

รายงานฉบับสมบูรณ์จากทุนสนับสนุนการวิจัยงบประมาณแผ่นดิน  
ประจำปีงบประมาณ 2554-2555

การสกัดและสมบัติการต้านออกซิเดชันของสมุนไพร/เครื่องเทศที่เป็น  
องค์ประกอบในเครื่องต้มยำและการประยุกต์ใช้เครื่องต้มยำในการ  
มาริเนทในกุ้งขาวและเก็บรักษาแบบดัดแปลงบรรยากาศ

**Extraction and antioxidation property of herbs/spices as  
ingredients in Tom-Kha paste and application of the paste  
in marinating of white shrimp and storage  
in modified atmosphere**

ดร.สุนิสา ศิริพงษ์วุฒิกร  
ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร  
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ประกอบด้วยการศึกษาคัดเลือกสูตรพื้นฐานของเครื่องต้มชาจากหนังสือตำรับอาหารและสูตรที่ปรากฏอยู่ในอินเทอร์เน็ต เพื่อนำสมุนไพรมะนาวที่เป็นองค์ประกอบในเครื่องต้มชาและเครื่องต้มชาไปศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารต้านออกซิเดชัน ศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาในการให้ความร้อนและพีเอชต่อความคงตัวของสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบ คัดเลือกเครื่องเทศที่แสดงสมบัติการต้านออกซิเดชันสูงและมีความคงตัวสูงภายใต้อุณหภูมิและเวลาในการให้ความร้อนและพีเอชที่ระดับต่างๆ เพื่อปรับปรุงสูตรให้ได้เครื่องต้มชาที่นอกจากแสดงสมบัติการต้านออกซิเดชันสูงแล้วยังเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค รวมทั้งศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเครื่องต้มชาที่เดิมเกลือร้อยละ 8 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) และเครื่องต้มชาที่ไม่เติมเกลือ ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$  และอุณหภูมิห้อง ( $29 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) เป็นเวลา 56 วัน

จากการทดลองพบว่าสูตรพื้นฐานของเครื่องต้มชาที่ผู้ทดสอบชิมให้การยอมรับมากที่สุดคือสูตรที่ประกอบด้วยชา ตะไคร้ พริกขี้หนูและใบมะกรูด ร้อยละ 41.84, 47.42, 8.25 และ 2.51 ตามลำดับ สำหรับสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารต้านออกซิเดชันในเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบในเครื่องต้มชาและเครื่องต้มชาคือการสกัดด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 ที่อัตราส่วนของตัวอย่างต่อตัวทำละลาย 1:10

เมื่อนำสารสกัดหยาบของชา ตะไคร้ พริกขี้หนู ใบมะกรูดและเครื่องต้มชา ซึ่งสกัดด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 มาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70, 80, 90 และ  $100^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 10, 20 และ 30 นาที พบว่าส่งผลให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP (ferric reducing antioxidant power) ของสารสกัดหยาบของชา มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ในขณะที่ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS (2,2-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt) และความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP ของสารสกัดหยาบของตะไคร้ มีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ความร้อนที่อุณหภูมิ 70, 80, 90 และ  $100^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 10, 20 และ 30 นาที ส่งผลให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radicals) และ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP ของสารสกัดหยาบของพริกขี้หนู มีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) นอกจากนี้พบว่าอุณหภูมิและเวลาในการให้ความร้อนส่งผลให้สารสกัดหยาบของใบมะกรูด มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านออกซิเดชันในรูปของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS มีค่าลดลง ในขณะที่ความสามารถในการให้อิเล็กตรอนใน



ระบบ FRAP มีค่าเพิ่มขึ้น และการให้ความร้อนแก่สารสกัดหยาบของเครื่องต้มฆ่า ส่งผลให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS มีแนวโน้มลดลง

จากการทดสอบความคงตัวของสารสกัดหยาบของเครื่องต้มฆ่าและเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบในเครื่องต้มฆ่าด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 ต่อพีเอช พบว่าในสภาวะที่เป็นกรดสูง (พีเอชเท่ากับ 2) ส่งผลให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP ของสารสกัดหยาบของฆ่า มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) แต่มีผลทำให้ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP ของสารสกัดหยาบของตะไคร้มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับพีเอชเริ่มต้นของสารสกัด ในขณะที่พีเอช 2 มีผลทำให้สารสกัดหยาบของพริกชี้หนูมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) แต่มีผลทำให้ความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ส่วนสารสกัดหยาบของใบมะกรูด ผลการทดลองพบว่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) เมื่อพีเอชเป็นกรดหรือด่างสูงๆ (พีเอช 2 และ 9) โดยเมื่อพีเอชของสารสกัดลดลงจากพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 5.3 เป็นพีเอชเท่ากับ 2 มีผลทำให้ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) และเมื่อพีเอชเพิ่มขึ้นเป็น 9 ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ซึ่งสวนทางกับการเพิ่มขึ้นของความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP และพบว่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบของเครื่องต้มฆ่ามีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) เมื่อพีเอชเพิ่มขึ้น

สารสกัดหยาบของฆ่าและพริกชี้หนูแสดงสมบัติการต้านออกซิเดชันสูงและมีความคงตัวภายใต้อุณหภูมิและเวลาในการให้ความร้อนและพีเอชในระดับต่างๆ จึงนำฆ่าและพริกชี้หนูมาพิจารณาในการปรับสูตรของเครื่องต้มฆ่าเพื่อให้มีสมบัติการต้านออกซิเดชันสูงและเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค จากการทดลองพบว่าสูตรที่ได้รับการคัดเลือกคือสูตรที่ประกอบด้วยฆ่า ตะไคร้ พริกชี้หนูและใบมะกรูดเท่ากับร้อยละ 41.43, 47.00, 8.57 และ 3.00 ตามลำดับ ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับสูตรพื้นฐาน

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเครื่องต้มฆ่าที่เติมเกลือร้อยละ 8 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) และเครื่องต้มฆ่าที่ไม่เติมเกลือ ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $4 \pm 2$  °ซ และอุณหภูมิห้อง ( $29 \pm 2$  °ซ) เป็นเวลา 56 วัน พบว่าเครื่องต้มฆ่าเติมเกลือร้อยละ 8 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $4 \pm 2$  °ซ เป็นชุดการทดลองที่มีการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้อยที่สุด โดยประเมินจากการ

เปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์และการยอมรับทางประสาทสัมผัส เนื่องจากการเติมเกลือร้อยละ 8 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $4 \pm 2$  °ซ สามารถควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมดทั้งที่ชอบอากาศและไม่ชอบอากาศได้อย่างมีประสิทธิภาพ ( $8.10 \times 10^2$  และ  $2.30 \times 10^3$  โคโลนีต่อกรัมของเครื่องต้มยำ ตามลำดับ) และตรวจไม่พบ Coliform, *Escherichia coli* และ จุลินทรีย์ก่อโรค ได้แก่ *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus* และ *Bacillus cereus* และมีคะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสในด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่นเครื่องเทศ รสชาติ และความชอบรวมมากกว่า 6.87 ซึ่งมีค่ามากที่สุดเมื่อเทียบกับทุกชุดการทดลอง เมื่อพิจารณาจากการปราศจากการบวมของถุงบรรจุเครื่องต้มยำ เครื่องต้มยำที่เติมเกลือร้อยละ 8 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) และเครื่องต้มยำที่ไม่เติมเกลือเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ( $29 \pm 2$  °ซ) มีอายุการเก็บรักษาเพียง 23 และ 1 วัน ตามลำดับ

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของผลิตภัณฑ์กุ้งขาวที่มารีเนตด้วยเครื่องต้มยำ สูตรของเครื่องต้มยำประกอบด้วยข่า ตะไคร้ พริกขี้หนูและใบมะกรูด ร้อยละ 41.43, 47.00, 8.57 และ 3.00 ตามลำดับ มาหมักกับกุ้งขาวในอัตราส่วน 1:3 บรรจุในถุง Nylon/LLDPE สภาวะการบรรจุต่างๆ ได้แก่ การบรรจุแบบปกติและบรรจุในสภาวะตัดแปลงบรรยากาศโดยมีอัตราส่วนแก๊สผสมดังนี้ แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์: แก๊สออกซิเจน: แก๊สไนโตรเจน เท่ากับ 40: 5: 55 และ 50: 5: 45 เก็บรักษากุ้งขาวมารีเนตด้วยเครื่องต้มยำที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 20 วัน วิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ (ค่าสี ความเป็นกรด-ด่าง วอเตอร์แอคทิวิตี ความชื้น การสูญเสีย น้ำ การสูญเสีย น้ำหนักแห้งให้ความร้อน ลักษณะเนื้อสัมผัส และลักษณะโครงสร้างทางจุลภาพ (SEM)) สมบัติทางเคมี (ปริมาณรวมของค่าที่ระเหยได้ (TVB-N) ปริมาณไตรเมทิลอะมีน (TMA-N) และการเกิดกลิ่นหืนของไขมัน (TBARs)) การเปลี่ยนแปลงทางด้านจุลชีววิทยา (ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (TVC) Coliforms *E. coli* และ *S. aureus*) และการทดสอบทางประสาทสัมผัสของต้มยำกุ้ง

การเปลี่ยนแปลงของผลิตภัณฑ์กุ้งขาวมารีเนตด้วยเครื่องต้มยำในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °ซ เป็นระยะเวลา 20 วัน พบว่า กุ้งที่มารีเนตด้วยเครื่องต้มยำที่บรรจุแบบตัดแปลงบรรยากาศมีอายุการเก็บรักษานานกว่ากุ้งที่มารีเนตด้วยเครื่องต้มยำที่บรรจุแบบปกติและกุ้งขาวที่ไม่มารีเนตด้วยเครื่องต้มยำทุกสภาวะ กุ้งมารีเนตด้วยเครื่องต้มยำและกุ้งขาว (ชุดควบคุม) มีค่าความสว่าง ( $L^*$ ) ไม่แตกต่างกัน ส่วนกุ้งขาว (ชุดควบคุม) มีค่าความเป็นสีแดง ( $a^*$ ) สูงกว่ากุ้งขาวที่มารีเนตด้วยเครื่องต้มยำเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้นและกุ้งขาวที่มารีเนตด้วยเครื่องต้มยำมีค่าความเป็นสีเหลือง ( $b^*$ ) สูงกว่ากุ้งขาว (ชุดควบคุม) ส่วนค่าความเป็นกรด-ด่างของกุ้งที่มารีเนตด้วยเครื่องต้มยำมีแนวโน้มลดลงเล็กน้อยหลังจากวันที่ 12 ของการเก็บรักษา นอกจากนี้พบว่า เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้นกุ้งขาวชุดควบคุมซึ่งไม่มารีเนตด้วยเครื่องต้มยำมี

แนวโน้มของค่า  $a_w$  เพิ่มขึ้น ในขณะที่กึ่งที่มารีเนทด้วยเครื่องต้มฆ่า ค่า  $a_w$  มีแนวโน้มลดลงแต่ยังคงอยู่ในช่วง 0.98-0.99 กึ่งที่ไม่มารีเนทด้วยเครื่องต้มฆ่าและกึ่งที่มารีเนทด้วยเครื่องต้มฆ่ามีค่าปริมาณความชื้นอยู่ในช่วง 80.67-81.78% และ 80.46-82.94% ตามลำดับ อย่างไรก็ตามกึ่งขาว (ชุดควบคุม) มีแนวโน้มการสูญเสียน้ำและการสูญเสียน้ำหนักหลังการให้ความร้อนสูงกว่ากึ่งที่มารีเนทด้วยเครื่องต้มฆ่า นอกจากนี้พบว่าค่าความแน่นเนื้อ (Firmness) ของกึ่งชุดที่มารีเนทด้วยเครื่องต้มฆ่ามีค่าสูงกว่าชุดที่ไม่มารีเนทด้วยเครื่องต้มฆ่า และยังพบว่าเครื่องต้มฆ่า โซเดียมโพลีฟอสเฟต และสภาวะการบรรจุมีผลต่อโครงสร้างทางจุลภาคของกึ่งขาว ส่วนค่า TVB ในกึ่งขาวและกึ่งที่มารีเนทด้วยเครื่องต้มฆ่ามีค่าเพิ่มขึ้น เมื่ออายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น โดยพบว่ากึ่งที่มารีเนทด้วยเครื่องต้มฆ่าและเก็บในสภาวะดัดแปลงบรรยากาศ มีการค่า TVB-N น้อยกว่ากึ่งขาว (ชุดควบคุม) ส่วนค่า TMA-N ของทุกชุดการทดลองมีค่าน้อยมาก ขณะที่ปริมาณ TBARs ในกึ่งที่มารีเนทด้วยเครื่องต้มฆ่าทุกชุดการทดลองสูงกว่ากึ่งขาวที่ไม่มารีเนทด้วยเครื่องต้มฆ่า ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดมีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อเก็บรักษานานขึ้น และตรวจพบ Coliform ในทุกชุดตัวอย่างและทุกสภาวะตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา แต่ตรวจไม่พบการเจริญของ *E. coli* และ *S. aureus* อย่างไรก็ตามกึ่งที่มารีเนทด้วยเครื่องต้มฆ่าและเก็บในสภาวะดัดแปลงบรรยากาศเป็นระยะเวลา 12 วัน เมื่อปรุงเป็นต้มฆ่ากึ่งแล้วเป็นที่ยอมรับของผู้ทดสอบ โดยมีคะแนนในแต่ละคุณลักษณะมากกว่า 6.00 ซึ่งหมายถึงผู้ทดสอบยังคงชอบผลิตภัณฑ์

## ABSTRACT

This research aimed to select the basic formula of Tom-kha paste from food recipes and internet before subjected to study the optimum extraction conditions for determination of antioxidant properties of Tom-kha paste and its ingredients. Then, the effect of temperature and heating time and the pH on antioxidant properties of the ethanolic crude extracts of the paste and its ingredients were monitored. Selected herbs, which had highest in antioxidant properties, and providing high stabilities under various temperatures and heating times and pH were taken to formulate the Tom-kha paste. The formulation obtaining high antioxidant properties and consumer acceptability was selected. Quality changes of Tom-kha with and without added salt during storage at  $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$  and at ambient temperature ( $29 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) for 56 days were investigated.

The results showed that the basic formula of Tom-kha paste containing galangal rhizome, lemon grass, chili and kaffir lime leaves in the ratio of 41.84, 47.42, 8.25 and 2.51%, was more acceptable to panelists than those of the others. The optimum extraction condition for Tom-kha paste and its ingredients was using the 1:10 ratio of sample to 75% ethanol, as the extracted solvent.

The effect of heating at 70, 80, 90 and  $100^{\circ}\text{C}$  for 10, 20 and 30 minutes on the antioxidant stability of 75% ethanolic crude extracts of Tom-kha paste and its ingredient was evaluated. The results showed that significantly increased the total phenolic contents and FRAP values of the crude galangal extract ( $p < 0.05$ ). However, it was found that ABTS and FRAP values of crude lemon grass extracts significantly decreased ( $p < 0.05$ ) as affected by heat treatments. Total phenolic contents, DPPH, ABTS and FRAP values of crude chili extracts significantly decreased ( $p < 0.05$ ) after heating at 70, 80, 90 and  $100^{\circ}\text{C}$  for 10, 20 and 30 minutes. For crude kaffir lime leaf extracts, the total phenolic contents, DPPH and ABTS values decreased but FRAP values increased by heat treatments. For crude Tom-kha paste extracts, the total phenolic contents, DPPH and ABTS values tended to decrease by heat treatments.

The influence of pH on the stability of 75% ethanolic crude extracts of Tom-kha paste and each ingredient of Tom-kha paste were monitored. The results showed that at the pH of 2 the total phenolic contents, ABTS and FRAP values of crude galangal extracts significantly increased ( $p < 0.05$ ) but ABTS and FRAP values of crude lemon grass extracts significantly



decreased ( $p < 0.05$ ) as compared to those of samples at their original buffering pH. At the pH of 2, crude chili extracts had an increase in the DPPH and ABTS values but a decrease in FRAP values was observed. For crude kaffir lime extracts, the total phenolic contents significantly increased ( $p < 0.05$ ) at the pH of 2 and 9. Similar results showed that the DPPH and ABTS values of crude kaffir lime leaf extracts also significantly increased ( $p < 0.05$ ) as the pH of samples decreased from their original buffering pH of 5.30 to the pH of 2.0. When the pH increased to pH of 9, the DPPH values of crude kaffir lime leaf extracts significantly decreased ( $p < 0.05$ ), while the FRAP values significantly increased ( $p < 0.05$ ). The total phenolic contents and antioxidant properties of crude Tom-kha paste extracts tended to decrease as increasing of pH values.

Based on crude galangal rhizomes and chili extracts contained both highest antioxidant properties and great stability under various heating temperatures and times and pH, therefore, both galangal rhizome and chili were selected to formulate the Tom-kha paste to obtain its higher in the antioxidant properties and consumer acceptability. However, it was found that the observed new formula consisted of galangal rhizome, lemon grass, chili and kaffir lime leaves in the ratio of 41.43, 47.00, 8.57 and 3.00%, respectively, similar to previous basic formula of Tom-kha paste.

The quality changes of Tom-kha paste with (8% w/w) and without added salt during storage at ambient temperature ( $29 \pm 2$  °C) and  $4 \pm 2$  °C for 56 days were evaluated. The results showed that the quality changes in Tom-kha with added salt storage at  $4 \pm 2$  °C were less than those of the other treatments. Tom-kha paste with added salt storage at  $4 \pm 2$  °C for 56 days had the mesophile and anaerobe bacteria counts about  $8.10 \times 10^2$  and  $2.30 \times 10^3$  cfu/g of Tom-kha paste, respectively, and did not have any of Coliform and *E. coli* as well as pathogenic bacteria counts including *C. perfringens*, *S. aureus* and *B. cereus*. In addition, the observed acceptable sensory scores including appearance, color, spices odor, taste, and overall liking attributes of the soup made from Tom-kha paste with added salt storage at  $4 \pm 2$  °C for 56 days were greater than the score of 6.87 and more acceptable than other treatments. By consideration of no swelling of packaged products, the shelf life of Tom-kha paste with and without added salt storage at ambient temperature ( $29 \pm 2$  °C) were 23 days and 1 day, respectively.

To investigate the changes of shrimp products marinated with Tom-kha paste. The formula of Tom-kha paste containing galangal rhizome, lemon grass, chili and kaffir lime leaves in the ratio of 41.43, 47.00, 8.57 and 3.00%, respectively was marinated with white shrimp in the ratio of Tom-kha paste and shrimp as 1:3, then packed in Nylon/LLDPE bag with different conditions i.e. normal air and modified atmospheres with mixture of carbon dioxide: oxygen: nitrogen as 40: 5: 55 and 50: 5: 45 and kept at 4°C for 20 days were determined. The changes in physical (color, pH,  $a_w$ , moisture, drip loss, cooking loss, texture and SEM), chemical (TVB-N, TMA-N and TBARs), microbiological (TVC, Coliforms, *E. coli* and *S. aureus*) and sensory evaluation of marinated product were analyzed.

The change of shrimp products marinated with Tom-kha paste during storage at 4°C for 20 days were evaluated. The results showed that marinated shrimp with Tom-kha paste with modified atmosphere packaging had longer shelf life than marinated shrimp with Tom-kha paste with normal seal and un-marinated at all conditions. The brightness ( $L^*$ ) of all treatments were no different. In comparison, the redness ( $a^*$ ) of white shrimp as control was higher than marinated shrimp with Tom-kha paste as storage period increased and the yellowness ( $b^*$ ) of marinated shrimp with Tom-kha paste was higher than white shrimp as control. The pH of marinated shrimp with Tom-kha paste tended to slightly decrease after 12 days of storage period. Furthermore, it was found that when storage period increased,  $a_w$  of un-marinated shrimp with Tom-kha paste (as control) increased while  $a_w$  of marinated shrimp with Tom-kha paste tended to decrease but still in the range 0.98-0.99. The moisture content of un-marinated shrimp with Tom-kha paste (as control) and marinated shrimp with Tom-kha paste were in the range 80.67-81.78% and 80.46-82.94%, respectively. However, white shrimp (as control) tended to have both drip loss and cooking loss higher than marinated shrimp with Tom-kha paste. In addition, it was found that firmness of marinated shrimp with Tom-kha paste was higher than un-marinated shrimp with Tom-kha paste. Moreover, it was found that Tom-kha paste, sodium polyphosphate and packaging condition affected the microstructure of shrimp muscle. The TVB-N value in white shrimp and marinated shrimp with Tom-kha paste increased when storage time increased. These results suggested that marinated shrimp with Tom-kha paste with modified atmosphere packaging pronounced TVB-N value less than white shrimp (as control). The TMA-N values of all treatments were very low. While the TBARs values in marinated shrimp with Tom-kha paste

were higher than that of un-marinated shrimp with Tom-kha paste. Furthermore, it was found that when storage period increased, the total viable count (TVC) increased and coliform was detected in all samples but there were no *E. coli* and *S.aureus* detected. The panelists accepted the Tom-kha soup made from marinated shrimp and kept in modified atmosphere for 12 days with scores of all sensory attributes higher than 6.00.

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสำหรับเงินสนับสนุนการวิจัยและขอขอบคุณคณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สำหรับการอนุเคราะห์เครื่องมือ และสถานที่ในการทำวิจัยครั้งนี้ รวมถึงขอขอบคุณผู้ช่วยวิจัยทุกท่านที่มุ่งมั่นตั้งใจทำงาน และทุ่มเทเวลาให้กับงานวิจัยเป็นอย่างดี

คณะผู้วิจัย

มกราคม 2556



## สารบัญ

	หน้า
สารบัญ.....	(11)
LIST OF TABLES.....	(12)
LIST OF FIGURES.....	(17)
บทที่.....	
1    บทนำ.....	
บทนำต้นเรื่อง.....	1
การตรวจเอกสาร.....	4
วัตถุประสงค์.....	71
2    วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ.....	
วัสดุอุปกรณ์.....	72
วิธีการ.....	79
3    ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง.....	93
4    บทสรุปและข้อเสนอแนะ.....	210
เอกสารอ้างอิง.....	215
ภาคผนวก.....	249

## LIST OF TABLES

Table	Page
1. Exporting values of curry paste of Thailand.....	2
2. Production of active oxygen species.....	10
3. Some dietary sources of flavonoids and phenolic acid.....	25
4. Effect of glycosylation or methylation of flavonols on their antioxidant activity	28
5. The classes of phenolic compounds in plants.....	30
6. Defense systems <i>In Vivo</i> against oxidative damage.....	33
7. Percentage of relative peak areas of volatile compounds in galangal extracts.....	52
8. Chemical assay, reagent and company.....	75
9. Instruments used in the experiment.....	78
10. Selected Tom-kha paste formulations used in this experiment.....	79
11. Formula of Tom-kha paste in antioxidant properties improvement.....	85
12. Treatments of shrimp marinated with/without Tom-kha paste and packaged under various atmospheric conditions during chilled storage at 4°C.....	89
13. pH of fresh spices used in Tom-kha paste.....	93
14. Effect of Tom-kha paste formula(s) on L*, a*, b* values and pH of Tom-kha soup.....	94
15. Effect of Tom-kha paste formula(s) on the consumer preference of Tom-kha soup evaluated by 30 panelists with 9-point hedonic scale.....	95
16. Sensory score of Tom-kha soup added with various salt levels evaluated with 30 panelists by 9-point hedonic scale.....	97
17. Average score of just about right of Tom-kha soup added with various salt levels evaluated with 30 panelists.....	97
18. Effect of extraction conditions on pH and color of crude galangal extracts after 75% of extracts was evaporated.....	99
19. Effect of extraction conditions on the solids content, total phenolic contents and antioxidant properties of crude galangal extracts.....	102

## LIST OF TABLES (CONTINUED)

<b>Table</b>		<b>Page</b>
20.	Bivariate correlation of the total phenolic contents, DPPH values, ABTS values, FRAP values and solids content from all crude galangal extracts.....	105
21.	Effect of extraction conditions on pH and color of crude lemon grass extracts after 75% of extracts was evaporated.....	107
22.	Effect of extraction conditions on the solids content, total phenolic contents and antioxidant properties of crude lemon grass extracts.....	109
23.	Bivariate correlation of the total phenolic contents, DPPH values, ABTS values, FRAP values and solids content from all crude lemon grass extracts.....	111
24.	Effect of extraction condition on pH and color of crude chili extracts after 75% of extracts was evaporated.....	113
25.	Effect of extraction conditions on the solids content, total phenolic contents and antioxidant properties of crude chili extracts.....	115
26.	Bivariate correlation of the total phenolic contents, DPPH values, ABTS values, FRAP values and solids content from all crude chili extracts.....	119
27.	Effect of extraction conditions on pH and color of crude kaffir lime leaf extracts after 75% of extracts was evaporated.....	121
28.	Effect of extraction condition on the solids content, total phenolic contents and antioxidant properties of crude kaffir lime leaf extracts.....	123
29.	Bivariate correlation of the total phenolic contents, DPPH values, ABTS values, FRAP values and solids content from all crude kaffir lime leaf extracts...	125
30.	Effect of extraction conditions on pH and color of crude Tom-kha paste extracts after 75% of extracts was evaporated.....	127
31.	Effect of extraction conditions on the solids content, total phenolic contents and antioxidant properties of crude Tom-kha paste extracts.....	129
32.	Bivariate correlation of the total phenolic contents, DPPH values, ABTS values, FRAP values and solids content from all crude Tom-kha paste extracts.....	131

## LIST OF TABLES (CONTINUED)

<b>Table</b>	<b>Page</b>
33. Effect of pH on the total phenolic contents and antioxidant properties of crude galangal extracts.....	145
34. Effect of pH on the total phenolic contents and antioxidant properties of crude lemon grass extracts.....	146
35. Effect of pH on the total phenolic contents and antioxidant properties of crude chili extracts.....	147
36. Effect of pH on the total phenolic contents and antioxidant properties of crude kaffir lime leaves extracts.....	148
37. Effect of pH on the total phenolic contents and antioxidant properties of crude Tom-kha paste extracts.....	149
38. Sensory score of shrimp Tom-kha soup prepared from difference Tom-kha paste formula evaluated with 30 panelist by 9-point hedonic scale.....	151
39. The total phenolic contents and antioxidant properties of various Tom-kha paste formulas.....	153
40. The predictive regression models and goodness-of-fit for sensory score of shrimp Tom-kha soup, total phenolic contents and antioxidant properties of Tom-kha paste with different galangal and chili contents.....	155
41. Physical, chemical, antioxidant properties and microbiological quality of Tom-kha paste.....	161
42. Bivariate correlation of the total phenolic contents, DPPH values, ABTS values and FRAP values from all Tom-kha paste crude extracts during storage.....	171
43. Mesophile, anaerobe, psychrophile, lactic acid bacteria, yeast and mold of Tom-kha paste with and without added salt during storage at $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$ and ambient temperature ( $29 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ).....	173
44. Coliform, <i>E.coli</i> , <i>C.perfringens</i> , <i>S. aureus</i> and <i>B. cereus</i> in Tom-kha paste with and without added salt during storage at $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$ and ambient temperature ( $29 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ).....	175



## LIST OF TABLES (CONTINUED)

Table		Page
45.	Changes in sensory score of Tom-kha soup prepared from Tom-kha paste kept at various storage times evaluated by 30 panelists with 9-point hedonic scale...	177
46.	Yield of <i>Litopenaeus vannamei</i> shrimp.....	179
47.	Total viable count, Coliform, <i>Escherichia coli</i> and <i>Staphylococcus aureus</i> in shrimp marinated without and with Tom-kha paste stored at 4°C for 20 days....	205
48.	Marination effect on sensory values of shrimp marinated without and with Tom-kha paste stored at 4°C for 12 days.....	208

## LIST OF APPENDIX TABLES

<b>Table</b>		<b>Page</b>
1.	Standard of microorganism content of raw food.....	288
2.	Effect of temperatures and heating times on the total phenolic contents and antioxidant properties of crude galangal extracts.....	291
3.	Effect of temperatures and heating times on the total phenolic contents and antioxidant properties of crude lemon grass extracts.....	292
4.	Effect of temperatures and heating times on the total phenolic contents and antioxidant properties of crude chili extracts.....	293
5.	Effect of temperatures and heating times on the total phenolic contents and antioxidant properties of crude kaffir lime leaves extracts.....	294
6.	Effect of temperatures and heating times on the total phenolic contents and antioxidant properties of crude Tom-kha paste extracts.....	295
7.	Predicted and actual values of sensory testing of shrimp Tom-kha soup evaluated by 30 panelists with 9 point-hedonic scale.....	296
8.	Predicted and actual values of the total phenolic contents and antioxidant properties of crude Tom-kha paste extracts.....	297

## LIST OF FIGURES

Figure	Page
1. Generalized scheme for auto-oxidation of lipids.....	6
2. Pathway of lipoxygenase-catalysed oxidation.....	9
3. Simplified nonstoichiometric scheme of oxidative and antioxidative system in living cells.....	11
4. Simplified schematic illustration of possible mechanism(s) of carotenoids and their oxidative metabolites on their beneficial and detrimental effects to human health.....	14
5. Various forms of ascorbic acid (Vitamin C) and its reaction with radicals ( $R^\bullet$ )...	17
6. Chemical structures of tocopherols and tocotrienols.....	18
7. Mechanism of $\alpha$ -tocopherol action.....	18
8. Interplay between vitamin C and vitamin E.....	19
9. Structure of carotenoids.....	20
10. Radical trapping mechanism of carotenoids.....	21
11. Structure of chlorophyll derivatives.....	22
12. The shikimic acid pathway.....	24
13. Production of phenylpropanoid, flavonoid, tannin, and other phenolics from phenylalanine.....	25
14. Quercetin binding site to metal chelating.....	26
15. Generic structures of the major flavonoids.....	27
16. Antioxidant activity structure relationship of flavonoids.....	28
17. Structures of phenolic compounds.....	31
18. Five different molecular forms ( $RuH_4$ , $RuH_3^-$ , $RuH_2^{2-}$ , $RuH^{3-}$ , and $Ru^{4-}$ ) of rutin in aqueous solution.....	44
19. Mechanism for the reaction of catechols with peroxy radicals.....	45
20. Mechanism of mass transfer .....	50
21. <i>Litopenaeus vannamei</i> shrimp size 60-70 shrimp / kg.....	56

## LIST OF FIGURES (CONTINUED)

<b>Figure</b>	<b>Page</b>
22. Flow diagrams of shrimp Tom-kha soup preparation.....	80
23. Flow diagrams of shrimp Tom-kha soup made from shrimp marinated with Tom-kha paste.....	91
24. Flow diagrams of shrimp Tom-kha soup made shrimp without marinated Tom- kha paste.....	92
25. Appearance of crude galangal extracts after 75% of extracts was evaporated.....	100
26. Appearance of crude lemon grass extracts after 75% of extracts was evaporated..	108
27. Appearance of crude chili extracts after 75% of extracts was evaporated .....	114
28. Appearance of crude kaffir lime leaf extracts after 75% of extracts was evaporated.....	122
29. Appearance of crude Tom-kha paste extracts after 75% of extracts was evaporated.....	128
30. Effect of temperatures and heating times on the total phenolic contents, DPPH radical scavenging, ABTS radical cation decolorization and FRAP of crude galangal extracts.....	134
31. Effect of temperatures and heating times on the total phenolic contents, DPPH radical scavenging, ABTS radical cation decolorization and FRAP of crude lemon grass extracts.....	136
32. Effect of temperatures and heating times on the total phenolic contents, DPPH radical scavenging, ABTS radical cation decolorization and FRAP of crude chili extracts.....	139
33. Effect of temperatures and heating times on the total phenolic contents, DPPH radical scavenging, ABTS radical cation decolorization and FRAP of crude kaffir lime leaf extracts.....	141
34. Effect of temperatures and heating times on the total phenolic contents, DPPH radical scavenging, ABTS radical cation decolorization and FRAP of crude Tom-kha paste extracts.....	143



## LIST OF FIGURES (CONTINUED)

Figure	Page
35. Contour plot of predicted appearance scores of shrimp Tom-kha soup with different galangal and chili contents.....	156
36. Contour plot of predicted taste scores of shrimp Tom-kha soup with different galangal and chili contents.....	157
37. Contour plot of predicted overall scores of shrimp Tom-kha soup with different galangal and chili contents.....	157
38. Contour plot of predicted total phenolic contents of crude Tom-kha paste extracts with different galangal and chili contents.....	158
39. Contour plot of predicted DPPH radical scavenging of crude Tom-kha paste extracts with different galangal and chili contents.....	158
40. Contour plot of predicted ABTS radical cation decolorization of crude Tom-kha paste extracts with different galangal and chili contents.....	159
41. Contour plot of predicted FRAP of crude Tom-kha paste extracts with different galangal and chili contents.....	159
42. Changes in L* values of Tom-kha paste with and without added salt during storage at $4 \pm 2$ °C and ambient temperature ( $29 \pm 2$ °C).....	163
43. Changes in a* values of Tom-kha paste with and without added salt during storage at $4 \pm 2$ °C and ambient temperature ( $29 \pm 2$ °C).....	164
44. Changes in b* values of Tom-kha paste with and without added salt during storage at $4 \pm 2$ °C and ambient temperature ( $29 \pm 2$ °C).....	164
45. Changes in Hue angle values of Tom-kha paste with and without added salt during storage at $4 \pm 2$ °C and ambient temperature ( $29 \pm 2$ °C).....	165
46. Changes in pH values of Tom-kha paste with and without added salt during storage at $4 \pm 2$ °C and ambient temperature ( $29 \pm 2$ °C).....	166
47. Changes in the total phenolic contents of Tom-kha paste with and without added salt during storage at $4 \pm 2$ °C and ambient temperature ( $29 \pm 2$ °C).....	167
48. Changes in the DPPH radical scavenging of Tom-kha paste with and without added salt during storage at $4 \pm 2$ °C and ambient temperature ( $29 \pm 2$ °C).....	168

## LIST OF FIGURES (CONTINUED)

Figure	Page
49. Changes in the ABTS radical cation decolorization of Tom-kha paste with and without added salt during storage at $4 \pm 2^\circ\text{C}$ and ambient temperature ( $29 \pm 2^\circ\text{C}$ ).....	169
50. Changes in the FRAP of Tom-kha paste with and without added salt during storage at $4 \pm 2^\circ\text{C}$ and ambient temperature ( $29 \pm 2^\circ\text{C}$ ).....	170
51. <i>Litopenaeus vannamei</i> shrimp before immersing in a solution of sodium polyphosphate (C) and after immersing in a solution of sodium polyphosphate (Phos).....	180
52. Shrimp marinated without and with Tom-kha paste stored at $4^\circ\text{C}$ for 20 days.....	181
53. Changes in L* values a* values and b* values of shrimp marinated without and with Tom-kha paste stored at $4^\circ\text{C}$ for 20 days.....	182
54. Marination effect on pH of shrimp marinated without and with Tom-kha paste stored at $4^\circ\text{C}$ for 20 days.....	184
55. Marination effect on water activity ( $a_w$ ) of shrimp marinated without and with Tom-kha paste stored at $4^\circ\text{C}$ for 20 days.....	185
56. Marination effect on moisture content (%) of shrimp marinated without and with Tom-kha paste stored at $4^\circ\text{C}$ for 20 days.....	186
57. Marination effect on drip losses (%) of shrimp marinated without and with Tom-kha paste stored at $4^\circ\text{C}$ for 20 days.....	187
58. Marination effect on cooking losses (%) of shrimp marinated without and with Tom-kha paste stored at $4^\circ\text{C}$ for 20 days.....	188
59. Marination effect on texture (Firmness) of shrimp marinated without and with Tom-kha paste stored at $4^\circ\text{C}$ for 20 days.....	189
60. SEM micrographs of transverse orientation of shrimp without marinated Tom-kha paste (control) at 0 day.....	191
61. SEM micrographs of transverse orientation of shrimp without marinated Tom-kha paste at 4 days.....	191

## LIST OF FIGURES (CONTINUED)

<b>Figure</b>	<b>Page</b>
62. SEM micrographs of transverse orientation of shrimp without marinated Tom-kha paste at 8 days.....	192
63. SEM micrographs of transverse orientation of shrimp without marinated Tom-kha paste at 12 days.....	193
64. SEM micrographs of transverse orientation of shrimp marinated with Tom-kha paste at 4 days.....	194
65. SEM micrographs of transverse orientation of shrimp marinated with Tom-kha paste at 8 days.....	195
66. SEM micrographs of transverse orientation of shrimp marinated with Tom-kha paste at 12 days.....	196
67. SEM micrographs of transverse orientation of shrimp marinated with Tom-kha paste at 16 days.....	197
68. SEM micrographs of transverse orientation of shrimp marinated with Tom-kha paste at 16 days.....	198
69. Marination effect on TVB-N value of shrimp marinated without and with Tom-kha paste stored at 4°C for 20 days.....	200
70. Marination effect on TMA-N value of shrimp marinated without and with Tom-kha paste stored at 4°C for 20 days.....	201
71. Marination effect on TBARS value of shrimp marinated without and with Tom-kha paste stored at 4°C for 20 days.....	202

## LIST OF APPENDIX FIGURES

Figure		Page
1.	Color diagrams.....	251
2.	Standard phenolic content of gallic acid using Folin-Ciocalteau colorimetric method.....	261
3.	Reaction between DPPH <sup>•</sup> and antioxidant to form DPPH.....	264
4.	Standard antioxidants of trolox using DPPH radical scavenging method.....	266
5.	ABTS radical cation scavenging.....	268
6.	Standard antioxidants of trolox using ABTS radical cation scavenging method	271
7.	Formation of (Fe <sup>2+</sup> -TPTZ) complex from (Fe <sup>3+</sup> -TPTZ) complex by antioxidant	272
8.	Standard antioxidants of Trolox using Ferric reducing antioxidant power method	275

# บทที่ 1

## บทนำ

### บทนำต้นเรื่อง

อาหารไทยเป็นอาหารที่ประกอบด้วยเครื่องเทศ/สมุนไพรหลายชนิด ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญที่บ่งบอกถึงเอกลักษณ์ของอาหารไทย ในปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์ด้านโภชนาการมีความตื่นตัวและให้ความสนใจของคุณประโยชน์ของอาหารประจำชาติต่างๆ โดยอาหารไทยเองก็ได้รับความสนใจว่าเป็นอาหารที่มีประโยชน์ และอาจมีบทบาทช่วยป้องกันและชะลอการเกิดโรคต่างๆ เนื่องจากองค์ประกอบของอาหารไทยมีพืชผักสมุนไพรรวมทั้งเครื่องเทศเป็นองค์ประกอบที่สำคัญ โดยเฉพาะอย่างยิ่งมีสารที่ไม่ใช่สารอาหาร (non-nutrient substances) ซึ่งเป็นสารประกอบทางเคมีที่พืชสร้างขึ้น มีคุณสมบัติเฉพาะตัวและมีความหลากหลาย ได้แก่ อัลคาลอยด์ (alkaloids) น้ำมันหอมระเหย (essential oils) ไกลโคไซด์ (glycosides) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) เป็นต้น สารประกอบเหล่านี้ เรียกว่าสารสังเคราะห์จากพืชหรือสารพฤษเคมี (phytochemicals) ปัจจุบันพบว่ามียาบทบาทในการป้องกันและรักษาโรคได้ (เกียรติคุณ สุทธิจิตต์ และไมตรี สุทธิจิตต์, 2548) โดยเฉพาะโรคหัวใจและหลอดเลือด ความดันโลหิตสูง เบาหวาน และมะเร็งบางชนิด นอกจากนี้พบว่าสมุนไพรและเครื่องเทศมีวิตามินเอ อี และซี ซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติในการต้านออกซิเดชัน

เครื่องแกงเป็นส่วนหนึ่งที่สำคัญในการปรุงอาหาร โดยเครื่องแกงแต่ละชนิดมีเอกลักษณ์เฉพาะตัว ทั้งสี กลิ่นและรสชาติ ส่งผลให้ปัจจุบันมีการพัฒนาเครื่องแกงให้มีความหลากหลายทั้งสูตรและรูปลักษณะมากขึ้น อีกทั้งมีการผลิตเครื่องแกงสำเร็จรูปเพื่อตอบสนองความต้องการของผู้บริโภคที่ต้องการความสะดวกในการใช้ ง่ายในการปรุงมากขึ้น ประกอบกับกระแสความนิยมการบริโภคอาหารเพื่อสุขภาพของคนทั่วโลก และนโยบายส่งเสริมครัวไทยสู่ครัวโลกของรัฐบาลที่ผ่านมา เป็นแรงผลักดันสำคัญที่ทำให้แนวโน้มการค้าเครื่องแกงของไทยมีทิศทางการขยายตัวเพิ่มขึ้น สอดรับกับจำนวนร้านอาหารไทยในต่างแดนที่เกิดขึ้นทั่วทุกมุมโลก จากจำนวนร้านอาหารประมาณ 6,500 ร้านในปี 2545 เพิ่มขึ้นกว่า 10,000 ร้านในปี 2550 ซึ่งกระจายอยู่ในหลายประเทศ ได้แก่ สหรัฐอเมริกา (ร้อยละ 50) ยุโรป (ร้อยละ 20) ออสเตรเลียและนิวซีแลนด์ (ร้อยละ 15) ญี่ปุ่น (ร้อยละ 5) และที่เหลืออีกประมาณร้อยละ 10 กระจายอยู่ในทวีปเอเชีย ตลาดอาหารไทยในต่างประเทศได้รับความนิยมเป็นอย่างมาก (กองสุขาภิบาลอาหาร สำนักอนามัย, 2552) จากตัวเลขการส่งออก (Table 1) พบว่าเครื่องแกงสำเร็จรูปของไทยในช่วงปี 2548 เติบโตจากปี 2547 มากถึงร้อยละ 29.27 นอกจากนี้พบว่า

ความนิยมบริโภคอาหารไทยส่งผลให้เครื่องแกงไทยมีการขยายตัวเพิ่มมากขึ้นจากปี 2551 มูลค่าการส่งออก 1,089.49 ล้านบาท เพิ่มขึ้นจากปี 2550 ร้อยละ 23.28 เครื่องแกงสำเร็จรูปที่เป็นที่นิยมส่วนใหญ่จะบรรจุแบบซอง เพื่อความสะดวกในการปรุงและเหมาะสมต่อการบริโภคหนึ่งครั้ง ซึ่งไม่เฉพาะการผลิตเพื่อการส่งออกเท่านั้น เครื่องแกงแบบปรุงสำเร็จยังสะดวกเหมาะสมสำหรับครอบครัวยุคใหม่ที่มีเวลาประกอบอาหารน้อยแต่ยังได้รสชาติแบบดั้งเดิม (ศูนย์วิจัยเพื่ออุตสาหกรรมอาหาร, 2552)

Table 1. Exporting values of curry paste of Thailand

Country	Values (million baht)				
	2544	2545	2546	2547	2548
U.S.A.	126.00	133.12	144.19	162.24	213.04
Australia	103.12	114.61	131.55	128.79	164.81
Japan	58.57	70.02	69.40	76.56	85.35
United Kingdom	74.31	77.75	77.49	68.89	86.92
Germany, Federal Republic	21.86	25.35	31.10	63.13	78.07
Netherlands (Holland)	21.56	25.71	29.23	40.46	72.70
Canada	21.60	26.04	23.38	33.20	37.73
France	12.36	16.66	19.67	24.97	27.91
Sweden	9.73	14.58	16.17	24.10	41.83
Switzerland	17.91	15.45	14.44	16.60	13.54
Other	86.91	90.57	97.15	110.04	275.04
Total	553.93	609.85	653.76	748.97	968.18

ที่มา: ฐานข้อมูลสถาบันอาหารและกรมศุลกากร (อ้างโดยธีวินท์ นฤนาท, 2548)

ต้มข่าเป็นอาหารที่ได้รับความนิยมทั้งชาวไทยและชาวต่างชาติ โดยเป็นอาหารที่ได้รับความนิยมเป็นอันดับ 6 (สมาคมภัตตาคารไทย, 2550) เมื่อพิจารณาถึงส่วนประกอบของต้มข่า ได้แก่ ข่า ตะไคร้ พริกขี้หนู และใบมะกรูด พบว่าเครื่องเทศและสมุนไพรเหล่านี้มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และต้านออกซิเดชัน นอกจากนี้มีการศึกษาพบว่าพืชสมุนไพรดังกล่าวมีคุณสมบัติในการรักษาโรคได้ เช่น ชาวจีนใช้ข่าเป็นยาเจริญอาหาร ชาวไทยใช้ข่าเป็นยาขับลม ยาบรรเทาอาการท้องอืดท้องเฟ้อ ด้านยีสต์ราและอาการคัน (Matsuda

*et al.*, 2003a) ซึ่งจากรายงานระบุว่าในข่ามีสาร 1'S-1'-acetoxychavicol acetate ที่มีฤทธิ์ต้านมะเร็งยับยั้งการอักเสบ ยับยั้งยีสต์รา ยับยั้งแผลในกระเพาะอาหาร (Matsuda *et al.*, 2003a) ส่วนตะไคร้ มีฤทธิ์ในการลดการจุกเสียดแน่นท้อง ฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย ยีสต์และรา บรรเทาอาการปวดในหนูถีบจักรที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดความเจ็บปวดด้วยความร้อน (Viana *et al.*, 2000)

แต่อย่างไรก็ตาม สารออกฤทธิ์ด้านออกซิเดชันจากเครื่องเทศสามารถสูญเสียหรือเกิดการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากกระบวนการแปรรูปต่างๆ ได้แก่ การสเตอไรซ์ (sterilization) การพาสเจอร์ไรซ์ (pasteurization) กระบวนการกำจัดน้ำออก (dehydration) รวมถึงในระหว่างการเก็บรักษาและการจัดการของผู้บริโภคและการปรุงเป็นอาหาร (Nicoli *et al.*, 1997) และการเปลี่ยนแปลงพีเอชในระหว่างการประกอบอาหาร (Gazzani *et al.*, 1998) ดังนั้น การศึกษาสมบัติการต้านออกซิเดชันและปัจจัยบางประการที่มีผลต่อสมบัติการต้านออกซิเดชันของเครื่องต้มยำจึงเป็นสิ่งจำเป็นยิ่งเพื่อเป็นข้อมูลประโยชน์ของสารพฤษเคมีที่จะได้รับจากต้มยำและเพื่อให้ต้มยำเป็นอาหารประจำชาติที่ได้รับความนิยมต่อไป

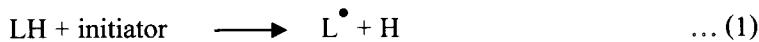
## การตรวจเอกสาร

### 1. การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน

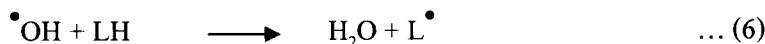
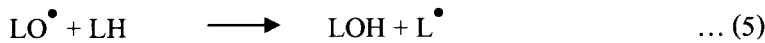
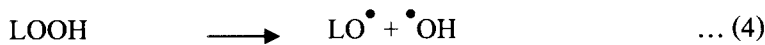
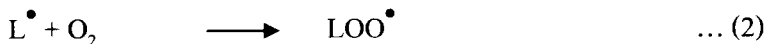
การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันสามารถพบได้ในอาหารหรือสารที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบ อัตราเร็วของปฏิกิริยาแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดและองค์ประกอบของไขมัน และสภาพการเก็บรักษา

ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน เป็นปฏิกิริยาที่มีผลต่อคุณค่าทางโภชนาการ ความปลอดภัย สี กลิ่นรส และลักษณะเนื้อสัมผัสของอาหาร (Shahidi *et al.*, 1992) โดยการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันอาจเกิดขึ้นเอง เรียกว่า ปฏิกิริยาออโตออกซิเดชัน (auto-oxidation) ซึ่งเป็นจุดเริ่มต้นของการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันต่อไป กลไกการเกิดปฏิกิริยาออโตออกซิเดชันมี 3 ขั้นตอน (Figure 1) (Jadhav *et al.*, 1995) คือ

**1.1 ขั้นตอนการเหนี่ยวนำ (initiation)** เป็นระยะเริ่มต้นของปฏิกิริยา โดยที่กรดไขมันแตกตัวเป็นอนุมูลอิสระ ซึ่งมีแสง อุณหภูมิ หรือโลหะเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ดังสมการที่ 1



**1.2 ขั้นตอนการเพิ่มจำนวน (propagation)** เป็นระยะการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ต่อเนื่องของอนุมูลอิสระที่ได้จากขั้นตอนการเหนี่ยวนำ ทำปฏิกิริยากับออกซิเจนเกิดเป็นอนุมูลเพอร์ออกซี (peroxy radical) ซึ่งสามารถดึงไฮโดรเจนจากกรดไขมันเกิดเป็นไฮโดรเพอร์ออกไซด์ (hydroperoxide) และไฮโดรเพอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้น สามารถแตกตัวเป็นอนุมูลอิสระได้อีก ถ้ามีตัวเร่งปฏิกิริยา เช่น ความร้อนและแสง อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นสามารถทำปฏิกิริยาต่อกับกรดไขมันเกิดเป็นอนุมูลอิสระได้อีก ซึ่งจะเกิดเป็นลูกโซ่ปฏิกิริยาต่อเนื่องไปเรื่อยๆ ดังสมการที่ 2-6



**1.3 ขั้นตอนสิ้นสุด (termination)** เป็นระยะที่เกิดผลิตภัณฑ์ที่ไม่เป็นอนุมูลอิสระ โดยอนุมูลอิสระทั้งหมดที่เกิดขึ้นรวมทั้งอนุมูลเพอร์ออกซี จะรวมตัวกันแล้วเกิดเป็นสารประกอบที่คงตัว ไม่เหนี่ยวนำปฏิกิริยาต่อไป ดังสมการที่ 7-9





เมื่อถึงระยะสิ้นสุดจะมีสารประกอบไฮโดรเปอร์ออกไซด์สะสมในระบบจำนวนมาก โดยปกติไฮโดรเปอร์ออกไซด์เป็นสารที่ไม่เสถียร สามารถสลายตัวทำให้ได้สารประกอบที่มีจำนวนคาร์บอนน้อยลง เช่น คีโตน อัลดีไฮด์ แอลกอฮอล์ สารเหล่านี้สามารถระเหยและทำให้ผลิตภัณฑ์ที่มีไขมันเกิดกลิ่นหืน

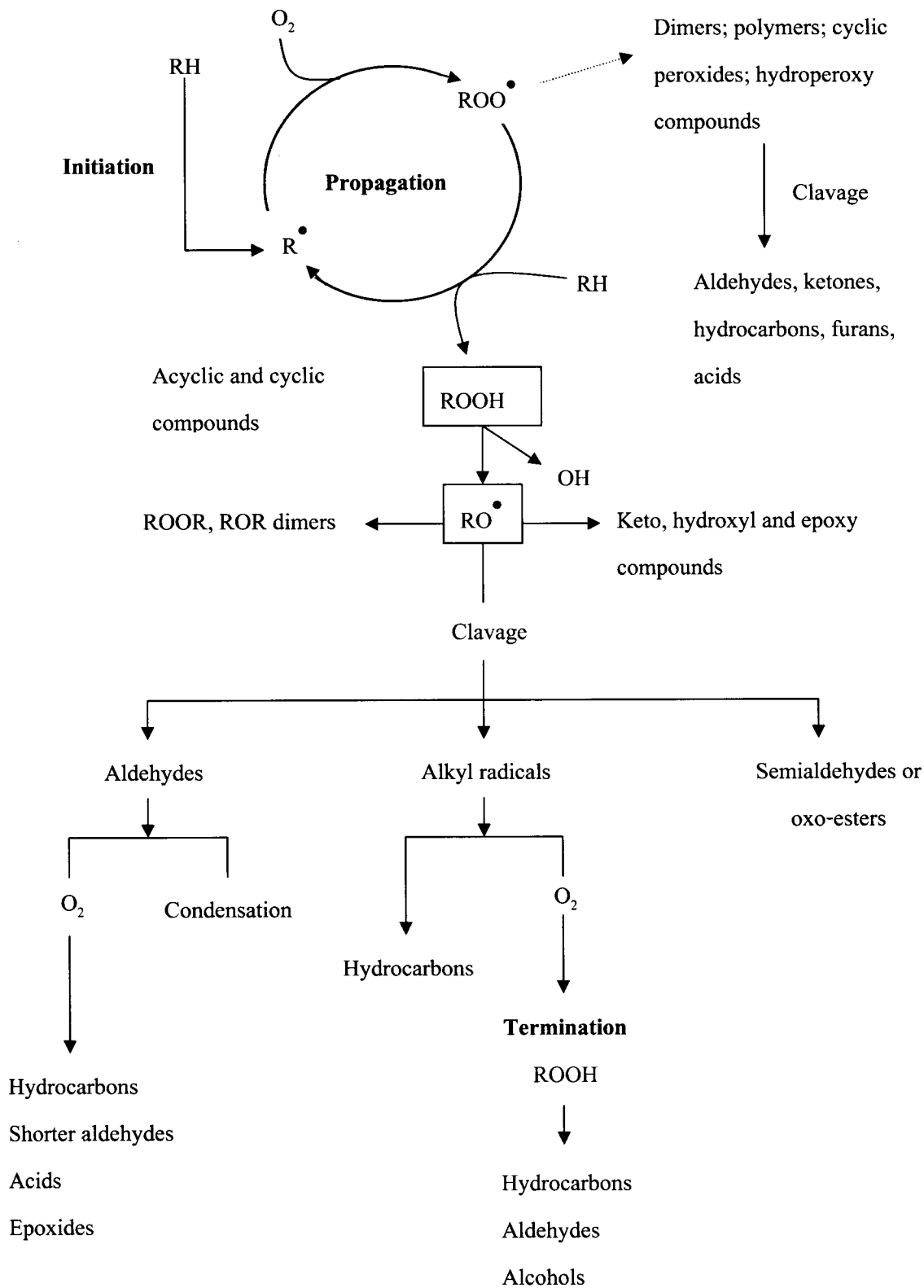


Figure 1. Generalized scheme for auto-oxidation of lipids

ที่มา: ดัดแปลงจาก Nawar (1996)

## 2. ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน

**2.1 องค์ประกอบของกรดไขมัน** ชนิดและปริมาณกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัว ถ้าระดับความไม่อิ่มตัวของกรดไขมันเพิ่มขึ้น อัตราการเกิดปฏิกิริยาจะเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากการเกิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์จากกรดไขมันที่มีพันธะคู่ตั้งแต่ 2 พันธะขึ้นไป ต้องการพลังงานกระตุ้นต่ำ ส่งผลให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเร็วขึ้น โดยทั่วไปพันธะคู่แบบคอนจูเกต (การเกิดพันธะเดี่ยวสลับกับพันธะคู่) สามารถเกิดปฏิกิริยาได้ดีกว่าพันธะคู่ชนิดอื่น และกรดไขมันที่อยู่ในรูปอิสระจะออกออกซิไดส์ได้ง่ายกว่าไขมันที่อยู่ในรูปเอสเทอร์ (Nawar, 1996)

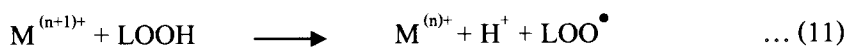
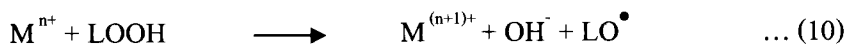
**2.2 ออกซิเจน** เป็นองค์ประกอบที่สำคัญต่อปฏิกิริยาออกซิเดชัน สามารถทำปฏิกิริยากับพันธะคู่ของกรดไขมันไม่อิ่มตัว และในสภาวะที่มีออกซิเจนและมีแสง เหล็กที่มีในฮีม (heme iron) และคลอโรฟิลล์ (chlorophylls) สามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้รวดเร็วยิ่งขึ้น (Nakatami and Ikeda, 1984)

**2.3 ความร้อน** มีบทบาทสำคัญในการเหนี่ยวนำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยปฏิกิริยาออกซิเดชันจะเกิดขึ้นได้เร็วที่อุณหภูมิสูง (Nawar, 1996) ดังนั้นการเก็บอาหารในที่ที่มีอุณหภูมิต่ำสามารถลดอัตราการเกิดปฏิกิริยาได้ (Jadhav *et al.*, 1995)

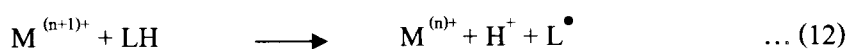
**2.4 แสงสว่าง** ปฏิกิริยาออกซิเดชันเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อระบบสัมผัสกับแสง (Nawar, 1996)

**2.5 โลหะ** โลหะทรานซิชันที่มีวาเลนซ์ 2-3 และมีศักยภาพในการเป็นทั้งตัวรับหรือให้อิเล็กตรอน เช่น โคบอลต์ (Co) เหล็ก ( $Fe^{2+}$  หรือ  $Fe^{3+}$ ) ทองแดง ( $Cu^+$  หรือ  $Cu^{2+}$ ) แมงกานีส (Mn) และนิกเกิล (Ni) เป็นต้น เป็นสารที่มีคุณสมบัติเป็นโปรออกซิแดนซ์ โดยอัตราการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันจะเพิ่มสูงขึ้น แม้มีเหล็กหรือทองแดงเพียง 0.1 ส่วนในล้านส่วน กลไกการทำงานของโลหะมีหลายแบบ ดังสมการที่ 10-13

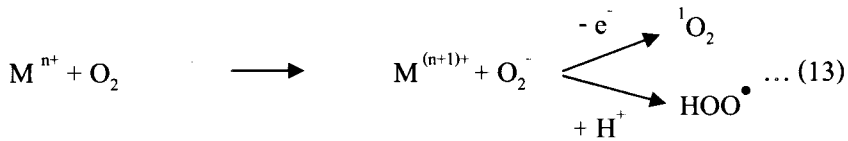
- เร่งการแตกตัวของไฮโดรเปอร์ออกไซด์



- ทำปฏิกิริยากับสารตั้งต้น



- กระตุ้น โมเลกุลของออกซิเจนให้เกิดเป็นซิงเกิลทออกซิเจน (singlet oxygen) และอนุมูลเพอร์ออกซิ



## 2.6 ปัจจัยอื่นๆ ได้แก่

**2.6.1 ความชื้นหรือค่าวอเตอร์แอคทิวิตี ( $a_w$ )** มีผลต่ออัตราการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยในอาหารแห้งที่มีค่าวอเตอร์แอคทิวิตีต่ำ ( $a_w < 0.1$ ) ปฏิกิริยาออกซิเดชันเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว แต่เมื่อค่าวอเตอร์แอคทิวิตีเพิ่มขึ้นเป็น 0.3 สามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันและอัตราการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันต่ำ เนื่องจากที่วอเตอร์แอคทิวิตีเท่ากับ 0.3 น้ำในอาหารอยู่ในรูปของโมโนเลเยอร์ (monolayer) ทำให้กิจกรรมการเร่งปฏิกิริยาของโลหะลดลง เนื่องจากการเกิดไฮเดรชัน (hydration) ของโลหะ (O'Connor and O'Brien, 2006) น้ำจับกับอนุมูลอิสระ (quenching free radicals) และ/หรือป้องกันการสัมผัสของออกซิเจนกับไขมัน อย่างไรก็ตาม เมื่อค่าวอเตอร์แอคทิวิตีสูงขึ้น ( $a_w = 0.55-0.85$ ) อัตราการเกิดออกซิเดชันเพิ่มขึ้น เนื่องจากเกิดการเคลื่อนที่ของตัวเร่งปฏิกิริยาและออกซิเจนได้ง่ายขึ้น (Nawar, 1996)

**2.6.2 ตัวเร่งชีวภาพ** จัดเป็นสารเร่งปฏิกิริยาที่มีอยู่ตามธรรมชาติในอาหาร ได้แก่ เอนไซม์ไลพอกซีจีเนส (lipoxygenase, LOX) ทำหน้าที่เร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง (polyunsaturated fatty acid) เนื่องจากภายในโมเลกุลของเอนไซม์ชนิดนี้ประกอบด้วยเหล็ก 1 อะตอมที่อยู่ในรูปของเฟอร์รัสไอออน ( $Fe^{2+}$ ) เป็นส่วนประกอบอยู่ ซึ่งถูกออกซิไดส์ให้อยู่ในรูปของเฟอร์ริกไอออน ( $Fe^{3+}$ ) ได้ โดยไฮโดรเพอร์ออกไซด์ของกรดไขมัน (fatty acid hydroperoxides) หรือไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ เกิดเป็น  $LOX-Fe^{3+}$  เอนไซม์ไลพอกซีจีเนสเข้าทำปฏิกิริยากับสารตั้งต้นที่เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัว โดยไฮโดรเจนจากหมู่เมทิลีน (methylene) ในกรดไขมันไม่อิ่มตัวจะถูกดึงออกไป และเฟอร์ริกไอออนของเอนไซม์จะถูกรีดิวซ์กลับมาอยู่ในรูปของเฟอร์รัสไอออน เกิดเป็น enzyme-alkyl radical ( $LOX-Fe^{2+}-R^\bullet$ ) ที่สามารถถูกออกซิไดส์ได้โดยออกซิเจนให้อยู่ในรูปของ  $LOX-Fe^{2+}-ROO$  เกิดเป็นวัฏจักรต่อไป ดัง Figure 2 (Gordon, 2001)

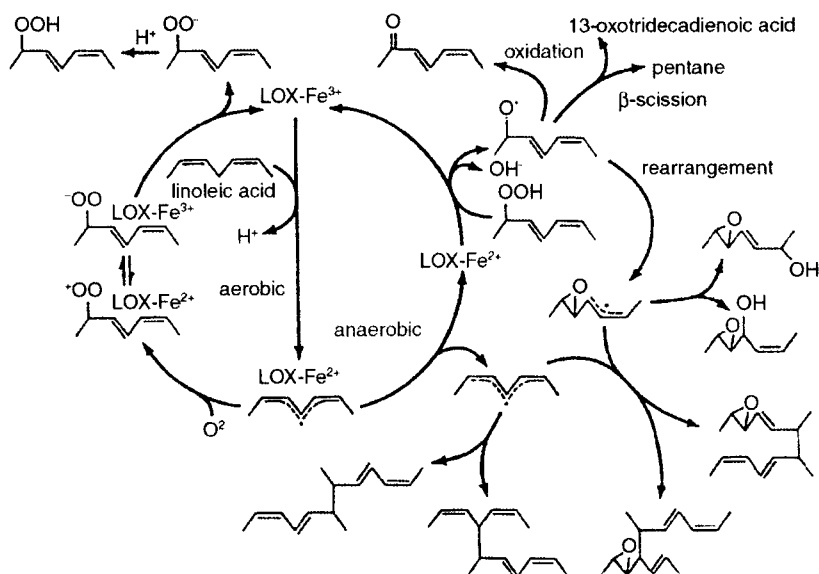


Figure 2. Pathway of lipoxygenase-catalysed oxidation

ที่มา: Gordon (2001)

**2.6.3 พื้นที่ผิว** อัตราการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันจะเพิ่มขึ้น เป็นสัดส่วนกับพื้นที่ผิวหน้าของไขมันที่สัมผัสกับอากาศ ดังนั้นเมื่อไขมันมีพื้นที่ผิวมากขึ้นอัตราการเกิดปฏิกิริยาจะเพิ่มขึ้น (Nawar, 1996)

### 3. ความสำคัญของปฏิกิริยาออกซิเดชันต่อร่างกายและในอาหาร

#### 3.1 ความสำคัญของปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างกาย

อนุมูลอิสระเป็นสารที่มีอิเล็กตรอนอิสระ (unpaired electron) อยู่ในวงนอกของอะตอมหรือโมเลกุล ในวงจรดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตทุกชนิดที่ใช้ออกซิเจน จะมีอนุมูลอิสระของออกซิเจน อย่างเช่น อนุมูลอิสระไฮดรอกซิล (hydroxyl radical,  $\cdot\text{OH}$ ) ซุปเปอร์ออกไซด์แอนไอออน (superoxide anion,  $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) อนุมูลอิสระไฮโดรเปอร์ออกซิล (hydroperoxyl radical,  $\text{HOO}^{\cdot}$ ) และอนุมูลอิสระแอลคอกซิล (alkoxyl radical,  $\text{RO}^{\cdot}$ ) (Table 2) เป็นต้น ซึ่งเป็นผลพลอยได้จากการใช้ออกซิเจนในกระบวนการเมตาบอลิซึม (metabolism) ต่างๆของเซลล์ (Figure 3) เกิดขึ้นตลอดเวลา นอกจากนี้ปัจจัยจากสิ่งแวดล้อมภายนอก ได้แก่ รังสียูวี (UV-ray) โอโซน (ozone) ควันทากท่อไอเสียรถยนต์และควันทูบหรี่ เป็นต้น ยังสามารถเหนี่ยวนำให้มีการก่อตัวของอนุมูลอิสระเหล่านี้เพิ่มขึ้นได้อีกด้วย อนุมูลอิสระส่วนใหญ่มีความไม่คงตัวและไวต่อการทำปฏิกิริยา โดยเฉพาะอย่างยิ่งอนุมูลอิสระไฮดรอกซิล ซึ่งจัดเป็นสารออกซิไดส์แรงสูง (reactive oxygen species, ROS) ที่มีความว่องไวต่อการทำปฏิกิริยาสูงสุด (Halliwell, 1999) สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลต่างๆที่อยู่รอบข้างในทันทีที่ถูกสร้างขึ้น ยังผลให้เกิด

Table 2. Production of active oxygen species

Active oxygen species	Formation
Superoxide ( $O_2^{\bullet-}$ )	Enzymatic and non-enzymatic one electron reduction of oxygen
(Hydroperoxyl radical) ( $HO_2^{\bullet}$ )	$O_2 + e \longrightarrow O_2^{\bullet-} \longleftrightarrow HO_2^{\bullet}$ (pK=4.8)
Hydroxyl radical ( $OH^{\bullet}$ )	Radiolysis of water, metal-catalyzed decomposition of hydrogen peroxide, interaction of NO and superoxide
	$NO + O_2^{\bullet-} \longrightarrow ONOO^- \xrightarrow{H^+} HO^{\bullet} + NO_2$
Alkoxy and peroxy radicals ( $LO^{\bullet}, LO_2^{\bullet}$ )	Metal-catalyzed decomposition of hydroperoxides
Hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ )	Dismutation of superoxide, oxidation of sugars
Iron-oxygen complex ( $Fe=O$ , etc)	Hemoglobin, myoglobin, etc.
Singlet oxygen ( $^1O_2$ )	Photosensitized oxidation, bimolecular interactions between peroxy radicals, reaction of hypochlorite and hydrogen peroxide
Lipid and protein hydroperoxides	Oxidation of lipids and proteins
Nitrogen dioxide ( $NO_2^{\bullet}$ )	Reaction of peroxy radical and NO, polluted air and smoking
Nitric oxide ( $NO^{\bullet}$ )	Nitric oxide synthase, nitroso thiol, and polluted air
Thiyl radical ( $RS^{\bullet}$ )	Hydrogen atom transfer from thiol
Protein radical	Hydrogen atom transfer from protein

ที่มา: Noguchi และ Niki (1999)

ความเสียหายแก่องค์ประกอบต่างๆของเซลล์ภายในร่างกาย (Figure 3) ได้แก่

**3.1.1 ดีเอ็นเอ (DNA)** อนุมูลอิสระทำปฏิกิริยากับน้ำตาลดีออกซีไรโบส (deoxyribose) และเบส (base) ในโครงสร้างของดีเอ็นเอ ทำให้ดีเอ็นเอเกิดการแตกหักเป็นท่อนและเปลี่ยนโครงสร้างของเบส ส่งผลเสียหายต่อข้อมูลพันธุกรรม (genetic information) เมื่อเซลล์ใช้ข้อมูลนี้สร้างโปรตีน จะได้โปรตีนที่ทำหน้าที่ผิดไปจากเดิมหรือสูญเสียหน้าที่ เซลล์ที่แข็งแรงจะซ่อมแซมดีเอ็นเอได้ แต่ถ้าดีเอ็นเอชำรุดมากจนเกิดขีดสมรรถนะการซ่อมแซมของเซลล์ ก็จะทำให้เซลล์ตายหรืออาจทำให้ข้อมูลพันธุกรรมเกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างถาวร คือเกิดการกลายพันธุ์ (mutation) นำไปสู่โรคมะเร็ง (สุพร นุชดำรงค์, 2549)

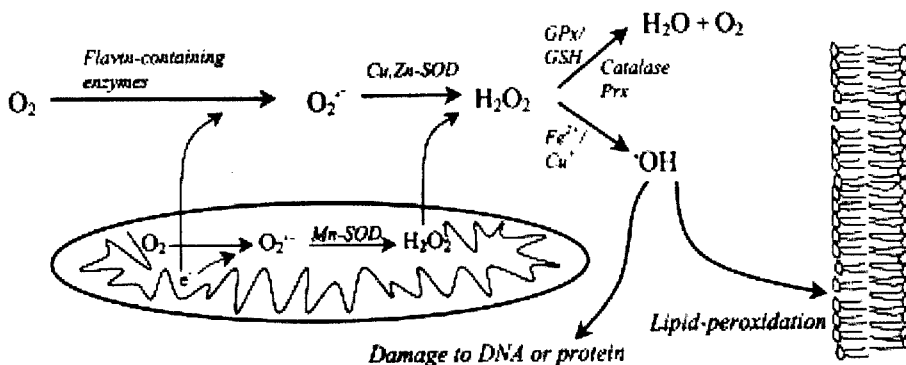


Figure 3. Simplified nonstoichiometric scheme of oxidative and antioxidative system in living cells

