การใช้วิธีโคพิกเมนเทชั่นในการเพิ่มความคงตัวของรงควัตถุจากเครื่องดื่มสมุนไพรกระชายดำ

ณิชกุล เทียนไทย

ปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมอาหาร
มหาวิทยาลัยแม่โจ้
พ.ศ. 2562

การใช้วิธีโคพิกเมนเทชั่นในการเพิ่มความคงตัวของรงควัตถุจากเครื่องดื่มสมุนไพรกระชายดำ

ณิชกุล เทียนไทย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมอาหาร
สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้
พ.ศ. 2562

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้

การใช้วิธีโคพิกเมนเทชั่นในการเพิ่มความคงตัวของรงควัตถุ
จากเครื่องดื่มสมุนไพรกระชายดำ

ณิชกุล เทียนไทย

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมอาหาร

พิจารณาเห็นชอบโดย **อาจารย์ที่ปรึกษา**

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก .....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กาญจนา นาคประสม)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....
(รองศาสตราจารย์ ดร.จตุรภัทร วาฤทธิ์)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รัฐพงศ์ ปกแก้ว)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นักรบ นาคประสม)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

ประธานอาจารย์ผู้รับผิดชอบหลักสูตร .....
(รองศาสตราจารย์ ดร.จตุรภัทร วาฤทธิ์)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการรับรองแล้ว .....
(รองศาสตราจารย์ ดร.ญาณิน โอภาสพัฒนกิจ)
รักษาการแทนรองอธิการบดี ปฏิบัติการแทน
อธิการบดีมหาวิทยาลัยแม่โจ้
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

ชื่อเรื่อง การใช้วิธีโคพิกเมนเทชั่นในการเพิ่มความคงตัวของรงควัตถุ จากเครื่องดื่มสมุนไพรกระชายดำ
ชื่อผู้เขียน นางสาวณิชกุล เทียนไทย
ชื่อปริญญา วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กาญจนา นาคประสม

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสารสกัดฟีนอลิกจากเมล็ดมะเกี๋ยงเป็นสารโคพิกเมนต์ต่อความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ และอัตราส่วนของสารโคพิกเมนต์ต่อสารสกัดแอนโทไซยานินส์จากกระชาย แอนโทไซยานินส์สกัดจากกระชายดำ(อัตราส่วนกระชายดำต่อน้ำเท่ากับ 100:370) แล้วนำสารสกัดจากแอนโทไซยานินไปอบแห้งแบบแช่เยือกแข็ง สำหรับสารโคพิกเมนต์ (สารสกัดฟีนอลิก) จากเมล็ดมะเกี๋ยงสกัดด้วยวิธีไมโครเวฟร่วมในการสกัด สารสกัดแอนโทไซยานินส์ทำปฏิกิริยาโคพิกเมนเทชันกับสารสกัดฟีนอลิกโดยใช้อัตราส่วนโมลาร์ของแอนโทไซยานินส์ต่อสารโคพิกเมนต์ คือ 1:0 (ควบคุม), 1:5 , 1:10 และ 1:15 ในสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 3, 5 และ 7 โดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70, 80 และ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา120 นาที แล้วทำการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินส์ ค่าสี (L*,a*,b*) และค่าครึ่งชีวิต ผลการวิจัยพบว่าการเกิดโคพิกเมนเทชั่นสามารถเพิ่มความคงตัวของแอนโทไซยานินส์ต่อความร้อนได้โดยมีความคงตัวของแอนโทไซยานินส์สูงสุดเท่ากับ 89.57% ปริมาณแอนโทไซยานินส์เท่ากับ 18.177 mg./100 g_{DW} ที่อัตราส่วนแอนโทไซยานินส์ต่อสารโคพิกเมนต์ 1:15 ในสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 3 เมื่อให้ความร้อนอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที ค่าสี L* a* b* เท่ากับ 5.85 2.43 และ 3.04 ตามลำดับ ค่าครึ่งชีวิตเท่ากับ 63.01 นาที และมีสารฟีนอลิกเท่ากับ 149.3 mg_{GAE}/g_{DW} หลังจากนั้นได้ศึกษาสูตรที่เหมาะสมในการผลิตเครื่องดื่มสมุนไพรกระชายดำโดยผ่านการยอมรับจากผู้บริโภค ได้สูตรที่ดีที่สุดมีส่วนผสม คือ ปริมาณน้ำผึ้งและกรดซิตริก 9.90 และ 0.10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีคะแนนการประเมินคุณสมบัติทางประสาทสัมผัสโดยรวมมากที่สุด 6.18 คะแนน ทำนายอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มสมุนไพรกระชายดำที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สามารถเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้ 61 วัน

คำสำคัญ : โคพิกเมนเทชั่น / แอนโทไซยานินส์จากกระชายดำ / ฟีนอลิกจากเมล็ดมะเกี๋ยง / วิธีไมโครเวฟร่วมในการสกัด

Title APPLICATION OF COPIGMENTATION TO INCREASE STABILITY OF PIGMENTS OF HERBAL DRINK PRODUCT FROM BLACK GINGER (*Kaempferia paviflora*)

Author Miss Nichakul Tienthai

Degree Master of Engineering in Food Engineering

Advisory Committee Chairperson Assistant Professor Dr. Kanjana Narkprasom

ABSTRACT

The objective of this research was to study the effect of the phenolic extract copigments from makiang (*Cleistocalyx nervosum* var. *paniala*) seeds on pH, temperature and it ratios with black ginger anthocyanins. Anthocyanins were extracted from black ginger samples (concentration ratio 100:370) after which the anthocyanins extract samples were freeze dried. The copigments from makiang seeds (phenolic compounds) were extracted using the microwave assisted extraction (MAE) method. The anthocyanins extracts was mixed with the phenolic extracts at the molar ratios of 1:0 (control), 1:5, 1:10 and 1:15 under pH 3, 5 and 7, heated at 70, 80 and 90 degrees Celsius for 120 minutes and analyzed for anthocyanins, color values (L*,a*b*) and half-life ($t_{1/2}$). The results found that the copigments increased the stability of the anthocyanins. The highest anthocyanins retention (89.57%) and anthocyanin content (18.177 $mg/100g_{DW}$) were shown at the anthocyanin to copigment molar ratio of 1:15 under pH3 at 80 degrees Celsius for 120 minutes. The color qualities: Hunter L*, a*, b* were 5.85, 2.43 and 3.04, respectively. The $t_{1/2}$ of anthocyanin was 63.01 minutes and phenolic content was 149.3 mg_{GAE}/g_{DW}. After which, the Optimization for the Mixture of black ginger herbal drink was studied. The best formula is composed of 9.90 and 0.10 percent honey and citric acid, respectively, whereby highest overall liking mean score of the appropriate was 6.18. Predicting the shelf life of herbal products such as black ginger at 4 degree Celsius, the product can be stored for 61 days.

Keywords : Copigmentation / Anthocyanins from Black ginger / Phenolic from Makiang seed / Microwave assisted extraction (MAE)

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เล่มนี้ทำการศึกษาเรื่องการใช้วิธีโคพิกเมนเทชั่นในการเพิ่มความคงตัวของรงควัตถุจากเครื่องดื่มสมุนไพรกระชายดำ เป็นวิทยานิพนธ์ที่ผู้จัดได้ทุ่มเททั้งแรงกายแรงใจในการทำงานจนกระทั่งสำเร็จลุล่วงด้วยดี เนื่องจากได้รับความร่วมมือและคำแนะนำจากบุคคลหลายฝ่าย โดยเฉพาะอย่างยิ่งขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กาญจนา นาคประสม ซึ่งเป็นประธานกรรมการที่ปรึกษา ที่ได้กรุณาสละเวลา ให้ความรู้ คำแนะนำ คำปรึกษา และความช่วยเหลือต่างๆ ตลอดจนเอาใจใส่ดูแลอย่างสม่ำเสมอ จนโครงงานนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี จึงใคร่ขอขอบคุณไว้ ณ ที่นี้เป็นอย่างสูง

ขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.จตุรภัทร วาฤทธิ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รัฐพงศ์ ปกแก้ว และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นักรบ นาคประสม ซึ่งเป็นกรรมการที่ปรึกษา ที่ได้ให้คำแนะนำ ความรู้ คำปรึกษาในเรื่องการออกแบบการทดลองและการทดสอบต่างๆรวมถึงเครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้สำหรับการทดลอง ที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการปรับปรุงวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้

ขอขอบคุณโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตน์ราชสุดาฯ สำหรับเมล็ดมะเกี๋ยง ที่ใช้ทำการทดลองในครั้งนี้จนส่งผลทำให้วิทยานิพนธ์ในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณสาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่มีความอนุเคราะห์ให้ใช้เครื่องอบแห้งแบบแช่เยือกแข็ง และคุณสุมิตร เชื่อมชัยตระกูล ที่คอยให้คำปรึกษาและคำแนะนำวิธีการใช้เครื่องอบแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ตลอดจนให้ความช่วยเหลือด้านอื่นๆตลอดการทดลอง

ขอขอบคุณ คณาจารย์ ข้าราชการและเจ้าหน้าที่ของสาขาวิชาวิศวกรรมเกษตรและสาขาวิชาวิศวกรรมอาหาร ที่คอยให้กำลังใจดี ๆ เสมอ และที่ให้ความช่วยเหลือเพื่อให้โครงงานนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบคุณเพื่อนๆ นักศึกษาทุกคนที่ได้ให้ความช่วยเหลือ ให้คำแนะนำ และเป็นกำลังใจในการทำโครงงานครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ท้ายที่สุด ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ที่ให้การเลี้ยงดูอบรมและส่งเสริมการศึกษาและเป็นกำลังใจให้อย่างดีตลอดมา จนทำให้คณะผู้จัดทำโครงงานประสบความสำเร็จในการเรียน

ณิชกุล เทียนไทย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ค

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ง

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญตาราง ..... ญ

สารบัญภาพ ..... ฏ

บทที่ 1 บทนำ 1

ความสำคัญและที่มาของปัญหา 1

วัตถุประสงค์ 2

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 3

ขอบเขตของการวิจัย 3

บทที่ 2 ทฤษฎีและการตรวจเอกสาร 4

2.1 ความรู้ทั่วไปของกระชายดำ 4

2.2 ลักษณะของต้นกระชายดำ 5

2.3 สายพันธุ์ของต้นกระชาย 6

2.4 คุณค่าทางโภชนาการ 7

2.5 การสกัดด้วยตัวทำละลาย 7

2.6 การสกัดด้วยการใช้คลื่นไมโครเวฟร่วม 8

2.7 แอนโทไซยานิน (Anthocyanin) 9

2.8 สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) 10

2.9 โคพิกเมนเทชัน 12

2.10 วอเตอร์แอกติวิตี (Water activity) 14
2.11 ปริมาณความชื้น (Moisture content) 15
2.12 ค่าสี 15
2.13 การศึกษาจลนพลศาสตร์และความคงตัว 17
2.14 การออกแบบการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) 19
2.15 เครื่องดื่มสมุนไพร 20
2.16 การให้ความร้อนในการฆ่าเชื้อ 20
2.17 การวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแบบ DMRT หรือ DUNCAN (Duncan's New Multiple Range Test) 22
2.18 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance: ANOVA) 22
2.19 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 22
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง 25
3.1 วัตถุดิบ 25
3.2 อุปกรณ์ 25
3.3 เครื่องมือ 25
3.4 สารเคมี 26
3.5 การดำเนินการ 26
3.6 วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณสารแอนโทไซยานินส์ 30
3.7 วิธีการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ 31
3.8 การวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ 33
3.9 การศึกษาจลนพลศาสตร์และความคงตัวของแอนโทไซยานิน 33
3.10 แผนภูมิการดำเนินการทดลอง 34
3.11 ระยะเวลาในการทำวิจัยและสถานที่ดำเนินงาน 35
บทที่ 4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง 36

4.1 การวิเคราะห์สารสกัดแอนโทไซยานินส์จากกระชายดำอบแห้ง 36
4.2 การวิเคราะห์สารสกัดฟีนอลิกจากเมล็ดมะเกี๋ยงอบแห้ง 37
4.3 ผลของพีเอชต่อสมบัติของสารสกัดแอนโทไซยานินส์จากกระชายดำอบแห้ง 38
4.4 ผลของการทำโคพิกเมนต์ในสารสกัดแอนโทไซยานินส์จากกระชายดำกับสารสกัดฟีนอลิกจากเมล็ดมะเกี๋ยง 39
4.5 ผลของอัตราส่วนสารโคพิกเมนต์จากเมล็ดมะเกี๋ยงต่อความคงตัวของแอนโทไซยานินส์จากกระชายดำเมื่อทำการโคพิกเมนเทชั่น 46
4.6 ผลของอุณหภูมิต่อความคงตัวของแอนโทไซยานินส์จากกระชายดำเมื่อทำการโคพิกเมนเทชั่นกับสารโคพิกเมนต์จากเมล็ดมะเกี๋ยง 48
4.7 การศึกษาสูตรที่เหมาะสมในการผลิตเครื่องดื่มสมุนไพรกระชายดำ โดยการเติมสารสกัดฟีนอลิกจากเมล็ดมะเกี๋ยงเป็นสารโคพิกเมนต์ในระบบเครื่องดื่ม 49
4.8 การศึกษาอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มสมุนไพรกระชายดำ 51
บทที่ 5 สรุป 57
5.1 สรุปผลการทดลอง 57
5.2 ปัญหาที่พบ 58
5.3 ข้อเสนอแนะ 58
ภาคผนวก 59
ภาคผนวก ก 60
ภาคผนวก ข 61
ภาคผนวก ค 62
บรรณานุกรม 71
ประวัติผู้วิจัย 75

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก 32

ตารางที่ 2 ปริมาณแอนโทไซยานินส์ สารฟีนอลิก ความสามารถในการต้นอนุมูลอิสระและค่าสีแดงในสารสกัดกระชายดำเริ่มต้น 37

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบปริมาณแอนโทไซยานินส์ สารฟีนอลิก ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและค่าสีแดงในสารสกัดเมล็ดมะเกี๋ยงที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล 37

ตารางที่ 4 ค่า kinetic parameter การสลายตัวของแอนโทไซยานินส์ของกระชายดำเมื่อทำโคพิกเมนเทชั่นกับสารสกัดฟีนอลิกจากเมล็ดมะเกี๋ยงที่อัตราส่วนโมลาร์ของแอนโทไซยานินส์ต่อสารโคพิกเมนต์ คือ 1:0 (ควบคุม) 1:5 1:10 และ 1:15 ในสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 3 5 และ 7 ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส 41

ตารางที่ 5 ค่า kinetic parameter การสลายตัวของแอนโทไซยานินส์ของกระชายดำเมื่อทำโคพิกเมนเทชั่นกับสารสกัดฟีนอลิกจากเมล็ดมะเกี๋ยงที่อัตราส่วนโมลาร์ของแอนโทไซยานินส์ต่อสารโคพิกเมนต์ คือ 1:0 (ควบคุม) 1:5 1:10 และ 1:15 ในสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 3 5 และ 7 ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส 42

ตารางที่ 6 ค่า kinetic parameter การสลายตัวของแอนโทไซยานินส์ของกระชายดำเมื่อทำโคพิกเมนเทชั่นกับสารสกัดฟีนอลิกจากเมล็ดมะเกี๋ยงที่อัตราส่วนโมลาร์ของแอนโทไซยานินส์ต่อสารโคพิกเมนต์ คือ 1:0 (ควบคุม) 1:5 1:10 และ 1:15 ในสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 3 5 และ 7 ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส 43

ตารางที่ 7 ค่าสีที่เปลี่ยนแปลงไป (ΔE^*) เมื่อเกิดการโคพิกเมนเทชั่นของแอนโทไซยานินส์ที่สกัดจากกระชายดำกับสารสกัดฟีนอลิกจากเมล็ดมะเกี๋ยงที่อัตราส่วนโมลาร์ของแอนโทไซยานินส์ต่อสารโคพิกเมนต์ คือ 1:0 (ควบคุม) 1:5 1:10 และ 1:15 ในสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 3 5 และ 7 หลังการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 80 และ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที 44

ตารางที่ 8 ภาพถ่ายจากกล้องดิจิตอลเมื่อการเกิดโคพิกเมนเทชั่นของแอนโทไซยานินส์ที่สกัดจากกระชายดำกับสารสกัดฟีนอลิกจากเมล็ดมะเกี๋ยง ที่อัตราส่วนโมลาร์ของแอนโทไซยานินส์ต่อสารโคพิกเมนต์ คือ 1:0 (ควบคุม) 1:5 1:10 และ 1:15 ในสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 3 5 และ 7 หลังการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 80 และ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที 45

ตารางที่ 9 ความคงตัวของแอนโทไซยานินส์ที่เหลืออยู่หลังการให้ความร้อน 46

ตารางที่ 10 ปัจจัยและระดับการวางแผนการทดลองหาสูตรที่เหมาะสมในการผลิตเครื่องดื่มสมุนไพรกระชายดำ 49

ตารางที่ 11 ตารางออกแบบการทดลองหาสูตรที่เหมาะสมในการผลิตเครื่องดื่มสมุนไพรกระชายดำ50

ตารางที่ 12 ตารางเชื้อแบคทีเรีย ยีสต์และรา ของเครื่องดื่มสมุนไพรกระชายดำที่เก็บรักษาที่อุณหภมิ 4 35 และ 45 °C ในหน่วย 10-1 cfu/ml..... 52

ตารางที่ 13 ตารางค่าสี ปริมาณแอนโทไซยานินส์ สารฟีนอลิก และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของเครื่องดื่มสมุนไพรกระชายดำที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 53

ตารางที่ 14 ตารางค่าสี ปริมาณแอนโทไซยานินส์ สารฟีนอลิก และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของเครื่องดื่มสมุนไพรกระชายดำที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส 54

ตารางที่ 15 ตารางค่าสี ปริมาณแอนโทไซยานินส์ สารฟีนอลิก และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของเครื่องดื่มสมุนไพรกระชายดำที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส 55

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 เหง้ากระชายดำ 4

ภาพที่ 2 การสกัดโดยการใช้คลื่นไมโครเวฟ 9

ภาพที่ 3 ตำแหน่งหมู่ไฮดรอกซิลและหมู่เททอกซิล 10

ภาพที่ 4 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิก 12

ภาพที่ 5 การเกิดโคพิกเมนต์เทชันแอนโธไซยานินส์ ด้วยวิธี Self-association 12

ภาพที่ 6 การเกิดโคพิกเมนต์เทชันแอนโธไซยานินส์ ด้วยวิธี Intermolecular Copigmentation .. 13

ภาพที่ 7 การเกิดโคพิกเมนต์เทชันแอนโธไซยานินส์ ด้วยวิธี Intramolecular Copigmentation .. 13

ภาพที่ 8 การเกิดโคพิกเมนต์เทชันแอนโธไซยานินส์ ด้วยวิธี Metal Complexation 14

ภาพที่ 9 การวิเคราะห์สีในระบบ CIE Lab 2 มิติ 16

ภาพที่ 10 การวิเคราะห์สีพื้นในระบบ CIE Lab 3 มิติ. 16

ภาพที่ 11 อัตราการลดลงของแอนโทไซยานินส์เนื่องจากความเข้มแสง 19

ภาพที่ 12 แผนภูมิการทดลอง 26

ภาพที่ 13 เหง้ากระชายดำแห้ง 27

ภาพที่ 14 การต้มสกัดแอนโทไซยานินส์จากกระชายดำ 27

ภาพที่ 15 สารสกัดแอนโทไซยานินส์เข้มข้น 27

ภาพที่ 16 เมล็ดมะเกี๋ยง 28

ภาพที่ 17 ผงเมล็ดมะเกี๋ยง 28

ภาพที่ 18 การสกัดฟีนอลิกจากเมล็ดมะเกี๋ยงด้วยไมโครเวฟร่วม 29

ภาพที่ 19 วัตถุดิบในการหาสูตรที่เหมาะสมในการผลิตเครื่องดื่มสมุนไพรกระชายดำ 29

ภาพที่ 20 การผลิตเครื่องดื่มสมุนไพรกระชายดำ 30

ภาพที่ 21 แผนภูมิการดำเนินการทดลอง 34

ภาพที่ 22 ผลของพีเอชต่อสีของสารสกัดจากกระชายดำที่พีเอช 3 5 และ7 38

ภาพที่ 23 จลนพลศาสตร์ของสีที่เปลี่ยนแปลงไปในการเกิดโคพิกเมนเทชั่น โดยอัตราส่วนโมลาร์ของแอนโทไซยานินส์ต่อสารโคพิกเมนต์ คือ 1:00 1:05 1:10 และ 1:15 ในสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 3 5 และ 7 ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 80และ 90 องศาเซลเซียส 40

ภาพที่ 24 แผนภูมิแสดงความคงตัวของแอนโทไซยานินส์ที่เหลืออยู่หลังการให้ความร้อนที่อัตราส่วนโมลาร์ของแอนโทไซยานินส์ต่อสารโคพิกเมนต์ คือ 1:0 (ควบคุม) 1:5 1:10 และ 1:15 ในสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 3 5 และ 7 ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70(a) 80(b) และ 90(c) องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 120 นาที 48

ภาพที่ 25 การศึกษาสูตรที่เหมาะสมในการผลิตเครื่องดื่มกระชายดำ 10 สูตร 51

ภาพที่ 26 แผนภูมิแสดงความคงตัวของแอนโทไซยานินส์ที่เหลืออยู่หลังการศึกษาอายุการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 19 วัน ที่อุณหภูมิ 4 35 และ 45 องศาเซลเซียส 56

บทที่ 1
บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

กระชายดำ (*Kaempferia parviflora*) มีชื่อที่รู้จักโดยทั่วไปว่าโสมไทยหรือ Black ginger เป็นพืชสมุนไพรพื้นบ้าน อยู่ในวงศ์ Zingiberaceae จัดอยู่ในวงศ์ของขิงและขมิ้น ต้นกระชายดำเป็นพืชล้มลุกมีเหง้าใต้ดิน มีรากสะสมอาหารเป็นสีม่วงอ่อน ม่วงเข้ม จนถึงสีม่วงดำเมื่อมีอายุมากขึ้น มีกลิ่นหอมเฉพาะตัวและรสชาติขมเล็กน้อย ถิ่นกำเนิดของกระชายดำอยู่แถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ พบได้หนาแน่นในแถบมาเลเซีย สุมาตรา เกาะบอร์เนียว อินโดจีน และในประเทศไทย มีเขตการกระจายพันธุ์ทั่วในเอเชียเขตร้อน ในประเทศจีนตอนใต้ อินเดีย และพม่า สำหรับประเทศไทยนั้นมีการปลูกกระชายดำมากในภาคเหนือเนื่องจากลักษณะภูมิประเทศที่เอื้อต่อการเจริญได้ดี กระชายดำสามารถนำมาใช้เป็นพืชสมุนไพรเพื่อสุขภาพและยารักษาโรคต่างๆ เช่น ยาบำรุงกำลัง บำรุงหัวใจ แก้ปวดข้อ รักษาแผลในปาก แก้ลมวิงเวียน แน่นหน้าอก แก้กลากเกลื้อน แก้ฝีอักเสบ แก้เบาหวาน ทำให้โลหิตหมุนเวียนดีขึ้นผิวพรรณผุดผ่อง ขับปัสสาวะ เป็นยาบำรุงหนัด ฯลฯ นอกจากนี้ยังพบว่ามีสารต้านการอักเสบ สารฟลาโวนอยด์ (สุภาวดี , 2557) สารที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และสารประกอบฟีนอลิก (เสริมสกุล และ ไชยยง , 2549)

ในปัจจุบันผลิตภัณฑ์จากกระชายดำมีหลากหลาย ได้แก่แคปซูลกระชายดำ ไวน์กระชายดำ กระชายดำผง และน้ำสมุนไพรกระชายดำ ซึ่งผู้วิจัยเล็งเห็นว่าน้ำสมุนไพรกระชายดำนั้นได้รับความนิยมในการแปรรูปเพื่อรับประทาน แต่วัตถุดิบกระชายดำของภาคเหนือในประเทศไทยนั้นสามารถออกผลผลิตได้บางฤดูกาลหรือมีระยะเวลานานในการเพาะปลูกแต่ละรอบ หลังจากนั้นในกระบวนการผลิตจะได้จากการนำเหง้ากระชายดำสดหรือแห้งมาสกัดแล้วนำไปผสมกับน้ำตาล หรือ นำไปทำให้เข้มข้นผสมกับน้ำตาลโดยต้องใช้ความร้อนสูงและใช้เวลานาน จึงอาจทำให้สารสำคัญที่มีอยู่ในวัตถุดิบธรรมชาตินั้นสูญเสียไปได้ ถึงแม้ว่าในการแปรรูปกระชายดำจะสามารถเพิ่มมูลค่าให้กับสินค้าทางการเกษตรได้มาก แต่ในกระบวนการผลิตที่ต้องผ่านขั้นตอนต่างๆ และในแต่ละขั้นตอนอาจมีปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อความคงตัวของสารสำคัญที่อยู่ในกระชายดำ ซึ่งมีความสำคัญต่อคุณภาพและคุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์

การสกัด เป็นหลักการพื้นฐานที่ใช้ในการแยกสารที่ต้องการและไม่ต้องการออกจากกัน โดยจะใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสารสำคัญแต่ละชนิดที่แตกต่างกัน วิธีการสกัดสารได้มีการพัฒนาเครื่องมือและวิธีการเพื่อให้ได้ผลผลิตในปริมาณที่สูงสุด ซึ่งวิธีการสกัดมีอยู่หลายวิธีที่แตกต่าง

กันไปตามชนิดของตัวอย่างที่ใช้ เช่น การใช้ตัวทำละลาย การใช้ความร้อนร่วม หรือใช้วิธีซอคเลท (Soxlhet) ซึ่งการใช้เวลาในการสกัดนานคจะมีผลทำให้สารสำคัญที่ต้องการสกัดสลายหรือเสื่อมคุณค่าลงไปได้

