บทที่ 4
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 วัตถุดิบ

ความชื้นของดอกอัญชันแสดงผลดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ความชื้นของดอกอัญชันสดและแห้ง

	ความชื้น* (%)
ดอกอัญชันสด	88.7
ดอกอัญชันแห้ง	10.3

หมายเหตุ

* ค่าเฉลี่ยจากการทำสองซ้ำ

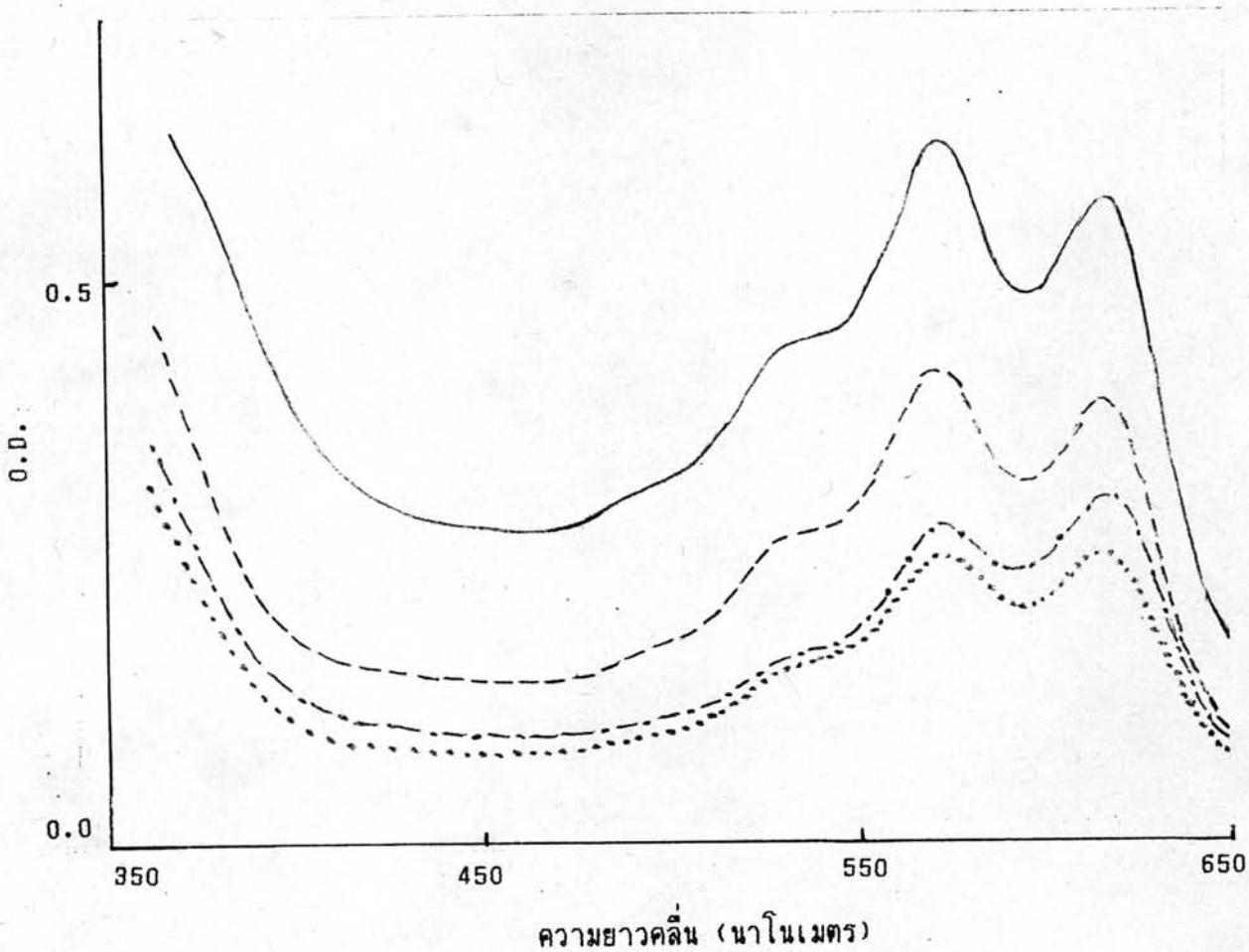
การทดสอบ polyphenol oxidase activity

เนื่องจากเอนไซม์ polyphenol oxidase (PPO) มีผลต่อการสลายตัวของแอนโธไซยานินส์ แต่จากการทดสอบ PPO activity ของกลีบดอกอัญชัน พบว่าให้ผล negative แสดงว่าไม่สามารถตรวจพบเอนไซม์ PPO ในกลีบดอกอัญชัน ดังนั้นในการศึกษาเสถียรภาพของสารละลายสกัดแอนโธไซยานินส์จึงไม่ต้องคำนึงผลของเอนไซม์ชนิดนี้

4.2 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดแอนโธไซยานินส์จากดอกอัญชัน

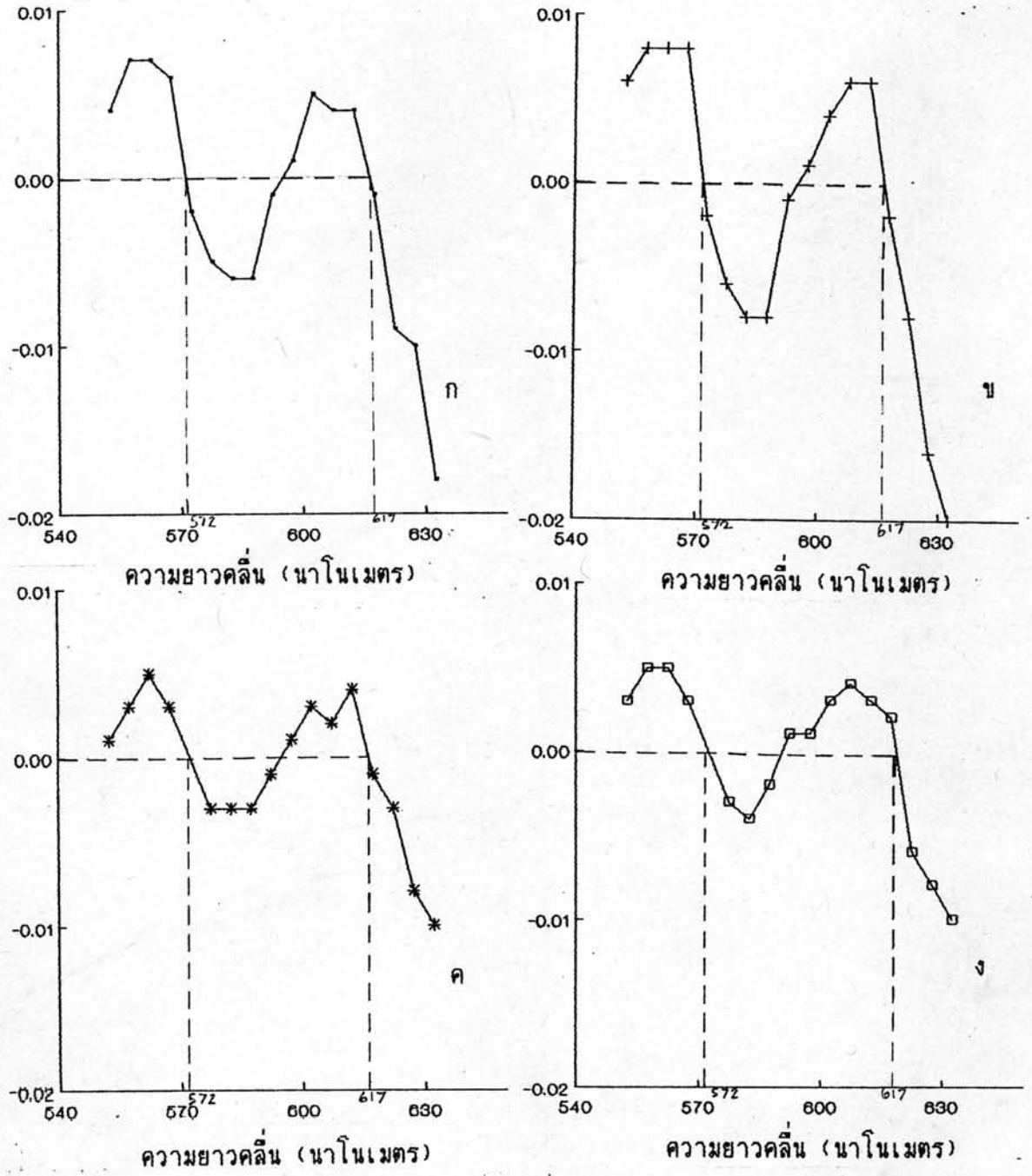
4.2.1 การสกัดแอนโธไซยานินส์จากดอกอัญชันเพื่อศึกษา absorption spectrum ของสารละลายสกัดดอกอัญชัน

เมื่อใช้สารละลายกรด HCl pH 4.2 เป็นตัวทำละลายในการสกัด พบว่าสารละลายสกัดดอกอัญชันสดและแห้งมีสีม่วงน้ำเงิน และมี pH เท่ากับ 4.2 โดย absorption spectrum ของสารละลายสกัดทั้งสองชนิดมีลักษณะ pattern เช่นเดียวกัน ดังแสดงในรูปที่ 4.1 โดย spectrum ที่ได้มี 2 peaks เมื่อทำ first derivative พบว่า peak ดังกล่าวมีความยาวคลื่น 617 และ 572 นาโนเมตร (รูปที่ 4.2) และที่ความยาวคลื่น 572 นาโนเมตร ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด เมื่อใช้น้ำกลั่น pH 6.2 เป็นตัวทำละลายในการสกัดซึ่งมี pH สูงกว่าสารละลายกรด HCl พบว่าสารละลายสกัดดอกอัญชันสดและแห้งมีสีน้ำเงิน และมี pH เท่ากับ 6.2 โดย absorption spectrum ที่ได้มีลักษณะคงเดิม และเมื่อทำ first derivative พบว่าความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดเป็น 617 นาโนเมตร (รูปที่ 4.1 และ 4.2) ทั้งนี้เนื่องจาก pH ของตัวทำละลายในการสกัดมีผลต่อสมดุลของแอนโธไซยานินส์ (Brouillard, 1982) โดยที่เมื่อ pH ของตัวทำละลายสูงขึ้น แอนโธไซยานินส์จะเปลี่ยน form จาก flavylium cation ที่มีสีแดงเป็น quinoidal anhydrobase ที่มีสีน้ำเงิน ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงอันเนื่องจาก flavyliun cation ลดลง ดังนั้นค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 572 นาโนเมตร จึงลดลง



——— สารละลายสกัดดอกอัญชันแห้ง pH 4.2
----- สารละลายสกัดดอกอัญชันสด pH 4.2
-•-•- สารละลายสกัดดอกอัญชันสด pH 6.2
••••• สารละลายสกัดดอกอัญชันแห้ง pH 6.2

รูปที่ 4.1 Absorption spectrum ของสารละลายสกัดแอนโธไซยานินส์



ก. สารละลายสกัดดอกอัญชันสด pH 4.2

ข. สารละลายสกัดดอกอัญชันแห้ง pH 4.2

ค. สารละลายสกัดดอกอัญชันแห้ง pH 6.2

ง. สารละลายสกัดดอกอัญชันสด pH 6.2

รูปที่ 4.2 First derivative ของเส้นกราฟจากรูปที่ 4.1

ปริมาณแอนโธไซยานินส์ (dry basis) ที่สกัดได้จากดอกอัญชันสดและแห้งซึ่งมีความชื้นร้อยละ 88.7 และ 10.3 ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ปริมาณแอนโธไซยานินส์ (dry basis) ในดอกอัญชันสดและแห้ง

ตัวทำละลาย	pH	ปริมาณแอนโธไซยานินส์ที่สกัดได้* (มิลลิกรัมแอนโธไซยานินส์ต่อกรัมดอกอัญชัน)	
		ดอกอัญชันสด	ดอกอัญชันแห้ง
น้ำกลั่น	6.2	16.71±0.35	15.19±0.33
สารละลายกรด HCl	4.2	16.96±0.34	15.98±0.44

* วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 572 นาโนเมตร สำหรับตัวอย่างที่ใช้สารละลายกรด HCl เป็นตัวทำละลายในการสกัด และที่ความยาวคลื่น 617 นาโนเมตร สำหรับตัวอย่างที่ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายในการสกัด

เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่าปริมาณแอนโธไซยานินส์ (dry basis) ที่สกัดได้จากดอกอัญชันสดมีค่าสูงกว่าที่สกัดได้จากดอกอัญชันแห้งทั้งในตัวทำละลายที่เป็นน้ำกลั่นและสารละลายกรด HCl อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 4.3 และ 4.4) ทั้งนี้เนื่องจากแสงแดดมีผลต่อการสลายตัวของแอนโธไซยานินส์ ทำให้ปริมาณแอนโธไซยานินส์ในดอกอัญชันแห้งลดลง

ตารางที่ 4.3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนการสกัดแอนโธไซยานินส์เมื่อใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายในการสกัด

Source of variance	df	MS
ชนิดดอกอัญชัน	1	3.466*
Error	4	0.115

ตารางที่ 4.4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนการสกัดแอนโธไซยานินส์เมื่อใช้สารละลายกรด HCl เป็นตัวทำละลายในการสกัด

Source of variance	df	MS
ชนิดดอกอัญชัน	1	1.431*
Error	4	0.153

ถึงแม้ปริมาณแอนโธไซยานินส์ที่สกัดได้จากดอกอัญชันแห้งมีค่าต่ำกว่าที่สกัดได้จากดอกอัญชันสดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แต่สารละลายสกัดที่ได้จากทั้งดอกอัญชันสดและแห้งให้ absorption spectrum ในลักษณะเดียวกันทั้งในตัวทำละลายที่เป็นน้ำกลั่นและสารละลายกรด HCl และเนื่องจากดอกอัญชันแห้งมีอายุการเก็บนานกว่าและใช้งานได้สะดวก ดังนั้นในการทดลองขั้นต่อไปจึงเลือกใช้ดอกอัญชันแห้งเป็นวัตถุดิบในการทดลอง

4.2.2 ศึกษาผลของ pH ของตัวทำละลายในการสกัด

ปริมาณแอนโธไซยานินส์ที่สกัดจากดอกอัญชันแห้งโดยใช้สารละลาย standard buffer (ภาคผนวก) ในช่วง pH 3.0-5.5 เป็นตัวทำละลายในการสกัด แสดงผลในตารางที่ 4.5 และรูปที่ 4.3

ตารางที่ 4.5 ผลของ pH ของตัวทำละลายในการสกัดต่อปริมาณแอนโธไซยานินส์ที่สกัดได้

pH	สีของสารละลายสกัด	ปริมาณแอนโธไซยานินส์ที่สกัดได้ * (มิลลิกรัมแอนโธไซยานินส์ต่อกรัมดอกอัญชัน)
3.0	ม่วงน้ำเงิน	$8.82^{c} \pm 0.37$
3.5	ม่วงน้ำเงิน	$10.57^{b} \pm 0.17$
4.0	ม่วงน้ำเงิน	$10.97^{ab} \pm 0.25$
4.5	ม่วงน้ำเงิน	$11.69^{a} \pm 0.15$
5.0	ม่วงน้ำเงิน	$10.67^{b} \pm 0.24$
5.5	ม่วงน้ำเงิน	$10.64^{b} \pm 0.30$

