



การพัฒนากระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์ผลไม้แผ่นจากกากกระเจี๊ยบแดง
Development of Leather Production from Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.)
By-product

สุวิชา แดงกระจ่าง
Suwicha Dangkrjang

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of
Master of Science in Food Science and Technology
Prince of Songkla University

2554

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ การพัฒนากระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์ผลไม้แปรรูปจากกากกระเจี๊ยบแดง
ผู้เขียน นางสาวสุวิษา แดงกระจ่าง
สาขาวิชา วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

คณะกรรมการสอบ

.....

.....ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อัญชลี ศิริโชค)

(ดร.มุกิตา มีนุ่น)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อัญชลี ศิริโชค)

.....

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.ธงชัย สุวรรณสิขณณ์)

(รองศาสตราจารย์ ดร.ธงชัย สุวรรณสิขณณ์)

.....กรรมการ

(ดร.อรุษา เขาวนลิขิต)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้
เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์
และเทคโนโลยีอาหาร

.....

(ศาสตราจารย์ ดร.อมรรัตน์ พงศ์ดารา)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อวิทยานิพนธ์	การพัฒนากระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์ผลไม้แผ่นจากกากกระเจี๊ยบแดง
ผู้เขียน	นางสาวสุวิษา แดงกระจ่าง
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร
ปีการศึกษา	2554

บทคัดย่อ

กระเจี๊ยบแดงสด (*Hibiscus sabdariffa* L.) มีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด เท่ากับ 648.09 ± 1.80 มิลลิกรัมไซยานิดิน 3-กลูโคไซด์ต่อตัวอย่าง 100 กรัม ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ 15.91 ± 0.09 มิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่าง และปริมาณกรดแอสคอร์บิก เท่ากับ 1.43 ± 0.02 มิลลิกรัมต่อกรัมตัวอย่าง ขณะที่กากกระเจี๊ยบแดงซึ่งเป็นเศษเหลือจากกระบวนการผลิตเครื่องดื่มน้ำกระเจี๊ยบแดงมีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด เท่ากับ 455.79 ± 7.25 มิลลิกรัมไซยานิดิน 3-กลูโคไซด์ต่อตัวอย่าง 100 กรัม ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ 11.62 ± 0.08 มิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่าง และปริมาณกรดแอสคอร์บิก เท่ากับ 0.18 ± 0.01 มิลลิกรัมต่อกรัมตัวอย่าง รวมทั้งมีปริมาณใยอาหารชนิดละลายน้ำ เท่ากับ 3.00 ± 0.19 % และปริมาณใยอาหารชนิดไม่ละลายน้ำ เท่ากับ 8.15 ± 0.10 % ซึ่งพบว่ากระเจี๊ยบแดงสดมีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณกรดแอสคอร์บิก รวมทั้งสมบัติการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่ากากกระเจี๊ยบแดงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) อย่างไรก็ตามกากกระเจี๊ยบแดงดังกล่าวยังคงมีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ตลอดจนสมบัติการต้านอนุมูลอิสระในปริมาณค่อนข้างสูงเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณดังกล่าวของกระเจี๊ยบแดงสด อีกทั้งกากกระเจี๊ยบแดงยังเป็นแหล่งของใยอาหารทั้งชนิดที่ละลายน้ำและไม่ละลายน้ำจึงทำให้กากกระเจี๊ยบแดงยังคงมีศักยภาพสูงในการนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารต่อไป นอกจากนี้เมื่อทำการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์ในกากกระเจี๊ยบแดงที่เป็นวัตถุดิบเบื้องต้นในการผลิตผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นพบว่าตรวจไม่พบการเจริญเติบโตของ Coliform bacteria มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดน้อยกว่า 250 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม รวมทั้งมีปริมาณยีสต์และรา น้อยกว่า 10 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม ซึ่งแสดงให้เห็นว่ากากกระเจี๊ยบแดงเป็นวัตถุดิบที่มีความปลอดภัยสำหรับการนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหาร

การพัฒนาสูตรพื้นฐานของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นพบว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นจากกากกระเจี๊ยบแดงไม่มีความจำเป็นต้องใช้สารเพิ่มความคงตัว (เพกติน กัวร์กัม และมอลโทเดกซ์ทริน) ในการผลิตผลิตภัณฑ์ดังกล่าว และเมื่อศึกษาการใช้ซูคราโลสเป็นสารให้ความหวานเพื่อ

ทดแทนการใช้ซูโครสในบางส่วนพบว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่มีการใช้อัตราส่วนของซูโครสต่อซูคราโลส เท่ากับ 75 ต่อ 25 เป็นสูตรที่เหมาะสมสำหรับการผลิตผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นโดยมีส่วนผสมในการผลิตประกอบด้วย เพียวเร่กระเจี๊ยบแดง 78.54 % น้ำ 2.75 % กลีเซอรอล 7.07 % กรดซิตริก 0.08 % โพลีแซ็กคาไรด์ไฮดรอกซีโพรพิลไฟต์ 0.06 % ซูโครส 11.49 % และซูคราโลส 0.006 % ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่ผลิตจากสูตรดังกล่าวมีค่า L^* a^* และ b^* เท่ากับ 21.78 ± 0.19 3.66 ± 0.06 และ 0.46 ± 0.08 ตามลำดับ ค่า Tensile force และ Cutting force เท่ากับ 0.85 ± 0.14 และ 9.42 ± 0.77 นิวตัน ตามลำดับ รวมทั้งมีค่า α_w ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และค่าพีเอช เท่ากับ 0.53 ± 0.00 13.38 ± 0.14 องศาบริกซ์ และ 2.54 ± 0.01 ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่ผลิตจากสูตรดังกล่าวมีคะแนนความชอบโดยเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านสี กลิ่นรสกระเจี๊ยบแดง ความเหนียว รสเปรี้ยว รสหวาน และความชอบ โดยรวมอยู่ในช่วง 6.0-7.0 (ชอบน้อยที่สุดถึงชอบปานกลาง)

เมื่อตรวจวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นภายหลังการผลิต (วันที่ 0) พบว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นดังกล่าวมีปริมาณใยอาหารชนิดละลายน้ำ เท่ากับ 8.61 ± 0.05 % และปริมาณใยอาหารชนิดไม่ละลายน้ำ เท่ากับ 25.41 ± 0.18 % นอกจากนี้เมื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่เดิมและไม่เดิม โพลีแซ็กคาไรด์ไฮดรอกซีโพรพิลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม บรรจุในถุงเมทัลไลต์ (ความหนา 39.0 ไมโครเมตร ขนาด 9.8×15.0 เซนติเมตร) 16 กรัม ต่อถุง เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 หรือ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 60 วัน พบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นส่งผลให้คุณภาพทางกายภาพ คือ ค่า a^* และ b^* ของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นทุกชุดการทดลองมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ขณะที่ค่า L^* และคุณลักษณะเนื้อสัมผัสรวมทั้งคุณภาพทางเคมี คือ ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นทุกชุดการทดลองมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ในระหว่างการเก็บรักษา นอกจากนี้พบว่าเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษาในวันที่ 60 ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่เดิมและไม่เดิม โพลีแซ็กคาไรด์ไฮดรอกซีโพรพิลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส มีการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางกายภาพ คือ ค่าสีและคุณลักษณะเนื้อสัมผัส รวมทั้งคุณภาพทางเคมี คือ ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่าชุดการทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) สำหรับคุณภาพทางจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 หรือ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 60 วัน ยังมีคุณภาพเป็นไปตามข้อกำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมผลไม้แห้งของสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม สำหรับการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 หรือ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส

เป็นระยะเวลา 60 วัน พบว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นดังกล่าวมีคะแนนความชอบโดยเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านสี กลิ่นรสกระเจี๊ยบแดง รสชาติ ความเหนียว และความชอบ โดยรวมอยู่ในช่วง 6.0-7.0 (ชอบน้อยที่สุดถึงชอบปานกลาง) สำหรับต้นทุนส่วนผสมและบรรจุภัณฑ์ของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นขนาดบรรจุ 16.0 กรัม บรรจุถุงเมทัลไลท์ขนาด 9.8×15.0 เซนติเมตร มีต้นทุนดังกล่าวประมาณ 6.83 บาท/ถุง

การประยุกต์เทคนิคสเปกโตรสโกปีย่านใกล้อินฟราเรด (NIRS) ในการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นพบว่าสมการที่มีการปรับแต่งข้อมูลสเปกตรัมด้วยวิธีการปรับแก้การกระเจิงแบบผลคูณ (MSC) และทำการสร้างสมการด้วยวิธีการถดถอยกำลังสองน้อยที่สุดบางส่วน (PLSR) เป็นสมการที่เหมาะสมที่สุดสำหรับใช้ทำนายปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นโดยสมการดังกล่าวมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) เท่ากับ 0.916 ค่าความคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ยในการทำนายของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบความแม่นยำของสมการ (RMSEP) เท่ากับ 45.220 มิลลิกรัมไซยานิดิน 3-กลูโคไซด์ต่อกิโลกรัมตัวอย่าง และอัตราส่วนค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบความแม่นยำของสมการต่อค่าความคลาดเคลื่อนจากการทำนาย (RPD) เท่ากับ 1.646 และสมการทำนายที่สร้างขึ้นสามารถนำมาใช้เพื่อหาค่าโดยประมาณของปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นได้

Thesis Title	Development of Leather Production from Roselle (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.) By-product
Author	Miss Suwicha Dangkrjang
Major Program	Food Science and Technology
Academic Year	2011

ABSTRACT

Fresh roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) had the total anthocyanin content of 648.09 ±1.80 mg cyanidin 3-glucoside/100 g sample, the total phenolic content of 15.91±0.09 mg GAE/g sample and the ascorbic acid content of 1.43±0.02 mg/g sample. While, roselle by-product, which from the roselle juice processing, contained the total anthocyanin content of 455.79±7.25 mg cyanidin 3-glucoside/100 g sample, the total phenolic content of 11.62±0.08 mg GAE/g sample and the ascorbic acid content of 0.18±0.01 mg/g sample, the soluble dietary fiber content of 3.00±0.19 % and the insoluble dietary fiber content of 8.15±0.10 %. It was found that the fresh roselle had the total anthocyanin content, the total phenolic content, the ascorbic acid content and the antioxidant properties significantly ($p < 0.05$) greater than those of roselle by-product. However, the roselle by-product still had quite high in the total anthocyanin content, the total phenolic content and the antioxidant properties as compared to those of the contents of fresh roselle. Roselle by-product is a source of soluble and insoluble dietary fiber. Thus, roselle by-product had high potential for food production. In addition, roselle by-product, as a basic ingredient of roselle leather product, had no coliform bacteria growth, total viable count lower than 250 CFU/g sample, yeast and mold count lower than 10 CFU/g sample. These results showed that the roselle by-product was microbially safe for food product production.

The development of product formulation for roselle leather products were carried out. It was found that the addition of stabilizers (pectin, guar gum and maltodextrin) in the roselle leather product recipe was not necessary. Studies on the use of sucralose as sucrose replacement were also carried out. The results revealed that the addition of the sucrose to sucralose ratio as 75 to 25 for the roselle leather product was an optimal formula for a roselle leather making recipe. This recipe comprised of 78.54 % roselle puree, 2.75 % water, 7.07 % glycerol, 0.08 % citric acid,

0.06 % potassium metabisulfite, 11.49 % sucrose and 0.006 % sucralose, respectively. Roselle leather product, was produced, and had the L^* , a^* and b^* values of 21.78 ± 0.19 , 3.66 ± 0.06 and 0.46 ± 0.08 , respectively. The tensile force and cutting force values were 0.85 ± 0.14 and 9.42 ± 0.77 N, respectively. The a_w , total soluble solids and pH values were 0.53 ± 0.00 , 13.38 ± 0.14 °Brix and 2.54 ± 0.01 , respectively. In addition, this roselle leather product had the average perceived liking scores in color, roselle flavor, stickiness, sourness, sweetness and the overall liking characteristics were in the range of 6.0-7.0 (like slightly to like moderately).

Determination the dietary fiber content of roselle leather product was examined. It was found that the roselle leather product after production (0 day) had the soluble dietary fiber content of 8.61 ± 0.05 % and the insoluble dietary fiber content of 25.41 ± 0.18 %. Studies on the quality changes of roselle leather products with and without the addition of 750 ppm potassium metabisulfite packed in metalized foil bags (39.0 µm, 9.8×15.0 cm), 16 g each, storage at 8.0 ± 2.0 or 27.0 ± 2.0 °C for 60 days were performed. It was found that as the storage time increased, all roselle leather samples had changes in the a^* and b^* values significantly ($p < 0.05$) increased. Whereas, the L^* values, the texture characteristics, the total anthocyanin contents, the total phenolic contents and the antioxidant properties significantly ($p < 0.05$) decreased during storage. It was found that, at the end of 60 days storage, the roselle leather products with and without the addition of 750 ppm potassium metabisulfite storage at 8.0 ± 2.0 °C showed changes in qualities in the color values, the texture characteristics, the total anthocyanin contents, the total phenolic contents and the antioxidant properties, significantly ($p < 0.05$) lower than those of the other roselle leather samples. The microbiological qualities of roselle leather products during storage at 8.0 ± 2.0 or 27.0 ± 2.0 °C for 60 days, met the requirements as notified in the industrial product standard of dried fruits by the Thai Industrial Standards Institute. The sensory evaluations of roselle leather products during storage at 8.0 ± 2.0 or 27.0 ± 2.0 °C for 60 days were also performed. The results showed that these roselle leather products had the average perceived liking scores in color, roselle flavor, taste, stickiness and the overall liking characteristics were in the range of 6.0-7.0 (like slightly to like moderately). The overall ingredients and package price for 16.0 grams of roselle leather products, packed in 9.8×15.0 cm metalized foil bag, was estimated at 6.83 baht/bag.

The application of near infrared spectroscopy (NIRS) for determination the total anthocyanin contents of roselle leather product was carried out. It was found that the optimal equation for prediction of total anthocyanin contents, based on multiplicative scatter correction (MSC) method prior to partial least squares regression (PLSR) analysis, provided the correlation coefficient (R) of 0.916, the root mean square error of prediction (RMSEP) of 45.220 mg cyanidin 3-glucoside/kg sample and the ratio of standard deviation of reference data in the validation sample set to standard error of prediction (RPD) of 1.646. According to the results of these studies, it may imply that there is a feasibility to apply NIRS for apparently rapid determination the total anthocyanin contents of roselle leather product.

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ.....	(10)
LIST OF TABLES.....	(11)
LIST OF APPENDIX TABLES.....	(14)
LIST OF FIGURES.....	(17)
LIST OF APPENDIX FIGURE.....	(19)
บทที่	
1 บทนำ.....	1
บทนำต้นเรื่อง.....	1
การตรวจเอกสาร.....	2
วัตถุประสงค์.....	65
2 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ.....	66
วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ.....	66
วิธีการดำเนินการวิจัย.....	69
3 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง.....	81
4 บทสรุปและข้อเสนอแนะ.....	149
เอกสารอ้างอิง.....	152
ภาคผนวก.....	167
ประวัติผู้เขียน.....	230

LIST OF TABLES

Table		Page
1	Nutritional compositions of 100.0 grams of fresh roselle calyxes (Dry weight basis)	3
2	Chemical properties of 100.0 grams of roselle fruit (Wet weight basis).....	4
3	Dietary fiber content of some cereals, legume, vegetables and fruits (Dry weight basis).....	10
4	Type of anthocyanins found in some fruits.....	13
5	Anthocyanin contents found in some fruits.....	14
6	Absorption maximum and shade of color changes of anthocyanins at different pH levels.....	19
7	Interpretation of R.....	62
8	List of chemicals for the experiment.....	66
9	Formulations of roselle leather product (sucralose as replacement for sucrose).....	76
10	Physical and chemical properties of roselle calyxes and roselle by-product (Dry weight basis).....	86
11	Antioxidant properties (by DPPH [•] and ABTS ^{•+} scavenging activity, FRAP) of roselle calyxes and roselle by-product (Dry weight basis).....	87
12	Microbiological qualities of roselle by-product.....	88
13	Physical and chemical properties of roselle puree.....	88
14	Physical and chemical properties of roselle leather product at the different concentrations of pectin.....	92
15	Liking mean scores of roselle leather product at the different concentrations of pectin	93
16	Physical and chemical properties of roselle leather product at the different concentrations of guar gum.....	97
17	Liking mean scores of roselle leather product at the different concentrations of guar gum.....	98
18	Physical and chemical properties of roselle leather product at the different concentrations of maltodextrin.....	102

LIST OF TABLES (Cont.)

Table	Page	
19	Liking mean scores of roselle leather product at the different concentrations of maltodextrin.....	103
20	Physical and chemical properties of roselle leather product at the addition of 1.0 pectin and 0.4 guar gum.....	107
21	Liking mean scores of roselle leather product at the addition of 1.0 pectin and 0.4 guar gum.....	108
22	Texture characteristics of roselle leather product at the different types/concentrations of stabilizers.....	110
23	Physical and chemical properties of roselle leather product at different ratios of sucrose to sucralose.....	114
24	Liking mean scores of roselle leather product at different ratios of sucrose to sucralose.....	115
25	Changes in L^* a^* and b^* values of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^\circ\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^\circ\text{C}$ for 0 30 and 60 days.....	119
26	Changes in water activity (a_w) of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^\circ\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^\circ\text{C}$ for 0 30 and 60 days.....	121
27	Changes in tensile force and cutting force of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^\circ\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^\circ\text{C}$ for 0 30 and 60 days.....	123
28	Changes in total soluble solids and pH values of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^\circ\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^\circ\text{C}$ for 0 15 30 45 and 60 days.....	126
29	Changes in ascorbic acid contents of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^\circ\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^\circ\text{C}$ for 0 and 60 days (Dry weight basis).....	128

LIST OF TABLES (Cont.)

Table	Page	
30	Changes in total anthocyanin contents of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ for 0 15 30 45 and 60 days (Dry weight basis).....	131
31	Changes in total phenolic contents of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ for 0 15 30 45 and 60 days (Dry weight basis).....	134
32	Liking mean scores (color and roselle flavor attributes) of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ for 0 30 and 60 days.....	140
33	Liking mean scores (taste and stickiness attributes) of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ for 0 30 and 60 days.....	141
34	Liking mean scores (overall liking attribute) of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ for 0 30 and 60 days	142
35	The statistic values of calibration and validation sample set for determination of total anthocyanin contents in roselle leather products.....	144
36	The statistical values of PLSR models for determination of total anthocyanin contents in roselle leather products.....	146
37	The overall ingredient and package price calculations of roselle leather product (16 g each) from roselle by-product.....	148

LIST OF APPENDIX TABLES

Table		Page
1	Interpretation of RPD.....	194
2	Antioxidant properties (by DPPH [•] and ABTS ^{•+} scavenging activity, FRAP) of fresh fruit and fruit by-product.....	197
3	Antioxidant properties (by ABTS ^{•+} scavenging activity) of dried fruit product.....	198
4	Changes in antioxidant properties of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at 8.0±2.0 °C and 27.0±2.0 °C for 0 15 30 45 and 60 days as determined by DPPH [•] scavenging activity.....	199
5	Changes in antioxidant properties of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at 8.0±2.0 °C and 27.0±2.0 °C for 0 15 30 45 and 60 days as determined by ABTS ^{•+} scavenging activity.....	200
6	Changes in antioxidant properties of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at 8.0±2.0 °C and 27.0±2.0 °C for 0 15 30 45 and 60 days as determined by Ferric reducing antioxidant power or FRAP.....	201
7	Microbiological qualities of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at 8.0±2.0 °C and 27.0±2.0 °C for 0 15 30 45 and 60 days.....	202
8	Analysis of variances in properties of roselle calyxes and roselle by-product.....	204
9	Analysis of variances in physical and chemical properties of roselle leather product at the different concentrations of pectin.....	206
10	Analysis of variances in physical and chemical properties of roselle leather product at the different concentrations of guar gum.....	207
11	Analysis of variances in physical and chemical properties of roselle leather product at the different concentrations of maltodextrin.....	208
12	Analysis of variances in physical and chemical properties of roselle leather product at the addition of 1.0 pectin and 0.4 guar gum.....	209
13	Analysis of variances in texture characteristics of roselle leather product at the different types/concentrations of stabilizers.....	210

LIST OF APPENDIX TABLES (Cont.)

Table	Page
14	Analysis of variances in physical and chemical properties of roselle leather product at different ratios of sucrose to sucralose..... 211
15	Analysis of variances in L^* of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^\circ\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^\circ\text{C}$ for 0 30 and 60 days..... 212
16	Analysis of variances in a^* of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^\circ\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^\circ\text{C}$ for 0 30 and 60 days..... 213
17	Analysis of variances in b^* of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^\circ\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^\circ\text{C}$ for 0 30 and 60 days..... 214
18	Analysis of variances in water activity (a_w) of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^\circ\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^\circ\text{C}$ for 0 30 and 60 days 215
19	Analysis of variances in tensile force of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^\circ\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^\circ\text{C}$ for 0 30 and 60 days..... 216
20	Analysis of variances in cutting force of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^\circ\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^\circ\text{C}$ for 0 30 and 60 days..... 217
21	Analysis of variances in total soluble solids of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^\circ\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^\circ\text{C}$ for 0 15 30 45 and 60 days..... 218
22	Analysis of variances in pH values of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^\circ\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^\circ\text{C}$ for 0 15 30 45 and 60 days 219
23	Analysis of variances in ascorbic acid contents of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^\circ\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^\circ\text{C}$ for 0 and 60 days..... 221
24	Analysis of variances in total anthocyanin contents of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^\circ\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^\circ\text{C}$ for 0 15 30 45 and 60 days..... 222

LIST OF APPENDIX TABLES (Cont.)

Table		Page
25	Analysis of variances in total phenolic contents of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ for 0 15 30 45 and 60 days.....	224
26	Analysis of variances in antioxidant properties of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ for 0 15 30 45 and 60 days as determined by DPPH [•] scavenging activity.....	225
27	Analysis of variances in antioxidant properties of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ for 0 15 30 45 and 60 days as determined by ABTS ^{•+} scavenging activity.....	227
28	Analysis of variances in antioxidant properties of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ for 0 15 30 45 and 60 days as determined by Ferric reducing antioxidant power or FRAP.....	228

LIST OF FIGURES

Figure		Page
1	Basic structure of cellulose.....	5
2	Chemical compositions of hemicelluloses.....	6
3	Chemical compositions of lignin.....	7
4	Basic structures of pectin.....	7
5	Basic structures of anthocyanins.....	11
6	Basic structures of anthocyanins and maximum absorption wavelength (λ_{max}) in acidified methanol.....	12
7	Spectral characteristics of purified radish anthocyanins (Acylated pelargonidin 3-sophoroside 5-glucoside derivatives) in pH 1.0 and pH 4.5 buffers.....	16
8	Effect of hydroxyl (-OH) and methoxyl (-OCH ₃) on color of anthocyanins.....	17
9	Predominant structural forms of anthocyanins present at different pH levels.....	18
10	Absorption spectra of cyanidin 3-rhamnoglucoside in buffer solutions at pH 0.7 to 4.0. The concentration of pigment is 1.6×10^2 g/l.....	19
11	Reaction of anthocyanin pigments with bisulfite to form colorless anthocyanin-sulfonic acid adducts.....	25
12	Antioxidant mechanism of flavonoids at B ring.....	34
13	Chemical structures of high methoxyl pectin.....	40
14	Chemical structures of low methoxyl pectin.....	41
15	Gelation of high methoxyl pectin.....	41
16	Chemical structures of guar gum.....	43
17	Chemical structures of maltodextrin.....	44
18	Chemical structures of sucrose.....	45
19	Chemical structures of sucralose.....	46
20	Chemical structures of glycerol.....	47
21	Chemical structures of citric acid.....	47
22	Vapor pressure of water.....	50

LIST OF FIGURES (Cont.)

Figure	Page
23 Measurement modes of NIR.....	59
24 Flow diagram of NIR calibration and validation process.....	61
25 The processing of roselle leather products.....	74
26 Changes in antioxidant properties of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ for 0 15 30 45 and 60 days as determined by DPPH [•] scavenging activity (The EC ₅₀ of BHT standard = $22.92 \pm 1.72 \mu\text{g/ml}$).....	137
27 Changes in antioxidant properties of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ for 0 15 30 45 and 60 days as determined by (a) ABTS ^{•+} scavenging activity and (b) Ferric reducing antioxidant power or FRAP.....	137
28 Original NIR spectra of roselle leather products in the region 1,100-2,500 nm.....	143
29 The correlation between measured and predicted values of the total anthocyanin content (TAC, mg cyanidin 3-glucoside/kg) from the prediction equation based on none pretreatment method: (a) a calibration sample set and (b) a validation sample set (cyd 3-glu means cyanidin 3-glucoside).....	146
30 The correlation between measured and predicted values of the total anthocyanin content (TAC, mg cyanidin 3-glucoside/kg) from the optimum prediction equation based on MSC pretreatment method: (a) a calibration sample set and (b) a validation sample set (cyd 3-glu means cyanidin 3-glucoside).....	147
31 Regression coefficients of the optimum prediction equation based on MSC pretreatment method.....	147
32 The roselle leather product from roselle by-product.....	148

LIST OF APPENDIX FIGURE

Figure	Page
1 The standard curve of ascorbic acid.....	178

บทที่ 1

บทนำ

บทนำตั้งเรื่อง

กระเจี๊ยบแดง (*Hibiscus sabdariffa* L.) เป็นสมุนไพรที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ กระเจี๊ยบแดงเป็นแหล่งสำคัญของวิตามิน แร่ธาตุ โดยเฉพาะอย่างยิ่งใยอาหารและแอนโทไซยานินที่มีปริมาณสูงพบว่ามีปริมาณใยอาหาร เท่ากับ 33.9 กรัมต่อกระเจี๊ยบแดง 100 กรัม (Sáyago-Ayerdi *et al.*, 2007) และมีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด เท่ากับ 2.5 กรัมเคลฟิโนดิน 3-กลูโคไซด์ต่อผลกระเจี๊ยบแดง 100 กรัม (Wong *et al.*, 2002) ใยอาหารเป็นส่วนของพืชที่เอนไซม์ในร่างกายมนุษย์ไม่สามารถย่อยได้ จึงไม่มีสารอาหารและไม่ให้พลังงานแต่มีบทบาทสำคัญต่อภาวะโภชนาการและสุขภาพซึ่งมีข้อเสนอแนะให้บริโภคใยอาหารปริมาณ 25.0 กรัมต่อวัน (กระทรวงสาธารณสุข, 2541) ส่วนแอนโทไซยานินมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจึงสามารถลดอนุมูลอิสระที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคต่าง ๆ ได้ เช่น ลดความเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจ โรคมะเร็ง และภาวะหลอดเลือดแดงแข็ง เป็นต้น (มลศิริ วิโรทัย, 2545; Erdman *et al.*, 2007) กระเจี๊ยบแดงจึงมีศักยภาพในการพัฒนาเป็นอาหารที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ และเพื่อเป็นการสนับสนุนการนำกระเจี๊ยบแดงมาใช้ประโยชน์ในกระบวนการผลิตเครื่องดื่มน้ำกระเจี๊ยบแดงอย่างครบวงจร งานวิจัยนี้จึงนำกากกระเจี๊ยบแดงซึ่งเป็นวัสดุเศษเหลือจากกระบวนการผลิตเครื่องดื่มน้ำกระเจี๊ยบแดงที่ยังคงมีปริมาณใยอาหารและปริมาณแอนโทไซยานินสูงมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น (Roselle leather product) เพื่อเป็นผลิตภัณฑ์รูปแบบใหม่จากกระเจี๊ยบแดงที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค และเป็นการเพิ่มมูลค่าวัสดุเศษเหลือจากการแปรรูปผลิตผลทางการเกษตร โดยงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเติมสารเพิ่มความคงตัวที่ชนิดและระดับความเข้มข้นต่าง ๆ รวมทั้งศึกษาผลของการเติมซูโครราโลสเป็นสารให้ความหวานทดแทนซูโครสที่มีต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น จากนั้นทำการเลือกชนิดและระดับความเข้มข้นของสารเพิ่มความคงตัว รวมทั้งอัตราส่วนของซูโครสต่อซูโครราโลสที่เหมาะสมสำหรับการผลิตผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น ศึกษาผลของการเติมและไม่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ อุณหภูมิและระยะเวลาเก็บรักษาต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นระหว่างเก็บรักษา การประยุกต์ใช้เทคนิคสเปกโตรสโกปีย่านใกล้อินฟราเรด (Near infrared spectroscopy; NIRS) ในการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด รวมถึงการคำนวณต้นทุนส่วนผสมและบรรจุภัณฑ์ของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น

การตรวจเอกสาร

1. กระเจี๊ยบแดง

กระเจี๊ยบแดงมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Hibiscus sabdariffa* L. var. *sabdariffa* เป็นพืชในวงศ์ Malvaceae มีชื่อสามัญภาษาอังกฤษว่า Jamaican sorrel, Roselle หรือ Rama ชื่อพื้นเมืองอื่น ๆ เช่น กระเจี๊ยบเปรี้ยว กระเจี๊ยบแดง (ภาคกลาง) ผักกึ่งเค็ง กัมกึ่งเค็ง (ภาคเหนือ) ส้มพอดิ ส้มพอเหมาะ (ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ) (สุรพงษ์ เจริญรัต และคณะ, 2545; นันทวัน บุญยะประภัศร และอรนุช โชคชัยเจริญพร, 2541)

1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

กระเจี๊ยบแดงเป็นพืชล้มลุกตระกูลเดียวกับปอและฝ้าย ลำต้นมีสีม่วงอมแดงและมีทรงพุ่มตั้งตรงสูงประมาณ 50-200 เซนติเมตร ใบแยกเป็น 3-5 แฉก แฉกใบเดี่ยวสลับกัน เส้นใบเป็นแบบนิ้วมือ 3-7 เส้น หัวใบรีแหลมแบ่งออกเป็น 3 แฉก ดอกออกเดี่ยว ๆ ตามง่ามใบ ก้านดอกสั้น โคนกลีบรองดอกเชื่อมติดกันเป็นรูปถ้วยปลายแยกเป็น 5 กลีบ กลีบดอกมี 5 กลีบ มีสีเหลืองอ่อนหรือสีชมพูอ่อน โคนกลีบดอกสีแดง มีเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมียอยู่ในดอกเดียวกัน ผลมีลักษณะเป็นแคปซูลจำนวน 5 กระเปาะ ห่อหุ้มด้วยกลีบดอกมี 2 ชั้น ๆ ละ 5 กลีบ มีสีแดงชุ่มน้ำ สำหรับส่วนที่นำมาใช้รับประทานของกระเจี๊ยบแดง คือ ส่วนของกลีบรองดอก (สุรพงษ์ เจริญรัต และคณะ, 2545; นันทวัน บุญยะประภัศร และอรนุช โชคชัยเจริญพร, 2541)

1.2 แหล่งและพันธุ์ของกระเจี๊ยบแดงที่นิยมปลูกในประเทศไทย

แหล่งผลิตใหญ่อยู่ที่จังหวัดลพบุรี สระบุรี ชัยนาท สุพรรณบุรี และตำบลควนמיד อำเภอนาหม่อม จังหวัดสงขลา เป็นอีกแหล่งหนึ่งที่มีการปลูกกระเจี๊ยบแดง สำหรับพันธุ์กระเจี๊ยบแดงที่นิยมปลูกกันมากในประเทศไทย คือ พันธุ์ชูดานเป็นพันธุ์ที่มีกลีบรองดอกค่อนข้างหนา สีแดงถึงแดงเข้ม พันธุ์ราชสีห์เป็นพันธุ์ที่มีกลีบรองดอกขนาดใหญ่ หนา สีแดงเข้ม ให้ผลผลิตค่อนข้างสูง พันธุ์เอส-2760 เป็นพันธุ์ที่ให้ดอกค่อนข้างดกและสีแดงแต่มีข้อเสียที่กลีบรองดอกค่อนข้างบาง (สุรพงษ์ เจริญรัต และคณะ, 2545; สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2550)

1.3 การปลูกและการเก็บเกี่ยวกระเจี๊ยบแดง

กระเจี๊ยบแดงเป็นพืชที่ชอบอากาศร้อนสามารถปลูกได้ในดินเกือบทุกชนิด ไม่ชอบดินที่มีน้ำขังและดินที่มีความเป็นกรดหรือด่างจัด ค่อนข้างทนแล้ง การขยายพันธุ์ทำได้โดยการเพาะเมล็ด โดยปลูกเป็นแถว ใช้ระยะระหว่างแถว 50-75 เซนติเมตร ระยะระหว่างต้น 50 เซนติเมตร สำหรับการดูแลและบำรุงรักษาควรให้น้ำอย่างสม่ำเสมอในระยะ 1-2 เดือนแรก หลังจากนั้นสามารถปล่อยให้ต้น

กระเจี๊ยบแดงโตตามธรรมชาติ เกษตรกรจะปลูกกระเจี๊ยบแดงในช่วงปลายฤดูฝน (ก.ค.-ส.ค.) เพราะมีเวลาเจริญเติบโตทางลำต้นเพียงพอที่จะผลิตกลีบดอกได้สูงสุด ถ้าปลูกช่วงต้นฤดูฝน (พ.ค.-มิ.ย.) หรือก่อนระยะเวลาปลูกที่เหมาะสมจะให้ผลผลิตต่ำเนื่องจากกระเจี๊ยบแดงจะมีทรงต้นใหญ่แต่ให้ปริมาณดอกและกลีบดอกน้อย และจะเริ่มเก็บเกี่ยวผลผลิตได้เมื่อกระเจี๊ยบแดงมีอายุประมาณ 110-120 วัน หลังปลูก เมื่อเก็บเกี่ยวมาแล้วจะผ่านกระบวนการแปรรูปขึ้นต้นด้วยการกระทุ้งเอากระเปาะเมล็ดซึ่งอยู่บริเวณตรงกลางดอกออกก่อนแล้วนำไปตากแดด 3-5 วัน ให้แห้ง โดยกระเจี๊ยบแดงสดจำนวน 8-10 กิโลกรัม เมื่อตากแห้งแล้วจะได้กระเจี๊ยบแดงแห้งประมาณ 1 กิโลกรัม (สุรพงษ์ เจริญรัต และคณะ, 2545; ณรงค์ เล่าโชติ และเนาวรัตน์ เสริมศรี, 2530)

1.4 องค์ประกอบที่สำคัญในกระเจี๊ยบแดง

กระเจี๊ยบแดงเป็นแหล่งของใยอาหารและแอนโทไซยานินที่สำคัญพบว่ามีปริมาณใยอาหาร เท่ากับ 33.90 กรัมต่อกระเจี๊ยบแดง 100 กรัม (Sáyago-Ayerdi *et al.*, 2007) และมีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด เท่ากับ 2.52 ± 0.05 กรัมเคลฟิโนดิน 3-กลูโคไซด์ต่อผลกระเจี๊ยบแดง 100 กรัม (Wong *et al.*, 2002) สำหรับส่วนประกอบที่มีคุณค่าทางอาหารของกระเจี๊ยบแดง ดังแสดงใน Table 1 และคุณสมบัติทางเคมีของกระเจี๊ยบแดง ดังแสดงใน Table 2

Table 1 Nutritional compositions of 100.0 grams of fresh roselle calyxes (Dry weight basis)

Nutritional compositions	Values
Fat content (g)	2.01
Crude fiber (g)	4.69
Protein content (g)	4.71
Moisture content (g)	7.60
Carbohydrate content (g)	68.75
Total dietary fiber (g)	33.90
Soluble dietary fiber (g)	4.90
Insoluble dietary fiber (g)	29.04
Sodium (mg)	96.66
Potassium (mg)	49.35
Calcium (mg)	12.65

ที่มา : ดัดแปลงจาก Adanlawo และ Ajibade (2006) และ Sáyago-Ayerdi และคณะ (2007)

Table 2 Chemical properties of 100.0 grams of roselle fruit (Wet weight basis)

Chemical properties	Values*
pH	2.49±0.00
Titribility acidity (g/100g malic acid)	2.42±0.03
Total soluble solids (°Brix)	3.30±0.12
Total anthocyanins (g/100g expressed as delphinidin 3-glucoside)	2.52±0.05
Sugars (g/100g)	
Glucose	1.29±0.15
Fructose	1.12±0.26
Sucrose	0.87±0.21
Organic acid (g/100g)	
Succinic acid	0.51±0.08
Oxalic acid	0.43±0.05
Tartaric acid	0.17±0.03
Malic acid	0.12±0.03
Ascorbic acid (mg/100g)	141.09±22.54
β-carotene (mg/100g)	1.88±0.31
Lycopene (mg/100g)	164.34±70.10

* Determination was done in three replications

ที่มา : Wong และคณะ (2002)

2. โยอาหาร

โยอาหาร (Dietary fiber) เป็นสารประกอบเชิงซ้อนหลายชนิดที่ได้จากพืชโดยเฉพาะจากผักและผลไม้ซึ่งไม่สามารถถูกย่อยและดูดซึมได้ในระบบย่อยอาหารของมนุษย์ ได้แก่ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ลิกนิน เพกติน มิวซิเลจส์ กัม โอลิโกแซคคาไรด์ และแป้งที่ไม่สามารถถูกย่อยได้ด้วย เอนไซม์ (Resistant starches) (ไพโรจน์ หลวงพิทักษ์ และเบญจวรรณ ธรรมธนารักษ์, 2538; Schneeman, 1989; Jimenez-Escrig and Sanchez-Muniz, 2000)

2.1 ประเภทของใยอาหาร (Schneeman, 1986; Jimenez-Escrig and Sanchez-Muniz, 2000)

เมื่อแบ่งใยอาหารตามการทำหน้าที่เป็นโครงสร้างของพืชสามารถแบ่งออกเป็น 3 ประเภท คือ

1. ใยอาหารที่เป็นพอลิแซคคาไรด์และทำหน้าที่เป็นองค์ประกอบของโครงสร้างผนังเซลล์พืช (Structural polysaccharide) ได้แก่ เซลลูโลส และคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อนที่ไม่ใช่เซลลูโลส ได้แก่ เฮมิเซลลูโลส และเพกตินบางชนิด

2. ใยอาหารที่ไม่ใช่พอลิแซคคาไรด์และทำหน้าที่เป็นองค์ประกอบของโครงสร้างผนังเซลล์พืช (Structural nonpolysaccharide) ได้แก่ ลิกนิน

3. ใยอาหารที่เป็นพอลิแซคคาไรด์แต่ไม่ได้ทำหน้าที่เป็นองค์ประกอบของโครงสร้างผนังเซลล์พืช (Nonstructural polysaccharide) ได้แก่ กัม และมิวซิเลจส์

นอกจากนี้สามารถแบ่งใยอาหารตามความสามารถในการละลายน้ำออกเป็น 2 ประเภท คือ ใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ (Insoluble dietary fiber) ได้แก่ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ลิกนิน และแป้งที่ไม่สามารถถูกย่อยได้ด้วยเอนไซม์ ใยอาหารที่ละลายน้ำ (Soluble dietary fiber) ได้แก่ กัม สารประกอบเพกติน และมิวซิเลจส์ ซึ่งในที่นี้จะกล่าวเฉพาะใยอาหารที่มีบทบาทสำคัญ ดังนี้

2.1.1 เซลลูโลส (Cellulose)

เซลลูโลสเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ทำหน้าที่ให้ความแข็งแรงต่อโครงสร้างของพืช เซลลูโลสเป็นคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อนที่ประกอบด้วยหน่วยของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวชนิดเดียวกัน (Homopolysaccharide) คือ น้ำตาลกลูโคสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ β -1,4-ไกลโคไซด์ (β -1,4-glycoside bond) เป็นสายยาวตลอดไม่มีการแตกกิ่ง (Schneeman, 1989) โครงสร้างของเซลลูโลส ดังแสดงใน Figure 1 เซลลูโลสมีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำ ทนต่อปฏิกิริยาของเอนไซม์ กรด และด่างเจือจาง (Aurand and Woods, 1973)

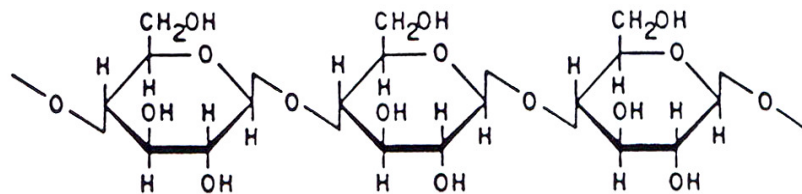


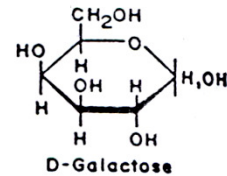
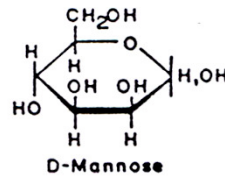
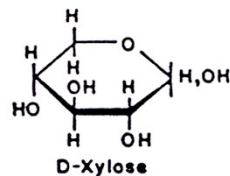
Figure 1 Basic structure of cellulose

ที่มา : Schneeman (1989)

2.1.2 เฮมิเซลลูโลส (Hemicelluloses)

เฮมิเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบในโครงสร้างของผนังเซลล์พืชโดยรวมอยู่กับลิกนิน และเซลลูโลส (Aurand and Woods, 1973) เฮมิเซลลูโลสเป็นคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อนที่ประกอบด้วยหน่วยของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวหลายชนิด (Heteropolysaccharide) โดยสายหลักเป็นไซโลส (D-xylose) แมนโนส (D-mannose) หรือกาแล็กโทส (D-galactose) ส่วนสายแขนงเป็นอะราบินโนส (L-arabinose) กาแล็กโทส (D-galactose) และกรดกลูคูโรนิก (Glucuronic acid) องค์ประกอบทางเคมีของเฮมิเซลลูโลส ดังแสดงใน Figure 2 เฮมิเซลลูโลสแบ่งเป็น 3 ชนิด คือ อะราบินโนไซแลน (Arabinoxilans) ไซโลกลูแคน (Xyloglucan) และกาแล็กโทแมนแนน (Galactomannan) เฮมิเซลลูโลสมีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำแต่ละลายได้ในสารละลายต่าง (Schneeman, 1989)

a) Backbone Chain



b) Side Chains

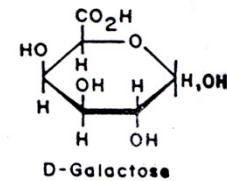
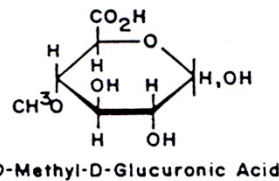
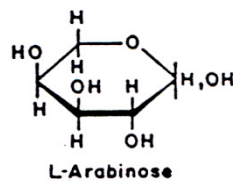


Figure 2 Chemical compositions of hemicelluloses

ที่มา : Schneeman (1989)

2.1.3 ลิกนิน (Lignin)

ลิกนินเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์พืชที่ไม่ใช่คาร์โบไฮเดรตทำหน้าที่ช่วยให้ผนังเซลล์มีความคงทนแข็งแรงและสร้างมากขึ้นเมื่อพืชมีอายุมากขึ้น ลิกนินมีโครงสร้างเป็นพอลิเมอร์ ซึ่งสร้างจากแอลกอฮอล์หลายชนิดที่มีโครงสร้างเป็นวงแหวน เช่น คอนนิเฟอร์ิล (Coniferyl) ซินนาพิล (Sinapyl) คูมาริล (*p*-Coumaryl) เป็นต้น องค์ประกอบทางเคมีของลิกนิน ดังแสดงใน Figure 3 ลิกนินมีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำ ทนต่อกรดและด่าง (มลศิริ วิโรทัย, 2545; Higuchi, 1980)

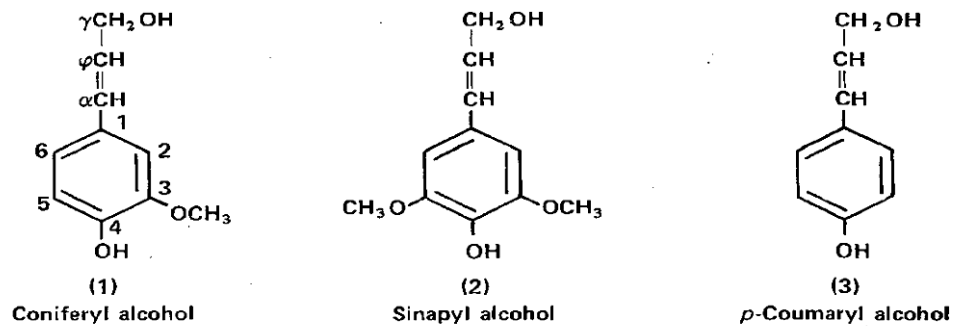


Figure 3 Chemical compositions of lignin

ที่มา : Higuchi (1980)

2.1.4 สารประกอบเพกติน (Pectin substances)

สารประกอบเพกตินเป็นสารประกอบพอลิแซ็กคาไรด์ที่พบในผนังเซลล์พืชและชั้น Middle lamellae ทำหน้าที่เชื่อมระหว่างเซลล์ลูโลสและผนังเซลล์ให้ยึดติดกัน (Schneeman, 1989) สารประกอบเพกตินมีโครงสร้างโมเลกุลเป็นสายตรงของ (1→4)-linked- α -D-galactopyranosyluronic acid units โดยมีน้ำตาลแรมโนส (L-rhamnose) อะราบิโนส (Arabinose) และไซโลส (Xylose) ในปริมาณน้อยเกาะอยู่เป็นสายแขนง โดยหมู่คาร์บอกซิล (Carboxyl group) ในโมเลกุลของกรดกาแล็กทูโรนิก (Galacturonic acid) บางส่วนจะทำปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน (Esterification) กับหมู่เมทิล (Methyl group) ได้เป็นเมทอกซิลเอสเทอร์ (Methoxylester) และมีบางส่วนยังคงเหลือเป็นหมู่คาร์บอกซิลอิสระ (Belitz and Grosch, 1999) โครงสร้างของเพกตินดังแสดงใน Figure 4

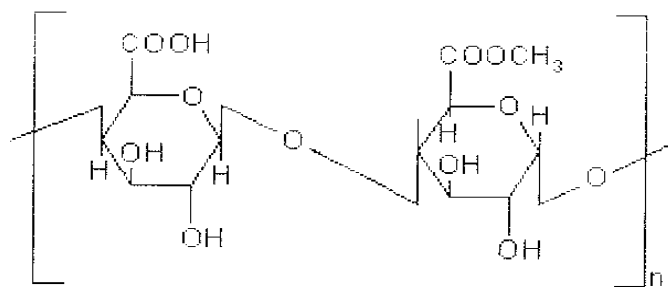


Figure 4 Basic structures of pectin

ที่มา : McWilliams (2005)

สารประกอบเพกติน (Aurand and Woods, 1973; นิธิธา รัตนาปนนท์, 2549) สามารถแบ่งออกเป็น 3 ชนิด คือ

1. โปรโตเพกติน (Protopectin) เป็นสารประกอบเพกตินที่ไม่ละลายน้ำพบมากในผลไม้ดิบ ในระหว่างกระบวนการสุกของผลไม้โปรโตเพกตินจะถูกไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์ทำให้หมู่เมทิลถูกแยกออกไปบางส่วนได้เป็นหมู่คาร์บอกซิลอิสระเรียกว่า กรดเพกตินิก (Pectinic acid) เป็นสารประกอบเพกตินที่ละลายได้ในน้ำ

2. กรดเพกตินิก (Pectinic acid) เป็นสารประกอบเพกตินหรือพอลิเมอร์ของกรดกาแล็กทูโรนิกที่มีหมู่เมทิลเอสเทอร์เหลืออยู่บางส่วน และเมื่อถูกไฮโดรไลซ์เอาหมู่เมทิลออกจนหมดจะได้เป็นกรดเพกติก (Pectic acid)

3. กรดเพกติก (Pectic acid) เป็นสารประกอบเพกตินหรือพอลิเมอร์ของกรดกาแล็กทูโรนิกที่ไม่มีหมู่เมทิลเอสเทอร์อยู่ในโมเลกุล

2.1.5 มิวซิเลจ (Mucilage)

มิวซิเลจหรือสารเมือกมีลักษณะเป็นของเหลวเหนียว สีขาวขุ่น องค์ประกอบทางเคมีของมิวซิเลจเป็นโพลียูโรนิก (Polyuronide) ในธรรมชาติพบอยู่ในรูปของเกลือแคลเซียม แมกนีเซียม และโปแตสเซียม ซึ่งประกอบด้วยหน่วยของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวหลายชนิดและกรดยูโรนิก (Uronic acid) เชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคไซด์ (Glycoside linkage) และมีลักษณะเป็นกิ่งก้านสาขาโดยส่วนของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ได้แก่ อะราบินอส (L-arabinose) ไซโลส (D-xylose) แรมโนส (L-rhamnose) และกาแล็กโทส (D-galactose) ในขณะที่ส่วนของกรดยูโรนิก ได้แก่ กรดกลูคูโรนิก (Glucuronic acid) และกรดกาแล็กทูโรนิก (Galacturonic acid) มิวซิเลจมีคุณสมบัติละลายน้ำได้ดี (Sáenz *et al.*, 2004; ละอองดาว ว่องเอกลักษณ์ และกุลยา ลีมรุ่งเรืองรัตน์, 2545)

Mahadevan และคณะ (2009) รายงานว่า กระเจี๊ยบแดงมีใยอาหารชนิดละลายน้ำที่สำคัญ คือ เพกตินและมิวซิเลจ

2.2 สมบัติทางเคมีและกายภาพของใยอาหารที่มีผลต่อสุขภาพ

ใยอาหารไม่สามารถถูกย่อยและดูดซึมได้ในระบบย่อยอาหารของมนุษย์จึงไม่มีสารอาหารและไม่ให้พลังงานแต่มีประโยชน์ต่อร่างกายเพราะมีคุณสมบัติที่สำคัญ (ดวงจันทร์ เสงส์สวัสดิ์, 2545; มลศิริ วิโรทัย, 2545) คือ

2.2.1 คุณสมบัติในการอุ้มน้ำ ใยอาหารส่วนใหญ่มีคุณสมบัติในการอุ้มน้ำ โดยเฉพาะเพกตินกัม และมิวซิเลจซึ่งสามารถดูดซับน้ำเข้าไปในโครงสร้างทำให้อาหารที่มีใยอาหารเหล่านี้มีความหนืดหรือเกิดเจลจึงทำให้เกิดการย่อยและการดูดซึมอาหารช้าลงในทางเดินอาหาร ดังนั้นการบริโภคอาหาร

ที่มีใยอาหารดังกล่าวจึงช่วยลดการดูดซึมกลูโคสซึ่งเป็นผลดีต่อผู้ป่วยเบาหวาน นอกจากนี้คุณสมบัติดังกล่าวยังทำให้ปริมาณของอุจจาระเพิ่มขึ้น กระตุ้นให้เกิดการขับถ่ายจึงช่วยป้องกันการเกิดท้องผูก

2.2.2 คุณสมบัติการดูดซับสารอินทรีย์ ใยอาหารประเภทลิกนิน กัวร์กัม และเพกตินสามารถดูดซับกรดน้ำดีได้ซึ่งคุณสมบัติในการดูดซับกรดน้ำดีนี้สัมพันธ์กับประสิทธิภาพในการลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด ดังนั้นการบริโภคอาหารที่มีใยอาหารดังกล่าวจึงช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือดได้ นอกจากนี้พบว่าใยอาหารดังกล่าวสามารถดูดซับสารก่อมะเร็งและขับออกจากร่างกายทำให้สามารถป้องกันการเกิดโรคมะเร็งในลำไส้ใหญ่ได้

2.2.3 การถูกย่อยด้วยจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่ ใยอาหารจะไม่ถูกย่อยสลายในส่วนของลำไส้เล็ก เนื่องจากเอนไซม์ในบริเวณดังกล่าวไม่สามารถย่อยสลายใยอาหารได้แต่จะถูกย่อยสลายในส่วนของลำไส้ใหญ่โดยการทำงานของจุลินทรีย์ที่อาศัยในบริเวณดังกล่าวซึ่งการที่จุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่สามารถย่อยสลายใยอาหารได้ทำให้จุลินทรีย์มีการเจริญเติบโตโดยการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนจึงช่วยเพิ่มปริมาณของอุจจาระและกระตุ้นลำไส้ใหญ่ให้เกิดการขับถ่ายอุจจาระ ทำให้อุจจาระไม่ค้างอยู่นานในลำไส้ใหญ่จึงไม่ทำให้สารพิษหรือสารก่อมะเร็งที่อาจมีอยู่ในอุจจาระมีโอกาสก่อมะเร็งในลำไส้ใหญ่ได้

2.2.4 คุณสมบัติในการแลกเปลี่ยนสารที่มีประจุ อาหารที่มีใยอาหารมากอาจมีผลลดการดูดซึมแร่ธาตุบางชนิด เช่น แคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก และสังกะสี เป็นต้น ดังนั้นจึงควรบริโภคใยอาหารในปริมาณที่เหมาะสมเพื่อป้องกันการขาดแร่ธาตุเนื่องจากการขัดขวางการดูดซึมของใยอาหาร

2.2.5 ขนาดอนุภาค ใยอาหารที่มีอนุภาคขนาดใหญ่จะช่วยเพิ่มน้ำหนักของเสียของร่างกายและช่วยลดความดันภายในลำไส้ใหญ่ได้ดีกว่าใยอาหารที่มีอนุภาคขนาดเล็ก

2.3 แหล่งของใยอาหาร

ใยอาหารพบมากในรำข้าวที่มาจากข้าวสาลีและข้าวโพด รองลงมาคือ พืชตระกูลถั่ว ซึ่งมีปริมาณใยอาหารสูงกว่าผักและผลไม้ (ดวงจันทร์ เสงส์สวัสดิ์, 2545) นอกจากนี้พบว่าธัญพืชและผักมีใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำในปริมาณสูง ในขณะที่ผลไม้มีใยอาหารที่ละลายน้ำในปริมาณสูง ปริมาณใยอาหารที่พบในแหล่งต่าง ๆ ดังแสดงใน Table 3

Table 3 Dietary fiber content of some cereals, legume, vegetables and fruits (Dry weight basis)

Source	Insoluble dietary fiber (% Dry weight basis)	Soluble dietary fiber (% Dry weight basis)	Total dietary fiber (% Dry weight basis)
Whole wheat	41.59	2.87	44.46
Rice	0.75	0.19	0.94
Whole soy	65.24	7.08	72.32
Whole corn	87.47	0.40	87.87
Beans	25.64	10.85	36.49
Potatoes	4.85	2.14	6.99
Onions	13.32	3.59	16.89
Apricots	44.92	26.43	71.35
Peaches	39.53	27.30	66.83
Apples	55.57	18.56	74.13

ที่มา : ดัดแปลงจาก Jimenez-Escrig และ Sanchez-Muniz (2000)

2.4 โยอาหารในกระเจี๊ยบแดง

Heureux-Calix และ Badrie (2004) ทำการวิเคราะห์ปริมาณโยอาหารของกระเจี๊ยบแดง และเพียวเร่กระเจี๊ยบแดงซึ่งเตรียมจากการสกัดกลีบกระเจี๊ยบแดงด้วยเอนไซม์ Pectolase จากนั้นทำการวิเคราะห์ปริมาณโยอาหาร โดยใช้ Enzymatic gravimetric method ตามวิธีของ A.O.A.C (1985) พบว่ามีปริมาณโยอาหารในกระเจี๊ยบแดงและเพียวเร่กระเจี๊ยบแดง เท่ากับ 1.3 กรัมต่อโยอาหาร 100 กรัม และ 1.9 กรัมต่อส่วนที่กินได้ 100 กรัม ตามลำดับ

Sáyago-Ayerdi และคณะ (2007) ทำการวิเคราะห์ปริมาณโยอาหารของกระเจี๊ยบแดง โดยใช้ A.O.A.C enzymatic gravimetric method ตามวิธีของ Prosky และคณะ (1992) โดยใช้เอนไซม์ Protease Heat-stable α -Amylase และ Amyloglucosidase เพื่อแยกโปรตีนและแป้งออก นำสารละลายที่ได้ไปแยกให้เหลือเฉพาะส่วนของโยอาหารด้วยการหมุนเหวี่ยงที่อุณหภูมิ 25.0 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 3000.0 g เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำไปแยกต่อด้วยกระบวนการที่หลีกเลี่ยงการสูญเสียโยอาหารที่ละลายน้ำพบว่าปริมาณโยอาหารทั้งหมด โยอาหารที่ละลายน้ำ และโยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ เท่ากับ 33.9 4.9 และ 29.0 กรัมต่อกระเจี๊ยบแดง 100 กรัม ตามลำดับ เมื่อคิดเป็นร้อยละของปริมาณโย

อาหารทั้งหมดพบว่ามีปริมาณใยอาหารที่ละลายน้ำ และใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ เท่ากับ 14.4 และ 85.6 % ตามลำดับ

3. แอนโทไซยานิน

แอนโทไซยานิน (Anthocyanins) เป็นรงควัตถุที่พบในน้ำหล่อเลี้ยงของเซลล์พืช (Cell sap) ให้สีแดง น้ำเงิน และม่วงในผักและผลไม้ (Francis, 1985; นิธิยา รัตนาปนนท์, 2549) เช่น แครอท กะหล่ำปลีสีม่วง หอมแดง องุ่น ผลไม้ตระกูลเบอร์รี่ กระจับแดง เป็นต้น แอนโทไซยานินสามารถละลายได้ในน้ำแต่ไม่ละลายในตัวทำละลายชนิดที่ไม่มีขั้ว เช่น คลอโรฟอร์ม อีเทอร์ อะซิโตน และเบนซีน เป็นต้น (ชิตยาภรณ์ ประชุมหิสร, 2545)

แอนโทไซยานินเป็นไกลโคไซด์ (Glycosides) ของอนุพันธ์โพลีไฮดรอกซีและโพลีเมทอกซี (Polyhydroxy and polymethoxy derivatives) ของ 2-ฟีนิลเบนโซไพริเดียม (2-Phenyl benzo pyrylium) หรือเกลือของฟลาเวียม (Flavylium salt) โดยเป็นกลุ่มย่อยในฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) ประกอบด้วยคาร์บอน 15 ตัว ที่มีการจัดเรียงตัวแบบ $C_6C_3C_6$ ดังแสดงใน Figure 5 (จาก Figure 5 คือ วงแหวน A วงแหวน C และวงแหวน B ตามลำดับ) (Mazza and Miniati, 1993; Stintzing and Carle 2004) หรืออาจกล่าวได้ว่าแอนโทไซยานินเป็นไกลโคไซด์ซึ่งประกอบด้วยส่วนที่เป็นอะไกลโคน (Aglycone) เรียกว่า แอนโทไซยานิดิน (Anthocyanidin) และส่วนที่เป็นน้ำตาล โครงสร้างพื้นฐานในโมเลกุลของแอนโทไซยานิดินประกอบด้วยวงแหวนเบนโซไพแรน (Benzopyran ring) 2 วงต่อกับวงแหวนฟีนิล (Phenyl ring) (Francis, 1985; นิธิยา รัตนาปนนท์, 2549)

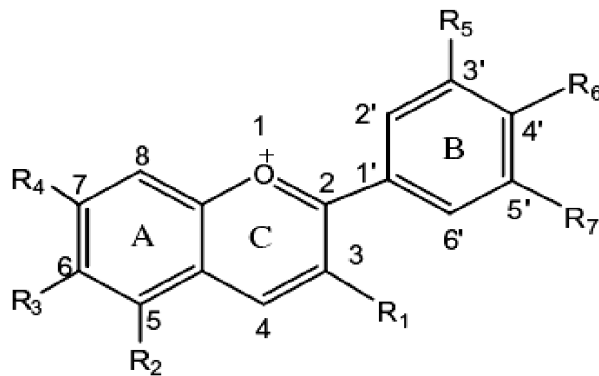
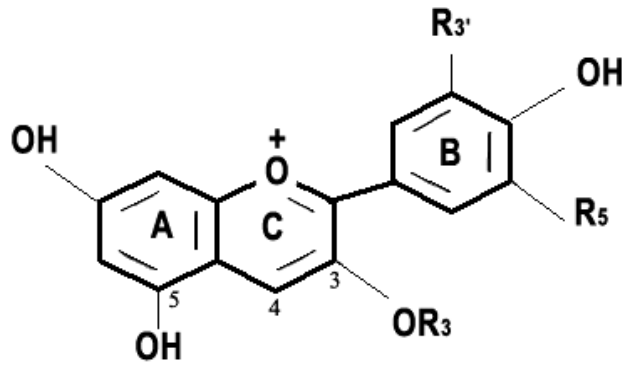


Figure 5 Basic structures of anthocyanins

ที่มา : Castaneda-Ovando และคณะ (2009)

แอนโทไซยานินที่รู้จักมี 20 ชนิด แต่ที่พบมากในพืชมีเพียง 6 ชนิด คือ เพลาร์โกนิน (Pelargonidin) ไชยานิน (Cyanidin) เดลฟินิดิน (Delphinidin) พีโอนิน (Peonidin) พีทูนิดิน (Petunidin) และมัลวิดิน (Malvidin) (Mazza and Miniati, 1993) ดังแสดงใน Figure 6



Anthocyanins	R ₃	R _{3'}	R ₅	λ _{vis-max} (nm)
Pelargonidin (Pg)	H	H	H	520
Cyanidin (Cy)	H	OH	H	535
Delphinidin (Dp)	H	OH	OH	546
Peonidin (Pn)	H	OCH ₃	H	532
Petunidin (Pt)	H	OCH ₃	OH	543
Malvidin (Mv)	H	OCH ₃	OCH ₃	542
Pelargonidin 3-glucoside	Glc	H	H	516
Cyanidin 3-glucoside	Glc	OH	H	530
Delphinidin 3-glucoside	Glc	OH	OH	543
Peonidin 3-glucoside	Glc	OCH ₃	H	536
Petunidin 3-glucoside	Glc	OCH ₃	OH	546
Malvidin 3-glucoside	Glc	OCH ₃	OCH ₃	546

Figure 6 Basic structures of anthocyanins and maximum absorption wavelength (λ_{max}) in acidified methanol

ที่มา : Stintzing และ Carle (2004)

โดยทั่วไปแอนโทไซยานินจะไม่อยู่ในรูปอิสระในเซลล์พืชเพราะจะไม่มีควมคงตัว (Wrolstad, 2000) เราจึงมักพบ โมเลกุลของน้ำตาลซึ่งอาจเป็น โมโนแซคคาไรด์ (กลูโคส กาแล็กโตส แรมโนส โซโรส อะราบิโนส หรือฟรักโตส) ไดแซคคาไรด์ (ซูคิโนส แซมบูไบโอส โซไฟโรส) หรือ ไตรแซคคาไรด์ (ไกลแคน) (Jackman and Smith, 1996) มักจะเอสเทอร์ไฟด์กับหมู่ไฮดรอกซิลที่ คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 (Stintzing and Carle, 2004) นอกจากนี้พบว่าโมเลกุลของน้ำตาลอาจเกิดพันธะ เอซิด (Acyl linkage) กับกรดอินทรีย์ชนิดอะลิฟาติก (กรดมาลิก กรดอะซีติก กรดมาโลนิก กรด ออกซาลิก) หรือชนิดอะโรมาติก (กรดแกลลิก กรดคูมาริก กรดคาเฟอิก) จำนวน 1 หรือมากกว่า 1 โมเลกุล (Skrede and Wrolstad, 2002; Rein, 2005) ชนิดและปริมาณแอนโทไซยานินที่พบในผลไม้ บางชนิด ดังแสดงใน Table 4 และ Table 5 ตามลำดับ

Table 4 Type of anthocyanins found in some fruits

Fruits	Type of anthocyanins
Cranberries	Cyanidin 3-galactoside
	Peonidin 3- galactoside
	Cyanidin 3- arabinoside
	Peonidin 3- arabinoside
Raspberries	Cyanidin 3-glucoside
	Cyanidin 3,5-diglucoside
	Cyanidin 3-diglucoside
	Cyanidin 3-rhamnoglucoside 5-glucoside
Strawberries	Quercetin 3-glucoside
	Kaempferol 3-glucoside
	Pelargonidin 3-glucoside
	Cyanidin 3-glucoside
Grapes	Petunidin 3-glucoside
	Malvidin 3-glucoside
	Malvidin 3,5-diglucoside
	Cyanidin 3-glucoside

ที่มา : ดัดแปลงจาก Aurand และ Woods (1973)

Table 5 Anthocyanin contents found in some fruits

Fruits	Anthocyanin contents (mg/100 g fresh weight)
Cranberries	20-360
Raspberries	20-220
Strawberries	10-80
Grapes	6-600
Blackberries	83-326
Blueberries	60-480
Bilberries	300-600
Blackcurrants	80-810

ที่มา : ดัดแปลงจาก Rein (2005) และ Wrolstad (2000)

3.1 แอนโทไซยานินในกระเจี๊ยบแดง

กระเจี๊ยบแดงเป็นแหล่งสำคัญของแอนโทไซยานินพบว่ามีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด เท่ากับ 1.5 กรัมเคลฟิโนดิน 3-กลูโคไซด์ต่อกระเจี๊ยบแดงแห้ง 100 กรัม (Mazza and Miniati, 1993) ดังนั้นกระเจี๊ยบแดงจึงเป็นวัตถุดิบธรรมชาติอีกแหล่งหนึ่งที่สำคัญสำหรับนำมาใช้เพื่อการผลิตแอนโทไซยานิน

อรุณพร อิฐรัตน์ และคณะ (2548) รายงานว่า เมื่อแยกสารสกัดกระเจี๊ยบแดงจากการสกัด 2 วิธี คือ การสกัดด้วยวิธีต้มกับน้ำและทำแห้งแบบสูญญากาศ กับการสกัดด้วยเอทานอล 95.0 % จากนั้นทำการจำแนกชนิดแอนโทไซยานินด้วย LCMS (Liquid chromatography mass spectrometer) พบว่าอนุพันธ์ของแอนโทไซยานินมี 2 ชนิด คือ เคลฟิโนดิน 3-แซมบูไบโอไซด์ และไซยานิดิน 3-แซมบูไบโอไซด์ ซึ่งสอดคล้องกับ Du และ Francis (1973 อ้างโดย Mazza and Miniati, 1993) ที่รายงานว่ กระเจี๊ยบแดงประกอบด้วยแอนโทไซยานินหลัก 2 ชนิด คือ เคลฟิโนดิน 3-แซมบูไบโอไซด์ และไซยานิดิน 3-แซมบูไบโอไซด์ ส่วนแอนโทไซยานินที่พบในปริมาณรองลงมา มี 2 ชนิด คือ เคลฟิโนดิน 3-กลูโคไซด์ และไซยานิดิน 3-กลูโคไซด์

Wong และคณะ (2002) ทำการศึกษาชนิดและปริมาณแอนโทไซยานินในกระเจี๊ยบแดง ด้วย HPLC (High performance liquid chromatography) โดยทำการสกัดแอนโทไซยานินตามวิธีของ Ancos และคณะ (2000) และพบว่าปริมาณของเคลฟิโนดิน 3-แชนมูไบโอไซด์ ไชยานิโนดิน 3-แชนมูไบโอไซด์ และเคลฟิโนดิน 3-กลูโคไซด์ เท่ากับ 71.40 26.60 และ 2.00 % ตามลำดับ นอกจากนี้เมื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดพบว่าปริมาณ เท่ากับ 2.52 ± 0.05 กรัมเคลฟิโนดิน 3-กลูโคไซด์ ต่อผลกระเจี๊ยบแดง 100 กรัม ซึ่งสอดคล้องกับ Pouget และคณะ (1990 อ้างโดย Bridle and Timberlake, 1996) ที่รายงานว่า กระเจี๊ยบแดงมีปริมาณของเคลฟิโนดิน 3-แชนมูไบโอไซด์ และ ไชยานิโนดิน 3-แชนมูไบโอไซด์ เท่ากับ 70.90 และ 29.10 % ตามลำดับ

งานวิจัยนี้ทำการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในรูป ไชยานิโนดิน 3-กลูโคไซด์ด้วยวิธี pH differential method โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างที่ละลายในสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์บัฟเฟอร์ ค่าพีเอช 1.0 และสารละลายโซเดียมอะซิเตรตบัฟเฟอร์ ค่าพีเอช 4.5 ที่ความยาวคลื่น 520 และ 700 นาโนเมตร รายงานผลในหน่วยมิลลิกรัม ไชยานิโนดิน 3-กลูโคไซด์ ต่อตัวอย่าง 100 กรัม วิธีวิเคราะห์นี้อาศัยหลักการการเปลี่ยนรูปโครงสร้างของแอนโทไซยานินซึ่งจะเกิดขึ้นเมื่ออยู่ในสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีค่าพีเอชต่างกันกล่าวคือ ในสารละลายบัฟเฟอร์ ค่าพีเอช 1.0 แอนโทไซยานินจะอยู่ในรูปของฟลาเวียม แคทไอออน (Flavylium cation) ซึ่งที่ความยาวคลื่นเดียวกันจะให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด ส่วนในสารละลายบัฟเฟอร์ ค่าพีเอช 4.5 แอนโทไซยานินจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของคาร์บินอล ซูโด-เบส (Carbinol pseudo-base) ซึ่งที่ความยาวคลื่นเดียวกันจะให้ค่าการดูดกลืนแสงต่ำสุด ดังแสดงใน Figure 7 ดังนั้นจึงสามารถคำนวณปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดได้จากผลต่างของค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นเดียวกันระหว่างสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีค่าพีเอชต่างกัน และจากการใช้หลักการดังกล่าวข้างต้นทำให้สามารถลดการรบกวนระบบวิเคราะห์ของสารประกอบอื่นที่ไม่ใช่แอนโทไซยานินส่งผลให้วิธีวิเคราะห์นี้มีความแม่นยำในการวิเคราะห์ยิ่งขึ้น (Giusti และ Wrolstad, 2001)

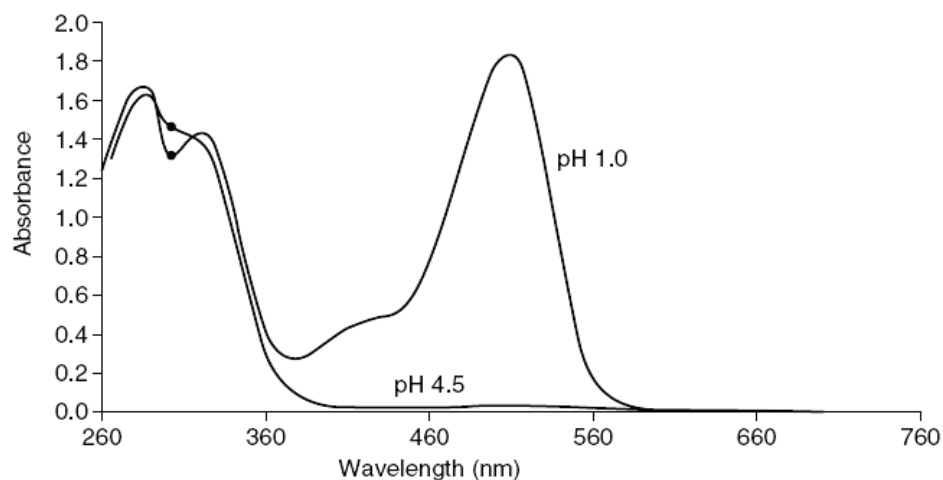


Figure 7 Spectral characteristics of purified radish anthocyanins (Acylated pelargonidin 3-sophoroside 5-glucoside derivatives) in pH 1.0 and pH 4.5 buffers

ที่มา : Giusti และ Wrolstad (2001)

3.2 ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อความคงตัวและสีของแอนโทไซยานิน

แอนโทไซยานินเป็นรงควัตถุที่ไม่ค่อยเสถียรตั้งนั้นในระหว่างกระบวนการแปรรูปต่าง ๆ เช่น การสกัด การทำให้บริสุทธิ์ กระบวนการแปรรูป และการเก็บรักษาส่วนมีผลทำให้โครงสร้างแอนโทไซยานินเกิดการเปลี่ยนแปลงซึ่งปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อความคงตัวและการเปลี่ยนแปลงสีของแอนโทไซยานิน คือ โครงสร้าง ค่าพีเอช อุณหภูมิและความร้อนของกระบวนการแปรรูป แสงสว่าง ออกซิเจน สารกลุ่มไบซัลไฟต์ คาร์วอเตอร์แอกติวิตีและปริมาณน้ำตาล และการรวมตัวกับสารอื่น (Copigmentation) เป็นต้น (Jackman and Smith, 1996; Mazza and Miniati, 1993)

3.2.1 โครงสร้าง

การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของแอนโทไซยานินจะส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีของแอนโทไซยานินเช่นกันกล่าวคือหากในโครงสร้างวงแหวนฟีนอล (วงแหวน B) มีจำนวนหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) เพิ่มขึ้นจะทำให้มีสีเข้มขึ้นและสีของแอนโทไซยานินจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินมากขึ้น และหากมีการเพิ่มจำนวนหมู่เมทอกซิล (-OCH₃) แทนที่หมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง R_{3'} และ R₅ จะทำให้สีของแอนโทไซยานินเปลี่ยนเป็นสีแดงมากขึ้น (Deman, 1990) ดังแสดงใน Figure 8

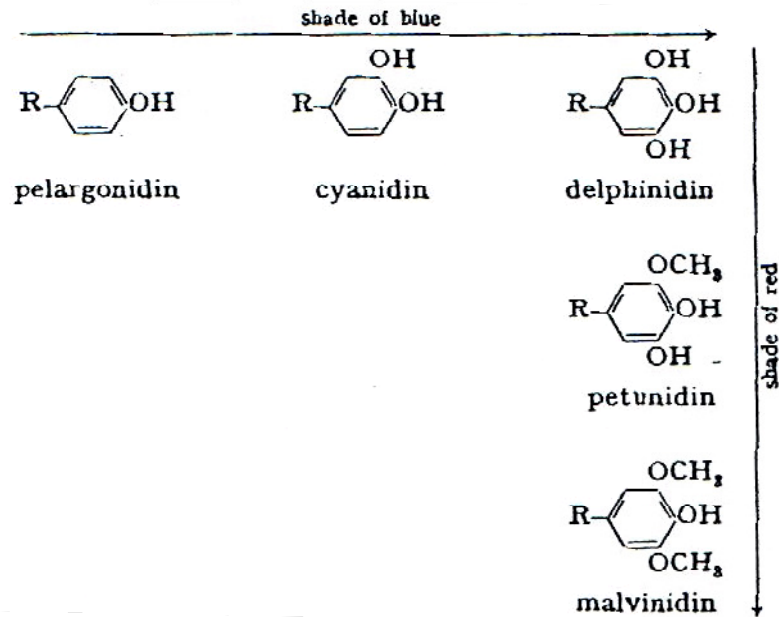


Figure 8 Effect of hydroxyl (-OH) and methoxyl (-OCH₃) on color of anthocyanins

ที่มา : Braverman (1963 อ้างโดย Deman, 1990)

3.2.2 ค่าพีเอช

ในสารละลายจะพบโครงสร้างของแอนโทไซยานินอยู่ 4 รูปแบบ คือ ควินอยดอล เบส (Quinoidal base) ฟลาวิลีียม แคทไอออน (Flavylium cation) คาร์บินอล ซูโด-เบส (Carbinol pseudo-base) และชาลโคน (Chalcone) ซึ่งจะเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของสารละลายกล่าวคือเมื่อค่าพีเอชในช่วงต่ำกว่า 2.0 แอนโทไซยานินจะอยู่ในรูปของฟลาวิลีียม แคทไอออน ซึ่งมีสีแดง แต่เมื่อค่าพีเอชเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว (ค่าพีเอช 6.0-8.0) ฟลาวิลีียม แคทไอออน จะเกิดการสูญเสียโปรตอน (H⁺) ทำให้แอนโทไซยานินเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของควินอยดอล เบส ซึ่งมีสีฟ้า แต่เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชต่ำกว่า 2.0 อีกครั้ง โปรตอน (H⁺) จะเข้ามาเกาะ (Protonate) ทำให้แอนโทไซยานินกลับมาอยู่ในรูปของฟลาวิลีียม แคทไอออน ซึ่งมีสีแดงอีกครั้ง และเมื่อเกิดปฏิกิริยาไฮเดรชัน (Hydration) แอนโทไซยานินจะเปลี่ยนรูปจากฟลาวิลีียม แคทไอออน ซึ่งมีสีแดง มาอยู่ในรูปของคาร์บินอล ซูโด-เบส ซึ่งไม่มีสี (ค่าพีเอช 4.0-6.0) และเมื่อเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) แอนโทไซยานินจะเปลี่ยนแปลงโครงสร้างจากคาร์บินอล ซูโด-เบส ซึ่งไม่มีสี มาอยู่ในรูปของชาลโคน ซึ่งไม่มีสีเช่นกัน (ค่าพีเอช 4.0-6.0) และจะเกิดการเปิดออกของวงแหวน C (Rein, 2005; Francis, 1985; Mazza and Miniati, 1993; Jackman and Smith, 1996) ดังแสดงใน Figure 9 และเมื่อค่าพีเอชมากกว่า 7 แอนโทไซยานินจะเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างเป็นแบบใดขึ้นอยู่กับกลุ่มที่แทนที่ในโครงสร้างของแอนโทไซยานิน (Castaneda-Ovando *et al.*, 2009)

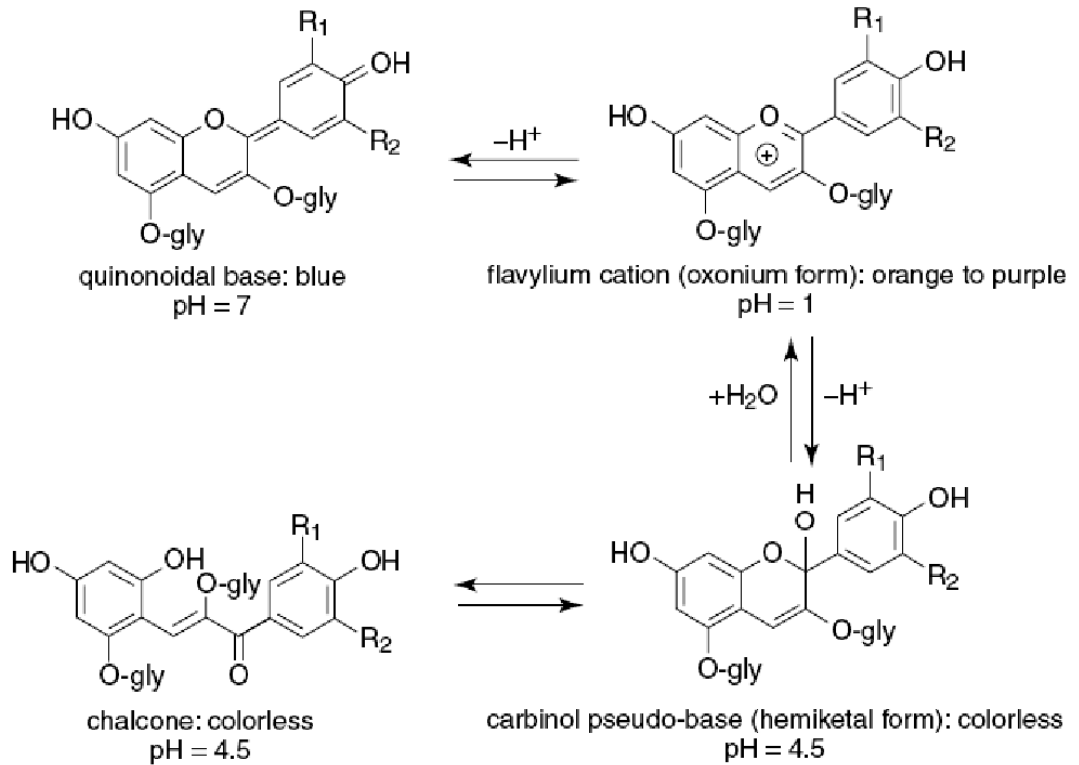


Figure 9 Predominant structural forms of anthocyanins present at different pH levels

ที่มา : Giusti และ Wrolstad (2001)

การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของสารละลายส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีของแอนโทไซยานินซึ่งแสดงให้เห็นได้จากค่าการดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนแปลงไปกล่าวคือค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นเดียวกันจะมีค่าลดลงเมื่อค่าพีเอชสูงขึ้น (Francis, 1985) ดังแสดงใน Figure 10 นอกจากนี้พบว่าความยาวคลื่นสูงสุดในการดูดกลืนแสง (λ_{max} , nm) มีการเปลี่ยนแปลงตามค่าพีเอชกล่าวคือความยาวคลื่นสูงสุดในการดูดกลืนแสงจะเกิดการเปลี่ยนแปลงในลักษณะบาโทโครมิกชิฟท์ (Bathochromic shift) คือ แถบการดูดกลืนแสงจะเลื่อนไปในทิศทางที่มีความยาวคลื่นสูงขึ้นเมื่อค่าพีเอชสูงขึ้น (Counsell, 1981 อ้าง โดย ปารมี ชุมศรี, 2550) ดังแสดงใน Table 6

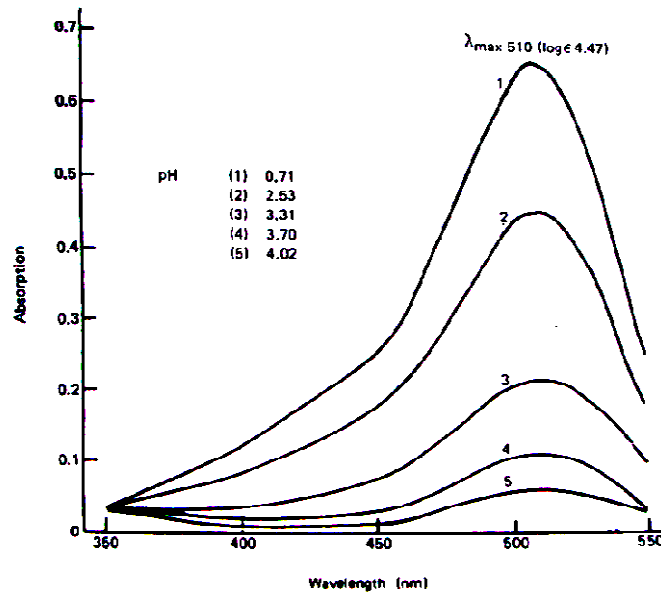


Figure 10 Absorption spectra of cyanidin 3-rhamnoglucoside in buffer solutions at pH 0.7 to 4.0.

