

บทที่ 4

ผลการวิจัย

การศึกษาผลของตัวทำละลายในการสกัด

จากการนำกระเจี๊ยบแดงแห้งมาสกัดแอนโทไซยานินด้วยตัวทำละลายต่างๆ พบว่าที่อัตราส่วนของน้ำกลั่นต่อเอทานอล 1:1 สามารถสกัดแอนโทไซยานินได้ปริมาณสูงสุดคือ 81.48 มิลลิกรัมแอนโทไซยานินต่อวัตถุดิบ 100 กรัม เนื่องจากโครงสร้างของแอนโทไซยานินสามารถละลายได้ในตัวทำละลายที่มีขั้วและในตัวทำละลายอินทรีย์ น้ำเป็นตัวทำละลายมีขั้วสูง ส่วนเอทานอลมีคุณสมบัติเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ ดังนั้น ตัวทำละลายที่เหมาะสมจึงเป็นของผสมระหว่างน้ำและเอทานอล สอดคล้องกับงานวิจัยแอนโทไซยานินจากดอกกระเจี๊ยบแดง *Hibiscus sabdariffa* L. เพื่อใช้เป็นสีผสมอาหาร ของมหาวิทยาลัยจุฬาลงกรณ์ (บุศรารัตน์ สายเชื้อ, 2545) โดยพบว่าชนิดตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดแอนโทไซยานินจากกระเจี๊ยบแดงคือน้ำ:เอทานอล (1:1) ดังนั้นจึงเลือกอัตราส่วนของน้ำกลั่นต่อเอทานอล 1:1 ซึ่งพบว่าเป็นตัวทำละลายที่สกัดแอนโทไซยานินได้ดีที่สุดไปทำการศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการสกัดแอนโทไซยานินจากกระเจี๊ยบแดง

ตารางที่ 4.1 ผลของตัวทำละลายในการสกัด

ตัวทำละลาย	L^*	a^*	b^*	ปริมาณแอนโทไซยานิน (mg/100g FW)
น้ำกลั่น	7.88	60.48	5.84	49.30
เอทานอล 95 %	11.67	66.02	9.76	18.49
น้ำกลั่น:เอทานอล (1:1)	5.62	67.32	3.21	81.48
น้ำกลั่น:เอทานอล (3:1)	6.62	63.39	4.95	58.32

ผลของสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดแอนโทไซยานินจากกระเจี๊ยบแดง

จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างกำลังของอุลตราโซนิก อุณหภูมิ และเวลาที่มีผลต่อปริมาณแอนโทไซยานิน คุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และค่าสีแดง (a^*) แสดงดังตารางที่ 4.2

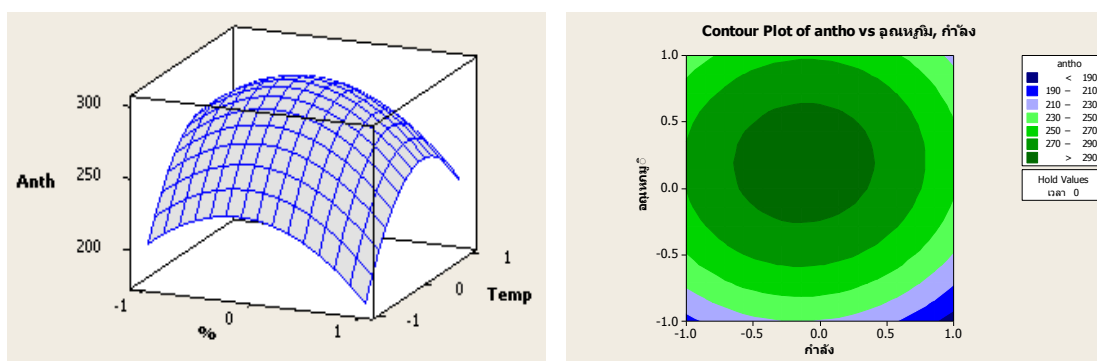
ตารางที่ 4.2 ผลของอุลตราโซนิกต่อการสกัดแอนโทไซยานินจากกระเจี๊ยบแดง

