บทที่ 3

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของกระเจี๊ยบแดงสด

1.1 ร้อยละของผลผลิตกระเจี๊ยบแดงสดและกระเจี๊ยบแดงแห้ง

ร้อยละของผลผลิตกระเจี๊ยบแดงสดและกระเจี๊ยบแดงแห้ง ดังแสดงในตารางที่ 7 พบว่า ร้อยละของผลผลิตกระเจี๊ยบแดงสดและกระเจี๊ยบแดงแห้ง เท่ากับ 47.45±0.71% (น้ำหนักกระเจี๊ยบแดงสดหลังกระทุ้งเอาเมล็ดออก/น้ำหนักกระเจี๊ยบแดงสดก่อนกระทุ้งเอาเมล็ดออก) x 100 และ 9.58±0.77% (น้ำหนักกระเจี๊ยบแดงแห้งหลังการทำแห้ง/น้ำหนักกระเจี๊ยบแดงสดก่อนการทำแห้ง) x 100 ตามลำดับ สอดคล้องกับ ณรงค์ เหล่าโชติและเนาวรัตน์ เสริมศรี (2530) ได้ศึกษาร้อยละของผลผลิตกระเจี๊ยบแดงแห้ง เท่ากับ 10.00-12.50% เนื่องจากกระเจี๊ยบแดงแห้งมีปริมาณความชื้นสุดท้าย เท่ากับ 10.00% ซึ่งสุคนธ์ชื่น ศรีงาม (2543) รายงานว่า การทำแห้งเป็นการลดค่า a_w จึงเป็นการระงับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ นอกจากนี้ ภาคภูมิ พานิชยูปการนันท์ (2545) รายงานว่า ปริมาณความชื้นของสมุนไพรไม่ควรเกิน 10.00% เนื่องจากความชื้นจะทำให้เอนไซม์ในสมุนไพร ได้แก่ เอ็นไซม์ฟีนอลออกซิเดส เป็นต้น ทำงานได้ดี ซึ่งจะกระตุ้นให้เกิดการสลายตัวต่อไปของสารสำคัญของสมุนไพร ดังนั้นกระเจี๊ยบแดงแห้งจึงควบคุมปริมาณความชื้นสุดท้ายเท่ากับ 10.00%

ตารางที่ 7 ร้อยละของผลผลิตกระเจี๊ยบแดงสด[1]และกระเจี๊ยบแดงแห้ง[2]

Table 7 % Yields of fresh[1] and dried roselle calyxes[2]

Roselle calyxes	% Yields*
Fresh (86% moisture content)	47.45±0.71 [1]
Dried (10% moisture content)	9.58±0.77 [2]

* Determination was done in triplicate.

[1] (Means weight of fresh roselle calyxes after remove the seeds / weight of fresh roselle fruits) x100

[2] (Means weight of dried roselle calyxes after drying in a rotary air dryer / weight of fresh roselle calyxes before drying) x 100

1.2 คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของกระเจี๊ยบแดงสด 59

คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของกระเจี๊ยบแดงสด ดังแสดงในตารางที่ 8 จากการทดลอง วัดค่าสีของกระเจี๊ยบแดงสด โดยระบบ CIE LAB โดย L^* คือ ค่าความสว่าง มีค่าจาก 0 คือ สีดำ ถึง 100 คือ สีขาว a^* คือ ค่าที่บ่งบอกความเป็นสีเขียวและสีแดงที่อยู่ในตัวอย่าง โดยค่า $-a^*$ แสดงความเป็นสีเขียว + a^* แสดงความเป็นสีแดง ส่วน b^* คือ ค่าที่บ่งบอกความเป็นสีน้ำเงินและเหลืองที่อยู่ในตัวอย่าง โดยค่า $-b^*$ แสดงความเป็นสีน้ำเงิน + b^* แสดงความเป็นสีเหลือง (Lee and Coates, 1999) จากการทดลอง พบว่า กระเจี๊ยบแดงสด มีค่าสี L^* a^* และ b^* เท่ากับ 0.09±0.01 0.02± 0.01 และ 0.05±0.01 ตามลำดับ จะเห็นว่า กระเจี๊ยบแดงสดมีสีแดงเข้ม และมีปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดมาลิก ค่าพีเอช และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด เท่ากับ 4.20±0.01% 2.16±0.05 และ 5.83±0.04^{0}บริกซ์ ตามลำดับ จะเห็นว่า กระเจี๊ยบแดงสดมีปริมาณกรดสูง สอดคล้องกับงานวิจัยของ Wong และคณะ (2002) ได้ศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของกระเจี๊ยบแดงสด พบว่า ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดมาลิก ค่าพีเอช และปริมาณของแข็งทั้งหมด เท่ากับ 2.42±0.03% 2.49±0.00 และ 3.30± 0.12^{0}บริกซ์ ตามลำดับ นอกจากนี้ Al-kahtani และ Hassan (1990) รายงานว่า กระเจี๊ยบแดงสดจะมีกรดอินทรีย์ ได้แก่ กรดมาลิก กรดซิตริก และ 3-indolyl acetic acid ซึ่งเป็นสารสำคัญที่ทำให้กระเจี๊ยบแดงมีสีแดงสว่าง (brilliant red color)

ตารางที่ 8 คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของน้ำคั้นจากกระเจี๊ยบแดงสด

Table 8 Physical and chemical properties of fresh roselle juice

Physical and chemical properties	Values*
L^*	0.09±0.01
a^*	0.02±0.01
b^*	0.05±0.01

Total acidity, as malic acid (%)	4.20±0.01
pH	2.16±0.05
Total soluble solids (°Brix)	5.83±0.04

*Determination was done in triplicate.

2. สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดกระเจี๊ยบแดงด้วยน้ำ

2.1 อัตราส่วนที่เหมาะสมในการสกัดกระเจี๊ยบแดงสดด้วยน้ำ

คุณภาพของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงสดที่ได้จากการสกัดกระเจี๊ยบแดงสดด้วยน้ำในอัตราส่วนกระเจี๊ยบแดงสดต่อน้ำเท่ากับ 1 ต่อ 2, 1 ต่อ 5 และ 1 ต่อ 10 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ที่อุณหภูมิ 60.0^0ซ นาน 60 นาที ดังแสดงในตารางที่ 9 จากผลการทดลองพบว่า สารสกัดกระเจี๊ยบแดงสดที่ได้จากการสกัดกระเจี๊ยบแดงสดด้วยน้ำในอัตราส่วนกระเจี๊ยบแดงสดต่อน้ำเท่ากับ 1 ต่อ 2 1 ต่อ 5 และ 1 ต่อ 10 มีค่าสี L^* และ a^* ของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงสดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) จะเห็นว่าเมื่ออัตราส่วนกระเจี๊ยบแดงสดต่อน้ำเพิ่มขึ้นจาก 1 ต่อ 2 เป็น 1 ต่อ 5 และ 1 ต่อ 10 สารสกัดกระเจี๊ยบแดงสดที่ได้มีค่าสี L^* และ a^* เพิ่มขึ้นตามอัตราส่วนกระเจี๊ยบแดงสดต่อน้ำที่เพิ่มขึ้น สารสกัดกระเจี๊ยบแดงสดที่ได้จากการสกัดกระเจี๊ยบแดงสดด้วยน้ำในอัตราส่วนกระเจี๊ยบแดงสดต่อน้ำเท่ากับ 1 ต่อ 2, 1 ต่อ 5 และ 1 ต่อ 10 มีค่าสี L^* เท่ากับ 6.93±0.30, 27.02±1.79 และ 40.18±2.78 ตามลำดับ ค่าสี a^* มีค่าเท่ากับ 36.09±0.40, 61.23±1.77 และ 68.70±0.85 ตามลำดับ โดยเฉดสีแดงเปลี่ยนแปลงจากสีแดงเข้ม (dark red color) เป็นสีแดงสว่าง (brilliant red color) ในขณะที่สิรินาถ ตัณฑเกษม (2545) ได้ทำการเตรียมสารสกัดกระเจี๊ยบแดงโดยสกัดกระเจี๊ยบแดงสดด้วยน้ำอัตราส่วนกระเจี๊ยบแดงสดต่อน้ำเท่ากับ 1 ต่อ 1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) สกัดที่อุณหภูมิ 80.0^0ซ นาน 5 นาที แล้วนำสารสกัดกระเจี๊ยบแดงสดที่ได้มาทำให้เข้มข้นจนมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 20.0^0บริกซ์ แล้วนำมาเติมในผลิตภัณฑ์เยลลี่ที่มีส่วนผสมของน้ำตาล 67.75 กรัม เพคติน 0.75 กรัม กรดซิตริก 0.05 กรัม และน้ำ 35.00 กรัม โดยเติมสารสกัดกระเจี๊ยบแดงสดเข้มข้นเพิ่มขึ้นจาก 0.40, 0.50 และ 0.60% โดยน้ำหนักส่วนผสมเยลลี่ พบว่าค่าสี L^* มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) เท่ากับ 6.74, 7.45 และ 8.12 ตามลำดับ และค่า a^* มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) เท่ากับ 6.60, 13.19 และ 18.38 ตามลำดับ

การใช้อัตราส่วนกระเจี๊ยบแดงสดต่อน้ำเพิ่มขึ้นจาก 1 ต่อ 2 เป็น 1 ต่อ 5 และ 1 ต่อ 10 จะทำให้สารสกัดกระเจี๊ยบแดงสดมีปริมาณกรดทั้งหมดลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ซึ่งอยู่

ในช่วง 0.36-1.43% สอดคล้องกับสารสกัดกระเจี๊ยบแดงสดมีค่าพีเอชเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ค่าพีเอชของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงสดอยู่ในช่วง 2.26-2.44 ซึ่งในธรรมชาติแอนโทไซยานินจะมีโครงสร้างอยู่ 4 รูป คือ (1) ฟลาวิเลียมแคทไอออน (2) ควินอยดอล เบส (3) คาร์บินอล ซูโด เบส และ (4) แคลโคน เมื่อค่าพีเอชมีค่าต่ำกว่า 2.00 แอนโทไซยานินจะอยู่ในรูปของฟลาวิเลียมแคทไอออน ซึ่งมีสีแดง และเมื่อค่าพีเอช $\geq$ 6.00 จะเกิดการสูญเสียโปรตอนขึ้นอย่างรวดเร็ว แอนโทไซยานินจะอยู่ในรูปควินอยดอล เบส มีสีฟ้า (Francis, 1985; Mazza and Miniati, 1993; Jackman and Smith, 1996) สารสกัดกระเจี๊ยบแดงสดที่ได้จากการสกัดกระเจี๊ยบแดงสดด้วยน้ำในอัตราส่วนกระเจี๊ยบแดงสดต่อน้ำเท่ากับ 1 ต่อ 2 มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดแสดงในรูปไซยานิดิน 3-กาแลกโตไซด์ สารประกอบฟีนอลทั้งหมดแสดงในรูปกรดแกลลิกและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ แสดงเป็นค่า EC_{50} มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) กับสารสกัดกระเจี๊ยบแดงสดที่ได้จากการสกัดกระเจี๊ยบแดงสดด้วยน้ำในอัตราส่วนกระเจี๊ยบแดงสดต่อน้ำเท่ากับ 1 ต่อ 5 และ 1 ต่อ 10 โดยอัตราส่วนกระเจี๊ยบแดงสดต่อน้ำเท่ากับ 1 ต่อ 2 ให้สารสกัดกระเจี๊ยบแดงสดที่มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด มีค่า EC_{50} เท่ากับ 42.15± 0.18 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระที่สูงกว่าสารสกัดกระเจี๊ยบแดงสดที่ได้จากการสกัดกระเจี๊ยบแดงสดด้วยน้ำในอัตราส่วนกระเจี๊ยบแดงสดต่อน้ำเท่ากับ 1 ต่อ 5 และ 1 ต่อ 10 อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ดังนั้นจึงเลือกอัตราส่วนกระเจี๊ยบแดงสดต่อน้ำเท่ากับ 1 ต่อ 2 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ไปใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

2.2 อัตราส่วนที่เหมาะสมในการสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งด้วยน้ำ

คุณภาพของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งที่ได้จากการสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งด้วยน้ำในอัตราส่วนกระเจี๊ยบแดงแห้งต่อน้ำเท่ากับ 1 ต่อ 5 และ 1 ต่อ 10 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ที่อุณหภูมิ 60.0^{0}ซ นาน 60 นาที ดังแสดงในตารางที่ 10 จากการทดลองพบว่า คุณภาพทางกายภาพ เคมี และคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งที่ได้จากการสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งด้วยน้ำในอัตราส่วนกระเจี๊ยบแดงแห้งต่อน้ำเท่ากับ 1 ต่อ 5 และ 1 ต่อ 10 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$, ตารางภาคผนวกที่ จ-2) อัตราส่วนในการสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งด้วยน้ำเท่ากับ 1 ต่อ 10 ให้สารสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งที่มีสีแดงสว่าง (ค่าสี L^* และ a^*) มากกว่าสารสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งที่ได้จากการสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งด้วยน้ำในอัตราส่วนกระเจี๊ยบแดงแห้งต่อน้ำเท่ากับ 1 ต่อ 5 อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)