The concentration of pigment is 1.6×10^2 g/l

ที่มา : Francis (1985)

Table 6 Absorption maximum and shade of color changes of anthocyanins at different pH levels

pH	Absorption maximum (λ_{\max} nm)	Shade color of anthocyanins
4.0	520	Red
4.0-6.0	525-550	Violet red to Violet blue
6.5	570-575	Blue
9.0	590-600	Blue

ที่มา : Counsell (1981 อ้างโดย ปารมี ชุมศรี, 2550)

Kalt และคณะ (2000) ศึกษาผลของพีเอชต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมีของน้ำบลูเบอร์รี่จากผลบลูเบอร์รี่สด (*Vaccinium angustifolium* Ait.) โดยการปรับค่าพีเอชของน้ำบลูเบอร์รี่ให้เท่ากับ 1.0 4.0 และ 7.0 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกหรือโซเดียมไฮดรอกไซด์ นำบรรจุในขวดแก้วที่ไม่มีช่องว่างเหนืออาหาร (Headspace) เก็บรักษาในสภาวะที่ไม่มีแสงสว่าง อุณหภูมิ 20.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 สัปดาห์ จากนั้นทำการวิเคราะห์ปริมาณแอนไซยานินทั้งหมดในรูปมัลวิดอิน 3-กลูโคไซด์ด้วยวิธี pH differential spectrophotometric method ตามวิธีของ Wrolstad (1976) พบว่าน้ำบลูเบอร์รี่ที่ค่าพีเอช 1.0 4.0 และ 7.0 มีปริมาณแอนไซยานินทั้งหมดเท่ากับ 118.0 15.7 และ 8.5 ไมโครกรัม

มัลวิดิน 3-กลูโคไซด์ต่อมิลลิลิตรของน้ำบลูเบอร์รี่ ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu method วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตรด้วยเครื่อง Microplate reader และใช้กรดแกลลิกเป็นสารละลายมาตรฐานตามวิธีของ Singleton และ Rossi (1965) พบว่าน้ำบลูเบอร์รี่ที่ค่าพีเอช 1.0 4.0 และ 7.0 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 1,064.0 756.0 และ 816.0 ไมโครกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อมิลลิลิตรของน้ำบลูเบอร์รี่ตามลำดับ นอกจากนี้เมื่อทำการวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Oxygen radical absorbing capacity (ORAC) และใช้โทรลอกซ์เป็นสารละลายมาตรฐานตามวิธีของ Cao และคณะ (1995) พบว่าน้ำบลูเบอร์รี่ที่ค่าพีเอช 1.0 4.0 และ 7.0 มีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ เท่ากับ 20.4 20.4 และ 14.9 ไมโครโมลสมมูลของโทรลอกซ์ต่อมิลลิลิตรของน้ำบลูเบอร์รี่ ตามลำดับ จากผลการทดลองพบว่าน้ำบลูเบอร์รี่ที่ค่าพีเอช 1.0 มีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในรูปมัลวิดิน 3-กลูโคไซด์สูงกว่าน้ำบลูเบอร์รี่ที่ค่าพีเอช 4.0 และ 7.0 ตามลำดับ เนื่องจากในน้ำบลูเบอร์รี่ที่ค่าพีเอช 1.0 จะพบแอนโทไซยานินในรูปของฟลาเวียม แคทไอออน ซึ่งมีสีแดง จึงให้ค่าสีมากกว่าเมื่อเทียบกับแอนโทไซยานินที่อยู่ในรูปของควินอยดอล เบส หรือคาร์บินอล ซูโด-เบส หรือซาลิโคน ซึ่งมีสีจางหรือไม่มีสี นอกจากนี้พบว่าน้ำบลูเบอร์รี่ที่ค่าพีเอช 4.0 และ 7.0 มีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในรูปมัลวิดิน 3-กลูโคไซด์ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระต่ำกว่าน้ำบลูเบอร์รี่ที่ค่าพีเอช 1.0 เนื่องจากในน้ำบลูเบอร์รี่ที่ค่าพีเอช 4.0 และ 7.0 มีการสูญเสียแอนโทไซยานิน โดยแอนโทไซยานินจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของซาลิโคนซึ่งไม่มีสี

Kirca และคณะ (2007a) ศึกษาผลของพีเอชต่อความคงตัวของแอนโทไซยานินในน้ำแบล็คแครอท (*Daucus carota* L. ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef.) โดยน้ำแบล็คแครอทเริ่มต้นมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 10.8 องศาบริกซ์ และพีเอช 6.0 นำน้ำแบล็คแครอทไปปรับค่าพีเอชให้เท่ากับ 4.3 โดยการเติมกรดซิตริก 20.0 % ทำการกำจัดเพกตินโดยใช้เอนไซม์ Panzym P5 นำไปผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 50.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำไปทำให้เข้มข้นด้วยเครื่องระเหยความดันต่ำ (Rotary low-pressure evaporator) จนกระทั่งน้ำแบล็คแครอทมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 30.0 องศาบริกซ์ ทำการปรับค่าพีเอชให้เท่ากับ 6.0 โดยการเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ 20.0 % จากนั้นนำน้ำแบล็คแครอทที่มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 30.0 องศาบริกซ์ ค่าพีเอช 4.3 และ 6.0 มาผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80.0 องศาเซลเซียส โดยใช้เวลาในการให้ความร้อนเท่ากัน ทำการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในรูปไซยานิดิน 3-กลูโคไซด์ด้วยวิธี pH differential method ตามวิธีของ Giusti และ Wrolstad (2001) นำผลที่ได้มาหาค่าคงที่อัตราการสลายตัวแบบปฏิกิริยาอันดับที่หนึ่ง ($k \times 10^{-3}$) และค่าครึ่งชีวิต ($t_{1/2}$) ของแอนโทไซยานิน จากผลการทดลองพบว่าน้ำแบล็คแครอทที่ค่าพีเอช 4.3 และ 6.0 มีค่าคงที่อัตราการสลายตัวแบบปฏิกิริยาอันดับที่หนึ่ง ($k \times 10^{-3}$) เท่ากับ

1.4 และ 1.8 ต่อนาที ตามลำดับ และมีค่าครึ่งชีวิต ($t_{1/2}$) ของแอนโทไซยานิน เท่ากับ 8.4 และ 6.6 ชั่วโมง ตามลำดับ จากผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าน้ำแบล็คแครอทที่ค่าพีเอช 4.3 มีความคงตัวของแอนโทไซยานินสูงกว่าน้ำแบล็คแครอทที่ค่าพีเอช 6.0 เนื่องจากการเพิ่มขึ้นของค่าพีเอชจาก 4.3 เป็น 6.0 มีผลไปเร่งให้เกิดการสลายตัวของแอนโทไซยานินและส่งผลให้แอนโทไซยานินเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของชาลโคนซึ่งไม่มีสีมากขึ้น

3.2.3 อุณหภูมิและความร้อนของกระบวนการแปรรูป

ในระบบอาหารแอนโทไซยานินอาจเกิดปฏิกิริยามะทอกซิลเลชัน (Methoxylation) เอซิลเลชัน (Acylation) หรือไกลโคซิลเลชัน (Glycosylation) กับองค์ประกอบอื่นในอาหารส่งผลให้เพิ่มความคงตัวของพีเอชและอุณหภูมิแต่หากแอนโทไซยานินได้รับความร้อนเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจนอุณหภูมิเท่ากับหรือมากกว่า 100.0 องศาเซลเซียส จะทำให้เกิดปฏิกิริยาดีไกลโคซิลเลชัน (Deglycosylation) ส่งผลให้เกิดการสลายตัวของแอนโทไซยานินซึ่งผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาข้างต้นอาจเข้าร่วมในการเกิดปฏิกิริยาอื่น เช่น ปฏิกิริยาโพลิเมอร์ไรเซชัน และเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำตาลที่ไม่ละลายน้ำเรียกว่า เมลานอยดิน (Melanoidins) ซึ่งเป็นสารที่ไม่พึงประสงค์ที่เกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์อาหารบางชนิด เช่น น้ำผลไม้ เครื่องดื่มที่มีแอนโทไซยานิน เพราะทำให้คุณภาพของอาหารลดต่ำลง (Jackman and Smith, 1996; นิธิยา รัตนานนท์, 2549) แอนโทไซยานินมีการสลายตัวแบบปฏิกิริยาอันดับที่หนึ่ง โดยกลไกการสลายตัวของแอนโทไซยานินขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ โดยที่อุณหภูมिन้อยกว่า 40.0 องศาเซลเซียส มีค่าพลังงานกระตุ้นในการเกิดปฏิกิริยา (E_a) เท่ากับ 70.0 กิโลจูลต่อโมล ส่วนที่อุณหภูมิมากกว่า 70.0 องศาเซลเซียส มีค่า E_a เท่ากับ 95.0-113.0 กิโลจูลต่อโมล (Jackman and Smith, 1996) Jackman และ Smith (1996 อ้างโดย Skrede and Wrolstad, 2002) กล่าวว่า กระบวนการผลิตที่เลือกใช้อุณหภูมิสูงภายในระยะเวลาสั้นจะสามารถรักษาระดับปริมาณแอนโทไซยานินไว้ได้มากที่สุด

Lee และคณะ (2002) ศึกษาผลของอุณหภูมิที่ใช้ในกระบวนการแปรรูปต่อความคงตัวของแอนโทไซยานินในน้ำบลูเบอร์รี่ (*Vaccinium corymbosum* L. cv. Rubel) ทำการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในรูปไซยานิดิน 3-กลูโคไซด์ด้วยวิธี pH differential method ตามวิธีของ Giusti และ Wrolstad (2001) พบว่าบลูเบอร์รี่เยือกแข็งมีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด เท่ากับ 130.8 มิลลิกรัมไซยานิดิน 3-กลูโคไซด์ต่อบลูเบอร์รี่ 100 กรัม น้ำบลูเบอร์รี่ไปผ่านการลวกที่อุณหภูมิ 95.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นนำไปผ่านกระบวนการแปรรูปต่ออีก 3 ขั้นตอน คือ การคั้นน้ำ การทำให้ใส และการพลาสเจอร์ไรซ์ (อุณหภูมิ 90.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 วินาที) ตามลำดับ พบว่าหลังจากผ่านขั้นตอนการแปรรูปดังกล่าวแล้วมีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด เท่ากับ 28.8 26.4 และ 29.8 มิลลิกรัมไซยานิดิน 3-กลูโคไซด์ต่อบลูเบอร์รี่ 100 กรัม ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่ามีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในรูปไซยานิดิน 3-กลูโคไซด์ไม่แตกต่างกันมากนักเนื่องจากการให้

ความร้อนสูงภายในระยะเวลาสั้น (การพลาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 90.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 วินาที) จะไม่ทำลายแอนโทไซยานิน

Harbourne และคณะ (2008) ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อความคงตัวของแอนโทไซยานิน ในน้ำแบล็คเคอแรนท์ (*Ribes nigrum* L.) โดยน้ำแบล็คเคอแรนท์เริ่มต้นมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 11.0 องศาบริกซ์ และพีเอช 3.4 นำน้ำแบล็คเคอแรนท์มาผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 40.0 60.0 80.0 และ 100.0 องศาเซลเซียส โดยใช้เวลาในการให้ความร้อนเท่ากัน ทำการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในรูปไซยานิดิน 3-กลูโคไซด์ด้วยวิธี pH differential method ตามวิธีของ Giusti และ Wrolstad (2001) นำผลที่ได้มาหาค่าคงที่อัตราการสลายตัวแบบปฏิกิริยาอันดับที่หนึ่ง ($k \times 10^{-3}$) และค่าครึ่งชีวิต ($t_{1/2}$) ของแอนโทไซยานิน จากผลการทดลองพบว่าน้ำแบล็คเคอแรนท์ที่อุณหภูมิ 4.0 21.0 40.0 60.0 80.0 และ 100.0 องศาเซลเซียส มีค่าคงที่อัตราการสลายตัวแบบปฏิกิริยาอันดับที่หนึ่ง ($k \times 10^{-3}$) เท่ากับ 0.2 0.6 3.1 21.0 78.0 และ 310.0 ต่อชั่วโมง ตามลำดับ และมีค่าครึ่งชีวิต ($t_{1/2}$) ของแอนโทไซยานิน เท่ากับ 180.0 49.0 9.4 32.0 9.0 และ 2.2 ชั่วโมง ตามลำดับ จากผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าหากให้ความร้อนเพิ่มขึ้นจะเร่งให้เกิดการเสื่อมสลายของแอนโทไซยานิน

Alighourchi และ Barzegar (2009) ศึกษาผลของอุณหภูมิในการเก็บรักษาต่อความคงตัวของแอนโทไซยานินในน้ำทับทิม (*Punica granatum* L.) โดยใช้น้ำทับทิมที่ผ่านการพลาสเจอร์ไรซ์ (อุณหภูมิ 93.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที) ซึ่งมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 13.7 องศาบริกซ์ บรรจุในบรรจุภัณฑ์ Tetra Pak นำเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 3 ระดับ คือ 4.0 20.0 และ 37.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 210 วัน ทำการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดตามวิธีของ Miguel และคณะ (2004) นำผลที่ได้มาหาค่าคงที่อัตราการสลายตัวแบบปฏิกิริยาอันดับที่หนึ่ง ($k \times 10^{-3}$) และค่าครึ่งชีวิต ($t_{1/2}$) ของแอนโทไซยานินพบว่าน้ำทับทิมที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4.0 20.0 และ 37.0 องศาเซลเซียส มีค่าคงที่อัตราการสลายตัวแบบปฏิกิริยาอันดับที่หนึ่ง ($k \times 10^{-3}$) เท่ากับ 5.8 15.4 และ 27.3 ต่อวัน ตามลำดับ และมีค่าครึ่งชีวิต ($t_{1/2}$) ของแอนโทไซยานิน เท่ากับ 119.3 45.0 และ 25.4 วัน ตามลำดับ จากผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิสูงจะเร่งให้เกิดการเสื่อมสลายของแอนโทไซยานินได้เร็วกว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ นอกจากนี้พบว่าการเสื่อมสลายของแอนโทไซยานินที่เกิดขึ้นอาจก่อให้เกิดสารประกอบสีน้ำตาลซึ่งเป็นสารที่ไม่พึงประสงค์ให้เกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์อาหารอีกด้วย

3.2.4 แสงสว่าง

แอนโทไซยานินจะไม่คงตัวเมื่อสัมผัสกับแสง ได้แก่ แสงอัลตราไวโอเล็ต (UV light) แสง (Visible light) หรือรังสีชนิดอื่นที่ทำให้เกิดการแตกตัวเป็นไอออน (Ionizing radiation) อาจกล่าวได้ว่ากลไกการทำงานของแสงต่อความคงตัวของแอนโทไซยานินเกิดได้ทั้งทางตรงและทางอ้อมโดย

ทางตรงเกิดจากการที่ไอออนเข้าไปแทนที่หมู่ไฮดรอกซิล (-OH) ของคาร์บอนตำแหน่งที่ 5 ในโมเลกุลของแอนโทไซยานินทำให้แอนโทไซยานินสลายตัวง่ายเมื่อสัมผัสกับแสง ส่วนทางอ้อมคือแสงเป็นสาเหตุในการเพิ่มอัตราการสลายตัวของแอนโทไซยานินด้วยความร้อน (Thermal degradation) (Jackman and Smith, 1996) ดังนั้นเพื่อป้องกันไม่ให้แอนโทไซยานินถูกทำลายเนื่องจากแสงในระหว่างการเก็บรักษาจึงควรเลือกใช้บรรจุภัณฑ์ที่สามารถป้องกันแสงและแสงอัลตราไวโอเล็ตได้ (Skrede and Wrolstad, 2002)

Lversen (1999) ศึกษาผลของแสงในการเก็บรักษาต่อความคงตัวของแอนโทไซยานินในเนคตาแบล็คเคอแรนท์ (*Ribes nigrum* L.) โดยใช้เนคตาแบล็คเคอแรนท์ที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ (อุณหภูมิ 80.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 27 วินาที) ซึ่งมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 16.0 องศาบริกซ์ และพีเอช 3.0 บรรจุในขวดแก้ว นำเก็บรักษาในสภาวะการเก็บรักษา 2 สภาวะ คือ เก็บในสภาวะบรรยากาศปกติ (สัมผัสกับแสงธรรมชาติ) และเก็บในสภาวะที่ไม่มีแสงที่อุณหภูมิ 20.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 230 วัน ทำการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในรูปไซยานิดิน 3-กลูโคไซด์โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 525 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Spectrophotometer นำผลที่ได้มาหาค่าคงที่อัตราการสลายตัวแบบปฏิกิริยาอันดับที่หนึ่ง ($k \times 10^{-3}$) และค่าครึ่งชีวิต ($t_{1/2}$) ของแอนโทไซยานินพบว่าเก็บในสภาวะที่มีแสงและการเก็บในสภาวะที่ไม่มีแสงมีค่าคงที่อัตราการสลายตัวแบบปฏิกิริยาอันดับที่หนึ่ง ($k \times 10^{-3}$) เท่ากับ 4.2 และ 3.2 ต่อวัน ตามลำดับ และมีค่าครึ่งชีวิต ($t_{1/2}$) ของแอนโทไซยานิน เท่ากับ 165.0 และ 216.0 วัน ตามลำดับ จากผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการเก็บในสภาวะที่มีแสงจะเร่งให้เกิดการเสื่อมสลายของแอนโทไซยานิน

Laleh และคณะ (2006) ศึกษาผลของแสงต่อความคงตัวของแอนโทไซยานินที่สกัดจากผลเบอร์รี่ (*Berberis orthobotrys*) โดยทำการสกัดแอนโทไซยานินจากผลเบอร์รี่ตามวิธีของ Chiriboga และ Francis (1970) จากนั้นนำสารสกัดแอนโทไซยานินที่ได้ซึ่งมีพีเอช 2.0 เก็บรักษาในสภาวะการเก็บรักษา 2 สภาวะ คือ ในสภาวะที่มีแสงและในสภาวะที่ไม่มีแสงที่อุณหภูมิ 25.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 84 วัน จากนั้นทำการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Spectrophotometer นำปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดมาคำนวณร้อยละของแอนโทไซยานินที่ถูกทำลายพบว่าหลังการเก็บรักษาในสภาวะที่มีแสงและไม่มีแสงมีแอนโทไซยานินที่ถูกทำลาย เท่ากับ 96.6 และ 75.2 % ตามลำดับ จากผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการเก็บรักษาในสภาวะที่มีแสงจะเร่งให้เกิดการเสื่อมสลายของแอนโทไซยานิน

3.2.5 ออกซิเจน

ออกซิเจนเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ทำให้แอนโทไซยานินถูกทำลายโดยทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation reaction) (Jackman and Smith, 1996) พบว่าแอนโทไซยานินที่อยู่ภายใต้สภาวะสุญญากาศหรือบรรยากาศของไนโตรเจนจะมีความคงตัวมากกว่าในสภาวะที่มีออกซิเจน ดังนั้นสำหรับผลิตภัณฑ์ที่มีแอนโทไซยานินจึงควรเลือกใช้บรรจุภัณฑ์ที่สามารถป้องกันการซึมผ่านของออกซิเจนได้ หรือมีปริมาณออกซิเจนเหลืออยู่น้อยที่สุดเพื่อป้องกันการเสื่อมสลายของแอนโทไซยานินระหว่างการเก็บรักษาหรือการจำหน่าย (Skrede and Wrolstad, 2002)

Starr และ Francis (1968) ศึกษาผลของออกซิเจนและกรดแอสคอร์บิกต่อความคงตัวของแอนโทไซยานิน (อนุพันธ์หลัก คือ ฟิโอนิดิน 3-อะราบีโนไซด์ ฟิโอนิดิน 3-กาแลคโตไซด์ ไชยานิดิน 3-อะราบีโนไซด์ และไชยานิดิน 3-กาแลคโตไซด์) ในค็อกเทลแครนเบอร์รี่ซึ่งมีปริมาณกรดแอสคอร์บิก (ตามธรรมชาติ) 23.0 ไมโครกรัมต่อ 16 ออนซ์ และมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 12.5 องศาบริกซ์ บรรจุในขวดแก้วปิดสนิทในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจน 2 ระดับ คือ 0.0 และ 2.0 มิลลิลิตรของออกซิเจนต่อ 16 ออนซ์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (22.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 32 สัปดาห์ ทำการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 0 4 8 16 และ 32 สัปดาห์ ด้วยวิธี pH differential method ตามวิธีของ Fuleki และ Francis (1968) และพบว่าในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจน 0.0 และ 2.0 มิลลิลิตรของออกซิเจนต่อ 16 ออนซ์ เมื่อเก็บรักษาที่ระยะเวลา 0 4 8 16 และ 32 สัปดาห์ มีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด เท่ากับ 9.1 6.9 6.7 5.3 4.3 และ 9.3 7.3 6.1 4.8 3.8 มิลลิกรัมต่อค็อกเทลแครนเบอร์รี่ 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ จากผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าออกซิเจนและกรดแอสคอร์บิกมีผลเสริมกันในการทำลายแอนโทไซยานิน โดยออกซิเจนทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันซึ่งมีผลในการทำลายแอนโทไซยานินโดยตรง ในขณะที่การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดแอสคอร์บิกทำให้เกิดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ซึ่งทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้เช่นกันและมีผลไปทำลายแอนโทไซยานินทำให้ปริมาณแอนโทไซยานินลดลงอย่างรวดเร็ว

3.2.6 สารกลุ่มไบซัลไฟต์

โดยทั่วไปมีการใช้สารกลุ่มไบซัลไฟต์ เช่น โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ และโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ เป็นต้น เป็นสารกันเสียในอุตสาหกรรมอาหาร แอนโทไซยานินสามารถถูกทำให้สีจางลงด้วยสารกลุ่มไบซัลไฟต์โดยเกิดปฏิกิริยาแบบผันกลับได้ (Reversible reaction) ระหว่างฟลาโวลีเทียมแคทไอออน ซึ่งมีสีแดง กับไบซัลไฟต์ ไอออน (Bisulfite ion) เกิดผลิตภัณฑ์กรดโครเมน-2-ซัลฟอนิก (Chromen-2-sulfonic acid) ซึ่งไม่มีสี และพบว่าปฏิกิริยาดังกล่าวสามารถผันกลับได้ในสภาวะที่มีพีเอชต่ำ ดังแสดงใน Figure 11 นอกจากนี้พบว่าสารประกอบเชิงซ้อนแอนโทไซยานิน-ไบซัลไฟต์

(Anthocyanin-Bisulfite complex) มีความคงตัวสูงจึงไม่ถูกทำลายด้วยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (Hydrolysis reaction) ทำให้ลดปัญหาการเกิดสีน้ำตาลจากปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) (Demian, 1990; Jackman *et al.*, 1987)

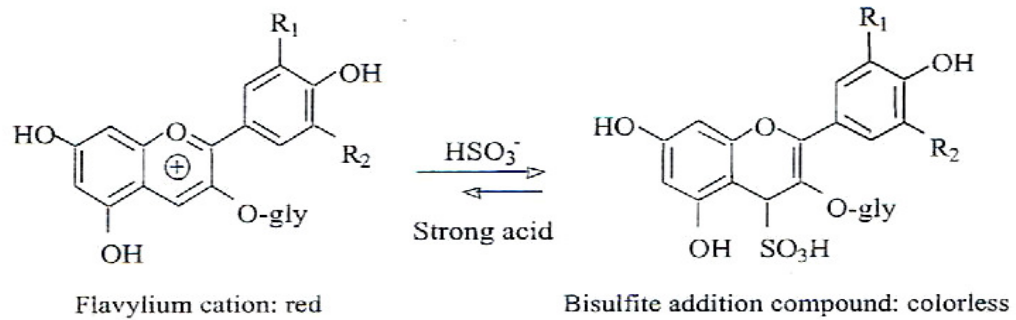


Figure 11 Reaction of anthocyanin pigments with bisulfite to form colorless anthocyanin-sulfonic acid adducts

ที่มา : Wrolstad และคณะ (2005)

3.2.7 ค่าวอเตอร์แอกติวิตีและปริมาณน้ำตาล

ค่าวอเตอร์แอกติวิตี (Water activity, a_w) และปริมาณน้ำตาลเป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อความคงตัวของแอนโทไซยานิน โดยความคงตัวของแอนโทไซยานินจะเพิ่มขึ้นเมื่อค่าวอเตอร์แอกติวิตีลดลง นอกจากนี้พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของน้ำตาลสูง (> 20.0 %) จะป้องกันไม่ให้เกิดการเสื่อมสลายของแอนโทไซยานิน ส่วนที่ระดับความเข้มข้นของน้ำตาลต่ำการเสื่อมสลายของน้ำตาลเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันจะส่งผลให้เกิดการเสื่อมสลายของแอนโทไซยานินด้วยเช่นกัน โดยผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการเสื่อมสลายของน้ำตาล คือ เฟอร์ฟูรัล (Furfural) และ ไฮดรอกซิลเมทิลเฟอร์ฟูรัล (Hydroxyl methylfurfural) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาเมลลาร์ดและปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดแอสคอร์บิกจะเข้าร่วมตัวกับแอนโทไซยานินทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำตาลซึ่งเป็นสารที่ไม่พึงประสงค์ให้เกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์อาหาร และพบว่า การเสื่อมสลายของน้ำตาลฟรักโตส อะราบิโนส แล็กโตส และซอร์บอส จะเร่งให้เกิดการเสื่อมสลายของแอนโทไซยานินมากกว่าการเสื่อมสลายของน้ำตาลกลูโคส ซูโครส และมอลโตส (Skrede and Wrolstad, 2002; Von Elbe and Schwartz, 1996)

Tsai และคณะ (2004) ศึกษาผลของความเข้มข้นของน้ำตาลต่อความคงตัวของแอนโทไซยานินในระบบจำลองระหว่างซูโครส-น้ำ โดยนำกระเจียบแดง (*Hibiscus sabdariffa* L.) ที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็ง (Freeze-dry) 4.0 กรัม ทำการสกัดด้วยเอทานอลที่ถูกทำให้มีความเป็นกรด (ความเข้มข้น 1.5 โมลต่อลิตรของกรดไฮโดรคลอริก) ปริมาตร 200 มิลลิลิตร นำสารสกัดที่ได้ไปทำแห้งแบบ

เยื่อแข็ง จากนั้นเติมสารสกัดที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็งลงในสารละลายบัฟเฟอร์ผสมระหว่างกรดซิตริกและไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ค่าพีเอช 3.2 ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ ของน้ำตาลซูโครส เท่ากับ 20.0 40.0 และ 60.0 % ตามลำดับ ทำการกรองสารสกัดด้วยกระดาษกรอง จากนั้นนำสารสกัดที่ผ่านการกรองไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 40.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 96 ชั่วโมง ทำการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินด้วย HPLC ตามวิธีของ Tsai และคณะ(1996) นำผลที่ได้มาหาค่าครึ่งชีวิต ($t_{1/2}$) ของแอนโทไซยานินพบว่าค่าครึ่งชีวิต ($t_{1/2}$) ของแอนโทไซยานินในสารละลายบัฟเฟอร์ผสมที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ ของน้ำตาลซูโครส 20.0 40.0 และ 60.0 % เท่ากับ 92.6 118.7 และ 131.5 ชั่วโมง ตามลำดับ จากผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าในระบบจำลองระหว่างซูโครส-น้ำ การเสื่อมสลายของแอนโทไซยานินจะลดลงเมื่อความเข้มข้นของซูโครสสูงขึ้น เนื่องจากที่ความเข้มข้นของซูโครสสูง โมเลกุลของซูโครสจะเกิดอันตรกิริยากับโมเลกุลของซูโครสด้วยกันเองและจับกันเป็นกลุ่มทำให้มีปริมาณน้ำที่เข้าร่วมในการเกิดปฏิกิริยาการเสื่อมสลายของแอนโทไซยานินน้อยจึงสามารถรักษาปริมาณแอนโทไซยานินได้ดีกว่าที่ความเข้มข้นของซูโครสต่ำ

Tonon และคณะ (2010) ศึกษาความคงตัวของแอนโทไซยานินในเบอร์รี่ฝง (*Euterpe oleracea* Mart.) ระหว่างการเก็บรักษา โดยนำเนื้อเบอร์รี่ที่มีปริมาณของแข็ง 11.0-14.0 % มากรองด้วยกระดาษกรอง จากนั้นเติมมอลโทเดกซ์ทริน (Dextrose equivalent, DE 10.0) และกัมอะราบิกในปริมาณ 6.0 % (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) คนจนกระทั่งละลาย นำไปทำแห้งแบบพ่นฝอยโดยใช้อัตราการไหลของอากาศ (Drying air flow rate) 73.0 ลูกบาศก์เมตรต่อชั่วโมง ความดันอากาศ 0.1 เมกะปาสกาล อัตราการไหล (Feed flow rate) 15.0 กรัมต่อนาที อุณหภูมิอากาศทางเข้าและทางออก 140.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส และ 78.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส ตามลำดับ นำเบอร์รี่ฝงเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25.0 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 32.8 % เป็นเวลา 120 วัน ทำการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในรูปไซยานิดิน-3-รูตินโนไซด์ด้วยวิธี Spectrophotometric method ตามวิธีของ Cinquanta และคณะ (2002) นำผลที่ได้มาหาค่าคงที่อัตราการสลายตัวแบบปฏิกิริยาอันดับที่หนึ่ง ($k \times 10^{-3}$) และค่าครึ่งชีวิต ($t_{1/2}$) ของแอนโทไซยานินพบว่าค่าคงที่อัตราการสลายตัวแบบปฏิกิริยาอันดับที่หนึ่ง ($k \times 10^{-3}$) ในเบอร์รี่ฝงที่มีการเติมมอลโทเดกซ์ทรินและกัมอะราบิก เท่ากับ 0.001 และ 0.003 ต่อวัน ตามลำดับ และมีค่าครึ่งชีวิต ($t_{1/2}$) ของแอนโทไซยานิน เท่ากับ 1248.3 และ 978.8 วัน ตามลำดับ จากผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการแปรรูปผลิตภัณฑ์อาหารด้วยการทำแห้งแบบพ่นฝอยทำให้ผลิตภัณฑ์มีความคงตัวของแอนโทไซยานินในระหว่างการเก็บรักษาสูง เนื่องจากวิธีการแปรรูปดังกล่าวเป็นการลดปริมาณน้ำอิสระในผลิตภัณฑ์ ทำให้มีการแพร่ผ่านของออกซิเจนน้อยจึงลดการเสื่อมสลายของแอนโทไซยานินเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันส่งผลให้ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวสามารถรักษาสีและคงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ไว้ได้เป็นเวลานาน นอกจากนี้ยังแสดงให้เห็นอีกว่าเบอร์รี่ฝงที่มีการเติมมอลโทเดกซ์ทรินจะมีความคงตัวของ

แอนโทไซยานินมากกว่าเบอร์รี่ซึ่งมีการเติมกำมะถัน เนื่องจากมอลโทเดกซ์ทรินมีคุณสมบัติการดูดความชื้นในอากาศ (Hygroscopicity) น้อยจึงมีการดูดซับปริมาณน้ำน้อยทำให้เกิดการเสื่อมสลายของแอนโทไซยานินเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันน้อยกว่ากำมะถัน

3.2.8 การรวมตัวกับสารอื่น

การรวมตัวกับสารอื่น (Copolymerization) เป็นปรากฏการณ์การเกิดอันตรกิริยาระหว่างแอนโทไซยานินกับสารประกอบอื่นซึ่งไม่มีสีทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนขึ้นโดยสามารถเกิดได้ 4 รูปแบบ คือ (1) Intermolecular copigmentation เป็นการเกิดอันตรกิริยาระหว่างแอนโทไซยานินกับสารประกอบอื่น เช่น ฟลาโวนอยด์ อัลคาลอยด์ กรดอะมิโน กรดอินทรีย์ นิวคลีโอไทด์ และโพลีแซคคาไรด์ โดยพันธะเคมีที่เกิดขึ้นเป็นพันธะไฮโดรเจน (Hydrogen bonding) และอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิก (Hydrophobic interaction) (2) Intramolecular copigmentation เป็นการเกิดอันตรกิริยาขึ้นภายในโมเลกุลของแอนโทไซยานินระหว่างส่วนที่เป็นแอนโทไซยานินกับกรดอินทรีย์โดยพันธะเคมีที่เกิดขึ้นเป็นพันธะโควาเลนต์ทำให้โครงสร้างที่เกิดขึ้นมีความคงตัวมากกว่า Intermolecular copigmentation (3) Metal complexation เป็นการเกิดอันตรกิริยาระหว่างแอนโทไซยานินกับไอออนของโลหะ และ (4) Self association ซึ่งจะเกิดขึ้นในสภาวะที่มีความเข้มข้นของแอนโทไซยานินสูง โดยเป็นการเกิดอันตรกิริยาระหว่างแอนโทไซยานินกับแอนโทไซยานินด้วยกันเอง การเกิดปรากฏการณ์ดังกล่าวทำให้เกิดผล 2 ประการ ประการที่ 1 คือ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติการดูดกลืนแสงของแอนโทไซยานินที่อยู่ในรูปฟลาโวนิลียม แคทไอออนโดยทำให้เกิดบาโทโครมิกชิฟท์ คือ การเลื่อนของแถบการดูดกลืนแสงสูงสุดไปในทิศทางที่มีความยาวคลื่นสูงขึ้น และทำให้เกิดไฮเปอร์โครมิก (Hyperchromic effect) คือ ค่าการดูดแสงเพิ่มขึ้น ส่วนประการที่ 2 คือ เพิ่มความคงตัวของฟลาโวนิลียม แคทไอออน ทำให้มีสีแดงเพิ่มขึ้น (Castaneda-Ovando *et al.*, 2009; Rein, 2005)

Pacheco-Palencia และ Talcott (2010) ศึกษาผลของการเกิดอันตรกิริยาระหว่างแอนโทไซยานินกับสารโพลีฟีนอลต่อความคงตัวของแอนโทไซยานินในระบบจำลอง โดยจัดทำระบบจำลองเป็น 2 รูปแบบ คือ (1) ระบบจำลองที่มีเฉพาะแอนโทไซยานิน (ชุดควบคุม) (2) ระบบจำลองที่มีสารโพลีฟีนอลจำพวกฟลาโวน-C-ไกลโคไซด์ (Flavone-C-glycosides) และแอนโทไซยานิน (1 ต่อ 10) โดยฟลาโวน-C-ไกลโคไซด์ได้จากการนำน้ำมันเบอร์รี่ (Polyphenolic-enriched acai oil) มาทำการสกัดแล้วนำสารสกัดที่ได้มาระเหยตัวทำละลาย (ที่อุณหภูมิสูงกว่า 40.0 องศาเซลเซียส) และนำสารที่ผ่านการระเหยตัวทำละลายมาละลายในสารละลายกรดซิตริกบัฟเฟอร์ ค่าพีเอช 3.0 จากนั้นนำระบบจำลองทั้ง 2 รูปแบบ เก็บรักษาในที่มืดที่อุณหภูมิ 5.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 วัน ทำการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในรูปแบบไซยานิดิน 3-กลูโคไซด์โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ตามวิธี pH differential method ของ Wrolstad และคณะ

(2005) นำผลที่ได้มาหาค่าคงที่อัตราการสลายตัวแบบปฏิกิริยาอันดับที่หนึ่ง ($k \times 10^{-3}$) และค่าครึ่งชีวิต ($t_{1/2}$) ของแอนโทไซยานินพบว่าค่าคงที่อัตราการสลายตัวแบบปฏิกิริยาอันดับที่หนึ่ง ($k \times 10^{-3}$) ในระบบจำลองที่มีเฉพาะแอนโทไซยานิน (ชุดควบคุม) และระบบจำลองที่มีฟลาโวน-C-ไกลโคไซด์และแอนโทไซยานิน (1 ต่อ 10) เท่ากับ 4.6 และ 3.0 ต่อวัน ตามลำดับ และมีค่าครึ่งชีวิต ($t_{1/2}$) ของแอนโทไซยานิน เท่ากับ 150.0 และ 233.0 วัน ตามลำดับ จากผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าใน (2) ระบบจำลองที่มีการเกิดอันตรกิริยาระหว่างแอนโทไซยานินกับฟลาโวน-C-ไกลโคไซด์ทำให้แอนโทไซยานินมีความคงตัวมากกว่าใน (1) ระบบจำลองที่มีเฉพาะแอนโทไซยานิน (ชุดควบคุม)

4. อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ

4.1 อนุมูลอิสระ

เป็นสารที่มีอิเล็กตรอนอิสระ (Unpaired electron) อยู่วงนอกของอะตอมหรือโมเลกุล โดยอาจมีจำนวนอิเล็กตรอนอิสระ 1 ตัว หรือมากกว่า 1 ตัว ทำให้ไม่เสถียร มีความว่องไวในการเข้าทำปฏิกิริยาโดยรับอิเล็กตรอนจากสารอื่น ๆ โกล้เลี้ยงทำให้ตัวมันเองเสถียรมากขึ้น ในขณะที่เดียวกันก็ชักนำให้สารที่ให้อิเล็กตรอนไปนั้นก็มีอิเล็กตรอนไม่ครบคู่และเกิดเป็นอนุมูลอิสระตัวใหม่ (Chapple and Matthews, 2007; มลศิริ วิโรทัย, 2545) ซึ่งหากมีจำนวนอนุมูลอิสระมากเกินไปกลไกของร่างกายจะกำจัดได้หมดอาจก่อให้เกิดความผิดปกติขึ้นในเซลล์ ผนังเซลล์ เนื้อเยื่อ หรืออวัยวะต่าง ๆ และเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคต่าง ๆ เช่น โรคหัวใจและหลอดเลือด มะเร็งในบางอวัยวะ โรคข้ออักเสบ เป็นต้น (Eskin and Przybylski, 2001) อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกายตามปกติมีหลายชนิด เช่น อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์ (Superoxide radical, O_2^{\bullet}) อนุมูลไฮดรอกซิล (Hydroxyl radical, OH^{\bullet}) อนุมูลไนตริกออกไซด์ (Nitric oxide radical, NO^{\bullet}) อนุมูลเพอร์ออกไซด์ (Peroxyl radical, ROO^{\bullet}) อนุมูลไฮโดรเพอร์ออกไซด์ (Hydroperoxyl radical, HOO^{\bullet}) เป็นต้น (Chapple and Matthews, 2007)

4.1.1 ปัจจัยที่เป็นสาเหตุของการเกิดอนุมูลอิสระ (ปณัฐฐา ไชยมุติ, 2547)

4.1.1.1 ปัจจัยภายในร่างกาย โดยอนุมูลอิสระอาจเกิดจากกลไกการทำงานต่าง ๆ ภายในร่างกาย เช่น การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันทั้งแบบเกิดขึ้นเองหรือแบบที่มีเอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา กระบวนการกำจัดสิ่งแปลกปลอมของเม็ดเลือดขาว เป็นต้น

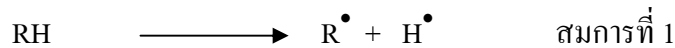
4.1.1.2 ปัจจัยภายนอกในร่างกาย โดยอนุมูลอิสระอาจเกิดขึ้นจากการใช้ยารักษาโรคบางชนิด การได้รับรังสีจากธรรมชาติ เช่น รังสีอัลตราไวโอเล็ต การใช้รังสีรักษาโรค เช่น รังสีเอกซ์ รังสีแกมมา และการสูดดมควันบุหรี่ เป็นต้น

4.2 กลไกการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (อัฒนา เจนวีสุข, 2544)

ปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ซึ่งมีกลไกการเกิดปฏิกิริยา 3 ระยะ คือ ระยะแรกเรียกว่า ระยะเหนี่ยวนำ (Initiation) เป็นระยะที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระ ระยะที่สองเรียกว่า ระยะเพิ่มจำนวน (Propagation) เป็นระยะที่เกิดปฏิกิริยาต่อเนื่องของอนุมูลอิสระทำให้จำนวนอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น และระยะสุดท้ายเรียกว่า ระยะสิ้นสุด (Termination) เป็นระยะที่อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น 2 อนุมูลมารวมกันเกิดเป็นสารที่มีความเสถียร

4.2.1 ระยะเหนี่ยวนำ (Initiation)

การเกิดอนุมูลอิสระในเซลล์เกิดจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของร่างกายโดยการเกิดปฏิกิริยาต่าง ๆ เช่น ปฏิกิริยาออกซิเดชัน ปฏิกิริยารีดักชัน (Reduction) ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส และแสง (Photolysis) ของสารชีวโมเลกุลต่าง ๆ เป็นต้น รวมถึงโมเลกุลที่มีความไวสูงในการทำปฏิกิริยา เช่น อนุมูลไนตริกออกไซด์ (NO^\bullet) และ Singlet oxygen ซึ่งเป็นออกซิเจนในสถานะที่ถูกกระตุ้น สิ่งเหล่านี้ล้วนมีผลเหนี่ยวนำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้นดังสมการที่ 1



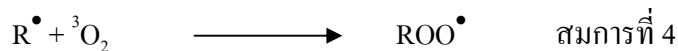
ส่วน Singlet oxygen ($^1\text{O}_2$) เมื่อทำปฏิกิริยากับไขมัน (RH) จะทำให้เกิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (Hydroperoxide) ดังสมการที่ 2



พันธะ O-O ในโมเลกุลไฮโดรเปอร์ออกไซด์เป็นพันธะที่ไม่แข็งแรงจึงถูกสลายได้ง่ายพบว่าในปฏิกิริยาที่มีไอออนโลหะ เช่น เหล็ก ทองแดง สังกะสี และแมงกานีส เป็นต้น จะช่วยเร่งการสลายโมเลกุลไฮโดรเปอร์ออกไซด์ทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้น

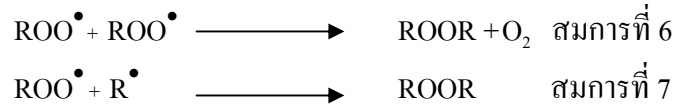
4.2.2 ระยะเพิ่มจำนวน (Propagation)

อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในระยะเหนี่ยวนำจะเกิดปฏิกิริยาต่อเนื่องโดยเกิดปฏิกิริยาขึ้น 2 ทาง คือ การดึงเอาอะตอมไฮโดรเจนออกจากโมเลกุลข้างเคียงหรือการทำปฏิกิริยากับโมเลกุลออกซิเจนที่อยู่ในสถานะพื้น (Ground state, $^3\text{O}_2$) ทำให้เกิดอนุมูลอิสระตัวใหม่ ดังสมการที่ 3-5



4.2.3 ระยะสิ้นสุด (Termination)

เป็นระยะที่อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น 2 อนุมูลมารวมกันเกิดเป็นสารที่มีความเสถียรจึงเป็นการหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระ ดังสมการที่ 6-7



4.3 สารต้านอนุมูลอิสระ (Eskin and Przybylski, 2001)

สารปริมาณน้อยที่สามารถชะลอหรือป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของอนุมูลอิสระโดยมีกลไกการต้านอนุมูลอิสระด้วยกันหลายแบบ เช่น การดักจับ (Scavenging) อนุมูลอิสระโดยตรง การยับยั้งการสร้างอนุมูลอิสระ หรือการเข้าจับกับไอออนโลหะเพื่อป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระ เป็นต้น เมื่อแบ่งสารต้านอนุมูลอิสระตามกลไกการทำงานสามารถแบ่งเป็น 2 ประเภท คือ

4.3.1 สารต้านอนุมูลอิสระปฐมภูมิ (Primary antioxidant)

สารต้านอนุมูลอิสระประเภทนี้จะหยุดปฏิกิริยาออกซิเดชันของอนุมูลอิสระโดยการให้อะตอมไฮโดรเจนหรืออิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ โดยตรงทำให้อนุมูลอิสระดังกล่าวกลายเป็นสารที่มีความเสถียร ตัวอย่างของสารต้านอนุมูลอิสระปฐมภูมิ เช่น สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds) ซึ่งรวมทั้งฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) และยูจินอล (Eugenol) เป็นต้น

4.3.2 สารต้านอนุมูลอิสระทุติยภูมิ (Secondary antioxidant)

สารต้านอนุมูลอิสระประเภทนี้ไม่ทำปฏิกิริยาโดยตรงกับอนุมูลอิสระแต่จะช่วยการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระปฐมภูมิในลักษณะต่าง ๆ เช่น จับกับไอออนโลหะ ดักจับออกซิเจน ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน เป็นต้น ตัวอย่างของสารต้านอนุมูลอิสระทุติยภูมิ เช่น อีดีทีเอ (Ethylenediamine tetraacetate) กรดซิตริก (Citric acid) กรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid) กรดฟีนอลิก (Phenolic acid) และแกลเลต (Gallate) เป็นต้น

4.4 แหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระ

4.4.1 สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (Synthetic antioxidants)

สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์มีหลายชนิดแต่ที่นิยมใช้ คือ สารประกอบฟีนอลิก โดยในโครงสร้างจะมีการเติมหมู่แอลคิลเพื่อปรับปรุงคุณสมบัติให้เหมาะสมกับการละลายในไขมัน และมีการนำไปใช้เพื่อป้องกันการเกิดออกซิเดชันของไขมัน สารสังเคราะห์เหล่านี้ เช่น บิเอชเอ (Butylated hydroxyanisol) บิเอชที (Butylated hydroxytoluene) ทีบิเอชควิ (Tertiary butylhydroquinone) และพีจี (Propyl gallate) เป็นต้น (Yanishlieva-Maslarova, 2001)

4.4.2 สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ (Natural antioxidants)

สารต้านอนุมูลอิสระชนิดนี้พบได้ทั้งในพืช จุลินทรีย์ และเนื้อเยื่อสัตว์ สามารถแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม คือ กลุ่มของเอนไซม์ เช่น ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมูเทส (Superoxide dismutase) กลูตา-

ไทโอนเพอร์ออกซิเดส (Glutathione peroxidase) และคะตะเลส (Catalase) กลุ่มสารที่มีโมเลกุลใหญ่ เช่น อัลบูมิน (Albumin) เซรูโลพลาสมิน (Ceruloplasmin) เฟอริติน (Ferritin) กลุ่มสารที่มีโมเลกุลเล็ก เช่น กรดแอสคอร์บิก กลูตาไทโอน (Glutathione) แคโรทีนอยด์ (Carotenoids) โทโคฟีรอล (Tocopherol) และโพลีฟีนอล (Polyphenols) และกลุ่มของฮอร์โมนบางชนิด เช่น เอสโตรเจน (Estrogen) แองจิโอเทนซิน (Angiotensin) และเมลาโทนิน (Melatonin) (Yanishlieva-Maslarova, 2001; Prior *et al.*, 2005)

4.5 วิธีการวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

ปัจจุบันมีวิธีการวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระหลายวิธีซึ่งแต่ละวิธีมีหลักการวิเคราะห์ที่แตกต่างกันออกไป เช่น การวัดความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระของสารอินทรีย์ ได้แก่ DPPH และ ABTS การวัดความสามารถในการรีดิวซ์โลหะ ได้แก่ FRAP การวัดความสามารถในการดักจับอนุมูลเพอร์ออกไซด์ ได้แก่ ORAC และ TRAP การวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน ได้แก่ TBARS และ LDLs oxidation เป็นต้น โดยวิธีการวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระที่นิยมใช้ ได้แก่ DPPH ABTS และ FRAP ซึ่งวิธีการดังกล่าวใช้หลักการวิเคราะห์บนพื้นฐานเดียวกันคือการให้อิเล็กตรอนหรืออะตอมของไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระ ดังนั้นผลที่ได้จากการวิเคราะห์ดังกล่าวจึงมีความสัมพันธ์กันสูง และเป็นวิธีที่เหมาะสมสำหรับนำมาใช้ในการวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระในผัก ผลไม้ รวมทั้งสารสกัดจากพืช (Pérez-Jiménez and Saura-Calixto, 2006; Huang *et al.*, 2005) โดยในงานวิจัยนี้เลือกใช้วิธีการวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ 3 วิธี ดังนี้

4.5.1 สมบัติการจับอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH[•] scavenging activity)

เป็นวิธีวัดความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการดักจับอนุมูล DPPH[•] โดยในระบบที่มีสารต้านอนุมูลอิสระจะมีการให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูล DPPH[•] ทำให้อนุมูล DPPH[•] เปลี่ยนเป็นอนุมูลที่มีความเสถียรส่งผลให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ลดลง นอกจากนี้พบว่าในการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารต้านอนุมูลอิสระกับอนุมูล DPPH[•] ไม่มีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงกับความเข้มข้นของอนุมูล DPPH[•] จึงรายงานค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่วัดได้ในรูป EC₅₀ ซึ่งหมายถึง ความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่ไปลดความเข้มข้นของอนุมูล DPPH[•] ลง 50 % ภายในระยะเวลาที่กำหนด (Pérez-Jiménez and Saura-Calixto, 2006; Huang *et al.*, 2005; Yamasaki *et al.*, 1994) ในงานวิจัยนี้วิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงโดยวัดค่ากิจกรรมการจับอนุมูล DPPH[•] รายงานค่าที่ได้ในรูป EC₅₀ โดยใช้บีเอชที่เป็นสารมาตรฐานควบคุมผลเชิงบวก (Positive standard)

4.5.2 สมบัติการจับอนุมูลอิสระเอบีทีเอส (ABTS^{•+} scavenging activity)

เป็นวิธีวัดความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการดักจับอนุมูล ABTS^{•+} โดยอนุมูลดังกล่าวเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันระหว่าง ABTS [2,2-Azinobis-(3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid)] กับโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต (Potassium persulfate) วิธีนี้เป็นวิธีการลดลงของสีที่เกิดจากอนุมูล ABTS^{•+} โดยในระบบที่มีสารต้านอนุมูลอิสระจะมีการให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูล ABTS^{•+} ทำให้อนุมูล ABTS^{•+} เปลี่ยนเป็นอนุมูลที่มีความเสถียรส่งผลให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ลดลง กำหนดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยเปรียบเทียบกับกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร กับความเข้มข้นของสารมาตรฐานโทรลอกซ์ รายงานค่าที่ได้ในรูปแบบสมมูลย์โทรลอกซ์ (Pérez-Jiménez and Saura-Calixto, 2006; Huang *et al.*, 2005; Re *et al.*, 1999) สำหรับงานวิจัยนี้วิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงโดยวัดค่ากิจกรรมการจับอนุมูล ABTS^{•+} แล้วเปรียบเทียบกับค่าที่ได้กับกราฟมาตรฐานของโทรลอกซ์ รายงานค่าในรูปแบบสมมูลย์โทรลอกซ์ต่อน้ำหนักตัวอย่าง

4.5.3 ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกไอออน (Ferric reducing antioxidant power, FRAP)

เป็นวิธีวัดความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการรีดิวซ์โลหะ โดยในระบบที่มีพีเอชต่ำ (pH ~ 3.6) สารประกอบเชิงซ้อนของ Fe³⁺-TPTZ จะถูกสารต้านอนุมูลอิสระรีดิวซ์ไปอยู่ในรูปของเฟอร์รัสไอออน (Fe²⁺) ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร เพิ่มขึ้น (Benzie and Strain, 1996; Huang *et al.*, 2005) เดิมการคำนวณความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจะเปรียบเทียบกับกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร กับปริมาณของเฟอร์รัสซัลเฟต (Ferrous sulfate) ที่ใช้เป็นสารมาตรฐาน และรายงานค่าที่ได้ในรูปแบบสมมูลย์เฟอร์รัสไอออน ต่อมาได้มีการประยุกต์ใช้โทรลอกซ์เป็นสารมาตรฐานเพื่อเปรียบเทียบค่าที่วัดได้เนื่องจากมีข้อดี คือความเข้มข้นของโทรลอกซ์มีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงกับค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงกว่า 2 เท่าเมื่อเทียบกับเฟอร์รัสซัลเฟต ให้ผลการวิเคราะห์เร็วเนื่องจากปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นใช้เวลาเพียง 1-2 นาที และการดูดกลืนแสงจะไม่เปลี่ยนแปลงหลังจากเกิดปฏิกิริยา 30 นาที (Stratil *et al.*, 2006) สำหรับงานวิจัยนี้วิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงโดยวัดความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกไอออนแล้วเปรียบเทียบกับค่าที่ได้กับกราฟมาตรฐานของโทรลอกซ์ รายงานค่าในรูปแบบสมมูลย์โทรลอกซ์ต่อน้ำหนักตัวอย่าง

ในการวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระแต่ละวิธีค่อนข้างมีความผันแปรขึ้นอยู่กับสภาวะที่เกิดขึ้นในแต่ละปฏิกิริยา สารที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา สารมาตรฐานที่ใช้สำหรับการเปรียบเทียบปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในแต่ละวิธีการวิเคราะห์ เป็นต้น ซึ่งอาจทำให้ค่าความสัมพันธ์ที่ได้จากการวิเคราะห์แต่ละวิธีลดลงโดยเฉพาะเมื่อเปรียบเทียบระหว่างปฏิกิริยาที่มีกลไกการเกิดปฏิกิริยาแตกต่างกัน อย่างไรก็ตาม

ก็ตามในการวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารควรมีการเปรียบเทียบวิธีการวิเคราะห์ที่มีความแตกต่างกันอย่างน้อย 2 วิธี หรือมากกว่านั้น และควรมีการเปรียบเทียบแนวโน้มของค่าที่ได้จากการวิเคราะห์จากแต่ละวิธี (Stratil *et al.*, 2006; Schlesier *et al.*, 2002 อ้างโดย Surveswaran *et al.*, 2007)

Surveswaran และคณะ (2007) เปรียบเทียบสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสมุนไพรมะขาม 133 ชนิด โดยนำสมุนไพรมะขามมาอบแห้ง บดเป็นผง จากนั้นทำการสกัดด้วย 80.0 % เมทธานอล กรอง และเก็บสารสกัดที่อุณหภูมิ 4.0 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาวิเคราะห์ ทำการวิเคราะห์สมบัติการจับอนุมูล DPPH[•] สมบัติการจับอนุมูล ABTS^{•+} และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกไอออนพบว่า สมบัติการจับอนุมูล DPPH[•] และสมบัติการจับอนุมูล ABTS^{•+} ของสมุนไพรมะขาม 133 ชนิด มีค่าอยู่ในช่วง 0.0-679.7 มิลลิโมลต่อตัวอย่าง 100 กรัม และ 0.2-500.7 มิลลิโมลสมมูลย์โทรลอกซ์ต่อตัวอย่าง 100 กรัม ตามลำดับ ส่วนความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกไอออนของสมุนไพรมะขาม 133 ชนิด มีค่าอยู่ในช่วง 0.2-124.1 ไมโครโมลสมมูลย์โทรลอกซ์ต่อกรัมตัวอย่าง เมื่อเปรียบเทียบค่าที่ได้จากการวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ 3 วิธี โดยรายงานในรูปค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient, R) และค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Determination coefficient, R²) พบว่าความสัมพันธ์ของสมบัติการจับอนุมูล DPPH[•] และสมบัติการจับอนุมูล ABTS^{•+} มีค่า R และ R² เท่ากับ 0.987 และ 0.973 ตามลำดับ ความสัมพันธ์ของสมบัติการจับอนุมูล ABTS^{•+} และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกไอออน มีค่า R และ R² เท่ากับ 0.962 และ 0.854 ตามลำดับ สำหรับความสัมพันธ์ของสมบัติการจับอนุมูล DPPH[•] และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกไอออนมีค่า R และ R² เท่ากับ 0.881 และ 0.776 ตามลำดับ

4.6 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระของแอนโทไซยานิน

แอนโทไซยานินจัดเป็นฟลาโวนอยด์ชนิดหนึ่งซึ่งสมบัติที่ได้รับความสนใจอย่างมากในปัจจุบัน คือ การเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidants) และสารต้านการกลายพันธุ์ (Antimutagens) ที่เกิดจากอนุมูลอิสระพบว่าวงแหวน B (วงแหวนเบนโซไซไพเรน) ของฟลาโวนอยด์มี o-dihydroxyl (Catechol) ทำหน้าที่ให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระโดยมีอัตราการเข้าทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระเร็วกว่าสารตั้งต้นชนิดอื่น การเกิดปฏิกิริยาดังกล่าวนอกจากจะกำจัดอนุมูลอิสระแล้วยังทำให้สารที่เกิดขึ้นไม่สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดอนุมูลอิสระใหม่ขึ้นอีก (Pedrielli *et al.*, 2001) ดังแสดงใน Figure 12 สำหรับปัจจัยที่ส่งเสริมสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของฟลาโวนอยด์ คือ ตำแหน่งและจำนวนของหมู่ไฮดรอกซิล รวมทั้งโครงสร้างอื่น ๆ ของโมเลกุล โดยหมู่ไฮดรอกซิลในวงแหวน B (Figure 5) เป็นปัจจัยหลักที่ใช้ในการพิจารณาความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระพบว่าหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง C₄, C₂, และ C₆ (วงแหวน B Figure 5) มีผลให้มีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ นอกจากนี้พบว่าหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง C₃ (วงแหวน C Figure 5) และ/หรือหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง C₅ วง

แหวน A Figure 5) และหมู่ 4-คีโต (4-Keto group; C=O วงแหวน C Figure 5) ในโมเลกุลของฟลาโวนอยด์เป็นกลุ่มที่ไวต่อการทำปฏิกิริยากับโลหะจึงช่วยลดการเกิดออกซิเดชันได้อีกทางหนึ่ง ส่วนหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง C₅ และ C₇ (วงแหวน A Figure 5) และหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง C₃ (วงแหวน C Figure 5) มีผลเล็กน้อยต่อสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของฟลาโวนอยด์ (วิวัฒน์หวังเจริญ, 2545)

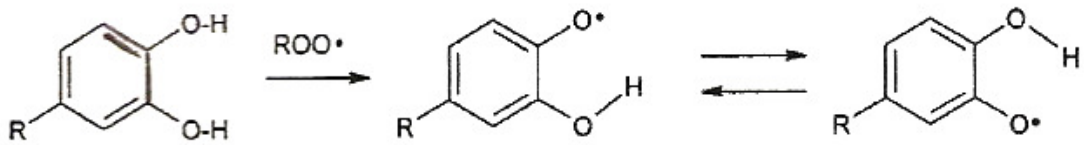
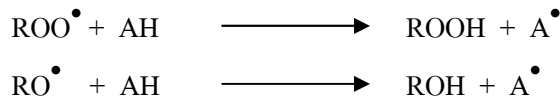


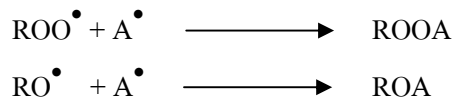
Figure 12 Antioxidant mechanism of flavonoids at B ring

ที่มา : Pedrielli และคณะ (2001)

วิวัฒน์หวังเจริญ (2545) อธิบายกลไกการทำงานของฟลาโวนอยด์ในการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันว่า ฟลาโวนอยด์ (AH) จะทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระและไอออนของโลหะที่สามารถเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและสารอื่นด้วยการให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระ ดังสมการ



เมื่อฟลาโวนอยด์ให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระแล้ว อนุมูลอิสระของฟลาโวนอยด์ (A[•]) จะค่อนข้างเสถียรดังนั้นจึงไม่ทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่น นอกจากนี้อนุมูลอิสระของฟลาโวนอยด์บางชนิดสามารถรวมตัวกับอนุมูลอิสระอื่นทำให้สามารถลดจำนวนอนุมูลอิสระลงได้ 2 เท่า ดังสมการ



นอกจากนี้พบว่าในสภาวะที่มีความเข้มข้นของฟลาโวนอยด์สูง พีเอชสูง และการมีไอออนโลหะอยู่ด้วยนั้นฟลาโวนอยด์อาจเป็นสารตั้งต้นของปฏิกิริยาออกซิเดชันได้เช่นกัน

Özgen และคณะ (2009) ศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของผลมัลเบอร์รี่ (*Morus rubra* L.) โดยหลังการเก็บเกี่ยวจะนำผลมัลเบอร์รี่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -30.0 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาวิเคราะห์ การเตรียมตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์เริ่มจากนำผลมัลเบอร์รี่ที่ผ่านการแช่เยือกแข็งมาคั่งให้ละลายที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำมาปั่นด้วยเครื่องปั่นผสมและทำการสกัดด้วยสารละลายบัพเฟอร์ (อะซีโตน ต่อ น้ำ ต่อ กรดอะซิติก เท่ากับ 70.0 ต่อ 29.5 ต่อ 0.5 ปริมาตรต่อปริมาตรต่อปริมาตร) นำ

สารสกัดที่ได้มาวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในรูปไซยานิดิน 3-กลูโคไซด์ด้วยวิธี pH differential method วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu method และวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP พบว่าสารสกัดดังกล่าวมีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด เท่ากับ 98.8 ± 2.0 ไมโครกรัมไซยานิดิน 3-กลูโคไซด์ต่อกรัมตัวอย่าง ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ 1603.0 ± 578.0 ไมโครกรัมสมมูลย์กรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่าง และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระที่วิเคราะห์ด้วยวิธี FRAP เท่ากับ 6.4 ± 0.5 ไมโครโมลสมมูลย์โทรลอคซ์ต่อกรัมตัวอย่าง ตามลำดับ เมื่อหาค่าความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP โดยรายงานในรูปค่า R พบว่าความสัมพันธ์ของปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในรูปไซยานิดิน 3-กลูโคไซด์และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระที่วิเคราะห์ด้วยวิธี FRAP มีค่า R เท่ากับ 0.990 ความสัมพันธ์ของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านอนุมูลอิสระที่วิเคราะห์ด้วยวิธี FRAP มีค่า R เท่ากับ 0.970 ในขณะที่ความสัมพันธ์ของปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในรูปไซยานิดิน 3-กลูโคไซด์และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีค่า R เท่ากับ 0.990

Wang และคณะ (2010) ศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากกากองุ่นซึ่งเป็นเศษเหลือจากกระบวนการผลิตน้ำองุ่น โดยนำสารสกัดจากกากองุ่นมาวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu method ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดตามวิธีของ Park และคณะ (1997) ทำการจำแนกชนิดของแอนโทไซยานิดินด้วย HPLC-Diode array detection (DAD) จากนั้นทำการวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณแอนโทไซยานิดินแต่ละชนิดโดยใช้กราฟมาตรฐาน และวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ 3 วิธี คือ DPPH reducing power ซึ่งจะเปรียบเทียบสมบัติการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีวิเคราะห์ดังกล่าวกับสารบีเอชที และ Metal chelating ซึ่งจะเปรียบเทียบสมบัติการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีวิเคราะห์ดังกล่าวกับสารอีดีทีเอ พบว่าสารสกัดจากกากองุ่นมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด เท่ากับ 34.10 ± 1.80 มิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด และ 3.00 ± 0.30 มิลลิกรัมสมมูลย์เคอร์ซีดินต่อกรัมสารสกัด ปริมาณแอนโทไซยานิดินแต่ละชนิดคือ พีโอนิดิน พิทูนิติน มัลวิดิน เดลฟินิดิน และไซยานิดิน เท่ากับ 25.32 ± 0.08 15.50 ± 0.06 10.39 ± 0.06 5.57 ± 0.05 และ 3.62 ± 0.04 มิลลิกรัมต่อสารสกัด 100 มิลลิตร ตามลำดับ และจากการวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากกากองุ่นพบว่าสมบัติการต้านอนุมูลอิสระที่วิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH ที่ระดับความเจือจางของสารสกัด 1/500 จะแสดงสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ 70.00 % ซึ่งใกล้เคียงกับสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารบีเอชทีที่ระดับความเข้มข้น 100.00 พีพีเอ็ม ส่วนสมบัติการต้านอนุมูลอิสระที่วิเคราะห์ด้วยวิธี Reducing power ที่ระดับความเจือจางของสารสกัด 1/2000 จะแสดงสมบัติการต้านอนุมูลอิสระใกล้เคียงกับสารบีเอชทีที่ระดับความเข้มข้น 100.00 พีพีเอ็ม ในขณะที่

สมบัติการต้านอนุมูลอิสระที่วิเคราะห์ด้วยวิธี Metal chelating ที่ระดับความเจือจางของสารสกัด 1/500 จะแสดงสมบัติการต้านอนุมูลอิสระประมาณ 35.00 % ซึ่งใกล้เคียงกับสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารอีดีทีเอที่ระดับความเข้มข้น 50.00 พีพีเอ็ม

Zheng และคณะ (2010) ศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของผลไม้ตระกูลเบอร์รี่ (*Nitraria tangutorun* Bobr.) โดยทำการสกัดตัวอย่างตามวิธีของ Zhang และคณะ (2007) แล้วนำสารสกัดที่ได้มาแยกชนิดของแอนโทไซยานินด้วย HPLC/DAD-Electrospray ionisation (ESI)/Mass spectrometer (MS) จากนั้นทำการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานิน (Cyanidin 3-*O*-trans-p-coumaroyl-diglucoside) โดยใช้กราฟมาตรฐานของ Malvidin 3,5-di-*O*-glucoside วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu method และวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ 3 วิธี คือ DPPH ABTS และ FRAP พบว่าสารสกัดดังกล่าวมีปริมาณแอนโทไซยานิน (Cyanidin 3-*O*-trans-p-coumaroyl-diglucoside) เท่ากับ 215.8±22.9 มิลลิกรัมสมมูล Malvidin 3,5-di-*O*-glucoside ต่อตัวอย่าง 100 กรัม ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ 401.6±59.7 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อตัวอย่าง 100 กรัม และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระที่วิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH ABTS และ FRAP เท่ากับ 308.4±31.5 459.0±25.9 และ 886.7±48.4 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อตัวอย่าง 100 กรัม ตามลำดับ เมื่อหาค่าความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอนโทไซยานิน ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระทั้ง 3 วิธี โดยรายงานในรูปค่า R พบว่าความสัมพันธ์ของปริมาณแอนโทไซยานิน (Cyanidin 3-*O*-trans-p-coumaroyl-diglucoside) และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระที่วิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH ABTS และ FRAP มีค่า R เท่ากับ 0.977 0.998 และ 0.995 ตามลำดับ ส่วนความสัมพันธ์ของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านอนุมูลอิสระที่วิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH ABTS และ FRAP มีค่า R เท่ากับ 0.940 0.943 และ 0.955 ตามลำดับ

4.7 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระของกระเจี๊ยบแดง

ปารมี ชุมศรี และคณะ (2550) ศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงสดและกระเจี๊ยบแดงแห้ง โดยสกัดกระเจี๊ยบแดงสดด้วยน้ำใช้อัตราส่วนกระเจี๊ยบแดงสดต่อน้ำ เท่ากับ 1 ต่อ 2 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ที่อุณหภูมิ 50.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที พบว่าสารสกัดดังกล่าวมีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ 45.1±0.1 มิลลิกรัมไซยานิดิน 3-กาแลกโตไซด์ต่อกระเจี๊ยบแดงสด 100 กรัม และ 22.2±0.3 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัดกระเจี๊ยบแดง ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่าสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงสดมีสมบัติการจับอนุมูล DPPH[•] รายงานค่าที่วัดได้ในรูป EC₅₀ เท่ากับ 27.9±1.3 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนการสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งใช้อัตราส่วนกระเจี๊ยบแดงแห้งต่อน้ำ เท่ากับ 1 ต่อ 10 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ที่อุณหภูมิ 50.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที พบว่าสารสกัดดังกล่าวมีปริมาณแอนโท-

ไซยานินทั้งหมดและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ 502.3 ± 0.5 มิลลิกรัมไซยานิดิน 3-กาแลคโตไซด์ต่อกระเจี๊ยบแดงแห้ง 100 กรัม และ 43.0 ± 0.1 มิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัดกระเจี๊ยบแดง ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่าสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงแห้งมีสมบัติการจับอนุมูล DPPH[•] รายงานค่าที่วัดได้ในรูป EC₅₀ เท่ากับ 44.8 ± 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

Tsai และคณะ (2002) ศึกษาเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดและสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกระเจี๊ยบแดง โดยใช้กระเจี๊ยบแดงพันธุ์ F 141 ที่ผ่านการทำแห้งที่อุณหภูมิ 50.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 36 ชั่วโมง นำเก็บที่อุณหภูมิ -25.0 องศาเซลเซียส ก่อนนำมาใช้ในการสกัด ทำการสกัดโดยใช้กระเจี๊ยบแดงแห้ง 3.0 กรัม สกัดโดยใช้น้ำร้อน 300 มิลลิลิตร เป็นเวลา 0.5 1.0 1.5 2.0 2.5 และ 3.0 นาที กรองและนำสารสกัดเก็บที่อุณหภูมิ 4.0 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปวิเคราะห์ ทำการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร และวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ 3 วิธี คือ FRAP Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) และ Total antioxidant status (TAS) พบว่าสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้น โดยกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดและสมบัติการต้านอนุมูลอิสระที่วิเคราะห์ด้วยวิธี FRAP มีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง และมีค่า R² เท่ากับ 0.838 นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบค่าที่ได้จากการวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระทั้ง 3 วิธี พบว่าความสัมพันธ์ของสมบัติการต้านอนุมูลอิสระที่วิเคราะห์ด้วยวิธี FRAP และ ORAC มีค่า R² เท่ากับ 0.929 ในขณะที่ความสัมพันธ์ของสมบัติการต้านอนุมูลอิสระที่วิเคราะห์ด้วยวิธี FRAP และ TAS มีค่า R² เท่ากับ 0.941