เปอร์เซ็นต์ (%)	อุณหภูมิ (°C)	เวลา (นาที)	L^*	a^*	b^*	ปริมาณแอนโทไซยานิน (mg/100g FW)	สารต้านอนุมูลอิสระ
60	65	90	4.96	18.13	2.97	216.32	58.47
60	75	60	5.19	21.67	2.60	247.53	65.31
60	75	120	5.18	18.23	2.59	238.28	64.03
60	85	90	4.23	17.10	2.98	228.98	61.04
80	65	60	4.51	21.35	2.72	189.48	55.23
80	65	120	4.97	17.58	2.86	196.67	59.12
80	75	90	5.12	22.53	2.57	297.68	68.66
80	85	60	5.29	21.48	3.13	252.99	63.67
80	85	120	5.29	21.37	2.77	252.52	64.58
100	65	90	4.70	16.68	2.91	188.63	57.66
100	75	60	5.18	18.55	2.63	225.28	63.31
100	75	120	5.19	19.20	2.70	232.66	67.67
100	85	90	5.15	17.13	3.02	210.91	60.85

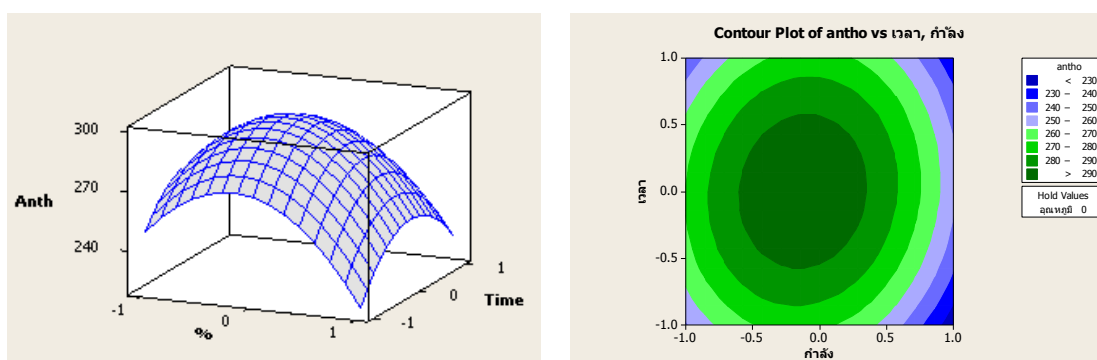
นำค่าที่ได้จากตารางที่ 4.2 มาวิเคราะห์ผลด้วยวิธี Response Surface Method โดยโปรแกรม Minitab Version 16 ได้ผลการวิเคราะห์ ดังนี้

ปริมาณแอนโทไซยานิน

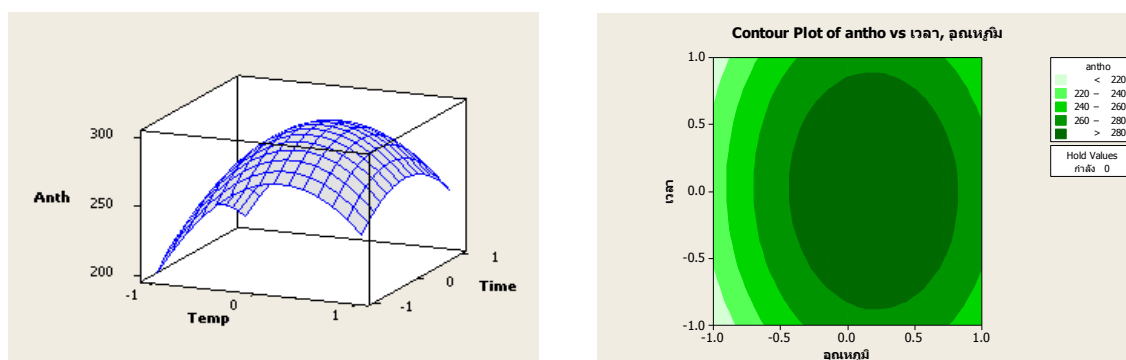
จากการศึกษาปัจจัยของอุณหภูมิ กำลังของอุลตราโซนิก และเวลาในการสกัดที่เหมาะสมในการสกัดแอนโทไซยานิน 3 ระดับ คือ กำลังของอุลตราโซนิก 60, 80 และ 100 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 65, 75 และ 85 องศาเซลเซียส และเวลา 60, 90 และ 120 นาที



