รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ผลของอุณหภูมิและความเข้มข้นในการสกัดต่อคุณภาพของน้ำใบเตย

(Effect of extraction temperature and concentration
on the quality of pandan juice)

โดย

ผศ.ดร.วิจิตรา เหลียวตระกูล

ดร.วชิรญา เหลียวตระกูล และนายธนาธิป หงษ์ทองสุข

คณะเทคโนโลยีการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ

ทุนวิจัยเพื่อยกระดับปริญญานิพนธ์สู่งานวิจัย

กองทุนส่งเสริมงานวิจัย ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2564

ผลของอุณหภูมิและความเข้มข้นในการสกัดต่อคุณภาพของน้ำใบเตย

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอุณหภูมิและอัตราส่วนในการสกัดที่มีผลต่อคุณภาพทางกายภาพและเคมี และการประเมินทางประสาทสัมผัสของน้ำใบเตย โดยวางแผนการทดลองแบบแฟกทอเรียล 2 ปัจจัย และจุดศูนย์กลาง (2^2 Factorial and 3 Center points) ได้แก่ อัตราส่วนใบเตยต่อน้ำที่ระดับ 0.5:1, 2.0:1 และ 1.25:1 และอุณหภูมิของน้ำที่นำมาสกัด 25, 60 และ 95 องศาเซลเซียส จากการทดลองพบว่าอัตราส่วนของในเตยที่เพิ่มขึ้นทำให้ค่าของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ค่าความสว่าง L* ปริมาณสารประกอบฟีนอล กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ (DPPH) ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี และคลอโรฟิลล์รวมเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น ทำให้ค่าความสว่าง L* ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ (DPPH) เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งยังมีผลต่อกลิ่นของน้ำใบเตยอีกด้วย ในขณะที่อุณหภูมิของน้ำไม่มีผลต่อปริมาณคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี และคลอโรฟิลล์รวมของน้ำใบเตยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สภาวะการเตรียมน้ำใบเตยสกัดที่เหมาะสมที่สุด คือการเตรียมโดยใช้ใบเตยต่อน้ำ 2.0 เท่า และอุณหภูมิของน้ำ 95 องศาเซลเซียส ทำให้ได้ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี และคลอโรฟิลล์รวมมากที่สุด ให้คะแนนด้านกลิ่นจากผู้ทดสอบสูงที่สุด และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด

คำสำคัญ: ใบเตย, การสกัดด้วยน้ำ, อุณหภูมิ, อัตราส่วน

Effect of extraction temperature and concentration on the quality of pandan juice

Abstract

The objectives of the study were to study temperatures and ratios on physical and chemical qualities, and sensory evaluation of pandan juice. The experiments were designed as 2^2 Factorial and 3 Center points, namely pandan to water ratios at the levels of 0.5:1, 2.0:1 and 1.25:1, and water temperatures at 25, 60 and 95 °C. According to the experiment, it was found that an increased pandan ratio resulted in increased statistically of total soluble solids, lightness (L*), total phenolic content, antioxidant activity (DPPH), chlorophyll A, chlorophyll B, and total chlorophyll. When the temperature increased, the lightness (L*), total phenolic content, antioxidant activity (DPPH) increased significantly, and also affected the odor of the pandan juice. On the other hand, water temperature had no significant effect on the chlorophyll A, chlorophyll B and total chlorophyll. The optimal preparation conditions of pandan juice were suggested to prepare by using pandan 2.0 times compared to water, and water temperature at 95 °C, resulting in the highest chlorophyll A, Chlorophyll B and total Chlorophyll, odor score from the panelists, total phenolic content, and antioxidant activity.

Keyword: Pandan, water extraction, temperature, ratio

สารบัญ

เรื่อง	*หน้า*
บทคัดย่อ	ก
Abstract	ข
สารบัญ	ค
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร	3
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย	16
บทที่ 4 ผลการทดลอง	18
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	27
เอกสารอ้างอิง	28
ภาคผนวก	31
ภาคผนวก ก - การวิเคราะห์คุณภาพด้านกายภาพและเคมี	32
ภาคผนวก ข – แบบประเมินทางประสาทสัมผัส	34
ภาคผนวก ข – แบบสรุปคุณลักษณะและการใช้ประโยชน์จากการวิจัย	35

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มา

เตย หรือเตยหอม (*Pandanus amarylifolius* Roxb.) จัดอยู่ในวงศ์ Pandanaceae เป็นพรรณไม้จำพวกหญ้าชอบขึ้นตามริมน้ำหรือในที่ชื้นแฉะ ใบเตยมีลักษณะเป็นใบยาวเรียว ปลายใบแหลม มีสีเขียวเป็นมัน ประกอบด้วย chlorophyll และ xanthophyll เป็นรงควัตถุที่สำคัญลักษณะเด่นของใบเตย คือ มีกลิ่นหอม และมีสีเขียวสด จึงนิยมนำมาประกอบอาหาร ของหวาน หรือเครื่องดื่มต่าง ๆ เพื่อแต่งกลิ่นและสีให้น่ารับประทานยิ่งขึ้น (ศยามล, 2544) นอกจากนี้ใบเตยยังมีสรรพคุณทางยาในตำรายาไทย จะพบว่าต้นและรากของเตยสามารถใช้เป็นยาขับปัสสาวะได้ ส่วนใบเตยมีสรรพคุณช่วยในการบำรุงหัวใจ ช่วยลดอาการของโรคหืด (ศิวัฒ, 2555) เตยหอมให้สีเขียวในการแต่งสีขนมได้หลายชนิด เนื่องจากในใบเตยมีสารสีจากคลอโรฟิลล์ (chlorophyll) และยังใช้แต่งกลิ่นให้หอมอีกด้วย เช่น แต่งกลิ่นในขนมหลายชนิด ได้แก่ ขนมขี้หนู ลอดช่องซ่าหริ่ม ขนมชั้น ฯลฯ การใบเตยเพื่อให้สีเขียวต้องหลีกเลี่ยงความร้อนสูงเกินไป เพราะความร้อนสูงจะทำให้สีเขียวจากใบเตยจะเกิดการเปลี่ยนแปลงจากสีเขียวเป็นสีเหลือง โดยในธรรมชาติมีคลอโรฟิลล์อยู่หลายชนิดด้วยกัน เช่น คลอโรฟิลล์ เอ (chlorophyll a) และคลอโรฟิลล์ บี (chlorophyll b) ทำให้คลอโรฟิลล์ทั้งสองชนิดนี้มีสีต่างกันเล็กน้อย โดยที่คลอโรฟิลล์ เอ มีสีเขียวเข้ม ส่วนคลอโรฟิลล์ บี มีสีเขียวอ่อน นอกจากนี้คลอโรฟิลล์แล้ว เตยหอมยังประกอบด้วยสารแอนติออกซิแดนซ์ คือ เบต้าแคโรทีน ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากสามารถหยุดปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระได้ เตยหอมเป็นพืชที่มีกลิ่นรสหอม ยังมีน้ำมันหอมระเหยซึ่งประกอบไปด้วยสารหลายชนิด เช่น ไลนาลิล อะซีเตท (linalyl acetate) เบนซิลอะซีเตท (benzyl acetate) ไลนาโลออท (linalool) และเจอรานิออล (geraniol) เตยหอมประกอบด์วยสารสี คือ คลอโรฟิลล์ และแอนโทไซยานิน (anthocyanin) ประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหยหลายชนิด เช่น แพนดานาไมน์ (Pandanamine) ไลนาลิลอะซีเตท (Linalyl acetate) เบนซิลอะซีเตท (Benzyl acetate) ไลนาโลออล (Linalool) และเจอรานิออล (geraniol) และประกอบด้วยสารที่ให้กลิ่นหอม คือ คูมาริน (Coumarin) และเอทิลวานิลลิน (Ethyl vanillin) (Linda et al., 2004)

ในขนมไทยหลายชนิด เช่น ขนมชั้น ซ่าหริ่มและลอดช่อง เป็นต้น มีการใช้สีและกลิ่นสังเคราะห์ แต่ในปัจจุบันพบว่าผู้บริโภคหันมาใส่ใจกับสุขภาพของตนเองมากขึ้น ซึ่งต้องการบริโภคขนมไทยที่มีการแต่งสีและกลิ่นที่สกัดได้จากธรรมชาติแทนการใช้สีและกลิ่นที่ได้จากการสังเคราะห์ขึ้น ซึ่งสารปรุงแต่งสีหรือสีผสมอาหารเป็นสารที่เติมลงในอาหารเพื่อเพิ่มความสวยงาม ทำให้อาหารดูน่ารับประทานมากยิ่งขึ้น การเติมสีผสมอาหารลงในอาหารเป็นสิ่งที่ทำกันมานานแล้ว ในสมัยโบราณมีการใช้สีผสมอาหารซึ่งได้จากวัตถุดิบที่มีอยู่ตามธรรมชาติ ปัจจุบันการผลิตอาหารจำเป็นต้องผลิตให้ได้ในปริมาณที่มาก ตามปริมาณของประชากรที่เพิ่มมากขึ้นทำให้ความต้องการใช้สีผสมอาหารเพิ่มตามไปด้วย สีและกลิ่นจากใบเตยก็เป็นสารธรรมชาติชนิดหนึ่งที่สามารถใช้ทดแทนสีและกลิ่นสังเคราะห์ในขนมไทยหลายชนิด แต่เนื่องจากการนำใบเตยสดมาใช้ประกอบอาหารเพื่อแต่งสีและกลิ่น ต้องผ่านขั้นตอนในการสกัดน้ำใบเตย ซึ่งมีวิธีการค่อนข้างจะยุ่งยากและใช้เวลานาน นอกจากนี้ยังหาซื้อใบเตยได้ยาก เมื่อเตรียมเสร็จจะต้องใช้ทันทีและยังมีอายุในการเก็บรักษาที่สั้นเนื่องจากการระเหยขององค์ประกอบในสารให้กลิ่นรสจะเกิดขึ้นในตอนต้นแล้วก็จะหมดไปทำให้ไม่สะดวกต่อการใช้งาน จึงมีการใช้สีผสมอาหารแบบสังเคราะห์ขึ้นจากสารเคมีหลายชนิด เมื่อร่างกายได้รับสะสมเป็นเวลานานและในปริมาณที่มากพอก็จะทำให้เกิดอันตรายได้ หากมีการนำน้ำใบเตยสดมาผ่านการ

แปรรูปเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่ง่ายและสะดวกต่อการนำไปใช้โดยยังสามารถรักษาสีและกลิ่นของใบเตยไว้ให้ใกล้เคียงกับธรรมชาติมากที่สุด นอกจากนี้ในจังหวัดพระนครศรีอยุธยายังมีเกษตรกรผู้ปลูกเตยหอมคือ สวนเตยหอมแสงตะวัน อำเภอบางปะอิน ในพื้นที่ 10 ไร่ ที่เกษตรกรต้องการนำองค์ความรู้จากงานวิจัยนี้ไปขยายผลต่อยอดและใช้ประโยชน์ต่อไป ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงทำเพื่อศึกษาผลของอุณภูมิและความเข้มข้นที่มีผลต่อคุณภาพทางกายภาพและเคมี ได้แก่ ค่า pH ค่าความหนืด ค่าสี (L*,a*,b*) ค่าของแข็งที่ละลายในน้ำ และการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด รวมทั้งการประเมินทางประสาทสัมผัสของน้ำใบเตย

1.2 วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาอุณหภูมิและความเข้มข้นในการสกัดที่มีผลต่อคุณภาพทางกายภาพและเคมี และการประเมินทางประสาทสัมผัสของน้ำใบเตย

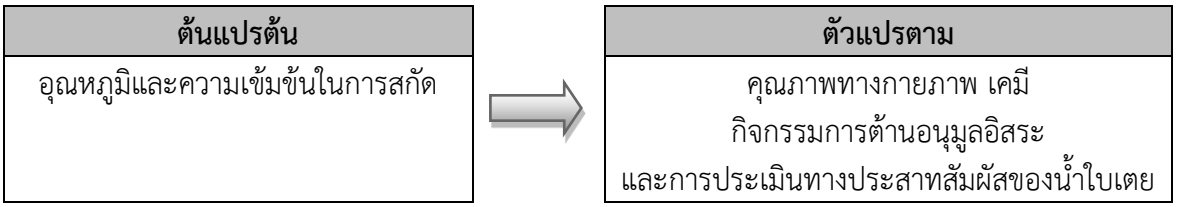
1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

การวิจัยนี้เป็นการศึกษาผลของอุณหภูมิและความเข้มข้นที่มีผลต่อคุณภาพทางกายภาพและเคมี และการประเมินทางประสาทสัมผัสของน้ำใบเตย ทำให้ได้อุณหภูมิและความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อคุณภาพของน้ำใบเตย ทำให้ได้น้ำใบเตยที่เหมาะสมในการใช้เป็นสารปรุงแต่งสีและกลิ่นจากธรรมชาติสำหรับการทำผลิตภัณฑ์อาหาร

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ผลที่ได้จากงานวิจัยครั้งนี้ ทำให้ได้อุณหภูมิและความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อคุณภาพของน้ำใบเตย ทำให้ได้น้ำใบเตยที่เหมาะสมในการใช้เป็นสารปรุงแต่งสีและกลิ่นจากธรรมชาติสำหรับการทำผลิตภัณฑ์อาหาร และอาจขยายผลการใช้ประโยชน์เชิงพาณิชย์ต่อไป

1.5 กรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย



บทที่ 2
การตรวจเอกสาร

2.1 ใบเตย

ใบเตย มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Pandanus odorus Ridi.* และมีชื่อทางพฤกษศาสตร์ว่า *Pandanus amaryllifolius Roxb.* อยู่ในตระกูล Pandanaceae (Busqué *et al.*, 2002) เป็นพรรณไม้จำพวกหญ้า ชอบขึ้นริมน้ำหรือในที่ชื้นแฉะ ใบเตยมีลักษณะเป็นใบยาวเรียว ปลายใบแหลม ลักษณะคล้ายใบสับปะรด มีสีเขียวเป็นมัน (ภาพที่ 1) พบทั่วไปในประเทศเขตร้อนชื้น ส่วนของต้นเตยหอมที่นำมาใช้ประโยชน์อย่างมากคือ ส่วนของใบ ลักษณะเด่นของใบเตยคือ มีกลิ่นหอม (Yahya *et al.*, 2010) จากความนิยมที่มีการนำใบเตยมาแต่งกลิ่นอาหารจึงทำให้มีการแปรรูปใบเตยหลายรูปแบบ เช่น น้ำใบเตยกระป๋อง และใบเตยแห้ง เป็นต้น