นอกจากนี้สารสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งที่ได้จากการสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งด้วยน้ำในอัตราส่วนกระเจี๊ยบแดงแห้งต่อน้ำเท่ากับ 1 ต่อ 5 มีปริมาณกรดทั้งหมด และปริมาณของแข็งที่

ละลายได้ทั้งหมดมากกว่าสารสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งที่ได้จากการสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งด้วยน้ำในอัตราส่วนกระเจี๊ยบแดงแห้งต่อน้ำเท่ากับ 1 ต่อ 10 อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)

การใช้อัตราส่วนในการสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งด้วยน้ำเท่ากับ 1 ต่อ 10 สารสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งที่ได้มีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดแสดงในรูปไซยานิดิน 3-กาแลกโตไซด์ สารประกอบฟีนอลทั้งหมดแสดงในรูปกรดแกลลิก และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระแสดงเป็นค่า EC_{50} มากกว่าสารสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งที่ได้จากการสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งด้วยน้ำในอัตราส่วนกระเจี๊ยบแดงแห้งต่อน้ำเท่ากับ 1 ต่อ 5 อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) Zang และคณะ (1984 อ้างโดย Mazza and Miniati, 1993) รายงานว่า สภาวะการสกัดกระเจี๊ยบแดงที่สกัดด้วยน้ำในอัตราส่วนกระเจี๊ยบแดงต่อน้ำเท่ากับ 1 ต่อ 10 ใช้อุณหภูมิในการสกัด 50.0^{0}ซ นาน 4 ชั่วโมง การสลายตัวของแอนโทไซยานินอันเนื่องจากอุณหภูมิ มีรูปแบบเป็นปฏิกิริยาจลน์พลศาสตร์อันดับหนึ่ง (first order kinetic reaction) ซึ่งเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วที่อุณหภูมิสูงกว่า 100.0^{0}ซ และเห็นได้ชัดโดยเฉพาะที่อุณหภูมิ 165.0-170.0^{0}ซ ดังนั้นการสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งด้วยน้ำในอัตราส่วนกระเจี๊ยบแดงแห้งต่อน้ำเท่ากับ 1 ต่อ 10 จึงเป็นอัตราส่วนที่เหมาะสมในการสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งด้วยน้ำ เนื่องจากสารสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งที่ได้ให้ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด สารประกอบฟีนอลทั้งหมด และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระที่สูงกว่าสารสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งที่ได้จากการสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งด้วยน้ำในอัตราส่วนกระเจี๊ยบแดงแห้งต่อน้ำเท่ากับ 1 ต่อ 5 ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ Al-kahtani และ Hassan (1990) ที่ทำการสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งด้วยน้ำในอัตราส่วนกระเจี๊ยบแดงแห้งต่อน้ำเท่ากับ 1 ต่อ 10 ที่อุณหภูมิ 60.0^{0}ซ นาน 30 นาที ก่อนนำไปทำให้เข้มข้นและทำให้เป็นผงแห้งต่อไป นอกจากนี้ นัยวิท เฉลิมนนท์ (2538) ได้ทำการสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งด้วยน้ำ โดยอัตราส่วนกระเจี๊ยบแดงแห้งต่อน้ำเท่ากับ 1 ต่อ 10 (น้ำหนักต่อปริมาตร) อุณหภูมิในการสกัด 60.0^{0}ซ ระยะเวลาในการสกัด 80 นาที เป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งด้วยน้ำ เนื่องจากสามารถสกัดปริมาณแอนโทไซยานินได้ปริมาณมากที่สุดเท่ากับ 277.67 มิลลิกรัม/100 กรัมของกระเจี๊ยบแดงแห้ง

2.3 อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการสกัดกระเจี๊ยบแดงสดด้วยน้ำ

คุณภาพของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงสดที่ได้จากการสกัดกระเจี๊ยบแดงสดด้วยน้ำในอัตราส่วนกระเจี๊ยบแดงสดต่อน้ำเท่ากับ 1 ต่อ 2 ที่อุณหภูมิและระยะเวลาในการสกัดแตกต่างกันดังแสดงในตารางที่ 11 จากผลการทดลองพบว่า สารสกัดกระเจี๊ยบแดงสดที่ได้จากการสกัดที่อุณหภูมิ 50.0^{0}ซ และ 60.0^{0}ซ เป็นเวลา 30 และ 60 นาที มีคุณสมบัติส่วนใหญ่ทางกายภาพ เคมี และคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$, ตารางภาคผนวกที่ จ-3) จะ

เห็นว่า เมื่อใช้อุณหภูมิที่สูงขึ้นและเวลาการสกัดนานขึ้น ทำให้สีของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงสดมีค่าสีแดงสว่าง (brilliant red color) น้อยลง และปริมาณแอนโทไซยานินน้อยลง Bridle และ Timberlake (1997) รายงานว่า ในสารสกัดที่เป็นกรด การใช้ความร้อนในกระบวนการผลิตจะเป็นสาเหตุทำให้โครงสร้างของแอนโทไซยานินที่อยู่ในรูปคาร์บินอล ซูโดเบส ไม่มีสี มาอยู่ในรูปแคลโคน ซึ่งสีของสารสกัดจะจางลง อย่างไรก็ตาม การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของแอนโทไซยานิน ขึ้นอยู่กับ ค่าพีเอช อุณหภูมิ กรดแอสคอร์บิก ออกซิเจนและ intermolecular copigment เป็นต้น ค่าพีเอชของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงสดที่ได้อยู่ในช่วง 2.30-2.38 ไม่เพียงแต่สารสกัดกระเจี๊ยบแดงสดที่ได้จะมีค่าพีเอชแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) เท่านั้น แต่ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ด้วยเช่นกัน ถึงแม้ว่าสารสกัดที่มีช่วงการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชในช่วงแคบ แต่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของแอนโทไซยานินได้เช่นกัน (Francis, 1985) นอกจากนี้ Tsai และ Huang (2004) รายงานว่า สารประกอบฟีนอลอื่นๆ ในสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดง ได้แก่ คาเทชิน (catechin) สามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับแอนโทไซยานิน ทำให้สีของแอนโทไซยานินเปลี่ยนแปลงไป ซึ่งสารสกัดกระเจี๊ยบแดงสดที่ได้จากการสกัดที่อุณหภูมิ 50.0^{0}ซ นาน 30 นาที สารสกัดกระเจี๊ยบแดงสดที่ได้มีปริมาณแอนโทไซยานิน เท่ากับ 45.13±0.08 มิลลิกรัม/100 กรัมของกระเจี๊ยบแดงสด ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดแสดงในรูปกรดแกลลิก เท่ากับ 22.25±0.31 มิลลิกรัม/กรัมของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงสด และค่า EC_{50} เท่ากับ 27.87±1.27 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งสารสกัดกระเจี๊ยบแดงสดที่ได้จากการสกัดที่อุณหภูมิ 50.0^{0}ซ นาน 30 นาที มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดกระเจี๊ยบแดงสดที่ได้จากการสกัดที่อุณหภูมิ 50.0^{0}ซ นาน 60 นาที 60.0^{0}ซ นาน 30 นาที และ 60.0^{0}ซ นาน 60 นาที อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ดังนั้น การสกัดกระเจี๊ยบแดงสดด้วยน้ำในอัตราส่วนกระเจี๊ยบแดงสดต่อน้ำเท่ากับ 1 ต่อ 2 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ที่อุณหภูมิ 50.0^{0}ซ นาน 30 นาที เป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดกระเจี๊ยบแดงสดด้วยน้ำ

2.4 อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งด้วยน้ำ

คุณภาพของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งที่ได้จากการสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งด้วยน้ำในอัตราส่วนกระเจี๊ยบแดงแห้งต่อน้ำเท่ากับ 1 ต่อ 10 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ที่อุณหภูมิในการสกัดเท่ากับ 50.0^{0}ซ และ 60.0^{0}ซ เป็นเวลา 30 นาที และ 60 นาที ดังแสดงในตารางที่ 12 ผลการทดลองพบว่า สารสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งที่ได้จากการสกัดที่อุณหภูมิ 50.0^{0}ซ นาน 30 นาที สารสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งที่ได้มีค่าสีแดง (a^{*}) มากที่สุด เท่ากับ 5.14±0.69 และมีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดที่แสดงในรูปของไซยานิดิน 3-กาแลกโตไซด์ มากที่สุด เท่ากับ 502.33±0.52

มิลลิกรัม/100 กรัมของกระเจี๊ยบแดงแห้ง กระเจี๊ยบแดงแห้งมีปริมาณความชื้น เท่ากับ 10.00% ดังนั้นสารสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งจึงมีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดมากกว่าประมาณ 10 เท่าของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงสด และสารสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งที่ได้จากการสกัดที่อุณหภูมิ 50.0^{0}ซ นาน 30 นาที มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$, ตารางภาคผนวกที่ จ-4) กับสารสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งที่ได้จากการสกัดที่อุณหภูมิ 50.0^{0}ซ นาน 60 นาที 60.0^{0}ซ นาน 30 นาที และ 60.0^{0}ซ นาน 60 นาที จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระไม่มีความสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดและปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดเนื่องจากเมื่อปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดและปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดมีปริมาณลดลงเมื่อใช้อุณหภูมิสูงขึ้นและเวลานานขึ้นในระหว่างการสกัดแต่กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งที่ได้จากการสกัดที่สภาวะต่างๆ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) Hirunpanich และคณะ (2006) รายงานว่า กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงไม่ขึ้นอยู่กับปริมาณแอนโทไซยานินและสารประกอบฟีนอลเท่านั้น แต่กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงมีสารสำคัญอื่นอีก เช่น เคอซิติน และกรดแอสคอร์บิก ในกระเจี๊ยบแดง 100 กรัม มีกรดแอสคอร์บิกในปริมาณที่สูง มีค่าเท่ากับ 141.09 มิลลิกรัม (นันทวัน บุณยะประภัศรและคณะ, 2541; Wong *et al*., 2002) ซึ่ง Francis (1985) รายงานว่า กรดแอสคอร์บิกจะมีผลเร่งอัตราของการสลายตัวของแอนโทไซยานินให้เกิดเร็วขึ้น และทำให้แอนโทไซยานินมีสีจางลงเนื่องจากเกิดปฏิกิริยาคอนเดนเซชัน (condensation) ของแอนโทไซยานินกับสารประกอบเหล่านี้ ซึ่งจะเกิดปฏิกิริยาการสลายตัวอย่างช้าๆ ของสารดังกล่าว และเป็นไปอย่างต่อเนื่องในระหว่างกระบวนการผลิตด้วยความร้อน (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2545ก) สำหรับงานวิจัยนี้ การสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งด้วยน้ำในอัตราส่วนกระเจี๊ยบแดงแห้งต่อน้ำเท่ากับ 1 ต่อ 10 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ที่อุณหภูมิ 50.0^{0}ซ นาน 30 นาที เป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งด้วยน้ำ

ตารางที่ 9 คุณสมบัติของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงสดที่ได้จากการสกัดกระเจี๊ยบแดงสดด้วยน้ำในอัตราส่วนต่างๆ กัน ที่อุณหภูมิ 60.0^{0}ซ 60 นาที

Table 9 Properties of fresh roselle extracts with various ratios of fresh roselle to water at 60.0^{0}C for 60 minutes

Properties of fresh roselle extract	Ratios of fresh roselle calyxes to water (g : ml)		
	1:2	1:5	1:10
L^*	6.93±0.30 ^{c}	27.02±1.79 ^{b}	40.18±2.78 ^{a}
a^*	36.09±0.40 ^{c}	61.23±1.77 ^{b}	68.70±0.85 ^{a}
b^*	11.79±0.52 ^{c}	48.28±0.94 ^{b}	70.54±2.33 ^{a}
Total acidity, as malic acid (%)	1.43±0.07 ^{a}	0.68±0.06 ^{b}	0.36±0.05 ^{c}
pH	2.26±0.02 ^{c}	2.32±0.01 ^{b}	2.44±0.03 ^{a}
Total soluble solids ($^{\circ}$Brix)	2.12±0.04 ^{a}	0.80±0.00 ^{b}	0.40±0.00 ^{c}
Total anthocyanin contents, as cyanidin 3-galactoside (mg/100 g fresh roselle calyxes)	65.12±0.07 ^{a}	38.86±0.05 ^{b}	35.60±0.05 ^{c}
Total phenolic contents, as gallic acid (mg/g roselle extract)	22.39±0.02 ^{a}	22.12±0.10 ^{b}	22.08±0.04 ^{b}
EC_{50} (µg/ml)	42.15±0.18 ^{c}	51.52±0.79 ^{b}	60.82±1.23 ^{a}

Means ± standard deviation in each row with the same letters are not significantly different (p > 0.0.5).