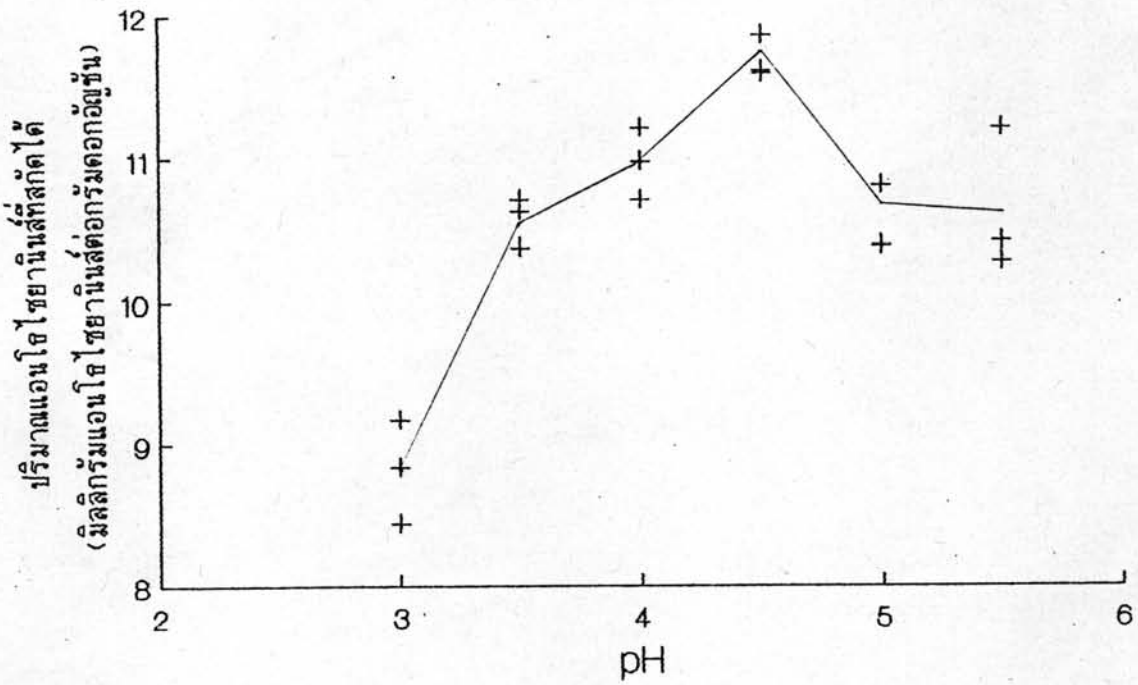
หมายเหตุ

a,b,c ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

* วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 572 นาโนเมตร

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า pH ของตัวทำละลายในการสกัดมีผลต่อการสกัดแอนโธไซยานินส์จากดอกอัญชันแห้ง โดยปริมาณแอนโธไซยานินส์ที่สกัดได้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 4.6) และเมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยปริมาณแอนโธไซยานินส์ที่สกัดได้โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test พบว่าการใช้สารละลายที่ระดับ pH 4.5 เป็นตัวทำละลายในการสกัดมีประสิทธิภาพการสกัดสูงสุด เมื่อพิจารณารูปที่ 4.3 พบว่าปริมาณแอนโธไซยานินส์ที่สกัดได้จะสูงขึ้นเมื่อระดับ pH ของตัวทำละลายในการสกัดสูงขึ้นจาก pH 3.0 ถึง pH 4.5 และลดลง

เมื่อ pH ของตัวทำละลายในการสกัดสูงกว่า 4.5 โดยผลการทดลองสอดคล้องกับผลงานวิจัยของ Bronnum-Hansen และ Flink (1986) ซึ่งแสดงให้เห็นว่า pH ของตัวทำละลายในการสกัดมีผลต่อปริมาณแอนโธไซยานินส์ที่สกัดได้ โดยใช้สารละลายกรด HCl ในช่วง pH 1.0-3.0 เป็นตัวทำละลายในการสกัดแอนโธไซยานินส์จากผล elderberry และพบว่าการใช้สารละลายกรด HCl ที่ระดับ pH 1.5 เป็นตัวทำละลายในการสกัดมีประสิทธิภาพการสกัดสูงสุด และเมื่อ pH ของตัวทำละลายในการสกัดสูงหรือต่ำกว่า 1.5 ปริมาณแอนโธไซยานินส์ที่สกัดได้จะลดลง



รูปที่ 4.3 ผลของ pH ของตัวทำละลายในการสกัดต่อปริมาณแอนโธไซยานินส์ที่สกัดได้

ตารางที่ 4.6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของ pH ของตัวทำละลายในการสกัด

Source of variance	df	MS
pH	5	2.70^{*}
Error	12	9.31×10^{-2}

การที่ pH ของสารละลายมีผลต่อการสกัดแอนโธไซยานินส์ สามารถอธิบายโดยอาศัยผลงานวิจัยของ Brouillard และ Delaport (1977) ซึ่งพบว่าในภาวะที่สารละลายมีความเป็นกรด (acidic aqueous media) มี pH ในช่วง 1.0 - 6.0 malvidin-3-glucoside จะอยู่ในภาวะสมดุลของ 4 forms คือ flavylium cation (AH^+), quinoidal anhydrobase (A), carbinol pseudobase (B) และ chalcone (C) ดังสมการที่ 1

$$\underset{\text{(blue)}}{A} \xrightleftharpoons{+H^+} \underset{\text{(red)}}{AH^+} \xrightleftharpoons{-H^+,\ +H_2O} \underset{\text{(colourless)}}{B} \xrightleftharpoons{\text{tautomeric reaction}} \underset{\text{(colourless)}}{C} \qquad (1)$$

ในภาวะที่สารละลายมี pH ต่ำ แอนโธไซยานินส์จะอยู่ใน form ของ AH^+ มากกว่าใน form ของ A ทำให้สารละลายมีสีแดง แต่เมื่อระดับ pH สูงขึ้น สารละลายจะเปลี่ยนสี เนื่องจากมีการเปลี่ยน form จาก AH^+ ทำให้ความเข้มข้นของ AH^+ ลดลง

ในสารละลาย pH 4.5 แอนโธไซยานินส์อยู่ใน form ที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 572 นาโนเมตร แต่เมื่อ pH ของสารละลายต่ำกว่า 4.5 แอนโธไซยานินส์จะเปลี่ยน form ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 572 นาโนเมตรลดลง และเมื่อ pH ของสารละลายสูงกว่า 4.5 จะเกิดการเลื่อน (shift) ของสมดุล เช่นเดียวกัน ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 572 นาโนเมตร ลดลง ดังนั้นปริมาณแอนโธไซยานินส์ที่คำนวณได้จึงลดลง

ในการทดลองขั้นต่อไปเลือกใช้สารละลายกรด pH 4.5 เป็นตัวทำละลายในการสกัด เนื่องจากเป็นระดับ pH ที่ทำให้ได้ปริมาณแอนโธไซยานินส์ในสารละลายสกัดสูงสุดและสารละลายสกัดที่ได้มีสีม่วงน้ำเงิน

4.2.3 ศึกษาผลของชนิดตัวทำละลายในการสกัดและเวลาในการสกัด

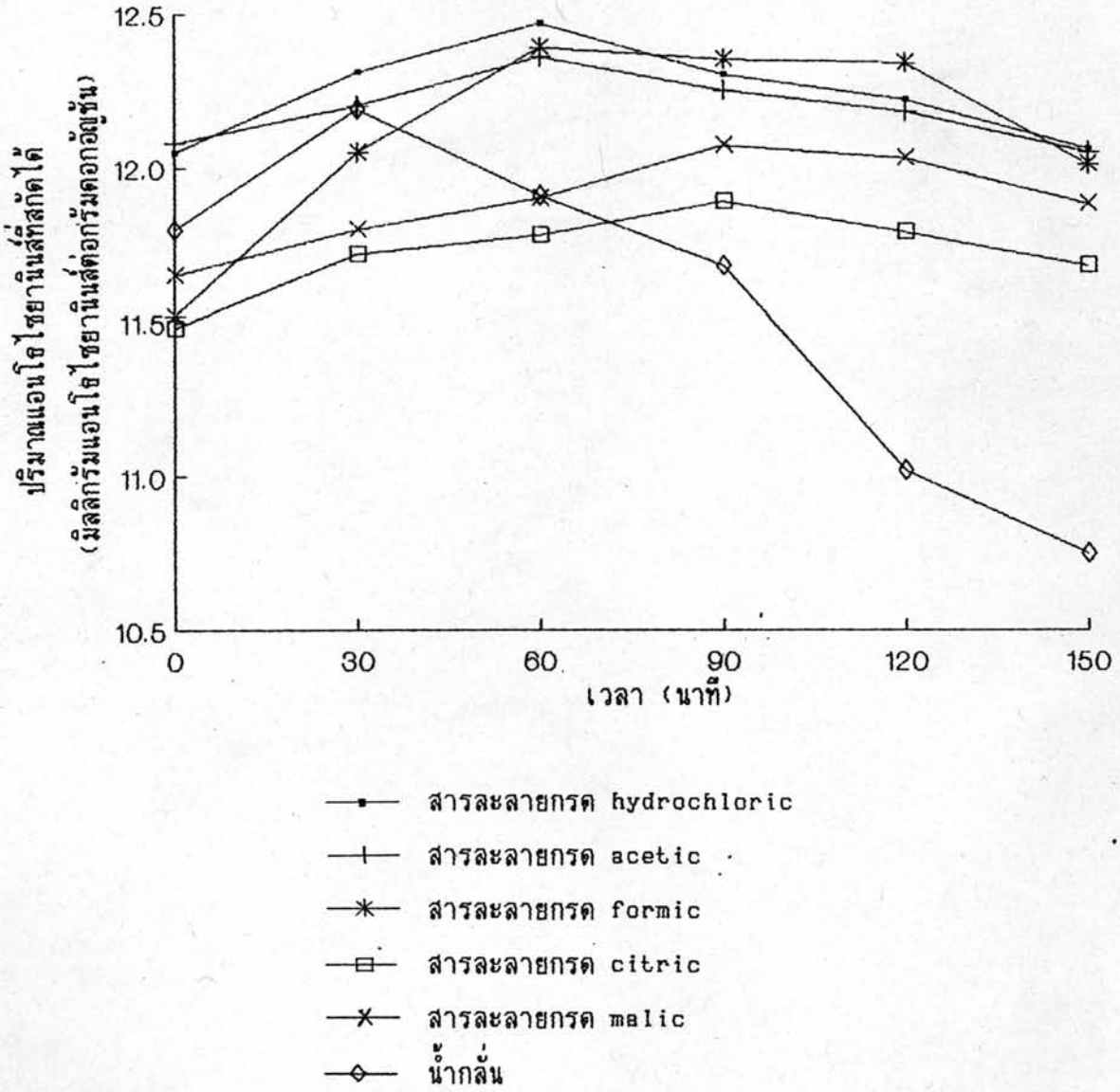
ผลของการใช้น้ำกลั่นและสารละลายกรดที่ระดับ pH 4.5 เป็นตัวทำละลายในการสกัดแอนโธไซยานินส์จากดอกอัญชันแห้งที่ระยะเวลา 0-150 นาที แสดงในตารางที่ 4.7 และรูปที่ 4.4

ตารางที่ 4.7 ผลของชนิดตัวทำละลายในการสกัดและเวลาในการสกัดต่อปริมาณแอนโธไซยานินส์ที่สกัดได้

เวลา (นาที)	ปริมาณแอนโธไซยานินส์ที่สกัดได้ (มิลลิกรัมแอนโธไซยานินส์ต่อกรัมดอกอัญชัน)					
	น้ำกลั่น	สารละลายกรด HCl	สารละลายกรด CH_3COOH	สารละลายกรด HCOOH	สารละลายกรด $C_4H_6O_5$	สารละลายกรด $C_6H_8O_7$
0	$11.80^{fgh}\pm0.07$	$12.05^{cde}\pm0.08$	$12.08^{cde}\pm0.06$	$11.52^{i}\pm0.11$	$11.48^{i}\pm0.11$	$11.65^{hi}\pm0.07$
30	$12.19^{bcd}\pm0.08$	$12.31^{ab}\pm0.08$	$12.20^{bcd}\pm0.14$	$12.05^{cde}\pm0.11$	$11.72^{fgh}\pm0.07$	$11.80^{fgh}\pm0.01$
60	$11.91^{ef}\pm0.06$	$12.47^{a}\pm0.04$	$12.36^{ab}\pm0.11$	$12.39^{ab}\pm0.08$	$11.78^{fgh}\pm0.09$	$11.90^{ef}\pm0.14$
90	$11.68^{ghi}\pm0.11$	$12.30^{ab}\pm0.08$	$12.25^{bc}\pm0.14$	$12.35^{ab}\pm0.08$	$11.89^{efg}\pm0.07$	$12.07^{cde}\pm0.07$
120	$11.02^{j}\pm0.17$	$12.22^{bcd}\pm0.03$	$12.18^{bcd}\pm0.06$	$12.34^{ab}\pm0.12$	$11.79^{fgh}\pm0.05$	$12.03^{de}\pm0.10$
150	$10.75^{k}\pm0.14$	$12.06^{cde}\pm0.02$	$12.05^{cde}\pm0.02$	$12.01^{de}\pm0.10$	$11.68^{ghi}\pm0.07$	$11.88^{efg}\pm0.07$

หมายเหตุ

a,b,c,... ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.4 ผลของชนิดตัวทำละลายในการสกัดต่อปริมาณแอนโธไซยานินส์ที่สกัดได้

เมื่อใช้สารละลายกรดแต่ละชนิดเป็นตัวทำละลายในการสกัด พบว่าสารละลายสกัดที่ได้ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 572 นาโนเมตร และเมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่าทั้งชนิดของตัวทำละลายในการสกัด และ เวลาในการสกัดมีผลต่อปริมาณแอนโธไซยานินส์ที่สกัดได้ โดยปริมาณแอนโธไซยานินส์ที่สกัดได้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 4.8) และเมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยปริมาณแอนโธไซยานินส์ที่สกัดได้โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test พบว่าระดับที่ให้ประสิทธิภาพการสกัดสูงสุด คือการใช้สารละลายกรด hydrochloric ที่ระดับ pH 4.5 เป็นตัวทำละลายในการสกัดและใช้เวลาในการสกัด 60 นาที

ตารางที่ 4.8 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของชนิดของตัวทำละลายในการสกัดและเวลาในการสกัด

Source of variance	df	MS
ตัวทำละลายในการสกัด (A)	5	0.89^{*}
เวลาในการสกัด (B)	5	0.34^{*}
A x B	25	0.13^{*}
Error	36	8.36×10^{-3}

เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลด้วยการใช้สมการถดถอยเชิงเส้น จะได้รูปแบบสมการของตัวทำละลายในการสกัดแต่ละชนิด ดังตารางที่ 4.9 จากนั้น differentiate ($\frac{d}{dt}$) สมการของเส้นกราฟที่ได้ และกำหนดให้สมการมีค่าเท่ากับศูนย์ พบว่าเวลาในการสกัดที่ให้ปริมาณแอนโธไซยานินส์สูงสุดเมื่อใช้น้ำกลั่น สารละลายกรด hydrochloric, acetic, formic, malic และ citric เป็นตัวทำละลายในการสกัด คือ 32.2 72.5 77.5 91.4 105 และ 100 นาที ตามลำดับ และปริมาณแอนโธไซยานินส์ที่สกัดได้เป็น 12.00 12.40 12.32 12.45 11.93 และ 12.02 มิลลิกรัมแอนโธไซยานินส์ต่อกรัมดอกอัญชันตามลำดับ และเมื่อพิจารณาเกณฑ์การเลือกตัวทำละลายในการสกัดจากปริมาณแอนโธไซยานินส์ที่สกัดได้ เวลาในการสกัด และเสถียรภาพของสารละลายสกัดแอนโธไซยานินส์เมื่อเวลาในการสกัดผ่านไป พบว่าการใช้สารละลายกรด hydrochloric เป็นตัวทำละลายในการสกัดมีประสิทธิภาพสูงสุด ส่วนการใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายในการสกัด พบว่าเมื่อเวลาในการสกัด

นานกว่า 33 นาที เสถียรภาพของแอนโธไซยานินส์จะลดลงอย่างรวดเร็ว ทั้งนี้เนื่องจาก pH ของน้ำกลั่นค่อนข้างเป็นกลาง (pH 6.2) ทำให้แอนโธไซยานินส์เปลี่ยน form จาก flavylium cation ไปอยู่ในรูปอื่น (Brouillard, 1982) ทำให้ปริมาณแอนโธไซยานินส์ลดลงเมื่อเวลาในการสกัดนานกว่า 33 นาที

ตารางที่ 4.9 ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการสกัดกับปริมาณแอนโธไซยานินส์ที่สกัดได้

ตัวทำละลาย	รูปแบบสมการ	R^2
น้ำกลั่น	$y = 11.91+0.0058t-0.00009t^2$	0.93
สารละลายกรด hydrochloric	$y = 12.08+0.0087t-0.00006t^2$	0.87
สารละลายกรด acetic	$y = 12.08+0.0062t-0.00004t^2$	0.89
สารละลายกรด formic	$y = 11.54+0.0201t-0.00011t^2$	0.98
สารละลายกรด malic	$y = 11.49+0.0084t-0.00004t^2$	0.96
สารละลายกรด citric	$y = 11.62+0.0080t-0.00004t^2$	0.92

เนื่องจากสารละลายที่ใช้เป็นตัวทำละลายในการสกัดมี pH 4.5 เท่ากัน จำนวนโปรตอน (H^+) ในสารละลายจึงควรเท่ากัน ดังนั้นประสิทธิภาพการสกัดจึงขึ้นกับความมีขั้วของตัวทำละลายในการสกัด เมื่อเปรียบเทียบความแรงของสารละลายกรดทั้ง 5 ชนิด พบว่าสารละลายกรด hydrochloric มี polarity สูงสุด (Willard, Merritt และ Dean, 1958) ดังนั้นจึงมีประสิทธิภาพการสกัดสูงสุด ส่วนการใช้สารละลายกรดอินทรีย์เป็นตัวทำละลายในการสกัด เมื่อพิจารณาเวลาในการสกัดและเสถียรภาพของสารละลายสกัดแอนโธไซยานินส์เมื่อเวลาในการสกัดผ่านไป พบว่าการใช้สารละลายกรด acetic มีประสิทธิภาพการสกัดสูงสุด โดยให้ผลเช่นเดียวกับผลงานวิจัยของ Metivier และคณะ (1980) ซึ่งศึกษาชนิดของตัวทำละลายในการสกัดที่มีผลต่อการสกัดแอนโธไซยานินส์จากกากองุ่นที่เหลือจากการทำไวน์ โดยพบว่าการใช้สารละลายกรด acetic มีประสิทธิภาพการสกัดสูงสุด ถึงแม้ว่าการใช้สารละลายกรด formic เป็นตัวทำละลายในการสกัดจะให้ปริมาณแอนโธไซยานินส์สูงสุดสูงกว่าการใช้สารละลายกรด acetic เป็นตัวทำละลายในการสกัด แต่เมื่อพิจารณาเวลาในการสกัดที่ให้ปริมาณแอนโธไซยานินส์สูงสุด และเสถียรภาพของสารละลายสกัดแอนโธไซยานินส์เมื่อเวลาใน