ที่มา: Nordberg และ Arner (2001)

**3.1.2 โปรตีน** อนุมูลอิสระเข้าทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโน ทำให้เกิดการดัดแปลงหมู่ฟังก์ชันที่สำคัญบางตำแหน่งในโครงสร้าง ทำให้โปรตีนขาดความสามารถในการทำหน้าที่ ทำลายพันธะเปปไทด์ (สุพร นุชดำรงค์, 2549) หรือทำให้โปรตีนหลายโมเลกุลสร้างพันธะโควาเลนต์ยึดกันอย่างถาวรผิดไปจากธรรมชาติ (วัลยา เนาวรัตน์วัฒนา และพัชรี บุญศิริ, 2542)

**3.1.3 ลิพิดชนิดไม่อิ่มตัว (unsaturated lipids)** อนุมูลอิสระเข้าทำปฏิกิริยาตรงตำแหน่งพันธะคู่ของโมเลกุลของลิพิดที่เป็นองค์ประกอบอยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) เมื่อโครงสร้างของลิพิดเสียไป จึงมีผลกระทบต่อทั้งหน้าที่ของเยื่อหุ้มเซลล์ในการลำเลียงสารผ่านเข้า-ออกและหน้าที่ของเอนไซม์ที่ฝังตัวอยู่บนเยื่อหุ้มเซลล์ และผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระกับไขมัน ได้แก่ อัลดีไฮด์โมเลกุลเล็กๆ สามารถทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนส่งผลต่อโครงสร้างและหน้าที่ของโปรตีน นอกจากนี้อนุมูลอิสระยังเปลี่ยนลิพิดเป็นลิพิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (lipid hydroperoxide) ซึ่งจะถูกไอออนของโลหะเร่งให้เปลี่ยนเป็นอนุมูลอิสระของลิพิดเพอร์ออกไซด์ โดยลิพิดเพอร์ออกไซด์เป็นอนุมูลอิสระที่มีความเสถียรกว่าและส่งผลเสียเรื้อรังแก่เซลล์ (สุพร นุชดำรงค์, 2549)

### 3.2 ความสำคัญของปฏิกิริยาออกซิเดชันในอาหาร

ปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นในอาหารที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบ อาจเกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการผลิตหรือการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ เนื่องจากอาหารสัมผัสกับอากาศ การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นส่งผลต่อคุณภาพของอาหาร ทำให้อาหารเกิดกลิ่นหืนและรสชาติเปลี่ยน (Shahidi *et al.*, 1992) การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของคุณสมบัติและองค์ประกอบของอาหาร ได้แก่ การเปลี่ยนแปลงสี ลักษณะเนื้อสัมผัส กลิ่น รส ทำให้คุณค่าของอาหารลดลง โดยทำให้เกิดการสลายตัวของวิตามินและเกิดการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีน

การหืนของอาหารหรือผลิตภัณฑ์ อาจมีผลมาจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันหรือไฮโดรไลซิสของไขมัน

การหืนแบบไฮโดรไลซิส ไขมันและน้ำมันเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสแล้วจะทำให้เกิดกลิ่นรสผิดไป การสลายตัวของไขมันและน้ำมันที่ประกอบด้วยกรดไขมันที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง จะเกิดได้มากกว่าในไขมันหรือน้ำมันที่มีน้ำหนักโมเลกุลที่ต่ำกว่า นอกจากนี้เอนไซม์ในพืชและสัตว์หรือจากจุลินทรีย์ที่มีการปนเปื้อน สามารถเร่งการผลิตกรดไขมันอิสระและเร่งการหืนได้ การสลายตัวของไขมันอาจเกิดขึ้นโดยไม่ต้องอาศัยเอนไซม์ก็ได้ แต่ปฏิกิริยาเกิดช้าที่อุณหภูมิต่ำ

การหืนเนื่องจากออกซิเดชัน (oxidation rancidity) สามารถเกิดขึ้นเองเมื่ออาหารหรือผลิตภัณฑ์ที่มีไขมัน ไม่อิมตัวเป็นองค์ประกอบมีการสัมผัสกับอากาศ อัตราที่เกิดขึ้นมีความแตกต่างกันไปตามลักษณะชนิดของไขมันและสภาพแวดล้อมในการเก็บรักษา ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาการหืนแบบออกซิเดชันคือปริมาณออกซิเจน ปริมาณความไม่อิ่มตัวของไขมันที่เป็นองค์ประกอบ วัตถุดิบหืนที่มีการเติมลงไป โลหะหรือสารเร่งการเกิดปฏิกิริยา ได้แก่ ทองแดง เหล็ก เอนไซม์ไลพอกซิเจเนสและเกลือบางชนิด กระบวนการหรือกรรมวิธีในการผลิต ภาชนะที่ใช้บรรจุ การสัมผัสกับแสงหรืออากาศและอุณหภูมิ และยังมีรงควัตถุบางชนิดที่สามารถเร่งการเกิดออกซิเดชันได้ เช่น คลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์ เมื่อผลิตภัณฑ์เหล่านี้มีการสัมผัสกับแสง

#### 4. สารต้านออกซิเดชัน (antioxidant)

##### 4.1 คำนิยามของสารต้านออกซิเดชัน

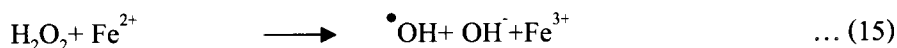
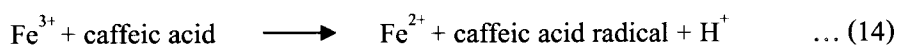
สารต้านออกซิเดชันคือสารประกอบที่สามารถป้องกันหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน สารต้านออกซิเดชันอาจเป็นวิตามิน เกลือแร่ ฮอร์โมน โปรตีนหรือเอนไซม์ก็ได้ (Crawford, 2000)

##### 4.2 บทบาทของสารต้านออกซิเดชัน

มีงานวิจัยจำนวนมากที่บ่งชี้ว่า สารต้านออกซิเดชันสามารถลดความเสี่ยงต่อโรคหลายโรค โดยเฉพาะโรคเรื้อรังที่สัมพันธ์กับอาหาร เช่น โรคมะเร็ง โรคเบาหวาน โรคหัวใจ โรคสมอง เช่น อัลไซเมอร์ เป็นต้น รวมทั้งช่วยชะลอกระบวนการบางขั้นตอนที่ทำให้เกิดความแก่ ถึงแม้ว่าสารต้านออกซิเดชันไม่สามารถแก้ไขความเสียหายที่เกิดขึ้นแล้ว แต่สามารถชะลอให้ความเสียหายเกิดช้าลงได้ โดยเฉพาะโรคเรื้อรังซึ่งเป็นผลลัพธ์สะสมที่เกิดจากเซลล์และเนื้อเยื่อในร่างกายถูกทำอันตรายและเสียหายเป็นเวลานาน ดังนั้น บุคคลทุกเพศทุกวัยจึงควรได้รับสารต้านออกซิเดชันให้พอเพียงต่อความต้องการในแต่ละวัน เพื่อให้เกิดความสมดุลในร่างกายระหว่างสารต้านออกซิเดชันและอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น (ศรีวัฒนา ทรงจิตสมบูรณ์และคณะ, 2548)



ผู้บริโภครับบริโภคผลิตภัณฑ์ออกฤทธิ์ต้านออกซิเดชันอย่างเพียงพอ การบริโภคมากเกินไป อาจส่งผลลดปริมาณของอนุมูลอิสระจนต่ำกว่าระดับซึ่งจำเป็นต่อร่างกาย อนุมูลอิสระมีประโยชน์ต่อร่างกายคือ ช่วยป้องกันการติดเชื้อ โดยเซลล์เม็ดเลือดขาวจะใช้อนุมูลอิสระฆ่าเชื้อแบคทีเรียหลังจากเซลล์เม็ดเลือดขาวกิน (phagocytosis) แบคทีเรียเข้าไปแล้ว (วัชรวิทย์, 2549) นอกจากนี้สารต้านออกซิเดชันบางชนิดมีคุณสมบัติเป็นสารโปรออกซิเดนต์ (pro-oxidant) โดยในบางสภาวะจะกลายเป็นตัวเหนี่ยวนำให้ระดับอนุมูลอิสระในร่างกายเพิ่มสูงขึ้น จนส่งผลร้ายต่อเซลล์และร่างกาย (สุพร นุชดำรง, 2549) Polozza (1998) พบว่าการให้หนูรับประทานเบต้าแคโรทีน ( $\beta$ -carotene) ในปริมาณที่มากเกินไป ทำให้ระดับ ไคและสมองของหนูเกิดลิพิดเพอร์ออกซิเดชัน (lipid peroxidation) เพิ่มขึ้น ผลของการรับประทานเบต้าแคโรทีนต่อร่างกายแสดงดัง Figure 4 นอกจากนี้ Iwahashi และคณะ (1989 อ้างโดย Dumri, 2001) พบว่ากรดคาเฟอิก (caffeic acid) และกรดคลอโรจีนิก (chlorogenic acid) กระตุ้นให้เกิดการสร้างอนุมูลอิสระไฮดรอกซิล เนื่องจากกรดคาเฟอิกและกรดคลอโรจีนิกไปรีดิวซ์เฟอร์ริกไอออนเป็นเฟอร์รัสไอออน ดังสมการที่ 14-15 อนุมูลอิสระไฮดรอกซิลที่เกิดขึ้น เป็นอนุมูลอิสระที่มีพลังการทำลายสูง (Halliwell, 1999) สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลต่างๆที่อยู่รอบข้างในทันทีที่ถูกสร้างขึ้น ทำให้องค์ประกอบต่างๆของเซลล์ภายในร่างกายเกิดความเสียหาย



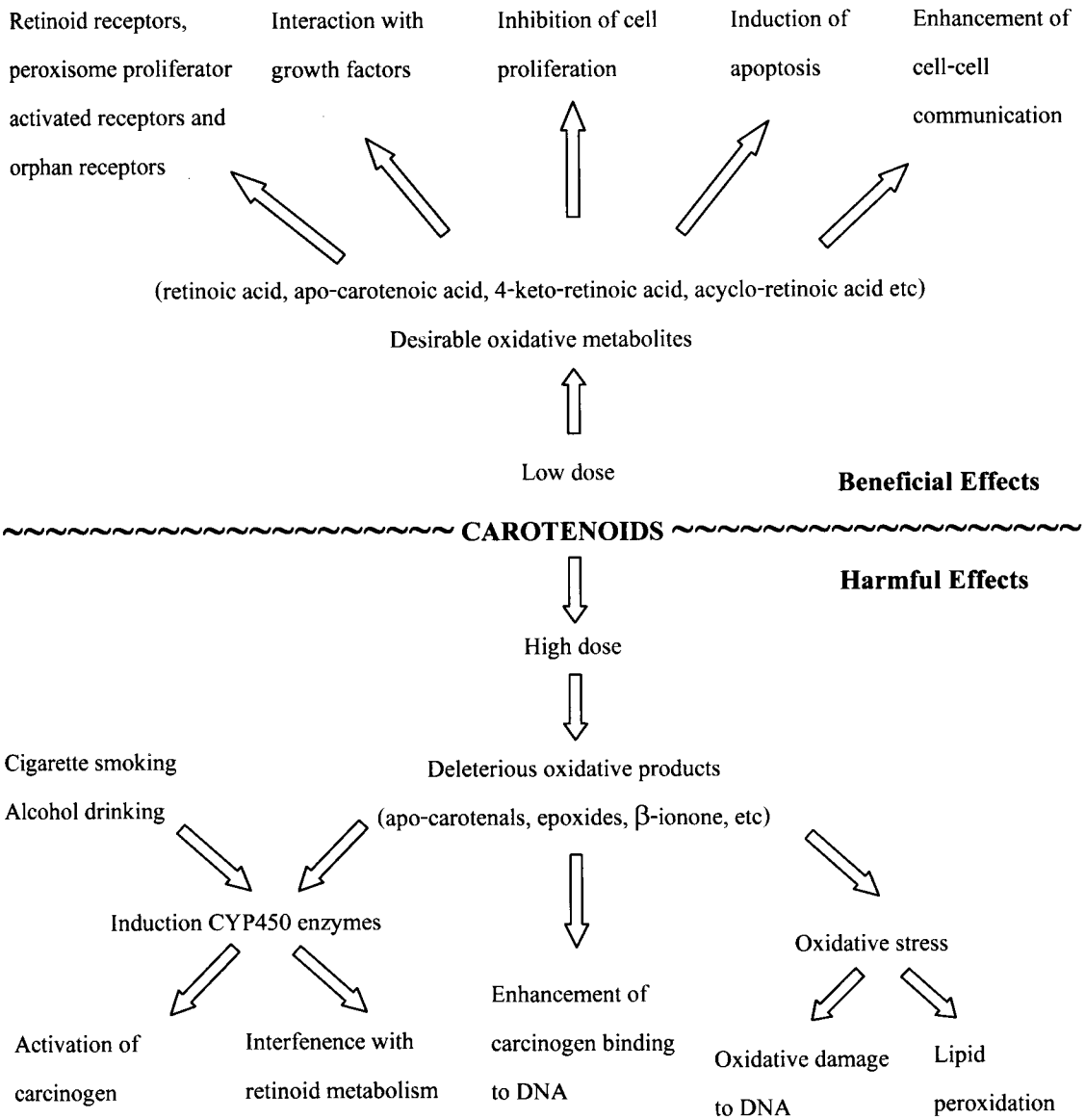


Figure 4. Simplified schematic illustration of possible mechanism(s) of carotenoids and their oxidative metabolites on their beneficial and detrimental effects to human health

ที่มา: Wang (2004)

จากรายงานทางการแพทย์พบว่า การรับประทานผัก ผลไม้หรืออาหารที่มีสารต้านออกซิเดชั่น สามารถลดความเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งได้ดีกว่าการรับประทานสารต้านออกซิเดชั่นโดยตรง (วัชรวิทย์ หาญยิ่ง, 2549)

**4.3 แหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระ** (บรรจบ ชุณหสวัตติกุล, 2544; เสก อักษรานุเคราะห์, 2546)

#### 4.3.1 สารต้านอนุมูลอิสระที่มีในร่างกาย

##### 4.3.1.1 เอนไซม์ (enzymes) และโคเอนไซม์ (coenzymes)

- ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (superoxide dismutase, SOD) อยู่ในไซโทซอล (cytosol) และไมโทคอนเดรีย (mitochondria) ทำหน้าที่รีดิวซ์ซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออนให้กลายเป็นออกซิเจนและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ที่มีความว่องไวน้อยกว่า

- คตะเลส (catalase) พบอยู่ในเพอร์ออกซิโซม (peroxisomes) ทำหน้าที่กำจัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่มีในปริมาณที่สูง โดยมีประสิทธิภาพสูงมากในการเปลี่ยนไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ไปเป็นน้ำและโมเลกุลออกซิเจน

- กลูตาไธโอนเพอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase) พบอยู่ในไซโทซอลและไมโทคอนเดรีย ทำหน้าที่กำจัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

- กลูตาไธโอนรีดักเทส (glutathione reductase) เป็นฟลาโวโปรตีนออกซิโดรีดักเทส (flavoprotein oxidoreductase) ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนออกซิไดซ์กลูตาไธโอน (oxidized glutathione, GSSG) เป็นรีดิวซ์กลูตาไธโอน (reduced glutathione, GSH)

- กลูตาไธโอนทรานส์เฟอเรส (glutathione transferase) ทำหน้าที่กำจัดลิพิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์

- โคเอนไซม์คิวเท็น (coenzyme Q 10) เป็นสารที่ร่างกายสามารถผลิตได้เอง มีคุณสมบัติคล้ายวิตามิน ละลายในไขมัน พบอยู่ที่เยื่อหุ้มเซลล์ของไมโทคอนเดรีย สามารถดักจับอนุมูลอิสระ ช่วยยับยั้งคอเลสเตอรอลไม่ให้จับตัวที่ผนังหลอดเลือด

##### 4.3.1.2 โปรตีน (proteins)

- กลูตาไธโอน (glutathione) เป็นไตรเปปไทด์ ประกอบด้วยกรดอะมิโนกลูตามีน ซีสเทอีน และไกลซีน (L-γ-glutamyl-L-cysteinylglycine) หมู่ไธออล (thiol) ของซีสเทอีนเป็นส่วนที่มีบทบาทสำคัญในการเป็นสารต้านออกซิเดชัน เนื่องจากสามารถให้อิเล็กตรอน (electron donating capacity) แก่อนุมูลอิสระ

- กรดไลโปอิก (lipoic acid) เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ที่สามารถละลายได้ทั้งในน้ำและน้ำมัน สามารถดูดซึมเข้าสู่เซลล์ได้ดี

- เซอรูโลพลาสมีน (ceruloplasmin) เป็นโปรตีนที่มีไอออนทองแดงอยู่ในโมเลกุล (copper containing protein) มีสมบัติเป็นเอนไซม์เพอร์ริคออกซิเดส (ferric oxidase) ซึ่งทำหน้าที่ออกซิไดส์เฟอร์รัสไอออนเป็นเฟอร์ริกไอออน เป็นการส่งเสริมให้เหล็กรวมเข้าไปในโมเลกุลของโปรตีนเฟอร์ริตินได้ เซอรูโลโปรตีน

- อัลบูมิน (albumin) เป็นโปรตีนที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชันที่พบมากในพลาสมา โดยโปรตีนอัลบูมินสามารถเข้าจับกับไอออนทองแดงได้อย่างรวดเร็ว จึงเป็นการขับไล่ไอออนทองแดงทางอ้อม เป็นผลให้อนุมูลอิสระเกิดขึ้นน้อยลง

- ทรานส์เฟอริน (transferrin) เป็นไกลโคโปรตีนที่พบในพลาสมา ทำหน้าที่ขนส่งเหล็ก (iron transporting protein) และมีบทบาทในการเป็นสารต้านออกซิเดชันร่วมกับโปรตีนเฟอร์ริติน

- เฟอร์ริติน (ferritin) เป็นโปรตีนที่ทำหน้าที่สะสมเหล็ก เฟอร์ริตินที่พบในพืช เรียกว่า ไฟโตเฟอร์ริทิน (phytoferritin) ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมพบเฟอร์ริตินสะสมในส่วนของไซโตซอลและพบเล็กน้อยในซีรัม

- เมทัลโลไซโอนิน (metallothionein) เป็นโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ มีซีสเทอีนเป็นองค์ประกอบจำนวนมาก

- แฮพโทโกลบิน (haptoglobin) สร้างมาจากเซลล์พารานไคมอล (parenchymal cell) ในตับ ทำหน้าที่จับฮีโมโกลบินอิสระ (free hemoglobin)

- ฮีโมเพกซิน (hemopexin) เป็นพลาสมาโปรตีน (plasma protein) ทำหน้าที่จับฮีม (heme)

- ไบลิรูบิน (bilirubin) เป็นสารที่มีสีเหลืองแดง (reddish yellow) เกิดจากกระบวนการสลายฮีม เป็นสารต้านออกซิเดชันที่สามารถจับอนุมูลอิสระเพอร็อกซิไลด์

- กรดยูริก (uric acid) เป็นสารที่เกิดจากการย่อยสลายของกรดนิวคลีอิก (nucleic acid) สามารถให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ และจับซิงเกิลทอกซิเจน

- ซิสเทอีน (cysteine) เป็นกรดอะมิโนที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์กลูตาไธโอน

สารต้านออกซิเดชันในร่างกายที่มีความสำคัญคือซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส และกลูตาไธโอน สารต้านออกซิเดชันในร่างกายมีอยู่หรือสร้างได้ นี้จะช่วยขจัดอนุมูลอิสระได้มากกว่าร้อยละ 95 ขึ้นไปในสภาวะปกติ ซึ่งปริมาณสารต้านออกซิเดชันในร่างกายสร้างได้เองแต่สร้างได้มากหรือน้อยขึ้นอยู่กับสุขภาพและการกินอาหารที่เพียงพอและเหมาะสม

#### 4.3.2 สารต้านออกซิเดชันที่มีในอาหาร

##### 4.3.2.1 วิตามินซี

เป็นสารต้านออกซิเดชันที่มีมากที่สุดตัวหนึ่งในเลือดและเซลล์ เนื่องจากวิตามินซีสามารถละลายได้ในน้ำ จึงดูดซึมเข้าในเซลล์ได้ดี ดังนั้นวิตามินซีจึงป้องกันไม่ให้อนุมูลอิสระทำลายดีเอ็นเอในนิวเคลียสของเซลล์ได้ดีกว่าวิตามินอี สมบัติทางเคมีของวิตามินซีในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระคือการที่แอสคอร์เบท (ascorbate, AscH<sup>-</sup>) ให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ เกิดเป็นแอสคอร์เบทเรดิคัล (ascorbate radical, Asc<sup>•-</sup>) ที่เสถียรมากเนื่องจากมีโครงสร้างที่เป็น

เรโซแนนซ์ (resonance structure) (Figure 5) อนุมูลอิสระที่สามารถรับอะตอมไฮโดรเจนจากวิตามินซีเพื่อทำให้ตัวเองเป็นกลาง ได้แก่ ไฮดรอกซิล แอลคอกซิล และเพอร์ออกซิล รวมทั้งอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระตัวอื่น เช่น กลูตาไธโอน ( $\cdot$ GS) และวิตามินอีหรือโทโคฟีรอล (tocopherol,  $\cdot$ Toc) ก็สามารถรับไฮโดรเจนจากวิตามินซีได้

วิตามินซีพบมากในผลไม้ที่มีรสเปรี้ยวและผักที่มีสีเขียว เช่น ส้ม มะนาว มะกรูด สับปะรด สตอเบอร์รี่ แคนตาลูป มะเขือเทศ ตำลึง ผักบุ้ง พริกหยวก อย่างไรก็ตามการหุงต้มทำลายวิตามินซีได้ ดังนั้นจึงควรบริโภคสด

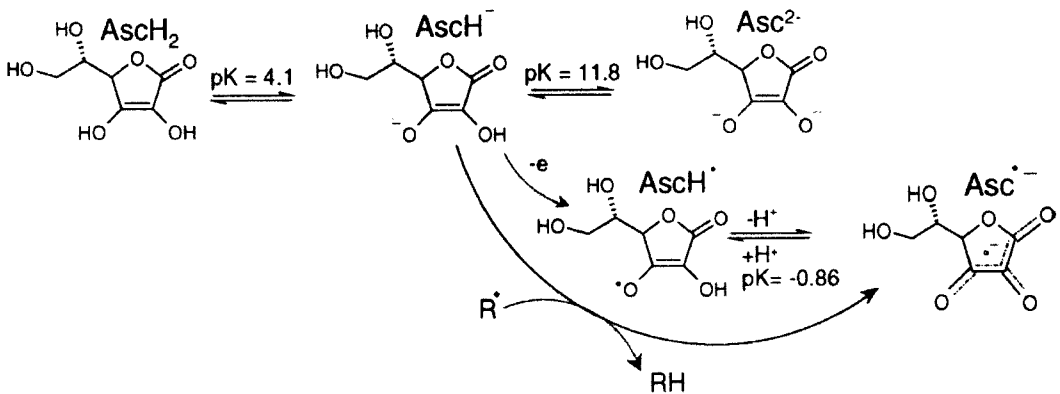


Figure 5. Various forms of ascorbic acid (Vitamin C) and its reaction with radicals ( $\text{R}^\cdot$ )

ที่มา: Valko และคณะ (2006)

#### 4.3.2.2 วิตามินอี

เป็นสารต้านออกซิเดชันชนิดละลายในไขมันที่มีมากที่สุดในร่างกาย วิตามินอีที่พบโดยทั่วไปและมีความว่องไวมากที่สุดคืออัลฟาโทโคฟีรอล ( $\alpha$ -tocopherol) (Figure 6) ช่วยป้องกันการเกิดลิพิดเพอร์ออกซิเดชัน โดยการให้ไฮโดรเจนแก่ลิพิดเรดิคัล (lipid radical,  $\text{L}^\cdot$ ) หรือลิพิดเพอร์ออกซิเรดิคัล และอัลฟาโทโคฟีรอลจะกลายเป็นอนุมูลอิสระที่เสถียรเนื่องจากการเคลื่อนที่ (delocalization) ของอิเล็กตรอนในวงแหวนเบนซีน (Figure 7) อัลฟาโทโคฟีรอลเรดิคัลสามารถเปลี่ยนเป็นอัลฟาโทโคฟีรอล โดยการทำปฏิกิริยากับวิตามินซี ดังแสดงใน Figure 8

น้ำมันจากพืชและเมล็ดพืชต่างๆ รวมทั้งจมูกข้าวสาลีเป็นแหล่งของวิตามินอี ในขณะที่ในเนื้อสัตว์ ปลา ผักและผลไม้มีวิตามินอีน้อย

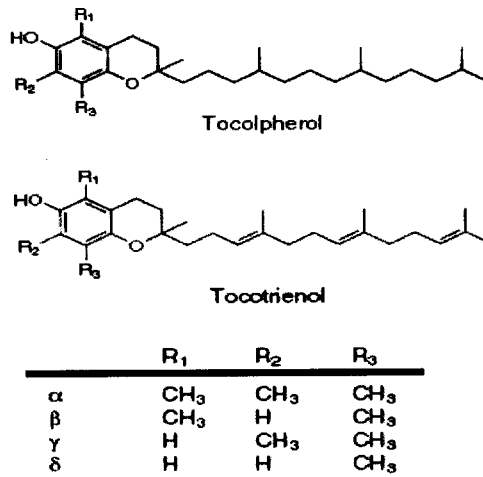


Figure 6. Chemical structures of tocopherols and tocotrienols

ที่มา: Shahidi และ Naczk (2004)

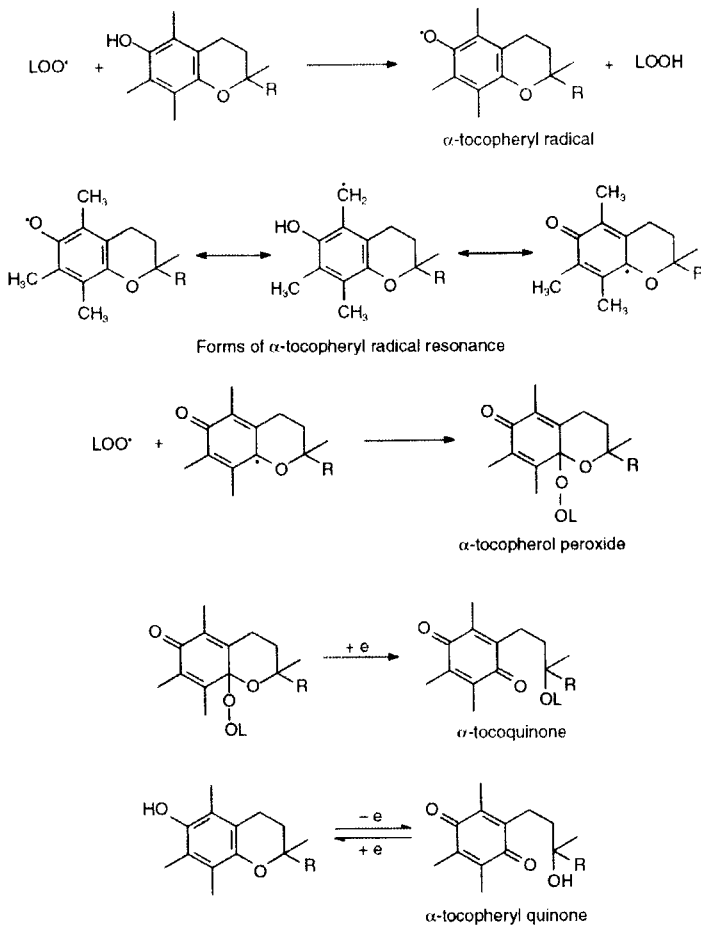


Figure 7. Mechanism of  $\alpha$ -tocopherol action

ที่มา: ดัดแปลงจาก Yanishlieva-Maslarova (2001)

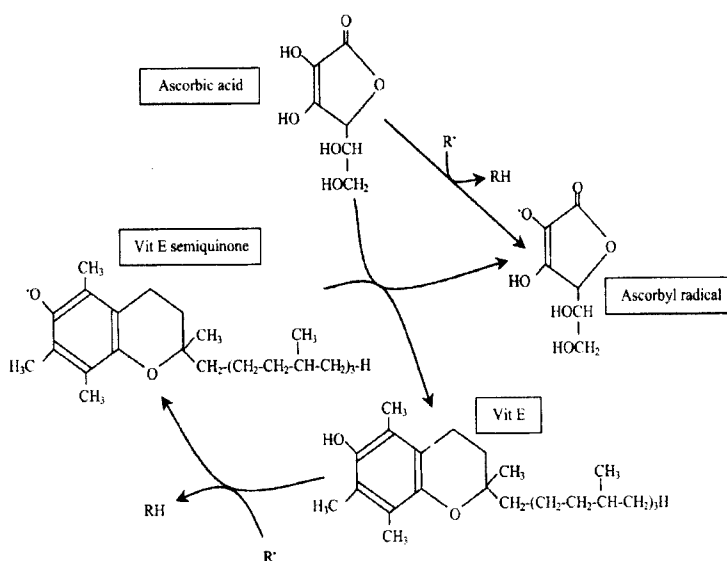


Figure 8. Interplay between vitamin C and vitamin E

ที่มา: คัดแปลงจาก Nordberg และ Arner (2001)

#### 4.3.2.3 แคโรทีนอยด์

แคโรทีนอยด์เป็นรงควัตถุ (pigment) ที่พบในพืชและจุลินทรีย์ มีมากกว่า 6,000 ชนิดในธรรมชาติ เป็นสารสำคัญที่พบในคลอโรพลาสต์ (chloroplast) ของพืช มีบทบาทในการสังเคราะห์แสงเช่นเดียวกับคลอโรฟิลล์ โดยทำหน้าที่ช่วยคลอโรฟิลล์ในการรับพลังงานแสง ผักและผลไม้ที่ยังไม่สุกพบแคโรทีนอยด์น้อยกว่าผักและผลไม้ที่สุกแล้ว เนื่องจากปกติผักใบเขียวหรือผักและผลไม้ที่ยังดิบแคโรทีนอยด์อยู่ในส่วนของคลอโรพลาสต์ ในขณะที่ผักหรือผลไม้สุกแคโรทีนอยด์ถูกสังเคราะห์ขึ้นในโครโมพลาสต์ (chromoplast) เป็นปริมาณมากเนื่องจากเอนไซม์ที่ใช้ในการสังเคราะห์มีมากขึ้น (Tomas-Barberan and Robins, 1997) โครงสร้างพื้นฐานของแคโรทีนอยด์ประกอบด้วยโครงสร้างหลักที่เรียกว่าเตตระเทอร์ปีนสเคเลตอน (tetraterpene skeleton) ซึ่งอาจมีวงแหวนที่บริเวณปลายด้านใดด้านหนึ่งหรือทั้งสองด้านของโมเลกุล วงแหวนนี้อาจเป็นวงแหวนห้าหรือหกเหลี่ยมก็ได้ ดังแสดงใน Figure 9 แคโรทีนอยด์สามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ ตามองค์ประกอบของโครงสร้างในโมเลกุล ดังนี้ (Packer *et al.*, 1999)

1. **แคโรทีน (carotene)** เป็นแคโรทีนอยด์ที่โครงสร้างโมเลกุลประกอบด้วยคาร์บอนและไฮโดรเจนเท่านั้น เช่น เบต้าแคโรทีน ( $\beta$ -carotene) อัลฟาแคโรทีน ( $\alpha$ -carotene) แกมมาแคโรทีน ( $\gamma$ -carotene) และไลโคปีน (lycopene) (Figure 9) เป็นต้น

2. **ออกโซแคโรทีนอยด์ (oxocarotenoid) หรือแซนโทฟิลล์ (xanthophylls)** เป็นแคโรทีนอยด์ที่โครงสร้างโมเลกุลบริเวณวงแหวน ประกอบด้วยกลุ่มอื่นนอกเหนือจากคาร์บอนและไฮโดรเจน เช่น เบต้าคริปโทแซนทิน ( $\beta$ -cryptoxanthin) และลูทีน (lutein) (Figure 9)

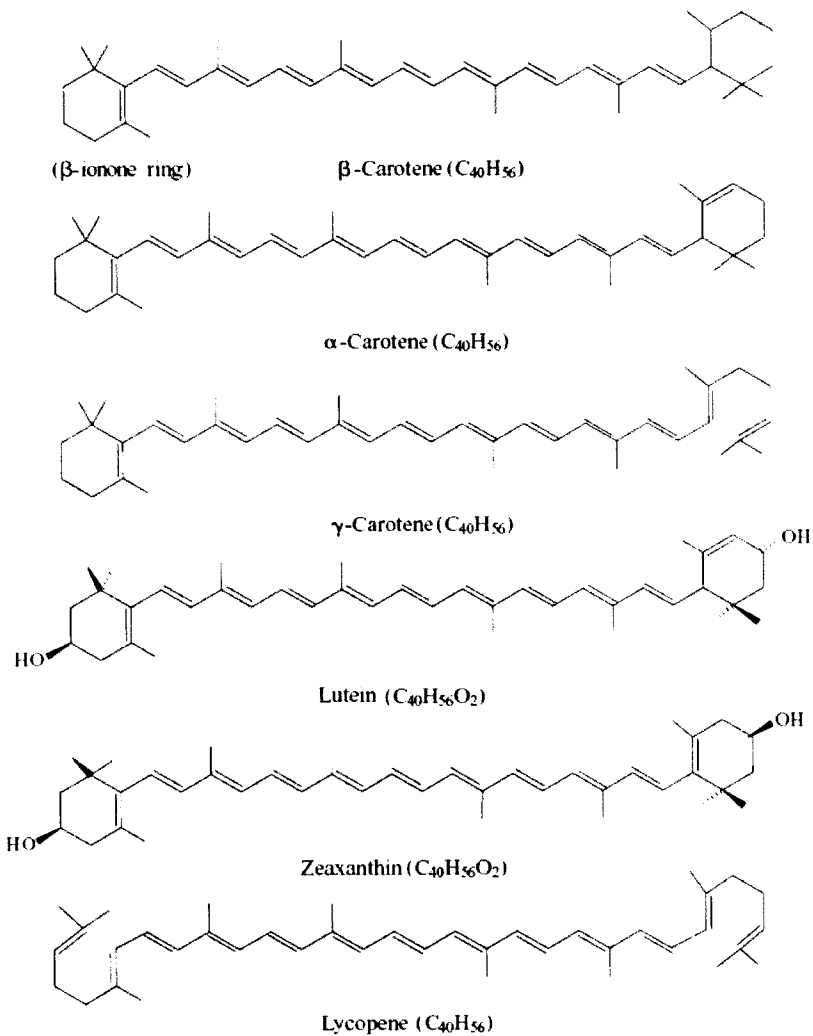


Figure 9. Structure of carotenoids

ที่มา: Lee และ Schwartz (2005)

แคโรทีนอยด์มีสมบัติการต้านออกซิเดชันเนื่องจากโครงสร้างของโมเลกุลเป็นพันธะคู่แบบคอนจูเกต (conjugated double bond) ซึ่งช่วยในการกระจายอิเล็กตรอน ทำให้มีความเสถียร โดยเฉพาะเบต้าแคโรทีนและไลโคพีน (lycopene) (Figure 9) มีประสิทธิภาพในการหยุดยั้งเซลล์ออกซิเจนสูง (สมการที่ 16) โดยไม่ทำให้เกิดการสลายตัว และมีความว่องไวในการดักจับอนุมูลอิสระ เช่น อนุมูลอิสระเพอร์ออกซิด ไฮดรอกซิด และซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน (Figure 10) คุณสมบัติการกำจัดอนุมูลอิสระของแคโรทีนอยด์ขึ้นอยู่กับความสามารถในการให้อิเล็กตรอนหรืออะตอมไฮโดรเจน Miller และคณะ (1996) พบว่าแคโรทีนอยด์สามารถกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS ได้ โดยความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS ขึ้นอยู่กับหมู่ฟังก์ชัน (functional groups) ซึ่งสามารถเพิ่มความเป็นขั้ว (polarities) เช่น หมู่คาร์บอนิล (carbonyl) และ



ไฮดรอกซิล (hydroxyl) ในวงแหวนที่อยู่ส่วนปลาย (terminal ring) และจำนวนของพันธะคู่แบบคอนจูเกตในโครงสร้างของแคโรทีนอยด์ โดยพบว่าแคโรทีนมีประสิทธิภาพในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS ได้ดีกว่าแซนโทฟิลล์ เนื่องจากความเป็นขั้วที่เพิ่มขึ้นของหมู่ฟังก์ชันในวงแหวนส่วนปลาย ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS สามารถเรียงลำดับได้ ดังนี้ ไลโคปีน > เบต้าคริปโทแซนทิน  $\approx$  เบต้าแคโรทีน > ลูทีน  $\approx$  ซีแซนทิน (zeaxanthin) > อัลฟาแคโรทีน > อีชีนีโนน (echinenone) > แคนธาแซนทิน (canthaxanthin) = แอสทาแซนทิน (astaxanthin)

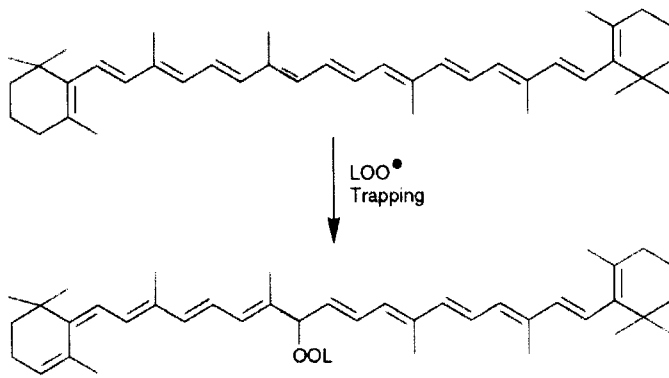
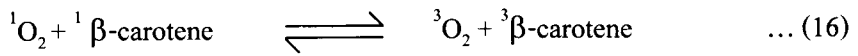
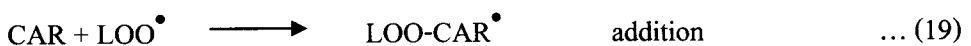
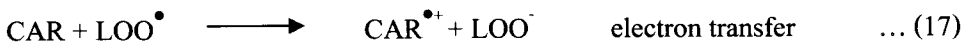


Figure 10. Radical trapping mechanism of carotenoids

ที่มา: Hall (2001)

กลไกการทำปฏิกิริยาระหว่างแคโรทีนอยด์กับอนุมูลอิสระสามารถสรุปได้เป็น 3 กลไก คือการถ่ายโอนอิเล็กตรอน (electron transfer) (สมการที่ 17) การให้ไฮโดรเจนอะตอม (hydrogen abstraction) (สมการที่ 18) และการจับอนุมูลอิสระเข้าไว้ในโมเลกุล (addition of radical species) (สมการที่ 19) (Young *et al.*, 2004)



#### 4.3.2.4 คลอโรฟิลล์

คลอโรฟิลล์ เป็นรงควัตถุที่สำคัญในพืช อยู่ในคลอโรพลาสต์ พบในทุกส่วนของพืชที่มีสีเขียว เช่น ใบ ก้าน และในผลไม้ดิบ คลอโรฟิลล์จำเป็นต่อการสังเคราะห์แสงของพืช โดยจะดูดพลังงานจากแสงเพื่อสร้างคาร์โบไฮเดรตจากคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ คลอโรฟิลล์ที่พบในพืชชั้นสูงมี 2 ชนิดคือ คลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บี โมเลกุลของ

คลอโรฟิลล์ประกอบด้วย ส่วนหัวของวงแหวนพอร์ไฟริน (porphyrin ring) ซึ่งเป็นโมเลกุลใหญ่ ประกอบด้วยวงแหวนไพโรล (pyrrole) ยึดติดกันโดยเมเทนคาร์บอน (methane carbon,  $-\text{CH}=\text{}$ ) เกิดเป็นโมเลกุลใหญ่ที่แบนราบ ในคลอโรฟิลล์มีแมกนีเซียม (Mg) อยู่ตรงกลาง โดยแมกนีเซียมอะตอมยึดติดกับไนโตรเจนอะตอม 2 อะตอม ด้วยพันธะโควาเลนต์ ส่วนไนโตรเจนอีก 2 อะตอมต่างแบ่งอิเล็กตรอน 2 อิเล็กตรอน เพื่อใช้ร่วมกับแมกนีเซียมเกิดเป็นพันธะโคออร์ดิเนตโควาเลนต์ (coordinate covalent) และส่วนหางซึ่งเป็นไฮโดรคาร์บอนสายยาว เรียกว่า ไฟทอล (phytol) คลอโรฟิลล์บีแตกต่างจากคลอโรฟิลล์เอที่หมู่แอลดีไฮด์ (aldehyde group,  $-\text{CHO}$ ) ซึ่งจะแทนที่หมู่เมทิล (methyl group,  $\text{CH}_3$ ) ที่ตำแหน่งที่ 3 (Ferruzzi and Blakeslee, 2007) (Figure 11) นอกจากนี้คลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บีมีสีที่แตกต่างกัน คลอโรฟิลล์เอมีสีเขียวแกมน้ำเงิน ส่วนคลอโรฟิลล์บีมีสีเขียวแกมเหลือง ในเนื้อเยื่อของพืชมีคลอโรฟิลล์เอมากกว่าคลอโรฟิลล์บีประมาณ 3 เท่า (Hojnik *et al.*, 2007) คลอโรฟิลล์เป็นพวกที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) จึงไม่ละลายในน้ำ

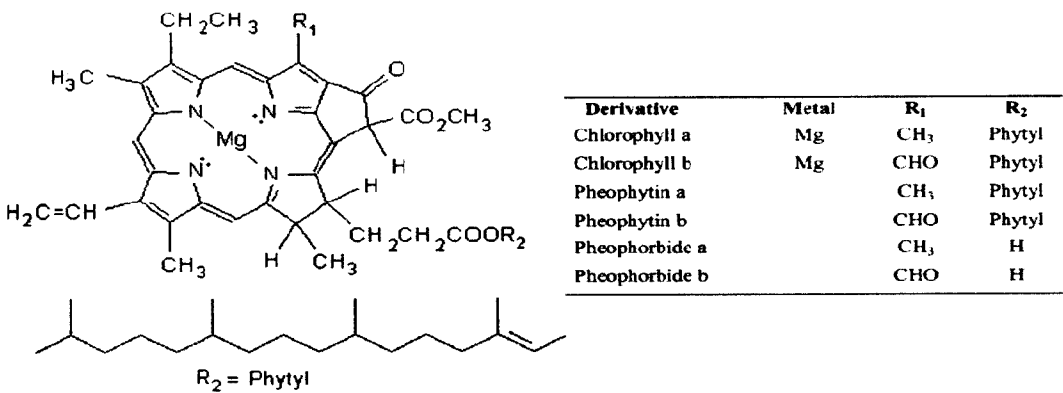


Figure 11. Structure of chlorophyll derivatives

ที่มา: Marquez และคณะ (2005)

โดยทั่วไปคลอโรฟิลล์และอนุพันธ์ของคลอโรฟิลล์ เป็นโปรออกซิแดนซ์ เนื่องจากสามารถเร่งการเกิดโฟโตออกซิเดชันของไขมันแล่น้ำมัน อย่างไรก็ตาม Endo และคณะ (1985) พบว่าคลอโรฟิลล์และอนุพันธ์ของคลอโรฟิลล์สามารถกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ได้

Hoshima และคณะ (1998) ศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของคลอโรฟิลล์และอนุพันธ์ 6 ชนิด ที่ได้จากใบผักโขม ได้แก่ คลอโรฟิลล์เอและบี คลอโรฟิลไลด์ (chlorophyllide) เอและบี ฟีโอฟอร์ไบด์ (pheophorbide) เอและบี และไฟโรฟีโอฟอร์ไบด์ (phyropheophorbide) เอและบี ด้วยวิธีการกำจัดอนุมูลอิสระซูปเปอร์ออกไซด์แอนไอออน พบว่าคลอโรฟิลล์บีและอนุพันธ์ของคลอโรฟิลล์บีมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระซูปเปอร์ออกไซด์แอนไอออนได้ดีกว่าคลอโรฟิลล์เอและอนุพันธ์ของคลอโรฟิลล์เอและ

คลอโรฟิลล์มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระดีกว่าอนุพันธ์ที่อยู่ในรูปของ metal free derivatives และพบว่าวงแหวนพอร์ไฟรินมีบทบาทสำคัญในการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน

Ferruzzi และคณะ (2002) พบว่า คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของคลอโรฟิลล์สามารถเปลี่ยนแปลงได้ ขึ้นอยู่กับโครงสร้างโมเลกุลของคลอโรฟิลล์ โดยอนุพันธ์ของคลอโรฟิลล์ยังสามารถกำจัดอนุมูลอิสระได้ดีกว่าอนุพันธ์ของคลอโรฟิลล์บี นอกจากนี้ metal free derivatives เช่น คลอริน (chlorins) ฟีโอไฟติน (pheophytins) และไพโรฟีโอไฟติน (pyriopheophytins) มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระได้น้อยกว่า metalloderivatives เช่น Mg-chlorophylls, Zn-pheophytins, Zn-pyropheophytins, Cu-pheophytin และ Cu-chlorophyllins

#### 4.3.2.5 สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds)

สารประกอบฟีนอลิก ประกอบด้วยสารที่มีโครงสร้างและหน้าที่แตกต่างกันไป จัดเป็นสารเมตาบอไลต์ทุติยภูมิ (secondary metabolites) ที่พืชสร้างขึ้นจากกระบวนการซิคิมิกแอซิดพาสเวย์ (Shikimic acid pathway) (Figure 12) และฟีนิลโพรพานอยด์เมตาบอไลซึม (Phenylpropanoid metabolism) (Figure 13) เพื่อประโยชน์ในกระบวนการเจริญเติบโต และการขยายพันธุ์ สารประกอบฟีนอลิกที่พบในพืชกระจายตัวอยู่ในเนื้อเยื่อ (tissue) เซลล์ (cellular) และซัพเซลล์ลูลาร์ (subcellular) ในปริมาณที่แตกต่างกัน โดยฟีนอลิกที่ไม่ละลาย (insoluble phenolics) พบในผนังเซลล์ของพืช (cell wall) ในขณะที่ฟีนอลิกที่ละลาย (soluble phenolics) พบในแวคิวโอล (vacuoles) ส่วนในเนื้อเยื่อ ฟีนอลิกที่ละลายจะอยู่ในเนื้อเยื่อชั้นนอก (epidermal และ subepidermal layers) มากกว่าเนื้อเยื่อชั้นใน (mesocarp และ pulp) เช่น ในผลไม้ ฟลาโวนอลไกลโคไซด์ (flavonol glycosides) พบในเนื้อเยื่อชั้นนอกหรือในเอพิคาร์พ (epicarp) (Bengoechea *et al.*, 1997; Naczka and Shahidi, 2006)

โดยทั่วไปโครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิก ประกอบด้วยวงแหวนอะโรมาติก อาจมีหมู่ไฮดรอกซิล 1 หมู่หรือมากกว่า พบในพืช ผัก ผลไม้และเครื่องดื่มบางชนิด เช่น ชา กาแฟ เบียร์ ไวน์และน้ำผลไม้ (Table 3) โดยปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกที่พบในพืชแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของพืช และพบว่าพืชชนิดเดียวกันแต่มีสถานที่ผลิตแตกต่างกัน ก็มีสารประกอบฟีนอลิกในปริมาณที่แตกต่างกันด้วย เนื่องจากการสร้างสารประกอบฟีนอลิกของพืชมีปัจจัยทางด้านพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อมมาเกี่ยวข้อง นอกจากนี้พบว่า วิธีการเพาะปลูก ระดับความสุก กระบวนการแปรรูป หรือแม้แต่วิธีการเก็บรักษา ก็ล้วนมีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งสิ้น (วิวัฒน์ หวังเจริญ, 2545)

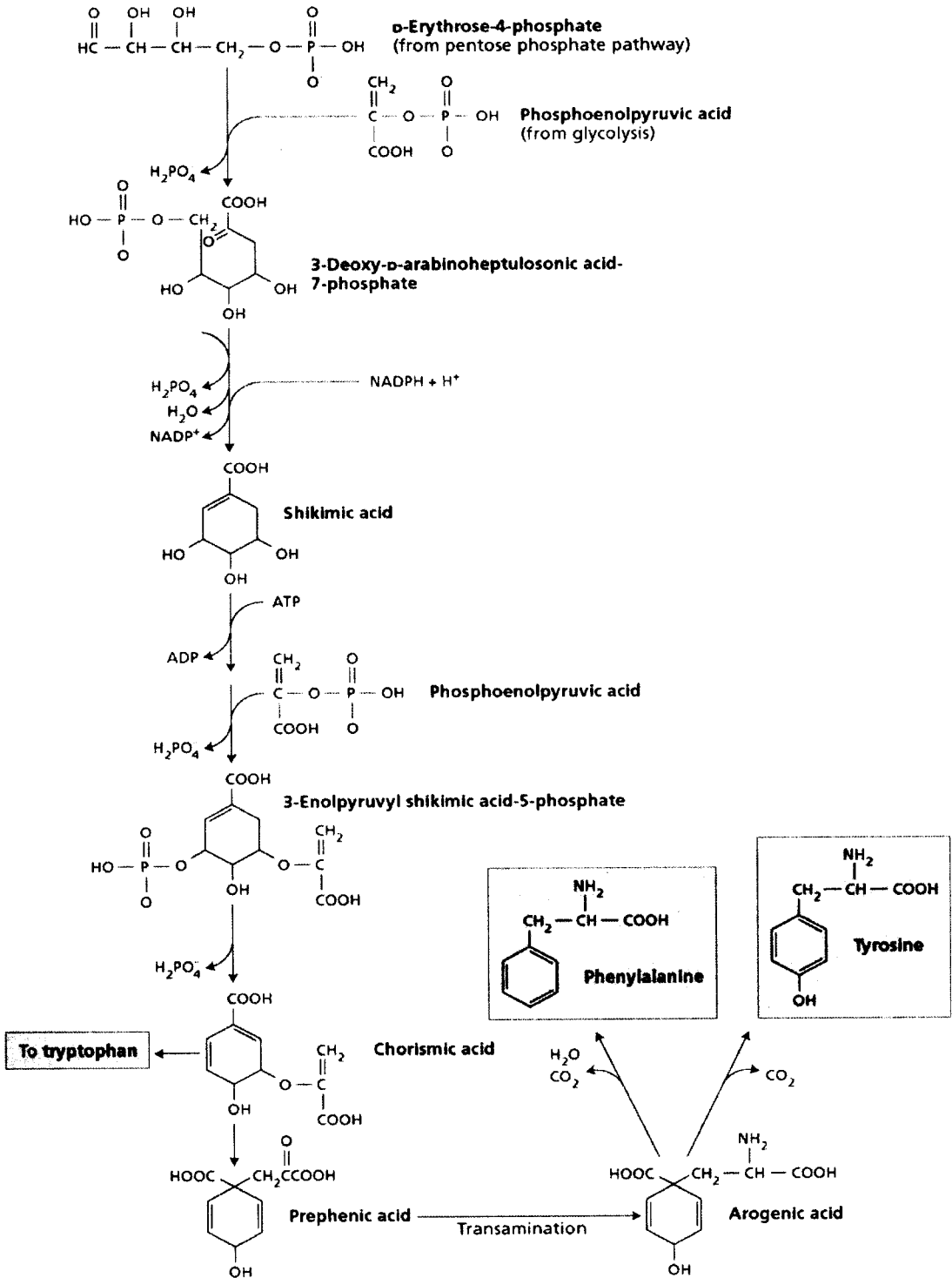


Figure 12. The shikimic acid pathway

ที่มา: Engelberth (2006)

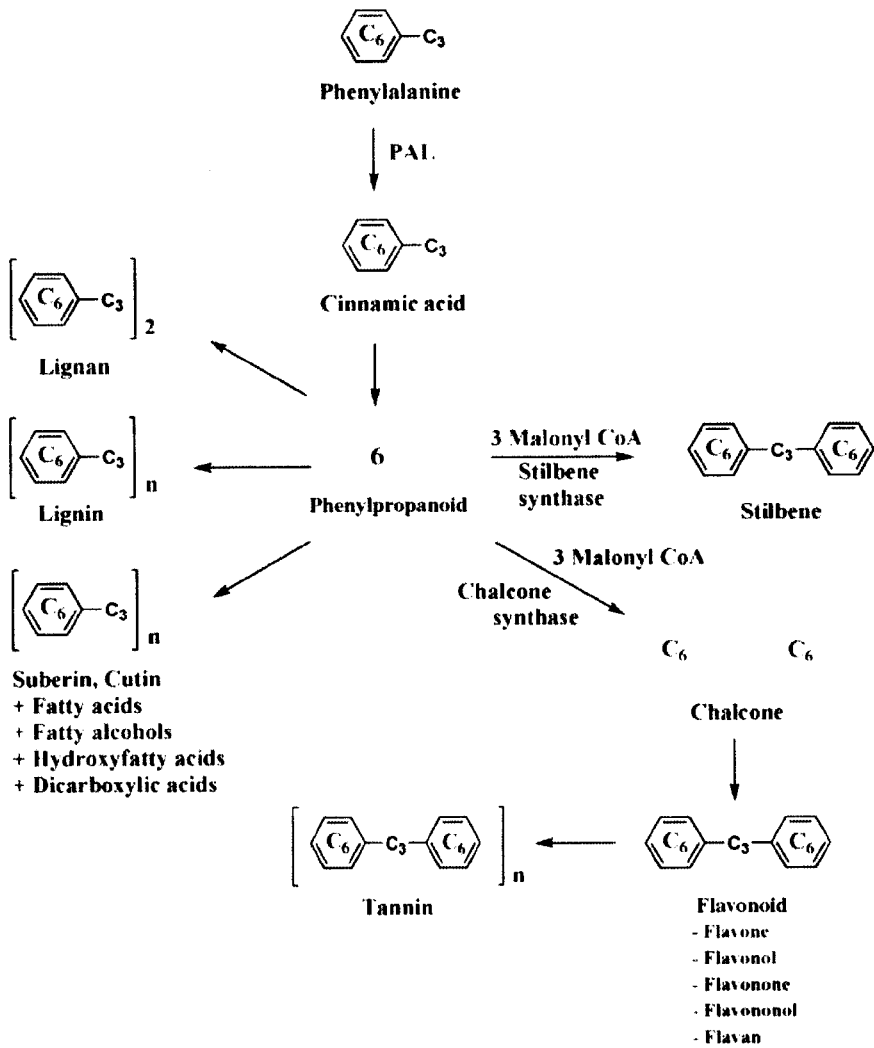


Figure 13. Production of phenylpropanoid, flavonoid, tannin, and other phenolic from phenylalanine, PAL denotes phenylalanine ammonia lyase

ที่มา: Shahidi และ Nacz (2005)

Table 3. Some dietary sources of flavonoids and phenolic acid

Flavonoids and phenolic acid	Source
Catechins	Tea, red wine
Flavonone	Citrus fruits
Flavonols (e.g. Quercetin)	Onions, olives, tea, wine, apples
Anthocyanidins	Cherries, strawberries, grapes, coloured fruits
Caffeic acid	Grapes, wine, olives, coffee, apples, tomatoes, plums, cherries

ที่มา: Croft (1999)

### กิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิก

ความว่องไวในการเป็นสารต้านออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิก ขึ้นอยู่กับโครงสร้างของโมเลกุล โดยเฉพาะตำแหน่งของหมู่ไฮดรอกซิลของฟีนอลและโครงสร้างทางเคมีอื่นๆ สารต้านออกซิเดชันประเภทฟีนอลิก (PhOH) ทำหน้าที่ในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของไขมันและโมเลกุลอื่น โดยการให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลอิสระ โดยเฉพาะอนุมูลอิสระแอลคิล (สมการที่ 20) เนื่องจากอนุมูลอิสระฟีนอกซิล (phenoxy radical, PhO<sup>•</sup>) ที่เกิดมีความเสถียรจึงไม่เหนี่ยวนำให้เกิดอนุมูลอิสระชนิดอื่นต่อไปอีก นอกจากนี้ยังเป็นสารรีดิวซ์กำจัดออกซิเจนที่อยู่ในรูปแอกทีฟ (Rice-Evans and Miller, 1996) และจับโลหะ เช่น เหล็กและทองแดง (Figure 14) ทำให้สามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาเฟนทอน (Fenton) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่เฟอร์รัสไอออนเร่งให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ดังสมการที่ 21

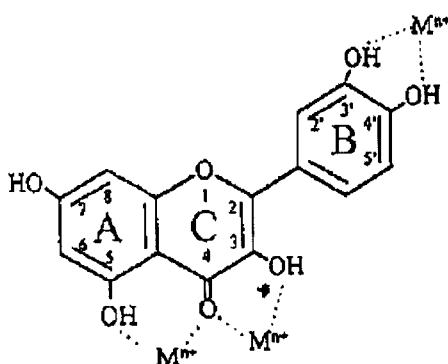
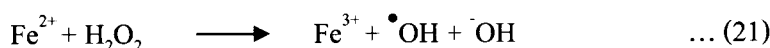


Figure 14. Quercetin binding site to metal chelating

ที่มา: Packer และคณะ (1999)

ศักยภาพของสารประกอบฟีนอลิกในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ขึ้นอยู่กับค่ารีดอกซ์โพเทนเชียล (redox potential) ของหมู่ไฮดรอกซิลในโมเลกุลและโครงสร้างทางเคมีของสารประกอบฟีนอลิก ประสิทธิภาพในการกำจัดอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิก เช่น ฟลาโวนอยด์ (Figure 15) มีมากขึ้น ถ้าในโครงสร้างโมเลกุลมีตำแหน่ง ดังต่อไปนี้ (Rice-Evans and Miller, 1996; Benavente-Garcia *et al.*, 1997)

1. โครงสร้างที่วงแหวนบี มีหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง 3' และ 4' (3', 4'-hydroxyl group) (Figure 16, a) เมื่อเปรียบเทียบโครงสร้างระหว่างเคอร์ซีทิน (quercetin) และเคียมเฟอร์อล

(kaempferol) พบว่าเคียมเฟอร์อล มีสมบัติในการต้านออกซิเดชันน้อยกว่าเคอร์ซีทิน เนื่องจากในวงแหวนบีของเคียมเฟอร์อล ไม่มีหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง 3'

2. โครงสร้างที่วงแหวนซี มีพันธะคู่ที่ตำแหน่ง 2 และ 3 (2,3-double bond) และที่ตำแหน่ง 4 เชื่อมต่อกับหมู่คาร์บอนิล (4-oxo group) (Figure 16, b) เมื่อเปรียบเทียบโครงสร้างระหว่างเคอร์ซีทินและทาคิโฟลิน (taxifolin) พบว่าทาคิโฟลินมีสมบัติในการต้านออกซิเดชันน้อยกว่าเคอร์ซีทิน เนื่องจากในวงแหวนซีของทาคิโฟลินไม่มีพันธะคู่ที่ตำแหน่ง 2 และ 3

3. โครงสร้างที่วงแหวนซี มีหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่งที่ 3 (3-hydroxyl group) และที่วงแหวนเอมีหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่งที่ 5 (Figure 16, c) เมื่อเปรียบเทียบโครงสร้างระหว่างเคอร์ซีทินและลูทีโอลิน (luteolin) พบว่าลูทีโอลินมีสมบัติในการต้านออกซิเดชันน้อยกว่าเคอร์ซีทิน เนื่องจากในวงแหวนซีของลูทีโอลินไม่มีหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่งที่ 3

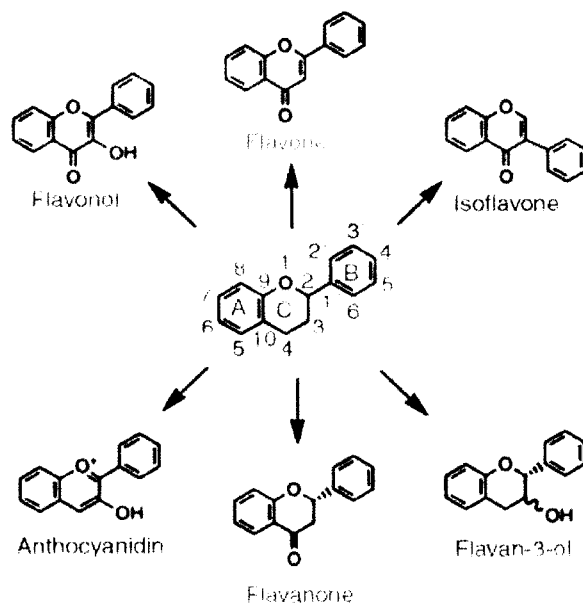


Figure 15. Generic structures of the major flavonoids

ที่มา: Crozier และคณะ (2006)

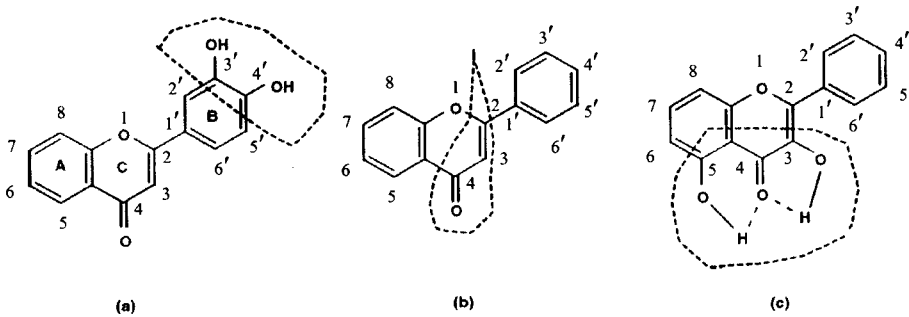


Figure 16. Antioxidant activity structure relationship of flavonoids, (a) a catechol moiety of the B-ring, (b) the 2,3-double bond in conjugation with a 4-oxofunction of a carbonyl group in the C-ring and (c) presence of hydroxyl groups at the 3 and 5 positions  
ที่มา: ดัดแปลงจาก Shi และคณะ (2001)

อย่างไรก็ตามความสามารถหรือประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิก ยังขึ้นอยู่กับกลไกในการจับอนุมูลอิสระ การเชื่อมต่อกับกลูโคส (glycosides) หรือไม่มีกลูโคส (aglycons) และตำแหน่งของกลูโคสที่จับอยู่ในโครงสร้างของฟลาโวนอยด์ ดังแสดงใน Table 4

Table 4. Effect of glycosylation or methylation of flavonols on their antioxidant activity

Flavonol (aglycon)	Antioxidant activity* (%)	Glucoside or methoxyl derivative	Antioxidant activity (%)
Kaempferol	65.3	Kaempferide	60.0
Kaempferol	65.3	Kaempferol 3, 7 - <i>O</i> -dirhamnoside	-17.5
Quercetin	63.6	Quercetin 3- <i>O</i> -glucoside-7- <i>O</i> -rhamnoside	-6.2
Quercetin	63.6	Quercetin 3- <i>O</i> -rhamnoglucoside (rutin)	-10.2
Quercetin	63.6	3,5,7,3',4'-pentamethoxyflavone	1.1
Laricytrin	28.5	Laricytrin 3'- <i>O</i> -glucoside	26.2
Laricytrin	28.5	Laricytrin 3,3'- <i>O</i> -diglucoside	1.1
Laricytrin	28.5	Laricytrin 3,7,3'- <i>O</i> -triglucoside	-6.2
Laricytrin	28.5	3,5,7,3',4',5,-hexamethoxyflavone	2.3
Myricetin	18.4	3,5,7,3',4',5,-hexamethoxyflavone	2.3

\*Antioxidant activity was calculated as percent inhibition of oxidation versus control sample without flavonoid added by an aqueous emulsion system of  $\beta$ -carotene and linoleic acid model  
ที่มา: Burda และ Oleszek (2001)



นอกจากนี้พบว่าหมู่ไฮดรอกซิลในโครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิก มีความสัมพันธ์กับกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน กล่าวคือ สารประกอบฟีนอลิกที่มีจำนวนของหมู่ไฮดรอกซิลมาก จะแสดงกิจกรรมการต้านออกซิเดชันสูง (Fukumoto and Mazza, 2000; Pulido *et al.*, 2000) ถ้าจำนวนหมู่ไฮดรอกซิลลดลงไปหนึ่งหมู่ ทำให้กิจกรรมการต้านออกซิเดชันลดลงเล็กน้อย แต่ถ้าจำนวนหมู่ไฮดรอกซิลลดลงสองหมู่ กิจกรรมการต้านออกซิเดชันลดลงอย่างมีนัยสำคัญ

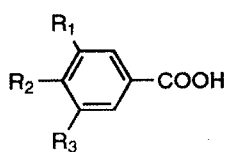
### การแบ่งกลุ่มของสารประกอบโพลีฟีนอลิก

โครงสร้างของสารประกอบโพลีฟีนอลิกประกอบด้วยวงแหวนอะโรมาติกและหมู่ไฮดรอกซิล สามารถแบ่งออกเป็นกลุ่ม โดยใช้จำนวนคาร์บอนเป็นเกณฑ์ ได้ตาม Table 5 และมีโครงสร้างดังแสดงใน Figure 17

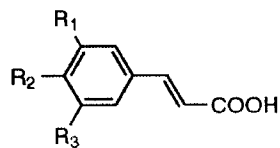
Table 5. The classes of phenolic compounds in plants

Basic skeleton	Class	Examples
C <sub>6</sub>	Simple phenols	Phenol, guaiacol
	Benzoquinones	2,6-Dimethoxybenzoquinone
C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>	Hydroxybenzoic acids	Gallic, <i>p</i> -hydroxybenzoic, salicylic
C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub>	Acetophenone	3-Acetyl-6-ethoxybenzaldehyde
	Phenylacetic acid	<i>p</i> -Hydroxyphenylacetic
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	Hydroxycinnamic acids	Caffeic, ferulic, <i>p</i> -coumaric
	Phenylpropenes	Myristicin
	Coumarins	Aesculetin
	Isocoumarin	Bergenon
C <sub>6</sub> -C <sub>4</sub>	Chromones	Eugenin
	Naphtoquinones	Juglone
	Xanthone	Mangiferin
C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub> -C <sub>6</sub>	Stilbene	Resveratrol
	Anthraquinoids	Emodin
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>	Flavonoids	Quercetin, catechin
	Isoflavonoids	Genistein
(C <sub>6</sub> C <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Lignans	Pinoresinol
	Neoligans	Eusiderin
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> ) <sub>2</sub>	Biflavonoids	Amentoflavone
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>n</sub>	Lignins	
(C <sub>6</sub> ) <sub>n</sub>	Catechol melanine	
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> ) <sub>n</sub>	Condensed tannis	

ที่มา: Waterman และ Mole (1994)



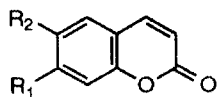
Benzoic acid derivatives



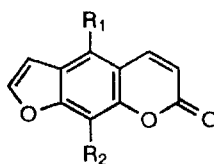
Cinnamic acid derivatives

Acid	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
<i>p</i> -Hydroxybenzoic	H	OH	H
Protocatechuic	OH	OH	H
Vanillic	OCH <sub>3</sub>	OH	H
Syringic	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>
Gallic	OH	OH	OH

Acid	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
<i>p</i> -Coumaric	H	OH	H
Caffeic	OH	OH	H
Ferulic	OCH <sub>3</sub>	OH	H
Sinapic	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>



Simple coumarins



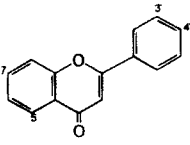
Furanocoumarins

Acid	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
Coumarin	H	H
Umbelliferone	OH	H
Aesculetin	OH	OH
Scopoletin	OH	OCH <sub>3</sub>

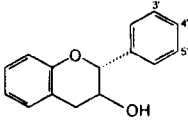
Acid	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
Psoralen	H	H
Xanthoxin	H	OCH <sub>3</sub>
Bergapten	OCH <sub>3</sub>	H
Bergaptol	OH	H

Figure 17. Structures of phenolic compounds

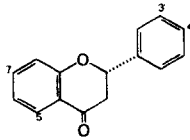
ที่มา: Shahidi และ Naczk (2004)

 Flavones				
	5	7	3'	4'
luteolin	OH	OH	OH	OH
Apigenin	OH	OH	H	OH
chrysin	OH	OH	H	H

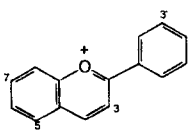
  

 Flavans						
	3	5	7	3'	4'	5'
(+)-catechin	$\beta$ OH	OH	OH	OH	OH	H
(-)-epicatechin	$\alpha$ OH	OH	OH	OH	OH	H
(-)-epigallocatechin	$\alpha$ OH	OH	OH	OH	OH	OH

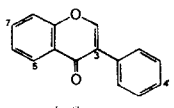
  

 Flavanonones				
	5	7	3'	4'
hesperetin	OH	OH	OH	OH
naringenin	OH	OH	H	OH

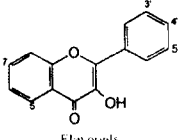
  

 Flavylum Salts					
	3	5	7	3'	4'
cyanidin	OH	OH	OH	OH	OH
cyanin	O-glc	OH	OH	OH	OH
pelargonidin	OH	OH	OH	H	OH