ภาพที่ 1 ใบเตยสวนเตยหอมแสงตะวัน อำเภอบางปะอิน จังหวัดพระนครศรีอยุธยา

นอกจากนี้ต้นเตยหอมยังมีสรรพคุณทางยา ในตำรายาไทยจะพบว่าต้นและรากของเตยสามารถเป็นยาขับปัสสาวะได้ ส่วนใบเตยมีสรรพคุณช่วยในการบำรุงหัวใจ ช่วยลดอาการของโรคหืด แพทย์ไทยในสมัยโบราณนิยมนำใบเตยมาทำเครื่องดื่มสมุนไพร เพราะให้ความรู้สึกสดชื่นขณะดื่ม มีคุณค่าทางอาหารและปลอดภัยต่อการบริโภค (วรางคณา, 2542) คุณค่าทางโภชนาการของใบเตย แสดงดังตารางที่ 1 นอกเหนือจากวิตามินที่แสดงในตารางที่ 1 Ling and Suhaila (2001) รายงานว่าตรวจพบวิตามินและ α-tocopherol ในใบเตยในปริมาณ 131.5 mg/kg อีกด้วย

ตารางที่ 1 คุณค่าทางโภชนาการของใบเตยส่วนที่บริโภคได้ 100 กรัม

Nutrient composition per 100 g edible portion (Pandanus)			
Proximate composition	Energy	35.0	Kcal
	Moisture	85.3	g
	Protein	1.9	g
	Fat	0.8	g
	Carbohydrate	4.9	g
	Crude fiber	5.2	g
	Ash	1.9	g
Mineral	Calcium	124.0	mg
	Phosphorus	27.0	mg
	Iron	0.1	mg
Vitamin	β-carotene	2.99	mg
	Total vitamin A (RE)	0.50	mg
	Thiamin	Trace	
	Riboflavin	0.20	mg
	Niacin	1.20	mg
	Vitamin C	8.0	mg

ที่มา: กรมอนามัย (2535)

2.2 กลิ่นของใบเตย

ใบเตยมีสารหอมระเหยหลายชนิดเป็นองค์ประกอบทำให้ใบเตยมีกลิ่นหอมที่เฉพาะตัว Laksanalamai and Ilangantileke (1993) ได้ทดลองสกัดสารหอมระเหยจากใบเตยสดและใบเตยแห้งแบบฟรีซดรายด์โดยใช้วิธีการสกัดด้วยไอน้ำ จากนั้นนำสารหอมระเหยที่ได้มาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas chromatography – mass spectrometry พบว่า องค์ประกอบหลักคือ 2-acetyl-1-pyrroline (2AP) ซึ่งผู้เชี่ยวชาญการทดสอบทางประสาทสัมผัสระบุว่า เป็นสารประกอบที่ให้กลิ่นเฉพาะตัวของใบเตย นอกจาก 2AP แล้ว สารประกอบที่ให้กลิ่นในใบเตยยังมีอีกหลายชนิด โดยกลิ่นของใบเตยจะเปลี่ยนไปเมื่อมีการนำใบเตยมาผ่านการแปรรูป ซึ่งทำให้องค์ประกอบของสารให้กลิ่นในใบเตยเกิดการเปลี่ยนแปลง ในใบเตยสดประกอบด้วยสารประกอบหลายชนิด (ตารางที่ 2) แต่สารหลักที่พบในใบเตยสดคือสาร 3-methyl-2(5H)-furanone ซึ่งพบเป็นร้อยละ 73 ของสารระเหยที่วิเคราะห์ได้ทั้งหมด สาร 3-methyl-2(5H)-furanone เป็นสารที่ทำให้เกิดกลิ่นฉุน หวาน หรือกลิ่นคล้ายยา นอกจากนี้ยังพบสารให้กลิ่นเหม็น

เขียวซึ่งเป็นสารประกอบที่มีคาร์บอน 6 อะตอม ได้แก่ 3-hexanol, 4-methylpentanol, 3-hexanone และ 2-hexanone (Jiang, 1999) ซึ่งเป็นสารที่ทำให้กลิ่นของใบเตยสดแตกต่างไปจากใบเตยแปรรูปซึ่งโดยมากเป็นการนำไปผ่านความร้อน

ตารางที่ 2 สารประกอบที่วิเคราะห์พบในใบเตยสด (*Pandanus amaryllifolius*)

สารประกอบ	% of total
2-methyl-3-buten-2-one	0.44
toluene	0.16
3-hexanone	2.97
2-hexanone	2.65
3-methyl-3-pentanol	0.41
ethylbenzene	0.11
1,2-dimethylbenzene	0.13
3-penten-2-ol	0.94
3-hexanol	7.09
4-methyl-2-pentanol	6.13
1-methylcyclopentanol	1.00
3-methyl-2-pentanol	0.15
(E)-2-penten-1-ol	0.21
hexyl formate	0.21
(Z)-4-hexen-1-ol	0.13
acetic acid	0.44
2,5-hexanedione	0.14
3-methyl-2(5H)-furanone	73.07
methyl-2-hydroxylbenzoate	0.18
hexanoic acid	0.75
(E)-3-hexanoic acid	0.85
3-hexenoic acid	0.19

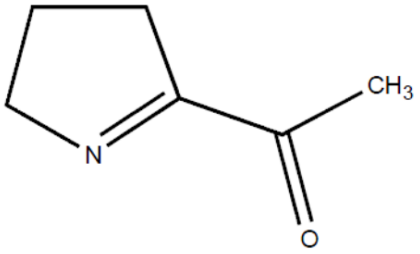
ที่มา: Jiang (1999)

2.3 สารให้กลิ่นที่สำคัญในใบเตย

แม้ว่ากลิ่นของอาหารจะเกิดจากสารระเหยหลายชนิด แต่จะมีสารระเหยเพียงบางชนิดที่เป็นสารระเหยที่มีความสำคัญต่อกลิ่นอาหารชนิดนั้นๆ ซึ่งจะเรียกสารระเหยเหล่านั้นว่าเป็น key odor compounds สำหรับในใบเตยสารระเหยที่เป็นสารให้กลิ่นสำคัญ ได้แก่

2.3.1 สาร 2-Acetyl-1-Pyrroline (2AP)

2-Acetyl-1-Pyrroline (2AP) เป็นสารที่พบว่าเป็นองค์ประกอบหลักของกลิ่นใบเตยและข้าวหอมมะลิ 2AP จัดเป็นสารประกอบไนโตรเจนในกลุ่ม heterocyclic compounds มีสูตรโครงสร้าง C_6H_9NO มวลโมเลกุลเท่ากับ 111.143 มีลักษณะโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวน 5 เหลี่ยมที่ประกอบด้วยไนโตรเจนอยู่ในวงแหวน มีหมู่ acetyl เกาะอยู่กับคาร์บอนตำแหน่งที่ 2 ดังแสดงในภาพที่ 2 จากการที่สาร 2AP มีไนโตรเจนอยู่ในโมเลกุลจึงแสดงสมบัติเป็นสภาพที่มีขั้ว (polarity)



ภาพที่ 2 โครงสร้างของสารประกอบ 2-Acetyl-1-Pyrroline
ที่มา : Buttery *et al.* (1982)

สารประกอบชนิดนี้มีคำบรรยายลักษณะกลิ่นสำหรับชาวตะวันตกว่าคล้ายกลิ่นข้าวโพดคั่ว (popcorn like) ส่วนชาวเอเชียให้คำอธิบายกลิ่นว่าคล้ายกลิ่นใบเตย (Paule and Power, 1989) ปริมาณ 2AP ในใบเตยจะมีปริมาณมากกว่าในข้าวหอมมะลิถึง 10 เท่า (Laksanalamai and Ilangantilek, 1993) จากงานวิจัยหลายงานที่รายงานปริมาณ 2AP ในใบเตยสดดังแสดงในตารางที่ 3

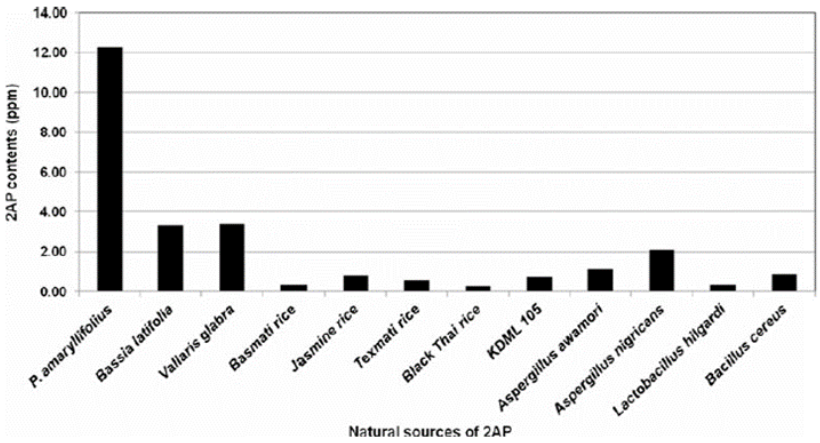
สาร 2AP มีลักษณะเป็นของเหลวใส ไม่มีสี นอกจากนี้สาร 2AP ยังเป็นสารที่ระเหยได้ง่ายในอุณหภูมิปกติจึงจัดเป็นสารที่ไม่เสถียร ถึงแม้ว่าจะเก็บในสภาพสุญญากาศที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสก็ตาม อีกทั้งสาร 2AP จะไม่เสถียรเมื่อเก็บอยู่ในรูปของสารบริสุทธิ์ เนื่องจากสาร 2AP เป็นสารประกอบไนโตรเจน เมื่อเก็บไว้เป็นเวลานานจะเกิดการเปลี่ยนสีจากของเหลวใส ไม่มีสี เป็นสีแดงหรือน้ำตาลเข้ม สีที่เข้มขึ้นนี้เกิดจากปฏิกิริยา condensation ของหมู่คาร์บอนิลจนได้ conjugated pyridine polymer ดังนั้นการเก็บสาร 2AP จึงควรเก็บในสภาพสารละลายในน้ำ (Buttery and Ling , 1982) เพื่อป้องกันการระเหยและการเปลี่ยนแปลงสีของสาร 2AP

ตารางที่ 3 ปริมาณ 2AP ในใบเตยสด (*Pandanus amaryllifolius*)

ปริมาณ 2AP (ppm)	วิธีที่ใช้ในการสกัด	เอกสารอ้างอิง
1.00	steam distillation	Buttery *et al.*, 1983
14.10	direct solvent	Thimmaraju *et al.*, 2005
10.29	direct solvent	Wongpornchai *et al.*, 2003
0.71	SC-CO_2 *	Laohakunjit and Noomhorm, 2004
7.16	SC-CO_2 *	Bhattacharjee *et al*., 2005

*SC-CO_2 คือ supercritical carbon dioxide

จากการศึกษาเกี่ยวกับระดับความแรงของกลิ่น (odor threshold) 2AP พบว่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถได้รับกลิ่นทางประสาทสัมผัส เมื่อสารนี้ละลายน้ำ (threshold of olfactory perception) คือมีค่าอยู่ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 ppb (Buttery *et al.* , 1986) นอกจากในใบเตยและข้าวหอมมะลิแล้ว ยังสามารถพบ 2AP ได้จากแหล่งอื่นๆ อีก (ภาพที่ 3)

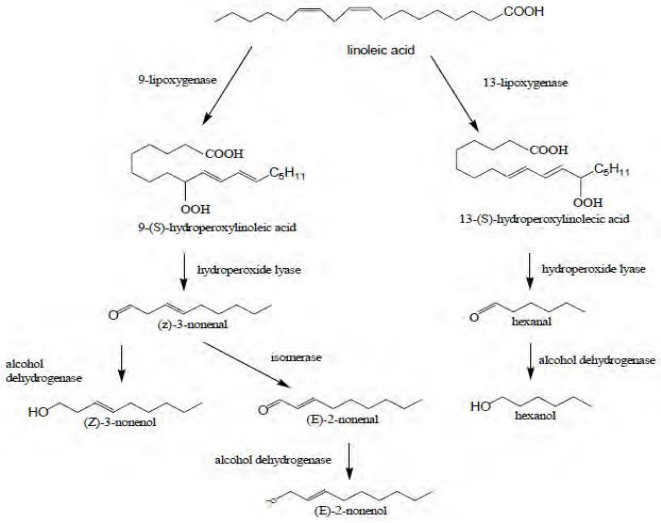


ภาพที่ 3 ปริมาณ 2AP ที่พบจากแหล่งต่างๆ
ที่มา : Kantilal *et al.* (2012)

2.3.2 สารกลุ่มอัลดีไฮด์ที่ทำให้เกิดกลิ่นเหม็นเขียว

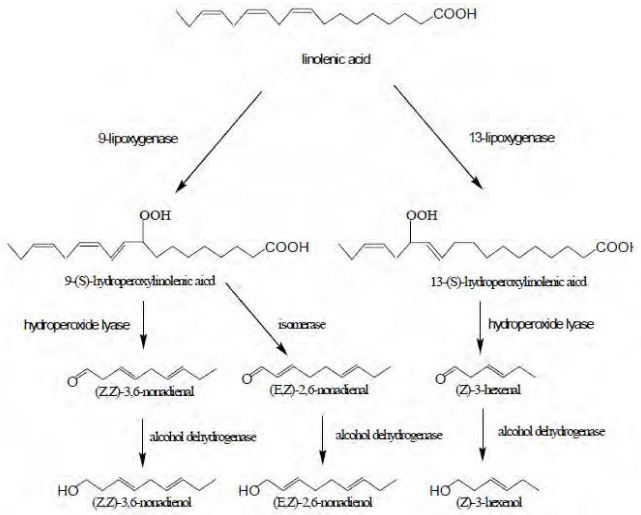
กลิ่นเหม็นเขียวของใบเตยจะเกิดจากอัลดีไฮด์สายสั้นได้แก่ hexenal (กลิ่นใบไม้) nonenal (กลิ่นเหม็นเขียว) nonadienal (กลิ่นใบไม้) และ n-hexanal (กลิ่นหญ้า) สารระเหยเหล่านี้เกิดมาจากการเปลี่ยนแปลงของกรดไขมันไม่อิ่มตัว ได้แก่ linoleic acid และ linolenic acid ผ่าน lipoxygenase pathway สารให้กลิ่นเหม็นเขียวนี้จะเกิดขึ้นเมื่อเนื้อเยื่อพืช เกิดการฉีกขาด

