

ผลของอุลตราโซนิกต่อการสกัดแอนโทไซยานินจากกระเจี๊ยบแดง ด้วยวิธีพื้นผิวตอบสนอง

The Effect of Assisted Ultrasonic on Water Extraction of Anthocyanin From Roselle Using Response Surface Method

ณรงค์พันธุ์ รัตนปนัดดา*

โรงเรียนการเรือน มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต

Narongphan Rattanapanadda*

School of Culinary Arts, Suan Dusit Rajabhat University

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาการใช้คลื่นอุลตราโซนิกในการเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดแอนโทไซยานินจากกระเจี๊ยบแดง ปัจจัยในการศึกษา คือ กำลังของคลื่นอุลตราโซนิก เวลาในการสกัดและอัตราส่วนกระเจี๊ยบแดงต่อตัวทำละลาย ด้วยเทคนิควิธีพื้นผิวตอบสนอง วางแผนการทดลองแบบ Box-Behnken Design โดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย ด้วยปัจจัยของกำลังของอุลตราโซนิกในช่วง 40-80 เปอร์เซ็นต์ ที่ความถี่ 40 กิโลเฮิร์ตซ์ กำลังไฟ 160 วัตต์ เวลาในการสกัด 15-45 นาที และ อัตราส่วนกระเจี๊ยบแดงต่อตัวทำละลายที่ 10, 20 และ 30 กรัมต่อน้ำ 3 ลิตร จากการทดสอบการตอบสนองที่เหมาะสมพบว่าสภาวะการสกัดที่ทำให้ได้ปริมาณแอนโทไซยานินสูงสุด 54.27 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ได้แก่ กำลังของอุลตราโซนิก 80 เปอร์เซ็นต์ เวลาในการสกัด 45 นาที และอัตราส่วนกระเจี๊ยบแดงที่ 30 กรัมต่อน้ำ 3 ลิตร ที่สภาวะนี้แอนโทไซยานินที่สกัดได้มีค่าการต้านอนุมูลอิสระ เท่ากับ 82.16 เปอร์เซ็นต์ และค่าสีแดง (a^*) เท่ากับ 16.88 กำลังอุลตราโซนิกเป็นปัจจัยหลักที่มีผลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P=0.004$) ต่อประสิทธิภาพการสกัดแอนโทไซยานิน และคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ระยะเวลาในการสกัดมีผลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\leq 0.05$) ต่อคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ และอัตราส่วนกระเจี๊ยบแดงต่อตัวทำละลายมีผลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\leq 0.05$) ต่อค่าสีแดง

คำสำคัญ : อุลตราโซนิก กระเจี๊ยบแดง แอนโทไซยานิน การสกัด

* ผู้ประสานงานหลัก (Corresponding Author)
e-mail: narongphan_rat@dusit.ac.th

Abstract

This research has been studied in ultrasonic power for increasing the efficiency extraction of anthocyanins from roselle by the response surface method (Box-Behnken Design). The studied factors were ultrasonic power, extraction time and ratio of Roselle and solvent. The solvent extraction of anthocyanins was distilled water. The experimental conditions were determined by the range of ultrasonic power (40-80%) at frequency 40 kHz, power supplied 160 Watt, extraction time (15-45 minutes) and ratio of roselle and distilled water (10, 20 and 30 g per distilled water 3 L). The optimal response has been established for obtaining the highest amounts of anthocyanins (54.27 mg/100g) was carried out by ultrasonic power (80%), extraction time (45 minutes) and ratio of roselle and distilled water (30 g/3L). The antioxidant activity and redness (a^*) value of anthocyanin extraction were 82.16% and 16.88, respectively in this condition. Ultrasonic power is main factor that affected significantly ($P=0.004$) in the efficiency of anthocyanin extraction and antioxidant activities. Extraction time significantly ($P\leq 0.05$) affected antioxidant activities. Additionally, the ratio of roselle and distilled water significantly ($P\leq 0.05$) affected the redness (a^*) values.

Keywords : Ultrasonic , Roselle , Anthocyanin , Extraction

บทนำ

กระเจี๊ยบแดง (*Hibiscus sabdariffa* L.) เป็นสมุนไพรที่มีการปลูกอย่างแพร่หลายในประเทศไทย และเขตร้อน เป็นแหล่งของแอนโทไซยานินและสารให้สีแดงและม่วงจากธรรมชาติที่ราคาถูก เป็นรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ นำมาใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องดื่ม ไวน์ น้ำผลไม้ เป็นส่วนประกอบสำคัญในอาหาร ยาและเครื่องสำอาง มีคุณสมบัติลดความเสี่ยงของการเป็นโรคอ้วน โรคเบาหวาน โรคหัวใจ โรคทางระบบประสาท โรคมะเร็งและไขมันในเส้นเลือด (Pandey & Rizvi, 2009; Zhang et al., 2004) กลีบเลี้ยงกระเจี๊ยบแดงเป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระและในส่วนของเมล็ดกระเจี๊ยบแดงจะให้สารต้านอนุมูลอิสระที่มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระที่สูงที่สุด (Mohd-Esa et al., 2010) เมื่อนำเมล็ดกระเจี๊ยบแดงไปต้มน้ำจะเป็นแหล่งของโปรตีนที่ดีเหมือนกับเคซีน และมีคุณสมบัติในการช่วยลดคอเลสเตอรอล แต่ในมาเลเซียเมล็ดมักจะเป็นส่วนที่เหลือทิ้ง (Halimatul et al., 2007) แอนโทไซยานินมีความคงตัวต่ำและอาจเกิดการเสื่อมสลายจากผลของความเป็นกรด-ด่าง แสงแดด ออกซิเจน เอนไซม์ หรือผลของการให้ความร้อน (Cisse et al., 2009)