EC_{50}: The amount of fresh roselle extract (µg) needed for 50% decreasing in the initial DPPH concentration per 1.0 ml of initial solution.

ตารางที่ 10 คุณสมบัติของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งที่ได้จากการสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งด้วยน้ำในอัตราส่วนต่างๆ กัน ที่อุณหภูมิ 60.0^{0}ซ 60 นาที

Table 10 Properties of dried roselle extracts with various ratios of dried roselle to water at 60.0^{0}C for 60 minutes

Properties of dried roselle extract	Ratios of dried roselle calyxes to water (g : ml)	
	1:5	1:10
L^*	0.03±0.02 ^{b}	0.75±0.16 ^{a}
a^*	0.28±0.09 ^{b}	5.22±1.16 ^{a}
b^*	0.06±0.04 ^{b}	1.24±0.27 ^{a}
Total acidity, as malic acid (%)	3.29±0.14 ^{a}	1.85±0.05 ^{b}
pH	2.79±0.02 ^{b}	2.86±0.02 ^{a}
Total soluble solids ($^\circ$Brix)	9.80±0.52 ^{a}	5.33±0.16 ^{b}
Total anthocyanin contents, as cyanidin 3-galactoside (mg/100 g dried roselle calyxes)	400.67±0.82 ^{b}	445.02±1.54 ^{a}
Total phenolic contents, as gallic acid (mg/g roselle extract)	17.53±0.56 ^{b}	40.39±0.72 ^{a}
EC_{50} (µg/ml)	50.48±0.94 ^{a}	45.05±0.67 ^{b}

Means ± standard deviation in each row with the same letters are not significantly different ($p > 0.05$).

EC_{50}: The amount of dried roselle extract (µg) needed for 50% decreasing in the initial DPPH concentration per 1.0 ml of initial solution.

ตารางที่ 11 คุณสมบัติของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงสดที่ได้จากการสกัดที่อุณหภูมิและระยะเวลาในการสกัดแตกต่างกัน

Table 11 Properties of fresh roselle extracts with various temperatures and times for extraction

Properties of fresh roselle extract	Extraction temperatures (°C) / times (min)			
	50.0°C /30 min	50.0°C/ 60 min	60.0°C /30 min	60.0°C/ 60 min
L^*	14.08±0.16 [a]	13.24±0.87 [a]	5.88±0.76 [b]	4.10±0.79 [c]
a^*	47.69±0.29 [a]	46.09±1.61 [a]	33.45±2.15 [b]	28.74±2.63 [c]
b^*	24.25±0.25 [a]	22.74±1.52 [b]	10.12±1.31 [c]	7.06±1.37 [d]
Total acidity , as malic acid (%)	1.58±0.08 [a]	1.60±0.16 [a]	1.63±0.09 [a]	1.64±0.22 [a]
pH	2.33±0.01 [c]	2.38±0.00 [a]	2.35±0.01 [b]	2.30±0.01 [d]
Total soluble solids (°Brix)	1.40±0.00 [b]	1.40±0.00 [b]	1.80±0.00 [a]	1.80±0.00 [a]
Total anthocyanin contents ,as cyanidin 3-galactoside (mg/100 g fresh roselle calyxes)	45.13±0.08 [a]	38.64±0.04 [b]	35.52±0.07 [c]	35.18±0.08 [d]
Total phenolic contents, as gallic acid (mg/g roselle extract)	22.25±0.31 [a]	21.21±0.97 [b]	21.06±0.52 [b]	20.75±0.57 [b]
EC_{50} (μg/ml)	27.87±1.27 [c]	37.13±1.58 [b]	42.39±0.58 [a]	43.34±0.67 [a]

Means ± standard deviation in each row with the same letters are not significantly different ($p > 0.05$).

EC_{50}: The amount of fresh roselle extract (μg) needed for 50% decreasing in the initial DPPH concentration per 1.0 ml of initial solution.

ตารางที่ 12 คุณสมบัติของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งที่ได้จากการสกัดที่อุณหภูมิและระยะเวลาในการสกัดแตกต่างกัน

Table 12 Properties of dried roselle extracts with various temperatures and times for extraction

Properties of dried roselle extract	Extraction temperatures (°C) / times (min)			
	50.0°C/ 30 min	50.0°C/ 60 min	60.0°C /30 min	60.0°C/ 60 min

L^*	0.75±0.10 [a]	0.24±0.15 [d]	0.54±0.08 [b]	0.39±0.05 [c]
a^*	5.14±0.69 [a]	1.86±1.10 [d]	3.95±0.55 [b]	2.75±0.33 [c]
b^*	1.23±0.13 [a]	0.40±0.25 [c]	0.80±0.13 [b]	0.65±0.10 [b]
Total acidity, as malic acid (%)	1.71±0.02 [c]	1.96±0.12 [ab]	2.00±0.02 [a]	1.90±0.03 [b]
pH	2.95±0.01 [a]	2.93±0.02 [b]	2.91±0.02 [b]	2.91±0.01 [b]
Total soluble solids (°Brix)	5.97±0.08 [c]	6.23±0.08 [a]	6.07±0.16 [bc]	6.13±0.10 [ab]
Total anthocyanin contents, as cyanidin 3-galactoside (mg/100 g dried roselle calyxes)	502.33±0.52 [a]	498.93±0.41 [b]	457.74±0.04 [c]	455.08±0.09 [d]
Total phenolic contents, as gallic acid (mg/g roselle extract)	43.00±0.97 [a]	43.06±0.53 [a]	41.72±0.49 [b]	41.78±0.47 [b]
EC_{50} (μg/ml)	44.78±0.49 [a]	45.02±0.63 [a]	44.77±0.50 [a]	44.96±0.72 [a]

Means ± standard deviation in each row with the same letters are not significantly different ($p > 0.05$).

EC_{50}: The amount of dried roselle extract (μg) needed for 50% decreasing in the initial DPPH concentration per 1.0 ml of initial solution.

3. เปรียบเทียบวิธีการทำให้เข้มข้นของสารสกัดกระเจี๊ยบแดง

3.1 วิธีการที่เหมาะสมในการทำให้เข้มข้นของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงสด

คุณภาพของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงสดโดยการทำให้เข้มข้นภายใต้สุญญากาศใช้ความดัน 44 เซนติเมตรปรอท อุณหภูมิ 70.0^{0}ซ เปรียบเทียบกับการทำให้เข้มข้นภายใต้บรรยากาศปกติ ที่อุณหภูมิ 90.0^{0}ซ จนสารสกัดกระเจี๊ยบแดงสดเข้มข้นมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 25.0^{0}บริกซ์ ดังแสดงในตารางที่ 13 พบว่า การทำให้เข้มข้นภายใต้สุญญากาศใช้ความดัน 44 เซนติเมตรปรอท อุณหภูมิ 70.0^{0}ซ ใช้เวลา 2.0 ชั่วโมง สารสกัดกระเจี๊ยบแดงสดเข้มข้นมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดกระเจี๊ยบแดงสดที่ทำให้เข้มข้นโดยใช้บรรยากาศปกติ ที่อุณหภูมิ 90.0^{0}ซ ใช้เวลา 2.5 ชั่วโมง อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) เนื่องจากการทำให้เข้มข้นโดยใช้บรรยากาศปกติ ออกซิเจนจะเป็นสาเหตุที่ทำให้แอนโทไซยานินถูกทำลายได้เร็วขึ้น (นัยวิท เฉลิมนนท์, 2538; Jackman and Smith, 1996; Von Elbe and Schwartz, 1996) ในบรรยากาศปกติ มีก๊าซออกซิเจนที่เป็นสาเหตุทำให้สารประกอบจำพวกโพลีฟีนอลที่เป็นองค์ประกอบในกระเจี๊ยบแดง เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่น แบบมีเอ็นไซม์ฟีนอลออกซิเดสเป็นส่วนร่วมปฏิกิริยา (จินดาพร ภูริพัฒนาวงษ์, 2545) นอกจากนี้ Henry และ Badrie (2007) รายงานว่า อุณหภูมิเป็นปัจจัยที่ทำให้เกิดการสลายตัวของโครงสร้างโมเลกุลของแอนโทไซยานิน โดยในช่วงแรกของการเปลี่ยนแปลงของแอนโทไซยานินจะได้เป็นสารอนุพันธ์ไม่มีสีจำพวกแคลโคน ซึ่งจะเกิดการสลายตัวของโครงสร้างโมเลกุลต่อไปได้เป็นสารสีน้ำตาล (brown products) ดังนั้นการทำให้เข้มข้นภายใต้สุญญากาศใช้ความดัน 44 เซนติเมตรปรอท อุณหภูมิ 70.0^{0}ซ เป็นวิธีที่เหมาะสมในการทำให้เข้มข้นของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงสดเข้มข้นเนื่องจากสารสกัดกระเจี๊ยบแดงสดเข้มข้นที่ได้มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระที่ดีกว่าการทำให้เข้มข้นโดยใช้บรรยากาศปกติ

3.2 วิธีการที่เหมาะสมในการทำให้เข้มข้นของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้ง

คุณภาพของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งโดยการทำให้เข้มข้นภายใต้สุญญากาศใช้ความดัน 44 เซนติเมตรปรอท อุณหภูมิ 70.0^{0}ซ เปรียบเทียบกับการทำให้เข้มข้นภายใต้บรรยากาศปกติ ที่อุณหภูมิ 90.0^{0}ซ จนสารสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งเข้มข้นมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 25.0^{0}บริกซ์ ดังแสดงในตารางที่ 14 พบว่าการทำให้เข้มข้นภายใต้สุญญากาศใช้ความดัน 44 เซนติเมตรปรอท อุณหภูมิ 70.0^{0}ซ ซึ่งสารสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งเข้มข้นที่ได้มีค่าพีเอชอยู่ในช่วง 2.89-3.01 Asen และคณะ (1972) รายงานว่า เมื่อค่าพีเอชเพิ่มขึ้นเป็น 3.16 จะทำให้แอนโทไซยานินเปลี่ยนรูปไปอยู่ในรูปของไซยานิดิน 3,5-ไดกลูโคไซด์ เมื่อวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินในรูป

ของไซยานิดิน 3-กาแลกโตไซด์ จึงทำให้ปริมาณแอนโทไซยานินเปลี่ยนไป ที่ค่าพีเอช 3.16 ค่าการดูดกลืนแสงของไซยานิดิน 3,5-ไดกลูโคไซด์ เพิ่มขึ้นเป็น 300 เท่า เมื่อความเข้มข้นของไซยานิดิน 3,5-ไดกลูโคไซด์เพิ่มขึ้นเป็น 100 เท่า ที่ความยาวคลื่นสูงสุด (λ_{max}) ซึ่งสารสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งเข้มข้นที่ได้จากการทำให้เข้มข้นภายใต้สุญญากาศใช้ความดัน 44 เซนติเมตรปรอท อุณหภูมิ 70.0^{0}ซ และการทำให้เข้มข้นโดยใช้บรรยากาศปกติ ที่อุณหภูมิ 90.0^{0}ซ มีปริมาณแอนโทไซยานินแสดงในรูปไซยานิดิน 3-กาแลกโตไซด์ เท่ากับ 340.97±0.15 และ 318.68±0.16 มิลลิกรัม/100 กรัมกระเจี๊ยบแดงแห้ง ตามลำดับ การทำให้เข้มข้นภายใต้สุญญากาศใช้ความดัน 44 เซนติเมตรปรอท อุณหภูมิ 70.0^{0}ซ สารสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งเข้มข้นที่ได้มีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดที่แสดงในรูปไซยานิดิน 3-กาแลกโตไซด์ และสารประกอบฟีนอลทั้งหมดที่แสดงในรูปกรดแกลลิก แตกต่างอย่างกันมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) กับสารสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งเข้มข้นโดยใช้บรรยากาศปกติ ที่อุณหภูมิ 90.0^{0}ซ และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งเข้มข้นที่ได้จากการทำให้เข้มข้นภายใต้สุญญากาศใช้ความดัน 44 เซนติเมตรปรอท อุณหภูมิ 70.0^{0}ซ มีค่าสูงกว่าสารสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งเข้มข้นที่ใช้วิธีการทำให้เข้มข้นโดยใช้บรรยากาศปกติ ที่อุณหภูมิ 90.0^{0}ซ อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ดังนั้น การทำให้เข้มข้นภายใต้สุญญากาศใช้ความดัน 44 เซนติเมตรปรอท อุณหภูมิ 70.0^{0}ซ จึงเป็นวิธีที่เหมาะสมในการทำให้เข้มข้นของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งเข้มข้น