โคพิกเมนต์เทชัน (copigmentation) เป็นปฏิกิริยาการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างแอนโทไซยานินกับสารโคพิกเมนต์ (copigment) เช่น สารประกอบฟีนอลิก (เหมือนขวัญ , 2558; อรุษา , 2552) และกรดอินทรีย์ชนิดต่างๆ ในธรรมชาติ (Cony et al., 2010) โดยวิธีนี้เป็นการเพิ่มความคงตัวของแอนโทไซยานินส์แบบวิธีธรรมชาติ โดยการใช้สารประกอบฟีนอลิกรวมที่สกัดได้จากเมล็ดมะเกี๋ยงโดยใช้ไมโครเวฟร่วม (Narkprasom et al., 2015) ซึ่งมะเกี๋ยงเป็นหนึ่งในพืชอนุรักษ์ตามโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดา สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.) ซึ่งเป็นพืชที่มีศักยภาพที่จะนำมาใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน นอกจากนี้สารฟีนอลิกมีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชันที่อาจป้องกันการเกิดโรคเรื้อรังต่างๆ ได้ เช่น โรคมะเร็ง โรคเบาหวาน โรคหัวใจ เป็นต้น ซึ่งสารในกลุ่มที่มีคุณสมบัติเป็นสารออกซิเดชันเหล่านี้ กำลังได้รับความสนใจอย่างมากในปัจจุบัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพ และผลิตภัณฑ์เครื่องดื่ม

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้ทำการศึกษาผลของความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ และอัตราส่วนของสารโคพิกเมนต์ ต่อการเพิ่มความคงตัวของแอนโทไซยานินจากกระชายดำ โดยใช้สารสกัดฟีนอลิกจากเมล็ดมะเกี๋ยงเป็นสารโคพิกเมนต์ และการเกิดโคพิกเมนเทชันระหว่างแอนโทไซยานินกับสารโคพิกเมนต์ในเครื่องดื่มสมุนไพรกระชายดำ จากความคงตัวและอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มสมุนไพรกระชายดำพร้อมดื่มที่มีคุณภาพดีและสามารถรักษาปริมาณสารสำคัญไว้ในผลิตภัณฑ์ไว้ได้มากที่สุด โดยผ่านการยอมรับทางประสาทสัมผัสจากผู้บริโภค

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ และอัตราส่วนของสารโคพิกเมนต์ ต่อการเพิ่มความคงตัวของแอนโทไซยานินจากกระชายดำ โดยใช้สารสกัดฟีนอลิกจากเมล็ดมะเกี๋ยงเป็นสารโคพิกเมนต์
2. เพื่อศึกษาการเกิดโคพิกเมนเทชันระหว่างแอนโทไซยานินกับสารโคพิกเมนต์ในเครื่องดื่มสมุนไพรกระชายดำ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถเพิ่มความคงตัวของแอนโทไซยานินในเครื่องดื่มกระชายดำได้ โดยที่เครื่องดื่มยังมีลักษณะทางประสาทสัมผัสเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค
2. สามารถใช้ฟีนอลิกจากเมล็ดมะเกี๋ยงซึ่งมีสารฟีนอลิกอยู่หลายชนิดเป็นสารโคพิกเมนต์ได้
3. สร้างมูลค่าเพิ่มให้กับเมล็ดมะเกี๋ยง ซึ่งเป็นของเหลือทิ้งจากใช้เนื้อมะเกี๋ยงแล้ว
4. ผู้ที่สนใจสามารถนำไปเป็นแนวทางในการศึกษาต่อได้

ขอบเขตของการวิจัย

1. ใช้กระชายดำแห้ง จากจังหวัดเพชรบูรณ์
2. อบแห้งเมล็ดมะเกี๋ยงสายพันธุ์ LP-007 ของเหลือทิ้งจากการผลิตน้ำมะเกี๋ยง ด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ให้มีความชื้นสุดท้าย 0.07 กรัมต่อน้ำหนักแห้ง
3. ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและทางกายภาพของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มสมุนไพรกระชายดำ ได้แก่ ลักษณะทั่วไป สี กลิ่นรส การละลาย สิ่งแปลกปลอม จุลินทรีย์ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (กองบริหารมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน, 2546, 2547)

บทที่ 2
ทฤษฎีและการตรวจเอกสาร

2.1 ความรู้ทั่วไปของกระชายดำ

ภาพที่ 1 เหง้ากระชายดำ

ที่มา : (อรัญญา ศรีบุศราคัม, 2560)

กระชายดำ มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า: *Kaempferia parviflora* อยู่ในวงศ์: ZINGIBERACEAE เช่นเดียวกับขิงและขมิ้น โดยมีชื่อเรียกหลายอย่างตามแต่ละท้องถิ่น เช่น ว่านจังงัง ว่านพญานกยูง ว่านกั้นบัง ว่านกำบัง ว่านกำบังภัยกะแอน ระแอน (ภาคเหนือ) ขิงทราย (มหาสารคาม) ว่านเพชรดำ กระชายม่วง ส่วนที่นำมาใช้ คือ เหง้า (หัวใต้ดิน) ต้นกระชายดำมีถิ่นกำเนิดในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ พบได้หนาแน่นในแถบมาเลเซีย สุมาตรา เกาะบอร์เนียว อินโดจีน และในประเทศไทย และมีเขตการกระจายพันธุ์ทั่วไปในเอเชียเขตร้อน ในประเทศจีนตอนใต้ อินเดีย และพม่า สำหรับประเทศไทยนั้นมีการปลูกกระชายดำมากในจังหวัดเลย ตาก กาญจนบุรี และจังหวัดอื่นๆ ทางภาคเหนือ หัวมีสีเข้มแตกต่างกันตั้งแต่สีม่วงอ่อน ม่วงเข้ม และดำสนิท ซึ่งความแตกต่างของสีขึ้นอยู่กับสิ่งแวดล้อม อายุ หรือพันธุกรรมด้วย

เหง้าของกระชายดำที่มีสีม่วงเข้มนั้นมีกลิ่นหอมเฉพาะตัว รสชาติขมเล็กน้อย ซึ่งองค์ประกอบทางเคมีของเหง้ากระชายดำ ประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหย โดยมี borneol เป็นองค์ประกอบหลัก และยังพบสารกลุ่มฟลาโวนอยส์ (สุภาวดี และคณะ , 2557) chalconeและ anthocyanin เป็นสารสีม่วงแดง ช่วยป้องกันโรคหัวใจ โรคมะเร็ง ช่วยชะลอความแก่ ลดริ้วรอย และ Resveratrol สูงกว่า Superfruits ชนิดอื่น ถึง 79% (Daniel et al., 2018)

2.2 ลักษณะของต้นกระชายดำ

ต้น

กระชายดำเป็นพรรณไม้ประเภทล้มลุก ขนาดของลำต้นสมบูรณ์เต็มที่สูงประมาณ 30 เซนติเมตร ส่วนของแกนกลางลำต้นจะมีลักษณะแข็ง มีกาบใบที่อาบหนา นุ่ม หุ้มแกนลำต้นไว้ ลำต้นโดยรวมจะอวบอุ้มน้ำเหมือนกับพืชล้มลุกทั่วไป

ใบ

ใบของต้นกระชายดำจะมีลักษณะเป็นใบเลี้ยงเดี่ยว ออกเรียงสลับซ้อนกันเป็นรูปกรวย และจะแยกออกจากกันเป็นอิสระเมื่อโตขึ้นแล้ว สีของใบกระชายดำเมื่อเริ่มแตกใบอ่อนจะมีสีเข้มม่วงอมแดง และสีม่วงแดงจะค่อยๆจางไปจนเป็นสีเขียวเข้ม เส้นขอบใบจะมีสีแดงระเรื่ออมชมพูคล้ายรอยไหม้ กาบใบจะยาวเป็นร่อง แทงขึ้นมาจากหัวที่อยู่ในดิน กลิ่นของใบจะมีกลิ่นเฉพาะ ขนาดของใบกว้างประมาณ 7-20 เซนติเมตร ยาวประมาณ 30-40 เซนติแมตรขึ้นอยู่กับความสมบูรณ์ของธาตุอาหารในดิน สภาพภูมิประเทศที่ปลูก หรือการดูแลรักษา

ดอก

สีของดอกกระชายดำจะมีสีขาวอมชมพู หรือบางพื้นที่แตกต่างกันออกไปและพบว่าสีดอกจะออกเข้มเป็นสีม่วงอมแดง ลักษณะการออกดอกเป็นช่อ โดยจะแทงช่อออกมาระหว่างก้านของใบยาวประมาณ 4-5 เซนติเมตร ช่อละ 1 ดอก

เหง้า

กระชายดำมีหัวหรือเหง้าอยู่ใต้ดิน มีลักษณะเฉพาะเป็นข้อๆ รวมกัน ลักษณะข้อจะเป็นรูปวงกลมและวงรี แต่ละข้อเล็กกว่าข้อของหัวข่า เรียงต่อกัน มักมีขนาดเท่าๆกัน หลายเหง้า อวบน้ำ ผิวเหง้าสีน้ำตาลอ่อนถึงน้ำตาลเข้ม อาจพบรอยที่ผิวเหง้าเป็นบริเวณที่จะงอกของต้นใหม่ เนื้อภายในสีม่วงอ่อน ม่วงเข้ม จนถึงสีม่วงดำ มีกลิ่นหอมเฉพาะตัว รสชาติขมเล็กน้อย ซึ่งองค์ประกอบทางเคมีของเหง้ากระชายดำ ประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหย โดยมี borneol เป็นองค์ประกอบหลัก และยังพบสารกลุ่ม flavonoid (สุภาวดี และคณะ , 2557) chalcone, anthocyanin เป็นต้น

ราก

รากของกระชายดำมีหน้าที่ช่วยหาอาหาร ลักษณะเล็ก เป็นเส้นยาวคดเคี้ยว ถ้าปลูกในพื้นที่อุดมสมบูรณ์เพียงพอ รากจะสร้างปมเป็นที่เก็บสะสมอาหารเพื่อนำไปเลี้ยงหัว ลักษณะปมจะเป็นรูปวงรีสีขาวนวล เนื้อในอวบน้ำ เนื้อในละเอียดเรียกส่วนนี้ว่า รากน้ำนม

2.3 สายพันธุ์ของต้นกระชาย

กระชายพันธุ์ต่างๆ สามารถจำแนกได้ตามสีที่พบบริเวณท้องใบ ก้านใบ ขอบใบ และสีเนื้อหัว (จำรัส , 2545) ดังนี้

กระชายดำพันธุ์ใบแดง

เป็นกระชายดำที่นิยมมากที่สุด มีลักษณะเหมือนกับกระชายดำทั่วไป แต่มีสีของใบที่เด่นสวยงาม คือ ด้านหลังใบมีสีแดงอมม่วง ด้านหน้าใบมีสีเขียว ขอบใบมีเส้นสีน้ำตาลอมแดง ลำต้น และก้านใบมีสีแดงอมม่วงเข้ม หัวมีลักษณะกลม สีเนื้อหัวเป็นสีม่วงเข้มจนถึงดำเหมือนสีลูกหว้า ทั้งนี้ความเข้มของสีใบและสีเนื้อหัวจะขึ้นกับความอุดมสมบูรณ์ของดิน น้ำ และการดูแลรักษา เป็นพันธุ์ที่มีราคาแพงกว่าพันธุ์อื่นๆ ชาวบ้านมักเรียกว่า “สายพันธุ์ตัวผู้”

กระชายดำพันธุ์ใบเขียว

เป็นกระชายดำที่ได้รับความนิยมเหมือนกับพันธุ์ใบแดงแต่จะมีความแตกต่างกับพันธุ์ใบแดงที่สีใบจะเป็นสีเขียวนวลทั้งด้านหน้า และด้านหลัง ลำต้น และกาบใบมีสีเขียวอย่างเดียว ก้านดอกมีสีเขียว กลีบดอกมีสีม่วงสวยงาม มีเส้นรอบกลีบดอกเป็นสีขาว เนื้อมีสีน้ำตาลจนถึงน้ำตาลเข้ม ลักษณะหัวกลมรีน้อยกว่าพันธุ์ใบแดงและราคาจะถูกกว่า ชาวบ้านมักเรียกว่า “สายพันธุ์ตัวเมีย”

กระชายขาวหรือว่านเพชรกลับ

เป็นพันธุ์ที่พบมากตามป่า ลักษณะต่างจากกระชายดำ คือ มีลักษณะลำต้นทอดสูงเหมือนต้นขิง ความสูงประมาณ 80-90 เซนติเมตร กาบใบ และใบขึ้นสลับด้านข้างลำต้น ก้าบใบ และใบมีสีเขียวด้านหลังใบมีสีม่วงเข้ม ดอกออกเป็นดอกเดี่ยว กลีบดอกด้านนอกมีสีขาวด้านในมีสีแดงแกมม่วง

กระชายหอม/ว่านหอม หรือกระชายเหลือง

เป็นพันธุ์ที่หายากมากในปัจจุบัน ไม่พบว่ามีการเพาะปลูก และขยายพันธุ์ให้เห็น ต้องเสาะแสวหาตามป่าลึกจึงทำให้มีราคาสูงกว่ากระชายดำพันธุ์ใบแดง และพันธุ์อื่นๆ ประมาณ 3-5 เท่าตัว เนื่องจากหายากมาก

2.4 คุณค่าทางโภชนาการ

ข้อมูลทางเภสัชวิทยาของกระชายดำนั้นมีการรายงานถึงสารสำคัญที่มีอยู่ในกระชายดำซึ่งอยู่ในกลุ่มที่มีฤทธิ์ช่วยเพิ่มการไหลเวียนของเลือดไปยังอวัยวะเพศ มีผลช่วยเพิ่มความหนาแน่นของอสุจิและเพิ่มระดับ Testosterone แต่ไม่ทำให้พฤติกรรมทางเพศเปลี่ยนไป (อรัญญา , 2560)มีสาร pinostrobin และ 5, 7-dimethoxyflavone ซึ่งพบว่ามีฤทธิ์ต้านการอักเสบที่เป็นสาเหตุของโรคหลายชนิด โรคที่เกิดจากการกัดกร่อนของการอักเสบเรื้อรังเช่น โรคหัวใจ โรคอัลไซเมอร์ โรคมะเร็ง โดยการทดสอบเบื้องต้นได้มีการลองใช้สารสกัดจากกระชายดำต้านการเสื่อมของกระดูกอ่อนก็พบว่าผลเป็นที่น่าพอใจเป็นอย่างยิ่ง (สุธาทิพ , 2548) อีกทั้งยังมีฤทธิ์ช่วยขยายหลอดเลือดแดงใหญ่ ลดการหดเกร็งของลำไส้เล็กส่วนปลาย ช่วยยับยั้งการเกาะกลุ่มกันของเกล็ดเลือดในคน และไม่พบว่ามีความเป็นพิษเมื่อตรวจอวัยวะภายในด้วยวิธีทางจุลพยาธิวิทยา และนอกจากนี้กระชายดำยังสามารถยับยั้งเชื้อ S. aureus และ B. subtilis (อรัญญา , 2560)

นอกจากนี้ยังพบข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ ในเหง้ากระชายดำมีน้ำมันหอมระเหยแต่พบในปริมาณน้อย (ราวร้อยละ 1 – 3) น้ำมันหอมระเหยของกระชายดำประกอบด้วยสารเคมีหลายชนิด เช่น 1.8-cineol,camphor, d-borneol และ methyl cinnamate น้ำมันหอมระเหยที่พบส่วนน้อย ได้แก่ d-pinene, zingiberene , zingiberone, curcumin และ zedoarin นอกจากนี้ยังพบสารอื่น ได้แก่ กลุ่มไดไฮโดรชาลโคน boesenbergin A กลุ่มฟลาโวน ฟลาวาโนน และฟลาโวนอยด์ (ได้แก่ alpinetin, pinostrobin) และ pincocembrin และกล่มุชาลโคน (ได้แก่ 2 , 4 , 6-trihydroxy chalcone และ cardamonin) ซึ่งฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยยังช่วยบรรเทาการหดตัวของกล้ามเนื้อต่างๆได้อีกด้วย (ณาตยา และคณะ , 2540)

2.5 การสกัดด้วยตัวทำละลาย

การสกัดสารสำคัญจากสมุนไพร คือ การเปลี่ยนแปลงสถานะของสมุนไพรให้ต่างไปจากเดิม เนื่องจากสมุนไพรมีหลายชนิดและมีสารคำคัญที่แตกต่างกัน ในการสกัดและแปรรูปนั้นต้องคำนึงถึงปัจจัยต่างๆที่มีผลกระทบต่อคุณค่าทางโภชนาการของตัววัตถุดิบให้มากที่สุด ซึ่งรูปแบบการสกัดสารสกัดจากสมุนไพร แบ่งเป็น 3 ลักษณะ คือ สารสกัดของเหลว สารสกัดในรูปแบบของเหลวที่มีตัวทำละลายที่เหมาะสม เช่น น้ำหรือ เอทธานอล สารสกัดแบบกึ่งของแข็ง เตรียมจากสารสกัดของเหลวโดยการระเหยตัวทำละลายออกไป สารสกัดจะเข้มข้นขึ้นง่ายต่อการผสมในผลิตภัณฑ์ สารสกัดประเภทนี้มักมีสีเข้มมาก ตั้งแต่น้ำตาลจนถึงดำ มีลักษณะข้นเหนียว สารสกัดของแข็ง เป็นการนำสาร

สกัดเหลวหรือสารสกัดแบบกึ่งของแข็ง มาทำให้เป็นผงแห้งโดย การเติม สารช่วย เช่น Talcum ลงไป เพื่อช่วยให้สารสกัดมีลักษณะเป็นผงแห้ง

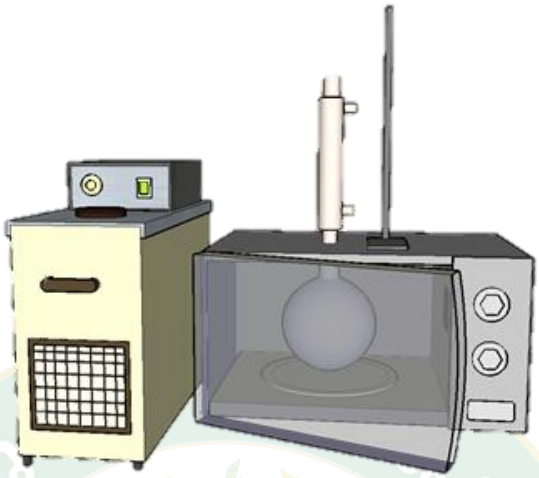
การคั้นน้ำสดจากสมุนไพร สารสกัดที่ได้อาจเรียกว่า น้ำสกัด หรือน้ำคั้น และต้องใช้สมุนไพรสด บีบเอาแต่น้ำ ซึ่งเหมาะสมกับสมุนไพรที่สารสำคัญจะสลายตัวเมื่อถูกความร้อนและใช้เวลาในการการสกัดไม่เหมาะสม โดยอาศัยหลักการกระจายตัวของตัวถูกละลายในตัวทำละลาย เมื่อตัวถูกละลายแพร่กระจายในตัวทำละลายจนสมดุล

2.6 การสกัดด้วยการใช้คลื่นไมโครเวฟร่วม

การสกัดสารด้วยเทคนิคดั้งเดิมนั้นมีด้วยกันหลายวิธี Soxhlet extraction เป็นวิธีที่ได้รับความนิยมและเป็นที่ยอมรับอย่างสูง เป็นวิธีที่สามารถสกัดสารจากพืชสมุนไพรได้อย่างหมดจด ดังนั้น Soxhlet extraction จึงไม่ได้เป็นเพียงเทคนิคการสกัดสารเท่านั้น แต่ยังใช้เป็นวิธีสกัดอ้างอิงของวิธีการสกัดสารแบบใหม่ๆด้วย แต่ Soxhlet extraction มีข้อเสียคือ ใช้ระยะเวลาการสกัดนานและใช้พลังงานความร้อนในระหว่างกระบวนการสกัด จึงไม่เหมาะต่อสารที่ไม่ทนต่อความร้อน หรือการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ในการสกัดสาร ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมได้ ดังนั้นการใช้คลื่นไมโครเวฟในการสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพร (Microwave assisted extraction) จึงเป็นอีกวิธีหนึ่งที่ กำลังได้รับความนิยมเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากใช้เวลาน้อยและการสกัดมีประสิทธิภาพสูง

เครื่องไมโครเวฟนิยมใช้กันมากในวงการอาหารเพื่อใช้ในการถนอมอาหารโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อให้ความร้อนเพื่อทำให้อาหารสุก ใช้ฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในอาหาร และช่วยในการลดความชื้นในอาหารประเภทผักและผลไม้ หรือเครื่องไมโครเวฟที่ประดิษฐ์ขึ้นเฉพาะเพื่อย่อยวัสดุที่มีระบบควบคุมอุณหภูมิและความดันเป็นอย่างดี นอกจากการถนอมอาหารและการย่อยวัสดุแล้ว ในปัจจุบันวิธีนี้ใช้ในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากพืช (ดวงกมล , 2557) หลักการของวิธีการสกัดโดยใช้คลื่นไมโครเวฟช่วยในการสกัด ร่วมกับการสกัดด้วยตัวทำละลาย หลักการของวิธี MAE อาศัยการส่งผ่านคลื่นไมโครเวฟไปยังเซลล์พืช โดยทำให้โมเลกุลของน้ำหรือความชื้นที่มีอยู่ในเซลล์พืชสั่นสะเทือน เกิดแรงดันขึ้นภายในเซลล์ทำให้เซลล์แตก และปล่อยสารสำคัญที่อยู่ภายในออกมาผสมกับตัวทำละลายที่ใช้สกัด เนื่องจากกระบวนการสกัดใช้เวลาสั้นๆ ทำให้ไม่เกิดการสลายตัวขององค์ประกอบของสารที่สกัดได้เนื่องจากความร้อนที่เกิดขึ้น วิธีการสกัดแบบ MAE ในการค้ามี 2 รูปแบบ ได้แก่ แบบระบบปิด (Closed Extraction vessels) หรือ Multimode microwave oven และแบบ Focused microwave oven ข้อดีของวิธีนี้คือ ใช้เวลาในการสกัดสั้น ไม่เปลืองตัวทำละลาย ช่วยป้องกันการสลายตัวขององค์ประกอบสารสำคัญที่สกัดได้เนื่องจากความร้อนที่เกิดขึ้น

และช่วยเพิ่มปริมาณผลผลิตของสารสกัดที่ได้ ตัวอย่างเช่น การสกัดคาเฟอีนและโพลีฟีนอลจากชาเขียวด้วยเอทานอล

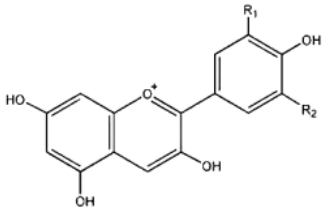


ภาพที่ 2 การสกัดโดยการใช้คลื่นไมโครเวฟ

2.7 แอนโทไซยานิน (Anthocyanin)

แอนโทไซยานินเป็นรงควัตถุที่สามารถละลายน้ำได้ จัดอยู่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่เป็นสารให้สีตามธรรมชาติ โดยสีของแอนโทไซยานินจะเปลี่ยนแปลงไปตามสภาวะความเป็นกรด-ด่าง โดยมีโครงสร้างที่ประกอบไปด้วยคาร์บอน 15 อะตอม หมู่เบนซีน 2 หมู่ เชื่อมต่อกันด้วยคาร์บอน 3 อะตอม แบบ C6-C3-C6 ซึ่งเป็นไกลโคไซด์ของ 2-phenylbenzopyrylium หรือ flavylium cation ที่มีด้วยกันหลายชนิดแต่มีเพียง 6 ชนิดเท่านั้นที่พบบ่อยได้แก่ pelargonidin, cyanidin, delphinidin, peonidin, petunidin และ malvidin โดยสูตรโครงสร้างของตัวกลางแอนโทไซยานินจะทำหน้าที่เป็นอินดิเคเตอร์วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH indicator) คือ ให้สีแดงที่ pH ต่ำ ให้สีน้ำเงินที่สภาวะเป็นกลาง และที่ pH สูงจะไม่มีสี ปัจจัยที่มีผลต่อสีและความคงตัวของแอนโทไซยานินคือปัจจัยทางเคมีและฟิสิกส์ต่างๆ เช่น โครงสร้าง อุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง กรดแอสคอร์บิก น้ำตาล และอื่นๆ (สำนักหอสมุดและศูนย์สารสนเทศวิทยาศาสตร์และเทคโนโนยี, 2553)

ปัจจุบันแอนโทไซยานินในธรรมชาติมีมากกว่า 15 ชนิด จะมีชื่อแตกต่างกันขึ้นอยู่กับตำแหน่งที่ของหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl, -OH) และหมู่เททอกกซิล (mathoxyl, -OMe) ที่เข้ามาเกาะกับโครงสร้างของแอนโทไซยานิน ดังภาพที่ 3 และแอนโทไซยานินที่พบบ่อยในธรรมชาติมีอยู่ 6 ชนิด แบ่งตามหมู่ R_3 และ R_4



Anthocyanidins	ตำแหน่ง R1	ตำแหน่ง R2
pelargonidin	H	H
cyanidin,	H	OH
delphinidin	OH	OH
peonidin	OCH_3	H
petunidin	OCH_3	OH
malvidin	OCH_3	OCH_3

ภาพที่ 3 ตำแหน่งหมู่ไฮดรอกซิลและหมู่เททอกซิล

ที่มา: (สุวิชา , 2550)

2.8 สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)

สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) เป็นสารที่ทำหน้าที่ช่วยในการยับยั้งหรือลดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดสารอนุมูลอิสระที่ให้โทษต่อร่างกาย ถ้าหากมีสารชนิดนี้ในร่างกายเป็นจำนวนมาก จะทำให้ระบบการทำงานต่างๆเสื่อมสภาพลงอย่างรวดเร็ว ระบบภูมิคุ้มกันถดถอย ดังนั้นหน้าที่ของสารต้านอนุมูลอิสระจึงมีบทบาทสำคัญที่จะกำจัดเอาสารพิษเหล่านี้ออกไปจากร่างกายให้มากที่สุดด้วยการรับจากแหล่งอาหารต่างๆ ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระหมายถึงสารที่ช่วยต่อต้านหรือกำจัดอนุมูลอิสระ (Free Radicals) ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาออกซิเดชันภายในร่างกาย ซึ่งปฏิกิริยาดังกล่าวสามารถพบได้จากหลากหลายรูปแบบตามธรรมชาติ เช่น กระบวนออกซิเดชั่นที่ทำให้เหล็กกลายเป็นสนิม น้ำมันพืชที่มีกลิ่นเหม็นหืน หรือผลแอปเปิลเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลคล้ำ แต่ถ้าหากเป็นระบบในร่างกายจะพบได้จากการย่อยสลายโปรตีนและไขมัน ซึ่งมาจากอาหารที่รับประทานเข้าไป การรับเอามลพิษทางอากาศ ควันบุหรี่ เชื้อโรค ฝุ่นละออง การรับเอารังสียูวีจากแสงแดด หรือแม้กระทั่งการหายใจก็ทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ กลายเป็นสารอนุมูลอิสระและสร้างความเสียหายให้กับเซลล์ อนุมูลอิสระต่างๆ ที่เกิดขึ้นจะทำปฏิกิริยากับโมเลกุลที่สำคัญใน