กรดไขมันไม่อิ่มตัวของพืชอาจอยู่ในรูป triglycerides, phospholipids หรือ glycolipids ซึ่งถูกปลดปล่อยเป็นกรดไขมันอิสระโดยเอนไซม์ acylhydrolase จากนั้นกรดไขมันอิสระจะเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นสารให้กลิ่น เอนไซม์ที่ทำหน้าที่เปลี่ยนแปลงกรดไขมันไม่อิ่มตัวให้เป็นสารให้กลิ่นในพืช ได้แก่ lipoxygenase, lyase, cis-3, trans-2 isomerase และ alcohol dehydrogenase กลไกการทำงานของเอนไซม์เหล่านี้แสดงดังภาพที่ 4 และ 5



ภาพที่ 4 การเกิดสารให้กลิ่นเหม็นเขียวจากกรดไขมันลิโนเลอิกเนื่องจากการทำงานของ Lipoxygenase

ที่มา : ดัดแปลงจาก Takeoka (1999)



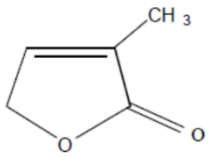
ภาพที่ 5 การเกิดสารให้กลิ่นเหม็นเขียวจากกรดไขมันลิโนเลนิกเนื่องจากการทำงานของ Lipoxygenase

ที่มา : ดัดแปลงจาก Takeoka (1999)

จากภาพที่ 4 และ 5 กลไกการเปลี่ยนแปลงกรดไขมันไม่อิ่มตัวเป็นสารให้กลิ่นเริ่มจากเอนไซม์ lipoxygenase ไปเร่งปฏิกิริยา dioxygenation ของกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีพันธะ 1Z, 4Z pentadiene ในโครงสร้างทำให้ได้ hydroperoxy unsaturated fatty acid เอนไซม์ lipoxygenase ที่เข้าทำปฏิกิริยาจะต้องมีความจำเพาะต่อตำแหน่งคาร์บอนของกรดไขมันที่ถูกเติมออกซิเจนแตกต่างกันขึ้นกับชนิดของพืช อาจเป็นชนิด C-9-, C-13- hydroperoxy unsaturated fatty acid หรือเป็นทั้งสองชนิดปนกันแล้วแต่ชนิดของพืช เอนไซม์นี้จะเข้าไปทำปฏิกิริยากับ hydroperoxide lyase ซึ่งทำให้ hydroperoxy unsaturated fatty acid แตกตัวเป็นสารให้กลิ่นและ oxo acid เอนไซม์ hydroperoxide lyase สามารถแบ่งได้เป็น 3 ชนิด ตามตำแหน่งของคาร์บอนที่เข้าทำปฏิกิริยา คือ 9-,3- และ non-specific hydroperoxide lyase การทำปฏิกิริยาโดยเอนไซม์ที่มี isozymes ที่แตกต่างกันเป็นสาเหตุที่ทำให้ได้กลิ่นเหม็นเขียวที่แตกต่างกันในพืชแต่ละชนิด

2.3.3 สาร 3-methyl-2(5H)-furanone

3-methyl-2(5H)-furanone มีโครงสร้างดังภาพที่ 6 สาร 3-methyl-2(5H)-furanone นี้จะเกิดในอาหารที่ผ่านการแปรรูป เช่น ชีส, birch syrup และ fermented soy hydrolysate เป็นต้น กลิ่นของ 3-methyl-2(5H)-furanone มีลักษณะคล้ายกลิ่นของคาราเมล กลิ่นหวาน กลิ่นคล้ายยาและกลิ่นน้ำผึ้งแต่สำหรับในใบเตยมีรายงานว่าจะพบสารระเหยชนิดนี้ในใบเตยสด (Jiang, 1999; Takayama *et al*., 2001; Senklang and Anprung, 2009; Kantilal *et al*., 2012)

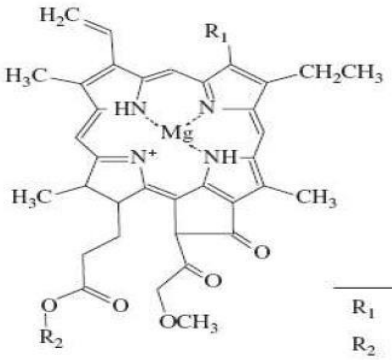


ภาพที่ 6 โครงสร้างของ 3-methyl-2(5H)-furanone
ที่มา : Takayama *et al.* (2001)

2.4 คลอโรฟิลล์ (chlorophyll)

สีเขียวที่ได้จากใบเตยเป็นรงควัตถุประเภทคลอโรฟิลล์ซึ่งคลอโรฟิลล์เป็นรงควัตถุที่สำคัญอยู่ในคลอโรพลาสต์ที่อยู่ใกล้กับผนังเซลล์ พบในทุกส่วนของพืชที่มีสีเขียว เช่น ใบ ก้าน และในผลไม้ดิบ คลอโรฟิลล์จำเป็นต่อการสังเคราะห์แสงของพืช โดยจะดูดพลังงานจากแสงแดดเพื่อสร้างคาร์โบไฮเดรตจากคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ คลอโรฟิลล์ที่พบในพืชมี 2 ชนิดคือ คลอโรฟิลล์เอ (chlorophyll a) และคลอโรฟิลล์บี (chlorophyll b) ในอัตราส่วน 3:1 (Wrolstad, 2001) โมเลกุลของคลอโรฟิลล์ประกอบด้วยส่วนหัวของวงแหวนพอร์ไฟริน (porphyrin ring) ซึ่งเป็นโมเลกุลใหญ่ประกอบด้วยวงแหวนไพโรล

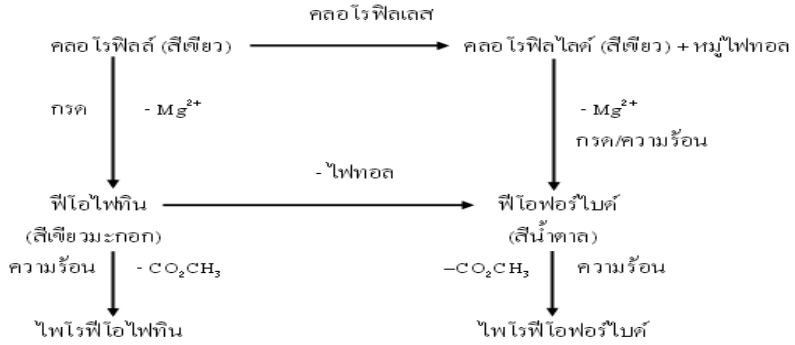
(pyrrole) ยึดติดกันโดยมีเทนไธน์คาร์บอน (Methane carbon, -CH=) เกิดเป็นโมเลกุลใหญ่ที่แบนราบ ในคลอโรฟิลล์มีแมกนีซียม (Mg) อยู่ตรงกลางโดยแมกนีเซียม อะตอมยึดติดกับไนโตรเจนอะตอม 2 ตัวด้วยพันธะโควาเลนต์ (covalent bond) ส่วนไนโตรเจนอีก 2 ตัว ต่างแบ่งอิเล็กตรอน 2 ตัวเพื่อใช้ร่วมกับแมกนีเซียมเกิดเป็นพันธะโคออร์ดิเนตโควาเลนต์ (coordinate covalent) และส่วนหางซึ่งเป็นไฮโดรคาร์บอนสายยาว เรียกว่าไฟทอล (phytol) คลอโรฟิลล์ทั้งสองชนิดมีโครงสร้างเหมือนกันแต่แตกต่างกันที่ตำแหน่งที่ 3 โดยคลอโรฟิลล์เอ มีโซ่ข้างเป็นหมู่เมททิล ($-CH_3$) ส่วนของคลอโรฟิลล์บี เป็นหมู่อัลดีไฮด์ (-CHO) (Ferruzzi and Blakeslee, 2007) ดังภาพที่ 7 โครงสร้างที่ต่างกันของคลอโรฟิลล์ทั้งสองชนิดก็จะทำให้มีคุณสมบัติที่แตกต่างกันโดยเฉพาะด้านการละลายโดยที่หมู่เมททิลของคลอโรฟิลล์เอ ทำให้โมเลกุลไม่มีขั้ว จึงละลายได้ดีในสารละลายที่ไม่มีขั้ว ส่วนหมู่อัลดีไฮด์ของคลอโรฟิลล์บี จะเป็นโมเลกุล ที่มีขั้ว จึงทำให้คลอโรฟิลล์บี ละลายได้ดีในตัวทำละลายที่มีขั้ว จึงทำให้คลอโรฟิลล์บางส่วนละลายน้ำได้บ้าง นอกจากนี้คลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บี จะมีสีแตกต่างกัน โดยคลอโรฟิลล์เอจะมีสีเขียวแกมน้ำเงิน (สีเขียวเข้ม) ส่วนคลอโรฟิลล์บีจะมีสีเขียวแกมเหลือง (สีเขียวอ่อน) (Hojnik *et al.*, 2007)



	Chlorophyll *a*	Chlorophyll *b*
R_1	CH_3	CHO
R_2	$C_{20}H_{39}$	$C_{20}H_{39}$

ภาพที่ 7 โครงสร้างของอนุพันธ์คลอโรฟิลล์
ที่มา : Cubas *et al.* (2008)

การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีของคลอโรฟิลล์อาจเกิดได้จากหลายสาเหตุ แต่ในการประกอบอาหารส่วนใหญ่จะเกิดจากปฏิกิริยาฟีโอไฟทิไนเซชัน (pheophytinization) ซึ่งเป็นการแทนที่แมกนีเซียมในคลอโรฟิลล์ด้วยไฮโดรเจน เกิดได้ดีในสภาวะที่เป็นกรดและทำให้เกิดสีเขียวมะกอกของฟีโอไฟทิน (pheophytin) นอกจากนี้ยังมีการแตกออกของหมู่ไฟทอล ซึ่งจะเกิดคลอโรฟิลไลด์ (chlorophylides) เนื่องจากเอนไซม์คลอโรฟิลเลส (chlorophyllase) คลอโรฟิลไลด์จะให้สีเขียวเช่นเดียวกับคลอโรฟิลล์แต่จะสามารถละลายในน้ำในได้ดีกว่าคลอโรฟิลล์ (ภาพที่ 8) ปฏิกิริยาฟีโอไฟทิไนเซชัน (pheophytinization) เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดการสูญเสียความคงตัวของสีเขียวในระหว่างกระบวนการแปรรูปอาหารด้วยความร้อนจึงได้มีการพยายามหาวิธีในการรักษาความคงตัวของสีเขียวโดยวิธีต่างๆ



ภาพที่ 8 การเปลี่ยนแปลงของคลอโรฟิลล์

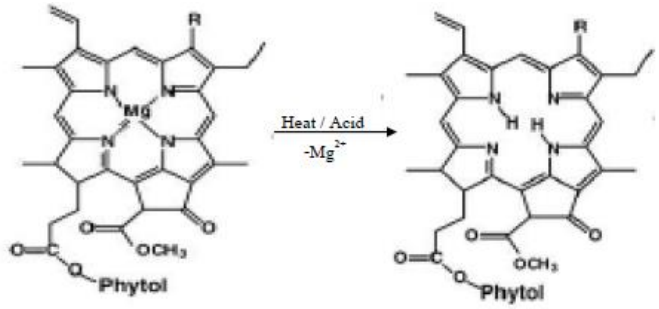
ที่มา : Von Elbe and Schwartz (1996)

2.5 ความร้อนที่มีผลต่อสารในใบเตย

ความร้อนทำให้โปรตีนในพืชเกิดการเสียสภาพ ซึ่งส่งผลให้คลอโรฟิลล์สัมผัสกับกรดมากขึ้นทำให้แมกนีเซียมไอออนหลุดออกจากโครงสร้างของคลอโรฟิลล์โดยที่ไฮโดรเจนไอออนเข้าไปแทนที่เกิดเป็นอนุพันธ์ของคลอโรฟิลล์ที่เรียกว่าฟีโอไฟติน (นิธิยา, 2549) ดังนั้นการให้ความร้อนกับวัตถุดิบจะส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโมเลกุลคลอโรฟิลล์ด้วย Tijskens *et al.* (2001) ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่าสีของบล็อกโคลีและ green bean ในระหว่างการลวก พบว่าในช่วงแรกของการลวกผักทั้ง 2 ชนิด ค่าสีเขียวมีค่าเพิ่มขึ้น เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของสารตั้งต้นที่ไม่มีสีหรือมีสีเขียวน้อยเป็นสารที่มีสีเขียวที่มองเห็นได้ชัดขึ้น เนื่องจากเมื่อเยื่อหุ้มเซลล์ถูกทำลายอากาศจะเข้าไปแทนที่ในช่องว่างระหว่างเซลล์ทำให้เซลล์ในเนื้อเยื่อหลุดออกมา ทำให้ความทึบของแสงลดลงในขณะลวกผักด้วยน้ำร้อน (เบญจวรรณ, 2556)

2.6 การปรับสภาวะความเป็นด่างที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสีของคลอโรฟิลล์

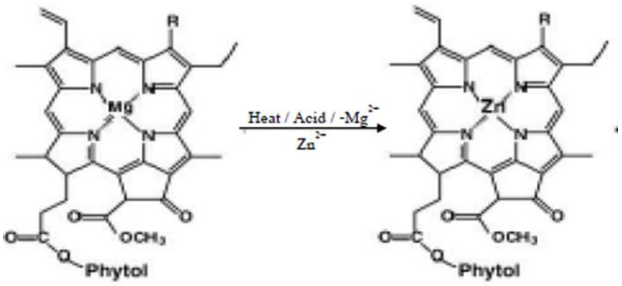
เมื่อคลอโรฟิลล์อยู่ในสภาวะที่เป็นกรดจะละลายน้ำได้เล็กน้อย โมเลกุลของคลอโรฟิลล์จะถูกเปลี่ยนเป็นฟีโอไฟติน (ภาพที่ 9) ที่มีสีเขียวมะกอกซึ่งเป็นสีที่ผู้บริโภคไม่ให้การยอมรับ การลดความเป็นกรดจะทำให้แมกนีเซียมไอออนในคลอโรฟิลล์ไม่หลุดออกจากวงแหวนพอร์ไฟรินจึงทำให้คลอโรฟิลล์มีความคงตัวในด่างและให้สีเขียวที่สว่าง ดังนั้นหากมีการควบคุมความเป็นกรด-ด่างในกระบวนการผลิตและการเก็บรักษาให้เหมาะสมจึงเป็นวิธีที่ดีในการรักษาสีเขียวของคลอโรฟิลล์ (เยาวดี, 2552)