Chirunthorn และคณะ (2004) ศึกษาวิธีการสกัดต่อสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงโดยการสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งด้วยวิธีการสกัดแตกต่างกัน 3 วิธี คือ การสกัดด้วยเมทานอล การสกัดด้วยน้ำแล้วทำแห้งด้วยวิธีการทำแห้งแบบสุญญากาศ และการสกัดด้วยน้ำแล้วทำแห้งด้วยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอย นำสารสกัดกระเจี๊ยบแดงที่ได้จากการสกัดทั้ง 3 วิธี มาวิเคราะห์สมบัติการจับอนุมูล DPPH[•] รายงานค่าในรูป EC₅₀ พบว่าสารสกัดกระเจี๊ยบแดงที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำแล้วทำแห้งด้วยวิธีการทำแห้งแบบสุญญากาศ และการสกัดด้วยน้ำแล้วทำแห้งด้วยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอยมีสมบัติการจับอนุมูล DPPH[•] ที่ดีโดยมีค่า EC₅₀ เท่ากับ 15.1 และ 11.3 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดกระเจี๊ยบแดงที่ได้จากการสกัดด้วยเมทานอลมีสมบัติการจับอนุมูล DPPH[•] เพียงเล็กน้อยโดยมีค่า EC₅₀ เท่ากับ 73.9 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

Sukhapat และคณะ (2004) ศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกระเจี๊ยบแดง โดยการสกัดกระเจี๊ยบแดงสดด้วยน้ำ จากนั้นนำสารสกัดมาทำแห้งด้วยวิธีการทำแห้งแบบสุญญากาศ ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดรายงานค่าในรูปมิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิกต่อ

กรัมของสารสกัด และสมบัติการจับอนุมูล DPPH[•] รายงานค่าในรูป EC₅₀ พบว่าสารสกัดดังกล่าวมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ 4.1±0.5 มิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด และสมบัติการจับอนุมูล DPPH[•] มีค่า EC₅₀ เท่ากับ 18.5±1.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้พบว่า จากกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการจับอนุมูล DPPH[•] มีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงและมีค่า R² เท่ากับ 0.925 จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัด กระเจี๊ยบแดงมีสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ดี

Sáyago-Ayerdi และคณะ (2007) ศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของกระเจี๊ยบแดง โดยวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu method และวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ 3 วิธี คือ FRAP ABTS และ ORAC พบว่ากระเจี๊ยบแดงมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ 2.17±0.04 กรัมสมมูลย์กรดแกลลิกต่อกระเจี๊ยบแดง 100 กรัม และมีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระที่วิเคราะห์ด้วยวิธี FRAP ABTS และ ORAC เท่ากับ 66.30±11.20 90.80±34.80 และ 303.50±8.20 ไมโครโมลสมมูลย์โทรลอคซ์ต่อกรัมกระเจี๊ยบแดง ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่าสมบัติการต้านอนุมูลอิสระที่วิเคราะห์ด้วยวิธี ORAC มีค่าที่แตกต่างจากสมบัติการต้านอนุมูลอิสระที่วิเคราะห์ด้วยวิธี FRAP และ ABTS อาจเกิดขึ้นเนื่องจากความไม่มีขั้วของตัวทำละลายที่ใช้ในวิธีวิเคราะห์นี้

5. ผลกระทบผลไม้แผ่น

ผลิตภัณฑ์ผลไม้แผ่น (Fruit leather product) คือ ผลิตภัณฑ์ที่ทำจากเนื้อผลไม้บด (Fruit puree) หรือน้ำผลไม้เข้มข้น (Fruit juice concentrate) อาจมีหรือไม่มีส่วนผสมอื่นลงไป ในขั้นตอนการตีปั่นและทำให้เป็นแผ่นบางก่อนนำไปผ่านกระบวนการอบแห้ง (Huang and Hsieh, 2005) ผลไม้หลายชนิดสามารถนำมาทำผลไม้แผ่นได้ เช่น มะละกอ ส้ม ขนุน บัว กล้วย ท้อ แอปเปิ้ล องุ่น เบอร์รี่ กีวี แพร่ เป็นต้น (Che Man and Sin, 1997; Irwandi and Che Man, 1996; Brady, 1989; Ayotte, 1980; Chen *et al.*, 2001; Raab and Oehler, 1976; Moyls, 1987; MacKenzie and Strachan, 1981; Chauhan *et al.*, 1993; Maskan *et al.*, 2002; อ้าง โดย Huang and Hsieh, 2005)

Jueanville และ Badrie (2007) ศึกษาผลของแซนแทนกัมต่อคุณภาพทางกายภาพและการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น โดยทำการผลิตเพียวเร่กระเจี๊ยบแดงซึ่งเตรียมได้จากการย่อยกิลิปีกระเจี๊ยบแดงด้วยเอนไซม์เพกโตเลส (Pectolase) จากนั้นนำเพียวเร่กระเจี๊ยบแดงที่ได้ (ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด เท่ากับ 5.0 องศาบริกซ์) มาเติมซูโครสจนกระทั่งมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด เท่ากับ 50.0 องศาบริกซ์ และเติมโพแทสเซียมซอร์เบต 0.2 % ทำการแบ่งตัวอย่างออกเป็น 2 ชุดการทดลอง คือ (1) ชุดควบคุมที่ไม่เติมแซนแทนกัม และ (2) ชุดการทดลองที่เติมแซนแทนกัม 0.15 % น้ำหนักต่อน้ำหนัก นำไปอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนแบบพาความร้อน (Convection oven) ที่อุณหภูมิ 50.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนำผลิตภัณฑ์

กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่ได้ไปวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพและการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส โดยเมื่อพิจารณาคุณภาพทางกายภาพพบว่าชุดควบคุม (1) ที่ไม่เติมแซนแทนกัม มีค่า L (ค่าความสว่าง) ค่า Chroma (ค่าความเข้มของสี, $0 =$ สีซีดหรือเทา และ $90 =$ สีเข้ม) และค่า Hue angle (ค่ามุมของสี, 0° หรือ $360^{\circ} =$ สีแดง $90^{\circ} =$ สีเหลือง $180^{\circ} =$ สีเขียว และ $270^{\circ} =$ สีน้ำเงิน) เท่ากับ 39.5 4.9 และ 0.0° ตามลำดับ และมีค่า Firmness เท่ากับ 2.9 มิลลิเมตรต่อ 2 วินาที ส่วนชุดการทดลอง (2) ที่เติมแซนแทนกัม 0.15 % น้ำหนักต่อน้ำหนัก จะไม่ส่งผลต่อค่า L แต่ทำให้ค่า Chroma และ Hue angle เพิ่มขึ้น และทำให้ค่า Firmness ของผลิตภัณฑ์ลดลง และเมื่อพิจารณาการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นด้วยวิธีการให้คะแนนความชอบแบบ 9 ระดับคะแนนความชอบ (9-Point hedonic scale) พบว่าการเติมหรือไม่เติมแซนแทนกัมจะไม่ส่งผลต่อคุณลักษณะด้านความชอบโดยรวม (Overall liking) ของผลิตภัณฑ์โดยผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นมีคะแนนคุณลักษณะด้านความชอบโดยรวมอยู่ที่ระดับชอบปานกลาง (ระดับคะแนนความชอบ 7.8-7.7)

เนื่องจากในปัจจุบันมีงานวิจัยที่มีการนำกระเจี๊ยบแดง ตลอดจนเศษเหลือของกระเจี๊ยบแดงที่ได้จากกระบวนการแปรรูปมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ผลไม้แผ่นค่อนข้างน้อย งานวิจัยนี้จึงนำกากกระเจี๊ยบแดงซึ่งเป็นเศษเหลือที่ได้จากกระบวนการผลิตเครื่องดื่มน้ำกระเจี๊ยบแดงที่ยังมีปริมาณใยอาหารและปริมาณแอนโทไซยานินสูงมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นเพื่อเป็นผลิตภัณฑ์รูปแบบใหม่จากกระเจี๊ยบแดงที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค และเป็นการเพิ่มมูลค่าเศษเหลือจากการแปรรูปผลิตผลทางการเกษตร

5.1 ส่วนผสมของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น

5.1.1 เพียวเร่และเพียวเร่กระเจี๊ยบแดง (Puree and roselle puree)

เพียวเร่ (Puree) หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ทำจากผักหรือผลไม้ที่บดแล้วระเหยน้ำให้มีความเข้มข้นขึ้นจนวัดปริมาตรของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำด้วยรีเฟรคโตมิเตอร์ได้ไม่เกิน 25.0 % (ประสิทธิ์ อติวีระกุล, 2527) สำหรับงานวิจัยส่วนนี้ทำการศึกษาการพัฒนากระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นจากกากกระเจี๊ยบแดงโดยนำกากกระเจี๊ยบแดงซึ่งเป็นเศษเหลือจากกระบวนการผลิตเครื่องดื่มน้ำกระเจี๊ยบแดงมาทำการผลิตเพียวเร่กระเจี๊ยบแดง (Roselle puree) สำหรับใช้เป็นส่วนผสมหลักในการผลิตผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น

5.1.2 สารเพิ่มความคงตัว (Stabilizer)

5.1.2.1 เพกติน

เพกติน (Pectin) เป็นสารที่ได้จากการสกัดส่วนที่รับประทานได้ของผลไม้ เช่น เปลือกส้ม เปลือกมะนาว และกากแอปเปิ้ล เป็นต้น โครงสร้างโมเลกุลเป็นสายตรงของ (1 → 4)-linked α -D-

galactopyranosyluronic acid units โดยสายแขนงส่วนใหญ่เป็นน้ำตาลอะราบิโนส และกาแล็กโทส มีบางส่วนเป็นน้ำตาลกลูโคส ไซโลส และแรมโนส โดยหมู่คาร์บอกซิล (-COOH) ในโมเลกุลของกรดกาแล็กโทโรนิกบางส่วนจะทำปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันกับหมู่เมทิล (-CH₃) ได้เป็นเมทอกซิลเอสเทอร์ และมีบางส่วนคงเหลือเป็นหมู่คาร์บอกซิลอิสระ เพกตินสามารถแบ่งประเภทตามระดับการแทนที่ของหมู่เมทอกซิล (Degree of methoxylation, DM) ได้เป็น 2 ประเภทใหญ่ ๆ คือ ชนิดเมทอกซิลสูง (High methoxyl pectin) คือ เพกตินที่มีหมู่เมทอกซิล (-COOCH₃) มากกว่า 50.0 % (DM ≥ 50.0) ซึ่งจะเกิดเจลในระบบที่มีความเป็นกรดต่ำ (pH 2.0-3.5) และความเข้มข้นของน้ำตาลสูง (≥ 55.0 %) ใช้ในการผลิตแยม เยลลี่ มาร์มาเลด และชนิดเมทอกซิลต่ำ (Low methoxyl pectin) คือ เพกตินที่มีหมู่เมทอกซิล (-COOCH₃) น้อยกว่า 50.0 % (DM ≤ 50.0) ซึ่งจะเกิดเจลในระบบที่มีไอออนประจุสองบวก (Divalent cation) และไม่ต้องการน้ำตาลในการเกิดเจล ใช้ในการผลิตแยมและเยลลี่ที่ให้แคลอรีต่ำ โครงสร้างทางเคมีของเพกตินชนิดเมทอกซิลสูงและชนิดเมทอกซิลต่ำ ดังแสดงใน Figure 13 และ Figure 14 การเกิดเจลของเพกตินชนิดเมทอกซิลสูง ดังแสดงใน Figure 15 ในอุตสาหกรรมอาหารมีการใช้เพกตินเป็นสารที่ทำให้เกิดเจล (Gelling agent) สารเพิ่มความคงตัว สารเพิ่มความหนืด (Thickening agent) และสารที่ดูดซับน้ำ (Water binder) (BeMiller and Whistler, 1996; Aurand and Woods, 1973) สำหรับงานวิจัยนี้เลือกใช้เพกตินชนิดเมทอกซิลสูงในการผลิตผลิตภัณฑ์ดังกล่าว เนื่องจากต้องการผลิตผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นแบบดั้งเดิมที่มีการใช้ชูโครสเป็นสารให้ความหวานซึ่งในสภาวะดังกล่าวเป็นสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเกิดเจลของเพกตินชนิดเมทอกซิลสูง

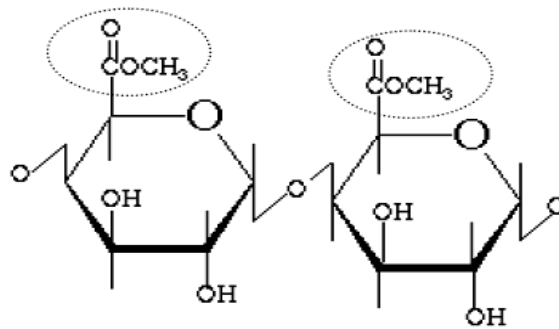


Figure 13 Chemical structures of high methoxyl pectin

ที่มา : Anonymous (2005)

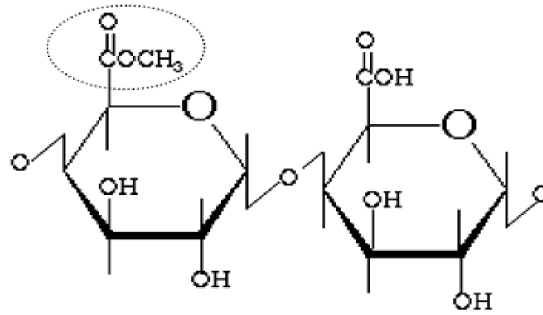


Figure 14 Chemical structures of low methoxyl pectin

ที่มา : Anonymous (2005)

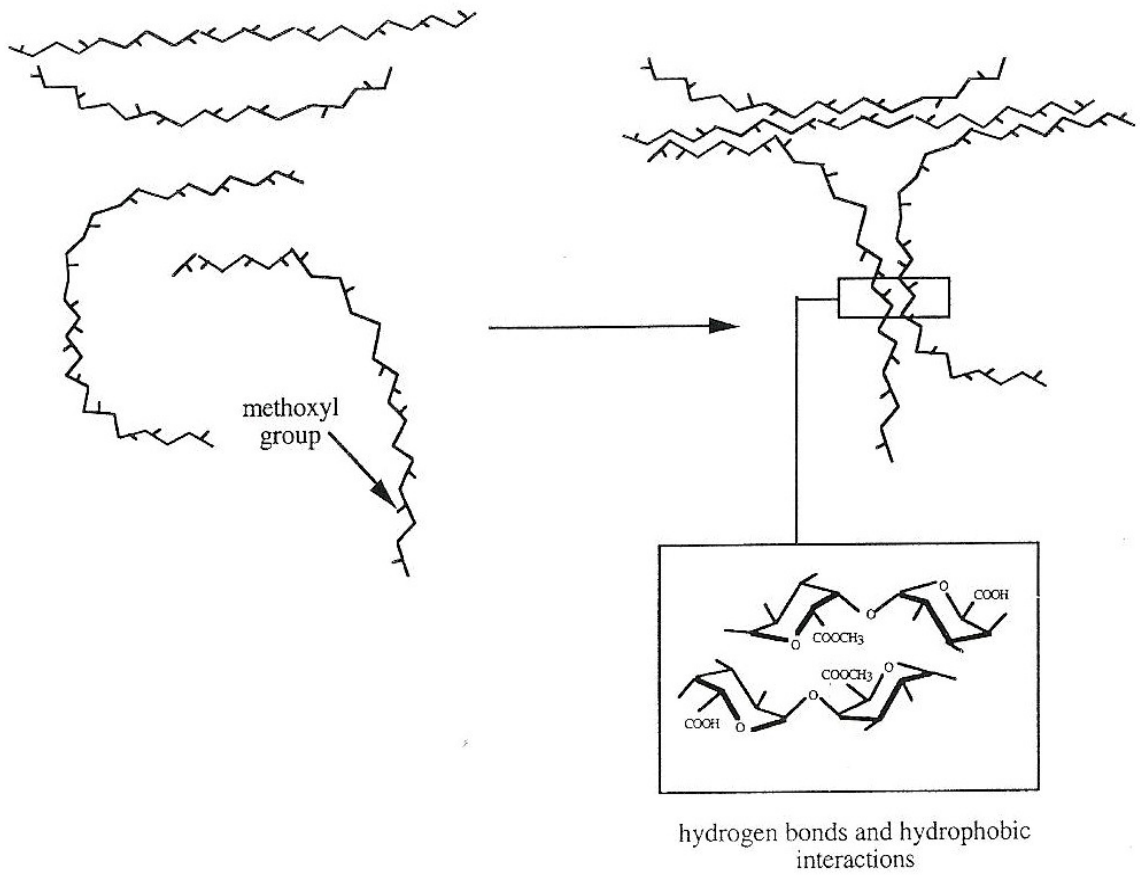


Figure 15 Gelation of high methoxyl pectin

ที่มา : Ralet *et al.* (2005)

Huang และ Hsieh (2005) ศึกษาผลของเพกตินต่อค่าสี ค่า a_w และคุณลักษณะเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์แพร์แผ่นซึ่งมีส่วนผสมในการผลิตดังนี้ น้ำ 4.0 % น้ำหนักต่อน้ำหนัก และเพกตินชนิดเมทอกซิลสูง (ค่า DM เท่ากับ 85.0 %) จำนวน 3 ระดับความเข้มข้น คือ 16.0 20.0 และ 24.0 % น้ำหนักต่อน้ำหนัก จากผลของค่าสีแสดงให้เห็นว่าปริมาณเพกตินที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ค่า L ลดลงเล็กน้อย ส่วนค่า a (ค่าความเป็นสีแดง) และค่า b (ค่าความเป็นสีเหลือง) เพิ่มขึ้น จากผลของค่า a_w แสดงให้เห็นว่าปริมาณเพกตินที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ค่า a_w ลดลง เนื่องจากการเกิดอันตรกิริยาระหว่างเพกตินและน้ำในผลิตภัณฑ์ทำให้ปริมาณน้ำที่เป็นประโยชน์ในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์หรือค่า a_w ลดลง และจากผลของค่าคุณลักษณะเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์แพร์แผ่นที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง Texture analyzer แสดงให้เห็นว่าปริมาณเพกตินที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ค่า Hardness Cohesiveness Springiness และ Chewiness เพิ่มขึ้น เนื่องจากเพกตินที่ใช้เป็นชนิดเมทอกซิลสูงจึงสามารถเกิดเจลในระบบที่มีค่าพีเอชต่ำและมีความเข้มข้นของน้ำตาลสูงโดยโมเลกุลของเพกตินจะเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างกันและเกิดลักษณะโครงข่ายของเจลทำให้มีความสามารถในการต้านทานการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติเนื้อสัมผัสจึงส่งผลให้ค่า Hardness Cohesiveness Springiness และ Chewiness เพิ่มขึ้น

Vatthanakul และคณะ (2010) ศึกษาผลของเพกตินต่อค่าสี ปริมาณความชื้น คุณลักษณะเนื้อสัมผัส และการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ก๊วยแผ่นซึ่งมีส่วนผสมในการผลิตต่อน้ำหนักเพียวเรกีวี 100 กรัม ดังนี้ ซูโครส 6.0 กรัม เกลือ 0.5 กรัม กรดซิตริก 0.2 กรัม น้ำ 10.0 กรัม กลูโคสไซรัป 15.0 กรัม และเพกตินจำนวน 3 ระดับความเข้มข้น คือ 1.0 2.0 และ 3.0 กรัมต่อเพียวเรกีวี 100 กรัม จากผลของค่าสีแสดงให้เห็นว่าปริมาณเพกตินที่เพิ่มขึ้นไม่ส่งผลต่อค่า L^* และ a^* แต่จะทำให้ค่า b^* ของผลิตภัณฑ์เพิ่มขึ้นเล็กน้อย จากผลของปริมาณความชื้นแสดงให้เห็นว่าปริมาณเพกตินที่เพิ่มขึ้นทำให้ปริมาณความชื้นของผลิตภัณฑ์เพิ่มขึ้นเล็กน้อย จากผลคุณลักษณะเนื้อสัมผัสที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง Instron instrument แสดงให้เห็นว่าปริมาณเพกตินที่เพิ่มขึ้นทำให้ค่า Tensile strength เพิ่มขึ้น เนื่องจากเพกตินมีคุณสมบัติในการทำให้เกิดโครงสร้าง (Structural properties) ในอาหารหลายชนิด ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับผลการทดลองของผลิตภัณฑ์สตอร์เบอร์รี่แผ่น (Ratphitagsanti *et al.*, 2004) และจากผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้วยวิธีการให้คะแนนความชอบแบบ 9 ระดับคะแนนความชอบแสดงให้เห็นว่าปริมาณเพกตินที่เพิ่มขึ้นไม่ส่งผลต่อคุณลักษณะด้านความชอบโดยรวมของผลิตภัณฑ์โดยผลิตภัณฑ์ก๊วยแผ่นมีคะแนนคุณลักษณะด้านความชอบโดยรวมอยู่ที่ระดับชอบเล็กน้อย (ระดับคะแนนความชอบ 6.1-6.6)

5.1.2.2 กัวร์กัม

กัวร์กัม (Guar gum) ได้จากเอนโดสเปิร์มของเมล็ดจากต้น Guar (*Cyamopsis tetragonolobus*) โครงสร้างโมเลกุลเป็นสายหลักของ (1-4)- β -D-mannopyranosyl units โดยที่ตำแหน่ง O-6 มีสายแขนงของ α -D-galactopyranosyl units และมีน้ำหนักโมเลกุล 220,000-250,000 ดาลตัน กัวร์กัมไม่สามารถเกิดเจลได้แต่อุ้มน้ำและกระจายตัวได้ดีในน้ำเย็น ทนต่อค่าพีเอชในช่วงกว้างตั้งแต่ 4.0-10.0 ในอุตสาหกรรมอาหารมีการใช้กัวร์กัมเป็นสารเพิ่มความหนืดและสารเพิ่มความคงตัว (BeMiller and Whistler, 1996; นิธิยา รัตนาปนนท์, 2549) โครงสร้างทางเคมีของกัวร์กัม ดังแสดงใน Figure 16

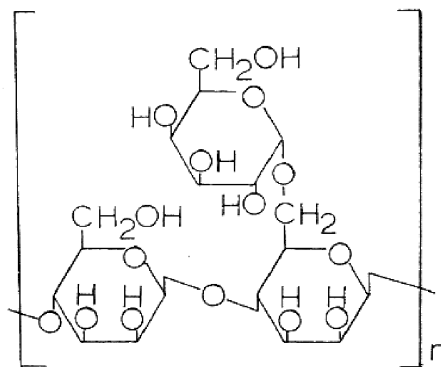


Figure 16 Chemical structures of guar gum

ที่มา : Whistler และ Daniel (1985)

Gujral และ Brar (2003) ศึกษาผลของไฮโดรคอลลอยด์ต่อค่าสีและคุณลักษณะเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์มะม่วงแผ่นซึ่งมีส่วนผสมในการผลิตดังนี้ ชูโครส 20.0 % โปแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 0.2 % และไฮโดรคอลลอยด์ 4 ชนิด ได้แก่ กัวร์กัม เพกติน โซเดียมแอลจินेट และกัมอะคาเซีย แต่ละชนิดไฮโดรคอลลอยด์มี 4 ระดับความเข้มข้น คือ 0.0 (ชุดควบคุม) 1.0 2.0 และ 3.0 % น้ำหนักต่อน้ำหนัก จากผลการทดลองพบว่าค่า L a และ b ของชุดควบคุม เท่ากับ 35.1 12.3 และ 22.7 ตามลำดับ โดยการเพิ่มระดับความเข้มข้นของไฮโดรคอลลอยด์จะทำให้ค่า a และค่า b ลดลงแต่จะไม่มีผลต่อค่า L ของผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้พบว่าในชุดการทดลองที่มีการเติมโซเดียมแอลจินेटจะทำให้ค่า b ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) จากการศึกษาผลของการเติมไฮโดรคอลลอยด์ต่อคุณลักษณะเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์มะม่วงแผ่นที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง Instron instrument พบว่าชุดควบคุมมีค่า Extensibility และ Peak force to rupture เท่ากับ 14.6 มิลลิเมตร และ 0.004 กิโลนิวตัน ตามลำดับ โดยการเพิ่มระดับความเข้มข้นของไฮโดรคอลลอยด์จะเพิ่มค่า Extensibility และ Peak force to rupture นอกจากนี้พบว่าในชุดการทดลองที่มีการเติมกัวร์กัมจะให้ค่า Extensibility สูงสุด รองลงมาคือ โซเดียมแอลจินेट เพกติน และกัมอะคาเซีย ตามลำดับ ส่วนชุดการทดลองที่มีการเติมกัวร์กัมจะให้ค่า Peak force to rupture สูงสุด

รองลงมาคือ เพกติน โซเดียมแอลจินेट และกัมอะคาเซีย ตามลำดับ จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า กัวร์กัมและเพกตินเป็นสารปรับปรุงเนื้อสัมผัสที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์มะม่วงแผ่น

5.1.2.3 มอลโทเดกซ์ทริน

มอลโทเดกซ์ทริน (Maltodextrin) เป็นโพลิไกลิโคแซคคาไรด์ที่ได้จากการย่อยสลายแป้งด้วยเอนไซม์หรือกรด ประกอบด้วยโมโนแซคคาไรด์ 1-10 หน่วยที่เชื่อมกันด้วยพันธะ α -1,4 ไกลโคซิดิก ผลิตภัณฑ์แป้งที่ได้จากการไฮโดรไลซ์ที่มีค่าสมมูลเดกซ์โทรส (Dextrose equivalent, DE คือ ปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์ซึ่งทั้งหมดแสดงในรูปเดกซ์โทรส) ต่ำกว่า 20.0 จัดเป็นมอลโทเดกซ์ทริน (อรพิน ภูมิภมร และประเสริฐ อธิวิกุล, 2535) มอลโทเดกซ์ทรินมีลักษณะเป็นผงสีขาว มีความชื้นประมาณ 3.0-5.0 % มีรสหวานเล็กน้อย (อักกะบัทคาน ปาทาน และนวนลศรี รักษิระธรรม, 2539) ในอุตสาหกรรมอาหาร นิยมใช้มอลโทเดกซ์ทรินเป็นสารที่ทำหน้าที่เป็น โครงสร้าง (Bodying agent) สารที่ทำหน้าที่เป็นตัวเชื่อม (Binding agent) สารที่ทำหน้าที่เป็นตัวพากลิ่นรส (Taste and flavor carrier) (อรพิน ภูมิภมร และประเสริฐ อธิวิกุล, 2535) และอาจเติมลงในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อเพิ่มปริมาณเนื้ออาหารให้มากขึ้น (นิธิยา รัตนานนท์, 2549) โครงสร้างทางเคมีของมอลโทเดกซ์ทริน ดังแสดงใน Figure 17 รัตนา อัดตปัญญาญ และคณะ (2550) ทำการผลิตผลิตภัณฑ์ฝรั่งแผ่นโดยใช้มอลโทเดกซ์ทรินที่มีค่า DE 10 เป็นสารเพิ่มความคงตัว ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้มอลโทเดกซ์ทรินดังกล่าวมาใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่น

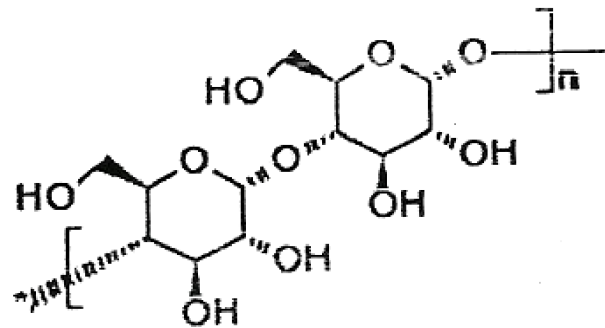


Figure 17 Chemical structures of maltodextrin

ที่มา : กล้าณรงค์ ศรีรอด และเกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ (2550)

รัตนา อัดตปัญญาญ และคณะ (2550) ศึกษาชนิดของสารปรับปรุงเนื้อสัมผัสที่เหมาะสมในการผลิตผลิตภัณฑ์ฝรั่งแผ่นซึ่งมีส่วนผสมในการผลิตต่อน้ำหนักเนื้อฝรั่ง 100 กรัม ดังนี้ ซูโครส 6.0 กรัม ฟรุคโตสไซรัป 1.8 กรัม กลูโคสไซรัป (แบะแซ) 5.1 กรัม กลีเซอรอล 1.8 กรัม น้ำ 10.0 กรัม และกรดซิตริก 0.1 กรัม ทำการแบ่งชุดการทดลองออกเป็น 3 ชุดการทดลอง คือ (1) ชุดควบคุมที่ไม่เติมสารปรับปรุงเนื้อสัมผัส (2) ชุดการทดลองที่เติมสารปรับปรุงเนื้อสัมผัส คือ มอลโทเดกซ์ทริน (DE 10)

5.0 กรัมต่อเนื้อฟร้ง 100 กรัม และ (3) ชุดการทดลองที่เติมสารปรับปรุงเนื้อสัมผัส คือ เพกติน (Rapid set) 0.5 กรัมต่อเนื้อฟร้ง 100 กรัม จากผลของคุณลักษณะเนื้อสัมผัสที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง Texture analyzer และเครื่อง Instron instrument พบว่าชุดการทดลอง (2) ที่เติมมอลโทเดกซ์ทริน 5.0 กรัมต่อเนื้อฟร้ง 100 กรัม มีค่า Hardness และ Tensile strength ต่ำสุด ทั้งนี้เนื่องจากมอลโทเดกซ์ทรินเป็นสารในกลุ่มคาร์โบไฮเดรตจึงทำให้ผลิตภัณฑ์มีความนุ่ม (กล้าณรงค์ ศรีรอด, 2542) นอกจากนี้พบว่าชุดการทดลอง (3) ที่เติมเพกติน 0.5 กรัมต่อเนื้อฟร้ง 100 กรัม มีค่า Hardness Shear stress และ Tensile strength สูงสุด ทั้งนี้เนื่องเพกตินซึ่งเป็นสารในกลุ่มไฮโดรคอลลอยด์มีผลทำให้เกิดเจลที่มีความแข็งแรง และจากผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้วยวิธีการให้คะแนนความชอบแบบ 9 ระดับคะแนนความชอบ พบว่าชุดการทดลอง (2) ที่เติมมอลโทเดกซ์ทริน 5.0 กรัมต่อเนื้อฟร้ง 100 กรัม มีคะแนนคุณลักษณะเนื้อสัมผัสมากที่สุด จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่ามอลโทเดกซ์ทรินเป็นสารปรับปรุงเนื้อสัมผัสที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์ฟร้งแผ่น

5.1.3 สารให้ความหวาน (Sweetener)

5.1.3.1 ซูโครส

ซูโครส (Sucrose) หรือน้ำตาลทรายเป็นไดแซ็กคาไรด์ที่ประกอบด้วยโมโนแซ็กคาไรด์ 2 โมเลกุล คือ กลูโคส และฟรักโตส เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ α -1,2 ไกลโคซิดิก คุณสมบัติทั่วไปของซูโครส คือ สามารถละลายได้ดีในน้ำแต่ไม่คงตัวในสารละลายที่เป็นกรด และหากได้รับความร้อนถึงอุณหภูมิ 210.0 องศาเซลเซียส จะเกิดการสลายตัวได้เป็นคาราเมล (Caramel) มีสีน้ำตาล จุดประสงค์ของการใช้ซูโครสในผลิตภัณฑ์อาหารนอกจากจะใช้เป็นสารให้ความหวานแล้วซูโครสยังเพิ่มความชื้นหนืด เพิ่มความคงตัว ช่วยเก็บรักษากลิ่นรส ทำให้เกิดสีน้ำตาล และลดค่า a_w ในผลิตภัณฑ์อาหาร (นิธิยา รัตนานนท์, 2549; สุวรรณมา สุภิมารส, 2543) โครงสร้างทางเคมีของซูโครส ดังแสดงใน Figure 18

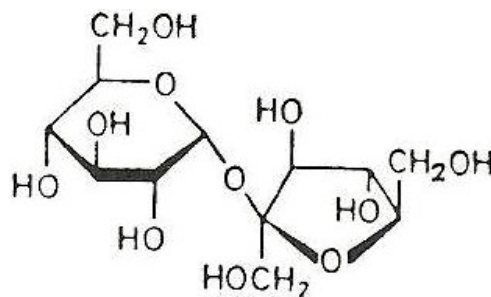


Figure 18 Chemical structures of sucrose

ที่มา : Deman (1990)

5.1.3.2 ซูคราโลส

ซูคราโลส (Sucralose) จัดเป็นสารให้ความหวานทดแทนซูโครสชนิดหนึ่งซึ่งถูกสร้างจากการใช้น้ำตาลซูโครสเป็นสารตั้งต้นแล้วแทนที่หมู่ไฮดรอกซิล (-OH) ในโมเลกุลด้วยคลอรีนอะตอม (Cl) จำนวน 3 หมู่ ทำให้โครงสร้างมีความคงตัว คุณสมบัติทั่วไปของซูคราโลส คือ สามารถละลายได้ดีในน้ำและแอลกอฮอล์ มีความคงตัวสูงในช่วงพีเอช 1.5-10.0 และอุณหภูมิ -18.0-210.0 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ยังสามารถใช้ร่วมกับสารให้ความหวานตัวอื่น ๆ ได้ ข้อดีในการใช้ซูคราโลส คือ สามารถให้ความหวานมากกว่าน้ำตาลซูโครส 600 เท่า ไม่มีรสขมตกค้างภายหลังการรับประทาน (Aftertaste) ไม่ถูกย่อยสลายในระบบย่อยอาหารของมนุษย์จึงไม่ทำให้พลังงานแก่ร่างกาย ไม่ทำให้ฟันผุ และไม่ก่อให้เกิดโรคมะเร็ง โดยองค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกามีข้อกำหนดที่อนุญาตให้ใช้ซูคราโลสเป็นสารให้ความหวานทั่วไป (เบญจวรรณ ธรรมชนารักษ์, 2548) โครงสร้างทางเคมีของซูคราโลส ดังแสดงใน Figure 19

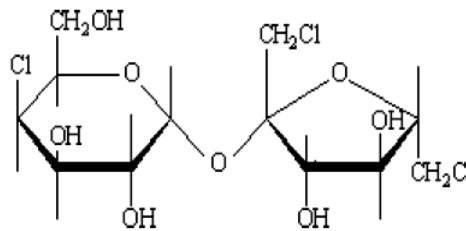


Figure 19 Chemical structures of sucralose

ที่มา : Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (2005)

5.1.4 กลีเซอรอล

กลีเซอรอล (Glycerol) หรือกลีเซอริน (Glycerin) เป็นสารที่ได้จากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสไขมันทั้งจากพืชและสัตว์ คุณสมบัติทั่วไปของกลีเซอรอล คือ กลีเซอรอลจะอยู่ในรูปของของเหลวใส ไม่มีสี ไม่มีกลิ่น มีความข้นหนืด มีรสหวานเล็กน้อย และสามารถละลายได้ดีในน้ำ ในอุตสาหกรรมอาหารมีการใช้กลีเซอรอลเป็นสารรักษาความชื้น (Humectant) สารพลาสติกไซเซอร์ (Plasticizer) ซึ่งจะช่วยปรับปรุงเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ให้มีความยืดหยุ่น สารที่ทำหน้าที่เป็นโครงสร้าง (Bodying agent) นอกจากนี้ยังเป็นสารที่ช่วยป้องกันการตกผลึกของน้ำตาล ทำให้ผลิตภัณฑ์มีลักษณะแห้ง ไม่เยิ้ม และลดค่า α_w จึงลดความเสี่ยงต่อการเจริญของเชื้อราและยีสต์ทำให้มีอายุการเก็บรักษานานขึ้น (Emerton, 2003 อ้างโดย จารวรรณ ภัทรสรพรเพชญ, 2549; Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 2005) สำหรับประเทศไทยมีการอนุญาตให้ใช้กลีเซอรอลในผลิตภัณฑ์อาหารได้ในปริมาณที่เหมาะสม (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2547) โครงสร้างทางเคมีของกลีเซอรอล ดังแสดงใน Figure 20

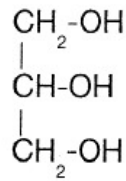


Figure 20 Chemical structures of glycerol

ที่มา : นิธิยา รัตนาปนนท์ (2549)

5.1.5 กรดซิตริก

กรดซิตริก (Citric acid) หรือกรดมะนาวเป็นกรดอินทรีย์ชนิดหนึ่งพบมากในผลไม้ตระกูลส้ม ปัจจุบันการผลิตกรดซิตริกในระดับอุตสาหกรรมจะผลิตจากการหมักด้วยเชื้อรา (ดวงใจ โอชัยกุล และคณะ, 2545) การใช้กรดซิตริกนิยมใช้ในรูปของเกลือ โซเดียมซิเตรต (Sodium citrate salt) หรือเกลือโพแทสเซียมซิเตรต (Potassium citrate salt) (Emerton, 2003 อ้างโดย จารุวรรณ ภัทรสรพรเพชญ, 2549) คุณสมบัติทั่วไปของกรดซิตริก คือ กรดซิตริกจะอยู่ในรูปของผลึกใส ไม่มีสีหรือเป็นผงสีขาว ไม่มีกลิ่น ให้รสเปรี้ยว และสามารถละลายได้ดีในน้ำ ในอุตสาหกรรมอาหารนอกจากจะใช้กรดซิตริกเป็นสารให้กลิ่นรส (Flavouring agent) ยังใช้เป็นสารปรับสภาพความเป็นกรด (Acidulant) และสารเสริมฤทธิ์วัตถุกันหืน (Antioxidant synergist) (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 2005) สำหรับประเทศไทยมีการอนุญาตให้ใช้กรดซิตริกในผลิตภัณฑ์อาหารได้ในปริมาณที่เหมาะสม (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2547) โครงสร้างทางเคมีของกรดซิตริก ดังแสดงใน Figure 21

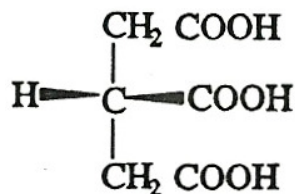


Figure 21 Chemical structures of citric acid

ที่มา : Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (1996)

5.1.6 โพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์

โพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ (Potassium metabisulfite) มีคุณสมบัติทั่วไป คือ เป็นผงละเอียดสีขาว มีกลิ่นของซัลเฟอร์ไดออกไซด์ และสามารถละลายในน้ำได้ดี (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 2005) ในอุตสาหกรรมอาหารมีการใช้โพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์เป็นสารต้านจุลินทรีย์ (Antimicrobial agent) หรือสารกันบูด (Preservative) โดยมีกลไกการทำงาน คือ เมื่อ

โพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ละลายน้ำจะเกิดเป็นกรดซัลฟูรัส (H_2SO_3) ไบซัลไฟต์ไอออน (HSO_3^-) และซัลไฟต์ไอออน (SO_3^{2-}) ซึ่งกรดซัลฟูรัสสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้โดยสามารถทำลายผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ทำให้จุลินทรีย์ตายได้ (รัชนี ตันตะพานิชกุล, 2544) ซึ่งการใช้โพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ในผลิตภัณฑ์อาหารนอกจากจะใช้เป็นสารต้านจุลินทรีย์แล้วสารดังกล่าวยังทำหน้าที่เป็นสารยับยั้งการเกิดสีน้ำตาล (Antibrowning agent) ที่เกิดจากปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) โดยหมู่ซัลไฟต์ของสารประกอบซัลไฟต์จะเข้าร่วมตัวกับหมู่คาร์บอนิลของน้ำตาลรีดิวซ์ซึ่งที่เป็นสารตั้งต้นของการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด นอกจากนี้ในผลิตภัณฑ์อาหารที่มีแอนโทไซยานินเป็นองค์ประกอบจะสามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนแอนโทไซยานิน-ไบซัลไฟต์ ที่มีความคงตัวสูงและไม่ถูกทำลายด้วยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสจึงทำให้การเกิดสีน้ำตาลที่เกิดจากปฏิกิริยาเมลลาร์ดเกิดขึ้นช้าลงได้ (นิธิยารัตนาปนนท์, 2549; Jackman *et al.*, 1987)

สำหรับประเทศไทยมีการอนุญาตให้ใช้โพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ในผลิตภัณฑ์ผลไม้แห้งในปริมาณสูงสุดไม่เกิน 1,500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2547) ซึ่งการบริโภคผลิตภัณฑ์อาหารที่มีสารกลุ่มไบซัลไฟต์ในระดับไม่เกินเกณฑ์ที่กฎหมายกำหนดนี้จะไม่ก่อให้เกิดโทษต่อร่างกายเนื่องจากสารดังกล่าวจะถูกเมตาโบไลซ์ไปเป็นซัลเฟตและขับถ่ายออกทางปัสสาวะ (รัชนี ตันตะพานิชกุล, 2544)

Sagar และ Kumar (2007) ศึกษาผลของโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์และระยะเวลาการเก็บรักษาต่อคุณภาพทางเคมีและการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ฝรั่งแผ่นโดยส่วนผสมของผลิตภัณฑ์ฝรั่งแผ่นประกอบด้วย ซูโครส กรดซิตริก และโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์จำนวน 4 ระดับความเข้มข้น คือ 0.0 (ชุดควบคุม) 500.0 750.0 และ 1,000.0 พีพีเอ็ม ทำการผลิตผลิตภัณฑ์ฝรั่งแผ่นแล้วนำบรรจุในถุงโพลีเอทิลีนชนิดความหนาแน่นต่ำ น้ำหนักบรรจุ 200.0 กรัมต่อถุง เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (17.0-34.0 องศาเซลเซียส) เป็นระยะเวลา 9 เดือน พบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น ชุดการทดลองทั้งหมดจะมีปริมาณความชื้นเพิ่มขึ้น ในขณะที่มีปริมาณกรดแอสคอร์บิก ปริมาณกรดทั้งหมด ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ทั้งหมดลดลง และจากผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้วยวิธีการให้คะแนนความชอบแบบ 9 ระดับคะแนนความชอบ พบว่าเมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษาเป็นเวลา 9 เดือน ชุดการทดลองที่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750.0 พีพีเอ็ม และ 1,000.0 พีพีเอ็ม ให้คะแนนคุณลักษณะด้านสี กลิ่นรส และคุณลักษณะด้านความชอบโดยรวมของผลิตภัณฑ์มากกว่าชุดการทดลองที่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 500.0 พีพีเอ็ม และชุดควบคุม โดยผลิตภัณฑ์ฝรั่งแผ่นดังกล่าวมีคะแนนคุณลักษณะด้านความชอบโดยรวมเมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษาเป็นเวลา 9 เดือน อยู่ที่ระดับชอบเล็กน้อย (ระดับคะแนนความชอบ 6.2 และ 6.3 ตามลำดับ) และจากผลการทดลองดังกล่าวยังแสดงให้เห็นว่าการเติมโพแทสเซียม

เซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750.0 พีพีเอ็ม จะมีปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ที่คงเหลืออยู่ในปริมาณสูงจึงช่วยรักษาสีของผลิตภัณฑ์ผลไม้แผ่นในระหว่างการเก็บรักษา สำหรับงานวิจัยนี้มีการใช้โพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750.0 พีพีเอ็ม ในการผลิตผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นเช่นเดียวกัน

5.2 การอบแห้ง

การอบแห้ง (Drying) คือ การลดความชื้นของอาหารจนถึงระดับที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้คือมีปริมาณน้ำที่เป็นประโยชน์ในการเติบโตของจุลินทรีย์หรือที่เรียกว่าค่า a_w ต่ำกว่า 0.70 ทำให้ผลิตภัณฑ์อาหารมีอายุการเก็บรักษายาวนานขึ้น (สุคนธ์ชื่น ศรีงาม, 2543)

5.2.1 หลักการอบแห้งอาหาร

การอบแห้งเป็นกระบวนการให้ความร้อนแก่อาหารทำให้เกิดการถ่ายเทความร้อนจากผิวนอกสู่ภายในเนื้ออาหาร โดยในขณะที่อบแห้งจะมีการถ่ายเทความร้อนให้แก่อาหาร 2 แบบ คือ การนำความร้อน (Conduction) ซึ่งจะเกิดขึ้นในส่วนที่บิของเซลล์ และการพาความร้อน (Convection) ซึ่งจะเกิดขึ้นในส่วนที่เป็นช่องว่างโดยกระแสลมร้อนจะทำหน้าที่ให้ความร้อนและเคลื่อนย้ายไอน้ำ การเคลื่อนที่ของน้ำเกิดจากการที่น้ำในอาหารมีการสะสมพลังงานความร้อนแล้วเปลี่ยนเป็นพลังงานจลน์จากนั้นจะถ่ายเทพลังงานดังกล่าวไปสู่โมเลกุลน้ำใกล้เคียงทำให้เกิดการเคลื่อนที่ของน้ำไปที่ผิวนอก ซึ่งลักษณะการเคลื่อนที่ของน้ำมี 2 ลักษณะ คือ การเคลื่อนที่เนื่องจากแรงดันผ่านช่องแคบ (Capillary force) จะเกิดขึ้นในช่วงแรกที่มีปริมาณน้ำในอาหารมากทำให้มีอัตราการอบแห้งสูง และการเคลื่อนที่ของน้ำแบบแพร่ผ่านเซลล์ (Diffusion) จะเกิดขึ้นต่อเนื่องจากการเคลื่อนที่ของน้ำที่เกิดเนื่องจากแรงดันผ่านช่องแคบซึ่งจะเกิดขึ้นในช่วงที่มีปริมาณน้ำในอาหารน้อยลงโดยน้ำมีการเคลื่อนที่ด้วยการแพร่ที่ช้าลงจนมาที่ผิวอาหารไม่เพียงพอ ผิวอาหารจึงแห้ง การระเหยของน้ำจึงเกิดขึ้นช้าลงทำให้อัตราการอบแห้งเริ่มลดลง การอบแห้งจะสิ้นสุดลงเมื่อความชื้นของอากาศในเครื่องอบแห้งสมดุลกับความชื้นของอาหารและเรียกความชื้นของอาหารขณะนั้นว่า ความชื้นสมดุล (Equilibrium moisture content) (สุคนธ์ชื่น ศรีงาม, 2543)

5.2.2 การอบแห้งแบบสุญญากาศ

งานวิจัยนี้ทำการอบแห้งผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นด้วยเครื่องอบแห้งสุญญากาศแบบให้ความร้อนที่ชั้นวางวัสดุ (Vacuum shelf dryer) โดยการอบแห้งดังกล่าวจะมีการถ่ายเทความร้อนด้วยการแผ่รังสีความร้อนหรือการนำความร้อนไปยังอาหารที่ต้องการอบแห้งซึ่งความร้อนที่อาหารได้รับไปนั้นจะถูกนำไปใช้ในการระเหยของน้ำภายในอาหารดังกล่าวต่อไป โดยการอบแห้งภายใต้สภาวะความดันสุญญากาศนี้ทำให้สามารถใช้อุณหภูมิในการอบแห้งต่ำลงได้ เนื่องจากในสภาวะปกติการเดือดของน้ำจะเกิดขึ้นเมื่อความดันไอของน้ำเท่ากับความดันทั้งหมดบนพื้นผิวของน้ำ ซึ่งที่ความดัน

บรรยากาศปกติ เท่ากับ 76.0 เซนติเมตรปรอท น้ำจะเดือดและระเหยกลายเป็นไอน้ำที่อุณหภูมิ 100.0 องศาเซลเซียส แต่เมื่อความดันต่ำกว่าความดันบรรยากาศซึ่งเรียกว่า ความดันสูญญากาศ น้ำจะเดือดและระเหยกลายเป็นไอน้ำที่อุณหภูมิต่ำกว่า 100.0 องศาเซลเซียส (เกษม ปราบริบูรณ์, 2521) ดังแสดงใน Figure 22

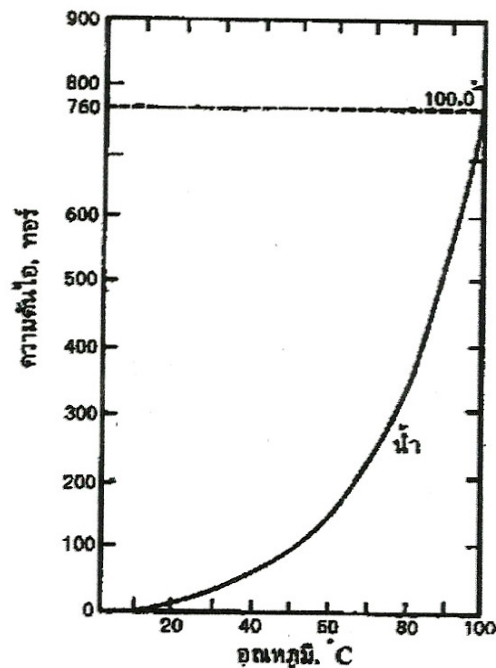


Figure 22 Vapor pressure of water

ที่มา : คัดแปลงจาก ทบวงมหาวิทยาลัย (2541)

5.2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการอบแห้ง

ปัจจัยที่มีผลต่อการอบแห้งมีหลายปัจจัยด้วยกัน ได้แก่ ธรรมชาติของอาหาร ขนาดและรูปร่างของอาหาร ตำแหน่งของอาหารในห้องอบแห้ง อุณหภูมิของอากาศร้อน และความดัน เป็นต้น ซึ่งในที่นี้จะกล่าวเฉพาะปัจจัยสำคัญ ๆ ที่มีผลต่อการอบแห้ง (สุคนธ์ชื่น ศรีงาม, 2543; ประสิทธิ์ อติวีระกุล, 2527) ดังนี้

5.2.3.1 อุณหภูมิของอากาศร้อน

ถ้าอากาศมีความชื้นคงที่ การเพิ่มอุณหภูมิจะเป็นการเพิ่มความสามารถในการรับไอน้ำและทำให้การแพร่กระจายของน้ำดีขึ้นจึงมีผลให้อัตราการอบแห้งลดลง

5.2.3.2 ความดัน

ความดันมีความสัมพันธ์กับการระเหยของน้ำโดยที่ความดันสูญญากาศน้ำจะระเหยกลายเป็นไอน้ำที่อุณหภูมิต่ำลง ดังนั้นการอบแห้งภายใต้ความดันสูญญากาศจะทำให้อัตราการอบแห้งเร็วขึ้น

Methakhup และคณะ (2005) ศึกษาสภาวะการอบแห้งแบบไอน้ำร้อนยิ่งยวดร่วมกับ ความดันต่ำ (Low-pressure superheated steam drying) และการอบแห้งแบบสุญญากาศต่อคุณลักษณะ ของการอบแห้ง สี และปริมาณกรดแอสคอร์บิกของผลิตภัณฑ์มะขามป้อมแผ่นบาง (สำหรับการ ใช้ในการ ชงชามะขามป้อม) ซึ่งการผลิตผลิตภัณฑ์มะขามป้อมแผ่นบางเริ่มจากนำส่วนเนื้อของมะขามป้อมมาหั่น เป็นชิ้น นำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นเป็นเวลา 1 นาที จากนั้นนำเนื้อมะขามป้อมปั่น 40.0 กรัม ใส่ในอุปกรณ์ สำหรับใส่ตัวอย่างซึ่งทำจากอลูมิเนียมฟอล์ย นำอบแห้งโดยการอบแห้งแบบไอน้ำร้อนยิ่งยวดร่วมกับ ความดันต่ำและการอบแห้งแบบสุญญากาศโดยใช้อุณหภูมิในการอบแห้ง 2 ระดับ คือ 65.0 และ 75.0 องศาเซลเซียส และความดันในการอบแห้ง 3 ระดับคือ 7.0 10.0 และ 13.0 กิโลปาสกาล พบว่าสภาวะ ที่ใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์มะขามป้อมแผ่นบางโดยการอบแห้งแบบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 75.0 องศา-เซลเซียส ความดัน 7.0 กิโลปาสกาล เป็นเวลา 145 นาที (ผลิตภัณฑ์มะขามป้อมแผ่นบางมีปริมาณ ความชื้นสุดท้าย เท่ากับ 7.5 %) เป็นสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตผลิตภัณฑ์ดังกล่าว เนื่องจากใช้ เวลาสั้น (145 นาที) ในการอบแห้งทำให้มีการเปลี่ยนแปลงของสี ตลอดจนปริมาณกรดแอสคอร์บิก น้อยกว่าผลิตภัณฑ์มะขามป้อมแผ่นบางที่ผ่านการอบแห้งจากชุดการทดลองอื่น

Saencom และคณะ (2010) ศึกษาแนวทางในการผลิตผลิตภัณฑ์ผักตำลึงแผ่นสำหรับ เป็นอาหารว่างเพื่อสุขภาพ โดยศึกษาวิธีการเตรียมตัวอย่างก่อนอบแห้ง รวมทั้งผลของการอบแห้งแบบ ลมร้อน (Hot air drying) และการอบแห้งแบบสุญญากาศต่อคุณลักษณะของการอบแห้ง สี คุณลักษณะ เนื้อสัมผัส ได้แก่ Hardness Toughness และ Crispness และปริมาณเบต้าแคโรทีนของผลิตภัณฑ์ผัก ตำลึงแผ่น โดยแบ่งวิธีการเตรียมตัวอย่างก่อนอบแห้งออกเป็น 4 ชุดการทดลอง คือ ชุดการทดลองที่ ผ่านการลวกด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 100.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที (ชุดควบคุม) ชุดการทดลอง ที่ผ่านการลวกด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 1.0 2.0 และ 3.0 % น้ำหนักต่อปริมาตร ที่อุณหภูมิ 100.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที นำไปทำแห้งด้วยวิธีการอบแห้งแบบลมร้อนและแบบ สุญญากาศโดยใช้อุณหภูมิในการอบแห้ง 3 ระดับ คือ 60.0 70.0 และ 80.0 องศาเซลเซียส พบว่าสภาวะ ที่ใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์ผักตำลึงแผ่นที่เหมาะสมประกอบด้วย การลวกผักตำลึงด้วยสารละลาย โซเดียมคลอไรด์ 1.0 % น้ำหนักต่อปริมาตร จากนั้นนำอบแห้งแบบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 80.0 องศา-เซลเซียส ความดัน 7.0 กิโลปาสกาล เป็นเวลา 60 นาที จนกระทั่งผลิตภัณฑ์ผักตำลึงแผ่นมีปริมาณ ความชื้นสุดท้ายอยู่ในช่วง 3.0-4.5 % ทำให้ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวสามารถรักษาสีและปริมาณเบต้าแคโรทีน ตลอดจนให้คุณลักษณะเนื้อสัมผัสที่ดีแก่ผลิตภัณฑ์ผักตำลึงแผ่นเนื่องจากใช้เวลาสั้น (60 นาที) ใน การอบแห้ง

5.3 บรรจุภัณฑ์สำหรับผลิตภัณฑ์ผลไม้แผ่น

การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหารไว้ในบรรจุภัณฑ์มีวัตถุประสงค์เพื่อสะดวกในการขนย้ายอาหารจากแหล่งผลิตไปยังผู้บริโภค ป้องกันไม่ให้อาหารเสื่อมเสียคุณภาพได้ง่าย ตลอดจนลดการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ แมลง และสัตว์ต่าง ๆ การเก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์ที่ดีส่งผลให้สี กลิ่นรส และรูปร่างของผลิตภัณฑ์อาหารเป็นไปตามที่กำหนด (อนุกุล วัฒนสุข และ โชคชัย ชีรกุลเกียรติ, 2543) สำหรับบรรจุภัณฑ์ที่ใช้ทั่วไปในการบรรจุผลิตภัณฑ์ผลไม้แผ่นจะคล้ายกับบรรจุภัณฑ์ของผลิตภัณฑ์ที่มีความชื้นต่ำ (Low moisture foods, LMF) อื่น ๆ เช่น พิล์มโพลีโพรพิลีน (Polypropylene film) และถุงลามิเนตอลูมิเนียมฟอยล์ (Laminated aluminium foil bag) เป็นต้น (Irwandi *et al.*, 1998 อ้างโดย รัตนา อัดตปัญญา และคณะ, 2550) นอกจากนี้ รัตนา อัดตปัญญา และคณะ (2550) รายงานว่า สามารถใช้ถุงเมทัลไลต์ (Metallized) เป็นบรรจุภัณฑ์สำหรับบรรจุผลิตภัณฑ์ผลไม้แผ่น งานวิจัยนี้จึงเลือกใช้ถุงเมทัลไลต์ (Oriented polypropylene/Metallized cast polypropylene, OPP/MCPP) เป็นบรรจุภัณฑ์ในการบรรจุผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นเช่นกัน โดยบรรจุภัณฑ์ดังกล่าวเป็นบรรจุภัณฑ์พลาสติกจากวัสดุหลายชั้นที่มีพลาสติก PP (ชนิด OPP) เป็นพลาสติกชั้นในซึ่งพลาสติกดังกล่าวมีคุณสมบัติ คือ มีความใส แข็งและเหนียว ทนต่อไขมันและสารเคมีได้ดี ป้องกันการซึมผ่านของความชื้นได้ดี โดยมีค่าอัตราการซึมผ่านของไอน้ำ (Water vapour transmission rate, WVTR) ต่ำ เท่ากับ 0.08-0.16 กรัม มิลลิเมตร ต่อตารางเมตร ต่อวัน ที่อุณหภูมิ 38.0 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 95.0 % รวมทั้งมีค่าอัตราการซึมผ่านของออกซิเจน (Oxygen transmission rate, OTR) ปานกลาง เท่ากับ 2.96×10^{-16} - 4.93×10^{-16} โมล เมตร ต่อตารางเมตร ต่อวินาที ต่อปาสกาล (Pascal) ที่อุณหภูมิ 25.0 องศาเซลเซียส (Robertson, 2006) และมีอุณหภูมิการใช้งานอยู่ในช่วง -20.0 ถึง 200.0 องศาเซลเซียส (ปุ่น คงเจริญเกียรติ และสมพร คงเจริญเกียรติ, 2541) ส่วนชั้นนอกของบรรจุภัณฑ์ดังกล่าวมีการประกบหรือลามิเนตด้วยพลาสติก PP (ชนิด CPP) ที่ผ่านการเคลือบด้วยโลหะอลูมิเนียมทำให้บรรจุภัณฑ์มีคุณสมบัติในการป้องกันการซึมผ่านของความชื้นและออกซิเจน รวมถึงสามารถป้องกันการส่องผ่านของแสงได้มากขึ้น (งามทิพย์ ภู่วโรดม, 2550)

5.4 มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมผลไม้แห้ง (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2532)

ในปัจจุบันประเทศไทยยังไม่กำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมผลไม้แผ่น งานวิจัยนี้จึงใช้มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมผลไม้แห้งเป็นเกณฑ์คุณภาพในการผลิตผลิตภัณฑ์ผลไม้แผ่น ดังนี้

5.4.1 ลักษณะทั่วไป

กำหนดให้คงลักษณะเนื้อที่สีตามชนิดของผลไม้ที่ใช้ทำ ไม้จับตัวเป็นก้อน ลักษณะภายนอกไม่เปื่อยกชื้น เนื้อไม้แข็งกระด้าง มีรูปร่างและขนาดสม่ำเสมอ

5.4.2 สี

มีสีที่ดีตามธรรมชาติของผลไม้ที่ผ่านกรรมวิธีการทำ

5.4.3 กลิ่นรส

มีกลิ่นรสเฉพาะของผลไม้ที่ใช้ทำ ปราศจากกลิ่นรสอื่นที่ไม่พึงประสงค์ เช่น กลิ่นอับ

5.4.4 ความชื้น

กำหนดให้มีปริมาณความชื้นไม่เกิน 18.0 %

5.4.5 วัตถุเจือปนอาหารที่อนุญาตให้ใช้เป็นส่วนผสม

วัตถุกันเสียจำพวกซัลเฟอร์ไดออกไซด์ต้องไม่เกิน 1,000 พีพีเอ็ม

5.4.6 คุณภาพทางจุลินทรีย์

จุลินทรีย์ที่ตรวจพบในผลไม้แห้งต้องไม่เกินเกณฑ์ที่กำหนดต่อไปนี้

ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดต้องไม่เกิน 1×10^4 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1.0 กรัม

ปริมาณยีสต์และราต้องไม่เกิน 1×10^2 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1.0 กรัม

Escherichia coli โดยวิธีเอ็มพีเอ็น (MPN) ต้องน้อยกว่า 3 ต่อตัวอย่าง 1.0 กรัม

Staphylococcus aureus ต้องตรวจไม่พบในตัวอย่าง 0.1 กรัม

Salmonella ต้องตรวจไม่พบในตัวอย่าง 25.0 กรัม

Clostridium perfringens ต้องตรวจไม่พบในตัวอย่าง 0.1 กรัม

5.5 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ผลไม้แผ่นระหว่างการเก็บรักษา

5.5.1 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางกายภาพ

5.5.1.1 สี

เมื่อเก็บผลิตภัณฑ์ผลไม้แผ่นไว้เป็นเวลานานจะทำให้มีสีคล้ำเนื่องจากปฏิกิริยาเมลลาร์ดซึ่งปฏิกิริยาดังกล่าวเกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างน้ำตาลรีดิวซ์กับหมู่อะมิโนในโมเลกุลของกรดอะมิโนและโปรตีนภายใต้สภาวะที่มีความร้อนและเกิดปฏิกิริยาต่อเนื่องจนได้สารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำตาลเรียกว่า เมลานอยดิน ซึ่งไม่ละลายน้ำ ทำให้ผลิตภัณฑ์ผลไม้แผ่นมีสีคล้ำส่งผลให้ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมีคุณภาพต่ำและไม่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภค (ไพโรจน์ วิริยจารี, 2539; นิธิยา รัตนานนท์, 2549)

5.5.1.2 ลักษณะเนื้อสัมผัส

หากเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ผลไม้แผ่นในบรรจุภัณฑ์ที่มีการซึมผ่านของอากาศเป็นเวลานาน ผลิตภัณฑ์ผลไม้แผ่นที่มีปริมาณความชื้นต่ำจะดูดซับความชื้นจากอากาศทำให้ปริมาณความชื้นของผลิตภัณฑ์เพิ่มขึ้นและส่งผลให้ลักษณะเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ผลไม้แผ่นเกิดการเปลี่ยนแปลง เช่น ทำให้ความเหนียวของผลิตภัณฑ์ผลไม้แผ่นลดลง เป็นต้น (ไพโรจน์ วิทยากร, 2539)

5.5.2 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมี

5.5.2.1 ค่าออกซิเดชัน (a_w)

ในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ผลไม้แผ่นในบรรจุภัณฑ์ที่มีการซึมผ่านของอากาศเป็นเวลานาน ผลิตภัณฑ์ผลไม้แผ่นจะดูดซับความชื้นจากอากาศทำให้ a_w ของผลิตภัณฑ์เพิ่มขึ้น โดย a_w มีผลกระทบต่ออัตราเร็วของปฏิกิริยาเคมีหลายชนิด ได้แก่ ปฏิกิริยาออกซิเดชันของแอนโทไซยานินและกรดแอสคอร์บิก ปฏิกิริยาออโตออกซิเดชัน (Autoxidation) และปฏิกิริยาเมลลาร์ด รวมทั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (งามทิพย์ ภู่วโรดม, 2550; นิธิยา รัตนานพนธ์, 2549)

5.5.2.2 การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน

การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ผลไม้แผ่น โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์ผลไม้แผ่นที่ผลิตจากผลไม้ที่มีปริมาณแอนโทไซยานินและปริมาณกรดแอสคอร์บิกสูงไว้เป็นเวลานาน การสัมผัสกับออกซิเจนจะทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ปริมาณแอนโทไซยานินและกรดแอสคอร์บิกในผลิตภัณฑ์ดังกล่าวลดลง (นิธิยา รัตนานพนธ์, 2549; Skrede and Wrolstad, 2002)

การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของแอนโทไซยานินสามารถเกิดได้ทั้งทางตรงและทางอ้อมซึ่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันทางตรง คือ การที่โมเลกุลของออกซิเจนเข้าทำปฏิกิริยากับแอนโทไซยานินที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 หรือที่หมู่ไฮดรอกซิลของวงแหวนฟีนอล (วงแหวน B) ทำให้แอนโทไซยานินที่อยู่ในรูปของฟลาวิเลียม แคทไอออน ซึ่งมีสีแดง เปลี่ยนไปอยู่ในรูปของคาร์บินอล ซูโด-เบส หรือซาลิโคนซึ่งไม่มีสี หรือควินอยดอล เบส ซึ่งมีสีฟ้า ส่งผลให้สีของผลิตภัณฑ์ผลไม้แผ่นจางลง (Saint-Gaulejac *et al.*, 1999 อ้างโดย ยุพาพร ผลาขจรศักดิ์, 2547) ส่วนการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันทางอ้อม คือ การที่ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดแอสคอร์บิกทำให้เกิดการแตกออกของวงแหวนไพริเลียมโดยเข้าทำลาย (Nucleophilic attack) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 ของแอนโทไซยานินทำให้แอนโทไซยานินอยู่ในรูปของซาลิโคนซึ่งไม่มีสี และต่อมาเกิดการแตกสลายเป็นผลิตภัณฑ์เอสเทอร์ที่ไม่มีสี (Colorless esters) และอนุพันธ์คูมาริน (Coumarin derivatives) ซึ่งผลิตภัณฑ์ดังกล่าวอาจเกิดการเสื่อมสลายหรือเกิดปฏิกิริยาโพลิเมอร์ไรเซชันและเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำตาลที่ไม่ละลายน้ำ (Von Elbe and Schwartz, 1996; Jackman and Smith, 1996)

การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดแอสคอร์บิกสามารถอธิบายได้ดังนี้ โดยทั่วไปกรดแอสคอร์บิกจะอยู่ในรูปของ L-ascorbic acid แต่เมื่อ L-ascorbic acid ถูกออกซิไดซ์จะเปลี่ยนเป็น dehydro-L-ascorbic acid ซึ่งปฏิกิริยาดังกล่าวเป็นปฏิกิริยาผันกลับได้ (Reversible reaction) และ dehydro-L-ascorbic acid จะถูกออกซิไดซ์ต่อไปเป็น diketo-L-gulonic acid โดยสารดังกล่าวไม่มีความคงตัวและถูกออกซิไดซ์ต่อไปเป็นสารประกอบหลายชนิด เช่น กรดเทอร์โอนิก (Threonic acid) เป็นต้น ซึ่งเมื่อเกิดปฏิกิริยาดีไฮเดรชันและปฏิกิริยาดีคาร์บอกซิเลชัน (Decarboxylation) จะเกิดเป็นสารเฟอร์ฟูรัลและสารดังกล่าวจะเกิดโพลีเมอร์ไรซ์กลายเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำตาล (Deman, 1990) ซึ่งเป็นสารที่ไม่พึงประสงค์ให้เกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์เพราะทำให้คุณภาพของผลิตภัณฑ์ผลไม้แผ่นลดลง (ไพโรจน์ วิริยาริ, 2539) นอกจากนี้พบว่าในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน กรดแอสคอร์บิกจะเข้ารวม (Condense) กับแอนโทไซยานิน ได้เป็นผลิตภัณฑ์ที่ไม่คงตัวและเกิดเป็นสารประกอบที่ไม่มีสีต่อไป (Skrede and Wrolstad, 2002)

นอกจากนี้พบว่าในผลิตภัณฑ์ผลไม้แผ่นที่มีส่วนประกอบเป็นไขมันหรือน้ำมันที่มีองค์ประกอบเป็นกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว (Unsaturated fatty acid) หากสัมผัสกับออกซิเจนจะทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันซึ่งปฏิกิริยาดังกล่าวทำให้เกิดผลิตภัณฑ์ที่เป็นแอลดีไฮด์หรือคีโตน และเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดกลิ่นหืน (Rancidity) ซึ่งเป็นกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ให้เกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์เนื่องจากทำให้ผลิตภัณฑ์ผลไม้แผ่นมีคุณภาพต่ำและไม่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภค (ไพโรจน์ วิริยาริ, 2539)

5.5.2.3 การเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด

การเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดของผลิตภัณฑ์ผลไม้แผ่นหลังจากการเก็บไว้เป็นเวลานาน เกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างน้ำตาลรีดิวซ์ ได้แก่ กลูโคส ฟรักโตส และมอลโตส กับหมู่อะมิโนในโมเลกุลของกรดอะมิโนและโปรตีนภายใต้สภาวะที่มีความร้อน ซึ่งกลไกการเกิดปฏิกิริยาดังกล่าวมี 5 ขั้นตอน (นิธิยา รัตนานนท์, 2549) ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 น้ำตาลรีดิวซ์จะรวมตัวกับหมู่อะมิโนได้เป็นไกลโคซิลเอมีน (N-substituted glycosylamine)

ขั้นตอนที่ 2 เกิดปฏิกิริยาดีไฮเดรชัน (Dehydration) ได้เป็นเอมีน และมีการเรียงตัวใหม่ ซึ่งมีชื่อเรียกว่า Amadori rearrangement ได้เป็นแอลโดสเอมีน (Aldoseamine) หรือคีโตสเอมีน (Ketose amine) เรียกว่า สารอะมาโดริ (Amadori product)

ขั้นตอนที่ 3 เกิดปฏิกิริยาอีโนไลเซชัน (Enolization) ของสารอะมาโดริได้เป็นไดคีโตสเอมีน (Diketoseamine) หรือไดอะมิโนซูการ์ (Diaminosugar)

ขั้นตอนที่ 4 เกิดปฏิกิริยาดีไฮเดรชันต่อไปได้เป็นอนุพันธ์ฟูแรน (Furan derivatives)

ขั้นตอนที่ 5 อนุพันธ์ฟูเรนจะเกิดพอลิเมอร์อย่างรวดเร็วจึงได้เป็นสารประกอบเชิงซ้อน สีนํ้าตาลที่มีในโตรเจนเป็นองค์ประกอบอยู่ด้วยและไม่ละลายน้ำเรียกว่า เมลานอยดิน

การเกิดปฏิกิริยามอลดาร์คนอกจากทำให้ผลิตภัณฑ์ผลไม้แผ่นมีสีคล้ำส่งผลให้ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมีคุณภาพลดลงแล้วยังทำให้สูญเสียกรดอะมิโนและน้ำตาลรีดิวซ์ซึ่งจะส่งผลให้คุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์ดังกล่าวลดลงด้วย (ไพโรจน์ วิริยจรี, 2539)

5.5.3 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางจุลินทรีย์

ผลิตภัณฑ์ผลไม้แผ่นที่มีค่า a_w ต่ำกว่า 0.60 จะสามารถเก็บรักษาไว้ได้เป็นเวลานาน แต่หากผลิตภัณฑ์ผลไม้แผ่นดังกล่าวเก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์ที่ยังคงมีการซึมผ่านของอากาศ ผลิตภัณฑ์ผลไม้แผ่นจะดูดซับความชื้นจากอากาศทำให้ค่า a_w ของผลิตภัณฑ์เพิ่มขึ้น และหากผลิตภัณฑ์มีค่า a_w มากกว่า 0.60 อาจเกิดการเสื่อมเสียจากการเจริญเติบโตของ Osmophilic yeast และ Xerophilic micro-fungi ซึ่งนอกจากเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าวจะเจริญเติบโตแล้วหากอยู่ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมเชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้จะมีการสร้างสารพิษซึ่งมีโทษต่อชีวิตของมนุษย์ เช่น Aflatoxin และ Ochratoxin เป็นต้น และหากผลิตภัณฑ์ผลไม้แผ่นมีค่า a_w เพิ่มมากกว่า 0.80 อาจเกิดการเจริญเติบโตของเชื้อราและยีสต์ทั่วไป รวมทั้งแบคทีเรียบางชนิด ได้แก่ *Staphylococcus* *Micrococcus* และ *Vibrio* เป็นต้น โดยพบว่าแบคทีเรียดังกล่าวสามารถแบ่งตัวและเจริญเติบโตได้ที่ค่า a_w เท่ากับ 0.80-0.85 ส่วนราและยีสต์สามารถเจริญเติบโตและสร้างสารพิษที่ค่า a_w เท่ากับ 0.60-0.85 (ไพโรจน์ วิริยจรี, 2539; ปรียา วิบูลย์-เศรษฐ์, 2543)

5.5.4 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ในระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ผลไม้แผ่นจะมีการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางกายภาพและเคมี ได้แก่ การเกิดสีคล้ำเนื่องจากปฏิกิริยามอลดาร์ค การเกิดกลิ่นหืนเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน และปริมาณความชื้นในผลิตภัณฑ์ที่เพิ่มขึ้นล้วนเป็นผลให้คุณภาพทางประสาทสัมผัส ได้แก่ คุณลักษณะสี กลิ่นรส และเนื้อสัมผัส เป็นต้น ของผลิตภัณฑ์ผลไม้แผ่นเกิดการเปลี่ยนแปลงควบคู่กัน ในระหว่างการเก็บรักษา (ไพโรจน์ วิริยจรี, 2539)

รัตนา อัดตปัญญา และคณะ (2550) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ลำไยแผ่นในระหว่างการเก็บรักษา โดยทำการผลิตผลิตภัณฑ์ลำไยแผ่นแล้วนำบรรจุในถุงเมทัลไลต์ (OPP 20.0 ไมครอน/MCPP 25.0 ไมครอน) ขนาดความกว้าง 60.0 มิลลิเมตร ยาว 150.0 มิลลิเมตร หนา 45.0 ± 5.0 ไมครอน เก็บรักษาในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 28.0-30.0 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 87.0 % เป็นระยะเวลา 0 30 60 90 120 และ 150 วัน ในระหว่างการเก็บรักษาทำการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ เคมี และการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส พบว่าเมื่ออายุการเก็บรักษานานขึ้น คุณภาพทางกายภาพ คือ ค่า L^* ลดลง และค่า a^* เพิ่มขึ้น แต่ไม่ส่งผลต่อค่า b^* ค่า Tensile strength และค่า Shear

stress เมื่อพิจารณาคุณภาพทางเคมีพบว่าเมื่ออายุการเก็บรักษานานขึ้นจะมีค่า a_w และค่าการเกิดสีน้ำตาลที่ไม่เอนไซม์ (Non-enzymatic browning) เพิ่มขึ้น และเมื่อพิจารณาการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ลำไยแผ่นด้วยวิธีการให้คะแนนความชอบแบบ 9 ระดับคะแนนความชอบพบว่าเมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษา (150 วัน) ผลิตภัณฑ์ลำไยแผ่นยังคงได้รับการยอมรับจากผู้บริโภคโดยมีคะแนนคุณลักษณะด้านความชอบโดยรวมอยู่ที่ระดับชอบเล็กน้อย (ระดับคะแนนความชอบ 6.0 ± 1.3)

6. เทคนิคสเปกโตรสโกปีย่านใกล้อินฟราเรด (Near infrared spectroscopy, NIRS)

6.1 การดูดกลืนแสง NIR

6.1.1 การดูดกลืนแสง NIR ของโมเลกุลสารอินทรีย์

เทคนิค NIRS เป็นเทคนิคที่ใช้สำหรับวิเคราะห์สารที่โมเลกุลประกอบด้วยพันธะไฮโดรเจน (X-H) ซึ่งอะตอม X ได้แก่ C O N และ S เป็นต้น โดยปกติแล้วโมเลกุลของสารจะเกิดการสั่น (Vibration) อยู่ตลอดเวลาเรียกการสั่นชนิดนี้ว่า การสั่นในสถานะพื้น (Vibrational ground state) ด้วยความถี่ซึ่งมีค่าเฉพาะ (Quantized frequency) แต่หากได้รับรังสีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near infrared, NIR) ซึ่งมีความยาวคลื่นในช่วง 800-2,500 นาโนเมตร หรือมีจำนวนคลื่นอยู่ในช่วง 12,500-4,000 ต่อเซนติเมตร โมเลกุลของสารจะเกิดอันตรกิริยากับรังสี NIR โดยจะดูดกลืนรังสีที่มีความถี่ตรงกับความถี่ค่าเฉพาะทำให้เกิดการสั่นในสถานะกระตุ้น (Vibrational excited state) อย่างไรก็ตามโมเลกุลดังกล่าวไม่สามารถอยู่ในสถานะกระตุ้นได้จึงต้องคายพลังงานออกมาในรูปพลังงานความร้อนเพื่อให้กลับคืนสู่การสั่นในสถานะพื้นดั้งเดิม โดยปริมาณการดูดกลืนแสงเป็นไปตามกฎของเบียร์-แลมเบิร์ต (Beer-Lambert's law) กล่าวคือค่าการดูดกลืนแสงมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของสาร (ศุมาพร, 2552) ดังสมการที่ 1 และ 2

$$\text{กรณีวัดแสงส่องผ่าน: } A = \epsilon bc = \log (1/T) = \log (I_0/I_t) \quad \text{สมการที่ 1}$$

$$\text{กรณีวัดแสงสะท้อน: } A = \epsilon bc = \log (1/R) = \log (I_0/I_r) \quad \text{สมการที่ 2}$$