กระเจี๊ยบแดงแห้ง 100 กรัม จะมีแอนโทไซยานินประมาณ 1.5 กรัม (Tsai & Ou, 1996) สีแดงของกระเจี๊ยบแดงมาจากสีของแอนโทไซยานิน ซึ่งประกอบด้วย Delphinidin-3-xylosylglucoside ร้อยละ 70.9 และ Cyanidin-3-xylosylglucoside ร้อยละ 29.1 (Pouget et al., 1990) เป็นชนิดของสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญในกระเจี๊ยบแดง และเป็นส่วนสำคัญที่ทำให้กระเจี๊ยบมีสีแดงสด การเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดแอนโทไซยานินจากกระเจี๊ยบแดงจึงเป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญต่อการเพิ่มมูลค่าของกระเจี๊ยบแดง

เทคนิคอัลตราโซนิกถูกนำมาใช้ในการสกัดร่วมกับสารละลายเพื่อให้ได้สารสำคัญเพิ่มมากขึ้น ด้วยอัตราการสกัดที่เร็วขึ้นและเวลาในการบวนการสกัดสั้นลง (Vilkhu et al., 2008) การสั่นสะเทือนโมเลกุลของตัวทำละลายด้วยคลื่นอัลตราโซนิกเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวในการสัมผัสระหว่างตัวอย่างและสารละลาย ดังนั้นเทคนิคอัลตราโซนิก จึงเป็นทางเลือกใหม่ในการสกัดที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในทางการค้าได้ (Valero et al., 2007) นอกจากนี้ผลของอัตราส่วนตัวทำละลายและขนาดของอนุภาคก็เป็นปัจจัยหลักที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการแอนโทไซยานิน การเพิ่มอุณหภูมิสามารถลดระยะเวลาในการสกัดลงได้เนื่องจากสัมประสิทธิ์การแพร่ที่เปลี่ยนแปลงไป (Cisse et al., 2012)

วิธีพื้นผิวตอบสนอง (Response Surface Methodology, RSM) เป็นวิธีการทางคณิตศาสตร์และสถิติที่เป็นประโยชน์ในการสร้างแบบจำลองและวิเคราะห์ปัญหา ซึ่งแสดงผลตอบสนองต่อผลจากตัวแปรต่างๆ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อหาจุดหรือความเหมาะสมต่อผลนั้น (Montgomery, 2001) RSM เป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพกับกระบวนการที่มีความซับซ้อน ทำให้ง่ายในการจัดการและการอธิบายผล เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการอื่น (Box & Behnken, 1960; Gan & Latiff, 2011) ในงานวิจัยนี้ศึกษาประสิทธิภาพการสกัดแอนโทไซยานินจากกระเจี๊ยบแดงด้วยคลื่นอัลตราโซนิก ซึ่งเป็นวิธีการที่สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดให้สูงขึ้น ด้วยระยะเวลาในการสกัดที่สั้นลง และได้ปริมาณของสารสำคัญสูงขึ้น โดยศึกษาความสัมพันธ์ของอัตราส่วนตัวทำละลายในอัตราส่วนที่ต่างกัน ระยะเวลาการสกัดและกำลังคลื่นอัลตราโซนิกที่ความถี่ 40 kHz ต่อประสิทธิภาพการสกัดแอนโทไซยานินจากกระเจี๊ยบแดง

วัตถุประสงค์

ศึกษาผลของคลื่นอัลตราโซนิกระยะเวลาการสกัดและอัตราส่วนตัวทำละลายต่อการสกัดแอนโทไซยานินจากกระเจี๊ยบแดง

วิธีการทดลอง

1. ศึกษาผลของกำลังอัลตราโซนิก อัตราส่วนของกระเจี๊ยบต่อตัวทำละลายและเวลาต่อการสกัดแอนโทไซยานิน จากกระเจี๊ยบแดง

นำกระเจี๊ยบมาสกัดกับน้ำกลั่นปริมาตร 3 ลิตร ด้วยคลื่นอัลตราโซนิกระดับความถี่ (Ultrasonic Power) 40 kHz สภาวะดังนี้

- กำลังอัลตราโซนิก 40 , 60 และ 80 เวย์ต์ (40 W x 4)
- อัตราส่วนของกระเจี๊ยบต่อตัวทำละลาย 10, 20 และ 30 กรัม/น้ำ 3 ลิตร
- ระยะเวลาการสกัด 15, 30 และ 45 นาที

2. การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานิน

ปิเปตสารสกัดที่ได้ปริมาณ 8 มิลลิลิตร ใส่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด เก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร แล้วคำนวณปริมาณแอนโทไซยานินตามสูตร (Hong & Wrolstad, 1990)

$$T_{Acy} = O.D. \times DV \times \frac{100}{SV} \times \frac{TEV}{SW} \times \frac{1}{E_{1CM}^{1\%}}$$