 Isoflavones			
	5	7	4'
genistein	OH	OH	OH
genistin	OH	O-glc	OH
daidzein	H	OH	OH
daidzin	H	O-glc	OH
biochanin A	OH	OH	OCH <sub>3</sub>
formononetin	H	OH	OCH <sub>3</sub>

 Flavonols					
	5	7	3'	4'	5'
quercetin	OH	OH	OH	OH	H
kaempferol	OH	OH	H	OH	H
galangin	OH	OH	H	H	H
fisetin	H	OH	OH	OH	H
myricetin	OH	OH	OH	OH	OH

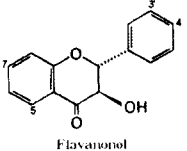
 Flavanonol				
	5	7	3'	4'
toxifolin	OH	OH	OH	OH

Figure 17. Structures of phenolic compounds (continued)

ที่มา: Pietta (2000)

สมบัติการต้านออกซิเดชันที่เกิดขึ้นในสิ่งมีชีวิต (*In Vivo*) และที่ได้รับจากการ  
บริโภคสามารถสรุปได้ดัง Table 6

Table 6. Defense systems *In Vivo* against oxidative damage

1. Preventive antioxidant: suppress the formation of free radicals	
1.1 Non-radical decomposition of hydroperoxides and hydrogen peroxide	
Catalase	Decomposition of hydrogen peroxide $2\text{H}_2\text{O}_2 \longrightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$
Glutathione peroxidase (cellular)	Decomposition of hydrogen peroxide and free fatty acid hydroperoxide $\text{H}_2\text{O}_2 + 2\text{GSH} \longrightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{GSSG}$
Glutathione peroxidase (plasma)	$\text{LOOH} + 2\text{GSH} \longrightarrow \text{LOH} + \text{H}_2\text{O} + \text{GSSG}$
Phospholipid hydroperoxide Glutathione peroxidase	Decomposition of hydrogen peroxide and phospholipid hydroperoxide $\text{PLOOH} + 2\text{GSH} \longrightarrow \text{PLOH} + \text{H}_2\text{O} + \text{GSSG}$
Peroxidase	Decomposition of phospholipid hydroperoxide Decomposition of hydrogen peroxide and lipid hydroperoxide $\text{LOOH} + \text{AH}_2 \longrightarrow \text{LOH} + \text{H}_2\text{O} + \text{A}$ $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{AH}_2 \longrightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{A}$
Glutathione S-transferase	Decomposition of lipid hydroperoxide
1.2 Sequestration of metal by chelation	
Transferrin, lactoferrin	Sequestration of iron
Haptoglobin	Sequestration of hemoglobin
Heamopexin	Sequestration of heme
Ceruloplasmin, albumin	Sequestration of copper
1.3 Quenching of active oxygen species	
Superoxide dismutase (SOD)	Disproportionation of superoxide $2\text{O}_2^{\bullet} + 2\text{H}^+ \longrightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$
Carotenoids, vitamin E	Quenching singlet oxygen
2. Radical-scavenging antioxidants: scavenge radicals to inhibit chain initiation and break chain propagation	
Hydrophilic: Vitamin C, uric acid bilirubin, albumin	
Lipophilic: Vitamin E, ubiquinol, carotenoids, flavonoids	

ที่มา: Noguchi และ Niki (1999)

#### 4.4 ประเภทของสารต้านออกซิเดชันในอาหาร

สารต้านออกซิเดชันในอาหารสามารถแบ่งได้เป็น 4 ประเภท ตามหน้าที่ของการเป็นสารต้านออกซิเดชัน โดยแบ่งเป็นสารต้านออกซิเดชันปฐมภูมิ (primary หรือ chain-breaking antioxidant) สารต้านออกซิเดชันแบบเสริมฤทธิ์ (synergist) สารต้านออกซิเดชันทุติยภูมิ (secondary antioxidants) และสารต้านออกซิเดชันแบบหลากหลาย (miscellaneous antioxidants) (Rajalakshmi and Narasimhan, 1996)

##### 4.4.1 สารต้านออกซิเดชันปฐมภูมิ

สารต้านออกซิเดชันปฐมภูมิ ยับยั้งออกซิเดชันได้โดยให้ไฮโดรเจนหรืออิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ ทำให้อนุมูลอิสระกลายเป็นสารที่มีความเสถียร สารประกอบฟีโนลิกหลายชนิดที่เป็นสารต้านออกซิเดชันปฐมภูมิ เช่น โทโคฟีรอล ฟลาโวนอยด์ ยูจีนอล (eugenol) และกรดโรสแมรินิก (rosmarinic acid) สารต้านออกซิเดชันเหล่านี้มีประสิทธิภาพเมื่อมีความเข้มข้นน้อยๆ แต่เมื่อความเข้มข้นสูงๆอาจเป็นโปรออกซิเดนท์ (Rajalakshmi and Narasimhan, 1996)

##### 4.4.2 สารต้านออกซิเดชันแบบเสริมฤทธิ์

เป็นสารต้านออกซิเดชันที่ทำงานร่วมกัน คือจับออกซิเจน จับโลหะ โดยสารต้านออกซิเดชันที่จับออกซิเจน เช่น กรดแอสคอร์บิก แอสคอร์บิลพาลมิเตต (ascorbyl palmitate) ซัลไฟต์ (sulfite) และอีรีโทรเบท (erythorbates) ส่วนสารจับโลหะ ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ กรดซิตริก และฟอสเฟต ซึ่งสารดังกล่าวไม่ได้เป็นสารต้านออกซิเดชันโดยตรง แต่เมื่อทำงานร่วมกับสารต้านออกซิเดชันปฐมภูมิ ทำให้ประสิทธิภาพของการต้านออกซิเดชันสูงขึ้น

##### 4.4.3 สารต้านออกซิเดชันทุติยภูมิ

สารต้านออกซิเดชันทุติยภูมิ เป็นสารต้านออกซิเดชันที่ทำปฏิกิริยากับไฮโดรเปอร์ออกไซด์ ได้ผลิตภัณฑ์เป็นสารที่มีความเสถียร ซึ่งอาจเรียกว่า ไฮโดรเปอร์ออกไซด์ดีคอมโพสเซอร์ (hydroperoxide decomposers)

##### 4.4.4 สารต้านออกซิเดชันแบบหลากหลาย

เป็นสารต้านออกซิเดชัน ที่เป็นได้ทั้งสารต้านออกซิเดชันปฐมภูมิ สารต้านออกซิเดชันทุติยภูมิหรือสารต้านออกซิเดชันแบบเสริมฤทธิ์ สารประกอบที่เป็นสารต้านออกซิเดชันแบบหลากหลาย ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ และอนุพันธ์ และกรดอะมิโน

#### 4.5 กลไกการทำงานของสารต้านออกซิเดชัน (Yanishlieva-Maslarova, 2001)

สารต้านออกซิเดชันมีกลไกการทำงานแบ่งได้เป็น 6 แบบใหญ่ๆ คือ

##### 4.5.1 ดักจับอนุมูลอิสระ/ให้ไฮโดรเจน (radical scavenger/ hydrogen donor)

เป็นสารที่สามารถยับยั้งการเกิดออกซิเดชัน โดยการให้ไฮโดรเจนอะตอมกับอนุมูลอิสระเพอร์ออกไซด์ เกิดเป็นไฮโดรเปอร์ออกไซด์ ซึ่งเป็นรูปที่เสถียร ไม่เกิดการเหนียว

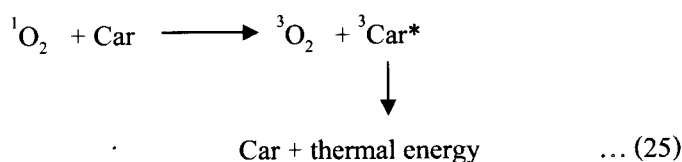
ให้เกิดปฏิกิริยาอีก ในขณะที่ตัวของสารยับยั้งจะเกิดเป็นอนุมูลอิสระแทน และสามารถจับกับอนุมูลอิสระเพอร์ออกไซด์ตัวอื่นให้อยู่ในรูปที่เสถียรได้อีก ดังสมการที่ 22-24



สารประกอบที่สามารถให้ไฮโดรเจนอะตอมกับอนุมูลอิสระได้นั้น จะต้องมีรีดักชันโพเทนเชียล (reduction potential) ต่ำกว่าอนุมูลอิสระ (Buettner, 1993) โดยหมู่ไฮดรอกซิลของสารประกอบฟีนอลิก มีประสิทธิภาพในการให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลอิสระ และเปลี่ยนเป็นอนุมูลอิสระฟีนอลิกที่เสถียร

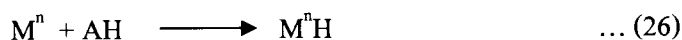
#### 4.5.2 ยับยั้งการทำงานของซิงเกิลออกซิเจน (singlet oxygen quencher)

สารกลุ่มแคโรทีนอยด์ สามารถเปลี่ยนออกซิเจนที่อยู่ในรูปของซิงเกิลออกซิเจนให้กลายเป็นทริปเพิลออกซิเจน (triplet oxygen,  $^3\text{O}_2$ ) และปล่อยพลังงานที่ได้รับออกไปในรูปของความร้อน ดังสมการที่ 25



#### 4.5.3 จับโลหะ (metal chelating agents)

เป็นตัวยับยั้งโปรออกซิแดนซ์ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นอนุมูลโลหะชนิดต่างๆ ดังสมการที่ 26



ตัวอย่างสารยับยั้งออกซิเดชันในกลุ่มนี้ ได้แก่ กรดแอสคอร์บิก กรดซิตริก กรดทาร์ทาริก EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid) และฟลาโวนอยด์

#### 4.5.4 หยุดปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระ (chain-breaking)

สารในกลุ่มนี้ ได้แก่ วิตามินอี ซึ่งสามารถรับอิเล็กตรอนจากอนุมูลอิสระ ทำให้หยุดปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระ

#### 4.5.5 เสริมฤทธิ์ (synergism)

สารชนิดนี้จะช่วยสนับสนุนให้สารต้านออกซิเดชันทำงานได้ดีขึ้น ตัวอย่างเช่น การทำงานร่วมกันระหว่างอัลฟาโทโคฟีรอลกับกรดแอสคอร์บิก กรดแอสคอร์บิกไม่สามารถทำงานในระบบที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) ได้เหมือนกับอัลฟาโทโคฟีรอล แต่จะให้ไฮโดรเจน

อะตอมแก่อนุมูลที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างอัลฟาโทโคฟีรอลกับอนุมูลอิสระเพอร์ออกซิล เปลี่ยนรูปกลับเป็นอัลฟาโทโคฟีรอล ที่สามารถทำงานได้ (Frankel, 1998)

#### 4.5.6 ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (enzyme inhibition)

สารประกอบฟีนอลิกบางชนิด เช่น ฟลาโวนอยด์ กรดฟีนอลิก และแกแลท (gallates) สามารถยับยั้งเอนไซม์ไลพอกซีจีเนส โดยสามารถเข้าจับกับไอออนของเหล็กซึ่งเป็น โคแฟคเตอร์ (cofactor) ของเอนไซม์ ส่งผลต่อการทำงานของเอนไซม์ดังกล่าว (Puerta, 1999)

### 5. เครื่องดื่มชา

เครื่องดื่มชา ประกอบด้วยเครื่องดื่มหลายชนิด เช่น ชา ตะไคร้ พริกชี้หนู ใบมะกรูด เป็นต้น มีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับคุณสมบัติต่างๆ ของเครื่องดื่มเหล่านี้อย่างกว้างขวาง ทั้งชาวไทยและชาวต่างชาติ โดยรายละเอียดของเครื่องดื่มที่ใช้เป็นส่วนประกอบของเครื่องดื่มชา ดังนี้

#### 5.1 ชา

**ชื่อวิทยาศาสตร์** *Alpinia galanga* (Linn.) Swartz,  
*Languas galanga* (Linn.) Stuntz.

**วงศ์** ZINGIBERACEAE

**ชื่อสามัญ** Gerater galangal

**ลักษณะทางพฤกษศาสตร์** ชาเป็นพืชล้มลุก อายุหลายปี ลำต้นลงหัวอยู่ใต้ดิน เรียกว่า “เหง้า” ลักษณะภายนอกของเหง้ามีข้อและปล้องเห็นได้ชัดเจน มักแตกแขนงเป็นง่าม มีสีน้ำตาลอมแสด กลิ่นฉุน ส่วนที่อยู่เหนือดินคือก้านและใบสูงประมาณ 1.0-2.0 เมตร ใบเป็นใบเดี่ยว รูปไข่ยาวหรือรูปรีขอบขนานคล้ายใบพาย ปลายใบแหลมสีเขียวเข้มเป็นมัน มีกาบใบหุ้มซ้อนกันคล้ายลำต้น ดอกออกเป็นช่อที่ยอด ก้านช่อดอกมีขน ดอกย่อยขนาดเล็กสีชมพูขาวอมม่วงแดง ผลกลมหรือค่อนข้างรี เปลือกสีแดงอมส้ม ผลแก่จัดมีสีดำขนาดประมาณ 1.0 เซนติเมตร ภายในเมล็ด 2-3 เมล็ด

**ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์** เมื่อศึกษาเหง้าชาตัดขวาง (cross section) ด้วยกล้องจุลทรรศน์พบว่า มีเม็ดแป้งกระจายอยู่ในเซลล์พาราไคมา (parenchyma cell) มีเซลล์ที่มีน้ำมันชั้นบรรจุอยู่ (นิจิติริ เรื่องรังษี, 2534) เหง้าชาประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหยร้อยละ 0.04 ในน้ำมันหอมระเหยประกอบด้วยสารหลายชนิด เช่น เมทิลซินนามาต (methyl cinnamate) ร้อยละ 48 จินีอล (gineol) ร้อยละ 20-30 ยูจีนอล แคมเปอร์ (camphor) ไพนีน (pinenes) เป็นต้น Zaeoung และคณะ (2005) พบว่าสารสกัดชาด้วยเมธานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ในขณะที่สารสกัดด้วยน้ำและน้ำมันหอมระเหยมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำมาก สอดคล้องกับการทดลองของ Mahae และ Chaiseri (2009) พบว่าสารสกัดชาด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด



ฟลาโวนอยด์และความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH สูงกว่าสารสกัดด้วยน้ำและน้ำมันหอมระเหย โดยมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 31.49, 8.25 และ 5.01 มิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อกรัม (mg GAE/g) ปริมาณฟลาโวนอยด์เท่ากับ 13.78, 1.48 และ 0.20 มิลลิกรัมสมมูลย์ของคาเทชินต่อกรัม (mg CE/g) และมี  $IC_{50}$  (ความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่สามารถลดความเข้มข้นของอนุมูลอิสระ DPPH ลงร้อยละ 50) เท่ากับ 10.66, 55.48 และ 455.43 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เทียบกับอัลฟาโทโคฟีรอล 1.45 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ BHA 0.41 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และพบว่าสารสำคัญในสารสกัดฆ่าด้วยเอธานอลร้อยละ 50 คือ อะซิโทซิชาวิกอลอะซิเตท (1'-acetoxychavicol acetate) (10.56 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด) และคาเทชิน (1.74 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด) ส่วนสารสกัดด้วยน้ำมีสารสำคัญคือ ไมริซีทิน (myricetin) (14.60 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด) และน้ำมันหอมระเหยมีสารสำคัญคือ เมธิลยูจีนอล (4,130.37 ไมโครกรัมต่อกรัม) ชาวิกอล (chavicol) (2,390.45 ไมโครกรัมต่อกรัม) และยูจีนอล (728.30 ไมโครกรัมต่อกรัม)

Oonmetta-aree (2005) ศึกษาองค์ประกอบของสารสกัดฆ่าด้วยเอธานอลและเมธานอล โดยใช้เทคนิค TLC (Thin layer chromatography) พบว่าในสารสกัดทั้งสองประกอบด้วยอะซิโทซิชาวิกอลอะซิเตท เป็นองค์ประกอบหลัก และเมื่อวิเคราะห์โดยใช้เทคนิค GC-MS (Gas chromatography-mass spectrometry) พบว่าในสารสกัดของฆ่าด้วยเอธานอลประกอบด้วยอะซิโทซิชาวิกอลอะซิเตทร้อยละ 76.49 (ปริมาตรต่อปริมาตร) พาราเคมาริลไดอะซิเตท (*p*-coumaryl diacetate) ร้อยละ 7.96 (ปริมาตรต่อปริมาตร) กรดปาล์มมิติก (palmitic acid) ร้อยละ 3.19 (ปริมาตรต่อปริมาตร) อะซิโทซิยูจีนอลอะซิเตท (1'-acetoxyeugenol acetate) ร้อยละ 3.06 (ปริมาตรต่อปริมาตร) เบต้าไบซาโบลีน ( $\beta$ -bisabolene) ร้อยละ 2.31 (ปริมาตรต่อปริมาตร) และกรดโอเลอิก (9-octadecenoic acid) ร้อยละ 2.28 (ปริมาตรต่อปริมาตร) และพบอะซิโทซิชาวิกอลอะซิเตท ร้อยละ 78.41 (ปริมาตรต่อปริมาตร) พาราเคมาริลไดอะซิเตท ร้อยละ 6.77 (ปริมาตรต่อปริมาตร) และอะซิโทซิยูจีนอลอะซิเตท ร้อยละ 2.40 (ปริมาตรต่อปริมาตร) เป็นองค์ประกอบในสารสกัดฆ่าด้วยเมธานอล ในขณะที่ Bendjeddou และคณะ (2003) รายงานว่าในสารสกัดฆ่าด้วยน้ำประกอบด้วยสารประกอบที่สามารถละลายน้ำได้ เช่น โพลีแซคคาไรด์และโปรตีน

Jirovetz และคณะ (2003) วิเคราะห์ปริมาณของสารประกอบจากน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากใบ ลำต้น เหง้าและรากของข่าจากอินเดียใต้ โดยใช้เทคนิค GC-FID (Gas chromatography-flame ionization detector) และ GC-MS พบว่าน้ำมันหอมระเหยในเหง้าฆ่าประกอบด้วยสารสำคัญ ได้แก่ ซินีโอล ร้อยละ 28.4 เฟนซิลอะซิเตท (fenchyl acetate) ร้อยละ

18.4 แคมเปอร์ ร้อยละ 7.7 เมทิลซินนามेट ((*E*)-methyl cinnamate) ร้อยละ 4.2 และกัวไอโอล (guaiol) (ร้อยละ 3.3) ส่วน Jantan และคณะ (2004) พบว่าน้ำมันหอมระเหยในเหง้าข่าของ มาเลเซีย ประกอบด้วยสารสำคัญ คือ ซินีโอล ร้อยละ 40.5 เบต้าไบซาโบลีน ( $\beta$ -bisabolene) ร้อยละ 8.4 ฟาร์นิซอล ((*Z, E*)-farnesol) ร้อยละ 3.8 เบต้าคาร์รารีโอฟิลล์ลิน ( $\beta$ -caryophyllene) ร้อยละ 3.0 และเบต้าฟาร์นิซีน ((*E*)- $\beta$ -farnesene) ร้อยละ 3.2

Natta และคณะ (2008) ศึกษา น้ำมันหอมระเหยของเหง้าข่าที่ได้จากการกลั่นด้วย ใอน้ำ การสกัดโดยใช้ตัวทำละลายคือปิโตรเลียมอีเธอร์และเอธานอล พบว่าน้ำมันหอมระเหยที่ได้ จากการกลั่นด้วยใอน้ำมีสารสำคัญคือ เมธิลซาวิคอล (ร้อยละ 37.9) ส่วนสารสำคัญที่พบในสาร สกัดด้วยตัวทำละลายคือเอทิลพาราเมทอกซีซินนามेट (ethyl-*p*-methoxycinnamate) (พบในสาร สกัดด้วยปิโตรเลียมอีเธอร์ ร้อยละ 49.8 สารสกัดด้วยปิโตรเลียมอีเธอร์แล้วสกัดด้วยเอธานอล ร้อยละ 68.2 และสารสกัดด้วยเอธานอล ร้อยละ 74.6)

### ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

5.1.1 มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย (Arambewelaa *et al.*, 1999; Oonmetta-aree, 2005; Vuddhakul *et al.*, 2007) นำเชื้อรา (Prachayabreud *et al.*, 1996; Ficker *et al.*, 2003; Khattak *et al.*, 2005) และยีสต์ (Oonmetta-aree, 2005)

5.1.2 มีฤทธิ์ต้านมะเร็ง (Moffatt *et al.*, 2000; Lee and Houghton, 2005; Zaeoung *et al.*, 2005)

5.1.3 น้ำมันหอมระเหยจากเหง้าข่ามีฤทธิ์ขับลม

5.1.4 โพลีแซคคาไรด์จากข่า มีคุณสมบัติในการเพิ่มภูมิคุ้มกันทั้งระบบฟาโกไซติก (phagocytic) และลิมโฟไซติก (lymphocytic) (Bendjeddou *et al.*, 2003)

5.1.5 ยับยั้งการจับตัวกันของเกล็ดเลือดกระต่าย โดยมี  $IC_{50}$  เท่ากับ  $73.9 \pm 2.9$  (Jantan *et al.*, 2005)

5.1.6 ลดระดับน้ำตาลในเลือด (Akhtar *et al.*, 2002)

5.1.7 ลดความดันโลหิต (Othman *et al.*, 2006)

5.1.8 ยับยั้งการเกิดภูมิแพ้ (Matsuda *et al.*, 2003a)

5.1.9 ยับยั้งการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร (Matsuda *et al.*, 2003b)

5.1.10 ยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Cheah and Hasim, 2000; Juntachote and Berghofer, 2005; Zaeoung *et al.*, 2005; Juntachote *et al.*, 2006a; Juntachote *et al.*, 2007; Mayachiewa and Devahastin, 2008)

### ส่วนที่ใช่ เหง้าอ่อนและแก่

**ประโยชน์ทางด้านอาหาร** เหง้าข้าทั้งอ่อนและแก่ใช้ปรุงอาหารคาว ข้าอ่อนและดอกข่านำมาใช้เป็นผักจิ้มน้ำพริก ไก่ต้มข้า ข้าแก่ซึ่งมีรสชาติเผ็ดร้อน ใช้เป็นเครื่องเทศปรุงรสและแต่งกลิ่น ใช้เป็นเครื่องปรุงในน้ำพริกแกงต่างๆ น้ำจิ้มต่างๆ (อบเชย วงศ์ทอง และชนินฐา พูนผลกุล, 2545)

## 5.2 ตะไคร้

**ชื่อวิทยาศาสตร์** *Cymbopogon citratus* Stapf.

**วงศ์** GRAMINEAE

**ชื่อสามัญ** Lemon grass, Lapine

**ลักษณะทางพฤกษศาสตร์** ตะไคร้เป็นพืชล้มลุกจำพวกหญ้า ขึ้นอยู่รวมเป็นกอมีอายุหลายปี มีความสูงประมาณ 1.0 เมตร ลำต้นตั้งตรงมีข้อและปล้องสั้นค่อนข้างแข็ง ลำต้นส่วนที่อ่อนมีใบเรียงซ้อนสลับกันแน่นมาก กาบใบเป็นแผ่นยาวโอบซ้อนกันจนดูแข็ง ใบเป็นใบเดี่ยวรูปรียาว ปลายใบเรียวแหลม ผิวใบสากมือทั้งสองด้าน ขอบใบมีขนขึ้นอยู่เล็กน้อย ก้านใบสีเขียวฉ่ำหรือม่วงอ่อนแผ่เป็นกาบ เมื่อขยี้ดมจะมีกลิ่นหอม ดอกออกเป็นช่อกระจาย ช่อดอกย่อยมีก้านออกเป็นคู่ๆ ในแต่ละคู่จะมีใบประดับรองรับแต่ดอกออกยก

**ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์** ใบและลำต้นมีสารพวกอัลคาลอยด์ แทนนิน และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ (cardiac glycosides) ซึ่งมีรายงานว่าสารเหล่านี้เกี่ยวข้องกับการต้านจุลินทรีย์ (Adegoke and Odesola, 1996) น้ำมันหอมระเหยประกอบด้วยซิทรอล (citral) ในปริมาณมากที่สุด คือประมาณร้อยละ 65-80 นอกจากนี้มียูจินอล จีราโนอล (geraniol) ลินาลูล (linalool) เมนทอล (menthol) นิโรไลดอล (nerolidol) แคมเปอรี ซิโตรเนลลอล (citronellol) เมธิลเฮพทานอล (methylheptenol) เฟอรัฟรูอล (furfural) และเมธิลเฮพทีโนน (methylheptenone) เป็นต้น Schaneberg และ Khan (2002) พบนัราล (neral) เจอร์ราโนอล (geranial) เจอร์ราโนอล (geraniol) ลิโมนีน (limonene) ซิโตรเนลลาล (citronellal) และเบต้าไมร์ซีน ( $\beta$ -myrcene) ในน้ำมันหอมระเหยของตะไคร้ที่สกัดโดยใช้เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน อะซิโตนและเมทานอล ชลลดา กุลสถาพร และอมรทิพย์ สมสุข (2545) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตะไคร้ โดยนำน้ำมันหอมระเหย สารสกัดตะไคร้ด้วยเมทานอล และสารสกัดตะไคร้ด้วยน้ำ มาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH พบว่าสารสกัดด้วยน้ำและสารสกัดด้วยเมทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ที่ดี โดยมี  $EC_{50}$  (ความเข้มข้นที่กำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ได้ร้อยละ 50) เท่ากับ 49.76 และ 52.59 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนน้ำมันหอมระเหยซึ่งองค์ประกอบหลักคือ เจอร์ราโนอลและนัราล (วิเคราะห์โดย GC-MS) มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำมาก ( $EC_{50} > 100$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) นอกจากนี้สามารถแยกสารบริสุทธิ์จากสารสกัดตะไคร้ด้วยเมทานอลได้ 1 ชนิดซึ่งเป็นสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ คือ ลูทีโอลิน ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีกว่า BHT (butylated

hydroxytoluene) 4 เท่า โดยลูทีโอลินมี  $EC_{50}$  เท่ากับ 5.42 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (18.93 ไมโครโมลาร์) ในขณะที่ BHT มี  $EC_{50}$  เท่ากับ 17.68 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (80.36 ไมโครโมลาร์) Cheel และคณะ (2005) พบว่าสารสกัดตะไคร้ด้วยเมธานอล แสดงสมบัติในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ซุปเปอร์ออกไซด์แอนไอออน และยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส (xanthine oxidase, XO) และลิพิดเพอร็อกซิเดชันในเม็ดเลือดแดงของมนุษย์ ได้ดีกว่าสารสกัดด้วยเมธานอลความเข้มข้นร้อยละ 50, 70 และสารสกัดด้วยน้ำโดยการแช่ (infusion) และการต้มเคี่ยว (decoction) สารที่สามารถแยกได้จากสารสกัดด้วยเมธานอล ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ (ไอโซออเรียนทิน (isorientin) ไอโซสคอปาริน (isoscoparin) สเวอ์เทียจาโปนิน (swertiajaponin) ไอโซออเรียนทินออโตรามโนไซด์ (isorientin 2-O-rhamnoside) และออเรียนทิน (orientin)) กรดคลอโรจีนิก และกรดคาฟเฟอิก ซึ่งสารดังกล่าวสามารถกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ซุปเปอร์ออกไซด์แอนไอออน และยับยั้งการเกิดลิพิดเพอร็อกซิเดชันในเม็ดเลือดแดงของมนุษย์ โดยไอโซออเรียนทินและออเรียนทิน แสดงคุณสมบัติในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ( $IC_{50} = 9-10$  ไมโครโมลาร์) และยับยั้งการเกิดลิพิดเพอร็อกซิเดชัน (ร้อยละ 70 ที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ส่วนกรดคาฟเฟอิกและคลอโรจีนิก แสดงคุณสมบัติในการกำจัดซุปเปอร์ออกไซด์แอนไอออน ( $IC_{50} = 68.8$  และ  $54.2$  ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ) และกรดคาฟเฟอิกสามารถยับยั้งการเกิดลิพิดเพอร็อกซิเดชัน (ร้อยละ 85 ที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) Figueirinha และคณะ (2008) พบว่าสารสกัดตะไคร้ด้วยน้ำโดยการแช่ แสดงสมบัติในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH โดยสารสำคัญที่พบในสารสกัดคือ แทนนิน กรดฟีนอลิก (อนุพันธ์ของกรดคาฟเฟอิกและพาราความาโรล) และฟลาโวนไกลโคไซด์ (อนุพันธ์ของอะพิจินิน และลูทีโอลิน)

### ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

- 5.2.1 น้ำมันหอมระเหยของตะไคร้มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อราและแบคทีเรีย (สถาบันการแพทย์แผนไทย, 2542; Adegoke and Odesola, 1996)
- 5.2.2 น้ำมันหอมระเหยของตะไคร้สามารถลดไข้ในหนูทดลองได้ (สถาบันการแพทย์แผนไทย, 2542)
- 5.2.3 สารสกัดจากตะไคร้และสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยมีฤทธิ์ยับยั้งการกลายพันธุ์ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยสารเคมีในหลอดทดลอง (Vinitketkumnuen *et al.*, 1994)
- 5.2.4 สารสกัดตะไคร้ด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 ทั้งต้น มีฤทธิ์ขับพยาธิไส้เดือน ทำให้ไส้เดือนเป็นอัมพาตภายใน 24 ชั่วโมง แต่พยาธิไม่ตาย (สถาบันการแพทย์แผนไทย, 2542)

5.2.5 ใบและลำต้นแห้งมีฤทธิ์ลดการบีบตัวของลำไส้ส่วนปลายของกระต่าย และน้ำมันหอมระเหยของตะไคร้มีฤทธิ์กระตุ้นลำไส้ให้บีบตัวจึงช่วยลดการแน่นจุดเสียด (สถาบันการแพทย์แผนไทย, 2542)

5.2.6 สารสกัดจากตะไคร้ มีคุณสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชัน (Cheel *et al.*, 2005; Figueirinha *et al.*, 2007)

5.2.7 สารสกัดตะไคร้ด้วยน้ำมีฤทธิ์ลดระดับน้ำตาล (hypoglycemic) และไขมัน (hypolipidemic) ในเลือดหนู (wistar rats) (Adeneye and Agbaje, 2007)

**ส่วนที่ใช้** ต้นและก้านใบ

**ประโยชน์ทางด้านอาหาร** ใช้เป็นเครื่องปรุงในน้ำพริกต่าง ๆ เช่น แกงเผ็ด แกงคั่ว หลนกะปิ คัมยำ ยำและพล่าต่าง ๆ (อบเชย วงศ์ทอง และขนิษฐา พูนผลกุล, 2545)

### 5.3 พริกชี้หนู

**ชื่อวิทยาศาสตร์** *Capsicum frutescens* Linn. (*C. minimum* Roxb)

**วงศ์** SOLANACEAE

**ชื่อสามัญ** Chili

**ลักษณะทางพฤกษศาสตร์** พริกชี้หนูเป็นไม้พุ่มขนาดเล็ก สูงประมาณ 1.00-2.50 ฟุต ลำต้นตั้งตรง ใบเป็นใบเดี่ยว ออกตรงกันข้าม ใบกลมรี ปลายแหลม แผ่นใบเรียบเป็นมัน ดอกเป็นดอกเดี่ยวขนาดเล็กสีขาวหรือม่วง ผลมีหลายขนาด พริกชี้หนู มีผลขนาดเล็กยาวประมาณ 1.00-1.50 นิ้ว มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.25-0.70 เซนติเมตร ผลชี้ขึ้น ผลอ่อนมีสีเขียว เมื่อสุกมีสีแดงหรือแดงปนน้ำตาล ผิวลื่นเป็นมัน ภายในกลวง มีแกนกลาง บนแกนกลางมีเมล็ดสีเหลืองเกาะอยู่มากมาย แต่ละเมล็ดมีลักษณะแบนกลม

**ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์** ผลมีสารแคปไซซินอยด์ (capsaicinoids) ได้แก่ แคปไซซิน (capsaicin) ไดไฮโดรแคปไซซิน (dihydrocapsaicin) นอร์ไดไฮโดรแคปไซซิน (nordihydrocapsaicin) โฮโมแคปไซซิน (homocapsaicin) โฮโมไดไฮโดรแคปไซซิน (homodihydrocapsaicin) ซึ่งเป็นสารที่มีรสเผ็ดร้อนอยู่ในบริเวณไส้ของผล และยังมีสารที่มีสีประเภทแคโรทีนอยด์ ประกอบด้วยแคปแซนทิน (capsanthin) แคปซารูบิน (capsarubin) แคโรทีนลูทีโอลิน นอกจากนี้พบไขมัน โปรตีน วิตามินเอ วิตามินซีและน้ำมันหอมระเหยในปริมาณน้อย Zewdie และ Bosland (2001) พบว่าแคปไซซินอยด์ในพริกชี้หนูประกอบด้วยแคปไซซินในปริมาณมากที่สุด รองลงมาคือไดไฮโดรแคปไซซิน นอร์ไดไฮโดรแคปไซซิน ไอโซเมอร์ของไดไฮโดรแคปไซซินและโฮโมไดไฮโดรแคปไซซิน ตามลำดับ Li-E และคณะ (2008) พบว่าสารสกัดพริกเมื่อนำไปวิเคราะห์ด้วย GC-MS ประกอบด้วยสารสำคัญคือ แคปไซซิน กรดไฮดรอกซีเมทิลเบนซีนอะซีติก (4-hydroxy-3-methyl-benzeneacetic acid) กรดลิโนเลอิก (9,12-octadecadienoic acid) กรดปาล์มมิติก (n-hexadecanoic acid) และกรดเพนตะเดคาโนอิก

(pentadecanoic acid) และกรดอินทรีย์ต่างๆ เช่น กรดปาล์มมิโตเลอิก (9-hexadecenoic acid) กรดไมริสติก (tetradecanoic acid) Orhan และคณะ (2002) พบว่าน้ำมันของเมล็ด (seed oil) พริกชี้หนู (*C. annuum* var. *frutescens*) เมื่อนำไปวิเคราะห์ด้วย GC-MS ประกอบด้วยกรดไขมัน ได้แก่ กรดปาล์มมิติก (palmitic) สเตียริก (stearic) ลิโนเลอิก (linoleic) และลิโนเลนิก (linolenic)

### ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

5.4.1 แคปไซซินมีคุณสมบัติในการเพิ่มการหลั่งน้ำลายและกรดในกระเพาะอาหาร ป้องกันการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร โดยเพิ่มการหลั่งสารเมือกมาเคลือบในกระเพาะอาหาร และช่วยป้องกันการเกิดมะเร็ง (Modly *et al.*, 1986)

5.4.2 น้ำคั้นจากพริก นำมาเชื่อมูลินทรีย์ในหลอดทดลอง และในปัจจุบันใช้แคปไซซิน มาประกอบเป็นยาธาตุ ยาเจริญอาหาร ยาขับลม ยาแก้ปวดท้อง (สถาบันการแพทย์แผนไทย, 2542)

5.4.3 กรดเมต้าเคมาริก (*m-coumaric*) และกรดซินนามิก ในสารสกัดพริกสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* และ *Bacillus cereus* (Dorantes *et al.*, 2000)

5.4.4 ลดระดับไตรกลีเซอไรด์ในหนูทดลอง (สถาบันการแพทย์แผนไทย, 2542)

5.4.5 สารสกัดพริกเป็นสารต้านออกซิเดชัน (Wangcharoen and Morasuk, 2007a,b)

5.4.6 แคปแซนธินในพริกมีคุณสมบัติในการยับยั้งมะเร็ง (anti-tumor) (Maoka *et al.*, 2001)

### ส่วนที่ใช้ เมล็ด ยอดและใบ

ประโยชน์ทางด้านอาหาร พริกเป็นเครื่องปรุงแต่งกลิ่นและรสที่จะขาดไม่ได้ในอาหารไทย พริกที่นิยมนำมาใช้ในอาหารไทย คือพริกชี้หนู พริกชี้ฟ้า พริกเหลือง พริกหยวก พริกเป็นเครื่องปรุงแต่งกลิ่นรส และเพิ่มความเผ็ดร้อนในอาหาร สามารถใช้ในรูปแบบพริกสด พริกแห้ง พริกป่น คองกับน้ำส้มสายชู เป็นส่วนประกอบหลักของเครื่องแกงน้ำพริกต่างๆและอาหารประเภทยำ ปลา ต้มยำ ต้มข่า ผัดเผ็ด เป็นต้น ใบและยอดอ่อนพริกชี้ฟ้าใช้รับประทานเป็นผักได้

## 5.4 มะกรูด

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Citrus hystrix* DC.

วงศ์ RUTACEAE

ชื่อสามัญ Kaffir lime

**ลักษณะทางพฤกษศาสตร์** มะกรูดเป็นไม้ยืนต้นขนาดย่อม ตามกิ่งก้านมีหนามแหลมใบเขียวหนาภายในใบมีต่อมน้ำมันอยู่ทั่วไป ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของพืชในตระกูลนี้ ดอกมีสีขาว เกสรสีเหลือง มีกลิ่นหอมเล็กน้อย ผลมะกรูดมีผิวขรุขระทั้งผล ที่ขั้วมีจุก

**ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์** ใบและผิวมะกรูดมีน้ำมันหอมระเหยประมาณร้อยละ 0.08 และ 4.00 ตามลำดับ โดยสารสำคัญที่พบในใบ ได้แก่ ซิโตรเนลลาล (citronellal) ส่วนในผิวผลพบเบต้าไพเนนและลิโมนีนเป็นสารสำคัญ (นิจศิริ เรื่องรังษี, 2545) นอกจากนี้พบว่ามีวิตามินซี กรดซิตริก ซึ่งมีคุณสมบัติในการช่วยขับลม แก้ไอ ขับเสมหะ Berhow และคณะ (1996) พบว่าใบมะกรูดประกอบด้วยฟลาโวนอยด์ ได้แก่ ฟลาโวนอนไกลโคไซด์ ได้แก่ นาริรูติน กลูโคไซด์ (narirutin-4'-glucoside) อีริซิทริน (ericitrin) นีโออีริโอซิทริน (neoeiocitrin) นาริรูติน (narirutin) เฮสเพอร์รีดิน (hesperidin) นีโอเฮสเพอร์รีดิน (neohesperidin) และดิไคมิน (didymin) และฟลาโวน/อลไกลโคไซด์ (flavone/ol glycosides) ได้แก่ รูติน (rutin) ซึ่งฟลาโวนอยด์เป็นสารที่แสดงสมบัติการต้านออกซิเดชัน Siripongvutikorn และคณะ (2005) รายงานว่าใบมะกรูดเป็นแหล่งของเบต้าแคโรทีนในตั้มยา ซึ่งเป็นสารต้านออกซิเดชัน โดยมีปริมาณ  $173.60 \pm 61.45$  กรัมต่อกิโลกรัมของตัวอย่าง นอกจากนี้ Hutadilok-Towatana และคณะ (2006) พบว่าสารสกัดใบมะกรูดและผิวมะกรูดด้วยเมธานอล มีคุณสมบัติในการยับยั้งอนุมูลอิสระไฮดรอกซิลสูงที่สุด โดย  $IC_{50}$  ในการยับยั้งอนุมูลอิสระไฮดรอกซิลสามารถเรียงลำดับได้ดังนี้ ใบมะกรูด (*Citrus hystrix* DC. leaf) > ผิวมะกรูด (*Citrus hystrix* DC. Peel) > ว่านกีบแรด (*Angiopteris evecta* Hoffm.) และใบบัวหลวง (*Nelumbo nucifera* Gaerttn leaf) > หญ้าพันงูเขียว (*Stachytarphera indica* (L.) Vahl) > เกสรบัวหลวง (*Nelumbo nucifera* Gaerttn. Pollen) > ปืปฝรั่ง (*Laurentia longiflora* (L.) Peterm.) > ชะพลู (*Piper sarmentosum* Roxb.) > ผักเบี้ยใหญ่ (*Portulaca oleracea* Linn.) > เมล็ดบัวหลวง (*Nelumbo nucifera* Gaerttn. seeds head)

มีรายงานว่าน้ำมันหอมระเหยจากผิวและใบมะกรูด สามารถออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียหลายชนิด รวมทั้งแบคทีเรียก่อโรคในอาหาร ได้แก่ *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. และ *Salmonella typhimurium* (บัญญัติ สุขศรีงาม, 2527; Nanasombat and Lohasupthawee, 2005) โดยสารที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ได้แก่ เจอร์ราโนอล นีโอโรไลดอล (nerolidol) ไอโซพูทีกอล (isoputegol) ลินาลูลและเทอร์พีนิออล (บัญญัติ สุขศรีงาม, 2527)

### ส่วนที่ใช้ ใบและผล

**ประโยชน์ทางด้านอาหาร** ผิวผลมะกรูดใช้เป็นเครื่องปรุงรสน้ำพริกแกงต่างๆ ผลมะกรูดผ่าซีกใส่ในน้ำพริกขมนจีน แกงคั่ว ใบมะกรูดใส่ในตั้มยา แกงเผ็ดและหลนต่างๆ ใบมะกรูดหั่นฝอยโรยหน้าในห่อหมก ปลาจู้ฉี

## 6. ปัจจัยที่มีผลต่อสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากเครื่องเทศ

### 6.1 ฟีเอช

เนื่องจากหมู่ไฮดรอกซิลในแต่ละตำแหน่งของสารประกอบฟีนอลิกมีบทบาทต่อสมบัติการต้านออกซิเดชัน ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงพีเอชมีผลให้หมู่ไฮดรอกซิลเกิดการเปลี่ยนแปลง ส่งผลต่อสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิกในเครื่องเทศ (Jackman and Smith, 1996) Slabbert (1997 อ้างโดย Mukai *et al*, 1997) พบว่า pKa ของหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่งที่ 7 และ 5 (7- and 5-OH group) ของวงแหวนเอของรูทีน มีค่าประมาณ 6.74-7.07 และ 11.55 ตามลำดับ ส่วน pKa ของหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่งที่ 3' และ 4' (3'- and 4'-OH group) ของวงแหวนบี มีค่าเท่ากับ 8.77-9.02 และ 13.20-13.25 ตามลำดับ ดังนั้นในสารละลายที่พีเอชต่างๆ รูทีน แยกตัวแสดงดัง Figure 18

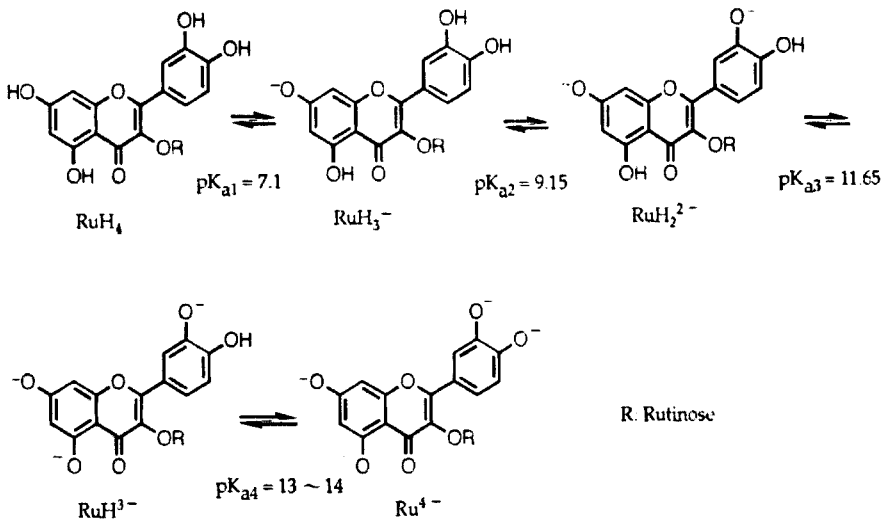


Figure 18. Five different molecular forms ( $\text{RuH}_4$ ,  $\text{RuH}_3^-$ ,  $\text{RuH}_2^{2-}$ ,  $\text{RuH}^{3-}$ , and  $\text{Ru}^{4-}$ ) of rutin in aqueous solution

ที่มา: ดัดแปลงจาก Mukai และคณะ (1997)

สารประกอบฟีนอลิกส่วนใหญ่ แสดงสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชันได้ดีเมื่ออยู่ในสถานะที่เป็นกลางหรือกรด เนื่องจากในสถานะที่เป็นกรดทำให้เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส ส่งผลให้สารประกอบฟีนอลิกที่อยู่ในรูปของสารประกอบฟีนอลิกที่จับอยู่กับสารอื่น (bound phenolics) เกิดการปลดปล่อย (Liyana-Pathirana and Shahidi, 2005) เช่น การเกิดไฮโดรไลซิสของพันธะกลูโคซิดิก (glucosidic bonds) ของโพลีฟีนอล (Oreopoulou, 2003) และในสถานะที่เป็นด่างสารประกอบฟีนอลิกจะเปลี่ยนเป็นควิโนน ซึ่งไม่แสดงสมบัติการต้านออกซิเดชัน (Brooks *et al.*, 1972 อ้างโดย Yen and Hung, 2000)



Amorati และคณะ (2006) พบว่ากิจกรรมการต้านออกซิเดชันของกรดฟีนอลิก และเอสเทอร์ (phenolic acid and ester) ขึ้นอยู่กับพีเอชของสารละลายบัฟเฟอร์ เมื่อพีเอชเป็นกรด (พีเอช 4) กรดฟีนอลิกและเอสเทอร์สามารถยับยั้งเพอร์ออกซิเดชันได้น้อย ความสามารถในการยับยั้งเพอร์ออกซิเดชันมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อพีเอชเพิ่มขึ้น และเมื่อพีเอชมีค่าเท่ากับ 8 ความสามารถในการยับยั้งเพอร์ออกซิเดชันดีกว่าโทรลอกซ์ (trolox) 2-3 เท่า เนื่องจากพีเอชเป็นค่ากรดคาฟเฟอิก อยู่ในรูปของฟีนอเลทไอออน (phenolate ion) ซึ่งแสดงความสามารถในการยับยั้งเพอร์ออกซิเดชัน ได้ดีกว่ารูปแบบปกติ ดังแสดงใน Figure 19

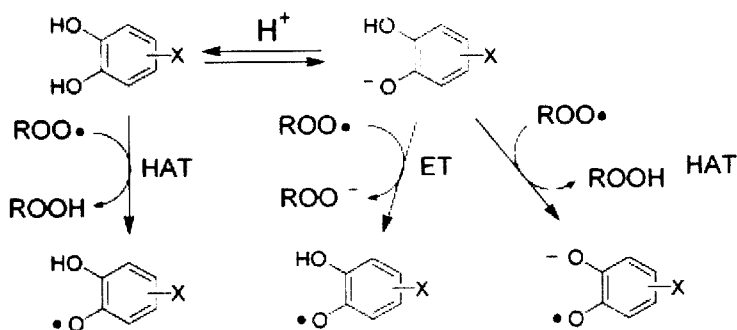


Figure 19. Mechanism for the reaction of catechols with peroxy radicals

ที่มา: Amorati และคณะ (2006)

Juntachote และ Berghofer (2005) พบว่าสารสกัดของชาด้วยเอธานอลมีความคงตัวที่พีเอชเป็นกลางมากกว่ากรด ในสถานะที่เป็นกลางสารสกัดชามีคุณสมบัติในการต้านออกซิเดชันสูงกว่ากรด โดยสารสกัดชามีกิจกรรมในการจับซูปเพอร์ออกไซด์แอนไอออน (superoxide anion scavenging activity) จับเฟอร์รัสไอออน ( $\text{Fe}^{2+}$  chelating activity) และรีดิวส์ซึ่งพาวเวอร์ (reducing power) สูง การต้านออกซิเดชันของชามีความสัมพันธ์กับรีดิวส์ซึ่งพาวเวอร์ นอกจากนี้สารสกัดชามีคุณสมบัติในการจับอนุมูลอิสระและยับยั้งเอนไซม์ไลพอกซีจีเนส

Mansour และ Khalil (2000) ศึกษากิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสารสกัดขิงเมล็ด fenugreek และเปลือกมันฝรั่ง ที่ผ่านการทำให้แห้งแบบฟรีสซ์ดรายด์ (freeze dried) พบว่าสารสกัดขิงและเมล็ด fenugreek มีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันสูงสุดที่พีเอช 7.0 ส่วนสารสกัดเปลือกมันฝรั่งมีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันสูงสุดที่พีเอช 5.0-6.0 และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันมีค่าลดลงที่พีเอชเป็นกลางและต่ำ

Binsan (2007) พบว่าความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP ของส่วนที่ละลายน้ำได้ของมันกุ้งมีความคงตัวที่พีเอช 2-8 แต่เมื่อพีเอชมากกว่า 8 (พีเอชเท่ากับ 9-11) ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP มีค่าลดลง

เล็กน้อย ในขณะที่ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS มีค่าเพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่าที่พีเอชเป็นด่าง ส่วนที่ละลายน้ำได้ของมันกึ่งจะถูกกระตุ้น ให้มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS เพิ่มขึ้น แต่มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP ลดลง

Friedman และ Jurgens (2000) ศึกษาผลของพีเอชในช่วง 3-11 ต่อความคงตัวของกรดคาฟเฟอิก คาเทชิน กรดคลอโรจีนิก กรดฟีรูลิก กรดแกลลิก เอพิแกลโลคาเทชิน รุทีน และกรดทรานซินนามิก พบว่ากรดคาฟเฟอิก กรดคลอโรจีนิกและกรดแกลลิก ไม่คงตัวที่พีเอชสูง สารประกอบฟีนอลิกที่มีโครงสร้างเป็นวงแหวนอะโรมาติกหลายวง (multiring aromatic) เช่น คาเทชิน เอพิแกลโลคาเทชิน และรุทีน มีความคงตัวมากกว่าสารประกอบฟีนอลิกที่มีโครงสร้างเป็นวงแหวนอะโรมาติก 1 วง (monoring) เนื่องจากมีโครงสร้างที่ซับซ้อนกว่า

Liyana-Pathirana และ Shahidi (2005) พบว่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันในรูปของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS การจับโลหะและการไฮโดรไลซิสของ LDL (low density lipoprotein) ของสารสกัดข้าวสาลีด้วยน้ำ มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อมีการกระตุ้นด้วยพีเอชที่เหมือนในกระเพาะอาหาร (พีเอชเท่ากับ 2)

## 6.2 ความร้อน

ความร้อนส่งผลให้สมบัติการต้านออกซิเดชันมีค่าลดลง เนื่องจากความร้อนทำให้สารประกอบฟีนอลิกโมเลกุลเล็กๆ เช่น ฟีนอล ฟีนิลโพรพานอยด์ เช่น กรดพาราเคมาริก กรดคาฟเฟอิก กรดฟีรูลิกและกรดซินนาพิค ระเหยกลายเป็นไอ ในขณะที่ฟลาโวนอยด์ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลิกที่มีโครงสร้างเป็นวงแหวน 3 วงต่อกัน (C6-C3-C6) (Table 5) ความร้อนส่งผลให้ฟลาโวนอยด์มีการแตกหักของวงแหวนซีและทำให้เกิดการสลายตัว โดยวงแหวนบีจะเปลี่ยนเป็นกรดคาร์บอกซิลิก และวงแหวนเอจะเปลี่ยนเป็นคาร์บอกซีอัลดีไฮด์ ตามลำดับ (Jackman and Smith, 1996) และระเหยไปพร้อมกับไอน้ำ (Kim and Pratt, 1992)

Crozier และคณะ (1997) พบว่าการทอด การต้มให้เดือด และการใช้ไมโครเวฟทำให้เคออร์ซิทินในมะเขือเทศและหอมลดลง เนื่องจากเคออร์ซิทินเกิดการแตกหัก เกิดโครงสร้างที่ซับซ้อนขึ้นหรือเกิดการละลายของเคออร์ซิทินลงในน้ำในขณะที่ต้มให้เดือด Hamama และ Nawar (1991) รายงานว่าเมื่อให้ความร้อนแก่ BHA (butylated hydroxyanisole), BHT, TBHQ (tertiary butylhydroquinone) และโพรพิลแกลเลต (propyl gallate) ที่อุณหภูมิ 185<sup>o</sup>ซ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง พบว่ามีการสูญเสียกิจกรรมการต้านออกซิเดชันร้อยละ 20.4, 37.1, 42.8 และ 47.7 ตามลำดับ ส่วน Prasad และคณะ (1996) ศึกษาอิทธิพลของความร้อนต่อสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารสกัดกระเทียม พบว่ากิจกรรมการต้านออกซิเดชันลดลงร้อยละ 10 เมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100<sup>o</sup>ซ เป็นเวลา 20, 40 และ 60 นาที นอกจากนี้ มีการวิจัยพบว่าการอบใบหม่อน (*Mulberry, Morus alba* L.) ด้วยอุณหภูมิ 70<sup>o</sup>ซ หรือมากกว่า ส่งผลให้ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลิกและ

ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH มีค่าลดลงเมื่อเทียบกับชุดควบคุมคือใบหม่อนที่ผ่านการฟริสซ์ครายด์ เนื่องจากความร้อนทำให้เกิดการสลาย (degradation) ของสารประกอบโพลีฟีนอลิก และพบว่าทำให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 40, 60 และ 80 °ซ เป็นเวลา 2, 4, 6, 8 และ 10 ชั่วโมง ส่งผลให้ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดใบหม่อนด้วยน้ำมีค่าลดลง นอกจากนี้การเติมกรดฟอร์มิกร้อยละ 0.1 ในสารสกัด สามารถป้องกันการลดลงของปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลิกทั้งหมดได้ (Katsube *et al.*, 2009) สอดคล้องกับการทดลองของ Larrauri และคณะ (1997) ศึกษาผลของความร้อนที่อุณหภูมิ 60, 100 และ 140 °ซ ต่อปริมาณโพลีฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของเปลือกองุ่นแดง (red grape pomace peels) พบว่าความร้อนที่อุณหภูมิ 100 และ 140 °ซ ส่งผลให้ปริมาณโพลีฟีนอลิกทั้งหมด คอนเดนส์แทนนิน (condensed tannins) และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันมีค่าลดลง เมื่อเทียบกับชุดควบคุมคือเปลือกองุ่นแดงที่ทำแห้งแบบฟริสซ์ครายด์

อย่างไรก็ตามความร้อนอาจทำให้สมบัติการต้านออกซิเดชันมีค่าเพิ่มขึ้น Shobana และ Naidu (2000) พบว่าการให้ความร้อนแก่สารสกัดกระเทียม ชิง กานพลู อบเชยและพริกไทย ด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 ที่อุณหภูมิ 100 °ซ เป็นเวลา 30 นาที ไม่เพียงแต่ทำให้กิจกรรมการต้านออกซิเดชันยังคงอยู่ แต่พบว่าทำให้กิจกรรมการต้านออกซิเดชันเพิ่มขึ้น เนื่องจากในระหว่างการให้ความร้อนสารต้านออกซิเดชันที่จับอยู่กับสารอื่นเกิดการปลดปล่อยออกมา ทำให้มีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันสูงขึ้น Jeong และคณะ (2004) ศึกษาผลของความร้อนและเวลาในการให้ความร้อน (50, 100 และ 150 °ซ เป็นเวลา 10, 20, 30, 40, 50 และ 60 นาที) ต่อกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของเปลือกส้ม พบว่ากิจกรรมการต้านออกซิเดชันของเปลือกส้มมีค่าสูงขึ้น เมื่ออุณหภูมิในการให้ความร้อนเพิ่มขึ้น โดยสารสกัดเปลือกส้มที่ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 150 °ซ เป็นเวลา 60 นาที ด้วยเอธานอล มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด กิจกรรมการกำจัดอนุมูลอิสระและรีดิวซิงพาวเวอร์ (ค่าการดูดกลืนแสงที่ 700 นาโนเมตร) เพิ่มขึ้นจาก 71.8 เป็น 171.0 ไมโครโมลาร์ จากร้อยละ 29.64 เป็น 64.25 และจาก 0.45 เป็น 0.82 ตามลำดับ การเพิ่มขึ้นของกิจกรรมการต้านออกซิเดชันนี้ เกิดจากความร้อนทำให้สารประกอบฟีนอลิกที่อยู่ในเปลือกส้ม ซึ่งอยู่ในรูปที่จับอยู่กับองค์ประกอบในผนังเซลล์ เช่น อะราบินโนไซแลน (arabinoxylans) และ โปรตีน เกิดการปลดปล่อยเป็นสารประกอบฟีนอลิกอิสระ สอดคล้องกับการทดลองของ Xu และคณะ (2007) ที่พบว่าทำให้ความร้อนแก่เปลือกส้ม (*Changshanhuoyou*, *Citrus paradisi*) ที่อุณหภูมิ 120 °ซ เป็นเวลา 30, 60 และ 90 นาที และที่อุณหภูมิ 90 และ 150 °ซ เป็นเวลา 30 นาที ส่งผลให้กรดฟีนอลิกเกิดการเปลี่ยนแปลง เนื่องจากมีการสลายพันธะเอสเทอร์และ ไกลโคไซด์ โดยความร้อนส่งผลให้ปริมาณของกรดฟีนอลิกที่อยู่ในรูปอิสระมีค่าเพิ่มขึ้น ในขณะที่ฟีนอลิกที่เป็นเอสเทอร์ ไกลโคไซด์ และส่วนที่เชื่อมกับเอสเทอร์มีค่าลดลง แต่อย่างไรก็ตามพบว่าผลรวมของกรดฟีนอลิกที่วิเคราะห์ทั้งสี่รูปแบบ คือฟีนอลิกอิสระ เอสเทอร์ ไกลโคไซด์ และส่วนที่เชื่อมกับเอสเทอร์ มีค่าลดลงหลังให้ความร้อน แสดงให้เห็นว่ากรดฟีนอลิกบางตัวถูก

ทำลายเนื่องจากความร้อน ถึงแม้ว่าปริมาณของกรดฟีนอลิกในรูปอิสระจะเพิ่มขึ้นก็ตาม นอกจากนี้พบว่าความร้อนส่งผลให้ฟลาโวนอนโกลโคไซด์ ได้แก่ นาริรุทิน นารินจิน เฮสเพอร์รีดิน และนีโอเฮสเพอร์รีดิน ซึ่งเป็นฟลาโวนอยด์หลักที่พบในเปลือกส้มมีค่าลดลง แต่เมื่อวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP พบว่าความร้อนส่งผลให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP มีค่าเพิ่มขึ้น

Arabshahi-Delouee และคณะ (2007) ศึกษาผลของการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 15 นาที ต่อกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสารสกัดใบมะรุม (*drumstick leaves, Moringa oleifera*) ใบมินต์ (*mint leaves, Mentha spicata*) และแครอท (*carrot tuber, Daucus carota*) ด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 พบว่าความร้อนทำให้สารสกัดใบมินต์ด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 มีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันเพิ่มขึ้น ในขณะที่สารสกัดใบมะรุมด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 มีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันลดลง และพบว่าความร้อนไม่มีผลต่อกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสารสกัดแครอทด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ดังนั้น การลดลงของกิจกรรมการต้านออกซิเดชันในสารสกัดใบมะรุมด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 มีผลมาจากการสูญเสียสารต้านออกซิเดชันที่พบในสารสกัดหรือการเกิดสารประกอบใหม่ที่มีคุณสมบัติเป็นโปรออกซิเดนท์ เช่น ผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาเมลลาร์ด (*maillard reaction products*) ส่วนการเพิ่มขึ้นของกิจกรรมการต้านออกซิเดชันในสารสกัดใบมินต์ด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 เกิดจากความร้อนทำให้เกิดการสร้างสารประกอบที่มีสมบัติในการต้านออกซิเดชัน เช่น ผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาเมลลาร์ด หรือปรับปรุงกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสารต้านออกซิเดชันที่พบในสารสกัด นอกจากนี้มีรายงานว่าสารสกัดครูซิเฟอร์ (*crucifer*) เป็นได้ทั้งสารต้านออกซิเดชันและโปรออกซิเดนท์ ขึ้นอยู่กับกระบวนการให้ความร้อนและความผันแปรของพืชที่ใช้ในการศึกษา (Castenmiller *et al.*, 2002)

Eriksson และ Na (1995) รายงานว่าแม้ว่าในอาหารจะพบสารต้านออกซิเดชันในกลุ่มของเอนไซม์ เช่น เอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส กลูตาไรโอนเพอร์ออกซิเดส กลูโคสออกซิเดส (*glucose oxidase*) และคะตะเลส (*catalase*) แต่ส่วนใหญ่เอนไซม์เหล่านี้จะถูกทำให้เสื่อสภาพ (*inactive*) เนื่องจากความร้อนในระหว่างกระบวนการแปรรูปอาหาร ในขณะที่สารต้านออกซิเดชันที่ไม่ใช่เอนไซม์ เช่น สารในกลุ่มแคโรทีนอยด์ โทโคฟีรอลและสารประกอบฟีนอลิกสามารถทนต่อความร้อนที่ใช้ในกระบวนการแปรรูปอาหารได้ดี นอกจากนี้ปฏิกิริยาบางปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการแปรรูปอาหาร เช่น ปฏิกิริยาเมลลาร์ด ปฏิกิริยาย่อยสลายโปรตีน (*protein hydrolysis*) และกระบวนการหมักโดยแบคทีเรียแลคติก ทำให้เกิดสารประกอบบางชนิดที่มีสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชัน

Yamaguchi และคณะ (2003) พบว่าการให้ความร้อนแก่บร็อกโคลี (*broccoli, Brassica oleracea L. var. italica* PLENCK) เบอร์ดอค (*burdock, Arctium lappa L.*) และผักกาดหอม (*lettuce, Lactuca sativa L.*) ส่งผลให้กิจกรรมการกำจัดอนุมูลอิสระ ฟีนอลิกทั้งหมด กรดคลอโรจีนิก และกรดแอสคอร์บิก มีค่าไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน เนื่องจากความร้อนไปทำลายเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสและแอสคอร์เบทออกซิเดส (*ascorbate oxidase*) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ทำให้เกิดการเสื่อมสลายของโพลีฟีนอลิกและกรดแอสคอร์บิก ส่งผลให้กิจกรรมการกำจัดอนุมูลอิสระลดลง (Takamura *et al.*, 2002 อ้างโดย Yamaguchi *et al.*, 2003) Juntachote และ Berghofer (2005) พบว่าสารสกัดชาด้วยเอทานอลทนความร้อนที่อุณหภูมิ 80°C ใต้นาน 60 นาที

### 6.3 ระบบของการสกัด

วิธีการสกัดสารต้านออกซิเดชันในพืชที่นิยมใช้คือการสกัดแบบ *solid-liquid extraction* ซึ่งเป็นการใช้ตัวทำละลาย ไปละลายและนำส่วนที่ละลายได้ (ตัวถูกละลาย) ออกจากพืชซึ่งเป็นของแข็งที่มีลักษณะเป็นรูพรุน (Gertenbach, 2002)

การถ่ายโอนมวลจากพืชสู่ตัวทำละลายเกิดขึ้น 4 ขั้นตอน (Figure 20) คือ

1. การแพร่ของตัวทำละลายเข้าสู่อนุภาคของพืชผ่านทางโครงสร้างที่มีลักษณะเป็นรูพรุน
2. สารต้านออกซิเดชันที่อยู่ในพืชจะละลายในตัวทำละลายที่แพร่เข้าสู่อนุภาค
3. การแพร่ของสารต้านออกซิเดชันจากภายในอนุภาคสู่ผิวหน้าของอนุภาคผ่านทางรูพรุนในเซลล์พืช

4. การชะสารต้านออกซิเดชันที่ละลายในตัวทำละลายจากบริเวณผิวหน้าของอนุภาค สู่ตัวทำละลายที่อยู่รอบๆอนุภาค

การสกัดจะหยุดเมื่อความเข้มข้นของเหลวถึงจุดสมดุล

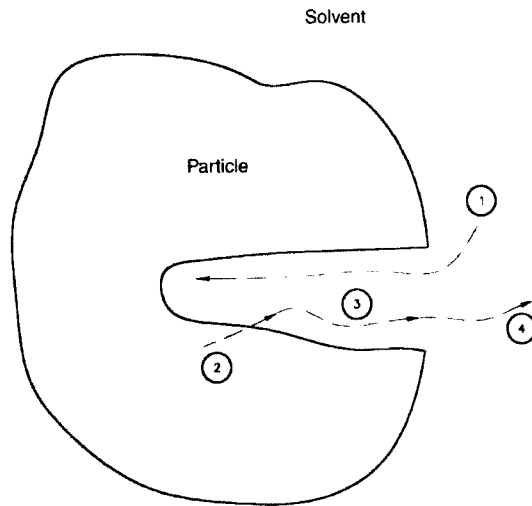


Figure 20. Mechanism of mass transfer: (1) solvent soaks into the pores within the particle, (2) solute dissolves into the solvent within the pores of the particle, (3) dissolved solute migrates to the surface of the particle, and (4) dissolved solute at the particle surface diffuses into the bulk solvent

ที่มา: Gertenbach (2002)

## ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัด ได้แก่

### 6.3.1 ตัวทำละลาย

การสกัดโดยใช้ตัวทำละลาย เช่น เมทานอล เอทานอล และอะซิโตน นิยมใช้ในการแยกหรือสกัดสารต้านออกซิเดชันในพืช (Velioglu *et al.*, 1998; Kahkonen *et al.*, 1999; Zielinski and Kozłowska, 2000) ความสามารถในการละลายของสารประกอบฟีนอลิกในตัวทำละลายที่ใช้ในกระบวนการสกัด มีอิทธิพลต่อการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากพืช โดยเฉพาะอย่างยิ่งความเป็นขั้วของตัวทำละลาย ซึ่งมีบทบาทต่อความสามารถในการละลายของสารประกอบฟีนอลิก (Naczka and Shahidi, 2006) โดยผลผลิตที่ได้ (extraction yield) และคุณสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชันของสารสกัดขึ้นอยู่กับตัวทำละลาย เนื่องจากความเป็นขั้วที่แตกต่างกันของตัวทำละลาย ทำให้สารที่สกัดได้มีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชันที่แตกต่างกัน (Marinova and Yanishlieva, 1997) ตัวทำละลายที่นิยมใช้ในการสกัดสารที่มีอยู่ในเครื่องเทศ ได้แก่ เฮกเซน (hexane) ปีโตรเลียมอีเธอร์ (petroleum ether) คลอโรฟอร์ม (chloroform) อีเธอร์ (ether) เมทานอลและเอทานอล โดยเฮกเซนและปีโตรเลียมอีเธอร์ ใช้สกัดสารประกอบที่ไม่มีขั้ว (non polar component) ที่มีอยู่ในเครื่องเทศ เช่น ไกมัน สเตียรอยด์ (steroids) เทอร์พีนอยด์ (terpenoids) เป็นต้น ในขณะที่คลอโรฟอร์มและอีเธอร์

จัดเป็นตัวทำลายที่มีขั้วปานกลาง ใช้สกัดองค์ประกอบที่ไม่มีขั้วไปจนถึงมีขั้วปานกลาง ส่วน เมธานอลและเอทานอลเป็นตัวทำลายที่ใช้ในการสกัดสารสำคัญที่มีขั้วค่อนข้างสูง (polar active component) (รัตนา อินทรานุกุลกรณ, 2545) ฟลาโวนอยด์ที่มีขั้วน้อย เช่น ไอโซฟลาโวน ฟลาโวนอน เมธิลเลทฟลาโวนและฟลาโวนอล สามารถสกัดออกมาโดยใช้คลอโรฟอร์ม ไดคลอโรมีเทน ไดเอทิลอีเธอร์ หรือเอทิลอะซิเตต ในขณะที่ฟลาโวนอยด์ไกลโคไซด์และ อะไกลโคโคน (aglycones) ที่มีขั้วสูง สามารถสกัดออกมาโดยใช้แอลกอฮอล์หรือแอลกอฮอล์ผสม น้ำ เนื่องจากไกลโคไซด์เพิ่มความสามารถในการละลายน้ำของสารประกอบฟีนอลิก (Marston and Hostettmann, 2006)

นอกจากนี้พบว่าสารประกอบฟีนอลิกหลายชนิด สามารถละลายได้ใน ตัวทำลายอินทรีย์ที่มีขั้ว (Moller *et al.*, 1999) และตัวทำลายอินทรีย์ที่มีขั้วสูงกว่ามี ประสิทธิภาพในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกได้มากกว่าตัวทำลายที่ไม่มีขั้ว (Oreopoulou, 2003) Suzuki และคณะ (2002 อ้างโดย Katsube *et al.*, 2009) พบว่าเอทานอลและเมธานอลความ เข้มข้นร้อยละ 40-80 มีประสิทธิภาพในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกมากกว่าน้ำ เอทานอลและ เมธานอล แต่อย่างไรก็ตามการเลือกตัวทำลายที่เหมาะสมในการสกัดขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ที่ใช้ใน การสกัดและวัตถุประสงค์ของการสกัด เช่น ธรรมชาติของสารต้านออกซิเดชันที่สนใจ ในวัตถุดิบ (Oreopoulou, 2003) การหาได้ง่ายของตัวทำลายและอุปกรณ์ที่ใช้ในการสกัด ราคา และความปลอดภัย เป็นต้น (Yu *et al.*, 2002) อย่างไรก็ตาม สารผสมระหว่างเอทานอลและน้ำ เป็นตัวทำลายที่นิยมใช้ในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากพืช (Bahorun *et al.*, 2004; Durling *et al.*, 2007) เนื่องจากสารผสมระหว่างเอทานอลและน้ำสามารถละลายสารประกอบฟีนอลิกใน ช่วงกว้างได้ นอกจากนี้เอทานอลยังยอมรับให้ใช้ในการบริโภคของมนุษย์

