การสกัดบีตาเลนจากผลผักปลัง
Extraction of Betalain from Ceylon Spinach Fruits

ทัตดาว ภาษีผล[1] เยาวมาลย์ รักษาเคน[1] และ สุดารัตน์ นามโฮง[1]
Tatdao Paseephol[1], Yaowaman Ruksakhen[1] and Sudarat Namhong[1]

Abstract

Ceylon spinach fruits (*Basella alba* Linn.) contain a significant level of reddish to violet pigment known as betalain that has been increasingly used as a food colorant. This research aimed to determine the suitable solvent for betalain extraction from fresh, ripe fruits of ceylon spinach and study the effects of temperature and pH on stability of the extract. Four different solvents, including distilled water, 20% methanol, 20% ethanol and 1% hydrochloric acid were employed for the extraction. The results showed no significant difference in the color values (L* a* b*) of four extracts (P>0.05). The highest amount of extracted betalain was achieved with distilled water (485.19±350.03 mg/L) while extraction with hydrochloric acid gave the highest yield (58.76±4.16%). When betalain solution of water extract was heated at 60 and 90°C for 30 min, the color of the extract heated at 90°C changed from pink to yellow more markedly than that at 60°C. When pH of the water extracts were adjusted by mixing with buffer solutions of pH 1-7, the maximum absorption wavelength (λmax) decreased from 549 nm at pH 1-2 to 230-266 nm at pH 3-7. This could be possibly due to the change in zwitter structure of betalain.
Keywords: ceylon spinach, natural food colorant, betalain

บทคัดย่อ

ผลผักปลัง (*Basella alba* Linn.) เป็นแหล่งของสารให้สีม่วงแดงที่มีศักยภาพในการนำมาผลิตสีผสมอาหารจากธรรมชาติ งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาหาตัวทำละลายที่เหมาะสมต่อการสกัดบีตาเลนจากผลผักปลังสุกและศึกษาผลของอุณหภูมิและพีเอชที่มีต่อความเสถียรของสารสกัดสี ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดมี 4 ชนิด ได้แก่ น้ำกลั่น กรดไฮโดรคลอริก (ร้อยละ 1) เมทานอล (ร้อยละ 20) และเอทานอล (ร้อยละ 20) ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดสีจากผลผักปลังที่ใช้ตัวทำละลาย 4 ชนิดมีค่าสี (L* a* และ b*) ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ปริมาณบีตาเลนสูงที่สุดได้จากการใช้น้ำกลั่นเป็นตัวสกัด (485.19±350.03 มิลลิกรัมต่อลิตร) แต่การสกัดด้วยกรดไฮโดรคลอริก ทำให้ได้ปริมาณผลผลิตของสารสกัด สูงสุด (ร้อยละ 58.76±4.16) เมื่อนำสารสกัดสีจากผลผักปลังไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 และ 90 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที พบว่า การใช้อุณหภูมิสูงที่ 90 องศาเซลเซียส ทำให้สีของสารสกัดเปลี่ยนจากชมพูเป็นเหลืองอย่างชัดเจนกว่าที่ 60 องศาเซลเซียส เมื่อนำสารสกัดสีไปผสมกับสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีพีเอชระหว่าง 1-7 พบการเปลี่ยนแปลงของค่าความยาวคลื่นแสงที่มีค่าการดูดกลืนแสงได้สูงสุด (λmax) โดยลดลงจาก 549 นาโนเมตรที่ค่าพีเอช 1-2 เป็น 230-266 นาโนเมตรที่ค่าพีเอช 3-7 เนื่องจากความเป็นกรดอาจมีผลต่อโครงสร้างของบีตาเลนที่เป็น zwitter ion
คำสำคัญ: ผักปลัง สีผสมอาหารธรรมชาติ บีตาเลน

