

## บทที่ 2

### การสกัดสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงจากกระเจี๊ยบแดงอบแห้ง

#### 1. บทนำ

##### 1.1 บทนำตั้งเรื่อง

กระเจี๊ยบแดงนับเป็นพืชสมุนไพรไทย ที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพในหลายด้าน เช่น ลดไขมันในเลือด ลดความดันโลหิต ลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด ลดไตรกลีเซอไรด์ในเลือด ด้านการเป็นพืชต่อเซลล์มะเร็ง เป็นต้น (นันทวัน บุญยะประภัสร์ และคณะ, 2541) ด้านคุณค่าทางยา เช่น ใ้ขับปัสสาวะ เป็นยาระบายอ่อนๆ แก้อ่อนใน กระหายน้ำ ช่วยป้องกันการจับตัวของไขมันในเส้นเลือด เป็นต้น ด้านคุณค่าทางอาหาร เช่น มีวิตามินเอสูงช่วยบำรุงสายตา รองลงมาคือแคลเซียม ซึ่งช่วยบำรุงกระดูกและฟัน (วิทย์ เทียวบุญธรรม, 2540) นอกจากนี้กระเจี๊ยบแดงยังประกอบไปด้วยรงควัตถุที่มีชื่อว่า แอนโทไซยานิน ซึ่งจากการศึกษาวิจัยพบว่าสารสกัดแอนโทไซยานินจากกระเจี๊ยบแดงนั้นยังมีฤทธิ์ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ยับยั้งการเกิดเซลล์มะเร็ง และยังมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้อีกด้วย จากคุณสมบัติข้างต้นจึงเป็นเหตุผลที่ทำให้ผู้ประกอบการหันมาใช้สมุนไพรดังกล่าวเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น ใช้เป็นสารให้สีในแยม ลูกกวาด ใช้เป็นส่วนผสมในเครื่องสำอาง ยา และยังใช้เป็นสารกันหืนในผลิตภัณฑ์อาหารได้อีกด้วย

ดังนั้นในงานวิจัยส่วนนี้จึงได้ทำการสกัดสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงด้วยน้ำ โดยทำการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสม ในการสกัดสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงจากกระเจี๊ยบแดงแห้ง ได้แก่ขนาดของกระเจี๊ยบแดงแห้งที่เหมาะสมในการสกัด และวิธีการอบแห้งที่เหมาะสมในการผลิตสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผง โดยคำนึงถึงคุณสมบัติการคงไว้ซึ่งฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผง ตลอดจนทำการศึกษาคูณสมบัติทางเคมีและกายภาพของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผง เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับการนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อื่นๆ ต่อไป

## 1.2 วัตถุประสงค์

- เพื่อศึกษาขนาดของกระเจี๊ยบแดงแห้งที่เหมาะสมในการสกัดสารสกัดกระเจี๊ยบแดงด้วยน้ำ
- เพื่อศึกษาวิธีการอบแห้งที่เหมาะสมในการผลิตสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผง
- เพื่อศึกษาคูสมบัติทางเคมี กายภาพ และคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงที่ได้
- เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณความชื้น และคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงในระหว่างการเก็บรักษา
- เพื่อผลิตสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงและเป็นแนวทางในการนำไปประยุกต์เป็นส่วนผสมของซอสกระเจี๊ยบแดงต่อไป

## 2. การตรวจเอกสาร

### 2.1 สารสกัดแอนโทไซยานิน

สารสกัดแอนโทไซยานินที่พบในปัจจุบันมี 2 แบบ ได้แก่ สารสกัดแอนโทไซยานินชนิดเข้มข้น และสารสกัดแอนโทไซยานินชนิดผง ซึ่งขั้นตอนในการสกัดสารสกัดแอนโทไซยานินประกอบด้วย การสกัดโดยใช้ตัวทำละลาย การทำให้เข้มข้น และการทำให้เป็นผงแห้ง (สันติ ทิพยางค์, 2534)

#### 2.1.1 สารสกัดแอนโทไซยานินชนิดเข้มข้น

มักจะสกัดจากกากและเศษผลไม้เหลือทิ้ง หลังจากบีบเอาน้ำผลไม้ ออกแล้ว โดยใช้สารละลายผสมระหว่างแอลกอฮอล์ หรือเมทานอลกับกรดไฮโดรคลอริก ที่มีความเข้มข้นน้อยกว่า 1% หรือใช้กรดมะนาวเป็นตัวทำละลายในการสกัด หลังจากทำให้เข้มข้นแล้ว เก็บสารที่สกัดได้ด้วยวิธีแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส วิธีนี้จะทำให้สามารถเก็บสารสกัดไว้ได้นาน 2 ปี โดยจะไม่มีการเปลี่ยนแปลงของสีเลย (สันติ ทิพยางค์, 2534)

#### 2.1.2 สารสกัดแอนโทไซยานินผง

ทำโดยวิธีระเหิดแห้ง (freeze drying) คือในขั้นแรกทำการแช่แข็งที่สกัดได้ และหลังจากนั้นระเหิดเอาผลึกน้ำแข็งออกไป สารสกัดแอนโทไซยานินชนิดผงที่ได้ ต้องเก็บไว้ในภาชนะที่ปิดแน่นสนิท มิฉะนั้นจะดูดความชื้นทำให้สีเสื่อมคุณภาพได้ สารสกัดแอนโทไซยานินชนิดผงนี้จะใช้สะดวกกว่า สามารถผสมกับผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเป็นผงได้โดยตรง (สันติ ทิพยางค์, 2534)

## 2.2 การสกัด : ปัจจัยที่มีผลต่อกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของการสกัดแอนโทไซยานิน

### 2.2.1 ผลของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด

ชัยโย ชัยชาญทิพยุทธ (2524) ได้ทำการวิเคราะห์สารละลายสีแดงที่สกัดจากกระเจี๊ยบแดงด้วยน้ำ พบว่า มีองค์ประกอบที่เป็นน้ำตาล 2 ชนิด ได้แก่ กลูโคส และอะราบินอส สารละลายที่ได้มี กรดอะมิโนจำนวน 9 ชนิด ได้แก่ กรดแอสพาร์ทิก กรดกลูตามิก เซอรีน ไกลซีน อะลานีน โพรลีน เมทไธโอนีน ลูซีน และทรีโอนีน มีปริมาณกรดแอสคอร์บิกประมาณ 7.12 มก.ต่อ 100 ก.ของสารละลายสีแดง และพบกรดอินทรีย์อื่นๆ ที่มีความเข้มข้นสูง ได้แก่ กรดมาลิก กรดออกซาลิก กรดซิตริก และ กรดอะซิติก ซึ่งส่งผลให้สารละลายที่ได้มีค่าพีเอชต่ำ ซึ่ง Ibrahim และคณะ (1971 อ้างโดย นัยวิท เถลิมนนท์, 2538) รายงานว่าในกระเจี๊ยบแดงสด มีปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดมาลิกเท่ากับ 15.54% และในรูปกรดทาร์ทาริกเท่ากับ 9.90 %

Chirunthorn และคณะ (2004) ศึกษากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงที่ใช้ตัวทำละลายในการสกัดที่แตกต่างกัน โดยมีการเตรียมสารสกัดกระเจี๊ยบแดง ดังนี้คือ วิธีแรกใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายในการสกัด (HS-E) วิธีที่สองใช้น้ำเป็นตัวทำละลายในการสกัดแล้วทำให้แห้งโดยใช้เครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศ (HS-V) และวิธีที่สามใช้น้ำเป็นตัวสกัดและทำให้แห้งโดยใช้เครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย (HS-S) นำสารสกัดทั้งสามวิธีไปวัดกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical (DPPH) scavenging โดยใช้ บีเอชที เป็นสารมาตรฐาน (Yamasaki *et al.*, 1994) แสดงค่าในรูป  $EC_{50}$  (Effective Concentration, ความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50%) พบว่าค่า  $EC_{50}$  ของ HS-S, HS-V และ HS-E เท่ากับ 11.3 ไมโครกรัม/มล., 15.1 ไมโครกรัม/มล. และ 73.9 ไมโครกรัม/มล. (ไมโครกรัมสารสกัดกระเจี๊ยบแดง/มล.ของตัวทำละลาย) ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่า สารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงสามารถใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้

Lapornik และคณะ (2005) ได้ทำการศึกษาถึงผลของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดสารสกัดจากองุ่นแดง โดยนำกากองุ่นแดงที่ได้จากการหมักไวน์ปริมาณ 50 ก. มาเติมตัวทำละลายต่างๆ ได้แก่ 70% เอทานอล, 70% เมททานอล และน้ำ ปริมาตร 100 มล. ผสมให้เข้ากันและเขย่าตัวอย่างที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 ชม. กรองกากหยาบออกด้วยเครื่องกรอง (strainer) จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปหมุนเหวี่ยง (centrifuge) ที่ระดับความเร็ว 8,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที นำสารละลายที่ได้ไปทำการวิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด (total anthocyanin) ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (total polyphenol) และวิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (ตามวิธีของ Lapornik และคณะ (2004), รายงานผลในรูป % of relative ability of an antioxidant substance to scavenge the radicals) พบว่า สารสกัดแอนโทไซยานินที่ใช้ 70%

เอทานอลเป็นตัวทำละลายในการสกัด จะมีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดมากที่สุดเท่ากับ 601.9 มก./ล. (มก.แอนโทไซยานิน/ล.สารละลาย) รองลงมาคือการใช้ 70% เมทธานอล และน้ำเป็นตัวทำละลายในการสกัด ซึ่งจะมีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดเท่ากับ 484.9 มก./ล. และ 55.3 มก./ล. ตามลำดับ จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด พบว่าการใช้ 70% เอทานอลเป็นตัวทำละลายในการสกัด จะส่งผลให้สารสกัดมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลมากที่สุดเท่ากับ 974.4 มก./ล. รองลงมาคือการใช้ 70% เมทธานอล และน้ำเป็นตัวทำละลายในการสกัด ซึ่งสารสกัดจากกากองุ่นแดงมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดเท่ากับ 801.3 มก./ล. และ 193.6 มก./ล.ตามลำดับ สำหรับการวิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ พบว่าสารสกัดจากกากองุ่นแดงที่ใช้ 70% เอทานอลเป็นตัวทำละลายในการสกัด จะมีค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดเท่ากับ 4.7% รองลงมา คือ สารสกัดจากกากองุ่นแดงที่ใช้ 70% เมทธานอล และน้ำ ซึ่งจะส่งผลให้สารสกัดแอนโทไซยานินมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 3.7% และ 1.5% ตามลำดับ ซึ่งคณะวิจัยได้ให้เหตุผลว่าการใช้ เอทานอล และเมทธานอล ซึ่งเป็นตัวทำละลายที่มีความเป็นขั้วน้อยกว่าน้ำในการสกัด จะมีประสิทธิภาพสูงในการทำให้ผนังเซลล์ที่มีลักษณะไม่มีขั้ว (unpolar character cell walls) เกิดการสลายตัว (degradation) จึงส่งผลให้แอนโทไซยานินและสารประกอบโพลีฟีนอลอื่นๆ ถูกปลดปล่อยออกมาจากเซลล์ได้ดีกว่า ส่งผลให้การใช้อเอทานอล และเมทธานอลเป็นตัวทำละลายในการสกัด จะมีค่าปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระที่สูงกว่าการใช้น้ำเป็นตัวทำละลายในการสกัด

### 2.2.2 ผลของระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด

Tsai และคณะ (2002) ได้ทำการศึกษาถึงผลของระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงอบแห้ง โดยนำกลีบกระเจี๊ยบแดงไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 36 ชม. จากนั้นนำกระเจี๊ยบแห้งที่ได้ปริมาณ 3 ก. เติมน้ำ 300 มล. ทำการสกัดเป็นเวลา 1, 2, 3, 4 และ 5 นาที ตามลำดับ เมื่อครบเวลาดังกล่าว นำสารสกัดที่ได้ไปกรองผ่านกรวยบุชเนอร์ (Buchner funnel) และนำไปวิเคราะห์หากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ตามวิธีของ Benzie และ Strain (1996) พบว่า สารสกัดกระเจี๊ยบแดงจะมีค่า FRAP ต่ำ เมื่อใช้ระยะเวลาในการสกัด 1 นาที (0.02 มิลลิโมล/ล.) หลังจากนั้นเมื่อเพิ่มเวลาในการสกัดเป็น 2 นาที ก็จะส่งผลให้กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของแอนโทไซยานินเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว (0.58 มิลลิโมล/ล.) และจะมีค่าคงที่เมื่อใช้ระยะเวลาในการสกัด 3, 4 และ 5 นาที (0.60 มิลลิโมล/ล.) จะเห็นว่าระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงแห้งเพิ่มขึ้น เป็นผลให้สารสกัดมีค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น