ร่างกาย เช่น ไขมัน โปรตีน ดีเอ็นเอ ทำให้เกิดความเสียหายต่อโมเลกุลดังกล่าว ตัวอย่างเช่น เมื่ออนุมูลอิสระทำปฏิกิริยากับแอลดีแอล (LDL : low-density lipoprotein) ซึ่งเป็น โคเลสเตอรอลตัวเลวทำให้เกิดออกซิไดซ์แอลดีแอล (oxidized LDL) ซึ่งมีหลักฐานยืนยันว่า ออกซิไดซ์แอลดีแอลเป็นสาเหตุของการเกิดภาวะหลอดเลือดแดงแข็งทำให้เกิดการอุดตันของหลอดเลือดและเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคหัวใจ

สารต้านอนุมูลอิสระสามารถป้องกันหรือกำจัดอนุมูลอิสระได้จึงมีความสำคัญ มีงานวิจัยมากมายบ่งชี้ว่า สารต้านอนุมูลอิสระสามารถลดความเสี่ยงต่อโรคหลายโรคโดยเฉพาะโรคเรื้อรังที่สัมพันธ์กับอาหาร เช่น โรคมะเร็ง โรคเบาหวาน โรคหัวใจ โรคสมอง (เช่น อัลไซเมอร์) เป็นต้น รวมทั้งช่วยชะลอกระบวนการบางขั้นตอนที่ทำให้เกิดความแก่โดยปกติร่างกายสามารถกำจัดอนุมูลอิสระก่อนที่มันจะทำอันตราย แต่ถ้ามีการสร้างอนุมูลอิสระเร็วหรือมากเกินกว่าร่างกายจะกำจัดทัน อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจะสร้างความเสียหายต่อเซลล์และเนื้อเยื่อได้ ซึ่งส่งผลกระทบต่อสุขภาพ สารต้านอนุมูลอิสระลดความเสียหายที่เกิดจากอนุมูลอิสระได้ 2 ทาง คือ

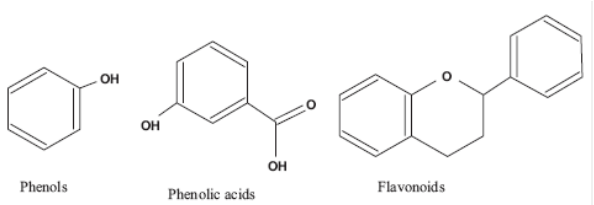
1.ลดการสร้างอนุมูลอิสระในร่างกาย

2.ลดอันตรายที่เกิดจากอนุมูลอิสระ

สารฟีนอล

สารประกอบฟีนอลิกที่พบในธรรมชาติมีมากมายหลายชนิดและสารประกอบฟีนอลิก จัดเป็นสารต้านอนุมูลที่ได้รับจากภายนอกและพบได้มากในธรรมชาติได้แก่ พืชผัก ผลไม้ ชาเขียว ชาดำ ช็อกโกแลต และไวน์แดง เป็นต้น มีลักษณะสูตรโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกัน ตั้งแต่กลุ่มที่มีโครงสร้างอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก (phenolic acids) ไปจนถึงกลุ่มที่มีโครงสร้างเป็นพอลิเมอร์ เช่น ลิกนิน (lignin) กลุ่มใหญ่ที่สุดที่พบคือ สารประกอบพวก ฟลาโวนอยด์ (flavonoid) ซึ่งเป็นกลุ่มสารที่สำคัญ

สารโพลีฟีนอลิกเป็นสารที่มีบทบาทสำคัญเนื่องจากมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ต้านไวรัส ต้าน การอักเสบ ต้านการแพ้ และมีคุณสมบัติในการสลายลิ่มเลือด รวมเป็นสารต้านการก่อมะเร็ง และสามารถลดความดันโลหิตในการสลายลิ่มเลือด เหล่านี้เป็นต้น ซึ่งคุณสมบัติดังกล่าวนี้มีความสัมพันธ์กับ คุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลโครงสร้างทั่วไปของสารประกอบฟีนอลิก ประกอบด้วยโครงสร้างที่ เป็นวงอะโรมาติกและมีหมู่แทนที่เป็นหมู่ไฮดรอกซีอย่างน้อย 1 หมู่ (ปริยานุช , 2551)



ภาพที่ 4 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิก

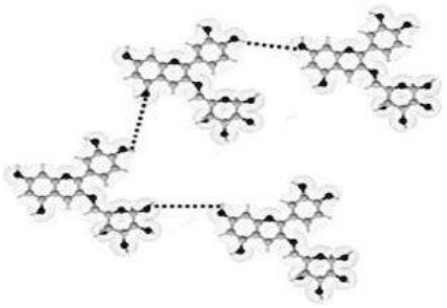
ที่มา : (พิมพ์เพ็ญ , 2559)

2.9 โคพิกเมนเทชัน

ปรากฏการณ์โคพิกเมนต์เทชันซึ่งมีการค้นพบครั้งแรกในปี 1916 โดย Willstätter และ Zollinger โดยการสังเกตสีของเม็ดองุ่นซึ่งมีสีม่วงแดง เนื่องจากสารให้สีอย่างแอนโธไซยานินส์ ชนิด malvidin -glucoside พบว่าเมื่อมีการเติม tannin หรือ gallic acid จะมีการเปลี่ยนสีจากสีฟ้าไปเป็นสีแดงคือมีการเปลี่ยนจากโครงสร้างของ quinonoidal base ไปเป็นโครงสร้างแบบ flavylium cation ซึ่งการใช้วิธีโคพิกเมนต์เทชั่นในการเพิ่มความคงตัวของแอนโทไซยานินส์มีลักษณะการเกิดโคพิกเมนต์เทชันได้ 4 แบบ คือ

Self-association

การรวมตัวระหว่างโมเลกุลของแอนโทไซยานินส์กับโมเลกุลของแอนโทไซยานินส์เอง เป็นการเพิ่มโมเลกุลของแอนโธไซยานินส์โดยการเพิ่มความเข้มข้นของแอนโธไซยานินส์จะสามารถส่งผลให้สารละลายแอนโธไซยานินส์มีสีที่เข้มขึ้นหรือดีขึ้นและยังช่วยให้เกิดการรวมตัวของแอนโธไซยานินส์มากขึ้นเมื่อมีโมเลกุลของแอนโธไซยานินส์มากกว่า 2 โมเลกุลขึ้นไป (Timberlake et al., 1975) การเกิด self-association จะเพิ่มขึ้นเมื่อมีการเพิ่มความเข้มข้นของแอนโธไซยานินส์ สำหรับกลไกการเกิด self-association นั้นพบว่าโมเลกุลของแอนโธไซยานินส์จะเกิดการจับหรือยึดกันด้วยพันธะ non-covalent ที่คล้ายคลึงกับการเกิด stacking interaction (Hoshino , 1992)

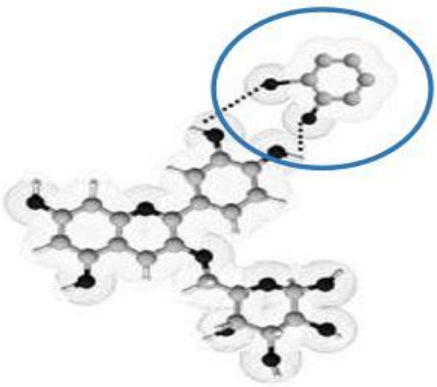


ภาพที่ 5 การเกิดโคพิกเมนต์เทชันแอนโธไซยานินส์ ด้วยวิธี Self-association

ที่มา : (Ovando et al., 2009)

Intermolecular Copigmentation

การเกิด intermolecular copigmentation จะเกิดระหว่างโมเลกุลของแอนโทไซยานินส์กับโมเลกุลของสารโคพิกเมนต์ซึ่งเป็นโมเลกุลที่ไม่มีสีโดยจะเกิดการจับกันเป็นสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างแอนโทไซยานินส์กับสารโคพิกเมนตด์ว้ยพันธะ non-covalent และ driving force สำหรับ intermolecular copigmentation คือพันธะไฮโดรเจน พันธะไอออนิก ปฏิสัมพันธ์ไฟฟ้าสถิต (electrostatic interaction) และ พันธะไฮโดรโฟบิก (Timberlake et al., 1975)



ภาพที่ 6 การเกิดโคพิกเมนต์เทชันแอนโธไซยานินส์ ด้วยวิธี Intermolecular Copigmentation
ที่มา : (Ovando et al., 2009)

Intramolecular Copigmentation

การเกิด Intramolecular Copigmentation จะเกิดระหว่างโมเลกุลของแอนโทไซยานินส์กับโมเลกุลของสารโคพิกเมนต์ซึ่ง เป็นส่วนหน่งภายในโมเลกุลแอนโทไซยานินส์เอง การเกิด covalent acylation ของแอนโทไซยานินส์จะสามารถเพิ่มความคงตัวของสีได้โดย acyl group จะจับบริเวณประจุบวกบนโมเลกุลของ flavylium cation ของแอนโทไซยานินส์ ซึ่งจะเกิดได้ดีภายในโมเลกุลของแอนโทไซยานินส์ชนิด acylated anthocyanin (Timberlake et al., 1975)

ภาพที่ 7 การเกิดโคพิกเมนต์เทชันแอนโธไซยานินส์ ด้วยวิธี Intramolecular Copigmentation
ที่มา : (Ovando et al., 2009)

Metal Complexation

พบว่ามีการใช้โลหะในการรักษาความคงตัวของแอนโทไซยานินส์ได้ แต่ไม่เป็นที่นิยมในทางอุตสาหกรรมเนื่องจากจะทำให้เกิดการตกค้างหรือการปนเปื้อนของโลหะในผลิตภัณฑ์เป็นการ จับกันของอิออนโลหะและ flavylium cation ได้ปีนสารประกอบ flavylium salt และอิออนของโลหะที่นำมาใช้ในการรักษาความคงตัวของแอนโทไซยานินส์ด้วยวิธี metal complexation ได้แก่ ดีบุก (Sn), ทองแดง (Cu), เหล็ก (Fe), อลูมิเนียม (Al), แมกนีเซียม (Mg) และโพแทสเซียม (K) โดยจะใช้วิธี metal complexation ได้ในแอนโทไซยานินส์ที่มี hydroxyl group มากกว่า 1 หมู่ใน phenyl ring ซึ่งจะสามารถจับกับไอออนของโลหะได้ดังภาพ

ภาพที่ 8 การเกิดโคพิกเมนต์เทชันแอนโธไซยานินส์ ด้วยวิธี Metal Complexation
ที่มา : (Ovando et al., 2009)

2.10 วอเตอร์แอกติวิตี (Water activity)

การวิเคราะห์ค่า Water Activity เป็นปัจจัยที่สำคัญในการควบคุมและป้องกันการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์อาหารโดยสามารถบ่งบอกถึงอายุการเก็บรักษาได้ เนื่องจากค่าวอเตอร์แอคติวิตีเกี่ยวข้องกับการเจริญของจุลินทรีย์ ทั้งแบคทีเรีย ยีสต์ และ รา การปรับลด ค่าวอเตอร์แอคติวิตีของอาหาร ให้ต่ำกว่าค่าวอเตอร์แอคติวิตีต่ำสุดของจุลินทรีย์ โดยเฉพาะจุลินทรีย์ก่อโรค Pathogen ซึ่งเป็นปัจจัยที่เชื้อจุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ในการเจริญเติบโตและใช้ในการเกิดปฏิกิริยาเคมีต่างๆ เราสามารถใช้ค่าวอเตอร์แอคติวิตีในการควบคุมและป้องกันการเสื่อมเสียของอาหารที่เกิดขึ้นจากเชื้อจุลินทรีย์ได้ เพราะเชื้อจุลินทรีย์จะเจริญเติบโตได้ภายใต้ค่าวอเตอร์แอคติวิตีที่จำกัด โดยเราจะทำให้อาหารมีค่าวอเตอร์แอคติวิตีกว่าที่เชื้อจุลินทรีย์จะเจริญเติบโตได้

2.11 ปริมาณความชื้น (Moisture content)

ความชื้น คือ ปริมาณสารที่สามารถสูญเสียจากอาหารได้เมื่อมีการให้ความร้อน โดยความร้อนที่ให้กับอาหารต้องมีอุณหภูมิไม่สูงกว่าจุดเดือดของน้ำหรือปล่อยให้อาหารตั้งทิ้งไว้ในสารดูดความชื้น (dehydrating agent) หรือให้ความร้อนในสภาพสุญญากาศ น้ำหนักที่หายไปจากอาหารซึ่งหรือน้ำนั้นความจริงคือสารที่ระเหยได้ทั้งหมด หรือ total volatile matter ที่หายไป ณ.อุณหภูมินั้น ส่วนกากหรือของแข็งแห้งที่เหลืออยู่หลังจากน้ำระเหยออกไปหมดแล้วเรียกว่า “ของแข็งทั้งหมด” (Total solids)

การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำหรือความชื้นมีหลายวิธี วิธีการที่นิยมใช้คือ Drying method ซึ่งมี 3 แบบคือ

1. Hot air oven method
2. Vacuum oven method
3. การใช้สารดูดความชื้น

วิธีการที่ใช้ในงานวิจัยนี้คือ Hot air oven method โดยมีหลักการคือหาน้ำหนักตัวอย่างที่หายไป เนื่องจากการระเหยของน้ำที่มีอยู่ในอาหารเป็นไอน้ำ ที่อุณหภูมิใกล้จุดเดือดหรือที่จุดเดือดของน้ำ แต่ในกรณีนี้อาจมีพวกน้ำมันระเหยที่ประกอบอยู่ในตัวอย่างสูญเสียไปด้วย

วิธีคำนวณ เปอร์เซ็นต์ความชื้น $= \dfrac{100\left(w_1 - w_2\right)}{w_1 - w}$ ..... (2.1)

เมื่อ w = น้ำหนักของจานอลูมิเนียมพร้อมฝาปิด (กรัม)

w1 = น้ำหนักของจานอลูมิเนียมพร้อมฝาปิดและตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)

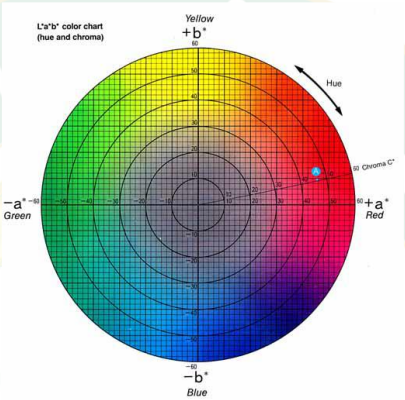
w2 = น้ำหนักของจานอลูมิเนียมพร้อมฝาปิดและตัวอย่างหลังอบ (กรัม)

มาตรฐานชุมชน (2547) กำหนดให้ความชื้นต้องไม่เกินร้อยละ 18 โดยน้ำหนัก

2.12 ค่าสี

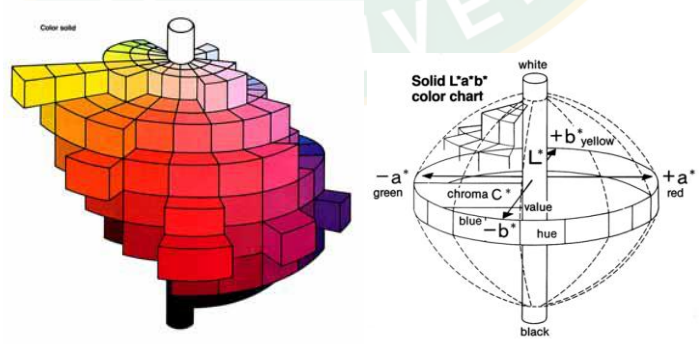
การวัดและบรรยายสีสามารถใช้บรรยายคุณลักษณะของวัสดุได้ง่ายที่สุดวิธีหนึ่งในเชิงวิชาการจึงมีการจัดมาตรฐานเพื่อเป็นการลดความไม่เป็นกลาง (bias) ของผู้บรรยายสีของวัสดุนั้นๆโดยใช้ระบบการวิเคราะห์สีที่ยอมรับและใช้กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบันคือระบบ L*-a*-b* ซึ่งเป็นระบบการบรรยายสีแบบ 3 มิติ โดยที่แกน L* จะบรรยายถึงความสว่าง (lightness) จากค่า +L* แสดงถึงสีขาวจนไปถึง –L* แสดงถึงสีดำ แกน a* จะบรรยายถึงแกนสีจากเขียว (-a*)ไปจนถึงแดง (+a*) ส่วน

แกน b*จะบรรยายถึงแกนสีจากน้ำเงิน (-b*) ไปเหลือง (+b*) ลักษณะการบรรยายสีของ CIE แสดงได้ดังภาพที่ 2.9 และ 2.10 นอกจากนี้บริษัท Hunter lab ในอเมริกาก็เป็นอีกองค์กรหนึ่งซึ่งทำการวิจัยและพัฒนาระบบการวัดสีจนในที่สุดได้ระบบของ Hunter labเอง ซึ่งเรียกว่าการวัดสีระบบ Hunter lab ซึ่งบรรยายแกนใน 3 มิติเช่นเดียวกับระบบ CIE โดยที่ Hunter lab จะใช้สเกล L-a-b บรรยายลักษณะสีเช่นเดียวกับ L*-a*-b* ของ CIE ข้อแตกต่างระหว่างระบบสีของ CIE และHunter lab คือสูตรการคำนวณค่าสีซึ่งทั้ง L-a-b และ L*-a*-b* ล้วนมีพื้นฐานการคำนวณมาจากค่าระบบ X-Y-Z ทั้งสิ้น



ภาพที่ 9 การวิเคราะห์สีในระบบ CIE Lab 2 มิติ

ที่มา: (Minolta , 1997)



ภาพที่ 10 การวิเคราะห์สีพื้นในระบบ CIE Lab 3 มิติ.

ที่มา: (Minolta , 1997)

การวิเคราะห์ค่าสีในระบบ CIE ข้างต้น สามารถนำข้อมูลมาศึกษาค่า Chroma และ ค่า Hue angle ซึ่งเป็นค่าที่แสดงถึงค่าสีเช่นกัน

Chroma (C*) เป็นตัวเลขที่แสดงถึงความอิ่มตัวของสี คือ สีที่ไม่มีสีขาวปนอยู่ เช่น ความสดใส ความเข้ม ความบริสุทธิ์ของสี สามารถคำนวณได้จากสมาการต่อไปนี้

$$C^* = \left[(a^*)^2 + (b^*)^2\right]^{1/2} \quad \text{..... (2.2)}$$

Hue angle (h°) เป็นตัวเลขที่ระบุว่าสีมีตำแหน่งอยู่ที่ใดในกราฟ มีหน่วยเป็นองศา (เมื่อ h°= 90° แสดงความเป็นสีเหลือง h°= 180 แสดงความเป็นสีเขียว h°= 270° แสดงความเป็นสีน้ำเงิน h° = 0° แสดงความเป็นสีแดง) สามารถคำนวณได้จากสมการต่อไปนี้

$$h° = \tan^{-1}(\frac{b^*}{a^*}) \quad \text{..... (2.3)}$$

Hue angle (H°) เป็นค่าแสดงถึงสีแท้จริงที่ปรากฏให้เห็น ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง 0-360 องศา ซึ่ง Hue angle แต่ละช่วงองศา แสดงสีแตกต่างกันดังนี้ (Raymond G. McGuire., 1992)

0-45 องศา	แสดงสีม่วงแดงถึงสีส้ม
45-90 องศา	แสดงสีส้มแดงถึงสีเหลือง
90-135 องศา	แสดงสีเหลืองถึงเหลืองเขียว
135-180 องศา	แสดงสีเหลืองเขียวถึงสีเขียว
180-225 องศา	แสดงสีเขียวถึงสีน้ำเงิน
225-270 องศา	แสดงสีน้ำเงินเขียวถึงสีน้ำเงิน
270-315 องศา	แสดงสีน้ำเงินถึงสีม่วง
315-360 องศา	แสดงสีม่วงถึงม่วงแดง

2.13 การศึกษาจลนพลศาสตร์และความคงตัว

เนื่องจากการผลิตเครื่องดื่มสมุนไพรจากกระชายดำนั้นต้องผ่านการยอมรับทางประสาทสัมผัสในด้านต่างๆเช่น สี กลิ่น รส ซึ่งมีส่วนเกี่ยวข้องกับปัจจัยต่างๆที่จะส่งผลกระทบต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของน้ำสมุนไพรกระชายดำ สภาวะความเป็นกรด-ด่างของเครื่องดื่ม โดยที่สารสำคัญอย่างแอนโทไซยานินส์ซึ่งมีความคงตัวในสารละลายที่มีพีเอชต่ำมากกว่าในสารละลายที่มีพีเอช สูง โดยทั่วไปแอนโทไซยานินส์มีสีที่หลากหลายตามระดับพีเอชตั้งแต่ 1-14 ความเป็นอิออน โดยธรรมชาติของแอนโทไซยานินส์ช่วยให้การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโมเลกุลนั้นเปลี่ยนแปลงไป ตามค่าพีเอช ส่งผลให้เกิดเฉดสีที่แตกต่างกัน (Rein , 2005)

ความเป็นกรด – ด่าง (pH)

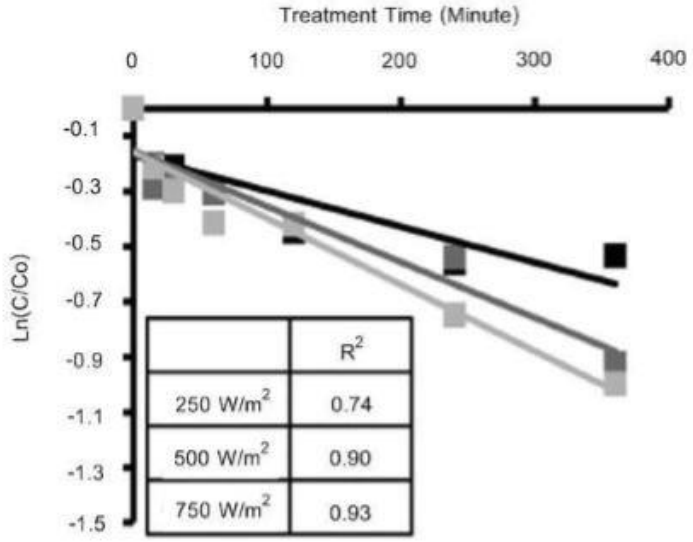
การเปลี่ยนแปลงเฉดสีของสารละลายแอนโทไซยานินส์ขึ้นอยู่กับค่าพีเอช โดยทั่วไปแอนโทไซยานินส์จะมีเฉดสีแดงในสารละลายกรดช่วงพีเอช 1-3 และเฉดสีม่วง น้ำเงิน ในสารละลายเบส เนื่องจากเมื่อแอนโทไซยานินส์อยู่ในสภาวะสมดุลในสารละลายที่เป็นกรดสูง (pH<0.5) จะอยู่ในรูปของ flavylium cation (red) อยู่เพียงชนิดเดียวซึ่งทำให้สารละลายมีสีแดงเมื่อ pH สูงขึ้นจนอยู่ในสภาวะกรดอ่อนหรือเป็นกลาง ปริมาณ flavylium cation จะเริ่มลดลงเนื่องจากเกิด hydration ไปเป็น carbinol base ซึ่งไม่มีสี ส่วนสมดุลระหว่างแอนโทไซยานินที่อยู่ในรูปของ flavylium cation และquinoidal base (anhydro base) จะเกิดสมดุลที่ pH 4.25 ดังนั้นเมื่อแอนโทไซยานินอยู่ในสารละลายที่มี pH มากกว่า 4.5 ขึ้นไป หรืออยู่ในสภาวะที่เป็นเบส จึงมีโครงสร้างของ carbinol base และ chalcone ซึ่งเป็นโครงสร้างที่ไม่มีสีและโครงสร้างของ quinoidal base ซึ่งเป็นโครงสร้างที่มีสีน้ำเงิน (ยุพาพร , 2547)

อุณหภูมิ

อุณหภูมิเป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อความคงตัวของแอนโทไซยานิน โดยอัตราการสลายตัวของแอนโทไซยานินจะเพิ่มขึ้นระหว่างกระบวนการแปรรูปและเก็บรักษาที่อุณหภูมิเพิ่มขึ้น (Rein , 2005) และมีรายงานว่า cyanidin 3-glucoside และ cyaniding 3-rutinoside จะสลายตัวที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ในสารละลายกรดอ่อน (pH 1-4) ทั้งสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน อีกทั้งยังมีการศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีผลต่อความคงตัวของผงสีแอนโทไซยานินในผลิตภัณฑ์อาหารโดยต่างให้ผลสรุปโดยทั่วๆ ไปคือแอนโทไซยานินจะถูกทำลายด้วยความร้อนในระหว่างกระบวนการต่างๆและการเก็บรักษา (ยุพาพร , 2547)

แสง

แสงมีผลกระทบต่อการสังเคราะห์แอนโทไซยานินส์ในพืชและแสงช่วยเร่งการอัตราการย่อยสลายของแอนโทไซยานินส์ ในขณะเดียวกันแอนโทไซยานินส์สามารถ สลายตัวด้วยความร้อนโดยแสงจะมีบทบาทในการเกิดปฏิกิริยาการสลายตัวที่ เกียวข้องกับการกระตุ้นอิออนบวกของ flavylium cation ส่งผลให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน พบว่าแอนโทไซยานินส์มีอัตราลดลงเมื่อสัมผัสกับแสงโดยการเพิ่มความเข้มของแสงดังภาพ



ภาพที่ 11 อัตราการลดลงของแอนโทไซยานินส์เนื่องจากความเข้มแสง

ที่มา: (Song et al., 2013)

2.14 การออกแบบการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design)

แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design ใช้ค้าย่อว่า CRD) เป็นแผนการทดลองที่มี ลักษณะง่ายสะดวกในการปฏิบัติและวิเคราะห์ข้อมูล เหมาะสำหรับหน่วยทดลองที่มีความสม่ำเสมอ

โดยแผนการทดลองแบบ CRD ใช้ในกรณีที่ผู้วิจัยมีปัจจัยที่ต้องการเปรียบเทียบเพียงปัจจัยเดียวในการทดลอง เช่น ทรีทเมนต์ (treatment) หน่วยทดลองที่ใช้ในการทดลองนี้ต้องมีความสม่ำเสมอ โดยแต่ละหน่วยทดลองจะต้องได้รับทรีทเมนต์อย่างสุ่ม (random) เนื่องจากข้อมูลค่าสังเกตสามารถจัดแยก (classify) เป็นกลุ่มได้ด้วยปัจจัยเดียว (ปัจจัยเนื่องจากทรีทเมนต์) บางครั้งจึงเรียกว่าการทดลองแบบ one-way classification โดยที่ Statistical model เป็นดังแสดงในสมการที่ 2.4

