# บทที่ 4

# ผลการทดลอง

## 4.1 องค์ประกอบทางเคมีและสารอออกฤทธิ์ทางชีวภาพของรำข้าว กข 6 และรำข้าวก่ำดอยสะเก็ด

จากการนำข้าว กข 6 และก่ำดอยสะเก็ดไปขัดสีในสภาวะเดียวกัน จากนั้นนำรำที่ได้ร่อนด้วยตะแกรงขนาด 20 mesh เพื่อกำจัดเศษข้าวที่หักออก แล้วรำข้าวทั้ง 2 พันธุ์ มาศึกษาองค์ประกอบทางเคมี ได้ผลดังแสดงในตาราง 4.1 พบว่าในรำข้าวก่ำดอยสะเก็ดมีไขมันร้อยละ 19.38 โดยน้ำหนักแห้ง โปรตีนร้อยละ 16.75 โดยน้ำหนักแห้ง และเส้นใยร้อยละ 8.55 โดยน้ำหนักแห้ง ซึ่งมีมากกว่ารำข้าว กข 6 ส่วนคาร์โบไฮเดรตในรำข้าว กข 6 ร้อยละ 53.33 โดยน้ำหนักแห้ง สูงกว่ารำข้าวก่ำดอยสะเก็ด ร้อยละ 47.25 โดยน้ำหนักแห้ง จากองค์ประกอบทางเคมีที่วิเคราะห์ได้มีปริมาณใกล้เคียงกับงานวิจัยของ อรอนงค์ วินัยกุล (2547) ซึ่งพบว่ามีปริมาณไขมันร้อยละ 15.0-20.0 โดยน้ำหนักแห้ง ปริมาณโปรตีนร้อยละ 11.0-15.0 โดยน้ำหนักแห้ง เส้นใยร้อยละ 7.0-12.0 โดยน้ำหนักแห้ง Kennedy และ Burlingame (2003) กล่าวว่า โปรตีนในรำข้าวมีคุณค่าทางอาหารที่ดี มีคุณค่าทางโภชนาการที่สูงเมื่อเปรียบเทียบกับธัญพืชชนิดอื่น โปรตีนในรำข้าวยังไม่ก่อให้เกิดอาการแพ้ (Tsuji *et al*., 1988) และในงานวิจัยของ Kahlon และ Chow (2000) พบว่าใยอาหารในรำข้าวมีสมบัติการในจับกับกรดน้ำดีในทางเดินอาหารได้ดีกว่ารำจากธัญพืชชนิดอื่นๆ ซึ่งสมบัติการจับกับกรดน้ำดีนี้เป็นข้อสันนิษฐานหนึ่งของความสามารถในการลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด เนื่องจากกรดน้ำดีถูกสร้างมาจากคอเลสเตอรอล ดังนั้นเมื่อใยอาหารในรำข้าวดูดซับจับกับกรดน้ำดีจะทำให้ร่างกายไม่สามารถดูดซึมกรดน้ำดีกลับได้จึงทำให้ต้องใช้คอเลสเตอรอลในการสร้างมากขึ้นเป็นสาเหตุของการลดลงของระดับคอเลสเตอรอลในเลือด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 4.1 องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวพันธุ์ กข 6 และก่ำดอยสะเก็ด (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง)

| องค์ประกอบทางเคมี | กข 6 | ก่ำดอยสะเก็ด |
|---|---|---|
| ความชื้น | 10.07±0.07 | 12.22±0.08 |
| เถ้า | 8.06±0.05 | 8.08±0.06 |
| ไขมัน | 17.55±0.70 | 19.38±0.45 |
| โปรตีน | 14.70±0.06 | 16.75±0.14 |
| เส้นใย | 7.07±0.05 | 8.55±0.72 |
| คาร์โบไฮเดรต | 53.33±1.78 | 47.25±1.32 |

*ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากข้อมูลการวิเคราะห์ จำนวน 3 ซ้ำ

นอกจากองค์ประกอบทางเคมีแล้ว รำข้าวยังอุดมไปด้วยวิตามินบีชนิดต่างๆ เนื่องจากระหว่างการขัดสีข้าวกล้องเป็นข้าวขาว จะมีเยื่อหุ้มเมล็ดและจมูกข้าวถูกขัดสีออกมาด้วย ซึ่งเยื่อหุ้มเมล็ด มีวิตามิน เกลือแร่อยู่ แต่จะมีใยอาหารสูง ดังได้แสดงไว้แล้วในข้างต้น (ตาราง 4.1) ปัจจุบันวงการแพทย์ได้ยอมรับว่า ผู้ที่มีปัญหาระบบทางเดินอาหาร ไม่ว่าท้องผูก จนถึงมะเร็งในลำไส้ มักเป็นคนที่ชอบกินอาหารที่มีเส้นใยอาหารน้อย (สำนักงานกองทุนสนับสนุนการสร้างเสริมสุขภาพ, 2556) จากตาราง 4.2 แสดงปริมาณวิตามินบี 1 บี 2 และบี 6 ในรำข้าวพันธุ์ กข 6 และก่ำดอยสะเก็ด พบว่า ในรำข้า กข 6 มีปริมาณวิตามินบี 1 และ บี 2 เท่ากับ 9.67 และ 4.33 มิลลิกรัม/100 กรัม ตามลำดับ ส่วนในรำข้าวก่ำดอยสะเก็ดมีปริมาณวิตามิน บี 1 บี 2 และบี 6 เท่ากับ 54.82, 32.59 และ 223.40 มิลลิกรัม/100 กรัม ตามลำดับ รำข้าวก่ำดอยสะเก็ดมีปริมาณวิตามิน บี 1 บี 2 มากกว่ารำข้าว กข 6 และรำข้าวก่ำดอยสะเก็ดมีวิตามินบี 6 ซึ่งไม่พบในรำข้าว กข 6 ซึ่งจากงานวิจัยของ นันทยา จงใจเทศ (2549) รายงานว่าวิตามินบี 1 และบี 2 มักจะพบในอาหารเสริมสุขภาพจำพวกจมูกข้าวและรำข้าว ซึ่งมีปริมาณสูงมากถึง 2.0-4.0 และ 1.0-2.0 มิลลิกรัม/100 กรัม ตามลำดับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 4.2 ปริมาณวิตาวิตามิน บี 1 บี 2 และบี 6 ในรำข้าวพันธุ์ กข 6 และก่ำดอยสะเก็ด

| วิตามินบี | กข 6 | ก่ำดอยสะเก็ด |
|---|---|---|
| วิตามิน บี 1 (มิลลิกรัม/100 กรัม) | 9.67±0.3 | 54.82±1.4 |
| วิตามิน บี 2 (มิลลิกรัม/100 กรัม) | 4.33±0.1 | 32.59±0.3 |
| วิตามิน บี 6 (มิลลิกรัม/ 100 กรัม) | ตรวจไม่พบ | 223.40±3.2 |

*ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากข้อมูลการวิเคราะห์ จำนวน 3 ซ้ำ

จากการสกัดน้ำมันออกจากรำข้าวแล้วนำมาศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในรำข้าว มีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญหลายตัว ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก แกมมา-ออริซานอล และวิตามินอี มีผลการวิจัยกล่าวว่าแกมมา-ออริซานอล และวิตามินอีช่วยลดระดับคอเลสเตอรอล และยังนำมาใช้ประโยชน์ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางบำรุงผิวและผม ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่เพิ่มมูลค่าอย่างมาก (ละม้ายมาศ ยังสุข, 2552) จากตาราง 4.3 แสดงปริมาณสารออกฤทธิ์สำคัญในรำข้าว กข 6 และรำข้าวก่ำดอยสะเก็ด โดยในรำข้าว กข 6 และก่ำดอยสะเก็ดมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ 257.54 และ 585.70 มิลลิกรัม/100 กรัม ตามลำดับ ซึ่งพบว่ารำข้าวทั้งสองพันธุ์มีปริมาณฟีนอลิคทั้งหมดสูงกว่ารำข้าวสาลีเล็กน้อย (336-397 มิลลิกรัม/100 กรัม) และมีปริมาณแกมมา-ออริซานอล เท่ากับ 6.08 และ 19.38 มิลลิกรัม/100 กรัม ตามลำดับ (Kim *et al*., 2006) ซึ่งมีน้อยกว่ารายงานของ ปณิตา และคณะ (2549) ได้รายงานปริมาณแกมมา-ออริซานอลในข้าวก่ำดอยสะเก็ดพบว่า มีปริมาณแกมมา-ออริซานอล 72.95 มิลลิกรัม/100 กรัม เมล็ดข้าวกล้อง สูงกว่าข้าว กข 6 ซึ่งมีแกมมา-ออริซานอล 30.44 มิลลิกรัม/100 กรัม เมล็ดข้าวกล้อง และมีวิตามินอี เท่ากับ 358.23 และ 573.82 ไมโครกรัม/กรัม ตามลำดับ โดยนพมาศ และคณะ (2545) รายงานปริมาณวิตามินอีในข้าวก่ำดอยสะเก็ดและ กข 6 เท่ากับ 244.62-276.24 และ 157.43-559.70 ไมโครกรัม/กรัม ตามลำดับ นอกจากนี้รำข้าวก่ำดอยสะเก็ดเป็นข้าวสีอุดมไปด้วยแอนโทไซยานิน นอกจากแอนโทไซยานินจะให้สีที่เปลี่ยนแปลงตามค่าพีเอชแล้ว ยังเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีความสามารถในการยับยั้งการเกิด หรือลดความเข้มข้นของอนุมูลอิสระที่ทำลายเซลล์ (Adom and Liu, 2002; Hu *et al*., 2003; Hyun and Chung, 2004; Oki *et al*., 2002) ปริมาณแอนโทไซยานินที่พบในการวิเคราะห์ในครั้งนี้เท่ากับ 1087.35 มิลลิกรัม/100 กรัม แต่ไม่พบแอนโทไซยานินในข้าว กข 6

จากนั้นนำมาทดสอบกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH radical scavenging โดยผลแสดงในค่า $EC_{50}$ ซึ่งหมายถึงความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ หรือยับยังการเกิด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เปอร์ออกซิเดชันได้ร้อยละ 50 นั่นหมายความว่าถ้าค่า $EC_{50}$ ต่ำกว่าจะแสดงว่าสารสกัดนั้นมีกิจกรรมต้านออกซิเดชันสูงกว่า โดยพบว่า กิจกรรมการต้านออกซิเดชัน รำข้าว กข 6 และก่ำดอยสะเก็ดซึ่งวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH มีค่า $EC_{50}$ เท่ากับ 1978.25 และ 315.37 ไมโครกรัม/กรัม ตามลำดับ จะเห็นได้ว่ารำข้าวก่ำดอยสะเก็ดมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้สูงกว่ารำข้าว กข 6 ถึง 6 เท่า ทั้งนี้เนื่องมาจากรำข้าวก่ำดอยสะเก็ดมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระสูงกว่ารำข้าวพันธุ์ กข 6 โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารแอนโทไซยานินที่พบเฉพาะในข้าวสีเท่านั้น สารแอนโทไซยานินจัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพสูงมาก (Sikorski *et al*., 2007)

ตาราง 4.3 ปริมาณสารออกฤทธิ์ในรำข้าวพันธุ์ กข 6 และก่ำดอยสะเก็ด

| สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ | กข 6 | ก่ำดอยสะเก็ด |
|---|---|---|
| สารฟีนอลิกทั้งหมด (มิลลิกรัม/100 กรัม) | 257.54 ± 0.64 | 585.70±3.63 |
| แกมมา-ออริซานอล (มิลลิกรัม/100 กรัม) | 6.08±0.03 | 19.38±0.04 |
| วิตามินอี (ไมโครกรัม/กรัม) | 358.23±0.73 | 573.82±0.63 |
| แอนโทไซยานิน (มิลลิกรัม/100 กรัม) | ตรวจไม่พบ | 1087.87±35.5 |
| [1]$EC_{50}$ (ไมโครกรัม/กรัม) | 1978.25±4.12 | 315.37±5.78 |

*ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากข้อมูลการวิเคราะห์ จำนวน 3 ซ้ำ

[1]$EC_{50}$ ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ยิ่งค่าน้อยจะมีประสิทธิภาพจะสูง

จากข้อมูลเบื้องต้นเมื่อเปรียบเทียบข้าวทั้ง 2 พันธุ์ ข้าวก่ำดอยสะเก็ดเป็นพันธุ์ข้าวที่น่าสนใจเมื่อเทียบกับข้าว กข 6 เนื่องจากมีคุณค่าทางโภชนาการและปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระสูง จึงเหมาะสมอย่างยิ่งที่จะนำมาผลิตเป็นเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ อย่างไรก็ตามรำข้าวพันธุ์ก่ำดอยสะเก็ดมีสีที่เข้มมาก จึงอาจส่งผลต่อความยอมรับของผู้บริโภคได้เช่นกัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

**4.2 การศึกษาการใช้เอนไซม์โปรติเอสในการยับยั้งไลเปส และปรับปรุงสมบัติการละลายของรำข้าว**

การเสื่อมคุณภาพของรำข้าวจะเกิดขึ้นหลังจากกระบวนการขัดสีข้าว เนื่องจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของไขมันในรำข้าวที่มีสาเหตุจากเอนไซม์ไลเปส ซึ่งทำให้ไตรกลีเซอไรด์ถูกไฮโดรไลท์ได้เป็นกรดไขมันอิสระและกลีเซอรอล ซึ่งกรดไขมันอิสระเหล่านี้จะไวต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ทำให้รำข้าวเกิดการเหม็นหืนไม่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภค ทำให้รำข้าวนั้นมีราคาถูกและถูกนำไปใช้เป็นอาหารสัตว์ หากต้องการเพิ่มมูลค่าให้กับรำข้าวต้องทำการคงสภาพรำเสียก่อน ซึ่งการคงสภาพของรำข้าวมีหลายวิธี เช่น การใช้สารเคมี การใช้ความร้อน เป็นต้น วิธีที่นิยมมากที่สุดในการคงสภาพความร้อน คือ การนึ่งไอน้ำร้อน และการทำเอกซ์ทรูชัน ซึ่งข้อเสียของการใช้ความร้อนคือทำให้คุณค่าทางโภชนาการของรำข้าวลดลง เช่น วิตามินอี วิตามินบี และในข้าวก่ำ อาจทำให้มีการสูญเสียแอนโทไซยานินอีกด้วย การใช้เอนไซม์โปรติเอสอาจเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่จะสามารถยับยั้งกิจกรรมของไลเปสได้

**4.2.1 ระดับของการไฮโดรไลซิสของโปรตีนในรำข้าวที่ย่อยด้วยเอนไซม์โปรติเอส 5 ชนิด**

เมื่อนำรำข้าวพันธุ์ กข 6 และก่ำดอยสะเก็ด มาย่อยด้วยเอนไซม์โปรติเอส 5 ชนิด ได้แก่ โบรมิเลน ปาเปน ทริปซิน ไคโมทริปซิน และฟลาโวไซม์ ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม (optimal condition) ของเอนไซม์แต่ละชนิด และทำการเปรียบเทียบความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 4.0 และ 8.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในอัตราส่วนรำข้าวต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:3 (น้ำหนัก: ปริมาตร) ทำการติดตามผลของการไฮโดรไลซิส ความสามารถในการละลายของโปรตีน และกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากภาพ 4.1-4.4 แสดงกราฟความสัมพันธ์ระหว่างระดับของการไฮโดรไลซิสและเวลาในการไฮโดรไลซิสของเอนไซม์ทั้ง 5 ชนิด ที่ความเข้มข้น 4.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร พบว่า ที่ช่วง 60 นาทีแรก การไฮโดรไลซิสเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว จากนั้นจะเพิ่มอย่างช้าๆ โดยในรำข้าว กข 6 ทริปซินให้ประสิทธิภาพในการไฮโดรไลซิสสูงที่สุด โดยมีระดับการไฮโดรไลซิสหลังการย่อยนาน 120 นาที ร้อยละ 9.87 รองลองมา คือ ไคโมทริปซิน ร้อยละ 9.40 ปาเปน ร้อยละ 8.67 โบรมิเลน ร้อยละ 6.50 และฟลาโวไซม์ ร้อยละ 5.67 ตามลำดับ เช่นเดียวกับรำข้าวก่ำดอยสะเก็ด คือ ทริปซิน ให้ประสิทธิภาพในการไฮโดรไลซิสสูงที่สุด คือ ร้อยละ 7.88 รองลองมา คือ ไคโมทริปซิน ร้อยละ 7.74 ปาเปน ร้อยละ 6.52 ฟลาโวไซม์ ร้อยละ 4.88 และโบรมิเลน ร้อยละ 3.38 ตามลำดับ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์เป็น 8.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า ระดับการไฮโดรไลซิสเกิดอย่างรวดเร็ว

ในช่วง 45 นาทีแรกจากนั้นอัตราเร็วจะค่อยๆลดลง โดยในรำข้าว กข 6 ทริปซิน ให้ระดับการไฮโดรไลซิสดีที่สุด คือ ร้อยละ12.33 รองลองมา คือ ปาเปน ร้อยละ 12.17 ไคโมทริปซิน ร้อยละ 12.09 ฟลาโวไซม์ ร้อยละ 10.11 และโบรมิเลน ร้อยละ 9.29 ตามลำดับ ส่วนในรำข้าวก่ำดอยสะเก็ด ทริปซิน ให้ประสิทธิภาพในการไฮโดรไลท์ดีที่สุด คือ ร้อยละ9.79 รองลงมา คือ ไคโมทริปซินร้อยละ 9.14 ปาเปน ร้อยละ 8.64 ฟลาโวไซม์ ร้อยละ 6.64 และโบรมิเลน ร้อยละ 6.43 ตามลำดับ เมื่อนำผลที่ได้ทำการวิเคราะห์ทางสถิติทำให้ทราบว่า ทริปซิน ไคโมทริปซิน และปาเปน ให้ประสิทธิภาพในการไฮโดรไลซิสแตกต่างจาก โบรมิเลน และ ฟลาโวไซม์ ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก เอนไซม์แต่ละชนิดมีความจำเพาะเจาะจงในการไฮโดรไลซิสโปรตีนในรำข้าวแตกต่างกัน จึงมีผลให้ระดับการไฮโดรไลซิสของเอนไซม์แต่ละชนิดแตกต่างกันด้วย รวมทั้งกิจกรรมของเอนไซม์แต่ละชนิดแตกต่างกัน (Howell, 1996)

เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์ 4.0 เป็น 8.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร พบว่า อัตราเร็วของการไฮโดรไลซิสมีค่าเพิ่มขึ้นแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) แต่การเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์ไม่ได้ทำให้ปฏิกิริยาเกิดเร็วขึ้นมากนัก ดังแสดงในภาพ 4.5-4.6 อาจเนื่องจากว่า มีความเข้มข้นของเอนไซม์ทำมากขึ้น แต่ปริมาณสารตั้งต้นในรำข้าวยังเท่าเดิม ในช่วงแรกจึงทำให้อัตราการไฮโดรไลซิสเกิดขึ้นเร็วเมื่อเอนไซม์ทำการจับกับสารตั้งต้นในรำข้าวหมดจึงทำให้อัตราการไฮโดรไล-ซิสลดลง (Howell, 1996) ดังนั้นการเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์ในการทดลองนี้จึงไม่จำเป็นมากนัก

จากนั้นทำการพิจารณาชนิดของพันธุ์ข้าวทั้ง 2 พันธุ์ ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์เดียวกัน พบว่า การไฮโดรไลซิสของรำข้าว กข 6 เกิดได้เร็วกว่าในรำข้าวก่ำดอยสะเก็ด โดยภาพ 4.1-4.4 ในรำข้าว กข 6 จะมีความชันของกราฟมากกว่ารำข้าวก่ำดอยสะเก็ด เมื่อทำการไฮโดรไลซิสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง พบว่า ในรำข้าว กข 6 มีระดับการไฮโดรไลซิสสูงกว่าก่ำดอยสะเก็ด จากการทดลองให้ผลเหมือนกันหมดทั้งเอนไซม์ 5 ชนิด อาจเนื่องจากรำข้าวทั้ง 2 ชนิด มีกรดอะมิโนซึ่งเป็นสารตั้งต้นที่แตกต่างกัน โดยในรำข้าว กข 6 อาจมีกรดอะมิโนหรือสารตั้งต้นที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อเอนไซม์ทั้ง 5 ชนิด มากกว่าในรำข้าวก่ำดอยสะเก็ด อีกทั้งจากตาราง 4.1 ในรำข้าวก่ำดอยสะเก็ดมีองค์ประกอบทางกายภาพมากกว่ารำข้าว กข 6 เช่น เส้นใย ไขมัน เป็นต้น ซึ่งอาจไปขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ในการไฮโดรไลซิสโปรตีนในรำข้าวได้

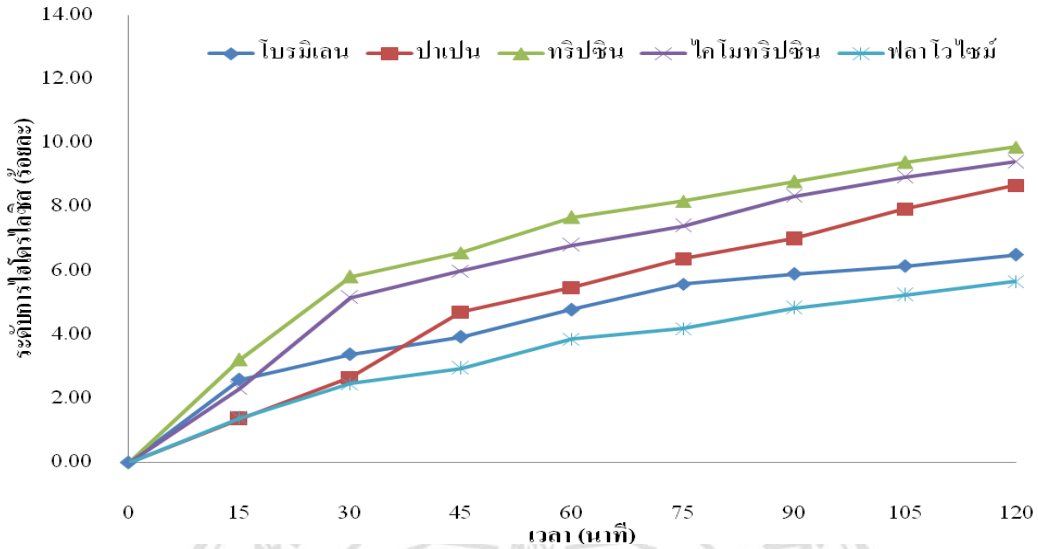
จากการทดลองในครั้งนี้ให้ผลทดลองที่สอดคล้องกับ Zhao และคณะ (2009) ที่ทำการสกัดโปรตีนจากรำข้าวจากนั้นนำโปรตีนที่ได้มาย่อยด้วยทริปซินที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส พีเอช

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

8.0 เป็นเวลา 4 ชั่วโมง พบว่าได้ระดับการไฮโดรไลซิสร้อยละ 15.35 ขณะที่ Parrado และคณะ (2006) พบว่า ใช้เอนไซม์โปรติเอส คือ ทริปซินและไคโมทริปซิน ทำการทดลองที่สภาวะอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส พีเอช 8.0 เป็นเวลา 40 นาที เอนไซม์โปรติเอสสามารถให้ประสิทธิภาพของระดับการย่อยร้อยละ 20 นอกจากนี้ยังทำให้โปรตีนภายในรำข้าวถูกย่อยให้กลายเป็นโมเลกุลที่เล็กลงและมีความสามารถในการละลายน้ำ (water solubility) ได้ดีขึ้น และเป็นผลดีต่อหน้าที่ทางโภชนาการของโปรตีน (nutritional functionality) และสามารถใช้รำข้าวเป็นส่วนผสมในอาหารเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับรำข้าวได้ จากการทดลองดังกล่าวให้ผลแตกต่างกันอาจเนื่องมาจากปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ ได้แก่ ความเข้มข้นของเอนไซม์ สารตั้งต้น พีเอช อุณหภูมิ เวลาในการไฮโดรไลซิส แหล่งที่มาของเอนไซม์ และโคแฟคเตอร์ของเอนไซม์ เป็นต้น (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2543) นอกจากนี้ชนิดของรำข้าวก็มีผลต่อระดับการไฮโดรไลซิส สังเกตได้จากรำข้าว กข 6 และก่ำดอยสะเก็ดจากภาพ 4.5-4.6 รำข้าว กข 6 มีระดับการไฮโดรไลซิสมากกว่าก่ำดอยสะเก็ด อาจเนื่องจากการทดลองครั้งนี้ได้ไม่สกัดโปรตีนจากรำข้าวโดยตรง จึงอาจมีผลของโครงสร้างภายในของรำข้าวทั้ง 2 พันธุ์ เช่น ในรำข้าวก่ำดอยสะเก็ดมีปริมาณไขมัน เส้นใย มากกว่ารำข้าว กข 6 อาทำให้เอนไซม์เข้าไปจับกับสารตั้งต้นในรำข้าวยากขึ้น จึงมีผลต่อระดับการไฮโดรไลซิส

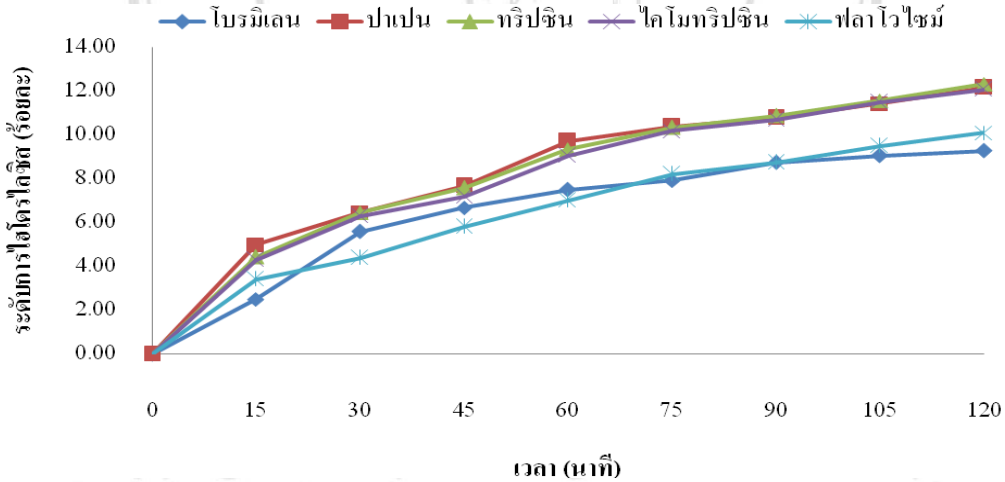
จากการทดลองนี้ทริปซินให้ระดับการไฮโดรไลซิสได้ อาจเนื่องจากทริปซินเข้าตัดสายพันธะเปปไทด์บริเวณหมู่คาร์บอกซิลของลิวซีน โนอาร์จินีน ไคโมทริปซิน ไธโรซีน ทริปโตเฟน และฟีนิลอะลานีน (ผกามาส ปุรินทราภิบาล, 2552) ของโปรตีนในรำข้าว ซึ่ง Faccin และคณะ (2009) กล่าวว่า ในรำข้าวจะพบกรดอะมิโนหลายชนิด ได้แก่ ฟีนิลอะลานีน วาลีน ทรีโอนีน ไอโซลูซีน ไลซีน ไทโรซีน อาร์จินีน ไกซีน และฮิสทิดีน เป็นต้น ส่วนปาเปนซึ่งให้ระดับการไฮโดรไลซิสใกล้เคียงกับทริปซิน โดยปาเปนจะสายเปปไทด์บริเวณหมู่คาร์บอกซิลของอาร์จินีน ไลซีน ไกซีน และซิทรูลีน (จำรัส นิมิตรพรชัย, 2534) ด้วยสาเหตุนี้จึงเป็นผลของการไฮโดรไลซิสของเอนไซม์แต่ละชนิดแตกต่างกัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved




ภาพ 4.1 ผลของการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์โปรติเอสในรำข้าว กข 6