Julsrigival และคณะ (2006) ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดพืช ในวงศ์ *Zingiberaceae* 5 ชนิด ได้แก่ ข่า ขมิ้นชัน ขมิ้นขาว ไพล และไพลดำ ด้วยน้ำและเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 (สกัดโดยวิธีการสกัดอย่างต่อเนื่อง) และน้ำมัน หอมระเหย (เตรียมโดยการกลั่นด้วยน้ำ) ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ใช้โทรลอกซ์เป็นสารมาตรฐาน ผลการทดลองพบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดขมิ้นชัน ด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 น้ำมันหอมระเหยของไพล และสารสกัดไพลด้วยน้ำ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดในแต่ละกลุ่ม (สารสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 น้ำมันหอมระเหย และสารสกัดด้วยน้ำ) โดยมีค่าเท่ากับ 187.543, 56.469 และ 32.058 มิลลิกรัม ต่อกรัม ตามลำดับ สารสกัดของข่าด้วยเอทานอลและน้ำและน้ำมันหอมระเหย มีฤทธิ์ต้านอนุมูล อิสระเท่ากับ 82.321, 13.064 และ 0.560 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ

กฤติกา นรจิตร์ (2548) วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีโดยใช้เทคนิค GC-MS ในน้ำมันหอมระเหยของข่าที่สกัดโดยการกลั่นด้วยไอน้ำ และใช้ตัวทำละลาย ได้แก่ ปิโตรเลียมอีเธอร์และเอธานอลและสกัดด้วยปิโตรเลียมอีเธอร์แล้วสกัดกากที่เหลือด้วยเอธานอล พบว่าน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากการต้มกลั่น มีปริมาณของเมธิลชาวิคอลมากที่สุด รองลงมาคือ ซินีโอด และอัลฟาฟาร์เนซีน ซึ่งมี % relative peak area เท่ากับ 37.9, 33.6 และ 5.9 ตามลำดับ ในขณะที่น้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากปิโตรเลียมอีเธอร์ ปิโตรเลียมอีเธอร์แล้วสกัดกากที่เหลือด้วยเอธานอลและเอธานอลพบฟราอีซีโอด เป็นสารประกอบหลัก โดยมี % relative peak area เท่ากับ 49.8, 68.2 และ 74.6 ตามลำดับ องค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยของข่าที่ได้จากการสกัดแบบต่างๆ มีองค์ประกอบที่แตกต่างกันดังแสดงใน Table 7

Table 7. Percentage of relative peak areas of volatile compounds in galangal extracts

Compound	% relative peak area			
	Hydrodistillation	Petroleum ether	Petroleum and ethanol*	Ethanol
1,8-cineole	33.6	4.1	2.4	3.3
Methyl chavicol	37.9	-	-	-
Camphor	4.5	16.0	9.8	5.0
$\beta$ -thujene	0.7	2.4	-	-
Caryophyllene	4.2	5.9	7.4	1.5
$\beta$ -farnesene	4.2	4.6	4.8	1.8
Elemene	1.2	3.5	-	0.3
$\beta$ -selinene	3.0	2.4	2.2	1.6
$\alpha$ -farnesene	5.9	6.7	2.4	5.3
$\alpha$ -selinene	4.2	4.3	2.0	2.4
Cadinene	0.8	0.5	-	-
Fraeseol	-	49.8	68.2	74.6
Eugenol acetate	-	-	0.8	4.2

\* Secondary extraction with ethanol of plant residue after extraction by petroleum ether

ที่มา: กฤติกา นรจิตร์ (2005)



จาก Table 7 เห็นได้ว่าเมธิลซาวีคอลลพบเฉพาะในน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากการกลั่น ในขณะที่การสกัดด้วยตัวทำละลายไม่พบสารดังกล่าว ทั้งนี้อาจเป็นเพราะเมธิลซาวีคอลลมีความเป็นขี้วมักและมีปริมาณน้อย จึงละลายออกมากับตัวทำละลายได้ยาก ในทางตรงกันข้ามพบฟราอีซีออลเฉพาะในน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากตัวทำละลายเท่านั้น ทั้งนี้อาจเป็นเพราะสารดังกล่าวมีความเป็นขี้วน้อย น้ำจึงไม่สามารถสกัดออกมาได้หรืออาจมีการสูญหายไปในช่วงขั้นตอนการสกัด

Nishi และคณะ (1991) พบว่าสารสกัด *Rumex japonicus* Houtt ด้วยเฮกเซน มีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันสูงกว่าสารสกัดเอทิลอะซิเตต (ethyl acetate) และคลอโรฟอร์ม ในขณะที่สารสกัดด้วยน้ำและบิวทานอล (n-butanol) ไม่มีกิจกรรมในการต้านออกซิเดชัน

Sultana และคณะ (2009) ศึกษาผลของชนิดตัวทำละลายและเทคนิคที่ใช้ในการสกัด ต่อสมบัติการต้านออกซิเดชันของส่วนต่างๆของพืชที่ใช้เป็นยา ได้แก่ เปลือกสะเดาอินเดีย (*Azadirachta indica*) อาเคเซีย (*Acacia nilotica*) หว้า (*Eugenia jambolana*) สมอเทศ (*Terminalia arjuna*) ใบและรากของมะรุม (*Moringa oleifera*) ผลของต้นโพธิ์ (*Ficus religiosa*) และใบของว่านหางจระเข้ (*Aloe barbadensis*) โดยตัวทำละลายที่ใช้คือเอธานอลบริสุทธิ์ เมธานอลบริสุทธิ์ สารผสมระหว่างเอธานอลและน้ำ (เอธานอลต่อน้ำเท่ากับ 80 ต่อ 20 ปริมาตรต่อปริมาตร) และสารผสมระหว่างเมธานอลและน้ำ (เมธานอลต่อน้ำเท่ากับ 80 ต่อ 20 ปริมาตรต่อปริมาตร) วิธีการสกัดที่ใช้คือการเขย่าและรีฟลักซ์ (reflux) พบว่าการใช้สารผสมระหว่างเอธานอลและน้ำและสารผสมระหว่างเมธานอลและน้ำ ทำให้สารสกัดที่ได้มีผลผลิต ปริมาณฟีนอลิก และกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน สูงกว่าการใช้เอธานอลและเมธานอลบริสุทธิ์ นอกจากนี้พบว่าการสกัดโดยใช้วิธีรีฟลักซ์ ทำให้ได้ผลผลิตสูงกว่าการสกัดโดยใช้การเขย่า แต่ปริมาณฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสารสกัดที่ได้จากการเขย่าสูงกว่าการสกัดโดยวิธีรีฟลักซ์

Chen และคณะ (1992) ศึกษาผลของการสกัดโรสแมรี่ (rosemary) ด้วยตัวทำละลายต่างกัน 3 ชนิด คือ เฮกเซน อะซิโตน และเมธานอล ต่อปริมาณองค์ประกอบหลักคือคาร์โนซอล (carnosol) กรดคาร์โนซิก (carnosic acid) และกรดยูโซลิก (ursolic acid) ซึ่งวิเคราะห์โดยใช้ HPLC-MS (High performance liquid chromatography -mass spectrometry) และศึกษาความสามารถในการป้องกันการหืนของสารสกัดจากโรสแมรี่และองค์ประกอบหลักทั้ง 3 ชนิด พบว่าอะซิโตนมีประสิทธิภาพในการสกัดสารประกอบที่มีสมบัติเป็นสารกันหืนจากโรสแมรี่มากที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่าทั้งคาร์โนซอลและกรดคาร์โนซิก มีความสามารถในการป้องกันการหืนได้ดีกว่า BHA และ BHT และพบว่าสารสกัดโรสแมรี่ด้วยเฮกเซนและอะซิโตนมีความสามารถป้องกันการหืนสูงกว่า BHA และ BHT ในขณะที่สารสกัดโรสแมรี่ด้วยเมธานอล

มีความสามารถป้องกันการหืนสูงกว่า BHA แต่น้อยกว่า BHT เนื่องจากความสามารถในการป้องกันการหืนของสารสกัดโรสแมรี่ขึ้นอยู่กับปริมาณของคาร์โนซอลและกรดคาร์โนซิก แสดงว่าตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดมีผลต่อสารที่มีสมบัติในการต้านออกซิเดชันในสารสกัด

### 6.3.2 อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด

อุณหภูมิมีผลต่อจุดสมดุลและอัตราการถ่ายโอนมวลของกระบวนการสกัด กล่าวคือเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ความสามารถในการละลายได้ของสารประกอบสู่ตัวทำละลายจะมีค่าสูงขึ้น และอุณหภูมียังมีบทบาทสำคัญต่ออัตราการสกัด อุณหภูมิสูงทำให้อัตราการสกัดสูง เนื่องจากสัมประสิทธิ์การแพร่มีค่าสูง แต่อย่างไรก็ตามอุณหภูมิสูง อาจทำให้สารต้านออกซิเดชันที่ไม่ทนร้อนเกิดการเสื่อมสลายได้ ดังนั้นจึงควรเลือกอุณหภูมิในการสกัดที่เหมาะสม เพื่อเพิ่มอัตราการสกัดและไม่ทำให้สารที่ต้องการเกิดการเสื่อมสลาย

Cacace และ Mazza (2003) พบว่าเมื่ออุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดแอนโทไซยานิน (anthocyanins) จาก black currants โดยใช้เอธานอลและสารละลายซัลเฟอร์เพิ่มขึ้นจาก 6 เป็น 30°C ส่งผลให้ผลผลิตของแอนโทไซยานินมีค่าเพิ่มขึ้นและเวลาที่ใช้ในการสกัดลดลง แต่เมื่ออุณหภูมิของการสกัดเพิ่มสูงขึ้นเป็น 40 และ 70°C พบว่าผลผลิตของแอนโทไซยานินมีค่าลดลง เนื่องจากแอนโทไซยานินเกิดการสลายเนื่องจากความร้อน

### 6.3.3 ขนาดของอนุภาค

อัตราการสกัดมีค่าเพิ่มขึ้น เมื่อขนาดของอนุภาคลดลง เนื่องจากอนุภาคที่เล็กทำให้ระยะทางที่ตัวละลายออกสู่พื้นผิวมีค่าลดลง

### 6.3.4 อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อตัวอย่าง

การใช้ตัวทำละลายเพิ่มขึ้นทำให้สามารถสกัดสารได้มากขึ้น เนื่องจากตัวทำละลายที่เพิ่มขึ้น ส่งผลให้แรงขับเคลื่อน (driving force) ในระหว่างการถ่ายโอนมวล (mass transfer) ภายในอนุภาคของตัวอย่าง (Cacace and Mazza, 2003) และสัมประสิทธิ์การแพร่ (diffusivity) มีค่าเพิ่มขึ้น เนื่องจากความแตกต่างระหว่างความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกที่ผิวหน้าของตัวอย่าง (solid interface) และตัวทำละลาย (bulk of the liquid) มีค่าเพิ่มขึ้น (Pinelo *et al.*, 2004b) ส่งผลให้สารในตัวอย่างแพร่สู่ตัวทำละลายได้มากขึ้น

Naczka และ Shahidi (1991) และ Naczka และคณะ (1992) อ้างโดย Naczka และ Shahidi (2006) พบว่าเมื่อเปลี่ยนอัตราส่วนของตัวอย่างต่อตัวทำละลายจาก 1:5 เป็น 1:10 ส่งผลให้สกัดคอนเดนซ์แทนนิน และสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด จากกากคาโนลาด้วยอะซิโตน ความเข้มข้นร้อยละ 70 ได้เพิ่มขึ้น โดยคอนเดนซ์แทนนิน มีค่าเพิ่มขึ้นจาก 257.3 เป็น 321.3 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมของตัวอย่าง และสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีค่าเพิ่มขึ้นจาก 773.5 เป็น 805.8 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมของตัวอย่าง Cacace และ Mazza (2003) พบว่าเมื่ออัตราส่วนของตัวทำละลาย (เอธานอลและสารละลายซัลเฟอร์) ต่อตัวอย่างมีค่าสูงขึ้น จาก 6 มิลลิลิตรต่อกรัม เป็น 74 มิลลิลิตรต่อกรัม สามารถทำให้อัตราการสกัดแอนโทไซยานินและสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

จาก milled berries ได้มากขึ้น Pinelo และคณะ (2004b) สกัดสารต้านออกซิเดชันจากเปลือกอัลมอนด์ (almond hulls, *Prunus amygdalus*) และขี้เลื่อยของต้นสน (pine sawdust, *Pinus pinaster*) ด้วยเมธานอล เอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 96 และน้ำกลั่นที่ปรับพีเอชให้เท่ากับ 4 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก พบว่าเมื่ออัตราส่วนของตัวทำละลายต่อตัวอย่างมีค่าเพิ่มขึ้น ส่งผลให้สารที่สกัดออกมาได้ทั้งหมด (total extractables) มีค่าเพิ่มขึ้น

#### 6.4 รูปแบบของการนำไปประยุกต์ใช้

Juntachote และคณะ (2007) รายงานว่าสารสกัดขี้เลื่อยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 ให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และสมบัติการต้านออกซิเดชันในระบบ DPPH ดีกว่าข่าผง แต่เมื่อนำมาประยุกต์ใช้กับเนื้อหมูบดกลับพบว่า การใช้ข่าผงสามารถลดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งวัดในรูป TBARS (thiobarbituric acid reactive substances) และ POV (peroxide value) ได้อย่างมีประสิทธิภาพกว่าการใช้สารสกัด ซึ่งอาจเนื่องจากการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายไม่สามารถสกัดสารต้านออกซิเดชันที่อยู่ในข่าออกมาได้หมด นอกจากนี้อาจเกิดจากการสลายตัวของสารต้านออกซิเดชันบางชนิดในระหว่างการสกัด

#### 6.5 ชนิดของเครื่องเทศ

Siripongvutikom และคณะ (2005) รายงานว่าปริมาณของเบต้าแคโรทีนในเครื่องเทศที่ใช้ในการทำเครื่องต้มยำมีความแตกต่างกัน โดยพบว่าพริก (สีแดง) และใบมะกรูดเป็นแหล่งที่สำคัญของเบต้าแคโรทีน โดยมีปริมาณ  $204.7 \pm 46.72$  กรัมต่อกิโลกรัมของตัวอย่าง และ  $173.60 \pm 61.45$  กรัมต่อกิโลกรัมของตัวอย่าง ตามลำดับ

#### 6.6 การเสริมฤทธิ์ (synergism)

Shobana และ Naidu (2000) พบว่าการนำเครื่องเทศมาผสมกัน ได้แก่ หอม (4 มิลลิกรัม) ผสมกับขิง (2 มิลลิกรัม) และขิง (2 มิลลิกรัม) ผสมกับกระเทียม (2 มิลลิกรัม) ทำให้ความสามารถในการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันเพิ่มขึ้น เนื่องจากการเสริมฤทธิ์กัน

### 7. กุ้งขาวแวนนาไม

กุ้งขาวแวนนาไม หรือ “กุ้งขาวลิโทพีเนียส แวนนาไม” หรือ “กุ้งขาว” มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ คือ *Litopenaeus vannamei* มีชื่อภาษาอังกฤษ คือ Whiteleg shrimp ค้นพบโดย Boone ในปี ค.ศ. 1931 เป็นสายพันธุ์กุ้งทะเลในกลุ่มกุ้งขาวแปซิฟิก (Pacific white shrimp) มีการเพาะเลี้ยงกันอย่างแพร่หลายในหลายประเทศ เช่น สหรัฐอเมริกา เม็กซิโก กัวเตมาลา นิการากัว คอสตาริกา ปานามา โคลัมเบีย เอกวาดอร์ เปรู ลักษณะเฉพาะตัวของกุ้งขาวแวนนาไม มี 8 ปล้องตัว ลำตัวสีขาว ออกใหญ่ ส่วนหัวมี 1 ปล้อง มีกริยาวประมาณ 0.8 เท่าของความยาวเปลือก หัวสั้นกริสูง ปลายกริแคบ กริด้านบนมี 8 ฟัน กริด้านล่างมี 2 ฟัน ส่วนของกริมีลักษณะเป็นสามเหลี่ยมมีสีแดง

อมน้ำตาล เปลือกหัวสีขาวอมชมพูถึงแดง (ดังFigure 21) กุ้งขาวแวนนาไมขยายพันธุ์ตามธรรมชาติในแถบแนวชายฝั่งตะวันออกของมหาสมุทรแปซิฟิก กุ้งชนิดนี้มีความแข็งแรงและทนทานสามารถปรับตัวให้เข้าความเค็มในช่วงกว้างตั้งแต่ 0-35 ส่วนในพัน (ppt) แต่ระดับความเค็มที่เจริญเติบโตได้ดีคือ 10-22 ส่วนในพัน ส่วน อุณหภูมิของน้ำที่เจริญเติบโตได้ดีคือ 26-29 องศาเซลเซียส แต่สามารถทำการเพาะเลี้ยงได้ในช่วงอุณหภูมิ 25-35 องศาเซลเซียส ระดับออกซิเจนละลายน้ำ (D.O.) ควรมีค่า 4-9 มิลลิกรัม/ลิตร และค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ควรอยู่ระหว่าง 7.2-8.6 ซึ่งอาจจะทำการเพาะเลี้ยงได้ทั้งในบริเวณพื้นที่ชายฝั่ง (Coastal area) หรือบริเวณพื้นที่ในแผ่นดินที่ลึกเข้ามาซึ่งเป็นเขตพื้นที่ที่มีความเค็มต่ำ (Inland area) (อาทินันท์ ประสมพงศ์, 2546) ในปี 2548 ประเทศไทยมีการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม ร้อยละ 70 (อีกร้อยละ 30 เลี้ยงกุ้งกุลาดำ) เนื่องจากให้ผลตอบแทนทั้งด้านปริมาณผลผลิตและมูลค่าต่อพื้นที่สูงกว่า ทำให้เกษตรกรหันมาปรับปรุงระบบการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมมากขึ้น โดยผลผลิตกุ้งขาวแวนนาไมต่อหน่วยพื้นที่การผลิตสูงกว่ากุ้งกุลาดำประมาณ 3 เท่า (สำนักงานประมงจังหวัดสตูล, 2549)

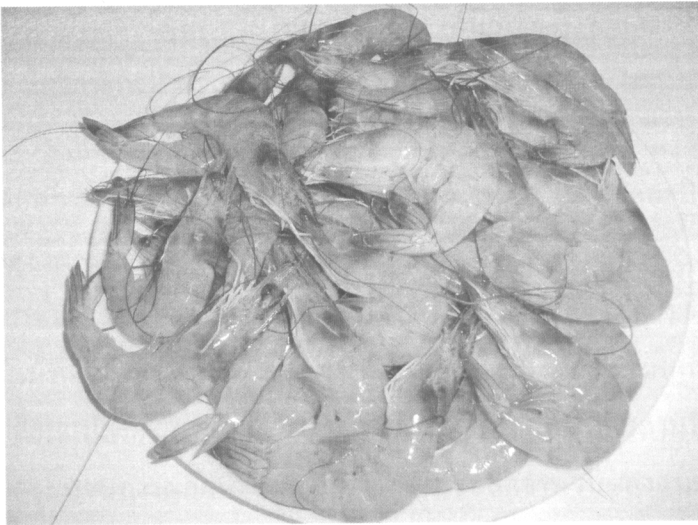


Figure 21. *Litopenaeus vannamei* shrimp size 60-70 shrimp / kg.

## 8. ปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของกุ้งขาวแวนนาไมระหว่างเก็บรักษา

กุ้งเป็นสัตว์ทะเลที่เน่าเสียได้ง่าย เนื่องจากมีความชื้นสูงถึงร้อยละ 75-82 มีค่า

Water activity ( $a_w$ ) มากกว่า 0.99 มีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 5.4-5.6 และมีสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่ค่าโปรตีน (กรโคอะมิโน) ในปริมาณสูง มีแร่ธาตุและวิตามินที่อุดมสมบูรณ์จึงเหมาะแก่การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ นอกจากนี้ปฏิกิริยาเคมีจากเอนไซม์ต่างๆ ในตัวกุ้งขาว ได้แก่ พอลิฟีนอลออกซิเดส โปรตีนเอส และคอลลาจีเนสเป็นสาเหตุทำให้เนื้อกุ้งอ่อนตัว การเกิดปฏิกิริยาชีวเคมีระหว่างการเก็บรักษากุ้งหรือเกิดจากน้ำย่อยของตัวสัตว์น้ำเอง (Autolysis) และจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตภายหลังการตายของกุ้ง โดยเมื่อกุ้งตายจะเกิดการเน่าเสียจากแบคทีเรียพวกที่ติดมากับผิว ได้แก่ *Bacillus*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes* และ *Proteus* นอกจากนี้จุลินทรีย์ที่มีบทบาทในการเน่าเสียของกุ้ง ได้แก่ *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Alteromonas*, *Micrococcus* และ *Vibrio*, *Pseudomonas* sp. เป็นแบคทีเรียที่ทำให้กุ้งแช่เย็นที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0°C เป็นเวลา 13 วัน เกิดการเน่าเสีย จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดสามารถบอกลถึงคุณภาพของกุ้ง โดยทั่วไปกุ้งที่มีคุณภาพดีจะมีจุลินทรีย์ไม่เกิน  $10^6$  โคโลนี/กรัม กุ้งที่มีคุณภาพปานกลางจะมีจุลินทรีย์ไม่เกิน  $10^7$  โคโลนี/กรัม กุ้งที่มีคุณภาพไม่ดีจะมีจำนวนจุลินทรีย์มากกว่า  $10^7$  โคโลนี/กรัม ปริมาณอินโดลที่พบในกุ้งสภาพต่างๆ ไม่เท่ากัน ในกุ้งสดจะไม่พบอินโดลแต่เมื่อกุ้งเริ่มเน่าเสียปริมาณอินโดลจะเพิ่มขึ้น (บุษกร อุดรรักษาดี, 2550) นอกจากนี้คุณภาพกุ้งอาจตรวจสอบได้จากสารเคมีที่เกิดขึ้น เช่น สารระเหยไตรเมทิลอะมีน (TMA) หรือวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (วิลาวล์ย์ เจริญตระกูล, 2537)

การเสื่อมเสียของกุ้ง การเปลี่ยนแปลงสีของเนื้อกุ้งและการอ่อนตัวของเนื้อกุ้งสามารถเกิดขึ้นได้แม้ที่อุณหภูมิต่ำทำให้มูลค่าของกุ้งลดลง ปัจจัยภายนอกที่มีผลต่อจำนวนแบคทีเรียและการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของกุ้งขาวแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับ สถานที่จับและวิธีการจับ นอกจากนี้ยังขึ้นกับกระบวนการผลิตซึ่งมีผลในการเพิ่มหรือลดจำนวนของแบคทีเรียในกุ้งได้อีกด้วย เช่น สภาวะการเก็บรักษา อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บรักษาก่อนนำมาแปรรูป อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ ระยะเวลาในการผลิตและการรักษาอุณหภูมิให้สม่ำเสมอตลอดกระบวนการผลิต การบรรจุหีบห่อเพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากสิ่งแวดล้อมจากภายนอก อีกทั้งป้องกันการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียโดยเก็บรักษาในสภาวะและอุณหภูมิที่เหมาะสมจะช่วยยืดอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ได้ จากการทดลองของ Shamshad และคณะ (1990) (อ้างโดย วิลาวล์ย์ เจริญตระกูล, 2537) พบว่า กุ้งที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 0, 5, 10 และ 15°C มีอายุการเก็บรักษาเท่ากับ 12-16, 8-12, 4-6 และ 1-3 วัน ตามลำดับ สำหรับกุ้งที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20, 25, 30 และ 35°C มีอายุการเก็บรักษาเพียง 24-30, 18-24, 12-18 และ 6-12 ชั่วโมง ตามลำดับ ดังนั้นการใช้เทคโนโลยีที่

เหมาะสม สามารถรักษาสภาพธรรมชาติของกุ้งเพื่อชะลอหรือลดการเสื่อมเสียของกุ้งก่อนเข้าสู่กระบวนการแปรรูปต่อไป

## 9. สภาพการบรรจุและการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์

การบรรจุหีบห่อมีหลายวิธี เช่น (1) การบรรจุหีบห่อแบบสุญญากาศ (Vacuum packaging) คืออากาศในภาชนะบรรจุออกให้มีแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เหลืออยู่ร้อยละ 20-40 และออกซิเจนน้อยกว่าร้อยละ 1 โดยการบรรจุหีบห่อแบบสุญญากาศแนบผิว (Vacuum skin packaging) กล่าวคือฟิล์มพลาสติกที่ขึ้นรูปด้วยความร้อนแล้วจะถูกทำให้แน่นลงด้วยความร้อน จากนั้นใช้สุญญากาศดูดฟิล์มให้แนบติดกับชิ้นผลิตภัณฑ์ อายุการเก็บของผลิตภัณฑ์โดยวิธีการบรรจุแบบนี้จะขึ้นกับชนิดและความเป็นกรด-ด่างของผลิตภัณฑ์ (มยุรี ภาคกล้าเจียก, 2544) (2) การบรรจุหีบห่อแบบดัดแปลงบรรยากาศ (Modified atmosphere packaging, MAP) การเก็บรักษาอาหารภายใต้สภาพบรรยากาศที่มีอัตราส่วนผสมของแก๊สชนิดต่างๆ ชนิดของบรรจุภัณฑ์ที่ใช้ในการบรรจุหีบห่อแบบ MAP สามารถควบคุมการซึมผ่านความชื้น ปริมาณแก๊สออกซิเจน แก๊สไนโตรเจน และแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ตามที่ต้องการ โดยในกระบวนการบรรจุอากาศจะถูกกำจัดออกจากบรรจุภัณฑ์ก่อนและแทนที่ด้วยส่วนผสมของแก๊สที่กำหนด จากนั้นปิดผนึกด้วยความร้อน โดยการเปลี่ยนแปลงส่วนผสมของอากาศระหว่างการเก็บรักษา ขึ้นอยู่กับอัตราการหายใจของอาหารสด อุณหภูมิในการเก็บรักษา ความสามารถในการซึมผ่านไอน้ำและแก๊สของบรรจุภัณฑ์ ความชื้นสัมพัทธ์ภายนอกซึ่งมีผลต่อความสามารถในการซึมผ่านของฟิล์มบางชนิด และพื้นที่ผิวของบรรจุภัณฑ์ต่อปริมาณของอาหารที่บรรจุ (วิไล รังสาตทอง, 2547) ในบางครั้งจะบรรจุแก๊สเฉื่อย เช่น ไนโตรเจนแต่เพียงอย่างเดียวลงไปในภาชนะบรรจุ เพื่อรักษารูปร่างของผลิตภัณฑ์ไว้ สำหรับผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์จำพวกเนื้อวัว หมูและปลา การปรับแต่งบรรยากาศไม่มีผลต่อกระบวนการเอนไซม์ของอาหาร แต่แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ที่เพิ่มขึ้นจะช่วยลดการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ประเภทต้องการแก๊สออกซิเจนได้ เนื่องจากแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ทำปฏิกิริยากับน้ำในเนื้อเยื่อของอาหาร ได้กรดคาร์บอนิกซึ่งเป็นผลให้ความเป็นกรด-ด่างของอาหารลดลง และความเข้มข้นของแก๊สออกซิเจนที่ลดลงจะลดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน ซึ่งเป็นสาเหตุของการเหม็นหืนได้ แต่มีข้อเสีย คือ แก๊สออกซิเจนที่ลดลงหรือแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ที่เพิ่มขึ้น ทำให้เนื้อแดงเกิดสีคล้ำ ไม่น่ารับประทาน ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีความเข้มข้นของแก๊สออกซิเจนในส่วนผสมของแก๊สด้วย (บรรณาธิการอุตสาหกรรมสาร, 2545b) การบรรจุแบบ MAP นิยมใช้แก๊สออกซิเจนในปริมาณต่ำ (ร้อยละ 20-0) เพื่อชะลอการเจริญของจุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศและลดอัตราการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันและบรรจุแก๊สไนโตรเจนแทนแก๊สออกซิเจน โดยแก๊สไนโตรเจนเป็นแก๊สเฉื่อยหรือ

แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งปรับความเป็นกรด-ด่างให้ต่ำลง ช่วยยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (Wikipedia, 2008) ปัจจัยที่มีผลต่อการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ คือ 1) แก๊สที่นำมาบรรจุ ชนิดของแก๊สที่นำมาบรรจุ ได้แก่ แก๊สออกซิเจน และหรือแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ และหรือแก๊สไนโตรเจน โดยอัตราส่วนของแก๊สผสมขึ้นอยู่กับชนิดของผลิตภัณฑ์อาหาร 2) สภาพบรรยากาศการบรรจุ สิ่งที่ต้องพิจารณาหาอัตราส่วนแก๊สผสมที่พอเหมาะที่สุดในการยืดอายุการเก็บรักษาของอาหาร คือ อัตราการหายใจของพืช ส่วนประกอบทางเคมีของอาหารจำพวกเนื้อสัตว์โดยเฉพาะปริมาณไขมันและน้ำ ปฏิกิริยาของไมโอโกลบินในเนื้อกับแก๊สออกซิเจน และคุณสมบัติของบรรจุภัณฑ์ที่เกี่ยวข้องกับการซึมผ่านของแก๊สออกซิเจน แก๊สไนโตรเจน แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ 3) การปิดผนึกภาชนะบรรจุ 4) วิธีการเก็บรักษา การควบคุมอุณหภูมิ ระดับความชื้น และการไหลเวียนของอากาศภายนอกครอบภาชนะบรรจุ ควรเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ภายใต้อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ที่เหมาะสม และ 5) วัสดุที่ทำภาชนะบรรจุ เลือกวัสดุที่ป้องกันการซึมผ่านของแก๊สที่เหมาะสม เพื่อรักษาสภาพการปรับบรรยากาศภายในบรรจุภัณฑ์ไว้ได้ตลอด วัสดุที่นิยมนำมาใช้ทำบรรจุภัณฑ์ คือ พลาสติก เนื่องจากมีให้เลือกหลายชนิดตามความเหมาะสมของการใช้งาน พลาสติกที่นิยมใช้กับอาหารพวกเนื้อหมู เป็ด ไก่ ได้แก่ โพลีเอทิลีน/โพลีเอไมด์/โพลีไวนิลิดีนคลอไรด์/โพลีเอทิลีน เมทาไลซ์ เป็นต้น ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความเหมาะสมและต้นทุน (บรรณาธิการอุตสาหกรรมสาร, 2545a)

Arritt (2004) ทำการเติม *C. botulinum* ลงในชิ้นปลา *Paralichthys dentatus* ก่อนบรรจุในถุงไนลอน จากนั้นปรับบรรยากาศด้วยแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ร้อยละ 100 และบรรจุแบบสุญญากาศในถุง Ultravac เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C แล้วทำการวิเคราะห์สารพิษที่เกิดจาก *C. botulinum* พบว่า ตรวจพบสารพิษในชิ้นปลาที่บรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ ก่อนที่ปลาเกิดการเสื่อมเสีย ( $> 10^7$  CFU/g) ในวันที่ 25 ของการเก็บรักษา สำหรับปลาที่บรรจุแบบสุญญากาศตรวจพบสารพิษในชิ้นปลาก่อนที่ปลาเกิดการเสื่อมเสียในวันที่ 20 ของการเก็บรักษา

Masniyom (2004) บรรจุปลากะพงขาวแล้วภายใต้การปรับบรรยากาศที่มีแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ในสัดส่วนที่สูง เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C พบว่า การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแปรผัน โดยตรงกับความเข้มข้นของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ เมื่อใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 100 สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้มากที่สุด ปลากะพงขาวแล่ที่เก็บรักษาภายใต้การปรับบรรยากาศที่มีแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์สูงมีปริมาณค่าที่ระเหยได้ทั้งหมด ไตรเมทิลเอมีน แอมโมเนีย และฟอสฟอรัสต่ำกว่าตัวอย่างที่เก็บภายใต้บรรยากาศปกติ (ชุดควบคุม) เช่นเดียวกับการทดลองของ มนัสวี เจ็ยศิริเจริญวงศ์และคณะ (2546) ศึกษาผลของการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์อาหารประเภทเนื้อสัตว์หรือปลา เช่น เนื้อหรือปลาแคดเดียว ปลารมควัน

โดยการบรรจุแบบตัดแปลงบรรยากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35°ซ พบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 100 (ปริมาตร/ปริมาตร) สามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli* NCTC 10538 (K12), *S. aureus* ATCC 25923, *Sal. Typhi* ATCC 13311 แต่ไม่มีผลต่อ *C. perfringens* DMST 15191 และแบคทีเรียที่ผลิตกรด สำหรับการบรรจุผลิตภัณฑ์แบบสุญญากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35°ซ ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *C. perfringens*, LAB, *E. coli*, *S. aureus* และ *Sal. Typhi* ดังนั้นการบรรจุแบบสุญญากาศควรใช้ร่วมกับวิธีการถนอมอาหารอย่างอื่น เช่น การลดอุณหภูมิด้วย

Rutherford และคณะ (2007) นำกุ้งแช่แข็งที่ปอกเปลือกและให้ความร้อนแล้วมาละลายน้ำแข็งด้วยการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4°ซ เป็นเวลา 1 วัน จากนั้นผสม *L. monocytogenes* ลงในกุ้งแล้วบรรจุแบบตัดแปลงบรรยากาศด้วยแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 100 และบรรจุแบบสุญญากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 3, 7 และ 12°ซ เป็นเวลา 15 วัน พบว่า ปริมาณ *L. monocytogenes* ไม่เพิ่มจำนวนขึ้น ในชุดกุ้งที่บรรจุแบบตัดแปลงบรรยากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 3°ซ เป็นระยะเวลา 15 วัน สรุปว่าแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์สามารถช่วยชะลอการเจริญเติบโตของเชื้อ Psychrotrophic bacteria โดยเมื่อนำกุ้งมาทดสอบความชอบพบว่า ได้รับการยอมรับทางด้านกลิ่นรสตลอดการเก็บรักษา จากการศึกษาดังกล่าวพบว่า การควบคุมอุณหภูมิในการเก็บรักษาในระดับครัวเรือนค่อนข้างกระทำได้ยาก ดังนั้นการถนอมอาหารหรือการเติมสาร Antimicrobial ช่วยทำให้มีความปลอดภัยจากการเพิ่มจำนวนของเชื้อจุลินทรีย์มากยิ่งขึ้น

Thepnuan (2007) เก็บรักษากุ้งขาวและกุ้งกุลาดำภายใต้การตัดแปลงบรรยากาศ (คาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 80, ออกซิเจนร้อยละ 10 และไนโตรเจนร้อยละ 10) โดยแช่กุ้งในกรดแอสคอร์บิกที่ระดับความเข้มข้น 5 กรัมต่อลิตร 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4°ซ ก่อนนำมาทำการบรรจุในถุง Polyethylene พบว่าสามารถช่วยลดการเสื่อมเสียทางด้านจุลชีววิทยา เคมี และกายภาพของกุ้งทั้งสองชนิดในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°ซ เป็นระยะเวลา 12 วัน โดยการใช้กรดแอสคอร์บิกมีผลต่อการชะลอการย่อยสลายของโปรตีนกล้ามเนื้อซึ่งเป็นผลมาจากการลดลงของการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ อย่างไรก็ตามกุ้งมีความสามารถในการจับน้ำลดลงและบริเวณยางค์เปลี่ยนเป็นสีส้ม

Chen และ Xiong (2008) ศึกษาการเก็บรักษา Red claw crayfish (*Cherax quadricarinatus*) ในถุงพลาสติกชนิด Polyvinylchloride ตัดแปลงบรรยากาศ (แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 80, แก๊สออกซิเจนร้อยละ 10 และแก๊สไนโตรเจนร้อยละ 10) ที่อุณหภูมิ 2°ซ เป็นระยะเวลา 21 วัน พบว่าการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ชอบอากาศและโคลิฟอร์มเพิ่มขึ้นช้ากว่าการบรรจุแบบปกติและแบบสุญญากาศ



Lee และ Baek (2008) ศึกษาปริมาณ *E. coli* O157:H7 ในผักโขมโดยใช้สารเคมีร่วมกับการบรรจุแบบตัดแปลงบรรยากาศ แก๊สไนโตรเจนร้อยละ 100 แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 100 โดยนำผักโขมชิ้นในสารละลายคลอรีนไดออกไซด์หรือโซเดียมไฮโปคลอไรด์เข้มข้น 100 ppm เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นบรรจุผักโขมแบบตัดแปลงบรรยากาศและเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 7°C พบว่า ปริมาณ *E. coli* O157:H7 ลดลง 3-4 log cycle นอกจากนี้พบว่า การเก็บรักษาผักโขมด้วยการตัดแปลงบรรยากาศด้วยแก๊สไนโตรเจนร้อยละ 100 แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 100 ให้ผลทางจุลชีววิทยาไม่แตกต่างกัน ( $P > 0.05$ )

Mejlholm และคณะ (2008) ได้ทดลองเก็บรักษาถุงแช่ในน้ำเกลือซึ่งมีส่วนประกอบของสารละลายกรดอินทรีย์ผสม 2 ชุดการทดลอง (เข้มข้นร้อยละ 80) ได้แก่ (1) Benzoic acid, Citric acid และ Sorbic acid (2) Acetic acid, Citric acid และ Lactic acid จากนั้นบรรจุถุงในถ้วยพลาสติก อัตราส่วนถุงต่อสารละลายน้ำเกลือ 1: 0.7 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2°C สำหรับการบรรจุแบบตัดแปลงบรรยากาศ (แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 40 แก๊สไนโตรเจนร้อยละ 60) ถุงจะผ่านการแช่ในน้ำเกลือ 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 2°C และแยกน้ำเกลือออกก่อนบรรจุในสถานะตัดแปลงบรรยากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2°C พบว่าถุงแช่ในน้ำเกลือที่มีส่วนประกอบของสารละลายกรดอินทรีย์ (1) Benzoic acid, Citric acid และ Sorbic acid อัตราส่วนของกรดอินทรีย์ร้อยละ 0.15: 0.79: 0.05 (w/w) ซึ่งบรรจุแบบตัดแปลงบรรยากาศสามารถเก็บรักษาได้นานมากกว่า 75 วัน ขณะที่ถุงแช่ในน้ำเกลือที่มีสารอินทรีย์ชนิดเดียวกันอัตราส่วนร้อยละ 0.13: 0.66: 0.04 (w/w) ที่บรรจุในถ้วยพลาสติกสามารถเก็บรักษาได้นาน 53-60 วัน ชุดการทดลองถุงแช่ในน้ำเกลือที่มีส่วนประกอบของกรดอินทรีย์ (2) Acetic acid, Citric acid และ Lactic acid อัตราส่วนร้อยละ 1.26: 0.17: 0.97 (w/w) มีการเติม Na-diacetate บรรจุแบบตัดแปลงบรรยากาศสามารถเก็บรักษาได้ 56-63 วัน ขณะที่ถุงแช่ในน้ำเกลือที่มีสารอินทรีย์ชนิดเดียวกันอัตราส่วนร้อยละ 1.23: 0.19: 1.08 (w/w) ที่บรรจุในถ้วยพลาสติกสามารถเก็บรักษาได้นาน 69-84 วัน จากการทดลองข้างต้นจึงสรุปว่า การเก็บรักษาถุงแช่ในน้ำเกลือด้วยการตัดแปลงบรรยากาศมีผลในการยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้ ขึ้นอยู่กับกระบวนการผลิตและสารเคมีที่ใช้ในการผลิต

## 10. การมาริเนท (Marinating)

Marinated มาจากคำว่า marine ซึ่งมาจากภาษาละติน ส่วนในประเทศอิตาลี สเปน และฝรั่งเศส เรียกว่า soaking/pickling in salt brine (Young and Lyon, 1997) การมาริเนทเป็นเทคนิคในการทำอาหารเพื่อให้เนื้อนุ่ม พัฒนากลิ่นรส และความฉ่ำของเนื้อ (Lemos *et al.*, 1999) และยืดอายุการเก็บรักษาสัตว์ปีก อาหารทะเล และผัก (Cadun *et al.*, 2005) ในขั้นตอนของการมาริ

เนทมีการใช้สารละลายซึ่งอาจประกอบด้วย น้ำตาล เครื่องเทศ น้ำมัน กรดอินทรีย์ เช่น กรดอะซิติก และเกลือ โดยเกลือเป็นส่วนผสมที่มีความสำคัญมากที่สุดในการมาริเนท ซึ่งมีผลต่อการพัฒนากลิ่นรสและความนุ่มของเนื้อ โซเดียมคลอไรด์จะปรับปรุงคุณสมบัติของเนื้อโดยเพิ่มความสามารถในการละลายของโปรตีนไมโอไฟบริล (Babji *et al.*, 1982) แต่แคลเซียมคลอไรด์จะทำให้กล้ามเนื้อมีสีคล้ำและเพิ่ม aerobic plate count (Wheeler *et al.*, 1993) และเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีของเนื้ออย่างรวดเร็ว (Kerth *et al.*, 1995) ส่วนโพสเฟตมีผลต่อคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์เนื้อโดยทำให้สีและกลิ่นรสมีความคงตัว เพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำ (Lemos *et al.*, 1999) และลดค่า TBA ในเนื้อไก่ที่เก็บรักษาในอุณหภูมิที่เย็นเป็นเวลา 1-3 วัน (Lemos *et al.*, 1999) การมาริเนทส่วนใหญ่มีการใช้เกลือร่วมกับฟอสเฟต เพื่อเสริมการทำงานให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความฉ่ำและความนุ่มของเนื้อดียิ่งขึ้น (Jensen *et al.*, 2003) แต่ทำให้ผลิตภัณฑ์มีน้ำหนักเพิ่มมากขึ้นเนื่องจากการอุ้มน้ำไว้ โดยความเข้มข้นที่ใช้ต้องเพียงพอในการพัฒนาความนุ่มและความฉ่ำของเนื้อ แต่ไม่มีผลต่อกลิ่นรส สี และไม่ทำให้เนื้อนุ่มจนและ (Sheard and Tali, 2004) กรดก็เป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้เนื้อมีความนุ่ม โดยกรดเหนี่ยวนำให้เกิดการทำงานของเอนไซม์ cathepsin ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีอยู่ในกล้ามเนื้อของสัตว์น้ำ ซึ่งมีผลต่อการละลายโปรตีน ไมโอไฟบริลและเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ส่งผลให้เนื้อมีความนุ่ม (Berge *et al.*, 2001) ส่วนวัตถุประสงค์ของการเติมน้ำตาล คือ ปรับปรุงรสเปรี้ยวที่เกิดจากการเติมกรดเพื่อให้มีค่าความเป็นกรดต่างอยู่ในช่วงที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ (Björkroth, 2005)

การมาริเนทเป็นการแปรรูปกึ่งการถนอมอาหาร (semi-preserves) ส่งผลให้อายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ยังอยู่ในเวลาที่จำกัดโดยการทำงานของกรดและเกลือพร้อมกัน โดยจะเพิ่ม ionic strength และลดค่าความเป็นกรดต่างของผลิตภัณฑ์ โดยทั่วไปกรด (กรดอะซิติก) และเกลือเป็นองค์ประกอบที่สำคัญในการยับยั้งการทำงานของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคและแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียรวมทั้งเอนไซม์ที่มีอยู่ในปลา ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกลิ่นรสและยืดอายุการเก็บรักษาในผลิตภัณฑ์ ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีรสชาติที่ได้รับความพอใจ โดยปราศจากความแข็ง (Gökglu *et al.*, 2004) และประเทศในยุโรป มีการใช้กรดซอร์บิกและกรดเบนโซอิก เพื่อที่จะยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์มาริเนท (Cadun *et al.*, 2005)

เทคโนโลยีการมาริเนทในอุตสาหกรรมเนื้อและสัตว์ปีกมีการพัฒนาอย่างต่อเนื่อง ปัจจุบันจึงได้มีการศึกษาการแปรรูปปลาหมักมากขึ้น โดยเฉพาะปลาซาร์ดีน เนื่องจากปลาซาร์ดีนมีปริมาณไขมันที่สูงจึงมีความเหมาะสมอย่างมากสำหรับการมาริเนท แต่สำหรับในการมาริเนทกุ้งยังมีการพัฒนาที่น้อยมาก (Cadun *et al.*, 2005)

## 11. สารประกอบฟอสเฟต

สารประกอบฟอสเฟตที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารนั้นแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ ออร์โทฟอสเฟต (orthophosphates) ประกอบด้วย ฟอสฟอรัส 1 อะตอม และคอนเดนส์ฟอสเฟต (condensed phosphates) ซึ่งเกิดจากการให้ความร้อนแก่ส่วนผสมของสารประกอบออร์โทฟอสเฟต ภายใต้สภาวะที่ควบคุมอุณหภูมิ ทำให้ได้สารประกอบที่มีฟอสฟอรัสตั้งแต่ 2 อะตอมขึ้นไป โดยเชื่อมต่อกันด้วยออกซิเจน สารประกอบฟอสเฟตที่มีฟอสฟอรัส 2 อะตอม เรียกว่า ไพโรฟอสเฟต (pyrophosphate) ส่วนสารประกอบฟอสเฟตที่เรียงต่อเป็นโซ่ยาวมีฟอสฟอรัสตั้งแต่ 3 อะตอมขึ้นไป เรียกว่า โพลีฟอสเฟต (polyphosphate) สำหรับฟอสเฟตที่โมเลกุลเชื่อมต่อกันเป็นวงจะเรียกว่า เมตาฟอสเฟต (metaphosphate) (Dziezak, 1990)

สารประกอบฟอสเฟตมีบทบาทและคุณสมบัติที่สำคัญหลายประการและสามารถใช้ในอาหารเพื่อทำหน้าที่ที่แตกต่างกัน เช่น คุณสมบัติในการเป็นบัฟเฟอร์ (Buffering capacity) โดยสารประกอบฟอสเฟตที่ทำหน้าที่เป็นบัฟเฟอร์ได้ดี คือ ออร์โทฟอสเฟตและไพโรฟอสเฟต ส่วนโพลีฟอสเฟตนั้นยังมีขนาดโมเลกุลยาวมากขึ้นคุณสมบัติการเป็นบัฟเฟอร์ก็จะลดลง นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติในการสามารถจับกับไอออนบวกของโลหะชนิดต่างๆ เช่น แคลเซียม แมกนีเซียม ทองแดง และเหล็ก ซึ่งโลหะเหล่านี้สามารถเร่งปฏิกิริยาเคมีต่างๆ ทำให้เกิดปฏิกิริยากับองค์ประกอบของอาหาร เช่น การเกิดออกซิเดชัน (Dziezak, 1990) และฟอสเฟตยังมีคุณสมบัติในการต้านจุลินทรีย์โดยจับโลหะที่มีความจำเป็นต่อการเจริญของจุลินทรีย์ (Elliott *et al.*, 1964)

### บทบาทของสารประกอบฟอสเฟตที่มีต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์เนื้อ

**การเพิ่มความนุ่ม** โดยเป็นตัวทำให้ค่าความเป็นกรดค้างของเนื้อมีค่าเพิ่มขึ้นและช่วยให้โปรตีนของกล้ามเนื้อคลายตัว เนื่องจากเกิดการแตกตัวของแอสโคไมโอซินเป็นไมโอซินและแอสคิน (Nauss *et al.*, 1969)

**การเพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำ** โดยทำให้เส้นใยโปรตีนเกิดการยึดตัวล้อมรอบโมเลกุลน้ำ (Dziezak, 1990) โดย alkaline phosphate เช่น เตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟต โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต มีความเหมาะสมในการใช้ปรับปรุงความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อสัตว์ เพราะ acid phosphate เช่น โซเดียมแอสิดไพโรฟอสเฟต จะทำให้ค่าความเป็นกรดค้างของเนื้อลดลงและทำให้เนื้อเกิดการหดตัว (Hourant, 2004)

**เพิ่มรสชาติอาหาร** โดยการทำให้โมเลกุลของเนื้อसानกันเป็นตาข่าย สามารถกักน้ำให้ของเหลวในเนื้อไหลออกมา ซึ่งทำให้เนื้อมีความฉ่ำ (Hourant, 2004)

## 12. การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มขำ

การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มขำ อาจมาจากหลายสาเหตุ ร่วมกัน ได้แก่

### 12.1 วัตถุดิบ

เครื่องเทศและผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ ได้แก่ แบคทีเรีย ยีสต์และรา (Alemela *et al.*, 2002) โดยส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่สร้างสปอร์ และเชื้อรา บางครั้งอาจมีพวกโคลิฟอร์มและแบคทีเรียแกรมลบด้วย โดยจุลินทรีย์ดังกล่าว มีแหล่งกำเนิดจากดิน พืชและสัตว์

ชนิดและปริมาณการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในเครื่องเทศ ขึ้นอยู่กับชนิดของเครื่องเทศ ภูมิภาค สภาพการปลูก การเก็บเกี่ยว การจัดการหลังการเก็บเกี่ยว วิธีการขนส่ง กระบวนการแปรรูป บรรจุภัณฑ์ที่ใช้ในการเก็บรักษาและสภาพแวดล้อม (Alemela *et al.*, 2002) นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับองค์ประกอบทางเคมีของเครื่องเทศ การเป็นสารต้านจุลินทรีย์ของเครื่องเทศ และองค์ประกอบของอาหาร (Bhat *et al.*, 1987 อ้างโดย McKee, 1995)

Siripongvutikorn และคณะ (2005) พบว่าตะไคร้และเหง้าขำมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลางสูง โดยมีค่าอยู่ในช่วง  $10^4$ - $10^7$  และ  $10^4$ - $10^6$  โคโลนีต่อกรัม (cfu/g) ตามลำดับ ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากการสัมผัสกับวัสดุปลูกโดยตรง นอกจากนี้ตะไคร้ยังมีลักษณะของซอกกาบใบซึ่งยากแก่การทำความสะอาด (นุชรี ชาติวิงสากุล, 2552) ส่วนใบมะกรูดและพริกขี้หนูมีปริมาณจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง อยู่ในช่วง  $10^4$ - $10^5$  และ  $10^3$ - $10^4$  โคโลนีต่อกรัม ตามลำดับ

### ชนิดของจุลินทรีย์ที่อาจปนเปื้อนในเครื่องเทศ

1. **Coliform bacteria** เป็นเชื้อแบคทีเรียในวงศ์ Enterobacteriaceae ย้อมติดสีแกรมลบ เป็นเซลล์รูปแท่ง ท่อนสั้นๆ สามารถเคลื่อนที่ได้โดยใช้แฟลกเจลลา (flagella) รอบเซลล์ เป็นแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ในที่มีหรือไม่มีอากาศ (facultative anaerobe) อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโต คือ 35-37°C สามารถผลิตกรดอินทรีย์ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และก๊าซไฮโดรเจนได้ โดยการย่อยสลายกลูโคส (สุวิมล กิรติพิบูล, 2546) ถ้าผู้บริโภครับประทานอาหารที่มีการปนเปื้อนของเชื้อนี้ ทำให้เกิดการของโรคอุจจาระร่วง (diarrhea) คือ ถ่ายเป็นน้ำหรือถ่ายเหลวบ่อยครั้ง และมักพบอาการเป็นไข้และอาเจียนร่วมด้วย

2. **Bacillus cereus** เป็นเชื้อแบคทีเรียในวงศ์ Bacillaceae มีรูปร่างแท่ง ติดสีแกรมบวก มีการเรียงตัวเป็นสายยาว ขนาดความกว้างของเซลล์มากกว่าหรือเท่ากับ 0.9

ไมโครเมตร มีสปอร์ที่ทนความร้อนสูง เป็นแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ในที่มีอากาศ (aerobe) หรือแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ในที่มีหรือไม่มีอากาศ อุณหภูมิสูงสุดที่สามารถเจริญเติบโตได้คือ ไม่เกิน 75°C และอุณหภูมิต่ำสุดที่สามารถเจริญเติบโตได้คือ 3°C สามารถทนเกลือที่มีความเข้มข้นร้อยละ 12 พบทั่วไปในธรรมชาติ คือ ในดิน ฝุ่นละออง ผลิตภัณฑ์จากพืช เช่น ธัญพืช ข้าวและจากเครื่องปรุงแต่งหรือส่วนผสมของอาหาร เป็นต้น มักเป็นสาเหตุของการเน่าเสียในอาหารจำพวกที่มีแป้งและโปรตีนเป็นส่วนประกอบ บางครั้งอาจพบในซอสและซูปต่างๆ เชื้อชนิดนี้สามารถสร้างสารพิษภายในเซลล์ (enterotoxin) ได้ 2 ชนิด ชนิดหนึ่งทนต่อความร้อน (heat stable) เป็นสาเหตุให้เกิดอาการอาเจียน ส่วนอีกชนิดถูกทำลายได้ง่ายเมื่อถูกความร้อน (heat labile) เป็นสาเหตุทำให้เกิดอาการอุจจาระร่วง

Antai (1988 อ้างโดย McKee, 1995) พบการปนเปื้อนของ *B. cereus*, *B. polymyxa*, *B. subtilis* และ *B. coagulans* ในเครื่องเทศในไนจีเรีย (Nigeria) ได้แก่ พริกหยวก (red pepper) พริกไทย (black pepper) ไธม์ (thyme) และผงเครื่องแกง (curry powder)

การป้องกัน *B. cereus* เป็นปัญหากับอุตสาหกรรมการจัดบริการอาหาร ซึ่งมีการเตรียมอาหารขึ้นเป็นจำนวนมากและเตรียมล่วงหน้าเป็นเวลานาน อีกทั้งมีการเก็บรักษาที่ไม่ถูกต้อง จากนั้นอาจนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาไม่ถูกต้อง *B. cereus* พบได้ในอาหารหลายชนิด สปอร์ของเชื้อทนต่ออุณหภูมิที่ทำให้อาหารสุก ดังนั้น ขั้นตอนการจัดเตรียม การเก็บรักษา การขนส่งอาหาร จึงต้องกระทำอย่างระมัดระวัง (สมณฑา วัฒนสินธุ์, 2537)

**3. *Clostridium* spp.** เป็นเชื้อรูปท่อน ดิคลีแกรมบวก เมื่ออายุมากขึ้นจะดิคลีแกรมลบ สร้างสปอร์ได้ เคลื่อนที่ได้โดยใช้แฟลกเจลลาที่อยู่รอบเซลล์ เป็นเชื้อที่ไม่ต้องการอากาศในการเจริญเติบโต แม้บางสายพันธุ์จะทนออกซิเจนได้ มักพบปนเปื้อนในรูปสปอร์ *Clostridium perfringens* (welchii) ทำให้เกิดการติดเชื้อที่แผลและเกิด gas gangrene ในขณะที่ *C. tetani* ทำให้เกิด tetanus และ *C. botulinum* ทำให้เกิด botulism food poisoning

มีการตรวจพบการปนเปื้อนของ *C. perfringens* ในเครื่องเทศ ได้แก่ จิง (Boer et al., 1985 อ้างโดย McKee, 1995) พริกไทย (Dacarro et al., 1994 อ้างโดย McKee, 1995) เครื่องเทศใน Netherlands (Boer and Boot, 1983 อ้างโดย McKee, 1995) และเครื่องเทศในอินเดีย (Banerjee and Sarkar, 2003)

**4. *Staphylococcus aureus*** เป็นแบคทีเรียรูปกลม มีขนาดเล็กประมาณ 0.5-1 ไมโครเมตร มีการจัดเรียงเซลล์แบบเดี่ยวๆ เป็นคู่หรือเป็นกลุ่มไม่แน่นอน บางครั้งมีการจัดเรียงคล้ายรวงงู้น ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างสปอร์ มีโคโลนีสีเหลือง เหลืองทอง ส้มและขาว อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตคือ 35°C ส่วนอุณหภูมิที่เชื้อเจริญเติบโตได้อยู่ระหว่าง 4°C จนถึง

60°ซ พีเอชที่เหมาะสม คือ 7.0-7.5 พีเอชที่เชื้อเจริญเติบโตได้อยู่ระหว่าง 4.2-9.3 เชื้อส่วนใหญ่เจริญได้ในที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 15 เชื้อสามารถเจริญเติบโตในอาหารที่มีกลูโคสเป็นเชื้อแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ในที่มีหรือไม่มีอากาศ เจริญเติบโตในสภาวะที่มีออกซิเจนได้ดีกว่าสภาวะไร้ออกซิเจน *S. aureus* ที่ผลิตสารพิษส่วนใหญ่มักเป็นพวกที่สามารถสังเคราะห์เอนไซม์โคแอกูเลส (coagulase) ได้

*S. aureus* เป็นเชื้อที่พบได้ตามส่วนต่างๆของร่างกายมนุษย์ เช่น จมูก มือ แผล รื้อรัง ผิวน้ำ รวมทั้งบนเสื้อผ้า อากาศและฝุ่นละออง การปนเปื้อนของเชื้อนี้ในอาหาร มาจากการไอ หรือจามลงในอาหาร หรือการได้รับเชื้อจากผิวน้ำ หรือได้รับเชื้อภายหลังการพาเสอร์ไรส์ อาหารที่ไม่ผ่านการหุงต้มหรืออาหารสุกๆดิบๆ Christensen (1967 อ้างโดย McKee, 1995) พบการปนเปื้อนของ *S. aureus* ในพริกไทยและพริกหยวก

เมื่อเชื้อ *S. aureus* ปนเปื้อนในอาหารและมีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเติบโต รวมทั้งมีระยะเวลาเพียงพอต่อการเติบโต และสร้างสารพิษภายในเซลล์ แล้วปล่อยออกนอกเซลล์ลงสู่อาหาร ชนิดของสารพิษที่สร้างมี 5 ชนิด คือ เอ บี ซี ดี และอี ซึ่งมีคุณสมบัติทนความร้อนในระดับอุณหภูมิพาเสอร์ไรส์ คือ 72 °ซ เป็นเวลา 15 นาที และยังทนความร้อนระดับ 143.3 °ซ เป็นเวลา 9 วินาที สารพิษชนิดนี้ไม่ทำให้รูปสัมผัสของอาหารมีการเปลี่ยนแปลง ผู้บริโภคจึงไม่สามารถทราบได้ว่ามีสารพิษเกิดขึ้นในอาหาร เมื่อรับประทานอาหารที่มีสารพิษเข้าไปเป็นเวลาประมาณ 1-6 ชั่วโมง จะมีอาการอาหารเป็นพิษ ทำให้เกิดอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง และท้องเดิน อาการป่วยจะดีขึ้นภายในเวลา 8-24 ชั่วโมง

5. **ยีสต์และรา** เครื่องเทศที่มีความชื้นสูงมีการเจริญของเชื้อราที่สร้างสารพิษ (toxigenic molds) ได้แก่ *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. และ *Fusarium* spp.

