาพ และยับยั้งผลเสียอันเนื่องมาจาก pH

อุณหภูมิจึงและโลหะหนักได้ (Tang and Norziah, 2007) การห่อหุ้มสารเบตาเลนด้วยแคลเซียมอัลจิเนตสามารถรักษาปริมาณของเบตาไซยานิน และสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดไว้ได้ประมาณ 15-60% ขึ้นอยู่กับโครงสร้าง รวมถึงการคงความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Aguirre Calvo et al., 2018) การห่อหุ้มสารเบตาเลนด้วยแซนแทนกัมร่วมกับมอลโทเดกซ์ทริน สามารถรักษาปริมาณของเบตาเลนได้ถึง 65% (Ravichandran et al., 2012) จากงานวิจัยที่กล่าวมาข้างต้นมีการใช้สารไฮโดรคอลลอยด์เพื่อเพิ่มความเสถียรของสารเบตาไซยานิน และเบตาเลน ดังนั้นผู้จัดทำจึงมีความประสงค์ที่จะศึกษาการเพิ่มเสถียรภาพของเบตาไซยานินด้วยสารเพิ่มความคงตัว (สารไฮโดรคอลลอยด์) ประเภทอื่นที่ขึ้นเจลได้ เช่น คาร์ราจีแนน และเพคติน

สารเพิ่มความคงตัว (Stabilizing agent หรือ Stabilizer)

สารที่ใช้เป็นวัตถุเจือปนอาหาร (food additive) เพื่อวัตถุประสงค์ทำให้อาหารมีความคงตัว เช่น ป้องกันการแยกชั้นของเหลว ป้องกันการสูญเสียกลิ่นรส (flavor) คุณค่าทางโภชนาการ (พืชมัพีเพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนาปนนท์) ซึ่งสารให้ความคงตัวที่สามารถทำให้เกิดเจลมีตัวอย่างดังนี้

คาร์ราจีแนน (Carrageenan)

เป็นสารที่สกัดได้จากสาหร่ายทะเลสีแดง (Rhodophyceae) ซึ่งชนิดที่ใช้ผลิตทางการค้า ได้แก่ *Euchema cottonii* และ *E. spinosum* มีโครงสร้างหลักเป็นกาแลคโตสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก และเป็นซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ ซึ่งคาร์ราจีแนนยังแบ่งเป็นกลุ่มย่อยอีกหลายชนิด ตามจำนวน และตำแหน่งของกลุ่มเอสเทอร์ซัลเฟต และจำนวน 3,6 anhydro-D-galactose (3,6-AG) ได้แก่ แคปปา (Kappa), ไอโอตา (Iota) และแลมบ์ดา (Lambda) ซึ่งคาร์ราจีแนนทุกชนิดละลายได้ในน้ำร้อน ถ้าเป็นเกลือโซเดียมของคาร์ราจีแนนชนิดแคปปา และไอโอตา จะสามารถละลายได้ในน้ำเย็น ซึ่งอุณหภูมิที่ใช้ในการละลายขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของคาร์ราจีแนน และอออนที่เกี่ยวข้อง ส่วนใหญ่คาร์ราจีแนนชนิดแคปปา และไอโอตา ต้องใช้อุณหภูมิในการละลายมากกว่า 70 องศาเซลเซียส นอกจากนี้คาร์ราจีแนนทุกชนิดจะไม่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ แต่สามารถละลายใน water miscible solvent เช่น แอลกอฮอล์ และโพรพิลีน ไกลคอล

โดยมีงานวิจัยพบว่า ผลของการเติมคาร์ราจีแนน สามารถเพิ่มความคงตัวของสีของเบตาไซยานิน โดยการเติมคาร์ราจีแนน ซึ่งเป็นสารไฮโดรคอลลอยด์ นำไปสู่ความสัมพันธ์ของหมู่คาร์บอกซิลิกของคอลลอยด์กับเบตาไซยานิน โดยจะช่วยป้องกันการรวมตัวกับน้ำ ซึ่งเป็นสาเหตุของการลดลงของเบตาไซยานิน ดังนั้นไฮโดรคอลลอยด์จึงสามารถรักษาความคงตัวของสีไว้ได้ นอกจากนี้ ไฮโดรคอลลอยด์ที่เหลืออยู่ยังสามารถเพิ่มความเสถียรของเบตาไซยานินได้อีกด้วย (Kunnika and Pranee, 2011)