คำนำ

ผักปลัง (Ceylon spinach) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Basella alba* Linn. จัดอยู่ในวงศ์ Basellaceae เป็นพืชประเภทไม้เลื้อยล้มลุกที่ปลูกง่าย สามารถนำมาบริโภคได้ตลอดทั้งปี นิยมปลูกกันตามริมรั้วหรือขึ้นร้านเป็นไม้ประดับ โดยเฉพาะในภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ช่อดอก ยอดอ่อน ใบอ่อน และผลอ่อนสีเขียวของผักปลังนิยมใช้เป็นผัก โดยนำมาลวกหรือต้มเป็นผักจิ้ม รวมทั้งนำมาทำแกงส้ม ส่วนต่างๆ ของผักปลังยังนำมาใช้เป็นยารักษาอาการต่างๆ เช่น รากแก้มือและเท้าด่าง แก้รังแค เถาแก้พิษฝีดาษ ใบแก้กลาก และดอกแก้เกลื้อน เป็นต้น สำหรับส่วนที่เป็นผลสุกซึ่งมีสีม่วงเข้มถึงดำหรือแดง นิยมนำมาใช้เป็นสีแต่งขนม เช่น ขนมบัวลอย ซาหริ่ม และขนมน้ำดอกไม้ ทั้งนี้สารให้สีที่พบในผลผักปลังสุกเป็นกลุ่มของบีตาเลน (betalain) เช่นเดียวกันกับพืชจำพวกบีทรูท แก้วมังกร และดอกเฟื่องฟ้า (Azeredo, 2009) โดยบีตาเลนสามารถละลายได้

[1] ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหารและโภชนศาสตร์ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม มหาสารคาม 44150
[1] Department of Food Technology and Nutrition, Faculty of Technology, Mahasarakham University, Mahasarakham, 44150

ดีในน้ำคล้ายกับแอนโทไซยานิน แต่มีโครงสร้างทางเคมีต่างกัน คือ บีตาเลนมีธาตุไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบหลักและมี 2 ขั้ว (zwitter ion) (นิธิยา, 2545) สำหรับงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของตัวทำละลาย 4 ชนิดในการสกัดบีตาเลนออกจากผลผักปลังสุกและศึกษาความเสถียรของสารสกัดสีที่ได้ต่ออุณหภูมิและพีเอช

อุปกรณ์และวิธีการ

1. ผลของตัวทำละลายต่อความสามารถในการสกัดสีจากผลผักปลัง

ผลผักปลังสุกสีม่วงเข้มเก็บจากพื้นที่ในจังหวัดมหาสารคาม ช่วงเดือนพฤศจิกายน 2554 จนถึงเดือนมกราคม 2555 นำมาล้างน้ำและทิ้งให้สะเด็ดน้ำ แกะแยกเมล็ดออกให้เหลือเฉพาะส่วนเปลือกและเนื้อ เติมตัวทำละลายที่แตกต่างกัน 4 ชนิด ได้แก่ น้ำกลั่น กรดไฮโดรคลอริก 1% เมทานอล 20% และเอทานอล 20% ในอัตราส่วนผลผักปลังต่อตัวทำละลายเป็น 1:1.5 (w/v) นำไปเขย่าบนเครื่องเขย่าสารที่ความเร็วรอบ 100 rpm นาน 1 ชั่วโมง จากนั้นกรองผ่านผ้าขาวบาง เพื่อแยกเปลือกและเนื้อออกจากสารสกัด (ดัดแปลงจากวิภาดา และคณะ, 2552) ทำการทดลอง 4 ซ้ำ เปรียบเทียบปริมาณผลผลิตที่ได้ (% yield) โดยคำนวณจากน้ำหนักของสารสกัดสีที่ได้หลังการกรองต่อน้ำหนักรวมของผลผักปลังกับตัวทำละลายที่ใช้ คูณด้วย 100 และนำสารสกัดสีแต่ละตัวอย่างไปวัดค่าสี (L*, a* และ b*) ด้วยเครื่องวัดสี (Minolta CR-300, Japan) และปริมาณบีตาเลนในรูปของบีตาไซยานิน (Harivaindaran *et al*., 2008)

