บทที่ 4

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษานี้ใช้ข้าวเหนียวดำพันธุ์ช่อไม้ไผ่ซึ่งเป็นข้าวพันธุ์พื้นเมืองที่ผ่านการปรับปรุงโดยศูนย์วิจัยข้าวปัตตานี เตรียมตัวอย่างในรูปของข้าวกล้อง (ดังภาพที่ 4.1) การศึกษาผลของกระบวนการสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง (กำลังและระยะเวลาการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง) ศึกษาผลร่วมระหว่างคลื่นเสียงความถี่สูงและการให้ความร้อนในการสกัดต่อคุณภาพของน้ำข้าวสกัดที่ได้ รวมถึงการพัฒนาผลิตภัณฑ์เป็นเครื่องดื่มน้ำข้าวเหนียวดำสกัด

Figure 4.1 Black glutinous rice (Chomaipai variety) used in this study

การศึกษานี้ใช้เครื่องกำเนิดคลื่นเสียงความถี่สูงขนาด 20 กิโลเฮิรตซ์ มีกำลังสูงสุด 500 วัตต์ โดยคลื่นถูกส่งผ่านหัวโพรบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 13 มิลลิเมตร โดยศึกษา 1) ผลของระดับกำลังและระยะเวลาการใช้ US และ 2) ศึกษาผลของสัดส่วนข้าวต่อน้ำและปริมาณรวมของตัวอย่างต่อปริมาณสารแอนโทไซยานินจากข้าวเหนียวดำ โดยแสดงผลการศึกษาดังต่อไปนี้

4.1 ผลของการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง (Ultrasonic, US)

4.1.1 ผลของ US ต่อการเปลี่ยนแปลงของเมล็ดข้าว

จากการศึกษาผลของ US ต่อเมล็ดข้าวเหนียวดำ เมื่อระดับกำลัง (100, 200, 300, 400 และ 500 วัตต์) และระยะเวลา (10, 20, 30, 40 และ 50 นาที) เพิ่มขึ้น พบว่าเมล็ดข้าวเหนียวดำมีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้น กล่าวคือ เยื่อหุ้มเมล็ดข้าวมีการหลุดหลอก และแตกหักมากขึ้น แสดงดังภาพที่ 4.2 ทั้งนี้เนื่องจากการสกัดด้วย US เมื่อคลื่น US ถูกปล่อยผ่านตัวทำละลาย เกิดคาร์วิเทชั่น เกิดเป็นแรงดันที่มีความแรงที่ส่งผลให้ผนังเซลล์แตกออกได้ และมีขนาดลดลง (Soria and Millamiel, 2010) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Chen *et al.* (2007) ที่สกัดสารแอนโทไซยานินจากราสเบอร์รี่ด้วย US พบว่า เนื้อเยื่อของราสเบอร์รี่แตกออกมากขึ้นภายหลังผ่านกระบวนการสกัดด้วย US เมื่อเทียบกับการสกัดด้วยความร้อน

4.1.2 ผลของระดับกำลังและระยะเวลาการใช้ US ต่อปริมาณแอนโทไซยานิน

ผลการใช้ US ที่ระดับกำลัง (100, 200, 300, 400 และ 500 วัตต์) และระยะเวลา (10, 20, 30 40 และ 50 นาที) ในการสกัดสารแอนโทไซยานินจากข้าวเหนียวดำโดยใช้ข้าวต่อน้ำเท่ากับ 1:5 (ข้าว 20 กรัมต่อน้ำ 100 มิลลิลิตร) ดังวิธีการทดลองในข้อ 3.3.1.1 ผลการศึกษาพบว่า ระดับกำลังและระยะเวลาการใช้ US มีผลทั้งเพิ่มและลดปริมาณแอนโทไซยานิน ทั้งหมดอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) กล่าวคือมีผลที่ระดับกำลังต่ำ (100-200 วัตต์) ปริมาณแอนโทไซยานินเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการสกัดเพิ่มขึ้น (จาก 10-50 นาที) ในขณะที่ระดับกำลังเพิ่มขึ้นเป็น 300 วัตต์ ปริมาณแอนโทไซยานินเพิ่มขึ้นในระยะเวลา 10-40 นาที และลดลงที่ระยะเวลา 50 นาที ส่วนการใช้ US 400 วัตต์ มีการเพิ่มขึ้นของปริมาณแอนโทไซยานินในระยะเวลา 10-30 นาที และลดลงเมื่อระยะเวลานานกว่านี้ และเมื่อใช้ระดับกำลัง US 500 วัตต์ ปริมาณแอนโทไซยานินเพิ่มขึ้นในระยะเวลา 20 นาทีแรกเท่านั้น หลังจากนี้ปริมาณลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (ภาพที่ 4.3)โดยระดับกำลังของ US ที่ 400 วัตต์ และระยะเวลาของการใช้ US เป็นระยะเวลา 30 นาที เป็นสภาวะที่สามารถสกัดปริมาณแอนโทไซยานินได้สูงสุด

จากการวิเคราะห์ พบว่า มีอิทธิพลร่วมระหว่าง 2 ปัจจัย (กำลังและระยะเวลาการสกัด) ต่อปริมาณแอนไซยานินอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (ตารางภาคผนวก 1) แสดงให้เห็นว่าทั้งระดับกำลังและระยะเวลาของการใช้US มีผลร่วมกันต่อปริมาณสารแอนโทไซยานินที่ได้

ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษาผลของของ Chen *et al.* (2007) คือระดับกำลังและระยะเวลาในการใช้ US เพื่อสกัดแอนโทไซยานินจากราสเบอร์รี่ พบว่า การใช้ระดับกำลังและระยะเวลาของ US ที่เหมาะสม (400 วัตต์ 2 นาที) สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดสาร

Prince of Songkla University Pattani Campus

แอนโทไซยานินได้ แต่ในขณะเดียวกันเมื่อใช้ระดับกำลังและระยะเวลาของ US ที่สูงขึ้น (400 วัตต์ 5 นาที หรือ 568 วัตต์ 2 นาที) มีผลให้ได้สารแอนโทไซยานินในปริมาณที่ลดลง

การเพิ่มขึ้นของปริมาณแอนโทไซยานินจากการสกัด อาจเนื่องจาก เมื่อคลื่น US ถูกปล่อยผ่านตัวทำละลาย เกิดคาร์วิเทชั่น เกิดเป็นแรงดันที่มีความแรงที่ส่งผลให้ผนังเซลล์ซึ่งในที่นี้คือเยื่อหุ้มเมล็ดข้าวแตกออก และเมื่อเยื่อหุ้ม เมล็ดข้าวแตกหรือหลุดออกมา ส่งผลให้สารถูกปลดปล่อยได้ง่ายขึ้นนอกจากนี้ แรงดันยังช่วยทำให้เพิ่มอัตราการถ่ายเทมวลได้ดีขึ้น ส่งผลให้สารสกัดถูกปลดปล่อยออกสู่ตัวทำละลายได้มากขึ้น (Choi *et al.,* 2007) มีผลการวิจัยที่สอดคล้องกับการศึกษานี้ เช่น Khan *et al.* (2010) ศึกษาการสกัดโพลีฟีนอลในเปลือกส้ม ด้วย US กำลัง 50-100 วัตต์ และระยะเวลา 10 และ 20 นาที พบว่า ที่ระยะเวลาการใช้ US เท่ากัน จะได้ปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงขึ้น เมื่อใช้ระดับกำลังของ US เพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับการศึกษาการสกัดสารฟีนอลในเปลือกทับทิมของ Pan *et al.* (2011) พบว่า เมื่อใช้ระดับกำลังของ US เพิ่มขึ้น (2.4-59.2 วัตต์/ ตร.ซม.) มีผลทำให้ปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงขึ้นด้วย

สำหรับการลดลงของปริมาณแอนโทไซยานินอาจเนื่องจาก เมื่อใช้กำลังที่สูงหรือระยะเวลาที่นานเกินไป (ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของวัตถุดิบที่ใช้ด้วย) อาจมีผลต่อสารแอนโทไซยานิน กล่าวคือ แรงดัน และแรงเฉือนที่เกิดจากปรากฏการณ์คาวิเทชั่นไปทำให้โมเลกุลสารเกิดการแตกหัก หรือมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารสกัดได้ (Soria and Villamiel, 2010) นอกจากนี้การใช้น้ำเป็นตัวทำละลายในการสกัดด้วย US เมื่อน้ำผ่านกระบวนการคาวิเทชั่นทำให้โมเลกุลน้ำเกิดการแตกตัวเป็นอนุมูลไฮดรอกซิล ($OH^{\cdot}$) ไฮดรอกซิลที่เกิดขึ้นสามารถเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารแอนโทไซยานิน โดยเปิดวงแหวน pyrylium ของโครงสร้าง ส่งผลให้แอนโทไซยานินเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของ chalcone ซึ่งเป็นการเริ่มต้นการสลายตัวของสารแอนโทไซยานิน (Tiwari *et al*., 2009) จำนวนของไฮดรอกซิลยังมีผลต่อโครงสร้างและสีของแอนโทไซยานิน กล่าวคือ แอนโทไซยานินจะมีสีที่เข้มขึ้นหรือเปลี่ยนไปเป็นสีน้ำเงินมากขึ้นเมื่อจำนวนของไฮดรอกซิลเพิ่มขึ้น (Rein, 2005)

จากผลการศึกษาจะเห็นได้ว่าสอดคล้องกับงานของ Paniwnk *et al.* (2001) ศึกษาผลของของ US (ระยะเวลา 0-60 นาที) ต่อปริมาณลูทีน (Lutin) จากตาดอกของ *Sophora japonica* พบว่าเมื่อระยะเวลาการสกัดนานขึ้นส่งผลให้ลูทีนมีปริมาณลดลง เช่นเดียวกับ Zhao *et al.* (2006) ที่ศึกษาผลของ ระดับกำลังและระยะเวลาของการใช้ US ต่อความคงตัวของสาร astaxanthin ซึ่งเป็นสารแคโรตินอยด์ชนิดหนึ่ง พบว่า เมื่อระดับกำลัง (100, 300 และ 600 วัตต์) และระยะเวลา (1-6 นาที) เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ปริมาณความเข้มข้นของสาร astaxanthin ลดลง และ Tiwari *et al.* (2009) ได้ทำการศึกษาผลของ US ต่อแอนโทไซยานินในน้ำแบล็คเบอร์รี่ พบว่าเมื่อระยะเวลา (0, 3, 5, 7 และ 10 นาที) และแอมปลิจูด (40, 50 ,70 และ 100 เปอร์เซ็นต์) ของ US เพิ่มขึ้นมีผลให้ปริมาณ

cyaniding-3-glucoside ลดลง รวมถึงผลของ US ต่อสาร ฟลาโวนอยด์ชนิด quercetin ในเปลือกส้ม ของ Qiao *et al.* (2014) พบว่าเมื่อระดับความเข้มของ US (10.19-23.95 วัตต์/ ตร.ซม.) และระยะเวลาเพิ่มขึ้น (10-60 นาที) มีผลให้ความเข้มข้นของสารดังกล่าวลดลงเช่นเดียวกัน

4.1.3 อัตราการสกัดสารแอนโทไซยานิน

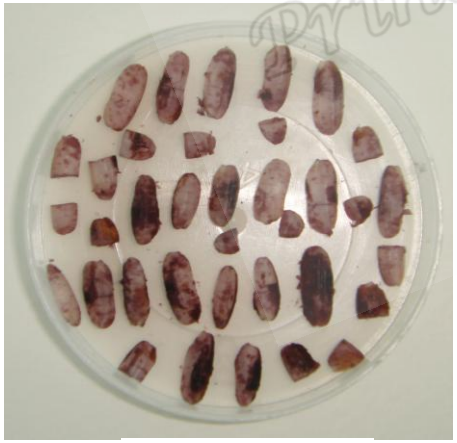
จากการนำข้อมูลปริมาณสารแอนโทไซยานินที่ระยะเวลาต่างๆมาคำนวณหาอัตราการสกัดสารแอนโทไซยานิน (วิธีการคำนวณอัตราการสกัดสารแอนโทไซยานินแสดงในภาคผนวก ก 5.1) พบว่า ที่ระดับกำลัง US 100 และ 200 วัตต์ และระยะเวลา 10-50 นาที อัตราการสกัดเพิ่มขึ้นเมื่อกำลังและเวลาเพิ่มขึ้น แต่อัตรา อยู่ในระดับต่ำ (< 5 mg Cy-3-G/ 100 grain weight /min) ที่ระดับกำลัง 300 วัตต์ มีอัตราเพิ่มขึ้นสูงสุดที่ระยะเวลา 30 นาทีและลดลงเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น และที่ระดับกำลัง 400 และ 500 วัตต์ มีอัตราการสกัดเพิ่มขึ้นในช่วง 10 นาทีแรก (1.4 และ 1.9 mg Cy-3-G/ 100 grain weight/ min) และลดลงเมื่อใช้ระยะเวลานานขึ้น ซึ่งอัตราการสกัดของสาร แอนโท-ไซยานินที่ลดลงนั้น เกิดจากผลต่างของความเข้มข้นของตัวถูกละลายในตัวทำละลายของตัวอย่างที่นำมาสกัดลดลง ทำให้อัตราสารสกัดลดลงไปด้วย (ดังภาพที่ 4.4) อัตราการสกัดสารขึ้นอยู่กับผลต่างของความเข้มข้นของตัวถูกละลายในตัวทำละลาย และขนาดของตัวอย่างที่ใช้ในการสกัด ในช่วงระยะเวลาเริ่มต้นของการสกัดจะยังไม่มีสารสกัดอยู่ในตัวทำละลาย เมื่อระยะเวลาการสกัดผ่านไปทำให้ความเข้มข้นของสารสกัดในตัวทำละลายเพิ่มขึ้น ทำให้ผลต่างความเข้มข้นของตัวถูกละลายในตัวทำละลายมีค่าน้อยลง ทำให้สกัดสารได้น้อยลงตามลำดับ (สมจิตร, 2544) ดังนั้นในการเลือกระยะเวลาการสกัด จึงควรคำนึงถึงอัตราการสกัดที่เหมาะสมเพื่อให้ได้ปริมาณสารสกัดแอนโทไซยานินสูงสุด และจากการศึกษาได้เลือกสภาวะการสกัดด้วย US ที่ระดับกำลัง 400 วัตต์ ระยะเวลา 30 นาที เนื่องจากเป็นสภาวะที่ได้ปริมาณแอนโทไซยานินสูงสุด

Prince of Songkla University Pattani Campus

100 W

200 W

300 W



400 W

500 W

Prince of Songkla University Pattani Campus

Figure 4.2 Appearance of black glutinous rice grain after extraction at various US power for 30 min

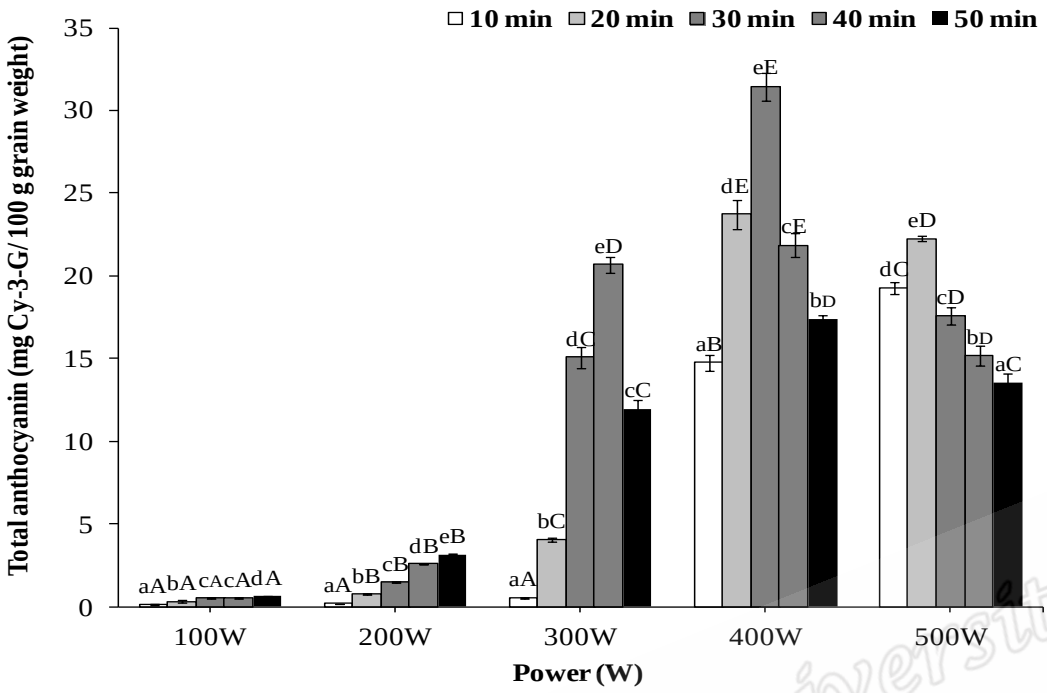


Figure 4.3 Effect of US power and time on total anthocyanin content. The vertical bars represent the standard deviation (n=3). Different small letters, at the same US power are significantly different ($p \leq 0.05$). Different capital letters, at the same extraction time are significantly different ($p \leq 0.05$).

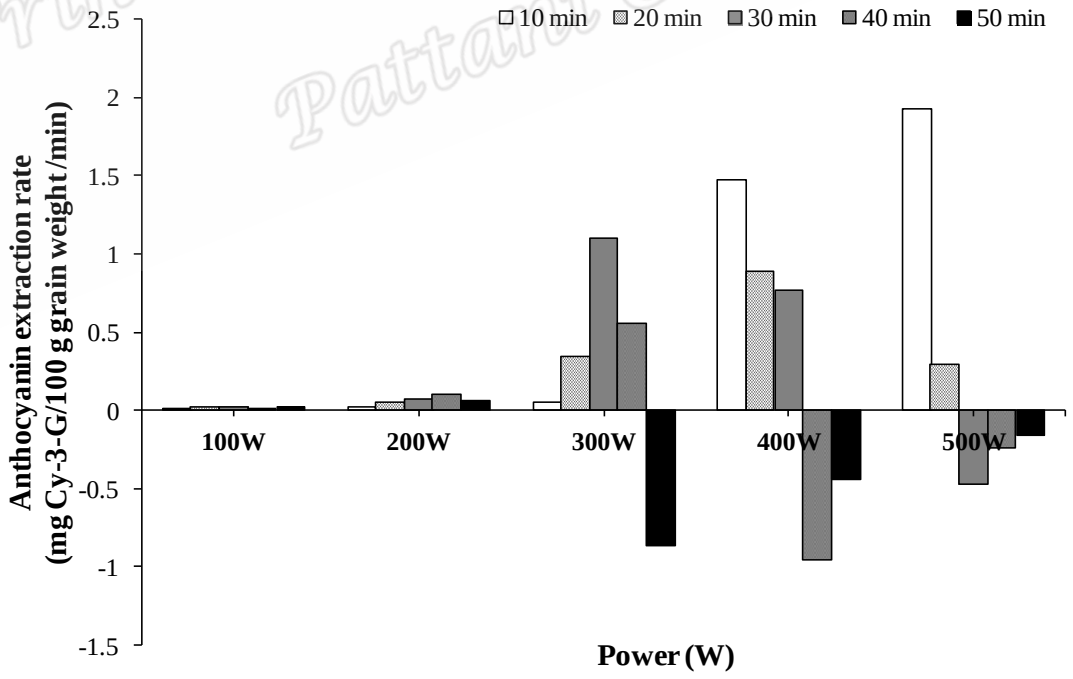


Figure 4.4 Effect of power and time US method on total anthocyanin extraction rate

Prince of Songkla University Pattani Campus

4.14 ผลของสัดส่วนข้าวต่อน้ำและปริมาณรวมของตัวอย่าง

ศึกษาผลของสัดส่วนข้าวต่อน้ำและปริมาณรวมของตัวอย่างต่อปริมาณสารสกัด (แอนโทไซยานิน) เมื่อใช้ US ที่ระดับกำลัง 400 วัตต์ และระยะเวลา 30 นาที โดยกำหนดสัดส่วนข้าวต่อน้ำ 3 ระดับ และปริมาณรวมตัวอย่างในแต่ละสัดส่วน 2 ระดับ คือ 1: 2.5 (A, A1), 1:5 (B, B1) และ1:10 (C, C1) และทำการทดลองตามข้อที่ 3.3.1.4

ผลการศึกษา พบว่า สัดส่วนข้าวต่อน้ำมีผลต่อปริมาณแอนโทไซนินทั้งหมดอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) กล่าวคือ ที่ปริมาณตัวอย่างรวมใกล้เคียงกัน 110-140 กรัม (ชุดการทดลอง A, B และ C) มีปริมาณแอนโทไซยานินแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยสัดส่วน 1: 5 (120 กรัม, B) ให้ปริมาณสารแอนโทไซยานินสูงสุด รองลงมาคือ 1: 10 (140 กรัม, C) และ 1: 2.5 (140 กรัม, A) ซึ่งมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ สำหรับชุดการทดลอง A1, B1 และ C1 เป็นชุดการทดลองที่มีปริมาณรวมสูงกว่าชุดแรก (210-220 กรัม) พบว่า แอนโทไซยานินมีปริมาณสูงสุดที่สัดส่วน 1: 2.5 (210 กรัม) และลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อข้าวต่อน้ำเพิ่มขึ้น (A1> B1 > C1)

สำหรับการเปรียบเทียบชุดการทดลองที่มีสัดส่วนข้าวต่อน้ำเท่ากัน พบว่า ชุดการทดลองที่มีปริมาณรวมของตัวอย่างน้อยกว่ามีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดสูงกว่าชุดการทดลองที่มีปริมาณรวมของตัวอย่างสูงกว่า (A> A1, B > B1 และ C> C1) อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ทั้งนี้สัดส่วนข้าวต่อน้ำและปริมาณรวมของตัวอย่างอาจมีผลต่อการส่งผ่านคลื่น US ไปยังตัวทำละลาย รวมถึงความสามารถที่ตัวทำละลายจะสกัดสารแอนโทไซยานินออกมาได้ สัดส่วนของวัตถุดิบต่อตัวทำละลายมีผลต่ออัตราการแลกเปลี่ยนมวลสารระหว่างตัวทำละลายและตัวถูกละลายรวมถึงความเข้มข้นและปริมาณของสารสกัดที่ได้ อีกทั้งยังมีผลต่อการเกิดสมดุลของสารสกัดอีกด้วย (Cacace and Mazza, 2003)

