2.2 ผลการศึกษาคุณลักษณะทั่วไปของเมล็ดถั่วดำ

เปรียบเทียบคุณภาพทางเคมี และกายภาพของเมล็ดถั่วดำ 4 แห่ง โดยเมล็ดถั่วดำที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ประกอบด้วยเมล็ดถั่วดำที่มียี่ห้อ (brandname) คือ ตราไร่ทิพย์ และตราเกษตร และเมล็ดถั่วดำไม่มียี่ห้อ (non brandname) ที่ซื้อจากตลาด คือ องค์การตลาดเพื่อเกษตรกร (อตก.) ตลาดทรงวาด และ นำเมล็ดถั่วดำมาวัดค่าคุณภาพทางกายภาพและคุณภาพทางเคมี จากนั้นนำค่าคุณภาพที่ได้ วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธีของดันแคน (Duncan's new multiple range test) ได้ผลแสดงดังตารางที่ 13 และ 14

จากการนำวัตถุดิบแต่ละแหล่ง คือ ตราไร่ทิพย์ ตราเกษตร องค์การตลาดเพื่อเกษตรกร (อตก.) และ ตลาดทรงวาด วิเคราะห์คุณภาพดังนี้ จำนวนเมล็ดที่ดี (ร้อยละ) ขนาดเมล็ด (มิลลิเมตร) น้ำหนัก (กรัม) ต่อเมล็ด พบว่า เมล็ดถั่วดำตราไร่ทิพย์ มีจำนวนเมล็ดที่ดี ขนาดเมล็ด น้ำหนักต่อเมล็ด มากกว่าถั่วดำตราเกษตร ถั่วดำจากตลาด องค์การตลาดเพื่อเกษตรกร (อตก.) และถั่วดำจากตลาดทรงวาด อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยตราไร่ทิพย์มีจำนวนเมล็ดที่ดีสูงสุดคือร้อยละ 85.67 ขนาดเมล็ด คือ ความกว้าง 7.19 มิลลิเมตร ความยาว 10.79 มิลลิเมตร น้ำหนักต่อเมล็ด 0.241 กรัม

ตารางที่ 13 ค่าคุณภาพทางกายภาพของเมล็ดถั่วดำจากแต่ละแหล่ง

แหล่งวัตถุดิบ	จำนวนเมล็ดที่ดี (ร้อยละ)	ขนาดเมล็ด (มิลลิเมตร)		น้ำหนัก 1 เมล็ด (กรัม)
		ความกว้าง	ความยาว	
1. ตราไร่ทิพย์	85.67a	7.19a	10.79a	0.241a
2. ตราเกษตร	82.90b	6.79b	9.69b	0.190b
3. องค์การตลาดเพื่อเกษตรกร (อตก.)	83.27b	6.53c	9.02c	0.156c
4. ตลาดทรงวาด	80.81c	6.28d	8.79d	0.154c

หมายเหตุ a-c หมายถึง ค่าเฉลี่ยของข้อมูลในแนวตั้งเดียวกันที่มีตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ค่าสีของวัตถุดิบแต่ละแหล่ง มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 คือ ค่าความสว่าง L* มีค่าอยู่ในช่วง 17.83-20.08, ค่าความเข้มของสี C* มีค่าอยู่ในช่วง 0.34-1.197 และค่ามุมของสี h มีค่าอยู่ในช่วง 66.23-83.13 องศา

ค่าวอเตอร์แอคทิวิตี (a_w) และความชื้นของวัตถุดิบทั้ง 4 แหล่งมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดย เมล็ดถั่วดำตราไร่ทิพย์มีค่าวอเตอร์แอคทิวิตีและปริมาณความชื้นสูงที่สุด และแตกต่างจาก เมล็ดถั่วดำตราเกษตร เมล็ดถั่วดำจาก องค์การตลาดเพื่อเกษตรกร (อตก.) และตลาดทรงวาด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 มีค่าวอเตอร์แอคทิวิตีและปริมาณความชื้น เท่ากับ 0.724, 0.631, 0.666, 0.627 และร้อยละ 15.20, 12.82, 13.42 และ 12.58 ตามลำดับ

ตารางที่ 14 ค่าสี L*, a*, b*, C*, h , ค่าวอเตอร์แอคทิวิตี้และปริมาณความชื้นของเมล็ดถั่วดำจากแต่ละแหล่ง