Banerjee และ Sarkar (2003) พบว่าเครื่องเทศของอินเดียทั้งหมด 154 ชนิด พบการปนเปื้อนของเชื้อราร้อยละ 97 (พบเชื้อราในเครื่องเทศ 150 ชนิดจาก 154 ชนิด) โดยพบการปนเปื้อนของเชื้อราสูงในพริกป่น

การลดปัญหาจุลินทรีย์ปนเปื้อนจากวัตถุดิบที่ใช้ ควรเลือกใช้วัตถุดิบที่สะอาด มีการตรวจสอบจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในวัตถุดิบที่ใช้ และมีการทำลายหรือกำจัดจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนตามความเหมาะสม

## 12.2 สภาพแวดล้อมของการผลิตและเครื่องมือ

จุลินทรีย์ที่มักพบในระหว่างการผลิตและบรรจุ มักเป็นแบคทีเรียแกรมลบ ซึ่งอยู่ตามจุดที่ทำความสะอาดยาก เช่น ข้อต่อต่างๆ ซึ่งอาจมีส่วนผสมต่างๆในผลิตภัณฑ์ไปสะสมอยู่

เชื้อที่ปนเปื้อนตามพื้นและผนังมักเป็นแบคทีเรียแกรมบวกรูปแท่งหรือรูปกลม และสปอร์ของรา สำหรับเชื้อแกรมลบจะทนทานต่อสภาพพื้นผิวแห้งได้น้อยกว่า แต่อาจคงอยู่ได้ในช่วงระยะเวลาหนึ่ง

การปนเปื้อนจากอากาศ มักเกี่ยวข้องกับฝุ่นผง และสะเก็ดผิวหนังที่หลุดออกมา เชื้อที่พบส่วนใหญ่จะเป็นรา สปอร์ของแบคทีเรียและแบคทีเรียรูปร่างกลมที่พบตามผิวหนัง (skin cocci)

### 12.3 บุคลากร

การปนเปื้อนจากผู้ปฏิบัติงานเป็นสิ่งที่ต้องระวังที่สุด ในสภาพการเคลื่อนไหวปกติจะมีส่วนของผิวหนังหลุดออกมา  $10^4$  เซลล์ต่อนาที (Schiller *et al.*, 1968 อ้างโดย จันทนา เวสพันธ์, 2552) จุลินทรีย์ส่วนใหญ่เป็นกลุ่ม micrococci ที่ไม่ทำให้เกิดโรค บางครั้งอาจเจอ *S. aureus* ด้วย ถ้าสุขอนามัยไม่ดี อาจพบเชื้ออื่น เช่น *E. coli* และ *Salmonella spp.*

### 12.4 กระบวนการผลิตที่ใช้

ขั้นตอนต่างๆ ในการผลิต ควรมีโอกาสปนเปื้อนจากจุลินทรีย์น้อยที่สุด กระบวนการทำลายเชื้อควรเหมาะสม และควรมีการประเมินกระบวนการผลิตที่ใช้ตั้งแต่ต้นจนจบ

### 12.5 ภาชนะบรรจุ

ภาชนะบรรจุและฝาปิดต้องสะอาด และควรเลือกใช้ภาชนะให้เหมาะสม

## 13. การเสื่อมเสีย/เน่าเสียของอาหาร (Food deterioration/ spoilage)

การเสื่อมเสีย/เน่าเสียของอาหาร หมายถึง การที่อาหารมีการเปลี่ยนแปลงทางด้านเคมีและกายภาพ ทำให้ลักษณะของอาหาร เช่น ลักษณะเนื้อสัมผัส กลิ่น รส สีและคุณค่าทางอาหาร เปลี่ยนไป การเน่าเสียของอาหาร อาจเกิดจากจุลินทรีย์หรือเอนไซม์ไปทำให้อาหารเสื่อมคุณภาพ และมีลักษณะที่ไม่ต้องการ เป็นผลทำให้เกิดการสูญเสียทางเศรษฐกิจและอาจทำให้ไม่ปลอดภัยในการบริโภค

### 13.1 สาเหตุการเสื่อมเสีย/เน่าเสียของอาหาร

การการเสื่อมเสีย/เน่าเสียของอาหาร เกิดขึ้นจากการเปลี่ยนแปลงทางด้านเคมีและกายภาพของอาหาร ซึ่งอาจทำให้อาหารนั้นเป็นพิษหรือบริโภคไม่ได้ และอาหารมีลักษณะทางด้านกลิ่นรสและลักษณะเนื้อสัมผัสเปลี่ยนไป

สาเหตุที่ทำให้อาหารเน่าเสีย แยกออกเป็น 2 อย่าง (ครุณี ฐะนันท์กุล, 2543; บุษกร อุดรพิชาติ, 2545) คือ

**13.1.1 การเสื่อมเสีย/เน่าเสียของอาหารที่เกิดขึ้นจากปัจจัยภายใน** (endogeneous food spoilage) เป็นการเน่าเสียที่เกิดขึ้นเนื่องจากเอนไซม์ที่มีอยู่ในอาหาร เช่น ปฏิกริยาการเปลี่ยนแปลงของอาหารเป็นสีน้ำตาล (browning reaction) โดยเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส การเหม็นหืนของอาหารพวกไขมันโดยเอนไซม์ไลพอกซีจีเนส เป็นต้น

**13.1.2 การเสื่อมเสีย/เน่าเสียของอาหารที่เกิดขึ้นจากปัจจัยภายนอก** (exogenous food spoilage) ซึ่งแบ่งได้เป็น 3 ประเภท คือ

**13.1.2.1 สาเหตุทางเคมี** อาหารทุกชนิดประกอบขึ้นจากส่วนประกอบทางเคมีของธาตุและสารประกอบ เมื่อพืช ผัก ผลไม้ ถูกเก็บเกี่ยวก็ย่อมเกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมี ปฏิกริยาทางเคมีที่ทำให้อาหารเน่าเสีย เช่น ปฏิกริยาการเติมออกซิเจนในไขมันที่มีน้ำอยู่ด้วย ทำให้ไขมันเหม็นหืน ไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

**13.1.2.2 สาเหตุทางกายภาพ** การเน่าเสียของผัก ผลไม้และอาหารอื่นๆ เริ่มต้นตั้งแต่การเก็บเกี่ยวจนถึงผู้บริโภค การเก็บเกี่ยว การบรรจุ การขนย้ายที่ไม่ถูกวิธี ระยะเวลาของการเก็บรักษา รวมถึงสภาพแวดล้อมของการเก็บรักษาที่ไม่เหมาะสม สิ่งต่างๆเหล่านี้มีผลทำให้ผักและผลไม้เกิดรอยชำ ทำให้อาหารเสื่อมเสียและคุณภาพของอาหารคือลดลงด้วย

**13.1.2.3 สาเหตุที่เกิดจากจุลินทรีย์** เนื่องจากอาหารแต่ละชนิดมีองค์ประกอบที่ไม่เหมือนกัน และจุลินทรีย์แต่ละชนิดมีการผลิตเอนไซม์แตกต่างกัน ฉะนั้นการเน่าเสียของอาหารจึงเกิดจากจุลินทรีย์ต่างชนิดกัน ส่วนใหญ่แล้วการเน่าเสียของอาหารมักเกิดจากเชื้อแบคทีเรียซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่พบได้กว้างขวางในธรรมชาติรวมทั้งในอาหาร แบคทีเรียมักทำให้อาหารสด เช่น นมสด ไข่ อาหารทะเล เกิดการเน่าเสีย การเน่าเสียของอาหารนั้นเกิดจากการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในอาหาร การที่แบคทีเรียเจริญเติบโตในอาหารได้หรือไม่ขึ้นกับปัจจัยภายในอาหารเอง เช่น สารอาหาร พิเอช ความชื้น ปริมาณออกซิเจนและโครงสร้างทางชีววิทยาของอาหารหรือสารยับยั้งในอาหาร เป็นต้น นอกจากนั้นยังขึ้นกับปัจจัยภายนอก เช่น อุณหภูมิที่เก็บอาหาร ความชื้นสัมพัทธ์และปริมาณก๊าซ เป็นต้น (คณาจารย์ภาควิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร, 2539) จุลินทรีย์สามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วในอาหารที่มีความชื้นพอเหมาะ สารอาหารครบถ้วน ในสภาพที่มีอุณหภูมิและออกซิเจนเหมาะสม โดยในระหว่างการเจริญเติบโตนั้นจุลินทรีย์จะสร้างเอนไซม์ออกมาย่อยสลายอาหาร ซึ่งอาจเป็นเอนไซม์ชนิดที่สร้างภายในเซลล์แล้วปล่อยออกนอกเซลล์ (extracellular enzymes) หรืออาจเป็นเอนไซม์ชนิดที่สร้างภายในเซลล์แล้วเก็บภายในเซลล์ (intracellular enzymes) โดยจะปล่อยออกนอกเซลล์เมื่อเซลล์แตก (cell lysis) ผลจากการย่อยสลายอาหารทำให้จุลินทรีย์เติบโตเพิ่มจำนวนในอาหารพร้อมๆกับมีการปลดปล่อยสารบางชนิดออกมา ซึ่งสารที่ขับออกมาเหล่านั้นบางชนิดมีประโยชน์ต่อมนุษย์ เช่น ผลิตภัณฑ์อาหาร



หมัก ส่วนสารบางชนิดที่จุลินทรีย์ขับออกมาภายหลังการเติบโตแล้วทำให้อาหารเน่าเสีย เช่น การทำให้เกิดเมือกในอาหาร โดยเชื้อ *B. subtilis* ทำให้ขนมปังเน่าเสียโดยมีเมือกเกิดขึ้น การเน่าเสียของอาหารเนื่องจากจุลินทรีย์มีหลายลักษณะ เช่น การเปลี่ยนแปลงของสี กลิ่นรส และเนื้อสัมผัส มีการสร้างเมือก มีก๊าซสะสม ทำให้อาหารมีฟองหรืออาหารมีความขุ่นมากขึ้น เป็นต้น โดยชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย ได้แก่

**13.1.2.3.1 เชื้อรา** สามารถเจริญได้ในอาหารทุกชนิดที่ประกอบขึ้นจาก สารเคมีจำพวกคาร์บอน ไฮโดรเจนและออกซิเจน อาหารส่วนใหญ่ถ้าพบว่ามีเชื้อราเจริญอยู่จะทำให้อาหารนั้นไม่เป็นที่พึงประสงค์ของผู้บริโภค

**13.1.2.3.2 ยีสต์** เจริญได้ดีในอาหารที่มีน้ำตาลเป็นส่วนประกอบ ทำให้เกิด กระบวนการหมัก

**13.1.2.3.3 แบคทีเรีย** มีหลายชนิดเจริญได้ทั้งในอากาศ ดิน น้ำและอาหาร ทุกประเภท แบคทีเรียบางชนิดเมื่อเจริญบนอาหาร ทำให้เกิดการสลายตัวของอาหาร ได้สารที่มี พิษต่อมนุษย์ แบคทีเรียส่วนใหญ่ไม่เจริญในสภาพของอาหารที่มีความเป็นกรดสูง แต่ในสภาพที่ เหมาะสมแบคทีเรียจะเจริญได้อย่างรวดเร็ว ซึ่งแบคทีเรียแต่ละชนิดมีสภาพที่เหมาะสมแตกต่างกัน เช่น บางชนิดเจริญในที่ซึ่งไม่มีออกซิเจน บางชนิดต้องการออกซิเจน เป็นต้น

#### 14. Hurdle technology (วิไล รังสาตทอง, 2543)

คือ อุปสรรคหรือปัจจัยที่ใช้ในการป้องกันหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ รวมทั้งการเกิดปฏิกิริยาที่ทำให้อาหารเกิดการเสื่อมเสียซึ่งอาจเป็นปฏิกิริยาทางเคมีหรือชีวเคมี ปัจจัยดังกล่าว ได้แก่

- อุณหภูมิ (สูงหรือต่ำ)
- พีเอช
- $a_w$
- สารเคมี (เกลือ น้ำตาลหรือสารเคมีอื่นๆ)
- ปริมาณออกซิเจนหรือรีดอกซ์โพเทนเชียล (redox potencial)
- การบรรจุ (บรรจุในพลาสติก แก้วหรือกระป๋อง)
- การดัดแปลงบรรยากาศ (modified atmosphere) เช่น การเติมก๊าซ

คาร์บอนไดออกไซด์หรือก๊าซอื่นๆ

## 15. การใช้จุลินทรีย์ต่ำในการเก็บรักษาอาหาร (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545)

จุลินทรีย์ต่ำมีผลไปลดปฏิกิริยาทางเคมีและการทำงานของเอนไซม์ จึงช่วยยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์อาหารออกไป

### การเก็บรักษาแบบแช่เย็น

การแช่เย็นเป็นการเก็บอาหารที่อุณหภูมิเหนือจุดเยือกแข็ง โดยทั่วไปนิยมเก็บอาหารหลายชนิดไว้ที่อุณหภูมิประมาณ 0 ถึง 5 °ซ ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่ไม่เหมาะกับการเจริญของแบคทีเรียประเภทที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง แต่เหมาะกับแบคทีเรียที่ชอบอุณหภูมิต่ำ หรือแบคทีเรียที่ปรับตัวเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ (psychrotrophs) ดังนั้น การแช่เย็นจึงเป็นเทคนิคหนึ่งในการถนอมอาหารที่สามารถป้องกันความเสี่ยงจากโรคอาหารเป็นพิษได้ในระดับหนึ่ง จากแบคทีเรียที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง ไม่ให้เพิ่มจำนวนขึ้นจนก่อให้เกิดอันตรายแก่ผู้บริโภค แต่การแช่เย็นอาหารไม่สามารถประกันได้ว่าอาหารนั้นจะปลอดภัยจากแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ เพราะการแช่เย็นไม่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้

## วัตถุประสงค์

1. คัดเลือกสูตรพื้นฐานของเครื่องต้มฆ่า จากตำรับอาหารและอินเตอร์เน็ต ที่มีการยอมรับทางประสาทสัมผัสสูง
2. ศึกษาสถานะของการสกัดต่อสมบัติการต้านออกซิเดชันในเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบในเครื่องต้มฆ่าและเครื่องต้มฆ่า
3. ศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาในการให้ความร้อนต่อความคงตัวของสมบัติการต้านออกซิเดชันในเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบในเครื่องต้มฆ่าและเครื่องต้มฆ่า
4. ศึกษาผลของพีเอชต่อความคงตัวของสมบัติการต้านออกซิเดชันในเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบในเครื่องต้มฆ่าและเครื่องต้มฆ่า
5. พัฒนาสูตรเครื่องต้มฆ่าให้มีสมบัติการต้านออกซิเดชันสูงขึ้น และเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค
6. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเครื่องต้มฆ่าและเครื่องต้มฆ่าเดิมเกลือร้อยละ 8 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$  และอุณหภูมิห้อง ( $29 \pm 2^{\circ}\text{C}$ )
7. การประยุกต์ใช้เครื่องต้มฆ่าในกุ้งขาว
8. ศึกษาผลของเทคนิคการบรรจุต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพระหว่างการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์กุ้งขาวที่มารีเนทด้วยเครื่องต้มฆ่า

## บทที่ 2

### วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการวิจัย

#### วัสดุ

##### 1. วัสดุคืบ

1.1 ข่าอ่อน (*Alpinia galanga* Swart.) จัดซื้อจากชาวสวนจังหวัดพัทลุง อายุการเก็บเกี่ยวประมาณ 8-10 เดือน โดยเหง้ามีสีขาว ยอดอ่อนมีสีแดง เมื่อผ่าแล้วไม่มีเส้น

1.2 ตะไคร้ (*Cymbopogon citratus* Stapf.) จัดซื้อจากชาวสวนจังหวัดพัทลุง อายุการเก็บเกี่ยวประมาณ 5-6 เดือน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นไม่ต่ำกว่า 1.2-1.5 เซนติเมตร วัสดุจากส่วนที่ใหญ่ที่สุดของลำต้น

1.3 พริกขี้หนูแดง (*Capsicum frutescens* Linn.) จัดซื้อจากชาวสวนจังหวัดพัทลุง อายุการเก็บเกี่ยวประมาณ 60-75 วัน โดยมีค่าสีในระบบ Munsell เท่ากับ 10R5/12

1.4 ใบมะกรูด (*Citrus hystrix* DC4.) จัดซื้อจากชาวสวนจังหวัดสงขลา อายุการเก็บเกี่ยวประมาณ 33-40 วัน ภายหลังจากตัดแต่งกิ่ง โดยมีค่าสีในระบบ Munsell เท่ากับ 7.5GY4/4

1.5 ส้มแขกแห้ง (*Garcinia atroviridis* Griff. Ex T. Anderson) จัดซื้อจากผู้ผลิตส้มแขกแห้งจากจังหวัดสงขลา ทำการเก็บรักษาในภาชนะปิดสนิทที่อุณหภูมิห้อง ( $27-30^{\circ}\text{C}$ ) ไม่เกิน 2 สัปดาห์

##### 2. วิธีการเตรียมวัสดุคืบ

2.1 ข่าอ่อน นำมาล้างด้วยน้ำสะอาด ตัดแต่งส่วนที่มีแผลและส่วนของลำต้นที่อยู่เหนือพื้นดิน ออก วางทิ้งไว้ให้สะเด็ดน้ำที่อุณหภูมิห้อง ( $29 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ซับด้วยผ้าขาวบางที่สะอาด นำมาหั่นให้เป็นสี่เหลี่ยมลูกบาศก์ขนาด  $0.5 \times 0.5 \times 0.5$  ลูกบาศก์มิลลิเมตร นำข่าอ่อนที่ผ่านการหั่นแล้วปริมาณ 70 กรัม ปั่นด้วยเครื่องปั่นกำลังไฟ 380 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที เพื่อให้ได้ข่าบดที่มีขนาดอยู่ในช่วง 9-20 เมช (mesh)

2.2 ตะไคร้ ตัดส่วนโคนของลำต้นที่ติดกับรากประมาณ 0.5 เซนติเมตร แล้วลอกกาบใบส่วนนอก 1-2 กาบใบออก นำมาล้างด้วยน้ำสะอาด วางทิ้งไว้ให้สะเด็ดน้ำที่อุณหภูมิห้อง ( $29 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ซับด้วยผ้าขาวบางที่สะอาด หั่นตามแนวขวางของลำต้นให้มีความหนาประมาณ 0.5 มิลลิเมตร นำตะไคร้ที่ผ่านการหั่นแล้วปริมาณ 60 กรัม ปั่นด้วยเครื่องปั่นกำลังไฟ 380 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที เพื่อให้ได้ตะไคร้บดที่มีขนาดอยู่ในช่วง 9-20 เมช

2.3 พริกขี้หนู คัดเลือกพริกขี้หนูที่เน่าเสียทิ้งและเด็ดขั้วพริกออก แล้วล้างด้วยน้ำสะอาด วางทิ้งไว้ให้สะเด็ดน้ำที่อุณหภูมิห้อง ( $29 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ซับด้วยผ้าขาวบางที่สะอาด

หั่นให้มีความหนาประมาณ 1.0 มิลลิเมตร นำพริกชี้หนูที่ผ่านการหั่นแล้ว 80 กรัม ปั่นด้วยเครื่องปั่นกำลังไฟ 380 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที เพื่อให้ได้พริกชี้หนูบดที่มีขนาดอยู่ในช่วง 9-20 เมช

**2.4 ใบมะกรูด** นำใบมะกรูดออกจากกิ่ง คัดเลือกใบมะกรูดที่อ่อนและมีตำหนิออกไป โดยใบมะกรูดที่ต้องการคือใบมะกรูดที่มีค่าสีในระบบ Munsell เท่ากับ 7.5GY4/4 นำใบมะกรูดที่ผ่านการคัดเลือก มาล้างด้วยน้ำสะอาด วางทิ้งไว้ให้สะเด็ดน้ำที่อุณหภูมิห้อง ( $29 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ซับด้วยผ้าขาวบางที่สะอาด แยกก้านใบออกจากใบ นำใบมะกรูดที่แยกก้านใบออกมาหั่นตามแนวขวางของใบหนาประมาณ 0.5 มิลลิเมตร นำใบมะกรูดที่ผ่านการหั่นแล้วปริมาณ 35 กรัม ปั่นด้วยเครื่องปั่นกำลังไฟ 380 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที เพื่อให้ได้ใบมะกรูดบดที่มีขนาดอยู่ในช่วง 9-20 เมช

**2.5 เครื่องต้มฆ่า** นำข้าว ตะไคร้ พริกชี้หนูและใบมะกรูด ในข้อ 2.1-2.4 ที่ผ่านการหั่นเป็นชิ้นๆ แล้ว มาชั่งน้ำหนักให้ได้ตามสัดส่วนในสูตรของเครื่องต้มฆ่า แล้วนำมาผสมกัน นำเครื่องต้มฆ่าที่ผ่านการผสมแล้ว 70 กรัม ปั่นด้วยเครื่องปั่นกำลังไฟ 380 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที เพื่อให้ได้เครื่องต้มฆ่าที่มีขนาดอยู่ในช่วง 9-20 เมช

**2.6 สัมแขกแห้ง** นำมาล้างด้วยน้ำสะอาด ตั้งทิ้งไว้ให้สะเด็ดน้ำเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง ( $29 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) นำไปตากแดดเป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วนำมาเก็บรักษาในภาชนะปิดสนิทที่อุณหภูมิห้อง ( $29 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) ไม่เกิน 2 สัปดาห์

### 3. เครื่องปรุง

- น้ำตาลทรายขาวตรามิตรผล บริษัท น้ำตาลมิตรผล จำกัด
- เกลือป่นตราปรุงทิพย์ บริษัท อุตสาหกรรมเกลือบริสุทธิ์ จำกัด
- วัตถุดิบปรุงแต่งรสอาหาร ตรารสดี รสไก่ บริษัท อายิโนะโมะโต๊ะ (Ajinomoto, Co., Ltd.)
- น้ำกะทิตราขาวเกาะ บริษัท อำพลฟู้ดส์ โพรเซสซิ่ง จำกัด

### 4. บรรจุภัณฑ์

ถุงโพลีเอทิลีน (LDPE) หนา  $0.083 \pm 0.005$  มิลลิเมตร มีการซึมผ่านของออกซิเจน (oxygen transmission rate) ที่อุณหภูมิ  $23^{\circ}\text{C}$  ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 85 เท่ากับ 120 มิลลิลิตรต่อตารางเมตรต่อ 24 ชั่วโมง (Fellows, 2000)

ถุงโพลีเอทิลีน (Nylon/LLDPE) ขนาด  $26 \times 29$  เซนติเมตร ที่มีความหนา  $0.093 \pm 0.002$  มิลลิเมตร

## 5. กุ้งขาวแวนนาไมสด

ขนาด 60-70 ตัวต่อกิโลกรัม โดยรับซื้อจากตลาดคลองเรียนซึ่งนำมาจากฟาร์มเพาะเลี้ยงในจังหวัดสงขลา ที่มีอายุการเก็บรักษาในน้ำแข็งไม่เกิน 24 ชั่วโมง และนำส่งคณะอุตสาหกรรมเกษตรภายใน 1 ชั่วโมง

## 6. ฟอสเฟต

โซเดียมโพลีฟอสเฟต ได้รับความอนุเคราะห์จากบจก. อคิตยา เบอร์ล่า เคมีคัลส์ (ประเทศไทย)

## 7. สารเคมีและอุปกรณ์

สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ระบุใน Table 8 และ 9 ตามลำดับ

Table 8. Chemical assay, reagent and company

Chemicals	Company
<b>1. Chemicals used for determination of total phenolic contents and antioxidant activity</b>	
95% Ethanol	SV Medico, Thailand
Absolute Ethanol (99.99%)	Merck KGaA, Germany
Folin-Ciocalteu reagent	Merck KGaA, Germany
Sodium carbonate ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ )	Ajax Finechem, Adivision of Nuplex Industries (Aust) Pty Ltd, New Zealand
Gallic acid	Fluka, Sigma-Aldrich chemie GmbH, Spain
2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)	Fluka, Sigma-Aldrich chemie GmbH, Germany
2,2-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS)	Fluka, Sigma-Aldrich chemie GmbH, Germany
Potassium persulfate	Ajax Finechem, Adivision of Nuplex Industries (Aust) Pty Ltd, New Zealand
2,4,6-Tripyridyl-s-triazine (TPTZ)	Fluka, Sigma-Aldrich chemie GmbH, Switzerland
Ferric chloride hexahydrate ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ )	BDH, VWR international Ltd., England
Hydrochloric acid (37%)	Merck KGaA, Thailand
Sodium acetate	Carlo, Erba reagent, Italy
Acetic acid (99.7%)	LAB-SCAN
6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid (Trolox)	Fluka, Sigma-Aldrich chemie GmbH, Germany
<b>2. Chemicals used for determination of microbial activity</b>	
Peptone	Merck KGaA, Germany
Plate Count Agar (PCA)	Merck KGaA, Germany
Lauryl Sulphate Tryptone (LST) Broth	Merck KGaA, Germany
EC Broth	Merck KGaA, Germany
Baird Parker agar (BP)	Merck KGaA, Germany
Potato Dextrose Agar (PDA)	Difco, Detroit, Michigan, USA
Potassium tellurite	Merck KGaA, Germany

Table 8. Chemical assay, reagent and company (continued)

Chemicals	Company
<b>2. Chemicals used for determination of microbial activity</b>	
Tartaric acid	Ajax Finechem, Adivision of Nuplex Industries (Aust) Pty Ltd, New Zealand
SFP agar	Difco, Detroit, Michigan, USA
Manitol Egg Yolk Polymyxin agar (MYP)	Difco, Detroit, Michigan, USA
Lactobacilli MRS agar (MRS)	Difco, Detroit, Michigan, USA
<b>3. Chemicals used for determination effect of pH on total phenolic and antioxidants activity</b>	
Citric acid	Merck KGaA, Germany
Sodium dihydrogen phosphate	Merck KGaA, Germany
Disodium hydrogen orthophosphate	Merck KGaA, Germany
<b>4. Chemicals used for determination of fiber content</b>	
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Merck KGaA, Germany
NaOH	Merck KGaA, Germany
Absolute ethanol	Merck KGaA, Germany
<b>5. Chemicals used for determination of Microstructure (Scanning Electron Microscopy; SEM)</b>	
2.5% (w/v) Glutaraldehyde	Ajax Finechem, Pty Ltd, Australia
di-Sodium Hydrogen orthophosphate	RANKEM, RFCL Limited, India
Sodium dihydrogen phosphate Monohydrate	RANKEM, RFCL Limited, India
50%, 70%, 80%, 90% and 100% (w/v) Ethanol	Lab-scan Ltd, Ireland
<b>6. Chemicals used for determination of TVB-N value and TMA-N Value</b>	
Bromocresol green	Ajax Finechem, Pty Ltd, Australia
Methyl red	QReC, New Zealand
Ethanol	Lab-scan Ltd, Ireland
Boric acid	QReC, New Zealand
0.02 N HCl	Merck KGaA, Germany
K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Ajax Finechem, Pty Ltd, Australia



Table 8. Chemical assay, reagent and company (continued)

Chemicals	Company
<b>6. Chemicals used for determination of TVB-N value and TMA-N Value</b>	
4% (w/v) Trichloroacetic acid	Carlo Erba Reagents, Italy
10% (w/v) Formaldehyde	Lab-scan Ltd, Ireland
<b>7. Chemicals used for determination of Thiobarbituric acid value</b>	
4 N HCL	Merck KGaA, Germany
Antifoam liquid	Fisher Scientific, UK Limited
Thiobarbituric acid reagent	
- 0.2883 g TBA	Sigma-Aldrich, Germany
- 90% glacial acetic acid	Lab-scan Ltd, Ireland

Table 9. Instruments used in the experiment

Instruments	Model	Company/Country
Balance	BS2100s	Sartorius, Germany
Blender	TYPE 276	Moulinex, France
Homogenizer	D-500	WIGGEN hauser, Germany
Vacuum aspirator	A-3S	Tokyo rikakikai, Japan
Rotary evaporator		Buchi rotavapor, Switzerland
Fiber analysis device		Labconco, USA
pH meter	SevenGo SG2	Mettler Toledo, Switzerland
Oil bath	CH-9230 Flawil	Buchi labortechnik, Switzerland
Spectrophotometer	UV-16001	Shimadzu, Kyoto, Japan
Microplate reader	Power wave X	Biotek, USA
Water bath	W350	Memmert, Germany
Colorimeter	Color Flex	HunterLab Reston, USA
Texture Profile Analyzer	TA-XT2i	Texture Analyzer, England
Hot air oven		Memmert, Germany
Autoclave	SS325	Tomy seiko Co., Ltd, Japan
Incubator		Memmert, Germany
SEM	JSM-5800	JEOL, Japan

## วิธีการวิจัย

### 1. คัดเลือกสูตรพื้นฐานของเครื่องต้มยำ

1.1 สํารวจสูตรของเครื่องต้มยำจากหนังสือตำรับอาหารและสูตรที่ปรากฏอยู่ในอินเทอร์เน็ต และคัดเลือกสูตรที่มีปริมาณข่าสูงสุด จำนวน 5 สูตร (Table 10)

Table 10. Selected Tom-kha paste formulations used in this experiment

Components	Formulation				
	1 <sup>a</sup>	2 <sup>b</sup>	3 <sup>c</sup>	4 <sup>d</sup>	5 <sup>e</sup>
Galangal (%)	33.33	41.67	41.84	62.5	76.92
Lemon grass (%)	44.44	41.67	47.42	20.83	15.38
Chili (%)	4.44	10.41	8.25	6.25	2.31
Kaffir lime leaves (%)	1.33	6.25	2.51	10.42	5.38
Root of coriander (%)	16.44	-	-	-	-

ที่มา: <sup>a</sup> คัดแปลงจาก Thai food to world (2007)

<sup>b</sup> คัดแปลงจาก เคล็ดลับสุขภาพ (2007)

<sup>c</sup> คัดแปลงจาก Gourmettha cuisine (2007)

<sup>d</sup> คัดแปลงจาก วิไลลักษณ์ อิศระมวตลพันธ์ (2549)

<sup>e</sup> คัดแปลงจาก พงศักดิ์ ทรงพระนาม (2547)

1.2 นำเครื่องเทศจากสูตรที่คัดเลือกได้จากข้อ 1.1 มาเตรียมเป็นเครื่องต้มยำ ตามวิธีการเตรียมวัตถุดิบหน้า 64-65

1.3 นำเครื่องต้มยำที่ได้ ไปปรุงเป็นต้มยำกุ้ง ซึ่งมีขั้นตอนดังแสดงใน Figure 22 นำน้ำซุ๊ปที่ได้ไปวิเคราะห์ค่าทางกายภาพ ได้แก่ ค่าสี โดยใช้เครื่องวัดค่าสี Hunter Lab รายงานค่าในระบบ CIE L\*, a\*, b\* และพีเอช และทดสอบความชอบทางประสาทสัมผัส ในด้านลักษณะปรากฏ สี ความหนืด กลิ่นเครื่องเทศ รสชาติและความชอบรวม โดยวิธี 9-point hedonic scale (ภาคผนวก จ1) ตามวิธีของ Meilgaard และคณะ (1999) กับผู้ทดสอบชิมจำนวน 30 คน เพื่อคัดเลือกสูตรเครื่องต้มยำ ที่มีผู้ทดสอบชิมให้คะแนนความชอบสูงสุด และปรับปรุงสูตรในการปรุง โดยการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยวิธี just about right ด้านกลิ่นเครื่องเทศ ความหวาน ความเปรี้ยวและความเค็ม (ภาคผนวก จ2) และทดสอบความชอบทางประสาทสัมผัส โดยวิธี 9-

point hedonic scale ตามวิธีของ Meilgaard และคณะ (1999) เพื่อคัดเลือกสูตรการปรุงที่มีผู้  
ทดสอบชิมชอบสูงสุด โดยใช้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 30 คน

Galangal, Lemon grass, Kaffir lime leaves and Chili

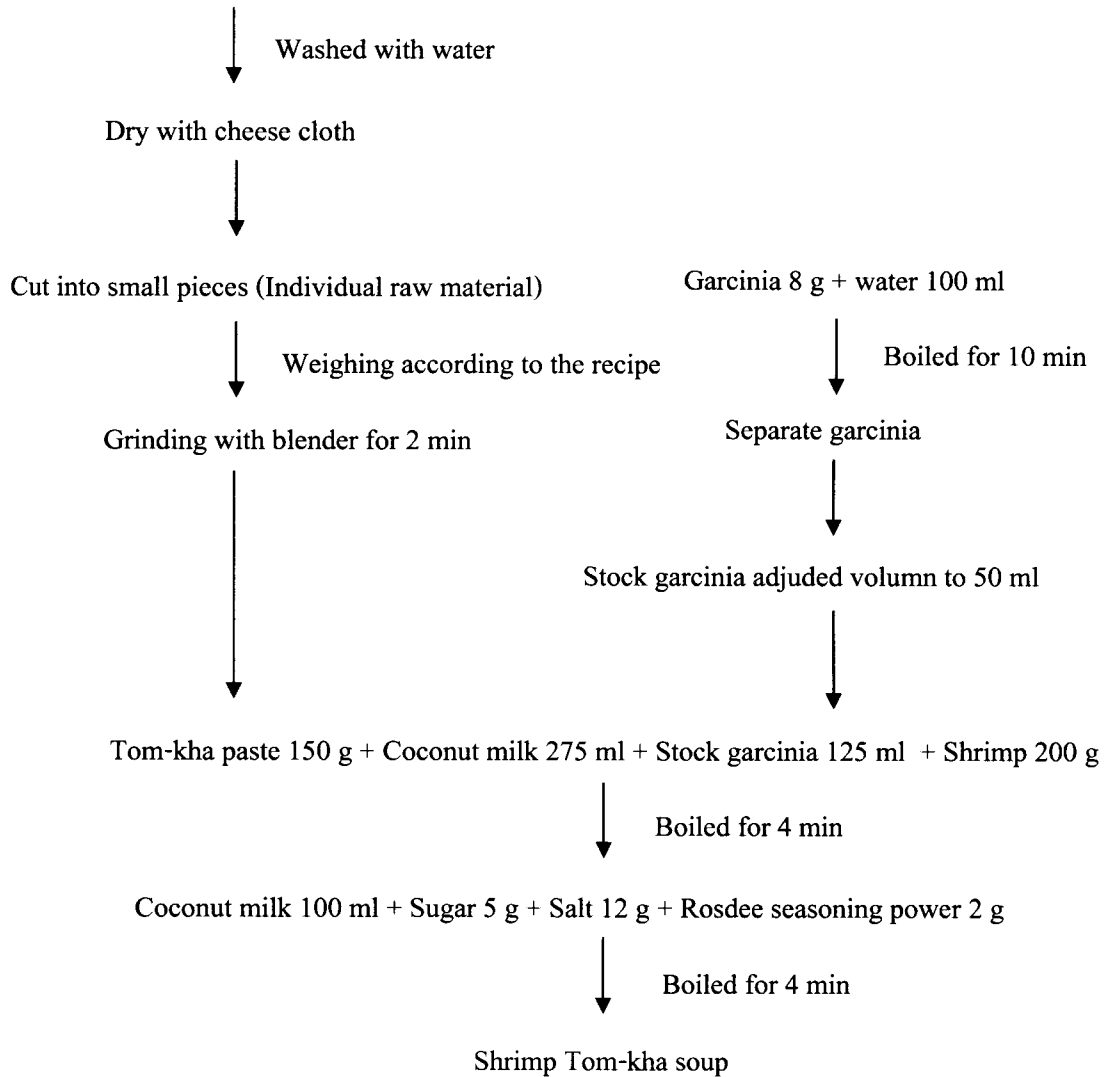


Figure 22. Flow diagrams of shrimp Tom-kha soup preparation

## 2. ศึกษาสภาวะการสกัดต่อสมบัติการต้านออกซิเดชันในเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบในเครื่องต้มยำและเครื่องต้มยำ

### 2.1 ผลของสภาวะการสกัดต่อสมบัติการต้านออกซิเดชันในเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบในเครื่องต้มยำ

2.1.1 นำเครื่องเทศจากสูตรที่คัดเลือกได้ในตอนที่ 1 ได้แก่ ข่า ตะไคร้ พริกขี้หนูและใบมะกรูด มาเตรียมตามวิธีการเตรียมวัตถุดิบในหน้า 72-73 ก่อนนำไปสกัดด้วยระบบของการสกัด ดังต่อไปนี้

2.1.1.1 สกัดด้วยน้ำ โดยใช้อัตราส่วนของเครื่องเทศต่อน้ำเท่ากับ 1:5 และ 1:10 แช่ทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 5 วัน ที่อุณหภูมิ  $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$  นำมากรองด้วยผ้าขาวบาง แล้วกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 โดยใช้เครื่องกรองแบบสุญญากาศ (vacuum aspirator) แล้วนำกากที่เหลือไปสกัดด้วยน้ำอีก 2 รอบการสกัด (ดัดแปลงจาก Li-E *et al.*, 2008)

2.1.1.2 สกัดด้วยเอทานอล ที่ระดับความเข้มข้นของเอทานอลลร้อยละ 50, 75 และ 95 โดยใช้อัตราส่วนของเครื่องเทศต่อสารสกัดเท่ากับ 1:5 และ 1:10 แช่ทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 5 วัน ที่อุณหภูมิห้อง ( $29 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) นำมากรองด้วยผ้าขาวบาง แล้วกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 โดยใช้เครื่องกรองแบบสุญญากาศ แล้วนำกากที่เหลือไปสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นต่างๆอีก 2 รอบการสกัด (ดัดแปลงจาก Li-E *et al.*, 2008)

2.1.2 นำสารสกัดหยาบ (crude extract) ที่ได้จากทั้ง 2 ระบบ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ไประเหยสารสกัดออกให้เหลือปริมาตร 25 มิลลิลิตร โดยใช้ rotary evaporator ที่อุณหภูมิ  $45^{\circ}\text{C}$  สำหรับสารสกัดด้วยน้ำใช้ความดัน 72 มิลลิบาร์ (mbar) เป็นเวลาประมาณ 2 ชั่วโมง ส่วนสารสกัดด้วยเอทานอลใช้ความดัน 175 มิลลิบาร์ เป็นเวลาประมาณ 15 นาที ตรวจสอบปริมาณของแข็ง (solid content) แล้วบรรจุในขวดแก้วสีชา เก็บที่อุณหภูมิ  $-20 \pm 2^{\circ}\text{C}$

2.1.3 ทดสอบสมบัติทางกายภาพ เคมีและการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบที่ได้

2.1.3.1 สมบัติทางกายภาพ ได้แก่

- ค่าสี โดยใช้เครื่องวัดค่าสี Hunter Lab รายงานค่าในระบบ CIE L\*, a\*, b\* และ CIE L\*, C\*, H°

- พีเอช (Bartolome *et al.*, 1995)

2.1.3.2 สมบัติทางเคมี ได้แก่

- Total phenolic contents รายงานค่าในรูปของกรัมสมมูลลิชของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมของตัวอย่างแห้ง (g GAE/100 g dw.) (Kahkonen *et al.*, 1999)

2.1.3.3 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

- DPPH radical scavenging assay รายงานค่าในรูปของไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง ( $\mu\text{mole TE/ g dw.}$ ) (ดัดแปลงจาก Wu *et al.*, 2003)
- ABTS radical cation decolorization assay รายงานค่าในรูปของไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง (ดัดแปลงจาก Armao *et al.*, 2001)
- Ferric ion Reducing/Antioxidant Power (FRAP) รายงานค่าในรูปของไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง (ดัดแปลงจาก Benzie and Strain, 1996)

## 2.2 ผลของสภาวะการสกัดต่อสมบัติการต้านออกซิเดชันในเครื่องต้มชา

2.2.1 นำเครื่องเทศ ได้แก่ ชา ตะไคร้ พริกขี้หนูและใบมะกรูด มาเตรียมเป็นเครื่องต้มชาตามวิธีการเตรียมวัตถุดิบในหน้า 72-73

2.2.2 นำเครื่องต้มชาที่ได้ ไปสกัดด้วยระบบของการสกัดและทำการตรวจสอบสมบัติต่างๆ เช่นเดียวกับข้อ 2.1

2.3 คัดเลือกสภาวะการสกัดที่เหมาะสมในการสกัดสารออกฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบในเครื่องต้มชาและเครื่องต้มชา

คัดเลือกชนิดของตัวทำละลาย และอัตราส่วนระหว่างตัวอย่างต่อตัวทำละลายที่เหมาะสม ในการสกัดสารออกฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบในเครื่องต้มชาและเครื่องต้มชา โดยพิจารณาจากปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบ

## 3. การศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาในการให้ความร้อนต่อความคงตัวของสมบัติการต้านออกซิเดชันในเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบในเครื่องต้มชาและเครื่องต้มชา

3.1 ผลของอุณหภูมิและเวลาในการให้ความร้อนต่อความคงตัวของสมบัติการต้านออกซิเดชันในเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบในเครื่องต้มชา

3.1.1 นำสารสกัดหยาบที่คัดเลือกได้จากข้อ 2.3 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองยี่ห้อ Pyrex ขนาด  $16 \times 150$  มิลลิลิตร แล้วให้ความร้อนโดยใช้อ่างน้ำมัน (oil bath) ที่อุณหภูมิ 70, 80, 90 และ  $100^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 10, 20 และ 30 นาที ทำให้เย็นทันทีที่อุณหภูมิห้องและปรับปริมาตรของสารละลายที่ได้ เป็น 5 มิลลิลิตร ด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 75

3.1.2 นำสารสกัดหยาบที่ผ่านการให้ความร้อนจากข้อ 3.1.1 มาวิเคราะห์สมบัติทางเคมีและการต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่

- Total phenolic contents รายงานค่าในรูปของกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมของตัวอย่างแห้ง (Kahkonen *et al.*, 1999)

- DPPH radical scavenging assay รายงานค่าในรูปของไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง (ดัดแปลงจาก Wu *et al.*, 2003)
- ABTS radical cation decolorization assay รายงานค่าในรูปของไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง (ดัดแปลงจาก Armao *et al.*, 2001)
- Ferric ion Reducing/Antioxidant Power (FRAP) รายงานค่าในรูปของไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง (ดัดแปลงจาก Benzie and Strain, 1996)

### 3.2 ผลของความร้อนต่อสมบัติการต้านออกซิเดชันในเครื่องต้มฆ่า

3.2.1 นำสารสกัดหยาบที่คัดเลือกได้จากข้อ 2.3 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองยี่ห้อ Pyrex ขนาด 16×150 มิลลิลิตร แล้วให้ความร้อนโดยใช้อ่างน้ำมัน ที่อุณหภูมิ 70, 80, 90 และ 100<sup>๐</sup>ซ เป็นเวลา 10, 20 และ 30 นาที ทำให้เย็นทันทีที่อุณหภูมิห้องและปรับปริมาตรของสารละลายที่ได้ เป็น 5 มิลลิลิตร ด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 75

3.2.2 นำสารสกัดหยาบที่ผ่านการให้ความร้อนจากข้อ 3.2.1 มาวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีและการต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่

- Total phenolic contents รายงานค่าในรูปของกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมของตัวอย่างแห้ง (Kahkonen *et al.*, 1999)
- DPPH radical scavenging assay รายงานค่าในรูปของไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง (ดัดแปลงจาก Wu *et al.*, 2003)
- ABTS radical cation decolorization assay รายงานค่าในรูปของไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง (ดัดแปลงจาก Armao *et al.*, 2001)
- Ferric ion Reducing/Antioxidant Power (FRAP) รายงานค่าในรูปของไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง (ดัดแปลงจาก Benzie and Strain, 1996)

### 4. ผลของพีเอชต่อความคงตัวของสมบัติการต้านออกซิเดชันในเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบในเครื่องต้มฆ่าและเครื่องต้มฆ่า

#### 4.1 ผลของพีเอชต่อความคงตัวของสมบัติการต้านออกซิเดชันในเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบในเครื่องต้มฆ่า

4.1.1 นำสารสกัดหยาบที่ได้จากข้อ 2.3 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองยี่ห้อ Pyrex ขนาด 16×150 มิลลิลิตร เตรียมให้มีพีเอช 2, 5, 7, 8 และ 9 ด้วย 0.1, 1 N HCl และ 0.1, 1 N NaOH แล้วเติม 0.2 M citrate phosphate buffer (พีเอช 2 และ 5) และ 0.2 M phosphate buffer (พีเอช 7, 8 และ 9) วางทิ้งไว้เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง (29 ± 2<sup>๐</sup>ซ) แล้วปรับพีเอชให้ได้เท่ากับพีเอชเดิมของสารสกัด (ปริมาตรของสารสกัดหยาบ หลังจากปรับพีเอชมีค่าเท่ากับ 10 มิลลิลิตร) (ดัดแปลงจาก Juntachote and Berghofer, 2005; Binson *et al.*, 2008)

4.1.2 นำสารสกัดหยาบที่ได้จากข้อ 4.1.1 วิเคราะห์สมบัติทางเคมีและการต้านอนุมูลอิสระได้แก่

- Total phenolic contents รายงานค่าในรูปของกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมของตัวอย่างแห้ง (Kahkonen *et al.*, 1999)
- DPPH radical scavenging assay รายงานค่าในรูปของไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง (ดัดแปลงจาก Wu *et al.*, 2003)
- ABTS radical cation decolorization assay รายงานค่าในรูปของไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง (ดัดแปลงจาก Amapo *et al.*, 2001)
- Ferric ion Reducing/Antioxidant Power (FRAP) รายงานค่าในรูปของไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง (ดัดแปลงจาก Benzie and Strain, 1996)

#### 4.2 ผลของพีเอชต่อสมบัติการต้านออกซิเดชันในเครื่องต้มฆ่า

4.2.1 นำสารสกัดหยาบที่ได้จากข้อ 2.3 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองยี่ห้อ Pyrex ขนาด 16×150 มิลลิลิตร เตรียมให้มีพีเอช 2, 5, 7, 8 และ 9 ด้วย 0.1, 1 N HCl และ 0.1, 1 N NaOH แล้วเติม 0.2 M citrate phosphate buffer (พีเอช 2 และ 5) และ 0.2 M phosphate buffer (พีเอช 7, 8 และ 9) วางทิ้งไว้เป็นเวลา 1 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง ( $29 \pm 2$  °C) แล้วปรับพีเอชให้ได้เท่ากับพีเอชเดิมของสารสกัด (ปริมาตรของสารสกัดหยาบ หลังจากปรับพีเอชมีค่าเท่ากับ 10 มิลลิลิตร) (ดัดแปลงจาก Juntachote and Berghofer, 2005; Binson *et al.*, 2008)

4.2.2 นำสารสกัดหยาบที่ได้จากข้อ 4.2.1 วิเคราะห์สมบัติทางเคมีและการต้านอนุมูลอิสระได้แก่

- Total phenolic contents รายงานค่าในรูปของกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมของตัวอย่างแห้ง (Kahkonen *et al.*, 1999)
- DPPH radical scavenging assay รายงานค่าในรูปของไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง (ดัดแปลงจาก Wu *et al.*, 2003)
- ABTS radical cation decolorization assay รายงานค่าในรูปของไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง (ดัดแปลงจาก Amapo *et al.*, 2001)
- Ferric ion Reducing/Antioxidant Power (FRAP) รายงานค่าในรูปของไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง (ดัดแปลงจาก Benzie and Strain, 1996)

### 5. การพัฒนาสูตรเครื่องต้มฆ่าให้มีสมบัติการต้านออกซิเดชันสูง

5.1 นำสูตรที่คัดเลือกได้จากตอนที่ 1 มาปรับปรุงให้มีสมบัติการต้านออกซิเดชันสูงขึ้น โดยการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของข้าวและพริกขี้หนู ซึ่งเป็นเครื่องเทศที่แสดงสมบัติในการต้านออกซิเดชันและมีความคงตัวต่ออุณหภูมิและเวลาในการให้ความร้อนและพีเอช โดยกำหนด



ปริมาณของข่าและพริกขี้หนูรวมกันไม่เกิน ร้อยละ 50.00 และทำการปรับอัตราส่วนของข่าและพริกขี้หนู โดยจัดชุดการทดลองแบบ augmented simplex-lattice (Montgomery, 2001) ได้สูตรที่ต้องการศึกษา 5 สูตรการทดลอง ทำซ้ำ 3 สูตรการทดลอง (สูตรการทดลอง 1-8, Table 11) ซึ่งสูตรที่ได้เป็นสูตรการทดลองที่ครอบคลุมถึงสูตรพื้นฐานที่ได้จากตอนที่ 1

Table 11. Formula of Tom-kha paste in antioxidant properties improvement

Formulation	Galangal (%)	Chili (%)	Lemon grass (%)	Kaffir lime leaves (%)
1	45.00	5.00	47.00	3.00
2	32.50	17.50	47.00	3.00
3	38.75	11.25	47.00	3.00
4	20.00	30.00	47.00	3.00
5	20.00	30.00	47.00	3.00
6	45.00	5.00	47.00	3.00
7	32.50	17.50	47.00	3.00
8	26.25	23.75	47.00	3.00

5.2 นำเครื่องเทศ ได้แก่ ข่า ตะไคร้ พริกขี้หนูและใบมะกรูด มาเตรียมเป็นเครื่องต้มข่าตามวิธีการเตรียมวัตถุดิบในหน้า 64-65 แล้วแบ่งเครื่องต้มข่าที่ได้ออกเป็น 2 ส่วน ได้แก่

ส่วนที่ 1 นำเครื่องต้มข่ามาปรุงเป็นต้มข่ากุ้ง ซึ่งมีขั้นตอนดังแสดงใน Figure 22 ทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส โดยวิธี 9-point hedonic scale ใช้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 30 คน

ส่วนที่ 2 นำเครื่องต้มข่ามาสกัดด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 อัตราส่วนของเครื่องต้มข่า:เอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 เท่ากับ 1:10 (ดังตอนที่ 2.2) แล้ววิเคราะห์สมบัติทางเคมีและการต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่

- Total phenolic contents รายงานค่าในรูปของกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมของตัวอย่างแห้ง (Kahkonen *et al.*, 1999)
- DPPH radical scavenging assay รายงานค่าในรูปของไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง (ดัดแปลงจาก Wu *et al.*, 2003)
- ABTS radical cation decolorization assay รายงานค่าในรูปของไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง (ดัดแปลงจาก Armao *et al.*, 2001)

- Ferric ion Reducing/Antioxidant Power (FRAP) รายงานค่าในรูปของไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง (ดัดแปลงจาก Benzie and Strain, 1996)

5.3 นำข้อมูลที่ได้จากข้อ 5.2 ไปวิเคราะห์ความแปรปรวนและวิเคราะห์สมการถดถอยเพื่อหาสมการจำลองที่ใช้ในการทำนายคะแนนความชอบทางประสาทสัมผัส (ลักษณะปรากฏ สี ความหนืด กลิ่นเครื่องเทศ รสชาติ และความชอบรวม) ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชัน (ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP) จากนั้นใช้สมการแต่ละชุด plot แนวโน้มค่าตอบสนองลงบนแผนภูมิคอนทัวร์โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Design Expert version 7.0.3 (Stat-Ease, Inc, MN, USA) คัดเลือกสูตรโดยพิจารณาจากคะแนนความชอบทางประสาทสัมผัส ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชัน เพื่อใช้ในการศึกษาในขั้นตอนต่อไป

5.4 นำสูตรเครื่องดื่มข่าที่เป็นที่ยอมรับของผู้ทดสอบและมีสมบัติการต้านออกซิเดชันสูงมาวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ เคมีและจุลินทรีย์

#### 5.4.1 คุณสมบัติทางกายภาพ

- ค่าสี โดยใช้เครื่องวัดสี Hunter Lab รายงานค่าในระบบ CIE L\*, a\*, b\*
- พีเอช (Bartolome *et al.*, 1995)
- $a_w$
- ความชื้น (ร้อยละ) (A.O.A.C., 1999)

#### 5.4.2 คุณสมบัติทางเคมี

- ปริมาณเยื่อใย (ร้อยละ) (A.O.A.C., 1999)
- Total phenolic contents รายงานค่าในรูปของกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมของตัวอย่างแห้ง (Kahkonen *et al.*, 1999)

#### 5.4.3 คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

- DPPH radical scavenging assay รายงานค่าในรูปของไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง (ดัดแปลงจาก Wu *et al.*, 2003)
- ABTS radical cation decolorization assay รายงานค่าในรูปของไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง (ดัดแปลงจาก Armao *et al.*, 2001)
- Ferric ion Reducing/Antioxidant Power (FRAP) รายงานค่าในรูปของไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง (ดัดแปลงจาก Benzie and Strain, 1996)

#### 5.4.4 คุณภาพทางจุลินทรีย์

- ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ทั้ง Mesophile และ Psychrophile (โคโลนีต่อกรัมของเครื่องดื่มข่า) (BAM, 2001)
- Lactic acid bacteria (โคโลนีต่อกรัมของเครื่องดื่มข่า) (BAM, 2001)

- Coliforms, *E. coli* (MPN ต่อกรัมของเครื่องต้มฆ่า) (BAM, 2001)
- *S. aureus* (โคโลนีต่อกรัมของเครื่องต้มฆ่า) (BAM, 2001)
- *B. cereus* (โคโลนีต่อกรัมของเครื่องต้มฆ่า) (BAM, 2001)
- *C. perfringens* (โคโลนีต่อ 0.001 กรัมของเครื่องต้มฆ่า) (ดัดแปลงจาก BAM, 2001)
- Yeast และ mold (โคโลนีต่อกรัมของเครื่องต้มฆ่า) (BAM, 2001)

## 6. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเครื่องต้มฆ่าและเครื่องต้มฆ่าเติมเกลือร้อยละ 8 (น้ำหนักต่อ น้ำหนัก) ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$ และอุณหภูมิห้อง ( $29 \pm 2^{\circ}\text{C}$ )

6.1 นำเครื่องเทศ ได้แก่ ข่า ตะไคร้ พริกขี้หนูและใบมะกรูด มาเตรียมเป็นเครื่องต้มฆ่าตาม สูตรที่ได้รับการพัฒนาจากตอนที่ 5 (วิธีการเตรียมเครื่องต้มฆ่าตามที่แสดงในการเตรียมวัตถุดิบใน หน้า 72-73) แบ่งชุดการทดลองออกเป็น 2 ชุดการทดลองคือ

ชุดการทดลองที่ 1 ไม่มีการเติมเกลือ

ชุดการทดลองที่ 2 เติมเกลือร้อยละ 8 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก)

บรรจุในถุงโพลีเอทิลีน (LDPE) ในสถานะที่ไม่มีอากาศ เก็บรักษาที่  $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$  และ อุณหภูมิห้อง ( $29 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) เป็นเวลา 56 วัน

6.2 วิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ เคมี จุลินทรีย์ ทุกๆ 7 วันและทดสอบคุณภาพทาง ประสาทสัมผัส ทุกๆ 9 วัน เป็นเวลา 58 วัน

### 6.2.1 คุณสมบัติทางกายภาพ

- ค่าสี โดยใช้เครื่องวัดสี Hunter Lab รายงานค่าในระบบ CIE L\*, a\*, b\* และ CIE L\*, C\*, H°

- พีเอช (Bartolome *et al.*, 1995)

### 6.2.2 คุณสมบัติทางเคมี ได้แก่

- Total phenolic contents รายงานค่าในรูปของกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมของเครื่องต้มฆ่าแห้ง (Kahkonen *et al.*, 1999)

### 6.2.3 คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

- DPPH radical scavenging assay รายงานค่าในรูปของไมโครโมลสมมูลย์ ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของเครื่องต้มฆ่าแห้ง (ดัดแปลงจาก Wu *et al.*, 2003)

- ABTS radical cation decolorization assay รายงานค่าในรูปของไมโครโมล สมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของเครื่องต้มฆ่าแห้ง (ดัดแปลงจาก Armao *et al.*, 2001)

- Ferric ion Reducing/Antioxidant Power (FRAP) รายงานค่าในรูปของ ไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของเครื่องต้มข้าแห้ง (ดัดแปลงจาก Benzie and Strain, 1996)

#### 6.2.4 คุณภาพทางจุลินทรีย์

- ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ทั้ง Mesophile, Psychrophile และ Anaerobe (โคโลนีต่อกรัมของเครื่องต้มข้า) (BAM, 2001)

- Lactic acid bacteria (โคโลนีต่อกรัมของเครื่องต้มข้า) (BAM, 2001)

- Coliforms, *E. coli* (MPN ต่อกรัมของเครื่องต้มข้า) (BAM, 2001)

- *S. aureus* (โคโลนีต่อกรัมของเครื่องต้มข้า) (Speck, 1976)

- *B. cereus* (โคโลนีต่อกรัมของเครื่องต้มข้า) (BAM, 2001)

- *C. perfringens* (โคโลนีต่อ 0.001 กรัมของเครื่องต้มข้า) (ดัดแปลงจาก BAM, 2001)

- Yeast และ mold (โคโลนีต่อกรัมของเครื่องต้มข้า) (BAM, 2001)

#### 6.2.5 คุณภาพทางประสาทสัมผัส

นำเครื่องต้มข้าไปปรุงเป็นต้มข้ากึ่ง ซึ่งมีขั้นตอนดังแสดงใน Figure 22 แล้วทดสอบความชอบทางประสาทสัมผัส โดยวิธี 9-point hedonic scale ตามวิธีของ Meilgaard และคณะ (1999) โดยใช้ผู้ทดสอบชิม 30 คน

#### การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) ในข้อ 2.1, 2.2, 4.1, 4.2 และ 6.2 และจัดชุดการทดลองแบบแฟกทอเรียล 4×3 สำหรับข้อ 3.1 และ 3.2 ในแต่ละชุดการทดลองทำการทดลอง 3 ซ้ำ สำหรับการทดสอบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสในข้อ 1.3, 5.2 และ 6.2.5 วางแผนการทดลองแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ (Random Complete Block Design, RCBD) นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลองโดยใช้ Duncan's Multiple Range Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรม SPSS for Window Version 6.0 การปรับอัตราส่วนของข้าและพริกชี้หนูในข้อ 5.1 จัดชุดการทดลองแบบ augmented simplex-lattice design สร้างสมการจำลองที่ใช้ในการทำนายคะแนนความชอบทางประสาทสัมผัส ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชัน โดยการวิเคราะห์รีเกรสชันและการสร้างแผนภูมิคอนทัวร์โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Design Expert version 7.0.3 (Stat-Ease, Inc., MN, USA)

## 7. ศึกษาการใช้เครื่องต้มฆ่าในการมาริเนทกุ้งขาว

7.1 ส่วนผสมของเครื่องต้มฆ่า ประกอบด้วย ฆ่า ตะไคร้ พริกขี้หนู และใบมะกรูด ร้อยละ 41.43, 47.00, 8.57 และ 3.00 ตามลำดับ

7.2 นำเครื่องเทศจากข้อ 7.1 มาเตรียมเป็นเครื่องต้มฆ่า ตามวิธีการเตรียมวัตถุดิบหน้า 72-73

7.3 นำกุ้งขาวแวนนาไมขนาด 60-70 ตัว/กก. ทำการบันทึกน้ำหนักของกุ้งขาวทั้งตัว (ก่อนปอกเปลือกและแกะหัว) กุ้งขาวปอกเปลือกและหัว และกุ้งขาวปอกเปลือกและหัวที่ผ่านการแช่สารละลายโซเดียมโพลีฟอสเฟต ความเข้มข้นร้อยละ 2 ในอัตราส่วนกุ้งต่อสารละลาย 1:1.5 ที่อุณหภูมิ 4°C นาน 1 ชั่วโมง นำไปสะเด็ดน้ำบนตะแกรง นาน 2 นาที

7.4 นำเครื่องต้มฆ่าที่เตรียมไว้จากข้อ 7.1 มาหมักกับกุ้งขาวที่เตรียมได้จากข้อ 7.3 ในอัตราส่วน 1 ต่อ 3 และบรรจุในถุง Nylon/LLDPE ขนาด 26 × 29 เซนติเมตร ที่มีความหนา 0.093±0.002 มิลลิเมตร โดยมีชุดทดลองดังต่อไปนี้ กุ้งชุดควบคุมคือกุ้งขาวสดที่ไม่มาริเนทด้วยเครื่องต้มฆ่าบรรจุแบบปกติ (T1) กุ้งขาวที่มาริเนทด้วยเครื่องต้มฆ่าบรรจุแบบปกติ (T2) กุ้งขาวสดที่ไม่มาริเนทด้วยเครื่องต้มฆ่าบรรจุแบบตัดแปลงบรรยากาศ (T3 และ T5) กุ้งขาวมาริเนทด้วยเครื่องต้มฆ่าบรรจุแบบตัดแปลงบรรยากาศ (T4 และ T6) ด้วยแก๊สผสม 3 ชนิด ได้แก่ คาร์บอนไดออกไซด์ (CO<sub>2</sub>) ออกซิเจน (O<sub>2</sub>) และไนโตรเจน (N<sub>2</sub>) ความเข้มข้นต่างๆ โดยอัตราส่วนของแก๊ส CO<sub>2</sub>: O<sub>2</sub>: N<sub>2</sub> จำนวน 2 อัตราส่วน (ดัง Table 12)

Table 12. Treatments of shrimp marinated with/without Tom-kha paste and packaged under various atmospheric conditions during chilled storage at 4°C

Treatment	Packaging conditions
T1	without marinated with Tom-kha paste and kept under normal air served as control
T2	marinated with Tom-kha paste and kept under normal air
T3	without marinated with Tom-kha paste and kept under 40% CO <sub>2</sub> , 5% O <sub>2</sub> , 55% N <sub>2</sub>
T4	marinated with Tom-kha paste and kept under 40% CO <sub>2</sub> , 5% O <sub>2</sub> , 55% N <sub>2</sub>
T5	without marinated with Tom-kha paste and kept under

Table 12. Treatments of shrimp marinated with/without Tom-kha paste and packaged under various atmospheric conditions during chilled storage at 4°C (continued)

Treatment	Packaging conditions
T6	50% CO <sub>2</sub> , 5% O <sub>2</sub> , 45% N <sub>2</sub> marinated with Tom-kha paste and kept under 50% CO <sub>2</sub> , 5% O <sub>2</sub> , 45% N <sub>2</sub>

นำกุ้งขาวแต่ละชุดการทดลองที่ปิดผนึกแล้ว เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C ทำการสุ่มตัวอย่างทุกๆ 4 วัน เป็นระยะเวลา 20 วัน เพื่อวิเคราะห์ค่าต่างๆ ดังนี้

#### 7.4.1 คุณภาพทางกายภาพ

- 7.4.1.1 วิเคราะห์ค่าสี โดยใช้เครื่องวัดค่าสี Hunter Lab รายงานค่าในระบบ CIE L\*, a\*, b\*
- 7.4.1.2 วัดค่าพีเอช (Bartolome *et al.*, 1995)
- 7.4.1.3 วัดค่า a<sub>w</sub>
- 7.4.1.4 ความชื้น (ร้อยละ) (A.O.A.C., 1999)
- 7.4.1.5 drip loss, cooking loss (อาสีนะ หมักเจริญ, 2547)
- 7.4.1.6 ลักษณะเนื้อสัมผัส (Wattanachant *et al.*, 2005)
- 7.4.1.7 ลักษณะโครงสร้างทางจุลภาพ SEM

#### 7.4.2 คุณภาพทางเคมี ได้แก่

- 7.4.2.1 TVB-N, TMA-N (Conway and Byrne, 1936)
- 7.4.2.2 TBARS (Egan *et al.*, 1981)

#### 7.4.3 คุณภาพทางจุลินทรีย์ ได้แก่

- 7.4.3.1 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (TVC) (BAM, 2001)
- 7.4.3.2 Coliforms, *E. coli* (BAM, 2002)
- 7.4.3.3 *S. aureus* (BAM, 2001)

#### 7.4.4 คุณภาพทางประสาทสัมผัส

นำกุ้งขาวที่มาริเนท/ไม่มาริเนทด้วยเครื่องคัมข่าไปปรุงเป็นคัมข่ากุ้ง ซึ่งมี

ขั้นตอนดังแสดงใน Figure 23 และ Figure 24 แล้วทดสอบความชอบทางประสาทสัมผัส โดยวิธี 9-point hedonic scale ตามวิธีของ Meilgaard และคณะ (1999) โดยใช้ผู้ทดสอบชิม 30 คน

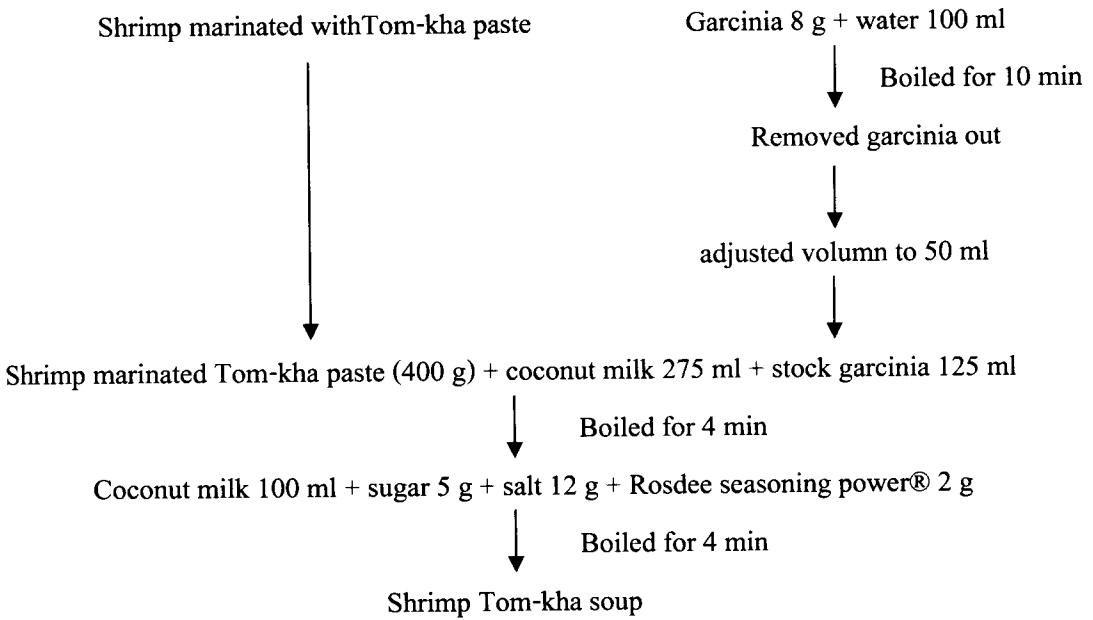


Figure 23. Flow diagrams of shrimp Tom-kha soup made from shrimp marinated with Tom-kha paste

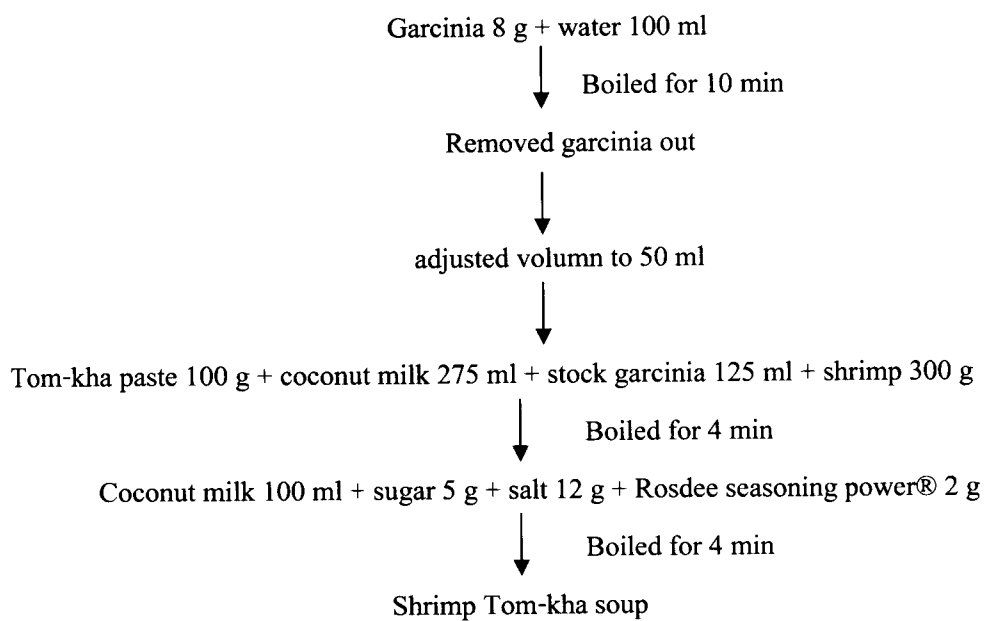


Figure 24. Flow diagrams of shrimp Tom-kha soup made shrimp without marinated Tom-kha paste



### บทที่ 3

#### ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

##### 1. การคัดเลือกสูตรพื้นฐานของเครื่องต้มยำ

ผลการสำรวจสูตรของเครื่องต้มยำจากตำรับอาหารและอินเทอร์เน็ต และคัดเลือกสูตรที่มีปริมาณข่าสูงสุดจำนวน 5 สูตร แสดงดัง Table 10 จากนั้นนำเครื่องต้มยำแต่ละสูตรไปบดให้ละเอียดเป็นเครื่องแกงหยาบขนาด 9-20 เมช (ตามวิธีการเตรียมวัตถุดิบในหน้า 64-65) ก่อนนำไปปรุงเป็นต้มยำกุ้ง (วิธีการปรุงแสดงดัง Figure 22) โดยมีอัตราส่วนเครื่องต้มยำ:น้ำกะทิผสมน้ำส้มแขก:กุ้งเท่ากับ 1.5:5:2 (น้ำหนักต่อปริมาตรต่อน้ำหนัก) และมีการเติมเครื่องปรุงรสคือน้ำตาลร้อยละ 1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) เกลือร้อยละ 2.8 (น้ำหนักต่อปริมาตร) วัตถุดิบปรุงแต่งรสอาหารรสไกร้อยละ 0.4 (น้ำหนักต่อปริมาตร) เพื่อไม่ให้คุณภาพและปริมาณของกุ้งเป็นปัจจัยทำให้เกิดความเบี่ยงเบนคะแนนการยอมรับของผู้ทดสอบ การทดลองในครั้งนี้จึงวิเคราะห์เฉพาะในส่วนของการนำซूप เมื่อนำน้ำซूपต้มยำกุ้งไปวิเคราะห์ค่าทางกายภาพพบว่า น้ำซूपต้มยำกุ้งมีพีเอชเป็นกรด โดยมีค่าอยู่ในช่วง 4.18-4.38 เนื่องจากการเติมน้ำส้มแขกเพื่อเพิ่มรสเปรี้ยว และพบว่าสูตรที่ 4 และ 5 ซึ่งเป็นสูตรที่มีปริมาณข่าสูง มีพีเอชต่ำกว่าสูตรอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ทั้งนี้เนื่องจากเมื่อวิเคราะห์พีเอชของเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบในเครื่องต้มยำ ได้แก่ ข่า ตะไคร้ พริกชี้หนู และใบมะกรูด พบว่าข่าสดมีพีเอชต่ำกว่าองค์ประกอบอื่นๆ (Table 13)

Table 13. pH of fresh spices used in Tom-kha paste

Components	pH
Galangal	$4.70 \pm 0.01^d$
Lemon grass	$5.39 \pm 0.02^b$
Chili	$5.09 \pm 0.01^c$
Kaffir lime leaves	$5.45 \pm 0.02^a$

<sup>a-d</sup> means within a column with the different letters are significantly difference ( $p < 0.05$ )

นอกจากนี้พบว่าน้ำซूपต้มยำกุ้งมีสีแดงเหลืองเล็กน้อย โดยมีค่า  $L^*$ ,  $a^*$  และ  $b^*$  อยู่ในช่วง 62.48-76.67, 4.68-9.33 และ 19.53-28.79 ตามลำดับ (Table 14) และน้ำซूपสูตรที่มีพริกชี้หนูเป็นองค์ประกอบมาก น้ำซूपสูตรนั้นจะมีสีแดงมากขึ้น สอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของค่า

a\* ทั้งนี้เนื่องจากพริกขี้หนูมีสารประกอบแคโรทีนอยด์ ได้แก่ แคปแซนธิน แคปซอรูบินและ แคปซอฟิลล์ (สีแดง) และเบต้าแคโรทีน ซีแซนธิน แอนโทราแซนธิน ไวโอลาแซนธิน เบต้าคริบโตแซนธิน (สีเหลืองส้ม) (Ittah *et al.*, 1993; Berke and Shieh, 2001; Hornero-Mende *et al.*, 2000) ซึ่งเป็นสารให้สีเหลืองแดง และสามารถละลายได้ในน้ำกะทิ

Table 14. Effect of Tom-kha paste formula(s) on L\*, a\*, b\* values and pH of Tom-kha soup

Formulation <sup>†</sup>	Color			pH
	L*	a*	b*	
1	76.67 ± 0.46 <sup>a</sup>	4.68 ± 0.09 <sup>c</sup>	19.53 ± 0.19 <sup>c</sup>	4.37 ± 0.014 <sup>a</sup>
2	62.48 ± 0.39 <sup>d</sup>	9.33 ± 0.14 <sup>a</sup>	28.79 ± 0.18 <sup>a</sup>	4.38 ± 0.017 <sup>a</sup>
3	72.38 ± 0.43 <sup>b</sup>	5.50 ± 0.17 <sup>b</sup>	23.14 ± 0.12 <sup>d</sup>	4.29 ± 0.017 <sup>b</sup>
4	68.90 ± 0.41 <sup>c</sup>	4.93 ± 0.25 <sup>c</sup>	24.65 ± 0.29 <sup>b</sup>	4.18 ± 0.005 <sup>c</sup>
5	68.91 ± 0.13 <sup>c</sup>	5.70 ± 0.26 <sup>b</sup>	23.73 ± 0.33 <sup>c</sup>	4.20 ± 0.005 <sup>c</sup>

<sup>a-c</sup> means within a column with the different letters are significantly difference (p<0.05)

<sup>†</sup> Ingredient composition of each formulation was showed in Table 10

จากการนำน้ำซุปลดต้มข่ากุ้งมาทดสอบความชอบทางประสาทสัมผัส โดยวิธี 9-point hedonic scale (1 = ไม่ชอบมากที่สุด, 9 = ชอบมากที่สุด ตามภาคผนวก จ1) กับผู้ทดสอบชิม 30 คน พบว่าผู้ทดสอบชิมให้คะแนนความชอบน้ำซุปลดต้มข่ากุ้งในด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่นเครื่องเทศ และรสชาติของแต่ละสูตรแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) (Table 15) แต่ผู้ทดสอบชิมให้คะแนนความชอบน้ำซุปลดต้มข่ากุ้งในด้านความหนืดและความชอบรวมไม่แตกต่างกัน (p≥0.05)

คะแนนความชอบน้ำซุปลดต้มข่ากุ้งในด้านกลิ่นเครื่องเทศและรสชาติ มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) ในสูตรของเครื่องต้มข่าที่ประกอบด้วยข่าร้อยละ 76.92 (Table 16) ทั้งนี้เนื่องจากในข่ามีสารให้กลิ่นรสฉุน (pungent) ดังนั้น น้ำซุปลดต้มข่ากุ้งที่เตรียมจากเครื่องต้มข่าที่มีปริมาณของข่าสูง จะมีกลิ่นรสฉุนสูงกว่าสูตรอื่นๆ ส่งผลให้คะแนนความชอบในคุณลักษณะด้านกลิ่นเครื่องเทศและรสชาติมีค่าน้อยกว่าสูตรอื่นๆ จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่าเหง้าข่ามีกลิ่นรส woody, floral และ spicy note (Kubota *et al.*, 1999) นอกจากนี้ Yang และ Eilerman (1999) รายงานว่าสารให้กลิ่นรสฉุนในข่าคืออะซิโทซีชาวิคอตอะซิเตท (galangal acetate) ซึ่งเป็นสารที่ให้กลิ่นรสฉุน มีลักษณะเฉพาะ ให้ความเผ็ดร้อนน้อยกว่าแคปไซซินและไม่มีลักษณะติดลิ้น

Table 15. Effect of Tom-kha paste formula(s) on consumer preference of Tom-kha soup evaluated with 30 panelists by 9-point hedonic scale

Formulation <sup>†</sup>	Attribute					
	Appearance	Color	Viscosity	Spices odor	Taste	Overall liking
1	6.97 ± 1.45 <sup>ab</sup>	7.17 ± 1.09 <sup>ab</sup>	6.77 ± 1.46 <sup>a</sup>	6.87 ± 1.22 <sup>ab</sup>	7.07 ± 1.17 <sup>a</sup>	7.13 ± 1.17 <sup>a</sup>
2	6.63 ± 1.34 <sup>b</sup>	6.63 ± 1.38 <sup>b</sup>	6.43 ± 1.52 <sup>a</sup>	6.83 ± 1.56 <sup>ab</sup>	6.63 ± 1.54 <sup>ab</sup>	6.60 ± 1.50 <sup>a</sup>
3	7.47 ± 0.90 <sup>a</sup>	7.43 ± 0.86 <sup>a</sup>	7.10 ± 0.92 <sup>a</sup>	7.00 ± 1.17 <sup>a</sup>	6.80 ± 1.34 <sup>a</sup>	7.17 ± 1.12 <sup>a</sup>
4	6.83 ± 1.11 <sup>ab</sup>	6.73 ± 1.23 <sup>b</sup>	6.77 ± 1.04 <sup>a</sup>	6.27 ± 1.48 <sup>ab</sup>	6.30 ± 1.77 <sup>ab</sup>	6.50 ± 1.38 <sup>a</sup>
5	6.77 ± 1.22 <sup>b</sup>	6.83 ± 1.18 <sup>ab</sup>	6.50 ± 0.97 <sup>a</sup>	6.07 ± 1.91 <sup>b</sup>	5.87 ± 1.98 <sup>b</sup>	6.43 ± 1.59 <sup>a</sup>

<sup>a-b</sup> means within a column with the different letters are significantly difference (p<0.05)

<sup>†</sup> Ingredient composition of each formulation was showed in Table 10

(lingering effect) Kubota และคณะ (1998) รายงานว่าอะซิโทไซซีนีโอล (acetoxycineoles) จำนวน 4 ไอโซเมอร์ (isomer) ได้แก่ (trans และ cis)-2- และ 3-acetoxy-1,8-cineoles เป็นสารที่ให้กลิ่นในเหง้าชาโดยแต่ละไอโซเมอร์ให้กลิ่นที่มีลักษณะเฉพาะคือ (trans และ cis)-2 isomers ให้กลิ่น woody และ sweet aromas ตามลำดับ ในขณะที่ (trans และ cis)-3 isomers ให้กลิ่น sweet floral และ camphoraceous aromas ตามลำดับ โดย trans-2-acetoxy-1,8-cineole เป็นสารสำคัญที่ให้กลิ่นเฉพาะในเหง้าชา

จากผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสพบว่าสูตรที่ 3 ซึ่งประกอบด้วยชา ตะไคร้ พริกขี้หนู และใบมะกรูดร้อยละ 41.84, 47.42, 8.25 และ 2.51 ตามลำดับ ได้รับคะแนนความชอบของน้ำชูปดัมข่ากึ่งในแต่ละคุณลักษณะสูงกว่าสูตรอื่นๆ และมีคะแนนเฉลี่ยสูงกว่า 6.8 (Table 15) จึงคัดเลือกสูตรที่ 3 ไปเป็นต้นแบบการศึกษาในการปรับปรุงรสชาติและศึกษาในขั้นตอนต่อไป