จากผลการศึกษานี้จะเห็นว่าสัดส่วนข้าวต่อน้ำที่ 1:5 และปริมาณรวมของตัวอย่าง 120 กรัม (ชุดการทดลอง B) มีปริมาณแอนโทไซยานินสูงสุดคือ 29.80 mg Cy-3-G/ 100 g grain weight สภาวะนี้อาจเป็นความเหมาะสมและสมดุลที่สุด สำหรับการทำงานของ US ในสภาวะที่กำหนดในการศึกษานี้ ทั้งนี้สัดส่วนของตัวอย่างต่อตัวทำละลายที่เหมาะสมอาจแตกต่างกันขึ้นอยู่ขึ้นอยู่กับชนิดและขนาดของวัตถุดิบ และชนิดตัวทำละลาย โดย Wang *et al.* (2013) พบว่าในการสกัดสารฟีนอล จาก *Innula helenlium* ด้วยคลื่น US ที่ใช้สัดส่วนของตัวอย่างต่อตัวทำละลาย (ethanol) 5 ระดับ คือ 1:5 1:10 1:20 1:30 และ 1:40 ได้ปริมาณสารฟีนอลสูงสุดที่สัดส่วนของตัวอย่างต่อตัวทำละลาย 1:20 ส่วน Chen *et al.* (2007) สกัดแอนโทไซยานินจากราสเบอร์รี่สีแดง โดยใช้ตัวทำละลายคือ 0.1 โมลกรดไฮโดรคลอลิกในเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ และสัดส่วนตัวทำละลายต่อวัตถุดิบ อยู่ในช่วง 2:1 ถึง 6:1 พบว่าสัดส่วนที่เหมาะสมที่สุดคือ 4:1

Table 4.1 Effect of rice: water proportion and total sample weight on total anthocyanin

Rice : Water Ratio		(g: g)	Total sample weight (g)	Total anthocyanin (mgCy-3-G/100 g grain weight)
1:2.5	(A)	40:100	140	21.91 ± 0.30^{aA}
1:5	(B)	20:100	120	29.80 ± 0.63^{bA}
1:10	(C)	10:100	110	22.15 ± 0.33^{aA}
1:2.5	(A1)	60:150	210	20.01 ± 0.25^{zB}
1:5	(B1)	35:175	210	17.30 ± 0.53^{yB}
1:10	(C1)	20:200	220	15.52 ± 0.91^{xB}

Data expressed as means±standard deviations of three (n = 3) measurements

Different small letters a,b, and x,y and z of similar total sample weight treatment are significantly different ($p \leq 0.05$)

Different capital letters A, B at the same ratio are significantly different ($p \leq 0.05$)

จากการศึกษานี้จะเห็นได้ว่า กำลังและระยะเวลาการใช้ US รวมถึงสัดส่วนข้าวต่อน้ำและปริมาณรวมของตัวอย่างมีผลต่อปริมาณของสารสกัดอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งจากศึกษาพบว่าสภาวะที่เหมาะสมที่ใช้ในการสกัดด้วย US และส่งผลให้สามารถสกัดสารแอนโทไซยานินจากข้าวเหนียวดำได้ปริมาณสูงสุด คือการสกัดด้วยสภาวะ กำลังของ US 400 วัตต์ ระยะเวลา 30 นาที และสัดส่วนข้าวต่อน้ำที่ 1:5 ปริมาณรวม 120 กรัม โดยจะนำสภาวะดังกล่าวไปทำการทดลองในขั้นตอนต่อไป

Prince of Songkla University Pattani Campus

4.2 เปรียบเทียบการสกัดด้วยความร้อน (heating extraction, HE) และการใช้ US ร่วมกับความร้อน (ultrasonic combinations with heating extraction, USHE)

ศึกษาเปรียบเทียบสมบัติของน้ำข้าวสกัดจากข้าวเหนียวดำที่ผ่านและไม่ผ่านการพรีทรีต-เม้นต์ด้วย US ก่อนการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ โดยกำหนดสัดส่วนข้าวต่อน้ำที่ 1:5 (ปริมาณข้าว 20 กรัม และน้ำ 100 มล.) ตามที่คัดเลือกจากการทดลองที่ 4.1 นำไปพรีทรีตเม้นต์ด้วย US (ที่กำลัง 400 วัตต์ เป็นระยะเวลา 30 นาที) ก่อนให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50, 60, 70, 80 และ 100 องศาเซลเซียส) เป็นระยะเวลาการ 10, 20, 30, และ 40 นาที ศึกษาสมบัติต่างๆของน้ำข้าวสกัดที่ได้จาก 2 วิธี ผลการศึกษาเป็นดังต่อไปนี้

4.2.1. ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด

จากการสกัดน้ำข้าวด้วยวิธี HE พบว่า อุณหภูมิและระยะเวลาในการสกัดมีผลต่อปริมาณแอนโทไซยานินอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (ตารางภาคผนวกที่ 2) กล่าวคือ ที่อุณหภูมิในการสกัดเท่ากัน (เช่นที่ 50 องศาเซลเซียส) เมื่อระยะเวลาการสกัดเพิ่มขึ้น (10-40 นาที) มีผลให้ปริมาณแอนโทไซยานินสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งให้ผลในทำนองเดียวกันในทุกอุณหภูมิการสกัด เมื่อเปรียบเทียบที่ระยะเวลาการสกัดที่เท่ากัน อุณหภูมิที่สูงขึ้นมีผลให้ปริมาณแอนโทไซยานินเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (ภาพที่ 4.5) โดยชุดการทดลองที่ได้ปริมาณสารสูงสุดคือ อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 40 นาที จากผลการทดลองนี้ หากเพิ่มระยะเวลาการสกัด มากกว่า 40 นาที แนวโน้มของปริมาณสารที่ได้น่าจะเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เมื่ออุณหภูมิและระยะเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้นมีผลให้ความสามารถในการละลายของตัวถูกละลายและสัมประสิทธิ์การแพร่เพิ่มขึ้น ทำให้ปริมาณของสารแอนโทไซยานินที่สกัดได้เพิ่มขึ้น (Jerez *et al*., 2006) ผลการศึกษานี้ สอดคล้องกับงานวิจัยของ ทิพวดี (2550) ที่พบว่าอุณหภูมิ (45-60 องศาเซลเซียส) และระยะเวลา (30-50 นาที) เพิ่มขึ้นส่งผลให้ปริมาณสารแอนโทไซยานินที่ได้จากการสกัดถั่วดำเพิ่มสูงขึ้น เช่นเดียวกับการศึกษาของอัสมา (2554) พบว่าอุณหภูมิ (60-90 องศาเซลเซียส) และระยะเวลาการให้ความร้อนในการสกัดเพิ่มขึ้น (15-30 นาที) มีผลให้ปริมาณสารแอนโทไซยานินจากข้าวมีสีที่สกัดได้เพิ่มขึ้น

ผลการศึกษาของ Hillmann *et al.* (2011) เป็นไปในทางตรงกันข้าม กล่าวคือความร้อนมีผลให้ ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเสื่อมสลายของแอนโทไซยานินในน้ำองุ่น โดยน้ำองุ่นเริ่มต้นมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด 15 องศาบริกซ์ และนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70, 80 และ 90 องศาเซลเซียส พบว่าเมื่ออุณหภูมิในการให้ความร้อนเพิ่มขึ้น ส่งผลให้อัตราการการสลายตัวแบบปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง ($k \times 10^{-3}$) เพิ่มขึ้น (0.54, 1.09 และ 2.22 ต่อนาที ตามลำดับ) และค่าครึ่งชีวิต ($t_{1/2}$) ของแอนโทไซยานิน ลดลง (21.19, 10.55 และ 5.20 ชั่วโมง ตามลำดับ) ซึ่งแสดง

Prince of Songkla University Pattani Campus

ให้เห็นว่าอุณหภูมิในการให้ความร้อนเพิ่มขึ้นจะเร่งการเสื่อมสลายของแอนโทไซยานิน อย่างไรก็ตามในการทดลองนี้ ชุดการทดลองที่สกัดด้วยวิธี HE (อุณหภูมิ 50-100 องศาเซลเซียส)

สำหรับการสกัดน้ำข้าวด้วยวิธี USHE (ภาพที่ 4.5) พบว่า อุณหภูมิและระยะเวลาในการสกัดมีผลต่อปริมาณแอนโทไซยานินอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เช่นเดียวกับวิธี HE (ตารางภาคผนวกที่ 3) แต่ปริมาณสารปริมาณแอนโทไซยานินของน้ำข้าวสกัดสูงกว่าจากวิธี HE ยกเว้นชุดการทดลอง ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 30 และ 40 นาที โดยพบว่าชุดการทดลองที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียส เมื่อระยะเวลาการสกัดเพิ่มขึ้น (10-40 นาที) ให้ปริมาณสารแอนโทไซยานินเพิ่มขึ้น ขณะที่ชุดการทดลองที่อุณหภูมิในการสกัดที่ 70, 80 และ 100 องศาเซลเซียส ปริมาณแอนโทไซยานินที่ได้ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ แต่ทั้งนี้ปริมาณสารแอนโทไซยานินก็ยังคงสูงกว่าการใช้ความร้อนเพียงอย่างเดียว (ณ.ที่อุณหภูมิและระยะเวลาการสกัดที่เท่ากัน) ยกเว้นชุดการทดลองที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 30 และ 40 นาที

เมื่อเปรียบเทียบการสกัดด้วยวิธี HE กับ USHE (ภาพที่ 4.6) โดยพิจารณาชุดการทดลองที่อุณหภูมิและระยะเวลาการสกัดเดียวกัน พบว่าปริมาณสารแอนโทโซยานินของน้ำข้าวสกัดจากวิธี USHE สูงกว่าวิธี HE ทุกชุดการทดลองยกเว้นที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 30 และ 40 นาที โดยสังเกตเห็นว่าปริมาณสารแอนโทไซยานินที่สกัดได้จากทั้งสองวิธีมีค่าใกล้เคียงกันมากขึ้นเมื่ออุณหภูมิและระยะเวลาเพิ่มขึ้น กล่าวคือมีค่าความแตกต่างของปริมาณสารน้อยลงโดยที่อุณหภูมิการสกัด 100 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 20 นาที มีค่าความแตกต่างของปริมาณสารน้อยที่สุด จากผลการศึกษานี้จะเห็นความแตกต่างของการสกัดทั้งสองวิธีโดยที่การใช้ US ร่วมกับความร้อน ทำให้ได้ปริมาณสารแอนโทไซยานินสูงสุดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลา 40 นาที ขณะที่การให้ความร้อนอย่างเดียวต้องใช้อุณหภูมิสูงกว่าคือ 100 องศาเซลเซียส ซึ่งสอดคล้องกับ Huang *et al*. (2009) ที่ได้ทำการสกัดสารฟลาโวนอยด์จาก *Folium eucommiae* (พืชสมุนไพรที่นำมาทำเป็นยาบำรุงชนิดหนึ่งในประเทศจีน) พบว่าการใช้ US ในการสกัดให้ปริมาณสารฟลาโวนอยด์สูงกว่าการใช้ความร้อนเพียงอย่างเดียว

การพรีทรีตเม้นต์ด้วย US (400 วัตต์ 30 นาที) ก่อนการให้ความร้อน มีผลให้เซลล์เยื่อหุ้มเมล็ดข้าวเกิดการฉีกขาด ทำให้สารแอนโทไซยานินถูกปลดปล่อยออกมาได้ง่ายขึ้น เมื่อให้ความร้อนในระดับอุณหภูมิที่ไม่สูงมาก (เพียง 50-60 องศาเซลเซียส) ช่วยให้สารแอนโทไซยานินละลายออกมามากขึ้นและสัมประสิทธิ์การแพร่ของสารเพิ่มขึ้นและแปรผันตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น หากให้ความร้อนสูงกว่านี้ (70-100 องศาเซลเซียส) ส่งผลให้ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดลดลง โดยเฉพาะเมื่อระยะเวลาการสกัดนานขึ้น อาจเนื่องจาก 1) เยื่อหุ้มเมล็ดเกิดการแตกหักมากขึ้น ขณะให้ความร้อนสตาร์ชในเมล็ดข้าวเกิดเจลาติไนเซชั่นและถูกปลดปล่อยสู่สารละลายง่ายกว่าชุดการทดลองที่ไม่พรีทรีเม้นต์ด้วย US อาจรบกวนปฏิกิริยาของสารและการวัดค่าการดูดกลืนแสงใน

Prince of Songkla University Pattani Campus

ขั้นตอนการวิเคราะห์ 2) การพรีทรีตเม้นต์ด้วย US กำลัง 400 วัตต์ ระยะเวลา 30 นาที อาจมีผลให้โครงสร้างของสารแอนโทไซยานินเกิดการเปลี่ยนแปลงหรือพันธะต่างๆ ในโมเลกุลอ่อนตัวลง ทำให้ง่ายต่อการเปลี่ยนแปลงหรือถูกทำลาย ซึ่งมีงานวิจัยของ Qiao *et al.* (2014) รายงานว่า US ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารฟลาโวนอยด์ชนิด quercitin โดยมีพันธะไฮโดรเจนเกิดขึ้นภายในโมเลกุล รวมถึงมีการเปลี่ยนแปลงของวงแหวน B ที่อาจเกิดจากฏิกิริยาของไดไฮดรอกซิลในวงแหวน B และมีการรวมกันของ heterocyclic ในวงแหวน C ของโครงสร้างสาร quercitin ทำให้สารดังกล่าวมีความเข้มข้นลดลง ดังนั้นการใช้ US ร่วมกับความร้อนจึงมีผลให้สารแอนโทไซยานินถูกทำลายง่ายกว่าการให้ความร้อนเพียงอย่างเดียว

Prince of Songkla University Pattani Campus

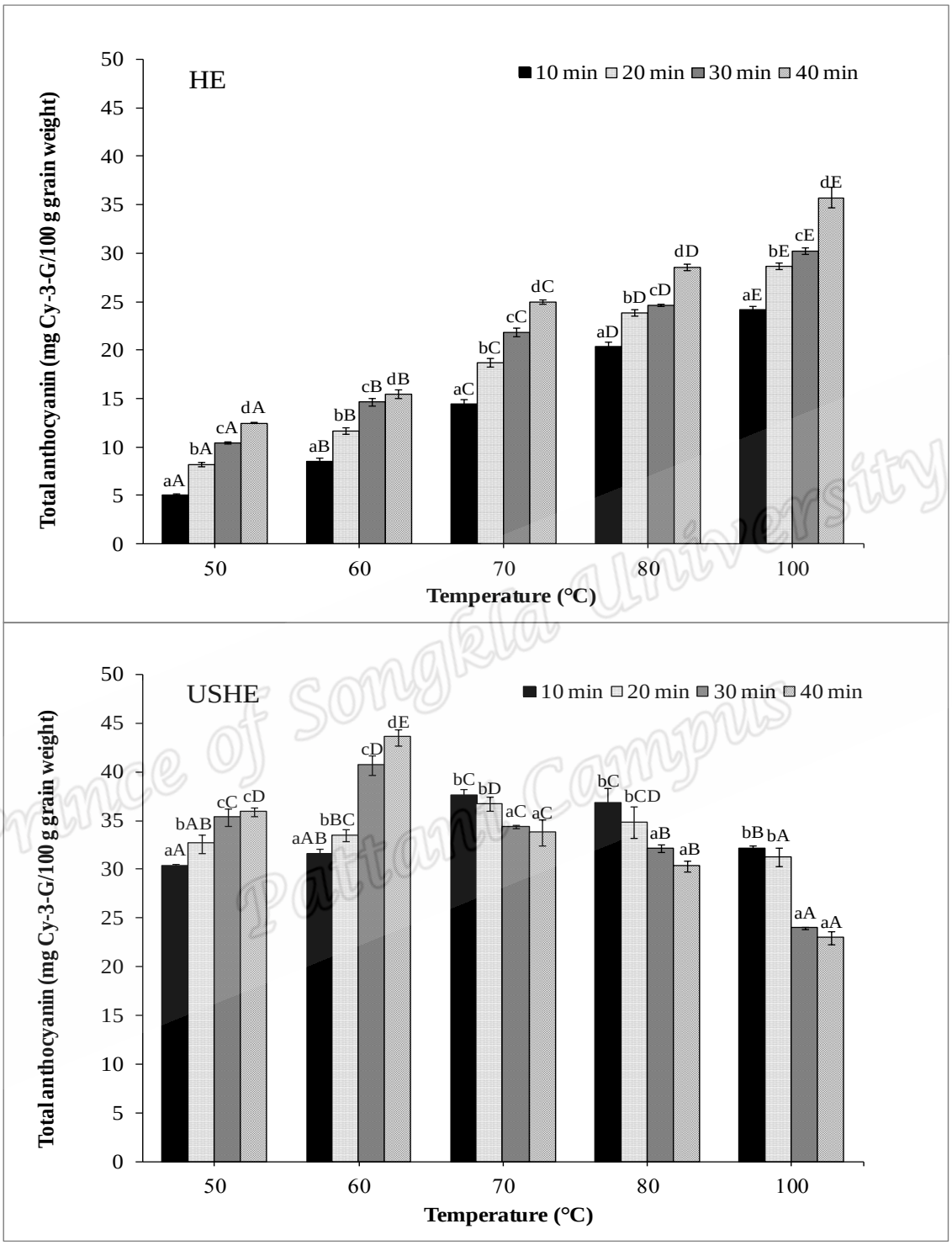
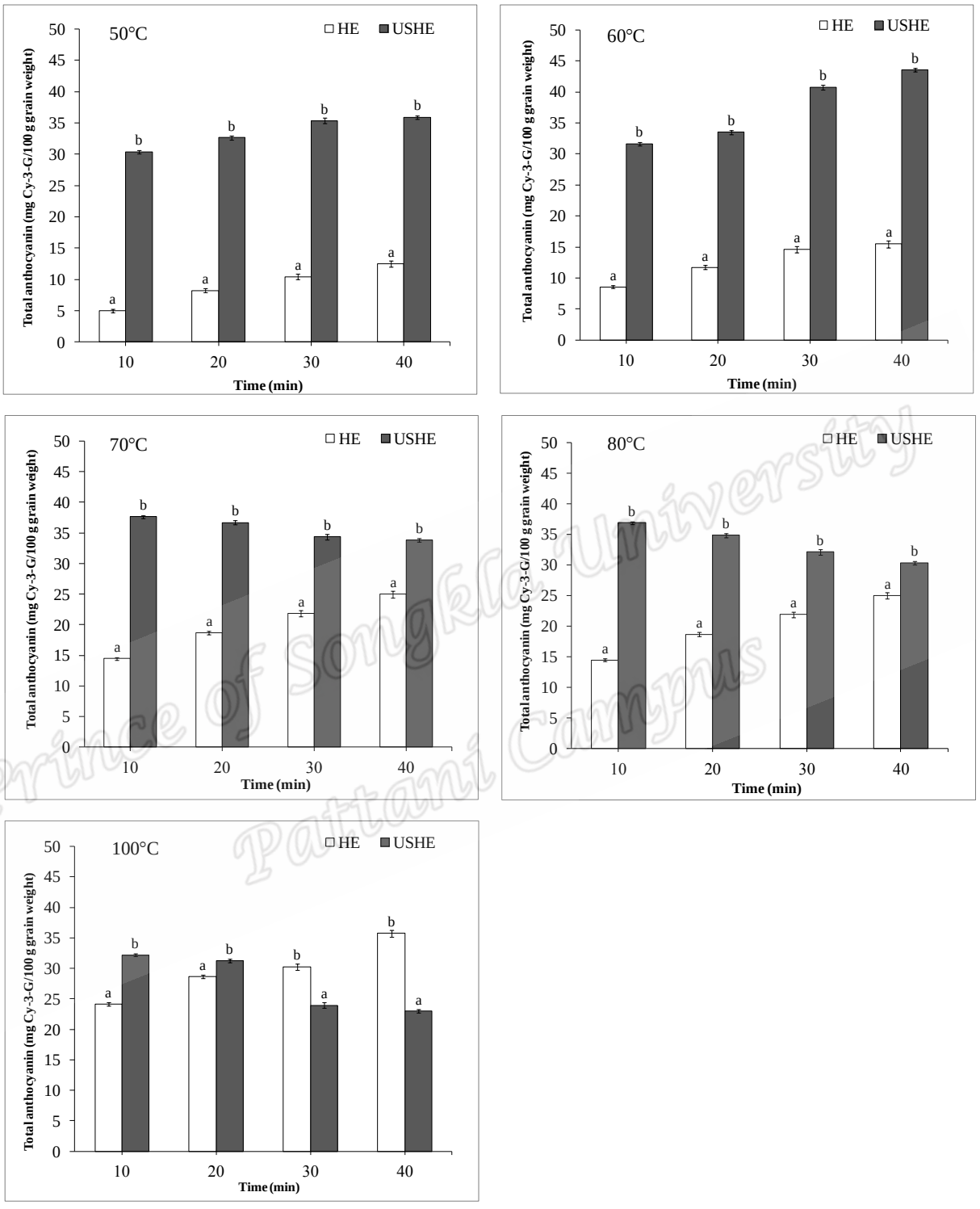


Figure 4.5 Effect of heating temperature and time on total anthocyanin content of rice extracts, in comparison between US pretreatment (USHE) and without (HE) before heating. The vertical bars represent the standard deviation (n = 3). Different small letters, at the same temperature are significantly different *($p \leq 0.05$)*. Different capital letters, at the same heating time are significantly different *($p \leq 0.05$)*.



Prince of Songkla University Pattani Campus

Figure 4.6 Comparison of anthocyanin content of rice extracts obtained from HE and USHE methods, at the same heating temperature and time. The vertical bars represent the standard deviation (n = 3). Different letters are significantly different *($p \leq 0.05$)*.