แหล่งวัตถุดิบ	ค่าสี					a_w	ความชื้น
	L*	a*	b*	C*	h (องศา)		(ร้อยละ)
1.ตราไร่ทิพย์	17.93c	0.11b	0.65b	0.66b	81.03a	0.724a	15.20a
2.ตราเกษตร	17.83c	0.80b	0.37c	0.37c	77.27a	0.631b	12.82c
3.องค์การตลาด เพื่อเกษตรกร (อตก.)	18.73b	0.04b	0.34c	0.34c	83.13a	0.666b	13.42b
4. ตลาดทรงวาด	20.08a	0.48a	1.09a	1.19a	66.23b	0.627b	12.58c

หมายเหตุ a-c หมายถึง ค่าเฉลี่ยของข้อมูลในแนวตั้งเดียวกันที่มีตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ในการคัดเลือกวัตถุดิบเพื่อนำไปผลิตสารสีแอนโธไซยานินจากเมล็ดถั่วดำ คำนึงถึงปริมาณวัตถุดิบ และต้นทุนการผลิตเพราะต้องใช้วัตถุดิบเริ่มต้นเป็นจำนวนมากในการผลิตสารสีเพื่อให้ได้ปริมาณที่เพียงพอ และวัตถุดิบที่เลือกใช้ควรสามารถหาได้ง่ายในปริมาณมาก และราคาไม่แพง (Markakis, 1982) ซึ่งจากการสำรวจและวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีและกายภาพพบว่าเมล็ดถั่วดำตราไร่ทิพย์เป็นยี่ห้อที่ผู้บริโภครู้จักกันแพร่หลาย หาซื้อได้ง่าย และผู้บริโภคส่วนใหญ่นิยมซื้อเพื่อใช้ในการประกอบอาหาร ซึ่งมีราคาขายเมล็ดถั่วดำขนาดใหญ่ ราคา 40-50 บาทต่อกิโลกรัม

ให้ปริมาณผลผลิตสูงสุดคือร้อยละ 85.67 ขนาดเมล็ดและน้ำหนักเมล็ดสูงสุด คือ ความกว้าง 7.19 มิลลิเมตร ความยาว 10.79 มิลลิเมตร น้ำหนักต่อเมล็ด 0.241 กรัม มีค่าสี L*, C* และ h เท่ากับ 17.93, 0.66, 81.03 องศา มีค่าวอเตอร์แอคทิวิตี 0.724 และปริมาณความชื้น ร้อยละ 15.20 ดังนั้นจึงคัดเลือกเมล็ดถั่วดำตราไร่ทิพย์เป็นวัตถุดิบในการผลิตผงสีต่อไป

3. <u>การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตสารสกัดแอนโธไซยานินจากเมล็ดถั่วดำ</u>

ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิต คือ อัตราส่วนระหว่างปริมาณเมล็ดถั่วดำต่อปริมาณตัวทำละลาย, ความเป็นกรด-ด่าง และ อุณหภูมิและเวลาในการสกัด

3.1 การศึกษาอัตราส่วนระหว่างปริมาณเมล็ดถั่วดำต่อปริมาณตัวทำละลาย

ศึกษาอัตราส่วนของเมล็ดถั่วดำต่อตัวทำละลายคือ น้ำ ที่เหมาะสมในการสกัดสารสีจากเมล็ดถั่วดำ 3 ระดับ ได้แก่ 1:3, 1:4 และ 1:5 (w/v) โดยใช้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส 30 นาที ในการสกัด จากการศึกษาเบื้องต้น การสกัดสารสีโดยใช้อุณหภูมิสูงกว่า 50 องศาเซลเซียส มีผลให้เมล็ดถั่วดำที่ได้เมื่อนำไปอบแห้ง จะพบว่ามียางเกิดขึ้นที่เมล็ดถั่วและเมื่อเพิ่มความร้อนในการสกัดสูงขึ้น ส่งผลให้เมล็ดถั่วดำแตกง่าย เมื่อนำไปอบ สุธีรา (2530) กล่าวว่า การหุงต้มถั่วจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสารจำพวกเพคติน (pectic substance) ซึ่งเป็นสารที่ประสานเซลล์ให้ติดกัน ทำให้เซลล์ของเมล็ดถั่วแยกออกจากกันง่ายขึ้น ยิ่งให้ความร้อนนานเซลล์ก็จะหลุดจากกันมากทำให้ถั่วนุ่มขึ้น