4. การพัฒนาสูตรส่วนผสมของกระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้น

การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นที่สูตรส่วนผสมต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 15 ซึ่งการพัฒนาสูตรส่วนผสมต่างๆ มีทั้งหมด 3 สูตร (ตารางที่ 6) จากการทดลองพบว่า การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นสูตรที่ 1 สูตรที่ 2 และสูตรที่ 3 มีคะแนนด้านสีไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) แต่สูตรที่ 1 และสูตรที่ 2 มีคะแนนด้านรสหวาน รสเปรี้ยว ความรู้สึกภายในปากและการยอมรับโดยรวมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ($P>0.05$) กับสูตรที่ 3 ในขณะที่สูตรที่ 1 และสูตรที่ 2 มีคะแนนด้านสี รสหวาน รสเปรี้ยว และการยอมรับโดยรวมไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$, ตารางภาคผนวกที่ จ-7, จ-8, จ-9 และจ-11) จะเห็นว่า เมื่อสูตรที่ 1 มีส่วนผสมของกระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นเพิ่มขึ้นจาก 50.00% เป็น 55.00% ของส่วนผสมทั้งหมดในสูตรที่ 2 และสูตรที่ 1 มีปริมาณ ฟรุคโตสลดลงจาก 31.9835% เป็น 26.9835% ของส่วนผสมทั้งหมดในสูตรที่ 2 ทำให้คะแนนด้านความหวาน และความเปรี้ยวไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) แต่การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านความรู้สึกภายในปาก สูตรที่ 1 ได้รับคะแนนมากกว่าสูตรที่ 2 อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$, ตารางภาคผนวกที่ จ-10) ทั้งนี้อาจเนื่องจากสูตรที่ 1 มีส่วนผสมของน้ำตาล ฟรุคโตสมากก

ว่าสูตรที่ 2 จึงทำให้คะแนนด้านความรู้สึกภายในปากของสูตรที่ 1 มากกว่าสูตรที่ 2 ดังนั้นกระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นสูตรที่ 1 จึงเป็นสูตรที่เหมาะสมเพื่อนำไปใช้ผลิตกระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นต่อไป ซึ่งสูตรที่ 1 มีส่วนประกอบดังนี้ กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้น ฟรุคโตส น้ำผึ้ง โอลิโก ฟรุคโตส วิตามินอี และวิตามินเอ เท่ากับ 50.00%, 31.9835%, 10.00%, 8.00%, 0.013% และ 0.0035% ตามลำดับ

ตารางที่ 13 คุณสมบัติของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงสดเข้มข้นโดยใช้สภาวะสุญญากาศและบรรยากาศปกติ

Table 13 Properties of concentrated fresh roselle extracts using vacuum and atmospheric evaporation

Properties of concentrated fresh roselle extract	Methods of evaporation	
	Vacuum	Atmospheric
Total acidity, as malic acid (%)	12.73±0.09[a]	11.58±0.24[b]
pH	2.77±0.02[b]	2.79±0.02[a]
Total soluble solids (°Brix)	25.07±0.10[a]	25.07±0.10[a]
Total anthocyanin contents, as cyanidin 3-galactoside (mg/100 g fresh roselle calyxes)	37.67±0.02[a]	32.56±0.02[b]
Total phenolic contents, as gallic acid (mg/g concentrated roselle extract)	31.26±0.75[a]	29.22±0.33[b]
EC_{50} (µg/ml)	39.37±0.61[b]	51.55±0.98[a]

Means ± standard deviation in each row with the same letters are not significantly different ($p > 0.05$).

EC_{50}: The amount of concentrated fresh roselle extract (µg) needed for 50% decreasing in the initial DPPH concentration per 1.0 ml of initial solution.

ตารางที่ 14 คุณสมบัติของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงแห้งเข้มข้นโดยใช้สภาวะสุญญากาศและบรรยากาศปกติ

Table 14 Properties of concentrated dried roselle extracts using vacuum and atmospheric evaporation

Properties of concentrated dried roselle extract	Methods of evaporation	
	Vacuum	Atmospheric
Total acidity, as malic acid (%)	11.96±0.34[a]	10.37±0.30[b]
pH	2.89±0.05[b]	3.01±0.04[a]
Total soluble solids (°Brix)	25.07±0.10[a]	25.10±0.09[a]
Total anthocyanin contents, as cyanidin 3-galactoside (mg/100 g dried roselle calyxes)	340.97±0.15[a]	318.68±0.16[b]
Total phenolic contents, as gallic acid (mg/g concentrated roselle extract)	31.18±0.62[a]	29.16±0.68[b]
EC_{50} (µg/ml)	47.53±0.85[b]	52.94±1.20[a]

Means ± standard deviation in each row with the same letters are not significantly different ($p > 0.05$).

EC_{50}: The amount of concentrated dried roselle extract (µg) needed for 50% decreasing in the initial DPPH concentration per 1.0 ml of i solution.

ตารางที่ 15 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นที่สูตรส่วนผสมต่างๆ

Table 15 Sensory evaluation of concentrated roselle extract product with different of formula

Formula	Mean scores of sensory evaluation / sensory attributes				
	Color	Sweetness	Sourness	Mouthfeel	Overall acceptability
1	7.73±0.69 [a]	7.17±0.83 [a]	6.97±0.93 [a]	7.07±1.05 [a]	7.23±0.68 [a]
2	7.73±0.83 [a]	6.87±1.14 [a]	6.83±1.18 [a]	6.67±1.37 [b]	7.00±0.98 [a]
3	7.70±0.75 [a]	6.43±1.00 [b]	6.07±1.11 [b]	6.23±1.16 [c]	6.37±1.10 [b]

Means ± standard deviation in each column with the same letters are not significantly different ($p > 0.05$).

5. อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการผลิตกระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้น

คุณสมบัติทางเคมีของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นก่อนการพาสเจอไรซ์ ดังแสดงในตารางที่ 16 จากการทดลองพบว่า ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นบรรจุขวดแก้ว ขนาด 70 มิลลิลิตร ก่อนการพาสเจอไรซ์ มีค่าพีเอช ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดมาลิก เท่ากับ 2.79, 44.5^{0}บริกซ์ และ 2.24% ตามลำดับ และนำมาศึกษาอุณหภูมิเวลาที่เหมาะสมในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์แบบพาสเจอไรซ์ในการผลิตผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นบรรจุขวดแก้ว ดังแสดงในตารางที่ 17 พบว่า การให้ความร้อนด้วยเครื่องฆ่าเชื้อ steam water spray automated batch ที่อุณหภูมิเครื่องฆ่าเชื้อเท่ากับ 101.0^{0}ซ นาน 5 นาที เป็นสภาวะที่ทำให้ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นบรรจุขวดแก้วมีอุณหภูมิ ณ จุดร้อนช้าที่สุด เท่ากับ 85.0^{0}ซ นาน 5 นาที (USFDA., 2001d) ตามเกณฑ์การฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารที่มีค่าพีเอชน้อยกว่าหรือเท่ากับ 4.0 และเมื่อทำการวิเคราะห์จุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้น ที่ทดสอบ sterility test โดยการตรวจ Flat sour spoilage bacteria, Coliform bacteria จุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และรา ภายหลังการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ พบว่า ตรวจไม่พบการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ดังกล่าว ซึ่งเป็นไปตามข้อกำหนดของประกาศกระทรวงสาธารณสุขเรื่องมาตรฐานเครื่องดื่มในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท (ประกาศกระทรวงสาธารณสุข, 2543) เช่นกัน และกราฟแสดงการส่งผ่านความร้อนของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นระหว่างกระบวนการพาสเจอไรซ์ ดังแสดงในภาพที่ 12 ส่วนปริมาณวิตามินเอและวิตามินอีของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นก่อนและหลังการพาสเจอไรซ์ ดังแสดงในตารางที่ 18 พบว่า ก่อนการพาสเจอไรซ์ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นมีปริมาณวิตามินเอเท่ากับ 182.00 ไมโครกรัม/70 มิลลิลิตรของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นเมื่อผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นได้ผ่านการพาสเจอไรซ์แล้ว พบว่า ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้น มีปริมาณวิตามินเอลดลงเหลือเท่ากับ 105.00 ไมโครกรัม/70 มิลลิลิตรของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้น ซึ่ง Tannenbaum และคณะ (1985) รายงานว่า หลังจากกระบวนการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์จะทำให้ปริมาณวิตามินเอลดลง 5-50% ของปริมาณวิตามินเอก่อนการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ แต่ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและระยะเวลาในกระบวนการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วย ส่วนผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นมีปริมาณวิตามินอีก่อนการพาสเจอไรซ์ เท่ากับ 5.14 มิลลิกรัม/70 มิลลิลิตรของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้น เมื่อผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นได้ผ่านการพาสเจอไรซ์แล้ว พบว่า ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้น มีปริมาณวิตามินอีลดลงเหลือเท่ากับ 4.90 มิลลิกรัม/70 มิลลิลิตรของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้น ซึ่ง Tannenbaum และคณะ (1985) รายงานว่า การสูญเสียวิตามินอีเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งการทดลองนี้ได้บรรจุกระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นขณะร้อน

ในขวดแก้ว เพื่อไล่อากาศหรือออกซิเจนบริเวณช่องว่างเหนืออาหารในขวดแก้ว ซึ่งเป็นการลดปฏิกิริยาออกซิเดชันของวิตามินอี

ตารางที่ 16 คุณสมบัติทางเคมีของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นก่อนการพาสเจอไรซ์

Table 16 Chemical properties of concentrated roselle extract product before pasteurization

Chemical properties	Values
pH	2.79
Total soluble solids (^{0}Brix)	44.5
Total acidity (% as malic acid)	2.24

ตารางที่ 17 อุณหภูมิและเวลาในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้น

Table 17 Temperature and time for pasteurization of concentrated roselle extract product

Pasteurized condition	Values
Bottle size	70 BG.
Max. Filling weight	70 ml
Net weight	70 ml
Initial temperature	32.2^{0}C
Come up time	10 min.
Processing temperature (retort)	101.0^{0}C
Processing time (retort)	5 min.
Coldest point processing temperature & time	85.0^{0}C & 5 min.
Cooling temperature	$40.0\text{-}50.0^{0}$C
Sterility test	Negative
- Coliform bacteria	Negative
- Total viable count	< 30 CFU/ml
- Yeast and mold	< 30 CFU/ml

ตารางที่ 18 ปริมาณวิตามินเอและอีของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นก่อนและหลังการพาสเจอไรซ์

Table 18 Vitamin A and E contents of concentrated roselle extract products before and after pasteurization

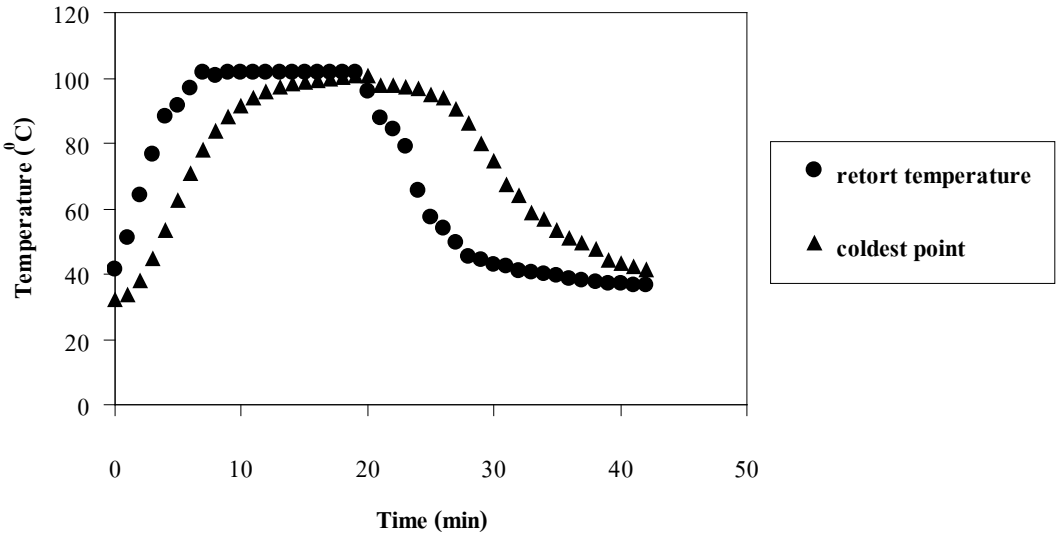
Pasteurization	Vitamin	Value/1 serving size	Thai RDI*
Before	Vitamin A (µg RE**)	182.00 µg	23%
	Vitamin E (mg α-TE***)	5.14 mg	51%
After	Vitamin A (µg RE**)	105.00 µg	15%
	Vitamin E (mg α-TE***)	4.90 mg	50%

*Thai RDI (Thai Recommended Daily Intakes: Percentage of Thai recommended daily intakes based on the demand of energy of 2,000 kilocalories.)