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij} \quad \text{..... (2.4)}$$

เมื่อ y_{ij} = ค่าสังเกตจากทรีทเมนต์ที่ i, ซ้ำที่ j โดย i = 1, 2, 3 และ j = 1, 2, 3, 4

μ = ค่าเฉลี่ยโดยรวม หรือเฉลี่ยประชากร (overall or population mean)

τ_i = อิทธิพลเนื่องจากทรีทเมนต์ (treatment, trt) ที่ i, โดย i = 1, 2, 3

ε_{ij} = ค่าความคลาดเคลื่อนของสังเกตจาก trt ที่ i, ซ้ำที่ j โดย i = 1, 2, 3 และ j = 1, 2, 3, 4

2.15 เครื่องดื่มสมุนไพร

เครื่องดื่มสมุนไพรที่ไม่ว่าจะทำจากผลไม้ พืชหรือผัก และไม่ว่าจะมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์หรือออกซิเจนผสมอยู่ด้วยก็ตาม จะต้องมีกลิ่นและรสตามลักษณะเฉพาะตามเครื่องดื่มนั้นๆ และจะต้องไม่มีตะกอน ยกเว้นแต่เป็นตะกอนตามธรรมชาติ น้ำที่ใช้ผลิตต้องเป็นน้ำที่มีคุณภาพหรือมาตรฐานต้อง ตรวจพบแบคทีเรียชนิดโคลิฟอร์มน้อยกว่า 2.2 colony forming unit (cfu) ต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร โดยวิธีเอ็ม พี เอ็น (Most Probable Number) และต้องตรวจไม่พบแบคทีเรีย อี.โคไล (Escherichia coli) เครื่องดื่มสมุนไพรที่ผ่านกรรมวิธีสเตอริไลส์ หรือ ยู เอช ทีนั้นจะต้องไม่พบสารปนเปื้อน ส่วนการเก็บรักษาสำหรับเครื่องดื่มในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิทที่ไม่ใช่ชนิดที่มีความเป็นกรดต่ำและชนิดที่ปรับกรด ต้องมีการแสดงฉลากของเครื่องดื่ม มิลลิลิตร (ตามมาตรฐานประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ ๓๕๖) พ.ศ. ๒๕๕๖)

2.16 การให้ความร้อนในการฆ่าเชื้อ

ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 349) พ.ศ.2556 เรื่องวิธีการผลิต เครื่องมือเครื่องใช้ในการผลิตและการเก็บรักษาเครื่องดื่มในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิทชนิดที่มีความเป็นกรดต่ำและชนิดที่ปรับกรด กำหนดไว้ในบัญชีแนบท้ายหมายเลข 1 ข้อ 3.3.2 อาหารชนิดปรับกรด ต้องมีการดำเนินการ ดังต่อไปนี้

- จัดทำเอกสารการศึกษาอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์แต่ละชนิด และแต่ละขนาดบรรจุอย่างเหมาะสม มีการระบุค่าความเป็นกรด-ด่างสมดุลของผลิตภัณฑ์ ในกรณีที่ผลิตภัณฑ์มีชิ้นเนื้ออยู่ในของเหลว ต้องระบุช่วงเวลามากสุดและอุณหภูมิในการเก็บเพื่อการปรับสภาพชิ้นเนื้อนั้นให้เป็นกรด

- การกำหนดกระบวนการฆ่าเชื้อ ต้องมีการศึกษาภายใต้การควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง พร้อมทั้งระบุปัจจัยวิกฤตที่ใช้กาหนดกระบวนการฆ่าเชื้อเพื่อให้มั่นใจว่าอาหารนั้นจะไม่มีการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทาให้เกิดโรค โดยแสดงไว้ในกรรมวิธีการผลิตที่กำหนด

การใช้ความร้อนกับอาหารมีหลายวิธี แต่ละวิธีมีจุดมุ่งหมายจำเพาะลงไป ดังนั้นระดับความมากน้อยของความร้อนที่ใช้จึงขึ้นกับวัตถุประสงค์เหล่านั้น กระบวนการให้ความร้อนกับอาหารอาจแบ่งออกได้เป็นวิธีการต่างๆ (ทิพาพร , 2535) ได้แก่ การลวก การพาสเจอไรซ์ และการสเตอริไรซ์ซึ่งในงานวิจัยนี้เป็นกระบวนการพาสเจอไรซ์

การพาสเจอไรซ์ (Pasteurization)

เป็นกระบวนการให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่ำกว่า 100 องศาเซลเซียส เพื่อฆ่าเชื้อจุลินทรีย์เป็นบางส่วนในอาหาร จึงจำเป็นต้องดูแลเก็บรักษาไว้ภายใต้สภาวะที่จะทำให้การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์เป็นไปได้น้อยที่สุด โดยทั่วไปจุดมุ่งหมายเริ่มแรกของการพาสเจอไรซ์ คือ เพื่อฆ่า

เชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค (Pathogenic microorganisms) เช่น ในนม ส่วนจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย บางส่วนสามารถอยู่รอดจากการให้ความร้อนแบบนี้ได้ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องใช้การถนอมอาหารแบบอื่นควบคู่ไปด้วย เพื่อป้องกันการเน่าเสีย ในบางกรณี เช่น เบียร์ การพาสเจอไรซ์ทำเพื่อฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย การถนอมอาหารแบบอื่นที่ใช้ควบคู่ไปกับการพาสเจอไรซ์ มีดังนี้

- การใช้ความเย็น (Refrigeration)
- การใช้สารเคมี (Chemical additives) เพื่อทำให้เกิดสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์
- การบรรจุหีบห่อ (Packaging) เช่น การรักษาสภาพไร้อากาศในขวดเบียร์
- การหมัก (Fermentation) โดยใช้จุลินทรีย์เพื่อเปลี่ยนองค์ประกอบในอาหาร เช่น เปลี่ยนแลคโตส (Lactose) ไปเป็นกรดแลคติก (Lactic acid)

การให้ความร้อนกับเครื่องดื่มไม่เพียงขึ้นกับชนิดของจุลินทรีย์เท่านั้น แต่ขึ้นกับความทนทานต่อความร้อนของจุลินทรีย์ด้วย โดยทั่วไปอาหารที่อยู่ในสภาพปลอดเชื้อแบบเชิงการค้าจะอยู่ในภาชนะที่ปิดแน่น (Hermetically sealed containers) เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการปนเปื้อนขึ้นอีก นอกจากนี้ตามหลักการผลิตเครื่องดื่มในภาชนะปิดสนิทแบบนี้จะมีปริมาณออกซิเจนเหลืออยู่ในระดับต่ำมาก ดังนั้น จุลินทรีย์ที่ต้องใช้ออกซิเจน (Obligate aerobes) จึงไม่สามารถเจริญเติบโต และทำให้อาหารเน่าเสีย หรือเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค นอกจากนี้สปอร์ของแบคทีเรียที่ต้องการออกซิเจนมีความทนทานต่อความร้อนน้อยกว่าสปอร์ของพวกที่ไม่ต้องการออกซิเจน (Facultative หรือ Obligative anaerobes)

สำหรับกระบวนการฆ่าเชื้อที่ขึ้นกับจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการออกซิเจน ค่าความเป็นกรดของอาหารเป็นปัจจัยที่สำคัญมาก สปอร์ที่มีความทนทานต่อความร้อนสูงอาจเหลือรอดจากกระบวนการฆ่าเชื้อได้ แต่เนื่องจากอาหารมีค่า pH ต่ำ สปอร์เหล่านี้จึงไม่สามารถเจริญและทำให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพหรือทำให้เกิดการเน่าเสียขึ้น ในแง่ของการออกแบบกระบวนการฆ่าเชื้อด้วยความร้อน แบ่งอาหารออกตามค่า pH ได้เป็น 3 กลุ่ม ดังนี้

- อาหารที่มีความเป็นกรดสูง มีค่า pH < 3.7
- อาหารที่เป็นกรด มีค่า pH อยู่ในช่วง 3.7 ถึง 4.5
- อาหารที่มีความเป็นกรดต่ำ มีค่า pH > 4.5

เนื่องจากมีแบคทีเรียที่สร้างสปอร์ไม่สามารถเจริญได้ที่ pH < 3.7 กระบวนการให้ความร้อนที่ใช้สำหรับพวกอาหารที่มีความเป็นกรดสูงโดยทั่วๆ ไปจึงใช้เพื่อยับยั้งพวกยีสต์และรา pH 4.5 เป็นค่าความเป็นกรด-ด่างที่ต่ำกว่าเล็กน้อยจากค่า pH ที่แบคทีเรีย *C. botulinum* สามารถเจริญเติบโตได้และสร้างสารพิษขึ้น จึงต้องมีการระมัดระวังเป็นอย่างพิเศษ

สำหรับอาหารที่เป็นกรด กระบวนการให้ความร้อนมักจะมุ่งมาที่การทำลายพวกแบคทีเรียที่ต้องการออกซิเจนแต่สามารถเจริญได้ในสภาวะไร้อากาศ (Facultative anaerobes) เช่น *Bacillus coagulans (B. thermoacidurans)* ความจริงแล้วมีแบคทีเรียที่เจริญได้เฉพาะในสภาวะไร้อากาศเท่านั้น (obligate anaerobes) ซึ่งมีหลายตัวที่สำคัญในการทำให้อาหารเน่าเสีย แต่พวกนี้มีความ

ทนทานต่อความร้อนน้อยกว่าพวก *Bacillus* สำหรับมะเขือเทศ และผลิตภัณฑ์จากมะเขือเทศ การทำลาย *B. coagulans* เป็นจุดมุ่งหมายหลักของการฆ่าเชื้อด้วยความร้อน (ทิพาพร , 2535)

2.17 การวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแบบ DMRT หรือ DUNCAN (Duncan's New Multiple Range Test)

วิธีการนี้จะมีคาวิกฤตหลายคา (multiple critical values หรือ critical range) สำหรับใช ในการเปรียบเทียบความแตกตางของคูทรีทเมนต โดยคาวิกฤตแตละคาจะใชในการเปรียบเทียบคาเฉลี่ยแตละคูแตกตางกันไปขึ้นอยูกับระยะหางของคูทรีทเมนต (treatment distance)

2.18 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance: ANOVA)

เป็นวิธีการทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของกลุ่มตัวอย่าง ตั้งแต่ 3 กลุ่มขึ้นไป ซึ่งจะเป็นการวิเคราะห์หาอัตราส่วนระหว่างความแปรปรวนระหว่างกลุ่ม (Between-group variance) และความแปรปรวนภายในกลุ่ม (Within-group variance) ความแปรปรวนระหว่างกลุ่ม เป็นค่าที่เกิดจากความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มต่าง ๆ ถ้าค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มต่างๆ แตกต่างกันมาก ค่าความแปรปรวนระหว่างกลุ่มก็จะมากตามไปด้วย สำหรับความแปรปรวนภายในกลุ่มเป็นค่าที่แสดงให้เห็นว่า คะแนนแต่ละตัวที่รวบรวมมานั้นภายในแต่ละกลุ่มมีการกระจายมากหรือน้อย ค่าที่คำนวณได้เรียกว่าความคลาดเคลื่อน

2.19 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

(Cavallos-Casals, 2004) Anthocyanin-based aqueous Andean red sweet potato and purple corn extracts were evaluated under different pH, temperature, and light conditions, and compared to commercial colorants (purple carrot, red grape, red 40, and red 3). Red sweet potato and purple carrot colorants, rich in acylated anthocyanins, showed higher stability than purple corn and red grape colorants, rich in nonacylated anthocyanins. After storage at 20 _C for 138 days, the order of stability in the pH range 0.9–4 was: red sweet potato P purple carrot>purple corn>red grape. After this storage time, red sweet potato pH 4 extracts maintained a

red-violet hue. Half-lives for pH 3 extracts at 98 _C were 4.6, 4.6, 2.4, and 2.0 h for red sweet potato, purple carrot, red grape, and purple corn, respectively. The hues for purple corn pH 3 extracts were similar to those of red 40. Parameters measured included degradation index, polymeric colour, colour retention and spectral data.

(Narkprasom et al., 2015) The objective of this research was to extract phenolic compounds from Makiang (*Cleistocalyx nervosum*) seeds waste obtained from the elaboration of making beverages using the microwave assisted extraction method. The highest yield of total phenolic from makiang seed and antioxidant activity were obtained when the extraction process was set at a microwave power, 450 W, an extraction time of 213 second and an ethanol proportion of 51%(v/v). Under these optimal conditions, the predicted and experimental values of total phenolic from makiang seeds were the 75.659 mg_{GAE}/g_{DW} and 75.132±0.576 mg_{GAE}/g_{DW}, respectively.

(Maarit Rein., 2005) Reactions of pure anthocyanins with phenolic acids were studied for 6 months. Immediate intermolecular copigmentation was observed with the monoglucosidic anthocyanins, expressed as hyperchromic effect and bathochromic shift. The strongest color enhancement on the day of preparation was observed with rosmarinic acid and ferulic acid. During storage, ferulic and caffeic acids improved the monoglucosidic anthocyanin colors the most. The color enhanced by rosmarinic acid was not very stabile in the course of time. The trisaccharidic and acylated trisaccharidic cyanidin did not exhibit color enhancement, although they had the best color stability as such during storage.

สุภาวดี และคณะ (2546) ได้รายงานผลการวิเคราะห์หาปริมาณของสารสำคัญที่มีในกระชายดำในรูปแบบต่างๆ ที่มีจำหน่ายทั้งหมด 17 ตัวอย่าง เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีถูกนำมาใช้เพื่อทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญ โดยใช้ร่วมกับเครื่องตรวจวัดชนิด เฟลมไอโอไนเซชั่น ซึ่งพบว่าเทคนิคนี้ให้ความน่าเชื่อถือในการวิเคราะห์ โดยสามารถดูได้จากความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ ความแม่นยำ ความเป็นเส้นตรง ขีดจำกัดในการวิเคราะห์หาปริมาณ และขีดจำกัดในการตรวจวัด จากการวิเคราะห์

หาปริมาณพบว่า ปริมาณสารสำคัญที่พบในผลิตภัณฑ์กระชายดำจะแตกต่างกันไป ดังนั้นจึงควรต้องมีการหาแนวทางในการควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์เหล่านี้ เพื่อเป็นการคุ้มครองผู้บริโภค

ศิริพร และคณะ (2551) ศึกษาผลของอายุเก็บเกี่ยวเหง้ากระชายดำที่มีต่อคุณภาพผลิตภัณฑ์ชาชงกระชายดำ เพื่อตรวจสอบอายุเก็บเกี่ยวที่เหมาะสมที่มีสีเนื้อในเหง้าตรงตามความต้องการของผู้บริโภค รายงานว่าวัตถุดิบเหง้ากระชายดำที่มีอายุเก็บเกี่ยว 8 และ 9 เดือนหลังปลูก มีค่าสีเนื้อในเหง้าตรงตามความต้องการของตลาด (L* และ b* ต่ำที่สุดและมีค่าสี a* สูง) และเมื่อพิจารณาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด พบว่า เหง้าที่อายุเก็บเกี่ยว 9 เดือน มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุด (68.75 มก.GAE/มล.) ขณะที่เหง้าที่อายุเก็บเกี่ยว 8 เดือน มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระสูงที่สุด (IC_{50} ต่ำที่สุด เท่ากับ0.1328 มก./มล.) และเมื่อนำมาสร้างเป็นผลิตภัณฑ์ชาชงกระชายดำ

เหมือนขวัญ (2556) ศึกษาการทำโคพิกเมนต์เทชันระหว่างแอนโธไซยานินส์กับสารโคพิกเมนต์ที่สกัดจากเปลือกมังคุดและลูกหม่อนในระบบเครื่องดื่ม และทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสเครื่องดื่มดังกล่าวของผู้ทดสอบ พบว่าการเกิดโคพิกเมนต์เทชันสามารถเพิ่มความคงตัวของแอนโธไซยานินส์ ได้ เมื่อพิจารณาตัวแปรด้านจลนพลศาสตร์ (ค่าครึ่งชีวิต ค่าคงที่อัตราการเกิดปฏิกิริยา และค่าพลังงาน กระตุ้น) พบว่าการเกิดโคพิกเมนต์เทชันสามารถเพิ่มความคงตัวของแอนโธไซยานินส์ต่อความร้อนได้ที่ อัตราส่วนโมลาร์ของแอนโธไซยานินส์ต่อสารโคพิกเมนต์ 1:100 สำหรับสารฟีนอลิกบริสุทธิ และ 1:5 สำหรับสารสกัดฟีนอลิก เมื่อทดสอบอายุการเก็บรักษาพบว่าการใช้สารสกัดฟีนอลลิกจากเปลือกมังคุด และลูกหม่อนสามารถเพิ่ม ค่าครึ่งชีวิตของแอนโธไซยานินส์ได้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบ

- กระชายดำ (สำนักฟาร์มมหาวิทยาลัยแม่โจ้)
- เมล็ดมะเกี๋ยง (โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตน์ราชสุดาฯ)

3.2 อุปกรณ์

- เครื่องชั่งดิจิตอล ทศนิยม 2 ตำแหน่ง รุ่น ES-1200 HA
- ขวดรูปชมพู่ 500 มิลลิลิตร
- บีกเกอร์ขนาด 1,000 มิลลิลิตร
- บีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร
- กระบอกตวง ขนาด 250 มิลลิลิตร
- ช้อนตักสาร
- ถ้วยอลูมิเนียมพร้อมฝาขนาด 3 ออนซ์
- โถดูดความชื้น
- ขวดใส่น้ำกลั่น
- กระดาษกรอง (บริษัท Whatman ประเทศ เยอรมัน)
- ขวดปรับปริมาตร (volumetric flash)
- หลอดแก้วทดลอง
- ตะแกรงร่อน
- หลอดดูดสาร
- แท่นวางหลอดทดลอง
- ถาดอลูมิเนียม

3.3 เครื่องมือ

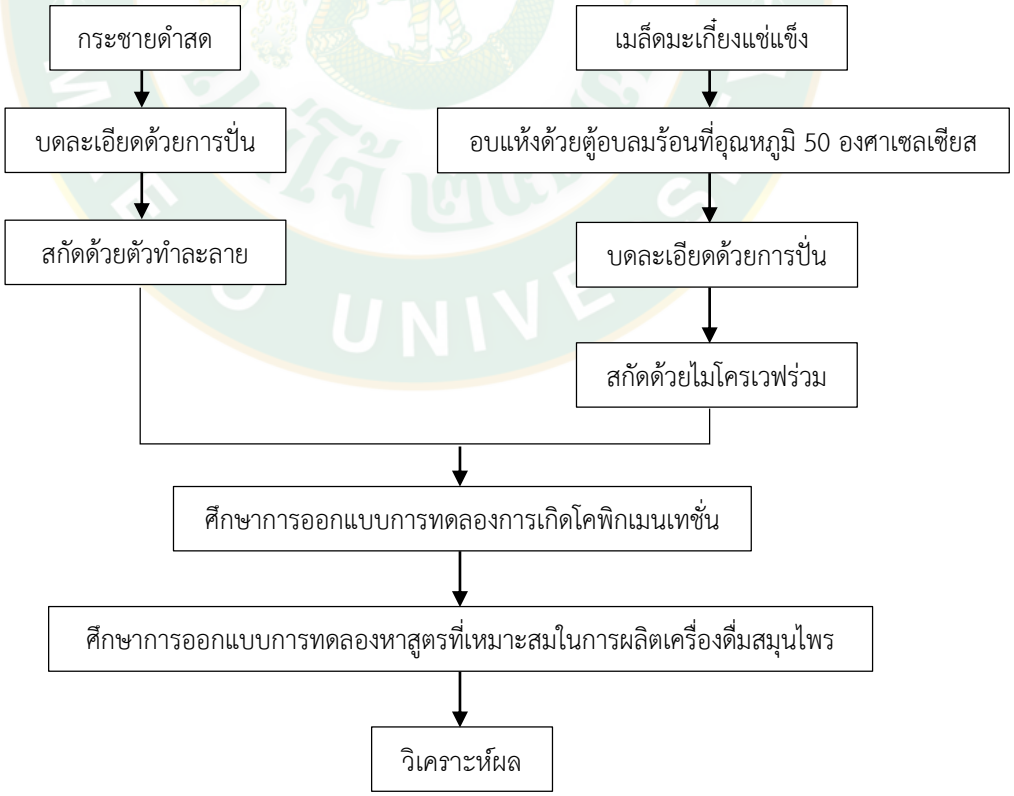
- เครื่องอบแห้งแบบลมร้อน (ยี่ห้อ memmert)
- เครื่องไมโครเวฟ (บริษัท ไทยซัมซุง อิเลคโทรนิคส์ จำกัด รุ่น ME711K ประเทศ ไทยแลนด์)
- เครื่องปั่น

- เครื่องผสม (MIXER UZUSIO VTX-30000L ประเทศ ญี่ปุ่น)
- เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (ยี่ห้อ biochrom รุ่น spectrawave S 1200)
- ออโต้ปิเปต (Autoclavable Nichipet EX II ประเทศ ญี่ปุ่น)
- เครื่องระเหยสุญญากาศ (ยี่ห้อ Buchi R215)
- เครื่องวัดสี (ยี่ห้อ Hunter lab รุ่น Min iScan XE Plus)
- เครื่องวัดค่าวอเตอร์แอคติวิตี (ยี่ห้อ Aqua Lab รุ่น Series 3TE)
- เครื่องหมุนเหวี่ยง (Gernmy Industrial Corp.ผลิตจากประเทศ ไต้หวัน)
- เครื่องกรองสุญญากาศ

3.4 สารเคมี

- เมทานอล (RCI Labscan Limited AR1115-P2.5L ประเทศ ไทยแลนด์)
- สารละลาย Folin-Ciocalteu phenol reagent (บริษัท LOBA Chemie ประเทศ อินเดีย)
- กรดแกลลิก (บริษัท Merck KGaA ประเทศ สหรัฐอเมริกา)
- โซเดียมคาร์บอเตต (RCI Labscan Limited AR1115-P2.5L ประเทศ ไทยแลนด์)

3.5 การดำเนินการ



ภาพที่ 12 แผนภูมิการทดลอง

การเตรียมตัวอย่างกระชายดำ

1. ใช้เหง้ากระชายดำตากแห้ง ที่มีความชื้นไม่เกิน 15 เปอร์เซ็นต์

ภาพที่ 13 เหง้ากระชายดำแห้ง

2. ทำความสะอาดเหง้ากระชายดำที่มีอายุการเก็บเกี่ยวตามเวลาที่กำหนด สับเป็นชิ้นเล็กๆ หรือบดให้ละเอียดโดยไม่ต้องปอกเปลือกและนำกระชายดำละเอียดที่ได้เข้าสู่กระบวนการสกัดสารแอนโทไซยานินส์ด้วยการต้มสกัด ที่อัตราส่วนกระชายดำต่อน้ำ 100:370 (กรัม:มิลลิลิตร) ระยะเวลา 20 นาที (ศิริพร และคณะ , 2551) กรองเอาแต่น้ำสกัดเพื่อทำแห้งด้วยการอบแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

ภาพที่ 14 การต้มสกัดแอนโทไซยานินส์จากกระชายดำ

3. นำสารสกัดกระชายดำจากการต้ม ทำให้แห้งด้วยวิธีการอบแห้งแบบแช่เยือกแข็ง จนได้สารสกัดแอนโทไซยานินส์เข้มข้นในรูปแบบผง

ภาพที่ 15 สารสกัดแอนโทไซยานินส์เข้มข้น

การเตรียมตัวอย่างฟีนอลิกจากเมล็ดมะเกี๋ยง

1. นำเมล็ดมะเกี๋ยงที่ผ่านการแช่แข็งมาตากให้แห้ง และนำไปอบแห้งที่ตู้อบลมร้อนด้วยอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

ภาพที่ 16 เมล็ดมะเกี๋ยง

2. นำเมล็ดมะเกี๋ยงที่ได้จากการอบแห้งมาบดละเอียดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 60 ไมครอน บรรจุในถุงอลูมิเนียมฟอยส์และเก็บไว้ในโถดูดความชื้น

ภาพที่ 17 ผงเมล็ดมะเกี๋ยง

3. นำผงเมล็ดมะเกี๋ยงละเอียดมาสกัดด้วยน้ำด้วยไมโครเวฟร่วมโดยใช้กำลังไมโครเวฟ 450 วัตต์ เวลา 4 นาที อัตราส่วน 1:30 (กรัม:มิลลิลิตร) (Narkprasom et al., 2015) จากนั้นนำไปทำการระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศเพื่อให้ได้สารสกัดเข้มข้นของสารฟีนอลิกจากเมล็ดมะเกี๋ยง

ภาพที่ 18 การสกัดฟีนอลิกจากเมล็ดมะเกี๋ยงด้วยไมโครเวฟร่วม

การศึกษาการเกิดโคพิกเมนต์เทชันระหว่างแอนโทไซยานินจากกระชายดำกับสารสกัดฟีนอลิกจากเมล็ดมะเกี๋ยงและสารฟีนอลิกบริสุทธิ์ เมื่อได้สารสกัดจากแอนโทไซยานินส์จากกระชายดำและสารฟีนอลิกจากเมล็ดมะเกี๋ยงแล้วนำมาทำให้เข้มข้นเพื่อนำมาใช้คำนวณหาปริมาณสารโคพิกเมนต์ที่จะใช้ทำปฏิกิริยาในอัตราส่วนโมลาร์ของแอนโทไซยานินส์ : สารฟีนอลิก คือ 1:0 (conrrol), 1:50 และ 1:100 ในสารละลายบัฟเฟอร์ ที่พีเอช 3, 5 และ 7 ที่อุณหภูมิ 70, 80 และ 90 องศาเซลเซียส ในระยะเวลา 0-120 นาที จากนั้นนำไปวิเคราะห์คุณลักษณะการให้สีและความคงตัวต่อไป

การเตรียมตัวอย่างเพื่อศึกษาสูตรที่เหมาะสมในการผลิตเครื่องดื่มสมุนไพรกระชายดำ

1. วัตถุดิบ หญ้าหวาน น้ำผึ้ง และกรดซิตริก โดยใช้หญ้าหวานอบแห้งจากจังหวัดเชียงใหม่และน้ำผึ้งดอกลำไยจากจังหวัดเชียงใหม่