เมื่อ A คือ ค่าการดูดกลืนแสง

ϵ คือ สภาพดูดกลืนโมลาร์ (Molar absorptivity) ซึ่งเป็นค่าคงที่ของแต่ละสาร โดย

$$\text{ค่า } \epsilon \text{ ของแอนโทไซยานิน (ไซยานิดิน 3-กลูโคไซด์)} = 26,900 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$$

b คือ ความหนาของตัวอย่าง

c คือ ความเข้มข้นของสารที่ดูดกลืนแสง

T คือ แสงที่ผ่านออกมาจากตัวอย่าง

R คือ แสงที่สะท้อนออกมาจากตัวอย่าง

I_0 คือ ความเข้มแสงที่ตกกระทบตัวอย่าง

I_t คือ ความเข้มแสงที่ผ่านออกมาจากตัวอย่าง

I_r คือ ความเข้มแสงที่สะท้อนออกมาจากตัวอย่าง

6.1.2 รูปแบบการวัดการดูดกลืนแสง NIR

การดูดกลืนแสง NIR มี 4 รูปแบบหลัก (Tsuchikawa, 2007) ดังแสดงใน Figure 23 ดังนี้

6.1.2.1 การส่องผ่าน (Transmission mode)

แสง NIR จากแหล่งกำเนิดแสงจะส่องผ่านตัวอย่างด้านหนึ่งและถูกตรวจวัดปริมาณแสงหลังการส่องผ่านตัวอย่างด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดแสง (Detector) ที่อยู่อีกด้านหนึ่งของตัวอย่าง ซึ่งรูปแบบของวิธีวัดการดูดกลืนแสงดังกล่าวนิยมใช้กับตัวอย่างของเหลวที่ไม่มีการกระเจิงแสง (Scattering) หรือมีการกระเจิงแสงน้อย

6.1.2.2 การสะท้อนกลับ (Reflection mode)

แสง NIR จากแหล่งกำเนิดแสงจะส่องไปที่ผิวหน้าหรือผ่านเข้าไปในส่วนที่อยู่ใกล้ผิวหน้าของตัวอย่างซึ่งตัวอย่างจะมีการดูดซับ (Absorption) แสง NIR ใบบางส่วน ส่วนแสง NIR ที่เหลือจะเกิดการกระเจิงแสงหรือเกิดการเคลื่อนที่อ้อมของแสง (Diffraction) ภายในตัวอย่างและจะสะท้อนกลับมายังอุปกรณ์ตรวจวัดแสงที่อยู่ด้านบนของตัวอย่าง ซึ่งรูปแบบของวิธีวัดการดูดกลืนแสงดังกล่าวนิยมใช้กับตัวอย่างที่มีความทึบแสง สำหรับงานวิจัยนี้เลือกใช้รูปแบบดังกล่าวในการวัดการดูดกลืนแสง NIR ของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น

6.1.2.3 การส่องผ่านสะท้อน (Transflection mode)

แสง NIR จากแหล่งกำเนิดแสงจะส่องผ่านลงไปในตัวอย่างเป็นตัวตกกระทบลงบนแผ่นเซรามิก ทอง หรืออลูมิเนียมของอุปกรณ์สำหรับใส่ตัวอย่างจากนั้นจะเกิดการสะท้อนของแสงกลับมายังอุปกรณ์ตรวจวัดแสงที่อยู่ด้านบนของตัวอย่าง ซึ่งรูปแบบของวิธีวัดการดูดกลืนแสงดังกล่าวนิยมใช้กับตัวอย่างของเหลวที่มีความขุ่น

6.1.2.4 อินเตอร์แอคชัน (Interaction mode)

การวัดการดูดกลืนแสง NIR แบบนี้จะมีการใช้หัววัดแบบใยแก้วนำแสง (Fiber optic probe) ซึ่งแสง NIR จะออกมาจากส่วนวงแหวนด้านนอกของหัววัดแล้วตกกระทบลงบนตัวอย่าง จากนั้นจะเกิดการสะท้อนของแสงออกมาจากเนื้อตัวอย่างและแสงดังกล่าวจะถูกส่งไปยังอุปกรณ์ตรวจวัดแสงที่อยู่บริเวณส่วนกลางของใยแก้วนำแสง ซึ่งรูปแบบของวิธีวัดการดูดกลืนแสงดังกล่าวนิยมใช้ในการหาปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในผักและผลไม้

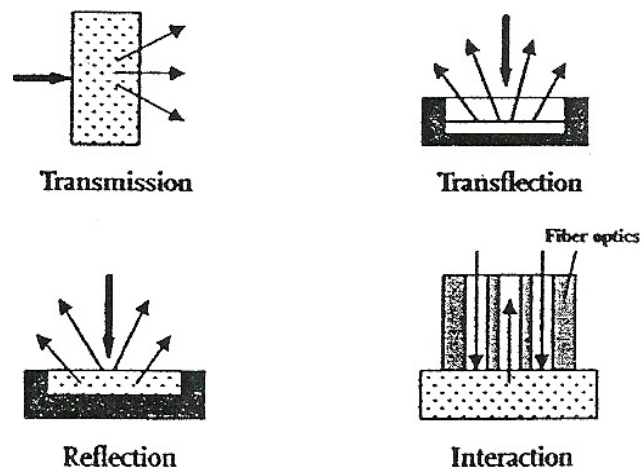


Figure 23 Measurement modes of NIR

ที่มา : Kawano (2002)

6.2 การประยุกต์ใช้เทคนิค NIRS ในการวิเคราะห์คุณภาพผลิตภัณฑ์อาหาร

6.2.1 การเตรียมตัวอย่างและการวัดการดูดกลืนแสง NIR

โดยทั่วไปการเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค NIRS อาจไม่มีการเตรียมตัวอย่างหรือมีการเตรียมตัวอย่างเพียงเล็กน้อย ทั้งนี้เพื่อให้ตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์มีสภาพใกล้เคียงกับตัวอย่างดั้งเดิมมากที่สุด สำหรับตัวอย่างที่มีความชื้นสูงก่อนนำวิเคราะห์ด้วยเทคนิค NIRS จะต้องทำการควบคุมอุณหภูมิของตัวอย่างเพื่อให้อุณหภูมิของแต่ละตัวอย่างมีความใกล้เคียงกันมากที่สุด เนื่องจากอุณหภูมิจะทำให้ภายในตัวอย่างเกิดการเคลื่อนที่ ดังนั้นหากนำตัวอย่างที่มีอุณหภูมิแตกต่างกันมาวัดการดูดกลืนแสง NIR จะทำให้เกิดการคลาดเคลื่อนในการวิเคราะห์ได้ สำหรับตัวอย่างที่ผ่านการควบคุมอุณหภูมิแล้วจะถูกบรรจุลงในอุปกรณ์สำหรับใส่ตัวอย่าง (Sample cell) โดยการเลือกใช้อุปกรณ์ดังกล่าวจะต้องเลือกใช้ให้เหมาะสมกับลักษณะของตัวอย่างและรูปแบบการวัดการดูดกลืนแสง NIR (ศิริลักษณ์ ปฐวิรัตน์ และอนุพันธ์ เทอดวงษ์วรกุล, 2552) สำหรับงานวิจัยนี้ทำการวัดการดูดกลืนแสง NIR โดยใช้ตัวอย่างผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นขนาด 4.5×10.0 เซนติเมตร จำนวน 74 ตัวอย่าง (เก็บรักษาในสภาวะการเก็บรักษาที่แตกต่างกัน) โดยตัวอย่างดังกล่าวจะถูกควบคุมให้มีอุณหภูมิเท่ากับ 25.0 ± 1.0 องศาเซลเซียส (อุณหภูมิห้อง) ด้วยเครื่องควบคุมอุณหภูมิแบบอ่างน้ำ (Water bath) บรรจุตัวอย่างลงใน Fruit drawer นำวัดการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง NIRS โดยใช้ Reflection mode ในช่วงความยาวคลื่น 1,100 -2,500 นาโนเมตร

6.2.2 การวิเคราะห์ข้อมูลที่ได้จากการวัดการดูดกลืนแสงด้วยเทคนิค NIRS

6.2.2.1 การแบ่งกลุ่มตัวอย่าง

ในการสร้างสมการทำนายจะแบ่งกลุ่มตัวอย่างออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการสร้างสมการทำนาย (Calibration sample set) และกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบความแม่นยำของสมการทำนายที่สร้างขึ้น (Validation sample set) โดยปริมาณองค์ประกอบทางเคมี (Reference data) ของกลุ่ม Calibration sample set จะต้องครอบคลุมกลุ่ม Validation sample set และต้องมีจำนวนตัวอย่างมากกว่าจำนวนตัวอย่างในกลุ่ม Validation sample set เสมอ (รณฤทธิ์ ฤทธิธรม, 2552) ซึ่งสัดส่วนในการแบ่งตัวอย่างออกเป็นกลุ่ม Calibration sample set และกลุ่ม Validation sample set สามารถใช้ได้หลายอัตราส่วน เช่น 80 % ต่อ 20 % 75 % ต่อ 25 % และ 70 % ต่อ 30 % เป็นต้น (กรกช วรรณกุล, 2553) สำหรับงานวิจัยนี้ทำการแบ่งตัวอย่างทั้งหมดจำนวน 74 ตัวอย่าง ออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่ม Calibration sample set จำนวน 56 ตัวอย่าง และกลุ่ม Validation sample set จำนวน 18 ตัวอย่าง (อัตราส่วนประมาณ 75 % ต่อ 25 %)

6.2.2.2 การปรับแต่งสเปกตรัมก่อนการวิเคราะห์

เพื่อเป็นการลดสิ่งรบกวนที่เกิดจากระบบ (Undesirable systematic noise) เช่น ความแปรปรวนที่เกิดจากเส้นฐานข้อมูล (Baseline variation) และการกระเจิงของแสง (Scattering) เป็นต้น จึงต้องทำการปรับแต่งสเปกตรัมก่อนนำไปใช้ในการวิเคราะห์ (อนุพันธ์ เทอดวงศัวรรกุล, 2552) สำหรับงานวิจัยนี้ใช้วิธีการปรับแต่งสเปกตรัม 3 วิธี คือ (1) การปรับเรียบแบบซาวิตซ์กี โกลีย์ (Savitzky-Golay smooth, S. smooth) เป็นวิธีการปรับแต่งสเปกตรัมเพื่อลดสัญญาณรบกวนซึ่งอาจเกิดจากสนามไฟฟ้าหรือสนามแม่เหล็กไฟฟ้าของอุปกรณ์ไฟฟ้าที่อยู่ใกล้เคียง หรือสาเหตุอื่น ๆ ซึ่งส่งผลให้สเปกตรัมไม่เรียบ (2) การปรับแก้การกระเจิงแบบผลคูณ (Multiplicative scatter correction, MSC) และ (3) การปรับความแปรปรวนให้เป็นมาตรฐาน (Standard normal variate, SNV) ซึ่งวิธีการปรับแต่งสเปกตรัมทั้ง 2 วิธี เป็นการลดผลที่เกิดจากการกระเจิงแสงต่อสเปกตรัม (อนุพันธ์ เทอดวงศัวรรกุล, 2552)

6.2.2.3 การสร้างสมการทำนาย

ในการสร้างสมการทำนายค่าองค์ประกอบทางเคมีของผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค NIRS นั้นต้องใช้กลุ่มตัวอย่างที่ทราบปริมาณองค์ประกอบทางเคมีที่ต้องการทำนายและข้อมูลสเปกตรัม NIR ของตัวอย่างเหล่านั้น โดยในการดำเนินการสร้างสมการทำนายประกอบด้วย 2 ขั้นตอนหลัก (ชงชัย สุวรรณสิขณณ์ และปิณฑร ฤทธิเรืองเดช, 2552) ดังแสดงใน Figure 24

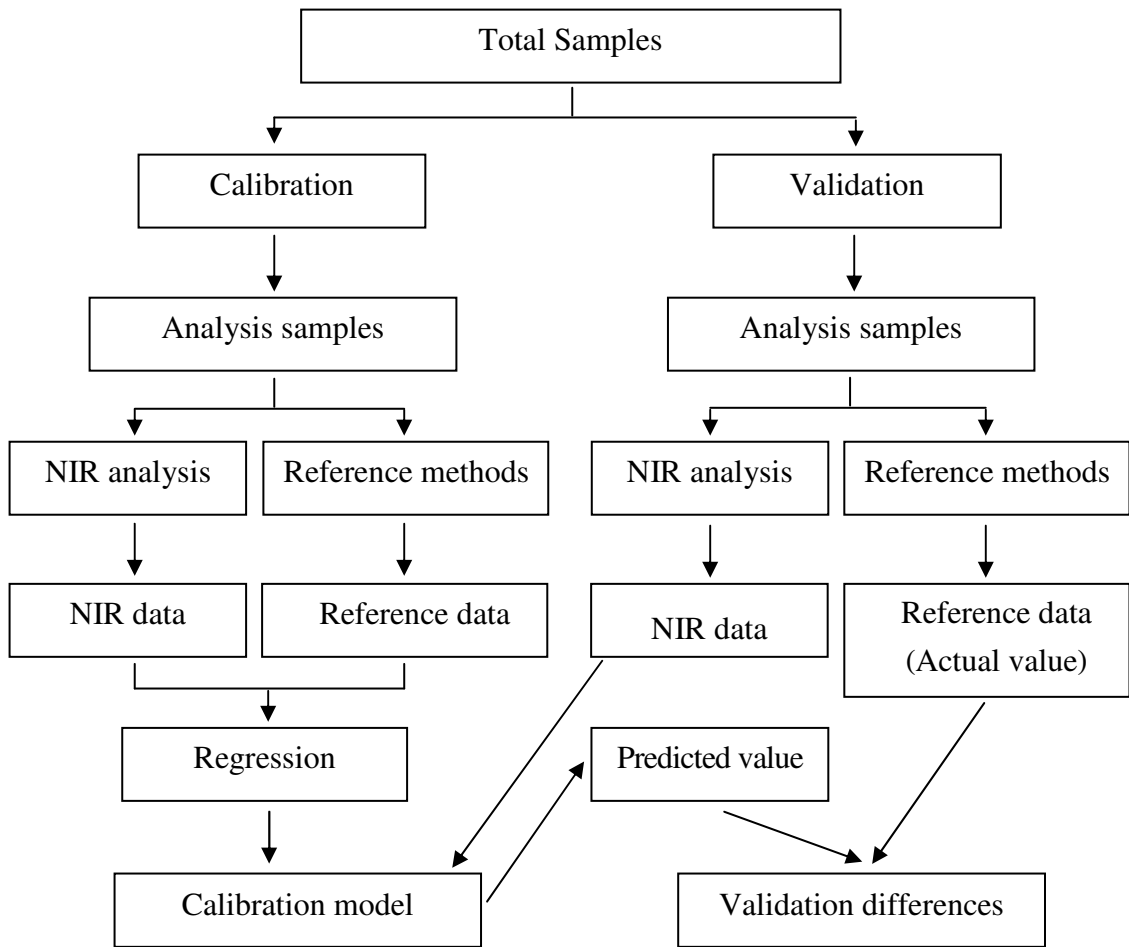


Figure 24 Flow diagram of NIR calibration and validation process

ที่มา : ดัดแปลงจาก ชงชัย สุวรรณสิขณน์ และปิติพร ฤทธิเรืองเดช (2552)

1. ขั้นตอนการสร้างสมการที่ใช้ทำนาย (Calibration) เริ่มจากการนำตัวอย่างในกลุ่ม Calibration sample set มาวัดค่าการดูดกลืนแสง NIR (NIR analysis) และวิเคราะห์ปริมาณองค์ประกอบทางเคมีซึ่งวิเคราะห์ได้จากวิธีมาตรฐาน (Reference methods) จากนั้นหาความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูลสเปกตรัม NIR ของตัวอย่าง (NIR data, ตัวแปรอิสระ) และข้อมูลปริมาณองค์ประกอบทางเคมี (Reference data, ตัวแปรตาม) ด้วยวิธีการทางสถิติ เช่น วิธีการถดถอยกำลังสองน้อยที่สุดบางส่วน (Partial least squares regression, PLSR) เพื่อสร้างสมการที่ใช้ทำนายปริมาณองค์ประกอบทางเคมีที่ต้องการศึกษา (ชงชัย สุวรรณสิขณน์ และปิติพร ฤทธิเรืองเดช, 2552) สำหรับประสิทธิภาพของสมการที่สร้างขึ้นพิจารณาได้จากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของกลุ่ม Calibration sample set (Correlation coefficient, R_{cal}) และค่าความคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ยในการทำนายของกลุ่ม Calibration sample set (Root mean square error of calibration, RMSEC) กล่าวคือ หากสมการที่ใช้ทำนายมีค่า R_{cal} เข้าใกล้ 1 (ดังแสดงใน

Table 7) และมีค่า RMSEC ต่ำ แสดงว่าสมการที่ใช้ทำนายดังกล่าวมีประสิทธิภาพในการทำนายสูง (รณฤทธิ์ ฤทธิธรรม, 2552) ซึ่งค่า R_{cal} และค่า RMSEC มีวิธีการคำนวณ ดังแสดงในสมการที่ 1 และ 2 ตามลำดับ สำหรับงานวิจัยนี้ทำการสร้างสมการที่ใช้ทำนายโดยการใส่สเปกตรัมทั้งหมด (Full spectrum method) ด้วยวิธี PLSR และทำการทดสอบความสามารถของสมการที่ใช้ทำนายดังกล่าวด้วยวิธีการทดสอบความแม่นยำภายในกลุ่ม (Cross validation)

$$R = \frac{\sum XY - n\bar{X}\bar{Y}}{\sqrt{(\sum X^2 - n\bar{X}^2)(\sum Y^2 - n\bar{Y}^2)}} \quad \text{สมการที่ 1}$$

$$RMSEC = \sqrt{\frac{\sum (X - Y)^2}{n - 1}} \quad \text{สมการที่ 2}$$

เมื่อ X คือ ข้อมูลสเปกตรัม NIR ของตัวอย่าง (ตัวแปรอิสระ)

Y คือ ข้อมูลปริมาณองค์ประกอบทางเคมี (ตัวแปรตาม)

n คือ จำนวนตัวอย่าง

Table 7 Interpretation of R

R	Interpretation
+/- 0.51-0.70	Poor correlation
+/- 0.71-0.80	Rough screening
+/- 0.81-0.90	Screening and approximate calibration
+/- 0.91-0.95	Usable with caution for most application including research
+/- 0.96-0.98	Usable in most applications including quality assurance
> +/- 0.99	Usable in any application

ที่มา : ดัดแปลงจาก Williams (2007 อ้าง โดย ศิราพร ริพล, 2551)

2. ขั้นตอนการตรวจสอบความถูกต้องของสมการ (Validation) เป็นการทวนสอบว่าสมการทำนายที่สร้างขึ้นสามารถนำมาทำนายข้อมูลชุดอื่นที่เป็นประชากรกลุ่มเดียวกัน ได้หรือไม่ ซึ่งขั้นตอนดังกล่าวจะเริ่มจากการนำตัวอย่างกลุ่มใหม่ (Unknown) มาวิเคราะห์ปริมาณองค์ประกอบทางเคมีที่วิเคราะห์ได้จากวิธีมาตรฐานเรียกค่าที่ได้ว่า ค่าจริง (Actual value) และวัดค่าการดูดกลืนแสง NIR

จากนั้นนำข้อมูลสเปกตรัม NIR ของตัวอย่างกลุ่มใหม่มาแทนค่าในสมการทำนายที่สร้างขึ้นจากข้อ 1. เรียกค่าที่ได้ว่า ค่าทำนาย (Predicted value) ทำการเปรียบเทียบค่าจริงและค่าทำนายเพื่อพิจารณาว่าสมการทำนายที่สร้างขึ้นมีความถูกต้องสามารถนำไปใช้งานได้หรือไม่ ซึ่งค่าสถิติสำคัญที่ใช้ในการตรวจสอบ คือ ค่าความคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ยในการทำนายของกลุ่ม Validation sample set (Root mean square error of prediction, RMSEP) ซึ่งควรจะมีค่าน้อย และอัตราส่วนของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของกลุ่ม Validation sample set ต่อค่า Standard error of prediction (Ratio of standard deviation of reference data in the validation sample set to standard error of prediction, RPD) ซึ่งควรจะมีค่ามาก ดังแสดงในภาคผนวก ค จึงจะแสดงว่าสมการทำนายที่สร้างขึ้นมีความเหมาะสมในการนำไปใช้งาน รวมทั้งค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของกลุ่ม Validation sample set (Correlation coefficient of validation, R_{val}) ควรจะมีค่าเข้าใกล้ 1 ดังแสดงใน Table 7 (ซงชัย สุวรรณสิขณน์ และปิติพร ฤทธิเรืองเดช, 2552; Williams, 2007 อ้างโดย ศิราพร ริพล, 2551) ซึ่งค่า RMSEP และค่า RPD มีวิธีการคำนวณ ดังแสดงในสมการที่ 3 และ 4 ตามลำดับ

$$RMSEP = \sqrt{\frac{\sum (X - Y)^2}{n - 1}} \quad \text{สมการที่ 3}$$

$$RPD = \frac{SD}{SEP} \quad \text{สมการที่ 4}$$

เมื่อ X คือ ข้อมูลของค่าจริง (Actual value)

Y คือ ข้อมูลของค่าทำนาย (Predicted value)

n คือ จำนวนตัวอย่าง

SD คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation) ของกลุ่ม Validation sample set

SEP คือ ค่าความคลาดเคลื่อนจากการทำนาย (Standard error of prediction)

6.3 การประยุกต์ใช้เทคนิค NIRS ในการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานิน

Sinelli และคณะ (2008) ทำการประยุกต์ใช้เทคนิค NIRS เพื่อวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในรูปมัลวิดิน 3-กลูโคไซด์ของผลบลูเบอร์รี่ (*Vaccinium corymbosum* L.) โดยเก็บเกี่ยวผลบลูเบอร์รี่จำนวน 132 ตัวอย่าง จาก 2 สายพันธุ์ คือ Brigitta และ Duke (ทำการเก็บเกี่ยวผลบลูเบอร์รี่ในระยะที่ผลบลูเบอร์รี่แก่จัดจนถึงระยะที่ผลบลูเบอร์รี่สุก) จากนั้นนำผลบลูเบอร์รี่สดมาบดเป็นเนื้อ

ละเอียดด้วยเครื่องปั่นเป็นเวลา 2 นาที นำวัดการดูดกลืนแสง NIR โดยแบ่งตัวอย่างจำนวน 132 ตัวอย่าง ออกเป็น 2 กลุ่ม คือ Calibration sample set จำนวน 97 ตัวอย่าง และ Validation sample set จำนวน 35 ตัวอย่าง บรรจุตัวอย่างลงในขวดแก้ว (Glass vials) นำวัดการดูดกลืนแสง NIR ด้วยเครื่อง Fourier transform near infrared spectroscopy (FT-NIRS) โดยใช้ Reflectance mode ในช่วงเลขคลื่น 12,000.0 -3,600.0 ต่อเซนติเมตร (ความยาวคลื่น 833.3-2,777.8 นาโนเมตร) ทำการปรับแต่งสเปกตรัมด้วยวิธี SNV และนำตัวอย่างจำนวน 132 ตัวอย่าง มาวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด (มิลลิกรัม มัลลิวิน 3-กลูโคไซด์ต่อกรัมตัวอย่าง) ตามวิธีของ DiStefano และ Cravero (1989) จากนั้นสร้างสมการ ทำนายปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดโดยวิธี PLSR ด้วยโปรแกรม Unscrambler (Version 9.7) พบว่า สมการที่เหมาะสมสำหรับการทำนายปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดซึ่งได้จากการปรับแต่งสเปกตรัม ด้วยวิธี SNV ให้ค่า R_{cal} ค่า RMSEP และค่า Residual predictive deviation (RPD) เท่ากับ 0.920 0.220 มิลลิกรัมมัลลิวิน 3-กลูโคไซด์ต่อกรัมตัวอย่าง และ 2.030 ตามลำดับ จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า มีความเป็นไปได้ในการนำเทคนิค NIRS มาประยุกต์ใช้เพื่อตรวจสอบคุณภาพของผลบลูเบอร์รี่

Ferrer-Gallego และคณะ (2010) ทำการประยุกต์ใช้เทคนิค NIRS เพื่อวิเคราะห์ปริมาณ แอนโทไซยานินในเปลือกองุ่นขององุ่นแดง (*Vitis vinifera* L.) พันธุ์ Graciano โดยเก็บเกี่ยวผลองุ่นจาก ไร่องุ่น 2 แห่งใน La Rioja (ประเทศสเปน) จำนวน 82 ตัวอย่าง นำเก็บที่อุณหภูมิ -20.0 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาวิเคราะห์ การวิเคราะห์ตัวอย่างจะเริ่มจากการนำผลองุ่นที่เก็บที่อุณหภูมิดังกล่าวมาละลาย แยกเอาเฉพาะส่วนเปลือกมาใช้ในการวิเคราะห์ นำเปลือกองุ่นดังกล่าวมาวัดการดูดกลืนแสง NIR โดย แบ่งตัวอย่างจำนวน 82 ตัวอย่าง ออกเป็น 2 กลุ่ม คือ Calibration sample set จำนวน 54 ตัวอย่าง และ Validation sample set จำนวน 28 ตัวอย่าง บรรจุตัวอย่างลงในอุปกรณ์ใส่ตัวอย่างที่ทำจากควอทซ์ (Transport quartz cup) จากนั้นนำวัดการดูดกลืนแสง NIR ด้วยเครื่อง NIRS โดยใช้ Reflectance mode ในช่วง ความยาวคลื่น 1,100.0-2,498.0 นาโนเมตร ทำการปรับแต่งสเปกตรัมด้วยวิธี S. smooth และนำเปลือก องุ่นจำนวน 82 ตัวอย่าง มาทำการสกัดสารประกอบฟีนอลิก จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานิน โดยการฉีดสารประกอบฟีนอลิกที่ได้จากการสกัดเข้าสู่เครื่อง HPLC-DAD-MS ตามวิธีของ Garcia-Marino และคณะ (2010) จากนั้นสร้างสมการทำนายปริมาณแอนโทไซยานิน โดยวิธี Modified partial least squares regression (MPLSR) พบว่าสมการที่เหมาะสมสำหรับการทำนายปริมาณแอนโทไซยานิน ซึ่งได้จากการปรับแต่งสเปกตรัมด้วยวิธี S. smooth ให้ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจของสมการทำนาย (Determination coefficient of calibration, R_{cal}^2) ค่า SEP และค่า Ratio performance deviation (RPD) เท่ากับ 0.974 0.810 มิลลิกรัมต่อกรัมตัวอย่าง และ 4.400 ตามลำดับ จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า มีความเป็นไปได้ในการนำเทคนิค NIRS มาประยุกต์ใช้เป็นเครื่องมือที่ช่วยตัดสินใจในการเก็บเกี่ยว ผลผลิตได้

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาคุณภาพทางกายภาพ เคมี และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของกระเจี๊ยบแดงสดและกากกระเจี๊ยบแดงซึ่งเป็นวัสดุเศษเหลือจากกระบวนการผลิตเครื่องดื่มน้ำกระเจี๊ยบแดง รวมทั้งศึกษาคุณภาพทางจุลินทรีย์ของกากกระเจี๊ยบแดงซึ่งนำมาใช้เป็นส่วนผสมหลักในการผลิตผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น
2. ศึกษาผลของการเติมสารเพิ่มความคงตัวต่างชนิดและระดับความเข้มข้นต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น รวมทั้งคัดเลือกชนิดและระดับความเข้มข้นของสารเพิ่มความคงตัวที่เหมาะสมสำหรับการผลิตผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น
3. ศึกษาผลของการเติมซูคราโลสเป็นสารให้ความหวานทดแทนซูโครสต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น รวมทั้งคัดเลือกอัตราส่วนของซูโครสต่อซูคราโลสที่เหมาะสมสำหรับการผลิตผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น
4. ศึกษาผลของการเติมและไม่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ อุนหนุมิและระยะเวลาเก็บรักษาต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นระหว่างการเก็บรักษา
5. ศึกษาการประยุกต์ใช้เทคนิค NIRS ในการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น
6. คำนวณต้นทุนส่วนผสมและบรรจุภัณฑ์ของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น

บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

วัตถุดิบ

1. กระจีบบแดง (*Hibiscus sabdariffa* L.) พันธุ์ชูดาน ระยะการเก็บเกี่ยวประมาณ 120 วัน จากแหล่งปลูกตำบลควนมิด อำเภอนาหม่อม จังหวัดสงขลา
2. วัตถุดิบสำหรับการผลิตผลิตภัณฑ์กระจีบบแดงแผ่น
 - 2.1 กากกระจีบบแดงจากกระบวนการผลิตเครื่องดื่มน้ำกระจีบบแดงบรรจุในกระป๋องพลาสติกโพลีเอทิลีนชนิดความหนาแน่นสูง (High density polyethylene container) ขนาดบรรจุ 1,000 มิลลิลิตร นำเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20.0 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้งาน
 - 2.2 สารเพิ่มความคงตัว ได้แก่ เพกติน (ชนิดเมทอกซิลสูง) กัวร์กัม และมอลโทเดกซ์ทริน (DE 10)
 - 2.3 สารให้ความหวาน ได้แก่ ซูโครส และซูคราโลส
 - 2.4 กลีเซอรอล
 - 2.5 กรดซิตริก
 - 2.6 โปแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์

วัสดุและสารเคมี

1. ถุงเมทัลไลท์ (OPP/MCPP) ความหนา 39.0 ไมโครเมตร ขนาด 9.8×15.0 เซนติเมตร สำหรับบรรจุผลิตภัณฑ์กระจีบบแดงแผ่น
2. สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

Table 8 List of chemicals for the experiment

Chemicals	Grade	Company	Country
1. Sodium hydroxide	Analytical	Merck	Germany
2. Potassium chloride	Analytical	Merck	Germany
3. <i>Meta</i> -Phosphoric acid	Analytical	Panreac	E.U.
4. 1,2 Phenylenediamine dihydrochloride	Analytical	Fluka	Switzerland
5. Sodium acetate trihydrate	Analytical	Merck	Germany
6. Boric acid, crystalline	Analytical	Merck	Germany
7. Ascorbic acid standard	Analytical	Ajax Finechem	Australia
8. Acetic acid	Analytical	Merck	Germany

Table 8 List of chemicals for the experiment (Cont.)

List of chemical	Grade	Company	Country
9. Charcoal activated decolourising PDR	Analytical	Ajax Finechem	Australia
10. DPPH (2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl)	Analytical	Sigma	Germany
11. BHT (Butylhydroxytoluene)	Analytical	Fluka	Germany
12. Absolute ethanol	Analytical	Merck	Germany
13. ABTS [2, 2'-azino-bis (3-ethylbenzo thiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt]	Analytical	Sigma	Germany
14. Potassium persulfate	Analytical	Fluka	Germany
15. TPTZ (2, 4, 6-tripyridyl-s-triazine)	Analytical	Fluka	Switzerland
16. Sodium acetate trihydrate	Analytical	Ajax Finechem	Australia
17. Iron (III) Chloride hexahydrate	Analytical	Ajax Finechem	Australia
18. Trolox (6-hydroxy-2, 5, 7, 8- tetramethylchroman-2-carboxylic acid)	Analytical	Sigma	Germany
19. Folin-Ciocalteu phenol reagent	Analytical	Merck	Germany
20. Gallic acid	Analytical	Sigma	Germany
21. Sodium carbonate anhydrous	Analytical	Ajax Finechem	Australia
22. Plate count agar	Analytical	Himedia	India
23. Potato dextrose agar	Analytical	Himedia	India
24. Brilliant-green lactose bile broth	Analytical	Himedia	India
25. Lauryl sulphate tryptose broth	Analytical	Himedia	India
26. EC Broth	Analytical	Himedia	India
27. Eosin methylene blue agar	Analytical	Himedia	India
28. Peptone water	Analytical	Merck	Germany

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. สำหรับการเตรียมกระเจี๊ยบแดงแห้ง
 - 1.1 ตู้อบลมร้อนชนิดถาดหมุน (Rotary air dryer) ประเทศไทย
 - 1.2 เครื่องปิดผนึก ยี่ห้อ Brother ประเทศไทย
 - 1.3 เครื่องบด ยี่ห้อ National ประเทศญี่ปุ่น

2. สำหรับการผลิตเพื่อวิเคราะห์กระเจียบแดง
 - 2.1 เครื่องคอลลอยด์มีลล์ ยี่ห้อ Seven Stars ประเทศจีน
3. สำหรับการผลิตผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่น
 - 3.1 ตู้อบแห้งสุญญากาศ ยี่ห้อ Eyela รุ่น VOS-450VD ประเทศญี่ปุ่น
4. สำหรับการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพและเคมี
 - 4.1 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Ohaus รุ่น TP2KS ประเทศสหรัฐอเมริกา
 - 4.2 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Mettler Toledo รุ่น AB204 ประเทศสวิตเซอร์แลนด์
 - 4.3 เครื่องวัดค่าสี ยี่ห้อ HunterLab รุ่น ColorQuest XT ประเทศสหรัฐอเมริกา
 - 4.4 เครื่องวัดค่าความหนืด Bostwick consistometer ยี่ห้อ CSC ประเทศแคนาดา
 - 4.5 เครื่อง Instron instrument ยี่ห้อ LLOYD รุ่น LR 30 K ประเทศอังกฤษ
 - 4.6 เครื่อง Texture analyzer ยี่ห้อ Stable Micro System รุ่น TA-XT 2i ประเทศอังกฤษ
 - 4.7 เครื่องวัดค่าพีเอช ยี่ห้อ Eutech รุ่น Cyberscan pH 510 ประเทศมาเลเซีย
 - 4.8 เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Abbe-refractometer) ยี่ห้อ Optronic รุ่น AR3D-AR6D ประเทศเยอรมนี
 - 4.9 เครื่องวัดค่าวอเตอร์แอกติวิตี ยี่ห้อ Novasina รุ่น Thermoconstanter ประเทศสวิตเซอร์แลนด์
 - 4.10 ตู้อบแห้งสุญญากาศ ยี่ห้อ Eyela รุ่น VOS-300VD ประเทศญี่ปุ่น
 - 4.11 เครื่อง Spectrofluorophotometer ยี่ห้อ Shimadzu รุ่น RF-1501 ประเทศญี่ปุ่น
5. สำหรับการวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ
 - 5.1 เครื่องโฮโมจีไนเซอร์ ยี่ห้อ Yellow line รุ่น DI 18 basic ประเทศเยอรมนี
 - 5.2 เครื่องเซนตริฟิวส์ ยี่ห้อ Beckman coulter รุ่น Avanti J-E ประเทศสหรัฐอเมริกา
 - 5.3 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ยี่ห้อ Memmert รุ่น WNB10 ประเทศเยอรมนี
 - 5.4 เครื่อง Microplate reader ยี่ห้อ Biotek รุ่น Power Wave X ประเทศสหรัฐอเมริกา
 - 5.5 เครื่อง UV-Visible spectrophotometer ยี่ห้อ Hitachi รุ่น U-1900 ประเทศญี่ปุ่น
6. สำหรับการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์
 - 6.1 ตู้บ่มปรับอุณหภูมิ ยี่ห้อ Memmert รุ่น BE 500 ประเทศเยอรมนี
 - 6.2 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดัน ไอ ยี่ห้อ Sanyo รุ่น Labo Autoclave ประเทศญี่ปุ่น
7. สำหรับการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส
8. สำหรับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคสเปกโตรสโคปีย่านใกล้อินฟราเรด
 - 8.1 เครื่อง Near infrared spectroscopy ยี่ห้อ BRAN+LUEBBE รุ่น InfraAlyzer 500 ประเทศเยอรมนี

วิธีการดำเนินการวิจัย

1. การวิเคราะห์คุณภาพกระเจียบแดงสดและกากกระเจียบแดง

ทำการเตรียมกระเจียบแดงสดโดยการล้างทำความสะอาดกระเจียบแดงสดด้วยน้ำ 3 ครั้ง แล้วแยกเมล็ดออก

ทำการเตรียมกากกระเจียบแดงโดยเริ่มจากการอบแห้งกลีบกระเจียบแดงสดที่เตรียมได้ข้างต้นในตู้อบลมร้อนชนิดถาดหมุนที่อุณหภูมิ 50.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 36 ชั่วโมง จนกระทั่งกระเจียบแดงแห้งมีปริมาณความชื้น เท่ากับ 10.0 % ชั่งน้ำหนักกระเจียบแดงแห้งแล้วนำบรรจุในถุงไนลอน ปิดปากถุงให้สนิทด้วยเครื่องปิดผนึก บรรจุในกล่องโฟม และเก็บที่อุณหภูมิ 27.0 องศาเซลเซียส (อุณหภูมิห้อง) จนกว่าจะนำมาใช้งาน (ปารมี ชุมศรี, 2549) สำหรับการเตรียมกากกระเจียบแดงเริ่มจากนำกระเจียบแดงแห้งที่ปั่นลดขนาดด้วยเครื่องปั่นเป็นเวลา 3 วินาที มาสกัดด้วยน้ำในอัตราส่วนกระเจียบแดงแห้งต่อน้ำ เท่ากับ 1 ต่อ 10 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ในถังสแตนเลสขนาดความจุ 50 ลิตร ทำการสกัดที่อุณหภูมิ 60.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที โดยให้ความร้อนด้วยเครื่องทำความร้อนแบบแท่ง (Barheater) ซึ่งมีเทอร์โมคัปเปิลเป็นตัววัดอุณหภูมิและส่งสัญญาณไปให้เทอร์โมสแตตซึ่งเป็นตัวควบคุมอุณหภูมิในการสกัดให้คงที่ จากนั้นทำการกรองผ่านผ้าขาวบางจะได้ส่วนของกากกระเจียบแดงซึ่งเป็นเศษเหลือจากกระบวนการสกัดดังกล่าว นำบรรจุในกระป๋องพลาสติกโพลีเอทิลีนชนิดความหนาแน่นสูงขนาดบรรจุ 1,000 มิลลิลิตร และเก็บที่อุณหภูมิ -20.0 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้งาน (เพียงใจ คาริเยาะ, 2550)

ทำการตรวจวิเคราะห์และเปรียบเทียบคุณภาพทางกายภาพ เคมี และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของกระเจียบแดงสดและกากกระเจียบแดง สำหรับการสกัดกระเจียบแดงสดเริ่มจากการหั่นกระเจียบแดงสดให้เป็นชิ้นขนาดเล็ก ชั่งน้ำหนักกระเจียบแดงสด 3 กรัม ใสลงในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร และตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิ 4.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำมาโฮโมจีไนซ์ด้วยความเร็วรอบ 7,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที เทตัวอย่างลงในขวดสำหรับเซนตริฟิวส์ และกลั่นตัวอย่างที่ติดบีกเกอร์ด้วยน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร พร้อมทั้งเทลงในขวดสำหรับเซนตริฟิวส์ที่มีตัวอย่าง เขย่าเป็นเวลา 2 นาที นำตัวอย่างมาเซนตริฟิวส์ที่อุณหภูมิ 4.0 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 8,000 rpm เป็นเวลา 20 นาที ส่วนการสกัดกากกระเจียบแดงจะใช้วิธีการเช่นเดียวกันกับการสกัดกระเจียบแดงสด นำส่วนใสของตัวอย่างที่ได้หลังการเซนตริฟิวส์มาวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีโดยการวัดค่าพีเอช ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดมาลิก ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในรูปไซยานิดิน 3-กลูโคไซด์ ปริมาณกรดแอสคอร์บิก ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด รวมทั้งสมบัติการจับอนุมูล DPPH[•] สมบัติการจับอนุมูล ABTS^{•+} และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกไอออน ดังนี้

1.1 การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

วัดค่าสีของกระเจี๊ยบแดงสดและกากกระเจี๊ยบแดงในระบบ CIE LAB รายงานค่าสีในรูป L^* , a^* และ b^* โดยใช้เครื่อง Hunter Lab Colorimeter ตามรายละเอียดในภาคผนวก ก-1 ข้อ 1

1.2 การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

วิเคราะห์คุณภาพทางเคมีของกระเจี๊ยบแดงสดและกากกระเจี๊ยบแดง ดังนี้

1.2.1 ค่าพีเอช (A.O.A.C., 2000) ตามรายละเอียดในภาคผนวก ก-2 ข้อ 2

1.2.2 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (A.O.A.C., 2000) ตามรายละเอียดในภาคผนวก ก-2 ข้อ 3

1.2.3 ปริมาณกรดทั้งหมด (A.O.A.C., 2000) ในรูปร้อยละของกรดมาลิก ตามรายละเอียดในภาคผนวก ก-2 ข้อ 4

1.2.4 ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด (Wrolstad, 1976) ด้วยวิธี pH-differential method โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 และ 700 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Visible spectrophotometer ในสารละลายบัฟเฟอร์ KCl-HCl (ค่าพีเอช 1.0) และ $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Na}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ -HCl (ค่าพีเอช 4.5) คำนวณปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในรูปไซยานิดิน 3-กลูโคไซด์ รายงานค่าในรูปมิลลิกรัมไซยานิดิน 3-กลูโคไซด์ต่อตัวอย่าง 100 กรัม ตามรายละเอียดในภาคผนวก ก-2 ข้อ 5

1.2.5 ปริมาณกรดแอสคอร์บิก (A.O.A.C., 2000) ด้วยวิธี Microfluorometric method โดยอาศัยหลักการของการดูดกลืนและปลดปล่อยแสงฟลูออเรสเซนซ์เมื่อได้รับการกระตุ้นจากแสงฟลูออเรสเซนซ์ ใช้ค่า Excitation wavelength เท่ากับ 350 นาโนเมตร และ Emission wavelength เท่ากับ 430 นาโนเมตร คำนวณปริมาณกรดแอสคอร์บิกของตัวอย่างจากกราฟมาตรฐานของกรดแอสคอร์บิก รายงานค่าในรูปมิลลิกรัมต่อกรัมตัวอย่าง ตามรายละเอียดในภาคผนวก ก-2 ข้อ 6

1.2.6 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Miliauskas *et al.*, 2004) ปิเปตตัวอย่างปริมาตร 20 ไมโครลิตร เติม Folin-Ciocalteu's reagent ความเข้มข้น 10 % ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และโซเดียมคาร์บอเนต แอนไฮไดรต ความเข้มข้น 0.71 โมลาร์ ปริมาตร 80 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ในที่มีดเป็นเวลา 30 นาที นำวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader เปรียบเทียบค่าที่ได้กับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก รายงานค่าในรูปมิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่าง ตามรายละเอียดในภาคผนวก ก-2 ข้อ 7

1.2.7 ปริมาณใยอาหารทั้งหมดทั้งใยอาหารชนิดที่ละลายน้ำและชนิดไม่ละลายน้ำด้วยวิธี Enzymatic gravimetric method (A.O.A.C., 2000) ซึ่งจะวิเคราะห์เฉพาะตัวอย่างกากกระเจี๊ยบแดง โดยการส่งตรวจวิเคราะห์ที่ศูนย์พัฒนาอุตสาหกรรมเกษตรเพื่อการส่งออก คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

1.3 การวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

วิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระของกระเจี๊ยบแดงสดและกากกระเจี๊ยบแดง ดังนี้

1.3.1 สมบัติการจับอนุมูล DPPH[•] (DPPH[•] scavenging activity; Yamasaki *et al.*, 1994) เตรียมตัวอย่างที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน 5 ระดับ คือ 500 1,000 2,000 3,000 และ 4,000 ไมโครกรัม ต่อมิลลิลิตร เติมนสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 6×10^{-5} โมลาร์ ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที นำวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader โดยใช้บีเอชที เป็นสารมาตรฐาน รายงานค่าที่วัดได้ในรูปค่า EC₅₀ (Efficient concentration) ซึ่งหมายถึง ความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่ไปลดปริมาณอนุมูล DPPH[•] ลง 50 % รายงานค่าในรูปไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามรายละเอียดในภาคผนวก ก-3 ข้อ 1

1.3.2 สมบัติการจับอนุมูล ABTS^{•+} (ABTS^{•+} scavenging activity; Re *et al.*, 1999) ปิเปตตัวอย่าง 20 ไมโครลิตร เติมนสารละลายของ ABTS^{•+} 2 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 6 นาที นำวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Visible spectrophotometer เปรียบเทียบค่าที่ได้กับกราฟมาตรฐานของโทรลอคซ์ รายงานค่าในรูป TEAC (Trolox equivalents antioxidant capacity; ปริมาณของสารละลายโทรลอคซ์ที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ เทียบเท่ากับ 1 หน่วยน้ำหนักของสารตัวอย่าง) ในหน่วยไมโครโมลสมมูลย์โทรลอคซ์ต่อกรัมตัวอย่าง ตามรายละเอียดในภาคผนวก ก-3 ข้อ 2

1.3.3 ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกไอออน (Ferric reducing antioxidant power, FRAP; Benzie and Strain, 1996) ปิเปตตัวอย่าง 60 ไมโครลิตร น้ำกลั่น 180 ไมโครลิตร และเติมนสารละลาย FRAP reagent 1,800 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 2 ชั่วโมง นำวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Visible spectrophotometer เปรียบเทียบค่าที่ได้กับกราฟมาตรฐานของโทรลอคซ์ รายงานค่าในรูป TEAC ในหน่วยไมโครโมลสมมูลย์โทรลอคซ์ต่อกรัมตัวอย่าง ตามรายละเอียดในภาคผนวก ก-3 ข้อ 3

1.4 การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์

วิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์ของกากกระเจี๊ยบแดง (โดยส่งตรวจวิเคราะห์ที่บริษัทห้องปฏิบัติการกลางตรวจสอบผลิตภัณฑ์เกษตรและอาหาร จำกัด ตำบลคองหงส์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา) ดังนี้

1.4.1 Coliform bacteria (USFDA., 2002)

1.4.2 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (USFDA., 2001a) ด้วยวิธี Aerobic plate count

1.4.3 ปริมาณยีสต์และรา (USFDA., 2001b)

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely randomized design, CRD) ทำการทดลอง 2 ซ้ำ นำผลจากการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ เคมี และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของกระเจี๊ยบแดงสดและกากกระเจี๊ยบแดงมาเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ T-test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

2. การพัฒนาสูตรพื้นฐานของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น

2.1 การเตรียมเพียวเร่กระเจี๊ยบแดง

สำหรับการเตรียมเพียวเร่กระเจี๊ยบแดงเตรียมได้จากการบดกากกระเจี๊ยบแดงกับน้ำร้อน (อุณหภูมิ 60.0 องศาเซลเซียส) โดยใช้อัตราส่วนของกากกระเจี๊ยบแดงต่อน้ำร้อน เท่ากับ 1 ต่อ 5 (น้ำหนักต่อปริมาตร) บดด้วยเครื่องคอลลอยด์มิลล์เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นบรรจุเพียวเร่กระเจี๊ยบแดงขณะร้อน (อุณหภูมิ 50.0 องศาเซลเซียส) ในถุงโพลีเอทิลีน (Polyethylene bag) และนำบรรจุในกระป๋องพลาสติกโพลีเอทิลีนชนิดความหนาแน่นสูงเก็บที่อุณหภูมิ -20.0 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้ในการผลิต นำเพียวเร่กระเจี๊ยบแดงที่ได้วิเคราะห์คุณภาพ ดังนี้

2.1.1 การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ ได้แก่ ค่าสี ตามข้อ 1.1

2.1.2 การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี ได้แก่ ปริมาณความชื้น (A.O.A.C., 2000) ตามรายละเอียดในภาคผนวก ก-2 ข้อ 1 รวมทั้งค่าพีเอชและปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดตามข้อ 1.2.1 และ 1.2.2 ตามลำดับ

2.2 ศึกษาผลของการเติมสารเพิ่มความคงตัวต่างชนิดและระดับความเข้มข้นต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น

ทำการศึกษาผลของการเติมสารเพิ่มความคงตัวต่างชนิดและระดับความเข้มข้นต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น โดยเริ่มจากการผลิตผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นซึ่งมีส่วนผสมในการผลิตต่อน้ำหนักเพียวเร่กระเจี๊ยบแดง 100 กรัม ดังนี้ น้ำ 3.50 กรัม ซูโครส 19.50 กรัม กลีเซอรอล 9.00 กรัม กรดซิตริก 0.10 กรัม และโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 0.075 กรัม รวมทั้งสารเพิ่มความคงตัว 3 ชนิด ซึ่งแต่ละชนิดมี 4 ระดับความเข้มข้น ดังนี้ (1) เพกติน 0.0 1.0 2.0 และ 3.0 กรัมต่อเพียวเร่กระเจี๊ยบแดง 100 กรัม (2) กัวร์กัม 0.0 0.2 0.4 และ 0.6 กรัมต่อเพียวเร่กระเจี๊ยบแดง 100 กรัม (3) มอลโทเดกซ์ทริน 0.0 2.0 4.0 และ 6.0 กรัมต่อเพียวเร่กระเจี๊ยบแดง 100 กรัม ตามลำดับ สำหรับขั้นตอนในการผลิตผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นดังแสดงใน Figure 25 โดยเริ่มจากการคำนวณและชั่งน้ำหนักส่วนผสมของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นตามสูตรข้างต้น จากนั้นนำเพียวเร่กระเจี๊ยบแดงมาเติมน้ำตาลและสารเพิ่มความคงตัวดังกล่าวข้างต้น สำหรับสูตรที่มีการเติมเพกติน

เป็นสารเพิ่มความคงตัวจะนำของผสมที่ได้ไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 65.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที เพื่อให้เพกตินละลาย จากนั้นนำของผสมที่เติมน้ำตาลและสารเพิ่มความคงตัวแต่ละชนิดมาเติม ส่วนผสมที่เหลือ คือ น้ำ กลีเซอรอล กรดซิตริก และ โปแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ ผสมให้เข้ากันเป็นเวลา 2 นาที จากนั้นเทของผสมจำนวน 136 กรัม ลงในถาดสแตนเลส (ขนาด 12.0×13.0×2.0 เซนติเมตร) นำอบแห้งด้วยเครื่องอบแห้งสุญญากาศแบบให้ความร้อนที่ชั้นวางวัสดุที่อุณหภูมิ 80.0 องศาเซลเซียส ความดัน 39.0 เซนติเมตรปรอท เป็นเวลา 14 ชั่วโมง 30 นาที นำผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่ได้ มาตัดให้มีขนาด 4.5×10.0 เซนติเมตร บรรจุถุงโพลีโพรพิลีน (Polypropylene bag) และทำการวิเคราะห์คุณภาพ ดังนี้

2.2.1 การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ ได้แก่ ค่าสี ตามข้อ 1.1 ค่าคุณลักษณะเนื้อสัมผัส ได้แก่ Tensile force และ Cutting force ตามรายละเอียดในภาคผนวก ก-1 ข้อ 2 และ 3 ตามลำดับ รวมทั้งค่า a_w ตามรายละเอียดในภาคผนวก ก-1 ข้อ 4

2.2.2 การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี ได้แก่ ค่าพีเอชและปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ตามข้อ 1.2.1 และ 1.2.2 ตามลำดับ

2.2.3 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส ทำการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส ด้วยวิธีการให้คะแนนความชอบแบบ 9 ระดับคะแนนความชอบ (9-Point hedonic scale) ใช้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 30 คน ซึ่งเป็นนักศึกษาคณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ และมีอายุระหว่าง 22-28 ปี โดยการพิจารณาคูณลักษณะด้านสี กลิ่นรสกระเจี๊ยบแดง ความเหนียว รสหวาน รสเปรี้ยว และความชอบโดยรวมของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น สำหรับแบบประเมิน รวมทั้งคุณลักษณะและวิธีการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น ดังแสดงในภาคผนวก ข-1 และภาคผนวก ข-2 ตามลำดับ

สำหรับการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพและเคมีวางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (CRD) และทำการทดลอง 2 ซ้ำ ส่วนการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสวางแผนการทดลองแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ (Randomized complete block design, RCBD) นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance, ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลองด้วยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT)

คัดเลือกระดับความเข้มข้นของสารเพิ่มความคงตัวแต่ละชนิด (3 ชนิด) ที่เหมาะสมในการผลิตผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น จากนั้นทำการผลิตผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น โดยใช้สารเพิ่มความคงตัวแต่ละชนิดตามระดับความเข้มข้นที่ได้จากการคัดเลือกข้างต้นแล้วนำผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมาวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ เคมี และการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส ตามข้อ 2.2.1-2.2.3 ตามลำดับ สำหรับการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพและเคมีมีการวางแผนการทดลอง

แบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (CRD) และทำการทดลอง 2 ซ้ำ ส่วนการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส มีการวางแผนการทดลองแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ (RCBD) นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลองด้วยวิธี DMRT

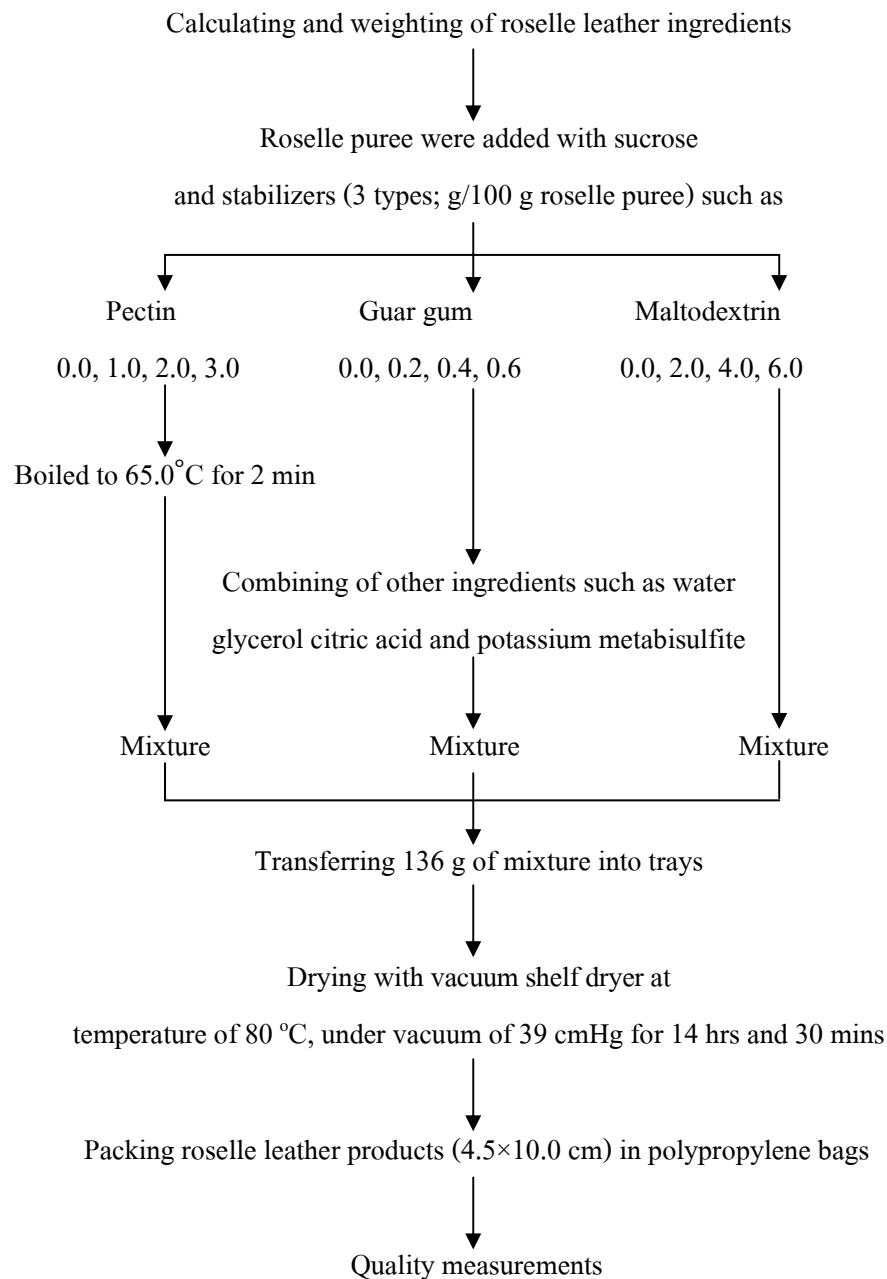


Figure 25 The processing of roselle leather products

2.3 ศึกษาผลของการเติมซูคราโลสเป็นสารให้ความหวานทดแทนซูโครสต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่น

ทำการศึกษาผลของการเติมซูคราโลสเป็นสารให้ความหวานทดแทนซูโครสต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่น โดยเริ่มจากการผลิตผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นซึ่งมีส่วนผสมในการผลิตทั้งหมดประกอบด้วย เพียวเร่กระเจียบแดง สารเพิ่มความคงตัว (จากการคัดเลือกในข้อ 2.2) น้ำ กลีเซอรอล กรดซิตริก โปแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ ซูโครส และซูคราโลส โดยมีการใช้อัตราส่วนของซูโครสต่อซูคราโลส 4 อัตราส่วน (การคำนวณดังภาคผนวก ง) ได้แก่ 100 ต่อ 0 (สูตรควบคุม) 75 ต่อ 25 50 ต่อ 50 และ 25 ต่อ 75 ตามลำดับ ซึ่งสูตรการผลิตผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นทั้ง 4 สูตรแสดงใน Table 9 จากนั้นนำผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นที่ได้มาทำการวิเคราะห์คุณภาพ ดังนี้

2.3.1 การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ ได้แก่ ค่าสี ตามข้อ 1.1 ค่าคุณลักษณะเนื้อสัมผัส ได้แก่ Tensile force และ Cutting force รวมทั้งค่า a_w ตามข้อ 2.2.1

2.3.2 การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี ได้แก่ ค่าพีเอชและปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดตามข้อ 1.2.1 และ 1.2.2 ตามลำดับ

2.3.3 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส ทำการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นตามข้อ 2.2.3

สำหรับการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพและเคมีวางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (CRD) และทำการทดลอง 2 ซ้ำ ส่วนการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสวางแผนการทดลองแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ (RCBD) นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลองด้วยวิธี DMRT จากนั้นทำการคัดเลือกอัตราส่วนของซูโครสต่อซูคราโลสที่เหมาะสมในการผลิตผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่น

Table 9 Formulations of roselle leather product (sucralose as replacement for sucrose)

Ingredients	Ratios of sucrose to sucralose*			
	100 to 0 (Control)	75 to 25	50 to 50	25 to 75
Roselle puree (g)	100.00	100.00	100.00	100.00
Stabilizer (g/100 g roselle puree)	**	**	**	**
Water (g/100 g roselle puree)	3.50	3.50	3.50	3.50
Glycerol (g/100 g roselle puree)	9.00	9.00	9.00	9.00
Citric acid (g/100 g roselle puree)	0.10	0.10	0.10	0.10
Potassium metabisulfite (g/100 g roselle puree)	0.075	0.075	0.075	0.075
Sucrose (g/100 g roselle puree)	19.500	14.625	9.750	4.875
Sucralose (g/100 g roselle puree)	0.000	0.008	0.016	0.024

* Based on sucralose has the sweetness about 600 times greater than that of sucrose

** The optimum concentration level of stabilizer was selected form 2.2

All ratios of sucrose to sucralose contributed to the sweetness equivalent to that of 19.500 g sucrose per 100 g roselle puree (Control)

3. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นระหว่างการเก็บรักษา

ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นในระหว่างการเก็บรักษา โดยเริ่มจากการผลิตผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่ได้รับการยอมรับสูงสุดจากข้อ 2.3 โดยมีการเติมและไม่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม นำบรรจุในถุงเมทัลไลต์ ขนาดบรรจุ 14-16 กรัม เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส และ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส (อุณหภูมิห้อง) เป็นระยะเวลา 2 เดือน จากนั้นวิเคราะห์คุณภาพผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น ดังนี้

3.1 การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

วิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพในวันที่ 0 30 และ 60 ของการเก็บรักษา ได้แก่ ค่าสี ตามข้อ 1.1 ค่าคุณลักษณะเนื้อสัมผัส ได้แก่ Tensile force และ Cutting force รวมทั้งค่า a_w ตามข้อ 2.2.1

3.2 การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

วิเคราะห์คุณภาพทางเคมีในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา ได้แก่ ปริมาณใยอาหารทั้งหมด ทั้งใยอาหารชนิดที่ละลายน้ำและไม่ละลายน้ำด้วยวิธี Enzymatic gravimetric method (A.O.A.C., 2000) โดยส่งตรวจวิเคราะห์ที่ศูนย์พัฒนาอุตสาหกรรมเกษตรเพื่อการส่งออก คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ และปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ด้วยวิธี Monier-Williams method (A.O.A.C., 2005) โดยส่งตรวจวิเคราะห์ที่บริษัทห้องปฏิบัติการกลางตรวจสอบผลิตภัณฑ์เกษตรและอาหาร จำกัด ตำบลคองหงส์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา

วิเคราะห์คุณภาพทางเคมีในวันที่ 0 และ 60 ของการเก็บรักษา ได้แก่ ปริมาณกรด แอสคอร์บิกตามข้อ 1.2.5

วิเคราะห์คุณภาพทางเคมีในวันที่ 0 15 30 45 และ 60 ของการเก็บรักษา ได้แก่ ค่าพีเอช ตามข้อ 1.2.1 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดตามข้อ 1.2.2 ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในรูป ไชยานิดิน 3-กลูโคไซด์ตามข้อ 1.2.4 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดตามข้อ 1.2.6 รวมทั้งสมบัติ การจับอนุมูล DPPH[•] สมบัติการจับอนุมูล ABTS^{•+} และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกไอออน ตามข้อ 1.3.1-1.3.3 ตามลำดับ

3.3 การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์

วิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์ภายหลังการผลิตโดยการตรวจจุลินทรีย์ที่เป็นดัชนี บ่งชี้ความปลอดภัยและการสุขาภิบาลอาหารด้วยการตรวจ *Escherichia coli* (USFDA., 2002) และ *Staphylococcus aureus* (USFDA., 2001c โดยส่งตรวจวิเคราะห์ที่บริษัทห้องปฏิบัติการกลางตรวจสอบ ผลิตภัณฑ์เกษตรและอาหาร จำกัด ตำบลคองหงส์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา) รวมทั้งการตรวจ จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียโดยการตรวจปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดโดยวิธี Standard plate count ด้วยการ Pour plate (USFDA., 2001a) และปริมาณยีสต์และราด้วยการ Spread plate (USFDA., 2001b) ตามรายละเอียดในภาคผนวก ก-4 ข้อ 1-3 ตามลำดับ

วิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์ในวันที่ 0 15 30 45 และ 60 ของการเก็บรักษา โดยการ ตรวจจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสีย คือ การตรวจปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดโดยวิธี Standard plate count ด้วยการ Pour plate (USFDA., 2001a) และปริมาณยีสต์และราด้วยการ Spread plate (USFDA., 2001b) ตามรายละเอียดในภาคผนวก ก-4 ข้อ 2 และ 3 ตามลำดับ

3.4 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสในวันที่ 0 30 และ 60 ของการเก็บรักษา ด้วยวิธีการให้คะแนนความชอบแบบ 9 ระดับคะแนนความชอบ ใช้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 15 คน ซึ่งเป็น

นักศึกษาคณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ และมีอายุระหว่าง 22-28 ปี โดยการพิจารณาคุณลักษณะด้านสี กลิ่นรสกระเจียบแดง ความเหนียว รสชาติ และความชอบโดยรวมของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่น

สำหรับการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพและเคมีวางแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียลในบล็อกสมบูรณ์ (Factorial in CRD) ทำการทดลอง 2 ซ้ำ ส่วนการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสวางแผนการทดลองแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ (RCBD) นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลองด้วยวิธี DMRT

4. การประยุกต์เทคนิค NIRS ในการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่น

ผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นมีรงควัตถุหลักที่ให้สีแดง คือ แอนโทไซยานิน ซึ่งเป็นดัชนีสำคัญบ่งชี้ถึงคุณภาพของผลิตภัณฑ์และการยอมรับของผู้บริโภค การเสื่อมสลายของแอนโทไซยานินอาจส่งผลกระทบต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่น การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการประยุกต์ใช้เทคนิคดังกล่าวสำหรับวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดโดยการสร้างสมการที่เหมาะสมสำหรับการทำนายปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่น ซึ่งมีขั้นตอนในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคดังกล่าว ดังนี้

4.1 การเตรียมผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นสำหรับวิเคราะห์ด้วยเทคนิค NIRS

ทำการผลิตผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นที่ได้รับการยอมรับสูงสุดจากข้อ 2.3 จากนั้นนำผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมาตัดเป็นแผ่นขนาด 4.5×10.0 เซนติเมตร น้ำหนัก 14.0-16.0 กรัม จำนวน 74 ตัวอย่าง นำเก็บในสถานะที่แตกต่างกัน (ตามรายละเอียดในภาคผนวก จ)

4.1.1 การวัดการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นด้วยเทคนิค NIRS

นำผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นจำนวน 74 ตัวอย่าง (ที่เก็บในสถานะที่แตกต่างกันจากข้อ 4.1) มาวัดการดูดกลืนแสง NIR โดยก่อนนำวิเคราะห์จะนำตัวอย่างดังกล่าวมาควบคุมให้มีอุณหภูมิเท่ากับ 25.0 ± 1.0 องศาเซลเซียส (อุณหภูมิห้อง) ด้วยเครื่องควบคุมอุณหภูมิแบบอ่างน้ำ (Water bath) เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นบรรจุตัวอย่างลงในอุปกรณ์สำหรับใส่ตัวอย่างชนิด Fruit drawer นำวัดการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง NIRS โดยใช้ Reflection mode ในช่วงความยาวคลื่น 1,100-2,500 นาโนเมตร บันทึกค่าทุก 2 นาโนเมตร จะได้ค่าการดูดกลืนแสง NIR ($\log 1/R$) จำนวน 701 ค่า ทำการวัดการดูดกลืนแสง NIR ตัวอย่างละ 2 ซ้ำ แล้วหาค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสง NIR ของแต่ละตัวอย่าง กำหนดเป็นตัวแปรอิสระ (701 ค่า) เพื่อใช้ในการสร้างสมการทำนายในข้อ 4.3

4.1.2 การวัดปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในรูปไซยานิดิน 3-กลูโคไซด์ของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่น

นำตัวอย่างที่ผ่านการวัดการดูดกลืนแสง NIR จำนวน 74 ตัวอย่าง มาวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด (มิลลิกรัมไซยานิดิน 3-กลูโคไซด์ต่อกิโลกรัมตัวอย่าง) ด้วยวิธี pH differential method ทำการวิเคราะห์ 2 ซ้ำการทดลอง ในแต่ละการทดลองวิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ แล้วหาค่าเฉลี่ยปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดของแต่ละตัวอย่าง กำหนดเป็นตัวแทน (74 ค่า) เพื่อใช้ในการสร้างสมการทำนายในข้อ 4.3

4.2 การวิเคราะห์ข้อมูลที่ได้จากการวัดการดูดกลืนแสงด้วยเทคนิค NIRS

4.2.1 การแบ่งกลุ่มตัวอย่างและการปรับแต่งสเปกตรัมก่อนการวิเคราะห์

สำหรับงานวิจัยนี้ทำการแบ่งตัวอย่างทั้งหมดจำนวน 74 ตัวอย่าง ออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่ม Calibration sample set จำนวน 56 ตัวอย่าง และกลุ่ม Validation sample set จำนวน 18 ตัวอย่าง (อัตราส่วนประมาณ 75 % ต่อ 25 %) และเพื่อเป็นการลดสิ่งรบกวนที่เกิดจากระบบ งานวิจัยนี้จึงใช้วิธีการปรับแต่งสเปกตรัม 4 วิธี คือ (1) S. smooth (ใช้ขนาดของช่องห่าง เท่ากับ 5 จุดข้อมูล และอนุพันธ์อันดับสอง) (2) MSC (3) SNV และ (4) S. smooth และ MSC

4.3 การสร้างสมการทำนายปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่น

4.3.1 ขั้นตอนการสร้างสมการที่ใช้ทำนาย (Calibration)

นำข้อมูลค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสง NIR จำนวน 701 ค่า จากข้อ 4.1.1 (กำหนดเป็นตัวแทนอิสระ) และข้อมูลค่าเฉลี่ยปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในรูปไซยานิดิน 3-กลูโคไซด์จำนวน 74 ค่า จากข้อ 4.1.2 (กำหนดเป็นตัวแทนตาม) มาหาความสัมพันธ์ด้วยวิธี PLSR โดยใช้โปรแกรม Unscrambler (Version 8.0) และทดสอบความสามารถของสมการที่ใช้ทำนายด้วยวิธี Cross validation ซึ่งประสิทธิภาพของสมการที่ใช้ทำนายพิจารณาได้จากค่า R_{cal} และ RMSEC กล่าวคือหากสมการที่ใช้ทำนายมีค่า R_{cal} เข้าใกล้ 1 และมีค่า RMSEC ต่ำ แสดงว่าสมการดังกล่าวมีประสิทธิภาพในการทำนายสูง

4.3.2 ขั้นตอนการตรวจสอบความถูกต้องของสมการ (Validation)

ขั้นตอนนี้เป็นการทวนสอบว่าสมการทำนายที่สร้างขึ้นสามารถนำมาทำนายข้อมูลชุดอื่นที่เป็นประชากรกลุ่มเดียวกันได้หรือไม่ ซึ่งค่าสถิติสำคัญที่ใช้ในการตรวจสอบ คือ ค่า RMSEP ซึ่งควรมีค่าน้อย และค่า RPD ซึ่งควรมีค่ามาก จึงจะแสดงว่าสมการทำนายที่สร้างขึ้นมีความถูกต้องและเหมาะสมสำหรับการนำไปใช้งาน รวมทั้งค่า R_{val} ควรมีค่าเข้าใกล้ 1

5. การคำนวณต้นทุนส่วนผสมและบรรจุภัณฑ์ของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น

คำนวณต้นทุนส่วนผสมและบรรจุภัณฑ์ของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น โดยการคำนวณต้นทุนส่วนผสมที่ใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์ดังกล่าวและต้นทุนบรรจุภัณฑ์ต่อน้ำหนักบรรจุ 16.0 กรัม (1 แผ่นต่อถุง โดยกระเจี๊ยบแดงแผ่นขนาด 4.5×10.0 เซนติเมตร และถุงเมทิลไพล์ขนาด 9.8×15.0 เซนติเมตร)

บทที่ 3

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การวิเคราะห์คุณภาพกระเจี๊ยบแดงสดและกากกระเจี๊ยบแดง

1.1 คุณภาพทางกายภาพและเคมี

คุณภาพทางกายภาพและเคมีของกระเจี๊ยบแดงสดและกากกระเจี๊ยบแดง ดังแสดงใน Table 10 จากการทดลองพบว่ากระเจี๊ยบแดงสดมีค่าสี L^* a^* และ b^* เท่ากับ 28.22 ± 0.35 21.71 ± 0.35 และ 7.23 ± 0.47 ตามลำดับ ขณะที่กากกระเจี๊ยบแดงมีค่าสี L^* a^* และ b^* เท่ากับ 15.99 ± 0.21 27.42 ± 0.17 และ 10.67 ± 0.12 ตามลำดับ ซึ่งกากกระเจี๊ยบแดงมีค่าความเป็นสีแดง (a^*) สูงกว่ากระเจี๊ยบแดงสดอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อทำการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีพบว่ากระเจี๊ยบแดงสดมีค่าพีเอชและปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด เท่ากับ 2.50 ± 0.01 และ 1.25 ± 0.00 งามสารริกซ์ ตามลำดับ ขณะที่กากกระเจี๊ยบแดงมีค่าพีเอชและปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด เท่ากับ 2.78 ± 0.02 และ 1.25 ± 0.00 งามสารริกซ์ ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่ากระเจี๊ยบแดงสดมีปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดมาลิกและปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด เท่ากับ 1.19 ± 0.01 % และ 648.09 ± 1.80 มิลลิกรัมไซยานิดิน 3-กลูโคไซด์ต่อตัวอย่าง 100 กรัม ตามลำดับ รวมทั้งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณกรดแอสคอร์บิก เท่ากับ 15.91 ± 0.09 มิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่าง และ 1.43 ± 0.02 มิลลิกรัมต่อกรัมตัวอย่าง ตามลำดับ ขณะที่กากกระเจี๊ยบแดงมีปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดมาลิกและปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด เท่ากับ 0.58 ± 0.01 % และ 455.79 ± 7.25 มิลลิกรัมไซยานิดิน 3-กลูโคไซด์ต่อตัวอย่าง 100 กรัม ตามลำดับ รวมทั้งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณกรดแอสคอร์บิก เท่ากับ 11.62 ± 0.08 มิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่าง และ 0.18 ± 0.01 มิลลิกรัมต่อกรัมตัวอย่าง ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่ากากกระเจี๊ยบแดงดังกล่าวมีปริมาณใยอาหารชนิดละลายน้ำและชนิดไม่ละลายน้ำ เท่ากับ 3.00 ± 0.19 และ 8.15 ± 0.10 % ตามลำดับ ปารมี ชุมศรี (2550) ศึกษาคุณภาพทางเคมีของกระเจี๊ยบแดงสดโดยการสกัดกระเจี๊ยบแดงสดด้วยน้ำในอัตราส่วนกระเจี๊ยบแดงสดต่อน้ำ เท่ากับ 1 ต่อ 5 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ที่อุณหภูมิ 60.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที พบว่ากระเจี๊ยบแดงสดมีค่าพีเอชและปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด เท่ากับ 2.32 ± 0.01 และ 0.80 ± 0.00 งามสารริกซ์ ตามลำดับ รวมทั้งมีปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดมาลิกและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ 0.68 ± 0.06 % และ 22.12 ± 0.10 มิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่าง ตามลำดับ เพ็ญศรี เรืองศรี (2553) รายงานว่า กระเจี๊ยบแดงสดมีปริมาณกรดแอสคอร์บิก เท่ากับ 2.89 ± 0.11 มิลลิกรัมต่อกรัมตัวอย่าง และเมื่อพิจารณาปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด ปริมาณ

สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด รวมทั้งปริมาณกรดแอสคอร์บิกของกระเจี๊ยบแดงสดและกากกระเจี๊ยบแดงพบว่ากระเจี๊ยบแดงสดมีปริมาณสารดังกล่าวสูงกว่ากากกระเจี๊ยบแดงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ทั้งนี้เนื่องจากความร้อนที่ใช้ในระหว่างกระบวนการอบแห้งและการสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งเพื่อผลิตเครื่องดื่มน้ำกระเจี๊ยบแดงมีผลต่อการสลายตัวของแอนโทไซยานิน สารประกอบฟีนอลิก และกรดแอสคอร์บิกของกากกระเจี๊ยบแดงซึ่งเป็นเศษเหลือจากกระบวนการแปรรูปดังกล่าว Patras และคณะ (2010) รายงานว่า อัตราการสลายตัวของแอนโทไซยานินจะสูงขึ้นเมื่ออุณหภูมิที่ใช้ในกระบวนการแปรรูปสูงขึ้น โดยเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นจะทำให้เกิดการเปิดออกของวงแหวนไพริเลียมในโครงสร้างของแอนโทไซยานินส่งผลให้แอนโทไซยานินที่อยู่ในรูปของฟลาโวนิลิยม แคทไอออน ซึ่งมีสีแดงเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของชาลโคนซึ่งไม่มีสี และต่อมาเกิดการแตกสลายเป็นอนุพันธ์คูมารินซึ่งผลิตภัณฑ์ดังกล่าวอาจเกิดการสลายตัว หรือเกิดปฏิกิริยาโพลีเมอร์ไรเซชันและเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำตาลซึ่งจะทำให้ผลิตภัณฑ์มีสีคล้ำ Jackman และ Smith (1996 อ้างโดย วิวัฒน์ หวังเจริญ, 2545) รายงานว่า การใช้อุณหภูมิสูงในกระบวนการแปรรูปจะทำให้สารประกอบฟีนอลิกโมเลกุลเล็ก ๆ ระเหยกลายเป็นไอ ในขณะที่สารฟลาโวนอยด์ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลิกที่มีโครงสร้างแบบ $C_6C_3C_6$ โดยมีลักษณะเป็นวงแหวน 3 วงต่อกัน (จาก Figure 5 คือ วงแหวน A วงแหวน C และวงแหวน B ตามลำดับ) จะเกิดการแตกออกของวงแหวน C และเกิดการสลายตัวต่อไป โดยวงแหวน B เปลี่ยนเป็นกรดคาร์บอกซิลิก และวงแหวน A เปลี่ยนเป็นคาร์บอกซีอัลดีไฮด์ ตามลำดับ และจะระเหยไปพร้อมกับไอน้ำ Deman (1990) รายงานว่า กรดแอสคอร์บิกเป็นกรดที่มีความคงตัวต่ำและสามารถสลายตัวได้ง่ายเมื่อสัมผัสกับแสง อากาศ และความร้อน โดยทั่วไปกรดแอสคอร์บิกจะอยู่ในรูปของ L-ascorbic acid และมีคุณค่าทางชีวภาพแต่ในกระบวนการแปรรูปที่มีการใช้ความร้อนจะทำให้ L-ascorbic acid ถูกออกซิไดซ์และเปลี่ยนเป็น dehydro-L-ascorbic acid มากขึ้น ซึ่งปฏิกิริยาดังกล่าวเป็นปฏิกิริยาผันกลับได้แต่หาก dehydro-L-ascorbic acid ถูกออกซิไดซ์ต่อไปเป็น diketo-L-gulonic acid จะไม่มีคุณค่าทางชีวภาพโดยสารดังกล่าวไม่มีความคงตัวและถูกออกซิไดซ์ต่อไปเป็นสารประกอบหลายชนิด เช่น กรดเทอร์โอนิก เป็นต้น ซึ่งเมื่อเกิดปฏิกิริยาดีไฮเดรชันและปฏิกิริยาดีคาร์บอกซิเลชันจะเกิดเป็นสารเฟอร์ฟูรัลและสารดังกล่าวจะเกิดโพลีเมอร์ไรซ์กลายเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำตาลซึ่งจะทำให้ผลิตภัณฑ์มีสีคล้ำ จากงานวิจัยนี้จะเห็นได้ว่ากากกระเจี๊ยบแดงซึ่งเป็นเศษเหลือจากกระบวนการผลิตเครื่องดื่มน้ำกระเจี๊ยบแดงยังคงมีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในปริมาณค่อนข้างสูงเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเริ่มต้นอีกทั้งยังเป็นแหล่งของใยอาหาร ดังนั้นกากกระเจี๊ยบแดงจึงยังคงมีศักยภาพสูงในการนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารต่อไป สำหรับงานวิจัยนี้ได้นำกากกระเจี๊ยบแดงมาใช้ในการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น และเนื่องจากกากกระเจี๊ยบแดงมีเพคตินซึ่งเป็น

ใยอาหารชนิดละลายน้ำในปริมาณค่อนข้างสูง (Mahadevan *et al.*, 2009) ดังนั้นโครงสร้างโมเลกุลของเพกตินที่มีลักษณะให้คุณสมบัติในการทำให้เกิดร่างแหที่เพิ่มความสามารถในการดูดซับน้ำจึงอาจทำหน้าที่เป็นสารปรับปรุงเนื้อสัมผัสในผลิตภัณฑ์ดังกล่าว (Phillips and Williams, 2000; นิธิยา รัตน์พานนท์, 2549)

1.2 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

เมื่อวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการวิเคราะห์สมบัติการจับอนุมูล DPPH[•] สมบัติการจับอนุมูล ABTS^{•+} รวมทั้งการวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกไอออน (Ferric reducing antioxidant power, FRAP) โดยสมบัติการจับอนุมูล DPPH[•] รายงานค่าในรูป EC₅₀ ซึ่งหมายถึง ความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่ปลดปล่อยอนุมูล DPPH[•] ลง 50 % (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) โดยค่า EC₅₀ จะแสดงความสัมพันธ์แบบแปรผกผันกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ สำหรับการวิเคราะห์สมบัติการจับอนุมูล ABTS^{•+} และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกไอออน รายงานค่าในรูป Trolox equivalents antioxidant capacity (TEAC) ซึ่งหมายถึง ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างเมื่อเทียบเคียงกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของ Trolox ซึ่งค่า TEAC จะแสดงความสัมพันธ์แบบแปรผันตรงกับสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ

สมบัติการต้านอนุมูลอิสระของกระเจี๊ยบแดงสดและกากกระเจี๊ยบแดงด้วยวิธีการวิเคราะห์สมบัติการจับอนุมูล DPPH[•] สมบัติการจับอนุมูล ABTS^{•+} และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกไอออน ดังแสดงใน Table 11 จากการทดลองพบว่ากระเจี๊ยบแดงสดมีสมบัติการจับอนุมูล DPPH[•] รายงานค่าในรูป EC₅₀ เท่ากับ 86.30±2.22 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สมบัติการจับอนุมูล ABTS^{•+} และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกไอออนรายงานค่าในรูป TEAC เท่ากับ 87.98±0.37 และ 240.29±0.35 ไมโครโมลสมมูลย์ Trolox ต่อกรัมตัวอย่าง ตามลำดับ ขณะที่กากกระเจี๊ยบแดงมีสมบัติการจับอนุมูล DPPH[•] รายงานค่าในรูป EC₅₀ เท่ากับ 138.56±5.35 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สมบัติการจับอนุมูล ABTS^{•+} และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกไอออนรายงานค่าในรูป TEAC เท่ากับ 65.77±0.45 และ 167.47±0.68 ไมโครโมลสมมูลย์ Trolox ต่อกรัมตัวอย่าง ตามลำดับ เพ็ญศรี เรืองศรี (2553) ศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของกระเจี๊ยบแดงสดโดยการสกัดกระเจี๊ยบแดงสดด้วยน้ำในอัตราส่วนกระเจี๊ยบแดงสดต่อน้ำ เท่ากับ 1 ต่อ 2 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ตั้งทิ้งไว้ในที่มีดเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำสารสกัดกระเจี๊ยบแดงสดที่ได้ไปทำแห้งแบบระเหิดแห้ง (Freeze dry) ที่อุณหภูมิ -40.0 องศาเซลเซียส ความดัน 0.002 เซนติเมตรปรอท พบว่าสมบัติการจับอนุมูล DPPH[•] รายงานค่าในรูป EC₅₀ เท่ากับ 37.20±3.07 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สมบัติการจับอนุมูล ABTS^{•+} และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกไอออนรายงานค่าในรูป TEAC เท่ากับ 154.55±1.73 และ 425.21±8.97 ไมโครโมลสมมูลย์ Trolox ต่อกรัมตัวอย่าง ตามลำดับ ซึ่ง Hirunpanich และคณะ (2006) รายงานว่า กระเจี๊ยบแดงมี

สารที่มีสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระหลายชนิด ได้แก่ แอนโทไซยานิน สารประกอบฟีนอลิก และกรดแอสคอร์บิก Tsai และคณะ (2002 อ้างโดย เพียงใจ คาริเย๊ะ, 2550) รายงานว่า แอนโทไซยานินมีบทบาทสำคัญในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยการให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลอิสระ ทำให้ปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระเหล่านั้นสิ้นสุดลง และพบว่าหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง C₃, C₄ และ C₅ ของวงแหวน B ในโมเลกุลแอนโทไซยานินเป็นตำแหน่งหลักที่ทำให้สารดังกล่าวมีสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ วิวัฒน์ หวังเจริญ (2545) รายงานว่า สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญ โดยสารประกอบฟีนอลิกทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระที่สามารถเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและโมเลกุลอื่น ๆ ด้วยการให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลอิสระ และเมื่อสารประกอบฟีนอลิกให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลอิสระแล้วอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกที่เกิดขึ้นจะค่อนข้างมีเสถียรภาพดังนั้นจึงไม่ทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นต่อไป และพบว่าหมู่ไฮดรอกซิลในแต่ละตำแหน่งของสารประกอบฟีนอลิกล้วนมีบทบาทต่อสมบัติของการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ นิธิยา รัตนานนท์ (2549) รายงานว่า กรดแอสคอร์บิกเป็นสารต้านอนุมูลอิสระทุติยภูมิ โดยทำหน้าที่เป็นสารหยุดปฏิกิริยาต่อเนื่องของอนุมูลอิสระ (Free radical chain termination) และทำหน้าที่เป็นสารดักจับออกซิเจน (Oxygen scavenger) โดยกรดแอสคอร์บิกเป็นสารรีดิวซ์ซึ่งอย่างรุนแรง (Strong reducing agent) จึงให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่ออกซิเจนทำให้ออกซิเจนไม่สามารถเกิดปฏิกิริยาต่อไปได้ ทั้งนี้หากแอนโทไซยานิน สารประกอบฟีนอลิก และกรดแอสคอร์บิกได้รับความร้อนในระหว่างการแปรรูปจะทำให้สารดังกล่าวเกิดการสลายตัวเป็นสารประกอบอื่นและส่งผลให้สมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารดังกล่าวลดลงด้วยเช่นกัน (วิวัฒน์ หวังเจริญ, 2545; นิธิยา รัตนานนท์, 2549) เมื่อพิจารณาผลการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพและเคมีของกระเจี๊ยบแดงสดและกากกระเจี๊ยบแดง (ดังแสดงใน Table 10) พบว่าความร้อนที่ใช้ในระหว่างกระบวนการอบแห้งและการสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งเพื่อผลิตเครื่องดื่มน้ำกระเจี๊ยบแดงมีผลให้เกิดการสลายตัวของแอนโทไซยานิน สารประกอบฟีนอลิก และกรดแอสคอร์บิก ทำให้ปริมาณสารเหล่านี้ในกากกระเจี๊ยบแดงซึ่งเป็นเศษเหลือจากกระบวนการแปรรูปดังกล่าวน้อยกว่ากระเจี๊ยบแดงสดอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และส่งผลให้กากกระเจี๊ยบแดงมีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่ากระเจี๊ยบแดงสดอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ด้วยเช่นกัน (ดังแสดงใน Table 11) และสอดคล้องกับ Fullerton และคณะ (2008) ที่รายงานว่า ผลจากการใช้ความร้อนในกระบวนการอบแห้งกระเจี๊ยบแดงทำให้กระเจี๊ยบแดงมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลง เท่ากับ 5.88 % และสมบัติการจับอนุมูล ABTS^{•+} ลดลง เท่ากับ 11.86 % นอกจากนี้ Larrauri และคณะ (1997) รายงานว่า อุณหภูมิที่ใช้ในกระบวนการอบแห้งมีผลต่อการสลายตัวของสารประกอบฟีนอลิกในเปลือกองุ่น โดยเมื่ออุณหภูมิที่ใช้ในกระบวนการอบแห้งสูงขึ้นมีผลทำให้สารประกอบฟีนอลิกลดลง และเนื่องจากสารดังกล่าวไม่คงตัวต่อความร้อนจึงทำให้สมบัติการต้าน

อนุมูลิสรระลดลงด้วยเช่นกัน ซึ่งเห็นได้จากเมื่ออบแห้งเปลือกองุ่นที่อุณหภูมิต่าง ๆ จนกระทั่งเปลือกองุ่นมีปริมาณความชื้นสุดท้าย เท่ากับ 8.0 % พบว่าเปลือกองุ่นอบแห้งที่อุณหภูมิ 60.0 100.0 และ 140.0 องศาเซลเซียส มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ 4.1 3.5 และ 2.9 % ตามลำดับ และมีสมบัติการต้านอนุมูลิสรระ เท่ากับ 67.0 52.0 และ 36.0 % ตามลำดับ สำหรับสมบัติการต้านอนุมูลิสรระของผลไม้และกากผลไม้ชนิดต่าง ๆ ดังแสดงในภาคผนวก จ

1.3 คุณภาพทางจุลินทรีย์

การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์ในกากกระเจี๊ยบแดง ดังแสดงใน Table 12 โดยการตรวจ Coliform bacteria ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด รวมทั้งปริมาณยีสต์และราของกากกระเจี๊ยบแดงที่เป็นวัตถุดิบเบื้องต้นในการผลิตผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นพบว่าตรวจวิเคราะห์ไม่พบ Coliform bacteria มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดน้อยกว่า 250 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม รวมทั้งมีปริมาณยีสต์และราน้อยกว่า 10 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่ากากกระเจี๊ยบแดงเป็นวัตถุดิบที่มีความปลอดภัยสำหรับการนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหาร

Table 10 Physical and chemical properties of roselle calyxes and roselle by-product (Dry weight basis)

	Physical and chemical properties	Roselle calyxes	Roselle by-product
<i>L</i> *		28.22±0.35 ^a	15.99±0.21 ^b
<i>a</i> *		21.71±0.35 ^b	27.42±0.17 ^a
<i>b</i> *		7.23±0.47 ^b	10.67±0.12 ^a
pH		2.50±0.01 ^b	2.78±0.02 ^a
Total soluble solids (° Brix)		1.25±0.00 ^a	1.25±0.00 ^a
Total acidity, as malic acid (%)		1.19±0.01 ^a	0.58±0.01 ^b
Total anthocyanin contents (mg cyanidin 3-glucoside/100 g sample)		648.09±1.80 ^a	455.79±7.25 ^b
Total phenolic contents (mg GAE/g sample)		15.91±0.09 ^a	11.62±0.08 ^b
Ascorbic acid contents (mg/g sample)		1.43±0.02 ^a	0.18±0.01 ^b
Dietary fiber - Soluble dietary fiber (%)		-	3.00±0.19
- Insoluble dietary fiber (%)		-	8.15±0.10

Means±standard deviation within the same row with different letters are significantly different ($p < 0.05$)

Total phenolic contents, expressed as milligrams of gallic acid equivalents (GAE) per gram of sample using gallic acid standard curve

- Not determined

Table 11 Antioxidant properties (by DPPH[•] and ABTS^{•+} scavenging activity, FRAP) of roselle calyxes and roselle by-product (Dry weight basis)

Sample	DPPH [•] , EC ₅₀ (µg/ml)	TEAC (µmol TE/g)	
		ABTS ^{•+}	FRAP
Roselle calyxes	86.30±2.22 ^b	87.98±0.37 ^a	240.29±0.35 ^a
Roselle by-product	138.56±5.35 ^a	65.77±0.45 ^b	167.47±0.68 ^b

Mean±standard deviation within the same column with different letters are significantly different ($p < 0.05$)

DPPH[•] and ABTS^{•+} scavenging activity; FRAP, Ferric reducing antioxidant power

DPPH[•] scavenging activity, expressed as EC₅₀ and BHT as positive standard

EC₅₀, Efficient concentration, the amount of roselle extract (µg) needed for 50 % decreasing in the initial DPPH[•] concentration per 1.0 ml of initial solution

The EC₅₀ of BHT standard = 22.10±1.39 µg/ml

ABTS^{•+} scavenging activity and FRAP, expressed as millimoles Trolox equivalents per gram extract using Trolox standard curve

TEAC, Trolox equivalents antioxidant capacity

TE, Trolox equivalents, millimolar of Trolox solution having an antioxidant capacity equivalent to 1.0 gram of the substance under investigation

Table 12 Microbiological qualities of roselle by-product

Microbiological qualities	Microbial count (CFU/g)
Coliform bacteria	Negative
Total viable count	< 250 EAPC
Yeast and mold	< 100 Est

EAPC, Estimated Aerobic Plate Count

Yeast and mold < 100Est, the colonies of yeast and mold on plate less than 10 colonies

(Laboratory Center for Food and Agricultural Products, LCFA)

2. การพัฒนาสูตรพื้นฐานของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น

2.1 คุณภาพทางกายภาพและเคมีของเพียวเร่กระเจี๊ยบแดง

คุณภาพทางกายภาพและเคมีของเพียวเร่กระเจี๊ยบแดง ดังแสดงใน Table 13 จากผลการทดลองพบว่าเพียวเร่กระเจี๊ยบแดงมีสีแดงค่อนข้างคล้ำโดยมีค่า L^* a^* และ b^* เท่ากับ 12.12 ± 0.04 31.49 ± 0.38 และ 13.56 ± 0.40 ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่าเพียวเร่กระเจี๊ยบแดงมีปริมาณความชื้น ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และค่าพีเอช เท่ากับ 95.15 ± 0.05 % 1.00 ± 0.00 องศาบริกซ์ และ 2.54 ± 0.01 ตามลำดับ ทั้งนี้ Mahadevan และคณะ (2009) รายงานว่า กระเจี๊ยบแดงประกอบด้วยกรดอินทรีย์หลายชนิด เช่น กรดมาลิก กรดแอสคอร์บิก กรดซิตริก และกรดอิบิสคัส เป็นต้น ซึ่งกรดอินทรีย์เหล่านี้ทำให้เพียวเร่กระเจี๊ยบแดงมีรสเปรี้ยว

Table 13 Physical and chemical properties of roselle puree

Physical and chemical properties	Values*
L^*	12.12 ± 0.04
a^*	31.49 ± 0.38
b^*	13.56 ± 0.40
Moisture content (%)	95.15 ± 0.05
Total soluble solids ($^{\circ}$ Brix)	1.00 ± 0.00
pH	2.54 ± 0.01

*Determination was done in triplicate

2.2 ผลของการเติมสารเพิ่มความคงตัวต่างชนิดและระดับความเข้มข้นต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่น

2.2.1 ผลของการเติมเพกตินระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่น

คุณภาพทางกายภาพและเคมี

คุณภาพทางกายภาพและเคมีของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นที่มีการเติมเพกตินระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ได้แก่ 0.0 (สูตรควบคุม คือ สูตรพื้นฐานของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นที่ไม่เติมสารเพิ่มความคงตัว) 1.0 2.0 และ 3.0 กรัมต่อเพียวเร่กระเจียบแดง 100 กรัม ดังแสดงใน Table 14 เมื่อพิจารณาคุณภาพทางกายภาพ ได้แก่ ค่าสี คุณลักษณะเนื้อสัมผัส และค่า a_w พบว่าปริมาณเพกตินที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ค่า L^* ของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) อาจเนื่องมาจากธรรมชาติของเพียวเร่กระเจียบแดงที่มีสีแดงค่อนข้างคล้ำเมื่อเติมเพกตินที่มีลักษณะเป็นผงสีน้ำตาลอ่อนจึงช่วยให้ผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นมีสีอ่อนลงโดยผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นจากทุกสูตรมีค่า L^* อยู่ในช่วง 19.39-21.21 นอกจากนี้พบว่าปริมาณเพกตินที่เพิ่มขึ้นไม่ส่งผลต่อค่า a^* และ b^* ของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) โดยผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นจากทุกสูตรมีค่า a^* และ b^* อยู่ในช่วง 4.08-4.60 และ 1.73-2.16 ตามลำดับ เมื่อพิจารณาคุณลักษณะเนื้อสัมผัสจากค่า Tensile force ซึ่งเป็นแรงที่ใช้ในการดึงตัวอย่างให้ขาดออกจากกัน และค่า Cutting force ซึ่งเป็นแรงที่ใช้ในการตัดตัวอย่างให้ขาดออกจากกันพบว่าปริมาณเพกตินที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ค่า Tensile force และค่า Cutting force ของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นจากทุกสูตรมีค่า Tensile force และค่า Cutting force อยู่ในช่วง 0.29-1.03 นิวตัน และ 10.81-17.13 นิวตัน ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากเพกตินที่ใช้เป็นชนิดเมทอกซิลสูงจึงสามารถเกิดเจลในระบบที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลสูง ($\geq 55.0\%$) และมีค่าพีเอชต่ำ (pH 2.5-3.8) โดยน้ำตาลจะทำหน้าที่จับกับน้ำจึงช่วยคูดน้ำออกจากโมเลกุล (Dehydrating agent) ทำให้ช่วยลดการละลายของเพกตินให้น้อยลง ขณะที่กรดจะแตกตัวให้ไฮโดรเจนไอออน (H^+) และไอออนดังกล่าวจะช่วยลดจำนวนประจุลบของหมู่คาร์บอกซิลให้น้อยลง ทำให้ลดการผลักกันระหว่างประจุลบของหมู่คาร์บอกซิลส่งผลให้สายของเพกติน โมเลกุลเข้ามาใกล้กันและเกิดลักษณะร่างแหของเจลที่แข็งแรง ทำให้มีความสามารถในการต้านทานการเปลี่ยนแปลงรูปร่างจากการดึงและการกดของหัววัดมากขึ้น (นิธิยา รัตนปนนท์, 2549; Huang and Hsieh, 2005) สอดคล้องกับ Vathanakul และคณะ (2010) ซึ่งศึกษาผลของเพกตินต่อคุณลักษณะเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์กวีแผ่น โดยใช้เพกติน 3 ระดับความเข้มข้น คือ 1.0 2.0 และ 3.0 กรัมต่อเพียวเร่กวี 100 กรัม พบว่าปริมาณเพกตินที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ค่า Tensile strength ของผลิตภัณฑ์กวีแผ่นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เช่นเดียวกับ Gujral และ Brar (2003)

รายงานว่าการเพิ่ม Extensibility และ Energy to rupture ของผลิตภัณฑ์มะม่วงแผ่นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อมีการใช้ปริมาณเพกตินเพิ่มขึ้นจาก 0.0 (สูตรควบคุม) 1.0 2.0 และ 3.0 % น้ำหนักต่อน้ำหนัก และเมื่อพิจารณาค่า a_w พบว่าปริมาณเพกตินที่เพิ่มขึ้นไม่ส่งผลต่อค่า a_w ของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) โดยผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นจากทุกสูตรมีค่า a_w อยู่ในช่วง 0.68-0.73 สอดคล้องกับ รัชนิกร กิติศิริมงคล (2549) ซึ่งศึกษาผลของเพกตินต่อค่า a_w ของผลิตภัณฑ์บัวแผ่นผสมผลไม้โดยใช้ปริมาณเพกติน เท่ากับ 0.25 0.75 1.25 และ 1.75 กรัมต่อส่วนผสมทั้งหมด 100 กรัม พบว่าปริมาณเพกตินที่เพิ่มขึ้นจะไม่ส่งผลต่อค่า a_w ของผลิตภัณฑ์บัวแผ่นผสมผลไม้ อย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) เช่นเดียวกัน

เมื่อพิจารณาคูณภาพทางเคมี ได้แก่ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และค่าพีเอช พบว่าปริมาณเพกตินที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นและค่าพีเอชของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นมีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นจากทุกสูตรมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดและค่าพีเอชอยู่ในช่วง 13.29-13.83 องศาบริกซ์ และ 2.36-2.54 ตามลำดับ Ralet และคณะ (2005) รายงานว่าเพกตินสามารถละลายในน้ำได้ดีโดยเมื่อเพกตินละลายน้ำจะทำให้หมู่คาร์บอกซิล (-COOH) ในโมเลกุลของเพกตินแตกตัวเป็นคาร์บอกซิเลตไอออน (COO⁻) และไฮโดรเจนไอออน (H⁺) จึงส่งผลให้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นและค่าพีเอชของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นมีแนวโน้มลดลง สอดคล้องกับ รัตนา อัครปัญญ และคณะ (2550) ซึ่งศึกษาผลของเพกตินต่อคุณภาพทางเคมีของผลิตภัณฑ์ลำไยแผ่น โดยใช้เพกติน 3 ระดับความเข้มข้นคือ 1.0 3.0 และ 5.0 กรัมต่อเนื้อลำไย 100 กรัม พบว่าปริมาณเพกตินที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ค่าพีเอชของผลิตภัณฑ์ลำไยแผ่นลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ด้วยเช่นกัน

การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นที่มีการเติมเพกตินระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ได้แก่ 0.0 (สูตรควบคุม คือ สูตรพื้นฐานของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นที่ไม่เติมสารเพิ่มความคงตัว) 1.0 2.0 และ 3.0 กรัมต่อเพียวเร่กระเจียบแดง 100 กรัม ดังแสดงใน Table 15 จากผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสดังกล่าวพบว่าผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นจากทั้ง 4 สูตร มีคะแนนความชอบโดยเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านสี กลิ่นรสกระเจียบแดง รสหวาน และความชอบโดยรวมอยู่ในช่วง 7.1-7.4 7.0-7.4 6.5-6.8 และ 6.7-7.0 ตามลำดับ โดยผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นจากทั้ง 4 สูตร มีคะแนนความชอบโดยเฉลี่ยในคุณลักษณะดังกล่าวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$)

จากผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นพบว่า ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นมีคะแนนความชอบโดยเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านความเหนียวและรสเปรี้ยวแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ดังแสดงรายละเอียดใน Table 15 โดยเมื่อพิจารณาคุณลักษณะด้านความเหนียวพบว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นสูตรที่มีการเติมเพกติน 1.0 กรัมต่อเพียวเร่กระเจี๊ยบแดง 100 กรัม มีคะแนนความชอบโดยเฉลี่ยในคุณลักษณะดังกล่าวสูงสุด จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าเพกตินมีผลต่อความชอบในคุณลักษณะด้านความเหนียวของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น ทั้งนี้เนื่องจากเพกตินทำหน้าที่เป็นสารที่ใช้ในการปรับปรุงเนื้อสัมผัส (Texturizing agent) ในผลิตภัณฑ์อาหาร (Whistler and Daniel, 1985) จึงทำให้ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นมีคุณลักษณะเนื้อสัมผัสที่ดี โดยผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นจากทั้ง 4 สูตร มีคะแนนความชอบโดยเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านความเหนียวอยู่ในช่วง 5.9-7.1 นอกจากนี้เมื่อพิจารณาคุณลักษณะด้านรสเปรี้ยวพบว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นสูตรที่ไม่มีการเติมเพกติน (สูตรควบคุม) และสูตรที่มีการเติมเพกติน 1.0 กรัมต่อเพียวเร่กระเจี๊ยบแดง 100 กรัม มีคะแนนความชอบโดยเฉลี่ยในคุณลักษณะดังกล่าวสูงสุด โดยผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นจากทั้ง 4 สูตร มีคะแนนความชอบโดยเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านรสเปรี้ยวอยู่ในช่วง 6.5-7.1 และเมื่อพิจารณาคุณลักษณะที่สำคัญของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น คือ ความเหนียว และความชอบโดยรวมพบว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นสูตรที่มีการเติมเพกติน 1.0 กรัมต่อเพียวเร่กระเจี๊ยบแดง 100 กรัม มีคะแนนความชอบโดยเฉลี่ยในคุณลักษณะดังกล่าวสูงสุด โดยผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นดังกล่าวมีคะแนนความชอบโดยเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านสี กลิ่นรสกระเจี๊ยบแดง ความเหนียว รสเปรี้ยว รสหวาน และความชอบโดยรวม เท่ากับ 7.4 ± 0.7 7.2 ± 1.1 7.1 ± 0.9 6.7 ± 1.2 6.8 ± 1.0 และ 7.0 ± 1.0 ตามลำดับ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเลือกผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นสูตรที่มีการเติมเพกติน 1.0 กรัมต่อเพียวเร่กระเจี๊ยบแดง 100 กรัม เป็นสูตรที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการศึกษารุ่นต่อไป

Table 14 Physical and chemical properties of roselle leather product at the different concentrations of pectin

Pectin (w/w)**	Color		Tensile force (N)	Cutting force (N)	a_{iv}^{ns}	Total soluble solids (°Brix)	pH	
	L^*	a^{*ns}						b^{*ns}
0.0 (Control)	19.51±0.98 ^b	4.14±0.71	1.87±0.32	0.29±0.06 ^c	10.81±0.77 ^d	0.72±0.05	13.29±0.19 ^b	2.54±0.01 ^a
1.0	19.39±0.57 ^b	4.08±0.47	1.73±0.15	0.39±0.03 ^c	12.25±1.51 ^c	0.68±0.04	13.38±0.14 ^b	2.36±0.01 ^d
2.0	21.21±0.09 ^a	4.60±0.30	2.16±0.22	0.69±0.11 ^b	14.67±1.37 ^b	0.73±0.03	13.38±0.38 ^b	2.37±0.01 ^c
3.0	21.03±0.43 ^a	4.17±0.81	1.97±0.34	1.03±0.32 ^a	17.13±1.44 ^a	0.68±0.01	13.83±0.26 ^a	2.39±0.01 ^b

** Based on 100 g of roselle puree

Means±standard deviation within the same column with different letters are significantly different ($p < 0.05$)

ns = not significant difference among roselle leather product at the different concentrations of pectin ($p \geq 0.05$)

Table 15 Liking mean scores of roselle leather product at the different concentrations of pectin

Pectin (w/w)**	Liking mean scores						
	Color ^{ns}	Roselle flavor ^{ns}	Stickiness	Sourness	Sweetness ^{ns}	Overall liking ^{ns}	
0.0 (Control)	7.3±1.0	7.4±0.8	5.9±1.6 ^c	7.1±0.9 ^a	6.7±1.4	6.9±0.9	
1.0	7.4±0.7	7.2±1.1	7.1±0.9 ^a	6.7±1.2 ^{ab}	6.8±1.0	7.0±1.0	
2.0	7.2±0.8	7.0±0.8	6.6±1.2 ^b	6.5±1.2 ^b	6.7±1.0	6.8±0.7	
3.0	7.1±1.0	7.1±1.1	6.4±1.1 ^{bc}	6.5±1.0 ^b	6.5±1.0	6.7±0.9	

** Based on 100 g of roselle puree

Means±standard deviation within the same column with different letters are significantly different ($p < 0.05$), using 30 untrained panelists

ns = not significant difference among roselle leather product at the different concentrations of pectin ($p \geq 0.05$)

The degree of liking, 1 to 9 means: 1= Dislike extremely 2 = Dislike very much 3 = Dislike moderately 4 = Dislike slightly 5 = Neither like nor dislike
6 = Like slightly 7 = Like moderately 8 = Like very much 9 = Like extremely

2.2.2 ผลของการเติมกัวร์กัมระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น

คุณภาพทางกายภาพและเคมี

คุณภาพทางกายภาพและเคมีของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่มีการเติมกัวร์กัมระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ได้แก่ 0.0 (สูตรควบคุม คือ สูตรพื้นฐานของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่ไม่เติมสารเพิ่มความคงตัว) 0.2 0.4 และ 0.6 กรัมต่อเพียวเร่กระเจี๊ยบแดง 100 กรัม ดังแสดงใน Table 16 เมื่อพิจารณาคุณภาพทางกายภาพ ได้แก่ ค่าสี คุณลักษณะเนื้อสัมผัส และค่า a_w พบว่าปริมาณกัวร์กัมที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ค่า L^* a^* และ b^* ของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นสูตรควบคุม (ไม่เติมสารเพิ่มความคงตัว) ให้ค่า L^* a^* และ b^* น้อยที่สุด ขณะที่ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นสูตรที่มีการเติมกัวร์กัม 0.6 กรัมต่อเพียวเร่กระเจี๊ยบแดง 100 กรัม ให้ค่า L^* a^* และ b^* มากที่สุด อาจเนื่องมาจากธรรมชาติของเพียวเร่กระเจี๊ยบแดงที่มีสีแดงค่อนข้างคล้ำเมื่อเติมกัวร์กัมที่มีลักษณะเป็นผงสีเหลืองอ่อนจึงช่วยให้ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นมีสีแดงเข้มขึ้น โดยผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นจากทุกสูตรมีค่า L^* a^* และ b^* อยู่ในช่วง 20.02-21.75 3.77-5.65 และ 0.66-1.79 ตามลำดับ เมื่อพิจารณาคุณลักษณะเนื้อสัมผัสจากค่า Tensile force และค่า Cutting force พบว่าปริมาณกัวร์กัมที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ค่า Tensile force ของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ขณะเดียวกันทำให้ค่า Cutting force ของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ด้วยเช่นกัน อาจเนื่องมาจากกัวร์กัมเป็นสารไฮโดรคอลลอยด์ที่ไม่มีคุณสมบัติในการเกิดโครงสร้างของเจลที่แข็งแรงแต่สามารถจับกับโมเลกุลของน้ำในผลิตภัณฑ์ (Phillips and Williams, 2000) ทำให้เกิดโครงสร้างที่มีลักษณะยืดหยุ่นส่งผลให้ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นมีค่า Tensile force เพิ่มขึ้นและค่า Cutting force ลดลงจึงทำให้ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมีเนื้อสัมผัสที่เหนียวและนุ่ม ผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับ Gujral และ Brar (2003) ซึ่งรายงานว่ ค่า Extensibility และ Energy to rupture ของผลิตภัณฑ์มะม่วงแผ่นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อใช้ปริมาณกัวร์กัมเพิ่มขึ้นจาก 0.0 (สูตรควบคุม) 1.0 2.0 และ 3.0 % น้ำหนักต่อน้ำหนัก นอกจากนี้ผลการทดลองดังกล่าวยังแสดงให้เห็นว่าเมื่อปริมาณกัวร์กัมเพิ่มขึ้นจาก 0.2 เป็น 0.6 กรัมต่อเพียวเร่กระเจี๊ยบแดง 100 กรัม จะไม่ส่งผลต่อค่า Cutting force ของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) โดยผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นจากทุกสูตรมีค่า Tensile force และ Cutting force อยู่ในช่วง 0.64-1.07 นิวตัน และ 8.01-9.78 นิวตัน ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาค่า a_w พบว่าปริมาณกัวร์กัมที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ค่า a_w ของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) อาจเนื่องมาจากกัวร์กัมมีคุณสมบัติในการทำให้เกิดร่างแหซึ่งสามารถเพิ่มการจับกับโมเลกุลของน้ำทำให้มีปริมาณน้ำเพิ่มขึ้น (Phillips and Williams, 2000 อ้างโดย อนุวัตร แจ่มชัด และคณะ, 2549) จึง

ส่งผลให้ค่า a_w ของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นเพิ่มขึ้นด้วยเช่นกัน โดยผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นจากทุกสูตรมีค่า a_w อยู่ในช่วง 0.53-0.63

เมื่อพิจารณาคุณภาพทางเคมี ได้แก่ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และค่าพีเอช พบว่าปริมาณกัวร์กัมที่เพิ่มขึ้นจะไม่ส่งผลต่อปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดและค่าพีเอชของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) โดยผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นจากทุกสูตรมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดอยู่ในช่วง 13.29-13.42 องศาบริกซ์ และมีค่าพีเอชอยู่ในช่วง 2.53-2.55 ตามลำดับ

การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่มีการเติมกัวร์กัมระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ได้แก่ 0.0 (สูตรควบคุม คือ สูตรพื้นฐานของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่ไม่เติมสารเพิ่มความคงตัว) 0.2 0.4 และ 0.6 กรัมต่อเพียวเร่กระเจี๊ยบแดง 100 กรัม ดังแสดงใน Table 17 จากผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสดังกล่าวพบว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นจากทั้ง 4 สูตร มีคะแนนความชอบโดยเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านกลิ่นรสกระเจี๊ยบแดง รสเปรี้ยว และรสหวาน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$)

จากผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นพบว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นมีคะแนนความชอบโดยเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านสี ความเหนียว และความชอบโดยรวมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ดังแสดงรายละเอียดใน Table 17 โดยเมื่อพิจารณาคุณลักษณะด้านสีพบว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นสูตรที่มีการเติมกัวร์กัม 0.2 และ 0.4 กรัมต่อเพียวเร่กระเจี๊ยบแดง 100 กรัม ให้คะแนนความชอบโดยเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านสีสูงสุด เมื่อพิจารณาคุณลักษณะด้านความเหนียวพบว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นสูตรที่ไม่มีการเติมกัวร์กัม (สูตรควบคุม) รวมทั้งผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นสูตรที่มีการเติมกัวร์กัม 0.4 และ 0.6 กรัมต่อเพียวเร่กระเจี๊ยบแดง 100 กรัม ให้คะแนนความชอบโดยเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านความเหนียวสูงสุด และเมื่อพิจารณาคุณลักษณะด้านความชอบโดยรวมพบว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นสูตรที่มีการเติมกัวร์กัม 0.4 กรัมต่อเพียวเร่กระเจี๊ยบแดง 100 กรัม ให้คะแนนความชอบโดยเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านความชอบโดยรวมสูงสุด ซึ่งจากผลการทดลองข้างต้นจะเห็นได้ว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นสูตรที่มีการเติมกัวร์กัม 0.4 กรัมต่อเพียวเร่กระเจี๊ยบแดง 100 กรัม ให้คะแนนความชอบโดยเฉลี่ยในคุณลักษณะที่สำคัญของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นคือ ความเหนียวและความชอบโดยรวมสูงสุด โดยผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นสูตรดังกล่าวมีคะแนนความชอบโดยเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านสี กลิ่นรสกระเจี๊ยบแดง ความเหนียว รสเปรี้ยว รสหวาน และความชอบโดยรวม เท่ากับ 7.3 ± 0.9 7.3 ± 1.0 6.6 ± 1.2 7.0 ± 1.0 6.9 ± 1.3

และ 7.3 ± 1.0 ตามลำดับ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเลือกผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นสูตรที่มีการเติมแก้วร่กัม 0.4 กรัมต่อเพียวเร่กระเจียบแดง 100 กรัม เป็นสูตรที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการศึกษาขั้นต่อไป

Table 16 Physical and chemical properties of roselle leather product at the different concentrations of guar gum

Guar gum (w/w)**	Color		Tensile force (N)	Cutting force (N)	a_w	Total soluble solids (°Brix) ^{ns}	pH ^{ns}
	L^*	a^*					
0.0 (Control)	20.02±0.17 ^c	3.77±0.29 ^c	0.64±0.12 ^b	9.78±0.78 ^a	0.53±0.01 ^d	13.42±0.13	2.54±0.01
0.2	20.31±0.34 ^c	5.08±0.11 ^b	0.73±0.04 ^b	8.14±0.29 ^b	0.57±0.02 ^c	13.33±0.13	2.54±0.00
0.4	21.33±0.30 ^b	5.06±0.12 ^b	0.95±0.21 ^a	8.39±0.56 ^b	0.61±0.02 ^b	13.33±0.13	2.54±0.00
0.6	21.75±0.10 ^a	5.65±0.16 ^a	1.07±0.26 ^a	8.01±0.27 ^b	0.63±0.00 ^a	13.29±0.19	2.54±0.00

** Based on 100 g of roselle puree

Means±standard deviation within the same column with different letters are significantly different ($p < 0.05$)

ns = not significant difference among roselle leather product at the different concentrations of guar gum ($p \geq 0.05$)

Table 17 Liking mean scores of roselle leather product at the different concentrations of guar gum

Guar gum (w/w)**	Liking mean scores						
	Color	Roselle flavor ^{ns}	Stickiness	Sourness ^{ns}	Sweetness ^{ns}	Overall liking	
0.0 (Control)	7.1±1.3 ^{bc}	7.0±1.1	6.6±1.2 ^a	6.9±1.0	6.6±1.3	6.7±1.0 ^b	
0.2	7.6±0.8 ^a	7.2±1.0	5.8±1.2 ^b	7.2±1.0	6.6±1.5	6.7±1.2 ^b	
0.4	7.3±0.9 ^{ab}	7.3±1.0	6.6±1.2 ^a	7.0±1.0	6.9±1.3	7.3±1.0 ^a	
0.6	6.8±1.4 ^c	6.9±1.2	6.2±1.6 ^{ab}	6.6±1.3	6.7±1.2	6.4±1.2 ^b	

** Based on 100 g of roselle puree

Means±standard deviation within the same column with different letters are significantly different ($p < 0.05$), using 30 untrained panelists

ns = not significant difference among roselle leather product at the different concentrations of guar gum ($p \geq 0.05$)

The degree of liking, 1 to 9 means: 1 = Dislike extremely 2 = Dislike very much 3 = Dislike moderately 4 = Dislike slightly 5 = Neither like nor dislike
6 = Like slightly 7 = Like moderately 8 = Like very much 9 = Like extremely

2.2.3 ผลของการเติมมอลโทเดกซ์ทรินระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่น

คุณภาพทางกายภาพและเคมี

คุณภาพทางกายภาพและเคมีของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นที่มีการเติมมอลโทเดกซ์ทรินระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ได้แก่ 0.0 (สูตรควบคุม คือ สูตรพื้นฐานของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นที่ไม่เติมสารเพิ่มความคงตัว) 2.0 4.0 และ 6.0 กรัมต่อเพียวเร่กระเจียบแดง 100 กรัม ดังแสดงใน Table 18 เมื่อพิจารณาคุณภาพทางกายภาพ ได้แก่ ค่าสี คุณลักษณะเนื้อสัมผัส และค่า a_w พบว่าปริมาณมอลโทเดกซ์ทรินที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ค่า L^* ของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ขณะที่ค่า a^* ของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และจะไม่ส่งผลต่อค่า b^* ของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) ซึ่งจากการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าการเติมมอลโทเดกซ์ทรินทำให้ผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นมีสีอ่อนลง อาจเนื่องมาจากธรรมชาติของเพียวเร่กระเจียบแดงที่มีสีแดงค่อนข้างคล้ำเมื่อเติมมอลโทเดกซ์ทรินที่มีลักษณะเป็นผงสีขาวและสามารถละลายน้ำได้ดีทำให้มีปริมาณเนื้อของผสมมากขึ้น จึงช่วยให้ผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นมีสีอ่อนลง สอดคล้องกับ พรศักดิ์ ประสิทธิ์แพทย์ (2545) ซึ่งรายงานว่าคุณลักษณะที่ผลิตจากทุเรียนพันธุ์ชะนีมีค่า L^* เพิ่มขึ้น ขณะที่ค่า a^* และ b^* ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อมีการใช้ปริมาณมอลโทเดกซ์ทรินเพิ่มขึ้นจาก 0.0 (สูตรควบคุม) 5.0 10.0 และ 15.0 % ของส่วนผสมทั้งหมด และจากการทดลองดังกล่าวพบว่าผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นจากทุกสูตรมีค่า L^* a^* และ b^* อยู่ในช่วง 18.73-21.21 2.57-5.41 และ 1.64-1.81 ตามลำดับ เมื่อพิจารณาคูณลักษณะเนื้อสัมผัสจากค่า Tensile force และค่า Cutting force พบว่าปริมาณมอลโทเดกซ์ทรินที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ค่า Tensile force และ Cutting force ของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นจากทุกสูตรมีค่า Tensile force และ Cutting force อยู่ในช่วง 0.50-0.64 นิวตัน และ 4.94-12.10 นิวตัน ตามลำดับ ทั้งนี้มอลโทเดกซ์ทรินมีโครงสร้างที่ประกอบด้วยโมโนแซคคาไรด์ 1-10 หน่วย เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ α -1,4 ไกลโคซิดิกมีผลให้คุณสมบัติในการต้านทานการเปลี่ยนแปลงรูปร่างจากการตรวจค่า Tensile force และ Cutting force มีค่าลดลง (Friedman, 1995 อ้างโดย พรศักดิ์ ประสิทธิ์แพทย์, 2545) และเมื่อพิจารณาค่า a_w พบว่าปริมาณมอลโทเดกซ์ทรินที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ค่า a_w ของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ทั้งนี้เนื่องจกามอลโทเดกซ์ทรินเป็นสารช่วยการอบแห้ง (Drying aid) โดยจะช่วยเพิ่มปริมาณของแข็งและลดปริมาณน้ำในผลิตภัณฑ์อาหารทำให้การอบแห้งเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็ว (Kha *et al.*, 2010) จากสาเหตุดังกล่าวส่งผลให้ผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นมีค่า a_w ลดลง

เมื่อมีการเติมมอลโทเดกซ์ทรินในปริมาณที่เพิ่มขึ้นโดยผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นจากทุกสูตรมีค่า a_w อยู่ในช่วง 0.43-0.54

เมื่อพิจารณาคุณภาพทางเคมี ได้แก่ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และค่าพีเอช พบว่าการเติมมอลโทเดกซ์ทริน 2.0 4.0 และ 6.0 กรัมต่อเพียวเร่กระเจี๊ยบแดง 100 กรัม มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดมากกว่าการไม่เติมสารเพิ่มความคงตัว (สูตรควบคุม) อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) อาจเนื่องมาจากมอลโทเดกซ์ทรินมีความสามารถในการละลายน้ำสูงจึงช่วยเพิ่มปริมาณของแข็งในผลิตภัณฑ์อาหาร (สุนทรี วราอุบล, 2546) ทำให้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) ของค่าดังกล่าวของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่มีการเติมมอลโทเดกซ์ทริน 2.0 4.0 และ 6.0 กรัมต่อเพียวเร่กระเจี๊ยบแดง 100 กรัม และจากผลการทดลองพบว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นจากทุกสูตรมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดอยู่ในช่วง 13.33-14.96 องศาบริกซ์ นอกจากนี้เมื่อพิจารณาค่าพีเอชของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นพบว่าปริมาณมอลโทเดกซ์ทรินที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ค่าพีเอชของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ทั้งนี้การเติมมอลโทเดกซ์ทรินลงในเพียวเร่กระเจี๊ยบแดงซึ่งเป็นส่วนผสมหลักในการผลิตผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นพบว่ามีส่วนผสมที่มีค่าพีเอชเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเช่นกัน และจากผลการทดลองพบว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นจากทุกสูตรมีค่าพีเอชอยู่ในช่วง 2.55-2.62

การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่มีการเติมมอลโทเดกซ์ทรินระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ได้แก่ 0.0 (สูตรควบคุม คือ สูตรพื้นฐานของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่ไม่เติมสารเพิ่มความคงตัว) 2.0 4.0 และ 6.0 กรัมต่อเพียวเร่กระเจี๊ยบแดง 100 กรัม ดังแสดงใน Table 19 จากผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสดังกล่าวพบว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นจากทั้ง 4 สูตร มีคะแนนความชอบโดยเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านสี กลิ่นรสกระเจี๊ยบแดง และความชอบโดยรวมไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$)

จากผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นพบว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นมีคะแนนความชอบโดยเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านความเหนียว รสเปรี้ยว และรสหวานแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ดังแสดงรายละเอียดใน Table 19 โดยเมื่อพิจารณาคุณลักษณะด้านความเหนียวพบว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นสูตรที่ไม่มีการเติมมอลโทเดกซ์ทริน (สูตรควบคุม) รวมทั้งผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นสูตรที่มีการเติมมอลโทเดกซ์ทริน 2.0 และ 4.0 กรัมต่อเพียวเร่กระเจี๊ยบแดง 100 กรัม ให้คะแนนความชอบโดยเฉลี่ยในคุณลักษณะดังกล่าวสูงสุด นอกจากนี้เมื่อพิจารณาคคุณลักษณะด้านรสเปรี้ยวและรสหวานพบว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นสูตรที่ไม่มี

การเติมมอลโทเดกซ์ทริน (สูตรควบคุม) ให้คะแนนความชอบโดยเฉลี่ยในคุณลักษณะดังกล่าวสูงสุดเช่นกัน ซึ่งจากผลการทดลองข้างต้นจะเห็นได้ว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นสูตรที่ไม่มีการเติมมอลโทเดกซ์ทริน (สูตรควบคุม) รวมทั้งผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นสูตรที่มีการเติมมอลโทเดกซ์ทริน 2.0 และ 4.0 กรัมต่อเปียวไร่กระเจี๊ยบแดง 100 กรัม ให้คะแนนความชอบโดยเฉลี่ยในคุณลักษณะที่สำคัญของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นคือ ความเหนียวและความชอบโดยรวมสูงสุด ดังนั้นเพื่อคัดเลือกระดับความเข้มข้นของมอลโทเดกซ์ทรินที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการผลิตผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นจึงต้องพิจารณาคูณลักษณะด้านรสเปรี้ยวและรสหวานซึ่งเป็นคุณลักษณะสำคัญที่มีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภคประกอบด้วยซึ่งพบว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นสูตรที่ไม่มีการเติมมอลโทเดกซ์ทริน (สูตรควบคุม) ให้คะแนนความชอบโดยเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านรสเปรี้ยวและรสหวานสูงสุด โดยผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นสูตรดังกล่าวมีคะแนนความชอบโดยเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านสี กลิ่นรส กระเจี๊ยบแดง ความเหนียว รสเปรี้ยว รสหวาน และความชอบโดยรวม เท่ากับ 7.5 ± 0.9 7.2 ± 0.9 6.9 ± 1.0 7.0 ± 1.1 7.1 ± 1.2 และ 7.2 ± 0.7 ตามลำดับ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเลือกผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นสูตรที่ไม่มีการเติมมอลโทเดกซ์ทริน (สูตรควบคุม) เป็นสูตรที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการศึกษาขั้นต่อไป

Table 18 Physical and chemical properties of roselle leather product at the different concentrations of maltodextrin

Maltodextrin (w/w)**	Color		Tensile force (N)	Cutting force (N)	a_w	Total soluble solids (°Brix)	pH	
	L^*	a^*						
0.0 (Control)	18.73±0.22 ^d	5.41±0.37 ^a	1.81±0.12	0.64±0.09 ^a	12.10±0.34 ^a	0.54±0.02 ^a	13.33±0.30 ^b	2.55±0.00 ^d
2.0	19.38±0.25 ^c	4.44±0.25 ^b	1.73±0.12	0.64±0.09 ^a	5.65±0.67 ^b	0.52±0.01 ^b	14.88±0.14 ^a	2.56±0.00 ^c
4.0	20.43±0.07 ^b	3.20±0.17 ^c	1.64±0.14	0.53±0.10 ^b	5.55±0.61 ^b	0.49±0.02 ^c	14.96±0.19 ^a	2.58±0.00 ^b
6.0	21.21±0.14 ^a	2.57±0.18 ^d	1.76±0.14	0.50±0.09 ^b	4.94±0.81 ^c	0.43±0.02 ^d	14.96±0.19 ^a	2.62±0.01 ^a

** Based on 100 g of roselle purce

Means±standard deviation within the same column with different letters are significantly different ($p < 0.05$)

ns = not significant difference among roselle leather product at the different concentrations of maltodextrin ($p \geq 0.05$)

Table 19 Liking mean scores of roselle leather product at the different concentrations of maltodextrin

Maltodextrin (w/w)**	Liking mean scores						
	Color ^{ns}	Roselle flavor ^{ns}	Stickiness	Sourness	Sweetness	Overall liking ^{ns}	
0.0 (Control)	7.5±0.9	7.2±0.9	6.9±1.0 ^a	7.0±1.1 ^a	7.1±1.2 ^a	7.2±0.7	
2.0	7.7±0.6	7.0±0.9	6.7±1.4 ^{ab}	6.5±1.2 ^b	6.5±1.1 ^b	7.0±0.8	
4.0	7.6±0.6	7.0±0.9	6.5±1.6 ^{ab}	6.6±1.2 ^b	6.6±1.1 ^b	6.8±1.1	
6.0	7.4±1.0	6.7±1.4	6.3±1.5 ^b	6.5±1.2 ^b	6.3±1.3 ^b	6.7±1.2	

** Based on 100 g of roselle puree

Means±standard deviation within the same column with different letters are significantly different ($p < 0.05$), using 30 untrained panelists

ns = not significant difference among roselle leather product at the different concentrations of maltodextrin ($p \geq 0.05$)

The degree of liking, 1 to 9 means: 1= Dislike extremely 2 = Dislike very much 3 = Dislike moderately 4 = Dislike slightly 5 = Neither like nor dislike
6 = Like slightly 7 = Like moderately 8 = Like very much 9 = Like extremely

2.2.4 การคัดเลือกชนิดและระดับความเข้มข้นของสารเพิ่มความคงตัวที่เหมาะสมในการผลิตผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่น

คุณภาพทางกายภาพและเคมี

คุณภาพทางกายภาพและเคมีของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นที่มีการเติมสารเพิ่มความคงตัวแต่ละชนิดตามระดับความเข้มข้นต่าง ๆ (ที่ได้จากการคัดเลือกในข้อ 2.2.1-2.2.3) ได้แก่ 0.0 กรัมต่อเพียวเร่กระเจียบแดง 100 กรัม (สูตรควบคุม คือ สูตรพื้นฐานของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นที่ไม่เติมสารเพิ่มความคงตัว) เพกติน 1.0 กรัมต่อเพียวเร่กระเจียบแดง 100 กรัม และกัวร์กัม 0.4 กรัมต่อเพียวเร่กระเจียบแดง 100 กรัม ดังแสดงใน Table 20 เมื่อพิจารณาคุณภาพทางกายภาพ ได้แก่ ค่าสี คุณลักษณะเนื้อสัมผัส และค่า a_w พบว่าการเติมเพกติน 1.0 กรัมต่อเพียวเร่กระเจียบแดง 100 กรัม ไม่ส่งผลต่อค่า $L^* a^*$ และ b^* ของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) ขณะที่การเติมกัวร์กัม 0.4 กรัมต่อเพียวเร่กระเจียบแดง 100 กรัม ส่งผลให้ค่า $L^* a^*$ และ b^* ของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ทั้งนี้เมื่อทำการเปรียบเทียบค่าความสว่างของสารเพิ่มความคงตัวทั้งสองชนิดพบว่ากัวร์กัมมีค่า L^* มากกว่าเพกติน (ไม่ได้แสดงข้อมูล) ดังนั้นการเติมกัวร์กัมจึงส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นมากกว่าการเติมเพกติน โดยจะทำให้ผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นที่เติมกัวร์กัมมีค่า $L^* a^*$ และ b^* มากกว่าผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นที่เติมเพกตินอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และจากผลการทดลองพบว่าผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นจากทุกสูตรมีค่า $L^* a^*$ และ b^* อยู่ในช่วง 20.17-20.64 3.53-4.17 และ 0.77-1.04 ตามลำดับ เมื่อพิจารณาคูณลักษณะเนื้อสัมผัสจากค่า Tensile force พบว่าการเติมเพกติน 1.0 กรัมต่อเพียวเร่กระเจียบแดง 100 กรัม จะให้ค่า Tensile force สูงสุด รองลงมาคือ การเติมกัวร์กัม 0.4 กรัมต่อเพียวเร่กระเจียบแดง 100 กรัม และการไม่เติมสารเพิ่มความคงตัว (สูตรควบคุม) ตามลำดับ นอกจากนี้เมื่อพิจารณาคูณลักษณะเนื้อสัมผัสจากค่า Cutting force พบว่าการเติมเพกติน 1.0 กรัมต่อเพียวเร่กระเจียบแดง 100 กรัม จะให้ค่า Cutting force สูงสุดเช่นเดียวกัน รองลงมาคือ การไม่เติมสารเพิ่มความคงตัว (สูตรควบคุม) และการเติมกัวร์กัม 0.4 กรัมต่อเพียวเร่กระเจียบแดง 100 กรัม ตามลำดับ จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าการเติมเพกติน 1.0 กรัมต่อเพียวเร่กระเจียบแดง 100 กรัม จะทำให้ผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นมีเนื้อสัมผัสที่เหนียวและแข็ง (ค่า Tensile force และค่า Cutting force เพิ่มขึ้น) อาจเนื่องมาจากเพกตินที่ใช้เป็นชนิดเมทอกซิลสูงทำให้เกิดโครงสร้างของเจลที่มีความแข็งแรง (Ralet *et al.*, 2005) ขณะที่การเติมกัวร์กัม 0.4 กรัมต่อเพียวเร่กระเจียบแดง 100 กรัม จะทำให้ผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นมีเนื้อสัมผัสที่เหนียวและนุ่ม (ค่า Tensile force เพิ่มขึ้น และค่า Cutting force ลดลง) ทั้งนี้เนื่องจากกัวร์กัมไม่มีคุณสมบัติในการเกิดโครงสร้างของเจลที่แข็งแรงแต่สามารถจับกับโมเลกุลของน้ำในผลิตภัณฑ์ (Phillips and Williams, 2000) ทำให้เกิดโครงสร้างที่มี

ลักษณะยืดหยุ่น และจากผลการทดลองพบว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นจากทุกสูตรมีค่า Tensile force และ Cutting force อยู่ในช่วง 0.72-1.23 นิวตัน และ 7.91-12.46 นิวตัน ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาค่า a_w พบว่าการเติมเพกติน 1.0 กรัมต่อเพียวเร่กระเจี๊ยบแดง 100 กรัม และการเติมกัวร์กัม 0.4 กรัมต่อเพียวเร่กระเจี๊ยบแดง 100 กรัม มีค่า a_w มากกว่าการไม่เติมสารเพิ่มความคงตัว (สูตรควบคุม) อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ทั้งนี้ลักษณะโครงสร้างโมเลกุลของเพกตินและกัวร์กัมที่มีลักษณะให้คุณสมบัติในการทำให้เกิดร่างแหที่เพิ่มความสามารถในการดูดซึมน้ำ ทำให้มีปริมาณน้ำเพิ่มขึ้น (Phillips and Williams, 2000; นิธิยา รัตนานาปนนท์, 2549) จึงส่งผลให้ค่า a_w ของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นเพิ่มขึ้นด้วยเช่นกัน โดยผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นจากทุกสูตรมีค่า a_w อยู่ในช่วง 0.52-0.60

เมื่อพิจารณาคูณภาพทางเคมี ได้แก่ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และค่าพีเอช พบว่าการเติมเพกติน 1.0 กรัมต่อเพียวเร่กระเจี๊ยบแดง 100 กรัม และการเติมกัวร์กัม 0.4 กรัมต่อเพียวเร่กระเจี๊ยบแดง 100 กรัม ไม่ส่งผลต่อปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) โดยผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นจากทุกสูตรมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดอยู่ในช่วง 13.38-13.42 องศาบริกซ์ นอกจากนี้เมื่อพิจารณาค่าพีเอชพบว่าการเติมเพกติน 1.0 กรัมต่อเพียวเร่กระเจี๊ยบแดง 100 กรัม ส่งผลให้ค่าพีเอชของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ขณะที่การเติมกัวร์กัม 0.4 กรัมต่อเพียวเร่กระเจี๊ยบแดง 100 กรัม จะไม่ส่งผลต่อค่าพีเอชของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) ทั้งนี้กัวร์กัมเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่ไม่แตกตัวเป็นไอออน (Phillips and Williams, 2000) จึงไม่ส่งผลต่อค่าพีเอชของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น โดยผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นจากทุกสูตรมีค่าพีเอชอยู่ในช่วง 2.36-2.55

การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่มีการเติมสารเพิ่มความคงตัวแต่ละชนิดตามระดับความเข้มข้นต่าง ๆ (ที่ได้จากการคัดเลือกในข้อ 2.2.1-2.2.3) ได้แก่ 0.0 กรัมต่อเพียวเร่กระเจี๊ยบแดง 100 กรัม (สูตรควบคุม คือ สูตรพื้นฐานของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่ไม่เติมสารเพิ่มความคงตัว) เพกติน 1.0 กรัมต่อเพียวเร่กระเจี๊ยบแดง 100 กรัม และกัวร์กัม 0.4 กรัมต่อเพียวเร่กระเจี๊ยบแดง 100 กรัม ดังแสดงใน Table 21 จากผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสดังกล่าวพบว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นจากทั้ง 4 สูตร มีคะแนนความชอบโดยเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านความเหนียวและรสหวานไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$)

จากผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นพบว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นมีคะแนนความชอบโดยเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านสี กลิ่นรสกระเจี๊ยบแดง รสเปรี้ยว และความชอบโดยรวมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ดังแสดงรายละเอียดใน Table 21 โดยเมื่อพิจารณาคูณลักษณะด้านสี กลิ่นรสกระเจี๊ยบแดง และรสเปรี้ยวพบว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบ-

แดงแผ่นสูตรที่ไม่มีการเติมสารเพิ่มความคงตัว (สูตรควบคุม) และผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นสูตรที่มีการเติมกัวร์กัม 0.4 กรัมต่อพืชไร่กระเจี๊ยบแดง 100 กรัม ให้คะแนนความชอบโดยเฉลี่ยในคุณลักษณะดังกล่าวสูงสุด และเมื่อพิจารณาคุณลักษณะด้านความชอบโดยรวมพบว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นสูตรที่ไม่มีการเติมสารเพิ่มความคงตัว (สูตรควบคุม) ให้คะแนนความชอบโดยเฉลี่ยในคุณลักษณะดังกล่าวสูงสุดเช่นกัน ซึ่งจากผลการทดลองข้างต้นจะเห็นได้ว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นสูตรที่ไม่มีการเติมสารเพิ่มความคงตัว (สูตรควบคุม) ให้คะแนนความชอบโดยเฉลี่ยในคุณลักษณะที่สำคัญของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นคือ ความเหนียวและความชอบโดยรวมสูงสุด ทั้งนี้เนื่องจากกากกระเจี๊ยบแดงที่ใช้ในงานวิจัยนี้มีปริมาณใยอาหารชนิดละลายน้ำ (A.O.A.C., 2000) ค่อนข้างสูง โดยมีปริมาณเท่ากับ 3.00 ± 0.19 % ซึ่ง Mahadevan และคณะ (2009) รายงานว่า กระเจี๊ยบแดงมีใยอาหารชนิดละลายน้ำที่สำคัญ คือ เพกติน และมิวซิเลจส์ ดังนั้นเพกตินในกากกระเจี๊ยบแดงจึงทำหน้าที่เป็นสารปรับปรุงเนื้อสัมผัสโดยการเกิดอันตรกิริยากับส่วนผสมอื่นที่ใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นมีคุณลักษณะเนื้อสัมผัสเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค และจากเหตุผลข้างต้นทำให้ในการผลิตผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นจากกากกระเจี๊ยบแดงจึงไม่มีความจำเป็นต้องใช้สารเพิ่มความคงตัว (เพกติน กัวร์กัม และมอลโทเดกซ์ทริน) ในการผลิตผลิตภัณฑ์ดังกล่าว โดยผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นสูตรที่ไม่มีการเติมสารเพิ่มความคงตัว (สูตรควบคุม) มีคะแนนความชอบโดยเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านสี กลิ่นรสกระเจี๊ยบแดง ความเหนียว รสเปรี้ยว รสหวาน และความชอบโดยรวมเท่ากับ 7.8 ± 0.5 7.4 ± 0.7 7.1 ± 1.1 7.1 ± 1.1 7.3 ± 0.8 และ 7.5 ± 0.6 ตามลำดับ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเลือกผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นสูตรที่ไม่มีการเติมสารเพิ่มความคงตัว (สูตรควบคุม) เป็นสูตรที่เหมาะสมที่สุดสำหรับใช้ในการศึกษาขั้นต่อไป

Table 20 Physical and chemical properties of roselle leather product at the addition of 1.0 pectin and 0.4 guar gum

Stabilizer (w/w)**	Color		Tensile force (N)	Cutting force (N)	a_w	Total soluble solids (°Brix) ^{ns}	pH
	L^*	a^*					
0.0 (Control)	20.32±0.11 ^b	3.53±0.33 ^b	0.77±0.18 ^b	10.08±0.56 ^b	0.52±0.03 ^b	13.38±0.14	2.54±0.01 ^a
1.0 pectin	20.17±0.23 ^b	3.81±0.24 ^b	0.87±0.12 ^b	12.46±1.27 ^a	0.60±0.02 ^a	13.42±0.13	2.36±0.01 ^b
0.4 guar gum	20.64±0.19 ^a	4.17±0.14 ^a	1.04±0.12 ^a	7.91±0.69 ^c	0.60±0.02 ^a	13.42±0.13	2.55±0.01 ^a

** Based on 100 g of roselle puree

Means±standard deviation within the same column with different letters are significantly different ($p < 0.05$)

ns = not significant difference among roselle leather product at the addition of 1.0 pectin and 0.4 guar gum ($p \geq 0.05$)

Table 21 Liking mean scores of roselle leather product at the addition of 1.0 pectin and 0.4 guar gum

Stabilizer (w/w)**	Liking mean scores						
	Color	Roselle flavor	Stickiness ^{ns}	Sourness	Sweetness ^{ns}	Overall liking	
0.0 (Control)	7.8±0.5 ^a	7.4±0.7 ^a	7.1±1.1	7.1±1.1 ^a	7.3±0.8	7.5±0.6 ^a	
1.0 pectin	7.5±0.5 ^b	6.8±1.1 ^b	6.8±1.1	6.5±0.9 ^b	6.8±1.1	6.8±0.8 ^b	
0.4 guar gum	7.6±0.5 ^{ab}	7.2±0.9 ^a	6.8±1.0	7.0±0.8 ^a	7.0±0.8	7.1±0.7 ^b	

** Based on 100 g of roselle puree

Means±standard deviation within the same column with different letters are significantly different ($p < 0.05$), using 30 untrained panelists

ns = not significant difference among roselle leather product at the addition of 1.0 pectin and 0.4 guar gum ($p \geq 0.05$)

The degree of liking, 1 to 9 means: 1 = Dislike extremely 2 = Dislike very much 3 = Dislike moderately 4 = Dislike slightly 5 = Neither like nor dislike

6 = Like slightly 7 = Like moderately 8 = Like very much 9 = Like extremely

2.2.5 ผลของการเติมสารเพิ่มความคงตัวต่างชนิดและระดับความเข้มข้นต่อคุณลักษณะเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น

จากการทดลองในข้อ 2.2.1-2.2.3 สามารถสรุปผลของการเติมสารเพิ่มความคงตัวต่างชนิดและระดับความเข้มข้นต่อคุณลักษณะเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นได้ดังแสดงใน Table 22 เมื่อพิจารณาคูณลักษณะเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่มีการเติมเพกตินเป็นสารเพิ่มความคงตัวพบว่าปริมาณเพกตินที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ค่า Tensile force และค่า Cutting force ของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) จึงทำให้ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมีเนื้อสัมผัสที่เหนียวและแข็ง โดยผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นจากทุกสูตรมีค่า Tensile force และค่า Cutting force อยู่ในช่วง 0.29-1.03 นิวตัน และ 10.81-17.13 นิวตัน ตามลำดับ เมื่อพิจารณาคูณลักษณะเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่มีการเติมกัวร์กัมเป็นสารเพิ่มความคงตัวพบว่าปริมาณกัวร์กัมที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ค่า Tensile force ของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ขณะเดียวกันทำให้ค่า Cutting force ของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ด้วยเช่นกัน จึงทำให้ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมีเนื้อสัมผัสที่เหนียวและนุ่ม โดยผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นจากทุกสูตรมีค่า Tensile force และค่า Cutting force อยู่ในช่วง 0.64-1.07 นิวตัน และ 8.01-9.78 นิวตัน ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาคูณลักษณะเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่มีการเติมมอลโทเดกซ์ทรินเป็นสารเพิ่มความคงตัวพบว่าปริมาณมอลโทเดกซ์ทรินที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ค่า Tensile force และ Cutting force ของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ดังนั้นผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่มีการเติมมอลโทเดกซ์ทรินในปริมาณที่เพิ่มขึ้นจึงมีความเหนียวลดลงและมีความนุ่มเพิ่มขึ้น โดยผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นจากทุกสูตรมีค่า Tensile force และค่า Cutting force อยู่ในช่วง 0.50-0.64 นิวตัน และ 4.94-12.10 นิวตัน ตามลำดับ

Table 22 Texture characteristics of roselle leather product at the different types/concentrations of stabilizers

Stabilizers (w/w)*	Tensile force (N)	Cutting force (N)
Pectin**		
0.0 (Control)	0.29±0.06 ^f	10.81±0.77 ^d
1.0	0.39±0.03 ^{ef}	12.25±1.51 ^c
2.0	0.69±0.11 ^b	14.67±1.37 ^b
3.0	1.03±0.32 ^a	17.13±1.44 ^a
Guar gum***		
0.0 (Control)	0.64±0.12 ^{bc}	9.78±0.78 ^e
0.2	0.73±0.04 ^b	8.14±0.29 ^f
0.4	0.95±0.21 ^a	8.39±0.56 ^f
0.6	1.07±0.26 ^a	8.01±0.27 ^f
Maltodextrin****		
0.0 (Control)	0.64±0.09 ^{bc}	12.10±0.34 ^c
2.0	0.64±0.09 ^{bc}	5.65±0.67 ^g
4.0	0.53±0.10 ^{cd}	5.55±0.61 ^g
6.0	0.50±0.09 ^{de}	4.94±0.81 ^h

* Based on 100 g of roselle puree

** The results from section 2.2.1

*** The results from section 2.2.2

**** The results from section 2.2.3

2.3 ผลของการเติมซูคราโลสเป็นสารให้ความหวานทดแทนซูโครสต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่น

คุณภาพทางกายภาพและเคมี

คุณภาพทางกายภาพและเคมีของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นที่มีการเติมซูโครสและซูคราโลสเป็นสารให้ความหวานโดยใช้อัตราส่วนของซูโครสต่อซูคราโลส 4 อัตราส่วน ได้แก่ 100 ต่อ 0 (สูตรที่ได้จากการคัดเลือกในข้อ 2.2.4) 75 ต่อ 25 50 ต่อ 50 และ 25 ต่อ 75 ตามลำดับ ดังแสดงใน Table 23 เมื่อพิจารณาคุณภาพทางกายภาพ ได้แก่ ค่าสี คุณลักษณะเนื้อสัมผัส และค่า a_w พบว่าผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นสูตรที่มีการเติมซูคราโลสในอัตราส่วนที่เพิ่มขึ้นจะส่งผลให้ค่า L^* ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ขณะที่ค่า a^* และ b^* ของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ทั้งนี้ Tsai และคณะ (2004) รายงานว่า การใช้ซูโครสในผลิตภัณฑ์อาหารนอกจากจะใช้เป็นสารให้ความหวานแล้วซูโครสยังทำหน้าที่ลดค่า a_w ของผลิตภัณฑ์อาหารทำให้ผลิตภัณฑ์อาหารมีปริมาณน้ำอิสระลดลง สำหรับงานวิจัยในส่วนนี้มีการใช้ซูคราโลสเป็นสารให้ความหวานทดแทนการใช้ซูโครสในบางส่วนทำให้ผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นมีปริมาณซูโครสลดลง ส่งผลให้มีปริมาณน้ำอิสระเพิ่มขึ้นจึงเป็นสาเหตุให้เกิดปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาล (Browning reaction) ในผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นและทำให้ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมีค่า L^* ลดลง ขณะที่ค่า a^* และ b^* เพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับ Huang และ Hsieh (2005) ที่รายงานว่า การลดลงของค่า L^* มีความสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของการเกิดสีน้ำตาลในผลิตภัณฑ์อาหาร และจากผลการทดลองพบว่าผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นจากทุกสูตรมีค่า $L^* a^*$ และ b^* อยู่ในช่วง 20.37-21.78 3.66-8.06 และ 0.46-2.41 ตามลำดับ นอกจากนี้เมื่อพิจารณาลักษณะเนื้อสัมผัสจากค่า Tensile force และค่า Cutting force พบว่าผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นสูตรที่มีการเติมซูคราโลสในอัตราส่วนที่เพิ่มขึ้นจะไม่ส่งผลต่อค่า Tensile force และค่า Cutting force ของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) โดยผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นจากทุกสูตรมีค่า Tensile force และค่า Cutting force อยู่ในช่วง 0.78-0.85 นิวตัน และ 9.00-9.54 นิวตัน ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาค่า a_w พบว่าผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นสูตรที่มีการเติมซูคราโลสในอัตราส่วนที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ค่า a_w ของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ด้วยเช่นกัน ทั้งนี้ สุวรรณฯ สุภิมารส (2543) รายงานว่า วัตถุประสงค์ของการใช้ซูโครสในผลิตภัณฑ์อาหารนอกจากจะใช้เป็นสารให้ความหวานแล้วซูโครสยังทำหน้าที่ลดค่า a_w ในผลิตภัณฑ์อาหาร ดังนั้นในการผลิตผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นที่มีการใช้ซูคราโลสเป็นสารให้ความหวานทดแทนการใช้ซูโครสในบางส่วนทำให้มีปริมาณซูโครสในผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นน้อยลงจึงส่งผลให้ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมีค่า a_w เพิ่มขึ้น โดยผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นจากทุกสูตรมีค่า a_w อยู่ในช่วง 0.53-0.68

เมื่อพิจารณาคุณภาพทางเคมี ได้แก่ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และค่าพีเอช พบว่าผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นสูตรที่มีการเติมซูคราโลสในอัตราส่วนที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ขณะที่ค่าพีเอชของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ด้วยเช่นกัน ทั้งนี้เนื่องจากผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นสูตรที่มีการเติมซูคราโลสในอัตราส่วนที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ค่า a_w ของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) (จากผลการทดลองใน Table 23) จึงเป็นสาเหตุให้เกิดปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่ไม่อาศัยเอนไซม์หรือปฏิกิริยามลลาร์ดมากขึ้น ทั้งนี้ผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นจากทุกสูตรมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดและค่าพีเอชอยู่ในช่วง 12.08-13.58 องศาบริกซ์ และ 2.54-2.60 ตามลำดับ โดย Deman (1990) รายงานว่า ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่ไม่อาศัยเอนไซม์หรือปฏิกิริยามลลาร์ดเป็นการทำปฏิกิริยาระหว่างน้ำตาลรีดิวซ์กับหมู่อะมิโนในโมเลกุลของกรดอะมิโนและโปรตีนภายใต้สภาวะที่มีความร้อนซึ่งการเกิดปฏิกิริยาดังกล่าวทำให้เกิดการสูญเสียน้ำตาลรีดิวซ์และกรดอะมิโน และการที่กรดอะมิโนมีปริมาณลดลงจะส่งผลให้ค่าพีเอชของระบบเกิดการเปลี่ยนแปลงด้วยเช่นกัน จากสาเหตุดังกล่าวจึงส่งผลให้ผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นสูตรที่มีการเติมซูคราโลสในปริมาณที่เพิ่มขึ้นมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดลดลงและมีค่าพีเอชเพิ่มขึ้น

การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นที่มีการเติมซูโครสและซูคราโลสเป็นสารให้ความหวานโดยใช้อัตราส่วนของซูโครสต่อซูคราโลส 4 อัตราส่วน ได้แก่ 100 ต่อ 0 (สูตรที่ได้จากการคัดเลือกในข้อ 2.2.4) 75 ต่อ 25 50 ต่อ 50 และ 25 ต่อ 75 ตามลำดับ ดังแสดงใน Table 24 พบว่าผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นจากทั้ง 4 สูตร มีคะแนนความชอบโดยเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านกลิ่นรสกระเจียบแดง รสเปรี้ยว และรสหวานไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) และผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นจากทั้ง 4 สูตร มีคะแนนความชอบโดยเฉลี่ยในคุณลักษณะดังกล่าวอยู่ในช่วง 6.7-7.0 6.5-6.6 และ 6.7-7.1 ตามลำดับ

จากผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นพบว่า ผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นมีคะแนนความชอบโดยเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านสีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ดังแสดงรายละเอียดใน Table 24 โดยผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นสูตรที่มีการใช้อัตราส่วนของซูโครสต่อซูคราโลส เท่ากับ 100 ต่อ 0 (สูตรควบคุม) และ 75 ต่อ 25 มีคะแนนความชอบโดยเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านสีสูงสุด และจากผลการทดลองพบว่าผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นจากทั้ง 4 สูตร มีคะแนนความชอบโดยเฉลี่ยในคุณลักษณะดังกล่าวอยู่ในช่วง 7.0-7.7 นอกจากนี้เมื่อพิจารณาคุณลักษณะที่สำคัญของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่น คือ ความเหนียว และความชอบโดยรวมพบว่า ผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นสูตรที่มีการใช้อัตราส่วนของซูโครสต่อซูคราโลส เท่ากับ 100 ต่อ 0