เนื่องจากมีผู้ทดสอบชิมร้อยละ 46.67 ให้ข้อเสนอแนะว่าน้ำชูปดัมข่ากึ่งมีรสเค็ม ดังนั้นจึงนำเครื่องดัมข่าสูตรที่ 3 มาปรับปรุงรสชาติ โดยใช้อัตราส่วนของเครื่องดัมข่า:น้ำกะทิผสมน้ำส้มแขก:กึ่ง เท่ากับ 1.5:5:2 (น้ำหนักต่อปริมาตรต่อน้ำหนัก) น้ำตาลร้อยละ 1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) วัตถุปรุงแต่งรสอาหารรสไก่อ้อยละ 0.4 (น้ำหนักต่อปริมาตร) และใช้ปริมาณเกลือที่แตกต่างกัน 4 ระดับคือร้อยละ 2, 2.4, 2.8 และ 3.2 ตามลำดับ (น้ำหนักต่อปริมาตร) แล้วนำน้ำชูปดัมข่ากึ่งที่ได้ ไปทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยวิธี 9-point hedonic scale และ just about right (5-point intensity scale) โดยกำหนดให้ -2 คือความเข้มข้น 0 คือความเข้มข้นพอดี และ 2 คือความเข้มข้นมาก (ภาคผนวก จ2) จากการทดลองพบว่าสูตรที่ใช้ในการปรุงดัมข่ากึ่ง คือใช้อัตราส่วนเครื่องดัมข่า:น้ำกะทิผสมน้ำส้มแขก:กึ่ง เท่ากับ 1.5:5:2 (น้ำหนักต่อปริมาตรต่อน้ำหนัก) ใช้ปริมาณของน้ำตาลร้อยละ 1 น้ำส้มแขกร้อยละ 25 และเกลือร้อยละ 2.4 ทำให้น้ำชูปดัมข่ากึ่งมีคะแนนความชอบในด้านกลิ่นเครื่องเทศ ความหวาน ความเปรี้ยว และความเค็ม เท่ากับ  $6.64 \pm 1.45$ ,  $7.33 \pm 0.82$ ,  $6.91 \pm 1.36$  และ  $7.21 \pm 0.89$  (Table 16) ตามลำดับ และมีคะแนนเฉลี่ยความเค็มเท่ากับ  $-0.15 \pm 0.94$ ,  $-0.27 \pm 0.5$ ,  $-0.36 \pm 0.70$  และ  $0.06 \pm 0.56$  (Table 17) ตามลำดับ ซึ่งใกล้เคียงค่าพอดี (คะแนนเท่ากับ 0) ดังนั้นจึงใช้อัตราส่วนของเครื่องดัมข่าและปริมาณของน้ำตาล น้ำส้มแขก วัตถุปรุงแต่งรสอาหารรสไก่อ้อยละและเกลือข้างต้นมาใช้ในการปรุงเป็นดัมข่ากึ่งสำหรับการทดสอบทางประสาทสัมผัสในการทดลองต่อไป

Table 16. Sensory score of Tom-kha soup added with various salt levels evaluated with 30 panelists by 9-point hedonic scale

Salt (% w/v)	Attribute			
	Spices odor	Sweet	Sour	Salty
2	7.30 ± 0.98 <sup>a</sup>	7.15 ± 0.91 <sup>ab</sup>	6.09 ± 1.44 <sup>b</sup>	6.79 ± 1.39 <sup>ab</sup>
2.4	6.64 ± 1.45 <sup>a</sup>	7.33 ± 0.82 <sup>a</sup>	6.91 ± 1.36 <sup>a</sup>	7.21 ± 0.89 <sup>a</sup>
2.8	6.91 ± 1.28 <sup>a</sup>	6.94 ± 1.03 <sup>ab</sup>	6.58 ± 1.50 <sup>ab</sup>	7.00 ± 1.09 <sup>a</sup>
3.2	6.76 ± 1.64 <sup>a</sup>	6.70 ± 1.29 <sup>b</sup>	6.70 ± 1.40 <sup>ab</sup>	6.24 ± 1.87 <sup>b</sup>

<sup>a-b</sup> means within a column with the different letters are significantly difference (p<0.05)

Table 17. Average score of just about right of Tom-kha soup added with various salt levels evaluated with 30 panelists

Salt (% w/v)	Attribute			
	Spices odor	Sweet	Sour	Salty
2	0.21 ± 0.70	-0.30 ± 0.64	-0.85 ± 0.57	-0.30 ± 0.77
2.4	-0.15 ± 0.94	-0.27 ± 0.52	-0.36 ± 0.70	0.06 ± 0.56
2.8	-0.48 ± 0.71	-0.58 ± 0.71	-0.42 ± 0.79	0.30 ± 0.68
3.2	-0.27 ± 0.80	-0.39 ± 0.70	-0.39 ± 0.79	0.91 ± 0.77

## 2. ผลของสภาวะการสกัดต่อสมบัติการต้านออกซิเดชันของเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบในเครื่องต้มยำและเครื่องต้มยำ

เมื่อนำข่า ตะไคร้ พริกชี้หนู ใบมะกรูดและเครื่องต้มยำ จากสูตรที่ได้รับการคัดเลือกจากตอนที่ 1 มาสกัดด้วยน้ำ เอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 50, 75 และ 95 ที่อัตราส่วนของตัวอย่างต่อตัวทำละลายเท่ากับ 1:10 และ 1:5 พบว่า

### สารสกัดหยาบของข่า

หลังจากระเหยสารสกัดออกไปร้อยละ 75 พบว่าสารสกัดหยาบของข่าด้วยน้ำ มีพีเอชเริ่มต้นอยู่ในช่วง 4.73-4.86 ส่วนสารสกัดหยาบของข่าด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 50, 75 และ 95 มีพีเอชเริ่มต้นอยู่ในช่วง 4.71-4.91, 4.66-5.00 และ 5.55-5.90 ตามลำดับ (Table 17) จะเห็นได้ว่าเมื่อความเข้มข้นของเอธานอลเพิ่มขึ้น พีเอชของสารสกัดหยาบของข่ามีค่าเพิ่มขึ้น อาจเนื่องจากสารที่ให้ความเป็นกรดในข่า เช่น วิตามินซี กรดซิตริก และ/หรือกรดอ่อนอื่นๆ เป็นสารที่มีความเป็นขี้สูง สามารถละลายในน้ำได้ดีกว่าเอธานอล เมื่อพิจารณาอัตราส่วนของข่าต่อตัวทำละลายพบว่าการสกัดข่าที่อัตราส่วนของข่าต่อตัวทำละลายเท่ากับ 1:5 (ในทุกตัวทำละลาย) ทำให้สารสกัดหยาบที่ได้มีพีเอชต่ำกว่าสารสกัดหยาบที่อัตราส่วน 1:10 อย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) เนื่องจากอัตราส่วนของข่าต่อตัวทำละลาย 1:5 มีปริมาณของข่าซึ่งมีพีเอชเป็นกรดมากกว่า

ค่าสีของสารสกัดหยาบของข่าหลังระเหยสารสกัดออกไปร้อยละ 75 แสดงค่าในระบบ CIE  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  และ CIE  $L^*$ ,  $C^*$ ,  $H^\circ$  จากการทดลองพบว่าสารสกัดหยาบของข่ามีค่า  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$  และ  $H^\circ$  อยู่ในช่วง 46.53-72.06, -0.65-13.84, 19.13-49.16, 19.14-49.64 และ 63.83-91.94 ตามลำดับ (Table 18) สารสกัดหยาบของข่าด้วยน้ำมีความสว่างมากที่สุด รองลงมาคือสารสกัดหยาบของข่าด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 95, 75 และ 50 ตามลำดับ สารสกัดหยาบของข่าด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 และ 50 มีสีแดงเหลืองและเป็นตะกอน ส่วนสารสกัดหยาบของข่าด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 มีลักษณะใสและมีสีแดงเหลือง (Figure 25) สารสกัดหยาบของข่าด้วยน้ำมีสีแดงค่อนข้างเหลืองมากที่สุด รองลงมาคือสารสกัดหยาบของข่าด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 95, 75 และ 50 (พิจารณาจากค่า  $H^\circ$ ,  $0^\circ$  = สีแดง,  $90^\circ$  = สีเหลือง) นอกจากนี้พบว่าเมื่อความเข้มข้นของเอธานอลที่ใช้สกัดข่ามีค่าเพิ่มขึ้น สารสกัดหยาบที่ได้มีความบริสุทธิ์ของสีเพิ่มขึ้น (พิจารณาจากค่า  $C^*$ ) การสกัดข่าที่อัตราส่วนของข่าต่อตัวทำละลาย 1:10 ทำให้สารสกัดหยาบที่ได้ มีความสว่างมากกว่าสารสกัดหยาบที่อัตราส่วน 1:5 อย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) (Table 18) เนื่องจากสารสกัดหยาบที่อัตราส่วน

Table 18. Effect of extraction conditions on pH and color of crude galangal extracts after 75% of extracts was evaporated

Ratio of galangal and solvent	Solvent	pH	Color value				
			L*	a*	b*	C*	H°
1:5	Water extract	4.73±0.000 <sup>f</sup>	66.57± 0.02 <sup>b</sup>	1.24± 0.01 <sup>g</sup>	20.03±0.07 <sup>g</sup>	20.07±0.07 <sup>g</sup>	86.46±0.03 <sup>c</sup>
	50% ethanol extract	4.71±0.000 <sup>g</sup>	53.83±0.07 <sup>e</sup>	13.84±0.09 <sup>a</sup>	28.16±0.19 <sup>e</sup>	31.38±0.20 <sup>d</sup>	63.83±0.14 <sup>h</sup>
	75% ethanol extract	4.66±0.005 <sup>h</sup>	51.17±0.02 <sup>g</sup>	10.37±0.07 <sup>b</sup>	30.78±0.03 <sup>c</sup>	32.48±0.05 <sup>c</sup>	71.37±0.11 <sup>g</sup>
	95% ethanol extract	5.55±0.005 <sup>b</sup>	61.55±0.01 <sup>d</sup>	6.94±0.06 <sup>c</sup>	49.16±0.22 <sup>a</sup>	49.64±0.21 <sup>a</sup>	81.96±0.10 <sup>d</sup>
1:10	Water extract	4.86±0.006 <sup>c</sup>	72.06±0.02 <sup>a</sup>	-0.65±0.02 <sup>h</sup>	19.13±0.02 <sup>h</sup>	19.14 ±0.02 <sup>h</sup>	91.94±0.05 <sup>a</sup>
	50% ethanol extract	4.91±0.006 <sup>d</sup>	52.78±0.02 <sup>f</sup>	6.28±0.07 <sup>d</sup>	21.97±0.16 <sup>f</sup>	22.85±0.14 <sup>f</sup>	74.05±0.26 <sup>f</sup>
	75% ethanol extract	5.00±0.006 <sup>c</sup>	46.53±0.03 <sup>h</sup>	6.09±0.06 <sup>e</sup>	30.22±0.09 <sup>d</sup>	30.83±0.07 <sup>e</sup>	78.60±0.13 <sup>e</sup>
	95% ethanol extract	5.90±0.026 <sup>a</sup>	65.88±0.02 <sup>c</sup>	2.02±0.5 <sup>f</sup>	42.45±0.07 <sup>b</sup>	42.50±0.06 <sup>b</sup>	87.27±0.07 <sup>b</sup>

Mean ± SD from triplicate determinations

<sup>a-h</sup> means within a column with the different letters are significantly difference (p<0.05)

Sample: Solvent = 1:10

1 2 3 4

Sample: Solvent = 1:5

1 2 3 4

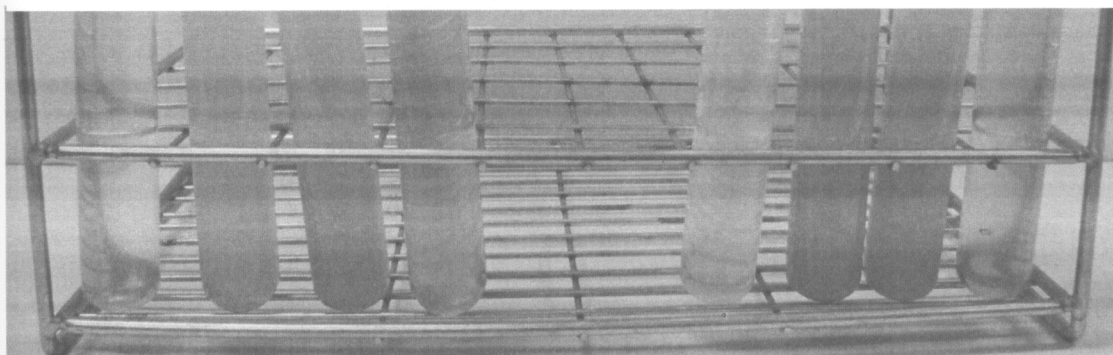


Figure 25. Appearance of crude galangal extracts after 75% of extracts was evaporated

Remark: 1 = water crude extracts, 2 = 50% ethanolic crude extracts, 3 = 75% ethanolic crude extracts and 4 = 95% ethanolic crude extracts

ของข่าต่อตัวทำละลาย 1:10 มีความเข้มข้นน้อยกว่าสารสกัดขยาบที่อัตราส่วน 1:5

กฤติกา นรจิตร (2548) ศึกษาประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของ น้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากพืชวงศ์ขิง 5 ชนิด ได้แก่ ขิง(*Zingiber officinale* Roscoe.) ข่า (*galangal*, *Alpinia galanga* Sw.) ขมิ้นชัน (*turmeric*, *Curcuma longa* L.) กระชาย (*kaempferia*, *Boesenbergia pandurata* Holtt.) และเร่วหอม (*bastard cardamom*, *Amomum xanthioides* Wall.) โดยการต้มกลั่นและการสกัดด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด คือปิโตรเลียมอีเธอร์และเอธานอล พบว่า น้ำมันหอมระเหยที่ได้จากการต้มกลั่นและสกัดโดยใช้ตัวทำละลายมีสีที่แตกต่างกัน กล่าวคือน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากการต้มกลั่นมีสีเหลืองอ่อนใส มีค่า L, a, b เท่ากับ 36.5, -1.0 และ 1.5 ตามลำดับ ส่วนน้ำมันหอมระเหยที่สกัดด้วยเอธานอลและปิโตรเลียมอีเธอร์ มีสีน้ำตาลเขียวเข้ม มีค่า L, a, b เท่ากับ 29.9, 2.6 และ 0.4 และ 35.5, 25.3 และ 7.7 ตามลำดับ น้ำมันหอมระเหยที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายมีสีเข้มกว่าน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากการกลั่น เนื่องจากการสกัดด้วยตัวทำละลายทำให้สกัดสารอื่นๆนอกจาก น้ำมันหอมระเหยปะปนออกมา เช่น รงควัตถุ โปรตีน เซลลูโลส แป้ง เป็นต้น (Purseglove *et al.*, 1981) นอกจากนี้ Zaeoung (2004) พบว่า สารสกัดของข่าหลังจากระเหยตัวทำละลายออกมีลักษณะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับตัวทำละลาย กล่าวคือสารสกัดข่าด้วยน้ำมีลักษณะเป็นยางสีน้ำตาลเหลือง (yellowish brown gum) ส่วนสารสกัดข่าด้วยเมธานอลมีลักษณะเป็นยางสีดำ (black oily gum) และน้ำมันหอมระเหยมีลักษณะเป็นยางสีเหลือง (yellow oil) Mahae และ Chaiseri (2009) พบว่าสารสกัดข่าด้วยน้ำและเอธานอลร้อยละ 50



หลังการระเหยตัวทำละลายออกอย่างสมบูรณ์มีลักษณะเป็นผงสีน้ำตาลอ่อน (light brown powder) ส่วนน้ำมันหอมระเหยเป็นของเหลวใสมีสีอ่อนๆ

สารสกัดหยาบของข่าที่ได้มีปริมาณของแข็งอยู่ในช่วงร้อยละ 0.06-0.18 ต่อกรัมของข่าแห้ง (Table 19) การสกัดที่อัตราส่วนของตัวอย่างต่อตัวทำละลาย 1:10 ส่งผลให้สารสกัดที่ได้มีปริมาณของแข็ง ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันในรูปของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ตลอดจนความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP (คำนวณในรูปน้ำหนักแห้ง) สูงกว่าของสารสกัดหยาบของข่าที่อัตราส่วน 1:5 อย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) (Table 19)

การใช้ตัวทำละลายเพิ่มขึ้นทำให้สามารถสกัดสารได้มากขึ้น เนื่องจากตัวทำละลายที่เพิ่มขึ้น ส่งผลให้แรงขับเคลื่อนในระหว่างการถ่ายโอนมวลภายในอนุภาคของตัวอย่าง (Cacace and Mazza, 2003) และสัมประสิทธิ์การแพร่มีค่าเพิ่มขึ้น เนื่องจากความแตกต่างระหว่างความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกที่ผิวหน้าของตัวอย่างและตัวทำละลายมีค่าเพิ่มขึ้น (Pinelo *et al.*, 2004b) ส่งผลให้สารในตัวอย่างแพร่สู่ตัวทำละลายได้มากขึ้น อย่างไรก็ตามอัตราส่วนของตัวทำละลายต่อตัวอย่างไม่มีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อสัมประสิทธิ์การแพร่ภายใต้เงื่อนไขที่การสกัดจะหยุดเมื่อถึงจุดสมดุล (Cacace and Mazza, 2003)

การสกัดข่าด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 ที่อัตราส่วนของตัวอย่างต่อตัวทำละลาย 1:10 ส่งผลให้สารสกัดหยาบที่ได้ มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันในรูปของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS พร้อมทั้งความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP ดีที่สุด (Table 19) รองลงมาคือสารสกัดหยาบด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 95, 50 และน้ำ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Juntachote และคณะ (2006b) ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดข่า ตะไคร้และโรสแมรี่ (rosemary) โดยวิธี RSM (response surface method) พบว่าอัตราส่วนของเอธานอลต่อน้ำ 3:1 ซึ่งเทียบได้กับเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 โดยประมาณ ทำให้สารสกัดข่ามีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและรีดิวซ์ซิงพาวเวอร์สูงสุด Mahae และ Chaiseri (2009) พบว่าสารสกัดข่าด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์และความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH สูงกว่าสารสกัดข่าด้วยน้ำและน้ำมันหอมระเหย และพบว่าสารสำคัญในสารสกัดข่าด้วยเอธานอลร้อยละ 50 คือ อะซิโทซิชาวิกอลอะซิเตท (10.56 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด) และคาเทชิน (1.74 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด) ส่วนสารสกัดข่าด้วยน้ำมีสารสำคัญคือ ไมริซีทิน (14.60 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด) และน้ำมันหอมระเหยมีสารสำคัญคือ เมทิลยูจีนอล (4,130.37 ไมโครกรัมต่อกรัม) ซาวิคอล (2,390.45 ไมโครกรัมต่อกรัม) และ

Table 19. Effect of extraction conditions on the solids content, total phenolic contents and antioxidant properties of crude galangal extracts

Ratio of galangal and solvent	Solvent	Solids content (%/g dw.)	Total phenolic (g GAE/100 g dw.)	DPPH value ( $\mu$ mole TE/g dw.)	ABTS value ( $\mu$ mole TE/g dw.)	FRAP value ( $\mu$ mole TE/g dw.)
1:5	Water extract	0.100 $\pm$ 0.023 <sup>c</sup>	0.80 $\pm$ 0.08 <sup>d</sup>	24.10 $\pm$ 3.04 <sup>c</sup>	127.62 $\pm$ 11.42 <sup>c</sup>	46.16 $\pm$ 7.59 <sup>d</sup>
	50% ethanol extract	0.114 $\pm$ 0.001 <sup>c</sup>	0.88 $\pm$ 0.08 <sup>d</sup>	29.38 $\pm$ 5.82 <sup>c</sup>	146.57 $\pm$ 12.69 <sup>d</sup>	76.79 $\pm$ 5.67 <sup>c</sup>
	75% ethanol extract	0.147 $\pm$ 0.005 <sup>b</sup>	1.57 $\pm$ 0.16 <sup>c</sup>	29.78 $\pm$ 2.53 <sup>c</sup>	157.97 $\pm$ 9.58 <sup>cd</sup>	123.00 $\pm$ 6.06 <sup>a</sup>
	95% ethanol extract	0.056 $\pm$ 0.006 <sup>d</sup>	1.45 $\pm$ 0.12 <sup>c</sup>	54.33 $\pm$ 2.61 <sup>a</sup>	127.02 $\pm$ 7.40 <sup>e</sup>	129.13 $\pm$ 8.43 <sup>a</sup>
1:10	Water extract	0.110 $\pm$ 0.003 <sup>c</sup>	0.83 $\pm$ 0.13 <sup>d</sup>	26.42 $\pm$ 4.76 <sup>c</sup>	166.74 $\pm$ 8.66 <sup>bc</sup>	84.24 $\pm$ 7.22 <sup>c</sup>
	50% ethanol extract	0.176 $\pm$ 0.007 <sup>a</sup>	1.50 $\pm$ 0.13 <sup>c</sup>	42.86 $\pm$ 7.03 <sup>b</sup>	179.45 $\pm$ 15.23 <sup>b</sup>	104.96 $\pm$ 4.35 <sup>b</sup>
	75% ethanol extract	0.150 $\pm$ 0.014 <sup>b</sup>	2.21 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	59.26 $\pm$ 4.47 <sup>a</sup>	198.68 $\pm$ 8.90 <sup>a</sup>	126.35 $\pm$ 7.60 <sup>a</sup>
	95% ethanol extract	0.060 $\pm$ 0.002 <sup>d</sup>	1.96 $\pm$ 0.18 <sup>b</sup>	57.25 $\pm$ 4.40 <sup>a</sup>	171.67 $\pm$ 8.60 <sup>b</sup>	130.89 $\pm$ 8.51 <sup>a</sup>

Mean  $\pm$  SD from triplicate determinations

<sup>a-c</sup> means within a column with the different letters are significantly difference (p<0.05)

GAE: Gallic acid equivalent, TE: Trolox equivalent, dw: dry weight of galangal

ยูจีนอล (728.30 ไมโครกรัมต่อกรัม) แสดงให้เห็นว่าตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดมีผลต่อสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารสกัด

จากการทดลองในครั้งนี้พบว่า ความเข้มข้นของเอธานอลแตกต่างกัน ส่งผลให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบของข่าที่สกัดออกมาได้มีค่าแตกต่างกัน เนื่องจากความเป็นขั้วของตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ส่งผลให้องค์ประกอบทางเคมีที่สกัดออกมาได้มีความแตกต่างกัน (Jayaprakasha *et al.*, 2008) เมื่อความเข้มข้นของเอธานอลเปลี่ยนแปลงทำให้สมบัติทางกายภาพ (physical properties) เช่น ความหนาแน่น ความหนืด และค่าคงที่ไดอิเล็กตริก (dielectric constant) ของตัวทำละลายเกิดการเปลี่ยนแปลง (Juntachote *et al.*, 2006b) ซึ่งค่าดังกล่าวมีผลต่อการละลายของสารประกอบฟีนอลิกชนิดต่างๆ (Cacace and Mazza, 2003) ตัวทำละลายที่มีความหนืดน้อยมีอัตราการสกัดสูง เนื่องจากมีสัมประสิทธิ์การแพร่สูง (Gertenbach, 2002) Arts และ Hollman (1998) พบว่าสารประกอบฟีนอลิกที่อยู่ในรูปของอะไกลโคโคนที่มีหมู่ไฮดรอกซิลสูงละลายได้ดีในเอธานอลและเมธานอล ส่วนตัวทำละลายที่มีขั้วน้อย เช่น เอทิลอะซิเตต อะซิโตน และคลอโรฟอร์ม ใช้สำหรับสกัดสารที่ไม่มีขั้วและสารประกอบฟีนอลิกที่อยู่ในรูปของอะไกลโคโคนที่มีหมู่เมทอกซิลสูง และสารประกอบที่มีขั้วสูงสามารถสกัดออกมาโดยใช้น้ำ (Lafka *et al.*, 2007) ในขณะที่ฟลาโวนอยด์ที่มีขั้วน้อย เช่น ไอโซฟลาโวน ฟลาโวนอน เมซิลเลทฟลาโวน และฟลาโวนอล สามารถสกัดออกมาโดยใช้คลอโรฟอร์ม ไดคลอโรมีเทน ไดเอทิลอีเทอร์หรือเอทิลอะซิเตต ส่วนฟลาโวนอยด์ไกลโคไซด์และอะไกลโคโคนที่มีขั้วสูง สามารถสกัดออกมาโดยใช้แอลกอฮอล์หรือแอลกอฮอล์ผสมน้ำ เนื่องจากไกลโคไซด์เพิ่มความสามารถในการละลายน้ำของฟลาโวนอยด์ (Marston and Hostettmann, 2006) นอกจากนี้การที่น้ำสามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกได้น้อย อาจมีสาเหตุมาจาก (1) การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิก โดยเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส ซึ่งเอนไซม์ดังกล่าวจะถูกทำลายเมื่อสกัดโดยใช้เมธานอล เอธานอลและอะซิโตน (González-Montelongo *et al.*, 2010) และ (2) สารออกฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในสารสกัดข่าด้วยน้ำอาจเกิดการสลายตัว เนื่องจากในขั้นตอนการระเหยสารสกัดโดยใช้ rotary evaporature สารสกัดด้วยน้ำใช้เวลาในการระเหยนาน (ประมาณ 2 ชั่วโมง) เมื่อเทียบกับสารสกัดด้วยเอธานอล ความเข้มข้นต่างๆ (ประมาณ 15 นาที)

อย่างไรก็ตามมีรายงานหลายฉบับระบุว่าชนิดและปริมาณของสารสำคัญที่พบในสารสกัดข่าแตกต่างกันขึ้นอยู่กับวิธีการสกัด ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด เทคนิคที่ใช้ในการวิเคราะห์ส่วนของข่าที่ใช้ เช่น ใบ ลำต้น เหง้าและราก (Jirovetz *et al.*, 2003) รวมทั้งลักษณะของภูมิประเทศและภูมิอากาศที่ใช้ในการปลูกข่าเป็นต้น (Daferera *et al.*, 2000; Baydar *et al.*, 2004)

เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดกับสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบของข่า (Table 20) พบว่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสัมพันธ์กับความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP แสดงให้เห็นว่าสารประกอบฟีนอลิกเป็นสารต้านออกซิเดชันหลักที่พบในข่า ซึ่งสอดคล้องกับการวิจัยหลายฉบับที่พบความสัมพันธ์ระหว่างสารประกอบฟีนอลิกกับความสามารถในการต้านออกซิเดชันในผลไม้ (Gao *et al.*, 2000; Jimenez-Escrig *et al.*, 2001) ผัก (Robards *et al.*, 1999; Pyo *et al.*, 2004) ธัญพืช (Velioglu *et al.*, 1998; Peterson *et al.*, 2001) เครื่องดื่มและอาหาร (Fogliano *et al.*, 1999; Saura-Calixto and Goni, 2006) และสมุนไพรที่ใช้ในการทำอาหาร (Zheng and Wang, 2001)

จากการทดลองเมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของแข็งกับปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชัน พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กัน เนื่องจากสารที่สกัดออกมาได้ด้วยเอทานอลความเข้มข้นต่างๆ ประกอบด้วยสารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบที่ไม่ใช่สารประกอบฟีนอลิก เช่น น้ำตาล กรดอินทรีย์ โปรตีนและรงควัตถุอื่นๆ (Macheix *et al.*, 1990 อ้างโดย Sun and Ho, 2005)

Table 20. Bivariate correlation of the total phenolic contents, DPPH values, ABTS values, FRAP values and solids content from all crude galangal extracts

	Total phenolic (g GAE/100 g dw.)	DPPH value ( $\mu$ mole TE/g dw.)	ABTS value ( $\mu$ mole TE/g dw.)	FRAP value ( $\mu$ mole TE/g dw.)	Solids content (%/g dw.)
Total phenolic (g GAE/100 g dw.)	1.000	0.861**	0.651	0.854**	0.132
DPPH value ( $\mu$ mole TE/g dw.)	0.861**	1.000	0.431	0.795*	-0.205
ABTS value ( $\mu$ mole TE/g dw.)	0.651	0.431	1.000	0.449	0.569
FRAP value ( $\mu$ mole TE/g dw.)	0.854**	0.795*	0.449	1.000	-0.037
Solids content (%/g dw.)	0.132	-0.205	0.569	-0.037	1.000

\*\* Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed)

\* Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed)

GAE: Gallic acid equivalent, TE: Trolox equivalent, dw: dry weight of galangal

### สารสกัดหยาบของตะไคร้

หลังจากระเหยสารสกัดไปร้อยละ 75 พบว่าสารสกัดหยาบของตะไคร้ด้วยน้ำ มีพีเอชอยู่ในช่วง 4.67-4.88 ส่วนสารสกัดหยาบของตะไคร้ด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 50, 75 และ 95 มีพีเอช อยู่ในช่วง 5.31-5.53, 5.13-5.47 และ 5.51-5.82 ตามลำดับ (Table 22) การสกัดที่อัตราส่วนของตะไคร้ต่อตัวทำละลาย 1:5 ให้สารสกัดที่ได้มีพีเอชต่ำกว่าของสารสกัดหยาบที่อัตราส่วน 1:10 อย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) เนื่องจากสารสกัดหยาบที่อัตราส่วน 1:5 มีปริมาณของตะไคร้ ซึ่งมีพีเอชเป็นกรดมากกว่าสารสกัดหยาบที่อัตราส่วน 1:10 สารสกัดที่ได้มีค่า  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$  และ  $H^\circ$  อยู่ในช่วง 42.34-67.29, -1.76-9.18, 31.55-47.70, 31.56-48.55 และ 77.24-98.24 ตามลำดับ เมื่อพิจารณาความสว่างของสีพบว่า สารสกัดหยาบของตะไคร้ด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 มีค่าความสว่างของสีมากที่สุด รองลงมาคือสารสกัดหยาบของตะไคร้ด้วยน้ำ เอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 และ 75 ตามลำดับ โดยสารสกัดหยาบด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 และน้ำมีลักษณะสี สีแดงก่อนไปทางสีเขียวเหลือง (พิจารณาจากค่า  $a^*$ ,  $b^*$  และ  $H^\circ$ ) ส่วนสารสกัดหยาบด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 และ 75 มีสีแดงเหลือง (Figure 26) นอกจากนี้พบว่าสารสกัดหยาบที่อัตราส่วนตะไคร้ต่อตัวทำละลาย 1:10 ให้สารสกัดหยาบที่ได้มีความสว่างมากกว่าของสารสกัดหยาบที่อัตราส่วน 1:5 อย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) (Table 21) เนื่องจากสารสกัดหยาบที่อัตราส่วนตะไคร้ต่อตัวทำละลาย 1:10 มีความเจือจางมากกว่าของสารสกัดหยาบที่อัตราส่วน 1:5 ดังที่กล่าวมาแล้วในสารสกัดหยาบของข่า

สารสกัดหยาบของตะไคร้ที่ได้จากทุกระบบ มีปริมาณของแข็งอยู่ในช่วงร้อยละ 0.13-0.19 ต่อกรัมของตะไคร้แห้ง (Table 22) การสกัดที่อัตราส่วนของตะไคร้ต่อตัวทำละลาย 1:10 และ 1:5 สกัดด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 ให้คุณสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชันในรูปของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ตลอดจนความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP (Table 22) ไม่แตกต่างกัน ( $p \geq 0.05$ ) แต่สารสกัดหยาบที่อัตราส่วนของตะไคร้ต่อตัวทำละลาย 1:10 มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าของสารสกัดหยาบที่อัตราส่วน 1:5 เนื่องจากความแตกต่างระหว่างความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกที่ผิวอนุภาคของตะไคร้และตัวทำละลายมีค่าเพิ่มขึ้น (Pinelo *et al.*, 2004b) ส่งผลให้สารประกอบฟีนอลิกในตะไคร้แพร่สู่ตัวทำละลายได้มากขึ้น นอกจากนี้การสกัดด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 ทำให้สารสกัดหยาบที่ได้ มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและคุณสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชันในรูปของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ดีที่สุด รองลงมาคือเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 50, 95 และน้ำ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลอง

Table 21. Effect of extraction conditions on pH and color of crude lemon grass extracts after 75% of extracts was evaporated

Ratio of lemon grass and solvent	Solvent	pH	Color value				
			L*	a*	b*	C*	H°
1:5	Water extract	4.88 ± 0.006 <sup>g</sup>	54.00 ± 0.03 <sup>d</sup>	5.42 ± 0.02 <sup>c</sup>	41.07 ± 0.03 <sup>d</sup>	41.43 ± 0.03 <sup>c</sup>	82.48 ± 0.02 <sup>c</sup>
	50% ethanol extract	5.31 ± 0.000 <sup>e</sup>	52.81 ± 0.01 <sup>e</sup>	9.06 ± 0.01 <sup>a</sup>	47.70 ± 0.06 <sup>a</sup>	48.55 ± 0.06 <sup>a</sup>	79.24 ± 0.01 <sup>g</sup>
	75% ethanol extract	5.13 ± 0.000 <sup>f</sup>	42.34 ± 0.01 <sup>g</sup>	9.18 ± 0.07 <sup>a</sup>	40.53 ± 0.27 <sup>c</sup>	41.55 ± 0.25 <sup>c</sup>	77.24 ± 0.17 <sup>h</sup>
	95% ethanol extract	5.51 ± 0.006 <sup>c</sup>	57.22 ± 0.01 <sup>c</sup>	1.12 ± 0.10 <sup>e</sup>	41.34 ± 0.24 <sup>c</sup>	41.35 ± 0.24 <sup>c</sup>	88.45 ± 0.15 <sup>c</sup>
1:10	Water extract	4.67 ± 0.000 <sup>h</sup>	64.46 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.70 ± 0.02 <sup>f</sup>	31.55 ± 0.11 <sup>g</sup>	31.56 ± 0.11 <sup>f</sup>	88.73 ± 0.04 <sup>b</sup>
	50% ethanol extract	5.53 ± 0.000 <sup>b</sup>	50.84 ± 0.04 <sup>f</sup>	6.77 ± 0.14 <sup>b</sup>	43.33 ± 0.06 <sup>b</sup>	43.85 ± 0.06 <sup>b</sup>	81.11 ± 0.18 <sup>f</sup>
	75% ethanol extract	5.47 ± 0.017 <sup>d</sup>	54.02 ± 0.03 <sup>d</sup>	3.88 ± 0.04 <sup>d</sup>	40.56 ± 0.12 <sup>e</sup>	40.75 ± 0.12 <sup>d</sup>	84.54 ± 0.06 <sup>d</sup>
	95% ethanol extract	5.82 ± 0.006 <sup>a</sup>	67.29 ± 0.03 <sup>a</sup>	-1.76 ± 0.03 <sup>g</sup>	35.21 ± 0.05 <sup>f</sup>	35.25 ± 0.05 <sup>e</sup>	98.24 ± 0.03 <sup>a</sup>

Mean ± SD from triplicate determinations

<sup>a-h</sup> means within a column with the different letters are significantly difference (p<0.05)

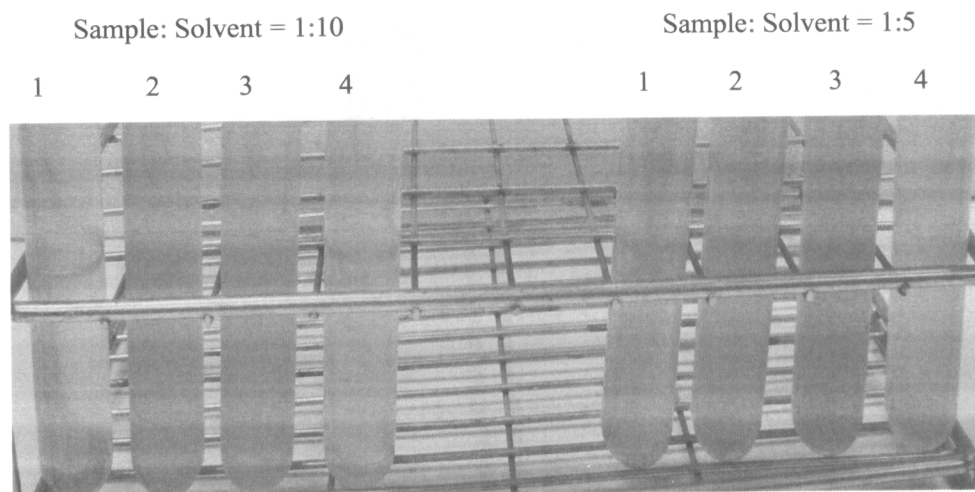


Figure 26. Appearance of crude lemon grass extracts after 75% of extracts was evaporated

Remark: 1 = water crude extract, 2 = 50% ethanolic crude extract, 3 = 75% ethanolic crude extract and 4 = 95% ethanolic crude extract

ของ Juntachote และคณะ (2006b) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดข่า ตะไคร้และโรสแมรี่ โดยวิธี RSM พบว่าอัตราส่วนของเอทานอลต่อน้ำ 3:1 ซึ่งเทียบได้กับเอทานอลความเข้มข้นประมาณร้อยละ 75 ทำให้สารสกัดตะไคร้มีปริมาณฟีนอลิกและรีดิวซ์ซึ่งพาวเวอร์สูงสุด Pereira และคณะ (2009) พบว่าสารสกัดตะไคร้ด้วยเมทานอลและเอทานอล แสดงความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH สูงกว่าสารสกัดด้วยน้ำอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ชลดดา กุลสถาพร และอมรทิพย์ สมสุข (2545) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตะไคร้ โดยนำน้ำมันหอมระเหย สารสกัดตะไคร้ด้วยเมทานอล และสารสกัดด้วยน้ำ มาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH พบว่าสารสกัดด้วยน้ำและสารสกัดด้วยเมทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี มี  $EC_{50}$  เท่ากับ 49.76 และ 52.59 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนน้ำมันหอมระเหยมีฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ต่ำมาก ( $EC_{50} > 100$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) นอกจากนี้สามารถแยกสารบริสุทธิ์จากสารสกัดเมทานอล ได้ 1 ชนิดซึ่งเป็นสารกลุ่มฟลาโวนอยด์คือ ลูทีโอลิน ซึ่งมีฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ดีกว่า BHT 4 เท่า โดยลูทีโอลิน มีค่า  $EC_{50}$  เท่ากับ 5.42 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่ BHT มีค่า  $EC_{50}$  เท่ากับ 17.68 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

Marques และ Farah (2009) ศึกษาปริมาณกรดโคโรจินิกซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลิกที่พบในพืชและมีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชัน โดยใช้เทคนิค HPLC-UV และ LC-DAD-ESI-MS (liquid chromatography with diode array detection and electrospray ionisation mass spectrometry) พบว่าในสารสกัดตะไคร้ด้วยเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 40 และ



Table 22. Effect of extraction conditions on the solids content, total phenolic contents and antioxidant properties of crude lemon grass extracts

Ratio of lemon grass and solvent	Solvent	Solids content (%/g dw.)	Total phenolic (g GAE/100 g dw.)	DPPH value ( $\mu$ mole TE/g dw.)	ABTS value ( $\mu$ mole TE/g dw.)	FRAP value ( $\mu$ mole TE/g dw.)
1:5	Water extract	$0.13 \pm 0.002^c$	$0.35 \pm 0.017^d$	$5.70 \pm 0.55^d$	$19.60 \pm 1.34^d$	$11.25 \pm 1.11^d$
	50% ethanol extract	$0.16 \pm 0.003^c$	$0.36 \pm 0.012^d$	$9.82 \pm 0.71^b$	$35.31 \pm 2.70^c$	$16.74 \pm 0.45^c$
	75% ethanol extract	$0.16 \pm 0.002^c$	$0.46 \pm 0.011^b$	$14.29 \pm 1.35^a$	$45.46 \pm 1.73^a$	$19.90 \pm 1.08^a$
	95% ethanol extract	$0.15 \pm 0.003^d$	$0.34 \pm 0.013^d$	$9.58 \pm 0.41^c$	$40.15 \pm 1.31^b$	$18.48 \pm 0.25^b$
1:10	Water extract	$0.19 \pm 0.001^a$	$0.34 \pm 0.009^d$	$6.96 \pm 0.11^d$	$20.99 \pm 2.02^d$	$12.38 \pm 0.24^d$
	50% ethanol extract	$0.19 \pm 0.004^a$	$0.43 \pm 0.019^c$	$11.27 \pm 1.36^b$	$39.20 \pm 1.22^b$	$18.60 \pm 0.14^b$
	75% ethanol extract	$0.18 \pm 0.001^b$	$0.51 \pm 0.005^a$	$15.62 \pm 1.62^a$	$47.71 \pm 1.46^a$	$20.04 \pm 1.06^a$
	95% ethanol extract	$0.18 \pm 0.004^b$	$0.50 \pm 0.004^a$	$7.90 \pm 0.89^{cd}$	$35.54 \pm 1.69^c$	$18.34 \pm 0.25^b$

Mean  $\pm$  SD from triplicate determinations

<sup>a-d</sup> means within a column with the different letters are significantly difference ( $p < 0.05$ )

GAE: Gallic acid equivalent, TE: Trolox equivalent, dw: dry weight of lemon grass

น้ำประกอบด้วยกรดคลอโรจีนิก ได้แก่ กรดคาเฟอิลควินิก กรดฟีรูโลอิลควินิก และกรด ไดคาเฟอิลควินิก แต่ไม่พบกรดคาเฟอิลและกรดแกลลิก ในขณะที่ Sacchetti และคณะ (2005) พบว่าน้ำมันหอมระเหยของตะไคร้ มีคุณสมบัติในการต้านออกซิเดชันในรูปของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ  $\beta$ -carotene bleaching โดยสารที่มีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชันในน้ำมันหอมระเหยของตะไคร้คือซิทรอลไอโซเมอร์ (citral isomers) ได้แก่ นีรอล (neral) และเจอร์ราโนอล (geranial) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Choi และคณะ (2000) พบว่าซิทรอลมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH

Cheel และคณะ (2005) พบว่าการสกัดตะไคร้ด้วยเมธานอล ทำให้สารสกัดที่ได้แสดงสมบัติในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ซุปเปอร์ออกไซด์แอนไอออนและยับยั้งเอนไซม์แซนทินออกซิเดสและลิพิดเปอร์ออกซิเดชันในเม็ดเลือดแดงของมนุษย์ ได้ดีกว่าการสกัดด้วยเมธานอลความเข้มข้นร้อยละ 50, 70 และน้ำ โดยการแช่และการต้มเดือด สารที่สามารถแยกได้จากสารสกัดด้วยเมธานอล ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ (ไอโซออเรียนทิน ไอโซสควอร์พาริน สควอร์เทียจาพอนิน ไอโซออเรียนทินออโตรามโนไซด์ ออเรียนทิน) กรดคลอโรจีนิก และกรดคาเฟอิล ไอโซออเรียนทินและออเรียนทิน แสดงคุณสมบัติในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ( $IC_{50}$  มีค่าเท่ากับ 9-10 ไมโครโมลาร์) และยับยั้งการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน (ร้อยละ 70 ที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ส่วนกรดคาเฟอิลและกรดคลอโรจีนิก แสดงสมบัติการกำจัดซุปเปอร์ออกไซด์แอนไอออน ( $IC_{50}$  มีค่าเท่ากับ 68.8 และ 54.2 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ) นอกจากนี้กรดคาเฟอิลยังสามารถยับยั้งการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน (ร้อยละ 85 ที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) Lean และ Mohamed (1999) พบว่าสารสกัดตะไคร้ด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 สามารถยืดอายุการเก็บรักษาบัตรเดอ์เค้ก จาก 2 สัปดาห์เป็น 4 สัปดาห์ โดยสามารถยับยั้งการเพิ่มขึ้นของค่า TBA, เพอร์ออกไซด์และอะนิซิดีน (anisidine)

เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดกับปริมาณของแข็งและสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบของตะไคร้ (Table 23) พบว่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดไม่สัมพันธ์กับปริมาณของแข็งและสมบัติการต้านออกซิเดชันในรูปของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP ซึ่งแตกต่างจากสารสกัดหยาบของข่า สอดคล้องกับการทดลองของ Pereira และคณะ (2009) ซึ่งพบว่าคุณสมบัติในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบของตะไคร้ ไม่สัมพันธ์กับปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด โดยปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดด้วย

Table 23. Bivariate correlation of the total phenolic contents, DPPH values, ABTS values, FRAP values and solids content from all crude lemon grass extracts

	Total phenolic (g GAE/100 g dw.)	DPPH value ( $\mu$ mole TE/g dw.)	ABTS value ( $\mu$ mole TE/g dw.)	FRAP value ( $\mu$ mole TE/g dw.)	Solids content (%/g dw.)
Total phenolic (g GAE/100 g dw.)	1.000	0.640	0.658	0.691	0.448
DPPH ( $\mu$ mole TE/g dw.)	0.640	1.000	0.905**	0.825*	0.266
ABTS( $\mu$ mole TE/g dw.)	0.658	0.905**	1.000	0.979**	0.194
FRAP( $\mu$ mole TE/g dw.)	0.691	0.825*	0.979**	1.000	0.272
Solids content (%/g dw.)	0.448	0.266	0.194	0.272	1.000

\*\* Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed)

\* Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed)

GAE: Gallic acid equivalent, TE: Trolox equivalent, dw: dry weight of lemon grass

น้ำ ( $64.24 \pm 8.56$  มิลลิโมลสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อกรัมของตะไคร้) มีค่าสูงกว่าสารสกัดด้วยเมธานอล ( $28.28 \pm 1.60$  มิลลิโมลสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อกรัมของตะไคร้) อย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) แต่สารสกัดด้วยเมธานอลแสดงสมบัติในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH มากกว่าสารสกัดด้วยน้ำอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) อาจเป็นไปได้ว่าในสารสกัดตะไคร้มีสารอื่นที่ไม่ใช่สารประกอบฟีนอลิกและแสดงสมบัติในการต้านออกซิเดชัน เช่น กรดอะมิโน กรดแอสคอร์บิก โทโคฟีรอล และรงควัตถุ นอกจากนี้พบว่าการศึกษาวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดโดยใช้วิธี Folin-Ciocalteu reagent เป็นวิธีที่ไม่จำเพาะต่อสารประกอบฟีนอลิกเนื่องจากมีสารตั้งต้นอื่นๆที่สามารถรีดิวซ์ Folin reagent ได้ เช่น อะดีนีน (adenine) อะดีโนซีน (adenosine) อะลานีน (alanine) อะนิลีน (aniline) กรดอะมิโนเบนโซอิก (aminobenzoic acid) กรดแอสคอร์บิก เบนซาลดีไฮด์ (benzaldehyde) ครีเอทีนีน (creatinine) ซีสเทอีน (cysteine) ไซทิดีน (cytidine) ไซโทซีน (cytosine) ไดเมทิลอะนิลีน (dimethylaniline) ไดฟีนิลอะลามีน (diphenylamine) EDTA ฟรักโทส กัวนีน (guanine) กัวโนซีน (guanosine) ไกลซีน (glycine) ฮิสตามีน (histamine) ฮิสทีดีน (histidine) อินโดล (indole) เมทิลเอมีน (methylamine) กรดโอเลอิก โปรตีน ไพริดอกซิน (pyridoxine) ซูโครส (sucrose) กรดซัลฟานิลิก (sulfanilic acid) ไธมีน (thymine) ไธมิดีน (thymidine) ไตรเมทิลเอมีน (trimethylamine) ทริปโตเฟน (tryptophan) ยูราซิล (uracil) กรดยูริก และแซนทิน เป็นต้น (Prior *et al.*, 2005; Dordevic *et al.*, 2010) และจำนวนของหมู่ฟีนอลิกในโครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกตอบสนองต่อ Folin-Ciocalteu reagent แตกต่างกัน (Singleton *et al.*, 1999)

จากการทดลองในครั้งนี้เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ของสมบัติการต้านออกซิเดชัน โดยวิธีการต่างๆพบความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP ดังแสดงใน Table 23

### สารสกัดหยาบของพริกขี้หนู

หลังจากระเหยสารสกัดออกไปร้อยละ 75 พบว่าสารสกัดหยาบของพริกขี้หนูด้วยน้ำ มีพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 4.55 ส่วนสารสกัดหยาบของพริกขี้หนูด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 50, 75 และ 95 มีพีเอชเริ่มต้นอยู่ในช่วง 5.39-5.42, 5.62-5.79 และ 6.02-6.05 ตามลำดับ (Table 24) เมื่อความเข้มข้นของเอธานอลเพิ่มขึ้น พีเอชของสารละลายที่ได้มีค่าเพิ่มขึ้น เนื่องจากสารที่มีลักษณะเป็นกรดในพริกขี้หนู เช่น กรดแอสคอร์บิก สามารถละลายได้ดีในน้ำ ซึ่งมีลักษณะเช่นเดียวกับสารสกัดหยาบของข่า สารสกัดหยาบที่ได้มีค่า  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$  และ  $H^\circ$  อยู่ใน ช่วง 29.50-44.43, 19.12-39.13, 40.26-69.41, 47.72-78.68 และ 57.11- 71.27 ตามลำดับ

Table 24. Effect of extraction condition on pH and color of crude chili extracts after 75% of extracts was evaporated

Ratio of chili and solvent	Solvent	pH	Color				
			L*	a*	b*	C*	H°
1:5	Water extract	4.55 ± 0.006 <sup>g</sup>	29.50 ± 0.09 <sup>h</sup>	25.61 ± 0.06 <sup>d</sup>	40.26 ± 0.26 <sup>g</sup>	47.72 ± 0.20 <sup>g</sup>	57.54 ± 0.21 <sup>g</sup>
	50% ethanol extract	5.42 ± 0.021 <sup>e</sup>	32.64 ± 0.05 <sup>c</sup>	22.23 ± 0.13 <sup>f</sup>	43.16 ± 0.30 <sup>f</sup>	48.55 ± 0.21 <sup>f</sup>	62.75 ± 0.30 <sup>d</sup>
	75% ethanol extract	5.62 ± 0.000 <sup>d</sup>	35.59 ± 0.02 <sup>g</sup>	24.53 ± 0.04 <sup>c</sup>	52.80 ± 0.36 <sup>d</sup>	58.22 ± 0.32 <sup>d</sup>	65.08 ± 0.17 <sup>c</sup>
	95% ethanol extract	6.02 ± 0.006 <sup>b</sup>	39.69 ± 0.02 <sup>c</sup>	39.13 ± 0.02 <sup>a</sup>	63.42 ± 0.66 <sup>b</sup>	74.52 ± 0.56 <sup>b</sup>	58.33 ± 0.28 <sup>f</sup>
1:10	Water extract	4.55 ± 0.006 <sup>g</sup>	30.54 ± 0.15 <sup>f</sup>	27.55 ± 0.05 <sup>c</sup>	42.60 ± 0.16 <sup>f</sup>	50.73 ± 0.16 <sup>e</sup>	57.11 ± 0.06 <sup>h</sup>
	50% ethanol extract	5.39 ± 0.000 <sup>f</sup>	38.02 ± 0.04 <sup>d</sup>	19.12 ± 0.04 <sup>h</sup>	46.87 ± 0.44 <sup>c</sup>	50.62 ± 0.42 <sup>e</sup>	67.81 ± 0.15 <sup>b</sup>
	75% ethanol extract	5.79 ± 0.006 <sup>c</sup>	41.33 ± 0.02 <sup>b</sup>	20.17 ± 0.02 <sup>g</sup>	59.50 ± 0.78 <sup>c</sup>	62.83 ± 0.73 <sup>c</sup>	71.27 ± 0.24 <sup>a</sup>
	95% ethanol extract	6.05 ± 0.006 <sup>a</sup>	44.43 ± 0.06 <sup>a</sup>	37.05 ± 0.11 <sup>b</sup>	69.41 ± 0.68 <sup>a</sup>	78.68 ± 0.56 <sup>a</sup>	61.90 ± 0.29 <sup>c</sup>

Mean ± SD from triplicate determinations

<sup>a-g</sup> means within a column with the different letters are significantly difference (p<0.05)

สารสกัดหยาบของพริกขี้หนูในทุกระบบมีสีแดงเหลือง (Figure 27) สารสกัดหยาบของพริกขี้หนูด้วยน้ำมีสีแดงมากที่สุด รองลงมาคือสารสกัดหยาบด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 95, 50 และ 75 (พิจารณาจากค่า  $H^0$ ) เมื่อพิจารณาความสว่าง ( $L^*$ ) และความบริสุทธิ์ของสี ( $C^*$ ) พบว่าสารสกัดหยาบด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 มีความสว่างและความบริสุทธิ์ของสีมากที่สุด รองลงมาคือสารสกัดหยาบด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 75, 50 และน้ำ การที่สารสกัดหยาบด้วยน้ำมีสีแดงมากและบริสุทธิ์น้อยอาจเนื่องมาจาก ในขณะที่สกัดสารจากพริกขี้หนูโดยการแช่เป็นเวลา 5 วัน พบว่าพริกขี้หนูมีลักษณะเปื่อยยุ่ย ส่งผลให้องค์ประกอบที่มีอยู่ในพริกขี้หนู เช่น แป้ง เม็ดสี ได้แก่ แคปแซนธิน แคปซอรูบิน แซนโทฟิลล์ เบต้าแคโรทีน ซีแซนธิน แอนโทราแซนธิน ไวโอลาแซนธิน เบต้าคริบโตแซนธิน และอื่นๆหลุดออกมา แม้ว่าจะมีการกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 แต่สารที่มีขนาดโมเลกุลเล็กกว่า รูพรุนของกระดาษกรองก็สามารถผ่านออกมาได้ นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดหยาบด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 มีสีแดงมากที่สุด เมื่อเทียบกับสารสกัดหยาบด้วยเอธานอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 75 และ 50 เนื่องจากมีการละลายของแคโรทีนอยด์ที่อยู่ในพริกออกมา

Sample: Solvent = 1:10

1 2 3 4

Sample: Solvent = 1:5

1 2 3 4

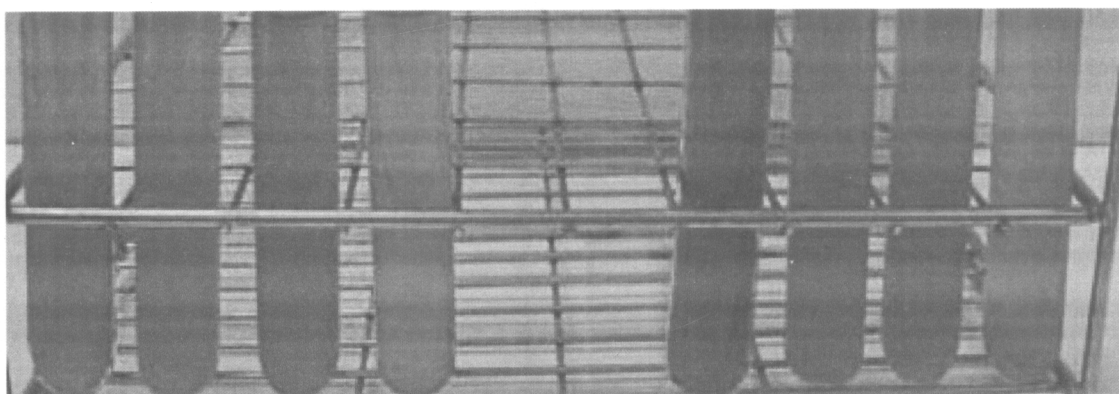


Figure 27. Appearance of crude chili extracts after 75% of extracts was evaporated

Remark: 1 = water crude extracts, 2 = 50% ethanolic crude extracts, 3 = 75% ethanolic crude extracts and 4 = 95% ethanolic crude extracts

นอกจากนี้สารสกัดในทุกระบบมีปริมาณของแข็งร้อยละ 0.11-0.15 ต่อกรัมของพริกขี้หนูแห้ง (Table 25) การสกัดด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 และ 75 ส่งผลให้สารสกัดที่ได้มีปริมาณของแข็งสูงกว่าการสกัดด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 และน้ำ สอดคล้องกับการทดลองของ Li-E และคณะ (2008) สกัดพริกโดยการแช่ในเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 45, 55, 65, 75, 85, 95 และน้ำ เป็นเวลา 1 สัปดาห์ พบว่าผลผลิตที่ได้แตกต่างกันขึ้นอยู่กับ

Table 25. Effect of extraction conditions on the solids content, total phenolic contents and antioxidant properties of crude chili extracts

Ratio of chili and solvent	Solvent	Solids content (%/g dw.)	Total phenolic (g GAE/100 g dw.)	DPPH value ( $\mu\text{mole TE/g dw.}$ )	ABTS value ( $\mu\text{mole TE/g dw.}$ )	FRAP value ( $\mu\text{mole TE/g dw.}$ )
1:5	Water extract	0.14 $\pm$ 0.003 <sup>b</sup>	1.75 $\pm$ 0.12 <sup>ab</sup>	32.61 $\pm$ 0.08 <sup>e</sup>	236.25 $\pm$ 1.59 <sup>b</sup>	39.20 $\pm$ 2.10 <sup>c</sup>
	50% ethanol extract	0.13 $\pm$ 0.002 <sup>b</sup>	1.31 $\pm$ 0.18 <sup>c</sup>	35.53 $\pm$ 0.86 <sup>d</sup>	228.26 $\pm$ 5.82 <sup>b</sup>	39.50 $\pm$ 1.09 <sup>e</sup>
	75% ethanol extract	0.13 $\pm$ 0.007 <sup>b</sup>	1.70 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>	55.04 $\pm$ 0.86 <sup>a</sup>	217.97 $\pm$ 3.68 <sup>c</sup>	68.24 $\pm$ 3.17 <sup>b</sup>
	95% ethanol extract	0.11 $\pm$ 0.003 <sup>c</sup>	1.55 $\pm$ 0.10 <sup>b</sup>	54.72 $\pm$ 0.28 <sup>a</sup>	178.42 $\pm$ 5.31 <sup>e</sup>	65.28 $\pm$ 3.45 <sup>bc</sup>
1:10	Water extract	0.13 $\pm$ 0.002 <sup>b</sup>	1.92 $\pm$ 0.10 <sup>a</sup>	36.82 $\pm$ 0.44 <sup>cd</sup>	256.32 $\pm$ 5.40 <sup>a</sup>	37.69 $\pm$ 1.93 <sup>e</sup>
	50% ethanol extract	0.15 $\pm$ 0.006 <sup>a</sup>	1.66 $\pm$ 0.12 <sup>b</sup>	39.23 $\pm$ 1.17 <sup>c</sup>	230.82 $\pm$ 3.63 <sup>b</sup>	53.71 $\pm$ 2.03 <sup>d</sup>
	75% ethanol extract	0.15 $\pm$ 0.004 <sup>a</sup>	1.68 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup>	53.21 $\pm$ 1.55 <sup>a</sup>	211.33 $\pm$ 3.33 <sup>c</sup>	63.17 $\pm$ 4.25 <sup>c</sup>
	95% ethanol extract	0.13 $\pm$ 0.005 <sup>b</sup>	1.92 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	48.88 $\pm$ 3.15 <sup>b</sup>	200.33 $\pm$ 7.24 <sup>d</sup>	77.97 $\pm$ 1.61 <sup>a</sup>

Mean $\pm$ SD from triplicate determinations

<sup>a-d</sup> means within a column with the different letters are significantly difference (p<0.05)

GAE: Gallic acid equivalent, TE: Trolox equivalent, dw: dry weight of chili

ความเข้มข้นของเอธานอล เมื่อความเข้มข้นของเอธานอลเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 0-85 ผลผลิตที่ได้มีค่าเพิ่มขึ้นและมีค่าลดลงเมื่อใช้เอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 เมื่อเปรียบเทียบอัตราส่วนของพริกชี้หนูต่อตัวทำละลายที่ใช้สกัด พบว่าสารสกัดหยาบของพริกชี้หนูที่อัตราส่วนของพริกชี้หนูต่อตัวทำละลาย 1:10 ทำให้สารสกัดที่ได้มีปริมาณของแข็งสูงกว่าของสารสกัดหยาบที่อัตราส่วน 1:5 ซึ่งลักษณะดังกล่าวเป็นไปในทำนองเดียวกับสารสกัดหยาบของข่าและตะไคร้ดังที่ได้กล่าวไปแล้วข้างต้น

ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันในสารสกัดหยาบของพริกชี้หนู (Table 25) โดยใช้ตัวทำละลายต่างๆ พบว่าสารสกัดหยาบด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 และน้ำ มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าสารสกัดหยาบด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 และ 50 ซึ่งแตกต่างจากผลการทดลองในสารสกัดหยาบของข่าและตะไคร้ ที่มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันสูง เมื่อสกัดด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 สำหรับความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH พบว่าสารสกัดพริกชี้หนูด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 และ 75 มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ดีที่สุดรองลงมาคือสารสกัดด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 และน้ำ ซึ่งตรงข้ามกับความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS ซึ่งพบว่าสารสกัดหยาบด้วยน้ำมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS ดีที่สุด รองลงมาคือสารสกัดหยาบด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 50, 75 และ 95 การที่ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS แตกต่างกันเนื่องจาก DPPH เป็นสารที่ละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ จึงสามารถวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระที่มีความเป็นขั้วต่ำหรือมีคุณสมบัติชอบไขมัน ส่วน ABTS เป็นสารที่สามารถละลายได้ในน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์ ดังนั้นจึงสามารถวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระได้ทั้งสารที่มีคุณสมบัติชอบน้ำและชอบไขมัน (Wojdylo *et al.*, 2007) นอกจากนี้พบว่าสารสกัดเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 และ 75 มีความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP สูงกว่าสารสกัดเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 และน้ำ

จากผลการทดลองในครั้งนี้นี้มีความขัดแย้งกับการทดลองของ Wangcharoen และ Morasuk (2007a) ศึกษาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันในพริกชี้หนูแดง (*Capsicum frutescens* Linn.) ที่สกัดด้วยน้ำและเอธานอลความเข้มข้นต่างๆ (เอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 19, 38, 57, 76 และ 95) โดยการผสมพริกชี้หนูแดงและตัวทำละลายในอัตราส่วน 1:5 นำไปเขย่าผสมโดยใช้วอร์เทกซ์ เป็นเวลา 60 วินาที แล้วกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 พบว่าการสกัดด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 57 และ 76 ทำให้สารสกัดพริกชี้หนูแดงมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP สูงกว่าการสกัด



ด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 และน้ำ ส่วนความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS พบว่าการสกัดพริกชี้หนูแดงด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 38, 57 และ 76 ทำให้ได้สารสกัดที่มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS สูง Li-E และคณะ (2008) ศึกษาผลของวิธีการสกัด 3 วิธี ได้แก่ การใช้ชอกเลท (soxhlet) การใช้อัลตราโซนิค (ultrasonic) และการแช่ ต่อสมบัตินิการต้านออกซิเดชันในสารสกัดพริก พบว่าการสกัดโดยการใช้อัลตราโซนิค ทำให้สกัดสารต้านออกซิเดชันในพริกได้ดีกว่าวิธีอื่น ประเสริฐ ประภานภสินธุ์ (2544) สกัดโพลีโอรซินจากพริกพันธุ์ CA364 ซึ่งเป็นพริกหยวก (*Capsicum annuum* L.) ด้วยอะซิโตน โดยใช้วิธีการสกัดที่แตกต่างกัน 4 วิธี คือการสกัดโดยใช้เครื่องสกัดแบบชอกเลท การสกัดโดยการเขย่า การสกัดโดยการกวนและการสกัดแบบแช่ พบว่าปริมาณโพลีโอรซินที่สกัดได้มีค่าแตกต่างกัน ปริมาณโพลีโอรซินที่สกัดด้วยวิธีแช่มีปริมาณสูงสุดคือร้อยละ 17.24 ของน้ำหนักแห้ง การสกัดโดยวิธีการเขย่ามีปริมาณโพลีโอรซินน้อยที่สุดคือร้อยละ 11.66 ของน้ำหนักแห้ง นอกจากนี้ความสามารถในการต้านออกซิเดชันในพริกอาจแตกต่างกันขึ้นอยู่กับ สายพันธุ์ ระยะการสุก สภาวะการเพาะปลูก ลักษณะของภูมิประเทศและ ภูมิอากาศ เป็นต้น (Osuna-Garcia *et al.*, 1998; Markus *et al.*, 1999 ; Daferera *et al.*, 2000; Baydar *et al.* 2004)

Wangcharoen และ Morasuk (2007a) พบว่าสารสกัดพริกชี้หนูแดงและเขียวมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านออกซิเดชันต่างกัน กล่าวคือพริกชี้หนูแดงมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP สูงกว่าพริกชี้หนูเขียว แต่มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ไม่แตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบชนิดของพริกสองชนิดคือพริกชี้ฟ้าและพริกชี้หนูพบว่าสารสกัดพริกชี้ฟ้าสีแดงมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH สูงกว่าพริกชี้หนูแดงและเขียว แต่พริกชี้หนูแดงและเขียวมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP สูงกว่าพริกชี้ฟ้าแดง แสดงให้เห็นว่าพริกแต่ละสายพันธุ์ประกอบด้วยสารประกอบที่แตกต่างกัน ส่งผลให้ผลการทดสอบในแต่ละวิธีนั้นแตกต่างกัน นอกจากนี้ Materska และ Perucka (2005) พบว่าพริกหยวกแดง (hot pepper, *Capsicum annuum* L.) มีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันสูงกว่าพริกหยวกเขียว โดยสารประกอบหลักที่พบในพริกหยวกแดงคือ sinapoyl และ feruloyl glycosides ส่วนในพริกหยวกเขียวมีสารประกอบหลักคือ quercetin-3-O-L-rhamnoside Howard และคณะ (2000) พบว่าเมื่อพริกชี้หนู (*Capsicum frutescens*) สุกมีปริมาณแคโรทีนอยด์ (เบต้าแคโรทีน, โทแซนทิน, อัลฟาแคโรทีน, เบต้าแคโรทีน, ซีแซนทิน และแคปแซนทิน) และวิตามินซีเพิ่มขึ้น แต่มีปริมาณของฟลาโวนอยด์ทั้งหมดและฟีนอลิกทั้งหมด

ไม่เปลี่ยนแปลง สารที่มีคุณสมบัติในการต้านออกซิเดชันในพริก ได้แก่ แคโรทีนอยด์ (Matsufuji *et al.*, 1998; Siripongvutikorn *et al.*, 2005) ฟลาโวนอยด์ (Lee *et al.*, 1995; Howard *et al.*, 2000; Iorizzi *et al.*, 2001; Mican and Mohamed, 2001; Materska *et al.*, 2003) วิตามินซีและอี (Palevitch and Craker, 1995; Daood *et al.*, 1996; Howard *et al.*, 2000; Ching and Mohamed, 2001) และแคปไซซินอยด์ (Materska *et al.*, 2003) Wangcharoen และ Morasuk (2007b) พบว่า พริกชี้หนู (*Capsicum frutescens* Linn.) และพริกชี้ฟ้า (*Capsicum annuum* Linn. var. *acuminatum* Fingerh.) เป็นแหล่งของสารต้านออกซิเดชันที่พบในธรรมชาติในอาหารไทย Mican และ Mohamed (2001) พบฟลาโวนอยด์ในพริกชี้หนู ได้แก่ ไมริซีทิน เควอร์ซีทิน และลูทีโอลิน ส่วน Materska และคณะ (2003) พบว่าสารสกัดพริกประกอบด้วยสารประกอบฟีนอลิก ได้แก่ สารประกอบเอสเทอร์ของกรดฟีนอลิก (กรดทรานส์ฟีรูลิกและเอสเทอร์ของกรดทรานส์ซินาพิค) เควอร์ซีทิน ลูทีโอลินและอะพิจินิน ปกิด กำบุญมาและคณะ (ไม่ระบุปี) ทดสอบการต้านอนุมูลอิสระของอนุพันธ์แคปไซซินและโคไฮโครแคปไซซิน พบว่าตำแหน่งพันธะคู่ไม่มีผลต่อการต้านอนุมูลอิสระ การเปลี่ยนหมู่ฟีนอลิกไปเป็นอีเธอร์หรือเอสเทอร์ทำให้การต้านอนุมูลอิสระลดลง ชี้ให้เห็นว่าหมู่ฟีนอลิกเป็นกลไกที่ควบคุมการต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญ (Rice-Evans *et al.*, 1996; Rice-Evans *et al.*, 1997; Fukumoto and Mazza, 2000; Pulido *et al.*, 2000)

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของแข็งกับปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชัน (Table 26) พบว่าปริมาณของแข็งไม่สัมพันธ์กับปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Li-E และคณะ (2008) พบว่าผลผลิตของสารสกัดพริกที่ได้ไม่สัมพันธ์กับปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด กล่าวคือแม้ว่าการสกัดพริกโดยใช้การสกัดด้วยชอกเลท ทำให้สารสกัดที่ได้มีผลผลิตที่ได้สูงกว่าการสกัดโดยใช้อัลตราโซนิคและการแช่ แต่เมื่อวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดพบว่าการสกัดโดยใช้อัลตราโซนิค มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าการสกัดโดยใช้ชอกเลทและการแช่