**RE = Retinol equivalent, 1 RE = 1 µg retinol

***α-TE = α-Tocopherol equivalent, 1 α-TE = 1 mg D-α-tocopherol

1 serving size = 70 ml



ภาพที่ 12 การส่งผ่านความร้อนของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นระหว่างกระบวนการพาสเจอไรเซชั่น

Figure 12 Heat penetration curve of concentrated roselle extract product during pasteurization

ภาพที่ 13 ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้น

Figure 13 Concentrated roselle extract product

6. การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นบรรจุขวดแก้วในระหว่างการเก็บรักษา

6.1 คุณภาพทางเคมี

ค่าเฉลี่ยของพีเอชของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4.0±1.0^{0}ซ และ 27.0±1.0^{0}ซ นาน 0, 15, 30, 45 และ 60 วัน ดังแสดงในตารางที่ 19 จากการทดลองพบว่า อิทธิพลร่วมระหว่างระยะเวลาการเก็บรักษาและอุณหภูมิในการเก็บรักษาไม่มีผลต่อค่าพีเอชอย่างมีนัยสำคัญ (P>0.05, ตารางภาคผนวกที่ จ-12) เมื่อศึกษาถึงผลของระยะเวลาการเก็บรักษาต่อค่าพีเอชของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้น ที่อุณหภูมิ 4.0±1.0^{0}ซ และ 27.0±1.0^{0}ซ พบว่า การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นที่อุณหภูมิ 4.0±1.0^{0}ซ เป็นเวลา 0, 15, 30, 45 และ 60 วัน มีค่าพีเอชไม่แตกต่างกันอย่างนัยสำคัญ (P>0.05) ซึ่งมีค่าพีเอชโดยเฉลี่ยเท่ากับ 2.80± 0.01 ส่วนการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นที่อุณหภูมิ 27.0±1.0^{0}ซ เป็นระยะเวลา 0, 15, 30, 45 และ 60 วัน มีค่าพีเอชไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P>0.05) เช่นกัน ซึ่งมีค่าพีเอชโดยเฉลี่ยเท่ากับ 2.80±0.01 สอดคล้องกับ Caro และคณะ (2004) ได้ทำการศึกษาผลของระยะเวลาการเก็บรักษาต่อค่าพีเอชของน้ำส้มสายพันธุ์ Salustiana ที่อุณหภูมิในการเก็บรักษาเท่ากับ 4.0^{0}ซ พบว่าน้ำส้มเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 0, 5, 10 และ 15 วัน มีค่าพีเอชไม่แตกต่างกันอย่างนัยสำคัญ (P>0.05) ซึ่งน้ำส้มมีค่าพีเอชโดยเฉลี่ยเท่ากับ 4.03±0.09

เมื่อศึกษาผลของอุณหภูมิในการเก็บรักษาต่อค่าพีเอชของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้น พบว่า การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นที่อุณหภูมิ 4.0±1.0^{0}ซ มีค่าพีเอชไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P>0.05) กับผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 27.0±1.0^{0}ซ ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาเป็นเวลา 60 วัน

ค่าพีเอชมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างของแอนโทไซยานิน ในธรรมชาติแอนโทไซยานินจะมีโครงสร้างอยู่ 4 ชนิด คือ (1) ควินอยดอล เบส (2) ฟลาวิเลียมแคทไอออน (3) คาร์บินอล ซูโดเบส และ (4) แคลโคน สารสกัดที่มีสภาพเป็นกรดพีเอชต่ำกว่า 2.00 แอนโทไซยานินจะอยู่ในรูปฟลาวิเลียมแคทไอออน ให้สีแดง ซึ่งโครงสร้างค่อนข้างคงตัว และเมื่อพีเอชของสารสกัดเปลี่ยนไป มีค่าพีเอช 6.00-8.00 จะทำให้เกิดการสูญเสียโปรตอนขึ้นอย่างรวดเร็ว แอนโทไซยานินเปลี่ยนมาอยู่ในรูปของควินอยดอล เบส ให้สีฟ้า เมื่อค่าพีเอชเท่ากับ 4.00-6.00 แอนโทไซยานินอยู่ในรูปคาร์บินอล ซูโดเบส และเมื่อพีเอชมีค่าเท่ากับ 3.00-5.00 แอนโทไซยานินอยู่ในรูป แคลโคน อย่างไรก็ตาม ถึงแม้ว่าสารสกัดมีช่วงการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชในช่วงแคบ แต่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของแอนโทไซยานินได้เช่นกัน (Francis, 1985) ซึ่งจากการทดลองผลิต

ภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4.0±1.0^{0}ซ และ 27.0±1.0^{0}ซ มีค่าพีเอชโดยเฉลี่ยเท่ากับ 2.80±0.01 ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาเป็นเวลา 60 วัน

ตารางที่ 19 พีเอชของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4.0±1.0^{0}ซ และ 27.0±1.0^{0}ซ นาน 0, 15, 30, 15 และ 60 วัน

Table 19 pH of concentrated roselle extract products during storage at 4.0±1.0^{0}C and 27.0±1.0^{0}C for 0, 15, 30, 15 and 60 days

Storage time (day)	pH values	
	4.0±1.0^{0}C	27.0±1.0^{0}C
0	2.80±0.01	2.80±0.01
15	2.80±0.01	2.80±0.00
30	2.79±0.01	2.80±0.00
45	2.80±0.01	2.80±0.01
60	2.80±0.00	2.80±0.01

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างระยะเวลาการเก็บรักษา (P>0.05).

NS หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างอุณหภูมิในการเก็บรักษา (P>0.05).

ns = not significant difference among storage time (P>0.05).

NS = not significant difference among storage temperatures (P>0.05).

ค่าเฉลี่ยของปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดมาลิกของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4.0±1.0^{0}ซ และ 27.0±1.0^{0}ซ นาน 0 15 30 45 และ 60 วัน ดังแสดงในตารางที่ 20 จากการทดลองพบว่า อิทธิพลร่วมระหว่างระยะเวลาการเก็บรักษาและอุณหภูมิในการเก็บรักษาไม่มีผลต่อค่าปริมาณกรดทั้งหมดอย่างมีนัยสำคัญ (P>0.05, ตารางภาคผนวกที่ จ-13) เมื่อศึกษาถึงผลของระยะเวลาการเก็บรักษาต่อค่าปริมาณกรดทั้งหมดของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้น ที่อุณหภูมิ 4.0±1.0^{0}ซ และ 27.0±1.0^{0}ซ พบว่า การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นที่อุณหภูมิ 4.0±1.0^{0}ซ เป็นเวลา 0, 15, 30, 45 และ 60 วัน มีค่าปริมาณกรดทั้งหมดไม่แตกต่างกันอย่างนัยสำคัญ (P>0.05) ซึ่งมีค่าปริมาณกรดทั้งหมดโดยเฉลี่ยเท่ากับ 2.24±0.02% ส่วนการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นที่อุณหภูมิ 27.0±1.0^{0}ซ เป็นระยะเวลา 0, 15, 30, 45 และ 60 วัน มีค่าปริมาณกรดทั้งหมดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P>0.05) เช่นกัน ซึ่งมีค่าปริมาณกรดทั้งหมดโดยเฉลี่ยเท่ากับ 2.24±0.02% สอดคล้องกับ Caro และคณะ (2004) ได้ทำการ

ศึกษาผลของระยะเวลาการเก็บรักษาต่อค่าปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดซิตริกของน้ำส้มสายพันธุ์ Salustiana ที่อุณหภูมิในการเก็บรักษาเท่ากับ 4.0^{0}ซ พบว่า น้ำส้มเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 0, 5, 10 และ 15 วัน มีค่าปริมาณกรดทั้งหมดไม่แตกต่างกันอย่างนัยสำคัญ (P>0.05) ซึ่งน้ำส้มมีค่าปริมาณกรดทั้งหมดโดยเฉลี่ยเท่ากับ 0.95±0.02%

ตารางที่ 20 ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละของกรดมาลิก) ของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4.0±1.0^{0}ซ และ 27.0±1.0^{0}ซ นาน 0, 15, 30, 45 และ 60 วัน

Table 20 Total acidity (% as malic acid) of concentrated roselle extract products during storage at 4.0±1.0^{0}C and 27.0±1.0^{0}C for 0, 15, 30, 45 and 60 days

Storage time (day)	Total acidity (% as malic acid)	
	4.0±1.0^{0}C	27.0±1.0^{0}C
0	2.24±0.03	2.24±0.03
15	2.24±0.03	2.23±0.02
30	2.23±0.03	2.23±0.02
45	2.25±0.02	2.25±0.00
60	2.24±0.02	2.24±0.01

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างระยะเวลาการเก็บรักษา (P>0.05).

NS หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างอุณหภูมิในการเก็บรักษา (P>0.05).

ns = not significant difference among storage time (P>0.05).

NS = not significant difference among storage temperatures (P>0.05).

เมื่อศึกษาผลของอุณหภูมิในการเก็บรักษาต่อค่าปริมาณกรดทั้งหมดของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้น พบว่า การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นที่อุณหภูมิ 4.0±1.0^{0}ซ มีค่าปริมาณกรดทั้งหมดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P>0.05) กับผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 27.0±1.0^{0}ซ ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาเป็นเวลา 60 วัน สอดคล้องกับ วรนงค์ ทองสมบัติ (2549) ได้ทำการศึกษาผลของอุณหภูมิในการเก็บรักษาต่อค่าปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดซิตริกของน้ำฝรั่ง ที่อุณหภูมิในการเก็บรักษาแตกต่างกัน 2 ระดับ คือ 4.0^{0}ซ และ 8.0^{0}ซ เป็นเวลา 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 และ 8 สัปดาห์ พบว่า น้ำฝรั่งที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4.0^{0}ซ มีค่าปริมาณกรดทั้งหมดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P>0.05) กับน้ำฝรั่งที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ

8.0^{0}ซ ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาเป็นเวลา 8 สัปดาห์ มีค่าปริมาณกรดทั้งหมดโดยเฉลี่ยเท่ากับ 0.38±0.03%

ค่าเฉลี่ยของปริมาณของแข็งที่ละลายทั้งหมดของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4.0±1.0^{0}ซ และ 27.0±1.0^{0}ซ นาน 0, 15, 30, 45 และ 60 วัน ดังแสดงในตารางที่ 21 จากการทดลองพบว่า อิทธิพลร่วมระหว่างระยะเวลาการเก็บรักษาและอุณหภูมิในการเก็บรักษาไม่มีผลต่อค่าปริมาณของแข็งที่ละลายทั้งหมดอย่างมีนัยสำคัญ (P>0.05, ตารางภาคผนวกที่ จ-14) เมื่อศึกษาถึงผลของระยะเวลาการเก็บรักษาต่อค่าปริมาณของแข็งที่ละลายทั้งหมดของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้น ที่อุณหภูมิ 4.0±1.0^{0}ซ และ 27.0±1.0^{0}ซ พบว่า การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นที่อุณหภูมิ 4.0±1.0^{0}ซ เป็นเวลา 0, 15, 30, 45 และ 60 วัน มีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายทั้งหมดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P>0.05) ซึ่งมีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายทั้งหมดโดยเฉลี่ยเท่ากับ 44.56±0.01^{0}บริกซ์ ส่วนการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นที่อุณหภูมิ 27.0±1.0^{0}ซ เป็นระยะเวลา 0, 15, 30, 45 และ 60 วัน มีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายทั้งหมดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P>0.05) ซึ่งมีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายทั้งหมดโดยเฉลี่ยเท่ากับ 44.56±0.01^{0}บริกซ์ สอดคล้องกับ Caro และคณะ (2004) ได้ทำการศึกษาผลของระยะเวลาการเก็บรักษาต่อค่าปริมาณของแข็งที่ละลายทั้งหมดของน้ำส้มสายพันธุ์ Salustiana ที่ผ่านการพาสเจอไรซ์แล้ว อุณหภูมิในการเก็บรักษาเท่ากับ 4.0^{0}ซ พบว่า น้ำส้มเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 0, 5 10 และ 15 วัน มีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายทั้งหมดไม่แตกต่างกันอย่างนัยสำคัญ (P>0.05) มีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายทั้งหมดโดยเฉลี่ยเท่ากับ 12.76±0.05^{0}บริกซ์ ซึ่ง Sadler (1992 อ้างโดย Franworth *et al*., 2001) รายงานว่า น้ำส้มที่ยังไม่ผ่านการพาสเจอไรซ์ ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4.0^{0}ซ จะทำให้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดมีปริมาณลดลง เนื่องจากจุลินทรีย์ได้ใช้น้ำตาลเป็นอาหารในระหว่างการเก็บรักษา จึงทำให้น้ำส้มที่ยังไม่ผ่านการพาสเจอไรซ์มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดลดลงอย่างช้าๆ ในระหว่างการเก็บรักษา งานวิจัยนี้ ได้ทำการ พาสเจอไรซ์ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นโดยการให้ความร้อนด้วยเครื่องฆ่าเชื้อ steam water spray automated batch ที่อุณหภูมิเครื่องฆ่าเชื้อเท่ากับ 101.0^{0}ซ นาน 5 นาที เป็นสภาวะที่ทำให้ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นบรรจุขวดแก้วมีอุณหภูมิ ณ จุดร้อนช้าที่สุด เท่ากับ 85.0^{0}ซ นาน 5 นาที และภายหลังการพาสเจอไรซ์ตรวจไม่พบการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้น

