

Research Article

# ผลของระยะเวลาการแช่ข้าวในสารสกัดสมุนไพรภายใต้ความดันสุญญากาศและความดันบรรยากาศปกติต่อคุณภาพของข้าวเสริมสารสกัดสมุนไพรด้วยเทคนิคการแทรกซึมภายใต้สภาวะสุญญากาศ

## Effect of vacuum and relaxation times on the quality of rice fortified with herbal plant extracts by vacuum impregnation technique

หทัยทิพย์ ร้องคำ<sup>1\*</sup>, เกตุการ ดาจันทา<sup>1</sup>, อุทัยวรรณ ฉัตรธง<sup>1</sup> และ ทรงพรรณ สังข์ทรัพย์<sup>1</sup>

Hathaitip Rongkom<sup>1\*</sup>, Katekan Dajanta<sup>1</sup>, Utaiwan Chattong<sup>1</sup> and Songpan Sungsub<sup>1</sup>

<sup>1</sup>สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตรและอาหาร มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม อ.เมือง จ.พิษณุโลก 65000

<sup>1</sup>Division of Food Science and Technology, Faculty of Food and Agricultural Technology, Pibulsongkram Rajabhat University, Phitsanulok

\*E-mail: hathaitip\_111@hotmail.com

Received: 13/10/2020; Revised: 27/01/2021; Accepted: 14/02/2021

### บทคัดย่อ

เทคนิคการแทรกซึมภายใต้สภาวะสุญญากาศ เป็นเทคนิคที่ใช้เติมองค์ประกอบที่มีประโยชน์ลงในโครงสร้างของอาหาร โดยไม่ทำลายโครงสร้างอาหาร งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของระยะเวลาการแช่ข้าวในสารสกัดสมุนไพรภายใต้ความดันสุญญากาศและความดันบรรยากาศปกติต่อคุณภาพของข้าวเสริมสารสกัดดอกกระเจี๊ยบแดง (*Hibiscus sabdariffa* L.) และดอกอัญชัน (*Clitoria ternatea* L.) ด้วยเทคนิคการแทรกซึมภายใต้สภาวะสุญญากาศ ผันแปรระยะเวลาการแช่ภายใต้ความดันสุญญากาศ 50 มิลลิบาร์ (Vacuum time) นาน 10 และ 20 นาที จากนั้นเพิ่มระดับความดันให้เข้าสู่ความดันบรรยากาศปกติ และแช่ต่อเป็นเวลา 10 และ 20 นาที (Relaxation time) จากการทดลองพบว่า ค่าความสว่าง (L\* value) ของข้าวเสริมสารสกัดสมุนไพรลดลงตามระยะเวลาการแช่ภายใต้ความดันสุญญากาศและความดันบรรยากาศปกติที่เพิ่มขึ้น ขณะที่เปอร์เซ็นต์การสูญเสีย น้ำ ปริมาตรสารสกัดสมุนไพรที่แทรกซึมในเมล็ดข้าว ปริมาตรของเมล็ดข้าวที่เสีรูปร่าง และความพรุนที่ยอมให้สารสกัดสมุนไพรเคลื่อนที่ผ่านเมล็ด



## บทนำ

เทคนิคการแทรกซึมภายใต้สภาวะสุญญากาศ (Vacuum impregnation, VI) เป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพในการเติมองค์ประกอบที่มีประโยชน์ลงใน โครงสร้างของอาหารที่มีรูพรุน โดยไม่มีการทำลาย โครงสร้างของอาหาร (Occhino et al., 2011) โดยอาศัยระบบการแช่ชิ้นอาหารในสารละลายภายใต้สุญญากาศเพื่อให้สารละลายภายนอกแทรกซึมเข้าไปแทนที่น้ำและอากาศในรูพรุนของชิ้นอาหาร ระบบสุญญากาศช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการแลกเปลี่ยนมวลสาร (Lima et al., 2016) ซึ่งช่วยลดเวลาเมื่อเทียบกับการแช่ภายใต้ความดันบรรยากาศปกติ การพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพด้วยเทคนิค VI จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจเช่น การเสริมสารสกัดผักขาวในข้าวเจ้าขาว (Purnomo et al., 2018) เสริมแคลเซียมในมะเขือ แครอท เห็ด และสับปะรด (Gras et al., 2002; Lima et al., 2016) การเสริมสารสกัดชาเขียวและแอนโทไซยานินจากน้ำบลูเบอร์รี่ ในซันแอปเปิ้ล (Castagnini et al., 2015; Tappi et al., 2017) และการเสริมจุลินทรีย์โพรไบโอติกลงในข้าวและแอปเปิ้ล (Krasaekoopt & Suthanwong, 2008; Akman et al., 2019) โดยเวลาการแช่อาหารในสารละลายภายใต้ความดันสุญญากาศ (Vacuum time) และความดันบรรยากาศปกติ (Relaxation time) เป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อกระบวนการ VI อย่างมาก โดยเวลาการแช่ภายใต้ความดันสุญญากาศคือระยะเวลาในขณะที่แช่ชิ้นอาหารในสารละลายและลดความดันลงทำให้โครงสร้างของอาหารเกิดการเสียรูป (Deformation) หรือการยืดขยายของท่อขนาดเล็ก (Capillaries) ส่งผลให้อากาศและสารละลายตามธรรมชาติที่อยู่ในรูพรุนของชิ้นอาหารแพร่ออกจากโครงสร้างอาหารและเกิดการแทนที่อากาศในรูพรุนบางส่วนด้วยสารละลายภายนอก ในขณะที่เวลาการแช่ภายใต้ความดันบรรยากาศปกติ คือระยะเวลาหลังจากช่วงของการลดความดัน โดยจะเพิ่มความดันให้กลับสู่สภาวะความดันบรรยากาศปกติ ในขั้นตอนนี้โครงสร้างของอาหารจะกลับสู่สภาวะสมดุล สารละลายภายนอกจะแพร่ผ่านรูขนาดเล็กเข้าไปในเนื้อเยื่อของชิ้นอาหาร โดยอาศัยกลไก Hydrodynamic mechanism (Derossi et al., 2012) ผลการศึกษาของ Moreira & Almohaimeed (2018) พบว่าการเพิ่มเวลาการแช่ชิ้นมันฝรั่งภายใต้ความดันสุญญากาศและความดันบรรยากาศปกติจาก 5 เป็น 15 นาที ช่วยให้สารสกัดบีทรูทแทรกซึมเข้าสู่โครงสร้างของชิ้นมันฝรั่งได้มากขึ้น และ Hironaka et al. (2011) รายงานว่าการแช่ภายใต้ชิ้นมันฝรั่งภายใต้สภาวะความดันสุญญากาศที่ระดับ 70 มิลลิเมตรปรอท นาน 60 นาที ส่งผลให้ชิ้นมันฝรั่งมีวิตามินซีสูงกว่าการแช่เป็นเวลา 15 และ 30 นาที Derossi et al. (2010) พบว่าการเพิ่มระยะเวลาการแช่ภายใต้ความดันปกติจาก 10 เป็น 30 นาที สามารถเพิ่มปริมาณกรดแกล็กติกในพริกหยวกสไลด์ ซึ่งสามารถลดค่าความเป็นกรด-ด่างของพริกหยวกสไลด์ และยืดอายุการเก็บรักษาพริกหยวกได้

ข้าวเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทยและภูมิภาคเอเชีย โดยข้าวเจ้าขาวเป็นข้าวที่นิยมบริโภคและส่งออกรายได้ให้กับประเทศมากที่สุด (Makmuang et al., 2016; Purnomo et al., 2018) การเพิ่มมูลค่าข้าวขาวโดยแปรรูปให้เป็นข้าวเสริมสมุนไพรกำลังได้รับความนิยมเพิ่มขึ้น แต่ส่วนใหญ่เป็นข้าวที่เคลือบด้วยสมุนไพรที่ผลิตโดยการแช่ข้าวในสารสกัดสมุนไพรในบรรยากาศปกติหรือการฉีดพ่นสารสกัดสมุนไพรลงบนเมล็ดข้าวก่อนนำไปอบแห้ง และการเคลือบสารสกัดสมุนไพรด้วยเครื่องเคลือบแบบกระแทกหมุน (Duangkhamchan &