การสกัดผ่านไป พบว่าการใช้สารละลายกรด formic เป็นตัวทำละลายในการสกัดมีประสิทธิภาพการสกัดต่ำกว่าการใช้สารละลายกรด acetic

ดังนั้นงานทดลองในขั้นต่อไปจะใช้สารละลายกรด hydrochloric ที่ pH 4.5 เป็นตัวทำละลายในการสกัด และใช้เวลาในการสกัด 73 นาที

4.2.4 ศึกษาผลของอัตราส่วนระหว่างตัวทำละลายในการสกัดกับปริมาณดอกอัญชันร่วมกับการเขย่าในระหว่างการสกัด

ผลของอัตราส่วนระหว่างตัวทำละลายในการสกัดกับปริมาณดอกอัญชันร่วมกับการเขย่าในระหว่างการสกัดที่มีต่อปริมาณแอนโธไซยานินส์ที่สกัดได้ โดยใช้สารละลายกรด hydrochloric ที่ pH 4.5 เป็นตัวทำละลายในการสกัด และใช้เวลาในการสกัด 73 นาที แสดงดังตารางที่ 4.10

ตารางที่ 4.10 ผลของอัตราส่วนระหว่างตัวทำละลายในการสกัดกับปริมาณดอกอัญชันร่วมกับการเขย่าในระหว่างการสกัดที่มีต่อปริมาณแอนโธไซยานินส์ที่สกัดได้

อัตราส่วนระหว่างตัวทำละลายกับวัตถุดิบ	ปริมาณแอนโธไซยานินส์ที่สกัดได้ (มิลลิกรัมแอนโธไซยานินส์ต่อกรัมดอกอัญชัน)			
	ในสารละลาย		ในกาก*	
	เขย่า	ไม่เขย่า	เขย่า	ไม่เขย่า
120:5	$13.08^{c} \pm 0.01$	$11.42^{f} \pm 0.06$	1.09	1.12
120:4	$13.11^{c} \pm 0.01$	$12.17^{e} \pm 0.11$	0.94	0.87
120:3	$14.29^{a} \pm 0.03$	$13.16^{c} \pm 0.10$	0.75	0.69
120:2	$13.43^{b} \pm 0.03$	$12.88^{d} \pm 0.07$	0.58	0.50
120:1	$13.23^{c} \pm 0.08$	$12.85^{e} \pm 0.03$	0.40	0.35

หมายเหตุ

a,b,c,... ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

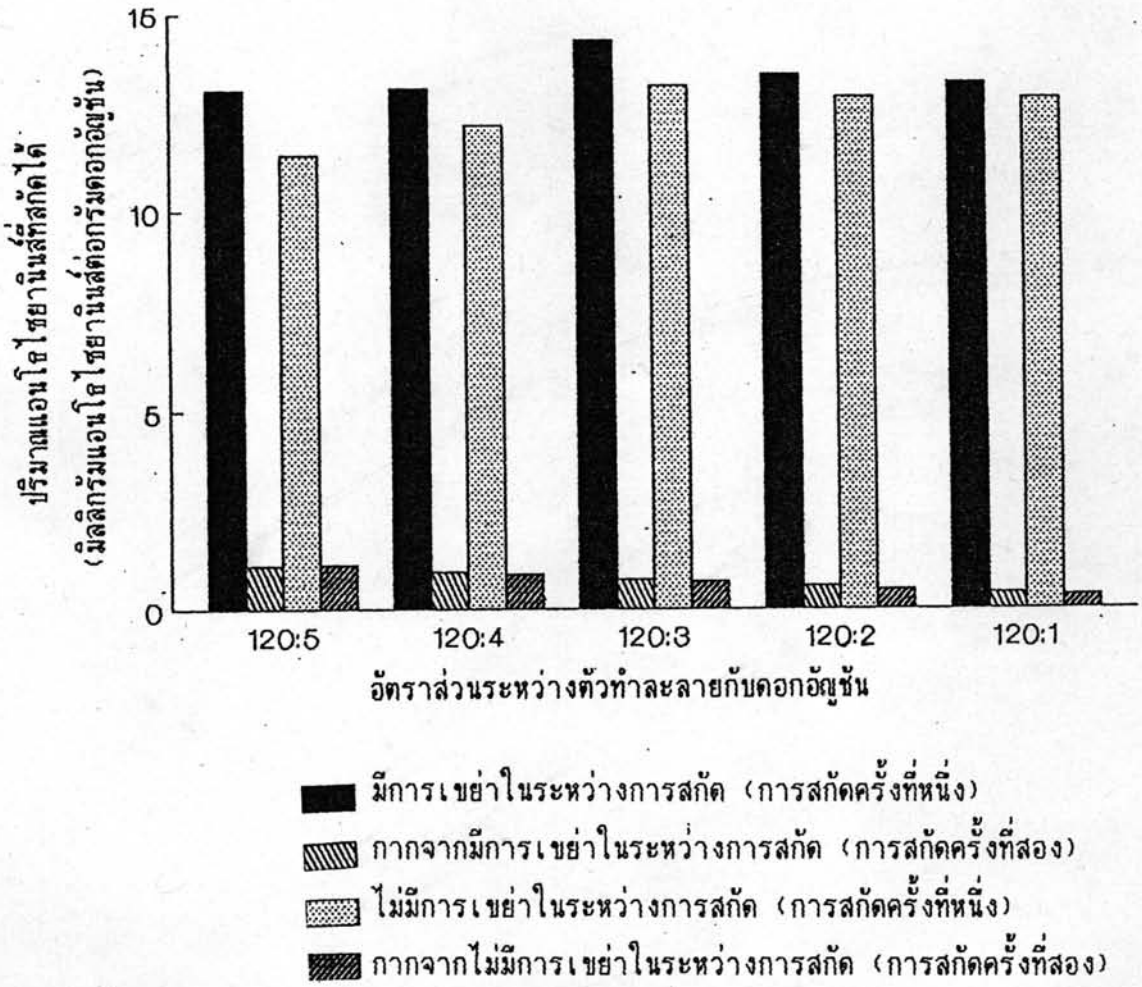
* ไม่มีการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยทางสถิติ

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า ทั้งอัตราส่วนระหว่างตัวทำละลายในการสกัดกับปริมาณดอกอัญชัน และการเขย่ามีผลต่อปริมาณแอนโธไซยานินส์ที่สกัดได้ โดยปริมาณแอนโธไซยานินส์ที่สกัดได้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 4.11) และเมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยปริมาณแอนโธไซยานินส์ที่สกัดได้โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test พบว่าระดับที่ให้ประสิทธิภาพการสกัดสูงสุดคืออัตราส่วนระหว่างตัวทำละลายในการสกัดกับปริมาณดอกอัญชันเท่ากับ 120:3 และมีการเขย่าในระหว่างการสกัด ทั้งนี้เนื่องจากการเขย่าเป็นการเพิ่มการสัมผัสระหว่างตัวทำละลายและวัตถุดิบทำให้อัตราการแลกเปลี่ยนมวลสารเกิดได้ดีขึ้น

จากตารางที่ 4.10 และรูปที่ 4.5 จะพบว่าปริมาณแอนโธไซยานินส์ที่สกัดได้เมื่อมีการเขย่าในระหว่างการสกัดมีค่าสูงกว่าเมื่อไม่มีการเขย่าในระหว่างการสกัดที่ทุก ๆ อัตราส่วน และที่อัตราส่วนระหว่างตัวทำละลายในการสกัดกับปริมาณดอกอัญชันเท่ากับ 120:3 จะได้ปริมาณแอนโธไซยานินส์สูงสุด แต่เมื่ออัตราส่วนระหว่างตัวทำละลายในการสกัดกับปริมาณดอกอัญชันเป็น 120:4 และ 120:5 จะพบว่าปริมาณแอนโธไซยานินส์ที่สกัดได้ลดลง ซึ่งเป็นผลจากปริมาณดอกอัญชันที่เพิ่มขึ้นทำให้ตัวทำละลายในการสกัดมีปริมาณไม่เพียงพอในการสกัดแอนโธไซยานินส์ออกได้หมด โดยผลสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ปริมาณแอนโธไซยานินส์ในกากที่ได้จากการสกัดครั้งแรก (ตารางที่ 4.10) ซึ่งพบว่าปริมาณแอนโธไซยานินส์ในกากจะเพิ่มขึ้นเมื่ออัตราส่วนระหว่างตัวทำละลายในการสกัดกับปริมาณดอกอัญชันเพิ่มจาก 120:3 เป็น 120:4 และ 120:5 การสกัดแอนโธไซยานินส์จากดอกอัญชันควรสกัดหนึ่งครั้ง เนื่องจากปริมาณแอนโธไซยานินส์ที่สกัดได้จากปริมาณที่เหลือในกากมีค่าต่ำกว่าการสกัดครั้งแรกมาก (รูปที่ 4.5) โดยเฉลี่ยแล้วการสกัดครั้งแรกจะให้ปริมาณแอนโธไซยานินส์ประมาณร้อยละ 90

ตารางที่ 4.11 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของอัตราส่วนระหว่างตัวทำละลายในการสกัดกับปริมาณดอกอัญชันร่วมกับการเขย่าในระหว่างการสกัด

Source of variance	df	MS
อัตราส่วนระหว่างตัวทำละลายกับดอกอัญชัน (A)	4	1.24*
การเขย่า (B)	1	4.35*
A x B	4	0.25*
Error	10	4.03×10^{-3}



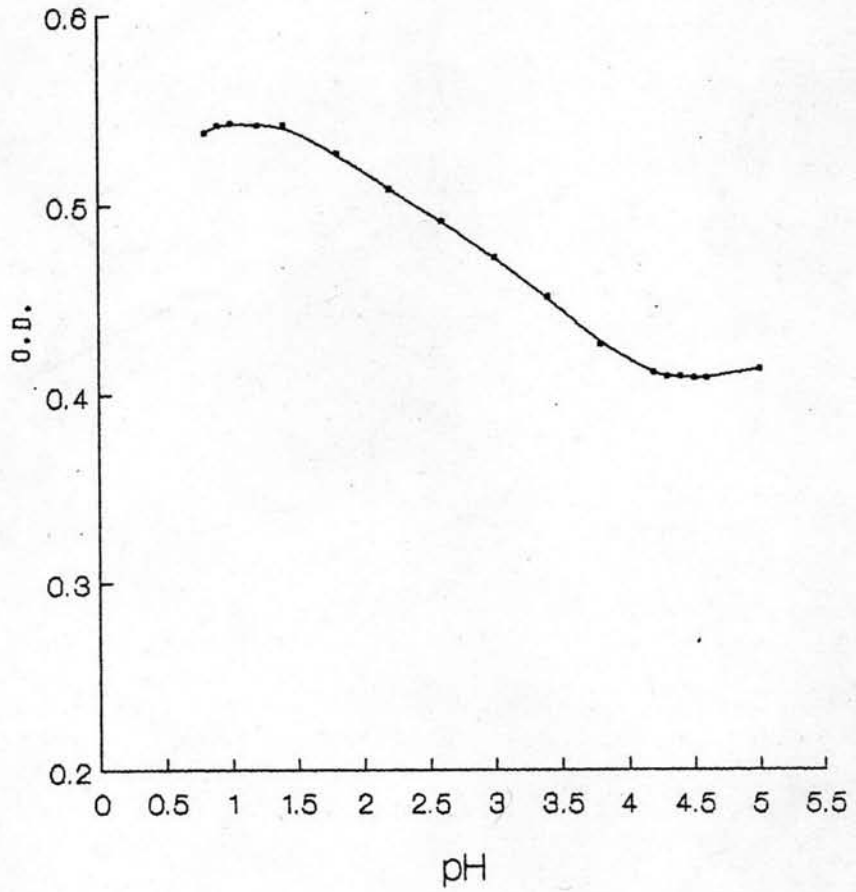
รูปที่ 4.5 ผลของอัตราส่วนระหว่างตัวทำละลายในการสกัดกับปริมาณดอกอัญชัน ต่อปริมาณแอนโธไซยานินส์ที่สกัดได้

ดังนั้นในการทดลองขั้นต่อไปใช้ภาวะในการสกัดดังนี้ ใช้สารละลายกรด hydrochloric pH 4.5 เป็นตัวทำละลายในการสกัด โดยมีอัตราส่วนระหว่างตัวทำละลายในการสกัดกับปริมาณดอกอัญชันเท่ากับ 120:3 ใช้เวลาในการสกัด 73 นาที และมีการเขย่าในระหว่างการสกัด

4.3 ศึกษาเสถียรภาพของสารละลายสกัดแอนโธไซยานินส์

4.3.1 การเตรียมสารละลายสกัดแอนโธไซยานินส์

พิจารณาเลือกระดับ pH สำหรับวิเคราะห์ปริมาณแอนโธไซยานินส์ในสารละลายสกัดด้วยวิธี pH differential ตามวิธีของ Fuleki และ Francis (1968b) จากข้อมูลความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายสกัดแอนโธไซยานินส์ที่ความยาวคลื่น 543 นาโนเมตร ในสารละลายบัฟเฟอร์ที่ช่วง pH 0.8-5.0 ซึ่งแสดงดังรูปที่ 4.6



รูปที่ 4.6 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายสกัดแอนโธไซยานินส์ที่ความยาวคลื่น 543 นาโนเมตร

ในภาวะที่สารละลายสกัดมีความเป็นกรดสูง (pH 1.0) ความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดจะเปลี่ยนจาก 572 นาโนเมตร เป็น 543 นาโนเมตร แสดงว่ามีการเลื่อนสมดุลของแอนโธไซยานินส์ในสารละลายสกัด ทำให้แอนโธไซยานินส์เปลี่ยน form เป็น flavylium cation จากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายสกัดแอนโธไซยานินส์ที่ช่วง pH 0.8-5.0 พบว่าระดับ pH ที่ควรเลือกใช้สำหรับวิเคราะห์ปริมาณแอนโธไซยานินส์คือ pH 1.0 และ pH 4.5 ซึ่งเป็นระดับ pH เดียวกับระดับ pH ในผลงานวิจัยของ Fuleki และ Francis (1968b) เนื่องจากค่าการดูดกลืนแสงที่ระดับ pH ทั้งสองซึ่งมีค่าสูงสุดและต่ำสุดให้ค่าผลต่างห่างกันมากที่สุด และค่าการดูดกลืนแสงมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดต่างรอบ ๆ ค่า pH ที่เลือก

เมื่อวิเคราะห์ปริมาณแอนโธไซยานินส์ในสารละลายสกัดแอนโธไซยานินส์ก่อนและหลังการ pasteurization ด้วยวิธี pH differential พบว่าการ pasteurization สารละลายสกัดแอนโธไซยานินส์ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที มีผลต่อการสลายตัวของแอนโธไซยานินส์เล็กน้อย ดังตารางที่ 4.12

ตารางที่ 4.12 ผลการ pasteurization ต่อเสถียรภาพของแอนโธไซยานินส์

	ร้อยละปริมาณแอนโธไซยานินส์
สารละลายสกัดก่อนการ pasteurization	100.0
สารละลายสกัดหลังการ pasteurization	93.2

4.3.2 ผลของอุณหภูมิในการเก็บสารละลายสกัดแอนโธไซยานินส์

เมื่อนำสารละลายสกัดแอนโธไซยานินส์ที่เก็บที่อุณหภูมิห้องเย็น (4±1°C) และอุณหภูมิห้อง (30±1°C) มาวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 350 - 700 นาโนเมตร พบว่าความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารละลายสกัดที่ทั้งสองอุณหภูมิการเก็บมีค่าเท่ากันที่ความยาวคลื่น 572 นาโนเมตร และมีค่าคงที่ตลอดระยะเวลา 63 วัน ผลการตรวจปริมาณเชื้อยีสต์และราในสารละลายสกัดที่ระยะเวลา 28 และ 63 วัน ไม่พบการเจริญของเชื้อยีสต์และรา ผลการวิเคราะห์ปริมาณแอนโธไซยานินส์ทั้งหมด (TAcy) ของสารละลายสกัดด้วยวิธี pH differential ซึ่งแสดงในรูปของ relative TAcy (%) แสดงดังตารางที่ 4.13 - 4.14 ผลการวิเคราะปริมาณสี polymeric (PC) และผลการวิเคราะห์ปริมาณความเข้มของสีทั้งหมด (TCD) แสดงดังตารางที่ 4.15 - 4.17