ภาพที่ 19 วัตถุดิบในการหาสูตรที่เหมาะสมในการผลิตเครื่องดื่มสมุนไพรกระชายดำ

2. ศึกษาสูตรที่เหมาะสมในการผลิตเครื่องดื่มสมุนไพรกระชายดำทั้งหมดโดยการต้ม

ภาพที่ 20 การผลิตเครื่องดื่มสมุนไพรกระชายดำ

3. หลังจากนั้นได้ทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยการสุ่มผู้บริโภคแบบไม่จำกัดอายุและเพศ และนำสูตรที่ได้คะแนนการยอมรับจากผู้บริโภคมากที่สุดไปวิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์รวมและการทำนายอายุการเก็บรักษาต่อไป

3.6 วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณสารแอนโทไซยานินส์

นำสารสกัดที่ผ่านการระเหยตัวทำละลายออกจนเป็นสารสกัดแอนโธไซยานินส์เข้มข้น มาทำการวิเคราะห์ปริมาณ Monomeric anthocyanin ด้วยวิธี pH-Differential

ทำการเตรียมบัฟเฟอร์ คือ

- บัฟเฟอร์พีเอช 1.0 (KCl 0.025 M) 500 มิลลิลิตร
  น้ำหนัก KCl 0.465 กรัม เติม Conc. HCl 1.57 มิลลิลิตร
  ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น
- บัฟเฟอร์พีเอช 4.5 (CH_3COONa 0.4 M) 500 มิลลิลิตร
  น้ำหนัก CH_3COONa 13.6 กรัม เติม Conc. HCl 5 มิลลิลิตร
  ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

เจือจางตัวอย่างสารสกัดแอนโธไซยานินส์ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ที่พีเอช 1.0 และ 4.5 ที่ความเข้มข้น 1/50 นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 และ 700 นาโนเมตร แล้วนำมาคำนวณปริมาณ Monomeric anthocyanin โดยแสดงค่าเทียบเป็น cyaniding-3-glucosideequivalents (mg/l) ดังสมการ

$$\text{Monomeric anthocyanin} = \frac{AxMWx10^3xDF}{\varepsilon xl} \quad \text{..... (3.1)}$$

โดยที่ $A = (A_{520nm} - A_{700nm})_{pH1.0} - (A_{520nm} - A_{700nm})_{pH4.5}$

$MW = 449.2$ g/mol

ε = molar extention coefficient = 26,900 M^{-1} cm^{-1}

DF = dilution factor

l = pathlength; cm

ที่มา: (อรุษา เชาวนลิขิต, 2554)

3.7 วิธีการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ

วิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazy radical scavenging capacity (DPPH)

การเตรียมสารละลาย DPPH เข้มข้น 0.1 มิลลิโมล่าร์

ชั่งน้ำหนักสาร 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl มา 0.1972 กรัม ละลายด้วยเมทานอลจนสารละลายหมดและปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลาย DPPH เข้มข้น 5 มิลลิโมล่าร์ จากนั้นปิเปตสารละลายมา 2 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยเมทานอลให้ได้ 100 มิลลิลิตรจะได้สารละลายเข้มข้น 0.1 มิลลิโมล่าร์ (สารละลายนี้ต้องเตรียมใหม่ก่อนใช้)

การวิเคราะห์สารละลาย DPPH

ใส่ตัวอย่างที่ได้จากการสกัดลงไป 0.1 มิลลิลิตร และปิเปตสารละลาย DPPH เข้มข้น 0.1 มิลลิโมล่าร์ ในเมทานอลมา 2.9 มิลลิลิตร ในหลอดทดลองเขย่าให้เข้ากันและตั้งไว้ในที่มืด 30 นาที พร้อมทั้งทำตัวอย่างควบคุมหรือสารละลาย DPPH ที่ไม่มีตัวอย่างโดยใส่เมทานอล 0.1 มิลลิลิตร ตั้งไว้ในที่มืด 30 นาที นำตัวอย่างและตัวอย่างควบคุมไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร และคำนวณต้านฤทธิ์อนุมูลอิสระร้อยละของการยับยั้งตามสมการที่ 3.2

$$\%Inhibition = \frac{(Acontrol - Asample)}{Acontrol} \times 100 \qquad \text{..... (3.2)}$$

วิธี Folin-Ciocalteu reagent

การเตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้นร้อยละ 2

ชั่งโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) 2 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลรวม

นำตัวอย่าง 0.1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองแล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร หลังจากนั้นปิเปตสารมา 0.1 มิลลิลิตร และเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) เข้มข้นร้อยละ 2 โดยมวลต่อปริมาตร ลงไป 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันปิดปากหลอดด้วยกระดาษฟอยด์หรือถุงฟอยด์ จากนั้นเติมสารละลาย Folin-Ciocalteu phenol reagent ลงไป 0.1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร และ

คำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมทั้งหมดเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิกโดยรายงานผลเป็น มิลลิกรัมต่อกรัมกรดแกลิก (mg/g Gallic acid equivalent, GAW)

วิธีการเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก

การเตรียมสารละลายกรดแกลลิก

ชั่งกรดแกลลิก 0.025 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ได้ 25 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

การวิเคราะห์กรดแกลลิก

นำสารละลายกรดแกลลิกที่เตรียมไว้ในข้างต้นมาเจือจางเพื่อเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก ความเข้มข้น 0, 100, 200,300,400, ... 1,000 ppm จากสารละลายมาตรฐานความเข้มข้น 1,000 ppm ดังตารางที่ 3.3 จากนั้นปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆมา 0.1 มิลลิลิตร และเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) เข้มข้นร้อยละ 2 โดยมวลต่อปริมาตร ลงไป 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและเติมFolin-Ciocalteu phenol reagent ลงไป 0.1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที

ตารางที่ 1 ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก

ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก (ppm)	ปริมาตรสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้น 1,000 ppm	น้ำกลั่น (มิลลิลิตร)
0	0	10
100	1	9
200	2	8
300	3	7
400	4	6
500	5	5
600	6	4
700	7	3
800	8	2
900	9	1
1,000	10	0

3.8 การวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ในการศึกษาการเกิดโคพิกเมนต์เทชันระหว่างแอนโทไซยานินส์จากกระชายดำและสารฟีนอลิก โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ ด้วยเครื่องมือใช้การวางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) ทำการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) และทำการวิเคราะห์ผลข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS Statistic 17 โดยจะวิเคราะห์แยกในแต่ละพีเอชและอุณหภูมิ

3.9 การศึกษาจลนพลศาสตร์และความคงตัวของแอนโทไซยานิน

จากกระบวนการสกัดแอนโทไซยานินจากกระชายดำและการสกัดฟีนอลิกได้นำมาศึกษาจลนพลศาสตร์และความคงตัวของแอนโทไซยานินเพื่อดูอายุการเก็บรักษาซึ่งจะทำการศึกษาที่อุณหภูมิต่างๆ คือ 70 80 และ 90 องศาเซลเซียส

การศึกษากฎอัตราปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานินและค่าครึ่งชีวิต

ในการศึกษากฎอัตราปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานินเพื่อตัดสินว่าเป็นปฏิกิริยาอันดับที่เท่าใดซึ่งสมารถหาได้โดยการพลอตกราฟระหว่างปริมาณแอนโทไซยานิน ณ เวลาใดๆกับปริมาณแอนโทไซยานินเริ่มต้น

ปฏิกิริยาอันดับที่ 0 $C_t = -kt + C_0$ ..... (3.3)

ปฏิกิริยาอันดับที่ 1 $\ln(C_t/ C_0) = -kt$ ..... (3.4)

ปฏิกิริยาอันดับที่ 2 $1/(C_t/ C_0) = kt$ ..... (3.5)

C_t= ปริมาณแอนโทไซยานินเมื่อเวลาผ่านไป t หลังจากได้รับความร้อนตามอุณหภูมิที่กำหนดไว้

C_0= ปริมาณแอนโทไซยานินเริ่มต้น

k = ค่าคงที่อัตราการเกิดปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง

t = เวลาการเกิดปฏิกิริยา

การคำนวณค่าครึ่งชีวิต

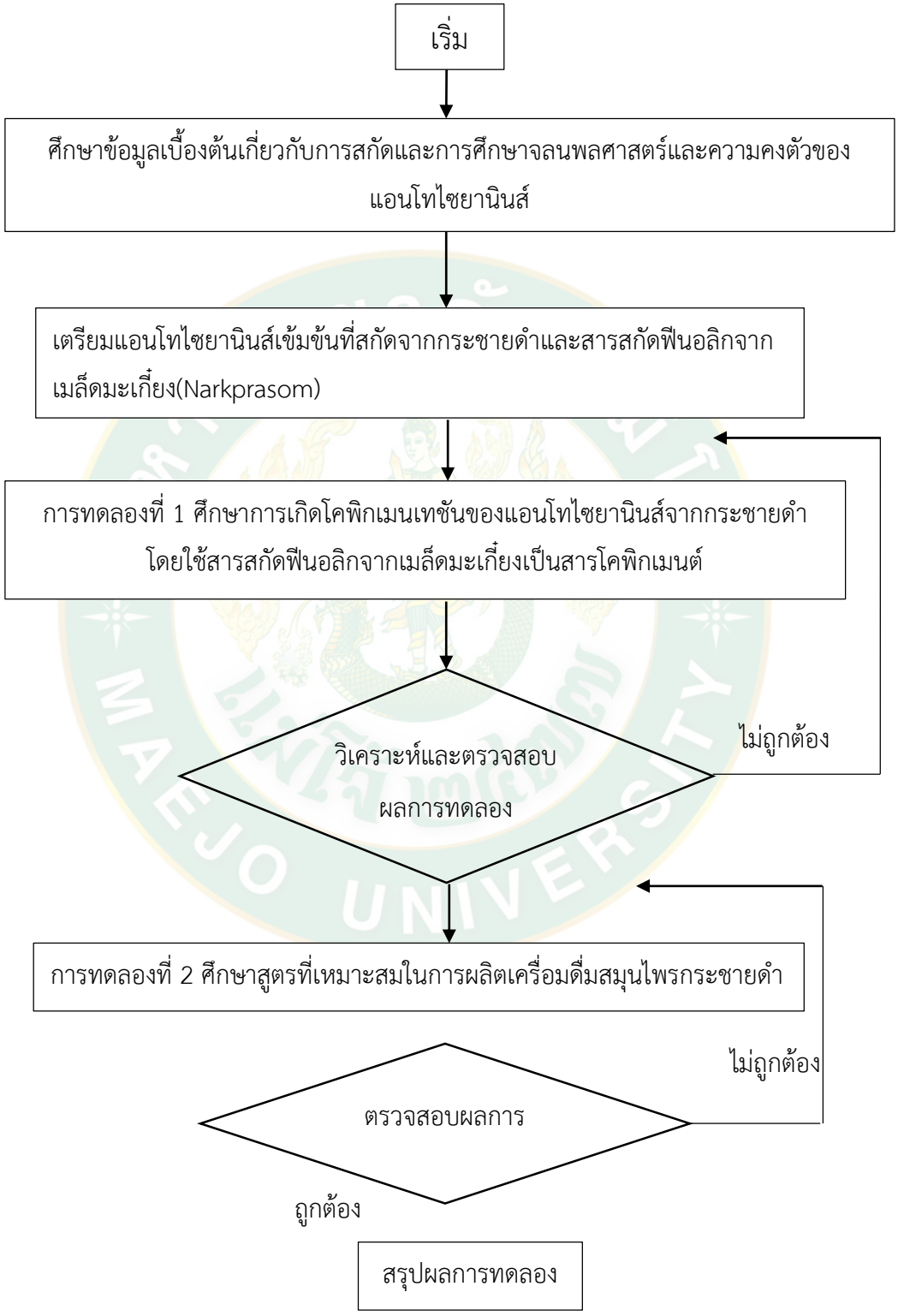
จากสมการเส้นตรงของปฏิกิริยาอันดับต่างๆสามารถนำมาหาค่าครึ่งชีวิตได้ดังสมการที่ 3.6 ซึ่งจะแสดงเวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาจนความเข้มข้นของสารตั้งต้นลดลงครึ่งหนึ่งจากความเข้มข้นเริ่มต้น (สุทธินี , 2556)

$$t_{1/2} = -\ln 0.5 \times k^{-1} \quad \text{..... (3.6)}$$

$t_{1/2}$ = ค่าครึ่งชีวิต

k^{-1} = ค่าคงที่อัตราการเกิดปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง

3.10 แผนภูมิการดำเนินการทดลอง



ภาพที่ 21 แผนภูมิการดำเนินการทดลอง

3.11 ระยะเวลาในการทำวิจัยและสถานที่ดำเนินงาน

การศึกษาทำวิจัยในครั้งนี้จะใช้ระยะเวลาในการศึกษา 12 เดือน โดยเริ่มตั้งแต่เดือน มกราคม 2561 ถึง เดือนธันวาคม 2561

สถานที่ทำวิจัย

ห้องปฏิบัติการวิศวกรรมอาหาร 3 ห้อง E 215 คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่

บทที่ 4
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ในงานวิจัยเล่มนี้ได้ทำการศึกษาการเกิดโคพิกเมนเทชั่นของรงควัตถุ(แอนโทไซยานินส์)ในกระชายดำด้วยสารโคพิกเมนต์(ฟีนอลิก)จากเมล็ดมะเกี๋ยงสกัด โดยใช้ผลผลิตกระชายดำที่ผ่านการอบแห้งแล้วจากจังหวัดเพชรบูรณ์ ซึ่งเหง้าที่นำมาใช้มีสีม่วง แต่จัดอยู่ในกลุ่มสีม่วงจาง(เสริมสกุล, 2017) มีค่าสี L* เท่ากับ 47.27 a* เท่ากับ 3.86 และ b* เท่ากับ 9.46 ผ่านการอบแห้งแล้วมีความชื้นสุดท้ายไม่เกิน 15 เปอร์เซ็นต์ โดยศึกษาสภาวะเบื้องต้นของตัวแปรต่างๆได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ และอัตราส่วนโมลาร์ของแอนโทไซยานินส์ต่อสารโคพิกเมนต์ ซึ่งอัตราส่วนในการสกัดใช้ผงกระชายดำ 0.015 กรัม ต่อปริมาณตัวทำละลาย 15 มิลลิลิตร จากปัจจัยข้างต้นได้ทำการวิเคราะห์ปรมาณแอนโทไซนินส์(monomeric anthocyanin) ฟีนอลิก และสารต้านอนุมูลอิสระเบื้องต้น เพื่อนำไปศึกษาการเกิดโคพิกเมนเทชั่นด้วยสารโคพิกเมนต์จากเมล็ดมะเกี๋ยงโดยใช้อัตราส่วนโมลาร์ของแอนโทไซยานินส์ต่อสารโคพิกเมนต์ คือ 1:0 (ควบคุม), 1:5 , 1:10 และ 1:15 ในสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 3, 5 และ 7 ที่อุณหภูมิ 70 80 และ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที โดยทำการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินส์ ความคงตัวของแอนโทไซยานินส์ ปริมาณสารฟีนอลิก ค่าสี (L*,a*,b*) และค่าครึ่งชีวิต พร้อมทั้งนำผลอัตราส่วนสารโคพิกเมนต์ที่ดีที่สุดมาพัฒนาหาสูตรที่เหมาะสมในการผลิตเครื่องดื่มสมุนไพรกระชายดำเพื่อทำการเพิ่มมูลค่าของผลผลิตทางการเกษตรต่อไป

4.1 การวิเคราะห์สารสกัดแอนโทไซยานินส์จากกระชายดำอบแห้ง

ในการศึกษาใช้กระชายดำตากแห้งมาทำความสะอาดเหง้ากระชายดำให้สะอาด สับเป็นชิ้นเล็กๆ หรือบดให้ละเอียด ทำการต้มสกัดโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายที่อัตราส่วน 100:370 (กรัม: มิลลิลิตร) เป็นเวลา 20 นาที (ศิริพร และคณะ , 2551) แล้วกรองกากออก จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ทำการระเหยตัวทำละลายออกด้วยการอบแห้งแบบแช่เยือกแข็ง โดยน้ำกระชายดำสกัด 20 ลิตร ใช้ปริมาณกระชายดำ 5,400 กรัม จะได้ปริมาณผงสารสกัดเข้มข้น 15 กรัม คิดเป็นร้อยละ 0.28 ของปริมาณกระชายดำที่ใช้ และนำไปวิเคราะห์ปริมาณสารเริ่มต้น คือ แอนโทไซยานินส์ สารฟีนอลิก และความสามารถในการต้นอนุมูลอิสระดังตารางที่ 3

ตารางที่ 2 ปริมาณแอนโทไซยานินส์ สารฟีนอลิก ความสามารถในการต้นอนุมูลอิสระและค่าสีแดงในสารสกัดกระชายดำเริ่มต้น

	monomeric anthocyanin content (mg/g dry solid)	Total soluble Phenolic compounds (mg_{GAE}/g dry solid)	DPPH (%)	color (a*)
สารสกัดจากกระชายดำ	20.157±0.13	14.66±0.03	26.53±0.36	9.91±0.25

เมื่อทำการระเหยตัวทำละลายด้วยวิธีการอบแห้งแบบแช่เยือกแข็งแล้วจึงนำสารสกัดที่ได้มาวัดหาปริมาณ สารเริ่มต้นดังตารางข้างต้น แล้วทำการคำนวณเทียบกับน้ำหนักของแข็งแห้งของตัวอย่างเริ่มต้น ซึ่งการศึกษาในงานวิจัยนี้ได้เลือกใช้กระชายดำอบแห้ง เนื่องจากวัตถุดิบแห้งอายุการเก็บรักษานานกว่า มีความเหมาะสมต่อการผลิตในระดับอุตสาหกรรมต่อไปมากกว่าวัตถุดิบสด

4.2 การวิเคราะห์สารสกัดฟีนอลิกจากเมล็ดมะเกี๋ยงอบแห้ง

ในการศึกษาใช้เมล็ดมะเกี๋ยงจากการนำเนื้อมะเกี๋ยงไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อื่นแล้วในโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตน์ราชสุดาฯ จากนั้นได้นำเมล็ดมะเกี๋ยงที่แช่แข็งไว้มาอบแห้งที่ตู้อบลมร้อนด้วยอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนมีความชื้นน้อยกว่าร้อยละ 10 แล้วนำมาบดละเอียดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 60 ไมครอน นำผงเมล็ดมะเกี๋ยงละเอียดที่ได้มาสกัดโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย และสกัดด้วยวิธีไมโครเวฟร่วมโดยใช้กำลังไมโครเวฟ 450 วัตต์ เวลา 4 นาที อัตราส่วน 1:30 (กรัม/มิลลิลิตร) (Narkprasom et al., 2015) โดยทำการเปรียบเทียบการใช้น้ำเป็นตัวทำละลายในสกัดดังตารางที่ 4

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบปริมาณแอนโทไซยานินส์ สารฟีนอลิก ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและค่าสีแดงในสารสกัดเมล็ดมะเกี๋ยงที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล

	monomeric anthocyanin content (mg/g dry solid)	Total soluble Phenolic compounds (mg_{GAE}/g dry solid)	DPPH (%)	color (a*)
สารสกัดด้วยเอทานอล	12.81^{a}±0.02	89.02^{a}±3.90	87.09^{a}±0.42	1.53^{a}±0.14
สารสกัดด้วยน้ำ	9.79^{b}±0.05	84.35^{ab}±4.32	62.13^{b}±0.32	1.38^{ab}±0.23

หมายเหตุ $^{a, b, c...}$ แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าเฉลี่ยในแนวตั้ง ($p<0.05$)

งานวิจัยนี้เลือกการสกัดสารฟีนอลิกจากเมล็ดมะเกี๋ยงด้วยน้ำเป็นตัวทำละลาย เนื่องจากเมื่อทำการเปรียบเทียบปริมาณสารสำคัญที่ได้พบว่า น้ำสามารถใช้สกัดสารสำคัญต่างๆได้เหมือนกับใช้การเอทานอลสกัด แต่มีความแตกต่างกันเพียงเล็กน้อยทางสถิติ เนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกเป็นสารที่มีโครงสร้างลักษณะวงแหวน ประกอบด้วยสารงฟีนอลและมีหมู่ไฮดรอกซิลเกาะอยู่ด้วยกันอย่างน้อยหนึ่งหมู่ หรืออาจมีสารประกอบชนิดอื่นมาเกาะร่วมด้วยเกิดเป็นโครงสร้างวงแหวนที่ซับซ้อนยิ่งขึ้น โดยปกติแล้วสารประกอบฟีนอลิกจัดเป็นสารที่มีขั้วสูง ไม่ละลายน้ำ จึงเหมาะกับตัวทำลายแบบมีขั้ว ทั้งนี้ทั้งนั้นในงานวิจัยนี้จะใช้น้ำเป็นตัวทำละลายซึ่งจะเป็นที่ยอมรับมากกว่าในการนำไปเป็นส่วนหนึ่งของการผลิตเครื่องดื่มสมุนไพรเพื่อการบริโภค

4.3 ผลของพีเอชต่อสมบัติของสารสกัดแอนโทไซยานินส์จากกระชายดำอบแห้ง

ผลกระทบของสารละลายบัฟเฟอร์พีเอชต่อสีของแอนโทไซยานินส์จากสารสกัดกระชายดำ สีของสารสกัดเกิดการเปลี่ยนแปลงเมื่อทำการปรับสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 3 5 และ 7 สารสกัดจะปรากฏสีแดงในสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 3 และมีสีที่จางลงที่สารละลายบัฟเฟอร์อื่นดังรูปที่ 1 เนื่องจากโครงสร้างเปลี่ยนจาก flavylium cation ซึ่งจะให้สีแดงไปเป็น carbinal ที่ไม่มีสีปรากฏ นอกจากนั้นความสามารถในการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นเปลี่ยนแปลงไปก็ขึ้นกับชนิดของแอนโทไซยานินส์ในสารสกัด ซึ่งแอนโทไซยานินส์ในสารสกัดกระชายดำมีโครงสร้างประกอบด้วยน้ำตาลและกรดหลายชนิดจัดเป็น acylated anthocyanin ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสี สอดคล้องกับงานวิจัยเรื่องการศึกษาผลของพีเอชต่อสารสกัดแอนโทไซยานินส์จากราสเบอรี่ ของ Cevallos-Casals และ Cisneros-Zevallos (Cavallos-Casals , 2004)

พีเอช 3 พีเอช 5 พีเอช 7

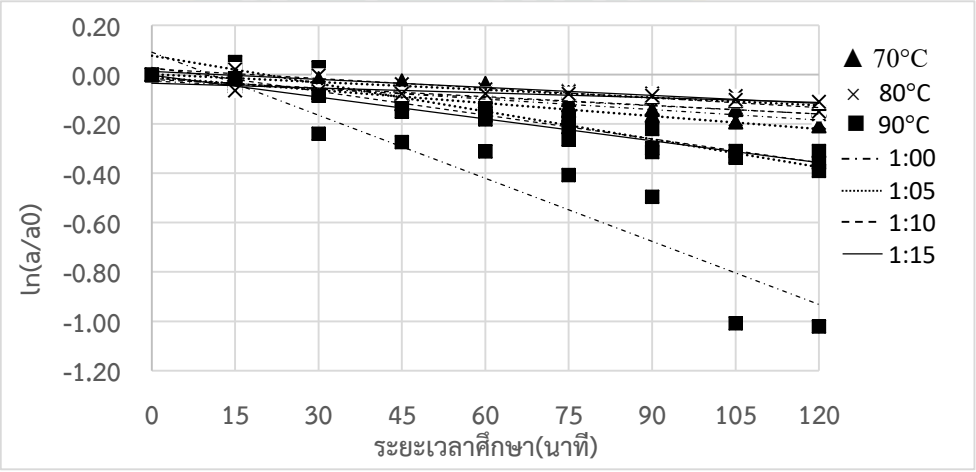
ภาพที่ 22 ผลของพีเอชต่อสีของสารสกัดจากกระชายดำที่พีเอช 3 5 และ7
(ภาพถ่ายก่อนการให้ความร้อน)

เมื่อนำไปวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสงพบว่า เมื่อพีเอชเพิ่มขึ้น ความยาวคลื่นสูงสุดและการดูดกลืนแสงของสารสกัดกระชายดำนั้นจะเปลี่ยนไป ทำให้การแสดงออกของสีเปลี่ยนแปลงตามไปด้วย เนื่องจากความต่างของพีเอชมีผลต่อโครงสร้างแอนโทไซยานินส์ (Cabrita et al., 2004) ซึ่งที่สารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 3 แอนโทไซยานินส์จะอยู่ในรูปของ flavylium cation ที่มีความคงตัวมากกว่าสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 5 ซึ่งอยู่ในรูปของ quinonoidal base และที่ระดับสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 7 ซึ่งจะอยู่ในรูปของ pseudobase โดยแอนโทไซยานินส์ในรูปของสารละลายบัฟเฟอร์พีเอชสูงจะมีความคงตัวต่ำ ทำให้เมื่อนำมาศึกษาโดยการเพิ่มสารโคพิกเมนต์ที่อัตราส่วนโมลาร์ของแอนโทไซยานินส์ต่อสารโคพิกเมนต์ คือ 1:0 (ควบคุม), 1:5 , 1:10 และ 1:15 อุณหภูมิ 70 80 และ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที จะมีอัตราการสลายตัวจาก

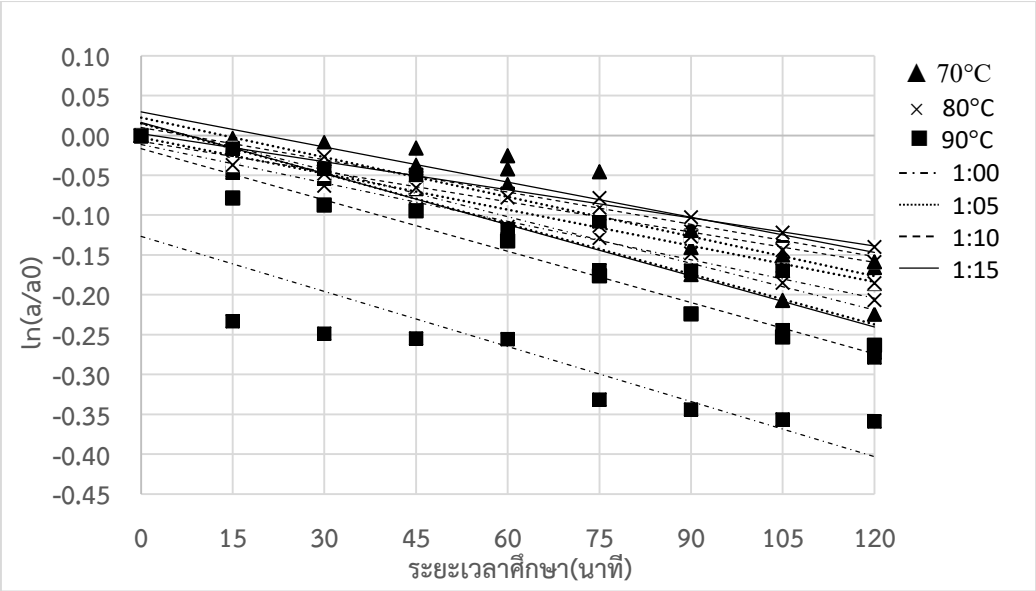
การให้ความร้อนสูง โครงสร้างของสารโคพิกเมนต์มี **π** electron อยู่เป็นจำนวนมาก ซึ่งสามารถเข้าสร้างพันธะกับโครงสร้างของแอนโทไซยานินส์ที่อยู่ในรูปของ flavylium cation ได้ดี เนื่องจาก flavylium cation มีจำนวนของอิเล็กตรอนภายในโครงสร้างน้อย และการสร้างพันธะระหว่างสารโคพิกเมนต์กับแอนโทไซยานินส์สามารถป้องกันการเกิด water neucleophilic หรือการทำปฏิกิริยาของน้ำกับตำแหน่งที่ 2 ของ flavylium cation (Palamidis and Markakis, 1975)

4.4 ผลของการทำโคพิกเมนต์ในสารสกัดแอนโทไซยานินส์จากกระชายดำกับสารสกัดฟีนอลิกจากเมล็ดมะเกี๋ยง

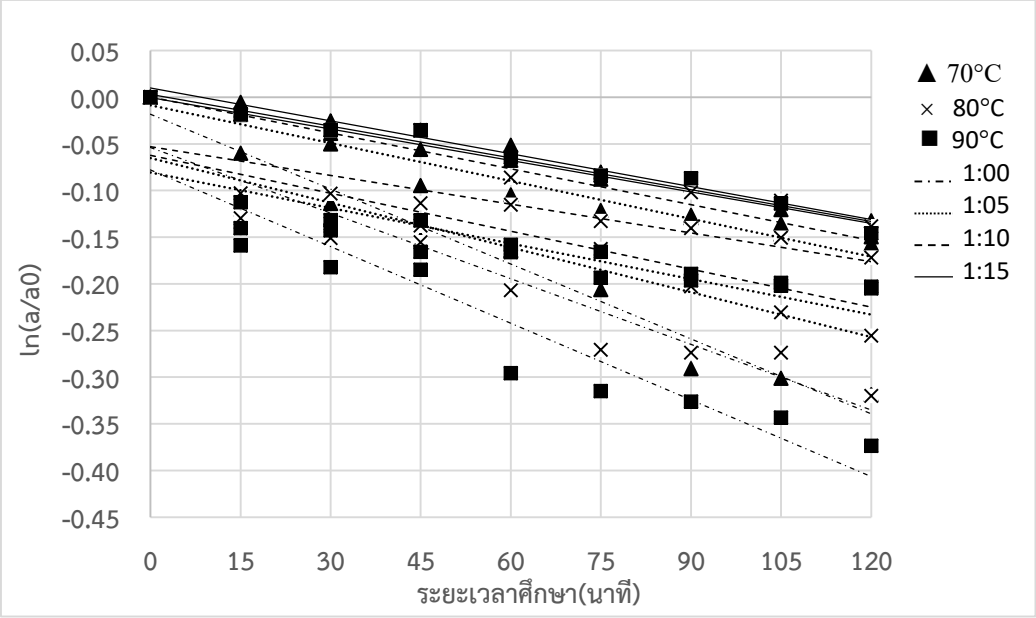
จากการศึกษาการเกิดโคพิกเมนเทชั่นของแอนโทไซยานินส์ที่สกัดจากกระชายดำที่อัตราส่วนน้ำต่อกระชายดำ 100:370 (กรัม/มิลลิลิตร) ให้ความร้อนเป็นเวลา 20 นาที และนำไปอบแห้งแบบแช่เยือกแข็งกลายเป็นสารสกัดในรูปของแข็ง และใช้สารโคพิกเมนต์ด้วยการสกัดเมล็ดมะเกี๋ยงโดยใช้ไมโครเวฟร่วมที่อัตราส่วนน้ำต่อเมล็ดมะเกี๋ยง 1:30 (กรัม/มิลลิลิตร) สกัดในไมโครเวฟร่วม 450 วัตต์ เป็นเวลา 4 นาที นำมาศึกษาโดยใช้อัตราส่วนโมลาร์ของแอนโทไซยานินส์ต่อสารโคพิกเมนต์ คือ 1:0 (ควบคุม) 1:5 1:10 และ 1:15 ในสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 3 5 และ 7 ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 80 และ 90 องศาเซลเซียส ในอ่างควบคุมอุณหภูมิเป็นระยะเวลา 120 นาที โดยทำการบันทึกผลทุกๆ 15 นาที เมื่อทำการศึกษาผลของการโคพิกเมนต์กับสารสกัดฟีนอลิกจากเมล็ดมะเกี๋ยงในการเพิ่มความคงตัวของสารสกัดแอนโทไซยานินส์จากกระชายดำ โดยพิจารณาจากอัตราการสลายตัวของแอนโทไซยานินส์ pigment retention และค่า kinetic parameter ที่ผ่านการให้ความร้อน ได้แก่ ค่าครึ่งชีวิต($t_{1/2}$) ค่าคงที่อัตราการเกิดปฏิกิริยา(k) โดยมีตัวแปรต้นหรือปัจจัยในการศึกษา ได้แก่ อัตราส่วนโมลาร์ของแอนโทไซยานินส์ต่อสารโคพิกเมนต์ พีเอช และอุณหภูมิ ทำการวิเคราะห์ตัวแปรตาม ได้แก่ ค่าจลนพลศาสตร์ของสีที่เปลี่ยนแปลงไป ปริมาณแอนโทไซยานินส์ ด้วยค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสูงสุด(Rein, 2005) ค่าสี L*, a* และ b* ด้วยระบบ CIELAB ปริมาณฟีนอลิกรวมด้วยเทคนิค Folin-Ciocalteu method และทำการวิเคราะห์ลักษณะปรากฏของสีที่สามารถพิจารณาได้จากภาพถ่ายดิจิตอล



(a) สารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 3



(b) สารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 5



(c) สารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 7

ภาพที่ 23 จลนพลศาสตร์ของสีที่เปลี่ยนแปลงไปในการเกิดโคพิกเมนเทชั่น โดยอัตราส่วนโมลาร์ของแอนโทไซยานินส์ต่อสารโคพิกเมนต์ คือ 1:00 1:05 1:10 และ 1:15 ในสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 3 5 และ 7 ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 80และ 90 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 4 ค่า kinetic parameter การสลายตัวของแอนโทไซยานินส์ของกระชายดำเมื่อทำโคพิกเมนเทชั่นกับสารสกัดฟีนอลิกจากเมล็ดมะเกี๋ยงที่อัตราส่วนโมลาร์ของแอนโทไซยานินส์ต่อสารโคพิกเมนต์ คือ 1:0 (ควบคุม) 1:5 1:10 และ 1:15 ในสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 3 5 และ 7 ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส

Temp.(°C)	pH	Molar ratio	k (10^{-5}) (min)	$t_{1/2}$ (min)
70	3	1:00	3.98^{a}±0.25	17.41^{l}±0.01
		1:05	2.07^{d}±0.22	33.48^{i}±0.01
		1:10	1.44^{j}±0.11	48.13^{c}±0.01
		1:15	1.16^{k}±0.09	59.75^{a}±0.00
	5	1:00	2.24^{c}±0.19	30.94^{j}±0.01
		1:05	1.86^{e}±0.33	37.26^{h}±0.02
		1:10	1.66^{f}±0.14	41.75^{g}±0.01
		1:15	1.58^{g}±0.32	43.87^{e}±0.01
	7	1:00	3.16^{b}±0.24	21.93^{k}±0.01
		1:05	1.62^{h}±0.59	42.79^{f}±0.02
		1:10	1.50^{h}±0.41	46.21^{d}±0.02
		1:15	1.33^{j}±0.26	52.12^{b}±0.01

หมายเหตุ $^{a, b, c...}$ แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าเฉลี่ยในแนวตั้ง ($p<0.05$)

ตารางที่ 5 ค่า kinetic parameter การสลายตัวของแอนโทไซยานินส์ของกระชายดำเมื่อทำโคพิกเมนเทชั่นกับสารสกัดฟีนอลิกจากเมล็ดมะเกี๋ยงที่ อัตราส่วนโมลาร์ของแอนโทไซยานินส์ต่อสารโคพิกเมนต์ คือ 1:0 (ควบคุม) 1:5 1:10 และ 1:15 ในสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 3 5 และ 7 ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

Temp. (°C)	pH	Molar ratio	k (10^{-5}) (min)	$t_{1/2}$ (min)
80	3	1:00	5.19^{b}±0.38	13.35^{j}±0.00
		1:05	1.61^{f}±0.12	43.05^{f}±0.00
		1:10	1.51^{g}±0.11	45.90^{d}±0.00
		1:15	0.99^{i}±0.01	70.01^{a}±0.01
	5	1:00	5.38^{a}±0.38	12.88^{k}±0.01
		1:05	1.61^{f}±0.16	43.05^{f}±0.00
		1:10	1.59^{f}±0.21	43.59^{e}±0.01
		1:15	1.40^{h}±0.07	49.51^{c}±0.02
	7	1:00	3.20^{c}±0.69	21.66^{i}±0.00
		1:05	2.56^{d}±0.43	27.08^{h}±0.00
		1:10	1.72^{e}±0.16	40.30^{g}±0.00
		1:15	1.38^{h}±0.15	50.23^{b}±0.01

หมายเหตุ $^{a, b, c,...}$ แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าเฉลี่ยในแนวตั้ง ($p<0.05$)

ตารางที่ 6 ค่า kinetic parameter การสลายตัวของแอนโทไซยานินส์ของกระชายดำเมื่อทำโคพิกเมนเทชั่นกับสารสกัดฟีนอลิกจากเมล็ดมะเกี๋ยงที่อัตราส่วนโมลาร์ของแอนโทไซยานินส์ต่อสารโคพิกเมนต์ คือ 1:0 (ควบคุม) 1:5 1:10 และ 1:15 ในสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 3 5 และ 7 ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส

Temp. (°C)	pH	Molar ratio	k (10^{-5}) (min)	$t_{1/2}$ (min)
90	3	1:00	10.21^{a}±0.31	6.79^{l}±0.02
		1:05	3.57^{d}±0.25	19.41^{i}±0.00
		1:10	2.15^{g}±0.20	32.24^{f}±0.00
		1:15	1.94^{h}±0.18	35.73^{e}±0.00
	5	1:00	10.11^{b}±0.08	6.86^{k}±0.00
		1:05	2.56^{e}±0.25	27.08^{h}±0.00
		1:10	2.32^{f}±0.21	29.88^{g} ±0.00
		1:15	1.26^{j}±0.14	55.01^{a}±0.00
	7	1:00	6.83^{c}±0.36	10.15^{j}±0.00
		1:05	1.93^{h}±0.29	35.91^{d}±0.00
		1:10	1.49^{i}±0.66	46.52^{c}±0.01
		1:15	1.46^{i}±0.08	47.47^{b}±0.01

หมายเหตุ $^{a, b, c...}$ แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าเฉลี่ยในแนวตั้ง ($p<0.05$)

ตารางที่ 7 ค่าสีที่เปลี่ยนแปลงไป (ΔE^*) เมื่อเกิดการโคพิกเมนเทชั่นของแอนโทไซยานินส์ที่สกัดจากกระชายดำกับสารสกัดฟีนอลิกจากเมล็ดมะเกี๋ยงที่อัตราส่วนโมลาร์ของแอนโทไซยานินส์ต่อสารโคพิกเมนต์ คือ 1:0 (ควบคุม) 1:5 1:10 และ 1:15 ในสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 3 5 และ 7 หลังการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 80 และ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที

pH	Molar ratio	ΔE^*		
		70 °C	80 °C	90 °C
3	1:00	1.49^{cdef}±0.09	1.69^{g}±0.11	4.56^{bc}±0.83
	1:05	0.77^{fg}±0.11	0.70^{h}±0.10	5.27^{b}±1.00
	1:10	2.37^{bc}±0.29	2.21^{e}±0.21	3.41^{c}±0.23
	1:15	1.98^{cde}±0.63	2.79^{d}±0.05	3.62^{b}±0.40
5	1:00	1.23^{fg}±0.19	0.96^{h}±0.26	5.81^{a}±0.11
	1:05	6.19^{a}±1.23	7.48^{a}±0.16	6.13^{a}±0.92
	1:10	2.81^{b}±0.09	3.22^{c}±0.32	1.26^{d}±0.08
	1:15	1.56^{cde}±0.02	1.52^{fg}±0.50	1.98^{d}±0.07
7	1:00	4.93^{a}±0.29	4.87^{b}±0.26	1.84^{d}±0.07
	1:05	5.34^{a}±0.50	5.11^{b}±0.26	1.71^{d}±0.19
	1:10	2.13^{cd}±0.10	2.21^{ef}±0.27	2.03^{d}±0.13
	1:15	1.33^{def}±0.12	0.88^{h}±0.16	3.46^{bc}±0.39

หมายเหตุ $^{a, b, c...}$ แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าเฉลี่ยในแนวตั้ง ($p<0.05$)

ตารางที่ 8 ภาพถ่ายจากกล้องดิจิตอลเมื่อการเกิดโคพิกเมนเทชั่นของแอนโทไซยานินส์ที่สกัดจากกระชายดำกับสารสกัดฟีนอลิกจากเมล็ดมะเกี๋ยง ที่อัตราส่วนโมลาร์ของแอนโทไซยานินส์ต่อสารโคพิกเมนต์ คือ 1:0 (ควบคุม) 1:5 1:10 และ 1:15 ในสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 3 5 และ 7 หลังการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 80 และ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที

Sample	*Temp. (°C)*	*pH3*				*pH5*				*pH7*			
		1:0	1:5	1:10	1:15	1:0	1:5	1:10	1:15	1:0	1:5	1:10	1:15
Control	T_0												
Phenolic acid form Makieng seed	70												
	80												
	90												

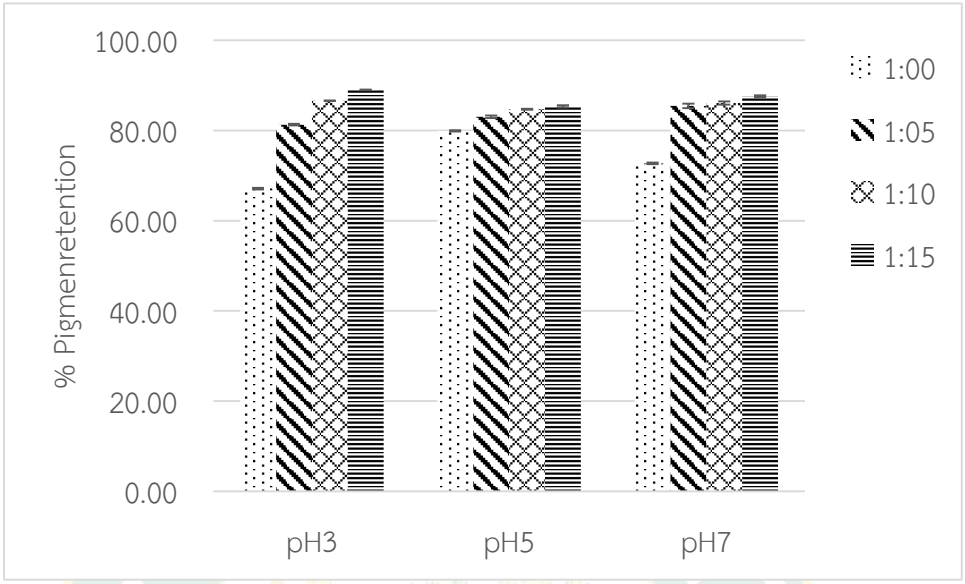
4.5 ผลของอัตราส่วนสารโคพิกเมนต์จากเมล็ดมะเกี๋ยงต่อความคงตัวของแอนโทไซยานินส์จากกระชายดำเมื่อทำการโคพิกเมนเทชั่น

จากการศึกษาโดยใช้อัตราส่วนโมลาร์ของแอนโทไซยานินส์ต่อสารโคพิกเมนต์ คือ 1:0 (ควบคุม) 1:5 1:10 และ 1:15 ในสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 3 5 และ 7 ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 80 และ 90 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 120 นาที โดยทำการบันทึกผลทุกๆ 15 นาที พบว่าสารโคพิกเมนต์สามารถเพิ่มความคงตัวของแอนโทไซยานินส์ที่สกัดจากกระชายดำได้ จากตารางที่ 9 ความคงตัวของแอนโทไซยานินส์ที่เหลืออยู่หลังจากการให้ความร้อน เมื่อปริมาณสารโคพิกเมนต์เพิ่มขึ้นทำให้ความคงตัวของแอนโทไซยานินส์ที่เหลืออยู่มากขึ้นตามลำดับ นั่นคืออัตราการสลายตัวของแอนโทไซยานินส์ลดลง โดยทำการเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ไม่ได้มีการเติมสารโคพิกเมนต์ ซึ่งที่อัตราส่วนแอนโทไซยานินส์ต่อสารโคพิกเมนต์ 1:15 ที่ในสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 3 มีความสามารถในการรักษาความคงตัวของแอนโทไซยานินส์จากกระชายดำได้ดีที่สุด

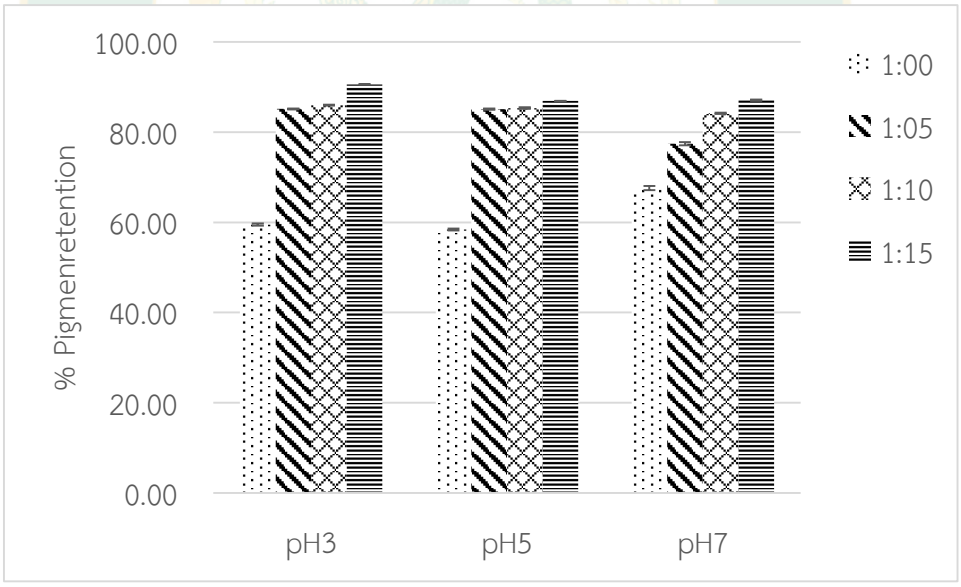
ตารางที่ 9 ความคงตัวของแอนโทไซยานินส์ที่เหลืออยู่หลังการให้ความร้อน

Temp. (°C)	molar ratio	%Pigmenretention		
		pH3	pH5	pH7
70	1:00	67.14^{j}±0.17	79.91^{f}±0.15	72.71^{g}±0.17
	1:05	81.30^{g}±0.18	83.04^{e}±0.27	85.46^{c}±0.51
	1:10	86.59^{c}±0.09	84.74^{d}±0.11	86.10^{b}±0.35
	1:15	89.01^{b}±0.08	85.35^{c}±0.28	87.58^{a}±0.22
80	1:00	59.50^{k}±0.23	58.42^{i}±0.23	67.60^{h}±0.47
	1:05	85.15^{e}±0.10	85.10^{c}±0.14	77.43^{f}±0.33
	1:10	85.98^{d}±0.09	85.32^{c}±0.18	84.20^{d}±0.13
	1:15	90.58^{a} ±0.05	86.92^{b}±0.06	87.08^{a}±0.13
90	1:00	36.02^{l}±0.11	36.39^{j}±0.23	50.49^{i}±0.18
	1:05	69.97^{i}±0.18	77.44^{h}±0.20	82.47^{e}±0.24
	1:10	80.64^{h}±0.16	79.33^{g}±0.16	86.14^{b}±0.56
	1:15	82.37^{f}±0.15	88.15^{a}±0.12	86.43^{b}±0.13

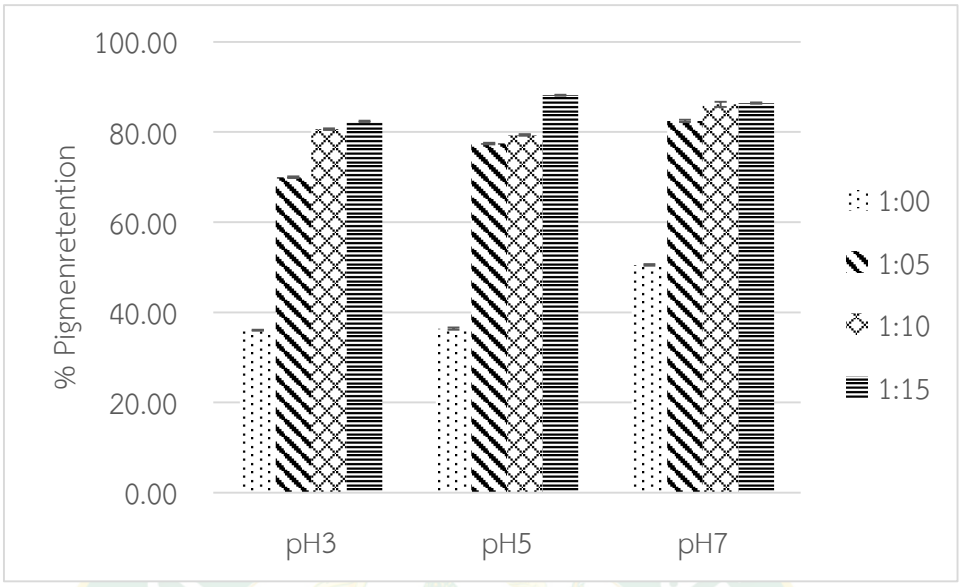
หมายเหตุ $^{a, b, c...}$ แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าเฉลี่ยในแนวตั้ง ($p<0.05$)



(a) อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส



(b) อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส



(c) อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส

ภาพที่ 24 แผนภูมิแสดงความคงตัวของแอนโทไซยานินส์ที่เหลืออยู่หลังการให้ความร้อนที่อัตราส่วนโมลาร์ของแอนโทไซยานินส์ต่อสารโคพิกเมนต์ คือ 1:0 (ควบคุม) 1:5 1:10 และ 1:15 ในสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 3 5 และ 7 ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70(a) 80(b) และ 90(c) องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 120 นาที

4.6 ผลของอุณหภูมิต่อความคงตัวของแอนโทไซยานินส์จากกระชายดำเมื่อทำการโคพิกเมนเทชั่นกับสารโคพิกเมนต์จากเมล็ดมะเกี๋ยง

จากการศึกษาการเกิดโคพิกเมนเทชั่นของสารสกัดแอนโทไซยานินส์จากกระชายดำและใช้สารสกัดฟีนอลิกจากเมล็ดมะเกี๋ยงเป็นสารโคพิกเมนต์ โดยมีปัจจัยด้านความต่างของอุณหภูมิ 70 80 และ 90 องศาเซลเซียสอัตราส่วนโมลาร์ของแอนโทไซยานินส์ต่อสารโคพิกเมนต์ คือ 1:0 (ควบคุม) 1:5 1:10 และ 1:15 ในสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 3 5 และ 7 ผ่านการให้ความร้อนเป็นระยะเวลา 120 นาที พบว่าการให้ความร้อนมีผลต่อความคงตัวของแอนโทไซยานินส์ เมื่อศึกษาโดยการให้ความร้อนสูงขึ้นจะทำให้ความคงตัวของแอนโทไซยานินส์ลดลงเมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุมดังตารางที่ 7 และเมื่อมีการเกิดโคพิกเมนเทชั่นกับสารสกัดฟีนอลิกจะทำให้ความคงตัวของแอนโทไซยานินส์เพิ่มขึ้น

เมื่อพิจารณาจากภาพสีในตารางที่ 8 พบว่าเมื่อให้ความร้อนสูงขึ้นจะมีการเปลี่ยนแปลงของสีจากสีแดงที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส สีมีความจางลงเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นตามลำดับ สอดคล้องกับ

การพิจารณาจากค่า kinetic parameter หรือค่าจลนพลศาสตร์ พบว่าการให้ความร้อนของตัวอย่างควบคุมที่อุณภูมิสูงขึ้นจะมีค่าครึ่งชีวิตที่ต่ำกว่า ดังตารางที่ 4 5 และ 6

4.7 การศึกษาสูตรที่เหมาะสมในการผลิตเครื่องดื่มสมุนไพรกระชายดำ โดยการเติมสารสกัดฟีนอลิกจากเมล็ดมะเกี๋ยงเป็นสารโคพิกเมนต์ในระบบเครื่องดื่ม

งานวิจัยนี้ได้นำอัตราส่วนของสารฟีนอลิกที่สกัดจากเมล็ดมะเกี๋ยงที่สามารถช่วยเพิ่มความคงตัวของแอนโทไซยานินส์ที่สกัดจากกระชายดำได้ดีที่สุด คือ 90.58±0.05 เปอร์เซ็น จากตารางที่ 9 ซึ่งมีความสอดคล้องกับค่าครึ่งชีวิตมากที่สุด จากตารางที่ 5 คือ 70.01±0.01 นาที โดยการใช้อัตราส่วนโมลาร์ของแอนโทไซยานินส์ต่อสารโคพิกเมนต์ 1:15 มาประยุกต์ในระบบเครื่องดื่มสมุนไพรกระชายดำซึ่งมีปัจจัยในการหาสูตรที่เหมาะสม คือ หญ้าหวาน น้ำผึ้ง และกรดซิตริก