Plaza และคณะ (2005) ได้ทำการศึกษาถึงผลของระยะเวลาที่ใช้ในการหมักไวน์ที่มีต่อกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระในกากองุ่นที่ได้จากถังหมักไวน์ โดยนำกากองุ่นที่ผ่านกระบวนการหมักเป็นเวลา 4, 8 และ 12 วัน ปริมาณ 300 ก. มาทำการสกัดด้วยน้ำซัลไฟต์ (sulfite water) ที่ระดับความเข้มข้น 1 ก./ล. ปริมาตร 900 มล. นำตัวอย่างไปเขย่าที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชม. จึงแยกเอาส่วนกากออกไป นำสารสกัดที่ได้ไปหมუნเหวียง จากนั้นจึงนำสารสกัดส่วนใสที่ได้จากการหมუნเหวียงไปผ่านคอลัมน์ที่บรรจุ Amberlite XAD-7 เพื่อให้สารสกัดมีความบริสุทธิ์ขึ้น ทำการชะสารที่ไม่บริสุทธิ์ที่ละลายน้ำได้ด้วยน้ำกลั่น ปริมาตร 500 มล. จากนั้นทำการชะรงควัตถุที่ค้างอยู่ในคอลัมน์ด้วยเอทานอล ปริมาตร 120 มล. นำสารละลายที่ผ่านการชะด้วยเอทานอลดังกล่าวไปประเหยเอทานอลด้วยเครื่องระเหยภายใต้สุญญากาศ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จนกระทั่งสารสกัดปราศจากเอทานอล จึงนำไปละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 100 มล. นำสารละลายไปหมუნเหวียง และนำสารละลายส่วนใสไปปรับพีเอชให้มีค่าเท่ากับ 3 จึงนำสารละลายที่ได้ไปผสมกับน้ำกลั่นในอัตราส่วนสารละลายต่อน้ำเท่ากับ 1:10 จึงนำสารละลายดังกล่าวปริมาตร 3 มล. มาเติมสารละลายอะซีทัลดีไฮด์ (acetaldehyde) ความเข้มข้น 10% ปริมาตร 35 ไมโครลิตร จึงนำสารละลายที่ได้ไปวิเคราะห์หากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ตามวิธีของ Katalinic และคณะ (2004) และวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในรูป มัลวิดอิน-3-กลูโคไซด์ พบว่าเมื่อใช้ระยะเวลาในการหมักไวน์เป็นเวลา 4, 8 และ 12 วัน จะส่งผลให้สารสกัดจากกากองุ่นมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นเท่ากับ 185, 190 และ 180 มิลลิโมล/สารละลาย Fe II ตามลำดับ และมีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดเท่ากับ 2,244.2, 2,457.3 และ 1,466.6 มก./ล. ตามลำดับ ซึ่งผู้วิจัยสันนิษฐานว่า การลดลงของปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดของสารสกัดจากกากองุ่นที่ผ่านการหมักเป็นเวลา 12 วัน อาจเนื่องจากการเสื่อมสลายของโครงสร้างในระหว่างกระบวนการหมักที่ระยะเวลานานขึ้น ส่งผลให้สารสกัดจากกากองุ่นมีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดลดลง

Lapornik และคณะ (2005) ได้ทำการศึกษาถึงผลของระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดสารสกัดจากกากองุ่นแดง โดยนำกากองุ่นแดงที่ได้จากการหมักไวน์ปริมาณ 50 ก. มาทำการสกัดด้วย 70% เอทานอล ปริมาตร 100 มล. ผสมให้เข้ากันและเขย่าตัวอย่างที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1, 12 และ 24 ชม. กรองกากหยาบออกด้วยเครื่องกรอง (strainer) จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปหมუნเหวียง ที่ระดับความเร็ว 8,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที นำสารละลายที่ได้ไปทำการวิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด และวิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (ตามวิธีของ Lapornik และคณะ (2004), รายงานผลในรูป % of relative ability of an antioxidant substance to scavenge the radicals) พบว่าเมื่อใช้ระยะเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้น จะมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น

โดยสารสกัดจากกากองุ่นที่สกัดเป็นเวลา 1, 12 และ 24 ชม. จะมีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดเท่ากับ 601.9, 995.1 และ 748.3 มก./ล. ตามลำดับ มีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดเท่ากับ 801.3, 1448.6 และ 5790.1 มก./ล. ตามลำดับ และสารสกัดดังกล่าวมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 4.7%, 12.0% และ 38.6% ตามลำดับ จะเห็นว่าปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระมีค่าเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการสกัดที่เพิ่มขึ้น ในขณะที่ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดไม่ได้สอดคล้องกับระยะเวลาการสกัดที่เพิ่มขึ้น ทั้งนี้อนุพันธ์แอนโทไซยานินที่แตกต่างกันจะให้คุณสมบัติกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกันด้วย (Satue-Gracia *et al.*, 1997 อ้างโดย Lapornik *et al.*, 2005) Lapornik และคณะ (2005) ยังพบว่าเมื่อระยะเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้น (จาก 1 ชม. เป็น 24 ชม.) อนุพันธ์หลักที่พบมากในกากองุ่นคือ มัลวิดอิน-3-กลูโคไซด์ จะมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างไปอยู่ในรูปของอนุพันธ์อื่นๆ ได้แก่ เดลฟิnidิน-3-กลูโคไซด์, ไฮยานิدين-3-กลูโคไซด์ และพิทุนิดิน-3-กลูโคไซด์ ทำให้เมื่อใช้เวลาในการสกัดกากองุ่นนาน 24 ชม. ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดที่วัดได้จึงมีค่าลดลง

### 2.2.3 ผลของสัดส่วนของวัตถุดิบต่อตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด

นัยวิท เกลิมินนัท (2538) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดแอนโทไซยานินจากกระเจี๊ยบแดงผงแห้ง โดยทำการศึกษาถึงอุณหภูมิในการสกัด ระยะเวลาในการสกัด และ อัตราส่วนระหว่างกระเจี๊ยบแดงผงแห้งต่อน้ำที่ใช้ในการสกัด และนำสารสกัดที่ได้มาใช้เป็นส่วนผสมที่ให้สีในผลิตภัณฑ์เยลลี่แอปเปิ้ล พบว่าการใช้อุณหภูมิในการสกัดที่ 60 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการสกัด 80 นาที และอัตราส่วนของกระเจี๊ยบแดงผงแห้งต่อน้ำที่ 1:10 เป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดแอนโทไซยานินจากกระเจี๊ยบแดงแห้ง เนื่องจากให้ค่าปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในรูป ไฮยานิدين-3-กาแลคโตไซด์สูงที่สุดเท่ากับ 277.67 มก./100ก.กระเจี๊ยบแดงแห้ง เมื่อทดสอบความคงตัวของสีในผลิตภัณฑ์เยลลี่แอปเปิ้ล ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8-10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า ที่อายุการเก็บ 0 วัน ผลิตภัณฑ์จะมีค่า  $L$ , ค่า  $a$  และ ค่า  $b$  ( $L$  จะเป็นค่าความสว่าง เมื่อ  $L$  มีค่าเท่ากับ 0 และ 100 จะเป็นสีดำและสีขาวตามลำดับ ส่วนค่า  $a$  มีค่าเป็นบวกจะเป็นสีแดง และค่าเป็นลบจะเป็นสีเขียว ในขณะที่ค่า  $b$  มีค่าเป็นบวกจะเป็นสีเหลือง และค่าเป็นลบจะเป็นสีน้ำเงิน) เท่ากับ 36.90, 10.73 และ 19.57 ตามลำดับ และที่อายุการเก็บ 6 สัปดาห์ ผลิตภัณฑ์จะมีค่า  $L$ ,  $a$  และ  $b$  เท่ากับ 37.97, 9.67 และ 26.50 ตามลำดับ

Al-kahtani และHassan (1990) รายงานว่าสารสกัดกระเจี๊ยบแดงที่ทำการสกัดด้วยน้ำ โดยนำกลีบกระเจี๊ยบแดงไปแช่ในน้ำโดยใช้อัตราส่วนของกลีบกระเจี๊ยบแดงต่อน้ำเท่ากับ 1:10 เป็นเวลา 10 นาที และทำการสกัดต่อในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิเท่ากับ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำสารสกัดไปทำให้เข้มข้นด้วยเครื่องทำให้เข้มข้นโดยใช้ไอน้ำแบบ

สูญญากาศ ที่อุณหภูมิ 57 องศาเซลเซียส ความดัน 17.5 กิโลปาสกาล จนกระทั่งสารสกัดกระเจียบ แดงมีค่าปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้เท่ากับ 24.5 องศาบริกซ์ จึงนำมาทำให้เป็นผงด้วย เครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย โดยใช้อุณหภูมิขาเข้าเท่ากับ 199 องศาเซลเซียส อุณหภูมิขาออก เท่ากับ 99 องศาเซลเซียส และใช้อัตราการป้อนสารสกัดเท่ากับ 34.7 มล./นาที่ พบว่าสารสกัด กระเจียบแดงที่ได้จะมีปริมาณวิตามินซีเท่ากับ 82.76 มก.ต่อสารสกัด 100 ก. มีความสามารถในการละลายคือ สารสกัดกระเจียบแดง 10 ก.จะใช้เวลา 97 วินาที สำหรับละลายในน้ำกลั่น 10 มล. และมีปริมาณความชื้นเท่ากับ 3.78%

Tsai และคณะ (2002) ได้ทำการศึกษาถึงปริมาณกระเจียบแดงที่ใช้ในการสกัด แอนโทไซยานิน โดยนำกลีบกระเจียบแดงไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 36 ชม. จากนั้นนำกระเจียบแห้งที่ได้ปริมาณ 1, 2, 3, 4 และ 5 ก. เติมน้ำ 300 มล. ทำการสกัดเป็นเวลา 3 นาที นำสารสกัดที่ได้ไปกรองด้วยกรวยบุชเนอร์ และนำไปวิเคราะห์หากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ตามวิธีของ Benzie และ Strain (1996) พบว่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของ สารสกัดกระเจียบแดงจะเพิ่มขึ้นเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณกลีบกระเจียบแดงที่เพิ่มขึ้น และเมื่อนำสารสกัดดังกล่าวไปวิเคราะห์องค์ประกอบต่างๆ ด้วยวิธี HPLC ตามวิธีของ Tsai และ Ou (1996) พบว่าสารสกัดดังกล่าวจำแนกได้เป็นรงควัตถุ เคลฟิโนดิน-3-แซมบูไบโอไซด์ ซึ่งมีสีแดง (คิดเป็น 85% ของแอนโทไซยานินทั้งหมด) และ ไซยานิดิน-3-แซมบูไบโอไซด์ ซึ่งเป็นรงควัตถุที่มี สีชมพู ซึ่งรงควัตถุทั้งสองชนิดนี้จะให้กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระที่วิเคราะห์ด้วยวิธี FRAP คิด เป็น 51% ของกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ และส่วนที่เหลือของกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระอาจ เกิดจาก สารประกอบฟีนอลที่เป็นองค์ประกอบอยู่ในสารสกัด ซึ่งช่วยเสริมฤทธิ์การต้านอนุมูล อิสระของสารสกัดกระเจียบ