Siriamornpun, 2015) แต่การผลิตข้าวเสริมสารสกัดสมุนไพรด้วยวิธีเหล่านี้มีข้อด้อยคือ ใช้ระยะเวลานานในการเคลือบ สารสกัดสมุนไพรเกิดการฟุ้งกระจายและเคลือบอยู่เพียงบริเวณผิวของเมล็ดข้าวเท่านั้น จึงเกิดความไม่สม่ำเสมอของสารสกัดสมุนไพรที่เคลือบเมล็ดข้าว นอกจากนี้ยังเกิดการเสียหายของเมล็ดข้าวในระหว่างการเคลือบ และเกิดการเสื่อมสภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่นำมาเคลือบเมล็ดข้าว เนื่องจากเป็นกระบวนการที่ใช้ความร้อนและมีการสัมผัสกับแสงและออกซิเจน อีกทั้งยังเกิดการสูญเสียสารสำคัญในระหว่างกระบวนการล้างและการหุงต้มอีกด้วย (Steiger et al., 2014) ในขณะที่การเสริมสารสกัดสมุนไพรด้วยเทคนิค VI สามารถลดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ เนื่องจากเป็นกระบวนการที่ทำให้ออกซิเจนในรูพรุนของชั้นอาหารถูกแทนที่ด้วยสารละลายภายนอก อีกทั้งยังเป็นกระบวนการที่ไม่ใช้ความร้อนอีกด้วย (Hironaka et al., 2011)

ดอกกระเจี๊ยบแดง (*Hibiscus sabdariffa* var. *sabdariffa* Linn.) มีสารสำคัญในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Flavonoid) และเฟินนิลโพรพานอยด์ (Phenylpropanoid) รวมถึงสารสีในกลุ่มแอนโทไซยานินที่ละลายน้ำ และสารประกอบฟีนอลิก (Danpikulthong et al., 2017) ซึ่งสารสำคัญเหล่านี้สามารถลดระดับไขมันและคอเลสเตอรอลในเลือด ลดความดันโลหิต และต้านทานการเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งได้ จึงนิยมเติมสารสกัดกระเจี๊ยบแดงลงในอาหารเพื่อเสริมสมบัติการต้านอนุมูลอิสระหรือใช้เป็นสีผสมอาหารจากธรรมชาติแทนสีสังเคราะห์ (Anthika et al., 2015) ส่วนดอกอัญชัน (*Clitoria ternatea* L.) เป็นพืชสมุนไพรที่นำมาใช้ประโยชน์ในการเป็นสารสีตามธรรมชาติอย่างแพร่หลาย มีรงควัตถุสำคัญคือ สารแอนโทไซยานินซึ่งมีสีน้ำเงินถึงม่วง มีสมบัติการละลายน้ำและเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ดี (Azima et al., 2017) และมีงานวิจัยระบุว่าสารสกัดดอกอัญชันมีสารต้านอนุมูลอิสระหลายชนิด เช่น Glucoside และ Malonyl flavonal glycosides การนำสารสกัดดอกอัญชันมาใช้เป็นส่วนประกอบของอาหารจะช่วยเพิ่มสารต้านอนุมูลอิสระในอาหารได้ (Rajan et al., 2018) ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเสริมสารต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดดอกกระเจี๊ยบแดงและดอกอัญชันในข้าวเจ้าขาวด้วยเทคนิค VI โดยผันแปรเวลาการแช่ข้าวเจ้าขาวในสารสกัดดอกกระเจี๊ยบแดงและดอกอัญชันภายใต้ความดันสุญญากาศที่ระดับ 50 มิลลิบาร์ (Vacuum time) เป็นเวลา 10 และ 20 นาที และเวลาในการแช่ข้าวในสารสกัดพืชสมุนไพรภายใต้ความดันบรรยากาศปกติ (Relaxation time) เป็นเวลา 10 และ 20 นาที ซึ่งจะเป็นการช่วยเพิ่มมูลค่าและคุณค่าทางโภชนาการให้แก่ข้าวขาวที่มีราคาตกต่ำได้

## วิธีการทดลอง

### 1. การเตรียมตัวอย่าง

#### 1.1 การนึ่งข้าว

นำข้าวเจ้าขาวสายพันธุ์ กข. 31 ที่ได้รับจากวิสาหกิจชุมชนบ้านบางกระน้อย จังหวัดพิษณุโลก มาอบในตู้อบลมร้อน (Memmert, Germany) ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปแช่น้ำร้อนอุณหภูมิ

90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ก่อนนำไปสะเด็ดน้ำ (Danpikulthong et al., 2017) จากนั้นนำข้าวไปนึ่งบนน้ำเดือดเป็นเวลา 20 นาที พักไว้ให้เย็นก่อนนำไปเสริมสารสกัดสมุนไพรด้วยเทคนิค VI ต่อไป

### 1.2 การเตรียมสารสกัดพืชสมุนไพร

บดดอกกระเจี๊ยบแดงและดอกอัญชันแห้งจากห้างแม่โคโร จังหวัดพิษณุโลก ให้ละเอียดด้วยเครื่องบดสมุนไพร (Disintegrator, WF-10B, China) จากนั้นร่อนผ่านตะแกรงขนาด 60 เมช และแช่ผงสมุนไพรในน้ำอุ่นอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ในอัตราส่วน 1:30(w/v) เป็นเวลา 30 นาที ก่อนกรองด้วยผ้าขาวบางจะได้สารสกัดดอกกระเจี๊ยบแดงและดอกอัญชัน จากนั้นปล่อยให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้องก่อนนำไปเสริมในเมล็ดข้าวด้วยเทคนิค VI ต่อไป

### 2. การเสริมสารสกัดสมุนไพรในข้าวด้วยเทคนิค VI

นำข้าวที่ผ่านการนึ่งจากข้อ 1.1 จำนวน 300 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 1,000 มิลลิลิตร เติมสารสกัดดอกกระเจี๊ยบแดงและดอกอัญชันที่สกัดได้ในข้อ 1.2 จำนวน 300 มิลลิลิตร นำตัวอย่างไปผ่านกระบวนการ VI ในตู้สุญญากาศ (JEIO TECH, Korea) โดยกำหนดระดับความดันสุญญากาศที่ 50 มิลลิบาร์ และผันแปรเวลาการแช่ข้าวในสารสกัดสมุนไพรภายใต้ความดันสุญญากาศ (Vacuum time) ที่แตกต่างกัน 2 ระดับคือ 10 และ 20 นาที และเวลาในการแช่ข้าวในสารสกัดสมุนไพรที่ความดันบรรยากาศ (Relaxation time) 2 ระดับ คือ 10 และ 20 นาที จะได้ข้าวเสริมสารสกัดสมุนไพร จากนั้นนำไปวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ และนำข้าวเสริมสารสกัดสมุนไพรไปอบแห้งในตู้อบลมร้อน (Memmert, Germany) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จนมีค่า Water activity ต่ำกว่า 0.6 จะได้ข้าวเสริมสารสกัดสมุนไพรที่ผ่านการอบแห้ง จากนั้นบรรจุในถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เพื่อรอการตรวจวิเคราะห์คุณภาพการต้านอนุมูลอิสระต่อไป

### 3. การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพของข้าวเสริมสารสกัดพืชสมุนไพร

#### 3.1 ค่าสี

วัดค่าสีระบบ CIE แสดงค่า L\*, a\* และ b\* ของข้าวเสริมสารสกัดสมุนไพรที่ผ่านกระบวนการ VI ด้วยเครื่องวัดสี Minolta (CR-10, Japan)

#### 3.2 เปอร์เซ็นต์การสูญเสีย น้ำของเมล็ดข้าวเสริมสารสกัดสมุนไพร (Water loss)

คำนวณเปอร์เซ็นต์การสูญเสีย น้ำของข้าวเสริมสารสกัดสมุนไพรด้วยเทคนิค VI ดังสมการที่ 1 (Rongkom et al., 2013)

$$WL = \frac{W_{w0} - W_{wt}}{W_{ro}} \times 100 \quad (1)$$

เมื่อ  $w_{w0}$  คือ น้ำหนักของน้ำในข้าวก่อนผ่านเทคนิค VI (g)

$w_{wt}$  คือ น้ำหนักของน้ำในข้าวหลังผ่านเทคนิค VI (g)

$w_{ro}$  คือ น้ำหนักของข้าวก่อนผ่านกระบวนการ VI (g)