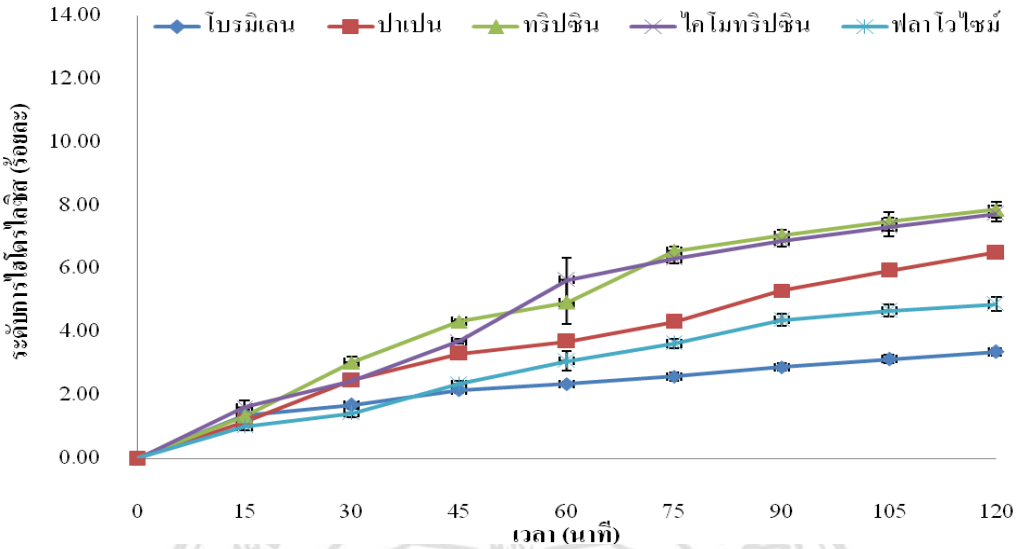
ที่ความเข้มข้น 4.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร




All rights reserved

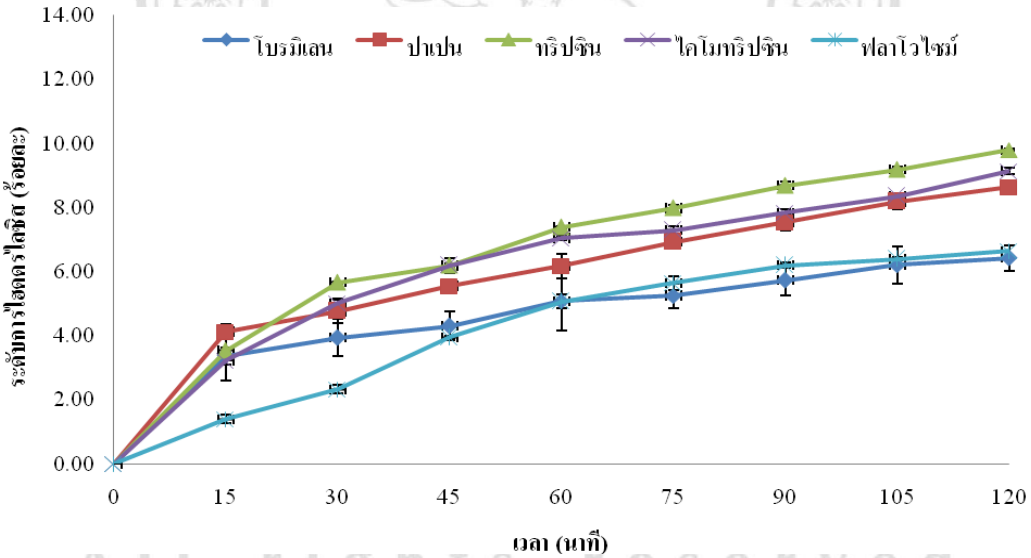
ภาพ 4.2 ผลของการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์โปรติเอสในรำข้าว กข 6

ที่ความเข้มข้น 8.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร




ภาพ 4.3 ผลของการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์โปรติเอสในรำข้าวก่ำดอยสะเก็ด

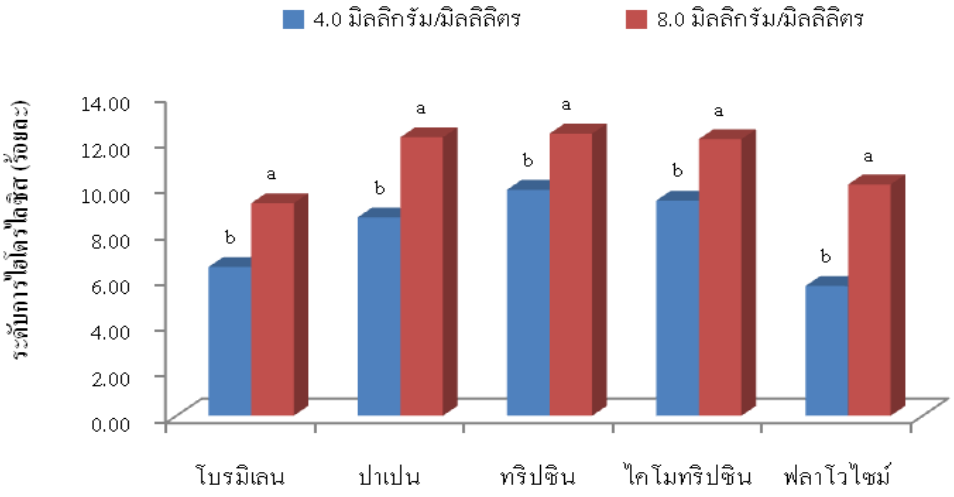
ที่ความเข้มข้น 4.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร




All rights reserved

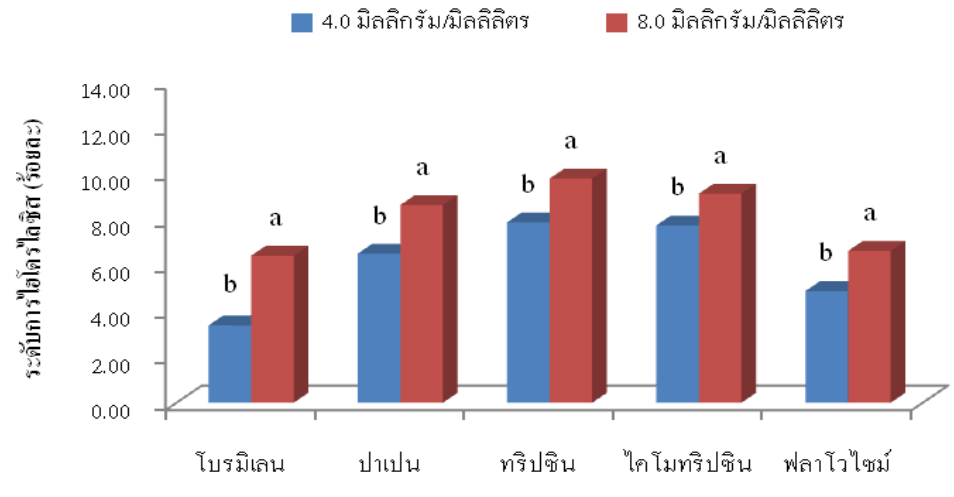
ภาพ 4.4 ผลของการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ โปรติเอสในรำข้าวก่ำดอยสะเก็ด

ที่ความเข้มข้น 8.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร




ภาพ 4.5 ความแตกต่างของการไฮโดรไลซิสของเอนไซม์โปรติเอส

ที่ความเข้มข้น 4.0 และ8.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ที่เวลา 120 นาที ในรำข้าว กข 6




ภาพ 4.6 ความแตกต่างของการไฮโดรไลซิสของเอนไซม์โปรติเอส

ที่ความเข้มข้น 4.0 และ8.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ที่เวลา 120 นาที ในรำข้าวก่ำดอยสะเก็ด

### 4.2.2 ความสามารถในการละลายของโปรตีนในรำข้าวที่ย่อยด้วยเอนไซม์โปรติเอส 5 ชนิด

จากภาพ 4.7-4.10 แสดงความสามารถในการละลายของโปรตีนในรำข้าว กข 6 และก่ำดอยสะเก็ดระหว่างการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ 5 ชนิด พบว่า ค่าความสามารถในการละลายของโปรตีนเป็นไปในทิศทางเดียวกัน กล่าวคือ ในช่วง 15 นาทีแรก ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 4.0 มิลลิกรัม/มิลลิตร เอนไซม์ทุกชนิดให้ค่าการละลายของโปรตีนเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว จากนั้นการเพิ่มขึ้นของความสามารถในการละลายจะเริ่มคงที่ เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพของเอนไซม์แต่ละชนิดที่ความเข้มข้นเดียวกัน พบว่า รำข้าว กข 6 ที่ความเข้มข้น 4.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปาเปน ให้ค่าความสามารถในการละลายของโปรตีนมากที่สุดหลังจากการย่อยด้วยเอนไซม์นาน 120 นาที คือ ร้อยละ 56.28 รองลงมาคือ ทริปซิน ร้อยละ 54.28 ไคโมทริปซิน ร้อยละ 51.70 ฟลาโวไซม์ ร้อยละ 50.03 และโบรมิเลน ร้อยละ 41.87 ตามลำดับ สำหรับค่าความสามารถในการละลายของโปรตีนในรำข้าวก่ำดอยสะเก็ด ปาเปน ให้ค่าความสามารถในการละลายของโปรตีนมากที่สุดคือ ร้อยละ 54.03 รองลงมาคือ ทริปซิน ร้อยละ 48.28ไคโมทริปซิน ร้อยละ 47.20 ฟลาโวไซม์ ร้อยละ 44.70 และโบรมิเลน ร้อยละ 42.45 ตามลำดับ

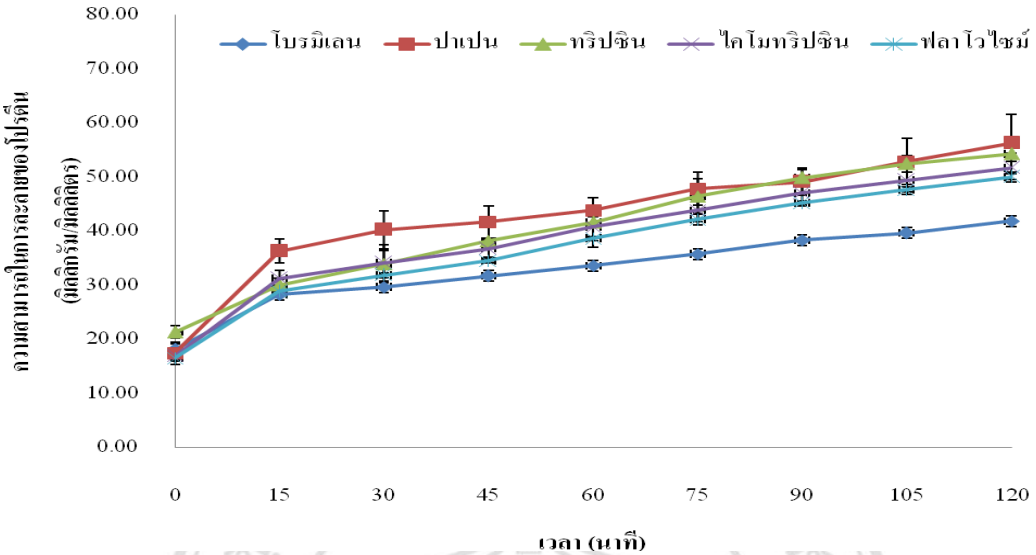
เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์ จาก 4.0 เป็น 8.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จะสังเกตเห็นได้ว่าในช่วง 60 นาทีแรกความสามารถในการละลายของโปรตีนจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว จากนั้นความสามารถในการละลายของโปรตีนจะเพิ่มขึ้นอย่างอย่าง ยกเว้น โบรมิเลนที่ให้ค่าความสามารถในการละลายของโปรตีนในรำข้าวทั้ง 2 พันธุ์แตกต่างจากเอนไซม์ชนิดอื่น คือเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ สำหรับค่าการละลายของโปรตีนรำข้าว กข 6 พบว่า ปาเปน ให้ค่าความสามารถในการละลายของโปรตีนมากที่สุดคือ ร้อยละ 65.03 รองลงมาคือ ทริปซิน ร้อยละ 63.70 ไคโมทริปซิน ร้อยละ 60.28 ฟลาโวไซม์ ร้อยละ 54.78 และโบรมิเลน ร้อยละ 40.03 ตามลำดับ ส่วนในรำข้าวก่ำดอยสะเก็ด ทริปซิน ให้ค่าความสามารถในการละลายของโปรตีนมากที่สุดคือ ร้อยละ 61.12 รองลงมาคือ ปาเปน ร้อยละ 57.78 ไคโมทริปซิน ร้อยละ 56.37 ฟลาโวไซม์ร้อยละ 51.70 และโบรมิเลน ร้อยละ 41.12 ตามลำดับ เมื่อนำค่าการละลายของโปรตีนในรำข้าวทั้ง 2 พันธุ์ มาวิเคราะห์ทางสถิติทำให้ทราบว่า ทริปซิน ไคโม-ทริปซิน และปาเปน ให้ค่าความสามารถในการละลายของโปรตีนแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) กับฟลาโวไซม์ และโบรมิเลน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากนั้นทำการวิเคราะห์ความสามารถในการละลายของโปรตีนที่ถูกไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ จากการทดลองที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 4.0 และ 8.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตรในรำข้าว กข 6 และก่ำดอยสะเก็ด ที่เวลา 120 นาที แสดงดังภาพ 4.11-4.12 พบว่า การเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์จาก 4.0 เป็น 8.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ส่งผลให้ค่าการละลายของโปรตีนแตกต่างกันในทางสถิติ ($p<0.05$) ซึ่งการใช้เอนไซม์ที่ความเข้มข้นสูงกว่า จะให้ค่าการละลายที่สูงกว่า แต่ก็ไม่มากนัก ผลการละลายจะสอดคล้องกับระดับการไฮโดรไลซิส ดังนั้นการเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์หนึ่งเท่าตัว (จาก 4.0 เป็น 8.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) นั้น จึงไม่ได้เพิ่มประสิทธิภาพในการไฮโดรไลซิสมากนักรำข้าว กข 6 มีค่าความสามารถในการละลายของโปรตีนมากกว่ารำข้าวก่ำดอยสะเก็ด ซึ่งเป็นผลสืบเนื่องจากการไฮโดรไลซิสของเอนไซม์ทำงานในรำข้าว กข 6 ได้ดีกว่าก่ำดอยสะเก็ด

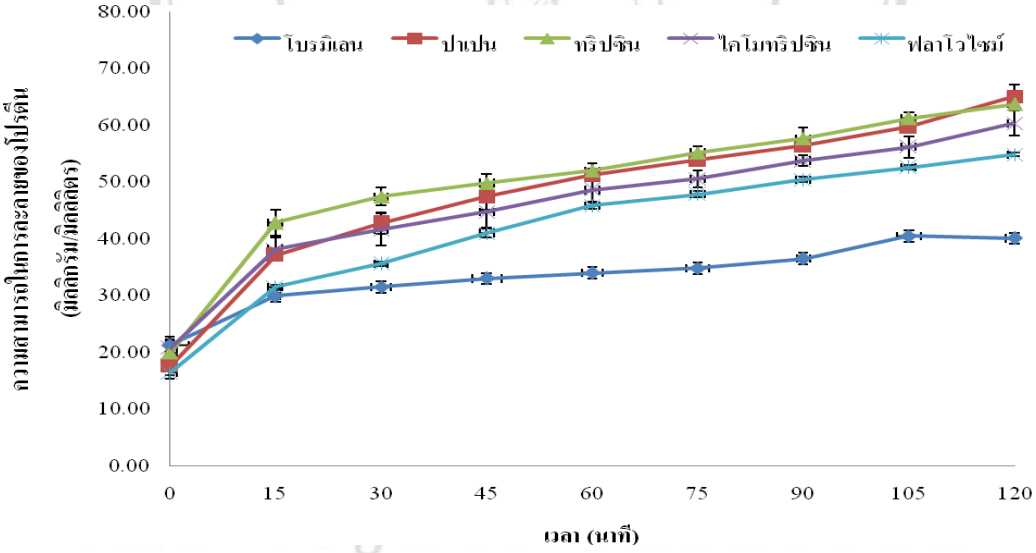
ความสามารถในการละลายของโปรตีนในรำข้าวที่ได้จากการทดลองต่ำกว่ารายงานของ Guo และคณะ (2012) ซึ่งได้ทำการทดลองใช้เอนไซม์โปรติเอส คือ ปาเปน ย่อยโปรตีนในข้าว โดยใช้สภาวะของปาเปนที่อุณหภูมิ 51.5 องศาเซลเซียส พีเอช 6.9 ความเข้มข้นของเอนไซม์ต่อสารตั้งต้น คือ ร้อยละ 1.8 เป็นเวลา 3 ชั่วโมง พบว่า มีความสามารถในการละลายของโปรตีน ร้อยละ 90.4 และใช้เอนไซม์โบรมิเลนย่อยโปรตีนในข้าว ที่อุณหภูมิ 56.5 องศาเซลเซียส พีเอช 7.3 ความเข้มข้นของเอนไซม์ต่อสารตั้งต้น คือ ร้อยละ 2.2 เป็นเวลา 4 ชั่วโมง สามารถวัดค่าความสามารถในการละลายของโปรตีน ร้อยละ 89.75 ซึ่งการทดลองในสภาวะและแหล่งของเอนไซม์ที่แตกต่างกันอาจทำให้ผลที่ได้แตกต่างกันด้วยดังได้กล่าวมาแล้วข้างต้น นอกจากเอนไซม์โปรติเอสจะทำให้โปรตีนภายในรำข้าวถูกย่อยให้กลายเป็นโมเลกุลที่เล็กลงและมีความสามารถในการละลายน้ำได้ดีขึ้น และเป็นผลดีต่อหน้าที่ทางโภชนาการของโปรตีน และสามารถใช้รำข้าวเป็นส่วนผสมในอาหารเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับรำข้าวได้ (Parrado *et al*., 2006)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



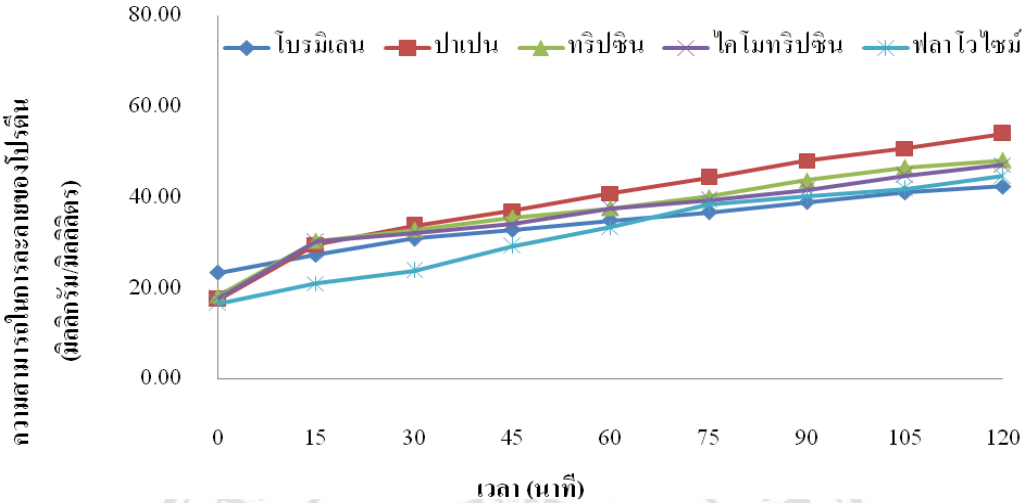

ภาพ 4.7 การละลายของโปรตีนในรำข้าว กข 6 ระหว่างการไฮโดรไลซิส

ที่ความเข้มข้น4.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

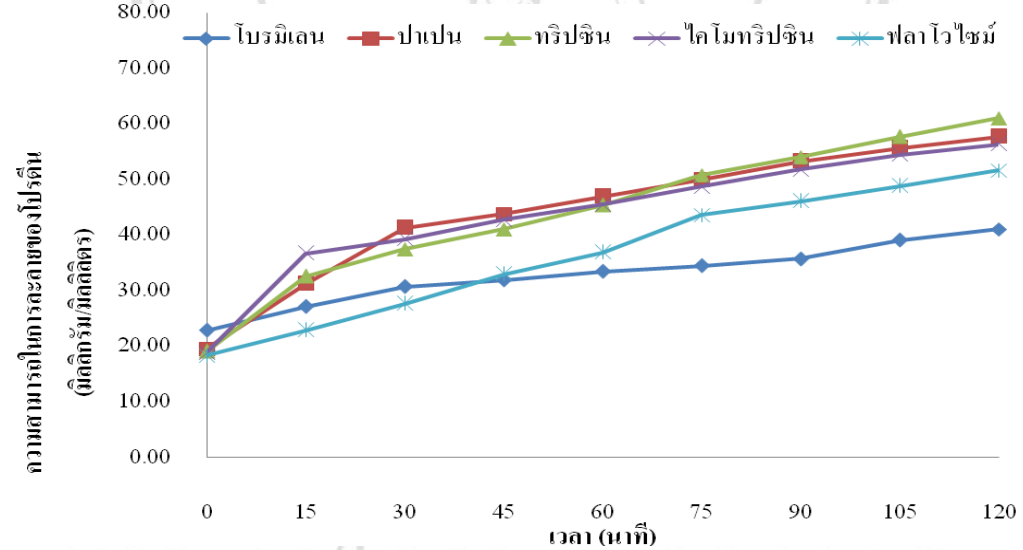



ภาพ 4.8 การละลายของโปรตีนในรำข้าว กข 6 ระหว่างการไฮโดรไลซิส

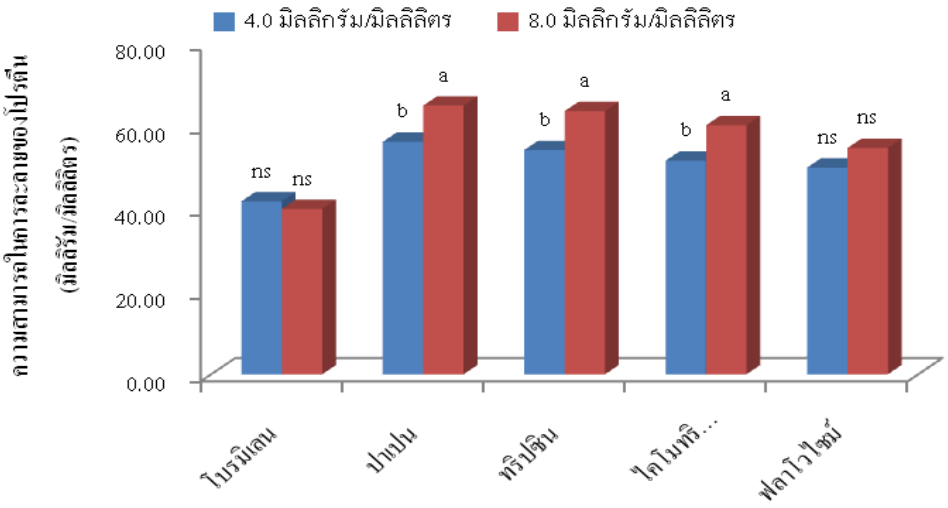
ที่ความเข้มข้น 8.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร



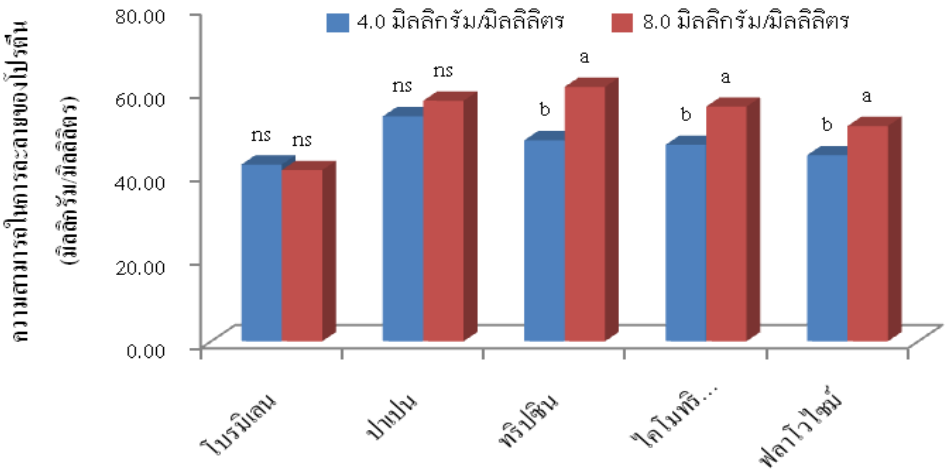

ภาพ 4.9 การละลายของโปรตีนในรำข้าวก่ำดอยสะเก็ดระหว่างการไฮโดรไลซิส ที่ความเข้มข้น 4.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร




ภาพ 4.10 การละลายของโปรตีนในรำข้าวก่ำดอยสะเก็ดระหว่างการไฮโดรไลซิส ที่ความเข้มข้น 8.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร




ภาพ 4.11 ความแตกต่างของความสามารถในการละลายของโปรตีนที่ไฮโดรไลซิส ที่ความเข้มข้น 4.0 และ8.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ที่เวลา 120 นาที ในรำข้าว กข 6




All rights reserved

ภาพ 4.12 ความแตกต่างของความสามารถในการละลายของโปรตีนที่ไฮโดรไลซิส ที่ความเข้มข้น 4.0 และ8.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ที่เวลา 120 นาที ในรำข้าวก่ำดอยสะเก็ด

### 4.2.3 กิจกรรมของไลเปสของรำข้าวในระหว่างการไฮโดรไลซิสของเอนไซม์ 5 ชนิด

รำข้าวที่ผ่านการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์โปรติเอสที่ระยะเวลาต่างๆ จะถูกนำมาวิเคราะห์กิจกรรมของไลเปส ผลของการใช้เอนไซม์โปรติเอสที่ระดับความเข้มข้น 4.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในรำข้าว กข 6 และก่ำดอยสะเก็ด แสดงในภาพ 4.13-4.14 พบว่า ในช่วงแรกของการไฮโดรไลซิส กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจนสูงสุดที่เวลาในการย่อย 45-60 นาที ซึ่งจุดนี้จะมีกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสสูงกว่าเริ่มต้น 3.7-4.2 เท่า ขณะที่ผลของการใช้เอนไซม์โปรติเอสที่ความเข้มข้น 8.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในรำข้าว กข 6 และก่ำดอยสะเก็ด แสดงในภาพ 4.15-4.16 พบว่า กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสจะเพิ่มขึ้นจนสูงสุดที่เวลา 45 นาที ซึ่งมีกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสสูงกว่าเริ่มต้น 8.0-9.0 เท่า จากนั้นกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสในรำข้าวที่ถูกไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ ทริปซิน ไคโมทริปซิน และปาเปน ของทั้ง 2 ความเข้มข้นจะลดลงอย่างรวดเร็วจนถึงนาทีที่ 120 จะมีกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสลดลงจากเริ่มต้นประมาณร้อยละ 80-85 ซึ่งแนวโน้มของกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสเป็นปทิศทางเดียวกัน ยกเว้น ในรำข้าวที่ย่อยด้วยโบรมิเลน และฟลาโวไซม์ ที่ไม่สามารถลดกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสได้ โดยในเวลาที่ 120 นาที การใช้โบรมิเลน และฟลาโวไซม์ จะทำให้รำข้าวมีกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสเพิ่มขึ้น ร้อยละ 50.0-60.0 โดยไคโมทริปซินสามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสได้มากที่สุด ร้อยละ 88.56 รองลงมาคือ ทริปซิน ร้อยละ 85.48 และ ปาเปน ร้อยละ 84.59 ตามลำดับ เมื่อนำผลของการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสมาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ พบว่า การยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสโดยการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ทริปซิน ไคโมทริปซิน และปาเปนไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p \geq 0.05$) แต่จะแตกต่างกับการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสจากการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์โบรมิเลน และฟลาโวไซม์

จากผลการทดลองข้างต้นทำให้ทราบว่าเอนไซม์โปรติเอสทั้ง 5 ชนิด มีความจำเพาะเจาะจง และสภาวะการทำงานของเอนไซม์แตกต่างกัน จึงทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสในรำข้าวแตกต่างกัน กล่าวคือ ในช่วงแรกเอนไซม์โปรติเอสจะทำงาน โดยเข้าไปทำลายเซลล์เมมเบรนทำให้ไลเปสถูกปลดปล่อยออกมา และทำปฏิกิริยากับสารตั้งต้น จึงทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสเพิ่มสูงขึ้นในช่วงแรกของการไฮโดรไลซิส แต่เมื่อให้ระยะในการไฮโดรไลซิสนานขึ้นโปรติเอสจะเริ่มทำให้ไลเปสเสียสภาพ จนสูญเสียกิจกรรมไปในที่สุด ทั้งนี้อาจเกิดจากการเปลี่ยนแปลงบริเวณเร่งหรือการไฮโดรไลซิสไลเปสโดยตรง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