### 2.3 การทำสารสกัดให้เข้มข้น

สารสกัดที่ได้จะมีปริมาณมาก และเจือจางจึงต้องนำมาทำให้เข้มข้นเสียก่อน ซึ่ง การทำให้เข้มข้นเป็นการถ่ายเทความร้อนแฝงจากตัวกลางให้ความร้อน เช่น ใช้น้ำไปยังอาหาร และ ความร้อนสัมผัสในระหว่างการระเหยจะทำให้อุณหภูมิของอาหารเพิ่มขึ้นจนถึงจุดเดือดความดันไอ ของอาหารเหลวจะสูงขึ้น และไอน้ำจะถ่ายเทความร้อนแฝงจากการระเหยและทำให้เกิดฟองไอน้ำขึ้น ในของเหลว ไอน้ำจะถูกกำจัดออกไปจากผิวหน้าของอาหารที่ยังเดือดอยู่ ซึ่งพบว่าการระเหยภายใต้ สภาวะสูญญากาศจัดเป็นวิธีที่นิยมมากที่สุด วิธีนี้จะทำให้จุดเดือดของสารสกัดลดลง เนื่องจากมีการ ลดความดันให้ต่ำกว่าความดันบรรยากาศ ส่งผลให้ไม่เกิดการสลายตัวของสารสำคัญที่มีอยู่ในสาร สกัด (รัตนา อิทธานุปรกรณ์, 2547; วิไล รังสาดทอง, 2545)

## 2.4 การทำแห้งสารสกัดแอนโทไซยานิน

การทำแห้งเป็นวิธีการดึงน้ำออกจากอาหาร เพื่อลดความชื้นของอาหารจนถึงระดับที่สามารถระงับการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ โดยปกติความชื้นจะต้องต่ำกว่า 10% หรือมีค่าแอกทีวิตี (Water activity,  $a_w$ ) ต่ำกว่า 0.6 จึงจะทำให้สามารถเก็บสารสกัดได้นานโดยไม่เสื่อมเสีย นับว่าเป็นวิธีการถนอมอาหารแบบง่ายและเก่าแก่ที่สุดวิธีหนึ่ง

สมบัติ (2529 อ้างโดย นัยวิท เถลิมนนท์, 2538) รายงานว่าในการทำแห้งวัตถุดิบที่เป็นของเหลว เช่น น้ำผลไม้ นั้น วิธีการทำแห้งที่เหมาะสมนั้นได้แก่ การทำแห้งแบบสุญญากาศ (vacuum drying), การทำแห้งแบบระเหิดแห้ง, การทำแห้งแบบลูกกลิ้ง (drum drying), การทำแห้งแบบฟ้นฝอย และการทำแห้งแบบเกิดฟอง (foam-mat drying)

### 2.4.1 การทำแห้งแบบสุญญากาศ (vacuum drying)

เครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศมีลักษณะเป็นตู้ที่ปิดสนิท ซึ่งอาหารเหลวจะถูกแผ่บนชั้นวางอาหารที่เป็นแผ่นให้ความร้อนในถังสุญญากาศที่ความดัน 1-70 ทอร์ ซึ่งทำหน้าที่ดูดอากาศออกจากตู้ อาหารจะถูกอบแห้งก่อนด้วยขดลวดที่ทำให้ร้อนด้วยไอน้ำ หรือเครื่องทำความร้อนด้วยรังสีความร้อนซึ่งติดตั้งไว้เหนือสายพาน หลังจากนั้นอาหารก็จะถูกทำให้เย็นโดยใช้น้ำเย็น พบว่าการใช้ระบบนี้ในการทำแห้งอาหาร จะทำให้ใช้อุณหภูมิในการทำแห้งต่ำลงได้ เนื่องจากในสภาวะปกติการระเหยของน้ำจะเกิดขึ้นเมื่อความดันไอของน้ำมีค่าเท่ากับความดันทั้งหมดบนพื้นผิวของน้ำที่มีความดันบรรยากาศปกติเท่ากับ 76 เซนติเมตรปรอท ซึ่งน้ำจะระเหยที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส แต่เมื่อความดันต่ำกว่าความดันปกติ ซึ่งเรียกว่า ความดันสุญญากาศ น้ำจะระเหยที่อุณหภูมิต่ำกว่า 100 องศาเซลเซียส ในการทดลองนี้จึงกำหนดสภาวะในการทำแห้งแบบสุญญากาศโดยใช้อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส และความดัน 25 เซนติเมตรปรอท เพื่อเป็นสภาวะที่ปฏิบัติได้ในภาคอุตสาหกรรม (คณาจารย์ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร, 2540; ทบวงมหาวิทยาลัย, 2541)

Nonhebel และ Moss (1971) กล่าวว่าส่วนประกอบสำคัญที่ใช้ในการทำแห้งแบบสุญญากาศ คือถาดที่เรียงกันเป็นชั้นๆ สามารถเลื่อนเข้าและออกได้ในตู้ที่ใช้ในการทำแห้ง มีประตูที่ใช้ในการเปิดปิดตู้เพียงประตูเดียว และมีชั้นที่ใช้ในการวางถาดประมาณ 14-20 ชั้น มีขนาด 1.5 x 2.0 ม. แต่ละชั้นสามารถบรรจุถาดได้ 2-8 ถาด ขึ้นกับขนาดของถาดที่ใช้ โดยภายในนั้นมีการทำให้เป็นระบบสุญญากาศ อาหารที่นำมาทำให้แห้งนั้นจะถูกวางลงบนถาดโดยตรง เพื่อให้เกิดการถ่ายเทความร้อนจากถาดที่เป็นโลหะผ่านไปยังอาหารหรือผลิตภัณฑ์ และทำให้อาหารหรือผลิตภัณฑ์นั้นแห้งโดยใช้อุณหภูมิที่ต่ำกว่า 60 องศาเซลเซียส ซึ่งเหมาะกับวัตถุดิบที่ง่ายต่อการถูกออกซิไดส์ หรือไวต่อการสูญเสียได้ง่าย ใช้ในการทำแห้งของแข็งที่มีลักษณะเป็นเม็ดๆ หรือลักษณะที่เป็นแป้งเปียก (slurry) หรือ สารละลาย ซึ่งเป็นวิธีที่มีการประยุกต์ใช้เฉพาะใน



อุตสาหกรรมด้านเกษตรกรรม เคมี และการผลิตสี ซึ่งวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตนั้นจะเป็นวัตถุดิบที่ไวต่อความร้อน และง่ายต่อการถูกออกซิไดส์จากอากาศ การทำแห้งวิธีนี้ เป็นวิธีที่เหมาะสมกับผลิตภัณฑ์ที่ใช้ระบบปฏิบัติการหลายระบบ (multi-product operation) ค่าใช้จ่ายในการผลิตเครื่องมือค่อนข้างสูง เพราะมีระบบการใช้สุญญากาศเข้ามาเกี่ยวข้อง และภาคที่ใช้ในการทำแห้งนั้นต้องเป็นวัสดุที่เหมาะสมกับอาหารหรือผลิตภัณฑ์ที่ใช้ด้วย เพราะหากไม่เหมาะสมแล้วอาจเกิดอันตรายจากการปนเปื้อนของภาตสู่ผลิตภัณฑ์ได้

#### 2.4.2 การทำแห้งแบบระเหิดแห้ง (freeze drying)

การทำแห้งแบบระเหิดแห้ง เป็นกระบวนการที่เอาน้ำออกจากอาหารในสภาวะที่น้ำเป็นของแข็ง (น้ำแข็ง) กลายสภาพเป็นไอ นั่นคือเกิดกระบวนการระเหิดขึ้นเมื่อความดันไอ และอุณหภูมิที่ผิวหน้า น้ำแข็งมีค่าต่ำกว่าจุดซึ่งวัฏภาคของก๊าซ ของเหลว และของแข็งอยู่ในสภาวะที่สมดุล (จุดทรีเปิล คือ ความดัน 4.58 ทอร์ อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส) จากความสัมพันธ์ระหว่างความดันไอของน้ำแข็ง และอุณหภูมิของน้ำแข็งที่ต่ำกว่าจุดทรีเปิล พบว่าเมื่อความดันไอนี้มีค่าต่ำลง ส่งผลให้อุณหภูมิของน้ำแข็งมีค่าต่ำลงด้วย (ไพบูลย์ ธรรมรัตน์วาลิก, 2532)

ถ้าความดันไอของอาหารต่ำกว่า 4.58 ทอร์ (610.5 ปาสกาล) และน้ำเกิดการเยือกแข็ง เมื่ออาหารได้รับความร้อน น้ำแข็งจะระเหิดไปเป็นไอน้ำทันทีโดยไม่ผ่านการละลาย ไอน้ำจะถูกกำจัดออกจากอาหารอย่างต่อเนื่อง ด้วยการรักษาความดันในตู้ให้ต่ำกว่าความดันไอน้ำที่ผิวของน้ำแข็ง ไอน้ำจะถูกกำจัดออกไปด้วยปั๊มสุญญากาศ และกลั่นตัวบนขดลวดทำความเย็น เมื่อกระบวนการทำแห้งดำเนินต่อไป ผิวหน้าของการระเหิดจะเคลื่อนที่เข้าไปในอาหาร ความร้อนแฝงของการระเหิดจะเคลื่อนที่ผ่านอาหารไปยังผิวหน้าของการระเหิด ไอน้ำจะเคลื่อนที่และถูกกำจัดออกไปจากอาหารโดยผ่านช่องน้ำแข็งที่ระเหิดไป การทำแห้งอาหารจะเกิดขึ้นใน 2 ขั้นตอน คือ ขั้นแรกโดยการระเหิดจนเหลือความชื้นประมาณ 15% และขั้นตอนที่ 2 คือ การทำแห้งโดยการกำจัดน้ำที่ยังเป็นของเหลวจนมีความชื้นประมาณ 2% การกำจัดน้ำเกิดขึ้นโดยการเพิ่มอุณหภูมิในเครื่องทำแห้งจนมีอุณหภูมิใกล้เคียงกับอุณหภูมิห้อง โดยยังรักษาความดันต่ำอยู่

เครื่องอบแห้งแบบระเหิดแห้งประกอบด้วย ช่องสุญญากาศบรรจุภาตที่ใช้วางอาหารระหว่างการทำแห้ง และเครื่องทำความร้อนที่ใช้ความร้อนแฝงสำหรับการระเหิด ขดลวดทำความเย็นใช้กลั่นตัวไอน้ำ มีเครื่องละลายน้ำแข็งอัตโนมัติเพื่อรักษาขดลวดให้มีพื้นที่ที่ปลอดน้ำแข็งใช้ในการควบแน่นของไอน้ำให้มากที่สุด เพราะพลังงานส่วนใหญ่จะใช้ในการควบแน่นไอน้ำ ปั๊มสุญญากาศจะดูดไอน้ำที่ไม่สามารถควบแน่นออกไป

สำหรับผลกระทบต่ออาหารนั้น ถ้ามีการบรรจุอาหารอย่างถูกต้องเหมาะสม อาหารอบแห้งแบบระเหิดแห้งจะมีอายุการเก็บรักษานานกว่า 12 เดือน โดยที่จจะยังคงคุณภาพ

ทางด้านประสาทสัมผัส และคุณค่าทางโภชนาการไว้สูง สารหอมระเหยจะไม่มีอยู่ในน้ำบริสุทธิ์ของผลิตภัณฑ์แห้ง ดังนั้นกลิ่นจึงไม่ถูกกำจัดไปกับไอน้ำที่ระเหิดออกไปจากน้ำแข็ง แต่จะยังคงอยู่ในอาหาร

ลักษณะเนื้อสัมผัสของอาหารอบแห้งแบบระเหิดแห้งนั้น จะยังคงใกล้เคียงวัตถุดิบมากเนื่องจากเกิดการหดตัว หรือเกิดเปลือกแข็งน้อยมาก โครงสร้างที่เป็นรูพรุนนี้จะทำให้เกิดการคืนตัวอย่างรวดเร็วเมื่อเติมน้ำ แต่โครงสร้างดังกล่าวจะเปราะบาง และแตกหักง่ายมากจึงจำเป็นต้องมีการป้องกันความเสียหายทางกายภาพขึ้น สำหรับการเปลี่ยนแปลงของไขมัน, โปรตีน, แป้งหรือคาร์โบไฮเดรตอื่นๆ และ กรดแอสคอร์บิก พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก และเกิดการสูญเสียวิตามินในระดับต่ำ อย่างไรก็ตามโครงสร้างที่เป็นรูพรุน อาจทำให้ออกซิเจนซึมผ่านเข้าไปได้ง่าย ส่งผลให้ไขมันเกิดการเสื่อมเสียเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ จึงจำเป็นต้องบรรจุอาหารที่อบแห้งแบบระเหิดแห้งในภาชนะบรรจุที่อัดก๊าซเฉื่อย (วิลโล รังสาตทอง, 2545)

