

ผลกระทบของ pH และอุณหภูมิ ต่อสีและความคงตัวของสารสกัดจากกระเจี๊ยบและอัญชัน

Effect of pH and Temperature on the Stability and Visual Color of Roselle and Butterfly Pea Extracts

อรุษา เชาวณลิกิต¹ ศิโรรัตน์ อภิชาลัย² สราภรณ์ คงทอง² และ สุชนา ชูประทุม¹
Chaovanalikit, A.¹, Apichayaluk, S.², Kongtong, S.² and Chuprathum, S.¹

Abstract

Changes of the visual color and stability of roselle and butterfly pea extracts have been evaluated over pH range 1-12. The color of roselle extract was red color over pH range 1-3 and 10-12 while the color of butterfly pea extract were red at pH 1-2, purple at pH 3-6 and 10-11, and green at 7-9 and 12. After that, the red colored roselle extract at pH 2 and 10 and the various colored butterfly pea extract at pH 2, 4, 6, 8, and 10 were heated at 80 and 90 C for 2 hours. The results showed that temperature has a significant decrease the stability of the pH 2 and 10 roselle extracts and only the pH 8.0 butterfly pea extract as well as the increase of the percentage of polymeric color.

Keywords: butterfly pea, roselle, pH, temperature

บทคัดย่อ

การเปลี่ยนแปลงของสีที่ปรากฏและความคงตัวของสารสกัดกระเจี๊ยบและอัญชันถูกประเมินขึ้นในช่วง pH ระหว่าง 1-12 โดยสารสกัดกระเจี๊ยบให้สีแดงที่ pH 1-3 และ 10-12 ในขณะที่สารสกัดอัญชันให้สีแดงที่ pH 1-2 สีม่วงที่ pH 3-6 และ 10-11 และสีเขียวที่ pH 7-9 และ 12 หลังจากนั้นเมื่อนำสารสกัดกระเจี๊ยบที่ pH 2 และ 10 สารสกัดอัญชันที่ pH 2, 4, 6, 8 และ 10 มาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 และ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง พบว่า อุณหภูมิมีผลต่อความคงตัวของสารสกัดกระเจี๊ยบที่ pH 2 และ 10 และ สารสกัดอัญชันที่ pH 8 อย่างมีนัยสำคัญ โดยเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นจะทำให้ค่าครึ่งชีวิตของแอนโทไซยานินในสารสกัดมีค่าลดลงและร้อยละของสีของพอลิเมอร์มีค่าเพิ่มมากขึ้น

คำสำคัญ: อัญชัน กระเจี๊ยบ ความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ

คำนำ

แอนโทไซยานินเป็นรงควัตถุที่ให้สีแดง สีม่วง และสีน้ำเงิน พบมากในผลผลิตทางการเกษตร และมีสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และมีผลต่อการลดความเสี่ยงที่จะทำให้เกิดโรคมะเร็ง โรคภาวะข้ออักเสบ โรคหัวใจ และหลอดเลือด ความคงตัวของสีจากแอนโทไซยานินจะขึ้นกับ โครงสร้าง ความเข้มข้นของรงควัตถุ ค่าความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ ความเข้มข้นของโลหะ ไอออนิก ออกซิเจน ascorbic acid และน้ำตาล (Mazza และ Miniati, 1993) Kirca และคณะ (2007) พบว่าเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงจะส่งผลให้การสลายตัวของแอนโทไซยานินในน้ำผลไม้เพิ่มมากขึ้น Torskangerpoll และ Andersen (2005) รายงานว่า โครงสร้างของแอนโทไซยานินมีผลต่อความคงตัวของสารให้สีเมื่อมีการปรับให้อยู่ในช่วง 1-10.5 และโครงสร้างที่เป็น acylated anthocyanin จะมีสีที่คงตัวกว่า nonacylated anthocyanin

กระเจี๊ยบแดง (*Hibiscus sabdariffa* L.) และ อัญชัน (*Clitoria ternatea* L.) เป็นพืชที่ปลูกได้ในประเทศไทย นิยมนำไปต้มน้ำเป็นน้ำกระเจี๊ยบและน้ำอัญชัน ให้สีแดงและสีม่วง สีของกระเจี๊ยบและอัญชันมาจากสีของแอนโทไซยานิน ซึ่งกระเจี๊ยบประกอบด้วย Delphinidin-3-xylosylglucoside กับ Cyanidin-3-xylosylglucoside (Du และ Francis, 1973) และอัญชันประกอบด้วย tematins หรือ Delphinidin ที่มีการต่อกับน้ำตาลและกรดหลายชนิด (Terahara และคณะ, 1990) โครงสร้างที่แตกต่างกันจะทำให้สีมีความคงตัวต่างกัน งานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาผลกระทบของ pH และอุณหภูมิต่อความคงตัวของสารสกัดจากกระเจี๊ยบ และอัญชัน เพื่อใช้เป็นข้อมูลเพื่อการพัฒนาสีธรรมชาติจากผลผลิตของประเทศไทยต่อไป