จากการศึกษา อัตราส่วนของเมล็ดถั่วดำต่อน้ำทั้ง 3 ระดับ พบว่า อัตราส่วนของเมล็ดถั่วดำต่อน้ำมีอิทธิพลต่อปริมาณสีที่สกัดได้ เมื่ออัตราส่วนของเมล็ดถั่วดำต่อน้ำเพิ่มขึ้นจาก 1:3 เป็น 1:4 และ 1:5 ปริมาณแอนโธไซยานินที่สกัดได้จะเพิ่มขึ้น อัตราส่วนของเมล็ดถั่วดำต่อน้ำ 1:4 ให้ปริมาณแอนโธไซยานินสูงกว่าที่อัตราส่วน 1:3 แต่ไม่แตกต่างกับที่อัตราส่วน 1:5 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยพบว่าที่อัตราส่วนระหว่างเมล็ดถั่วดำต่อตัวทำละลาย 1:3 ปริมาณแอนโธไซยานินในสารสกัดน้อยกว่าที่ระดับอื่นๆ เนื่องจากปริมาณเมล็ดถั่วดำที่มากทำให้ตัวทำละลายในการสกัดมีปริมาณไม่เพียงพอที่จะสกัดแอนโธไซยานินออกได้หมด

อัตราส่วนทั้ง 3 ระดับมีผลทำให้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่ออัตราส่วนของเมล็ดถั่วดำต่อน้ำเพิ่มขึ้นจาก 1:3 เป็น 1:4 และ 1:5 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดจะเพิ่มขึ้น

อัตราส่วนทั้ง 3 ระดับมีผลทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่าง มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยเมื่ออัตราส่วนของเมล็ดถั่วดำต่อน้ำเพิ่มขึ้นจาก 1:3 เป็น 1:4 และ 1:5 ค่าความเป็นกรด-ด่างจะมีแนวโน้มลดลง

ตารางที่ 15 ปริมาณแอนโธไซยานิน ค่าความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (TSS) และค่าสี ของถั่วดำที่สกัดสีด้วยอัตราส่วนเมล็ดถั่วดำต่อน้ำต่างกัน

อัตราส่วนถั่วดำ:น้ำ (w/v)	ปริมาณแอนโธไซยานิน (มก./ ถั่วดำ100 ก.)	ความเป็นกรด-ด่าง	ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (ร้อยละ)	ค่าสี				
				L*	a*	b*	C*	h (องศา)
1:3	3.75±0.06b	6.90a	0.237c	63.97a	11.94c	34.19c	36.22c	70.74b
1:4	4.08±0.02a	6.81b	0.242b	63.35b	12.43b	36.34a	38.40a	71.12a
1:5	4.12±0.02a	6.78b	0.246a	62.44c	13.62a	35.05b	37.61b	68.77b

หมายเหตุ a-c หมายถึง ค่าเฉลี่ยของข้อมูลในแนวตั้งเดียวกันที่มีตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลการทดลองสอดคล้องกับการทดลองของ Bronnum-Hansen and Flink (1986) ที่สกัดแอนโธไซยานินจากกาก elderberry โดยใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริคเข้มข้น 0.1 โมลาร์ในเอทานอล แปรอัตราส่วนของกาก elderberry ต่อตัวทำละลายเป็น 1:40, 1:20, 1:10, 1:5 และ 1:2.5 (v/w) พบว่าเมื่ออัตราส่วนของตัวทำละลายต่อกาก elderberry ลดลงปริมาณแอนโธไซยานินจะ ลดลง และงานวิจัยของ Abdel-Aal and Hucl (1999) สกัดแอนโธไซยานินจากข้าวสาลี 2 พันธุ์ คือ พันธุ์สีน้ำเงิน (blue) และพันธุ์สีม่วง (purple) วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายสกัดที่ความยาวคลื่น 535 นาโนเมตร พบว่า เมื่อเพิ่มอัตราส่วนระหว่างตัวอย่างต่อสารละลายจาก 1:3 เป็น 1:8 ค่าการดูดกลืนแสงจะเพิ่มขึ้นด้วย แสดงว่า อัตราส่วนระหว่างตัวอย่างต่อตัวทำละลายที่เพิ่มขึ้นจะเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดแอนโธไซยานิน บุศรารัตน์ (2545) ศึกษาอัตราส่วนระหว่างปริมาณกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงกับตัวทำละลายในระดับ 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 และ 1:5 (w/v) โดยใช้ตัวทำ

