

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ความคงตัวของรงควัตถุแอนโทไซยานินและความสามารถในการทำลาย
อนุมูลอิสระในน้ำบลูเบอร์รี่และน้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้น

Stability of Anthocyanin and Its Antiradical Activity in Blueberry
Juice and Concentrate

จัดทำโดย

นางสาวกชรัตน์ วงศ์รัตน์ รหัส 47040148
นางสาวสิริพรรณ กิตติวรพัฒน์ รหัส 47040180

อาจารย์ที่ปรึกษา
ดร.วริพัทธ์ อารีกุล

๒๗-
ก/๒๕๐
๒๕๕๐

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน..... 85392
วัน,เดือน,ปี..... 11 พ.ย. 2551

b..... 12010339
i.....

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะอุตสาหกรรมเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ความคงตัวของรงควัตถุแอนโทไซยานินและความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระในน้ำบลูเบอร์รี่และน้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้น

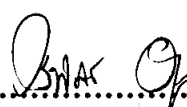
Stability of Anthocyanin and Its Antiradical Activity in Blueberry Juice and Concentrate

จัดทำโดย

นางสาวกชรัตน์ วงศ์รัตน์ รหัส 47040148

นางสาวสิริพรรณ กิตติวรพัฒน์ รหัส 47040180

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

.......... 21 / 5 / 51 .. อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า (ดร.วิรัชย์ อารีกุล)

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นางสาวกชรัตน์ วงศ์รัตน์ และ นางสาวสิริพรรณ กิตติวรพัฒน์ 2550 :

ความคงตัวของรงควัตถุแอนโทไซยานินและความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระในน้ำ
บลูเบอร์รี่และน้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้น

(Stability of Anthocyanin and Its Antiradical Activity in Blueberry Juice and Concentrate)

คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

อาจารย์ที่ปรึกษา ดร.วิรัชย์ อารีกุล

บทคัดย่อ

ความคงตัวของรงควัตถุแอนโทไซยานินในผลิตภัณฑ์น้ำบลูเบอร์รี่ (15° Brix) และ
น้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้น (45° Brix) ที่อุณหภูมิ 70, 80 และ 90 องศาเซลเซียส พบว่า การสลายตัวของ
แอนโทไซยานินเป็นไปตามความสัมพันธ์ของปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง (First order reaction) โดยเมื่อ
อุณหภูมิเพิ่มขึ้น อัตราการสลายตัวของปฏิกิริยา (k) จะเพิ่มขึ้น โดยมีค่าเพิ่มขึ้นจาก 6.30 เป็น 10.40
และจาก 8.40 เป็น 12.00 ($\times 10^3 \text{ min}^{-1}$) ในขณะที่ half - life ($t_{1/2}$) หรือเวลาที่ทำให้ปริมาณ
แอนโทไซยานินลดลงครึ่งหนึ่งจะลดลงจาก 1.83 เป็น 1.11 และจาก 1.38 เป็น 0.96 ชั่วโมง ใน
น้ำบลูเบอร์รี่และน้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้นตามลำดับ ส่วนค่าพลังงานกระตุ้น (E_a) ของปริมาณของ
น้ำบลูเบอร์รี่และน้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้นเท่ากับ 25.97 และ 18.50 kJ/mol และเมื่อนำผลิตภัณฑ์ไปเก็บ
รักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 10 องศาเซลเซียส พบว่า การเพิ่มอุณหภูมิการเก็บรักษาจะทำให้ค่าอัตราการ
สลายตัวเพิ่มขึ้นจาก 11.6 เป็น 13.7 และจาก 15.5 เป็น 16.9 ($\times 10^3 \text{ day}^{-1}$) ส่วนค่าครึ่งชีวิตลดลง
จาก 8.54 เป็น 7.23 และ จาก 6.39 เป็น 5.86 สัปดาห์ ในน้ำบลูเบอร์รี่และน้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้น
ตามลำดับ

ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี ABTS radical cation scavenging assay ใน
ผลิตภัณฑ์น้ำบลูเบอร์รี่ พบว่า การเพิ่มอุณหภูมิและระยะเวลาในการให้ความร้อนทำให้
ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระลดลง เมื่อเพิ่มอุณหภูมิจาก 70 เป็น 90 องศาเซลเซียส แต่
อัตราการลดลงของความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทาง
สถิติ ($\alpha < 0.05$) และการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีอัตราการลดลงของ
ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระต่ำกว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส อย่างมี
นัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้การเพิ่มปริมาณของแข็งจาก 15 เป็น 45° Brix จะทำให้อัตราการ
ลดลงของความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทุกอุณหภูมิ

กชรัตน์ วงศ์รัตน์
สิริพรรณ กิตติวรพัฒน์
.....
..... ๒๑ มี.ค. ๕๑

เอกสารนี้เป็นลายมือชื่อของนักศึกษาสำหรับการใช้งานภายในเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปเผยแพร่ภายนอกการ
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ในการเสนอปัญหาพิเศษเรื่อง ความคงตัวของรงควัตถุแอนโทไซยานินและความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระในน้ำบลูเบอร์รี่และน้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้น ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาหลักสูตรปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต ของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ ดร.วรวิทย์ อารีกุล ซึ่งให้เกิดริเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษแก่ข้าพเจ้า และสละเวลาอันมีค่ามาคอยแนะนำ ปรับปรุง แก้ไข และให้คำปรึกษา ดูแลเอาใจใส่ข้าพเจ้าเป็นอย่างดี รวมทั้งการตรวจสอบแก้ไขรายงานปัญหาพิเศษเล่มนี้ เพื่อให้รายงานฉบับนี้มีความถูกต้องและสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ และเจ้าหน้าที่ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตรทุกท่าน ที่อำนวยความสะดวก และข้อเสนอแนะต่างๆ ในการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้เป็นอย่างยิ่ง

นอกจากนี้ ขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่ให้การสนับสนุนและคอยเอาใจใส่ ช่วยให้การทำปัญหาพิเศษครั้งนี้สำเร็จไปได้ด้วยดี และขอขอบคุณเพื่อนๆ ทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือในทุกๆ ด้าน และเป็นกำลังใจตลอดมาจนรายงานฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์

นางสาวกชรัตน์ วงศ์รัตน์

นางสาวสิริพรรณ กิตติวรพัฒน์

17 มีนาคม 2551

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อ	ก
กิตติกรรมประกาศ	ข
สารบัญ	ค
สารบัญตาราง	จ
สารบัญตารางภาคผนวก	ฉ
สารบัญภาพ	ช
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 บทนำ	1
1.2 วัตถุประสงค์	1
บทที่ 2 วารสารปริทัศน์	
2.1 แอนโทไซยานิน (Anthocyanins)	
2.1.1 โครงสร้างของแอนโทไซยานิน	2
2.1.2 การสังเคราะห์และการสลายของรงควัตถุ (Pigment biosynthesis and degradation)	4
2.1.3 ประโยชน์ของแอนโทไซยานินในด้านต่างๆ	7
2.2 อนุมูลอิสระ (Free radicals)/สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidants)	
2.2.1 อนุมูลอิสระ (free radicals) หรือ ROS	9
2.2.2 ชนิดของอนุมูลอิสระ	10
2.2.3 หลักการทางเคมีของอนุมูลอิสระ และ ROS	10
บทที่ 3 วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง	
3.1 วัสดุดิบ	14
3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์	14
3.3 สารเคมี	14
3.4 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง	15

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง	หน้า
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์การทดลอง	
4.1 การหาอัตราส่วนที่เหมาะสมในการผลิตน้ำบลูเบอร์รี่	17
4.2 คุณลักษณะทางเคมีกายภาพ	18
4.3 การศึกษาผลของกระบวนการผลิตต่อความคงตัวของแอนโทไซยานิน และความสามารถในการทำลายปฏิกิริยาออกซิเดชันในน้ำบลูเบอร์รี่	19
4.4 การศึกษาผลของอุณหภูมิในการเก็บรักษาต่อความคงตัวของ แอนโทไซยานินและความสามารถในการทำลายปฏิกิริยาออกซิเดชันใน น้ำบลูเบอร์รี่	25
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	31
เอกสารอ้างอิง	32
ภาคผนวก	
ภาคผนวก ก	34
ภาคผนวก ข	36
ภาคผนวก ค	39
ภาคผนวก ง	41
ภาคผนวก จ	42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงตัวอย่างของอนุมูลอิสระ (free radicals) และ Reactive oxygen species (ROS)	9
2	แสดงวิธีการต่างๆที่ใช้ในการวัดขีดความสามารถของสารแอนติออกซิแดนซ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระ	13
3	แสดงผลของเปอร์เซ็นต์น้ำเชื่อมฟรุกโตสต่างๆในน้ำบลูเบอร์รี่ต่อการยอมรับทางด้านประสาทสัมผัส	17
4	แสดงคุณลักษณะทางเคมีกายภาพของน้ำบลูเบอร์รี่และน้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้น	18
5	แสดงผลของอุณหภูมิต่ออัตราการสลายตัวของแอนโทไซยานินในน้ำบลูเบอร์รี่ (15° Brix) และน้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้น (45° Brix) ในกระบวนการแปรรูปที่อุณหภูมิต่างๆ	21
6	แสดงผลของอุณหภูมิต่ออัตราการลดลงของความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ ในน้ำบลูเบอร์รี่ (15° Brix) และน้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้น (45° Brix) ในกระบวนการแปรรูป	24
7	แสดงผลของอุณหภูมิต่ออัตราการสลายตัวของแอนโทไซยานินในน้ำบลูเบอร์รี่ (15° Brix) และน้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้น (45° Brix) ในระหว่างกระบวนการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ	27
8	แสดงผลของอุณหภูมิต่ออัตราการลดลงของความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระในน้ำบลูเบอร์รี่ (15° Brix) และน้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้น (45° Brix) ในกระบวนการเก็บรักษา	30

สารบัญตารางภาคผนวก

ตารางที่		หน้า
1	ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนคะแนนความชอบด้านสีของผลิตภัณฑ์ น้ำบลูเบอร์รี่	42
2	ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนคะแนนความชอบด้านกลิ่นของผลิตภัณฑ์ น้ำบลูเบอร์รี่	42
3	ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนคะแนนความชอบด้านรสชาติของผลิตภัณฑ์ น้ำบลูเบอร์รี่	43
4	ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนคะแนนความชอบโดยรวมของผลิตภัณฑ์ น้ำบลูเบอร์รี่	43
5	ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนความสามารถในการทำลาขออนุมูลอิสระ ในกระบวนการผลิตที่อุณหภูมิ 70, 80 และ 90 องศาเซลเซียส ด้วยวิธี ABTS radical cation scavenging assay ของผลิตภัณฑ์น้ำบลูเบอร์รี่ (15 ° Brix)	44
6	ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนความสามารถในการทำลาขออนุมูลอิสระ ในกระบวนการผลิตที่อุณหภูมิ 70, 80 และ 90 องศาเซลเซียสด้วยวิธี ABTS radical cation scavenging assay ของผลิตภัณฑ์น้ำบลูเบอร์รี่ (45 ° Brix)	44
7	ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนความสามารถในการทำลาขออนุมูลอิสระ ในกระบวนการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 10 องศาเซลเซียส ด้วยวิธี ABTS radical cation scavenging assay ของผลิตภัณฑ์น้ำบลูเบอร์รี่ (15 ° Brix)	45
8	ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนความสามารถในการทำลาขออนุมูลอิสระ ในกระบวนการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 10 องศาเซลเซียสด้วยวิธี ABTS radical cation scavenging assay ของผลิตภัณฑ์น้ำบลูเบอร์รี่ (45 ° Brix)	45

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แสดงโครงสร้างแอนโทไซยานิน	2
2	แสดงโครงสร้างของน้ำตาลบางชนิดที่พบในโมเลกุลของแอนโทไซยานิน	3
3	แสดงตัวอย่างโครงสร้างของแอนโทไซยานิดิน	4
	วิธีการสังเคราะห์ฟลาโวนอยด์	
4	แสดงการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของแอนโทไซยานิน เมื่อเปลี่ยนแปลง pH	5
5	แสดงหลักการหาขีดความสามารถของสารแอนต้ออกซิแดนซ์ในการเป็นตัวต้านอนุมูลอิสระ	6
6	แสดงสัดส่วนแอนโทไซยานินที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ ในน้ำบลูเบอร์รี่ (15° Brix) และน้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้น (45° Brix)	12
7	แสดงความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ ABTS ⁺ ที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ ในน้ำบลูเบอร์รี่ (15° Brix) และ น้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้น (45° Brix)	19
8	แสดงสัดส่วนแอนโทไซยานินในระหว่างกระบวนการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ ในน้ำบลูเบอร์รี่ (15° Brix) และ น้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้น (45° Brix)	23
9	แสดงความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระระหว่างกระบวนการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ ในน้ำบลูเบอร์รี่ (15° Brix) และ น้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้น (45° Brix)	26
10	แสดงความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระระหว่างกระบวนการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ ในน้ำบลูเบอร์รี่ (15° Brix) และ น้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้น (45° Brix)	29
11	แสดงความสัมพันธ์ของปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง	37
12	แสดงความสัมพันธ์ของ Arrhenius	38

บทที่ 1

บทนำ

1.1 บทนำ

แอนโทไซยานินเป็นรงควัตถุที่พบมากในบลูเบอร์รี่ สามารถให้สีได้ตั้งแต่แดง น้ำเงิน และม่วง จึงได้มีการนำแอนโทไซยานินมาใช้เป็นสารให้สีในอาหาร อีกทั้งแอนโทไซยานินยังมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถลดความเสี่ยงต่อโรคต่างๆได้ เช่น โรคความดันโลหิตสูง โรคเบาหวาน โรคหัวใจ โรคมะเร็งเป็นต้น แต่แอนโทไซยานินมีความคงตัวต่ำ เกิดการสลายตัวได้ง่าย จึงได้มีศึกษาความคงตัวของรงควัตถุแอนโทไซยานินและความสามารถในการทำลายปฏิกิริยาออกซิเดชันในกระบวนการแปรรูปด้วยความร้อน และกระบวนการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์น้ำบลูเบอร์รี่ เพื่อคงปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำบลูเบอร์รี่ที่มีองค์ประกอบ หรือส่วนประกอบของแอนโทไซยานินให้มากที่สุดในการแปรรูปด้วยความร้อนและกระบวนการเก็บรักษาเพื่อก่อให้เกิดประโยชน์ที่มีผลดีต่อสุขภาพร่างกายของผู้บริโภค

1.2 วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาความคงตัวของรงควัตถุแอนโทไซยานินและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในกระบวนการแปรรูปด้วยความร้อนและกระบวนการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์น้ำบลูเบอร์รี่

บทที่ 2

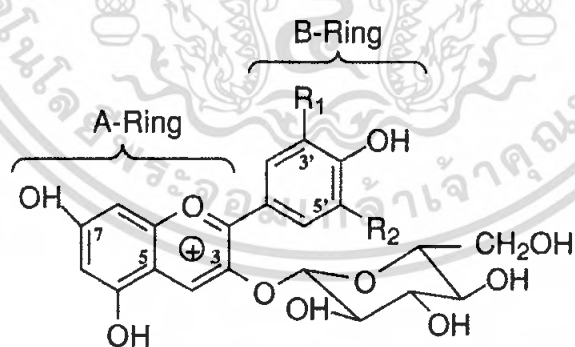
วารสารปริทัศน์

2.1 แอนโทไซยานิน (Anthocyanins)

2.1.1 โครงสร้างของแอนโทไซยานิน

แอนโทไซยานิน เป็นรงควัตถุที่พบอยู่ใน cell sap ของพืช อยู่ในรูปของไกลโคไซด์ ให้สีแดง น้ำเงิน และม่วง ในผัก ผลไม้ และดอกไม้ชนิดต่างๆ เนื่องจากโมเลกุลของแอนโทไซยานินเป็นไกลโคไซด์ ซึ่งประกอบด้วยส่วนที่เป็นน้ำตาล และส่วนที่เป็นอะไกลโคน (aglycone) เรียกว่าแอนโทไซยานิดิน (anthocyanidin) ซึ่งแยกออกจากกันได้โดยการไฮโดรไลซิสด้วยกรด ในเนื้อเยื่อพืชจะไม่พบอะไกลโคนที่อยู่ในรูปอิสระจะพบเฉพาะที่อยู่ในรูปไกลโคไซด์ คือ รวมกับน้ำตาลเป็นเอสเทอร์เท่านั้น (นิธิยา,2545)

โครงสร้างพื้นฐานในโมเลกุลของแอนโทไซยานิดิน ประกอบด้วยวงแหวนเบนโซไพแรน (benzopyran) 2 วงต่อกับวงแหวนฟีนิล (phenyl ring) ดังภาพที่ 1

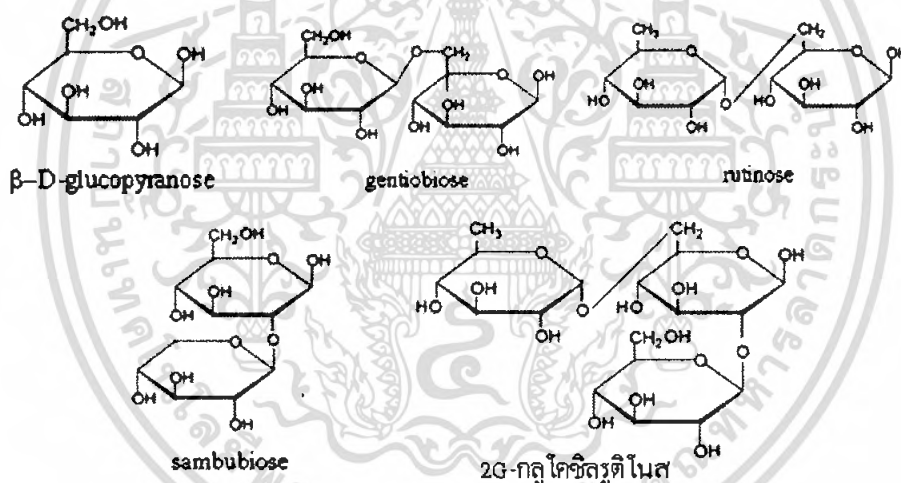


$R_1 + R_2 = H, OH, \text{ or } OMe$
Glycosidic Substitution on 3, 5, or 7
Acylation Possible on Sugar

ภาพที่ 1 แสดง โครงสร้างแอนโทไซยานิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบในโมเลกุลของแอนโทไซยานิน อาจพบตั้งแต่ 1 ถึง 3 โมเลกุล และยังพบได้ทั้งในรูปโมโน- ได- และไตรแซ็กคาไรด์ ซึ่งโมเลกุลของน้ำตาลส่วนใหญ่จะเกาะกับ หมู่ไฮดรอกซิลในโมเลกุลของแอนโทไซยานิน โดยเกิดปฏิกิริยาเอสเทอร์ริฟิเคชันที่ตำแหน่ง 3 ถ้าเป็นไดไกลโคไซด์จะเกาะที่ตำแหน่ง 3 และ 5 หรือตำแหน่งที่ 3 และ 7 ของหมู่ไฮดรอกซิล น้ำตาลโมโนแซ็กคาไรด์ที่พบ ได้แก่ น้ำตาลกลูโคส กาแล็กโทส แรมโนส อะบีโนส และไซโรส สำหรับน้ำตาลไดแซ็กคาไรด์ที่พบในแอนโทไซยานิน ได้แก่ รุติโนส (rutinose หรือ L-rhamnosyl($\alpha 1 \rightarrow 6$) D-glucose) เจนทิโอไบโอส (gentiobiose หรือ D-glucosyl ($\beta 1 \rightarrow 6$) D-glucose) โซพอโรส (sophorose หรือ D-glucosyl ($\beta 1 \rightarrow 2$) D-glucose) และแซมบูไบโอส (sambubiose หรือ D-xylosyl ($\beta 1 \rightarrow 2$) D-glucose) สูตรโครงสร้างของน้ำตาลบางชนิดที่พบในโมเลกุลของแอนโทไซยานิน (นิธิยา, 2545) ดังแสดงในภาพที่ 2

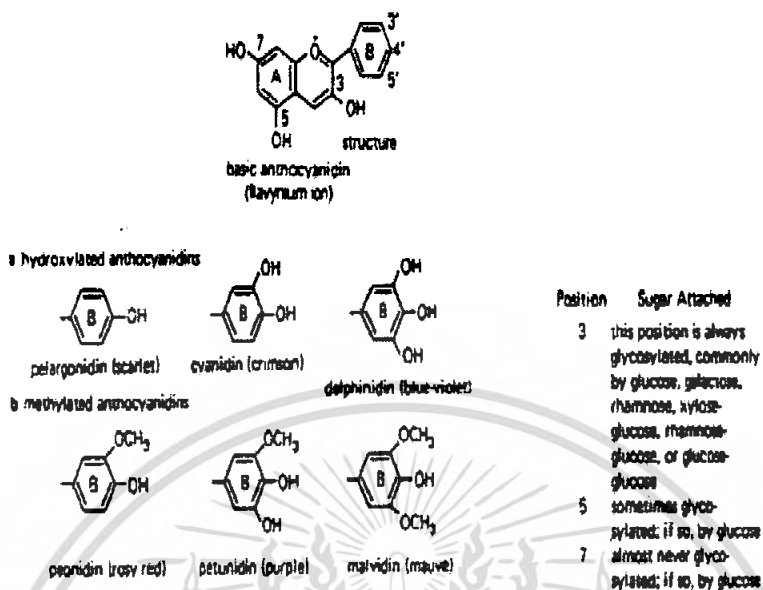


ภาพที่ 2 แสดงโครงสร้างของน้ำตาลบางชนิดที่พบในโมเลกุลของแอนโทไซยานิน
ที่มา: นธิยา รัตนปนนท์(2545)

โมเลกุลของน้ำตาลจะเกาะอยู่กับส่วนของแอนโทไซยานิน บริเวณฟลาโวน (flavone) ฟลาโวนอล (flavonol) หรือฟลาวาโนน (flavanones) ด้วยพันธะไกลโคไซด์ นอกจากนี้ในโมเลกุลของแอนโทไซยานินบางชนิดมีสารอื่นเป็นองค์ประกอบรวมอยู่ด้วย เช่น กรดอินทรีย์ และโลหะหนักเช่นเหล็กอะลูมิเนียมและแมกนีเซียม เป็นต้น

สารประกอบแอนโทไซยานินที่พบมากและอยู่ในรูปออกเนียมไอออน (oxonium ion) คือ ที่ออกซิเจนอะตอมมีประจุบวก ได้แก่ ไซยานิดิน (cyaniding) พิลาร์โกนิดีน (pelargonidin) เดลฟินิดิน (delphinidin) และพีโอนิดิน (peonidin) ซึ่งมีสูตรโครงสร้างดังภาพที่ 3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



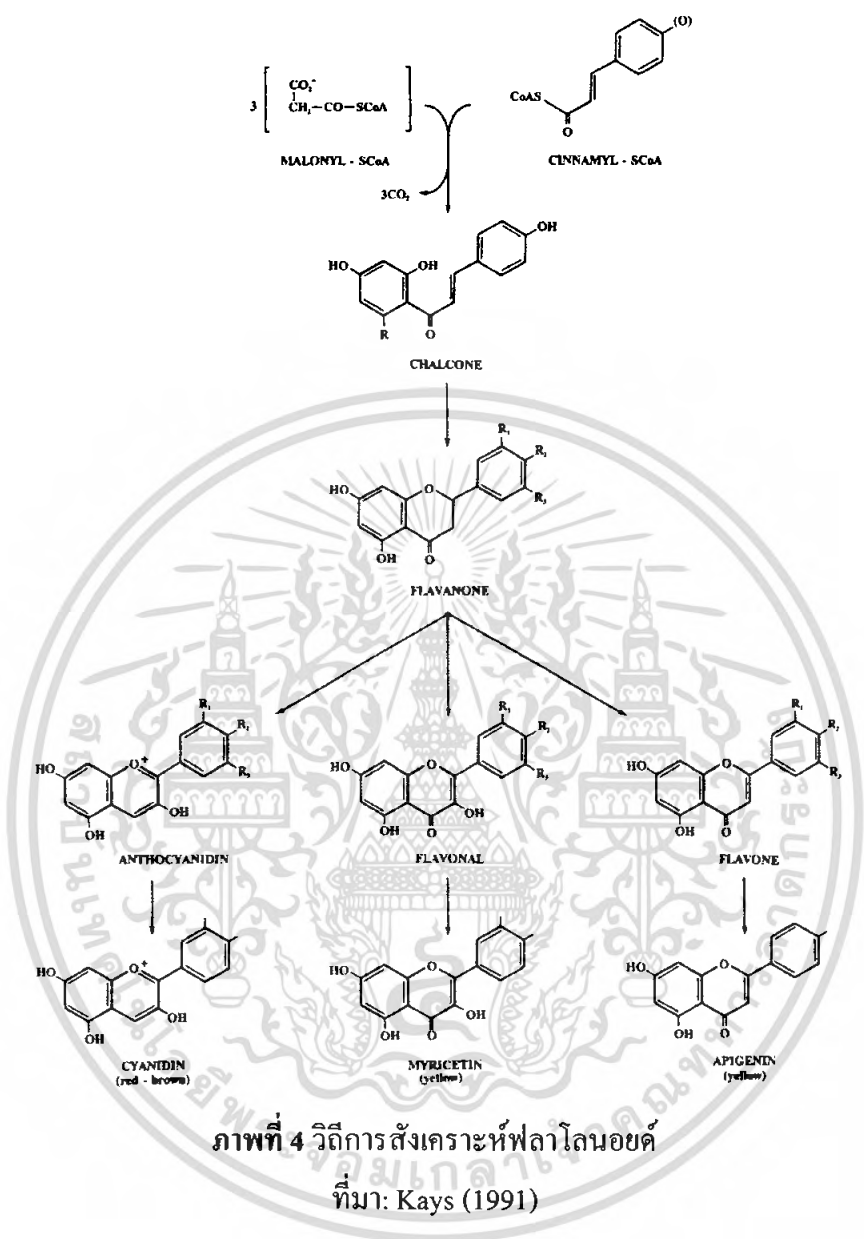
ภาพที่ 3 แสดงตัวอย่างโครงสร้างของแอนโทไซยานิดิน

ที่มา : <http://www.mju.ac.th>

2.1.2 การสังเคราะห์และการสลายของรงควัตถุ (Pigment biosynthesis and degradation)

(<http://www.mju.ac.th>)

การสังเคราะห์ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) เริ่มจากการสร้างโครงสร้างพื้นฐาน $C_6C_3C_6$ โดยการรวมตัวของ 3 โมเลกุลของ malonyl-CoA และ 1 โมเลกุลของ cinnamyl-CoA ได้ chalcone จากนั้นมีการปิดวงแหวน (ring) ได้เป็นสารประกอบฟลาโวนอน (flavanone) ซึ่งจะถูกเปลี่ยนไปเป็นฟลาโวนอยด์กลุ่มต่าง ๆ เช่น ฟลาโวน, ฟลาโวนอล, แอนโทไซยานิน ในขั้นตอนสุดท้ายกลุ่มต่างๆ ก็จะถูกเปลี่ยนไปเป็นสารประกอบจำเพาะ เช่น cyanidin, myricetin และ apigenin เป็นต้น



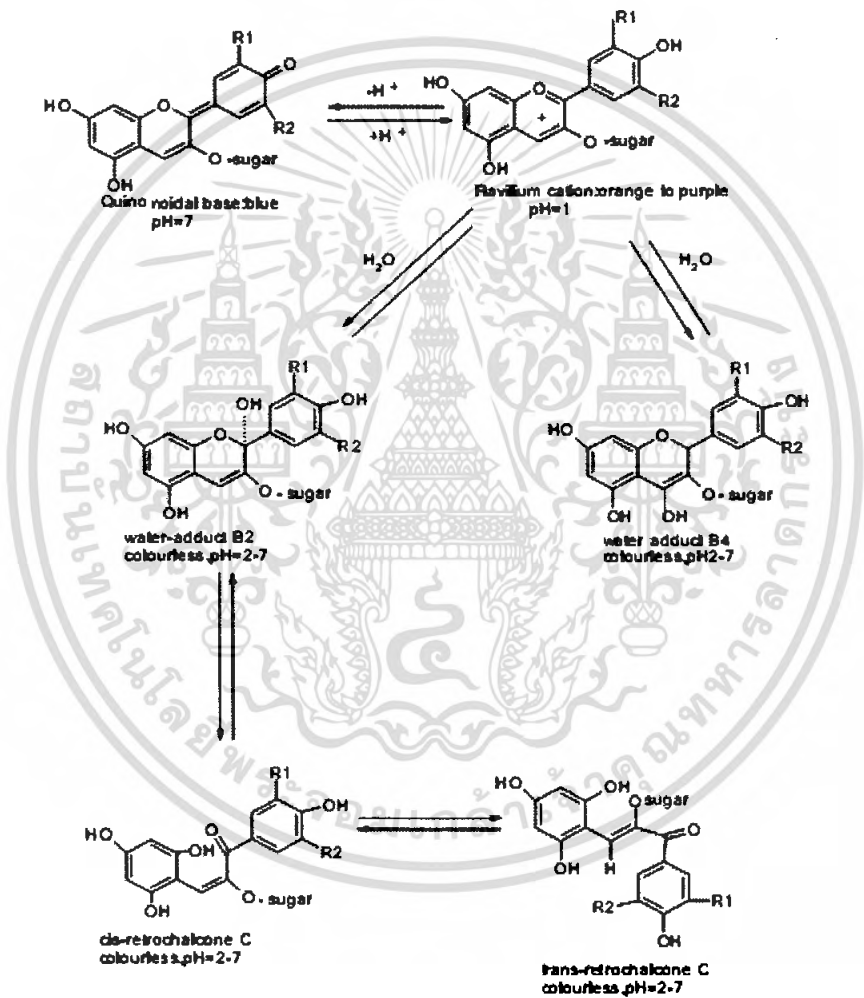
สีของแอนโทไซยานิน เป็นรงควัตถุที่มีสีในช่วงตั้งแต่แดง จนถึง น้ำเงิน การที่รงควัตถุจะมีสีใดนั้นยังขึ้นอยู่กับระดับของการเกิดเมทิลเลชัน (methylation) ซึ่งถ้าพบการเกิดเมทิลเลชันมากก็ให้สีแดงมากขึ้น ส่วนการเกิดไฮดรอกซีเลชัน (hydroxylation) มากขึ้นจะทำให้รงควัตถุมีสีน้ำเงินเข้มขึ้น นอกจากนั้น การเกิด chelation ของ Al^{+++} และ Fe^{+++} เข้ากับกลุ่มไฮดรอกซิล(hydroxyls) ของ A ring จะเกิดสีน้ำเงิน

การแทนที่ตำแหน่งบางตำแหน่งของแอนโทไซยานิน จะมีผลต่อความเสถียรของสารประกอบแต่ละตัว เช่น การแทนที่ด้วยไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง 3' มีผลทำให้รงควัตถุสลายตัวได้ง่ายขึ้น ส่วนการใช้เอนไซม์สามารถย่อยสลายแอนโทไซยานิน สามารถสกัดได้จากพืชหลายชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์การเขียนเนื้อหาเอกสารนี้โดยผู้จัดทำเอกสารนี้ ไม่อนุญาตให้มีการนำเนื้อหาไปใช้โดยไม่ได้รับอนุญาตจากผู้จัดทำเอกสารนี้

เช่น ดอกไม้ ผลไม้ และส่วนอื่นๆ เอนไซม์ดังกล่าวสามารถแบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่ม glycosidases และเอนไซม์ polyphenol oxidases ซึ่งเอนไซม์ทั้งสองชนิดนี้ จะออกซิไดซ์แอนโทไซยานินทำให้เกิดสารประกอบที่ไม่มีสี

กลไกอื่นที่ทำให้เกิดการสลายตัวของรงควัตถุ จะรวมถึงการเปลี่ยนแปลงพีเอชซึ่งมักเกิดขึ้นพร้อมๆ กับการสุกของผลไม้บางชนิด หรือการเข้าทำลายที่ส่วนของประจุของโมเลกุลแอนโทไซยานิน โดยพวก nucleophiles ที่เกิดขึ้นในธรรมชาติ เช่น กรดแอสคอร์บิก



ภาพที่ 5 แสดงการเปลี่ยนแปลง โครงสร้างของแอนโทไซยานิน เมื่อเปลี่ยนแปลง pH

ที่มา : <http://rudar.ruc.dk>

2.1.3 ประโยชน์ของแอนโทไซยานินในด้านต่างๆ (กนิษฐา, 2544)

2.1.3.1 แอนโทไซยานิน (Anthocyanins) กับสุขภาพผม

รายงานการวิจัยในประเทศญี่ปุ่นพบว่าในสัตว์ทดลอง แอนโทไซยานินสามารถกระตุ้นให้ขนงอกกลับคืนมาเร็วกว่าตัวควบคุมที่ไม่ได้ใช้สารถึง 1 เท่า ส่วนการศึกษาในหลอดทดลองยืนยันว่า สารแอนโทไซยานินสามารถกระตุ้นให้รากผม (hair keratinocytes) สร้างผมมากขึ้นถึง 3 เท่า

2.1.3.2 แอนโทไซยานิน (Anthocyanins) กับสุขภาพผิว

รงควัตถุแอนโทไซยานินช่วยให้ผิวหนังอ่อนกว่าวัย ลดความเสียหายของผิวหนังที่เกิดขบวนการออกซิเดชัน ซึ่งสาเหตุสำคัญของการเกิดออกซิเดชันคือ แสงอัลตราไวโอเลต วิธีการในการช่วยชะลอความเสื่อมถอยของผิวหนัง คือการใช้ sunscreen ที่ผสมสารต้านอนุมูลอิสระที่เทียบเท่ากับวิตามินอี โดยป้องกันกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวจากการเกิดออกซิเดชันด้วยแสงอัลตราไวโอเลต และเมื่อใช้รงควัตถุชนิดนี้ร่วมกับวิตามินอี จะช่วยให้การทำงานของยากันแดดดีขึ้น เพราะขบวนการเสื่อมถอยของผิวหนังเกิดขึ้น เนื่องจากการปลดปล่อยเอนไซม์ elastase จากการอักเสบของผิวหนังที่ถูกทำลายโดยแสงแดด สารแอนโทไซยานินจะช่วยป้องกันการปลดปล่อยของเอนไซม์ elastase จึงทำให้ elastin ยังคงอยู่ในผิวหนัง ช่วยทำให้ผิวหนังไม่เสื่อมถอยลง

2.1.3.3 แอนโทไซยานิน (Anthocyanins) กับสุขภาพร่างกาย

แอนโทไซยานิน เป็นสาร antioxidant ที่ทำงานได้ดีกว่าวิตามินอีถึง 5 เท่า เมื่อร่างกายได้รับสารนี้เพียงพอที่จะไปทำหน้าที่จับอนุมูลอิสระ (free radical) ที่ไปรบกวนระบบการทำงานของเซลล์ในร่างกาย ทำให้ร่างกายแข็งแรง สุขภาพดี รวมทั้งลดริ้วรอยอันเกิดก่อนวัย บำรุงผิวหนัง

เมื่อเกิดการอักเสบของหลอดเลือด (capillaries) จะเสียหาย ทำให้เอนไซม์ในเลือดไหลเข้าสู่เนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) มาก จึงทำให้เนื้อเยื่อบวมซ้ำและมีสีดำ และทำให้บริเวณผนังเส้นเลือด (blood vessel wall) เสียหาย ซึ่งสารแอนโทไซยานินจะเข้าไปทำหน้าที่ปรับสภาวะของเอนไซม์นั้นให้เป็นสภาวะกลาง (neutralize) ในเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน และใช้สมบัติการเป็นสารแอนติออกซิเดนท์ในการทำลายสารออกซิเดนท์ (oxidant) ที่เกิดจากการอักเสบของเนื้อเยื่อ ทำให้เกิดการซ่อมแซมโปรตีนบริเวณผนังเส้นเลือด นอกจากนี้แอนโทไซยานินสามารถทำลายอนุมูล superoxide ที่พบในเส้นเลือดใหญ่ (large blood vessels) ที่เป็นสาเหตุหนึ่งของโรคความดันโลหิตสูง (atherosclerosis) โดยป้องกันการเกิดออกซิเดชันของ low density lipoprotein (LDL) และปกป้องเซลล์ endothelial ที่เส้นเลือด จากการกระตุ้นให้เซลล์เม็ดเลือดขาวเคลื่อนย้ายเข้ามาสู่บริเวณนี้ นอกจากนี้สารแอนโทไซยานินยังช่วยผ่อนคลายเส้นเลือดเล็ก (small blood vessels) และทำให้ microcapillary แข็งแรง โดยการ stabilizing ที่ capillary wall

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเสียหายของ microvessel จากการที่ระดับน้ำตาลในเลือดสูงเป็นสาเหตุแทรกซ้อนของโรคเบาหวาน การที่โปรตีนคอลลาเจน (collagen) สามารถเชื่อมกับน้ำตาลเป็นผลมาจากความผิดปกติของ polymeric blood vessel collagen ในประเทศเยอรมันมีการทดสอบให้ผู้ป่วยโรคเบาหวาน 12 คน รับประทานสารแอนโทไซยานิน 600 มิลลิกรัมทุกวันเป็นเวลา 2 เดือน เมื่อนำเนื้อเยื่อมาตรวจพบว่าสามารถลดความผิดปกติของคอลลาเจนนี้ได้

ผลกระทบจากการเกิดสารออกซิเดนต์ในระบบประสาท (nervous system) หรือสมองจะทำให้ส่วนต่างๆ เหล่านี้ได้รับความเสียหาย สาร peroxynitrite ทำปฏิกิริยา nitration กับกรดอะมิโน tyrosine ในเอนไซม์ กรดอะมิโน tyrosine ที่ถูก nitrated หรือที่เรียกว่า tyrosine nitration เป็นโปรตีนที่เชื่อว่าเป็นสาเหตุหลักของโรคเส้นประสาทในสมองเสื่อม เนื่องจากจะกีดขวาง (block) การทำงานของ nerve growth-factor receptor site สารแอนโทไซยานินจะป้องกันการเกิด tyrosine nitration นี้ได้ อีกทั้ง แอนโทไซยานินสามารถช่วยบำรุงสายตา(eyesight) โดยในประเทศฝรั่งเศส มีการทดลองกับคนจำนวน 36 คน รับประทานสารแอนโทไซยานินที่สกัดจากลูกบลูเบอร์รี่ พบว่าภายในช่วง 24 ชั่วโมง หลังทานสารนี้เข้าไป สายตาสามารถทำการมองเห็นในเวลากลางคืนได้ดีขึ้น นอกจากนี้ ยังมีข้อมูลจากหลายห้องปฏิบัติการทดลองว่าสาร cyanidin สามารถยับยั้ง epidermal growth factor receptor ในเซลล์มะเร็ง(cancer) ในมนุษย์ได้อีกด้วย

2.2 อนุมูลอิสระ (Free radicals) / สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidants)

2.2.1 อนุมูลอิสระ (free radicals) หรือ ROS

โดยปกติ อนุมูลอิสระ (free radicals) ที่เป็นสาเหตุการเกิดปฏิกิริยา ออกซิเดชันในร่างกาย แต่ยังมี Reactive oxygen species (ROS) ที่เป็นตัวสำคัญอีกตัวหนึ่ง โดย ROS จะรวมถึง โมเลกุลที่ว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาที่เป็นทั้งอนุมูลอิสระ (radicals) หรือที่ไม่เป็นอนุมูลอิสระ (non-radicals) ก็ได้ (<http://www.gpo.or.th/>)

อนุมูลอิสระ (free radicals) หรือ ROS คือโมเลกุลหรืออิออนที่มีอิเล็กตรอนโคเดเดี่ยว อยู่รอบนอกและมีอายุสั้นมากประมาณ 1 หรือ 10^{-3} - 10^{-10} วินาที จึงจัดว่าเป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียรและว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมี โดยสามารถตรวจวัด ด้วย Electron Spin Resonance (ESR) โมเลกุลหรือ อิออนชนิดนี้เป็นตัวก่อให้เกิดปฏิกิริยาถูกโซ่ ตัวอย่างของอนุมูลอิสระ (free radicals) และ Reactive oxygen species (ROS) (<http://www.gpo.or.th/>) มีดังนี้

Superoxide anion radical	$O_2^{\cdot-}$
Hydroxyl radical	HO^{\cdot}
Peroxide radical	ROO^{\cdot}
Peroxyl radical	LOO^{\cdot}
Hydrogen peroxide	H_2O_2
Ozone	O_3
Singlet oxygen	1O_2
Hydrogen radical	H^{\cdot}
Methyl radical	CH_3^{\cdot}

ตารางที่ 1 แสดงตัวอย่างของอนุมูลอิสระ (free radicals) และ Reactive oxygen species (ROS)

ที่มา: <http://www.gpo.or.th/>

2.2.2 ชนิดของอนุมูลอิสระ สามารถแบ่งได้อย่างง่ายๆ (<http://www.gpo.or.th/>) คือ

1. อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกายซึ่งเป็นผลมาจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของร่างกายเอง
2. อนุมูลอิสระจากภายนอกร่างกาย
 - 2.1 การติดเชื้อ ทั้งจากแบคทีเรียและไวรัส
 - 2.2 การอักเสบชนิดไม่ทราบสาเหตุ (autoimmune diseases) เช่น ข้ออักเสบ รูมาตอยด์ โรคเก๊าท์
 - 2.3 รังสี
 - 2.4 สิ่งแวดล้อมที่เป็นมลพิษ เช่น ควันเสียและเขม่าจากเครื่องยนต์ ควันบุหรี่ ยาฆ่าแมลง
 - 2.5 การออกกำลังกายอย่างหักโหม

2.2.3 หลักการทางเคมีของอนุมูลอิสระ และ ROS (<http://www.gpo.or.th/>) เกิดโดย

1. ปฏิกิริยาการแยกอย่างสมมาตร (symmetric separation)



2. อนุมูลอิสระอื่นๆ



จากที่กล่าวมาแล้วว่าอนุมูลอิสระถูกสร้างขึ้นมาทั้งจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของร่างกายเอง และในภาวะที่ผิดปกติ เช่น ภาวะของโรค หรือภาวะที่ร่างกายแวดล้อมด้วยมลพิษ โดยในภาวะที่ผิดปกติจะส่งผลให้ร่างกายเกิดการสะสมของอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นจำเป็นที่ร่างกายต้องหาทางป้องกันการโดนทำลายจากอนุมูลอิสระเหล่านั้น สิ่งที่ร่างกายสร้างขึ้นเพื่อปกป้องตัวเอง ก็คือระบบแอนติออกซิแดนซ์ (antioxidants) ซึ่งประกอบไปด้วยสารหรือเอนไซม์ต่างๆ ที่ความเข้มข้นต่ำๆ ก็สามารถจะชะลอหรือป้องกันการปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารตั้งต้น (substrate) ที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยา โดยสารตั้งต้นเหล่านี้รวมถึงสารเกือบทุกชนิดในร่างกาย เช่น โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และ ดีเอ็นเอแต่อย่างไรก็ตามมีบางภาวะที่ปริมาณอนุมูลอิสระมีมากเกินไปที่ระบบแอนติออกซิแดนซ์จะจัดการได้ จะเกิดภาวะที่เรียกว่า oxidative stress ขึ้นมาซึ่งจะส่งผลกระทบต่อเซลล์สิ่งมีชีวิต เช่น การทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของดีเอ็นเอ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และเกิดการทำลายของกลุ่มโมเลกุลที่มีพันธะ S-H และเยื่อหุ้มเซลล์ ก่อให้เกิดผลเสียต่อเซลล์ และการทำลายเซลล์ ซึ่งเป็นสาเหตุของการแก่ (aging) และรุนแรงไปถึงการเกิดเป็นโรคภัยไข้เจ็บต่างๆ เช่น เส้นเลือดตีบ โรคเกี่ยวกับภูมิคุ้มกัน (autoimmune disease) โรคที่เกิดจากการที่เลือดกลับไปเลี้ยงอวัยวะที่เคยมีการตีตันของเส้นเลือดในระยะสั้นๆ มาก่อน (reoxygenation injury, reperfusion

injury) รวมไปถึงโรคมะเร็งเป็นต้น (<http://www.gpo.or.th/>) ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทำลายโมเลกุลที่เป็นต้นเหตุการเกิดของอนุมูลอิสระนับเป็นกลไกการทำงานของระบบแอนติออกซิแดนซ์ที่สำคัญกลไกหนึ่ง ซึ่งเป็นการทำงานที่อาศัยเอนไซม์หรือไม่ก็ได้ (<http://www.gpo.or.th/>) ดังนี้

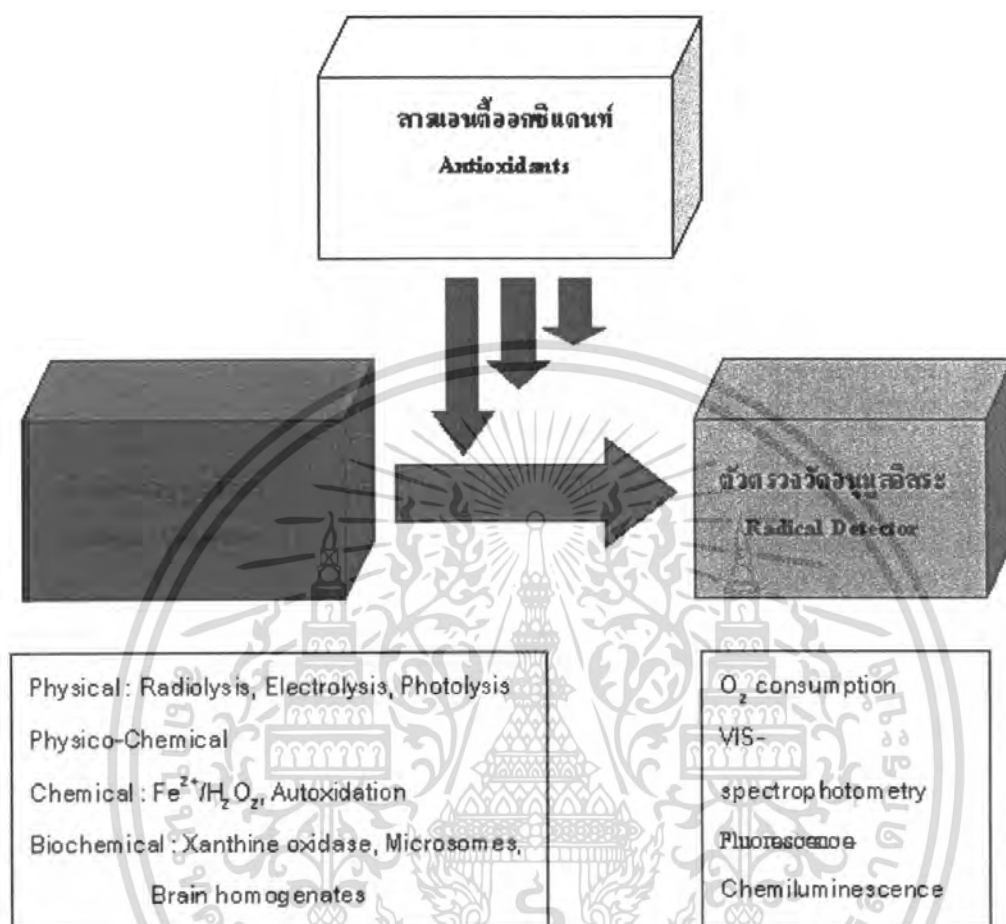
สารแอนติออกซิแดนซ์ที่พบในร่างกายและจัดเป็นเอนไซม์ ได้แก่ Superoxide dismutase (SOD), Catalase (CAT), Glutathione peroxidase (GPX), Glutathione reductase (GR) และ Glutathione S-transferase (GST)

ส่วนสารแอนติออกซิแดนซ์ที่พบในร่างกาย แต่ไม่จัดเป็นเอนไซม์ ได้แก่ Glutathione, Lipoic acid, Ceruloplasmin, Albumin, Transferrin, Haptoglobin, Hemopexin, Uric acid Bilirubin และ Cysteine

ส่วนสารแอนติออกซิแดนซ์ที่พบในอาหารและไม่จัดเป็นเอนไซม์ ได้แก่ Tocopherols, Carotenoids, Ascorbic acid, Steroids, Ubiquinones, Thiols, Inosine, Taurine, Pyruvate, Gallic acid, Flavonoids, Trolox, BHT และ BHA

สารแอนติออกซิแดนซ์เหล่านี้จะทำลายอนุมูลอิสระโดยการจับกับอนุมูลอิสระ ทำให้ลดการเกิดปฏิกิริยา ณ จุดตั้งต้นหรือยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่

การหาขีดความสามารถในการเป็นตัวต้านอนุมูลอิสระของสารแอนติออกซิแดนซ์ ส่วนใหญ่ ทำโดยอาศัยหลักการดังภาพที่ 6 นั่นคือ ขั้นแรกจะเป็นสร้างอนุมูลอิสระขึ้นมาก่อน แล้วจึงเติมสารแอนติออกซิแดนซ์ลงไป จากนั้นทำการตรวจวัดหาอนุมูลอิสระที่เหลือหลังจากการเกิดปฏิกิริยา ซึ่งหลักการนี้สามารถนำไปใช้ได้อย่างหลากหลาย ขึ้นอยู่กับการเลือกชนิดของตัวกำเนิดอนุมูลอิสระ และชนิดของตัวตรวจวัดอนุมูลอิสระ ส่วนตารางที่ 2 เป็นวิธีการตรวจวัดขีดความสามารถของสารแอนติออกซิแดนซ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นวิธีที่มีการใช้อย่างแพร่หลายและรายงานไว้โดยนักวิจัยกลุ่มต่างๆ (<http://www.gpo.or.th/>)



ภาพที่ 6 แสดงหลักการหาขีดความสามารถของสารแอนติออกซิแดนซ์
 ในการเป็นตัวตรวจวัดอนุมูลอิสระ

ที่มา: <http://www.gpo.or.th/>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Author (ผู้แต่ง)	Radical generator (ตัวกำเนิดอนุมูลอิสระ)	Radical detector (วิธีตรวจวัดอนุมูลอิสระ)	Measuring time (เวลาที่ใช้)
Emanuel <i>et al.</i> , 1961	Methyl oleate + O ₂	Peroxide	12-16 h
Stocks <i>et al.</i> , 1974	Brain homogenate + O ₂	O ₂ consumption	1 h
Frank <i>et al.</i> , 1982	Oil + O ₂	Electr. Conductivity	1-3 h
Wayner <i>et al.</i> , 1985	ABAP	O ₂ consumption	30-60 min
Popov <i>et al.</i> , 1985/1999	Luminol + UV-A	Chemiluminescence	1-3 min
Niki <i>et al.</i> , 1985	ABAP	O ₂ consumption	30-60 min
Klebanov <i>et al.</i> , 1988	Egg yolk + Fe ²⁺	Chemiluminescence	10-20 min
Miller <i>et al.</i> , 1993 TEAC - Test	ABTS + Peroxidase + H ₂ O ₂	VIS spectrophotometry	5 min
Cao <i>et al.</i> , 1995 ORAC - Test	AAPH	Fluorencence, R/β-phycoerythrin	70 min/sample (12 parallel)
Nakano <i>et al.</i> , 1994	Meth-Hb	Luminescence, O ₂	20-40 min
Ghiselli <i>et al.</i> , 1995 TRAP - Test	ABAP	Fluorescence, R-phycoerythrin	20-40 min
Saramet <i>et al.</i> , 1996	Luminol + H ₂ O ₂	Chemiluminescence	10-20 min

ABAP: 2,2'-azo-bis-(2-amidinopropane)
 ABTS: 2,2' azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6 sulfonic acid)
 AAPH: 2,2'-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride
 ABAP and AAPH are same substances

ตารางที่ 2 แสดงวิธีการต่างๆที่ใช้ในการวัดขีดความสามารถของสารแอนติออกซิแดนซ์
 ในการยับยั้งอนุมูลอิสระ

ที่มา : <http://www.gpo.or.th/>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบ

1. บลูเบอร์รี่แช่แข็ง (บริษัท สยามแมคโคร จำกัด (มหาชน))
2. น้ำเชื่อมฟรุกโตส (บริษัท เจ้าคุณเกษรพืชผล จำกัด)

3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. อุปกรณ์เครื่องแก้วต่างๆ
2. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (Sartorius TE214S)
3. Blender (Moulinex Optiblend Duo)
4. Centrifuge (Beckman Coulter, Allegra X-12R Centrifuge)
5. Rotary Evaporator (Buchi)
6. Hand Held Refractometer (Atago, Japan)
7. pH meter (Sartorius PB-10)
8. Water bath (Mettler, Thailand)
9. Thermocouple (Yokogawa model 2455, Japan)
10. Auto pipette (Eppendorf)
11. UV-Vis Spectrophotometer (Shimadzu UV-Pharmaspec)
12. Vortex mixer (Scientific Industries)
13. กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4

3.3 สารเคมี

1. Sodium hydroxide (NaOH) 0.1 N
2. Phenolphthalein
3. Buffer Potassium chloride (KCl) pH 1
4. Buffer Sodium acetate (CH_3COONa) pH 4.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) 1 mM
6. ABTS (2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid))
7. Manganese dioxide (MnO_2)

3.4 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง

1. การทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส เพื่อคัดเลือกอัตราส่วนของน้ำเชื่อมฟรุกโตสที่เหมาะสมในการผลิต

1.1 การเตรียมตัวอย่างน้ำลูเบอร์รี่ (ภาคผนวก ก)

นำลูเบอร์รี่ปั่นคือน้ำ อัตราส่วน 1 : 5 แบ่งตัวอย่างเป็น 3 ส่วน โดยในแต่ละส่วนเติมน้ำเชื่อมฟรุกโตสปริมาณ 9.09, 13.04 และ 16.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นำไปทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส ดังข้อ 1.2

โดยเลือกใช้สูตรที่ประกอบด้วยน้ำเชื่อมฟรุกโตส 16.67 เปอร์เซ็นต์ แบ่งตัวอย่างเป็น 2 ส่วน นำส่วนที่ 1 ไปทำการวัดปริมาณของแข็ง และนำส่วนที่ 2 ไประเหยน้ำออก 2 ส่วน ด้วยเครื่องระเหยสูญญากาศ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส แล้วทำการวัดปริมาณของแข็ง

1.2 การวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัส

นำตัวอย่างน้ำลูเบอร์รี่ มาประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านสี กลิ่น รส และความชอบโดยรวม ด้วยวิธี 9 point hedonic scale (ภาคผนวก ง) โดยใช้ผู้ทดสอบจำนวน 30 คน (Randomized Complete Block Design : RCBD) เพื่อคัดเลือกให้ได้น้ำลูเบอร์รี่ที่ได้รับการยอมรับสูงสุด

2. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและกายภาพเบื้องต้น

2.1 การวิเคราะห์ค่าพีเอช ด้วยเครื่อง pH meter (ภาคผนวก ก)

2.2 วิเคราะห์เปอร์เซ็นต์กรด โดยการไทเทรตด้วยสารละลายมาตรฐาน NaOH 0.1 N (ภาคผนวก ก)

3. การศึกษากระบวนการผลิตที่เหมาะสม

นำน้ำลูเบอร์รี่และน้ำลูเบอร์รี่เข้มข้นมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 ถึง 90 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลา 0 ถึง 40 นาที แล้วนำไปวิเคราะห์ความคงตัวของแอนโทไซยานินและความสามารถในการทำลายปฏิกิริยาออกซิเดชัน (ดังข้อ 5 และ 6) เพื่อคัดเลือกให้ได้น้ำลูเบอร์รี่ที่มีกระบวนการผลิตที่เหมาะสม เพื่อศึกษากระบวนการเก็บรักษา (ดังข้อ 3)

เอกสารนี้เป็น **ต่อไป** ที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. การศึกษากระบวนการเก็บรักษาที่เหมาะสม

เมื่อนำน้ำบลูเบอร์รี่และน้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้นมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 10 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 14 วัน แล้วนำไปวิเคราะห์ความคงตัวของแอนโทไซยานิน และความสามารถในการทำลายปฏิกิริยาออกซิเดชัน (ดังข้อ 5 และ 6)

5. การวิเคราะห์ความคงตัวของแอนโทไซยานิน ด้วยวิธี pH Differential Method

(ภาคผนวก ข)

การวิเคราะห์แอนโทไซยานินจะใช้ บัฟเฟอร์โพแทสเซียมคลอไรด์ พีเอช 1 ความเข้มข้น 0.025 โมลาร์ และ บัฟเฟอร์โซเดียมอะซิเตต พีเอช 4.5 ความเข้มข้น 0.4 โมลาร์ จากนั้นติดตามสีที่เกิดขึ้น โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 530 และ 700 นาโนเมตร

6. การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี ABTS radical cation scavenging assay (ภาคผนวก ค)

โดยการวัดความสามารถขององค์ประกอบในสารสกัดในการทำลายอนุมูลอิสระ ABTS⁺ ที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การหาอัตราส่วนที่เหมาะสมในการผลิตน้ำบลูเบอร์รี่

การศึกษาผลของปริมาณน้ำเชื่อมฟรุกโตส 9.09, 13.04 และ 16.67 เปอร์เซ็นต์ต่อการยอมรับทางประสาทสัมผัส ด้วยวิธี 9 point hedonic scale จากการวัดคะแนนความชอบด้าน สี กลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวมของผู้ทดสอบทั้งหมด 30 คน เพื่อคัดเลือกอัตราส่วนของน้ำเชื่อมฟรุกโตสที่เหมาะสมในการผลิตน้ำบลูเบอร์รี่ พบว่าได้ผลดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 แสดงผลของเปอร์เซ็นต์น้ำเชื่อมฟรุกโตสต่างๆ ในน้ำบลูเบอร์รี่ต่อการยอมรับทางด้านประสาทสัมผัส

เปอร์เซ็นต์น้ำเชื่อมฟรุกโตส ในน้ำบลูเบอร์รี่	ลักษณะทางประสาทสัมผัส			
	สี	กลิ่น	รสชาติ	ความชอบโดยรวม
9.09	6.27 ± 1.31 ^a	5.73 ± 1.66 ^a	4.33 ± 1.97 ^a	4.83 ± 1.76 ^a
13.04	6.47 ± 1.14 ^a	5.63 ± 1.35 ^a	5.73 ± 1.70 ^b	6.23 ± 1.45 ^b
16.67	6.00 ± 1.36 ^a	5.57 ± 1.70 ^a	7.63 ± 1.10 ^c	7.37 ± 1.16 ^c

หมายเหตุ a - c หมายถึงความแตกต่างทางสถิติของตัวอย่างในแต่ละคอลัมน์ ที่ระดับนัยสำคัญ 95% (0.95) ผู้ทดสอบ จำนวน 30 คน

ผลการทดลองพบว่าผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบด้านสี และ กลิ่น ที่มีอัตราส่วนของน้ำเชื่อมฟรุกโตสทั้ง 3 ระดับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($\alpha < 0.05$) แสดงว่า ปริมาณน้ำเชื่อมฟรุกโตสทั้ง 3 ระดับไม่มีผลต่อความเข้มของสีและกลิ่นของน้ำบลูเบอร์รี่ ทำให้ผู้ทดสอบไม่สามารถแยกแยะความแตกต่างได้ แต่คะแนนความชอบด้านรสชาติมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทุกๆ ระดับของน้ำเชื่อมฟรุกโตส โดยการเติมน้ำเชื่อมฟรุกโตสที่ความเข้มข้น 16.67 เปอร์เซ็นต์จะได้รับการยอมรับมากที่สุดคือ 7.63 นอกจากนี้ คะแนนความชอบโดยรวมก็ให้ผลสอดคล้องกับการทดสอบด้านรสชาติ โดยน้ำบลูเบอร์รี่ที่เติมน้ำเชื่อมฟรุกโตสที่ความเข้มข้น

16.67 เปอร์เซ็นต์ ได้รับคะแนนเฉลี่ยของความชอบโดยรวมสูงที่สุดเท่ากับ 7.37 และมีความแตกต่างจากการเติมน้ำเชื่อมฟรุกโตสที่ 9.09 และ 13.04 เปอร์เซ็นต์ในน้ำบลูเบอร์รี่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($\alpha < 0.05$) แสดงว่า ผู้ทดสอบสามารถแยกแยะความแตกต่างของน้ำบลูเบอร์รี่ได้ เนื่องจาก ส่วนผสมบลูเบอร์รี่ปั่นต่อน้ำ อัตราส่วน 1:5 มีพีเอช 2.65 ทำให้ผลิตภัณฑ์ความเป็นกรดสูงจึงมีรสเปรี้ยวมาก การเพิ่มเปอร์เซ็นต์น้ำเชื่อมฟรุกโตสจะทำให้มีรสชาติกลมกล่อมมากขึ้น และลดความเปรี้ยวของผลิตภัณฑ์ลง ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ดังนั้นผู้ทดสอบจึงให้คะแนนความชอบด้านรสชาติแตกต่างกัน

ดังนั้น จากผลทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส จึงเลือกใช้สูตรที่ประกอบด้วยน้ำเชื่อมฟรุกโตส 16.67 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากมีคะแนนความชอบด้านรสชาติและความชอบโดยรวมสูงที่สุด อีกทั้งยังมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับสูตรอื่นๆ เพื่อนำไปศึกษาความคงตัวของรงควัตถุแอนโทไซยานินและความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระในผลิตภัณฑ์น้ำบลูเบอร์รี่เมื่อผ่านกระบวนการให้ความร้อน

4.2 คุณลักษณะทางเคมีกายภาพ

เมื่อนำน้ำบลูเบอร์รี่ที่ได้จากการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสในข้อ 4.1 มาทำการระเหยน้ำด้วยเครื่องระเหยสูญญากาศที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เพื่อให้ได้ปริมาณของแข็ง เท่ากับ 45° Brix โดยการระเหยน้ำออก 2 ส่วน ให้เหลือ 1 ส่วน จากนั้นนำไปศึกษาคุณลักษณะทางเคมีกายภาพของน้ำบลูเบอร์รี่และน้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้น ได้ผลดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงคุณลักษณะทางเคมีกายภาพของน้ำบลูเบอร์รี่และน้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้น

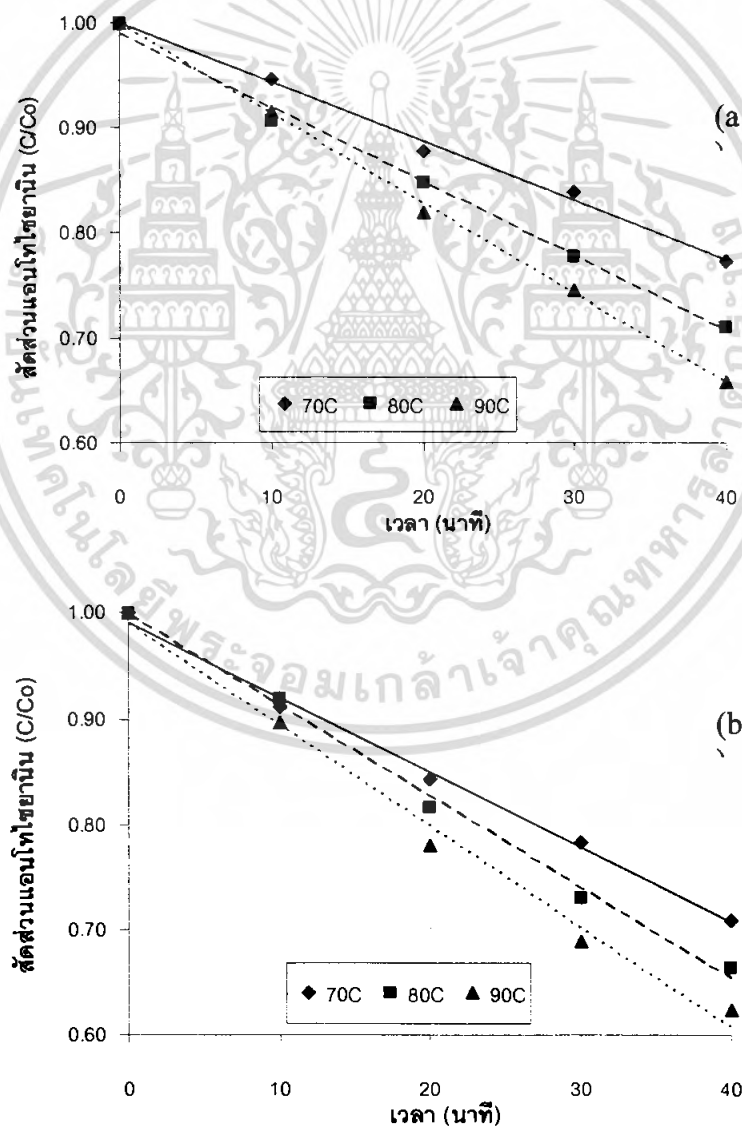
คุณลักษณะทางเคมีกายภาพ	น้ำบลูเบอร์รี่	น้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้น
ปริมาณของแข็ง (° Brix)	15	45
พีเอช	2.66 ± 0.07	2.45 ± 0.06
เปอร์เซ็นต์กรด (g/100mL)	2.03 ± 0.15	5.55 ± 0.40
ปริมาณแอนโทไซยานิน (mg/L)	148.09 ± 3.75	574.05 ± 2.91

จากตารางที่ 4 พบว่าเมื่อระเหยเอาตัวทำละลายบางส่วนออก จะส่งผลให้ค่าพีเอชของน้ำบลูเบอร์รี่ ลดลงจาก 2.66 ± 0.07 เป็น 2.45 ± 0.06 ในน้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้น ในทางตรงกันข้ามเปอร์เซ็นต์กรดและความเข้มข้นของแอนโทไซยานินจะเพิ่มขึ้น โดยเปอร์เซ็นต์กรดจะเพิ่มขึ้นจาก 2.03 ± 0.15 (g/100mL) เป็น 5.55 ± 0.40 (g/100mL) และความเข้มข้นของแอนโทไซยานินเพิ่มขึ้นจาก 148.09 ± 3.75 (mg/L) เป็น 574.05 ± 2.91 (mg/L) แสดงให้เห็นว่าเมื่อผ่านกระบวนการให้ความร้อน น้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้นมีการเปลี่ยนแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จาก 148.09 ± 3.75 เป็น 574.05 ± 2.91 มิลลิกรัมต่อลิตร ทั้งนี้เนื่องจาก การทำให้เข้มข้นทำให้ความเข้มข้นของตัวถูกละลายเพิ่มขึ้น ส่งผลให้เปอร์เซ็นต์กรดเพิ่มขึ้น ดังนั้นค่าพีเอชจึงลดลง

4.3 การศึกษาผลของกระบวนการผลิตต่อความคงตัวของแอนโทไซยานิน และความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระในน้ำบลูเบอร์รี่

เมื่อนำน้ำบลูเบอร์รี่และน้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้นมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 ถึง 90 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลา 0 ถึง 40 นาที แล้วนำมาเขียนกราฟหาความสัมพันธ์ระหว่างสัดส่วนของแอนโทไซยานิน (C/C_0) (แกน y) กับระยะเวลาในการให้ความร้อน (แกน x) ได้ผลดังภาพที่ 7



ภาพที่ 7 แสดงสัดส่วนแอนโทไซยานินที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆในน้ำบลูเบอร์รี่ (15° Brix) (a)

และ น้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้น (45° Brix) (b) งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆในน้ำบลูเบอร์รี่ พบว่าเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการให้ความร้อน จะมีผลทำให้ปริมาณแอนโทไซยานินลดลงในทุกอุณหภูมิ ในขณะที่การเพิ่มอุณหภูมิการให้ความร้อนในน้ำบลูเบอร์รี่จะทำให้เกิดการสลายตัวของแอนโทไซยานินเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 7a) นอกจากนี้ ยังสอดคล้องกับการสลายตัวของแอนโทไซยานินเมื่ออุณหภูมิและระยะเวลาเพิ่มขึ้นในน้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้น (45° Brix) (ภาพที่ 7b) เมื่อวิเคราะห์ความชันของกราฟที่แสดงถึงอัตราการสลายตัวของแอนโทไซยานินในน้ำบลูเบอร์รี่ พบว่าการเพิ่มอุณหภูมิและระยะเวลาในการให้ความร้อน ส่งผลให้ความชันของกราฟเพิ่มมากขึ้น แสดงว่าอัตราการสลายตัวของแอนโทไซยานินมากขึ้น เมื่อให้ความร้อนเพิ่มขึ้นจาก 70 เป็น 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที ปริมาณแอนโทไซยานินจะลดลง 23 และ 34 เปอร์เซ็นต์ในน้ำบลูเบอร์รี่ และลดลง 29 และ 38 เปอร์เซ็นต์ในน้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้น แสดงว่าการเพิ่มอุณหภูมิมิผลต่อการสลายตัวของแอนโทไซยานิน เนื่องจากการเพิ่มอุณหภูมิเป็นการเพิ่มปริมาณพลังงานในระบบ ทำให้โมเลกุลไม่เสถียร อัตราการสลายตัวจึงเพิ่มขึ้น

การเพิ่มระยะเวลาในการให้ความร้อนจาก 10 เป็น 40 นาที ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส พบว่าปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำบลูเบอร์รี่จะลดลง 5 และ 23 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณเริ่มต้น ในขณะที่ในน้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้นจะลดลง 9 และ 29 เปอร์เซ็นต์ ณ อุณหภูมิและเวลาเดียวกัน (ภาพที่ 7) แสดงว่า การเพิ่มระยะเวลาในการให้ความร้อนมีผลต่อการสลายตัวของแอนโทไซยานิน เนื่องจากการเพิ่มเวลา ทำให้เกิดปฏิกิริยามากขึ้น ปริมาณแอนโทไซยานินจึงลดลงอย่างต่อเนื่อง ดังนั้น ความร้อนและระยะเวลาในการให้ความร้อน มีผลต่อการเร่งปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานิน โดยการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จะยังคงมีปริมาณแอนโทไซยานินเหลือมากที่สุดในทุกความเข้มข้นที่ทดสอบ โดยในน้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้นมีปริมาณแอนโทไซยานินเหลือ 77 เปอร์เซ็นต์ และในน้ำบลูเบอร์รี่ เหลือ 71 เปอร์เซ็นต์

เมื่อนำความสัมพันธ์ระหว่างลอการิทึมฐานธรรมชาติ (\ln) ของสัดส่วนแอนโทไซยานิน (C/C_0) กับระยะเวลาในการให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่างๆ มาวิเคราะห์หาอัตราเร็วของปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานินในน้ำบลูเบอร์รี่และในน้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้น พบว่าการสลายตัวของแอนโทไซยานินเป็นไปตามความสัมพันธ์ปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง (First order reaction) โดยค่าอัตราการสลายตัวของปฏิกิริยา (k) และ half-life ($t_{1/2}$) หรือเวลาที่ทำให้ปริมาณแอนโทไซยานินลดลงครึ่งหนึ่ง แสดงดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 แสดงผลของอุณหภูมิต่ออัตราการสลายตัวของแอนโทไซยานินในน้ำบลูเบอร์รี่ (15° Brix) และน้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้น (45° Brix) ในกระบวนการแปรรูปที่อุณหภูมิต่างๆ

ปริมาณของแข็ง (°Brix)	อุณหภูมิ (°C)	$k \times 10^3 \text{ (min}^{-1}\text{)}^a$	$t_{1/2} \text{ (h)}^b$	$E_a \text{ (kJ/mol)}^c$
15	70	6.30 (0.994) ^d	1.83	25.97(0.995) ^d
	80	8.40 (0.997)	1.38	
	90	10.40 (0.996)	1.11	
45	70	8.40 (0.998)	1.38	18.50(0.983)
	80	10.50 (0.997)	1.10	
	90	12.00 (0.997)	0.96	

หมายเหตุ
^a หมายถึง อัตราคงที่ (Rate constant, หน่วยคือ min^{-1})
^b หมายถึง ค่าครึ่งชีวิต (Half life, หน่วยคือ ชั่วโมง (h))
^c หมายถึง พลังงานกระตุ้น (Activation energy, หน่วยคือ kJ/mol)
^d หมายถึง ตัวเลขในวงเล็บ แสดงค่าสัมประสิทธิ์ตัวกำหนด (Coefficients of determination)

จากตารางที่ 5 พบว่า อัตราการสลายตัว (k) ของแอนโทไซยานินในน้ำบลูเบอร์รี่ (15° Brix) จะแปรผันตามอุณหภูมิ แต่จะแปรผกผันกับค่าครึ่งชีวิต (half life) โดยค่า k จะเพิ่มขึ้นจาก 6.30 เป็น 8.40 และ 10.40 ($\times 10^3 \text{ min}^{-1}$) หรือเพิ่มขึ้น 1.65 เท่า แต่ค่าครึ่งชีวิตจะลดลงจาก 1.83 เป็น 1.38 และ 1.11 ชั่วโมง หรือลดลง 39.34 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเพิ่มอุณหภูมิจาก 70 เป็น 90 องศาเซลเซียส และมีแนวโน้มเช่นเดียวกับในน้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้น (45° Brix) ดังนั้น เมื่อเพิ่มอุณหภูมิจะทำให้อัตราการสลายตัวจะเพิ่มขึ้น ในขณะที่ค่าครึ่งชีวิตจะลดลง ซึ่งเมื่ออัตราการสลายตัวสูงจะหมายความว่า เกิดปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานินอย่างรวดเร็ว จึงส่งผลทำให้ค่าครึ่งชีวิตลดลง ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Wang และ Xu (2007) ที่ทำการศึกษาอัตราการสลายตัวของแอนโทไซยานินในน้ำแบล็กเบอร์รี่ (Blackberry juice) ความเข้มข้น 8.90° Brix พบว่าอัตราการสลายตัว (k) ของแอนโทไซยานินจะแปรผันตามอุณหภูมิและแปรผกผันกับค่าครึ่งชีวิต (half life) โดยค่า k จะเพิ่มขึ้นจาก 0.69 เป็น 3.94 ($\times 10^3 \text{ min}^{-1}$) และค่าครึ่งชีวิตจะลดลงจาก 16.7 เป็น 2.9 ชั่วโมง เมื่อเพิ่มอุณหภูมิจาก 60 เป็น 90 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับการทดลองของ Kirca และ Cemeroglu (2003) ที่ศึกษาอัตราการสลายตัวของแอนโทไซยานินในน้ำส้มสีทับทิม (Blood orange juice) ความเข้มข้น 11.2° Brix ที่อุณหภูมิ 70 ถึง 90 องศาเซลเซียส พบว่า อัตราการสลายตัว (k) เพิ่มขึ้นจาก 1.84 เป็น 7.60 ($\times 10^3 \text{ min}^{-1}$) ค่าครึ่งชีวิตจะลดลงจาก 6.3 เป็น 1.5 ชั่วโมง

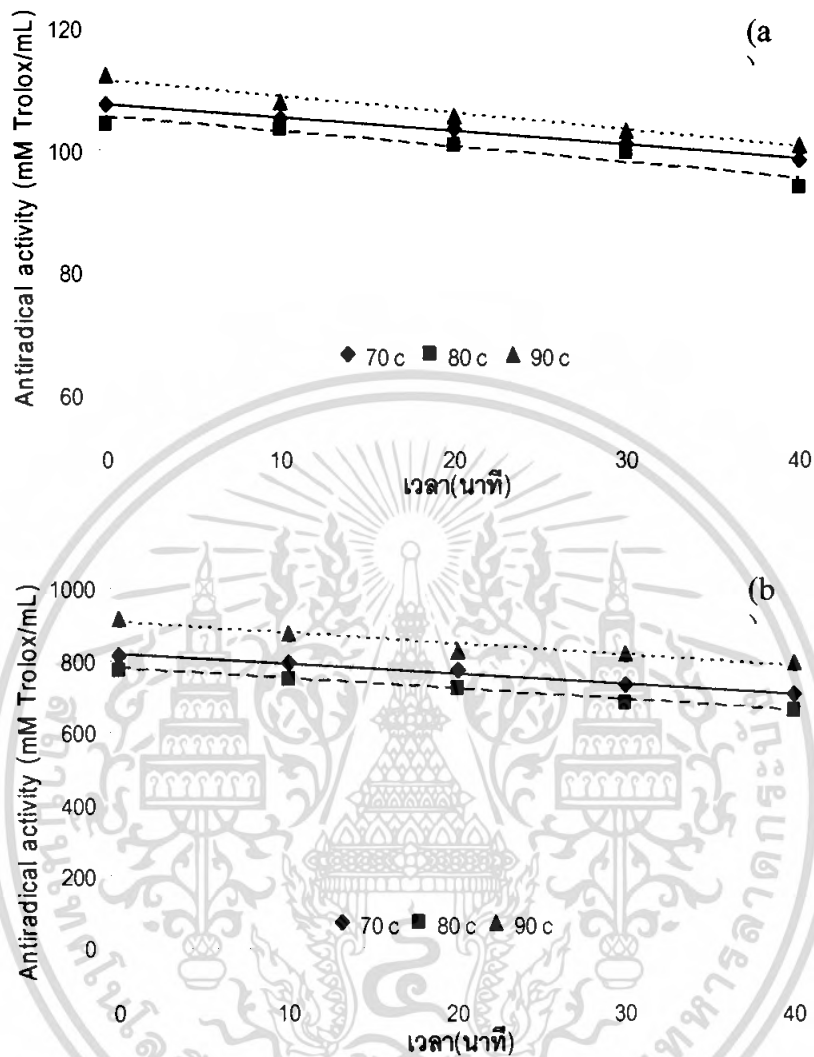
ดังนั้น อุณหภูมิเป็นปัจจัยสำคัญต่ออัตราการสลายตัว (k) และค่าครึ่งชีวิต (half life) ของแอนโทไซยานิน

เมื่อเปรียบเทียบการให้ความร้อนที่อุณหภูมิเดียวกัน พบว่า น้ำบลูเบอร์รี่ (15° Brix) ที่ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จะมีอัตราการสลายตัวเท่ากับ $6.30 \times 10^3 \text{ min}^{-1}$ และค่าครึ่งชีวิตเท่ากับ 1.83 ชั่วโมง แต่เมื่อเพิ่มปริมาณของแข็งเป็น 45° Brix พบว่าอัตราการสลายตัวจะเพิ่มขึ้นเป็น $8.40 \times 10^3 \text{ min}^{-1}$ หรือเพิ่มขึ้นเป็น 1.33 เท่า และค่าครึ่งชีวิตลดลงเหลือ 1.38 ชั่วโมงหรือลดลง 24.59 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ การให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 และ 90 องศาเซลเซียสจะให้ผลเช่นเดียวกันกับที่ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ดังนั้น การเพิ่มปริมาณของแข็งจะทำให้อัตราการสลายตัวจะเพิ่มสูงขึ้น ส่งผลให้ค่าครึ่งชีวิตในทุกอุณหภูมิที่ศึกษาลดลง เนื่องจากเมื่อปริมาณของแข็งเพิ่มขึ้นโมเลกุลจะอยู่ใกล้ชิดกันมากขึ้น ซึ่งจะเร่งอัตราการเกิดปฏิกิริยาเคมี หรืออัตราการสลายตัวของแอนโทไซยานิน สอดคล้องกับผลการทดลองของ Kirca และ Cemeroglu (2003) ที่ศึกษาผลของปริมาณของแข็งต่ออัตราการสลายตัวของแอนโทไซยานินในน้ำส้มสีทับทิม (Blood orange juice) ที่ปริมาณของแข็ง ระหว่าง 11.2 ถึง 69° Brix ที่อุณหภูมิ 70 ถึง 90 องศาเซลเซียส พบว่า การเพิ่มปริมาณของแข็งจะทำให้อัตราการสลายตัวของแอนโทไซยานินเพิ่มสูงขึ้น เมื่อเปรียบเทียบ ณ อุณหภูมิเดียวกัน และแปรผกผันกับค่าครึ่งชีวิตในทุกอุณหภูมิที่ศึกษา ดังนั้น ความเข้มข้นของน้ำผลไม้จะมีผลต่ออัตราสลายตัวของแอนโทไซยานิน

เมื่อคำนวณพลังงานกระตุ้น (E_a) ซึ่งเป็นค่าที่บ่งบอกถึงพลังงานต่ำสุดที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานินในน้ำบลูเบอร์รี่ พบว่าเมื่อปริมาณของแข็งเพิ่มขึ้นจาก 15 เป็น 45° Brix ค่าพลังงานกระตุ้นจะลดลงจาก 25.97 เป็น 18.50 kJ/mol หรือลดลงเป็น 28.76 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่า น้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้นจะปฏิกิริยาเกิดได้ง่าย ดังนั้น เมื่อเพิ่มอุณหภูมิ ระยะเวลา และปริมาณของแข็ง จะส่งผลให้ความคงตัวของแอนโทไซยานินในน้ำบลูเบอร์รี่ลดลง แต่ขัดแย้งกับผลการทดลองของ Kirca และ Cemeroglu (2003) ที่พบว่า การเพิ่มปริมาณของแข็งจาก 11.2 เป็น 69° Brix ในน้ำส้มสีทับทิม จะทำให้ค่าพลังงานกระตุ้นจะเพิ่มขึ้นจาก 73.6 เป็น 89.5 kJ/mol

เมื่อศึกษาผลการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ ต่อความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี ABTS radical cation scavenging assay ในน้ำบลูเบอร์รี่ที่มีปริมาณของแข็ง 15 และ 45° Brix โดยการวัดความสามารถขององค์ประกอบในน้ำบลูเบอร์รี่ในการทำลายอนุมูลอิสระ ABTS^+ ที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร แล้วนำมาเขียนกราฟหาความสัมพันธ์ระหว่าง Antiradical activity (mM Trolox/mL) (แกน y) กับระยะเวลาในการให้ความร้อน (แกน x) ได้ผลดังภาพที่ 8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 8 แสดงความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ ABTS⁺ ที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ ในน้ำบลูเบอร์รี่ (15° Brix) (a) และ น้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้น (45° Brix) (b)

ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ ABTS⁺ ของน้ำบลูเบอร์รี่และน้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้น มีค่า 104.2 ถึง 112.2 และ 773.9- 915.3 มิลลิโมลาร์ Trolox ต่อมิลลิลิตร โดยน้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้นจะมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระมีค่าเพิ่มขึ้น 6.91 – 8.78 เท่าของน้ำบลูเบอร์รี่ แสดงว่าการทำให้เข้มข้นในขั้นตอนการระเหยสุญญากาศขึ้น 3 เท่า ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารประกอบที่มีสมบัติในการทำลายอนุมูลอิสระ ซึ่ง Murphy และคณะ (2007) ได้อธิบายว่า การให้ความร้อนสูงระยะเวลาสั้นๆ จะส่งผลให้เซลล์เมมเบรนของบลูเบอร์รี่สูญเสียสภาพธรรมชาติ สารประกอบที่มีความสามารถทำลายอนุมูลอิสระถูกสกัดออกมาในตัวทำละลายได้ง่ายกว่า ทำให้

ความสามารถทำลายอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ การให้ความร้อนในไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระหว่างการระเหยอาจส่งผลให้เกิดการจัดเรียงโครงสร้างของสารประกอบที่มีสมบัติในการทำลายอนุมูลอิสระ และแสดงศักยภาพของความสามารถทำลายอนุมูลอิสระให้สูงขึ้น รวมทั้ง Oboh (2005) ได้แสดงให้เห็นว่าการให้ความร้อนเป็นการเร่งการสลายตัวทำให้เกิดสารประกอบที่มีความสามารถทำลายอนุมูลอิสระ เช่น แทนนินเป็นสารประกอบฟีนอล Nicoli และคณะ (1999) ได้รายงานว่า ความสามารถทำลายอนุมูลอิสระของอาหารอาจเพิ่มขึ้นได้เนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดจะทำให้เกิดสารประกอบที่ไม่เสถียรที่เรียกว่าผลิตภัณฑ์จากเมลลาร์ด (Millard reaction products, MRPs) ในระหว่างการให้ความร้อนส่งผลให้ความสามารถทำลายอนุมูลอิสระของน้ำบลูเบอร์รี่เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆในน้ำบลูเบอร์รี่ (ภาพที่ 8) พบว่า การเพิ่มอุณหภูมิและระยะเวลาในการให้ความร้อนจะมีผลทำให้ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ ABTS⁺ ค่อยๆ ลดลง เมื่อเพิ่มอุณหภูมิจาก 70 เป็น 90 องศาเซลเซียส ที่การให้ความร้อนเวลา 40 นาที จะทำให้ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระลดลง 8.72 และ 10.42 เปอร์เซ็นต์ในน้ำบลูเบอร์รี่ เมื่อเพิ่มระยะเวลาในการให้ความร้อนจาก 10 เป็น 40 นาที ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ ABTS⁺ ในน้ำบลูเบอร์รี่ (15° Brix) จะลดลง 2.34 และ 8.71 เปอร์เซ็นต์ของความสามารถเริ่มต้น (ภาพที่ 8a) และในน้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้น ลดลง 2.67 และ 13.32 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 8b) แสดงว่า ความร้อน และ ระยะเวลาในการให้ความร้อน มีผลต่อความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ

เมื่อนำ ความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ ABTS⁺ ในน้ำบลูเบอร์รี่ และน้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้นกับระยะเวลาในการให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่างๆ มาวิเคราะห์หาอัตราการลดลงของความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ ABTS⁺ สามารถแสดงผลดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 แสดงผลของอุณหภูมิต่ออัตราการลดลงของความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ ในน้ำบลูเบอร์รี่ (15° Brix) และน้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้น (45° Brix) ในกระบวนการแปรรูป

อุณหภูมิที่ให้ความร้อน (°C)	อัตราการลดลงของความสามารถทำลายอนุมูลอิสระ	
	น้ำบลูเบอร์รี่	น้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้น
70	0.2282 ± 0.0409 ^a	2.7428 ± 0.6733 ^b
80	0.2499 ± 0.0194 ^a	2.8827 ± 0.9433 ^b
90	0.2806 ± 0.0537 ^a	3.0303 ± 0.6177 ^b

หมายเหตุ: a และ b หมายถึง ความแตกต่างทางสถิติของตัวอย่าง ที่ระดับนัยสำคัญ 95% (0.95)

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

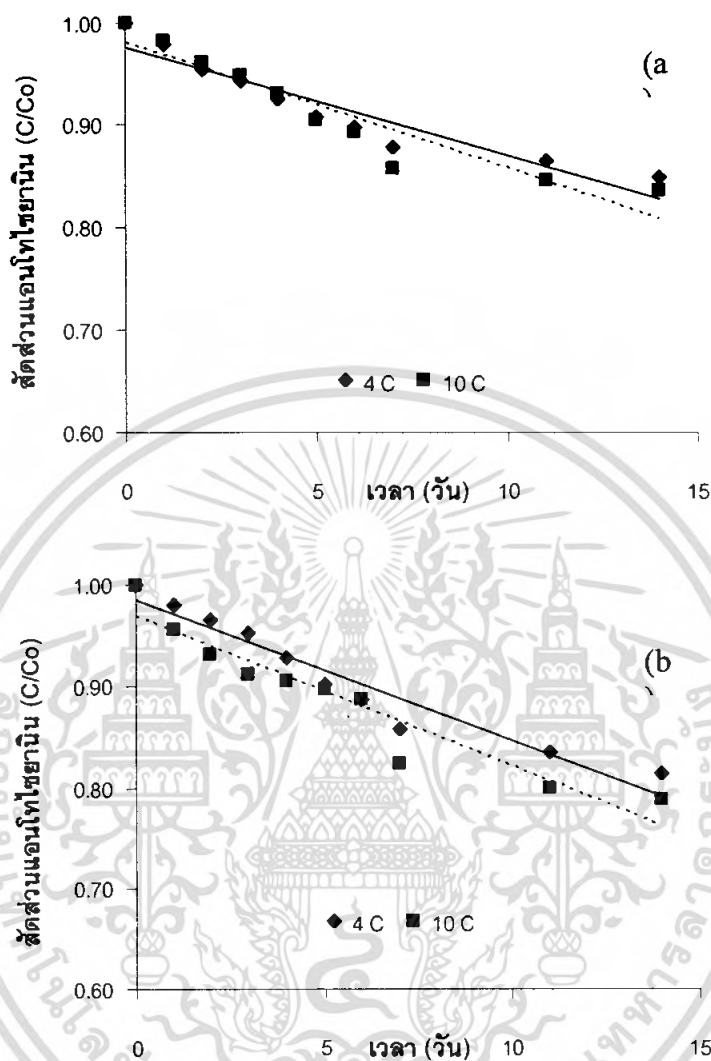
จากตารางที่ 6 พบว่า เมื่อเพิ่มอุณหภูมิ ทำให้ความสามารถในการทำลายอนุพลีอิสระลดลง โดยการเพิ่มอุณหภูมิจาก 70 เป็น 90 องศาเซลเซียส อัตราการลดลงของความสามารถในการทำลายอนุพลีอิสระ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($\alpha < 0.05$) โดยมีอัตราการลดลงของความสามารถในการทำลายอนุพลีอิสระอยู่ระหว่าง 0.2282 ถึง 0.2806 แสดงว่า การเพิ่มอุณหภูมิ ไม่มีผลต่ออัตราการลดลงของความสามารถในการทำลายอนุพลีอิสระ แต่ที่การให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส พบว่าน้ำบลูเบอร์รี่มีความสามารถในการทำลายอนุพลีอิสระสูงกว่าที่อุณหภูมิ 70 และ 80 องศาเซลเซียส

การเพิ่มปริมาณของแข็งในน้ำบลูเบอร์รี่มีผลต่ออัตราการลดลงของความสามารถในการทำลายอนุพลีอิสระ จากผลการทดลอง พบว่า การเพิ่มปริมาณของแข็งจาก 15 เป็น 45° Brix จะทำให้อัตราการลดลงของความสามารถในการทำลายอนุพลีอิสระเพิ่มขึ้นจาก 0.2282 ถึง 0.2806 เป็น 2.883 ถึง 3.030 ในทุกอุณหภูมิที่ทำการศึกษาสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($\alpha < 0.05$) Kirca และ Cemeroglu (2003) ได้รายงานว่าการเพิ่มปริมาณของแข็ง โมเลกุลจะอยู่ใกล้ชิดกันมากขึ้น จึงอาจเกิดปฏิกิริยาการสลายตัวเพิ่มขึ้น ดัง นั้น การเพิ่มปริมาณของแข็งจะเร่งอัตราอัตราการลดลงของความสามารถในการทำลายอนุพลีอิสระเมื่อเปรียบเทียบที่อุณหภูมิเดียวกัน

ดังนั้น จากผลการทดลอง กระบวนการผลิตที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จึงเป็นสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำบลูเบอร์รี่เพื่อใช้ในการศึกษากระบวนการเก็บรักษา เนื่องจากมีค่า อัตราการสลายตัวต่ำที่สุด คือ 6.30×10^3 (min^{-1}) ค่าครึ่งชีวิตสูงที่สุด คือ 1.83 ชั่วโมง และอัตราการลดลงของความสามารถในการทำลายอนุพลีอิสระต่ำกว่าที่อุณหภูมิ 80 และ 90 องศาเซลเซียส ทุกความเข้มข้นของปริมาณของแข็ง

4.4 การศึกษาผลของอุณหภูมิในการเก็บรักษาต่อความคงตัวของแอนโทไซยานิน และความสามารถในการทำลายอนุพลีอิสระปฏิกิริยาออกซิเดชันในน้ำบลูเบอร์รี่

เมื่อนำน้ำบลูเบอร์รี่และน้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้นมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 10 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 14 วัน แล้วนำมาเขียนกราฟหาความสัมพันธ์ระหว่างสัดส่วนของแอนโทไซยานิน (C/Co) (แกน y) กับระยะเวลาในการให้ความร้อน (แกน x) ได้ผลดังภาพที่ 9



ภาพที่ 9 แสดงสัดส่วนแอนโทไซยานินในระหว่างกระบวนการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ ในน้ำบลูเบอร์รี่ (15° Brix) (a) และ น้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้น (45° Brix) (b)

ผลการทดลองการเก็บรักษาที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ ในน้ำบลูเบอร์รี่ พบว่าเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการเก็บรักษา จะมีผลทำให้ปริมาณแอนโทไซยานินลดลงในทุกอุณหภูมิ ในขณะที่การเพิ่มอุณหภูมิการเก็บรักษาในน้ำบลูเบอร์รี่จะทำให้เกิดการสลายตัวของแอนโทไซยานินเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 9a) นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับการสลายตัวของแอนโทไซยานินในน้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้น (45° Brix) (ภาพที่ 9b) เมื่อวิเคราะห์ความชันของกราฟซึ่งแสดงถึงอัตราการสลายตัวของแอนโทไซยานินในน้ำบลูเบอร์รี่ พบว่าการเพิ่มอุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บรักษา ส่งผลให้ความชันของกราฟเพิ่มมากขึ้นเล็กน้อย แสดงว่าอัตราการสลายตัวเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย เมื่อเพิ่มระยะเวลาใน

เอกส การเก็บรักษาจาก 1 เป็น 14 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ปริมาณแอนโทไซยานินจะลดลง 2 และราคา ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

15 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณเริ่มต้นในน้ำบลูเบอร์รี่ และลดลง 2 และ 19 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณเริ่มต้นในน้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้น (ภาพที่ 9) แสดงว่า การเพิ่มเวลาในการเก็บรักษามีผลต่อการสลายตัวของแอนโทไซยานิน เนื่องจากการเพิ่มเวลา ทำให้เกิดปฏิกิริยามากขึ้น แอนโทไซยานินจึงสลายตัวมากขึ้น

ดังนั้น อุณหภูมิและระยะเวลาในการเก็บรักษา มีผลต่อการเร่งปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานิน โดยการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จะยังคงมีปริมาณแอนโทไซยานินเหลือมากที่สุดในทุกความเข้มข้นที่ทดสอบ โดยในน้ำบลูเบอร์รี่มีปริมาณแอนโทไซยานินเหลือ 85 เปอร์เซ็นต์ และในน้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้น เหลือ 81 เปอร์เซ็นต์

เมื่อนำความสัมพันธ์ระหว่างลอการิทึมฐานธรรมชาติ (\ln) ของสัดส่วนแอนโทไซยานิน (C/C_0) กับระยะเวลาในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ มาวิเคราะห์หาอัตราเร็วของปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานินในน้ำบลูเบอร์รี่และน้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้น พบว่าการสลายตัวของแอนโทไซยานินเป็นไปตามความสัมพันธ์ปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง (First order reaction) โดยค่าอัตราการสลายตัวของปฏิกิริยา (k) และ half-life ($t_{1/2}$) หรือเวลาที่ทำให้ปริมาณแอนโทไซยานินลดลงครึ่งหนึ่ง แสดงดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 แสดงผลของอุณหภูมิต่ออัตราการสลายตัวของแอนโทไซยานินในน้ำบลูเบอร์รี่ (15° Brix) และน้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้น (45° Brix) ในระหว่างกระบวนการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ

ปริมาณของแข็ง (° Brix)	อุณหภูมิ (°C)	$k \times 10^3 (\text{day}^{-1})^a$	$t_{1/2} (\text{week})^b$
15	4	11.6 (0.9069) ^c	8.54
	10	13.7 (0.9005)	7.23
45	4	15.5 (0.9473)	6.39
	10	16.9 (0.9248)	5.86

หมายเหตุ ^a หมายถึง อัตราคงที่ (Rate constant, หน่วย คือ day^{-1})

^b หมายถึง ค่าครึ่งชีวิต (Half life, หน่วย คือ สัปดาห์ (week))

^c หมายถึง ตัวเลขในวงเล็บ แสดงค่าสัมประสิทธิ์ตัวกำหนด (Coefficients of determination)

จากตารางที่ 7 พบว่า การเพิ่มอุณหภูมิในการเก็บรักษาในทุกค่าความเข้มข้นของน้ำบลูเบอร์รี่ ทำให้อัตราการสลายตัวของแอนโทไซยานินเพิ่มสูงขึ้น ส่งผลให้ค่าครึ่งชีวิต (half-life) มีค่าลดลง เมื่อเพิ่มอุณหภูมิการเก็บรักษาจาก 4 เป็น 10 องศาเซลเซียส พบว่าน้ำบลูเบอร์รี่ (15° Brix) อากาศไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

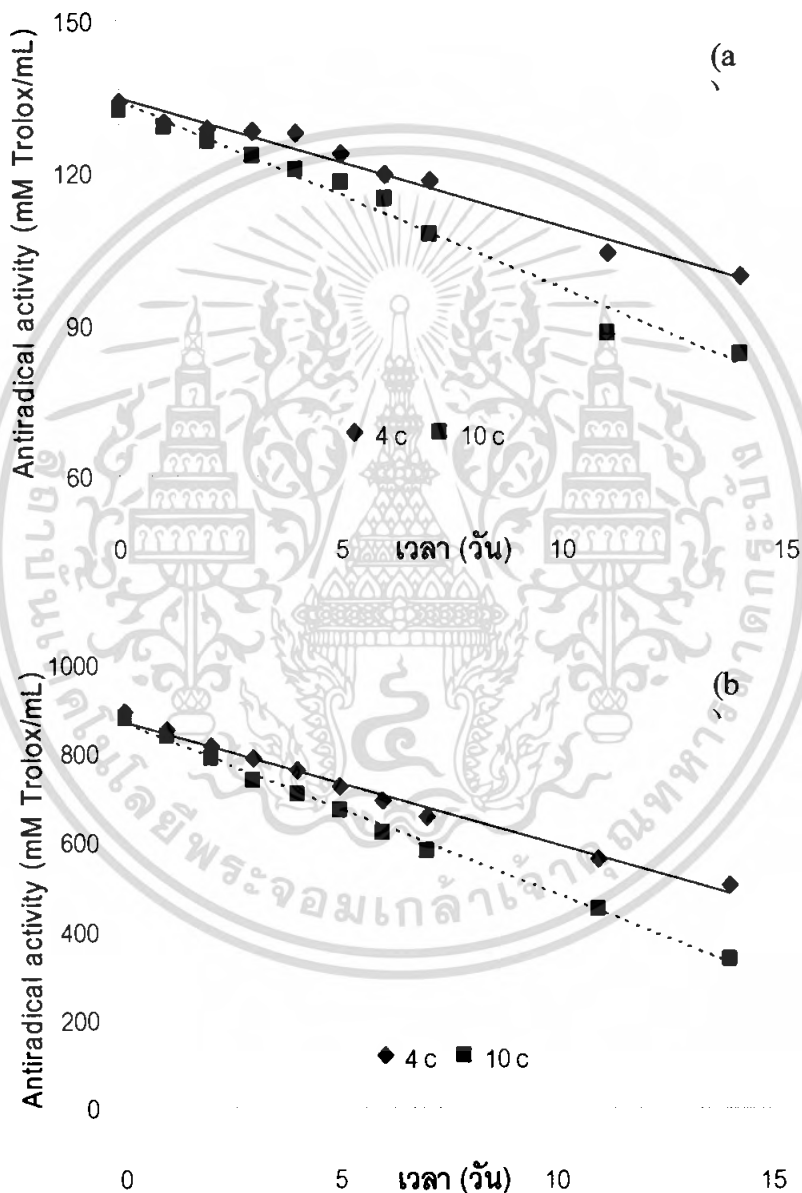
มีอัตราการสลายตัว (k) ของแอนโทไซยานินเพิ่มขึ้นจาก 11.6 เป็น $13.7 (\times 10^3 \text{ day}^{-1})$ หรือเพิ่มขึ้น 1.18 เท่า โดยการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จะมีค่าครึ่งชีวิตเท่ากับ 8.54 สัปดาห์ แต่การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ค่าครึ่งชีวิตจะลดลงเหลือ 7.23 สัปดาห์ หรือลดลง 15.34 เปอร์เซ็นต์ การลดลงของแอนโทไซยานินในน้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้น (45° Brix) มีแนวโน้มเช่นเดียวกับน้ำบลูเบอร์รี่ ดังนั้นการเพิ่มอุณหภูมิ จะทำให้อัตราการสลายตัวจะเพิ่มขึ้น ในขณะที่ค่าครึ่งชีวิตจะลดลง การที่อัตราการสลายตัวเพิ่มขึ้นจะหมายความว่า เกิดปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานินอย่างรวดเร็ว จึงส่งผลทำให้ค่าครึ่งชีวิตลดลง

เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิเดียวกัน พบว่าการเพิ่มปริมาณของแข็ง มีผลต่ออัตราการสลายตัวของแอนโทไซยานินเช่นเดียวกัน โดยการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส น้ำบลูเบอร์รี่ (15° Brix) จะมีอัตราการสลายตัว $11.6 \times 10^3 \text{ day}^{-1}$ และค่าครึ่งชีวิต 8.54 สัปดาห์ แต่ในน้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้น (45° Brix) จะมีอัตราการสลายตัวเพิ่มขึ้นเป็น $15.5 \times 10^3 \text{ day}^{-1}$ หรือเพิ่มขึ้น 1.33 เท่า และค่าครึ่งชีวิตลดลงเหลือ 6.39 สัปดาห์ ลดลง 25.18 เปอร์เซ็นต์ การเก็บที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส จะมีแนวโน้มเช่นเดียวกัน ดังนั้น การเพิ่มปริมาณของแข็ง อัตราการสลายตัวจะเพิ่มขึ้น ส่วนค่าครึ่งชีวิตมีค่าลดลง

การเพิ่มอุณหภูมิและปริมาณของแข็งจะทำให้อัตราการสลายตัวของแอนโทไซยานินเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ค่าครึ่งชีวิตลดลง ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Wang และ Xu (2007) ที่ศึกษาถึงอัตราเร็วของการเกิดปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานินในน้ำแบล็คเบอร์รี่ (blackberry) ที่ระดับความเข้มข้น 8.90 ถึง 65.0° Brix ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 ถึง 37 องศาเซลเซียส พบว่าอัตราการสลายตัว (k) ของแอนโทไซยานินจะแปรผันตามอุณหภูมิและแปรผกผันกับค่าครึ่งชีวิต (half life) โดยค่า k จะเพิ่มขึ้นจาก 2.0 เป็น $59.1 (\times 10^3 \text{ day}^{-1})$ และ 5.2 เป็น $89.9 (\times 10^3 \text{ day}^{-1})$ ขณะที่ค่าครึ่งชีวิตจะลดลงจาก 330.1 เป็น 11.7 วัน และ 133.3 เป็น 7.7 วัน เมื่อเพิ่มอุณหภูมิจาก 5 เป็น 37 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มข้น 8.90 และ 65.0° Brix ตามลำดับ ในทางตรงกันข้าม Kirca และคณะ (2007) ได้ทำการศึกษาถึงผลของอุณหภูมิ ความเข้มข้นและพีเอช ต่อความคงตัวของแอนโทไซยานินในน้ำแครอทม่วง (Black carrot) ที่ระดับความเข้มข้น 30 ถึง 64° Brix พีเอช 4.3 ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ถึง 37 องศาเซลเซียส พบว่าการเพิ่มอุณหภูมิในระหว่างการเก็บรักษา ทำให้อัตราการสลายตัวของแอนโทไซยานินสูงขึ้น แต่การเพิ่มความเข้มข้นจะทำให้อัตราการสลายตัวของแอนโทไซยานินลดลง โดยค่า k เพิ่มขึ้นจาก 1.38 เป็น $24.89 (\times 10^3 \text{ day}^{-1})$ ขณะที่ค่าครึ่งชีวิตจะลดลงจาก 71.8 เป็น 4.0 สัปดาห์ เมื่อเพิ่มอุณหภูมิจาก 4 เป็น 37 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มข้นระหว่าง 30 ถึง 64° Brix ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อศึกษาผลของอุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ ในการเก็บรักษาต่อความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี ABTS radical cation scavenging assay ในน้ำบลูเบอร์รี่และน้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้น แล้วหาความสัมพันธ์ระหว่าง Antiradical activity (mM Trolox/mL) กับระยะเวลาในการเก็บรักษา ได้ผลดังภาพที่ 10



ภาพที่ 10 แสดงความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระระหว่างกระบวนการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ ในน้ำบลูเบอร์รี่ (15° Brix) (a) และ น้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้น (45° Brix) (b)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการเก็บรักษาน้ำบลูเบอร์รี่ พบว่าอุณหภูมิและระยะเวลาในการเก็บรักษามีผลต่อการลดความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ (ภาพที่ 10) การเพิ่มระยะเวลาในการเก็บรักษามีผลทำให้ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระลดลง นอกจากนี้ เมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการเก็บรักษาน้ำบลูเบอร์รี่ (15° Brix) จากอุณหภูมิ 4 และ 10 องศาเซลเซียส และเก็บรักษาเป็นเวลา 14 วัน จะมีผลทำให้ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระลดลง 25.56 และ 36.57 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่า อุณหภูมิ และระยะเวลาในการเก็บรักษา มีผลต่อความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ เมื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ ABTS⁺ ในน้ำบลูเบอร์รี่และน้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้นกับระยะเวลาในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 8

ตารางที่ 8 แสดงผลของอุณหภูมิต่ออัตราการลดลงของความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระในน้ำบลูเบอร์รี่ (15° Brix) และน้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้น (45° Brix) ในกระบวนการเก็บรักษา

อุณหภูมิเก็บรักษา	อัตราการลดลงของความสามารถทำลายอนุมูลอิสระ	
	ปริมาณของแข็ง 15° Brix	ปริมาณของแข็ง 45° Brix
4	2.5364 ± 0.1496 ^a	27.7077 ± 0.4022 ^c
10	3.7091 ± 0.2188 ^b	38.3737 ± 1.2906 ^d

หมายเหตุ a-d หมายถึง ความแตกต่างทางสถิติของตัวอย่างในแต่ละคอลัมน์ ที่ระดับนัยสำคัญ 95% (0.95)

จากตารางที่ 8 พบว่าการเพิ่มอุณหภูมิและระยะเวลาในการเก็บรักษา ทำให้ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระลดลงทุกอุณหภูมิ โดยการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีอัตราการลดลงของความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระต่ำกว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($\alpha < 0.05$) แสดงว่า การเพิ่มอุณหภูมิในการเก็บรักษามีผลทำให้ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระลดลง 46.23 และ 38.49 เปอร์เซ็นต์ ที่ปริมาณของแข็ง 15 และ 45° Brix ตามลำดับ เนื่องจากอุณหภูมิที่สูงขึ้นในการเก็บรักษาจะเร่งการสลายตัวของสารที่มีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ นอกจากนี้การเพิ่มปริมาณของแข็งจาก 15 เป็น 45° Brix จะทำให้อัตราการลดลงของความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($\alpha < 0.05$) โดยมีค่าเพิ่มขึ้น 10.34 - 10.91 เท่าในแต่ละอุณหภูมิ

ดังนั้น การเก็บรักษาน้ำบลูเบอร์รี่จึงควรเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และควรเก็บในรูปแบบน้ำบลูเบอร์รี่ที่มีปริมาณของแข็ง 15° Brix เนื่องจากมีค่าอัตราการสลายตัวของแอนโทไซยานินต่ำที่สุด คือ 11.6×10^3 (day⁻¹) ค่าครึ่งชีวิตนาน 8.54 สัปดาห์ และอัตราการลดลงของความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระต่ำกว่าที่อุณหภูมิสูงกว่า

เอกสารอ้างอิง

- “กฎปฏิกิริยาอันดับ1และความสัมพันธ์ของ Arrhenius” 17 กันยายน 2550 .[ออนไลน์].
เข้าถึงได้จาก : <http://www.chemistry.sc.chula.ac.th>
- “อนุมูลอิสระ” 17 กันยายน 2550 .[ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.gpo.or.th>
- “แอนโทไซยานิน” 17 กันยายน 2550 .[ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.mju.ac.th>
- กนิษฐา เจียรพิมลกุล. 2544. เซอร์รี่ สารประกอบโพลีฟีนอล. สัมมนาปริญาตรี. ภาควิชา
อุตสาหกรรมเกษตร. โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้า
คุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ : หน้า 3-14
- นิธิชาติ รัตนานพนนท์. 2545. เคมีอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 1 .พิมพ์ที่ O.H. พรินต์ติ้งเฮาส์. กรุงเทพฯ :
หน้า 421-428
- Kirca A. and Cemeroglu B, 2003. Degradation kinetics of anthocyanins in blood orange juice and
concentrate. *Food Chemistry*. 81 : 583-587.
- Kirca A., Ozkan M., and Cemeroglu B, 2007. Effect of temperature, solid content and pH on the
stability of black carrot anthocyanins. *Food Chemistry*. 101 : 212 - 218
- Lee J., Durst R., and Wrolstad R. 2005. Determination of Total Monomeric Anthocyanin
Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, National Colorants, and Wines by the pH
Differential Method: Collaborative Study. *Journal of AOAC International* Vol. 88, No. 10
- Nicoli, M. C., Anese, M., and Parpinel, M., 1999. Influence of processing on the antioxidant
properties of fruits and vegetables. *Trends in Food Science and Technology*. 10 : 94-100
- Oboh, G, 2005. Effect of blanching on the antioxidant properties of some tropical green leafy
vegetables. *LWT*. 38, 513-517
- R.R. Murphy, M.H. Renfro, P.B. Brevard, R.E. Lee and J.W. Gloeckner, 2007. Cooking Did Not
Decrease Antioxidant Capacity of Wild Blueberries. *Journal of the American Dietetic
Association*, 107 : A53.
- Wang W.D. and Xu S.Y , 2007. Degradation kinetics of anthocyanins in blackberry juice and
concentrate. *Journal of Food Engineering*. 82 : 271 - 275.
- Zhou K. and Yu L. 2004. Antioxidant properties of bran extracts from Trego wheat grown at
different location. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 1112-1117.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

วิธีการเตรียมน้ำบลูเบอร์รี่

ขั้นตอนการเตรียมสารละลาย

การเตรียมสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 N

เตรียมสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ ปริมาตร 250 มิลลิลิตร โดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 กรัม แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 250 มิลลิลิตร

ขั้นตอนและวิธีการทดลอง

ขั้นตอนที่ 1 การเตรียมน้ำบลูเบอร์รี่ โดยใช้อัตราส่วนบลูเบอร์รี่ป่น 20 กรัม ต่อน้ำ 80 มิลลิลิตร จากนั้นนำน้ำบลูเบอร์รี่ไปคำนวณหาส่วนผสมต่าง ๆ

ขั้นตอนที่ 2 การคำนวณส่วนผสมในน้ำบลูเบอร์รี่

น้ำเชื่อมฟรุกโตส จะแบ่งระดับปริมาณการใช้ออกเป็น 3 ระดับ โดยใช้ความเข้มข้นที่ระดับ 9.09, 13.04 และ 16.67 เปอร์เซ็นต์

ขั้นตอนที่ 3 นำน้ำบลูเบอร์รี่ที่เตรียมได้แล้วไปทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส

ขั้นตอนที่ 4 แบ่งน้ำบลูเบอร์รี่ที่ได้รับการยอมรับสูงสุด เป็น 2 ส่วน ส่วนที่ 1 ทำการวัดปริมาณของแข็ง และส่วนที่ 2 ระบายน้ำออก 2 ส่วน ด้วยเครื่องระเหยสูญญากาศ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส แล้วทำการวัดปริมาณของแข็ง

ขั้นตอนที่ 5 นำน้ำบลูเบอร์รี่และน้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้นมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและกายภาพเบื้องต้น ได้แก่

1. การวัดค่าพีเอช ด้วย pH meter

- Calibrate : นำ electrode จุ่มในบัฟเฟอร์พีเอช 7 แล้วกดปุ่ม cal เครื่องจะทำงานอัตโนมัติ แล้วล้างด้วยน้ำกลั่น ซับด้วยทิชชู แล้วจุ่มบัฟเฟอร์พีเอช 4

- การวัดตัวอย่าง : จุ่ม electrode ลงในตัวอย่าง เครื่องจะทำงานอัตโนมัติ เมื่อถึงจุดยุติ

2. การวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์กรด (% Acidity) ของน้ำบลูเบอร์รี่

- ตูดตัวอย่างน้ำบลูเบอร์รี่ 5 ml ลงในขวดรูปกรวย (Erenmeyer flask) 125 ml เติมน้ำกลั่น 30 ml หยด Phenolphthalein 5-8 หยด

- ไตเตรทกับสารละลายมาตรฐาน NaOH 0.1 N จนเปลี่ยนสีเป็นสีชมพูอ่อนๆ บันทึกปริมาตร NaOH ที่ใช้

$$\% \text{ acidity (as critic acid)} = \frac{0.064 \times 0.1 N \text{ NaOH} \times V_{0.1 N \text{ NaOH}} (ml) \times 100}{\text{sample (g)}}$$

ปริมาตร NaOH เหลือของผลิตภัณฑ์น้ำบลูเบอร์รี่ 15° Brix = 3.17 มิลลิลิตร

$$\begin{aligned} \text{แทนค่า} \quad \% \text{ acidity (as critic acid)} &= \frac{0.064 \times 0.1 \times 3.17 \times 100}{1} \\ &= 2.03 \text{ เปอร์เซ็นต์} \end{aligned}$$

ขั้นตอนที่ 6 การศึกษากระบวนการผลิตที่เหมาะสม

นำน้ำบลูเบอร์รี่และน้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้นมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 ถึง 90 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลา 0 ถึง 40 นาที แล้วนำไปวิเคราะห์ความคงตัวของแอนโทไซยานิน และความสามารถในการทำละลายปฏิกิริยาออกซิเดชัน เพื่อคัดเลือกให้ได้น้ำบลูเบอร์รี่ที่มีกระบวนการผลิตที่เหมาะสม เพื่อศึกษากระบวนการเก็บรักษาต่อไป

ขั้นตอนที่ 7 การศึกษากระบวนการเก็บรักษาที่เหมาะสม

นำน้ำบลูเบอร์รี่และน้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้นมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 10 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 14 วัน แล้วนำไปวิเคราะห์ความคงตัวของแอนโทไซยานิน และความสามารถในการทำละลายปฏิกิริยาออกซิเดชัน

ภาคผนวก ข

วิธีการการวิเคราะห์ความคงตัวของแอนโทไซยานิน ด้วยวิธี pH Differential Method

การวิเคราะห์ความคงตัวของแอนโทไซยานิน จะใช้บัฟเฟอร์โพแทสเซียมคลอไรด์ พีเอช 1 และ บัฟเฟอร์โซเดียมอะซิเตต พีเอช 4.5 ทำปฏิกิริยากับแอนโทไซยานิน และติดตามสีที่เกิดขึ้น โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 530 และ 700 นาโนเมตร

ขั้นตอนการเตรียมสารละลาย

1. การเตรียมบัฟเฟอร์โพแทสเซียมคลอไรด์ พีเอช 1 (ความเข้มข้น 0.025 โมลาร์)

เตรียมบัฟเฟอร์โพแทสเซียมคลอไรด์ พีเอช 1 (ความเข้มข้น 0.025 โมลาร์) ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร โดยชั่งโพแทสเซียมคลอไรด์ 1.8625 กรัม แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1000 มิลลิลิตร ปรับพีเอชโดยใช้กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น จนมีพีเอช เท่ากับ 1

2. การเตรียมบัฟเฟอร์โซเดียมอะซิเตต พีเอช 4.5 ความเข้มข้น 0.4 โมลาร์

เตรียมบัฟเฟอร์โซเดียมอะซิเตต พีเอช 4.5 (ความเข้มข้น 0.4 โมลาร์) ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร โดยชั่งโซเดียมอะซิเตต 32.8 กรัม แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1000 มิลลิลิตร ปรับพีเอชโดยใช้กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น จนมีพีเอช เท่ากับ 4.5

ขั้นตอนและวิธีการทดลอง

โดยปีเปิดน้ำบลูเบอร์รี่ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง 4 หลอด เติมบัฟเฟอร์โพแทสเซียมคลอไรด์ พีเอช 1 และ บัฟเฟอร์โซเดียมอะซิเตต พีเอช 4.5 อย่างละ 2 หลอด หลอดละ 0.28 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (Vortex mixer) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 530 และ 700 นาโนเมตร โดยใช้บัฟเฟอร์แทนสารสกัดสำหรับ blank

นำค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ของน้ำบลูเบอร์รี่ ไปคำนวณหาปริมาณแอนโทไซยานิน ดังสมการ

$$\text{Anthocyanins pigment (cyaniding-3-glucoside equivalents, mg/L)} = \frac{A \times MW \times DF \times 10^3}{\epsilon \times l}$$

$$\text{โดย } A = (A_{530} - A_{700})_{pH1} - (A_{530} - A_{700})_{pH4.5}$$

$$MW = 499.2 \text{ g/mol}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- DF = Dilution Factor
 ϵ = $26900 \text{ L} \times \text{mol}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$ (cyaniding-3-glucoside)
 l = ความกว้างของคิวเวต (cm)
 10^3 = Factor เปลี่ยนจาก g \rightarrow mg

ตัวอย่างการคำนวณ

ผลต่างของค่าดูดกลืนแสงเฉลี่ยของผลิตภัณฑ์น้ำบลูเบอร์รี่ 15° Brix ที่การให้ความร้อนอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เวลา 10 นาที = 0.2933

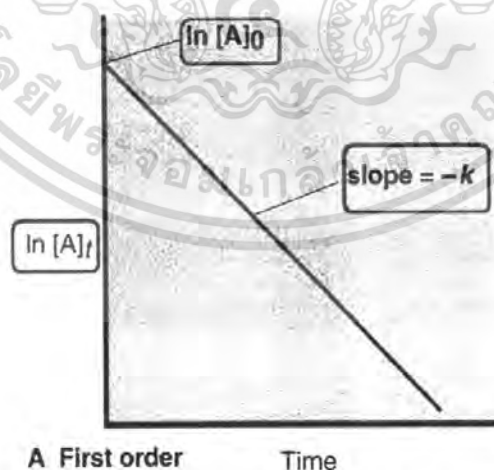
$$\begin{aligned} \text{แทนค่า Anthocyanins pigment (mg/L)} &= \frac{0.2933 \times 499.2 \times 15 \times 10^3}{26900 \times 1} \\ &= 81.6535 \text{ (mg/L)} \end{aligned}$$

การคำนวณหาอัตราการสลายตัว

1. อัตราการสลายตัวของแอนโทไซยานินเป็นไปตามปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง สมการ คือ

$$\ln[A]_t = -kt + \ln[A]_0$$

โดยกราฟของ \log ความเข้มข้นของแอนโทไซยานินกับเวลาที่ให้ความร้อนเป็นกราฟเส้นตรงความชันของกราฟ คือ ค่า $-k$ ซึ่ง k คือ อัตราการเกิดปฏิกิริยา