โดยที่ T_{Acy}	คือ ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด (มิลลิกรัมแอนโทไซยานินต่อวัตถุดิบ 100 กรัม)
O.D.	คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้จากสารละลายสกัดที่เจือจางแล้ว
DV	คือ ปริมาตรของสารละลายสกัดที่ได้เจือจางแล้ว (มิลลิลิตร)
SV	คือ ปริมาตรของสารละลายสกัดที่เตรียมสำหรับเจือจาง (มิลลิลิตร)
TEV	คือ ปริมาตรทั้งหมดของสารละลายสกัดที่ได้ (มิลลิลิตร)
SW	คือ น้ำหนักของตัวอย่างที่ใช้สกัด (กรัม)
$E_{1CM}^{1\%}$	คือ ค่า Extinction coefficient ของ Delphinidin -3-glucoside เท่ากับ 559

3. การวิเคราะห์คุณสมบัติการต้านออกซิเดชัน (Maisuthisakul et al., 2008)

3.1 การเตรียมสารละลาย 2,2-Diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) ในเอทานอล

การเตรียมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 6×10^{-5} โมล โดยนำ DPPH น้ำหนัก 2.4 มิลลิกรัม มาละลายในเอทานอล 100 มิลลิลิตร ปิเปตสารละลาย 3 มิลลิลิตร ในเวลา 1 ชั่วโมงทดสอบการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร (A_b)

3.2 การเตรียมสารตัวอย่างและการวิเคราะห์

นำสารสกัดที่ได้มาเจือจาง 20 เท่าของสารสกัดเริ่มต้น ปิเปตสารสกัดมา 0.5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยเอทานอลให้ครบ 10 มิลลิลิตร ปิเปตสารละลาย DPPH 3 มิลลิลิตร ใส่ในสารสกัด เก็บในที่มืด 15 นาที และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร (A_s)

$$\text{การคำนวณ \% Inhibition} = \frac{A_b - A_s}{A_b} \times 100$$

เมื่อ A_b = ค่าการดูดกลืนแสงของ Blank

A_s = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

4. การวิเคราะห์ค่าสี

นำสารสกัดที่ได้มาวัดค่าสีโดยระบบ CIE LAB L a b ด้วยเครื่อง Handy colorimeter

5. การวิเคราะห์ทางสถิติ

จากการวางแผนการทดลองด้วยวิธีพื้นผิวตอบสนองแบบ Response Surface Design (RSD) แบบ Box-Behnken Design กำหนดช่วงของปัจจัยที่ศึกษาดังตารางที่ 1 ทำให้ได้ผลการทดลองทั้งหมด 15 Design Point ประกอบด้วยจุดกึ่งกลาง (Center Point) จำนวน 3 จุดและ factorial Point จำนวน 12 จุด

ตารางที่ 1 ช่วงของค่าระดับทั้ง 3 ปัจจัยที่ทำการทดลอง

ปัจจัย	สัญลักษณ์	รหัสของปัจจัย		
		-1	0	1
กำลังอัลตราโซนิก (เปอร์เซ็นต์)	X_1	40	60	80
เวลา (นาที)	X_2	15	30	45
อัตราส่วนกระเจียบต่อตัวทำละลาย (กรัมต่อน้ำ 3 ลิตร)	X_3	10	20	30

จากการทดลองแบบ RSD สามารถแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอิทธิพลของตัวแปรอิสระที่ศึกษา (Independent Variable) คือ กำลังอัลตราโซนิก เวลาในการสกัดและอัตราส่วนกระเจียบต่อตัวทำละลาย แอนโทไซยานินจากกระเจียบแดง ดังสมการที่ 1

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 \quad \dots(1)$$

โดยที่ Y คือปริมาณแอนโทไซยานิน x_1 คือ กำลังของคลื่นอัลตราโซนิก (%) x_2 คือ เวลาในการสกัด (นาท) x_3 คือ อัตราส่วนกระเจียบต่อตัวทำละลาย (กรัมต่อน้ำ 3 ลิตร) ในขณะที่ β_i คือค่าสัมประสิทธิ์การถดถอย (Regression Coefficients) หน้าตัวแปรแต่ละตัวแปร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1) ผลของสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดแอนโทไซยานินจากกระเจียบแดง

จากการศึกษาปัจจัยของกำลังอัลตราโซนิก เวลาในการสกัด และอัตราส่วนกระเจียบต่อตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดแอนโทไซยานิน 3 ระดับ คือ กำลังอัลตราโซนิก 40, 60 และ 80 เปอร์เซ็นต์ เวลาในการสกัด 15, 30 และ 45 นาที และอัตราส่วนของกระเจียบต่อตัวทำละลายที่ 10, 20 และ 30 กรัมต่อน้ำกลั่น 3 ลิตร ปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้ คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ และค่าสี แสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลของอัลตราโซนิกต่อการสกัดแอนโทไซยานินจากกระเจียบแดง