### 3.3 ปริมาตรสารสกัดสมุนไพรที่แทรกซึมเข้าสู่เมล็ดข้าวหลังผ่านกระบวนการ VI (Impregnated sample volume fraction, X)

คำนวณปริมาตรสารสกัดสมุนไพรที่แทรกซึมเข้าสู่เมล็ดข้าวหลังผ่านกระบวนการ VI (X) โดยชั่งน้ำหนักข้าวที่ผ่านการนี้ก่อนนำไปเสริมสารสกัดสมุนไพรด้วยเทคนิค VI ( $M_i$ ) และชั่งน้ำหนักข้าวที่ผ่านการเสริมสารสกัดสมุนไพรด้วยเทคนิค VI ( $M_f$ ) หาค่าความหนาแน่นของสารสกัดสมุนไพร ( $\rho_s$ ) ด้วยเครื่อง Pycnometer ขนาด 25 มิลลิลิตร และวัดปริมาตรเริ่มต้นของข้าวนี้ก่อนเข้าสู่กระบวนการ VI จำนวน 20 กรัม ด้วยกระบอกตวงขนาด 50 มิลลิลิตร ( $V_0$ ) คำนวณปริมาตรสารสกัดสมุนไพรที่แทรกซึมเข้าสู่เมล็ดข้าวหลังผ่านกระบวนการ VI (X) ดังสมการที่ 2 (Rongkom et al., 2013)

$$X = \frac{M_f - M_i}{\rho_s V_0} \quad (2)$$

เมื่อ:  $M_f$  คือ น้ำหนักข้าวหลังผ่านเทคนิค VI (kg)  
 $M_i$  คือ น้ำหนักข้าวก่อนผ่านเทคนิค VI (kg)  
 $\rho_s$  คือ ความหนาแน่นของสารสกัดพืชสมุนไพรที่ทำ VI ( $\text{kg/m}^3$ )  
 $V_0$  คือ ปริมาตรเริ่มต้นของเมล็ดข้าว ( $\text{cm}^3$ )

### 3.4 ค่าความพรุนที่ยอมให้สารสกัดพืชสมุนไพรแทรกซึมเข้าสู่เมล็ดข้าว (Effective porosity, $\epsilon_e$ )

คำนวณค่าความพรุนที่ยอมให้สารสกัดสมุนไพรแทรกซึมเข้าสู่โครงสร้าง ( $\epsilon_e$ ) ของเมล็ดข้าวที่ผ่านเทคนิค VI ดังสมการที่ 3 (Rongkom et al., 2013)

$$\epsilon_e = [(X - \gamma) + (\gamma/r)] / (1 - 1/r) \quad (3)$$

เมื่อ: r คือ อัตราส่วนแรงดันสาร =  $\frac{\text{ความดันบรรยากาศ}}{\text{ความดันสุญญากาศ}}$

## 4. การวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

### 4.1 การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ

นำข้าวเสริมสารสกัดสมุนไพรด้วยเทคนิค VI ที่อบแห้งแล้วมาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบดสมุนไพร (Disintegrator, WF-10B, China) ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 60 เมช ผสมผงข้าวเสริมสมุนไพรกับตัวทำละลายเอทานอล ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ในอัตราส่วน 1:5 (w/v) ภายใต้สภาวะอัลตราโซนิกที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

นาน 30 นาที แล้วนำมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4 เก็บสารสกัดที่กรองได้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เพื่อรอการตรวจวิเคราะห์คุณภาพการต้านอนุมูลอิสระต่อไป

#### 4.2 วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic compounds)

ตรวจวิเคราะห์ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในข้าวเสริมสารสกัดสมุนไพรตามวิธีของ Dajanta & Rongkom (2017) โดยผสมสารสกัด 400 ไมโครลิตร กับสารละลาย Folin-Ciocalteu reagent (Merck, Germany) ที่มีความเข้มข้น 0.25 นอร์มัล จำนวน 2 มิลลิตร และเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Merck, Germany) ความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ (w/v) จำนวน 1.6 มิลลิตร ผสมให้เข้ากันดีด้วย Vortex และบ่มในอ่างน้ำอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที และบ่มต่อในที่มีดเป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer (Evolution 201, USA) ที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร คำนวณหาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในหน่วย mg Gallic acid equivalent (GAE)/100 g โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ Gallic acid (Fluka Biochemica, Switzerland) ในช่วงความเข้มข้นที่ 10 - 100  $\mu\text{g/ml}$  ซึ่งมีค่า  $R^2$  เป็น 0.9991

#### 4.3 การตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ (Total flavonoids)

ตรวจวิเคราะห์ปริมาณของสารประกอบฟลาโวนอยด์ในข้าวเสริมสารสกัดสมุนไพรตามวิธีของ Dajanta et al. (2013) โดยผสมสารสกัด 250 ไมโครลิตร กับสารละลาย Sodium nitrite (Merck, Germany) ที่มีความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 75 ไมโครลิตร นำไป Vortex และบ่มในที่มีดนาน 5 นาที จากนั้นเติมสารละลาย Aluminum chloride (Merck, Germany) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 150 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันดีด้วย Vortex และบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที เติมสารละลาย Sodium hydroxide (Merck, Germany) ความเข้มข้น 1 โมลาร์ จำนวน 500 ไมโครลิตร และน้ำกลั่นจำนวน 775 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันดีด้วย Vortex นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer (Evolution 201, USA) ที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร คำนวณปริมาณ Total flavonoids ในหน่วย mg Catechin equivalent (CE) /100 g เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ Catechin (Fluka Biochemica, Switzerland) ในช่วงความเข้มข้นที่ 10-100  $\mu\text{g/ml}$  ซึ่งมีค่า  $R^2$  เป็น 0.9990

#### 4.4 การวิเคราะห์ปริมาณสารแอนโทไซยานิน (Anthocyanins)

ตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารแอนโทไซยานินในข้าวเสริมสารสกัดพืชสมุนไพรตามวิธีของ Huang et al. (2019) โดยผสมสารสกัด 2 มิลลิตร กับสารละลายบัฟเฟอร์ pH 1.0 จำนวน 2 มิลลิตร และผสมสารสกัด 2 มิลลิตร กับสารละลายบัฟเฟอร์ pH 4.5 จำนวน 2 มิลลิตร ผสมให้เข้ากันด้วย Vortex จากนั้นนำไปบ่มในที่มีดที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer (Evolution 201, USA) ที่ความยาว

คลื่น 510 และ 700 นาโนเมตร คำนวณหาปริมาณของสารแอนโทไซยานินทั้งหมดในสารสกัดจากสมการที่ 4 และรายงาน  
ในหน่วยของ mg cyanidin-3-glucoside (CGE)/100g

$$\text{แอนโทไซยานิน (mg cyanidin-3-glucoside/100g)} = \frac{[(A_{510} - A_{700})_{\text{pH } 1.0} - (A_{510} - A_{700})_{\text{pH } 4.5}] \times V \times n \times M}{\epsilon \times L \times m} \times 100 \quad (4)$$

**เมื่อ:**  $A_{510}$  คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ 510 นาโนเมตร       $A_{700}$  คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ 700 นาโนเมตร  
 $V$  คือ ปริมาตรของสารสกัด (มิลลิลิตร)       $M$  คือ น้ำหนักโมเลกุลของ cyaniding-3-glucoside  
(449.2 กรัม/โมล)  
 $n$  คือ Dilution factor ของสารละลายตัวอย่าง       $\epsilon$  คือ ค่าโมลาร์เอฟฟิซิวิตี  
(26,900 ลิตร/โมล/เซนติเมตร)  
 $L$  คือ ความกว้างของ Cuvette (1 เซนติเมตร)       $m$  คือ น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)

#### 4.5 วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH radical scavenging activity (DPPH)

ตรวจวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ในข้าวเสริมสารสกัดดอกกระเจี๊ยบแดงและดอกอัญชันตามวิธีการ  
ของ Dajanta & Rongkom (2017) โดยผสมสารสกัด 1 มิลลิลิตร กับสารละลาย 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (Fluka  
Biochemica, Switzerland) ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ จำนวน 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันดีด้วย Vortex บ่มในที่มืดนาน  
30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย UV-Vis spectrophotometer (Spectrophotometer evolution 201, USA) ที่ความยาว  
คลื่น 517 นาโนเมตร สำหรับชุดควบคุมใช้เอทานอล (Lab-scan analytical science, Thailand) ความเข้มข้น  
50 เปอร์เซ็นต์ แทนสารสกัด คำนวณค่า DPPH ในหน่วย Ascorbic acid equivalent (AAE)/100 g โดยเปรียบเทียบกับ  
กราฟมาตรฐานของ Ascorbic acid (Fluka, USA) ในช่วงความเข้มข้นที่ 1-50  $\mu\text{g/ml}$  ซึ่งมีค่า  $R^2$  เป็น 0.9990