ภาพที่ 4.1 ความสัมพันธ์ของกำลังของอุลตราโซนิกและอุณหภูมิต่อปริมาณแอนโทไซยานิน



ภาพที่ 4.2 ความสัมพันธ์ของกำลังของอุลตราโซนิกและเวลาต่อปริมาณแอนโทไซยานิน



ภาพที่ 4.3 ความสัมพันธ์ของอุณหภูมิและเวลาต่อปริมาณแอนโทไซยานิน

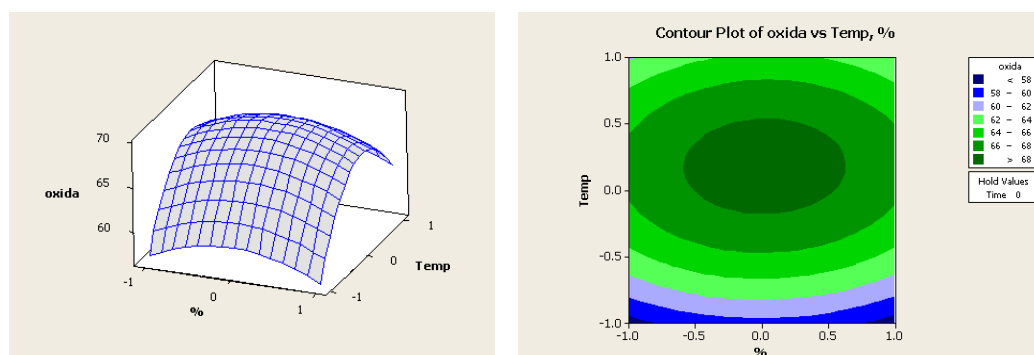
จากภาพที่ 4.1, 4.2 และ 4.3 พบว่าสภาวะที่ทำให้ได้ปริมาณแอนโทไซยานินสูงที่สุดจะอยู่ในระดับกึ่งกลางของพื้นที่กราฟ คือ กำลังของอุลตราโซนิกที่ทำให้อยู่ในช่วง 70-90 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัดอยู่ในช่วง 68-80 องศาเซลเซียส และเวลาที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 75-105 นาที การใช้คลื่นอุลตราโซนิกจะส่งผลต่อการสั่นสะเทือนของโมเลกุลตัวทำละลายและกระเจียบแดงทำให้เกิดการบีบอัดและคลายตัวของตัวกลางเข้าไปมาหลายพันรอบต่อวินาที (Cavitation) จึงเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสของแอนโทไซยานินกับตัวทำละลายจึงเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดแอนโทไซยานิน แต่อุณหภูมิก็ยังเป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อปริมาณแอนโทไซยานินมากที่สุด เช่นเดียวกับค่าสัมประสิทธิ์หน้าตัวแปร x_2 เท่ากับ 19.2875 โดยเวลาในการสกัดจะส่งผลค่อนข้างต่ำต่อปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้ เช่นเดียวกับกับค่าสัมประสิทธิ์หน้าตัวแปร x_3 เท่ากับ 0.60625 ทั้งนี้การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิก็ส่งผลต่อปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้มากที่สุดเช่นกัน ตามค่าสัมประสิทธิ์หน้าตัวแปร x_2^2 เท่ากับ -49.7463

จากผลการทดลองสามารถสร้างความสัมพันธ์ระหว่างกำลังของอุลตราโซนิก(x_1) อุณหภูมิ(x_2) และเวลาในการสกัด(x_3)ต่อปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้(Y_1) ดังสมการที่ 2