Run order	Std Order	อัลตราโซนิก (%)	เวลา (นาท)	อัตราส่วน (g/3L)	แอนโทไซยานิน (mg/100g)	%Inhibition	L	a	b
7	1	40	15	20	21.99	72.10	20.93	15.70	20.30
12	5	40	30	10	16.77	77.37	24.00	14.83	24.63
13	14	40	30	20	24.60	84.91	16.70	11.30	11.20
2	7	40	30	30	35.78	78.77	16.97	18.30	14.30
8	3	40	45	20	26.83	78.25	20.43	17.83	21.50
11	9	60	15	10	10.81	76.84	26.87	6.47	28.93
5	11	60	15	30	17.89	78.60	23.23	12.47	16.70
1	13	60	30	20	22.36	84.91	17.43	10.23	12.27
3	15	60	30	20	23.48	84.91	18.10	10.80	12.80
6	10	60	45	10	15.65	84.74	17.43	9.90	14.00
14	12	60	45	30	44.72	86.08	14.07	9.53	8.50
15	2	80	15	20	11.18	85.20	19.70	9.73	15.00
4	8	80	30	30	40.25	81.83	14.60	3.00	2.90
9	6	80	30	10	19.75	87.43	19.17	10.83	13.50
10	4	80	45	20	36.15	84.80	14.70	11.03	8.50

หลังจากนั้นนำค่าที่ได้จากตารางที่ 2 มาวิเคราะห์ผลด้วยวิธี Response Surface Method ได้ผลการวิเคราะห์ ดังนี้

ตารางที่ 3 ค่า p-value ที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธีตอบสนองแบบพื้นผิว

ตัวแปร	แอนโทไซยานิน	%Inhibition	L	a	b
x_1	0.004	0.017	0.981	0.119	0.698
x_2	0.159	0.036	0.360	0.607	0.111
x_3	0.133	0.175	0.177	0.022	0.181
x_1^2	0.015	0.073	0.940	0.061	0.753
x_2^2	0.030	0.093	0.223	0.765	0.062
x_3^2	0.162	0.401	0.294	0.202	0.466
$x_1 x_2$	0.002	0.195	0.361	0.842	0.254
$x_1 x_3$	0.678	0.165	0.607	0.035	0.966
$x_2 x_3$	0.001	0.926	0.953	0.167	0.311

หมายเหตุ x_1 คือ กำลังของคลื่นอัลตราโซนิก(%)
 x_2 คือ เวลาในการสกัด(นาที)
 x_3 คือ อัตราส่วนกระเจียบต่อตัวทำละลาย(กรัมต่อน้ำ 3 ลิตร)

ตารางที่ 4 ค่าทางสถิติของแบบจำลองแต่ละชนิด

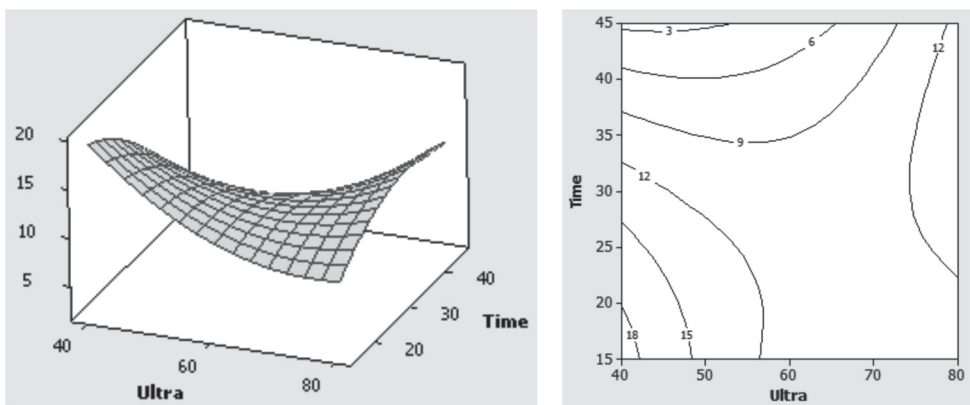
Regression	Sum of square	R ²	F value	P>F
Anthocyanin				
Linear	1192.47	0.792	8.71	0.020
Quadratic	76.81	0.051	8.92	0.019
Crossproduct	222.75	0.148	25.88	0.002
Total Model	1492.02	0.991	57.79	<0.001
%Inhibition				
Linear	189.878	0.6834	5.76	0.045
Quadratic	42.148	0.1517	3.04	0.132
Crossproduct	22.662	0.0816	1.63	0.294
Total Model	254.689	0.9167	6.11	0.030
L value				
Linear	140.909	0.7480	1.08	0.438
Quadratic	15.806	0.0839	1.05	0.447
Crossproduct	6.595	0.0350	0.44	0.736
Total Model	163.310	0.8669	3.62	0.085
a Value				
Linear	130.683	0.5785	5.90	0.043
Quadratic	33.515	0.1484	2.87	0.143
Crossproduct	42.239	0.1870	3.62	0.100
Total Model	206.437	0.9139	5.89	0.033
b Value				
Linear	496.244	0.7986	1.77	0.269
Quadratic	54.403	0.0876	2.03	0.288
Crossproduct	26.164	0.0421	0.98	0.473
Total Model	576.811	0.9283	7.19	0.021