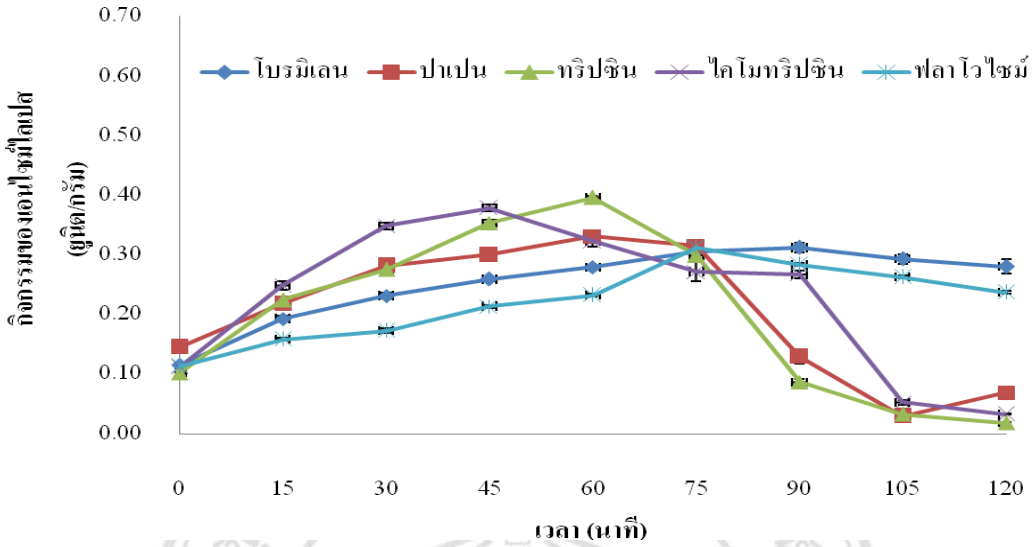
ในการทดลองครั้งนี้เอนไซม์โบรมิเลนและฟลาโวไซม์ มีให้ระดับของการไฮโดรไลซิสค่อนข้างต่ำส่งผลให้ไม่สามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสได้ภายในเวลา 120 นาที แต่หากเพิ่มเวลาในการย่อยก็มีแนวโน้มที่กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสหมดลงได้เช่นกัน

จากการเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์โปรติเอสทั้ง 5 ชนิด จาก 4.0 เป็น 8.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ทำให้การไฮโดรไลซิสกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสในรำข้าวเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย เมื่อนำผลที่ได้มาทำการวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่า การเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์จาก 4.0 เป็น 8.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ไม่ทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสในรำข้าวแตกต่างกัน ดังนั้นการเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์จึงไม่จำเป็นในการทดลองนี้ ทั้งนี้อาจเนื่องจากปริมาณสารตั้งต้นในรำข้าวมีปริมาณจำกัด เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์จึงไม่ได้ทำให้ปฏิกิริยาเกิดเร็วขึ้นมากนัก

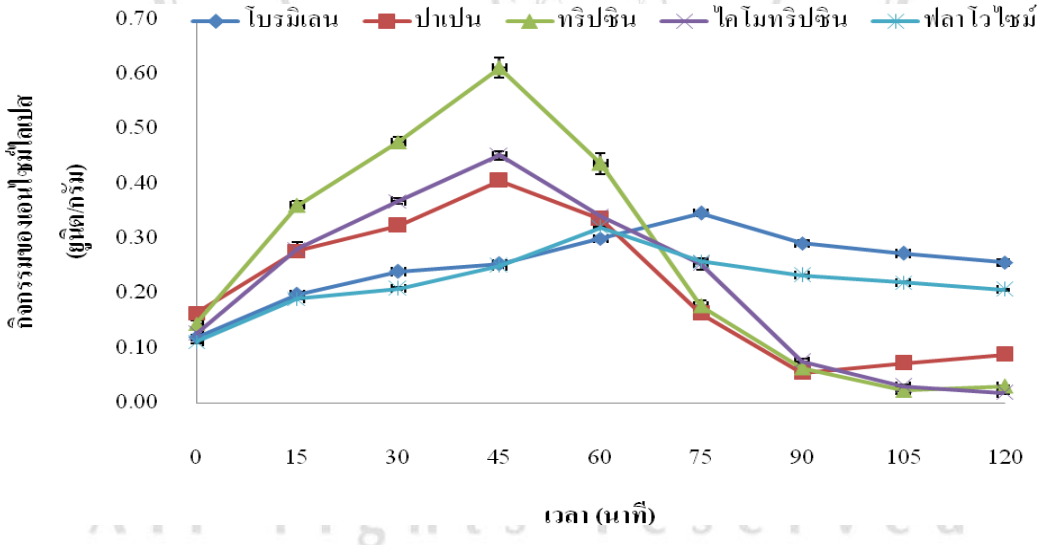
จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์ไลเปสระหว่างการไฮโดรไลซิสของรำข้าว กข 6 และก่ำดอยสะเก็ด พบว่า ในรำข้าว กข 6 จะมีการเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์ไลเปสระหว่างการไฮโดรไลซิสได้เร็วกว่ารำข้าวก่ำดอยสะเก็ดทั้ง 2 ความเข้มข้น อาจเนื่องมาจาก การไฮโดรไลซิสในการทดลองนี้ใช้รำข้าวดิบ ไม่ได้ทำการสกัดเอาเฉพาะโปรตีนในรำข้าวออกมาก่อน ซึ่งในโครงสร้างภายในของรำข้าวทั้ง 2 พันธุ์ ย่อมมีสารประกอบอื่นๆ ซึ่งอาจเป็นขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ ส่งผลให้การทำงานของเอนไซม์ลดน้อยลง ซึ่งปริมาณสารอาหารในรำข้าวของทั้ง 2 พันธุ์ ดังแสดงไว้ข้างต้น ซึ่งในรำข้าวก่ำดอยสะเก็ดมีโปรตีนมากกว่ารำข้าว กข 6 นอกจากนี้ยังมีปริมาณไขมัน เส้นใยมากกว่าอีกด้วย ซึ่งอาจขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ได้เช่นกัน

การทดลองข้างต้นให้ผลการทดลองที่สอดคล้องกับ Parrado และคณะ (2006) พบว่า ใช้เอนไซม์โปรติเอส (ทริปซินและไคโมทริปซิน) ทำการทดลองที่ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส พีเอช 8.0 เป็นเวลา 40 นาที โดยในช่วงเวลา 20-30 นาทีแรก มีการเพิ่มขึ้นของกิจกรรมของไลเปสจากเริ่มต้นร้อยละ 50 จากนั้นกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสลดลงอย่างรวดเร็วและหมดไปภายในเวลา 50 นาที การทดลองของ Parrado และคณะ (2006) ใช้เวลาในการยับยั้งกิจกรรมของไลเปสได้เร็วกว่าอาจเป็นเพราะว่าการผสมเอนไซม์ 2 ชนิด ซึ่งความสามารถในการจำเจาะเจาะจงของเอนไซม์ทั้ง 2 ต่างกัน เมื่อทำงานร่วมกันจึงทำงานได้เร็วกว่า การทำงานของเอนไซม์เพียงชนิดเดียว อีกทั้งเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด มีสภาวะการทำงานที่ใกล้เคียงกันจึงทำให้ยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสได้ดี จากข้อมูลเบื้องต้นทำให้ทราบว่าการทำการทดลองด้วยเอนไซม์ต้องควบคุมหลายปัจจัย เช่น อุณหภูมิในการทดลอง พีเอช ความเข้มข้นของเอนไซม์ แหล่งที่มาของเอนไซม์ ล้วนแล้วแต่มีผลต่อการทดลองทั้งสิ้น (พัชรา วีระกะลัส, 2541)

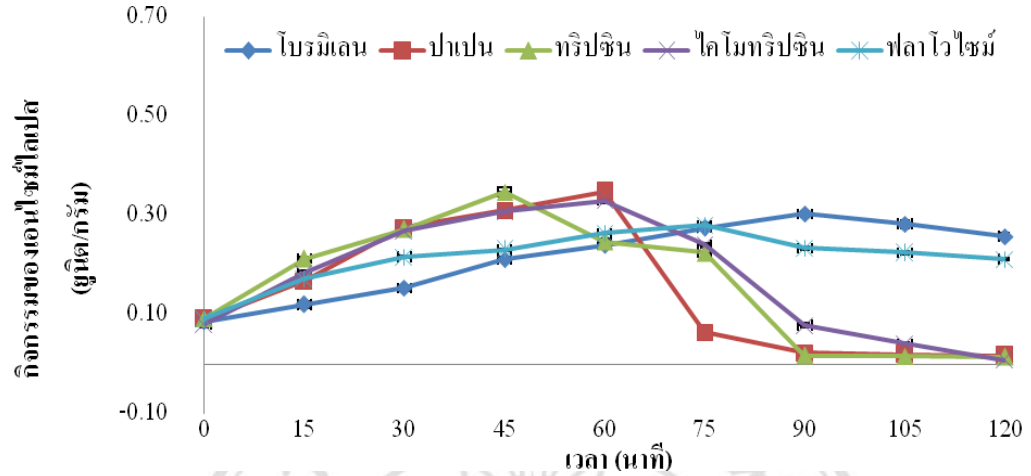
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



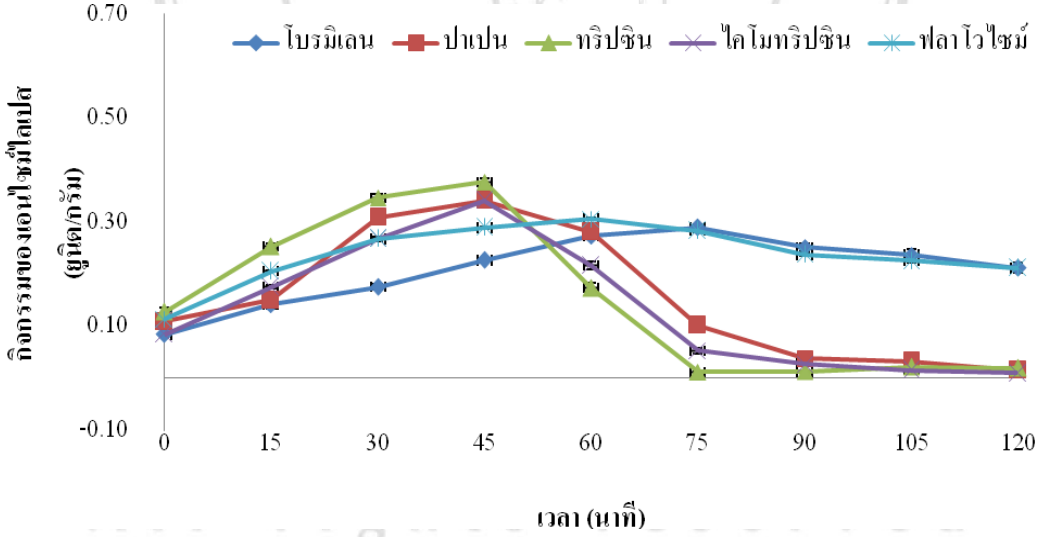

ภาพ 4.13 การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของไลเปสระหว่างการไฮโดรไลซิสของรำข้าว กข 6 ที่ความเข้มข้น 4.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร




ภาพ 4.14 การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของไลเปสระหว่างการไฮโดรไลซิสของรำข้าว กข 6 ที่ความเข้มข้น 8.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร




ภาพ 4.15 การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของไลเปสระหว่างการไฮโดรไลซิสของรำข้าวก่ำดอยสะเก็ด ที่ความเข้มข้น 4.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร




ภาพ 4.16 การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของไลเปสระหว่างการไฮโดรไลซิสของรำข้าวก่ำดอยสะเก็ด ที่ความเข้มข้น 8.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

เนื่องจากในการคงสภาพและปรับปรุงลักษณะทางกายภาพของรำข้าว เอนไซม์ ทริปซิน ปาเปน และไคโมทริปซิน ให้ประสิทธิภาพที่ดีไม่แตกต่างกัน ($p \geq 0.05$) จึงพิจารณาเลือกใช้เพียงเอนไซม์ 1 ชนิด เพื่อนำไปศึกษาต่อ โดยพิจารณาจากคุณสมบัติหลายๆ ด้านของเอนไซม์ เช่น กิจกรรม

ของเอนไซม์ ราคา แหล่งจัดซื้อ เป็นต้น จากการทดลองนี้จึงเลือกใช้ ปาเปน เนื่องจากปาเปนมีราคาถูก (80 บาท/กรัม) มีกิจกรรมของเอนไซม์ (30350 ยูนิต/มิลลิกรัม) โดยทำการทดลองในสภาวะที่เหมาะสมคือ ความเข้มข้นของเอนไซม์ 4.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร อุณหภูมิในการทดลอง 40 องศาเซลเซียส พีเอช 6.0 เวลาในการย่อย 120 นาที แล้วนำไปศึกษาปริมาณสารออกฤทธิ์สำคัญในรำข้าวทั้ง 2 พันธุ์ต่อไป

**4.3 องค์ประกอบทางเคมีและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของรำข้าวที่ผ่านการคงสภาพด้วยเอนไซม์เปรียบเทียบกับรำข้าวดิบและรำข้าวที่ผ่านการคงสภาพด้วยความร้อน**

จากการนำรำข้าว 2 พันธุ์ คือ กข 6 และก่ำดอยสะเก็ด ที่ผ่านกระบวนการสี และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส มาคงสภาพด้วยการให้ความร้อนโดยวิธีการนึ่งไอน้ำที่ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เปรียบเทียบกับกระบวนการคงสภาพด้วยเอนไซม์ปาเปน (อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส พีเอช 6.0 เวลาในการย่อย 120 นาที) ทำการเปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวที่ไม่ผ่านการคงสภาพ (รำข้าว กข 6; RN และรำข้าวก่ำดอยสะเก็ด; DN) รำข้าวที่ผ่านการคงสภาพด้วยความร้อน (รำข้าว กข 6; RH และรำข้าวก่ำดอยสะเก็ด; DH) และรำข้าวที่ผ่านการคงสภาพด้วยเอนไซม์ปาเปน (รำข้าว กข 6; RE และรำข้าวก่ำดอยสะเก็ด; DE) รำข้าวก่ำดอยสะเก็ด (DN, DH และ DE) มีความชื้น ปริมาณไขมัน เส้นใย และโปรตีนมากกว่ารำข้าว กข6 (RN, RH และ RE) อย่างมีนัยสำคัญ (ตาราง 4.4) เมื่อพิจารณาขององค์ประกอบรำข้าวทั้ง 2 พันธุ์ ที่ผ่านการคงสภาพทั้ง 2 กระบวนการ พบว่า ปริมาณความชื้นและโปรตีนของรำข้าวที่ผ่านการคงสภาพลดลงโดยเฉพาะรำข้าวที่ผ่านการคงสภาพด้วยความร้อน มีปริมาณโปรตีนลดลงจากรำข้าวที่ไม่ผ่านการคงสภาพ สาเหตุที่มีปริมาณโปรตีนลดลงอาจเนื่องมาจากระหว่างกระบวนการย่อยด้วยเอนไซม์โปรตีนในรำข้าวถูกไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์โปรติเอสทำให้มีสายเปปไทด์ที่สั้นลงและโปรตีนละลายไปบางส่วนในสารละลายบัฟเฟอร์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากตาราง 4.4 แสดงปริมาณวิตามินบี 1 บี 2 และบี 6 ในรำข้าว กข 6 และก่ำดอยสะเก็ดที่ผ่านการคงสภาพด้วยเอนไซม์ปาเปนและความร้อน โดยพบว่า ปริมาณวิตามินบี 1 และบี 2 ในรำข้าวที่ผ่านการคงสภาพด้วยความร้อนไม่แตกต่างทางสถิติจากรำข้าวดิบ ($p \geq 0.05$) แต่ปริมาณบี 6 ลดลง ส่วนรำข้าวที่ผ่านการคงสภาพด้วยเอนไซม์ปาเปนมีปริมาณบี1 บี2 และบี6 เพิ่มขึ้นสูงกว่ารำข้าวดิบอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) อย่างไรก็ตามไม่พบวิตามินบี 6 ในรำข้าว กข 6 สาเหตุที่ปริมาณวิตามินบี 6 ในรำข้าวที่ผ่านการคงสภาพด้วยความร้อนของพันธุ์ก่ำดอยสะเก็ด เนื่องจากได้รับความร้อนเป็นเวลานานจึงทำให้วิตามินสลายตัว (วัฒนา วัชรอาภาไพบูลย์ และคณะ, 2550) ส่วนรำข้าวที่ผ่านการคงสภาพด้วย

เอนไซม์มีปริมาณวิตามินบี 6 เพิ่มขึ้นจากรำข้าวดิบ เนื่องจากการใช้เอนไซม์เป็นการหลีกเลี่ยงการใช้ความร้อน และการใช้เอนไซม์เป็นการทำลายเซลล์ในรำข้าว อีกทั้งยังตัดพันธะภายในโปรตีนของรำข้าว ให้สั้นลงส่งผลให้สามารถสกัดวิตามินบีและวิเคราะห์ได้ในปริมาณที่สูงขึ้น (Parrado *et al*., 2006) Ito และ Ishikawa (2004) รายงานว่า จากผลการวิเคราะห์ปริมาณสารอาหาร ข้าวกล้องมีปริมาณปริมาณวิตามินบี1 และบี6 มากกว่าข้าวขัดขาว 3 เท่า นอกจากนี้ยังพบว่า วิตามินบี 1 ถูกทำลายได้ง่ายเมื่อถูกความร้อนและออกซิเจน หรือระหว่างการหุงต้มก็ทำให้สูญเสียวิตามินไปประมาณร้อยละ 30 วิตามินบี 2 สูญเสียได้ง่ายในน้ำ แสงไฟ ดังนั้นจึงควรเก็บไว้ในที่มืด และวิตามินบี 6 สูญเสียเมื่อถูกแสงแดดและถูกความร้อน (วัฒนา วัชรอาภาไพบูลย์ และคณะ, 2550)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 4.4 องค์ประกอบทางเคมี (ร้อยละน้ำหนักแห้ง) และวิตามินบี 1 บี 2 และบี 6ในรำข้าว

| ตัวอย่าง | RN | RH | RE | DN | DH | DE |
|---|---|---|---|---|---|---|
| ความชื้น | 10.07±0.09$^{a}$ | 3.96±0.52$^{b}$ | 6.71±0.09$^{b}$ | 12.17±0.06$^{a}$ | 5.32±0.06$^{b}$ | 11.21±0.13$^{a}$ |
| เถ้า | 8.81±0.05$^{b}$ | 9.57±0.07$^{b}$ | 11.72±0.20$^{a}$ | 8.64±0.17$^{b}$ | 9.51±0.10$^{b}$ | 12.18±0.03$^{a}$ |
| ไขมัน | 16.78±0.55$^{c}$ | 25.68±1.16$^{a}$ | 23.64±0.73$^{a}$ | 20.00±0.55$^{b}$ | 20.46±0.69$^{b}$ | 19.30±0.76$^{b}$ |
| เส้นใย | 7.52±0.05$^{b}$ | 8.51±0.81$^{b}$ | 10.07±0.70$^{a}$ | 9.20±0.77$^{a}$ | 11.61±0.97$^{a}$ | 11.25±0.53$^{a}$ |
| โปรตีน | 14.48±0.16$^{b}$ | 16.28±0.07$^{b}$ | 11.61±0.07$^{c}$ | 15.40±0.52$^{b}$ | 18.76±0.20$^{a}$ | 13.64±0.10$^{bc}$ |
| คาร์โบไฮเดรต$^{ns}$ | 42.34±0.55 | 38.05±1.26 | 33.58±0.96 | 34.61±1.27 | 34.35±1.25 | 32.42±0.71 |
| วิตามิน บี 1 (มิลลิกรัม/100 กรัม) | 9.67$^{d}$±0.3 | 7.83$^{d}$±0.3 | 22.97$^{c}$±0.1 | 54.82$^{b}$±1.4 | 37.01$^{b}$±0.86 | 42.65$^{a}$±4.7 |
| วิตามิน บี 2 (มิลลิกรัม/100 กรัม) | 4.33$^{d}$±0.1 | 5.44$^{d}$±0.1 | 9.70$^{c}$±0.1 | 48.19$^{b}$±1.1 | 32.59$^{b}$±0.3 | 91.13$^{a}$±3.39 |
| วิตามิน บี 6 (มิลลิกรัม/100 กรัม) | ตรวจไม่พบ | ตรวจไม่พบ | ตรวจไม่พบ | 223.40$^{a}$±3.2 | 135.30$^{b}$±1.7 | 209.26$^{a}$±26.7 |

หมายเหตุ : ตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$), ns = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (RN = รำข้าว กข 6 ไม่ผ่านการคงสภาพ, RH = รำข้าว กข 6 คงสภาพด้วยความร้อน, RE = รำข้าว กข 6 คงสภาพด้วยเอนไซม์ปาเปน, DN = รำข้าวก่ำดอยสะเก็ดไม่ผ่านการคงสภาพ, DH = รำข้าวก่ำดอยสะเก็ดคงสภาพด้วยความร้อน, DE = รำข้าวก่ำดอยสะเก็ดคงสภาพด้วยเอนไซม์ปาเปน)



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

**4.4 ผลของการคงสภาพต่อปริมาณสารออกฤทธิ์สำคัญในรำข้าวและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ**

เมื่อนำรำข้าว กข 6 และรำข้าวก่ำดอยสะเก็ดที่ผ่านการคงสภาพด้วยเอนไซม์ปาเปนและรำข้าวที่ผ่านการคงสภาพด้วยความร้อนโดยวิธีการนึ่งไอน้ำมาศึกษาสารออกฤทธิ์สำคัญ เทียบกับรำข้าวที่ไม่ผ่านการคงสภาพ พบว่า รำข้าวทั้งสองพันธุ์ที่ผ่านการคงสภาพด้วยเอนไซม์ปาเปนส่งผลทำให้ทั้งปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณแอนโทไซยานิน และปริมาณแกมมา-ออริซานอลของรำข้าวเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับรำข้าวที่ไม่ผ่านการคงสภาพ นอกจากนี้ยังทำให้ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH มีมากขึ้น($EC_{50}$ ลดลง) ไม่แตกต่างทางสถิติ ($p \geq 0.05$) จากรำข้าวที่ไม่ผ่านการคงสภาพ แต่รำข้าวที่ผ่านการคงสภาพด้วยความร้อนมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณแอนโทไซยานิน และปริมาณแกมมา-ออริซานอลลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) จากรำข้าวที่ไม่คงสภาพ เนื่องจากความร้อนทำให้สารออกฤทธิ์สำคัญเหล่านี้สลายตัวไประหว่างการคงสภาพส่งผลให้ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับรำข้าวที่ไม่ผ่านการคงสภาพ (แสดงในตาราง 4.5) สอดคล้องกับรายงานของ ปณิตา และคณะ (2549) ได้ศึกษาปริมาณแกมมา-ออริซานอล ในข้าวเหนียวพันธุ์พื้นเมืองของไทย พบว่าข้าวก่ำดอยสะเก็ดมีปริมาณ แกมมา-ออริซานอล 72.95 มิลลิกรัม/100 กรัม (เมล็ดข้าวกล้อง) ซึ่งสูงกว่าข้าวขาวดอกมะลิ 105 และ กข 6 ซึ่งมีค่าแกมมา-ออริซานอล 30.89 และ 30.44 มิลลิกรัม/100กรัม (เมล็ดข้าวกล้อง) ตามลำดับ ทั้งนี้การคงสภาพรำข้าวด้วยเอนไซม์ปาเปนมีปริมาณสารออกฤทธิ์สำคัญเพิ่มสูงขึ้นจากรำข้าวที่ไม่ผ่านการคงสภาพอาจมีสาเหตุมาจากเอนไซม์ปาเปนได้ย่อยโปรตีนในรำข้าว รวมถึงโปรตีนในเซลล์เมมเบรน ทำให้เซลล์ถูกทำลายและสามารถสกัดสารออกฤทธิ์สำคัญและวิเคราะห์ได้มากขึ้น เป็นสาเหตุให้รำข้าวที่ผ่านการคงสภาพด้วยเอนไซม์ปาเปนมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH สูงกว่าตัวอย่างรำข้าวดิบ และเมื่อพิจารณาปริมาณแกมมา-ออริซานอลที่ผ่านการคงสภาพด้วยเอนไซม์ปาเปนแล้วมีปริมาณเพิ่มขึ้นสูงถึง 2.2 เท่า เมื่อเทียบกับรำข้าวที่ไม่ผ่านการคงสภาพซึ่งเป็นผลดีหากจะนำไปประยุกต์ใช้ในทางด้านอุตสาหกรรมต่อไป

ตาราง 4.5 ปริมาณสารออกฤทธิ์สำคัญและความสามารถต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของรำข้าวที่ผ่านการคงสภาพด้วยกระบวนการเอนไซม์และความร้อนเทียบกับรำข้าวดิบ (มิลลิกรัม/100 กรัม)

| รำข้าว | ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ | สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด | แอนโทไซยานิน | แกมมา-ออริซานอล |
|---|---|---|---|---|
| RN | 1978.25±4.12$^{d}$ | 257.54 ± 0.64$^{e}$ | - | 6.08±0.03$^{d}$ |
| RH | 2403.23±6.01$^{e}$ | 202.86 ± 1.44$^{f}$ | - | 7.32±0.04$^{d}$ |
| RE | 1588.23±4.76$^{c}$ | 293.76 ± 3.02$^{d}$ | - | 15.03±0.02$^{c}$ |
| DN | 315.37±5.78$^{a}$ | 585.70±3.63$^{b}$ | 1087.87±35.5$^{a}$ | 19.38±0.04$^{b}$ |
| DH | 464.35±2.79$^{b}$ | 258.10±1.05$^{c}$ | 676±35.50$^{b}$ | 20.31±0.03$^{b}$ |
| DE | 325.80±4.59$^{a}$ | 607.05±1.76$^{a}$ | 1259.34±98.9$^{a}$ | 43.20±0.01$^{a}$ |

หมายเหตุ : ตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)
(RN = รำข้าว กข 6 ไม่ผ่านการคงสภาพ, RH = รำข้าว กข 6 คงสภาพด้วยความร้อน, RE = รำข้าว กข 6 คงสภาพด้วยเอนไซม์ปาเปน, DN = รำข้าวก่ำดอยสะเก็ดไม่ผ่านการคงสภาพ, DH = รำข้าวก่ำดอยสะเก็ดคงสภาพด้วยความร้อน, DE = รำข้าวก่ำดอยสะเก็ดคงสภาพด้วยเอนไซม์ปาเปน)

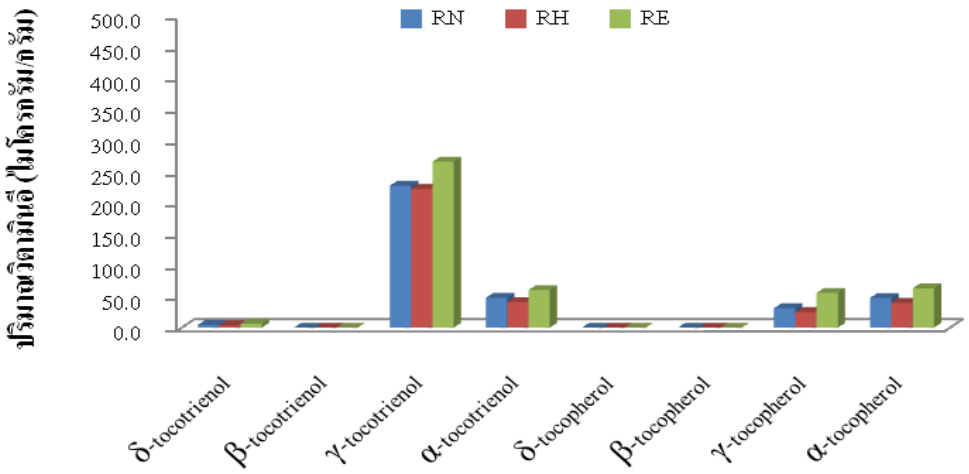
จากนั้นนำรำข้าวที่ไม่ผ่านการคงสภาพ รำข้าว กข 6 และก่ำดอยสะเก็ดที่ผ่านการคงสภาพด้วยเอนไซม์ปาเปน และรำข้าวที่ผ่านการคงสภาพด้วยความร้อนมาศึกษาปริมาณสารในกลุ่มวิตามินอี พบว่า ในรำข้าวพันธุ์ กข 6 และรำข้าวก่ำดอยสะเก็ดมีปริมาณแกมมา-โทโคไตรอีนอล 227.39 และ 346.41 ไมโครกรัม/กรัม เป็นสารในกลุ่มวิตามินอีที่พบมากที่สุด รองลงมาคือ อัลฟา-โทโคฟีรอล 47.54 และ 73.55 ไมโครกรัม 2 กรัม อัลฟา-โทโคไตรอีนอล 47.80 และ 68.81 ไมโครกรัม/กรัม แกมมา-โทโคฟีรอล 31.06 และ 56.04 ไมโครกรัม/กรัม และเดลตา-โทโคไตรอีนอล 4.44 และ 5.92 ไมโครกรัม/กรัม นอกจากนี้ ในรำข้าวก่ำดอยสะเก็ดยังพบเดลตา-โทโคฟีรอล 8.33ไมโครกรัม/กรัม และเบตา-โทโคฟีรอล 14.26 ไมโครกรัม/กรัม ซึ่งไม่พบในรำข้าว กข 6 จากภาพ 4.17-4.18 จากการทดลองข้างต้นให้ผลแตกต่างจากงานวิจัยของ Zhang และคณะ (2012) พบว่า ในข้าวก่ำมีปริมาณอัลฟา-โทโคไตรอินอลมากที่สุด คือ 32.28 ไมโครกรัม/กรัม รองลงมาคือแกมมา-โทโคไตรอินอล 24.86 ไมโครกรัม/กรัม อัลฟา-โทโคฟีรอล 22.57 ไมโครกรัม/กรัม ตามลำดับ และจากงานวิจัยของปรีดาวรรณ ขอช่วยกลาง (2556) ทำสกัดน้ำมันรำข้าวพันธุ์ กข 6 โดยใช้เฮกเซนเป็นตัวสกัด ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 3 ชั่วโมง จากนั้นนำมาศึกษาปริมาณวิตามินอี พบว่า ในน้ำมันของรำข้าว กข 6 มีปริมาณอัลฟา-โทโคฟีรอลมากที่สุด คือ 286.70 ไมโครกรัม/กรัม รองลงมาคือ แกมมา-