¹ คณะเทคโนโลยีและนวัตกรรมผลิตภัณฑ์การเกษตร มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ 114 สุขุมวิท 23 เขตวัฒนา กรุงเทพฯ 10110

¹ Faculty of Agricultural Product Innovation and Technology, Srinakharinwirot University, 114 Sukhumvit 23, Wattana, Bangkok, 10110

² คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ 114 สุขุมวิท 23 เขตวัฒนา กรุงเทพฯ 10110

² Faculty of Science, Srinakharinwirot University, 114 Sukhumvit 23, Wattana, Bangkok, 10110

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมสารสกัด

นำดอกกระเจี๊ยบแห้งหรือดอกอัญชันแห้ง ไปบดด้วยเครื่องบด (Moulinex, OPTIBLEND 2000, France) จนได้ผงละเอียดเหมือนแป้ง ซึ่งตัวอย่างผงที่ได้มา 2 กรัม ใส่ในหลอดเซนตริฟิวส์ขนาด 50 ml เติมตัวทำละลาย 80% Acidified Ethanol (80% Ethanol : conc. HCl ในอัตราส่วน 1000 : 1) ปริมาตร 15 ml และนำไปเข้าเครื่อง sonicator (Elma, D-78224 Singen/Htw, Germany) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำไปเซนตริฟิวส์ที่ 3000 g เป็นเวลา 15 นาที (Sanyo, Falcon 6/300, UK) แยกสารละลายส่วนใสใส่ปิเปตเตอร์ขนาด 100 ml นำกากไปสกัดซ้ำด้วยสารละลาย 80% Acidified Ethanol ปริมาตร 10 ml ผ่านการ sonicate และ centrifuge และนำสารสกัดที่ได้รวมกับส่วนที่ 1 และนำไประเหยด้วยเครื่อง rotary evaporator (Buchi, R-124, Switzerland) ภายใต้สภาวะสูญญากาศ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จน Ethanol ระเหยหมด และทำการเก็บรักษาสารสกัดที่อุณหภูมิ -40 องศาเซลเซียส เพื่อเตรียมสำหรับการทดลองต่อไป

ผลกระทบของ pH ต่อ สีและ λ_{max} ของสารสกัดกระเจี๊ยบและอัญชัน

นำสารสกัดกระเจี๊ยบและอัญชันมาปรับ pH ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ที่ pH ให้เท่ากับ 1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11 และ 12 ตามลำดับ (Table 1) โดยใช้อัตราส่วนระหว่างสารสกัดและสารละลายบัฟเฟอร์ในแต่ละ pH เป็น 1.2 :100(v/v) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องให้เกิดสภาวะสมดุลเป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำไปตรวจวัดค่าสี และประเมินเป็น ความสว่าง (L) ความเข้ม (C) จากสูตร $C = \sqrt{a^2 + b^2}$ และค่าเฉดสี Hue angle (H) = $\arctan b/a^*$ และนำไปตรวจวัดค่า λ_{max} เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงของสีที่ปรากฏ ด้วยเครื่อง UV-spectroscopy (UV-160A, UV-Visible recording, spectrophotometer, SHIMADZA, Japan)

Table 1 Buffer solution preparation at pH 1-12.

pH	0.1 M HCl (ml)	0.2 M HCl (ml)	0.1 M NaOH (ml)	0.2 M NaOH (ml)	0.2 M KCl (ml)	0.1 M acetic acid (ml)	0.1 M Sodium acetate (ml)	0.1 M disodium hydrogen phosphate (ml)
1	-	134.0	-	-	50.0	-	-	-
2	-	13.0	-	-	50.0	-	-	-
3	-	-	-	-	-	982.3	17.7	-
4	-	-	-	-	-	847.0	153.0	-
5	-	-	-	-	-	357.0	643.0	-
6	-	-	-	-	-	52.2	947.8	-
7	244.0	-	-	-	-	-	-	756.0
8	44.9	-	-	-	-	-	-	955.1
9	45.0	-	-	-	-	-	-	955.0
10	-	-	33.6	-	-	-	-	966.4
11	-	-	34.7	-	-	-	-	965.3
12	-	-	-	12.0	50.0	-	-	-