จากการทดลองในครั้งนี้เมื่อพิจารณาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันพบว่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดไม่สัมพันธ์กับสมบัติการต้านออกซิเดชัน แต่พบความสัมพันธ์ระหว่างสมบัติการต้านออกซิเดชันคือความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP ซึ่งขัดแย้งกับการทดลองของ Wangcharoen และ Morasuk (2007a) แสดงให้เห็นว่าสารต้านออกซิเดชันในพริกประกอบด้วยสารหลายชนิด เช่น กรดแอสคอร์บิก โทโคฟีรอลและรงควัตถุ ซึ่งเป็นสารที่ไม่ใช่สารประกอบฟีนอลิกแต่มีสมบัติการต้านออกซิเดชัน

Table 26. Bivariate correlation of the total phenolic contents, DPPH values, ABTS values, FRAP values and solids content from all crude chili extracts

	Total phenolic (g GAE/100 g dw.)	DPPH value ( $\mu$ mole TE/g dw.)	ABTS value ( $\mu$ mole TE/g dw.)	FRAP value ( $\mu$ mole TE/g dw.)	Solids content (%/g dw.)
Total phenolic (g GAE/100 g dw.)	1.000	0.054	0.216	0.237	0.183
DPPH value ( $\mu$ mole TE/g dw.)	0.054	1.000	-0.773*	0.870**	-0.228
ABTS value ( $\mu$ mole TE/g dw.)	0.216	-0.773*	1.000	-0.780*	0.452
FRAP value ( $\mu$ mole TE/g dw.)	0.237	0.870**	-0.780*	1.000	-0.103
Solids content (%/g dw.)	0.183	-0.228	0.452	-0.103	1.000

\*\* Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed)

\* Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed)

GAE: Gallic acid equivalent, TE: Trolox equivalent, dw: dry weight of chili

## สารสกัดหยาบของใบมะกรูด

หลังจากระเหยสารสกัดออกไปร้อยละ 75 สารสกัดหยาบของใบมะกรูดด้วยน้ำ มีพีเอชเริ่มต้นอยู่ในช่วง 5.11-5.15 ส่วนสารสกัดหยาบของใบมะกรูดด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 50, 75 และ 95 มีพีเอชเริ่มต้นอยู่ในช่วง 5.31-5.33, 5.39-5.48 และ 5.66-5.84 ตามลำดับ (Table 28) เมื่อความเข้มข้นของเอธานอลเพิ่มขึ้น พีเอชของสารสกัดหยาบที่ได้มีค่าเพิ่มขึ้น ซึ่งลักษณะดังกล่าวสอดคล้องกับสารสกัดหยาบของข่าและพริกขี้หนู ดังที่ได้กล่าวไว้แล้วข้างต้น เมื่อเปรียบเทียบอัตราส่วนระหว่างใบมะกรูดและตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดพบว่าที่อัตราส่วนของใบมะกรูดต่อตัวทำละลาย 1:5 สกัดด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 และ 75 ส่งผลให้สารสกัดหยาบที่ได้มีพีเอชต่ำกว่าสารสกัดหยาบที่อัตราส่วน 1:10

สารสกัดหยาบของใบมะกรูดที่ได้ในทุกระบบมีค่า  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$  และ  $H^\circ$  อยู่ในช่วง 1.68-56.82, 2.46-10.69, 4.58-54.69, 2.87-54.77 และ 22.06-87.06 ตามลำดับ เมื่อพิจารณาความสว่างและความบริสุทธิ์ของสีพบว่าเมื่อความเข้มข้นของเอธานอลเพิ่มขึ้น สารสกัดหยาบที่ได้มีความสว่างและความบริสุทธิ์ของสีน้อยลง สีของสารสกัดหยาบของใบมะกรูดเมื่อวัดโดยระบบ CIE  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  มีลักษณะเป็นสีแดงเหลือง (Table 26) ในขณะที่สารสกัดด้วยน้ำมีสีค่อนข้างเหลือง เมื่อความเข้มข้นของเอธานอลเพิ่มขึ้นสีจะมีค่าเข้าใกล้สีแดงมากขึ้น (พิจารณาจากค่า  $H^\circ$ ) ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจาก (1) แคโรทีนอยด์ถูกสกัดได้เพิ่มมากขึ้น (2) โครงสร้างของคลอโรฟิลล์เอและบีถูกทำลายโดยเอธานอลเพิ่มมากขึ้นส่งผลให้ความเป็นสีเขียวลดลง (Lee and Schwartz, 2005) ในพืชชั้นสูงประกอบด้วยคลอโรฟิลล์เอและบีในอัตราส่วน 3:1 (Hojnik *et al.*, 2007; Wilska-Jeszka, 2007) โดยคลอโรฟิลล์เอมีสีเขียวแกมน้ำเงิน และคลอโรฟิลล์บีมีสีเขียวแกมเหลือง และในโมเลกุลของคลอโรฟิลล์บีมีหมู่แอลดีไฮด์ แทนที่หมู่เมธิลที่ตำแหน่งที่ 3 ของคลอโรฟิลล์เอ หมู่แอลดีไฮด์เป็นสารที่มีขั้วจึงสามารถละลายน้ำได้ดี (Lee and Schwartz, 2005; Ferruzzi and Blakeslee, 2007) ทำให้สารสกัดหยาบของใบมะกรูดที่สกัดด้วยน้ำมีสีค่อนข้างเหลือง ส่วนแคโรทีนอยด์เป็นรงควัตถุที่มีสีเหลือง ส้มและสีแดง (Wilska-Jeszka, 2007) Siripongvutikorn และคณะ (2005) พบว่าใบมะกรูดในเครื่องดื่มน้ำมีปริมาณเบต้าแคโรทีนเท่ากับ  $173.60 \pm 61.45$  ไมโครกรัมต่อกรัมของตัวอย่าง ซึ่งสูงเป็นอันดับสองรองจากพริกขี้หนูแดง เมื่อพิจารณาผลของอัตราส่วนของใบมะกรูดต่อตัวทำละลายพบว่าการสกัดที่อัตราส่วนของใบมะกรูดต่อตัวทำละลาย 1:10 ทำให้สารสกัดหยาบที่ได้มีความสว่าง ( $L^*$ ) มากกว่าของสารสกัดหยาบที่อัตราส่วน 1:5 อย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) (Table 27) เนื่องจากสารสกัดหยาบที่อัตราส่วนตัวอย่างต่อตัวทำละลาย 1:10 มีความเข้มข้นน้อยกว่าของสารสกัดหยาบที่อัตราส่วน 1:5 ดังนั้นสารสกัดหยาบที่อัตราส่วนตัวอย่างต่อตัวทำละลาย 1:10 จึงสามารถสะท้อนแสงได้มากกว่าค่า  $L^*$  จึงมีค่า

Table 27. Effect of extraction conditions on pH and color of crude kaffir lime leaf extracts after 75% of extracts was evaporated

Ratio of kaffir lime leaves and solvent	Solvent	pH	Color				
			L*	a*	b*	C*	H°
1:5	Water extract	5.15±0.010 <sup>f</sup>	39.45±0.10 <sup>b</sup>	10.36±0.12 <sup>b</sup>	51.65±0.46 <sup>b</sup>	52.68±0.44 <sup>b</sup>	78.65±0.19 <sup>b</sup>
	50% ethanol extract	5.33±0.020 <sup>c</sup>	20.62±0.13 <sup>d</sup>	10.69±0.03 <sup>a</sup>	30.13±0.41 <sup>d</sup>	31.97±0.40 <sup>d</sup>	70.47±0.03 <sup>d</sup>
	75% ethanol extract	5.39±0.000 <sup>d</sup>	3.98±0.06 <sup>f</sup>	3.92±0.08 <sup>d</sup>	4.58±0.06 <sup>f</sup>	6.03±0.00 <sup>f</sup>	49.48±0.92 <sup>f</sup>
	95% ethanol extract	5.66±0.006 <sup>b</sup>	1.68±0.10 <sup>h</sup>	2.46±0.18 <sup>f</sup>	1.47±0.01 <sup>g</sup>	2.87±0.15 <sup>g</sup>	30.93±2.09 <sup>g</sup>
1:10	Water extract	5.11±0.006 <sup>g</sup>	56.82±0.06 <sup>a</sup>	2.81±0.03 <sup>c</sup>	54.69±0.20 <sup>a</sup>	54.77±0.20 <sup>a</sup>	87.06±0.04 <sup>a</sup>
	50% ethanol extract	5.31±0.006 <sup>c</sup>	27.13±0.03 <sup>c</sup>	10.36±0.10 <sup>b</sup>	38.67±0.20 <sup>c</sup>	40.03±0.21 <sup>c</sup>	75.00±0.07 <sup>c</sup>
	75% ethanol extract	5.48±0.010 <sup>c</sup>	11.97±0.09 <sup>e</sup>	7.63±0.19 <sup>c</sup>	16.99±0.44 <sup>e</sup>	18.63±0.33 <sup>e</sup>	65.79±1.07 <sup>e</sup>
	95% ethanol extract	5.84±0.03 <sup>a</sup>	2.40±0.01 <sup>g</sup>	2.68±0.32 <sup>ef</sup>	1.08±0.22 <sup>g</sup>	2.90±0.30 <sup>g</sup>	22.06±4.93 <sup>h</sup>

Mean±SD from triplicate determinations

<sup>a-g</sup> means within a column with the different letters are significantly difference (p<0.05)

มากกว่า ลักษณะของสารสกัดหยาบของใบมะกรูด แสดงดัง Figure 25

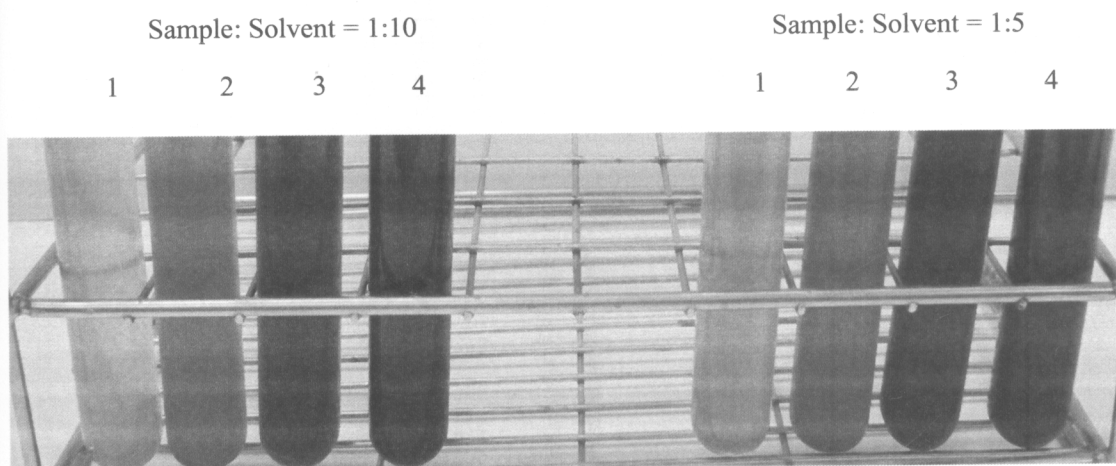


Figure 28. Appearance of crude kaffir lime leaf extracts after 75% of extracts was evaporated

Remark: 1 = water crude extracts, 2 = 50% ethanolic crude extracts, 3 = 75% ethanolic crude extracts and 4 = 95% ethanolic crude extracts

สารสกัดหยาบของใบมะกรูดที่ได้มีปริมาณของแข็งอยู่ในช่วงร้อยละ 0.07-0.20 ต่อกรัมของใบมะกรูดแห้ง (Table 28) สารสกัดหยาบที่อัตราส่วนของใบมะกรูดต่อตัวทำละลาย 1:10 มีปริมาณของแข็งและสมบัติการต้านออกซิเดชันสูงกว่าของสารสกัดหยาบที่อัตราส่วน 1:5 เนื่องจากความแตกต่างระหว่างความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกที่ผิวหน้าของใบมะกรูดและตัวทำละลายมีค่าเพิ่มขึ้น (Pinelo *et al.*, 2004b) ส่งผลให้สารในใบมะกรูดแพร่สู่ตัวทำละลายได้มากขึ้น ดังที่กล่าวมาแล้วในสารสกัดหยาบของข่า ตะไคร้และพริกชี้หนู

จากการทดลองพบว่าสารสกัดหยาบของใบมะกรูดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 ให้สมบัติการต้านออกซิเดชันในรูปของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ตลอดจนความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP ดีที่สุด (Table 28) และพบว่าความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH มีค่าสูงขึ้นเมื่อความเข้มข้นของเอทานอลเพิ่มขึ้นจนถึงร้อยละ 75 และมีค่าลดลงเมื่อความเข้มข้นของเอทานอลเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 95 ส่วนความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP มีค่าสูงในสารสกัดหยาบด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 และน้ำ ซึ่งลักษณะดังกล่าวสอดคล้องกับสารสกัดหยาบของพริกชี้หนู

Hutadilok-Towatana และคณะ (2006) พบว่าสารสกัดใบมะกรูดและผิวมะกรูดด้วยเมทานอล มีคุณสมบัติในการยับยั้งอนุมูลไฮดรอกซิลสูงที่สุด เมื่อเทียบกับว่านกีบแรด ใบบัวหลวง หลู่ฟ้าพันธุ์เขียว เกสรบัวหลวง ปีบฝรั่ง ชะพลู ผักเป็ดยักษ์และเมล็ดบัวหลวง โดยมี

Table 28. Effect of extraction condition on the solids content, total phenolic contents and antioxidant properties of crude kaffir lime leaf extracts

Ratio of kaffir lime leaves and solvent	Solvent	Solids content (%/g dw.)	Total phenolic (g GAE/100 g dw.)	DPPH value ( $\mu$ mole TE/g dw.)	ABTS value ( $\mu$ mole TE/g dw.)	FRAP value ( $\mu$ mole TE/g dw.)
1:5	Water extract	$0.11 \pm 0.01^b$	$0.84 \pm 0.18^a$	$5.60 \pm 0.77^f$	$53.81 \pm 2.22^a$	$46.06 \pm 0.93^c$
	50% ethanol extract	$0.11 \pm 0.01^b$	$1.11 \pm 0.04^a$	$6.79 \pm 0.19^c$	$48.35 \pm 0.58^b$	$39.61 \pm 1.24^d$
	75% ethanol extract	$0.10 \pm 0.01^b$	$1.18 \pm 0.29^a$	$11.33 \pm 0.45^c$	$50.83 \pm 2.08^b$	$54.37 \pm 1.78^a$
	95% ethanol extract	$0.07 \pm 0.01^b$	$0.93 \pm 0.03^a$	$7.22 \pm 0.19^e$	$29.53 \pm 2.74^d$	$35.68 \pm 2.13^e$
1:10	Water extract	$0.12 \pm 0.01^b$	$0.94 \pm 0.48^a$	$9.84 \pm 0.12^d$	$54.95 \pm 0.43^a$	$48.95 \pm 1.76^{bc}$
	50% ethanol extract	$0.20 \pm 0.10^a$	$1.16 \pm 0.08^a$	$10.56 \pm 0.32^{cd}$	$35.42 \pm 0.72^c$	$34.79 \pm 1.00^c$
	75% ethanol extract	$0.13 \pm 0.01^b$	$1.19 \pm 0.11^a$	$14.34 \pm 0.42^a$	$56.00 \pm 2.01^a$	$51.94 \pm 3.31^{ab}$
	95% ethanol extract	$0.10 \pm 0.01^b$	$1.08 \pm 0.04^a$	$13.15 \pm 0.86^b$	$50.02 \pm 1.27^b$	$41.32 \pm 2.77^d$

Mean  $\pm$  SD from triplicate determinations

<sup>a-f</sup> means within a column with the different letters are significantly difference ( $p < 0.05$ )

GAE: Gallic acid equivalent, TE: Trolox equivalent, dw: dry weight of kaffir lime leaves

IC<sub>50</sub> เท่ากับ 155 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 164 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ปรณัฐชา ไชยมุติ (2546) พบว่าสารสกัดเมธานอลของใบมะกรูดมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ  $8.19 \pm 0.40$  ไมโครโมลสมมูลย์ของคาเทชินต่อมิลลิกรัม มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH น้อย แต่มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลไฮดรอกซิลสูง สามารถจับเพอร์ร็อกไซด์ โดยมีร้อยละในการยับยั้งเท่ากับ  $6.89 \pm 1.05$  ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน โดยมีร้อยละของการยับยั้งเท่ากับ  $45.26 \pm 0.41$  ที่ความเข้มข้น 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงว่าสารสกัดใบมะกรูดมีสมบัติเป็นสารยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาถูกโซ่ คือกำจัดอนุมูลอิสระเพอร์ออกซิลที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันได้ โดยการให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลอิสระเพอร์ออกซิลทำให้อนุมูลเสถียรขึ้น (Shi *et al.*, 2001) Berhow และคณะ (1996) รายงานว่าสารสกัดจากใบมะกรูดประกอบด้วย ฟลาโวนอยด์ซึ่งเป็นสารที่แสดงสมบัติการต้านออกซิเดชัน ได้แก่ ฟลาโวนไกลโคไซด์ ได้แก่ นาริรุทินกลูโคไซด์ อิริซิทริน นิโออิริซิทริน นาริรุทิน เฮสเพอร์รีดิน นิโอเฮสเพอร์รีดิน และคิโคมิน และฟลาโวน/ออลไกลโคไซด์ ได้แก่ รุทีน

จากการทดลองในสารสกัดหยาบของใบมะกรูด ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของแข็งกับปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชัน และไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดกับสมบัติการต้านออกซิเดชัน (Table 29) ซึ่งมีลักษณะเช่นเดียวกับสารสกัดหยาบของตะไคร้และพริกขี้หนู แสดงให้เห็นว่าสมบัติการต้านออกซิเดชันในสารสกัดหยาบของใบมะกรูดประกอบด้วยสารอื่นที่ไม่ใช่สารประกอบฟีนอลิก เช่น คลอโรฟิลล์ เบต้าแคโรทีน กรดแอสคอร์บิก เป็นต้น Endo และคณะ (1985) พบว่าคลอโรฟิลล์และอนุพันธ์สามารถกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ได้ Ferruzzi และคณะ (2002) พบว่าคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันของคลอโรฟิลล์สามารถเปลี่ยนแปลงได้ขึ้นอยู่กับโครงสร้างโมเลกุลของคลอโรฟิลล์ โดยอนุพันธ์ของคลอโรฟิลล์จะสามารถกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ได้ดีกว่าอนุพันธ์ของคลอโรฟิลล์ปี ส่วน Miller และคณะ (1996) พบว่าแคโรทีนอยด์สามารถกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS ได้ โดยความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS ขึ้นอยู่กับหมู่ฟังก์ชัน และจำนวนของพันธะคู่แบบคอนจูเกต โดยพบว่าแคโรทีนมีประสิทธิภาพในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS ได้ดีกว่าแซนโทฟิลล์ เนื่องจากความเป็นขั้วที่เพิ่มขึ้นของหมู่ฟังก์ชันในวงแหวนส่วนปลาย

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ของคุณสมบัติการต้านออกซิเดชัน พบว่าความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP มีความสัมพันธ์กัน แสดงว่าสารที่มีคุณสมบัติในการต้านออกซิเดชันในใบมะกรูดเป็นได้ทั้งสารที่ละลายและไม่ละลายน้ำ และมีคุณสมบัติในการให้ไฮโดรเจนอะตอมและอิเล็กตรอน



Table 29. Bivariate correlation of the total phenolic contents, DPPH values, ABTS values, FRAP values and solids content from all crude kaffir lime leaf extracts

	Total phenolic (g GAE/100 g dw.)	DPPH value ( $\mu$ mole TE/g dw.)	ABTS value ( $\mu$ mole TE/g dw.)	FRAP value ( $\mu$ mole TE/g dw.)	Solids content (%/g dw.)
Total phenolic (g GAE/100 g dw.)	1.000	0.703	0.056	0.165	0.392
DPPH value ( $\mu$ mole TE/g dw.)	0.703	1.000	0.288	0.387	0.210
ABTS value ( $\mu$ mole TE/g dw.)	0.056	0.288	1.000	0.807*	-0.063
FRAP value ( $\mu$ mole TE/g dw.)	0.165	0.387	0.807*	1.000	-0.214
Solids content (%/g dw.)	0.392	0.210	-0.063	-0.214	1.000

\* Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed)

GAE: Gallic acid equivalent, TE: Trolox equivalent, dw: dry weight of kaffir lime leaves

## สารสกัดหยาบของเครื่องต้มข้า

เครื่องต้มข้า (ซึ่งเป็นสูตรที่ได้รับการคัดเลือกจากตอนที่ 1) ประกอบด้วยข้า ตะไคร้ พริกขี้หนูและใบมะกรูด ในอัตราส่วน ร้อยละ 41.84, 47.42, 8.25 และ 2.51 ตามลำดับ จากการทดลองพบว่า หลังจากระเหยสารสกัดออกไปร้อยละ 75 สารสกัดหยาบของเครื่องต้มข้า ด้วยน้ำ มีพีเอชเริ่มต้นอยู่ในช่วง 3.93-4.51 ส่วนสารสกัดหยาบของเครื่องต้มข้าด้วยเอธานอล ความเข้มข้นร้อยละ 50, 75 และ 95 มีพีเอชเริ่มต้นอยู่ในช่วง 5.13-5.17, 5.27-5.48 และ 5.74-5.96 ตามลำดับ (Table 30) เมื่อความเข้มข้นของเอธานอลเพิ่มขึ้นพีเอชของสารละลายที่ได้มีค่าเพิ่มขึ้น ซึ่งมีลักษณะเช่นเดียวกับสารสกัดหยาบของข้า พริกขี้หนูและใบมะกรูด เมื่อเปรียบเทียบกับอัตราส่วนระหว่างเครื่องต้มข้าและตัวทำละลายพบว่าที่อัตราส่วนของเครื่องต้มข้าต่อตัวทำละลาย 1:5 สกัดด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 50, 75 และ 95 ส่งผลให้สารสกัดหยาบที่ได้มีพีเอชต่ำกว่าของสารสกัดหยาบที่อัตราส่วน 1:10 ซึ่งมีลักษณะเช่นเดียวกับสารสกัดหยาบของข้า ตะไคร้ พริกขี้หนูและใบมะกรูด นอกจากนี้พบว่าสารสกัดเครื่องต้มข้าที่ได้ในทุกระบบมีค่า  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$  และ  $H^\circ$  อยู่ในช่วง 31.80-54.13, 2.23-17.31, 26.32-64.95, 26.50-66.40 และ 69.34-86.03 ตามลำดับ โดยสารสกัดที่ได้มีลักษณะเป็นสีแดงเหลืองและมีสีแตกต่างกันดัง Figure 29 นอกจากนี้พบว่าสารสกัดหยาบของเครื่องต้มข้าที่อัตราส่วนเครื่องต้มข้าต่อตัวทำละลาย 1:5 มีความสว่างน้อยกว่าและมีสีแดงมากกว่าของสารสกัดหยาบที่อัตราส่วน 1:10 เนื่องจากสารสกัดหยาบที่อัตราส่วนเครื่องต้มข้าต่อตัวทำละลาย 1:5 มีความเข้มข้นมากกว่า

สารสกัดหยาบของเครื่องต้มข้าที่ได้มีปริมาณของแข็งอยู่ในช่วงร้อยละ 0.11-0.15 ต่อกรัมของเครื่องต้มข้าแห้ง สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 50, 75 และ 95 สกัดที่อัตราส่วนของเครื่องต้มข้าต่อตัวทำละลาย 1:10 และ 1:5 มีปริมาณของแข็งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) (Table 31) การใช้เอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 และ 75 สกัดเครื่องต้มข้าทำให้สารสกัดที่ได้มีปริมาณของแข็งสูงกว่าการใช้เอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 และน้ำ

สารสกัดหยาบที่อัตราส่วนของเครื่องต้มข้าต่อตัวทำละลาย 1:10 มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH สูงกว่าของสารสกัดหยาบที่อัตราส่วน 1:5 เนื่องจากความแตกต่างระหว่างความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกที่ผิวของเครื่องต้มข้าและตัวทำละลายมีค่าเพิ่มขึ้น (Pinelo *et al.*, 2004b) ส่งผลให้สารประกอบฟีนอลิกในตัวอย่างแพร่สู่ตัวทำละลายได้มากขึ้น ดังที่กล่าวไปแล้วในสารสกัดหยาบของข้า ตะไคร้ พริกขี้หนูและใบมะกรูด

Table 30. Effect of extraction conditions on pH and color of crude Tom-kha paste extracts after 75% of extracts was evaporated

Ratio of Tom-kha paste and solvent	Solvent	pH	Color				
			L*	a*	b*	C*	H°
1:5	Water extract	4.51 ± 0.016 <sup>g</sup>	46.97 ± 0.04 <sup>d</sup>	8.87 ± 0.05 <sup>d</sup>	31.95 ± 0.21 <sup>e</sup>	33.16 ± 0.19 <sup>c</sup>	74.48 ± 0.16 <sup>d</sup>
	50% ethanol extract	5.13 ± 0.006 <sup>f</sup>	40.55 ± 0.01 <sup>e</sup>	7.69 ± 0.16 <sup>e</sup>	36.48 ± 0.23 <sup>d</sup>	37.28 ± 0.20 <sup>d</sup>	78.09 ± 0.31 <sup>c</sup>
	75% ethanol extract	5.27 ± 0.006 <sup>d</sup>	31.80 ± 0.10 <sup>h</sup>	9.34 ± 0.15 <sup>c</sup>	32.10 ± 0.66 <sup>e</sup>	33.43 ± 0.60 <sup>e</sup>	73.76 ± 0.53 <sup>e</sup>
	95% ethanol extract	5.74 ± 0.015 <sup>b</sup>	35.17 ± 0.07 <sup>g</sup>	17.31 ± 0.13 <sup>a</sup>	45.90 ± 0.48 <sup>b</sup>	49.06 ± 0.45 <sup>b</sup>	69.34 ± 0.23 <sup>f</sup>
1:10	Water extract	3.93 ± 0.000 <sup>h</sup>	54.13 ± 0.04 <sup>a</sup>	3.07 ± 0.04 <sup>f</sup>	26.32 ± 0.04 <sup>f</sup>	26.50 ± 0.03 <sup>g</sup>	83.34 ± 0.09 <sup>b</sup>
	50% ethanol extract	5.17 ± 0.0006 <sup>e</sup>	53.48 ± 0.03 <sup>b</sup>	2.23 ± 0.05 <sup>g</sup>	32.11 ± 0.08 <sup>e</sup>	32.19 ± 0.08 <sup>f</sup>	86.03 ± 0.09 <sup>a</sup>
	75% ethanol extract	5.48 ± 0.000 <sup>c</sup>	39.57 ± 0.04 <sup>f</sup>	9.36 ± 0.04 <sup>c</sup>	44.90 ± 0.12 <sup>c</sup>	45.87 ± 0.12 <sup>c</sup>	78.22 ± 0.04 <sup>c</sup>
	95% ethanol extract	5.96 ± 0.040 <sup>a</sup>	47.48 ± 0.01 <sup>c</sup>	13.78 ± 0.04 <sup>b</sup>	64.95 ± 0.65 <sup>a</sup>	66.40 ± 0.63 <sup>a</sup>	78.02 ± 0.14 <sup>c</sup>

Mean ± SD from triplicate determinations

<sup>a-f</sup> means within a column with the different letters are significantly difference (p<0.05)

Sample: Solvent = 1:10

Sample: Solvent = 1:5

1

2

3

4

1

2

3

4

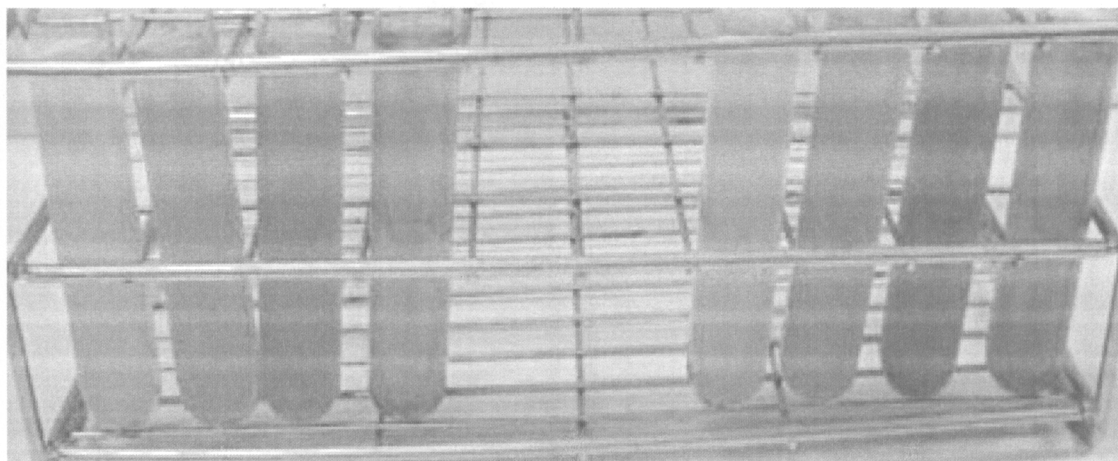


Figure 29. Appearance of crude Tom-kha paste extracts after 75% of extracts was evaporated

Remark: 1 = water crude extracts, 2 = 50% ethanolic crude extracts, 3 = 75% ethanolic crude extracts and 4 = 95% ethanolic crude extracts

เมื่อพิจารณาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบของเครื่องต้มยำ พบว่ามีค่าแตกต่างกันขึ้นอยู่กับตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดและวิธีที่ใช้ในการทดสอบ กล่าวคือปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของเอทานอลเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 75 และมีค่าคงที่เมื่อความเข้มข้นของเอทานอลเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 95 แสดงว่าสารประกอบฟีนอลิกที่อยู่ในเครื่องต้มยำเป็นสารที่มีขั้วปานกลาง ส่วนสมบัติการต้านออกซิเดชันพบว่าสารสกัดหยาบด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 แสดงคุณสมบัติในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS สูงกว่าสารสกัดหยาบด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95, 50 และน้ำ ส่วนความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP พบว่าความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP มีค่าสูงขึ้นเมื่อความเข้มข้นของเอทานอลมีค่าเพิ่มขึ้น แสดงว่าสารที่มีคุณสมบัติในการถ่ายโอนอิเล็กตรอนในสารสกัดหยาบของเครื่องต้มยำเป็นสารที่มีขั้วต่ำ การที่สมบัติการต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วยวิธีการต่างๆมีค่าแตกต่างกัน เนื่องจากกลไกที่ใช้ในการทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระแต่ละวิธีมีลักษณะแตกต่างกัน

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของแข็ง ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชัน พบว่าปริมาณของแข็งไม่สัมพันธ์กับปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชัน (Table 32) สอดคล้องกับการทดลองในสารสกัดหยาบของข่า ตะไคร้ พริกขี้หนูและใบมะกรูด เนื่องจากสารที่สกัดออกมาได้จากเครื่องต้มยำด้วยเอทานอลความเข้มข้น

Table 31. Effect of extraction conditions on the solids content, total phenolic contents and antioxidant properties of crude Tom-kha paste extracts

Ratio of Tom-kha paste and solvent	Solvent	Solids content (%/g dw.)	Total phenolic (g GAE/100 g dw.)	DPPH value ( $\mu$ mole TE/g dw.)	ABTS value ( $\mu$ mole TE/g dw.)	FRAP value ( $\mu$ mole TE/g dw.)
1:5	Water extract	0.13 $\pm$ 0.006 <sup>bc</sup>	0.26 $\pm$ 0.04 <sup>c</sup>	6.76 $\pm$ 0.33 <sup>h</sup>	54.02 $\pm$ 1.23 <sup>e</sup>	7.88 $\pm$ 0.65 <sup>g</sup>
	50% ethanol extract	0.14 $\pm$ 0.004 <sup>ab</sup>	0.41 $\pm$ 0.04 <sup>c</sup>	13.77 $\pm$ 0.92 <sup>f</sup>	86.46 $\pm$ 1.43 <sup>c</sup>	16.64 $\pm$ 0.77 <sup>e</sup>
	75% ethanol extract	0.14 $\pm$ 0.000 <sup>a</sup>	0.57 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	21.63 $\pm$ 0.67 <sup>c</sup>	93.46 $\pm$ 2.12 <sup>ab</sup>	21.07 $\pm$ 0.52 <sup>c</sup>
	95% ethanol extract	0.12 $\pm$ 0.004 <sup>c</sup>	0.59 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	20.10 $\pm$ 0.39 <sup>d</sup>	94.25 $\pm$ 2.49 <sup>a</sup>	24.87 $\pm$ 0.59 <sup>a</sup>
1:10	Water extract	0.11 $\pm$ 0.000 <sup>d</sup>	0.32 $\pm$ 0.01 <sup>d</sup>	10.67 $\pm$ 0.26 <sup>g</sup>	54.55 $\pm$ 1.22 <sup>e</sup>	3.96 $\pm$ 0.46 <sup>h</sup>
	50% ethanol extract	0.14 $\pm$ 0.002 <sup>ab</sup>	0.49 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>	18.21 $\pm$ 0.12 <sup>e</sup>	79.12 $\pm$ 1.54 <sup>d</sup>	10.45 $\pm$ 0.68 <sup>f</sup>
	75% ethanol extract	0.15 $\pm$ 0.017 <sup>a</sup>	0.60 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	27.57 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup>	92.08 $\pm$ 0.38 <sup>ab</sup>	18.20 $\pm$ 0.79 <sup>d</sup>
	95% ethanol extract	0.12 $\pm$ 0.002 <sup>c</sup>	0.59 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>	24.48 $\pm$ 0.16 <sup>b</sup>	91.09 $\pm$ 0.44 <sup>b</sup>	22.99 $\pm$ 0.61 <sup>b</sup>

Mean  $\pm$  SD from triplicate determinations

<sup>a-f</sup> means within a column with the different letters are significantly difference (p<0.05)

GAE: Gallic acid equivalent, TE: Trolox equivalent, dw: dry weight of Tom-kha paste

ต่างๆ ประกอบด้วยสารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบที่ไม่ใช่สารประกอบฟีนอลิก เช่น น้ำตาล กรดอินทรีย์ โปรตีนและรงควัตถุ (Macheix *et al.*, 1990 อ้างโดย Sun and Ho, 2005) เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันในรูปของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ตลอดจนความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP พบว่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมีความสัมพันธ์กับความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP แสดงให้เห็นว่าสารที่มีคุณสมบัติในการต้านออกซิเดชันที่พบในเครื่องดื่มข่าเป็นสารประกอบฟีนอลิก

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและคุณสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชันของเครื่องดื่มที่เป็นองค์ประกอบในเครื่องดื่มข่า พบว่าข่าและพริกขี้หนูมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH สูงที่สุด รองลงมาคือ ใบมะกรูดและตะไคร้ และพบว่าข่ามีความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP สูงที่สุด ส่วนพริกขี้หนูมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS สูงที่สุด แสดงให้เห็นว่าพืชแต่ละชนิดประกอบด้วยสารต้านออกซิเดชันที่แตกต่างกัน ส่งผลให้กลไกในการต้านออกซิเดชันแตกต่างกัน ดังนั้นการวิเคราะห์สมบัติการต้านออกซิเดชันในพืชจึงควรใช้วิธีการทดสอบหลายวิธี (Wangcharoen and Morasuk, 2007a) เพื่อให้สามารถอธิบายสมบัติการต้านออกซิเดชันในพืชได้อย่างครอบคลุม

เมื่อนำเครื่องดื่ม ได้แก่ ข่า ตะไคร้ พริกขี้หนูและใบมะกรูด บดผสมรวมกันเป็นเครื่องดื่มข่า โดยมีสัดส่วนของข่า ตะไคร้ พริกขี้หนูและใบมะกรูด เท่ากับร้อยละ 41.84, 47.42, 8.25 และ 2.51 ตามลำดับ พบว่าเครื่องดื่มข่ามีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าตะไคร้ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลัก และมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ตลอดจนความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP ใกล้เคียงกับตะไคร้ ดังนั้นการทดลองในครั้งนี้ จึงให้เห็นว่าเครื่องดื่มข่าประกอบด้วยสารต้านออกซิเดชันหลายชนิด การทำปฏิกิริยาของสารต้านออกซิเดชันแต่ละชนิด ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสมบัติการต้านออกซิเดชันซึ่งการทำปฏิกิริยากันของสารต้านออกซิเดชันทำให้เกิดผล 3 อย่างคือ (1) ทำให้เกิดผลในทางบวก (positive effect) (2) ทำให้เกิดการเสริมฤทธิ์ (synergic effect) และ (3) ทำให้เกิดผลในทางลบ (negative effect) Pinelo และคณะ (2004a) พบว่าสารผสมของเคอร์ซีทีน คาเทชิน และเรสเวอรัราโทรล (resveratrol) ทำให้ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ลดลง เมื่อเทียบกับเคอร์ซีทีน คาเทชิน และเรสเวอรัราโทรลบริสุทธิ์ โดยความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH เรียงลำดับได้ดังนี้ ระบบของสารผสม (complex system) < เคอร์ซีทีน

Table 32. Bivariate correlation of the total phenolic contents, DPPH values, ABTS values, FRAP values and solids content from all crude Tom-kha paste extracts

	Total phenolic (g GAE/100 g dw.)	DPPH value ( $\mu$ mole TE/g dw.)	ABTS value ( $\mu$ mole TE/g dw.)	FRAP value ( $\mu$ mole TE/g dw.)	Solids content (%/g dw.)
Total phenolic (g GAE/100 g dw.)	1.000	0.961**	0.926**	0.851**	0.502
DPPH value ( $\mu$ mole TE/g dw.)	0.961**	1.000	0.856**	0.746*	0.532
ABTS value ( $\mu$ mole TE/g dw.)	0.926**	0.856**	1.000	0.921**	0.569
FRAP value ( $\mu$ mole TE/g dw.)	0.851**	0.746*	0.921**	1.000	0.262
Solids content (%/g dw.)	0.502	0.532	0.569	0.262	1.000

\*\* Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed)

\* Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed)

GAE: Gallic acid equivalent, TE: Trolox equivalent, dw: dry weight of Tom-kha paste

≤ เรสเวอร์ราโรล < คาเทชิน ในขณะที่ Shobana และ Naidu (2000) พบว่าการนำเครื่องเทศมาผสมกัน ได้แก่ หอม (4 มิลลิกรัม) ผสมกับขิง (2 มิลลิกรัม) และขิง (2 มิลลิกรัม) ผสมกับกระเทียม (2 มิลลิกรัม) ทำให้เกิดการเพิ่มความสามารถในการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน เนื่องจากการเสริมฤทธิ์กันของสารต้านออกซิเดชันในหอมกับขิง และขิงกับกระเทียม แต่เมื่อนำหอม (8 มิลลิกรัม) ผสมกับขิง (4 มิลลิกรัม) ขิง (4 มิลลิกรัม) ผสมกับกระเทียม (4 มิลลิกรัม) และขิง (2 มิลลิกรัม) ผสมกับกระเทียม (2 มิลลิกรัม) และหอม (4 มิลลิกรัม) กลับพบว่าเกิดการลดความสามารถในการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน แสดงให้เห็นว่า สัดส่วนของเครื่องเทศที่นำมาผสมกันมีผลต่อการทำปฏิกิริยาของสารต้านออกซิเดชัน

### 3. ผลของอุณหภูมิและเวลาในการให้ความร้อนต่อความคงตัวของสมบัติการต้านออกซิเดชันในเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบในเครื่องต้มยำและเครื่องต้มยำ

ผลจากการทดลองในขั้นตอนที่ 2 พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบในเครื่องต้มยำและเครื่องต้มยำคือ การสกัดที่อัตราส่วนของตัวอย่างต่อตัวทำละลาย 1:10 สกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 ดังนั้นจึงนำสารสกัดหยาบของข่า ตะไคร้ พริกขี้หนู ใบมะกรูดและเครื่องต้มยำ ด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 ที่อัตราส่วนของตัวอย่างต่อตัวทำละลาย 1:10 มาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70, 80, 90 และ 100°C เป็นเวลา 10, 20 และ 30 นาที พบว่าอุณหภูมิและเวลาในการให้ความร้อนมีผลต่อปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชัน (Figure 30-34) ดังนี้

#### สารสกัดหยาบของข่า

การให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70, 80, 90 และ 100°C เป็นเวลา 10, 20 และ 30 นาที มีผลต่อปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันในสารสกัดหยาบของข่าคือ ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ซึ่งสอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP และพบว่าความร้อนที่อุณหภูมิ 80-100°C ไม่มีผลทำให้ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS เปลี่ยนแปลง แต่อุณหภูมิ 70°C มีผลทำให้ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS มีค่าลดลง (Figure 30) การเพิ่มขึ้นของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเมื่อให้ความร้อนอาจเป็นผลมาจาก (1) ความร้อนทำให้สารประกอบฟีนอลิกที่จับอยู่กับน้ำตาลในรูปโกลโคไซด์เกิดการปลดปล่อยออกมา โดยการทำลายพันธะโกลโคซิดิกของฟลาโวนอยด์โกลโคไซด์เกิดเป็นฟลาโวนอยด์อิสระ ซึ่ง Hopia และ Heinonen (1999) และ Burda และ Oleszek (2001) รายงานว่าฟีนอลิกในรูปอิสระ (aglycone) มี



สมบัติการต้านออกซิเดชันสูงกว่าฟีนอลิกที่อยู่ในรูปที่จับกับน้ำตาล (glycosides) (2) ความร้อนอาจมีผลทำให้เกิดการปรับเปลี่ยนโครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกจากเดิมให้กลายเป็นสารประกอบชนิดใหม่ที่มีสมบัติการต้านออกซิเดชันเพิ่มขึ้น (Nicoli *et al.*, 1999) เช่น การเกิดปฏิกิริยาโพลีเมอไรเซชันของโมโนฟีนอลเกิดเป็นโอลิโกเมอร์ (oligomers) ซึ่งมีสมบัติการต้านออกซิเดชันสูงกว่าโมโนฟีนอล เนื่องจากมีพื้นที่ในการเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอนมากกว่า (Pinelo *et al.*, 2005)

ผลการทดลองในครั้งนี้สอดคล้องกับ Juntachote และ Berghofer (2005) ซึ่งนำสารสกัดชาด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 ในรูปของสารสกัดแห้ง (dried ethanolic extract) ไปให้ความร้อนโดยใช้เตาอบ ที่อุณหภูมิ 80<sup>o</sup>ซ เป็นเวลา 30 และ 60 นาที มีสมบัติการต้านออกซิเดชันโดยวิธี  $\beta$ -carotene bleaching ไม่แตกต่าง ( $p \geq 0.05$ ) จากชุดควบคุม (ไม่ให้ความร้อน)

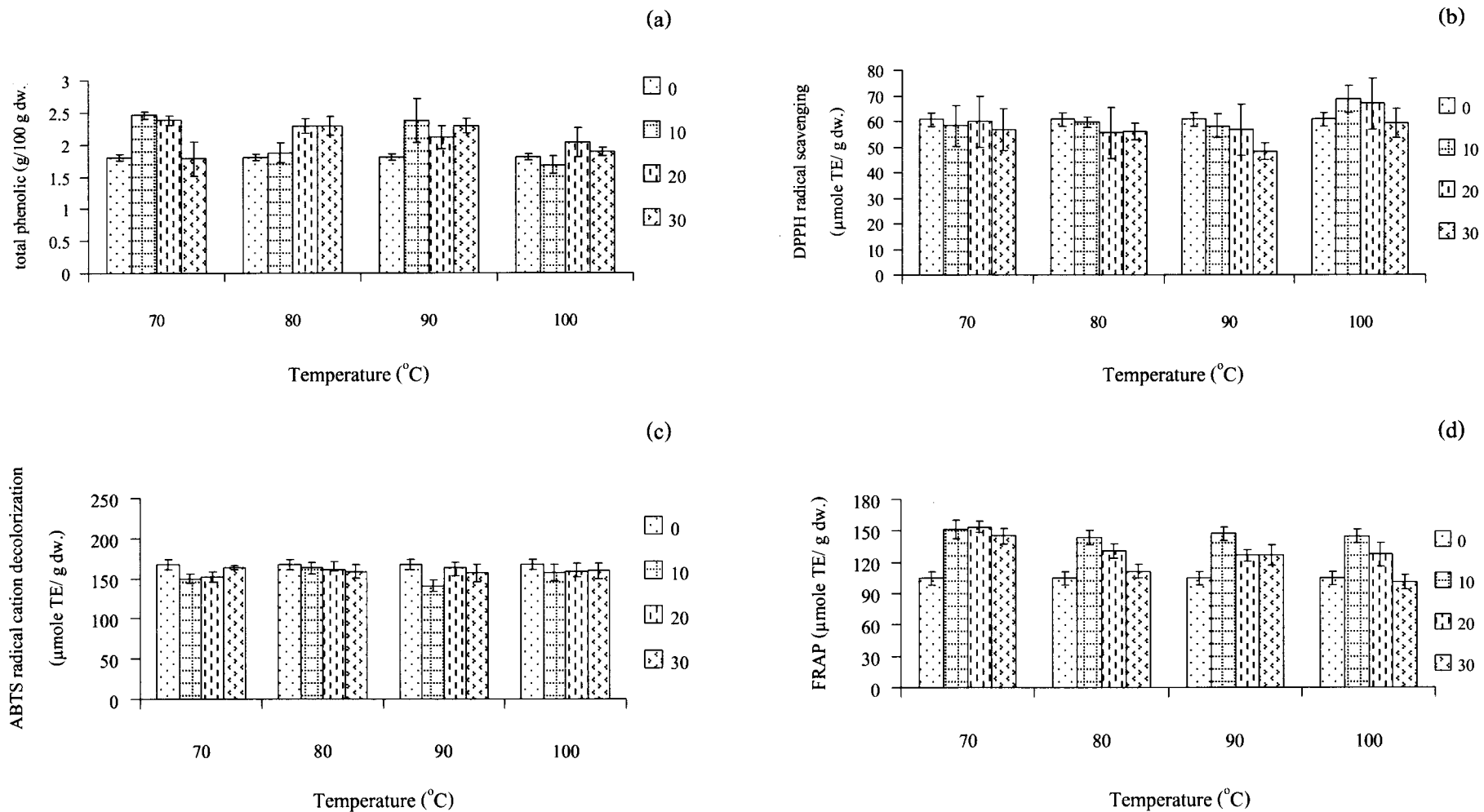


Figure 30. Effect of temperatures and heating times on the total phenolic contents (g/ 100 g dw.) (a), DPPH radical scavenging ( $\mu\text{mole TE/g dw}$ ) (b), ABTS radical cation decolorization ( $\mu\text{mole TE/g dw}$ ) (c) and FRAP ( $\mu\text{mole TE/g dw}$ ) (d) of crude galangal extracts

Remark: GAE: Gallic acid equivalent, TE: Trolox equivalent, dw: dry weight of galangal

### สารสกัดหยาบของตะไคร้

เมื่อนำสารสกัดหยาบของตะไคร้ด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70-100°C เป็นเวลา 0-30 นาที พบว่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH มีแนวโน้มคงที่ แต่พบว่าความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP มีแนวโน้มลดลง (Figure 31) การที่ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบของตะไคร้ด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 มีค่าคงที่ อาจเนื่องมาจากความร้อนส่งผลให้สารต้านออกซิเดชันในสารสกัดตะไคร้เกิดการสูญเสียต่างๆกับการเกิดสารประกอบใหม่ที่มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH แต่สารดังกล่าวอาจมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP น้อย (Nicoli *et al.*, 1999)

Cheel และคณะ (2005) พบว่าสารสกัดตะไคร้ด้วยเมทานอล เมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 และ 70 และน้ำ ประกอบด้วยฟลาโวนอยด์ (ไอโซออเรียนทิน ไอโซสคอพาริน สเวอร์เทียจาโพนิน ไอโซออเรียนทิน-2-ออโดรามโนไซด์ ออเรียนทิน) กรดคลอโรจีนิกและกรดคาฟเฟอิก นอกจากนี้ความร้อนมีผลทำให้สารประกอบฟีนอลิกโมเลกุลเล็กๆ เช่น ฟีนอล ฟีนิลโพรพานอยด์ เช่น กรดพาราเคมาริก กรดคาฟเฟอิก กรดฟีรูลิกและกรดชินาพิค ระเหยกลายเป็นไอได้ ในขณะที่ฟลาโวนอยด์ ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลิกที่มีโครงสร้างเป็นวงแหวน 3 วงต่อกัน (C6-C3-C6) (Table 5) เกิดการแตกหักของวงแหวนซีและทำให้เกิดการสลายตัว โดยวงแหวนบีเปลี่ยนเป็นกรดคาร์บอกซิลิก (เช่น กรดเบนโซอิก) และวงแหวนเอจะเปลี่ยนเป็นคาร์บอกซีอัลดีไฮด์ (เช่น 2,4,6-trihydroxybenzaldehyde) ตามลำดับ (Jackman and Smith, 1996) และระเหยไปพร้อมกับไอน้ำ (Kim and Pratt, 1992)

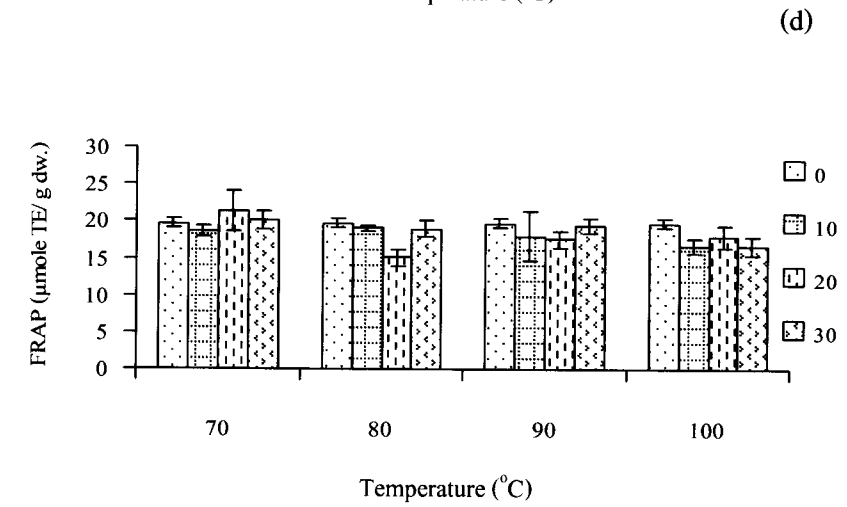
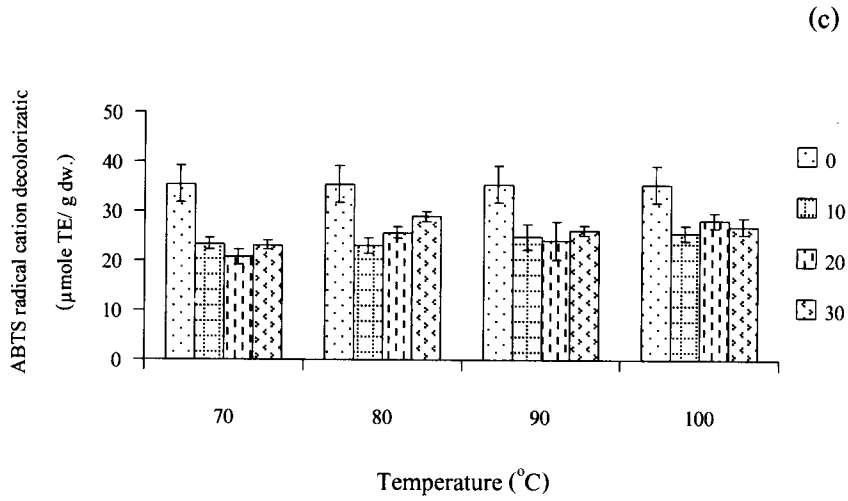
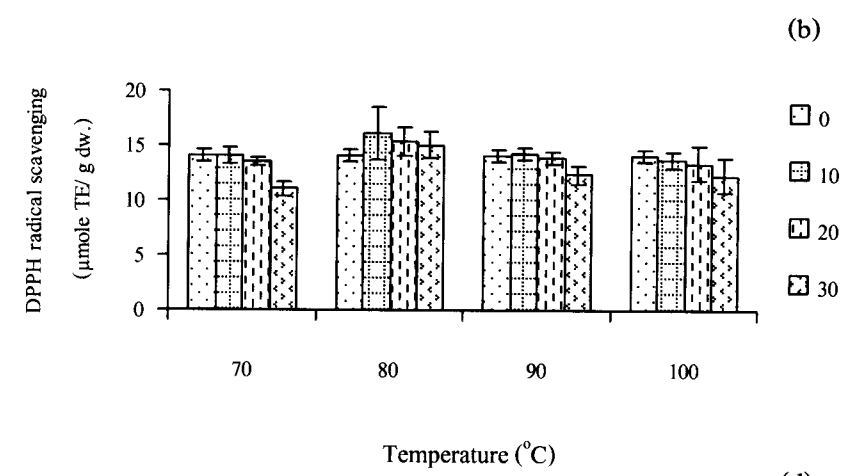
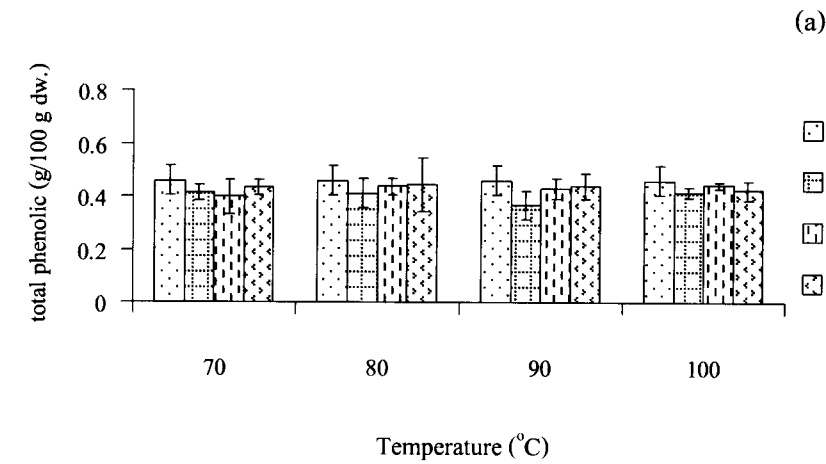


Figure 31. Effect of temperatures and heating times on the total phenolic contents (g/100 g dw) (a), DPPH radical scavenging (µmole TE/g dw.) (b), ABTS radical cation decolorization (µmole TE/g dw.) (c) and FRAP (µmole TE/g dw.) (d) of crude lemon grass extracts

Remark: GAE: Gallic acid equivalent, TE: Trolox equivalent, dw: dry wight of lemon grass

## สารสกัดหยาบของพริกชี้หนู

ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ตลอดจนความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP ของสารสกัดหยาบของพริกชี้หนู เมื่อผ่านการให้ความร้อน (70, 80, 90 และ 100°C) ในระยะเวลาต่างๆ (10, 20 และ 30 นาที) มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) (Figure 29) การลดลงของสมบัติการต้านออกซิเดชันในสารสกัดหยาบของพริกชี้หนูอาจเกิดจาก (1) ความร้อนทำให้แคโรทีนอยด์ ได้แก่ แคปแซนทิน แคปซอร์รูบิน คริปโทแซนทินและซีแซนทิน ซึ่งเป็นสารให้สีในพริกชี้หนูแดงและแสดงสมบัติการต้านออกซิเดชันถูกทำลายเนื่องจากสารดังกล่าวไม่ทนร้อน (Berke and Shieh, 2001) (2) ความร้อนทำให้ฟลาโวนอยด์เกิดการแตกหัก ส่งผลให้สมบัติการต้านออกซิเดชันลดลงดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น Mican และ Mohamed (2001) รายงานว่าพริกชี้หนูมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 1663.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของพริกชี้หนูแห้ง ซึ่งประกอบด้วยไมริซิทิน ( $236.0 \pm 0.03$  มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของพริกชี้หนูแห้ง) เควอร์ซิทิน ( $392.0 \pm 0.02$  มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของพริกชี้หนูแห้ง) และลูทีโอลิน ( $1035.0 \pm 0.03$  มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของพริกชี้หนูแห้ง) และ (3) ความร้อนทำให้เกิดการสลายของวิตามินซี (ascorbic acid) ที่เป็นองค์ประกอบที่สำคัญในพริกชี้หนู (จงรักษ์ แก้วประสิทธิ์, 2552; Ching and Mohamed, 2001) โดยความร้อนไปกระตุ้นให้วิตามินซี เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นกรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก ซึ่งเป็นสารที่ไม่แสดงกิจกรรมการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และอนุมูลไฮดรอกซิล (Takamura *et al.*, 2001 อ้างโดย Chuah *et al.*, 2008) นอกจากนี้ กรดดีไฮโดรแอสคอร์บิกเป็นสารที่ไม่เสถียรและสามารถเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสเป็นกรดไดคีโทกูโลนิก (2,3-diketogulonic acid) (Gregory, 1996) สอดคล้องกับการทดลองของ Chuah และคณะ (2008) พบว่าการให้ความร้อนแก่พริกหยวก (peppers, *Capsicum annum* L.) โดยใช้ไมโครเวฟ การทอดและการลวก ส่งผลให้ปริมาณวิตามินซีในพริกหยวกลดลง

Wancharoen และ Morasuk (2009) พบว่าเมื่อนำพริกชี้หนูแดงไปอบแห้งโดยใช้เครื่องอบแห้งแบบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70°C ส่งผลให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP ของพริกชี้หนูแดงมีค่าลดลง ส่วนความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS มีค่าไม่เปลี่ยนแปลง ( $p \geq 0.05$ ) แต่เมื่อให้ความร้อนที่ 100 และ 121°C พบว่าความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ตลอดจนความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP มีค่าเพิ่มขึ้น สัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของการดูดกลืนแสงที่ 420 นาโนเมตร และการเกิดสีน้ำตาลในพริกชี้หนูแดง แสดงให้เห็นว่าในขณะที่อบแห้งพริกชี้หนูที่

100 และ 121°C ทำให้เกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลโดยไม่ใช้เอนไซม์ ได้ผลิตภัณฑ์ซึ่งมีสมบัติการต้านออกซิเดชัน เช่น เมลานอยด์ดิน (melanoidin)

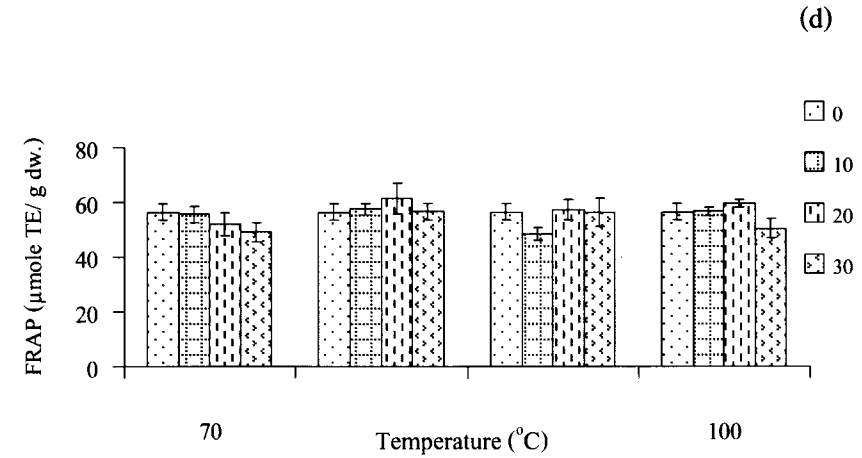
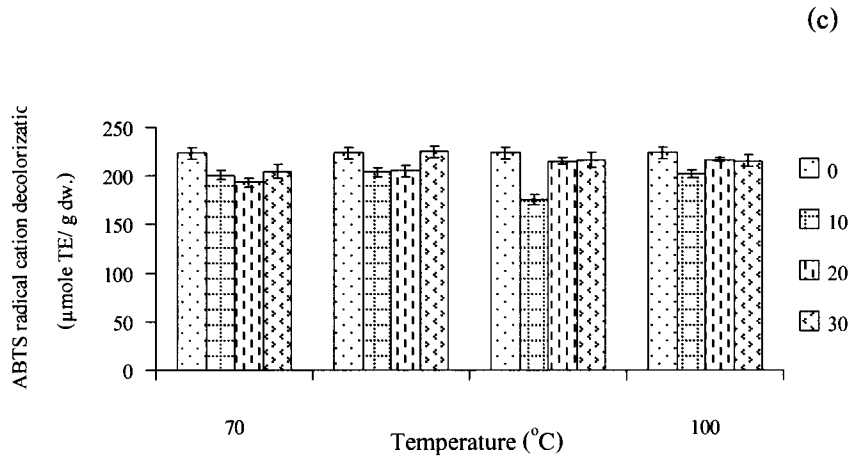
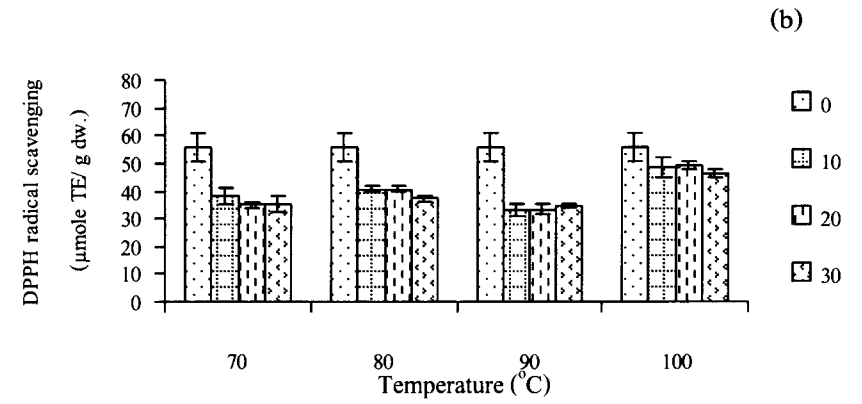
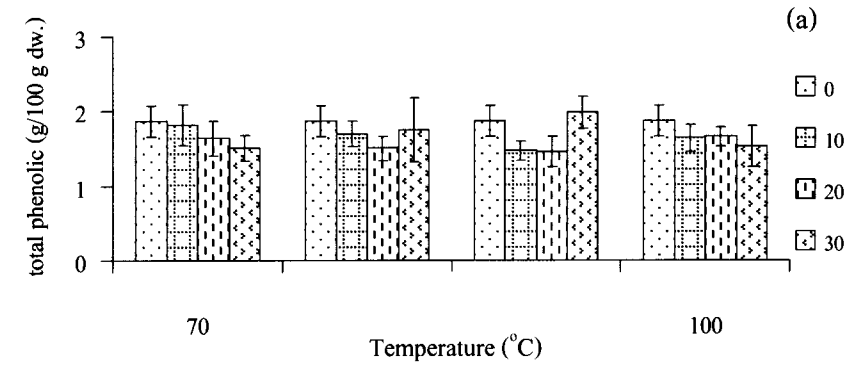


Figure 32. Effect of temperatures and heating times on the total phenolic contents (g/ 100 g dw.)(a), DPPH radical scavenging (μmole TE/g dw.)(b), ABTS radical cation decolorization (μmole TE/g dw.) (c) and FRAP (μmole TE/g dw.) (d) of crude chili extracts

Remark: GAE: Gallic acid equivalent, TE: Trolox equivalent, dw: dry wight of chili

### สารสกัดหยาบของใบมะกรูด

ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ในสารสกัดหยาบของใบมะกรูดหลังการให้ความร้อน (70, 80, 90 และ 100°C) ในระยะเวลาต่างๆ (10, 20 และ 30 นาที) มีแนวโน้มลดลง ในขณะที่ความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น (Figure 33) ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากความร้อนมีผลทำให้เกิดการสลายตัวของน้ำมันหอมระเหยและทำให้สารประกอบฟีนอลิกโมเลกุลเล็กๆ เช่น ฟีนอล ฟีนิลโพรพานอยด์ เช่น กรดพาราเคมาริก กรดคาเฟอิก กรดฟีรูลิกและกรดซินาพิค ระเหยกลายเป็นไอ (Jackman and Smith, 1996) ในขณะเดียวกันความร้อนทำให้สารประกอบฟีนอลิกที่จับอยู่กับสารอื่นเกิดการปลดปล่อยออกมา โดยความร้อนทำให้พันธะไกลโคซิดิกของฟลาโวนอยด์ไกลโคไซด์สลายเกิดเป็นฟลาโวนอยด์อิสระตามที่ได้กล่าวไปแล้วข้างต้น Berhow และคณะ (1996) พบว่าใบมะกรูดประกอบด้วยฟลาโวนอยด์ ในรูปของฟลาโวนไกลโคไซด์ ได้แก่ นาริรูตินกลูโคไซด์ อิริซิทริน นิโออิริโอซิทริน นาริรูติน เฮสเพอร์รีดิน นิโอเฮสเพอร์รีดินและ ดีไดมิน และฟลาโวน/ออลไกลโคไซด์ ได้แก่ รูทีน



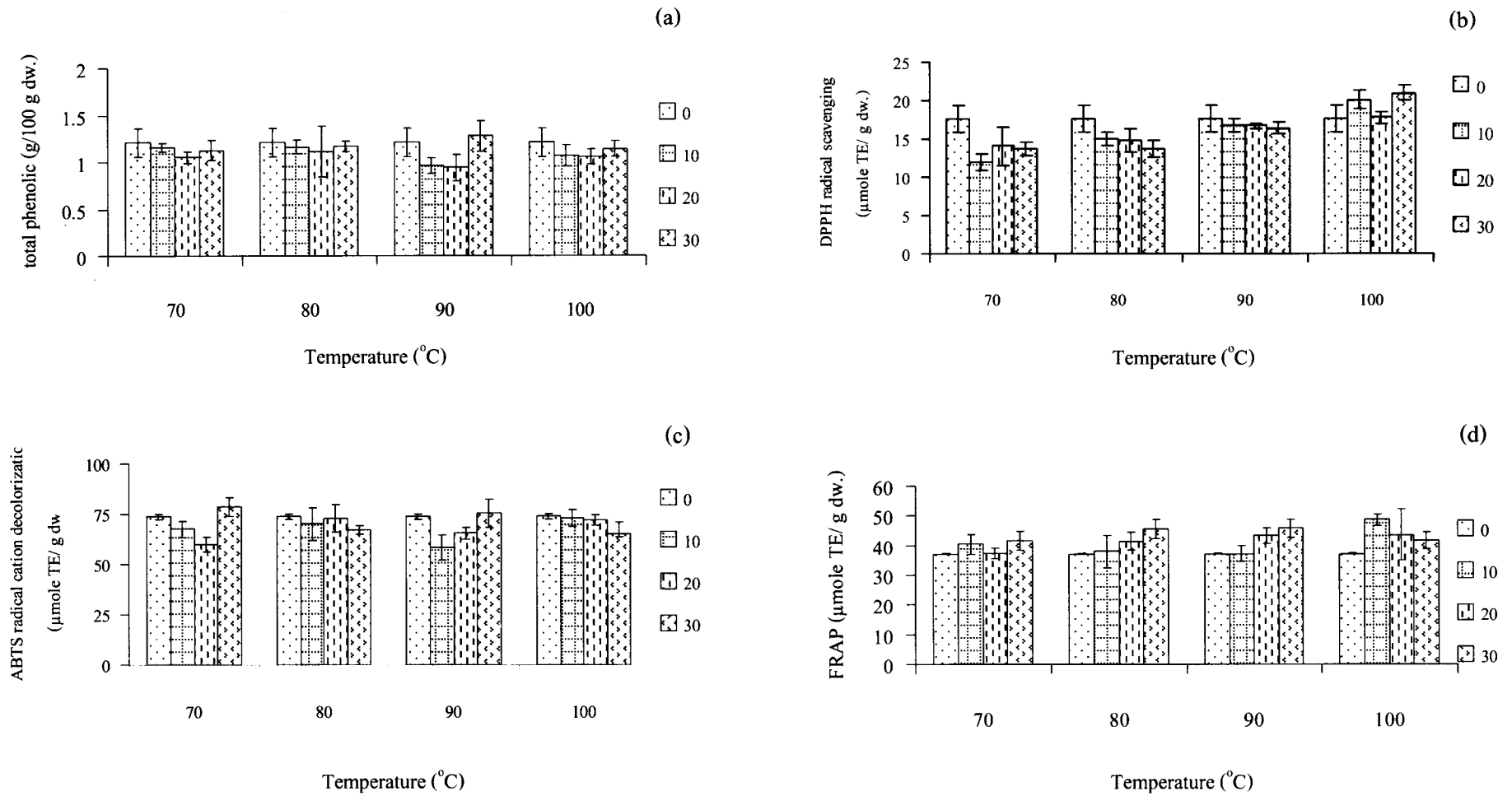


Figure 33. Effect of temperatures and heating times on the total phenolic contents (g/100 g dw.) (a), DPPH radical scavenging (μmole TE/g dw.) (b), ABTS radical cation decolorization (μmole TE/g dw.) (c) and FRAP (μmole TE/g dw.) (d) of crude kaffir lime leaf extracts

Remark: GAE: Gallic acid equivalent, TE: Trolox equivalent, dw: dry weight of kaffir lime leaves

### สารสกัดหยาบของเครื่องต้มข้าว

การให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70, 80, 90 และ 100°ซ เป็นเวลา 10, 20 และ 30 นาที ส่งผลให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ของสารสกัดหยาบของเครื่องต้มข้าว มีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ส่วนความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP มีแนวโน้มลดลงเล็กน้อยเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70-90°ซ แต่เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นเป็น 100°ซ พบว่าความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น (Figure 34)