ภาพภาคผนวกที่ 11 แสดงความสัมพันธ์ของปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง

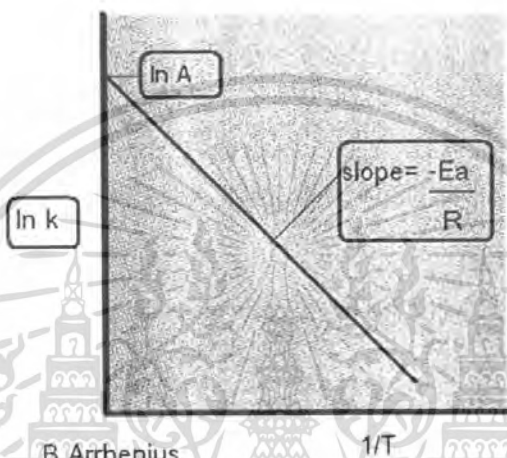
ที่มา: <http://www.chemistry.sc.chula.ac.th/>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. อัตราการเกิดปฏิกิริยามีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิตามสมการ Arrhenius คือ

$$k = A \cdot \exp(-E_a/RT)$$

โดยความชันที่ได้จากกราฟ $\log k$ กับ $1/T$ คือ $-E_a/R$ ซึ่ง E_a คือ activation energy ของปฏิกิริยา



ภาพภาคผนวกที่ 12 แสดงความสัมพันธ์ของ Arrhenius

ที่มา: <http://www.chemistry.sc.chula.ac.th/>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี ABTS radical cation scavenging assay

การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยวิธี ABTS radical cation scavenging assay โดยการวัดการลดจำนวนลงของอนุมูลอิสระ ABTS⁺ ที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร

ขั้นตอนการเตรียมสารละลาย

1. การเตรียมสารละลายมาตรฐานโทรออกซ์ (ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์)

เตรียมสารละลายมาตรฐานโทรออกซ์ (ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร โดยชั่ง โทรออกซ์ 0.0125 กรัม ละลายด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ 5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 5 มิลลิลิตร

2. การเตรียมสารละลาย ABTS⁺ (ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์)

เตรียมสารละลาย ABTS⁺ (ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยชั่ง ABTS 0.2742 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร เติมแมงกานีสไดออกไซด์ ประมาณ 2-3 กรัม เพื่อให้สารละลายเกิดสีเขียวเข้ม คนผสมในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที นำสารละลายที่ได้ไปเหวี่ยงตกตะกอนที่ความเร็วรอบ 8000 รอบ 15 นาที จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4 วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย และเจือจางสารละลายให้มีค่าการดูดกลืนแสงในช่วง 0.7-0.8 เก็บสารละลายในขวดสีชาเพื่อนำไปใช้ในการทดลอง

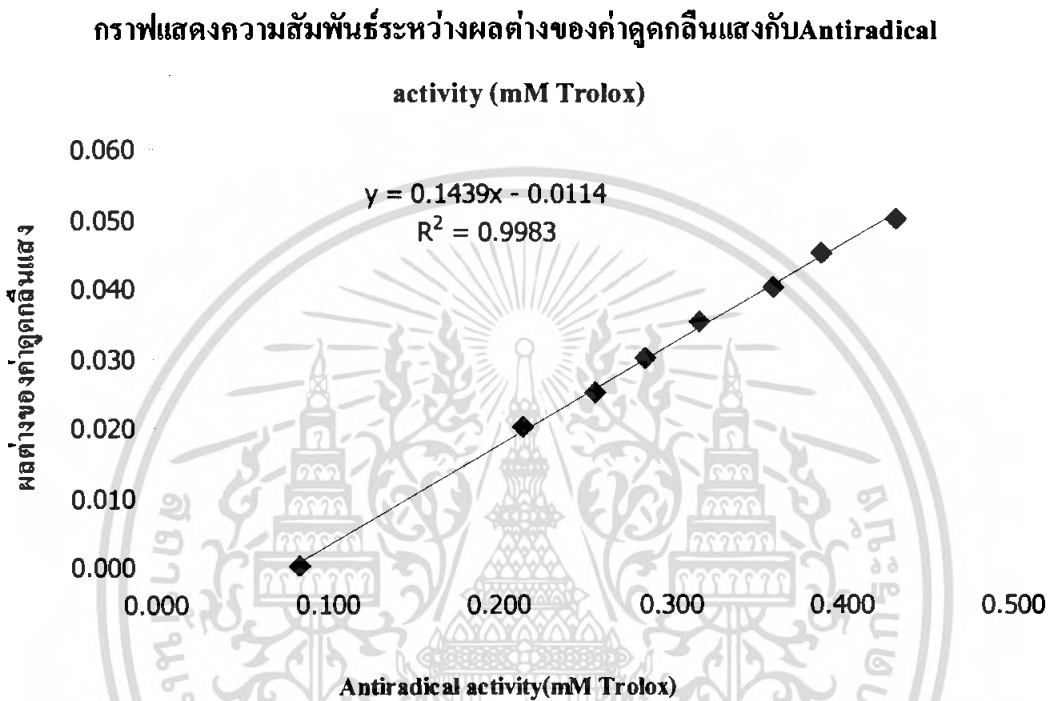
ขั้นตอนและวิธีการทดลอง

ปิเปตตัวอย่างน้ำบลูเบอร์รี่ ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง แล้วเติมสารละลาย ABTS⁺ (ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์) 3 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม จากนั้นตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 6 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร โดยใช้น้ำกลั่นแทนสารสกัดสำหรับ blank

นำค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างไปคำนวณหาความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ ABTS⁺ โดยใช้กราฟมาตรฐานของสารละลายโทรออกซ์ โดยใช้สารละลายมาตรฐานของสารละลายโทรออกซ์ ความเข้มข้น 0, 0.020, 0.025, 0.030, 0.035, 0.040, 0.045 และ 0.050 มิลลิโมล/มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำไปเขียนกราฟของสารละลายมาตรฐาน เพื่อใช้ในการคำนวณความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ ABTS⁺



สามารถคำนวณหาปริมาณสารที่มีความสามารถทำลายอนุมูลอิสระได้ดังสมการ ดังนี้
จากสมการกราฟสารละลายมาตรฐาน Trolox $y = 0.1439x - 0.0114$; $R^2 = 0.9983$
ผลต่างของค่าดูดกลืนแสงเฉลี่ยของผลิตภัณฑ์น้ำบลูเบอร์รี่ 15° Brix ที่การให้ความร้อนอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เวลา 10 นาที = 0.4613

$$\text{แทนค่า} \quad 0.4613 = 0.1439x - 0.0114$$

$$\text{มิลลิโมล Trolox} = 3.2257$$

$$\begin{aligned} \text{มิลลิโมล Trolox ต่อ มิลลิลิตร ตัวอย่าง} &= \frac{\text{มิลลิโมล Trolox} \times \text{DF.}}{\text{ปริมาณตัวอย่างที่ใช้}} \\ &= \frac{3.2257 \times 10}{0.3} \end{aligned}$$

ปริมาณสารที่มีความสามารถทำลายอนุมูลอิสระ = 107.52 มิลลิโมล Trolox ต่อ มิลลิลิตร ตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส 9 point hedonic scale

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์น้ำบลูเบอร์รี่

แบบ Hedonic scale

ชื่อผู้ทดสอบ..... วันที่ทดสอบ.....

คำแนะนำ กรุณาชิมตัวอย่างน้ำบลูเบอร์รี่ที่เสนอให้ สังเกตลักษณะภายนอกของผลิตภัณฑ์ สี และดมกลิ่นก่อนทำการชิม ชิมตัวอย่างแล้วให้คะแนนความชอบในคุณลักษณะต่างๆ ตามคำอธิบาย ดังนี้

- | | |
|-------------------------------|------------------|
| 1 = ไม่ชอบมากที่สุด | 6 = ชอบเล็กน้อย |
| 2 = ไม่ชอบมาก | 7 = ชอบปานกลาง |
| 3 = ไม่ชอบปานกลาง | 8 = ชอบมาก |
| 4 = ไม่ชอบเล็กน้อย | 9 = ชอบมากที่สุด |
| 5 = บอกไม่ได้ว่าชอบหรือไม่ชอบ | |

	653	489	538
1. สี
2. กลิ่น
3. รสชาติ
4. ความชอบโดยรวม

ข้อเสนอแนะ

.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

ตารางวิเคราะห์ผลทางสถิติ

1. การทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส เพื่อคัดเลือกอัตราส่วนของน้ำเชื่อมฟรุคโตสที่เหมาะสมในการผลิต

ตารางภาคผนวกที่ 1 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนคะแนนความชอบด้านสีของผลิตภัณฑ์น้ำลูเบอร์รี่

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: like

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	69.911(a)	31	2.255	1.751	.033
Intercept	3509.378	1	3509.378	2724.413	.000
man	66.622	29	2.297	1.783	.031
syrup	3.289	2	1.644	1.277	.287
Error	74.711	58	1.288		
Total	3654.000	90			
Corrected Total	144.622	89			

a R Squared = .483 (Adjusted R Squared = .207)

ตารางภาคผนวกที่ 2 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนคะแนนความชอบด้านกลิ่นของผลิตภัณฑ์น้ำลูเบอร์รี่

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: like

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	89.711(a)	31	2.894	1.323	.177
Intercept	2867.378	1	2867.378	1310.428	.000
man	89.289	29	3.079	1.407	.134
syrup	.422	2	.211	.096	.908
Error	126.911	58	2.188		
Total	3084.000	90			
Corrected Total	216.622	89			

a R Squared = .414 (Adjusted R Squared = .101)

ตารางภาคผนวกที่ 3 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนคะแนนความชอบด้านรสชาติของผลิตภัณฑ์ น้ำลูเบอร์รี่

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: like

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	264.033(a)	31	8.517	3.741	.000
Intercept	3132.900	1	3132.900	1375.882	.000
man	99.433	29	3.429	1.506	.092
syrup	164.600	2	82.300	36.144	.000
Error	132.067	58	2.277		
Total	3529.000	90			
Corrected Total	396.100	89			

a. R Squared = .667 (Adjusted R Squared = .488)

ตารางภาคผนวกที่ 4 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนคะแนนความชอบโดยรวมของผลิตภัณฑ์ น้ำลูเบอร์รี่

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: like

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	177.078(a)	31	5.712	3.011	.000
Intercept	3397.878	1	3397.878	1790.885	.000
man	80.456	29	2.774	1.462	.109
syrup	96.622	2	48.311	25.463	.000
Error	110.044	58	1.897		
Total	3685.000	90			
Corrected Total	287.122	89			

a. R Squared = .617 (Adjusted R Squared = .412)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การศึกษาผลของกระบวนการผลิตต่อความคงตัวของแอนโทไซยานิน และความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระในน้ำบลูเบอร์รี่

ตารางภาคผนวกที่ 5 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระในกระบวนการผลิตที่อุณหภูมิ 70, 80 และ 90 องศาเซลเซียส ด้วยวิธี ABTS radical cation scavenging assay ของผลิตภัณฑ์น้ำบลูเบอร์รี่ (15° Brix)

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: slope

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.004(a)	2	.002	1.260	.349
Intercept	.576	1	.576	348.815	.000
temp	.004	2	.002	1.260	.349
Error	.010	6	.002		
Total	.590	9			
Corrected Total	.014	8			

a. R Squared = .296 (Adjusted R Squared = .061)

ตารางภาคผนวกที่ 6 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระในกระบวนการผลิตที่อุณหภูมิ 70, 80 และ 90 องศาเซลเซียสด้วยวิธี ABTS radical cation scavenging assay ของผลิตภัณฑ์น้ำบลูเบอร์รี่ (45° Brix)

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: slope

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.124(a)	2	.062	.108	.899
Intercept	74.922	1	74.922	130.327	.000
temp	.124	2	.062	.108	.899
Error	3.449	6	.575		
Total	78.496	9			
Corrected Total	3.573	8			

a. R Squared = .035 (Adjusted R Squared = .287)

3. การศึกษาผลของอุณหภูมิในการเก็บรักษาต่อความคงตัวของแอนโทไซยานิน และความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระปฏิกิริยาออกซิเดชันในน้ำบลูเบอร์รี่

ตารางภาคผนวกที่ 7 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระในกระบวนการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 10 องศาเซลเซียส ด้วยวิธี ABTS radical cation scavenging assay ของผลิตภัณฑ์น้ำบลูเบอร์รี่ (15 ° Brix)

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: slope

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2.063(a)	1	2.063	58.733	.002
Intercept	58.510	1	58.510	1665.797	.000
temp	2.063	1	2.063	58.733	.002
Error	.140	4	.035		
Total	60.713	6			
Corrected Total	2.203	5			

a. R Squared = .936 (Adjusted R Squared = .920)

ตารางภาคผนวกที่ 8 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระในกระบวนการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 10 องศาเซลเซียสด้วยวิธี ABTS radical cation scavenging assay ของผลิตภัณฑ์น้ำบลูเบอร์รี่ (45 ° Brix)

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: slope

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	170.645(a)	1	170.645	186.768	.000
Intercept	6550.114	1	6550.114	7168.981	.000
temp	170.645	1	170.645	186.768	.000
Error	3.655	4	.914		
Total	6724.414	6			
Corrected Total	174.300	5			

a. R Squared = .979 (Adjusted R Squared = .974)

ประวัติผู้เขียน

นางสาวกชรัตน์ วงศ์รัตน์ เกิดวันที่ 28 พฤศจิกายน พ.ศ. 2528 บ้านเลขที่ 75/1 หมู่ที่ 4 ตำบลแม่คำมี อำเภอเมือง จังหวัดแพร่ 54000 สำเร็จการศึกษาระดับชั้นมัธยมศึกษาตอนปลาย จากโรงเรียนนารีรัตน์ จังหวัดแพร่ ในปีการศึกษา 2546 และสำเร็จการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาตรี วิทยาศาสตร์บัณฑิต (อุตสาหกรรมเกษตร) สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ในปีการศึกษา 2550

นางสาวศิริพรรณ กิตติวรพัฒน์ เกิดวันที่ 14 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2529 บ้านเลขที่ 5/1 ซอย 1 ถนนเก่า ตำบลทับเที่ยง อำเภอเมือง จังหวัดตรัง 92000 สำเร็จการศึกษาระดับชั้นมัธยมศึกษาตอนปลาย จากโรงเรียนบูรณะรำลึก จังหวัดตรัง ในปีการศึกษา 2546 และสำเร็จการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต (อุตสาหกรรมเกษตร) สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ในปีการศึกษา 2550



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

การสลายตัวของแอนโทไซยานินในผลิตภัณฑ์น้ำบลูเบอร์รี่ (15° Brix) และน้ำบลูเบอร์รี่เข้มข้น (45° Brix) ที่อุณหภูมิในการให้ความร้อนต่างๆ เป็นไปตามความสัมพันธ์ของปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง (First order reaction) โดยเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น อัตราการสลายตัวของปฏิกิริยา (k) จะเพิ่มขึ้น ในขณะที่ half - life ($t_{1/2}$) หรือเวลาที่ทำให้ปริมาณแอนโทไซยานินลดลงครึ่งหนึ่งจะลดลง และปริมาณของแข็งในผลิตภัณฑ์ก็เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อความคงตัวของรงควัตถุแอนโทไซยานิน นอกจากนี้อุณหภูมิในระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์มีผลต่อความคงตัวของรงควัตถุแอนโทไซยานินในผลิตภัณฑ์น้ำบลูเบอร์รี่ การเพิ่มอุณหภูมิการเก็บรักษาจะทำให้ค่าอัตราการสลายตัวเพิ่มขึ้น ส่วนค่าครึ่งชีวิตลดลง

การเพิ่มอุณหภูมิและระยะเวลาในการให้ความร้อนทำให้ความสามารถในการทำลาซออนุมูลอิสระของน้ำบลูเบอร์รี่ลดลง แต่การเพิ่มอัตราการลดลงของความสามารถในการทำลาซออนุมูลอิสระของทุกอุณหภูมิไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($\alpha < 0.05$) นอกจากนี้การเพิ่มปริมาณของแข็งในผลิตภัณฑ์ มีผลต่อการเพิ่มอัตราการสลายตัวของรงควัตถุแอนโทไซยานินในผลิตภัณฑ์น้ำบลูเบอร์รี่

ดังนั้น ปัจจัยที่มีผลต่อความคงตัวของแอนโทไซยานิน ได้แก่ อุณหภูมิ, ระยะเวลาในการให้ความร้อน และ ปริมาณของแข็ง ดังนั้นในกระบวนการแปรรูปด้วยความร้อนน้ำผลไม้ที่มีแอนโทไซยานินเป็นองค์ประกอบ ควรใช้ปริมาณของแข็งน้อยและใช้อุณหภูมิต่ำที่ระยะเวลาสั้นๆ และควรใช้อุณหภูมิต่ำในการเก็บรักษา เพื่อทำให้แอนโทไซยานินสลายตัวลดลง อันช่วยก่อให้เกิดประโยชน์และเป็นผลดีต่อสุขภาพร่างกายของผู้บริโภค