ละลายในการสกัด คือ สารละลายน้ำกลั่นต่อเอทานอล (1:1) ปรับความเป็นกรด-ด่าง เป็น 2.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริค พบว่าอัตราส่วนที่ให้ประสิทธิภาพสูงสุดคือ อัตราส่วน 1:5 แต่ค่าที่ได้ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) กับอัตราส่วน 1:4 และเมื่อพิจารณาอัตราส่วน 1:3, 1:2 และ 1:1 ปริมาณแอนโธไซยานินในสารสกัดจะลดลง ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาคุณภาพของสิ่งทดลองทั้งหมด มีค่าเฉลี่ยดังนี้ ปริมาณแอนโธไซยานิน มีค่าตั้งแต่ 3.75- 4.12 มิลลิกรัม / ถั่วดำ 100 กรัม ค่าความเป็นกรด-ด่าง อยู่ในช่วง 6.78 - 6.90, ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ให้ค่าตั้งแต่ร้อยละ 0.237 - 0.246 ค่าสี L* แสดงค่าความสว่างอยู่ในช่วง 62.44 -63.97, C* แสดงค่าความเข้มของสีอยู่ในช่วง 36.22 -38.40 และ h แสดงค่ามุมของสีอยู่ในช่วง 68.77- 71.12 องศา ซึ่งให้ค่าสีน้ำตาลอมส้ม (ตารางที่ 15)

คัดเลือกอัตราส่วนที่เหมาะสมของเมล็ดถั่วดำต่อตัวทำละลาย โดยพิจารณาปริมาณแอนโธไซยานินเป็นสำคัญ พบว่า ที่อัตราส่วน 1:4 ให้ปริมาณแอนโธไซยานินสูงกว่าที่อัตราส่วน 1:3 แต่ค่าที่ได้ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 กับอัตราส่วน 1:5 ดังนั้นอัตราส่วนที่เหมาะสม คือ 1:4 ซึ่งให้ปริมาณแอนโธไซยานิน 4.08 มิลลิกรัม / ถั่วดำ 100 กรัม, ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด เท่ากับ ร้อยละ 0.242, ค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 6.81, ค่าสี L*, C* และ h เท่ากับ 63.36, 38.40 และ 71.12 องศา

3.2 การศึกษาความเป็นกรด-ด่าง ที่เหมาะสมในการสกัด

จากการศึกษาระดับความเป็นกรด-ด่าง 6 ระดับ คือ 2.5, 3.5, 4.5, 5.5, 6.5 และ 7.5 เปรียบเทียบกับน้ำกลั่น พบว่า ความเป็นกรด-ด่างมีอิทธิพลต่อปริมาณแอนโธไซยานินและค่าสีของสารสี และความเป็นกรด-ด่างทั้ง 6 ระดับ มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อความเป็นกรด-ด่างลดลงปริมาณแอนโธไซยานินมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับงานวิจัยของ Abdel-Aal and Hucl (1999) ซึ่งสกัดแอนโธไซยานินจากข้าวสาลีพันธุ์สีน้ำเงิน และพันธุ์สีม่วง ด้วยเอทานอล พบว่าเมื่อความเป็นกรด-ด่างของตัวทำละลายในการสกัดเพิ่มขึ้นจากความเป็นกรด-ด่าง 1.0 ถึง 4.5 ปริมาณแอนโธไซยานินลดลงถึงร้อยละ 94

เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบคุณภาพของสิ่งทดลองทั้งหมดให้ค่าเฉลี่ยดังนี้ (ตารางที่ 16) ปริมาณแอนโธไซยานินมีค่าอยู่ในช่วง 4.06 – 8.99 มิลลิกรัม / 100 กรัมเมล็ดถั่วดำ ค่าสี L* แสดง