#### 4.6 วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ Ferric reducing antioxidant power (FRAP value)

ตรวจวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ FRAP value ในข้าวเสริมสารสกัดกระเจี๊ยบและอัญชันตามวิธีการของ  
Dajanta & Rongkom (2017) โดยผสมสารสกัด 400 ไมโครลิตร กับสารละลาย FRAP reagent (Fluka Biochemica,  
Switzerland) จำนวน 3,000 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันดีด้วย Vortex บ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส  
นาน 4 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย UV-Vis spectrophotometer (Spectrophotometer evolution 201, USA) ที่  
ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร สำหรับชุดควบคุมใช้เอทานอล (Lab-scan analytical science, Thailand) ความเข้มข้น  
50 เปอร์เซ็นต์ แทนสารสกัด คำนวณค่า FRAP value ในหน่วย mg Trolox equivalent (TE) /100g โดยเปรียบเทียบกับ  
กราฟมาตรฐานของ Trolox (Fluka, USA) ในช่วงความเข้มข้นที่ 5-35  $\mu\text{g/ml}$  ซึ่งมีค่า  $R^2$  เป็น 0.9993

#### 4.7 การวางแผนการทดลองทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design ทำการทดลอง 3 ซ้ำ หาค่าเฉลี่ยและวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยวิธี One-Way Analysis of Variance และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

#### ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

**ผลของเวลาการแช่ข้าวในสารสกัดสมุนไพรภายใต้ความดันสุญญากาศและความดันบรรยากาศปกติต่อสมบัติทางกายภาพของข้าวเสริมสารสกัดสมุนไพรด้วยเทคนิค VI**

ข้าวเสริมสารสกัดดอกกระเจี๊ยบแดงและดอกอัญชันที่แช่ในสารสกัดสมุนไพรภายใต้ความดันสุญญากาศ/ความดันบรรยากาศปกติเป็นเวลา 20 นาที/20 นาที มีค่าความสว่างหรือค่า  $L^*$  ต่ำที่สุด (ตารางที่ 1) เนื่องจากระยะเวลาการแช่ข้าวในสารสกัดสมุนไพรภายใต้ความดันสุญญากาศและ/หรือความดันบรรยากาศปกติที่นานขึ้น ช่วยให้สารสกัดสมุนไพรแทรกซึมเข้าไปในโครงสร้างของเมล็ดข้าวได้มากขึ้น ส่วนของค่า  $a^*$  ซึ่งหมายถึงค่าสีแดง-เขียว จากการทดลองพบว่าข้าวเสริมสารสกัดดอกกระเจี๊ยบแดงมีค่าสีแดง ( $a^*$ ) เป็นบวก ( $a^* = 10.48 - 12.39$ ) ซึ่งแสดงค่าสีตามสีธรรมชาติของสารสกัดดอกกระเจี๊ยบแดง ขณะที่ข้าวเสริมสารสกัดดอกอัญชันมีค่าสีเหลือง-น้ำเงิน ( $b^*$ ) เป็นลบ ( $-b^* = -16.94$  ถึง  $-18.89$ ) แสดงถึงความเป็นสีน้ำเงินตามสีธรรมชาติของสารสกัดดอกอัญชัน และค่าสี  $a^*$  และ  $b^*$  มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนเมื่อเพิ่มระยะเวลาการแช่ข้าวในสารสกัดสมุนไพรภายใต้ความดันสุญญากาศและ/หรือความดันบรรยากาศปกติมากขึ้น บ่งชี้ว่าสารแอนโทไซยานินซึ่งเป็นสารสีสำคัญที่พบในสารสกัดดอกกระเจี๊ยบแดงและดอกอัญชันสามารถแทรกซึมเข้าสู่โครงสร้างของเมล็ดข้าวในระหว่างกระบวนการ VI ได้มากขึ้น สอดคล้องกับรายงานของ Adsare et al. (2016) ที่พบว่าค่าสี  $a^*$  ของขึ้น โทงเทงฝรั่ง (*Emblica officinalis*) ที่แช่ในสารสกัดส้มแขก (*Garcinia indica*) ที่มีสีแดงภายใต้สภาวะบรรยากาศปกติ 4 ชั่วโมง สูงกว่าค่าสี  $a^*$  ของขึ้น โทงเทงฝรั่งที่ถูกแช่ในสารสกัดส้มแขกภายใต้สภาวะบรรยากาศปกติ 1 2 และ 3 ชั่วโมง

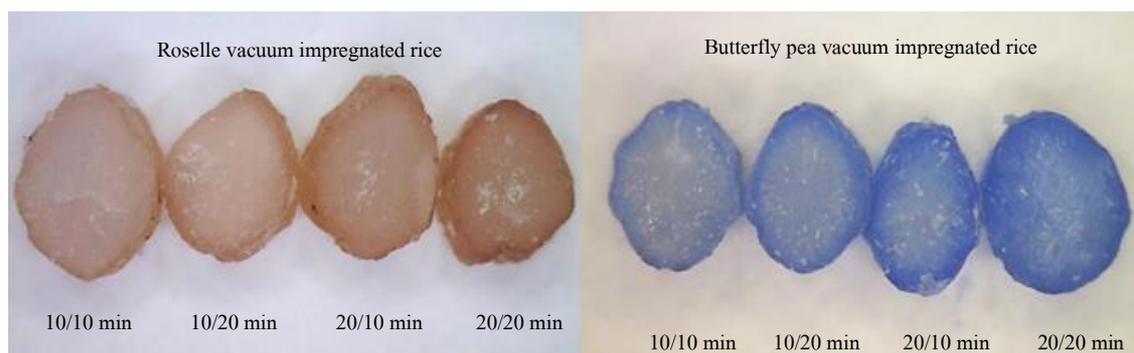
**ตารางที่ 1** ค่าสี  $L^*$   $a^*$  และ  $b^*$  ของข้าวเสริมสมุนไพรด้วยเทคนิค VI ที่ผันแปรเวลาการแช่ข้าวในสารสกัดสมุนไพรภายใต้ความดันสุญญากาศ 50 มิลลิบาร์ และความดันบรรยากาศปกติที่แตกต่างกัน

Herbal plant extracts	Vacuum time (min)	Relaxation time (min)	L*	a*	b*
Roselle	10	10	52.09±0.37 <sup>a</sup>	11.60±0.63 <sup>b</sup>	7.08±0.62 <sup>a</sup>
	10	20	52.17±1.03 <sup>a</sup>	10.48±0.59 <sup>c</sup>	7.02±0.50 <sup>a</sup>
	20	10	50.44±0.80 <sup>b</sup>	11.77±0.61 <sup>b</sup>	7.03±0.50 <sup>a</sup>
	20	20	48.22±0.90 <sup>c</sup>	12.39±0.53 <sup>a</sup>	6.83±0.71 <sup>a</sup>
Butterfly pea	10	10	48.18±1.22 <sup>a</sup>	1.37±0.48 <sup>ab</sup>	-16.94±1.22 <sup>a</sup>
	10	20	48.13±1.12 <sup>a</sup>	1.30±0.54 <sup>ab</sup>	-18.59±1.18 <sup>b</sup>
	20	10	48.23±0.99 <sup>a</sup>	1.51±0.68 <sup>a</sup>	-18.78±1.36 <sup>b</sup>
	20	20	47.27±1.76 <sup>a</sup>	0.86±0.35 <sup>b</sup>	-18.89±1.18 <sup>b</sup>

- ข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n = 3) อักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันตามแนวตั้งของแต่ละพืชสมุนไพรแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ (P≤0.05)