เพคติน(Pectin)

เป็นสารที่ได้จากการแตกออกของโปรโตเพคติน ที่มีอยู่ในเนื้อเยื่อพืช จะประกอบไปด้วยน้ำตาลหลายชนิด เช่น แรมโนส (rhamnose), กาแลคโตส (galactose), อะราบิโนส (arabinose) และน้ำตาลอื่นๆ จำนวนเล็กน้อย สามารถแบ่งประเภทของเพคตินตามค่า degree of methylation (DM) เป็น 2 ชนิดคือ ชนิด Low methoxyl (LM) จะมีค่า DM น้อยกว่า 50 % และ High methoxyl (HM) ซึ่งมีค่า DM มากกว่า 50 %

มีงานวิจัยพบว่า การเติมเพคติน และรีบาดิโอไซค์ เอ ช่วยคงเสถียรภาพของสารแอนโทไซยานินในน้ำกระเจี๊ยบได้ (Puangpraphant et al., 2017) นอกจากนี้ เพคตินสามารถเพิ่มความเสถียร ในการเก็บรักษาของสารละลายบิทรูตได้ ซึ่งอาจเป็นเพราะการลดค่า a_w (Herbach et al., 2006)

วัตถุประสงค์

- 1) เพื่อศึกษาการเพิ่มเสถียรภาพของเบตาไซยานินจากเปลือกแก้วมังกร ด้วยสารเพิ่มความคงตัว
- 2) การประยุกต์ใช้เบตาไซยานินจากเปลือกแก้วมังกรเป็นสารแต่งสีในอาหารประเภทเยลลี่

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1) เพิ่มความเสถียรของเบตาไซยานิน และคงความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระไว้ได้
- 2) ประยุกต์ใช้เป็นสารแต่งสีจากธรรมชาติ ลดการใช้สารแต่งสีสังเคราะห์ที่อาจเกิดอันตรายต่อผู้บริโภค
- 3) เพิ่มคุณค่าทางอาหารและเพิ่มมูลค่าให้แก่ผลิตภัณฑ์
- 4) นำวัสดุเหลือทางการเกษตรที่นำมาใช้ประโยชน์ได้อย่างสูงสุด

รายละเอียดของการดำเนินโครงการ

1) การสกัดเบตาไซยานินจากเปลือกแก้วมังกร

ดัดแปลงจากวิธีของ Kumkom et al. (2018) นำเปลือกแก้วมังกรมาหั่นเป็นชิ้น ขนาดประมาณ 2x2 เซนติเมตร อบด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาผ่านตะแกรง (ได้ขนาดเล็กกว่า 0.8 มิลลิเมตร) นำเปลือกอบแห้งที่ผ่านตะแกรงมา 2.5 กรัม มาสกัดด้วย 50 มิลลิลิตร ของเอทานอล/น้ำในอัตราส่วน 50/50 (v/v) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง กวนสารละลายตลอดเวลาด้วยเครื่องผสมแม่เหล็กที่ความถี่ 200 รอบ/นาที เมื่อครบเวลานำสารละลายไปกรองและปั่นเหวี่ยงที่ความถี่ 10000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที นำส่วนใสที่ได้ไประเหยด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุนที่ 40 องศาเซลเซียส จนมีปริมาตรสุดท้ายเป็น 10 มิลลิลิตร จากนั้นนำมาทำแห้งด้วย

วิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Labconco® Mobile Freeze Dryer Lyophilizer Vacuum 77540, USA) ที่ความดันสูญญากาศต่ำกว่า 131×10^{-3} เมกะบาร์ ที่อุณหภูมิ -40 ถึง -60 องศาเซลเซียส ให้มีความชื้นต่ำกว่า 5% (Cai and Corke, 2001) นำสารสกัดที่ได้ไปชั่งน้ำหนัก คำนวณผลผลิตที่ได้ %yield นำไปตรวจวิเคราะห์ค่าสี (Esquivel et al., 2007) และปริมาณของเบตาไซยานิน (Betacyanin content) (Stintzing et al., 2002)

2) ศึกษาการเพิ่มความเสถียรของสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกร

นำสารเพิ่มความคงตัว 2 ชนิด คือ คาร์ราจีแนน และเพคติน ต้มในน้ำด้วยอัตราส่วน 1%, 1.5% และ 2% (w/v) จนสารละลายหมด ปรับ pH ให้อยู่ช่วง pH ประมาณ 4-6 ซึ่งเป็นช่วง pH ที่เหมาะสมสำหรับการคงตัวของสารเบตาไซยานิน โดยใช้กรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ที่ pH 3.9 เป็นตัวปรับ (Kunnika and Pranee, 2011) จากนั้นเติมสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรที่ความเข้มข้น 0.2%, 0.4% และ 0.6% (w/v) และเติมโซเดียมเบนโซเอต 0.7(กรัม/ลิตร)(Puangpraphant et al., 2017) ทำการผสมที่อุณหภูมิต่ำกว่า 60 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ให้ขึ้นรูป (Cai and Corke, 1999) จากนั้นปิดผนึก และนำไปเก็บที่อุณหภูมิห้อง (ambient) และในตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 สัปดาห์

เก็บตัวอย่างทุกๆ สัปดาห์ เพื่อมาวิเคราะห์ ค่าสี, การละลายในเชิงคุณภาพของเยลลี่ผสมสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกร วิเคราะห์ปริมาณของเบตาไซยานิน (BC) (Stintzing et al., 2002), ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (TP) (Bae and Suh, 2007), ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity (สุชาติ มานอก และปวีณา ลิ้มเจริญ, 2558) และ FRAP (Benzie and Strain, 1996) และความคงตัวในการเก็บรักษา โดยคำนวณ %retention และ $t_{1/2}$ (Cai and Corke, 2000)

3) การวิเคราะห์ทางเคมี

3.1) การหาปริมาณ Betacyanin Content (BC)

ดัดแปลงจากวิธีของ Stintzing et al. (2002) นำตัวอย่างไปเจือจางด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.05 โมลาร์ (pH=6.5) แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 538 นาโนเมตรจากนั้นนำไปคำนวณปริมาณ Betacyanin Content (มิลลิกรัม/ 100 มิลลิลิตร) ตามสมการ

$$\text{Betacyanin Content (มิลลิกรัม/ 100 มิลลิลิตร)} = \frac{A \times MW \times V \times DF \times 100}{\epsilon L}$$

โดย A คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 538 นาโนเมตร

MW คือ มวลโมเลกุลของเบตาไซยานินมีค่าเท่ากับ 550

V คือ ปริมาตรของสารสีที่สกัด

DF คือ dilution factor

E คือ ค่าสัมประสิทธิ์การดูดกลืนแสง มีค่าเท่ากับ 65,000 ลิตร/ โมล

L คือ มีค่าเท่ากับ 1.0 เซนติเมตร

3.2) การวิเคราะห์ค่าสี

ดัดแปลงจากวิธีการของ Esquivel et al. (2007) สำหรับตัวอย่างที่เป็นผงนำตัวอย่างมา 20 กรัม ส่วนตัวอย่างสารสกัดเหลวนำมา 20 มิลลิลิตร มาวิเคราะห์ค่าสีด้วยเครื่องวัดสี (Color meter [Hunter Lab] รุ่น Color Quest XE, ColorTec Associates Inc., USA) โดยใช้ค่าการส่องแสง (illuminant) D₆₅ และ 10° observer angle โดยวัดค่า L*, a*, b* แล้วนำมาคำนวณค่าดังสมการ

$$\text{ค่า Chroma: } C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}}$$

$$\text{ค่า Hue angle: } h^\circ = \arctan b^* / a^*$$

$$\text{ค่า Total Colour differences: } \Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$$

3.3) การวิเคราะห์ปริมาณ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total polyphenol: TP)

ดัดแปลงจากวิธีของ (Bae and Suh, 2007) ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดคำนวณด้วยวิธีของ Folin-Ciocalteu โดยนำน้ำกลั่นปริมาณ 3.95 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายตัวอย่างปริมาณ 0.05 มิลลิลิตร แล้วเติมสาร Folin-Ciocalteu reagent 0.25 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองมาผสมให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ 1 นาที จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na₂CO₃, ความเข้มข้น 200 กรัม/100 มิลลิลิตร) ปริมาณ 0.75 มิลลิลิตร เมื่อผสมให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ในที่มืด ณ อุณหภูมิห้องนาน 120 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 750 นาโนเมตร แล้วคำนวณหาปริมาณความเข้มข้นของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากกราฟมาตรฐานโดยใช้สาร Gallic acid เป็นสารละลายมาตรฐานในช่วง 50-800 (มิลลิกรัม/ 100 มิลลิลิตร)