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

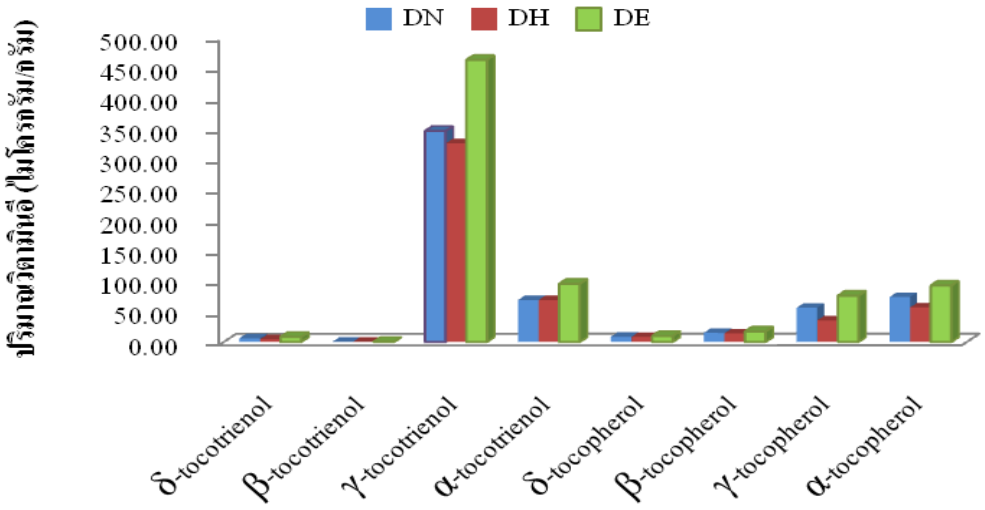
โทโคฟีรอล 54.37 ไมโครกรัม/กรัม และเดลตา-โทโคฟีรอล 1.87 ไมโครกรัม/กรัม ตามลำดับ ซึ่งวิตามินอีที่พบในรำข้าวมากที่สุดคือ แกมมา-โทโคฟีรอล รองลงมาคือ เบตา-โทโคฟีรอล และอัลฟา-โทโคฟีรอล แต่ไม่พบวิตามินอีชนิด เดลตา-โทโคฟีรอลในรำข้าว (ธิดารักษ์ และคณะ, 2554) และโครงสร้างที่ที่แตกต่างของวิตามินอีทำให้วิตามินอีแต่ละไอโซเมอร์มีฤทธิ์ทางชีวภาพต่างกัน โดยอัลฟา-โทโคฟี-รอลมีฤทธิ์ทางชีวภาพมากที่สุด รองลงมาคือ เบตา-โทโคฟีรอล (Drevon *et al*., 1991)

จากภาพ 4.19 แสดงปริมาณของวิตามินอีของรำข้าว กข 6 และก่ำดอยสะเก็ดที่ผ่านการคงสภาพด้วยเอนไซม์ปาเปนและความร้อนเทียบกับรำข้าวที่ไม่ผ่านการคงสภาพ พบว่า รำข้าว กข 6 ที่ผ่านการคงสภาพด้วยความร้อนมีปริมาณวิตามินอี 332.14 ไมโครกรัม/กรัม และก่ำดอยสะเก็ดมี 513.16 ไมโครกรัม/กรัม ลดลงจากรำข้าวที่ไม่ผ่านการคงสภาพ กข 6 358.23 ไมโครกรัม/กรัม และก่ำดอยสะเก็ด 573.44 ไมโครกรัม/กรัม ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) และรำข้าว กข 6 ที่ผ่านการคงสภาพด้วยเอนไซม์ปาเปนมีปริมาณวิตามินอี 451.50 ไมโครกรัม/กรัม และก่ำดอยสะเก็ดมี 762.27 ไมโครกรัม/กรัม เพิ่มขึ้นจากรำข้าวที่ไม่ผ่านการคงสภาพแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ซึ่งการคงสภาพทั้ง 2 วิธีให้ผลของปริมาณวิตามินอีของรำข้าวทั้ง 2 พันธุ์ เป็นไปในทิศทางเดียวกัน จากรายงานของ ธิดารักษ์ แสงอรุณ และคณะ (2554) รายงานว่า ข้าวก่ำมีวิตามินอี 254.07 ไมโครกรัม/กรัม (น้ำหนักแห้ง) และรำข้าวขาวมีวิตามินอี 121.50 ไมโครกรัม/กรัม (น้ำหนักแห้ง) จากผลการทดลองปริมาณสารออกฤทธิ์สำคัญในรำข้าว กข 6 และก่ำดอยสะเก็ดทำให้ทราบว่า ความแตกต่างของพันธุ์ข้าวส่งผลให้ปริมาณสารออกฤทธิ์สำคัญแตกต่างกันด้วย โดยในรำข้าวก่ำดอยสะเก็ดจะมีปริมาณสารออกฤทธิ์สำคัญมากกว่ารำข้าว กข 6 ดังนี้ ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด 2.2 เท่า แกมมา-ออริซานอล 3.18 เท่า และวิตามินอี 1.8 เท่า

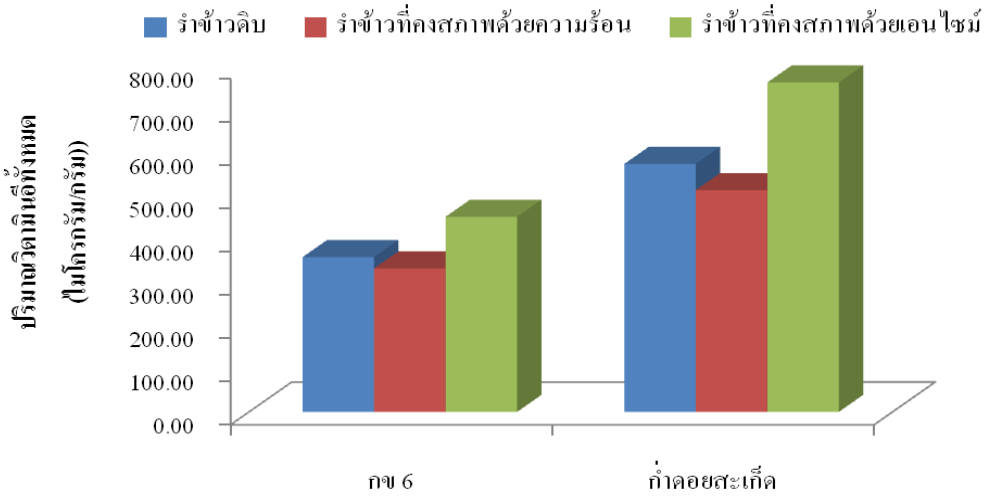
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved




ภาพ 4.17 เปรียบเทียบปริมาณวิตามินอีในรำข้าว กข 6 ที่ผ่านการคงสภาพด้วยกระบวนการเอนไซม์และความร้อนเทียบกับรำข้าววัตถุดิบ (RN = รำข้าว กข 6 ไม่ผ่านการคงสภาพ, RH = รำข้าว กข 6 คงสภาพด้วยความร้อน, RE = รำข้าว กข 6 คงสภาพด้วยเอนไซม์ปาเปน)




ภาพ 4.18 เปรียบเทียบปริมาณวิตามินอีในรำข้าว ก่ำดอยสะเก็ด ผ่านการคงสภาพด้วยกระบวนการเอนไซม์และความร้อนเทียบกับรำข้าววัตถุดิบ (DN = รำข้าวก่ำดอยสะเก็ดไม่ผ่านการคงสภาพ, DH = รำข้าวก่ำดอยสะเก็ดคงสภาพด้วยความร้อน, DE = รำข้าวก่ำดอยสะเก็ดคงสภาพด้วยเอนไซม์ปาเปน)




ภาพ 4.19 ความแตกต่างของปริมาณวิตามินอีของรำข้าว กข 6 และก่ำดอยสะเก็ด

เมื่อพิจารณาวิธีการคงสภาพของรำข้าว พบว่าการคงสภาพด้วยความร้อนของรำข้าวทั้ง 2 พันธุ์ มีปริมาณสารออกฤทธิ์และวิตามินบี 1 บี 2 และบี 6 ลดลง ส่วนการใช้เอนไซม์ปาเปนในการคงสภาพของรำข้าวมีปริมาณสารออกฤทธิ์และวิตามินบี 1 บี 2 และบี 6 เพิ่มขึ้นจากรำข้าวที่ไม่ผ่านการคงสภาพ อาจเนื่องจากเอนไซม์จะเข้าไปไฮโดรไลซิสตำแหน่งคาร์บอกซิลของพันธะเปปไทด์ ให้เป็นสายที่สั้นลง และยังทำลายเซลล์ทำให้สกัดและวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์สำคัญออกได้มากขึ้น (Parrado *et al*., 2006) จึงทำให้ในรำข้าวที่คงสภาพด้วยเอนไซม์มีปริมาณสารออกฤทธิ์ที่มากกว่าจากรำข้าวดิบและรำข้าวที่ผ่านการคงสภาพด้วยความร้อน จากผลการทดลองจึงสามารถกล่าวได้ว่าการใช้เอนไซม์ปาเปนสามารถทำลายกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสในรำข้าวได้ ยังมีข้อได้เปรียบคือรำข้าวทั้งสองพันธุ์ที่ผ่านการคงสภาพด้วยเอนไซม์ปาเปนนั้นจะมีปริมาณสารสำคัญเพิ่มขึ้นสูงกว่ารำข้าวดิบที่ไม่ผ่านการคงสภาพ ดังนั้นกระบวนการทางเอนไซม์นี้จึงมีศักยภาพและมีความน่าสนใจในการนำไปประยุกต์ใช้เพื่อคงสภาพรำข้าวในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

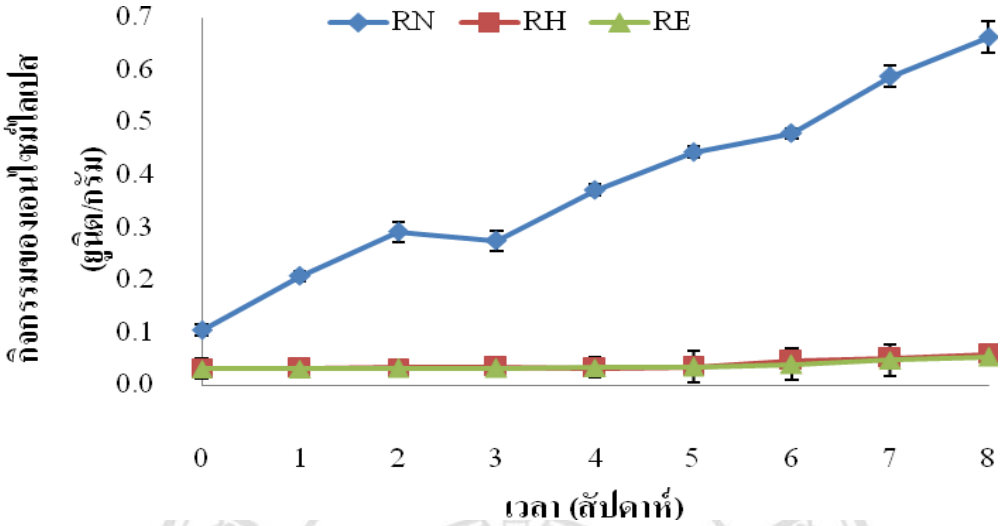
**4.5 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของรำข้าวในระหว่างการเก็บรักษา**

เมื่อนำรำข้าว กข 6 และรำข้าวก่ำดอยสะเก็ดที่ผ่านการคงสภาพด้วยความร้อน รำข้าวที่ผ่านการคงสภาพด้วยเอนไซม์ปาเปน และรำข้าวที่ไม่ผ่านการคงสภาพ ใส่ในถุงโพลีเอลิทิลีนแบบ Zip-Lock มาศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพระหว่างการเก็บรักษา โดยทำการวิเคราะห์ทุกๆ 1 สัปดาห์ เป็นเวลานาน 2 เดือน โดยวิเคราะห์ค่าต่างๆ ดังนี้ กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส กรดไขมันอิสระ

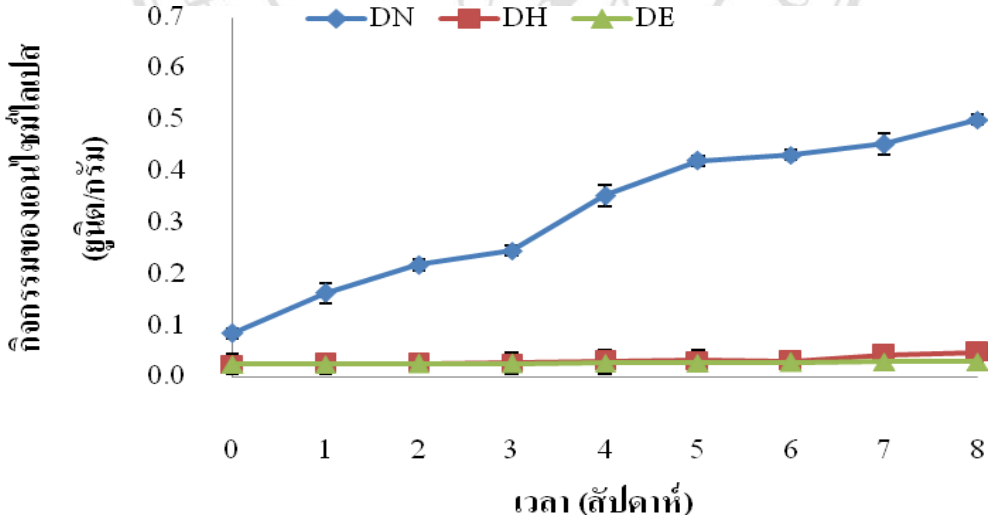
ค่าเปอร์ออกไซด์ และสารออกฤทธิ์สำคัญในรำข้าว ได้แก่ แกมมา-ออริซานอล วิตามินอี ปริมาณฟีนอลลิกทั้งหมด แอนโทไซยานิน และความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ให้ผลดังต่อไปนี้

ภาพ 4.20-4.21 แสดงการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสในรำข้าว กข 6 และรำข้าวก่ำดอยสะเก็ดระหว่างการเก็บรักษา พบว่า รำข้าวดิบพันธุ์ กข 6 และพันธุ์ก่ำดอยสะเก็ดมีกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสเริ่มต้น เท่ากับ 0.1063 และ 0.0854 ยูนิต/กรัม ตามลำดับ และมีกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา เท่ากับ 0.6635 และ 0.5013 ยูนิต/กรัม ตามลำดับ ส่วนรำข้าวพันธุ์ กข 6 และก่ำดอยสะเก็ดที่ผ่านการคงสภาพด้วยความร้อน มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสเริ่มต้นเท่ากับ 0.0321 และ 0.0260 ยูนิต/กรัม ตามลำดับ และมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา เท่ากับ 0.0598 และ 0.0489 ยูนิต/กรัม ตามลำดับ และการคงสภาพด้วยเอนไซม์ปาเปน มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสเริ่มต้นเท่ากับ 0.0328 และ 0.0258 ยูนิต/กรัม ตามลำดับ และมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา เท่ากับ 0.0553 และ 0.0311 ยูนิต/กรัม ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่าในรำข้าว กข 6 และรำข้าวก่ำดอยสะเก็ดที่ไม่ผ่านการคงสภาพมีกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วตั้งแต่ช่วงสัปดาห์แรกของการเก็บรักษา ขณะที่รำข้าวที่ผ่านการคงสภาพด้วยความร้อนและเอนไซม์ปาเปนมีกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสเกิดขึ้นแต่ช้ามาก เหตุที่รำข้าวที่ผ่านการคงสภาพยังมีกิจกรรมของไลเปสเหลืออยู่อาจเนื่องจากบางส่วนของเอนไซม์ไลเปสที่อาจถูกยับยั้งไปแล้□วนั้น สามารถกลับมามีกิจกรรมได้อีก□ โดยมีอุณหภูมิ และความชื้นที่อาจผ่านเข□าได้ อีกทั้งไอออนของโลหะที่มีอยู่□ในรำข้□าวเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาให้□เกิดเร็วขึ้น (Juliano *et al.,* 1985; West and Cruz, 1963; จินดารัตน์ โตกมลธรรม□, 2539) หากต้องการให้กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสไม่กลับคืนสู่สภาพเดิมควรเก็บในภาชนะบรรจุที่ป้องกันความชื้น อากาศ และควรเก็บที่อุณหภูมิต่ำ เพื่อช่วยยืดระยะเวลาในการเก็บรักษารำข้าว ซึ่งการทดลองในครั้งนี้ให้ผลแตกต่างจากงานวิจัยของ Lamikanra และคณะ (2005) รายงานว่า กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสในพืช จะลดลงในระหว่างการเก็บรักษาโดยเฉพาะในตัวอย่างที่อยู่ภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต โดยไลเปสลดลงจนไม่สามารถตรวจพบหลังการเก็บรักษา การลดลงของไลเปสอาจเป็นกลไกของพืชที่จะลดการเสื่อมเสียให้มีการย่อยสลายลดลง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved




ภาพ 4.20 การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสในรำข้าว กข 6 ระหว่างการเก็บรักษา (RN = รำข้าว กข 6 ไม่ผ่านการคงสภาพ, RH = รำข้าว กข 6 คงสภาพด้วยความร้อน, RE = รำข้าว กข 6 คงสภาพด้วยเอนไซม์ปาเปน)

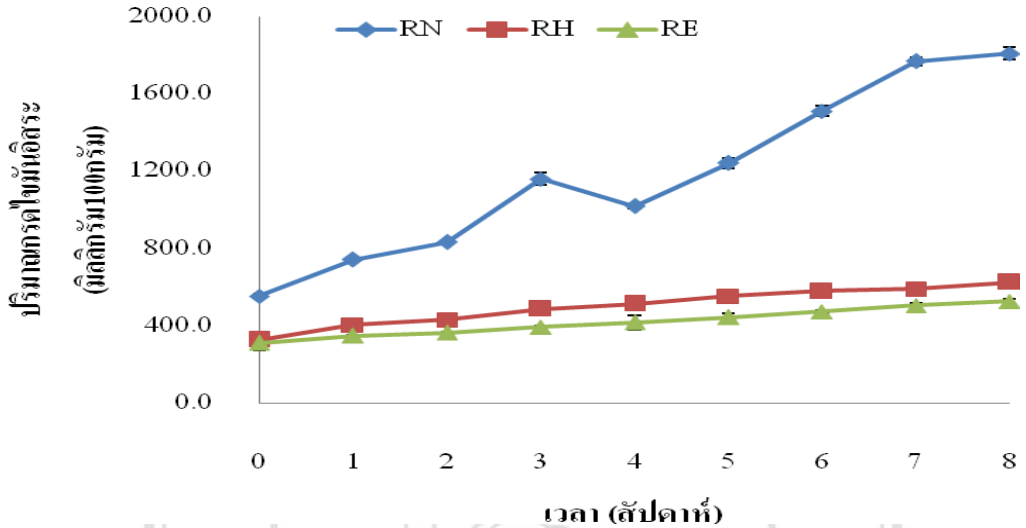



ภาพ 4.21 การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสในรำข้าวก่ำดอยสะเก็ดระหว่างการเก็บรักษา (DN = รำข้าวก่ำดอยสะเก็ดไม่ผ่านการคงสภาพ, DH = รำข้าวก่ำดอยสะเก็ดคงสภาพด้วยความร้อน, DE = รำข้าวก่ำดอยสะเก็ดคงสภาพด้วยเอนไซม์ปาเปน)

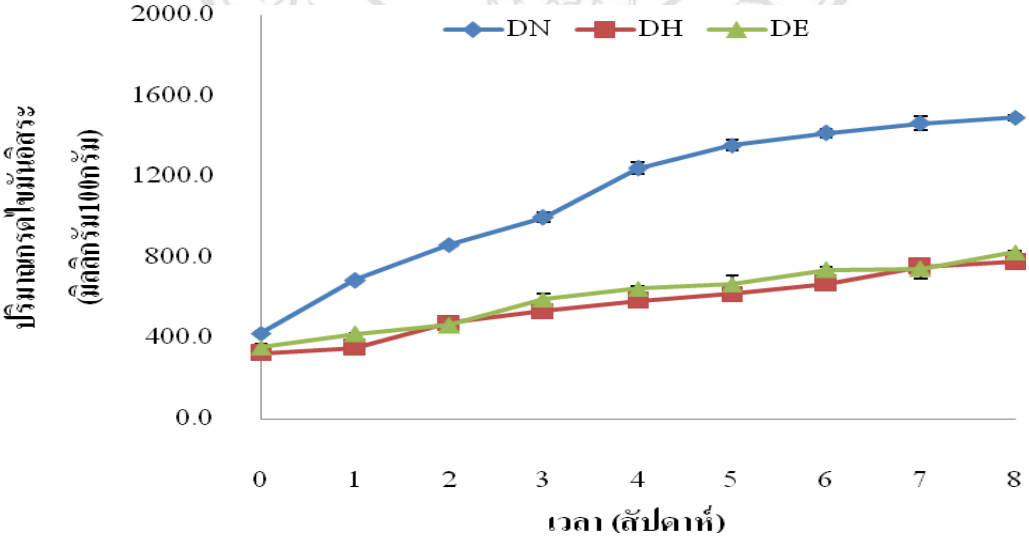
นอกจากจะศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสระหว่างการเก็บรักษาแล้ว ยังได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณของกรดไขมันอิสระ และค่าเปอร์ออกไซด์ ภาพ 4.22-4.23 แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดไขมันอิสระในรำข้าว กข 6 และรำข้าวก่ำดอยสะเก็ด พบว่า รำข้าว กข 6 และรำข้าวก่ำดอยสะเก็ดที่ผ่านการคงสภาพด้วยเอนไซม์ปาเปน และการคงสภาพด้วยความร้อนมีปริมาณกรดไขมันอิสระเพิ่มขึ้นน้อยมากเมื่อเทียบกับรำข้าวที่ไม่ผ่านการคงสภาพ ในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษาในรำข้าว กข6 ที่ไม่ผ่านการคงสภาพ ผ่านการคงสภาพด้วยความร้อน และผ่านการคงสภาพด้วยเอนไซม์ปาเปน มีปริมาณกรดไขมันอิสระ 554.04, 325.89 และ 310.27 มิลลิกรัม/100 กรัม ตามลำดับ และมีปริมาณกรดไขมันอิสระวันที่ 60 เท่ากับ 1812.00, 626.41 และ 526.25 มิลลิกรัม/100กรัม ตามลำดับ ส่วนรำข้าวก่ำดอยสะเก็ดที่ไม่ผ่านการคงสภาพ ผ่านการคงสภาพด้วยความร้อน และผ่านการคงสภาพด้วยเอนไซม์ปาเปน มีปริมาณกรดไขมันอิสระวันที่ 0 เท่ากับ 424.15, 324.79 และ 353.97 มิลลิกรัม/100กรัม ตามลำดับ และมีปริมาณกรดไขมันอิสระในวันที่ 60 เท่ากับ 1493.00, 777.30 และ 827.05 มิลลิกรัม/100 กรัม ตามลำดับ ซึ่งในรำข้าว กข 6 และรำข้าวก่ำดอยสะเก็ดที่ไม่ผ่านการคงสภาพมีปริมาณการเพิ่มขึ้นของกรดไขมันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ซึ่งการทดลองมีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกับการทดลองของ จันทร์สม แก้□วอุดร และ เนื้อทอง วนานุวัธ (2547) ได้ศึกษาการคงสภาพรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 โดยปรับความชื้นของรำข้าวร้อยละ 21 อบด้วยไมโครเวฟที่มีกำลังไฟ 850 วัตต์ นาน 4 นาที เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องนาน 18 สัปดาห์ พบว่า รำข้าวที่ไม่ผ่านการคงสภาพและรำข้าวที่ผ่านการอบด้วยไมโครเวฟบรรจุในถุงกระสอบ รำข้าวที่ผ่านการอบด้วยไมโครเวฟบรรจุในถุงโพลีเอทิลีน และรำข้าวที่ผ่านการอบด้วยไมโครเวฟบรรจุในถุงอะลูมิเนียมฟลอ□ยด์ลามิเนตแบบสุญญากาศ มีปริมาณกรดไขมันอิสระในสัปดาห์ที่ 0 เท่ากับ ร้อยละ 3.0, 3.2ม 3.2 และ3.2 ตามลำดับ และมีปริมาณกรดไขมันอิสระในสัปดาห์ที่ 18 ของการทดลอง เท่ากับร้อยละ 55.2 , 17.4, 10.0 และ 4.2 ตามลำดับ การเพิ่มขึ้นของกรดไขมันอิสระในรำข้าวที่ผ่านการคงสภาพด้วยความร้อนจากไมโครเวฟบรรจุในถุงกระสอบและถุงโพลีเอทิลีนคาดว่าเกิดจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสที่เร่□งด้วยเอนไซม์ไลเปส จากการทดลองครั้งนี้ในรำข้าว กข 6 และรำข้าวก่ำดอยสะเก็ดที่ไม่ผ่านการคงสภาพมีการทำงานของเอนไซม์ไลเปสทำให้มีปริมาณกรดไขมันอิสระเพิ่มขึ้น เนื่องจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสระหว่างเอนไซม์ไลเปสและไขมันภายในรำข้าว ทำให้ไตรกลีเซอไรด์ถูกไฮโดรไลซิสได้เป็นกรดไขมันอิสระและกลีเซอรอล ซึ่งกรดไขมันอิสระเหล่านี้ไวต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Ramezanzadeh *et al*., 2000) และการหืนของไขมันหรือน้ำมันนั้นความร้อนในการเก็บรักษาเป็นตัวช่วยเร่งให้เกิดปฏิกิริยาได้เร็วขึ้น (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2548) หรือบางส่วนของเอนไซม์□ไลเปสที่อาจถูกยับยั้งไปแล้□วนั้นสามารถกลับคืนสภาพธรรมชาติได้□เอง โดยมีอุณหภูมิ ความชื้นที่อาจผ่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

□านเข้□าได้□และไอออนของโลหะที่มีอยู□ในรำข้□าวเป็นตัวเร่□งปฏิกิริยาให้□เกิดเร็วขึ้น (Juliano *et al.,* 1985; West and Cruz, 1963; จินดารัตน□ โตกมลธรรม, 2539)




ภาพ 4.22 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดไขมันอิสระ (free fatty acid) ของรำข้าว กข6 ระหว่างการเก็บรักษา (RN = รำข้าว กข 6 ไม่ผ่านการคงสภาพ, RH = รำข้าว กข 6 คงสภาพด้วยความร้อน, RE = รำข้าว กข 6 คงสภาพด้วยเอนไซม์ปาเปน)