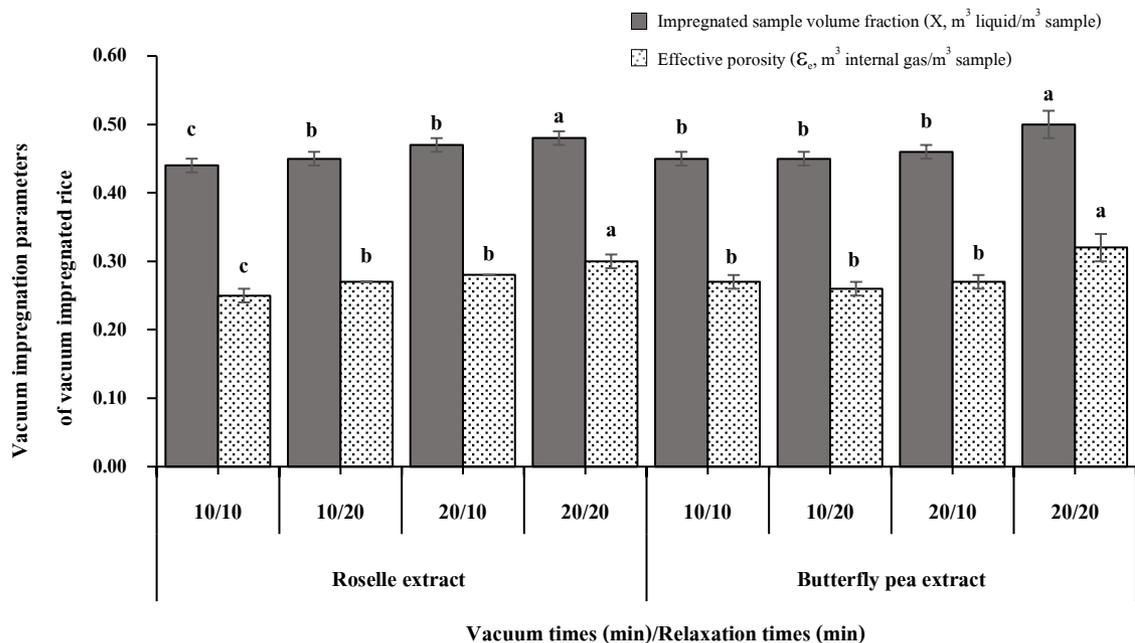
- L \* = ค่าความสว่าง; a\* = +ค่าสีแดง และ - ค่าสีเขียว; b \* = +ค่าสีเหลือง และ - ค่าสีน้ำเงิน

เมื่อนำข้าวเสริมสารสกัดสมุนไพรที่ผันแปรเวลาในการแช่ข้าวในสารสกัดดอกกระเจี๊ยบแดงและดอกอัญชันภายใต้ความดันสุญญากาศและความดันบรรยากาศปกติที่แตกต่างกันมาตัดขวางเมล็ดและส่องด้วยกล้องกำลังขยายต่ำ สามารถเห็นการแทรกซึมของสารสกัดดอกกระเจี๊ยบแดงและดอกอัญชันเข้าไปในเนื้อของเมล็ด ได้มากขึ้นอย่างชัดเจน เมื่อเพิ่มเวลาการแช่ข้าวในสารสกัดสมุนไพรภายใต้สภาวะความดันสุญญากาศและความดันบรรยากาศปกติจาก 10 นาที เป็น 20 นาที (ภาพที่ 1)



รูปที่ 1 ภาพตัดขวางเมล็ดข้าวเสริมสารสกัดดอกกระเจี๊ยบแดงและดอกอัญชันด้วยกระบวนการ VI ที่ผันแปรเวลาการแช่ข้าวในสารสกัดสมุนไพรภายใต้ความดันสุญญากาศและความดันบรรยากาศปกติที่แตกต่างกัน

ปริมาณของสารสกัดสมุนไพรที่แทรกซึมเข้าไปในเมล็ดข้าว (X) และความพรุนที่ยอมให้ของสารสกัดสมุนไพรที่สามารถแทรกซึมเข้าสู่โครงสร้างเมล็ดข้าว ( $\epsilon_e$ ) มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มระยะเวลาการแช่ข้าวในสารสกัดสมุนไพรภายใต้ความดันสุญญากาศและ/หรือบรรยากาศปกติจาก 10 นาที เป็น 20 นาที โดยข้าวที่แช่ในสารสกัดดอกกระเจี๊ยบแดงและดอกอัญชันภายใต้สภาวะสุญญากาศที่ระดับ 50 มิลลิบาร์ นาน 20 นาที และความดันบรรยากาศปกติ นาน 20 นาที มีค่า X และ  $\epsilon_e$  สูงที่สุด (0.48 - 0.50 m<sup>3</sup> liquid/m<sup>3</sup> sample และ 0.24 - 0.32 m<sup>3</sup> internal gas/m<sup>3</sup> sample ตามลำดับ) (ภาพที่ 2) ทั้งนี้เนื่องจากโครงสร้างของเมล็ดข้าวประกอบด้วยรูพรุนขนาดเล็กจำนวนมาก สารที่มีขนาดโมเลกุลเล็กกว่ารูพรุนในโครงสร้างของเมล็ดข้าวเช่น น้ำ วิตามิน แร่ธาตุ และสารสกัดสมุนไพรสามารถแทรกซึมเข้าสู่โครงสร้างของเมล็ดข้าวหลังผ่านกระบวนการ VI ได้ (Makmuang et al., 2016) และการเพิ่มระยะเวลาการแช่ข้าวภายใต้ความดันสุญญากาศและบรรยากาศปกติ ทำให้เกิดพื้นที่ว่างในโครงสร้างของเมล็ดข้าวมากขึ้น เป็นผลจากการขยายตัวของฟองอากาศภายในโครงสร้างของเมล็ดข้าวและฟองอากาศดังกล่าวจะเคลื่อนที่ออกจากรูพรุนของเมล็ดข้าวในช่วงของการแช่ข้าวภายใต้ความดันสุญญากาศ จากนั้นสารสกัดสมุนไพรจะแทรกซึมเข้าสู่โครงสร้างของเมล็ดข้าวในช่วงของการแช่ข้าวภายใต้ความดันบรรยากาศปกติ (Krasaekoopt & Suthanwong, 2008) ประกอบกับเวลาในการแช่ข้าวในสารสกัดสมุนไพรที่นานขึ้นจะเกิดการแลกเปลี่ยนมวลสารมากขึ้น สารสกัดสมุนไพรจึงสามารถแทรกซึมเข้าสู่โครงสร้างของเมล็ดข้าวได้มากขึ้น (Phianmongkhol et al., 2015) สอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Benyakart et al. (2016) ที่พบว่าค่า X ของชั้นมะละกอบที่แช่ในสารละลายไอโซโทนิกเพิ่มขึ้น เมื่อเพิ่มระยะเวลาการแช่ภายใต้ความดันสุญญากาศจาก 5 นาที เป็น 10 นาที และความดันบรรยากาศปกติจาก 10 นาที เป็น 30 นาที



ภาพที่ 2 ปริมาตรของสารสกัดสมุนไพรที่แทรกซึมเข้าไปในเมล็ดข้าว (X) และค่าความพรุนที่ยอมให้ของสารสกัดสมุนไพรที่สามารถแทรกซึมเข้าสู่โครงสร้าง (G) ข้าวเสริมสารสกัดสมุนไพรด้วยเทคนิค VI ที่ผันแปรเวลาการแช่ภายใต้ความดันสุญญากาศและความดันบรรยากาศปกติที่แตกต่างกัน

เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำ (Water loss) แสดงถึงเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำของข้าวเสริมสารสกัดสมุนไพรหลังผ่านกระบวนการ VI พบว่าข้าวเสริมสารสกัดสมุนไพรทั้งสองชนิดมีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำเป็นลบ (ตารางที่ 2) แสดงถึงสารสกัดสมุนไพรแทรกซึมเข้าไปในโครงสร้างของเมล็ดข้าวในระหว่างกระบวนการ VI (Benyakart et al., 2016) โดยข้าวเสริมสกัดดอกกระเจี๊ยบแดงและดอกอัญชันมีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำลดลง ขณะที่เกิดการแทรกซึมของสารสกัดสมุนไพรเข้าสู่โครงสร้างเมล็ดข้าวมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ ) เมื่อเพิ่มเวลาการแช่ข้าวในสารสกัดสมุนไพรภายใต้ความดันสุญญากาศและ/หรือบรรยากาศปกติ ทำให้ข้าวเสริมสารสกัดดอกกระเจี๊ยบแดงและดอกอัญชันที่แช่ในสารสกัดภายใต้สภาวะสุญญากาศ 50 มิลลิบาร์ นาน 20 นาที และความดันบรรยากาศปกติ นาน 20 นาที มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำต่ำที่สุด (-35.57 และ -38.70 เปอร์เซ็นต์) สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Phianmongkhon et al. (2015) ที่พบว่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำของขึ้นแอบเปิ้ลและแคนตาลูปที่แช่ในสารละลายไอโซโทนิคและใช้เวลาการแช่ภายใต้ความดันสุญญากาศ 50 มิลลิบาร์ และความดันบรรยากาศปกติที่ 20 นาที/20 นาที มีค่าต่ำกว่าการแช่ขึ้นแอบเปิ้ลและแคนตาลูปสารละลายไอโซโทนิค นาน 10 นาที/10 นาที และ Martinez-Valencia et al. (2011) ที่พบว่า การเพิ่มเวลาการแช่ขึ้นเมล็ดในสารละลายน้ำตาลนานขึ้น (10-360 นาที) ส่งผลให้เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำของขึ้นเมล็ดลดลง ซึ่งแสดงถึงการมีสารละลายน้ำตาลแทรกซึมเข้าสู่โครงสร้างของขึ้นเมล็ดมากขึ้น