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่าในช่วง 21 วันแรก ปริมาณ TAcy ของสารละลายสกัดที่เก็บที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิห้องเย็นไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แต่ที่อายุการเก็บ 28 วันขึ้นไป พบว่าอุณหภูมิในการเก็บมีผลต่อปริมาณ TAcy ในสารละลายสกัด โดยปริมาณ TAcy ในสารละลายสกัดที่เก็บที่อุณหภูมิห้องเย็นจะมีอัตราการลดลงช้ากว่าในสารละลายสกัดที่เก็บที่อุณหภูมิห้อง (ตารางที่ 4.13) และเมื่อระยะเวลาผ่านไป 63 วัน พบว่าปริมาณ TAcy ในสารละลายสกัดลดลงเหลือร้อยละ 59.42 และ 36.59 ตามลำดับ โดยค่าครึ่งชีวิตของสารละลายสกัดที่เก็บที่อุณหภูมิห้องเย็นมีค่าประมาณ 81 วัน (อาศัยข้อมูลจากตารางที่ 4.20) ในขณะที่ค่าครึ่งชีวิตของสารละลายสกัดที่เก็บที่อุณหภูมิห้องมีค่าประมาณ 48 วัน (รูปที่ 4.7) ดังนั้นการเก็บสารละลายสกัดที่อุณหภูมิห้องเย็นจะทำให้แอนโธไซยานินส์มีเสถียรภาพที่ดีกว่าการเก็บสารละลายสกัดที่อุณหภูมิห้อง ซึ่งผลการทดลองเป็นไปในทำนองเดียวกับงานวิจัยของ Palamidis และ Markakis (1975) ที่ศึกษาเสถียรภาพของแอนโธไซยานินส์ที่สกัดจากผลองุ่นและใช้เป็นสีผสมอาหารเติมลงใน carbonated beverage โดยพบว่าการเก็บผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิต่ำจะทำให้ปริมาณแอนโธไซยานินส์ลดลงน้อยกว่าการเก็บผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิสูง และปริมาณแอนโธไซยานินส์ที่สูญเสียไปในผลิตภัณฑ์ที่เก็บที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียสจะสูงเป็น 2 เท่าของในผลิตภัณฑ์ที่เก็บที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 4.13 ปริมาณ relative TAcy (%) ของสารละลายสกัดแอนโธไซยานินส์ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิห้องเย็น

ระยะเวลา (วัน)	อุณหภูมิ	
	4±1 °C	30±1 °C
0 ns	100±0	100±0
7 ns	92.72±1.04	90.57±0.71
14 ns	85.49±1.07	83.49±4.74
21 ns	80.26±1.64	79.85±1.52
28	77.87^{a}±1.02	70.49^{b}±1.05
35	70.15^{a}±1.81	61.69^{b}±1.03
42	67.88^{a}±0.47	58.42^{b}±1.66
49	66.10^{a}±1.12	49.00^{b}±0.45
56	62.07^{a}±1.20	36.93^{b}±1.05
63	59.42^{a}±1.41	36.59^{b}±0.57

หมายเหตุ

a,b ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันของข้อมูลในแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

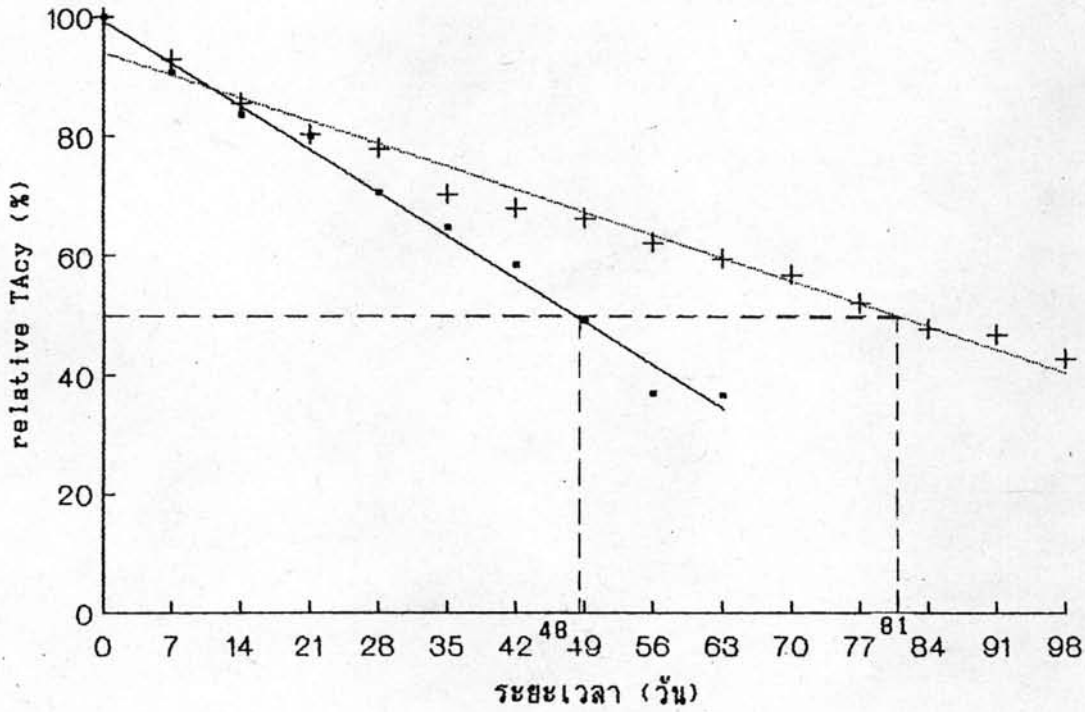
ns ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4.14 ค่า F จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของ relative TAcy (%) ของสารละลายสกัดแอนโธไซยานินส์ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิห้องเย็น

ระยะเวลา (วัน)	ค่า F ของ relative TAcy
0	–
7	5.83
14	0.34
21	6.99
28	50.85*
35	32.96*
42	60.12*
49	402.66*
56	497.93*
63	447.85*

หมายเหตุ

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยที่ค่า $F_{(1,2)}$ จากตาราง = 18.51



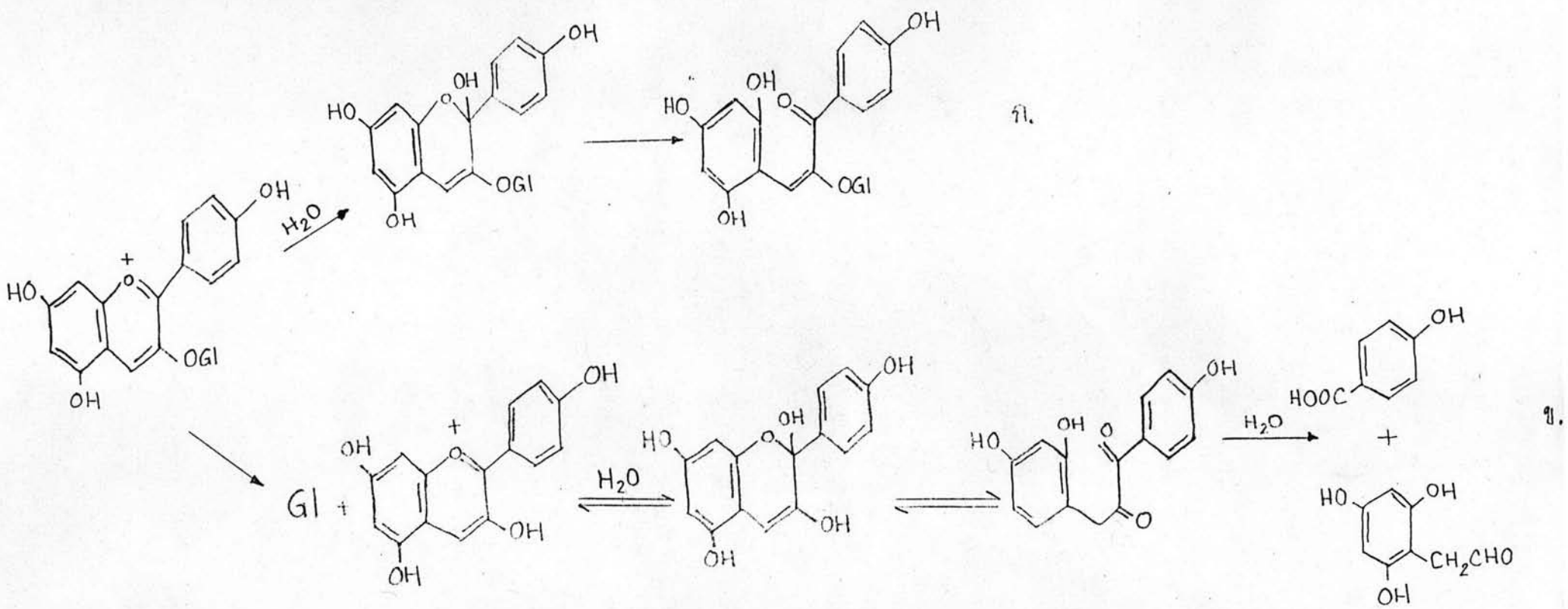
▪ อุณหภูมิห้อง

\+ อุณหภูมิห้องเย็น

รูปที่ 4.7 ค่าครึ่งชีวิตของแอนโธไซยานินส์ในสารละลายสกัด

กลไกการสลายตัวของแอนโธไซยานินส์เนื่องจากอุณหภูมิยังไม่เป็นที่แน่ชัด กลไกที่สามารถอธิบายได้มีอยู่ 2 กลไก คือ กลไกตามแนวความคิดของ Markakis และคณะ (1957) ซึ่งเสนอว่า heterocyclic ring ของ colourless pseudobase จะเปิดออกเพื่อที่จะเปลี่ยนเป็น colourless chalcone จากนั้นจะเกิดปฏิกิริยา hydrolysis ที่พันธะ glycosidic ดังรูป 4.8 ก. ส่วนอีกกลไกหนึ่งอธิบายโดย Adams และคณะ (1973) ว่าเมื่อสารละลายแอนโธไซยานินส์ที่ช่วง pH 2-4 ได้รับความร้อน จะเกิดปฏิกิริยา hydrolysis ที่พันธะ glycosidic ทำให้ได้แอนโธไซยานิดินส์ จากนั้นจะเปลี่ยนรูปเป็น chalcone ซึ่งในที่สุดจะได้ α-diketone ตามรูป 4.8 ข.

เมื่อระยะเวลาในการเก็บนานขึ้น จะพบว่าปริมาณ PC ในสารละลายสกัดมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 4.15 และ 4.17) ในขณะที่ปริมาณ TAcy มีค่าลดลง ทั้งนี้เนื่องจากแอนโธไซยานินส์บางส่วนในสารละลายสกัดเกิดปฏิกิริยา polymerization ได้ polymeric pigments ซึ่งปริมาณ polymeric pigments (วัดในรูป PC) ที่เพิ่มขึ้นสามารถวิเคราะห์ได้โดยอาศัยความแตกต่างระหว่างแอนโธไซยานินส์ และ polymeric pigments ในการถูกฟอกสีด้วย sulphur dioxide (SO_2) หรือสารประกอบ sulfite โดยที่ polymeric pigments จะไม่ถูกฟอกสีด้วยสารประเภทนี้ (Somers, 1971) ตามปกติเมื่อ SO_2 หรือสารประกอบ sulfite ชนิดต่าง ๆ ละลายน้ำจะอยู่ในรูปของกรด sulfurous อิสระ (H_2SO_3) bisulfite ion (HSO_3^-) และ sulfite ion (SO_3^{2-}) ในการทดลองใช้ potassium metabisulfite ($K_2S_2O_5$) ซึ่งเป็นสารประกอบ sulfite ชนิดหนึ่ง เป็นสารฟอกสีแอนโธไซยานินส์ เมื่อละลาย $K_2S_2O_5$ ในน้ำจะได้ HSO_3^- สองโมเลกุล ($S_2O_5^{2-} + H_2O \longrightarrow 2HSO_3^-$) สีของแอนโธไซยานินส์จะถูกฟอกสีด้วย HSO_3^- (Jurd, 1964; Timberlake และ Bridle, 1967) โดยปฏิกิริยาเกิดจาก HSO_3^- ทำปฏิกิริยากับแอนโธไซยานินส์ในอัตราส่วน 1:1 ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นแบบ nucleophilic addition เป็นปฏิกิริยาที่ผันกลับได้ โดย HSO_3^- จะเข้าทำปฏิกิริยาที่คาร์บอนตำแหน่งที่สี่ของแอนโธไซยานินส์ได้สารประกอบ chromen-4(or2)-sulfonic acid (รูปที่ 4.9) ซึ่งเป็นสารประกอบที่ไม่มีสีและมีเสถียรภาพดีกว่าแอนโธไซยานินส์มาก HSO_3^- จะมีความจำเพาะสูง (high affinity) ในการทำปฏิกิริยากับแอนโธไซยานินส์เฉพาะที่อยู่ใน form ของ flavylium cation แต่จะไม่ทำปฏิกิริยากับแอนโธไซยานินส์ที่อยู่ใน form ของ chalcone



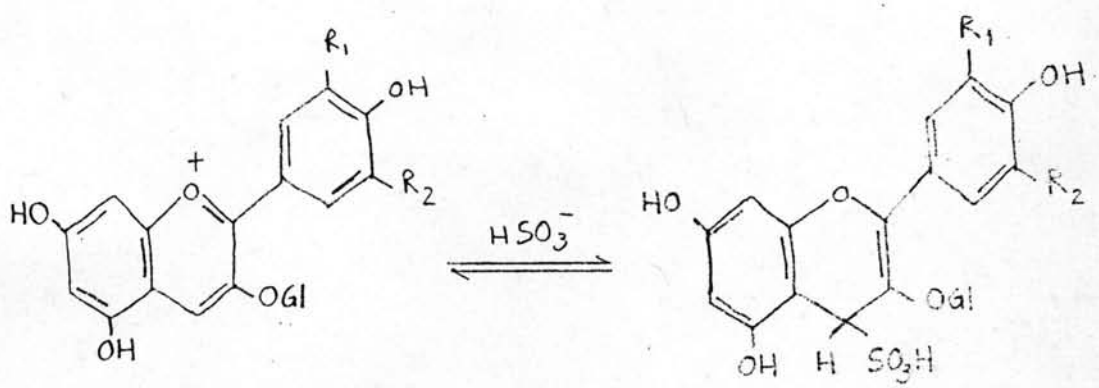
ก. แนวความคิดของ Markakis และคณะ (1957)

ข. แนวความคิดของ Adams (1973)

รูปที่ 4.8 กลไกการสลายตัวของแอนโธไซยานินส์

ตารางที่ 4.15 ปริมาณ PC ของสารละลายสกัดแอนโธไซยานินส์ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิห้องเย็น

ระยะเวลา (วัน)	อุณหภูมิ	
	4±1°C	30±1°C
0	0.313±0.004	0.293±0.004
7	0.320±0.007	0.313±0.004
14	0.330±0.004	0.347±0.004
21	0.339±0.005	0.402±0.004
28	0.341±0.004	0.435±0.001
35	0.351±0.002	0.456±0.001
42	0.352±0.001	0.458±0.001
49	0.353±0.001	0.459±0
56	0.356±0.004	0.461±0.003
63	0.359±0.007	0.465±0.003



R_1, R_2 อาจเป็น H, OH หรือ OCH_3

flavylium cation chromen-4(or2)-sulfonic acid

รูปที่ 4.9 การฟอกสีแอนโธไซยานินส์ด้วยสารประกอบ sulfite

จากตารางที่ 4.15 พบว่าอุณหภูมิในการเก็บสารละลายสกัดมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของปริมาณ PC ดังนั้นอุณหภูมิในการเก็บสารละลายสกัดที่เหมาะสมควรเป็นอุณหภูมิที่ให้ผลในการชลอการเพิ่มขึ้นของปริมาณ PC เนื่องจากการเกิดปฏิกิริยา polymerization ทำให้มีการสูญเสียแอนโธไซยานินส์บางส่วน นอกจากนี้ยังทำให้สารละลายสกัดมีสีเข้มขึ้น จากผลการทดลองพบว่า ปริมาณ PC ในสารละลายสกัดที่เก็บที่อุณหภูมิห้องเย็นมีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นที่ช้ากว่าในสารละลายสกัดที่เก็บที่อุณหภูมิห้อง ซึ่งผลสอดคล้องกับการลดลงของปริมาณ TAcy โดยปริมาณ TAcy ในสารละลายสกัดที่เก็บที่อุณหภูมิห้องเย็นมีแนวโน้มการลดลงที่ช้ากว่าในสารละลายสกัดที่เก็บที่อุณหภูมิห้อง