2. ผลกระทบของอุณหภูมิต่อความเสถียรของสารสกัดสีจากผลผักปลัง

ปิเปตสารสกัดสีจากผลผักปลัง (ตามสภาวะที่เหมาะสมในข้อ 1) จำนวน 10 มิลลิลิตร มาใส่ในหลอดทดลองที่มีฝาปิดและห่อด้วยอะลูมินัมฟอยล์ นำไปแช่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ที่ 60 และ 90°ซ เป็นระยะเวลา 0, 1, 2, 3, 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 นาที (ทำ 2 ซ้ำ) วัดค่าสีของแต่ละตัวอย่าง (L* a* และ b*)

3. ผลกระทบของพีเอชต่อค่าความยาวคลื่นแสงที่มีการดูดกลืนได้สูงสุด (λ_{max}) ของสารสกัดสีจากผลผักปลัง

นำสารสกัดสีจากผลผักปลัง (ตามสภาวะที่เหมาะสมในข้อ 1) มาเติมลงในสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีค่าพีเอชเท่ากับ 1, 2, 3, 4, 5, 6 และ 7 ตามลำดับ โดยใช้อัตราส่วนสารสกัดต่อสารละลายบัฟเฟอร์เป็น 1.2 ต่อ 50 (v/v) ผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixer ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 15 นาที ก่อนนำไปสแกนด้วยเครื่อง UV-spectrophotometer เพื่อตรวจสอบค่า λ_{max} (ทดลอง 2 ซ้ำ)

ผล

1. ผลของตัวทำละลายต่อความสามารถในการสกัดสีจากผลผักปลัง

การสกัดสีจากผลผักปลังสุกโดยการใช้น้ำกลั่น ทำให้ได้ปริมาณบีตาไซยานินสูงที่สุด คือ 485.19 มิลลิกรัม/ลิตร รองลงไปเป็นการสกัดด้วยกรดไฮโดรคลอริก 1% เมทานอล 20% และเอทานอล 20% โดยมีค่า 451.41, 427.60 และ 371.43 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ (Table 1) อย่างไรก็ตามปริมาณบีตาไซยานินที่สกัดได้ในทุกตัวอย่างไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ในส่วนปริมาณสารสีที่สกัดได้ (% yield) พบว่ามีค่าแตกต่างกันในทางสถิติ โดยกรดไฮโดรคลอริก 1% ทำให้ได้ปริมาณสารสกัดสูงสุด (58.76±4.16%) ส่วนการสกัดโดยใช้น้ำกลั่น เอทานอล 20% และเมทานอล 20% ได้ปริมาณสารสกัดที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (48.06-52.20 %) สำหรับผลการวิเคราะห์ค่าสีของสารสกัดที่ใช้ตัวทำละลายแตกต่างกัน 4 ชนิด พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยค่าความสว่าง (L*) มีค่าอยู่ในช่วง 24.60-25.01 ค่าสี a* มีค่าอยู่ระหว่าง 8.16-8.69 และค่า b* อยู่ในช่วง -6.06 ถึง -5.94 เนื่องจากการสกัดด้วยน้ำ เป็นวิธีที่ง่ายต้นทุนต่ำ และมีประสิทธิภาพสูง ดังนั้นจึงได้เลือกใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายสำหรับการสกัดสารสีออกจากผลผักปลังสุกต่อไป

2. ผลกระทบของอุณหภูมิต่อความเสถียรของสารสกัดสีจากผลผักปลัง

Table 2 แสดงผลกระทบของอุณหภูมิที่มีต่อความเสถียรของสารสกัดสีจากผลผักปลัง จะเห็นได้ว่า การใช้อุณหภูมิ 60°ซ ทำให้ค่า L* ของสารสกัดสีเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) จาก 45.11 เป็น 46.96 ตามระยะเวลาในการให้ความร้อนที่เพิ่มมากขึ้น สำหรับค่าสี a* พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงในช่วงแคบๆ ระหว่าง 23.31-24.41 แม้ว่าจะมีนัยสำคัญทางสถิติก็ตาม เช่นเดียวกับค่าสี b* ที่เปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วง -5.70 ถึง -6.56 สำหรับการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90°ซ ส่งผลกระทบต่อค่าสีอย่างรวดเร็วและชัดเจนกว่าการใช้อุณหภูมิที่ 60°ซ ดังจะเห็นได้ว่าค่า L* มีค่าเพิ่มขึ้นมากจาก 39.83 หลังการให้ความร้อนนาน