2.1) ปริมาณแอนโทไซยานิน

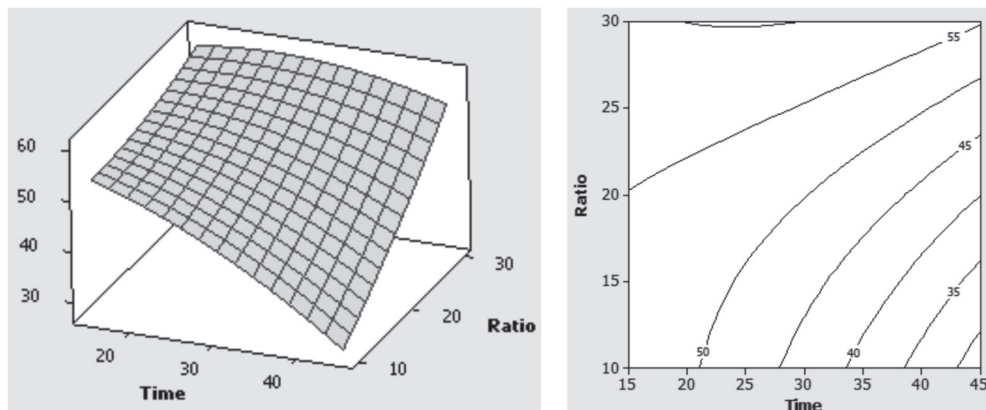
จากผลการทดลองสามารถสร้างความสัมพันธ์ระหว่างกำลังของอัลตราโซนิก (x_1) เวลาในการสกัด (x_2) และอัตราส่วนกระเจียบต่อตัวทำละลาย (x_3) ต่อปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้ (Y_1) ดังสมการที่ 2

$$Y_1 = 65.4537 - 1.46737x_1 - 0.518833x_2 - 0.843x_3 + 0.00803437x_1^2 - 0.0118056x_2^2 + 0.0144375x_3^2 + 0.0167750x_1x_2 + 0.0018625x_1x_3 + 0.03665x_2x_3 \quad R^2=99.05\% \quad \dots(2)$$

จากภาพที่ 1 และ 2 พบว่า Response Optimizer ของสภาวะการสกัดที่ทำให้ได้ปริมาณแอนโทไซยานินสูงสุด 54.27 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม คือ ที่กำลังของอัลตราโซนิก 80 เปอร์เซนต์ เวลาในการสกัด 45 นาที และอัตราส่วนกระเจียบต่อตัวทำละลาย 30 กรัมต่อน้ำ 3 ลิตร จากตารางที่ 3 ปัจจัยจากกำลังของอัลตราโซนิก (x_1) เป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้จากกระเจียบแดงมากกว่าปัจจัยอื่น ($P=0.004$) เนื่องจากการใช้คลื่นอัลตราโซนิกจะส่งผลต่อการสั่นสะเทือนของโมเลกุลตัวทำละลายและกระเจียบแดงทำให้เกิดการบีบอัดและคลายตัวของตัวกลางเข้าไปมาหลายพันรอบต่อวินาที (Cavitation) (Awad, 2011) จึงเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสของแอนโทไซยานินกับตัวทำละลายจึงเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดแอนโทไซยานิน สอดคล้องกับค่าสัมประสิทธิ์หน้าตัวแปร x_1 เท่ากับ 1.46737 ซึ่งมากกว่าค่าสัมประสิทธิ์อื่น ทั้งนี้การเปลี่ยนแปลงของกำลังของอัลตราโซนิก (x_1^2) ($P=0.015$) และเวลาในการสกัด (x_2^2) ($P=0.030$) ส่งผลต่อปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้ (Y_1) เช่นกัน ผลของปัจจัยร่วมของกำลังของอัลตราโซนิก/เวลาในการสกัด (x_1x_2) และเวลาในการสกัด/อัตราส่วนกระเจียบต่อตัวทำละลาย (x_2x_3) ส่งผลต่อปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้จากกระเจียบแดงเช่นกัน ($P=0.002$ และ $P=0.001$ ตามลำดับ) สอดคล้องกับค่า P ของแอนโทไซยานินจากตารางที่ 4 ที่สามารถทำนายด้วยความสัมพันธ์ของสมการแบบ Linear ($P=0.020$) Quadratic ($P=0.019$) และ Crossproduct ($P=0.002$) ดังนั้นสมการที่ 2 จึงสามารถนำมาใช้ในการทำนายปริมาณแอนโทไซยานินได้เป็นอย่างดี ($R^2=99.05\%$)



ภาพที่ 1 ความสัมพันธ์ของกำลังของอัลตราโซนิกและเวลาในการสกัดต่อปริมาณแอนโทไซยานิน



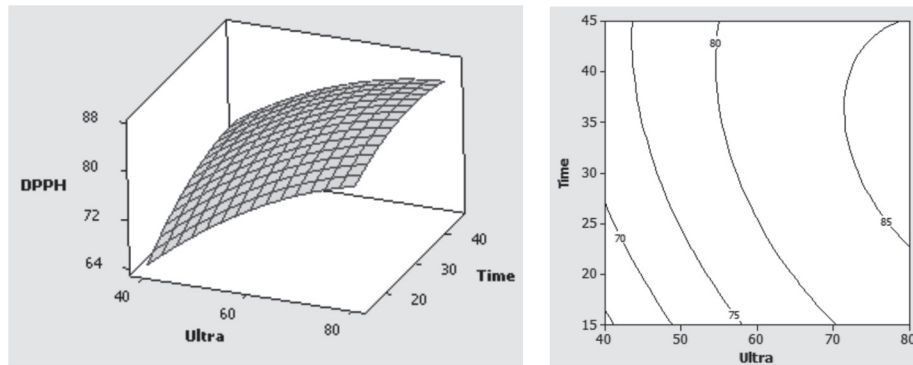
ภาพที่ 2 ความสัมพันธ์ของเวลาในการสกัดและอัตราส่วนกระเจียบต่อปริมาณแอนโทไซยานิน