#### 2.4.3 ปัจจัยอุณหภูมิที่มีผลต่อวิธีการทำแห้ง

ลักษณะ เหล่าไพบูลย์ และคณะ (2540) ได้ทำการศึกษาผลของวิธีการทำแห้งต่อปริมาณองค์ประกอบต่างๆ ในสาหร่ายเกลียวทอง โดยใช้การทำแห้ง 3 วิธี คือ การทำแห้งโดยการตากแดด (sun drying) การทำแห้งแบบพ่นฝอย และการทำแห้งแบบระเหิดแห้ง พบว่าสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีการระเหิดแห้งจะมีปริมาณโปรตีน คลอโรฟิลล์ แคลโรทีนอยด์ และไฟโคไซยานิน (phycocyanin) สูงสุด คือมีปริมาณโปรตีน 50.13% ของน้ำหนักแห้ง และมีปริมาณคลอโรฟิลล์, แคลโรทีนอยด์, และไฟโคไซยานินเท่ากับ 5.93, 2.35 และ 101.25 มก.ต่อกร. น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ รองลงมาคือการทำแห้งแบบพ่นฝอยซึ่งจะมีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 45.33% ของน้ำหนักแห้ง และมีปริมาณคลอโรฟิลล์ แคลโรทีนอยด์ และไฟโคไซยานินเท่ากับ 5.70, 2.16 และ 94.90 มก.ต่อกร. น้ำหนักแห้งตามลำดับ สำหรับการทำแห้งโดยการตากแดดจะมีปริมาณโปรตีนน้อยที่สุดเท่ากับ 39.57% ของน้ำหนักแห้ง และมีปริมาณคลอโรฟิลล์ แคลโรทีนอยด์ และไฟโคไซยานินน้อยที่สุดเท่ากับ 4.63, 1.37 และ 88.22 มก.ต่อกร. น้ำหนักแห้งตามลำดับ การทำแห้งโดยการตากแดดสาหร่ายได้รับอุณหภูมิสูงเป็นเวลานาน ทำให้โครงสร้างของโปรตีนถูกทำลายเกิดการเสียสภาพอย่างถาวร ปริมาณโปรตีนจึงสูญเสียไปมากที่สุด (39.57%) สำหรับการทำแห้งแบบพ่นฝอยซึ่งใช้อุณหภูมิในการทำแห้งสูงกว่าการตากแดด แต่ใช้ระยะเวลาสั้นๆ ในการทำแห้ง ปริมาณโปรตีนจึงสูญเสียไปน้อยกว่า (45.33%) สำหรับการทำแห้งแบบระเหิดแห้งเป็นการทำแห้งที่ใช้อุณหภูมิต่ำ ปริมาณโปรตีนคงเหลือจึงสูงที่สุด (50.13%) นอกจากนี้การที่สาหร่ายได้รับความร้อนเป็นเวลานาน ทำให้โปรตีนที่เป็นองค์ประกอบอยู่ในไฟโคไซยานินเกิดการเสียสภาพ (denature) หรือถูกทำลายไป ส่งผลให้ปริมาณไฟโคไซยานินลดลง และในสถานะที่สาหร่ายได้รับอุณหภูมิสูง จะเป็นการ

กระตุ้นให้เอนไซม์คลอโรฟิลล์เลส (chlorophyllase) ทำงานได้ดี ทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์มีค่าลดลง นอกจากนี้ยังพบว่าสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งทั้ง 3 วิธีมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตกรดไขมันทั้งหมด เถ้า และเยื่อใย มีปริมาณไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p>0.05$ ) คือ สาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีระเหิดแห้ง จะมีปริมาณคาร์โบไฮเดรต กรดไขมันทั้งหมด เถ้า และเยื่อใย เท่ากับ 15.26, 5.14, 7.06 และ 0.54% โดยน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ สาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย จะมีปริมาณคาร์โบไฮเดรต กรดไขมันทั้งหมด เถ้า และเยื่อใย เท่ากับ 15.29, 5.37, 6.98 และ 0.50% โดยน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ และสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยการตากแดด จะมีปริมาณคาร์โบไฮเดรต กรดไขมันทั้งหมด เถ้า และเยื่อใย เท่ากับ 14.93, 5.37, 7.35 และ 0.56% โดยน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

Larrauri และคณะ (1997) ได้ทำการศึกษาถึงผลของอุณหภูมิที่ใช้ในการอบแห้งเปลือกกุ้งต่อความคงตัวของสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric Thiocyanate (FTC) ตามวิธีของ Kikuzaki และ Nakatani (1993) ซึ่งเป็นการวัดปริมาณเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน โดยเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นจะไปทำปฏิกิริยากับเฟอร์รัสคลอไรด์ (ferrous chloride) และเปลี่ยนไปอยู่ในรูป เฟอร์ริกไอออน (ferric ion) โดยนำเปลือกกุ้งไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60, 100 และ 140 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 9 ชม. และนำเปลือกกุ้งที่ผ่านการอบแห้ง ไปวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ (%การยับยั้งการเกิดเปอร์ออกไซด์) พบว่าการอบแห้งที่อุณหภูมิ 60, 100 และ 140 องศาเซลเซียส จะส่งผลให้เปลือกกุ้งมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด เท่ากับ 4.1%, 3.5% และ 2.9% ตามลำดับ และมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 70.0%, 50.0% และ 38.0% ตามลำดับ ซึ่งคณะผู้วิจัยได้ให้เหตุผลว่า การลดลงของสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดอย่างมีนัยสำคัญ ( $p<0.05$ ) นั้น เกิดจากความร้อนไปทำให้สารประกอบโพลีฟีนอลเกิดการสลายตัว (thermal degradation) ซึ่งเป็นกลไกหลักที่ทำให้สารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดเกิดการเปลี่ยนแปลง และเนื่องจากการที่สารประกอบโพลีฟีนอลเหล่านี้ไม่คงตัวต่อความร้อน จึงทำให้กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของเปลือกกุ้งอบแห้งลดลงไปด้วย

Andrade and Flores (2004) ได้ทำการศึกษาถึงสภาวะที่เหมาะสมที่ใช้ในการทำแห้งสารสกัดกระเจี๊ยบแดงด้วยการทำแห้งแบบพ่นฝอย โดยทำการศึกษาถึงอุณหภูมิ (180, 190 และ 200 องศาเซลเซียส) การไหลเวียนของสารสกัดกระเจี๊ยบแดง (feed flow; 5, 10 และ 15%) และความดัน (5, 6 และ 7 บาร์) โดยพิจารณาควบคู่กับค่าสี ค่าพีเอช ปริมาณความชื้น และปริมาณผลผลิตที่ได้ของสารสกัดกระเจี๊ยบแดง พบว่า สภาวะที่เหมาะสมที่สุดที่ใช้ในการทำแห้งสารสกัดกระเจี๊ยบแดงโดยใช้การทำแห้งแบบพ่นฝอยคือ ใช้อุณหภูมิ 178-190 องศาเซลเซียส การไหลเวียน

ของสารสกัดกระเจี๊ยบแดง 9.5-15.0% และความดัน 5-6 บาร์ ส่งผลให้สารสกัดกระเจี๊ยบแดงมีค่าสี (วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 nm) เท่ากับ 1.56-1.70 ค่าพีเอชเท่ากับ 2.92-2.93 ปริมาณความชื้น เท่ากับ 4.95-7.96% และสารสกัดกระเจี๊ยบแดง 1 มล.ทำเป็นผงแห้งได้ปริมาณ 11.94-13.มก.

Kyi และคณะ (2005) ได้ทำการศึกษาถึงผลของอุณหภูมิที่ใช้ในการทำแห้งเมล็ด โกโก้ต่อปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (ได้แก่ แคลทีชิน และอีพิแคลทีชิน) ที่มีอยู่ในเมล็ด โกโก้อบแห้ง โดยทำการอบแห้งเมล็ดโกโก้ที่อุณหภูมิ 40, 50 และ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชม. นำเมล็ดโกโก้ที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในรูป อีพิแคลทีชิน (epicatechin) ซึ่งทำการวิเคราะห์โดยใช้วิธี HPLC ตามวิธีของ Kim และ Keeny (1983) พบว่าเมล็ด โกโก้ที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 40, 50 และ 60 องศาเซลเซียส จะมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอล ทั้งหมดเท่ากับ 1.9, 1.6 และ 1.3 ก./กก. (กรัมสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด/กิโลกรัมเมล็ดโกโก้ อบแห้ง) ตามลำดับ ซึ่งคณะวิจัยได้ให้เหตุผลว่า ความเข้มข้นของสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด จะลดลงอย่างรวดเร็วในระหว่างการอบแห้ง เนื่องจากอุณหภูมิที่สูงขึ้นจะส่งผลให้ปฏิกิริยา ออกซิเดชันที่มีเอนไซม์เป็นส่วนร่วม (enzymatic oxidation) ได้แก่ เอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส เกิดปฏิกิริยาได้เร็วขึ้น ทำให้ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในเมล็ดโกโก้มีค่าน้อยลง นอกจากนี้การใช้อุณหภูมิสูง (60 องศาเซลเซียส) ในระหว่างการอบ จะส่งผลให้ปฏิกิริยา ออกซิเดชันที่ไม่มีเอนไซม์เป็นส่วนร่วม (non-enzymatic oxidation) ของสารประกอบโพลีฟีนอลใน เมล็ดโกโก้เกิดขึ้นได้อีกด้วย

## 2.5 การประยุกต์ใช้สารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงในผลิตภัณฑ์อาหาร

สันติ ทิพยางค์ (2534) รายงานว่ารัฐบาลได้ออกกฎหมายการใช้สีผสมอาหารที่ได้มาจากการสังเคราะห์เข้มนวดมากขึ้น จึงได้มีการคิดค้นที่จะนำรงควัตถุจากธรรมชาติมาใช้แทนสีสังเคราะห์ ดังนั้นรงควัตถุแอนโทไซยานินซึ่งพบมากในธรรมชาติ และมีระดับสีตั้งแต่ ส้ม แดง ไปจนถึงน้ำเงิน จึงได้รับความสนใจเป็นพิเศษ ซึ่งจากการทดสอบคุณภาพสีของแอนโทไซยานินชนิดผงที่สกัดจากองุ่น โดยใช้กับอุตสาหกรรมผลไม้กระป๋อง นมเปรี้ยว ไวน์แดง พบว่าสีแอนโทไซยานินจะมีสภาพดีเมื่อมีปริมาณความชื้นไม่เกิน 3.00% และใช้กับผลิตภัณฑ์ที่มีฤทธิ์เป็นกรดจะให้สีที่คงทน

Engel (1979 อ้างโดย นัยวิท เถลิมนนท์, 2538) ได้กล่าวถึงการใช้ประโยชน์ของสีจากพืช โดยเฉพาะแอนโทไซยานิน ที่ได้มีการศึกษาเพื่อใช้เป็นทางเลือกในการใช้เป็นสีผสมอาหารแทนการใช้สีแดงสังเคราะห์ ทั้งนี้เนื่องมาจาก การที่แอนโทไซยานินมีความสามารถในการให้ระดับของสีได้ในช่วงกว้าง คือ สามารถให้ระดับของสีเป็นสีแดง ม่วง หรือน้ำเงิน แอนโทไซยานินเป็น

เม็ดสีที่มีความคงทนที่ค่าพีเอชต่ำ ประมาณ 3.00 แอนโทไซยานินไม่คงทนต่อความร้อนเหมือนกับสีย้อมอะโซ (azo dyes) อีกทั้งยังไม่คงทนกับแสง การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน และค่าพีเอชสูง อย่างไรก็ตามแอนโทไซยานินก็มีคุณสมบัติที่สามารถใช้กับอาหารได้เป็นอย่างดี