ผลกระทบของอุณหภูมิต่อความคงตัวของสีในสารสกัดจากกระเจี๊ยบและอัญชันที่ pH ต่าง ๆ

นำสารสกัดกระเจี๊ยบมาปรับ pH เป็น pH 2 และ 10 และนำสารสกัดอัญชันมาปรับ pH เป็น pH 2, 4, 6, 8 และ 10 ในสัดส่วนตัวอย่าง: บัฟเฟอร์ เท่ากับ 1.2:100 (v/v) โดย pH ที่คัดเลือกศึกษาเป็น pH ที่มีสีปรากฏอย่างชัดเจน จากนั้นนำสารสกัดทั้งหมดไปให้ความร้อน ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส หรือ 90 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 120 นาที โดยมีวัดค่าการเปลี่ยนแปลงของ % polymeric color (Wrolstad, 1975) และ ค่าครึ่งชีวิต (Kirca และ คณະ, 2006) ทุก ๆ 10 นาที ค่าครึ่งชีวิต ($t_{1/2}$) คำนวณได้จาก $\ln(C_0/C_t) = k \times t$ และ $t_{1/2} = -\ln 0.5 / k$ โดย C_0 คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ λ_{max} ที่เวลา 0 นาที และ C_t ค่าการดูดกลืนแสงที่ λ_{max} ที่เวลา t นาที

การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยวิธี Analysis of variance (ANOVA) แบบ factorial โดยใช้โปรแกรม SPSS version 11.5 และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลกระทบของ pH ต่อ สี และ λ_{max} ของสารสกัดกระเจี๊ยบและอัญชัน

เมื่อนำสารสกัดกระเจี๊ยบและอัญชันมาปรับ pH ตั้งแต่ 1-12 พบว่า สารสกัดกระเจี๊ยบมีสีที่ปรากฏคือ สีแดง ที่ pH 1- 3 และ pH 10 - 12 และมีสีน้ำตาลที่ pH 4 - 9 (Figure 1) ในขณะที่ สารสกัดอัญชันให้สีหลายเฉดสี คือ สีแดงที่ pH 1 – 2สีม่วงที่ pH 3 - 6 และ 10 - 11 และมีสีเขียวที่ pH 7-9 และ 12 (Figure 2) เมื่อนำสารสกัดทั้งหมดไปวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสงพบว่า เมื่อ pH เพิ่มขึ้น ความยาวคลื่นสูงสุดและการดูดกลืนแสงของสารสกัดกระเจี๊ยบและอัญชันนั้นเปลี่ยนไป (Figure 2) เนื่องจาก pH มีผลต่อโครงสร้างของแอนโทไซยานิน รงควัตถุสีแดงในกระเจี๊ยบและอัญชันทำให้สามารถดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่นเปลี่ยนแปลงไป โดยจะเห็นได้ว่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดกระเจี๊ยบและอัญชันนั้นแตกต่างกัน เนื่องจากจากกระเจี๊ยบและอัญชันมีชนิดของแอนโทไซยานินที่แตกต่างกัน แอนโทไซยานินในกระเจี๊ยบประกอบด้วย Delphinidin-3-xylosylglucoside กับ Cyanidin-3-xylosylglucoside (Du และ Francis, 1973) ซึ่งเป็น non-acylated anthocyanin แอนโทไซยานินที่มีโครงสร้างประกอบด้วยน้ำตาล ส่วนแอนโทไซยานินในอัญชันประกอบด้วย ternatins หรือ Delphinidin ที่มีการต่อกับน้ำตาลและกรดหลายชนิด (Terahara และคณะ, 1990) ซึ่งจัด เป็น acylated anthocyanin แอนโทไซยานินที่มีโครงสร้างประกอบด้วยน้ำตาลและกรด