ตารางที่ 2 ผลของเวลาการแช่ข้าวในสารสกัดสมุนไพรภายใต้ความดันสุญญากาศ 50 มิลลิบาร์และความดันบรรยากาศปกติที่แตกต่างกันต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำของข้าวเสริมสารสกัดสมุนไพรด้วยเทคนิค VI

Plant extracts	Vacuum time (min)	Relaxation time (min)	Water loss (%)
Roselle	10	10	-16.37±0.15 <sup>a</sup>
	10	20	-23.33±0.35 <sup>b</sup>
	20	10	-27.57±0.15 <sup>c</sup>
	20	20	-35.57±0.40 <sup>d</sup>
Butterfly pea	10	10	-14.00±0.52 <sup>a</sup>
	10	20	-35.77±0.42 <sup>b</sup>
	20	10	-32.90±0.56 <sup>c</sup>
	20	20	-38.70±0.26 <sup>d</sup>

ข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ และตัวอักษรภาษาอังกฤษที่กำหนดค่าของข้อมูลในแต่ละคอลัมน์ที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ( $P \leq 0.05$ )

## ผลของเวลาในการแช่ข้าวในสารสกัดสมุนไพรภายใต้ความดันสุญญากาศและความดันบรรยากาศปกติต่อสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของข้าวเสริมสารสกัดสมุนไพรด้วยเทคนิค VI

### ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในข้าวเสริมสารสกัดสมุนไพร

ระยะเวลาการแช่เมล็ดข้าวในสารสกัดสมุนไพรในสภาวะความดันสุญญากาศที่ระดับ 50 มิลลิบาร์ และเวลาการแช่ภายใต้ความดันบรรยากาศปกติที่นานขึ้นจาก 10 นาที เป็น 20 นาที มีผลทำให้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์และแอนโทไซยานินในข้าวเสริมสมุนไพรทั้ง 2 ชนิดเพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ ) ส่งผลให้ข้าวเสริมสมุนไพรที่แช่เมล็ดข้าวในสารสกัดภายใต้สภาวะสุญญากาศ 50 มิลลิบาร์ นาน 20 นาที และความดันบรรยากาศปกติ 20 นาที มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์และแอนโทไซยานินสูงที่สุด โดยข้าวเสริมสารสกัดดอกกระเจี๊ยบและดอกอัญชันมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระรวม 530.20 และ 214.54 mg/100 g ตามลำดับ และมีองค์ประกอบส่วนใหญ่ (72.29 – 91.25 เปอร์เซ็นต์) เป็นสารประกอบฟลาโวนอยด์ (ตารางที่ 3) สอดคล้องกับ Moreira & Almohaimed (2018) ที่รายงานว่าระยะเวลาการแช่ขึ้นมันฝรั่งในสารสกัดบีทรูทภายใต้ความดันสุญญากาศและบรรยากาศปกติที่นานกว่า (15 นาที/15 นาที) ส่งผลให้ขึ้นมันฝรั่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าการแช่ภายใต้ความดันสุญญากาศและบรรยากาศปกติสั้นกว่า (5 นาที/5 นาที) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ )

ดอกกระเจี๊ยบแดงมีองค์ประกอบของสารฟลาโวนอยด์ในกลุ่ม Flavonol หลายชนิด ส่วนใหญ่คือ Gossypetin, Hibiscetin, Quercetin และ Sabdaretin และพบสารในกลุ่มแอนโทไซยานินคือ Delphinidin-3-O-sambubioside, Cyanidin-3-O-sambubioside, Cyaniding-3,5-diglucoside และ Delphinidin (Tsai et al., 2002) ดอกอัญชันมีสารประกอบฟลาโวนอยด์เป็นองค์ประกอบหลักของสารต้านอนุมูลอิสระ โดยส่วนใหญ่เป็นสารในกลุ่ม Flavonol glycosides, Kaemferol glycosides, Quercetin glycosides และสารในกลุ่มแอนโทไซยานิน (Anthika et al., 2015) สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเป็นสารให้สีและรสชาติในผักและผลไม้มีความสามารถในการให้ไฮโดรเจนอะตอมกับอนุมูลอิสระเปลี่ยนเป็นโมเลกุลที่มีความเสถียรจึงเป็นการหยุดห่วงโซ่การสร้างอนุมูลอิสระและกำจัดอนุมูลอิสระได้โดยตรง นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทางอ้อมด้วยการปกป้องเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ต้านอนุมูลอิสระในร่างกาย (Pradeep & Sreerama, 2015) และการจับกับไอออนของโลหะ (Metal chelator) (Pereira et al., 2009) จึงมีบทบาทสำคัญในการปกป้องเซลล์และเนื้อเยื่อของร่างกายจากการทำลายของอนุมูลอิสระ สารแอนโทไซยานินเป็นสารสีหรือรงควัตถุในกลุ่มของฟลาโวนอยด์ที่ให้สีแดงตั้งแต่สีแดง สีส้มไปจนถึงสีม่วงมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ดี เนื่องจากมีความสามารถในการให้อิเล็กตรอนอิสระหรือไฮโดรเจนอะตอมกับอนุมูลอิสระได้อย่าง

รวดเร็ว นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ด้านการอักเสบ (Anti-inflammatory activity) และฤทธิ์ต้านมะเร็ง (Anti-carcinogenic activity) (Miguel, 2011) รายงานวิจัยทางด้านระบาดวิทยาระบุว่าการบริโภคอาหารที่มีแอนโทไซยานินเป็นองค์ประกอบมีส่วนช่วยป้องกันหรือลดความเสี่ยงของการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ มะเร็ง เบาหวาน โรคระบบประสาท และโรคข้อต่ออักเสบ (Li et al., 2017) และสารประกอบฟลาโวนอยด์เป็นรงควัตถุที่พบในพืชตามธรรมชาติเพื่อทำหน้าที่ในการป้องกันอันตรายจากรังสียูวี การเข้าทำลายของเชื้อราและสัตว์ที่กินพืช รวมถึงป้องกันการเกิดโรคและการเกิดออกซิเดชันของเซลล์ที่ได้รับความเสียหาย (Majer et al., 2014) สารประกอบฟลาโวนอยด์สามารถยับยั้งการสร้างอนุมูลอิสระและกำจัดอนุมูลอิสระผ่านทางกลไกต่างๆ คือ เช่น กำจัดอนุมูลอิสระ ยุติการสร้างซิงเกลตออกซิเจนและยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่สร้างอนุมูลอิสระ (Mierziak et al., 2014) ทำให้ฟลาโวนอยด์มีฤทธิ์ยับยั้งปฏิกิริยาลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน ยับยั้งการเกิดเนื้องอก ด้านการแข็งตัวของเลือด ด้านการเกิดโรคหัวใจขาดเลือด ด้านการแพ้ และการอักเสบ (Cao et al., 1997) และมีส่วนช่วยลดการเกิดโรคมะเร็งและโรคหลอดเลือดหัวใจ (Ignat et al., 2011) ดังนั้นข้าวเสริมสารสกัดสมุนไพรที่พัฒนาได้จากงานวิจัยนี้ซึ่งมีองค์ประกอบของสารประกอบฟลาโวนอยด์สูงจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายในการป้องกันโรค