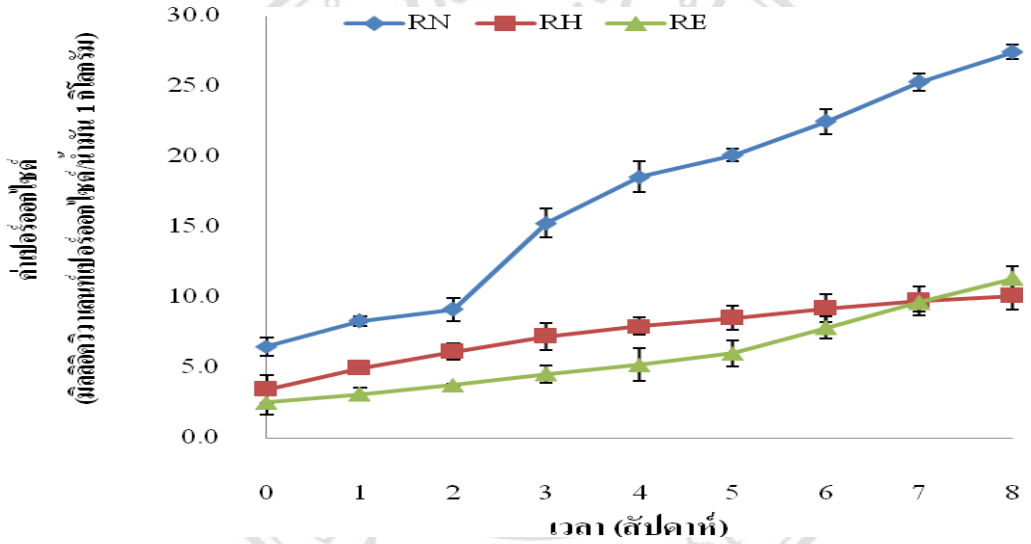



ภาพ 4.23 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดไขมันอิสระ (free fatty acid) ของรำข้าวก่ำดอยสะเก็ดระหว่างการเก็บรักษา (DN = รำข้าวก่ำดอยสะเก็ดไม่ผ่านการคงสภาพ, DH = รำข้าวก่ำดอยสะเก็ดคงสภาพด้วยความร้อน, DE = รำข้าวก่ำดอยสะเก็ดคงสภาพด้วยเอนไซม์ปาเปน)

ค่าเปอร์ออกไซด์ (Peroxide value) เป็นค่าที่ชี้บ่งการเกิดออกซิเดชันของไขมันเพราะเปอร์ออกไซด์เป็นอินเตอร์มีเดียตของปฏิกิริยาออโตออกซิเดชัน (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2548) จากการวิเคราะห์ค่าเปอร์ออกไซด์ในรำข้าว กข 6 และรำข้าวก่ำดอยสะเก็ด พบว่า เมื่อเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ค่าเปอร์ออกไซด์ในรำข้าวทั้ง 2 พันธุ์ มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยรำข้าว กข 6 และรำข้าวก่ำดอยสะเก็ดที่ไม่ผ่านการคงสภาพมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเร็วกว่ารำข้าวที่ผ่านการคงสภาพด้วยความร้อนและรำข้าวที่ผ่านการคงสภาพด้วยเอนไซม์ปาเปน โดยค่าเปอร์ออกไซด์ของรำข้าว กข 6 ที่ไม่ผ่านการคงสภาพ รำข้าว กข 6 ที่ผ่านการคงสภาพด้วยความร้อน และรำข้าว กข 6 ที่ผ่านการคงสภาพด้วยเอนไซม์ปาเปนมีค่าเปอร์ออกไซม์เริ่มต้น เท่ากับ 6.52, 3.45 และ 2.54 มิลลิอิควิวาเลนท์เปอร์ออกไซด์/น้ำมัน 1 กิโลกรัม ตามลำดับ และในวันที่ 60 มีค่าเปอร์ออกไซด์เท่ากับ 27.46, 10.46 และ 11.35 มิลลิอิควิวาเลนท์เปอร์ออกไซด์/น้ำมัน 1 กิโลกรัม ตามลำดับ ส่วนรำข้าวก่ำดอยสะเก็ดที่ไม่ผ่านการคงสภาพ รำข้าวก่ำที่ผ่านการคงสภาพด้วยความร้อน และรำข้าวก่ำดอยสะเก็ดที่ผ่านการคงสภาพด้วยเอนไซม์ปาเปนมีค่าเปอร์ออกไซด์ในวันที่ 0 เท่ากับ 6.12, 3.01 และ 2.84 มิลลิอิควิวาเลนท์เปอร์ออกไซด์/น้ำมัน 1 กิโลกรัม ตามลำดับ และในวันที่ 60 มีค่าเปอร์ออกไซด์เท่ากับ 25.32, 10.54 และ 9.51 มิลลิอิควิวาเลนท์เปอร์ออกไซด์/น้ำมัน 1 กิโลกรัม ตามลำดับ ซึ่งแสดงในภาพ 4.24-4.25 ซึ่งการเพิ่มขึ้นของค่าเปอร์ออกไซด์แสดงถึงการเกิดออกซิเดชัน ซึ่งอาจมีสาเหตุจากการออกซิไดซ์ และเอนไซม์ไลเปสที่อยู่ในรำข้าว ซึ่งเอนไซม์เหล่านี้ยังไม่ถูกทำลายโดยในช่วงเริ่มต้นของการเก็บรักษาจะเกิดเปอร์ออกไซด์อย่างช้าๆ เมื่อเก็บรักษาไว้ระยะเวลาหนึ่งจะเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว ซึ่งรำข้าวที่ผ่านการคงสภาพด้วยความร้อนและเอนไซม์ปาเปนมีค่าเปอร์ออกไซม์ต่ำกว่ารำข้าวที่ไม่ผ่านการคงสภาพ ซึ่งค่าเปอร์ออกไซม์แสดงให้เห็นถึงคุณภาพทางด้านกลิ่นของรำข้าว คือหากมีมากจะทำให้รำข้าวมีกลิ่นหืน การทดลองนี้ให้ผลเช่นเดียวกันกับ จันทร□สม แก้วอุดร และเนื้อทอง วนานุวัธ (2547) ซึ่งได้ทำการทดลองเก็บรักษารำข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่อุณหภูมิห้อง (25-30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลานาน 18 สัปดาห์ พบว่า รำข้าวที่ไม่ได้ผ่านการคงสภาพบรรจุในกระสอบมีค่าเปอร์ออกไซม์มีค่าเพิ่มขึ้นจาก 6.75 เป็น 25.3 มิลลิอิควิวาเลนท์เปอร์ออกไซด์/น้ำมัน 1 กิโลกรัม รำข้าวที่คงสภาพด้วยไมโครเวฟแล้วบรรจุในถุงกระสอบ ถุงโพลีเอทิลีน และถุงอะลูมิเนียมฟลอยด์ลามิเนตที่ปิดแบบสุญญากาศ มีค่าเปอร์ออกไซม์สัปดาห์ที่ 0 เท่ากับ 6.84, 6.84 และ 6.84 มิลลิอิควิวาเลนท์เปอร์ออกไซด์/น้ำมัน 1 กิโลกรัม ตามลำดับ และสัปดาห์ที่ 18 ของการเก็บรักษามีค่าเปอร์ออกไซด์ เท่ากับ 17.40, 10.70 และ 9.00 มิลลิอิควิวาเลนท์เปอร์ออกไซด์/น้ำมัน 1 กิโลกรัม ตามลำดับ การเพิ่มขึ้นของค่□าเปอร์ออกไซด์ในถุงกระสอบ และถุงโพลีเอทิลีน เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันอันเนื่องจากออกซิเจนผ่านเข้□าได้□ (Alais and Linden, 1991) การเก็บรักษารำข้าวให้

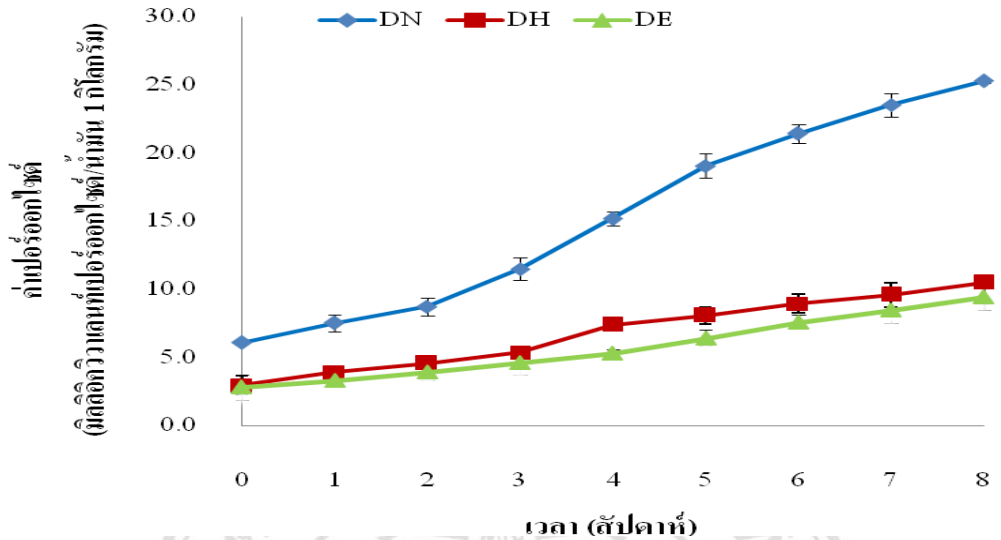
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของน้ำมันบริโภคที่อนุญาตให้ได้ไม่เกิน 10 มิลลิอิควิวาเลนท์เปอร์ออกไซด์/น้ำมัน 1 กิโลกรัม (ประกาศกระทรวงสาธารณสุข, 2524) โดยรำข้าว กข 6 และรำข้าวก่ำดอยสะเก็ดที่ผ่านการคงสภาพสามารถเก็บได้นานถึง 8 สัปดาห์ส่วนรำข้าวที่ไม่ผ่านการคงสภาพเก็บได้เพียง 2 สัปดาห์ และเปอร์ออกไซด์บางส่วนสามารถกำจัดออกได้ โดยกระบวนการกำจัดกลิ่น ซึ่งจากการเก็บรักษามีเพียงรำข้าวก่ำดอยสะเก็ดที่ผ่านการคงสภาพด้วยเอนไซม์ปาเปนที่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน ซึ่ง นิธิยา รัตนาปนนท์ (2548) ได้กล่าวไว้ว่า การเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำจะช่วยลดอัตราการเกิดออกซิเดชันในน้ำมันได้ดีกว่าเก็บที่อุณหภูมิสูง




ภาพ 4.24 การเปลี่ยนแปลงของค่าเปอร์ออกไซด์ของรำข้าว กข 6 ระหว่างการเก็บรักษา (RN = รำข้าว กข 6 ไม่ผ่านการคงสภาพ, RH = รำข้าว กข 6 คงสภาพด้วยความร้อน, RE = รำข้าว กข 6 คงสภาพด้วยเอนไซม์ปาเปน)

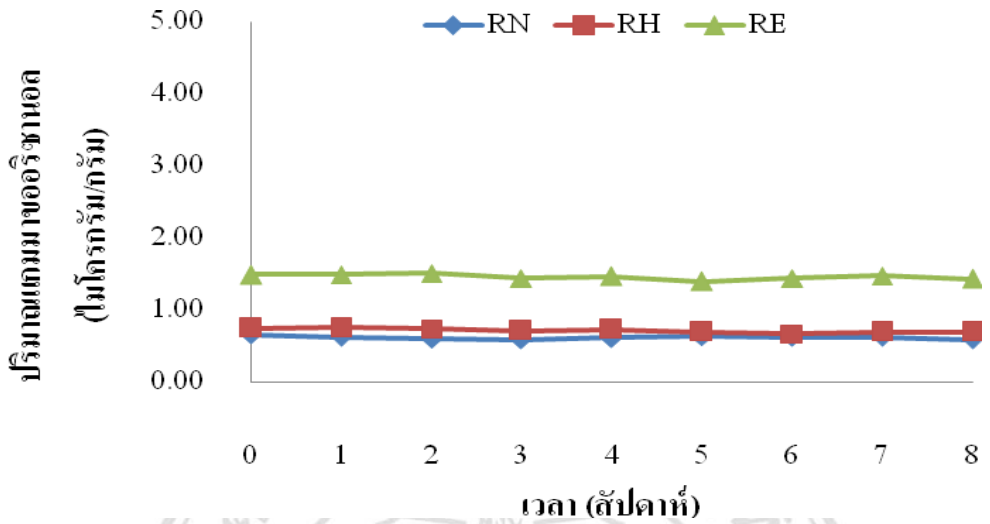
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



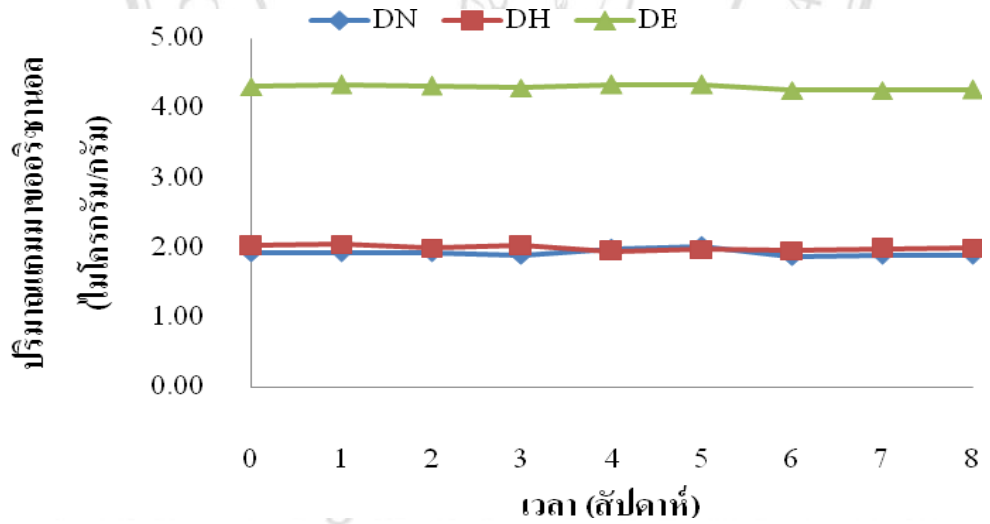

ภาพ 4.25 การเปลี่ยนแปลงของค่าเปอร์ออกไซด์ของรำข้าวก่ำดอยสะเก็ดระหว่างการเก็บรักษา (DN = รำข้าวก่ำดอยสะเก็ดไม่ผ่านการคงสภาพ, DH = รำข้าวก่ำดอยสะเก็ดคงสภาพด้วยความร้อน, DE = รำข้าวก่ำดอยสะเก็ดคงสภาพด้วยเอนไซม์ปาเปน

ในการทดลองนี้พบปริมาณสารออกฤทธิ์สำคัญของรำข้าวก่ำดอยสะเก็ดมีปริมาณสารออกฤทธิ์มากกว่ารำข้าว กข 6 จากภาพ 4.26-4.27 แสดงเปลี่ยนแปลงของแกมมา-ออริซานอลในรำข้าว กข 6 และรำข้าวก่ำดอยสะเก็ด ระหว่างการเก็บรักษาเป็น โดยทำการวิเคราะห์ปริมาณแกมมา-ออริซานอลทุกๆ สัปดาห์เป็นเวลา 2 เดือน พบว่า รำข้าว กข 6 และรำข้าวก่ำดอยสะเก็ดที่ไม่ผ่านการคงสภาพและรำข้าวที่ผ่านการคงสภาพด้วยความร้อนมีปริมาณแกมมา-ออริซานอลไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) แต่รำข้าวที่ผ่านการคงสภาพด้วยเอนไซม์ปาเปนมีปริมาณแกมมา-ออริซานอลเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งจากภาพ 4.26 แกมมา-ออริซานอลมีการเปลี่ยนแปลงน้อยมากระหว่างการเก็บรักษา สอดคล้องกับรายงานของ Shin และคณะ (1997) ที่กล่าวว่าแกมมา-ออริซานอลเป็นสารต้านออกซิเดชันได้ดีมาก แม้ว่าแกมมา-ออริซานอลจะต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดีแต่ควรเก็บรักษาไว้บรรจุในถุงที่ปิดแบบสุญญากาศและอุณหภูมิต่ำเพื่อยืดระยะการเก็บให้นานขึ้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

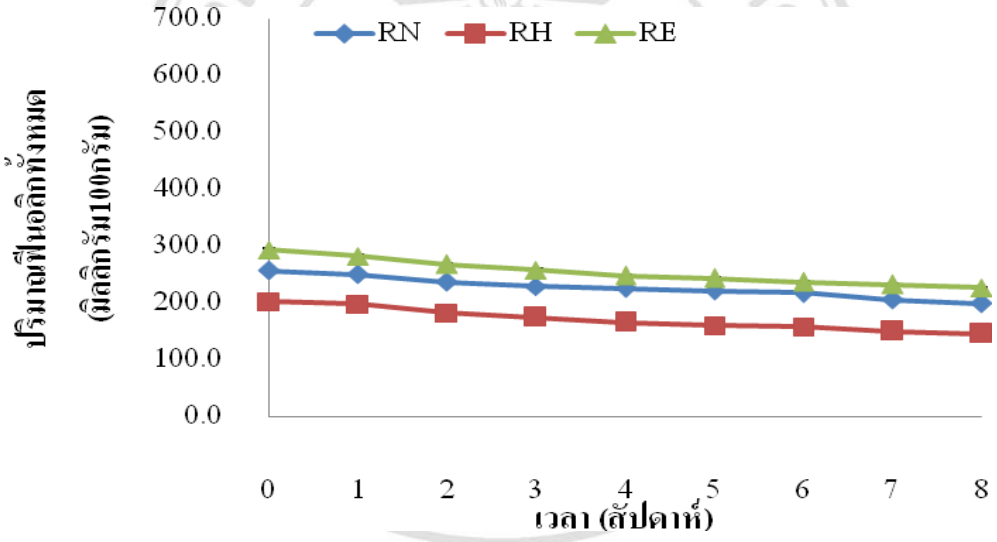



ภาพ 4.26 การเปลี่ยนแปลงของแกมมา-ออริซานอลในรำข้าว กข 6 และรำข้าวก่ำดอยสะเก็ดระหว่างการเก็บรักษา (RN = รำข้าว กข 6 ไม่ผ่านการคงสภาพ, RH = รำข้าว กข 6 คงสภาพด้วยความร้อน, RE = รำข้าว กข 6 คงสภาพด้วยเอนไซม์ปาเปน,)



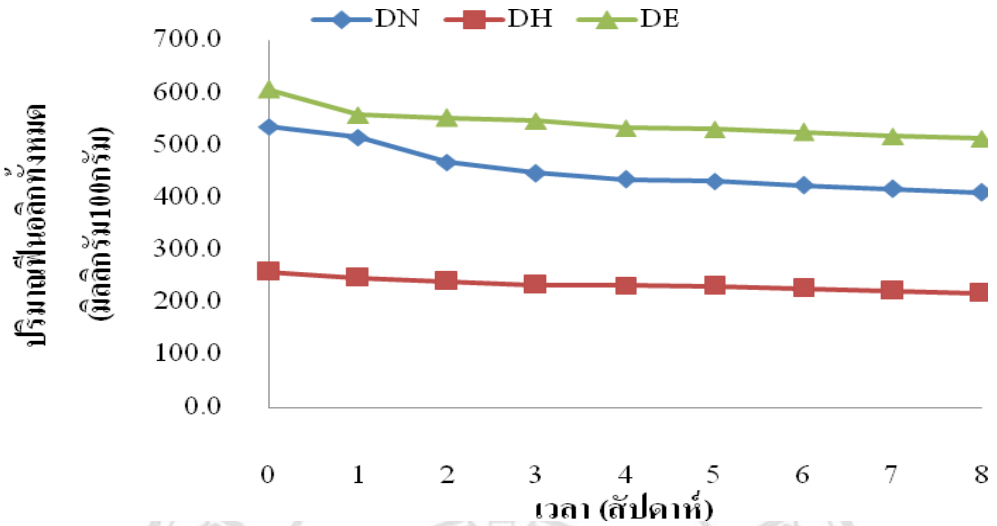

ภาพ 4.27 การเปลี่ยนแปลงของแกมมา-ออริซานอลในรำข้าว กข 6 และรำข้าวก่ำดอยสะเก็ดระหว่างการเก็บรักษา (DN = รำข้าวก่ำดอยสะเก็ดไม่ผ่านการคงสภาพ, DH = รำข้าวก่ำดอยสะเก็ดคงสภาพด้วยความร้อน, DE = รำข้าวก่ำดอยสะเก็ดคงสภาพด้วยเอนไซม์ปาเปน)

จากภาพ 4.28-4.29 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดระหว่างการเก็บรักษาในรำข้าวพันธุ์ กข 6 และก่ำดอยสะเก็ด จากการเก็บรักษารำข้าวทั้ง 2 พันธุ์ เป็นเวลานาน 2 เดือน พบว่า ปริมาณฟีนอลิกในรำข้าวทั้ง 2 พันธุ์มีการลดลงอย่างต่อเนื่อง โดยในรำข้าว กข 6 ที่ผ่านการคงสภาพด้วยความร้อน ผ่านการคงสภาพด้วยเอนไซม์ปาเปน และไม่ผ่านการคงสภาพมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดลดลงประมาณร้อยละ 22-27 จากเริ่มต้น และรำข้าวก่ำดอยสะเก็ดมีปริมาณฟีนอลิกลดลงประมาณร้อยละ 14-16 จากเริ่มต้นอาจเนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกสามารถเกิดออโต้ออกซิเดชันได้ในสภาวะที่มีเหล็ก แสง หรืออากาศเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างไปเป็นควิโนนซึ่งสามารถทำปฏิกิริยาต่อไปจนได้สารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำตาล (Cheng and Crisosto, 1995) จึงอาจทำให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดลดลง




ภาพ 4.28 การเปลี่ยนแปลงของสารประกอบฟีนอลทั้งหมดในรำข้าว กข6 ระหว่างการเก็บรักษา (RN = รำข้าว กข 6 ไม่ผ่านการคงสภาพ, RH = รำข้าว กข 6 คงสภาพด้วยความร้อน, RE = รำข้าว กข 6 คงสภาพด้วยเอนไซม์ปาเปน)

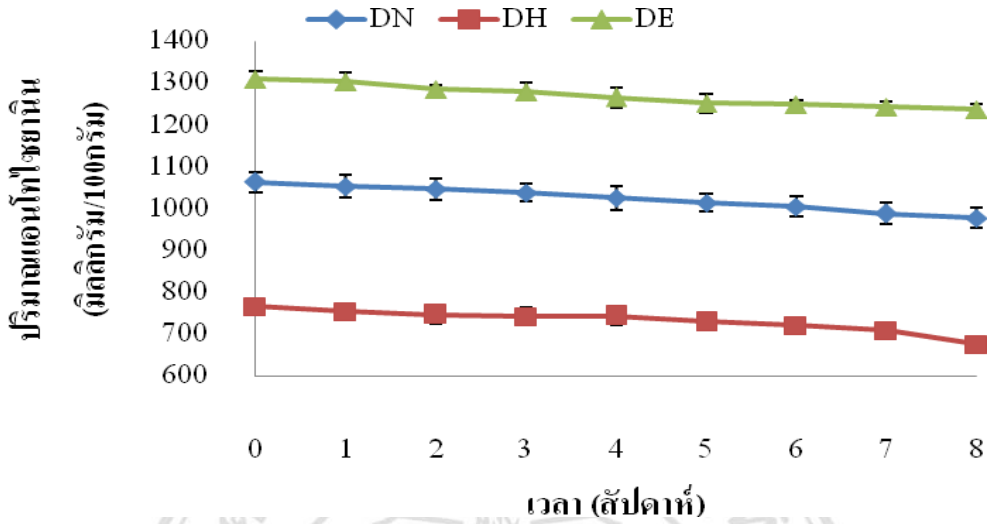
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved




ภาพ 4.29 การเปลี่ยนแปลงของสารประกอบฟีนอลทั้งหมดในรำข้าวก่ำดอยสะเก็ดระหว่างการเก็บรักษา (DN = รำข้าวก่ำดอยสะเก็ดไม่ผ่านการคงสภาพ, DH = รำข้าวก่ำดอยสะเก็ดคงสภาพด้วย

แอนโทไซยานินเป็นรงควัตถุให้สีม่วงแดงซึ่งในการทดลองนี้พบเฉพาะในรำข้าวพันธุ์ก่ำดอยสะเก็ด จากรำข้าวที่ไม่ผ่านการคงสภาพ ผ่านการคงสภาพด้วยความร้อน และผ่านการคงสภาพด้วยเอนไซม์ปาเปนมีปริมาณลดลงในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องร้อยละ 7.94, 11.85 และ 5.51 ตามลำดับ โดยการลดลงของปริมาณแอนโทไซยานินในรำข้าวจะค่อยๆ ลดลงอย่างต่อเนื่องตลอดระยะเวลาการเก็บรักษานาน 2 เดือน ดังภาพ 4.30 การลดลงของแอนโทไซยานินในรำข้าวอาจมีสาเหตุเนื่องจากแอนโทไซยานินเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ทนต่อความเป็นกรดเบส แต่ไม่ทนร้อน แสง และอุณหภูมิ แต่การทดลองครั้งนี้ ปริมาณแอนโทไซยานินมีอัตราการลดลงไม่มากอาจเนื่องจากระยะเวลาการเก็บสั้น และอุณหภูมิที่เก็บรักษาไม่สูงมากนัก จึงยังช่วยปกป้องการสลายตัวของแอนโทไซยานินได้ อภิรดี อุทัยรัตนกิจ (2538) กล่าวว่า การสลายตัวของแอนโทไซยานินมีเอนไซม์ 2 ชนิด คือ เอนไซม์กลูโคซิเดส จะไฮโดรไลซ์แอนโทไซยานินไปเป็นแอนโทไซยานิดินและกลูโคไซด์ส่งผลให้สีเปลี่ยนไป และเอนไซม์ฟีนอลเลส สามารถออกซิไดซ์แคเทคอล ไปเป็นออโธ-คิวโนน (*o*-quinone) ซึ่งออโธ-ควิโนนจะไปออกซิไดซ์แอนโทไซยานินทำให้เกิดสารประกอบที่ไม่มีสี

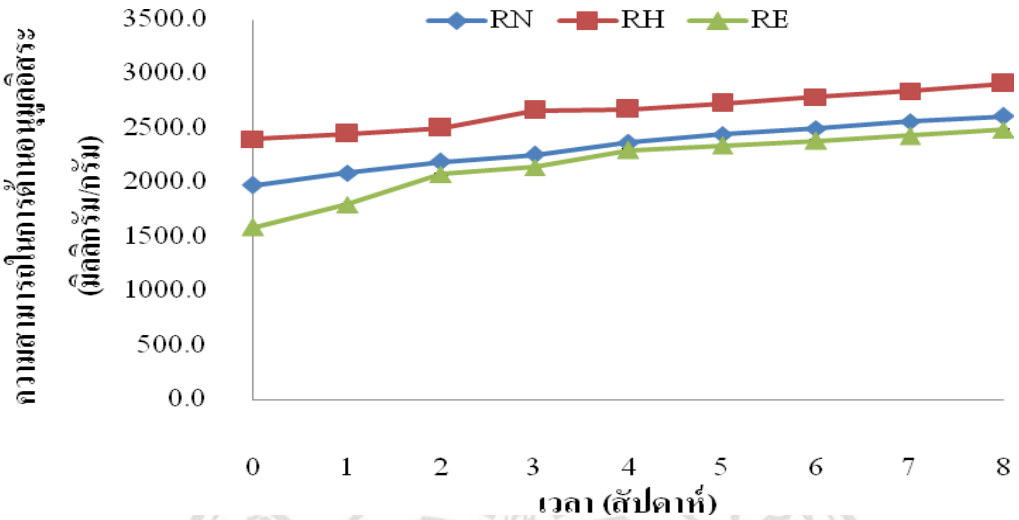
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