เมื่อศึกษาผลของอุณหภูมิในการเก็บรักษาต่อค่าปริมาณของแข็งที่ละลายทั้งหมดของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้น พบว่า การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นที่อุณหภูมิ 4.0±1.0^{0}ซ มีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายทั้งหมดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P>0.05)

กับผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 27.0±1.0^{0}ซ ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาเป็นเวลา 60 วัน

ตารางที่ 21 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (^{0}บริกซ์) ของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4.0±1.0^{0}ซ และ 27.0±1.0^{0}ซ นาน 0, 15, 30, 45 และ 60 วัน

Table 21 Total soluble solids (^{0}Brix) of concentrated roselle extract products during storage at 4.0±1.0^{0}C and 27.0±1.0^{0}C for 0, 15, 30, 45 and 60 days

Storage time (day)	Total soluble solids (^{0}Brix)	
	4.0±1.0^{0}C	27.0±1.0^{0}C
0	44.56±0.01	44.56±0.01
15	44.56±0.01	44.56±0.01
30	44.56±0.01	44.56±0.01
45	44.56±0.01	44.56±0.01
60	44.56±0.01	44.56±0.00

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างระยะเวลาการเก็บรักษา (P>0.05).

NS หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างอุณหภูมิในการเก็บรักษา (P>0.05).

ns = not significant difference among storage time (P>0.05).

NS = not significant difference among storage temperatures (P>0.05).

6.2 คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

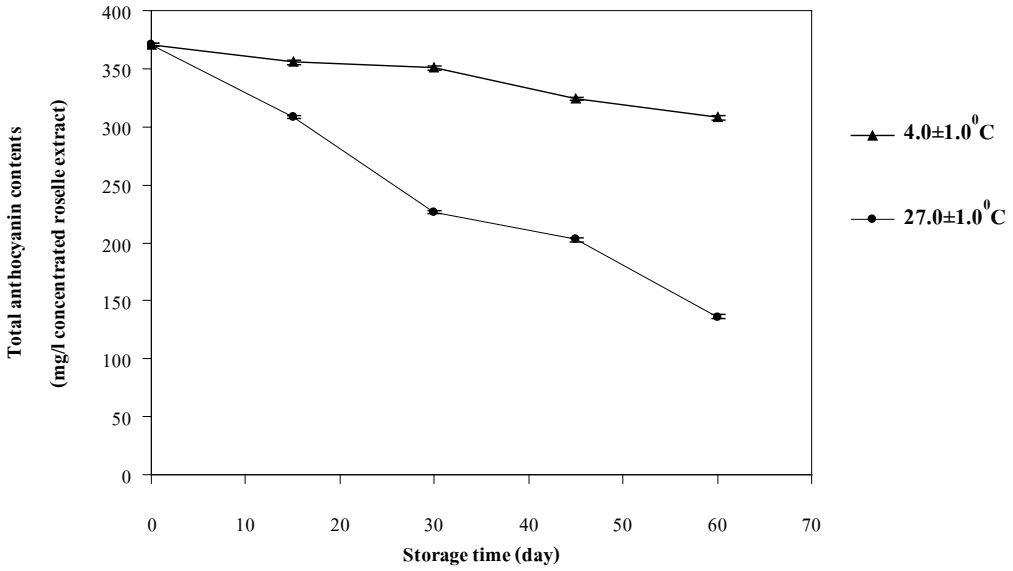
ค่าเฉลี่ยของปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดแสดงในรูปของไซยานิดิน 3-กลูโคไซด์ของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4.0±1.0^{0}ซ และ 27.0±1.0^{0}ซ นาน 0, 15, 30, 45 และ 60 วัน ดังแสดงในภาพที่ 14 จากการทดลองพบว่า อิทธิพลร่วมระหว่างระยะเวลาการเก็บรักษาและอุณหภูมิในการเก็บรักษามีผลต่อปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05, ตารางภาคผนวกที่ จ-15) เมื่อศึกษาถึงผลของระยะเวลาการเก็บรักษาต่อค่าปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้น ที่อุณหภูมิ 4.0±1.0^{0}ซ และ 27.0±1.0^{0}ซ พบว่า การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นที่อุณหภูมิ 4.0±1.0^{0}ซ เป็นเวลา 0, 15, 30, 45 และ 60 วัน มีค่าปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P <0.05) ซึ่งมีค่าปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในระหว่างระยะการเก็บรักษา 0, 15, 30, 45 และ 60

วัน เท่ากับ 370.72±1.71, 355.60±1.60, 350.68±1.85, 323.87±1.09 และ 308.18±1.89 มิลลิกรัม/ลิตร ของกระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้น ตามลำดับ (ตารางภาคผนวกที่ ช-1) ส่วนการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นที่อุณหภูมิ 27.0±1.0^{0}ซ เป็นระยะเวลา 0, 15, 30, 45 และ 60 วัน มีค่าปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดแตกต่างกันอย่างนัยสำคัญ ($P<0.05$) เช่นกัน มีค่าปริมาณ แอนโทไซยานินทั้งหมดในระหว่างระยะเวลาการเก็บรักษา 0, 15, 30, 45 และ 60 วัน เท่ากับ 370.72± 1.71, 308.34±1.44, 226.19±1.17, 202.47±1.56 และ 135.93±1.78 มิลลิกรัม/ลิตรของกระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้น ตามลำดับ (ตารางภาคผนวกที่ ช-1) จะเห็นว่า เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้นจะทำให้ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดมีค่าลดลง

เมื่อศึกษาผลของอุณหภูมิในการเก็บรักษาต่อค่าปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้น พบว่า การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นที่อุณหภูมิ 4.0±1.0^{0}ซ มีค่าปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) กับผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 27.0±1.0^{0}ซ ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาเป็นเวลา 60 วัน ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4.0±1.0^{0}ซ มีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดมากกว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 27.0± 1.0^{0}ซ ซึ่งสอดคล้องกับ Wicklund และคณะ (2005) ได้ทำการศึกษาผลของอุณหภูมิในการเก็บรักษาต่อค่าปริมาณแอนโทไซยานินในผลิตภัณฑ์แยมสตรอเบอรี่ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4.0^{0}ซ และ 20.0^{0}ซ เป็นระยะเวลา 3 เดือน พบว่า ผลิตภัณฑ์แยมสตรอเบอรี่ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4.0^{0}ซ มีปริมาณแอนโทไซยานินเท่ากับ 29.40 มิลลิกรัม/100 กรัมของผลสตรอเบอรี่สด ซึ่งมีค่ามากกว่าผลิตภัณฑ์แยมสตรอเบอรี่ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20.0^{0}ซ โดยมีปริมาณแอนโทไซยานินเท่ากับ 11.20 มิลลิกรัม/100 กรัมของผลสตรอเบอรี่สด นอกจากนี้ Aina และ Shodipe (2006) ได้ทำการศึกษาผลของระยะเวลาและอุณหภูมิในการเก็บรักษาต่อค่าปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำกระเจี๊ยบแดงโดยใช้กระเจี๊ยบแดงแห้ง 20.0 มิลลิกรัม สกัดด้วยน้ำ 1 ลิตร ที่อุณหภูมิ 100.0^{0}ซ นาน 20 นาที นำสารสกัดที่ได้เติมน้ำตาลซูโครส 10.0 กรัม ต่อน้ำกระเจี๊ยบแดง 100 มิลลิลิตร น้ำกระเจี๊ยบแดงมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 8.35^{0}บริกซ์ เมื่อศึกษาผลของระยะเวลาการเก็บรักษาต่อปริมาณแอนโทไซยานินของน้ำกระเจี๊ยบแดงที่อุณหภูมิ 5.0^{0}ซ และ 27.0^{0}ซ พบว่า การเก็บรักษาน้ำกระเจี๊ยบแดงที่อุณหภูมิ 5.0^{0}ซ เป็นเวลา 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 และ 8 สัปดาห์ มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ซึ่งน้ำกระเจี๊ยบแดงมีปริมาณแอนโทไซยานินของสัปดาห์ที่ 1 เท่ากับ 10.09 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตรของน้ำกระเจี๊ยบแดง และสัปดาห์ที่ 8 น้ำกระเจี๊ยบแดงมีปริมาณแอนโทไซยานินลดลงเหลือเท่ากับ 7.23 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตรของน้ำกระเจี๊ยบแดง ส่วนการเก็บรักษาน้ำกระเจี๊ยบแดงที่อุณหภูมิ 27.0^{0}ซ เป็นเวลา 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 และ 8 สัปดาห์ มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) เช่นกัน ซึ่งน้ำ

กระเจี๊ยบแดงมีปริมาณแอนโทไซยานินของสัปดาห์ที่ 1 เท่ากับ 9.09 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตรของน้ำกระเจี๊ยบแดง และสัปดาห์ที่ 8 น้ำกระเจี๊ยบแดงมีปริมาณแอนโทไซยานินลดลงเหลือเท่ากับ 4.13 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตรของน้ำกระเจี๊ยบแดง เมื่อศึกษาอุณหภูมิในการเก็บรักษาต่อค่าปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำกระเจี๊ยบแดง พบว่า การเก็บรักษาน้ำกระเจี๊ยบแดงที่อุณหภูมิ 5.0^{0}ซ มีค่าปริมาณแอนโทไซยานินแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) กับน้ำกระเจี๊ยบแดงที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 27.0^{0}ซ ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ซึ่งการเก็บรักษาน้ำกระเจี๊ยบแดงที่อุณหภูมิ 5.0^{0}ซ มีปริมาณแอนโทไซยานินมากกว่าน้ำกระเจี๊ยบแดงที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 27.0^{0}ซ เนื่องจากน้ำกระเจี๊ยบแดงมีน้ำตาลซูโครสเป็นองค์ประกอบ ซึ่งในสภาวะอาหารที่เป็นกรด น้ำตาลซูโครสสามารถเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซีส ได้เป็นน้ำตาลกลูโคสและฟรุคโตส ซึ่งเป็นน้ำตาลรีดิวซิง (Pancoast and Junk, 1980) โดยน้ำตาลกลุ่มนี้เป็นสารตั้งต้นในการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด ได้ผลิตภัณฑ์เป็นสารสีน้ำตาล (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2545ข) และที่อุณหภูมิสูง (27.0^{0}ซ) ในการเก็บรักษา พบว่า อุณหภูมิมีผลในการเร่งการสลายตัว การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ รงควัตถุแอนโทไซยานิน (Francis, 1989 อ้างโดย Aina and Shodipe, 2006)

สำหรับงานวิจัยนี้ ระยะเวลา (0, 15, 30, 45 และ 60 วัน) และอุณหภูมิ (4.0 ± 1.0^{0}ซ และ 27.0 ± 1.0^{0}ซ) ในการเก็บรักษามีผลต่อปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้น อาจมีสาเหตุเนื่องจาก อุณหภูมิในการเก็บรักษามีผลทำให้แอนโทไซยานินในรูปอนุพันธ์ไซยานิดิน 3-กลูโคไซด์ ถูกทำลายหรือเปลี่ยนแปลงโครงสร้างไป เป็นรูปอนุพันธ์อื่นของแอนโทไซยานิน นอกจากนี้ การที่แอนโทไซยานินมีเฉดสีลดลง ไม่ได้เกิดจากปฏิกิริยาสีน้ำตาล (browning reactions) แต่เกิดเนื่องจาก รงควัตถุแอนโทไซยานินเกิดการสลายตัวอันเนื่องมาจากความร้อน ตามด้วยการเกิดสารประกอบที่มีสีน้ำตาลปรากฏขึ้น (Tsai and Huang, 2004) Mazza และ Miniati (1993) รายงานว่า รงควัตถุแอนโทไซยานินสามารถรวมตัวกับสารโมเลกุลอื่น ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ โพลีฟีนอล กรดอินทรีย์ และโมเลกุลของแอนโทไซยานินเอง เป็นต้น ได้เป็นสารประกอบที่เรียกว่า โคพิกเมนท์ (co-pigment)