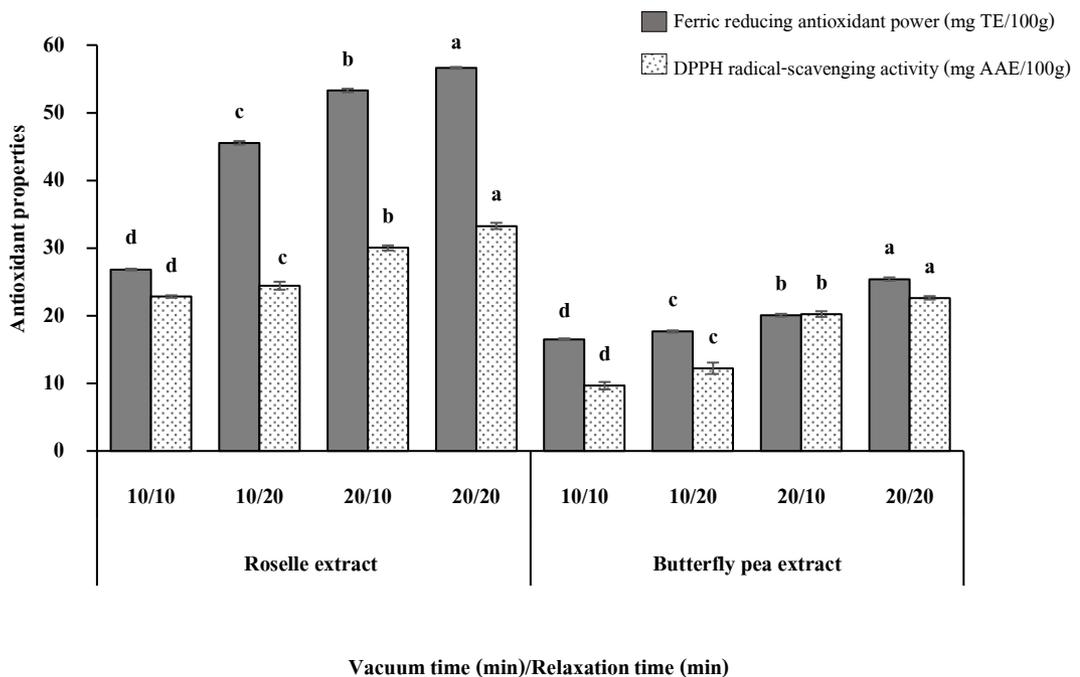
**ตารางที่ 3** ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในข้าวเสริมสมุนไพรด้วยเทคนิค VI ที่ผันแปรเวลาในการแช่ข้าวในสารสกัดสมุนไพรภายใต้ความดันสุญญากาศ 50 มิลลิบาร์ และความดันบรรยากาศปกติที่แตกต่างกัน

Plant extracts	Vacuum time (min)	Relaxation time (min)	Total phenolic (mg GAE/100g)	Anthocyanins (mg CEG/100g)	Flavonoids (mg CTE/100g)
Roselle	10	10	18.30±0.44 <sup>d</sup>	2.64±0.08 <sup>d</sup>	293.50±3.57 <sup>d</sup>
	10	20	28.86±0.85 <sup>c</sup>	3.39±0.12 <sup>c</sup>	343.50±2.65 <sup>c</sup>
	20	10	34.33±0.44 <sup>b</sup>	4.31±0.14 <sup>b</sup>	361.44±4.53 <sup>b</sup>
	20	20	41.63±0.54 <sup>a</sup>	4.78±0.12 <sup>a</sup>	483.79±3.53 <sup>a</sup>
Butterfly pea	10	10	19.36±0.66 <sup>d</sup>	2.13±0.18 <sup>d</sup>	105.38±1.35 <sup>d</sup>
	10	20	30.94±0.47 <sup>c</sup>	2.67±0.04 <sup>c</sup>	120.19±2.07 <sup>c</sup>
	20	10	49.49±0.50 <sup>b</sup>	3.04±0.10 <sup>b</sup>	125.58±1.62 <sup>b</sup>
	20	20	55.78±0.29 <sup>a</sup>	3.67±0.04 <sup>a</sup>	155.09±2.61 <sup>a</sup>

ข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n = 3) อักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันตามแนวตั้งของแต่ละพืชสมุนไพร แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ (P≤0.05)

### ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในข้าวเสริมสมุนไพร

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ FRAP value ในข้าวเสริมสารสกัดกระเจี๊ยบและอัญชันแสดงในภาพที่ 3 โดยฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ FRAP value ของข้าวเสริมสมุนไพรทั้ง 2 ชนิด เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ ) เมื่อเพิ่มเวลาการแช่ข้าวในสารสกัดสมุนไพรภายใต้ความดันสุญญากาศและ/หรือบรรยากาศปกติจาก 10 นาที เป็น 20 นาที สอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของสารต้านอนุมูลอิสระในตารางที่ 3 ทำให้ข้าวเสริมสมุนไพรที่แช่ในสภาวะสุญญากาศที่ระดับ 50 มิลลิบาร์ นาน 20 นาที และความดันบรรยากาศปกติ นาน 20 นาที แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ FRAP value สูงที่สุด โดยข้าวเสริมสารสกัดดอกกระเจี๊ยบแดงและดอกอัญชันมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH เป็น 33.27 และ 22.64 mg AAE/100g และมี FRAP value เป็น 56.64 และ 25.41 mg TE/100g ตามลำดับ



ภาพที่ 3 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ FRAP value ในข้าวเสริมสารสกัดสมุนไพรที่ผันแปรเวลาการแช่ภายใต้สภาวะสุญญากาศและเวลาการแช่ภายใต้ความดันบรรยากาศปกติที่แตกต่างกัน

จากผลของปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดฟลาโวนอยด์และแอนโทไซยานินรวมทั้งฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ FRAP value ที่พบในข้าวเสริมสารสกัดดอกกระเจี๊ยบแดงและดอกอัญชันด้วยเทคนิค VI ที่ตรวจพบในงานวิจัยนี้สามารถใช้เป็นสิ่งบ่งชี้ได้ว่า ข้าวเสริมสารสกัดสมุนไพรที่ผลิตได้จากกระบวนการ VI เป็นแหล่งที่ดีของสารต้านอนุมูลอิสระ โดยเฉพาะอย่างยิ่งกลุ่มฟลาโวนอยด์ซึ่งมีความสัมพันธ์กับการป้องกันโรคที่เกิดจากอนุมูลอิสระให้กับร่างกายได้

### สรุปผลการทดลอง

ผลของระยะเวลาการแช่ข้าวภายใต้ความดันสุญญากาศ 50 มิลลิบาร์ และความดันบรรยากาศปกติที่แตกต่างกัน 4 ระยะเวลา ได้แก่ 10/10 10/20 20/10 และ 20/20 นาที พบว่าเมื่อเวลาการแช่ภายใต้ความดันสุญญากาศ 50 มิลลิบาร์ และความดันบรรยากาศปกติเพิ่มขึ้นส่งผลให้สารสกัดสมุนไพรมสามารถแทรกซึมเข้าไปในโครงสร้างของเมล็ดข้าวมากขึ้น โดยการแช่ข้าวในสารสกัดสมุนไพรมภายใต้ความดัน 50 มิลลิบาร์ นาน 20 นาที และแช่ที่ความดันบรรยากาศปกติ 20 นาที มีปริมาณสารสกัดสมุนไพรมที่แทรกซึมเข้าไปในเมล็ดข้าวสูงสุด และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ แอนโทไซยานิน รวมถึงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (DPPH และ FRAP value) สูงที่สุดอีกด้วย ซึ่งองค์ประกอบส่วนใหญ่ของสารต้านอนุมูลอิสระที่พบในข้าวเสริมสารสกัดดอกกระเจี๊ยบแดงและดอกอัญชันคือ ฟลาโวนอยด์

### กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม

### เอกสารอ้างอิง

- Adsare, S. R., Bellary, A. N., Sowbhagya, H. B., Baskaran, R., Prakash, M. & Rastogi, N. K. (2016). Osmotic treatment for the impregnation of anthocyanin in candies from Indian gooseberry (*Emblca officinalis*). *Journal of Food Engineering*, 175, 24-32.
- Akman, P. K., Uysal, E., Ozkaya, G. U., Tornuk, F. & Durak, M. Z. (2019). Development of probiotic carrier dried apples for consumption as snack food with the impregnation of *Lactobacillus paracasei*. *LWT - Food Science and Technology*, 103, 60-68.
- Anthika, B., Kusumocahyo, S. P. & Sutanto, H. (2015). Ultrasonic approach in *Clitoria ternatea* (butterfly pea) extraction in water and extract sterilization by ultrafiltration for eye drop active ingredient. *Procedia Chemistry*, 16, 237-244.
- Azima, A. M. S., Noriham, A. & Manshoor, N. (2017). Phenolics, antioxidants and color properties of aqueous pigmented plant extracts: *Ardisia colorata* var. *elliptica*, *Clitoria ternatea*, *Garcinia mangostana* and *Syzygium cumini*. *Journal of Functional Foods*, 38, 232-241.
- Benyakart, N., Phianmongkhol, A. & Wirjantoro, T. I. (2016). Effect of impregnation solution ratio and periods on vacuum impregnated papaya. *KKU Research Journal*, 21(2), 291-298.
- Cao, G., Sofic, E. & Prior, R. L. (1997). Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: Structure-activity relationships. *Free Radical Biology and Medicine*, 22, 749-760.