3.4) การวิเคราะห์คุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity

ดัดแปลงจากวิธีของ (สุชาติดา มานอก และปวีณา ลิ้มเจริญ, 2558) เตรียมสารละลาย DPPH radical ในเมทานอลความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ และเตรียมสารตัวอย่างที่ความเข้มข้น 10,000 ppm ในเมทานอล จากนั้นเจือจางสารละลายตัวอย่างให้มีความเข้มข้นในช่วง 10-1000 ppm และเติม DPPH ลงไปในสารละลาย

แต่ละความเข้มข้นที่ได้เตรียมไว้ เขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ในที่มีอุณหภูมิ 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร (n=3) โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid) และแอลฟา-โทโคฟีรอล (α -tocopherol) จากนั้นทำการคำนวณ % radical scavenging และคำนวณหาค่า IC₅₀ จากผลการทดลองที่ได้โดยคำนวณหา % radical scavenging จากสมการ

$$\% \text{ radical scavenging} = [1 - (A_{\text{sample}}/A_{\text{control}})] \times 100$$

เมื่อ A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง

A_{control} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH

3.5) การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP

ดัดแปลงจาก (Benzie and Strain, 1996) เตรียมสารละลาย FRAP reagent โดยผสมสารละลาย 300 มิลลิโมลาร์อะซิเตทบัฟเฟอร์ (pH 3.6) สารละลาย 20 มิลลิโมลาร์ FeCl₃·6H₂O และสารละลาย 10 มิลลิโมลาร์ TPTZ ใน 40 มิลลิโมลาร์ HCl ในอัตราส่วน 10: 1: 1 ตามลำดับ จากนั้นเตรียมสารตัวอย่างที่ความเข้มข้น 100 ppm ในเอทานอล ปิเปตสารตัวอย่างผสมกับ FRAP reagent ดังตารางที่ 1 เขย่าให้เข้ากัน และตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 4 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร (n = 3) คำนวณค่าการดูดกลืนแสงจากสมการ

$$\text{Absorbance} = A - B - C$$

คำนวณความสามารถในการให้อิเล็กตรอน (FRAP value) โดยเปรียบเทียบค่าที่ได้กับกราฟมาตรฐานของ Ferrous Sulfate (FeSO₄) แสดงค่าในรูปของของมิลลิโมลาร์สมมูลของ Fe²⁺ /กรัมของสารสกัด (mm Fe²⁺ equivalent / g sample extract)

4) การหาความเสถียรของเบตาไซยานินขณะเก็บรักษา

หา %retention จากสมการ

$$\left(\frac{C_t}{C_0}\right) \times 100$$

จากนั้นนำมาพลอตกราฟระหว่าง ln (% retention) กับเวลาในการเก็บรักษา จะสามารถหาอัตราการลดลงของเบตาไซยานิน ได้จากความชันของกราฟ (Cai and Corke, 2000) จากสมการ

$$\ln \left(\frac{C_t}{C_0}\right) = -kt$$

และจะสามารถหาค่า $t_{1/2}$ ได้จากสมการ (Karangutkar and Ananthanarayan, 2020)

$$t_{1/2} = \frac{\ln(2)}{k}$$

โดย C_0 คือ betacyanin content (BC) เริ่มต้น

C_t คือ betacyanin content (BC) หลังจากผ่านการเก็บรักษาไปเป็นเวลา t

k คือ ค่าคงที่อัตราการลดลง

t คือ ระยะเวลาในการเก็บรักษา

- 5) รวบรวมข้อมูลที่ได้จากการทดลอง นำมาวิเคราะห์ และสรุปผลการทดลอง เขียนรายงานฉบับสมบูรณ์ และนำเสนอผลของโครงการ