สิรินาถ คัญเกษม (2545) ได้ทำศึกษาเปรียบเทียบการใช้สีจากกระเจี๊ยบแดงกับการใช้สีสังเคราะห์ในผลิตภัณฑ์เยลลี่ ที่มีส่วนประกอบของน้ำตาลทราย 67.75 ก., เพกติน (เกรด 150) 0.75 ก., กรดซิตริก 0.05 ก. และน้ำ 35.00 ก. โดยนำเพกตินผสมกับน้ำตาลทราย เติมน้ำลงไป แล้วนำไปให้ความร้อนจนมีอุณหภูมิเท่ากับ 100 องศาเซลเซียส จึงเติมกรดซิตริก และสีจากรงควัตถุ กระเจี๊ยบแดงลงไปปริมาณ 0.60% ส่วนสีสังเคราะห์ที่ประกอบด้วย ปองโซ4อาร์ 33% คาร์โมอิซิน 4% และทาร์ทราซีน 1.8% เติมน้ำลงไปปริมาณ 0.03% ทำการทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์เยลลี่ด้วยวิธี 9-Point Hedonic Scale ใช้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 12 คน วิเคราะห์ผลเปรียบเทียบระหว่างเยลลี่ที่ผสมสีที่ได้จากกระเจี๊ยบแดง และเยลลี่ที่ผสมสีสังเคราะห์ พบว่า เยลลี่ที่ผสมสีที่ได้จากกระเจี๊ยบแดงได้คะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสมากกว่า เยลลี่ที่ผสมสีสังเคราะห์ คือ เยลลี่ที่ผสมสีจากกระเจี๊ยบแดงนั้นได้คะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัส ในด้านสี, กลิ่นรส, ลักษณะปรากฏ, ลักษณะเนื้อสัมผัส, รสชาติ และการยอมรับโดยรวม เท่ากับ 7.60, 7.73, 6.86, 7.06, 7.06 และ 7.73 ตามลำดับ และเยลลี่ที่ผสมสีสังเคราะห์ได้คะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัส ในด้านสี, กลิ่นรส, ลักษณะปรากฏ, ลักษณะเนื้อสัมผัส, รสชาติ และการยอมรับโดยรวม เท่ากับ 7.53, 6.67, 6.73, 7.40, 6.46 และ 6.73 ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากกระเจี๊ยบแดงจะให้กลิ่นหอมของกระเจี๊ยบแดงสด ซึ่งผู้ทดสอบชิมยอมรับมากกว่า อีกทั้งสีจากกระเจี๊ยบแดงที่ใช้มีค่าพีเอช 1.93 ซึ่งเป็นค่าที่อยู่ในช่วงพีเอชที่เสถียรของรงควัตถุของแอนโทไซยานิน เยลลี่ที่ผสมสีที่ได้จากกระเจี๊ยบแดงจะมีรสชาตินุ่มเปรี้ยว (7.06) ที่ผู้บริโภคยอมรับมากกว่าเยลลี่ที่ใช้สีสังเคราะห์ ซึ่งมีความหวานค่อนข้างสูง (6.46) จึงทำให้เยลลี่ที่ผสมสีที่ได้จากกระเจี๊ยบแดงได้รับการยอมรับโดยรวมสูงกว่าเยลลี่ที่ผสมสีสังเคราะห์

Lila (2004) รายงานว่าบทบาทของสารสกัดแอนโทไซยานินที่ใช้ในการบำบัดโรคเป็นที่ยอมรับกันเป็นอย่างดีของประชากรทั่วโลก เช่น สารสกัดแอนโทไซยานินจากกระเจี๊ยบแดงสามารถใช้ในการรักษาโรคความดันโลหิตสูง และโรคตับ สารสกัดแอนโทไซยานินจากผลบิลเบอร์รี่ (bilberry) สามารถรักษาโรคที่ทำให้เกิดความผิดปกติของเส้นประสาท โรคท้องร่วง และป้องกันโรคที่เกิดจากการติดเชื้อจุลินทรีย์ เป็นต้น ซึ่งจากการศึกษาวิจัยแสดงให้เห็นว่า ยารักษาโรคที่มีแอนโทไซยานินในรูป ไชยานิดิน-3-แซมบูไบโอไซด์-5-กลูโคไซด์ (cyanidin-3-sambubioside-5-glucoside) และ ไชยานิดิน-3,5-ไดกลูโคไซด์ (cyanidin-3,5-diglucoside) เป็นส่วนประกอบ

หลังจากที่ให้ยาชนิดนี้แก่ร่างกายไปแล้ว จะมีการออกฤทธิ์ทางยาที่ระดับความเข้มข้นสูง แอนโทไซยานินชนิดดังกล่าวจึงเหมาะที่จะใช้เป็นส่วนประกอบในยารักษาโรค

Supavita และคณะ (2004) ศึกษาคุณสมบัติการต้านแบคทีเรียของกระเจี๊ยบแดง โดยใช้วิธีการสกัดและการทำแห้งที่แตกต่างกัน 4 วิธี คือ วิธีแรกใช้เอทานอลเป็นตัวสกัด (HS-E) วิธีที่สองใช้น้ำเป็นตัวสกัดแล้วทำให้แห้งโดยสุญญากาศ (HS-V) วิธีที่สามใช้น้ำเป็นตัวสกัดและทำให้แห้งโดยใช้เครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอย (HS-S) และวิธีที่สี่สกัดด้วยน้ำแล้วทำให้แห้งด้วยวิธีระเหิดแห้ง (HS-F) แล้ววัดการต้านแบคทีเรียโดยวิธี disc diffusion โดยทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก 5 ชนิด คือ *S. aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *Bacillus subtilis* แบคทีเรียแกรมลบ 6 ชนิด คือ *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhi*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella flexneri* และ *Shigella sonnei* เชื้อรา 4 ชนิด คือ *Candida albican*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes* และ *Microsporum gypseum* แล้วทดสอบหาค่า Minimum Inhibitory Concentration (MIC) ผลการทดสอบสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ 3 ชนิด คือ *S. aureus*, *S. epidermidis* และ *B. subtilis* และพบว่าวิธี HS-F สามารถยับยั้งเชื้อทั้ง 3 ชนิดได้สูงสุด ค่า inhibition zone เท่ากับ 9.5, 10.6 และ 10.1 มม. และค่า MIC เท่ากับ 5, 5 และ 5 มก./มล. ตามลำดับ แต่วิธี HS-S และ HS-V ไม่สามารถวัดค่า inhibition zone ได้ และพบว่าสารสกัดกระเจี๊ยบแดงทั้ง 4 วิธี ไม่สามารถวัดค่า inhibition zone ของเชื้อราและแบคทีเรียแกรมลบได้ ยกเว้นแบคทีเรียแกรมลบชนิด *S. enteritidis* ซึ่งพบว่าวิธี HS-S และ HS-E แสดงค่า inhibition zone ของเชื้อ *S. enteritidis* เท่ากับ 7.2 และ 6.7 มม. จากการทดลองนี้สรุปได้ว่าสารสกัดกระเจี๊ยบแดงสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้และสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบได้น้อยมาก และไม่สามารถยับยั้งเชื้อราได้

### 3. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

#### วัสดุ

1. กระจีบบแดงพันธุ์ชูดาน จากแหล่งปลูกตำบลควนมิด อำเภอนาหม่อม จังหวัดสงขลา
2. ฟ้ายาวบาง
3. ถาดสแตนเลส
4. สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี และการดำนอนุมูลอิสระ

#### อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ในการเตรียมกระจีบบแดงอบแห้ง การสกัด และการผลิตสารสกัด กระจีบบแดงผง
  - เครื่องอบแห้งลมร้อนชนิดถาดหมุน (rotary air dryer) ประเทศไทย
  - เครื่องปั่น (blender) ยี่ห้อ National ประเทศญี่ปุ่น
  - ตะแกรงร่อนขนาด 20 เมช ยี่ห้อ Fritsch ประเทศเยอรมันนี
  - เครื่องปิดผนึก ยี่ห้อ brother ประเทศไทย
  - เครื่องทำให้เข้มข้นโดยใช้ไอน้ำแบบสุญญากาศ (vacuum evaporator) ประเทศไทย
  - เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Ohaus รุ่น TP2KS ประเทศสหรัฐอเมริกา
  - เครื่องทำแห้งแบบระเหิดแห้ง ยี่ห้อ Eyela รุ่น FD-1 ประเทศญี่ปุ่น
  - เครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศ ประเทศไทย
2. อุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ เคมี การดำนอนุมูลอิสระ การตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารเคมีตกค้าง และปริมาณโลหะหนัก
  - เครื่องวัดพีเอช ยี่ห้อ Sartorius รุ่น PB-20 ประเทศเยอรมันนี
  - เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Ohaus รุ่น TP2KS ประเทศสหรัฐอเมริกา
  - เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Mettler Toledo รุ่น AB204 ประเทศสวิตเซอร์แลนด์
  - เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (hand refractometer) ยี่ห้อ Atago รุ่น N1 Brix 0~32% ประเทศญี่ปุ่น

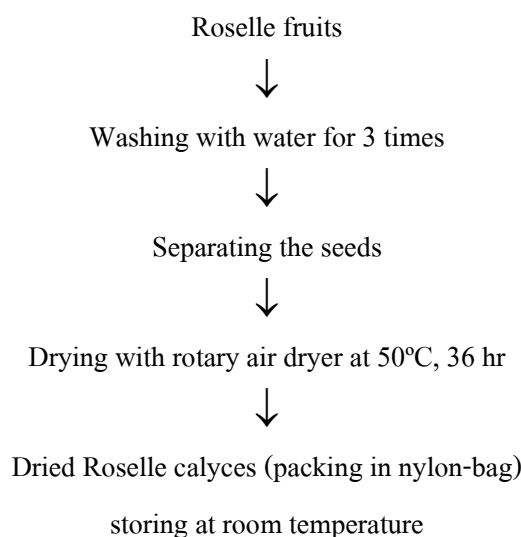
- เครื่องวัดค่าสี ยี่ห้อ Hunter Lab รุ่น ColorQuest XT ประเทศสหรัฐอเมริกา
- เครื่อง Microplate Reader ยี่ห้อ Biotek รุ่น Power Wave X ประเทศสหรัฐอเมริกา
- เครื่อง Gas Chromatography (GC) ยี่ห้อ Agilent Technology รุ่น GC FPD 6890 N, 7683 Series Injector ประเทศสหรัฐอเมริกา
- เครื่อง Inductively Couple Plasma-Mass Spectrometry (ICP-MS) ยี่ห้อ Agilent Technology รุ่น 7500 C, ORS ประเทศสหรัฐอเมริกา

### วิธีการ

#### 1. การเตรียมกระเจี๊ยบแดงอบแห้ง และการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี กายภาพ ปริมาณโลหะหนัก และสารตกค้างในกลีบกระเจี๊ยบแดง

##### 1.1 การเตรียมกระเจี๊ยบแดงอบแห้ง

นำกระเจี๊ยบแดงสด มาล้างด้วยน้ำกรอง 3 ครั้ง ในอัตราส่วนน้ำ 2 ส่วนกระเจี๊ยบแดง 1 ส่วน จากนั้นนำเมล็ดออก นำกลีบกระเจี๊ยบแดงไปอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนชนิดถาดหมุนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 36 ชม. หรือจนได้กระเจี๊ยบแดงแห้งที่มีปริมาณความชื้นเท่ากับ 10% (จินดาพร ภูมิพัฒนาวงษ์ และคณะ, 2545) นำกระเจี๊ยบแดงอบแห้งที่ได้ไปคั่นด้วยถุงไนลอน เก็บในกล่องโฟมที่อุณหภูมิ  $27 \pm 1$  องศาเซลเซียส จนกระทั่งนำมาใช้



ภาพที่ 2-1 การเตรียมกระเจี๊ยบแดงอบแห้ง

Figure 2-1 Preparation of dried Roselle calyces.