ภาพที่ 9 การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของคลอโรฟิลล์ไปเป็นฟีโอไฟติน
ที่มา : ดัดแปลงจาก Ferruzzi and Blakeslee (2007)

2.7 การทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับโลหะ (metallo complex)

การใช้เกลือของโลหะต่างๆ เช่น ซิงค์ไอออน (Zn^{2+}) และคอปเปอร์ไอออน (Cu^{2+}) ในรูปของเกลือคลอไรด์และซัลเฟตในการรักษาความคงตัวของคลอโรฟิลล์ในเนื้อเยื่อพืช เนื่องจากเกลือของโลหะดังกล่าวเข้าไปแทนที่แมกนีเซียมไอออนในโมเลกุลของอนุพันธ์คลอโรฟิลล์ (ภาพที่ 10) ได้เป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่มีสีเขียวสดเหมือนคลอโรฟิลล์ แต่จะมีความคงตัวในระหว่างกระบวนการ แปรรูปและการเก็บรักษาที่สูงกว่าที่ไม่เติมเกลือของโลหะ (Jone *et al.*, 1977; Elbe *et al.*, 1986; Tonucci and Elbe, 1992; LaBorde and Elbe, 1994)



ภาพที่ 10 การแทนที่ของ Zn^{2+} ในโครงสร้างของคลอโรฟิลล์
ที่มา : ดัดแปลงจาก Ferruzzi and Blakeslee (2007)

2.8 การใช้ประโยชน์จากใบเตย

สีของเตยหอมใช้ผสมอาหาร เช่น ขนมชั้น ขนมขี้หนู เป็นต้น กลิ่นของใบเตยใช้ปรุงรสของอาหารหวานและอาหารคาว เช่น กล้วยบวชชี ไก่ห่อใบเตย เป็นต้น ช่วยปรุงแต่งรสหวานของอาหารขนมหรืออาหารที่มีส่วนผสมของใบเตย ใช้เป็นยาสมุนไพรทำให้สดชื่น ใบเตยสดใช้ใส่ในน้ำตาลสด ในสมัยก่อนมีการใช้ใบเตยรองก้นหวดใส่ข้าวเหนียวทำให้มีกลิ่นหอมน่ารับประทาน (สมบูรณ์, 2526)

ใบใช้แก้ไข้ แก้ร้อนใน กระหายน้ำ อ่อนเพลีย ขับปัสสาวะ บำรุงหัวใจ ชูกำลัง ดับพิษไข้ รักษาโรคหัด รักษาโรคอีสุกอีใส แก้โรคผิวหนัง โรคหืด

ต่อมามีการศึกษาผลของของการสกัดน้ำใบเตยหอมต่อการทำงานของหัวใจด้านบนที่ตัดออกจากร่างกายของหนูขาวและต่อความดันเลือดและอัตราการหดตัวของหัวใจของหนูขาวที่สลบ พบว่าน้ำสกัดใบเตยหอมที่มีความเข้มข้น 0.66 0.136 0.264 และ 0.528 mg/ml ทำให้กล้ามเนื้อหัวใจห้องบนหดตัวแรงขึ้น และมีอัตราการหดตัวลดลงชั่วคราว ทำให้มีความดันเลือดลดลงเล็กน้อย (กลอยใจ, 2556)

2.8.1 วิธีการทำแห้งสารสกัดแบบพ่นกระจาย

กลิ่นรสเป็นลักษณะทางประสาทสัมผัสที่สำคัญของผลิตภัณฑ์ใบเตยผง เนื่องจากเป็นหนึ่งในคุณภาพที่เป็นตัวกำหนดการยอมรับของผู้บริโภค สูตรที่มีการใช้ปริมาณ maltodextrin ที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการทำแห้งแบบพ่นกระจาย และให้กลิ่นรสหอมของใบเตย คือ ที่ระดับร้อยละ 2 ร่วมกับ β-cyclodextrin อัตราส่วนที่มีการใช้ใบเตยสดต่อน้ำ คือ 10:100 (น้ำหนักโดยน้ำหนัก) ที่มีการใช้ปริมาณ maltodextrin ที่ระดับร้อยละ 2 ร่วมกับ β-cyclodextrin ก่อนการทำแห้งแบบพ่นกระจาย มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในน้ำทั้งหมด คือ ประมาณ 3.85 ^{o}Brix และ % yield ของการทำแห้งของน้ำใบเตยสดมีค่าเท่ากับ 33.49 (ศิวัฒ และสิรินาฎ, 2555)

2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เอนก และบุณยกฤต (2560) ได้ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสมุนไพรพื้นบ้าน ซึ่งใช้พืชสมุนไพรที่หาซื้อได้ในเขตตำบลนครชุม อำเภอเมือง จังหวัดกำแพงเพชร เพื่อเป็นแนวทางในการคัดเลือกสมุนไพรที่มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระที่ดีมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อาหารและเครื่องดื่ม ทั้งนี้ทำการศึกษาประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระโดย 3 เทคนิคคือ ABTS, DPPH และ FRAP รวมถึงศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์สมุนไพรที่ใช้ในการทดลองได้แก่ อัญชัน ขมิ้น ใบเตย มะรุม กระเจี๊ยบ โหระพา สะระแหน่ มะตูม ข่า ขิง มะขาม กะเพรา ตะไคร้ แมงลักและมะนาว ผลการศึกษาพบว่า กระเจี๊ยบมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสมุนไพรชนิดอื่น โดยเฉพาะ DPPH ที่มีค่าสูงที่สุดคือ 21.21 µmol Trolox equivalents/g สมุนไพรชนิดอื่นมีค่าอยู่ในช่วง 0.39-17.62 µmol Trolox/g นอกจากนี้ยังมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สุดคือ 4.83 mg of gallic acid/g สมุนไพรชนิดอื่นมีค่าอยู่ในช่วง 0.42-4.80 mg of gallic acid/g ส่วนฟลาโวนอยด์นั้น อัญชัน และกระเจี๊ยบมีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงใกล้เคียงกันคือ 8.65 และ 7.96 mg of catechin/g ตามลำดับ

นิศานันท์ และคณะ (2558) ได้ศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและสารหอมระเหยของใบเตยหอมที่สกัดด้วยน้ำ องค์ประกอบทางเคมีของใบเตยหอมมีคาร์โบไฮเดรต 19.80% โปรตีน 31.81% ไขมัน 1.56% เถ้า 7.70% และกากใยหยาบ 39.13% ของน้ำหนักแห้ง เมื่อนำใบเตยหอมมาสกัดสารหอมระเหยด้วยวิธี

คั้นสดโดยการบดแบบดั้งเดิมเทียบกับการบดแบบใช้เครื่องปั่นผสมอัตราส่วนใบเตยหอมต่อน้ำกลั่น เท่ากับ 2:1 (w/v) และสกัดโดยการให้ความร้อนแปรค่าอุณหภูมิที่ 30 (อุณหภูมิห้อง), 50 และ 75 องศาเซลเซียส และแปรเวลาสกัด 10, 20 และ 30 นาที พบว่าการบดแบบดั้งเดิมที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส นาน 30 นาทีเป็นสภาวะที่เหมาะสมได้สารละลายใบเตยสกัดมีสีเขียวเข้ม ให้ค่าสี L*, a*, b* ค่า chroma และค่า hue เท่ากับ 53.17, (-4.56), 41.55, 41.81 และ 96.47 ตามลำดับ รวมทั้งพบสารหอมระเหยทั้งหมด 18 ชนิด ได้แก่ 1-hexanol, 2-penten-1-ol และ 2(5H)-furanone และยังพบสารหอมระเหย 2-acetyl-1-pyrroline(ACPY) ซึ่งเป็นสารให้กลิ่นหลักที่สำคัญ

กัญจน์พัชร์ (2553) ได้ศึกษาผลของอุณหภูมิและระยะเวลาในการลวกใบเตยสดที่เหมาะสมที่สุด โดยทำการลวกด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 80 90 และ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 3 และ 5 นาที ตามลำดับจากนั้นนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง แล้วนำผลิตภัณฑ์ใบเตยอบแห้งมาวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ คือ ค่าสี ค่าวอเตอร์แอกติวิตี (Aw) วิเคราะห์ทางด้านเคมี คือ ปริมาณความชื้น รวมทั้งการวิเคราะห์ทางด้านจุลินทรีย์ คือ ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ปริมาณยีสต์ รา และปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรีย จากการศึกษาพบว่าการลวกใบเตยสด ณ อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 นาที เหมาะสมที่สุด ผู้บริโภคให้การยอมรับมากที่สุดจากวิธีการทดสอบแบบ 9-Point Hedonic Scale และมีค่าสี L* a* b* เท่ากับ 51.08, -9.18 และ 13.74 ตามลำดับ ค่า Aw เท่ากับ 0.45 ปริมาณความชื้นร้อยละ 4.10 โดยคุณสมบัติทางด้านกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ไม่เปลี่ยนแปลงมาก เป็นที่ยอมรับได้ และมีคุณภาพในระดับมาตรฐานอีกด้วย

Buttery *et al.* (1994) ได้ศึกษาสารระเหยจากผลิตภัณฑ์ข้าวโพดหวาน เช่น ข้าวโพดหวานสด ข้าวโพดหวานแช่แข็ง และข้าวโพดหวานบรรจุกระป๋อง พบว่าสารประกอบที่ให้กลิ่นที่สำคัญในผลิตภัณฑ์เหล่านี้ คือ สาร 2AP ซึ่งเป็นสารประกอบหลัก นอกจากนั้นยังตรวจพบสาร 2-acetyl-2-thiazoline อีกด้วย โดยในข้าวโพดหวานบรรจุกระป๋องพบว่าจะมีปริมาณสาร 2AP ในปริมาณสูงกว่าผลิตภัณฑ์ตัวอื่น ซึ่งคาดว่าเป็นผลเนื่องมาจากการให้ความร้อนในกระบวนการนึ่งฆ่าเชื้อซึ่งอาจทำให้เกิดสาร 2AP เพิ่มมากขึ้น ซึ่งก็ให้ผลสอดคล้องกับการศึกษาของ Schieberle (1991) ที่ตรวจพบสาร 2AP ในข้าวโพดที่ผ่านการคั่วด้วยความร้อน

Schieberle and Grosch (1985, 1987) ได้ตรวจพบว่า สาร 2AP เป็นสารประกอบหลักที่ทำให้เกิดกลิ่นหอมหวานในผลิตภัณฑ์ขนมปังจากแป้งสาลีและขนมปังจากแป้งข้าวไรน์ ซึ่งกลิ่นดังกล่าวจะหอมมากหลังจากการอบขนมปังใหม่ๆ ซึ่งก็สอดคล้องกับงานวิจัยของ Rychlik and Grosch (1996) ที่ตรวจพบสาร 2AP ในผลิตภัณฑ์ขนมปังอบซึ่งทำมาจากแป้งข้าวสาลี

Hojnik *et al*. (2007) ศึกษาการสกัดคลอโรฟิลล์จากส่วนต่างๆ ของ Stinging nettle (*Urtica dioica* L.) โดยใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกันในการสกัด ได้แก่ เอทานอล (70, 80 และ 96%) อะซีโตน เมทานอล คลอโรฟอร์ม เอทิลอะซิเตต และไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์บริสุทธิ์ จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาคำนวณ

ค่าร้อยละของผลผลิตในการสกัด (%yield) และวิเคราะห์ความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บี ด้วย HPLC พบว่าสารสกัดคลอโรฟิลล์จากตัวทำละลายแอลกอฮอล์ที่มีขั้ว ได้แก่ เอทานอล เมทานอล ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์และคลอโรฟอร์มมีค่าร้อยละผลผลิตในการสกัดสูง นอกจากนี้สารสกัดคลอโรฟิลล์จากแอลกอฮอล์ที่มีขั้ว รวมทั้งตัวทำละลายที่มีสภาพความเป็นขั้วต่ำ เช่น คลอโรฟอร์มและอะซีโตน จะมีค่าความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์เอ และคลอโรฟิลล์บีสูง ดังนั้นเอทานอลและคลอโรฟอร์มจึงเป็นตัวทำละลายที่มีประสิทธิภาพในการสกัดคลอโรฟิลล์จากส่วนต่างๆ ของ Stinging nettle เนื่องจากสารสกัดที่ได้มีร้อยละของผลผลิตในการสกัดและปริมาณความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์เอ และคลอโรฟิลล์บีสูงอย่างไรก็ตาม Hojnik *et al.* (2007) กล่าวว่าการสกัดคลอโรฟิลล์ด้วยเอทานอลร้อยละ 90 เป็นตัวทำละลายที่มีความปลอดภัยเมื่อนำมาใช้กับอาหาร

บทที่ 3
วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 การเตรียมการสกัดน้ำใบเตย

วางแผนการทดลองแบบ 2^2 Factorial และ 3 Center points โดยมี 2 ปัจจัยคือ อุณหภูมิ (ระดับต่ำคือ 25 องศาเซลเซียส และระดับสูงคือ 95 องศาเซลเซียส) และความเข้มข้นของใบเตยต่อน้ำ (ระดับต่ำคือ 0.5 และระดับสูงคือ 2 ต่อน้ำ 1 โดยน้ำหนัก) มีทั้งหมด 7 สิ่งทดลองดังแสดงในตารางที่ 4 โดยนำใบเตยสดมาล้างทำความสะอาด หั่นความยาวประมาณ 1 เซนติเมตร และนำไปปั่นผสมกับน้ำที่อุณหภูมิ 25, 60 และ 95 องศาเซลเซียส ในสัดส่วนใบเตยต่อน้ำ 0.5:1, 2:1 และ 1.25:1 จากนั้นนำไปคั้นน้ำ และกรองด้วยตะแกรงถี่ จัดเก็บในภาชนะทึบแสงที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 4 การศึกษาผลของปัจจัยต่อคุณภาพของน้ำใบเตย

สิ่งทดลอง	อุณหภูมิของน้ำ (องศาเซลเซียส)	ความเข้มข้นของใบเตยต่อน้ำ (โดยน้ำหนัก)
1	25	0.5
2	25	2
3	95	0.5
4	95	2
5 (Center point)	60	1.25
6 (Center point)	60	1.25
7 (Center point)	60	1.25

3.2 การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและเคมี

นำน้ำใบเตยมาทดสอบหาคุณสมบัติทางกายภาพและเคมี ได้แก่ ค่าของแข็งที่ละลายในน้ำ ค่า pH ค่าความหนืด ค่าสี (L*, a*, b*) และปริมาณคลอโรฟิลล์ ดังนี้

1. การทดสอบหาปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (Total soluble solids)