1 นาที เป็น 48.97 หลังการให้ความร้อนครบ 30 นาที ในขณะที่ค่าสี a* มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญจาก 27.70 หลังการให้ความร้อน 1 นาที เหลือเพียง 13.00 หลังจาก 30 นาที เช่นเดียวกับค่าสี b* ที่มีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นจาก -7.53 หลังให้ความร้อนนาน 1 นาทีเป็น 3.62 หลังให้ความร้อน 30 นาที ซึ่งผลการทดลองทั้งหมดนี้ แสดงว่าสีของสารสกัดสีมีการเปลี่ยนแปลงจากสีแดงหรือม่วงแดงเป็นสีเหลืองหรือน้ำตาล

Table 1 Betacyanin content, % yield and color values of ceylon spinach fruit extract as influenced by four different extracting solvents

Extracting solvent	Betacyanin content (mg/L)	% Yield	Color value		
			L*	a*	b*
Distilled water	485.19±350.03	48.06±1.87^{b}	25.01±3.05	8.16±0.56	-5.99±1.83
1% HCl	451.41±294.21	58.76±4.16^{a}	24.81±3.55	8.69±071	-6.06±1.81
20% Ethanol	371.43±273.25	52.20±5.36^{b}	24.60±3.51	8.22±0.65	-5.94±1.41
20% Methanol	427.60±244.67	55.20±3.75^{b}	24.93±3.16	8.38±0.94	-5.78±1.76

^{a,b} Means with different superscripts within the same column are significantly different (P<0.05).

Table 2 Effects of heating temperature and time on color values of ceylon spinach fruit extract

Time	60°C			90°C		
(min)	L*	a*	b*	L*	a*	b*
1	45.19 ± 0.6^{e}	23.32 ± 0.60^{c}	-6.06 ± 0.60^{abc}	39.83 ± 0.58^{g}	27.70 ± 0.25^{a}	-7.53 ± 0.01^{i}
2	45.11 ± 0.02^{e}	24.41 ± 0.03^{a}	-6.56 ± 0.29^{c}	40.62 ± 0.36^{fg}	27.39 ± 0.37^{a}	-6.63 ± 0.29^{h}
3	45.94 ± 0.75^{cde}	23.94 ± 0.41^{abc}	-6.44 ± 0.38^{c}	39.92 ± 1.06^{g}	25.82 ± 0.58^{b}	-6.20 ± 0.22^{g}
5	45.67 ± 0.28^{de}	24.19 ± 0.34^{ab}	-6.37 ± 0.30^{bc}	41.27 ± 0.58^{f}	26.52 ± 0.09^{b}	-5.54 ± 0.01^{f}
10	46.75 ± 0.44^{abc}	23.51 ± 0.43^{bc}	-6.16 ± 0.51^{abc}	42.68 ± 0.18^{e}	24.61 ± 0.11^{c}	-3.41 ± 0.09^{e}
15	46.13 ± 0.33^{bcd}	24.16 ± 0.03^{ab}	-5.98 ± 0.37^{abc}	44.05 ± 0.17^{d}	22.42 ± 0.00^{d}	-1.97 ± 0.02^{d}
20	46.84 ± 0.67^{ab}	23.54 ± 0.32^{bc}	-5.75 ± 0.40^{ab}	45.73 ± 0.46^{c}	18.99 ± 0.27^{e}	-0.30 ± 0.07^{c}
25	46.90 ± 0.67^{ab}	23.31 ± 0.06^{c}	-5.70 ± 0.23^{a}	47.46 ± 0.95^{b}	16.18 ± 0.05^{f}	1.93 ± 0.18^{b}
30	46.96 ± 0.60^{ab}	23.74 ± 0.30^{abc}	-5.61 ± 0.27^{a}	48.97 ± 0.07^{a}	13.00 ± 0.79^{g}	3.62 ± 0.35^{a}

$^{a-i}$ Means with different superscripts within the same column are significantly different (P<0.05).