งบประมาณในการดำเนินการวิจัย

1. ค่าใช้จ่าย

1.1) ค่าพาหนะในเดินทาง 1,000 บาท

2. วัสดุุดิบและอุปกรณ์

2.1) เปลือกแก้วมังกร 500 บาท

2.2) อุปกรณ์การทดลอง 4,000 บาท

2.3) ค่าสารเคมี 4,500 บาท

รวมทั้งสิ้น 10,000 บาท

เอกสารอ้างอิง

- ดุขมิ อุดภาพ. (ม.ป.ป.). สมบัติทางเคมีของคาร์โบไฮเดรต-ไฮโดรคอลลอยด์ และการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม. [ออนไลน์]. สืบค้นจาก <https://eu.lib.kmutt.ac.th/elearning/Courseware/BCT611/chapter4.html>. [9 เมษายน 2563]
- นิตดา หงส์วิวัฒน์ และ ทวีทอง หงส์วิวัฒน์. (2550). แก้วมังกรในผลไม้ 111 ชนิด: คุณค่าอาหารและการกิน. กรุงเทพฯ:สำนักพิมพ์แสงแดด. หน้า 37-39.
- พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนานนท์. (ม.ป.ป.). สารที่ทำให้คงตัว. [ออนไลน์]. สืบค้นจาก <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1466/stabilizing-agent-สารที่ทำให้คงตัว>. [9 เมษายน 2563]
- ภขมน พิชญาวิจิตติพงษ์. (2556). การผลิตและสมบัติทางชีวภาพของสีผสมอาหารจากเปลือกแก้วมังกรพันธุ์เนื้อผลสีแดง (*Hylocereus polyrhizus*). (วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี). สืบค้นจาก <sutir.sut.ac.th:8080/sutir/bitstream/123456789/4984/2/Fulltext.pdf>
- วุฒิชัย จินเมือง, พันธิดา กิจกอบชัย, หิรัญรัตน์ สุวรรณที, และ อรนาถ สุนทรวิวัฒน์. (2551). เบตาเลนจากผลแก้วมังกรสองสายพันธุ์. วิทยาศาสตร์การเกษตร. 39(3): 183. สืบค้นจาก http://www.agi.nu.ac.th/proceeding/Poster/1.APสาขาไม้ผลไม้ยืนต้น/AP_182_186.pdf
- สุชาดา มานอก และปวีณา ลี้มเจริญ. (2558). การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดสมุนไพรรักษาโรคเบาหวาน. ก้าวทันโลกวิทยาศาสตร์. 15(1): 106-117. <http://sci.bsru.ac.th/sciweb/e-magazine/15-1/chapter-10.pdf>
- สุทธิศักดิ์ บุญยาคูมานนท์. (2553). ประวัติต้นแก้วมังกร. [ออนไลน์]. สืบค้นจาก <http://www.kennydragonfruit.com/aboutdragonfruit.html#dragonprofile>
- Aguirre Calvo, T.R., Perullini, M., and Santagapita, P.R. (2018). Encapsulation of betacyanins and polyphenols extracted from leaves and stems of beetroot in Ca(II)-alginate beads: A structural study. *Journal of Food Engineering*. 235: 32-40. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.04.015>
- Bae, S., and Suh, H. (2007). Antioxidant activities of five different mulberry cultivars in Korea. *LWT-Food Science and Technology*. 40: 955-962. doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2006.06.007>
- Benzie, I. F. 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: 70-76.
doi:<https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Cai, Y., and Corke, H. (1999). Amaranthus Betacyanin Pigments Applied in Model Food System. *Journal of Food science*. 5(64): 869-873.
doi:<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1999.tb15930.x>
- Cai, Y., and Corke, H. (2000). Production and Properties of Spray-dried Amaranthus Betacyanin Pigments. *Sensory and Nutritive Qualities of Food*. 6(65): 1248-1252.
doi:<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb10273.x>
- Cai, Y., and Corke, H. (2001). Effect of postharvest treatment on Amaranthus betacyanin Degradation evaluated by visible/near-infrared spectroscopy. *Journal of Food Science*. 66: 1112-1118. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2001.tb16090.x>
- Cai, Y., Sun, M., and Corke, H. (2001). Identification and distribution of simple and acetylated Betacyanins in the Amaranthaceae. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49(4): 1971-1978. doi:10.1021/jf000963h
- Esquivel, P., Stintzing, F. C., and Carle, R. (2007). Pigment pattern and expression of colour in fruits from different *Hylocereus* sp. genotypes. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 8: 451-457. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ifset.2007.03.022>
- Herbach, K.M., Stintzing, F.C., and Carle, R. (2006). Betalain Stability and Degradation Structural and Chromatic Aspects. *Journal of Food Science*. 4(71): 41-50.
doi:10.1111/j.1750-3841.2006.00022.x
- Kanner, K., Harel, S., and Granit, R. (2001). Betalains-A new class of dietary cationized antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49: 5178- 5185.
doi:<https://doi.org/10.1021/jf010456f>
- Karangutkar, A.V., and Ananthanarayan L. (2020). Co-crystallization of Basella rubra extract with sucrose: Characterization of co-crystals and evaluating the storage stability of betacyanin pigment. *Journal of Food Engineering*. 271: 1-12.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.109776>
- Kumkom, S., Prakitchaiwattana, C., and Puangpraphant, S. (2018). Effect of ethanol/water extraction ratio on betacyanin content of red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) peel and inhibition of the extract against pathogenic bacteria. *The 20th Food Innovation Asia Conference 2018 (FIAC 2018)*. 381-388.

- Kunnika, S., and Pranee, A. (2011). Influence of enzyme treatment on bioactive compounds and colour stability of betacyanin on flesh and peel of red dragon fruit *Hylocereus polyrhizus* (Webber) Britton and Rose. *International Food Research Journal*. 18(4): 1437-1448. [http://www.ifrj.upm.edu.my/18%20\(04\)%202011/\(33\)IFRJ-2011-077.pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/18%20(04)%202011/(33)IFRJ-2011-077.pdf)
- Muntha Reddy, K., Ruby, L., Lindo, A. Muraleed- haran Nair, G., (2005). Relative inhibition of lipid peroxidation, cyclooxygenase enzymes and human tumor cell proliferation by natural food colors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53: 9268-9273. doi:10.1021/jf051399j
- Puangraphant, S., Chantasuwanno, C., Rinthapol, N. and Heinchasri, P. (2017). Influence of pectin and rebaudioside A on the stability of anthocyanins and antioxidant activity of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) juice. *Acta Horti*. 1179, 277-284. doi:10.17660/ActaHortic.2017.1179.43
- Ravichandran, K., Ravichandran, P., Saw, N.M.M.T., Gabr, A.M.N., Ahmed, A.R., Knorr, D., and Smetanska, I. (2014). Effect of different encapsulation agents and drying process on stability of betalains extract. *Journal of Food Science and Technology*. 51(9): 2216-2221. doi:10.1007/s13197-012-0728-6
- Stintzing, F.C., and Carle, R. (2004). Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. *Trends in Food Science Technology*. 15: 19-38. doi:<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2003.07.004>
- Stintzing, F.C., Schieber, A., and Carle, R. (2002). Betacyanins in fruits from red-purple pitaya, *Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton and Rose. *Food Chemistry*. 77: 101-106. doi:[https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00374-0](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00374-0)
- Tang, C.S., and Norziah, M.H. (2007). Stability of Betacyanin Pigment from Red Purple Pitaya Fruit (*Hylocereus polyrhizus*): Influence of pH, Temperature, Metal Ions and Ascorbic Acid. *Indonesian Journal of Chemistry*. 7(3): 327-331. doi:<http://doi.org/10.22146/ijc.21678>
- Woo, K.K., Ngou, F.H., Ngo, L.S., Soong, W.K., and Tang, P.Y. (2011). Stability of Betalain Pigment from Red Dragon Fruit (*Hylocereus polyrhizus*). *American Journal of Food Technology*. 6(2): 140-148. doi:10.3923/aift.2011.140.148

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล ชั้นวิชา พุทธรักษา
ตำแหน่ง หัวหน้าโครงการ
วุฒิการศึกษา วิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ.)
ภาควิชา เทคโนโลยีทางอาหาร
คณะ วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีที่สำเร็จการศึกษา 2563
โทรศัพท์ 0847132699
Email parn_chanadda@hotmail.com



ชื่อ-สกุล ชยบดินทร์ ไพบูลย์
ตำแหน่ง ผู้วิจัยร่วม
วุฒิการศึกษา วิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ.)
ภาควิชา เทคโนโลยีทางอาหาร
คณะ วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีที่สำเร็จการศึกษา 2565
โทรศัพท์ 0817230488
Email chayaboldin@gmail.com



ชื่อ-สกุล พัทธมน วุฒินรากร
ตำแหน่ง ผู้วิจัยร่วม
วุฒิการศึกษา วิทยาศาสตร์บัณฑิต (วท.บ.)
ภาควิชา เทคโนโลยีทางอาหาร
คณะ วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีที่สำเร็จการศึกษา 2563
โทรศัพท์ 0972549592
Email parnpatthamonw@gmail.com