นำตัวอย่างน้ำใบเตยทั้งหมดที่ได้มาทดสอบหาปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ด้วยเครื่อง Refractometer โดยเซต Zero ด้วยน้ำกลั่น และหยดตัวอย่างเพื่อทดสอบ จำนวน 3 ซ้ำ

2. การทดสอบความเป็นกรด-ด่าง

นำตัวอย่างน้ำใบเตยทั้งหมดที่ได้มาทดความเป็นกรด-ด่าง ด้วยเครื่องวัดพีเอช ก่อนทำการทดสอบต้องทำการสอบเทียบเครื่องมือด้วยสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 7 และสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 4 ตามลำดับ แล้วจึงหยดตัวอย่างเพื่อทดสอบ

3. การทดสอบความหนืดในน้ำใบเตย

นำตัวอย่างน้ำใบเตยทั้งหมดที่ได้มาทดสอบความหนืดด้วยเครื่องวัดความหนืด (Brookfield) ด้วยเข็มเบอร์ L1 ความเร็วรอบ 100 rpm

4. การวัดค่าสีในน้ำใบเตย

นำตัวอย่างน้ำใบเตยที่ได้ มาวัดค่าสีด้วยเครื่องวัดสี UltraScan VIS โดยนำตัวอย่างน้ำใบเตยที่ได้ทั้งหมดใส่คิวเวทท์พลาสติก ทำซ้ำ 3 ซ้ำ

5. การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ในน้ำใบเตย (chlorophyll)

นำตัวอย่างน้ำใบเตยไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 645 และ 663 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Visible Spectrophotometer โดยล้างคิวเวทท์ควอตซ์ด้วย 20% Acetone ให้สะอาดและซับให้แห้ง และเซต Blank ด้วย 20% Acetone และคำนวณปริมาณคลอโรฟิลล์ a, b และรวมตามวิธีของ Arnon (1949)

3.3 การวิเคราะห์สมบัติด้านกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ

1. การสกัดสารจากน้ำใบเตย

นำตัวอย่างน้ำใบเตยปริมาตร 10 มิลลิลิตร เติมตัวทำละลาย คือ 80% เอทานอล บีกเกอร์ละ 40 มิลลิลิตร กวนด้วยแท่งแม่เหล็กกวนสาร ตั้งบน Hot plate กวนผสมที่ความเร็วเบอร์ 5 เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ลงในหลอดทดลองพลาสติก

2. การทดสอบสารประกอบฟีนอลทั้งหมด

วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดยวิธี Folin-Ciocalteu's reagent (Lim *et al*., 2007) สารสกัดจากตัวอย่างปริมาตร 0.3 ml ผสมกับ Folin-Ciocalteu's phenol reagent (ที่เจือจางแล้ว 10 เท่า ด้วย distilled water) ปริมาตร 1.5 ml เติมสารละลาย 7.5% โซเดียมคาร์บอเนต ($NaCO_3$) ปริมาตร 1.2 ml เขย่าให้สารผสมกัน จากนั้นตั้งทิ้งไว้ในที่มืดนาน 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง วัดค่าการดูดกลืนแสงของสีที่เปลี่ยนแปลงที่ความยาวคลื่น 765 nm เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน Gallic acid รายงานเป็น mg สมมูลของกรดแกลลิกต่อ 100 g ของตัวอย่าง (mg GA/ 100 g)

3. การทดสอบประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH (ดัดแปลงวิธีจาก Wu *et al.,* 2006) โดยปิเปตสารสกัดจากตัวอย่าง 1 ml เติมสารละลาย DPPH ปริมาตร 4 ml และผสมให้เข้ากันเก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที เขย่าทุก ๆ 10 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 nm เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน Gallic acid รายงานเป็น mg สมมูลของกรดแกลลิกต่อ 100 g ของตัวอย่าง (mg GA/ 100 g)

3.4 การทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส

นำน้ำใบเตยมาทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส ด้วยวิธี 9-point-hedonic scale จำนวนผู้ทดสอบ 30 คน ทดสอบความชอบของผู้ทดสอบที่มีต่อน้ำใบเตย โดยวิธีการให้คะแนนความชอบแบบ 9-point hedonic scale ในคุณลักษณะทางด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น และความชอบโดยรวม

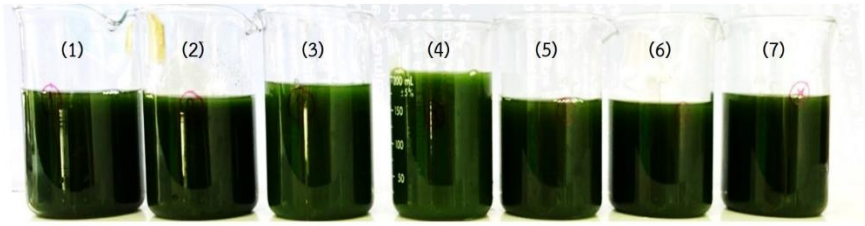
3.5 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ผลการทดลองดวยโปรแกรมสถิติตามแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD และ Factorial in RCBD และการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's new multiple rang test (DMRT)

บทที่ 4
ผลการทดลอง

4.1 ผลการเตรียมน้ำใบเตย

จากการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพน้ำใบเตยคือ อัตราส่วนของใบเตยต่อน้ำ 1 ส่วน เป็น 0.5:1, 2:1 และ 1.25:1 และอุณหภูมิของน้ำที่นำมาสกัด 25, 60 และ 95 องศาเซลเซียส ได้ผลดังภาพที่ 11



ภาพที่ 11 น้ำใบเตยที่ได้จากการเตรียมโดยใช้อุณหภูมิและอัตราส่วนที่แตกต่างกัน
(1) คือ อัตราส่วนใบเตยต่อน้ำเท่ากับ 0.5 ที่อุณหภูมิน้ำ 25 องศาเซลเซียส
(2) คือ อัตราส่วนใบเตยต่อน้ำเท่ากับ 2.0 ที่อุณหภูมิน้ำ 25 องศาเซลเซียส
(3) คือ อัตราส่วนใบเตยต่อน้ำเท่ากับ 0.5 ที่อุณหภูมิน้ำ 95 องศาเซลเซียส
(4) คือ อัตราส่วนใบเตยต่อน้ำเท่ากับ 2.0 ที่อุณหภูมิน้ำ 95 องศาเซลเซียส
(5), (6) และ (7) คือ อัตราส่วนใบเตยต่อน้ำเท่ากับ 1.25 ที่อุณหภูมิน้ำ 60 องศาเซลเซียส

จากภาพที่ 11 พบว่า ในการเตรียมตัวอย่างน้ำใบเตยในความเข้มข้นและอุณหภูมิที่ต่างกันทั้งหมด 7 ตัวอย่าง สีของตัวอย่างที่ (3) และ (4) มีสีเขียวค่อนไปทางสีเหลือง ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เตรียมจากน้ำที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส ตัวอย่างที่ (1), (2), (5), (6) และ (7) มีสีที่ค่อนข้างใกล้เคียงกันเมื่อมองด้วยตาเปล่า คือสีเขียวเข้ม และตัวอย่างทั้งหมด 7 ตัวอย่างมีความข้นหนืดที่ใกล้เคียงกัน

4.2 ผลของอุณหภูมิและอัตราส่วนที่มีต่อคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำใบเตย

4.2.1 ค่าของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดและความเป็นกรด-ด่าง (pH)

ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในน้ำ (Total soluble solids, TSS) และค่า pH ของน้ำใบเตยที่สกัดด้วยอัตราส่วนและอุณหภูมิที่แตกต่างกัน จากการวางแผนการทดลองแบบ 2^2 Factorial และ 3 Center points โดยมี 2 ปัจจัยคือ อุณหภูมิ และอัตราส่วนของน้ำใบเตย มีทั้งหมด 7 สิ่งทดลอง (ตารางที่ 4) และผลการวิเคราะห์ทางสถิติของอัตราส่วนและอุณหภูมิต่อค่าของแข็งที่ละลายได้และ pH ของน้ำใบเตยแสดงดังตารางที่ 5 จากตารางปัจจัย A หมายถึง อัตราส่วนของใบเตยต่อน้ำ (โดยน้ำหนัก) และปัจจัย B หมายถึง

อุณหภูมิของน้ำ (องศาเซลเซียส) ส่วนปัจจัยร่วมคือ AxB ระดับของปัจจัย ได้แก่ ระดับ - คือ ระดับต่ำ (อัตราส่วนของใบเตยต่อน้ำเป็น 0.5:1 โดยน้ำหนัก และอุณหภูมิของน้ำเป็น 25 องศาเซลเซียส) ระดับ 0 คือ ระดับกลาง (อัตราส่วนของใบเตยต่อน้ำเป็น 1.25:1 โดยน้ำหนัก และอุณหภูมิของน้ำเป็น 60 องศาเซลเซียส) และระดับ + คือ ระดับสูง (อัตราส่วนของใบเตยต่อน้ำเป็น 2.0:1 โดยน้ำหนัก และอุณหภูมิของน้ำเป็น 95 องศาเซลเซียส)

ตารางที่ 5 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของอัตราส่วนและอุณหภูมิต่อปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในน้ำและค่า pH ของน้ำใบเตย

การวิเคราะห์ทางสถิติ	ระดับ			Significant
	-1	0	1	
ค่าของแข็งที่ละลายได้				
A: อัตราส่วนของใบเตยต่อน้ำ	1.70±0.26^{c}	1.99±0.28^{b}	2.52±0.37^{a}	*
B: อุณหภูมิของน้ำ	2.07±0.78^{a}	1.99±0.28^{a}	2.15±0.32^{a}	ns
AxB				ns
TSS (^{O}Brix) = 1.043+0.377x(A)+0.006x(B)-0.002x(AxB)				R^2=0.848
pH				
A: อัตราส่วนของใบเตยต่อน้ำ	5.97±0.05^{c}	6.07±0.04^{a}	5.81±0.08^{b}	*
B: อุณหภูมิของน้ำ	5.83±0.11^{c}	6.07±0.04^{a}	5.95±0.08^{b}	*
AxB				ns
pH = 6.047+0.072x(A)+0.001x(B)				R^2=0.647

หมายเหตุ: * คือ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
ns คือ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

จากตารางที่ 5 จากผลการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า อัตราส่วนของใบเตยต่อน้ำทำให้ค่าของแข็งที่ละลายได้ในน้ำใบเตยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่อุณหภูมิของน้ำและปัจจัยร่วมไม่มีผลต่อค่าของแข็งที่ละลายได้ในน้ำใบเตยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่ออัตราส่วนของใบเตยเพิ่มขึ้นจาก 0.5 เป็น 2.0 เท่า ทำให้ค่าของแข็งที่ละลายได้ในน้ำใบเตยเพิ่มขึ้นจาก 1.70 เป็น 2.52 องศาบริกซ์ เนื่องจากในใบเตยมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในน้ำร้อยละ 14.7 (อัจฉลา, 2555) ดังนั้นเมื่อปริมาณใบเตยที่ใช้ในการสกัดมากก็จะทำให้ค่าของแข็งที่ละลายได้ในน้ำที่สกัดใบเตยเพิ่มขึ้นตามไปด้วย อัตราส่วนของใบเตยต่อน้ำและอุณหภูมิของน้ำมีผลทำให้ค่า pH ของน้ำใบเตยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ปัจจัยร่วมไม่มีผลต่อค่า pH ของน้ำใบเตยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่ออัตราส่วนของใบเตยเพิ่มขึ้นจาก 0.5 เป็น

1.25 เท่า ทำให้ค่า pH ของน้ำใบเตยเพิ่มขึ้นจาก 5.97 เป็น 6.07 แต่เมื่อเพิ่มอัตราส่วนของใบเตยเป็น 2.0 ทำให้ค่า pH ของน้ำใบเตยลดลงเหลือ 5.81 และเมื่ออุณหภูมิของน้ำเพิ่มขึ้นจาก 25 องศาเซลเซียส เป็น 60 องศาเซลเซียส ทำให้ค่า pH ของน้ำใบเตยเพิ่มขึ้นจาก 5.83 เป็น 6.07 แต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิของน้ำเป็น 95 องศาเซลเซียส ทำให้ค่า pH ของน้ำใบเตยลดลงเหลือ 5.95

4.2.2 ค่าสี (L*, a*, b*)

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของอัตราส่วนและอุณภูมิต่อค่าสี (L*,a*,b*) ของน้ำใบเตยแสดงดังตารางที่ 6 พบว่า อัตราส่วนของใบเตยต่อน้ำ อุณหภูมิของน้ำ และปัจจัยร่วมมีผลค่าสี L* โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่ออัตราส่วนของใบเตยเพิ่มขึ้นจาก 0.5 เป็น 2.0 เท่า ทำให้ค่าสี L* ของน้ำใบเตยเพิ่มขึ้นจาก 33.43 เป็น 34.60 เมื่ออุณหภูมิของน้ำเพิ่มขึ้นจาก 25 องศาเซลเซียส เป็น 95 องศาเซลเซียส ทำให้ค่าสี L* ของน้ำใบเตยเพิ่มขึ้นจาก 32.96 เป็น 35.07

ตารางที่ 6 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของอัตราส่วนและอุณหภูมิต่อค่าสีของน้ำใบเตย

การวิเคราะห์ทางสถิติ	ระดับ			Significant
	-1	0	1	
ค่าสี L*				
A: อัตราส่วนของใบเตยต่อน้ำ	33.43±1.71^{c}	33.82±0.35^{b}	34.60±0.62^{a}	*
B: อุณหภูมิของน้ำ	32.96±1.17^{c}	33.82±0.35^{b}	35.07±0.32^{a}	*
AxB				*
L* = 28.987+1.252x(A)+0.066x(B)-0.014x(AxB)				R^2=0.974
ค่าสี a*				
A: อัตราส่วนของใบเตยต่อน้ำ	-1.85±0.11^{b}	-1.62±0.16^{a}	-2.21±0.14^{c}	*
B: อุณหภูมิของน้ำ	-1.99±0.22^{b}	-1.62±0.16^{a}	-2.06±0.19^{b}	ns
AxB				ns
a* = (-1.385)-0.165x(A)-0.003x(B)+0.001x(AxB)				R^2=0.513
ค่าสี b*				
A: อัตราส่วนของใบเตยต่อน้ำ	0.07±0.68^{a}	-0.44±0.49^{b}	0.38±0.38^{a}	ns
B: อุณหภูมิของน้ำ	0.70±0.62^{a}	-0.44±0.49^{b}	-0.25±0.52^{b}	*
AxB				*
b* = 1.314-0.222x(A)-0.027x(B)+0.005x(AxB)				R^2=0.688