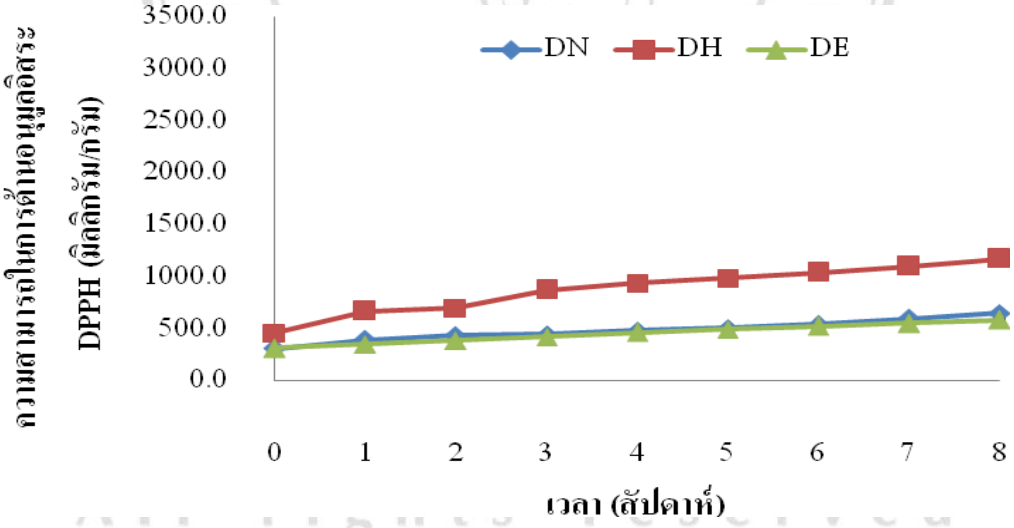

ภาพ 4.30 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแอนโทไซยานินในรำข้าวก่ำดอยสะเก็ดระหว่างการเก็บรักษา (DN = รำข้าวก่ำดอยสะเก็ดไม่ผ่านการคงสภาพ, DH = รำข้าวก่ำดอยสะเก็ดคงสภาพด้วยความร้อน, DE = รำข้าวก่ำดอยสะเก็ดคงสภาพด้วยเอนไซม์ปาเปน)

จากการวิเคราะห์ประมาณสารออกฤทธิ์สำคัญคือ แกมมา-ออริซานอล วิตามินอี ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณแอนโทไซยานินที่ได้กล่าวมาข้างต้น พบว่า สารออกฤทธิ์สำคัญดังกล่าวลดลงอย่างต่อเนื่องระหว่างการเก็บรักษา อาจเนื่องด้วยภาชนะบรรจุ อุณหภูมิระหว่างการเก็บ แสง ออกซิเจน และความชื้น ที่เป็นสาเหตุให้ปริมาณสารออกฤทธิ์สำคัญลดลง ส่งผลให้การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ลดลง ($EC_{50}$ เพิ่มสูงขึ้น) ซึ่งอนุมูล DPPH เป็นอนุมูลไนโตรเจนที่คงตัว มีสีม่วงอยู่ในรูปอนุมูลอยู่แล้วโดยไม่ต้องทำปฏิกิริยาเพื่อให้เกิดอนุมูล (โอภา วัชระคุปต์, 2549) อนุมูล DPPH เมื่ออยู่ในสารละลายจะมีสีม่วง และเมื่อมีสารต้านอนุมูลอิสระให้หรือรับอิเล็กตรอนแก่อนุมูล DPPH จะได้เป็นสาร diphenyl picrylhydrazyl (DPPH:H) ที่ไม่เป็นอนุมูลอีกต่อไป สีที่เกิดขึ้นมีสีเหลืองนวล ซึ่งในการทดลองนี้พบว่า ฤทธิ์การการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของรำข้าว กข 6 และรำข้าวก่ำดอยสะเก็ดที่ไม่ผ่านการคงสภาพ ผ่านการคงสภาพด้วยความร้อนและผ่านการคงสภาพด้วยเอนไซม์ปาเปน มีค่า $EC_{50}$ สูงขึ้น จากภาพ 4.31-4.32 นำมาเรียงความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH จากน้อยไปมากได้ดังนี้ รำข้าว กข 6 ที่ผ่านการคงสภาพด้วยความร้อน รำข้าว กข 6 ที่ไม่ผ่านการคงสภาพ รำข้าว กข 6 ที่ผ่านการคงสภาพด้วยเอนไซม์ปาเปน รำข้าวก่ำดอยสะเก็ดที่ผ่านการคงสภาพด้วยความร้อน รำข้าวก่ำดอยสะเก็ดที่ไม่ผ่านการคงสภาพ และรำข้าวก่ำดอยสะเก็ดที่ผ่านการคงสภาพด้วยเอนไซม์ปาเปน ตามลำดับ โดยมีค่า $EC_{50}$ ลดลง 24.30 17.45 36.12 51.72 60.54 และ 46.25 มิลลิกรัม/กรัม ตามลำดับ โดยสารออกฤทธิ์ในรำข้าวก่ำดอยสะเก็ดจะสลายตัวเร็วกว่ารำข้าว กข 6

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved




ภาพ 4.31 การเปลี่ยนแปลงความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ($EC_{50}$) ในรำข้าว กข 6 ระหว่างการเก็บรักษา (RN = รำข้าว กข 6 ไม่ผ่านการคงสภาพ, RH = รำข้าว กข 6 คงสภาพด้วยความร้อน, RE = รำข้าว กข 6 คงสภาพด้วยเอนไซม์ปาเปน)




ภาพ 4.32 การเปลี่ยนแปลงความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ($EC_{50}$) ในรำข้าว กข 6 ระหว่างการเก็บรักษา (DN = รำข้าวก่ำดอยสะเก็ดไม่ผ่านการคงสภาพ, DH = รำข้าวก่ำดอยสะเก็ดคงสภาพด้วยความร้อน, DE = รำข้าวก่ำดอยสะเก็ดคงสภาพด้วยเอนไซม์ปาเปน)

สารออกฤทธิ์แต่ละชนิดมีอัตราการสลายตัวแตกต่างกัน ดังนั้นจึงได้หาค่าครึ่งชีวิตของสารออกฤทธิ์สำคัญในรำข้าว กข 6 และก่ำดอยสะเก็ด โดยได้ทำการศึกษาค่าครึ่งชีวิตของแกมมา-ออริซา

นอล ฟีนอลิกทั้งหมด แอนโทไซยานิน และวิตามินอี โดยศึกษาจากสมการอาร์เรเนียส แสดงดังสมการ 4.1

$$\ln C_A = kt + \ln C_{A0} \quad (4.1)$$

เมื่อ $C_A$ หมายถึง ปริมาณสารออกฤทธิ์สำคัญ ณ เวลาใดๆ

$C_{A0}$ หมายถึง ปริมาณสารออกฤทธิ์สำคัญ ณ เวลา เริ่มต้น (ที่ t = 0)

k หมายถึง อัตราปฏิกิริยา (reaction rate constant)

t หมายถึง หมายถึง ระยะเวลาในการเก็บรักษา

จากสมการ 4.1 สามารถทำนายค่าคงที่ของปฏิกิริยาและค่าครึ่งชีวิตของสารออกฤทธิ์สำคัญในรำข้าว เมื่อนำความสัมพันธ์ระหว่างลอการิทึม (ln) ของสัดส่วนสารออกฤทธิ์สำคัญ ($C_A/C_{A0}$) กับเวลาในการเก็บรักษาของสารออกฤทธิ์สำคัญในรำข้าว ทั้ง 2 พันธุ์ จากตาราง 4.6-4.7 แสดงค่าคงที่ของปฏิกิริยาและค่าครึ่งชีวิตของสารออกฤทธิ์สำคัญในรำข้าว พบว่า สารออกฤทธิ์สำคัญที่มีขั้ว (สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด วิตามินอี แอนโทไซยานิน) มีค่าคงที่ของปฏิกิริยาสูงกว่าสารออกฤทธิ์สำคัญที่ไม่มีขั้ว (แกมมา-ออริซานอล) ซึ่งค่าคงที่ของปฏิกิริยาจะแปรผกผันกับค่าครึ่งชีวิต กล่าวคือ หากสารออกฤทธิ์สำคัญมีค่าคงที่มากจะส่งผลให้สารนั้นมีค่าครึ่งชีวิตที่สั้น เนื่องจากค่าคงที่ของปฏิกิริยาสูงจะสลายตัวได้เร็วกว่าจึงมีค่าครึ่งชีวิตที่สั้น สำหรับค่าคงที่ของปฏิกิริยาของสารออกฤทธิ์สำคัญที่มีขั้วสลายตัวได้เร็วกกว่าสารออกฤทธิ์สำคัญไม่มีขั้ว อาจเนื่องจากสารที่มีขั้วถูกออกซิไดซ์หรือรีดิวซ์ได้ง่าย

เมื่อพิจารณาวิธีการคงสภาพของรำข้าวทั้ง 2 พันธุ์ พบว่า รำข้าวที่ผ่านการคงสภาพด้วยความร้อนจะมีค่าคงที่ของปฏิกิริยาสูง กว่ารำข้าวที่ผ่านการคงสภาพด้วยเอนไซม์และรำข้าวดิบ อาจเนื่องจากการคงสภาพด้วยความร้อนได้ทำลายสารออกฤทธิ์สำคัญในรำข้าวจึงทำให้รำข้าวมีปริมาณสารออกฤทธิ์สำคัญเริ่มต้นน้อยกว่าการคงสภาพด้วยเอนไซม์และรำข้าวดิบ แต่ปริมาณสารต้านออกซิเดชันที่ต้องใช้ในการป้องกันปฏิกิริยาออกซิเดชันยังคงเท่าเดิม ส่งผลให้มีอัตราการสลายตัวที่สูงกว่า

จากการทดลองศึกษาสารออกฤทธิ์สำคัญในรำข้าว กข 6 และก่ำดอยสะเก็ด พบว่า สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของรำข้าวทั้ง 2 พันธุ์ มีค่าคงที่ของปฏิกิริยาสูงสุด รองลงมาคือ แอนโทไซยานิน วิตามินอี และแกมมา-ออริซานอล ตามลำดับ และแกมมา-ออริซานอลมีค่าครึ่งชีวิต

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

มากที่สุด รองลงมา คือ วิตามินอี แอนโทไซยานิน และสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (แสดงในตาราง 4.6-4.7)

การอัตราสลายตัวของฟีนอลลิกทั้งหมด พบว่า รำข้าว กข 6 ที่ไม่ผ่านการคงสภาพ ผ่านการคงสภาพด้วยความร้อน และผ่านการคงสภาพด้วยเอนไซม์ปาเปน มีค่าคงที่ของปฏิกิริยาเท่ากับ 4.02, 5.98 และ 4.58 (x $10^3$ ($day^{-1}$)) ตามลำดับ และมีค่าครึ่งชีวิตเท่ากับ 24.57, 16.57 และ 21.57 สัปดาห์ ตามลำดับ รำข้าวก่ำดอยสะเก็ดที่ไม่ผ่านการคงสภาพ ผ่านการคงสภาพด้วยความร้อน และผ่านการคงสภาพด้วยเอนไซม์ปาเปน มีค่าคงที่ของปฏิกิริยาเท่ากับ 2.07, 4.16 และ 2.44 (x $10^3$ ($day^{-1}$)) ตามลำดับ และมีค่าครึ่งชีวิตเท่ากับ 47.86, 21.42 และ 40.57 สัปดาห์ ตามลำดับ

อัตราการสลายตัวของแอนโทไซยานินมีค่าคงที่ของปฏิกิริยาเท่ากับ 1.51, 1.86 และ 1.08 (x $10^3$ ($day^{-1}$)) ตามลำดับ และมีค่าครึ่งชีวิตเท่ากับ 65.57, 53.28 และ 91.71 สัปดาห์ ตามลำดับ ซึ่งอัตราการสลายตัวของแอนโทไซยานินนั้นจะช้าหรือเร็วนั้นขึ้นกับอุณหภูมิระหว่างการเก็บรักษา (Wang and Xu, 2007)

แกมมา-ออริซานอล มีค่าคงที่ต่ำจึงทำให้ค่าครึ่งชีวิตของแกมมา-ออริซานอลมาก ซึ่งการสลายตัวของแกมมา-ออริซานอลในรำข้าวระหว่างการเก็บรักษาอาจช้า เนื่องจากแกมมา-ออริซานอลเป็นสารต้านออกซิเดชันที่ทนต่อปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดีจึงทำให้การสลายตัวระหว่างการเก็บรักษาช้าลง สำหรับวิตามินอี พบว่า รำข้าว กข 6 และรำข้าวก่ำดอยสะเก็ดที่ผ่านการคงสภาพด้วยความร้อนทำการเก็บรักษาอัตราการสลายตัวของวิตามินอีร้อยละ 10.02 และ 7.28 ตามลำดับ ส่วนรำข้าว กข 6 ที่ไม่ผ่านการคงสภาพและผ่านการคงสภาพด้วยเอนไซม์ปาเปน อัตราการสลายตัวของวิตามินอีร้อยละ 11.78 และ 6.13 ตามลำดับ ส่วนรำข้าวก่ำดอยสะเก็ดมีอัตราการสลายตัวของวิตามินอีร้อยละ 5.72 และ 4.22 ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าระหว่างการเก็บรักษา แกมมา-ออริซานอล สลายตัวช้ากว่าวิตามินอีซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Lloyd และคณะ (2000) กล่าวว่ารำข้าวที่ผ่านการคงสภาพโดยใช้ความร้อนจะไม่ลดปริมาณแกมมา-ออริซานอลระหว่าการเก็บรักษา ที่อุณหภูมิ 4-20 องศาเซลเซียส และรายงานของ Shin และคณะ (1994) พบว่า แกมมา-ออริซานอลเป็นสารต้านออกซิเดชันที่ทนต่อปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดีกว่าวิตามินอี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 4.6 แสดงค่าคงที่ของปฏิกิริยา (Reactions rate constants; k) ของสารออกฤทธิ์สำคัญในรำข้าวระหว่างการเก็บรักษา

| สารออกฤทธิ์สำคัญ | ค่าคงที่ของปฏิกิริยา (-k x $10^3$ ($day^{-1}$)) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | RN | RH | RE | DN | DH | DE |
| สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด | 4.02 | 5.98 | 4.58 | 2.07 | 4.16 | 2.44 |
| แอนโทไซยานิน | - | - | - | 1.51 | 1.86 | 1.08 |
| แกมมา-ออริซานอล | 0.76 | 1.86 | 0.77 | 0.24 | 0.52 | 0.26 |
| วิตามินอี | 2.14 | 1.74 | 1.20 | 1.08 | 1.33 | 0.84 |

ตาราง 4.7 แสดงค่าครึ่งชีวิตของสารออกฤทธิ์สำคัญในรำข้าวระหว่างการเก็บรักษา

| สารออกฤทธิ์สำคัญ | ค่าครึ่งชีวิต (สัปดาห์) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | RN | RH | RE | DN | DH | DE |
| สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด | 24.57 | 16.57 | 21.57 | 47.86 | 21.42 | 40.57 |
| แอนโทไซยานิน | - | - | - | 65.57 | 53.28 | 91.71 |
| แกมมา-ออริซานอล | 130.28 | 53.29 | 128.57 | 412.57 | 190.42 | 380.85 |
| วิตามินอี | 46.29 | 56.85 | 82.57 | 91.71 | 74.43 | 117.86 |

หมายเหตุ RN = รำข้าว กข 6 ไม่ผ่านการคงสภาพ, DN = รำข้าวก่ำดอยสะเก็ดไม่ผ่านการคงสภาพ, RH = รำข้าว กข 6 คงสภาพด้วยความร้อน, DH = รำข้าวก่ำดอยสะเก็ดคงสภาพด้วยความร้อน, RE = รำข้าว กข6 คงสภาพด้วยเอนไซม์ปาเปน, DE = รำข้าวก่ำดอยสะเก็ดคงสภาพด้วยเอนไซม์ปาเปน)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

**4.6 การศึกษาแนวทางการใช้ประโยชน์จากรำข้าวที่ผ่านการคงสภาพเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในผลิตภัณฑ์มูลค่าสูง**

เมื่อคงสภาพรำข้าว กข 6 และรำข้าวก่ำดอยสะเก็ดแล้ว ศึกษาปริมาณสารออกฤทธิ์ของรำข้าวทั้ง 2 พันธุ์ จากผลข้างต้น พบว่า รำข้าวก่ำดอยสะเก็ดมีปริมาณสารออกฤทธิ์มากกว่ารำข้าว กข 6 และในรำข้าวก่ำดอยสะเก็ดมีแอนโทไซยานินซึ่งในรำข้าว กข 6 ไม่มี จึงเลือกที่จะนำรำข้าวก่ำดอยสะเก็ดมาศึกษาการเพิ่มมูลค่าของผลิตภัณฑ์ โดยทำเป็นเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ เพราะแอนโทไซยานินมีประโยชน์หลากหลาย เช่น ช่วยต้านอนุมูลอิสระลดอาการอักเสบลดคอเลสเตอรอลในเลือด เป็นต้น แต่คุณสมบัติเด่นที่สุดของแอนโทไซยานินคือ ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณของ

แอนโทไซยานินที่มนุษย์สามารถบริโภคได้เฉลี่ยสูงสุดคือ 200 มิลลิกรัม/วัน ซึ่งพบว่าผู้ที่นิยมดื่มไวน์แดงมีความเสี่ยงต่อการเป็นโรคเกี่ยวกับหัวใจลดลง ไวน□แดงจึงได้ชื่อว่าอุดมไปด้วยสารอนุมูลอิสระตามธรรมชาติมากที่สุดชนิดหนึ่ง เนื่องจากในไวน์□แดงมีสมบัติต้านออกซิเดชันที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของ LDL (low density lipoprotein) (Sikorski *et al.*, 2007) จากเหตุผลดังกล่าวงานวิจัยนี้จึงเลือกนำข้าวพันธุ์ก่ำดอยสะเก็ดมาศึกษาแนวทางการเพิ่มมูลค่าโดยการสกัด แอนโทไซยานินเพื่อทำเครื่องดื่มที่มีปริมาณแอนโทไซยานินใกล้เคียงกับไวน์แดง (85 มิลลิกรัม/ลิตร) (Sanchez-Moreno *et al*., 2010) เริ่มจากการสำรวจความต้องการของผู้บริโภคเพื่อทำผลิตภัณฑ์ต้นแบบ

**4.6.1 การสำรวจพฤติกรรมการบริโภคเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ**

จากการศึกษาความต้องการของผู้บริโภคต่อเครื่องดื่มแอนโทไซยานินสูงกับผู้บริโภค 400 คน แสดงดังตาราง 4.8 โดยแบ่งข้อมูลออกเป็น 4 ส่วนคือ ข้อมูลเกี่ยวกับผู้บริโภค พฤติกรรมด้านการบริโภคเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ การพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มแอนโทไซยานินสูง และทัศนคติต่อเครื่องดื่มแอนโทไซยานินสูง ด้วยวิธี Central Location Test (CLT) จากผลสำรวจ พบว่าผู้บริโภคเป็นชายร้อยละ 33.25 หญิงร้อยละ 66.75 มีอายุในช่วง 15-30 ปี อาชีพผู้บริโภคส่วนใหญ่ที่ทำแบบสอบถามคือนักเรียน/นักศึกษา ร้อยละ 51.25 รองลงมาคือ ข้าราชการ/รัฐวิสาหกิจ ร้อยละ13.00 ธุรกิจส่วนตัว/ค้าขาย ร้อยละ11.50 ส่วนระดับการศึกษาส่วนใหญ่ของผู้ที่ทำแบบทดสอบพบว่าระดับการศึกษาอยู่ในระดับปริญญาตรี และรายได้ส่วนใหญ่ของผู้บริโภคที่ทำแบบทดสอบต่ำกว่า 5,000 บาท ใส่ใจสุขภาพปานกลาง

สำหรับพฤติกรรมการบริโภคเครื่องดื่มผู้บริโภค แสดงในตาราง 4.9 ส่วนใหญ่เคยดื่มเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพร้อยละ 90 ซื้อประมาณ 3-4 ครั้ง/เดือน มีค่าใช้จ่ายในการซื้อน้อยกว่า 50 บาท/ครั้ง เหตุผลในการซื้อส่วนใหญ่คือ เพื่อส่งเสริมสุขภาพโดยรวมร้อยละ 27.95 รองลงมาคือ เพื่อเสริมระบบความจำร้อยละ 22.41 ส่งเสริมระบบขับถ่ายร้อยละ 20.48 เพื่อความงามและผิวพรรณร้อยละ 18.19 และเพื่อลดความเสี่ยงของการเกิดโรคไม่ติดต่อต่างๆ ร้อยละ 9.88 ตามลำดับ และผู้บริโภคจะหาซื้อเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพจากร้านสะดวกซื้อมากที่สุดร้อยละ 36.73 รองลงมาคือ ห้างสรรพสินค้าร้อยละ 20.39 ร้านขายของชำร้อยละ 13.73 ซุปเปอร์มาร์เก็ตร้อยละ 13.59 และร้านจำหน่ายอาหารเพื่อสุขภาพ/ร้านยา/อาหารเสริมร้อยละ 12.68 ตามลำดับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 4.8 ข้อมูลเกี่ยวกับผู้บริโภคเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ

| ลักษณะทางประชากรศาสตร์ | | ความถี่ | ร้อยละ |
|---|---|---|---|
| เพศ | ชาย | 129 | 33.25 |
| | หญิง | 271 | 66.75 |
| อายุ | ต่ำกว่า 15 ปี | 9 | 2.25 |
| | 15-30 ปี | 238 | 59.50 |
| | 31-45 ปี | 59 | 14.75 |
| | 46-60 ปี | 72 | 18.00 |
| | มากกว่า 60 ปี | 22 | 5.50 |
| อาชีพ | นักเรียน/นักศึกษา | 205 | 51.25 |
| | ข้าราชการ/รัฐวิสาหกิจ | 52 | 13.00 |
| | แม่บ้าน | 15 | 3.75 |
| | พนักงานบริษัท | 57 | 4.25 |
| | ธุรกิจส่วนตัว/ค้าขาย | 46 | 11.50 |
| | เกษตรกร | 4 | 1.00 |
| | เกษียณอายุ | 13 | 3.25 |
| | อื่นๆ | 8 | 2.00 |
| ระดับการศึกษา | ต่ำกว่าปริญญาตรี | 106 | 26.50 |
| | ปริญญาตรี | 275 | 68.75 |
| | สูงกว่าปริญญาตรี | 19 | 4.75 |
| รายได้ต่อเดือน | ต่ำกว่า 5,000 บาท | 142 | 35.50 |
| | 5,001 – 10,000 บาท | 80 | 20.00 |
| | 10,001 – 15,000 บาท | 54 | 13.50 |
| | 15,001 – 20,000 บาท | 58 | 14.50 |
| | 20,001 – 25,000 บาท | 27 | 6.75 |
| | มากกว่า 25,000 บาท | 39 | 9.75 |
| คุณใส่ใจสุขภาพมากแค่ไหน | น้อย | 50 | 12.50 |
| | ปานกลาง | 210 | 52.50 |
| | มาก | 133 | 33.25 |

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 4.9 ข้อมูลเกี่ยวกับพฤติกรรมการบริโภคเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ

| ข้อมูลสำรวจ | | ความถี่ | ร้อยละ |
|---|---|---|---|
| คุณเคยซื้อเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพหรือไม่ | เคย | 363 | 90.75 |
| | ไม่เคย | 37 | 9.25 |
| ถ้าคุณเคยซื้อเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ คุณซื้อบ่อยแค่ไหน ภายใน 1 เดือน | น้อยกว่า 1 | 62 | 15.50 |
| | 1-2 ครั้ง | 107 | 26.75 |
| | 3-4 ครั้ง | 110 | 27.50 |
| | 5-7 ครั้ง | 53 | 13.25 |
| | มากกว่า 7 ครั้ง | 68 | 17.00 |
| ค่าใช้จ่ายในการซื้อเครื่องดื่มสุขภาพต่อครั้ง | น้อยกว่า 50 บาท | 132 | 33.85 |
| | 50-100 บาท | 103 | 26.41 |
| | 101-200 บาท | 62 | 15.89 |
| | 201 – 300 บาท | 38 | 9.74 |
| | มากกว่า 300 บาท | 55 | 14.11 |
| เหตุผลที่คุณเลือกดื่มเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ | เพื่อความงาม ผิวพรรณ | 151 | 18.19 |
| | เพื่อส่งเสริมสมองและความจำ | 186 | 22.41 |
| | เพื่อลดความเสียงของการเกิดโรคไม่ติดต่อต่างๆ | 82 | 9.88 |
| | เพื่อส่งเสริมระบบขับถ่าย | 170 | 20.48 |
| | เพื่อส่งเสริมสุขภาพโดยรวม | 232 | 27.95 |
| | อื่นๆ | 9 | 1.09 |
| คุณซื้อเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพที่ไหน | ร้านสะดวกซื้อ | 281 | 36.73 |
| | ห้างสรรพสินค้า | 156 | 20.39 |
| | ซุปเปอร์มาร์เก็ต | 104 | 13.59 |
| | ร้านขายของชำ | 105 | 13.75 |
| | ร้านจำหน่ายอาหารสุขภาพ/ร้านยา/อาหารเสริม | 97 | 12.68 |
| | ร้านอาหารเจ/มังสวิรัติ | 7 | 0.92 |
| | อื่น ๆ | 15 | 1.96 |

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 4.10 ข้อมูลเกี่ยวกับการพัฒนาและทัศนะคติต่อเครื่องดื่มแอนโทไซยานินสูง

| ข้อมูลสำรวจ | | ความถี่ | ร้อยละ |
|---|---|---|---|
| ท่านสนใจเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพแอนโทไซยานินสูงหรือไม่ | สนใจ | 332 | 84.26 |
| | ไม่สนใจ | 62 | 15.74 |
| ท่านคิดว่าเครื่องดื่มแอนโทไซยานินสูงควรมีรสชาติใด | รสช็อกโกแลต | 122 | 17.86 |
| | รสลิ้นจี่ | 43 | 6.30 |
| | รสราสเบอรี่ | 43 | 6.30 |
| | รสสตรอเบอรี่ | 98 | 14.3 |
| | รสวานิลา | 60 | 8.78 |
| | รสธรรมชาติของข้าวก่ำ | 192 | 28.11 |
| | รสองุ่น | 62 | 9.08 |
| | รสบลูเบอรี่ | 51 | 7.47 |
| | อื่นๆ | 12 | 1.75 |
| ท่านคิดว่าเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพควรมีขนาดของบรรจุภัณฑ์เท่าไหร่ | 50 ml | 70 | 18.47 |
| | 100 ml | 188 | 49.60 |
| | 200 ml | 104 | 27.44 |
| | 500 ml | 17 | 4.49 |
| ลักษณะด้านกลิ่น | น้อย | 96 | 24.87 |
| | กลาง | 189 | 48.96 |
| | มาก | 101 | 26.17 |
| รสหวาน | น้อย | 78 | 20.10 |
| | กลาง | 216 | 55.67 |
| | มาก | 94 | 24.23 |
| รสเปรี้ยว | น้อย | 222 | 57.96 |
| | กลาง | 131 | 34.20 |
| | มาก | 30 | 7.84 |
| รสเค็ม | น้อย | 296 | 77.49 |
| | กลาง | 80 | 20.94 |
| | มาก | 6 | 1.57 |
| ลักษณะของความหนืด | น้อย | 227 | 58.35 |
| | กลาง | 141 | 36.25 |
| | มาก | 21 | 5.40 |

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ส่วนของการพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มแอนโทไซยานินสูงจากข้าวก่ำ จากแบบสอบถามแสดงดังตาราง 4.10 ผู้บริโภคมีความสนใจเครื่องดื่มร้อยละ 84.26 และต้องการให้ผลิตภัณฑ์มีรสธรรมชาติของข้าวก่ำมากที่สุดร้อยละ 28.11 รองลงมาคือ รสช็อกโกแลตร้อยละ 17.86 รสสตรอเบอรี่ร้อยละ 14.35 รสองุ่นร้อยละ 9.80 รสวานิลาร้อยละ 8.78 รสบลูเบอรี่ร้อยละ 7.47 รสลิ้นจี่/รสราสเบอรี่ร้อยละ 6.30 ตามลำดับ ขนาดบรรจุภัณฑ์ที่ผู้บริโภคต้องการคือ 100 มิลลิลิตรทัศนคติของผู้บริโภคต่อเครื่องดื่มแอนโทไซยานินสูงคือ มีกลิ่นปลานกลางร้อยละ 48.97 มีรสหวานปานกลางร้อยละ 55.67 รสเปรี้ยวน้อยร้อยละ 57.96 รสเค็มน้อยร้อยละ 77.49 และมีความหนืดน้อยร้อยละ 58.35

จากข้อมูลการสุ่มสำรวจกลุ่มผู้บริโภค พบว่า ผู้บริโภคมีแนวโน้มต้องการให้ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มแอนโทไซยานินสูงจากข้าวก่ำมีกลิ่นรสธรรมชาติของข้าวก่ำ มีรสหวานน้อย และรสเปรี้ยวปานกลาง มีความหนืดเล็กน้อย สีของผลิตภัณฑ์เป็นสีม่วงแดงคล้ายไวน์องุ่นแดง มีบรรจุภัณฑ์ที่สะดวกซื้อในขนาด 100 มิลลิลิตร จำหน่ายในร้านสะดวกซื้อ