(สูตรควบคุม) 75 ต่อ 25 และ 50 ต่อ 50 มีคะแนนความชอบโดยเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านความเหนียวและความชอบโดยรวมมากกว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นสูตรที่มีการใช้อัตราส่วนของซูโครสต่อซูคราโลส เท่ากับ 25 ต่อ 75 อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และจากผลการทดลองพบว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นจากทั้ง 4 สูตร มีคะแนนความชอบโดยเฉลี่ยในคุณลักษณะดังกล่าวอยู่ในช่วง 6.2-7.2 และ 6.4-7.1 ตามลำดับ ดังนั้นเพื่อคัดเลือกอัตราส่วนของซูโครสต่อซูคราโลสที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการผลิตผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นจึงต้องพิจารณาคูณลักษณะด้านสีซึ่งเป็นคุณลักษณะสำคัญที่มีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภคประกอบด้วยซึ่งพบว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นสูตรที่มีการใช้อัตราส่วนของซูโครสต่อซูคราโลส เท่ากับ 75 ต่อ 25 มีคะแนนความชอบโดยเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านสีสูงสุด งานวิจัยนี้จึงเลือกผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นสูตรที่มีการใช้อัตราส่วนของซูโครสต่อซูคราโลส เท่ากับ 75 ต่อ 25 เป็นสูตรที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการศึกษาขั้นต่อไปโดยผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นสูตรดังกล่าวมีคะแนนความชอบโดยเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านสี กลิ่นรส กระเจี๊ยบแดง ความเหนียว รสเปรี้ยว รสหวาน และความชอบโดยรวม เท่ากับ 7.5 ± 0.7 7.0 ± 1.0 7.2 ± 1.2 6.6 ± 1.1 7.1 ± 1.2 และ 6.9 ± 1.0 ตามลำดับ และมีส่วนผสมในการผลิตประกอบด้วย เพียวเร่ กระเจี๊ยบแดง 78.54 % น้ำ 2.75 % กลีเซอรอล 7.07 % กรดซิตริก 0.08 % โปแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 0.06 % ซูโครส 11.49 % และซูคราโลส 0.006 % ตามลำดับ

Table 23 Physical and chemical properties of roselle leather product at different ratios of sucrose to sucralose

Ratios of sucrose to sucralose**	Color		Tensile force (N) ^{ns}	Cutting force (N) ^{ns}	a_w	Total soluble solids (°Brix)	pH
	L^*	a^* b^*					
100 to 0 (Control)	21.59±0.18 ^a	3.90±0.17 ^c 0.57±0.08 ^c	0.79±0.16	9.54±0.50	0.53±0.01 ^c	13.58±0.13 ^a	2.54±0.01 ^b
75 to 25	21.78±0.19 ^a	3.66±0.06 ^c 0.46±0.08 ^c	0.85±0.14	9.42±0.77	0.53±0.00 ^c	13.38±0.14 ^b	2.54±0.01 ^b
50 to 50	21.23±0.21 ^b	5.18±0.39 ^b 1.43±0.19 ^b	0.81±0.09	9.45±0.69	0.59±0.02 ^b	12.96±0.10 ^c	2.60±0.01 ^a
25 to 75	20.37±0.15 ^c	8.06±0.62 ^a 2.41±0.38 ^a	0.78±0.12	9.00±0.63	0.68±0.01 ^a	12.08±0.13 ^d	2.59±0.01 ^a

** Based on sucralose has the sweetness about 600 times greater than that of sucrose

All ratios of sucrose to sucralose contributed to the sweetness equivalent to that of 19.500 g sucrose per 100 g roselle puree (Control)

Means±standard deviation within the same column with different letters are significantly different ($p < 0.05$)

ns = not significant difference among roselle leather product at different ratios of sucrose to sucralose ($p \geq 0.05$)

Table 24 Liking mean scores of roselle leather product at different ratios of sucrose to sucralose

Ratios of sucrose to sucralose**	Liking mean scores						
	Color	Roselle flavor ^{ns}	Stickiness	Sourness ^{ns}	Sweetness ^{ns}	Overall liking	
100 to 0 (Control)	7.7±0.7 ^a	7.0±0.9	7.2±0.9 ^a	6.6±1.1	6.9±1.1	7.1±0.9 ^a	
75 to 25	7.5±0.7 ^{ab}	7.0±1.0	7.2±1.2 ^a	6.6±1.1	7.1±1.2	6.9±1.0 ^a	
50 to 50	7.3±0.9 ^{bc}	6.8±1.1	6.9±0.8 ^a	6.5±1.1	7.0±0.7	6.8±0.8 ^a	
25 to 75	7.0±1.2 ^c	6.7±1.2	6.2±1.3 ^b	6.6±1.1	6.7±1.1	6.4±1.3 ^b	

** Based on sucralose has the sweetness about 600 times greater than that of sucrose

All ratios of sucrose to sucralose contributed to the sweetness equivalent to that of 19.500 g sucrose per 100 g roselle puree (Control)

Means±standard deviation within the same column with different letters are significantly different ($p < 0.05$), using 30 untrained panelists

ns = not significant difference among roselle leather product at different ratios of sucrose to sucralose ($p \geq 0.05$)

The degree of liking, 1 to 9 means: 1= Dislike extremely 2 = Dislike very much 3 = Dislike moderately 4 = Dislike slightly 5 = Neither like nor dislike

6 = Like slightly 7 = Like moderately 8 = Like very much 9 = Like extremely

3. การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นระหว่างการเก็บรักษา

3.1 คุณภาพทางกายภาพ

การเปลี่ยนแปลงค่าสี L^* a^* และ b^* ของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นบรรจุในถุงเมทัลไลต์ระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 และ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0 30 และ 60 วัน ดังแสดงใน Table 25 เมื่อศึกษาผลของระยะเวลาการเก็บรักษาต่อค่าสี L^* a^* และ b^* พบว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่ไม่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์และผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 หรือ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส มีค่า L^* ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ขณะที่ค่า a^* และ b^* มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ในระหว่างการเก็บรักษา โดยเมื่อพิจารณาค่า L^* พบว่าในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นมีค่า L^* เท่ากับ 21.14 ± 0.07 และ 21.60 ± 0.10 ตามลำดับ และเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษาในวันที่ 60 ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นมีค่า L^* ลดลงลงเหลือ เท่ากับ 20.64 ± 0.10 21.10 ± 0.09 19.77 ± 0.09 และ 20.44 ± 0.07 ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาค่า a^* พบว่าในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นมีค่า a^* เท่ากับ 2.41 ± 0.09 และ 2.21 ± 0.10 ตามลำดับ และเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษาในวันที่ 60 ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นมีค่า a^* เพิ่มขึ้น เท่ากับ 2.81 ± 0.08 2.68 ± 0.06 3.60 ± 0.11 และ 3.22 ± 0.08 ตามลำดับ นอกจากนี้เมื่อพิจารณาค่า b^* พบว่าในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นมีค่า b^* เท่ากับ 0.63 ± 0.05 และ 0.50 ± 0.05 ตามลำดับ และเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษาในวันที่ 60 ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นมีค่า b^* เพิ่มขึ้น เท่ากับ 0.94 ± 0.06 0.75 ± 0.06 1.47 ± 0.12 และ 1.10 ± 0.06 ตามลำดับ ซึ่งการลดลงของค่า L^* และการเพิ่มขึ้นของค่า a^* และ b^* ตามระยะเวลาการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้นเป็นผลมาจากการเกิดสีน้ำตาลในผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น สำหรับการเกิดสีน้ำตาลในผลิตภัณฑ์อาหารที่มีแอนโทไซยานินเป็นองค์ประกอบอาจเกิดขึ้นได้ทั้งจากการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดและการเสื่อมสลายของแอนโทไซยานิน ทั้งนี้ นิธิยา รัตนปณนัท (2549) รายงานว่า การเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดจะทำให้เกิดผลิตภัณฑ์เมลานอยดิน ซึ่งเป็นสารประกอบที่มีสีน้ำตาล ขณะที่ Jackman และคณะ (1987) รายงานว่า ปฏิกิริยาออกซิเดชันของแอนโทไซยานินเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ปริมาณแอนโทไซยานินลดลงและผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาดังกล่าวสามารถทำปฏิกิริยากับแอนโทไซยานินได้เป็นสารประกอบที่มีสีน้ำตาลเช่นเดียวกัน ผลการทดลองของงานวิจัยในส่วนนี้สอดคล้องกับ รัตนา อัดตปัญญาญ และคณะ (2550) ซึ่งศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่าสี L^* และ a^* ของผลิตภัณฑ์ลำไยแผ่นในระหว่างการเก็บรักษา โดยเริ่มจากการผลิตผลิตภัณฑ์ลำไยแผ่นแล้วนำบรรจุในถุงเมทัลไลต์ (OPP 20.0 ไมครอน/MCPPP 25.0 ไมครอน) จากนั้นนำเก็บรักษาในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 28.0-30.0 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 87.0 % เป็นระยะเวลา 0 30 60 90 120 และ 150 วัน โดยเมื่อพิจารณาค่า L^* พบว่าในวันที่ 0 และวันที่ 150 ของการเก็บรักษา

ผลิตภัณฑ์ลำไยแผ่นมีค่า L^* เท่ากับ 49.04 ± 1.32 และ 41.07 ± 1.85 ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาค่า a^* พบว่าในวันที่ 0 และวันที่ 150 ของการเก็บรักษา ผลิตภัณฑ์ลำไยแผ่นมีค่า a^* เท่ากับ 14.18 ± 2.86 และ 17.16 ± 0.47 ตามลำดับ จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าผลิตภัณฑ์ลำไยแผ่นมีการลดลงของค่า L^* และการเพิ่มขึ้นของค่า a^* ตามระยะเวลาการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้นด้วยเช่นกัน

เมื่อศึกษาผลร่วมของการไม่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์และการเติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 หรือ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส ที่มีต่อค่า L^* , a^* และ b^* ในระหว่างการเก็บรักษา โดยเมื่อพิจารณาค่า L^* พบว่าในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่ไม่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์มีค่า L^* น้อยกว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษาในวันที่ 60 พบว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส มีค่า L^* สูงสุด รองลงมาคือ ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่ไม่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส และผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่ไม่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาค่า a^* และ b^* พบว่าในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่ไม่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์มีค่า a^* และ b^* มากกว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษาในวันที่ 60 พบว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่ไม่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส มีค่า a^* และ b^* สูงสุด รองลงมาคือ ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่ไม่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส และผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ซึ่งการลดลงของค่า L^* และการเพิ่มขึ้นของค่า a^* และ b^* ในระหว่างการเก็บรักษาเป็นผลมาจากการเกิดสีน้ำตาลในผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น ทั้งนี้ นิธิยา รัตนานนท์ (2549) รายงานว่า ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดสีน้ำตาลในผลิตภัณฑ์อาหาร คือ สารประกอบซัลไฟต์ และอุณหภูมิในการเก็บรักษา สำหรับสารประกอบซัลไฟต์ เช่น โพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ มีการนำมาใช้เพื่อเป็นสารยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลที่เกิดจากปฏิกิริยาเมลลาร์ดโดยหมู่ซัลไฟต์จะเข้าร่วมตัวกับหมู่คาร์บอนิลของน้ำตาลรีดิวซ์ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดทำให้สามารถยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลที่เกิดจากปฏิกิริยา

เมตลาร์ดได้ นอกจากนี้ Jackman และคณะ (1987) รายงานว่า ในผลิตภัณฑ์อาหารที่มีแอนโทไซยานิน เป็นองค์ประกอบสามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนแอนโทไซยานิน-ไบซัลไฟต์ ที่มีความคงตัวสูง และไม่ถูกทำลายด้วยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสจึงทำให้การเกิดสีน้ำตาลในผลิตภัณฑ์อาหารเกิดขึ้นช้าลง ปัจจัยสำคัญอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการเกิดสีน้ำตาลในผลิตภัณฑ์อาหาร คือ อุณหภูมิในการเก็บรักษา โดย นิธิยา รัตนานนท์ (2549) รายงานว่า อัตราเร็วของการเกิดสีน้ำตาลที่เกิดจากปฏิกิริยามเมตลาร์ด จะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น ดังนั้นการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหารที่อุณหภูมิต่ำจะชะลอการเกิดสีน้ำตาลที่เกิดจากปฏิกิริยามเมตลาร์ดให้เกิดช้าลงได้ สำหรับการเกิดสีน้ำตาลในผลิตภัณฑ์อาหารที่มีแอนโทไซยานินเป็นองค์ประกอบนอกจากจะมีสาเหตุมาจากการเกิดปฏิกิริยามเมตลาร์ดแล้วยังอาจมีสาเหตุมาจากการเสื่อมสลายของแอนโทไซยานินอีกด้วย โดย Patras และคณะ (2010) รายงานว่า อัตราเร็วของการเสื่อมสลายของแอนโทไซยานินจะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ขณะที่ Von Elbe และ Schwartz (1996) รายงานว่า อุณหภูมิเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดการเสื่อมสลายของแอนโทไซยานินโดยทำให้แอนโทไซยานินที่อยู่ในรูปของฟลาโวนิลิยม แคทไอออน ซึ่งมีสีแดง เปลี่ยนไปอยู่ในรูปของซาลิโคนซึ่งไม่มีสี และจะเกิดการเสื่อมสลายต่อไปได้เป็นสารประกอบที่มีสีน้ำตาล (Brown degradation product) จากงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าระยะเวลาและอุณหภูมิในการเก็บรักษา รวมทั้งสารประกอบซัลไฟต์เป็นปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดสีน้ำตาลในผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น โดยพบว่าการเติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ (750 พีพีเอ็ม) ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ (8.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส) สามารถชะลอการเกิดสีน้ำตาลให้เกิดช้าลงจึงทำให้ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นดังกล่าวมีสีคล้ำน้อยกว่าชุดการทดลองอื่น นอกจากนี้พบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นจะส่งผลให้ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นมีสีคล้ำเพิ่มขึ้นด้วยเช่นกัน

Table 25 Changes in L^* , a^* and b^* values of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^\circ\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^\circ\text{C}$ for 0, 30 and 60 days

Storage time (days)	L^* values			
	KMS (ppm) / $8.0\pm 2.0^\circ\text{C}$		KMS (ppm) / $27.0\pm 2.0^\circ\text{C}$	
	0	750	0	750
0	21.14±0.07 ^{ab}	21.60±0.10 ^{aA}	21.14±0.07 ^{ab}	21.60±0.10 ^{aA}
30	20.98±0.06 ^{bb}	21.39±0.08 ^{bA}	20.52±0.08 ^{bd}	20.83±0.07 ^{bC}
60	20.64±0.10 ^{cb}	21.10±0.09 ^{cA}	19.77±0.09 ^{cd}	20.44±0.07 ^{cC}

Storage time (days)	a^* values			
	KMS (ppm) / $8.0\pm 2.0^\circ\text{C}$		KMS (ppm) / $27.0\pm 2.0^\circ\text{C}$	
	0	750	0	750
0	2.41±0.09 ^{cA}	2.21±0.10 ^{cb}	2.41±0.09 ^{cA}	2.21±0.10 ^{cb}
30	2.57±0.06 ^{bb}	2.52±0.07 ^{bb}	2.85±0.08 ^{bA}	2.76±0.07 ^{bA}
60	2.81±0.08 ^{aC}	2.68±0.06 ^{ad}	3.60±0.11 ^{aA}	3.22±0.08 ^{ab}

Storage time (days)	b^* values			
	KMS (ppm) / $8.0\pm 2.0^\circ\text{C}$		KMS (ppm) / $27.0\pm 2.0^\circ\text{C}$	
	0	750	0	750
0	0.63±0.05 ^{cA}	0.50±0.05 ^{cb}	0.63±0.05 ^{cA}	0.50±0.05 ^{cb}
30	0.77±0.06 ^{bb}	0.61±0.06 ^{bc}	1.00±0.06 ^{bA}	0.75±0.05 ^{bb}
60	0.94±0.06 ^{aC}	0.75±0.06 ^{ad}	1.47±0.12 ^{aA}	1.10±0.06 ^{ab}

Means±standard deviation within the same row with different letters are significantly different ($p < 0.05$)

a, b...with the same superscripts in different storage times in the same column are not significantly different ($p \geq 0.05$)

A, B... with the same superscripts compared between the storage temperatures at $8.0\pm 2.0^\circ\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^\circ\text{C}$ in the same row are not significantly different ($p \geq 0.05$)

SO₂ residues = 30.43 mg/kg of roselle leather product (LCFA)

การเปลี่ยนแปลงค่า a_w ของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นบรรจุในถุงเมทัลไลท์ระหว่าง เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 และ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0 30 และ 60 วัน ดังแสดงใน Table 26 เมื่อศึกษาผลของระยะเวลาการเก็บรักษาต่อค่า a_w พบว่าผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นที่ไม่เติม โปแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์และผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นที่เติม โปแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 หรือ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส มีค่า a_w เพิ่มขึ้น อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ในระหว่างการเก็บรักษา โดยพบว่าในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา ผลิตภัณฑ์ กระเจียบแดงแผ่นมีค่า a_w เท่ากับ 0.34 ± 0.01 และ 0.33 ± 0.00 ตามลำดับ และเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการ เก็บรักษาในวันที่ 60 ผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นมีค่า a_w เพิ่มขึ้น เท่ากับ 0.47 ± 0.00 0.47 ± 0.00 0.54 ± 0.00 และ 0.54 ± 0.01 ตามลำดับ ซึ่งการเพิ่มขึ้นของค่า a_w ตามระยะเวลาการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้นอาจ เนื่องมาจากการที่อาหารแห้งมีค่า a_w ต่ำ (a_w ต่ำกว่า 0.60) จึงดูดซับความชื้นจากอากาศได้ง่าย (งามทิพย์ กูว์โรดม, 2550) ทำให้ผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นที่เก็บรักษาเป็นเวลานานมีค่า a_w เพิ่มขึ้น สอดคล้อง กับ รัตนา อัดตปัญญา และคณะ (2550) ซึ่งศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่า a_w ของผลิตภัณฑ์ลำไยแผ่นใน ระหว่างการเก็บรักษา โดยทำการผลิตผลิตภัณฑ์ลำไยแผ่นแล้วนำบรรจุในถุงเมทัลไลท์ (OPP 20.0 ไมครอน/MCPP 25.0 ไมครอน) จากนั้นนำเก็บรักษาในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 28.0-30.0 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 87.0 % เป็นระยะเวลา 0 30 60 90 120 และ 150 วัน พบว่าผลิตภัณฑ์ลำไยแผ่นมี ค่า a_w เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ในระหว่างการเก็บรักษา โดยในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา ผลิตภัณฑ์ลำไยแผ่นมีค่า a_w เท่ากับ 0.53 ± 0.03 และเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษาในวันที่ 150 ผลิตภัณฑ์ลำไยแผ่นมีค่า a_w เพิ่มขึ้น เท่ากับ 0.58 ± 0.02

เมื่อศึกษาผลร่วมของการไม่เติมโปแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์และการเติมโปแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 หรือ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส ที่มีต่อค่า a_w ในระหว่างการเก็บรักษาพบว่าในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา ผลิตภัณฑ์กระเจียบแดง แผ่นที่ไม่เติมโปแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์และผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นที่เติมโปแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม มีค่า a_w ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) และเมื่อสิ้นสุดระยะเวลา การเก็บรักษาในวันที่ 60 พบว่าผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นที่ไม่เติมโปแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์หรือ ผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นที่เติมโปแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม ร่วมกับการเก็บรักษาที่ อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส มีค่า a_w น้อยกว่าผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นที่ไม่เติมโปแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์หรือผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นที่เติมโปแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ทั้งนี้เนื่องจากการเก็บ รักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 และ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส มีค่าความชื้นสัมพัทธ์ เท่ากับ 76.1 ± 1.7 และ 82.4 ± 3.3 % ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส มีค่าความชื้นสัมพัทธ์

น้อยกว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส ทำให้ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส ดูดซับความชื้นจากอากาศได้น้อยกว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส จึงส่งผลให้ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นดังกล่าวมีค่า a_w น้อยกว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส ด้วยเช่นกัน จากงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าระยะเวลาและอุณหภูมิในการเก็บรักษามีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่า a_w ของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น

Table 26 Changes in water activity (a_w) of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at 8.0 ± 2.0 °C and 27.0 ± 2.0 °C for 0 30 and 60 days

Storage time (days)	a_w			
	KMS (ppm) / 8.0 ± 2.0 °C		KMS (ppm) / 27.0 ± 2.0 °C	
	0	750	0	750
0	0.34 ± 0.01^{cNS}	0.33 ± 0.00^{cNS}	0.34 ± 0.01^{cNS}	0.33 ± 0.00^{cNS}
30	0.42 ± 0.00^{bB}	0.41 ± 0.00^{bB}	0.46 ± 0.00^{bA}	0.46 ± 0.00^{bA}
60	0.47 ± 0.00^{aB}	0.47 ± 0.00^{aB}	0.54 ± 0.00^{aA}	0.54 ± 0.01^{aA}

Means \pm standard deviation within the same row with different letters are significantly different ($p < 0.05$)

a, b... with the same superscripts in different storage times in the same column are not significantly different ($p \geq 0.05$)

A, B... with the same superscripts compared between the storage temperatures at 8.0 ± 2.0 °C and 27.0 ± 2.0 °C in the same row are not significantly different ($p \geq 0.05$)

NS = not significant difference among storage temperatures at 8.0 ± 2.0 °C and 27.0 ± 2.0 °C ($p \geq 0.05$)

SO₂ residues = 30.43 mg/kg of roselle leather product (LCFA)

การเปลี่ยนแปลงค่า Tensile force และ Cutting force ของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นบรรจุในถุงเมทัลไลต์ระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 และ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0 30 และ 60 วัน ดังแสดงใน Table 27 เมื่อศึกษาผลของระยะเวลาการเก็บรักษาต่อค่า Tensile force และ Cutting force พบว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่ไม่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์และผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 หรือ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส มีค่า Tensile force และ Cutting force ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ในระหว่างการเก็บรักษา โดยในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดง

แผ่นมีค่า Tensile force เท่ากับ 2.33 ± 0.20 และ 2.29 ± 0.17 นิวตัน ตามลำดับ และเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษาในวันที่ 60 ผลิตกัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นมีค่า Tensile force ลดลงลงเหลือ เท่ากับ 1.44 ± 0.14 1.38 ± 0.14 1.16 ± 0.09 และ 1.18 ± 0.21 นิวตัน ตามลำดับ ขณะเดียวกันพบว่าในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา ผลิตกัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นมีค่า Cutting force เท่ากับ 21.26 ± 0.84 และ 21.19 ± 1.06 นิวตัน ตามลำดับ และเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษาในวันที่ 60 ผลิตกัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นมีค่า Cutting force ลดลงลงเหลือ เท่ากับ 16.76 ± 0.41 16.74 ± 0.61 11.93 ± 0.86 และ 12.05 ± 0.81 นิวตัน ตามลำดับ ซึ่งการลดลงของค่า Tensile force และ Cutting force ตามระยะเวลาการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้นอาจเป็นผลมาจากการเพิ่มขึ้นของค่า a_w ของผลิตกัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นในระหว่างการเก็บรักษา (ค่า a_w อยู่ในช่วง 0.33-0.54 ดังแสดงใน Table 26) ทำให้ผลิตกัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นมีเนื้อสัมผัสนุ่มจึงส่งผลให้ผลิตกัณฑ์ดังกล่าวมีค่า Tensile force และ Cutting force ลดลง

เมื่อศึกษาผลร่วมของการไม่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์และการเติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 หรือ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส ที่มีต่อค่า Tensile force และ Cutting force ในระหว่างการเก็บรักษาพบว่าในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา ผลิตกัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่ไม่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์และผลิตกัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม มีค่า Tensile force และ Cutting force ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) และเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษาในวันที่ 60 พบว่าผลิตกัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่ไม่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์และผลิตกัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส มีค่า Tensile force และ Cutting force มากกว่าผลิตกัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่ไม่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์และผลิตกัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ทั้งนี้เนื่องจากผลิตกัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส มีค่า a_w (0.33-0.47) น้อยกว่าค่า a_w (0.33-0.54) ของผลิตกัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) (ดังแสดงใน Table 26) ทำให้ผลิตกัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส มีค่า Tensile force และ Cutting force มากกว่าผลิตกัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) ของค่า Tensile force และ Cutting force ของผลิตกัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่ไม่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์และผลิตกัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิในระดับเดียวกัน (8.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส หรือ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส) จากงานวิจัยนี้

แสดงให้เห็นว่าระยะเวลาและอุณหภูมิในการเก็บรักษามีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่า Tensile force และ Cutting force ของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น

Table 27 Changes in tensile force and cutting force of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ for 0 30 and 60 days

Storage time (days)	Tensile force (N)			
	KMS (ppm) / $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$		KMS (ppm) / $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$	
	0	750	0	750
0	$2.33\pm 0.20^{\text{aNS}}$	$2.29\pm 0.17^{\text{aNS}}$	$2.33\pm 0.20^{\text{aNS}}$	$2.29\pm 0.17^{\text{aNS}}$
30	$1.79\pm 0.10^{\text{bA}}$	$1.84\pm 0.09^{\text{bA}}$	$1.53\pm 0.14^{\text{bB}}$	$1.45\pm 0.16^{\text{bB}}$
60	$1.44\pm 0.14^{\text{cA}}$	$1.38\pm 0.14^{\text{cA}}$	$1.16\pm 0.09^{\text{cB}}$	$1.18\pm 0.21^{\text{cB}}$

Storage time (days)	Cutting force (N)			
	KMS (ppm) / $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$		KMS (ppm) / $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$	
	0	750	0	750
0	$21.26\pm 0.84^{\text{aNS}}$	$21.19\pm 1.06^{\text{aNS}}$	$21.26\pm 0.84^{\text{aNS}}$	$21.19\pm 1.06^{\text{aNS}}$
30	$18.60\pm 0.92^{\text{bA}}$	$18.56\pm 0.71^{\text{bA}}$	$15.18\pm 0.42^{\text{bB}}$	$15.22\pm 0.55^{\text{bB}}$
60	$16.76\pm 0.41^{\text{cA}}$	$16.74\pm 0.61^{\text{cA}}$	$11.93\pm 0.86^{\text{cB}}$	$12.05\pm 0.81^{\text{cB}}$

Means \pm standard deviation within the same row with different letters are significantly different ($p < 0.05$)

a, b...with the same superscripts in different storage times in the same column are not significantly different ($p \geq 0.05$)

A, B... with the same superscripts compared between the storage temperatures at $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ in the same row are not significantly different ($p \geq 0.05$)

NS = not significant difference among storage temperatures at $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ ($p \geq 0.05$)

SO₂ residues = 30.43 mg/kg of roselle leather product (LCFA)

3.2 คุณภาพทางเคมี

การเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดและค่าพีเอชของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นบรรจุในถุงเมทัลไลต์ระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 และ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0 15 30 45 และ 60 วัน ดังแสดงใน Table 28 เมื่อศึกษาผลของระยะเวลาการเก็บรักษาต่อปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดและค่าพีเอชพบว่าผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นที่ไม่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์และผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นที่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 หรือ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดลดลงและมีค่าพีเอชเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ในระหว่างการเก็บรักษา โดยพบว่าในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา ผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด เท่ากับ 16.25 ± 0.00 และ 16.33 ± 0.14 องศาบริกซ์ ตามลำดับ และเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษาในวันที่ 60 ผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดลดลงเหลือ เท่ากับ 15.08 ± 0.14 15.33 ± 0.29 14.58 ± 0.29 และ 14.50 ± 0.00 องศาบริกซ์ ตามลำดับ ขณะเดียวกันพบว่าในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา ผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นมีค่าพีเอช เท่ากับ 2.53 ± 0.01 และ 2.54 ± 0.01 ตามลำดับ และเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษาในวันที่ 60 ผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นมีค่าพีเอชเพิ่มขึ้น เท่ากับ 2.67 ± 0.02 2.66 ± 0.02 2.78 ± 0.02 และ 2.79 ± 0.02 ตามลำดับ จากผลการทดลองดังกล่าวจะเห็นได้ว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดลดลงและมีค่าพีเอชเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) อาจเนื่องมาจากผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นมีค่า a_w เพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษาโดยมีค่า a_w อยู่ในช่วง 0.33-0.54 (ดังแสดงใน Table 26) เป็นผลให้ปริมาณน้ำในผลิตภัณฑ์เพิ่มขึ้นจึงสันนิษฐานว่าเป็นสาเหตุทำให้ผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดลดลงและมีค่าพีเอชเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น

เมื่อศึกษาผลรวมของการไม่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์และการเติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 หรือ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส ที่มีต่อปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดและค่าพีเอชในระหว่างการเก็บรักษา โดยเมื่อพิจารณาปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดพบว่าในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา ผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นที่ไม่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์และผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นที่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) และเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษาในวันที่ 60 พบว่าผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นที่ไม่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์และผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นที่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม

ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดน้อยกว่าผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นที่ไม่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์และผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นที่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) นอกจากนี้เมื่อพิจารณาค่าพีเอชพบว่าในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา ผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นที่ไม่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์และผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นที่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม มีค่าพีเอชไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) เช่นเดียวกัน และเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษาในวันที่ 60 พบว่าผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นที่ไม่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์และผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นที่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส มีค่าพีเอชมากกว่าผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นที่ไม่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์และผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นที่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) จากผลการทดลองดังกล่าวจะเห็นได้ว่าผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิสูง (27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส) มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดน้อยกว่าและมีค่าพีเอชมากกว่าผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ (8.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส) อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ทำนองเดียวกับการศึกษาผลของระยะเวลาการเก็บรักษาที่มีต่อปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดและค่าพีเอช นอกจากนี้อาจมีสาเหตุมาจากการเก็บรักษาที่อุณหภูมิสูงจะทำให้เกิดการเสื่อมสลายของแอนโทไซยานินและเกิดปฏิกิริยามอลลาร์ดได้เร็วกว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำโดยการเกิดปฏิกิริยาดังกล่าวจะทำให้ปริมาณแอนโทไซยานิน รวมทั้งน้ำตาลรีดิวซิ่งและกรดอะมิโนซึ่งเป็นสารตั้งต้นของการเกิดปฏิกิริยามอลลาร์ดมีปริมาณลดลง (Patras *et al.*, 2010; นิธิยา รัตนาปนนท์, 2549) การที่ปริมาณน้ำตาลบางส่วนหายไปจากการเกิดปฏิกิริยามอลลาร์ดจึงสันนิษฐานว่าอาจเป็นสาเหตุทำให้ค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของผลิตภัณฑ์มีค่าลดลง จากงานวิจัยนี้จึงแสดงให้เห็นว่าระยะเวลาและอุณหภูมิในการเก็บรักษามีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดและค่าพีเอชของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่น

Table 28 Changes in total soluble solids and pH values of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at 8.0±2.0 °C and 27.0±2.0 °C for 0 15 30 45 and 60 days

Storage time (days)	Total soluble solids (° Brix)			pH values		
	KMS (ppm) / 8.0±2.0 °C	KMS (ppm) / 27.0±2.0 °C		KMS (ppm) / 8.0±2.0 °C	KMS (ppm) / 27.0±2.0 °C	
0	16.25±0.00 ^{aNS}	16.33±0.14 ^{aNS}	0	2.53±0.01 ^{dNS}	2.54±0.01 ^{eNS}	2.54±0.01 ^{eNS}
15	16.25±0.00 ^{aNS}	16.33±0.14 ^{aNS}	0	2.56±0.01 ^{cb}	2.57±0.01 ^{db}	2.60±0.02 ^{da}
30	15.67±0.14 ^{ba}	15.75±0.25 ^{ba}	0	2.60±0.00 ^{bd}	2.61±0.01 ^{cc}	2.68±0.01 ^{cb}
45	15.50±0.00 ^{ca}	15.50±0.00 ^{bca}	0	2.62±0.02 ^{bb}	2.64±0.00 ^{bb}	2.73±0.02 ^{ba}
60	15.08±0.14 ^{da}	15.33±0.29 ^{ca}	0	2.67±0.02 ^{ab}	2.66±0.02 ^{ab}	2.79±0.02 ^{ba}

Means±standard deviation within the same row with different letters are significantly different ($p < 0.05$)

a, b... with the same superscripts in different storage times in the same column are not significantly different ($p \geq 0.05$)

A, B... with the same superscripts compared between the storage temperatures at 8.0±2.0 °C and 27.0±2.0 °C in the same row are not significantly different ($p \geq 0.05$)

NS = not significant difference among storage temperatures at 8.0±2.0 °C and 27.0±2.0 °C ($p \geq 0.05$)

SO₂ residues = 30.43 mg/kg of roselle leather product (LCFA)

การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดแอสคอร์บิกของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นบรรจุในถุงเมทัลไลท์ระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 และ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0 และ 60 วัน ดังแสดงใน Table 29 เมื่อศึกษาผลของระยะเวลาการเก็บรักษาต่อปริมาณกรดแอสคอร์บิกพบว่า ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่ไม่เติม โปแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์และผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่เติมโปแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 หรือ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส มีปริมาณกรดแอสคอร์บิกลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ในระหว่างการเก็บรักษา โดยพบว่าในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นมีปริมาณกรดแอสคอร์บิก เท่ากับ 0.012 ± 0.001 และ 0.013 ± 0.001 มิลลิกรัมต่อกรัมตัวอย่าง ตามลำดับ และเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษาในวันที่ 60 ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นมีปริมาณกรดแอสคอร์บิกลดลงเหลือ เท่ากับ 0.008 ± 0.001 0.010 ± 0.002 0 และ 0 มิลลิกรัมต่อกรัมตัวอย่าง ตามลำดับ จากผลการทดลองข้างต้นจะเห็นได้ว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นทุกชุดการทดลองมีปริมาณกรดแอสคอร์บิกเริ่มต้น (วันที่ 0 ของการเก็บรักษา) ในปริมาณน้อย ทั้งนี้เนื่องจากกรดแอสคอร์บิกอาจเกิดการเสื่อมสลายเมื่อได้รับความร้อน ในระหว่างการอบแห้ง (Sagar and Suresh, 2010) นอกจากนี้จะเห็นได้ว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นมีปริมาณกรดแอสคอร์บิกลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น ซึ่ง Varsel (1980 อ้างโดย Yeom *et al.*, 2000) รายงานว่า การเสื่อมสลายของกรดแอสคอร์บิกเป็นผลมาจากกระบวนการใช้และไม่ใช้ออกซิเจน และ Kimball (1991 อ้างโดย Yeom *et al.*, 2000) รายงานว่า สภาพบรรยากาศที่มีออกซิเจนในบรรจุภัณฑ์มีผลให้เกิดการสูญเสียกรดแอสคอร์บิกเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลานาน ทั้งนี้ Deman (1990) รายงานว่า การลดลงของปริมาณกรดแอสคอร์บิกในระหว่างการเก็บรักษาอาจเกิดขึ้นจากการออกซิเดชันของกรดแอสคอร์บิก โดยกรดแอสคอร์บิกซึ่งอยู่ในรูปของ L-ascorbic acid จะถูกออกซิไดซ์เป็น dehydro-L-ascorbic acid และต่อมามีสารดังกล่าวจะถูกออกซิไดซ์ต่อไปเป็น diketo-L-gulonic acid ซึ่งสารนี้ไม่มีความคงตัวและสามารถถูกออกซิไดซ์ต่อไปเป็นสารประกอบหลายชนิด เช่น กรดเทอร์โอนิก เป็นต้น โดยเมื่อเกิดปฏิกิริยาดีไฮเดรชันและปฏิกิริยาดีคาร์บอกซิเลชันจะเกิดเป็นสารเฟอร์ฟูรัลและสารดังกล่าวจะเกิดโพลีเมอร์ไรซ์กลายเป็นสารประกอบสีน้ำตาล นอกจากนี้ รัชณี ตันชะพานิชกุล (2544) รายงานว่า หากสารเฟอร์ฟูรัลทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนหรือสารประกอบเอมีนจะทำให้เกิดสารประกอบสีน้ำตาลด้วยเช่นกัน

เมื่อศึกษาผลร่วมของการไม่เติมโปแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์และการเติมโปแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 หรือ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส ที่มีต่อปริมาณกรดแอสคอร์บิกในระหว่างการเก็บรักษาพบว่าในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่ไม่เติมโปแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์และผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่เติมโปแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม มีปริมาณกรดแอสคอร์บิกไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

($p \geq 0.05$) และเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษาในวันที่ 60 พบว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่ไม่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์และผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส มีปริมาณกรดแอสคอร์บิกมากกว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่ไม่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์และผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิในการเก็บรักษาเป็นปัจจัยที่มีผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดแอสคอร์บิกของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น โดยการเก็บรักษาที่อุณหภูมิสูงจะทำให้เกิดการเสื่อมสลายของกรดแอสคอร์บิกได้เร็วกว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสรุปว่าระยะเวลาและอุณหภูมิในการเก็บรักษามีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดแอสคอร์บิกของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น

เมื่อตรวจวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารชนิดละลายน้ำและชนิดไม่ละลายน้ำในผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นภายหลังการผลิต (วันที่ 0) พบว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นดังกล่าวมีปริมาณใยอาหารชนิดละลายน้ำและชนิดไม่ละลายน้ำ เท่ากับ 8.61 ± 0.05 และ 25.41 ± 0.18 % ตามลำดับ จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นมีปริมาณใยอาหารชนิดละลายน้ำและชนิดไม่ละลายน้ำในปริมาณค่อนข้างสูง

Table 29 Changes in ascorbic acid contents of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at 8.0 ± 2.0 °C and 27.0 ± 2.0 °C for 0 and 60 days (Dry weight basis)

Storage time (days)	Ascorbic acid contents (mg/g sample)			
	KMS (ppm) / 8.0 ± 2.0 °C		KMS (ppm) / 27.0 ± 2.0 °C	
	0	750	0	750
0	0.012 ± 0.001 ^{aNS}	0.013 ± 0.001 ^{aNS}	0.012 ± 0.001 ^{aNS}	0.013 ± 0.001 ^{aNS}
60	0.008 ± 0.001 ^{bB}	0.010 ± 0.002 ^{bA}	0 ^{bC}	0 ^{bC}

Means±standard deviation within the same row with different letters are significantly different ($p < 0.05$)

a, b...with the same superscripts in different storage times in the same column are not significantly different ($p \geq 0.05$)

A, B... with the same superscripts compared between the storage temperatures at 8.0 ± 2.0 °C and 27.0 ± 2.0 °C in the same row are not significantly different ($p \geq 0.05$)

NS = not significant difference among storage temperatures at 8.0 ± 2.0 °C and 27.0 ± 2.0 °C ($p \geq 0.05$)

SO₂ residues = 30.43 mg/kg of roselle leather product (LCFA)

การเปลี่ยนแปลงปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในรูปไซยานิดิน 3-กลูโคไซด์ของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นบรรจุในถุงเมทัลไลต์ระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 และ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0 15 30 45 และ 60 วัน ดังแสดงใน Table 30 เมื่อศึกษาผลของระยะเวลาการเก็บรักษาต่อปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดพบว่าผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นที่ไม่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์และผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นที่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 หรือ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส มีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ในระหว่างการเก็บรักษา โดยพบว่าในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา ผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นมีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด เท่ากับ 18.35 ± 0.13 และ 20.22 ± 0.48 มิลลิกรัมไซยานิดิน 3-กลูโคไซด์ต่อตัวอย่าง 100 กรัม ตามลำดับ และเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษาในวันที่ 60 ผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นมีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดลดลงเหลือ เท่ากับ 14.78 ± 0.39 16.54 ± 0.46 11.11 ± 0.54 และ 12.21 ± 0.49 มิลลิกรัมไซยานิดิน 3-กลูโคไซด์ต่อตัวอย่าง 100 กรัม ตามลำดับ ซึ่งการลดลงของปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดตามระยะเวลาการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้นอาจเนื่องมาจากการเพิ่มขึ้นของค่า a_w (ค่า a_w อยู่ในช่วง 0.33-0.54 ดังแสดงใน Table 26) ทำให้อัตราการเสื่อมสลายของแอนโทไซยานินเพิ่มขึ้น (Jackman and Smith, 1996)

เมื่อศึกษาผลร่วมของการไม่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์และการเติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 หรือ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส ที่มีต่อปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในระหว่างการเก็บรักษาพบว่าในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา ผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นที่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม มีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดมากกว่าผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นที่ไม่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษาในวันที่ 60 พบว่าผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นที่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส มีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดสูงสุด รองลงมาคือ ผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นที่ไม่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส ผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นที่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส และผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นที่ไม่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ทั้งนี้ Jackman และคณะ (1987) รายงานว่าปัจจัยหลักที่มีผลต่อความคงตัวของแอนโทไซยานิน คือ อุณหภูมิ ส่วนปัจจัยรองลงมา คือ สารในกลุ่มไบซัลไฟต์ ซึ่ง Francis (1989) อ้างโดย Aina and Shodipe, (2006) รายงานว่า การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหารที่มีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบในสภาวะที่มีอุณหภูมิสูงจะมีผลในการเร่งอัตราการเสื่อมสลายของแอนโทไซยานินให้เกิดขึ้น นอกจากนี้ Tsai และ Huang (2004) ยังรายงานว่า อุณหภูมิในการเก็บ

รักษามีผลให้แอนโทไซยานินถูกทำลายหรือเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างไปอยู่ในรูปอนุพันธ์อื่นของแอนโทไซยานิน ซึ่งสอดคล้องกับ ยูพาพร ผลาขจรศักดิ์ (2547 อ้างโดย เพ็ญศรี เรืองศรี, 2553) ที่รายงานว่า ในสภาวะการเก็บรักษาที่อุณหภูมิสูง (30.0 องศาเซลเซียส) แอนโทไซยานินจะเกิดการเปลี่ยนแปลงได้มากกว่าในสภาวะการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ (4.0 องศาเซลเซียส) เนื่องจากในสภาวะการเก็บรักษาที่อุณหภูมิสูง (30.0 องศาเซลเซียส) ทำให้แอนโทไซยานินที่อยู่ในรูปของฟลาโวลียมแคทไอออนเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของชาลโคเนนมากขึ้นจึงทำให้ความคงตัวของแอนโทไซยานินลดลงและเกิดการเสื่อมสลายได้ง่าย ขณะที่ Jackman และคณะ (1987) รายงานว่า สารประกอบซัลไฟด์ เช่น โปแทสเซียมเมตาไบซัลไฟด์ จะช่วยเพิ่มความคงตัวของแอนโทไซยานินในผลิตภัณฑ์อาหารทั้งในระหว่างกระบวนการแปรรูปและการเก็บรักษาโดยการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนแอนโทไซยานิน-ไบซัลไฟด์ที่มีความคงตัวสูงทำให้แอนโทไซยานินในผลิตภัณฑ์อาหารไม่ถูกทำลาย ใดๆก็ตามอุณหภูมิในการเก็บรักษาและปริมาณความชื้นของผลิตภัณฑ์อาหารมีผลให้เกิดการสูญเสียสารประกอบซัลไฟด์ จึงส่งผลให้สารดังกล่าวมีประสิทธิภาพในการทำงานลดลง (รัชณี ตันตะพานิชกุล, 2544) จากงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าสารประกอบซัลไฟด์และอุณหภูมิในการเก็บรักษาเป็นปัจจัยที่มีผลต่อความคงตัวของแอนโทไซยานินในผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น โดยการเติมโปแทสเซียมเมตาไบซัลไฟด์ (750 พีพีเอ็ม) ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ (8.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส) สามารถรักษาปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดไว้ได้มากที่สุดตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาเป็นเวลา 60 วัน นอกจากนี้พบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นส่งผลให้ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นมีปริมาณลดลงเช่นกัน

Table 30 Changes in total anthocyanin contents of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at 8.0±2.0 °C and 27.0±2.0 °C for 0 15 30 45 and 60 days (Dry weight basis)

Storage time (days)	Total anthocyanin contents (mg cyanidin 3-glucoside/100 g sample)		
	KMS (ppm) / 8.0±2.0 °C	KMS (ppm) / 27.0±2.0 °C	
	0	750	0
0	18.35±0.13 ^{ab}	20.22±0.48 ^{aa}	18.35±0.13 ^{ab}
15	17.95±0.38 ^{ab}	19.26±0.56 ^{ba}	16.23±0.50 ^{bc}
30	16.86±0.58 ^{bb}	18.25±0.40 ^{ca}	13.67±0.41 ^{cd}
45	15.66±0.58 ^{cb}	17.37±0.53 ^{da}	12.46±0.43 ^{db}
60	14.78±0.39 ^{db}	16.54±0.46 ^{ca}	11.11±0.54 ^{ed}
			20.22±0.48 ^{aa}
			17.45±0.25 ^{bb}
			14.83±0.21 ^{cc}
			13.44±0.52 ^{dc}
			12.21±0.49 ^{ec}

Means±standard deviation within the same row with different letters are significantly different ($p < 0.05$)

a, b... with the same superscripts in different storage times in the same column are not significantly different ($p \geq 0.05$)

A, B... with the same superscripts compared between the storage temperatures at 8.0±2.0 °C and 27.0±2.0 °C in the same row are not significantly different ($p \geq 0.05$)

Total anthocyanin contents, expressed as cyanidin 3-glucoside (mg cyanidin 3-glucoside/100 g sample)

SO₂ residues = 30.43 mg/kg of roselle leather product (LCFA)

การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นบรรจุในถุงเมทัลไลต์ระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 และ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0 15 30 45 และ 60 วัน ดังแสดงใน Table 31 เมื่อศึกษาผลของระยะเวลาการเก็บรักษาต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดพบว่าผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นที่ไม่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์และผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นที่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 หรือ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ในระหว่างการเก็บรักษา โดยพบว่าในวันที่ 0 ของการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ 2.59 ± 0.01 และ 2.63 ± 0.01 มิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่าง ตามลำดับ และเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษาในวันที่ 60 ผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงเหลือ เท่ากับ 2.46 ± 0.03 2.50 ± 0.03 2.24 ± 0.01 และ 2.37 ± 0.02 มิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่าง ตามลำดับ ซึ่งการลดลงของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดตามระยะเวลาการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้นอาจเป็นผลมาจากการลดลงของปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในรูปไซยานิดิน 3-กลูโคไซด์ของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นในระหว่างการเก็บรักษา (ดังแสดงใน Table 30) ทั้งนี้เนื่องจากแอนโทไซยานินเป็นสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์และจัดเป็นสารประกอบฟีนอลิกอีกชนิดหนึ่งดังนั้นการลดลงของปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดจึงส่งผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงด้วยเช่นกัน นอกจากนี้ สุมนหาวัฒน์สินธุ์ (2550) ยังรายงานว่า การลดลงของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดตามระยะเวลาการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้นอาจมีสาเหตุมาจากการที่สารประกอบฟีนอลิกเกิดอันตรกิริยากับสารประกอบฟีนอลิกด้วยกันได้เป็นสารประกอบฟีนอลิกเชิงซ้อน รวมทั้งการที่สารประกอบฟีนอลิกเข้าร่วมกับน้ำตาลโดยการเกิดปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันได้เป็นสารประกอบฟีนอลิกเชิงซ้อนเช่นกันจึงส่งผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลง ผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับ Tsai และคณะ (2002) ซึ่งศึกษาผลของระยะเวลาการเก็บรักษาต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในรูปกรดแกลลิกของสารสกัดกระเจียบแดงที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20.0 องศาเซลเซียส พบว่าสารสกัดกระเจียบแดงที่เก็บรักษาเป็นระยะเวลา 0 4 และ 15 สัปดาห์ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ 4.25 3.76 และ 1.53 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัดกระเจียบแดง ตามลำดับ ซึ่งจากผลการทดลองนี้จะเห็นได้ว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาสารสกัดกระเจียบแดงเพิ่มขึ้นจะส่งผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงด้วยเช่นกัน

เมื่อศึกษาผลร่วมของการไม่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์และการเติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 หรือ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส ที่มีต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในระหว่างการเก็บรักษาพบว่าในวันที่ 0 ของการ

เก็บรักษา ผลผลิตกัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากกว่าผลผลิตกัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่ไม่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษาในวันที่ 60 พบว่าผลผลิตกัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด รองลงมาคือ ผลผลิตกัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่ไม่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส ผลผลิตกัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส และผลผลิตกัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่ไม่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับผลการเปลี่ยนแปลงปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในรูปไซยานิดิน 3-กลูโคไซด์ของผลผลิตกัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นในระหว่างการเก็บรักษา (ดังแสดงใน Table 30) ทั้งนี้เนื่องจากแอนโทไซยานินเป็นสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์และจัดเป็นสารประกอบฟีนอลิกอีกชนิดหนึ่งดังนั้นปัจจัยที่ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด คือ สารประกอบซัลไฟต์ และอุณหภูมิในการเก็บรักษา จึงส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในลักษณะเดียวกันต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของผลผลิตกัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น

Table 31 Changes in total phenolic contents of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at 8.0±2.0 °C and 27.0±2.0 °C for 0 15 30 45 and 60 days (Dry weight basis)

Storage time (days)	Total phenolic contents (mg GAE/g sample)			
	KMS (ppm) / 8.0±2.0 °C		KMS (ppm) / 27.0±2.0 °C	
	0	750	0	750
0	2.59±0.01 ^{ab}	2.63±0.01 ^{aA}	2.59±0.01 ^{ab}	2.63±0.01 ^{aA}
15	2.56±0.02 ^{abb}	2.60±0.02 ^{bA}	2.50±0.01 ^{bd}	2.53±0.02 ^{bc}
30	2.54±0.02 ^{bb}	2.57±0.01 ^{cA}	2.42±0.01 ^{cd}	2.45±0.02 ^{cC}
45	2.49±0.03 ^{cA}	2.52±0.02 ^{dA}	2.34±0.01 ^{dc}	2.41±0.02 ^{dB}
60	2.46±0.03 ^{db}	2.50±0.03 ^{eA}	2.24±0.01 ^{ed}	2.37±0.02 ^{cC}

Means±standard deviation within the same row with different letters are significantly different ($p < 0.05$)

a, b... with the same superscripts in different storage times in the same column are not significantly different ($p \geq 0.05$)

A, B... with the same superscripts compared between the storage temperatures at 8.0±2.0 °C and 27.0±2.0 °C in the same row are not significantly different ($p \geq 0.05$)

Total phenolic contents, expressed as milligrams of gallic acid equivalents (GAE) per gram of sample using gallic acid standard curve

SO₂ residues = 30.43 mg/kg of roselle leather product (LCFA)

3.3 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

การเปลี่ยนแปลงสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นบรรจุในถุงเมทัลไลท์ระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 และ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0 15 30 45 และ 60 วัน ดังแสดงใน Figure 26 และ Figure 27 เมื่อศึกษาผลของระยะเวลาการเก็บรักษาต่อสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นพบว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่ไม่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์และผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 หรือ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส มีสมบัติการจับอนุมูล DPPH[•] สมบัติการจับอนุมูล ABTS^{•+} และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกไอออนลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ในระหว่างการเก็บรักษา โดยเมื่อพิจารณาสมบัติการจับอนุมูล DPPH[•] ซึ่งรายงานค่าในรูป EC₅₀ พบว่าในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นมีสมบัติการจับอนุมูล DPPH[•] ซึ่งรายงานค่าในรูป EC₅₀ เท่ากับ 760.59 ± 6.88 และ 741.37 ± 5.99 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษาในวันที่ 60 ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นมีสมบัติการจับอนุมูล DPPH[•] ลดลงโดยมีค่า EC₅₀ เพิ่มขึ้น เท่ากับ 886.01 ± 7.72 862.83 ± 9.78 961.99 ± 7.71 และ 937.14 ± 10.24 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อพิจารณาสมบัติการจับอนุมูล ABTS^{•+} ซึ่งรายงานค่าในรูป TEAC พบว่าในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นมีสมบัติการจับอนุมูล ABTS^{•+} ซึ่งรายงานค่าในรูป TEAC เท่ากับ 10.62 ± 0.11 และ 10.95 ± 0.10 ไมโครโมลสมมูลย์โทรลอกซ์ต่อกรัมตัวอย่าง ตามลำดับ และเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษาในวันที่ 60 ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นมีสมบัติการจับอนุมูล ABTS^{•+} ลดลงโดยมีค่า TEAC ลดลงคงเหลือ เท่ากับ 9.74 ± 0.09 10.12 ± 0.11 8.58 ± 0.12 และ 9.50 ± 0.10 ไมโครโมลสมมูลย์โทรลอกซ์ต่อกรัมตัวอย่าง ตามลำดับ นอกจากนี้เมื่อพิจารณาความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกไอออนซึ่งรายงานค่าในรูป TEAC พบว่าในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกไอออนซึ่งรายงานค่าในรูป TEAC เท่ากับ 23.63 ± 0.11 และ 23.97 ± 0.15 ไมโครโมลสมมูลย์โทรลอกซ์ต่อกรัมตัวอย่าง ตามลำดับ และเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษาในวันที่ 60 ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกไอออนลดลงโดยมีค่า TEAC ลดลงคงเหลือ เท่ากับ 21.91 ± 0.04 22.39 ± 0.06 19.38 ± 0.05 และ 21.30 ± 0.13 ไมโครโมลสมมูลย์โทรลอกซ์ต่อกรัมตัวอย่าง ตามลำดับ จากผลการทดลองดังกล่าวจะเห็นว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นส่งผลให้สมบัติการต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นลดลง สอดคล้องกับ ปารมี ชุมศรี (2550) ที่พบว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นซึ่งมีส่วนผสมในการผลิตประกอบด้วย กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้น 50.00 % ฟรุคโตส 31.98 % น้ำผึ้ง 10.00 % โอลิโกฟรุคโตส 8.00 % วิตามินอี 0.013 % และวิตามินเอ 0.0035 % ตามลำดับ บรรจุ 70 มิลลิลิตร ในขวดแก้วฝาเกลียวล็อก ผ่านการพลาสติกเจอไรซ์ที่อุณหภูมิ

101.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นบรรจุลงในกล่องกระดาษและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4.0 ± 1.0 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0 15 30 45 และ 60 วัน พบว่ามีสมบัติการจับอนุมูล DPPH[•] รายงานค่าในรูป EC₅₀ เท่ากับ 235.34 ± 0.76 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 0 เพิ่มขึ้นเป็น 321.29 ± 1.06 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 60 ของการเก็บรักษา ซึ่งจากผลการทดลองนี้จะเห็นว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นส่งผลให้สมบัติการต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นลดลงด้วยเช่นกัน

เมื่อศึกษาผลร่วมของการไม่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์และการเติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 หรือ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส ที่มีต่อสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นในระหว่างการเก็บรักษา พบว่าในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม มีสมบัติการจับอนุมูล DPPH[•] สมบัติการจับอนุมูล ABTS^{•+} และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริกไอออนมากกว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่ไม่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษาในวันที่ 60 พบว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส มีสมบัติการจับอนุมูล DPPH[•] สมบัติการจับอนุมูล ABTS^{•+} และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริกไอออนสูงสุด รองลงมาคือ ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่ไม่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส และผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่ไม่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ทั้งนี้ Hirumpnich และคณะ (2006) รายงานว่า กระเจี๊ยบแดงมีสารที่มีสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระหลายชนิดที่สำคัญ ได้แก่ แอนโทไซยานิน และสารประกอบฟีนอลิก ดังนั้นระยะเวลาและอุณหภูมิในการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น รวมทั้งการไม่ใช้สารประกอบซัลไฟต์ (โพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์) ซึ่งเป็นปัจจัยที่ทำให้ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในรูปไซยานิดิน 3-กลูโคไซด์และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีแนวโน้มลดลง (ดังแสดงใน Table 30 และ Table 31 ตามลำดับ) จึงส่งผลให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ คือ สมบัติการจับอนุมูล DPPH[•] สมบัติการจับอนุมูล ABTS^{•+} และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริกไอออนของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นลดลงด้วยเช่นกัน สำหรับผลการเปลี่ยนแปลงสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นระหว่างการเก็บรักษา ดังแสดงในภาคผนวก ข และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์จากผลไม้ชนิดต่าง ๆ ดังแสดงในภาคผนวก จ

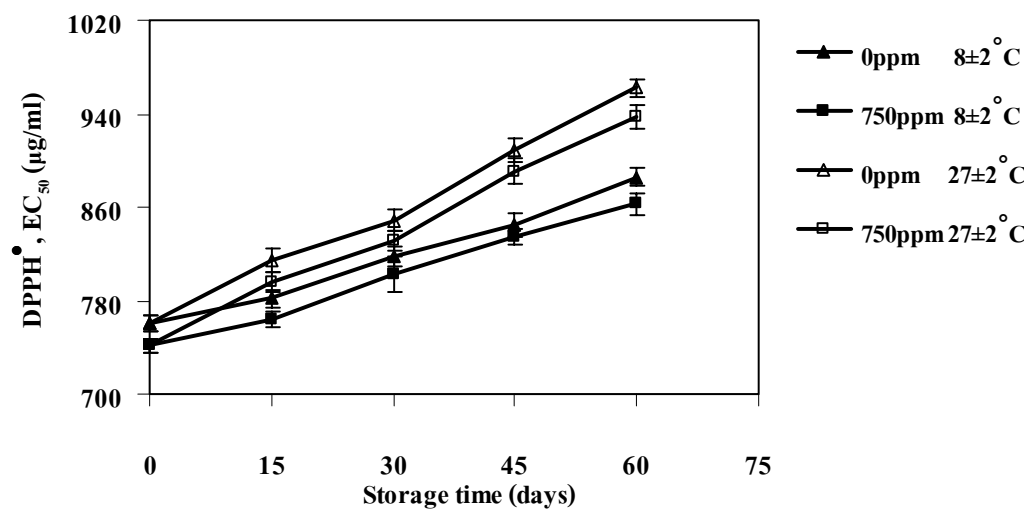


Figure 26 Changes in antioxidant properties of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0\text{ }^{\circ}\text{C}$ and $27.0\pm 2.0\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 0 15 30 45 and 60 days as determined by DPPH \bullet scavenging activity (The EC₅₀ of BHT standard = $22.92\pm 1.72\text{ }\mu\text{g/ml}$)

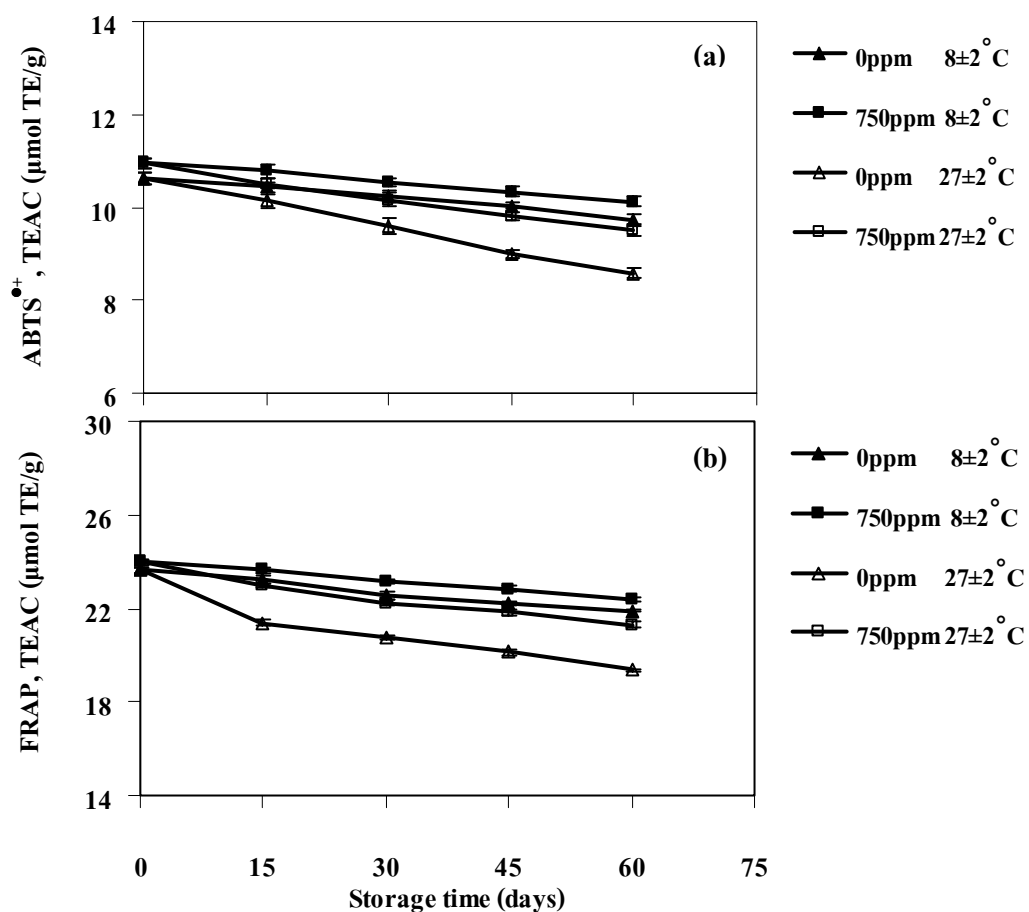


Figure 27 Changes in antioxidant properties of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0\text{ }^{\circ}\text{C}$ and $27.0\pm 2.0\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 0 15 30 45 and 60 days as determined by (a) ABTS $\bullet+$ scavenging activity and (b) Ferric reducing antioxidant power or FRAP

3.4 คุณภาพทางจุลินทรีย์

เมื่อตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่ไม่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์และผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม ภายหลังจากการผลิต (วันที่ 0) พบว่าตรวจไม่พบการเจริญเติบโตของ *E. coli* *S. aureus* และจุลินทรีย์ทั้งหมด นอกจากนี้พบว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นดังกล่าวมีปริมาณยีสต์และรา เท่ากับ 30 และ 20 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม ตามลำดับ และเมื่อตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นบรรจุในถุงเมทัลไลท์ระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 หรือ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0 15 30 45 และ 60 วัน พบว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่ไม่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์และผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 หรือ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด รวมทั้งปริมาณยีสต์และราในจำนวนเท่ากับหรือน้อยกว่า 30 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม ซึ่งเป็นไปตามข้อกำหนดของมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมผลไม้แห้ง (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2532) ที่กำหนดว่า ผลิตภัณฑ์ผลไม้แห้งจะต้องมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดได้ไม่เกิน 1×10^4 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม รวมทั้งมีปริมาณยีสต์และราได้ไม่เกิน 1×10^2 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม สำหรับคุณภาพทางจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นระหว่างเก็บรักษา ดังแสดงในภาคผนวก ๗

3.5 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นบรรจุในถุงเมทัลไลท์ระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 และ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0 30 และ 60 วัน ดังแสดงใน Table 32-34 พบว่าการไม่เติมหรือการเติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม รวมทั้งอุณหภูมิและระยะเวลาในการเก็บรักษาไม่มีผลอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) ต่อการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสในทุกคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น โดยเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษาเป็นเวลา 60 วัน ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่ไม่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์และผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 หรือ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส มีคะแนนความชอบโดยเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านสีอยู่ในช่วง 7.3-7.5 กลิ่นรสกระเจี๊ยบแดงอยู่ในช่วง 7.1-7.3 รสชาติอยู่ในช่วง 6.9-7.2 ความเหนียวอยู่ในช่วง 7.0-7.3 และความชอบโดยรวมอยู่ในช่วง 7.0-7.3 ซึ่งจะเห็นว่าคะแนนความชอบโดยเฉลี่ยในทุกคุณลักษณะอยู่ในช่วง 6.0-7.0 (ชอบน้อยที่สุดถึงชอบปานกลาง) จากงานวิจัยนี้จึงสรุปได้ว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่ไม่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์และผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่เติมโพแทสเซียม

เซียมเมตาไบซัลไฟต์ 750 พีพีเอ็ม เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 หรือ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 60 วัน ยังคงมีคุณภาพทางประสาทสัมผัสเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

Table 32 Liking mean scores (color and roselle flavor attributes) of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at 8.0±2.0 °C and 27.0±2.0 °C for 0 30 and 60 days

Storage time (days)	Liking mean scores / Color		Liking mean scores / Roselle flavor	
	KMS (ppm) / 8.0±2.0 °C	KMS (ppm) / 27.0±2.0 °C	KMS (ppm) / 8.0±2.0 °C	KMS (ppm) / 27.0±2.0 °C
0	7.6±0.7	7.5±0.7	7.7±0.8	7.7±0.9
30	7.4±0.6	7.3±0.7	7.2±0.8	7.2±0.7
60	7.5±0.5	7.4±0.6	7.4±0.7	7.3±0.8

Means±standard deviation within the same row with different letters are significantly different ($p < 0.05$), using 15 untrained panelists

ns = not significant difference among storage times ($p \geq 0.05$) NS = not significant difference among storage temperatures at 8.0±2.0 °C and 27.0±2.0 °C ($p \geq 0.05$)

SO₂ residues = 30.43 mg/kg of roselle leather product (LCFA)

The degree of liking, 1 to 9 means: 1 = Dislike extremely 2 = Dislike very much 3 = Dislike moderately 4 = Dislike slightly 5 = Neither like nor dislike
6 = Like slightly 7 = Like moderately 8 = Like very much 9 = Like extremely

Table 33 Liking mean scores (taste and stickiness attributes) of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at 8.0±2.0 °C and 27.0±2.0 °C for 0 30 and 60 days

Storage time (days)	Liking mean scores / Taste		Liking mean scores / Stickiness	
	KMS (ppm) / 8.0±2.0 °C	KMS (ppm) / 27.0±2.0 °C	KMS (ppm) / 8.0±2.0 °C	KMS (ppm) / 27.0±2.0 °C
0	7.3±0.5	7.1±0.7	7.5±0.7	7.3±0.7
30	7.1±0.8	7.3±1.2	7.0±1.0	7.1±0.6
60	6.9±0.8	7.2±0.9	7.1±0.7	7.3±0.8

Means±standard deviation within the same row with different letters are significantly different ($p < 0.05$), using 15 untrained panelists

ns = not significant difference among storage times ($p \geq 0.05$) NS = not significant difference among storage temperatures at 8.0±2.0 °C and 27.0±2.0 °C ($p \geq 0.05$)

SO₂ residues = 30.43 mg/kg of roselle leather product (LCFA)

The degree of liking, 1 to 9 means: 1= Dislike extremely 2 = Dislike very much 3 = Dislike moderately 4 = Dislike slightly 5 = Neither like nor dislike
6 = Like slightly 7 = Like moderately 8 = Like very much 9 = Like extremely

Table 34 Liking mean scores (overall liking attribute) of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at 8.0±2.0 °C and 27.0±2.0 °C for 0 30 and 60 days

Storage time (days)	Liking mean scores / Overall liking	
	KMS (ppm) / 8.0±2.0 °C	KMS (ppm) / 27.0±2.0 °C
0	7.3±0.6	7.4±0.9
30	7.1±0.8	7.0±0.8
60	7.0±0.6	7.3±0.6

Means±standard deviation within the same row with different letters are significantly different ($p < 0.05$), using 15 untrained panelists

ns = not significant difference among storage times ($p \geq 0.05$) NS = not significant difference among storage temperatures at 8.0±2.0 °C and 27.0±2.0 °C ($p \geq 0.05$)

SO₂ residues = 30.43 mg/kg of roselle leather product (LCFA)

The degree of liking, 1 to 9 means: 1 = Dislike extremely 2 = Dislike very much 3 = Dislike moderately 4 = Dislike slightly 5 = Neither like nor dislike
6 = Like slightly 7 = Like moderately 8 = Like very much 9 = Like extremely

4. การประยุกต์เทคนิค NIRS ในการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่น

การสร้างสมการทำนายปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด (แสดงในรูปไซยานิดิน 3-กลูโคไซด์) ของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นจำนวน 74 ตัวอย่าง มีขั้นตอนการศึกษาทั้งหมด 3 ขั้นตอน คือ (1) การวัดค่าการดูดกลืนแสง NIR กำหนดเป็นตัวแปรอิสระ (2) การวัดปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด กำหนดเป็นตัวแปรตาม และ (3) การสร้างสมการทำนายที่เหมาะสมโดยการใช้สเปกตรัมทั้งหมดด้วยวิธี PLSR ซึ่งจะมีการนำข้อมูลสเปกตรัม NIR และข้อมูลปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดมาใช้ในการสร้างสมการทำนายดังกล่าว

4.1 ค่าการดูดกลืนแสง NIR

ตัวอย่างผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นจำนวน 74 ตัวอย่าง จะถูกนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสง NIR ในช่วงความยาวคลื่น 1,100-2,500 นาโนเมตร สำหรับสเปกตรัมเริ่มต้น (Original NIR spectra) ของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นในช่วงความยาวคลื่น 1,100-2,500 นาโนเมตร ดังแสดงใน Figure 28 เมื่อพิจารณาลักษณะสเปกตรัมเริ่มต้นของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นพบว่าการดูดกลืนแสงที่เด่นชัดที่ความยาวคลื่น 1,450 และ 1,940 นาโนเมตร ซึ่งที่ความยาวคลื่นดังกล่าวเป็นตำแหน่งที่มองเห็นยอดสเปกตรัมได้เด่นชัดในตัวอย่างที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ (Osborne *et al.*, 1993) และเนื่องจากตัวอย่างผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นมีลักษณะผิวหน้าที่ค่อนข้างขรุขระ ไม่เรียบสม่ำเสมอ จึงอาจมีความแปรปรวนที่เกิดขึ้นจากการกระเจิงของแสง ดังนั้นก่อนการสร้างสมการทำนายปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นจึงต้องมีการปรับแต่งข้อมูลสเปกตรัมก่อนการวิเคราะห์เพื่อลดความแปรปรวนที่อาจเกิดขึ้น

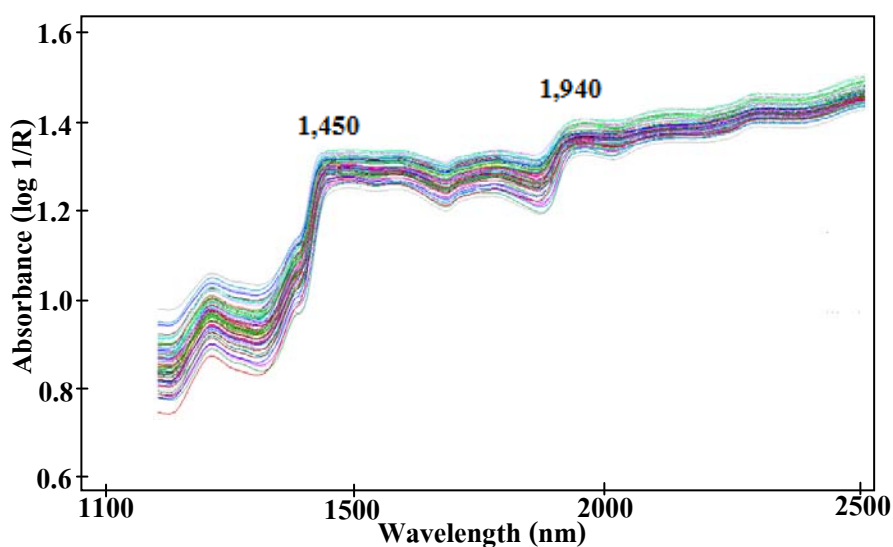


Figure 28 Original NIR spectra of roselle leather products in the region 1,100-2,500 nm

4.2 ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด (แสดงในรูปไซยานิดิน 3-กลูโคไซด์)

ตัวอย่างผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นทั้งหมด 74 ตัวอย่าง ถูกนำมาแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่ม Calibration sample set และกลุ่ม Validation sample set ในอัตราส่วน 75 % ต่อ 25 % สำหรับค่าทางสถิติของกลุ่ม Calibration sample set และกลุ่ม Validation sample set ซึ่งแสดงปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่น ดังแสดงใน Table 35 จากผลการทดลองดังกล่าว แสดงให้เห็นว่าปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดของกลุ่ม Calibration sample set มีค่าครอบคลุมปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดของกลุ่ม Validation sample set โดยตัวอย่างผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นดังกล่าวมีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในปริมาณต่ำสุดและสูงสุด เท่ากับ 5.84 และ 263.01 มิลลิกรัม ไซยานิดิน 3-กลูโคไซด์ต่อกิโลกรัมตัวอย่าง ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าตัวอย่างทั้งสองกลุ่ม มีการกระจายตัวของปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดใกล้เคียงกัน

Table 35 The statistic values of calibration and validation sample set for determination of total anthocyanin contents in roselle leather products

Sample sets	N	Minimum	Maximum	Mean	SD
Total samples	74	5.84	263.01	121.07	82.56
Calibration sample set	56	5.84	263.01	116.18	84.48
Validation sample set	18	13.36	230.86	136.26	76.54

Total anthocyanin contents, expressed as cyanidin 3-glucoside (mg cyanidin 3-glucoside/kg sample)

N, sample number; SD, standard deviation.