2.2) คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

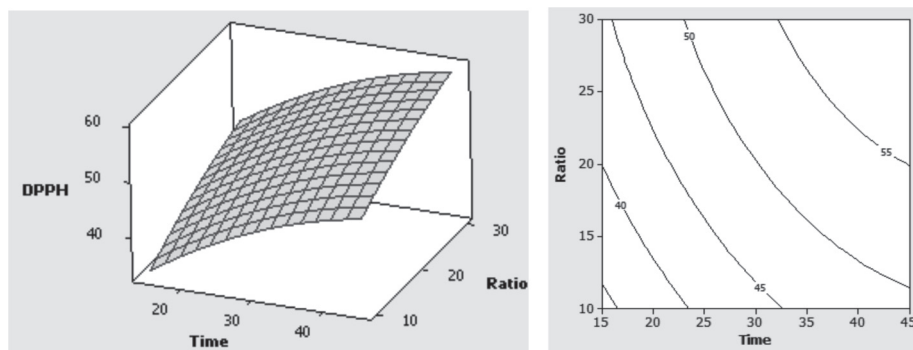
จากผลการทดลองสามารถสร้างความสัมพันธ์ระหว่างกำลังของอุลตราโซนิก (x_1) เวลาในการสกัด (x_2) และอัตราส่วนกระเจียบต่อตัวทำละลาย (x_3) ต่อคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ (Y_2) ดังสมการที่ 3

$$Y_2 = 10.875 + 1.22987x_1 + 1.131x_2 + 0.94325x_3 - 0.00633125x_1^2 - 0.0103x_2^2 - 0.010275x_3^2 - 0.00536667x_1x_2 - 0.00875x_1x_3 - 0.0007x_2x_3 \quad R^2=91.67\% \quad \text{.....(3)}$$

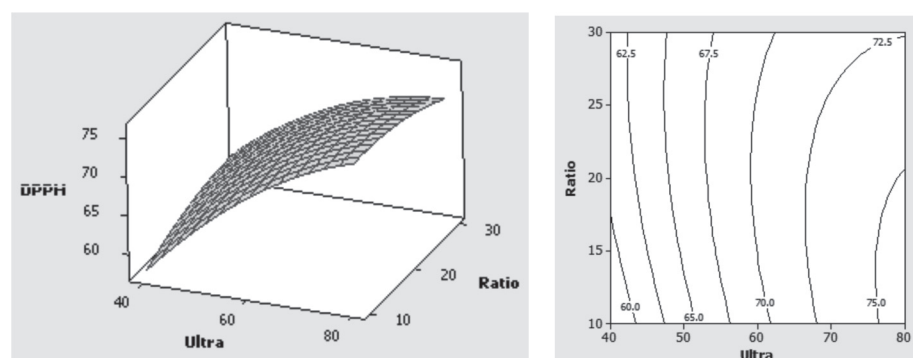
จากภาพที่ 3, 4 และ 5 พบว่า Response optimizer ของสถานะที่ทำให้ได้คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระสูงสุดร้อยละ 87.46 คือ กำลังอุลตราโซนิกที่ 80 เปอร์เซ็นต์ เวลาในการสกัด 33.7879 นาที และอัตราส่วนกระเจียบต่อตัวทำละลาย 10.6061 กรัมต่อน้ำ 3 ลิตร เนื่องจากการกำลังอุลตราโซนิกจะส่งผลต่อการสั่นสะเทือนของโมเลกุลตัวทำละลายและกระเจียบแดงเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดแอนโทไซยานินทำให้คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระสูงขึ้น จากตารางที่ 3 ปัจจัยจากกำลังอุลตราโซนิก (x_1) และเวลาในการสกัด (x_2) เป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระที่สกัดได้จากกระเจียบแดง ($P=0.017$ และ $P=0.036$ ตามลำดับ) แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์แบบเส้นตรง ($P=0.045$) (ตารางที่ 4) สอดคล้องกับสมการที่ 3 ค่าสัมประสิทธิ์หน้าตัวแปร x_1 เท่ากับ 1.22987 และค่าสัมประสิทธิ์หน้าตัวแปร x_2 เท่ากับ 1.131 ทำให้สมการที่ 3 สามารถนำมาใช้ได้เป็นอย่างดี ($R^2=91.67\%$) จากภาพที่ 3, 4 และ 5 เมื่อกำลังอุลตราโซนิก (x_1) และเวลาในการสกัด (x_2) เพิ่มขึ้น คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่ได้จะมีค่าเพิ่มขึ้นเช่นกัน



ภาพที่ 3 ความสัมพันธ์ของกำลังของอัลตราโซนิกและเวลาในการสกัดต่อคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ



ภาพที่ 4 ความสัมพันธ์ของเวลาในการสกัดและอัตราส่วนกระเจียบต่อคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ



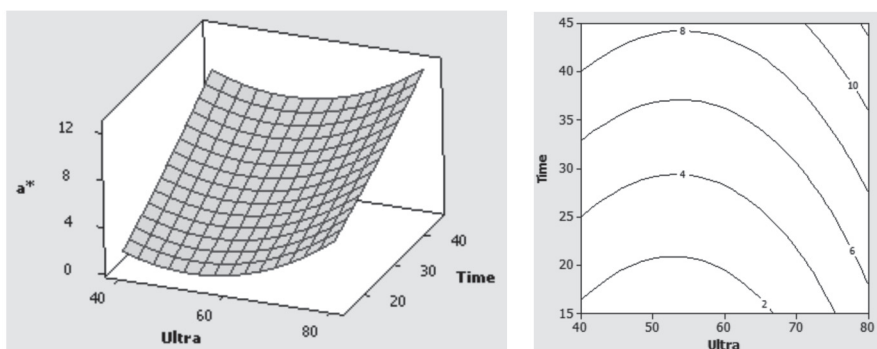
ภาพที่ 5 ความสัมพันธ์กำลังของอัลตราโซนิกและอัตราส่วนกระเจียบต่อคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

2.3) ค่าสีแดง (a^*)

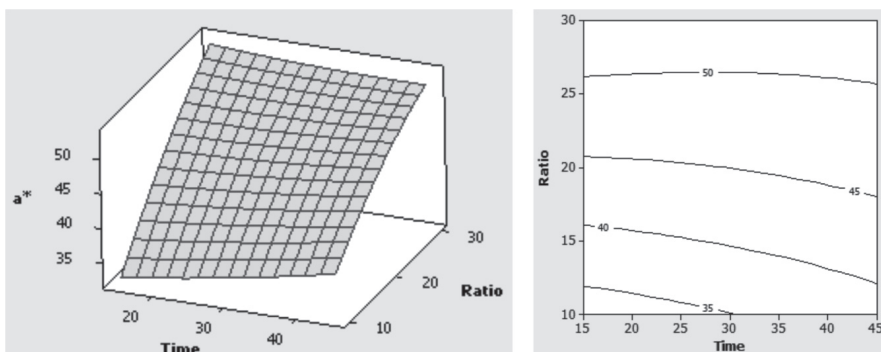
จากผลการทดลองสามารถสร้างความสัมพันธ์ระหว่างกำลังอัลตราโซนิก (x_1) เวลาในการสกัด (x_2) และอัตราส่วนกระเจียบต่อตัวทำละลาย (x_3) ต่อค่าสีแดง (Y_3) ดังสมการที่ 4

$$Y_3 = 14.4488 - 0.63868x_1 + 0.200056x_2 + 1.78521x_3 + 0.00617917x_1^2 + 0.00144074x_2^2 - 0.0150833x_3^2 - 0.000691x_1x_2 - 0.014125x_1x_3 - 0.0106167x_2x_3 \quad R^2 = 91.39\% \quad \dots(4)$$

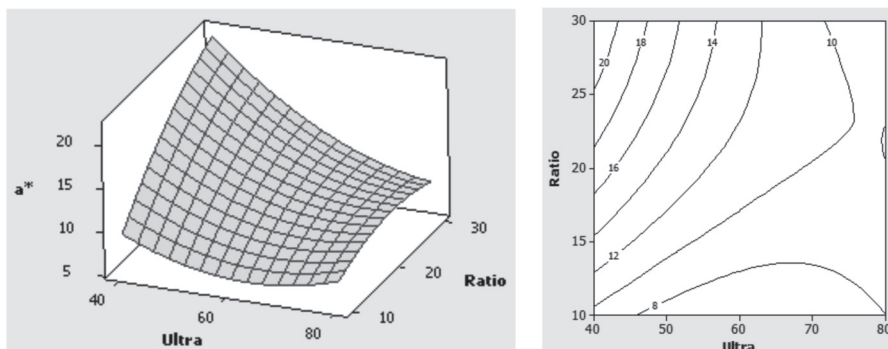
จากภาพที่ 6, 7 และ 8 จากตารางที่ 3 ปัจจัยจากอัตราส่วนกระเจียบต่อตัวทำละลาย (x_3) เป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อค่าสีแดงมากกว่าปัจจัยอื่น ($P=0.022$) เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงปริมาณกระเจียบต่อตัวทำละลายเป็นปัจจัยที่ส่งผลโดยตรงต่อปริมาณแอนโทไซยานิน สอดคล้องกับค่าสัมประสิทธิ์หน้าตัวแปร x_3 เท่ากับ 1.78521 ซึ่งมีค่าสูงที่สุด จากตารางที่ 4 สามารถทำนายด้วยความสัมพันธ์ของสมการแบบ Linear ($P=0.043$) ทำให้สมการที่ 4 สามารถนำมาใช้ได้เป็นอย่างดี ($R^2=91.39\%$) ทั้งนี้ปัจจัยร่วมของเวลาในการสกัดและอัตราส่วนกระเจียบต่อตัวทำละลาย (x_2x_3) มีผลต่อค่าสีแดง (Y_3) ($P=0.035$)