- Castagnini, J. M., Betoret, N., Betoret, E. & Fito, P. (2015). Vacuum impregnation and air drying temperature effect on individual anthocyanins and antiradical capacity of blueberry juice included into an apple matrix. *LWT - Food Science and Technology*, 64, 1289-1296.
- Dajanta, K. & Rongkom, H. (2017). Effects of drying temperature on the isoflavone content and antioxidant capacity of fermented soybean (Thua Nao). *KKU Science Journal*, 45(1), 138-150.
- Dajanta, K., Janpum, P., & Leksing, W. (2013). Antioxidant capacities, total phenolics and flavonoids in black and yellow soybeans fermented by *Bacillus subtilis*: A comparative study of Thai fermented soybeans (thua nao). *International Food Research Journal*, 20(6), 3125-3132.
- Danpikulthong, P., Dajanta, K. & Rongkom, H. (2017). Effect of steaming time and vacuum pressure level on physicochemical and antioxidant properties of vacuum impregnated rice. pp. 832-841. In The Proceeding Innovation and Technology Conference (ITC2017), 25-26 December 2017, Rajamangala University of Technology Isan Surin, Surin.
- Derossi, A., De Pilli, T. & Severini, C. (2012). The application of vacuum impregnation techniques in food industry. In: Valdez B (ed), Scientific, health and social aspects of the food industry. In Tech Europe. (pp. 25-56). Croatia.
- Derossi, A., Pili, T. D. & Severini. (2010). Reduction in the pH of vegetables by vacuum impregnation: A study on pepper. *Journal of Food Engineering*, 99, 9-15.
- Duangkhamchan, W. & Siriamornpun, S. (2015). Quality attributes and anthocyanin content of rice coated by purple-corn cob extract as affected by coating conditions. *Food and Bioproducts Processing*, 96, 171-179.
- Gras, M., Vidal-Brotons, D., Betoret, N., Chiralt, A. & Fito, P. (2002). The response of some vegetables to vacuum impregnation. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 3, 263-269.
- Hironaka, K., Kikuchi, M., Koaze, H., Sato, T., Kojima, M., Yaamamoto, K., Yasuda, K., Mori, M. & Tsuda, M. (2011). Ascorbic acid enrichment of whole potato tuber by vacuum impregnation. *Food Chemistry*, 127, 1114-1118.
- Huang, H., Xua, Q., Belwal, T., Lia, L., Aalim, H., Wu, Q., Zhenhu, D., Zhangc, X. & Luo, Z. (2019). Ultrasonic impact on viscosity and extraction efficiency of polyethylene glycol: A greener approach for anthocyanins recovery from purple sweet potato. *Food Chemistry*, 283, 59-67.
- Ignat, I., Volf, I. & Popa, V. I. (2011). A critical review of methods for characterization of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chemistry*, 126, 1821-1835.
- Krasaekoopt, W. & Suthanwong, B. (2008). Vacuum impregnation of probiotics in fruit pieces and their survival during refrigerated storage. *Kasetsart Journal*, 42, 723-731.

- Li, D., Wang, P., Luo, Y., Zhao, M., & Chen, F. (2017). Health benefits of anthocyanins and molecular mechanisms: Update from recent decade. *Journal Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(8), 1729-1741.
- Lima, M. M., Tribuzi, L., Souza, J. A. R., Sousa, I. G., Laurindo, J. B. & Carciofi, B. A. (2016). Vacuum impregnation and drying of calcium-fortified pineapplesnacks. *LWT - Food Science and Technology*, 72, 501-509.
- Majer, P., Neugart, S., Krumbein, A., Schreiner, M. & Hideg, É. (2014). Singlet oxygen scavenging by leaf flavonoids contributes to sunlight acclimation in *Tilia platyphyllos*. *Environmental and Experimental Botany*, 100, 1-9.
- Makmuang, C., Phianmongkhon, A. & Wirjantoro, T.I. (2016). Vacuum impregnated rice as affected by moisture content and rice varieties. *KKU Research Journal*, 21(2), 299-309.
- Martinez-Valencia, B. B., Abud-Archila, M., Ruiz-Cabrera, M. A., Grajales-Lagunes, A., Dendooven, L., Ovando-Chacón, S. L. & Gutiérrez-Miceli, F. A. (2011). Pulsed vacuum osmotic dehydration kinetics of melon (*Cucumis melo* L.) var. cantaloupe. *African Journal of Agricultural Research*, 6(15), 3588-3596.
- Mierziak, J., Kostyn, K. & Kulma, A. (2014). Flavonoids as important molecules of plant interactions with the environment. *Molecules*, 19, 16240-16265.
- Miguel, M. G. (2011). Anthocyanins: Antioxidant and/or anti-inflammatory activities. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 1(6), 7-15.
- Moreira, R. G. & Almohaimeed, S. (2018). Technology for processing of potato chips impregnated with red beetroot phenolic compounds. *Journal of Food Engineering*, 228, 57-68.
- Occhioia, E., Hernando, I., Llorcab, E., Neria, L. & Pittiaa, P. (2011). Effect of vacuum impregnation treatments to improve quality and texture of zucchini (*Cucurbita pepo*, L). *Procedia Food Science*, 1, 829-835.
- Pereira, D. M., Valentão, P., Pereira, J. A. & Andrade, P. B. (2009). Phenolics: From chemistry to biology. *Molecules*, 14, 2,202-2,211.
- Peters, U., Poole, C. & Arab, L. (2001). Does tea affect cardiovascular disease? A meta-analysis. *American Journal of Epidemiology*, 154, 495-503.
- Phianmongkhon, A., Rongkom, H. & Wirjantoro, T.I. (2015). Effect of fruit size and processing time on vacuum impregnation parameters of cantaloupe and apple. *CMU Journal of Natural Science*, 14(2), 125-132.
- Pradeep, P. M. & Sreerama, Y. N. (2015). Impact of processing on the phenolic profiles of small millets: Evaluation of their antioxidant and enzyme inhibitory properties associated with hyperglycemia. *Food Chemistry*, 169, 455-463.

- Purnomo, E. H., Nindyautami, F. A., Konsue, N. & Pathomrungsyounggul, P. (2018). Fortification of rice grain with gac aril (*Momordica conchinchinensis*) using vacuum impregnation technique. *Current Research in Nutrition and Food Science*, 6(2), 412-424.
- Rajan, V. K., Hasna, C. K. & Muraleedharan, K. (2018). The natural food colorant Peonidin from cranberries as a potential radical scavenger-A DFT based mechanistic analysis. *Food Chemistry*, 262, 184-190.
- Rongkom, H., Phianmongkhol, A. & Wirjantoro, T. I. (2013). Physical properties of impregnated cantaloupe and apple affected by different pressure levels. *Asian Journal of Agriculture and Food Sciences*, 1(4), 163-171.
- Steiger, G., Müller-Fischer, N, Cori, H. & Conde-Petit, B. (2014). Annals of the New York academy of sciences; Fortification of rice: technologies and nutrients. New York: Wiley-Blackwell. 29-39.
- Tappi, S., Tylewicz, U., Romani, S., Rosa, M.D., Rizzi, F. & Rocculi, P. (2017). Study on the quality and stability of minimally processed apples impregnated with green tea polyphenols during storage. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 39, 148-155.
- Tsai, P.J., McIntosh, J., Pearce, P., Camden, B. & Jordan, B. R. (2002). Anthocyanin and antioxidant capacity in Roselle (*Hibiscus Sabdariffa* L.) extract. *Food Research International*, 35, 351-356.