เมื่อระยะเวลาในการเก็บนานขึ้น จะพบว่าปริมาณ TCD มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 4.16 และ 4.17) เนื่องจากเกิดการสลายตัวของแอนโธไซยานินส์ในสารละลายสกัด ซึ่งปริมาณ TCD หาได้จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงของแอนโธไซยานินส์ และสารประกอบ phenolics อื่น ๆ ในสารละลายสกัด (ภาคผนวก) จากตารางที่ 4.16 จะพบว่าอุณหภูมิในการเก็บสารละลายสกัดมีผลต่อการสลายตัวของแอนโธไซยานินส์ โดยปริมาณ TCD ในสารละลายสกัดที่เก็บที่อุณหภูมิห้องเย็นมีแนวโน้มการลดลงที่ช้ากว่าในสารละลายสกัดที่เก็บที่อุณหภูมิห้อง

ตารางที่ 4.16 ปริมาณ TCD ของสารละลายสกัดแอนโธไซยานินส์ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิห้องเย็น

ระยะเวลา (วัน)	อุณหภูมิ	
	4±1°C	30±1°C
0	0.801±0.004	0.810±0.003
7	0.798±0.006	0.810±0.008
14	0.796±0.001	0.793±0.004
21	0.773±0.004	0.776±0.003
28	0.760±0.007	0.760±0.008
35	0.745±0.002	0.743±0.009
42	0.718±0.006	0.690±0.008
49	0.690±0.006	0.541±0.020
56	0.672±0.003	0.474±0.002
63	0.638±0.008	0.461±0.001

ตารางที่ 4.17 ค่า F จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของ TCD และ PC ของสารละลายสกัดแอนโธไซยานินส์ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิห้องเย็น

อุณหภูมิในการเก็บ (°C)	ค่า F	
	TCD	PC
4±1°C	259.63*	27.60*
30±1°C	542.81*	1494.65*

หมายเหตุ

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยที่ค่า $F_{(2,10)}$ จากตาราง = 3.02

4.3.3 ผลของวัตถุเจือปนอาหารในการรักษาเสถียรภาพของแอนโธไซยานินส์ในสารละลายสกัดแอนโธไซยานินส์

4.3.3.1 ผลของการใช้สาร glutathione ร่วมกับ tartaric acid

เมื่อเก็บสารละลายสกัดที่มีการใช้สาร glutathione ร่วมกับ tartaric acid ซึ่งเป็นวัตถุเจือปนที่อุณหภูมิห้องเย็น โดยแปรปริมาณ glutathione: tartaric acid เป็น 0:0 10:150 10:250 10:400 20:150 20:250 และ 20:400 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร พบว่าความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารละลายสกัดมีค่าคงที่ตลอดระยะเวลา 98 วัน (ตารางที่ 4. 18) ผลการตรวจปริมาณเชื้อยีสต์และราในสารละลายสกัดที่ระยะเวลา 28 63 และ 98 วัน ไม่พบการเจริญของเชื้อยีสต์และรา ค่า pH ของสารละลายสกัด แสดงดังตารางที่ 4.19 ผลการวิเคราะห์ปริมาณแอนโธไซยานินส์ทั้งหมด (TAcy) ของสารละลายสกัดด้วยวิธี pH differential ซึ่งแสดงในรูปของ relative TAcy (%) แสดงดังตารางที่ 4.20 - 4.23 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสี polymeric (PC) และผลการวิเคราะห์ปริมาณความเข้มของสีทั้งหมด (TCD) แสดงดังตารางที่ 4.24 - 4.26

ตารางที่ 4.18 ความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารละลายสกัดที่มีการใช้สาร glutathione ร่วมกับ tartaric acid ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้องเย็น

ปริมาณ glutathione : tartaric acid (มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร)	λ_{max} (nm)
0:0	572
10:150	570
10:250	568
10:400	567
20:150	570
20:250	568
20:400	567

ตารางที่ 4.19 pH ของสารละลายสกัดที่มีการใช้สาร glutathione ร่วมกับ tartaric acid ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้องเย็น

ปริมาณ glutathione : tartaric acid (มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร)	pH
0:0	4.94-5.10
10:150	3.17-3.27
10:250	2.88-3.02
10:400	2.70-2.84
20:150	3.11-3.21
20:250	2.88-3.01
20:400	2.73-2.86

จากตารางที่ 4.20 - 4.23 ที่ปริมาณ glutathione 10 และ 20 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร พบว่าการใช้สาร glutathione ร่วมกับ tartaric acid เป็นวัตถุเจือปนในสารละลายสกัดให้ผลในการชลอการลดลงของปริมาณ TAcy ได้ดีกว่าเมื่อไม่ใช้วัตถุเจือปนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และเมื่อพิจารณาการใช้ tartaric acid พบว่าที่ปริมาณ glutathione 10 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร การใช้ tartaric acid ในปริมาณ 250 และ 400 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร จะให้ผลในการชลอการลดลงของปริมาณ TAcy ได้ดีกว่าการใช้ tartaric acid ในปริมาณ 150 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ส่วนที่ปริมาณ glutathione 20 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร การใช้ tartaric acid ในปริมาณ 150 250 และ 400 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร จะให้ผลในการชลอการลดลงของปริมาณ TAcy ไม่แตกต่างกัน (รูปที่ 4.10 - 4.11)

การใช้ tartaric acid เป็นวัตถุเจือปนจะทำให้สารละลายสกัดมีความเป็นกรดเพิ่มขึ้นซึ่งจะช่วยเลื่อนสมดุลของแอนโธไซยานินส์ไปสู่ใน form ของ flavylium cation ทำให้แอนโธไซยานินส์มีเสถียรภาพที่ดีขึ้น การใช้ tartaric acid ในปริมาณ 250 และ 400 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร ทำให้สารละลายสกัดมี pH ต่ำกว่าการใช้ tartaric acid ในปริมาณ 150 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร (ตารางที่ 4.19) ดังนั้นการใช้ tartaric acid ในปริมาณสูงจะช่วยชลอการลดลงของปริมาณ TAcy ได้ดีกว่าการใช้ tartaric acid ในปริมาณต่ำ จึงเป็นการช่วยเพิ่มเสถียรภาพของแอนโธไซยานินส์ แต่การใช้ tartaric acid ในปริมาณสูงมากเกินไปจะเพิ่มการลดลงของปริมาณแอนโธไซยานินส์ เช่นในงานวิจัยของ Maccarone, Maccarrone และ Rapisarda (1985) ใช้สาร glutathione ร่วมกับ tartaric acid ในปริมาณ 10:150 10:250 และ 10:500 มิลลิกรัมต่อน้ำส้มพันธุ์ "Moro" 100 มิลลิลิตร เพื่อวัตถุประสงค์ในการรักษาเสถียรภาพของแอนโธไซยานินส์ ผลการทดลองพบว่า ปริมาณวัตถุเจือปนที่เหมาะสมคือใช้ glutathione: tartaric acid ในปริมาณ 10:250 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร ซึ่งให้ผลในการชลอการลดลงของปริมาณ TAcy ได้ดีกว่าการใช้วัตถุเจือปนที่ระดับ 10:150 และ 10:500 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร โดยที่ค่าครึ่งชีวิตของแอนโธไซยานินส์ในน้ำส้มมีค่า 82 50 และ 70 วัน ตามลำดับ และพบว่าการใช้ glutathione:tartaric acid ในปริมาณ 10:500 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร ทำให้การลดลงของปริมาณ TAcy สูงกว่าการใช้ glutathione:tartaric acid ในปริมาณ 10:250 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร เนื่องจาก tartaric acid สามารถเร่งการเกิด hydrolysis อย่างช้า ๆ ของน้ำตาลที่ต่อกับแอนโธไซยานินส์ ทำให้ได้แอนโธไซยานิดินส์ที่ไม่เสถียร

ตารางที่ 4.20 ปริมาณ relative TAcy (%) ของสารละลายสกัดแอนโธไซยานินส์ที่ปริมาณ glutathione 10 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้องเย็น

ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณ glutathione : tartaric acid (มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร)			
	0:0	10:150	10:250	10:400
0[ns]	100.00±0	100.00±0	100.00±0	100.00±0
7[ns]	92.72±1.04	93.61±1.54	95.21±0	95.70±0.55
14	85.49[b]±1.07	87.42[b]±0.01	93.25[a]±1.71	90.83[a]±0.28
21	80.26[b]±1.64	81.22[b]±1.54	91.78[a]±0.11	89.84[a]±0
28	77.87[b]±1.02	78.37[b]±1.73	90.12[a]±1.17	89.26[a]±0.28
35	70.15[c]±1.81	75.69[b]±1.68	83.59[a]±2.60	88.48[a]±0.28
42	67.88[c]±0.47	72.84[c]±1.86	80.23[b]±3.46	87.50[a]±0
49	66.10[c]±1.12	70.15[c]±1.81	77.86[b]±1.24	84.38[a]±3.32
56	62.07[d]±1.20	68.79[c]±0.11	77.46[b]±4.04	84.38[a]±1.11
63	59.42[c]±1.41	66.76[b]±2.05	79.06[a]±0.45	82.03[a]±0
70	56.71[d]±0.75	68.13[c]±0.82	80.24[b]±0.11	82.42[a]±0.55
77	52.00[c]±2.38	67.80[b]±1.29	79.85[a]±0.45	82.03[a]±0
84	47.59[c]±0.84	63.77[b]±1.22	78.66[a]±1.00	80.08[a]±0.55
91	46.74[c]±1.95	61.41[b]±0.26	76.68[a]±0.42	78.91[a]±0
98	42.76[d]±0.58	60.74[c]±0.28	76.29[b]±0.13	78.13[a]±0

หมายเหตุ

a,b,c,... ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันของข้อมูลในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ns ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4.21 ค่า F จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของ relative TAcy (%) ของสารละลายสกัดแอนโธไซยานินส์ที่ปริมาณ glutathione 10 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้องเย็น

ระยะเวลา (วัน)	ค่า F ของ relative TAcy
0	-
7	4.09
14	23.18*
21	54.11*
28	65.70*
35	41.07*
42	37.61*
49	30.96*
56	40.25*
63	139.92*
70	730.39*
77	202.64*
84	528.43*
91	442.15*
98	5046.03*

หมายเหตุ

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยที่ค่า $F_{(3,4)}$ จากตาราง = 6.59

ตารางที่ 4.22 ปริมาณ relative TAcy (%) ของสารละลายสกัดแอนโธไซยานินส์ที่ปริมาณ glutathione 20 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้องเย็น

ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณ glutathione : tartaric acid (มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร)			
	0:0	20:150	20:250	20:400
0^{ns}	100.00±0	100.00±0	100.00±0	100.00±0
7^{ns}	92.72±1.04	93.80±0	95.44±2.59	97.83±0.86
14	85.49^{c}±1.07	90.31^{b}±0	95.51^{b}±0.69	95.26^{a}±0.03
21	80.26^{c}±1.64	86.82^{b}±0	89.84^{b}±0.79	93.28^{a}±0.59
28	77.87^{d}±1.02	84.89^{c}±0.54	87.96^{b}±1.75	91.11^{a}±0.33
35	70.15^{c}±1.81	82.95^{b}±0.54	87.96^{a}±1.75	88.94^{a}±0.06
42	67.88^{c}±0.47	80.82^{b}±0.83	86.58^{a}±2.01	84.19^{ab}±1.21
49	66.10^{c}±1.12	79.07^{b}±1.10	85.20^{a}±2.27	81.43^{ab}±0.46
56	62.07^{c}±1.20	75.97^{b}±1.10	85.20^{a}±2.27	81.42^{a}±0.66
63	59.42^{c}±1.41	76.74^{b}±0	83.82^{a}±2.25	80.63^{ab}±0.45
70	56.71^{c}±0.75	77.13^{b}±2.74	83.42^{a}±1.96	81.03^{ab}±1.22
77	52.00^{c}±2.38	76.36^{b}±1.65	81.64^{a}±1.65	79.85^{ab}±0.45
84	47.59^{b}±0.84	77.91^{a}±0.54	79.86^{a}±1.34	79.85^{a}±0.45
91	46.74^{b}±1.95	75.58^{a}±1.64	78.08^{a}±1.59	79.06^{a}±0.45
98	42.76^{c}±0.58	73.26^{b}±1.65	76.30^{ab}±1.84	78.06^{a}±0.16

หมายเหตุ

a,b,c,... ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันของข้อมูลในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

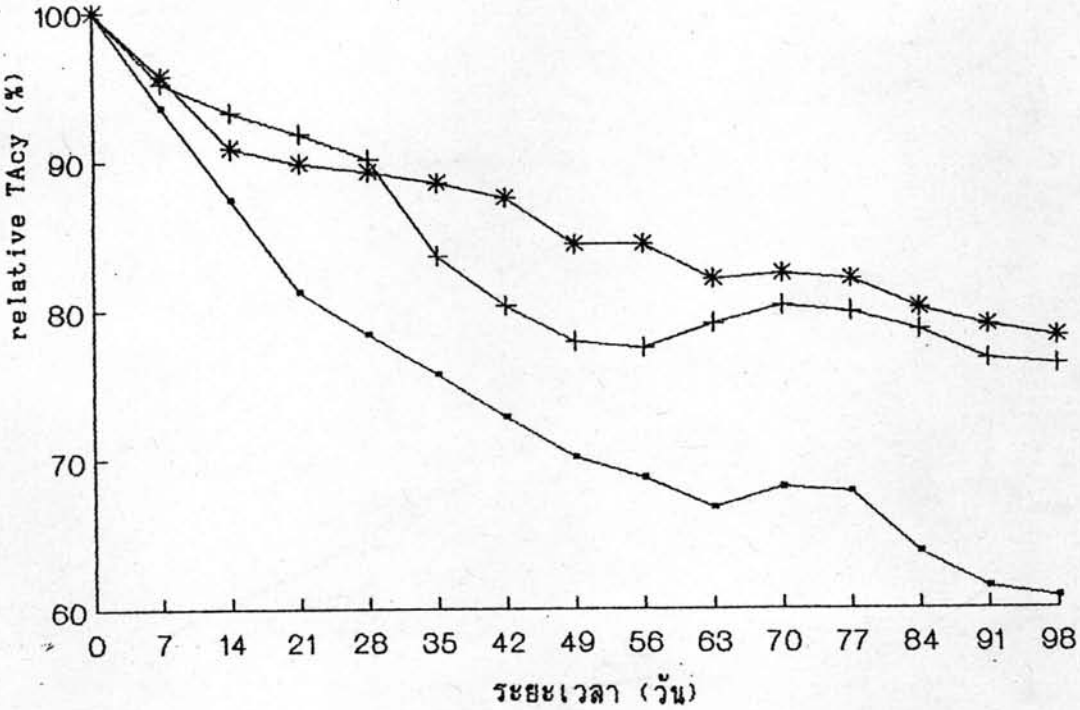
ns ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4.23 ค่า F จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของ relative TAcy (%) ของสารละลายสกัดแอนโธไซยานินส์ที่ปริมาณ glutathione 20 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้องเย็น

ระยะเวลา (วัน)	ค่า F ของ relative TAcy
0	-
7	4.62
14	80.35*
21	45.18*
28	56.71*
35	89.74*
42	86.79*
49	70.42*
56	99.86*
63	110.40*
70	88.49*
77	135.45*
84	671.00*
91	207.86*
98	344.62*

หมายเหตุ

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยที่ค่า $F_{(3,4)}$ จากตาราง = 6.59