หมายเหตุ: * คือ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ns คือ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

อัตราส่วนของใบเตยต่อน้ำมีผลต่อค่าสี a* แต่อุณหภูมิของน้ำและปัจจัยร่วมไม่มีผลต่อค่าสี a* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่ออัตราส่วนใบเตยเพิ่มขึ้นจาก 0.5 เป็น 1.25 เท่า ทำให้ค่าสี a* ในน้ำใบเตยเพิ่มขึ้นจาก -1.85 เป็น -1.62 เมื่อเพิ่มอัตราส่วนใบเตยเป็น 2.0 เท่า ทำให้ค่าสี a* ลดลงเหลือ -2.21 เนื่องจากใบเตยมีรงควัตถุคลอโรฟิลล์ ซึ่งเป็นสารให้สีเขียว ดังนั้นเมื่ออัตราส่วนของใบเตยเพิ่มขึ้น ค่าสี a* จะลดลงหรือมีความเป็นสีเขียวมากขึ้นตามลำดับ ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของนิศานันท์และคณะ (2558) เมื่อนำมาวัดค่าสีของใบเตยพบว่า มีค่าความสว่าง (L*) ค่าสีแดง (a*) ค่าสีเหลือง (b*) เท่ากับ 53.17, -4.56 และ 41.55 ตามลำดับ การบดใบเตยหอมและการใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส ทำให้สารสกัดใบเตยเปลี่ยนจากสีเขียวเข้มเป็นสีเขียวมะกอก เนื่องจากการให้ความร้อนสูงและนานขึ้น ทำให้มีการสลายตัวของคลอโรฟิลล์เป็นฟีโอไฟตินซึ่งเกิดจากปฏิกิริยา Pheophytinization ส่วนอัตราส่วนของใบเตยต่อน้ำไม่มีผลต่อค่าสี b* แต่อุณหภูมิของน้ำและปัจจัยร่วมมีผลต่อค่าสี b* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่ออุณหภูมิของน้ำเพิ่มขึ้นจาก 25 เป็น 60 องศาเซลเซียส ทำให้ค่าสี b* ของน้ำใบเตยลดลงจาก 0.70 เป็น -0.44 แต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิเป็น 95 องศาเซลเซียส ทำให้ค่าสี b* ของน้ำใบเตยเป็น -0.25 เนื่องจากใบเตยมีสารฟลาโวนอยด์ ซึ่งเป็นสารที่ละลายน้ำได้ที่มีสีเหลืองถึงเขียว ฟลาโวนอยด์เป็นรงควัตถุที่มีความคงตัวต่อความร้อนและปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดีกว่าแอนโทไซยานิน แต่สามารถเปลี่ยนสีได้ง่าย เมื่อรวมตัวกับอิออนของโลหะ เช่น เมื่อรวมตัวกับเหล็กจะให้สีน้ำเงินหรือสีเขียว (ณัฏฐิกา, 2549) ดังนั้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นของน้ำจะทำให้สกัดสารฟลาโวนอยด์ได้มากขึ้น แต่จะสกัดได้ดีที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

4.2.3 ความหนืด

ผลทางสถิติของอัตราส่วนและอุณภูมิต่อค่าความหนืดของน้ำใบเตยแสดงดังตารางที่ 7 พบว่าอัตราส่วนของใบเตยต่อน้ำ อุณหภูมิของน้ำ และปัจจัยร่วมไม่มีผลต่อความหนืดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 7 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของอัตราส่วนและอุณหภูมิต่อค่าความหนืดของน้ำใบเตย

การวิเคราะห์ทางสถิติ	ระดับ			Significant
	-1	0	1	
ค่าความหนืด				
A: อัตราส่วนของใบเตยต่อน้ำ	3.13±0.23[a]	3.06±0.25[a]	3.20±0.09[a]	ns
B: อุณหภูมิของน้ำ	3.08±0.17[a]	3.06±0.25[a]	3.25±0.14[a]	ns
AxB				ns
Viscosity (cP) = 2.683+0.117x(A)+0.06x(B)-0.02x(AxB)				R^2=0.454

หมายเหตุ: * คือ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ns คือ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

4.3 ผลของอุณหภูมิและอัตราส่วนที่มีต่อคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของน้ำใบเตย

4.3.1 สารประกอบฟีนอลทั้งหมด

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของอัตราส่วนและอุณภูมิต่อสารประกอบฟีนอลทั้งหมดของน้ำใบเตย แสดงดังตารางที่ 8 จากผลการวิเคราะห์ทางสถิติของสารประกอบฟีนอลพบว่า อัตราส่วนของใบเตยต่อน้ำและอุณหภูมิของน้ำมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ปัจจัยร่วมไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเพิ่มอัตราส่วนของใบเตยจาก 0.5 เป็น 2.0 เท่า ทำให้ค่าของสารประกอบฟีนอลในน้ำใบเตยเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจาก 46.43 เป็น 67.68 mg of gallic acid/g เนื่องจากการทดสอบสารสกัดจากใบเตยประกอบด้วยแทนนิน อัลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ ซาโปนินและโพลีฟีนอล โดยที่แทนนินเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่ละลายน้ำได้และยังช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ นอกจากนี้สารฟลาโวนอยด์มีคุณสมบัติในการต่อต้านจุลินทรีย์ เนื่องจากความสามารถในการรวมตัวกับเซลล์แบคทีเรียเมมเบรนและโปรตีนนอกเซลล์ ซาโปนินเป็นพิษต่อเซลล์เนื่องจากสามารถเปลี่ยนแปลงการซึมผ่านได้ของเยื่อหุ้มไซโทพลาสซึมทำให้เกิดการแตกของเซลล์จุลินทรีย์ โพลีฟีนอลสามารถใช้เป็นทางเลือกแทนสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ในอาหารอุตสาหกรรม (Resmi and Ana, 2016) และเมื่อเพิ่มอุณหภูมิของน้ำจาก 25 องศาเซลเซียส เป็น 60 องศาเซลเซียส ทำให้ค่าของสารประกอบฟีนอลในน้ำใบเตยลดลงจาก 54.19 เป็น 48.75 mg of gallic acid/g แต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิเป็น 95 องศาเซลเซียส ทำให้ค่าของสารประกอบฟีนอลเป็น 59.91 mg of gallic acid/g ซึ่งมากกว่าอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส และ 60 องศาเซลเซียส เนื่องจากการสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิสูงนี้ จะมีสารอัลคาลอยด์แทนนิน, ฟลาโวนอยด์, ซาโปนินและโพลีฟีนอล (Resmi and Ana, 2016) สารเหล่านี้มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของณัฐกานต์ (2553) ใบเตยหอมสดที่สกัดด้วยน้ำกลั่นที่ 90 องศาเซลเซียส ใบเตยหอมสดที่สกัดด้วยน้ำกลั่นที่ 25 องศาเซลเซียส ใบเตยหอมแห้งที่สกัดด้วยน้ำกลั่นที่ 90 องศาเซลเซียส ใบเตยหอมแห้งที่สกัดด้วยเอทานอล ได้พบว่า สารสกัดใบเตยหอมทั้ง 4 รูปแบบมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-glucosidase โดยพบว่าสารสกัดใบเตยหอมแห้งที่สกัดด้วยน้ำกลั่นที่ 90 องศาเซลเซียสและใบเตยหอมแห้งที่สกัดด้วยเอทานอล มีฤทธิ์ในการกระตุ้นการทำงานของตับอ่อนให้หลั่งอินซูลินเพิ่มขึ้นในรูปแบบ dose dependent โดยมีค่าความแตกต่างกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) และสารสกัดใบเตยหอมสดที่สกัดด้วยน้ำกลั่นที่ 25 องศาเซลเซียส มีแนวโน้มในการกระตุ้นการนำกลูโคสเข้าสู่เซลล์ นอกจากนี้ยังศึกษาผลของสารฟินอลิกและฟลาโวนอยด์โดยสารที่สกัดโดยวิธีแตกต่างกันที่จะให้สารทั้งสองแตกต่างกันโดยตัวทำละลายเอทานอลให้สารฟินอลิกและฟลาโวนอยด์สูงสุด และเมื่อศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของตัวทำละลายต่างๆกันพบว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระแปรผันตามสารฟินอลิกที่เพิ่มขึ้น

ตารางที่ 8 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของอัตราส่วนและอุณหภูมิต่อสารประกอบฟีนอลของน้ำใบเตย

การวิเคราะห์ทางสถิติ	ระดับ			Significant
	-1	0	1	
สารประกอบฟีนอล				
A: อัตราส่วนของใบเตยต่อน้ำ	46.43±4.11^{b}	48.75±4.80^{b}	67.68±4.80^{a}	*
B: อุณหภูมิของน้ำ	54.19±12.94^{b}	48.75±4.80^{c}	59.91±11.13^{a}	*
AxB				ns
Phenol =29.38+7.683x(A)+0.107x(B)-0.01x(AxB)				R^2=0.834

หมายเหตุ: * คือ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ns คือ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

4.3.2 DPPH

ค่า DPPH ของน้ำใบเตยที่สกัดด้วยอัตราส่วนและอุณหภูมิที่แตกต่างกันแสดงดังตารางที่ 9 พบว่า ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของค่า DPPH อัตราส่วนของใบเตย อุณหภูมิของน้ำและปัจจัยร่วมมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเพิ่มอัตราส่วนของใบเตยต่อน้ำจาก 0.5 เป็น 1.25 เท่า ทำให้ค่า DPPH ในน้ำใบเตยลดลงจาก 8.67 เป็น 8.53 mg of gallic acid/g แต่เมื่อเพิ่มอัตราส่วนต่อน้ำเป็น 2.0 เท่า ทำให้ค่า DPPH ในน้ำใบเตยเพิ่มขึ้นเป็น 14.71 mg of gallic acid/g เมื่อเพิ่มอุณหภูมิของน้ำจาก 25 องศาเซลเซียส เป็น 60 องศาเซลเซียส ทำให้ให้ค่า DPPH ของน้ำใบเตยลดลงจาก 9.34 mg เป็น 8.53 mg of gallic acid/g แต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิของน้ำเป็น 95 องศาเซลเซียส ทำให้ค่า DPPH ในน้ำใบเตยเพิ่มขึ้นเป็น 14.04 mg of gallic acid/g ซึ่งค่า DPPH จะสอดคล้องกับผลของสารประกอบฟีนอลทั้งหมดที่มีแนวโน้มไปในทางเดียวกัน คือสามารถสกัดได้ดีในอัตราส่วนใบเตยสดที่มากขึ้นและอุณหภูมิของน้ำที่ใช้ในการสกัดสูงขึ้น

จากผลการศึกษาพบว่า ทั้งสองปัจจัยที่ศึกษามีผลสอดคล้องกับผลงานวิจัยของเอนกและบุณยกฤต (2560) พบว่า ใบเตยมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสมุนไพรชนิดอื่นโดยเฉพาะ DPPH ที่มีค่าสูงที่สุดคือ 21.21 μmol Trolox equivalents/g สมุนไพรชนิดอื่นมีค่าอยู่ในช่วง 0.39-17.62 μmol Trolox/g ซึ่งผลของค่า DPPH ของน้ำใบเตยที่ได้มีค่าเท่ากับ 2.26 μmol Trolox equivalents/g โดยมีค่ามากกว่ามะรุม มะขาม ตะไคร้ และมะนาว

ตารางที่ 9 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของอัตราส่วนและอุณหภูมิต่อกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ (DPPH) ของน้ำใบเตย

การวิเคราะห์ทางสถิติ	ระดับ			Significant
	-1	0	1	
DPPH				
A: อัตราส่วนของใบเตยต่อน้ำ	8.67±0.77^{b}	8.53±0.89^{b}	14.71±4.54^{a}	*
B: อุณหภูมิของน้ำ	9.34±1.42^{b}	8.53±0.89^{b}	14.04±5.27^{a}	*
AxB				*
DPPH = 6.283+0.009x(A)-0.016x(B)+0.033x(AxB)				R^2=0.883

หมายเหตุ: * คือ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ns คือ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

4.3.3 ปริมาณคลอโรฟิลล์

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของอัตราส่วนและอุณภูมิต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ของน้ำใบเตยแสดงดังตารางที่ 10 พบว่าผลการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า อัตราส่วนของใบเตยต่อน้ำทำให้ค่าของคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี และคลอโรฟิลล์รวมในน้ำใบเตยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่อุณหภูมิของน้ำและปัจจัยร่วมไม่มีผลต่อค่าของคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี และคลอโรฟิลล์รวมในน้ำใบเตยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่ออัตราส่วนใบเตยต่อน้ำเพิ่มขึ้นจาก 0.5 เป็น 2.0 เท่า ทำให้ค่าของคลอโรฟิลล์เอในน้ำใบเตยเพิ่มขึ้นจาก 9.18 เป็น 22.47 มิลลิกรัมต่อกรัม ค่าคลอโรฟิลล์บีเพิ่มขึ้นจาก 18.24 เป็น 36.39 มิลลิกรัมต่อกรัม และค่าคลอโรฟิลล์รวมเพิ่มขึ้นจาก 24.46 เป็น 58.82 มิลลิกรัมต่อกรัม เนื่องจากเมื่อปริมาณใบเตยสดเพิ่มขึ้น จะทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี และคลอโรฟิลล์รวมเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของน้ำใบเตยที่ได้จากกการสกัดด้วยน้ำ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยเบญจวรรณ (2556) จากการที่อัตราส่วนใบเตยต่อน้ำเท่ากับ 1:1 มีการเปลี่ยนแปลงของสีเขียวน้อยที่สุดซึ่งจะสอดคล้องกับปริมาณคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี และคลอโรฟิลล์รวมของน้ำสกัดใบเตย จะเห็นว่าที่อัตราส่วนใบเตยต่อน้ำ 1:1 มีปริมาณคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี และคลอโรฟิลล์รวมสูงที่สุด ทำให้น้ำสกัดใบเตยที่ได้มีสีเขียวเข้มเนื่องมาจากอัตราส่วนใบเตยต่อน้ำ 1:1 ใช้ปริมาณน้ำในการสกัดน้อยจึงทำให้น้ำสกัดใบเตยที่ได้มีความเข้มข้นมากกว่าเมื่อเทียบกับอัตราส่วนอื่นๆ

ตารางที่ 10 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของอัตราส่วนและอุณหภูมิต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ของน้ำใบเตย