ที่มา : คัดแปลงจาก Tsai และคณะ (2002)



## 1.2 การวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของกลีบกระเจียบแดงได้แก่

- ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดมาลิก (A.O.A.C., 2000)
- ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (A.O.A.C., 2000)
- ค่าพีเอช (A.O.A.C., 2000)
- ค่าสี ( $L^* a^* b^*$ ) โดยใช้เครื่องวัดสี Hunter Lab
- คำนวณหาร้อยละของกระเจียบแดงอบแห้งได้จากสูตรดังนี้

$$\text{ผลผลิตกระเจียบแดงอบแห้งที่ได้ (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักกระเจียบแดงอบแห้งที่ได้} \times 100}{\text{น้ำหนักกระเจียบแดงสด}}$$

## 1.3 การตรวจสอบปริมาณสารเคมีตกค้างและโลหะหนักในกลีบกระเจียบแดง คือ

- สารเคมีตกค้างในวัตถุคิบัในกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต (organophosphate group) (Steinwandter, 1985)
- ปริมาณโลหะหนัก ได้แก่ สารหนู ปปรอท และตะกั่ว ด้วยวิธี Inductively Coupled Plasma : Mass spectrometry (ICP-MS) (A.O.A.C., 2000)

## 2. การสกัดและการวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ เคมี และการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกระเจียบแดงผง

### 2.1 การสกัดสารสกัดกระเจียบแดงผง

2.1.1 นำกระเจียบแดงแห้งที่ปั่นลดขนาดด้วยเครื่องปั่นนาน 3 วินาที มาทำการสกัดด้วยน้ำในอัตราส่วน น้ำต่อกระเจียบแดงแห้ง 10:1 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที โดยทำการสกัดในถังสแตนเลส ที่ให้ความร้อนด้วยเครื่องทำความร้อนแบบแท่ง โดยมีเทอร์โมคัปเปิลเป็นตัววัดอุณหภูมิ และส่งสัญญาณไปที่เทอร์โมสแตต ซึ่งเป็นตัวควบคุมอุณหภูมิในการสกัดให้คงที่ จากนั้นนำส่วนที่ได้กรองผ่านผ้าขาวบาง และทำให้เข้มข้นด้วยเครื่องทำให้เข้มข้นโดยใช้ไอน้ำแบบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ความดัน 44 เซนติเมตรปรอท จนกระทั่งมีปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้เท่ากับ 40 องศาบริกซ์ นำสารสกัดกระเจียบแดงเข้มข้นที่ได้มาทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งสองชนิดคือ (1) เครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ความดัน 25 เซนติเมตรปรอท เป็นเวลา 9 ชม. และ (2) เครื่องทำแห้งแบบระเหิดแห้งที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความดัน 0.02 เซนติเมตรปรอท เป็นเวลา 48 ชม. ทำแห้งจนกระทั่งสารสกัดกระเจียบแดงเป็นผงแห้งที่มีปริมาณความชื้น 9-11% สำหรับสารสกัดที่ผ่านการทำให้แห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบสุญญากาศ จะถูกนำไปปั่นให้เป็นผงละเอียดด้วยเครื่องปั่นนาน 3 วินาที สารสกัดที่ได้มีลักษณะเป็นผงละเอียด และนำไปศึกษาในขั้นตอนต่อไป

2.1.2 นำกระดาษแข็งที่ป่นลดขนาดจนมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า 20 เมช มาทำการสกัดด้วยน้ำ ทำให้เข้มข้นและทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศ และ เครื่องทำแห้งแบบระเหิดแห้ง เช่นเดียวกับวิธีทดลองในข้อ 2.1.1

กากกระดาษแข็งที่ได้ภายหลังจากกระบวนการสกัดสารสกัดกระดาษแข็งผงนำไปเก็บในกระป๋องพลาสติกขนาดบรรจุ 1000 มล. ปริมาณกระป๋องละ 800 ก. เก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกระทั่งนำมาใช้

2.2 การวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ เคมี และการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกระดาษแข็งผงดังนี้

2.2.1 คุณสมบัติทางกายภาพ ได้แก่

- ค่าสี ( $L^* a^* b^*$ )
- การละลาย (นัยวิทย์ เถลิมนนท์, 2538)
- ค่า bulk density (Al-kahtani and Hassan, 1990)

2.2.2 คุณสมบัติทางเคมีและการต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่

- ค่าพีเอช
- ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด
- ปริมาณความชื้น (A.O.A.C., 2000)
- ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดมาลิก (A.O.A.C., 2000)
- ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด แสดงในรูป ไชยานิดิน-3-กาแลกโตไซด์ (Fuleki และ Francis, 1968)
- ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด แสดงในรูปกรดแกลลิก (คัดแปลงจาก Miliauskas *et al.*, 2004)
- กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี free radical scavenging DPPH แสดงค่าเป็น  $EC_{50}$  (คัดแปลงจาก Yamasaki *et al.*, 1994)

2.3 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น และคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกระดาษแข็งที่ผ่านการเก็บรักษา

นำสารสกัดกระดาษแข็งผงที่ได้ บรรจุในถุงไนลอน และในถุงฟอยล์ ปิดผนึกด้วยเครื่องปิดผนึก ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 9 เดือน จากนั้นนำไปวิเคราะห์ปริมาณความชื้น และคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด และ  $EC_{50}$

### 3. การวิเคราะห์ทางสถิติ

ข้อมูลที่ได้นำมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์สถิติ SPSS เวอร์ชัน 10.0

### 4. ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

#### 4.1 การเตรียมกระเจี๊ยบแดงอบแห้งและการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี ภายภาพ สารเคมี ตกค้าง และปริมาณโลหะหนักในกลีบกระเจี๊ยบแดง

ตารางที่ 2-1 คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของกลีบกระเจี๊ยบแดงสด

Table 2-1 Chemical and physical properties of fresh roselle calyces.

Chemical and physical properties	Value
Total acidity (%) *	4.21 ± 0.05
Total soluble solid (° brix)	3.50 ± 0.02
pH	2.21 ± 0.03
$L^*$	0.08 ± 0.01
$a^*$	0.01 ± 0.02
$b^*$	0.05 ± 0.01
Yield(%)**	9.51 ± 0.42

\* expressed as malic acid.

\*\* based on the weights of fresh roselle calyces.

คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของกลีบกระเจี๊ยบแดงสดแสดงในตารางที่ 2-1 จากผลการทดลองพบว่า กลีบกระเจี๊ยบแดงมีค่าปริมาณกรดทั้งหมด, ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ และค่าพีเอช เท่ากับ  $4.21 \pm 0.05\%$ ,  $3.50 \pm 0.02$  องศาบริกซ์ และ  $2.21 \pm 0.03$  ตามลำดับ สำหรับการวัดค่าสีในระบบ Hunter พบว่าค่า  $L^*$  จะเป็นค่าความสว่าง เมื่อ  $L^*$  มีค่าเท่ากับ 0 หมายถึงสีดำ และ 100 หมายถึงสีขาวตามลำดับ ส่วนค่า  $a^*$  มีค่าเป็นบวกหมายถึงสีแดง และค่าเป็นลบหมายถึงสีเขียว ในขณะที่ค่า  $b^*$  มีค่าเป็นบวกหมายถึงสีเหลือง และค่าเป็นลบหมายถึงสีน้ำเงิน (Lario *et al.*, 2004) ค่า  $L^*$ ,  $a^*$  และ  $b^*$  ของกลีบกระเจี๊ยบแดงสดเท่ากับ  $0.08 \pm 0.01$ ,  $0.05 \pm 0.01$  และ  $9.51 \pm 0.42$  ตามลำดับ ซึ่งค่าปริมาณกรดทั้งหมด, ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ และค่าพีเอช ที่ได้มีค่า

ใกล้เคียงกับผลการทดลองของ Wong และคณะ (2002) ที่รายงานว่ากลีบกระเจี๊ยบแดงจะมีสีแดงเข้ม (dark red) มีค่าปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดมาลิก, ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ และค่าพีเอช เท่ากับ  $2.42 \pm 0.03\%$ ,  $3.30 \pm 0.12$  องศาบริกซ์ และ  $2.49 \pm 0.05$  ตามลำดับ สำหรับการคำนวณผลผลิตกระเจี๊ยบแดงอบแห้งที่ได้พบว่ามีค่าเท่ากับ 9.51% ในขณะที่ณรงค์ เหล่าโชติ และ เนาวรัตน์ เสริมศรี (2536) รายงานว่าผลผลิตกระเจี๊ยบแดงอบแห้งมีค่าเท่ากับ 12.5%

ตารางที่ 2-2 ปริมาณสารเคมีตกค้างที่พบในกลีบกระเจี๊ยบแดง

Table 2-2 Chemicals residues of pesticide in fresh roselle calyces.

Compounds	Chemicals residues (mg/kg)
Organophosphate group	
Methamidophos	Undetectable
Mevinphos	Undetectable
Diazinon	Undetectable
Dicrotophos	Undetectable
Monocrotophos	Undetectable
Dimethoate	Undetectable
Pirimphos-methyl	Undetectable
Chlorptriphos	Undetectable
Parathion-methyl	Undetectable
Pirimiphos-ethyl	Undetectable
Malathion	Undetectable
Fenitrothion	Undetectable
Prothiophos	Undetectable
Profenophos	Undetectable
Triazophos	Undetectable

Remark : Undetectable means organophosphate residues less than 0.02 mg/kg.

ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารเคมีตกค้าง และปริมาณโลหะหนักในกลีบกระเจี๊ยบแดง แสดงในตารางที่ 2-2 และตารางที่ 2-3 ตามลำดับโดยทำการวิเคราะห์ปริมาณสารเคมีตกค้างในกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต (Codex Maximun Residue Limits, 1997) ผลการวิเคราะห์พบว่าตรวจไม่

พบปริมาณสารประกอบทุกชนิดในกลุ่มนี้ อาจเนื่องจากมีค่าน้อยกว่า 0.02 มก./กก. หรือไม่มีปริมาณสารเคมีตกค้าง และจากการวิเคราะห์ปริมาณโลหะหนัก 3 ชนิด ได้แก่ สารหนู พรอท และตะกั่ว พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.020, 0.015 และ 0.027 มก./กก. ตามลำดับ ซึ่งค่าที่ได้เป็นไปตามข้อกำหนดของมาตรฐานสมุนไพร ที่รายงานว่า สมุนไพรที่จะนำมาแปรรูป จะต้องมียปริมาณสารหนูไม่เกิน 4.000 มก./กก., ปริมาณพรอทไม่เกิน 1.000 มก./กก. และมีปริมาณตะกั่วไม่เกิน 10.000 มก./กก. (Thai Herbal Pharmacoeia, 2000)

ตารางที่ 2-3 ปริมาณโลหะหนักตกค้างในกลีบกระเจียบแดง

Table 2-3 Heavy metal residues in fresh roselle calyces.

Heavy metal	Residues (mg/kg)
Arsenic	0.020
Mercury	0.015
Lead	0.027

#### 4.2 การสกัดและการวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ เคมี และการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกระเจียบแดงผง

##### 4.2.1 คุณสมบัติทางกายภาพของสารสกัดกระเจียบแดงผง

จากการวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพของสารสกัดกระเจียบแดงผงทั้งสี่ชนิด คือ (1) สารสกัดกระเจียบแดงผงที่สกัดด้วยกระเจียบแดงแห้ง ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า 20 เมช และทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศ (2) สารสกัดกระเจียบแดงผงที่สกัดด้วยกระเจียบแดงแห้ง ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า 20 เมช และทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบระเหิดแห้ง (3) สารสกัดกระเจียบแดงผงที่สกัดด้วยกระเจียบแดงแห้งที่ปั่นด้วยเครื่องปั่นนาน 3 วินาที และทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศ และ (4) สารสกัดกระเจียบแดงผงที่สกัดด้วยกระเจียบแดงแห้ง ที่ปั่นด้วยเครื่องปั่นนาน 3 วินาที และทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบระเหิดแห้ง ซึ่งแสดงผลการทดลองในตารางที่ 2-4 พบว่าค่า  $L^*$  ของสารสกัดกระเจียบแดงผงทั้งสี่ชนิด ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) ในขณะที่ค่า  $a^*$  และ  $b^*$  ค่าการละลาย และค่าความหนาแน่นของสารสกัดกระเจียบแดงผงทั้งสี่ชนิด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

ตารางที่ 2-4 คุณสมบัติทางกายภาพของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผง

Table 2-4 Physical properties of powdered roselle extracts.