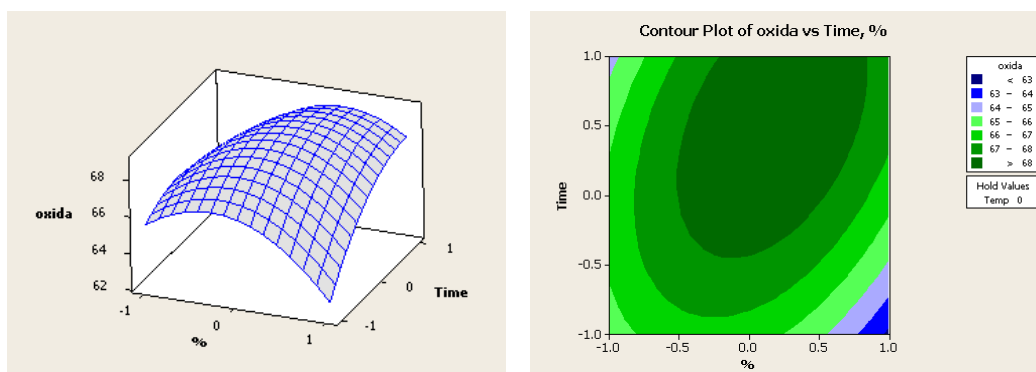
$$Y_1 = 297.68 - 9.20375x_1 + 19.2875x_2 + 0.60625x_3 - 36.7238x_1^2 - 49.7463x_2^2 - 25.0188x_3^2 + 2.4050x_1x_2 + 4.15750x_1x_3 - 1.9150x_2x_3 \quad R^2 = 95.10\% \quad \text{.....(2)}$$

คุณสมบัติการเป็นสารต้านออกซิเดชัน

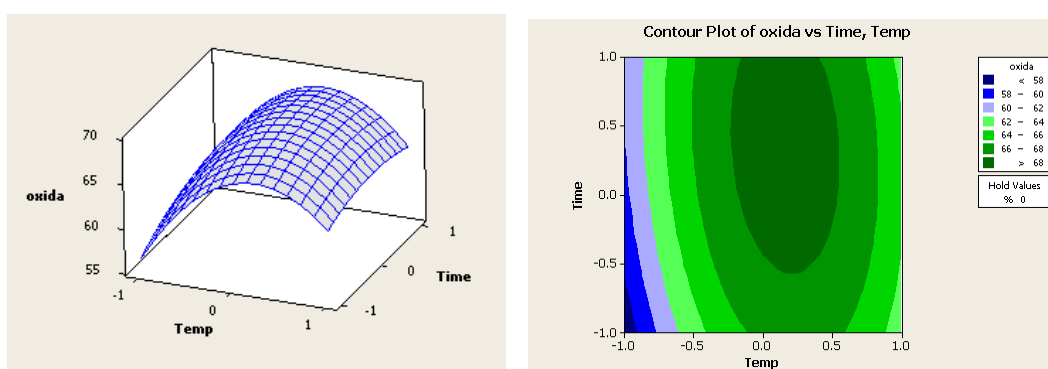
จากสภาวะการสกัดที่ทำให้ได้ปริมาณแอนโทไซยานินสูงสุด กำลังของคลื่นอุลตราโซนิก จะอยู่ในช่วง 70 – 90 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัดอยู่ในช่วง 68 – 80 องศาเซลเซียส เวลาที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 75-105 นาที ในสภาวะดังกล่าวจะส่งผลต่อคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันของแอนโทไซยานินที่สกัดได้จากกระเจียบแดง ดังนี้