Cevallos-Casals และ Cisneros-Zevallos (2004) ทำการศึกษาความคงตัวของสีจากองุ่นแดง ข้าวโพดสีม่วง มันฝรั่งสีแดงและสีม่วง พบว่า สารสกัดจากข้าวโพดสีม่วงและองุ่นแดง ซึ่งมีสารประกอบแอนโทไซยานินที่เป็น non-acylated anthocyanin เป็นส่วนใหญ่สีจะจางลงเมื่อปรับ pH เป็น 4-6 เพราะโครงสร้างเปลี่ยนจาก flavylium cation ซึ่งมีสีแดงไปเป็น carbinal ซึ่งไม่มีสี ส่วนสารสกัดจากมันเทศสีแดงและแครอทม่วงซึ่งมีสารประกอบแอนโทไซยานินที่เป็น acylated anthocyanin จะให้เฉดสีที่หลากหลาย pH จึงเป็นปัจจัยหนึ่งส่งผลกับโครงสร้างทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงส่งผลต่อการดูดกลืนพลังงานแสงเห็นได้ UV-Spectra ที่เปลี่ยนไป ดัง Figure 1 และ Figure 2

ผลกระทบของอุณหภูมิต่อความคงตัวของสีในสารสกัดจากกระเจี๊ยบและอัญชันที่ pH ต่าง ๆ

เมื่อนำสารสกัดกระเจี๊ยบและอัญชันมาปรับ pH ที่ปรากฏเฉดสีต่าง ๆ และนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 และ 90 องศาเซลเซียส พบว่า อุณหภูมิมีผลต่อความคงตัวของแอนโทไซยานินในสารสกัดกระเจี๊ยบที่ pH 2 และ 10 และสารสกัดอัญชันที่ pH 8 โดยจะทำให้การสลายตัว และ polymer เพิ่มขึ้น เพิ่มมากขึ้นเห็นได้จากค่า Degradation Index ลดลง แล % polymeric เพิ่มขึ้น อีกทั้งทำให้ค่าครึ่งชีวิตลดลง ดัง Table 2 นอกจากนี้สีของสารสกัดอัญชันที่ pH 2 -6 และ 10 มีความคงตัวสูง Cevallos-Casals และ Cisneros-Zevallos (2004) รายงานว่า สารสกัดจากมันเทศสีแดงและแครอทม่วงที่มีโครงสร้างของแอนโทไซยานินเป็นพวก acylated anthocyanin มีความคงตัวสูงจะมีการเปลี่ยนแปลงเป็นสารประกอบ polymeric เพียงเล็กน้อยหลังจากให้ความร้อนเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ดังนั้นสารสกัดอัญชันจึงเป็นสารให้สีที่ควรศึกษาและพัฒนาสารสกัดอัญชันให้ เป็นสารให้สีตามธรรมชาติที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารต่อไป