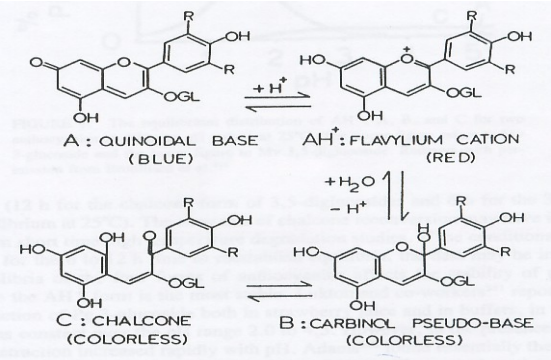
ค่าความสว่างอยู่ในช่วง 40.03 – 57.24, C* แสดงค่าความเข้มของสีอยู่ในช่วง 30.21 – 49.65 และ h แสดงค่ามุมของสีอยู่ในช่วง 9.24 – 64.94 องศา ซึ่งให้ค่าสีแดงถึงน้ำตาลส้ม

นอกจากนี้เมื่อความเป็นกรด-ด่างลดลง เมล็ดถั่วที่ได้จากการสกัดมีการเสียสภาพโดยเปลี่ยนสีจากดำปนน้ำตาลเป็นสีม่วงแดง-แดง เนื่องจากที่ความเป็นกรด-ด่างต่ำ (น้อยกว่า 4.5) แอนโธไซยานินจะอยู่ในรูป flavylium cation ซึ่งทำให้สารละลายมีสีแดง แต่เมื่อความเป็นกรด-ด่างเพิ่มขึ้น (4.5-6.5) แอนโธไซยานินอยู่ในรูป chaclone และ carbinol pseudo-base จะให้สารละลายสีจางลง และที่ความเป็นกรด-ด่างสูง 7.5 แอนโธไซยานินอยู่ในรูป quinodial base ทำให้สารละลายมีสีเข้มขึ้น (Hutchings, 1994; Jadwiga, 2002) ดังภาพที่ 4

ตารางที่ 16 ปริมาณแอนโธไซยานิน ค่าสี ของสารละลายสีและลักษณะปรากฏของเมล็ดถั่วดำที่สกัดที่ระดับค่าความเป็นกรด-ด่างต่างกัน

ความเป็นกรด-ด่าง	ปริมาณแอนโธไซยานิน (มก./100 ก.ถั่วดำ)	ค่าสี						ลักษณะปรากฏของเมล็ดถั่วดำ
		L*	a*	b*	C*	h (องศา)	ΔE	
น้ำกลั่น (7.18)	4.77±0.02c	40.03d	20.32f	43.46a	47.98b	64.94a	0.00	มีสีดำปนน้ำตาล
2.5	8.99±0.19a	55.17a	43.03a	7.00g	43.60c	9.24g	45.54	มีสีแดงเข้ม
3.5	5.53±0.32b	53.03b	34.09b	12.68f	36.38d	20.39f	36.14	มีสีแดงเข้ม
4.5	4.15±0.03d	57.54a	26.85d	14.95e	30.73e	29.13e	34.09	มีสีม่วงแดงคล้ำ
5.5	4.06±0.02d	55.26ab	23.24e	19.29d	30.21e	39.69d	28.72	มีสีม่วงแดงคล้ำ
6.5	4.07±0.04d	49.67c	27.19d	24.52c	36.54d	42.04c	22.33	มีสีดำปนน้ำตาล
7.5	4.90±0.05c	47.28c	34.79b	35.42b	49.65a	45.51b	18.07	มีสีดำปนน้ำตาล

หมายเหตุ a-g หมายถึง ค่าเฉลี่ยของข้อมูลในแนวตั้งเดียวกันที่มีตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



ภาพที่ 4 การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของแอนโธไซยานิน
ที่มา : Lee and Khng (2002)