ภาพที่ 4.4 ความสัมพันธ์ของกำลังของอุลตราโซนิกและอุณหภูมิต่อค่าสารต้านอนุมูลอิสระ



ภาพที่ 4.5 ความสัมพันธ์ของกำลังของอุณหภูมิและเวลาต่อค่าสารต้านอนุมูลอิสระ



ภาพที่ 4.6 ความสัมพันธ์อุณหภูมิและเวลาการสกัดต่อค่าสารต้านอนุมูลอิสระ

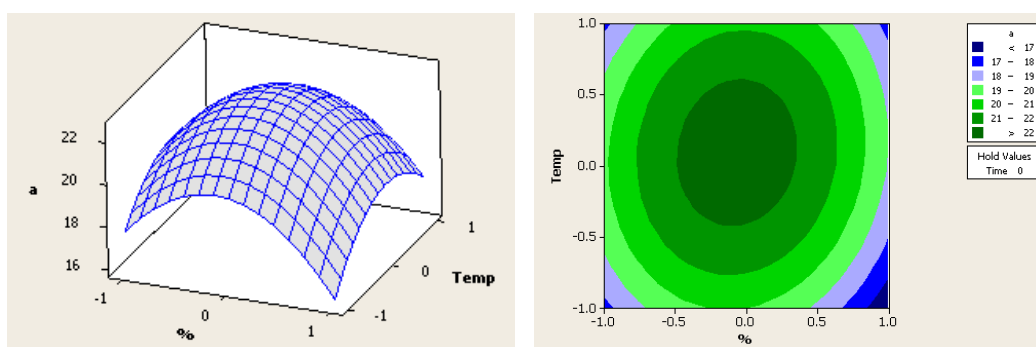
จากภาพที่ 4.4 , 4.5 และ 4.6 สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดแอนโทไซยานินจากกระเจี๊ยบแดงเพื่อให้ได้ปริมาณสูงสุดและเปอร์เซ็นต์การยับยั้งกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระสูงสุดจะมีความสอดคล้องกัน คือ กำลังของคลื่นอุลตราโซนิก จะอยู่ในช่วง 70 – 90 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัดอยู่ในช่วง 74 – 80 องศาเซลเซียส และเวลาที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 70 นาทีขึ้นไป ทั้งนี้ ปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อเปอร์เซ็นต์การยับยั้งกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระของแอนโทไซยานินที่สกัดได้จากกระเจี๊ยบแดง คือ อุณหภูมิในการสกัด ซึ่งควรควบคุมให้อยู่ในช่วง 74 – 80 องศาเซลเซียส เช่นเดียวกับช่วงอุณหภูมิในการสกัดที่ทำให้ได้ปริมาณแอนโทไซยานินสูง โดยอุณหภูมิจะเป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อเปอร์เซ็นต์การยับยั้งกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด ตามค่าสัมประสิทธิ์หน้าตัวแปร x_2 เท่ากับ 2.4575 และปัจจัยจากกำลังของคลื่นอุลตราโซนิกส่งผลต่อเปอร์เซ็นต์การยับยั้งกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุด ตามค่าสัมประสิทธิ์หน้าตัวแปร x_2 เท่ากับ -0.08 ทั้งนี้การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิก็ส่งผลต่อเปอร์เซ็นต์การยับยั้งกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดเช่นกัน ตามค่าสัมประสิทธิ์หน้าตัวแปร x_2^2 เท่ากับ -6.7925

สามารถสร้างความสัมพันธ์ระหว่างกำลังของอุลตราโซนิก (x_1) อุณหภูมิ (x_2) และเวลา (x_3) ต่อคุณสมบัติการต้านออกซิเดชัน ได้ดังสมการที่ 3

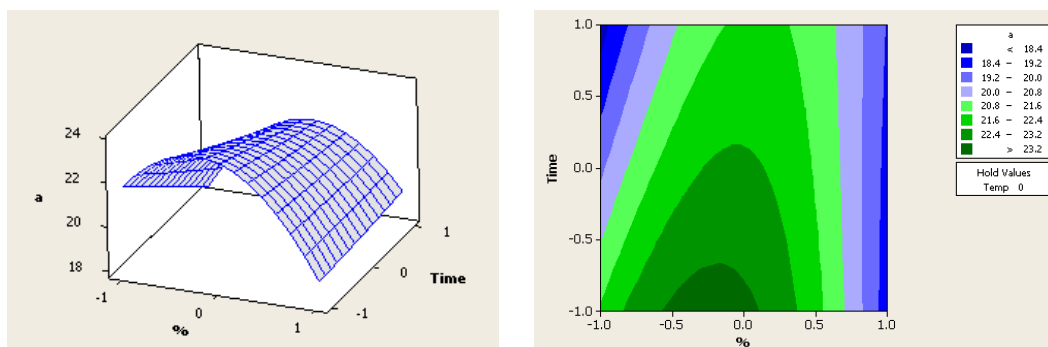
$$Y_2 = 68.66 - 0.08x_1 + 2.4575x_2 + 0.985x_3 - 2.3625x_1^2 - 6.7925x_2^2 - 1.2175x_3^2 + 0.155x_1x_2 + 1.4100x_1x_3 - 0.745x_2x_3 \quad R^2 = 94.97\% \quad \dots(2)$$