4.3 การสร้างสมการทำนายที่เหมาะสมโดยการใช้สเปกตรัมทั้งหมดด้วยวิธี PLSR

นำข้อมูลสเปกตรัมของตัวอย่างผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นทั้งหมด 74 ตัวอย่าง ที่ได้ จากข้อ 4.1 มาผ่านวิธีการปรับแต่งสเปกตรัม 4 วิธี ได้แก่ (1) S. smooth (ใช้ขนาดของช่องห่าง เท่ากับ 5 จุดข้อมูล และอนุพันธ์อันดับสอง) (2) MSC (3) SNV และ (4) S. smooth และ MSC จากนั้นนำข้อมูลสเปกตรัมทั้งหมด 5 ชุดข้อมูล (ข้อมูลสเปกตรัมเริ่มต้น 1 ชุดข้อมูล และข้อมูลสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยวิธีการต่าง ๆ 4 ชุดข้อมูล) และข้อมูลปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดมาหาความสัมพันธ์ด้วยวิธีการทางสถิติ คือ วิธี PLSR สำหรับค่าทางสถิติของสมการทำนายที่สร้างขึ้นด้วยวิธี PLSR เพื่อใช้ทำนายปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่น ดังแสดงใน Table 36 จากผลการทดลองดังกล่าวสามารถบ่งบอกได้ว่าการปรับแต่งข้อมูลสเปกตรัมวิธีใดให้สมการทำนายที่เหมาะสมที่สุดโดยพิจารณาจากค่า R_{cal} และ RPD ที่มีค่าสูงสุด และค่า RMSEP ที่มีค่าต่ำสุด ซึ่งจาก

ผลการทดลองพบว่า การปรับแต่งข้อมูลสเปกตรัมด้วยวิธี MSC ให้สมการทำนายที่เหมาะสมที่สุด เนื่องจากสมการทำนายดังกล่าวให้ค่า R_{cal} และ RPD สูงสุด รวมทั้งให้ค่า RMSEP ต่ำสุดเมื่อเปรียบเทียบกับสมการทำนายที่ได้จากการปรับแต่งข้อมูลสเปกตรัมด้วยวิธีอื่น ดังนั้นจึงเลือกวิธี MSC เป็นวิธีที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการปรับแต่งข้อมูลสเปกตรัมเพื่อสร้างสมการทำนายปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่น โดยสมการทำนายดังกล่าวมีการจัดกลุ่มข้อมูลสเปกตรัมเป็นตัวแปรใหม่ได้ 8 แฟกเตอร์ รวมทั้งมีค่า R_{cal} และ RMSEC เท่ากับ 0.916 และ 33.605 มิลลิกรัม ไซยานิดิน 3-กลูโคไซด์ต่อ กิโลกรัม ตัวอย่าง ตามลำดับ และเมื่อทำการตรวจสอบความถูกต้องของสมการทำนายพบว่า มีค่า R_{val} , RMSEP และ RPD เท่ากับ 0.822, 45.220 มิลลิกรัม ไซยานิดิน 3-กลูโคไซด์ต่อ กิโลกรัม ตัวอย่าง และ 1.646 ตามลำดับ สำหรับความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดที่ได้จากการวิเคราะห์ (Measured total anthocyanin content) และปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดที่ได้จากการทำนาย (Predicted total anthocyanin content) ของสมการทำนายที่สร้างขึ้นโดยใช้สเปกตรัมที่ไม่ปรับแต่ง (สเปกตรัมเริ่มต้น) และสมการทำนายที่เหมาะสมซึ่งสร้างขึ้นโดยใช้สเปกตรัมที่มีการปรับแต่งด้วยวิธี MSC ดังแสดงใน Figure 29 และ Figure 30 ตามลำดับ นอกจากนี้เมื่อพิจารณาค่าสัมประสิทธิ์การถดถอย (Regression coefficients) ของสมการทำนายที่เหมาะสมซึ่งสร้างขึ้นโดยใช้สเปกตรัมที่มีการปรับแต่งด้วยวิธี MSC ดังแสดงใน Figure 31 พบว่าที่ความยาวคลื่นตำแหน่ง 1,408, 2,074 และ 2,384 นาโนเมตร มีความสัมพันธ์กับปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดเนื่องจากมีข้อมูลสำคัญที่เกี่ยวข้องกับกลุ่มพันธะ ROH (Osborne *et al.*, 1993) ซึ่งเป็นกลุ่มพันธะภายในโครงสร้างของแอนโทไซยานิน (ดังแสดงใน Figure 6) ดังนั้นสมการทำนายที่สร้างขึ้นด้วยวิธี PLSR ในช่วงความยาวคลื่น 1,100-2,500 นาโนเมตร จึงครอบคลุมข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่น สำหรับงานวิจัยในส่วนนี้แสดงให้เห็นว่ามีความเป็นไปได้ในการประยุกต์เทคนิค NIRS เพื่อใช้ในการหาค่าโดยประมาณของปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่น

Table 36 The statistical values of PLSR models for determination of total anthocyanin contents in roselle leather products

Pretreatment method	F	R_{cal}	RMSEC	R_{val}	RMSEP	RPD
None	10	0.948	26.543	0.806	46.292	1.611
S. smooth	10	0.913	34.204	0.800	45.410	1.640
MSC	8	0.916	33.605	0.822	45.220	1.646
SNV	8	0.918	33.201	0.810	46.252	1.610
S. smooth and MSC	9	0.941	28.228	0.787	46.934	1.588

Total anthocyanin contents, expressed as cyanidin 3-glucoside (mg cyanidin 3-glucoside/kg sample)

None: original spectra, S. smooth: Savitzky-Golay smooth (5 data point gap, second order), MSC: multiplicative scatter correction, SNV: standard normal variate, F: the number of factors, R_{cal} : correlation coefficient of calibration, RMSEC: root mean square error of calibration, R_{val} : correlation coefficient of validation, RMSEP: root mean square error of prediction, SEP: standard error of prediction, RPD: ratio of standard deviation of reference data in the validation sample set to standard error of prediction

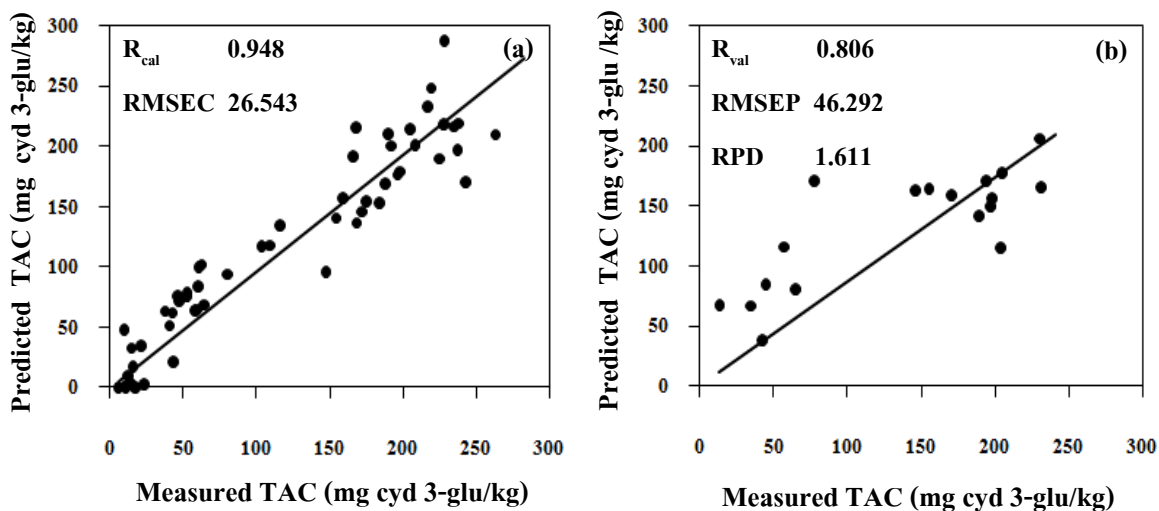


Figure 29 The correlation between measured and predicted values of the total anthocyanin content (TAC, mg cyanidin 3-glucoside/kg) from the prediction equation based on none pretreatment method: (a) a calibration sample set and (b) a validation sample set (cyd 3-glu means cyanidin 3-glucoside)

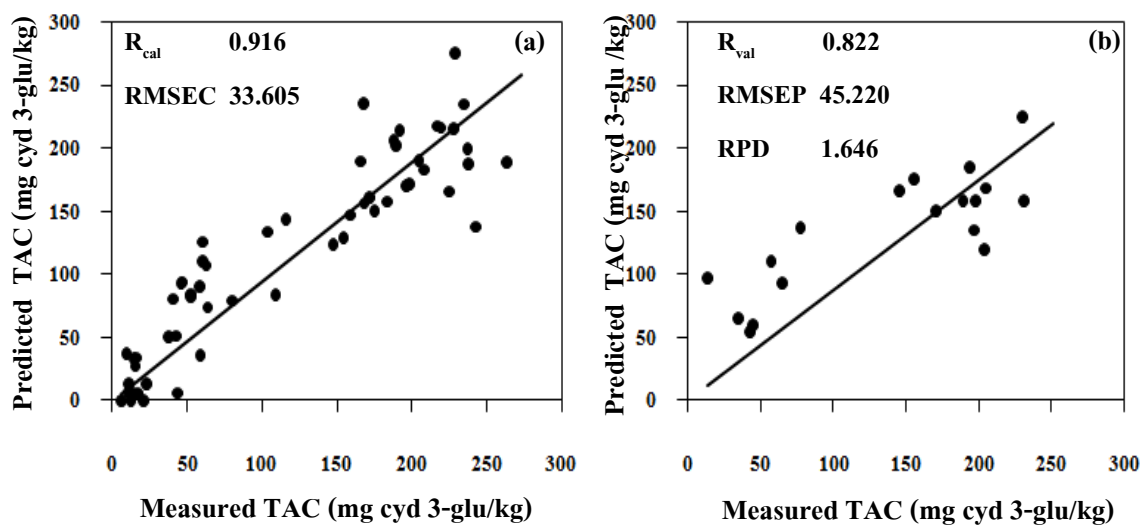


Figure 30 The correlation between measured and predicted values of the total anthocyanin content (TAC, mg cyanidin 3-glucoside/kg) from the optimum prediction equation based on MSC pretreatment method: (a) a calibration sample set and (b) a validation sample set (cyd 3-glu means cyanidin 3-glucoside)

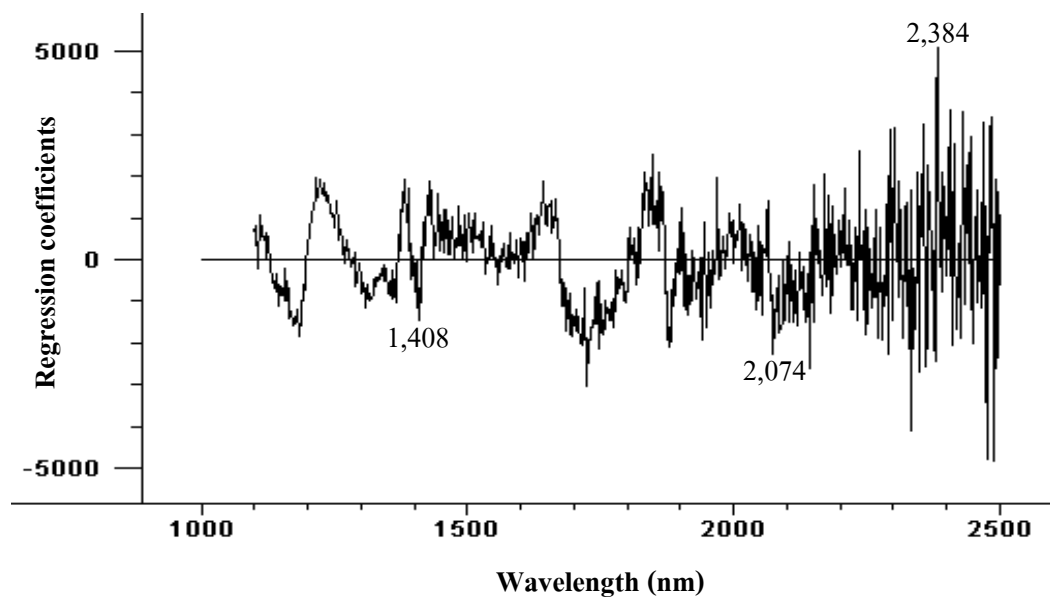


Figure 31 Regression coefficients of the optimum prediction equation based on MSC pretreatment method

5. ต้นทุนส่วนผสมและบรรจุภัณฑ์ของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นจากกากกระเจี๊ยบแดง

จากการคำนวณต้นทุนส่วนผสมและบรรจุภัณฑ์ของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นจากกากกระเจี๊ยบแดงพบว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นจากกากกระเจี๊ยบแดงบรรจุในถุงเมทัลไลต์ ขนาดบรรจุ 16.0 กรัม ดังแสดงใน Figure 32 มีต้นทุนส่วนผสมและบรรจุภัณฑ์ในการผลิตประมาณ 6.83 บาท/ถุง ดังแสดงใน Table 37 (สำหรับราคาวัตถุดิบและบรรจุภัณฑ์ที่ใช้ในการคำนวณต้นทุนส่วนผสมและบรรจุภัณฑ์ของผลิตภัณฑ์ดังกล่าวแสดงในภาคผนวก ฉ)



Figure 32 The roselle leather product from roselle by-product

Table 37 The overall ingredient and package price calculations of roselle leather product (16 g each) from roselle by-product

Ingredients	Weights (g/roselle leather product)	Cost per unit (baht/g)	Cost per ingredient (baht)
Roselle paste comprising of:			
Roselle by-product	10.84	0.09	0.98
Water	54.20	1.00×10^{-3}	0.05
Sugar	9.50	0.03	0.28
Sucralose (Sucrose replacement)	5.00×10^{-3}	34.50	0.17
Glycerol	5.85	0.48	2.81
Water	2.28	1.00×10^{-3}	2.00×10^{-3}
Citric acid	0.06	0.37	0.02
Potassium metabisulfite (KMS)	0.05	0.33	0.02
Metalized foil bag	-	2.50 (per bag)	2.50
Total			6.83

บทที่ 4

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

สรุปผลการทดลอง

1. การวิเคราะห์คุณภาพกระเจี๊ยบแดงสดและกากกระเจี๊ยบแดงพบว่ากระเจี๊ยบแดงสดมีปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดมาลิก ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในรูปไซยานิดิน 3-กลูโคไซด์ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณกรดแอสคอร์บิก ตลอดจนสมบัติการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่ากากกระเจี๊ยบแดงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) อย่างไม่รู้ที่ตามกากกระเจี๊ยบแดงซึ่งเป็นเศษเหลือจากกระบวนการผลิตเครื่องดื่มน้ำกระเจี๊ยบแดงยังคงมีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในรูปไซยานิดิน 3-กลูโคไซด์ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ตลอดจนสมบัติการต้านอนุมูลอิสระในปริมาณค่อนข้างสูงเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณดังกล่าวของกระเจี๊ยบแดงสด อีกทั้งกากกระเจี๊ยบแดงยังเป็นแหล่งของใยอาหารทั้งชนิดที่ละลายน้ำและไม่ละลายน้ำจึงทำให้กากกระเจี๊ยบแดงยังคงมีศักยภาพสูงในการนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารต่อไป นอกจากนี้เมื่อทำการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์ในกากกระเจี๊ยบแดงที่เป็นวัตถุดิบเบื้องต้นในการผลิตผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นพบว่ากากกระเจี๊ยบแดงดังกล่าวมีความปลอดภัยสำหรับการนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหาร

2. การพัฒนาสูตรพื้นฐานของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นพบว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นจากกากกระเจี๊ยบแดง (ขนาด 4.0×10.0 เซนติเมตร) ไม่มีความจำเป็นต้องใช้สารเพิ่มความคงตัว (เพกติน กัวร์กัม และมอลโทเดกซ์ทริน) ในการผลิตผลิตภัณฑ์ดังกล่าว นอกจากนี้เมื่อศึกษาการใช้ซูคราโลสเป็นสารให้ความหวานเพื่อทดแทนการใช้ซูโครสในบางส่วนพบว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นสูตรที่มีการใช้อัตราส่วนของซูโครสต่อซูคราโลส เท่ากับ $7:2$ เป็นสูตรที่เหมาะสมสำหรับการผลิตผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น โดยผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่ผลิตจากสูตรดังกล่าวมีคะแนนความชอบโดยเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านสี กลิ่นรสกระเจี๊ยบแดง ความเหนียว รสเปรี้ยว รสหวาน และความชอบ โดยรวมอยู่ในช่วง 6.0-7.0 (ชอบน้อยที่สุดถึงชอบปานกลาง) และมีส่วนผสมในการผลิตประกอบด้วย เพียวเร่กระเจี๊ยบแดง 78.4 % น้ำ 2.7% กลีเซอรอล 7.07 % กรดซิตริก 0.08 % โปแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 0.06 % ซูโครส 11.49 % และซูคราโลส 0.006 % ตามลำดับ

3. การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่ไม่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์และผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 70 พีพีเอ็ม บรรจุในถุงเมทัลไลต์และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 หรือ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 60 วันพบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นส่งผลให้คุณภาพทางกายภาพ คือ ค่า a^* และ b^* ของผลิตภัณฑ์

กระเจี๊ยบแดงแผ่นทุกชุดการทดลองมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ขณะที่ค่า L^* และค่าคุณลักษณะเนื้อสัมผัส รวมทั้งคุณภาพทางเคมี คือ ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในรูปไซยานิดิน 3-กลูโคไซด์ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นทุกชุดการทดลองมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ในระหว่างการเก็บรักษาเมื่อศึกษาผลรวมของการไม่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์และการเติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 70 พีพีเอ็ม ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 หรือ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส พบว่าเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษาในวันที่ 60 ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นที่ไม่เติมและที่เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 70 พีพีเอ็ม ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส มีการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางกายภาพ คือ ค่าสี และคุณลักษณะเนื้อสัมผัส รวมทั้งคุณภาพทางเคมี คือ ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในรูปไซยานิดิน 3-กลูโคไซด์ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่าชุดการทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) นอกจากนี้พบว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นทุกชุดการทดลองมีคุณภาพทางจุลินทรีย์เป็นไปตามข้อกำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมผลไม้แห้งของสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม และผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นทุกชุดการทดลองยังคงมีคุณภาพทางประสาทสัมผัสเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค โดยมีคะแนนความชอบโดยเฉลี่ยในทุกคุณลักษณะอยู่ในช่วง 6.0-7.0 (ชอบน้อยที่สุดถึงชอบปานกลาง)

การไม่เติมและการเติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ (70 พีพีเอ็ม) ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ (8.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส) เป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น เนื่องจากผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นมีการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางกายภาพ คุณภาพทางเคมี และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่าชุดการทดลองอื่น อีกทั้งผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นดังกล่าวยังมีคุณภาพทางจุลินทรีย์ในระดับที่ปลอดภัยต่อการบริโภค รวมทั้งยังคงมีคุณภาพทางประสาทสัมผัสเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค โดยมีคะแนนความชอบโดยเฉลี่ยในทุกคุณลักษณะอยู่ในช่วง 6.0-7.0 (ชอบน้อยที่สุดถึงชอบปานกลาง)

4. การประยุกต์เทคนิค NIRS ในการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นพบว่าสมการที่มีการปรับแต่งข้อมูลสเปกตรัมด้วยวิธี MSC และทำการสร้างสมการด้วยวิธี PLSR เป็นสมการที่เหมาะสมที่สุดสำหรับใช้ทำนายปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นโดยสมการดังกล่าวมีค่า R_{cal} , RMSEP และ RPD เท่ากับ 0.9164, 220 มิลลิกรัมไซยานิดิน 3-กลูโคไซด์ต่อ กิโลกรัมตัวอย่าง และ 1.646 ตามลำดับ และสมการทำนายที่สร้างขึ้นสามารถนำมาใช้เพื่อหาค่าโดยประมาณของปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นได้

□ ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นจากกากกระเจี๊ยบแดง (ขนาด 4. × 10.0 เซนติเมตร) บรรจุในถุงเมทัลไลท์ (ขนาด 9.8 × 10 เซนติเมตร) ขนาดบรรจุ 16.0 กรัม มีต้นทุนส่วนผสมและบรรจุภัณฑ์ในการผลิตประมาณ 6.83 บาท/ถุง

ข้อเสนอแนะ

1. ในขั้นตอนการศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นระหว่างเก็บรักษาอาจมีการศึกษาชนิดของบรรจุภัณฑ์เพื่อเป็นแนวทางในการเลือกใช้บรรจุภัณฑ์ที่เหมาะสมสำหรับผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น
2. ในการประยุกต์เทคนิค NIRS เพื่อวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นอาจมีการพัฒนาสมการทำนายที่สร้างขึ้นด้วยการเพิ่มข้อมูลสเปกตรัมและปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดของตัวอย่างกลุ่มใหม่ต่อไปในอนาคตเพื่อเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการทำนายของสมการดังกล่าว

เอกสารอ้างอิง

- กรกช วรรณกุล. 2553. การประเมินคุณภาพผลิตภัณฑ์น้ำจิ้มไก่ด้วยเทคนิคสเปกโทรสโกปีย่านใกล้อินฟราเรด. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- กล้าณรงค์ ศรีรอด และเกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ. 2550. เทคโนโลยีของแป้ง. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร.
- เกษม ปราบริบูรณ์. 2521. การทำแห้ง. ใน การทำงานเป็นหน่วยในกระบวนการผลิตอาหาร. หน้า 155-185. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- งามทิพย์ ภู่วโรดม. 2550. การบรรจุอาหาร. เอส.พี.เอ็ม. การพิมพ์. กรุงเทพมหานคร.
- จารุวรรณ ภัทรสรพรเพชญ. 2549. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ผลไม้แผ่นจากพิวเร่พลับ (*Diospyros kaki* L.). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ณรงค์ เหล่าโชติ และเนาวรัตน์ เสริมศรี. 2530. การปลูกกระเจี๊ยบแดง. กสิกร. 60: 221-224.
- ดวงใจ โอชัยกุล, กุลวดี ทองภูเบศร์, ปริมประภา คณารักษ์ และปรีชา ฉัตรทอง. 2545. สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกรดซิดริกจากน้ำสกัดเชื้อหุ้มเมล็ดโกโก้. ว. พระจอมเกล้าลาดกระบัง. 10 (1): 33-37.
- ดวงจันทร์ เสงส์สวัสดิ์. 2545. โยอาหารเพื่อสุขภาพ. ว. อาหาร. 32: 157-159.
- ทบวงมหาวิทยาลัย. 2541. เคมี 1. หน้า 225-289. อักษรเจริญทัศน์. กรุงเทพมหานคร.
- ธงชัย สุวรรณสิขณน์ และปิติพร ฤทธิเรืองเดช. 2552. การวิเคราะห์เชิงปริมาณและคุณภาพ. ใน เทคโนโลยีอินฟราเรดย่านใกล้ในอุตสาหกรรมเกษตร. สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ธิดยาภรณ์ ประยูรมหิสร. 2545. การสกัดแอนโทไซยานินสีในลูกหว่า. ปัญหาพิเศษวิทยาศาสตรบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- นันทวัน บุญยะประกฤษ และอรนุช โชคชัยเจริญพร. 2541. กระเจี๊ยบแดง. ใน สมุนไพรไม้พื้นบ้าน. หน้า 14-16. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

นิธิยา รัตนานพนธ์. 2549. เคมีอาหาร. โอเดียนสโตร์. กรุงเทพมหานคร.

เบญจวรรณ ชรรมนารักษ์. 2548. ชูคราโลสอีกหนึ่งสารให้ความหวานที่ควรรู้จัก. For Quality. 92: 122-125.

ปณัฐฐา ไชยมุติ. 2547. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของพืชสมุนไพร 7 ชนิด. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข. 2541. ฉลากโภชนาการ ฉบับที่ 182 (ออนไลน์). สืบค้นจาก: http://www.qmaker.com/fda/new/images/cms/top.../1170743873_182.pdf (8 ตุลาคม 2550)

ประสิทธิ์ อติวีระกุล. 2527. เทคโนโลยีของผลไม้และผัก. คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัย สงขลานครินทร์.

ปารมี ชุมศรี. 2550. การพัฒนาผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้น. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์ มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ปรียา วิบูลย์เศรษฐ์. 2543. การเน่าเสียของอาหาร. ใน วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. พิมพ์ ครั้งที่ 3 (คณาจารย์ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์). หน้า 405-418. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ปุ่น คงเจริญเกียรติ และสมพร คงเจริญเกียรติ. 2541. บรรจุภัณฑ์อาหาร. แพคเมทส์. กรุงเทพมหานคร.

พรศักดิ์ ประสิทธิ์แพทย์. 2545. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ทุเรียนแผ่น. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ไพโรจน์ วิริยจารี. 2539. อาหารกึ่งแห้ง. คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ไพโรจน์ หลวงพิทักษ์ และเบญจวรรณ ชรรมนารักษ์. 2538. เส้นใยอาหารกับคุณภาพชีวิต. ว. เพื่อคุณภาพ. 9: 65-68.

เพียงใจ คาริเยาะ. 2550. การพัฒนากระบวนการผลิตซอสจากกระเจี๊ยบแดง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์ มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

- เพ็ญศรี เรืองศรี. 2553. ผลของกระบวนการแปรรูปและสภาวะการเก็บรักษาต่อคุณภาพและสารประกอบที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงสกัดเข้มข้น. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- มลศิริ วิโรทัย. 2545. เทคโนโลยีของผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพ. บริษัทพัฒนาคุณภาพวิชาการ. กรุงเทพมหานคร.
- ยุพาพร ผลาจรศักดิ์. 2547. การสกัดและความคงตัวของแอนโทไซยานินที่สกัดได้จากเปลือกมังคุด. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยศิลปากร.
- รณฤทธิ์ ฤทธิธรม. 2552. การสร้างระบบ NIR สำหรับการวิเคราะห์ประจำวัน. ใน เทคโนโลยีอินฟราเรดย่านใกล้ในอุตสาหกรรมเกษตร. สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- รัชณี ตันทะพานิชกุล. 2544. เคมีอาหาร. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง. กรุงเทพมหานคร.
- รัชนีกร กิติศิริมงคล. 2549. การพัฒนาผลิตภัณฑ์บ๊วยแผ่นผสมผลไม้. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- รัตนา อัดตปัญญา โย, สายลม สัมพันธ์เวช โสภา, อนุวัตร แจ่มชัด, กอบพัชรกุล เป็นบุญ และมุสดี บุรณะ อำนวย. 2550. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ โครงการพัฒนาผลไม้กวน (ผลไม้แผ่น) เพื่อยกระดับมาตรฐาน และการศึกษาดลาด. สำนักกองทุนสนับสนุนการวิจัย.
- ละอองดาว ว่องเอกลักษณ์ และกุลยา ลีมรุ่งเรืองรัตน์. 2545. การใช้มิวซิเลจแห้งจากเมล็ดแมงลักเป็นสารช่วยให้คงตัวในผลิตภัณฑ์ซอสพริกและมายองเนส. ว. วิทยาศาสตร์บูรพา. 7(1): 17-23.
- วิวัฒน์ หวังเจริญ. 2545. บทบาทของสารประกอบฟีนอลต่อสุขภาพ. อาหาร. 32: 245-253.
- ศิราพร ริพล. 2551. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของข้าวโดยเนียร์อินฟราเรดรีเฟลกแทนซ์สเปกโทรสโกปีวิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- ศิวลักษณ์ ปฐวีรัตน์ และอนุพันธ์ เทอดวงศ์วรกุล. 2552. เครื่องมือและอุปกรณ์ของสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้. ใน เทคโนโลยีอินฟราเรดย่านใกล้ในอุตสาหกรรมเกษตร. สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

- ศุมาพร เกษมสำราญ. 2552. หลักการพื้นฐานของสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้. ใน เทคโนโลยีอินฟราเรดย่านใกล้ในอุตสาหกรรมเกษตร. สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สุคนธ์ชื่น ศรีงาม. 2543. กระบวนการทำแห้งอาหาร. ใน วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 3 (คณาจารย์ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์). หน้า 164-172. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สุนทรี วราอุบล. 2546. ผลของมอลโตเดกซ์ทรินและอนุหภูมิอากาศร้อนเข้าต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์น้ำใบเตยผงที่ทำแห้งแบบพ่นกระจาย. ว. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (ภาษาไทย). 11(1): 32-41.
- สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2550. รู้จักสารเคมีจากพืชเพื่อนำมาพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพ. รายงานสัมมนาการสร้างมูลค่าเพิ่มของผลิตภัณฑ์จากพืชสมุนไพรไทย. ณ โรงแรมมิราเคิลแกรนด์ บางเขน. 23-24 มกราคม 2550. หน้า 1-40.
- สุรพงษ์ เจริญรัต, ชัยรัตน์ ดุยพัชร, แฉล้ม มาสุวรรณ และปัญญา เอกมหาชัย. 2545. กระเจียบแดง พืชสมุนไพร. กสิกร. 75: 16-19.
- สุวรรณ สุภิมารส. 2543. เทคโนโลยีการผลิตลูกกวาดและซ็อกโกแลต. สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพมหานคร.
- สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. 2547. ประกาศสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา เรื่อง ข้อกำหนดการใช้วัตถุเจือปนอาหาร (ออนไลน์). สืบค้นจาก: <http://www.fda.moph.go.th/fda-net/html/product/food/ntf/DirtyFood3Attach.html> (1 ตุลาคม 2550).
- สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2532. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม ผลไม้แห้ง. สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. กรุงเทพมหานคร.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2550. กรณีศึกษา: กระเจียบแดง ดอกคำฝอย และกวาวเครือขาว (ออนไลน์). สืบค้นจาก: http://www.oae.go.th/download/resech/edu_50.pdf (8 ตุลาคม 2553)

- อรพิน ภูมิภมร และประเสริฐ อธิศิวกุล. 2535. การผลิตมอลโตเด็กซ์ทรินจากแป้งข้าวเจ้าและแป้งมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ α -amylase. ว. เกษตรศาสตร์ (วิทย.). 26: 164-172.
- อนุกุล วัฒนสุข และ โชคชัย ชีรกุลเกียรติ. 2543. ปฏิบัติการเฉพาะหน่วยในอุตสาหกรรมอาหาร. ใน วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 3 (คณาจารย์ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์). หน้า 92-114. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- อนุพันธ์ เทอดวงศ์วรกุล. 2552. การปรับแต่งสเปกตรัมก่อนการวิเคราะห์. ใน เทคโนโลยีอินฟราเรด ย่านใกล้ในอุตสาหกรรมเกษตร. สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- อนุวัตร แจ่มชัด, ปันดดา ตั่งสวัสดิ์, อรุณศิริ ธารชกรกุล, สุนดาริ เหลืองวิลัย และกมลวรรณ แจ่มชัด. 2549. การพัฒนาบ๊วยแผ่นจากบ๊วยดอง (ออนไลน์). สืบค้นจาก: <http://www.lib.ku.ac.th/KUCONF/KC4406063.pdf> (11 พฤศจิกายน 2553).
- อรุณพร อิฐรัตน์, ถนนอมจิต สุภาวิตา, สุทธิมาลย์ อิงคถาวรวงศ์, ศิริพันธุ์ หิรัญญาชาติธาดา, วันทนา เจริญมงคล, สิริศรี ปิ่นสุวรรณ, นิวัต แก้วประดับ, อัญชลี ศิริโชติ, จินดาพร ฎริพัฒนา วงษ์, สุวิภา อึ้งไพบูลย์, ฉัตรชัย วัฒนาภิรมสกุล, รัชเกียรติ จิรัญธร, ปราณี รัตนสุวรรณ, นิรณัฏฐ์ อินทรักษา, โสภา คำมี และวีระวัฒน์ ศิลประชาวงศ์. 2548. การพัฒนาสารสกัดกระเจียบแดงเพื่อใช้ในเครื่องสำอาง และอาหารเสริมสุขภาพ. การเผยแพร่ผลงานวิจัยด้านการพัฒนาสมุนไพรเพื่ออุตสาหกรรม สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. หน้า 178-190.
- อัคกะบัททาน ปาทาน และนวลศรี รักอริยะธรรม. 2539. การพัฒนาวิธีการผลิตมอลโทเด็กซ์ทริน. ว. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 23(2): 36-41.
- อัญชญา เจนวิถีสุข. 2544. การตรวจหาและบ่งชี้ชนิดสารต้านอนุมูลอิสระจากผักพื้นบ้านและสมุนไพรไทย. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- Adanlawo, I.G. and Ajibade, V.A. 2006. Nutritive value of the two varieties of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) calyces soaked with wood ash. Pakistan. J. Nutr. 5: 555-557.

- Alighourchi, H. and Barzegar, M. 2009. Some physicochemical characteristics and degradation kinetic of anthocyanin of reconstituted pomegranate juice during storage. *J. Food Eng.* 90: 179-185.
- Anonymous. N. D. 2005. Pectin (Online). Available: <http://www.class.fst.ohio-stae.edu /FST605 /605% pdf /carbohydrates.pdf> (14 October 2010)
- A.O.A.C. 2000. Official Method of Analysis. 17th ed. The Association of Official Analysis Chemists Inc. Gaithersburg.
- A.O.A.C. 2005. Official Method of Analysis. 18th ed. The Association of Official Analysis Chemists Inc. Gaithersburg.
- Aurand, L. W. and Wood, A. E. 1973. Food glycosides. *In Food chemistry.* p. 321-335. The AVI Publishing Company Inc. Westport. Connecticut.
- Belitz, H. D. and Grosch, W. 1999. Carbohydrates. *In Food chemistry.* (Burghagen, M. M., Hadziyev, D., Hessel, P., Jordan, S. and Sprinz, C., eds). p. 237-318. Springer.
- BeMiller, J. N. and Whistler, R. L. 1996. Carbohydrate. *In Food chemistry.* (Fennema, O. R., ed). p. 205-220. Marcel Dekker Inc. New York.
- 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. *Anal. Biochem.* 239: 70-76.
- Bridle, P. and Timberlake, C. F. 1996. Anthocyanins as natural food colours-selected aspects. *Food Chem.* 58: 103-109.
- Castaneda-Ovando, A., Pacheco-Hernandez, L., Paez-Hernandez, E., Rodriguez, J. A. and Galan-Vidal, C. A. 2009. Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chem.* 113: 859-871.
- Chapple, I. L. C. and Matthews, J. B. 2007. The role of reactive oxygen and antioxidant species in periodontal tissue destruction. *Periodontol.* 43: 160-232.

- Chirunthorn, R., Pinsuwan, S., Ungphaiboon, S., Sirichote, A., Ratanasuwan, P. and Itharat, A. 2004. Antioxidant and cytotoxicity activity against cancer cells of *Hibiscus sabdariffa*. In Proceeding of the 10th world congress on clinical nutrition. Phuket Thailand. 30 November-3 December 2004. p. 188.
- Contreras-Calderón, J., Calderón-Jaimes, L., Guerra-Hernández, E. and García-Villanova, B. 2010. Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia. Food Res Int. xxx: xxx-xxx (Article in press).
- Demian, J. M. 1990. Principle of food chemistry. Van Nostrand Reinhold. New York.
- Erdman, J. W., Balentine, D., Arab, L., Beecher, G., Dwyer, J. T., Folts, J., Harnly, J., Hollman, P., Keen, C. L., Mazza, G., Messina, M., Scalbert, A., Vita, J., Williamson, G. and Burrows, J. 2007. Flavonoids and heart health. Proceedings of the ILSI North America workshop. Washington DC. J. Nutr. 137: 718S-737S.
- Eskin, N. A. M. and Przybylski, R. 2001. Antioxidant and shelf life of foods. In Food shelf life stability. (Eskin, N. A. M. and Robinson, D. S., eds). p. 175-202. CRC Press Inc. New York.
- Ferrer-Gallego, R., Hernández-Hierro, J. M., Rivas-Gonzalo, J. C., Escribano-Bailón, M. T. 2010. Determination of phenolic compounds of grape skins during ripening by NIR spectroscopy (Manuscript). LWT Food Sci. Technol.
- Francis, F. J. 1985. Pigments and other colorants. In Food chemistry. (Fennema, O. R., ed). p. 545-584. Marcel Dekker Inc. New York.
- Fullerton, M. S.C., Verghese, M., Walker, L. T., Shackelford, L. A. and Cebert, E. 2008. Determination of antioxidant contents in red sorrel and its anticarcinogenic potential in azoxymethane-induced colonic aberrant crypt foci. J. Phytochem. 2: 69-76.
- Garzón, G. A., Narváez, C. E., Riedl, K. M. and Schwartz, S. J. 2010. Chemical composition, anthocyanins, non-anthocyanin phenolics and antioxidant activity of wild bilberry (*Vaccinium meridionale* Swartz) from Colombia. Food Chem. 122: 980-986.

- Giusti, M. M. and Wrolstad, R. E. 2001. Anthocyanins characterization and measurement with UV-visible spectroscopy. *In* Current protocols in food analytical chemistry. (Wrolstad, R. E. and Schwartz, S. J., eds). p. 1-13. Wiley. New York.
- Güçlü, K., Altun, M., Özyürek, M., Karademir, S. E. and Apak, R. 2006. Antioxidant capacity of fresh, sun- and sulphited-dried Malatya apricot (*Prunus armeniaca*) assayed by CUPRAC, ABTS /TEAC and folin methods. *Int. J. Food Sci. Tech.* 41: 76-85.
- Gujral, H.S. and Brar, S.S. 2003. Effect of hydrocolloids on the dehydration kinetics, color, and texture of mango leather. *Int. J. Food Prop.* 6(2): 269-279.
- Harbourne, N., Jacquier, J. C., Morgan, D. J. and Lyng, J. G. 2008. Determination of the degradation kinetics of anthocyanins in a model juice system using isothermal and non-isothermal methods. *Food Chem.* 111: 204–208.
- Heureux-Calix, F. D. and Badrie, N. 2004. Consumer acceptance and physicochemical quality of processed red sorrel/roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) sauces from enzymatic extracted calyces. *J. Food Service Technol.* 4: 141-148.
- Higuchi, T. 1980. Lignin structure and morphological distribution in plant cell walls. *In* Lignin biodegradation: microbiology, chemistry, and potential applications (Volume I). (Kirk, T. K., Higuchi, T. and Chang, H., eds). p. 1-19. CRC Press Inc. London.
- Hirunpanich, V., Utaipat, A., Morales, N. P., Bunyaphatsara, N., Sato, H., Herunsale, A. and Suthisisang, C. 2006. Hypocholesterolemic and antioxidant effects of aqueous extracts from the dried calyx of *Hibiscus sabdariffa* L. in hypercholesterolemic rats. *J. Ethnopharma.* 103: 252-260.
- Huang, D., Ou, B. and Prior, R. L. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J. Agric. Food Chem.* 53: 1841-1856.
- Huang, X. and Hsieh, F. 2005. Physical properties, sensory attributes, and consumer preference of pear fruit leather. *J. Food Sci.* 70: E177-E178.

- Jackman, R. L. and Smith, J. L. 1996. Anthocyanins and betalains. *In* Natural food colorant. (Hendry, G. A. F. and Houghton, J. D., eds). p. 244-280. Blackie academic & professional. Glasgow. UK.
- Jackman, R. L., Yada, R. Y., Tung, M. A. and Speers, R.A. 1987. Anthocyanins as food colorants - A Review. *J. Food Biochem.* 11: 201-247.
- Jimenez-Escrig, A. and Sanchez-Muniz, F. J. 2000. Dietary fibre from edible seaweed: chemical structure, physicochemical properties and effects on cholesterol metabolism. *Nurs. Res.* 20: 585-598.
- Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. 1996 (49th Meeting). Compendium of food additive specifications. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. 2005 (65th Meeting). Compendium of food additive specifications. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Jueanville, M. and Badrie, N. 2007. Processed sorrel/roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) leather from pectolase-treated alyces. Effects of xanthan gum on physicochemical quality and sensory acceptance. *J. Food Technol.* 5(2): 98-104.
- Kalt, W., Madonald, J. E. and Donner, H. 2000. Anthocyanins, phenolics and antioxidant capacity of processed lowbush blueberry product. *J. Food Sci.* 65: 390-393.
- Kawano, S. 2002. Sampling and sample presentation. *In* Near-infrared spectroscopy: principles, instruments, applications. (Siesler, H.W., Ozaki, Y. Kawata, S. and Heise, H.M., eds). p. 115-124. Wiley-VCH. Weinheim. Germany.
- Kha, T. C., Nguyen, M. H. and Roach, P. D. 2010. Effects of spray drying conditions on the physicochemical and antioxidant properties of the Gac (*Momordica cochinchinensis*) fruit aril powder. *J. Food Eng.* 98: 385-392.
- Kirca, A., Özkan, M. and Cemeroglu, B. 2007a. Effects of temperature, solid content and pH on the stability of black carrot anthocyanins. *Food Chem.* 101: 212-218.

- Kirca, A., Özkan, M. and Cemeroglu, B. 2007b. Storage stability of strawberry jam color enhance with black carrot juice concentrate. *J. Food Process. and Preserv.* 31: 531-545.
- Laleh, G.H., Frydoonfar, H., Heidary, R., Jameei, R. and Zare, S. 2006. The effect of light, temperature, pH and species on stability of anthocyanin pigments in four *berries* species. *Pakistan J. Nutr.* 5: 90-92.
- Larrauri, J., Ruperez, P. and Saura-Calizto, F. 1997. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peel. *J. Agric. Food Chem.* 45: 1390-1393.
- Lee, J., Durst, R. W. and Wrolstad, R. E. 2002. Impact of juice processing on blueberry anthocyanins and polyphenolics: comparison of two pretreatments. *J. Food Sci.* 67: 1660-1667.
- Lversen, C. K. 1999. Black currant nectar: effect of processing and storage on anthocyanins and ascorbic acid content. *J. Food Sci.* 64: 37-41.
- Mahadevan, N., Shivali, K. and Pradeep, K. 2009. *Hibiscus sabdariffa* Linn-An overview. *Nat. Prod. Radiance.* 8(1): 77-83.
- Mazza, G. and Miniati, E. 1993. Anthocyanins in fruits, vegetables, and grains. CRC Press Inc. United States of America.
- McWilliams, M. 2005. Foods: experimental perspective. 5th ed. Upper Saddle River. New Jersey.
- Methakhup, S., Chiewchan N. and Devahastin, S. 2005. Effects of drying methods and conditions on drying kinetics and quality of Indian gooseberry flake. *LWT Food Sci. Technol.* 38: 579-587.
- Miliauskas, G., Venskutonis, P. R. and van Beek, T. A. 2004. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chem.* 85: 231-237.
- Osborne, B. G., Fearn, T. and Hindle, P. H. 1993. Practical NIR spectroscopy with applications in food and beverage analysis. Longman scientific & technical. Harlow.

- Özgen, M., Serçe, S. and Kaya, C. 2009. Phytochemical and antioxidant properties of anthocyanin-rich *Morus nigra* and *Morus rubra* fruits. *Sci Hortic.* 119: 275-279.
- Pacheco-Palencia, L. A. and Talcott, S. T. 2010. Chemical stability of açai fruit (*Euterpe oleracea* Mart.) anthocyanins as influenced by naturally occurring and externally added polyphenolic cofactors in model systems. *Food Chem.* 118: 17-25.
- Patras, A., Brunton, N. P., O'Donnell, C. and Tiwari, B.K. 2010. Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. *Trends Food Sci. Technol.* 21: 3-11.
- Pedrielli, P., Pedulli, G. F. and Skibsted, L. H. 2001. Antioxidant mechanism of flavonoids. Solvent effect on rate constant for chain-breaking reaction of quercetin and epicatechin in autoxidation of methyl linoleate. *J. Agric. Food Chem.* 49: 3034-3040.
- Pérez-Jiménez, J. and Saura-Calixto, F. 2006. Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. *Food Res. Int.* 39: 791-800.
- Phillips, G.O. and Williams, P. A. 2000. *Handbook of hydrocolloids*. CRC Press. Cambridge. England.
- Prior, R. L., Wu, X. and Schaich, K. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in food and dietary supplements. *J. Agric. Food Chem.* 53: 4290-4302.
- Ralet, M. C., Bonnin, E. and Thibault, J. F. 2005. Pectins. *In Polysaccharides and polyamides in the food industry: preterites, production, and patents (Volume I)*. (Steinbüchel, A. and Rhee, S. K., eds). p. 351-386. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. Weinheim.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Bio. Med.* 26: 1231-1237.

- Rein, M. 2005. Copigmentation reaction and color stability of berry anthocyanins. Helsinki. University of Helsinki.
- Robertson, G. L. 2006. Food packaging principle and practice. CRC Press Taylor & Francis Group. New York.
- Rockenbach, I. I., Rodrigues, E., Gonzaga, L. V., Caliani, V., Genovese, M. I., Gonçalves, A. E. S. S. and Fett, R. 2011. Phenolic compounds content and antioxidant activity in pomace from selected red grapes (*Vitis vinifera* L. and *Vitis labrusca* L.) widely produced in Brazil. Food Chem. 127: 174-179.
- Rufino, M. S. M., Alves, R. E., Brito, E. S., Pérez-Jiménez, J., Saura-Calixto, F. and Mancini-Filho, J. 2010. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. Food Chem. 121: 996-1002.
- Saencom, S., Chiewchan, N. and Devahastin, S. 2010. Production of dried ivy gourd sheet as a health snack. Food Bioprod Process. xxx: xxx-xxx (Article in press).
- Sáenz, C., Sepúlveda, E. and Matsuhiro, B. 2004. Opuntia spp mucilage's: a functional component with industrial perspectives. J. Arid Environ. 57: 275-290.
- Sagar, V. R. and Kumar, P. S. 2007. Processing of guava in the form of dehydrated slices and leather. Acta Hort. 735: 579-589.
- Sagar, V. R. and Suresh, K. P. 2010. Recent advances in drying and dehydration of fruits and vegetables: A review. J. Food Sci. Technol. 47(1): 15-26.
- Sáyago-Ayerdi, S. G., Arranz, S., Serrano, J. and Goni, I. 2007. Dietary fiber content and associated antioxidant compounds in roselle flower (*Hibiscus sabdariffa* L.) beverage. J. Agric. Food Chem. 55: 7886-7890.
- Schneeman, B. O., 1986. Dietary fiber: Physical and chemical properties, method of analysis, and physiological effects. Food Technol. 40(2): 104-110.
- Schneeman, B. O. 1989. Dietary fiber. Food Technol. 42(10): 133-139.

- Sinelli, N., Spinardi, A., Egidio, V. D., Mignani, I. and Casiraghi, E. 2008. Evaluation of quality and nutraceutical content of blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.) by near and mid-infrared spectroscopy. *Postharvest Biol. Tec.* 50: 31-36.
- Skrede, G. and Wrolstad, R. E. 2002. Flavonoids from berries and grapes. *In* Functional foods: biochemical and processing aspects (Volume II). (Shi, J. and Mazza, G., eds). p. 72-123. CRC Press. New York.
- Starr, M. S. and Francis, F. J. 1968. Oxygen and ascorbic acid effect on the relative stability of four anthocyanin pigments in cranberry juice. *Food Technol.* 22: 91-93.
- Stintzing, F. C. and Carle, R. 2004. Functional properties of anthocyanin and betalains in plants, food and in human nutrition. *Trends Food Sci. Technol.* 15: 19-38.
- Stratil, P., Klejdus, B. and Kuban, V. 2006. Determination of total content of phenolic compounds and their antioxidant activity in vegetables-evaluation of spectrophotometric methods. *J. Agric. Food Chem.* 54: 607-616.
- Sukhapat, N., Ungphaboon, S., Itharat, A., Puripattanavong, J. and Pinsuwan, S. 2004. Influence of pH on antioxidant activity of roselle (*Hibiscus sabdariffa*) extract in aqueous solutions. *In* Proceeding of the 10th world congress on clinical nutrition. Phuket Thailand. 30 November-3 December 2004. p. 184.
- Surveswaran, S., Cai, Y. Z., Corke, H. and Sun, M. 2007. Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants. *Food Chem.* 102: 938-953.
- Tonon, R. V., Brabet, C. and Hubinger, M. D. 2010. Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray-dried açai (*Euterpe oleracea* Mart.) juice produced with different carrier agents. *Food Res Int.* 43: 907-914.
- Tsai, P. J. and Huang, H. P. 2004. Effect of polymerization on the antioxidant capacity of anthocyanins in roselle. *Food Res Int.* 37: 313-318.

- Tsai, P. J., Hsieh, Y. Y. and Huang, T. C. 2004. Effect of sugar on anthocyanin degradation and water mobility in a roselle anthocyanin model system using ^{17}O NMR. *J. Agric. Food Chem.* 52: 3097-3099.
- Tsai, P. J. McIntosh, J., Pearce, P., Camden, B. and Jordan, B. R. 2002. Anthocyanin and antioxidant capacity in roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extract. *Food Res Int.* 35: 351-356.
- Tsuchikawa, S. 2007. Sampling techniques. *In* Near-infrared spectroscopy in food science and technology. (Ozaki, Y., McClure, W. F. and Christy, A. A., eds). p. 133-143. John Wiley & Sons, Inc. New Jersey.
- USFDA. 2001a. Aerobic plate count. *In* Bacteriological analytical manual (Online). Available <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-3.html> (12 October 2008)
- USFDA. 2001b. Yeasts, Molds and Mycotoxins. *In* Bacteriological analytical manual (Online). Available <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-18.html> (12 October 2008)
- USFDA. 2001c. *Staphylococcus aureus*. *In* Bacteriological analytical manual (Online). Available <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-12.html> (12 October 2008)
- USFDA. 2002. Enumeration of *Escherichia coli* and the coliform bacteria. *In* Bacteriological analytical manual (Online). Available <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-4.html> (12 October 2008)
- Vatthanakul, S., Jangchud, A., Jangchud, K., Therdtai, N. and Wilkinson, B. 2010. Gold kiwifruit leather product development using quality function deployment approach. *Food Qual Prefer.* 21: 339-345.
- Von Elbe, J. H. and Schwartz, S. J. 1996. Colorants. *In* Food chemistry. (Fennema, O. R., ed). p. 651-722. Marcel Dekker. New York.
- Wang, X., Tong, H., Chen, F. and Gangemi, J. D. 2010. Chemical characterization and antioxidant evaluation of muscadine grape pomace extract. *Food Chem.* 123: 1156-1162.

- Whistler, R. L. and Daniel, J. R. 1985. Carbohydrates. *In* Food chemistry. (Fennema, O. R., ed). p. 69-137. Marcel Dekker Inc. New York.
- Wong, P. K., Yusof, S., Ghazali, H. M. and Man, Y. B. C. 2002. Physico-chemical characteristics of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). *J. Nutr Food Sci.* 32: 68-73.
- Wrolstad, R. E. 1976. Color and pigment analysis in fruit products. Oregon Agric. United States of America.
- Wrolstad, R. E. 2000. Anthocyanins. *In* Natural food colorants. (Francis, F.J. and Lauro. G.J., eds). p. 238-249. Marcel Dekker. New York.
- Wrolstad, R. E., Durst, R.W. and Lee, J. 2005. Tracking color and pigment changes in anthocyanin products. *Trends Food Sci. Technol.* 16: 423-428.
- Yamasaki, K., Hashimoto, A., Kokusenya, Y., Miyamoto, T. and Sato, T. 1994. Electrochemical method for estimating the antioxidative effects of methanol extracts of crude drugs. *Chem. Pharm. Bull.* 42: 1663-1665.
- Yanishlieva-Maslarova, N. V. 2001. Inhibiting oxidation. *In* Antioxidant in food: practical applications. (Pokorny, J., Yanishlieva, N. and Gordon, M., eds). p. 22-70. CRC Press. New York.
- Yeom, H. W., Streaker, C. B., Zhang, H. and Min, D. B. 2000. Effects of pulsed electric fields on the quality of orange juice and comparison with heat pasteurization. *J. Agric. Food Chem.* 48: 4597-4605.
- Zheng, J., Li, H., Ding, C., Suo, Y., Wang, L. and Wang, H. 2010. Anthocyanins composition and antioxidant activity of two major wild *Nitraria tangutorun* Bobr. variations from Qinghai-Tibet Plateau. *Food Res Int.* xxx: xxx-xxx (Article in press).

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ คุณภาพทางเคมี สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ และ คุณภาพทางจุลินทรีย์

ภาคผนวก ก-1 การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

1. การวัดค่าสี

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องวัดค่าสี
2. Sample cup

วิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่าง
 - 1.1 กระจับแดงสด ทำการแยกเมล็ดออกจะได้กลีบกระจับแดงสด
 - 1.2 กากกระจับแดง นำกากกระจับแดงที่บรรจุในกระป๋องพลาสติกโพลีเอทิลีนที่เก็บที่อุณหภูมิ -20.0 องศาเซลเซียส มาตั้งทิ้งไว้ให้ละลายแล้วนำกากกระจับแดงดังกล่าวมาวัดค่าสี
 - 1.3 ผลิตภัณฑ์กระจับแดงแผ่น ตัดผลิตภัณฑ์กระจับแดงแผ่นให้มีขนาด 2.5×2.5 เซนติเมตร
2. การวิเคราะห์
 - 2.1 เปิดเครื่อง UPS และเปิดคอมพิวเตอร์ (Warm up เครื่องวัดค่าสี 15 นาที)
 - 2.2 เลือกโปรแกรม Hunter Lab ($L^* a^* b^*$) โดยเลือก Universal V 3.73
 - 2.3 เปิด Master data และเลือก Active view
 - 2.4 เลือก CIE LAB โดยใช้แหล่งกำเนิดแสงแบบ D65 และองศาการมองแบบ 10°
 - 2.5 ปรับมาตรฐานสีโดยใช้แผ่นมาตรฐานสีค่า และสีขาว ตามลำดับ
 - 2.6 สำหรับตัวอย่างกระจับแดงสดและผลิตภัณฑ์กระจับแดงแผ่นให้วางตัวอย่างดังกล่าวบนตำแหน่งที่วัดค่าสี สำหรับตัวอย่างกากกระจับแดงให้เทตัวอย่างดังกล่าวลงใน Sample cup แล้ววาง Sample cup บนตำแหน่งที่วัดค่าสี
 - 2.7 ใช้ฝาครอบปิดตัวอย่างเพื่อไม่ให้มีแสงรบกวนจากภายนอก
 - 2.8 กด Read sample อ่านค่าที่ได้เป็น $L^* a^* b^*$ และบันทึกค่าสีที่อ่านได้
เมื่อ L^* คือ ค่าความสว่างของตัวอย่างมีค่าจาก 0 คือ สีดำ ถึง 100 คือ สีขาว
 a^* คือ ค่าที่บ่งบอกความเป็นสีแดงและความเป็นสีเขียวของตัวอย่าง โดยค่า $+a^*$ แสดงความเป็นสีแดง ค่า $-a^*$ แสดงความเป็นสีเขียว
 b^* คือ ค่าที่บ่งบอกความเป็นสีเหลืองและความเป็นสีน้ำเงินของตัวอย่าง โดยค่า $+b^*$ แสดงความเป็นสีเหลือง ค่า $-b^*$ แสดงความเป็นสีน้ำเงิน

2. การวัดค่า Tensile force

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่อง Instron instrument
2. หัวหนีบชนิด Roller self tightening grips

วิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่าง ตัดผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นให้เป็นรูปคัมเบลโดยมีความกว้าง 2.5 เซนติเมตร ความยาว 11.0 เซนติเมตร และในส่วนตรงกลางของตัวอย่างมีความกว้าง 1.0 เซนติเมตร

2. การวิเคราะห์

2.1 เปิดเครื่อง Instron instrument และตั้งค่าเครื่องดังกล่าวเพื่อวัดค่า Tensile force ดังนี้

Instrument	Instron instrument
Load cell	100 N
Speed	20 mm/min

2.2 วัดค่า Tensile force ของแต่ละตัวอย่างโดยทำการวัดค่าตัวอย่างละ 6 ซ้ำ อ่านค่าและบันทึกค่าดังกล่าว

3. การวัดค่า Cutting force

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่อง Texture analyzer
2. ใบมีดชนิด Knife blade (ความหนาของใบมีด เท่ากับ 3.0 มิลลิเมตร)

วิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่าง ตัดผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นให้มีขนาด 2.5×2.5 เซนติเมตร

2. การวิเคราะห์

2.1 เปิดเครื่อง Texture analyzer และตั้งค่าเครื่องดังกล่าวเพื่อวัดค่า Cutting force ดังนี้

Instrument	Texture analyzer
Mode	Measure Force in Compression
Pre test speed	2.0 mm/s
Test speed	2.0 mm/s
Post test speed	10.0 mm/s
Distance	20.0 mm

Instrument	Texture analyzer
Time	3.0 s
Trigger type	Auto 25 g

2.2 วัดค่า Cutting force ของแต่ละตัวอย่างโดยทำการวัดค่าตัวอย่างละ 6 ซ้ำ อ่านค่าและบันทึกค่าดังกล่าว

4. การวัดค่าออเตอร์แอคทีวิตี ($a_{,,}$)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

เครื่องวัดค่าออเตอร์แอคทีวิตี

วิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่าง สับผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นให้มีขนาดเล็กจากนั้นบรรจุตัวอย่างที่สับละเอียดแล้วลงในตลับพลาสติกโดยบรรจุไม่ให้เกินระดับที่กำหนดของตลับ

2. การวิเคราะห์

2.1 ก่อนใช้เครื่องวัดค่าออเตอร์แอคทีวิตีให้ปรับค่ามาตรฐานในการวัดด้วยสารละลายเกลือมาตรฐาน

2.2 นำตลับตัวอย่างใส่ใน Chamber ของเครื่องวัด ตั้งทิ้งไว้จนสภาพภายใน Chamber สมดุลที่อุณหภูมิที่กำหนดไว้แล้วอ่านค่า $a_{,,}$ พร้อมทั้งบันทึกค่าดังกล่าว

ภาคผนวก ก-2 การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

1. การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (A.O.A.C., 2000)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. ตู้อบสุญญากาศ
2. ภาชนะสำหรับหาความชื้น
3. โถดูดความชื้น
4. เครื่องชั่งไฟฟ้า

วิธีการ

1. อบภาชนะสำหรับหาความชื้นในตู้อบที่อุณหภูมิ 105.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วนำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็นกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก

2. ทำซ้ำเช่นเดียวกับข้อ 1 จนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

3. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างประมาณ 1-2 กรัม ใส่งในภาชนะสำหรับหาความชื้น (ที่ทราบน้ำหนักแน่นอน) นำไปอบในตู้อบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 70.0 องศาเซลเซียส ความดัน 50.0 เซนติเมตรปรอท เป็นเวลา 5 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบสุญญากาศใส่ในโถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิของภาชนะลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก
4. อบซ้ำเช่นเดิมจนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม
5. คำนวณปริมาณความชื้นจากสูตร

$$\text{ปริมาณความชื้น (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ}} \times 100$$

2. การวัดค่าพีเอช (A.O.A.C., 2000)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องวัดค่าพีเอช
2. บีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร

วิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี (คัดแปลงจาก Kirca *et al.*, 2007b)
 - 1.1 กระเจียบแดงสด

หั่นกระเจียบแดงสดให้เป็นชิ้นขนาดเล็ก ชั่งน้ำหนักกระเจียบแดงสด 3 กรัม ใส่งในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร และตั้งทิ้งไว้ในที่มีดที่อุณหภูมิ 4.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที นำตัวอย่างมาโฮโมจีไนส์ด้วยความเร็วรอบ 7,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที เทตัวอย่างลงในขวดสำหรับเซนตริฟิวส์ และกลั่นตัวอย่างที่ติดบีกเกอร์ด้วยน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร พร้อมทั้งเทลงในขวดสำหรับเซนตริฟิวส์ที่มีตัวอย่าง เขย่าเป็นเวลา 2 นาที จากนั้นนำมาเซนตริฟิวส์ที่อุณหภูมิ 4.0 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 8,000 rpm เป็นเวลา 20 นาที และนำส่วนใสของตัวอย่างที่ได้หลังการเซนตริฟิวส์มาวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

 - 1.2 กากกระเจียบแดง เช่นเดียวกับการเตรียมตัวอย่างกระเจียบแดงสด
 - 1.3 ผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่น เช่นเดียวกับการเตรียมตัวอย่างกระเจียบแดงสด
2. การวิเคราะห์
 - 2.1 ก่อนใช้เครื่องวัดค่าพีเอชให้ปรับค่ามาตรฐานในการวัดด้วยสารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐานที่มีค่าพีเอช เท่ากับ 4.0 7.0 และ 10.0
 - 2.2 จุ่มหัววัดพีเอชลงในตัวอย่าง อ่านค่าพีเอช พร้อมทั้งบันทึกค่าดังกล่าว

3. การวัดค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (A.O.A.C., 2000)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

เครื่อง Abbe-refractometer

วิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่าง
 - 1.1 กระจกเงาใส เช่นเดียวกับการเตรียมตัวอย่างในข้อ 2
 - 1.2 ภาชนะกระจกใส เช่นเดียวกับการเตรียมตัวอย่างในข้อ 2
 - 1.3 ผลิตภัณฑ์กระจกเงาใส เช่นเดียวกับการเตรียมตัวอย่างในข้อ 2
2. การวิเคราะห์
 - 2.1 ก่อนใช้เครื่อง Abbe-refractometer ให้ปรับความเที่ยงตรงของเครื่องด้วยน้ำกลั่น (อ่านค่าได้เท่ากับ 0 องศาเซลเซียส)
 - 2.2 หยดตัวอย่าง 1-2 หยด เลื่อนปุ่มโดยให้ส่วนบนของแถบสีฟ้าอยู่ในตำแหน่งกึ่งกลางของภาพ อ่านปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด พร้อมทั้งบันทึกค่าดังกล่าว

4. การวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดมาลิก (A.O.A.C., 2000)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. บิวเรต
2. เครื่องวัดค่าพีเอช
3. แท่งแม่เหล็ก (Magnetic stirrer)
4. บีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร
5. ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร

สารเคมี

1. สารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 0.1 นอร์มอล
2. ฟีนอล์ฟทาเลิน (Phenolphthalein)
3. โพแทสเซียมแอสซิเตท (KHC₈H₄O₄)

การหาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายมาตรฐาน NaOH

1. นำโพแทสเซียมแอสซิเตทใส่กระบอกจิก้า อบที่อุณหภูมิ 110.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น
2. ชั่งน้ำหนักโพแทสเซียมแอสซิเตท 0.8 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร
3. เติมน้ำกลั่นต้ม 25 มิลลิลิตร

4. ไตเตรทด้วย 0.1 N NaOH โดยใช้ฟีนอล์ฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์ (ทำ 3 ซ้ำ)
5. อ่านปริมาตร 0.1 N NaOH ที่ใช้ในการไตเตรท บันทึกค่า และคำนวณความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายมาตรฐาน NaOH จากสูตร

$$\text{ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน NaOH} = \frac{\text{น้ำหนักโพแทสเซียมแอซิดพาทาเลท (กรัม)}}{\text{(นอร์มอล) ปริมาตรสารละลายมาตรฐาน NaOH ที่ใช้ (มล.)} \times 0.2042}$$

หมายเหตุ: สมมูลของโพแทสเซียมแอซิดพาทาเลท = 204.216

วิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่าง
 - 1.1 กระจับแดงสด เช่นเดียวกับการเตรียมตัวอย่างในข้อ 2
 - 1.2 กากกระจับแดง เช่นเดียวกับการเตรียมตัวอย่างในข้อ 2
2. การวิเคราะห์
 - 2.1 ปิเปตตัวอย่าง 5.0 มิลลิลิตร ใส่ลงในบีกเกอร์ และเติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร
 - 2.2 ใส่แท่งแม่เหล็กและวางบีกเกอร์ตัวอย่างบน Stirrer พร้อมทั้งจุ่มหัววัดพีเอชของเครื่องวัดค่าพีเอชลงในบีกเกอร์ตัวอย่าง
 - 2.3 หยดฟีนอล์ฟทาลีน 2-3 หยด เป็นอินดิเคเตอร์
 - 2.4 ไตเตรทด้วย 0.1 N NaOH จนกระทั่งค่าพีเอชเท่ากับ 8.1
 - 2.5 อ่านปริมาตร 0.1 N NaOH ที่ใช้ในการไตเตรท บันทึกค่า และคำนวณปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดมาลิกจากสูตร

$$\text{ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดมาลิก (\%)} = \frac{(N) (V) (Mw)}{(X) (1000)} \times 100$$

เมื่อ N คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน NaOH (mEq/ml)

V คือ ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน NaOH (ml)

Mw คือ น้ำหนักโมเลกุลของกรดมาลิก (Eq. Wt. of malic acid, mg/Eq) = 67.05

X คือ ปริมาตรตัวอย่าง (ml)

5. การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในรูปไซยานิดิน 3-กลูโคไซด์ (Wrolstad, 1976)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่อง UV-Visible spectrophotometer
2. เครื่องเซนตริฟิวส์

สารเคมี

1. สารละลาย KCl (Potassium chloride buffer) ความเข้มข้น 0.025 M ค่าพีเอช 1.0
2. สารละลาย $\text{CH}_3\text{COONa}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (Sodium acetate buffer) ความเข้มข้น 0.4 M ค่าพีเอช 4.5
3. กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (ความเข้มข้น 37 %)

การเตรียมบัฟเฟอร์

1. สารละลาย KCl (Potassium chloride buffer) ความเข้มข้น 0.025 M ค่าพีเอช 1.0
ชั่ง KCl 1.86 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น 980 มิลลิลิตร ปรับค่าพีเอชด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น จนกระทั่งค่าพีเอช เท่ากับ 1.0 แล้วปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น
2. สารละลาย $\text{CH}_3\text{COONa}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (Sodium acetate buffer) ความเข้มข้น 0.4 M ค่าพีเอช 4.5
ชั่ง $\text{CH}_3\text{COONa}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 54.43 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น 960 มิลลิลิตร ปรับค่าพีเอชด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นจนกระทั่งค่าพีเอช เท่ากับ 4.5 แล้วปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

วิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่าง
 - 1.1 กระจายแดงสด เช่นเดียวกับการเตรียมตัวอย่างในข้อ 2
 - 1.2 ทากกระจายแดง เช่นเดียวกับการเตรียมตัวอย่างในข้อ 2
 - 1.3 ผลิตภัณฑ์กระจายแดงแผ่น เช่นเดียวกับการเตรียมตัวอย่างในข้อ 2
2. การวิเคราะห์
 - 2.1 นำส่วนใสของตัวอย่าง 100 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย KCl (ค่าพีเอช 1.0) 2,900 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 15 นาที
 - 2.2 นำส่วนใสของตัวอย่าง 100 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย $\text{CH}_3\text{CONa}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (ค่าพีเอช 4.5) 2,900 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 15 นาที
 - 2.3 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ค่าพีเอช 2 ระดับ คือ ค่าพีเอช 1.0 และ 4.5 โดยวัดการดูดกลืนแสง (A) ที่ความยาวคลื่น 520 และ 700 นาโนเมตร

3. การคำนวณ

คำนวณปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดจากสูตร

$$\text{การดูดกลืนแสง (A)} = [(A_{520} - A_{700})_{pH_{1.0}} - (A_{520} - A_{700})_{pH_{4.5}}]$$

$$\text{ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด (มิลลิกรัมต่อลิตร)} = \frac{(A \times Mw \times DF \times 1000)}{\epsilon \times l}$$

เมื่อ Molecular weight (Mw) ของไซยานิดิน 3-กลูโคไซด์ = 449.2 g/mol

$$\text{Molar extinction coefficient } (\epsilon) = 26,900 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$$

$$\text{Dilution factor (DF)} = \frac{\text{ปริมาตรรวมสุดท้าย (มิลลิลิตร)}}{\text{ปริมาตรตัวอย่างที่ใช้ (มิลลิลิตร)}} = 30$$

6. การวิเคราะห์ปริมาณกรดแอสคอร์บิกด้วยวิธี Microfluorometric method (A.O.A.C., 2000)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่อง Spectrofluorophotometer
2. เครื่อง Vortex mixer
3. ปิเปตขนาด 2.5 และ 10 มิลลิลิตร
4. ขวดรูปชมพู่ขนาด 125 และ 250 มิลลิลิตร
5. ขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร
6. Glass filter funnel 15-20 เซนติเมตร
7. กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 42
8. หลอดทดลองฝาเกลียว
9. อะลูมิเนียมฟอล์ย

สารเคมี

1. Meta-phosphoric acid (40-44% (HPO₃), 56-60% (NaPO₃))
2. 1,2 Phenylenediamine dihydrochloride (> 99%)
3. Sodium acetate trihydrate, NaOAc•3H₂O (> 99.5%)
4. Boric acid, crystalline, H₃BO₃
5. Charcoal activated decolourising PDR (ผงถ่าน)
6. Acetic acid 100% (อย่างน้อย 99.8%)
7. Ascorbic acid standard

วิธีการ

1. การเตรียมสารละลาย

1.1 สารละลาย A (Metaphosphoric acid, 3 % W/V) โดยชั่ง *Meta*-phosphoric acid 30 กรัม ละลายน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร เติมกรดอะซิติก 80 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น (เก็บรักษาได้ 10 วัน ที่อุณหภูมิ 4.0 องศาเซลเซียส)

1.2 สารละลาย B (Sodium acetate solution) โดยชั่ง Sodium acetate trihydrate 500 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น (เก็บรักษาได้ 1 เดือน ที่อุณหภูมิ 4.0 องศาเซลเซียส)

1.3 สารละลาย C (Boric acid-Sodium acetate solution) โดยชั่ง Boric acid 3 กรัม ละลายด้วยสารละลาย B 100 มิลลิลิตร (เตรียมใหม่ทุกครั้งที่ใช้งาน)

1.4 สารละลาย D (*O*-Phenylenediamine solution) โดยชั่ง *O*-phenylenediamine 40 มิลลิกรัม (0.04 กรัม) ละลายด้วยน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร (เตรียมทันทีก่อนใช้งาน)

1.5 สารละลาย E (Ascorbic acid standard) โดยชั่งกรดแอสคอร์บิก 100 มิลลิกรัม (0.1 กรัม) ละลายด้วยสารละลาย A และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยสารละลาย A (เตรียมใหม่ทุกครั้งที่ใช้งาน)

2. การวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก

2.1 ปิเปตสารละลาย E จำนวน 0.2, 0.5, 1.5 และ 3.0 มิลลิลิตร ใส่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยสารละลาย A (ความเข้มข้นสุดท้าย เท่ากับ 2, 5, 15 และ 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

2.2 นำสารละลายมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีผนังถ่าน 1-2 กรัม หมุนขวดรูปชมพู่แรง ๆ 2 นาที

2.3 กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 42 ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร ได้เป็นสารละลายใส

2.4 ปิเปตสารละลายมาตรฐานส่วนใสที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ความเข้มข้นละ 5 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร เติมสารละลาย B จำนวน 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น (เขย่าบ้างเป็นครั้งคราว) ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 15 นาที

2.5 ปิเปตสารละลายมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ใส่ในหลอดทดลอง ความเข้มข้นละ 3 หลอด หลอดละ 2 มิลลิลิตร เติมสารละลาย D ลงในหลอดทดลอง หลอดละ 5 มิลลิลิตร เขย่าด้วย Vortex mixer ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 35 นาที (เริ่มจับเวลาตั้งแต่เริ่มเขย่าหลอดทดลองครั้งแรก)

2.6 เปิดเครื่อง Spectrofluorophotometer ทิ้งไว้ 15 นาที (Warm up) ใช้ค่า Excitation wavelength (Ex) เท่ากับ 350 นาโนเมตร และค่า Emission wavelength (Em) เท่ากับ 430 นาโนเมตร และบันทึกค่า Fluorescence intensity

3. การทำ Blank ของสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก

3.1 ปิเปิดสารละลายมาตรฐานส่วนใสที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ความเข้มข้นละ 5 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร เติมสารละลาย C จำนวน 5 มิลลิลิตร (เขย่าบ้างเป็นครั้งคราว) ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 15 นาที

3.2 ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นและเขย่า

3.3 ปิเปิด Blank ของสารละลายมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นใส่ในหลอดทดลอง 3 หลอด หลอดละ 2 มิลลิลิตร เติมสารละลาย D ลงในหลอดทดลอง หลอดละ 5 มิลลิลิตร เขย่าด้วย Vortex mixer ตั้งทิ้งไว้ในที่มีด 35 นาที (เริ่มจับเวลาตั้งแต่เริ่มเขย่าหลอดทดลองครั้งแรก)

3.4 วัดค่า Fluorescence intensity ด้วยเครื่อง Spectrofluorophotometer โดยใช้ค่า Ex เท่ากับ 350 นาโนเมตร ค่า Em เท่ากับ 430 นาโนเมตร และบันทึกค่า Fluorescence intensity ที่อ่านได้

4. การวิเคราะห์ตัวอย่าง

4.1 หั่นตัวอย่างให้เป็นชิ้นขนาดเล็ก และชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 20 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร

4.2 สกัดตัวอย่างด้วยสารละลาย A 50 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ในที่มีด (4.0 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำมาโฮโมจีไนส์ด้วยความเร็วรอบ 7,000 rpm เป็นเวลา 3 นาที แล้วเทใส่ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร

4.3 ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยสารละลาย A และเขย่าเป็นเวลา 15 นาที

4.4 นำไปเซนตริฟิวส์ที่อุณหภูมิ 4.0 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 8,000 rpm เป็นเวลา 20 นาที เทส่วนใสของตัวอย่างที่ได้หลังการเซนตริฟิวส์ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีผงถ่าน 1-2 กรัม หมุนขวดรูปชมพู่แรง ๆ 2 นาที และกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 42 จะได้สารละลายตัวอย่างใส

4.5 ปิเปิดสารละลายตัวอย่างส่วนใสจำนวน 5 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร เติมสารละลาย B จำนวน 5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น เขย่าและตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 15 นาที

4.6 ปิเปิดตัวอย่างใส่ในหลอดทดลอง 3 หลอด หลอดละ 2 มิลลิลิตร เติมสารละลาย D ลงในหลอดทดลอง หลอดละ 5 มิลลิลิตร เขย่าด้วย Vortex mixer จากนั้นตั้งทิ้งไว้ในที่มีด 35 นาที (เริ่มจับเวลาตั้งแต่เริ่มเขย่าหลอดทดลองครั้งแรก)

4.7 วัดค่า Fluorescence intensity ด้วยเครื่อง Spectrofluorophotometer โดยใช้ค่า Ex เท่ากับ 350 นาโนเมตร ค่า Em เท่ากับ 430 นาโนเมตร และบันทึกค่า Fluorescence intensity ที่อ่านได้

5. การทำ Blank ของตัวอย่าง

5.1 ปิเปตสารละลายตัวอย่างส่วนใสจำนวน 5 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจำนวน 5 มิลลิลิตร (เขย่าบ้างเป็นครั้งคราว) ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 15 นาที

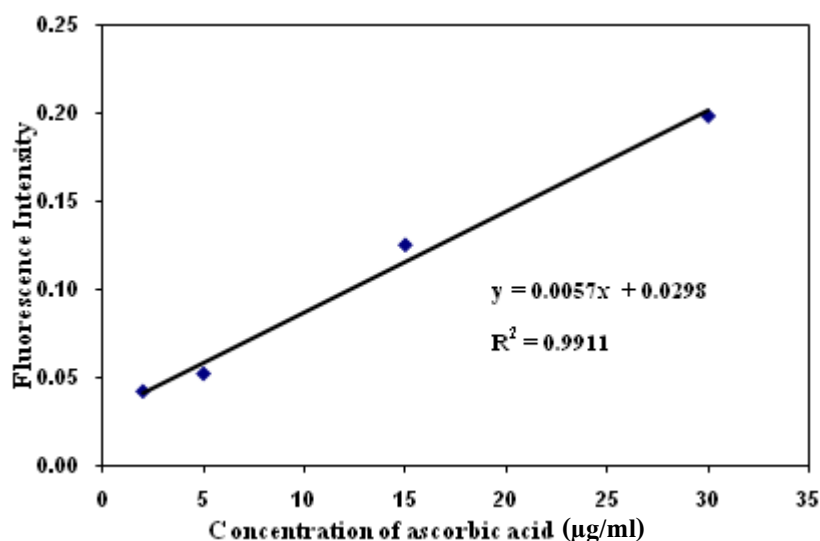
5.2 ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นและเขย่า

5.3 ปิเปต Blank ของตัวอย่างใส่ในหลอดทดลอง 3 หลอด หลอดละ 2 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นลงในหลอดทดลอง หลอดละ 5 มิลลิลิตร เขย่าด้วย Vortex mixer ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 35 นาที (เริ่มจับเวลาตั้งแต่เริ่มเขย่าหลอดทดลองครั้งแรก)

5.4 วัดค่า Fluorescence intensity ด้วยเครื่อง Spectrofluorophotometer โดยใช้ค่า Ex เท่ากับ 350 นาโนเมตร ค่า Em เท่ากับ 430 นาโนเมตร และบันทึกค่า Fluorescence intensity ที่อ่านได้

6. การคำนวณ

6.1 ทำกราฟมาตรฐานของกรดแอสคอร์บิก



Appendix Figure 1 The standard curve of ascorbic acid

6.2 คำนวณปริมาณกรดแอสคอร์บิกในตัวอย่าง ดังนี้

กราฟมาตรฐานของกรดแอสคอร์บิก $Y = 0.0057X + 0.0298$

จากกราฟมาตรฐานของกรดแอสคอร์บิกค่าที่อ่านได้ = X ไมโครกรัม ใช้สารละลายตัวอย่าง 5 มิลลิลิตร ในการทำปฏิกิริยา

สารละลายตัวอย่าง 5 มิลลิลิตร มีปริมาณกรดแอสคอร์บิก = X ไมโครกรัม

สารละลายตัวอย่าง 100 มิลลิลิตร มีปริมาณกรดแอสคอร์บิก = $\frac{X \text{ ไมโครกรัม} \times 100 \text{ มิลลิลิตร}}{5 \text{ มิลลิลิตร}}$

สารละลายตัวอย่าง 100 มิลลิลิตร มาจากตัวอย่าง A กรัม (wb.) = B กรัม (db.)