การวิจัยนี้เนื่องจากการสกัดด้วยน้ำกลั่นให้ค่าปริมาณแอนโธไซยานินไม่แตกต่างกับความเป็นกรด-ด่าง 7.5 อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และสารสีที่ได้ให้ค่าสีน้ำตาล และเมล็ดถั่วที่ได้จากการสกัดมีสีดำปนน้ำตาลซึ่งเป็นสีธรรมชาติของถั่วดำ จึงคัดเลือกความเป็นกรด-ด่างสภาวะที่เป็นกลางเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดแอนโธไซยานินโดยไม่ทำให้แอนโธไซยานินในเมล็ดถั่วดำเสียสภาพ โดยพิจารณาลักษณะปรากฏของเมล็ดถั่วดำเป็นสำคัญ ดังนั้น จึงใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายในการสกัด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Wrolstad and Putnam (1969) กล่าวว่าการสกัดสารสีแอนโธไซยานินสามารถสกัดจากพืชได้โดยใช้ตัวทำละลายพวกไฮดรอกซิลิก (hydroxylic solvents) เช่น น้ำ หรือ เมธานอล และ Markakis (1982) กล่าวว่ากระบวนการที่ใช้ในการสกัดแอนโธไซยานินจากวัตถุดิบต่างๆ สามารถสกัดได้โดยใช้การสกัดด้วยตัวทำละลายต่อไปนี้ 1. น้ำ 2. น้ำที่มีก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซม์อยู่ด้วย และ 3. แอลกอฮอล์ที่เป็นกรด นอกจากนี้ Ibrahim *et al*. (1971) ได้ศึกษาถึงคุณสมบัติทางชีวเคมีของกระเจี๊ยบแดง โดยใช้การเตรียมตัวอย่างในการศึกษาด้วยการสกัดดอกกระเจี๊ยบด้วยน้ำด้วยอัตราส่วนดอกกระเจี๊ยบแดงแห้งต่อน้ำเท่ากับ 1 ต่อ 100 (w/v) พบว่าการสกัดด้วยน้ำสามารถสกัดแอนโธไซยานินและสารอื่น ๆ ออกมาได้มากกว่าร้อยละ 60 ของน้ำหนักเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำหนักดอกกระเจี๊ยบแดงเริ่มต้น

3.3 การศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิและระยะเวลาต่อการสกัดสีจากเมล็ดถั่วดำ

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสี คือ ศึกษาอุณหภูมิ 4 ระดับ ได้แก่ 45,

50, 55 และ 60 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 ระดับ ได้แก่ 30, 40 และ 50 นาที รวม 12 สิ่งทดลอง ระดับอุณหภูมิมีอิทธิพลต่อค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณแอนโธไซยานิน ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ค่าสีและคุณภาพถั่วเมล็ดที่ดี โดยที่เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น ความเป็นกรด-ด่างมีแนวโน้มลดลง เนื่องจากการเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดจะทำให้น้ำระเหยออกไปได้มากขึ้น สารละลายที่ได้จึงมีความเข้มข้นสูงขึ้น ส่งผลให้ความเป็นกรด-ด่างของสารละลายลดลง (ตารางที่ 17) แต่ปริมาณแอนโธไซยานินและปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น (ตารางที่ 18 - 19) เมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยของปริมาณแอนโธไซยานินและปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในแต่ละระดับอุณหภูมิ พบว่า อุณหภูมิทั้ง 4 ระดับมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 โดยที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ให้ค่าปริมาณแอนโธไซยานินและปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด สูงสุด รองลงมา คือ ที่อุณหภูมิ 55, 50 และ 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เนื่องจากอุณหภูมิสูง ช่วยเพิ่มความสามารถในการละลายของสารแอนโธไซยานินที่ต้องการสกัดเพิ่มขึ้น (Kalt *et al*., 2000) ส่งผลให้อัตราในการสกัดสูงขึ้น นอกจากนั้นสัมประสิทธิ์การแพร่มักจะเพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิที่สูงขึ้น ทำให้อัตราการแลกเปลี่ยนดีขึ้นด้วย (รุ่งนภา, 2544)

ระยะเวลาในการสกัดมีอิทธิพลต่อค่าความเป็นกรด- ด่าง ปริมาณแอนโธไซยานินและปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ค่าสีและจำนวนเมล็ดถั่วที่ดี ซึ่งพบว่าระยะเวลาในการสกัดที่เพิ่มขึ้นมีผลทำให้ ค่าความเป็นกรด-ด่างมีแนวโน้มลดลง (ตารางที่ 17) ส่วนปริมาณแอนโธไซยานินและปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น (ตารางที่ 18 - 19) เมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยของปริมาณแอนโธไซยานินและปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในแต่ละระยะเวลา พบว่า ระยะเวลาทั้ง 3 ระดับมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 โดยที่ระยะเวลาในการสกัด 50 นาที ให้ค่าปริมาณแอนโธไซยานินและปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด สูงสุด รองลงมา คือ ที่ระยะเวลา 40 และ 30 นาที ตามลำดับ

ตารางที่ 17 ผลของระดับอุณหภูมิและระยะเวลาต่อค่าเฉลี่ยของความเป็นกรด- ด่างในการสกัดสีจากเมล็ดถั่วดำด้วยน้ำ

ระดับอุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลา (นาที)			ค่าเฉลี่ยความเป็นกรด - ด่าง
	30	40	50	
45	7.14	7.13	7.08	7.12a
50	7.09	7.00	6.98	7.02b
55	6.97	6.96	6.91	6.95c
60	6.80	6.73	6.68	6.74d
ค่าเฉลี่ยความเป็นกรด - ด่าง	7.00A	6.96B	6.91C	

หมายเหตุ a-d หมายถึง ค่าเฉลี่ยของข้อมูลในแนวตั้ง ที่มีตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ของระดับอุณหภูมิ

A-C หมายถึง ค่าเฉลี่ยของข้อมูลในแนวนอน ที่มีตัวอักษรต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ของระดับระยะเวลา

ตารางที่ 18 ผลของระดับอุณหภูมิและระยะเวลาต่อค่าเฉลี่ยของปริมาณแอนโธไซยานินในการสกัดสีจากเมล็ดถั่วดำด้วยน้ำ

ระดับอุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลา (นาที)			ค่าเฉลี่ยปริมาณแอนโธไซยานิน (มก./100 ก.ถั่วดำ)
	30	40	50	
45	4.31	5.63	6.84	5.59d
50	6.76	8.91	10.67	8.78c
55	12.41	18.20	28.57	19.73b
60	21.62	27.00	32.20	26.94a
ค่าเฉลี่ยปริมาณแอนโธไซยานิน (มก./100 ก.ถั่วดำ)	11.27C	14.94B	19.57A	

หมายเหตุ a-d หมายถึง ค่าเฉลี่ยของข้อมูลในแนวตั้ง ที่มีตัวอักษรต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ของระดับอุณหภูมิ

A-C หมายถึง ค่าเฉลี่ยของข้อมูลในแนวนอน ที่มีตัวอักษรต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ของระดับระยะเวลา

ตารางที่ 19 ผลของระดับอุณหภูมิและระยะเวลาต่อค่าเฉลี่ยของปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในการสกัดสีจากเมล็ดถั่วดำด้วยน้ำ

ระดับอุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลา (นาที)			ค่าเฉลี่ยปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด(ร้อยละ)
	30	40	50	
45	0.270	0.320	0.387	0.325d
50	0.370	0.521	0.602	0.498c
55	0.647	0.878	1.266	0.930b
60	0.993	1.250	1.576	1.273a
ค่าเฉลี่ยปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (ร้อยละ)	0.570C	0.742B	0.958A	

หมายเหตุ a-d หมายถึง ค่าเฉลี่ยของข้อมูลในแนวตั้ง ที่มีตัวอักษรต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ของระดับอุณหภูมิ
A-C หมายถึง ค่าเฉลี่ยของข้อมูลในแนวนอน ที่มีตัวอักษรต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ของระดับระยะเวลา

เมื่อพิจารณาค่าสี L*, C* และ h (ตารางที่ 20) พบว่า เมื่อระดับอุณหภูมิและระยะเวลาเพิ่มขึ้น ทำให้ค่าความสว่าง L* และค่าความเข้มของสี C* ลดลง ซึ่งค่าความสว่าง L* มีค่าอยู่ในช่วง 6.07 – 67.50, ค่า C* มีค่าอยู่ในช่วง 20.69-50.80 และค่ามุมของสี h มีค่าอยู่ในช่วง 29.63-73.53 องศา ซึ่งแสดงค่าสีให้ค่าสีน้ำตาลแดงถึงน้ำตาลส้ม

เมื่อพิจารณาคุณภาพเมล็ดถั่วดำที่ดี พบว่า เมื่อระดับอุณหภูมิและระยะเวลาเพิ่มขึ้นมีผลทำให้คุณภาพเมล็ดถั่วดำที่ดีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 20) พบว่า เมื่อระดับอุณหภูมิและระยะเวลาเพิ่มขึ้น คุณภาพเมล็ดถั่วดำที่ดีมีแนวโน้มลดลง เนื่องจากสารจำพวกเพกตินซึ่งประสานเซลล์ให้ติดกันจะละลายน้ำได้มากขึ้น ทำให้เซลล์แยกออกจากกันได้ง่ายขึ้น ซึ่งมีผลทำให้ผิวของเมล็ดถั่วดำนิ่มขึ้น และแตกง่ายระหว่างการสกัด (สุธีรา, 2530)