3. ผลกระทบของพีเอชต่อค่า λmax ของสารสกัดสีจากผลผักปลัง

Figure 1 แสดงผลกระทบของพีเอชต่อค่า λmax ของสารสกัดสีจากผลผักปลัง ซึ่งพบว่า ในสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีพีเอช 1 และ 2 ค่า λmax มีค่าเท่ากับ 549 นาโนเมตรและเมื่อพีเอชเพิ่มขึ้นเป็น 3-7 ค่า λmax มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (P< 0.05) โดยมีค่าระหว่าง 230-248นาโนเมตร

วิจารณ์ผล

การสกัดสีจากผลผักปลังสุกด้วยน้ำกลั่นทำให้ได้ปริมาณบีตาไซยานินสูงสุด ซึ่งแตกต่างจากงานวิจัยของ Delgado-Vargas *et al.* (2000) ที่พบว่า การใช้เมทานอลหรือเอทานอล 20-50% ช่วยให้การสกัดบีตาเลนเกิดขึ้นได้อย่างสมบูรณ์ เนื่องจากช่วยแยกโปรตีนที่ละลายน้ำได้ออกจากบีตาเลน เช่นเดียวกับ Garcı´a Barrera et al. (1998) ที่รายงานว่าการใช้ตัวทำละลายผสมระหว่างเอทานอลกับกรดไฮโดรคลอริก (99:1 v/v) ทำให้สารบีตาเลนออกมาได้มากกว่าการใช้น้ำกลั่น ซึ่งการใช้สารละลายที่มีสภาพเป็นกรดยังจะช่วยรักษาความเสถียรของสารสีให้ดีขึ้น และป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันจากเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดสด้วย อย่างไรก็ตามบีตาไซยานินที่สกัดจากผักปลังสุกด้วยสารละลายทั้ง 4 ชนิด มีปริมาณไม่แตกต่างกันในทางสถิติ และเมื่อเปรียบเทียบกับบีทรูทแดง (*Beta vulgaris* subsp. *vulgaris*) ที่เป็นแหล่งของบีตาเลนที่สำคัญ ซึ่งมีรายงานปริมาณบีตาเลน 300-600 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่า มีปริมาณใกล้เคียงกัน