ตัวอย่าง B กรัม (db.) มีปริมาณกรดแอสคอร์บิก = $\frac{X \text{ ไมโครกรัม} \times 100 \text{ มิลลิลิตร}}{5 \text{ มิลลิลิตร}}$

ตัวอย่าง 1 กรัม (db.) มีปริมาณกรดแอสคอร์บิก = $\frac{X \text{ ไมโครกรัม} \times 100 \text{ มิลลิลิตร}}{5 \text{ มิลลิลิตร}} \times \frac{1 \text{ กรัม}}{B \text{ กรัม}}$

ดังนั้นตัวอย่าง 1 กรัม (db.) มีปริมาณกรดแอสคอร์บิก = C ไมโครกรัมต่อกรัมตัวอย่าง

7. ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu method (Miliauskas *et al.*, 2004)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. ไมโครปิเปตขนาด 10-200 และ 20-1,000 ไมโครลิตร
2. หลอดหมุนเหวี่ยงขนาด 15 มิลลิลิตร (สำหรับเจือจางตัวอย่าง)
3. ไมโครเพลท (Microplate) ขนาด 96 หลุม
4. เครื่อง Microplate reader

สารเคมี

1. สารละลาย Folin-Ciocalteu phenol reagent
2. กรดแกลลิก (Gallic acid)
3. โซเดียมคาร์บอเนต แอนไฮไดรอส (Sodium carbonate anhydrous; Na_2CO_3)
4. เอทานอล (Absolute ethanol)

วิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่าง
 - 1.1 กระจายผงตัวอย่าง เช่นเดียวกับการเตรียมตัวอย่างในข้อ 2
 - 1.2 ทากกระจายตัวอย่าง เช่นเดียวกับการเตรียมตัวอย่างในข้อ 2
 - 1.3 ผลิตภัณฑ์กระจายตัวอย่าง เช่นเดียวกับการเตรียมตัวอย่างในข้อ 2
2. การเตรียมสารละลาย
 - 2.1 เตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 0.71 โมลาร์ โดยชั่งโซเดียมคาร์บอเนต 7.5 กรัม ละลายและปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

2.2 เตรียมสารละลาย Folin-Ciocalteu phenol reagent ความเข้มข้น 10 % โดยการปิเปต Folin-Ciocalteu phenol reagent 10 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

3. การเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก

เตรียมสารละลายกรดแกลลิกให้มีความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยการชั่งกรดแกลลิก 10 มิลลิกรัม (0.01 กรัม) ปรับปริมาตรด้วยเอทานอล 10 มิลลิลิตร จากนั้นเจือจางตัวอย่างให้มีความเข้มข้น 5, 10, 20, 40 และ 80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วย Absolute ethanol

4. การวิเคราะห์

4.1 ปิเปตตัวอย่าง 20 ไมโครลิตร ลงในหลุมของ Microplate

4.2 เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu phenol reagent 100 ไมโครลิตร และเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 80 ไมโครลิตร

4.3 Blank ของตัวอย่าง เตรียมโดยปิเปตน้ำกลั่น 20 ไมโครลิตร ลงในหลุม Microplate เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu phenol reagent 100 ไมโครลิตร และเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 80 ไมโครลิตร

4.4 ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที นำวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader

4.5 สร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิกโดยนำสารละลายกรดแกลลิกแต่ละความเข้มข้นทำการวิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 4.1-4.4

4.6 คำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างโดยเปรียบเทียบค่าที่ได้กับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก รายงานค่าในรูปมิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่าง (mg GAE/g sample)

ภาคผนวก ก-3 การวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

1. การวิเคราะห์สมบัติการจับอนุมูล DPPH[•] (DPPH[•] scavenging activity) (Yamasaki *et al.*, 1994)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. ไมโครปิเปตขนาด 10-200 และ 20-1000 ไมโครลิตร
2. หลอดหมุนเหวี่ยงขนาด 15 มิลลิลิตร (สำหรับเจือจางตัวอย่าง)
3. ไมโครเพลท (Microplate) ขนาด 96 หลุม
4. เครื่อง Microplate reader

สารเคมี

1. เอทานอล (Absolute ethanol)
2. DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)
3. BHT (Butylhydroxytoluene)

วิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่าง

- 1.1 กระจับแดงสด เช่นเดียวกับการเตรียมตัวอย่างในข้อ 2
- 1.2 กากกระจับแดง เช่นเดียวกับการเตรียมตัวอย่างในข้อ 2
- 1.3 ผลิตภัณฑ์กระจับแดงแผ่น เช่นเดียวกับการเตรียมตัวอย่างในข้อ 2

2. การเตรียมสารละลาย DPPH

เตรียมสารละลาย DPPH ให้มีความเข้มข้น 6×10^{-5} โมลาร์ โดยชั่ง DPPH 2.4 มิลลิกรัม (0.0024 กรัม) ละลายและปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยเอทานอล เก็บไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิ 4.0 องศาเซลเซียส สารละลายที่เตรียมแล้วเก็บได้ไม่เกิน 3 วัน

3. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน BHT

เตรียมสารละลาย BHT ให้มีความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยชั่ง BHT 10 มิลลิกรัม (0.01 กรัม) ละลายด้วยเอทานอล 10 มิลลิลิตร จากนั้นเจือจางสารละลาย BHT ให้มีความเข้มข้น เท่ากับ 5, 10, 20, 100 และ 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

4. การวิเคราะห์

4.1 ปิเปตสารละลายตัวอย่างของแต่ละความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 100 ไมโครลิตร ลงในหลุมของ Microplate เติมด้วยสารละลาย DPPH 100 ไมโครลิตร

4.2 Blank ของสารละลายตัวอย่าง เตรียมโดยปิเปตสารละลายตัวอย่างของแต่ละความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 100 ไมโครลิตร เติมด้วยน้ำกลั่น 100 ไมโครลิตร ลงในหลุม Microplate

4.3 Control เตรียมโดยปิเปตน้ำกลั่น 100 ไมโครลิตร เติมด้วยสารละลาย DPPH 100 ไมโครลิตร ลงในหลุม Microplate

4.4 Blank control เตรียมโดยปิเปตเอทานอล 100 ไมโครลิตร เติมด้วยน้ำกลั่น 100 ไมโครลิตร ลงในหลุม Microplate

4.5 ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที นำวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader

4.6 สำหรับสารละลายมาตรฐาน BHT ทำเช่นเดียวกับข้อ 4.1-4.5 โดยเปลี่ยนจากตัวอย่างเป็นสารละลายมาตรฐาน BHT ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

4.7 คำนวณค่า % Inhibition จากสูตร

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{(\text{OD}_{\text{control}} - \text{OD}_{\text{blank,control}}) - (\text{OD}_{\text{sample}} - \text{OD}_{\text{blank,sample}})}{(\text{OD}_{\text{control}} - \text{OD}_{\text{blank,control}})} \times 100$$

เมื่อ $\text{OD}_{\text{Control}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH 100 ไมโครลิตร กับน้ำกลั่น 100 ไมโครลิตร

$\text{OD}_{\text{Blank control}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของเอทานอล 100 ไมโครลิตร กับน้ำกลั่น 100 ไมโครลิตร

$\text{OD}_{\text{Sample}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่าง ๆ 100 ไมโครลิตร กับสารละลาย DPPH 100 ไมโครลิตร

$\text{OD}_{\text{Blank sample}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่าง ๆ 100 ไมโครลิตร กับน้ำกลั่น 100 ไมโครลิตร

4.8 นำค่า % Inhibition ที่ได้ไปคำนวณหาค่า EC_{50} (Efficient concentration) ซึ่งหมายถึง ความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่ไปลดปริมาณอนุมูล DPPH[•] ลง 50 % รายงานค่าในรูปไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ($\mu\text{g/ml}$)

2. การวิเคราะห์สมบัติการจับอนุมูล $\text{ABTS}^{\bullet+}$ ($\text{ABTS}^{\bullet+}$ scavenging activity) (Re *et al.*, 1999)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. ไมโครปิเปตขนาด 10-200 และ 20-1,000 ไมโครลิตร
2. หลอดหมุนเหวี่ยงขนาด 15 มิลลิลิตร (สำหรับเจือจางตัวอย่าง)
3. คิววาท
4. เครื่อง Spectrophotometer

สารเคมี

1. ABTS (2, 2'-azinobis [3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid])
2. โทรลอกซ์ (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid, Trolox)
3. โพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต (Potassium persulfate, $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$)
4. เอทานอล (Absolute ethanol)

วิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่าง
 - 1.1 กระจายแดงสด เช่นเดียวกับการเตรียมตัวอย่างในข้อ 2

1.2 กากกระเจี๊ยบแดง เช่นเดียวกับการเตรียมตัวอย่างในข้อ 2

1.3 ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น เช่นเดียวกับการเตรียมตัวอย่างในข้อ 2

2. การเตรียมสารละลายอนุมูล ABTS^{•+}

2.1 เตรียมสารละลาย ABTS ให้มีความเข้มข้น 7 มิลลิโมลาร์ โดยชั่ง ABTS จำนวน 0.0384 กรัม ละลายและปรับปริมาตรให้เป็น 10 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

2.2 เตรียมสารละลายโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟตให้มีความเข้มข้น 140 มิลลิโมลาร์ โดยชั่งโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟตจำนวน 0.9461 กรัม ละลายและปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

2.3 ผสมสารละลาย ABTS (ข้อ 2.1) จำนวน 5 มิลลิลิตร กับสารละลายโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต (ข้อ 2.2) จำนวน 88 ไมโครลิตร (ซึ่งทำให้สารละลายโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟตมีความเข้มข้นสุดท้ายประมาณ 2.45 มิลลิโมลาร์) ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดประมาณ 12-16 ชั่วโมงก่อนนำไปใช้งาน (สารละลายอนุมูล ABTS^{•+} เมื่อเตรียมแล้วสามารถเก็บได้เป็นระยะเวลาประมาณ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง)

2.4 เจือจางสารละลายอนุมูล ABTS^{•+} (ข้อ 2.3) ด้วยเอทานอลให้มีค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วง 0.70 ± 0.02 ที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร โดยผสมสารละลายอนุมูล ABTS^{•+} จำนวน 1 มิลลิลิตร กับเอทานอลจำนวน 89 มิลลิลิตร

3. การเตรียมสารละลายมาตรฐานของโทรลอกซ์

3.1 เตรียมสารละลายโทรลอกซ์ให้มีความเข้มข้น 2.0 มิลลิโมลาร์ โดยชั่งโทรลอกซ์จำนวน 0.0050 กรัม

3.2 ละลายและปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร ด้วยเอทานอล

3.3 เจือจางสารละลายให้มีความเข้มข้น 0.10, 0.25, 0.50, 1.00 และ 1.50 มิลลิโมลาร์

4. การวิเคราะห์

4.1 ปิเปตสารละลายตัวอย่างจำนวน 20 ไมโครลิตร ลงในคิวเวท เติมสารละลายอนุมูล ABTS^{•+} จำนวน 2 มิลลิลิตร และตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 6 นาที จึงวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร

4.2 Blank ของตัวอย่าง เตรียมโดยใช้น้ำกลั่นจำนวน 20 ไมโครลิตร เติมสารละลายอนุมูล ABTS^{•+} จำนวน 2 มิลลิลิตร และตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 6 นาที จึงวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร

4.3 สร้างกราฟมาตรฐานของโทรลอกซ์โดยนำสารละลายโทรลอกซ์แต่ละความเข้มข้นทำการวิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 4.1

4.4 Blank ของโทรลอกซ์ เตรียมโดยใช้เอทานอลจำนวน 20 ไมโครลิตร เติมสารละลายอนุมูล ABTS^{•+} จำนวน 2 มิลลิลิตร และตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 6 นาที จึงวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร

4.5 คำนวณสมบัติการจับอนุมูล ABTS^{•+} โดยเปรียบเทียบค่าที่ได้กับกราฟมาตรฐานของโทรลอกซ์ รายงานค่าในรูปไมโครโมลสมมูลย์โทรลอกซ์ต่อกรัมตัวอย่าง ($\mu\text{mol Trolox equivalents (TE)/g sample}$)

3. การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกไอออน (Ferric reducing antioxidant power, FRAP) (Benzie and Strain, 1996)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. ไมโครปิเปตขนาด 10-200 และ 20-1000 ไมโครลิตร
2. หลอดหมุนเหวี่ยงขนาด 15 มิลลิลิตร (สำหรับเจือจางตัวอย่าง)
3. คิวเวท
4. เครื่อง Spectrophotometer
5. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)

สารเคมี

1. โซเดียม อะซิเตรต ไตรไฮเดรต ($\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$)
2. กรดอะซิตรีกเข้มข้น
3. TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine)
4. กรดไฮโดรคลอริก
5. เฟอร์ริกคลอไรด์ เฮกซะไฮเดรต ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)
6. โทรลอกซ์ (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid, Trolox)
7. เอทานอล (Absolute ethanol)

วิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่าง
 - 1.1 กระจับแดงสด เช่นเดียวกับการเตรียมตัวอย่างในข้อ 2
 - 1.2 กากกระจับแดง เช่นเดียวกับการเตรียมตัวอย่างในข้อ 2
 - 1.3 ผลิตภัณฑ์กระจับแดงแผ่น เช่นเดียวกับการเตรียมตัวอย่างในข้อ 2

2. สารละลาย FRAP reagent
 - 2.1 สารละลายอะซิเตรต บัฟเฟอร์

เตรียมสารละลายอะซิเตรต บัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ (ค่าพีเอช 3.6) โดยชั่ง โซเดียม อะซิเตรต ไตรไฮเดรต 3.1 กรัม เติมกรดอะซิติกเข้มข้น 16 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น
 - 2.2 สารละลาย TPTZ

เตรียมสารละลาย TPTZ ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ โดยชั่ง TPTZ 0.031 กรัม ละลาย ด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ จำนวน 10 มิลลิลิตร
 - 2.3 สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ เฮกซะไฮเดรต

เตรียมสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ เฮกซะไฮเดรต ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ โดยชั่งเฟอร์ริก คลอไรด์ เฮกซะไฮเดรต 0.1350 กรัม ละลายและปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น
 - 2.4 สารละลาย FRAP reagent

โดยผสมสารละลายอะซิเตรต บัฟเฟอร์ (ข้อ 2.1) ปริมาตร 25 มิลลิลิตร กับสารละลาย TPTZ (ข้อ 2.2) ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ เฮกซะไฮเดรต (ข้อ 2.3) ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปอุ่นให้สารละลาย FRAP reagent มีอุณหภูมิประมาณ 37.0 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปใช้งาน
3. การเตรียมสารละลายมาตรฐานของโทรลอกซ์
 - 3.1 เตรียมสารละลายโทรลอกซ์ให้มีความเข้มข้น 2.0 มิลลิโมลาร์ โดยชั่งโทรลอกซ์ 0.0050 กรัม
 - 3.2 ละลายและปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร ด้วยเอทานอล
 - 3.3 เจือจางสารละลายให้มีความเข้มข้น 0.04, 0.08, 0.10, 0.25 และ 0.50 มิลลิโมลาร์
4. การวิเคราะห์
 - 4.1 ปิเปตน้ำกลั่น 180 ไมโครลิตร เติมสารละลายตัวอย่าง 60 ไมโครลิตร และเติมสารละลาย FRAP reagent 1,800 ไมโครลิตร ลงในคิวเวท (ระดับความเจือจางของตัวอย่าง เท่ากับ 1: 34) ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จึงวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร
 - 4.2 Blank ของตัวอย่าง เตรียมโดยใช้น้ำกลั่น 240 ไมโครลิตร และเติมสารละลาย FRAP reagent 1,800 ไมโครลิตร ลงในคิวเวท ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จึงวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร

4.3 สร้างกราฟมาตรฐานของโทรลอกซ์ โดยปิเปตน้ำกลั่น 180 ไมโครลิตร เติมสารละลายโทรลอกซ์แต่ละความเข้มข้น 60 ไมโครลิตร และเติมสารละลาย FRAP reagent 1,800 ไมโครลิตร ลงในคิวเวท ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 10 นาที จึงวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร

4.4 Blank ของโทรลอกซ์ เตรียมโดยใช้น้ำกลั่น 180 ไมโครลิตร เติมเอทานอล 60 ไมโครลิตร และเติมสารละลาย FRAP reagent 1,800 ไมโครลิตร ลงในคิวเวท ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 10 นาที จึงวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร

4.5 คำนวณความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกไอออน (FRAP) โดยเปรียบเทียบค่าที่ได้กับกราฟมาตรฐานของโทรลอกซ์ รายงานค่าในรูปแบบไมโครโมลสมมูลย์โทรลอกซ์ต่อกรัมตัวอย่าง ($\mu\text{mol Trolox equivalents (TE)/g sample}$)

ภาคผนวก ก-4 การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์

1. การวิเคราะห์ Coliform bacteria และ *Escherichia coli* (USFDA., 2002)

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Lauryl sulphate tryptose broth (LST)
2. Brilliant-green lactose bile broth (BGLB)
3. EC broth
4. Levine's eosin methylene blue agar (L-EMB agar)
5. Plate count agar (PCA)
6. Tryptone broth
7. MR-VP broth
8. Koser's citrate broth
9. สารละลายเปปโตน 0.1 %

สารเคมี

1. Kovac's reagent
2. 5 % α -naphthol
3. 40 % Potassiumhydroxide (40 % KOH)
4. Methyl red indicator

วิธีการ

การตรวจนับ Coliform bacteria และ *Escherichia coli* ประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ดังนี้

1. การตรวจนับขั้นแรก (Presumptive test)

1.1 ชั่งตัวอย่าง 25 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกทนร้อนปลอดเชื้อแล้วเติมสารละลายเปปโตน 0.1 % ปริมาตร 225 มิลลิลิตร นำไปตีปั่นด้วยเครื่อง Stomacher เป็นเวลา 2 นาที จะได้สารละลายตัวอย่างที่ระดับความเจือจาง 10^{-1}

1.2 เจือจางสารละลายตัวอย่างให้มีระดับความเจือจาง 10^{-2} ถึง 10^{-3}

1.3 ปิเปตสารละลายตัวอย่างจากแต่ละระดับความเจือจางมา 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดอาหาร LST พร้อมหลอดดักก๊าซ (Durham tube) ระดับความเจือจางละ 3 หลอด

1.4 บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

1.5 สังเกตการเกิดก๊าซในหลอดดักก๊าซแต่ละหลอดหลังจากบ่มเชื้อไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หากหลอดใดที่ไม่เกิดก๊าซให้บ่มเชื้อต่ออีก 24 ชั่วโมง ตรวจสอบผลเช่นเดียวกัน

1.6 บันทึกผลหลอดทดสอบทุกหลอดที่เกิดก๊าซในแต่ละระดับความเจือจาง อ่านค่าจากตาราง MPN รายงานผลเป็น Presumptive MPN of coliform bacteria ต่อกรัมตัวอย่าง

2. การตรวจนับขั้นยืนยัน (Confirm test)

2.1 ถ่ายเชื้อจากหลอดที่มีการสร้างก๊าซในขั้นแรกลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ BGLB

2.2 บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

2.3 สังเกตการเกิดก๊าซในหลอดดักก๊าซแต่ละหลอดหลังจากบ่มเชื้อไว้เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

2.4 บันทึกผลหลอดทดสอบทุกหลอดที่เกิดก๊าซในแต่ละระดับความเจือจาง อ่านค่าจากตาราง MPN รายงานผลเป็น Confirmed MPN of coliform bacteria ต่อกรัมตัวอย่าง

3. การตรวจนับขั้นสมบูรณ์ (Complete test) สำหรับ *Escherichia coli*

3.1 ถ่ายเชื้อจากหลอดที่มีการสร้างก๊าซในขั้นแรกลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ EC broth

3.2 บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 45.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

3.3 ถ่ายเชื้อจากหลอดอาหาร EC broth ที่มีการสร้างก๊าซ และทำการ Streak ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ L-EMB agar plate เพื่อให้ได้โคโลนีเดี่ยว ๆ

3.4 บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

3.5 ตรวจสอบโคโลนีที่สงสัยว่าเป็นเชื้อ *E. coli* โดยสังเกตโคโลนีที่มีลักษณะแบน มีจุดสีดำกลางโคโลนี อาจสร้างหรือไม่สร้าง Metallic sheen

3.6 ใช้ลูป (Loop) เขี่ยเชื้อจากโคโลนีที่สงสัยว่าเป็น *E. coli* จาก L-EMB agar plate ลงใน PCA slant

3.7 บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

3.8 หากมีเชื้อเจริญบน PCA slant จะต้องทำดังนี้

3.8.1 ใช้ลูปถ่ายเชื้อจากโคโลนีที่เจริญบน PCA slant มาตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาด้วยการย้อมสีแกรมโดยเชื้อที่สงสัยว่าเป็น *E. coli* จะเป็นแกรมลบ รูปท่อนสั้น (Short rod) หรือกลม (Cocci)

3.8.2 ใช้ลูปถ่ายเชื้อที่เจริญบน PCA slant มาลงในอาหารต่อไปนี้เพื่อจำแนกเชื้อจุลินทรีย์โดยการทดสอบทางชีวเคมี (IMViC Test)

4. การทดสอบทางชีวเคมีเพื่อจำแนกเชื้อ (IMViC Test)

4.1 การทดสอบ Indole production

ถ่ายเชื้อ 1 ลูป (ข้อ 3.8) ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptone broth และบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วทดสอบการสร้างอินโดลโดยเติม Kovac's reagent 0.2-0.3 มิลลิลิตร และหากเกิดสีแดงบริเวณชั้นบนของอาหารเลี้ยงเชื้อแสดงว่ามีการสร้างอินโดล

4.2 การทดสอบ Voges-Proskauer (VP)-reactive compounds

ถ่ายเชื้อ 1 ลูป (ข้อ 3.8) ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MR-VP broth และบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นเปิดอาหารเลี้ยงเชื้อ MR-VP broth ที่บ่มเชื้อครบ 48 ชั่วโมง มา 1 มิลลิลิตร ถ่ายลงในหลอดทดสอบขนาด 13×100 มิลลิเมตร แล้วเติม 5% α -naphthol ปริมาตร 0.6 มิลลิลิตร และ 40% KOH ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร เขย่าและทิ้งไว้เป็นเวลา 10-15 นาที จึงอ่านผล ถ้าเกิดสีชมพูจะให้ผลเป็นบวกแสดงว่าเชื้อมีการสร้าง Acetylmethylcarbinol (Acetoin) เป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายจากกระบวนการหมักกลูโคส (VP test)

4.3 การทดสอบ Methyl red-reactive compound

ภายหลังการทดสอบ VP test ให้บ่มหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ MR-VP broth ที่เหลือในหลอด (ข้อ 4.2) ที่อุณหภูมิ 35.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส ต่อไปจนครบเวลา 48 ชั่วโมง แล้วเติมสารละลาย Methyl red indicator 5 หยด เพื่อทดสอบว่าเชื้อมีการสร้างกรดเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายจากกระบวนการหมักกลูโคสหรือไม่ (MR test) ถ้าเกิดสีแดงจะให้ผลเป็นบวก และถ้าเกิดสีเหลืองจะให้ผลเป็นลบ

4.4 การทดสอบ Citrate utilization

ถ่ายเชื้อ 1 ลูป (ข้อ 3.8) ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Koser's citrate broth (ระวังไม่ให้อาหารขุ่น) และบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 96 ชั่วโมง ถ้าพบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อขุ่นแสดงว่ามีการใช้ Citrate ในอาหารเลี้ยงเชื้อจะให้ผลเป็นบวก

4.5 การแสดงผล

- 4.5.1 ทุกเชื้อที่สามารถใช้น้ำตาลแลคโตสและสร้างแก๊สภายใน 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 35.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส
- 4.5.2 เชื้อที่ทดสอบทุกเชื้อเป็นแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ มีลักษณะเป็นท่อน หรือกลม
- 4.5.3 ผลการทดสอบทางชีวเคมี (IMViC Test) เป็น +++ หรือ --- ถือว่าเป็น *E. coli* อ่านค่าจากตาราง MPN รายงานผลเป็น MPN ต่อกรัมตัวอย่าง

2. การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total viable count) ด้วยวิธี Pour plate (USFDA., 2001a) อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. PCA
2. สารละลายเปปโตน 0.1 %

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่าง 25 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกทนร้อนปลอดเชื้อแล้วเติมสารละลายเปปโตน 0.1 % ปริมาตร 225 มิลลิลิตร นำไปตีปั่นด้วยเครื่อง Stomacher เป็นเวลา 2 นาที จะได้สารละลายตัวอย่างที่ระดับความเจือจาง 10^{-1}
2. เจือจางสารละลายตัวอย่างให้มีระดับความเจือจาง 10^{-2} ถึง 10^{-5}
3. ปิเปิดสารละลายตัวอย่างจากแต่ละระดับความเจือจางมา 1 มิลลิลิตร ลงในงานเพาะเลี้ยงเชื้อที่ปลอดเชื้อ
4. เททับด้วยอาหาร PCA ประมาณ 15-20 มิลลิลิตร หมุนงานเพาะเลี้ยงเชื้อเบา ๆ แล้วตั้งทิ้งไว้ให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว
5. บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส ในลักษณะคว่ำงานเพาะเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง
6. ตรวจสอบจำนวนโคโลนีบนงานเพาะเลี้ยงเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนี รายงานผลเป็นจำนวนโคโลนีต่อกรัมตัวอย่าง (CFU/g)

3. การวิเคราะห์ปริมาณยีสต์และรา ด้วยวิธี Spread plate (USFDA., 2001b)

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Potato dextrose agar (PDA) ผ่านการปรับค่าพีเอช เท่ากับ 3.5 ด้วยกรดทาร์ทาริก 10.0 %
2. สารละลายเปปโตน 0.1 %

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่าง 25 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกทนร้อนปลอดเชื้อแล้วเติมสารละลายเปปโตน 0.1 % ปริมาตร 225 มิลลิลิตร นำไปตีปั่นด้วยเครื่อง Stomacher เป็นเวลา 2 นาที จะได้สารละลายตัวอย่างที่ระดับความเจือจาง 10^{-1}
2. เจือจางสารละลายตัวอย่างให้มีระดับความเจือจาง 10^{-2} ถึง 10^{-3}
3. ปิเปตสารละลายตัวอย่างจากแต่ละระดับความเจือจางมา 0.1 มิลลิลิตร ลงในงานเพาะเลี้ยงเชื้อที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ซึ่งแข็งตัวแล้ว
4. ใช้แท่งแก้วปราศจากเชื้อเกลี่ยตัวอย่างให้ทั่วผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ
5. บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 25.0 องศาเซลเซียส (อุณหภูมิห้อง) ในลักษณะคว่ำงานเพาะเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 3-5 วัน
6. ตรวจนับจำนวนโคโลนีบนงานเพาะเลี้ยงเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนี รายงานผลเป็นจำนวนโคโลนีต่อกรัมตัวอย่าง (CFU/g)

ภาคผนวก ข การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น

ภาคผนวก ข-1 แบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น

ชุดที่

ใบรายงานผลการทดสอบ

ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น

ชื่อ-สกุล วันที่ เวลา

คำอธิบาย กรุณาทดสอบชิมตัวอย่างที่เสนอให้จากซ้ายไปขวาแล้วให้คะแนนความชอบของตัวอย่างในแต่ละคุณลักษณะที่ตรงกับความรู้สึกชอบของท่านมากที่สุด โดยกำหนดให้

9 = ชอบมากที่สุด 6 = ชอบน้อยที่สุด 3 = ไม่ชอบปานกลาง
8 = ชอบมาก 5 = บอกไม่ได้ว่าชอบหรือไม่ชอบ 2 = ไม่ชอบมาก
7 = ชอบปานกลาง 4 = ไม่ชอบเล็กน้อย 1 = ไม่ชอบมากที่สุด

คุณลักษณะ	คะแนนความชอบของตัวอย่าง			
	รหัส.....	รหัส.....	รหัส.....	รหัส.....
สี				
กลิ่นรสกระเจี๊ยบแดง				
ความเหนียว				
รสหวาน				
รสเปรี้ยว				
ความชอบโดยรวม				

หมายเหตุ: ความชอบโดยรวมพิจารณาจากสี กลิ่นรสกระเจี๊ยบแดง ความเหนียว รสหวาน และรสเปรี้ยวของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น

ข้อเสนอแนะ

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

ภาคผนวก ข-2 คุณลักษณะและวิธีการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบ-แดงแผ่น

คุณลักษณะและวิธีการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น

1. สี (Color)

พิจารณาจาก สีของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น

วิธีการประเมิน โดยการมองสีของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นเมื่อวางขึ้นผลิตภัณฑ์ดังกล่าวในแนวตั้งฉากกับสายตาของผู้ประเมิน

2. กลิ่นรสกระเจี๊ยบแดง (Roselle flavor)

พิจารณาจาก กลิ่นรสของกระเจี๊ยบแดงที่เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ซึ่งสามารถรับรู้ได้ภายหลังจากรับประทาน

3. ความเหนียว (Stickiness)

เป็นคุณลักษณะเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ซึ่งเกี่ยวข้องกับความทนทานต่อการแตกแยกของผลิตภัณฑ์ในระหว่างการเคี้ยว

วิธีการประเมิน ขบผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นในขนาดพอดีคำ จากนั้นเคี้ยวผลิตภัณฑ์ดังกล่าวด้วยแรงใกล้เคียงกันแล้วทำการประเมินความเหนียว (Stickiness) ของผลิตภัณฑ์โดยพิจารณาความทนทานต่อการแตกแยกของผลิตภัณฑ์ในระหว่างการเคี้ยว กล่าวคือ ถ้าผลิตภัณฑ์นั้นมีความเหนียวมากกว่าจะใช้เวลาเคี้ยวานกว่าผลิตภัณฑ์ที่มีความเหนียน้อย

4. รสหวาน (Sweetness)

พิจารณาจาก การรับรสหวานจากเนื้อผลไม้และ/หรือน้ำตาลที่เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นซึ่งสามารถรับรสหวานได้ภายหลังจากรับประทานผลิตภัณฑ์ดังกล่าว

5. รสเปรี้ยว (Sourness)

พิจารณาจาก การรับรสเปรี้ยวจากเนื้อผลไม้และ/หรือกรดซิตริกที่เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นซึ่งสามารถรับรสเปรี้ยวได้ภายหลังจากรับประทานผลิตภัณฑ์ดังกล่าว

6. ความชอบโดยรวม (Overall liking)

พิจารณาจาก สี กลิ่นรสกระเจี๊ยบแดง ความเหนียว รสหวาน และรสเปรี้ยวของผลิตภัณฑ์
กระเจี๊ยบแดงแผ่น

ภาคผนวก ค เทคนิคสเปกโตรสโกปีย่านใกล้อินฟราเรด (Near infrared spectroscopy, NIRS)

Appendix Table 1 Interpretation of RPD

RPD	Classification	Application
0.0 - 2.3	Very poor	Not recommended
2.4 - 3.0	Poor	Rough screening
3.1 - 4.9	Fair	Screening
5.0 - 6.4	Good	Quality control
6.5 - 8.0	Very good	Process control
> 8.1	Excellent	Any application

ที่มา : ดัดแปลงจาก Williams (2007 อ้าง โดย ศิราพร ริพล, 2551)

ภาคผนวก ง การคำนวณปริมาณซูคราโลสที่ใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น

ตัวอย่างการคำนวณการใช้อัตราส่วนของซูโครสต่อซูคราโลส เท่ากับ 75 ต่อ 25

ความหวานของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น 100 ส่วน ได้จากปริมาณซูโครสหนัก 19.50 กรัม

ความหวานของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่น 25 ส่วน ได้จากปริมาณซูโครสหนัก $19.50 \text{ กรัม} \times 25 \text{ ส่วน}$

100 ส่วน

= 4.875 กรัม

พิจารณาบนฐานข้อมูล ซูคราโลสมีความหวานมากกว่าซูโครส 600 เท่า (เบญจวรรณ ธรรมธนารักษ์, 2548)

ความหวานของซูโครส 600 กรัม เทียบเท่ากับความหวานจากซูคราโลส 1 กรัม

ความหวานของซูโครส 25 ส่วน เท่ากับซูโครสปริมาณ 4.875 กรัม เทียบเท่ากับความหวานจากซูคราโลส

$$\frac{1 \text{ กรัม} \times 4.875 \text{ กรัม}}{600 \text{ กรัม}} = 0.008 \text{ กรัม}$$

600 กรัม

การใช้อัตราส่วนของซูโครสต่อซูคราโลส เท่ากับ 75 ต่อ 25 จึงมีปริมาณซูโครสและซูคราโลส ดังนี้

$$\text{ปริมาณซูโครส} = \text{ความหวานรวมจากซูโครส 100 ส่วน} - \text{ความหวานจากซูโครส 25 ส่วน}$$

$$= 19.50 \text{ กรัม} - 4.875 \text{ กรัม}$$

$$= 14.625 \text{ กรัม}$$

$$\text{ปริมาณซูคราโลสทดแทนความหวานจากซูโครส 25 ส่วน} = 0.008 \text{ กรัม}$$

ภาคผนวก จ การเตรียมตัวอย่างผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นสำหรับวิเคราะห์ด้วยเทคนิค NIRS

นำผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นขนาด 4.5×10.0 เซนติเมตร น้ำหนัก 14.0-16.0 กรัม จำนวน 74 ตัวอย่าง เก็บในสถานะที่แตกต่างกัน ดังนี้

ก. ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นจำนวน 48 ตัวอย่าง เก็บในสถานะร่วมกันตามข้อ (1) (2) (3) และ (4) เป็นระยะเวลา 2 เดือน ดังนี้

(1) บรรจุภัณฑ์ 3 ชนิด คือ ถุงเมทัลไลต์ ถุงโพลีโพรพิลีน (PP) และถุงไนลอน (Nylon/LLDPE) ขนาด 9.8×15.0 เซนติเมตร

(2) มีการใส่หรือไม่ใส่สารดูดความชื้นจำนวน 2 ถุง (น้ำหนักถุงละ 1.3 กรัม)

(3) มีการบรรจุหรือไม่บรรจุในกล่องกระดาษขนาด $8.0 \times 14.0 \times 2.5$ เซนติเมตร

(4) เก็บที่อุณหภูมิ 4 ระดับ คือ 5.0 ± 2.0 8.0 ± 2.0 35.0 ± 2.0 และ 45.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส

ข. ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นจำนวน 18 ตัวอย่าง เก็บในสถานะตามข้อ (5)(I) (5)(II) และ (5)(III) เป็นระยะเวลา 2 เดือน ดังนี้

(5) ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นบรรจุในบรรจุภัณฑ์ 3 ชนิด คือ ถุงเมทัลไลต์ ถุงโพลีโพรพิลีน และถุงไนลอนขนาด 9.8×15.0 เซนติเมตร และมีการใส่หรือไม่ใส่สารดูดความชื้นจำนวน 2 ถุง (น้ำหนักถุงละ 1.3 กรัม) ร่วมกับการเก็บในสถานะ 3 สถานะ ดังนี้ (I) สถานะบรรยากาศห้อง (II) เก็บภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์กำลังไฟฟ้า 18 วัตต์ และ (III) เก็บในที่มืดโดยบรรจุในกล่องกระดาษ

ค. ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นจำนวน 6 ตัวอย่าง เก็บในสถานะตามข้อ (6)(I) และ (6)(II) ดังนี้

(6) ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นไม่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ร่วมกับการเก็บในสถานะต่าง ๆ ดังนี้ (I) อุณหภูมิ 2 ระดับ คือ 35.0 ± 2.0 และ 45.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส (II) เก็บเป็นระยะเวลาต่าง ๆ คือ 6 12 และ 18 ชั่วโมง

ง. ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นจำนวน 1 ตัวอย่าง และไม่มีการบรรจุในบรรจุภัณฑ์ นำเก็บที่อุณหภูมิ 5.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง

จ. ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นจำนวน 1 ตัวอย่าง และบรรจุในถุงเมทัลไลต์ นำเก็บที่อุณหภูมิ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง

ภาคผนวก ฉ สมบัติการต้านอนุมูลอิสระของผลไม้และผลิตภัณฑ์จากผลไม้ชนิดต่าง ๆ

Appendix Table 2 Antioxidant properties (by DPPH[•] and ABTS^{•+} scavenging activity, FRAP) of fresh fruit and fruit by-product

Sample	DPPH [•] , EC ₅₀ (g/g DPPH)	TEAC (μmol TE/g)		Reference
		ABTS ^{•+}	FRAP	
Assai	598.00±164.00	64.50±19.20	-	Rufino <i>et al.</i> , 2010
Acerola	49.20±2.50	953.00±34.10	-	
Cashew	906.00±78.20	79.40±15.70	-	
Black mulberry	-	11.40±2.40	12.90±2.70	Özgen <i>et al.</i> , 2009
Bilberry	-	45.50±2.30	87.00±17.80	Garzón <i>et al.</i> , 2010
Brazilian guava	-	44.80±1.98	39.90±0.92	Contreras-Calderón <i>et al.</i> , 2010
Guava apple	-	50.20±0.42	61.90±0.38	
Banana passion fruit	-	131.00±0.64	114.00±3.28	
Red grape by-product (Merlot variety)	-	318.16±1.90	169.19±0.62	Rockenbach <i>et al.</i> , 2011
Red grape by-product (Isabel variety)	-	193.36±2.14	117.79±1.33	

Mean±standard deviation

DPPH[•] scavenging activity, expressed as EC₅₀ (g/g DPPH); ABTS^{•+} scavenging activity and FRAP, expressed as TEAC (Trolox equivalents antioxidant capacity, μmol TE/g)

Appendix Table 3 Antioxidant properties (by ABTS^{•+} scavenging activity) of dried fruit product

Type of dried apricot	ABTS ^{•+} , TEAC (μmol TE/g)	Reference
Kabaasi	12.29±0.45	Güçlü <i>et al.</i> , 2006
Soganci	9.45±1.56	
Zerdali	15.81±2.44	

Mean±standard deviation

ABTS^{•+} scavenging activity, expressed as TEAC (Trolox equivalents antioxidant capacity, μmol TE/g)

ภาคผนวก ข การเปลี่ยนแปลงสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นระหว่างเก็บรักษา

Appendix Table 4 Changes in antioxidant properties of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ for 0 15 30 45 and 60 days as determined by DPPH[•] scavenging activity

Storage time (days)	DPPH [•] , EC ₅₀ (µg/ml)			
	KMS (ppm) / $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$		KMS (ppm) / $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$	
	0	750	0	750
0	760.59±6.88 ^{eA}	741.37±5.99 ^{eB}	760.59±6.88 ^{eA}	741.37±5.99 ^{eB}
15	781.79±6.91 ^{dC}	763.99±6.45 ^{dD}	814.48±10.18 ^{dA}	796.04±9.19 ^{dB}
30	817.88±7.73 ^{cC}	802.28±14.95 ^{cD}	848.56±9.08 ^{cA}	831.36±8.36 ^{cB}
45	844.51±10.47 ^{bC}	834.40±6.92 ^{bC}	908.91±9.77 ^{bA}	890.56±10.87 ^{bB}
60	886.01±7.72 ^{aC}	862.83±9.78 ^{aD}	961.99±7.71 ^{aA}	937.14±10.24 ^{aB}

Means±standard deviation within the same row with different letters are significantly different ($p < 0.05$)

a, b...with the same superscripts in different storage times in the same column are not significantly different ($p \geq 0.05$)

A, B... with the same superscripts compared between the storage temperatures at $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ in the same row are not significantly different ($p \geq 0.05$)

DPPH[•] scavenging activity, expressed as EC₅₀ and BHT as positive standard

EC₅₀, Efficient concentration, the amount of roselle extract (µg) needed for 50% decreasing in the initial DPPH[•] concentration per 1.0 ml of initial solution; The EC₅₀ of BHT standard = 22.92 ± 1.72 µg/ml

SO₂ residues = 30.43 mg/kg of roselle leather product (LCFA)

Appendix Table 5 Changes in antioxidant properties of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ for 0 15 30 45 and 60 days as determined by $\text{ABTS}^{\bullet+}$ scavenging activity

Storage time (days)	$\text{ABTS}^{\bullet+}$, TEAC ($\mu\text{mol TE/g}$)			
	$8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$		$27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$	
	0	750	0	750
0	$10.62\pm 0.11^{\text{aB}}$	$10.95\pm 0.10^{\text{aA}}$	$10.62\pm 0.11^{\text{aB}}$	$10.95\pm 0.10^{\text{aA}}$
15	$10.43\pm 0.11^{\text{bB}}$	$10.78\pm 0.14^{\text{bA}}$	$10.13\pm 0.13^{\text{bC}}$	$10.51\pm 0.10^{\text{bB}}$
30	$10.24\pm 0.12^{\text{cB}}$	$10.53\pm 0.10^{\text{cA}}$	$9.60\pm 0.16^{\text{cC}}$	$10.16\pm 0.15^{\text{cB}}$
45	$10.04\pm 0.07^{\text{dB}}$	$10.34\pm 0.09^{\text{dA}}$	$8.99\pm 0.10^{\text{dD}}$	$9.81\pm 0.09^{\text{dC}}$
60	$9.74\pm 0.09^{\text{eB}}$	$10.12\pm 0.11^{\text{eA}}$	$8.58\pm 0.12^{\text{eD}}$	$9.50\pm 0.10^{\text{eC}}$

Means \pm standard deviation within the same row with different letters are significantly different ($p < 0.05$)

a, b...with the same superscripts in different storage times in the same column are not significantly different ($p \geq 0.05$)

A, B... with the same superscripts compared between the storage temperatures at $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ in the same row are not significantly different ($p \geq 0.05$)

$\text{ABTS}^{\bullet+}$ scavenging activity, expressed as millimoles Trolox equivalents per gram extract using Trolox standard curve; TEAC, Trolox equivalents antioxidant capacity

TE, Trolox equivalents, millimolar of Trolox solution having an antioxidant capacity equivalent to 1.0 gram of the substance under investigation

SO_2 residues = 30.43 mg/kg of roselle leather product (LCFA)

Appendix Table 6 Changes in antioxidant properties of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ for 0 15 30 45 and 60 days as determined by Ferric reducing antioxidant power or FRAP

Storage time (days)	FRAP, TEAC ($\mu\text{mol TE/g}$)			
	KMS (ppm) / $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$		KMS (ppm) / $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$	
	0	750	0	750
0	$23.63\pm 0.11^{\text{aB}}$	$23.97\pm 0.15^{\text{aA}}$	$23.63\pm 0.11^{\text{aB}}$	$23.97\pm 0.15^{\text{aA}}$
15	$23.26\pm 0.19^{\text{bB}}$	$23.63\pm 0.09^{\text{bA}}$	$21.36\pm 0.13^{\text{bD}}$	$22.98\pm 0.11^{\text{bC}}$
30	$22.55\pm 0.17^{\text{cB}}$	$23.19\pm 0.09^{\text{cA}}$	$20.73\pm 0.08^{\text{cD}}$	$22.25\pm 0.10^{\text{cC}}$
45	$22.22\pm 0.10^{\text{dB}}$	$22.85\pm 0.14^{\text{dA}}$	$20.12\pm 0.12^{\text{dD}}$	$21.85\pm 0.11^{\text{dC}}$
60	$21.91\pm 0.04^{\text{eB}}$	$22.39\pm 0.06^{\text{eA}}$	$19.38\pm 0.05^{\text{eD}}$	$21.30\pm 0.13^{\text{eC}}$

Means \pm standard deviation within the same row with different letters are significantly different ($p < 0.05$)

a, b...with the same superscripts in different storage times in the same column are not significantly different ($p \geq 0.05$)

A, B... with the same superscripts compared between the storage temperatures at $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ in the same row are not significantly different ($p \geq 0.05$)

Ferric reducing antioxidant power (FRAP), expressed as millimoles Trolox equivalents per gram extract using Trolox standard curve; TEAC, Trolox equivalents antioxidant capacity

TE, Trolox equivalents, millimolar of Trolox solution having an antioxidant capacity equivalent to 1.0 gram of the substance under investigation

SO_2 residues = 30.43 mg/kg of roselle leather product (LCFA)

ภาคผนวก ข คุณภาพทางจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์กระเจียบแดงแผ่นระหว่างเก็บรักษา

Appendix Table 7 Microbiological qualities of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ for 0 15 30 45 and 60 days

Storage time (days)	Total viable count (CFU/g)			
	KMS (ppm) / $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$		KMS (ppm) / $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$	
	0	750	0	750
0	< 30 (ND)	< 30 (ND)	< 30 (ND)	< 30 (ND)
15	< 30 (20)	< 30 (ND)	< 30 (ND)	< 30 (ND)
30	< 30 (ND)	< 30 (ND)	< 30 (20)	< 30 (ND)
45	≥ 30 (30)	< 30 (ND)	< 30 (20)	< 30 (ND)
60	< 30 (ND)	< 30 (ND)	< 30 (20)	< 30 (10)

Storage time (days)	Yeast and mold (CFU/g)			
	KMS (ppm) / $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$		KMS (ppm) / $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$	
	0	750	0	750
0	≥ 30 (30)	< 30 (20)	≥ 30 (30)	< 30 (20)
15	< 30 (10)	< 30 (10)	< 30 (20)	< 30 (10)
30	< 30 (ND)	< 30 (ND)	< 30 (ND)	< 30 (ND)
45	< 30 (ND)	< 30 (ND)	< 30 (ND)	< 30 (ND)
60	< 30 (10)	< 30 (20)	< 30 (20)	< 30 (20)

ND = not detected

ภาคผนวก ฅ การคำนวณต้นทุนส่วนผสมและบรรจุภัณฑ์ของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นจากกาก
กระเจี๊ยบแดง

1. ราคาวัตถุดิบและบรรจุภัณฑ์สำหรับการผลิตผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงแผ่นจากกากกระเจี๊ยบแดง

- กากกระเจี๊ยบแดง	ราคาเฉลี่ย กิโลกรัมละ	85.56 บาท
- ชูโครส	ราคาเฉลี่ย กิโลกรัมละ	24.75 บาท
- ชูคราโลส	ราคาเฉลี่ย กรัมละ	34.50 บาท
- กลีเซอรอล	ราคาเฉลี่ย กิโลกรัมละ	480.00 บาท
- น้ำ	ราคาเฉลี่ย ลิตรละ	0.75 บาท
- กรดซิตริก	ราคาเฉลี่ย กรัมละ	0.37 บาท
- โปแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์	ราคาเฉลี่ย กรัมละ	0.33 บาท
- ถุงเมทัลไลท์	ราคาเฉลี่ย ซองละ	2.50 บาท

การคำนวณราคาวัตถุดิบของกากกระเจี๊ยบแดง

จากการผลิตพบว่า

กระเจี๊ยบแดงสด 20.80 กิโลกรัม เมื่อแยกเมล็ดออกจะได้กลีบกระเจี๊ยบแดงสด 15.40 กิโลกรัม

กลีบกระเจี๊ยบแดงสด 15.40 กิโลกรัม เมื่ออบแห้งจะได้กลีบกระเจี๊ยบแดงแห้ง 1.26 กิโลกรัม

กระเจี๊ยบแดงแห้ง 1.26 กิโลกรัม เมื่อสกัดด้วยน้ำจะได้กากกระเจี๊ยบแดง 3.24 กิโลกรัม

นั่นคือ กากกระเจี๊ยบแดง 3.24 กิโลกรัม ผลิตได้จากการใช้กระเจี๊ยบแดงสด 15.40 กิโลกรัม

กระเจี๊ยบแดงสด 1.00 กิโลกรัม ราคา 18.00 บาท

ดังนั้นกระเจี๊ยบแดงสด 15.40 กิโลกรัม ราคา $18.00 \text{ บาท} \times 15.40 \text{ กิโลกรัม} = 277.20 \text{ บาท}$

1.00 กิโลกรัม

นั่นคือ กากกระเจี๊ยบแดง 3.24 กิโลกรัม ราคา 277.20 บาท

กากกระเจี๊ยบแดง 3.24 กิโลกรัม ราคา 277.20 บาท

ดังนั้นกากกระเจี๊ยบแดง 1.00 กิโลกรัม ราคา $277.20 \text{ บาท} \times 1.00 \text{ กิโลกรัม} = 85.56 \text{ บาท}$

3.24 กิโลกรัม

ภาคผนวก ๘ ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ

Appendix Table 8 Analysis of variances in properties of roselle calyxes and roselle by-product

		Levene's test for equality of variances		T-test for equality of means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Upper	Lower
<i>L</i> *	Equal variances assumed	.400	.541	74.329	10	.000	12.23667	.16463	11.86985	12.60348
	Equal variances not assumed			74.329	8.176	.000	12.23667	.16463	11.85845	12.61488
<i>a</i> *	Equal variances assumed	1.984	.189	-35.735	10	.000	-5.71167	.15983	-6.06780	-5.35553
	Equal variances not assumed			-35.735	7.083	.000	-5.71167	.15983	-6.08872	-5.33461
<i>b</i> *	Equal variances assumed	14.380	.004	-17.415	10	.000	-3.43333	.19715	-3.87261	-2.99406
	Equal variances not assumed			-17.415	5.599	.000	-3.43333	.19715	-3.92423	-2.94243
pH	Equal variances assumed	3.788	.080	-29.530	10	.000	-.27667	.00937	-.29754	-.25579
	Equal variances not assumed			-29.530	7.140	.000	-.27667	.00937	-.29873	-.25460
Acidity	Equal variances assumed	14.148	.004	94.376	10	.000	.60542	.00641	.59112	.61971
	Equal variances not assumed			94.376	6.222	.000	.60542	.00641	.58985	.62098

Appendix Table 8 Analysis of variances in properties of roselle calyxes and roselle by-product (Cont.)

		Levene's test for equality of variances		T-test for equality of means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Upper	Lower	
Anthocyanin	Equal variances assumed	24.227	.001	63.042	10	.000	192.30533	3.05044	185.50854	199.10213
	Equal variances not assumed			63.042	5.615	.000	192.30533	3.05044	184.71542	199.89525
Phenolic	Equal variances assumed	.242	.633	86.251	10	.000	4.29333	.04978	4.18242	4.40424
	Equal variances not assumed			86.251	9.851	.000	4.29333	.04978	4.18220	4.40447
Ascorbic	Equal variances assumed	9.000	.013	143.806	10	.000	1.25000	.00869	1.23063	1.26937
	Equal variances not assumed			143.806	6.674	.000	1.25000	.00869	1.22924	1.27076
DPPH	Equal variances assumed	4.096	.071	-22.098	10	.000	-52.25500	2.36471	-57.52390	-46.98610
	Equal variances not assumed			-22.098	6.672	.000	-52.25500	2.36471	-57.90290	-46.60710
ABTS	Equal variances assumed	.652	.438	92.722	10	.000	22.20833	.23951	21.67466	22.74201
	Equal variances not assumed			92.722	9.607	.000	22.20833	.23951	21.67169	22.74498
FRAP	Equal variances assumed	5.493	.041	232.947	10	.000	72.81667	.31259	72.12017	73.51316
	Equal variances not assumed			232.947	7.537	.000	72.81667	.31259	72.08806	73.54528

Appendix Table 9 Analysis of variances in physical and chemical properties of roselle leather product at the different concentrations of pectin

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
<i>L*</i>	Between Groups	16.953	3	5.651	15.262	.000
	Within Groups	7.405	20	.370		
	Total	24.358	23			
<i>a*</i>	Between Groups	1.019	3	.340	.920	.449
	Within Groups	7.382	20	.369		
	Total	8.401	23			
<i>b*</i>	Between Groups	.588	3	.196	2.717	.072
	Within Groups	1.443	20	.072		
	Total	2.032	23			
Tensile force	Between Groups	4.016	3	1.339	44.784	.000
	Within Groups	1.315	44	.030		
	Total	5.331	47			
Cutting force	Between Groups	266.294	3	88.765	53.341	.000
	Within Groups	73.221	44	1.664		
	Total	339.514	47			
<i>a_w</i>	Between Groups	.011	3	.004	2.861	.063
	Within Groups	.025	20	.001		
	Total	.035	23			
TSS	Between Groups	1.091	3	.364	5.499	.006
	Within Groups	1.323	20	.066		
	Total	2.414	23			
pH	Between Groups	.136	3	.045	723.444	.000
	Within Groups	.001	20	.000		
	Total	.137	23			

Appendix Table 10 Analysis of variances in physical and chemical properties of roselle leather product at the different concentrations of guar gum

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
<i>L*</i>	Between Groups	12.197	3	4.066	68.061	.000
	Within Groups	1.195	20	.060		
	Total	13.392	23			
<i>a*</i>	Between Groups	11.491	3	3.830	110.686	.000
	Within Groups	.692	20	.035		
	Total	12.183	23			
<i>b*</i>	Between Groups	4.431	3	1.477	44.608	.000
	Within Groups	.662	20	.033		
	Total	5.093	23			
Tensile force	Between Groups	1.402	3	.467	14.761	.000
	Within Groups	1.393	44	.032		
	Total	2.795	47			
Cutting force	Between Groups	23.955	3	7.985	29.529	.000
	Within Groups	11.898	44	.270		
	Total	35.853	47			
<i>a_w</i>	Between Groups	.037	3	.012	49.822	.000
	Within Groups	.005	20	.000		
	Total	.042	23			
TSS	Between Groups	.049	3	.016	.772	.523
	Within Groups	.427	20	.021		
	Total	.477	23			
pH	Between Groups	.000	3	.000	1.852	.170
	Within Groups	.000	20	.000		
	Total	.000	23			

Appendix Table 11 Analysis of variances in physical and chemical properties of roselle leather product at the different concentrations of maltodextrin

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
<i>L*</i>	Between Groups	21.866	3	7.289	220.974	.000
	Within Groups	.660	20	.033		
	Total	22.526	23			
<i>a*</i>	Between Groups	29.146	3	9.715	147.734	.000
	Within Groups	1.315	20	.066		
	Total	30.462	23			
<i>b*</i>	Between Groups	.133	3	.044	2.002	.146
	Within Groups	.443	20	.022		
	Total	.576	23			
Tensile force	Between Groups	.168	3	.056	6.242	.001
	Within Groups	.342	38	.009		
	Total	.510	41			
Cutting force	Between Groups	410.046	3	136.682	344.513	.000
	Within Groups	17.457	44	.397		
	Total	427.502	47			
<i>a_w</i>	Between Groups	.040	3	.013	38.100	.000
	Within Groups	.007	20	.000		
	Total	.047	23			
TSS	Between Groups	11.508	3	3.836	84.655	.000
	Within Groups	.906	20	.045		
	Total	12.414	23			
pH	Between Groups	.020	3	.007	227.571	.000
	Within Groups	.001	20	.000		
	Total	.020	23			

Appendix Table 12 Analysis of variances in physical and chemical properties of roselle leather product at the addition of 1.0 pectin and 0.4 guar gum

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
<i>L*</i>	Between Groups	.690	2	.345	10.429	.001
	Within Groups	.497	15	.033		
	Total	1.187	17			
<i>a*</i>	Between Groups	1.255	2	.627	10.253	.002
	Within Groups	.918	15	.061		
	Total	2.173	17			
<i>b*</i>	Between Groups	.210	2	.105	5.205	.019
	Within Groups	.303	15	.020		
	Total	.513	17			
Tensile force	Between Groups	1.563	2	.782	13.515	.000
	Within Groups	1.909	33	.058		
	Total	3.472	35			
Cutting force	Between Groups	198.169	2	99.085	142.518	.000
	Within Groups	22.943	33	.695		
	Total	221.112	35			
<i>a_w</i>	Between Groups	.025	2	.013	22.538	.000
	Within Groups	.008	15	.001		
	Total	.034	17			
TSS	Between Groups	.007	2	.003	.200	.821
	Within Groups	.260	15	.017		
	Total	.267	17			
pH	Between Groups	.143	2	.072	2477.500	.000
	Within Groups	.000	15	.000		
	Total	.144	17			

Appendix Table 13 Analysis of variances in texture characteristics of roselle leather product at the different types/concentrations of stabilizers

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Tensile force	Between Groups	7.721	11	.702	29.844	.000
	Within Groups	3.105	132	.024		
	Total	10.826	143			
Cutting force	Between Groups	1878.793	11	170.799	216.551	.000
	Within Groups	104.112	132	.789		
	Total	1982.905	143			

Appendix Table 14 Analysis of variances in physical and chemical properties of roselle leather product at different ratios of sucrose to sucralose

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
<i>L*</i>	Between Groups	7.034	3	2.345	69.987	.000
	Within Groups	.670	20	.034		
	Total	7.704	23			
<i>a*</i>	Between Groups	73.564	3	24.521	173.974	.000
	Within Groups	2.819	20	.141		
	Total	76.383	23			
<i>b*</i>	Between Groups	14.833	3	4.944	101.614	.000
	Within Groups	.973	20	.049		
	Total	15.806	23			
Tensile force	Between Groups	.037	3	.012	.763	.521
	Within Groups	.681	42	.016		
	Total	.718	45			
Cutting force	Between Groups	2.079	3	.693	1.616	.199
	Within Groups	18.869	44	.429		
	Total	20.948	47			
<i>a_w</i>	Between Groups	.096	3	.032	206.167	.000
	Within Groups	.003	20	.000		
	Total	.099	23			
TSS	Between Groups	7.937	3	2.646	169.333	.000
	Within Groups	.313	20	.016		
	Total	8.250	23			
pH	Between Groups	.016	3	.005	188.030	.000
	Within Groups	.001	20	.000		
	Total	.016	23			

Appendix Table 15 Analysis of variances in L^* of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^\circ\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^\circ\text{C}$ for 0 30 and 60 days

Treatments		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
0 ppm $8.0\pm 2.0^\circ\text{C}$	Between Groups	.771	2	.386	64.895	.000
	Within Groups	.089	15	.006		
	Total	.860	17			
750 ppm $8.0\pm 2.0^\circ\text{C}$	Between Groups	.762	2	.381	45.093	.000
	Within Groups	.127	15	.008		
	Total	.888	17			
0 ppm $27.0\pm 2.0^\circ\text{C}$	Between Groups	5.688	2	2.844	408.194	.000
	Within Groups	.104	15	.007		
	Total	5.792	17			
750 ppm $27.0\pm 2.0^\circ\text{C}$	Between Groups	4.171	2	2.085	329.685	.000
	Within Groups	.095	15	.006		
	Total	4.266	17			
Storage time (days)		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
0	Between Groups	1.270	3	.423	58.615	.000
	Within Groups	.144	20	.007		
	Total	1.414	23			
30	Between Groups	2.378	3	.793	142.882	.000
	Within Groups	.111	20	.006		
	Total	2.489	23			
60	Between Groups	5.529	3	1.843	230.593	.000
	Within Groups	.160	20	.008		
	Total	5.689	23			

Appendix Table 16 Analysis of variances in a^* of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^\circ\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^\circ\text{C}$ for 0 30 and 60 days

Treatments		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
0 ppm $8.0\pm 2.0^\circ\text{C}$	Between Groups	.492	2	.246	39.645	.000
	Within Groups	.093	15	.006		
	Total	.586	17			
750 ppm $8.0\pm 2.0^\circ\text{C}$	Between Groups	.692	2	.346	55.438	.000
	Within Groups	.094	15	.006		
	Total	.786	17			
0 ppm $27.0\pm 2.0^\circ\text{C}$	Between Groups	4.381	2	2.191	267.837	.000
	Within Groups	.123	15	.008		
	Total	4.504	17			
750 ppm $27.0\pm 2.0^\circ\text{C}$	Between Groups	3.121	2	1.560	228.975	.000
	Within Groups	.102	15	.007		
	Total	3.223	17			
Storage time (days)		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
0	Between Groups	.240	3	.080	9.081	.001
	Within Groups	.176	20	.009		
	Total	.416	23			
30	Between Groups	.430	3	.143	29.908	.000
	Within Groups	.096	20	.005		
	Total	.526	23			
60	Between Groups	3.164	3	1.055	150.953	.000
	Within Groups	.140	20	.007		
	Total	3.304	23			

Appendix Table 17 Analysis of variances in b^* of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^\circ\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^\circ\text{C}$ for 0 30 and 60 days

Treatments		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
0 ppm $8.0\pm 2.0^\circ\text{C}$	Between Groups	.277	2	.138	42.287	.000
	Within Groups	.049	15	.003		
	Total	.326	17			
750 ppm $8.0\pm 2.0^\circ\text{C}$	Between Groups	.188	2	.094	28.017	.000
	Within Groups	.050	15	.003		
	Total	.238	17			
0 ppm $27.0\pm 2.0^\circ\text{C}$	Between Groups	2.119	2	1.059	159.091	.000
	Within Groups	.100	15	.007		
	Total	2.219	17			
750 ppm $27.0\pm 2.0^\circ\text{C}$	Between Groups	1.098	2	.549	184.460	.000
	Within Groups	.045	15	.003		
	Total	1.142	17			
Storage time (days)		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
0	Between Groups	.107	3	.036	13.284	.000
	Within Groups	.054	20	.003		
	Total	.160	23			
30	Between Groups	.465	3	.155	46.587	.000
	Within Groups	.067	20	.003		
	Total	.532	23			
60	Between Groups	1.694	3	.565	91.225	.000
	Within Groups	.124	20	.006		
	Total	1.818	23			

Appendix Table 18 Analysis of variances in water activity (a_w) of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^\circ\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^\circ\text{C}$ for 0 30 and 60 days

Treatments		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
0 ppm $8.0\pm 2.0^\circ\text{C}$	Between Groups	.025	2	.013	515.877	.000
	Within Groups	.000	6	.000		
	Total	.025	8			
750 ppm $8.0\pm 2.0^\circ\text{C}$	Between Groups	.027	2	.014	1598.273	.000
	Within Groups	.000	6	.000		
	Total	.027	8			
0 ppm $27.0\pm 2.0^\circ\text{C}$	Between Groups	.061	2	.031	1335.204	.000
	Within Groups	.000	6	.000		
	Total	.061	8			
750 ppm $27.0\pm 2.0^\circ\text{C}$	Between Groups	.067	2	.033	2196.876	.000
	Within Groups	.000	6	.000		
	Total	.067	8			
Storage time (days)		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
0	Between Groups	.000	3	.000	2.182	.168
	Within Groups	.000	8	.000		
	Total	.000	11			
30	Between Groups	.007	3	.002	485.661	.000
	Within Groups	.000	8	.000		
	Total	.007	11			
60	Between Groups	.016	3	.005	280.777	.000
	Within Groups	.000	8	.000		
	Total	.016	11			

Appendix Table 19 Analysis of variances in tensile force of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ for 0 30 and 60 days

Treatments		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
0 ppm $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$	Between Groups	2.999	2	1.500	63.033	.000
	Within Groups	.452	19	.024		
	Total	3.451	21			
750 ppm $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$	Between Groups	3.097	2	1.549	78.789	.000
	Within Groups	.373	19	.020		
	Total	3.471	21			
0 ppm $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$	Between Groups	5.646	2	2.823	130.378	.000
	Within Groups	.455	21	.022		
	Total	6.101	23			
750 ppm $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$	Between Groups	5.321	2	2.660	80.529	.000
	Within Groups	.694	21	.033		
	Total	6.014	23			
Storage time (days)		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
0	Between Groups	.013	3	.004	.125	.944
	Within Groups	.954	28	.034		
	Total	.967	31			
30	Between Groups	.788	3	.263	16.404	.000
	Within Groups	.416	26	.016		
	Total	1.204	29			
60	Between Groups	.437	3	.146	6.276	.002
	Within Groups	.604	26	.023		
	Total	1.041	29			

Appendix Table 20 Analysis of variances in cutting force of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ for 0 30 and 60 days

Treatments		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
0 ppm $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$	Between Groups	77.095	2	38.547	65.208	.000
	Within Groups	11.823	20	.591		
	Total	88.918	22			
750 ppm $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$	Between Groups	75.696	2	37.848	55.968	.000
	Within Groups	13.525	20	.676		
	Total	89.221	22			
0 ppm $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$	Between Groups	358.547	2	179.274	332.357	.000
	Within Groups	11.327	21	.539		
	Total	369.875	23			
750 ppm $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$	Between Groups	344.623	2	172.312	250.148	.000
	Within Groups	14.466	21	.689		
	Total	359.089	23			
Storage time (days)		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
0	Between Groups	.036	3	.012	.013	.998
	Within Groups	25.452	28	.909		
	Total	25.489	31			
30	Between Groups	91.507	3	30.502	66.871	.000
	Within Groups	12.772	28	.456		
	Total	104.279	31			
60	Between Groups	169.009	3	56.336	113.400	.000
	Within Groups	12.917	26	.497		
	Total	181.925	29			

Appendix Table 21 Analysis of variances in total soluble solids of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ for 0 15 30 45 and 60 days

Treatments		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
0 ppm $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$	Between Groups	3.042	4	.760	91.250	.000
	Within Groups	.083	10	.008		
	Total	3.125	14			
750 ppm $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$	Between Groups	2.600	4	.650	17.333	.000
	Within Groups	.375	10	.038		
	Total	2.975	14			
0 ppm $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$	Between Groups	6.567	4	1.642	56.286	.000
	Within Groups	.292	10	.029		
	Total	6.858	14			
750 ppm $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$	Between Groups	7.475	4	1.869	74.750	.000
	Within Groups	.250	10	.025		
	Total	7.725	14			
Storage time (days)		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
0	Between Groups	.021	3	.007	.667	.596
	Within Groups	.083	8	.010		
	Total	.104	11			
15	Between Groups	.141	3	.047	3.000	.095
	Within Groups	.125	8	.016		
	Total	.266	11			
30	Between Groups	.932	3	.311	7.458	.011
	Within Groups	.333	8	.042		
	Total	1.266	11			

Appendix Table 21 Analysis of variances in total soluble solids of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ for 0 15 30 45 and 60 days (Cont.)

Storage time (days)		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
45	Between Groups	1.182	3	.394	37.833	.000
	Within Groups	.083	8	.010		
	Total	1.266	11			
60	Between Groups	1.438	3	.479	10.222	.004
	Within Groups	.375	8	.047		
	Total	1.813	11			

Appendix Table 22 Analysis of variances in pH values of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ for 0 15 30 45 and 60 days

Treatments		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
0 ppm $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$	Between Groups	.030	4	.007	34.812	.000
	Within Groups	.002	10	.000		
	Total	.032	14			
750 ppm $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$	Between Groups	.030	4	.008	113.350	.000
	Within Groups	.001	10	.000		
	Total	.031	14			
0 ppm $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$	Between Groups	.124	4	.031	132.857	.000
	Within Groups	.002	10	.000		
	Total	.126	14			
750 ppm $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$	Between Groups	.117	4	.029	141.855	.000
	Within Groups	.002	10	.000		
	Total	.119	14			

Appendix Table 22 Analysis of variances in pH values of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ for 0 15 30 45 and 60 days (Cont.)

Storage time (days)		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
0	Between Groups	.000	3	.000	1.200	.370
	Within Groups	.001	8	.000		
	Total	.001	11			
15	Between Groups	.004	3	.001	12.972	.002
	Within Groups	.001	8	.000		
	Total	.005	11			
30	Between Groups	.020	3	.007	157.867	.000
	Within Groups	.000	8	.000		
	Total	.020	11			
45	Between Groups	.029	3	.010	32.724	.000
	Within Groups	.002	8	.000		
	Total	.031	11			
60	Between Groups	.048	3	.016	42.000	.000
	Within Groups	.003	8	.000		
	Total	.051	11			

Appendix Table 23 Analysis of variances in ascorbic acid contents of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at 8.0±2.0 °C and 27.0±2.0 °C for 0 and 60 days

Treatments		Levene's test for equality of variances		T-test for equality of means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Upper	Lower
0 ppm	Equal variances assumed	.024	.881	7.064	10	.000	.003833	.000543	.002624	.005042
8.0±2.0 °C	Equal variances not assumed			7.064	9.912	.000	.003833	.000543	.002623	.005044
750 ppm	Equal variances assumed	1.710	.220	2.655	10	.024	.002833	.001067	.000455	.005211
8.0±2.0 °C	Equal variances not assumed			2.655	8.982	.026	.002833	.001067	.000418	.005248
0 ppm	Equal variances assumed	4.321	.064	29.481	10	.000	.011833	.000401	.010939	.012728
27.0±2.0 °C	Equal variances not assumed			29.481	5.000	.000	.011833	.000401	.010802	.012865
750 ppm	Equal variances assumed	9.434	.012	20.608	10	.000	.012667	.000615	.011297	.014036
27.0±2.0 °C	Equal variances not assumed			20.608	5.000	.000	.012667	.000615	.011087	.014247

Appendix Table 23 Analysis of variances in ascorbic acid contents of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ for 0 and 60 days (Cont.)

Storage time (days)		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
0	Between Groups	.000	3	.000	.859	.478
	Within Groups	.000	20	.000		
	Total	.000	23			
60	Between Groups	.000	3	.000	121.025	.000
	Within Groups	.000	20	.000		
	Total	.001	23			

Appendix Table 24 Analysis of variances in total anthocyanin contents of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ for 0 15 30 45 and 60 days

Treatments		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
0 ppm $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$	Between Groups	54.541	4	13.635	69.259	.000
	Within Groups	4.922	25	.197		
	Total	59.463	29			
750 ppm $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$	Between Groups	51.494	4	12.873	53.890	.000
	Within Groups	5.972	25	.239		
	Total	57.466	29			
0 ppm $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$	Between Groups	204.134	4	51.033	282.061	.000
	Within Groups	4.523	25	.181		
	Total	208.657	29			
750 ppm $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$	Between Groups	249.098	4	62.274	369.748	.000
	Within Groups	4.211	25	.168		
	Total	253.308	29			

Appendix Table 24 Analysis of variances in total anthocyanin contents of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ for 0 15 30 45 and 60 days (Cont.)

Storage time (days)		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
0	Between Groups	20.959	3	6.986	56.002	.000
	Within Groups	2.495	20	.125		
	Total	23.454	23			
15	Between Groups	28.235	3	9.412	48.717	.000
	Within Groups	3.864	20	.193		
	Total	32.098	23			
30	Between Groups	75.363	3	25.121	142.620	.000
	Within Groups	3.523	20	.176		
	Total	78.886	23			
45	Between Groups	87.563	3	29.188	109.851	.000
	Within Groups	5.314	20	.266		
	Total	92.877	23			
60	Between Groups	108.688	3	36.229	163.481	.000
	Within Groups	4.432	20	.222		
	Total	113.120	23			

Appendix Table 25 Analysis of variances in total phenolic contents of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ for 0 15 30 45 and 60 days

Treatments		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
0 ppm $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$	Between Groups	.060	4	.015	28.404	.000
	Within Groups	.013	25	.001		
	Total	.073	29			
750 ppm $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$	Between Groups	.076	4	.019	50.982	.000
	Within Groups	.009	25	.000		
	Total	.085	29			
0 ppm $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$	Between Groups	.456	4	.114	987.457	.000
	Within Groups	.003	25	.000		
	Total	.458	29			
750 ppm $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$	Between Groups	.266	4	.066	209.700	.000
	Within Groups	.008	25	.000		
	Total	.274	29			
Storage time (days)		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
0	Between Groups	.012	3	.004	49.592	.000
	Within Groups	.002	20	.000		
	Total	.014	23			
15	Between Groups	.030	3	.010	35.924	.000
	Within Groups	.006	20	.000		
	Total	.036	23			
30	Between Groups	.095	3	.032	145.971	.000
	Within Groups	.004	20	.000		
	Total	.100	23			

Appendix Table 25 Analysis of variances in total phenolic contents of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ for 0 15 30 45 and 60 days (Cont.)

Storage time (days)		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
45	Between Groups	.120	3	.040	77.380	.000
	Within Groups	.010	20	.001		
	Total	.130	23			
60	Between Groups	.250	3	.083	146.882	.000
	Within Groups	.011	20	.001		
	Total	.262	23			

Appendix Table 26 Analysis of variances in antioxidant properties of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ for 0 15 30 45 and 60 days as determined by DPPH[•] scavenging activity

Treatments		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
0 ppm $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$	Between Groups	58891.808	4	14722.952	234.042	.000
	Within Groups	1509.778	24	62.907		
	Total	60401.586	28			
750 ppm $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$	Between Groups	59193.378	4	14798.344	166.429	.000
	Within Groups	2222.922	25	88.917		
	Total	61416.300	29			
0 ppm $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$	Between Groups	149236.088	4	37309.022	480.600	.000
	Within Groups	1940.753	25	77.630		
	Total	151176.841	29			
750 ppm $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$	Between Groups	142345.593	4	35586.398	430.346	.000
	Within Groups	2067.313	25	82.693		
	Total	144412.907	29			

Appendix Table 26 Analysis of variances in antioxidant properties of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ for 0 15 30 45 and 60 days as determined by DPPH[•] scavenging activity (Cont.)

Storage time (days)		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
0	Between Groups	2216.450	3	738.817	17.785	.000
	Within Groups	830.845	20	41.542		
	Total	3047.295	23			
15	Between Groups	8257.866	3	2752.622	39.676	.000
	Within Groups	1387.544	20	69.377		
	Total	9645.409	23			
30	Between Groups	6973.953	3	2324.651	21.336	.000
	Within Groups	2179.058	20	108.953		
	Total	9153.011	23			
45	Between Groups	22461.172	3	7487.057	81.510	.000
	Within Groups	1745.235	19	91.854		
	Total	24206.408	22			
60	Between Groups	37343.108	3	12447.703	155.783	.000
	Within Groups	1598.084	20	79.904		
	Total	38941.192	23			

Appendix Table 27 Analysis of variances in antioxidant properties of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ for 0 15 30 45 and 60 days as determined by ABTS^{•+} scavenging activity

Treatments		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
0 ppm $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$	Between Groups	2.798	4	.700	68.007	.000
	Within Groups	.257	25	.010		
	Total	3.056	29			
750 ppm $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$	Between Groups	2.619	4	.655	56.580	.000
	Within Groups	.289	25	.012		
	Total	2.908	29			
0 ppm $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$	Between Groups	16.391	4	4.098	262.317	.000
	Within Groups	.391	25	.016		
	Total	16.781	29			
750 ppm $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$	Between Groups	7.764	4	1.941	159.817	.000
	Within Groups	.304	25	.012		
	Total	8.067	29			
Storage time (days)		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
0	Between Groups	.647	3	.216	20.688	.000
	Within Groups	.208	20	.010		
	Total	.855	23			
15	Between Groups	1.284	3	.428	29.179	.000
	Within Groups	.293	20	.015		
	Total	1.577	23			
30	Between Groups	2.768	3	.923	51.201	.000
	Within Groups	.360	20	.018		
	Total	3.128	23			

Appendix Table 27 Analysis of variances in antioxidant properties of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ for 0 15 30 45 and 60 days as determined by ABTS^{•+} scavenging activity (Cont.)

Storage time (days)		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
45	Between Groups	6.042	3	2.014	249.121	.000
	Within Groups	.162	20	.008		
	Total	6.204	23			
60	Between Groups	7.751	3	2.584	238.413	.000
	Within Groups	.217	20	.011		
	Total	7.968	23			

Appendix Table 28 Analysis of variances in antioxidant properties of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ for 0 15 30 45 and 60 days as determined by Ferric reducing antioxidant power or FRAP

Treatments		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
0 ppm $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$	Between Groups	12.384	4	3.096	172.837	.000
	Within Groups	.448	25	.018		
	Total	12.832	29			
750 ppm $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$	Between Groups	9.322	4	2.330	194.808	.000
	Within Groups	.299	25	.012		
	Total	9.621	29			
0 ppm $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$	Between Groups	63.212	4	15.803	1525.886	.000
	Within Groups	.259	25	.010		
	Total	63.471	29			
750 ppm $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$	Between Groups	25.838	4	6.459	442.692	.000
	Within Groups	.365	25	.015		
	Total	26.203	29			

Appendix Table 28 Analysis of variances in antioxidant properties of roselle leather products packed in metalized foil bags during storage at $8.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ and $27.0\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ for 0 15 30 45 and 60 days as determined by Ferric reducing antioxidant power or FRAP (Cont.)

Storage time (days)		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
0	Between Groups	.667	3	.222	13.129	.000
	Within Groups	.339	20	.017		
	Total	1.005	23			
15	Between Groups	18.079	3	6.026	330.167	.000
	Within Groups	.365	20	.018		
	Total	18.444	23			
30	Between Groups	19.571	3	6.524	486.294	.000
	Within Groups	.268	20	.013		
	Total	19.839	23			
45	Between Groups	24.605	3	8.202	613.544	.000
	Within Groups	.267	20	.013		
	Total	24.872	23			
60	Between Groups	31.431	3	10.477	1595.078	.000
	Within Groups	.131	20	.007		
	Total	31.562	23			

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นางสาวสุวิษา แดงกระจ่าง
 รหัสประจำตัวนักศึกษา 5011020038
 วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (อุตสาหกรรมเกษตร)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2547

ทุนการศึกษา (ที่ได้รับในระหว่างการศึกษา)

ทุนการศึกษาระดับบัณฑิตศึกษาของสถานวิจัยผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและอาหารเพื่อสุขภาพ
 คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

Dangkrajang, S., Sirichote, A. and Suwansichon, T. 2010. Development of roselle leather from
 roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) by-product. *As. J. Food Ag-Ind.* 2(04): 788-795.

Dangkrajang, S., Suwansichon, T. and Sirichote, A. 2011. Total Anthocyanin Content Determination
 of Roselle Leather by using Near Infrared Spectroscopy. In Proceedings of The 12th
 Agro-Industrial Conference, Food Innovation Asia 2011: Key to Creative Economy.
 BITEC Bangkok, Thailand. 16-18 June 2011. (Poster presentation)