การพัฒนาเครื่องดื่มกระชายดำพาสเจอร์ไรส์ใช้เทคนิกออกแบบการทดลองแบบ Mixture Design แบบ D-Optimal เป็นการออกแบบการทดลองเพื่อหาสูตรที่ดีที่สุดในการผลิตเครื่องดื่มสมุนไพรกระชายดำพร้อมดื่ม ซึ่งในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาผลของตัวแปรต้น(x) 3 ตัวแปร คือ หญ้าหวาน(x_1) น้ำผึ้ง(x_2) และกรดซิตริก(x_3) ซึ่งกำหนดเป็น 3 ระดับ คือ ระดับต่ำ(-1) ระดับกลาง(0) และระดับสูง(1) ดังแสดงในตารางที่ 10 โดยวิเคราะห์ตัวแปรตาม(Y) จากคุณสมบัติทางประสาทสัมผัสจากผู้บริโภค 30 คน (ไม่กำหนดเพศและอายุ) ดังแสดงในตารางที่ 10 ผ่านการให้คะแนนประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส คือ ลักษณะทั่วไป สี กลิ่น รสชาติและความชอบโดยรวม ให้คะแนนจากความชอบแบบ 9-Point hedoric scale หรือการให้คะแนนจาก 1-9 (1 ไม่ชอบมากที่สุดและ 9 ชอบมากที่สุด)

ตารางที่ 10 ปัจจัยและระดับการวางแผนการทดลองหาสูตรที่เหมาะสมในการผลิตเครื่องดื่มสมุนไพรกระชายดำ

Variables	Symbols	levels		
		-1	**0**	**1**
หญ้าหวาน (%)	X_1	0	5	10
น้ำผึ้ง (%)	X_2	0	5	10
กรดซิตริก (%)	X_3	0	0.05	0.1

ตารางที่ 11 ตารางออกแบบการทดลองหาสูตรที่เหมาะสมในการผลิตเครื่องดื่มสมุนไพรกระชายดำ

Run order	X			Sensory (Y)
	Stevia (x_1)	Honey (x_2)	Citric acid (x_3)	
1	10.00	0.00	0.00	5.76
2	0.00	9.98	0.02	6.08
3	0.00	9.90	0.10	6.18
4	9.90	0.00	0.10	5.43
5	4.07	5.93	0.00	5.78
6	5.88	4.06	0.05	6.10
7	7.90	2.04	0.06	6.15
8	0.00	9.98	0.18	6.08
9	0.00	9.90	0.10	6.18
10	9.90	0.00	0.10	5.43

ผลการทดลองการทดสอบทางประสาทสัมผัสดังตารางที่ 11 เป็นการออกแบบการทดลองแบบ Mixture Design โดยมีการทดลองทั้งหมด 10 การทดลอง ซึ่งจากผลการทดลองพบว่า ตัวอย่างเครื่องดื่มที่ 3 ปริมาณน้ำผึ้งและกรดซิตริก 9.90 และ 0.10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีคะแนนการประเมินคุณสมบัติทางประสาทสัมผัสโดยรวมมากที่สุด คือ 6.18 คะแนน จากนั้นจึงได้นำสูตรที่ดีที่สุดมาศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพด้านสี แอนโทไซยานินส์ สารฟีนอลิก ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและคุณภาพอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มสมุนไพรกระชายดำ

ภาพที่ 25 การศึกษาสูตรที่เหมาะสมในการผลิตเครื่องดื่มกระชายดำ 10 สูตร

4.8 การศึกษาอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มสมุนไพรกระชายดำ

ศึกษาอายุการเก็บรักษาของเครื่องดื่มสมุนไพรกระชายดำสูตรที่ 3 ที่มีส่วนผสมคือ อัตราส่วนโมลาร์ของแอนโทไซยานินส์ต่อสารโคพิกเมนต์ 1:15 น้ำผึ้งและกรดซิตริก 9.90 และ 0.10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ที่ได้จากขั้นตอนการศึกษาอัตราส่วนของสารโคพิกเมนต์และขั้นตอนการหาสูตรที่เหมาะสมในการผลิตเครื่องดื่มที่ดีที่สุดโดยผ่านการประเมินคุณสมบัติทางประสาทสัมผัสมาแล้ว โดยการเก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในตู้เย็น และที่สภาวะเร่ง 35 และ 45 องศาเซลเซียส ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงเป็นระยะเวลา 18 วัน โดยทำการสุ่มตัวอย่างเพื่อมาวิเคราะห์ทุกวันเป็นระยะเวลา 7 วันแรก สำหรับตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส และทุกๆ 3 วัน สำหรับตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 และ 35 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ครั้งละ 2 ขวด วัดค่าขวดละ 3 ซ้ำ จากการวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Maturin and Peeler, 2001) และ ยีสต์และรา (Tomas et al., 2001) พบว่ามีปริมาณต่ำกว่ามาตรฐานคือ 100 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 มิลลิตร ตามตารางที่ 12 แต่มีความคลาดเคลื่อนของเชื้อในการเก็บรักษา ดังนั้นผู้วิจัยจึงทำการทำนายอายุการเก็บรักษาจากปัจจัยรองที่ได้วัดการเปลี่ยนแปลงในระหว่างการเก็บรักษา คือ ปริมาณแอนโทไซยานินส์ ที่เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสถิติ ($p<0.05$) ตามตารางที่ 14 และ 15

การทำนายอายุการเก็บรักษาของเครื่องดื่มสมุนไพรกระชายดำโดยใช้วิธีการประเมิณทางวิทยาศาสตร์ที่เรียกว่า accelerated shelf life testing (ASLT) ด้วยการใช้ค่า Q_{10} ซึ่งเป็นวิธีการเร่งอุณหภูมิเพื่อให้ผลิตภัณฑ์เสื่อมสภาพเร็วกว่าปกติ ซึ่งจะทำให้ประมาณผลของอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ได้แต่ยังมีข้อจำกัดบางชนิดเช่น การเพิ่มอุณหภูมิในระยะการบ่มอาจเกิดการเปลี่ยนแปลงกระบวนการทางเคมีและกายภาพบางชนิด ทำให้การคาดคะเนมีความคลาดเคลื่อนได้ (ศจี , 2551) โดยงานวิจัยนี้เลือกสภาวะที่อุณหภูมิ 35 และ 45 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 12 ตารางเชื้อแบคทีเรีย ยีสต์และรา ของเครื่องดื่มสมุนไพรกระชายดำที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 35 และ 45 °C ในหน่วย 10-1 cfu/ml

วัน	4 °C						35 °C						45 °C					
	แบคทีเรียรวม			ยีสต์และรา			แบคทีเรียรวม			ยีสต์และรา			แบคทีเรียรวม			ยีสต์และรา		
	1	2	เฉลี่ย	1	2	เฉลี่ย	1	2	เฉลี่ย	1	2	เฉลี่ย	1	2	เฉลี่ย	1	2	เฉลี่ย
0	<10	<10	<10	<10	<10	<10	Control											
1													<10	<10	<10	<10	<10	<10
2													<10	<10	<10	<10	<10	<10
3	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
4													<10	<10	<10	<10	<10	<10
5													<10	<10	<10	<10	<10	<10
6	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
9	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10						
12	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10						
15	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10						
18	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10						

ตารางที่ 13 ตารางค่าสี ปริมาณแอนโทไซยานินส์ สารฟีนอลิก และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของเครื่องดื่มสมุนไพรกระชายดำที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

วัน	4 °C					
	ค่าสี			Anthocyanins (mg/g dry solid)	Phenolic (mg_{GAE}/g dry solid)	DPPH %
	L*	a*	b*			
0	4.53	3.01	0.48	27.91^{a}±0.02	89.84^{c}±0.08	81.94
1	4.61	3.12	0.33	27.90^{a}±0.03	93.70^{a}±0.06	82.29
2	4.48	3.05	0.41	27.83^{ab}±0.03	90.64^{b}±0.08	81.25
3	4.83	3.00	0.71	27.82^{bc}±0.03	86.87^{d}±0.02	81.60
4	4.26	2.98	0.45	27.80^{bc}±0.01	86.54^{e}±0.04	79.17
5	4.13	2.95	0.31	27.78^{bc}±0.04	85.98^{f}±0.03	79.17
6	4.52	2.92	0.38	27.75^{cd}±0.05	85.58^{g}±0.04	78.13
9	4.41	2.85	0.42	27.21^{e}±0.03	81.96^{h}±0.05	73.61
12	4.23	2.86	0.84	26.97^{f}±0.08	80.52^{j}±0.02	69.10
15	4.11	2.57	0.34	26.62^{g}±0.02	80.76^{i}±0.03	68.40
18	4.38	2.62	0.46	25.90^{h}±0.03	80.20^{k}±0.05	66.67

หมายเหตุ $^{a, b, c...}$ แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าเฉลี่ยในแนวตั้ง ($p<0.05$)

ตารางที่ 14 ตารางค่าสี ปริมาณแอนโทไซยานินส์ สารฟีนอลิก และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของเครื่องดื่มสมุนไพรกระชายดำที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส

วัน	35 °C					
	ค่าสี			Anthocyanins (mg/g dry solid)	Phenolic (mg_{GAE}/g dry solid)	DPPH %
	L*	a*	b*			
Control						
1	4.55	3.02	0.45	25.24^{a}±0.05	78.03^{a}±0.04	56.77^{a}±0.03
2	4.63	2.95	0.31	25.20^{ab}±0.05	77.06^{b}±0.02	56.25^{b}±0.05
3	4.28	2.87	0.68	25.16^{bc}±0.04	75.86^{c}±0.06	53.99^{d}±0.06
4	4.11	2.80	0.56	25.11^{bc}±0.02	75.46^{d}±0.05	54.34^{c}±0.01
5	4.50	2.81	0.41	25.10^{cd}±0.08	74.17^{e}±0.04	51.74^{e}±0.02
6	4.36	2.75	0.38	24.99^{de}±0.03	73.45^{f}±0.02	51.22^{f}±0.03
9	4.26	2.43	0.47	24.83^{e}±0.06	69.67^{g}±0.01	49.48^{g}±0.14
12	4.18	2.40	0.40	21.03^{f}±0.06	68.71^{h}±0.06	43.58^{h}±0.11
15	4.10	2.18	0.53	18.87^{g}±0.06	64.53^{i}±0.15	41.32^{i}±0.05
18	4.56	2.03	0.45	15.53^{h}±0.03	63.40^{j}±0.03	40.45^{j}±0.02

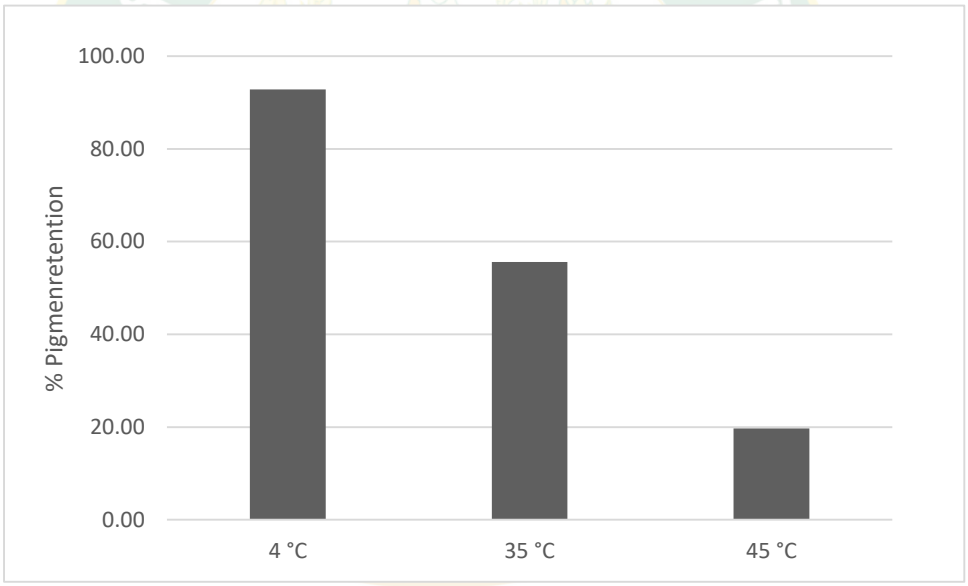
หมายเหตุ $^{a, b, c...}$ แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าเฉลี่ยในแนวตั้ง ($p<0.05$)

ตารางที่ 15 ตารางค่าสี ปริมาณแอนโทไซยานินส์ สารฟีนอลิก และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของเครื่องดื่มสมุนไพรกระชายดำที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

วัน/เดือน (2562)	45 °C					
	ค่าสี			Anthocyanins (mg/g dry solid)	Phenolic (mg_{GAE}/g dry solid)	DPPH %
	L*	a*	b*			
Control						
1	4.28	2.83	0.52	19.55^{a}±0.04	67.58^{a}±0.01	46.53^{a}±0.05
2	4.31	2.75	0.41	19.48^{ab}±0.07	66.29^{b}±0.03	44.97^{b}±0.11
3	4.06	2.77	0.68	19.45^{ab}±0.03	66.05^{c}±0.02	44.79^{c}±0.01
4	4.14	2.68	0.34	19.38^{b}±0.03	65.57^{d}±0.05	43.92^{d}±0.03
5	4.31	2.35	0.48	12.19^{c}±0.06	64.13^{e}±0.06	36.81^{e}±0.08
6	3.81	2.31	0.39	11.26^{d}±0.07	63.96^{f}±0.01	34.20^{f}±0.06
9	4.62	2.08	0.61	8.23^{e}±0.04	63.56^{g}±0.04	33.85^{g}±0.12
12	5.59	2.01	0.40	6.99^{f}±0.11	63.16^{h}±0.02	27.78^{h}±0.02
15	3.92	2.05	0.41	5.63^{g}±0.03	52.55^{i}±0.05	27.60^{i}±0.03
18	4.26	1.87	0.32	5.51^{g}±0.10	51.27^{j}±0.03	23.09^{j}±0.05

หมายเหตุ $^{a, b, c...}$ แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าเฉลี่ยในแนวตั้ง ($p<0.05$)

จากการเปรียบเทียบปัจจัยรองคือ ปริมาณแอนโทไซยานินส์ ในระหว่างการเก็บรักษาที่สภาวะเร่ง อุณหภูมิ 35 และ 45 องศาเซลเซียส ดังตารางที่ 14 พบว่า ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เกิดการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอนโทไซยานินส์ลดลงเมื่อเวลาผ่านไป 9 วัน มีปริมาณแอนโทไซยานินส์ $24.83^{e}\pm0.06$ มิลลิกรัมต่อกรัม และที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เกิดการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอนโทไซยานินส์ลดลงเมื่อเวลาผ่านไป 5 วัน มีปริมาณแอนโทไซยานินส์ $12.19^{c}\pm0.06$ มิลลิกรัมต่อกรัม เมื่อนำผลจากการวิเคราะห์ดังกล่าวมาทำนายอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มสมุนไพรกระชายดำที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าสามารถเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้ 61 วัน สอดคล้องกับงานวิจัยของ จิรพรและสาวิณี เรื่องการพัฒนาเครื่องดื่มสมุนไพรฝางเสริมคอลลาเจน ซึ่งมีค่าความความเป็นกรด-เบส สูง 5-6 โดยสามารถเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้เพียง 6-7 วัน เท่านั้น ซึ่งมีค่าของแข็งที่ละลายได้ไม่เปลี่ยนแปลง แต่เกิดการเปลี่ยนแปลงของสีในวันที่ 2-14 (จิรพร และ สาวิณี , 2558)



ภาพที่ 26 แผนภูมิแสดงความคงตัวของแอนโทไซยานินส์ที่เหลืออยู่หลังการศึกษาอายุการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 19 วัน ที่อุณหภูมิ 4 35 และ 45 องศาเซลเซียส

จากรูปที่ 26 แสดงแผนภูมิความคงตัวของแอนโทไซยานินส์ที่เหลืออยู่หลังการศึกษาอายุการเก็บรักษา พบว่า เมื่อผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มสมุนไพรกระชายดำเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 35 และ 45 องศาเซลเซียส จะเกิดการสลายตัวของแอนโทไซยานินส์มากขึ้นตามลำดับ เนื่องจากแอนโทไซยานินส์จะมีโครงสร้างเปลี่ยนไปเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ส่งผลต่อสีของเครื่องดื่มที่ลดลง

บทที่ 5
สรุป

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาการเกิดโคพิกเมนเทชั่นโดยใช้สารสกัดหยาบฟีนอลิกจากเมล็ดมะเกี๋ยงพบว่าที่พีเอช 3 เติมสารโคพิกเมนต์ 15 เปอร์เซ็น จะรักษาความคงตัวต่อการให้ความร้อนของแอนโทไซยานินส์ได้ดีกว่าพีเอช 5 และพีเอช 7 โดยมีความคงตัวของแอนโทไซยานินส์ 90.58 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณแอนโทไซยานินส์ 18.177 mg/100 g_{DW} และสารฟีนอลิก 149.3 mg/L เนื่องจากแอนโทไซยานินส์นั้นจะคงตัวได้ดีที่สภาวะความเป็นกรดมากกว่าเบส อีกทั้งในตัวอย่างแอนโทไซยานินส์ที่สกัดจากกระชายดำ ซึ่งการใช้สารสกัดฟีนอลิกจากเมล็ดมะเกี๋ยงสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษาความคงตัวของแอนโทไซยานินส์ได้ โดยการให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงจะทำให้ความคงตัวของสีและอัตราการสลายตัวของแอนโทไซยานินส์เปลี่ยนแปลงไป

จากการหาสูตรเครื่องดื่มด้วยวิธี Mixture design ทั้งหมด 10 สูตร โดยใช้ส่วนผสมคือ หญ้าหวาน น้ำผึ้ง และกรดซิตริก เครื่องดื่มสมุนไพรกระชายดำพร้อมดื่มสูตรที่มีคะแนนผลการวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัสมากที่สุดคือ สูตรที่ 3 ได้ 6.18 คะแนน (เต็ม 9) มีปริมาณแอนโทไซยานินส์ 27.91 mg/100g_{Dw} ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 4.1

การทำนายอายุการเก็บรักษาของงผลิตภัณฑ์จากการเปรียบเทียบแอนโทไซยานินส์ในสภาวะเร่งอุณหภูมิ 35 และ 45 องศาเซลเซียส พบว่า ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เกิดการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอนโทไซยานินส์ลดลงเมื่อเวลาผ่านไป 9 วัน มีปริมาณแอนโทไซยานินส์ 24.83^{e}±0.06 mg/100 g_{DW} และที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เกิดการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอนโทไซยานินส์ลดลงเมื่อเวลาผ่านไป 5 วัน มีปริมาณแอนโทไซยานินส์ 12.19^{c}±0.06 mg/100 g_{DW} เมื่อนำผลจากการวิเคราะห์ดังกล่าวมาทำนายอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มสมุนไพรกระชายดำที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าสามารถเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้ 61 วัน และผลจากการตรวจสอบคุณภาพทางจุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มสมุนไพรกระชายดำบรรจุขวดขนาด 45 มิลลิลิตร จำนวนจุลินทรย์ทั้งหมด (Total Plate Count) ยีสต์และรา(Yeast and Molds) มีจำนวนไม่เกินเกณฑ์มาตรฐาน

5.2 ปัญหาที่พบ

1. การทดลองในอ่างควบคุมอุณหภูมิ(water bath) โดยใช้หลอดทดลองแบบแก้วและฝาปิดเกลียว เมื่อใช้อุณหภูมิสูงและเวลานานพบการรั่วซึมของน้ำเข้าสู่หลอดทดลอง

2. สารสำคัญในกระชายดำ(แอนโทไซยานินส์) มีความไวต่อสิ่งเร้าสูง เมื่อทำการทดลองจำนวณมากและไม่ได้วิเคราะห์ผลการทดลองทั้งหมดทันที ผลการทดลองที่ได้มีโอกาสคลาดเคลื่อน

3. อุณหภูมิในการผลิตที่ไม่คงที่มีผลต่อรสชาติเครื่องดื่มเนื่องจากใช้แก๊สหุงต้มในห้องปฏิบัติการซึ่งไม่มีการใช้เทอร์โมมิเตอร์ในการตรวจวัดอุณหภูมิของน้ำ ในขั้นตอนก่อนการผลิต ระหว่างการผลิต และเวลาสิ้นสุดในการผลิต

4. วัตถุดิบทางการเกษตรที่ใช้ทดลองมีลักษณะเหง้าพืชที่อยู่ในดิน พบการปนเปื้อนสูง

5. วัตถุดิบที่ได้รับมาไม่สามารถตรวจสอบย้อนกลับได้ว่าแหล่งเพาะปลูกมาจากแหล่งเดียวกันหรือไม่ หากวัตถุดิบมาจากต่างแหล่งหรือต่างสายพันธ์จะส่งผลต่อการวิเคราะห์สารสำคัญที่มีอยู่ในกระชายดำ

5.3 ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการควบคุมการผลิตตั้งแต่ขั้นตอนการรับเข้าวัตถุดิบจากผู้ขายโดยอาจมีการตรวจสอบคุณภาพของวัตถุดิบเบื้องต้นก่อนที่จะทำการรับวัตถุดิบนั้นๆ

2. ในกระบวนผลิตอาจจะต้องมีการออกแบบหรือมีการพัฒนาเครื่องต้มให้มีการติดตั้งเทอร์โมมิเตอร์ที่ตัวเครื่องเพื่อทำการควบคุมและตรวจวัดอุณหภูมิการผลิตให้ได้มาตรฐานตามที่ออกแบบการทดลองไว้

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

วิธีวิเคราะห์

1. วิธีคำนวณค่า monomeric anthocyanin จากสูตร

$$Monomeric\ Anthocyanin\ = \frac{A\ \times MW\ \times DF\ \times 1{,}000}{\epsilon\ \times l}$$

โดยที่ MW = 449.2 g/mol

ε = 26,900 $M^{-1}CM^{-1}$

จากตัวอย่างเช่น

Monomeric Anthocyanin = (1.094 × 449.2 g/mol × 1 × 1,000) / 26,900 × l

= 20.293 mg/100 g_{DW}

2. วิธีคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์ Monomeric Anthocyanin ที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อเทียบกับปริมาณเริ่มต้นแล้วนำค่าเปอร์เซ็นต์ที่ได้แสดงในรูปแบบค่า ln เป็น ln A

$$\ln A = \ln(\frac{a}{a_0})$$

จากตัวอย่างเช่น

มี % Monomeric Anthocyanin = 100%

ดังนั้น ln A = ln (100) = 4.61

ภาคผนวก ข

การเตรียมเคื่อดื่มสมุนไพรกระชายดำ

สูตรเครื่องดื่มต่อการทำ 2,000 มิลลิลิตร

กระชายดำแห้ง	540 กรัม
สารสกัดฟีนอลิก	300 มิลลิลิตร
น้ำผึ้ง	198 มิลลิลิตร
กรดซิตริก	2 กรัม

ขั้นตอนการผลิตเครื่องดื่ม

1. ต้มกระชายดำแห้งในน้ำ 2,000 มิลลิลิตร จนเดือด
2. กรอกกระชายดำออกแล้วใส่ส่วนผสมที่เหลือ คนให้เข้ากัน
3. บรรจุขวดที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วขณะที่เครื่องดื่มยังร้อนอยู่

ภาคผนวก ค

ตารางผลการทดลอง

ตารางภาคผนวกที่ 1 อัตราการสลายตัวของแอนโทไซยานินส์ที่อัตราส่วนโมลาร์ของแอนโทไซยานินส์ต่อสารโคพิกเมนต์ คือ 1:0 (ควบคุม) 1:5 1:10 และ 1:15 ในสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 3 อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส

Molar ratios	Time (min)	A			Anthocyanin ($mg/100g_{dw}$)	Pigmentretention (%)
		1	2	เฉลี่ย		
	0	0.88	0.89	0.88	16.40	100.00
	15	0.84	0.85	0.84	15.67	95.53
	30	0.82	0.83	0.82	15.29	93.21
	45	0.81	0.82	0.82	15.15	92.36
1:00	60	0.76	0.76	0.76	14.09	85.92
	75	0.78	0.78	0.78	14.52	88.52
	90	0.77	0.77	0.77	14.30	87.16
	105	0.77	0.77	0.77	14.32	87.27
	120	0.59	0.60	0.59	11.01	67.14
	0	1.12	1.13	1.12	20.84	100.00
	15	1.10	1.11	1.10	20.50	98.35
	30	1.05	1.05	1.05	19.48	93.46
	45	1.00	1.00	1.00	18.51	88.82
1:05	60	0.99	0.99	0.99	18.40	88.29
	75	0.97	0.97	0.97	18.03	86.51
	90	0.95	0.95	0.95	17.67	84.77
	105	0.93	0.93	0.93	17.21	82.59
	120	0.92	0.91	0.91	16.94	81.30
	0	1.10	1.10	1.10	20.34	100.00
	15	1.06	1.06	1.06	19.64	96.58
	30	1.02	1.02	1.02	18.92	93.02
	45	1.01	1.01	1.01	18.77	92.29
1:10	60	1.00	1.00	1.00	18.60	91.47
	75	0.99	0.99	0.99	18.38	90.37
	90	0.95	0.95	0.95	17.67	86.86
	105	0.95	0.95	0.95	17.65	86.77
	120	0.95	0.95	0.95	17.61	86.59
	0	1.24	1.24	1.24	22.97	100.00
	15	1.24	1.23	1.24	22.92	99.76
	30	1.22	1.22	1.22	22.58	98.30
	45	1.21	1.21	1.21	22.39	97.46
1:15	60	1.20	1.19	1.19	22.17	96.49
	75	1.15	1.15	1.15	21.36	92.97
	90	1.13	1.13	1.13	21.01	91.44
	105	1.12	1.11	1.11	20.68	90.02
	120	1.10	1.10	1.10	20.45	89.01

ตารางภาคผนวกที่ 2 อัตราการสลายตัวของแอนโทไซยานินส์ที่อัตราส่วนโมลาร์ของแอนโทไซยานินส์ต่อสารโคพิกเมนต์ คือ 1:0 (ควบคุม) 1:5 1:10 และ 1:15 ในสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 5 อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส

Molar ratios	Time (min)	A 1	A 2	A เฉลี่ย	Anthocyanin (mg/100g_{dw})	Pigmentretention (%)
	0	0.65	0.65	0.65	12.05	100.00
	15	0.63	0.64	0.63	11.74	97.38
	30	0.62	0.63	0.63	11.61	96.30
	45	0.61	0.61	0.61	11.29	93.69
1:00	60	0.60	0.60	0.60	11.16	92.61
	75	0.59	0.58	0.58	10.84	89.92
	90	0.54	0.55	0.55	10.12	83.99
	105	0.53	0.53	0.53	9.80	81.29
	120	0.52	0.52	0.52	9.63	79.91
	0	0.73	0.73	0.73	13.57	100.00
	15	0.72	0.72	0.72	13.40	98.77
	30	0.72	0.71	0.71	13.24	97.61
	45	0.71	0.70	0.70	13.06	96.31
1:05	60	0.70	0.70	0.70	13.01	95.90
	75	0.68	0.67	0.67	12.50	92.13
	90	0.63	0.64	0.64	11.78	86.87
	105	0.62	0.62	0.62	11.45	84.40
	120	0.61	0.61	0.61	11.26	83.04
	0	0.88	0.88	0.88	16.29	100.00
	15	0.87	0.87	0.87	16.06	98.58
	30	0.85	0.85	0.85	15.82	97.10
	45	0.85	0.84	0.84	15.63	95.96
1:10	60	0.83	0.83	0.83	15.32	94.02
	75	0.80	0.81	0.81	14.96	91.80
	90	0.78	0.79	0.78	14.53	89.18
	105	0.77	0.77	0.77	14.35	88.04
	120	0.75	0.74	0.74	13.81	84.74
	0	0.90	0.89	0.89	16.60	100.00
	15	0.89	0.89	0.89	16.53	99.61
	30	0.89	0.89	0.89	16.45	99.11
	45	0.88	0.88	0.88	16.34	98.43
1:15	60	0.87	0.87	0.87	16.18	97.48
	75	0.84	0.84	0.84	15.64	94.24
	90	0.79	0.80	0.79	14.73	88.76
	105	0.77	0.77	0.77	14.29	86.08
	120	0.76	0.77	0.76	14.17	85.35

ตารางภาคผนวกที่ 3 อัตราการสลายตัวของแอนโทไซยานินส์ที่อัตราส่วนโมลาร์ของแอนโทไซยานินส์ต่อสารโคพิกเมนต์ คือ 1:0 (ควบคุม) 1:5 1:10 และ 1:15 ในสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 7 อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส

Molar ratios	Time (min)	A 1	A 2	A เฉลี่ย	Anthocyanin ($mg/100g_{dw}$)	Pigmentretention (%)
	0	0.59	0.59	0.59	10.95	100.00
	15	0.56	0.56	0.56	10.31	94.15
	30	0.53	0.52	0.53	9.77	89.24
	45	0.51	0.50	0.51	9.40	85.85
1:00	60	0.50	0.50	0.50	9.29	84.83
	75	0.48	0.48	0.48	8.91	81.36
	90	0.44	0.44	0.44	8.18	74.75
	105	0.44	0.44	0.44	8.10	73.98
	120	0.43	0.43	0.43	7.96	72.71
	0	0.79	0.79	0.79	14.68	100.00
	15	0.78	0.77	0.78	14.41	98.17
	30	0.76	0.76	0.76	14.12	96.21
	45	0.72	0.72	0.72	13.35	90.96
1:05	60	0.71	0.72	0.71	13.22	90.08
	75	0.70	0.70	0.70	13.00	88.56
	90	0.70	0.70	0.70	12.93	88.12
	105	0.69	0.68	0.68	12.67	86.35
	120	0.68	0.67	0.68	12.54	85.46
	0	0.86	0.85	0.86	15.89	100.00
	15	0.85	0.84	0.84	15.66	98.60
	30	0.79	0.79	0.79	14.63	92.11
	45	0.81	0.81	0.81	15.02	94.57
1:10	60	0.80	0.80	0.80	14.85	93.46
	75	0.78	0.79	0.78	14.55	91.59
	90	0.75	0.75	0.75	13.96	87.85
	105	0.75	0.75	0.75	13.87	87.32
	120	0.74	0.73	0.74	13.68	86.10
	0	0.90	0.89	0.89	16.59	100.00
	15	0.89	0.89	0.89	16.50	99.44
	30	0.87	0.87	0.87	16.17	97.48
	45	0.86	0.86	0.86	16.02	96.53
1:15	60	0.85	0.85	0.85	15.76	94.97
	75	0.83	0.82	0.83	15.31	92.28
	90	0.82	0.81	0.81	15.10	91.00
	105	0.79	0.79	0.79	14.71	88.65
	120	0.78	0.79	0.78	14.53	87.58

ตารางภาคผนวกที่ 4 อัตราการสลายตัวของแอนโทไซยานินส์ที่อัตราส่วนโมลาร์ของแอนโทไซยานินส์ต่อสารโคพิกเมนต์ คือ 1:0 (ควบคุม) 1:5 1:10 และ 1:15 ในสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 3 อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

Molar ratios	Time (min)	A 1	A 2	A เฉลี่ย	Anthocyanin (mg/100g_{dw})	Pigmentretention (%)
	0	0.88	0.88	0.88	16.31	100.00
	15	0.82	0.83	0.82	15.30	93.80
	30	0.82	0.82	0.82	15.20	93.17
	45	0.82	0.81	0.81	15.10	92.55
1:00	60	0.81	0.81	0.81	15.04	92.21
	75	0.81	0.81	0.81	14.99	91.92
	90	0.77	0.77	0.77	14.23	87.26
	105	0.73	0.73	0.73	13.60	83.39
	120	0.53	0.52	0.52	9.71	59.50
	0	1.01	1.01	1.01	18.68	100.00
	15	0.98	0.98	0.98	18.22	97.57
	30	0.97	0.97	0.97	18.03	96.52
	45	0.97	0.97	0.97	17.97	96.22
1:05	60	0.94	0.94	0.94	17.47	93.54
	75	0.95	0.94	0.94	17.49	93.64
	90	0.93	0.93	0.93	17.31	92.70
	105	0.92	0.92	0.92	17.12	91.65
	120	0.86	0.86	0.86	15.90	85.15
	0	1.01	1.10	1.06	19.60	100.00
	15	1.08	1.08	1.08	20.01	102.13
	30	1.05	1.05	1.05	19.52	99.62
	45	1.01	1.02	1.02	18.85	96.16
1:10	60	1.00	1.00	1.00	18.47	94.27
	75	0.99	0.99	0.99	18.31	93.42
	90	0.97	0.97	0.97	18.01	91.90
	105	0.95	0.95	0.95	17.60	89.82
	120	0.91	0.91	0.91	16.85	85.98
	0	1.09	1.10	1.09	20.29	100.00
	15	1.03	1.02	1.03	19.03	93.78
	30	1.02	1.02	1.02	18.97	93.46
	45	1.01	1.01	1.01	18.78	92.55
1:15	60	1.01	1.01	1.01	18.77	92.50
	75	1.01	1.01	1.01	18.78	92.55
	90	1.00	1.00	1.00	18.62	91.77
	105	0.99	0.99	0.99	18.32	90.26
	120	0.99	0.99	0.99	18.38	90.58

ตารางภาคผนวกที่ 5 อัตราการสลายตัวของแอนโทไซยานินส์ที่อัตราส่วนโมลาร์ของแอนโทไซยานินส์ต่อสารโคพิกเมนต์ คือ 1:0 (ควบคุม) 1:5 1:10 และ 1:15 ในสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 5 อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

Molar ratios	Time (min)	A 1	A 2	A เฉลี่ย	Anthocyanin (mg/100g_{dw})	Pigmentretention (%)
	0	0.87	0.88	0.87	16.20	100.00
	15	0.83	0.84	0.84	15.50	95.70
	30	0.82	0.83	0.82	15.28	94.33
	45	0.79	0.80	0.80	14.77	91.18
1:00	60	0.78	0.78	0.78	14.45	89.18
	75	0.77	0.77	0.77	14.24	87.92
	90	0.76	0.75	0.75	13.97	86.25
	105	0.73	0.73	0.73	13.55	83.62
	120	0.51	0.51	0.51	9.46	58.42
	0	0.72	0.72	0.72	13.32	100.00
	15	0.70	0.69	0.70	12.90	96.80
	30	0.67	0.68	0.67	12.51	93.87
	45	0.67	0.67	0.67	12.48	93.66
1:05	60	0.67	0.67	0.67	12.39	92.97
	75	0.66	0.66	0.66	12.29	92.27
	90	0.64	0.64	0.64	11.81	88.65
	105	0.63	0.63	0.63	11.61	87.12
	120	0.61	0.61	0.61	11.34	85.10
	0	0.83	0.82	0.82	15.30	100.00
	15	0.79	0.80	0.79	14.74	96.36
	30	0.79	0.79	0.79	14.59	95.33
	45	0.77	0.77	0.77	14.33	93.63
1:10	60	0.76	0.76	0.76	14.15	92.48
	75	0.75	0.76	0.75	13.97	91.33
	90	0.72	0.73	0.73	13.47	88.05
	105	0.72	0.71	0.71	13.25	86.60
	120	0.70	0.71	0.70	13.06	85.32
	0	0.87	0.87	0.87	16.11	100.00
	15	0.85	0.86	0.85	15.86	98.44
	30	0.84	0.85	0.85	15.68	97.35
	45	0.83	0.82	0.83	15.32	95.10
1:15	60	0.80	0.80	0.80	14.90	92.51
	75	0.80	0.80	0.80	14.89	92.45
	90	0.79	0.78	0.78	14.54	90.26
	105	0.77	0.77	0.77	14.26	88.54
	120	0.75	0.76	0.75	14.00	86.92

ตารางภาคผนวกที่ 6 อัตราการสลายตัวของแอนโทไซยานินส์ที่อัตราส่วนโมลาร์ของแอนโทไซยานินส์ต่อสารโคพิกเมนต์ คือ 1:0 (ควบคุม) 1:5 1:10 และ 1:15 ในสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 7 อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

Molar ratios	Time (min)	A			Anthocyanin ($mg/100g_{dw}$)	Pigmentretention (%)
		1	2	เฉลี่ย		
	0	0.65	0.64	0.64	11.94	100.00
	15	0.53	0.52	0.52	9.72	81.43
	30	0.53	0.52	0.52	9.71	81.27
	45	0.52	0.52	0.52	9.69	81.12
1:00	60	0.49	0.49	0.49	9.04	75.68
	75	0.46	0.46	0.46	8.48	71.02
	90	0.46	0.46	0.46	8.45	70.78
	105	0.46	0.45	0.46	8.45	70.78
	120	0.44	0.43	0.44	8.07	67.60
	0	0.76	0.76	0.76	14.10	100.00
	15	0.67	0.67	0.67	12.39	87.83
	30	0.65	0.66	0.65	12.13	85.99
	45	0.65	0.65	0.65	12.07	85.59
1:05	60	0.65	0.64	0.65	12.00	85.07
	75	0.65	0.64	0.65	11.99	85.00
	90	0.62	0.62	0.62	11.52	81.64
	105	0.60	0.61	0.60	11.20	79.41
	120	0.59	0.59	0.59	10.92	77.43
	0	0.77	0.77	0.77	14.33	100.00
	15	0.70	0.70	0.70	12.93	90.22
	30	0.70	0.70	0.70	12.92	90.19
	45	0.68	0.70	0.69	12.79	89.25
1:10	60	0.69	0.69	0.69	12.77	89.12
	75	0.68	0.67	0.68	12.54	87.56
	90	0.67	0.67	0.67	12.45	86.92
	105	0.67	0.66	0.66	12.32	86.01
	120	0.65	0.65	0.65	12.06	84.20
	0	0.76	0.76	0.76	14.15	100.00
	15	0.75	0.75	0.75	13.89	98.16
	30	0.74	0.74	0.74	13.66	96.52
	45	0.74	0.74	0.74	13.66	96.52
1:15	60	0.70	0.70	0.70	12.98	91.74
	75	0.70	0.70	0.70	13.01	91.93
	90	0.72	0.72	0.72	13.34	94.30
	105	0.68	0.68	0.68	12.67	89.51
	120	0.67	0.66	0.66	12.32	87.08

ตารางภาคผนวกที่ 7 อัตราการสลายตัวของแอนโทไซยานินส์ที่อัตราส่วนโมลาร์ของแอนโทไซยานินส์ต่อสารโคพิกเมนต์ คือ 1:0 (ควบคุม) 1:5 1:10 และ 1:15 ในสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 3 อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส

Molar ratios	Time (min)	A			Anthocyanin ($mg/100g_{dw}$)	Pigmentretention (%)
		1	2	เฉลี่ย		
	0	0.88	0.89	0.89	16.44	100.00
	15	0.86	0.86	0.86	15.96	97.10
	30	0.70	0.70	0.70	12.93	78.69
	45	0.67	0.68	0.67	12.51	76.10
1:00	60	0.65	0.650	0.65	12.04	73.28
	75	0.59	0.59	0.59	10.93	66.50
	90	0.54	0.54	0.54	10.01	60.91
	105	0.32	0.33	0.32	5.99	36.47
	120	0.32	0.32	0.32	5.92	36.02
	0	0.86	0.85	0.85	15.82	100.00
	15	0.90	0.90	0.90	16.64	105.16
	30	0.88	0.88	0.88	16.28	102.93
	45	0.78	0.78	0.78	14.50	91.67
1:05	60	0.76	0.76	0.76	14.03	88.68
	75	0.69	0.69	0.69	12.80	80.88
	90	0.62	0.62	0.62	11.55	73.02
	105	0.61	0.61	0.61	11.35	71.73
	120	0.60	0.60	0.60	11.07	69.97
	0	0.92	0.92	0.92	17.06	100.00
	15	0.90	0.90	0.90	16.64	97.50
	30	0.86	0.86	0.86	15.96	93.53
	45	0.84	0.84	0.84	15.52	90.97
1:10	60	0.83	0.82	0.82	15.30	89.67
	75	0.82	0.82	0.82	15.19	89.02
	90	0.76	0.75	0.76	14.02	82.16
	105	0.75	0.75	0.75	13.89	81.40
	120	0.74	0.74	0.74	13.76	80.64
	0	1.00	1.00	1.00	18.53	100.00
	15	0.98	0.99	0.98	18.25	98.50
	30	1.10	1.10	1.10	20.35	109.81
	45	0.97	0.97	0.97	17.97	97.00
1:15	60	0.95	0.95	0.95	17.69	95.44
	75	0.86	0.86	0.86	15.90	85.83
	90	0.81	0.81	0.81	15.02	81.07
	105	0.85	0.84	0.84	15.63	84.38
	120	0.82	0.82	0.82	15.26	82.37

ตารางภาคผนวกที่ 8 อัตราการสลายตัวของแอนโทไซยานินส์ที่อัตราส่วนโมลาร์ของแอนโทไซยานินส์ต่อสารโคพิกเมนต์ คือ 1:0 (ควบคุม) 1:5 1:10 และ 1:15 ในสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 5 อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส

Molar ratios	Time (min)	A 1	A 2	A เฉลี่ย	Anthocyanin (mg/100g_{dw})	Pigmentretention (%)
	0	0.89	0.89	0.89	16.47	100.00
	15	0.88	0.89	0.88	16.39	99.49
	30	0.87	0.87	0.87	16.16	98.14
	45	0.86	0.86	0.86	15.90	96.56
1:00	60	0.85	0.86	0.86	15.87	96.34
	75	0.85	0.85	0.85	15.79	95.89
	90	0.81	0.82	0.82	15.12	91.83
	105	0.62	0.62	0.62	11.55	70.14
	120	0.32	0.33	0.32	5.99	36.39
	0	0.77	0.77	0.77	14.27	100.00
	15	0.74	0.74	0.74	13.67	95.77
	30	0.68	0.68	0.68	12.55	87.97
	45	0.66	0.66	0.66	12.26	85.89
1:05	60	0.62	0.62	0.62	11.56	81.01
	75	0.61	0.62	0.61	11.39	79.84
	90	0.61	0.61	0.61	11.30	79.19
	105	0.59	0.60	0.60	11.06	77.50
	120	0.59	0.60	0.60	11.05	77.44
	0	0.91	0.91	0.91	16.92	100.00
	15	0.86	0.87	0.86	16.03	94.74
	30	0.86	0.86	0.86	15.92	94.08
	45	0.81	0.82	0.82	15.12	89.36
1:10	60	0.80	0.79	0.80	14.76	87.23
	75	0.78	0.78	0.78	14.42	85.20
	90	0.77	0.77	0.77	14.30	84.48
	105	0.76	0.77	0.76	14.17	83.72
	120	0.73	0.72	0.72	13.43	79.33
	0	0.83	0.83	0.83	15.43	100.00
	15	0.82	0.82	0.82	15.23	98.68
	30	0.82	0.82	0.82	15.17	98.32
	45	0.80	0.80	0.80	14.78	95.79
1:15	60	0.79	0.79	0.79	14.73	95.43
	75	0.78	0.78	0.78	14.43	93.51
	90	0.77	0.77	0.77	14.33	92.84
	105	0.75	0.75	0.75	13.84	89.72
	120	0.73	0.73	0.73	13.60	88.15

ตารางภาคผนวกที่ 9 อัตราการสลายตัวของแอนโทไซยานินส์ที่อัตราส่วนโมลาร์ของแอนโทไซยานินส์ต่อสารโคพิกเมนต์ คือ 1:0 (ควบคุม) 1:5 1:10 และ 1:15 ในสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 7 อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส

Molar ratios	Time (min)	A			Anthocyanin ($mg/100g_{dw}$)	Pigmentretention (%)
		1	2	เฉลี่ย		
	0	0.56	0.56	0.56	10.33	100.00
	15	0.35	0.35	0.35	6.50	62.98
	30	0.35	0.35	0.35	6.44	62.35
	45	0.34	0.34	0.34	6.32	61.19
1:00	60	0.34	0.34	0.34	6.24	60.47
	75	0.33	0.33	0.33	6.15	59.57
	90	0.30	0.30	0.30	5.50	53.28
	105	0.29	0.29	0.29	5.35	51.84
	120	0.28	0.28	0.28	5.21	50.49
	0	0.41	0.41	0.41	7.67	100.00
	15	0.41	0.41	0.41	7.59	98.91
	30	0.41	0.40	0.40	7.50	97.70
	45	0.40	0.40	0.40	7.42	96.74
1:05	60	0.38	0.37	0.38	6.96	90.69
	75	0.37	0.37	0.37	6.78	88.39
	90	0.36	0.36	0.36	6.69	87.18
	105	0.34	0.34	0.34	6.35	82.71
	120	0.34	0.34	0.34	6.33	82.47
	0	0.62	0.62	0.62	11.52	100.00
	15	0.62	0.62	0.62	11.44	99.36
	30	0.61	0.60	0.61	11.25	97.66
	45	0.60	0.60	0.60	11.13	96.62
1:10	60	0.59	0.58	0.59	10.87	94.36
	75	0.58	0.58	0.58	10.79	93.71
	90	0.58	0.58	0.58	10.68	92.75
	105	0.57	0.57	0.57	10.59	91.94
	120	0.53	0.54	0.53	9.92	86.14
	0	0.76	0.76	0.76	14.15	100.00
	15	0.75	0.75	0.75	13.89	98.16
	30	0.74	0.74	0.74	13.66	96.52
	45	0.74	0.74	0.74	13.66	96.52
1:15	60	0.70	0.70	0.70	12.98	91.74
	75	0.70	0.70	0.70	13.01	91.93
	90	0.70	0.70	0.70	12.97	91.67
	105	0.68	0.68	0.68	12.63	89.25
	120	0.66	0.66	0.66	12.23	86.43

บรรณานุกรม

กองบริหารมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน. 2546. **มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน กระชายผงชงดื่ม มผช. 171/2546.** กรุงเทพฯ: สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม.

กองบริหารมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน. 2547. **มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน น้ำกระชายดำ มผช. 483/2547.** กรุงเทพฯ: สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม.

จิรพร สวัสดิการ และ สาวิณี แก้วเกตุ. 2558. การพัฒนาเครื่องดื่มสมุนไพรฝางเสริมคอลลาเจน. ใน **การประชุมวิชาการและเสนอผลงานวิจัยระดับชาติ "สร้างสรรค์และพัฒนา เพื่อก้าวสู่ประชาคมอาเซียน" ครั้งที่ 2** (หน้า 97-100), นครราชสีมา: วิทยาลัยนครราชสีมา.

ดวงกมล เรือนงาม. 2557. การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ **วารสารวิทยาศาสตร์ลาดกระบัง**, 23, 120-139.

ทิพาพร อยู่วิทยา. 2535. การกำหนดกระบวนการฆ่าเชื้อด้วยความร้อน. **อาหาร**, 22(4), 39-50.

ปริยานุช อินทร์รอด. 2551. **ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมของส่วนสกัดจาก ต้นเร่วหอมและว่านสาวหลง.** ปริญญานิพนธ์. มหาวิทยาลัยบูรพา.

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์. 2559. **สารประกอบฟีนอล.** [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2585/phenolic-compound (19 ตุลาคม 2561).

ยุพาพร ผลาขจรศักดิ์. 2547. **การสกัดและความคงตัวของแนโทไซยานินส์ที่สกัดได้จากเปลือกมังคุด.** ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยศิลปากร.

ศิริพร พจนการุณ, สมชาย จอมดวง และ สุกัญญา วงค์พรชัย. 2551. การผลิตเครื่องดื่มสมุนไพรผสมจากกระชายดำ กระชายเหลืองและเจียวกู่หลาน. **Agricultural Sci.**, 337-340.

สำนักหอสมุดและศูนย์สารสนเทศวิทยาศาสตร์และเทคโนโนยี. 2553. **แอนโทไซยานิน**. กรุงเทพฯ: กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี.

สุทธินี ลีลาเหมรัตน์. 2556. **การศึกษาสารประกอบฟีนอลิก คุณสมบัติการต้านออกซิเดชัน และความคงตัวของแอนโทไซยานินส์ในสารสกัดกากลูกหม่อน.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุธาทิพ ภมรประวัติ. 2548. **กระชาย : ชะลอความแก่ และบำรุงกำลัง.** [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา https://www.doctor.or.th/column/list/295 (19 ตุลาคม 2561).

สุภาวดี ดาวดี, ฉวี เย็นใจ, แคทรียา สุทธานุช และ สุกัญญา สุพัฒนะพงศ์. 2557. การวิเคราะห์หา

ปริมาณฟลาโวนอยด์ในกระชายดำโดยวิธีแก๊ส โครมาโทกราฟี. **Thai J. Pharm. Sci.**, 27(1-2), 49-57.

สุวิชา ดีหะสิงห์. 2550. **การสกัดและการทำให้สารแอนโธไซยานินในลูกหว้าบริสุทธิ์.** ปัญหาพิเศษ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เสริมสกุล พจนการุณ และ ไชยยง รุจจนเวท. 2549. ผลของเหง้ากระชายดำที่มีสีเนื้อในเหง้าแตกต่างกันต่อฤทธิ์ต้านความเหนื่อยล้า. **แก่นเกษตร**, 34, 286-296.

เหมือนขวัญ กงนอก. 2558. **การใช้วิธีโคพิกเมนต์เทชันเพื่อเพิ่มความคงตัวของรงควัตถุจากกระเจี๊ยบแดงและดอกอัญชัน.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยศิลปากร.

อรัญญา ศรีบุศราคัม. 2560. **กระชายดำกับสมรรถภาพทางเพศชาย.** [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา https://www.pharmacy.mahidol.ac.th/th/knowledge/article/374/%E0%B8%81%E0%B8%A3%E0%B8%B0%E0%B8%8A%E0%B8%B2%E0%B8%A2%E0%B8%94%E0%B8%B3/ (3 ตุลาคม 2561).

อรุษา เชาวนลิขิต. 2554. การสกัดและวิธีการวิเคราะห์แอนโทไซยานิน. **วารสารมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ (สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี)**, 3(6), 26-36.

อรุษา เชาวนลิขิต, ศิโรรัตน์ อภิชยารักษ์, สรารัตน์ คงทอง และ สุชนา ชูประทุม. 2552. ผลการทบของ pH และอุณหภูมิ ต่อสีและความคงตัวของสารสกัดจากกระเจี๊ยบและอัญชัน. **ว. วิทย์. กษ.**, 40(3(พิเศษ)), 5-8.

Araceli Castañeda-Ovando, Ma. de Lourdes Pacheco-Hernández, Ma. Elena Páez-Hernández, José A. Rodríguez and Carlos Andrés Galán-Vidal. 2009. Chemicalstudiesofanthocyanins-Areview. **Food Chemistry**, 859-871.

Cabrita, L., Fossen, T. and Oyvind M. Andersen. 2004. Colour and stability of the six common anthocyanidin 3-glucosides in aqueous solution. **Food Chemistry**, 68, 101-107.

Cavallos-Casals, B. A. and Cisneros-Zevallos. 2004. Stability of anthocyanin-based aqueous extracts of Andean purple corn and red-fleshed sweet compared to synthetic and natural colorants. . **Food Chemistry**, 86, 69-77.

Cony Gauche., Elisa da Silva Malagoli. and Marilde Terezinha Bordignon Luiz. 2010. Effect of pH on the copigmentation of anthocyanins from Cabernet Sauvignon grape extracts with organic acids. **Sci. Agric.**, 67(1), 41-46.

Daniel-Jambun, Dellhousie Ong, Kuan Shion Lim, Yan Yan Lee Tan, Joash Ban lee, Wai Leng Muhamad, Azira Yap, Sau Wai lee and Sui Mae 2018. Antioxidant

properties of Etlingera pubescens, an edible ginger plant endemic to Borneo. **Food Bioscience**, 25, 44-51.

Hoshino, T. 1992. Self-association of flavylium cations of anthocyanidin 3, 5-diglucosides studied by circular dichroism and 1H NMR. **Phytochemistry**, 31(2), 647-653.

Maarit Rein. 2005. **Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins.** Master Thesis. University of Helsinki.

Narkprasom, N., Narkprasom, K. & Upara, U. 2015. Optimization of total phenolic from Cleistocalyx nervosum by microwave-assisted extraction. **American Journal of Engineering and Applied Sciences**, 8(3), 302.

Palamidis, N. & Markakis, P. 1975. Stability of grape anthocyanin in a carbonated beverage. **Journal of Food Science**, 40(5), 1047-1049.

Raymond G. McGuire. (1992). **Reporting of Objective Color Measurements**. U.S. Department of Agriculture-Agricultural Research Service. Document Number)

Song, B. J., Sapper, T. N., Burtch, C. E., Brimmer, K., Goldschmidt, M. & Ferruzzi, M. G. 2013. Photo-and thermodegradation of anthocyanins from grape and purple sweet potato in model beverage systems. **Journal of agricultural and food chemistry**, 61(6), 1364-1372.

Timberlake, C. F., P. Bridle, G. M. J. & L. Vallis. 1975. Correlations between quality and pigment parameters in young Beaujolais red wines. **Joining Europe PMC**, 32(5), 219-257.

มหาวิทยาลัยแม่โจ้
MAEJO UNIVERSITY

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล นางสาวณิชกุล เทียนไทย

เกิดเมื่อ 19 กันยายน 2536

ประวัติการศึกษา พ.ศ. 2559 ปริญญาตรี สาขาวิศวกรรมอาหาร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่

พ.ศ. 2554 มัธยมศึกษาปลาย โรงเรียนศรีพฤฒา จังหวัดเชียงใหม่