การวิเคราะห์ทางสถิติ	ระดับ			Significant
	-1	0	1	
Chlorophyll A				
A: อัตราส่วนของใบเตยต่อน้ำ	9.18±2.40^{c}	13.56±5.29^{b}	22.47±2.33^{a}	*
B: อุณหภูมิของน้ำ	14.56±6.34^{a}	13.56±5.29^{a}	17.09±9.59^{a}	ns
AxB				ns
Chlorophyll A = 4.057+3.45x(A)-0.005x(B)+0.016x(AxB)				R^2=0.831
Chlorophyll B				
A: อัตราส่วนของใบเตยต่อน้ำ	18.24±8.13^{b}	21.09±2.69^{b}	36.39±2.86^{a}	*
B: อุณหภูมิของน้ำ	27.77±10.07^{a}	21.09±2.69^{b}	26.86±13.04^{a}	ns
AxB				ns
Chlorophyll B = 18.274+2.864x(A)-0.146x(B)+0.053x(AxB)				R^2=0.819
Chlorophyll Total				
A: อัตราส่วนของใบเตยต่อน้ำ	24.46±0.91^{c}	34.63±6.10^{b}	58.82±5.03^{a}	*
B: อุณหภูมิของน้ำ	39.35±16.49^{ab}	34.63±6.10^{b}	43.92±21.22^{a}	ns
AxB				ns
Chlorophyll Total = 12.266+8.981x(A)-0.038x(B)+0.041x(AxB)				R^2=0.931

หมายเหตุ: * คือ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ns คือ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

4.4 ผลของอุณหภูมิและอัตราส่วนที่มีต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสของน้ำใบเตย

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของอัตราส่วนและอุณภูมิต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัส ของน้ำใบเตย แสดงดังตารางที่ 11 พบว่าผลการวิเคราะห์ทางสถิติของคุณภาพทางประสาทสัมผัสของน้ำใบเตย ด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น และความชอบโดยรวม อุณหภูมิของน้ำมีผลต่อกลิ่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่อุณหภูมิของน้ำไม่มีผลต่อลักษณะปรากฏ สีและความชอบโดยรวมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและพบว่าอัตราส่วนของใบเตยต่อน้ำไม่มีผลต่อลักษณะปรากฏ สี กลิ่น และความชอบโดยรวมอย่างนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเพิ่มอุณหภูมิของน้ำจาก 25 องศาเซลเซียส เป็น 60 องศาเซลเซียส ทำให้มีผลต่อค่าของกลิ่นในน้ำใบเตยจาก 5.03 เป็น 6.66 แต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิของน้ำเป็น 95 องศาเซลเซียส ทำให้ค่าของกลิ่นในน้ำใบเตยเท่ากับ 5.72 ซึ่งมีค่ามากกว่าอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส แต่น้อยกว่า 60 องศาเซลเซียส เนื่องจากการให้ความร้อนสูงและนานขึ้นจะทำให้มีการสลายตัวของคลอโรฟิลล์เปลี่ยนเป็นฟีโอไฟติน ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยา Pheophytinization รวมทั้งที่สภาวะการสกัดนี้ยังพบสารหอมระเหยทั้งหมด 18 ชนิด เช่น 1-

hexanol, 2-penten-1-ol และ 2(5H)-furanone และยังพบสารหอมระเหยให้กลิ่นรสหลักที่สำคัญคือ 2-acetyl-1-pyrroline (ACPY) ในปริมาณสูงที่สุด ซึ่งให้กลิ่นคล้ายข้าวโพดคั่ว (ณิศานันท์ และคณะ, 2558)

ตารางที่ 11 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของอัตราส่วนและอุณหภูมิต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสของน้ำใบเตย

การวิเคราะห์ทางสถิติ	ระดับ			Significant
	-1	0	1	
ลักษณะปรากฏ				
A: อัตราส่วนของใบเตยต่อน้ำ	5.72±1.26^{b}	6.42±1.16^{a}	5.98±1.32^{b}	ns
B: อุณหภูมิของน้ำ	5.65±1.19^{b}	6.42±1.16^{a}	6.05±1.48^{ab}	ns
AxB				ns
Appearance = 5.673+0.032x(A)+0.003x(B)+0.001x(AxB)				R^2=0.148
สี				
A: อัตราส่วนของใบเตยต่อน้ำ	6.15±1.29^{b}	6.59±1.26^{a}	6.07±1.18^{b}	ns
B: อุณหภูมิของน้ำ	5.95±1.11^{b}	6.59±1.26^{a}	6.27±1.39^{ab}	ns
AxB				ns
Color = 6.231-0.75x(A)+0.003x(B)+0.001x(AxB)				R^2=0.102
กลิ่น				
A: อัตราส่วนของใบเตยต่อน้ำ	5.58±2.14^{b}	6.66±1.94^{a}	5.17±1.74^{b}	ns
B: อุณหภูมิของน้ำ	5.03±1.83^{c}	6.66±1.94^{a}	5.72±2.19^{b}	*
AxB				ns
Odor = 4.9+0.175x(A)+0.023x(B)-0.005x(AxB)				R^2=0.183
ความชอบโดยรวม				
A: อัตราส่วนของใบเตยต่อน้ำ	5.97±1.65^{b}	6.77±1.44^{a}	5.95±1.23^{b}	ns
B: อุณหภูมิของน้ำ	5.77±1.19^{b}	6.77±1.44^{a}	6.15±1.79^{b}	ns
AxB				ns
Overall liking = 0.062-0.034x(A)+0.004x(B)				R^2=0.099

หมายเหตุ: * คือ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ns คือ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

เมื่ออัตราส่วนของใบเตยเพิ่มขึ้น (0.5, 1.25 และ 2.0 โดยน้ำหนัก) ทำให้ค่าของแข็งที่ละลายได้ในน้ำทั้งหมด ค่าความสว่าง L* ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ (DPPH) ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี และคลอโรฟิลล์รวมเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น (25, 60 และ 95 องศาเซลเซียส) ทำให้ค่าความสว่าง L* ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ (DPPH) เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งยังมีผลต่อกลิ่นของน้ำใบเตยอีกด้วย ในขณะที่อุณหภูมิของน้ำไม่มีผลต่อปริมาณคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี และคลอโรฟิลล์รวมของน้ำใบเตยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สภาวะการเตรียมน้ำใบเตยสกัดที่เหมาะสมที่สุด คือการเตรียมโดยใช้ใบเตยต่อน้ำ 2.0 เท่าและอุณหภูมิของน้ำ 95 องศาเซลเซียส ทำให้ได้ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี และคลอโรฟิลล์รวมมากที่สุด ให้คะแนนด้านกลิ่นจากผู้ทดสอบสูงที่สุด และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด

ข้อเสนอแนะ : น้ำใบเตยที่สกัดได้มีศักยภาพในการนำไปประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์อาหารและเครื่องดื่มได้ นอกจากนี้ในใบเตยมีสารสำคัญชนิดหนึ่ง คือ ฟลาโวนอยด์ ซึ่งเป็นสารที่มีฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้และมีแนวโน้มในการนำไปใช้ในการยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้ ดังนั้นสารสกัดจากใบเตยที่มีการสกัดด้วยน้ำจึงเป็นอีกหนึ่งตัวเลือกที่ปลอดภัยที่อาจจะนำไปเติมในผลิตภัณฑ์อาหารบางชนิด เช่น ไส้กรอก ลูกชิ้น เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาให้นานขึ้นในผลิตภัณฑ์เหล่านี้ ทั้งนี้ก่อนการเติมสารสกัดจากใบเตย ควรคำนึงถึงสีและการยอมรับของผู้บริโภคก่อนการเติมในลงผลิตภัณฑ์ดังกล่าว

ตารางที่ 19 ผลผลิต (Output) ผลลัพธ์ (Outcome) และผลกระทบ (Impact) จากงานวิจัย

ผลงานที่คาดว่าจะได้รับ	รายละเอียดของผลผลิต	
	แผนการดำเนินงาน	**ผลการดำเนินงาน**
ต้นแบบเทคโนโลยี – ระดับห้องปฏิบัติการ จำนวน 1 เทคโนโลยี	1. การเตรียมการสกัดน้ำใบเตย 2. การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและเคมี 3. การวิเคราะห์สมบัติด้านกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ 4. การทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส 5. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	สภาวะการสกัดที่เหมาะสม ทำให้ได้น้ำใบเตยที่เหมาะสมในการใช้เป็นสารปรุงแต่งสีและกลิ่นจากธรรมชาติสำหรับการทำผลิตภัณฑ์อาหาร
การประชุม/สัมมนา ระดับชาติจำนวน 1 เรื่อง		อยู่ในระหว่างส่งต้นฉบับเพื่อพิจารณาตีพิมพ์ในวารสารวิชาการ ซึ่งเป็นการเผยแพร่ผลงานวิจัยร่วมกับนักศึกษาของสาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร

เอกสารอ้างอิง

กัญจน์พัชร์ อุปลศิลป์. มปป. การพัฒนากระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์ใบเตยอบแห้ง. มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่.

กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข. 2535. คุณค่าทางโภชนาการอาหารไทย. พิมพ์ครั้ง 1. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์องค์การทหารผ่านศึก.

กลอยใจ เชยกลิ่นเทศ. 2556. การผลิตสีผงสำหรับผสมอาหารจากวัสดุธรรมชาติด้วยวิธีการทำแห้งแบบฉีดพ่นฝอย. โครงการวิจัย มหาวิทยาลัยราชมงคลธัญบุรี. 94 หน้า.

ณัฏฐิกา ศิลาลาย. 2549. ฟลาโวนอยด์ในใบชา: หน้าที่ การใช้ประโยชน์ และการวิเคราะห์. บทความวิจัย. วารสารเทคโนโลยีการอาหาร.ปีที่ 2 : ฉบับที่ 1. (มิถุนายน).

นิธิยา รัตนาปนนท์. 2549. เคมีอาหาร. พิมพ์ครั้ง 2. โอเดียนสโตร์. กรุงเทพฯ.

นิศานันท์ ตามกาล ณัฏฐา เลาหกุลจิตต์ และ อรพิน เกิดชูชื่น. 2558. คุณสมบัติทางกายภาพและสาร หอมระเหยของใบเตยหอม (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) สกัดด้วยน้ำ. วารสาร วิทยาศาสตร์เกษตร 46(3)(พิเศษ): 145-148.

เบจญวรรณ แจ่มใส. 2556. เปรียบเทียบการผลิตสีและกลิ่นใบเตยโดยวิธีการทาแห้งแบบพ่นฝอยกับ วิธีการตกผลึกร่วมกับซูโครส. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหารภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยศิลปากร. 128 หน้า.

ภาวิณี อารีศรีสม นรินทร์ ท้าวแก่นจันทร์ เทิดศักดิ์ โทณลักษณ์ กอบลาภ อารีศรีสม และรุ่งทิพย์ กา-วารี. 2560. อิทธิพลของการพรางแสงต่อการเจริญเติบโตของเตยหอม. หน้า 8-16. : รายงานการประชุมวิชาการประจาปี 2560. มหาวิทยาลัยแม่โจ้, เชียงใหม่.

เยาวดี รุ่งเรือง. 2552. ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดคลอโรฟิลล์และความคงตัวของสารสกัดคลอโรฟิลล์จากผักเหมี่ยง. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

วรางคณา สมพงษ์. 2542. การผลิตน้ำใบเตยผงโดยการทำแห้งแบบเยือกแข็ง. รายงานวิจัย ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต. ปทุมธานี. 71 หน้า.

ศิวัฒ ไทยอุดม และสิรินาฎ เนติสิริ, 2555, การปรับปรุงกลิ่นรสของไอศกรีมที่มีโปรตีนและน้ำมันจาก ถั่วเหลืองด้วยสมุนไพรไทย, รายงานวิจัย มหาวิทยาลัยเทคโนลียีสุรนารี

สมบูรณ์ องค์วรกุล. 2526. เตยหอม (ไมโครฟีช ลำดับ 19722). สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติกรุงเทพฯ.

อัจฉลา นิยมเดชา. 2555. ผลของการเสริมใบเตยหอม (*Pandanus amarylifolius Roxb*.) ใน อาหารต่อสมรรถภาพการผลิตของนกกระทาญี่ปุ่นและคุณภาพไข่. รายงานผลการวิจัย
มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์. หน้า 5.

เอนก หาลี และบุญยกฤต. 2560. การศึกษาประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระจากพืชผักสมุนไพรพื้นบ้าน 15 ชนิด. วารสารวิจัยและพัฒนา มจธ. ปีที่ 55: ฉบับที่ 2. (เมษายน-มิถุนายน). หน้า 283-293.

Bhattacharjee, P., Kshirsagar, A. and Singhal, R.S. 2005. Supercritical carbon dioxide extraction of 2-acetyl-1-pyrroline from *Pandanus amaryllifolius* Roxb. Food Chemistry. 91: 255–259.

Busqué, F., March, P.D., Figueredo, M., Font, J. and Sanfeliu, E. 2002. Total synthesis of four Pandanus alkaloids: pandamarilactonine-A and -B and their chemical precursors norpandamarilactonine-A and –B. Tetrahedron Letters 43: 5583–5585.

Buttery, R.G., Ling, L.C. and Juliano, B.O., 1982. 2-acetyl-1-pyrroline: An important aroma component of cooked rice. Chemistry and Industry. 4: 958-959.

Buttery, R.G., Juliano, B.O. and Ling, L.C. 1983. Identification of rice aroma compound (2-acetyl-1-pyrroline) in pandan leaves. Chemistry and Industry. 23: 478.

Buttery, R.G., Ling, L.C. Mon, T.R. 1986. Quantitative Analysis of 2-Acetyl-1-Pyrroline in Rice. Journal of Agriculture Food Chemistry. 34: 112-114.

Buterry, R.G., Ling, L.C. and Donald, D.J. 1994. Studied on Flavor Volatiles of some Sweet Corn Products. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 42: 791-793.

Cubas, C., Lobo, M.G. and Gonzalez, M. 2008. Optimization of the extraction of chlorophyll in green beans (*Phaseolus vulgaris* L.) by N,N-dimethylformamide using response surface methodology. Journal of Food Composition and Analysis. 21: 125-133.

Elbe, V. J.H., Huang, A.S., Attoe, E.L. and Nank, K.W. 1986. Pigment composition and color of conventional and very-green canned bean. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 34: 54-58.

Ferruzzi, M.G. and Blakeslee, J. 2007. Apparent absorption of chlorophyll from spinach in an assay with dogs. International Food Science. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 8: 426-432.