ค่าสีแดง (a^*)

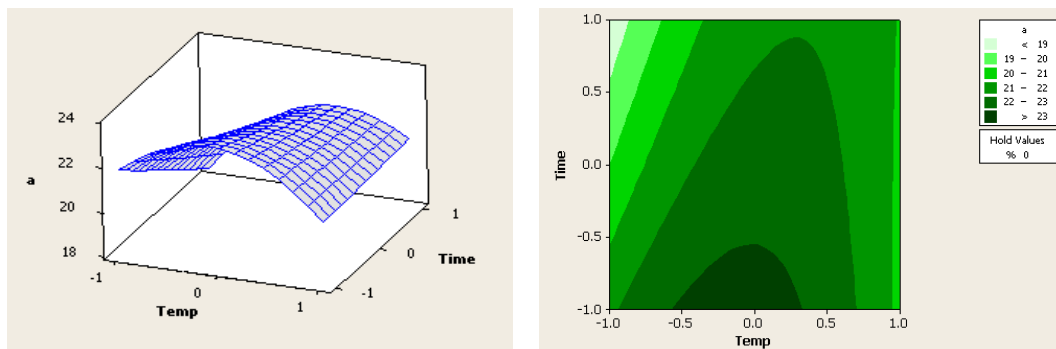
สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดแอนโทไซยานินจากกระเจี๊ยบแดงเพื่อให้ได้ปริมาณสูงสุดพร้อมทั้งมีคุณสมบัติในการต้านออกซิเดชันที่สูงนั้น กำลังของอุลตราโซนิก จะอยู่ในช่วง 70 – 90 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัดอยู่ในช่วง 74 – 78 องศาเซลเซียส เวลาที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 75 นาทีขึ้นไป



ภาพที่ 4.7 ความสัมพันธ์ของกำลังของอุลตราโซนิกและเวลาต่อค่าสีแดง



ภาพที่ 4.8 ความสัมพันธ์ของอุณหภูมิและเวลาต่อค่าสีแดง



ภาพที่ 4.9 ความสัมพันธ์ของอุณหภูมิและกำลังของอุลตราโซนิกต่อค่าสีแดง

จากภาพที่ 7, 8 และ 9 หากสารสกัดที่ได้มีปริมาณแอนโทไซยานินมาก ลักษณะปรากฏจะมีความเป็นสีแดงสูงเช่นกัน ดังนั้นสภาวะในการสกัดจะมีความสอดคล้องกัน คือ กำลังของอุลตราโซนิกในช่วง 70 – 80 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิในช่วง 72 – 80 องศาเซลเซียส เวลาในการสกัดในช่วง 60 - 70 นาที โดยทั้ง ๓ ปัจจัยส่งผลต่อค่าความเป็นสีแดงในระดับที่ไม่แตกต่างกันสอดคล้องกับค่าสัมประสิทธิ์ของทั้งสามปัจจัยที่มีค่าใกล้เคียงกัน สามารถสร้างความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเป็นสีแดง (Y_3) กับกำลังของอุลตราโซนิก (x_1) อุณหภูมิ (x_2) และเวลา (x_3) ได้ดังสมการที่ 3

$$Y_3 = 22.53 - 0.44625x_1 + 0.4175x_2 - 0.83375x_3 - 3.15125x_1^2 - 2.11875x_2^2 + 0.03375x_3^2 + 0.3700x_1x_2 + 1.0225x_1x_3 + 0.915x_2x_3 \quad R^2=94.69\% \quad \dots(3)$$