ภาพที่ 6 ความสัมพันธ์ของกำลังของอัลตราโซนิกและเวลาในการสกัดต่อค่าสีแดง



ภาพที่ 7 ความสัมพันธ์ของเวลาในการสกัดและอัตราส่วนกระเจียบต่อค่าสีแดง



ภาพที่ 8 ความสัมพันธ์กำลังของอัลตราโซนิกและอัตราส่วนกระเจียบต่อค่าสีแดง

สรุปผลการทดลอง

จากการวิเคราะห์หาสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดแอนโทไซยานินจากกระเจียบแดงด้วยวิธีพื้นผิวตอบสนอง (Response Optimizer) พบว่าที่ที่กำลังของอัลตราโซนิก 80 เปอร์เซ็นต์ เวลาในการสกัด 45 นาที และอัตราส่วนกระเจียบต่อตัวทำละลาย 30 กรัมต่อน้ำ 3 ลิตร สามารถสกัดแอนโทไซยานินได้สูงสุด 54.27 มิลลิกรัมแอนโทไซยานินต่อวัตถุดิบ 100 กรัม ผลของกำลังอัลตราโซนิกเป็นปัจจัยหลักที่มีผลต่อประสิทธิภาพการสกัดสารสำคัญจากกระเจียบแดง (x_1 , $P=0.004$) มากที่สุด ทั้งนี้ปัจจัยเสริมสำคัญที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการสกัดของอัลตราโซนิกคือเวลาในการสกัด (x_2 , $P=0.036$) แต่ปัจจัยเสริมของกำลังอัลตราโซนิก (x_1 , $P=0.017$) และระยะเวลาในการสกัด (x_1x_2 , $P=0.002$) ก็ส่งผลข้างเคียงต่อคุณสมบัติของสารสำคัญที่ได้จากการสกัด คือ คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสภาวะการสกัดดังกล่าวไม่ส่งผลต่อลักษณะปรากฏค่าสีแดงของสารสกัดที่ได้นอกจากอัตราส่วนกระเจียบต่อตัวทำละลาย (x_3 , $P=0.022$)

References

- Awad, S.B. (2011). High power ultrasound in surface cleaning, in: H. Feng, G.V. Barbosa-Canovas, J. Weis (Eds.), *Ultrasound Technologies for Food and Bioprocessing*. New York: Springer.
- Box, G.E.P. & Behnken, D.W. (1960). Some new three level designs for the study of quatitative variables. *Technometrics*. 2: 455-475.
- Cisse, M., Vaillant, F., Acosta, O., Dhuique-Mayer, C., & Dornier, M. (2009). Thermal degradation kinetics of anthocyanins from blood orange, blackberry, and Roselle using the Arrhenius, eyring, and ball models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57: 14. 6285-6291.
- Cisse, M., Bohuon, P., Sambe, F., Kane, C., Sakho, M., & Dornier, M. (2012). Aqueous extraction of anthocyanins from Hibiscus sabdariffa: Experimental kinetics and modeling. *Journal of Food Engineering*. 109: 16-21.
- Gan, C.Y. & Latiff, A.A. (2011). Extraction of antioxidant pectic-polysaccharide from mangosteen(*Garcinia mangostana*) rind: optimization using response surface methodology. *Carbohydrate Polymers*. 83: 600-607.
- Halimatul, S.M.N., Amin, I., Mohd-Esa, N., Nawalyah, A.G., & Muskinah, M. (2007). Protein quality of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) seeds. *Asean Food Journal*. 14: 131-140.
- Hong, V., & Wrolstad, R.E. (1990). Use of HPLC separation/photodiode array detection for characterization of anthocyanin. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 38: 708-715.
- Maisuthisakul P, Pasuk S. & Ritthiruangdej. (2008). Relationship between antioxidant properties and chemical composition of some Thai plants. *Journal of Food Composition Analysis*. 21:229-240.
- Montgomery, D.C. (2011). *Design and analysis of experiments*. New York: John Willey & Sons Inc. pp.427-510.
- Mohd-Esa, N., Hern, F.S., Ismail, A., & Yee, C.L. (2010). Antioxidant activity in different parts of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extracts and potential exploitation of the seeds. *Food Chemistry*. 122: 1055-1060.

- Pandey, K.B., & Rizvi, S.I.(2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and cellular longevity*. 2, 21-24.
- Pouget, M.P., Vennat, B., Lejeune, B., & Pourrat, A. (1990). Identification of anthocyanins of *Hibiscus sabdariffa* L. *Lebensmittel Wissenschaft and Technologie*. 23(2): 101-102.
- Tsai, P. J., & Ou, A. S. M. (1996). Colour degradation of dried roselle during storage. *Food Science.*, 23: 629–640.
- Valero M., Recrosio N., Saura D., Munoz N., Martic N. & Lizama V., (2007). Effects of ultrasonic treatments in orange juice processing. *Journal of Food Engineering*. 80: 509-516.
- Vilkhu K., Mawson R. , Simons L., & Bates D. (2008). Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry – A review. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 9:161-169.
- Zhang, Z., Kou, X., Fugal, K., & McLaughlin, J. (2004). Comparison of HPLC methods for determination of anthocyanins and anthocyanidins in bilberry extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52:688-691.

ผู้เขียน

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ณรงค์พันธุ์ รัตนปนัดดา

อาจารย์ประจำโรงเรียนการเรือน มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต

email: narongphan_rat@dusit.ac.th