**4.6.2 การพัฒนาสูตรเครื่องดื่มแอนโทไซยานินสูง**

จากการสำรวจความต้องการของผู้บริโภคข้างต้น ได้ทำการเครื่องดื่มต้นแบบโดยเลือกเครื่องดื่มแอนโทไซยานินสูงที่มีความทั้ง 3 กลิ่น ได้แก่ กลิ่นข้าวก่ำ กลิ่นช็อกโกแลต และกลิ่นสตรอเบอรี่ แต่จากการทดสอบทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภคกับผลิตภัณฑ์ต้นแบบ พบว่า เครื่องดื่มแอนโทไซยานินสูงที่กลิ่นสตรอเบอรี่ได้รับความสนใจจากผู้บริโภคสนใจมากที่สุด จึงได้กำหนดสูตรเบื้องต้นของเครื่องดื่มแอนโทไซยานินสูง โดยใช้สเกลความพอดีในการปรับสูตร (Just About Right Scales) ในการปรับสูตร เพื่อปรับปรุงสูตรเครื่องดื่มแอนโทไซยานินสูงให้ดียิ่งขึ้น มีสูตรเบื้องต้นดังแสดงในตาราง 4.11

ตาราง 4.11 สูตรเบื้องต้นเครื่องดื่มแอนโทไซยานินสูงกลิ่นสตรอเบอรี่

| ส่วนผสม | ร้อยละ |
|---|---|
| น้ำ | 90.33 |
| น้ำตาล | 9.03 |
| เกลือ | 0.18 |
| กรดซิตริก | 0.10 |
| แอนโทไซยานิน | 0.18 |
| กลิ่นสตรอเบอรี่ | 0.18 |

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากการคัดเลือกสูตรเครื่องดื่มแอนโทไซยานินสูง กลิ่นสตรอเบอรี่ที่เหมาะสมที่จะนำมาดัดแปลง โดยการทดสอบความพอดีแบบ Just about right ซึ่งใช้ผู้ทดสอบชิมทั้งหมด 70 คน ประเมินโดยให้ความชอบ 5 ระดับ คือ อ่อนมาก อ่อน พอดี เข้ม และเข้มมาก โดยผลการทดสอบเครื่องดื่มแอนโทไซยานินสูง กลิ่นสตรอเบอรี่ ให้ผลดังตาราง 4.12

ตาราง 4.12 ผลการทดสอบชิมแบบ Just about right เครื่องดื่มแอนโทไซยานินสูง กลิ่นสตรอเบอรี่

| คุณลักษณะ | อ่อนมาก | อ่อน | พอดี | เข้ม | เข้มมาก | Net effect |
|---|---|---|---|---|---|---|
| รสหวาน | 9 | 30 | 54 | 3 | 4 | -31 |
| รสเปรี้ยว | 16 | 34 | 34 | 16 | 0 | -34 |
| รสเค็ม | 10 | 4 | 71 | 13 | 1 | 0 |
| กลิ่น | 0 | 23 | 73 | 9 | 6 | -9 |
| สี | 1 | 0 | 71 | 19 | 9 | 20 |
| ความหนืด | 10 | 13 | 77 | 0 | 0 | -23 |
| เนื้อสัมผัส | 3 | 3 | 94 | 0 | 0 | -6 |

ผลของการทดสอบแบบ Just about right จะพิจารณาจากค่า Net effect โดยถ้าคุณลักษณะด้านใดของผลิตภัณฑ์มีค่าNet effect มากกว่า (+/-) 20จะต้องทำการปรับปรุงสูตรของผลิตภัณฑ์ในคุณลักษณะด้านนั้นๆ ซึ่งสูตรเครื่องดื่มกลิ่นสตรอเบอรี่มีคุณลักษณะด้านรสเค็ม กลิ่น และลักษณะเนื้อสัมผัสพอดีต่อความต้องการของผู้บริโภคจึงไม่ต้องทำการปรับปรุง แต่รสหวาน รสเปรี้ยว และความหนืดมีค่า Net effect มากกว่า 20 และมีค่าติดลบซึ่งแสดงว่าคุณลักษณะดังกล่าวนั้นอ่อนไปจึงควรปรับเพิ่มความเข้มในคุณลักษณะด้านนั้นๆ

ในการทดลองถัดไปจึงทำการพัฒนาสูตรโดยปรับเพิ่มปริมาณน้ำตาล กรดซิตริก และเพิ่มสารให้ความหนืดคือ คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส โดยแปรผันปริมาณน้ำตาล กรดซิตริก และคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส คือ ร้อยละ 9.0-11.0, 0.10-0.12 และ 0.0-0.1 ตามลำดับ จนได้ 9 สูตร ดังแสดงในตาราง 4.13 ที่จะทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสต่อไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 4.13 เครื่องดื่มแอนโทไซยานินสูงกลิ่นสตรอเบอรี่ ปรับด้วยวิธี Just about right

| ส่วนผสม (ร้อยละ) | สูตร 1 | สูตร 2 | สูตร 3 | สูตร 4 | สูตร 5 | สูตร 6 | สูตร 7 | สูตร 8 | สูตร 9 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| น้ำ | 90.33 | 89.47 | 89.47 | 89.46 | 89.41 | 88.68 | 88.63 | 88.66 | 88.61 |
| น้ำตาล | 9.03 | 9.84 | 9.84 | 9.84 | 9.84 | 10.64 | 10.64 | 10.64 | 10.64 |
| เกลือ | 0.18 | 0.18 | 0.18 | 0.18 | 0.18 | 0.18 | 0.18 | 0.18 | 0.18 |
| กรดซิตริก | 0.10 | 0.10 | 0.10 | 0.12 | 0.12 | 0.10 | 0.10 | 0.12 | 0.12 |
| โซเดียมบอกซีเมทิล เซลลูโลส | 0.00 | 0.05 | 0.09 | 0.04 | 0.09 | 0.04 | 0.09 | 0.04 | 0.09 |
| แอนโทไซยานิน | 0.18 | 0.18 | 0.18 | 0.18 | 0.18 | 0.18 | 0.18 | 0.18 | 0.18 |
| กลิ่นสตรอเบอรี่ | 0.18 | 0.18 | 0.18 | 0.18 | 0.18 | 0.18 | 0.18 | 0.18 | 0.18 |

เมื่อนำผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มแอนโทไซยานินสูงกลิ่นสตรอเบอรี่มาปรับปรุงแล้ว โดยใช้การทดสอบทางประสาทสัมผัส จำนวน 50 คน ประเมินโดยการให้คะแนนความชอบแบบ 9-Points Hedonic Scale ได้ผลดังตารางที่ 4.14

ด้านกลิ่น สี รสเค็ม ความเป็นเนื้อเดียวกัน และลักษณะปรากฏ พบว่า ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มแอนโทไซยานินสูงกลิ่นสตรอเบอรี่ ทั้ง 9 สูตรไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$) เนื่องจากทั้ง 9 สูตรมีการเติมกลิ่น ปริมาณของเกลือ และปริมาณของแอนโทไซยานินเท่ากันทุกสูตร และรสหวาน พบว่า ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มแอนโทไซยานินสูงกลิ่นสตรอเบอรี่สูตร 2, 3, 4 และ 5 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$) ส่วนผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มแอนโทไซยานินสูงกลิ่นสตรอเบอรี่สูตร 6, 7, 8 และ 9 ไม่มีความแตกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$) แต่สูตร 2, 3, 4, 5 และสูตร 6, 7, 8, 9 และสูตร 1 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณน้ำตาลที่เติมในผลิตภัณฑ์ทั้ง 9 สูตรแตกต่างกัน และพบว่าสูตรที่ 4 ได้รับความชอบจากผู้ทดสอบมากที่สุด จึงเลือกสูตรที่ 4 ในการศึกษาในขั้นตอนต่อไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 4.14 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสเครื่องดื่มแอนโทไซยานินสูง กลิ่นสตรอเบอรี่โดยการให้คะแนนความชอบแบบ 9-Points Hedonic Scale

| คุณลักษณะ | สูตร 1 | สูตร 2 | สูตร 3 | สูตร 4 | สูตร 5 | สูตร 6 | สูตร 7 | สูตร 8 | สูตร 9 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| กลิ่น $^{ns}$ | 6.66±1.28 | 6.68±1.44 | 6.54±1.39 | 6.64±1.24 | 6.64±1.14 | 6.42±1.51 | 6.52±1.16 | 6.78±1.28 | 6.54±1.46 |
| สี $^{ns}$ | 6.66±1.27 | 6.50±1.37 | 6.32±1.33 | 6.92±1.21 | 6.72±1.34 | 6.96±1.37 | 6.26±1.26 | 6.56±1.49 | 6.38±1.14 |
| รสหวาน | 6.12±1.45$^{c}$ | 6.64±1.29$^{a}$ | 6.60±1.18$^{a}$ | 6.78±1.02$^{a}$ | 6.72±1.31$^{a}$ | 6.40±1.28$^{b}$ | 6.44±1.26$^{b}$ | 6.38±1.45$^{b}$ | 6.40±1.57$^{b}$ |
| รสเค็ม $^{ns}$ | 5.78±1.76 | 5.86±1.41 | 5.92±1.51 | 6.06±1.35 | 5.64±1.50 | 6.06±1.45 | 5.78±1.40 | 5.70±1.69 | 5.80±1.51 |
| รสเปรี้ยว | 5.50±1.63$^{c}$ | 5.94±1.33$^{b}$ | 6.00±1.26$^{b}$ | 7.34±1.55$^{a}$ | 7.12±1.39$^{a}$ | 5.92±1.55$^{b}$ | 5.89±1.55$^{b}$ | 7.23±1.57$^{a}$ | 7.22±1.46$^{a}$ |
| รสชาติโดยรวม | 6.08±1.28$^{b}$ | 7.20±1.20$^{a}$ | 7.24±1.12$^{a}$ | 7.66±1.08$^{a}$ | 7.32±1.17$^{a}$ | 6.14±1.28$^{b}$ | 6.20±1.41$^{b}$ | 6.10±1.31$^{b}$ | 6.24±1.55$^{b}$ |
| ความเป็นเนื้อเดียวกัน $^{ns}$ | 6.82±1.00 | 6.70±1.04 | 6.66±1.00 | 6.86±0.93 | 6.82±0.98 | 6.76±1.06 | 6.60±1.01 | 6.74±1.05 | 6.50±1.04 |
| ความหนืด | 6.72±1.05$^{b}$ | 7.46±1.11$^{a}$ | 7.80±0.97$^{a}$ | 7.74±1.01$^{a}$ | 7.52±0.95$^{a}$ | 6.76±1.34$^{b}$ | 6.60±0.99$^{b}$ | 6.42±1.31$^{b}$ | 6.60±0.97$^{b}$ |
| ความรู้สึกหลังชิม | 6.18±1.32$^{b}$ | 6.95±1.23$^{a}$ | 6.86±1.19$^{a}$ | 7.12±1.05$^{a}$ | 6.91±1.31$^{a}$ | 6.26±1.08$^{b}$ | 6.20±1.18$^{b}$ | 6.05±1.18$^{b}$ | 6.12±1.22$^{b}$ |
| ลักษณะปรากฏ $^{ns}$ | 6.72±1.13 | 6.56±0.99 | 6.62±0.88 | 6.82±0.98 | 6.50±1.13 | 6.78±1.06 | 6.42±0.97 | 6.62±1.03 | 6.52±0.93 |
| ความชอบโดยรวม | 6.58±1.33$^{b}$ | 7.60±1.05$^{a}$ | 7.54±1.22$^{a}$ | 7.88±1.05$^{a}$ | 7.50±1.27$^{a}$ | 6.82±1.09$^{b}$ | 6.89±1.34$^{b}$ | 6.74±1.33$^{b}$ | 6.76±1.28$^{b}$ |

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษร (a-b) ที่ต่างกันในแนวนอน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\geq0.05$)



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากนั้นนำผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มแอนโทไซยานินสูงกลิ่นสตรอเบอรี่ แสดงตาราง 4.15 วิเคราะห์ลักษณะทางคุณภาพ (ตาราง 4.15) พบว่ามีค่าพีเอช เท่ากับ 3.69 ปริมาณกรดทั้งหมดร้อยละ 0.17 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดในช่วง 10.8 องศาบริกซ์ ค่าความสว่าง ($L^*$) 21.65 สีเขียว-แดง ($a^*$) 3.56 ในช่วง สีเหลือง-น้ำเงิน ($b^*$) 5.69 ปริมาณแอนโทไซยานินในช่วง 101.28 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาณฟีนอลลิกทั้งหมดในช่วง 0.82 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และความสามารถในการต้านออกซิเดชันร้อยละ 24.47

ตาราง 4.15 คุณภาพของเครื่องดื่มแอนโทไซยานินสูง กลิ่นสตรอเบอรี่

| ลักษณะคุณภาพ | สูตรที่ 4 |
|---|---|
| ค่าพีเอช | 3.69±0.00 |
| ปริมาณกรดทั้งหมด | 0.17±0.00 |
| ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (องศาบริกซ์) | 10.8±0.00 |
| ค่าความสว่าง ($L^*$) | 21.65±0.08 |
| สีเขียว-แดง ($a^*$) | 3.56±0.08 |
| สีเหลือง-น้ำเงิน ($b^*$) | 5.69±0.07 |
| ปริมาณแอนโทไซยานิน (มิลลิกรัม/ลิตร) | 101.28±0.76 |
| ปริมาณฟีนอลลิกทั้งหมด (มิลลิกรัม/ลิตร) | 0.82±0.02 |
| $EC_{50}$ (ร้อยละ) | 24.47±0.45 |

**4.7 ผลของการทำโคพิกเมนท์ต่อความคงต่อของแอนโทไซยานินในเครื่องดื่มหลังกระบวนการพาสเจอร์ไรส์เซชัน**

แอนโทไซยานินที่พบธรรมชาติมีหลายในข้าวก่ำ ได้แก่ ไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ (cyanidin 3-glucoside) และ พีโอนิดิน-3-กลูโคไซด์ (peonidin 3-glucoside) (Sompong *et al*., 2011) แต่แอนโทไซยานินมีความคงตัวต่ำ เกิดการสลายตัวได้ง่ายทำให้เกิดสารประกอบที่ไม่มีสีจากปัจจัยต่างๆ ในระหว่างกระบวนการแปรรูป ได้แก่ อุณหภูมิ ระยะเวลาในการให้ความร้อน และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (วริพัสย์ อารีกุล และคณะ, 2552) นอกเหนือจากกระบวนการแปรรูปที่มีผลต่อความคงตัวของแอนโทไซยานินแล้ว ความคงตัวของแอนโทไซยานินขึ้นกับอุณหภูมิ ความเข้มข้น แสง และพีเอช (Rubinskiene *et al*., 2005; Bakowska *et al*., 2003) ซึ่งความคงตัวของแอนโทไซยานินเป็นไปตามความสัมพันธ์กับปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง (first order reaction) และยังสอดคล้องกับ Wang และ Xu

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

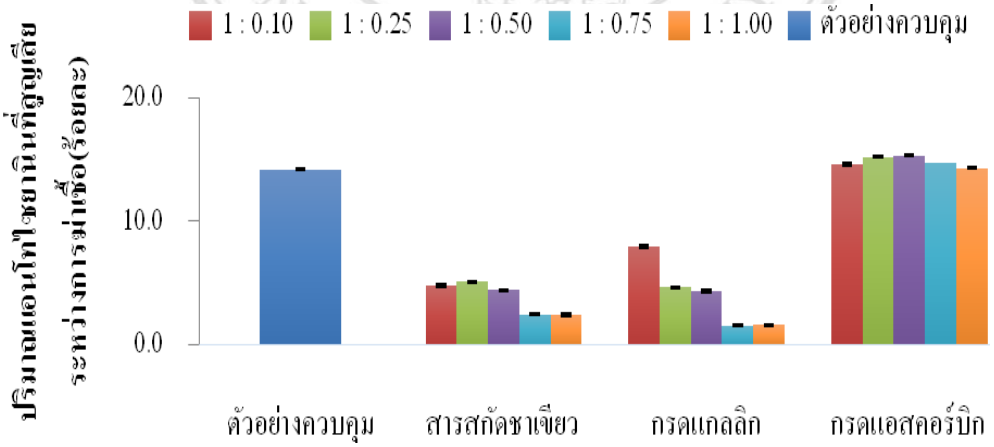
(2007) ซึ่งปัจจัยดังกล่าวมีผลทำให้แอนโทไซยานินมีความเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษา ดังนั้น การเติมโคพิกเมนท์เป็นอีกหนึ่งหนทางในการเพิ่มความคงตัวของแอนโทไซยานิน คือ การเกิดโคพิกเมนท์กับสารประกอบต่างๆ เช่น ฟลาโวน (flavones), ฟลาโวนอล (flavonol), อูโรน (Aurone), ฟลาโวโนน (flavonone), ฟลาแวน-3-ออล์ (Flavan-3-ols), อัลคาลอยด์ (Alkaloids) และกรดอะมิโน (amino acid) เป็นต้น ทั้งนี้อัตราการเกิดโคพิเมนท์ขึ้นอยู่กับชนิดของโคพิกเมนท์ ชนิดของแอนโทไซยานิน ความเข้มข้นของโคพิกเมนท์ และแอนโทไซยานิน□ด้วย (Maccarone *et al*., 1985)

ในการผลิตเป็นเครื่องดื่มเพื่อจำหน่าย เครื่องดื่มในบรรจุภัณฑ์ปิดสนิทจำเป็นต้องผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อเสียก่อน เพื่อความปลอดภัยต่อผู้บริโภค และการเก็บรักษาที่ยาวนานขึ้น ดังนั้นในการผลิตเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพจากสูตรเครื่องดื่มจะต้องผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนระดับพาสเจอร์ไรเซชัน (85 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที) ซึ่งอาจเป็นสาเหตุของการสลายตัวของสารแอนโทไซยานินที่ไวต่อความร้อน ดังนั้นจึงมีแนวความคิดที่จะคัดเลือกสารประกอบโคพิกเมนท์เพื่อมาทำโคพิกเมนท์ระหว่างสารแอนโทไซยานินจากข้าวก่ำในเครื่องดื่มกับสารโคพิกเมนท์ เพื่อเพิ่มความคงตัวให้กับแอนโทไซยานิน และลดสูญเสียแอนโทไซยานินไประหว่างการฆ่าเชื้อด้วยความร้อน สารประกอบที่เติมลงไปเพื่อเหนี่ยวนำให้เกิดการยึดจับระหว่างกันในการทดลองนี้ได้แก่ สารสกัดจากชาเขียว กรดแกลลิก และกรดแอสคอร์บิก โดยแปรผันอัตราส่วนของปริมาณแอนโทไซยานินต่อโคพิกเมนท์ทั้งหมด 5 อัตราส่วนคือ 1.00 : 0.10, 1.00 : 0.25, 1.00 : 0.50, 1.00 : 0.75 และ 1.00 : 1.00

จากการศึกษาการพัฒนาสูตรผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มแอนโทไซยานินสูงกลิ่นสตรอเบอรี่ พบว่าสูตร 4 จากตาราง ง-19 (ภาคผนวก) ได้รับคะแนนความชอบจากผู้ทดสอบชิมโดยวิธี 9-Points Hedonic Scale มากที่สุดจึงเลือกมาศึกษาการทำโคพิกเมนท์ต่อปริมาณแอนโทไซยานินระหว่างการฆ่าเชื้อด้วยความร้อน สำหรับผลของการทำโคพิกเมนท์ ในเครื่องดื่มแอนโทไซยานินสูงกลิ่นสตรอเบอรี่ มีพีเอช 3.7 โดยทั่วไปแอนโทไซยานินจะมีความคงตัวในสภาวะที่พีเอชต่ำ (Pokorny *et al*., 2001) อย่างไรก็ตาม จากการทดลอง พบว่า เครื่องดื่มแอนโทไซยานินสูงกลิ่นสตรอเบอรี่ มีปริมาณแอนโทไซยานินลดลงร้อยละ 14 หลังจากการพาสเจอร์ไรส์ การเติมโคพิกเมนท์ในเครื่องดื่มแอนโทไซยานินสูง (ภาพ 4.33) เครื่องดื่มที่ไม่เติมโคพิกเมนท์ และเครื่องดื่มที่เติมกรดแอสคอร์บิก เมื่อนำไปให้ความร้อนเพื่อฆ่าเชื้อ พบว่า มีการสูญเสียปริมาณแอนโทไซยานินไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) แสดงว่าการเติมกรดแอสคอบิกไม่สามารถช่วยคงสภาพแอนโทไซยานินได้ และมีการสูญเสียปริมาณแอนโทไซยานินร้อยละ 14-16 ซึ่งมากกว่าตัวอย่างควบคุม งานวิจัยของ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Shrikhandeและ Francis (1974)รายงานว่า การเติมกรดแอสคอร์บิกจะไปเพิ่มอัตราการสลายตัวของแอนโทไซยานิน โดยงานวิจัยของ Jurdและ Asen ( 1972)ได้อธิบายการสลายตัวของแอนโทไซยานินไว้ว่า เกิดจากปฏิกิริยาควบแน่นโดยตรงของวิตามินซีกับโมเลกุลของแอนโทไซยานินทำให้สูญเสียสารทั้งสองไปพร้อมกัน นอกจากนั้นการสูญเสียสีของแอนโทไซยานินยังเกิดขึ้นได้จากปฏิกิริยาออกซิเดชันจากการตัดวงไพรีเรียมในตำแหน่งคาร์บอนที่ 4 โดยกลไกของอนุมูลอิสระ ซึ่งวิตามินซีจะแสดงบทบาทในการเป็นตัวกระตุ้นโมเลกุลออกซิเจนที่ทำให้เกิดเป็นอนุมูลอิสระ (Iacobucci and Sweeny, 1983) แต่เมื่อพิจารณาโคพิกเมนท์อีก 2 ชนิด เทียบกับผลิตภัณฑ์ที่ไม่ได้เติมโคพิกเมนท์ พบว่าผลิตภัณฑ์ที่เติมสารสกัดชาเขียว และกรดแกลลิคมีการสูญเสียปริมาณแอนโทไซยานินระหว่างการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนน้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) จึงทำให้ทราบว่า สารสกัดชาเขียว และกรดแกลลิกมีประสิทธิภาพในการช่วยคงสภาพของแอนโทไซยานินระหว่างการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนได้ แต่โคพิกเมนท์ทั้งสองมีรสขม อาจส่งผลต่อผลิตภัณฑ์จึงควรใส่ให้น้อยที่สุด ซึ่งจากการทดลองจะเห็นได้ว่าการเพิ่มอัตราส่วนของโคพิกเมนท์เพื่อลดการสูญเสียของแอนโทไซยานินไม่มากนัก จึงเลือกอัตราส่วนของแอนโทไซยานินต่อโคพิกเมนท์ 1.00 : 0.10 และ 1.00 : 0.25 นำมาทดสอบทางประสาทสัมผัสเทียบกับผลิตภัณฑ์ที่ไม่เติมโคพิกเมนท์โดยตัวอย่างที่มีการเติมสารสกัดจากชาเขียวและกรดแกลลิกในอัตราส่วนนี้มีการสูญเสียของแอนโทไซยานินน้อยกว่าร้อยละ 6




ภาพ 4.33 ผลของการทำโคพิกเมนท์ในเครื่องดื่มแอนโทไซยานินสูงกลิ่นสตรอเบอรี่ต่อการสูญเสียปริมาณแอนโทไซยานินระหว่างการฆ่าเชื้อด้วยความร้อน

**4.8 ผลของการทำโคพิกเมนท์ต่อลักษณะทางประสาทสัมผัสของเครื่องดื่มแอนโทไซยานินสูงกลิ่นสตรอเบอรี่**

จากผลการประเมินโดยการให้คะแนนความชอบแบบ 9-Points Hedonic Scale จำนวน 50 คน (ตาราง 4.16) พบว่า การเติมโคพิกเมนท์ไม่ส่งผลกระทบต่อคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของเครื่องดื่ม ในด้านรสเค็ม ความเป็นเนื้อเดียวกัน ความหนืด และ ลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มแอนโทไซยานินสูงกลิ่นสตรอเบอรี่ แต่ส่งผลต่อคุณลักษณะด้านกลิ่น สี รสหวาน รสเปรี้ยว รสขม รสชาติโดยรวม ความรู้สึกหลังชิม และความชอบโดยรวม เนื่องจากการเติมโคพิกเมนท์ทำให้รสชาติของผลิตภัณฑ์เปลี่ยนแปลงโดยมีรสขมเพิ่มขึ้นมา ตัวอย่างควบคุมและตัวอย่างที่มีการเติมสารสกัดจากชาเขียวในอัตราส่วน 1.00:0.10 มีคะแนนความชอบโดยรวมสูงสุดใกล้เคียงกัน อาจเป็นเพราะรสเปรี้ยวของเครื่องดื่มสูตรนี้ช่วยกลบความฝาดขมที่มีในสารสกัดชาเขียว และผู้บริโภคอาจยอมรับได้เนื่องจากธรรมชาติของผลไม้ตระกูลเบอรี่ที่มักมีรสฝาดเล็กน้อย

เมื่อนำผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มแอนโทไซยานินสูงกลิ่นสตรอเบอรี่ทั้ง 5 สูตรไปวิเคราะห์คุณภาพ (ตาราง 4.17) พบว่า มีค่าพีเอช เท่ากับ ช่วง 7.67- 3.72 ปริมาณกรดทั้งหมดร้อยละ 0.16-0.18 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด 12.4-12.6 องศาบริกซ์ ค่าความสว่าง ($L^*$) 21.0-22.0 สีเขียว-แดง ($a^*$) 2.0-3.0 สีเหลือง-น้ำเงิน ($b^*$) 6.0-7.0 ปริมาณแอนโทไซยานิน 90.0-101.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาณฟีนอลลิกทั้งหมดในช่วง 0.87-0.96 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และความสามารถในการต้านออกซิเดชันในช่วงร้อยละ 27.0-29.0

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 4.16 ผลของการทดสอบทางประสาทสัมผัสเครื่องดื่มแอนโทไซยานินกลิ่นสตรอเบอรี่ผสมโคพิกเมนท์

| ลักษณะทางประสาทสัมผัส | ตัวอย่างควบคุม | สารสกัดชาเขียว | | กรดแกลลิก | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 1.00:0.00 | 1.00:0.10 | 1.00:0.25 | 1.00:0.00 | 1.00:0.10 |
| กลิ่น | $7.32^{a}$±1.01 | $7.06^{a}$±1.41 | $6.38^{b}$±1.12 | $6.82^{b}$±1.47 | $6.20^{b}$±1.22 |
| สี | $7.38^{a}$±1.42 | $7.26^{a}$±1.11 | $6.50^{b}$±1.08 | $6.72^{b}$±1.51 | $6.26^{b}$±1.41 |
| รสหวาน | $7.42^{a}$±1.13 | $6.76^{b}$±1.22 | $6.24^{b}$±1.13 | $6.68^{b}$±1.26 | $5.74^{c}$±1.30 |
| รสเค็ม$^{ns}$ | 6.62±1.23 | 6.28±1.13 | 5.86±1.07 | 6.12±1.18 | 5.78±1.32 |
| รสเปรี้ยว | $7.28^{a}$±1.05 | $5.78^{b}$±1.04 | $5.94^{b}$±1.21 | $6.02^{b}$±1.09 | $5.58^{b}$±1.25 |
| รสขม | $6.58^{a}$±1.04 | $3.98^{b}$±1.01 | $2.82^{c}$±1.42 | $3.14^{b}$±1.24 | $3.44^{b}$±1.14 |
| รสชาติโดยรวม | $7.54^{a}$±1.18 | $5.98^{b}$±1.28 | $5.92^{c}$±1.50 | $4.72^{c}$±1.23 | $6.28^{b}$±1.16 |
| ความเป็นเนื้อเดียวกัน$^{ns}$ | 7.06±1.20 | 7.08±1.32 | 6.8±1.32 | 6.06±1.11 | 6.72±1.08 |
| ความหนืด$^{ns}$ | 6.92±1.09 | 6.72±1.25 | 6.36±1.25 | 6.38±1.05 | 6.86±1.29 |
| ความรู้สึกหลังชิม | $6.92^{a}$±1.26 | $6.16^{a}$±1.13 | $6.62^{a}$±1.23 | $4.64^{b}$±1.21 | $4.86^{b}$±1.41 |
| ลักษณะปรากฏ$^{ns}$ | 7.22±1.14 | 6.59±1.37 | 6.54±1.41 | 6.36±1.44 | 6.44±1.27 |
| ความชอบโดยรวม | $7.04^{a}$±1.22 | $6.71^{a}$±1.50 | $5.24^{c}$±1.16 | $6.02^{b}$±1.35 | $4.88^{d}$±1.23 |