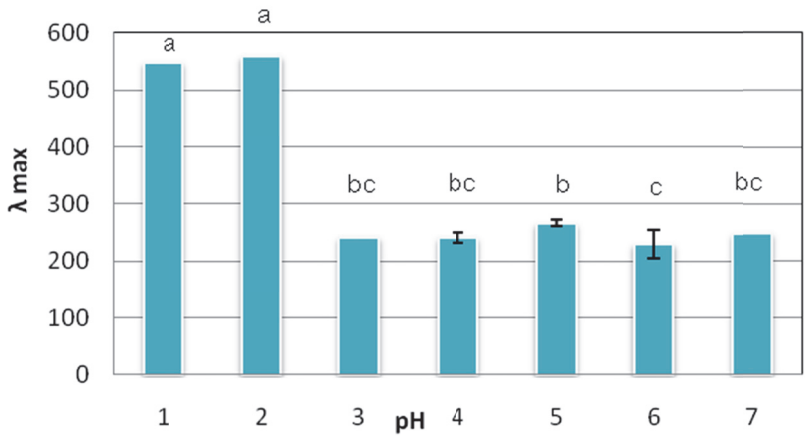

Figure 1 Changes in λmax of ceylon spinach fruit extract at pH 1-7

ในการศึกษาความเสถียรของสารสกัดสีจากผลผักปลังต่อความร้อนและค่าพีเอช พบว่า บีตาไซยานินมีความคงตัวต่อความร้อนค่อนข้างน้อย โดยความร้อนจะเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของบีตาไซยานินผ่านทางปฏิกิริยาดีไกลโคซิเลชัน ไฮโดรไลซิสดีคาร์บอกซีเลชัน หรือไอโซเมอร์ไรเซชัน และทำให้เกิดสารต่างๆ เช่น isobetanin, betalamic acid และ isobetalamic acid ส่วนการเปลี่ยนแปลงสีจากม่วงแดงเป็นสีเหลืองหรือน้ำตาล อาจเกิดจากการสลายของบีตาไซยานินเป็น betalamic acid กับ cycol-DOPA-glucoside (Herbach *et al*., 2006) เมื่อนำสารสกัดสีจากผลผักปลังมาเติมลงในบัฟเฟอร์ที่มีพีเอชแตกต่างกัน พบว่า ค่า λmax มีค่าเปลี่ยนแปลงไป ทั้งนี้เป็นเพราะโครงสร้างของบีตาไซยานินที่เป็น zwitter ion มีการเปลี่ยนแปลงตามสภาพความเป็นกรด ซึ่งปกติบีตาเลนมีความคงตัวในช่วงพีเอช 3-7 และแตกต่างจากแอนโทไซยานินที่คงตัวในสภาวะที่เป็นกรดมาก (พีเอช<0.5) แต่เมื่อพีเอชสูงกว่า 4.5 จะเกิดโครงสร้างของ carbinol base และ chalcone ซึ่งไม่มีสี

สรุป

ผลผักปลังสุกมีศักยภาพสูงในการนำมาใช้ผลิตสีผสมอาหารจากธรรมชาติ ซึ่งการสกัดด้วยน้ำทำให้ได้สารบีตาเลนในรูปบีตาไซยานินมากที่สุด แม้ว่ามีปริมาณผลผลิตของสารสกัดน้อยกว่าการใช้เมทานอล (20%) เอทานอล (20%) และกรดไฮโดรคลอริก (1%) สารสกัดสีที่ได้จากผลผักปลังอาจมีข้อจำกัดในการนำไปใช้ในอาหารที่ต้องผ่านความร้อนสูง แต่มีความเหมาะสมต่อการนำไปใช้ในอาหารที่มีความเป็นกรดต่ำ

เอกสารอ้างอิง

นิธิยา รัตนาปนนท์. 2545. เคมีอาหาร. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. กรุงเทพมหานคร. 487หน้า.

วิภาดา สนองราษฎร์, วิภาวี ขำวิจิตร, วารินทร์ ยางเดิม, ปริยาภัทร เชาว์ชาญ และพัชราภรณ์ สารเสนา. 2552. การสกัดสารสีจากเปลือกผลแก้วมังกร.วารสารวิชาการวิศวกรรมศาสตร์ ม.อบ. 2(1): 9-16.

Azeredo, H. M. C. 2009. Betalains: properties, sources, applications, and stability – a review. Inter J. Food Sci. Tech. 44: 2365-2376.

Delgado-Vargas, F., A. R. Jime´nez and O. Paredes-Lo´pez. 2000. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains - characteristics, biosynthesis, processing, and stability. Critical Rev. Food Sci. Nutr. 40: 173-289.

Garcı´a Barrera, F. A., C. R. Reynoso and E. Gonza´lez de Mejı´a. 1998. Estabilidad de las betalaı´nas extraı´das del garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*). Food Sci. & Tech. Inter. 4: 115-120.

Harivaindaran, K. V., O. P. S. Rebeeca and S. Chandran. 2008. Study of optimal temperature, pH and stability of dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) peel for use as potential natural colorant. Pak J. Biol Sci. 11: 2259-2263.

Herbach, K. M., F. C. Stintzing and R. Carle. 2006. Betalain stability and structural degradation and chromatic aspects. J. Food Sci. 71: R41-R50.