Physical properties	Extract A*		Extract B*	
	Vacuum dryer	Freeze dryer	Vacuum dryer	Freeze dryer
$L^*$	$93.74 \pm 1.20^a$	$94.16 \pm 0.02^a$	$94.24 \pm 0.01^a$	$93.90 \pm 0.03^a$
$a^*$	$9.93 \pm 0.01^a$	$9.66 \pm 0.01^b$	$8.00 \pm 0.02^c$	$7.78 \pm 0.01^d$
$b^*$	$1.99 \pm 0.01^c$	$1.45 \pm 0.01^d$	$2.21 \pm 0.01^a$	$2.13 \pm 0.01^b$
Solubility (g/10ml)	$0.05 \pm 0.65^b$	$0.06 \pm 0.02^a$	$0.02 \pm 0.03^d$	$0.03 \pm 0.02^c$
Bulk density (g/ml)	$1.04 \pm 0.01^a$	$0.35 \pm 0.00^d$	$0.83 \pm 0.01^b$	$0.50 \pm 0.01^c$
Yield (%)	$17.21 \pm 0.75$	$7.98 \pm 2.50$	$37.83 \pm 1.17$	$11.47 \pm 1.56$

Remark : Mean  $\pm$  SD within the same row with different letters are significantly different (p<0.05).

A\* : extract with particles size smaller than 20 mesh.

B\* : extract blending with a blender for 3 s.

เมื่อพิจารณาถึงค่าการละลายของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงทั้งสี่ชนิด โดยพิจารณาจากปริมาณกระเจี๊ยบแดงผงที่ค้างอยู่บนกระดาษกรองหลังจากที่นำผงกระเจี๊ยบแดงไปละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 10 มล. และกวนเป็นเวลา 90 วินาที จึงนำสารละลายดังกล่าวไปกรองผ่านกระดาษกรอง พบว่า สารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงที่ผ่านการทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศ จะให้ค่าความสามารถในการละลายดีกว่า (0.02-0.05 ก./10มล.) สารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงที่ผ่านการทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบระเหิดแห้ง (0.03-0.06 ก./10มล.) อาจเนื่องจากสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงแห้งที่ผ่านการทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศ จะมีขนาดอนุภาคของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงเล็กกว่า จึงมีพื้นที่ผิวสัมผัสมากกว่าสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงที่ผ่านการทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบระเหิดแห้ง และพบว่าสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงที่สกัดด้วยกลีบกระเจี๊ยบแดงแห้งที่ปั่นด้วยเครื่องปั่นนาน 3 วินาที และทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศ จะให้ผลผลิตที่ได้สูงที่สุดเท่ากับ 37.83% โดยนำหนักสารสกัดกระเจี๊ยบเข้มข้นต่อสารสกัดผงแห้ง

พบว่าสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงที่ผ่านการทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศ จะให้ความหนาแน่นของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงมากกว่า สารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงที่ผ่านการทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบระเหิดแห้ง เนื่องจากสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงที่ผ่านการทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศจะมีขนาดอนุภาคเล็กกว่า สารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงที่ผ่านการทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบระเหิดแห้ง ซึ่ง Al-kahtani และ Hassan (1990) รายงานว่า ขนาดอนุภาคมีผล

ต่อค่าความหนาแน่นของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผง โดยที่สารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงที่มีขนาดอนุภาคเล็กกว่า จะมีค่าความหนาแน่นของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงมากกว่า ซึ่งในขณะที่ทำการทดลองหาค่าความหนาแน่นของสารสกัดโดยใช้วิธี Compacted Bulk Density (ตามวิธีของ Al-kahtani and Hassan, 1990) จะมีการกระแทกสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงในกระบอกตวง ซึ่งในขั้นตอนนี้พบว่าสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงที่มีขนาดอนุภาคเล็กกว่าจะส่งผลให้มีช่องว่างระหว่างอนุภาคน้อย ทำให้อ่านค่าปริมาตรสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงในกระบอกตวงได้น้อย จึงส่งผลให้สารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงที่มีขนาดอนุภาคเล็กกว่า มีค่าความหนาแน่นของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงมากกว่าสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงที่มีขนาดอนุภาคใหญ่กว่า และพบว่าสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงที่ผลิตได้ มีค่าความหนาแน่นของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงใกล้เคียงกับผลการทดลองของ Al-kahtani และ Hassan (1990) ที่รายงานว่าการทำสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงที่ผ่านการทำแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอย มีค่าความหนาแน่นของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงที่วิเคราะห์ด้วยวิธี Compacted Bulk Density เท่ากับ 0.76 ก./มล. นอกจากนี้ Main และคณะ (1978 อ้างโดย นัยวิท เณลินนท์, 2538) รายงานว่าการเพิ่มขึ้นของค่าความหนาแน่นของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผง ถือเป็นลักษณะที่ดีและเป็นที่ต้องการของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผง เนื่องจากการที่สารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงมีค่าความหนาแน่นต่ำ แสดงว่ามีปริมาณอากาศอยู่ภายในเป็นจำนวนมาก ซึ่งอากาศเหล่านั้นจะทำให้สารสกัดกระเจี๊ยบแดงผง มีคุณภาพลดลงในระหว่างการเก็บรักษา

#### 4.2.2 คุณสมบัติทางเคมี และการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผง

ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงทั้งสี่ชนิด แสดงในตารางที่ 2-5 พบว่าค่าพีเอช, ปริมาณความชื้น, ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดมาลิก, ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด และปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด ของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงทั้งสี่ชนิด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยพบว่าสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงที่ผ่านการทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศจะมีปริมาณความชื้นมากกว่า (11.38-11.75%) สารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงที่ผ่านการทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบระเหิดแห้ง (9.18-9.95%) จึงอาจส่งผลให้สารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงที่ทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศ มีค่าความสามารถในการละลายดีกว่าสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงที่ผ่านการทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบระเหิดแห้ง (ค่าความสามารถในการละลายแสดงผลในตารางที่ 2-4) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Al-kahtani และ Hassan (1990) ที่รายงานว่าการทำสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงที่ผ่านการทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอยที่มีปริมาณความชื้นเท่ากับ 3.78% ปริมาณ 10 ก. ใช้เวลา 97 วินาทีในการละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 250 มล. ขณะที่สารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงที่ผ่านการทำแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอยที่มีปริมาณความชื้นเท่ากับ 0.52% ปริมาณ 10 ก. ใช้เวลา 11.60 วินาทีในการละลายใน

น้ำกลั่นปริมาตร 250 มล. และพบว่าสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงที่ผ่านการทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบระเหิดแห้ง จะมีค่า  $EC_{50}$  ที่ต่ำกว่า และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดมากกว่า สารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงที่ผ่านการทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศ ทั้งนี้เนื่องจากการทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบระเหิดแห้ง จะใช้อุณหภูมิในการทำให้แห้งต่ำกว่าเครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศ จึงส่งผลให้สารสกัดกระเจี๊ยบแดงที่ผ่านการทำให้เป็นผงแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศ มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระที่น้อยกว่า สารสกัดกระเจี๊ยบแดงที่ผ่านการทำให้เป็นผงแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบระเหิดแห้ง ซึ่ง Kim และคณะ (2005) รายงานว่าอุณหภูมิสูงจะมีผลให้แอนโทไซยานินและสารประกอบฟีนอล เกิดการเปลี่ยนแปลง (liberated) ไป นอกจากนี้ Kyi และคณะ (2005) รายงานว่า อุณหภูมิที่สูงขึ้นจะส่งผลให้ปฏิกิริยาออกซิเดชันที่มีเอนไซม์เป็นส่วนร่วม (enzymatic oxidation) และปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ไม่มีเอนไซม์เป็นส่วนร่วม (non-enzymatic oxidation) สามารถเกิดปฏิกิริยาได้เร็วขึ้น ทำให้ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดมีค่าน้อยลง จะเห็นว่าสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผง ที่ผ่านการทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศ ที่สกัดด้วยกระเจี๊ยบแดงแห้งที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า 20 เมช จะให้ค่า  $EC_{50}$  ที่สูงกว่า และให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดที่ต่ำกว่า สารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงที่สกัดด้วยกระเจี๊ยบแดงแห้งที่ผ่านการปั่นด้วยเครื่องปั่นนาน 3 วินาที อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ส่วนสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงที่ผ่านการทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบระเหิดแห้ง ที่สกัดด้วยกระเจี๊ยบแดงแห้ง ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า 20 เมช จะให้ค่า  $EC_{50}$  ที่สูงกว่า และให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด ต่ำกว่าสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงที่สกัดด้วยกระเจี๊ยบแดงแห้ง ที่ผ่านการปั่นด้วยเครื่องปั่นนาน 3 วินาที อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

เมื่อเปรียบเทียบสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผง ที่ผ่านการทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศ และเครื่องทำแห้งแบบระเหิดแห้ง จะเห็นว่าค่า  $EC_{50}$  ของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงที่สกัดด้วยกระเจี๊ยบแดงแห้ง ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า 20 เมช และทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบระเหิดแห้ง เปรียบเทียบกับสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงที่สกัดด้วยกระเจี๊ยบแดงแห้งที่ปั่นด้วยเครื่องปั่นนาน 3 วินาที และทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศ จะให้ค่า  $EC_{50}$  ที่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) ซึ่งสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงที่สกัดด้วยกระเจี๊ยบแดงแห้งที่ปั่นด้วยเครื่องปั่นนาน 3 วินาที และทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศ ยังให้ผลผลิตของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงสูงที่สุด ดังนั้นสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงที่ทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศ จึงได้รับการคัดเลือกนำไปใช้ในขั้นตอนการทดลองต่อไป



ตารางที่ 2-5 คุณสมบัติทางเคมีและการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงแห้ง

Table 2-5 Chemical and antioxidant properties of powdered roselle extracts.

Chemical-antioxidant properties	Extract A*		Extract B*	
	Vacuum dryer	Freeze dryer	Vacuum dryer	Freeze dryer
pH	2.63 ± 0.01 <sup>c</sup>	2.74 ± 0.01 <sup>b</sup>	2.73 ± 0.01 <sup>b</sup>	2.76 ± 0.01 <sup>a</sup>
Total soluble solid (°brix)	0.80 ± 0.00 <sup>a</sup>	0.80 ± 0.00 <sup>a</sup>	0.80 ± 0.00 <sup>a</sup>	0.80 ± 0.00 <sup>a</sup>
Moisture content (%)	11.38 ± 0.49 <sup>b</sup>	9.95 ± 0.62 <sup>c</sup>	11.75 ± 0.15 <sup>a</sup>	9.18 ± 0.22 <sup>d</sup>
Total acidity (% , as malic acid)	1.81 ± 0.11 <sup>a</sup>	1.72 ± 0.11 <sup>ab</sup>	1.61 ± 0.06 <sup>b</sup>	1.74 ± 0.13 <sup>a</sup>
Total anthocyanin (mg/100g dried roselle)	225.12 ± 0.67 <sup>a</sup>	205.30 ± 0.00 <sup>b</sup>	183.57 ± 0.84 <sup>d</sup>	185.74 ± 0.00 <sup>c</sup>
Total phenolic (mg/g, gallic acid)	28.61 ± 1.27 <sup>c</sup>	30.35 ± 0.79 <sup>b</sup>	31.08 ± 0.38 <sup>b</sup>	38.30 ± 0.49 <sup>a</sup>
EC <sub>50</sub> (µg/ml)	28.05 ± 1.77 <sup>a</sup>	25.87 ± 1.20 <sup>b</sup>	25.98 ± 1.41 <sup>b</sup>	19.58 ± 1.18 <sup>c</sup>

Remark : Mean ± SD within the same row with different letters are significantly different

(p<0.05).

A\* : extract with particles size smaller than 20 mesh.

B\* : extract blending with a blender for 3 s.

EC<sub>50</sub> : the concentration (µg/ml) of roselle extract needed for 50% decrease of the initial DPPH concentration.

#### 4.3 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น และคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผง ที่ผ่านการเก็บรักษา

ตารางที่ 2-6 ปริมาณความชื้นและการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงแห้งที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 9 เดือน

Table 2-6 Moisture content and antioxidant properties of powdered roselle extracts stored at 25°C for 9 months.

Chemical-antioxidant properties	Extract A*		Extract B*	
	Vacuum dryer	Freeze dryer	Vacuum dryer	Freeze dryer
Moisture content (%)	11.98 ± 0.58 <sup>a</sup>	9.01 ± 0.23 <sup>d</sup>	11.23 ± 0.06 <sup>b</sup>	9.95 ± 0.44 <sup>c</sup>
Total phenolic (mg/g, gallic acid)	12.01 ± 0.49 <sup>b</sup>	12.38 ± 0.50 <sup>b</sup>	12.39 ± 0.44 <sup>b</sup>	14.09 ± 0.54 <sup>a</sup>
EC <sub>50</sub> (µg/ml)	35.18 ± 2.23 <sup>a</sup>	34.61 ± 1.68 <sup>a</sup>	35.15 ± 1.22 <sup>a</sup>	34.28 ± 1.76 <sup>a</sup>

Remark : Mean ± SD within the same row with different letters are significantly different (p<0.05).

A\* : extract with particles size smaller than 20 mesh.

B\* : extract blending with a blender for 3 s.

จากการวิเคราะห์ปริมาณความชื้น และคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงทั้งสี่ชนิดที่ผ่านการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 9 เดือน แสดงผลในตารางที่ 2-6 พบว่าสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงที่ผ่านการทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบระเหิดแห้ง จะให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด และให้ค่า EC<sub>50</sub> ที่มากกว่า และดีกว่าสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงที่ผ่านการทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศ และสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงที่ผ่านการทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศ ที่สกัดด้วยกระเจี๊ยบแดงแห้ง ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า 20 เมช จะให้ค่า EC<sub>50</sub> ที่สูงกว่า และให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดที่ต่ำกว่า สารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงที่สกัดด้วยกระเจี๊ยบแดงแห้งที่ผ่านการปั่นด้วยเครื่องปั่นนาน 3 วินาที อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) ส่วนสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงที่ผ่านการทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบระเหิดแห้ง ที่สกัดด้วยกระเจี๊ยบแดงแห้ง ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า 20 เมช จะให้ค่า EC<sub>50</sub> ที่สูงกว่า และให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด ต่ำกว่าสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงที่สกัดด้วยกระเจี๊ยบแดงแห้ง ที่ผ่านการปั่นด้วยเครื่องปั่นนาน 3 วินาที อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05)

นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงทั้งสี่ชนิดจะมีค่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด และมีค่า  $EC_{50}$  ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงที่ไม่ผ่านการเก็บรักษา (แสดงผลในตารางที่ 2-5) ทั้งนี้เนื่องจาก อาหารผงจะมีรูพรุนอยู่ในโครงสร้าง และจะเก็บก๊าซออกซิเจนไว้ ซึ่งออกซิเจนจะเป็นตัวเร่งให้สารประกอบฟีนอลเกิดการรวมตัวกับ โมเลกุลอื่น ได้แก่ โปรตีน โพลีแซคคาไรด์ แล้วเกิดปฏิกิริยาที่ไม่สามารถผันกลับได้ ซึ่งจะทำให้ สารประกอบฟีนอลมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างไป ส่งผลให้สารประกอบฟีนอลสูญเสียสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (วิลโลว์ รังสาทอง, 2547; วิวัฒน์ หวังเจริญ, 2545) จึงส่งผลให้สารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงทั้งสี่ชนิดที่เก็บรักษานาน 9 เดือนมีค่าปริมาณความชื้น ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด และค่า  $EC_{50}$  ลดลง

## 5. สรุป

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงหลังการผลิต และเก็บรักษาสารสกัดเป็นเวลา 9 เดือน เมื่อพิจารณาจากค่าความหนาแน่นของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผง, การละลาย, ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด, ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด และค่า  $EC_{50}$  ของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผง พบว่า สารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงที่ทำการสกัดด้วยน้ำในอัตราส่วน น้ำต่อกระเจี๊ยบแดงแห้งที่ป่นลดขนาดด้วยเครื่องปั่นนาน 3 วินาที เท่ากับ 10:1 ทำการสกัดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และทำให้เข้มข้นด้วยเครื่องทำให้เข้มข้นโดยใช้ไอน้ำแบบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ความดัน 44 เซนติเมตรปรอท จนกระทั่งมีปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้เท่ากับ 40 องศาบริกซ์ และนำไปทำให้เป็นผงแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ความดัน 30 เซนติเมตรปรอท เป็นเวลา 9 ชม. จนกระทั่งมีปริมาณความชื้นเท่ากับ 11.75% พบว่าสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงดังกล่าวให้ผลผลิตที่ได้เท่ากับ 37% โดยนำหนักสารสกัดกระเจี๊ยบเข้มข้นต่อสารสกัดผงแห้ง สารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงยังให้ค่าความสามารถในการละลายดีที่สุดเท่ากับ  $0.02 \pm 0.03$  ก./10มล. และให้ค่า  $EC_{50}$  เท่ากับ  $25.98 \pm 1.41$  ไมโครกรัมสารสกัด/มล.สารละลายสารสกัดเริ่มต้น นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงจากการทดลองที่ผ่านการเก็บรักษานาน 9 เดือน จะมีค่าปริมาณความชื้น ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด และค่า  $EC_{50}$  ลดลง สารสกัดกระเจี๊ยบแดงผงที่ได้ สามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ขอสกระเจี๊ยบแดงต่อไป

## 6. เอกสารอ้างอิง

คณาจารย์ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. 2540. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 2. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร.

จินดาพร ภูมิพัฒนางษ์, นวัตกรรม แก้วประดับ, ภาคภูมิ พาณิชยุปการนันท์, วันชัย ดีเอกนามกุล และสนั่น สุภธีรสกุล. 2545. การพัฒนาคุณภาพวัตถุดิบสมุนไพร. ภาควิชาเภสัชเวทและเภสัชพฤกษศาสตร์. คณะเภสัชศาสตร์. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. สงขลา.

ชัยโย ชัยชาญทิพยุทธ. 2524. สมุนไพรอันดับที่ 2 : การรวบรวมข้อมูลเบื้องต้นสำหรับการวิจัย. ยูไนเต็คโปรดักชั่น. กรุงเทพมหานคร.

ณรงค์ เหล่าโชติ และ เนาวรัตน์ เสริมศรี. 2536. การปลูกกระเจี๊ยบแดง. กสิกร 20 : 221-224.

นัยวิท เกลิมนนท์. 2538. การศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตและการใช้สีแดงธรรมชาติจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นันทวัน บุญยะประภัศร และอรนุช โชคชัยเจริญพร. 2541. สมุนไพรไม้พื้นบ้าน. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. กรุงเทพมหานคร.

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง อาหารในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท ฉบับที่ 301 (ออนไลน์). 2549. สืบค้นจาก : <http://www.fda.moph.go.th/fdanet/html> (13 ธันวาคม 2549)

ไพบุลย์ ธรรมรัตน์वासีก. 2532. กรรมวิธีการแปรรูปอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 1. โอ เอส พรินติ้ง เฮาส์. กรุงเทพมหานคร.

รัตนา อินทรนุปรกรณ์. 2547. การตรวจสอบและการแยกสารสำคัญจากสมุนไพร. พิมพ์ครั้งที่ 1. แอคทีฟ พรินท์ จำกัด. กรุงเทพมหานคร.

ลักษณะ เหล่าไพลูลย์, พัฒนา เหล่าไพลูลย์ และ วิไลศนา โพธิ์ศรี. 2540. ผลของวิธีการทำแห้งต่อปริมาณองค์ประกอบต่างๆ ในสาหร่ายเกลียวทอง. ว. วิทยาลัยขอนแก่น 2 : 42-48.

วิทย์ เทียวบุญธรรม. 2540. พจนานุกรมสมุนไพรไทย. ไทยวัฒนาพานิช. กรุงเทพมหานคร.

วิไล รัชชาติทอง. 2545. เทคโนโลยีการแปรรูปอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 2. เท็กซ์แอนด์เจอร์นัลส์ พับบลิเคชัน. กรุงเทพมหานคร.

สันติ ทิพยางค์. 2534. “แอนโทไซยานิน” สีผสมอาหาร. อาหาร 21 : 304-306.

สิรินาถ ตันตเกษม. 2545. การศึกษาสมบัติและความคงตัวของรงควัตถุแอนโทไซยานินจากดอกกระเจี๊ยบแดงในเซลล์. ว. อาหาร 32 : 124-130.

Al-kahtani, H.A. and Hassan, B.H. 1990. Spray drying of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extract. J. Food Sci. 55 : 1073-1076.

A.O.A.C. 2000. Official Method of Analysis. 15<sup>th</sup> ed. The association of official analysis chemists. Inc, Arlington.

Andrade, I. and Flores, H. 2004. Optimization of spray drying of roselle extract (*hibiscus sabdariffa* L.). Dry. 4 : 597-604.

Codex. 1997. Maximun Residue Limits (ออนไลน์). สืบค้นจาก :

[http://www.who.int/foodsafety/publications/chem/en/pesticide\\_en.pdf](http://www.who.int/foodsafety/publications/chem/en/pesticide_en.pdf) (11 เมษายน 2550)

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 The 10<sup>th</sup> World Congress on Clinical Nutrition. Phuket Thailand. November 30-December 2004. p. 188.

- Fuleki, T. and Francis, F.J. 1968. Quantitative method for anthocyanins, 1. Extraction and determination of total anthocyanin in cranberries. *J. Food Sci.* 33 : 72-77.
- Kim, S.Y., Jeong, S.M., Park, W.P., Nam, K.C., Ahn, D.U. and Lee, S.C. 2006. Effect of heating conditions of grape seeds on the antioxidant activity of grape seed extracts. *Food Chem.* 97 : 472-479.
- Kyi, T.M., Daud, W.R.W., Mohammad, A.B., Samsudin, M.W., Kadhum, A.A.H. and Talib, M.Z.M. 2005. The kinetics of polyphenol degradation during the drying of Malaysian cocoa beans. *J. Food Sci. Technol.* 40 : 323-331.
- Larraui, J.A. and Calixto, F. S. 1997. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. *J. Agric. Food Chem.* 45 : 1390-1393.
- Lario, Y., Sendra, E., Garcia-Perez, J., Functes, C., Sayas-Barbera, E., Fernandez-Lopez, J. and Perez-Alvarez, J.A. 2004. Preparation of high dietary fiber powder from lemon juice by-product. *Innov. Food Sci. Emerg.* 5 : 113-117.
- Lila, M.A. 2004. Anthocyanins and human health. Department of Natural Resources and Environmental Sciences. University of Illinois. Urbana.
- Lapornik, B., Prosek, M., and Wondra, A.C. 2005. Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. *J. Food Eng.* 71 : 214-222.
- Miliauskas, G., Venskutonis, P.R. and Vanbeek, T.A. 2004. Screening of radical scavenging activity of some medical and aromatic plant extracts. *Food Chem.* 85 : 231-237.
- Nonhebel, G. and Moss, A.A.H. 1971. Drying of solids in the chemical industry. 1<sup>st</sup>. Photolithography. London.

- Plaza, E.G., Minano, A., Maria, J., and Roca, M.L. 2006. Comparison of chromatic properties, stability and antioxidant capacity of anthocyanin-based aqueous extracts from pomace obtained from different vinification methods. *Food Chem.* 98 : 87-94.
- Pinelo, M., Sineiro, J., and Nunez, M.J. 2006. Mass transfer during continuous solid-liquid extraction of antioxidants from grape byproducts. *J. Food Eng.* 77 : 57-63.
- Steinwandter, H. 1985. Universal 5 min on – line method for extracting and isolating pesticide residues and industrial chemicals. *Fresen. Z. Anal. Chem.* 322 : 752-754.
- Supavita, T., Pinsuwan, S., Ungphaiboorn, S., Kummee, S., Sirichote, A., Ratanasuwan, P. and Itharat, A. 2004. Antimicrobial activity of *Hibiscus sabdariffa*. In The 10<sup>th</sup> World Congress on Clinical Nutrition. Phuket Thailand. November 30-December 2004. p. 189.
- Tsai, P.J., McIntosh, J., Pearce, P., Camden, B. and Jordan, R.B. 2002. Anthocyanin and antioxidant capacity in roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extract. *Food Res. Int.* 35 : 351-356.
- Thai Herbal Pharmacoeia Sub committee. 2000. Thai Herbal Pharmacoeia Vol II. Prachachon Co.Ltd., Bangkok.
- 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.
- Yamasaki, K., Hashimoto, A., Kokusenya, Y., Miyamoto, T. and Sato, T. 1994. Electrochemical method for estimating the antioxidative effects of methanol extracts of crud drugs. *Chem Pharm. Bull.* 42 : 1663-1665.