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษร (a-b) ที่ต่างกันในแนวนอน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\geq0.05$)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 4.17 การเปรียบเทียบคุณภาพของเครื่องดื่มแอนโทไซยานินสูงกลิ่นสตรอเบอรี่ผสมโคพิเมนท์

| ลักษณะคุณภาพ | ตัวอย่างควบคุม | สารสกัดชาเขียว | | กรดแกลลิค | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 1.00:0.00 | 1.00:0.10 | 1.00:0.25 | 1.00:0.00 | 1.00:0.10 |
| ค่าพีเอช$^{ns}$ | 3.70±0.01 | 3.69±0.00 | 3.67±0.00 | 3.70±0.00 | 3.68±0.00 |
| ปริมาณกรดทั้งหมด$^{ns}$ | 0.17±0.01 | 0.17±0.05 | 0.17±0.03 | 0.17±0.00 | 0.17±0.01 |
| ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (องศาบริกซ์)$^{ns}$ | 12.5±0.00 | 12.4±0.00 | 12.4±0.00 | 12.4±0.00 | 12.4±0.00 |
| ค่าความสว่าง ($L^*$)$^{ns}$ | 21.90±0.06 | 21.56±0.10 | 21.25±0.21 | 21.54±0.14 | 21.19±0.11 |
| สีเขียว-แดง ($a^*$)$^{ns}$ | 2.22±0.04 | 2.42±0.08 | 2.51±0.07 | 2.31±0.01 | 2.44±0.05 |
| สีเหลือง-น้ำเงิน ($b^*$)$^{ns}$ | 6.75±0.05 | 6.96±0.06 | 7.36±0.02 | 7.25±0.05 | 7.54±0.03 |
| ปริมาณแอนโทไซยานิน (มิลลิกรัม/ลิตร) | 90.51$^{b}$±0.15 | 100.75$^{a}$±0.11 | 100.21$^{a}$±0.21 | 100.13$^{a}$±0.08 | 100.85$^{a}$±0.15 |
| ปริมาณฟีนอลลิกทั้งหมด (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)$^{ns}$ | 0.87±0.06 | 0.95±0.09 | 0.92±0.05 | 0.96±0.07 | 0.90±0.05 |
| DPPH (ร้อยละ)$^{ns}$ | 27.56±0.12 | 28.45±0.11 | 28.35±0.13 | 28.94±0.18 | 28.88±0.09 |

**หมายเหตุ** : ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \geq 0.05$)

### 4.9 ผลของบรรจุภัณฑ์และการทำโคพิกเมนท์ ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพในระหว่างการเก็บรักษา

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากการศึกษาผลของการทำทำโคพิกเมนท์ต่อการคงตัวของแอนโทไซยานินระหว่างกระบวนการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนของเครื่องดื่มแอนโทไซยานินสูงกลิ่นสตอเบอรี่ พบว่า สูตรที่ได้รับการยอมรับจากผู้บริโภคคือสูตรที่เติมสารสกัดชาเขียว 1.00 : 0.10 เทียบกับเครื่องดื่มแอนโทไซยานินที่ไม่เติมทำโคพิกเมนท์โดยทุกสูตรที่ไม่ได้เติมโคพิกเมนท์จะมีการเพิ่มปริมาณสารสกัดจากรำข้าวก่ำร้อยละ 25 เพื่อทดแทนส่วนสูญเสียระหว่างการฆ่าเชื้อ ได้สูตรตามตาราง 4.18 ทำการวิเคราะห์ทางเคมีและจุลินทรีย์ ทุกๆ 3 วัน นาน 15 วัน เก็บรักษาผลิตภัณฑ์ภายใต้แสงฟูออเรสเซนต์ ณ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อจำลองสภาวะที่จะขายจริง ทำการวิเคราะห์ลักษณะทางภาพ เคมี และจุลินทรีย์

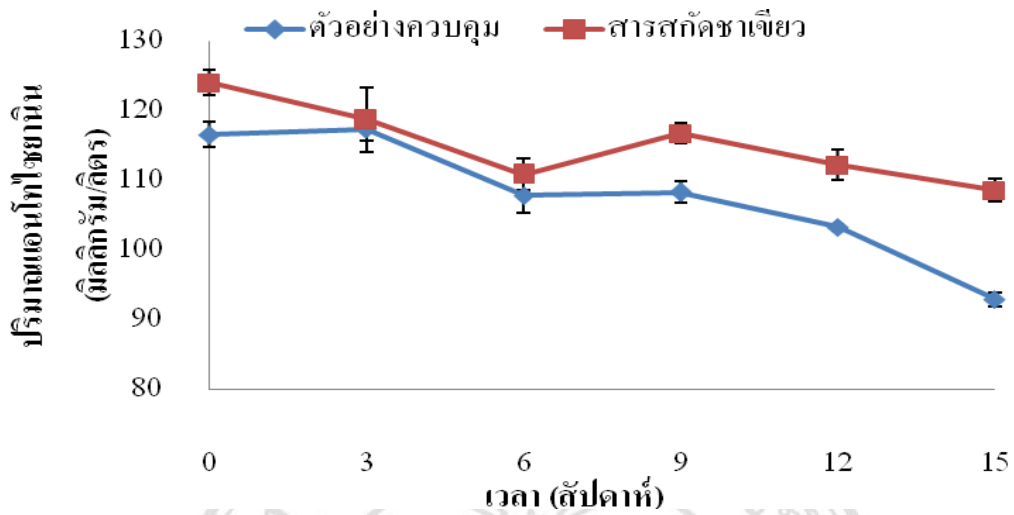
ตาราง 4.18 สูตรเครื่องดื่มแอนโทไซยานินสูงกลิ่นสตรอเบอรี่ทำหรับศึกษาการเปลี่ยนแปลงระหว่างทำการเก็บรักษา

| ส่วนผสม (ร้อยละ) | ตัวอย่างควบคุม | เติมสารสกัดชาเขียว (1.00 : 0.10) |
|---|---|---|
| น้ำ | 89.46 | 89.43 |
| น้ำตาล | 9.84 | 9.84 |
| เกลือ | 0.18 | 0.18 |
| กรดซิตริก | 0.12 | 0.12 |
| โซเดียมบอกซีเมทิลเซลลูโลส | 0.04 | 0.04 |
| แอนโทไซยานิน | 0.18 | 0.18 |
| กลิ่นสตรอเบอรี่ | 0.18 | 0.18 |
| สารสกัดชาเขียว | 0 | 0.03 |

ผลของสารต้านอนุมูลอิสระในเครื่องดื่มแอนโทไซยานินสูงกลิ่นสตรอเบอรี่ที่ต้องการศึกษาระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ทั้ง 2 ผลิตภัณฑ์ ได้แก่ ปริมาณแอนโทไซยานิน ปริมาณฟีนอลลิกทั้งหมด ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (DPPH) เป็นต้น ให้ผลดังต่อไปนี้

ภาพ 4.34 เป็นการเปลี่ยนแปลงปริมาณแอนโทไซยานินของเครื่องดื่มแอนโทไซยานินสูงที่ไม่เติมโคพิกเมนท์ และที่เติมสารสกัดชาเขียว (ในอัตราส่วน 1.00 : 0.10) เก็บรักษาภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์ นาน 15 วัน ณ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่า เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น มีผลทำให้ปริมาณของแอนโทไซยานินลดลง ซึ่งแอนโทไซยานินนั้นไวต่อการสลายตัวเมื่อถูกแสง (Palamidis and Markakis, 1978) แสงนั้นกระตุ้นการสลายตัวของแอนโทไซยานินในรูปแบบเดียวกับการสลายตัวจากความร้อน (Furtado *et al*., 1993) สาเหตุที่ปริมาณแอนโทไซนานินในการทดลองนี้ลดลงไม่มากนักอาจเนื่องจากเวลาในการเก็บรักษาสั้น จึงทำให้เห็นการเปลี่ยนแปลงของแอนโทไซยานินไม่เด่นชัด บวกกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำจึงลดอัตราการสลายตัวของแอนโทไซยานิน การทดลองนี้ให้ผลสอดคล้องกับการทดลองของ วริพัสย์ อารีกุล (2552) ซึ่งทำการศึกษาผลของอุณหภูมิแช่เย็นต่อความคงตัวของแอนโทไซยานินและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในน้ำบลูเบอรี่ โดยแปรผันอุณหภูมิการเก็บรักษา คือ 4 และ 10 องศาเซลเซียส พบว่า การเพิ่มอุณหภูมิการเก็บรักษาในน้ำบลูเบอรี่จะทำให้เกิดการสลายตัวของแอนโทไซยานินเพิ่มขึ้น โดยการเพิ่มอุณหภูมิเป็นการเพิ่มพลังงานให้แก่ระบบ จึงเร่งอัตราการสลายตัวของแอนโทไซยานิน ส่วนการเพิ่มระยะเวลาในการเก็บรักษา ทำให้ปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานินนานขึ้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

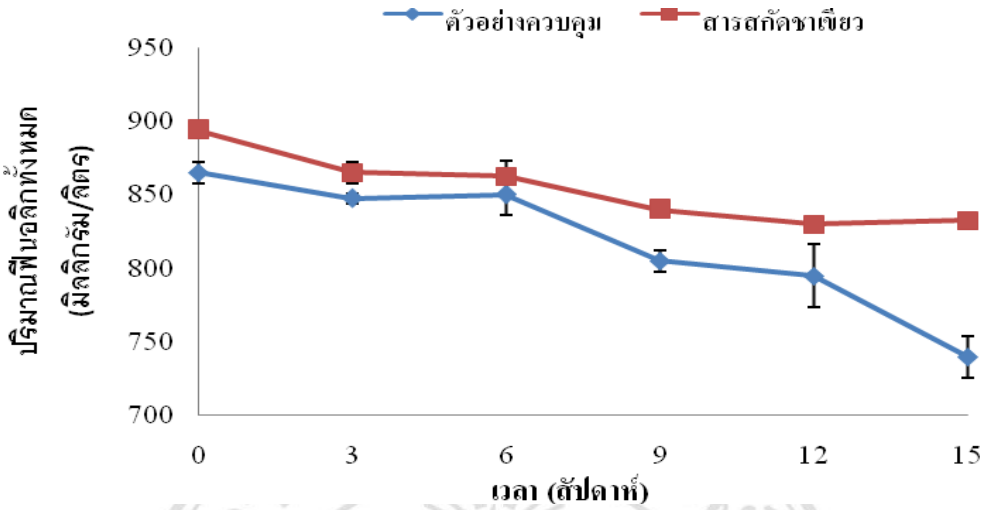



ภาพ 4.34 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแอนโทไซยานินที่ผ่านพาสเจอร์ไรด์เปรียบเทียบระหว่างเครื่องดื่มแอนโทไซยานินสูงกลิ่นสตรอเบอรี่ที่ไม่เติมโคพิกเมนท์ และเติมสารสกัดชาเขียว ระหว่างการเก็บรักษาภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์ นาน 15 วัน ณ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

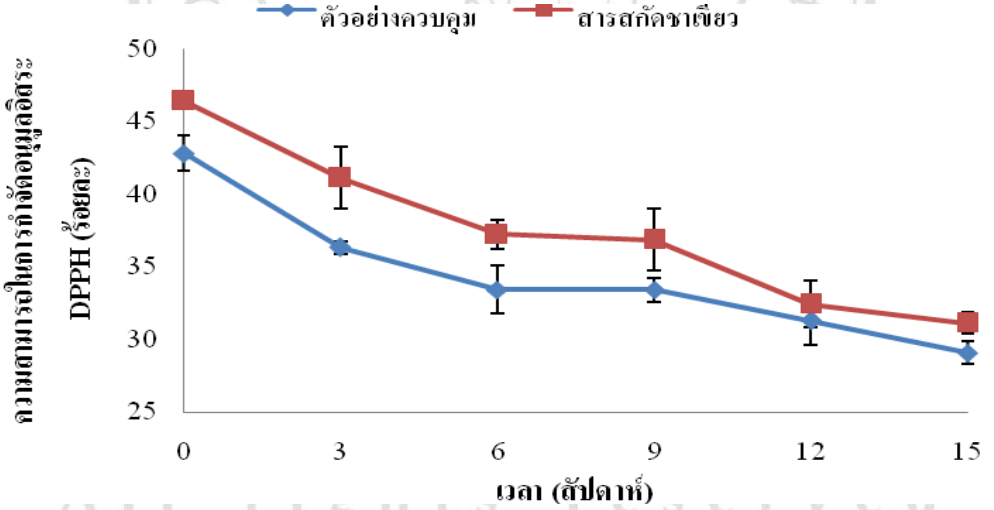
จากนั้นติดตามการเปลี่ยนแปลงของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดระหว่างการเก็บรักษา แสดงในภาพ 4.35 พบว่า ปริมาณฟีนอลลิกทั้งหมดลดลงตามเวลาการเก็บรักษา ซึ่งผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มแอนโทไซยานินสูงกลิ่นสตรอเบอรี่ที่เติมสารสกัดชาเขียวจะมีอัตราการลดลงน้อยกว่าผลิตภัณฑ์ควบคุม ในการทดลองนี้อาจใช้เวลาในการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์น้อย จึงทำให้เห็นการเปลี่ยนแปลงไม่ชัดเจน ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้ จะไวต่อแสง ออกซิเจน และอุณหภูมิทำให้สลายตัวได้ง่ายขึ้น

ในการเก็บรักษาเครื่องดื่มแอนโทไซยานินสูงกลิ่นสตรอเบอรี่พบว่าการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของผลิตภัณฑ์ทั้ง 2 ลดลงอย่างเห็นได้ชัด ดังแสดงในภาพ 4.36 ระยะเวลาในการเก็บรักษามีผลต่อการสูญเสียความสามารถในต้านอนุมูลอิสระการเพิ่มระยะเวลาในการเก็บรักษามีผลทำให้ความสามารถในต้านอนุมูลอิสระลดลง รวมถึงการสลายตัวของแอนโทไซยานินและสารประกอบฟีนอลลิกทั้งหมดที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระในเครื่องดื่มในระหว่างเก็บรักษาส่งผลให้ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ลดลงไปด้วย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved




ภาพ 4.35 การเปลี่ยนแปลงปริมาณฟีนอลลิกทั้งหมดที่ผ่านพาสเจอร์ไรด์เปรียบเทียบระหว่างเครื่องดื่มแอนโทไซยานินสูงกลิ่นสตรอเบอรี่ที่ไม่เติมโคพิกเมนท์ และเติมสารสกัดชาเขียว ระหว่างการเก็บรักษาภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์ นาน 15 วัน ณ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส




ภาพ 4.36 การเปลี่ยนแปลงปริมาณความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ที่ผ่านพาสเจอร์ไรด์เปรียบเทียบเครื่องดื่มแอนโทไซยานินสูงกลิ่นสตรอเบอรี่ที่ไม่เติมโคพิกเมนท์ และเติมสารสกัดชาเขียว ระหว่างการเก็บรักษาภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์ นาน 15 วัน ณ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

การทดสารต้านอนุมูลอิสระข้างต้น ให้ผลสอดคล้องกับการทดสอบด้านกายภาพ คือจากการวัดค่าสีของผลิตภัณฑ์ทั้ง 2 จะเห็นการเพิ่มขึ้นของค่าความสว่าง ($L^*$) ค่อนข้างชัดเจน (แสดงในตาราง 4.19 และ ตาราง 4.20) โดยผลิตภัณฑ์มีแนวโน้มมีสีที่สว่างขึ้น ค่าของสีเขียว-แดง ($a^*$) มีค่าลดลง ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากการสลายตัวของแอนโทไซยานินนั่นเอง เมื่อตรวจนับปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดมีจำนวน น้อยกว่า 10 โคโลนี/ตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ไม่พบปริมาณยีสต์ รา โคโลฟอร์ม และเอสเชอริเชีย-โคไล ในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มซึ่งมีจำนวนน้อยกว่ามาตรฐาน (มผช.165/2545 น้ำองุ่น กำหนดให้จุลินทรีย์ทั้งหมด ต้องไม่เกิน 1 x $10^4$ โคโลนี/ตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ยีสต์และรา ต้องน้อยกว่า 100 โคโลนี/ตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร เอสเชอริเชียโคไล โดยวิธีเอ็มพีเอ็น ต้องน้อยกว่า 2.2 ต่อตัวอย่าง 100 มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 4.19 ลักษณะทางกายภาพภาระหว่างการเก็บรักษาของเครื่องดื่มแอนโทไซยานินสูงกลิ่นสตรอเบอรี่

| คุณลักษณะ | ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 3 | 6 | 9 | 12 | 15 |
| ค่าพีเอช | 3.95±0.00 | 3.88±0.00 | 4.02±0.00 | 3.98±0.01 | 3.97±0.00 | 3.98±0.00 |
| ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ($Brix^{O}$) | 12.0±0.00 | 12.0±0.00 | 12.0±0.00 | 12.0±0.00 | 12.0±0.00 | 12.0±0.00 |
| ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละ) | 0.17±0.01 | 0.16±0.00 | 0.17±0.01 | 0.18±0.00 | 0.18±0.01 | 0.18±0.01 |
| ความหนืด (เซนติพอยด์) | 24.0±0.15 | 20.0±0.62 | 26.0±0.23 | 24.0±0.54 | 25.0±0.42 | 27.0±0.98 |
| ค่าความสว่าง ($L^*$) | 21.70± 0.18 | 22.15± 0.20 | 26.18± 0.01 | 26.56± 0.03 | 26.58± 0.02 | 26.66± 0.02 |
| สีเขียว-แดง ($a^*$) | 2.15±0.03 | 2.07±0.10 | 1.08±0.03 | 1.04±0.03 | 1.08±0.01 | 1.20±0.01 |
| สีเหลือง-น้ำเงิน ($b^*$) | 0.21±0.05 | 2.07±0.10 | -0.02± 0.05 | 0.01±0.04 | 0.06±0.03 | -0.03± 0.02 |
| △E | 0.00±0.00 | 0.57±0.19 | 3.26±0.02 | 4.71±0.03 | 4.64±0.02 | 4.79±0.01 |
| ปริมาณแอนโทไซยานิน (มิลลิกรัม/ลิตร) | 115.23± 3.82 | 118.54± 4.13 | 106.06± 6.60 | 109.38± 2.13 | 102.97± 1.71 | 92.18± 0.80 |
| ฟีนอลลิกทั้งหมด (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) | 0.86±0.01 | 0.75±0.03 | 0.90±0.06 | 0.81±0.02 | 0.84±0.01 | 0.73±0.01 |
| DPPH (ร้อยละ) | 43.65± 0.24 | 36.02± 3.38 | 34.57± 2.86 | 35.98± 0.79 | 34.45± 0.42 | 33.65± 0.10 |
| จุลินทรีย์ทั้งหมด (โคโลนี/ตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร) | <10 | <10 | <10 | <10 | <10 | <10 |
| ยีสต์และรา (โคโลนี/ตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร) | ตรวจไม่พบ | ตรวจไม่พบ | ตรวจไม่พบ | ตรวจไม่พบ | ตรวจไม่พบ | ตรวจไม่พบ |

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 4.20 ลักษณะทางกายภาพระหว่างการเก็บรักษาของเครื่องดื่มแอนโทไซยานินสูงกลิ่นสตรอเบอรี่ผสมสารสกัดชาเขียว

| คุณลักษณะ | ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 3 | 6 | 9 | 12 | 15 |
| ค่าพีเอช | 3.81±0.00 | 3.82±0.00 | 3.88±0.00 | 3.80±0.00 | 6.60±0.00 | 3.84±0.01 |
| ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (องศาบริกซ์) | 13.0±0.00 | 13.0±0.00 | 12.5±0.00 | 12.5±0.00 | 10.8±0.00 | 12.95±0.10 |
| ปริมาณกรดทั้งหมด(ร้อยละ) | 0.17±0.00 | 0.18±0.00 | 0.17±0.00 | 0.18±0.00 | 0.04±0.00 | 0.18±0.00 |
| ความหนืด (เซนติพอยด์) | 20.0±0.54 | 21.0±0.63 | 19.0±0.75 | 23.0±0.22 | 27.0±0.36 | 23.0±0.54 |
| ค่าความสว่าง ($L^*$) | 21.53± 0.04 | 21.25± 0.41 | 25.96± 0.14 | 26.09± 0.10 | 25.93± 0.05 | 26.41± 0.01 |
| สีเขียว-แดง ($a^*$) | 1.44±0.03 | 1.25±0.11 | 0.93±0.08 | 0.81±0.03 | 0.86±0.03 | 0.71±0.02 |
| สีเหลือง-น้ำเงิน ($b^*$) | -0.10±0.02 | -0.20±0.15 | 0.06±0.03 | 0.02±0.06 | -0.08±0.07 | -0.15±0.01 |
| $\triangle$E | - | 0.48±0.18 | 4.49±0.14 | 4.64±0.09 | 4.48±0.06 | 5.07±0.02 |
| ปริมาณแอนโทไซยานิน (มิลลิกรัม/ลิตร) | 122.68± 3.52 | 121.92± 1.59 | 109.29±5 .39 | 115.68± 4.56 | 94.68± 5.35 | 107.42± 1.13 |
| ฟีนอลลิกทั้งหมด(มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร) | 0.88±0.02 | 0.79±0.03 | 0.93±0.06 | 0.64±0.03 | 0.38±0.01 | 0.84±0.01 |
| DPPH (ร้อยละ) | 46.24± 0.64 | 42.65± 2.37 | 34.53± 0.60 | 38.17± 3.07 | 43.55± 0.25 | 34.62± 0.82 |
| จุลินทรีย์ทั้งหมด(โคโลนี/ ตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร) | <10 | <10 | <10 | <10 | <10 | <10 |
| ยีสต์และรา (โคโลนี/ ตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร) | ตรวจไม่พบ | ตรวจไม่พบ | ตรวจไม่พบ | ตรวจไม่พบ | ตรวจไม่พบ | ตรวจไม่พบ |

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

**4.10 การทดสอบผลิตภัณฑ์สุดท้ายเครื่องดื่มแอนโทไซยานินสูงจากข้าวก่ำดอยสะเก็ด**

จากการศึกษาการเพิ่มมูลค่าของผลิตภัณฑ์รำข้าว โดยเลือกนำรำข้าวก่ำดอยสะเก็ดมาศึกษาการเพิ่มมูลค่าของผลิตภัณฑ์ เนื่องจากมีคุณค่าทางโภชนาการมากกว่ารำข้าว กข 6 และมีแอนโทไซยานิน ซึ่งเป็นแหล่งสารต้านอนุมูลอิสระที่ดี ซึ่งผ่านการพัฒนาสูตรข้างต้นจนถึงผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ผู้บริโภคยอมรับ โดยนำผลิตภัณฑ์ทั้ง 2 ให้ผู้บริโภคทดสอบทางประสาทสัมผัส ประเมินโดยการให้คะแนนความชอบแบบ 9-Points Hedonic Scale จำนวน 50 คน ให้ผลดังตาราง 4.21 ผลิตภัณฑ์ที่ได้รับคะแนนความชอบมากที่สุดคือเครื่องดื่มแอนโทไซยานินสูงกลิ่นสตรอเบอรี่ไม่เติมโคพิกเมนท์ รองลงมาคือเครื่องดื่มแอนโทไซยานินสูงกลิ่นสตรอเบอรี่เติมโคพิกเมนท์ ตามลำดับ ที่ผู้บริโภคประเมินการทดสอบทางประสาทสัมผัสของทั้งสองผลิตภัณฑ์แตกต่างกันเนื่องจากโคพิกเมนท์ ที่ใช้ คือ สารสกัดจากชาเขียว ให้รสขมแม้ใส่ปริมาณเพียงน้อยนิด จึงทำให้มีผลต่อรสชาติโดยรวมของผลิตภัณฑ์

ตาราง 4.21 ผลของการทดสอบทางประสาทสัมผัสเครื่องดื่มแอนโทไซยานินสูง

| | ตัวอย่างควบคุม | เติมสารสกัดชาเขียว (1.00 : 0.10) |
|---|---|---|
| กลิ่น$^{ns}$ | 7.25±1.11 | 7.15±1.02 |
| สี$^{ns}$ | 7.36±1.10 | 7.03±1.15 |
| รสหวาน | 6.85$^{a}$±0.96 | 5.13$^{b}$±1.25 |
| รสเค็ม$^{ns}$ | 5.34±1.55 | 5.23±1.07 |
| รสขม | 5.98$^{a}$±1.11 | 4.18$^{b}$±1.11 |
| รสชาติโดยรวม | 7.23$^{a}$±1.45 | 6.05$^{b}$±1.64 |
| ความเป็นเนื้อเดียวกัน$^{ns}$ | 6.96±1.32 | 6.12±1.23 |
| ความหนืด$^{ns}$ | 6.23±1.18 | 6.01±1.37 |
| ความรู้สึกหลังชิม$^{ns}$ | 6.94±1.33 | 6.58±1.11 |
| ลักษณะปรากฏ | 7.55$^{a}$±1.47 | 6.95$^{b}$±1.15 |
| ความชอบโดยรวม | 7.26$^{a}$±1.05 | 6.58$^{b}$±1.64 |

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษร (a-b) ที่ต่างกันในแนวนอน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\geq0.05$)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ส่วนคุณลักษณะกายภาพและเคมีของเครื่องดื่มแอนโทไซยานินทั้ง 2 แสดงในตาราง 4.22 ให้ค่าพีเอช ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ปริมาณกรดทั้งหมด ความหนืด ค่าความสว่าง ($L^*$) ค่าสีเขียว-แดง ($a^*$) สีเหลือง-น้ำเงิน ($b^*$) ปริมาณแอนโทไซยานิน ปริมาณฟีนอลลิกทั้งหมด ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ไม่แตกต่างกัน เมื่อตรวจนับปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดมีจำนวน น้อยกว่า 25 โคโลนี/ตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ไม่พบปริมาณยีสต์ รา โคลิฟอร์ม และเอสเชอริเชียโคไลในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มซึ่งมีจำนวนน้อยกว่ามาตรฐาน (มผช.165/2546 น้ำองุ่น กำหนดให้จุลินทรีย์ทั้งหมดต้องไม่เกิน $1 \times 10^4$ โคโลนต่อตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ยีสต์และรา ต้องน้อยกว่า 100 โคโลนี/ตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร เอสเชอริเชียโคไลโดยวิธีเอ็มพีเอ็น ต้องน้องกว่า 2.2 ต่อตัวอย่าง 100 มิลลิลิตร

ตาราง 4.22 ลักษณะทางกายภาพและเคมีของเครื่องดื่มแอนโทไซยานิน

| คุณลักษณะ | ตัวอย่างควบคุม | เติมสารสกัดชาเขียว (1.00 : 0.10) |
|---|---|---|
| ค่าพีเอช | 3.95±0.00 | 3.80±0.00 |
| ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (องศาบริกซ์) | 12.0±0.00 | 11.0±0.00 |
| ปริมาณกรดทั้งหมด(ร้อยละ) | 0.17±0.00 | 0.17±0.00 |
| ความหนืด (เซนติพอยด์) | 17.0±0.76 | 20.0±0.57 |
| ค่าความสว่าง ($L^*$) | 22.11±0.03 | 21.96±0.05 |
| สีเขียว-แดง ($a^*$) | 2.53±0.01 | 1.63±0.01 |
| สีเหลือง-น้ำเงิน ($b^*$) | 0.41±0.02 | -0.15±0.01 |
| ปริมาณแอนโทไซยานิน(มิลลิกรัม/ลิตร) | 115.68±1.07 | 122.66±0.89 |
| ฟีนอลลิกทั้งหมด(มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) | 0.89±0.08 | 0.87±0.05 |
| DPPH (ร้อยละ) | 42.53±1.02 | 45.53±1.19 |
| จุลินทรีย์ทั้งหมด (โคโลนี/ตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร) | <10 | <10 |
| ยีสต์และรา (โคโลนี/ตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร) | ตรวจไม่พบ | ตรวจไม่พบ |
| โคลิฟอร์ม (เอ็มพีเอ็น) | ตรวจไม่พบ | ตรวจไม่พบ |
| เอสเชอริเชียโคไล (โคโลนี/ตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร) | ตรวจไม่พบ | ตรวจไม่พบ |

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved