



สมบัติและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากขิงที่สกัดด้วย
คาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตและการประยุกต์ใช้สารสกัดในไอศกรีม
Properties and Antioxidant Activities of Crude Extract from Ginger
(*Zingiber officinale* Roscoe) Extracted with Supercritical
Carbon Dioxide and Its Application in Ice Cream

ชัยรัตน์ พึ่งเพียร

Chairat Puengphian

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of
Master of Science in Food Science and Technology
Prince of Songkla University

2552

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

(1)

ชื่อวิทยานิพนธ์ สมบัติและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากจิงที่สกัดด้วยการบด ไคออกไซด์เหนื่อวิกฤตและการประยุกต์ใช้สารสกัดในไอศกรีม

ผู้เขียน นายชัยรัตน์ พึ่งเพียร

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

คณะกรรมการสอบ

.....

.....ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อัญชลี ศิริโชค)

(ศาสตราจารย์ ดร.สุทนต์ เบญจกุล)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อัญชลี ศิริโชค)

.....

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ทิพรัตน์ หงษ์ศิริ)

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ทิพรัตน์ หงษ์ศิริ)

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.ชงชัย สุวรรณลิขันธ์)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.เกริกชัย ทองหนู)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อวิทยานิพนธ์	สมบัติและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากขิงที่สกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตและการประยุกต์ใช้สารสกัดในไอศกรีม
ผู้เขียน	นายชัยรัตน์ พึ่งเพียร
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร
ปีการศึกษา	2551

บทคัดย่อ

ขิงสด (ระยะแก่จัด) ปอกเปลือกมีปริมาณความชื้นและเถ้า เท่ากับ 92.46 ± 0.36 และ $0.12 \pm 0.01\%$ ตามลำดับ ส่วนขิงภายหลังการทำแห้ง (55.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส 11 ชั่วโมง) มีปริมาณความชื้น เท่ากับ $9.32 \pm 0.23\%$ ค่าผลได้ของขิงสดปอกเปลือกและขิงภายหลังการทำแห้ง เท่ากับ 64.95 ± 1.01 และ $5.35 \pm 0.19\%$ ตามลำดับ ขิงสดปอกเปลือกและขิงแห้ง มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก เท่ากับ 22.56 ± 0.45 และ 17.67 ± 0.24 มิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิก/กรัมตัวอย่าง (น้ำหนักฐานแห้ง) และมีปริมาณสาร [6]-gingerol เท่ากับ 25.18 ± 0.20 และ 22.18 ± 0.15 มิลลิกรัม/กรัมตัวอย่าง (น้ำหนักฐานแห้ง) ตามลำดับ นอกจากนี้ขิงสดปอกเปลือกมีสมบัติการจับอนุมูลอิสระ DPPH (รายงานค่าในรูป EC_{50} , Efficient concentration) และ ABTS รวมทั้งมีความสามารถในการให้อิเล็กตรอน (โดยสมบัติการจับอนุมูลอิสระ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็กตรอน รายงานค่าในรูป TEAC, Trolox equivalents antioxidant capacity) สูงกว่าขิงแห้งอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) การสกัดขิงแห้งด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤต ที่สภาวะความดันและอุณหภูมิของคอลัมน์สกัด เท่ากับ 200.0 บาร์ และ 35.0 องศาเซลเซียส จึงตามด้วยการแยกเป็นลำดับในคอลัมน์แยกที่ 1 และ 2 ซึ่งปรับความดันและอุณหภูมิ เท่ากับ 60.0 บาร์ 35.0 องศาเซลเซียส และ 50.0 บาร์ 20.0 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เก็บสารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากแต่ละคอลัมน์แยกที่ระยะเวลาสกัด 10 นาที, 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 ชั่วโมง พบว่า ค่าผลได้ของสารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากคอลัมน์แยกที่ 1 และ 2 มีค่าเท่ากับ 2.13 และ 0.74% ตามลำดับ โดยสารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากคอลัมน์แยกที่ 1 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และสาร [6]-gingerol รวมทั้งสมบัติการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากคอลัมน์แยกที่ 2 โดยสารสกัดหยาบจากขิงในคอลัมน์แยกที่ 1 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และสาร [6]-gingerol สูงที่สุดในชั่วโมงที่ 2 ของการสกัด มีค่าเท่ากับ 331.90 ± 2.97 มิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิก/กรัมสารสกัดหยาบจากขิง และ 491.80 ± 2.42 มิลลิกรัม/กรัมสารสกัดหยาบจากขิง ตามลำดับ ซึ่งมีสมบัติการจับอนุมูลอิสระ DPPH มีค่า EC_{50} เท่ากับ

5.66±0.26 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สมบัติการจับอนุมูลอิสระ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็กตรอน มีค่า TEAC เท่ากับ 2.67±0.05 และ 3.14±0.04 มิลลิโมลสมมูลย์โทรลออกซ์/กรัมสารสกัดหยาบจากขิง ตามลำดับ สำหรับการสกัดกากขิงด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตร่วมกับเอทานอล พบว่า ค่าผลได้ของสารสกัดหยาบจากกากขิงที่ได้จากคอลัมน์แยกที่ 1 และ 2 มีค่าเท่ากับ 0.24 และ 0.19% ตามลำดับ โดยสารสกัดหยาบที่ได้จากกากขิงภายหลังผ่านกระบวนการสกัดยังคงมีสารประกอบฟีนอลิก สาร [6]-gingerol และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ นอกจากนี้สารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตในคอลัมน์แยกที่ 1 และ 2 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ปริมาณสาร [6]-gingerol และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากการสกัดแบบแช่ในเมทานอลอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) นอกจากนี้สารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตในคอลัมน์แยกที่ 1, 2 และจากการสกัดแบบแช่ในเมทานอล มีสมบัติในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ (Minimum inhibitory concentration, MIC) เท่ากัน คือ 8 มิลลิกรัม แต่สารสกัดหยาบจากขิงทุกตัวอย่าง ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้ นอกจากนี้ยังพบว่า สารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากคอลัมน์แยกที่ 2 มีสมบัติในการยับยั้งเชื้อ *A. niger* โดยมีค่า MIC เท่ากับ 8 มิลลิกรัม

ความคงตัวของสารสกัดหยาบจากขิงที่คัดเลือกจากคอลัมน์แยกที่ 1 เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20.0, 4.0±1.0 และ 27.0±1.0 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 1, 2, 3 และ 4 เดือน พบว่าในเดือนที่ 4 ของการเก็บรักษา สารสกัดหยาบจากขิงที่อุณหภูมิ -20.0, 4.0±1.0 และ 27.0±1.0 องศาเซลเซียส มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดหยาบจากขิงลดลงจากค่าเริ่มต้นของการเก็บรักษา เท่ากับ 1.31, 1.95 และ 2.04% ตามลำดับ อย่างไรก็ตามอุณหภูมิและระยะเวลาเก็บรักษาไม่มีผลอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) ต่อปริมาณสาร [6]-gingerol และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

งานวิจัยนี้ พบว่า สูตรพื้นฐานการผลิตไอศกรีมนมที่เหมาะสม ประกอบด้วย 40.70% นมขาดมันเนย, 28.60% ครีม, 6.40% นมผงขาดมันเนย, 10.00% น้ำตาลทราย, 8.00% กลูโคสไซรัป, 0.30% สารให้ความคงตัวและอิมัลซิไฟเออร์ และ 6.00% น้ำ และ 0.065% สารสกัดหยาบจากขิงต่อน้ำหนักส่วนผสมไอศกรีม เป็นปริมาณที่เหมาะสมสำหรับสูตรไอศกรีมนมเติมสารสกัดหยาบจากขิง พบว่า ไอศกรีมชุดควบคุม (0.000%) และไอศกรีมที่เติม 0.065% สารสกัดหยาบจากขิง มีค่าพีเอช เท่ากัน คือ 6.25±0.01 มีปริมาณของแข็งทั้งหมด เท่ากับ 42.19±0.06 และ 42.61±0.04% มีปริมาณไขมัน เท่ากับ 12.09±0.27 และ 12.08±0.21% มีค่าโอเวอร์รัน เท่ากับ 35.37±5.22 และ 37.26±2.42% และมีอัตราการละลาย เท่ากับ 0.10±0.03 และ 0.06±0.01 เปอร์เซ็นต์/นาทิต ตามลำดับ นอกจากนี้ไอศกรีมที่เติม 0.065% สารสกัดหยาบจากขิงมีปริมาณ

สารประกอบฟีนอลิก ปริมาณสาร [6]-gingerol และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าไอศกรีมช็อค
ควมคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของไอศกรีมช็อคควมคุมและ
ไอศกรีมที่เติม 0.065% สารสกัดหยาบจากจิง ระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20.0 องศาเซลเซียส เป็น
ระยะเวลา 0, 15, 30, 45 และ 60 วัน เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น พบว่า ไอศกรีมทุกชุดการ
ทดลอง มีค่า L^* ลดลง และมีค่า b^* เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ในขณะที่มีปริมาณของแข็ง
ทั้งหมด อัตราการละลาย และความแน่นแข็งไม่แตกต่างกันทางสถิติตลอดระยะเวลาเก็บรักษา 60
วัน นอกจากนี้ไอศกรีมที่เติม 0.065% สารสกัดหยาบจากจิง ยังมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และ
ปริมาณสาร [6]-gingerol ไม่แตกต่างกันทางสถิติตลอดระยะเวลาเก็บรักษา ส่วนสมบัติการต้าน
อนุมูลอิสระของไอศกรีมช็อคควมคุมและไอศกรีมที่เติม 0.065% สารสกัดหยาบจากจิงมีค่าลดลง
เล็กน้อยในระหว่างการเก็บรักษา สำหรับคุณภาพด้านจุลินทรีย์ ไอศกรีมทุกชุดการทดลองเมื่อเก็บ
รักษาเป็นเวลา 60 วัน มีคุณภาพด้านจุลินทรีย์เป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ไอศกรีมตามประกาศ
กระทรวงสาธารณสุข (2544) จากการประเมินคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของไอศกรีมช็อค
ควมคุมและไอศกรีมที่เติม 0.065% สารสกัดหยาบจากจิงระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20.0 องศา
เซลเซียส เป็นเวลา 0, 15, 30, 45 และ 60 วัน พบว่า ระยะเวลาเก็บรักษาไม่มีผลอย่างมีนัยสำคัญ
ต่อผลการประเมินคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส โดยคะแนนเฉลี่ยของคุณลักษณะด้านสี ลักษณะ
ปรากฏ ความแน่นแข็ง ความเรียบเนียน รสหวาน กลิ่นรสไอศกรีม และการยอมรับโดยรวมของ
ไอศกรีมช็อคควมคุมและไอศกรีมที่เติม 0.065% สารสกัดหยาบจากจิงอยู่ในช่วง 7.00-9.00
(ชอบปานกลางถึงชอบมากที่สุด) นอกจากนี้ไอศกรีมที่เติม 0.065% สารสกัดหยาบจากจิงมีสมบัติ
การต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าไอศกรีมช็อคควมคุม และไอศกรีมกลิ่นวานิลลาทางการค้าอย่างมี
นัยสำคัญ ($p < 0.05$) สำหรับการประเมินต้นทุนการผลิตสารสกัดหยาบจากจิง มีต้นทุนการผลิต
ประมาณ 28.25 บาท/กรัม โดยประเมินจากสารสกัดหยาบที่ได้ทั้งหมด ส่วนไอศกรีมที่เติม 0.065%
สารสกัดหยาบจากจิง และไอศกรีมช็อคควมคุม ปริมาณ 55 กรัม บรรจุด้วยพลาสติก มีต้นทุนการ
ผลิต ประมาณ 7.37 และ 6.35 บาท/ถ้วย ตามลำดับ

Thesis Title	Properties and Antioxidant Activities of Crude Extract from Ginger (<i>Zingiber officinale</i> Roscoe) Extracted with Supercritical Carbon Dioxide and Its Application in Ice Cream
Author	Mr. Chairat Puengphian
Major Program	Food Science and Technology
Academic Year	2008

ABSTRACT

Peeled fresh ginger (mature stage) had the moisture and ash contents of 92.46 ± 0.36 and $0.12 \pm 0.01\%$, respectively. After drying ($55 \pm 2^\circ\text{C}$, 11 hours) dried ginger contained the moisture content of $9.32 \pm 0.23\%$. Yields of fresh ginger after peeling and drying were 64.95 ± 1.01 and $5.35 \pm 0.19\%$, respectively. Peeled fresh and dried ginger contained the phenolic contents of 22.56 ± 0.45 and 17.67 ± 0.24 mg gallic acid equivalents (GAE)/g sample (dry weight basis, dwb) and [6]-gingerol contents of 25.18 ± 0.20 and 22.18 ± 0.15 mg/g sample (dwb), respectively. In addition, peeled fresh ginger had DPPH (expressed as EC_{50} , Efficient concentration) and ABTS radical scavenging activity also with ferric reducing antioxidant power, FRAP (both ABTS and FRAP expressed as TEAC, Trolox equivalents antioxidant capacity) greater than those from dried ones. The supercritical CO_2 extraction of dried ginger was performed at the extraction column with the pressure of 200.0 bar, at the temperature of 35.0°C , followed by series of separation into 1st and 2nd separating columns with the conditions of 60.0 bar, at 35.0°C and 50.0 bar, at 20.0°C , respectively. Each separating column, crude ginger extracts were subsequently taken after starting the extraction process for 10 min, 1, 2, 3, 4, 5 and 6 hours. Crude ginger extract from 1st and 2nd separating columns with the yields of 2.13 and 0.74% were achieved. Crude ginger extracts from the 1st separating column had contents of phenolic compounds, [6]-gingerol and antioxidant properties greater than those of the 2nd separating column. Crude ginger extract from the 1st separating column at 2 hours of extraction times contained the highest contents of phenolic compounds and [6]-gingerol of 331.90 ± 2.97 mg GAE/g crude ginger extract and 491.80 ± 2.42 mg/g crude ginger extract, respectively. This crude ginger extract had DPPH radical scavenging activity as EC_{50} of 5.66 ± 0.26 $\mu\text{g/ml}$, ABTS radical

scavenging activity and ferric reducing antioxidant power as TEAC of 2.67 ± 0.05 and 3.14 ± 0.04 mmol Trolox equivalents/g crude ginger extract, respectively. As the supercritical CO₂ extraction combined with the ethanol co-solvent was performed by using ginger residues in the extraction column, it was found that 0.24 and 0.19 %yields of crude ginger extracts from the 1st and 2nd separating columns were achieved. The ginger residues after completed extraction process also retained some contents of phenolic compounds, [6] gingerol and antioxidant properties. In additions, crude ginger extracts from supercritical CO₂ extraction, both separating columns, had the phenolic compounds, [6]-gingerol contents and antioxidant properties significantly ($p < 0.05$) greater than those from the methanol immersion method. Furthermore, crude ginger extracts from both separating columns of supercritical CO₂ extraction and methanol immersion had the same exhibited antimicrobial properties, expressed as the minimum inhibitory concentration (MIC) of 8 mg on *S. aureus*. Whereas, the crude ginger extracts from all samples did not exhibit in the inhibitory effect on *E. coli*. It was also found that crude ginger extract from the 2nd separating column showed the minimum inhibitory concentration of 8 mg on *A. niger*.

The stability of selected crude ginger extracts from the 1st separating column stored at the temperatures of -20.0 , 4.0 ± 1.0 and 27.0 ± 1.0 °C for 0, 1, 2, 3 and 4 months were conducted. After 4 months of storage at -20.0 , 4.0 ± 1.0 and 27.0 ± 1.0 °C, crude ginger extracts contained 1.31, 1.95 and 2.04% less contents of phenolic compounds as compared to those of the initial contents. However, it was implied that the storage temperatures and times did not significantly ($p \geq 0.05$) effect on qualities, including the [6]-gingerol contents and the antioxidant properties, of crude ginger extracts

It was found that the optimum selected primary formula of milk ice cream comprised of 40.70% skim milk, 28.60% cream, 6.40% skim milk powder, 10.00% sugar, 8.00% glucose syrup, 0.30% stabilizer and emulsifier and 6.00% water, respectively. 0.065% crude ginger extract of mixed ice cream weight was the optimum selected content for making the milk ice cream added with crude ginger extract. It was found that the control (0.000%) and ice cream with the addition of 0.065% crude ginger extract had the same pH value of 6.25 ± 0.01 , the total solids contents of 42.19 ± 0.06 and 42.61 ± 0.04 %, fat contents of 12.09 ± 0.27 and 12.08 ± 0.21 %, the overruns of 35.37 ± 5.22 and 37.26 ± 2.42 %, and melting rates of 0.10 ± 0.03 and 0.06 ± 0.01 percent/minute, respectively. Also, the ice cream added 0.065% crude ginger extract contained

the contents of phenolic compounds, [6]-gingerol, and the antioxidant properties significantly ($p < 0.05$) greater than those of the control. Studies on the quality changes of the control and ice cream added 0.065% crude ginger extract during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days were performed. As the longer the storage time, it was found that all ice cream samples had significantly ($p < 0.05$) less and greater in the L^* and b^* values, respectively. Whereas the total solids contents, melting rates and hardness were not statistically different during 60 days of storage. In addition, no statistical difference was observed in the contents of phenolic compounds and [6]-gingerol of ice cream added with 0.065% crude ginger extract during storage for 60 days. The antioxidant properties of both the control and ice cream added 0.065% crude ginger extract slightly decreased during 60 days storage. The microbial qualities of all ice cream samples after 60 days storage were in an acceptable amount as the ice cream product standard announced by the Ministry of Public Health (2001). According to the sensory evaluation of the control and ice cream added 0.065% crude ginger extract, storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days, it was found that the storage time did not significantly effect on the observed sensory evaluated results. The control and ice cream added 0.065% crude ginger extract had the average perceived sensory scores, evaluated on the color, appearance, hardness, smoothness, sweetness, ice cream flavor and the overall acceptance characteristics, in the range of 7.00-9.00 (like moderately to like extremely). The ice cream added 0.065% crude ginger extract exhibited the antioxidant properties significantly ($p < 0.05$) greater than those of the control and commercial ones. The production cost of crude ginger extract was estimated at 28.25 baht/g based on the overall observed crude extract. The production costs of 55 grams ice cream added 0.065% crude ginger extract and the control, packed in plastic cup, were estimated at 7.37 and 6.35 baht/cup, respectively

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(10)
LIST OF TABLES	(11)
LIST OF APPENDIX TABLES	(14)
LIST OF FIGURES	(18)
LIST OF APPENDIX FIGURES	(20)
บทที่	
1 บทนำ	
บทนำตั้งเรื่อง	1
การตรวจเอกสาร.....	3
วัตถุประสงค์	68
2 วิธีการวิจัย	
วัสดุและอุปกรณ์	69
วิธีดำเนินการ	72
3 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	86
4 บทสรุปและข้อเสนอแนะ	145
เอกสารอ้างอิง	149
ภาคผนวก	166
ประวัติผู้เขียน	218

LIST OF TABLES

Table	Page
1. The cultivation area and production of ginger in Thailand during May 2004-April 2005	4
2. Provision of ginger rhizomes by sizing concern	7
3. Nutritional values of tender and fibrous ginger rhizomes base on 100 grams of edible parts	8
4. Approximate dosages of ginger oil for typical applications	14
5. Approximate dosages of ginger oleoresin for typical applications	15
6. Physical properties of several solvent used in supercritical extraction	19
7. Range values of physiochemical properties of gases, liquids and supercritical fluids	20
8. Solubility of botanical compounds in liquid and supercritical carbon dioxide	21
9. Review on investigation of supercritical carbon dioxide extraction of ginger	26
10. Free radicals and theirs formulas	31
11. Antioxidant active chemicals isolated from ginger rhizome	45
12. A typical compositional range for the component used in ice cream mix formulations	50
13. Times and temperatures for pasteurization of ice cream mixes	57
14. Average values for fat and total solids contents, overrun among the categories of ice cream	65
15. List of chemicals used in the experiment	69
16. Formulations of ice cream (per 100 grams)	81
17. %Yields of fresh and dried gingers	86
18. Chemical compositions and antioxidant properties (by DPPH, ABTS radical scavenging activity and FRAP) of fresh and dried gingers	90
19. Heavy metal residues in fresh ginger	91
20. Correlation coefficients (r) of antioxidant properties (by DPPH, ABTS radical scavenging activity and FRAP), total phenolic and [6]-gingerol contents from 10 min, 1, 2, 3, 4, 5 and 6 hours crude ginger extracts	99

LIST OF TABLES (Cont.)

Table	Page
21. Comparison of extraction yields, chemical and antioxidant properties (by DPPH, ABTS radical scavenging activity and FRAP) of crude ginger extracts obtained from separator 1 of SC-CO ₂ extraction by using dried ginger and SC-CO ₂ combined with co-solvent extraction by using ginger residues	104
22. Comparison of chemical and antioxidant properties ((by DPPH, ABTS radical scavenging activity and FRAP) of crude ginger extracts obtained from SC-CO ₂ extraction and methanol extraction (immersion method)	105
23. Antimicrobial properties of crude ginger extracts obtained from SC-CO ₂ extraction and methanol extraction, using disc diffusion method	108
24. Changes in total phenolic and [6]-gingerol contents of crude ginger extracts during storage at -20.0, 4.0 and 27.0°C for 0, 1, 2, 3 and 4 months	113
25. Changes in antioxidant properties (by DPPH, ABTS radical scavenging activity and FRAP) of crude ginger extracts during storage at -20.0, 4.0 and 27.0°C for 0, 1, 2, 3 and 4 months	114
26. Chemical properties of ice creams obtained from different formulas	116
27. Physical measurements and total viable counts of ice creams obtained from different formulas	120
28. Average acceptance scores of ice creams obtained from different formulas	121
29. Total phenolic, [6]-gingerol contents and antioxidant properties (by DPPH, ABTS radical scavenging activity and FRAP) of ice creams containing different concentrations of crude ginger extracts	124
30. Physical measurements and total viable counts of ice creams containing different concentrations of crude ginger extracts	128
31. Average acceptance scores of ice creams containing different concentrations of crude ginger extracts	129

LIST OF TABLES (Cont.)

Table	Page
32. Changes in the pH and total solids of ice creams containing crude ginger extract (0.000 and 0.065%) during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days	131
33. Changes in total phenolic and [6]-gingerol contents of ice creams containing 0.065% crude ginger extract during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days	131
34. Changes in melting rate and hardness of ice creams containing crude ginger extracts (0.000 and 0.065%) during storage at -20°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days	134
35. Total viable counts of ice creams containing crude ginger extract (0.000% and 0.065%) during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days	137
36. Average acceptance scores (color and appearance attributes) of ice creams containing crude ginger extracts (0.000% and 0.065%) during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days	140
37. Average acceptance scores (hardness and smoothness attributes) of ice creams containing crude ginger extracts (0.000% and 0.065%) during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days	141
38. Average acceptance scores (sweetness, ice cream flavor and overall acceptance attributes) of ice creams containing crude ginger extracts (0.000% and 0.065%) during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days	142
39. Cost calculations of crude ginger extract obtained from SC-CO ₂ extraction	143
40. Cost calculations of ice creams containing crude ginger extracts (0.000 and 0.065%)	144

LIST OF APPENDIX TABLES

Table	Page
1. Antioxidant properties of standard [6]-gingerol as determined by DPPH, ABTS radical scavenging activity and FRAP	190
2. Chemical and antioxidant properties (by DPPH, ABTS radical scavenging activity and FRAP) of ice creams containing crude ginger extracts (0.000% and 0.065%) and commercial ice creams	193
3. Analysis of variance in chemical compositions and antioxidant properties of fresh and dried ginger	194
4. Analysis of variance in chemical and antioxidant properties of crude ginger extracts obtained from SC-CO ₂ extraction and methanol extraction	195
5. Analysis of variance in [6]-gingerol contents of crude ginger extracts during storage at -20.0, 4.0 and 27.0°C for 0, 1, 2, 3 and 4 months	196
6. Analysis of variance in total phenolic contents of crude ginger extracts during storage at -20.0, 4.0 and 27.0°C for 0, 1, 2, 3 and 4 months	196
7. Analysis of variance in antioxidant properties of crude ginger extracts during storage at -20.0, 4.0 and 27.0°C for 0, 1, 2, 3 and 4 months as determined by DPPH radical scavenging activity	196
8. Analysis of variance in antioxidant properties of crude ginger extracts during storage at -20.0, 4.0 and 27.0°C for 0, 1, 2, 3 and 4 months as determined by ABTS radical scavenging activity	197
9. Analysis of variance in antioxidant properties of crude ginger extracts during storage at -20.0, 4.0 and 27.0°C for 0, 1, 2, 3 and 4 months as determined by FRAP	197
10. Analysis of variance in chemical properties of ice creams obtained from 6 different formulas	198
11. Analysis of variance in physical measurements of ice creams obtained from 6 different formulas	199
12. Analysis of variance in average acceptance scores (color attribute) of ice creams obtained from 6 different formulas	200

LIST OF APPENDIX TABLES (Cont.)

Table	Page
13. Analysis of variance in average acceptance scores (appearance attribute) of ice creams obtained from 6 different formulas	200
14. Analysis of variance in average acceptance scores (hardness attribute) of ice creams obtained from 6 different formulas	200
15. Analysis of variance in average acceptance scores (smoothness attribute) of ice creams obtained from 6 different formulas	201
16. Analysis of variance in average acceptance scores (sweetness attribute) of ice creams obtained from 6 different formulas	201
17. Analysis of variance in average acceptance scores (ice cream flavor attribute) of ice creams obtained from 6 different formulas	202
18. Analysis of variance in average acceptance scores (overall acceptance attribute) of ice creams obtained from 6 different formulas	202
19. Analysis of variance in properties of ice creams containing different concentrations of crude ginger extracts	203
20. Analysis of variance in average acceptance scores (color attribute) of ice creams containing different concentrations of crude ginger extracts	205
21. Analysis of variance in average acceptance scores (appearance attribute) of ice creams containing different concentrations of crude ginger extracts	205
22. Analysis of variance in average acceptance scores (hardness attribute) of ice creams containing different concentrations of crude ginger extracts	205
23. Analysis of variance in average acceptance scores (smoothness attribute) of ice creams containing different concentrations of crude ginger extracts	206
24. Analysis of variance in average acceptance scores (sweetness attribute) of ice creams containing different concentrations of crude ginger extracts	206
25. Analysis of variance in average acceptance scores (ice cream flavor attribute) of ice creams containing different concentrations of crude ginger extracts	207

LIST OF APPENDIX TABLES (Cont.)

Table	Page
26. Analysis of variance in average acceptance scores (overall acceptance attribute) of ice creams containing different concentrations of crude ginger extracts	207
27. Analysis of variance in properties of control ice cream during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days	208
28. Analysis of variance in properties of ice cream containing 0.065% crude ginger extract during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days	210
29. Analysis of variance in average acceptance scores (color attribute) of control ice cream during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days	212
30. Analysis of variance in average acceptance scores (appearance attribute) of control ice cream during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days	212
31. Analysis of variance in average acceptance scores (hardness attribute) of control ice cream during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days	212
32. Analysis of variance in average acceptance scores (smoothness attribute) of control ice cream during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days	213
33. Analysis of variance in average acceptance scores (sweetness attribute) of control ice cream during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days	213
34. Analysis of variance in average acceptance scores (ice cream flavor attribute) of control ice cream during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days	213
35. Analysis of variance in average acceptance scores (overall acceptance attribute) of control ice cream during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days	214
36. Analysis of variance in average acceptance scores (color attribute) of ice cream containing 0.065% crude ginger extract during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days	214
37. Analysis of variance in average acceptance scores (appearance attribute) of ice cream containing 0.065% crude ginger extract during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days	214

LIST OF APPENDIX TABLES (Cont.)

Table	Page
38. Analysis of variance in average acceptance scores (hardness attribute) of ice cream containing 0.065% crude ginger extract during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days	215
39. Analysis of variance in average acceptance scores (smoothness attribute) of ice cream containing 0.065% crude ginger extract during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days	215
40. Analysis of variance in average acceptance scores (sweetness attribute) of ice cream containing 0.065% crude ginger extract during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days	215
41. Analysis of variance in average acceptance scores (ice cream flavor attribute) of ice cream containing 0.065% crude ginger extract during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days	216
42. Analysis of variance in average acceptance scores (overall acceptance attribute) of ice cream containing 0.065% crude ginger extract during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days	216
43. Analysis of variance in properties of ice creams containing crude ginger extracts (0.000% and 0.065%) and commercial ice creams	217

LIST OF FIGURES

Figure	Page
1. Sketch of the ginger plant (AS: Aerial shoot, R: Rhizome, Fl: Flower, P: Peduncle (scape), S: spike)	4
2. Transverse section of plant root (a) showing cortical parenchyma (b) showing cortex and endodermis	9
3. Structure and relationship among the pungent principles of ginger	11
4. Phase diagram of carbon dioxide	18
5. Diagram of a supercritical fluid extraction pilot plant. (1) CO ₂ pump; (2) modifier pump; (3) solid sample extraction cell; (4) fractional cell 1; (5) fractional cell 2; (6) valve	23
6. The structure of bacterial cell wall and cell membrane (a) Gram-positive cell wall (b) Gram-negative cell wall	42
7. A schematic representation of the structure of ice cream	59
8. Schematic diagram of supercritical fluid extractor consisted of extraction column (E), Separator 1 (S1) and Separator 2 (S2)	75
9. The processing of ice cream	82
10. Appearances of crude ginger extracts from separation 1 (a) and separator 2 (b) with different extraction time using supercritical carbon dioxide (SC-CO ₂) extraction ...	92
11. Accumulative extraction yields (%) of crude ginger extracts from separator 1 and 2 with different extraction time using SC-CO ₂ extraction	93
12. Total phenolic contents of crude ginger extracts from separator 1 and 2 with different extraction time using SC-CO ₂ extraction	95
13. [6]-gingerol contents of crude ginger extracts from separator 1 and 2 with different extraction time using SC-CO ₂ extraction	95
14. Antioxidant properties of crude ginger extracts from separator 1 and 2 with different extraction time using SC-CO ₂ extraction as determined by DPPH radical scavenging activity	97

LIST OF FIGURES (Cont.)

Figure	Page
15. Antioxidant properties of crude ginger extracts from separator 1 and 2 with different extraction time using SC-CO ₂ extraction as determined by (a) ABTS radical scavenging activity and (b) FRAP	97
16. Changes in <i>L</i> * values of ice creams containing crude ginger extracts (0.000 and 0.065%) during storage at -20°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days	132
17. Changes in <i>a</i> * values of ice creams containing crude ginger extracts (0.000 and 0.065%) during storage at -20°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days	133
18. Changes in <i>b</i> * values of ice creams containing crude ginger extracts (0.000 and 0.065%) during storage at -20°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days	133
19. Changes in antioxidant properties of ice creams containing crude ginger extracts (0.000% and 0.065%) during storage at -20°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days as determined by DPPH radical scavenging activity	136
20. Changes in antioxidant properties of ice creams containing crude ginger extracts (0.000% and 0.065%) during storage at -20°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days as determined by (a) ABTS radical scavenging activity and (b) FRAP	136
21. The ice creams containing 0.000 and 0.065% crude ginger extracts	143

LIST OF APPENDIX FIGURES

Figure	Page
1. The standard curve of Trolox with absorbance at 734 nm	176
2. The standard curve of Trolox with absorbance at 593 nm	178
3. Growth curve of <i>S. aureus</i> and <i>E. coli</i> (a) absorbance (A_{600}) and incubation time and (b) microbial population and incubation time	190
4. Clear zones of <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> and <i>A. niger</i> by crude ginger extract obtained from SC-CO ₂ extraction and methanol immersion extraction	191

บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

จิง (*Zingiber officinale* Roscoe) เป็นพืชสมุนไพรที่มีการนำไปใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวาง ทั้งการใช้เป็นส่วนประกอบในอาหาร หรือการใช้บำบัดรักษาอาการของโรค นอกจากจิงจะมีคุณค่าทางโภชนาการโดยตรงแล้ว ยังมีส่วนประกอบสำคัญที่ให้กลิ่นรสและความเผ็ดร้อนที่เป็นเอกลักษณ์ รวมถึงสมบัติที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ เช่น ฤทธิ์ในการขับลม ช่วยย่อยอาหาร บำบัดอาการท้องอืดท้องเฟ้อ ป้องกันการคลื่นไส้ อาเจียน และยับยั้งจุลินทรีย์ เป็นต้น (Surh *et al.*, 1998; Chrubasik *et al.*, 2005; Ali *et al.*, 2008) องค์ประกอบสำคัญที่ทำให้จิงมีกลิ่นรสและความเผ็ดร้อน แบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ น้ำมันหอมระเหย (Essential oil) ประกอบด้วยองค์ประกอบมากกว่า 50 ชนิด ให้กลิ่นที่เป็นลักษณะเฉพาะของจิง (Barley and Jacobs, 2000; Ali *et al.*, 2008) อีกส่วนคือ น้ำมันชัน (Oleoresin) เป็นส่วนที่ให้กลิ่นรสและความเผ็ดร้อนในจิง โดยมีสารในกลุ่มจินเจอร์อล (Gingerols) เป็นองค์ประกอบสำคัญที่ให้ความเผ็ดร้อนในจิง อีกทั้งยังมีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ (Kikauzaki and Nakatani, 1993; Surh *et al.*, 1998)

เทคนิคการสกัดสารสกัดจากจิงที่นิยมใช้โดยทั่วไป ได้แก่ การกลั่นโดยใช้ไอน้ำ การสกัดโดยใช้ตัวทำละลาย นอกจากนี้การสกัดโดยใช้ของไหลเหนือวิกฤต เป็นเทคโนโลยีหนึ่งที่ได้รับ ความสนใจทั้งในอุตสาหกรรมอาหาร เครื่องสำอาง และเภสัชกรรม เทคนิคการสกัดดังกล่าว ได้เข้ามามีบทบาทต่อการสกัดสารจากผลิตภัณฑ์ทางธรรมชาติเพิ่มขึ้น เนื่องจากสามารถสกัดได้ที่อุณหภูมิไม่สูงมากนัก จึงป้องกันการสลายตัวของสารที่ไวต่อความร้อน อีกทั้งไม่มีปัญหาตัวทำละลายตกค้างในสารสกัด สารสกัดที่ได้จึงมีความปลอดภัยทั้งทางด้านสุขภาพและโภชนาการ (สมใจ ขจรชีพพันธุ์งาม และอาทิตย์ รังษีสันติวานนท์, 2546; Díaz-Reinoso *et al.*, 2006) เทคนิคดังกล่าวจึงมีความเหมาะสมต่อการนำมาใช้ในการสกัดสารสกัดจากจิง

สารสกัดจากจิงมีประโยชน์ต่อสุขภาพหลายประการ ไม่ว่าจะเป็นทางการแพทย์หรือเภสัชกรรม ได้มีการนำมาใช้ในการบำบัดรักษาอาการของโรค นอกจากนี้ยังมีศักยภาพในการนำไปประยุกต์ใช้ในอาหาร ไม่ว่าจะเป็นสารให้สี หรือกลิ่นรสในอาหาร ยับยั้งการเกิดออกซิเดชัน ตลอดจนการเพิ่มสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ (Mansour and Khalil, 2000; Stoilova *et al.*, 2006; Bandyopadhyay *et al.*, 2007) ซึ่งองค์การอาหารและยาของประเทศสหรัฐอเมริกา (USFDA) ได้จัด

ให้ขิงทั้งในรูปแบบที่เป็นขิงแห้งและสารสกัดจากขิงอยู่ในกลุ่มสารที่มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค (Generally Recognized as Safe, GRAS) (Weidner and Sigwart, 2001)

ไอศกรีม เป็นของผสมแช่เยือกแข็งที่ประกอบด้วย นม สารให้ความหวาน น้ำ และ อาจเติมส่วนผสมอื่นๆ เช่น ผลไม้จากไซท์ สารแต่งกลิ่นรส สารให้ความคงตัว และอิมัลซิไฟเออร์ เป็นต้น (Arbuckle, 1986) โดยผลิตภัณฑ์ไอศกรีมส่วนใหญ่จะเน้นจุดขายโดยการปรับเปลี่ยนรสชาติใหม่ๆ เพื่อเพิ่มความหลากหลายของสินค้าให้ครอบคลุมกลุ่มผู้บริโภคเป้าหมายมากขึ้น การนำพืชสมุนไพรเข้ามาเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ไอศกรีมก็เป็นที่ยอมรับเช่นกัน เนื่องจากผู้บริโภคส่วนใหญ่เริ่มหันมาสนใจในเรื่องสุขภาพเพิ่มมากขึ้น สำหรับการผลิตไอศกรีมขิงโดยทั่วไปจะมีการใช้ขิงในรูปแบบขิงสด ขิงเชื่อม หรือขิงผง ผสมลงไปในไอศกรีม (Arbuckle, 1986) แต่วิธีการดังกล่าว ยากต่อการควบคุมคุณภาพในด้านสี กลิ่นรส และรสชาติของไอศกรีม เนื่องจากอาจเกิดความผันแปรด้านคุณภาพ หรือองค์ประกอบของขิงที่นำมาใช้ ตลอดจนการเปลี่ยนแปลงคุณภาพในระหว่างกระบวนการผลิต การประยุกต์ใช้สารสกัดจากขิงในผลิตภัณฑ์ไอศกรีม เป็นวิธีหนึ่งที่สามารถลดปัญหาดังกล่าวได้ ซึ่งนอกจากจะให้สี หรือกลิ่นรส ยังเป็นการเพิ่มสมบัติการต้านอนุมูลอิสระในไอศกรีมอีกด้วย จึงเป็นการสร้างแนวทางเลือกใหม่ให้แก่ผู้บริโภคที่ให้ความสนใจต่อผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ

สำหรับงานวิจัยนี้ศึกษาผลของการสกัดสารสกัดหยาบจากขิงด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤต ต่อสมบัติทางเคมีและสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด ผลของการใช้ตัวทำละลายร่วมในการสกัดขี้กากขิง เปรียบเทียบผลของวิธีการสกัดระหว่างการสกัดด้วยคาร์บอน ไดออกไซด์เหนือวิกฤต กับการสกัดแบบแช่ในเมทานอล จากนั้นศึกษาผลของอุณหภูมิ ต่อความคงตัวของสารสกัดหยาบจากขิงระหว่างการเก็บรักษา การประยุกต์ใช้สารสกัดหยาบจากขิงในไอศกรีม และการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของไอศกรีมระหว่างการเก็บรักษา เปรียบเทียบสมบัติทางเคมีและสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของไอศกรีมที่ผลิตและไอศกรีมทางการค้า รวมถึงการประเมินต้นทุนการผลิตสารสกัดหยาบจากขิงและไอศกรีมที่ไม่เติมและเติมสารสกัดหยาบจากขิง

การตรวจเอกสาร

1. จิง

1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

จิง เป็นพืชล้มลุกจำพวกใบเลี้ยงเดี่ยว เป็นพืชพื้นเมืองของเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ จัดอยู่ในวงศ์ (Family) Zingiberaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Zingiber officinale* Roscoe มีชื่อสามัญว่า Ginger และมีชื่อเรียกในแต่ละท้องถิ่นแตกต่างกันไป เช่น จิงเฝือก (เชียงใหม่) จิงแดง (จันทบุรี) หรือสะเอ (กะเหรี่ยง-แม่ฮ่องสอน) จิงบ้าน จิงแครง จิงป่า ภาคกลาง เป็นพืชที่มีลำต้นที่แท้จริงเป็นเหง้าหรือแง (Rhizome) อยู่ใต้ดิน มีลักษณะเป็นแท่งสั้น แข็ง สีขาวหรือสีเหลืองอ่อน มีเยื่อ และเกล็ดเล็กๆ ห่อหุ้ม จะแตกขนานไปกับพื้นดิน การแตกแขนงเป็นแบบนี้มือ คือ เหง้าอันแรกจะเจริญ และแตกเหง้าย่อยๆ ต่อกันไป (กรมวิชาการเกษตร, 2525; รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ, 2540) เหง้าจิงขณะอ่อนจะมีสีเขียว ต่อมาจึงเปลี่ยนเป็นสีเหลือง และเป็นสีน้ำตาลเมื่อแก่ เหง้าเป็นส่วนใหญ่ใช้สะสมอาหารและขยายพันธุ์ (พิทยา สรวมศิริ, 2529) สามารถดำรงชีวิตข้ามฤดู หรือหลายฤดู ซึ่งต่างจากลำต้นเหนือดินที่มีอายุได้เพียงฤดูเดียว หรือประมาณ 8-12 เดือน ลำต้นส่วนเหนือดินเป็นลำต้นเทียม (Clump) ประกอบด้วยกาบใบซ้อนทับกันหลายๆ ชั้น เจริญจากตาที่ปรากฏอยู่บนเหง้าของจิง ลำต้นเทียมมีลักษณะตั้งตรง มีความสูงประมาณ 30.0-180.0 เซนติเมตร ถัดจากส่วนลำต้นเทียม จิงจะมีใบแตกเป็นแบบสลับ ลักษณะใบรูปหอกมีปลายแหลมความยาวประมาณ 15.0-17.0 เซนติเมตร กว้าง 1.8-4.0 เซนติเมตร ซึ่งจิงเป็นพืชที่ออกดอกและติดเมล็ดยาก ยกเว้นในบางพื้นที่จะมีดอกออกบ้างเป็นช่อดอกยาวประมาณ 5.0-7.0 เซนติเมตร (กรมวิชาการเกษตร, 2525; ไฉน ยอดเพชร, 2542) ส่วนประกอบต่างๆ ของจิงดังแสดงใน Figure 1

1.2 แหล่งและพันธุ์ของจิงที่นิยมปลูกในประเทศไทย

จิง เป็นพืชที่สามารถปลูกได้ทั่วทุกภูมิภาคของประเทศ โดยปลูกมากในภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัดเพชรบูรณ์ เชียงราย น่าน พิชณุโลก ภาคตะวันตก ปลูกมากในจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ส่วนภาคใต้ ปลูกมากในจังหวัดชุมพร (ไฉน ยอดเพชร, 2542) โดยสามารถจำแนกแหล่งปลูกจิงตามพื้นที่เพาะปลูกของภาคต่างๆ ดังแสดงใน Table 1

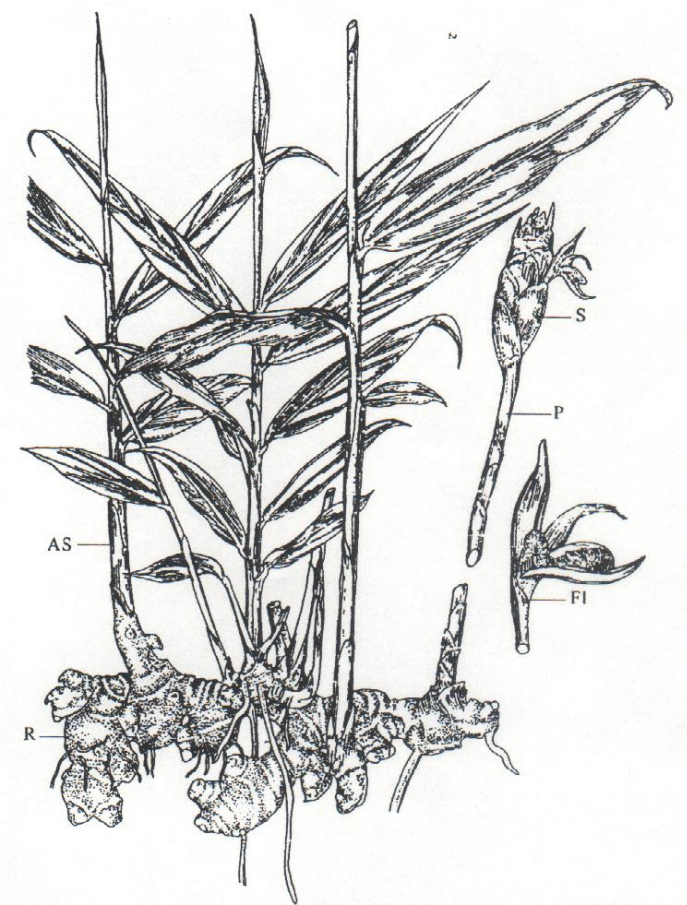


Figure 1. Sketch of the ginger plant (AS: Aerial shoot, R: Rhizome, Fl: Flower, P: Peduncle (scape), S: spike)

ที่มา : Ravindran และคณะ (2004)

Table 1. The cultivation area and production of ginger in Thailand during May 2004-April 2005

Regions of Thailand	Cultivation area (Square meters)	Productions (Tons)
The north	52,993,600	82,781
The northeast	15,236,800	23,088
The east	1,062,400	1,673
The south	184,000	230
Total	69,476,800	107,772

ที่มา : ดัดแปลงจาก วรณีย์ คนขยัน (2549)

สำหรับพันธุ์จิงที่ปลูกกันมากในประเทศไทย สามารถแบ่งออกได้ 2 ประเภท (กรมวิชาการเกษตร, 2525; รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ, 2540) คือ

1.2.1 จิงใหญ่ จิงหยวก หรือจิงขาว

จิงชนิดนี้มีเหง้าใหญ่ ข้อห่าง เนื้อละเอียดไม่มีเส้นใย หรือมีน้อยมาก ความเผ็ดน้อย เมื่อดอกเปลือกออกเนื้อในไม่มีสีหรือมีสีเหลืองอ่อน ตาที่ปรากฏบนเหง้ามีลักษณะกลมมน ปลายใบป้านและมีความสูงมากกว่าจิงเล็ก เหมาะสำหรับรับประทานเป็นจิงอ่อนหรือจิงดอง จิงชนิดนี้มีจำหน่ายมากในท้องตลาด

1.2.2 จิงเล็ก จิงเผ็ด หรือจิงดำ

จิงชนิดนี้มีเหง้าเล็ก สัน ข้อถี่ เนื้อมีเส้นใยมาก มีความเผ็ดมาก เมื่อดอกเปลือกออกแล้วมีสีน้ำตาลหรือสีน้ำตาลปนเขียว ตาบนเหง้ามีลักษณะแหลม ปลายใบแหลม นิยมใช้ทำยาสมุนไพร และทำจิงแห้ง เพราะให้น้ำหนักสูงกว่าจิงหยวก แต่ไม่นิยมปลูกขายในลักษณะจิงอ่อน

1.3 ฤดูกาลปลูกและการเก็บเกี่ยวจิง

จิงสามารถปลูกได้ตั้งแต่ระดับน้ำทะเลจนถึงระดับความสูงประมาณ 1,500 เมตร ขอบอากาศชื้น และมีอุณหภูมิสูงพอสมควร ฤดูกาลปลูกจิงอาจแบ่งได้เป็น 2 ฤดู (กรมวิชาการเกษตร, 2525; รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ, 2540) คือ

1.3.1 การปลูกลงนอกฤดู

เป็นจิงที่ปลูกระหว่างเดือนกุมภาพันธ์-มีนาคม จิงชนิดนี้จะปลูกขายเพื่อเก็บเป็นจิงอ่อน ซึ่งเป็นพวกจิงหยวกหรือจิงใหญ่ที่เก็บได้เมื่อมีอายุได้ 4-6 เดือน หรือประมาณเดือนกรกฎาคม-สิงหาคม หรืออาจเก็บเกี่ยวเป็นจิงแก่ก็ได้ ซึ่งสามารถเก็บเกี่ยวได้ประมาณเดือนพฤศจิกายน-มกราคม

1.3.2 การปลูกในฤดู

เป็นจิงที่ปลูกในฤดูฝน คือ ระหว่างเดือนเมษายน-พฤษภาคม จะเก็บจิงอ่อนได้ประมาณเดือนกันยายน-ตุลาคม หรือจะเก็บเกี่ยวเป็นจิงแก่ได้ประมาณเดือนมกราคม-กุมภาพันธ์

สำหรับการเก็บเกี่ยวจิงอ่อนนั้นเริ่มเก็บเมื่อจิงมีอายุประมาณ 4-6 เดือน ประมาณเดือนกรกฎาคม-สิงหาคม ช่วงนี้เป็นระยะที่จิงมีเส้นใยน้อย และมีเนื้ออ่อนเหมาะสำหรับการรับประทานสดหรือดองหรือแปรรูปต่างๆ จิงอ่อนที่มีอายุประมาณ 6 เดือนจะให้ผลผลิตสูงสุด เนื่องจากจิงมีความสดและอวบแน่นมาก สำหรับจิงแก่ จะเริ่มเก็บเกี่ยวได้เมื่อจิงมีอายุได้ประมาณ 8-12 เดือน ซึ่งสังเกตได้จากใบและลำต้นเริ่มมีสีเหลือง และเหี่ยวเฉา โดยทั่วไปจะเก็บเกี่ยวจิงแก่ประมาณเดือนมกราคม

1.4 เกณฑ์คุณภาพและวิธีการตรวจคุณภาพขิงสด

เกณฑ์คุณภาพของขิงสดนั้นจะสนใจเฉพาะในส่วนของแงงขิงที่ยังไม่ผ่านการปอกเปลือกหรือตัดแต่งใดๆ โดยจะมีข้อกำหนดในด้านคุณภาพ (ส่วนอุตสาหกรรมเกษตร สำนักพัฒนาอุตสาหกรรมรายสาขา กรมส่งเสริมอุตสาหกรรม, 2544) ดังนี้

1.4.1 ข้อกำหนดขั้นต่ำ (Minimum requirement)

1.4.1.1 อายุการเก็บเกี่ยว กรณีของขิงอ่อน (Tender ginger) เป็นขิงที่เก็บเกี่ยวประมาณ 4-6 เดือนหลังจากปลูก มีลักษณะเปลือกบาง และสีจาง รสอ่อน มีเส้นใยน้อย ขณะที่ขิงแก่ (Fibrous ginger) เป็นขิงที่เก็บเกี่ยวในช่วง 8-12 เดือนหลังจากปลูก มีผิวกร้าน เปลือกหนาสีน้ำตาลเข้ม เป็นมัน มีรสจัด และเนื้อมีเส้นใยหยาบ

1.4.1.2 ขิงจะต้องมีคุณภาพ ดังนี้

- เหง้าขิงไม่น่าละ
- ไม่มีรากหญ้า หรือต้นเงาะทะเลง้าขิงจนเกิดผลขนาดใหญ่
- ไม่มีตำหนิจากโรค หรือแมลง

1.4.2 การแบ่งชั้นคุณภาพ (Classification)

ขิงที่มีคุณภาพผ่านข้อกำหนดขั้นต่ำ สามารถแบ่งชั้นคุณภาพตามความสวยงามของรูปร่างขิง ผิว และความแกร่ง (โดยพิจารณาจากผิวมันวาว เต่งตึง เนื้อแน่น)

1.4.2.1 ขิงชั้นพิเศษ เหง้าขิงต้องสมบูรณ์ แพ้ความสวยงามไม่ซ้อนทับกัน ไม่มีรอยแตกในแพ หรือหากมีเมื่อแตกแล้วต้องยังคงลักษณะแพขนาดใหญ่ไม่แตกเป็นแพย่อย ผิวขิงสะอาด ไม่มีสิ่งเจือปนอื่นๆ ดินมา และมีความแกร่ง

1.4.2.2 ขิงชั้นธรรมดา เป็นขิงที่ไม่มีตำหนิที่กำหนดไว้ในข้อกำหนดขั้นต่ำ แต่มีคุณภาพความสวยงามของแพ รูปร่างเหง้าขิง ผิว และความแกร่งด้อยกว่าขิงชั้นพิเศษ

1.4.3 การแบ่งชั้นขนาด (Sizing)

การกำหนดชั้นขนาดของขิงจะอาศัยน้ำหนักของเหง้าขิง แบ่งออกเป็น 5 ระดับ ดังแสดงใน Table 2 โดยวิธีการตรวจคุณภาพวัตถุดิบขิงสดอาศัยเกณฑ์คุณภาพที่สำคัญ คือ ความแก่อ่อน ตำหนิ และขนาด ความแก่อ่อนอาจไม่จำเป็นต้องมีการตรวจวัด เพราะลักษณะการปลูกขิงในประเทศไทยจะแบ่งเป็นฤดูปลูกโดยชัดเจน ระยะเวลาการเก็บเกี่ยวขิงเป็นสิ่งที่กำหนดความแก่อ่อนสำหรับตำหนิจากโรค และแมลงจะพิจารณาจากลักษณะอาการเปลือกหอย และอาการเน่า เพื่อนำมาใช้เป็นเกณฑ์ในการคัดเลือก

Table 2. Provision of ginger rhizomes by sizing concern

Classes	Weights of ginger rhizomes (Grams)
Extremely small	Less than 100
Small	100-200
Medium	200-300
Large	300-500
Extra large	More than 500

ที่มา : ส่วนอุตสาหกรรมเกษตร สำนักพัฒนาอุตสาหกรรมรายสาขา (2544)

1.5 องค์ประกอบที่สำคัญในขิง

ขิงสด ประกอบด้วย ความชื้น 80.80% โพรตีน 2.30% ไขมัน 1.00% คาร์โบไฮเดรต 12.30% เยื่อใย 2.10% เถ้า 1.60% วิตามิน เกลือแร่ และกรดอะมิโน (Purseglow, 1985) Sultan และคณะ (2005) ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของขิงที่ปลูกในประเทศไทย พบว่า ขิงสด ประกอบด้วย ความชื้น 88.00% โพรตีน 6.67% เยื่อใย 15.00% และไขมัน 9.00% ทั้งนี้ องค์ประกอบดังกล่าวอาจมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ เช่น อายุการเก็บเกี่ยว สายพันธุ์ และสภาพการเพาะปลูก เป็นต้น นอกจากขิงจะมีคุณค่าทางโภชนาการแล้ว ยังช่วยให้กลิ่นรสในอาหารดีขึ้น คุณค่าทางโภชนาการของขิงแก่ และขิงอ่อนในส่วนของบริโภคได้ 100 กรัม ดังแสดงใน Table 3 สำหรับองค์ประกอบสำคัญที่ทำให้ขิงมีกลิ่นรส และความเผ็ด แบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ

1.5.1 น้ำมันหอมระเหย (Essential oil) มีอยู่ประมาณ 1.00-3.00% พบมากในส่วนของคอร์ติคัล พาราเควอิม่า (Cortical parenchyma) ดังแสดงใน Figure 2 (a) จึงสามารถสูญเสียไปได้ในระหว่างการปอกเปลือก (Balakrishnan, 2004; Sultan *et al.*, 2005) น้ำมันหอมระเหยถูกสกัดได้โดยใช้วิธีการกลั่นด้วยน้ำ หรือไอน้ำ น้ำมันหอมระเหยในขิงมีส่วนประกอบที่สำคัญ คือ ซิงจิเบอริน (Zingiberene) ซิงจิเบอรอล (Zingiberol) ไบซาโบลิน (Bisabolene) และแคมเฟน (Camphene) เป็นต้น (Sultan *et al.*, 2005; Wohlmuth *et al.*, 2006) Sultan และคณะ (2005) รายงานองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากขิงที่ปลูกในประเทศไทยสกัดโดยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ ซึ่งให้ผลผลิตเท่ากับ 1.58% เมื่อนำมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี พบว่า ประกอบด้วย อัลฟา-ไพเนน (α -Pinene) 3.59% อัลฟา-ฟีลแลนเดริน (α -Phalendrene) 2.84% ไมร์ซีน (Myrecene) 4.58% เบตา-ไพเนน (β -Pinene) 0.74% แกมมา-เทอร์ปีนีน (γ -Tepinene) 2.49% 1,8-ซินีโอล (1,8-Cineol) 3.87% ซิตรอล (Citral) 5.39% และซิงจิเบริน (Zingibrene) 30.81%

Table 3. Nutritional values of tender and fibrous ginger rhizomes base on 100 grams of edible parts

Compositions	Tender ginger	Fibrous ginger
	(Harvesting time 4-6 months)	(Harvesting time 8-10 months)
Moisture (%)	96.40	93.50
Fat (%)	0.30	0.60
Fiber (%)	0.60	0.80
Protein (%)	0.50	0.40
Carbohydrate (%)	1.90	3.80
Energy (kcal)	12.00	22.00
Calcium (mg)	34.00	18.00
Phosphorus (mg)	5.00	22.00
Iron (mg)	0.40	1.20
Vitamin A (I.U.)	Traces	30.00
Vitamin C (mg)	Traces	4.00
Vitamin B1(mg)	0.20	0.02
Vitamin B2 (mg)	0.05	0.02
Niacin (mg)	0.14	1.00

ที่มา : โฉน ขอดเพชร (2542)

1.5.2 น้ำมันชัน (Oleoresin) เป็นของผสมระหว่างเรซิน (Resin) กับน้ำมันหอมระเหย มีอยู่ประมาณร้อยละ 4.00-7.50% พบมากในชั้นเซลล์คอร์เทกซ์ (Cortex) และมีกระจายอยู่ทั่วไปในชั้นเซลล์เอนโดเดอร์มิส (Endodermis) (จันทร์เพ็ญ มะลิพันธ์, 2549) ดังแสดงใน Figure 2 (b) น้ำมันชันถูกสกัดได้โดยใช้ตัวทำละลาย น้ำมันชันเป็นส่วนประกอบสำคัญที่ทำให้เกิดกลิ่นรสและความเผ็ดของขิง และยังเป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญ (Zhang *et al.*, 1994; Sultan *et al.*, 2005; Balachandran *et al.*, 2006) มีส่วนประกอบที่สำคัญคือ จินเจอร์อล (Gingerol) และโชกาออล (Shogaol) ซึ่งสัดส่วนขององค์ประกอบดังกล่าวจะผันแปรไปตามสายพันธุ์ สภาพการเพาะปลูก และการจัดการหลังการเก็บเกี่ยว (Bartley, 1995; Bailey-Shaw *et al.*, 2008)

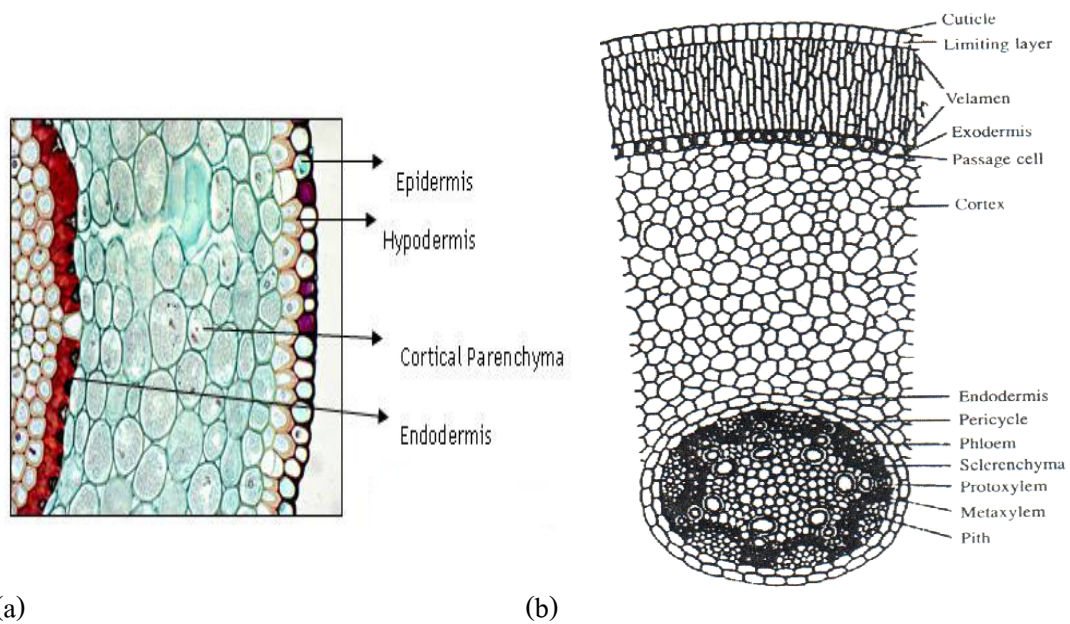


Figure 2. Transverse section of plant root (a) showing cortical parenchyma (b) showing cortex and endodermis

ที่มา : ICS-UNIDO (2009), (a); Sinha (2004), (b)

สารที่ให้กลิ่นรสและความเผ็ดในขิงจัดอยู่ในกลุ่มฟีนอลิก คีโตน (Phenolic ketones) ที่สำคัญได้แก่ จินเจอร์อล และ โชกาออล (Variyar *et al.*, 2000) โดยพบสารเหล่านี้ในปริมาณ 25.00% ของน้ำมันขิง (Chrubasik *et al.*, 2005) จินเจอร์อล เป็นองค์ประกอบที่สำคัญ และมีปริมาณสูงในขิงสด จินเจอร์อลเป็นสารที่ถูกสร้างขึ้นและสะสมไว้ระหว่างการเจริญเติบโตของขิง โดยละลายกับไขมัน และถูกเก็บร่วมกับสารฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) สารประกอบฟีนอลิกอนุพันธ์ของเคอร์คิวมิน (Curcumin derivatives) และน้ำมันหอมระเหย อยู่ในเซลล์ที่มีรงควัตถุสีเหลือง (Yellow pigment cell) (Zarate and Yeoman, 1994) จินเจอร์อล เป็นหน่วยที่ซ้ำๆ กัน (Homologues) ของ 1-(3-methoxy-4-hydroxyphenyl)-3-keto-5-hydroxyhexane มีตั้งแต่ [4]-, [6]-, [8]-, [10]- และ [12]-gingerol (Zhang *et al.*, 1994; Variyar *et al.*, 2000) พบในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน โดย [6]-gingerol จะมีปริมาณสูงที่สุด Chen และคณะ (1986) รายงานปริมาณของสาร [6]-, [8]-, [10]- gingerol โดยเทียบกับปริมาณจินเจอร์อลทั้งหมด ในขิงสด ไว้เท่ากับ 75.00, 8.00 และ 11.00% ตามลำดับ ส่วน Connell และ Sutherland (1969) อ้างโดย Zhang *et al.*, 1994) ได้รายงานอัตราส่วนของสาร [6]-, [8]-, [10]- gingerol ในขิงสดของรัฐควีนส์แลนด์ (Queensland) ไว้เท่ากับ 4:1:2 ตามลำดับ Chen และคณะ (1986) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณสาร จินเจอร์อลในขิงอ่อน ที่มีอายุเก็บเกี่ยว 4-5 เดือน และขิงแก่ที่มีอายุเก็บเกี่ยว 8-9 เดือน วิเคราะห์ปริมาณสารจินเจอร์อลโดยใช้ HPLC (High Performance Liquid Chromatography) พบว่า ขิงอ่อน มีปริมาณจินเจอร์อลอยู่ในช่วง

0.65-0.88% ส่วนซิงเก้ มีปริมาณจินเจอร์ออลอยู่ในช่วง 1.10-1.56% Baranowski (1986) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณของน้ำมันชั้น และสาร [6]-gingerol ในซิงระหว่างการปลูกเป็นเวลา 12-34 สัปดาห์ พบว่า ปริมาณของน้ำมันชั้นที่คำนวณในฐานเปียก (Wet weight basis) มีค่าคงที่ประมาณ 1.00% ตลอดระยะเวลาการศึกษา ส่วนปริมาณสาร [6]-gingerol ที่คำนวณในฐานเปียกจะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นหลังจากสัปดาห์ที่ 18 ของการเพาะปลูก โดยมีปริมาณสาร [6]-gingerol ในสัปดาห์ที่ 18 และ 34 เท่ากับ 708 ppm และ 1,547 ppm ตามลำดับ นอกจากนี้ Bailey-Shaw และคณะ (2008) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำมันชั้น สารในกลุ่มจินเจอร์ออล และโชกาออล ระหว่างการเจริญเติบโตของ จิงจาไมก้า (Jamaican) ช่วง 7-9 เดือนภายหลังการเพาะปลูก จากแหล่งปลูก 7 แหล่ง พบว่า น้ำมันชั้นที่สกัดจากซิงมีปริมาณที่แตกต่างกัน ตั้งแต่ 4.34 ± 0.35 ถึง $8.46 \pm 0.46\%$ และเมื่อวิเคราะห์สารในกลุ่มจินเจอร์ออลในน้ำมันชั้น พบว่า มีสาร [6]-gingerol เป็นองค์ประกอบหลักโดยมีปริมาณตั้งแต่ 10.11 ± 0.31 ถึง $28.94 \pm 0.39\%$ ส่วนสาร [6]-shogaol มีปริมาณตั้งแต่ 0.52 ± 0.06 ถึง $4.47 \pm 0.56\%$ โดยจิงจาเมือง Portland มีปริมาณน้ำมันชั้นสูงที่สุดภายหลังการเพาะปลูก 8 เดือน มีค่า เท่ากับ $8.46 \pm 0.46\%$ และลดลงเป็น $7.25 \pm 0.20\%$ ในเดือนที่ 9 และมีปริมาณสาร [6]-gingerol สูงที่สุด ภายหลังการเพาะปลูก 9 เดือน เท่ากับ $28.94 \pm 0.39\%$

สำหรับโชกาออล และซิงเจอโรน (Zingerone) เป็นสารที่ไม่ได้เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ แต่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของจินเจอร์ออล โดยจินเจอร์ออลจะเปลี่ยนเป็นโชกาออล ซึ่งให้กลิ่นฉุนมากกว่า ในระหว่างการแปรรูปด้วยความร้อน หรือการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา นาน ด้วยปฏิกิริยาดีไฮเดรชัน (Dehydration) ทำให้หมู่ไฮดรอกซิล (-OH) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 5 แยกออก เกิดเป็นพันธะคู่ระหว่างคาร์บอนตำแหน่งที่ 4 และ 5 (Zhang *et al.*, 1994; He *et al.*, 1998; Jolad *et al.*, 2004) และเมื่อจินเจอร์ออลได้รับความร้อนที่อุณหภูมิสูงถึง 200.0 องศาเซลเซียส จะเกิดปฏิกิริยารีโทร อัลดอล (Retro-aldol) ทำให้จินเจอร์ออล เปลี่ยนเป็น ซิงเจอโรน และอะลิฟาติก แอลดีไฮด์ (Aliphatic aldehydes) เช่น เฮกซะนาล (Hexanal) และออกตะนาล (Octanal) เป็นต้น ซึ่งเป็นสารที่ให้กลิ่นรสที่ไม่พึงประสงค์ การเปลี่ยนแปลงของจินเจอร์ออลไปเป็นสารประกอบทั้งสองนี้เป็นตัวบ่งชี้ถึงคุณภาพที่ต่ำลงของผลิตภัณฑ์ (Zhang *et al.*, 1994; Balladin *et al.*, 1997) โครงสร้างและความสัมพันธ์ของสารที่ให้ความเผ็ดที่สำคัญในซิงดังแสดงใน Figure 3

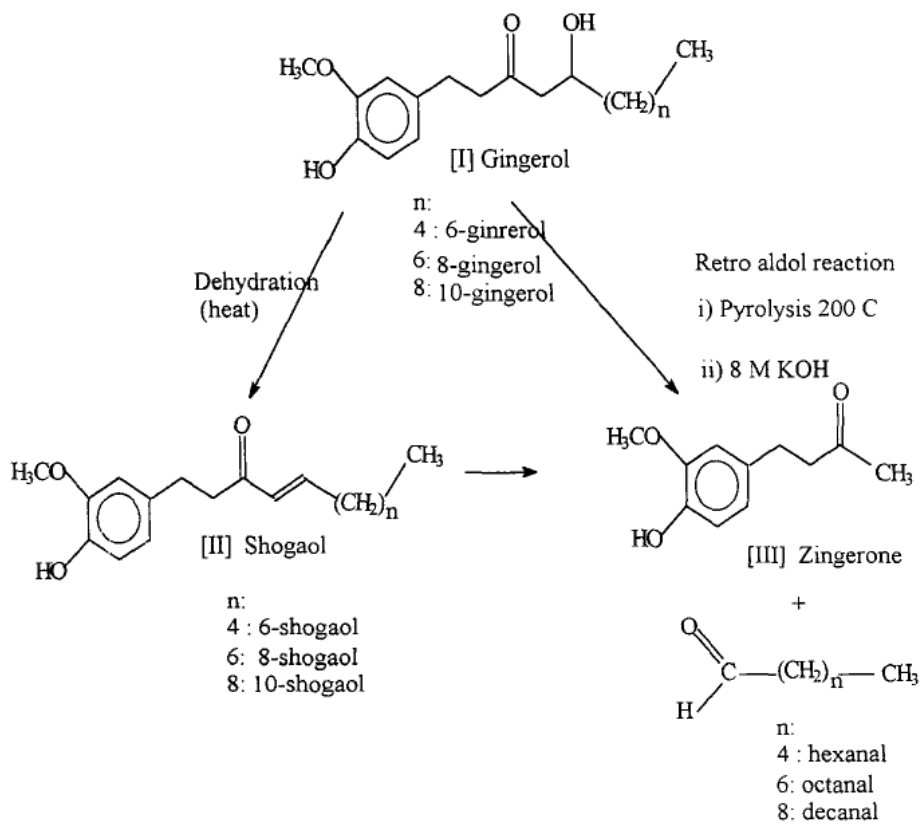


Figure 3. Structure and relationship among the pungent principles of ginger

ที่มา : Balladin และคณะ (1997)

1.6 ความปลอดภัยของการใช้ขิงหรือสารสกัดจากขิง

เนื่องจากสมบัติที่เป็นประโยชน์ของสารสำคัญจากขิง ทั้งการใช้ในรูปของขิงแห้งหรือสารสกัดจากขิง ซึ่งมีปริมาณสารออกฤทธิ์แตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับกระบวนการผลิต ทั้งนี้หากไม่มีการควบคุมกระบวนการ หรือการทดสอบความเป็นพิษของสารออกฤทธิ์เหล่านี้ก่อน อาจเกิดอันตรายแก่ผู้ใช้ได้ ดังนั้นจำเป็นต้องมีการทดสอบผลกระทบของสารเหล่านี้ก่อนนำไปใช้ อย่างไรก็ตาม ได้มีรายงานวิจัยหลายฉบับที่ยืนยันถึงความปลอดภัย และไม่เป็นพิษของสารออกฤทธิ์ในขิง และสารสกัดจากขิง นอกจากนี้ Weidner และ Sigwart (2001) รายงานว่า องค์การอาหารและยาของประเทศสหรัฐอเมริกา (USFDA) ได้จัดให้ขิงทั้งในรูปที่เป็นขิงแห้ง และสารสกัดจากขิงอยู่ในกลุ่มสารที่มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค (Generally Recognized as Safe, GRAS)

จากรายงานการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของสารสกัดจากขิง โดยการให้สารสกัดจากขิงที่สกัดโดยใช้ 80.0% เอทานอล ในปริมาณ 2.5 กรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว แก่หนูทดลอง ซึ่งไม่พบการตายของหนูดังกล่าว ส่วนการให้สารสกัดในปริมาณ 3.0 และ 3.5 กรัม/

กิโลกรัม น้ำหนักตัว เป็นเหตุให้มีอัตราการตายภายหลัง 72 ชั่วโมง เท่ากับ 20.0 และ 30.0% ตามลำดับ และมีรายงานค่า LD₅₀ (Lethal dose 50% คือ ปริมาณสารต่อน้ำหนักตัวเป็นกิโลกรัม ที่ทำให้กลุ่มสัตว์ทดลองตาย 50%) ของน้ำมันจากขิง มีค่ามากกว่า 5.0 กรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว (Chrubasik *et al.*, 2005) และค่า LD₅₀ ของสาร [6]-gingerol และ [6]-shogaol มีค่าเท่ากับ 250.0 และ 680.0 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ (รัตนา อินทรานุกกรณ์, 2550) นอกจากนี้ Weidner และ Sigwart (2001) ได้ทดสอบผลข้างเคียงของสารสกัดจากขิง (EV.EXT33) ในระหว่างการตั้งครรภ์ของหนู โดยให้สารสกัดในปริมาณ 100.0, 333.0 และ 1,000.0 มิลลิกรัม/กิโลกรัม แก่หนูที่ตั้งครรภ์ ซึ่งไม่พบความผิดปกติของหนูในระหว่างการตั้งครรภ์ แม้ว่าจะให้สารสกัดในปริมาณที่สูงถึง 1,000.0 มิลลิกรัม/กิโลกรัม อย่างไรก็ตามขิงอาจมีผลต่ออาการเสียดท้อง โดยการใช้ในระดับที่สูงกว่า 6.0 กรัม อาจทำให้เกิดอาการระคายเคืองในกระเพาะอาหาร(Chrubasik *et al.*, 2005)

1.7 การใช้ประโยชน์ของขิงหรือสารสกัดจากขิงเพื่อเป็นสารให้กลิ่นรสในอุตสาหกรรมอาหาร

ขิงเป็นพืชสมุนไพรที่มีการนำไปใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวาง ทั้งทางอุตสาหกรรมอาหาร ทางการแพทย์ และเภสัชกรรม นอกจากขิงจะมีคุณค่าทางโภชนาการโดยตรงแล้ว ยังมีส่วนประกอบสำคัญที่ให้กลิ่นรสและความเผ็ดร้อนที่เป็นเอกลักษณ์ และยังมีสมบัติที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ (Surh *et al.*, 1998; Ali *et al.*, 2008) นอกจากนำมาใช้รับประทานหรือใช้เป็นส่วนประกอบในอาหารแล้ว ได้มีการนำขิงไปทำการแปรรูปเป็นเพื่อใช้เป็นสารให้กลิ่นรสในทางอุตสาหกรรมอาหารดังนี้

1.7.1 ขิงแห้งและขิงผง (Dried ginger and dried ginger powder)

แม้ว่าการบริโภคขิงในรูปขิงสด จะให้กลิ่นรสที่ดีกว่าขิงแห้ง แต่อย่างไรก็ตามขิงสดมีข้อจำกัดในด้านการเก็บรักษา หรือการใช้ประโยชน์บางประเภท เช่น การสกัดแยกสารสำคัญ จะต้องมีการลดปริมาณความชื้นในขิงก่อนการแปรรูปในขั้นตอนต่อไป ดังนั้นจึงต้องมีการทำแห้งขิง อุณหภูมิที่ใช้ในการทำแห้งขิงควรอยู่ในช่วง 55.0-60.0 องศาเซลเซียส ทำแห้งจนมีความชื้นประมาณ 8.00-10.00% (มารีนา มะหนิ และคณะ, 2546; Balakrishnan, 2004) โดยในการทำแห้งนั้นอาจใช้วิธีการตากแดด หรือการอบแห้งโดยใช้เครื่องอบแห้ง Prasad และ Vijay (2005) เปรียบเทียบวิธีการทำแห้งขิงที่มีความหนา 8.0 มิลลิเมตร ระหว่างการทำแห้งโดยใช้ตู้อบพลังงานแสงอาทิตย์ ซึ่งมีอุณหภูมิเฉลี่ยในช่วง 40.0-60.0 องศาเซลเซียส และการทำแห้งโดยการตากแดด จนขิงมีความชื้นสุดท้ายประมาณ 10.00-11.00% พบว่า การทำแห้งขิงโดยใช้ตู้อบพลังงานแสงอาทิตย์มีปริมาณน้ำมันหอมระเหย เท่ากับ 2.48% ซึ่งสูงกว่าการทำแห้งโดยการตากแดด ซึ่งมีปริมาณน้ำมันหอมระเหย เท่ากับ 1.28% นอกจากนี้ Menon และคณะ (2007) เปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีในขิงที่ทำแห้งโดยวิธีตากแดด และวิธีอบด้วยตู้อบที่อุณหภูมิ 50.0 องศาเซลเซียส โดยนำขิงที่ผ่านการ

ทำแห้งมาทำการสกัดน้ำมันหอมระเหย โดยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ และวิเคราะห์องค์ประกอบของสารระเหยด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟี (Gas chromatography) โดยใช้ GC-MS (Gas chromatography–mass spectrometry) พบว่า การทำแห้งมีผลต่อการลดลงของสารในกลุ่มโมโนเทอร์พีนแอลกอฮอล์ (Monoterpene alcohols) และเซสควิเทอร์พีนแอลกอฮอล์ (Sesquiterpene alcohols) นอกจากนี้ น้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากขิงที่ผ่านการทำแห้งด้วยตู้อบ มีองค์ประกอบของสารให้กลิ่นรสสูงกว่าการทำแห้งด้วยการตากแดด เป็นจำนวน 26 ชนิด สำหรับขิงแห้งสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการแปรรูปเป็นขิงผง น้ำมันขิง (Ginger oil) หรือโอเลโอเรซินขิง (Ginger oleoresin) ต่อไป

สำหรับขิงผง คือ ผลิตภัณฑ์ที่นำขิงแห้งมาบดและลดขนาดให้มีขนาดอนุภาคประมาณ 50-60 เมช (Mesh) (Balakrishnan, 2004) ซึ่งมีการนำขิงผงไปใช้เป็นส่วนประกอบในอาหาร หรืออุตสาหกรรมเครื่องสำอาง เช่น ทำเบียร์ ไวน์ และผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ เป็นต้น โดยในการเก็บรักษาขิงผง จะต้องเก็บในที่แห้ง บรรจุในบรรจุภัณฑ์ที่ปิดสนิท และมีอุณหภูมิไม่สูงเกินไป

1.7.2 น้ำมันขิง (Ginger oil)

ขิงแห้งมีปริมาณของน้ำมันหอมระเหยประมาณ 1.50-2.50% มีลักษณะเป็นสีเหลืองขุ่นและเหนียว ละลายได้บ้างในแอลกอฮอล์ เป็นสารที่ให้กลิ่นหอม ไม่มีกลิ่นฉุนหรือความเผ็ด ซึ่งแตกต่างจากคุณสมบัติของน้ำมันขันทอง (Balakrishnan, 2004) น้ำมันขิงประกอบด้วยองค์ประกอบทางเคมีหลายชนิด เช่น เซสควิเทอร์พีน (Sesquiterpenes) ได้แก่ ซิงจิเบอริน เป็นต้น โมโนเทอร์พีน (Monoterpenes) ได้แก่ ไมร์ซีน ดี-ลิโมนีน (D-limonene) และไพเนน เป็นต้น เซสควิเทอร์พีนแอลกอฮอล์ ได้แก่ ซิงจิเบอรอล เป็นต้น (Menon *et al.*, 2007) น้ำมันขิงสกัดได้โดยวิธีการกลั่นด้วยน้ำหรือไอน้ำ โดยขิงที่จะนำมาสกัดสามารถใช้ได้ทั้งขิงสด และขิงแห้งทั้งชนิดมีเปลือกและลอกเปลือกออกแต่ปริมาณน้ำมันขิงที่ได้จะไม่เท่ากัน Mathew และคณะ (1973 อ้างโดย ไฉนยอดเพชร, 2542) รายงานว่า น้ำมันขิงส่วนใหญ่อยู่ที่บริเวณเปลือกของขิง โดยการสกัดน้ำมันขิงด้วยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำโดยใช้ขิงที่ไม่ลอกเปลือกออกจะให้ผลได้ (Yield) เท่ากับ 1.90% แต่เมื่อลอกเปลือกออกจะให้ผลได้ เท่ากับ 0.80% Salzer (1997 อ้างโดย Balakrishnan, 2004) รายงานว่าซิงจิเบอริน และบีตา-เซสควิฟิลแลนดรีน (β -Sesquiphellandrene) เป็นองค์ประกอบสำคัญในการบ่งชี้คุณภาพของน้ำมันขิง ซึ่งสารทั้งสองมีปริมาณสูงในน้ำมันขิงที่เตรียมใหม่ และจะเปลี่ยนแปลงเป็นอา-เคอร์คูมิน (Ar-curcumene) ในระหว่างการเก็บรักษา สำหรับน้ำมันขิงนั้นสามารถนำไปใช้เป็นสารให้กลิ่นรสในอาหาร ทดแทนการใช้ขิงสด เนื่องจากมีข้อดี คือ สามารถควบคุมคุณภาพ และระดับของกลิ่นรสได้ตามที่ต้องการ โดยปริมาณของน้ำมันขิงที่มีการนำไปใช้ในอาหารดังแสดงใน Table 4

Table 4. Approximate dosages of ginger oil for typical applications

Type of food	Dosages (ppm)
Nonalcoholic beverages	17
Ice cream	20
Candy	14
Baked goods	47
Condiments	13
Meats	12

ที่มา : Balakrishnan (2004)

1.7.3 โอลีโอเรซินจิง (Ginger oleoresin)

จิงมีปริมาณ โอลีโอเรซินหรือน้ำมันจิง ประมาณ 4.00-5.00% ของน้ำหนัก มีลักษณะเป็นของเหลว สีน้ำตาลดำ มีกลิ่นฉุน และความเผ็ด น้ำมันจิง ประกอบด้วย น้ำมันหอมระเหย ประมาณ 15.00-35.00% สารให้กลิ่นฉุนและความเผ็ด ประมาณ 25.00-30.00% โดยมีจินเจอร์รอล เป็นองค์ประกอบหลัก และองค์ประกอบเคมีอื่นๆ เช่น กรดไขมัน คาร์โบไฮเดรต และกรดปาล์มมิติก เป็นต้น (ไฉน ยอดเพชร, 2540) จินเจอร์รอลเป็นองค์ประกอบที่สำคัญในน้ำมันจิง แต่จะเกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็น โชกาออล และซิงเจอโรนในระหว่างการเก็บรักษาทำให้คุณภาพของน้ำมันจิงต่ำลง มีกลิ่นรสผิดปกติ นอกจากนี้โชกาออลจะให้ความเผ็ดสูงกว่าจินเจอร์รอล (Zhang *et al.*, 1994; Bartley, 1995; He *et al.*, 1998) น้ำมันจิงผลิตขึ้นเพื่อใช้เป็นเครื่องเทศในอุตสาหกรรมอาหารกระป๋อง โดยผสมน้ำมันจิงลงในอาหารกระป๋องเพื่อช่วยควบคุมคุณภาพ ทดแทนการใส่จิงลงไป ในอาหารกระป๋องโดยตรง เพราะจิงแต่ละชนิดมีคุณภาพแตกต่างกัน จึงทำให้ไม่สามารถควบคุมคุณภาพ หรือระดับความเผ็ดได้ (ไฉน ยอดเพชร, 2540) สำหรับปริมาณของน้ำมันจิงจากจิงที่มีการนำไปใช้ในอาหารดังแสดงใน Table 5

2. การสกัดสารสกัดจากจิง

กระบวนการสกัดสารสกัดเป็นขั้นตอนหนึ่งที่แยกเอาสารสำคัญออกจากส่วนที่ไม่ต้องการเพื่อให้ได้สารสกัดที่มีความเข้มข้นของสารสำคัญสูง สามารถวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดนั้นได้ และยังเป็น การควบคุมทั้งด้านคุณภาพ และปริมาณองค์ประกอบของสารสกัด (รัตนาน อินทรานุปกรณ์, 2547) ซึ่งวิธีการสกัดสารสกัดที่ดีควรจะต้องได้ปริมาณสารสกัดที่สูง

ไม่ทำให้เกิดการเสื่อมสลายขององค์ประกอบที่สำคัญ และตัวทำละลายที่ใช้ต้องไม่เป็นอันตราย หรือตกค้างในสารสกัด ได้มีการศึกษาวิธีการสกัดสารสกัดจากขิง 3 วิธี ดังนี้

Table 5. Approximate dosages of ginger oleoresin for typical applications

Type of food	Dosages (ppm)
Nonalcoholic beverages	79
Ice cream	36-65
Candy	27
Baked goods	52
Condiments	10-1000
Meats	30-250

ที่มา : Balakrishnan (2004)

2.1 การกลั่น (Distillation)

การกลั่นเป็นการนำเอาสารอินทรีย์ที่ระเหยได้ และน้ำออกมาด้วยกัน สารที่กลั่นด้วยวิธีนี้ต้องไม่รวมเป็นเนื้อเดียวกันกับน้ำ โดยทั้งสารอินทรีย์ที่ระเหยได้ และน้ำจะถูกกลั่นออกมาที่อุณหภูมิต่ำกว่าจุดเดือดของมันเอง (Balakrishnan, 2004) การกลั่นเป็นวิธีที่เหมาะสมในการสกัดน้ำมันหอมระเหยในพืช แต่เนื่องจากการกลั่นเป็นวิธีการที่ใช้อุณหภูมิสูง อาจทำให้องค์ประกอบทางเคมีบางประการเปลี่ยนแปลงไป จึงไม่เหมาะในการนำมาสกัดสารที่ไม่คงทนต่อความร้อน อย่างไรก็ตามการกลั่น จัดเป็นวิธีการที่มีความปลอดภัย สารสกัดที่ได้ไม่มีพิษตกค้างจากตัวทำละลายอินทรีย์ จึงสามารถนำสารสกัดพวกนี้ไปใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพได้ (รัตน อินทรานุปรกษ์, 2547; Hinneburg *et al.*, 2006) การกลั่นแบ่งออกเป็น 3 วิธี ดังนี้

2.1.1 การกลั่นโดยใช้น้ำ (Water distillation) เป็นการต้มตัวอย่างกับน้ำ นิยมใช้กับพืชแห้ง และสารในพืชที่ไม่สลายเมื่อโดนความร้อน วิธีนี้ตัวอย่างจะแช่อยู่ในน้ำเดือดตลอดระยะเวลาการกลั่นและจะถูกให้ความร้อนโดยตรง โดยส่วนของไอน้ำและน้ำมันหอมระเหยจะระเหยขึ้นมาควบแน่นในเครื่องควบแน่น (Condenser) แล้วลงมาในภาชนะรองรับ จากนั้นน้ำมันหอมระเหยจะแยกตัวออกจากน้ำ โดยอาศัยหลักความแตกต่างของความถ่วงจำเพาะ (Balakrishnan, 2004)

2.1.2 การกลั่นโดยใช้ออน้ำ (Steam distillation) วิธีนี้ใช้กับพืชสด โดยนำตัวอย่างใส่ลงในภาชนะแล้วผ่านไอน้ำลงไปในตัวอย่าง จากนั้นไอน้ำจะพาน้ำมันหอมระเหยไปยังเครื่องควบแน่น แล้วกลั่นตัวเป็นของเหลว (ศรีรัตน์ กสิวงศ์, 2534)

2.1.3 การกลั่นโดยใช้น้ำและไอน้ำ (Water and steam distillation) วิธีนี้ใช้ได้ทั้งพืชสดและพืชแห้ง ซึ่งอาจถูกทำลายได้ง่ายเมื่อถูกต้ม วิธีนี้นำตัวอย่างใส่ลงในภาชนะ จากนั้นเติมน้ำให้ท่วม แล้วผ่านไอน้ำลงไปในตัวอย่างเพื่อให้ น้ำมันหอมระเหยออกมาพร้อมกับไอน้ำแล้วควบแน่นลงในภาชนะรองรับ (Balakrishnan, 2004)

กฤติกา นรจิตร์ (2548) เปรียบเทียบปริมาณน้ำมันหอมระเหยจากจิงสดที่สกัดด้วยการกลั่นโดยใช้น้ำ และการกลั่นโดยใช้ออน้ำ พบว่า การกลั่นโดยการใช้น้ำและไอน้ำ ให้ปริมาณน้ำมันหอมระเหยเท่ากับ 0.27 และ 0.05% ตามลำดับ ซึ่งปริมาณของน้ำมันหอมระเหยที่กลั่นโดยใช้ออน้ำจะต่ำกว่าการกลั่นโดยใช้น้ำ เนื่องจาก การกลั่นด้วยไอน้ำจะมีส่วนกำเนิดของไอน้ำแยกอยู่กับหม้อกลั่นทำให้ความร้อนไม่ได้สัมผัสกับตัวอย่างพืชโดยตรง ดังนั้นการเข้าถึงบริเวณที่สะสมน้ำมันหอมระเหยของเซลล์พืชจึงเป็นไปได้ยาก โดยเฉพาะพืชที่มีน้ำมันหอมระเหยอยู่ลึกลงไปจากชั้นเซลล์ผิว

2.2 การสกัดโดยใช้ตัวทำละลาย (Solvent extraction)

เป็นการใช้หลักของความสามารถในการละลายของตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีต่อสารแต่ละชนิด โดยสารที่ต้องการสกัด และตัวทำละลายจะต้องมีสมบัติความเป็นขั้วคล้ายคลึงกัน และตัวทำละลายควรมีความสามารถในการละลายสารที่ต้องการออกมามากที่สุด และไม่ละลายหรือละลายองค์ประกอบอื่นๆ ได้น้อย (Selectivity) (รัตนา อินทรานุปกรณ์, 2547; สมจิตร์ วงศ์กำชัย, 2544) ได้มีการศึกษาถึงการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์หลายชนิดในการสกัดสารสกัดจากจิง เช่น เอทานอล เมททานอล อะซิโตน ไอโซโพรพานอล และไดคลอโรมีเทน เป็นต้น (Spiro *et al.*, 1990; Surveswaran *et al.*, 2007) ซึ่งตัวทำละลายแต่ละชนิดจะมีประสิทธิภาพในการสกัดที่แตกต่างกัน เนื่องจากมีสมบัติในการละลายสารที่ต้องการได้แตกต่างกัน อย่างไรก็ตามในการเลือกใช้ตัวทำละลายอินทรีย์จะต้องคำนึงถึงความปลอดภัย ไม่มีพิษ และไม่ตกค้างในผลิตภัณฑ์

Nobrega และคณะ (1997) ศึกษาผลของตัวทำละลายที่ใช้สกัดต่อปริมาณสาร [6]-gingerol ในสารสกัดจากจิง โดยใช้อีทานอล ไอโซโพรพานอล และคาร์บอนไดออกไซด์เหลว วิเคราะห์องค์ประกอบของสารสกัดโดยใช้ GC-MS รายงานค่าในรูปแบบ %relative peak area พบว่า การใช้ 99.80% เอทานอล ในอัตราส่วนจิง 10 กรัม ต่อ เอทานอล 75 กรัม สกัดเป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง ให้ปริมาณ [6]-gingerol สูงที่สุด เท่ากับ 3.81% ส่วนการสกัดโดยใช้ 95.00% ไอโซโพรพานอล ในอัตราส่วนจิง 10 กรัม ต่อ ไอโซโพรพานอล 75 กรัม สกัดเป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง ให้ปริมาณ [6]-gingerol สูงที่สุด เท่ากับ 1.29% ส่วนการสกัดโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์เหลว ที่อุณหภูมิ 16.0 องศาเซลเซียส ความดัน 70.0 บาร์ และอัตราการไหลของคาร์บอนได

ออกไซค์ เท่ากับ 5.30 กรัมของคาร์บอนไดออกไซค์/นาที่ สกัดเป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมง ให้ปริมาณ [6]-gingerol สูงที่สุด เท่ากับ 80.71%

Zaeoung (2004) ศึกษาผลของตัวทำละลายและวิธีการสกัด ต่อปริมาณผลได้ และ สมบัติการต้านอนุมูลอิสระของขิง โดยแบ่งออกเป็น การสกัดขิงสดโดยใช้เมทานอล หรือน้ำเป็นตัวทำละลาย และสกัดน้ำมันหอมระเหย ด้วยการกลั่นโดยใช้น้ำ พบว่า การสกัดสารสกัดจากขิงโดยใช้เมทานอล น้ำ และการกลั่นโดยใช้น้ำ ให้ผลได้ เท่ากับ 2.60, 1.90% และ 0.10% โดยน้ำหนัก ตามลำดับ เมื่อนำมาทดสอบสมบัติการจับอนุมูลอิสระ DPPH รายงานค่าในรูป %inhibition พบว่า สารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยเมทานอลมีสมบัติต้านอนุมูลอิสระที่ดีกว่าสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำ และน้ำมันหอมระเหย ซึ่งมี %inhibition เท่ากับ 86.60, 61.50 และ 4.10 ตามลำดับ และ คำนวณค่า EC_{50} (Efficient concentration, ปริมาณของสารตัวอย่างต่อ 1 มิลลิลิตร (ของสารละลาย DPPH และสารละลายตัวอย่าง) ที่ไปลดความเข้มข้นของอนุมูลอิสระ DPPH ลง 50% จากความเข้มข้นของสารละลาย DPPH เริ่มต้น) ของสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยเมทานอล ได้เท่ากับ 35.60 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานบีเอชที มีค่า EC_{50} เท่ากับ 8.20 ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร เมื่อนำสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยเมทานอลของขิงมาแยกสารสำคัญและทดสอบสมบัติการจับอนุมูลอิสระ DPPH พบว่า ค่า EC_{50} ของสาร [6]-shogaol, [6]-dehydrogingerdione และ [6]-gingerol เท่ากับ 4.00, 4.4 และ 4.7 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

2.3 การสกัดโดยใช้ของไหลเหนือวิกฤต

เทคนิคการสกัดด้วยของไหลเหนือวิกฤตได้เข้ามามีบทบาทต่อการสกัดสารจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติเพิ่มมากขึ้น ไม่ว่าจะเป็นการสกัดกลีโคไซด์ สารออกฤทธิ์จากธรรมชาติ เพื่อใช้สำหรับยา ผลิตภัณฑ์บำรุงภัณฑ์ หรืออาหารก็ตาม ของไหลเหนือวิกฤตจะมีสมบัติในการเคลื่อนที่ และการแพร่กระจายได้ดีกว่าของเหลว จึงสกัดสารออกจากของแข็งได้รวดเร็ว และยังมีความหนาแน่นคล้ายของเหลวซึ่งจะเป็นการเพิ่มค่าการละลาย แต่มีความหนืดน้อยกว่าก๊าซและไม่มีแรงตึงผิวจึงสามารถเคลื่อนที่ผ่านเข้าไปในโครงสร้างที่มีรูพรุนได้ง่ายซึ่งจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัด นอกจากนี้ภายหลังจากการสกัดตัวทำละลายสามารถระเหยออกจากตัวถูกละลายได้ง่าย รวดเร็ว และไม่เหลือตกค้าง สารสกัดที่ได้จากวิธีการสกัดดังกล่าวจึงมีความปลอดภัยต่อสุขภาพ (เบ็ญ จรัล วายูภาพ, 2541; สมใจ ขจรชีพพันธุ์งาม และอาทิตย์ รั้งมีสันติวานนท์, 2546)

2.3.1 หลักการของของไหลเหนือวิกฤต

ของไหลในสถานะเหนือวิกฤต (Supercritical fluid, SCF) คือ สารใดๆ ในสถานะที่มีอุณหภูมิอยู่เหนืออุณหภูมิวิกฤต (Critical temperature, T_c) และมีความดันอยู่เหนือความดันวิกฤต

(Critical pressure, P_c) สถานะนี้สารดังกล่าวจะไม่ควบแน่น กลายเป็นของเหลว หรือระเหย กลายเป็นก๊าซ ในสถานะเช่นนี้บางที เรียกว่า ของไหล (Fluid) หากมีการเพิ่มความดันของสารให้ สูงขึ้น สมบัติของสารจะเกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างต่อเนื่องจากสมบัติคล้ายก๊าซ ไปสู่สมบัติที่คล้าย ของเหลว ซึ่งสามารถอธิบายความหมายของของไหลในสถานะเหนือวิกฤตโดยอาศัยเฟส ไดอะแกรมหรือแผนผังวัฏภาค (Phase diagram) ดังแสดงใน Figure 4 เฟสไดอะแกรมเป็นการนำ กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความดันและอุณหภูมิของสารใดๆ 3 สถานะรวมกัน คือ กราฟ ความสัมพันธ์ระหว่างความดันและอุณหภูมิสำหรับสมดุลของแข็ง-ของเหลว ของเหลว-ก๊าซ และ ของแข็ง-ก๊าซ จาก Figure 4 แสดงบริเวณที่สารอยู่ในสถานะเป็นของแข็ง ของเหลว และก๊าซ เส้น AC เป็นเส้นสมดุลระหว่างบริเวณที่สารอยู่ในสถานะของแข็งและก๊าซ เรียกเส้นนี้ว่า เส้นการระเหิด (Sublimation line) เส้น BC เป็นเส้นสมดุลระหว่างบริเวณที่สารอยู่ในสถานะของแข็งและของเหลว เรียกเส้นนี้ว่า เส้นการหลอมเหลว (Fusion line) และเส้น DC เป็นเส้นสมดุลระหว่างบริเวณที่สารอยู่ใน สถานะของเหลวและก๊าซ เรียกเส้นนี้ว่า เส้นการเดือด (Vapor line หรือ Boiling line) ที่จุดใด ๆ บนเส้นเหล่านี้ หมายถึงว่า ระบบประกอบด้วยสองเฟสที่อยู่ในสมดุลกัน จุดที่อยู่ระหว่างทั้งสาม สถานะ ที่เรียกว่า จุดทริเปิล (Triple point, TP)

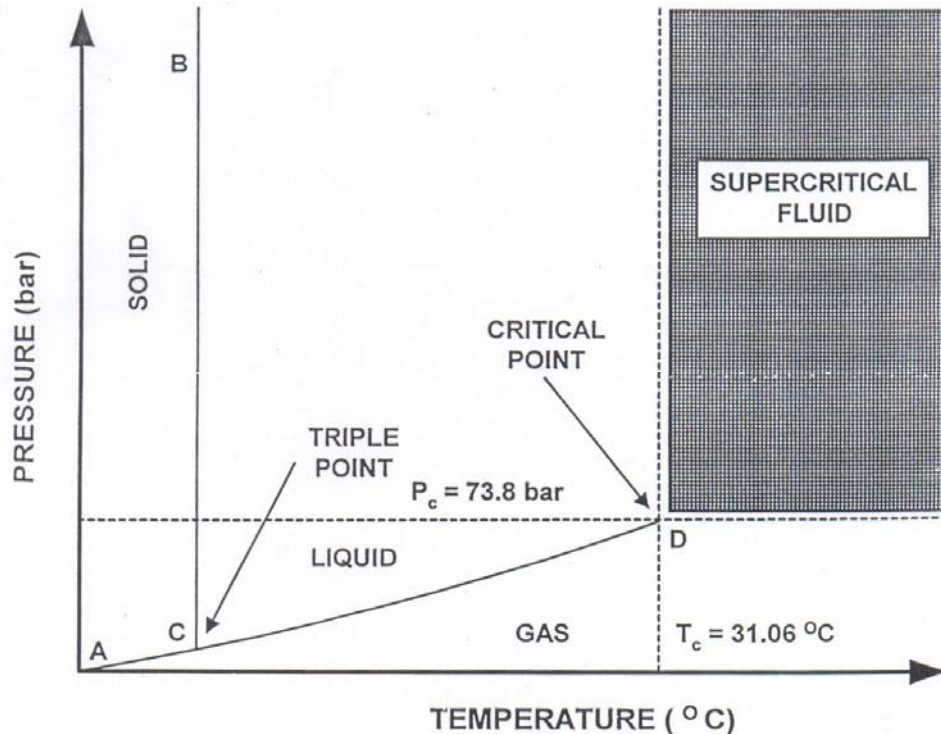


Figure 4. Phase diagram of carbon dioxide

ที่มา : ตะวัน นัตรสูงเนิน (2543)

ก๊าซสามารถเปลี่ยนสถานะเป็นของเหลวได้ 2 วิธี คือ โดยการเพิ่มความดัน หรือลดอุณหภูมิ เพื่อลดพลังงานจลน์ (Kinetic energy) ทำให้ระยะห่างระหว่างโมเลกุลของก๊าซลดลง เกิดแรงดึงดูดระหว่างกันมากขึ้น จนกระทั่งสามารถควบแน่นเป็นของเหลว แต่ที่อุณหภูมิสูงกว่า อุณหภูมิวิกฤต โมเลกุลของก๊าซจะมีพลังงานจลน์มาก แม้จะเพิ่มความดันเท่าไร ก็ไม่สามารถทำให้ก๊าซเกิดการควบแน่นเป็นของเหลวได้ โดยอุณหภูมิสูงสุดที่ก๊าซยังสามารถควบแน่นเป็นของเหลวได้ เรียกว่า อุณหภูมิวิกฤต (Critical temperature, T_c) และความดันที่จุดนี้เรียกว่า ความดันวิกฤต (Critical pressure, P_c) สำหรับจุดที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า T_c และความดันต่ำกว่า P_c เรียกว่า จุดวิกฤต (Critical point, CP) เมื่ออุณหภูมิมากกว่า T_c และความดันมากกว่า P_c สารจะอยู่ในสถานะที่ไม่สามารถจำแนกได้ว่าเป็นก๊าซ หรือของเหลว และเรียกสารที่อยู่ในสถานะนี้ว่า ของไหลเหนือวิกฤต (Supercritical fluid) ซึ่งค่า T_c และ P_c จะเป็นค่าคงที่และเป็นสมบัติเฉพาะของสาร (ตะวัน นัทรสูงเนิน, 2543; สมใจ ขจรชีพพันธุ์งาม และอาทิตย์ รังมีสันติวานนท์, 2546) ดังแสดงใน Table 6

Table 6. Physical properties of several solvent used in supercritical extraction

Solvent	Normal boiling point (°C)	Critical constant		
		Pressure (bar)	Temperature (°C)	Density (g/cm ³)
Carbon dioxide	-78.50	73.80	31.10	0.47
Ethane	-88.00	48.80	32.20	0.20
Ethylene	-103.70	50.40	9.30	0.20
Propane	-44.50	42.50	96.70	0.22
Propylene	-47.70	46.20	91.90	0.23
Benzene	80.10	48.90	289.00	0.30
Toluene	110.00	41.10	318.60	0.29
Trichlorofluoromethane	23.70	44.10	196.60	0.55
Nitrous oxide	-89.00	71.00	36.50	0.46
Ammonia	-33.40	112.80	132.50	0.24
Water	100.00	220.50	374.20	0.28

ที่มา : คัดแปลงจาก Mukhopadhyay (2000)

ของไหลเหนือวิกฤตมีสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ (Physiochemical properties) อยู่ระหว่างก๊าซกับของเหลว ดังแสดงใน Table 7 ซึ่งความหนาแน่น (Density) ของของไหลเหนือวิกฤตมีค่าใกล้เคียงกับของเหลว เมื่อนำมาใช้เป็นตัวทำละลาย โมเลกุลของสารหรืออนุภาคของแข็งที่ต้องการละลายจะถูกล้อมรอบด้วยโมเลกุลของของไหลเหนือวิกฤต และเกิดอันตรกิริยา (Interaction) กัน ทำให้พลังงานหรือเอนทัลปี (Enthalpy) ลดลงจนเกิดการละลายได้ดี ในขณะที่ความหนืดของไหลเหนือวิกฤตยังมีความหนืด (Viscosity) และสัมประสิทธิ์การแพร่กระจาย (Diffusion coefficient) ที่ใกล้เคียงกับก๊าซ ทำให้สามารถแพร่แทรกเข้าไปในโครงสร้างของของแข็งหรือแมทริกซ์ (Matrix) ได้ดี ด้วยสมบัติเหล่านี้ จึงนิยมนำของไหลเหนือวิกฤตมาใช้เป็นตัวทำละลาย เนื่องจากมีข้อดีกว่าตัวทำละลายที่อยู่ในสถานะของเหลว คือ มีอัตราการถ่ายเทมวล (Mass transfer) เร็วกว่า และมีความสามารถในการทำละลาย (Solvent power) ดีกว่า (ตะวัน นัตรสูงเนิน, 2543; Mukhopadhyay, 2000; Herrero *et al.*, 2006)

Table 7. Range values of physiochemical properties of gases, liquids and supercritical fluids

State of fluid	Density (ρ , g/cm ³)	Diffusivity (D, cm ² /s)	Viscosity (μ , g s/cm)
Gas			
$\rho = 1.0$ atm; $T = 21.0^{\circ}\text{C}$	10^{-3}	10^{-1}	10^{-4}
Liquid			
$\rho = 1.0$ atm; $T = 15.0\text{-}30.0^{\circ}\text{C}$	1	$<10^{-5}$	10^{-2}
Supercritical			
$\rho = \rho_c$; $T = T_c$	0.3-0.8	$10^{-3}\text{-}10^{-4}$	$10^{-3}\text{-}10^{-4}$

ที่มา : Herrero และคณะ (2006)

ในการสกัดผลิตภัณฑ์ทางธรรมชาติเพื่อนำไปใช้ในทางอุตสาหกรรมอาหารหรือยา ตัวทำละลายเหนือวิกฤตที่นิยมใช้คือ คาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งมีอุณหภูมิวิกฤตที่ 31.1 องศาเซลเซียส และความดันวิกฤตที่ 73.8 บาร์ เนื่องจากมีอุณหภูมิวิกฤต ไม่สูงมากนักจึงเหมาะสมต่อการสกัดสารจากธรรมชาติที่ไม่คงทนต่อความร้อน และคาร์บอนไดออกไซด์ยังมีข้อดี คือ ไม่ติดไฟ ไม่เป็นพิษ ไม่มีกลิ่นหรือรสชาติ และยังคงจัดอยู่ในกลุ่มสารที่มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค (Generally Recognized as Safe, GRAS) ทั้งยังไม่มีปัญหาเรื่องตัวทำละลายตกค้างในผลิตภัณฑ์ที่สกัดออกมา เนื่องจากคาร์บอนไดออกไซด์สามารถเปลี่ยนสภาพกลับเป็นก๊าซได้ที่อุณหภูมิห้อง

(Mukhopadhyay, 2000; Herrero *et al.*, 2006) โดยทั่วไปความสามารถในการสกัดสารโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤต ขึ้นอยู่กับหมู่ฟังก์ชันของสาร น้ำหนักโมเลกุลของสาร และสภาพขั้วของสาร เช่น สารกลุ่มไฮโดรคาร์บอน หรือสารอินทรีย์ ที่มีขั้วค่อนข้างต่ำ ได้แก่ เอสเทอร์ อีเทอร์ แอลดีไฮด์ คีโตน และอีพอกไซด์ สามารถสกัดได้ที่ความดันในช่วง 75.0-100.0 บาร์ ในขณะที่สารที่มีขั้วปานกลาง เช่น อนุพันธ์ของเบนซีน ที่มีหมู่คาร์บอกซิลิกหนึ่งหมู่ และหมู่ไฮดรอกซิลสองหมู่ สามารถละลายได้ปานกลางกับคาร์บอนไดออกไซด์ในสถานะวิกฤต ส่วนสารที่มีความเป็นขั้วสูง เช่น อนุพันธ์ของเบนซีน ที่มีหมู่คาร์บอกซิลิกหนึ่งหมู่ และหมู่ไฮดรอกซิลสามหมู่หรือมากกว่า จะละลายได้ต่ำกับคาร์บอนไดออกไซด์ในสถานะวิกฤต (Mukhopadhyay, 2000) โดยการจำแนกความสามารถในการละลายของกลุ่มสารกับคาร์บอนไดออกไซด์ในสถานะเหนือวิกฤต ดังแสดงใน Table 8

Table 8. Solubility of botanical compounds in liquid and supercritical carbon dioxide

Solubility	Botanical compounds
Very soluble	Nonpolar and slightly polar low M.W.(<250) organics e.g. mono and sesquiterpenes, thiols, pyrazines, acetic acid, benzaldehyde, hexanol, glycerol, acetates
Sparingly soluble	Higher M.W. (<400) organics e.g. substituted terpenes and sesquiterpenes, water, oleic acid, decanol, saturated lipids up to C ₁₂
Almost insoluble	Organics with M.W. above 400 e.g. sugar, proteins , tannins, waxes, chlorophyll, carotenoids, citric, malic acid, amino acids, nitrates, pesticides, insecticides,

ที่มา : Mukhopadhyay (2000)

2.3.2 สมบัติของของไหลเหนือวิกฤต

สำหรับสมบัติของของไหลเหนือวิกฤตที่ส่งผลให้การสกัดเกิดขึ้นได้ดีกว่าเมื่อเทียบกับตัวทำละลายทั่วไป สามารถแบ่งออกได้ 3 ประการ ดังนี้ (สมใจ ขจรชีพพันธุ์งาม และ อาทิตย์ รั้งมีสันติวานนท์, 2546)

2.3.2.1 สมบัติการถ่ายเท (Transportation property)

เนื่องจากของไหลเหนือวิกฤตมีความหนืดต่ำ และมีสัมประสิทธิ์การแพร่สูง ทำให้สามารถกระจายตัวได้อย่างทั่วถึง สามารถแทรกซึม (Penetration) เข้าสู่โครงสร้างของของแข็งหรืออนุภาคที่มีตัวถูกละลายได้ดี ทำให้ตัวถูกละลายกระจายออกจากบริเวณการสกัดไปบริเวณอื่นได้ง่าย และมีอัตราการถ่ายเทมวลสูง ความหนืด และสัมประสิทธิ์การแพร่ของของไหลเหนือวิกฤต ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น อุณหภูมิ ความดัน ดังนั้นจึงต้องมีการปรับสภาวะของอุณหภูมิและความดันให้เหมาะสม เพื่อให้สกัดสารที่ต้องการได้ดีที่สุด

2.3.2.2 สมบัติในการละลายของตัวทำละลาย (Solvent power property)

ความสามารถในการละลายของตัวทำละลายเป็นสมบัติเด่นประการหนึ่งของของไหลเหนือวิกฤตที่เหนือกว่าตัวทำละลายที่เป็นของเหลวทั่วไป เนื่องจากสามารถเลือก และปรับให้มีความเหมาะสมได้ตามต้องการได้ โดยการปรับอุณหภูมิ ในกรณีของตัวทำละลายที่เป็นของเหลว การเพิ่มอุณหภูมิจะทำให้มีการละลายของตัวถูกละลายเพิ่มขึ้น สำหรับของไหลเหนือวิกฤตการเพิ่มอุณหภูมิก็เป็นการเพิ่มการละลายของตัวถูกละลายเช่นกัน แต่ในขณะเดียวกันการเพิ่มอุณหภูมิก็จะมีผลให้ความหนาแน่นของของไหลเหนือวิกฤตลดลง ซึ่งจะส่งผลให้เกิดระยะห่างระหว่างโมเลกุลของของไหลเหนือวิกฤตกับตัวถูกละลาย ทำให้ผลลัพธ์ของการละลายโดยรวมของตัวถูกละลายมีค่าลดลง ซึ่งปัญหานี้สามารถแก้ไขได้โดยการเพิ่มความดันให้กับของไหลเหนือวิกฤต เพื่อทำให้มีความหนาแน่นเพิ่มขึ้นจนใกล้เคียงกับสภาวะเริ่มต้นก่อนที่จะมีการเพิ่มอุณหภูมิ

2.3.2.3 สมบัติในการเลือกสกัด (Selectivity property)

ความสามารถในการเลือกสกัดเป็นสมบัติที่ดีอีกข้อหนึ่งของของไหลเหนือวิกฤต โดยการปรับอุณหภูมิและความดัน เพื่อให้มีความสามารถในการละลายที่เหมาะสม ในการสกัดเฉพาะสารที่ต้องการ โดยให้มีสารที่ไม่ต้องการปนเปื้อนออกมาน้อยที่สุด จากการที่ของไหลเหนือวิกฤตมีสมบัติในการเลือกสกัดค่อนข้างดี จึงสามารถใช้ในการสกัดลำดับส่วน (Fractionate extraction) ได้ โดยเริ่มทำการสกัดจากที่สภาวะใกล้จุดวิกฤต แล้วค่อยๆ เพิ่มอุณหภูมิ และความดัน ทำให้สามารถสกัดแยกสารแต่ละชนิดออกจากกันได้

2.3.3 กระบวนการสกัดด้วยของไหลเหนือวิกฤต

โดยทั่วไประบบการสกัดสาร โดยอาศัยของไหลเหนือวิกฤตในระดับอุตสาหกรรม ประกอบด้วย (1) ปัมของตัวทำละลาย ซึ่งจะเป็นตัวนำส่งของไหลเหนือวิกฤตไปตามระบบ (2) ปัมของตัวทำละลายร่วม ซึ่งเป็นตัวช่วยเพิ่มความจำเพาะในการสกัดสาร (3) คอลัมน์สกัด (4) และ (5) คอลัมน์แยกซึ่งอาจมีได้มากกว่าหนึ่งคอลัมน์ เป็นส่วนที่เก็บสารสกัดภายหลังลดความดันลง ดังแสดงใน Figure 5 นอกจากนี้คอลัมน์สกัด และคอลัมน์แยกสามารถปรับอุณหภูมิและความดันได้

สารสกัดที่มาจากคอลัมน์สกัดจะถูกแยกส่วนได้ในคอลัมน์แยกโดยการปรับลดความดันลง ทำให้ของไหลเหนือวิกฤตเกิดการเปลี่ยนแปลงสมบัติในการละลาย จึงเกิดการแยกของสารตามความสามารถในการละลายที่ต่างกันไป (Herrero *et al.*, 2006)

ในขั้นตอนการสกัดนั้นเมื่อบรรจุวัตถุดิบลงในคอลัมน์สกัดแล้วคาร์บอนไดออกไซด์จะถูกส่งผ่านไปยังปั๊มเพื่อเพิ่มความดันและอุณหภูมิจนถึงจุดที่ต้องการ คาร์บอนไดออกไซด์ที่อยู่ในสถานะของไหลเหนือวิกฤตจะถูกส่งไปยังคอลัมน์สกัด ภายหลังกการสกัดสารทั้งหมดจะถูกส่งผ่านไปยังคอลัมน์แยกเพื่อลดความดันลง สารที่สกัดได้จะถูกแยกออกจากคาร์บอนไดออกไซด์ ส่วนคาร์บอนไดออกไซด์จะถูกนำไปเพิ่มความดันและกลับเข้าสู่เครื่องสกัดใหม่อีกครั้ง (เบ็ญจรัท วายูภาพ, 2541; Mukhopadhyay, 2000)

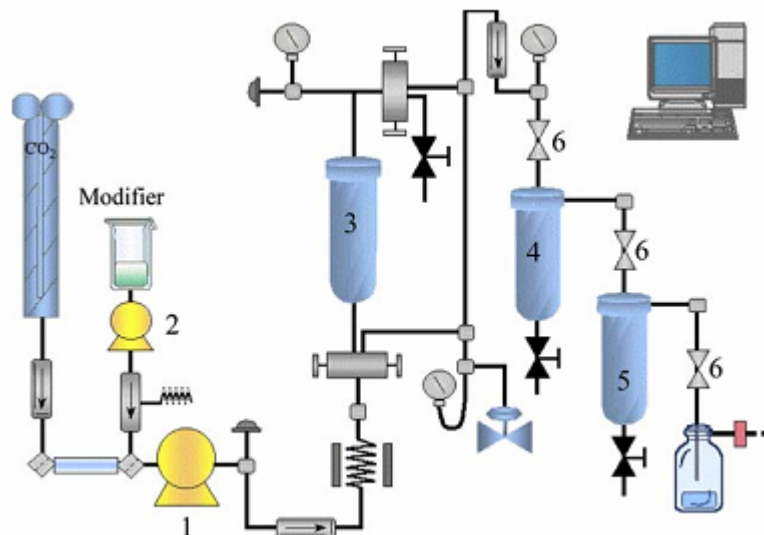


Figure 5. Diagram of a supercritical fluid extraction pilot plant. (1) CO₂ pump; (2) modifier pump; (3) solid sample extraction cell; (4) fractional cell 1; (5) fractional cell 2; (6) valve

ที่มา : Herrero และคณะ (2006)

2.3.4 การสกัดและปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดสารสกัดจากขิงด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤต

เนื่องจากวิธีการสกัดสารสกัดจากขิงแบบดั้งเดิม (Conventional separation processes) ทั้งการกลั่นด้วยไอน้ำ และการสกัดโดยใช้ตัวทำละลาย ไม่สามารถแยกทั้งสารที่ให้กลิ่นรส และความเผ็ดได้พร้อมกันในเวลาเดียวกัน การกลั่นด้วยไอน้ำ เป็นวิธีที่เหมาะสมในการแยกน้ำมันหอมระเหย แต่ไม่เหมาะสมในการแยกสารที่ให้ความเผ็ด เนื่องจากความร้อนจาก

กระบวนการจะทำให้สารดังกล่าวเกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็นสารกลุ่มอื่น ส่วนการสกัดน้ำมันชั้น โดยใช้ตัวทำละลาย เช่น เอทานอล หรืออะซิโตน มีผลทำให้กลิ่นลดลง เนื่องจากการสูญเสียสารที่ ระเหยได้บางส่วนไปในระหว่างการระเหยตัวทำละลายออก (Yonei *et al.*, 1995; Balakrishnan, 2004)

ต่อมาจึงได้มีการนำเทคโนโลยีการสกัดโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตเข้า มาใช้กับการสกัดสารสกัดจากขิง ทำให้ได้สารสกัดที่ยังคงไปด้วยสารที่ให้ความเผ็ด และกลิ่นรส ของขิง ซึ่งมีคล้ายคลึงกับวัตถุดิบ เนื่องจากการสกัดทำได้ที่อุณหภูมิไม่สูงนัก จึงเหมาะสมกับ องค์ประกอบที่ไวต่อความร้อน และสามารถระเหยตัวทำละลายออกได้ง่าย จึงมีการสูญเสียของสาร ที่ระเหยได้น้อย นอกจากนี้การสกัดโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤต ยังมีสมบัติเลือกสกัด สำหรับสารที่ต้องการได้อีกด้วย (Mukhopadhyay, 2000; Herrero *et al.*, 2006) ซึ่งได้มีการรวบรวม งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัดสารสกัดจากขิงด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤต ดังแสดงใน Table 9

เพื่อให้การสกัดโดยวิธีคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤต เป็นไปอย่างมี ประสิทธิภาพ จึงต้องมีการศึกษาถึงปัจจัยที่มีผลต่อการสกัด เพื่อที่จะหาสภาวะที่เหมาะสมในการ สกัด ให้ปริมาณผลได้ที่สูง และสารสกัดเหล่านั้นยังคงสมบัติตามที่ต้องการ ได้มีการศึกษาถึงปัจจัย ที่มีผลต่อการสกัด ดังนี้

2.3.4.1 การลดปริมาณความชื้นก่อนการสกัด

ปริมาณความชื้นที่สูงในวัตถุดิบอาจไปขัดขวางการสกัดของตัวทำละลายได้ แม้ว่า น้ำจะสามารถละลายในคาร์บอนไดออกไซด์ได้เพียง 0.30% อย่างไรก็ตามถ้าวัตถุดิบมีน้ำในปริมาณ ที่สูงเกินไปจะทำให้ตัวถูกละลายที่มีความสามารถละลายน้ำได้ดี จะกระจายรวมอยู่กับน้ำ จึงไม่ถูก สกัดออกมา เป็นผลให้ปริมาณสารสกัดลดลง (Lang and Wai 2001; Pourmortazavi and Hajimiradeghi, 2007) จึงต้องมีการลดปริมาณน้ำออกก่อนการสกัด มีผลทำให้โครงสร้างภายในเป็น รูพรุน ตัวทำละลายสามารถแทรกซึมเข้าไปได้ง่าย ช่วยเพิ่มอัตราการสกัด Azian และคณะ (2004) รายงานว่า การทำแห้งขิงมีผลทำให้เกิดการฉีกขาดของส่วนพาราเรงคิมา และเซลล์ที่เก็บสะสมน้ำมัน (Oil cell) จึงทำให้เกิดการปลดปล่อยน้ำมัน และแป้งออกมารอบบริเวณเนื้อเยื่อ

Balachandran และคณะ (2006) ศึกษาผลของปริมาณความชื้น และวิธีการทำแห้ง ต่อปริมาณผลได้ของสารสกัด และปริมาณสาร [6]-gingerol ของน้ำมันชั้นจากขิงที่สกัดด้วย คาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤต โดยใช้ขิงสด มีปริมาณความชื้นเท่ากับ 83.50% จึงที่ผ่านการแห้ง แบบระเหิด (Freeze dry) ที่ความดันสูง และมีอุณหภูมิ -20.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48-72 ชั่วโมง และขิงที่ผ่านการทำแห้งด้วยตู้อบ ที่อุณหภูมิ 60.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ก่อนสกัดโดย

ใช้คาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤต ที่ความดัน 160.0 บาร์ อุณหภูมิ 40.0 องศาเซลเซียส ความหนาแน่นคาร์บอนไดออกไซด์ 796.4 กิโลกรัม/ลูกบาศก์เมตร พบว่า ปริมาณความชื้นและวิธีการทำแห้งมีผลต่อผลได้ของสารสกัด โดยการทำแห้งจึงแบบระเหิด และการทำแห้งด้วยความร้อน ให้ผลได้ของสารสกัด เท่ากับ 0.16 และ 0.19% ตามลำดับ ส่วนการใช้ขิงสดในการสกัดจะให้ปริมาณสารสกัดต่ำที่สุด เท่ากับ 0.12%เมื่อนำมาสารสกัดมาวิเคราะห์ปริมาณสาร [6]-gingerol ด้วยเครื่อง HPLC พบว่า การทำแห้งจึงแบบระเหิดมีปริมาณสาร [6]-gingerol ในสารสกัดสูงที่สุด เท่ากับ 26.00% ส่วนการใช้ขิงสด และขิงที่ผ่านการอบแห้งด้วยตู้อบ มีปริมาณสาร [6]-gingerol ในสารสกัด เท่ากับ 20.00 และ 16.00% ตามลำดับ

2.3.4.2 ขนาดอนุภาคและการลดขนาด

อนุภาคที่มีขนาดเล็กจะมีพื้นที่ในการถ่ายเทมวลสารมากขึ้น และระยะทางที่สั้นลง ส่งผลให้ตัวถูกละลายที่อยู่ภายในของแข็งแพร่กระจายออกสู่ตัวทำละลายได้เร็วขึ้น อย่างไรก็ตาม แม้ว่าอนุภาคที่มีขนาดเล็กจะทำให้การสกัดเป็นไปได้อย่างรวดเร็ว แต่ก็ส่งผลให้ควบคุมอัตราการไหลยากในขณะที่อนุภาคที่มีขนาดใหญ่ จะใช้เวลานานในการสกัด เนื่องจากการแพร่กระจายของตัวทำละลายเข้าสู่ภายในได้ช้า (Wang and Weller, 2006) ดังนั้นจึงต้องลดขนาดวัตถุดิบก่อนสกัด โดยทั่วไปการลดขนาดสามารถทำได้โดยการบด และการร่อนผ่านตะแกรง เพื่อให้ได้ตัวอย่างที่มีขนาดอนุภาคที่มีความสม่ำเสมอขึ้น นอกจากนี้การลดขนาดอนุภาคให้เล็กลงยังเป็นการทำลายผนังเซลล์ให้แตกออก ทำให้สารภายในเซลล์ถูกสกัดได้ง่ายขึ้น (del Valle *et al.*, 2005)

Roy และคณะ (1996) ศึกษาผลของขนาดอนุภาคต่ออัตราการสกัดสารสกัดจากขิง โดยใช้ขิงที่ผ่านการทำแห้งด้วยวิธีการทำแห้งแบบระเหิด ที่มีขนาดอนุภาค 0.35, 0.68 และ 2.56 มิลลิเมตร สกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤต ที่ความดัน 245.0 บาร์ อุณหภูมิ 40.0 องศาเซลเซียส พบว่า เมื่อลดขนาดอนุภาคขิงลงจาก 2.56 ไปเป็น 0.35 มิลลิเมตร ทำให้อัตราการสกัดเพิ่มขึ้น 1.75 เท่า เพราะความต้านทานการแพร่ของโมเลกุลสารภายในอนุภาคลดลง เนื่องจากระยะทางในการแพร่ของสารออกจากอนุภาคลดลง

Balachadran และคณะ (2006) ศึกษาผลของขนาดอนุภาคของขิง ต่อปริมาณสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤต โดยใช้ขิงสดที่มีขนาดอนุภาคแตกต่างกัน คือ 4.70, 6.00 และ 7.90 มิลลิเมตร ปริมาณ 0.45 กรัม (น้ำหนักฐานแห้ง) ในแต่ละชุดการทดลอง นำมาสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤต ที่ความดัน 160.0 บาร์ อุณหภูมิ 40.0 องศาเซลเซียส ความหนาแน่นคาร์บอนไดออกไซด์ 796.40 กิโลกรัม/ลูกบาศก์เมตร พบว่า เมื่อลดขนาดอนุภาคของขิงจาก 7.90 ไปเป็น 4.70 มิลลิเมตร ทำให้ปริมาณสารสกัดจากขิงที่ได้เพิ่มขึ้น 1.86 เท่า

Table 9. Review on investigation of supercritical carbon dioxide extraction of ginger

Extraction conditions							Extraction yield and active compounds	References
P ^a (bar)	T ^b (°C)	ρ ^c (kg/m ³)	Time ^d (hr)	Modifier	Flow rate ^e (kg/hr)	Separator (P ^f /T ^g)		
-	40.00	850	0.50	-	-	-	[6]-gingerol = 7.00% (w/w) [6]-shogaol = 0.20% (w/w)	Bartley (1995)
250.00	40.00	-	-	-	0.90	-	Extraction yield = 4.00% (w/w)	Yonei <i>et al.</i> (1995)
250.00	60.00	-	-	-	0.90	-	Extraction yield = 4.00% (w/w)	
295.00	80.00	-	-	-	0.90	-	Extraction yield = 4.50% (w/w)	
246.00	40.00	-	-	-	0.90	1 ^h (79.0/60.0)	[6]-gingerol = 16.00% (w/w)	
						2 ⁱ (45.0/30.0)	[6]-gingerol = 7.00% (w/w)	
246.00	40.00	-	-	-	0.90	1 (109.0/60.0)	[6]-gingerol = 24.00% (w/w)	
						2 (45.0/30.0)	[6]-gingerol = 6.50% (w/w)	
500.00	80.00	-	-	-	-	1 (250.0/65.0)	[6]-gingerol = 13.95% (w/w)	Nguyen <i>et al.</i> (1998)
						2 (30.0/18.0)	[6]-gingerol = 1.43% (w/w)	
300.00	40.00	-	-	-	-	-	Extraction yield = 8.40% (w/w) Oleo-resin = 54.40% (w/w extract) Gingerol = 24.40% (w/w extract)	Catchpole <i>et al.</i> (2003)

Table 9. Review on investigation of supercritical carbon dioxide extraction of ginger (Cont.)

Extraction conditions							Extraction yield and active compounds	References
P ^a (bar)	T ^b (°C)	ρ^c (kg/m ³)	Time ^d (hr)	Modifier	Flow rate ^e (kg/hr)	Separator (P ^f /T ^g)		
100.00	40.00	-	5.00-5.25	-	0.09	-	-	Leal <i>et al.</i> (2003)
300.00	30.00	-	5.75-6.00	-	0.07	-		
200.00	35.00	866	-	-	0.21	-	Extraction yield = 2.65% (w/w) Gingerol;Shogaol = 50.70%	Zancan <i>et al.</i> (2002)
200.00	35.00	866	-	1.17% EtOH ^j	0.15	-	Extraction yield = 2.48% (w/w) Gingerol;Shogaol = 49.40%	
250.00	35.00	901	-	1.17% IsoC3 ^k	0.19	-	Extraction yield = 2.19% (w/w) Gingerol;Shogaol = 42.30%	
200.00	40.00	841	1.00	-	0.20	-	MT ^l = 3.60; ST ^m = 37.90; HC ⁿ = 35.10	Martínez <i>et al.</i> (2003)
200.00	40.00	841	2.00	-	0.20	-	MT = 5.20; ST = 37.60; HC = 40.20	
250.00	40.00	881	1.00	-	0.20	-	MT = 3.50; ST = 35.00; HC = 39.10	
250.00	40.00	881	2.00	-	0.20	-	MT = 4.10; ST = 38.60; HC = 37.40	

Remark: ^aExtraction pressure; ^bExtraction temperature; ^cCarbon dioxide density; ^dExtraction time; ^eFlow rate of carbon dioxide; ^fSeparator pressure (bar);

^gSeparator temperature (°C); ^hFirst separator; ⁱSecond separator; ^jEthanol; ^kIsopropyl alcohol; ^lMonoterpene; ^mSesquiterpene; ⁿHydrocarbon

2.3.4.3 ความดันและอุณหภูมิ

ความดันที่ใช้ในการสกัดมีผลต่อการสกัดด้วยของไหลเหนือวิกฤต โดยเมื่อเพิ่มความดันจะทำให้ความหนาแน่นและความสามารถของตัวทำละลายเพิ่มขึ้น สำหรับสภาวะที่ใช้ในการสกัดสารแต่ละชนิดนั้นจะมีความแตกต่างกัน เช่น สภาวะที่ใช้ในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจะแตกต่างจากการสกัดน้ำมันหอมระเหย โดยทั่วไปน้ำมันหอมระเหยสามารถละลายออกมาได้ที่ความดันต่ำกว่า 100.0 บาร์ และอุณหภูมิในช่วง 40.0-55.0 องศาเซลเซียส เมื่อเพิ่มความดันขึ้นทำให้สามารถสกัดสารที่มีขี้ผึ้ง และสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงรวมถึงสารกลุ่มโพลีฟีนอลออกมาได้เช่นกัน (Díaz-Reinoso *et al.*, 2006) แต่การเพิ่มความดันให้สูงขึ้นเหนือกว่าจุดวิกฤตมาก เป็นผลให้ของไหลมีความหนืดเพิ่มขึ้น และสัมประสิทธิ์ของการแพร่ลดลง ในการสกัดที่ความดันสูงนั้น การเพิ่มอุณหภูมิอาจทำให้ปริมาณสารที่สกัดลดลง เนื่องจากเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นความหนาแน่นและความสามารถในการทำละลายของของไหลจะลดลง สำหรับสารประกอบที่ไม่คงทนต่อความร้อนควรทำการสกัดที่อุณหภูมิไม่สูงมากนัก เพื่อหลีกเลี่ยงการสลายตัว เช่น สารประกอบฟีนอลิกบางชนิดสามารถเกิดปฏิกิริยาโพลีเมอไรเซชัน (Polymerisation) หรือออกซิไดส์ได้ที่อุณหภูมิสูงกว่า 50.0 องศาเซลเซียส (Díaz-Reinoso *et al.*, 2006)

Yonei และคณะ (1995) ศึกษาผลของความดันและอุณหภูมิต่อผลได้ของสารสกัดและปริมาณสาร [6]-gingerol ในสารสกัด โดยใช้ขิงแห้งที่มีความชื้น 14.20% ขนาดอนุภาค 0.50 มิลลิเมตร สกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤต มีอัตราการไหล เท่ากับ 15.00 กรัม/นาที่ อุณหภูมิที่ใช้สกัด 3 ระดับ คือ 40.0, 60.0 และ 80.0 องศาเซลเซียส และความดันในช่วง 79.0-295.0 บาร์ พบว่า การสกัดที่อุณหภูมิ 40.0 และ 60.0 องศาเซลเซียส เมื่อเพิ่มความดันจาก 80.0 ไปเป็น 150.0 บาร์ ทำให้ผลได้ของสารสกัดเพิ่มขึ้น และจะคงที่ที่ความดัน 200.0 บาร์ ซึ่งทั้งสอง อุณหภูมิให้ผลได้ของสารสกัดใกล้เคียงกัน คือ เท่ากับ 4.00% โดยน้ำหนัก ส่วนการสกัดที่ 80.0 องศาเซลเซียส ความดัน 295.0 บาร์ ให้ผลได้ของสารสกัด เท่ากับ 4.50% โดยน้ำหนัก เมื่อศึกษาผลของความดัน และอุณหภูมิต่อปริมาณสาร [6]-gingerol พบว่า การสกัดที่ 40.0 และ 60.0 องศาเซลเซียส เมื่อเพิ่มความดันจาก 80.0 ไปเป็น 150.0 บาร์ ทำให้ปริมาณสาร [6]-gingerol เพิ่มขึ้น แต่เมื่อเพิ่มความดันให้สูงกว่า 200.0 บาร์ จะทำให้ปริมาณสาร [6]-gingerol ในสารสกัดลดลง ทั้งสองอุณหภูมิ การสกัด เมื่อเปรียบเทียบปริมาณสาร [6]-gingerol ในสารสกัดที่ระดับความดันในการสกัดเดียวกัน พบว่า การสกัดที่อุณหภูมิ 40.0 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณสาร [6]-gingerol สูงที่สุด ส่วนการสกัดที่อุณหภูมิ 80.0 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณสาร [6]-gingerol ต่ำที่สุด

Zancan และคณะ (2002) ศึกษาผลของอุณหภูมิ และความดันต่อการสกัดสารสกัดจากขิงด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤต โดยใช้ขิงแห้งที่มีขนาดอนุภาค 0.39 มิลลิเมตร สกัดที่

ความดัน 2 ระดับ คือ 200.0 และ 250.0 บาร์ และที่อุณหภูมิ 2 ระดับ คือ 25.0 และ 35.0 องศาเซลเซียส พบว่า การสกัดที่ความดัน 200.0 บาร์ 35.0 องศาเซลเซียส ให้ผลได้ของสารสกัดสูงสุดเท่ากับ 2.65% ในขณะที่การสกัดที่ 200.0 บาร์ 25.0 องศาเซลเซียส 250.0 บาร์ 25.0 องศาเซลเซียส และ 250.0 บาร์ 35.0 องศาเซลเซียส ให้ผลได้ เท่ากับ 2.10, 2.22 และ 2.34% ตามลำดับ และเมื่อแยกองค์ประกอบทางเคมีของสารที่สกัดได้ โดยใช้ GC-MS ร่วมกับ GC-FID (Gas chromatography flame ionization detector) รายงานค่าในรูป %relative peak area พบว่า การสกัดที่ความดัน 200.0 บาร์ 35.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง ให้ปริมาณ จินเจอร์รอลและ โซกาออล ในสารสกัดสูงสุดเท่ากับ 93.14% ในขณะที่การสกัดที่ 200.0 บาร์ 25.0 องศาเซลเซียส 250.0 บาร์ 25.0 องศาเซลเซียส และ 250.0 บาร์ 35.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง มีปริมาณ เท่ากับ 62.51, 65.93 และ 64.63% ตามลำดับ

2.3.4.4 ระยะเวลาการสกัด

องค์ประกอบของสารสกัดที่ได้จะผันแปรไปตามระยะเวลาการสกัด โดยสารประกอบที่มีมวลโมเลกุลต่ำ และมีความเป็นขี้ดต่ำ จะถูกสกัดออกมาได้เร็วกว่าสารประกอบที่มีมวลโมเลกุลสูง และมีความเป็นขี้ดสูง (Wang and Weller, 2006)

Zancan และคณะ (2002) ศึกษาผลของระยะเวลาการสกัดต่อองค์ประกอบของสารสกัดจากขิงที่สกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤต โดยสกัดที่ความดัน 2 ระดับ คือ 200.0 และ 250.0 บาร์ และที่อุณหภูมิ 2 ระดับ คือ 25.0 และ 35.0 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการสกัด 1, 2 และ 5 ชั่วโมง แยกองค์ประกอบของสารสกัดที่ได้โดยใช้ GC-MS ร่วมกับ GC-FID รายงานค่าในรูป %relative peak area พบว่า ที่ระยะเวลาสกัด 1 และ 2 ชั่วโมงมีสัดส่วนขององค์ประกอบทางเคมีที่คล้ายคลึงกัน ซึ่งประกอบด้วย เซสควิเทอร์ปีน จินเจอร์รอล และ โซกาออล ส่วนที่ระยะเวลาสกัด 5 ชั่วโมงจะมีปริมาณจินเจอร์รอล และ โซกาออลที่สูงกว่า โดยมีปริมาณตั้งแต่ 62.51-93.14% ในขณะที่ระยะเวลาสกัด 1 และ 2 ชั่วโมง มีปริมาณสูงสุดที่ 50.07 และ 73.58% ตามลำดับ

2.3.4.5 การใช้ตัวทำละลายร่วม (Co-solvent หรือ Modifier)

การสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤต เป็นวิธีการสกัดที่เหมาะสมกับสารประกอบที่ไม่มีขี้ด แต่ผลิตภัณฑ์ทางธรรมชาติหลายชนิดที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ รวมถึงสารประกอบฟีนอลิก มีความสามารถในการละลายต่ำในคาร์บอนไดออกไซด์ ดังนั้น การใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวทำละลายเพียงชนิดเดียวจึงอาจไม่เหมาะสมต่อการสกัด อาจทำให้สารสกัดที่ได้มีปริมาณหรือความบริสุทธิ์ต่ำ จึงต้องมีการใช้ตัวทำละลายร่วมเพื่อเข้าไปช่วยสกัดสารที่ต้องการ ตัวทำละลายร่วม คือ ตัวทำละลายที่สอง ได้แก่ ตัวทำละลายทั่วไปซึ่งสามารถผสมเข้ากับของไหลเหนือวิกฤตปฐมภูมิ ทำให้เพิ่มความสามารถในการทำละลายของของไหลเหนือวิกฤตได้

สำหรับตัวทำละลายร่วมที่นิยมใช้ ได้แก่ แอลกอฮอล์ ทั้งเอทานอล หรือเมทานอล ซึ่งสามารถไปเหนี่ยวนำให้เกิดแรงยึดเหนี่ยวระหว่างโมเลกุล และการเกิดพันธะไฮโดรเจนกับส่วนที่มีขั้ว การใช้ตัวทำละลายร่วมอาจต้องเพิ่มอุณหภูมิการสกัดให้สูงขึ้นเพื่อให้ตัวทำละลายร่วมเข้าสู่ภาวะวิกฤต ส่วนการเพิ่มความเข้มข้นของตัวทำละลายอาจทำให้ปริมาณสารสกัดเพิ่มสูงขึ้นได้ แต่จำเป็นต้องเพิ่มอุณหภูมิการสกัดให้สูงขึ้น เช่น ระบบที่ใช้ 15.0% เมทานอลเป็นตัวทำละลายร่วม ต้องใช้อุณหภูมิถึง 73.0 องศาเซลเซียส ซึ่งอาจไม่เหมาะสมกับการสกัดสารสกัดจากธรรมชาติ (Díaz-Reinoso *et al.*, 2006)

Zancan และคณะ (2002) ศึกษาผลของการใช้ตัวทำละลายร่วม ได้แก่ เอทานอล และไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ ในปริมาณ 1.17% โดยน้ำหนัก สกัดสารสกัดจากขิงด้วยการบดไดออกไซด์เหนือวิกฤต ที่ความดัน 2 ระดับ คือ 200.0 และ 250.0 บาร์ และที่อุณหภูมิ 2 ระดับ คือ 25.0 และ 35.0 องศาเซลเซียส พบว่า การสกัดโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายร่วมที่ความดัน 200.0 บาร์ อุณหภูมิ 35.0 องศาเซลเซียส ให้ผลได้ของสารสกัดสูงสุด เท่ากับ 2.48% ส่วนระบบที่มีการใช้ไอโซโพรพิล แอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลายร่วม พบว่า การสกัดที่ความดัน 250.0 บาร์ อุณหภูมิ 35.0 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณสารสกัดสูงสุด เท่ากับ 2.19%

3. อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ

3.1 อนุมูลอิสระ

เป็นสารที่มีอิเล็กตรอนอิสระอยู่ในวงนอกของอะตอมหรือโมเลกุล มีความว่องไวในการเข้าทำปฏิกิริยา โดยรับอิเล็กตรอนจากสารอื่นๆ โกลีเคียมมีผลให้ตัวมันเองเสถียรมากขึ้น ในขณะที่เดียวกันก็ชักนำให้สารที่ให้อิเล็กตรอนไปนั้นอิเล็กตรอนไม่ครบคู่จนอาจกลายเป็นสารที่มีความรุนแรง ซึ่งถ้าเกิดขึ้นในระบบสิ่งมีชีวิต อาจทำอันตรายต่อส่วนประกอบสำคัญของเซลล์รอบๆ บริเวณนั้น ไม่ว่าจะเป็นโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต หรือดีเอ็นเอ (DNA) ทำให้สารชีวโมเลกุลเหล่านี้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง และเสียหายที่การทำงาน (มลศิริ วิโรทัย, 2545)

อนุมูลอิสระเกิดขึ้นในร่างกายจากการขนถ่ายอิเล็กตรอนในกระบวนการเผาผลาญอาหารให้เกิดเป็นพลังงาน โดยใช้ออกซิเจนในไมโทคอนเดรีย อิเล็กตรอนที่เกิดขึ้นจะถูกจับโดยออกซิเจนเกิดเป็นอนุมูลของออกซิเจนที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยา เรียกว่า Reactive oxygen species (ROS) ตัวอย่างเช่น ไฮดรอกซิล (Hydroxyl) ซูเปอร์ออกไซด์ (Superoxide) และเพอร์ออกไซด์ (Peroxy) อนุมูลอิสระชนิดอื่นที่เกิดขึ้นในร่างกาย เช่น Reactive nitrogen species (RNS) เช่น ไนตริกออกไซด์ (Nitric oxide) ไนโตรเจนไดออกไซด์ (Nitrogen dioxide) และเมทิล (Methyl) ดังแสดงใน Table 10 นอกจากการเผาผลาญอาหารที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระแล้ว แหล่งอื่นในร่างกาย

ที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระ ได้แก่ ปฏิกิริยาทางเอนไซม์ เช่น แชนทีนออกซิเดส (Xanthine oxidase) พรอสตาแกลนดิน ซินเทส (Prostaglandin synthase) ลิพอกซีจีเนส (Lipoxygenase) แอลดีไฮด์ออกซิเดส (Aldehyde oxidase) ปฏิกิริยาเพอร็อกซิเดชันของไขมัน (Lipid peroxidation) โดยกรดไขมันไม่อิ่มตัว สภาพทางอารมณ์ เช่น ความเครียด และพยาธิสภาพของร่างกาย เช่น การมีไข้ การติดเชื้อ เป็นต้น แหล่งอนุมูลอิสระจากภายนอกร่างกาย ได้แก่ รังสี ไอโซทอปรังสี ควันบุหรี่ ตัวทำลายอินทรีย์และมลภาวะต่างๆ (วัลลภ วิชะรังสรรค์ และประณีต โอปณะโสภิต, 2547)

Table 10. Free radicals and theirs formulas

Free radicals	Formulas
Hydrogen atom	H^\bullet
Hydroxyl radical	HO^\bullet
Hydroperoxyl radical	HOO^\bullet
Alkyl radical	R^\bullet
Alkoxy radical	RO^\bullet
Alkylperoxy radical	ROO^\bullet
Glutathyl radical	GS^\bullet
Methyl radical	$^\bullet CH_3$
Nitric oxide	$^\bullet NO$
Nitrogen dioxide	$^\bullet NO_2$

ที่มา : วัลลภ วิชะรังสรรค์ และประณีต โอปณะโสภิต (2547)

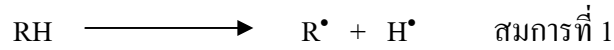
3.2. กลไกการเกิดออกซิเดชัน

ปฏิกิริยาการเกิดออกซิเดชันจัดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ ซึ่งมีกลไกการเกิดปฏิกิริยา 3 ระยะ คือ ระยะแรก เรียกว่าระยะเหนี่ยวนำ (Initiation) เป็นระยะที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระ ระยะที่สองเรียกว่า ระยะเพิ่มจำนวน (Propagation) เป็นระยะที่อนุมูลอิสระเปลี่ยนไปเป็นอนุมูลตัวอื่น และระยะสุดท้ายเรียกว่า ระยะสิ้นสุด (Termination) เป็นระยะที่มีการรวมกันของอนุมูลอิสระ 2 อนุมูลที่มีความเสถียร (อัญชญา เจนวิถีสุข, 2544)

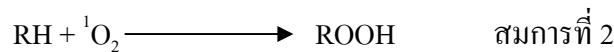
3.2.1 ระยะเหนี่ยวนำ (Initiation)

ปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระในเซลล์ มักเกิดขึ้นจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) แสง (Photolysis) รังสี (Radiolysis) หรือปฏิกิริยารีดอกซ์ (Redox reaction) รวมถึง

โมเลกุลที่มีความไวสูงในการทำปฏิกิริยา เช่น ไนตริกออกไซด์ ($\cdot\text{NO}$) และ Singlet oxygen ($^1\text{O}_2$) ซึ่งเป็นออกซิเจนในสถานะที่ถูกกระตุ้น สิ่งเหล่านี้ทำให้เกิดการเหนี่ยวนำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้นดังสมการที่ 1



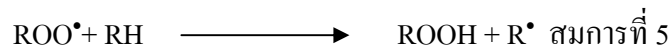
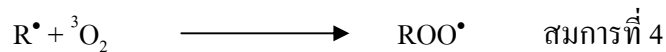
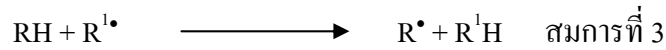
ส่วน Singlet oxygen เมื่อทำปฏิกิริยากับไขมัน (RH) จะทำให้เกิดเป็นไฮโดรเปอร์ออกไซด์ ดังสมการที่ 2



พันธะ O-O ในโมเลกุลของไฮโดรเปอร์ออกไซด์เป็นพันธะที่ไม่แข็งแรง จึงถูกสลายได้ง่าย ทำให้เกิดเป็นอนุมูลอิสระ โดยในปฏิกิริยาที่มีโลหะไอออน เช่น เหล็ก และทองแดง จะช่วยในการเร่งสลายโมเลกุลของไฮโดรเปอร์ออกไซด์ ทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้น (Meyer *et al.*, 2002)

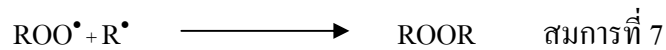
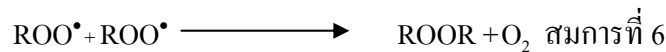
3.2.2 ระยะเพิ่มจำนวน (Propagation)

อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในระยะเหนี่ยวนำจะเกิดปฏิกิริยาต่อไป โดยเกิดปฏิกิริยาขึ้น 2 ทาง คือ โดยการดึงเอาอะตอมไฮโดรเจนออกจากโมเลกุลข้างเคียง หรือโดยการทำปฏิกิริยากับโมเลกุลออกซิเจนที่อยู่ในสถานะพื้น (Ground state) ทำให้เกิดอนุมูลอิสระตัวใหม่ ดังสมการที่ 3-5



3.2.3 ระยะสิ้นสุด (Termination)

เป็นระยะที่อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น 2 อนุมูลมารวมกัน ได้เป็นสารที่มีความเสถียร จึงเป็นการหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระ ดังสมการที่ 6-7



3.3 สารต้านอนุมูลอิสระ

สารที่มีปริมาณน้อยที่สามารถป้องกัน หรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยอนุมูลอิสระต่างๆ ได้ (Meyer *et al.*, 2002) สารเหล่านี้มีกลไกการทำงานต้านอนุมูลอิสระด้วยกันหลายแบบ เช่น ดักจับ (Scavenge) อนุมูลอิสระโดยตรง ยับยั้งการสร้างอนุมูลอิสระ หรือเข้าจับ (Chelate) กับเหล็ก หรือป้องกันการสร้างอนุมูลอิสระ เป็นต้น Kochhar และ Rossell (1990) อ้างโดย Mukhopadhyay, 2000) ได้แบ่งกลุ่มของสารต้านอนุมูลอิสระไว้ 5 กลุ่ม ดังนี้

3.3.1 สารต้านอนุมูลอิสระปฐมภูมิ (Primary antioxidants)

เป็นสารที่หยุดปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระโดยการให้อนุมูลไฮโดรเจนหรืออิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระโดยตรงเป็นผลให้อนุมูลนั้นกลายเป็นสารที่มีความเสถียรมากขึ้น สารที่มีสมบัติดังกล่าว เช่น สารประกอบฟีนอลิก หรือสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากการสังเคราะห์ เช่น บิวทิลไฮดรอกซีโทลูอีน (Butylated hydroxy toluene, BHT) บิวทิลไฮดรอกซีอะนิโซล (Butylated hydroxy anisole, BHA) และเทอร์เทียรีบิวทิลไฮโดรควิโนน (Tertiary butyl hydroquinone, TBHQ) เป็นต้น

3.3.2 สารต้านอนุมูลอิสระทุติยภูมิ (Secondary antioxidants)

สารต้านอนุมูลอิสระประเภทนี้ไม่ทำปฏิกิริยาโดยตรงกับอนุมูลอิสระ แต่จะทำหน้าที่สลายไฮโดรเปอร์ออกไซด์ ของไขมัน ให้เกิดเป็นสารที่มีความเสถียร เช่น กรดไทโอโพรพิก (Thiopropionic acid)

3.3.3 สารที่ทำหน้าที่ดักจับออกซิเจน (Oxygen scavengers)

เป็นสารที่ทำปฏิกิริยากับออกซิเจน แล้วกำจัดออกไปจากระบบได้ ซึ่งสารจับออกซิเจนจะช่วยเสริมฤทธิ์ หรือเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น กรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid) กรดอีริทโรบิก (Erythorbic acid) แอสคอร์บิลปาล์มิเตต (Ascorbyl palmitate) เป็นต้น

3.3.4 เอนไซม์ที่ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Enzymatic antioxidants)

เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่กำจัดออกซิเจน เช่น กลูโคสออกซิเดส (Glucose oxidase) หรือกำจัดสารที่เกิดการออกซิเดชันได้ เช่น ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมูเทส (Superoxide dismutase)

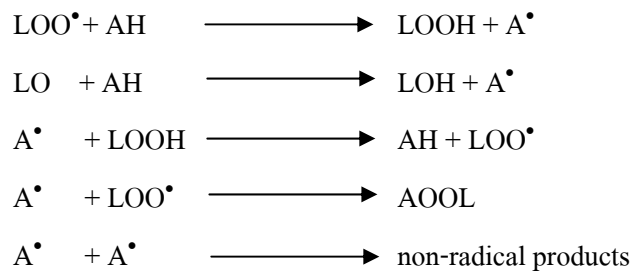
3.3.5 สารที่ทำหน้าที่จับอนุมูลอิสระ (Chelating agents)

เป็นสารที่ทำหน้าที่จับอนุมูลโลหะ ซึ่งอนุมูลโลหะ เช่น เหล็ก ทองแดง จะเป็นตัวเร่งให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน สารที่ทำหน้าที่จับอนุมูลอิสระนี้จะเป็นตัวส่งเสริมการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระปฐมภูมิ ซึ่งสารเหล่านี้อาจมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระเล็กน้อยหรือไม่มีเลย เช่น กรดซิตริก (Citric acid) กรดอะมิโน (Amino acid) ฟอสโฟลิปิด (Phospholipids) ได้แก่ เซฟาลิน (Cephalin)

3.4 กลไกการทำหน้าที่ของสารต้านอนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระมีกลไกการทำงานแบ่งออกเป็น 6 กลุ่ม ดังนี้

3.4.1 การดักจับอนุมูลอิสระ (Radical scavenging)

สารต้านอนุมูลอิสระ (AH) เหล่านี้สามารถชะลอหรือยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของไขมันได้ในระยะเพิ่มจำนวน โดยการให้อนุมูลไฮโดรเจนหรืออิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ (Gordon, 2001) ดังสมการ

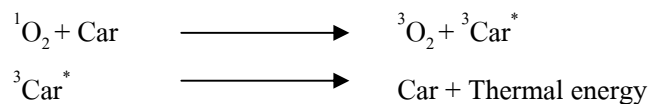


3.4.2 การสลายเพอร์ออกไซด์ (Peroxide decomposing)

สารประกอบฟีนอลิกบางชนิด หรือกรดโทโอ โพรพิโอนิก สามารถทำหน้าที่สลายเพอร์ออกไซด์ของไขมัน ให้เกิดเป็นสารที่มีความเสถียร เช่น แอลกอฮอล์ คีโตน หรือ แอลดีไฮด์

3.4.3 การยับยั้งการทำงานของ Singlet oxygen (Singlet oxygen quenching)

โดยปกติออกซิเจนที่อยู่ในสถานะพื้น (Ground state) จะอยู่ในรูปของ Triplet oxygen ($^3\text{O}_2$) จะไม่ทำปฏิกิริยาโดยตรงกับกรดไขมัน แต่เมื่อ Triplet oxygen ได้รับพลังงานกระตุ้น จะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของ Singlet oxygen ($^1\text{O}_2$) ซึ่งจะไวต่อการเข้าทำปฏิกิริยากับกรดไขมัน ซึ่งสารที่มีความสามารถในการยับยั้งการทำงานของ Singlet oxygen นั้นอาจไปยับยั้งสารที่จะไปกระตุ้นการเกิด Singlet oxygen หรืออาจเข้าจับกับ Singlet oxygen โดยไม่ทำปฏิกิริยาเคมี หรืออาจเข้าทำปฏิกิริยาเคมีกับ Singlet oxygen (Meyer *et al.*, 2002) สารในกลุ่มแคโรทีนอยด์ (Carotenoids, Car) สามารถยับยั้งการทำงานของ Singlet oxygen โดยการเปลี่ยน Singlet oxygen ให้อยู่ในรูป Triplet oxygen และปล่อยพลังงานที่ได้รับออกไปในรูปความร้อน (Gordon, 2001)



3.4.4 การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Enzyme inhibiting)

สารประกอบฟีนอลิกบางชนิด เช่น ฟลาโวนอยด์ กรดฟีนอลิก และแกแลต (Gallates) สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ลิพอกซีจีเนส ได้ โดยการเข้าจับกับไอออนของเหล็กซึ่งเป็นโคแฟกเตอร์ จึงส่งผลต่อการทำงานของเอนไซม์ดังกล่าว Puerta (1999 อ้างโดย ปณัฐรา ไชยมุติ, 2547)

3.4.5 การจับกับโลหะที่สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Metal chelating)

อนุมูลโลหะ เช่น เหล็ก ทองแดง เป็นตัวเร่งให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน โดยสารที่ทำหน้าที่จับกับโลหะเหล่านี้ เช่น ฟลาโวนอยด์ กรดซิตริก เอทิลีนไดอะอะมิโนเทตราแอซิดิก แอซิด (Ethylenediamine tetraacetic acid; EDTA) นอกจากนี้ กรดอะมิโน เปปไทด์ และแลคโตเฟอริน (Lactoferrin) ก็มีความสามารถในการจับกับอนุมูลโลหะเช่นกัน (Gordon, 2001; Meyer *et al.*, 2002)

3.4.6 การดักจับออกซิเจน (Oxygen scavenging)

กรดแอสคอร์บิกมีสมบัติในการจับกับออกซิเจน สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับ ซุปเปอร์ออกไซด์ ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (Hydrogenperoxide) อนุมูลไฮดรอกซิล อนุมูลเพอร์ออกซิล และ Singlet oxygen (Gordon, 2001) กรดแอสคอร์บิกทำหน้าที่เป็นสารรีดิวซิง (Reducing agent) ซึ่งจะถ่ายไฮโดรเจนอะตอม (H) ให้กับออกซิเจน จึงทำให้ออกซิเจนไม่สามารถทำปฏิกิริยาต่อไปได้ (นิธิยา รัตนานนท์, 2549) นอกจากนี้กรดแอสคอร์บิกยังทำหน้าที่เป็นตัวเสริมฤทธิ์ (Synergist) ให้กับโทโคเฟอรอล (Tocopherols) โดยจะช่วยให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลแอลฟา-โทโคเฟอรอล เพอร์ออกซิล (α -Tocopherol peroxy) เปลี่ยนรูปกลับไปเป็นแอลฟา-โทโคเฟอรอล (α -Tocopherol) ซึ่งมีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระได้อีกครั้ง Frankel (1998 อ้างโดย ปณัฏฐา ไชยมุติ, 2547)

3.5 แหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระ สามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ดังนี้

3.5.1 สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (Synthesis antioxidants)

เป็นสารประกอบฟีนอลิกที่สังเคราะห์ขึ้น โดยในโครงสร้างจะมีการเติมหมู่แอลคิล เพื่อปรับปรุงคุณสมบัติให้เหมาะสมกับการละลายในไขมัน นำไปใช้เพื่อป้องกันการเกิดออกซิเดชันของไขมัน สารสังเคราะห์เหล่านี้ เช่น บีเอชเอ บีเอชที ทีบีเอชคิว และโพรพิลกาแลเลต (Propyl gallate, PG) โดยมีการกำหนดให้ใช้บีเอชเอ บีเอชที และทีบีเอชคิวได้ในปริมาณไม่เกิน 0.02%

3.5.2 สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ (Natural antioxidants)

เป็นสารที่พบได้ในธรรมชาติไม่ว่าจะมาจากพืช จุลินทรีย์ หรือเนื้อเยื่อของสัตว์ Prior และคณะ (2005) แบ่งกลุ่มสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ เป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มของเอนไซม์ เช่น ซุปเปอร์ออกไซด์ ดิสมูเทอเรส กลูตาไทโอนเพอร์ออกซิเดส (Glutathione peroxidase) และคะตะเลส (Catalase) กลุ่มสารโมเลกุลใหญ่ เช่น อัลบูมิน (Albumin) เซรูโรพลาสมิน (Ceruloplasmin) เฟอริติน (Ferritin) กลุ่มสารโมเลกุลเล็ก เช่น กรดแอสคอร์บิก โทโคเฟอรอล

แคโรทีนอยด์ และโพลีฟีนอล (Polyphenol) กลุ่มของฮอร์โมนบางชนิด เช่น เอสโตรเจน (Estrogen) แองจิโอเทนซิน (Angiotensin) และเมลาโทนิน (Melatonin) เป็นต้น

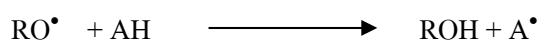
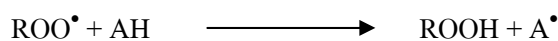
3.6 สารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds) เป็นสารในกลุ่มเมตาบอไลต์ทุติยภูมิ (Secondary metabolite) ถูกสร้างขึ้นเพื่อใช้ประโยชน์ในกระบวนการเจริญเติบโต การขยายพันธุ์ของพืช และการป้องกันจากเชื้อก่อโรค นอกจากนี้ยังเป็นสารที่ให้สีหรือกลิ่นรสในผักและผลไม้ (Balasundram *et al.*, 2006) ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกนั้นมีอยู่ในอาหาร และเครื่องดื่มที่ได้มาจากพืช เช่น ผัก ผลไม้ ธัญชาติต่างๆ น้ำผลไม้ ไวน์ ชา และกาแฟ เป็นต้น แต่พบในปริมาณที่แตกต่างกันออกไป (Balasundram *et al.*, 2006; Dimitrios, 2006)

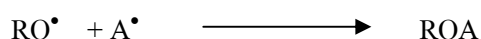
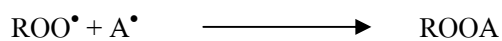
สารประกอบฟีนอลิกมีลักษณะโครงสร้างเป็นวงแหวนอะโรมาติก (Aromatic ring) ที่ประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิล 1 หมู่ หรือมากกว่า (Balasundram *et al.*, 2006) พบได้ตั้งแต่กลุ่มที่มีโครงสร้างอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก ไปจนถึงกลุ่มที่มีโครงสร้างเป็นพอลิเมอร์ เช่น เทนนิน (Tannins) (วิวัฒน์ หวังเจริญ, 2545)

3.6.1 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลิก (AH) ทำหน้าที่ยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของไขมัน โดยการให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลอิสระ ดังสมการ



เมื่อสารประกอบฟีนอลิกให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลอิสระไปแล้ว อนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกจะค่อนข้างมีความเสถียร เนื่องจากเกิดการเคลื่อนย้ายของอิเล็กตรอนในวงแหวนเบนซีน และทำให้ไม่มีตำแหน่งที่เหมาะสมต่อการเข้าจับของโมเลกุลออกซิเจน (Shahidi and Naczk, 2004) นอกจากนี้อนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกบางชนิดยังคงสามารถรวมตัวกับอนุมูลอิสระอื่นได้อีกด้วย ดังสมการ



โดยความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกนั้นขึ้นอยู่กับตำแหน่ง และหมู่แทนที่บนวงแหวนเบนซีน เช่น การมีหมู่ไฮดรอกซิลลำดับที่ 2 ที่ตำแหน่งออร์โท (Ortho-) และพารา (Para-) ของสารประกอบฟีนอลิก จะไปเพิ่มสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ โดยการแทนที่ตรงตำแหน่งของออร์โท และพารา หมายถึง หมู่แทนที่ทั้งสองหมู่นั้นอยู่ที่ตำแหน่ง 1,2- และ 1,4- ของกันและกันในวงแหวนเบนซีน ตามลำดับ นอกจากนี้การแทนที่ของหมู่

ของหมู่แอลคิลที่ตำแหน่งออร์โท และพาราที่มีผลต่อการเพิ่มสมบัติการต้านอนุมูลอิสระเช่นกัน (Shahidi and Naczki, 2004)

3.6.2 ความคงตัวของสารประกอบฟีนอลิกในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

จะขึ้นอยู่กับปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโมเลกุลสารประกอบฟีนอลิก ดังนี้

3.6.2.1 ค่าพีเอช เนื่องจากหมู่ไฮดรอกซิล ในแต่ละตำแหน่งของสารประกอบฟีนอลิกมีบทบาทต่อสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช จะมีผลให้หมู่ไฮดรอกซิล เกิดการเปลี่ยนแปลง จึงน่าจะมีผลต่อสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกด้วยเช่นกัน (วิวัฒน์ หวังเจริญ, 2545)

3.6.2.2 อุณหภูมิ มีผลต่อการสลายตัวของสารประกอบฟีนอลิก อุณหภูมิสูงในระหว่างการแปรรูปจะมีผลทำให้สารประกอบฟีนอลิกโมเลกุลเล็กๆ ระเหยกลายเป็นไอได้ (วิวัฒน์ หวังเจริญ, 2545) นอกจากนี้อุณหภูมิเก็บรักษามีผลต่อความคงตัวของสารประกอบฟีนอลิกเช่นกัน Chang และคณะ (2006) รายงานว่า การเก็บรักษาเครื่องดื่มจากผล Hawthorn (*Crataegus pinnatifida* var. *major*) ที่อุณหภูมิ 4.0 องศาเซลเซียส ทำให้สารประกอบฟีนอลิกมีความคงตัวสูงกว่าที่อุณหภูมิ 23.0 และ 40.0 องศาเซลเซียส

3.6.2.3 การเกิดออกซิเดชัน สารประกอบฟีนอลิกสามารถถูกออกซิไดส์ได้ โดยอาจเกิดจากออกซิเจน หรือผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการออกซิเดชันของไขมัน โดยเฉพาะไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (Pokorny and Schmidt, 2000)

3.6.2.4 การรวมตัวกับโมเลกุลอื่นๆ สารประกอบฟีนอลิกสามารถเกิดการรวมตัวกับโมเลกุลอื่นๆ เช่น โปรตีน พอลิแซ็กคาไรด์ หรืออัลคาลอยด์ได้ และปฏิกิริยาอาจจะเป็นแบบสามารถผันกลับได้หรือไม่ได้นั้น ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ในขณะที่เกิดปฏิกิริยา เช่น ออกซิเจน ไอออนโลหะ เอนไซม์ และกรด เป็นต้น ซึ่งจะเป็นตัวการทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสมดุลของปฏิกิริยา เช่น ทำให้สารประกอบในภาวะสมดุลรวมตัวกัน และตกตะกอนแยกออกมา หรือเกิดพันธะโควาเลนต์รวมกันเป็นสารใหม่ ทำให้ปฏิกิริยาไม่สามารถผันกลับได้ หากปรากฏการณ์เหล่านี้มีผลทำให้สารประกอบฟีนอลิกมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างไป จะทำให้สารประกอบฟีนอลิกสูญเสียสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระได้ (วิวัฒน์ หวังเจริญ, 2545)

3.7 วิธีการวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

ปัจจุบันได้มีผู้คิดค้นและพัฒนาวิธีการวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระไว้หลายวิธี ซึ่งแต่ละวิธีการมีหลักการที่แตกต่างกันออกไป เช่น การวัดความสามารถในการดักจับอนุมูลเพอร์ออกไซด์ ได้แก่ ORAC และ TRAP การวัดความสามารถในการรีดิวซ์โลหะ ได้แก่ FRAP การวัดความสามารถในการจับอนุมูลอินทรีย์ ได้แก่ ABTS และ DPPH การวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการออกซิเดชันของไขมัน ได้แก่ TBARS เป็นต้น (Pérez-Jiménez and Saura-Calixto, 2006) โดยการวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระที่นิยมใช้ ได้แก่ DPPH, ABTS และ FRAP ซึ่งการวิเคราะห์ดังกล่าวใช้หลักการของการให้อิเล็กตรอนหรืออะตอมของไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระ สามารถใช้ในการวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดจากพืชสมุนไพร รวมถึงกลุ่มของผัก ผลไม้ได้ และค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ดังกล่าวมีความสัมพันธ์กันสูง เนื่องจากมีหลักการที่ใช้วิเคราะห์อยู่บนพื้นฐานเดียวกันดังที่กล่าวไว้ในข้างต้น (Stratil *et al.*, 2006) โดยในงานวิจัยนี้จึงเลือกวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ 3 วิธี ดังนี้

3.7.1 กิจกรรมการจับอนุมูลอิสระ DPPH (DPPH radical scavenging activity)

เป็นวิธีการวัดความสามารถในการรีดิวซ์อนุมูลอิสระ DPPH ของสารที่มีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ทำให้อนุมูลอิสระ DPPH เปลี่ยนแปลงเป็นอนุมูลที่มีความเสถียร ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตรจึงลดลง (Pérez-Jiménez and Saura-Calixto, 2006) โดยในการเกิดปฏิกิริยาระหว่างอนุมูลอิสระ DPPH กับสารที่มีสมบัติต้านอนุมูลอิสระ ไม่มีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงกับความเข้มข้น จึงรายงานค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่วัดได้ในรูป EC_{50} ซึ่งหมายถึง ปริมาณของสารตัวอย่างต่อ 1 มิลลิลิตร (ของสารละลาย DPPH และสารละลายตัวอย่าง) ที่ไปลดความเข้มข้นของอนุมูลอิสระ DPPH ลง 50% จากความเข้มข้นของสารละลาย DPPH เริ่มต้น (Huang *et al.*, 2005) ซึ่งค่า EC_{50} ที่วัดได้ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของอนุมูลอิสระ DPPH (Stratil *et al.*, 2006) ในงานวิจัยนี้วิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากจึงโดยวัดค่า DPPH radical scavenging activity แล้วรายงานค่าที่ได้ในรูปของ EC_{50} โดยใช้ บีเอชที เป็นสารมาตรฐานควบคุมผลเชิงบวก (Positive standard)

3.7.2 กิจกรรมการจับอนุมูลอิสระ ABTS (ABTS radical scavenging activity)

เป็นการศึกษาสมบัติการรีดิวซ์อนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ โดยอนุมูลดังกล่าวเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของ ABTS กับโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต (Potassium persulfate) วิธีนี้เป็นการวัดการลดลงของสีที่เกิดจากอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ ในระบบที่มีสารต้านอนุมูลอิสระ อนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ จะถูกรีดิวซ์และเปลี่ยนเป็นอนุมูล ABTS ที่มีความเสถียร ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ลดลง กำหนดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยเปรียบเทียบกับกราฟ

ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร กับความเข้มข้นของสารมาตรฐานโทรลอกซ์ (Trolox standard) รายงานค่าที่ได้ในรูป สมมูลย์ของโทรลอกซ์ (Huang *et al.*, 2005; Re *et al.*, 1999) ในงานวิจัยนี้วิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากขิง โดยวัดค่า ABTS radical scavenging activity แล้วเปรียบเทียบกับค่าที่ได้กับกราฟมาตรฐานของโทรลอกซ์ รายงานค่าในรูป สมมูลย์ของโทรลอกซ์/น้ำหนักของตัวอย่าง

3.7.3 ความสามารถในการให้อิเล็กตรอน (Ferric reducing antioxidant power, FRAP)

เป็นวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์ของสารที่มีสมบัติต้านอนุมูลอิสระ โดยไม่มีการสร้างอนุมูลอิสระที่เป็นสารอินทรีย์ขึ้นในระบบ แต่จะวัดความสามารถในการรีดิวซ์โลหะ โดยในระบบที่มีพีเอชต่ำ (pH ~3.6) สารประกอบเชิงซ้อนของ Fe^{3+} -TPTZ จะถูกรีดิวซ์ด้วยสารที่มีสมบัติต้านอนุมูลอิสระ ไปอยู่ในรูปเฟอร์รัสไอออน (Fe^{2+}) ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร เพิ่มขึ้น (Benzie and Strain, 1996; Huang *et al.*, 2005) เดิมการคำนวณความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ จะเปรียบเทียบกับกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร กับปริมาณของเฟอร์รัสซัลเฟต (Ferrous sulfate; $FeSO_4$) รายงานค่าที่ได้ในรูป สมมูลย์ของเฟอร์รัสไอออน ต่อมาจึงได้มีการประยุกต์ใช้โทรลอกซ์เป็นสารมาตรฐานเพื่อเปรียบเทียบกับที่วัดได้ ซึ่งความเข้มข้นของโทรลอกซ์มีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงกับค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ และให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงกว่า 2 เท่า เมื่อเทียบกับเฟอร์รัสซัลเฟต นอกจากนี้โทรลอกซ์ยังทำปฏิกิริยารวดเร็วในระบบ และใช้เวลาประมาณ 1-2 นาที ก็จะถึงจุดยุติ (Stratil *et al.*, 2006) Pulido และคณะ (2000) เปรียบเทียบผลของการใช้เฟอร์รัสซัลเฟต และสารที่มีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ เช่น กรดแกลลิก โทรลอกซ์ บีเอชเอ และกรดแอสคอร์บิก เป็นสารมาตรฐานในการวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระโดย FRAP ต่อค่าสมการการถดถอย (Regression equation) และสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficients, r) พบว่า การใช้เฟอร์รัสซัลเฟต และโทรลอกซ์เป็นสารมาตรฐาน ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของสมการถดถอย แม้ว่าจะใช้ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาผ่านไป 4 และ 30 นาที โดยช่วงความเข้มข้นของเฟอร์รัสซัลเฟตที่ให้กราฟความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 100-2,000 ไมโครโมล/ลิตร ซึ่งมีค่า r เท่ากับ 0.9977 ส่วนความเข้มข้นของโทรลอกซ์ที่ให้กราฟความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 50-1,000 ไมโครโมล/ลิตร ซึ่งมีค่า r เท่ากับ 0.9958 ในงานวิจัยนี้วิเคราะห์สมบัติการให้อิเล็กตรอนของสารสกัดหยาบจากขิง โดย Ferric reducing antioxidant power แล้วเปรียบเทียบกับค่าที่ได้กับกราฟมาตรฐานของโทรลอกซ์ รายงานค่าในรูป สมมูลย์ของโทรลอกซ์/น้ำหนักของตัวอย่าง

ในการวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระแต่ละวิธีการค่อนข้างมีความผันแปร ขึ้นอยู่กับสถานะที่เกิดขึ้นในแต่ละปฏิกิริยา สารที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา สารมาตรฐานที่ใช้ในการ

เปรียบเทียบ ปฏิกริยาที่เกิดขึ้นในแต่ละวิธีการวิเคราะห์ ซึ่งอาจทำให้ค่าความสัมพันธ์ที่ได้จากการวิเคราะห์แต่ละวิธีลดลง โดยเฉพาะเมื่อเปรียบเทียบระหว่างปฏิกริยาที่มีกลไกการเกิดแตกต่างกัน อย่างไรก็ตามในการวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารควรมีการเปรียบเทียบวิธีการวิเคราะห์ที่มีความแตกต่างกันอย่างน้อย 2 วิธี หรือมากกว่านั้น และควรมีการเปรียบเทียบแนวโน้มของค่าที่ได้จากการวิเคราะห์จากแต่ละวิธี (Stratil *et al.*, 2006; Schlesier *et al.*, 2002 อ้างโดย Surveswaran *et al.*, 2007)

Pérez-Jiménez และ Saura-Calixto (2006) ศึกษาผลของตัวทำละลายต่อสมบัติการต้านอนุมูลอิสระในระบบของคาเทชิน และกรดแกลลิก อัตราส่วน 1 โมลาร์ : 1 โมลาร์ โดยใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน 5 ชนิด ได้แก่ เมทานอล เมทานอล : น้ำ (อัตราส่วน 50 : 50) เมทานอล : น้ำ (อัตราส่วน 50 : 50 ซึ่งปรับพีเอชเท่ากับ 2) เมทานอล : น้ำ (อัตราส่วน 30 : 70) น้ำ และอะซิโตน : น้ำ (อัตราส่วน 50 : 50) วิเคราะห์สมบัติการจับอนุมูลอิสระ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็กตรอน (FRAP) รายงานค่าในรูปแบบ ไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์/กรัม และสมบัติการจับอนุมูลอิสระ DPPH รายงานค่าในรูปแบบ EC_{50} พบว่า ในระบบที่มีเมทานอล และน้ำ อัตราส่วน 50 : 50 มีสมบัติการจับอนุมูลอิสระ ABTS น้อยกว่าถึง 40.00% เมื่อเปรียบเทียบกับระบบที่มีน้ำเป็นตัวทำละลาย แสดงให้เห็นว่า เมื่อตัวทำละลายมีความเป็นขั้วเพิ่มสูงขึ้น สมบัติการต้านอนุมูลอิสระที่วัดได้จะมีค่าเพิ่มขึ้น ส่วนระบบที่มีเมทานอล และน้ำ อัตราส่วน 30 : 70 มีความสามารถในการให้อิเล็กตรอนสูงที่สุด เท่ากับ 14,622.70 ไมโครโมลโทรลอกซ์/กรัม ตัวอย่าง ในขณะที่การวิเคราะห์สมบัติการจับอนุมูลอิสระ DPPH พบว่า ตัวทำละลายมีผลต่อสมบัติการต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการวิเคราะห์สมบัติการจับอนุมูลอิสระ ABTS และการวิเคราะห์ความสามารถในการให้อิเล็กตรอน และยังพบว่าการใช้ น้ำเป็นตัวทำละลายทำให้มีสมบัติการจับอนุมูลอิสระ DPPH สูงที่สุด โดยมีค่า EC_{50} เท่ากับ 0.08 กรัม/กรัม ของ DPPH

Maisuthisakul และคณะ (2007) เปรียบเทียบสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของผักตบชวี (*Cratoxylum formosum* Dyer) และสารมาตรฐาน ได้แก่ กรดคลอโรจีนิก แอลฟา-โทโคเฟอรอล และบีเอชเอ วิเคราะห์สมบัติการจับอนุมูลอิสระ DPPH รายงานค่าที่วัดได้ในรูป EC_{50} และการจับอนุมูลอิสระ ABTS รายงานค่าที่วัดได้ในรูป สมมูลย์ของโทรลอกซ์/กรัม ตัวอย่าง พบว่า กรดคลอโรจีนิก มีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด โดยสมบัติการจับอนุมูลอิสระ DPPH มีค่า EC_{50} เท่ากับ 6.26 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สมบัติการจับอนุมูลอิสระ ABTS มีค่าเท่ากับ 3.06 มิลลิโมลโทรลอกซ์/กรัมตัวอย่าง ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของการวิเคราะห์ทั้ง 2 วิธี พบว่า มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.76

Surveswaran และคณะ (2007) เปรียบเทียบสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของพืช 133 ชนิด ซึ่งทำการสกัดด้วย 80.0% เมทานอล วิเคราะห์สมบัติการจับอนุมูลอิสระ DPPH, ABTS และความสามารถในการให้อิเล็กตรอน พบว่า สมบัติการจับอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ของพืช 133 ชนิด มีค่าอยู่ในช่วง 0.00 - 679.69 และ 0.16 - 500.70 มิลลิโมลโทรลออกซ์/100 กรัมตัวอย่าง ตามลำดับ ส่วนความสามารถในการให้อิเล็กตรอน มีค่าอยู่ในช่วง 0.16 - 124.05 ไมโครโมลโทรลออกซ์/กรัมตัวอย่าง โดยตัวอย่างจึงมีสมบัติการจับอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS เท่ากับ 6.71 และ 10.26 มิลลิโมลโทรลออกซ์/100 กรัมตัวอย่าง ตามลำดับ และความสามารถในการให้อิเล็กตรอน เท่ากับ 1.76 ไมโครโมลโทรลออกซ์ /กรัมตัวอย่าง เมื่อเปรียบเทียบค่าที่ได้จากการวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระทั้ง 3 วิธี โดยรายงานในรูปค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) และค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Coefficients of determination, r^2) พบว่า ความสัมพันธ์ของสมบัติการจับอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS มีค่า r และ r^2 เท่ากับ 0.9734 และ 0.9866 ตามลำดับ ความสัมพันธ์ของสมบัติการจับอนุมูลอิสระ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็กตรอน มีค่า r และ r^2 เท่ากับ 0.9618 และ 0.8535 ตามลำดับ ส่วนความสัมพันธ์ของสมบัติการจับอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการให้อิเล็กตรอน มีค่า r และ r^2 เท่ากับ 0.8810 และ 0.7762 ตามลำดับ

4. การยับยั้งจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยและสารประกอบฟีนอลิก

4.1 โครงสร้างผนังเซลล์และเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียและเชื้อรา

ผนังเซลล์ของแบคทีเรีย เรียกว่า เซลล์เอนเวโลป (Cell envelope) ประกอบด้วยโครงสร้าง 2 ส่วน คือ ผนังเซลล์ที่อยู่ชั้นนอกสุด และเซลล์เมมเบรน (Cell membrane) อยู่ถัดมา ผนังเซลล์ของแบคทีเรียเป็นโครงสร้างที่แข็งแรง โดยมีชั้นของเพปทิโดไกลแคน (Peptidoglycan) ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ (Polymer) ของกรดเอ็นอะเซทิลกลูโคซามีน (N-acetylglucosamine) และกรดเอ็นอะเซทิลมิวรามิก (N-acetylmuramic) ที่สลับโมเลกุลกันเป็นส่วนแกน และมีตัวเชื่อมกับ โมเลกุลเป็นเททราเพปไทด์ (Tetrapeptide) และเพนตาไกลซีน (Pentaglycine) จากโครงสร้างของผนังเซลล์ที่แตกต่างกันทำให้สามารถแบ่งแบคทีเรียออกเป็น 2 กลุ่ม

1. แบคทีเรียแกรมบวก (Gram-positive bacteria) มีชั้นของเพปทิโดไกลแคน เพียงชั้นเดียวซึ่งมีความหนาประมาณ 15.0-80.0 นาโนเมตร มีกรดไตรโคอิก (Trichoic acid) และกรดไทคูโรนิก (Teichuronic acid)

2. แบคทีเรียแกรมลบ (Gram-negative bacteria) มีโครงสร้างของผนังเซลล์ที่สลับซับซ้อนประกอบด้วยชั้นของเพปทิโดไกลแคน อยู่ชั้นในสุด หนาประมาณ 2.0 นาโนเมตร และหุ้มด้วยชั้นของลิพอลิแซ็กคาไรด์ (Lipopolysaccharide) และลิโปโปรตีน (Lipoprotein)

สำหรับเยื่อหุ้มเซลล์ (Cell membrane หรือ Cytoplasmic membrane) ประกอบด้วยสารพวกฟอสโฟลิปิด 40.0% และโปรตีน 60.0% เป็นผนังบางหุ้มไซโทพลาซึม (Cytoplasm) ของเซลล์ ทำหน้าที่ควบคุมสารละลายเข้าสู่เซลล์โดยใช้เอนไซม์เพอร์มิเอส (Permease enzyme) ภายในเยื่อหุ้มเซลล์ มีระบบการส่งผ่านอิเล็กตรอนแบบใช้ออกซิเจนหรือออกซิเดทีฟฟอสโฟริเลชัน (Oxidative phosphorylation) สำหรับสร้างพลังงานสูงอะดีโนซีนไตรฟอสเฟต (Adenosine triphosphate; ATP) (ศุภยงค์ วรวิฑูคุณชัย, 2547) โดยโครงสร้างผนังเซลล์และเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียดังแสดงใน Figure 6

ส่วนเชื้อราที่มีทั้งชนิดที่เป็นเซลล์เดี่ยว และที่เป็นหลายเซลล์เรียงเป็นเส้นใย (Hypha) กลุ่มของเส้นใยเรียกว่า ไมซีเลียม (Mycelium) เส้นใยทั่วไปมีความกว้าง 5.0-10.0 ไมโครเมตร เส้นใยประกอบด้วยผนังเซลล์ เยื่อหุ้มเซลล์ และช่องว่างภายในที่บรรจุโปรโทพลาซึม (Protoplasm) เยื่อหุ้มเป็นเยื่อสองชั้น ประกอบด้วยฟอสโฟลิปิด และโปรตีน โดยจะล้อมรอบโปรโทพลาซึม ส่วนผนังเซลล์ประกอบด้วยเฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose) หรือไคติน (Chitin) ส่วนในราชั้นต่ำผนังเซลล์ประกอบด้วยเซลลูโลส (Cellulose) (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ, 2541)

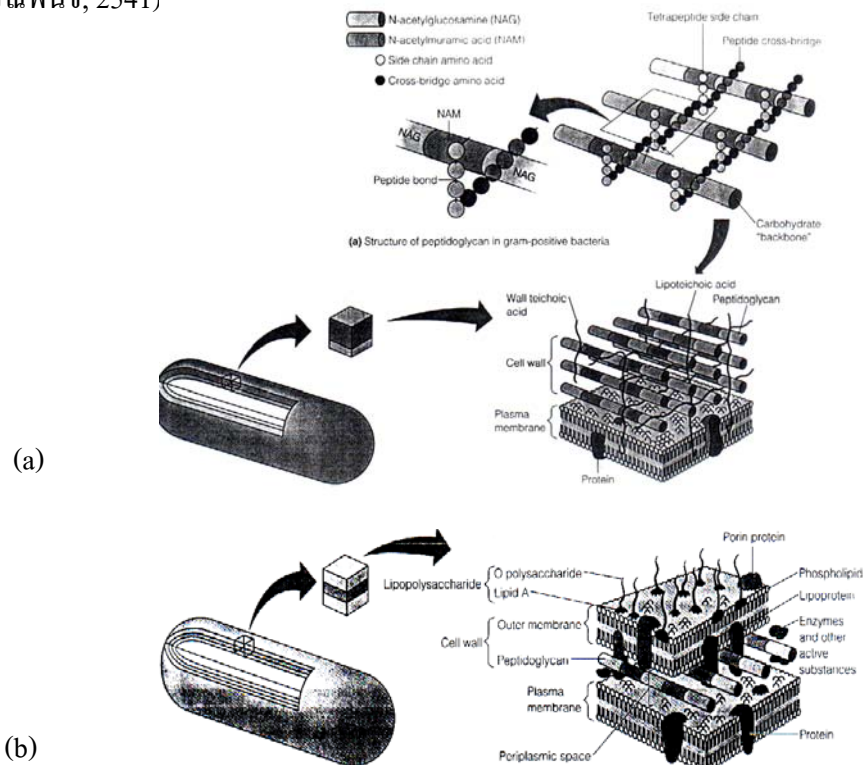


Figure 6. The structure of bacterial cell wall and cell membrane (a) Gram-positive cell wall
Gram-negative cell wall

ที่มา : Tortora และคณะ (1997)

4.2 กลไกการยับยั้งจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยและสารประกอบฟีนอลิก

สารสำคัญในพืชสมุนไพรนอกจากจะมีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระแล้ว ยังพบว่าสารบางชนิดมีสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์อีกด้วย สารสำคัญดังกล่าวอาจอยู่ในน้ำมันหอมระเหย ซึ่งสามารถสกัดได้โดยกระบวนการกลั่น หรืออาจอยู่ในน้ำมันชั้น ซึ่งประกอบไปด้วยส่วนที่ระเหยและส่วนที่ไม่ระเหย น้ำมันชั้นสามารถสกัดได้โดยใช้ตัวทำละลาย (Ceylan and Fung, 2004) โดยสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์จะแตกต่างกันไปตามชนิด และสายพันธุ์ของพืช และองค์ประกอบทางเคมีในสารสกัด เป็นต้น (Ceylan and Fung, 2004, Sacchetti *et al.*, 2005)

เนื่องจากน้ำมันหอมระเหย มีองค์ประกอบทางเคมีด้วยกันหลายชนิด ทำให้กลไกการยับยั้งจุลินทรีย์ไม่ได้มีความจำเพาะไปที่กลไกใดเพียงกลไกเดียว แต่องค์ประกอบดังกล่าวจะมีผลต่อเซลล์เป้าหมายได้หลายส่วน (Burt, 2004; Bakkali *et al.*, 2008) โดยกลไกการยับยั้งจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยมีดังนี้

4.2.1 การทำลายผนังเซลล์

โดยสารประกอบฟีนอลิกสามารถเข้าไปทำลายโครงสร้างของเพปทิโดไกลแคนในส่วนของพันธะเปปไทด์สายสั้นๆ โดยหมู่ไฮดรอกซิลของฟีนอลิกจะจับกับกรดอะมิโนเกิดแรงยึดเหนี่ยวระหว่างกัน ทำให้โครงสร้างของเพปทิโดไกลแคนขาดออกจากกัน เกิดช่องว่างที่ผนังเซลล์ ทำให้เกิดการไหลออกของของเหลวหรือองค์ประกอบภายในเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียได้ (กฤติกา นรจิตร, 2548)

4.2.2 รบกวนหน้าที่ของเยื่อหุ้มเซลล์

องค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยที่มีส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic) จะไปละลายอยู่กับชั้นไขมัน (Phospholipid bilayer) ของเยื่อหุ้มเซลล์ (Cell membrane) ส่งผลให้โครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์เสียรูปร่าง ทำให้เกิดการรั่วไหลของไอออน และสารประกอบภายในเซลล์ จนเซลล์ตายไปในที่สุด (Burt, 2004; Bakkali *et al.*, 2008) นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิกสามารถเกิดอันตรกิริยากับเยื่อหุ้มเซลล์ เป็นผลให้เกิดการรั่วไหลขององค์ประกอบภายในเซลล์ได้เช่นกัน

4.2.3 ขัดขวางการทำงานของเอนไซม์

โดยสารประกอบฟีนอลิก หรือองค์ประกอบอื่นในน้ำมันหอมระเหยที่มีหมู่ไฮดรอกซิล จะมีผลต่อการยับยั้งแบคทีเรีย โดยหมู่ไฮดรอกซิลจะไปจับกับบริเวณเร่ง (Active site) ของเอนไซม์ จึงทำให้เอนไซม์ไม่สามารถทำงานได้ตามปกติ ส่งผลต่อกระบวนการเมตาบอลิซึม และการสังเคราะห์องค์ประกอบของเซลล์แบคทีเรีย (Ceylan and Fung, 2004; Burt, 2004)

5. ฤทธิ์ทางชีวภาพของขิงหรือสารสกัดจากขิง

สารสำคัญจากขิงนับว่ามีประโยชน์ในทางการแพทย์ และเภสัชกรรมอย่างมาก ขิงทั้งในรูปขิงสด ขิงแห้ง และสารสกัดจากขิงมีฤทธิ์ในการขับลม ช่วยย่อยอาหาร บำบัดอาการท้องอืดท้องเฟ้อ ลดอาการอักเสบ และอาการปวด ลดระดับความดันเลือด ขับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ต้านเซลล์มะเร็ง และสมบัตินำขนานอนุมูลอิสระ เป็นต้น (Zancan *et al.*, 2002; Zaeoung, 2004; Chrubasik *et al.*, 2005) โดยแบ่งฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสำคัญจากขิง ดังนี้

5.1 สมบัติทางการแพทย์และเภสัชกรรม ขิงมีฤทธิ์ในการบำบัดอาการของโรคหลายชนิด เช่น

5.1.1 การต้านการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด โดยมีรายงานว่า สารสกัดจากขิงที่ได้จากการสกัดขิงด้วยน้ำ มีความสามารถในการต้านการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด โดยจะไปยับยั้งการสร้าง thromboxane-B₂ (Thromboxane-B₂; TBX₂) และพรอสตาแกลนดิน-E₂ (Prostaglandins-E₂; PGE₂) Thomson และคณะ (2002) รายงานว่า การรับประทานขิงในระดับ 500.0 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว สามารถลดระดับ TBX₂ และ PGE₂ ในหนูทดลองได้อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

5.1.2 การลดอาการอักเสบและอาการปวด โดยจินเจอร์ออลมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไซโคลออกซีจีเนส (Cyclooxygenase) และ 5-ลิพอกซีจีเนส (5-lipoxygenase) จึงยับยั้งการสังเคราะห์พรอสตาแกลนดิน (Prostaglandin) และลิวโคโทรอิน (Leukotrienes) โดยพรอสตาแกลนดินเป็นสาเหตุของการปวดและบวม ส่วนลิวโคโทรอินเป็นสาเหตุของการอักเสบ (รัตน อินทรานุปรกรณ์, 2550)

5.1.3 การลดระดับน้ำตาลและไขมันในเลือด Kadnur และ Goyal (2005 อ้างโดย Ali *et al.*, 2008) รายงานว่า สารสกัดจากขิงด้วยเมทานอลมีผลต่อการลดระดับไขมัน น้ำหนักตัว ภาวะระดับน้ำตาลในเลือดสูง (Hyperglucemia) และภาวะระดับอินซูลินสูง (Hyperinsulinemia) ในหนูทดลองได้อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) นอกจากนี้ Al-Amin และคณะ (2006 อ้างโดย Ali *et al.*, 2008) รายงานว่า การฉีดสารสกัดจากขิงด้วยใน ระดับ 500.0 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว เข้าบริเวณช่องท้อง (Intraperitoneally) ในหนูที่มีภาวะเบาหวาน พบว่า มีผลต่อการลดระดับกลูโคส คอเลสเตอรอล (Cholesterol) และไตรเอซิลกลีเซอรอล (Triacylglycerol)

5.1.4 การยับยั้งอาการคลื่นไส้ อาเจียน Sharma และ Kochupillai (1997) รายงานว่า สารสกัดจากขิงที่ได้จากการสกัดขิงด้วยอะซิโตน หรือ 50.0%เอทานอล ที่ระดับ 25.0, 50.0, 100.0 และ 200.0 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว มีผลต่อการยับยั้งอาการอาเจียนที่เกิดจาก ซิสพลาติน (Cisplatin) ในสุนัขได้ โดยที่ระดับ 200.0 มิลลิกรัม/กิโลกรัม จะมีผลในการยับยั้งสูงสุด แต่เมื่อใช้สารสกัดจากขิงด้วยน้ำจะไม่มีผลต่อการยับยั้ง นอกจากนี้มีรายงานว่า การใช้ขิงผงหรือสารสกัดจากขิงในปริมาณ 0.5 หรือ 1.0 กรัม มีผลต่อการยับยั้งอาการคลื่นไส้ และ/หรืออาเจียนในหญิงตั้งครรภ์

ได้ (Chrubasik *et al.*, 2005) Abdel-Aziz และคณะ (2006) รายงานว่า สารสำคัญในขิงที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการอักเสบ ได้แก่ [6]-, [8]- และ [10]-gingerol และ [6]-, [8]- และ [10]-shogaol

5.2 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

สารสำคัญในน้ำมันชั้นที่เป็นสารให้ความเผ็ดในขิง ได้แก่ จินเจอร์อล โชกาออล และซิงเจอโรน มีลักษณะโครงสร้างเป็นสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งมีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ โดยหมู่ไฮดรอกซิล ที่ตำแหน่ง 4 hydroxy-3-methoxyphenly เป็นตัวให้อะตอมของไฮโดรเจน หรืออิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน เป็นผลทำให้ปฏิกิริยาหยุดชะงัก ทั้งนี้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากขิงขึ้นอยู่กับโครงสร้างของสารประกอบ ได้แก่ โครงสร้างของโซ่ข้าง และหมู่แทนที่บนวงแหวนเบนซีน (Kikuzaki and Nakatani, 1993; Surh *et al.*, 1998) Suhaj (2006) ได้รายงานชนิด และปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระที่พบในเหง้าขิง ดังแสดงใน Table 11

Table 11. Antioxidant active chemicals isolated from ginger rhizome

Antioxidants	Quantity (ppm)	Antioxidants	Quantity (ppm)
[6]-gingerol	130.0-7138.0	Lauric acid	390.0-3630.0
[6]-shogaol	40.0-330.0	Methionine	130.0-737.0
Alanine	310.0-1793.0	Myrcene	2.0-950.0
Ascorbic acid	0.0-317.0	Myristic acid	180.0-1650.0
β -carotene	0.0-4.0	<i>p</i> -coumaric acid	0.0-19.0
Camphene	28.0-6300.0	Palmitic acid	1200.0-11220.0
γ -terpinene	0.4-25.0	Selenium	10.0

ที่มา : คัดแปลงจาก Suhaj (2006)

Kaur และ Kapoor (2002) ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในขิงโดยการสกัดขิงด้วย 80.0% เอทานอล และวิเคราะห์ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu และวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระจากขิงโดยการสกัดขิงด้วยน้ำ หรือ 80.0% เอทานอล ในระบบ β -carotene-linoleic acid emulsion และรายงานค่าในรูปแบบ %inhibition พบว่า ขิงมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก เท่ากับ 221.30 ± 9.40 มิลลิกรัม catechol /100 กรัม น้ำหนักสด เมื่อวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

พบว่า การสกัดด้วยเอทานอลจะให้ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าการสกัดด้วยน้ำ โดยค่า %inhibition สารที่สกัดด้วยเอทานอล และน้ำ เท่ากับ 71.80% และ 65.00% ตามลำดับ

Stoilova และคณะ (2006) ศึกษาสมบัติของสารสกัดจากขิงที่สกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ความดันสูง จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก โดยวิธี Folin-Ciocalteu และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ สมบัติการจับอนุมูลอิสระ DPPH รายงานค่าในรูปแบบ IC_{50} (Inhibition concentration, ความเข้มข้นของสารที่มีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลได้ 50%) สมบัติการต้านอนุมูลอิสระในระบบ Linoleic acid emulsion ที่อุณหภูมิ 37.0 และ 80.0 องศาเซลเซียส รายงานค่าในรูปแบบของ %reduction of peroxidation (%RP) ของการเกิด Conjugated dienes และ Thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) และการยับยั้งอนุมูลไฮดรอกซิล ในระบบ Deoxyribose ที่อุณหภูมิ 37.0 และ 80.0 องศาเซลเซียส รายงานค่าในรูปแบบ %inhibition พบว่า สารสกัดขิงมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 870.10 มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง เมื่อทดสอบสมบัติการจับอนุมูลอิสระ DPPH พบว่า มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.64 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งมีความสามารถในการจับอนุมูลอิสระสูงกว่าเมื่อเทียบกับ บีเอชที ที่มีค่า IC_{50} เท่ากับ 7.02 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เมื่อวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระในระบบ Linoleic acid emulsion พบว่า สารสกัดขิงมีค่า %RP ของ การเกิด Conjugated dienes ที่อุณหภูมิ 37.0 และ 80.0 องศาเซลเซียส เท่ากับ 71.60 และ 65.70% และมีค่า %RP ของ TBARS ที่อุณหภูมิ 37.0 และ 80.0 องศาเซลเซียส เท่ากับ 73.20 และ 68.20% ตามลำดับ และการยับยั้งอนุมูลไฮดรอกซิลในระบบ Deoxyribose ที่อุณหภูมิ 37.0 และ 80.0 องศาเซลเซียส เท่ากับ 79.60 และ 74.80% ตามลำดับ

Bandyopadhyay และคณะ (2008) ศึกษาผลของการเติมสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ ได้แก่ บีเอชเอ บีเอชที และทีบีเอชคิว และพีชสมุนไพรร ได้แก่ บีท (*Beta vulgaris*) ใบมินท์ (*Mentha spicata* L.) และขิง (*Zingiber officinale* L.) ลงในผลิตภัณฑ์ Sandesh (โปรตีนนมที่ผ่านการตกตะกอนด้วยกรด แล้วนำไปนวดผสมกับส่วนผสม จากนั้นผ่านการให้ความร้อน จึงขึ้นรูปเป็นลูกบาศก์ขนาด 2 ลูกบาศก์เซนติเมตร) โดยแบ่งออกเป็น 9 ชุดการทดลอง ได้แก่ ชุดควบคุม ชุดที่เติม ทีบีเอชคิว (0.02%) ชุดที่เติม บีเอชเอ ร่วมกับ บีเอชที (0.02%) ชุดที่เติมบีท (10.00%) ชุดที่เติมใบมินท์ (10.00%) ชุดที่เติมขิง (10.00%) ชุดที่เติมบีทร่วมกับใบมินท์ (ชนิดละ 5.00%) ชุดที่เติมบีทร่วมกับขิง (ชนิดละ 5.00%) และชุดที่เติมใบมินท์ร่วมกับขิง (ชนิดละ 5.00%) ศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระในระบบ β -carotene-linoleic acid emulsion รายงานค่าในรูปแบบ %inhibition และวิเคราะห์ค่าเปอร์ออกไซด์ ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 63.0 องศาเซลเซียส เพื่อเร่งให้เกิดการออกซิเดชัน พบว่า การเติมทีบีเอชคิว ใน Sandesh ให้สมบัติการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด เท่ากับ 91.21% ส่วนการเติมขิง และ บีเอชเอ ร่วมกับ บีเอชที มีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระเท่ากัน เท่ากับ

90.91% เมื่อวิเคราะห์ค่าเพอร์ออกไซด์ เป็นระยะเวลา 8 วัน พบว่า ในวันที่ 8 หูดควบคุมมีค่าเพอร์ออกไซด์แตกต่างจากหูดการทดลองที่เติมสารต้านอนุมูลอิสระ อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ขณะที่หูดการทดลองที่มีการเติมทีบีเอชคิว มินท์ (10%) และจิง (10%) มีค่าเพอร์ออกไซด์ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$)

5.3 สมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์

กฤติกา นรจิตร (2548) ศึกษาผลของวิธีการสกัดสารสกัดจากขิงต่อองค์ประกอบทางเคมี และสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ โดยสกัดขิงด้วยวิธีการกลั่นด้วยน้ำ การสกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ และการสกัดด้วยเอทานอล เมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีโดยใช้ GC-MS รายงานค่าในรูป %relative peak area พบว่า น้ำมันหอมระเหยที่ได้จากการกลั่นด้วยน้ำ และสารสกัดจากขิงที่ได้การสกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ และการสกัดด้วยเอทานอล มีชิงจิเบอร์รีนเป็นองค์ประกอบหลักเท่ากับ 30.70, 51.40 และ 41.50% ตามลำดับ น้ำมันหอมระเหยที่ได้จากการกลั่นมีปริมาณเจอราเนียล (Geranial) สูงที่สุด เท่ากับ 15.10% ในขณะที่สารสกัดด้วยเอทานอล มีปริมาณเท่ากับ 0.60% แต่ไม่พบสารดังกล่าวในการสกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ นอกจากนี้จะพบ คาร์ลมินด์ (Calminol) เฉพาะน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากการกลั่น และสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ โดยมีปริมาณเท่ากับ 1.40 และ 3.30% ตามลำดับ แต่พบ ซิโตรเนลลอล (Citronellol) กับลินาลูล แอซีเตต (Linalool acetate) จากการกลั่นเท่านั้น เมื่อศึกษาสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ ได้แก่ *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* และ *Staphylococcus aureus* ทดสอบโดยวิธี Disc diffusion ใช้สารสกัดความเข้มข้น 3 มิลลิกรัม/ดิสก์ พบว่า สารสกัดด้วยการกลั่นมีสมบัติในการยับยั้งเชื้อได้สูงที่สุด โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางวงใส ของ *B. cereus*, *L. monocytogenes* และ *S. aureus* เท่ากับ 19.67, 21.67 และ 15.00 มิลลิเมตร ตามลำดับ สารสกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ และสารสกัดด้วยเอทานอล มีเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสของ *B. cereus*, *L. monocytogenes* และ *S. aureus* เท่ากับ 11.67, 10.33, 10.33 และ 9.67, 10.33, 9.33 มิลลิเมตร ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามพบว่าไม่มีสารสกัดตัวอย่างใดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้ และเมื่อทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหย (Minimum inhibition concentration; MIC) ต่อการยับยั้งเชื้อ *B. cereus*, *L. monocytogenes* และ *S. aureus* ของน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากการกลั่น พบว่า มีค่าเท่ากับ 0.19, 0.19 และ 0.38 มิลลิกรัม/ดิสก์ ตามลำดับ

จันทร์เพ็ญ มะลิพันธ์ (2549) ศึกษาผลของกระบวนการแปรรูปขิงต่อสมบัติการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli* โดยใช้ จิงอ่อนและจิงแก่ที่ปอกและไม่ปอกเปลือก ขิงคอง และจิงผง นำมาสกัดด้วย 95.0% เอทานอล ทดสอบสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์โดยวิธี Agar well diffusion โดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัด เท่ากับ 200.00, 100.00, 50.00, 25.00, 12.50 และ 6.25 มิลลิกรัม/

มิลลิลิตร พบว่า สารสกัดจากชิงศดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อได้ทั้งสองชนิด แต่จะสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ดีกว่า *E. coli* สำหรับประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* นั้น จิงอ่อนที่ไม่ปอกเปลือก จะยับยั้งเชื้อที่ความเข้มข้น 25.00 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร แต่เมื่อปอกเปลือก จะต้องใช้ความเข้มข้นที่สูงขึ้น เท่ากับ 50.00 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ส่วนจิงแก่ที่ปอกและไม่ปอกเปลือก จะยับยั้งเชื้อที่ความเข้มข้นระดับเดียวกัน คือ 25.00 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เมื่อนำจิงอ่อนมาแปรรูปเป็นจิงดอง พบว่า มีสมบัติในการยับยั้งเชื้อลดลง โดยต้องเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดไปจนถึง 200.00 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร แต่เมื่อนำจิงแก่ ไปแปรรูปเป็นจิงผง จะมีสมบัติในการยับยั้งเชื้อสูงขึ้น โดยสารสกัดจากจิงผงสามารถยับยั้งเชื้อได้ที่ความเข้มข้น 12.50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สำหรับประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *E. coli* นั้น พบว่า จิงอ่อนไม่ปอกเปลือกจะยับยั้งเชื้อที่ความเข้มข้น 100.00 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร แต่เมื่อปอกเปลือก จะต้องใช้ความเข้มข้นที่สูงขึ้น เท่ากับ 200.00 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในขณะที่จิงแก่ที่ปอกและไม่ปอกเปลือก จะยับยั้งเชื้อที่ความเข้มข้นระดับเดียวกัน คือ 100.00 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จิงอ่อนเมื่อแปรรูปเป็นจิงดอง ไม่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อ *E. coli* แต่จิงแก่เมื่อแปรรูปเป็นจิงผง จะยับยั้งเชื้อที่ความเข้มข้น 100.00 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

Martins และคณะ (2001) ศึกษาสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยจากจิงที่สกัดโดยการกลั่นด้วยน้ำ ทดสอบโดยวิธี Disc diffusion ใช้ น้ำมันหอมระเหยปริมาณ 15.0 ไมโครลิตร/ดิสก์ พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากจิงสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E. coli*, *S. aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus faecalis*, *Proteus vulgaris* เชื้อยีสต์ *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* และเชื้อรา *Cladosporium cladosporioides*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus* โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางวงใส เท่ากับ 15.00, 18.00, 20.20, 12.00, 36.30, 33.00, 32.30, 32.70, 16.70 และ 38.00 มิลลิเมตร ตามลำดับ

Stoyanova และคณะ (2005) เปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมี และสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากจิงที่สกัดโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ความดันสูง ที่อุณหภูมิ 12.0-14.0 องศาเซลเซียส และความดัน 4.6-5.0 บาร์ กับการสกัดด้วย 1, 1, 1, 2- เททระฟลูออโรอีเทน (1, 1, 1, 2-Tetrafluoroethane; $C_2H_2F_4$) ความดันสูง ที่อุณหภูมิ 13.0-14.0 องศาเซลเซียส และความดัน 3.4 บาร์ เมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี โดยใช้ GC-MS รายงานค่าในรูป %relative peak area พบว่า สารสกัดที่ได้จากการสกัดโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ความดันสูง และ 1, 1, 1, 2-Tetrafluoroethane ความดันสูง มีองค์ประกอบของ แอลฟา-ซิงจิเบอร์ิน เท่ากับ 36.90 และ 42.10% เซสควิฟีนแลนดรีน (Sesquiphellandrene) เท่ากับ 15.30 และ 14.10% เบตา-ไบซาโบลีน (β -Bisabolene) เท่ากับ 8.80 และ 11.30% ตามลำดับ เมื่อทดสอบสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ โดยวิธี Disc diffusion โดยใช้สารสกัดปริมาณ 6.00 ไมโครลิตร/ดิสก์ พบว่า สารสกัดจากการสกัดโดยใช้

คาร์บอนไดออกไซด์ความดันสูง และ 1, 1, 1, 2- เททระฟลูออโรอีเทน ความดันสูง มีสมบัติในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus*, *Enterococcus faecalis* และ *C. albicans* แต่สารสกัดดังกล่าวไม่มีสมบัติในการยับยั้งเชื้อ *E. coli*, *P. vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *Salmonella sp.* นอกจากนี้การสกัดด้วย 1, 1, 1, 2-เททระฟลูออโรอีเทน ความดันสูง สามารถยับยั้งเชื้อ *Klebsiella pneumoniae*

6. ไอศกรีม

6.1 ความหมายของไอศกรีม

ไอศกรีม คือ ของผสมแข็งเยือกแข็งที่ประกอบด้วย นม สารให้ความหวาน สารให้ความคงตัว (Stabilizer) อิมัลซิไฟเออร์ (Emulsifier) และอาจเติมส่วนผสมอื่นๆ เช่น ผลិតภัณฑ์จากไข่ สี และสตาร์ชไฮโดรไลเสท (Starch hydrolysate) ของผสมนี้เรียกว่า มิกซ์ (Mix) ซึ่งถูกนำไปผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรซ์ (Pasteurization) และโฮโมจิไนซ์ (Homogenization) ก่อนนำไปแช่แข็ง ซึ่งเป็นการดึงความร้อนออกอย่างรวดเร็ว และมีการกวนเพื่อตีอากาศเข้าเนื้อผลิตภัณฑ์ ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความเรียบเนียน ความนุ่ม ตามต้องการ (Marshall and Arbuckle, 1996)

โครงสร้างทางกายภาพของไอศกรีม เป็นระบบที่มีความซับซ้อนโดย ฟองอากาศและผลิกน้ำแข็งกระจายตัวอยู่ในของเหลวที่ไม่แข็งตัว ฟองอากาศมีเม็ดไขมันล้อมรอบ ทำให้ฟองอากาศคงตัว ในส่วนของเหลวที่ไม่แข็งตัวประกอบด้วย เม็ดไขมันที่ไม่แข็งตัว โปรตีน นมเกลือ ผลึกของแลคโตส สารให้ความคงตัว และน้ำตาล เป็นต้น การที่ไอศกรีมประกอบด้วยส่วนที่เป็นของเหลว ของแข็ง และอากาศ จึงอาจกล่าวได้ว่าไอศกรีมมีลักษณะเป็นระบบ 3 เฟส (Three-phase system) (วรรณมา ตั้งเจริญชัย และวิบูลย์ศักดิ์ กาวิละ, 2531)

6.2 องค์ประกอบของไอศกรีม

องค์ประกอบที่ใช้ในการผลิตไอศกรีม แบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนที่เป็นนมและผลิตภัณฑ์นม ได้แก่ นม ครีม นมผงขาดมันเนย และนมระเหยต่างๆ เป็นต้น และส่วนที่ไม่ใช่ผลิตภัณฑ์นม ได้แก่ น้ำตาล สารให้ความคงตัว อิมัลซิไฟเออร์ สารให้กลิ่นรส และสี เป็นต้น ส่วนผสมของไอศกรีมแตกต่างกันไปในแต่ละท้องถิ่น โดยปริมาณของส่วนผสมต่างๆ ดังแสดงใน Table 12

Table 12. A typical compositional range for the components used in ice cream mix formulations

Component	Range (%)
Milk fat	10.0-16.0
Milk solid not fat; MSNF	9.0-12.0
Sucrose	9.0-12.0
Corn syrup solids	4.0-6.0
Stabilizers/Emulsifiers	0.0-0.5
Water	55.0-64.0

ที่มา : Goff (1997)

6.3 บทบาทขององค์ประกอบในไอศกรีม

6.3.1 ไขมัน (Fat)

ไขมัน เป็นส่วนผสมสำคัญที่ใช้จำแนกประเภทของไอศกรีม ซึ่งในสูตรไอศกรีมทั่วไปจะมีไขมันระหว่าง 8.00-20.00% แต่ไอศกรีมทางการค้าทั่วไปจะมีไขมันประมาณ 10.00-12.00% ไขมันได้จาก นมสด ครีม มันเนย นมผง หรือนมข้น รวมทั้งอาจใช้ไขมันพืช เช่น น้ำมันมะพร้าว น้ำมันปาล์ม เป็นต้น ไขมันทำหน้าที่ให้ความรู้สึกเป็นครีม ให้รสชาติ และความมัน (Richness) ช่วยปรับปรุงเนื้อสัมผัส มีเนื้อสัมผัสเรียบเนียน การละลายช้าลง และไขมันยังเป็นตัวพากลิ่นรส ทำให้ไอศกรีมมีกลิ่นรสดี แต่การใช้ไขมันปริมาณมากเกินไปจะทำให้ไอศกรีมมีความมันมากเกินไป ให้พลังงานสูง และขัดขวางการขึ้นฟู (Overrun) ของไอศกรีม (Arbuckle, 1986)

Roland และคณะ (1999) ศึกษาผลของระดับไขมันนมที่แตกต่างกัน ได้แก่ 0.10, 3.00, 7.00 และ 10.00% ในไอศกรีมต่อความแน่นแข็ง (Hardness) อัตราการละลาย และการประเมินคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส โดยผู้บริโภคร่วม โดยการวิเคราะห์ประเภทพรรณนาเชิงปริมาณ (Quantitative descriptive analysis) พบว่า ไอศกรีมที่มีไขมันนม 0.10, 3.00 และ 7.00% มีค่าความแน่นแข็ง และอัตราการละลายไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) แต่ที่ระดับดังกล่าวมีความแตกต่างจากไอศกรีมที่มีไขมันนม 10.00% ซึ่งการเพิ่มปริมาณไขมันทำให้ความแน่นแข็งมีค่าลดลง โดยเมื่อเพิ่มปริมาณไขมันนมจาก 0.10% ไปเป็น 10.00% จะทำให้ ค่าความแน่นแข็งลดลง ประมาณ 40.30% ในขณะที่ไอศกรีมที่มีไขมันนม 10.00% มีอัตราการละลายช้ากว่าไอศกรีมที่มีไขมันนม 0.10, 3.00 และ 7.00% อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อประเมินคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสในด้านลักษณะปรากฏของไอศกรีม พบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณไขมันนมทำให้คะแนนในคุณลักษณะด้าน

ความเรียบของเนื้อไอศกรีมเพิ่มขึ้น โดยไอศกรีมที่มีปริมาณไขมัน 0.10 และ 3.00% ลักษณะเป็นเกล็ดน้ำแข็ง และร่วน (Crumbly) ในด้านกลิ่นรส และรสชาติ พบว่า ไอศกรีมที่มีไขมันนม 10.00% มีคะแนนด้านรสหวานสูงกว่าไอศกรีมที่มีไขมันนม 0.10, 3.00 และ 7.00% อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเพิ่มปริมาณไขมันนมจะทำให้คะแนนด้านความเป็นครีม (Creaminess) และกลิ่นวานิลลาเพิ่มขึ้น แต่กลิ่นนมผงลดลง ถึงแม้ว่าไอศกรีมที่มีไขมันนม 0.10% จะมึนมผงน้อยกว่าก็ตาม ในด้านเนื้อสัมผัส พบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณไขมันนมจะทำให้มีคะแนนในคุณลักษณะด้านความเป็นเกล็ดน้ำแข็ง (Iciness) การละลาย (Meltability) และความรู้สึกเย็น (Coldness) ลดลง แต่จะมีคะแนนด้านความเหนียวหนืด (Stickiness) เพิ่มขึ้น

6.3.2 ไขมันนมไม่รวมไขมัน (Milk solid not fat; MSNF)

ประกอบด้วยน้ำตาลแลคโตส เคซีน โปรตีนเวย์ เกลือแร่ และวิตามิน เป็นต้น (Goff and Hartel, 2004) ซึ่งปริมาณที่ใช้จะอยู่ในช่วง 9.00-12.00% (Goff, 1997) โดยไขมันนมไม่รวมไขมันนิยมนำมาใช้ในรูปแบบผงไขมันนม (Skim milk powder) ซึ่งประกอบด้วยโปรตีน (เคซีนและโปรตีนเวย์) 36.70% แลคโตส 55.50% และเกลือแร่ 7.80% แลคโตสช่วยเพิ่มรสหวานให้กับไอศกรีมเล็กน้อย แต่เนื่องจากแลคโตสมีความสามารถในการละลายต่ำ จึงอาจเกิดการตกผลึก และเป็นสาเหตุให้ไอศกรีมมีเนื้อสัมผัสที่ไม่เรียบเนียน ส่วนเกลือแร่ช่วยเพิ่มรสเค็มเล็กน้อยแก่ไอศกรีม ไขมันนมไม่รวมไขมัน ช่วยทำให้ไอศกรีมมีเนื้อสัมผัสเรียบเนียน นอกจากนี้ยังช่วยให้สมบัติการขึ้นฟูดีขึ้น ลดจุดเยือกแข็งของไอศกรีม และช่วยให้ไอศกรีมละลายช้าลง การเติมไขมันนมไม่รวมไขมันมากเกินไปจะทำให้ไอศกรีมมีรสเค็ม มีกลิ่นไหม้ และเสี่ยงต่อการเกิดผลึกแลคโตสในระหว่างการเก็บรักษา (Arbuckle, 1986)

6.3.3 สารให้ความหวาน (Sweetener)

สารให้ความหวานที่นำมาใช้ในไอศกรีม มีหลายชนิด เช่น ซูโครส กลูโคส ฟรุคโตส และคอร์นไซรัป เป็นต้น ปริมาณสารให้ความหวานที่ใช้ขึ้นอยู่กับความหวานที่ต้องการ โดยปริมาณสารให้ความหวานในไอศกรีมอาจมีความแตกต่างกันตั้งแต่ 12.00-20.00% แต่ปริมาณที่เหมาะสมควรอยู่ในช่วง 14.00-16.00% สารให้ความหวานทำให้ไอศกรีมมีรสหวาน ช่วยเพิ่มความหนืดในส่วนผสม เพิ่มปริมาณของแข็งทั้งหมด ลดจุดเยือกแข็งของไอศกรีม แต่ถ้าใช้สารให้ความหวานในปริมาณมากเกินไปจะทำให้ไอศกรีมมีลักษณะของเนื้อแฉะ (Soggy) และเหนียวหนืด (Sticky) (Arbuckle, 1986)

Muse และ Hartel (2004) ศึกษาผลของชนิดสารให้ความหวาน 3 ชนิด ได้แก่ น้ำตาลซูโครส ไฮฟรุคโตส คอร์นไซรัป และคอร์นไซรัป 20 DE (Dextrose equivalent) ต่อจุดเยือกแข็ง ความหนืด อัตราการละลาย และความแน่นแข็ง ของไอศกรีม โดยผลิตไอศกรีมที่มีไขมันนม

12.00% ไขมันไม่อิ่มตัวรวมในชั้นไขมันในช่วง 11.49-11.58% สารให้ความหวาน 17.00% สารให้ความคงตัว 0.15% และอิมัลซิไฟเออร์ 0.15% พบว่า สารให้ความหวานแต่ละชนิดมีผลต่อการลดจุดเยือกแข็งของไอศกรีม โดยน้ำตาลซูโครส ไฮฟรุกโตส คอร์นไซรัป และคอร์นไซรัป 20 DE ทำให้ไอศกรีมมีจุดเยือกแข็ง เท่ากับ -2.9, -4.6 และ -1.7 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เมื่อวัดความหนืด ส่วนผสมของไอศกรีม พบว่า น้ำตาลซูโครส ไฮฟรุกโตส คอร์นไซรัป และคอร์นไซรัป 20 DE ทำให้ส่วนผสมไอศกรีม มีความหนืด เท่ากับ 712, 671 และ 935 เซนติพอยส์ (Centipoise) ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องมาจากน้ำหนักโมเลกุล และความยาวของสายพอลิเมอร์ของสารให้ความหวานที่แตกต่างกัน โดยสารให้ความหวานที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงทำให้ส่วนผสมไอศกรีมมีความหนืดสูงกว่าสารให้ความหวานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ โดย น้ำตาลซูโครส ไฮฟรุกโตส คอร์นไซรัป และคอร์นไซรัป 20 DE มีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย เท่ากับ 342, 190 และ 900 ตามลำดับ (Arbuckle, 1986) นอกจากนี้ ไอศกรีมที่ใช้คอร์นไซรัป 20 DE มีอัตราการละลายต่ำที่สุด เท่ากับ 2.50 มิลลิลิตร/นาที แต่มีความแน่นแข็งสูงที่สุด ในขณะที่ไอศกรีมที่ใช้ไฮฟรุกโตส คอร์นไซรัป มีอัตราการละลายสูงที่สุด เท่ากับ 3.30 มิลลิลิตร/นาที แต่มีความแน่นแข็งต่ำที่สุด

6.3.4 อิมัลซิไฟเออร์ (Emulsifier)

อิมัลซิไฟเออร์สามารถส่งเสริมการเกิดอิมัลชัน เนื่องจากสามารถลดแรงตึงผิวได้ เพราะในโมเลกุลประกอบด้วยส่วนที่ชอบน้ำ (Hydrophilic) และชอบไขมัน (Lipophilic) จึงสามารถแทรกตัวอยู่ระหว่างเฟสของของเหลวสองชนิด (Marshall and Arbuckle, 1996) อย่างไรก็ตามบทบาทของอิมัลซิไฟเออร์ในไอศกรีมไม่ได้มีความสำคัญต่อความคงตัวของไขมัน แต่อิมัลซิไฟเออร์ทำให้เกิดการสูญเสียความคงตัวของไขมัน (Fat destabilization) เนื่องจากอิมัลซิไฟเออร์สามารถลดแรงตึงผิวระหว่างไขมันและน้ำ ได้ดีกว่าโปรตีน ดังนั้น อิมัลซิไฟเออร์จะไปแทนที่โปรตีนบนเม็ดไขมัน ทำให้ค่าแรงตึงผิวลดลง และปริมาณโปรตีนที่แทนที่บนเม็ดไขมันลดลง เป็นผลให้เชื่อมเม็ดไขมันอ่อนตัวลง และเกิดการสูญเสียความคงตัว (Koxholt *et al.*, 2001; Goff and Hartel, 2004) ซึ่งเม็ดไขมันดังกล่าวจะเกิดการรวมตัวกัน และล้อมรอบเซลล์อากาศในขั้นตอนการปั่นไอศกรีม ทำให้เซลล์อากาศมีความคงตัว (Goff and Hartel, 2004) โดยอิมัลซิไฟเออร์จะช่วยให้ไอศกรีมมีเนื้อสัมผัสเรียบเนียนมากขึ้น มีเนื้อแน่นขึ้น ลดระยะเวลาการตีให้ขึ้นฟูได้ ไอศกรีมที่มีคุณภาพในการขึ้นฟูสม่ำเสมอ ฟองอากาศมีขนาดเล็ก และกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอในโครงสร้างของไอศกรีม และทำให้ไอศกรีมมีลักษณะแห้ง (Dryness) (Lal *et al.*, 2006) การใช้อิมัลซิไฟเออร์ในปริมาณที่มากเกินไปจะทำให้ไอศกรีมละลายช้าลง รูปร่าง และเนื้อสัมผัสไม่ดี โดยปริมาณอิมัลซิไฟเออร์ที่ใช้ในไอศกรีมไม่ควรเกิน 0.20% อิมัลซิไฟเออร์ที่นิยมใช้ อาจเป็นอิมัลซิไฟเออร์ที่พบตามธรรมชาติ เช่น โปรตีนในนม ไข่แดง และเลซิทีน (Lecithin) เป็นต้น หรือ

อิมัลซิไฟเออร์ที่สังเคราะห์ขึ้น เช่น โมโนกลีเซอไรด์ (Monoglycerides) หรือไดกลีเซอไรด์ (Diglyceride) เป็นต้น (Arbuckle, 1986; Marshall and Arbuckle, 1996)

6.3.5 สารให้ความคงตัว (Stabilizer)

สารให้ความคงตัว มีความสามารถในการเกิดพันธะกับโมเลกุลของน้ำ สารให้ความคงตัวช่วยป้องกันการเกิดผลึกน้ำแข็งขนาดใหญ่ของไอศกรีม โดยเฉพาะอย่างยิ่งในสถานะที่อุณหภูมิการเก็บรักษาไม่คงที่ เนื่องจากสารให้ความคงตัวมีผลทำให้ความหนืดเพิ่มขึ้น จึงลดการเคลื่อนที่ของสารต่างๆ รวมถึงน้ำ ซึ่งเป็นการขัดขวางการโตของผลึกน้ำแข็ง (Soukoulis *et al.*, 2008) สารให้ความคงตัวมีสมบัติในการอุ้มน้ำสูง ซึ่งมีส่วนสำคัญต่อการให้เนื้อสัมผัสที่เรียบเนียนและให้เนื้อ (Body) แก่ไอศกรีม ช่วยเพิ่มความหนืด แต่ไม่มีผลต่อการลดของจุดเยือกแข็ง นอกจากนี้ช่วยให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความสม่ำเสมอ มีความต้านทานต่อการละลายดี โดยทั่วไปปริมาณการใช้สารให้ความคงตัวจะอยู่ในช่วง 0.20-0.30% ตัวอย่างสารให้ความคงตัวที่ใช้ในไอศกรีม ได้แก่ คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (Carboxymethyl cellulose) กัวร์กัม (Guar gum) เจลาติน (Gelatin) คาราจีแนน (Carrageenan) และโลคัสต์บีนกัม (Locust bean gum) เป็นต้น (Arbuckle, 1986)

โดยในปัจจุบันอุตสาหกรรมการผลิตไอศกรีม มีการใช้สารให้ความคงตัวร่วมกับอิมัลซิไฟเออร์ ในรูปของ Blend ซึ่งมีลักษณะเป็นผงที่มีสารให้ความคงตัว และอิมัลซิไฟเออร์ หลายชนิดผสมรวมกัน โดยได้มีการพัฒนาสูตรของ Blend เพื่อให้ไอศกรีมมีรูปร่างและลักษณะเนื้อสัมผัสที่ดี สามารถใช้ได้กับส่วนผสมไอศกรีมที่มีปริมาณของแข็งตั้งแต่ต่ำไปจนถึงสูง ใช้เป็นสารทดแทนไขมันในไอศกรีมได้บางส่วน รวมถึงมีการกระจายตัวของ Blend ได้รวดเร็ว และละลายได้ดีที่อุณหภูมิที่ต้องการ (Marshall and Arbuckle, 1996) โดยในงานวิจัยนี้ได้เลือกใช้สารให้ความคงตัว และอิมัลซิไฟเออร์ ในรูปของ Blend ที่มีชื่อทางการค้า KELGUM[®] 280 xanthan gum blend ซึ่งมีลักษณะเป็นผงสีขาว ประกอบด้วย กัวร์กัม แชนแทนกัม คาราจีแนน พอลิซอร์เบท 80 (Polysorbate 80) โมโนและไดกลีเซอไรด์ และกรดซิตริก

กัวร์กัม ได้จากเอนโดสเปิร์มของเมล็ดจากต้น guar (*Cyamopsis tetragonolobus*) โครงสร้างโมเลกุลของกัวร์กัม เป็นพอลิเมอร์สายยาวของกาแล็กโทแมนแนน (Galactomannan) มีน้ำหนักโมเลกุล 220,000-250,000 ดาลตัน ในโมเลกุลประกอบด้วยน้ำตาลแมนโนส (Mannose) ที่ต่อกันด้วยพันธะบีตา-(1→4) และมีแขนงของน้ำตาลกาแล็กโทส (Galactose) หนึ่งโมเลกุลต่อทุกๆ 2 โมเลกุลของน้ำตาลแมนโนส เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ (1→6) ทำให้อัตราส่วนของน้ำตาลแมนโนสต่อกาแล็กโทสเป็น 2:1 กัวร์กัมไม่สามารถเกิดเจลได้ แต่อุ้มน้ำและกระจายได้ดีในน้ำเย็น สารละลายที่ได้มีความหนืดสูง เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นจะอุ้มน้ำได้มากขึ้น และมีความหนืดเพิ่มขึ้นด้วย จึงใช้เป็น

สารเพิ่มความหนืด สารเพิ่มความคงตัว และช่วยอุ้มน้ำ เมื่อใช้ร่วมกับแซนแทนกัมจะทำให้สารละลายมีความหนืดเพิ่มขึ้น ความหนืดของสารละลายกัวร์กัมขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ พีเอช เวลา ความเข้มข้น และการกวน เมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น ความหนืดของสารละลายกัวร์กัมจะเพิ่มขึ้นด้วย เนื่องจากกัวร์กัมไม่แตกตัวเป็นไอออน และทนต่อพีเอชได้ในช่วงกว้าง คือ พีเอช 4.00-10.00 โดยที่ความหนืดไม่เปลี่ยนแปลง (นิธิยา รัตนานพนธ์, 2549) วรรณมา ตูลยชัย (2549) กล่าวว่า กัวร์กัมสามารถช่วยควบคุมการเกิดผลึกน้ำแข็งใหม่ ทำให้ไอศกรีมมีเนื้อสัมผัสเรียบเนียน มีความคงตัวดี ในระหว่างเก็บรักษา และมีความคงตัวต่อการแช่เยือกแข็งและการละลาย (Freezing and thawing cycles)

แซนแทนกัม เป็นกัมที่ได้จากการหมักด้วยแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* เป็นเฮเทอโรพอลิแซ็กคาไรด์ (Heteropolysaccharide) ที่มีน้ำตาลกลูโคส (Glucose) แมนโนส และกรดกลูคูโรนิก (Glucuronic acid) ในอัตราส่วน 2.8:3:2 โดยกลูโคสต่อกับแมนโนส ด้วยพันธะบีตา-(1→4) และน้ำตาลแมนโนสที่เป็นสายแขนงต่อกับสายหลักด้วยพันธะ 1→2 หรือ 1→3 ส่วนกรดกลูคูโรนิกต่อกันด้วยพันธะบีตา-(1→2) แซนแทนกัมสามารถกระจายตัว และละลายได้ดีทั้งในน้ำร้อนและน้ำเย็น สารละลายที่ได้มีความหนืดสูงถึงแม้จะมีความเข้มข้นต่ำ แต่ไม่มีสมบัติในการเกิดเจล แซนแทนกัมมีความคงตัวสูงต่อความร้อน และพีเอช โดยเฉพาะความหนืดของสารละลาย แซนแทนกัมจะคงที่ ถึงแม้อุณหภูมิจะเปลี่ยนแปลงในช่วง 0.0-100.0 องศาเซลเซียส หรือพีเอชจะเปลี่ยนแปลงในช่วง 1.00-13.00 ก็ตาม (นิธิยา รัตนานพนธ์, 2549) แซนแทนกัมจะช่วยควบคุมการเกิดผลึกน้ำแข็งใหม่ในไอศกรีม ทำให้เนื้อสัมผัสดีขึ้น และไอศกรีมละลายช้าลง (วรรณมา ตูลยชัย, 2549)

คาราจีแนน เป็นพอลิแซ็กคาไรด์ซัลเฟตที่สกัดได้จากสาหร่ายทะเลสีแดง คือ *Chondrus crispus* และ *Gigartina stella* คาราจีแนนแบ่งออกเป็น 3 ชนิดใหญ่ๆ ได้แก่ แคปปา (Kappa) ไอโอตา (Iota) และแลมบ์ดา (lambda) โดยสมบัติของคาราจีแนนขึ้นอยู่กับประจุของหมู่ซัลเฟตที่อยู่ในโมเลกุล และยังคงแตกต่างกันในแต่ละชนิดของคาราจีแนนด้วย คาราจีแนนมีสมบัติในการเกิดปฏิกิริยากับโปรตีน ทำให้คาราจีแนนสามารถนำไปใช้ประโยชน์กับอาหารที่มีน้ำมันเป็นส่วนผสมได้ คาราจีแนนละลายได้ดี และมีความคงตัวที่พีเอชสูงกว่า 7.00 ถ้าพีเอชต่ำกว่า 7.00 ความคงตัวจะลดลง โดยเฉพาะเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นในภาวะที่มีน้ำตาลซึ่งมีความเข้มข้นสูงอยู่ในสารละลายด้วย ทั้งแคปปา- และแลมบ์ดา-คาราจีแนน สามารถละลายได้ดีเมื่อได้รับความร้อนเพียงพอ ในขณะที่ไอโอตาจะละลายหรือกระจายตัวได้น้อยกว่า แคปปา-และไอโอตา-คาราจีแนน ไม่ละลายในน้ำเย็น แต่จะละลายได้อย่างสมบูรณ์ที่อุณหภูมิ 70.0 องศาเซลเซียส (นิธิยา รัตนานพนธ์, 2549) เมื่ออยู่ในสารละลายขณะร้อนสายโซ่ของแคปปา-หรือไอโอตา-คาราจีแนน จะอยู่ในรูปเกลียวม้วนอย่างไม่

เจาะจง (Random coil) แต่เมื่อเย็นตัวลง ความหนืดจะเพิ่มขึ้น และเกิดเป็นเจลได้ โดยเจลของคาราจีแนนเป็นเจลชนิดผันกลับได้ด้วยความร้อน (Thermoreversible) คือ เมื่อเจลได้รับความร้อน จะหลอมละลายได้ และเมื่อตั้งทิ้งไว้ให้เย็นตัวลงก็จะเป็นเจลได้อีก (วรรณ คุลยธัญ, 2549) แคปปา-คาราจีแนนจะเกิดเจลที่เปราะและแตกง่าย และเกิดการไหลซึมของของเหลวออกจากเจล (Syneresis) ส่วนไอโอตา-คาราจีแนนจะเกิดเจลที่มีความยืดหยุ่น และไม่เกิดการไหลซึมของของเหลวออกจากเจล สำหรับแลมบ์ดา-คาราจีแนนละลายได้ในน้ำเย็น และไม่มีสมบัติในการเกิดเจล การผสมแคปปา- และแลมบ์ดา-คาราจีแนนเข้าด้วยกันจะทำให้สมบัติในการเกิดเจลได้ดีขึ้น เจลที่ได้จะมีความยืดหยุ่นเพิ่มขึ้น และเกิดการไหลซึมของของเหลวออกจากเจลด้อยลง การเติม คาราจีแนนลงในส่วนผสมของไอศกรีม จะช่วยให้ส่วนผสมของไอศกรีมผสมเป็นเนื้อเดียวกันได้ง่าย และไม่มีส่วนที่เป็นของเหลวไหลซึมออกมาระหว่างการเก็บรักษา (นิธิยา รัตนานนท์, 2549)

พอลิซอร์เบท 80 หรือพอลิออกซีเอทิลีน ซอร์บิแทน โมโน โอลีเอต (Polyoxyethylene sorbitan monooleate) หรือทวิน 80 (Tween 80) เป็นสารลดแรงตึงผิว กลุ่มที่ไม่มีประจุ (Non-ionic surfactant) โดยเป็นเอสเทอร์ของซอร์บิทอล (Sorbitol) กับกรดไขมัน โอลีอิก (Oleic acid) และมีการเติมหมู่ของพอลิออกซีเอทิลีนตรงส่วนของโมเลกุลซอร์บิทอล เพื่อเพิ่มความสามารถในการละลายน้ำ พอลิซอร์เบท จะช่วยทำให้ไอศกรีมมีลักษณะที่แห้ง (Goff and Hartel, 2004)

โมโน และไดกลีเซอไรด์ เป็นเอสเทอร์ของกลีเซอรอลกับกรดไขมันเพียงหนึ่ง และสองโมเลกุล ตามลำดับ และมีหมู่ไฮดรอกซิลอิสระเหลืออยู่ ซึ่งกลีเซอไรด์ทั้งสองชนิดนี้ไม่พบในไขมันและน้ำมันพืชที่ได้จากธรรมชาติ แต่จะพบในไขมันหรือน้ำมันที่เกิดจากการไฮโดรไลซิสไม่สมบูรณ์ เนื่องจากโมเลกุลของโมโน และไดกลีเซอไรด์มีทั้งที่ละลายได้ในน้ำ และส่วนที่ละลายได้ในไขมัน ทำให้โมโน และไดกลีเซอไรด์มีสมบัติในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ (นิธิยา รัตนานนท์, 2549) ซึ่งจะช่วยให้การกระจายตัวของไขมัน เพิ่มความสามารถในการขึ้นฟู (Whipping ability) รวมถึงมีผลต่ออัตราการละลาย (Arbuckle, 1986)

6.3.6 น้ำ (Water)

น้ำเป็นองค์ประกอบที่มีมากที่สุด ในไอศกรีม ซึ่งมีในปริมาณ 60.00-70.00% น้ำเป็นตัวทำละลายส่วนผสมต่างๆ เช่น นมผงขาดมันเนย และน้ำตาล บางครั้งน้ำอาจเป็นส่วนประกอบที่มีอยู่ใน นำนม น้ำเชื่อม และครีม เป็นต้น (Arbuckle, 1986)

6.3.7 สารให้สี (Coloring agent)

ไอศกรีมมักจะมีการเจือสีเพื่อสร้างความน่ารับประทาน ไอศกรีมควรมีสีอ่อนๆ เป็นที่ดึงดูด และสอดคล้องต่อกลิ่นรส ซึ่งปกติแล้วไอศกรีมที่มีการเติมกลิ่นรสต้องเติมสีลงไปเล็กน้อย เช่น ไอศกรีมวานิลลาเติมสีเหลืองเพื่อให้ได้สีเหลืองทองของครีม สำหรับสีที่ใช้ในไอศกรีม อาจเป็นสีที่ได้จากการสังเคราะห์ หรือเป็นสีที่ได้จากธรรมชาติ (Arbuckle, 1986)

6.3.8 สารให้กลิ่นรส (Flavoring agent)

กลิ่นรสเป็นลักษณะที่สำคัญประการหนึ่งของไอศกรีม กลิ่นรสของไอศกรีมเป็นการผสมกันของกลิ่นรสทั้งหมดของส่วนผสมที่ใช้ ลักษณะที่สำคัญ 2 ประการของกลิ่นรส คือ ชนิดและความเข้ม (Intensity) กลิ่นรสที่อ่อนสามารถใช้ผสมได้ง่ายกว่า โดยการใช้ในปริมาณที่มากก็ไม่ได้ทำให้เกิดกลิ่นรสที่ไม่ดี แต่กลิ่นรสที่แรงจะใช้ผสมได้ยาก เนื่องจากการใช้ในปริมาณที่น้อยก็อาจทำให้เกิดกลิ่นรสที่ไม่ดีได้ ดังนั้นการใช้กลิ่นรสในไอศกรีมควรใช้ในปริมาณที่เหมาะสมพอที่จะรับรู้กลิ่นรสนั้นได้ สารให้กลิ่นรสที่ใช้นั้นอาจได้จากธรรมชาติ หรือเป็นสารให้กลิ่นรสที่มีการสังเคราะห์ขึ้น โดยอนุภูมิที่ใช้ในการเสิร์ฟไอศกรีมมีผลต่อกลิ่นรสที่ได้รับเช่นกัน Reid และ Arbuckle (1938 อ้างโดย Marshall and Arbuckle, 1996) ศึกษาผลของอนุภูมิของไอศกรีมวานิลลาที่ใช้ในการเสิร์ฟต่อการยอมรับของผู้บริโภค พบว่า ผู้บริโภคส่วนใหญ่ให้ความชอบไอศกรีมที่อนุภูมิ -12.0 องศาเซลเซียส มากที่สุด และเมื่ออนุภูมิของไอศกรีมเพิ่มขึ้นจาก -14.4 ไปเป็น -7.8 องศาเซลเซียส จะทำให้ผู้บริโภคได้รับกลิ่นวานิลลา และรสหวานในไอศกรีมเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ Heath (1978 อ้างโดย บุญช่วย มะลิหอม, 2547) กล่าวว่าไอศกรีมจะให้กลิ่นรสและเนื้อสัมผัสที่ดีที่สุดที่อนุภูมิระหว่าง -12.0 ถึง -9.0 องศาเซลเซียส สำหรับงานวิจัยนี้ทดสอบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของไอศกรีมโดยกำหนดอนุภูมิของไอศกรีมขณะเสิร์ฟ ประมาณ -12.0 องศาเซลเซียส

6.4 กระบวนการผลิตไอศกรีม

6.4.1 การคำนวณปริมาณและการผสมส่วนผสมทั้งหมด

ต้องคำนึงถึงปริมาณไขมัน และของแข็งในผลิตภัณฑ์นม และในส่วนผสมอื่นๆ เช่น ไข่แดง โกโก้ เป็นต้น จากนั้นนำส่วนผสมที่เป็นของเหลว เช่น นมข้น นม ครีม เกล็ดในถัง ให้ความร้อนพร้อมทั้งคนผสม สำหรับส่วนผสมที่เป็นของแข็ง ได้แก่ น้ำตาล สารให้ความคงตัว ชาติ นำนมไม่รวมมันเนย ไข่ผง และอื่นๆ จะเติมลงในส่วนผสมที่เป็นของเหลวเมื่อมีอนุภูมิถึง 50.0 องศาเซลเซียส เพื่อป้องกันการจับตัวเป็นก้อนของวัตถุคิปทำได้โดยผสมส่วนผสมที่เป็นของแข็งกับน้ำตาลบางส่วนคนให้เข้ากันแล้วเติมลงในส่วนผสมที่เป็นของเหลวอย่างช้าๆ พร้อมทั้งคนไปด้วย

โดยส่วนผสมที่ผสมกันแล้ว เรียกว่า ไอศกรีมมิกซ์ (Ice cream mix) (วรรณา ตั้งเจริญชัย และวิบูลย์ศักดิ์ กาวิลละ, 2531; Marshall and Arbuckle, 1996)

6.4.2 การพาสเจอร์ไรเซชัน

มีวัตถุประสงค์เพื่อทำลายจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค ทำให้ส่วนผสมที่เป็นของแข็งละลาย และปรับปรุงในด้านกลิ่นรส วิธีการพาสเจอร์ไรซ์ที่เหมาะสมควรให้ความร้อนอย่างรวดเร็ว เพื่อให้ถึงอุณหภูมิที่กำหนด และคงไว้ที่อุณหภูมิที่กำหนด และตามเวลาที่ต้องการ วิธีการพาสเจอร์ไรซ์แต่ละวิธีมีอุณหภูมิ และระยะเวลาที่ใช้แตกต่างกัน ดังแสดงใน Table 13 สำหรับงานวิจัยนี้ทำการพาสเจอร์ไรซ์ส่วนผสมไอศกรีมที่อุณหภูมิ 80.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที

Table 13. Times and temperatures for pasteurization of ice cream mixes

Methods	Times	Temperatures (°C)
Batch	30 min	69
High Temperature Short Time (HTST)	25 sec	80
Higher Heat Short Time (HHST)	1-3 sec	90
Ultra High Temperature (UHT)	2-40 sec	138

ที่มา : Marshall and Arbuckle (1996)

6.4.3 การโฮโมจิไนเซชัน

การโฮโมจิไนซ์ส่วนผสมไอศกรีมนอกจากทำให้เม็ดไขมันมีขนาด 1.0-2.0 ไมครอน ซึ่งป้องกันการแยกชั้นของครีม ยังช่วยทำให้ไอศกรีมเนียนนุ่ม และทำให้การปั่นส่วนผสมเป็นไปได้ง่าย และรวดเร็ว ใช้เวลาบ่มส่วนผสมไม่นานนัก อุณหภูมิของส่วนผสมขณะโฮโมจิไนซ์ประมาณ 62.0-76.0 องศาเซลเซียส หากใช้อุณหภูมิ 48.0-54.0 องศาเซลเซียส ในการโฮโมจิไนซ์เม็ดไขมัน (Fat globules) จะจับเป็นก้อน มีความหนืดสูง และต้องใช้เวลาในการปั่นส่วนผสม ความดันที่ใช้ในการโฮโมจิไนซ์ขึ้นอยู่กับความหนืด ลักษณะของส่วนผสม ความคงตัวของส่วนผสม ตลอดจนอุณหภูมิ โดยทั่วไปแล้วจะใช้ความดันรวมประมาณ 2,000-2,500 ปอนด์/ตารางนิ้ว สำหรับการโฮโมจิไนซ์ระบบเดี่ยว และเมื่อใช้สองระบบก็จะใช้ความดันครั้งแรกประมาณ 2,500-3,000 ปอนด์/ตารางนิ้ว และความดันครั้งที่สองเท่ากับ 500 ปอนด์/ตารางนิ้ว (วรรณา ตั้งเจริญชัย และวิบูลย์ศักดิ์ กาวิลละ, 2531) สำหรับงานวิจัยนี้ทำการโฮโมจิไนซ์ส่วนผสมไอศกรีมที่มีอุณหภูมิประมาณ 75.0 องศาเซลเซียส โดยปรับความดันของเครื่องโฮโมจิไนซ์ เท่ากับ 3,000ปอนด์/ตารางนิ้ว

6.4.4 การบ่ม

ส่วนผสมที่ไฮโมจิไนซ์แล้วจะทำให้เย็นลงทันทีที่อุณหภูมิ 0.0-4.0 องศาเซลเซียส และนำไปบ่มด้วยการเก็บส่วนผสมที่ห้องที่มีอุณหภูมิเย็น 2.0-4.0 องศาเซลเซียส เวลาที่ใช้ในการบ่มประมาณ 24 ชั่วโมง ซึ่งในระหว่างการบ่มมีการเปลี่ยนแปลงในส่วนผสม ดังนี้ เม็ดไขมันในส่วนผสมจะกลายเป็นไขมันแข็ง สารให้ความคงตัวจะดูดซับน้ำ ความหนืดของส่วนผสมจะเพิ่มขึ้น โดยจุดประสงค์ของการบ่มส่วนผสมเพื่อทำให้เนื้อไอศกรีมมีความนุ่ม คงตัว และทำให้การตีปั่นง่ายขึ้น (Arbuckle, 1986; Varnam and Sutherland, 1994) สำหรับงานวิจัยนี้ทำการบ่มส่วนผสมไอศกรีมที่อุณหภูมิ 4.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

6.4.5 การปั่นไอศกรีม

ส่วนผสมของไอศกรีมที่ผ่านการบ่ม เติมน้ำ และกลั่นรตามต้องการแล้วจะถูกนำไปสู่ขั้นตอนการปั่น ซึ่งในขั้นตอนการปั่น นอกจากเพื่อให้ไขมันในส่วนผสมกลายเป็นน้ำแข็ง ยังเป็นขั้นตอนที่ทำให้อากาศจะถูกปั่นเข้าไปในส่วนผสม ไอศกรีมที่ได้จึงมีปริมาณเพิ่มขึ้นซึ่งทำให้ไอศกรีมมีเนื้อสัมผัสที่นุ่ม และเรียบเนียน เกิดความคงตัวของฟองอากาศ ในขั้นตอนการปั่นไอศกรีม น้ำในส่วนผสมจะแข็งตัวทั้งนี้ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิของไอศกรีมในช่วงการปั่น เช่น ถ้าอุณหภูมิของไอศกรีมขณะปั่นอยู่ในช่วง -3.9 ถึง -8.3 องศาเซลเซียส ปริมาณน้ำที่แข็งตัวในไอศกรีมจะอยู่ในช่วง 33.0-67.0% แต่ปริมาณน้ำที่แข็งตัวยังไม่เพียงพอจึงต้องนำไปแช่แข็งในขั้นตอนต่อไป (Marshall and Arbuckle, 1996) โดยในขั้นตอนการปั่นจะสิ้นสุดลงเมื่อไอศกรีมมีความเหนียวหนืดหรือเมื่อพบว่าปริมาณอากาศ และผลึกน้ำแข็งที่มากเพียงพอแล้ว โครงสร้างทางกายภาพของไอศกรีมค่อนข้างจะซับซ้อน เซลล์อากาศจะกระจายอยู่ในชั้นของของเหลว ซึ่งในของเหลวยังประกอบด้วย ผลึกน้ำแข็ง ไขมันแข็ง โปรตีนนม ผลึกแลคโตส สารให้ความคงตัว ซูโครส เกลือแร่ที่ละลายและไม่ละลาย จึงเรียกได้ว่าไอศกรีมประกอบด้วยของเหลว อากาศ และของแข็ง หรือเป็นระบบ 3 เฟส ดังแสดงใน Figure 7

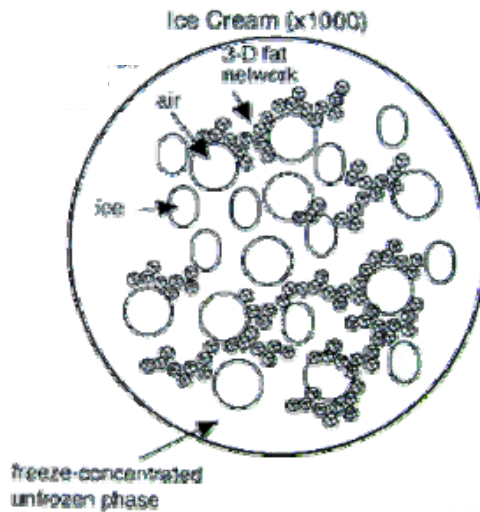


Figure 7. A schematic representation of the structure of ice cream

ที่มา : ดัดแปลงจาก Goff และ Hartel (2004)

6.4.6 การแช่แข็ง

ไอศกรีมที่ได้จากเครื่องปั่นมีลักษณะกึ่งแข็งกึ่งเหลว ไม่สามารถคงรูปร่างได้ จึงต้องนำมาแช่แข็ง จนมีอุณหภูมิถึง -18.0 องศาเซลเซียส หรือต่ำกว่า ที่นิยมใช้คือการแช่แข็งลงถึงอุณหภูมิ -25.0 ถึง -30.0 องศาเซลเซียส ในเวลาสั้นที่สุดเพื่อป้องกันการเกิดผลึกน้ำแข็งขนาดใหญ่ (Marshall and Arbuckle, 1996) สำหรับงานวิจัยนี้ทำการแช่แข็งไอศกรีมในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -20.0 องศาเซลเซียส

6.4.7 การเก็บรักษา

การเก็บรักษาไอศกรีมควรมีการควบคุมอุณหภูมิในการเก็บไว้ห้องที่ เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ จะทำให้เกิดการเคลื่อนย้าย และการสะสมของน้ำ เกิดเป็นผลึกน้ำแข็งขนาดใหญ่ โดยทั่วไปอุณหภูมิการเก็บรักษาไอศกรีม จะอยู่ในช่วง -18.0 ถึง -23.0 องศาเซลเซียส (Arbuckle, 1986) สำหรับงานวิจัยนี้ทำการเก็บรักษาไอศกรีมในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -20.0 องศาเซลเซียส

6.5 บรรจุภัณฑ์สำหรับไอศกรีม

สำหรับผลิตภัณฑ์อาหารแช่เยือกแข็งนั้น บรรจุภัณฑ์พลาสติกเป็นทางเลือกหนึ่งที่สามารถป้องกันผลิตภัณฑ์จากความชื้น ออกซิเจน หรือกลิ่นผิดปกติจากภายนอกได้ ซึ่งพลาสติกแต่ละชนิดจะมีคุณสมบัติการทนต่อแรงกระทำทางกล ความสามารถในการป้องกันแก๊ส และการซึมผ่านของไอน้ำแตกต่างกันออกไป โดยบรรจุภัณฑ์พลาสติกสำหรับอาหารแช่เยือกแข็ง จะต้อง

ความคงทน ไม่เกิดการเปราะ และแตกภายใต้อุณหภูมิแช่เยือกแข็ง (Robertson, 2006) ผลิตภัณฑ์ไอศกรีมภายหลังออกจากเครื่องปั่น จะถูกบรรจุลงในบรรจุภัณฑ์ เพื่อนำไปสู่ขั้นตอนการแช่แข็ง เพื่อให้ให้น้ำในไอศกรีมแข็งตัว จนคงรูปร่างได้ จากนั้นไอศกรีมอาจถูกจำหน่ายได้ทันที หรือนำไปเก็บรักษาต่อไป บรรจุภัณฑ์สำหรับไอศกรีมนั้นนอกจากจะต้องมีความคงทนแล้ว ยังต้องมีขนาดและรูปร่าง ที่ง่ายต่อการจัดเก็บ และการขนส่ง มีลักษณะปรากฏที่ดึงดูดความสนใจจากผู้บริโภค และมีต้นทุนการผลิตที่ต่ำ (Marshall and Arbuckle, 1996) นอกจากนี้ขนาด และรูปร่างของบรรจุภัณฑ์สำหรับไอศกรีมมีผลต่อระยะเวลาการแช่แข็งเช่นกัน เมื่อขนาดของบรรจุภัณฑ์ใหญ่ขึ้นจะต้องใช้เวลาแช่แข็งเพิ่มขึ้น ส่วนรูปร่างจะมีผลกับพื้นที่ผิวที่ได้รับความเย็น (วรรณ ตังเจริญชัย และ วิบูลย์ศักดิ์ กาวิลละ, 2531) ในงานวิจัยนี้เลือกใช้ถ้วยพลาสติกชนิดโพลีโพรพิลีน (Polypropylene) ซึ่งเป็นพลาสติกที่มีความแข็ง และเหนียว ทนต่อไขมัน และสารเคมีได้ดี ป้องกันการซึมผ่านของความชื้นได้ดี โดยมีค่าอัตราการซึมผ่านของไอน้ำต่ำ เท่ากับ 0.08-0.16 กรัม มิลลิเมตร/ตารางเมตร/วัน เมื่อทดสอบที่อุณหภูมิ 38.0 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 95.00% และการซึมผ่านของแก๊สได้ปานกลาง โดยมีค่าการซึมผ่านออกซิเจน อยู่ในช่วง 2.96×10^{-16} - 4.93×10^{-16} โมล เมตร/ตารางเมตร/วินาที/ปาสคาล (Pascal) เมื่อทดสอบที่อุณหภูมิ 25.0 องศาเซลเซียส (Robertson, 2006) และยังทนอุณหภูมิร้อนเย็นได้ในช่วง -20.0 ถึง 200.0 องศาเซลเซียส (ปุ่น คงเกียรติเจริญ และสมพร คงเกียรติเจริญ, 2541)

6.6 มาตรฐานผลิตภัณฑ์ไอศกรีม

ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 222 พ.ศ. 2544 (กองควบคุมอาหาร, 2552ก.)

6.6.1 กำหนดให้ไอศกรีมเป็นอาหารควบคุมเฉพาะและแบ่งเป็น 5 ชนิด ดังนี้

1. ไอศกรีมนม ได้แก่ ไอศกรีมที่ทำขึ้นโดยใช้นมหรือผลิตภัณฑ์ที่ได้จากนม
 2. ไอศกรีมดัดแปลง ได้แก่ ไอศกรีมที่ทำขึ้นโดยใช้ไขมันชนิดอื่นแทนมันเนยทั้งหมดหรือบางส่วน หรือเป็นไอศกรีมที่ทำขึ้นโดยใช้ผลิตภัณฑ์ที่มีไขมันแต่ผลิตภัณฑ์นั้นไม่ใช่ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากนม
 3. ไอศกรีมผสม ได้แก่ ไอศกรีมนม หรือไอศกรีมดัดแปลง ซึ่งมีผลไม้หรือวัตถุดิบที่เป็นอาหารเป็นส่วนผสมอยู่ด้วย
 4. ไอศกรีมนม ไอศกรีมดัดแปลง หรือไอศกรีมผสม ชนิดเหลว หรือแข็ง หรือผง
 5. ไอศกรีมหวานเย็น ได้แก่ ไอศกรีมที่ทำขึ้นโดยใช้น้ำ และน้ำตาล หรืออาจมีวัตถุดิบที่เป็นอาหารเป็นส่วนผสมอยู่ด้วย
- ไอศกรีมในข้อ 1 ถึง 5 อาจใช้วัตถุแต่งกลิ่น รส และสีได้

6.6.2 ไอศกรีมทุกชนิด ยกเว้น ไอศกรีมชนิดแข็ง หรือผง ต้องผ่านกรรมวิธีตามลำดับดังต่อไปนี้

1. การผ่านความร้อน ต้องผ่านกรรมวิธีหนึ่งวิธีใด ดังนี้

ทำให้ร้อนขึ้นถึงอุณหภูมิไม่ต่ำกว่า 68.5 องศาเซลเซียส และคงไว้ที่อุณหภูมิไม่น้อยกว่า 30 นาที หรือ ทำให้ร้อนขึ้นถึงอุณหภูมิไม่ต่ำกว่า 80.0 องศาเซลเซียส และคงไว้ที่อุณหภูมิไม่น้อยกว่า 25 วินาที และจะต้องมีเครื่องวัดอุณหภูมิพร้อมด้วยเครื่องบันทึกอัตโนมัติแสดงอุณหภูมิ เวลาที่ใช้จริง หรือทำให้ร้อน โดยกรรมวิธีอื่นตามที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาเห็นชอบด้วย

2. ทำให้เย็นลงทันทีที่อุณหภูมิ 4.0 องศาเซลเซียส และคงไว้ที่อุณหภูมิ

3. ปั่น กวน หรือผสม แล้วแต่กรณี และทำให้เยือกแข็งที่อุณหภูมิไม่สูงกว่า -2.2 องศาเซลเซียส ก่อนบรรจุลงในภาชนะบรรจุเพื่อจำหน่าย และต้องเก็บไว้ที่อุณหภูมิไม่สูงกว่า -2.2 องศาเซลเซียส จนกว่าจำหน่าย

6.6.3 ไอศกรีมต้องมีคุณภาพดังนี้

1. ไอศกรีมนม ต้องมีมันเนยเป็นส่วนผสมไม่น้อยกว่า 5.00% ของน้ำหนัก และมีธาตุน้ำนมไม่รวมมันเนยไม่น้อยกว่า 7.50% ของน้ำหนัก

2. ไอศกรีมดัดแปลง ต้องมีไขมันทั้งหมดไม่น้อยกว่า 5.00% ของน้ำหนัก

3. ไอศกรีมผสม ต้องมีมาตรฐานเช่นเดียวกับ ไอศกรีมนม หรือ ไอศกรีมดัดแปลงแล้วแต่กรณี ทั้งนี้โดยไม่นับรวมน้ำหนักของผลไม้หรือวัตถุที่เป็นอาหารอื่นผสมอยู่

4. ไอศกรีมหวานเย็น และไอศกรีมนม ไอศกรีมดัดแปลง หรือไอศกรีมผสม

4.1 จะต้องไม่มีกลิ่นหืน

4.2 ใช้วัตถุให้ความหวานแทนน้ำตาล หรือใช้ร่วมกับน้ำตาล นอกจากการใช้ น้ำตาลได้ โดยให้ใช้วัตถุให้ความหวานแทนน้ำตาลได้ตามมาตรฐานอาหาร เอฟ เอ โอ/ดับบลิว เอช โอ, โคเด็กซ์ (Joint FAO/WHO Codex) ที่ว่าด้วยเรื่อง วัตถุเจือปนอาหาร และฉบับที่ได้แก้ไขเพิ่มเติมในกรณีที่ไม่มีความมาตรฐานกำหนดไว้ตามวรรคหนึ่งให้สำนักงานคณะกรรมการอาหาร และยา ประกาศกำหนด โดยความเห็นชอบของคณะกรรมการอาหาร

4.3 ไม่มีวัตถุกันเสีย

4.4 มีแบคทีเรียได้ไม่เกิน 600,000 ในอาหาร 1 กรัม

4.5 ตรวจไม่พบ *E. coli* ในอาหาร 0.01 กรัม

4.6 ไม่มีจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค

4.7 ไม่มีสารเป็นพิษจากจุลินทรีย์ในปริมาณที่อาจเป็นอันตรายต่อสุขภาพ

6.7 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของไอศกรีมระหว่างการเก็บรักษา

ในระหว่างการเก็บรักษาไอศกรีมสามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงทั้งทางกายภาพและเคมี (Hagiwara and Hartel, 1996) การเปลี่ยนแปลงทางด้านกายภาพโดยเฉพาะลักษณะเนื้อสัมผัส มีผลทำให้คุณภาพของไอศกรีมลดลง ซึ่งการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวอาจเนื่องมาจากการเกิดผลึกน้ำแข็งใหม่ (Recrystallization) การเกิดผลึกน้ำตาลแลคโตส (Lactose crystallization) (Goff and Hartel, 2004)

6.7.1 การเกิดผลึกน้ำแข็งใหม่

ผลึกน้ำแข็งจะกระจายอยู่ในโครงสร้างของไอศกรีมโดยน้ำแข็งที่มีขนาดผลึกเล็กจะมีความคงตัวน้อยกว่าผลึกน้ำแข็งที่มีขนาดใหญ่ ในระหว่างการเก็บรักษาผลึกน้ำแข็งที่มีขนาดเล็กจึงหลอมรวมกันจนกลายเป็นผลึกน้ำแข็งที่มีขนาดใหญ่ โดยปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการเกิดผลึกน้ำแข็งในระหว่างการเก็บรักษาไอศกรีม ได้แก่ อุณหภูมิที่ใช้เก็บรักษา และองค์ประกอบของไอศกรีม (Goff and Hartel, 2004)

Hagiwara และ Hartel (1996) ศึกษาผลของอุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษาต่ออัตราการเกิดผลึกน้ำแข็งใหม่ โดยผลิตไอศกรีมที่มีไขมันนม 12.00% ไขมันนมไม่รวมมันเนย 11.00% น้ำตาลซูโครส 16.50% อิมัลซิไฟเออร์ 0.10% และสารให้ความคงตัว 0.30% จากนั้นเก็บรักษาไอศกรีมที่อุณหภูมิ 3 ระดับ ได้แก่ -15.2, -9.4 และ -6.3 องศาเซลเซียส พบว่า เมื่ออุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษาลดลง จะทำให้อัตราการเกิดผลึกน้ำแข็งใหม่ลดลง โดยการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -15.2, -9.4 และ -6.3 องศาเซลเซียส ทำให้มีอัตราการเกิดผลึกน้ำแข็งใหม่ เท่ากับ 8.7, 24.8 และ 43.5 ไมโครเมตร/วัน ตามลำดับ

นอกจากนี้องค์ประกอบของไอศกรีม ยังมีผลต่อการเกิดผลึกน้ำแข็งใหม่เช่นกัน โดยเฉพาะสารให้ความหวาน และสารให้ความคงตัว โดยชนิดของสารให้ความหวานมีความสัมพันธ์กับปริมาณของน้ำที่กลายเป็นน้ำแข็ง Hagiwara และ Hartel (1996) ศึกษาผลของชนิดสารให้ความหวานต่อจุดเยือกแข็ง ปริมาณน้ำที่แข็งตัว และอัตราการเกิดผลึกน้ำแข็งใหม่ของไอศกรีม โดยผลิตไอศกรีมที่มีไขมันนม 12.00% ไขมันนมไม่รวมมันเนย 11.00% สารให้ความหวาน 16.50% อิมัลซิไฟเออร์ 0.10% ภายหลังการผลิต ทำการเก็บรักษาไอศกรีมที่อุณหภูมิ -15.2 องศาเซลเซียส โดยศึกษาสารที่ให้ความหวาน 4 ชนิด ได้แก่ น้ำตาลซูโครส คอร์นไซรัป 20 DE คอร์นไซรัป 42 DE และไฮฟรุคโตส คอร์นไซรัป พบว่า สารให้ความหวานแต่ละชนิดมีผลต่อการลดจุดเยือกแข็งของไอศกรีม โดย น้ำตาลซูโครส คอร์นไซรัป 20 DE คอร์นไซรัป 42 DE และไฮฟรุคโตส คอร์นไซรัป ทำให้ไอศกรีมมีจุดเยือกแข็ง เท่ากับ -2.9, -1.7, -2.5 และ -4.4 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ทั้งนี้เป็นผลเนื่องมาจากความแตกต่างของน้ำหนักโมเลกุลของสารให้ความหวาน โดยสารให้ความ

หวานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ สามารถลดจุดเยือกแข็งได้มากกว่าสารให้ความหวานที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ซึ่งไอศกรีมที่ใช้สารให้ความหวานที่ทำให้จุดเยือกแข็งของไอศกรีมต่ำกว่า จะมีปริมาณน้ำที่ไม่แข็งตัวมากกว่า โดยพบว่าอุณหภูมิที่ทำให้น้ำ 60.0% แข็งตัวได้ ของไอศกรีมที่เติมน้ำตาลซูโครส คอร์นไซรัป 20 DE คอร์นไซรัป 42 DE และไฮฟรุกโตส คอร์นไซรัป เท่ากับ -7.5, -4.3, -6.4 และ -12.1 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ซึ่งปริมาณของน้ำที่ไม่แข็งตัวมีผลต่ออัตราการเกิดผลึกน้ำแข็งใหม่ โดยพบว่า ไอศกรีมที่เติมน้ำตาลซูโครส คอร์นไซรัป 20 DE คอร์นไซรัป 42 DE และไฮฟรุกโตส คอร์นไซรัป มีอัตราการเกิดผลึกน้ำแข็งใหม่ เท่ากับ 15.6, 3.4, 4.6 และ 40.8 ไมโครเมตร/วัน ตามลำดับ

สำหรับสารให้ความคงตัวมีผลต่อการควบคุมการเกิดผลึกน้ำแข็งใหม่ในระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งได้มีการตั้งสมมติฐานผลของสารให้ความคงตัวต่อการป้องกันการเกิดผลึกน้ำแข็งใหม่ โดยสารให้ความคงตัวจะไปเพิ่มความหนืดของเฟสที่ไม่แข็งตัว (Unfrozen phase) หรือการไปยับยั้งอัตราการเกิดของผลึกน้ำแข็ง นอกจากนี้สารให้ความคงตัวอาจเกิดโครงสร้างเจลอ่อนๆ จึงป้องกันการเกิดผลึกน้ำแข็งใหม่ได้ (Goff and Hartel, 2004) Miller-Livney และ Hartel (1997) ศึกษาผลของสารให้ความคงตัวต่ออัตราการเกิดผลึกน้ำแข็งใหม่ใน ไอศกรีม โดยผลิต ไอศกรีมที่มีไขมันนม 12.00% ไขมันนมไม่รวมมันเนย 11.00% น้ำตาลซูโครส 16.50% อิมัลซิไฟเออร์ 0.10% จากนั้นเก็บรักษาไอศกรีมที่อุณหภูมิ -15.0 องศาเซลเซียส โดยใช้สารให้ความคงตัว 4 ชนิด ได้แก่ เจลาติน โลกัสทีนกันัม หรือแซนแทนกันัม ชนิดใดชนิดหนึ่งในปริมาณ 0.30% หรือคาราจีแนน ในปริมาณ 0.10% เปรียบเทียบกับไอศกรีมที่ไม่เติมสารให้ความคงตัว พบว่า ไอศกรีมที่เติมสารให้ความคงตัวมีอัตราการเกิดผลึกน้ำแข็งใหม่ต่ำกว่าไอศกรีมที่ไม่เติมสารให้ความคงตัว โดยไอศกรีมที่ไม่เติมสารให้ความคงตัว และไอศกรีมที่เติมเจลาติน โลกัสทีนกันัม แซนแทนกันัม หรือคาราจีแนน มีอัตราการเกิดผลึกน้ำแข็ง เท่ากับ 12.2, 9.7, 6.0, 8.2 และ 7.0 ไมโครเมตร/วัน ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องมาจากสารให้ความคงตัวจะเกิดโครงสร้างซึ่งสามารถจำกัดการเคลื่อนที่ของสารต่างๆ ได้ หรือการไปป้องกันการขยายขนาดของผลึกน้ำแข็ง

6.7.2 การเกิดผลึกน้ำตาลแลคโตส

ในระหว่างการเก็บรักษาไอศกรีม น้ำตาลแลคโตสที่เป็นองค์ประกอบชาตุน้ำมันไม่รวมมันเนย สามารถเกิดผลึก และขยายขนาดขึ้นได้เมื่อระยะเวลาเก็บรักษาเพิ่มขึ้น มีผลทำให้ไอศกรีมมีเนื้อหยาบเป็นลักษณะคล้ายเม็ดทราย (Sandiness) โดยผลึกน้ำตาลแลคโตสในไอศกรีมที่มีขนาดใหญ่กว่า 15.0 ไมโครเมตร จะทำให้ผู้บริโภครับรู้ได้ถึงลักษณะเนื้อหยาบคล้ายเม็ดทราย ซึ่งผลึกน้ำตาลแลคโตสที่อยู่ในไอศกรีมจะหลอมละลายได้ช้ากว่าผลึกน้ำแข็ง ผลึกน้ำตาลแลคโตสจึงยังคงอยู่ในปากภายหลังที่ไอศกรีมละลาย ทำให้มีลักษณะคล้ายเม็ดทรายภายในปาก โดยปัจจัยที่มี

ผลต่อการเกิดผลึกน้ำตาลแลคโตส ได้แก่ อุณหภูมิที่ใช้เก็บรักษา ซึ่ง Livney และคณะ (1995) รายงานว่า การเก็บรักษาไอศกรีมที่อุณหภูมิระหว่าง -10.0 และ -12.0 องศาเซลเซียส มีผลต่อการเร่งระยะเวลาการเกิดผลึกน้ำตาลแลคโตส อัตราการเกิดผลึกน้ำตาลแลคโตสจะมีค่าสูงขึ้นเมื่ออุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บลดลงจาก -5.0 ไปเป็น -10.0 องศาเซลเซียส แต่ที่อุณหภูมิต่ำกว่า -10.0 องศาเซลเซียส อัตราการเกิดผลึกน้ำตาลแลคโตสจะลดลง และมีค่าเข้าใกล้ศูนย์ เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20.0 องศาเซลเซียส ส่วนองค์ประกอบของไอศกรีมมีผลต่อการเกิดผลึกน้ำตาลแลคโตสเช่นกัน เพื่อป้องกันการเกิดผลึกน้ำตาลแลคโตส จึงได้มีการแนะนำให้ปริมาณของธาตุน้ำนมไม่รวมมันเนยในส่วนผสมไอศกรีม สูงสุดไม่เกิน 15.60-18.50% นอกจากนี้การใช้น้ำตาลซูโครส และสารให้ความคงตัวมีผลในการยับยั้งการเกิดผลึกน้ำตาลแลคโตสได้เช่นกัน (Goff and Hartel, 2004)

6.8 การตรวจสอบคุณภาพของไอศกรีม

6.8.1 ความหนืด (Viscosity)

ความหนืดของส่วนผสมไอศกรีมขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของไอศกรีม โดยเฉพาะไขมัน และสารให้ความคงตัว ซึ่งมีผลต่อความหนืดมากกว่าองค์ประกอบอื่นๆ ชนิดและคุณภาพของวัตถุดิบ ปริมาณของของแข็งทั้งหมด และกระบวนการผลิต เช่น การพาสเจอร์ไรซ์ การโฮโมจิไนซ์ และการบ่ม ความหนืดของส่วนผสมไอศกรีมมีตั้งแต่ 50 จนถึง 300 เซนติพอยซ์ ส่วนผสมของไอศกรีมที่มีความหนืดสูง จะมีผลต่อการยืดระยะเวลาการละลายของไอศกรีม ทำให้ไอศกรีมมีลักษณะเนื้อสัมผัสเรียบเนียน แต่อาจจะทำให้อัตราการขึ้นฟูลดลง (Marshall and Arbuckle, 1996)

6.8.2 การขึ้นฟู หรือ โอเวอร์รัน (Overrun)

ค่าการขึ้นฟู หรือ โอเวอร์รัน หมายถึง ปริมาตรที่เพิ่มขึ้นของไอศกรีมจากส่วนผสมของไอศกรีม เนื่องจากการผสมเอาอากาศเข้าไปในเนื้อไอศกรีมในระหว่างขั้นตอนการปั่นไอศกรีม การผสมอากาศจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของส่วนผสม หากอากาศมากเกินไปเนื้อไอศกรีมจะเบา โปร่ง แต่ถ้ามีอากาศน้อยไปเนื้อจะแน่นหรือหนัก โดยค่าโอเวอร์รันสามารถคำนวณจากเปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ดังสมการที่ 1 หรือคำนวณในรูปเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อหน่วยปริมาตร ดังสมการที่ 2 (วรรณ ตังเจริญชัย และวิบูลย์ศักดิ์ กาวิลละ, 2531)

$$(1) \text{Overrun, \%} = \frac{\text{ปริมาตรของไอศกรีม} - \text{ปริมาตรของส่วนผสม}}{\text{ปริมาตรของส่วนผสม}} \times 100$$

$$(2) \text{Overrun, \%} = \frac{\text{น.น.ต่อหน่วยปริมาตรของส่วนผสม} - \text{น.น.ต่อหน่วยปริมาตรของไอศกรีม}}{\text{น.น.ต่อหน่วยปริมาตรของไอศกรีม}} \times 100$$

นอกจากนี้ค่าโอเวอร์รันของไอศกรีม จะมีความแตกต่างกันออกไป นอกจากขึ้นอยู่กับองค์ประกอบแล้ว อุปกรณ์ในการผลิตก็เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อค่าโอเวอร์รัน โดยค่าโอเวอร์รันของไอศกรีมที่มีปริมาณไขมัน และของแข็งทั้งหมดที่ระดับต่างๆ กัน ดังแสดงใน Table 14

Table 14. Average values for fat and total solids contents, overrun among the categories of ice cream cream

Components	Categories of ice cream		
	Standard	Premium	Superpremium
Fat content (%)	10-12	12-15	15-18
Total solids (%)	36-38	38-40	>40
Overrun (%)	~100	60-90	25-50

ที่มา : Goff และ Hartel (2004)

6.8.3 ความแน่นแข็ง (Hardness)

ความแน่นแข็งของไอศกรีมสามารถวัดได้จากแรงต้านของไอศกรีมต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่างเมื่อมีแรงภายนอกกระทำ (Muse and Hartel, 2004) ความแน่นแข็งของไอศกรีมสัมพันธ์กับลักษณะเนื้อสัมผัสของไอศกรีม (Aime *et al.*, 2001) ไอศกรีมที่ดีต้องไม่แน่นแข็งมากหรือน้อยเกินไป ถ้าไอศกรีมมีความแน่นแข็งน้อยเกินไป จะทำให้ไอศกรีมเหลวง่าย โดยปัจจัยที่มีผลต่อความแน่นแข็งของไอศกรีม ได้แก่ องค์ประกอบของไอศกรีม เช่น ไขมัน น้ำตาล และสารให้ความคงตัว เป็นต้น และกระบวนการผลิต เช่น การพาสเจอร์ไรซ์ การโฮโมจิไนซ์ และการบ่ม เป็นต้น นอกจากนี้การเกิดผลึกน้ำแข็งใหม่ในระหว่างการเก็บรักษาไอศกรีมส่งผลให้ความแน่นแข็งเพิ่มขึ้นเช่นกัน (Soukoulis *et al.*, 2008)

6.8.4 อัตราการละลาย (Melting rate)

การละลายของไอศกรีมเกิดจากน้ำแข็งในไอศกรีมละลาย ร่วมกับการยุบตัวของโครงสร้างไขมันที่หุ้มฟองอากาศ แต่การละลายของน้ำแข็งอย่างเดียวไม่ได้ทำให้ไอศกรีมเกิดการละลายจนกว่าโครงสร้างของไขมันจะเกิดการยุบตัว โดยปัจจัยที่มีผลต่อการละลายของน้ำแข็งในไอศกรีม ได้แก่ การถ่ายโอนความร้อน และการถ่ายโอนมวลสาร โดยความร้อนจากสิ่งแวดล้อมภายนอกจะถ่ายโอนไปยังภายในของไอศกรีมทำให้เกิดการละลายของผลึกน้ำแข็งเป็นน้ำ จากนั้นน้ำจะแพร่ไปยังส่วนที่ยังแข็งตัว และเกิดการละลาย เมื่อส่วนที่ละลายกระจายไปทั่วโครงสร้างของไอศกรีม จึงทำให้เกิดการละลายขึ้น (Muse and Hartel, 2004) โดยไอศกรีมที่ดีควรละลายภายใน

10-15 นาที อุณหภูมิที่ใช้ในการทดสอบการละลายของไอศกรีมควรมีอุณหภูมิประมาณ 20.0 องศาเซลเซียส (Marshall and Arbuckle, 1996)

7. การประยุกต์ใช้พืชสมุนไพรหรือสารสกัดจากพืชสมุนไพรในผลิตภัณฑ์อาหาร

ปัจจุบันอุตสาหกรรมอาหารนิยมนำพืชสมุนไพรหรือสารสกัดจากพืชสมุนไพรมาเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อมุ่งหวังการผลิตเป็นอาหารสุขภาพ แทนการใช้สารสังเคราะห์ เนื่องจากมีแหล่งที่มาของวัตถุดิบจากธรรมชาติ จึงมีความปลอดภัยต่อสุขภาพของผู้บริโภคมากกว่า การใช้สารสังเคราะห์ โดยวัตถุประสงค์ของการประยุกต์ใช้พืชสมุนไพรหรือสารสกัดจากพืชสมุนไพรในผลิตภัณฑ์อาหารนั้นอาจมีหลายประการ เช่น การใช้เป็นสารให้สี กลิ่นรส หรือรสชาติในอาหาร นอกจากนี้สารสำคัญจากพืชที่มีสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระอาจมีศักยภาพในการนำไปประยุกต์ในเชิงอาหารเพื่อสุขภาพ เสริมคุณค่าทางอาหาร หรืออาจมีผลต่อการลดอัตราเสี่ยงการเกิดโรค อีกทั้งสารต้านอนุมูลอิสระดังกล่าวอาจมีผลต่อการยับยั้งหรือชะลอการเกิดออกซิเดชันของไขมันหรือน้ำมันที่เป็นส่วนประกอบของอาหาร จึงช่วยยืดระยะเวลาการเก็บรักษาอาหารได้ทางหนึ่ง

ไพลิน ผู้พัฒนา และคณะ (2546) ศึกษาปริมาณของขิงผงต่อคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสในคุกกี้ โดยการเติมขิงผง 3 ระดับ ได้แก่ 1.02, 2.03 และ 3.05% โดยน้ำหนัก/น้ำหนักของส่วนผสมทั้งหมด พบว่า คุกกี้ที่มีขิงผงเป็นส่วนผสม 1.02% ได้รับคะแนนการยอมรับในด้านกลิ่นรส และการยอมรับโดยรวมสูงสุดโดยมีคะแนนแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) กับคุกกี้ที่มีขิงเป็นส่วนผสม 3.05% แต่การใช้ขิงผงเป็นส่วนผสมทุกระดับ ได้รับคะแนนในด้านกลิ่น สี และเนื้อสัมผัสไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$)

พรพรรณ แก้วกิริยา (2547) ศึกษาปริมาณขิงผงต่อค่าค่าสี โอเวอร์รัน อัตราการละลาย และการประเมินคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสในเชอร์เบตจากน้ำเวย์ โดยผลิตเชอร์เบตที่มีปริมาณไขมัน 2.00% ไขมันรวม 4.00% น้ำตาลซูโครส 22.00% อิมัลซิไฟเออร์ 0.20% สารให้ความคงตัว 0.20% และน้ำ 71.60% จากนั้นเติมขิงผง 4 ระดับ ได้แก่ 1.00, 2.00, 3.00 และ 4.00% ต่อน้ำหนักส่วนผสมเชอร์เบต พบว่า ปริมาณขิงผงมีผลต่อค่าสีของเชอร์เบตอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยค่าสีรายงานอยู่ในรูป L , a และ b ค่า L คือ ความสว่างของสี มีค่าจาก 0 คือสีดำ ถึง 100 คือสีขาว ค่า a คือ ค่าที่บ่งบอกความเป็นสีเขียวและแดง โดยค่า $-a$ แสดงความเป็นสีเขียว และค่า $+a$ แสดงความเป็นสีแดง ค่า b คือ ค่าที่บ่งบอกความเป็นสีน้ำเงินและเหลือง โดยค่า $-b$ แสดงความเป็นสีน้ำเงิน และค่า $+b$ แสดงความเป็นสีเหลือง พบว่า เมื่อปริมาณขิงผงเพิ่มจาก 1.00% ไปเป็น 4.00% จะทำให้เชอร์เบต มีค่า L ลดลง 69.44 ไปเป็น 64.96 ค่า a เพิ่มขึ้นจาก 0.72 ไปเป็น 2.62

และค่า b เพิ่มขึ้นจาก 12.14 ไปเป็น 15.90 แต่ปริมาณจึงผงไม่มีผลต่อค่าโอเวอร์รัน และอัตราการละลายของเซอร์เบท เมื่อประเมินคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส พบว่า เซอร์เบทที่เติมจึงผง 1.00% เป็นสูตรที่ ผู้บริโภคให้การยอมรับมากที่สุด

Mansour และ Khalil (2000) ศึกษาผลของการเติมสารสกัดจากเปลือกมันฝรั่ง สารสกัดจากเมล็ด Fenugreek และสารสกัดจากขิง ต่อการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันในผลิตภัณฑ์แพตตี้เนื้อวัวบด (Ground beef patties) โดยการเติมสารสกัดแต่ละชนิดที่ระดับ 500 และ 1000 rpm เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส จากนั้นวิเคราะห์ค่า TBARS ร่วมกับการทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยการดมกลิ่นหืนซึ่งแบ่งคะแนนเป็น 7 ระดับ ได้แก่ 0 คือ ไม่มีกลิ่น และ 6 คือ มีกลิ่นหืนมากที่สุด ทำการทดสอบ ทุกๆ 3 วัน เป็นระยะเวลา 12 วัน พบว่า เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ทำให้ค่า TBARS ของแพตตี้เนื้อวัวบดทั้งในชุดที่มีการเติมและไม่เติมสารสกัดมีค่าสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยการเติมสารสกัดจากขิง สารสกัดจากเมล็ด Fenugreek และสารสกัดจากเปลือกมันฝรั่ง มีค่า TBARS ต่ำกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ตลอดระยะเวลาเก็บรักษา อย่างไรก็ตาม สารสกัดจากขิงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันในแพตตี้เนื้อวัวบดได้ดีที่สุด โดยมีค่า TBARS ต่ำที่สุด ตลอดระยะเวลาเก็บรักษา ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส โดยพบว่า คะแนนของกลิ่นหืนมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม แพตตี้เนื้อวัวบดที่เติมสารสกัดจากขิงมีคะแนนของกลิ่นหืนต่ำกว่าทุกชุดการทดลอง

Bandyopadhyay และคณะ (2007) ศึกษาผลของการเติมสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ ได้แก่ บีเอชเอ บีเอชที และทีบีเอชคิว และพีชสมุนไพโร โดยการทำให้อยู่ในรูปเพสต์ (paste) ได้แก่ บีท (*Beta vulgaris*) ใบมินท์ (*Mentha spicata* L.) และขิง (*Zingiber officinale* L.) ลงในผลิตภัณฑ์ Sandesh (โปรตีนนมที่ผ่านการตกตะกอนด้วยกรด จากนั้นนำไปนวดผสมกับส่วนผสม จากนั้นผ่านการให้ความร้อน แล้วขึ้นรูปเป็นลูกบาศก์ขนาด 2 ลูกบาศก์เซนติเมตร) โดยแบ่งชุดการทดลอง ดังนี้ ชุดที่เติม ทีบีเอชคิว (0.01% และ 0.02%) ชุดที่เติม บีเอชเอ ร่วมกับ บีเอชที ในอัตราส่วน 1:1 (0.01% และ 0.02%) ชุดที่เติมบีท (10.00%) ชุดที่เติมใบมินท์ (10.00%) ชุดที่เติมขิง (10.00%) ชุดที่เติมบีทร่วมกับใบมินท์ (ชนิดละ 5.00%) ชุดที่เติมบีทร่วมกับขิง (ชนิดละ 5.00%) และชุดที่เติมใบมินท์ร่วมกับขิง (ชนิดละ 5.00%) จากนั้นศึกษาสมบัติการจับอนุมูลอิสระ ABTS พบว่า Sandesh ที่เติมขิง ในปริมาณ 10.00% มีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่า Sandesh ที่เติมบีทหรือใบมินท์ ที่ปริมาณเดียวกัน อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และยังพบว่า การเติมขิงร่วมกับใบมินท์ จะเป็นการเสริมสมบัติการจับอนุมูลอิสระ ABTS ทำให้ Sandesh มีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระใกล้เคียงกับการเติมทีบีเอชคิวปริมาณ 0.02% นอกจากนี้เมื่อศึกษาถึงผลของการเติมสมุนไพรดังกล่าวใน 4 รูปแบบ ได้แก่ แบบเพสต์ แบบผงที่ผ่านทำแห้งด้วยความร้อน แบบผงที่ผ่านทำแห้ง

แบบระเหิด และสารสกัดด้วยเอทานอล พบว่า การเติมในรูปแบบสารสกัดทำให้ Sandesh มีสมบัติการจับอนุมูลอิสระ ABTS สูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับกรเติมในรูปแบบอื่น

Hwang และคณะ (2009) ศึกษาผลของการเติมกากองุ่นที่ได้จากการหมักไวน์ (Grape wine lees) ต่อคุณภาพทางกายภาพ เคมี และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของไอศกรีม โดยผลิตไอศกรีมที่มีไขมัน 12.00% ไขมันน้ำนมไม่รวมมันเนย 11.00% สารให้ความหวาน 15.00% สารให้ความคงตัว 0.40% และปริมาณกากองุ่นที่ได้จากการหมักไวน์ 4 ระดับ ได้แก่ 0.00, 5.00, 10.00 และ 15.00% โดยน้ำหนักของส่วนผสมไอศกรีม พบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณกากองุ่นที่ได้จากการหมักไวน์ ทำให้ความหนืดของไอศกรีมเพิ่มขึ้น แต่มีค่าโอเวอร์รันลดลง อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยค่าความหนืด และค่าโอเวอร์รันของไอศกรีมที่เติมกากองุ่นที่ได้จากการหมักไวน์ในปริมาณ 0.00, 5.00, 10.00 และ 15.00% เท่ากับ 330.00, 640.00, 955.00 และ 1,390.00 มิลลิปาสกาล วินาที (mPa s) และ 53.90, 51.90, 41.60 และ 35.30% ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม พบว่าการเติมกากองุ่นที่ได้จากการหมักไวน์ ในปริมาณ 5.00, 10.00 และ 15.00% ทำให้ไอศกรีมมีความแน่นแข็งลดลงเท่ากับ 41.00, 52.00 และ 61.00% ตามลำดับ เมื่อเติมกากองุ่นที่ได้จากการหมักไวน์ในปริมาณ 15.00% ทำให้ไอศกรีมมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก เท่ากับ 3.58 มิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิก/มิลลิลิตร เมื่อวิเคราะห์สมบัติการจับอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์อนุมูลโลหะ พบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณกากองุ่นที่ได้จากการหมักไวน์ในไอศกรีม ทำให้สมบัติการต้านอนุมูลอิสระของไอศกรีมเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของชิงสดและชิงภายหลังการทำแห้ง
2. ศึกษาสภาวะการสกัด สมบัติทางเคมี และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากชิงที่ได้จากการสกัดโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤต
3. เปรียบเทียบผลของวิธีการสกัดสารสกัดหยาบจากชิง ระหว่างการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตกับการสกัดแบบแช่ในเมทานอล ต่อสมบัติทางเคมี สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ และสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากชิง
4. ศึกษาผลของอุณหภูมิและระยะเวลาเก็บรักษาต่อความคงตัวของสารสกัดหยาบจากชิง
5. ศึกษาการประยุกต์ใช้สารสกัดหยาบจากชิงในไอศกรีม การประเมินการยอมรับจากผู้บริโภค การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของไอศกรีมในระหว่างการเก็บรักษา และการเปรียบเทียบสมบัติทางเคมี และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของไอศกรีมที่ผลิตกับไอศกรีมทางการค้า
6. ประเมินต้นทุนการผลิตสารสกัดหยาบจากชิงและไอศกรีมที่ไม่เติมและเติมสารสกัดหยาบจากชิง

บทที่ 2

วิธีการวิจัย

วัตถุดิบ

1. จิง (*Zingiber officinale* Roscoe) พันธุ์จิงใหญ่ อายุการเก็บเกี่ยวประมาณ 10-12 เดือน น้ำหนักเหง้าจิงโดยเฉลี่ย 100-200 กรัมต่อเหง้า จากตลาดในเขต อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา
2. วัตถุดิบสำหรับการผลิตไอศกรีม ได้แก่ นมสดพร่องมันเนย ครีมสด เนย นมผงขาดมันเนย กลูโคสไซรัป น้ำตาลทราย โลคัสปีนัม เลซิติน สารให้ความคงตัวและอิมัลซิไฟเออร์ (ชื่อทางการค้า KELGUM® 280 xanthan gum blend) และสารสกัดหยาบจากจิง (Crude ginger extract)

เชื้อจุลินทรีย์

1. *Staphylococcus aureus* TISTR 1466
2. *Escherichia coli* TISTR 780
3. *Aspergillus niger* TISTR 3245

วัสดุและสารเคมี

1. ขวดแก้วสีชา ฝาเกลียว ปริมาตรบรรจุ 4 มิลลิลิตร สำหรับบรรจุสารสกัด
2. ถ้วยพลาสติกชนิดโพลีโพรพิลีน พร้อมฝาปิด ปริมาตรบรรจุ 115 มิลลิลิตร สำหรับบรรจุไอศกรีม
3. สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

Table15. List of chemicals used in the experiment

Chemicals	Grade	Company	Country
1. Absolute ethanol	Analytical	Merck	Germany
2. Methanol HPLC grade	Analytical	Lab Scan	Thailand
3. Acetonitrile HPLC grade	Analytical	Prolabo	France
4. Water HPLC grade	Analytical	Lab Scan	Thailand
5. [6]-gingerol standard (5-hydroxy-1-(4 hydroxy-3-methoxyphenyl)-3 decanone, Code NO. 077-02871)	Analytical	Wako Pure Chemical	Japan

Table15. List of chemicals used in the experiment (Cont.)

Chemicals	Grade	Company	Country
6. Ammonium hydroxide	Analytical	JT Baker	USA
7. Diethyl ether	Analytical	Prolabo	France
8. Petroleum ether	Analytical	Lab Scan	Thailand
9. DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl)	Analytical	Sigma	Germany
10. BHT (Butylhydroxytoluene)	Analytical	Fluka	Germany
11. ABTS [(2,2'-azino-bis (3-ethylbenzo thiaoline-6-sulfonic acid) diamonium salt]	Analytical	Sigma	Germany
12. Potassium persulfate	Analytical	Fluka	Germany
13. TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine)	Analytical	Fluka	Switzerland
14. Sodium acetate trihydrate	Analytical	Ajax Finechem	Australia
15. Iron (III) Chloride hexahydrate	Analytical	Ajax Finechem	Australia
16. Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethyl chroman-2-carboxylic acid)	Analytical	Sigma	Germany
17. Folin-Ciocalteu phenol reagent	Analytical	Merck	Germany
18. Sodium carbonate anhydrous	Analytical	Ajax Finechem	Australia
19. Gallic acid	Analytical	Sigma	Germany
20. Plate Count Agar	Analytical	Himedia	India
21. Potato Dextrose Agar	Analytical	Himedia	India
22. Potato Dextrose Broth	Analytical	Himedia	India
23. Lauryl Sulphate Tryptose Broth	Analytical	Himedia	India
24. Baird Parker Agar	Analytical	Himedia	India
25. Nutrient Agar	Analytical	Himedia	India
26. Nutrient Broth	Analytical	Himedia	India
27. Mueller Hinton Agar	Analytical	Himedia	India
28. Mueller Hinton Broth	Analytical	Himedia	India
29. Tween 80	Analytical	Labchem	Australia
30. Potassium dihydrogen orthophosphate	Analytical	Ajax Finechem	Australia

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับการเตรียมตัวอย่างวัตถุดิบ

1.1 ตู้อบลมร้อนชนิดอากาศหมุน (Rotary air dryer) คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

1.2 เครื่องบดสมุนไพร ศูนย์พัฒนายาไทยและสมุนไพร โรงงานต้นแบบศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพอุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย

2. อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับการวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและเคมี

2.1 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Mettler Toledo รุ่น AB 204 ประเทศสวิตเซอร์แลนด์

2.2 ตู้อบไฟฟ้า ยี่ห้อ Memmert รุ่น UM 100-800 ประเทศเยอรมันนี

2.3 ตู้อบสุญญากาศ ยี่ห้อ Eyela รุ่น VOS-450VD ประเทศญี่ปุ่น

2.4 เตาเผา ยี่ห้อ Thermolyne รุ่น 6000 ประเทศสหรัฐอเมริกา

2.5 เครื่องวัดค่าสี ยี่ห้อ Hunter Lab รุ่น Color Quest XT ประเทศสหรัฐอเมริกา

2.6 เครื่องวัดค่าพีเอช ยี่ห้อ Eutech รุ่น Cyberscan pH 510 ประเทศมาเลเซีย

3. อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับการวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระและสาร [6]-gingerol

3.1 เครื่อง Microplate Reader ยี่ห้อ Biotek รุ่น Power Wave X ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.2 เครื่อง UV-visible spectrophotometer ยี่ห้อ Thermo spectronic รุ่น GENESYS 10 Series ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.3 เครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ยี่ห้อ Agilent รุ่น Agilent 1100 Series HPLC ประเทศเยอรมันนี

3.4 เครื่องปั่นผสม ยี่ห้อ Waring รุ่น HGB2WT ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.5 เครื่องหมุนเหวี่ยง ยี่ห้อ Sorvall รุ่น RC-5B Plus ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.6 เครื่องระเหยแบบสุญญากาศ ยี่ห้อ Eyela รุ่น SB-651 ประเทศญี่ปุ่น

4. อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับการสกัดสารสกัดจากขิง

เครื่อง Supercritical Fluid Extractor ยี่ห้อ Manson new separation technology รุ่น 24-SFE ประเทศจีน ศูนย์พัฒนายาไทยและสมุนไพร โรงงานต้นแบบศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพอุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย

5. อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับการวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์

5.1 ตู้บ่มปรับอุณหภูมิ ยี่ห้อ Memmert รุ่น BE 500 ประเทศเยอรมันนี

5.2 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอยี่ห้อ Sanyo รุ่น Labo Autoclave ประเทศญี่ปุ่น

6. อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับการผลิตไอศกรีม

6.1 เครื่องโสมจิโนเซอร์ ยี่ห้อ Gaulin รุ่น 15M8TA ประเทศสหรัฐอเมริกา

6.2 เครื่องปั่นไอศกรีมยี่ห้อ Taylor รุ่น 104-40 ประเทศสหรัฐอเมริกา

6.3 ตู้แช่แข็ง ยี่ห้อ Sanyo รุ่น SFC695 ประเทศญี่ปุ่น

7. อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับวิเคราะห์สมบัติของไอศกรีม

7.1 เครื่องวัดความหนืด ยี่ห้อ Brookfield รุ่น DV-II+ ประเทศสหรัฐอเมริกา

7.2 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Mettler Toledo รุ่น AB 204 ประเทศ
สวิตเซอร์แลนด์

7.3 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ยี่ห้อ memmert รุ่น WNB10 ประเทศเยอรมันนี

7.4 เครื่องวัดเนื้อสัมผัส Texture analyzer ยี่ห้อ Stable Micro System รุ่น TA-XT2i
ประเทศอังกฤษ

8. อุปกรณ์สำหรับทดสอบคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส

วิธีดำเนินการ

1. การเตรียมวัตถุดิบ

นำจิงแก่สดทั้งเหง้า มาล้างทำความสะอาด ปอกเปลือก และหั่นเป็นชิ้นแว่นหนา
ประมาณ 2.0 ± 1.0 มิลลิเมตร อบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนชนิดคาดหมุน ที่อุณหภูมิ 55.0 ± 2.0 องศา
เซลเซียส จนจิงมีปริมาณความชื้นประมาณ 10% จากนั้นนำจิงที่ผ่านการทำให้แห้งบรรจุในถุงไนลอน
ปิดผนึกถุงให้สนิท เก็บในกล่องโฟม เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4.0 ± 1.0 องศาเซลเซียส จนกระทั่งมีการ
นำไปใช้ จำนวนร้อยละผลได้ของจิงสดปอกเปลือกและจิงภายหลังการทำแห้งจากสมการที่ 1 และ
2 ตามลำดับ

$$\text{ร้อยละผลได้ของจิงสดปอกเปลือก} = \frac{\text{น้ำหนักของจิงหลังปอกเปลือก} \times 100}{\text{น้ำหนักของจิงก่อนปอกเปลือก}} \quad (1)$$

$$\text{ร้อยละผลได้ของจิงภายหลังการทำแห้ง} = \frac{\text{น้ำหนักของจิงหลังการทำแห้ง} \times 100}{\text{น้ำหนักของจิงก่อนปอกเปลือก}} \quad (2)$$

2. ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของชิงสดปอกเปลือกและชิง ภายหลังการทำแห้ง

2.1 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

- ปริมาณความชื้น (A.O.A.C., 2000)
- ปริมาณเถ้า (A.O.A.C., 2000)
- ปริมาณสิ่งปนเปื้อนจำพวกโลหะหนัก ได้แก่ สารหนู แคดเมียม ตะกั่ว และปรอท
(ส่งตัวอย่างวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการกลางตรวจสอบผลิตภัณฑ์เกษตรและอาหาร)

- ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (Miliauskas *et al.*, 2004)

เปิดตัวอย่าง 20 ไมโครลิตร เติม Folin-Ciocalteu's reagent ที่มีความเข้มข้น 10% 100 ไมโครลิตร และโซเดียมคาร์บอเนต แอนไฮไดรอส (Sodium carbonate anhydrous) ความเข้มข้น 0.71 โมลาร์ 80 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จึงวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร เปรียบเทียบค่าที่ได้กับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก แสดงค่าในรูปแบบ มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิก/กรัมตัวอย่าง (Gallic acid equivalents (GAE)/g sample)

- ปริมาณสาร [6]-gingerol (Natural Remedies-Research Centre, 2007)

วิเคราะห์ปริมาณสาร [6]-gingerol โดยวิธีทางโครมาโตกราฟี ด้วยเครื่อง HPLC ใช้คอลัมน์ C18 (Hypersil[®] ODS 4.0×250 mm, 5 μm) โดยใช้อะซิโตนไนไตร (Acetonitrile) ต่อ น้ำ (55:45) เป็นเฟสเคลื่อนที่ ด้วยอัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตร/นาที และตรวจวัดสารที่ความยาวคลื่น 282 นาโนเมตร ด้วย UV-visible detector เปรียบเทียบค่าที่วัดได้กับกราฟมาตรฐานของ [6]-gingerol

2.2 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

วิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระในชิงสดปอกเปลือกและชิงที่ผ่านการทำแห้ง
ดังนี้

- DPPH radical scavenging activity (Yamasaki *et al.*, 1994)

เตรียมตัวอย่างที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน 5 ระดับ เช่น 200, 100, 20, 10 และ 2 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เติมน้ำละลาย DPPH ที่มีความเข้มข้น 6×10^{-5} โมลาร์ ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จึงวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร และใช้บีเอชที เป็นสารมาตรฐาน แสดงค่าในรูปแบบ EC₅₀ (Efficient Concentration; ปริมาณของสารตัวอย่างต่อ 1 มิลลิลิตร (ของสารละลาย DPPH และสารละลายตัวอย่าง) ที่ไปลดความเข้มข้นของอนุมูลอิสระ DPPH ลง 50% จากความเข้มข้นของสารละลาย DPPH เริ่มต้น)

- ABTS radical scavenging activity (Re *et al.*, 1999)

ปีเปิดตัวอย่าง 20 ไมโครลิตร เติมสารละลายของ ABTS⁺ 2 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 10 นาที จึงวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร เปรียบเทียบค่าที่ได้กับกราฟมาตรฐานของโทรลอกซ์ ดังแสดงในภาคผนวก ก-2 แสดงค่าในรูป TEAC (Trolox equivalents antioxidant capacity; ปริมาณของสารละลายโทรลอกซ์ที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเทียบเท่ากับ 1 หน่วยน้ำหนักของสารตัวอย่าง)

- FRAP, Ferric reducing antioxidant power (Benzie and Strain, 1996)

ปีเปิดตัวอย่าง 30 ไมโครลิตร น้ำกลั่น 90 ไมโครลิตร และเติมสารละลาย FRAP reagent 900 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด เป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง จึงวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร เปรียบเทียบค่าที่ได้กับกราฟมาตรฐานของโทรลอกซ์ ดังแสดงในภาคผนวก ก-2 แสดงค่าในรูป TEAC

3. ศึกษาสมบัติของสารสกัดหยาบจากชิงที่สกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤต

3.1 ศึกษาผลของอุณหภูมิและความดันของคาร์บอนไดออกไซด์ในคอลัมน์แยกและระยะเวลาการสกัดต่อสมบัติของสารสกัดหยาบจากชิง

นำชิงที่ผ่านการทำแห้งจากข้อ 1 มาบดลดขนาดด้วยเครื่องบดสมุนไพรร และร่อนผ่านตะแกรงที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 5 มิลลิเมตร นำไปสกัดด้วยเครื่อง Supercritical fluid extractor ดังแสดงใน Figure 8 โดยบรรจุวัตถุดิบน้ำหนักประมาณ 6 กิโลกรัม ลงในคอลัมน์สกัด (E) ใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวทำละลาย ซึ่งควบคุมความดันเท่ากับ 200.0 บาร์ และอุณหภูมิ 35.0 องศาเซลเซียส (Zancan *et al.*, 2002) ควบคุมอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์อยู่ในช่วง 15-17 กิโลกรัม/นาที โดยสารสกัดหยาบจากชิงที่สกัดได้ในคอลัมน์สกัด จะถูกส่งผ่านไปยังคอลัมน์แยกที่ 1 และ 2 ตามลำดับ เพื่อแยกสารสกัดหยาบจากชิงออกจากคาร์บอนไดออกไซด์โดยอาศัยความแตกต่างระหว่างค่าความหนาแน่นของคาร์บอนไดออกไซด์กับสารสกัดหยาบจากชิง เมื่อสารสกัดหยาบจากชิงและคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตผ่านเข้าสู่คอลัมน์แยกที่ 1 (S1) ซึ่งมีการลดความดันของคาร์บอนไดออกไซด์ลง ทำให้ค่าความหนาแน่นของคาร์บอนไดออกไซด์ลดลง ดังนั้นสารสกัดหยาบจากชิงที่มีค่าความหนาแน่นสูงกว่าค่าความหนาแน่นของคาร์บอนไดออกไซด์จึงสามารถแยกออกจากคาร์บอนไดออกไซด์ได้ ส่วนสารสกัดหยาบจากชิงที่มีค่าความหนาแน่นต่ำกว่าค่าความหนาแน่นของคาร์บอนไดออกไซด์ในคอลัมน์แยกที่ 1 จะถูกส่งผ่านไปยังคอลัมน์แยกที่ 2 (S2) ซึ่งมีการปรับลดอุณหภูมิและความดันของคาร์บอนไดออกไซด์ลงให้ต่ำกว่าในคอลัมน์แยกที่ 1 จึงทำให้ค่าความหนาแน่นของคาร์บอนไดออกไซด์มีค่าต่ำกว่าในคอลัมน์แยกที่ 1 ดังนั้นสารสกัดหยาบจากชิงที่มีค่าความหนาแน่นสูงกว่าค่าความหนาแน่นของคาร์บอนไดออกไซด์ดังกล่าวจึง

สามารถแยกออกมาได้ ซึ่งในการทดลองได้กำหนดความดันและอุณหภูมิของคาร์บอนไดออกไซด์ในคอลัมน์แยก (ได้รับความอนุเคราะห์ข้อมูลบางส่วนเพื่อกำหนดสภาวะจากศูนย์พัฒนายาไทยและสมุนไพร โรงงานต้นแบบศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพอุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย) ดังนี้

- คอลัมน์แยก ที่ 1 (S1) ความดัน 60.0 บาร์ อุณหภูมิ 35.0 องศาเซลเซียส คาร์บอนไดออกไซด์มีความหนาแน่นประมาณ 163.0 กิโลกรัม/ลูกบาศก์เมตร

- คอลัมน์แยก ที่ 2 (S2) ความดัน 50.0 บาร์ อุณหภูมิ 20.0 องศาเซลเซียส คาร์บอนไดออกไซด์มีความหนาแน่นประมาณ 144.0 กิโลกรัม/ลูกบาศก์เมตร

เก็บสารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากแต่ละคอลัมน์แยก ที่ระยะเวลาสกัด 10 นาที, 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 ชั่วโมง คำนวณร้อยละผลได้ (%Yield) ของสารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากระยะเวลาการสกัดต่างๆ ของคอลัมน์แยกที่ 1 และ 2 นำสารสกัดดังกล่าวไปวิเคราะห์สมบัติดังนี้

3.1.1 สมบัติทางเคมี ได้แก่ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และปริมาณสาร [6]-gingerol ตามวิธีการวิเคราะห์ในข้อ 2.1

3.1.2 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ตามวิธีการวิเคราะห์ในข้อ 2.2

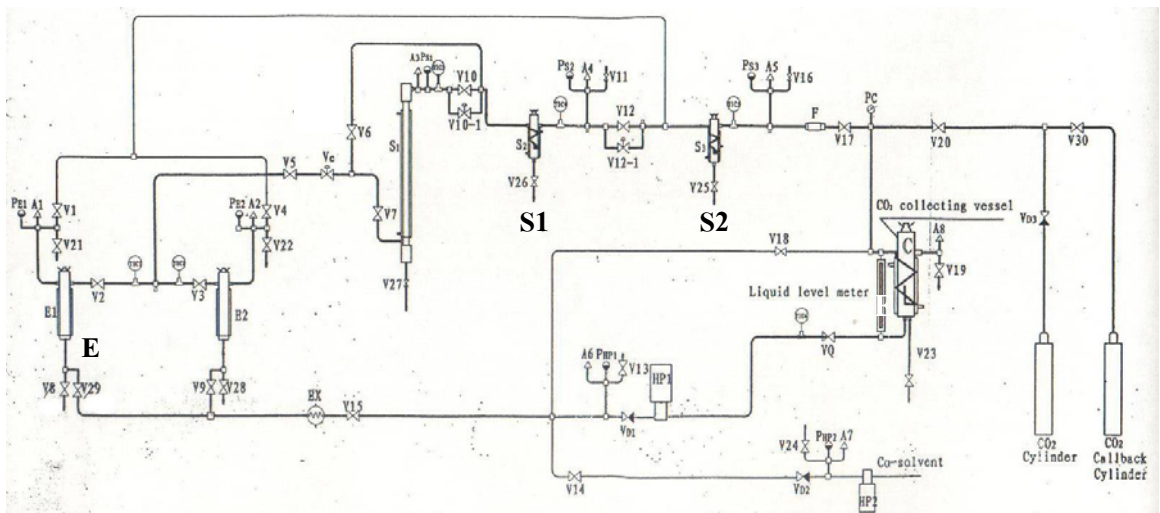


Figure 8. Schematic diagram of supercritical fluid extractor consisted of extraction column (E), separator 1 (S1) and separator 2 (S2)

ที่มา : ศูนย์พัฒนายาไทยและสมุนไพร โรงงานต้นแบบศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพอุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย

คัดเลือกสารสกัดหยาบจากขิง ในแต่ละคอลัมน์แยก ที่ระยะเวลาการสกัดเพียงระยะเวลาเดียว ที่ให้ปริมาณสาร [6]-gingerol และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด เพื่อนำมาเปรียบเทียบผลของวิธีการสกัดต่อสมบัติของสารสกัดหยาบจากขิงในการทดลองข้อ 3.3

จากนั้นคัดเลือกสารสกัดหยาบจากขิง จากคอลัมน์แยกเพียงคอลัมน์เดียวที่ให้ ปริมาณสาร [6]-gingerol สูงที่สุด และรวบรวมสารสกัดจากคอลัมน์ดังกล่าว ตั้งแต่ระยะเวลาเริ่ม การสกัดจนถึงระยะเวลาสกัดที่ให้ปริมาณ [6]-gingerol สูงที่สุด เพื่อนำมาเปรียบเทียบกับผลของ การใช้ตัวทำละลายร่วมในการสกัดขากขิงในข้อ 3.2 การนำไปใช้ในการศึกษาผลของอุณหภูมิ และระยะเวลาเก็บรักษาต่อความคงตัวของสารสกัดหยาบจากขิงในข้อ 4 และการประยุกต์ใช้สาร สกัดหยาบจากขิงในไอศกรีม ในข้อ 5 และ 6

3.2 ศึกษาผลของการใช้ตัวทำละลายร่วมในการสกัดขากขิงต่อสมบัติของสารสกัด

ทำการสกัดขากขิงซึ่งเป็นส่วนที่ผ่านการสกัดมาแล้วจากข้อ 3.1 โดยบรรจุขากขิง ในคอลัมน์สกัด (E) ใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวทำละลาย ควบคุมความดันเท่ากับ 200.0 บาร์ และอุณหภูมิ 35.0 องศาเซลเซียส และใช้ 95.0% เอทานอล เป็นตัวทำละลายร่วม ในปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร เก็บตัวอย่างสารสกัด จากคอลัมน์แยก ที่ 1 (S1) และคอลัมน์แยก ที่ 2 (S2) ซึ่ง กำหนดความดันและอุณหภูมิ เช่นเดียวกับการทดลองในข้อ 3.1 ใช้ระยะเวลาในการสกัด เป็นเวลา 90 นาที นำสารสกัดที่ได้จากแต่ละคอลัมน์แยก ไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบ สูญญากาศ คำนวณร้อยละผลได้ของสารสกัดหยาบจากขากขิงที่ได้ จากคอลัมน์แยกที่ 1 และ 2 นำ สารสกัดที่ได้ไปวิเคราะห์สมบัติดังนี้

3.2.1 สมบัติทางเคมี ได้แก่ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และปริมาณสาร [6]-gingerol ตามวิธีการวิเคราะห์ในข้อ 2.1

3.2.2 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ตามวิธีการวิเคราะห์ในข้อ 2.2

ในการทดลองนี้ได้เปรียบเทียบสมบัติทางเคมี และการต้านอนุมูลอิสระ ของสาร สกัดหยาบจากขากขิงที่ได้ในคอลัมน์แยกที่ 1 และ 2 กับ สารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากคอลัมน์แยก เพียงคอลัมน์เดียวที่ให้ปริมาณสาร [6]-gingerol สูงที่สุด ในข้อ 3.1 โดยรวบรวมสารสกัดหยาบจาก ขิงในคอลัมน์แยกดังกล่าวตั้งแต่ระยะเวลาเริ่มการสกัดจนถึงระยะเวลาสกัดที่ให้ปริมาณ [6]-gingerol สูงที่สุด

3.3 ศึกษาผลของวิธีการสกัดต่อสมบัติของสารสกัดหยาบจากขิง

เปรียบเทียบสมบัติทางเคมี สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ และสมบัติการยับยั้งจุลิน ทรีย์ของสารสกัดหยาบจากขิงที่สกัดโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤต ซึ่งคัดเลือกจากข้อ 3.1 กับการสกัดแบบแช่ในตัวทำละลาย โดยดัดแปลงวิธีการของ Cai และคณะ (2004) และ Zaoung (2004) โดยใช้ขิงสกัดด้วยเมทานอล มีอัตราส่วนของขิงแห้ง ต่อเมทานอล เท่ากับ 1:5 (น้ำหนักโดยปริมาตร) ปั่นด้วยเครื่องปั่นผสมเป็นระยะเวลา 15 วินาที คนผสม แล้วจึงปั่นต่ออีก 15 วินาที ถ่ายของผสมลงขวด สกัดแช่ไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นจึงนำไป

เหวี่ยงแยก เอาเฉพาะส่วนใสไปประเหยแยกเมทธานอลออกด้วยเครื่องระเหยแบบสูญญากาศ นำสารสกัดที่ได้จากการสกัดทั้ง 2 วิธี ไปวิเคราะห์สมบัติ ดังนี้

3.3.1 สมบัติทางเคมี ได้แก่ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และปริมาณสาร [6]-gingerol ตามวิธีการวิเคราะห์ในข้อ 2.1

3.3.2 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ตามวิธีการวิเคราะห์ในข้อ 2.2

3.3.3 สมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์

ทดสอบสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์โดยวิธี Disc diffusion assay (ดัดแปลงจาก Lorian, 1980) ใช้เชื้อแบคทีเรียที่ทดสอบ ได้แก่ *Staphylococcus aureus* TISTR 1466 และ *Escherichia coli* TISTR 780 และเชื้อรา ได้แก่ *Aspergillus niger* TISTR 3245

3.3.3.1 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์

การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ สำหรับแบคทีเรียถ่ายเชื้อ 1 ลูบลงในอาหาร Mueller Hinton Broth จำนวน 10 มิลลิลิตร บ่มเพาะเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 37.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อที่บ่มไว้ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อใหม่ บ่มที่อุณหภูมิ 37.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง สำหรับเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ 15 ชั่วโมงสำหรับเชื้อ *Escherichia coli* เพื่อให้เชื้อดังกล่าวเข้าสู่การเจริญเติบโตในช่วง Mid log phase นำเชื้อในระยะดังกล่าวมาทดสอบสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัด โดยเจือจางเชื้อเริ่มต้นด้วยอาหาร Mueller Hinton Broth เพื่อให้ได้ปริมาณเชื้อประมาณ 10^6 โคโลนี/มิลลิลิตร จากนั้นนำเชื้อดังกล่าวปริมาตร 2 มิลลิลิตร ถ่ายลงในอาหาร Mueller Hinton Agar ปริมาตร 18 มิลลิลิตร เขย่าผสมให้เข้ากัน แล้วเทลงในจานเพาะเลี้ยงเชื้อ ซึ่งทำให้มีความปริมาณเชื้อสุดท้ายเท่ากับ 10^5 โคโลนี/มิลลิลิตร

ส่วนเชื้อราเลี้ยงเชื้อในอาหาร Potato Dextrose Agar ที่อุณหภูมิ 37.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน แล้วเตรียมสารแขวนลอยของสปอร์โดยใช้น้ำที่ผสม Tween 80 ความเข้มข้น 1% ใช้แท่งแก้วที่ปลอดเชื้อขูดผิวหน้าอาหารเพื่อให้สปอร์ออกมาชะล้างกับน้ำ กรองผ่านกรวยแก้วที่มีสำลีปลอดเชื้อเพื่อแยกสปอร์ จะได้สารแขวนลอยสปอร์ นับจำนวนสปอร์โดยใช้ Hemacytometer และปรับปริมาณสปอร์ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Broth เพื่อให้ได้ปริมาณสปอร์ เท่ากับ 10^6 เซลล์/มิลลิลิตร จากนั้น ปิเปิดสปอร์ดังกล่าวปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงบนอาหาร Potato Dextrose Agar แล้ว spread ให้ทั่วผิวหน้าอาหาร ซึ่งทำให้มีความปริมาณสปอร์สุดท้ายเท่ากับ 10^5 เซลล์/มิลลิลิตร

3.3.3.2 การเตรียมสารสกัดหยาบจากจิงและการทดสอบสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์

เตรียมสารสกัดหยาบจากจิง โดยปรับความเข้มข้นของสารสกัดด้วยเมทธานอล (99.99%) ให้มีความเข้มข้น เท่ากับ 3200, 1600, 800 และ 400 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปิเปิดสารสกัด

ดังกล่าวลงบน paper disc (เส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร) ปริมาตร 10 ไมโครลิตร (ทำให้มีความเข้มข้นสุดท้ายของสารสกัดเท่ากับ 32, 16, 8 และ 4 มิลลิกรัม/ดิสก์) ปล่อยให้แห้งในภาชนะปิดซึ่งปลอดเชื้อ จากนั้นวาง paper disc ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ข้างต้น โดยมี paper disc ที่มีเฉพาะเมทธานอลซึ่งเจือจางด้วยน้ำกลั่น ให้มีความเข้มข้น เท่ากับ 19.00, 9.50, 4.75 และ 2.38% โดยปริมาตร เป็นชุดควบคุม จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สำหรับเชื้อแบคทีเรีย และ 48 ชั่วโมง สำหรับเชื้อรา วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส ที่เกิดขึ้นรอบแผ่น paper disc และอ่านค่า Minimum Inhibitory concentration (MIC) ซึ่งเป็นระดับความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากจึงที่ให้ผลยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ทดสอบที่ 24 ชั่วโมง และเชื้อราที่ 48 ชั่วโมง โดยสังเกตได้จากวงใสที่เกิดขึ้นรอบแผ่น paper disc

4. ศึกษาผลของอุณหภูมิและระยะเวลาเก็บรักษาต่อความคงตัวของสารสกัดหยาบจากจึง

นำสารสกัดหยาบจากจึงที่สกัดโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤต ซึ่งใช้เกณฑ์การคัดเลือก ดังแสดงรายละเอียดในข้อ 3.1 นำเก็บรักษาในขวดแก้วสีชา ฝาเกลียว ขนาด 4 มิลลิลิตร ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อความคงตัว ดังต่อไปนี้

- อุณหภูมิการเก็บรักษา 3 ระดับ คือ -20.0, 4.0±1.0 และ 27.0±1.0 องศาเซลเซียส (อุณหภูมิห้อง)

- ระยะเวลาเก็บรักษา เดือนที่ 0, 1, 2, 3 และ 4

ตรวจวิเคราะห์สมบัติทางเคมี สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ และคุณภาพทางจุลินทรีย์ดังนี้

4.1 สมบัติทางเคมี ได้แก่ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และปริมาณสาร [6]-gingerol ตามวิธีการวิเคราะห์ในข้อ 2.1 โดยตรวจวิเคราะห์ ทุกๆ 1 เดือน

4.2 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ตามวิธีการวิเคราะห์ในข้อ 2.2 โดยตรวจวิเคราะห์ ทุกๆ 1 เดือน

4.3 คุณภาพทางจุลินทรีย์ ตรวจวิเคราะห์ในเดือนที่ 0 และ 4

- จุลินทรีย์ทั้งหมด (USFDA, 2001a)
- Coliform bacteria (USFDA, 2002)
- ยีสต์และรา (USFDA, 2001b)
- *Escherichia coli* (USFDA, 2002)
- *Staphylococcus aureus* (USFDA, 2001c)

5. ศึกษาการประยุกต์ใช้สารสกัดหยาบจากจิงในไอศกรีมและการประเมินการยอมรับทางประสาทสัมผัสของไอศกรีมโดยผู้ทดสอบ

5.1 การคัดเลือกสูตรพื้นฐาน

คัดเลือกสูตรพื้นฐานการผลิตไอศกรีมจากสูตร ดังแสดงใน Table 16 และผลิตไอศกรีมตามขั้นตอนดังแสดงใน Figure 9 โดยเริ่มจากการคำนวณปริมาณส่วนผสมของไอศกรีมตามสูตร นำส่วนผสมที่เป็นของเหลว ได้แก่ นมขาดมันเนย ครีม และน้ำ มาผสมรวมกันและให้ความร้อนจนมีอุณหภูมิเท่ากับ 60.0 องศาเซลเซียส จากนั้นนำส่วนผสมที่เป็นของแข็ง ได้แก่ นมผงขาดมันเนย น้ำตาล กลูโคสไซรัป สารให้ความคงตัว และอิมัลซิไฟเออร์ มาผสมรวมกันและเติมลงไปในส่วนผสมที่เป็นของเหลวโดยกวนตลอดเวลา จนส่วนผสมที่เป็นของแข็งละลายจนหมดและมีอุณหภูมิเท่ากับ 75.0 องศาเซลเซียส จากนั้นจึงนำส่วนผสมไอศกรีมไปโฮโมจิไนซ์ ที่ความดัน 3,000 ปอนด์/ตารางนิ้ว และนำส่วนผสมไอศกรีมดังกล่าวไปพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 80.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที จึงทำให้ส่วนผสมไอศกรีมเย็นลงทันที ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 4.0 องศาเซลเซียส แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 4.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำส่วนผสมไอศกรีมที่ผ่านการบ่มไปปั่นด้วยเครื่องปั่นไอศกรีม บรรจุไอศกรีมที่ได้ลงถ้วยพลาสติก และนำเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20.0 องศาเซลเซียส จากนั้นตรวจวิเคราะห์สมบัติทางเคมี กายภาพ จุลินทรีย์ และคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของไอศกรีม ดังนี้

5.1.1 สมบัติทางเคมี

- ปริมาณของแข็งทั้งหมด (A.O.A.C., 2000)
- ปริมาณไขมัน โดยวิธี Roesse-Gottlieb (A.O.A.C., 2000)
- ฟิเอช (A.O.A.C., 2000)

5.1.2 สมบัติทางกายภาพ

- ค่าสีในระบบ CIE LAB โดยใช้เครื่องวัดค่าสี รายงานค่าในรูป L^* , a^* และ b^* (สุพัฒน์ ใต้เวชศาสตร์, 2546)

- ค่าโอเวอร์รัน (Whelan *et al.*, 2007)

โดยกำหนดให้ปริมาตรของไอศกรีมคงที่ โดยชั่งน้ำหนักส่วนผสมไอศกรีมซึ่งบรรจุเต็มบีกเกอร์ที่มีปริมาตร 50 มิลลิลิตร หลังจากปั่นส่วนผสมจนเป็นไอศกรีม จึงบรรจุไอศกรีมลงจนเต็มบีกเกอร์ใบเดิม แล้วชั่งน้ำหนัก นำข้อมูลที่ได้ไปคำนวณค่าโอเวอร์รัน ดังสมการ

$$\text{ค่าโอเวอร์รัน} = \frac{\text{น้ำหนักของส่วนผสม} - \text{น้ำหนักของไอศกรีม}}{\text{น้ำหนักของไอศกรีม}} \times 100$$

- ค่าความหนืด (สุพรรณ ใต้เวชศาสตร์, 2546)

วัดความหนืดของส่วนผสมไอศกรีม ที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิประมาณ 4.0 ± 1.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยใช้เครื่องวัดความหนืด ติดตั้งหัวเข็มวัดเบอร์ 4 กำหนดความเร็วรอบการหมุนเป็น 100 รอบต่อนาที อ่านค่าที่ได้ภายหลังมอเตอร์ของหัววัดหมุนไปได้เป็นเวลา 30 วินาที โดยควบคุมให้ส่วนผสมของไอศกรีมขณะวัดอยู่ที่ 10.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส

- อัตราการละลาย (สุพรรณ ใต้เวชศาสตร์, 2546)

นำไอศกรีมที่ผ่านการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วัดอัตราการละลายของไอศกรีมในห้องที่มีการปรับอุณหภูมิประมาณ 24.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส วางไอศกรีมน้ำหนักประมาณ 55-60 กรัม บนตะแกรงลวดที่มีความกว้างช่องตะแกรง เท่ากับ 4.80 ± 0.05 มิลลิเมตร จากนั้นชั่งน้ำหนักไอศกรีมที่ละลายทุกๆ 10 นาที เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำผลที่ได้ไปเขียนกราฟระหว่างน้ำหนักไอศกรีมที่ละลายต่อ 100 กรัมของไอศกรีม และระยะเวลา (นาที) โดยคำนวณอัตราการละลายในรูป น้ำหนักไอศกรีมที่ละลาย (%) ต่อเวลา (นาที) ได้จากความชันกราฟ

- ค่าความแน่นแข็ง (Guinard *et al.*, 1997)

นำไอศกรีมที่บรรจุในถ้วยพลาสติก กำหนดน้ำหนักบรรจุ 55-60 กรัม/ถ้วย ซึ่งผ่านการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วัดเนื้อสัมผัสของไอศกรีมโดยอาศัยหลักการวัดค่าแรงกด (Compression force) ที่กระทำต่อเนื้อไอศกรีมด้วยระยะทางคงที่ สภาวะที่ใช้ในการวัดประกอบด้วยหัวกด (Probe) ทรงกระบอก ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.5 เซนติเมตร สูง 4.0 เซนติเมตร อัตราเร็วการเคลื่อนที่ของหัวกดขณะวัด 2.0 มิลลิเมตร/วินาที อ่านค่าแรงกดเมื่อระยะทางที่หัวกดลงผ่านเนื้อไอศกรีม 10.0 มิลลิเมตร

5.1.3 คุณภาพทางจุลินทรีย์ ตรวจวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด

5.1.4 คุณลักษณะทางประสาทสัมผัส

ประเมินการยอมรับทางประสาทสัมผัสของไอศกรีมทั้ง 6 สูตร ด้วยวิธีการให้คะแนนความชอบ 9 ระดับ (9-point hedonic scale) โดยประเมินคุณลักษณะด้านสี ลักษณะปรากฏ ความแน่นแข็ง ความเรียบเนียน รสหวาน กลิ่นรสของไอศกรีม และการยอมรับโดยรวม โดยใช้ผู้ทดสอบทั่วไปจำนวน 30 คน

Table 16. Formulations of ice cream (per 100 grams)

Ingredients	Formulas					
	1 ^c	2	3 ^d	4	5 ^e	6
Skim milk	63.20	63.20	40.70	40.70	64.70	64.70
Cream	22.60	22.60	28.60	28.60		
Butter					14.20	14.20
Skim milk powder	3.70	3.70	6.40	6.40	4.00	4.00
Sucrose	10.00	10.00	10.00	10.00	9.00	9.00
Glucose syrup			8.00	8.00	3.80	3.80
Locust bean gum	0.30	0.30				
Lecithin	0.20	0.20				
Stabilizer/Emulsifier ^a			0.30	0.30	0.30	0.30
Water			6.00	6.00	4.00	4.00
Crude ginger extract ^b		0.05		0.05		0.05

^aStabilizer/Emulsifier KELGUM[®] 280, consisted of guar gum, xanthan gum, carrageenan, momo and diglycerides, polysorbate 80 and citric acid

^bCrude ginger extract was obtained from part 3.1

^cสูตรที่ 1 จาก บุญช่วย มะลิหอม (2547), ^dสูตรที่ 3 ดัดแปลงจาก Liou และ Grun (2007), ^eสูตรที่ 5 ดัดแปลงจาก Stampanoni และคณะ (1996)

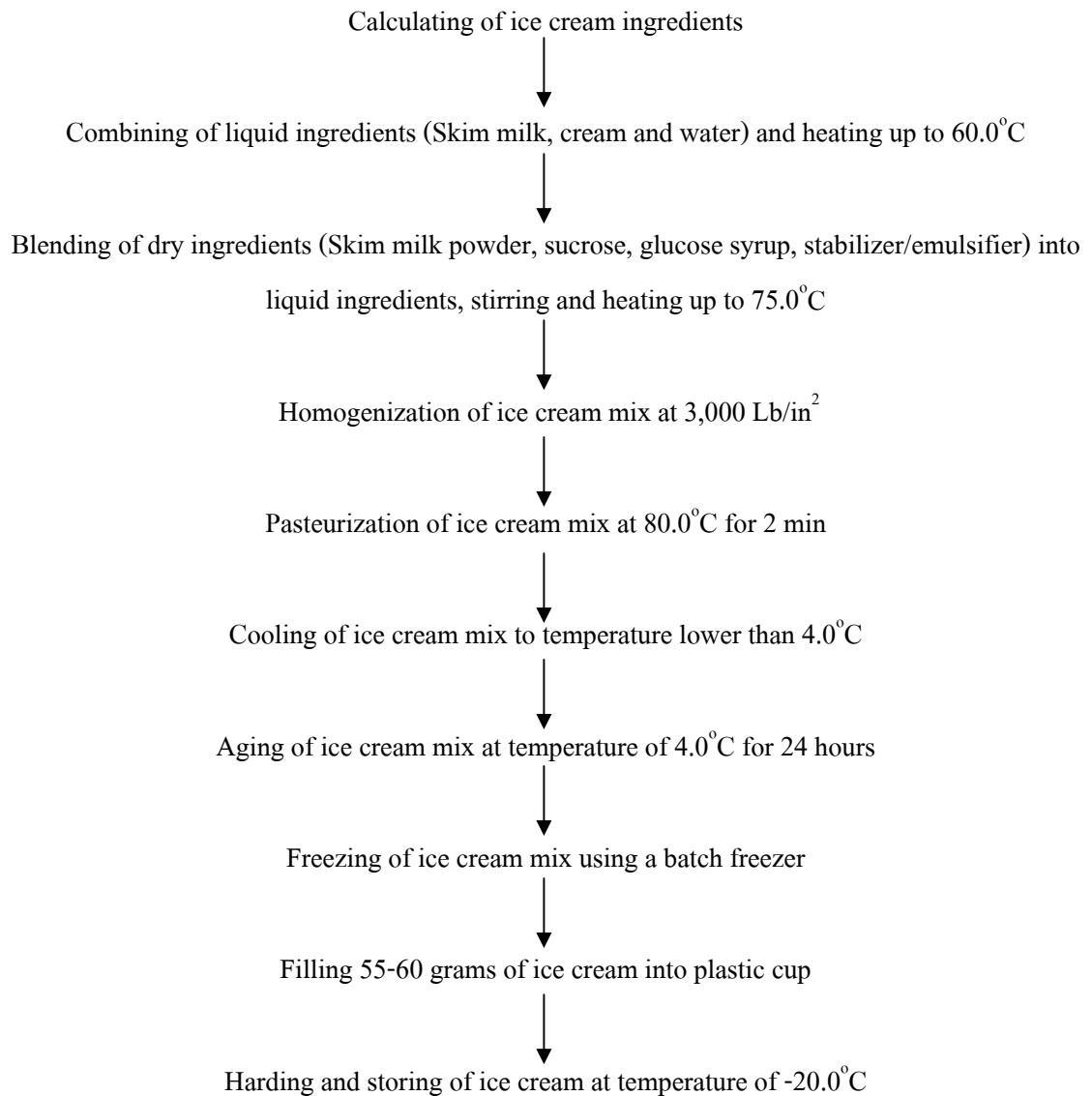


Figure 9. The processing of ice cream

ที่มา: ดัดแปลงจาก Marshall และ Arbuckle (1996)

5.2 ศึกษาผลของการเติมสารสกัดหยาบจากขิงต่อสมบัติและการยอมรับทางประสาทสัมผัสของไอศกรีม

คัดเลือกสูตร ไอศกรีมที่ได้รับการยอมรับสูงสุดจากข้อ 5.1 ทำการผลิตไอศกรีมตามสูตรดังกล่าว จากนั้นศึกษาผลของการเติมสารสกัดหยาบจากขิงที่สกัดโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตโดยเกณฑ์การคัดเลือก ดังแสดงรายละเอียดในข้อ 3.1 โดยเติมสารสกัดหยาบจากขิงดังกล่าวในปริมาณต่างๆ 4 ระดับ ได้แก่ 0.000 (ชุดควบคุม), 0.050, 0.065 และ 0.080% (น้ำหนักสารสกัด/น้ำหนักของส่วนผสมไอศกรีม) ลงในขั้นตอนการปั่นส่วนผสม หลังจากนั้นบรรจุไอศกรีมในถ้วยพลาสติกชนิดโพลีโพรพิลีน น้ำหนักบรรจุ 25-30 กรัม สำหรับการประเมินคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส และน้ำหนักบรรจุ 55-60 กรัม สำหรับวิเคราะห์สมบัติของไอศกรีม นำเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20.0 องศาเซลเซียส จากนั้น ตรวจสอบวิเคราะห์สมบัติทางเคมี กายภาพ การต้านอนุมูลอิสระ และคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของไอศกรีม ดังนี้

5.2.1 สมบัติทางเคมี

- ปริมาณของแข็งทั้งหมด ปริมาณไขมัน และฟิเอช ตรวจสอบวิเคราะห์เช่นเดียวกับการทดลองในข้อ 5.1.1

- ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และปริมาณสาร [6]-gingerol ตรวจสอบวิเคราะห์เช่นเดียวกับการทดลองในข้อ 2.1

5.2.2 สมบัติทางกายภาพ ตรวจสอบเช่นเดียวกับการทดลองในข้อ 5.1.2

5.2.3 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ตรวจสอบวิเคราะห์เช่นเดียวกับการทดลองในข้อ 2.2

5.2.4 คุณภาพทางจุลินทรีย์ ตรวจสอบวิเคราะห์จุลินทรีย์ทั้งหมด

5.2.5 คุณลักษณะทางประสาทสัมผัส ประเมินการยอมรับทางประสาทสัมผัสของไอศกรีม เช่นเดียวกับการทดลองในข้อ 5.1.4

6. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของไอศกรีมระหว่างการเก็บรักษาและการเปรียบเทียบสมบัติทางเคมีและสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของไอศกรีมที่ผลิตกับไอศกรีมทางการค้า

ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของไอศกรีมที่ไม่เติม (ชุดควบคุม) และเติมสารสกัดหยาดจากขิงในระหว่างการเก็บรักษา โดยคัดเลือกสูตรไอศกรีมที่ได้รับการยอมรับสูงสุดจากข้อ 5.2 ทำการผลิต และบรรจุในถ้วยพลาสติกชนิดโพลีโพรพิลีน ขนาดบรรจุ 25-30 กรัม สำหรับการประเมินคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสและขนาดบรรจุ 55-60 กรัม สำหรับวิเคราะห์สมบัติของไอศกรีม นำเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20.0 องศาเซลเซียส สุ่มตัวอย่างตรวจวิเคราะห์ในวันที่ 0, 15, 30, 45 และ 60 ของการเก็บรักษา จากนั้นวิเคราะห์สมบัติของไอศกรีม ดังนี้

6.1 สมบัติทางเคมี

- ปริมาณของแข็งทั้งหมด และพีเอช ตรวจวิเคราะห์เช่นเดียวกับการทดลองในข้อ 5.1.1
- ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และปริมาณสาร [6]-gingerol ตรวจวิเคราะห์เช่นเดียวกับการทดลองในข้อ 2.1

6.2 สมบัติทางกายภาพ ได้แก่ ค่าสี อัตราการละลาย และความแน่นแข็ง ตรวจวัดเช่นเดียวกับการทดลองในข้อ 5.1.2

6.3 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ตรวจวิเคราะห์เช่นเดียวกับการทดลองในข้อ 2.2

6.4 คุณภาพทางจุลินทรีย์ ตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์ ได้แก่ จุลินทรีย์ทั้งหมด, Coliform bacteria, *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ภายหลังการผลิต (วันที่ 0) และตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์ทั้งหมด ในระหว่างการเก็บรักษา

6.5 คุณลักษณะทางประสาทสัมผัส ประเมินการยอมรับทางประสาทสัมผัสของไอศกรีมที่ไม่เติมและเติมสารสกัดหยาดจากขิงในระหว่างการเก็บรักษา และไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาดจากขิงที่ทำการผลิตใหม่ทุกครั้งที่มีตรวจสอบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส ดังนั้นจึงรวมเป็น 3 ตัวอย่าง ประเมินการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้วยวิธีการให้คะแนนความชอบ 9 ระดับ (9-point hedonic scale) โดยประเมินคุณลักษณะด้านสี ลักษณะปรากฏ ความแน่นแข็ง ความเรียบเนียน รสหวาน กลิ่นรสของไอศกรีม และการยอมรับโดยรวม โดยใช้ผู้ทดสอบจำนวน 15 คน

6.6 เปรียบเทียบสมบัติทางเคมีและสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของไอศกรีมที่ผลิตและไอศกรีมทางการค้า

เปรียบเทียบสมบัติทางเคมี และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของไอศกรีมที่ผลิตขึ้นทั้งที่ไม่เติม (ชุดควบคุม) และเติมสารสกัดหยาดจากขิง กับไอศกรีมนม กลิ่นวานิลลาทางการค้า 2 ตัวอย่าง โดยเปรียบเทียบสมบัติทางเคมี เช่นเดียวกับการทดลองในข้อ 5.2.1 และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระเช่นเดียวกับการทดลองในข้อ 2.2

7. การประเมินต้นทุนการผลิต การประเมินต้นทุนการผลิตแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ

7.1 ต้นทุนการผลิตสารสกัดหยาบจากขิงที่สกัดโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤต

7.2 ต้นทุนการผลิตไอศกรีมที่ไม่เติมและเติมสารสกัดหยาบจากขิง

8. การวางแผนการทดลองและการวิเคราะห์ทางสถิติ

8.1 การทดลองในข้อ 2 วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) ทำการทดลอง 2 ซ้ำ และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยสิ่งทดลองโดยใช้ t-test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยใช้โปรแกรม SPSS for Window Version 11.0

8.2 การทดลองในข้อ 3.1 ทำการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิก สาร [6]-gingerol และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างสารสกัดหยาบจากขิง โดยหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) โดยใช้ Pearson's Correlation Coefficient

8.3 การทดลองในข้อ 4 วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) และจัดชุดการทดลองแบบแฟกทอเรียล 3×5 (อุณหภูมิเก็บรักษา×ระยะเวลาเก็บรักษา) ทำการทดลอง 2 ซ้ำ นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลองโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรม SPSS for Window Version 11.0

8.4 การทดลองในข้อ 3.3, 5 และ 6 (การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ สมบัติทางเคมี และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ)วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) ทำการทดลอง 2 ซ้ำ นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลองโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรม SPSS for Window Version 11.0

8.5 การทดสอบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส ในข้อ 5 และ 6 วางแผนการทดลองแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ (Random Complete Block Design, RCBD) นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลองโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรม SPSS for Window Version 11.0

บทที่ 3

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ผลได้ของขิงสดปอกเปลือกและขิงภายหลังการทำแห้ง

ผลได้ของขิงสดปอกเปลือกและขิงภายหลังการทำแห้ง ดังแสดงใน Table 17 พบว่า ผลได้ของขิงสดปอกเปลือกและขิงภายหลังการทำแห้ง เท่ากับ 64.95 ± 1.01 และ $5.35 \pm 0.19\%$ ตามลำดับ

Table 17. %Yields of fresh and dried gingers

Gingers	%Yields ^a
Fresh	64.95 ± 1.01^b
Dried	5.35 ± 0.19^c

^aDetermination was done in triplicate

^bYields, % = Weight of fresh peeled ginger \times 100/weight of fresh ginger

^cYields, % = Weight of dried ginger after drying \times 100/weight of fresh ginger

2. องค์ประกอบทางเคมีและสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของขิงสดปอกเปลือกและขิงภายหลังการทำแห้ง

2.1 องค์ประกอบทางเคมี

องค์ประกอบทางเคมีและสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของขิงสดปอกเปลือกและขิงภายหลังการทำแห้ง ดังแสดงใน Table 18 จากการทดลองพบว่า ขิงสดปอกเปลือกมีปริมาณความชื้นและเถ้า เท่ากับ 92.46 ± 0.36 และ $0.12 \pm 0.01\%$ ตามลำดับ ภายหลังการทำแห้งขิงที่อุณหภูมิ 55.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 11 ชั่วโมง ทำให้ขิงมีปริมาณความชื้น เท่ากับ $9.32 \pm 0.23\%$

ขิงสดปอกเปลือกมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่าขิงภายหลังการทำแห้ง อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยขิงสดปอกเปลือกและขิงภายหลังการทำแห้ง มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ที่คำนวณในรูปฐานแห้ง เท่ากับ 22.56 ± 0.45 และ 17.67 ± 0.24 มิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิก/กรัมตัวอย่าง ตามลำดับ ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับผลการทดลองของ จันทร์เพ็ญ มะลิพันธ์ ได้รายงานว่ ขิงสดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ที่คำนวณในรูปฐานแห้ง เท่ากับ 17.56 ± 0.77 มิลลิกรัมสมมูลย์

กรดแกลลิก/กรัมตัวอย่าง ส่วน Liu และคณะ (2008) รายงานว่า จิงที่ผ่านการทำแห้งแบบระเหิด มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ที่คำนวณในรูปฐานแห้ง เท่ากับ 21.24 ± 0.09 มิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิก/กรัมตัวอย่าง นอกจากนี้ Shan และคณะ (2005) รายงานว่า จิงที่ผ่านการทำแห้งด้วยลมร้อนที่อุณหภูมิ 40.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ที่คำนวณในรูปฐานแห้ง เท่ากับ 6.30 ± 0.09 มิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิก/กรัมตัวอย่าง ทั้งนี้ความร้อนที่ใช้ในการทำแห้งจิงมีผลต่อการสลายตัว (Degradation) ของสารประกอบฟีนอลิก โดย Bartley และ Jacobs (2000) ศึกษาการทำแห้งจิงโดยใช้เครื่องอบแห้งแบบลูกกลิ้ง (Drum dryer) ซึ่งกำหนดอุณหภูมิในระดับแรกและระดับที่สอง เท่ากับ 80.0 และ 63.0 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ทำแห้งเป็นระยะเวลา 22-24 ชั่วโมง จนจิงมีปริมาณความชื้น ประมาณ 10.00-12.00% พบว่า การทำแห้งมีผลทำให้ค่า %relative peak area ของสารในกลุ่มจินเจอร์อล ลดลงจาก 24.30% ไปเป็น 12.10% ในขณะที่มีค่า %relative peak area ของสารในกลุ่มโมโนเทอร์ปีนและเซสควิเทอร์ปีน ไฮโดรคาร์บอน เพิ่มขึ้น จาก 35.00% ไปเป็น 85.70% Kuljarachanan และคณะ (2009) รายงานว่า อุณหภูมิ และ/หรือระยะเวลาการทำแห้งมีผลต่อการสลายตัวของสารประกอบฟีนอลิกในกากมะนาว โดยเมื่ออุณหภูมิหรือระยะเวลาที่ใช้ในการทำแห้งเพิ่มขึ้นมีผลทำให้สารประกอบฟีนอลิกลดลง นอกจากนี้ยังพบว่าการทำแห้งกากมะนาวที่อุณหภูมิ 60.0 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 10 ชั่วโมง ทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกลดลง 30.00% นอกจากนี้ Lim และ Murtijaya (2007) พบว่า การทำแห้งสมุนไพร *Phyllanthus amarus* ด้วยตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 50.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง มีผลทำให้สารประกอบฟีนอลิกลดลงประมาณ 23.00% การสลายตัวของสารประกอบฟีนอลิกในระหว่างการทำแห้ง นอกจากจะเป็นผลเนื่องมาจากความร้อนแล้ว เอนไซม์ยังมีผลต่อการสลายตัวของสารประกอบฟีนอลิกเช่นกัน โดยเฉพาะเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (Polyphenol oxidase) แม้ว่าการทำแห้งที่อุณหภูมิสูงกว่า 50.0 องศาเซลเซียส จะสามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ดังกล่าวได้อย่างรวดเร็ว แต่อย่างไรก็ตามกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกิดขึ้นก่อนการทำแห้ง หรือในช่วงแรกของการทำแห้งอาจมีผลต่อสารประกอบฟีนอลิกได้เช่นกัน โดยเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส จะทำปฏิกิริยากับสารประกอบโมโนฟีนอลที่อยู่ในเซลล์พืช โดยมีออกซิเจนเป็นตัวเร่ง ทำให้เกิดปฏิกิริยาไฮดรอกซิเลชัน (Hydroxylation) เป็นออร์โท-ไดฟีนอล (*o*-diphenol) สารนี้จะถูกออกซิไดส์ต่อไปเป็นออร์โท-ควิโนน (*o*-quinone) ออร์โท-ควิโนนที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาที่เร่งด้วยเอนไซม์นี้จะรวมตัวกันและเกิดปฏิกิริยากับสารประกอบฟีนอลิกอื่นๆ หรือกับกรดอะมิโนได้เป็นสารประกอบเชิงซ้อนต่อไป (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2545)

ซิงสตรอบอกเปลือกมีปริมาณสาร [6]-gingerol สูงกว่าซิงที่ผ่านการทำแห้งอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยซิงสตรอบอกเปลือกและซิงภายหลังการทำแห้งมีปริมาณสาร [6]-gingerol ที่คำนวณในรูปฐานแห้ง เท่ากับ 25.18 ± 0.20 และ 22.18 ± 0.15 มิลลิกรัม/กรัมตัวอย่าง ตามลำดับ สอดคล้องกับผลการทดลองของ Zhang และคณะ (1994) รายงานว่า ซิงสดมีปริมาณสาร [6]-gingerol เท่ากับ 14.58 ± 0.31 มิลลิกรัม/กรัม ภายหลังการทำแห้งซิงแบบระเหิด ทำให้ซิงมีปริมาณสาร [6]-gingerol เท่ากับ 13.87 ± 0.46 มิลลิกรัม/กรัม นอกจากนี้ Balladin และคณะ (1996) พบว่า ซิงสดประกอบด้วยสาร [6]-gingerol และ [6]-shogaol ที่คำนวณในรูปฐานแห้ง เท่ากับ 32.44 และ 1.06 มิลลิกรัม/กรัม ตามลำดับ ภายหลังการทำแห้งด้วยพลังงานแสงอาทิตย์เป็นเวลา 3 วัน จนซิงมีปริมาณความชื้นประมาณ 10.20% ทำให้ซิงมีปริมาณสาร [6]-gingerol และ [6]-shogaol ที่คำนวณในรูปฐานแห้ง เท่ากับ 16.34 และ 48.90 มิลลิกรัม/กรัม ตามลำดับ ดังจะเห็นได้ว่าซิง ภายหลังการทำแห้งมีปริมาณสาร [6]-gingerol ลดลงจากซิงสด ทั้งนี้เนื่องจากโครงสร้างของสารในกลุ่มจินเจอร์อล ประกอบด้วยหมู่ β -hydroxy keto ซึ่งหมู่ดังกล่าวไวต่อความร้อนจึงเกิดการดีไฮเดรชันไปเป็นสารในกลุ่มโซกาออลได้ในระหว่างการแปรรูปด้วยความร้อน (Zhang *et al.*, 1994; Bhattarai *et al.*, 2001)

2.2 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

เมื่อวิเคราะห์สมบัติการจับอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS รวมทั้งความสามารถในการให้อิเล็กตรอน (Ferric reducing antioxidant power, FRAP) โดสมบัติการจับอนุมูลอิสระ DPPH รายงานค่าในรูป EC_{50} ซึ่งหมายถึง ปริมาณของสารตัวอย่างต่อ 1 มิลลิลิตร (ของสารละลาย DPPH และสารละลายตัวอย่าง) ที่ไปลดความเข้มข้นของอนุมูลอิสระ DPPH ลง 50% จากความเข้มข้นของสารละลาย DPPH เริ่มต้น สารใดๆ ที่มีค่า EC_{50} ต่ำ แสดงว่าสารดังกล่าวมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่สูง สำหรับสมบัติการจับอนุมูลอิสระ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็กตรอน รายงานค่าในรูป TEAC (Trolox equivalents antioxidant capacity) ซึ่งหมายถึง ปริมาณของสารละลายโทรลอกซ์ที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเทียบเท่ากับ 1 หน่วย (น้ำหนัก) ของสารตัวอย่าง สารใดๆ ที่มีค่าดังกล่าวสูง แสดงว่าสารดังกล่าวมีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระที่สูง ซึ่งจากการทดลองพบว่า ซิงสตรอบอกเปลือกมีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าซิงภายหลังการทำแห้งอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ซิงสตรอบอกเปลือกและซิงภายหลังการทำแห้งมีสมบัติการจับอนุมูลอิสระ DPPH มีค่า EC_{50} เท่ากับ 55.44 ± 3.50 และ 61.85 ± 5.36 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ สมบัติการจับอนุมูลอิสระ ABTS มีค่า TEAC เท่ากับ 0.24 ± 0.00 และ 0.20 ± 0.01 มิลลิโมลสมมูลย์โทรลอกซ์/กรัมตัวอย่าง ตามลำดับ และความสามารถในการให้อิเล็กตรอน มีค่า TEAC เท่ากับ 0.25 ± 0.00 และ 0.21 ± 0.00 มิลลิโมลสมมูลย์โทรลอกซ์/กรัมตัวอย่าง ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องมาจาก

การสลายตัวของสารประกอบฟีนอลิก จึงทำให้ขิงภายหลังการทำแห้งมีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระลดลง โดยสารประกอบฟีนอลิกมีบทบาทสำคัญในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยการให้ไฮโดรเจนอะตอมหรืออิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระทำให้อนุมูลอิสระมีความเสถียรมากขึ้น (Meyer *et al.*, 2002; Surveswaran *et al.*, 2007) ซึ่ง Shan และคณะ (2005) รายงานว่า สารประกอบฟีนอลิกที่สำคัญในขิง ได้แก่ สารกลุ่มจินิกเจอร์อล กรดคาเฟอิก (Caffeic acid) และกรดฟีนอลิกอื่นๆ โดยพบในปริมาณ 1.87, 0.16 และ 0.25 มิลลิกรัม/กรัม (คำนวณในรูปฐานแห้ง) ตามลำดับ นอกจากนี้ยังประกอบด้วยสารในกลุ่มฟลาโวน ได้แก่ Kaempferol ในปริมาณ 0.01 มิลลิกรัม/กรัม (Sultana and Anwar, 2008) ซึ่งสารเหล่านี้มีบทบาทต่อสมบัติการต้านอนุมูลอิสระในขิง สำหรับการเกิดการดีไฮเดรชันของสาร [6]-gingerol ไปเป็นสาร [6]-shogaol นั้นอาจมีผลต่อสมบัติการต้านอนุมูลอิสระเล็กน้อย ทั้งนี้ [6]-shogaol ยังคงมีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระเช่นกัน โดย Zaeoung (2004) วิเคราะห์สมบัติการจับอนุมูลอิสระ DPPH ของสาร [6]-gingerol และ [6]-shogaol พบว่า มีค่า EC_{50} เท่ากับ 4.4 ± 0.1 และ 4.0 ± 0.1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

2.3 ปริมาณโลหะหนักในขิงสด

สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณโลหะหนัก ได้แก่ สารหนู แคดเมียม ตะกั่ว และปรอท ในขิงสดนั้น ผลการทดลองดังแสดงใน Table 19 พบว่า ตรวจไม่พบโลหะหนักดังกล่าวทุกชนิดในขิงสด ทั้งนี้ปริมาณโลหะหนักต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ มีค่าเท่ากับ 0.025 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ซึ่งตัวอย่างขิงสดที่วิเคราะห์อาจมีปริมาณโลหะหนักต่ำกว่าค่าดังกล่าวหรืออาจไม่มีโลหะหนักในขิงสด อย่างไรก็ตามค่าที่ได้เป็นไปตามข้อกำหนดของปริมาณโลหะหนักในวัตถุดิบสมุนไพรตามมาตรฐานของ Thai Herbal Pharmacopoeia ที่รายงานไว้ว่า สมุนไพรที่จะนำมาใช้แปรรูปจะต้องมีปริมาณสารหนู ไม่เกิน 4.0 มิลลิกรัม/กิโลกรัม แคดเมียม ไม่เกิน 0.3 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตะกั่ว ไม่เกิน 10.0 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (Department of Medical Science, Ministry of Public Health, 2000) สำหรับปรอท อ้างอิงตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 98 (พ.ศ. 2529) เรื่องมาตรฐานอาหารที่มีสารปนเปื้อน รายงานว่า อาหารจะต้องมีปริมาณปรอทไม่เกิน 0.5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (กองควบคุมอาหาร, 2552ข.)

Table 18. Chemical compositions and antioxidant properties (by DPPH, ABTS radical scavenging activity and FRAP) of fresh and dried gingers

Ginger	Moisture contents	Ash	Total phenolic contents	[6]-gingerol contents	DPPH,	TEAC (mmol TE/ g dry weight)	
	(%, wet basis)	(%, wet basis)	(mg GAE/ g dry weight)	(mg/ g dry weight)	EC ₅₀ (µg/ml)	ABTS	FRAP
Fresh	92.46±0.36 ^a	0.12±0.01	22.56±0.45 ^a	25.18±0.20 ^a	55.44±3.50 ^b	0.24±0.00 ^a	0.25±0.00 ^a
Dried	9.32±0.23 ^b	-	17.67±0.24 ^b	22.18±0.15 ^b	61.85±5.36 ^a	0.20±0.01 ^b	0.21±0.00 ^b

Means±standard deviations in the same column with different letters are significantly different ($p < 0.05$)

- = not determined

GAE, Gallic acid equivalents

DPPH and ABTS radical scavenging activity, FRAP, Ferric reducing antioxidant power

EC₅₀, Efficient concentration, the amount of sample (µg) needed for 50% decreasing in the initial DPPH concentration per 1.0 ml of solution

TEAC, Trolox equivalents antioxidant capacity

TE, Trolox equivalents, millimolar of Trolox solution having an antioxidant capacity equivalent to 1.0 gram of the substance under investigation

Table 19. Heavy metal residues in fresh ginger

Heavy metals	Residues (mg/kg)
Arsenic	ND
Cadmium	ND
Lead	ND
Mercury	ND

ND = not detected

Based on limited of detection (LOD) = 0.025 mg/kg

3. สมบัติของสารสกัดหยาบจากขิงที่สกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤต

3.1 ผลของอุณหภูมิและความดันของคาร์บอนไดออกไซด์ในคอลัมน์แยกและระยะเวลาการสกัดต่อสมบัติของสารสกัด

โดยทั่วไปสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤต ที่สถานะหนึ่งๆ อาจไม่จำเพาะกับองค์ประกอบที่มีอยู่ในสารที่ต้องการเพียงชนิดเดียว แต่อาจมีองค์ประกอบอื่นที่มีความสามารถในการละลายภายใต้สถานะที่ใช้สกัด ถูกสกัดออกมาพร้อมกับสารที่ต้องการ การแยกองค์ประกอบดังกล่าวออกจากสารที่ต้องการสามารถทำได้โดยการใช้เทคนิค Fractional separation ซึ่งเป็นการแยกส่วนของสารสกัดออกตามความสามารถในการละลายได้ในคาร์บอนไดออกไซด์ที่สถานะหนึ่งๆ โดยการปรับอุณหภูมิ และ/หรือ ความดันของคาร์บอนไดออกไซด์ที่อยู่ในคอลัมน์แยก ทำให้อุณหภูมิ และ/หรือ ความหนาแน่นของคาร์บอนไดออกไซด์มีค่าลดลง จึงไปลดความสามารถในการละลายของสารสกัดในคาร์บอนไดออกไซด์ ทำให้สารสกัดที่ออกจากคอลัมน์สกัด เมื่อถูกส่งผ่านไปยังคอลัมน์แยกจึงเกิดการแยกส่วนได้ เทคนิคการ Fractional separation สารสกัดดังกล่าวทำให้แยกองค์ประกอบอื่นออกจากสารที่เราต้องการได้ คอลัมน์ที่ใช้สำหรับแยกอาจมีได้มากกว่า 2 คอลัมน์ ซึ่งการแยกส่วนของสารสกัดในหลายคอลัมน์แยก จะช่วยเพิ่มความสามารถในการแยกองค์ประกอบต่างๆ ออกจากสารที่เราต้องการได้ดียิ่งขึ้น

จากการศึกษาการสกัดขิงด้วยของไหลเหนือวิกฤตโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวทำละลาย ทำการปรับความดันและอุณหภูมิของคาร์บอนไดออกไซด์ในคอลัมน์สกัด เท่ากับ 200.0 บาร์ และ 35.0 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ทำให้มีความหนาแน่นของคาร์บอนไดออกไซด์ประมาณ 862.0 กิโลกรัม/ลูกบาศก์เมตร ภายหลังการสกัด สารสกัดหยาบจากขิงที่ออกจากคอลัมน์สกัดจะถูกส่งไปยังคอลัมน์แยกที่ 1 เป็นลำดับแรก ซึ่งคาร์บอนไดออกไซด์จะถูกลดความดันลง

เท่ากับ 60.0 บาร์ และมีอุณหภูมิ 35.0 องศาเซลเซียส ทำให้มีความหนาแน่นของคาร์บอนไดออกไซด์ ประมาณ 163.0 กิโลกรัม/ลูกบาศก์เมตร โดยสารสกัดหยาบจากจิงที่มีค่าความหนาแน่นสูงกว่าค่าความหนาแน่นของคาร์บอนไดออกไซด์จึงสามารถแยกออกมาจากคาร์บอนไดออกไซด์ได้ ส่วนสารสกัดหยาบจากจิงที่มีค่าความหนาแน่นต่ำกว่าซึ่งไม่ถูกแยกในคอลัมน์ที่ 1 จะผ่านเข้าสู่คอลัมน์แยกที่ 2 ซึ่งคาร์บอนไดออกไซด์จะถูกลดความดันลงเท่ากับ 50.0 บาร์ และมีอุณหภูมิ 20.0 องศาเซลเซียส ทำให้มีความหนาแน่นของคาร์บอนไดออกไซด์ ประมาณ 144.0 กิโลกรัม/ลูกบาศก์เมตร สารสกัดหยาบจากจิงที่มีค่าความหนาแน่นสูงกว่าค่าความหนาแน่นของคาร์บอนไดออกไซด์ดังกล่าว จึงแยกออกจากคาร์บอนไดออกไซด์ได้

เมื่อพิจารณาลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบจากจิงที่ได้จากคอลัมน์แยกที่ 1 และ 2 พบว่า สารสกัดหยาบจากจิงที่ได้จากคอลัมน์แยกทั้งสองมีลักษณะทางกายภาพที่แตกต่างกัน โดยสารสกัดหยาบจากจิงที่ได้จากคอลัมน์แยกที่ 1 มีลักษณะเป็นสารขุ่นหนืด มีสีเหลืองส้ม ในขณะที่สารสกัดหยาบจากจิงที่ได้จากคอลัมน์แยกที่ 2 มีลักษณะเป็นของเหลว มีสีน้ำตาล ดังแสดงใน Figure 10 ทั้งนี้ Cavero และคณะ (2006) รายงานว่า ความหนาแน่นของคาร์บอนไดออกไซด์ในคอลัมน์แยกมีผลต่อสมบัติของสารสกัดที่ได้ โดยส่วนใหญ่ น้ำมันหอมระเหยที่เป็นองค์ประกอบในวัตถุดิบ จะถูกแยกในคอลัมน์แยกที่มีความหนาแน่นของคาร์บอนไดออกไซด์ต่ำกว่า ในขณะที่สารสกัดที่มีองค์ประกอบของสารต้านอนุมูลอิสระจะถูกแยกในคอลัมน์แยกที่มีความหนาแน่นของคาร์บอนไดออกไซด์สูงกว่า

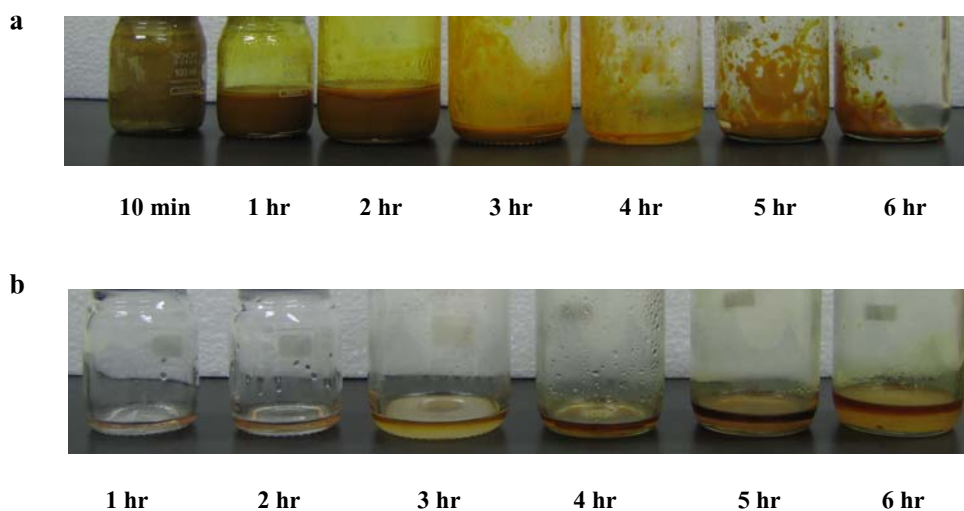


Figure 10. Appearances of crude ginger extracts from separation 1 (a) and separator 2 (b) with different extraction time using supercritical carbon dioxide (SC-CO₂) extraction

3.1.1 ผลได้ของสารสกัดหยาบจากจิง

ผลได้สะสมของสารสกัดหยาบจากจิงที่ได้จากคอลัมน์แยกที่ 1 และ 2 ดังแสดงใน Figure 11 จากการทดลองพบว่า เมื่อระยะเวลาการสกัดเพิ่มขึ้น ผลได้สะสมของสารสกัดหยาบจากจิงที่ได้ในแต่ละคอลัมน์แยกจะมีค่าเพิ่มขึ้น โดยผลได้สะสมของสารสกัดหยาบจากจิงที่ได้จากคอลัมน์แยกที่ 1 มีค่าสูงกว่า คอลัมน์แยกที่ 2 และภายหลังการสกัดเป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง คอลัมน์แยกที่ 1 และ 2 มีผลได้รวมของสารสกัดหยาบจากจิง เท่ากับ 2.13 และ 0.74% ตามลำดับ เมื่อคำนวณเป็นผลได้ทั้งหมดจากคอลัมน์แยกที่ 1 และ 2 มีค่าเท่ากับ 2.87% ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับผลการทดลองของ Zancan และคณะ (2002) รายงานว่า ผลได้ของสารสกัดหยาบจากจิงที่สกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤต ที่ปรับความดันและอุณหภูมิของคาร์บอนไดออกไซด์ในคอลัมน์สกัด เท่ากับ 200.0 บาร์ และ 35.0 องศาเซลเซียส ตามลำดับ มีค่าเท่ากับ 2.65%

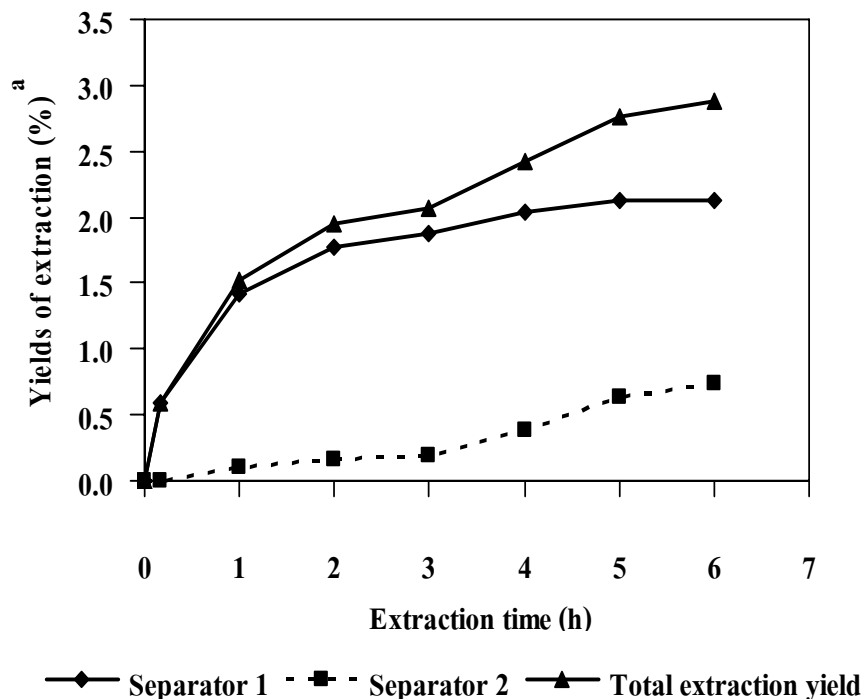


Figure 11. Accumulative extraction yields (%) of crude ginger extracts from separator 1 and 2 with different extraction time using SC-CO₂ extraction

^agrams of crude ginger extract/100 grams dried ginger, dried ginger contained 9.32±0.23% moisture content ; Separator 1 and 2 were carried out under pressure of 60.0 bar at temperature of 35.0°C and 50.0 bar at temperature of 20.0°C, respectively

3.1.2 สมบัติทางเคมีของสารสกัดหยาบจากขิง

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและปริมาณสาร [6]-gingerol ของสารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตในคอลัมน์แยกที่ 1 และ 2 ในระยะเวลาการสกัดที่แตกต่างกัน ดังแสดงใน Figure 12 และ 13 จากการทดลองพบว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และปริมาณสาร [6]-gingerol ในสารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากแต่ละคอลัมน์แยกมีค่าที่แตกต่างกัน โดยสารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากคอลัมน์แยกที่ 1 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และปริมาณสาร [6]-gingerol สูงกว่าสารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากคอลัมน์แยกที่ 2 เมื่อพิจารณาผลของระยะเวลาการสกัดต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และปริมาณสาร [6]-gingerol ในสารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากคอลัมน์แยกที่ 1 และ 2 พบว่า ระยะเวลาการสกัดมีผลต่อปริมาณของสารทั้งสอง โดยในช่วง 10 นาทีแรกของการสกัด สารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และปริมาณสาร [6]-gingerol ที่ต่ำ หลังจากนั้นจะมีค่าสูงขึ้น โดยสารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากคอลัมน์แยกที่ 1 จะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และปริมาณสาร [6]-gingerol สูงที่สุดในชั่วโมงที่ 2 ของการสกัด ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และปริมาณสาร [6]-gingerol เท่ากับ 331.90 ± 2.97 มิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิก/กรัมสารสกัดหยาบจากขิง และ 491.80 ± 2.42 มิลลิกรัม/กรัมสารสกัดหยาบจากขิง ตามลำดับ ส่วนสารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากคอลัมน์แยกที่ 2 จะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และปริมาณสาร [6]-gingerol สูงที่สุดในชั่วโมงที่ 3 ของการสกัด ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และปริมาณสาร [6]-gingerol เท่ากับ 327.40 ± 4.68 มิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิก/กรัมสารสกัดหยาบจากขิง และ 430.97 ± 1.38 มิลลิกรัม/กรัมสารสกัดหยาบจากขิง ตามลำดับ ทั้งนี้ Yonei และคณะ (1995) รายงานว่า การแยกส่วนของสารสกัดจากขิงในคอลัมน์แยกที่มีความดันและอุณหภูมิของคาร์บอนไดออกไซด์สูงกว่า หรือมีความหนาแน่นของคาร์บอนไดออกไซด์สูงกว่า จะให้สารสกัดที่มีปริมาณสาร [6]-gingerol เป็นองค์ประกอบสูงกว่า สารสกัดในคอลัมน์แยกที่มีความดันและอุณหภูมิของคาร์บอนไดออกไซด์ต่ำกว่า หรือมีความหนาแน่นของคาร์บอนไดออกไซด์ต่ำกว่า เช่นเดียวกับ Nguyen และคณะ (1998) พบว่า สารสกัดจากขิงที่ถูกแยกได้ในคอลัมน์แยกที่ 1 ซึ่งมีความดันและอุณหภูมิของคอลัมน์แยกเท่ากับ 250.0 บาร์ และ 65.0 องศาเซลเซียส ตามลำดับ มีปริมาณสาร [6]-gingerol ในสารสกัด เท่ากับ 13.95% ในขณะที่สารสกัดที่ได้จากคอลัมน์แยกที่ 2 ซึ่งมีความดันและอุณหภูมิของคอลัมน์แยก เท่ากับ 30.0 บาร์ และ 18.0 องศาเซลเซียส ตามลำดับ มีปริมาณสาร [6]-gingerol ในสารสกัดเท่ากับ 1.43%

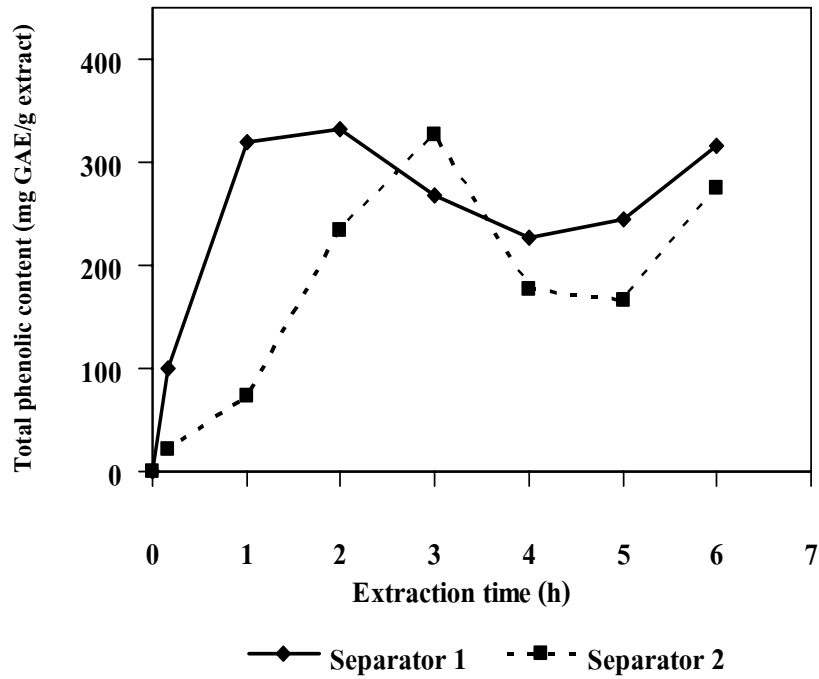


Figure 12. Total phenolic contents of crude ginger extracts from separator 1 and 2 with different extraction time using SC-CO₂ extraction

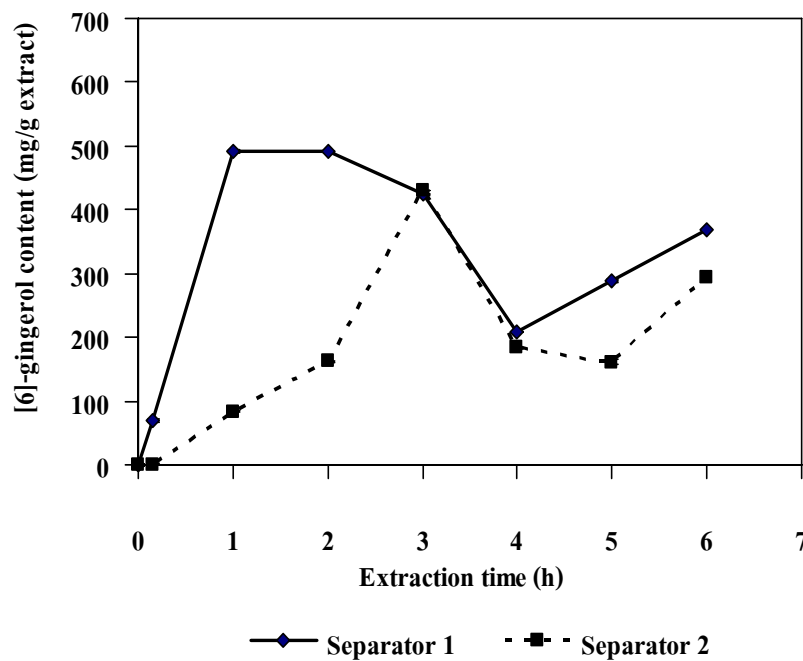


Figure 13. [6]-gingerol contents of crude ginger extracts from separator 1 and 2 with different extraction time using SC-CO₂ extraction

3.1.3 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากขิง

สมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตในคอลัมน์แยกที่ 1 และ 2 ในระยะเวลาการสกัดที่แตกต่างกัน วิเคราะห์สมบัติจับอนุมูลอิสระ DPPH, ABTS และความสามารถในการให้อิเล็กตรอน ดังแสดงใน Figure 14 และ 15 จากการทดลองพบว่า สารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากคอลัมน์แยกที่ 1 มีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากคอลัมน์แยกที่ 2 เมื่อพิจารณาผลของระยะเวลาการสกัดต่อสมบัติการต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากคอลัมน์แยกที่ 1 และ 2 พบว่า ระยะเวลาการสกัดมีผลต่อสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ โดยในช่วง 10 นาทีแรกของการสกัด สารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จะมีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระที่ต่ำ หลังจากนั้นจะมีค่าสูงขึ้น สารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากคอลัมน์แยกที่ 1 มีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดในชั่วโมงที่ 2 ของการสกัด โดยสารสกัดหยาบจากขิงมีสมบัติการจับอนุมูลอิสระ DPPH มีค่า EC_{50} เท่ากับ 5.66 ± 0.26 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สมบัติการจับอนุมูลอิสระ ABTS มีค่า TEAC เท่ากับ 2.67 ± 0.05 มิลลิโมลสมมูลย์โทรลอคซ์/กรัมสารสกัดหยาบจากขิง และความสามารถในการให้อิเล็กตรอน มีค่า TEAC เท่ากับ 3.14 ± 0.04 มิลลิโมลสมมูลย์โทรลอคซ์/กรัมสารสกัดหยาบจากขิง ส่วนสารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากคอลัมน์แยกที่ 2 มีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดในชั่วโมงที่ 3 ของการสกัด โดยสารสกัดหยาบจากขิงมีสมบัติการจับอนุมูลอิสระ DPPH มีค่า EC_{50} เท่ากับ 6.93 ± 0.54 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สมบัติการจับอนุมูลอิสระ ABTS มีค่า TEAC เท่ากับ 2.45 ± 0.04 มิลลิโมลสมมูลย์โทรลอคซ์/กรัมสารสกัดหยาบจากขิง และความสามารถในการให้อิเล็กตรอน มีค่า TEAC เท่ากับ 2.65 ± 0.03 มิลลิโมลสมมูลย์โทรลอคซ์/กรัมสารสกัดหยาบจากขิง ดังจะเห็นได้ว่าสารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากคอลัมน์แยกที่ 1 มีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากคอลัมน์แยกที่ 2 ทั้งนี้เนื่องมาจากสารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากคอลัมน์แยกที่ 1 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก รวมทั้งปริมาณสาร [6]-gingerol สูงกว่าสารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากคอลัมน์แยกที่ 2 ดังแสดงใน Figure 12 และ 13

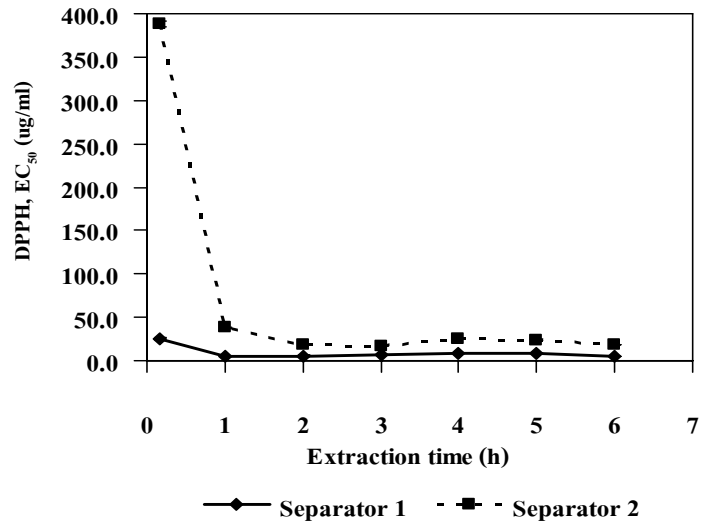


Figure 14. Antioxidant properties of crude ginger extracts from separator 1 and 2 with different extraction time using SC-CO₂ extraction as determined by DPPH radical scavenging activity

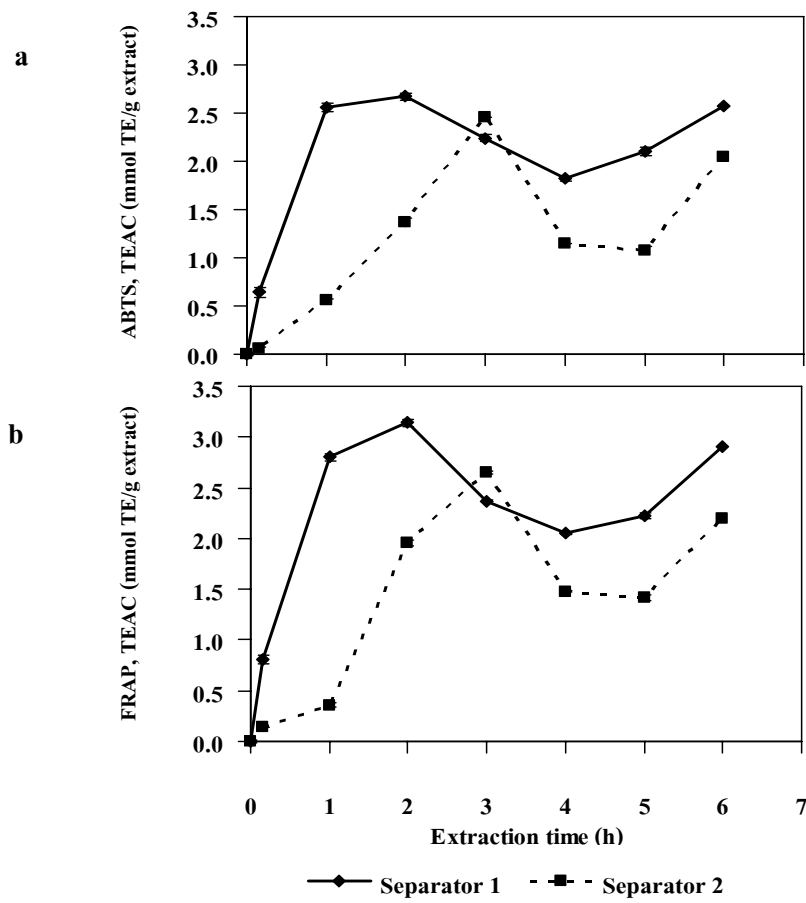


Figure 15. Antioxidant properties of crude ginger extracts from separator 1 and 2 with different extraction time using SC-CO₂ extraction as determined by (a) ABTS radical scavenging activity and (b) FRAP

โดยการทดลองพบว่า ที่ระยะเวลาการสกัด 2 ชั่วโมง ทำให้สารสกัดหยาบจากจิงที่ได้จากคอลัมน์แยกที่ 1 มีปริมาณสาร [6]-gingerol และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดในขณะที่ระยะเวลาการสกัด 3 ชั่วโมง ทำให้สารสกัดหยาบจากจิงที่ได้จากคอลัมน์แยกที่ 2 มีปริมาณสาร [6]-gingerol และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด ดังนั้นจึงคัดเลือกสารสกัดหยาบจากจิงที่ได้จากระยะเวลาสกัดดังกล่าวไปใช้ในการทดลองในข้อ 3.3 นอกจากนี้สารสกัดหยาบจากจิงที่ได้จากคอลัมน์แยกที่ 1 มีปริมาณสาร [6]-gingerol สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ และผลได้ที่สูงกว่าสารสกัดหยาบจากจิงที่ได้จากคอลัมน์แยกที่ 2 ทั้งนี้ที่ระยะเวลาการสกัด 2 ชั่วโมงสารสกัดหยาบจากจิงที่ได้จากคอลัมน์แยกที่ 1 จะมีปริมาณสาร [6]-gingerol และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด และยังพบว่าที่ระยะเวลาสกัดดังกล่าวผลได้สะสมของสารสกัดหยาบจากจิงเริ่มมีแนวโน้มคงที่ ดังนั้นจึงคัดเลือกสารสกัดหยาบจากจิงในคอลัมน์แยกที่ 1 และรวบรวมสารสกัดหยาบจากจิงที่ได้ตั้งแต่ระยะเวลา 10 นาทีแรกของการสกัด จนถึงชั่วโมงที่ 2 ของการสกัด นำไปใช้ในการทดลองในข้อ 4, 5 และ 6

3.1.4 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีและสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เป็นค่าที่ใช้ในการพิจารณาความสัมพันธ์ของตัวแปร 2 ตัวแปรว่ามีความสัมพันธ์กันหรือไม่ โดยมีค่าอยู่ระหว่าง -1.00 ถึง 1.00 (ยูทช ไกยวรรณ, 2548) สำหรับผลการวิเคราะห์ค่าความสัมพันธ์ในรูปสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) ของค่าที่ได้จากสมบัติการจับอนุมูลอิสระ DPPH, ABTS และความสามารถในการให้อิเล็กตรอน ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และปริมาณสาร [6]-gingerol ของสารสกัดหยาบจากจิงที่ระยะเวลาการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตนาน 10 นาที, 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 ชั่วโมง ดังแสดงใน Table 20 เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ของค่าที่ได้จากการวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ พบว่า ค่าดังกล่าวมีความสัมพันธ์กันสูง โดยมีค่า r ระหว่างสมบัติการจับอนุมูลอิสระ DPPH กับ สมบัติการจับอนุมูลอิสระ ABTS, สมบัติการจับอนุมูลอิสระ DPPH กับ ความสามารถในการให้อิเล็กตรอน และสมบัติการจับอนุมูลอิสระ ABTS กับ ความสามารถในการให้อิเล็กตรอน มีค่าเท่ากับ -0.985, -0.931 และ 0.977 ตามลำดับ เช่นเดียวกับความสัมพันธ์ของค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกกับค่าที่ได้จากการวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ โดยมีค่า r ระหว่าง สารประกอบฟีนอลิก กับ สมบัติการจับอนุมูลอิสระ DPPH, สารประกอบฟีนอลิก กับ สมบัติการจับอนุมูลอิสระ ABTS และ สารประกอบฟีนอลิก กับ ความสามารถในการให้อิเล็กตรอน มีค่าเท่ากับ -0.939, 0.982 และ 0.996 ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าสารประกอบฟีนอลิกเป็นองค์ประกอบสำคัญในสารสกัดหยาบจากจิงที่แสดงสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ โดยสารประกอบฟีนอลิกสามารถให้ไฮโดรเจนอะตอมหรือ

อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ ทำให้อนุมูลอิสระมีความคงตัวได้ ทั้งนี้การที่ค่าดังกล่าวมีความสัมพันธ์กันสูง เนื่องจาก วิธีการวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระทั้ง 3 วิธี และการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก วิธีการวิเคราะห์ดังกล่าวมีหลักการเดียวกัน คือ อาศัยพื้นฐานของปฏิกิริยาที่มีการแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอน (Redox reaction) โดยการถ่ายโอนอิเล็กตรอนจากตัวให้อิเล็กตรอน หรือไฮโดรเจนอะตอม ซึ่งได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก ให้แก่ตัวรับอิเล็กตรอน ซึ่งได้แก่ อนุมูลอิสระที่ถูกสร้างขึ้นในระบบ (Huang *et al.*, 2005; Stratil *et al.*, 2006) เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ของค่า r ระหว่างค่าปริมาณสาร [6]-gingerol กับค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิก พบว่า มีค่า r เท่ากับ 0.936 ซึ่งมีความสัมพันธ์กันสูง เช่นเดียวกับความสัมพันธ์ของค่าปริมาณสาร [6]-gingerol กับค่าที่ได้จากการวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ โดยมีค่า r ระหว่างคู่ของ [6]-gingerol กับ สมบัติการจับอนุมูลอิสระ DPPH, [6]-gingerol กับ สมบัติการจับอนุมูลอิสระ ABTS และ [6]-gingerol กับ ความสามารถในการให้อิเล็กตรอน เท่ากับ -0.841, 0.900 และ 0.917 ตามลำดับ ทั้งนี้สาร [6]-gingerol มีลักษณะโครงสร้างเป็นสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งมีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ โดยหมู่ไฮดรอกซิล ที่ตำแหน่ง 4 hydroxy-3-methoxyphenyl เป็นตัวให้อะตอมของไฮโดรเจน หรืออิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ (Kikuzaki and Nakatani, 1993; Surh *et al.*, 1998) นอกจากนี้เมื่อนำสารมาตรฐาน [6]-gingerol มาวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ พบว่า สารมาตรฐาน [6]-gingerol มีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระดังกล่าวได้ ผลการทดลองดังแสดงใน Appendix Table 1

Table 20. Correlation coefficients (r) of antioxidant properties (by DPPH, ABTS radical scavenging activity and FRAP), total phenolic and [6]-gingerol contents from 10 min, 1, 2, 3, 4, 5 and 6 hours crude ginger extracts

	DPPH	ABTS	FRAP	Total phenolic
ABTS	-0.985**			
FRAP	-0.931**	0.977**		
Total phenolic	-0.939**	0.982**	0.996**	
[6]-gingerol	-0.841*	0.900**	0.917**	0.936**

** Correlation is significant at the 0.01 level, *Correlation is significant at the 0.05 level

DPPH radical scavenging activity, expressed as EC_{50} and using BHT as positive standard

ABTS radical scavenging activity and FRAP, expressed as millimoles Trolox equivalents per gram extract using Trolox standard curve

3.2 ผลของการใช้ตัวทำละลายร่วมในการสกัดซังกากิงต่อสมบัติของสารสกัด

เมื่อพิจารณาผลได้ทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากกิงที่ได้จากการสกัดที่ระยะเวลา 5 และ 6 ชั่วโมง พบว่า มีค่าประมาณ 2.76 และ 2.87% ตามลำดับ ซึ่งค่าผลได้ดังกล่าวมีแนวโน้มค่อนข้างคงที่ กล่าวคือ สารสกัดไม่สามารถถูกสกัดออกมาจากวัตถุดิบได้ หรือถูกสกัดออกมาได้น้อยมาก ทั้งนี้กระบวนการสกัดโดยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เมื่ออยู่ในสถานะเป็นของไหลเหนือวิกฤต จะสามารถทำการสกัดสารสกัดหยาบจากกิง ซึ่งปริมาณและองค์ประกอบของสารสกัดหยาบจากกิงที่ได้จากการสกัดขึ้นอยู่กับ สภาวะการสกัด (ความดันและอุณหภูมิ) ระยะเวลาสกัด ปริมาณความชื้นของกิง และขนาดอนุภาคของกิงที่ใช้สกัด (Díaz-Reinoso *et al.*, 2006) นอกจากนี้การเกิดอันตรกิริยาระหว่างสารสกัดกับโครงสร้างของวัตถุดิบ ทำให้สารดังกล่าวไม่สามารถถูกสกัดออกมาได้เช่นกัน (Díaz-Reinoso *et al.*, 2006) ในการทดลองนี้จึงนำกิงที่ผ่านการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตมาสกัดโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตร่วมกับ 95.0% เอทานอล ซึ่งเป็นตัวทำละลายร่วม เพื่อช่วยในการสกัดสารที่เหลืออยู่ในกิง โดยทำการสกัดเป็นระยะเวลา 90 นาที จากนั้นจึงแยกสารสกัดที่ได้ในคอลัมน์แยกที่ 1 และ 2 ตามลำดับ จากการทดลองพบว่า ผลได้ของสารสกัดหยาบจากกิงที่ได้จากคอลัมน์แยกที่ 1 และ 2 มีค่าเท่ากับ 0.24 และ 0.19% ตามลำดับ ทั้งนี้แสดงให้เห็นว่ากิงที่ผ่านการสกัดในครั้งแรก ยังคงมีสารสกัดเหลืออยู่ ซึ่งสารดังกล่าวไม่สามารถถูกสกัดออกมาด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤต แต่สามารถถูกสกัดได้เมื่อใช้คาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตร่วมกับเอทานอล เมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ปริมาณสาร [6]-gingerol และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากกิงที่ได้จากการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตร่วมกับเอทานอลในคอลัมน์แยกที่ 1 และ 2 กับสารสกัดหยาบจากกิงที่ได้จากการรวบรวมสารสกัดในคอลัมน์แยกที่ 1 ในการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตที่ระยะเวลาสกัด 10 นาทีแรก ชั่วโมงที่ 1 และ 2 พบว่า สารสกัดหยาบจากกิงที่ได้จากคอลัมน์แยกที่ 1 และ 2 ยังคงมีสารประกอบฟีนอลิก และสาร [6]-gingerol เป็นองค์ประกอบ รวมทั้งมีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ โดยสารสกัดหยาบจากกิงที่ได้จากคอลัมน์แยกที่ 1 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ปริมาณสาร [6]-gingerol และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระใกล้เคียงกับสารสกัดหยาบจากกิงที่ได้จากคอลัมน์แยกที่ 1 ที่นำมาเปรียบเทียบ ส่วนสารสกัดหยาบจากกิงที่ได้จากคอลัมน์แยกที่ 2 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ปริมาณสาร [6]-gingerol และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระต่ำกว่าสารสกัดหยาบจากกิงที่ได้จากคอลัมน์แยกที่ 1 ที่นำมาเปรียบเทียบ ผลการทดลองดังแสดงใน Table 21 ดังจะเห็นได้ว่ากิงที่ผ่านการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ยังคงมีสารสำคัญที่มีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระเหลืออยู่ การใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายร่วมในการสกัด ร่วมกับการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤต สามารถ

สกัดสารสกัดที่เหลืออยู่ดังกล่าวออกมาได้ ทั้งนี้การใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายร่วมจะเป็นการเพิ่มการเกิดอันตรกิริยาระหว่างตัวถูกละลาย (สารสกัดหยาบจากขิง) กับตัวทำละลาย (คาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตและเอทานอล) โดยการเพิ่มความหนาแน่นของตัวทำละลาย ซึ่งจะทำให้โมเลกุลของสารที่ต้องการสกัดถูกล้อมรอบด้วยโมเลกุลของตัวทำละลายและเกิดอันตรกิริยากัน ทำให้เกิดการละลายของตัวถูกละลายออกมา (สมใจ ขจรชีพพันธุ์งาม และอาทิตย์ รั้งมี สันติวานนท์, 2546) นอกจากนี้การใช้ตัวทำละลายร่วมยังทำให้เกิดอันตรกิริยาทางเคมี เช่น การเหนี่ยวนำให้เกิดแรงไดโพล/ไดโพล หรือการเกิดพันธะไฮโดรเจน (Hydrogen bonding) กับหมู่ฟังก์ชันที่เป็นองค์ประกอบของสารสกัด ตัวทำละลายร่วมอาจมีผลต่อโครงสร้างของวัตถุคิป์ และ/หรือไปทำลายอันตรกิริยาระหว่างตัวถูกละลายกับโครงสร้างของวัตถุคิป์ได้ (Díaz-Reinoso *et al.*, 2006) ซึ่ง Bensebia และคณะ (2009) รายงานว่า การสกัดใบโรสแมรี่ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตและใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายร่วมในปริมาณ 3.00% โดยน้ำหนัก ซึ่งเอทานอลที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วมจะไปมีผลต่อการทำลายโครงสร้างส่วนผนังเซลล์ของพืช และช่วยเพิ่มการถ่ายโอนมวลสารจากภายในเซลล์ทำให้อัตราการสกัดสารเพิ่มขึ้น

3.3 ศึกษาผลของวิธีการสกัดต่อสมบัติของสารสกัดหยาบจากขิง

การศึกษาในขั้นตอนนี้เป็นการเปรียบเทียบความแตกต่างในด้านสมบัติทางเคมี สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ และสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากขิงที่สกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤต กับการสกัดโดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลายซึ่งเป็นการสกัดแบบแช่ในเมทานอล สำหรับสารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤต ได้คัดเลือกจากสารสกัดหยาบจากขิงที่มีปริมาณสาร [6]-gingerol และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดจากคอลัมน์แยกที่ 1 และ 2 การเปรียบเทียบสมบัติทางเคมี และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตกับการสกัดแบบแช่ในเมทานอล ดังแสดงใน Table 22

3.3.1 สมบัติทางเคมี

จากการทดลองพบว่า สารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตทั้งในคอลัมน์แยกที่ 1 และ 2 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และสาร [6]-gingerol สูงกว่าสารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากการสกัดแบบแช่ในเมทานอลอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยสารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตในคอลัมน์แยกที่ 1, 2 และสารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากการสกัดแบบแช่ในเมทานอล มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก เท่ากับ 331.90 ± 2.97 , 327.40 ± 4.68 และ 169.30 ± 3.63 มิลลิกรัมสมมูลย์กรด

แอลคิล/กรัมสารสกัดหยาบจากขิง ตามลำดับ และมีปริมาณสาร [6]-gingerol เท่ากับ 491.80 ± 2.42 , 430.97 ± 1.38 และ 101.30 ± 1.63 มิลลิกรัม/กรัมสารสกัดหยาบจากขิง ตามลำดับ

3.3.2 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

จากการทดลองพบว่า สารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตในคอลัมน์แยกที่ 1 และ 2 มีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากการสกัดแบบแช่ในเมทานอล อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ซึ่งสารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตในคอลัมน์แยกที่ 1, 2 และสารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากการสกัดแบบแช่ในเมทานอล มีสมบัติการจับอนุมูลอิสระ DPPH มีค่า EC_{50} เท่ากับ 5.66 ± 0.26 , 6.93 ± 0.54 และ 9.13 ± 1.48 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ สมบัติการจับอนุมูลอิสระ ABTS มีค่า TEAC เท่ากับ 2.67 ± 0.05 , 2.45 ± 0.04 และ 1.61 ± 0.07 มิลลิโมลสมมูลย์โทรลอกซ์/กรัมสารสกัดหยาบจากขิง ตามลำดับ และความสามารถในการให้อิเล็กตรอน มีค่า TEAC เท่ากับ 3.14 ± 0.04 , 2.65 ± 0.03 และ 1.93 ± 0.02 มิลลิโมลสมมูลย์โทรลอกซ์/กรัมสารสกัดหยาบจากขิง ตามลำดับ

จากผลการทดลองข้างต้นจะเห็นได้ว่า สารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตทั้งในคอลัมน์แยกที่ 1 และ 2 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก สาร [6]-gingerol และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากการสกัดแบบแช่ในเมทานอล แสดงให้เห็นได้ว่าสมบัติของคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตภายใต้สภาวะการสกัดนี้ มีความสามารถในการสกัดสารที่มีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ โดยเฉพาะสาร [6]-gingerol ได้ในปริมาณที่สูงกว่าการสกัดแบบแช่ในเมทานอล จึงทำให้สารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตทั้งในคอลัมน์แยกที่ 1 และ 2 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่าสารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากการสกัดแบบแช่ในเมทานอล ทั้งนี้เป็นผลมาจากสภาพขั้วที่แตกต่างกันของตัวทำละลายที่ใช้สกัดจึงมีผลต่อการละลายขององค์ประกอบที่อยู่ในสารสกัด โดยการใช้คาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตจะเหมาะกับการสกัดสารในกลุ่มที่ไม่มีขั้ว หรือมีขั้วเพียงเล็กน้อย ในขณะที่การสกัดโดยใช้เอทานอล หรือเมทานอล เป็นตัวทำละลายจะมีความสามารถในการสกัดได้ทั้งสารในกลุ่มที่มีขั้วและไม่มีขั้ว (Díaz-Reinoso *et al.*, 2006) ทั้งนี้สาร [6]-gingerol มีลักษณะโครงสร้างเป็นวงแหวนอะโรมาติก ซึ่งมีหมู่เมทอกซิล ($-OCH_3$) และไฮดรอกซิล เป็นหมู่ที่แทนตรงตำแหน่งที่ 3 และ 4 ของวงแหวน และมีสายโซ่ของคาร์บอนตรงตำแหน่งที่ 1 ของวงแหวน ซึ่งประกอบด้วย 3-keto-5-hydroxy (Pfeiffer *et al.*, 2006) ซึ่ง [6]-gingerol รวมถึงสารในกลุ่มจินเจอร์อลจะถูกเก็บร่วมกับสารฟลาโวนอยด์ สารประกอบฟีนอลิก และอนุพันธ์ของเคอควิมิน โดยละลายอยู่กับไขมัน (Zarate and Yeoman, 1994) สารดังกล่าวประกอบด้วยกลุ่มที่มีขั้วและไม่มี

ข้าวเช่นกันจึงสามารถถูกสกัดได้ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤต หรือตัวทำละลายอินทรีย์ ซึ่ง Singh และคณะ (2008) พบว่า สารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากการสกัดด้วยเมทานอลมีปริมาณสาร [6]-gingerol สูงกว่าสารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากการสกัดด้วยเอทานอล ประมาณ 2 เท่า Spiro และ Kandiah (1990) ได้รายงานเปรียบเทียบความสามารถในการสกัดสาร [6]-gingerol โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤต ซึ่งควบคุมความดัน 127.0 บาร์ และอุณหภูมิในช่วง 50.0-65.0 องศาเซลเซียส กับการสกัดด้วยตัวทำละลาย 4 ชนิด ได้แก่ อะซิโตน ไคคลอโรมีเทน เอทานอล และไอโซโพรพานอล พบว่า การสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตมีความสามารถในการสกัดสาร [6]-gingerol ได้ใกล้เคียงกับการสกัดด้วยอะซิโตน หรือไคคลอโรมีเทน และมีความสามารถในการสกัดสาร [6]-gingerol ในปริมาณที่สูงกว่าการใช้เอทานอล หรือไอโซโพรพานอล ในขณะที่ Nobrega และคณะ (1997) รายงานว่า สารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหลว ที่ควบคุมความดัน 70.0 บาร์ และอุณหภูมิ 60.0 องศาเซลเซียส มีปริมาณสาร [6]-gingerol สูงกว่าการสกัดด้วยเอทานอลประมาณ 61.14 เท่า เมื่อใช้ระยะเวลาในการสกัดเท่ากัน

Herrero และคณะ (2006) ได้อธิบายว่าการที่คาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตมีความหนืดใกล้เคียงกับของเหลว จึงทำให้คาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตมีความสามารถเข้าทำอันตรกิริยากับตัวถูกละลายได้เช่นเดียวกับตัวทำละลายที่เป็นของเหลว อีกทั้งคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตมีความหนืดที่ต่ำกว่า และมีความสามารถในการแพร่กระจายได้ดีกว่าจึงทำให้สามารถแพร่แทรกเข้าไปในโครงสร้างของวัตถุดิบได้ง่ายและรวดเร็วกว่าของเหลวจึงทำให้สกัดสารออกมาได้รวดเร็วกว่าการสกัดด้วยตัวทำละลาย โดยภายใต้สภาวะที่ใช้ในการทดลองได้ทำการควบคุมความดันและอุณหภูมิของคาร์บอนไดออกไซด์ในคอลัมน์สกัด เท่ากับ 200.0 บาร์ และ 35.0 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ทำให้มีความหนาแน่นของคาร์บอนไดออกไซด์ ประมาณ 862.0 กิโลกรัม/ลูกบาศก์เมตร ในขณะที่เมทานอล ที่ใช้ในการสกัดมีความหนาแน่น ประมาณ 761.0 กิโลกรัม/ลูกบาศก์เมตร

จะเห็นว่าสารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤต ประกอบด้วยสารประกอบฟีนอลิก รวมทั้งสาร [6]-gingerol ที่มีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ อีกทั้งสารสกัดที่ได้ไม่มีปัญหาจากตัวทำละลายตกค้าง เนื่องจากตัวทำละลายหรือคาร์บอนไดออกไซด์นั้นจะเปลี่ยนสภาพกลับเป็นก๊าซ ในขั้นตอนการเก็บสารสกัดซึ่งมีการลดความดัน และ/หรืออุณหภูมิลง (Mukhopadhyay, 2000; Herrero *et al.*, 2006) ดังนั้นสารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จึงมีศักยภาพที่จะนำไปประยุกต์ใช้สำหรับผลิตภัณฑ์อาหารต่อไป

Table 21. Comparison of extraction yields, chemical and antioxidant properties (by DPPH, ABTS radical scavenging activity and FRAP) of crude ginger extracts obtained from separator 1 of SC-CO₂ extraction by using dried ginger and SC-CO₂ combined with co-solvent extraction by using ginger residues

Crude ginger extract	Yields of extraction (%)	Total phenolic contents (mg GAE/g extract)	[6]-gingerol contents (mg/g extract)	DPPH, EC ₅₀ (μg/ml)	TEAC (mmol TE/g extract)	
					ABTS	FRAP
SC-CO ₂ extraction:						
Separator 1*	1.78	196.55±2.59	294.92±1.46	8.72±0.65	1.97±0.04	2.22±0.02
SC-CO ₂ with co-solvent extraction of ginger residues:						
Separator 1**	0.24	195.27±5.04	248.37±0.54	7.90±0.80	1.92±0.07	2.17±0.03
Separator 2***	0.19	145.93±3.92	215.61±2.99	13.70±1.32	1.42±0.05	1.64±0.03

*According to SC-CO₂ extraction of dried ginger, the values in the same row represent the extraction yields, chemical and antioxidant properties of the accumulated crude ginger extract obtained from separator 1 at the extraction times of 10 minutes, 1 and 2 hours.

, *According to SC-CO₂ combined with co-solvent extraction of ginger residues, the values in the same row represent the extraction yields, chemical and antioxidant properties of the crude ginger extracts obtained from separator 1 and 2 at the extraction times of 90 minutes.

GAE, Gallic acid equivalents, EC₅₀, Efficient concentration, the amount of sample (μg) needed for 50% decreasing in the initial DPPH concentration per 1.0 ml of solution, TEAC, Trolox equivalents antioxidant capacity

Table 22. Comparison of chemical and antioxidant properties (by DPPH, ABTS radical scavenging activity and FRAP) of crude ginger extracts obtained from SC-CO₂ extraction and methanol extraction (immersion method)

Crude ginger extracts	Total phenolic contents (mg GAE/g extract)	[6]-gingerol contents (mg/g extract)	DPPH, EC ₅₀ (µg/ml)	TEAC (mmol TE/g extract)	
				ABTS	FRAP
SC-CO ₂ separator 1 *	331.90±2.97 ^a	490.28±1.98 ^a	5.66±0.26 ^c	2.67±0.05 ^a	3.14±0.04 ^a
SC-CO ₂ separator 2 **	327.40±4.68 ^a	430.97±1.38 ^b	6.93±0.54 ^b	2.45±0.04 ^b	2.65±0.03 ^b
Methanol ***	169.30±3.63 ^b	101.30±1.63 ^c	9.13±1.48 ^a	1.61±0.07 ^c	1.93±0.02 ^c

Means±standard deviations in the same column with different letters are significantly different ($p < 0.05$)

* Crude ginger extract, contained highest antioxidant properties, obtained from separator 1 using SC-CO₂ extraction, ** Crude ginger extract, contained highest antioxidant properties, obtained from separator 2 using SC-CO₂ extraction, *** Crude ginger extract from methanol extraction

GAE, Gallic acid equivalents

DPPH and ABTS radical scavenging activity, FRAP, Ferric reducing antioxidant power

EC₅₀, Efficient concentration, the amount of sample (µg) needed for 50% decreasing in the initial DPPH concentration per 1.0 ml of solution

TEAC, Trolox equivalents antioxidant capacity

TE, Trolox equivalents, millimolar of Trolox solution having an antioxidant capacity equivalent to 1.0 gram of the substance under investigation

3.3.3 สมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์

จากการศึกษาสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤต โดยคัดเลือกสารสกัดหยาบจากขิงที่มีปริมาณสาร [6]-gingerol และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดจากคอลัมน์แยกที่ 1 และ 2 เปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากการสกัดแบบแช่ในเมทานอล เมื่อทดสอบสมบัติการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *S. aureus* และแกรมลบ ได้แก่ *E. coli* พบว่า สารสกัดหยาบจากขิงทุกตัวอย่างสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ ซึ่งค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโต (Minimum inhibitory concentration; MIC) ของเชื้อ *S. aureus* จากสารสกัดหยาบจากขิงทั้งสามตัวอย่าง มีค่าเท่ากัน คือ เท่ากับ 8 มิลลิกรัม โดยเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสของสารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากคอลัมน์แยกที่ 1 และ 2 และสารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากการสกัดแบบแช่ในเมทานอล มีค่าเท่ากับ 8.22 ± 0.19 , 8.79 ± 0.14 และ 7.71 ± 0.17 มิลลิเมตร ตามลำดับ และเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดแต่ละตัวอย่างเพิ่มขึ้น ทำให้เส้นผ่านศูนย์กลางวงใสมีค่าเพิ่มขึ้นเช่นกัน แต่อย่างไรก็ตามสารสกัดหยาบจากขิงทุกตัวอย่าง ในทุกระดับความเข้มข้นที่นำมาทดสอบไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้ ในขณะที่ชุดควบคุม ซึ่งมีเพียงเมทานอล ไม่แสดงผลการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli* ในทุกระดับความเข้มข้นของเมทานอลที่ทดสอบ ผลการทดลองดังแสดงใน Table 23 ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Oonmetta-aree และคณะ (2006) ได้ศึกษาสมบัติการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli* ของสารสกัดจากขิงที่สกัดด้วยเอทานอล โดยทดสอบด้วยวิธี Disc diffusion พบว่า สารสกัดจากขิงสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ แต่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* นอกจากนี้จันทร์เพ็ญมะลิพันธ์ (2549) ศึกษาสมบัติการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli* ของสารสกัดจากขิงอ่อนและขิงแก่ โดยทดสอบด้วยวิธี Agar well diffusion พบว่า สารสกัดจากขิงอ่อนและขิงแก่ สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli* ได้ แต่จะแสดงผลการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ดีกว่าเชื้อ *E. coli* โดยสารสกัดจากขิงอ่อนและขิงแก่ สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ที่ค่า MIC เท่ากับ 50 และ 25 มิลลิกรัม/มิลลิเมตร ตามลำดับ และการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ที่ค่า MIC เท่ากับ 200 และ 100 มิลลิกรัม/มิลลิเมตร ส่วน Ekwenye และ Elegalam (2005) ศึกษาสมบัติการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ของสารสกัดที่ได้จากการสกัดขิงด้วยน้ำและเอทานอล โดยทดสอบด้วยวิธี Disc diffusion พบว่า สารสกัดขิงที่ได้จากการสกัดด้วยเอทานอลมีผลต่อการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ที่ค่า MIC เท่ากับ 75 มิลลิกรัม/มิลลิเมตร สำหรับสารสกัดขิงที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำไม่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อ *E. coli* จากการทดลองจะเห็นได้ว่า สารสกัดหยาบจากขิงสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ ทั้งนี้เนื่องจากโครงสร้างของแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบมีความแตกต่างกัน โดยผนังเซลล์ของแบคทีเรียทั้งสองจะมีส่วนของชั้นของเพปทิโดไกลแคน ซึ่งแบคทีเรียแกรมบวกมีชั้นของเพปทิโดไกลแคนที่หนากว่า

แบคทีเรียแกรมลบ สำหรับผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบนอกจากจะประกอบด้วยชั้นของเพปทิโดไกลแคนแล้ว ยังมีเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอก (Outer membrane) ซึ่งมีลิพอโพลิแซกคาไรด์เป็นองค์ประกอบ ซึ่งในส่วนลิพอโพลิแซกคาไรด์นี้สามารถขัดขวางการซึมผ่านของสารประกอบในกลุ่มที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic compounds) ที่จะเข้าสู่เซลล์ได้ (Burt, 2004) ดังนั้นจึงทำให้น้ำมันหอมระเหยส่วนใหญ่จะสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ (Oonmetta-aree *et al.*, 2006; Deba *et al.*, 2008) เมื่อทดสอบสมบัติการยับยั้งเชื้อรา ได้แก่ *A. niger* พบว่า มีเพียงสารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากคอลัมน์แยกที่ 2 สามารถยับยั้งเชื้อ *A. niger* ได้ โดยมีค่า MIC เท่ากับ 8 มิลลิกรัม และมีเส้นผ่านศูนย์กลางวงใส เท่ากับ 7.90 ± 0.62 มิลลิเมตร ในขณะที่ชุดควบคุม ซึ่งมีเพียงเมทานอล ไม่แสดงผลการยับยั้งเชื้อ *A. niger* ในทุกระดับความเข้มข้นของเมทานอลที่ทดสอบ ผลการทดลองดังแสดงใน Table 23 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากความหนาแน่นของคาร์บอนไดออกไซด์ในคอลัมน์แยกที่ 2 มีค่าต่ำกว่าของคอลัมน์แยกที่ 1 จึงทำให้สารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากคอลัมน์แยกที่ 2 ประกอบด้วยสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่าสารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากคอลัมน์แยกที่ 1 และสารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากการสกัดแบบแช่ในเมทานอล ซึ่งน้ำมันหอมระเหยที่ประกอบด้วยสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำจะมีความสามารถในการแทรกผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ได้อย่างรวดเร็ว จึงไปมีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ดีกว่าสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง (Pawer and Thaker, 2006) จากการทดลองของ Martins และคณะ (2001) ได้รายงานว่า น้ำมันหอมระเหยจากขิงในปริมาณ 15 ไมโครลิตร/ดิสก์ สามารถยับยั้งเชื้อรา *A. niger* ได้ ซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลางวงใส เท่ากับ 16.7 ± 0.58 มิลลิเมตร ส่วน Singh และคณะ (2008) สันนิษฐานว่า สารประกอบฟีนอลิก ได้แก่ จินเจอร์อล โชกาออล ซิงเจอโรน ยูจีนอล (Eugenol) และจินเจอไดออล (Gingerdiols) ที่พบในสารสกัดจากขิงอาจมีสมบัติในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

Table 23. Antimicrobial properties of crude ginger extracts obtained from SC-CO₂ extraction and methanol extraction, using disc diffusion method

Microorganisms	Extracts	Clear zones (mm)			
		32 mg/disc	16 mg/disc	8 mg/disc	4 mg/disc
<i>S. aureus</i> (TISTR 1466)	S ₁	9.37±0.11	9.17±0.15	8.22±0.19	-
	S ₂	11.77±0.19	9.64±0.20	8.79±0.14	-
	M	9.95±0.41	9.01±0.31	7.71±0.17	-
	C	-	-	-	-
<i>E. coli</i> (TISTR 780)	S ₁	-	-	-	-
	S ₂	-	-	-	-
	M	-	-	-	-
	C	-	-	-	-
<i>A. niger</i> (TISTR 3245)	S ₁	-	-	-	-
	S ₂	10.34±0.49	9.21±0.42	7.90±0.62	-
	M	-	-	-	-
	C	-	-	-	-

S₁ = Crude ginger extract, contained highest antioxidant properties, obtained from separator 1 using SC-CO₂ extraction

S₂ = Crude ginger extract, contained highest antioxidant properties, obtained from separator 2 using SC-CO₂ extraction

M = Crude ginger extract from methanol extraction (immersion method)

C = Control (Methanol), - = no inhibition

4. ผลของอุณหภูมิและระยะเวลาเก็บรักษาต่อความคงตัวของสารสกัดหยาบจากขิง

4.1 สมบัติทางเคมี

การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และสาร [6]-gingerol ของสารสกัดหยาบจากขิงระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20.0, 4.0±1.0 และ 27.0±1.0 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 1, 2, 3 และ 4 เดือน ดังแสดงใน Table 24 จากการศึกษาผลของอุณหภูมิในการเก็บรักษาต่อความคงตัวของสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดหยาบจากขิง พบว่า การเก็บรักษาสารสกัดหยาบจากขิงที่อุณหภูมิ -20.0 องศาเซลเซียส มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) กับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4.0±1.0 และ 27.0±1.0 องศาเซลเซียส ตลอดระยะเวลาเก็บรักษา เมื่อศึกษาผลของระยะเวลาเก็บรักษาต่อความคงตัวของสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดหยาบจากขิง พบว่า การเก็บรักษาสารสกัดหยาบจากขิงที่อุณหภูมิ -20.0 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 1, 2, 3 และ 4 เดือน มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) แต่การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4.0±1.0 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 1, 2, 3 และ 4 เดือน มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เช่นเดียวกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 27.0±1.0 องศาเซลเซียส โดยเมื่อระยะเวลาเก็บรักษาเพิ่มขึ้น จะทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมีค่าลดลง ซึ่งจากการทดลองพบว่า ในเดือนที่ 4 ของการเก็บรักษาสารสกัดหยาบจากขิงที่อุณหภูมิ -20.0, 4±1.0 และ 27.0±1.0 องศาเซลเซียส สารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดหยาบจากขิงมีปริมาณลดลงจากค่าเริ่มต้นของการเก็บรักษา (เดือนที่ 0) เท่ากับ 1.31, 1.95 และ 2.04% ตามลำดับ ซึ่งจากการทดลองของ Srivastava และคณะ (2007) ศึกษาผลของอุณหภูมิและระยะเวลาเก็บรักษา ต่อการเปลี่ยนแปลงสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดจากผลบลูเบอรี่ (*Vaccinium corymbosum*) โดยทำการเก็บรักษาสารสกัดที่อุณหภูมิ -20.0±1.0, 5.0±1.0, 23.0±1.0 และ 35.0±1.0 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 15, 30, 45 และ 60 วัน พบว่า การเก็บรักษาสารสกัดที่อุณหภูมิ -20.0±1.0 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 15 และ 30 วัน มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) หลังจากนั้นจะมีค่าลดลงเล็กน้อย ในขณะที่การเก็บรักษาสารสกัดที่อุณหภูมิ 5.0±1.0, 23.0±1.0 และ 35.0±1.0 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 15 และ 30 วัน พบว่า มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แต่หลังจากนั้นจะมีค่าคงที่ตลอดระยะเวลาเก็บรักษา จะเห็นได้ว่าระยะเวลาเก็บรักษามีผลต่อการลดลงของสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดจากผลบลูเบอรี่และการเก็บรักษาสารสกัดที่อุณหภูมิ -20.0±1.0 และ 5.0±1.0 องศาเซลเซียส ทำให้สารประกอบฟีนอลิกมีความคงตัวสูงกว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 23.0±1.0 และ 35.0±1.0 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ Pacheco-Palencia และคณะ (2008) ศึกษาผลของอุณหภูมิและระยะเวลาเก็บรักษา ต่อการเปลี่ยนแปลงสารประกอบฟีนอลิกในน้ำมันที่สกัดจากผล

ปล้ำม Acai (*Euterpe Oleracea* Mart.) โดยทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20.0, 30.0 และ 40.0 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ วิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงสารประกอบฟีนอลิก ด้วย HPLC พบว่า การเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ ทำให้ปริมาณกรดฟีนอลิกลดลงเล็กน้อย โดยมีค่าลดลงน้อยกว่า 10.00% ซึ่งการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20.0 และ 30.0 องศาเซลเซียส ทำให้กรดฟีนอลิกมีความคงตัวสูงกว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 40.0 องศาเซลเซียส

จากการศึกษาผลของอุณหภูมิในการเก็บรักษาต่อความคงตัวของสาร [6]-gingerol พบว่า การเก็บรักษาสารสกัดหยาบจากจิงที่อุณหภูมิ -20.0 องศาเซลเซียส มีปริมาณสาร [6]-gingerol ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) กับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4.0 ± 1.0 และ 27.0 ± 1.0 องศาเซลเซียส ตลอดระยะเวลาเก็บรักษา และเมื่อศึกษาผลของระยะเวลาเก็บรักษาต่อความคงตัวของสาร [6]-gingerol พบว่า การเก็บรักษาสารสกัดหยาบจากจิงที่อุณหภูมิ -20.0 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 1, 2, 3 และ 4 เดือน มีปริมาณสาร [6]-gingerol ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) โดยมีปริมาณสาร [6]-gingerol ในช่วง 294.22-296.54 มิลลิกรัม/กรัมสารสกัดหยาบจากจิง เช่นเดียวกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4.0 ± 1.0 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 1, 2, 3 และ 4 เดือน มีปริมาณสาร [6]-gingerol ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) โดยมีปริมาณสาร [6]-gingerol ในช่วง 294.49-295.47 มิลลิกรัม/กรัมสารสกัดหยาบจากจิง นอกจากนี้การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 27.0 ± 1.0 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 1, 2, 3 และ 4 เดือน มีปริมาณสาร [6]-gingerol ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) เช่นกัน โดยมีปริมาณสาร [6]-gingerol ในช่วง 294.76-295.36 มิลลิกรัม/กรัมสารสกัดหยาบจากจิง สอดคล้องกับผลการทดลองของ Castor (2006) ซึ่งรายงานไว้ว่า สารกลุ่มจินเจอร์อลของสารสกัดจากจิง ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20.0, 4.0 และ 25.0 องศาเซลเซียส จะมีความคงตัวในช่วงแรกของการเก็บรักษา (ประมาณ 3-9 เดือน) หลังจากนั้นสารกลุ่มจินเจอร์อลจะมีแนวโน้มลดลง โดยการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20.0 และ 4.0 องศาเซลเซียส ทำให้สารกลุ่มดังกล่าวมีความคงตัวสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับที่อุณหภูมิ 25.0 องศาเซลเซียส

4.2 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

การเปลี่ยนแปลงสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากจิงระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20.0, 4.0 ± 1.0 และ 27.0 ± 1.0 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 1, 2, 3 และ 4 เดือน ดังแสดงใน Table 25 จากการศึกษาค่าผลของอุณหภูมิในการเก็บรักษาต่อสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากจิง พบว่า การเก็บรักษาสารสกัดหยาบจากจิงที่อุณหภูมิ -20.0 องศาเซลเซียส มีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) กับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4.0 ± 1.0 และ 27.0 ± 1.0 องศาเซลเซียส ตลอดระยะเวลาเก็บรักษา เมื่อศึกษาผลของระยะเวลาเก็บรักษาต่อสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ พบว่า การเก็บรักษาสารสกัดหยาบจากจิงที่

อุณหภูมิ -20.0 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 1, 2, 3 และ 4 เดือน มีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) โดยสมบัติการจับอนุมูลอิสระ DPPH มีค่า EC_{50} ในช่วง 8.15-8.94 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สมบัติการจับอนุมูลอิสระ ABTS มีค่า TEAC ในช่วง 1.89-1.97 มิลลิโมลสมมูลย์โทรลอกซ์/กรัมสารสกัดหยาบจากขิง และความสามารถในการให้อิเล็กตรอน มีค่า TEAC ในช่วง 2.18-2.23 มิลลิโมลสมมูลย์โทรลอกซ์/กรัมสารสกัดหยาบจากขิง เช่นเดียวกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4.0 ± 1.0 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 1, 2, 3 และ 4 เดือน มีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) โดยสมบัติการจับอนุมูลอิสระ DPPH มีค่า EC_{50} ในช่วง 8.44-9.01 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สมบัติการจับอนุมูลอิสระ ABTS มีค่า TEAC ในช่วง 1.91-1.97 มิลลิโมลสมมูลย์โทรลอกซ์/กรัมสารสกัดหยาบจากขิง และความสามารถในการให้อิเล็กตรอน มีค่า TEAC ในช่วง 2.17-2.22 มิลลิโมลสมมูลย์โทรลอกซ์/กรัมสารสกัดหยาบจากขิง นอกจากนี้ การเก็บรักษาสารสกัดหยาบจากขิงที่อุณหภูมิ 27.0 ± 1.0 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 1, 2, 3 และ 4 เดือน มีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) โดยสมบัติการจับอนุมูลอิสระ DPPH มีค่า EC_{50} ในช่วง 8.47-8.82 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สมบัติการจับอนุมูลอิสระ ABTS มีค่า TEAC ในช่วง 1.95-2.01 มิลลิโมลสมมูลย์โทรลอกซ์/กรัมสารสกัดหยาบจากขิง และความสามารถในการให้อิเล็กตรอน มีค่า TEAC ในช่วง 2.19-2.22 มิลลิโมลสมมูลย์โทรลอกซ์/กรัมสารสกัดหยาบจากขิง ซึ่งจากการทดลองของ Mansour และ Khalil (2000) พบว่า สารสกัดจากขิงที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5.0, 25.0 และ 37.0 องศาเซลเซียส ในสภาวะไม่มีแสง เป็นระยะเวลา 0, 7, 14 และ 21 วัน มีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$)

ดังนั้นจะเห็นได้ว่าอุณหภูมิและระยะเวลาเก็บรักษาไม่มีผลอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) ต่อปริมาณสาร [6]-gingerol และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากขิง อย่างไรก็ตามตามระยะเวลาเก็บรักษามีผลต่อความคงตัวของสารประกอบฟีนอลิก โดยเมื่อระยะเวลาเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ทำให้สารประกอบฟีนอลิกมีแนวโน้มลดลง โดยการเก็บรักษาสารสกัดที่อุณหภูมิ -20.0 องศาเซลเซียส ทำให้สารประกอบฟีนอลิกลดลงในปริมาณที่น้อยกว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4.0 ± 1.0 และ 27.0 ± 1.0 องศาเซลเซียส ดังนั้นที่อุณหภูมิ -20.0 องศาเซลเซียส จึงมีความเหมาะสมต่อการเก็บรักษาสารสกัดหยาบจากขิง

4.3 คุณภาพทางจุลินทรีย์

เมื่อวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากขิงที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20.0, 4.0±1.0 และ 27.0±1.0 องศาเซลเซียส ในเดือนที่ 0 และ 4 ของการเก็บรักษา โดยตรวจปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และรา แบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์ม *E. coli* และ *S. aureus* พบว่า ในเดือนที่ 0 ของการเก็บรักษา สารสกัดหยาบจากขิงมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด เท่ากับ 17.0 cfu/g ยีสต์และรา เท่ากับ 7.0 cfu/g และในเดือนที่ 4 ของการเก็บรักษา สารสกัดหยาบจากขิงที่อุณหภูมิ -20.0, 4.0±1.0 และ 27.0±1.0 องศาเซลเซียส มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด เท่ากับ 13.0, 13.0 และ 17.0 cfu/g ตามลำดับ ส่วนยีสต์และรา มีปริมาณเท่ากับ 3.0, 7.0 และ 10.0 cfu/g ตามลำดับ นอกจากนี้ สารสกัดหยาบจากขิงที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20.0, 4.0±1.0 และ 27.0±1.0 องศาเซลเซียสในเดือนที่ 0 และ 4 มีแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์ม น้อยกว่า 3.0 MPN/g และตรวจไม่พบ *E. coli* และ *S. aureus* ในสารสกัดหยาบจากขิงทุกตัวอย่าง ซึ่งเป็นไปตามข้อกำหนดของปริมาณจุลินทรีย์สำหรับสารสกัดสมุนไพร ตามมาตรฐานของ Thai Herbal Pharmacopoeia ที่รายงานว่า สารสกัดสมุนไพรจะต้องมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ไม่เกิน 5.0×10^5 cfu/g ยีสต์และรา ไม่เกิน 5.0×10^3 cfu/g มีปริมาณ *E. coli* ไม่เกิน 50.0 cfu/g และตรวจไม่พบ *S. aureus* ใน 1 กรัม ตัวอย่าง (Department of Medical Science, Ministry of Public Health, 2000)

Table 24. Changes in total phenolic and [6]-gingerol contents of crude ginger extracts during storage at -20.0, 4.0 and 27.0°C for 0, 1, 2, 3 and 4 months

Storage time (months)	Storage temperature (°C)*					
	Total phenolic contents (mg GAE/g crude ginger extract)			[6]-gingerol contents (mg/g crude ginger extract)		
	-20.0°C	4.0°C	27.0°C	-20.0°C	4.0°C	27.0°C
0	196.55±2.59 ^{nsNS}	196.55 ±2.59 ^{aNS}	196.55±2.59 ^{aNS}	294.92±1.46 ^{nsNS}	294.92±1.46 ^{nsNS}	294.92±1.46 ^{nsNS}
1	196.88±3.37 ^{nsNS}	196.97±2.50 ^{aNS}	195.55±1.26 ^{aNS}	296.54±3.33 ^{nsNS}	294.95±2.86 ^{nsNS}	294.76±1.40 ^{nsNS}
2	196.97±3.11 ^{nsNS}	194.88±3.08 ^{abNS}	196.97±3.38 ^{aNS}	294.22±2.20 ^{nsNS}	295.47±1.49 ^{nsNS}	295.06±0.95 ^{nsNS}
3	195.22±1.51 ^{nsNS}	193.05±1.55 ^{bNS}	196.22±1.47 ^{aNS}	295.37±2.69 ^{nsNS}	294.98±0.74 ^{nsNS}	295.36±0.82 ^{nsNS}
4	193.97±1.91 ^{nsNS}	192.72±2.52 ^{bNS}	192.55±3.05 ^{bNS}	295.69±0.91 ^{nsNS}	294.49±1.35 ^{nsNS}	295.33±0.94 ^{nsNS}

*Storage temperature of 4.0±1.0°C and 27.0±1.0°C

^{a-b} Means±standard deviations with the different superscripts in the same column are significantly different ($p < 0.05$)

ns = not significant difference among storage time ($p \geq 0.05$)

NS = not significant difference among storage temperature ($p \geq 0.05$)

GAE, Gallic acid equivalents

Table 25. Changes in antioxidant properties (by DPPH, ABTS radical scavenging activity and FRAP) of crude ginger extracts during storage at -20.0, 4.0 and 27.0°C for 0, 1, 2, 3 and 4 months

Storage time (months)	Storage temperature (°C)*								
	DPPH, EC ₅₀ (µg/ml) ^{nsNS}			ABTS, TEAC (mmol TE/g crude ginger extract) ^{nsNS}			FRAP, TEAC (mmol TE/g crude ginger extract) ^{nsNS}		
	-20.0°C	4.0°C	27.0°C	-20.0°C	4.0°C	27.0°C	-20.0°C	4.0°C	27.0°C
0	8.72±0.65	8.72±0.65	8.72±0.65	1.97±0.04	1.97±0.04	1.97±0.04	2.22±0.02	2.22±0.02	2.22±0.02
1	8.94±0.57	8.91±0.45	8.47±0.37	1.96±0.03	1.96±0.05	1.96±0.05	2.20±0.01	2.20±0.02	2.19±0.02
2	8.77±0.15	9.01±0.28	8.82±0.48	1.95±0.02	1.96±0.04	1.95±0.03	2.23±0.05	2.17±0.02	2.21±0.03
3	8.34±0.26	8.44±0.37	8.53±0.86	1.89±0.06	1.91±0.07	1.95±0.03	2.19±0.02	2.20±0.04	2.21±0.02
4	8.15±0.44	8.59±0.11	8.65±0.35	1.96±0.05	1.95±0.02	2.01±0.03	2.18±0.05	2.21±0.04	2.20±0.02

*Storage temperature of 4.0±1.0°C and 27.0±1.0°C

ns = not significant difference among storage time ($p \geq 0.05$), NS = not significant difference among storage temperature ($p \geq 0.05$)

DPPH and ABTS radical scavenging activity, FRAP, Ferric reducing antioxidant power

EC₅₀, Efficient concentration, the amount of sample (µg) needed for 50% decreasing in the initial DPPH concentration per 1.0 ml of solution

TEAC, Trolox equivalents antioxidant capacity

TE, Trolox equivalents, millimolar of Trolox solution having an antioxidant capacity equivalent to 1.0 gram of the substance under investigation

5. การประยุกต์ใช้สารสกัดหยาบจากขิงในไอศกรีมและการประเมินการยอมรับทางประสาทสัมผัสของไอศกรีมโดยผู้ทดสอบ

5.1 สูตรพื้นฐานไอศกรีม

การทดลองในขั้นตอนนี้ได้ศึกษาคัดเลือกสูตรพื้นฐานไอศกรีม จากสูตรจำนวน 6 สูตร โดยแบ่งออกเป็นสูตรพื้นฐานไอศกรีมนมที่ไม่เติมสารสกัดหยาบจากขิง จำนวน 3 สูตร ได้แก่ สูตรที่ 1, 3 และ 5 และสูตรพื้นฐานไอศกรีมนมซึ่งเป็นสูตรเดียวกับสูตรที่ 1, 3 และ 5 นำมาเติมสารสกัดหยาบจากขิงในปริมาณ 0.050% (น้ำหนักสารสกัดหยาบจากขิง/น้ำหนักส่วนผสมไอศกรีม) ได้แก่ สูตรที่ 2, 4 และ 6 ตามลำดับ ทั้งนี้เพื่อต้องการเปรียบเทียบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสในแต่ละคู่ระหว่างสูตรที่ไม่เติมและเติมสารสกัดหยาบจากขิงว่ามีการยอมรับทางประสาทสัมผัสไปในทิศทางเดียวกันหรือไม่ จากนั้นศึกษาสมบัติทางเคมี กายภาพ คุณภาพทางจุลินทรีย์ และทดสอบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส ดังนี้

5.1.1 สมบัติทางเคมี

สมบัติทางเคมีของไอศกรีมจากสูตรที่แตกต่างกัน ดังแสดงใน Table 26 จากการทดลองพบว่า ค่าพีเอช ปริมาณของแข็งทั้งหมด และปริมาณไขมันในไอศกรีมทั้ง 6 สูตร มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยค่าพีเอชของไอศกรีมทั้ง 6 สูตร อยู่ในช่วง 6.25-6.37 ซึ่ง Marshall และ Arbuckle (1996) กล่าวว่า ค่าพีเอชของไอศกรีมมีความผันแปรขึ้นอยู่กับธาตุของแข็งไม่รวมมันเนย เมื่อปริมาณธาตุของแข็งไม่รวมมันเนยเพิ่มขึ้น มีผลทำให้ค่าพีเอชลดลง โดยทั่วไปไอศกรีมมีค่าพีเอช ประมาณ 6.30 ซึ่ง วรรณ ตังเจริญชัย และวิบูลย์ศักดิ์ กาวิละ (2531) กล่าวว่า องค์ประกอบของซีเตรต คาร์บอนไดออกไซด์ โปรตีนเวย์ เคซีน และฟอสเฟต ที่มีอยู่ในน้ำนมมีผลทำให้น้ำนมมีสมบัติเป็นกรดเล็กน้อย ส่วนปริมาณของแข็งทั้งหมดของไอศกรีมทั้ง 6 สูตร อยู่ในช่วง 31.75-41.96% ทั้งนี้ปริมาณของแข็งทั้งหมดของไอศกรีมที่แตกต่างกันนั้นขึ้นอยู่กับปริมาณส่วนผสมของไอศกรีม เช่น นม ครีมสด นมผงขาดมันเนย และสารให้ความหวาน เป็นต้น สำหรับปริมาณไขมันของไอศกรีมทั้ง 6 สูตร อยู่ในช่วง 8.40-12.46% ซึ่งปริมาณไขมันในไอศกรีมจะขึ้นอยู่กับปริมาณของครีมสด หรือเนย และนมผงขาดมันเนย ที่ใช้เป็นส่วนผสม

Table 26. Chemical properties of ice creams obtained from different formulas

Formulas	pH	Total solids (%)	Fat (%)
1	6.37±0.02 ^a	31.76±0.13 ^d	8.40±0.09 ^c
2	6.35±0.01 ^b	31.75±0.16 ^d	8.46±0.02 ^c
3	6.25±0.01 ^d	41.50±0.14 ^b	12.09±0.27 ^b
4	6.26±0.02 ^d	41.96±0.01 ^a	12.05±0.27 ^b
5	6.35±0.02 ^b	37.05±0.09 ^c	12.29±0.42 ^{ab}
6	6.31±0.01 ^c	37.02±0.06 ^c	12.46±0.22 ^a

Means±standard deviations in the same column with different letters are significantly different ($p < 0.05$)

5.1.2 สมบัติทางกายภาพ

สมบัติทางกายภาพและปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของไอศกรีมจากสูตรที่แตกต่างกัน ดังแสดงใน Table 27 จากการทดลองพบว่า ค่าความหนืด ค่าโอเวอร์รัน ค่าสี (L^* , a^* และ b^*) อัตราการละลาย และค่าความแน่นแข็งของไอศกรีมทั้ง 6 สูตร มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยส่วนผสมไอศกรีมทั้ง 6 สูตร มีความหนืดอยู่ในช่วง 11.77-48.61 พอยส์ โดยสูตรที่ 1 และ 2 มีค่าความหนืดต่ำที่สุด ทั้งนี้ความหนืดของส่วนผสมไอศกรีมขึ้นอยู่กับส่วนผสมและปริมาณของส่วนผสม โดยเฉพาะไขมัน และสารให้ความคงตัว นอกจากนี้ปริมาณของแข็งทั้งหมดในไอศกรีมยังมีผลต่อความหนืดเช่นกัน (Marshall and Arbuckle, 1996) ซึ่งจากการทดลองจะเห็นได้ว่า เมื่อปริมาณของแข็งทั้งหมด และ/หรือ ไขมันที่เป็นองค์ประกอบในไอศกรีมเพิ่มขึ้น จะทำให้ค่าความหนืดของส่วนผสมไอศกรีมเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับผลการทดลองของ สุพัฒน์ ได้เวชศาสตร์ (2546) รายงานว่า ปริมาณของแข็งทั้งหมด และ/หรือ ไขมันในไอศกรีมมีความสัมพันธ์กับค่าความหนืดโดยเมื่อปริมาณของแข็งทั้งหมด และ/หรือ ไขมันเพิ่มขึ้นจะทำให้ค่าความหนืดของส่วนผสมไอศกรีมเพิ่มขึ้น ส่วนค่าโอเวอร์รันของไอศกรีมทั้ง 6 สูตร อยู่ในช่วง 29.07-46.27% โดย Marshall และ Arbuckle (1996) ได้กล่าวว่า ปริมาณของไขมันที่เพิ่มขึ้นในไอศกรีมจะไปขัดขวางการขึ้นฟูของไอศกรีมทำให้ค่าโอเวอร์รันลดลง ซึ่งขัดแย้งกับผลการทดลอง ดังจะเห็นได้ว่า ไอศกรีมในสูตรที่ 3, 4, 5 และ 6 มีค่าโอเวอร์รันสูงกว่าสูตรที่ 1 และ 2 แม้จะมีปริมาณไขมันที่สูงกว่าสูตรที่ 1 และ 2 ก็ตาม ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากผลของอิมัลซิไฟเออร์และสารให้ความคงตัว ซึ่งในสูตรที่ 1 และ 2 ใช้เลซิทินเป็นอิมัลซิไฟเออร์ ในขณะที่สูตรที่ 3, 4, 5 และ 6 ใช้สารให้ความคงตัวและอิมัลซิไฟเออร์ที่

อยู่ในรูปของ Blend ซึ่งเป็นการผสมสารให้ความคงตัวและอิมัลซิไฟเออร์หลายชนิดรวมกัน โดย Baer และคณะ (1997) พบว่า ชนิดของอิมัลซิไฟเออร์มีผลต่อค่าโอเวอร์รันของไอศกรีม โดยการใส่เลซิทินเป็นอิมัลซิไฟเออร์ทำให้ไอศกรีมมีค่าโอเวอร์รันต่ำกว่าการใช้โพลีเซอร์เบท ผสมกับ โมโน และไดกลีเซอไรด์ โดยการใส่เลซิทินในปริมาณ 0.06, 0.10 และ 0.14% ทำให้ไอศกรีมมีค่าโอเวอร์รันเท่ากับ 65.00, 64.10 และ 62.60% ตามลำดับ ส่วนการใช้โพลีเซอร์เบท ผสมกับ โมโน และไดกลีเซอไรด์ ในปริมาณ 0.12, 0.17 และ 0.22% ทำให้ไอศกรีมมีค่าโอเวอร์รันเท่ากับ 85.40, 87.80 และ 89.00% ตามลำดับ ค่าสีของไอศกรีมซึ่งรายงานในระบบ CIE LAB จากการทดลอง พบว่า ไอศกรีมทั้ง 6 สูตร มีค่า L^* อยู่ในช่วง 93.84 ถึง 95.65 ค่า a^* อยู่ในช่วง -0.89 ถึง 0.43 และค่า b^* อยู่ในช่วง 10.95 ถึง 15.54 สำหรับอัตราการละลายไอศกรีมทั้ง 6 สูตร มีค่าอยู่ในช่วง 0.06-0.94 เปอร์เซ็นต์/นาทีก โดยไอศกรีมสูตรที่ 1 และ 2 มีอัตราการละลายสูงที่สุด ในขณะที่ไอศกรีมสูตรที่ 5 และ 6 มีอัตราการละลายต่ำที่สุด ทั้งนี้อัตราการละลายของไอศกรีมขึ้นอยู่กับส่วนผสมและปริมาณของส่วนผสม โดยเฉพาะปริมาณของไขมัน จากการวิเคราะห์ปริมาณไขมันในไอศกรีม พบว่า ไอศกรีมสูตรที่ 1 และ 2 มีปริมาณไขมันต่ำกว่าสูตรที่ 5 และ 6 ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Roland และคณะ (1999) รายงานว่า ไอศกรีมที่มีไขมันนม 10.00% มีอัตราการละลายต่ำกว่าไอศกรีมที่มีไขมันนม 0.10, 3.00 และ 7.00% อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) นอกจากนี้ สุพัฒน์ ได้เวชศาสตร์ (2546) รายงานว่า ไขมันมีอิทธิพลต่ออัตราการละลายของไอศกรีมในทิศทางตรงกันข้าม นั่นคือ ถ้าไอศกรีมมีปริมาณไขมันสูง จะทำให้อัตราการละลายลดลง เนื่องจากเม็ดไขมันสามารถเชื่อมรวมกัน เกิดเป็นโครงข่ายของเม็ดไขมัน และไปล้อมรอบเซลล์อากาศ เป็นผลให้อัตราการละลายของไอศกรีมลดลง นอกจากนี้ค่าโอเวอร์รันยังมีผลต่ออัตราการละลายของไอศกรีมเช่นกัน โดยพบว่า ไอศกรีมที่มีค่าโอเวอร์รันสูงจะมีอัตราการละลายต่ำ เนื่องมาจากเซลล์อากาศจะเป็นตัวขัดขวางการถ่ายโอนความร้อนในไอศกรีม (Muse and Hartel, 2004; Soukoulis *et al.*, 2008)

ค่าความแน่นแข็งของไอศกรีมทั้ง 6 สูตร มีค่าอยู่ในช่วง 55.77-154.04 นิวตัน ดังจะเห็นได้ว่าไอศกรีมสูตรที่ 3 และ 4 มีค่าความแน่นแข็งของไอศกรีมสูงกว่าสูตรที่ 1, 2, 5 และ 6 อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากค่าความหนืดของส่วนผสมไอศกรีมสูตรที่ 3 และ 4 สูงกว่าสูตรที่ 1, 2, 5 และ 6 สอดคล้องกับผลการทดลองของ Muse และ Hartel (2004) รายงานว่า ค่าความหนืดของส่วนผสมไอศกรีมมีความสัมพันธ์กับความแน่นแข็งของไอศกรีม โดยส่วนผสมไอศกรีมที่มีความหนืดสูง จะทำให้ไอศกรีมมีความแน่นแข็งสูง นอกจากนี้ยังพบว่า ค่าโอเวอร์รันยังมีผลต่อความแน่นแข็งของไอศกรีมเช่นกัน โดยไอศกรีมที่มีค่าโอเวอร์รันสูงจะมีค่าความแน่นแข็งลดลง

เมื่อวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของไอศกรีม พบว่า ไอศกรีมทั้ง 6 สูตร มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดอยู่ในช่วง 3.20×10^2 ถึง 4.40×10^2 cfu/g ซึ่งเป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ ไอศกรีมในประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 222 พ.ศ. 2544 ซึ่งระบุว่าไอศกรีมจะต้องมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดได้ไม่เกิน 6.00×10^5 cfu/g นอกจากนี้ยังพบว่า ไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิง ได้แก่ ไอศกรีมในสูตรที่ 2, 4 และ 6 มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดต่ำกว่าไอศกรีมที่ไม่เติมสารสกัดหยาบจากขิง ได้แก่ ไอศกรีมสูตรที่ 1, 3 และ 5 แสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบจากขิงที่เติมในไอศกรีมอาจไปมีผลต่อการลดปริมาณจุลินทรีย์ลงได้

5.1.3 คุณลักษณะทางประสาทสัมผัส

คุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของไอศกรีมจากสูตรที่แตกต่างกัน ดังแสดงใน Table 28 จากการทดลองพบว่า ไอศกรีมทั้ง 6 สูตร มีคะแนนเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านสี และลักษณะปรากฏ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) โดยไอศกรีมทั้ง 6 สูตร มีคะแนนเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านสีและลักษณะปรากฏอยู่ในช่วง 7.60-7.77 และ 7.50-7.67 ตามลำดับ

เมื่อประเมินคุณลักษณะด้านความแน่นแข็ง พบว่า ไอศกรีมสูตรที่ 3 มีคะแนนเฉลี่ยด้านความแน่นแข็งสูงที่สุดแต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) กับสูตรที่ 1, 2, 4, 5 และ 6 โดยไอศกรีมทั้ง 6 สูตร มีคะแนนเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านความแน่นแข็งอยู่ในช่วง 6.97-7.47 สำหรับการประเมินคุณลักษณะด้านความเรียบเนียน พบว่า ไอศกรีมสูตรที่ 1 และ 2 มีคะแนนเฉลี่ยน้อยกว่าสูตรที่ 3 อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับสูตรที่ 4, 5 และ 6 ($p \geq 0.05$) โดยไอศกรีมทั้ง 6 สูตร มีคะแนนเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านความเรียบเนียนอยู่ในช่วง 7.40-7.97 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากไอศกรีมสูตรที่ 1 และ 2 มีปริมาณของแข็งทั้งหมดและไขมันที่ต่ำกว่า ซึ่งปริมาณไขมันที่เป็นองค์ประกอบในไอศกรีมมีผลต่อเนื้อสัมผัสของไอศกรีมโดยไขมันจะไปช่วยลดขนาดผลึกน้ำแข็ง ทำให้ไอศกรีมมีเนื้อสัมผัสที่เรียบเนียน ส่วนปริมาณของแข็งทั้งหมดในไอศกรีมมีผลต่อเนื้อสัมผัสไอศกรีมเช่นกัน โดยเมื่อปริมาณของแข็งทั้งหมดเพิ่มขึ้น มีผลทำให้ปริมาณน้ำในสูตรลดลง ผลึกน้ำแข็งจึงมีขนาดเล็กลง Roland และคณะ (1999) ประเมินคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านเนื้อสัมผัสของไอศกรีมวานิลลาที่มีปริมาณไขมัน 0.10, 3.00, 7.00 และ 10.00% โดยการวิเคราะห์ประเภทพรรณนาเชิงปริมาณ พบว่า เมื่อไอศกรีมมีปริมาณไขมันเพิ่มขึ้น จะทำให้คะแนนเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านความเป็นเกล็ดน้ำแข็งของเนื้อไอศกรีมลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) สอดคล้องกับผลการทดลองของสุพัฒน์ ได้เวชศาสตร์ (2546) ที่รายงานว่า เมื่อเพิ่มปริมาณไขมัน และ/หรือ น้ำตาลในไอศกรีม จะทำให้คะแนนด้านความเรียบเนียนของไอศกรีมมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) จากการประเมินคุณลักษณะด้านรสหวาน พบว่า ไอศกรีมสูตรที่ 5 มีคะแนนเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านรสหวานสูงที่สุดแต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

($p \geq 0.05$) กับสูตรที่ 2, 3, 4 และ 6 โดยไอศกรีมทั้ง 6 สูตร มีคะแนนเฉลี่ยด้านความหวานอยู่ในช่วง 6.60-7.37

เมื่อประเมินคุณลักษณะด้านกลิ่นรสไอศกรีมโดยกลิ่นรสของไอศกรีมจะเป็นกลิ่นรสที่ได้รับจากส่วนผสมทั้งหมดของไอศกรีม พบว่า ไอศกรีมสูตรที่ 1 มีคะแนนเฉลี่ยน้อยกว่าสูตรที่ 3 และ 5 อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับสูตรที่ 2, 4 และ 6 ($p \geq 0.05$) โดยไอศกรีมทั้ง 6 สูตร มีคะแนนเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านกลิ่นรสไอศกรีมอยู่ในช่วง 6.43-7.17 ดังจะเห็นได้ว่าไอศกรีมในสูตรที่ 1 และ 2 มีคะแนนเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านกลิ่นรสไอศกรีมน้อยกว่าสูตรที่ 3, 4, 5 และ 6 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากส่วนผสมที่แตกต่างกัน โดยเฉพาะปริมาณไขมัน ทั้งนี้ไขมันที่เป็นองค์ประกอบในไอศกรีมจะมีบทบาทเป็นตัวพากลิ่นรส ทำให้ไอศกรีมมีกลิ่นรสดี (Ohmes *et al.*, 1998) โดย Roland และคณะ (1999) ประเมินคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นรสของไอศกรีมวานิลลาที่มีปริมาณไขมัน 0.10, 3.00, 7.00 และ 10.00% โดยการวิเคราะห์ประเภทพรรณนาเชิงปริมาณ พบว่า เมื่อไอศกรีมมีปริมาณไขมันเพิ่มขึ้นจะทำให้คะแนนเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านกลิ่นวานิลลาของไอศกรีมเพิ่มขึ้น แต่มีคะแนนเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านกลิ่นนมผงลดลง ซึ่ง Ohmes และคณะ (1998) กล่าวว่า สารให้กลิ่นรสโดยส่วนใหญ่จะละลายในไขมัน ซึ่งไขมันจะพาตัวสารให้กลิ่นรส เมื่ออาหารอยู่ภายในปาก สารให้กลิ่นรสจะถูกปลดปล่อยก่อนที่จะเข้าสู่ระบบประสาทรับกลิ่น (Olfactory system) หากมีปริมาณไขมันไม่เพียงพอต่อการนำพาสารให้กลิ่นรส สารให้กลิ่นรสก็จะถูกปลดปล่อยอย่างรวดเร็วภายในปาก และกลิ่นรสดังกล่าวจะหายไปจากการรับรู้อย่างรวดเร็ว เมื่อพิจารณาจะเห็นได้ว่าสูตรที่ 1 และ 2 มีปริมาณไขมันในสูตรต่ำกว่าสูตรที่ 3, 4, 5 และ 6 จึงอาจมีผลต่อการประเมินคุณลักษณะด้านกลิ่นรสของไอศกรีมได้

สำหรับการประเมินคุณลักษณะด้านการยอมรับโดยรวม พบว่า ไอศกรีมสูตรที่ 3, 4, 5 และ 6 มีคะแนนเฉลี่ยด้านการยอมรับโดยรวมไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) แต่มีคะแนนเฉลี่ยสูงกว่าสูตรที่ 1 และ 2 อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ซึ่งไอศกรีมทั้ง 6 สูตร มีคะแนนเฉลี่ยด้านการยอมรับโดยรวมอยู่ในช่วง 6.47-7.30 จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าไอศกรีมสูตรที่ 3 สูตรที่ 5 สูตรที่ 4 สูตรที่ 6 สูตรที่ 1 และสูตรที่ 2 มีคะแนนเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านการยอมรับโดยรวมมากที่สุดไปน้อยที่สุดตามลำดับ ดังนั้นสูตรที่ 3 จึงเป็นสูตรที่เหมาะสมเพื่อนำไปศึกษาปริมาณสารสกัดหยาบจากจิงที่ที่เหมาะสมสำหรับไอศกรีมสูตรดังกล่าวในการทดลองขั้นต่อไป

Table 27. Physical measurements and total viable counts of ice creams obtained from different formulas

Formulas	Viscosity (ps)	Overrun (%)	Color			Melting rate** (%/min)	Hardness (N)	Total viable counts (cfu/g)
			<i>L</i> *	<i>a</i> *	<i>b</i> *			
1	11.98±0.96 ^c	29.07±3.00 ^c	93.84±0.21 ^c	-0.27±0.28 ^b	12.78±0.11 ^d	0.94±0.09 ^a	55.17±9.66 ^c	4.07×10 ²
2	11.77±1.07 ^c	31.13±1.67 ^c	94.02±0.19 ^c	-0.87±0.08 ^c	15.54±0.07 ^a	0.31±0.07 ^b	120.44±18.80 ^b	3.90×10 ²
3	48.61±5.38 ^a	36.86±6.17 ^{bc}	95.65±0.24 ^a	-0.23±0.03 ^b	10.95±0.25 ^f	0.13±0.05 ^c	154.04±22.15 ^a	3.70×10 ²
4	46.95±4.05 ^a	37.34±5.68 ^b	95.62±0.36 ^a	-0.89±0.07 ^c	13.88±0.36 ^c	0.13±0.04 ^c	147.47±30.19 ^a	3.63×10 ²
5	32.53±1.52 ^b	45.53±5.54 ^a	95.40±0.32 ^{ab}	0.43±0.04 ^a	12.19±0.46 ^e	0.06±0.02 ^d	62.99±6.82 ^c	4.40×10 ²
6	32.48±1.18 ^b	46.27±5.51 ^a	95.26±0.20 ^b	-0.21±0.02 ^b	14.39±0.29 ^b	0.08±0.03 ^{cd}	69.07±14.61 ^c	3.20×10 ²

Means±standard deviations in the same column with different letters are significantly different ($p < 0.05$)

** Melting rate = (weight of melting ice cream divided by initial weight of ice cream) per minute

Table 28. Average acceptance scores of ice creams obtained from different formulas

Formulas	Average acceptance scores						
	Color	Appearance	Hardness	Smoothness	Sweetness	Ice cream flavor	Overall acceptance
1	7.73±0.64 ^{ns}	7.53±0.57 ^{ns}	7.17±0.75 ^{ab}	7.50±1.22 ^b	6.60±1.40 ^b	6.43±1.52 ^b	6.70±1.24 ^{bc}
2	7.60±0.89 ^{ns}	7.57±0.68 ^{ns}	7.33±0.84 ^{ab}	7.40±0.89 ^b	7.13±0.94 ^a	6.63±1.10 ^{ab}	6.47±1.11 ^c
3	7.77±0.73 ^{ns}	7.50±0.90 ^{ns}	7.47±1.04 ^a	7.97±0.93 ^a	7.00±1.11 ^{ab}	7.17±1.15 ^a	7.30±1.09 ^a
4	7.73±0.78 ^{ns}	7.67±1.06 ^{ns}	7.20±1.35 ^{ab}	7.83±1.15 ^{ab}	6.97±1.03 ^{ab}	6.83±1.02 ^{ab}	7.03±1.16 ^{ab}
5	7.73±0.64 ^{ns}	7.63±0.76 ^{ns}	6.97±1.19 ^b	7.80±0.92 ^{ab}	7.37±0.96 ^a	7.17±0.91 ^a	7.27±0.87 ^a
6	7.63±0.81 ^{ns}	7.57±0.73 ^{ns}	7.43±1.07 ^a	7.60±1.07 ^{ab}	7.23±0.86 ^a	6.90±0.80 ^{ab}	6.83±1.05 ^{abc}

Means±standard deviations in the same column with different letters are significantly different ($p < 0.05$)

ns = not significant difference among formulas ($p \geq 0.05$)

The degree of liking, 1 to 9 mean:

1 = Dislike extremely

2 = Dislike very much

3 = Dislike moderately

4 = Dislike slightly

5 = Neither like nor dislike

6 = Like slightly

7 = Like moderately

8 = Like very much

9 = Like extremely

5.2 ผลของการเติมสารสกัดหยาบจากขิงต่อสมบัติและการยอมรับทางประสาทสัมผัสของไอศกรีม

การทดลองในขั้นตอนนี้ได้คัดเลือกสูตรพื้นฐานไอศกรีมจากการทดลองข้างต้นซึ่งประกอบด้วย นมขาดมันเนย ครีม นมผงขาดมันเนย น้ำตาลทราย กลูโคสไซรัป สารให้ความคงตัวและอิมัลซิไฟเออร์ และน้ำ เท่ากับ 40.70, 28.60, 6.40, 10.00, 8.00, 0.30 และ 6.00% ตามลำดับ จากนั้นศึกษาผลของการเติมสารสกัดหยาบจากขิงต่อสมบัติทางเคมี กายภาพ การต้านอนุมูลอิสระ คุณภาพทางจุลินทรีย์ และทดสอบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส โดยเติมสารสกัดหยาบจากขิงในปริมาณ 0.000 (ชุดควบคุม), 0.050, 0.065 และ 0.080% (น้ำหนักสารสกัดหยาบจากขิง/น้ำหนักส่วนผสมไอศกรีม)

5.2.1 สมบัติทางเคมีและการต้านอนุมูลอิสระ

จากการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีของไอศกรีมชุดควบคุม และไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิงในปริมาณต่างๆ พบว่า ค่าพีเอช และปริมาณไขมัน ของไอศกรีมในชุดควบคุม และไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิงในปริมาณ 0.050, 0.065 และ 0.080% ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) โดยไอศกรีมทั้ง 4 สูตร มีค่าพีเอช เท่ากัน คือ 6.25 ± 0.01 นอกจากนี้ ไอศกรีมชุดควบคุม และไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิงในปริมาณ 0.050, 0.065 และ 0.080% มีปริมาณไขมัน เท่ากับ 12.09 ± 0.27 , 12.05 ± 0.27 , 12.08 ± 0.21 และ $12.15 \pm 0.26\%$ ตามลำดับ จากการวิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมด พบว่า ไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิงในปริมาณ 0.065 และ 0.080% มีปริมาณของแข็งทั้งหมดสูงกว่าไอศกรีมชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยไอศกรีมชุดควบคุม และไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิงในปริมาณ 0.050, 0.065 และ 0.080% มีปริมาณของแข็งทั้งหมด เท่ากับ 42.19 ± 0.06 , 42.04 ± 0.02 , 42.61 ± 0.04 และ $42.69 \pm 0.05\%$ ตามลำดับ

สำหรับปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ปริมาณสาร [6]-gingerol และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิงในปริมาณต่างๆ ดังแสดงใน Table 29 จากการทดลองพบว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และปริมาณสาร [6]-gingerol ของไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิงมีค่าเพิ่มขึ้นจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิงในปริมาณ 0.050, 0.065 และ 0.080% ทำให้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก เท่ากับ 151.54 ± 8.32 , 205.39 ± 12.15 และ 248.97 ± 12.00 ไมโครกรัมสมมูลย์กรดแกลลิก/กรัม ไอศกรีม ตามลำดับ และมีปริมาณสาร [6]-gingerol เท่ากับ 133.12 ± 0.25 , 175.11 ± 1.20 และ 218.53 ± 0.55 ไมโครกรัม/กรัม ไอศกรีม ตามลำดับ ส่วนไอศกรีมชุดควบคุมตรวจไม่พบสารประกอบฟีนอลิก และสาร [6]-gingerol ซึ่ง Schwertner และ Rios (2007) ได้ศึกษาปริมาณสาร [6]-gingerol ในผลิตภัณฑ์

ทางการค้าที่มีจึงเป็นส่วนประกอบ ด้วย HPLC พบว่า ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารในรูปขิงผงอัดแคปซูล ขิงที่ใช้ในรูปเครื่องเทศ และเบียร์ขิง มีปริมาณสาร [6]-gingerol ในช่วง 0.00-9.43, 1.24-4.50 มิลลิกรัม/กรัม และ 0.42-5.61 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

เมื่อวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระของไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิง ในปริมาณต่างๆ พบว่า สมบัติการจับอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS รวมทั้งความสามารถในการ ให้อิเล็กตรอนของไอศกรีมในชุดควบคุม และไอศกรีมเติมสารสกัดหยาบจากขิงในปริมาณ 0.050, 0.065 และ 0.080% มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยเมื่อเพิ่มปริมาณของสารสกัด หยาบจากขิงจะทำให้สมบัติการต้านอนุมูลอิสระของไอศกรีมเพิ่มขึ้น แม้ว่าสารสกัดหยาบจากขิงที่ เติมลงไปจะมีบทบาทสำคัญต่อการเพิ่มสมบัติการต้านอนุมูลอิสระในไอศกรีม แต่จากการทดลอง พบว่า ไอศกรีมชุดควบคุมแสดงสมบัติการต้านอนุมูลอิสระเช่นกัน สอดคล้องกับผลการทดลองของ Hwang และคณะ (2008) ซึ่งรายงานว่ ไอศกรีมที่มีองค์ประกอบของไขมัน 12.00% ไขมันน้ำนมไม่ รวมมันเนย 11.00% สารให้ความหวาน 15.00% และสารให้ความคงตัว 0.40% แสดงสมบัติการจับ อนุมูลอิสระ DPPH ซึ่งรายงานในรูป Scavenging effect มีค่าประมาณ 17.00-19.00% และ มี ความสามารถในการรีดิวซ์อนุมูลโลหะ ซึ่งรายงานในรูป %inhibition มีค่าประมาณ 4.00-6.00% ทั้งนี้สมบัติการต้านอนุมูลอิสระของไอศกรีมอาจเป็นผลมาจากผลิตภัณฑ์นมซึ่งเป็นองค์ประกอบ ในไอศกรีม โดย Chen และคณะ (2003) รายงานว่า สมบัติการจับอนุมูลอิสระ ABTS ของนม และเวย์ (Whey) มีค่าเท่ากับ 4,560.00 และ 554.00 ไมโครโมลสมมูลย์โทรลอกซ์/ลิตร ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ความสามารถในการให้อิเล็กตรอนของเวย์ พบว่า มีค่าเท่ากับ 127.00 ไมโคร โมลสมมูลย์โทรลอกซ์/ลิตร นอกจากนี้ Smet และคณะ (2008) รายงานว่า สมบัติการจับอนุมูลอิสระ DPPH ในส่วนซีรัมของนม ซึ่งรายงานในรูป EC_{50} มีค่าเท่ากับ 4.30 มิลลิลิตรซีรัมของนม/มิลลิกรัม ของ DPPH และเมื่อวิเคราะห์ความสามารถในการให้อิเล็กตรอน พบว่า มีค่าเท่ากับ 395 ไมโครโมล เฟอร์รัสไอออน/มิลลิลิตรซีรัมของนม ทั้งนี้เนื่องมาจากนมประกอบด้วย วิตามิน ได้แก่ วิตามินอี หรือ แอลฟา-โทโคเฟอรอล และ วิตามินบีสอง หรือ ไรโบฟลาวิน นอกจากนี้ยังประกอบด้วยสาร ในกลุ่มแคโรทีนอยด์ ที่สำคัญได้แก่ บีตา-แคโรทีน ซึ่งสารดังกล่าวมีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ (Lindmark-Mansson and Akesson, 2000; Smet *et al.*, 2009) โดย Öste และคณะ (1997) รายงานว่า นมมีองค์ประกอบของแอลฟา-โทโคเฟอรอล และไรโบฟลาวิน เท่ากับ 0.98 และ 1.75 ไมโครกรัม/ กรัม ตามลำดับ ส่วน Smet และคณะ (2008) นมมีองค์ประกอบของแอลฟา-โทโคเฟอรอล และ ไรโบฟลาวิน เท่ากับ 1.02 ไมโครกรัม/กรัม และ 1.91 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ นอกจากนี้ Ollilainen และคณะ (1998 อ้างโดย Lindmark-Mansson and Akesson, 2000) รายงานว่า นมมี องค์ประกอบของบีตา-แคโรทีน เท่ากับ 0.17 ไมโครกรัม/กรัม

Table 29. Total phenolic, [6]-gingerol contents and antioxidant properties (by DPPH, ABTS radical scavenging activity and FRAP) of ice creams containing different concentrations of crude ginger extracts

Crude ginger extracts (%w/w)	Total phenolic contents (μg GAE/g ice cream)	[6]-gingerol contents ($\mu\text{g}/\text{g}$ ice cream)	DPPH, EC_{50} (mg/ml)	TEAC (μmol TE/g ice cream)	
				ABTS	FRAP
0.000	0.00 \pm 0.00 ^d	0.00 \pm 0.00 ^d	41.12 \pm 2.56 ^a	0.42 \pm 0.02 ^d	0.59 \pm 0.08 ^d
0.050	151.54 \pm 8.32 ^c	133.12 \pm 0.25 ^c	17.31 \pm 1.33 ^b	1.28 \pm 0.06 ^c	1.28 \pm 0.02 ^c
0.065	205.39 \pm 12.15 ^b	175.11 \pm 1.20 ^b	14.71 \pm 1.48 ^c	1.63 \pm 0.02 ^b	1.69 \pm 0.08 ^b
0.080	248.97 \pm 12.00 ^a	218.53 \pm 0.55 ^a	11.73 \pm 0.98 ^d	2.01 \pm 0.09 ^a	1.90 \pm 0.05 ^a

Means \pm standard deviations in the same column with different letters are significantly different ($p < 0.05$)

GAE, Gallic acid equivalents

The [6]-gingerol was identified and quantified by HPLC using external standard of [6]-gingerol

DPPH and ABTS radical scavenging activity, FRAP, Ferric reducing antioxidant power

EC_{50} , Efficient concentration, the amount of sample (mg) needed for 50% decreasing in the initial DPPH concentration per 1.0 ml of solution

TEAC, Trolox equivalents antioxidant capacity

TE, Trolox equivalents, micromolar of Trolox solution having an antioxidant capacity equivalent to 1.0 gram of the substance under investigation

5.2.2 สมบัติทางกายภาพ

สมบัติทางกายภาพของไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิงในปริมาณต่างๆ ดังแสดงใน Table 30 จากการทดลองพบว่า ค่าความหนืดของส่วนผสมไอศกรีมในชุดควบคุม และส่วนผสมไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิงในปริมาณ 0.050, 0.065 และ 0.080% ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) ในขณะที่ค่าโอเวอร์รันของไอศกรีมชุดควบคุมไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) กับไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิงในปริมาณ 0.050 และ 0.065% แต่ไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิงในปริมาณ 0.080% มีค่าโอเวอร์รันต่ำกว่าไอศกรีมชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

เมื่อพิจารณาค่า L^* , a^* และ b^* ของไอศกรีม พบว่า ค่า L^* , a^* และ b^* ของไอศกรีมชุดควบคุม และไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิงในปริมาณ 0.050, 0.065 และ 0.080% มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยเมื่อเพิ่มปริมาณของสารสกัดหยาบจากขิง ทำให้ค่า a^* ของไอศกรีมมีแนวโน้มลดลง ซึ่งค่า a^* มีค่าเป็นลบ แสดงให้เห็นว่าตัวอย่างมีเฉดสีไปทางสีเขียว ในขณะที่ค่า b^* มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ซึ่งค่า b^* มีค่าเป็นบวก แสดงให้เห็นว่าตัวอย่างมีเฉดสีไปทางสีเหลือง ทั้งนี้ Kandlakunta และคณะ (2008) รายงานว่า ขิงมีองค์ประกอบของแคโรทีนอยด์ทั้งหมดประมาณ 720.00 ± 0.06 ไมโครกรัม/100 กรัม ซึ่งประกอบด้วย บีตา-แคโรทีน ประมาณ 90.00 ± 0.01 ไมโครกรัม/100 กรัม ทั้งนี้การสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตสามารถสกัดสารในกลุ่มแคโรทีนอยด์ที่มีอยู่ในวัตถุดิบออกมาได้เช่นกัน จึงน่าจะทำให้สารสกัดหยาบจากขิงที่ใช้ในการทดลองนี้ มีสารในกลุ่มแคโรทีนอยด์เป็นองค์ประกอบ โดยสารในกลุ่มแคโรทีนอยด์เป็นรงควัตถุที่ให้สีเหลือง หรือส้ม ดังนั้นจึงสอดคล้องกับค่า b^* ที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น

อัตราการละลายของไอศกรีมในชุดควบคุมและไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิงในปริมาณ 0.050% ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) ในขณะที่ไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิงในปริมาณ 0.065 และ 0.080% มีอัตราการละลายลดลงจากไอศกรีมชุดควบคุม และไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิงในปริมาณ 0.050% อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า ปริมาณของสารสกัดหยาบจากขิงที่เติมในไอศกรีมมีผลต่อการลดอัตราการละลาย ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิงในปริมาณ 0.065 และ 0.080% มีปริมาณของแข็งทั้งหมดของสูงกว่าไอศกรีมชุดควบคุม สอดคล้องกับผลการทดลองของ Schmidt และคณะ (1993 อ้างโดย สุวัฒน์ ใต้เวชศาสตร์, 2546) พบว่า ไอซ์มิลค์ (Ice milk) สูตรที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดต่ำกว่า จะมีอัตราการละลายสูงกว่าสูตรที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดสูงกว่า ทั้งนี้เนื่องมาจากสูตรที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดต่ำกว่า จะมีน้ำในสูตรมากกว่าจึงเกิดผลึกน้ำแข็งได้มากกว่า ซึ่งการนำความร้อนผ่านผลิตภัณฑ์ที่มีน้ำอยู่ในสถานะของน้ำแข็งจะเกิดได้เร็วขึ้น เมื่อ

ปริมาณน้ำที่อยู่ในรูปน้ำแข็งมากกว่า จึงทำให้ไอศกรีมละลายได้เร็วกว่า ดังนั้นการที่ปริมาณของแข็งทั้งหมดในสูตรมากจะทำให้มีปริมาณน้ำน้อยลงจึงทำให้ปริมาณน้ำที่แข็งตัวเป็นน้ำแข็งลดลง เป็นผลให้ไอศกรีมละลายช้าลง โดย Muse และ Hartel (2004) กล่าวว่า การละลายของไอศกรีมนั้นจะเกี่ยวข้องกับกาถ่ายโอนความร้อนและการถ่ายโอนมวลสาร โดยความร้อนจากภายนอกจะถ่ายโอนไปยังภายในของไอศกรีมทำให้เกิดการละลายของผลึกน้ำแข็งเป็นน้ำ เมื่อน้ำแพร่ไปยังส่วนที่ยังแข็งตัว และเกิดการละลายขึ้น จากนั้นส่วนที่ละลายจะกระจายไปทั่วโครงสร้างของไอศกรีม จึงทำให้เกิดการละลายขึ้น เมื่อพิจารณาค่าความแน่นแข็งของไอศกรีม พบว่า ค่าความแน่นแข็งของไอศกรีมชุกควบคุมและไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิงในปริมาณ 0.050, 0.065 และ 0.080% ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) ซึ่ง Hwang และคณะ (2008) ได้ศึกษาการใช้กากของงุ่นที่ได้จากการหมักไวน์ในไอศกรีม โดยใช้กากงุ่นเป็นส่วนผสมในปริมาณที่แตกต่างกัน ได้แก่ 0.0, 5.0, 10.0 และ 15.0% โดยน้ำหนักของส่วนผสมไอศกรีม พบว่า ปริมาณของกากงุ่นมีผลต่อสมบัติของไอศกรีมเช่นกัน โดยเมื่อเพิ่มปริมาณของกากงุ่นในไอศกรีม มีผลทำให้ความหนืดของไอศกรีมมีค่าเพิ่มขึ้น ในขณะที่ค่าโอเวอร์รัน ความแน่นแข็ง และอัตราการละลายของไอศกรีมลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

เมื่อวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของไอศกรีม พบว่า ไอศกรีมในชุกควบคุมและไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิง มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดอยู่ในช่วง 3.23×10^2 ถึง 4.13×10^2 cfu/g ซึ่งเป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ไอศกรีมในประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 222 พ.ศ. 2544 ซึ่งระบุว่า ไอศกรีมจะต้องมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดได้ไม่เกิน 6.00×10^5 cfu/g นอกจากนี้ยังพบว่า ไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิงมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดต่ำกว่าไอศกรีมชุกควบคุม แสดงให้เห็นว่า สารสกัดหยาบจากขิงมีผลต่อการลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในไอศกรีมลงได้

5.2.3 คุณลักษณะทางประสาทสัมผัส

คุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิงในปริมาณต่างๆ ดังแสดงใน Table 31 จากการทดลองพบว่า ไอศกรีมในชุกควบคุมและไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิงในปริมาณ 0.050, 0.065 และ 0.080% มีคะแนนเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านสีและลักษณะปรากฏ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) โดยมีคะแนนเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านสีและลักษณะปรากฏอยู่ในช่วง 7.67-7.83 และ 7.43-7.67 ตามลำดับ เมื่อประเมินคุณลักษณะด้านความแน่นแข็ง พบว่า ไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิงในปริมาณ 0.065% มีคะแนนเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านความแน่นแข็งสูงกว่าไอศกรีมชุกควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แต่อย่างไรก็ตาม ไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิงในปริมาณ 0.050, 0.065% และ 0.080% มีคะแนนเฉลี่ยด้านความแน่นแข็งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) โดยมีคะแนนเฉลี่ยในคุณลักษณะด้าน

ความแน่นแข็งอยู่ในช่วง 7.27-7.67 สำหรับการประเมินคุณลักษณะด้านความเรียบเนียน พบว่า ไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิงในปริมาณ 0.050 และ 0.065% มีคะแนนเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านความเรียบเนียนสูงกว่าไอศกรีมช็อควาคูมอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยมีคะแนนเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านความเรียบเนียนอยู่ในช่วง 7.77-8.00 เมื่อประเมินคุณลักษณะด้านรสหวาน พบว่า ไอศกรีมช็อควาคูมและไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิงในปริมาณ 0.050, 0.065 และ 0.080% มีคะแนนเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านรสหวาน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) โดยมีคะแนนเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านรสหวานอยู่ในช่วง 7.33-7.43 เมื่อประเมินคุณลักษณะด้านกลิ่นรสไอศกรีม พบว่า ไอศกรีมช็อควาคูมและไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิงในปริมาณ 0.050, 0.065 และ 0.080% มีคะแนนเฉลี่ยคุณลักษณะด้านกลิ่นรสไอศกรีม ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) โดยมีคะแนนเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านกลิ่นรสไอศกรีมอยู่ในช่วง 7.03-7.47

สำหรับการประเมินคุณลักษณะด้านการยอมรับโดยรวม พบว่า เมื่อปริมาณสารสกัดหยาบจากขิงที่เติมในไอศกรีมมีค่าเพิ่มขึ้น มีผลทำให้คะแนนเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านการยอมรับโดยรวมมีแนวโน้มลดลง โดยไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิงในปริมาณ 0.080% มีคะแนนเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านการยอมรับโดยรวมต่ำกว่าไอศกรีมช็อควาคูม และไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิงในปริมาณ 0.050% อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสารในกลุ่มจินเจอร์อล และโชกาออลที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัดหยาบจากขิง ซึ่งสารกลุ่มดังกล่าวเป็นสารที่ให้ความเผ็ดในขิง (Variyar *et al.*, 2000; Balakrishnan, 2004) โดย Bartley (1995) รายงานว่า ค่าต่ำสุดของการรับรู้รส (Threshold) ของสาร [6]-gingerol และ [6]-shogaol มีค่าเท่ากับ 11.80 และ 7.70 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ ดังนั้นเมื่อเพิ่มปริมาณสารสกัดหยาบจากขิงในไอศกรีมมีผลทำให้ความเผ็ดเพิ่มขึ้น จึงอาจทำให้คะแนนเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านการยอมรับโดยรวมลดลง ซึ่งมีคะแนนเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านการยอมรับโดยรวมของไอศกรีม อยู่ในช่วง 6.87-7.43

แม้ว่าคะแนนเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านสี ลักษณะปรากฏ รสหวาน กลิ่นรสไอศกรีม และการยอมรับโดยรวมของไอศกรีมช็อควาคูม และไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิงในปริมาณ 0.050 และ 0.065% ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) แต่อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาจากสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของไอศกรีม พบว่า ไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิงในปริมาณ 0.065% มีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิงในปริมาณ 0.050% อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ซึ่งในงานวิจัยนี้ต้องการเพิ่มสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิงให้มีค่าสูงที่สุด โดยไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิงยังคงคะแนนด้านการยอมรับโดยรวมจากผู้ทดสอบไม่น้อยกว่าไอศกรีมในช็อควาคูม ดังนั้น ปริมาณสารสกัดหยาบจากขิงที่เหมาะสมสำหรับไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิง มีค่าเท่ากับ 0.065%

Table 30. Physical measurements and total viable counts of ice creams containing different concentrations of crude ginger extracts

Crude ginger extracts (%w/w)	Viscosity (ps)	Overrun (%)	Color			Melting rate** (%/min)	Hardness (N)	TVC (cfu/g)
			<i>L</i> *	<i>a</i> *	<i>b</i> *			
0.000	47.75±1.77 ^{ns}	35.37±5.22 ^a	94.57±0.27 ^b	-0.17±0.05 ^a	12.91±0.28 ^c	0.10±0.03 ^a	154.04±22.15 ^{ns}	4.13×10 ²
0.050	47.25±3.25 ^{ns}	35.35±3.33 ^{ab}	95.29±0.34 ^a	-0.82±0.14 ^b	13.19±0.28 ^c	0.12±0.03 ^a	147.47±30.19 ^{ns}	3.40×10 ²
0.065	47.03±3.13 ^{ns}	37.26±2.42 ^{ab}	95.05±0.41 ^{ab}	-1.16±0.07 ^{bc}	15.71±0.22 ^b	0.06±0.01 ^b	171.93±32.77 ^{ns}	3.23×10 ²
0.080	47.97±1.18 ^{ns}	31.42±1.97 ^b	94.71±0.48 ^b	-1.24±0.57 ^c	16.31±0.20 ^a	0.05±0.01 ^b	171.43±26.33 ^{ns}	3.60×10 ²

Means±standard deviations in the same column with different letters are significantly different ($p < 0.05$)

ns = not significant difference among formulas ($p \geq 0.05$)

** Melting rate = (weight of melting ice cream divided by initial weight of ice cream) per minute

TVC = Total viable counts

Table 31. Average acceptance scores of ice creams containing different concentrations of crude ginger extracts

Crude ginger extracts (%w/w)	Average acceptance scores						
	Color	Appearance	Hardness	Smoothness	Sweetness	Ice cream flavor	Overall acceptance
0.000	7.83±0.65 ^{ns}	7.50±0.68 ^{ns}	7.27±1.28 ^b	7.77±0.82 ^b	7.40±1.38 ^{ns}	7.47±1.28 ^{ns}	7.33±0.92 ^a
0.050	7.77±0.77 ^{ns}	7.43±0.82 ^{ns}	7.57±0.90 ^{ab}	8.00±0.59 ^a	7.43±0.82 ^{ns}	7.17±0.95 ^{ns}	7.43±0.68 ^a
0.065	7.67±0.92 ^{ns}	7.57±0.94 ^{ns}	7.67±0.96 ^a	8.00±0.64 ^a	7.33±1.15 ^{ns}	7.10±0.88 ^{ns}	7.27±0.91 ^{ab}
0.080	7.77±0.66 ^{ns}	7.67±0.66 ^{ns}	7.63±0.85 ^{ab}	7.90±0.71 ^{ab}	7.43±0.97 ^{ns}	7.03±1.22 ^{ns}	6.87±1.17 ^b

Means±standard deviations in the same column with different letters are significantly different ($p < 0.05$)

ns = not significant difference among formulas ($p \geq 0.05$)

The degree of liking, 1 to 9 mean:

1 = Dislike extremely

2 = Dislike very much

3 = Dislike moderately

4 = Dislike slightly

5 = Neither like nor dislike

6 = Like slightly

7 = Like moderately

8 = Like very much

9 = Like extremely

6. การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของไอศกรีมระหว่างการเก็บรักษาและการเปรียบเทียบสมบัติทางเคมี และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของไอศกรีมที่ผลิตกับไอศกรีมทางการค้า

การทดลองในขั้นตอนนี้ได้คัดเลือกไอศกรีมช็อควาคม (0.000%) และไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิงในปริมาณ 0.065% (น้ำหนักสารสกัดหยาบจากขิง/น้ำหนักส่วนผสมไอศกรีม) เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงด้านสมบัติทางเคมี กายภาพ การต้านอนุมูลอิสระ คุณภาพทางจุลินทรีย์ และคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของไอศกรีมระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20.0 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 15, 30, 45 และ 60 วัน

6.1 สมบัติทางเคมี

การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชและปริมาณของแข็งทั้งหมดของไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิง (0.000 และ 0.065%) ระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20.0 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 15, 30, 45 และ 60 วัน ดังแสดงใน Table 32 จากการทดลองพบว่า ไอศกรีมช็อควาคม และไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิง มีค่าพีเอชเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ในระหว่างเก็บรักษา โดยไอศกรีมช็อควาคมและไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิงมีค่าพีเอชเริ่มต้น (วันที่ 0) เท่ากับ 6.28 ± 0.01 และมีค่าเปลี่ยนแปลงไปเป็น 6.34 ± 0.01 ในวันที่ 60 ของการเก็บรักษา สอดคล้องกับผลการทดลองของ Guven และคณะ (2003) พบว่า ค่าพีเอชของไอศกรีมวานิลลา มีค่าเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในระหว่างการเก็บรักษา โดยไอศกรีมมีค่าพีเอชเริ่มต้น เท่ากับ 6.40 และมีค่าเปลี่ยนแปลงไปเป็น 6.50 ในวันที่ 60 ของการเก็บรักษา เมื่อวิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมดในระหว่างการเก็บรักษา พบว่า การเก็บรักษาไอศกรีมช็อควาคม เป็นระยะเวลา 0, 15, 30, 45 และ 60 วัน มีปริมาณของแข็งทั้งหมดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) เช่นเดียวกับการเก็บรักษาไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิง เป็นระยะเวลา 0, 15, 30, 45 และ 60 วัน โดยไอศกรีมช็อควาคมและไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิงมีปริมาณของแข็งทั้งหมดในช่วง 41.44-41.77 และ 41.59-41.96% ตามลำดับ

การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสาร [6]-gingerol ของไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิง ระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20.0 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 15, 30, 45 และ 60 วัน ดังแสดงใน Table 33 จากการทดลองพบว่า การเก็บรักษาไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิง เป็นระยะเวลา 0, 15, 30, 45 และ 60 วัน มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก รวมทั้งปริมาณสาร [6]-gingerol ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) โดยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก อยู่ในช่วง 201.74-213.28 ไมโครกรัมสมมูลย์กรดแกลลิก/กรัมไอศกรีม และมีปริมาณสาร [6]-gingerol อยู่ในช่วง 185.48-189.63 ไมโครกรัม/กรัมไอศกรีม

Table 32. Changes in the pH and total solids of ice creams containing crude ginger extract (0.000 and 0.065%) during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days

Storage time (days)	pH		Total solids (%) ^{ns}	
	0.000% crude ginger extract	0.065% crude ginger extract	0.000% crude ginger extract	0.065% crude ginger extract
0	6.28±0.01 ^c	6.28±0.01 ^b	41.54±0.38	41.96±0.25
15	6.31±0.04 ^b	6.30±0.04 ^b	41.77±0.06	41.85±0.09
30	6.33±0.01 ^{ab}	6.34±0.00 ^a	41.59±0.12	41.59±0.17
45	6.33±0.01 ^{ab}	6.33±0.01 ^a	41.59±0.16	41.81±0.15
60	6.34±0.01 ^a	6.34±0.01 ^a	41.44±0.16	41.94±0.20

Means±standard deviations in the same column with different letters are significantly different ($p < 0.05$); ns = not significant difference among storage time ($p \geq 0.05$)

Table 33. Changes in total phenolic and [6]-gingerol contents of ice creams containing 0.065% crude ginger extract during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days

Storage time (days)	Total phenolic contents (µg GAE/g ice cream) ^{ns}	[6]-gingerol contents (µg/g ice cream) ^{ns}
0	213.28±15.09	189.43±1.66
15	210.21±11.12	185.48±2.16
30	205.08±17.76	186.18±0.83
45	206.36±7.75	189.63±1.80
60	201.74±6.40	186.25±5.98

ns = not significant difference among storage time ($p \geq 0.05$)

GAE, Gallic acid equivalents

The [6]-gingerol was identified and quantified by HPLC using external standard of [6]-gingerol.

6.2 สมบัติทางกายภาพ

การเปลี่ยนแปลงค่า L^* ของไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิง (0.000 และ 0.065%) ระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20.0 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 15, 30, 45 และ 60 วัน ดังแสดงใน Figure 16 จากการทดลองพบว่า ไอศกรีมชุดควบคุมและไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิงให้ค่า L^* มีแนวโน้มลดลง โดยไอศกรีมชุดควบคุมและไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิงมีค่า L^* ในวันที่ 0 เท่ากับ 94.80 ± 0.15 และ 94.75 ± 0.13 และในวันที่ 60 ของการเก็บรักษา เท่ากับ 93.83 ± 0.40 และ 94.04 ± 0.28 ตามลำดับ เมื่อพิจารณาค่า a^* พบว่า ไอศกรีมชุดควบคุม มีค่า a^* ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) ตลอดระยะเวลาเก็บรักษา ในขณะที่ไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิง ให้ค่า a^* มีแนวโน้มลดลง โดยไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิงมีค่า a^* ในวันที่ 0 และ 60 ของการเก็บรักษา เท่ากับ -0.53 ± 0.01 และ -0.90 ± 0.22 ตามลำดับ ผลการทดลองดังแสดงใน Figure 17 สำหรับค่า b^* พบว่า ไอศกรีมชุดควบคุมและไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิง ให้ค่า b^* มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยไอศกรีมชุดควบคุมและไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิง มีค่า b^* ในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา เท่ากับ 11.07 ± 0.32 และ 12.64 ± 0.25 และในวันที่ 60 ของการเก็บรักษา เท่ากับ 11.71 ± 0.48 และ 13.67 ± 0.27 ตามลำดับ ผลการทดลองดังแสดงใน Figure 18 ดังจะเห็นได้ว่าในระหว่างการเก็บรักษาไอศกรีมชุดควบคุมและไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิงจะมีการเปลี่ยนแปลงค่าสี โดยค่า L^* และค่า a^* มีแนวโน้มลดลง ในขณะที่ค่า b^* มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของค่าสีในระหว่างการแช่แข็งอาหารนั้นอาจเนื่องมาจากการเกิดออกซิเดชันของไขมันหรือการสลายตัวของรงควัตถุ (Dias *et al.*, 1994)

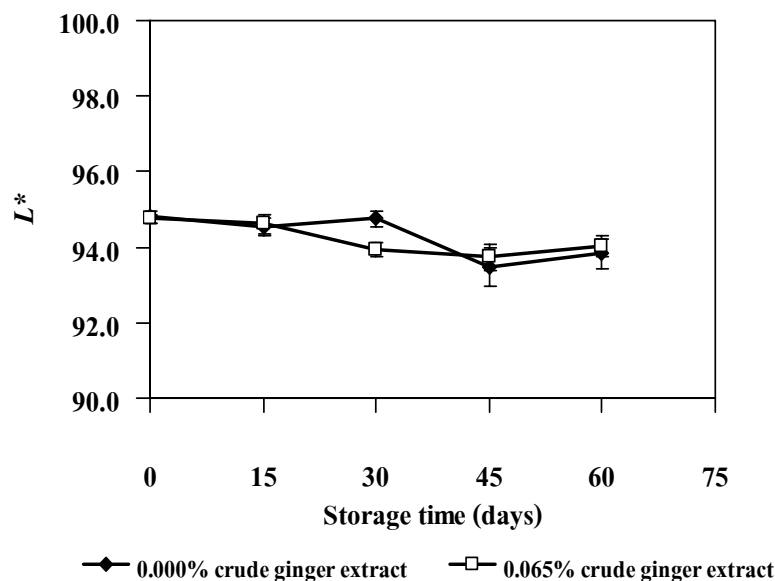


Figure 16. Changes in L^* values of ice creams containing crude ginger extracts (0.000 and 0.065%) during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days

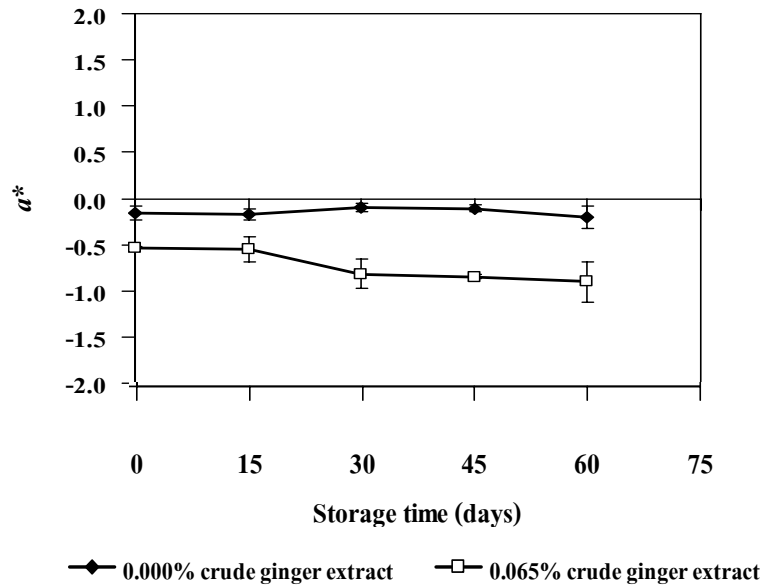


Figure 17. Changes in a^* values of ice creams containing crude ginger extracts (0.000 and 0.065%) during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days

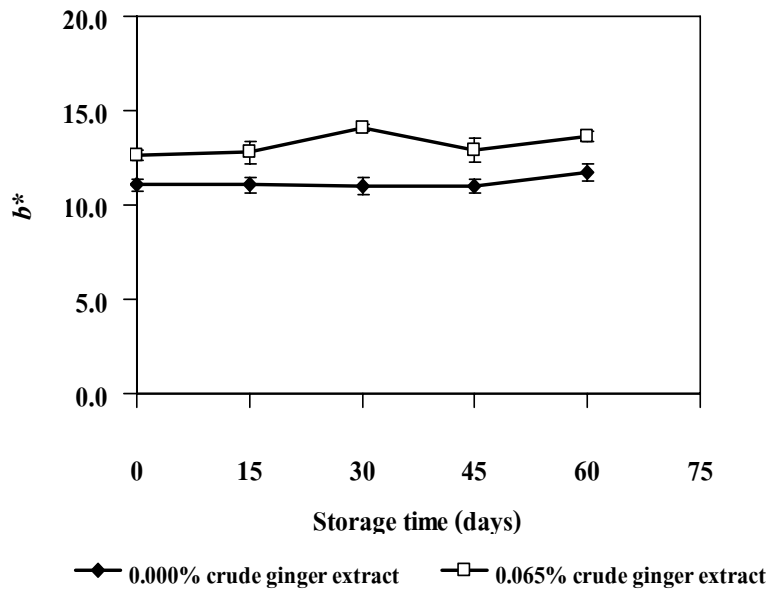


Figure 18. Changes in color b^* values of ice creams containing crude ginger extracts (0.000 and 0.065%) during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days

การเปลี่ยนแปลงอัตราการละลายและความแน่นแข็งของไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากจิง (0.000 และ 0.065%) ระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20.0 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 15, 30, 45 และ 60 วัน ดังแสดงใน Table 34 จากการทดลองพบว่า การเก็บรักษาไอศกรีมชุดควบคุม เป็นระยะเวลา 0, 15, 30, 45 และ 60 วัน มีอัตราการละลายและความแน่นแข็งไม่แตกต่างกัน

กันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) โดยไอศกรีมชุดควบคุมมีอัตราการละลายและความแน่นแข็งในช่วง 1.10-1.29 เปอร์เซ็นต์/นาทีก และ 133.32-158.57 นิวตัน ตามลำดับ ส่วนการเก็บรักษาไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากจิงเป็นระยะเวลา 0, 15, 30, 45 และ 60 วัน มีอัตราการละลายและความแน่นแข็งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) เช่นกัน โดยไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากจิงมีอัตราการละลายและความแน่นแข็งในช่วง 0.75-0.90 เปอร์เซ็นต์/นาทีก และ 143.76-181.50 นิวตันตามลำดับ

Table 34. Changes in melting rate and hardness of ice creams containing crude ginger extracts (0.000 and 0.065%) during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days

Storage time (days)	Melting rate (%/min) ^{ns}		Hardness (N) ^{ns}	
	0.000% crude ginger extract	0.065% crude ginger extract	0.000% crude ginger extract	0.065% crude ginger extract
0	1.13±0.13	0.75±0.09	142.95±28.10	160.54±30.54
15	1.29±0.13	0.80±0.13	147.82±24.51	170.94±18.37
30	1.27±0.12	0.90±0.14	158.57±19.06	171.62±25.60
45	1.25±0.13	0.79±0.10	133.32±16.70	181.50±12.66
60	1.10±0.15	0.89±0.18	140.28±23.47	143.76±16.48

ns = not significant difference among storage time ($p \geq 0.05$)

6.3 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

การเปลี่ยนแปลงสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากจิง (0.000 และ 0.065%) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20.0 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 15, 30, 45 และ 60 วัน ดังแสดงใน Figure 19 และ 20 เมื่อวิเคราะห์สมบัติการจับอนุมูลอิสระ DPPH พบว่า การเก็บรักษาไอศกรีมชุดควบคุมเป็นระยะเวลา 0, 15 และ 30 วัน มีค่า EC_{50} ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) แต่จะมีค่า EC_{50} สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ในวันที่ 45 ของการเก็บรักษา ในขณะที่การเก็บรักษาไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากจิงเป็นระยะเวลา 0, 15, 30, 45 และ 60 วัน มีค่า EC_{50} ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$)

เมื่อวิเคราะห์สมบัติการจับอนุมูลอิสระ ABTS พบว่า การเก็บรักษาไอศกรีมชุดควบคุม เป็นระยะเวลา 0, 15 และ 30 วัน มีค่า TEAC ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) แต่จะมีค่า TEAC ลดลงจากค่าเริ่มต้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ในวันที่ 45 ของการเก็บรักษา ส่วน

การเก็บรักษาไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิงเป็นระยะเวลา 0, 15, 30, 45 และ 60 วัน มีค่า TEAC ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

นอกจากนี้เมื่อวิเคราะห์ความสามารถในการให้อิเล็กตรอน พบว่า การเก็บรักษาไอศกรีมชุดควบคุมเป็นระยะเวลา 0, 15, 30, 45 และ 60 วัน มีค่า TEAC ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) ในขณะที่การเก็บรักษาไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิงเป็นระยะเวลา 0, 15, 30 และ 45 วัน พบว่า มีค่า TEAC ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) แต่จะมีค่า TEAC ลดลงจากค่าเริ่มต้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ในวันที่ 60 ของการเก็บรักษา ดังจะเห็นได้ว่าสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของไอศกรีมชุดควบคุมและไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิงมีค่าลดลงเล็กน้อยในระหว่างการเก็บรักษา ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการสูญเสียสารที่มีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระเนื่องจากการเกิดออกซิเดชันของไขมันในระหว่างการเก็บรักษา หรืออาจเกิดอันตรกิริยาระหว่างสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดหยาบจากขิงกับองค์ประกอบในไอศกรีม เช่น โปรตีน หรือพอลิแซ็กคาไรด์ เป็นต้น จึงอาจทำให้สารประกอบฟีนอลิกสูญเสียสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระได้

ซึ่งจากการทดลองของ Wegrzyn และคณะ (2008) พบว่า นมที่เติมสารสกัดจากแอปเปิ้ลและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20.0 และ 30.0 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ มีความสามารถในการให้อิเล็กตรอนลดลงจากค่าเริ่มต้น ประมาณ 19.00 และ 38.00% ตามลำดับ ทั้งนี้การเปลี่ยนแปลงสมบัติต้านอนุมูลอิสระนั้นอาจเนื่องมาจากการเกิด โพลีเมอไรเซชันของสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งจะไปมีผลต่อตำแหน่งที่มีความสามารถในการเข้าทำปฏิกิริยากับสารประกอบเชิงซ้อนของ Fe^{3+} -TPTZ ในการวิเคราะห์ความสามารถในการให้อิเล็กตรอน หรืออาจมีผลต่อความสามารถในการให้ไฮโดรเจนอะตอม นอกจากนี้การเกิดอันตรกิริยาของสารประกอบฟีนอลิก และองค์ประกอบอื่นๆ ในอาหาร เช่น โปรตีน หรือพอลิแซ็กคาไรด์ เป็นต้น ซึ่งสามารถสร้างพันธะไฮโดรเจนกัน หรืออาจเกิดปฏิกิริยาของหมู่ฟังก์ชันบางหมู่ เช่น การเกิดพันธะเอสเทอร์ระหว่างหมู่คาร์บอกซิล และไฮดรอกซิล นอกจากนี้การเกิดสารประกอบเชิงซ้อนในส่วนของหมู่ที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic complexation) ของโปรตีนมีผลทำให้กักสารประกอบฟีนอลิกเอาไว้ได้เช่นกัน ซึ่งการเกิดอันตรกิริยาเหล่านี้จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสมบัติการต้านอนุมูลอิสระได้ นอกจากนี้ Smet และคณะ (2009) รายงานว่า การเก็บรักษานมในขวดพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ ภายใต้แสงที่มีความเข้มแสง 1000 lx มีผลทำให้ปริมาณแอลฟา-โทโคเฟอรอล และไรโบฟลาวินในนมลดลงได้ในระหว่างการเก็บรักษา โดยแอลฟา-โทโคเฟอรอลจะลดลงจนหมดในวันที่ 60 ของการเก็บรักษา ส่วนสมบัติการจับอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการให้อิเล็กตรอนของนม มีค่าลดลงเมื่อระยะเวลาเก็บรักษาเพิ่มขึ้นเช่นกัน

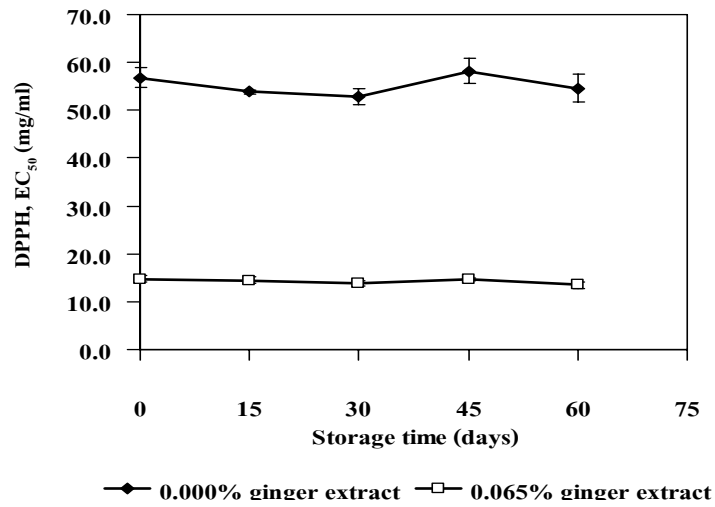


Figure 19. Changes in antioxidant properties of ice creams containing crude ginger extracts (0.000% and 0.065%) during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days as determined by DPPH radical scavenging activity

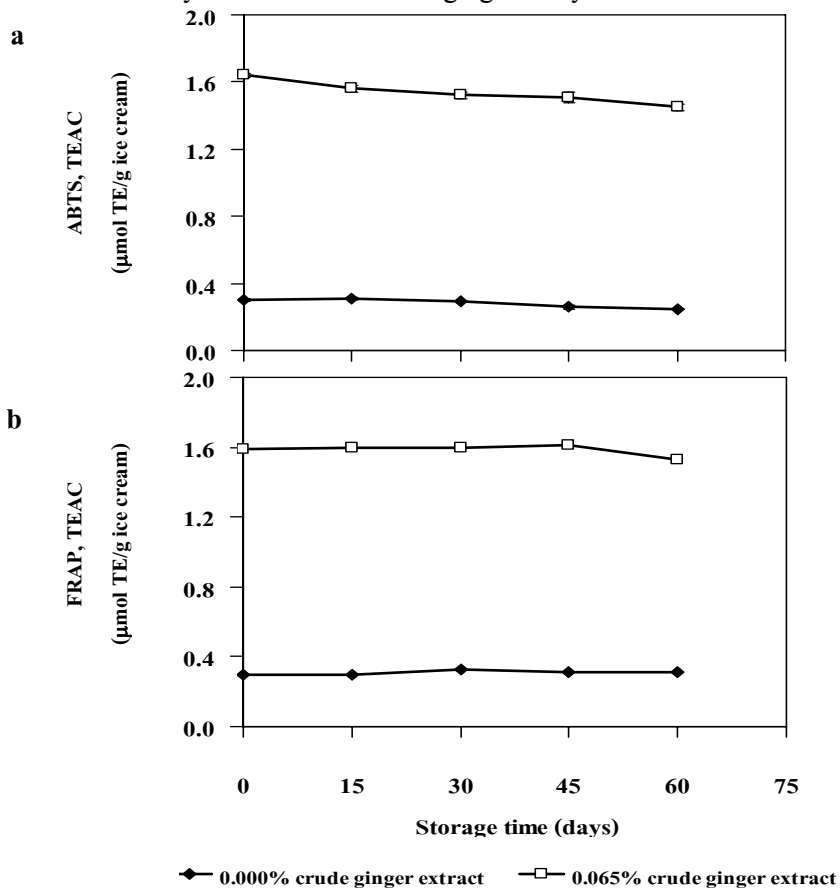


Figure 20. Changes in antioxidant properties of ice creams containing crude ginger extracts (0.000% and 0.065%) during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days as determined by (a) ABTS radical scavenging activity and (b) FRAP

6.4 คุณภาพทางจุลินทรีย์

จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดของไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิง (0.000 และ 0.065%) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20.0 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 15, 30, 45 และ 60 วัน ดังแสดงใน Table 35 เมื่อตรวจวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด โคลิฟอร์ม *E. coli* และ *S. aureus* ในไอศกรีมชุดควบคุม และไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิง ภายหลังการผลิต (วันที่ 0) พบว่า ไอศกรีมชุดควบคุม และไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิง มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเท่ากับ 4.03×10^2 และ 3.77×10^2 ตามลำดับ และตรวจไม่พบแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์ม *E. coli* และ *S. aureus* เมื่อตรวจวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดระหว่างการเก็บรักษา เป็นระยะเวลา 0, 15, 30, 45 และ 60 วัน พบว่า ไอศกรีมชุดควบคุม และไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิง มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดอยู่ในช่วง 3.40×10^2 ถึง 4.03×10^2 cfu/g และ 3.23×10^2 ถึง 3.93×10^2 cfu/g ตามลำดับ ซึ่งเป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ไอศกรีมในประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 222 พ.ศ. 2544 ซึ่งระบุว่าไอศกรีมจะต้องมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดได้ไม่เกิน 6.00×10^5 cfu/g นอกจากนี้จะต้องตรวจไม่พบ *E. coli* ในตัวอย่าง 0.01 กรัม และตรวจไม่พบ *S. aureus* จึงทำให้ไอศกรีมชุดควบคุม และไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิง ที่เก็บรักษาเป็นระยะเวลา 60 วัน ยังคงมีคุณภาพเป็นไปตามข้อกำหนดดังกล่าว

Table 35. Total viable counts of ice creams containing crude ginger extract (0.000% and 0.065%) during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days

Storage time (days)	0.000% crude ginger extract	0.065% crude ginger extract
0	4.03×10^2	3.77×10^2
15	3.43×10^2	3.93×10^2
30	3.83×10^2	3.50×10^2
45	3.77×10^2	3.83×10^2
60	3.40×10^2	3.23×10^2

6.5 คุณลักษณะทางประสาทสัมผัส

จากการประเมินคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของไอศกรีมช็อคววมและไอศกรีมที่เติมสกัดหยาบจากจิงระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20.0 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 15, 30, 45 และ 60 วัน พบว่า ระยะเวลาเก็บรักษาไม่มีผลอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) ต่อการประเมินคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสในทุกคุณลักษณะ โดยคะแนนเฉลี่ยของคุณลักษณะด้านสี ลักษณะปรากฏ ความแน่นแข็ง ความเรียบเนียน รสหวาน กลิ่นรสไอศกรีม และการยอมรับโดยรวมของไอศกรีมช็อคววม และไอศกรีมที่เติมสกัดหยาบจากจิง อยู่ในช่วง 7.00-9.00 (ชอบปานกลางถึงชอบมากที่สุด) ผลการทดลองดังแสดงใน Table 36-38

นอกจากนี้เมื่อประเมินคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของไอศกรีมช็อคววมและไอศกรีมที่เติมสกัดหยาบจากจิงระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20.0 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 15, 30, 45 และ 60 วัน เปรียบเทียบกับไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากจิงในปริมาณเดียวกัน (0.065%) ซึ่งทำการผลิตขึ้นใหม่ในวันที่ 0, 15, 30, 45 และ 60 ของการเก็บรักษา พบว่าไอศกรีมช็อคววม และไอศกรีมที่เติมสกัดหยาบจากจิงในระหว่างการเก็บรักษา และไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากจิงที่ผลิตขึ้นใหม่ มีคะแนนเฉลี่ยของคุณลักษณะด้านสี ลักษณะปรากฏ ความแน่นแข็ง ความเรียบเนียน รสหวาน กลิ่นรสไอศกรีม และการยอมรับโดยรวมไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) ดังนั้นไอศกรีมช็อคววมและไอศกรีมที่เติมสกัดหยาบจากจิง ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20.0 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 15, 30, 45 และ 60 วัน ยังมีคุณลักษณะด้านประสาทสัมผัสเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

6.6 เปรียบเทียบสมบัติทางเคมีและสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของไอศกรีมที่ผลิตและไอศกรีมทางการค้า

จากการเปรียบเทียบสมบัติทางเคมีและสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของไอศกรีมช็อคววมและไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากจิงที่ผลิตขึ้น กับไอศกรีมนมกลิ่นวานิลลาทางการค้า 2 ตัวอย่าง พบว่า ไอศกรีมช็อคววมและไอศกรีมที่เติมสกัดหยาบจากจิงมีปริมาณไขมันต่ำกว่าไอศกรีมทางการค้าทั้ง 2 ตัวอย่าง อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยไอศกรีมช็อคววม ไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากจิง ไอศกรีมทางการค้าชนิดที่ 1 และ 2 มีปริมาณไขมันเท่ากับ 12.09 ± 0.27 , 12.08 ± 0.21 , 14.80 ± 0.55 และ $13.57 \pm 0.38\%$ ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในไอศกรีม พบว่า โดยไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากจิง ไอศกรีมทางการค้าตัวอย่างที่ 1 และ 2 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก เท่ากับ 201.74 ± 6.48 , 287.64 ± 10.24 และ 110.72 ± 3.03 ไมโครกรัมสมมูลย์กรดแกลลิก/กรัมไอศกรีม ตามลำดับ อย่างไรก็ตามวิเคราะห์ไม่พบสารประกอบฟีนอลิกในไอศกรีมช็อคววม ในขณะที่ไอศกรีมทางการค้าทั้ง 2 ตัวอย่าง มีสารประกอบฟีนอลิกเป็น

องค์ประกอบ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสารให้กลิ่นวานิลลาที่ใช้ในไอศกรีม ซึ่งมีองค์ประกอบของวานิลลิน (Vanillin) หรือ 4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde โดยวานิลลินมีลักษณะโครงสร้างเป็นสารประกอบฟีนอลิก นอกจากวานิลลินเป็นสารที่ให้กลิ่นวานิลลาแล้ว วานิลลินยังมีสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Walton *et al.*, 2003; Mourtzinis *et al.*, 2009)

เมื่อวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระของไอศกรีมที่ผลิต และไอศกรีมทางการค้า พบว่า ไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากชิง มีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าไอศกรีมชุดควบคุม และไอศกรีมทางการค้าทั้ง 2 ตัวอย่าง อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อวิเคราะห์สมบัติการจับอนุมูลอิสระ DPPH ของไอศกรีม พบว่า ค่า EC_{50} ของไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากชิง มีค่าแตกต่างจากไอศกรีมชุดควบคุม และไอศกรีมทางการค้าตัวอย่างที่ 1 และ 2 ประมาณ 4.00, มากกว่า 4.00 และ 3.00 เท่า ตามลำดับ ไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากชิงยังมีสมบัติการจับอนุมูลอิสระ ABTS โดยมีค่า TEAC สูงกว่าไอศกรีมชุดควบคุม และไอศกรีมทางการค้าตัวอย่างที่ 1 และ 2 ประมาณ 6.00, 2.00 และ 4.00 เท่า ตามลำดับ นอกจากนี้ไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากชิงยังมีความสามารถในการให้อิเล็กตรอน โดยมีค่า TEAC สูงกว่าไอศกรีมชุดควบคุม และ ไอศกรีมทางการค้าตัวอย่างที่ 1 และ 2 ประมาณ 5.00, 2.00 และ 4.00 เท่า ตามลำดับ ผลการทดลองดังแสดงใน Appendix Table 2 ดังจะเห็นได้ว่าการประยุกต์ใช้สารสกัดหยาบจากชิงในไอศกรีมนอกจากจะเป็นสารให้กลิ่นในไอศกรีมแล้ว ยังเป็นการเพิ่มสมบัติการต้านอนุมูลอิสระให้แก่ไอศกรีม จึงเป็นแนวทางเลือกหนึ่งให้แก่ผู้บริโภคที่มีความสนใจไอศกรีมที่มีสารต้านอนุมูลอิสระจากพืชสมุนไพรเป็นองค์ประกอบ

Table 36. Average acceptance scores (color and appearance attributes) of ice creams containing crude ginger extracts (0.000% and 0.065%) during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days

Storage time (days)	Average acceptance scores					
	Color			Appearance		
	0.000% crude ginger extract	0.065% crude ginger extract	Control*	0.000% crude ginger extract	0.065% crude ginger extract	Control*
0	7.80±0.56 ^{nsNS}	8.00±0.65 ^{nsNS}	7.87±0.74 ^{NS}	7.80±0.41 ^{nsNS}	7.73±0.80 ^{nsNS}	7.53±0.64 ^{NS}
15	7.87±0.64 ^{nsNS}	7.80±0.68 ^{nsNS}	7.80±0.77 ^{NS}	7.87±0.64 ^{nsNS}	7.47±0.64 ^{nsNS}	7.73±0.70 ^{NS}
30	7.87±0.52 ^{nsNS}	7.87±0.74 ^{nsNS}	8.00±0.53 ^{NS}	7.87±0.64 ^{nsA}	7.40±0.83 ^{nsB}	7.87±0.52 ^A
45	7.53±0.92 ^{nsNS}	7.53±0.92 ^{nsNS}	7.93±0.70 ^{NS}	7.67±0.62 ^{nsNS}	7.60±0.83 ^{nsNS}	7.80±0.68 ^{NS}
60	7.80±0.68 ^{nsNS}	7.80±0.56 ^{nsNS}	7.73±0.70 ^{NS}	7.67±0.62 ^{nsNS}	7.60±0.51 ^{nsNS}	7.87±0.52 ^{NS}

*Ice cream containing 0.065% crude ginger extracts was freshly prepared within a day before conducting the sensory evaluation

^{A-B} Means±standard deviations with the different superscripts in the same row are significantly different ($p < 0.05$)

ns = not significant difference among storage time ($p \geq 0.05$) NS = not significant difference among formulas ($p \geq 0.05$)

The degree of liking, 1 to 9 mean: 1 = Dislike extremely 2 = Dislike very much 3 = Dislike moderately 4 = Dislike slightly 5 = Neither like nor dislike

6 = Like slightly 7 = Like moderately 8 = Like very much 9 = Like extremely

Table 37. Average acceptance scores (hardness and smoothness attributes) of ice creams containing crude ginger extracts (0.000% and 0.065%) during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days

Storage time (days)	Average acceptance scores					
	Hardness			Smoothness		
	0.000% crude ginger extract	0.065% crude ginger extract	Control*	0.000% crude ginger extract	0.065% crude ginger extract	Control*
0	8.00±0.65 ^{nsNS}	7.87±0.64 ^{nsNS}	7.27±0.46 ^{NS}	8.47±0.52 ^{nsNS}	8.00±0.76 ^{nsNS}	7.67±0.98 ^{NS}
15	7.73±0.59 ^{nsNS}	7.53±0.74 ^{nsNS}	7.80±0.77 ^{NS}	8.07±0.80 ^{nsNS}	7.87±0.83 ^{nsNS}	8.13±0.74 ^{NS}
30	8.07±0.59 ^{nsNS}	7.80±1.01 ^{nsNS}	7.67±1.05 ^{NS}	8.40±0.63 ^{nsA}	7.67±1.23 ^{nsB}	8.33±0.62 ^A
45	7.87±0.88 ^{nsNS}	7.67±0.98 ^{nsNS}	7.87±0.83 ^{NS}	8.07±0.88 ^{nsNS}	7.80±1.21 ^{nsNS}	8.00±0.85 ^{NS}
60	7.80±0.68 ^{nsNS}	7.53±0.64 ^{nsNS}	7.80±0.68 ^{NS}	8.13±0.64 ^{nsNS}	7.73±0.59 ^{nsNS}	8.00±0.85 ^{NS}

* Ice cream containing 0.065% crude ginger extracts was freshly prepared within a day before conducting the sensory evaluation

^{A-B} Means±standard deviations with the different superscripts in the same row are significantly different ($p < 0.05$)

ns = not significant difference among storage time ($p \geq 0.05$) NS = not significant difference among formulas ($p \geq 0.05$)

The degree of liking, 1 to 9 mean: 1 = Dislike extremely 2 = Dislike very much 3 = Dislike moderately 4 = Dislike slightly 5 = Neither like nor dislike

6 = Like slightly 7 = Like moderately 8 = Like very much 9 = Like extremely

Table 38. Average acceptance scores (sweetness, ice cream flavor and overall acceptance attributes) of ice creams containing crude ginger extracts (0.000% and 0.065%) during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days

Storage time (days)	Average acceptance scores								
	Sweetness			Ice cream flavor			Overall acceptance		
	0.000% crude ginger extract	0.065% crude ginger extract	Control*	0.000% crude ginger extract	0.065% crude ginger extract	Control*	0.000% crude ginger extract	0.065% crude ginger extract	Control*
0	7.67±0.82 ^{nsNS}	7.80±0.68 ^{nsNS}	7.80±0.56 ^{NS}	7.73±0.80 ^{nsNS}	7.40±0.74 ^{nsNS}	7.27±0.59 ^{NS}	7.80±0.68 ^{nsNS}	7.47±0.74 ^{nsNS}	7.27±0.59 ^{NS}
15	7.33±0.72 ^{nsNS}	7.40±0.59 ^{nsNS}	7.40±0.74 ^{NS}	7.87±0.74 ^{nsA}	7.27±0.59 ^{nsB}	7.27±0.80 ^B	7.87±0.74 ^{nsNS}	7.33±0.62 ^{nsNS}	7.53±0.74 ^{NS}
30	7.60±0.99 ^{nsNS}	8.00±0.76 ^{nsNS}	7.53±0.92 ^{NS}	7.67±0.98 ^{nsNS}	7.67±0.82 ^{nsNS}	7.40±0.74 ^{NS}	7.80±0.68 ^{nsNS}	7.60±0.83 ^{nsNS}	7.33±0.72 ^{NS}
45	7.80±0.56 ^{nsNS}	7.93±0.88 ^{nsNS}	7.73±1.03 ^{NS}	7.93±0.96 ^{nsNS}	7.67±0.90 ^{nsNS}	7.53±0.64 ^{NS}	7.80±0.68 ^{nsNS}	7.60±0.83 ^{nsNS}	7.53±0.74 ^{NS}
60	7.93±0.96 ^{nsNS}	7.87±0.64 ^{nsNS}	8.00±0.65 ^{NS}	7.80±0.68 ^{nsNS}	7.33±0.72 ^{nsNS}	7.53±0.64 ^{NS}	7.87±0.74 ^{nsNS}	7.47±0.52 ^{nsNS}	7.60±0.63 ^{NS}

* Ice cream containing 0.065% crude ginger extracts was freshly prepared within a day before conducting the sensory evaluation

^{A-B} Means±standard deviations with the different superscripts in the same row are significantly different ($p < 0.05$)

ns = not significant difference among storage time ($p \geq 0.05$) NS = not significant difference among formulas ($p \geq 0.05$)

The degree of liking, 1 to 9 mean: 1 = Dislike extremely 2 = Dislike very much 3 = Dislike moderately 4 = Dislike slightly 5 = Neither like nor dislike

6 = Like slightly 7 = Like moderately 8 = Like very much 9 = Like extremely

7. ต้นทุนการผลิตของสารสกัดหยาบจากขิงที่สกัดโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตและ ต้นทุนการผลิตไอศกรีมที่ไม่เติมและเติมสารสกัดหยาบจากขิง

จากการคำนวณต้นทุนการผลิตสารสกัดหยาบจากขิง พบว่า สารสกัดหยาบจากขิง มีต้นทุนการผลิต ประมาณ 28.25 บาท/กรัม ดังแสดงใน Table 39 สำหรับการคำนวณต้นทุนการผลิต ไอศกรีมช็อควบลูก และ ไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิง พบว่า ไอศกรีมช็อควบลูกและ ไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิง บรรจุด้วยพลาสติกชนิดโพลีโพรพีลีน ขนาดบรรจุ 55 กรัม ดังแสดงใน Figure 21 มีต้นทุนการผลิต ประมาณ 6.35 และ 7.37 บาท/ถ้วย ตามลำดับ ดังแสดงใน Table 40

Table 39. Cost calculation of crude ginger extract obtained from SC-CO₂ extraction

Details	Cost (baht/gram crude ginger extract)
Fresh ginger rhizome	10.825
SC-CO ₂ extraction	17.422
Total	28.247



Figure 21. The ice creams containing 0.000 and 0.065% crude ginger extracts

Table 40. Cost calculations of ice creams containing crude ginger extracts (0.000 and 0.065%)

Ingredients	Weights (per 55 grams of ice cream)	Cost of ingredients (baht/gram)	Cost (baht) of ice creams	
			0.000% crude ginger extract	0.065% crude ginger extract
Skim milk	22.380	0.039	0.873	0.873
Skim milk powder	3.5200	0.200	0.704	0.704
Cream	15.730	0.121	1.903	1.903
Sucrose	5.500	0.020	0.110	0.110
Glucose syrup	4.400	0.028	0.123	0.123
Stabilizer/Emulsifier	0.170	0.500	0.085	0.085
Water	3.330	0.0005	0.002	0.002
Crude ginger extract	0.036	38.000	-	1.017
Plastic cup	-	2.550 (per cup)	2.550	2.550
Total			6.350	7.367

บทที่ 4

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

1. ผลได้ของชิงสดปอกเปลือกและชิงภายหลังการทำแห้ง เท่ากับ 64.95 ± 1.01 และ $5.35 \pm 0.19\%$ ตามลำดับ
2. ชิงสดปอกเปลือกมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ปริมาณสาร [6]-gingerol และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าชิงภายหลังการทำแห้งอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)
3. อุณหภูมิและความดันของคาร์บอนไดออกไซด์ในคอลัมน์แยกที่ 1 และ 2 และระยะเวลาสกัดมีผลต่อสมบัติของสารสกัดหยาบจากชิงที่ได้ โดยผลได้ของสารสกัดหยาบจากชิงที่ได้จากคอลัมน์แยกที่ 1 และ 2 เท่ากับ 2.13 และ 0.74% ตามลำดับ โดยสารสกัดหยาบจากชิงที่ได้จากคอลัมน์แยกที่ 1 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ปริมาณสาร [6]-gingerol และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดหยาบจากชิงที่ได้จากคอลัมน์แยกที่ 2 โดยสารสกัดหยาบจากชิงที่ได้จากคอลัมน์แยกที่ 1 และ 2 มีปริมาณสาร [6]-gingerol และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดในชั่วโมงที่ 2 และ 3 ของการสกัด ตามลำดับ
4. การใช้เอทานอลร่วมกับคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตในการสกัดกาบชิงพบว่า ผลได้ของสารสกัดหยาบจากกาบชิงที่ได้ในคอลัมน์แยกที่ 1 และ 2 มีค่าเท่ากับ 0.24 และ 0.19% ตามลำดับ ซึ่งสารสกัดหยาบจากกาบชิงที่ได้ในคอลัมน์แยกที่ 1 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ปริมาณสาร [6]-gingerol และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระใกล้เคียงกับสารสกัดหยาบจากชิงที่ได้จากการรวบรวมสารสกัดในคอลัมน์แยกที่ 1 ในการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตที่ระยะเวลาสกัด 10 นาทีแรก ชั่วโมงที่ 1 และ 2 ส่วนสารสกัดหยาบจากกาบชิงที่ได้ในคอลัมน์แยกที่ 2 มีค่าดังกล่าวต่ำกว่าสารสกัดหยาบจากชิงในคอลัมน์แยกที่ 1 ที่นำมาเปรียบเทียบ
5. สารสกัดหยาบจากชิงที่ได้จากสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตในคอลัมน์แยกที่ 1 และ 2 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ปริมาณสาร [6]-gingerol และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดหยาบจากชิงที่ได้จากการสกัดแบบแช่ในเมทานอลอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) นอกจากนี้สารสกัดหยาบจากชิงที่ได้จากการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตทั้งในคอลัมน์แยกที่ 1, 2 และสารสกัดหยาบจากชิงที่ได้จากการสกัดแบบแช่ในเมทานอลมีสมบัติในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* โดยมีค่า MIC เท่ากัน คือ เท่ากับ 8 มิลลิกรัม แต่สารสกัดหยาบจากชิงทุก

ตัวอย่าง ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้ในทุกระดับความเข้มข้นที่นำมาทดสอบ ในขณะที่มีเพียง สารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากคอลัมน์แยกที่ 2 ที่มีสมบัติในการยับยั้งเชื้อ *A. niger* โดยมีค่า MIC เท่ากับ 8 มิลลิกรัม

6. ความคงตัวของสารสกัดหยาบจากขิงที่คัดเลือกจากคอลัมน์แยกที่ 1 ระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20.0, 4.0±1.0 และ 27.0±1.0 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 1, 2, 3 และ 4 เดือน พบว่า ระยะเวลาเก็บรักษามีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยการเก็บรักษาสารสกัดหยาบจากขิงที่อุณหภูมิ -20.0 องศาเซลเซียส ทำให้สารประกอบฟีนอลิกมีความคงตัวสูงกว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4.0±1.0 และ 27.0±1.0 องศาเซลเซียส อย่างไรก็ตามอุณหภูมิ และระยะเวลาเก็บรักษาไม่มีผลอย่างมีนัยสำคัญ ต่อปริมาณสาร [6]-gingerol และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากขิง

7. สูตรพื้นฐานที่เหมาะสมสำหรับการผลิตไอศกรีมในงานวิจัยนี้ ประกอบด้วย นม ไขมันเนย ครีมสด นมผงไขมันเนย น้ำตาลทราย กลูโคสไซรัป สารให้ความคงตัวและอิมัลซิไฟเออร์ และน้ำ เท่ากับ 40.70, 28.60, 6.40, 10.00, 8.00, 0.30 และ 6.00% ตามลำดับ การศึกษาผลของการเติมสารสกัดหยาบจากขิงในไอศกรีม ในปริมาณ 0.000, 0.050, 0.065 และ 0.080% (น้ำหนักสารสกัดหยาบจากขิง/น้ำหนักส่วนผสมไอศกรีม) พบว่า ปริมาณสารสกัดหยาบจากขิงที่เหมาะสมสำหรับสูตรไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากขิงในงานวิจัยนี้ มีค่าเท่ากับ 0.065%

8. การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของไอศกรีมชุดควบคุมและไอศกรีมที่เติม 0.065% สารสกัดหยาบจากขิง ระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20.0 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 15, 30, 45 และ 60 วัน สำหรับสมบัติทางเคมีและกายภาพ พบว่า ไอศกรีมชุดควบคุมและไอศกรีมที่เติม 0.065% สารสกัดหยาบจากขิงมีค่าพีเอชเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ส่วนค่าสี ไอศกรีมชุดควบคุมและไอศกรีมที่เติม 0.065% สารสกัดหยาบจากขิงมีค่า L^* ลดลง และมีค่า b^* เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในระหว่างเก็บรักษา ($p < 0.05$) นอกจากนี้ไอศกรีมที่เติม 0.065% สารสกัดหยาบจากขิงมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และปริมาณสาร [6]-gingerol ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญตลอดระยะเวลาเก็บรักษา ส่วนสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของไอศกรีมชุดควบคุมและไอศกรีมที่เติม 0.065% สารสกัดหยาบจากขิงมีค่าลดลงเล็กน้อยในระหว่างการเก็บรักษา

ไอศกรีมชุดควบคุมและไอศกรีมที่เติม 0.065% สารสกัดหยาบจากขิงที่เก็บรักษาเป็นเวลา 60 วัน มีคุณภาพทางด้านจุลินทรีย์เป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ไอศกรีมในประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 222 พ.ศ. 2544

จากการประเมินคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของไอศกรีมช็อคววมและไอศกรีมที่เติม 0.065% สารสกัดหยาบจากจิงระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20.0 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 15, 30, 45 และ 60 วัน พบว่า ระยะเวลาการเก็บรักษาไม่มีผลอย่างมีนัยสำคัญ ต่อการประเมินคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสในทุกคุณลักษณะ โดยคะแนนเฉลี่ยของคุณลักษณะด้านสี ลักษณะปรากฏ ความแน่นแข็ง ความเรียบเนียน รสหวาน กลิ่นรสไอศกรีม และการยอมรับโดยรวมของไอศกรีมช็อคววมและไอศกรีมที่เติม 0.065% สารสกัดหยาบจากจิงอยู่ในช่วง 7.00-9.00 (ชอบปานกลางถึงชอบมากที่สุด)

9. ไอศกรีมที่เติม 0.065% สารสกัดหยาบจากจิง มีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าไอศกรีมช็อคววมและไอศกรีมทางการค้าทั้ง 2 ตัวอย่าง อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

10. สารสกัดหยาบจากจิงที่ได้จากการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตมีต้นทุนการผลิต ประมาณ 28.25 บาท/กรัม ส่วนไอศกรีมช็อคววมและไอศกรีมที่เติม 0.065% สารสกัดหยาบจากจิง บรรจุด้วยพลาสติกชนิด โพลีโพรพิลีน ขนาดบรรจุ 55 กรัม มีต้นทุนการผลิต ประมาณ 6.35 และ 7.37 บาท/ถ้วย ตามลำดับ

ข้อเสนอแนะ

1. เนื่องจากสารสกัดหยาบจากขิงที่ได้จากแต่ละคอลัมน์แยก มีสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่แตกต่างกัน จึงควรมีการศึกษาถึงองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบจากขิงในแต่ละคอลัมน์แยก และอาจมีการนำสารบริสุทธิ์ทางการค้าที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัดหยาบจากขิงมาทดสอบการยับยั้งจุลินทรีย์
2. เนื่องจากสารสกัดหยาบจากขิงสามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงของกลิ่นรส รวมทั้งสมบัติการต้านอนุมูลอิสระได้เมื่อผ่านกระบวนการแปรรูปที่ใช้อุณหภูมิสูง ดังนั้นสารสกัดหยาบจากขิงจึงมีความเหมาะสมกับการประยุกต์ใช้ในอาหารที่ไม่ต้องผ่านกระบวนการแปรรูปที่ใช้อุณหภูมิสูง
3. เนื่องจากกากขิงที่เหลือภายหลังจากกระบวนการสกัด เป็นวัสดุเศษเหลือที่มีเป็นปริมาณมาก อีกทั้งกากขิงยังคงมีสารที่มีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระเหลืออยู่ จึงควรมีการนำกากขิงมาใช้ประโยชน์ในการแปรรูปเป็นอาหาร
4. เนื่องจากสารสกัดหยาบจากขิงมีสมบัติในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* เมื่อทดสอบด้วยวิธี Disc diffusion นอกจากนี้ยังสามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในไอศกรีมได้ แต่อย่างไรก็ตามการประยุกต์สารสกัดหยาบจากขิงในอาหารอาจทำให้สมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ลดลงได้ จึงควรมีการศึกษาปัจจัยต่างๆ ในอาหาร เช่น พีเอช หรือองค์ประกอบของอาหารที่จะไปมีผลต่อสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากขิง ซึ่งจะเป็นข้อมูลสำหรับการนำสารสกัดหยาบจากขิงมาใช้ในการควบคุมปริมาณจุลินทรีย์ให้เหมาะสมกับประเภทของอาหาร

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2525. ชิง เอกสารวิชาการ เล่มที่ 6. กรุงเทพฯ.

กฤติกา นรจิตร. 2548. คุณสมบัติของสารสกัดจากพืชวงศ์ขิง: อิทธิพลของวิธีการสกัดต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียและการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

กองควบคุมอาหาร. 2552ก. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 222 (พ.ศ. 2544) เรื่อง ไอศกรีม (ออนไลน์). สืบค้นจาก: <http://newsser.fda.moph.go.th/food/> (1 เมษายน 2550)

กองควบคุมอาหาร. 2552ข. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 98 (พ.ศ. 2529) เรื่องมาตรฐานอาหารที่มีสารปนเปื้อน(ออนไลน์). สืบค้นจาก: <http://newsser.fda.moph.go.th/food/> (12 มีนาคม 2552)

จันทร์เพ็ญ มะลิพันธ์. 2549. ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากขิงและผลิตภัณฑ์ขิง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ไฉน ยอดเพชร. 2542. พืชผักอุตสาหกรรม. พิมพ์ครั้งที่ 2. รั้วเขียว. กรุงเทพฯ.

ตะวัน ฉัตรสูงเนิน. 2543. การลดปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่แดงผง โดยการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะเหนือจุดวิกฤต. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ. 2541. จุลชีววิทยาทั่วไป. พิมพ์ครั้งที่ 2. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ.

นิธยา รัตนาปนนท์. 2549. เคมีอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 2. โอเดียนสโตร์. กรุงเทพฯ.

บุญช่วย มะลิหอม. 2547. การผลิตไอศกรีมลูกขอย. ปัญหาพิเศษ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์.

เบ็ญจรัก วายุภาพ. 2541. การสกัดของไหลเหนือจุดวิกฤต. ว. วิทยาศาสตร์. 4: 204-207.

ปณัฐฐา ไชยมุติ. 2547. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของพืชสมุนไพร 7 ชนิด. วิทยานิพนธ์
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ปุ่น คงเจริญเกียรติ และ สมพร คงเจริญเกียรติ. 2541. บรรจุภัณฑ์อาหาร. แพคเกจจิ้ง. กรุงเทพฯ.

พรพรรณ แก้วกิริยา. 2547. การผลิตเซอรุ่มเบตงจากน้ำเวย์. ปัญหาพิเศษ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์.

พิทยา สรวมศิริ. 2529. พืชเครื่องเทศ. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ไพลิน ผู้พัฒนา ซ้อัดดา เทียงพุก กุลวดี ครอบพาณิชย์ และ อุดม กาญจนปกรณ์ชัย. 2546. การศึกษา
หาปริมาณความเข้มข้นที่เหมาะสมของขิงและตะไคร้คู่มือสมุนไพร. อาหาร. 33: 271-276.

มลศิริ วิโรทัย. 2545. เทคโนโลยีของผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพ. บริษัทพัฒนาคุณภาพวิชาการ
จำกัด. กรุงเทพฯ.

มารีนา มะหนิ อภิญา เอกพงษ์ และ ธนรัฐ ศรีวีระกุล. 2546. การศึกษาหาพารามิเตอร์สำหรับการ
วิเคราะห์การอบแห้งขิง. ว. มหาวิทยาลัยทักษิณ. 6: 32-40.

ยุทธ ไถยวรรณ. 2548. สถิติวิจัยทางเทคโนโลยีอุตสาหกรรม. ศูนย์สื่อเสริมกรุงเทพ. กรุงเทพฯ.

รัตนา อินทรานุปกรณ์. 2547. การตรวจสอบและการสกัดแยกสารสำคัญจากสมุนไพร. แอคทีฟ
พรีนซ์. กรุงเทพฯ.

รัตนา อินทรานุปกรณ์. 2550. รู้จัก Ginger Oil กันเถอะ/น้ำมันขิง (ออนไลน์). สืบค้นจาก:
<http://thailabonline.com/aromaginger.htm> [1 พฤษภาคม 2550]

รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ. 2540. พืชเครื่องเทศและสมุนไพร. โอ.เอส.พรีนติ้ง เฮ้าส์. กรุงเทพฯ.

วรรณีย์ คนขยัน. 2549. ขิง (ออนไลน์). สืบค้นจาก:

<http://www2.doae.go.th/www/floriade/06year/11.pdf> [20 เมษายน 2550]

วรรณาดังเจริญชัย และวิบูลศักดิ์ กาวิละ. 2531. นมและผลิตภัณฑ์นม. โอ.เอส.พรีนติ้ง เฮ้าส์.
กรุงเทพฯ.

วรรณาดุลยชัย. 2549. เคมีอาหารของคาร์โบไฮเดรต. แอคทีฟ พรีนซ์. กรุงเทพฯ.

วัลลภ วิษะรังสรรค์ และประณีต โอปะณะโสภิต. 2547. ภาพรวมของอนุมูลอิสระและการทดสอบ
ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดจากพืชในหลอดทดลอง. SWU. J. Pharm. Sci. 9: 73-
80.

วิวัฒน์ หวังเจริญ. 2545. บทบาทของสารประกอบฟีนอลต่อสุขภาพ. อาหาร. 32: 245-253.

ศรียรัตน์ กสิวงศ์. 2534. น้ำมันและน้ำมันหอมระเหยจากพืช. ภาควิชาเภสัชเวทและเภสัช
พฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ศุภยงค์ วรวิฑูริคุณชัย. 2547. การพิสูจน์เอกลักษณ์ของแบคทีเรียกรัมบวกและกรัมลบ. แอคทีฟ
พรีนัท. กรุงเทพฯ.

สมจิตร วงศ์กำชัย. 2544. ผลของการใช้คลื่นเหนือเสียงต่อการสกัดสารสำคัญจากบัวบก.
วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สมใจ ขจรชีพพันธุ์งาม และ อาทิตย์ รั้งมีสันติวานนท์. 2546. การสกัดสารด้วยของไหลวิกฤติ
ยิ่งยวด. ว. ศูนย์บริการวิชาการ. 11: 37-42.

ส่วนอุตสาหกรรมเกษตร สำนักพัฒนาอุตสาหกรรมเกษตรรายสาขา กรมส่งเสริมอุตสาหกรรม
เกษตร. 2544. เกณฑ์คุณภาพและวิธีการตรวจสอบคุณภาพวัตถุดิบ “ขิง” เพื่ออุตสาหกรรม
เกษตร. กรุงเทพฯ.

สุพัฒน์ ใต้เวชศาสตร์. 2546. ผลของอิมัลซิไฟเออร์และสารให้ความคงตัวที่มีต่อคุณภาพของ
ไอศกรีมถั่วเหลือง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

อัญญา เจนวิถีสุข. 2544. การตรวจหาและบ่งชี้ชนิดสารต้านอนุมูลอิสระจากผักพื้นบ้านและ
สมุนไพรไทย. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

Abdel-Aziz, H., Windeck, T., Plochm, M. and Verspohl, E. J. 2006. Mode of action of gingerols
and shogaols on 5-HT₃ receptors: binding studies, cation uptake by the receptor channel
and contraction of isolated guinea-pig ileum. Eur. J. Pharmacol. 530: 136-143.

Aime, D. B., Arntfield, S. D., Malcolmson, L. J. and Ryland, D. 2001. Texture analysis of fat
reduced vanilla ice cream products. Food Res. Int. 34: 237-246.

- Ali, B. H., Blunden, G., Tanira, M. O. and Nemmar, A. 2008. Some phytochemical, pharmacological and toxicological properties of ginger (*Zingiber officinal* Roscoe): A review of recent research. *Food Chem. Toxicol.* 46: 409-420.
- A.O.A.C. 2000. Official Method of Analysis of Association of Official Analysis Chemists. 17th ed. Virginia: The Association of Official Analytical Chemists, Inc.
- Arbuckle, W. S. 1986. Ice Cream. 4th Ed. The A VI Publishing. Connecticut.
- Azian, M. N., Kamal, A. A. M. and Azlina, M. N. 2004. Changes of cell structure in ginger during processing. *J. Food Eng.* 62: 359-364.
- Baer, R. J., Wolkow, M. D. and Kasperson, K. M. 1997. Effect of emulsifiers on the body and texture of low fat ice cream. *J. Dairy Sci.* 80: 3123-3132.
- Bailey-Shaw, Y. A., Williams, L. A. D., Junor, G. O., Green, C. E., Hibbert, S. L., Salmon, C. N. A. and Smith, A. M. 2008. Changes in the contents of oleoresin and pungent bioactive principle of Jamaican ginger (*Zingiber officinal* Roscoe) during maturation. *J. Agric. Food Chem.* 56: 5564-5571.
- Bakkali, F., Averbeck, S. Averbeck, D. and Idaomar, M. 2008. Biological effects of essential oils- a review. *Food Chem. Toxicol.* 46: 446-475.
- Balachandran, S., Kentish, S. E. and Mawson, R. 2006. The effect of both preparation method and season on the supercritical extraction of ginger. *Sep. Purif. Technol.* 48: 94-105.
- Balakrishnan, K. V. 2004. Postharvest and Industrial Processing of Ginger. *In* Ginger The Genus *Zingiber*. (Ravindran, P. N. and Nirmal Babu, K., eds.). p 391-433. CRC Press. New York.
- Balasundram, N., Sundram, K. and Samman, S. 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence and potential uses. *Food Chem.* 99: 191-203.

- Balladin, D. A., Chen-Yen, I., McGaw, D. R., and Headley, O. 1996. Solar drying of West Indian ginger (*Zingiber officinal* Roscoe) rhizome using a wire basket dryer. *Renew. Energ.* 7: 409-418.
- Balladin, D. A., Headley, O., Chen-Yen, I. and McGaw, D. R. 1997. Extraction and evaluation of the main pungent principles of solar dried West Indian ginger (*Zingiber officinal* Roscoe) rhizome. *Renew. Energ.* 12: 125-130.
- Bandyopadhyay, M., Chakraborty, R. and Raychaudhuri, U. 2007. A process for preparing a natural antioxidant enriched dairy product (Sandesh). *LWT Food Sci. Technol.* 40: 842-851.
- Bandyopadhyay, M., Chakraborty, R. and Raychaudhuri, U. 2008. Antioxidant activity of natural plant sources in dairy dessert (Sandesh) under thermal treatment. *LWT Food Sci. Technol.* 41: 816-825.
- Baranowski, J. D. 1986. Changes in solids oleoresin and (6)-gingerol content of ginger during growth in Hawaii. *Hortscience.* 21: 145-146.
- Bartley, J. P. 1995. A new method for the determination of pungent compounds in ginger (*Zingiber officinale*). *J. Sci. Food Agric.* 68: 215-222.
- Bartley, J. P. and Jacobs, A. L. 2000. Effects of drying of flavour compounds in Australian-grown ginger (*Zingiber officinale*). *J. Sci. Food Agric.* 80: 209-215.
- Bensebia, O., Barth, D., Bensebia, B. and Dahmani, A. 2009. Supercritical CO₂ extraction rosemary: Effect of extraction parameters and modeling. *J. Supercrit. Fluids.* *In press.*
- Benzie, I. F. F. and Strain, J. J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal. Biochem.* 239: 70-76.
- Bhattarai, S., Tran, V. H. and Duke, C. C. 2001. The stability of gingerol and shogaol in aqueous solutions. *J. Pharm. Sci.* 90: 1658-1663.

- Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. *Int. J. Food Microbiol.* 94: 223-253.
- Cai, Y., Luo, Q., Sun, M. And Corke, H. 2004. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medical plants associated with anticancer. *Life Sci.* 74: 2157-2184.
- Castor, T. P. 2006. Development and manufacturing of botanical products. In Proceedings of the Drug Information Association (DIA) 42nd Annual Meeting Pennsylvania Convention Center, Philadelphia, PA. 18-22 June 2006.
- Catchpole, O.J., Grey, J.B., Perry, N.B., Burgess, E.J., Redmond, W.A. and Porter, N.G. Extraction of chili, black pepper and ginger with near-critical CO₂, propane and dimethyl ether: analysis of the extracts by quantitative nuclear magnetic resonance. *J. Agric. Food Chem.* 51: 4853-4860.
- Cavero, S. García-Risco, M. R., Marín, F. R., Jaime, L., Santoyo, S., Senoráns, F. J. Reglero, G. and Ibanez, E. 2006. Supercritical fluid extraction of antioxidant compounds from oregano chemical and functional via LC-MS and in vitro assays. *J. Supercrit. Fluids* 38: 62-69.
- Ceylan, E. and Fung, D. Y. C. 2004. Antimicrobial activity of spices. *J. Rapid Methods Auto. Microb.* 12: 1-55.
- Chang, Q., Zuo, Z., Chow, M. S. S. and Ho, W. K. K. 2006. Effect of storage temperature on phenolics stability in hawthorn (*Crataegus pinnatifida* var. *major*) fruits and a hawthorn drink. *Food Chem.* 98: 426-430.
- Chen, C. C., Kuo, M. C. and Ho, C. T. 1986. High performance liquid chromatographic determination of pungent gingerol compound of ginger (*Zingiber officinal* Roscoe). *J. Food Sci.* 51: 1364-1365.

- Chen, J., Lindmark-Månsson, H., Gorton, L. and Åkesson, B. 2003. Antioxidant capacity of bovine milk as assayed by spectrophotometric and amperometric methods. *Int. Dairy J.* 13: 927-935.
- Chrubasik, S., Pittler, M. H., Roufogalis, B. D. 2005. Zingiberis rhizome: A comprehensive review on the ginger effect and efficacy profiles. *Phytomedicine.* 12: 684-701.
- Deba, F., Xuan, T. D., Yasuda, M. and Tawata, S. 2008. Chemical composition and antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the essential oils from *Biden pilosa* Linn. var. *Radiata*. *Food Control.* 19: 346-352.
- del Valle, J. M., de la Fuente, J. C. and Cardarelli, D. A. 2005. Contributions to supercritical extraction of vegetable substrates in Latin America. *J. Food Eng.* 67: 35-57.
- Department of Medical Science, Ministry of Public Health, Thailand. 2000. Thai Herbal Phamacopoeia Vol II. Prachachon. Bangkok.
- Dias, J., Nunes, M. L. and Mendes, R. 1994. Effect of frozen storage on the chemical and physical properties of black and silver scabbardfish. *J. Sci. Food Agric.* 66: 327-335.
- Díaz-Reinoso, B. Moure, A., Domínguez, H. and Parajó, J. C. 2006. Supercritical CO₂ extraction and purification of compounds with antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.* 54: 2441-2469.
- Dimitrios, B. 2006. Source of natural phenolic antioxidants. *Trends Food Sci. Tech.* 17: 505-512.
- Ekwenye, U. N. and Elegalam, N. N. 2005. Antibacterial activity of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) and garlic (*Allium Sativum* L.) extracts on *Escherichia coli* and *Salmonella typhi*. *Int. J. Mol. Med. Adv. Sci.* 4: 411-417.
- Goff, H. D. 1997. Colloidal aspects of ice cream-A review. *Int. Dairy J.* 7: 363-373.
- Goff, H. D. and Hartel, R. W. 2004. Ice Cream and Frozen Desserts. *In Handbook of Frozen Foods.* (Hui, Y. H., Cornillon, P., Legaretta, I. G., Lim, M. H., Murrell, K. D. and Nip, W. K., eds.). p. 499-570. Marcel Dekker. New York.

- Gordon, M. H. 2001. The Development of Oxidative Rancidity in Foods. *In* Antioxidants in Food: Practical application. (Pokorny, J., Yanishlieva, N. and Gordon, M., eds.). p. 7-70. Woodhead Publishing. Cambridge.
- Guinard, J. -X., Zoumas-Morse, C., Mori, L., Uatoni, B., Panyam, D. and Kilara, A. 1997. Sugar and fat effects on sensory properties of ice cream. 62: 1087-1094.
- Guven, M., Karaca, O. B. and Kacar, A. 2003. The effects of the combined use of stabilizers containing locust bean gum and of the storage time on Kahramanmaras-type ice creams. *Int. J. Dairy Technol.* 56: 223-228.
- Hagiwara, T. and Hartel, R. W. 1996. Effect of sweetener, stabilizer and storage temperature on ice recrystallization in ice cream. *J. Dairy Sci.* 79: 735-744.
- He, X., Matthew, W.B., Lian, L. and Lin, L. 1998. High-performance liquid chromatography-electrospray mass spectrometric analysis of pungent constituents of ginger. *J. Chromatogr.* 796: 327-334.
- Herrero, M., Cjfontes, A. and Ibañez, E. 2006. Sub- and supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: Plants, food-by-products algae and microalgae A review. *Food Chem.* 98: 136-148.
- Hinneburg, I., Dorman, H. J. D. and Hiltunen, R. 2006. Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. *Food Chem.* 97: 122-129.
- Huang, D., Ou, B. and Prior, R. L. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J. Agric. Food Chem.* 53: 1841-1856.
- Hwang, J. Y., Shyu, Y. S. and Hsu, C. K. 2009. Grape wine lees improves the rheological and adds antioxidant properties to ice cream. *LWT Food Sci. Technol.* 42: 312-318.
- ICS-UNIDO. 2009. Medicinal and Aromatic Plants (Online). Available http://www.ics.trieste.it/MAPs/MedicinalPlants_Plant.aspx?id=657 (19 January 2009)

- Jolad, S. D., Lantz, R. C., Solyom, A. M., Chen, G. J., Bates, R. B. and Timmermann, B. N. 2004. Fresh organically grown ginger (*Zingiber officinale*): composition and effects on LPS-induce PGE₂ production. *Phytochemistry*. 65: 1937-1954.
- Kandlakunta, B., Rajendran, A. and Thingngaing, L. 2008. Carotene content of some common (cereals, pulses, vegetable, spices and condiments) and unconventional sources of plant origin. *Food Chem*. 106: 85-89.
- Kaur, C. and Kapoor, H. C. 2002. Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. *Int. J. Food Sci. Tech*. 37: 153-161.
- Kikuzaki, H. and Nakatani, N. 1993. Antioxidant effects of some ginger constituents. *J. Food Sci*. 58: 1407-1410.
- Koxholt, M. M. R., Eisenmann, B. and Hinrichs, J. 2001. Effect of the fat globule sizes on the meltdown of ice cream. *J. Dairy Sci*. 84: 31-37.
- Kuljarachanan, T., Devahastin, S. and Chiewchan, N. 2009. Evolution of antioxidant compounds in lime residues during drying. *Food Chem*. 113: 944-949.
- Lal, S. N. D., O'Connor, C. J. and Eyres, L. 2006. Application of emulsifiers/stabilizers in dairy products of high rheology. *Adv. Colloid. Interfac*. 123-126: 433-437.
- Lang, Q. and Wai, C. M. 2001. Supercritical fluid extraction in herbal and natural product studies- a practical review. *Talanta*. 53: 771-782.
- Leal, P. F., Braga, M. E. M., Sato, D. N, Carvalho, J. E., Marques, M. O. M. and Meireles, M. A. A. 2003. Functional properties of spice extracts obtained via supercritical fluid extraction. *J. Agric. Food Chem*. 51: 2520-2525.
- Lim, Y. Y. and Murtijaya, J. 2007. Antioxidant properties of *Phyllanthus amarus* extracts as affected by different drying methods. *LWT Food Sci. Technol*. 40: 1664-1669.
- Lindmark-Månsson, H. and Åkesson, B. 2000. Antioxidative factors in milk. *Brit. J. Nutr*. S103-S110.

- Liou, B. K. And Grun, I. U. 2007. Effect of fat level on the perception of five flavor chemicals in ice cream with or without fat mimetics by using a descriptive test. *J. Food Sci.* 72: 595-604.
- Liu, H., Qiu, N. Ding, H. and Yao, R. 2008. Polyphenol contents and antioxidant capacity of 68 Chinese herbals suitable for medical or food uses. *Food Res. Int.* 41: 363-370.
- Livney, Y. D., Donhowe, D. P. and Hartel, R. W. 1995. Influence of temperature on crystallization of lactose in ice-cream. *Int. J. Food Sci. Tech.* 30: 311-320.
- Lorian, V. 1980. *Antibiotics in Laboratory Medicine*. Williams and Wilkins. Baltimore.
- Maisuthisakul, P., Pongsawatmanit, R. and Gordon, M. H. 2007. Characterization of the phytochemical and antioxidant properties of extracts from Teaw (*Cratoxylum formosum* Dyer). *Food Chem.* 100: 1620-1629.
- Mansour, E. H. and Khalil, A. H. 2000. Evaluation of antioxidant activity of some plant extracts and their application to ground beef patties. *Food Chem.* 69: 135-141.
- Marshall, R. T. and Arbuckle, W. S. 1996. *Ice Cream*. 5th Ed. Chapman & Hall. New York.
- Martínez, J., Monteiro, A. R., Rosa, P. T. V., Marques, M. O. M. and Meireles, M. A. A. 2003. Multicomponent model to describe extraction of ginger oleoresin with supercritical carbon dioxide. *Ind. Eng. Chem. Res.* 42: 1057-1063
- Martins. A. P., Salgueiro, L., Gonçalves, M. J. Proença da Cunha, A., Vila, R., Cañigüeral, S., Mazzoni, V., Tomi, F. and Casanova, J. 2001. Essential oil composition and antimicrobial activity of three Zingiberaceae from S. Tomé e Príncipe. *Planta Med.* 67: 580-584.
- Menon, A. N., Padmakumari, K. P., Kutty, B. S., Sumathikutty, M. A., Sreekumar, M. M. and Arumugham, C. 2007. Effects of processing on the flavor compounds of Indian fresh ginger (*Zingiber officinale* Rosc.). *J. Essent. Oil Res.* 19: 105-109.

- Meyer, A. S., Suhr, K. I., Nielsen, P. and Holm, F. 2002. Natural Food Preservatives. *In* Minimal Processing Technologies in Food Industry. (Ohlsson, T. and Bengtsson, N., eds). p. 124-174. Woodhead Publishing. Cambridge.
- Miliauskus, G., Venskutonis, P. R. and van Beek, T. A. 2004. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chem.* 85: 231-237.
- Miller-Livney, T. and Hartel, R. W. 1997. Ice recrystallization in ice cream: interactions between sweeteners and stabilizers. *J. Dairy Sci.* 80: 447-456.
- Mourtzinou, I., Konteles, S. Kalogeropoulos, N. and Karathanos, V. T. 2009. Thermal oxidation of vanillin affects its antioxidant and antimicrobial properties. *Food Chem.* 114: 791-797.
- Mukhopadhyay, M. 2000. Natural Extract Using Supercritical Carbon Dioxide. CRC Press LLC. Boca Raton.
- Muse, M. R. and Hartel, R. W. 2004. Ice cream structure elements that affect melting rate and hardness. *J. Dairy Sci.* 87: 1-10.
- Natural remedies research centre. 2007. *Zingiber officinale* (Online). Available: http://www.allianceingredients.com/pdfdocs/ZINGIBER_OFFICINALE.PDF (8 August 2007,)
- Nguyen, U., Anstee, M. and Evans, D. A. 1998. Extraction and fractionation of spices using supercritical fluid carbon dioxide. In *Proceeding of The 5th International Symposium on Supercritical Fluids*, Nice, France.
- Nobrega, L. P., Monteiro, A. R., Meireles, M. A. A. and Marques, M. O. M. 1997. Composition of ginger(*Zingiber officinale* Roscoe) oleoresin obtained with ethanol and isopropanol with that obtained with pressurized CO₂. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 17: 408-412.
- Ohmes, R. L., Marshall, R. T. and Heymann, H. 1998. Sensory and physical properties of ice cream containing milk fat or fat replacers. *J. Dairy Sci.* 81: 1222-1228.

- Oonmetta-aree, J., Suzuki, T., Gasaluck, P. and Eumkeb, G. 2006. Antimicrobial properties and action of galangal (*Alpinia galangal* Linn.) on *Staphylococcus aureus*. LWT Food Sci. Technol. 39:1214-1220.
- Öste, R., Jägerstad, M. and Andersson, I. 1997. Vitamins in milk and milk products. *In Advance Dairy Chemistry: Lactose, water, salts and vitamins*. Vol. III. 2nd ed. (Fox, P. F., ed). p. 347-402. Chapman&Hall. London.
- Pacheco- Palencia, L. A., Mertens-Talcott, S. and Talcott, S. T. 2008. Chemical composition, antioxidant properties and thermal stability of a phytochemical enrich oil from Açai (*Euterpe oleacea* Mart.). J. Agric. Food Chem. 56: 4631-4636.
- Pawar, V. C. and Thaker, V. S. 2006. In vitro efficacy of 75 essential oils against *Aspergillus niger*. Mycoses. 49: 316-323.
- Pérez-Jiménez, J. and Saura-Calixto, F. 2006. Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. Food Res. Int. 39: 791-800.
- Pfeiffer, E., Heuschmid, F. F., Kranz, S. and Metzger, M. 2006. Microsomal hydroxylation and glucuronidation of [6]-gingerol. J. Agric. Food Chem. 54: 8769-8774.
- Pourmortazavi, S. M. and Hajimirsadeghi, S. S. 2007. Supercritical fluid extraction in plant essential and volatile oil analysis -review. J Chromatogr. A. 1163: 2-24.
- Pokorny, J and Schmidt, S. 2000. Natural antioxidant functionality during food processing. *In Antioxidants in Food: Practical application*. (Pokorny, J., Yanishlieva, N. and Gordon, M., eds.). p. 331-354. Woodhead Publishing. Cambridge.
- Prasad, J. and Vijay, V. K. 2005. Experimental studied on drying of *Zingiber officinale*, *Curcuma longa* l. and *Tinospora cordifolia* in solar-biomass hybrid drier. Renew. Energ. 30: 2097-2109.
- Prior, R. L., Wu, X. and Schaich, K. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. J. Agric. Food Chem. 53: 4290-4302.

- Pulido, R., Bravo, L. and Saura-Calixto, F. 2000. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. *J. Agric. Food Chem.* 48: 3396-3402.
- Purseglove, J. W. 1985. *Tropical Crops: Monocotyledons*. Longman. New York.
- Ravindran, P. N., Nirmal Babu, K. and Shiva, K. N. 2004. Botany and Crop Improvement of Ginger. *In* *Ginger The Genus Zingiber*. (Ravindran, P. N., Nirmal Babu, K., eds.). p 15-85. CRC Press. New York.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A. Yang, M. and Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Bio. Med.* 26: 1231-1237.
- Robertson, G. L. 2006. *Food Packaging Principle and Practice*. 2nd Ed. CRC Press Taylor & Francis Group. New York.
- Roland, A. M., Philips, L. G. and Boor, K. J. 1999. Effect of fat content on the sensory properties, melting, color and hardness of ice cream. *J. Dairy Sci.* 82: 32-38.
- Roy, B. C., Goto, M. and Hirose, T. 1996. Extraction of ginger oil with supercritical carbon dioxide: experiments and modeling. *Ind. Eng. Chem. Res.* 35: 607-612.
- Sacchetti, G., Maietti, S., Muzzoli, M., Scaglianti, M., Manfredini, S., Radice, M. and Bruni, R. 2005. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food Chem.* 91: 621-632.
- Schwertner, H. A. and Rios, D. C. 2007. High-performance liquid chromatographic analysis of 6-gingerol, 8-gingerol, 10-gingerol and 6-shogaol in ginger-containing dietary supplement, spices, teas and beverages. *J. Chromatogr. B.* 856: 41-47.
- Shahidi, F. and Naczki, M. 2004. *Phenolic in Food and Nutraceuticals*. CRC Press. Boca Raton.
- Shan, B., Cal, Y. Z., Sun, M. and Corke, H. 2005. Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents. *J. Agric. Food Chem.* 53: 7749-7759.

- Sharma, S. S., Kochupillai, V., Gupta, S. K., Seth, S. D. and Gupta, Y. K. 1997. Antiemetic efficacy of ginger (*Zingiber officinale*) against cisplatin-induced emesis in dogs. *J. Ethnopharmacol.* 57: 93-96
- Sinha, R. K. 2004. *Modern Plant Physiology*. Alpha Science International. Harrow.
- Singh, G., Kapoor, I. P. S., Singh, P., de Heluani, C. S., de Lampasona, M. P. and Catalan, C. A. N. 2008. Chemistry, antioxidant and antimicrobial investigation on essential oil and oleoresin of *Zingiber officinale*. *Food Chem. Toxicol.* 46: 3295-3302.
- Smet, K., Raes, K., De Block, J., Herman, L., Dewettinck, K. and Coudijzer, K. 2008. A change in antioxidative capacity as a measure of onset to oxidation in pasteurized milk. *Int. Dairy J.* 18: 520-530.
- Smet, K., De Block, J., De Campeneere, S., De Brabander, D., Herman, L., Raes, K., Dewettinck, K. and Coudijzer, K. 2009. Oxidative stability of UHT milk as influenced by fatty acid composition and packaging. *Int. Dairy J. In press.*
- Soukoulis, C., Chandrinou, I and Tzia, C. 2008. Study of the functionality of selected hydrocolloids and their blends with κ -carrageenan on storage quality of vanilla ice cream. *LWT Food Sci. Technol.* 41: 1816-1827.
- Spiro, M. and Kandiah, M. 1990. Extraction of ginger: partition constants and other equilibrium properties in organic solvents and in supercritical carbon dioxide. *Int. J. Food Sci. Tech.* 25: 566-575.
- Spiro, M., Kandiah, M. and Price, W. 1990. Extraction of ginger: kinetic studies with dichloromethane, ethanol, 2-propanol and an acetone-water mixture. *Int. J. Food Sci. Tech.* 25: 157-167.
- Srivastava, A., Akoh, C. C., Yi, W., Fischer, J and Krewer, G. 2007. Effect of storage conditions on the biological activity of phenolic compounds of blueberry extract packed in glass bottles. *J. Agric. Food Chem.* 55: 2705-2713.

- Stampanoni Koeflerli, C. R., Piccinali, P. and Sigrist, S. 1996. The influence of fat, sugar and non-fat milk solids on selected taste, flavor and texture parameters of a vanilla ice-cream. *Food Qual. Prefer.* 7: 69-79.
- Stoilova, I., Krastanov, A., Stoyanova, A., Denev, P. and Gargova, S. 2006. Antioxidant activity of ginger extract (*Zingiber officinale*). *Food Chem.* 102: 764-770.
- Stoyanova, A., Denkova, Z., Nenov, N., Slachev, A., Jirovetz, L., Buchbauer, G., Lien, H. N., Schmidt, E., and Geissler, M. 2006. –SCFE-oleoresins of black pepper (*Piper nigrum* L.) and ginger (*Zingiber officinale* (L.) Rosc.) from Vietnam: antimicrobial testings, gas chromatographic analysis and olfatoric evaluation. *Electron. J. Environ. Agric. Food Chem.* 5: 1615-1623.
- Stratil, P., Klejdus, B. and Kubáň, V. 2006. Determination of total content of phenolic compounds and their antioxidant activity in vegetables-evaluation of spectrophotometric methods. *J. Agric. Food Chem.* 54: 607-616.
- Suhaj, M. 2006. Spice antioxidants isolation and their antiradical activity: a review. *J. Food Compos. Anal.* 19: 531-537.
- Sultan, M., Bhatti, H. N. and Iqbal, Z. 2005. Chemical analysis of essential oil of ginger (*Zingiber officinale*). *Pak. J. Biol. Sci.* 8: 1576-1578.
- Sultana, B. and Anwar, F. 2008. Flavonols (kaempferol, quercetin, myricetin) contents of selected fruits, vegetables and medicinal plants. *Food Chem.* 108: 879-884.
- Surh, Y.-J., Lee, E. and Lee, J. M. 1998. Chemoprotective properties of some pungent ingredients present in red pepper and ginger. *Mutat. Res.* 402: 259-267.
- Surveswaran, S., Cai Y. Z., Corke, H. and Sun, M. 2007. Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants. *Food Chem.* 102: 938-953.
- Thomsan, M. Al-Qattan, K. K., Al-Sawan, S. M., Alnaqeeb, M. A., Khan, I. and Ali, M. 2002. The use of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) as a potential anti-inflammatory and antithrombotic agent. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids.* 67: 475-478.

- Tortora, G. J., Berdell, R. F. and Christine, L. C. 1997. Microbiology an Introduction. 6th ed. Addison Wesley Longman. California.
- USFDA. 2001a. Aerobic Plate Count in Bacteriological Analytical Manual (Online). Available: <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-3.html> (11 March 2009)
- USFDA. 2001b. Yeasts, Molds and Mycotoxins in Bacteriological Analytical Manual (Online). Available: <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-18.html> (11 March 2009)
- USFDA. 2001c. *Staphylococcus aureus* in Bacteriological Analytical Manual (Online). Available: <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-12.html> (11 March 2009)
- USFDA. 2002. Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria in Bacteriological Analytical Manual (Online). Available: <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-4.html> (11 March 2009)
- Variyar, P. S., Gholap, A. S. and Thomas, P. 2000. Estimation of pungency in fresh gingers: a new fluorimetric assay. J. Food Compos. Anal. .13: 219-225.
- Varnam, A. H. and Sutherland, J. P. 1994. Milk and Milk Products. Chapman & Hall. New York.
- Walton, N. J., Mayer, M. J. and Narbad, A. Molecules of interest vanillin. Phytochemistry. 63: 505-515.
- Wang, L. and Weller, C. L. 2006. Recent advance in extraction of nutraceuticals from plant –A review. Trends Food Sci. Technol. 17: 300-312.
- Wegrzyn, T. F., Farr, J. M., Hunter, D. C., Au., J., Wohlers, M. W., Skinner, M. A., Stanley, R. A. and Sun-Waterhouse, D. 2008. Stability of antioxidants in an apple polyphenol-milk model system. Food Chem. 109: 310-318.
- Weidner, M. S. and Sigwart, K. 2001. Investigation of the teratogenic potential of a *Zingiber officinale* extract in the rat. Reprod. Toxicol. 15: 75-80.

- Whelan, A. P., Vega, C., Kerry, J. P. and Goff, H. D. 2007. Physiochemical and sensory optimisation of a low glycemic index ice cream formulation. *Int. J. Food Sci. Tech.* 43: 1520-1527.
- Wohlmuth, H., Smith, M. K., Brooks, L. O., Myers, S. P. and Leach, D. N. 2006. Essential oil composition of diploid and tetraploid clones of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) grown in Australia. *J. Agric. Food Chem.* 54: 1414-1419.
- Yamasaki, K., Hashimoto, A., Kokusenya, Y., Miyamoto, T., and Sato, T. 1994. Electrochemical method for estimating the antioxidative effects of methanol extracts of crude drugs. *Chem. Pharm. Bull.* 42: 1663-1665.
- Yonei, Y., Ohinata, H., Yoshida, R., Shimizu, Y. and Yokoyama, C. 1995. Extraction of ginger flavor with liquid or supercritical carbon dioxide. *J. Supercrit. Fluids.* 8: 156-161.
- Zaeoung, S. 2004. Cytotoxic Activity Against Tumour Cells and Free radical Scavenging Activity of Zingiberaceous Rhizomes Used as Spices. Master of Pharmacy Thesis. Prince of Songkla University.
- Zancan, K. C., Marques, M. O. M., Petenate, A. J. and Meireles, M. A. A. 2002. Extraction of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) oleoresin with CO₂ and co-solvents: a study of the antioxidant action of the extracts. *J. Supercrit. Fluids.* 24: 57-76.
- Zarate, R. and Yeoman, M. M. 1994. Studies of the cellular localization of the phenolic pungent principle of ginger, *Zingiber officinale* Roscoe. *New Phytol.* 126: 295-300.
- Zhang, X., Iwaoka, W. T., Huang, A. S., Nakamoto, S. T. and Wong, R. 1994. Gingerol decreases after processing and storage of ginger. *J. Food Sci.* 59: 1338-1343.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก การวิเคราะห์สมบัติทางเคมีและสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของขิงและสารสกัด

ภาคผนวก ก-1 การวิเคราะห์สมบัติทางเคมี

1. การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (A.O.A.C., 2000)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. ตู้อบสุญญากาศ
2. ภาชนะหาความชื้น
3. โถดูดความชื้น
4. เครื่องชั่งไฟฟ้า

วิธีการ

1. อบภาชนะสำหรับหาความชื้นในตู้อบ ที่อุณหภูมิ 105.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วนำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็นจนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก

2. ทำซ้ำเช่นข้อ 1 จนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

3. บดตัวอย่างให้ละเอียด และชั่งให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนโดยประมาณ 1-2 กรัม ใส่ลงในภาชนะหาความชื้น ซึ่งทราบน้ำหนักแล้ว นำไปอบในตู้อบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 70.0 องศาเซลเซียส ความดัน 100.0 มิลลิเมตรปรอท เป็นเวลา 5-6 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนัก

4. อบซ้ำเช่นเดิม จนได้ผลต่างของน้ำหนักทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

5. คำนวณปริมาณความชื้นจากสูตร

$$\text{ปริมาณความชื้น (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}} \times 100$$

2. การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (A.O.A.C., 2000)

อุปกรณ์ และเครื่องมือ

1. เตาเผา
2. ถ้วยกระเบื้องเคลือบ
3. โถดูดความชื้น
4. เครื่องชั่งไฟฟ้า

วิธีการ

1. เเผาด้วยกระเบื้องเคลือบในเตาเผาที่อุณหภูมิ 450.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 3 ชั่วโมง ปิดสวิทซ์เตาเผาแล้วรอประมาณ 30-45 นาที เพื่อให้อุณหภูมิภายในเตาเผาตกลงก่อน แล้วนำออกจากเตาเผาใส่ในโถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก

2. เเผาซ้ำอีกครั้งๆ ละประมาณ 30 นาที และทำเช่นข้อ 1 จนได้ผลต่างของน้ำหนักทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

3. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักแน่นอนประมาณ 1-2 กรัม ใส่ในถ้วยกระเบื้องเคลือบ ที่ทราบน้ำหนักแล้ว นำไปเผาในตู้ควันจนหมดควัน แล้วจึงนำเข้าเตาเผา ตั้งอุณหภูมิเตาเผาไว้ที่ประมาณ 600.0 องศาเซลเซียส และทำซ้ำเช่นเดียวกับข้อ 1-2 จนได้ผลต่างของน้ำหนักทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

4. คำนวณหาปริมาณเถ้า จากสูตร

$$\text{ปริมาณเถ้าคิดเป็นร้อยละโดยน้ำหนัก} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างหลังเผา} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}}$$

3. การวิเคราะห์ปริมาณสาร [6]-gingerol (Natural Remedies-Research Centre, 2007)

สารเคมี

1. เมทธานอล (HPLC grade)
2. อะซิโตรไนไตร (HPLC grade)
3. น้ำกลั่น (HPLC grade)
4. สารมาตรฐาน[6]-gingerol (5-hydroxy-1-(4 hydroxy-3-methoxyphenyl)-3-decanone, Code NO. 077-02871)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องปั่นผสม
2. เครื่องเซนตริฟิวส์
3. เครื่อง HPLC คอลัมน์ C18 (Hypersil[®] ODS 4.0×250 มิลลิเมตร, 5 ไมโครเมตร) โดยใช้ UV-VIS detector
4. กระจายกรองไนลอน ขนาด 0.45 ไมครอน
5. ไซริง (Syringe) ขนาด 100 ไมโครลิตร
6. vial ขนาด 2 มิลลิลิตร

วิธีการ

การเตรียมตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์สาร [6]-gingerol ในขิง

1. บดขิงให้ละเอียด ชั่งขิงให้ได้น้ำหนัก 10 กรัม ใส่ลงในโถปั่น เติมน้ำเมทธานอลลงไป ปริมาตร 30 มิลลิลิตร
2. ปั่นด้วยความเร็วระดับสูง เป็นเวลา 15 วินาที จากนั้นปั่นด้วยความเร็วระดับต่ำ เป็นเวลา 15 วินาที
3. เปิดฝาคนตัวอย่างให้เข้ากัน จึงปั่นต่อด้วยความเร็วระดับต่ำ เป็นเวลา 30 วินาที
4. ชะตัวอย่างในโถปั่นด้วยเมทธานอล ปริมาตร 20 มิลลิลิตร
5. ตั้งสกัดตัวอย่างไว้เป็นเวลา 72 ชั่วโมง
6. นำตัวอย่างที่ได้ ไปเซนตริฟิวส์ ที่ความเร็วรอบ 7,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที นำส่วนใสที่ได้ กรองผ่านกระจายกรองไนลอนขนาด 0.2 ไมโครเมตร ลงใน vial ให้มีปริมาตร 2 มิลลิลิตร จึงนำไปวิเคราะห์ปริมาณสาร [6]-gingerol

การเตรียมตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์สาร [6]-gingerol ในไอศกรีมที่เติมสารสกัดหยาบจากจิง

1. วางไอศกรีมให้ละลายที่อุณหภูมิห้อง ซึ่งไอศกรีมที่ละลายให้ได้น้ำหนัก 10 กรัม เติมเมทธานอล ปริมาตร 50 มิลลิลิตร กวนผสมตัวอย่างให้เข้ากัน
2. เติมเมทธานอลปริมาตร 50 มิลลิลิตร กวนผสมตัวอย่างให้เข้ากัน
3. ตั้งสกัดตัวอย่างไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
6. นำตัวอย่างที่ได้ ไปเซนตริฟิวส์ ที่ความเร็วรอบ 8,000 rpm เป็นเวลา 15 นาที นำส่วนใสที่ได้ไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
7. ภายหลัง 24 ชั่วโมง นำสารละลายข้างต้นมากรองแยกเอาส่วนใส โดยกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 4 จากนั้นจึงนำส่วนใสไปกรองผ่านกระดาษกรองในลอนขนาด 0.2 ไมโครเมตร ลงใน vial ให้มีปริมาตร 2 มิลลิลิตร จึงนำไปวิเคราะห์ปริมาณสาร [6]-gingerol

การเตรียมกราฟมาตรฐาน [6]-gingerol

ซึ่งสารมาตรฐาน [6]-gingerol ให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน ละลายในเมทธานอล ให้มีความเข้มข้น 2000 มิลลิกรัม/ลิตร จากนั้นเจือจางตัวอย่างด้วยเมทธานอลให้มีความเข้มข้นที่ระดับ 200, 100, 50, 20, 10 และ 5 มิลลิกรัม/ลิตร

การวิเคราะห์ปริมาณสาร [6]-gingerol ในตัวอย่าง

1. กำหนดสภาวะที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสาร [6]-gingerol ดังนี้

คอลัมน์	C18 (Hypersil [®] ODS 4.0×250 มิลลิเมตร, 5 ไมโครเมตร)
เฟสเคลื่อนที่	อะซิโตรไนไตรและน้ำ ในอัตราส่วนเท่ากับ 55 : 45 (ปริมาตร/ปริมาตร)
อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่	1 มิลลิลิตร/นาที
อุณหภูมิของคอลัมน์	30.0 องศาเซลเซียส
ดีเทคเตอร์	UV-VIS detector ที่ความยาวคลื่น 282 นาโนเมตร
2. ฉีดตัวอย่างเข้าสู่คอลัมน์ ด้วยระบบอัตโนมัติ (Auto sample) โดยใช้ปริมาตรตัวอย่าง 20 ไมโครลิตร จำแนกโครมาโทแกรมของ [6]-gingerol ในตัวอย่าง โดยเปรียบเทียบค่า retention time ของโครมาโทแกรมของสาร [6]-gingerol ในตัวอย่าง กับค่า retention time ของโครมาโทแกรมสารมาตรฐาน [6]-gingerol และคำนวณปริมาณของสาร [6]-gingerol ในตัวอย่าง กับกราฟมาตรฐานของสารมาตรฐาน [6]-gingerol

4. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (Miliauskas *et al.*, 2004)

สารเคมี

1. สารละลาย Folin-Ciocalteu phenol reagent
2. กรดแกลลิก (Gallic acid)
3. โซเดียมคาร์บอเนต แอนไฮดรัส (Sodium carbonate anhydrous; Na₂CO₃)
4. เอทานอล

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. ไมโครปิเปตขนาด 10-200 และ 20-1000 ไมโครลิตร
2. หลอดหมุนเหวี่ยงขนาด 15 มิลลิลิตร (สำหรับเจือจางตัวอย่าง)
3. ไมโครเพลท (Microplate) ขนาด 96 หลุม
4. เครื่อง Microplate reader

วิธีการ

การเตรียมตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสมบัติการต้านอนุมูลอิสระใน
 จิง (ดัดแปลงวิธีการจาก Cai *et al.*, 2004 และ Zaeoung, 2004)

1. บดจิงให้ละเอียด ชั่งจิงให้ได้น้ำหนัก 10 กรัม ใส่ลงในโถปั่น เติมน้ำเอทานอลลงไป ปริมาตร 30 มิลลิลิตร
2. ปั่นด้วยความเร็วระดับสูง เป็นเวลา 15 วินาที จากนั้นปั่นด้วยความเร็วระดับต่ำ เป็นเวลา 15 วินาที
3. เปิดฝาคนตัวอย่างให้เข้ากัน จึงปั่นต่อด้วยความเร็วระดับต่ำ เป็นเวลา 30 วินาที
4. ชะตัวอย่างในโถปั่นด้วยเมทานอล ปริมาตร 20 มิลลิลิตร
5. ตั้งสกัดตัวอย่างไว้เป็นเวลา 72 ชั่วโมง
6. นำตัวอย่างที่ได้ ไปเซนตริฟิวส์ ที่ความเร็วรอบ 7,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที นำส่วนใสที่ได้ ไปวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

การเตรียมตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสมบัติการต้านอนุมูลอิสระในไอศกรีม (ดัดแปลงวิธีการจาก Hwang *et al.*, 2008)

1. วางไอศกรีมให้ละลายที่อุณหภูมิห้อง ชั่งไอศกรีมที่ละลายให้ได้ น้ำหนัก 10 กรัม เติมเอทานอล ปริมาตร 40 มิลลิลิตร กวนผสมตัวอย่างให้เข้ากัน
2. เติมเอทานอลปริมาตร 40 มิลลิลิตร กวนผสมตัวอย่างให้เข้ากัน
3. ตั้งสกัดตัวอย่างไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
4. นำตัวอย่างที่ได้ ไปเซนตริฟิวส์ ที่ความเร็วรอบ 8,000 rpm เป็นเวลา 15 นาที นำส่วนใสที่ได้ไปวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

การเตรียมสารละลาย Folin-Ciocalteu phenol reagent และโซเดียมคาร์บอเนต

1. เตรียมสารละลาย Folin-Ciocalteu phenol reagent ความเข้มข้น 10% โดย Folin-Ciocalteu phenol reagent ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร
2. เตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 0.71 โมลาร์ โดยชั่ง โซเดียมคาร์บอเนต 7.5 กรัม จากนั้นละลาย และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

การเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก

เตรียมสารละลายกรดแกลลิกให้มีความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย จากนั้นเจือจางตัวอย่างให้มีความเข้มข้น 80, 40, 20, 16, 8 และ 4 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

การวิเคราะห์

1. ปิเปตตัวอย่าง 20 ไมโครลิตร ลงในหลุมของไมโครเพลท
2. เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu phenol reagent ปริมาตร 100 ไมโครลิตร
3. เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ปริมาตร 80 ไมโครลิตร
4. ตั้งทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง ในที่มืด จึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร
5. สร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก โดยนำสารละลายกรดแกลลิกที่แต่ละความเข้มข้น ทำเช่นเดียวกับข้อ 1-4
6. คำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในตัวอย่าง โดยเปรียบเทียบค่าที่ได้กับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก รายงานค่าในรูป มิลลิกรัม สมมูลของกรดแกลลิก/ กรัมตัวอย่าง (gallic acid equivalents (GAE)/g sample)

ภาคผนวก ก-2 การวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

1. การวิเคราะห์กิจกรรมการจับอนุมูลอิสระ DPPH (DPPH radical scavenging activity) (Yamasaki *et al.*, 1994)

สารเคมี

1. เมทธานอล
2. เอทานอล
3. DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)
4. บีเอชที (Butylhydroxytoluene; BHT)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. ไมโครปิเปตขนาด 10-200 และ 20-1000 ไมโครลิตร
2. หลอดหมุนเหวี่ยงขนาด 15 มิลลิลิตร (สำหรับเจือจางตัวอย่าง)
3. ไมโครเพลท (Microplate) ขนาด 96 หลุม
4. เครื่อง Microplate reader

วิธีการ

การเตรียมสารละลาย DPPH

เตรียมสารละลาย DPPH ให้มีความเข้มข้น 6×10^{-5} โมลาร์ โดยชั่ง DPPH ให้ได้น้ำหนักแน่นอน 2.4 มิลลิกรัม ละลายในเอทานอล และปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร เก็บไว้ในที่มืด อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สารละลายที่เตรียมแล้วเก็บได้ไม่เกิน 3 วัน

การเตรียมสารละลายบีเอชที

เตรียมสารละลาย บีเอชที ให้มีความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยชั่ง บีเอชที ให้ได้น้ำหนักแน่นอน 10 มิลลิกรัม ละลายในเอทานอล 10 มิลลิลิตร จากนั้นเจือจางให้มีความเข้มข้น 200, 100, 20, 10 และ 2 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

การวิเคราะห์

1. ปิเปตตัวอย่างของแต่ละความเข้มข้น 100 ไมโครลิตร ลงในหลุมของไมโครเพลท
2. เติมสารละลายของ DPPH ลงไป 100 ไมโครลิตร (ความเข้มข้นสุดท้ายของสารตัวอย่างเท่ากับ 100, 50, 10, 5 และ 1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ)

3. ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ในที่มืด จึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร

4. สำหรับสารละลายมาตรฐาน บีเอชที ทำเช่นเดียวกับข้อ 1-3 โดยเปลี่ยนจากตัวอย่างเป็นสารละลาย บีเอชที ที่ความเข้มข้นต่างๆ

5. คำนวณค่า %inhibition ดังสูตร

$$\%inhibition = \frac{(OD_{Control} - OD_{Blank\ control}) - (OD_{Sample} - OD_{Blank\ sample})}{(OD_{Control} - OD_{Blank\ control})} \times 100$$

หมายเหตุ $OD_{Control}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ สารละลาย DPPH \cdot 100 ไมโครลิตร กับน้ำกลั่น 100 ไมโครลิตร

$OD_{Blank\ control}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของน้ำกลั่น 100 ไมโครลิตร กับ เมทธานอล 100 ไมโครลิตร

OD_{Sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่างๆ 100 ไมโครลิตร กับ สารละลาย DPPH \cdot 100 ไมโครลิตร

$OD_{Blank\ sample}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ สารตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่างๆ 100 ไมโครลิตร กับ เมทธานอล 100 ไมโครลิตร

6. นำค่า %inhibition ที่ได้ไปคำนวณหาค่า EC_{50} (Efficient Concentration; ปริมาณของสารตัวอย่าง ต่อ 1 มิลลิลิตร (ของสารละลาย DPPH และสารละลายตัวอย่าง) ที่ไปลดความเข้มข้นของอนุมูลอิสระ DPPH ลง 50% จากความเข้มข้นของสารละลาย DPPH เริ่มต้น)

2. การวิเคราะห์กิจกรรมการจับอนุมูลอิสระ ABTS (ABTS radical scavenging activity) (Re *et al.*, 1999)

สารเคมี

1. ABTS (2,2'-azinobis [3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid])
2. โทรลอกซ์ (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid; Trolox)
3. โพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต (Potassium persulfate; $K_2S_2O_8$)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. ไมโครปิเปตขนาด 10-200 และ 20-1000 ไมโครลิตร
2. หลอดหมุนเหวี่ยงขนาด 15 มิลลิลิตร (สำหรับเจือจางตัวอย่าง)
3. คิวเวท
4. เครื่อง Spectrophotometer

วิธีการ

การเตรียมสารละลาย ABTS^{o+}

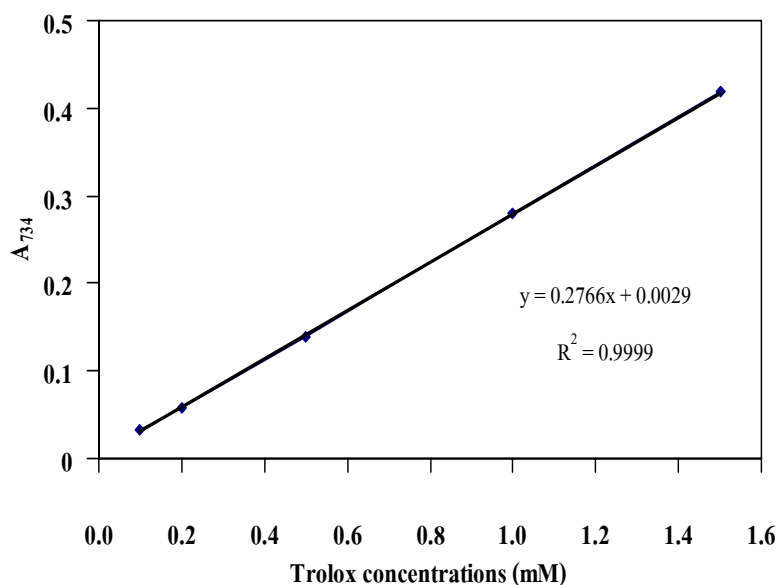
1. เตรียมสารละลาย ABTS ให้มีความเข้มข้น 7 มิลลิโมลาร์ โดยชั่ง ABTS 0.0384 กรัม ละลายและปรับปริมาตรให้เป็น 10 มิลลิตร ด้วยน้ำกลั่น
2. เตรียมสารละลาย โพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต ให้มีความเข้มข้น 140 มิลลิโมลาร์ โดยชั่งโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต 0.9461 กรัม ละลายและปรับปริมาตรให้เป็น 25 มิลลิตร ด้วยน้ำกลั่น
3. ผสมสารละลาย ABTS (ข้อ 1) กับ สารละลายโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต (ข้อ2) ในสัดส่วน 5 มิลลิตร ต่อ 88 ไมโครลิตร ตามลำดับ (ซึ่งทำให้สารละลายโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟตมีความเข้มข้นสุดท้าย ประมาณ 2.45 มิลลิโมลาร์) ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดประมาณ 12-16 ชั่วโมง ก่อนนำไปใช้ (สารละลายเมื่อเตรียมแล้วสามารถเก็บได้เป็นระยะเวลาประมาณ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง)
4. เจือจางสารละลาย ABTS^{o+} (ข้อ3) ด้วยเอทานอล ให้มีค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วง 0.70 ± 0.02 ที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร โดยผสมสารละลาย ABTS^{o+} กับเอทานอล ในสัดส่วน 1 มิลลิตร ต่อ 89 มิลลิตร ตามลำดับ

การเตรียมสารละลายมาตรฐานของโทรลอกซ์

เตรียมสารละลายโทรลอกซ์ให้มีความเข้มข้น 2.0 มิลลิโมลาร์ โดยชั่งโทรลอกซ์ให้ได้น้ำหนักแน่นอน 0.0050 กรัม ละลายและปรับปริมาตรด้วยเอทานอล ให้เป็น 10 มิลลิตร จากนั้นเจือจางสารละลายให้มีความเข้มข้น 1.5, 1.0, 0.5, 0.25 และ 0.1 มิลลิโมลาร์

การวิเคราะห์

1. ปิเปตสารละลายตัวอย่าง 20 ไมโครลิตร ลงในคิวเวท
2. เติมสารละลาย ABTS^{o+} 2 มิลลิตร ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 6 นาที ในที่มืด จึงวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร โดยใช้ตัวทำละลายเป็นแบลนด์
3. สร้างกราฟมาตรฐานของโทรลอกซ์โดยนำสารละลายโทรลอกซ์ มาทำเช่นเดียวกับข้อ 1-2
4. คำนวณสมบัติในการจับอนุมูลอิสระ ABTS โดยเปรียบเทียบค่าที่ได้กับกราฟมาตรฐานของโทรลอกซ์ แสดงค่าในรูป ไมโครโมล สมมูลของโทรลอกซ์/กรัมตัวอย่าง ($\mu\text{mol Trolox equivalents (TE)/g sample}$)



Appendix Figure 1. The standard curve of Trolox with absorbance at 734 nm

การคำนวณสมบัติการจับอนุมูลอิสระ ABTS ในรูปสมมูลย์ของโทรลอกซ์

กำหนดให้ความเข้มข้นสารสกัดหยาบจากขิงที่เจือจางกับตัวทำละลาย มีค่าเท่ากับ 500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เมื่อทำปฏิกิริยากับสารละลาย ABTS^{•+} แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ได้ค่าเท่ากับ 0.280

นำค่า 0.280 มาแทนค่า y ในสมการ $y = 0.2766x + 0.0029$ ที่ได้จากราฟมาตรฐานของโทรลอกซ์ ทำให้ได้ ค่า $x = 1.0018$ mM แสดงว่า

สารละลายของสารสกัดหยาบจากขิง 1000 มิลลิลิตร มีสมบัติการจับอนุมูลอิสระ ABTS เทียบเท่า โทรลอกซ์ 1.0018 มิลลิโมล

ดังนั้นถ้าสารละลายของสารสกัดหยาบจากขิง 1 มิลลิลิตร มีสมบัติการจับอนุมูลอิสระ ABTS เทียบเท่า โทรลอกซ์ $1.0018/1000 = 1.0018 \times 10^{-3}$ มิลลิโมล

ซึ่งสารละลายของสารสกัดหยาบจากขิง 1 มิลลิลิตร มีสารสกัดหยาบจากขิง เท่ากับ 500 ไมโครกรัม หรือ 5×10^{-4} กรัม

ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่า สารสกัดหยาบจากขิง 5×10^{-4} กรัม มีสมบัติการจับอนุมูลอิสระ ABTS เทียบเท่า โทรลอกซ์ 1.0018×10^{-3} มิลลิโมล

ถ้าสารสกัดหยาบจากขิง 1 กรัม มีสมบัติการจับอนุมูลอิสระ ABTS เทียบเท่า โทรลอกซ์ $(1.0018 \times 10^{-3}) / (5 \times 10^{-4}) = 2.0036$ มิลลิโมล

ดังนั้นสารสกัดหยาบจากขิงมีสมบัติการจับอนุมูลอิสระ ABTS เท่ากับ 2.0036 มิลลิโมลสมมูลย์โทรลอกซ์/กรัมสารสกัดหยาบจากขิง

3. การวิเคราะห์ความสามารถในการให้อิเล็กตรอน (Ferric reducing antioxidant power, FRAP) (Benzie and Strain, 1996)

สารเคมี

1. โซเดียม อะซิเตรต ไตรไฮเดรต ($C_2H_3NaO_2 \cdot 3H_2O$)
2. กรดอะซิตรีก
3. TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine)
4. กรดไฮโดรคลอริก
5. เฟอร์ริกคลอไรด์ เฮกซะไฮเดรต ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$)
6. โทรลอกซ์ (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid; Trolox)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. ไมโครปิเปตขนาด 10-200 และ 20-1000 ไมโครลิตร
2. หลอดหมุนเหวี่ยงขนาด 15 มิลลิลิตร (สำหรับเจือจางตัวอย่าง)
3. คิวเวท
4. เครื่อง spectrophotometer
5. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ

วิธีการทดลอง

การเตรียมสารละลาย FRAP reagent

1. เตรียมสารละลาย 300 มิลลิโมลาร์ อะซิเตรต บัฟเฟอร์ พีเอช 3.6
 - 1.1 ชั่งโซเดียม อะซิเตรต ไตรไฮเดรต น้ำหนัก 3.1 กรัม
 - 1.2 เติมกรดอะซิตรีกเข้มข้นลงไป 16 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น
2. เตรียมสารละลาย TPTZ

เตรียมสารละลาย TPTZ 10 มิลลิโมลาร์ โดยชั่ง TPTZ 0.031 กรัม ละลายใน 10 มิลลิลิตรของกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์
3. เตรียมสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ เฮกซะไฮเดรต ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์

ชั่งเฟอร์ริกคลอไรด์ เฮกซะไฮเดรต 0.1340 กรัม ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น ให้เป็น 25 มิลลิลิตร
4. เตรียม FRAP reagent โดยผสม อะซิเตรต บัฟเฟอร์ (ข้อ 1) ปริมาตร 25 มิลลิลิตร กับสารละลาย TPTZ (ข้อ 2) ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ เฮกซะไฮเดรต (ข้อ

3) ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปอุ่นให้สารละลายมีอุณหภูมิ 37.0 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปใช้

การเตรียมสารละลายมาตรฐานของโทรลอกซ์

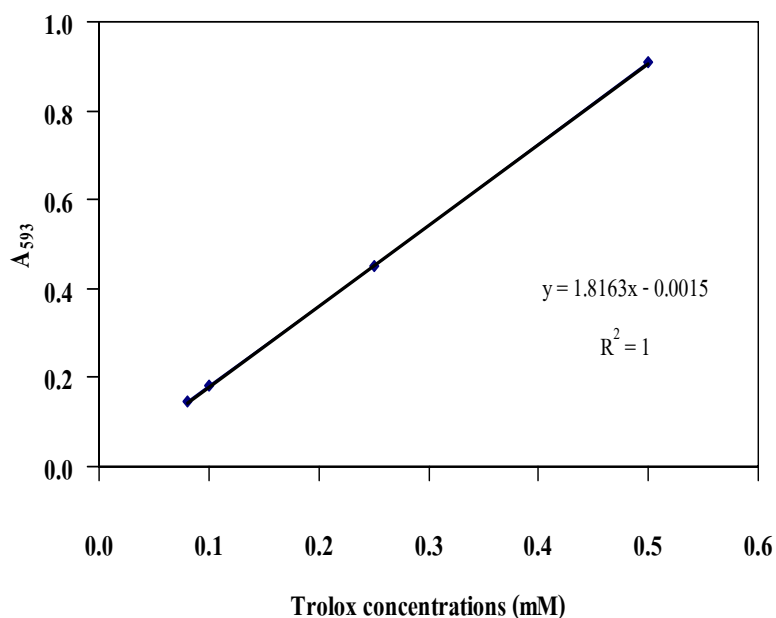
เตรียมสารละลายโทรลอกซ์ให้มีความเข้มข้น 2.0 มิลลิโมลาร์ โดยชั่งโทรลอกซ์ให้ได้น้ำหนักแน่นอน 0.0050 กรัม ละลายและปรับปริมาตรด้วยเอทานอล ให้เป็น 10 มิลลิลิตร จากนั้นเจือจางสารละลายให้มีความเข้มข้น 0.5, 0.25, 0.1 และ 0.08 มิลลิโมลาร์

การวิเคราะห์

1. ผสมสารละลาย FRAP reagent 900 ไมโครลิตร น้ำกลั่น 90 ไมโครลิตร และตัวอย่าง 30 ไมโครลิตร ลงในคิวเวท (ระดับความเจือจางของตัวอย่าง เท่ากับ 1:34)

2. ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ในที่มืด จึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร

3. กำหนดความสามารถในการให้อิเล็กตรอน โดยเปรียบเทียบค่าที่ได้กับกราฟมาตรฐานของโทรลอกซ์ แสดงค่าในรูป ไมโครโมล สมมูลของโทรลอกซ์/กรัมตัวอย่าง ($\mu\text{mol Trolox equivalents (TE)/g sample}$)



Appendix Figure 2. The standard curve of Trolox with absorbance at 593 nm

ภาคผนวก ข การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ ของไอศกรีม

ภาคผนวก ข-1 การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ

1. การวัดค่าสี โดยใช้เครื่องวัดค่าสี (สุพัฒน์ ใต้เวชศาสตร์, 2546)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

เครื่องวัดค่าสี

วิธีการ

1. ทำการปรับมาตรฐานสีโดยใช้แผ่นมาตรฐานสีดำ และสีขาว
2. เลือกโปรแกรม CIE LAB โดยใช้แหล่งกำเนิดแสงแบบ D65 และองศาการมองแบบ 10°
3. วางตัวอย่างส่วนผสมไอศกรีมที่ละลาย ลงในตำแหน่งสำหรับวางตัวอย่าง
4. ใช้ฝาครอบปิดตัวอย่าง เพื่อไม่ให้มีแสงรบกวนจากภายนอก
5. อ่านค่าได้เป็น $L^* a^* b^*$

2. การวัดค่าโอเวอร์รัน (Whelan *et al.*, 2007)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. บีกเกอร์สำหรับบรรจุไอศกรีม
2. เครื่องชั่งไฟฟ้า

วิธีการ

1. บรรจุส่วนผสมของไอศกรีมที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 4.0 ± 1.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในบีกเกอร์ที่มีปริมาตร 50 มิลลิลิตร โดยบรรจุส่วนผสมไอศกรีมจนเต็มบีกเกอร์ แล้วชั่งน้ำหนัก
2. ปั่นส่วนผสมจนเป็นไอศกรีม จึงบรรจุไอศกรีมลงจนเต็มบีกเกอร์ใบเดิม ชั่งน้ำหนักไอศกรีม
3. นำข้อมูลที่ได้ไปคำนวณค่าโอเวอร์รัน จากสูตร

$$\text{ค่าโอเวอร์รัน (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักของส่วนผสม} - \text{น้ำหนักของไอศกรีม}}{\text{น้ำหนักของไอศกรีม}} \times 100$$

3. การวัดค่าความหนืด (สุพัฒน์ ใต้เวชศาสตร์, 2546)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องวัดความหนืด
2. บีกเกอร์

วิธีการ

1. บรรจุส่วนผสมของไอศกรีมที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 4.0 ± 1.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จำนวน 600 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์
2. วัดค่าความหนืด โดยใช้หัวเข็มวัดเบอร์ 4 ปรับความเร็วรอบการหมุนเป็น 100 รอบต่อนาที
3. อ่านค่าที่ได้หลังมอเตอร์หมุน 30 วินาที โดยควบคุมให้ส่วนผสมของไอศกรีมขณะวัดอยู่ที่ 10.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส รายงานค่าที่ได้ในหน่วยพอยซ์ (Ps)

4. การวัดอัตราการละลาย (สุพัฒน์ ใต้เวชศาสตร์, 2546)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องชั่ง
2. ตะแกรงลวดขนาดความกว้างช่องตะแกรง 4.80 ± 0.05 มิลลิเมตร
3. บีกเกอร์

วิธีการ

1. บรรจุไอศกรีมน้ำหนัก 55-60 กรัม ในถ้วยพลาสติก นำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนนำมาทดสอบ
2. นำไอศกรีมที่ผ่านการแช่แข็ง วางบนตะแกรงลวด และรองรับด้วยบีกเกอร์ ภายในห้องที่มีการปรับอากาศให้มีอุณหภูมิประมาณ 24.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส
3. เริ่มวัดอัตราการละลายของไอศกรีมโดยชั่งน้ำหนักไอศกรีมที่ละลายทุกๆ 10 นาที เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
4. คำนวณน้ำหนักไอศกรีมที่ละลายคิดเทียบน้ำหนักไอศกรีม 100 กรัม

$$\text{น้ำหนักไอศกรีมที่ละลายต่อ 100 กรัม} = \frac{\text{น้ำหนักไอศกรีมที่ละลาย} \times 100}{\text{น้ำหนักไอศกรีมเริ่มต้น}}$$
5. นำผลที่ได้เขียนกราฟระหว่างน้ำหนักไอศกรีมที่ละลายและระยะเวลา โดยคำนวณอัตราการละลายในรูป น้ำหนักไอศกรีมที่ละลาย (%) ต่อเวลา (นาที) ได้จากความชันกราฟ

5. การวัดความแน่นแข็งของไอศกรีม (ดัดแปลงวิธีการจาก Guinard *et al.*, 1997)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

เครื่องวัดเนื้อสัมผัส Texture analyzer

วิธีการ

1. บรรจุไอศกรีมน้ำหนัก 55-60 กรัม ในถ้วยพลาสติก นำไปแช่แข็ง ที่อุณหภูมิ -20.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนนำมาทดสอบ

2. วัดเนื้อสัมผัสของไอศกรีมโดยอาศัยหลักการวัดค่าแรงกด (Compression force) ที่กระทำต่อเนื้อไอศกรีมด้วยระยะทางคงที่ สภาพที่ใช้ในการวัดประกอบด้วยหัวกด (Probe) ทรงกระบอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.5 เซนติเมตร สูง 4.0 เซนติเมตร กำหนดค่า Full scale load เท่ากับ 25 กิโลกรัม อัตราเร็วการเคลื่อนที่ของหัวกดขณะวัด 2.0 มิลลิเมตร/วินาที อ่านค่าแรงกดเมื่อระยะทางที่หัวกดลงผ่านเนื้อไอศกรีม 10.0 มิลลิเมตร โดยทำการวัดค่าเนื้อสัมผัสเมื่ออุณหภูมิของไอศกรีมที่ระดับลึกจากผิวหน้า 1.0 เซนติเมตร เป็น -12.0 ± 1.0 องศาเซลเซียส

ภาคผนวก ข-2 การวิเคราะห์สมบัติทางเคมีของไอศกรีม

1. การวิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมด (A.O.A.C., 2000)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. ตู้อบไฟฟ้า
2. ภาชนะหาความชื้น
3. โถดูดความชื้น
4. เครื่องชั่งไฟฟ้า

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างของไอศกรีมประมาณ 3 กรัม ลงในภาชนะหาความชื้นที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอน
2. วางภาชนะในช้อ 1 บนอ่างน้ำที่ควบคุมอุณหภูมิ 100.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที
3. จากนั้นนำเข้าตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4-5 ชั่วโมง
4. นำออกจากตู้อบใส่ในโถดูดความชื้น หลังจากนั้นชั่งหาน้ำหนัก
5. อบซ้ำอีกครั้งละประมาณ 30 นาที และทำซ้ำเช่นเดิมจนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

6. คำนวณหาปริมาณของแข็งทั้งหมดจากสูตร

$$\text{ปริมาณของแข็งทั้งหมด (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

2. การวิเคราะห์ปริมาณไขมันโดยวิธี Roese-Gottlieb (A.O.A.C., 2000)

สารเคมี

1. แอมโมเนียไฮดรอกไซด์ (Ammonium hydroxide) (ความถ่วงจำเพาะ 0.88)
2. 95.0% เอทานอล
3. ไดเอทิลอีเทอร์ (Diethyl ether)
4. ปีโตรเลียมอีเทอร์ (Petroleum ether)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

กรวยแยกขนาด 500 มิลลิลิตร

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างมา 10 กรัม ในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร แล้วใส่ลงในกรวยแยก
2. เติมน้ำกลั่นเพื่อล้างตัวอย่างในบีกเกอร์ (ประมาณ 10-15 มิลลิลิตร) แล้วเทลงในกรวยแยก
3. เติมหาละลายแอมโมเนียไฮดรอกไซด์ (ความถ่วงจำเพาะ 0.88) ลงไป 3 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที
4. เติม 95.0% เอทานอล ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน
5. เติมไดเอทิลอีเทอร์ ปริมาตร 25 มิลลิลิตร เขย่านาน 1 นาที
6. เติมปีโตรเลียมอีเทอร์ 25 มิลลิลิตร ปิดจุกเขย่า 1 นาที
7. ตั้งทิ้งให้แยกชั้น 30 นาที
8. โขของเหลวชั้นล่างใส่บีกเกอร์ใบเดิมที่ใส่ตัวอย่างในข้อ 1
9. โขชั้น Mixed ether ที่เหลือลงใน Dish
10. นำของเหลวชั้นล่างที่ไขออกมาทำการสกัดอีก 2 ครั้ง โดยใช้ 95.0% เอทานอล ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ไดเอทิลอีเทอร์ และปีโตรเลียมอีเทอร์ครั้งละ 15 มิลลิลิตร
11. ระเหย Mixed ether ในตู้ดูดควันจนหมด จากนั้น นำไประเหยบนอ่างน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 100.0 องศาเซลเซียส ในตู้ดูดควันจนแห้ง
12. นำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 100.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

- 13 นำออกจากตู้อบใส่ในโถดูความชื้น แล้วชั่งน้ำหนัก
14. อบซ้ำเช่นเดิม จนได้ผลต่างของน้ำหนักทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม
15. คำนวณหาปริมาณของไขมันจากสูตร

$$\text{ปริมาณไขมัน (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

3. ค่าพีเอช (A.O.A.C., 2000)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

เครื่องพีเอชมิเตอร์

วิธีการ

1. ก่อนใช้เครื่องวัดพีเอช ให้ปรับค่ามาตรฐานในการวัดด้วยสารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน ที่มีค่าพีเอช เท่ากับ 4.0, 7.0 และ 10.0
2. วางไอศกรีมที่อุณหภูมิห้อง จนไอศกรีมละลาย จึงทำการวัดค่าพีเอช

ภาคผนวก ข-3 การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์

1. การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (USFDA, 2001a)

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Plate count agar (PCA)
2. สารละลาย Butterfield's phosphate-buffered

วิธีการ

1. ทำละลายตัวอย่าง และชั่งตัวอย่าง 25 กรัม ลงในขวดปลอดเชื้อ แล้วเติมสารละลาย Butterfield's phosphate-buffered ปริมาตร 225 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตัวอย่างที่ได้มีความเจือจาง เท่ากับ 10^{-1}
2. เจือจางสารละลายตัวอย่างให้มีระดับความเจือจาง 10^{-2} ถึง 10^{-5}
3. ปิเปิดตัวอย่างมา 1 มิลลิลิตร จากแต่ละระดับความเจือจางลงในจานที่เพาะเลี้ยงที่ปลอดเชื้อ
4. เททับด้วยอาหาร Plate count agar ประมาณ 15-20 มิลลิลิตร หมุนจานเพาะเลี้ยงเชื้อเบาๆ แล้วตั้งทิ้งไว้ให้อาหารแข็งตัว

5. ป่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส ในลักษณะคว่ำงานเพาะเชื้อเป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

6. ตรวจสอบจำนวนโคโลนีบนงานเพาะเลี้ยงเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนี รายงานผล เป็นจำนวนโคโลนีต่อกรัมตัวอย่าง

2. การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์กลุ่มโคลิฟอร์ม และ *Escherichia coli* (USFDA, 2002)

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Lauryl sulphate tryptose broth (LST)
2. Brilliant-green lactose bile broth (BGLB)
3. EC broth
4. Levine's eosin methylene blue agar (L-EMB agar)
5. PCA
6. Tryptone broth
7. MR-VP broth
8. Koser's Citrate broth
9. Lactose
10. สารละลาย Butterfield's phosphate-buffered

สารเคมี

1. Kovac's reagent
2. α -naphthol
3. KOH
4. creatine

วิธีการ

การตรวจนับปริมาณจุลินทรีย์กลุ่มโคลิฟอร์ม และ *Escherichia coli* ประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ดังนี้

1. การตรวจนับขั้นแรก (Presumptive test)

1.1 ทำละลายตัวอย่าง และชั่งตัวอย่าง 25 กรัม ลงในขวดปลอดเชื้อ แล้วเติมสารละลาย Butterfield's phosphate-buffered ปริมาตร 225 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตัวอย่างที่ได้มีความเจือจางเท่ากับ 10^{-1}

1.2 เจือจางสารละลายตัวอย่างให้มีระดับความเจือจาง 10^{-2} ถึง 10^{-3} ปิเปตตัวอย่างใส่ในหลอดอาหาร LST พร้อมหลอดดักก๊าซ (Durham tube) ระดับความเจือจางละ 3 หลอด

1.3 บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

1.4 สังเกตการเกิดก๊าซในหลอดดักก๊าซแต่ละหลอดหลังจากบ่มไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หากหลอดใดที่ไม่เกิดก๊าซให้บ่มต่ออีก 24 ชั่วโมง ตรวจสอบผลเช่นเดียวกัน

1.5 บันทึกจำนวนหลอดที่เกิดก๊าซในแต่ละหลอด อ่านค่าจากตาราง MPN รายงานผลเป็น MPN/กรัม ตัวอย่าง

2. การตรวจนับขั้นยืนยัน (Confirm test)

2.1 ถ่ายเชื้อจากหลอดที่เกิดก๊าซในขั้นแรกแต่ละหลอด จำนวน 1 หลบ ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ BGLB

2.2 บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 35.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

2.3 สังเกตการเกิดก๊าซในหลอดดักก๊าซแต่ละหลอดหลังจากบ่ม อ่านค่าจากตาราง MPN รายงานผลเป็น MPN/ กรัม ตัวอย่าง

3. การตรวจนับขั้นสมบูรณ์ (Complete test) สำหรับ *Escherichia coli*

3.1 ถ่ายเชื้อจากหลอดที่เกิดก๊าซในขั้นแรกแต่ละหลอด จำนวน 1 หลบ ลงในอาหาร EC broth

3.2 บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 45.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

3.3 ถ่ายเชื้อจากหลอดที่เกิดก๊าซในขั้นแรกแต่ละหลอด จำนวน 1 หลบ ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ L-EMB agar plate เพื่อให้ได้โคโลนีเดี่ยวๆ

3.4 บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 35.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

3.5 ตรวจสอบโคโลนีที่สงสัยว่าเป็น โดยสังเกตโคโลนีที่มีลักษณะแบน มีจุดสีดำกลางโคโลนี อาจสร้างหรือไม่สร้าง Metallic sheen

3.6 ใช้ลูปเขี่ยเชื้อจากโคโลนีที่สงสัย จาก L-EMB agar plate ลงใน PCA slant

3.7 บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 35.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ใช้ลูปเขี่ยเชื้อจากโคโลนีที่เจริญบน PCA slant มาตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยการย้อมแกรมทุกเชื้อที่เป็น แกรมลบ รูปท่อนสั้น (Short rod) หรือกลม (Cocci) แล้วนำไปทดสอบทางชีวเคมี

4. การทดสอบทางชีวเคมีเพื่อจำแนกเชื้อ

4.1 การทดสอบ Indole production

ถ่ายเชื้อ 1 ลูป ลงในอาหาร tryptone broth แล้วบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วทดสอบหาอินโดล โดยเติม Kovac's reagent 0.2-0.3 มิลลิลิตร ลงไป ถ้าเกิดสีแดงชั้นบนของอาหารเลี้ยงเชื้อ แสดงว่ามีการสร้างอินโดล

4.2 การทดสอบ Voges-Proskauer (VP)-reactive compounds

ถ่ายเชื้อ 1 ลูป ลงใน MR-VP broth และบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วถ่ายเชื้อ 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดสอบขนาด 13×100 มิลลิเมตร แล้วเติม α -naphthol ลงไป 0.6 มิลลิลิตร และ โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) ร้อยละ 40 ลงไป 0.2 มิลลิลิตร เขย่าให้ผสมกันแล้วเติมผลึกของ creatine 2-3 ผลึก เขย่าให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน ทิ้งไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ถ้าเกิดสีชมพู จะให้ผลเป็นบวก

4.3 การทดสอบ Methyl red-reactive compound

ภายหลังการทดสอบ VP test ให้บ่มหลอด MR-VP broth จากข้อ 2 ที่อุณหภูมิ 35.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส ต่อไปจนครบเวลา 48 ชั่วโมง แล้วเติมสารละลาย methyl red 5 หยด ลงในหลอดทดลองแต่ละหลอด ทดสอบถ้าเกิดสีแดงจะให้ผลเป็นบวก แต่ถ้าเกิดสีเหลืองจะให้ผลเป็นลบ

4.4 การทดสอบ Citrate utilization

ใช้ลูปเขี่ยเชื้อลงใน Koser's Citrate broth (ระวังไม่ให้อาหารขุ่น) บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 96 ชั่วโมง ถ้าพบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อขุ่นแสดงว่ามีการใช้ citrate ในอาหารเลี้ยงเชื้อ แสดงว่าผลการทดสอบเป็นบวก

4.5 การทดสอบการแสดงผล

4.5.1 ทุกเชื้อที่สามารถใช้น้ำตาลแลคโตส (lactose) และสร้างก๊าซภายใน 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส

4.5.2 เชื้อที่ทดสอบทุกเชื้อเป็นแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ มีลักษณะเป็นท่อน หรือกลม

4.5.3 ให้การทดสอบทางชีวเคมี IMVIC เป็น +++ หรือ -+- ถือว่าเป็น *Escherichia coli* อ่านค่าจากตาราง MPN รายงานผลเป็น MPN/กรัม ตัวอย่าง

3. การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อ *Staphylococcus aureus* (USFDA, 2001c)

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Baird parker agar
2. Brain heart infusion broth (BHI)
3. พลาสมา
4. สารละลาย Butterfield's phosphate-buffered

วิธีการ

1. ทำละลายตัวอย่างและซั่งตัวอย่าง 25 กรัมลงในขวดปลอดเชื้อ แล้วเติมสารละลาย Butterfield's phosphate-buffered ปริมาตร 225 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตัวอย่างที่ได้มีความเจือจางเท่ากับ 10^{-1}

2. เจือจางสารละลายตัวอย่างให้มีระดับความเจือจาง 10^{-2} ถึง 10^{-3}

3. นำตัวอย่างอาหารที่ความเจือจางทุกระดับ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร มา Spread บนผิวหน้าจานอาหาร Baird parker agar

4. บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

5. ลักษณะโคโลนีของ *Staphylococcus aureus* บนอาหาร Baird parker agar มีลักษณะเยิ้มหนูน สีดำขอบขาว และมีโซนใน รอบโคโลนี

6. แยกโคโลนีที่คาดว่าจะเป็เชื้อ *Staphylococcus aureus* มาทดสอบ Coagulase test โดยเขี่ยเชื้อที่สงสัยมา 1 หลบ ลงในอาหาร BHI ที่มีปริมาตร 0.2-0.3 มิลลิลิตร

7. บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

8. ปิเปิดพลาสมาเติมลงไป 0.5 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง หรือมากกว่า หากพลาสมาแข็งตัวแสดงว่าเชื้อที่ทดสอบ คือ *Staphylococcus aureus*

ภาคผนวก ค การประเมินคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของไอศกรีม

ภาคผนวก ค-1 แบบประเมินคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของไอศกรีม

ชุดที่

ใบรายงานผลการทดสอบ

ผลิตภัณฑ์ไอศกรีมนม/ไอศกรีมนม กลิ่นรสจืด

ชื่อ-สกุล วันที่ เวลา

คำอธิบาย กรุณาทดสอบชิมตัวอย่างที่เสนอให้จากซ้ายไปขวา แล้วให้คะแนนความชอบของตัวอย่างในแต่ละคุณลักษณะที่ตรงกับความรู้สึกชอบของท่านมากที่สุด

โดยกำหนดให้ 9 = ชอบมากที่สุด 6 = ชอบน้อยที่สุด 3 = ไม่ชอบปานกลาง
 8 = ชอบมาก 5 = เฉยๆ 2 = ไม่ชอบมาก
 7 = ชอบปานกลาง 4 = ไม่ชอบเล็กน้อย 1 = ไม่ชอบมากที่สุด

คุณลักษณะ	คะแนนความชอบของตัวอย่าง			
	รหัส	รหัส	รหัส	รหัส
สี				
ลักษณะปรากฏ				
ความแน่นแข็ง				
ความเรียบเนียน				
รสหวาน				
กลิ่นรสของไอศกรีม				
คุณลักษณะโดยรวม				

หมายเหตุ: คุณลักษณะ โดยรวมพิจารณาจากสี ลักษณะปรากฏ ความแน่นแข็ง ความเรียบเนียน รสหวาน และกลิ่นรสของไอศกรีม

ข้อเสนอแนะ

.....

ขอบคุณครับ

ภาคผนวก ก-2 คุณลักษณะและวิธีการประเมินทางประสาทสัมผัสของไอศกรีม

คุณลักษณะและวิธีการประเมินทางประสาทสัมผัสของไอศกรีม

1. สี (Color)

พิจารณาจาก สีของเนื้อไอศกรีม

2. ลักษณะปรากฏ (Appearance)

พิจารณาจาก ความสม่ำเสมอ ความเรียบเนียน (Smoothness) ของเนื้อไอศกรีม

3. เนื้อสัมผัส (Texture)

3.1 ความแน่นแข็ง (Hardness) เป็นคุณลักษณะของเนื้อสัมผัสของไอศกรีม ซึ่งเกี่ยวข้องกับแรงที่ใช้ในการทำให้ไอศกรีมยุบตัวลง

วิธีการประเมิน ตักไอศกรีม 1 ช้อน เข้าในปาก จากนั้นประเมินความแน่นแข็ง(Firmness) ของไอศกรีมโดยใช้ลิ้นออกแรงกดต้านกับเพดานปากเพื่อทำให้ไอศกรีมยุบตัวลง

3.2 ความเรียบเนียน (Smoothness) เป็นการสัมผัสของลิ้นกับอนุภาคต่างๆ หรือผลึกน้ำแข็งในไอศกรีม

วิธีการประเมิน ตักไอศกรีม 1 ช้อน เข้าในปาก จากนั้นใช้ลิ้นกวาดตัวอย่างไอศกรีมให้ทั่วเพดานปาก แล้วทำการประเมินความเรียบเนียน(Smoothness) ของไอศกรีม

4. รสหวาน (Sweetness)

พิจารณาจาก การรับรสหวานของน้ำตาลที่เป็นส่วนผสมในไอศกรีม ซึ่งสามารถรับรสหวานได้ภายหลังจากรับประทานไอศกรีม

5. กลิ่นรสของไอศกรีม (Ice cream flavor)

พิจารณาจาก กลิ่นรสของนม และส่วนผสมอื่นๆ ในไอศกรีม ซึ่งสามารถรับรู้ได้ภายหลังจากรับประทานไอศกรีม

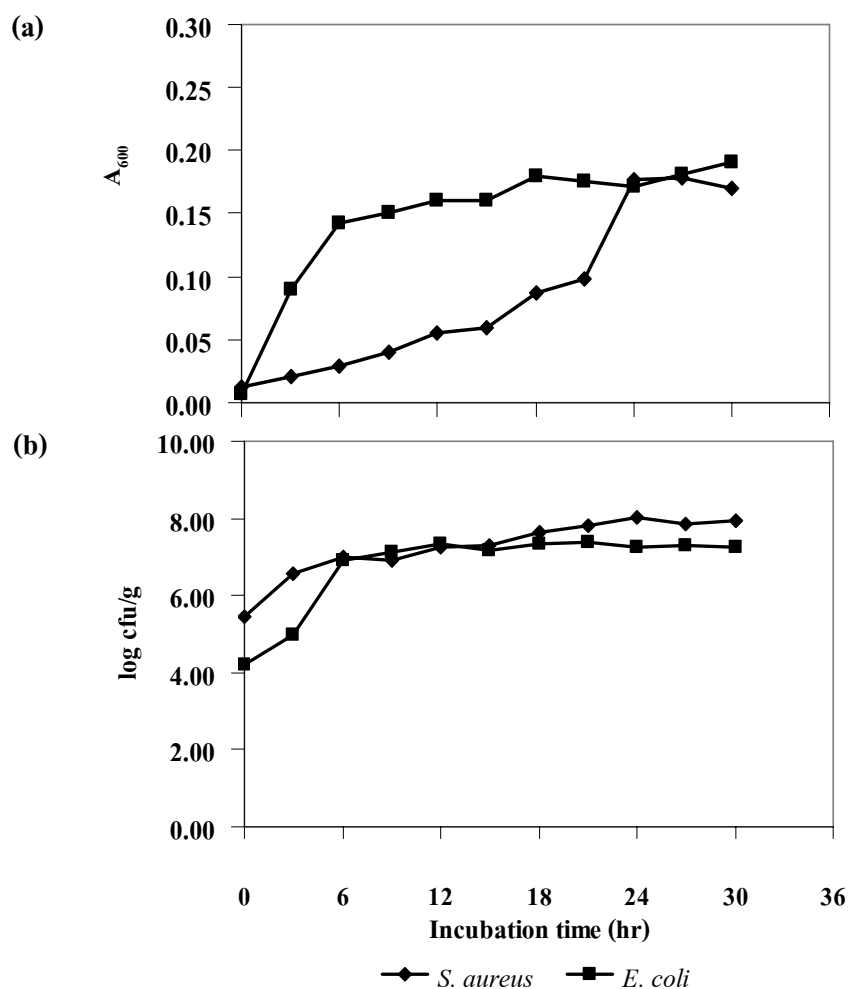
6. คุณลักษณะโดยรวม (Overall Acceptance)

พิจารณาจาก สี ลักษณะปรากฏ ความแน่นแข็ง ความเรียบเนียน รสหวาน และกลิ่นรสไอศกรีม

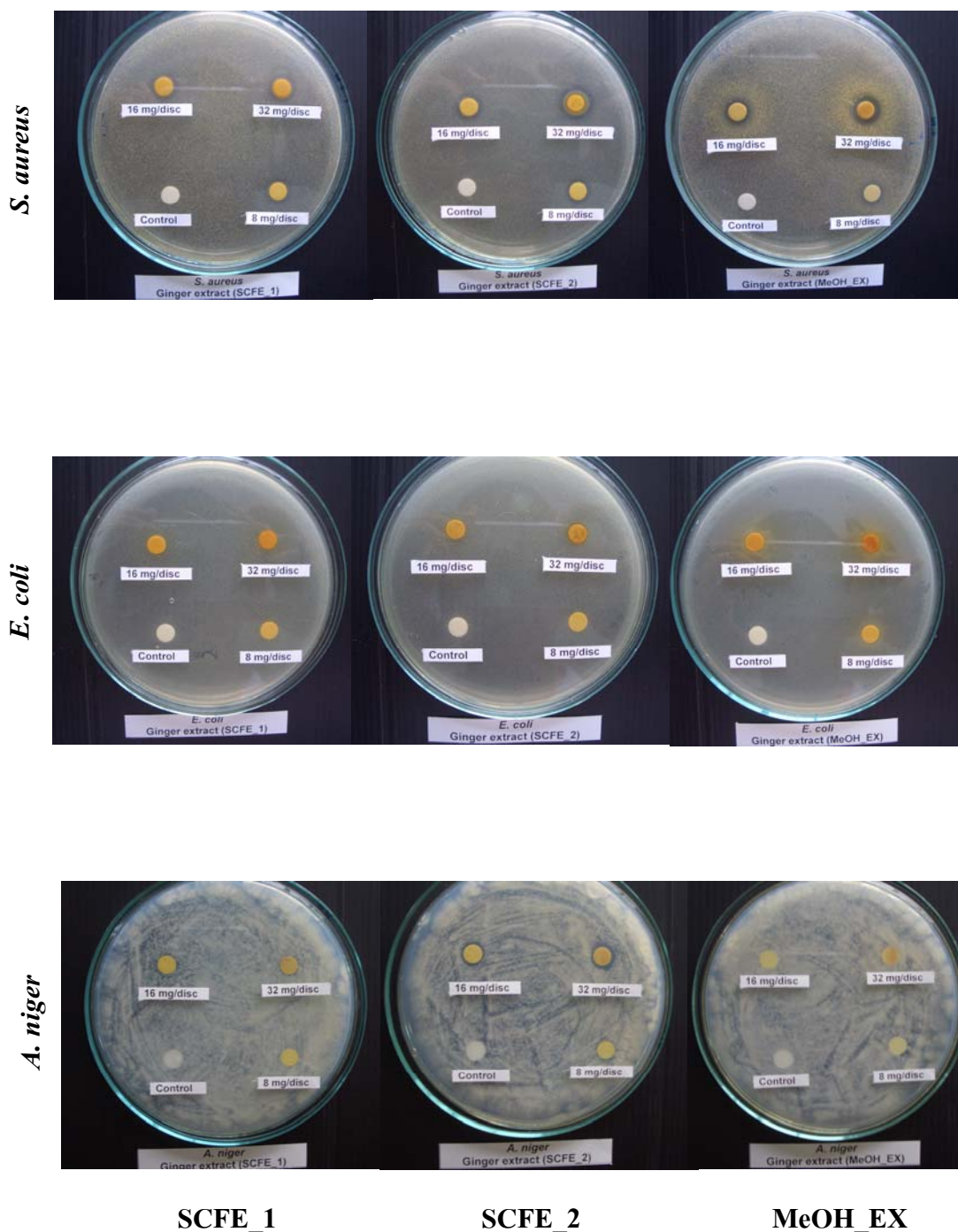
ภาคผนวก ง สมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารมาตรฐาน [6]-gingerol และสมบัติการต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากขิง

Appendix Table 1. Antioxidant properties of standard [6]-gingerol as determined by DPPH, ABTS radical scavenging activity and FRAP

Compound	DPPH, EC ₅₀ (µg/ml)	ABTS, TEAC (mmol TE/g)	FRAP, TEAC (mmol TE/g)
[6]-gingerol	5.76±0.12	3.05±0.03	3.45±0.07



Appendix Figure 3. Growth curve of *S. aureus* and *E. coli* (a) absorbance (A_{600}) and incubation time and (b) microbial population and incubation time



Appendix Figure 4. Clear zones of *S. aureus*, *E. coli* and *A. niger* by crude ginger extracts obtained from SC-CO₂ extraction and methanol immersion extraction

SCFE_1 and SCFE_2 = Crude ginger extract, contained highest antioxidant properties, obtained from separator 1 and 2, respectively, using SC-CO₂ extraction

MeOH_EX = Crude ginger extract, obtained from methanol immersion extraction

ภาคผนวก จ การคำนวณต้นทุนการผลิตของสารสกัดหยาบจากขิงที่สกัดโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตและราคาของวัตถุดิบและบรรจุภัณฑ์สำหรับการผลิตไอศกรีม

1. ต้นทุนการผลิตของสารสกัดหยาบจากขิงที่สกัดโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤต

1.1 ค่าวัตถุดิบ ได้แก่ ขิงสด มีราคาเฉลี่ย กิโลกรัมละ 16 บาท

1.2 ค่าใช้จ่ายในการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤต ครั้งละ 6,000 บาท

โดยในการศึกษาครั้งนี้ คอลัมน์ที่ใช้ในการสกัดสามารถบรรจุขิงที่ผ่านการทำแห้งแล้วประมาณ 6 กิโลกรัม ซึ่งในการสกัดสามารถทำการสกัดได้ 2 รอบ ดังนั้น จะต้องใช้ขิงที่ผ่านการทำแห้ง 12 กิโลกรัม ซึ่งจะต้องใช้ขิงสดประมาณ 233 กิโลกรัม

ดังนั้น ค่าใช้จ่ายในส่วนของวัตถุดิบ = $233 \times 16 = 3,728$ บาท

ค่าใช้จ่ายในส่วนของ การสกัด = 6,000 บาท

รวมค่าใช้จ่ายในส่วนของวัตถุดิบและส่วนของ การสกัด = $3,728 + 6,000 = 9,728$ บาท

ผลได้ของสารสกัดหยาบจากขิงที่ได้ทั้งหมดจากการสกัด มีค่าประมาณ 2.87% (น้ำหนักสารสกัด/100 กรัมของขิงที่ผ่านการทำแห้ง) โดยในการสกัดครั้งนี้ใช้ขิงที่ผ่านการทำแห้ง 12 กิโลกรัม ทำให้ได้สารสกัดหยาบจากขิงประมาณ 344.40 กรัม

ดังนั้น ต้นทุนการผลิตสารสกัดหยาบจากขิง = $9,728 \text{ บาท} / 344.40 \text{ กรัม} = 28.25 \text{ บาท/กรัม}$

2. ราคาของวัตถุดิบและบรรจุภัณฑ์สำหรับการผลิตไอศกรีมที่ไม่เติมและเติมสารสกัดหยาบจากขิง

- นมขาดมันเนย	ราคาเฉลี่ย ลิตรละ	39.00 บาท
- นมผงขาดมันเนย	ราคาเฉลี่ย กิโลกรัมละ	200.00 บาท
- ครีมสด	ราคาเฉลี่ย ลิตรละ	121.00 บาท
- น้ำตาลทราย	ราคาเฉลี่ย กิโลกรัมละ	20.00 บาท
- กลูโคสไซรัป	ราคาเฉลี่ย กิโลกรัมละ	28.00 บาท
- สารให้ความคงตัว/อิมัลซิไฟเออร์	ราคาเฉลี่ย กิโลกรัมละ	500.00 บาท
- น้ำ	ราคาเฉลี่ย ลิตรละ	0.50 บาท
- สารสกัดหยาบจากขิง	ราคาเฉลี่ย กรัมละ	28.25 บาท
- ถ้วยพลาสติกพร้อมฝา	ราคาเฉลี่ย ใบละ	2.55 บาท

การคำนวณต้นทุนการผลิตไอศกรีมที่ไม่เติมและเติมสารสกัดหยาบจากขิง จะคิดเฉพาะค่าใช้จ่ายในส่วนของวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตและบรรจุภัณฑ์ โดยคำนวณต้นทุนการผลิตไอศกรีมบนฐานของน้ำหนักไอศกรีมที่บรรจุด้วยพลาสติก ประมาณ 55 กรัม ไอศกรีม/ถ้วย

Appendix Table 2. Chemical and antioxidant properties (by DPPH, ABTS radical scavenging activity and FRAP) of ice creams containing crude ginger extracts (0.000% and 0.065%) and commercial ice creams

Ice creams	pH	Total solids (%)	Fat (%)	Total phenolic contents (μg GAE/g ice cream)	DPPH, EC ₅₀ (mg/ml)	TEAC (μmol TE/g ice cream)	
						ABTS	FRAP
0.000% crude ginger extract	6.34 \pm 0.00 ^c	41.44 \pm 0.16 ^b	12.09 \pm 0.27 ^c	0.00 \pm 0.00 ^d	54.63 \pm 2.85 ^b	0.25 \pm 0.00 ^d	0.31 \pm 0.01 ^d
0.065% crude ginger extract	6.34 \pm 0.01 ^c	41.94 \pm 0.20 ^a	12.08 \pm 0.21 ^c	201.74 \pm 6.48 ^b	13.45 \pm 0.75 ^d	1.45 \pm 0.02 ^a	1.53 \pm 0.02 ^a
Brand 1	6.67 \pm 0.01 ^a	41.55 \pm 0.10 ^b	14.80 \pm 0.55 ^a	287.64 \pm 10.24 ^a	>62.5 ^a	0.90 \pm 0.02 ^b	1.00 \pm 0.03 ^b
Brand 2	6.40 \pm 0.04 ^b	38.16 \pm 0.53 ^c	13.57 \pm 0.38 ^b	110.72 \pm 3.03 ^c	41.48 \pm 2.87 ^c	0.38 \pm 0.01 ^c	0.46 \pm 0.02 ^c

Means \pm standard deviations in the same column with different letters are significantly different ($p < 0.05$)

Brand 1 = Vanilla flavored ice cream, milk ice cream

Brand 2 = Vanilla flavored ice cream, milk ice cream

GAE, Gallic acid equivalents

DPPH and ABTS radical scavenging activity, FRAP, Ferric reducing antioxidant power

EC₅₀, Efficient concentration, the amount of sample (mg) needed for 50% decreasing in the initial DPPH concentration per 1.0 ml of solution, TEAC, Trolox equivalents antioxidant capacity

TE, Trolox equivalents, micromolar of Trolox solution having an antioxidant capacity equivalent to 1.0 gram of the substance under investigation

ภาคผนวก จ ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ

Appendix Table 3. Analysis of variance in chemical compositions and antioxidant properties of fresh and dried ginger

		Levene's Test for		t-test for Equality of Means						
		Equality of Variances		t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.						Lower	Upper
[6]-gingerol	Equal variances assumed	4.182	.068	29.049	10	.000	3.0000	.10327	2.76989	3.23011
Content	Equal variances not assumed			29.049	8.940	.000	3.0000	.10327	2.76614	3.23386
Total phenolic	Equal variances assumed	1.229	.294	23.517	10	.000	4.8917	.20801	4.42820	5.35514
content	Equal variances not assumed			23.517	7.662	.000	4.8917	.20801	4.40829	5.37504
EC ₅₀	Equal variances assumed	2.777	.127	-2.456	10	.034	-6.4150	2.61215	-12.23522	-.59478
DPPH	Equal variances not assumed			-2.456	8.602	.038	-6.4150	2.61215	-12.36598	-.46402
TEAC,	Equal variances assumed	20.000	.001	11.000	10	.000	.0367	.00333	.02924	.04409
ABTS	Equal variances not assumed			11.000	5.000	.000	.0367	.00333	.02810	.04524
TEAC,	Equal variances assumed	1.607	.234	16.745	10	.000	.0450	.00269	.03901	.05099
FRAP	Equal variances not assumed			16.745	9.494	.000	.0450	.00269	.03897	.05103

Appendix Table 4. Analysis of variance in chemical and antioxidant properties of crude ginger extracts obtained from SC-CO₂ extraction and methanol extraction

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
[6]-gingerol contents	Between Groups	527233.803	2	263616.901	86778.011	.000
	Within Groups	45.567	15	3.038		
	Total	527279.370	17			
Total phenolic contents	Between Groups	102909.240	2	51454.620	3518.265	.000
	Within Groups	219.375	15	14.625		
	Total	103128.615	17			
EC ₅₀ , DPPH	Between Groups	43.550	2	21.775	26.691	.000
	Within Groups	12.237	15	.816		
	Total	55.787	17			
TEAC, ABTS	Between Groups	3.714	2	1.857	665.263	.000
	Within Groups	.042	15	.003		
	Total	3.756	17			
TEAC, FRAP	Between Groups	4.383	2	2.191	2160.115	.000
	Within Groups	.015	15	.001		
	Total	4.398	17			

Appendix Table 5. Analysis of variance in [6]-gingerol contents of crude ginger extracts during storage at -20.0, 4.0 and 27.0°C for 0, 1, 2, 3 and 4 months

Source	Type III Sum				
	of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
TEMP	1.935	2	.967	.304	.739
TIME	2.715	4	.679	.213	.930
TEMP * TIME	17.510	8	2.189	.687	.701
Error	238.891	75	3.185		

a R Squared = .085 (Adjusted R Squared = -.086)

Appendix Table 6. Analysis of variance in total phenolic contents of crude ginger extracts during storage at -20.0, 4.0 and 27.0°C for 0, 1, 2, 3 and 4 months

Source	Type III Sum				
	of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
TEMP	18.217	2	9.108	1.414	.250
TIME	163.178	4	40.794	6.332	.000
TEMP * TIME	45.922	8	5.740	.891	.528
Error	483.208	75	6.443		

a R Squared = .320 (Adjusted R Squared = .193)

Appendix Table 7. Analysis of variance in antioxidant properties of crude ginger extracts during storage at -20.0, 4.0 and 27.0°C for 0, 1, 2, 3 and 4 months as determined by DPPH radical scavenging activity

Source	Type III Sum				
	of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
TEMP	.370	2	.185	.848	.432
TIME	1.998	4	.500	2.288	.068
TEMP * TIME	1.249	8	.156	.715	.678
Error	16.377	75	.218		

a R Squared = .181 (Adjusted R Squared = .028)

Appendix Table 8. Analysis of variance in antioxidant properties of crude ginger extracts during storage at -20.0, 4.0 and 27.0°C for 0, 1, 2, 3 and 4 months as determined by ABTS radical scavenging activity

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
TEMP	.005	2	.003	1.707	.188
TIME	.010	4	.003	1.694	.160
TEMP * TIME	.011	8	.001	.914	.510
Error	.111	75	.001		

a R Squared = .189 (Adjusted R Squared = .038)

Appendix Table 9. Analysis of variance in antioxidant properties of crude ginger extracts during storage at -20.0, 4.0 and 27.0°C for 0, 1, 2, 3 and 4 months as determined by FRAP

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
TEMP	.001	2	.000	.456	.635
TIME	.003	4	.001	.969	.430
TEMP * TIME	.015	8	.002	2.296	.029
Error	.060	75	.001		

a R Squared = .236 (Adjusted R Squared = .093)

Appendix Table 10. Analysis of variance in chemical properties of ice creams obtained from 6 different formulas

		Sum of				
		Squares	df	Mean Square	F	Sig.
pH	Between Groups	.071	5	.014	71.888	.000
	Within Groups	.006	30	.000		
	Total	.077	35			
Total solids	Between Groups	598.533	5	119.707	9493.820	.000
	Within Groups	.378	30	.013		
	Total	598.911	35			
Fat	Between Groups	115.415	5	23.083	375.506	.000
	Within Groups	1.844	30	.061		
	Total	117.259	35			

Appendix Table 11. Analysis of variance in physical measurements of ice creams obtained from 6 different formulas

		Sum of				
		Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Viscosity	Between Groups	7800.773	5	1560.155	182.968	.000
	Within Groups	255.808	30	8.527		
	Total	8056.580	35			
Overrun	Between Groups	1518.806	5	303.761	12.832	.000
	Within Groups	710.187	30	23.673		
	Total	2228.993	35			
<i>L*</i>	Between Groups	19.918	5	3.984	59.847	.000
	Within Groups	1.997	30	.067		
	Total	21.915	35			
<i>a*</i>	Between Groups	7.273	5	1.455	395.085	.000
	Within Groups	.110	30	.004		
	Total	7.383	35			
<i>b*</i>	Between Groups	81.362	5	16.272	193.963	.000
	Within Groups	2.517	30	.084		
	Total	83.879	35			
Melting rate	Between Groups	3.438	5	.688	229.080	.000
	Within Groups	.090	30	.003		
	Total	3.528	35			
Hardness	Between Groups	59480.528	5	11896.106	33.842	.000
	Within Groups	10545.436	30	351.515		
	Total	70025.964	35			

Appendix Table 12. Analysis of variance in average acceptance scores (color attribute) of ice creams obtained from 6 different formulas

Source	Type III Sum				
	of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
PANALIST	64.467	29	2.223	9.298	.000
TREATMENT	.667	5	.133	.558	.732
Error	34.667	145	.239		

a R Squared = .653 (Adjusted R Squared = .571)

Appendix Table 13. Analysis of variance in average acceptance scores (appearance attribute) of ice creams obtained from 6 different formulas

Source	Type III Sum				
	of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
PANALIST	55.244	29	1.905	4.925	.000
TREATMENT	.578	5	.116	.299	.913
Error	56.089	145	.387		

a R Squared = .499 (Adjusted R Squared = .381)

Appendix Table 14. Analysis of variance in average acceptance scores (hardness attribute) of ice creams obtained from 6 different formulas

Source	Type III Sum				
	of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
PANALIST	101.561	29	3.502	5.410	.000
TREATMENT	5.294	5	1.059	1.636	.154
Error	93.872	145	.647		

a R Squared = .532 (Adjusted R Squared = .423)

Appendix Table 15. Analysis of variance in average acceptance scores (smoothness attribute) of ice creams obtained from 6 different formulas

Source	Type III Sum				
	of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
PANALIST	102.117	29	3.521	5.957	.000
TREATMENT	7.117	5	1.423	2.408	.039
Error	85.717	145	.591		

a R Squared = .560 (Adjusted R Squared = .457)

Appendix Table 16. Analysis of variance in average acceptance scores (sweetness attribute) of ice creams obtained from 6 different formulas

Source	Type III Sum				
	of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
PANALIST	93.050	29	3.209	4.434	.000
TREATMENT	10.583	5	2.117	2.925	.015
Error	104.917	145	.724		

a R Squared = .497 (Adjusted R Squared = .379)

Appendix Table 17. Analysis of variance in average acceptance scores (ice cream flavor attribute) of ice creams obtained from 6 different formulas

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
PANALIST	73.911	29	2.549	2.647	.000
TREATMENT	12.711	5	2.542	2.640	.026
Error	139.622	145	.963		

a R Squared = .383 (Adjusted R Squared = .238)

Appendix Table 18. Analysis of variance in average acceptance scores (overall acceptance attribute) of ice creams obtained from 6 different formulas

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
PANALIST	82.200	29	2.834	3.292	.000
TREATMENT	16.133	5	3.227	3.747	.003
Error	124.867	145	.861		

a R Squared = .441 (Adjusted R Squared = .309)

Appendix Table 19. Analysis of variance in properties of ice creams containing different concentrations of crude ginger extracts

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
pH	Between Groups	.000	3	.000	.071	.975
	Within Groups	.002	20	.000		
	Total	.002	23			
Total solids	Between Groups	1.789	3	.596	304.274	.000
	Within Groups	.039	20	.002		
	Total	1.828	23			
Fat	Between Groups	.031	3	.010	.162	.921
	Within Groups	1.293	20	.065		
	Total	1.325	23			
Viscosity	Between Groups	3.401	3	1.134	.168	.917
	Within Groups	135.269	20	6.763		
	Total	138.670	23			
Overrun	Between Groups	111.557	3	37.186	3.101	.050
	Within Groups	239.859	20	11.993		
	Total	351.416	23			
<i>L*</i>	Between Groups	1.912	3	.637	4.326	.017
	Within Groups	2.947	20	.147		
	Total	4.859	23			
<i>a*</i>	Between Groups	4.298	3	1.433	16.278	.000
	Within Groups	1.760	20	.088		
	Total	6.059	23			
<i>b*</i>	Between Groups	53.758	3	17.919	298.314	.000
	Within Groups	1.201	20	.060		
	Total	54.959	23			

Appendix Table 19. Analysis of variance in properties of ice creams containing different concentrations of crude ginger extracts (Cont.)

		Sum of				
		Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Melting rate	Between Groups	.019	3	.006	11.303	.000
	Within Groups	.011	20	.001		
	Total	.031	23			
Hardness	Between Groups	2758.193	3	919.398	1.160	.349
	Within Groups	15847.078	20	792.354		
	Total	18605.271	23			
[6]-gingerol contents	Between Groups	160617.665	3	53539.222	118522.590	.000
	Within Groups	9.034	20	.452		
	Total	160626.700	23			
Total phenolic contents	Between Groups	212141.356	3	70713.785	784.023	.000
	Within Groups	1803.870	20	90.193		
	Total	213945.226	23			
EC ₅₀ , DPPH	Between Groups	3260.752	3	1086.917	379.536	.000
	Within Groups	57.276	20	2.864		
	Total	3318.028	23			
TEAC, ABTS	Between Groups	8.353	3	2.784	891.975	.000
	Within Groups	.062	20	.003		
	Total	8.416	23			
TEAC, FRAP	Between Groups	5.980	3	1.993	541.082	.000
	Within Groups	.074	20	.004		
	Total	6.054	23			

Appendix Table 20. Analysis of variance in average acceptance scores (color attribute) of ice creams containing different concentrations of crude ginger extracts

Source	Type III Sum				
	of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
PANALIST	50.967	29	1.757	9.536	.000
TREATMENT	.467	3	.156	.844	.473
Error	16.033	87	.184		

a R Squared = .762 (Adjusted R Squared = .675)

Appendix Table 21. Analysis of variance in average acceptance scores (appearance attribute) of ice creams containing different concentrations of crude ginger extracts

Source	Type III Sum				
	of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
PANALIST	38.542	29	1.329	3.573	.000
TREATMENT	.892	3	.297	.799	.498
Error	32.358	87	.372		

a R Squared = .549 (Adjusted R Squared = .383)

Appendix Table 22. Analysis of variance in average acceptance scores (hardness attribute) of ice creams containing different concentrations of crude ginger extracts

Source	Type III Sum				
	of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
PANALIST	74.867	29	2.582	5.105	.000
TREATMENT	3.000	3	1.000	1.977	.123
Error	44.000	87	.506		

a R Squared = .639 (Adjusted R Squared = .506)

Appendix Table 23. Analysis of variance in average acceptance scores (smoothness attribute) of ice creams containing different concentrations of crude ginger extracts

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
PANALIST	41.167	29	1.420	8.289	.000
TREATMENT	1.100	3	.367	2.141	.101
Error	14.900	87	.171		

a R Squared = .739 (Adjusted R Squared = .643)

Appendix Table 24. Analysis of variance in average acceptance scores (sweetness attribute) of ice creams containing different concentrations of crude ginger extracts

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
PANALIST	100.800	29	3.476	7.598	.000
TREATMENT	.200	3	.067	.146	.932
Error	39.800	87	.457		

a R Squared = .717 (Adjusted R Squared = .613)

Appendix Table 25. Analysis of variance in average acceptance scores (ice cream flavor attribute) of ice creams containing different concentrations of crude ginger extracts

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
PANALIST	78.842	29	2.719	3.912	.000
TREATMENT	3.292	3	1.097	1.579	.200
Error	60.458	87	.695		

a R Squared = .576 (Adjusted R Squared = .420)

Appendix Table 26. Analysis of variance in average acceptance scores (overall acceptance attribute) of ice creams containing different concentrations of crude ginger extracts

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
PANALIST	47.175	29	1.627	2.612	.000
TREATMENT	5.558	3	1.853	2.974	.036
Error	54.192	87	.623		

a R Squared = .493 (Adjusted R Squared = .307)

Appendix Table 27. Analysis of variance in properties of control ice cream during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days

		Sum of				
		Squares	df	Mean Square	F	Sig.
pH	Between Groups	.014	4	.004	10.990	.000
	Within Groups	.008	25	.000		
	Total	.022	29			
Total solids	Between Groups	.337	4	.084	1.970	.130
	Within Groups	1.070	25	.043		
	Total	1.408	29			
<i>L*</i>	Between Groups	8.698	4	2.174	19.935	.000
	Within Groups	2.727	25	.109		
	Total	11.425	29			
<i>a*</i>	Between Groups	.057	4	.014	2.465	.071
	Within Groups	.144	25	.006		
	Total	.200	29			
<i>b*</i>	Between Groups	2.239	4	.560	3.465	.022
	Within Groups	4.038	25	.162		
	Total	6.277	29			
Hardness	Between Groups	2124.395	4	531.099	1.028	.412
	Within Groups	12914.412	25	516.576		
	Total	15038.807	29			
Melting rate	Between Groups	.190	4	.048	2.677	.055
	Within Groups	.444	25	.018		
	Total	.634	29			

Appendix Table 27. Analysis of variance in properties of control ice cream during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days (Cont.)

		Sum of				
		Squares	df	Mean Square	F	Sig.
EC ₅₀	Between Groups	116.181	4	29.045	6.682	.001
DPPH	Within Groups	108.665	25	4.347		
	Total	224.846	29			
TEAC,	Between Groups	.015	4	.004	39.786	.000
ABTS	Within Groups	.002	25	.000		
	Total	.017	29			
TEAC,	Between Groups	.013	4	.003	4.437	.008
FRAP	Within Groups	.018	25	.001		
	Total	.032	29			

Appendix Table 28. Analysis of variance in properties of ice cream containing 0.065% crude ginger extract during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days

		Sum of				
		Squares	df	Mean Square	F	Sig.
pH	Between Groups	.016	4	.004	13.439	.000
	Within Groups	.007	25	.000		
	Total	.023	29			
Total solids	Between Groups	.281	4	.070	2.293	.088
	Within Groups	.765	25	.031		
	Total	1.046	29			
<i>L*</i>	Between Groups	4.409	4	1.102	16.719	.000
	Within Groups	1.648	25	.066		
	Total	6.057	29			
<i>a*</i>	Between Groups	.902	4	.225	12.905	.000
	Within Groups	.437	25	.017		
	Total	1.338	29			
<i>b*</i>	Between Groups	11.005	4	2.751	14.491	.000
	Within Groups	4.747	25	.190		
	Total	15.752	29			
Hardness	Between Groups	4919.456	4	1229.864	2.609	.060
	Within Groups	11784.943	25	471.398		
	Total	16704.399	29			
Melting rate	Between Groups	.104	4	.026	1.433	.252
	Within Groups	.453	25	.018		
	Total	.557	29			

Appendix Table 28. Analysis of variance in properties of ice cream containing 0.065% crude ginger extract during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days
(Cont.)

		Sum of				
		Squares	df	Mean Square	F	Sig.
[6]-gingerol contents	Between Groups	93.637	4	23.409	2.486	.069
	Within Groups	235.452	25	9.418		
	Total	329.089	29			
Total phenolic contents	Between Groups	485.734	4	121.433	.790	.543
	Within Groups	3844.824	25	153.793		
	Total	4330.558	29			
EC ₅₀ , DPPH	Between Groups	2.766	4	.691	2.257	.091
	Within Groups	7.658	25	.306		
	Total	10.424	29			
TEAC, ABTS	Between Groups	.124	4	.031	61.462	.000
	Within Groups	.013	25	.001		
	Total	.136	29			
TEAC, FRAP	Between Groups	.023	4	.006	4.562	.007
	Within Groups	.032	25	.001		
	Total	.055	29			

Appendix Table 29. Analysis of variance in average acceptance scores (color attribute) of control ice cream during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days

Source	Type III Sum				
	of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
TIME	1.147	4	.287	.646	.632
PANALIST	7.147	14	.510	1.150	.338
Error	24.853	56	.444		

a R Squared = .250 (Adjusted R Squared = .009)

Appendix Table 30. Analysis of variance in average acceptance scores (appearance attribute) of control ice cream during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days

Source	Type III Sum				
	of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
TIME	.613	4	.153	.409	.801
PANALIST	3.547	14	.253	.676	.787
Error	20.987	56	.375		

a R Squared = .165 (Adjusted R Squared = -.103)

Appendix Table 31. Analysis of variance in average acceptance scores (hardness attribute) of control ice cream during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days

Source	Type III Sum				
	of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
TIME	1.147	4	.287	.589	.672
PANALIST	4.747	14	.339	.697	.768
Error	27.253	56	.487		

a R Squared = .178 (Adjusted R Squared = -.086)

Appendix Table 32. Analysis of variance in average acceptance scores (smoothness attribute) of control ice cream during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
TIME	2.213	4	.553	1.084	.373
PANALIST	6.347	14	.453	.888	.575
Error	28.587	56	.510		

a R Squared = .230 (Adjusted R Squared = -.017)

Appendix Table 33. Analysis of variance in average acceptance scores (sweetness attribute) of control ice cream during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
TIME	3.067	4	.767	1.019	.406
PANALIST	5.467	14	.390	.519	.912
Error	42.133	56	.752		

a R Squared = .168 (Adjusted R Squared = -.099)

Appendix Table 34. Analysis of variance in average acceptance scores (ice cream flavor attribute) of control ice cream during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
TIME	.667	4	.167	.240	.915
PANALIST	10.400	14	.743	1.068	.405
Error	38.933	56	.695		

a R Squared = .221 (Adjusted R Squared = -.029)

Appendix Table 35. Analysis of variance in average acceptance scores (overall acceptance attribute) of control ice cream during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
TIME	.080	4	.020	.041	.997
PANALIST	7.147	14	.510	1.039	.431
Error	27.520	56	.491		

a R Squared = .208 (Adjusted R Squared = -.047)

Appendix Table 36. Analysis of variance in average acceptance scores (color attribute) of ice cream containing 0.065% crude ginger extract during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
TIME	1.733	4	.433	.968	.432
PANALIST	11.200	14	.800	1.787	.064
Error	25.067	56	.448		

a R Squared = .340 (Adjusted R Squared = .128)

Appendix Table 37. Analysis of variance in average acceptance scores (appearance attribute) of ice cream containing 0.065% crude ginger extract during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
TIME	1.013	4	.253	.526	.717
PANALIST	10.480	14	.749	1.553	.123
Error	26.987	56	.482		

a R Squared = .299 (Adjusted R Squared = .073)

Appendix Table 38. Analysis of variance in average acceptance scores (hardness attribute) of ice cream containing 0.065% crude ginger extract during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days

Source	Type III Sum				
	of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
TIME	1.387	4	.347	.567	.687
PANALIST	12.720	14	.909	1.487	.146
Error	34.213	56	.611		

a R Squared = .292 (Adjusted R Squared = .064)

Appendix Table 39. Analysis of variance in average acceptance scores (smoothness attribute) of ice cream containing 0.065% crude ginger extract during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days

Source	Type III Sum				
	of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
TIME	.987	4	.247	.259	.903
PANALIST	10.987	14	.785	.823	.642
Error	53.413	56	.954		

a R Squared = .183 (Adjusted R Squared = -.079)

Appendix Table 40. Analysis of variance in average acceptance scores (sweetness attribute) of ice cream containing 0.065% crude ginger extract during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days

Source	Type III Sum				
	of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
TIME	3.333	4	.833	1.563	.197
PANALIST	4.800	14	.343	.643	.817
Error	29.867	56	.533		

a R Squared = .214 (Adjusted R Squared = -.039)

Appendix Table 41. Analysis of variance in average acceptance scores (ice cream flavor attribute) of ice cream containing 0.065% crude ginger extract during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
TIME	2.133	4	.533	.872	.487
PANALIST	6.267	14	.448	.732	.734
Error	34.267	56	.612		

a R Squared = .197 (Adjusted R Squared = -.061)

Appendix Table 42. Analysis of variance in average acceptance scores (overall acceptance attribute) of ice cream containing 0.065% crude ginger extract during storage at -20.0°C for 0, 15, 30, 45 and 60 days

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
TIME	.747	4	.187	.353	.841
PANALIST	6.347	14	.453	.856	.608
Error	29.653	56	.530		

a R Squared = .193 (Adjusted R Squared = -.066)

Appendix Table 43. Analysis of variance in properties of ice creams containing crude ginger extracts (0.000% and 0.065%) and commercial ice creams

		Sum of		Mean		
		Squares	df	Square	F	Sig.
pH	Between Groups	.443	3	.148	362.737	.000
	Within Groups	.008	20	.000		
	Total	.452	23			
Fat	Between Groups	30.974	3	10.325	73.150	.000
	Within Groups	2.823	20	.141		
	Total	33.796	23			
Total solids	Between Groups	56.553	3	18.851	210.854	.000
	Within Groups	1.788	20	.089		
	Total	58.341	23			
Total phenolic contents	Between Groups	273990.885	3	91330.295	2342.509	.000
	Within Groups	779.765	20	38.988		
	Total	274770.650	23			
EC ₅₀ , DPPH	Between Groups	8347.396	3	2782.465	660.601	.000
	Within Groups	84.240	20	4.212		
	Total	8431.637	23			
TEAC, ABTS	Between Groups	5.390	3	1.797	7839.436	.000
	Within Groups	.005	20	.000		
	Total	5.394	23			
TEAC, FRAP	Between Groups	5.198	3	1.733	134.986	.000
	Within Groups	.257	20	.013		
	Total	5.454	23			

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล	นายชัยรัตน์ ฟิ่งเพียร	
รหัสประจำตัวนักศึกษา	4911020071	
วุฒิการศึกษา		
วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (อุตสาหกรรมเกษตร)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2548

ทุนการศึกษา (ที่ได้รับในระหว่างการศึกษา)

ทุนพัฒนาสาขาอุตสาหกรรมเกษตรสู่ความเป็นเลิศ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

- Puengphian, C. and Sirichote, A. 2008. [6]-gingerol content and bioactive properties of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) extracts from supercritical CO₂ extraction. *As. J. Food Ag-Ind.* 1: 29-36.
- Puengphian, C. and Sirichote, A. 2007. [6]-gingerol content and bioactive properties of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) extracts from supercritical CO₂ extraction. In Proceedings of The 9th Agro-Industrial Conference, Food Innovation Asia 2007: "Q" Food for Good Life. BITEC Bangkok, Thailand. 14-15 June 2007. (*Oral presentation*)
- Puengphian, C., Sirichote, A and Hongpattarakere, T. Chemical, antioxidant properties and storage stability of crude extract from ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) extracted with supercritical carbon dioxide. (*In preparation*)