ภาพที่ 14 ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในรูปไซยานิดิน 3-กลูโคไซด์ (มก./ลิตร กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้น) ของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4.0±1.0^{0}ซ และ 27.0±1.0^{0}ซ นาน 0, 15, 30, 45 และ 60 วัน

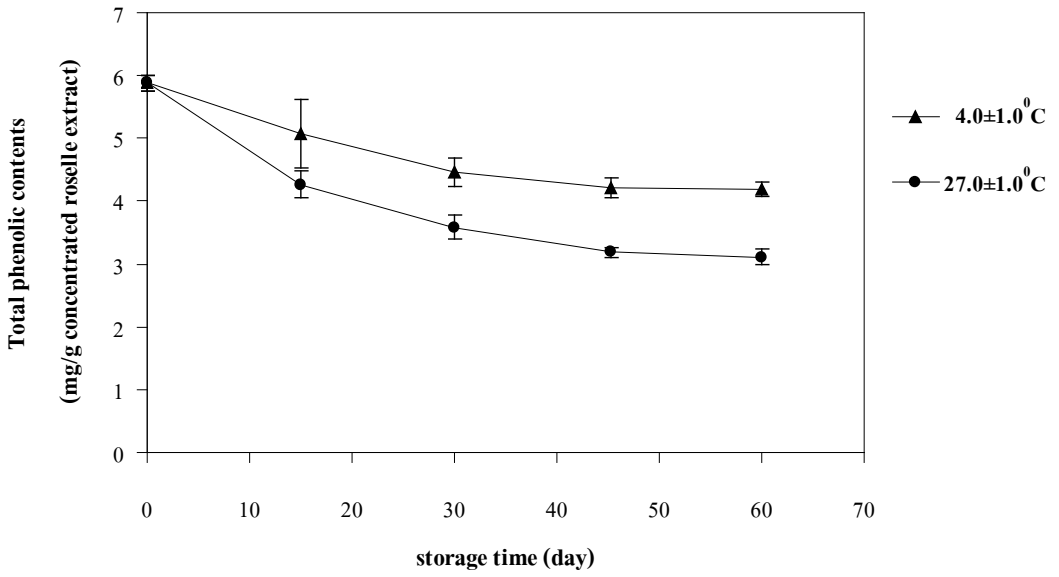
Figure 14 Total anthocyanin contents, as cyanidin 3-glucoside (mg/l concentrated roselle extract) of concentrated roselle extract products during storage at 4.0±1.0^{0}C and 27.0±1.0^{0}C for 0, 15, 30, 45 and 60 days

ค่าเฉลี่ยของปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดแสดงในรูปกรดแกลลิกของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4.0±1.0^{0}ซ และ 27.0±1.0^{0}ซ นาน 0, 15, 30, 45 และ 60 วัน ดังแสดงในภาพที่ 15 จากการทดลองพบว่า อิทธิพลร่วมระหว่างระยะเวลาการเก็บรักษาและอุณหภูมิในการเก็บรักษามีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$, ตารางภาคผนวกที่ จ-16) เมื่อศึกษาถึงผลของระยะเวลาการเก็บรักษาต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้น ที่อุณหภูมิ 4.0±1.0^{0}ซ และ 27.0±1.0^{0}ซ พบว่า การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นที่อุณหภูมิ 4.0±1.0^{0}ซ เป็นเวลา 0, 15, 30, 45 และ 60 วัน มีค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดแตกต่างกันอย่างนัยสำคัญ ($P<0.05$) ซึ่งมีค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดในระหว่างระยะการเก็บรักษา 0, 15, 30, 45 และ 60 วัน เท่ากับ 5.88±0.12, 5.07±0.22, 4.46±0.20, 4.22±0.08 และ 4.19±0.13 มิลลิกรัม/กรัม(ตารางภาคผนวกที่ ช-2) กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้น ตามลำดับ ส่วนการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นที่

อุณหภูมิ 27.0±1.0^{0}ซ เป็นระยะเวลา 0, 15, 30, 45 และ 60 วัน มีค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดแตกต่างกันอย่างนัยสำคัญ ($P<0.05$) เช่นกัน มีค่าปริมาณสารประกอบ ฟีนอลทั้งหมดในระหว่างระยะการเก็บรักษา 0, 15, 30, 45 และ 60 วัน เท่ากับ 5.88±0.12, 4.27±0.55, 3.59±0.23, 3.19±0.16 และ 3.11±0.11 มิลลิกรัม/กรัมกระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้น ตามลำดับ (ตารางภาคผนวกที่ ช-2) จะเห็นว่า เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้นจะทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดมีค่าลดลง ซึ่งสอดคล้องกับ Tsai และคณะ (2002) ได้ทำการศึกษาผลของระยะเวลาการเก็บรักษาต่อค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดในรูปกรดแกลลิกของสารสกัดกระเจี๊ยบแดง ที่อุณหภูมิในการเก็บรักษาเท่ากับ 20.0^{0}ซ พบว่า สารสกัดกระเจี๊ยบแดงเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 0, 4 และ 15 สัปดาห์ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดเท่ากับ 4.25, 3.76 และ 1.53 มิลลิกรัม/กรัมสารสกัดกระเจี๊ยบแดง ตามลำดับ จะเห็นว่า เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาสารสกัดกระเจี๊ยบแดงนานขึ้นจะทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดมีค่าลดลง อาจมีสาเหตุเนื่องจาก สารประกอบฟีนอลสามารถสร้างพันธะกับสารประกอบฟีนอลด้วยกันได้เป็นสารประกอบฟีนอลเชิงซ้อน และสารประกอบฟีนอลเชื่อมกับน้ำตาลโดยกลไก esterification ได้เป็นสารประกอบ ฟีนอลเชิงซ้อนเช่นกัน (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2550)

เมื่อศึกษาผลของอุณหภูมิในการเก็บรักษาต่อค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้น พบว่า การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นที่อุณหภูมิ 4.0±1.0^{0}ซ มีค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) กับผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 27.0±1.0^{0}ซ ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาเป็นเวลา 60 วัน ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4.0±1.0^{0}ซ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดมากกว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 27.0±1.0^{0}ซ สอดคล้องกับ Klimczak และคณะ (2007) ได้ทำการศึกษาผลของระยะเวลาและอุณหภูมิในการเก็บรักษาต่อค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดแสดงในรูปกรดคาเฟอิกของน้ำส้ม เมื่อศึกษาผลของระยะเวลาการเก็บรักษาต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดที่อุณหภูมิ 18.0^{0}ซ, 28.0^{0}ซ และ 38.0^{0}ซ พบว่า การเก็บรักษาน้ำส้มที่อุณหภูมิ 18.0^{0}ซ เป็นเวลา 0, 2, 4 และ 6 เดือน มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ซึ่งน้ำส้มมีปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดเท่ากับ 684.2, 639.5, 633.4 และ 656.6 มิลลิกรัม/ลิตรของน้ำส้ม ตามลำดับ การเก็บรักษาน้ำส้มที่อุณหภูมิ 28.0^{0}ซ เป็นเวลา 0, 2, 4 และ 6 เดือน มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) เช่นกัน ซึ่งน้ำส้มมีปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดเท่ากับ 684.2, 619.5, 603.4 และ 622.8 มิลลิกรัม/ลิตรของน้ำส้ม ตามลำดับ ส่วนการเก็บรักษาน้ำส้มที่อุณหภูมิ 38.0^{0}ซ เป็นเวลา 0, 2, 4 และ 6 เดือน มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) เช่นกัน ซึ่งน้ำส้มมีปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดเท่ากับ

684.2, 582.8, 551.2 และ 573.2 มิลลิกรัม/ลิตรของน้ำส้ม ตามลำดับ จะเห็นว่า เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้นจะทำให้สารประกอบฟีนอลทั้งหมดมีปริมาณลดลง ทั้งนี้เนื่องจาก สารประกอบฟีนอลทั้งหมดในน้ำส้มสามารถทำปฏิกิริยากับ Folin-Ciocalteu reagent ได้น้อยลงทำให้เมื่อทำการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลทั้งหมดโดยวิธี Folin-Ciocalteu จึงมีค่าลดลง เมื่อศึกษาอุณหภูมิในการเก็บรักษาต่อค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดในน้ำส้ม พบว่า การเก็บรักษาน้ำส้มที่อุณหภูมิ 18.0^{0}ซ มีค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) กับปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดในน้ำส้มที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 28.0^{0}ซ และ 38.0^{0}ซ ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาเป็นเวลา 6 เดือน ซึ่งการเก็บรักษาน้ำส้มที่อุณหภูมิ 18.0^{0}ซ, 28.0^{0}ซ และ 38.0^{0}ซ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดลดลงเมื่ออุณหภูมิในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น



ภาพที่ 15 ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดในรูปกรดแกลลิก (มก./กรัมกระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้น) ของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4.0 ± 1.0^{0}ซ และ 27.0 ± 1.0^{0}ซ นาน 0, 15, 30, 45 และ 60 วัน

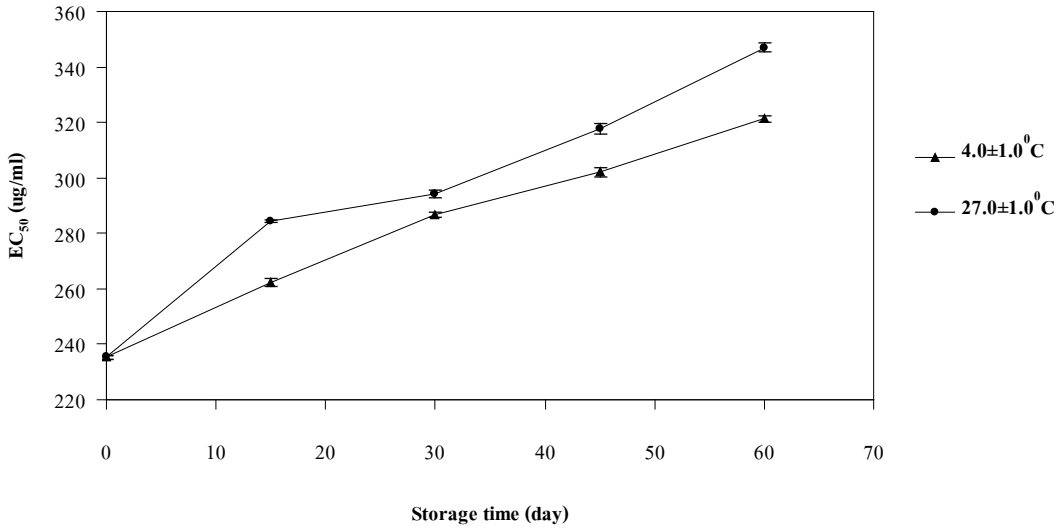
Figure 15 Total phenolic contents, as gallic acid (mg/g concentrated roselle extract) of concentrated roselle extract products during storage at 4.0 ± 1.0^{0}C and 27.0 ± 1.0^{0}C for 0, 15, 30, 45 and 60 days

สำหรับงานวิจัยนี้ ระยะเวลา (0, 15, 30, 45 และ 60 วัน) และอุณหภูมิ (4.0 ± 1.0^{0}ซ และ 27.0 ± 1.0^{0}ซ) ในการเก็บรักษามีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดของผลิตภัณฑ์

กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้น อาจมีสาเหตุเนื่องจาก สารประกอบฟีนอลทั้งหมดในผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นทำปฏิกิริยากับ Folin-Ciocalteu reagent ได้น้อยลง หรืออาจเนื่องจากสารประกอบฟีนอลสร้างพันธะกับสารประกอบฟีนอลด้วยกันได้เป็นสารประกอบฟีนอลเชิงซ้อน และสารประกอบฟีนอลเชื่อมกับน้ำตาลโดยกลไก esterification ได้เป็นสารประกอบฟีนอลเชิงซ้อนเช่นกัน จึงทำให้ค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดที่วัดในรูปกรดแกลลิกของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นมีค่าน้อยลง

กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งแสดงเป็นค่า EC_{50}ของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4.0±1.0^{0}ซ และ 27.0±1.0^{0}ซ นาน 0, 15, 30, 45 และ 60 วัน ดังแสดงในภาพที่ 16 จากผลการทดลองพบว่า อิทธิร่วมระหว่างระยะเวลาการเก็บรักษาและอุณหภูมิในการเก็บรักษามีผลต่อกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$, ตารางภาคผนวกที่ จ-17) เมื่อศึกษาถึงผลของระยะเวลาการเก็บรักษาต่อกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้น ที่อุณหภูมิ 4.0±1.0^{0}ซ และ 27.0±1.0^{0}ซ พบว่า การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นที่อุณหภูมิ 4.0±1.0^{0}ซ เป็นเวลา 0, 15, 30, 45 และ 60 วัน มีค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกันอย่างนัยสำคัญ ($P<0.05$) ซึ่งมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระในระหว่างระยะการเก็บรักษา 0, 15, 30, 45 และ 60 วัน เท่ากับ 235.34±0.76, 262.39±1.32, 286.67±0.99, 302.05±1.61 และ 321.29±1.06 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ (ตารางภาคผนวกที่ ช-3) ส่วนการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นที่อุณหภูมิ 27.0±1.0^{0}ซ เป็นเวลา 0, 15, 30, 45 และ 60 วัน มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกันอย่างนัยสำคัญ ($P<0.05$) เช่นกัน ซึ่งมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระในระหว่างระยะการเก็บรักษา 0, 15, 30, 45 และ 60 วัน เท่ากับ 235.34±0.76, 284.55±0.51, 294.33±1.37, 317.67±1.94 และ 347.04±1.49 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ (ตารางภาคผนวกที่ ช-3) จะเห็นว่า เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้นจะทำให้กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระลดลง สอดคล้องกับ วรนงค์ ทองสมบัติ (2549) ได้ศึกษาผลของระยะเวลาการเก็บรักษาที่มีผลต่อกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของน้ำฝรั่งบรรจุขวดแก้วขนาด 280 มิลลิลิตร ที่ได้ผ่านการพาสเจอไรซ์ที่อุณหภูมิ ณ จุดร้อนช้าที่สุดของน้ำฝรั่งในขวดแก้ว เท่ากับ 85.0^{0}ซ นาน 5 นาที ที่อุณหภูมิในการเก็บรักษาเท่ากับ 4.0^{0}ซ แสดงค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ (% inhibition) โดยใช้วิธี Free-Radical Scavenging DPPH พบว่า การเก็บรักษาน้ำฝรั่งเป็นเวลา 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 สัปดาห์ มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ซึ่งน้ำฝรั่งมี % inhibition ที่ระดับความเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เท่ากับ 26.75, 26.17, 21.02, 29.30, 28.66 และ 24.50% ตามลำดับ จะเห็นว่า เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้นจะทำให้น้ำฝรั่งมี % inhibition ลดลง

เมื่อศึกษาผลของอุณหภูมิในการเก็บรักษาต่อกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้น พบว่า การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นที่อุณหภูมิ 4.0±1.0^{0}ซ มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) กับผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 27.0±1.0^{0}ซ ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาเป็นเวลา 60 วัน ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4.0±1.0^{0}ซ มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระมากกว่าผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 27.0±1.0^{0}ซ สอดคล้องกับ Klimczak และคณะ (2007) ได้ทำการศึกษาผลของระยะเวลาและอุณหภูมิในการเก็บรักษาต่อกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระซึ่งแสดงค่าเป็น % inhibition ของน้ำส้ม โดยใช้วิธี Free-Radical Scavenging DPPH เมื่อศึกษาผลของระยะเวลาการเก็บรักษาต่อกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระที่อุณหภูมิ 18.0^{0}ซ, 28.0^{0}ซ และ 38.0^{0}ซ พบว่า การเก็บรักษาน้ำส้มที่อุณหภูมิ 18.0^{0}ซ เป็นเวลา 0, 2, 4 และ 6 เดือน มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ซึ่งน้ำส้มมี % inhibition เท่ากับ 49.1, 50.9, 46.7 และ 42.2% ตามลำดับ การเก็บรักษาน้ำส้มที่อุณหภูมิ 28.0^{0}ซ เป็นเวลา 0, 2, 4 และ 6 เดือน มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) เช่นกัน ซึ่งน้ำส้มมี% inhibition เท่ากับ 49.1, 53.2, 41.1 และ 27.4% ตามลำดับ ส่วนการเก็บรักษาน้ำส้มที่อุณหภูมิ 38.0^{0}ซ เป็นเวลา 0, 2, 4 และ 6 เดือน มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) เช่นกัน ซึ่งน้ำส้มมี % inhibition เท่ากับ 49.1, 42.5, 28.9 และ 9.5% ตามลำดับ จะเห็นว่า เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้นจะทำให้ % inhibition ลดลง เมื่อศึกษาอุณหภูมิในการเก็บรักษาต่อกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระในน้ำส้ม พบว่า การเก็บรักษาน้ำส้มที่อุณหภูมิ 18.0^{0}ซ มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) กับน้ำส้มที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 28.0^{0}ซ และ 38.0^{0}ซ ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาเป็นเวลา 6 เดือน ซึ่งการเก็บรักษาน้ำส้มที่อุณหภูมิ 18.0^{0}ซ มี % inhibition มากกว่าการเก็บน้ำส้มที่อุณหภูมิ 28.0^{0}ซ และ 38.0^{0}ซ



ภาพที่ 16 EC_{50} (ไมโครกรัม/มล.) ของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4.0±1.0^{0}ซ และ 27.0±1.0^{0}ซ นาน 0, 15, 30, 45 และ 60 วัน

Figure 16 EC_{50} (µg/ml) of concentrated roselle extract products during storage at 4.0±1.0^{0}C and 27.0±1.0^{0}C for 0, 15, 30, 45 and 60 day

สำหรับงานวิจัยนี้ ระยะเวลา (0, 15, 30, 45 และ 60 วัน) และอุณหภูมิ (4.0±1.0^{0}ซ และ 27.0±1.0^{0}ซ) ในการเก็บรักษามีผลต่อกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้น โดยระยะเวลาและอุณหภูมิในการเก็บรักษามีผลต่อการลดลงของปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดที่แสดงในรูปไซยานิดิน 3-กลูโคไซด์ และปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดแสดงในรูปกรดแกลลิกของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้น ซึ่ง Pedrielli และคณะ (2001) รายงานว่าแอนโทไซยานินเป็นสารประกอบฟีนอล และมีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Du and Francis, 1973; Tsai *et al*., 2002)

6.3 คุณภาพทางจุลินทรีย์

จากการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์โดยตรวจปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และรา พบว่า ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (1-5 CFU/ml) ปริมาณยีสต์และรา (1-5 CFU/ml) ซึ่งน้อยกว่า 30 CFU/ml ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาในวันที่ 0 ถึง 60 วัน ซึ่งมาตรฐานเครื่องดื่มประเภทน้ำผลไม้ (มอก. 2542) กำหนดให้มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่เกิน 500 CFU/ml สุมาลี เหลืองสกุล (2539) รายงานว่า น้ำผลไม้ที่มีค่าพีเอชประมาณ 4.0 จัดเป็นผลิตภัณฑ์อาหารประเภทกรด จึงไม่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ ยกเว้นจุลินทรีย์ที่ทนต่อสภาพความเป็นกรดสูงๆ ซึ่งผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นมีค่าพีเอช เท่ากับ 2.79-2.80 สอดคล้องกับ วรนงค์ ทองสมบัติ (2549) ได้ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางจุลินทรีย์ของน้ำฝรั่งบรรจุขวดแก้วผ่านการพาสเจอไรซ์ด้วยอุณหภูมิ ณ จุดร้อนช้าที่สุดของน้ำฝรั่งในขวดแก้ว เท่ากับ 85.0^{0}ซ นาน 5 นาที ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4.0^{0}ซ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า น้ำฝรั่งมีค่าพีเอชประมาณ 3.89 มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (1-14 CFU/ml) ปริมาณยีสต์และรา (1-5 CFU/ml) ซึ่งน้อยกว่า 30 CFU/ml ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา นอกจากนี้ Umme และคณะ (1999) รายงานว่า น้ำทุเรียนเทศมีค่าพีเอชต่ำกว่า 3.70 ซึ่งประกอบด้วยกรดอินทรีย์ต่างๆ ได้แก่ กรดมาลิก กรดซิตริก กรด ออกซาลิก และกรดแอซิติก ซึ่งกรดอินทรีย์เหล่านี้มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ ยกเว้นจุลินทรีย์ที่ทนต่อสภาพความเป็นกรดสูงๆ สามารถเจริญได้เท่านั้น ในกระเจี๊ยบแดงมีกรดอินทรีย์ ได้แก่ กรดซัคซินิก กรดออกซาลิก กรดทาร์ทาริก และกรดมาลิก มีผลให้สารสกัดกระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นที่ได้มีค่าพีเอชต่ำประมาณ 2.80 (นันทวัน บุณยะประภัศรและคณะ, 2541; Wong *et al*., 2002) นอกจากนี้ มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำผลไม้และประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่องมาตรฐานเครื่องดื่มในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท (ประกาศกระทรวงสาธารณสุข, 2543) กำหนดว่าต้องไม่มีจุลินทรีย์จำพวกยีสต์และรา และเมื่อทำการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นเป็นเวลา 60 วัน ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และรายังคงน้อยกว่า 30 CFU/ml จึงทำให้ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 60 วัน ยังมีคุณภาพเป็นไปตามข้อกำหนดดังกล่าว

6.4 คุณภาพทางประสาทสัมผัส

ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4.0±1.0^{0}ซ และ 27.0±1.0^{0}ซ นาน 0, 30 และ 60 วัน ดังแสดงในตารางที่ 22 โดยทำการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสทุก 30 วัน เป็นเวลา 60 วัน จากผลการทดลอง พบว่า อิทธิพลร่วมระหว่างระยะเวลาการเก็บรักษาและอุณหภูมิในการเก็บรักษาไม่มีผลอย่างมีนัยสำคัญ (P>0.05) ต่อการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้าน สี ความหวาน ความเปรี้ยว

ความรู้สึกภายในปาก และการยอมรับโดยรวม (ตารางภาคผนวกที่ จ-18 ถึง จ-22) โดยค่าเฉลี่ยของคะแนนในคุณลักษณะด้านสี คะแนนในคุณลักษณะด้านความหวาน คะแนนในคุณลักษณะด้านความเปรี้ยว คะแนนในคุณลักษณะด้านความรู้สึกภายในปาก และคะแนนในคุณลักษณะด้านการยอมรับโดยรวม มีระดับคะแนนอยู่ในช่วง 7-8 (ชอบปานกลางถึงชอบมาก) ดังนั้นผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4.0 ± 1.0^{0}ซ และ 27.0 ± 1.0^{0}ซ เป็นเวลา 0, 30 และ 60 วัน ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นมีคุณภาพยังเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

6.5 การคำนวณต้นทุนผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้น

ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นบรรจุขวดแก้วฝาเกลียวล็อค ขนาดความจุ 70 มิลลิลิตร จากการคำนวณต้นทุนการผลิตดังรายละเอียดแสดงในภาคผนวก ฉ พบว่า ผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นบรรจุขวดแก้วฝาเกลียวล็อค ขนาดความจุ 70 มิลลิลิตร มีต้นทุนการผลิตเท่ากับ 19.98 บาท/ขวด

ตารางที่ 22 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแดงสกัดเข้มข้นระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4.0±1.0^{0}ซ และ 27.0±1.0^{0}ซ นาน 0, 30 และ 60 วัน

Table 22 Sensory evaluation of concentrated roselle extract products during storage at 4.0±1.0^{0}C and 27.0±1.0^{0}C for 0 30 and 60 days

Storage time (day)	Mean scores of sensory evaluation / sensory attributes [nsNS]									
	Color		Sweetness		Sourness		Mouthfeel		Overall acceptability	
	4.0±1.0^{0}C	27.0±1.0^{0}C	4.0±1.0^{0}C	27.0±1.0^{0}C	4.0±1.0^{0}C	27.0±1.0^{0}C	4.0±1.0^{0}C	27.0±1.0^{0}C	4.0±1.0^{0}C	27.0±1.0^{0}C
0	8.08±0.67	8.08±0.67	7.58±0.51	7.58±0.51	7.83±0.72	7.83±0.72	7.83±0.72	7.83±0.72	7.83±0.58	7.83±0.58
30	7.92±0.90	7.83±0.83	7.75±0.75	7.58±0.90	7.75±0.87	7.33±1.07	7.67±0.89	7.33±0.89	7.83±0.72	7.67±0.78
60	8.00±0.85	7.67±0.78	7.58±0.10	7.33±0.89	8.00±0.95	7.42±0.10	8.08±0.79	7.50±0.80	8.08±0.67	7.50±0.67

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างระยะเวลาการเก็บรักษา (P>0.05).

NS หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างอุณหภูมิในการเก็บรักษา (P>0.05).

ns = not significant difference among storage time (P>0.05).

NS = not significant difference among storage temperature (P>0.05).