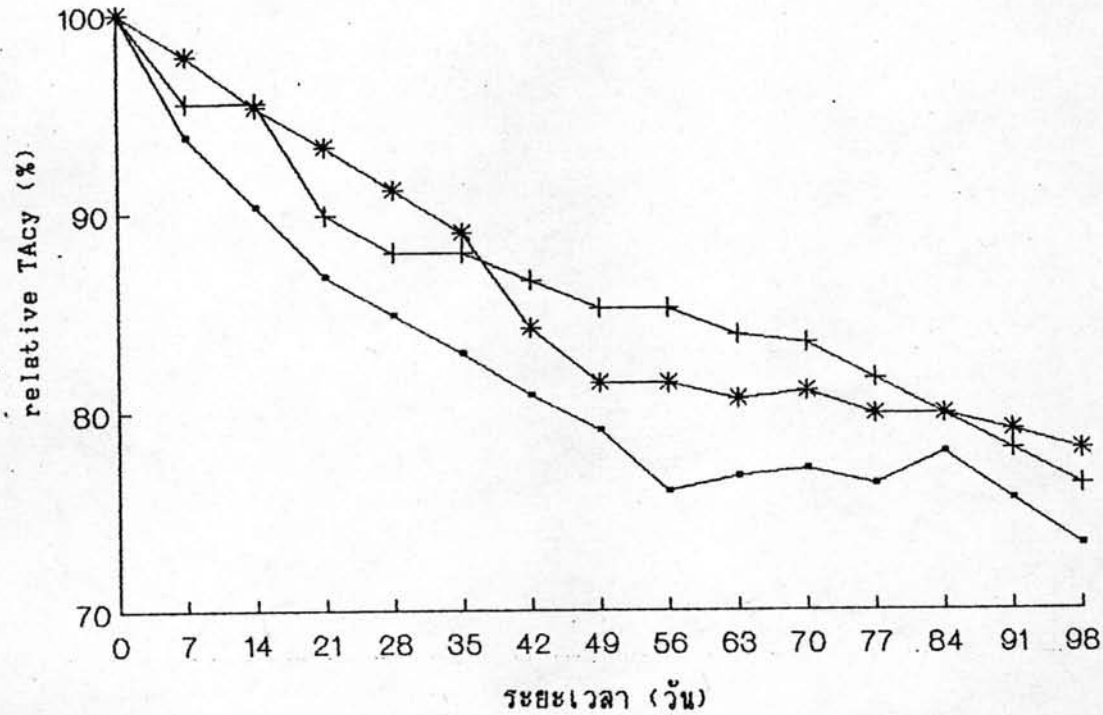


—•— tartaric acid 150 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร

—+— tartaric acid 250 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร

—✳— tartaric acid 400 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร

รูปที่ 4.10 ผลการใช้ tartaric acid เป็นวัตถุเจือปนในสารละลายสกัด ที่ระดับ glutathione 10 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร



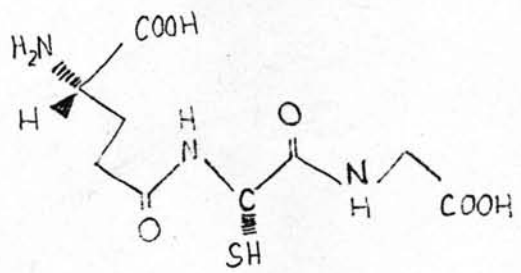
—•— tartaric acid 150 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร

—+— tartaric acid 250 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร

—✳— tartaric acid 400 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร

รูปที่ 4.11 ผลการใช้ tartaric acid เป็นวัตถุเจือปนในสารละลายสกัด ที่ระดับ glutathione 20 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร

glutathione ที่ใช้เป็นวัตถุเจือปนอยู่ในรูปของ reduced form (รูปที่ 4.12) จึงมีสมบัติเป็น antioxidant ทำหน้าที่ป้องกันการเกิดปฏิกิริยา oxidation ของแอนโธไซยานินส์ โดย -SH group ในโมเลกุลจะทำหน้าที่เป็น reducing group หลังจาก glutathione ถูก oxidized แล้ว จะอยู่ในรูปของ oxidized form ซึ่งมีสูตรเป็น $C_{20}H_{32}N_6O_{12}S_2$



$C_{10}H_{17}N_3O_6S$

L-Glutathione reduced, GSH (γ-L-Glutamyl-L-cysteinyl-glycine)

รูปที่ 4.12 L-Glutathione reduced

เมื่อระยะเวลาในการเก็บนานขึ้น จะพบว่าปริมาณ TAcy ในสารละลายสกัดมีค่าลดลง ในขณะที่ปริมาณ PC มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 4.24 และ 4.26) โดยปริมาณ PC ในสารละลายสกัดที่ไม่ใช้วัตถุเจือปนมีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นที่สูงกว่าในสารละลายสกัดที่มีการใช้สาร glutathione ร่วมกับ tartaric acid เป็นวัตถุเจือปน ยกเว้นในสารละลายสกัดที่มีการใช้สาร glutathione ร่วมกับ tartaric acid ในปริมาณ 20:400 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร จะพบว่าปริมาณ PC มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แสดงว่าการใช้วัตถุเจือปนที่ระดับนี้สามารถลดการเกิดปฏิกิริยา polymerization ของแอนโธไซยานินส์ได้ เมื่อพิจารณาการลดลงของปริมาณ TAcy ร่วมกับการเพิ่มขึ้นของปริมาณ PC ในสารละลายสกัด พบว่าระดับการใช้วัตถุเจือปนที่เหมาะสมคือ การใช้ glutathione:tartaric acid ในปริมาณ 20:400 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร เนื่องจากการใช้วัตถุเจือปนที่ระดับนี้จะให้ผลในการชลอการลดลงของปริมาณ TAcy ได้ดีกว่าระดับอื่น ๆ และทำให้การเพิ่มขึ้นของปริมาณ PC มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เมื่อพิจารณาปริมาณ TCD ในสารละลายสกัด (ตารางที่ 4.25 และ 4.26) พบว่ามีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากเกิดการสลายตัวของแอนโธไซยานินส์ในสารละลายสกัด โดยปริมาณ TCD ในสารละลายสกัดที่ไม่ใช้วัตถุเจือปนมีแนวโน้มการลดลงที่สูงกว่าในสารละลายสกัดที่มีการใช้สาร glutathione ร่วมกับ tartaric acid เป็นวัตถุเจือปน ดังนั้นการใช้สาร glutathione ร่วมกับ tartaric acid จะช่วยป้องกันการสลายตัวของแอนโธไซยานินส์ได้

ตารางที่ 4.24 ปริมาณ PC ของสารละลายสกัดแอนโธไซยานินส์ที่มีการใช้ glutathione ร่วมกับ tartaric acid ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้องเย็น

ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณ glutathione : tartaric acid (มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร)						
	0:0	10:150	10:250	10:400	20:150	20:250	20:400 ns
0	0.313±0.004	0.272±0.003	0.252±0.001	0.244±0.001	0.250±0.006	0.249±0.006	0.246±0.002
7	0.320±0.007	0.272±0.001	0.252±0.001	0.247±0.002	0.251±0.006	0.249±0	0.246±0.001
14	0.330±0.004	0.273±0.002	0.254±0.002	0.247±0	0.252±0.004	0.249±0.004	0.246±0.008
21	0.339±0.005	0.274±0	0.254±0	0.247±0.001	0.255±0.007	0.251±0.002	0.247±0.001
28	0.341±0.004	0.274±0.006	0.256±0.004	0.247±0.002	0.259±0.004	0.251±0.002	0.247±0.008
35	0.351±0.002	0.278±0.007	0.256±0	0.248±0.001	0.260±0.004	0.252±0.007	0.248±0.004
42	0.352±0.001	0.279±0.004	0.256±0.001	0.248±0	0.263±0.004	0.253±0.001	0.249±0.001
49	0.353±0.001	0.280±0.004	0.256±0.001	0.249±0.009	0.263±0.005	0.255±0.002	0.252±0.001
56	0.356±0.004	0.281±0.001	0.256±0.004	0.251±0	0.265±0.001	0.255±0.004	0.253±0
63	0.359±0.007	0.284±0.002	0.257±0.001	0.251±0.001	0.266±0.004	0.255±0.002	0.254±0.001
70	0.362±0.004	0.287±0.009	0.257±0.001	0.253±0.004	0.266±0.004	0.256±0.004	0.254±0.004
77	0.364±0	0.290±0.002	0.258±0	0.255±0	0.267±0.001	0.257±0.004	0.258±0.011
84	0.366±0.001	0.292±0.002	0.259±0.002	0.255±0.002	0.268±0.004	0.263±0.004	0.259±0.004
91	0.366±0	0.292±0.009	0.263±0.004	0.256±0.004	0.268±0.002	0.264±0.004	0.259±0.006
98	0.373±0.001	0.292±0.001	0.265±0.005	0.258±0.004	0.269±0.001	0.264±0.001	0.259±0.001

หมายเหตุ

ns ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4.25 ปริมาณ TCD ของสารละลายสกัดแอนโธไซยานินส์ที่มีการใช้ glutathione ร่วมกับ tartaric acid ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้องเย็น

ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณ glutathione : tartaric acid (มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร)						
	0:0	10:150	10:250	10:400	20:150	20:250	20:400
0	0.801±0.004	0.718±0.014	0.733±0.003	0.746±0.017	0.692±0.016	0.709±0.005	0.715±0.018
7	0.798±0.006	0.705±0.003	0.729±0.011	0.744±0.003	0.667±0.012	0.706±0.003	0.707±0.024
14	0.796±0.001	0.685±0	0.675±0.011	0.732±0.004	0.650±0.003	0.705±0.018	0.700±0.001
21	0.773±0.004	0.666±0.006	0.648±0.004	0.726±0.008	0.616±0.006	0.699±0.008	0.696±0.004
28	0.760±0.007	0.640±0.006	0.640±0.003	0.720±0.004	0.598±0.001	0.689±0.001	0.689±0.001
35	0.745±0.002	0.624±0.021	0.625±0.003	0.709±0	0.589±0.004	0.689±0.001	0.685±0.007
42	0.718±0.006	0.610±0.007	0.602±0.009	0.684±0.001	0.577±0.006	0.660±0.002	0.677±0.006
49	0.690±0.006	0.586±0.008	0.593±0.003	0.670±0.021	0.569±0.005	0.646±0.008	0.663±0.004
56	0.672±0.003	0.566±0.006	0.587±0.008	0.666±0.007	0.563±0.007	0.634±0.013	0.660±0.008
63	0.638±0.008	0.564±0.004	0.584±0.005	0.654±0.001	0.557±0.001	0.627±0.004	0.654±0.001
70	0.624±0.004	0.561±0.010	0.578±0.004	0.651±0.003	0.555±0.003	0.618±0.013	0.648±0.016
77	0.597±0.007	0.556±0.006	0.566±0.003	0.645±0.005	0.548±0.008	0.611±0.006	0.642±0.002
84	0.584±0.005	0.554±0.002	0.564±0.005	0.644±0.001	0.541±0.001	0.590±0.006	0.638±0.001
91	0.568±0.009	0.540±0.005	0.561±0.001	0.639±0.006	0.536±0.006	0.587±0.001	0.630±0.003
98	0.552±0.003	0.534±0.002	0.559±0.002	0.637±0.005	0.530±0.011	0.561±0.008	0.625±0.008

ตารางที่ 4.26 ค่า F จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของ TCD และ PC ของสารละลายสกัดแอนโธไซยานินส์ที่มีการใช้ glutathione ร่วมกับ tartaric acid ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้องเย็น

ปริมาณ glutathione:tartaric acid (มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร)	ค่า F	
	TCD	PC
0:0	545.54*	46.89*
10:150	113.79*	5.60*
10:250	204.02*	5.36*
10:400	52.47*	4.42*
20:150	94.14*	5.63*
20:250	72.91*	4.61*
20:400	18.05*	2.41

หมายเหตุ

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยที่ค่า $F_{(14,15)}$ จากตาราง = 2.43

4.3.3.2 ผลของการใช้สารประกอบ phenolics

เมื่อเก็บสารละลายสกัดที่มีการใช้สารประกอบ phenolics เป็นวัตถุเจือปนที่อุณหภูมิห้องเย็น โดยศึกษาผลของสารประกอบ phenolics 3 ชนิด คือ caffeic acid rutin และ (+)-catechin แปรปริมาณสารประกอบ phenolics เป็น 0 40 และ 80 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร จะพบว่าความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารละลายสกัดมีค่าคงที่ตลอดระยะเวลา 98 วัน (ตารางที่ 4.27) ผลการตรวจปริมาณเชื้อยีสต์และราในสารละลายสกัดที่ระยะเวลา 28 63 และ 98 วัน ไม่พบการเจริญของเชื้อยีสต์และรา ค่า pH ของสารละลายสกัด แสดงดังตารางที่ 4.28 ผลการวิเคราะห์ปริมาณแอนโธไซยานินส์ทั้งหมด (TAcy) ของสารละลายสกัดด้วยวิธี pH differential ซึ่งแสดงในรูปของ relative TAcy (%) แสดงดังตารางที่ 4.29 - 4.32 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสี polymeric (PC) และผลการวิเคราะห์ปริมาณความเข้มของสีทั้งหมด (TCD) แสดงดังตารางที่ 4.33 - 4.35

ตารางที่ 4.27 ความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารละลายสกัดที่มีการใช้สารประกอบ phenolics ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้องเย็น

วัตถุเจือปนอาหาร	ปริมาณ (มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร)	λ_{max} (nm)
control	-	572
caffeic acid	40	620
	80	617
rutin	40	623
	80	623
(+)-catechin	40	623
	80	623

ตารางที่ 4.28 pH ของสารละลายสกัดที่มีการใช้สารประกอบ phenolics ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้องเย็น

วัตถุเจือปนอาหาร	ปริมาณ (มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร)	pH
control	-	4.94-5.10
caffeic acid	40	6.32-6.45
	80	5.65-5.83
rutin	40	6.96-7.09
	80	6.90-7.01
(+)-catechin	40	6.99-7.09
	80	6.96-7.11

จากตารางที่ 4.29 - 4.32 จะพบว่าการใช้สารประกอบ phenolics เป็นวัตถุเจือปนในสารละลายสกัดให้ผลในการชลอการลดลงของปริมาณ TAcy ได้ดีกว่าเมื่อไม่ใช้วัตถุเจือปนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ที่ระดับการใช้วัตถุเจือปนในปริมาณ 40 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร จะพบว่าการใช้ caffeic acid, rutin และ (+)-catechin เป็นวัตถุเจือปนในสารละลายสกัดให้ผลในการชลอการลดลงของปริมาณ TAcy ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ส่วนที่ระดับการใช้วัตถุเจือปนในปริมาณ 80 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร จะพบว่าที่อายุการเก็บ 42 วันขึ้นไป การใช้ caffeic acid และ rutin เป็นวัตถุเจือปนในสารละลายสกัดให้ผลในการชลอการลดลงของปริมาณ TAcy ได้ดีกว่าการใช้สาร (+)-catechin เป็นวัตถุเจือปนในสารละลายสกัดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แต่การใช้สาร caffeic acid และ rutin เป็นวัตถุเจือปนในสารละลายสกัดให้ผลในการชลอการลดลงของปริมาณ TAcy ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และเมื่อเปรียบเทียบผลของปริมาณวัตถุเจือปนที่ใช้ (รูปที่ 4.13 - 4.15) จะพบว่าการใช้ caffeic acid ในปริมาณ 80 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร ให้ผลในการชลอการลดลงของปริมาณ TAcy ได้ดีกว่าการใช้ caffeic acid ในปริมาณ 40 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร ผลการใช้ rutin เป็นในทำนองเดียวกับการใช้ caffeic acid ส่วนการใช้ (+)-catechin พบว่าเมื่อใช้ในปริมาณ 40 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร จะให้ผลในการชลอการลดลงของปริมาณ TAcy ได้ดีกว่าการใช้ในปริมาณ 80 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร

ตารางที่ 4.29 ปริมาณ relative TAcy (%) ของสารละลายสกัดแอนโธไซยานินส์ที่ปริมาณวัตถุเจือปนอาหาร 40 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้องเย็น

ระยะเวลา (วัน)	control	วัตถุเจือปนอาหาร		
		caffeic acid	rutin	(+)-catechin
0 ns	100.00±0	100.00±0	100.00±0	100.00±0
7 ns	92.72±1.04	97.26±0.54	98.91±0.52	97.89±0.57
14	85.49^{b}±1.07	96.14^{a}±2.12	98.36^{a}±1.81	97.03^{a}±1.24
21	80.26^{b}±1.64	94.55^{a}±2.38	96.55^{a}±0.28	95.77^{a}±0.05
28	77.87^{b}±1.02	92.52^{a}±0.62	93.06^{a}±0.51	94.50^{a}±0.53
35	70.15^{b}±1.81	90.66^{a}±3.20	91.47^{a}±0.33	93.65^{a}±0.08
42	67.88^{b}±0.47	89.74^{a}±3.17	89.29^{a}±0.34	93.01^{a}±0.38
49	66.10^{b}±1.12	87.67^{a}±2.76	87.84^{a}±0.68	91.96^{a}±0.50
56	62.07^{b}±1.20	86.73^{a}±1.44	86.75^{a}±0.16	89.48^{a}±0.63
63	59.42^{b}±1.41	85.13^{a}±1.69	85.67^{a}±0.15	87.28^{a}±1.36
70	56.71^{b}±0.75	82.82^{a}±0.95	83.12^{a}±0.13	84.23^{a}±0.56
77	52.00^{b}±2.38	79.61^{a}±0.83	81.30^{a}±1.43	82.62^{a}±2.00
84	47.59^{b}±0.84	78.73^{a}±2.74	80.22^{a}±0.41	79.86^{a}±2.93
91	46.74^{b}±1.95	76.65^{a}±1.68	78.40^{a}±1.45	77.97^{a}±0.26
98	42.76^{b}±0.58	74.34^{a}±1.60	77.31^{a}±0.95	74.78^{a}±1.80

หมายเหตุ

a,b,c,... ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันของข้อมูลในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ns ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4.30 ค่า F จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของ relative TAcy (%) ของสารละลายสกัดแอนโธไซยานินส์ที่ปริมาณวัตถุเจือปนอาหาร 40 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้องเย็น

ระยะเวลา (วัน)	ค่า F ของ relative TAcy
0	-
7	30.44*
14	26.80*
21	56.48*
28	246.95*
35	70.40*
42	100.96*
49	113.94*
56	338.37*
63	211.60*
70	792.33*
77	138.57*
84	120.94*
91	218.14*
98	305.95*

หมายเหตุ

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยที่ค่า $F_{(3,4)}$ จากตาราง = 6.59

ตารางที่ 4.31 ปริมาณ relative TAcy (%) ของสารละลายสกัดแอนโธไซยานินส์ที่ปริมาณวัตถุเจือปนอาหาร 80 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้องเย็น

ระยะเวลา (วัน)	control	วัตถุเจือปนอาหาร		
		caffeic acid	rutin	(+)-catechin
0 ns	100.00±0	100.00±0	100.00±0	100.00±0
7	92.72^{b}±1.04	98.98^{a}±0.28	98.53^{a}±1.05	98.31^{a}±0.02
14	85.49^{b}±1.07	97.75^{a}±0.27	97.97^{a}±2.36	95.35^{a}±0.54
21	80.26^{b}±1.64	96.52^{a}±0.90	97.24^{a}±2.37	93.22^{a}±0.08
28	77.87^{b}±1.02	94.06^{a}±2.65	95.06^{a}±0.71	92.38^{a}±0.09
35	70.15^{b}±1.81	93.66^{a}±0.93	94.13^{a}±0.44	90.25^{a}±1.32
42	67.88^{c}±0.47	92.02^{a}±0.93	93.58^{a}±0.35	87.71^{b}±0.45
49	66.10^{c}±1.12	90.79^{a}±1.53	92.48^{a}±0.16	84.75^{b}±0.18
56	62.07^{c}±1.20	89.57^{a}±2.11	91.01^{a}±0.14	84.33^{b}±0.42
63	59.42^{c}±1.41	87.32^{a}±1.27	89.18^{a}±0.64	83.89^{b}±1.39
70	56.71^{c}±0.75	85.89^{a}±0.17	86.25^{a}±0.60	82.00^{b}±0.69
77	52.00^{c}±2.38	83.85^{a}±0.43	84.90^{a}±0.98	79.23^{b}±0.85
84	47.59^{c}±0.84	81.18^{a}±2.48	82.57^{a}±0.55	77.12^{b}±0.33
91	46.74^{c}±1.95	79.96^{a}±0.76	81.47^{a}±0.02	73.72^{b}±1.51
98	42.76^{c}±0.58	78.53^{a}±0.47	80.01^{a}±1.04	71.81^{b}±1.84

หมายเหตุ

a,b,c,... ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันของข้อมูลในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

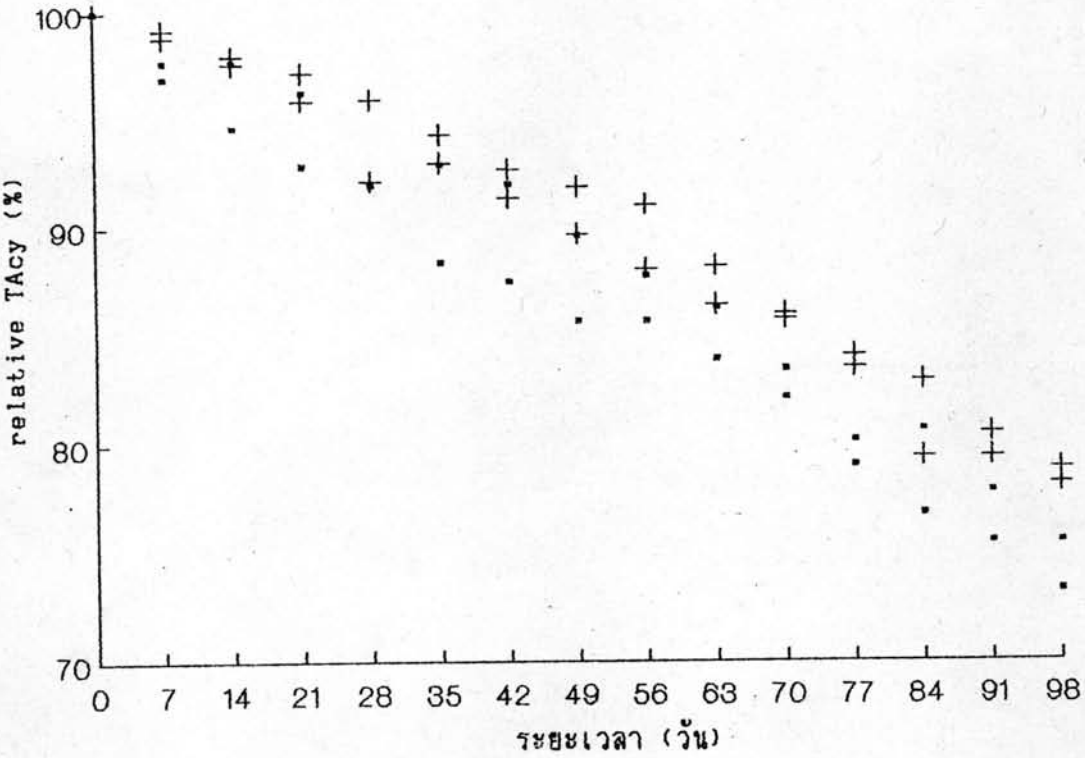
ns ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4.32 ค่า F จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของ relative TAcy (%) ของสารละลายสกัดแอนโธไซยานินส์ที่ปริมาณวัตถุเจือปนอาหาร 80 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้องเย็น

ระยะเวลา (วัน)	ค่า F ของ relative Tacy
0	-
7	30.83*
14	39.16*
21	54.70*
28	60.46*
35	171.45*
42	795.86*
49	321.00*
56	236.77*
63	259.31*
70	1123.43*
77	253.14*
84	299.81*
91	313.62*
98	481.26*

หมายเหตุ

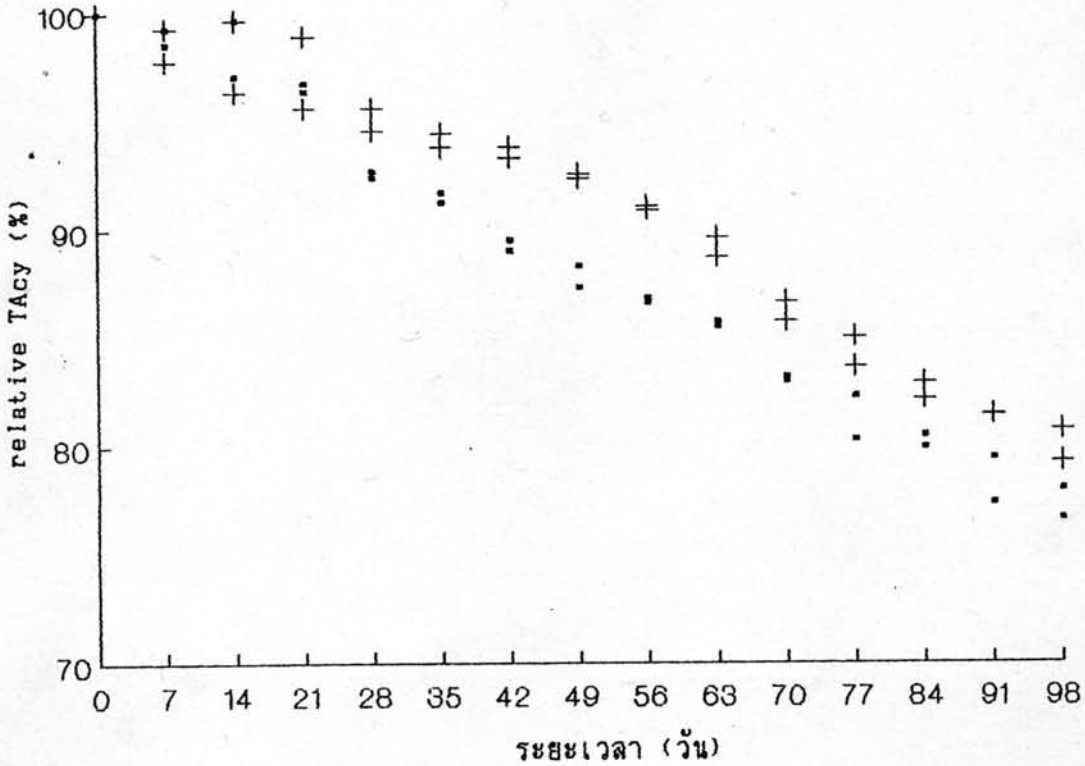
* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยที่ค่า $F_{(3,4)}$ จากตาราง = 6.59



▪ ที่ระดับ 40 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร

\+ ที่ระดับ 80 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร

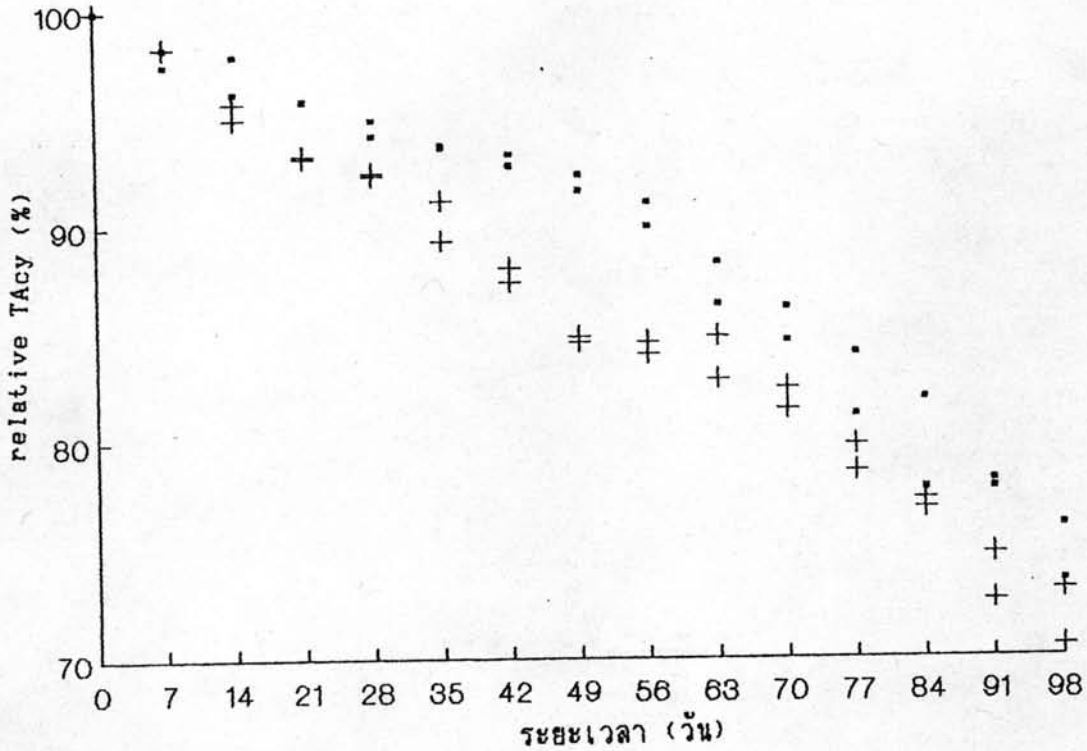
รูปที่ 4.13 ผลการใช้ caffeic acid เป็นวัตถุเจือปนในสารละลายสกัด



▪ ที่ระดับ 40 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร

\+ ที่ระดับ 80 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร

รูปที่ 4.14 ผลการใช้ rutin เป็นวัตถุเจือปนในสารละลายสกัด



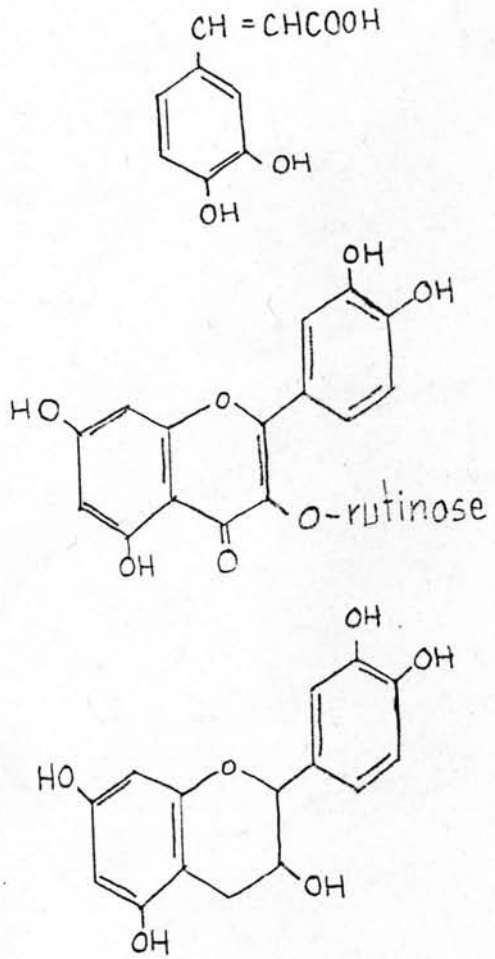
▪ ที่ระดับ 40 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร

\+ ที่ระดับ 80 มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร

รูปที่ 4.15 ผลการใช้ (+)-catechin เป็นวัตถุเจือปนในสารละลายสกัด

การใช้สารประกอบ phenolics เป็นวัตถุเจือปนในสารละลายสกัดจะช่วยชลอการลดลงของปริมาณ TAcy ดังนั้นแอนโธไซยานินส์จึงมีเสถียรภาพดีขึ้น เนื่องจากการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างแอนโธไซยานินส์กับสารประกอบ phenolics จะช่วยป้องกันการสลายตัวของแอนโธไซยานินส์ และการเกิด polymerization ดังนั้นจึงช่วยรักษาเสถียรภาพของแอนโธไซยานินส์ นอกจากนี้การเกิดสารประกอบเชิงซ้อนจะทำให้เกิด bathochromic shift effect หรือ bluing effect คือ ค่าความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดเพิ่มขึ้น (Osawa, 1982) ดังตารางที่ 4.27 จะพบว่าความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารละลายสกัดที่มีการใช้สารประกอบ phenolics เป็นวัตถุเจือปนมีค่าสูงกว่าของสารละลายสกัดที่ไม่มีการใช้สารประกอบ phenolics

การที่สารประกอบ phenolics แต่ละชนิดมีความสามารถในการชลอการลดลงของปริมาณ TAcy ต่างกัน เนื่องจากโครงสร้างของสารประกอบ phenolics ต่างกัน (รูปที่ 4.16) Chen และ Hrazdina (1981) ศึกษาการสร้างสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างแอนโธไซยานินส์กับสารประกอบ phenolics ชนิดต่าง ๆ ในสารละลาย และพบว่าโครงสร้างของสารประกอบ phenolics เช่น จำนวนหมู่ hydroxyl ตำแหน่งของหมู่ hydroxyl มีผลต่อการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน ส่วนชนิดของน้ำตาลที่แทนที่หมู่ hydroxyl ไม่มีผลต่อการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน ทั้งนี้ขึ้นกับโครงสร้างของสารประกอบ phenolics



ก. caffeic acid

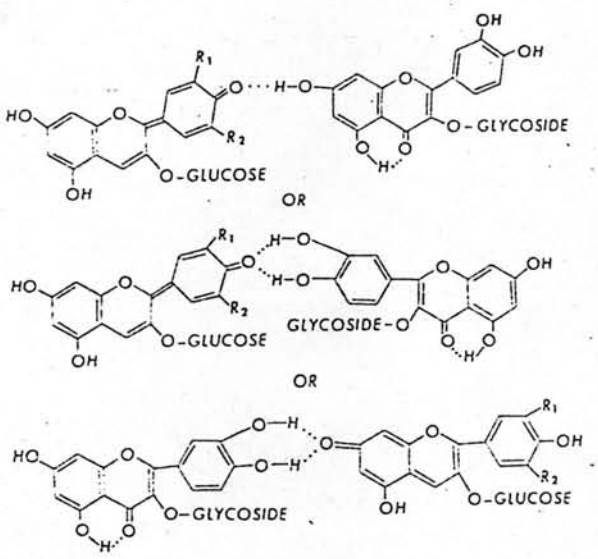
ข. rutin

ค. (+)-catechin

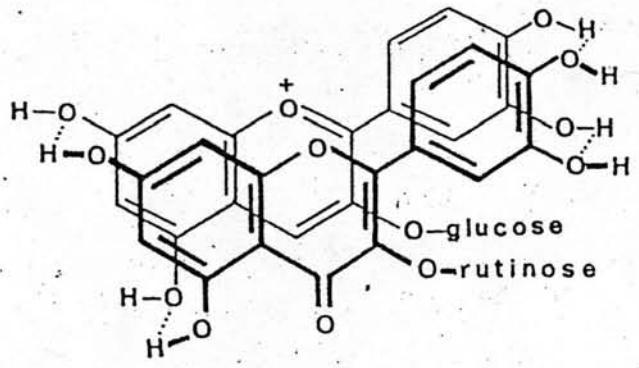
รูปที่ 4.16 สูตรโครงสร้างของสารประกอบ phenolics ที่ใช้เป็นวัตถุเจือปนในสารละลายสกัด

การใช้ rutin เป็นวัตถุเจือปนในสารละลายสกัด จะช่วยชลอการลดลงของปริมาณ TAcy ได้ ซึ่งสามารถอธิบายโดยการเกิดสารประกอบระหว่างแอนโธไซยานินส์กับ rutin Scheffeldt และ Hrazdina (1978) ศึกษาผลของการใช้ rutin ในการรักษาเสถียรภาพของแอนโธไซยานินส์ในน้ำองุ่น และพบว่าสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างแอนโธไซยานินส์กับ rutin เกิดจากการสร้างพันธะ hydrogen ระหว่าง carbonyl group ของ quinoidal anhydrobase ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 7 หรือ 4 กับ aromatic hydroxyl group ของ rutin ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 7 หรือ OH group ที่ตำแหน่ง 3′, 4′ ดังรูป 4.17 ในขณะที่ Maccarone, Maccarrone และ Rapisarda (1985) ศึกษาผลของการใช้ rutin ในการรักษาเสถียรภาพของแอนโธไซยานินส์ในน้ำส้ม และพบว่าการใช้ rutin สามารถชลอการลดลงของปริมาณ TAcy ทั้งนี้อธิบายได้โดยการเกิด intramolecular complexs ระหว่างแอนโธไซยานินส์กับ rutin (รูปที่ 4.18) ทำให้ความไวของแอนโธไซยานินส์ในการทำปฏิกิริยา nucleophilic กับน้ำ หรือสารประกอบอื่น ๆ ลดลง

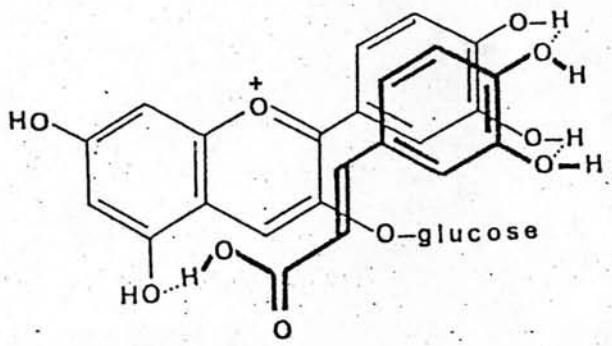
caffeic acid เป็นสารที่มีโครงสร้างคล้ายกับ rutin และมี OH group สองตำแหน่งที่ benzene ring เช่นเดียวกับ rutin (รูปที่ 4.16) ดังนั้นคาดว่า caffeic acid สามารถสร้างสารประกอบกับแอนโธไซยานินส์ ซึ่งส่งผลให้สามารถชลอการลดลงของปริมาณ TAcy ได้ โดย Maccarone, Maccarrone และ Rapisarda (1985) ศึกษาผลของการใช้ caffeic acid ในการรักษาเสถียรภาพของแอนโธไซยานินส์ในน้ำส้ม และพบว่าการใช้ caffeic acid สามารถชลอการลดลงของปริมาณ TAcy ทั้งนี้อธิบายได้โดยการเกิด intramolecular complexs ระหว่างแอนโธไซยานินส์กับ caffeic acid (รูปที่ 4.19) ทำให้ความไวของแอนโธไซยานินส์ในการทำปฏิกิริยา nucleophilic กับน้ำ หรือสารประกอบอื่น ๆ ลดลง



รูปที่ 4.17 โครงสร้างของสารประกอบระหว่างแอนโธไซยานินส์กับ rutin ตามแนวความคิดของ Scheffeldt และ Hrazdina (1978)

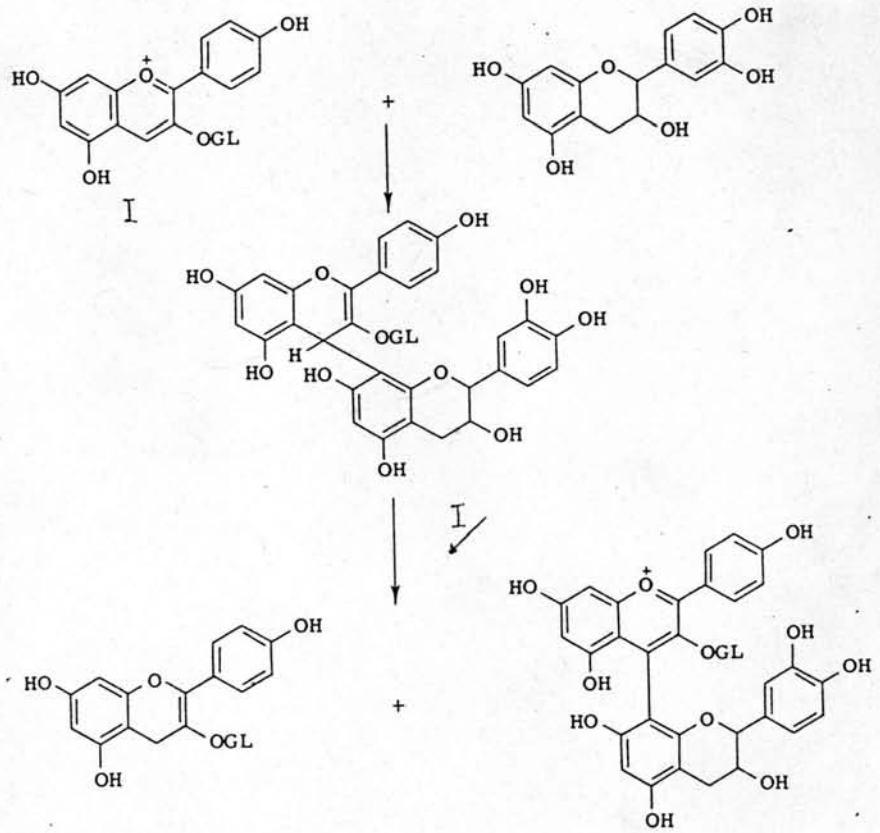


รูปที่ 4.18 โครงสร้างของสารประกอบระหว่างแอนโธไซยานินส์กับ rutin ตามแนวความคิดของ Maccarone, Maccarrone และ Rapisarda (1985)



รูปที่ 4.19 โครงสร้างของสารประกอบระหว่างแอนโธไซยานินส์กับ caffeic acid ตามแนวความคิดของ Maccarone, Maccarrone และ Rapisarda (1985)

การใช้ (+)-catechin เป็นวัตถุเจือปนในสารละลายสกัด จะช่วยชลอการลดลงของปริมาณ TAcy ได้ เนื่องจากจะช่วยป้องกันการการสลายตัวของแอนโธไซยานินส์ และการเกิดปฏิกิริยา polymerization โดย (+)-catechin สามารถเกิดปฏิกิริยา oxidative condensation กับแอนโธไซยานินส์ ได้ flavene กับ pyrylium salt dimer ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นแบบ electrophilic substitution ที่คาร์บอนตำแหน่งที่สี่ของแอนโธไซยานินส์ (Jurd, 1967) ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น แสดงดังรูปที่ 4.20 โดยแอนโธไซยานินส์ทำปฏิกิริยากับ (+)-catechin ได้ flavenyl-flavan dimer จากนั้นสารชนิดนี้จะเกิดปฏิกิริยา oxidation กับแอนโธไซยานินส์อีกโมเลกุลหนึ่งได้ flavylium-flavan dimer ส่วนโมเลกุลของแอนโธไซยานินส์จะถูก reduced เป็น flav-2-ene นอกจากนี้ flavylium-flavan dimer สามารถทำปฏิกิริยากับแอนโธไซยานินส์ต่อ ทำให้ได้สารประกอบ polymer ที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่ขึ้น



รูปที่ 4.20 ปฏิกิริยา condensation ระหว่างแอนโธไซยานินส์กับ (+)-catechin (Jurd, 1967)

เมื่อระยะเวลาในการเก็บนานขึ้น จะพบว่าการใช้สารประกอบ phenolics ทำให้ปริมาณ TAcy ในสารละลายสกัดมีค่าลดลง ในขณะที่ปริมาณ PC มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 4.33 และ 4.35) โดยปริมาณ PC ในสารละลายสกัดที่มีการใช้สารประกอบ phenolics เป็นวัตถุเจือปน มีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นที่สูงกว่าในสารละลายสกัดที่ไม่ใช้วัตถุเจือปน เนื่องจากมีการสร้างสารประกอบระหว่างแอนโธไซยานินส์กับสารประกอบ phenolics ซึ่งสารประกอบที่เกิดขึ้นไม่ถูกฟอกสีด้วย SO_2 จึงทำให้ปริมาณ PC ในสารละลายสกัดมีค่าสูง จากตารางที่ 4.33 จะพบว่าปริมาณ PC ในสารละลายสกัดที่มีการใช้ (+)-catechin เป็นวัตถุเจือปน มีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นที่สูงกว่าในสารละลายสกัดที่มีการใช้ caffeic acid และ rutin มาก ทั้งนี้เนื่องจากการใช้ (+)-catechin เป็นวัตถุเจือปนจะทำให้เกิด flavylium-flavan dimer ซึ่งสามารถทำปฏิกิริยากับแอนโธไซยานินส์ต่อ ทำให้ได้สารประกอบ polymer ที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่ขึ้น ดังนั้นปริมาณแอนโธไซยานินส์ในรูปอิสระจึงลดลง ทำให้ปริมาณ PC ที่วิเคราะห์ได้จากการฟอกสีด้วย SO_2 มีค่าสูง

จากตารางที่ 4.34 และ 4.35 พบว่าปริมาณ TCD ในสารละลายสกัดที่มีการใช้ caffeic acid และ rutin เป็นวัตถุเจือปนจะมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อระยะเวลาในการเก็บนานขึ้น และเมื่อเปรียบเทียบกับสารละลายสกัดที่ไม่มีการใช้วัตถุเจือปน จะพบว่าปริมาณ TCD ในสารละลายสกัดที่มีการใช้ caffeic acid และ rutin มีแนวโน้มการลดลงที่ช้ากว่าในสารละลายสกัดที่ไม่มีการใช้วัตถุเจือปน ทั้งนี้เพราะการสร้างสารประกอบระหว่างแอนโธไซยานินส์กับสารประกอบ phenolics ช่วยป้องกันการสลายตัวของแอนโธไซยานินส์ได้ ส่วนปริมาณ TCD ในสารละลายสกัดที่มีการใช้ (+)-catechin เป็นวัตถุเจือปนจะมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ทั้งนี้เนื่องจากการใช้ (+)-catechin เป็นวัตถุเจือปนจะทำให้เกิด flavylium-flavan dimer ซึ่งสามารถทำปฏิกิริยากับแอนโธไซยานินส์ต่อ ทำให้ได้สารประกอบ polymer ที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่ขึ้น และเป็นสารประกอบ polymer ที่มีสี จึงทำให้ปริมาณ TCD ในสารละลายสกัดมีค่าเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 4.33 ปริมาณ PC ของสารละลายสกัดแอนโธไซยานินส์ที่มีการใช้สารประกอบ phenolics ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้องเย็น

ระยะเวลา (วัน)	control	วัตถุเจือปนอาหาร (มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร)					
		caffeic acid		rutin		(+)-catechin	
		40	80	40	80	40	80
0	0.313±0.004	0.605±0.006	0.524±0.006	0.302±0.008	0.356±0.008	0.301±0.015	0.371±0.001
7	0.320±0.007	0.619±0.008	0.531±0.001	0.344±0.008	0.360±0.005	0.324±0.006	0.548±0.001
14	0.330±0.004	0.648±0.008	0.554±0.006	0.362±0.003	0.372±0.003	0.367±0.004	0.668±0.006
21	0.339±0.005	0.660±0.014	0.568±0.010	0.370±0.003	0.379±0.010	0.389±0.004	0.705±0.003
28	0.341±0.004	0.671±0.006	0.579±0.004	0.374±0.006	0.383±0.005	0.436±0.007	0.811±0.030
35	0.351±0.002	0.682±0.002	0.598±0.008	0.382±0.003	0.386±0.006	0.476±0.017	0.827±0.014
42	0.352±0.001	0.689±0.006	0.605±0.006	0.386±0.014	0.392±0.013	0.482±0.003	0.868±0.012
49	0.353±0.001	0.696±0.012	0.611±0.001	0.415±0.007	0.401±0.003	0.489±0	0.915±0.007
56	0.356±0.004	0.711±0.00	0.628±0.003	0.420±0.008	0.425±0.006	0.498±0.016	0.952±0.022
63	0.359±0.007	0.724±0.005	0.643±0.002	0.433±0.004	0.448±0.004	0.511±0.001	0.965±0.006
70	0.362±0.004	0.750±0.008	0.656±0.008	0.453±0.008	0.449±0.008	0.530±0.003	0.990±0.003
77	0.364±0	0.764±0.003	0.673±0.001	0.465±0.003	0.461±0.007	0.549±0.001	1.010±0.007
84	0.366±0.001	0.778±0.004	0.694±0.006	0.502±0.004	0.475±0.007	0.557±0.006	1.095±0.007
91	0.366±0	0.792±0.003	0.711±0.001	0.514±0.004	0.497±0.006	0.565±0.006	1.124±0.004
98	0.373±0.00	0.801±0.003	0.724±0.006	0.524±0.003	0.507±0.003	0.569±0.001	1.145±0.007

ตารางที่ 4.34 ปริมาณ TCD ของสารละลายสกัดแอนโธไซยานินสีม่วงการใช้สารประกอบ phenolics ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้องเย็น

ระยะเวลา (วัน)	control	วัตถุเจือปนอาหาร (มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร)					
		caffeic acid		rutin		(+)-catechin	
		40	80	40	80	40	80
0	0.801±0.004	0.782±0.003	0.758±0.004	0.697±0.012	0.787±0.007	0.726±0.009	0.804±0.008
7	0.798±0.006	0.778±0.006	0.754±0.004	0.695±0.007	0.772±0.003	0.835±0.003	0.964±0.004
14	0.796±0.001	0.773±0.006	0.746±0.001	0.684±0.008	0.757±0.007	0.867±0.017	1.105±0.018
21	0.773±0.004	0.765±0.007	0.743±0.003	0.679±0.012	0.741±0.003	0.889±0.007	1.120±0.008
28	0.760±0.007	0.760±0.007	0.739±0.011	0.651±0.009	0.726±0.001	0.921±0.004	1.195±0.017
35	0.745±0.002	0.755±0.008	0.737±0.009	0.649±0.013	0.706±0.004	0.946±0.008	1.201±0.018
42	0.718±0.006	0.749±0.011	0.735±0.011	0.641±0.006	0.687±0.013	0.968±0.007	1.253±0.018
49	0.690±0.006	0.738±0.002	0.725±0.009	0.633±0.008	0.671±0.002	0.984±0.006	1.270±0.014
56	0.672±0.003	0.737±0.003	0.721±0.004	0.623±0.007	0.666±0.016	1.000±0.007	1.302±0.003
63	0.638±0.008	0.732±0.003	0.711±0.018	0.618±0.010	0.642±0.014	1.015±0.003	1.350±0.018
70	0.624±0.004	0.725±0.006	0.708±0.003	0.600±0.001	0.635±0.010	1.057±0.010	1.368±0.006
77	0.597±0.007	0.717±0.004	0.701±0.003	0.587±0.003	0.632±0.013	1.079±0.006	1.395±0.007
84	0.584±0.005	0.711±0.006	0.698±0.004	0.572±0.004	0.622±0.003	1.101±0.006	1.417±0.014
91	0.568±0.009	0.709±0.007	0.693±0.004	0.563±0.003	0.614±0.006	1.118±0.004	1.426±0.008
98	0.552±0.003	0.699±0.002	0.688±0.007	0.557±0.003	0.600±0.014	1.145±0.006	1.435±0.007

ตารางที่ 4.35 ค่า F จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของ TCD และ PC ของสารละลายสกัดแอนโธไซยานินส์ที่มีการใช้สารประกอบ phenolics ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้องเย็น

วัตถุเจือปนอาหาร	ปริมาณ (มิลลิกรัมต่อสารละลายสกัด 100 มิลลิลิตร)	ค่า F	
		TCD	PC
control	-	545.54*	46.89*
caffeic acid	40	51.47*	152.75*
	80	18.12*	273.12*
rutin	40	64.78*	211.64*
	80	90.99*	107.89*
(+)-catechin	40	460.99*	239.34*
	80	419.83*	713.49*

หมายเหตุ

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยที่ค่า $F_{(14,15)}$ จากตาราง = 2.43