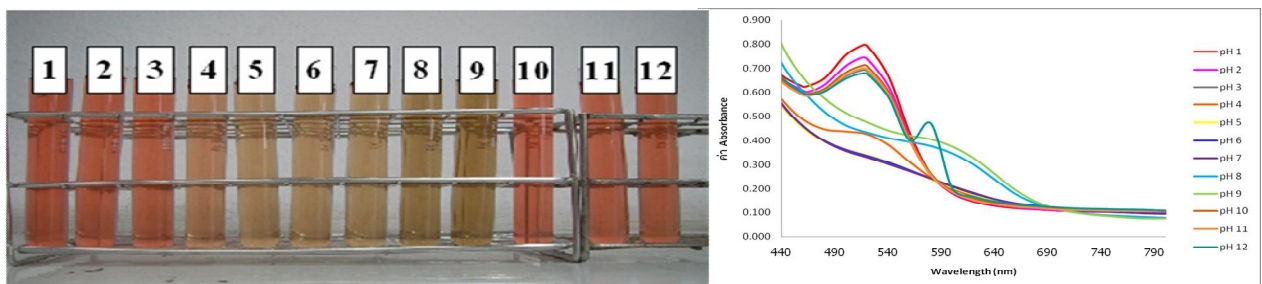


Figure 1 Color change and absorption wavelength of roselle extract at pH 1-12

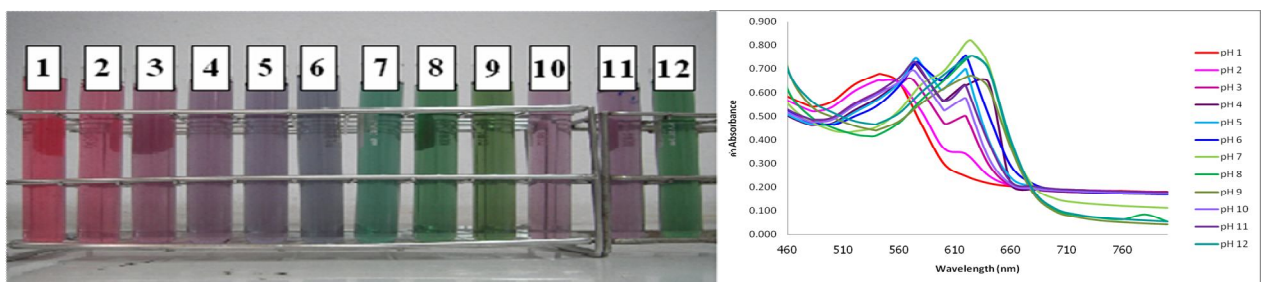


Figure 2 Color change and absorption wavelength of butterfly pea extract at pH 1-12.

Table 2 Degradation rate of anthocyanin, half life and % polymeric color of roselle and butterfly pea extracts.

สารสกัด	pH	Temperature (°C)	Degradation Index		%Polymeric color		t1/2(h)
			0 นาที	120 นาที	0 นาที	120 นาที	
กระเจี๊ยบ	2	80	0.94 ± 0.03	0.83 ± 0.04	51.18 ± 4.45	54.81 ± 1.29	9.26 ± 0.52
		90	0.96 ± 0.02	0.75 ± 0.01	47.90 ± 0.75	55.55 ± 0.90	4.94 ± 0.44
	10	80	0.92 ± 0.01	0.80 ± 0.01	47.43 ± 0.06	60.27 ± 2.42	8.89 ± 0.00
		90	0.92 ± 0.03	0.71 ± 0.04	45.85 ± 2.44	63.30 ± 5.16	4.81 ± 1.36
อัญชัน	8	80	0.60 ± 0.01	0.47 ± 0.05	53.65 ± 2.78	55.02 ± 0.43	8.43 ± 1.70
		90	0.56 ± 0.94	0.41 ± 0.05	61.07 ± 15.63	64.89 ± 11.95	5.64 ± 0.20

สรุปผล

ความเป็นกรด-ด่าง (pH) มีผลต่อความคงตัวของสารสกัดจากกระเจี๊ยบและอัญชัน และการให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงทำให้ความคงตัวของสีของแอนโทไซยานินโดยเฉพาะสารสกัดกระเจี๊ยบ ในขณะที่มีผลเพียงเล็กน้อยต่อสารสกัดอัญชัน อาจเป็นเพราะ โครงสร้างแอนโทไซยานินของกระเจี๊ยบเป็น nonacylated anthocyanin ซึ่งต่างจากอัญชันที่มี acylated anthocyanin เป็นองค์ประกอบหลัก

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประเภททุนศูนย์ความเป็นเลิศทางวิชาการ “ศูนย์วิจัยและพัฒนาอุตสาหกรรมอาหารและสิ่งทอ” ประจำปี 2552

เอกสารอ้างอิง

- Cevallos-Casals, B. A. and Cisneros-Zevallos, L., 2004, Stability of Anthocyanin-Based Aqueous Extracts of Andean Purple Corn and Red-Fleshed Sweet Potato Compared to Synthetic and Natural Colorants, Food Chemistry, 86(1): 69-77.
- Du, C.T. and Francis, F.J., 1973, Anthocyanins of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.), Journal of Food Science, 38:810-812.
- Kirca, A., Özkan, M. and Cemeroglu, B., 2006, Stability of Black Carrot Anthocyanins in Various Fruit Juices and Nectars, Food Chemistry, 97(4): 598-605.
- Mazza, G. and Miniati, E., 1993, Anthocyanins in Fruits, Vegetables, and Grains. Legumes, CRC Press, Boca Raton Inc., Florida, 1-28.
- Terahara, N., Toki, K., Saito, N., Honda, T., Matsui, T. and Osajima, Y., 1998, Eight New Anthocyanins, Ternatins C1-C5 and D3 and Preternatins A3 and C4 from Young *Clitoria ternatea* flowers, Journal of Natural Products, 61(11): 1361-1367.
- Torskangerpoll, K. and Andersen, Ø.M., 2005, Colour Stability of Anthocyanins in Aqueous Solutions at Various pH Values. Food Chemistry, 89: 427-440.
- Wrolstad, R. E., 1976, Color and Pigment Analyses Fruit Products. Agricultural Experiment Station, Oregon University, Corvallis, Oregon. Station Bulletin, 624, 1-17.