Hojnik, M., Skerget, M. and Knez, Z. 2007. Isolation of chlorophylls from stinging nettle (*Urtica dioica* L.). Separation and Purification Technology. 57: 37-46.

Jiang. J. 1999. Volatile composition of pandan leaves (*Pandanus amaryllifolius*), pp.105-109. In Shahidi, F. and C.T. Ho, ed. Flavor Chemistry of Ethnic Foods. Kluwer Acedemic/Plenum Publishers, New York.

Jone, I.D., Wite, R.C., Gidds, E., Stutler, L. and Nelson, L.A. 1977. Experimental formation of zinc and copper complexes of chlorophyll derivatives in vegetable tissue by thermal processing. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 25: 149-153.

Kantilal, V. Wakte, R.L., Zanan, R.J., Thengane, Narendra, J. and Nadaf, A.B. 2012.Identification of Elite Population of *Pandanus amaryllifolius* Roxb. for Higher 2-Acetyl-1-pyrroline and Other Volatile Contents by HS-SPME/GC-FID from Peninsular India. Food Analytical Methods. 5: 1276-1288.

LaBorde, L.F. and Elbe, V.J.H. 1944. Chlorophyll derivatives in heated green vegetable. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 42: 1100-1130.

Laksanalamai, V. and Ilangantileke, S. 1993. Comparison of aroma compound (2-acetyl-1-pyrroline) in leaves from pandan (*Pandanus amaryllifolius*) and Thai Fragrant rice (Khao Dawk Mali 105). Cereal Chemistry. 70(4):381-384.

Laohakunjit, N. and Noomhorm, A. 2004. Supercritical carbon dioxide extraction of 2- acetyl-1-pyrroline and volatile components from pandan leaves. Journal of Flavour and Fragrance. 19(3): 251–259.

Lim, Y. Y., Lim, T. T., and Tee, J. J. (2007). Antioxidant Properties of Several Tropical Fruits: A Comparative Study. Food Chemistry. Vol. 103, Issue 3, pp. 1003-1008

Linda S.M Ooi, Samuel S.M Sun and Vincent E.C Ooi. 2004. Purification and characterization of a new antiviral protein from the leaves of *Pandanus amaryllifolius* (Pandanaceae). Department of Biology. The Chinese University of Hong Kong, Shatin, N.T., Hong Kong, China.

Ling, SC. and Suhaila, M. 2001. Alpha-tocopherol content in 62 edible tropical plant. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 46(3): 3101-3105.

Paule, C.M. and Powers, J.J. 1989. Sensory and chemical examination of aromatic and nonaromatic rices. Journal of Food Science. 54(2): 343-346.

Resmi Aini and Ana Mardiyaningsih. 2016. Pandan leaves extract (*Pandanus amaryllifolius Roxb*) as a food preservative. Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia. 7(4): 166-173.

Rychlik, M. and Grosch, W. 1996. Identification and quantification of compotent odorants formed by toasting of wheat bread. Lebensmittel-Wissenschaft and Technology. 515-525.

Schieberle, P. and Grosch, W. 1985. Identification of volatile flavor compounds of wheat bread crust-comparison white rye bread crust. Z. Lebensm.-Unters.-Forsch. 180: 474-478.

Schieberle, P. and Grosch, W. 1987. Quantitative analysis of aroma compounds in wheat and rye crust using a stable isotope dilution assay. Journal of Agricaltural and Food Chemistry. 35: 252-257.

Schieberle, P. 1991. Primary odorants of popcorn. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 39: 1141-1144.

Senklang, P. and Anprung, P. 2009. Effects of carrier types on the physicochemical properties and stability of spray dried chlorophyll powders from pandan leaf. Journal of Agricultural Science. 40(1): 35-38.

Takeoga G. 1999. Flavor Chemistry of Vegetables. In Teranishi R., Emily L.W. and Irwin H, ed. Flavor Chemistry: 30 Years of Progress. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York. 287-304p.

Takayama, H.T. Ichikawa, M. Kitajima, M.G. and Aimi, N. 2001. Isolation and characterization of two new alkaloids norpandamarilactonine-A and –B, from *Pandanus amaryllifolius* by spectroscopic and synthetic methods. Journal Natural Products. 64: 1224-1225

Thimmaraju, R., Bhagyalakshmi, N., Narayan, MS., Venkatachalam, L. and Ravishankar, GA. 2005. In vitro culture of Pandanus amaryllifolius and enhancement of 2- acetyl-1-pyrroline, the major flavouring compound of aromatic rice, by precursor feeding of Lproline. Journal of Agricultural Science. 85(15): 2527–2534.

Tijskens, L.M.M., Schijvens, E.P.H. and Biekman, E.S.A. 2001. Modelling the change in colour of broccoli and green bean during blanching. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 2: 303-313.

Tonucci, L.H. and Elbe, V.J.H. 1992. Kinetic of the formation of zinc complex of chlorophyll derivatives Journal of Agricultural and Food Chemistry. 40: 2341- 2344.

Von Elbe, J.H. and Schwartz, S.J.1996. Colorants. In Food Chemistry. 3rd ed. (Fennema, O.R. ed.). Marcel Dekker, Inc., New York.

Wongpornchai, S., Sriseadka, T. and Choonvisase, S. 2003. Identification and quantitation of the rice aroma compound, 2-acetyl-1- pyrroline, in bread flowers (*Vallaris glabra* Ktze). Journal of Agricultural and Food Chemistry. 51: 457–462.

Wrolstad, R.E. 2001. Current protocols in Food Analytical Chemistry. Vol. 1. John Wiley and Son. New York.

Wu, L. C., Hsu, H. W., Chen, Y. C., Chiu, C. C., Lin, Y. I., and Ho, J. A. A. (2006). Antioxidant and Antiproliferative Activities of Red Pitaya. Food Chemistry. Vol. 95, Issue 2, pp. 319-327. DOI: 10.1016/j.foodchem.2005.01.002

Yahya, F., Lu, T., Santos, R.C.D., Fryer, P.J. and Bakalis, S. 2010. Supercritical carbondioxide and solvent extraction of 2-acetyl-1-pyrroline from Pandan leaf: The effect of pre-treatment. Journal of Supercritical Fluids. 55: 200-207.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก – การวิเคราะห์ทางกายภาพและเคมี

ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด

การวัดค่าของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำใบเตยด้วยเครื่อง Pocket Refractometer (Atago รุ่น PAL-1, Japan) โดยนำตัวอย่างหยดลงบนเครื่อง และอ่านค่าที่ได้เป็น °Brix

ความเป็นกรด-ด่าง (pH)

การวัดค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำใบเตยด้วยเครื่องวัดพีเอช (LAQUAtwin รุ่น pH Series, Japan) โดยจะต้อง Calibrate ด้วยน้ำยาบัฟเฟอร์ pH 4 และ pH 6 ก่อน หลังจากนั้นให้นำตัวอย่างน้ำใบเตยมาทดสอบ

สี

การวัดค่าสีของน้ำใบเตยด้วยเครื่องวัดสีรุ่น UltraScan VIS ,HunterLab โดยนำตัวอย่างใส่ลงคิวเวทพลาสติก แนบเข้ากับเครื่องวัดค่าสี แสดงค่าวัดที่ได้ L* a* และ b* โดยที่ค่า L* แสดงค่าความสว่าง มีตั้งแต่ 0 (ดำ) จนถึง 100 (ขาว) a* แสดงค่าความเป็นสีแดงและสีเขียว (ค่า + จะแสดงค่าสีแดง, ค่า - จะแสดงค่าสีเขียว) และ b* แสดงค่าความเป็นสีเหลืองและสีน้ำเงิน (ค่า + จะแสดงค่าสีเหลือง, ค่า - จะแสดงค่าสีน้ำเงิน)

ความหนืด

การวัดค่าความหนืดของน้ำใบเตยด้วยเครื่องวัดความหนืด (Brookfield) (Cole-Parmer รุ่น 98965-40, USA) ทดสอบด้วยเข็มเบอร์ L1 ความเร็วรอบ 100 rpm

ปริมาณคลอโรฟิลล์

จากวิธีการหาคลอโรฟิลล์ของ Arnon (1994) นำตัวอย่างน้ำใบเตยปริมาตร 5 มิลลิลิตร จากนั้นเติม 20% Acetone ปริมาตร 25 มิลลิลิตร และนำตัวอย่างผงใบเตย 2 ชนิด โดยชั่งผงใบเตยชนิดละ 10 กรัม จากนั้นเติม 20% Acetone ปริมาตร 50 มิลลิลิตร นำตัวอย่างทั้งหมดที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 645 และ 663 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Visible Spectrophotometer โดยล้างคิวเวทท์ควอตซ์ด้วย 20% Acetone ให้สะอาดและซับให้แห้ง และเซต Blank ด้วย 20% Acetone

ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (mg/l) = $12.72A_{663} - 2.69A_{645}$

ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี (mg/l) = $22.90A_{645} - 4.68A_{663}$

ปริมาณคลอโรฟิลล์รวม (mg/l) = $20.21A_{645} + 8.02A_{663}$

การวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด

สารประกอบฟีนอล (Phenolic compounds) หรือสารประกอบฟีนอล เป็นสารที่พบตามธรรมชาติในพืชหลายชนิด เช่น ผัก ผลไม้ เครื่องเทศ สมุนไพร ถั่วเมล็ดแห้ง เมล็ดธัญพืช ซึ่งถูกสร้างขึ้นเพื่อประโยชน์ในการเจริญเติบโต สารประกอบฟีนอลมีโภชนเภสัช ซึ่งสรรพคุณที่ดีต่อสุขภาพ คือ มีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) สามารถละลายได้ในน้ำ

วิธีการ

1. ผสมสารสกัดจากตัวอย่างปริมาตร 0.3 มล. กับ Folin-Ciocateu's phenol reagent (ที่เจือจางแล้ว 10 เท่า ด้วย Distilled water) ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร
2. เติมสารละลาย 7.5% โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) 1.2 มิลลิลิตร เขย่าให้ผสมกัน
3. จากนั้นตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง
4. วัดค่าการดูดกลืนแสงของสีที่เปลี่ยนแปลงที่ความยาวคลื่น 765 nm รายงานผลเป็นมิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิคต่อตัวอย่าง 100 กรัม (mg GAE/ 100 g)

การวิเคราะห์ความสามารถในการจับสารอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH

DPPH assay เป็นวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชั่น (antioxidant) ซึ่งใช้ reagent คือ 2,2-disphenyl-1-picrylhydrazyl เป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว ง่ายต่อการวิเคราะห์ ให้ความถูกต้องและแม่นยำสูง

วิธีการ

1. เตรียมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.6 mM ใน 80% Ethanol ปิเปตสารสกัดจากตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร
2. เติมสารละลาย DPPH ปริมาตร 4 มิลลิลิตร และผสมให้เข้ากัน
3. เก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที เขย่าทุก ๆ 10 นาที
4. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 nm
5. เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน Gallic acid รายงานผลเป็นมิลลิกรัมสมมูลกรดแกลิคต่อตัวอย่าง 100 กรัม (mg GAE/ 100 g)

ภาคผนวก ข - แบบประเมินทางประสาทสัมผัส

แบบประเมินการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ชื่อ..... วันที่.....

คำชี้แจง : โปรดทดสอบตัวอย่าง แล้วใส่คะแนนความชอบตามเกณฑ์ ดังนี้

1 หมายถึง ไม่ชอบเลย
2 หมายถึง ไม่ชอบมาก
3 หมายถึง ไม่ชอบปานกลาง
4 หมายถึง ไม่ชอบเล็กน้อย
5 หมายถึง เฉยๆ
6 หมายถึง ชอบเล็กน้อย
7 หมายถึง ชอบปานกลาง
8 หมายถึง ชอบมาก
9 หมายถึง ชอบเป็นพิเศษ

รหัสตัวอย่าง	**927**	**501**	**712**	**389**	**871**	**658**	**207**
ลักษณะปรากฏ							
สี							
กลิ่น							
ความชอบโดยรวม							

ข้อเสนอแนะ

.....

.....

.....

.....

ภาคผนวก ค – แบบสรุปคุณลักษณะและการใช้ประโยชน์จากการวิจัย

ชื่อโครงการ ผลของอุณหภูมิและความเข้มข้นในการสกัดต่อคุณภาพของน้ำใบเตย

คณะผู้วิจัย หัวหน้าโครงการ ผศ.ดร. วิจิตรา เหลียวตระกูล
ผู้ร่วมโครงการ ดร.วชิรญา เหลียวตระกูล และนายธนาธิป หงษ์ทองสุข

หน่วยงานที่สังกัด สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร
คณะเทคโนโลยีการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ

ประเภทของงบประมาณ
- ○ งบประมาณผลประโยชน์
- ○ งบประมาณแผ่นดิน
- ✓ งบอื่น ๆ ระบุ.....กองทุนส่งเสริมงานวิจัย.....

ปีที่รับการสนับสนุนงบประมาณ 2564 จำนวนเงิน 20,000 บาท
ระยะเวลาดำเนินการวิจัยเริ่มเดือนตุลาคม พ.ศ.2563 สิ้นสุดเดือนกันยายน พ.ศ.2564

คุณลักษณะและประโยชน์ที่ได้รับ :

องค์ความรู้ในการสกัดใบเตยด้วยน้ำ ทำให้ทราบอุณหภูมิและความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อคุณภาพของน้ำใบเตยในการใช้เป็นสารปรุงแต่งสีและกลิ่นจากธรรมชาติสำหรับการทำผลิตภัณฑ์อาหาร และอาจขยายผลการใช้ประโยชน์เชิงพาณิชย์ต่อไป และด้านวิชาการ คือ ผลงานวิจัยที่ได้จะตีพิมพ์ในวารสารวิชาการที่อยู่ในฐานข้อมูล

กลุ่มเป้าหมาย : กลุ่มเกษตรกรผู้ปลูกใบเตย กลุ่มแปรรูปขนม ผู้ประกอบการ และผู้สนใจ

หากได้มีการนำไปใช้ประโยชน์ ท่านนำไปใช้ประโยชน์ในด้านใด

- ✓ ด้านวิชาการ : ต้นฉบับอยู่ระหว่างการเขียนเพื่อขอพิจารณาตีพิมพ์ในวารสารวิชาการ
- ☐ ด้านบริการวิชาการและสังคม
- ✓ ด้านการเรียนการสอน : ในการเรียนการสอนในรายวิชาปัญหาพิเศษ
- ☐ ใช้ในการอุตสาหกรรม
- ☐ ใช้ในการพัฒนาประเทศ