4.2.2 ปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด

จากการศึกษาพบว่าการสกัดทั้งสองวิธีมีผลต่อ ปริมาณโพลีฟีนอลในทำนองเดียวกับปริมาณแอนโทไซยานิน (ภาพที่ 4.7) กล่าวคือการสกัดด้วยวิธี HE พบว่าอุณหภูมิและระยะเวลาในการสกัดมีผลต่อปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (ตารางภาคผนวกที่ 4) คือที่อุณหภูมิการสกัดเท่ากัน (เช่นที่ 50 องศาเซลเซียส) เมื่อระยะเวลาการสกัดเพิ่มขึ้น (10-40 นาที) มีผลให้ปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ และผลการทดลองเป็นไปในทำนองเดียวกันในทุกอุณหภูมิการสกัด เมื่อเปรียบเทียบที่ระยะเวลาการสกัดที่เท่ากัน อุณหภูมิที่สูงขึ้นมีผลให้ปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งนี้เนื่องจากเมื่ออุณหภูมิและระยะเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้นขึ้นมีผลให้ความสามารถในการละลายของสารโพลีฟีนอลที่สกัดสูงขึ้น โดย Jerez *et al*. (2006) กล่าวว่าเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น มีผลให้ความสามารถในการละลายของตัวถูกละลายและสัมประสิทธิ์การแพร่เพิ่มขึ้น ทำให้ปริมาณสารเพิ่มขึ้น ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัยของ Jeong *et al*. (2004) ที่ได้ทำการศึกษาผลของการให้ความร้อนต่อปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดจากสารสกัดเปลือกส้ม ซึ่งจากการศึกษาพบว่า เมื่ออุณหภูมิ (50-150 องศาเซลเซียส) และระยะเวลา (0-60 นาที) ในการให้ความร้อนเพิ่มขึ้น มีผลให้ปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด มีค่าสูงขึ้น ผลการศึกษาครั้งนี้ได้สอดคล้องกับการศึกษาของอัสมา (2554) ที่พบว่าอุณหภูมิและระยะเวลาการให้ความร้อนที่เพิ่มขึ้น (อุณหภูมิ 60-100 องศาเซลเซียส และระยะเวลา 15-30 นาที) มีผลให้ได้ปริมาณสารโพลีฟีนอลจากการสกัดข้าวกล้องมีสี เพิ่มขึ้นแต่ปริมาณสารลดลงเมื่อใช้อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส

สำหรับผลของการสกัดน้ำข้าวด้วยวิธี USHE พบว่า อุณหภูมิและระยะเวลาในการสกัดมีผลต่อปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เช่นเดียวกับวิธี HE แต่ปริมาณสารโพลีฟีนอลทั้งหมดของน้ำข้าวสกัดจากวิธี USHE สูงกว่าน้ำข้าวสกัดจากวิธี HE นอกจากนี้ยังพบว่าที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียสเท่านั้นที่มีผลให้ปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดมีค่าสูงขึ้นเมื่อเพิ่มระยะเวลาการสกัด 10-40 นาที ซึ่งผลเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับวิธี HE ขณะที่ชุดการทดลองที่อุณหภูมิในการสกัดที่ 70, 80 และ 100 องศาเซลเซียส พบว่าปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดลดลงอย่างมีนัยสำคัญ แต่ทั้งนี้ปริมาณสารโพลีฟีนอลก็ยังคงสูงกว่าการใช้ความร้อนเพียงอย่างเดียว (ณ ที่อุณหภูมิและระยะเวลาการสกัดที่เท่ากัน) ยกเว้นชุดการทดลองที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 30 และ 40 นาที (เช่นเดียวกับแอนโทไซยานิน)

เมื่อเปรียบเทียบวิธีการสกัด HE กับ USHE (ภาพที่ 4.8) โดยพิจารณาชุดการทดลองที่อุณหภูมิและระยะเวลาการสกัดเดียวกัน พบว่า ปริมาณสารโพลีฟีนอลของน้ำข้าวสกัดจากวิธี USHE สูงกว่าวิธี HE ทุกชุดการทดลองยกเว้นที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสและระยะเวลา 30 และ 40 นาที โดยสังเกตเห็นว่าปริมาณสารโพลีฟีนอลที่สกัดได้จากทั้งสองวิธีมีค่าใกล้เคียงกัน

Prince of Songkla University Pattani Campus

มากขึ้น เมื่ออุณหภูมิและระยะเวลาเพิ่มขึ้น กล่าวคือมีค่าความแตกต่างของปริมาณสารน้อยลง โดยที่อุณหภูมิการสกัด 100 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 20 นาที มีค่าความแตกต่างของปริมาณสารน้อยที่สุด จากผลการศึกษานี้จะเห็นความแตกต่างของการสกัดทั้งสองวิธีโดยที่การใช้ US ร่วมกับความร้อน ทำให้อุณหภูมิการสกัดที่ให้ปริมาณสารสูงสุดคือ 60 องศาเซลเซียส ขณะที่การให้ความร้อนอย่างเดียวต้องใช้อุณหภูมิที่สูงกว่าคือ 100 องศาเซลเซียส

การพรีทรีตเม้นต์ด้วย US (400 วัตต์ 30 นาที) ก่อนการให้ความร้อนเป็นการช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดให้สารโพลีฟีนอลถูกปลดปล่อยออกมามากขึ้น โดย US มีผลให้เซลล์เยื่อหุ้มเมล็ดข้าวเกิดการแตกหัก สารถูกปลดปล่อยออกมาในระดับที่สูงพอสมควร (ประมาณ 715.27 mg GAE/ 100g grain weight) และเมื่อให้ความร้อน ในระดับที่ไม่สูงมาก (50-60 องศาเซลเซียส) อาจช่วยให้สารโพลีฟีนอลละลายออกมามากขึ้นและสัมประสิทธิ์การแพร่ของสารเพิ่มขึ้น ในขณะเดียวกันเมื่อเพิ่มอุณหภูมิ 70-100 องศาเซลเซียส ส่งผลให้ปริมาณสารโพลีฟีนอลทั้งหมดลดลง โดยเฉพาะเมื่อระยะเวลาการสกัดนานขึ้น ทั้งนี้ที่ระดับอุณหภูมิดังกล่าวส่งผลต่อปริมาณสารโพลีฟีนอล อาจเนื่องจาก 1) เยื่อหุ้มเมล็ดเกิดการแตกหักมากขึ้น รวมถึงสตาร์ชในเมล็ดข้าวเกิดเจลาติไนเซชันและถูกปลดปล่อยสู่สารละลาย อาจรบกวนปฏิกิริยาของสารและการวัดค่าการดูดกลืนแสงในขั้นตอนการวิเคราะห์ 2) การพรีทรีตเม้นต์ด้วย US กำลัง 400 วัตต์ ระยะเวลา 30 นาที อาจมีผลให้โครงสร้างของสารโพลีฟีนอลเกิดการเปลี่ยนแปลง หรือพันธะต่างๆ ในโมเลกุลอ่อนตัวลง ทำให้ง่ายต่อการเปลี่ยนแปลงหรือถูกทำลาย ส่งผลให้ปริมาณสารลดลง เนื่องจากกระบวนการคาวิเทชั่น ของ US ทำให้เกิดปฏิกิริยาของอนุมูลไฮดรอกซิล ($OH^{\cdot}$) สามารถรวมและก่อให้เกิดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ซึ่งส่งผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารฟีนอลได้ (Paniwyk *et al.,* 2001; Chowdhury and Viraraghavan, 2009) และเมื่อนำไปให้ความร้อนในอุณหภูมิที่สูงขึ้นจึงมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างหรือมีการเสื่อมสลายของสารโพลีฟีนอลได้ง่าย

Prince of Songkla University Pattani Campus

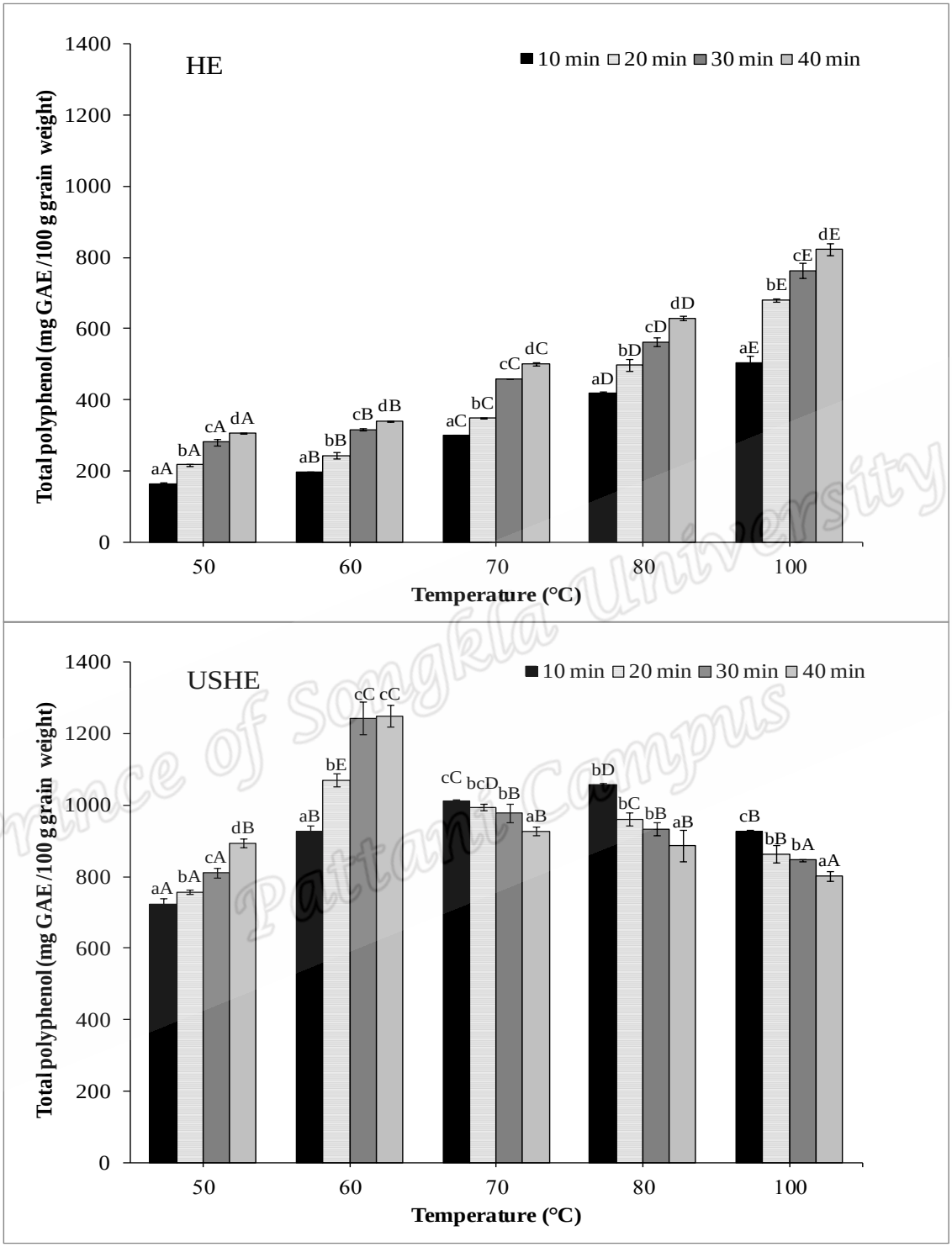
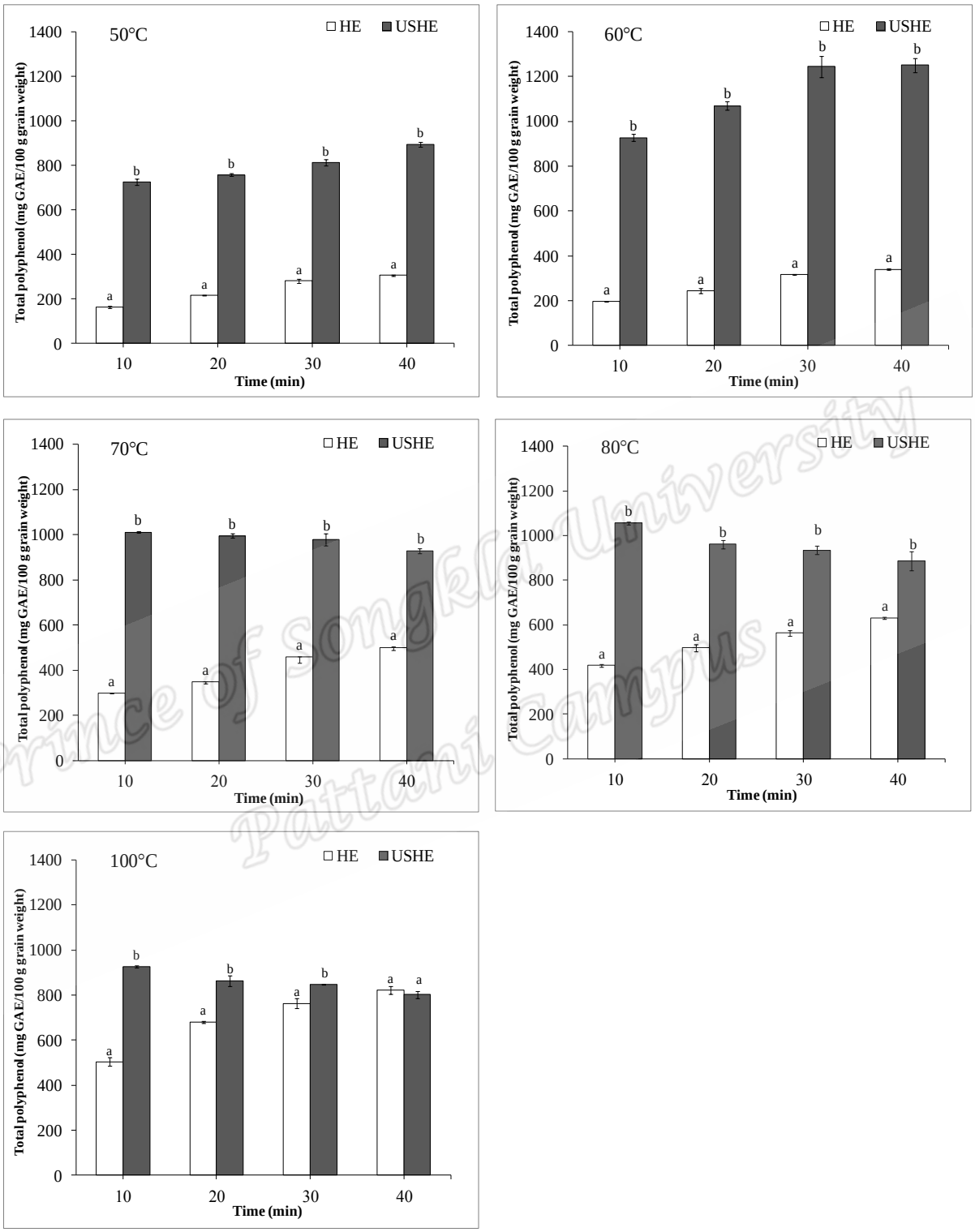


Figure 4.7 Effect of heating temperature and time on total polyphenol content of rice extract, in comparison between US pretreatment (USHE) and without (HE) before heating. The vertical bars represent the standard deviation (n = 3). Different small letters, at the same temperature **are** significantly different ($p \leq 0.05$). Different capital letters, at the same heating time are significantly different ($p \leq 0.05$).



Prince of Songkla University Pattani Campus

Figure 4.8 Comparison of polyphenol content of rice extracts obtained from HE and USHE methods, at the same heating temperature and time. The vertical bars represent the standard deviation (n = 3). Different letters are significantly different ($p \leq 0.05$)

4.2.3 ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ

ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระมีด้วยกันหลายวิธี ซึ่งในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ใช้ 2 วิธี คือ การยับยั้งอนุมูล $ABTS^+$ และ $DPPH^\cdot$ การวัดการยับยั้งอนุมูล $ABTS^+$ เป็นวิธีทางอ้อม ทำโดยเปลี่ยนอนุมูลอิสระด้วยการออกซิไดซ์ด้วยโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟตให้กลายเป็น $ABTS^+$ (เป็นอนุมูลที่มีสีฟ้า-เขียว) เมื่อเติมสารทดสอบที่มีความสามารถในการเป็นสารแอนตี้ออกซิแดนท์ (หรือสามารต้านกิจกรรมออกซิเดชัน) จะทำให้ปริมาณ $ABTS^+$ ลดลง สามารถคำนวณความสามารถในการยับยั้งอนุมูล $ABTS^+$ ได้ สำหรับอนุมูลอิสระ $DPPH^\cdot$ มีสีม่วงอยู่ในรูปอนุมูลอยู่แล้ว เป็นอนุมูลไนโตรเจน ไม่ต้องนำมาทำปฏิกิริยาเพื่อให้เกิดเป็นอนุมูลอิสระเหมือนอนุมูลอิสระ $ABTS^+$

4.2.3.1 การยับยั้งอนุมูลอิสระ $DPPH^\cdot$

การสกัดด้วยวิธี HE (ภาพที่ 4.9) พบว่า อุณหภูมิและระยะเวลาในการสกัดมีผลต่อความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ $DPPH^\cdot$ ของน้ำข้าวสกัดอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (ตารางภาคผนวกที่ 5) กล่าวคือ ที่อุณหภูมิเท่ากันเมื่อระยะเวลาการสกัดเพิ่มขึ้น (10-40 นาที) มีผลให้ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ $DPPH^\cdot$ เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ โดยผลเป็นไปในทำนองเดียวกันทุกอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด และที่ระยะเวลาเท่ากันเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นมีผลให้ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ $DPPH^\cdot$ เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเช่นเดียวกัน

สำหรับการสกัดด้วยวิธี USHE (ภาพที่ 4.9) พบว่า อุณหภูมิและระยะเวลาในการสกัดมีผลต่อความสามารถในการยับยั้งอนุมูล $DPPH^\cdot$ ของน้ำข้าวสกัดอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เช่นกัน (ตารางภาคผนวกที่ 6) โดยความสามารถดังกล่าว ขึ้นอยู่กับระดับอุณหภูมิและระยะเวลาการสกัด คือที่อุณหภูมิในการสกัด 50 และ 60 องศาเซลเซียส เมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น (10-40 นาที) มีผลให้การยับยั้งอนุมูล $DPPH^\cdot$ สูงขึ้น เช่นเดียวกับวิธี HE ในขณะที่เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น (70-100 องศาเซลเซียส) ความสามารถในการยับยั้งอนุมูล $DPPH^\cdot$ ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ และความสามารถยิ่งลดลงเมื่อระยะเวลาการสกัดเพิ่มขึ้น ทั้งนี้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำข้าวสกัดจากชุดการทดลองต่างๆ สอดคล้องกับปริมาณแอนโทไซยานินและโพลีฟีนอลในน้ำข้าวสกัดที่ได้ ตามสภาวะการสกัด ทั้งสองวิธีดังได้กล่าวไว้แล้วข้างต้น (หัวข้อ 4.2.1 และ 4.2.2)

เปรียบเทียบความสามารถการยับยั้งอนุมูล $DPPH^\cdot$ ของน้ำข้าวสกัดจาก วิธี USHE และ HE (ภาพที่ 4.10) พบว่าชุดการทดลองที่อุณหภูมิและระยะเวลาการสกัดที่เท่ากัน ที่ได้จากชุดการทดลองที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียสทุกระยะเวลา และ ที่ 70 และ 80 องศาเซลเซียสที่ระยะเวลาการสกัด 10 นาที การยับยั้งอนุมูล $DPPH^\cdot$ ของน้ำข้าวสกัดจากวิธี USHE สูงกว่าวิธี HE ส่วนชุดการทดลองอื่นๆ ทั้งหมดมีค่าการยับยั้งอนุมูล $DPPH^\cdot$ ของน้ำข้าวสกัดจากวิธี USHE ต่ำกว่า

Prince of Songkla University Pattani Campus

วิธี HE ซึ่งจะเห็นว่าไม่สอดคล้องกับปริมาณสารที่เพิ่มขึ้น นอกจากนี้เป็นที่น่าสังเกตว่า ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระทั้งสองชนิดในน้ำข้าวสกัดด้วยวิธี USHE มีปริมาณสูงกว่าวิธี HE ค่อนข้างมาก ประมาณ 2-4 เท่า (ภาพที่ 4.6) ในบางอุณหภูมิ แต่ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH˙ ของน้ำข้าวสกัด ที่ได้จากวิธี USHE สูงกว่า วิธี HE เพียงเล็กน้อยเท่านั้น และโดยเฉพาะชุดการทดลอง ที่อุณหภูมิ 70, 80 และ 100 องศาเซลเซียส (วิธี USHE) แม้ปริมาณสารแอนโทไซยานินและโพลีฟีนอลสูงกว่าวิธี HE แต่ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH˙ มีค่าต่ำกว่า ทั้งนี้อาจมีความเป็นไปได้ว่าในขั้นตอนการวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH˙ อาจถูกรบกวนจากสีของตัวอย่าง กล่าวคือ สีของตัวอย่างที่เข้มขึ้นอันเนื่องมาจากเมื่อระยะเวลาและอุณหภูมิเพิ่มขึ้น ส่งผลต่อปฏิกิริยาของการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH˙ และการวัดค่าการดูดกลืนแสง เนื่องจากค่าการดูดกลืนแสงของน้ำสกัด (550 นาโนเมตร) มีค่าใกล้เคียงกับค่าการดูดกลืนแสงของการวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH˙ (517 นาโนเมตร) Awika *et al.* (2003) และผลของปริมาณสารแอนโทไซยานิน และโพลีฟีนอลที่มีปริมาณลดลง (วิธี USHE) อันเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างหรือการเสื่อมสลายนั้น ส่งผลให้ค่าความความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH˙ มีปริมาณลดลงเช่นเดียวกัน

Prince of Songkla University Pattani Campus

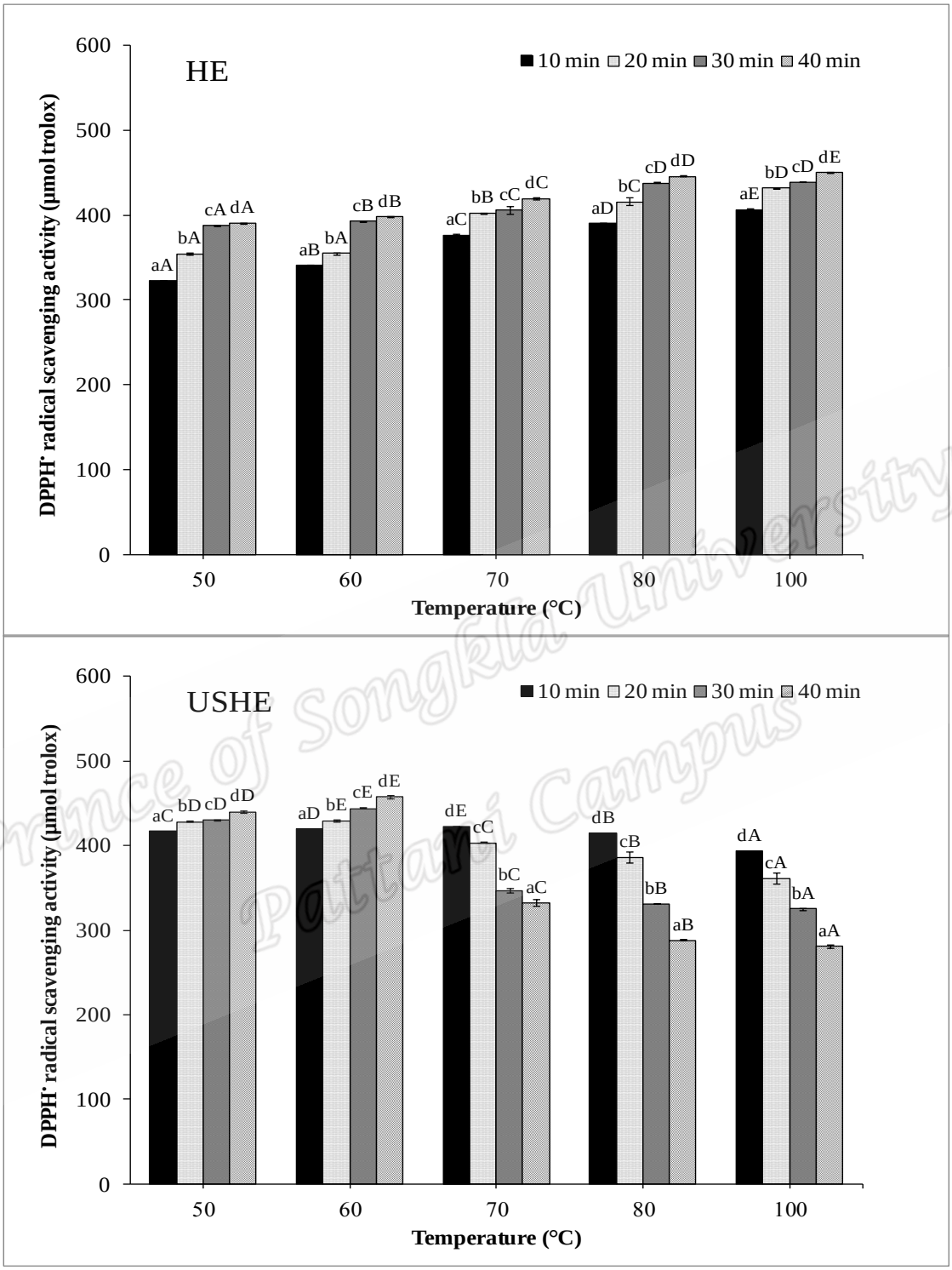


Figure 4.9 Effect of heating temperature and time on DPPH$^{\cdot}$ radical scavenging activity of rice extracts, in comparison between US pretreatment (USHE) and without (HE) before heating. The vertical bars represent the standard deviation (n = 3). Different small letters, at the same temperature are significantly different ($p \leq 0.05$). Different capital letters, at the same heating time are significantly different ($p \leq 0.05$).

Prince of Songkla University Pattani Campus

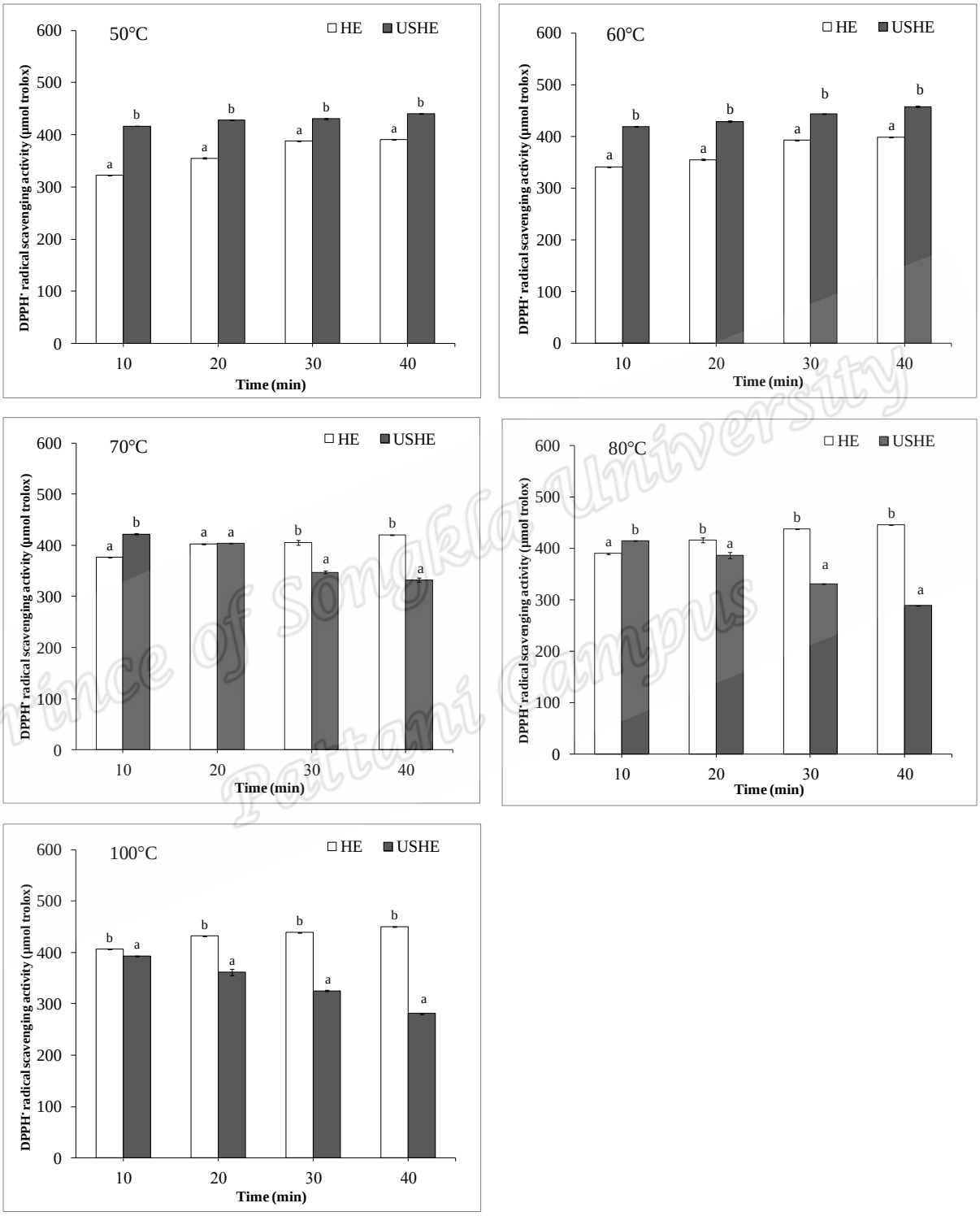


Figure 4.10 Comparison of DPPH$^{\bullet}$ radical scavenging activity of rice extracts obtained from HE and USHE methods, at the same heating temperature and time. The vertical bars represent the standard deviation (n = 3). Different letters are significantly different ($p \leq 0.05$).

Prince of Songkla University Pattani Campus

4.2. 3.2 การยับยั้งอนุมูลอิสระ $ABTS^+$

ความสามารถในการยับยั้งอนุมูล $ABTS^+$ ของน้ำข้าวสกัดการสกัดด้วยวิธี HE (ภาพที่ 4.11) พบว่า อุณหภูมิและระยะเวลาในการสกัดมีผลต่อการยับยั้งอนุมูล $ABTS^+$ ของน้ำข้าวสกัดอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) กล่าวคือ สัมพันธ์กับปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระทั้งสองชนิด (แอนโทไซยานินและโพลีฟีนอล) ในน้ำข้าวสกัดดังที่ได้กล่าวในข้อ 4.2.1 และ 4.2.2 ซึ่งการสกัดด้วยวิธี HE เมื่ออุณหภูมิและระยะเวลาการสกัดที่สูงขึ้น มีผลให้ได้สารแอนโทไซยานินและโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงขึ้น ส่งผลต่อความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระที่สูงขึ้นเช่นกัน และเป็นที่น่าสังเกตว่าที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส การยับยั้งอนุมูล $ABTS^+$ เพิ่มขึ้นอย่างมากเมื่อเทียบระดับการเพิ่มขึ้นของสารที่อุณหภูมิการสกัดที่ต่ำกว่า

การสกัดด้วยวิธี USHE พบว่าความสามารถในการยับยั้งอนุมูล $ABTS^+$ สอดคล้องและเป็นไปในทำนองเดียวกันกับปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระทั้งสองชนิดในน้ำข้าวสกัด เมื่อเปรียบเทียบความสามารถการต้านยับยั้งอนุมูล $ABTS^+$ ของน้ำข้าวสกัดจากวิธี USHE และ HE (ภาพที่ 4.12) พบว่าน้ำข้าวสกัดจากวิธี USHE สามารถยับยั้งอนุมูล $ABTS^+$ ได้สูงกว่าจากวิธี HE ยกเว้นที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 20-40 นาที ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากปริมาณสารแอนโทไซยานินและโพลีฟีนอลลดลง เนื่องจากการน้ำข้าวสกัดจากวิธี USHE มีการพรีทรีตเม้นต์ด้วย US และนำไปให้ความร้อน ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและการเสื่อมสลายของสารแอนโทไซยานินและโพลีฟีนอล จึงมีผลให้ความสามารถในการยับยั้งยับยั้งอนุมูล $ABTS^+$ มีค่าลดลง

Prince of Songkla University Pattani Campus

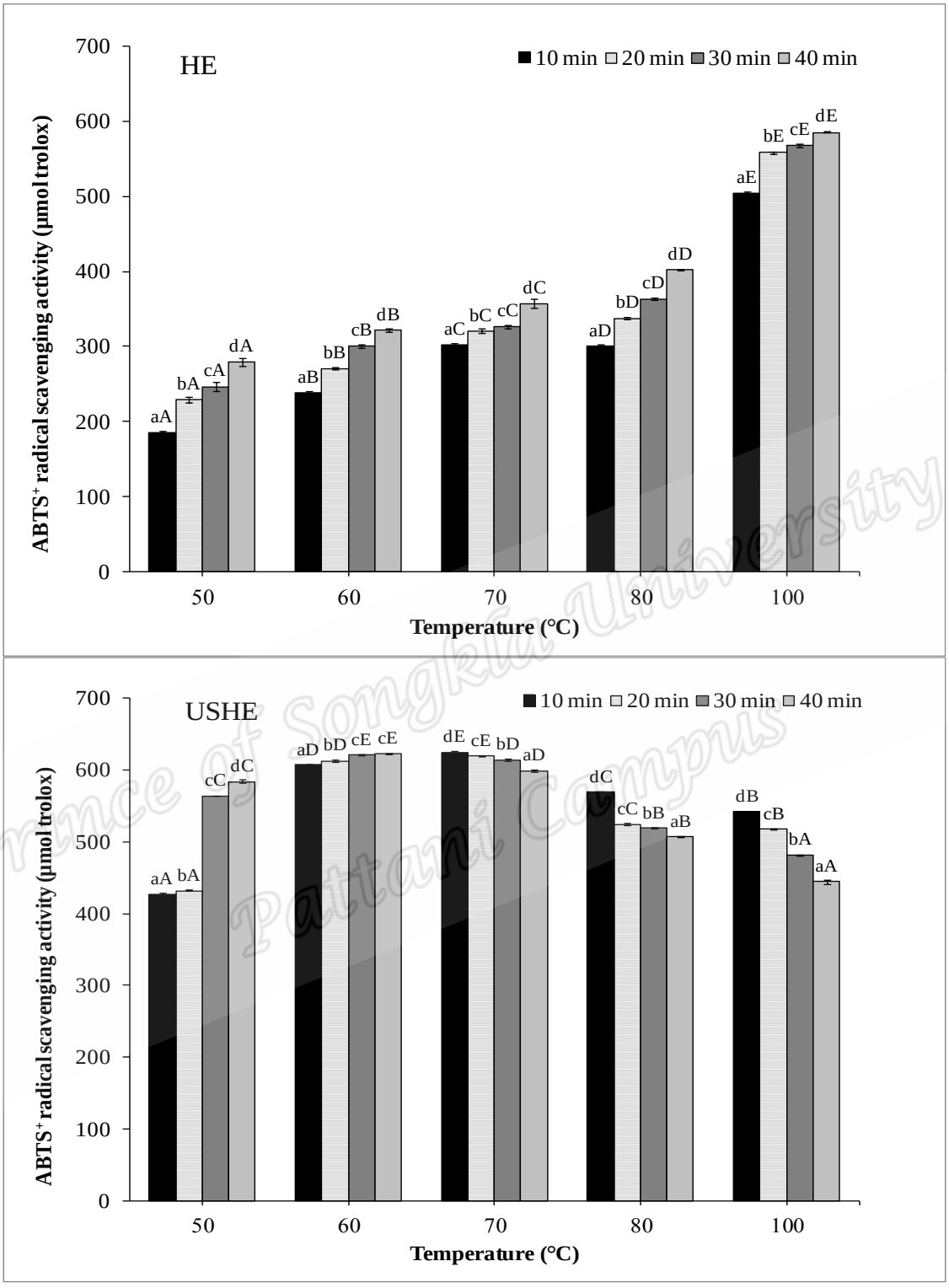


Figure 4.11 Effect of heating temperature and time on $ABTS^{+}$ radical scavenging activity of rice extracts, in comparison between US pretreatment (USHE) and without (HE) before heating. The vertical bars represent the standard deviation (n = 3). Different small letters, at the same temperature are significantly different ($p \leq 0.05$). Different capital letters, at the same heating time are significantly different ($p \leq 0.05$).

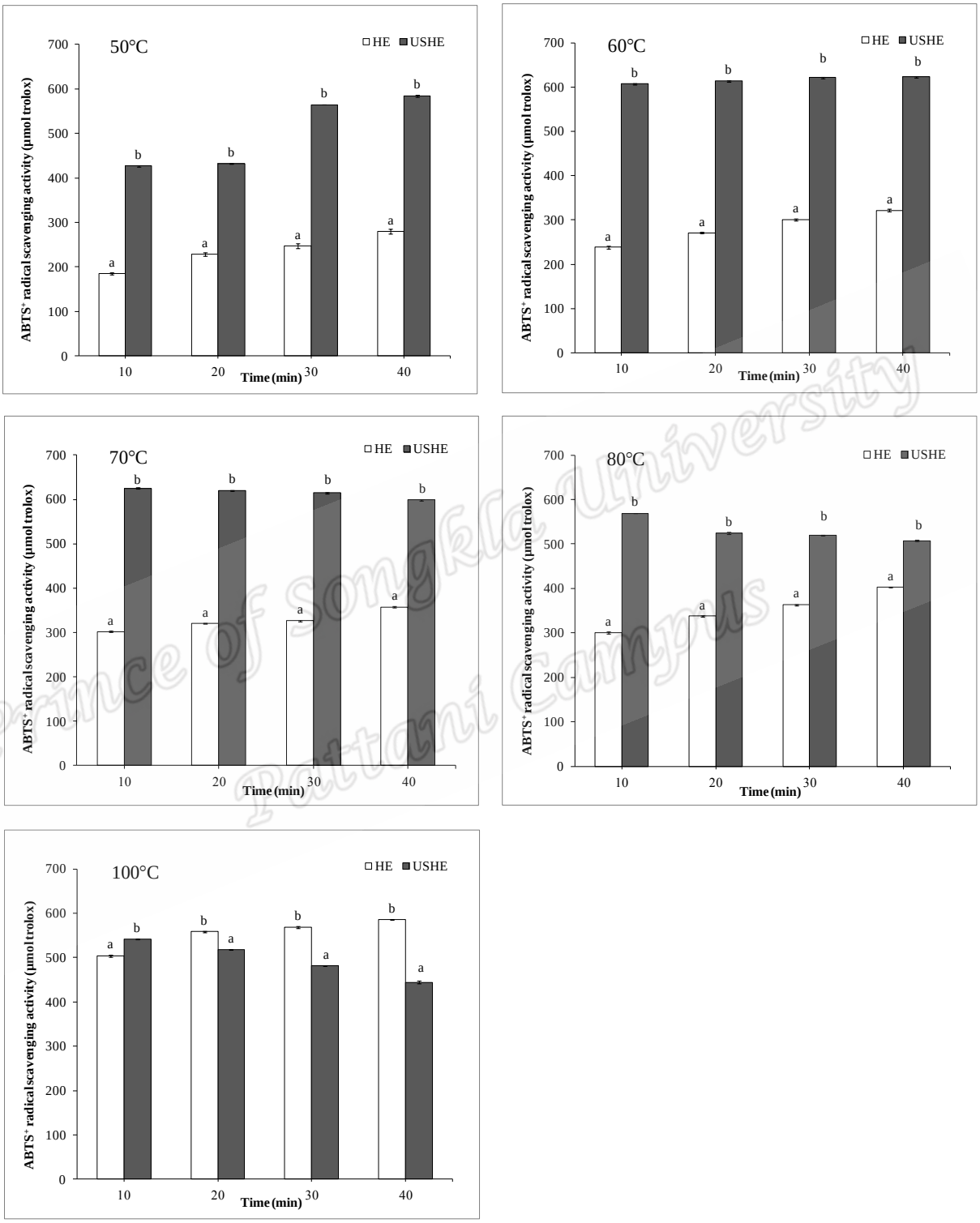


Figure 4.12 Comparison of $ABTS^{+}$ radical scavenging activity of rice extracts obtained from HE and USHE methods, at the same heating temperature and time. The vertical bars represent the standard deviation (n = 3). Different letters are significantly different ($p \leq 0.05$).

Prince of Songkla University Pattani Campus

4.2.4 ปริมาณของแข็งทั้งหมด

ปริมาณของแข็งทั้งหมดของน้ำสกัดจากข้าวเหนียวดำ พบว่า อุณหภูมิและระยะเวลาในการสกัดมีผลต่อปริมาณของแข็งทั้งหมดอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (ตารางภาคผนวกที่10 และ11) กล่าวคือ ที่อุณหภูมิเดียวกันเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น ปริมาณของแข็งทั้งหมดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ และที่อุณหภูมิสูงขึ้นส่งผลให้ปริมาณของแข็งทั้งหมดเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน (ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ 100ºC > 80 ºC >70 ºC >60 ºC >50 ºC) ทั้งนี้ผลของปริมาณของแข็งทั้งหมดจากวิธี HE และ USHE ให้ผลในทำนองเดียวกันแสดงดังภาพที่ 4.13

เปรียบเทียบการสกัดทั้ง 2 วิธี พบว่า ที่อุณหภูมิและระยะเวลาเท่ากัน ปริมาณของแข็งทั้งหมดจากวิธี USHE สูงกว่า ปริมาณของแข็งทั้งหมดจากวิธี HE โดยที่ชุดการทดลอง USHE ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 40 นาที มีปริมาณของแข็งทั้งหมดสูงสุด 6.67 เปอร์เซ็นต์ และวิธี HE มีค่า 2.06 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้วิธี USHE มีการผ่านพรีทรีเม้นต์ด้วย US ก่อนการให้ความร้อน ซึ่งการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงมีผลให้เยื่อหุ้มข้าวเหนียวดำมีการหลุดออกจากเมล็ดข้าว อีกทั้งเมล็ดข้าวเหนียวดำบางส่วนมีการแตกหัก และเม็ดสตาร์ชของข้าวเหนียวดำหลุดออกมาได้ง่าย และมากกว่าตัวอย่างที่ไม่ผ่านการพรีทรีตเมนต์ด้วย US จึงส่งผลให้มีปริมาณของแข็งทั้งหมดเพิ่มขึ้น และ ทำให้ปริมาณของแข็งทั้งหมดจากวิธี USHE สูงกว่าวิธี HE

ทั้งนี้เมื่ออุณหภูมิและระยะเวลาในการสกัดด้วยความร้อนเพิ่มขึ้นมีผลให้เยื่อหุ้มเมล็ดข้าวและเม็ดสตาร์ชหลุดมากขึ้น ปริมาณของแข็งในสารสกัดจึงเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของทิพวดี (2550) ทำการศึกษาผลของอุณหภูมิ (45, 50, 55 และ 60 องศาเซลเซียส) และระยะเวลา (30, 40 และ 50 นาที) ในการสกัดแอนโทไซยานินจากถั่วดำ พบว่า เมื่ออุณหภูมิและระยะเวลาเพิ่มขึ้นส่งผลให้ปริมาณของแข็งทั้งหมดของสารสกัดสูงขึ้น และ อัสมา (2554) ได้ศึกษาผลของอุณหภูมิ (60, 80, 100 และ 120 องศาเซลเซียส) และระยะเวลา (15, 20, 25 และ 30 นาที) ของการสกัดจากข้าวเหนียวดำ พบว่า เมื่ออุณหภูมิและระยะเวลาเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ปริมาณของแข็งทั้งหมดของสารสกัดจากข้าวเหนียวดำเพิ่มขึ้น

Prince of Songkla University Pattani Campus

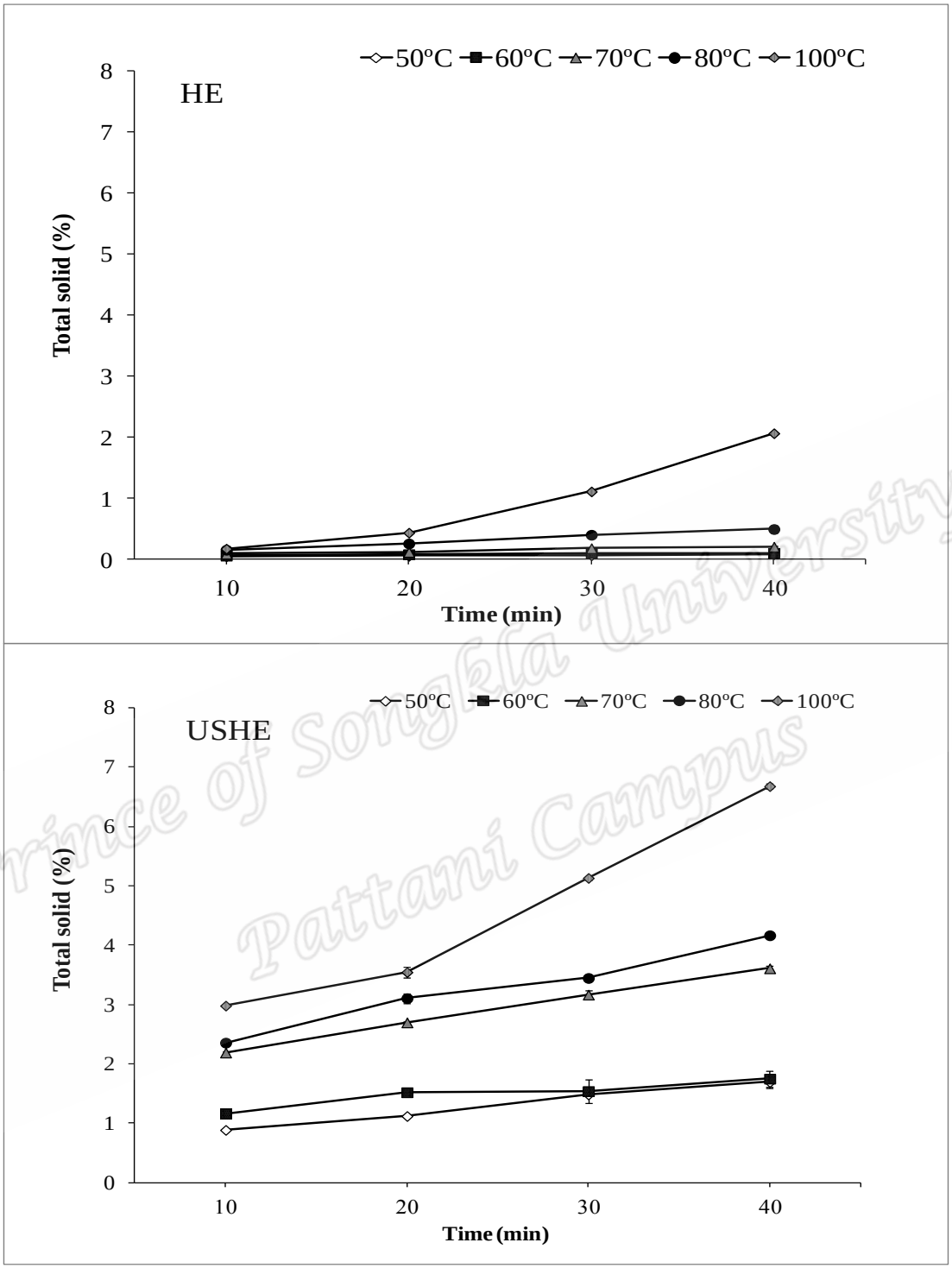


Figure 4.13 Effect of heating temperature and time on total solid of rice extracts obtained from HE and USHE methods. The vertical bars represent the standard deviation (n = 3).

Prince of Songkla University Pattani Campus

4.2.5 ความสามารถในการส่องผ่านของแสง

ผลของความสามารถในการส่องผ่านของแสง (ภาพที่ 4.14) บ่งชี้ถึงความใสของตัวอย่างสารสกัด ซึ่งทำการวิเคราะห์โดยใช้การส่องผ่านของแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร จากการวิเคราะห์พบว่า อุณหภูมิและระยะเวลาในการสกัดมีผลต่อค่าความสามารถในการส่องผ่านของแสงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (ตารางภาคผนวกที่12 และ 13) กล่าวคือ ที่อุณหภูมิเท่ากันเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น (10-40 นาที) มีผลให้ความสามารถในการส่องผ่านของแสงลดลงอย่างมีนัยสำคัญ และเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น (50-100 องศาเซลเซียส) ส่งผลให้ความสามารถในการส่องผ่านของแสงลดลงเช่นเดียวกัน และผลความสามารถในการส่องผ่านของแสงทั้ง 2 วิธีคือ HE และ USHE มีผลไปในทำนองเดียวกัน

เปรียบเทียบการสกัดทั้ง 2 วิธี พบว่า ที่อุณหภูมิและระยะเวลาการให้ความร้อนเท่ากัน ความสามารถในการส่องผ่านของแสง จากวิธี USHE ต่ำกว่า ความสามารถในการส่องผ่านของแสงจากวิธี HE โดยที่ชุดการทดลอง USHE ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 40 นาที แสงไม่สามารถส่องผ่านได้ ขณะที่วิธี HE มีค่า 80 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้วิธี USHE มีการผ่านพรีทรีตเม้นต์ด้วย US มาก่อนการให้ความร้อน ซึ่งการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงมีผลให้เยื่อหุ้มข้าวเหนียวดำ และเม็ดสตาร์ชหลุดออกมามากขึ้น อีกทั้งเมล็ดข้าวเหนียวดำบางส่วนมีการแตกหัก เมื่อนำไปให้ความร้อนต่อไปสารสกัดมีสีที่เข้มขึ้น จึงส่งผลให้การส่องผ่านของแสงลดลงและทำให้ความสามารถในการส่องผ่านของแสงจากวิธี USHE ต่ำกว่าวิธี HE

จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าสอดคล้องกับผลของปริมาณของแข็งทั้งหมด คือ เมื่ออุณหภูมิและระยะเวลาเพิ่มขึ้นปริมาณของแข็งทั้งหมดในสารสกัดเพิ่มขึ้น และส่งผลให้ความสามารถในการส่องผ่านของแสงลดลง เนื่องจากปริมาณของแข็งที่เพิ่มขึ้นมีผลให้เกิดการรบกวนการส่องผ่านของแสงทำให้แสงส่องผ่านสารสกัดได้น้องลง ซึ่งผลการศึกษาเป็นไปในทำนองเดียวกันกับผลของอัสมา (2554) ที่ได้ศึกษาผลของอุณหภูมิ (60, 80, 100 และ 120 องศาเซลเซียส) และระยะเวลา (15, 20, 25 และ 30 นาที) ของการสกัดจากข้าวเหนียวดำ พบว่า เมื่ออุณหภูมิและระยะเวลาเพิ่มขึ้นส่งผลให้ค่าความสามารถในการส่องผ่านของแสงลดลง ทั้งนี้เนื่องจากการให้อุณหภูมิและระยะเวลาที่สูงขึ้นมีผลให้เยื่อหุ้มเมล็ดข้าวและตัวข้าวเหนียวดำมีการแตกหักมากขึ้น โมเลกุลต่างๆ ถูกปลดปล่อยลงสู่สารสกัด รวมถึงปริมาณของแข็งทั้งหมดเพิ่มขึ้น (อัสมา, 2554) มีผลให้แสงส่องผ่านได้น้อยลง

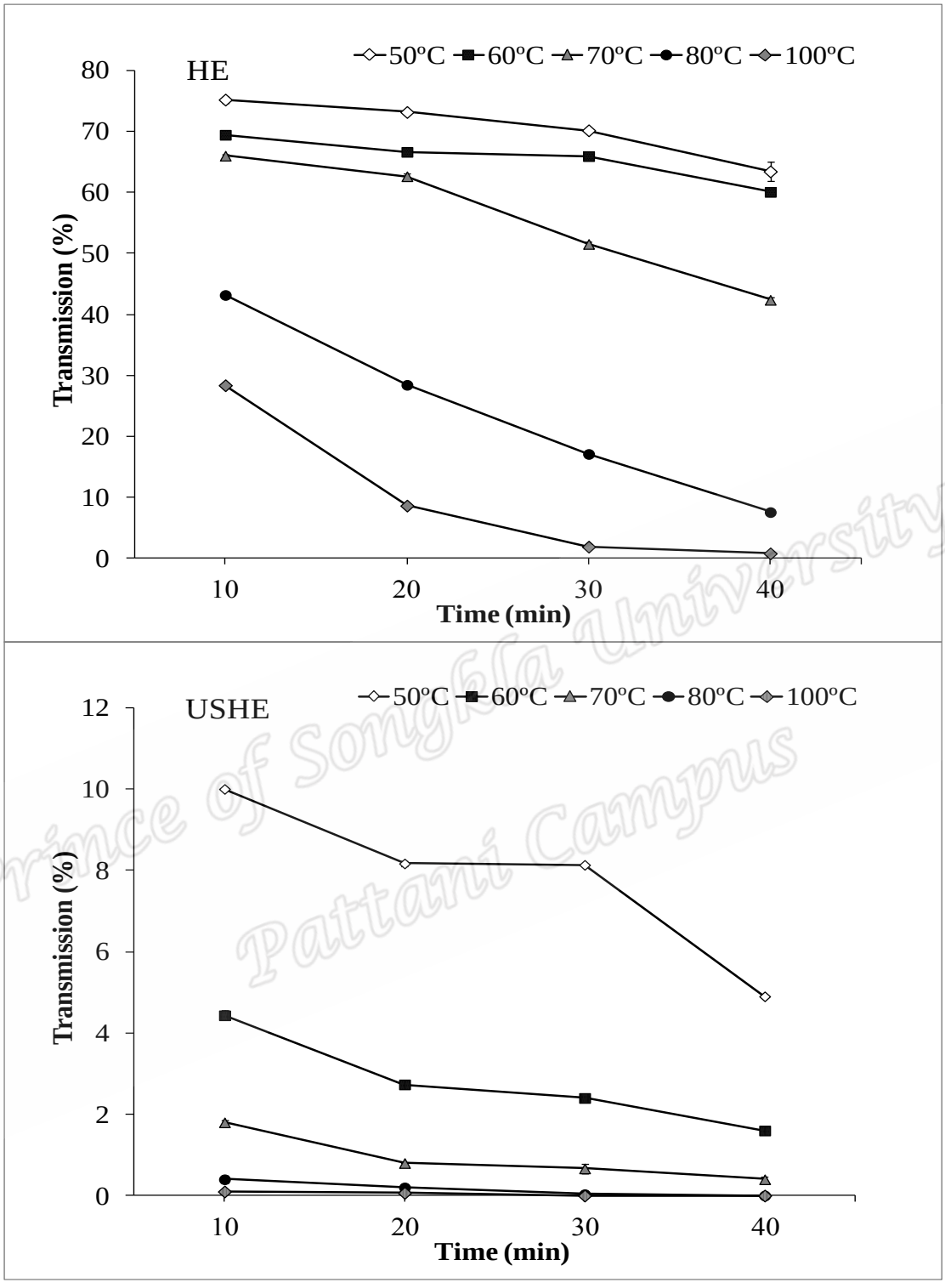


Figure 4.14 Effect of heating temperature and time on transmission of rice extracts obtained from HE and USHE methods. The vertical bars represent the standard deviation (n=3)

Prince of Songkla University Pattani Campus

4.2.6 ความหนืด

สำหรับความหนืดของน้ำข้าวสกัดจากข้าวเหนียวดำ พบว่า อุณหภูมิและระยะเวลาในการสกัด มีผลต่อค่าความหนืดอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (ตารางภาคผนวกที่14 และ15) (ภาพที่ 4.15) กล่าวคือ ที่อุณหภูมิเท่ากันเมื่อระยะเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้น (10-40 นาที) น้ำสกัดจากข้าวเหนียวดำมีค่าความหนืดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ และที่อุณหภูมิสูงขึ้น (50-100 องศาเซลเซียส) ส่งผลให้มีค่าความหนืดเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน ซึ่งผลการทดลองเป็นไปในทำนองเดียวกันในทั้ง 2 วิธีการสกัด (HE และ USHE)

เปรียบเทียบการสกัดทั้ง 2 วิธี พบว่า ที่อุณหภูมิและระยะเวลาการสกัดเท่ากัน ความหนืดจากวิธี USHE มีค่าสูงกว่าจากวิธี HE โดยที่ชุดการทดลอง USHE ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 40 นาที มีความหนืดสูงสุดคือ 29.49 เซ็นติพอยด์ และวิธี HE มีค่า 5.43 เซ็นติพอยด์ ทั้งนี้วิธี USHE มีการผ่านพรีทรีเม้นต์ด้วย US มาก่อนการให้ความร้อน ซึ่งการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงมีผลให้เยื่อหุ้มข้าวเหนียวดำมีการหลุดออก อีกทั้งเมล็ดข้าวเหนียวดำบางส่วนมีการแตกหัก เม็ดสตาร์ชหลุดออก ปริมาณของแข็งทั้งหมดมีปริมาณสูงขึ้น เมื่อนำไปให้ความร้อนต่อไป จึงส่งผลให้มีความหนืดเพิ่มขึ้น เนื่องจากการให้ความร้อนเป็นระยะเวลานานส่งผลให้เมล็ดข้าวเกิดกระบวนการเจลาติไนเซชั่น โดยจะทำให้เม็ดสตาร์ชซึ่งอยู่ภายในข้าวเหนียวดำมีการพองตัวมากขึ้นจนมีขนาดใหญ่และแตกออก ทำให้สารมีความข้นหนืด (นิธิยา, 2549) ดังนั้นน้ำสกัดจึงมีความหนืดสูงขึ้นและทำให้ความหนืดจากวิธี USHE สูงกว่าวิธี HE

Prince of Songkla University Pattani Campus

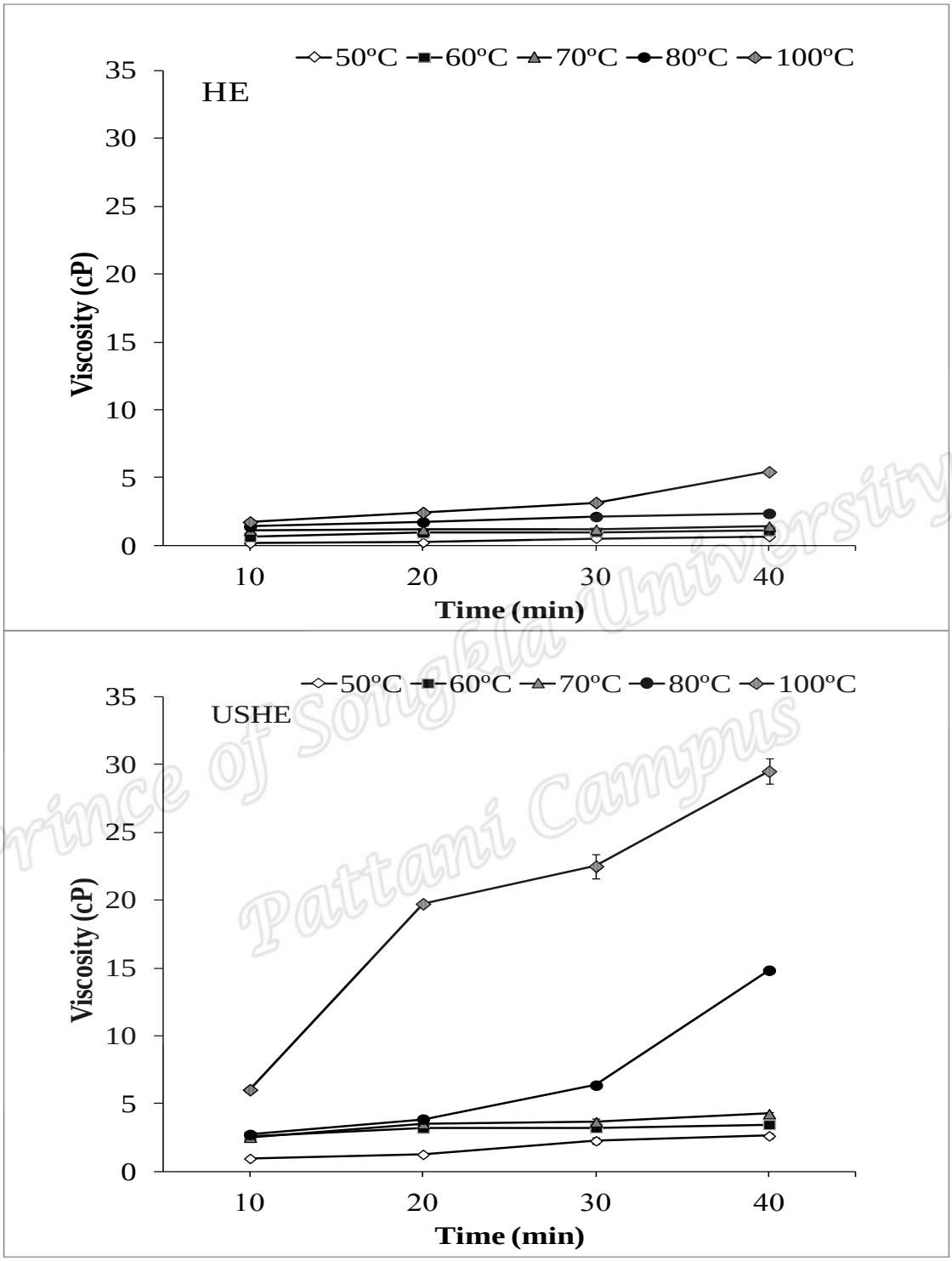


Figure 4.15 Effect of heating temperature and time on viscosity of rice extracts obtained from HE and USHE methods. The vertical bars represent the standard deviation (n=3).

Prince of Songkla University Pattani Campus

4.2.7 ค่าสี

ค่าสีของน้ำสกัดจากข้าวเหนียวดำ วัดโดยใช้ Hunter Lab ระบบ CIE (L*, a*, b*) โดยค่า L* หมายถึงค่าความสว่างของตัวอย่าง มีค่าตั้งแต่ 100-0 คือ สว่างถึงมืด ค่า a* หมายถึงค่าสีแดงและสีเขียวของตัวอย่าง ถ้าเป็น +a* แสดงถึงสีแดง และถ้าเป็น –a* แสดงถึงสีเขียว และค่า b* หมายถึงค่าสีเหลืองและสีน้ำเงินของตัวอย่าง ถ้าเป็น +b* แสดงถึงสีเหลือง และ –b* แสดงถึงสีน้ำเงิน จากการศึกษาพบว่า พบว่า อุณหภูมิและระยะเวลาการสกัดมีผลต่อค่าสี L*, a* และ b* อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แสดงดังตารางที่ 4.2

จากการสกัดน้ำข้าวด้วยวิธี HE พบว่า อุณหภูมิและระยะเวลาในการสกัดมีผลต่อค่าสี L*, a* และ b* อย่างมีนัยสำคัญ กล่าวคือ ที่อุณหภูมิในการสกัดเท่ากัน (เช่นที่ 50 องศาเซลเซียส) เมื่อระยะเวลาการสกัดเพิ่มขึ้น (10-40 นาที) มีผลให้ค่าสี L* ลดลง ค่า a* และ b* เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ แสดงถึงน้ำสกัดมีสีน้ำตาลแดง ซึ่งผลมีลักษณะเดียวกันกับผลของค่าสีที่ระยะเวลาเท่ากัน (10 นาที) เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น (50-100 องศาเซลเซียส) สำหรับที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้นมีผลให้ค่าสี L*, a* และ b* ลดลง แสดงถึงน้ำสกัดมีสีน้ำตาลแดงเข้มขึ้น (dark color)

สำหรับการสกัดน้ำข้าวด้วยวิธี USHE พบว่า อุณหภูมิและระยะเวลาในการสกัดมีผลต่อค่าสี L*, a* และ b* อย่างมีนัยสำคัญ กล่าวคือ ที่อุณหภูมิเท่ากันเมื่อระยะเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้นมีผลให้ค่า L*, ค่า a* และ b* ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งเป็นไปในทำนองเดียวกับเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นมีผลให้ค่า L* ค่า a* และค่า b* มีค่าลดลงเช่นเดียวกัน ซึ่งแสดงถึงน้ำสกัดมีสีน้ำตาลแดงเข้มถึงสีน้ำตาลม่วงเข้ม (dark color) ดังแสดงในภาพที่ 4.16

ทั้งนี้เมื่ออุณหภูมิและระยะเวลาเพิ่มขึ้นมีผลให้เยื่อหุ้มเมล็ดข้าวมีการแตกหักมากขึ้น ส่งผลให้ความสว่างของน้ำสกัดลดลง และเนื่องจากสารสกัดมีสีม่วงปนดำ ซึ่งได้จากวัตถุดิบข้าวเหนียวดำ และอีกทั้งวิธี USHE มีการผ่านพรีทรีเม้นต์ด้วย US ก่อนการให้ความร้อน ซึ่งการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงมีผลให้เยื่อหุ้มข้าวเหนียวดำมีการหลุดออกจากตัวเมล็ดข้าว และเมล็ดข้าวเหนียวดำบางส่วนมีการแตกหัก เมื่อนำไปให้ความร้อนต่อไปสารสกัดมีสีที่เข้มขึ้น จึงส่งผลให้ค่าสี L*, a* และ b* ลดลง (น้ำสกัดมีสีเข้มขึ้น) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของทิพวดี (2550) ทำการศึกษาผลของอุณหภูมิ (45, 50, 55 และ 60 องศาเซลเซียส) และระยะเวลา (30, 40 และ 50 นาที) ในการสกัดแอนโทไซยานินจากถั่วดำ พบว่า เมื่ออุณหภูมิและระยะเวลาเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ค่าสี L*, a*และ b* ลดลง และสารสกัดมีสีเข้มขึ้น

Prince of Songkla University Pattani Campus

Prince of Songkla University Pattani Campus

Figure 4.16 Color of Black glutinous rice extract by HE and USHE methods. Heating at 60 °C for (a) 10 min, (b) 20, (c) 30 min and (d) 40 min

Table 4.2 Effect of heating temperature and time on color (L*, a*, b*) of rice extracts obtained from HE and USHE methods.

Condition		**L***		**a***		**b***	
Temperature (°C)	Time (min)	HE	USHE	HE	USHE	HE	USHE
50	10	79.2 ± 0.1^{dE}	4.2 ± 0.0^{cD}	15.6 ± 0.0^{aA}	23.7 ± 0.2^{cD}	19.1 ± 0.0^{aA}	7.0 ± 0.0^{cD}
	20	70.4 ± 0.0^{cE}	1.5 ± 0.0^{bC}	23.8 ± 0.0^{bA}	7.5 ± 0.3^{aC}	25.8 ± 0.0^{bA}	2.2 ± 0.2^{aD}
	30	64.9 ± 0.0^{bE}	1.2 ± 0.0^{aD}	28.3 ± 0.0^{bA}	9.8 ± 0.1^{bD}	30.0 ± 0.0^{cB}	2.7 ± 0.1^{bD}
	40	57.6 ± 0.0^{aD}	0.2 ± 0.0^{aE}	34.1 ± 0.1^{dA}	7.6 ± 0.0^{aD}	34.7 ± 0.0^{dB}	2.0 ± 0.1^{aE}
60	10	70.6 ± 0.0^{dD}	2.0 ± 0.0^{dC}	20.5 ± 0.0^{aB}	12.9 ± 0.1^{dC}	21.8 ± 0.0^{aB}	3.5 ± 0.1^{cC}
	20	62.9 ± 0.1^{cD}	1.3 ± 0.0^{cBC}	27.7 ± 0.2^{bB}	7.4 ± 0.1^{cC}	28.0 ± 0.0^{bB}	2.0 ± 0.1^{bC}
	30	54.2 ± 0.0^{bD}	1.1 ± 0.0^{bC}	34.5 ± 0.0^{cB}	6.9 ± 0.0^{bC}	33.6 ± 0.0^{cC}	1.8 ± 0.0^{bC}
	40	51.2 ± 0.1^{aD}	0.8 ± 0.0^{aD}	37.4 ± 0.0^{dC}	4.4 ± 0.0^{aC}	36.7 ± 0.0^{dC}	0.9 ± 0.1^{aD}
70	10	58.1 ± 0.0^{dC}	1.0 ± 0.0^{dB}	31.4 ± 0.0^{aC}	6.2 ± 0.0^{cB}	29.7 ± 0.0^{aC}	1.5 ± 0.0^{cB}
	20	54.1 ± 0.1^{cC}	1.0 ± 0.0^{cB}	34.6 ± 0.0^{bC}	5.8 ± 0.0^{bB}	33.8 ± 0.0^{bC}	1.4 ± 0.1^{bB}
	30	41.7 ± 0.0^{bC}	0.5 ± 0.0^{bB}	46.0 ± 0.0^{cC}	0.6 ± 0.1^{aB}	44.8 ± 0.1^{cD}	0.5 ± 0.0^{aB}
	40	37.4 ± 0.0^{aC}	0.4 ± 0.0^{aC}	47.8 ± 0.0^{dE}	0.6 ± 0.1^{aB}	44.8 ± 0.1^{cE}	0.5 ± 0.2^{aC}

Data expressed are the means ± standard deviation from three measurements. Different small letters, at the same heating temperature are significantly difference ($p < 0.05$). Different capital letters, at the same heating time are significantly difference ($p < 0.05$).

Prince of Songkla University Pattani Campus

Table 4.2 Effect of heating temperature and time on color (L*, a*, b*) of rice extracts obtained from HE and USHE methods. **(ต่อ)**

Condition		**L***		**a***		**b***	
Temperature (°C)	Time (min)	HE	USHE	HE	USHE	HE	USHE
80	10	46.0 ± 0.0^{dB}	0.3 ± 0.0^{bA}	43.4 ± 0.0^{aD}	0.4 ± 0.0^{bA}	42.0 ± 0.0^{bD}	0.4 ± 0.0^{bA}
	20	37.0 ± 0.0^{cB}	0.3 ± 0.0^{bA}	48.0 ± 0.0^{cD}	0.4 ± 0.1^{bA}	48.4 ± 0.0^{cD}	0.3 ± 0.1^{bcA}
	30	31.8 ± 0.0^{bB}	0.2 ± 0.0^{aA}	49.6 ± 0.0^{dD}	0.3 ± 0.1^{aA}	49.8 ± 0.0^{dE}	0.2 ± 0.0^{abA}
	40	22.9 ± 0.0^{aB}	0.2 ± 0.0^{aB}	47.3 ± 0.1^{bD}	0.3 ± 0.1^{aA}	38.7 ± 0.1^{aD}	0.2 ± 0.0^{aB}
100	10	40.3 ± 0.0^{dA}	0.2 ± 0.0^{cA}	46.8 ± 0.0^{cE}	0.4 ± 0.0^{cA}	43.9 ± 0.0^{dE}	0.4 ± 0.0^{cA}
	20	23.6 ± 0.0^{cA}	0.2 ± 0.0^{cA}	48.0 ± 0.0^{dD}	0.3 ± 0.1^{bA}	38.3 ± 0.1^{cE}	0.3 ± 0.1^{bcA}
	30	14.3 ± 0.0^{bA}	0.2 ± 0.0^{bA}	41.0 ± 0.1^{bE}	0.3 ± 0.0^{bA}	24.2 ± 0.0^{bA}	0.2 ± 0.0^{abA}
	40	8.5 ± 0.0^{aA}	0.1 ± 0.0^{aA}	34.4 ± 0.1^{aB}	0.2 ± 0.1^{aA}	14.2 ± 0.1^{aA}	0.1 ± 0.0^{aA}

Data expressed are the means ± standard deviation from three measurements. Different small letters, at the same heating temperature are significantly difference ($p < 0.05$). Different capital letters, at the same heating time are significantly difference ($p < 0.05$).

Prince of Songkla University Pattani Campus

จากการศึกษาในตอนที่ 4.2 การพรีทรีตเม้นต์ด้วย US สามารถสกัดสารและส่งผลให้สมบัติต่างๆของสารมีค่าสูงกว่าการสกัดด้วย HE ในบางชุดการทดลองที่ใช้อุณหภูมิต่ำ สำหรับวิธี HE สภาวะของการสกัดที่ส่งผลให้สมบัติด้านต่างๆ ของน้ำสกัดจากข้าวเหนียวดำมีค่าสูงสุดคือ การสกัดด้วยวิธี HE ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส และระยะเวลา 40 นาที และสำหรับ USHE สภาวะของการสกัดน้ำข้าวที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และระยะเวลา 40 นาที ส่งผลให้ปริมาณสารแอนโทไซยานิน และโพลีฟีนอล รวมถึงการยับยั้งอนุมูล DPPH˙ และ $ABTS^{+}$ มีค่าสูงสุด ในขณะที่ปริมาณของแข็งทั้งหมด ค่าการส่องผ่านของแสง ความหนืดและค่าสีมีค่าสูงสุดที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 40 นาที เมื่อเปรียบเทียบจากวิธีการสกัดทั้ง 2 วิธี ที่อุณหภูมิและระยะเวลาเท่ากัน ปริมาณแอนโทไซยานินและโพลีฟีนอลของน้ำข้าวสกัดจากวิธี USHE สูงกว่าวิธี HE เกือบชุดการทดลองยกเว้นที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสและระยะเวลา 30 และ 40 นาที รวมถึงความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH˙ และ $ABTS^{+}$ จากวิธี USHE สูงกว่า HE ในหลายชุดการทดลอง ดังนั้นสภาวะของการสกัดที่เหมาะสมและส่งผลให้สมบัติด้านต่างๆ ของน้ำข้าวสกัดมีคุณภาพเพื่อนำไปศึกษาในขั้นต่อไป คือ การสกัดด้วยวิธี USHE ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และระยะเวลาในการสกัด 40 นาที

อย่างไรก็ตามการใช้ US มีข้อจำกัดในการใช้งาน คือเครื่องกำเนิดคลื่นเสียงความถี่สูงที่ใช้ทำการศึกษาสามารถใช้สกัดได้ในระดับการทดลองเท่านั้น ดังนั้นการเลือกวิธีการให้ความร้อน จึงมีความเหมาะสมกว่าในเชิงปฏิบัติ

Prince of Songkla University Pattani Campus

4.3 เปรียบเทียบการให้ความร้อนโดยตรง (Hotplate heating, HH) และการให้ความร้อนโดยอ้อม (Water bath heating, WH) ต่อคุณสมบัติของน้ำสกัดจากข้าวเหนียวดำ

จากในการทดลองตอนที่ 4.2 เป็นการสกัดสารโดยการให้ความร้อนโดยอ้อมซึ่งใช้ water bath พบว่าที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ระยะเวลาสูงขึ้นจนถึง 40 นาที ปริมาณสารและความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นสูงสุด จึงมีข้อสังเกตว่าหากระยะเวลานานกว่านี้ก็อาจให้ผลดีขึ้น รวมทั้งถ้ามีการต้มตัวอย่างโดยตรงอาจให้ผลที่ดีกว่าการให้ความร้อนโดยอ้อม ดังนั้นจึงศึกษาเปรียบเทียบการให้ความร้อนโดยอ้อม (Water bath heating, WH) และการให้ ความร้อนโดยตรง (Hotplate heating, HH) ต่อคุณสมบัติของน้ำสกัดจากข้าวเหนียวดำ โดยศึกษาผลของระยะเวลาการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ในการสกัด ที่ระยะเวลาการสกัดต่างๆ คือ 30, 40, 50 และ 60 นาที และกำหนดสัดส่วนข้าวต่อน้ำที่ 1:5 (ปริมาณข้าว 20 กรัม และน้ำ 100 มิลลิลิตร) ซึ่งผลการศึกษาเป็นดังนี้

4.3.1 ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด

จากการสกัดด้วยวิธีการให้ความร้อนแบบ HH พบว่า ระยะเวลาการให้ความร้อน มีผลต่อปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) กล่าวคือปริมาณ แอนโทไซยานินทั้งหมดเพิ่มขึ้น (30.97±0.70 - 38.84±0.20 mg Cy-3-G/ 100 g grain weight) ในช่วงระยะแรก (30 - 40 นาที) ของการให้ความร้อน และลดลง (32.26±0.35 - 27.29±0.36 mg Cy-3-G / 100 g grain weight) เมื่อระยะเวลาในการให้ความร้อนนานขึ้นเป็น 50 และ 60 นาที โดยปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งหมดมีค่าสูงสุด (38.84±0.20 mg Cy-3-G/ 100 g grain weight) ที่ระยะเวลาการให้ความร้อน 40 นาที

สำหรับวิธี WH พบว่า ระยะเวลาในการสกัดมีผลต่อปริมาณแอนโทไซยานิน อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยปริมาณแอนโทไซยานินเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการให้ความร้อนเพิ่ม จาก 30 ถึง 50 นาที (30.27±0.34 - 38.66±1.5 mg Cy-3-G / 100 g grain weight) และลดลงที่ระยะเวลา 60 นาที (35.81±2.10 mg Cy-3-G / 100 g grain weight) ซึ่งมีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดสูงสุดที่ระยะเวลาการสกัด 50 นาที (38.66±1.5 mg Cy-3-G / 100 g grain weight)

ผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับผลการศึกษาของ ดวงกมล (2551) ที่ทำการศึกษาผลของระยะเวลา (30, 60, 90 และ 120 นาที) ในการทำเข้มข้นสีจากข้าวเหนียวดำที่อุณหภูมิ 87 องศาเซลเซียส ต่อปริมาณแอนโทไซยานิน พบว่า เมื่อระยะเวลาการให้ความร้อนมากขึ้นส่งผลให้ปริมาณแอนโทไซยานินลดลง การให้ความร้อนเป็นเวลานานอาจทำให้การสลายตัวของสารแอนโทไซยานินเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากอุณหภูมิและระยะเวลาในการให้ความร้อนมีผลต่อโครงสร้างแอนโทไซยานิน ทำให้วงแหวน pyrylium ถูกเปิดออก และแอนโทไซยานินเปลี่ยนไปอยู่

Prince of Songkla University Pattani Campus

ในรูปของ chalcone เกิดการสลายตัวหรือเกิดปฏิกิริยา deglycosylation เป็นอนุพันธ์ coumarin หรืออนุพันธ์เบนโซอิก และ trihydroxybenzodehyde รวมถึงอาจเกิดปฏิกิริยา polimerization และเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนได้ (Nayak *et al.*, 2011; Patras *et al.,* 2010)

เมื่อเปรียบเทียบวิธีการสกัดทั้ง 2 วิธี พบว่าที่ระยะเวลาการให้ความร้อน 30 และ 40 นาที จากวิธี HH ปริมาณแอนโทไซยานินสูงกว่าวิธี WH และเมื่อระยะเวลาการให้ความร้อน เป็น 50 และ 60 นาที วิธี WH มีปริมาณสารแอนโทไซยานินสูงกว่าวิธี HH อย่างมีนัยสำคัญ ทั้งนี้อาจเป็นผลจากความแตกต่างกันของความสามารถในการถ่ายเทความร้อนที่เกิดขึ้นของวิธีทั้งสอง วิธี HH มีภาชนะเป็นตัวกลาง ส่วน WH มีภาชนะและน้ำเป็นตัวกลาง การส่งผ่านความร้อน วิธี WH จึงต้องใช้ระยะเวลาในการส่งผ่านความร้อนมากกว่า วิธี HH โดยพบว่าชุดการทดลอง HH ระยะเวลา 40 นาที มีปริมาณสารแอนโทไซยานินสูงสุด (38.86±0.20 mg Cy-3-G/100 g grain weight) ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับชุดการทดลอง WH ที่ระยะเวลา 50 นาที (38.66±1.51 mg Cy-3-G/100 g grain weight) ดังภาพที่ 4.17

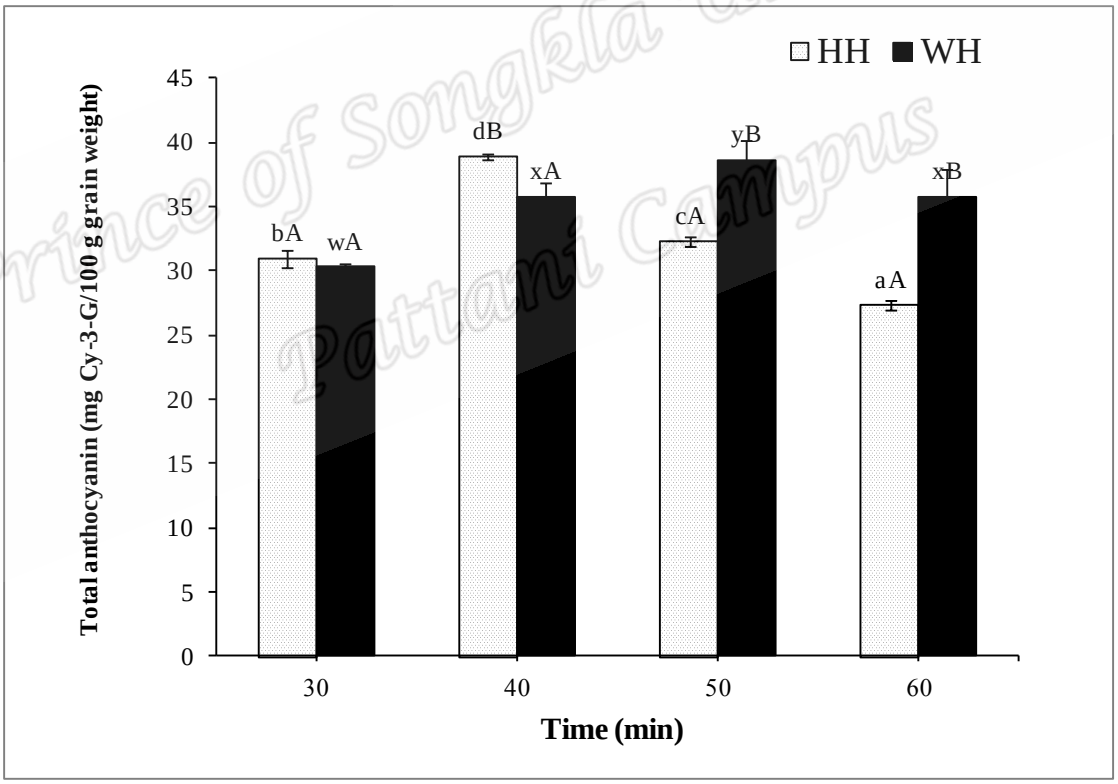


Figure 4.17 Comparison of HH and WH extraction on total anthocyanin content in rice extracts. The vertical bars represent the standard deviation (n=3). Different small letters, within the same heating method are significantly different ($p \leq 0.05$). Different capital letters, in comparison between HH and WH method at the same heating time, are significantly different ($p \leq 0.05$).

Prince of Songkla University Pattani Campus

4.3.2 ปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด

สำหรับผลของระยะเวลาการให้ความร้อนต่อปริมาณโพลีฟีนอลแสดงดังภาพที่ 4.18 จากวิธีการสกัดแบบ HH พบว่า ระยะเวลาในการสกัดมีผลต่อปริมาณโพลีฟีนอลย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) กล่าวคือปริมาณโพลีฟีนอลเพิ่มขึ้นในช่วงระยะแรกของการให้ความร้อน จาก 30 เป็น 40 นาที (777.75±31.07 - 871.51±6.26 mg GAE/ 100 g grain weight) และลดลงเมื่อระยะเวลานานขึ้นเป็น 50 และ 60 นาที (758.38±28.90 - 588.74±6.26 mg GAE/ 100 g grain weight) โดยที่ปริมาณโพลีฟีนอลสูงสุดที่ระยะเวลาการให้ความร้อน 40 นาที (871.57±6.20 mg GAE/ 100 g grain weight) ซึ่งผลการศึกษาเป็นไปในทำนองเดียวกับผลของปริมาณแอนโทไซยานิน

สำหรับวิธี WH พบว่า ระยะเวลาในการสกัดมีผลต่อปริมาณโพลีฟีนอลอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เช่นเดียวกัน โดยที่ปริมาณโพลีฟีนอลเพิ่มขึ้น จากระยะเวลาการให้ความร้อน จาก 30 ถึง 50 นาที (763.11± 21.89 - 857.94±3.76 mg GAE/ 100 g grain weight) และ ลดลงเมื่อระยะเวลา 60 นาที (818.73±7.75 mg GAE/ 100 g grain weight) โดยที่มีปริมาณสูงสุดที่ระยะเวลาการสกัด 50 นาที (857.94±3.76 mg GAE/ 100 g grain weight) ซึ่งสอดคล้องกับผลการสกัดแบบ HH

ผลของโพลีฟีนอลจากการศึกษาสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Lapornik *et al.* (2004) ศึกษาผลของระยะเวลาของการสกัดแครอทสีแดงและดำต่อปริมาณโพลีฟีนอล พบว่า ในช่วง 12 ชั่วโมงแรกของการสกัดมีผลให้สารโพลีฟีนอลเพิ่มขึ้นภายหลังเพิ่มระยะเวลานานขึ้นส่งผลให้ปริมาณโพลีฟีนอลลดลง และปารมี (2550) ทำการศึกษาผลของระยะเวลา (30 และ 60 นาที) ในการสกัดกระเจี๊ยบสดด้วยน้ำ พบว่า ที่ระยะเวลา 30 นาที ให้ปริมาณสารโพลีฟีนอลของสารสกัดสูงกว่าระยะเวลา 60 นาที นอกจากนี้ Ross *et al.* (2011) ศึกษาผลของการให้ความร้อน (อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลา 0-90 นาที) ต่อปริมาณโพลีฟีนอลในเมล็ดองุ่น พบว่าที่ระยะเวลา 10 นาที มีผลให้ปริมาณโพลีฟีนอลมีค่าสูงขึ้นและลดลงเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น

เมื่อเปรียบเทียบวิธีการสกัดทั้ง 2 วิธี พบว่าที่ระยะเวลาการให้ความร้อน 30 และ 40 นาที วิธี HH ให้ปริมาณโพลีฟีนอลสูงกว่าวิธี WH แต่ที่ระยะเวลาการสกัด นานขึ้น เป็น 50 และ 60 นาที วิธี WH ได้ปริมาณโพลีฟีนอลสูงกว่าวิธี HH อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งผลเป็นไปในทำนองเดียวกันกับปริมาณแอนโทไซยานิน เนื่องจากการถ่ายเทความร้อนที่เกิดขึ้น โดยความร้อนจะเคลื่อนที่จากที่ที่มีอุณหภูมิสูง (เครื่องกำเนิดความร้อน) ไปยังที่ที่มีอุณหภูมิต่ำ (ตัวทำละลาย) โดยผ่านตัวกลาง ทำให้ความร้อนที่ส่งผ่านไปยังตัวทำละลายสามารถสกัดสารออกมาจากตัวอย่างได้ ซึ่งวิธี HH มีภาชนะเป็นตัวกลาง ส่วน IH มีภาชนะและน้ำเป็นตัวกลางส่งผ่านความร้อน วิธี WH จึงต้องใช้ระยะเวลาในการส่งผ่านความร้อนมากกว่า วิธี HH โดยพบว่าชุดการทดลอง HH ระยะเวลา 40 นาที มีปริมาณ

Prince of Songkla University Pattani Campus

สารโพลีฟีนอลสูงสุด (871.57±6.20 mg GAE/ 100 g grain weight) ซึ่งค่าใกล้เคียงกับ WH ที่ระยะเวลา 50 นาที (857.76±3.66 mg GAE/ 100 g grain weight) แต่ใช้ระยะเวลาที่สั้นกว่า

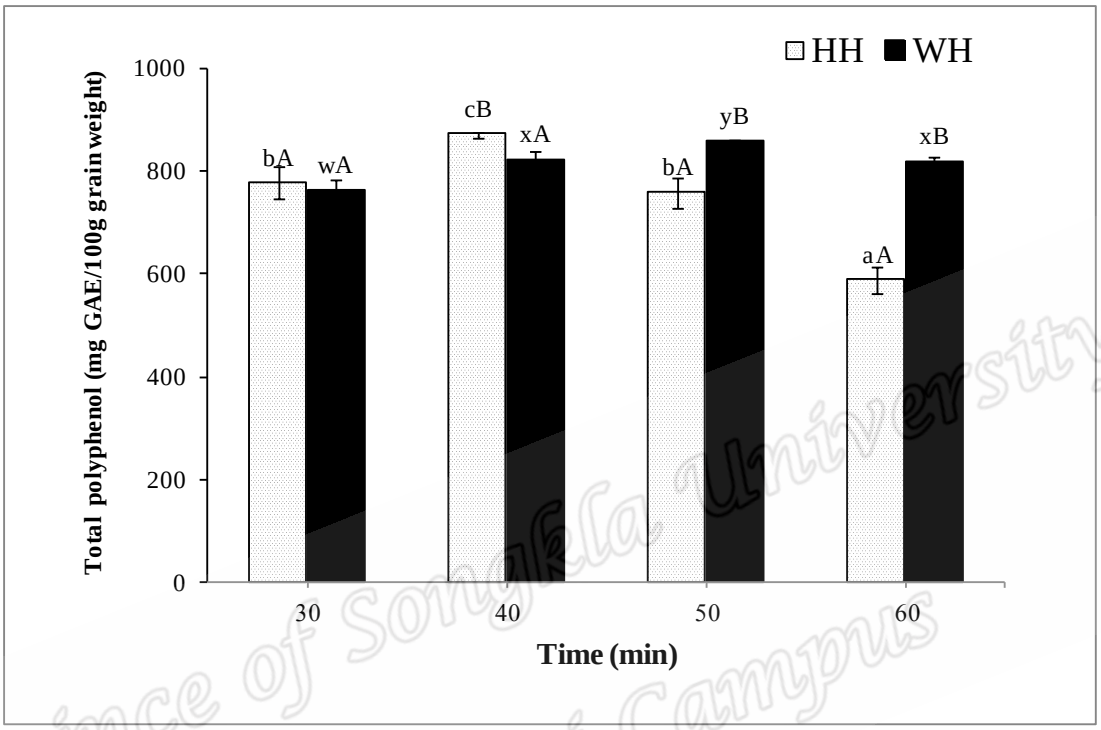


Figure 4.18 Comparison of HH and WH extraction on total polyphenol content in rice extract. The vertical bars represent the standard deviation (n=3). Different small letters, within the same heating method are significantly different ($p \leq 0.05$). Different capital letters, in comparison between HH and WH method at the same heating time, are significantly different ($p \leq 0.05$).

Prince of Songkla University Pattani Campus

4.3.3 ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ

ผลการศึกษาความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของน้ำสกัดจากข้าวเหนียวดำ จากการสกัดแบบ HH แสดงดังภาพที่ 4.19 (a และ b) พบว่า ระยะเวลาในการสกัดมีผลต่อความสามารถในการยับยั้งอนุมูล DPPH˙และ $ABTS^{+}$ อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) กล่าวคือ ความสามารถในการยับยั้งอนุมูล DPPH˙และ $ABTS^{+}$ มีค่าเพิ่มขึ้นในช่วงระยะแรกของการให้ความร้อน จาก 30 เป็น 40 นาที และมีค่าลดลงเมื่อระยะเวลานานขึ้นเป็น 50 และ 60 นาที และความสามารถในการยับยั้งอนุมูล DPPH˙และ $ABTS^{+}$ มีค่าสูงสุดที่ระยะเวลาการให้ความร้อน 40 นาที

สำหรับวิธี WH พบว่า ระยะเวลาในการสกัดมีผลต่อความสามารถในการยับยั้งอนุมูล $DPPH^{\cdot}$และ $ABTS^{+}$ อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เช่นเดียวกัน โดยที่ความสามารถในการยับยั้งอนุมูล $DPPH^{\cdot}$และ $ABTS^{+}$ เพิ่มขึ้นจากระยะเวลาการให้ความร้อน 30 ถึง 50 นาที (438.99±0.19 - 450.37 ±0.45 µmol trolox และ 568.48±2.60 - 600.30±4.22 µmol trolox) และลดลงเมื่อระยะเวลา 60 นาที (437.16±0.82 µmol trolox และ 579.72±1.10 µmol trolox) และมีปริมาณสูงสุดที่ระยะเวลาการสกัด 50 นาที ทั้งนี้เป็นผลมาจากสารต้านอนุมูลอิสระ ในที่นี้คือแอนโทไซยานินและโพลีฟีนอล โดยเมื่อปริมาณสารดังกล่าวเพิ่มขึ้นมีผลให้ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลเพิ่มขึ้น และเมื่อสารมีปริมาณลดลง จึงส่งผลให้ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระลดลงเช่นเดียวกัน

ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับผลของ Nayak *et al.* (2011) ที่ได้ศึกษาผลของระยะเวลา (0-60 นาที) ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ต่อความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ $DPPH^{\cdot}$ และ $ABTS^{+}$ ของสารสกัดจากมันฝรั่งสีม่วง พบว่า ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ $DPPH^{\cdot}$ มีค่าเพิ่มขึ้นในช่วง 15 นาทีแรก จากนั้นความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ $DPPH^{\cdot}$ มีค่าลดลง เช่นเดียวกับความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ $ABTS^{+}$ มีค่าเพิ่มขึ้นในช่วง 5 นาทีแรก จากนั้นความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ $ABTS^{+}$ มีค่าลดลง

เมื่อเปรียบเทียบวิธีการสกัดทั้ง 2 วิธี พบว่าที่ระยะเวลาการให้ความร้อน 30 และ 40 นาที ความสามารถในการยับยั้งอนุมูล $DPPH^{\cdot}$และ $ABTS^{+}$ ของน้ำข้าวสกัดจากวิธี HH สูงกว่าวิธี WH แต่ที่ระยะเวลาการสกัดนานขึ้นเป็น 50 และ 60 นาที น้ำข้าวสกัดจากวิธี WH กลับมีค่าความสามารถในการยับยั้งอนุมูล $DPPH^{\cdot}$และ $ABTS^{+}$ สูงกว่าวิธี HH อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ (แอนโทไซยานินและโพลีฟีนอล) โดยที่ชุดการทดลอง HH ระยะเวลา 40 นาที มีค่าความสามารถในการยับยั้งอนุมูล $DPPH^{\cdot}$และ $ABTS^{+}$ สูงสุด (459.96±0.70 µmol trolox และ 633.41±4.22 µmol trolox) โดยค่าใกล้เคียงกับ WH ระยะเวลา 50 นาที (455.28±0.55 µmol trolox และ600.30±0.72µmol trolox) ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่า วิธี HH ใช้ระยะเวลาที่สั้นกว่า

Prince of Songkla University Pattani Campus

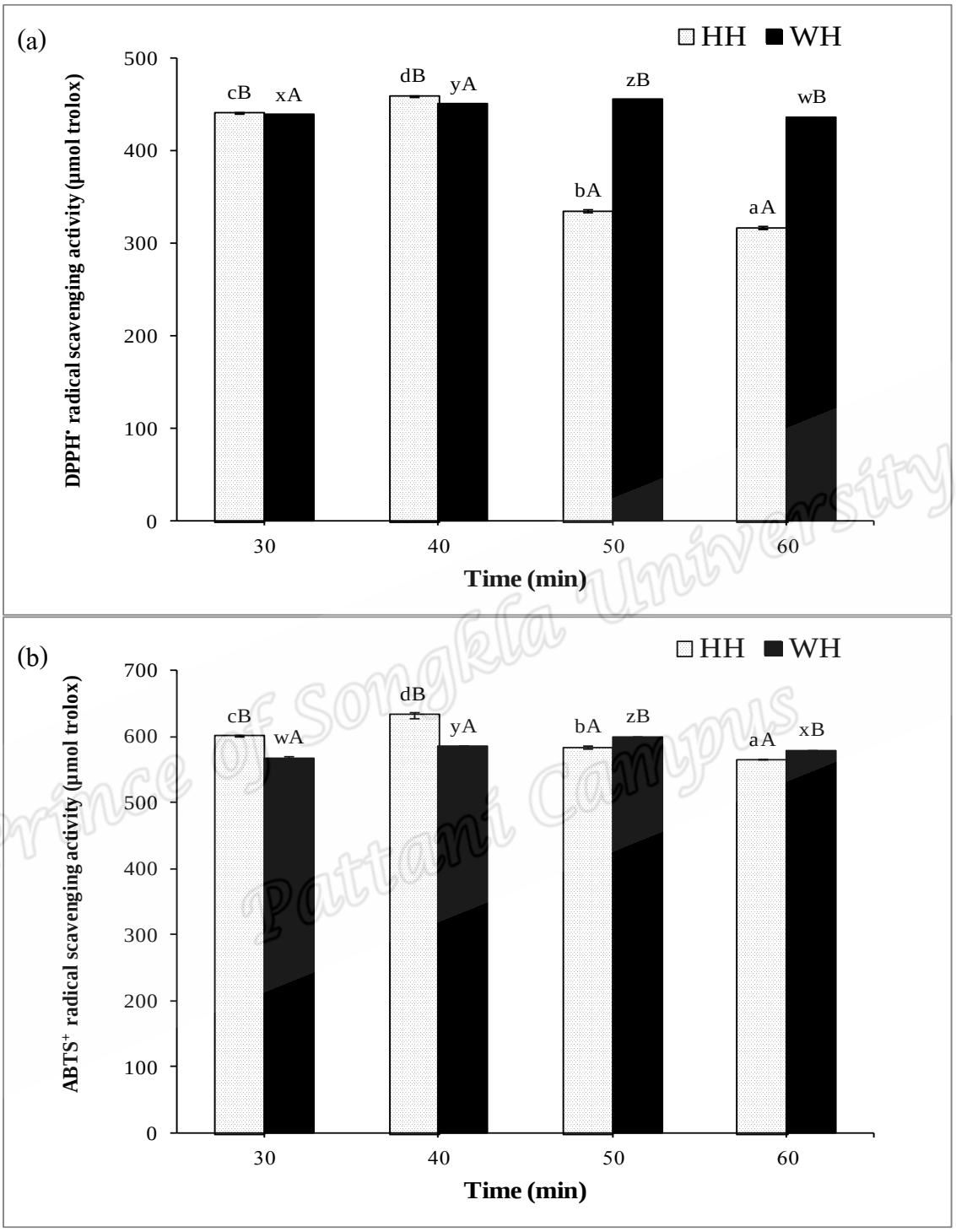


Figure 4.19 Comparison of HH and WH extraction on (a) $DPPH^{\bullet}$ and (b) $ABTS^{+}$ radical scavenging activity in rice extract. The vertical bars represent the standard deviation (n=3). Different small letters, within the same heating method are significantly different ($p \leq 0.05$). Different capital letters, in comparison between HH and WH method at the same heating time, are significantly different ($p \leq 0.05$).

Prince of Songkla University Pattani Campus

4.3.4 ปริมาณของแข็งทั้งหมด

จากการวิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมด พบว่า เมื่อระยะเวลาการให้ความร้อนในการสกัดเพิ่มขึ้น มีผลให้ปริมาณของแข็งทั้งหมดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ 4.3) ซึ่งให้ผลในทำนองเดียวกันในวิธีการให้ความร้อนแบบ HH และ WH เนื่องจากระยะเวลาในการสกัดด้วยความร้อนเพิ่มขึ้น มีผลให้เยื่อหุ้มเมล็ดข้าวหลุดมากขึ้น ทำให้ของแข็งมีปริมาณเพิ่มขึ้น (อัสมา, 2554) และผลการศึกษาสอดคล้องกับงานวิจัยของดวงกมล (2551) ซึ่งได้ศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิและเวลาในการสกัดต่อปริมาณของแข็งทั้งหมดในการสกัดสีจากข้าวเหนียวดำ พบว่า อุณหภูมิ และเวลาที่ใช้ในการสกัดมีผลต่อปริมาณของแข็งทั้งหมดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น และเวลาในการสกัดสูงขึ้นมีผลทำให้ปริมาณของแข็งทั้งหมดสูงขึ้น

เมื่อเปรียบเทียบการสกัดทั้ง 2 วิธี พบว่า เมื่อระยะเวลาการให้ความร้อนเพิ่มขึ้น (30-60 นาที) ปริมาณของแข็งทั้งหมด จากวิธี HH สูงกว่าวิธี WH อย่างมีนัยสำคัญโดยที่ชุดการทดลอง HH ระยะเวลา 60 นาที มีปริมาณของแข็งทั้งหมดสูงสุด (4.53 เปอร์เซ็นต์) โดยค่าใกล้เคียงกับ WH ระยะเวลา 60 นาที (4.37 เปอร์เซ็นต์)

4.3.5 ความสามารถในการส่องผ่านของแสง

สำหรับความสามารถในการส่องผ่านของแสงของน้ำสกัดจากข้าวเหนียวดำ พบว่า การให้ความร้อนในการสกัดทั้ง 2 วิธี คือ HH และ WH ให้ผลในทำนองเดียวกัน กล่าวคือ เมื่อระยะเวลาที่ให้ความร้อนเพิ่มขึ้นจาก 30 เป็น 40 นาที มีผลให้ความสามารถในการส่องผ่านของแสงลดลง แต่เมื่อระยะเวลานานขึ้นกว่านี้ ค่าการส่องผ่านของแสงค่อนข้างจะคงที่ และไม่แตกต่างกันระหว่างวิธีการให้ความร้อนทั้งสองแบบ (ตารางที่ 4.3) ทั้งนี้เนื่องจากการให้ความร้อนเป็นระยะเวลานานมีผลให้ เยื่อหุ้มเมล็ดข้าวและตัวข้าวเหนียวดำมีการแตกหักมากขึ้น จึงส่งผลให้โมเลกุลต่างๆถูกปลดปล่อยลงสู่สารสกัด (อัสมา, 2554) ซึ่งมีผลต่อความสามารถในการส่องผ่านของแสง

เมื่อเปรียบเทียบการสกัดทั้ง 2 วิธี พบว่า เมื่อระยะเวลาการให้ความร้อนเพิ่มขึ้น (30-60 นาที) ความสามารถในการส่องผ่านของแสง จากวิธี HH ไม่แตกต่างกันจากวิธี WH โดยที่ชุดการทดลอง HH ระยะเวลา 60 นาที ความสามารถในการส่องผ่านของแสงต่ำสุดสุด (0.5 เปอร์เซ็นต์) โดยมีค่าเท่ากันกับชุดการทดลอง WH ที่ระยะเวลา 60 นาที

Prince of Songkla University Pattani Campus

4.3.6 ความหนืด

สำหรับความหนืดของสารสกัดจากข้าวเหนียวดำ พบว่า เมื่อระยะเวลาการให้ความร้อนในการสกัดเพิ่มขึ้น มีผลให้ค่าความหนืดของน้ำข้าวสกัดจากข้าวเหนียวดำเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ 4.3) เป็นไปในทำนองเดียวกันทั้งวิธี HH และ WH

เมื่อเปรียบเทียบการสกัดทั้ง 2 วิธี พบว่า ความหนืดของน้ำสกัดจากข้าวเหนียวดำ จากวิธี HH มีค่าสูงกว่าวิธี WH อย่างมีนัยสำคัญในทุกระยะเวลาของการให้ความร้อน โดยที่ชุดการทดลอง HH ระยะเวลา 60 นาที มีความหนืดสูงสุด (21.36 เซ็นติพอยด์) ขณะที่ WH ระยะเวลา 60 นาทีมีความหนืดต่ำกว่าเล็กน้อย (19.16 เซ็นติพอยด์) การให้ความร้อนเป็นระยะเวลานาน ส่งผลให้เมล็ดข้าวเกิดการสุก โดยการผ่านกระบวนการเจลาติไนเซชั่นของสตาร์ช มีผลให้เม็ดสตาร์ชเกิดการขยายตัวและแตกออก ปลดปล่อยโมเลกุลอะมิโลสออกสู่น้ำสกัด ทำให้มีความข้นหนืดสูงขึ้น ปรากฏการณ์นี้ ในวิธี HH เป็นการให้ความร้อนโดยตรง อาจเกิดได้มากกว่าในวิธี WH ส่งผล ทำให้ความหนืดจากวิธี HH สูงกว่า วิธี WH

4.3.7 ค่าสี

ค่าสีของสารสกัดจากข้าวเหนียวดำ วัดโดยใช้ Hunter Lab ระบบ CIE (L*, a*, b*) จากการศึกษาพบว่า พบว่า เมื่อระยะเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้นมีผลต่อค่า L* (ค่าความสว่าง) อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ 4.3) กล่าวคือเมื่อระยะเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้นมีผลให้ค่า L* ลดลง เนื่องจากเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้นมีผลให้เม็ดสตาร์ชซึ่งอยู่ภายในข้าวเหนียวดำมีการพองตัวเกิดความข่นของน้ำสกัดมากขึ้น ส่งผลให้ความสว่างของน้ำสกัดลดลง สำหรับ ค่า a* (ค่าสีแดง) จากการวิเคราะห์พบว่า เมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้นมีผลให้ค่า a* มีค่าลดลงอย่างนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ทั้งนี้เนื่องจากสารสกัดมีสีม่วงปนดำ ซึ่งได้จากวัตถุดิบข้าวเหนียวดำ จึงทำให้วัดค่าสีแดงได้น้อยลงเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น และค่า b* (ค่าสีเหลือง) จากการวิเคราะห์พบว่า เมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้นมีผลให้ค่า b* มีค่าลดลงอย่างนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

เมื่อเปรียบเทียบการสกัดทั้ง 2 วิธี พบว่า ในทุกระยะเวลาของการให้ความร้อน ค่าสี L*, a* และ b* จากวิธี HH ต่ำกว่าวิธี WH อย่างมีนัยสำคัญ โดยที่ชุดการทดลอง HH ระยะเวลา 60 นาที มีค่าสี L*, a* และ b* ต่ำสุดสุด (4.11±0.02, 24.16±0.03 และ 6.85±0.15 ตามลำดับ) โดยค่าใกล้เคียงกับ WH ระยะเวลา 60 นาที (5.07±0.05, 25.17±0.05 และ 7.93±0.05 ตามลำดับ)

Prince of Songkla University Pattani Campus

Table 4.3 Comparison of rice extract properties obtained from HH and WH extraction at 100°C for 30-60 min

Properties	Heating time (min)							
	30		40		50		60	
	HH	WH	HH	WH	HH	WH	HH	WH
Total solid (%)	1.67±0.00 ^{aB}	1.11±0.00 ^{wA}	2.49±0.00 ^{bB}	2.06±0.01 ^{xA}	3.51±0.01 ^{cA}	3.04±0.55 ^{yA}	4.53±0.00 ^{dA}	4.37±0.33 ^{zA}
Transmission (%)	1.1±0.00 ^{aA}	1.9±0.00 ^{wA}	1.0±0.00 ^{aA}	0.8±0.00 ^{wA}	0.6±0.00 ^{aA}	0.6±0.00 ^{wA}	0.5±0.00 ^{aA}	0.5±0.00 ^{wA}
Viscosity (cP)	3.43±0.05 ^{aB}	3.10±0.01 ^{wA}	7.26±0.05 ^{bB}	5.43±0.01 ^{xA}	18.32±0.15 ^{cB}	16.46±0.15 ^{yA}	21.36±0.57 ^{dB}	19.16±0.11 ^{zA}
L*	7.21±0.02 ^{dA}	14.30±0.02 ^{zB}	6.86±0.03 ^{cA}	8.45±0.00 ^{yA}	5.54±0.02 ^{bA}	6.55±0.01 ^{xB}	4.11±0.02 ^{aA}	5.07±0.05 ^{wB}
a*	33.56±0.06 ^{dA}	41.05±0.07 ^{zB}	32.78±0.09 ^{cA}	34.40±0.07 ^{yB}	28.99±0.04 ^{bA}	30.00±0.07 ^{xB}	24.16±0.03 ^{aA}	25.17±0.05 ^{wB}
b*	12.31±0.06 ^{dA}	24.20±0.07 ^{zB}	11.56±0.03 ^{bA}	14.20±0.07 ^{yB}	9.41±0.05 ^{bA}	11.41±0.01 ^{xB}	6.85±0.15 ^{aA}	7.93±0.05 ^{wB}

Data expressed as means±standard deviations of three (n = 3) measurements

Different small letters, in the heating method are significantly different ($p \leq 0.05$).

Different capital letters, in comparison of direct and indirect heating method at the same heating time are significantly different ($p \leq 0.05$).

Prince of Songkla University Pattani Campus

ผลการเปรียบเทียบการใช้ความร้อนโดยตรงและการใช้ความร้อนโดยอ้อม (เป็นระยะเวลา 30-60 นาที) ต่อคุณภาพของน้ำสกัดจากข้าวเหนียวดำ พบว่า เมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้นมีผลให้สารแอนโทไซยานิน โพลีฟีนอล การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH$^{\cdot}$ และ ABTS^{+} เพิ่มขึ้นในช่วงแรก (วิธี HH ที่ 30-40 นาที และวิธี WH ที่ 30-50 นาที) และลดลงเมื่อระยะเวลานานขึ้น ทั้งนี้วิธี HH ระยะเวลา 40 นาที ทำให้มีค่าดังกล่าวสูงสุด และมีค่าใกล้เคียงกับชุดการทดลอง WH ระยะเวลา 50 นาที ดังนั้นวิธีการให้ความร้อนโดยตรงที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 40 นาที (HH) จึงเหมาะกว่าวิธี WH เนื่องจากใช้ระยะเวลาสั้นกว่าและประหยัดมากกว่ารวมถึงสะดวกในการเตรียมน้ำข้าวสกัดมากกว่า

4.4 ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำข้าวเหนียวดำสกัด (Black glutinous rice extract beverage)

เตรียมน้ำข้าวเหนียวดำสกัดใช้สภาวะที่เลือกในตอนที่ 4.3 เพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์น้ำข้าวสกัด ผลิตภัณฑ์น้ำข้าวเหนียวดำสกัดมีลักษณะข้นหนืด มีสีแดงม่วง คุณภาพต่างๆของผลิตภัณฑ์ (ดังตารางที่ 4.4) ผลิตภัณฑ์มีค่าความเป็นกรดด่างต่ำ (pH 2.65) สำหรับผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำข้าวเหนียวดำสกัดมีปริมาณแอนโทไซยานินและโพลีฟีนอล 101.92 mg Cy-3-G/l product และ 2324.37 mg GAE/l product ตามลำดับ

Table 4.4 Quality of rice black glutinous rice extract beverage

Quality	Value
Total anthocyanin contents (mg Cy-3-G/l product)	101.92±5.59
Total polyphenol contents (mg GAE/l product)	2324.37±33.3
DPPH$^{\cdot}$ radical scavenging activity (µmol tolox)	363.00±2.79
ABTS^{+} radical scavenging activity (µmol tolox)	583.28±1.03
pH	2.65±0.00
Viscosity (cP)	33.49±02
L*	5.90±0.02
a*	31.16±0.12
b*	9.50±0.15

Data expressed as means±standard deviations of three (n = 3) measurements

Prince of Songkla University Pattani Campus

4.4.1 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพระหว่างการเก็บรักษา

จากการเก็บรักษาตัวอย่างผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำข้าวเหนียวดำสกัดที่อุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมี ทางกายภาพ ทางจุลินทรีย์ และทางประสาทสัมผัสของตัวอย่างผลิตภัณฑ์ในวันที่ 0, 7, 14, 21, 28 และ 35 ผลการศึกษาเป็นดังต่อไปนี้

4.4.1.1 ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด

อุณหภูมิและระยะเวลาในการเก็บรักษามีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารแอนโท-ไซยานินทั้งหมดของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำข้าวสกัดระหว่างการเก็บรักษาอย่างมีนัยสำคัญ (ภาพที่ 4.20) กล่าวคือ เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้นมีผลให้ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ทั้งสองอุณหภูมิที่ทำการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Wang and Xu (2007) ที่ศึกษาการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์น้ำแบล็คเบอร์รี่สกัดเข้มข้นเป็นระยะเวลา 60 วัน พบว่า เมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้นส่งผลให้ปริมาณแอนโทไซยานินลดลง เมื่อเปรียบเทียบผลของอุณหภูมิการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ พบว่า การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสมีปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือในผลิตภัณฑ์ปริมาณสูงกว่าการเก็บที่อุณหภูมิห้อง (เมื่อเปรียบเทียบที่ระยะเวลาการเก็บรักษาเท่ากัน) ตลอดอายุการเก็บรักษา 35 วัน ซึ่งในวันที่ 35 ปริมาณแอนโทไซยานินที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้องลดลง 36.35 และ 47.47 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Wang and Xu (2007) พบว่า การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์น้ำแบล็คเบอร์รี่สกัดเข้มข้นที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส ผลิตภัณฑ์มีการสลายตัวของแอนโทไซยานินน้อยกว่าที่อุณหภูมิ 25 และ 37 องศาเซลเซียส และปารมี (2550) พบว่า ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มกระเจี๊ยบสกัดเข้มข้นที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีปริมาณสารแอนโทไซยานินคงเหลือในผลิตภัณฑ์สูงกว่าการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส ทั้งนี้เนื่องจากอุณหภูมิในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์มีผลทำให้เกิดการสลายตัวของแอนโทไซยานินหรือการเปลี่ยนรูปจาก anthocyanidin-3-glocoside ไปเป็นแอนโทไซยานินอนุพันธ์อื่น หรืออาจเกิดจากสารแอนโทไซนินซึ่งเป็นรงควัตถุสามารถรวมตัวกับสารอื่น ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ กรดอินทรีย์ และโมเลกุลของแอนโทไซยานินเองได้เป็นสารประกอบที่เรียกว่า copigment (Rein, 2005)

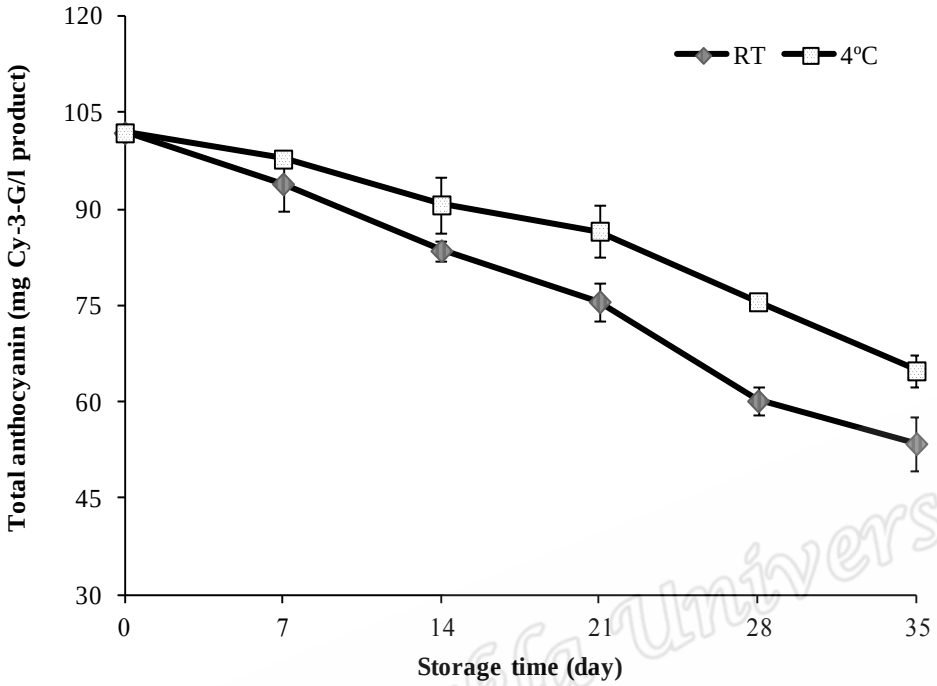


Figure 4.20 Effect of storage time and temperature on total anthocyanin contents of black glutinous rice extract beverage. The vertical bars represent a standard deviation (n = 3).

Prince of Songkla University Pattani Campus

4.4.1.2 ปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด

อุณหภูมิและระยะเวลามีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำข้าวสกัดระหว่างการเก็บรักษาอย่างมีนัยสำคัญ (ภาพที่ 4.21) กล่าวคือ เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้นมีผลให้ปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ทั้งสองอุณหภูมิที่ทำการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำข้าวเหนียวดำสกัด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Klimczak *et al.* (2007) ที่ได้ทำการศึกษาผลของระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์น้ำส้มเป็นเวลา 6 เดือน พบว่าเมื่อระยะเวลาในการเก็บนานขึ้นส่งผลให้ปริมาณสารโพลีฟีนอลของสารมีค่าลดลง เนื่องจากเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซีสระหว่างโมเลกุลของสาร เมื่อเปรียบเทียบผลของอุณหภูมิการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ พบว่า การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดคงเหลือในผลิตภัณฑ์สูงกว่าการเก็บที่อุณหภูมิห้อง (เมื่อเปรียบเทียบที่ระยะเวลาการเก็บรักษาเท่ากัน) ตลอดอายุการเก็บรักษา 35 วัน ซึ่งในวันที่ 35 ปริมาณโพลีฟีนอลที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้องลดลง 16.10 และ 20.10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งผลของปริมาณสารโพลีฟีนอลเป็นไปในทำนองเดียวกับปริมาณแอนโทไซยานิน

และสอดคล้องกับการศึกษาของปารมี (2550) พบว่า ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มกระเจี๊ยบสกัดเข้มข้นที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีปริมาณสารโพลีฟีนอลคงเหลือในผลิตภัณฑ์สูงกว่าการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก สารโพลีฟีนอลสามารถสร้างพันธะกับสารกลุ่มเดียวกันได้เป็นสารประกอบเชิงซ้อน และสารโพลีฟีนอลสร้างพันธะเชื่อมกับน้ำตาลโดย etherification ได้เป็นสารประกอบเชิงซ้อน ทำให้ปริมาณสารโพลีฟีนอลลดลง

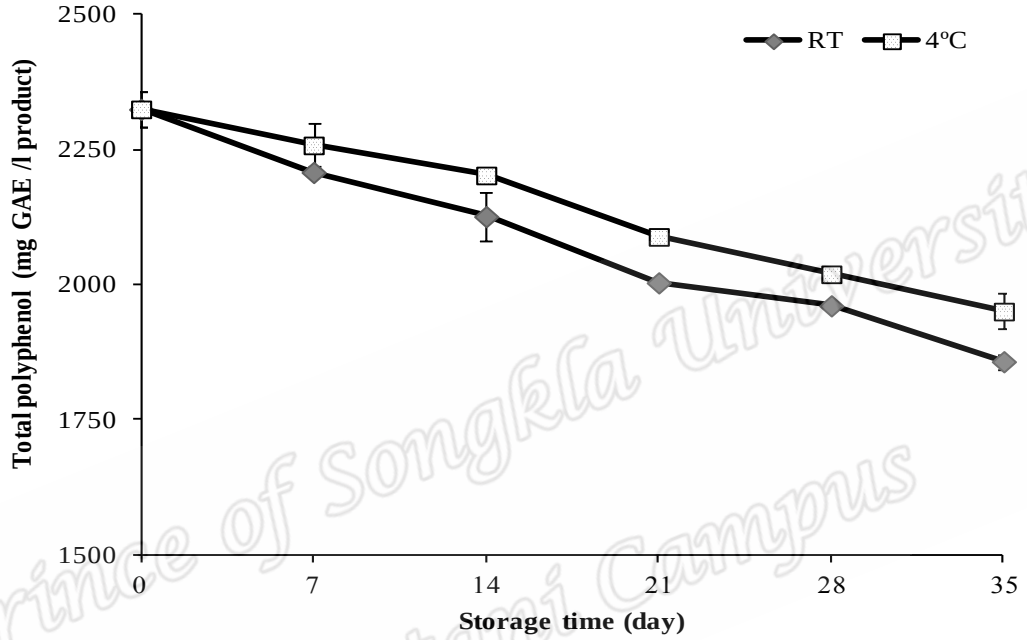


Figure 4.21 Effect of storage time and temperature on total polyphenol contents of black glutinous rice extract beverage. The vertical bars represent a standard deviation (n = 3).

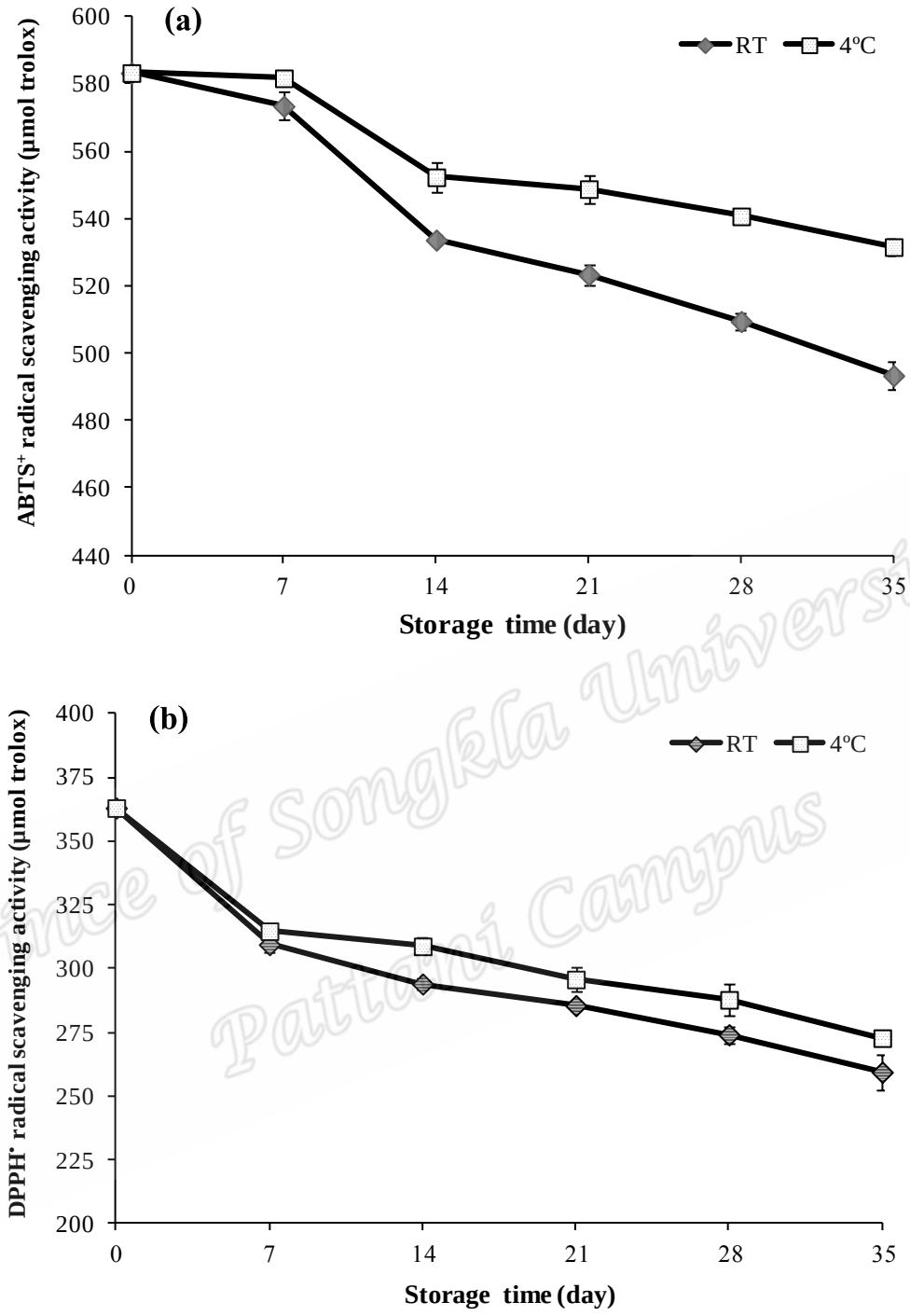
Prince of Songkla University Pattani Campus

4.4.1.3 ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ

สำหรับการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ $ABTS^{+}$ และ $DPPH^{\cdot}$ ของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำข้าวสกัดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 7 14, 21, 28 และ 35 วัน (ภาพที่ 4.22) จากการศึกษาพบว่า ระยะเวลาในการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์มีผลต่อความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ $ABTS^{+}$ และ $DPPH^{\cdot}$ มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ทั้งสองอุณหภูมิที่ทำการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ โดยเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เท่ากัน พบว่า การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ส่งผลให้มีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ $ABTS^{+}$ และ $DPPH^{\cdot}$ สูงกว่าอุณหภูมิห้องตลอดการอายุการเก็บรักษา 35 วัน ซึ่งในวันที่ 35 การยับยั้งอนุมูลอิสระ $ABTS^{+}$ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ

อุณหภูมิห้องลดลง 8.86 และ 15.41 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH˙ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้องลดลง 24.84 และ 28.52 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งผลของความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ $ABTS^{+}$ และ DPPH˙ สอดคล้องกับปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ (แอนโทไซยานิน และโพลีฟีนอล) ที่มีค่าลดลงเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลอุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์น้ำส้มของ Klimczak *et al*. (2007) พบว่า เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์นานขึ้น (6 เดือน) ส่งผลให้ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH˙ ลดลง และที่อุณหภูมิ 38 องศาเซลเซียส ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH˙ มีค่าลดลงมากที่สุดเมื่อเทียบกับอุณหภูมิ 18 และ 28 องศาเซลเซียส เนื่องจากอุณหภูมิในการเก็บรักษาที่สูงจะเร่งการสลายตัวของสารประกอบที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ขึ้นส่งผลให้ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระลดลงเช่นเดียวกัน ทั้งนี้เป็นผลมาจากปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระลดลง จึงมีผลให้ค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระลดลงไปด้วย

Prince of Songkla University Pattani Campus



Prince of Songkla University Pattani Campus

Figure 4.22 Effect of storage time and temperature on $ABTS^{+}$ (a) and $DPPH^{\bullet}$ (b) radical scavenging activity of black glutinous rice extract beverage. The vertical bars represent a standard deviation (n = 3).

4.4.1.4 พีเอช (pH)

ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำข้าวเหนียวดำสกัด 35 วัน ค่า pH ของผลิตภัณฑ์มีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย กล่าวคือ เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์นานขึ้นมีผลให้ค่า pH ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสมีค่าอยู่ในช่วง 2.63-2.68 และอุณหภูมิห้องมีค่าอยู่ในช่วง 2.63-2.72 ซึ่งจะเห็นได้ว่าอุณหภูมิไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่า pH

4.4.1.5 ค่าสี

ค่าสี (ตารางที่ 4.5) พบว่า เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์นานขึ้น ค่า L* (ค่าความสว่างของผลิตภัณฑ์) และ ค่า b* (ค่าสีเหลืองของผลิตภัณฑ์) มีค่าเพิ่มขึ้น และค่า a* (ค่าสีแดงของผลิตภัณฑ์) มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 35 วัน กล่าวคือ ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำข้าวสกัดมีสีจางลง และเมื่อดูจากค่าสีค่า L*, b* และ a* จะเห็นได้ว่ามีการเปลี่ยนแปลงของค่าสีเพียงเล็กน้อย โดยมีค่า L* อยู่ในช่วง 5.90-6.76 (อุณหภูมิห้อง) และ 5.90-6.28 (อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส) ส่วนค่า b* อยู่ในช่วง 9.50-11.25 (อุณหภูมิห้อง) และ 9.50-10.60 (อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส) และค่า a* อยู่ในช่วง 31.16-29.39 (อุณหภูมิห้อง) และ 31.16-30.57 (อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส)

สำหรับผลของอุณหภูมิในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ต่อค่าสี พบว่า มีค่าแตกต่างกันเล็กน้อย โดยที่อุณหภูมิห้องให้ค่าสี L* และ b* ต่ำกว่าอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และให้ค่าสี a* สูงกว่าอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ทั้งนี้เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้นมีผลต่อค่าสี เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของรงควัตถุของแอนโทไซยานินในผลิตภัณฑ์ (อัสมา, 2554) ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณแอนโทไซยานินที่ลดลดเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์นานขึ้น

Prince of Songkla University Pattani Campus

Table4.5 Effect of storage time and temperature on color L*, a* and b*of black glutinous rice extract beverage.

Storage time (day)	Color					
	L*		a*		b*	
	RT	4 ºC	RT	4 ºC	RT	4 ºC
0	5.90±0.02 [a]	5.90±0.02 [b]	31.16±0.12 [d]	31.16±0.12 [cd]	9.50±0.15 [a]	9.50±0.15 [a]
7	5.97±0.04 [ab]	5.79±0.01 [a]	30.49±0.13 [c]	31.23±0.07 [d]	9.99±0.19 [b]	9.72±0.03 [ab]
14	6.03±0.02 [bc]	5.93±0.04 [b]	30.23±0.09 [b]	31.14±0.00 [cd]	10.02±0.13 [b]	10.01±0.06 [bc]
21	6.12±0.11 [c]	6.06±0.03 [c]	30.10±0.07 [b]	30.93±0.08 [bc]	10.17±0.08 [bc]	10.16±0.28 [cd]
28	6.25±0.02 [d]	6.16±0.03 [d]	29.40±0.06 [a]	30.81±0.30 [ab]	10.39±0.04 [c]	10.37±0.12 [de]
35	6.76±0.05 [e]	6.28±0.07 [e]	29.39±0.09 [a]	30.57±0.12 [a]	11.25±0.07 [d]	10.60±0.19 [e]

Data expressed as means±standard deviations of three (n = 3) measurements

Different small letters, in the same column are significantly different ($p \leq 0.05$).

Prince of Songkla University Pattani Campus

4.4.1.6 คุณภาพทางจุลินทรีย์

ผลวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ปริมาณยีสต์และรา ปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรีย ปริมาณ *E. coli* และจุลินทรีย์ก่อโรค (*B. cereus, C. perfringens* และ *S. aureus*) ของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำข้าวสกัด พบว่า ผลิตภัณฑ์เริ่มต้น (วันที่ 0) ตรวจพบโคลิฟอร์มแบคทีเรียในปริมาณน้อยกว่า 0.3 MPN ต่อ 100 มิลลิลิตร ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ และไม่พบจุลินทรีย์อื่นๆในวันที่ 0 เมื่ออายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์นานขึ้น(วันที่ 7-วันที่ 35) โดยตรวจพบปริมาณยีสต์และรา ในปริมาณน้อยกว่า 25 log CFU/ 100 ml และตรวจพบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (วันที่ 7-วันที่ 35) ที่เก็บรักษา ณ อุณหภูมิห้อง มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด อยู่ในช่วง 2.30-2.63 log CFU/ 100 ml และที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด อยู่ในช่วง 2.00-2.63 log CFU/ 100 ml (ตารางที่ 4.6) ซึ่งการเพิ่มขึ้นและลดลงของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดนั้นเป็นไปตามระยะการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ และจะเห็นได้ว่าปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ไม่เกินตามข้อกำหนดของเครื่องดื่มในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิทที่ระบุไว้ว่า ต้องตรวจพบเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่เกิน 1,000 CFU/ ml (ประกาศกระทรวงสาธารณสุข, 2543) และตลอดระยะการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไม่พบ *E. coli* และจุลินทรีย์ก่อโรค (*B. cereus, C. perfringens* และ *S. aureus*) ทั้งนี้เนื่องจากผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำข้าวสกัดเป็นเครื่องดื่มประเภทกรดสูง (high acid food) คือมีพีเอชต่ำ (2.6-2.7) จึงมีผลต่อการยับยั้งจุลินทรีย์

จากผลการศึกษาครั้งนี้จะเห็นได้ว่าผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำข้าวสกัดที่ผ่านการต้มฆ่าเชื้อ มีอายุเก็บรักษานานกว่า 1 เดือน ถึงแม้จะเก็บรักษาภายในอุณหภูมิห้องก็ยังสามารถรับประทานผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำข้าวสกัดได้อย่างปลอดภัย

Prince of Songkla University Pattani Campus

Table 4.6 Effect of storage time and temperature on change in microbial qualities of black glutinous rice extract beverage.

Storage time (day)	Microbial qualities													
	Yeast and mold (log CFU/ml)		Total bacteria count (log CFU /ml)		*E. Coli* (MPN/100ml)		*S. Aureus* (log CFU/1ml)		*C. perfringent* (log CFU/1ml)		*B. cereus* (log CFU/ml)		Coliform (MPN/100ml)	
	RT	4 ºC	RT	4 ºC	RT	4 ºC	RT	4 ºC	RT	4 ºC	RT	4 ºC	RT	4 ºC
0	0	0	0	0	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	<3.0	<3.0
7	<25	<25	2.63	2.63	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
14	<25	<25	2.56	2.51	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	<0.3	<0.3
21	<25	<25	2.41	2.32	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
28	<25	<25	2.38	2.23	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
35	<25	<25	2.30	2.00	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	<0.3	<0.3

nd= not detected

(-)= not assay

Prince of Songkla University Pattani Campus

4.4.1.7 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส

ทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำข้าวสกัดโดยนำตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่เก็บรักษาในอุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มาทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ในวันที่ 0, 7, 14, 21, 28 และ 35 โดยใช้การทดสอบแบบ Hedonic Scale ใช้จำนวนผู้ทดสอบจำนวน 15 คน วิธีการทดสอบใช้แบบ 9-point hedonic scale คุณลักษณะที่ประเมินได้แก่ สี กลิ่นรสข้าว รสหวาน รสเปรี้ยว ความรู้สึกภายในปาก ความข้นหนืด และความชอบโดยรวม (ดังตารางที่ 4.7) จากการศึกษาพบว่า ระยะเวลาและอุณหภูมิในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไม่มีผลต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสในด้าน สี ด้านกลิ่นรสข้าว รสหวาน ความรู้สึกภายในปาก ความข้นหนืด และรสเปรี้ยวอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) สำหรับคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านความชอบโดยรวมมีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์นานขึ้นทั้งในอุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ซึ่งค่าเฉลี่ยของคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสทั้งหมด มีระดับคะแนนความชอบอยู่ในช่วง 6-7 คะแนน (ชอบถึงชอบปานกลาง) ดังนั้นผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำข้าวสกัดที่เก็บรักษาในอุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาทั้งหมด 35 วัน มีคุณภาพที่ยอมรับของผู้บริโภค

Prince of Songkla University Pattani Campus

Table4.7 Effect of storage time and temperature sensory evaluation of black glutinous rice extract beverage with different of storage time.

Storage time (day)	Sensory attributes[ns]													
	Color		Rice flavor		Viscosity		Mouthfeel		Sweetness		Sourness		Overall accepability	
	RT	4°C	RT	4°C	RT	4°C	RT	4°C	RT	4°C	RT	4°C	RT	4°C
0	7.26±1.1	7.26±1.1	7.13±0.8	7.13±0.8	7.20±1.0	7.20±1.0	7.46±1.3	7.46±1.3	7.26±0.7	7.26±0.7	7.33±0.9	7.33±0.9	7.53±0.8[a]	7.53±0.8[b]
7	7.33±0.6	7.33±1.0	6.93±1.0	7.20±1.0	7.13±1.1	7.26±0.9	7.13±1.0	7.13±1.2	6.93±1.0	7.40±0.9	7.26±1.0	7.33±0.8	7.46±1.0[ab]	7.46±0.7[ab]
14	7.46±0.9	7.53±0.8	6.93±0.7	7.00±1.2	6.86±0.9	7.06±1.3	7.13±1.1	7.60±0.7	6.86±1.0	7.06±0.8	7.13±1.0	7.26±0.8	7.13±0.9[ab]	7.20±0.7[ab]
21	7.26±1.0	7.53±1.0	6.80±0.9	6.73±0.7	6.86±1.3	7.04±0.8	7.13±0.9	7.00±0.7	6.80±0.9	6.86±0.8	6.86±0.9	6.93±0.9	7.13±0.9[ab]	7.00±1.0[ab]
28	7.04±0.8	7.26±1.0	6.73±0.9	6.80±1.1	6.73±1.0	6.93±0.9	6.73±0.7	6.93±0.8	6.73±1.2	6.86±0.9	6.66±0.7	6.60±0.9	6.86±0.8[ab]	6.93±1.0[ab]
35	6.93±0.9	7.20±0.8	6.20±1.3	6.33±1.3	6.53±0.9	6.86±0.9	6.73±1.0	6.73±0.9	6.66±1.3	6.60±1.1	6.60±1.1	6.60±1.1	6.53±0.9[a]	6.66±1.2[a]

Data expressed as means±standard deviations of fifteen (n = 15) measurements

Different small letters, in the same column are significantly different ($p \leq 0.05$).

ns = not significantly different storage time ($p > 0.05$).

Prince of Songkla University Pattani Campus