ดังนั้นเมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองของนักวิทยาศาสตร์กลุ่มอื่นที่ทำงานในลักษณะที่ใกล้เคียงกัน อาจสรุปผลของความร้อนต่อปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันได้ดังนี้ (1) สมบัติการต้านออกซิเดชันไม่เปลี่ยนแปลงเนื่องจากความร้อนส่งผลให้สารบางชนิดในพืช เกิดการสลายตัวเท่าๆกับการเกิดสารประกอบใหม่ที่มีสมบัติการต้านออกซิเดชัน (Nicoli *et al.*, 1997) Arabshahi-Delouee และคณะ (2007) พบว่าความร้อนที่อุณหภูมิ 100°ซ เป็นเวลา 15 นาที ไม่มีผลทำให้กิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสารสกัดแครอทเกิดการเปลี่ยนแปลง (2) ความร้อนส่งผลให้สมบัติการต้านออกซิเดชันสูงขึ้น โดยความร้อนทำให้เกิดการปลดปล่อยสารประกอบฟีนอลิกที่เกิดพันธะอยู่กับสารประกอบอื่น ในรูปของพันธะเอสเทอร์ อีเทอร์หรืออะซีทอล (Robbins, 2003) หรืออยู่ในรูปของพันธะโควาเลนต์กับสารโพลีเมอร์ที่ไม่ละลายน้ำ (insoluble polymer) (Peleg *et al.*, 1991) Shobana และ Naidu (2000) พบว่าการให้ความร้อนแก่สารสกัดกระเทียม จิง กานพลู อบเชยและพริกไทย ด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 ที่อุณหภูมิ 100°ซ เป็นเวลา 30 นาที ไม่เพียงแต่ทำให้กิจกรรมการต้านออกซิเดชันยังคงอยู่ แต่พบว่าทำให้กิจกรรมการต้านออกซิเดชันเพิ่มขึ้น เนื่องจากในระหว่างการให้ความร้อนสารต้านออกซิเดชันที่จับกันอยู่เกิดการปลดปล่อยออกมา นอกจากนี้พบว่าความร้อนไปทำลายเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสและแอสคอร์เบทออกซิเดส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ทำให้เกิดการสูญเสียของโพลีฟีนอลและวิตามินซี (Yamaguchi *et al.*, 2003) นอกจากนี้พบว่ากระบวนการให้ความร้อนทำให้เกิดปฏิกิริยาน้ำตาลที่ไม่ใช่เอนไซม์ ได้แก่ ปฏิกิริยามอลลาร์ดและคาราเมลไลเซชัน ซึ่งมีรายงานว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยามอลลาร์ดและคาราเมลไลเซชันแสดงสมบัติการต้านออกซิเดชัน (Manzocco *et al.*, 2001; Yanagimoto *et al.*, 2002; Benjakul *et al.*, 2005; Yilmaz and Toledo, 2005; Osada and Shibamoto, 2006) และ (3) ความร้อนทำให้สมบัติการต้านออกซิเดชันลดลง โดยความร้อนทำให้เกิดการเสื่อมสลายของสารประกอบฟีนอลิก (Prasad *et al.*, 1996; Crozier *et al.*, 1997; Larrauri *et al.*, 1997; Arabshahi-Delouee *et al.*, 2007; Katsube *et al.*, 2009) และวิตามินซี (Klimczak *et al.*, 2007; Chuah *et al.*, 2008)

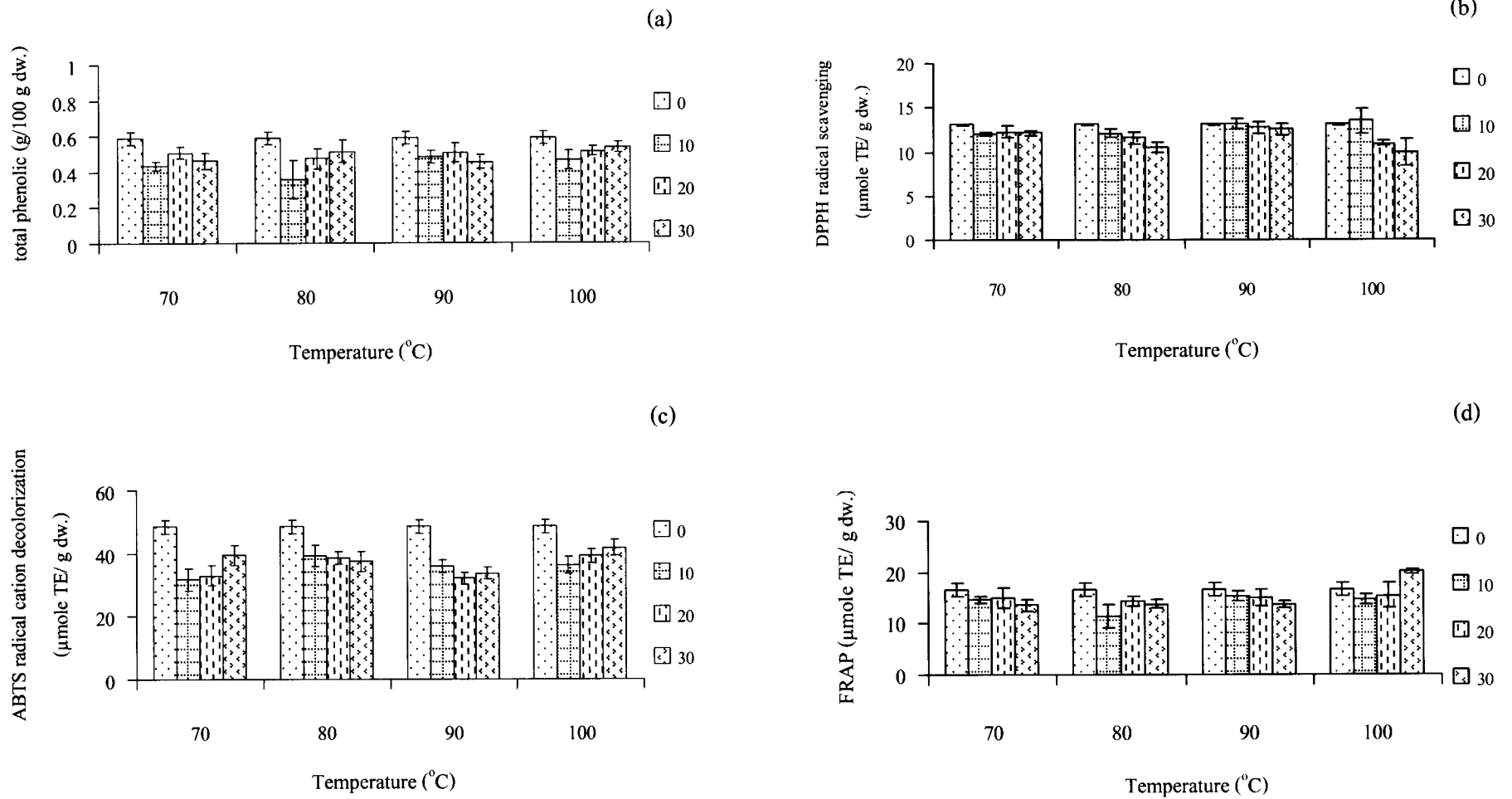


Figure 34. Effect of temperatures and heating times on the total phenolic contents (g/100 g dw.) (a), DPPH radical scavenging (μmole TE/g dw.) (b), ABTS radical cation decolorization (μmole TE/g dw.) (c) and FRAP (μmole TE/g dw.) (d) of crude Tom-kha paste extracts

Remark: GAE: Gallic acid equivalent, TE: Trolox equivalent, dw: dry weight of Tom-kha paste

โดยภาพรวมอาจกล่าวได้ว่าสมบัติการต้านออกซิเดชันของเครื่องเทศที่ใช้เป็นส่วนประกอบในเครื่องต้มยำขึ้นอยู่กับทั้งชนิดขององค์ประกอบ การให้ความร้อนและวิธีที่ใช้ในการทดสอบ ซึ่งเครื่องเทศแต่ละชนิดอาจมีสมบัติที่เหมือนหรือแตกต่างกันไป อย่างไรก็ตามผลการทดลองในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าข่าเป็นเครื่องเทศที่มีสมบัติการต้านออกซิเดชันสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับตะไคร้ พริกขี้หนู และใบมะกรูด

#### 4. ผลของพีเอชต่อความคงตัวของสมบัติการต้านออกซิเดชันในเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบในเครื่องต้มยำและเครื่องต้มยำ

เมื่อนำสารสกัดหยาบของข่า ตะไคร้ พริกขี้หนู ใบมะกรูด และเครื่องต้มยำ ด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 หลังจากระเหยสารสกัดออกไปร้อยละ 75 ไปปรับพีเอชเป็น 2, 5, 7, 8 และ 9 โดยใช้ 0.1 และ 1 N HCl และ 0.1 และ 1 N NaOH แล้วเติม 0.2 M citrate phosphate buffer (พีเอช 2 และ 5) และ 0.2 M phosphate buffer (พีเอช 7, 8 และ 9) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วปรับพีเอชให้กลับมาเท่ากับพีเอชเดิมของสารสกัด เพื่อศึกษาความคงตัวของสารสกัดต่อพีเอช พบว่าพีเอชมีผลต่อปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบของข่า ตะไคร้ พริกขี้หนู ใบมะกรูด และเครื่องต้มยำ (Table 33-37) ดังนี้

##### สารสกัดหยาบของข่า

ผลของพีเอชต่อความคงตัวของสารสกัดข่าด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 แสดงดัง Table 33 จากการทดลองพบว่าในสภาวะที่เป็นกรดสูง (พีเอชเท่ากับ 2) ส่งผลให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) สัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP เนื่องจากในสภาวะที่เป็นกรดทำให้เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส ส่งผลให้สารประกอบฟีนอลิกที่จับอยู่กับสารอื่นเกิดการปลดปล่อยออกมาอยู่ในรูปอิสระเพิ่มขึ้น (Liyana-Pathirana and Shahidi, 2005) เช่น การเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของพันธะกลูโคซิดิกของโพลีฟีนอล (Orcopoulou, 2003) แต่เมื่อพีเอชเพิ่มขึ้นเท่ากับ 7 และ 8 ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) อย่างไรก็ตามเมื่อพีเอชเพิ่มเป็น 9 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) แต่ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS มีค่าลดลง การลดลงของสมบัติการต้านออกซิเดชันเมื่อพีเอชเพิ่มขึ้นอาจเนื่องมาจากที่พีเอชสูงๆ ทำให้สารประกอบฟีนอลิกเปลี่ยนเป็นควิโนน และเรโซแนนท์อื่นๆ ที่มีสมบัติการต้านออกซิเดชันลดลง

และเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในสภาวะที่มีอากาศเกิดเป็นสารอนุพันธ์ของโคเคิโตหรือผลิตภัณฑ์อื่นๆ (degradation products) (Friedman and Jurgens, 2000) Krygier และคณะ (1982 อ้างโดย Nacz and Shahidi, 2006) พบว่าการย่อยโดยใช้ด่าง อาจทำให้เกิดการสลายตัวของอนุพันธ์ของกรดไฮดรอกซินนามิก (hydroxycinnamic acid derivatives) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบของข่ามีความคงตัวในพีเอชที่เป็นกรด (พีเอช 2 และ 5) มากกว่าพีเอชที่เป็นด่าง (พีเอช 7 และ 8)

Juntachote และ Berghofer (2005) พบว่าสารสกัดข่าด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 มีความคงตัวที่พีเอชเป็นกลางมากกว่ากรด โดยในสภาวะที่เป็นกลางข่าสามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรคลิโนเลอิก โดยวิธี  $\beta$ -carotene bleaching สูงกว่าในสภาวะที่เป็นกรด

Table 33. Effect of pH on the total phenolic contents and antioxidant properties of crude galangal extracts

pH	Total phenolic (g GAE/100 g dw.)	DPPH value ( $\mu$ mole TE/ g dw.)	ABTS value ( $\mu$ mole TE/ g dw.)	FRAP value ( $\mu$ mole TE/ g dw.)
2	2.38 $\pm$ 0.18 <sup>a</sup>	57.80 $\pm$ 5.72 <sup>c</sup>	154.06 $\pm$ 6.34 <sup>a</sup>	135.78 $\pm$ 3.40 <sup>a</sup>
5	1.84 $\pm$ 0.06 <sup>cd</sup>	70.90 $\pm$ 2.53 <sup>b</sup>	138.92 $\pm$ 1.66 <sup>b</sup>	126.22 $\pm$ 5.06 <sup>b</sup>
5.15 (origin)	1.80 $\pm$ 0.05 <sup>d</sup>	68.80 $\pm$ 2.16 <sup>b</sup>	140.75 $\pm$ 1.91 <sup>b</sup>	125.41 $\pm$ 3.92 <sup>b</sup>
7	1.63 $\pm$ 0.05 <sup>d</sup>	59.76 $\pm$ 3.06 <sup>c</sup>	124.58 $\pm$ 3.68 <sup>c</sup>	114.45 $\pm$ 6.06 <sup>c</sup>
8	2.14 $\pm$ 0.32 <sup>b</sup>	61.93 $\pm$ 0.73 <sup>c</sup>	113.16 $\pm$ 4.09 <sup>d</sup>	95.88 $\pm$ 1.90 <sup>d</sup>
9	2.02 $\pm$ 0.16 <sup>bc</sup>	86.80 $\pm$ 1.54 <sup>a</sup>	81.83 $\pm$ 3.98 <sup>c</sup>	131.90 $\pm$ 5.20 <sup>ab</sup>

Mean  $\pm$  SD from triplicate determinations

<sup>a-c</sup> means within a column with the different letters are significantly difference ( $p < 0.05$ )

GAE: Gallic acid equivalent, TE: Trolox equivalent, dw: dry weight of galangal

### สารสกัดหยาบของตะไคร้

ผลการทดลองพบว่า การปรับพีเอชสารสกัดหยาบของตะไคร้เป็นพีเอช 2 ก่อนปรับพีเอชกลับมาที่พีเอช 5.55 ไม่มีผลต่อความคงตัวของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ในสารสกัดหยาบของตะไคร้ด้วยเอธานอลความ

เข้มข้นร้อยละ 75 แต่มีผลทำให้ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP มีค่าลดลง เมื่อพีเอชเพิ่มขึ้นเป็น 7 และ 8 มีผลทำให้ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH มีค่าลดลง ในขณะที่ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP มีค่าไม่เปลี่ยนแปลง อย่างไรก็ตามเมื่อพีเอชเพิ่มขึ้นเป็น 9 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชัน ทั้งความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) (Table 34) แสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบของตะไคร้ไม่มีความคงตัวที่พีเอชสูงๆ (พีเอช 9)

Table 34. Effect of pH on the total phenolic contents and antioxidant properties of crude lemon grass extracts

pH	Total phenolic (g GAE /100 g dw.)	DPPH value ( $\mu\text{mole TE}/$ g dw.)	ABTS value ( $\mu\text{mole TE}/$ g dw.)	FRAP value ( $\mu\text{mole TE}/$ g dw.)
2	$0.40 \pm 0.02^a$	$16.39 \pm 0.44^{ab}$	$26.97 \pm 0.87^c$	$18.47 \pm 0.98^c$
5	$0.40 \pm 0.03^a$	$16.36 \pm 0.57^{ab}$	$31.26 \pm 0.61^{ab}$	$22.88 \pm 2.20^a$
5.55 (origin)	$0.39 \pm 0.02^a$	$16.67 \pm 0.41^a$	$30.37 \pm 0.55^{ab}$	$22.42 \pm 0.58^{ab}$
7	$0.40 \pm 0.02^a$	$15.57 \pm 0.22^b$	$32.81 \pm 1.89^a$	$21.72 \pm 2.70^{ab}$
8	$0.38 \pm 0.02^a$	$15.62 \pm 0.63^b$	$29.54 \pm 2.17^{bc}$	$19.63 \pm 0.33^{bc}$
9	$0.27 \pm 0.01^b$	$12.12 \pm 0.13^c$	$22.75 \pm 2.44^d$	$12.81 \pm 0.34^d$

Mean  $\pm$  SD from triplicate determinations

<sup>a-c</sup> means within a column with the different letters are significantly difference ( $p < 0.05$ )

GAE: Gallic acid equivalent, TE: Trolox equivalent, dw: dry weight

### สารสกัดหยาบของพริกชี้หนู

พีเอชมีผลต่อความคงตัวของสารสกัดหยาบของพริกชี้หนูด้วยเอชานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 คือ ที่พีเอช 2 มีผลทำให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดไม่เปลี่ยนแปลงแต่ทำให้ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) (Table 35) ในขณะที่ความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP มีค่าลดลง นอกจากนี้พบว่าความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS และความสามารถในการให้

อิเล็กตรอนในระบบ FRAP มีค่าเพิ่มขึ้น เมื่อพีเอชเพิ่มขึ้นเป็น 7-8 แต่ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS มีค่าลดลงเมื่อพีเอชเพิ่มเป็น 9 ดังแสดงใน Table 35

Table 35. Effect of pH on the total phenolic contents and antioxidant properties of crude chili extracts

pH	Total phenolic (g GAE /100 g dw.)	DPPH value ( $\mu$ mole TE/ g dw.)	ABTS value ( $\mu$ mole TE/ g dw.)	FRAP value ( $\mu$ mole TE/ g dw.)
2	1.99 $\pm$ 0.32 <sup>ab</sup>	55.05 $\pm$ 0.38 <sup>a</sup>	193.83 $\pm$ 4.34 <sup>c</sup>	48.37 $\pm$ 3.29 <sup>c</sup>
5	1.84 $\pm$ 0.21 <sup>bc</sup>	49.79 $\pm$ 2.09 <sup>b</sup>	169.08 $\pm$ 1.41 <sup>d</sup>	54.42 $\pm$ 2.01 <sup>b</sup>
5.52 (origin)	1.86 $\pm$ 0.16 <sup>bc</sup>	49.33 $\pm$ 1.92 <sup>b</sup>	170.26 $\pm$ 3.18 <sup>d</sup>	56.70 $\pm$ 1.61 <sup>b</sup>
7	1.86 $\pm$ 0.18 <sup>bc</sup>	50.16 $\pm$ 4.45 <sup>b</sup>	227.42 $\pm$ 3.55 <sup>a</sup>	78.04 $\pm$ 4.54 <sup>a</sup>
8	2.27 $\pm$ 0.22 <sup>a</sup>	56.48 $\pm$ 2.85 <sup>a</sup>	205.38 $\pm$ 2.07 <sup>b</sup>	74.80 $\pm$ 3.34 <sup>a</sup>
9	1.51 $\pm$ 0.18 <sup>c</sup>	55.55 $\pm$ 0.43 <sup>a</sup>	156.58 $\pm$ 5.35 <sup>c</sup>	74.44 $\pm$ 1.23 <sup>a</sup>

Mean  $\pm$  SD from triplicate determinations

<sup>a-f</sup> means within a column with the different letters are significantly difference (p<0.05)

GAE: Gallic acid equivalent, TE: Trolox equivalent, dw: dry weight of chili

### สารสกัดหยาบของโสมมะกรูด

ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อพีเอชเป็นกรด (พีเอช 2) โดยที่พีเอช 2 มีผลทำให้ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS มีค่าเพิ่มขึ้น (Table 36) เมื่อพีเอชเพิ่มขึ้นเป็น 7-8 ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH มีค่าลดลงแต่ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS มีค่าเพิ่มขึ้น และเมื่อพีเอชเพิ่มขึ้นเป็น 9 ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH มีค่าลดลง ในขณะที่ความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP เพิ่มขึ้น (Table 36)

Table 36. Effect of pH on the total phenolic contents and antioxidant properties of crude kaffir lime leaf extracts

pH	Total phenolic (g GAE /100 g dw.)	DPPH value ( $\mu$ mole TE/ g dw.)	ABTS value ( $\mu$ mole TE/ g dw.)	FRAP value ( $\mu$ mole TE/ g dw.)
2	1.25 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	14.92 $\pm$ 0.39 <sup>a</sup>	64.89 $\pm$ 3.63 <sup>b</sup>	57.57 $\pm$ 1.36 <sup>bc</sup>
5	1.01 $\pm$ 0.07 <sup>c</sup>	11.52 $\pm$ 0.27 <sup>b</sup>	50.97 $\pm$ 2.43 <sup>d</sup>	56.67 $\pm$ 2.41 <sup>bc</sup>
5.30 (origin)	1.06 $\pm$ 0.08 <sup>bc</sup>	11.73 $\pm$ 0.23 <sup>b</sup>	52.90 $\pm$ 2.49 <sup>cd</sup>	54.70 $\pm$ 1.76 <sup>c</sup>
7	1.15 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	10.53 $\pm$ 0.64 <sup>c</sup>	69.98 $\pm$ 4.78 <sup>a</sup>	59.62 $\pm$ 1.72 <sup>b</sup>
8	1.15 $\pm$ 0.12 <sup>ab</sup>	10.26 $\pm$ 0.66 <sup>cd</sup>	62.63 $\pm$ 3.22 <sup>b</sup>	58.05 $\pm$ 3.27 <sup>bc</sup>
9	1.03 $\pm$ 0.04 <sup>c</sup>	9.63 $\pm$ 0.11 <sup>d</sup>	56.19 $\pm$ 1.58 <sup>c</sup>	64.86 $\pm$ 1.81 <sup>a</sup>

Mean  $\pm$  SD from triplicate determinations

<sup>a-c</sup> means within a column with the different letters are significantly difference (p<0.05)

GAE: Gallic acid equivalent, TE: Trolox equivalent, dw: dry weight of kaffir lime leaves

### สารสกัดหยาบของเครื่องต้มข้า

ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารสกัดเครื่องต้มข้ามีแนวโน้มลดลงเมื่อพีเอชเพิ่มขึ้น (Table 37) แสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบของเครื่องต้มข้ามีความคงตัวลดลงที่พีเอชสูงๆ ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากองค์ประกอบหลักที่มีอยู่ในเครื่องต้มข้าคือ ตะไคร้ (ร้อยละ 47.42) และข้า (ร้อยละ 41.84) ไม่คงตัวที่พีเอชสูงๆ แต่ในสภาวะที่เป็นกรด สารสกัดหยาบของตะไคร้แสดงความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดี ส่วนสารสกัดหยาบของข้าแสดงความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS และให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP ได้ดี ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่า เมื่อผู้บริโภครับประทานต้มข้าที่ผ่านการปรุง ซึ่งมีรสเปรี้ยว (พีเอชอยู่ในช่วง 4.51-4.67) จะยังคงได้รับสารออกฤทธิ์ที่แสดงสมบัติการต้านออกซิเดชัน เนื่องจากความคงตัวของสารออกฤทธิ์ในสภาวะที่เป็นกรด ดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้น



Table 37. Effect of pH on the total phenolic contents and antioxidant properties of crude Tom-kha paste extracts

pH	Total phenolic (g GAE /100 g dw.)	DPPH value ( $\mu$ mole TE/ g dw.)	ABTS value ( $\mu$ mole TE/ g dw.)	FRAP value ( $\mu$ mole TE/ g dw.)
2	0.41 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	19.13 $\pm$ 0.44 <sup>a</sup>	47.28 $\pm$ 1.37 <sup>a</sup>	13.97 $\pm$ 0.74 <sup>ab</sup>
5	0.43 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	17.78 $\pm$ 0.32 <sup>b</sup>	46.24 $\pm$ 1.36 <sup>a</sup>	14.02 $\pm$ 1.28 <sup>ab</sup>
5.18 (origin)	0.43 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	17.55 $\pm$ 0.25 <sup>b</sup>	46.63 $\pm$ 0.58 <sup>a</sup>	14.68 $\pm$ 0.92 <sup>a</sup>
7	0.36 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	12.77 $\pm$ 0.93 <sup>c</sup>	38.77 $\pm$ 0.36 <sup>b</sup>	11.55 $\pm$ 0.45 <sup>c</sup>
8	0.29 $\pm$ 0.01 <sup>d</sup>	11.49 $\pm$ 0.42 <sup>d</sup>	37.20 $\pm$ 0.53 <sup>bc</sup>	10.95 $\pm$ 1.28 <sup>c</sup>
9	0.33 $\pm$ 0.022 <sup>c</sup>	10.45 $\pm$ 0.85 <sup>e</sup>	36.55 $\pm$ 2.13 <sup>c</sup>	13.02 $\pm$ 0.91 <sup>b</sup>

Mean  $\pm$  SD from triplicate determinations

<sup>a-c</sup> means within a column with the different letters are significantly difference (p<0.05)

GAE: Gallic acid equivalent, TE: Trolox equivalent, dw: dry weight of Tom-kha paste

จากการทดลองพบว่าพีเอชมีผลต่อความคงตัวของสมบัติการต้านออกซิเดชันในสารสกัดหยาบของข่า ตะไคร้ พริกขี้หนู ใบมะกรูดและเครื่องต้มยำแตกต่างกัน อาจเนื่องจากพืชแต่ละชนิดประกอบด้วยสารต้านออกซิเดชันที่แตกต่างกัน เช่น ในสารสกัดข่ามี อะซีโตนีชาวิคอลลอะซีเทต คาเทชิน พาราเคมาริลไดอะซีเทต กรดปาล์มมิติก อะซีโตนีชิวินอลอะซีเทต เบต้าไปซาโบลิน และกรดโอเลอิก (Oonmetta-aree, 2005; Mahae and Chaiseri, 2009) ในตะไคร้มีฟลาโวนอยด์ (ไอโซออเรียนทิน ไอโซสคอพาริน สเวอ์เทียจาโพนิน ไอโซออเรียนทินออโตรามโนไซด์ และออเรียนทิน) กรดคลอโรจีนิกและ กรดคาฟเฟอิก (Cheel *et al.*, 2005) สารสกัดพริกมีแคปไซซิน กรดไฮดรอกซีเมทิลเบนซีน อะซีติก กรดลิโนเลอิก กรดปาล์มมิติก กรดเพนตะเดคาโนอิก กรดปาล์มมิโตเลอิก กรดไมริสติก (Li-E *et al.*, 2008) ชินาโพลิต เพอร์รูโลอิดไกลโคไซด์ (Materska and Perucka, 2005) แคโรทีนอยด์ (เบต้าคริปโตแซนธิน อัลฟาแคโรทีน เบต้าแคโรทีน ซีแซนธิน แคปแซนธิน) (Howard *et al.*, 2000) ฟลาโวนอยด์ (ไมริซีทิน เคอร์ซีทิน ลูทีโอลินและ อะพิจินิน) (Miean and Mohamed, 2001; Materska *et al.*, 2003) วิตามินซีและอี (Howard *et al.*, 2000; Ching and Mohamed, 2001) สารประกอบเอสเทอร์ของกรดฟีนอลิก (กรดทรานฟีรูลิกและ เอสเทอร์ของกรดทรานชินาพิค) ใบมะกรูดมีฟลาโวนอยด์ ได้แก่ ฟลาโวนไกลโคไซด์ ได้แก่

นาริรุทินกลูโคไซด์ อิริซีทริน นิโออิริโอซิทริน นาริรุทิน เฮสเพอร์รีดิน นิโอเฮสเพอร์รีดิน และคิโคมิน และ ฟลาโวน/ออกไลกลโคไซด์ ได้แก่ รุทิน (Berhow *et al.*, 1996) และเบต้าแคโรทีน (Siripongvutikom *et al.*, 2005) ส่งผลให้สารสกัดมีสมบัติการต้านออกซิเดชันที่แตกต่างกัน (Arabshahi-Delouee *et al.*, 2007)

## 5. การพัฒนาสูตรเครื่องดื่มข่าให้มีสมบัติต้านออกซิเดชันสูง

จากการทดลองในขั้นตอนที่ 2, 3 และ 4 พบว่าข่าและพริกขี้หนูเป็นองค์ประกอบในเครื่องดื่มข่าที่มีสมบัติการต้านออกซิเดชันสูงและมีความคงตัวต่ออนุมูลอิสระและเวลาในการให้ความร้อนและพืเอช ดังนั้นจึงเลือกข่าและพริกขี้หนูมาใช้ในการพัฒนาสูตรเครื่องดื่มข่า

### 5.1 การศึกษาอัตราส่วนของข่าและพริกขี้หนูในเครื่องดื่มข่า

เมื่อนำเครื่องดื่มข่าที่ได้รับการคัดเลือกจากตอนที่ 1 มาศึกษาอัตราส่วนของข่าและพริกขี้หนู โดยใช้ชุดการทดลองแบบ augmented simplex-lattice (Montgomery, 2001) ได้สูตรการทดลองทั้งหมด 5 สูตร โดยเป็นสูตรที่ซ้ำกัน 3 สูตร รวมทั้งหมด 8 สูตร (Table 11) นำสูตรที่ได้ทั้งหมดมาทำเป็นเครื่องดื่มข่า แล้วปรุงเป็นเครื่องดื่มข่า (วิธีการเตรียมแสดงดัง Figure 22) ก่อนนำไปทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส โดยวิธี 9-point hedonic scale ในด้านลักษณะปรากฏ สี ความหนืด กลิ่นเครื่องเทศ รสชาติและความชอบรวม พบว่าผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบน้ำข่าดื่มข่าข่าในด้านกลิ่นเครื่องเทศ รสชาติและความชอบรวมแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) (Table 38) โดยสูตรที่มีปริมาณพริกขี้หนูเป็นองค์ประกอบสูง (สูตรที่ 4 และ 5 มีพริกขี้หนูเป็นองค์ประกอบในสูตรร้อยละ 30) มีคะแนนการยอมรับในด้านของรสชาติและความชอบรวมต่ำกว่าสูตรที่มีปริมาณพริกขี้หนูน้อย (ปริมาณพริกขี้หนูในสูตรเรียงจากมากไปน้อยได้ดังนี้ สูตรที่ 4, 5 > 8 > 2, 7 > 3 > 1, 6) เนื่องจากในพริกขี้หนูมีแคปไซซินอยด์ ซึ่งเป็นสารที่ทำให้เกิดความเผ็ดร้อน ส่งผลให้สูตรที่มีปริมาณของพริกขี้หนูสูง มีความเผ็ดร้อนมากกว่าสูตรที่มีพริกขี้หนูน้อย อย่างไรก็ตามพบว่าเมื่อปริมาณของพริกขี้หนูเพิ่มขึ้น ผู้ทดสอบมีแนวโน้มในการให้คะแนนความชอบในด้านลักษณะปรากฏและสีเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากในพริกขี้หนูมีสารประกอบแคโรทีนอยด์ ได้แก่ แคปแซนธิน แคปซอร์รูบิน และแซนโทฟิลล์ (สีแดง) และเบต้าแคโรทีน แคโรทีน และซีแซนธิน (สีเหลืองส้ม) (Ittah *et al.*, 1993; Berke and Shieh, 2001) ซึ่งเป็นสารให้สีเหลืองแดง และสีดังกล่าวสามารถดึงดูดความสนใจของผู้บริโภคได้ดี (Schroder, 2003) นอกจากนี้พบว่าสูตรที่ 1 ซึ่งเป็นสูตรที่มีปริมาณข่าสูงสุด (ร้อยละ 45) มีคะแนนการยอมรับในด้านกลิ่นเครื่องเทศต่ำที่สุด เนื่องจากในข่ามีสารให้กลิ่นรสจืดตามที่กล่าวมาแล้วข้างต้น

Table 38. Sensory score of shrimp Tom-kha soup prepared from different Tom-kha paste formula evaluated with 30 panelist by 9-point hedonic scale

Formulation <sup>†</sup>	Attributes					
	Appearance	Color	Viscosity	Spices odor	Taste	Overall liking
1*	6.97 ± 1.25 <sup>a</sup>	7.13 ± 1.11 <sup>a</sup>	7.00 ± 0.98 <sup>a</sup>	6.87 ± 1.11 <sup>b</sup>	7.17 ± 0.87 <sup>ab</sup>	7.00 ± 0.87 <sup>ab</sup>
2**	7.40 ± 1.07 <sup>a</sup>	7.37 ± 1.03 <sup>a</sup>	7.27 ± 8.28 <sup>a</sup>	7.20 ± 0.85 <sup>ab</sup>	7.23 ± 1.01 <sup>ab</sup>	7.27 ± 0.87 <sup>ab</sup>
3	7.17 ± 1.05 <sup>a</sup>	7.30 ± 0.92 <sup>a</sup>	7.37 ± 0.85 <sup>a</sup>	7.40 ± 1.19 <sup>ab</sup>	6.93 ± 1.23 <sup>abc</sup>	7.15 ± 0.92 <sup>ab</sup>
4***	7.47 ± 0.94 <sup>a</sup>	7.57 ± 0.82 <sup>a</sup>	7.43 ± 1.17 <sup>a</sup>	7.40 ± 1.19 <sup>ab</sup>	6.27 ± 1.78 <sup>c</sup>	6.77 ± 1.48 <sup>ab</sup>
5***	7.57 ± 0.86 <sup>a</sup>	7.43 ± 1.10 <sup>a</sup>	6.87 ± 1.28 <sup>a</sup>	7.27 ± 1.31 <sup>ab</sup>	6.50 ± 1.87 <sup>bc</sup>	6.67 ± 1.69 <sup>b</sup>
6*	7.10 ± 1.00 <sup>a</sup>	7.30 ± 0.88 <sup>a</sup>	7.13 ± 0.97 <sup>a</sup>	7.23 ± 0.90 <sup>ab</sup>	6.90 ± 1.19 <sup>abc</sup>	6.93 ± 1.12 <sup>ab</sup>
7**	7.40 ± 1.10 <sup>a</sup>	7.17 ± 1.15 <sup>a</sup>	7.27 ± 0.83 <sup>a</sup>	7.23 ± 0.82 <sup>ab</sup>	7.47 ± 0.82 <sup>a</sup>	7.43 ± 0.90 <sup>a</sup>
8	7.43 ± 1.04 <sup>a</sup>	7.40 ± 1.00 <sup>a</sup>	7.10 ± 1.00 <sup>a</sup>	7.50 ± 1.04 <sup>a</sup>	6.67 ± 1.77 <sup>bc</sup>	6.77 ± 1.50 <sup>ab</sup>

<sup>a-c</sup>, means within a column with the different letters are significantly difference (p<0.05)

\*, \*\*, \*\*\* Repeated formula

<sup>†</sup> Ingredient component (%) in each formulation was showed in table 11

เมื่อนำเครื่องต้มฆ่า 5 สูตร โดยเป็นสูตรที่ซ้ำกัน 3 สูตร รวมทั้งหมด 8 สูตร ไปวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชัน พบว่าเมื่อปริมาณฆ่าเพิ่มขึ้น ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) (Table 39) แต่ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS ลดลง สอดคล้องกับการทดลองในขั้นตอนที่ 1 ซึ่งพบว่าสารสกัดหยาบของฆ่าด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP สูงกว่าสารสกัดหยาบของพริกชี้หนู แต่มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS ต่ำกว่า โดยปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP ของสารสกัดหยาบของฆ่า มีค่าเท่ากับ  $2.21 \pm 0.06$  กรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมของฆ่าแห้ง  $59.26 \pm 4.47$  ไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของฆ่าแห้ง  $198.68 \pm 8.90$  ไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของฆ่าแห้ง และ  $126.35 \pm 7.60$  ไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของฆ่าแห้ง ตามลำดับ ส่วนสารสกัดหยาบของพริกชี้หนู มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP เท่ากับ  $1.68 \pm 0.07$  กรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมของพริกชี้หนูแห้ง  $53.21 \pm 1.55$  ไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของพริกชี้หนูแห้ง  $211.33 \pm 3.33$  ไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของพริกชี้หนูแห้ง และ  $63.17 \pm 4.25$  ไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของพริกชี้หนูแห้ง ตามลำดับ

Table 39. The total phenolic contents and antioxidant properties of various Tom-kha paste formulas

Formulation <sup>†</sup>	Total phenolic (g GAE/ 100 g dw.)	DPPH value ( $\mu$ mole TE/ g dw.)	ABTS value ( $\mu$ mole TE/ g dw.)	FRAP value ( $\mu$ mole TE/ g dw.)
1*	0.64 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>	17.68 $\pm$ 1.37 <sup>b</sup>	66.98 $\pm$ 2.68 <sup>b</sup>	27.56 $\pm$ 0.98 <sup>a</sup>
2**	0.55 $\pm$ 0.03 <sup>c</sup>	13.82 $\pm$ 0.36 <sup>dc</sup>	51.81 $\pm$ 1.61 <sup>c</sup>	26.13 $\pm$ 4.11 <sup>a</sup>
3	0.66 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	19.15 $\pm$ 0.92 <sup>a</sup>	58.32 $\pm$ 1.44 <sup>cd</sup>	24.69 $\pm$ 1.33 <sup>a</sup>
4***	0.46 $\pm$ 0.07 <sup>d</sup>	12.71 $\pm$ 0.31 <sup>c</sup>	114.01 $\pm$ 3.79 <sup>a</sup>	11.82 $\pm$ 1.02 <sup>c</sup>
5***	0.47 $\pm$ 0.02 <sup>d</sup>	12.45 $\pm$ 0.24 <sup>c</sup>	112.78 $\pm$ 5.28 <sup>a</sup>	12.85 $\pm$ 0.15 <sup>bc</sup>
6*	0.59 $\pm$ 0.04 <sup>bc</sup>	17.39 $\pm$ 0.52 <sup>b</sup>	58.98 $\pm$ 2.44 <sup>cd</sup>	25.18 $\pm$ 2.61 <sup>a</sup>
7**	0.59 $\pm$ 0.03 <sup>bc</sup>	15.48 $\pm$ 0.45 <sup>c</sup>	54.66 $\pm$ 2.73 <sup>de</sup>	25.43 $\pm$ 3.51 <sup>a</sup>
8	0.48 $\pm$ 0.03 <sup>d</sup>	14.41 $\pm$ 1.27 <sup>cd</sup>	61.66 $\pm$ 2.11 <sup>c</sup>	15.83 $\pm$ 0.69 <sup>b</sup>

<sup>a-e</sup> means within a column with the different letters are significantly difference (p<0.05)

Mean  $\pm$  SD from hexaplicate determinations

\*, \*\*, \*\*\* Repeated formula

<sup>†</sup> Ingredient component (%) in each formulation was showed in table 11

GAE: Gallic acid equivalent, TE: Trolox equivalent, dw: dry weight of Tom-kha paste

## 5.2 การคัดเลือกสูตรที่เหมาะสม

เมื่อใช้โปรแกรม Design Expert version 7.0.3 (Stat-Ease, Inc., MN, USA) สร้างสมการแบบพหุนามจำลองและแผนภูมิคอนทัวร์ ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ของอัตราส่วนของชาและพริกชี้หนูที่ใช้เป็นส่วนผสมของเครื่องต้มชาที่มีผลต่อการยอมรับทางประสาทสัมผัสในด้านลักษณะปรากฏ สี ความขุ่นหนืด กลิ่นเครื่องเทศ รสชาติและความชอบรวมของน้ำชูปดต้มชาทั้งและปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันในรูปของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP ของสารสกัดชาของเครื่องต้มชาด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 ได้สมการจำลองดังแสดงใน Table 40 และแผนภูมิคอนทัวร์ในแต่ละปัจจัยดัง Figure 35-41 ซึ่งจะเห็นว่าสมการจำลองของลักษณะปรากฏ สี ความขุ่นหนืด กลิ่นเครื่องเทศ ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH เป็นแบบพหุนามเส้นตรง (Linear model) ส่วนสมการจำลองของ

รสนชาติ ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP เป็นแบบพหุนกำลังสอง (Quadratic model) และสมการจำลองของความชอบรวมเป็นแบบพหุนกำลังสาม (Cubic model) ซึ่งมีค่าสหสัมพันธ์ ( $R^2$ ) อยู่ในช่วง 0.0011-0.9553 และสมการจำลองคุณลักษณะทางด้านลักษณะปรากฏ สี ความหนืด กลิ่นเครื่องเทศ รสนชาติ ความชอบรวม ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP มีความเหมาะสม (Lack of fit,  $p \geq 0.05$ ) แต่พบว่าข้าวและพริกชี้หนูไม่มีอิทธิพลต่อความหนืดและกลิ่นเครื่องเทศของน้ำซุปลดต้มข้าวกุ้ง ( $p \geq 0.05$ ) ค่าสี ความหนืดและกลิ่นเครื่องเทศมีค่าสหสัมพันธ์ ( $R^2$ ) น้อยกว่า 0.75 ดังนั้นสมการดังกล่าวจึงไม่เหมาะในการนำมาคาดคะเน โดยทั่วไปสมการที่มักนำไปใช้ควรมีค่าสหสัมพันธ์อย่างน้อยเท่ากับ 0.75 (Hu, 1999) ดังนั้นในการทดลองนี้จึงนำสมการจำลองเฉพาะคุณลักษณะทางด้านลักษณะปรากฏ รสนชาติ ความชอบรวม ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP มาใช้ในการคำนวณค่าตอบสนอง

เมื่อพิจารณาสมการจำลองในปัจจัยด้านคะแนนความชอบด้านลักษณะปรากฏพบว่าปริมาณของพริกชี้หนูมีผลให้ค่าตอบสนองด้านลักษณะปรากฏสูงกว่าข้าว (ค่าสัมประสิทธิ์ของพริกชี้หนูในสมการจำลองค่าตอบสนองด้านลักษณะปรากฏมีค่าสูงกว่าข้าว โดยค่าสัมประสิทธิ์ของพริกชี้หนูและข้าวมีค่าเท่ากับ 7.56 และ 7.07 ตามลำดับ) หรืออาจกล่าวได้ว่าพริกชี้หนูมีผลในทางที่ดีเนื่องจากมีผลทำให้ตัวอย่างมีลักษณะปรากฏที่ดี ในทางกลับกันพบว่าข้าวมีผลให้ค่าตอบสนองด้านรสนชาติและความชอบรวมสูงกว่าพริกชี้หนู และพบว่าอิทธิพลร่วมของข้าวและพริกชี้หนูส่งผลให้ค่าตอบสนองในด้านรสนชาติและความชอบรวมสูงขึ้น

Table 40. The predictive regression models and goodness-of-fit for sensory score of shrimp Tom-kha soup, total phenolic contents and antioxidant properties of Tom-kha paste with different galangal and chili content

Parameter	Regression models	R <sup>2</sup>	Probability of model	Lack of fit (p)
Appearance <sup>a</sup>	7.07G+7.56C	0.8875	0.0005	0.3666
Color <sup>a</sup>	7.20G+7.47C	0.6042	0.0232	0.8480
Viscosity <sup>a</sup>	7.17G+7.19C	0.0011	0.9384	0.6953
Spices odor <sup>a</sup>	7.12G+7.40C	0.3358	0.1322	0.4191
Taste <sup>a</sup>	7.00G+6.36C+1.95GC	0.7453	0.0327	0.1830
Overall linking <sup>a</sup>	6.97G+6.73C+2.13GC-2.15(GC)(G-C)	0.9553	0.0037	0.4291
Total phenolic <sup>b</sup>	0.64G+0.47C	0.7934	0.0030	0.1831
DPPH <sup>b</sup>	18.12G+12.66C	0.7859	0.0034	0.1025
ABTS <sup>b</sup>	65.25G+110.81C-142.92GC	0.9450	0.0007	0.0551
FRAP <sup>b</sup>	26.27G+11.82C+19.57GC	0.9181	0.0019	0.0571

Remark: G; galangal and C; chili, *p*; probability level

<sup>a</sup> n = 30 panelists and <sup>b</sup> n = 6 samples

เมื่อพิจารณาสมการจำลองในปัจจัยด้านปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันในรูปของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP พบว่าปริมาณของข่ามีผลให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP สูงกว่าพริกขี้หนู แต่มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS ต่ำกว่า และพบว่าอิทธิพลร่วมของข่าและพริกขี้หนูส่งผลให้ความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP สูงขึ้น แต่ทำให้ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS ลดลง

การคัดเลือกอัตราส่วนของข่าและพริกขี้หนูจึงพิจารณาจากค่าตอบสนองด้านลักษณะปรากฏ รสชาติและความชอบรวมที่มีคะแนนมากกว่าหรือเท่ากับ 7 และทำให้เครื่องต้มข่ามีค่าตอบสนองในด้านปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันในรูปของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP สูงที่สุด ซึ่งสูตรการทดลองที่เหมาะสมที่สุดจากโปรแกรม Design

Expert version 7.0.3 คือสูตรที่ประกอบด้วยข่าและพริกชี้หนูในอัตราส่วนเท่ากับร้อยละ 82.86 และ 17.14 ตามลำดับ (Figure 35-41) หรือเป็นสูตรเครื่องต้มยำที่ประกอบด้วยข่า ตะไคร้ พริกชี้หนู และใบมะกรูดเท่ากับร้อยละ 41.43, 47.00, 8.57 และ 3.00 ตามลำดับ

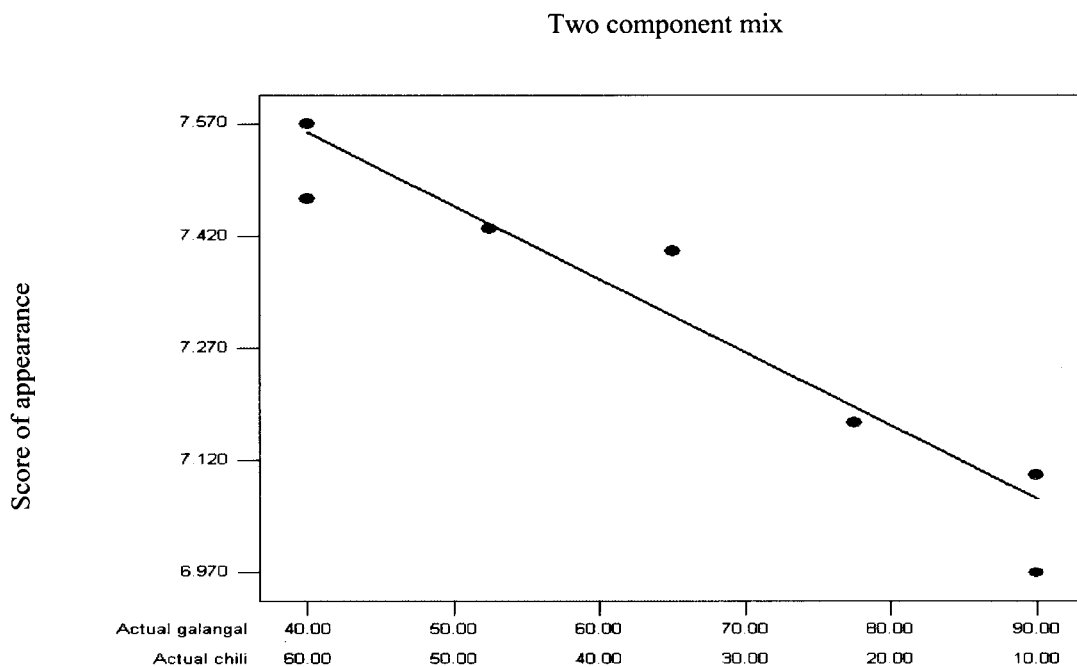


Figure 35. Contour plot of predicted appearance scores of shrimp Tom-kha soup with different galangal and chili contents

Remark: each plot came from  $n = 30$  panelists



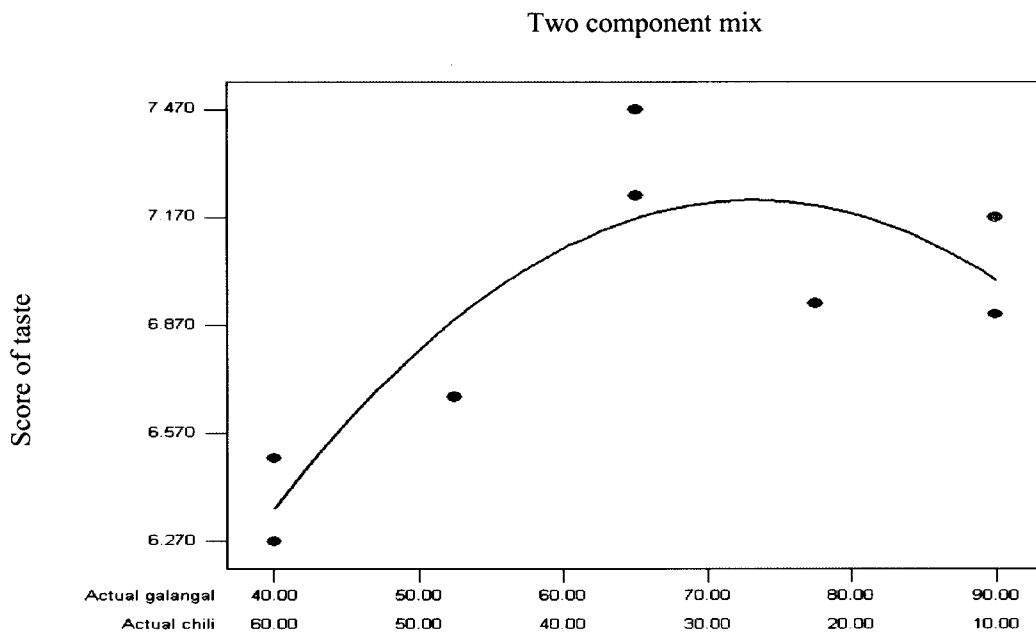


Figure 36. Contour plot of predicted taste scores of shrimp Tom-kha soup with different galangal and chili contents

Remark: each plot came from n = 30 panelists

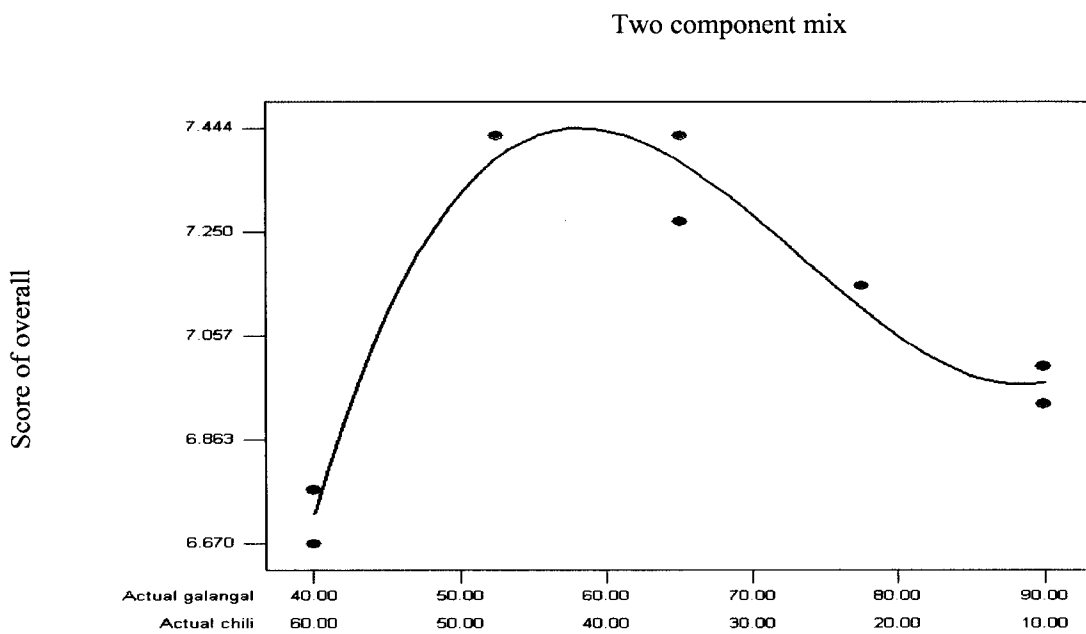


Figure 37. Contour plot of predicted overall scores of shrimp Tom-kha soup with different galangal and chili contents

Remark: each plot came from n = 30 panelists

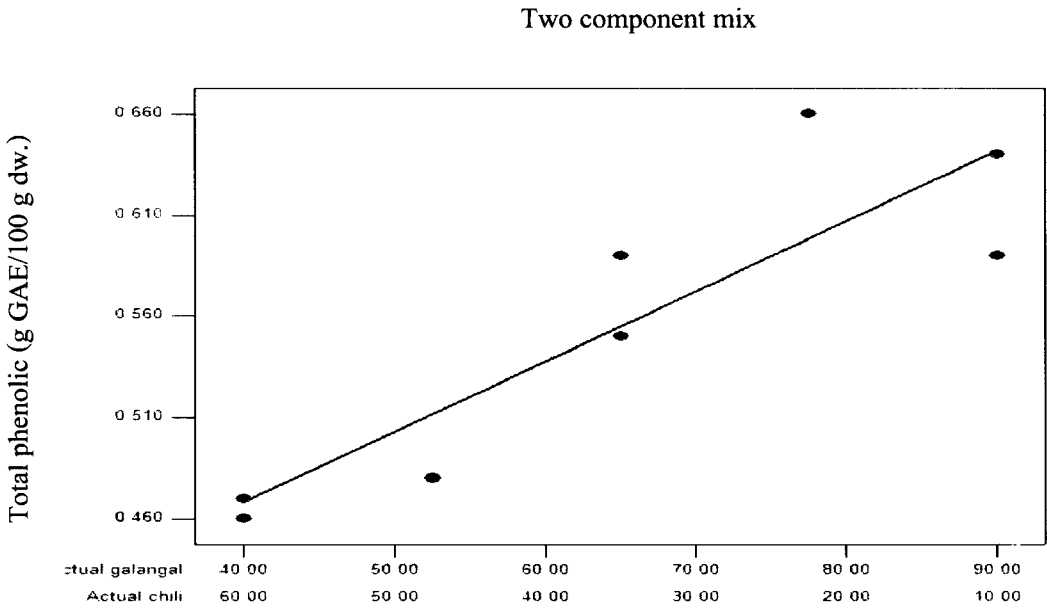


Figure 38. Contour plot of predicted total phenolic contents of crude Tom-kha paste extracts with different galangal and chili contents

Remark: each plot came from n = 6 samples

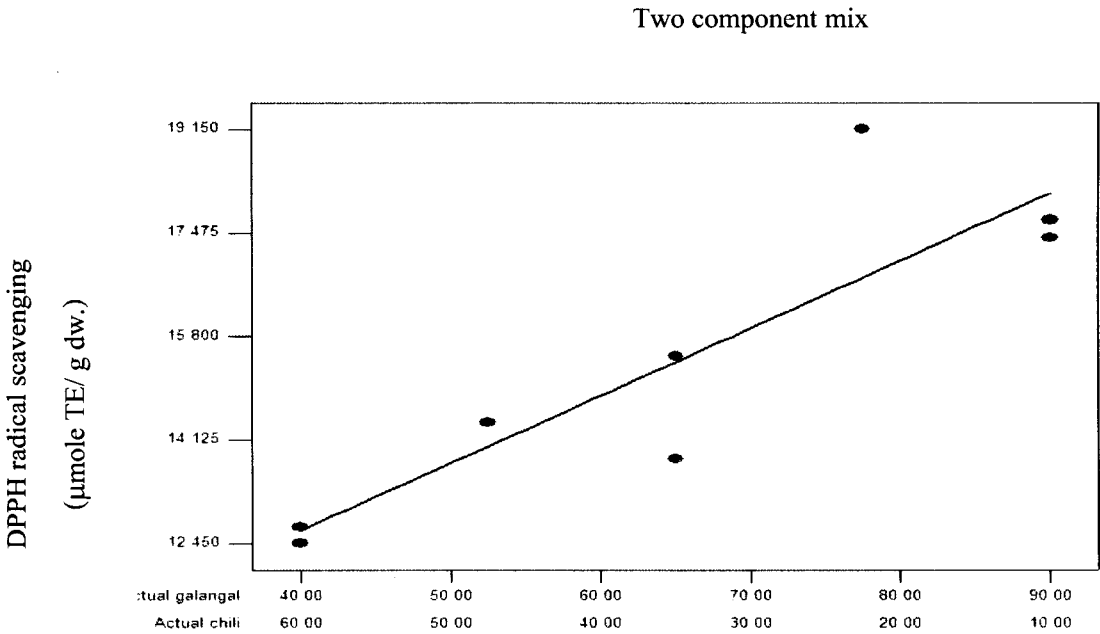


Figure 39. Contour plot of predicted DPPH radical scavenging of crude Tom-kha paste extracts with different galangal and chili contents

Remark: each plot came from n = 6 samples

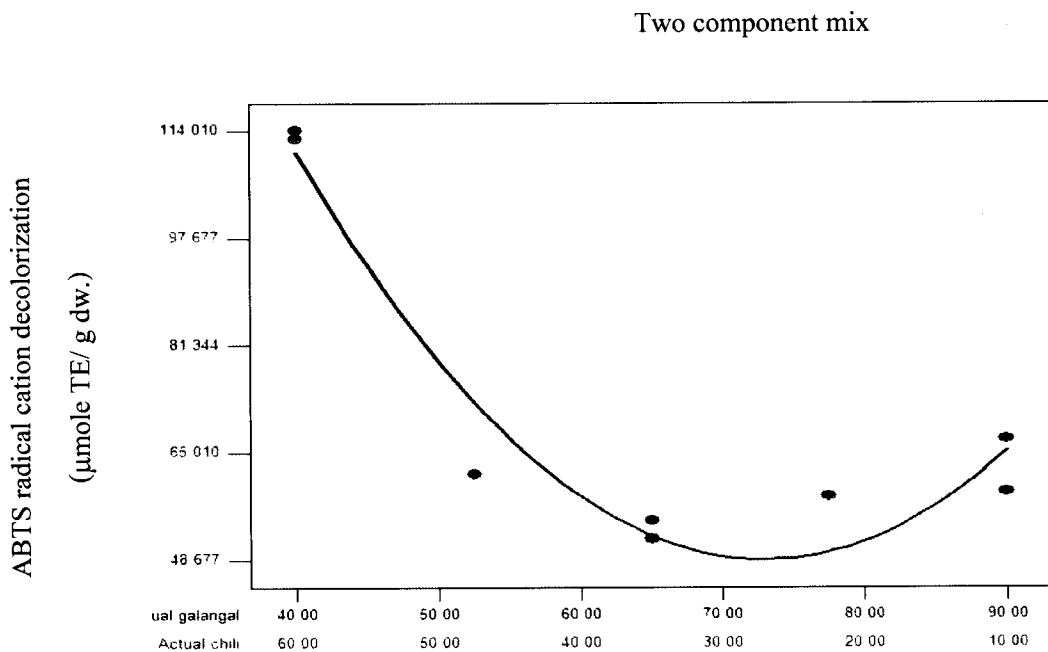


Figure 40. Contour plot of predicted ABTS radical cation decolorization of crude Tom-kha paste extracts with different galangal and chili contents

Remark: each plot came from n = 6 samples

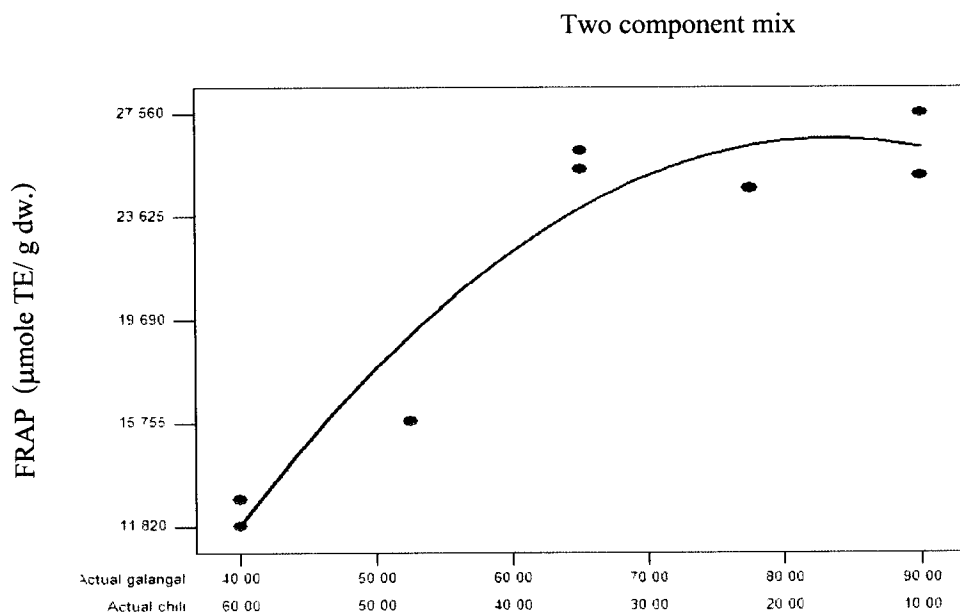


Figure 41. Contour plot of predicted FRAP of crude Tom-kha paste extracts with different galangal and chili contents

Remark: each plot came from n = 6 samples

คุณสมบัติทางกายภาพ เคมีและจุลินทรีย์ของเครื่องดัมข่าแสดงดัง Table 41 จากการทดลองพบว่าเครื่องดัมข่าเป็นเครื่องแกงที่มีสีแดงเหลือง มีพีเอชเท่ากับ  $4.53 \pm 0.006$  ซึ่งจัดว่าเป็นอาหารที่เป็นกรดต่ำ มี  $a_w$  ความชื้นและใยอาหารสูง มีค่าเท่ากับ  $0.992 \pm 0.001$  ร้อยละ  $86.91 \pm 0.23$  และร้อยละ  $2.75 \pm 0.02$  ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่าในเครื่องดัมข่าประกอบด้วยสารประกอบฟีนอลิกและมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS และให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP อย่างไรก็ตามพบว่าเครื่องดัมข่ามีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง เริ่มต้นอยู่ที่  $10^4$  โคโลนีต่อกรัมของตัวอย่าง เนื่องจากข่า ตะไคร้ พริกชี้หนู และใบมะกรูด เป็นแหล่งของจุลินทรีย์ (Siripongvutikom *et al.*, 2005) สอดคล้องกับการทดลองของ นุชรี ชาติวังสกุล (2552) ซึ่งรายงานว่ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ชอบอุณหภูมิปานกลางในข่า ตะไคร้ พริกชี้หนู และใบมะกรูด อยู่ในช่วง  $4.4 \times 10^2 - 6.2 \times 10^4$ ,  $2.65 \times 10^3 - 2.96 \times 10^5$ ,  $2.02 \times 10^3 - 2.30 \times 10^5$  และ  $3.10 \times 10^3 - 3.60 \times 10^4$  โคโลนีต่อกรัมของตัวอย่าง นอกจากนี้พบว่าตะไคร้มีความถี่ของการพบจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ชอบอุณหภูมิปานกลางในปริมาณสูง ( $> 10^5$  โคโลนีต่อกรัมของตัวอย่าง) ทั้งนี้อาจเนื่องจากส่วนที่ใช้ประโยชน์ของตะไคร้มีการสัมผัสกับวัสดุปลูกโดยตรง และมีลักษณะของกาบใบที่ซ้อนทับกัน ซึ่งยากแก่การทำความสะอาด

Table 41. Physical, chemical, antioxidant properties and microbiological quality of Tom-kha paste

Properties/microbial	values
<b>Color</b>	
L*	54.76 ± 1.35
a*	6.30 ± 0.82
b*	28.70 ± 0.71
C*	29.39 ± 0.68
H°	77.63 ± 1.64
pH	4.53 ± 0.006
$a_w$	0.992 ± 0.001
Moisture (%)	86.91 ± 0.23
Fiber (%)	2.75 ± 0.02
Total phenolic (g GAE/100 g dw.)	0.60 ± 0.04
DPPH radical scavenging (μmole TE/g dw.)	14.61 ± 2.09
ABTS radical cation decolorization (μmole TE/g dw.)	63.60 ± 4.35
FRAP (μmole TE/g dw.)	23.77 ± 2.35
<b>Microbial</b>	
Mesophile (cfu/g)	1.04x10 <sup>4</sup>
Psychrophile (cfu/g)	<30
Lactic acid bacteria (cfu/g)	1.78x10 <sup>3</sup>
Yeast & Mold (cfu/g)	ND
Coliform (MPN/g)	<6.1
<i>E. coli</i> (MPN/g)	ND
<i>S. aureus</i> (cfu/g)	ND
<i>B. cereus</i> (cfu/g)	ND
<i>C. perfringens</i> (cfu/0.001 g)	ND

Remark: ND = not detected

GAE: Gallic acid equivalent, TE: Trolox equivalent, dw: dry weight of Tom-kha paste

## 6. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเครื่องต้มฆ่าในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $4 \pm 2$ °ซ และ อุณหภูมิห้อง ( $29 \pm 2$ °ซ)

การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเครื่องต้มฆ่าและเครื่องต้มฆ่าเดิมเกลือร้อยละ 8 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $4 \pm 2$  °ซ และอุณหภูมิห้อง ( $29 \pm 2$  °ซ) พบว่า

### 6.1 ค่าสี

การเก็บรักษาเครื่องต้มฆ่าทั้งที่ไม่เติมเกลือและเติมเกลือร้อยละ 8 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) บรรจุในถุง LDPE ในสภาวะสุญญากาศ ที่อุณหภูมิ  $4 \pm 2$  °ซ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าเครื่องต้มฆ่ามีค่า  $L^*$  เพิ่มขึ้นเล็กน้อย (Figure 42) ในขณะที่ค่า  $a^*$  และ  $b^*$  ลดลง (Figure 43, 44) ซึ่งแสดงว่าเครื่องต้มฆ่ามีสีซีดจางลง และเมื่อพิจารณาค่าเฉดสี พบว่าเฉดสีมีค่าอยู่ในช่วง 71.51-73.62 ซึ่งเข้าใกล้สีเหลืองมากขึ้น ( $H^\circ$ , 0 = สีแดง, 90 = สีเหลือง) (Figure 44) ซึ่งอาจเนื่องมาจากการสลายตัวของแคโรทีนอยด์ที่เป็นองค์ประกอบในพริกชี้หนู ซึ่งปกติมีสีแดง ส้ม โดยการสลายตัวของแคโรทีนอยด์ในการทดลองนี้อาจเกิดจาก (1) การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของแคโรทีนอยด์ตรงตำแหน่งที่เป็นพันธะคู่แบบคอนจูเกตของโครงสร้าง (2) การเกิดปฏิกิริยาไอโซเมอไรเซชัน โดยกรดหรือแสง (3) การทำงานของเอนไซม์ไลพอกซีจีเนสซึ่งเป็นเอนไซม์ที่พบในพืชและทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของแคโรทีนอยด์ โดยเอนไซม์ไลพอกซีจีเนสจะเร่งให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันไม่อิ่มตัว ได้แก่ กรดลิโนเลอิกและลิโนเลนิก (Orhan *et al.*, 2002; Li-E *et al.*, 2008) ที่เป็นองค์ประกอบในเครื่องต้มฆ่าทำให้เกิดเพอร์ออกไซด์และเพอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นจะทำปฏิกิริยากับแคโรทีนอยด์ (Figure 10) ทำให้แคโรทีนอยด์สีจางลง (Elbe, 1996; Kidmose *et al.*, 2000; Sikorski and Haard, 2007) นอกจากนี้สีที่เปลี่ยนไปอาจเกิดจากการทำงานของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส

เครื่องต้มฆ่าไม่เติมเกลือเกิดการเปลี่ยนแปลงในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องในช่วง 1-7 วันแรก โดยมีการบวมของถุงที่ใช้บรรจุ ทั้งนี้อาจเนื่องจากการเจริญของแบคทีเรียแลคติกชนิด heterofermentative ซึ่งสามารถสร้างกรดและก๊าซ ในขณะที่เครื่องต้มฆ่าเดิมเกลือร้อยละ 8 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) สามารถเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง โดยไม่มีปัญหาการบวมของถุงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ อย่างไรก็ตามพบว่าการเก็บเครื่องต้มฆ่าเดิมเกลือร้อยละ 8 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) ที่อุณหภูมิห้อง ทำให้ค่า  $L^*$  (Figure 42) และ  $b^*$  (Figure 44) มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ค่า  $a^*$  (Figure 43) มีค่าเพิ่มขึ้น และค่าเฉดสีมีค่าลดลง (Figure 45) ซึ่งอาจเนื่องมาจากการทำงานของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส ได้แก่ โมนาฟีนอลออกซิเดส

(monophenol oxidase) และไดฟีนอลออกซิเดส (diphenol oxidase) ซึ่งทำงานได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 30-40°C (Concellon *et al.*, 2004) โดยในสถานะที่มีออกซิเจนโมโนฟีนอลออกซิเดส จะเร่งปฏิกิริยาไฮดรอกซิเลชัน ไปยังตำแหน่งอโตซึ่งอยู่ติดกับหมู่ไฮดรอกซิลของโมโนฟีนอลเป็นอโตไดฟีนอล และต่อมาเอนไซม์ไดฟีนอลออกซิเดสจะเร่งให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของอโตไดฟีนอลเป็นอโตควิโนน (สุทรวัดน์ เบญจกุล, 2548; Lamikanra, 2002; Concellon *et al.*, 2004) ออโตควิโนนเป็นสารที่ไม่เสถียรและสามารถทำปฏิกิริยาโพลีเมอไรเซชัน (polymerization) กับกรดอะมิโนหรือโปรตีนทำให้เกิดเมลานิน ซึ่งเป็นรงควัตถุสีน้ำตาล (Duangmal and Apenten, 1999; Lamikanra, 2002; Concellon *et al.*, 2004) นอกจากนี้อโตควิโนนที่เกิดขึ้นสามารถทำปฏิกิริยากับสารประกอบฟีนอลิกเกิดเป็นสารประกอบใหม่ที่มีสีเข้ม (ปราณี อานเป็รื่อง, 2543)

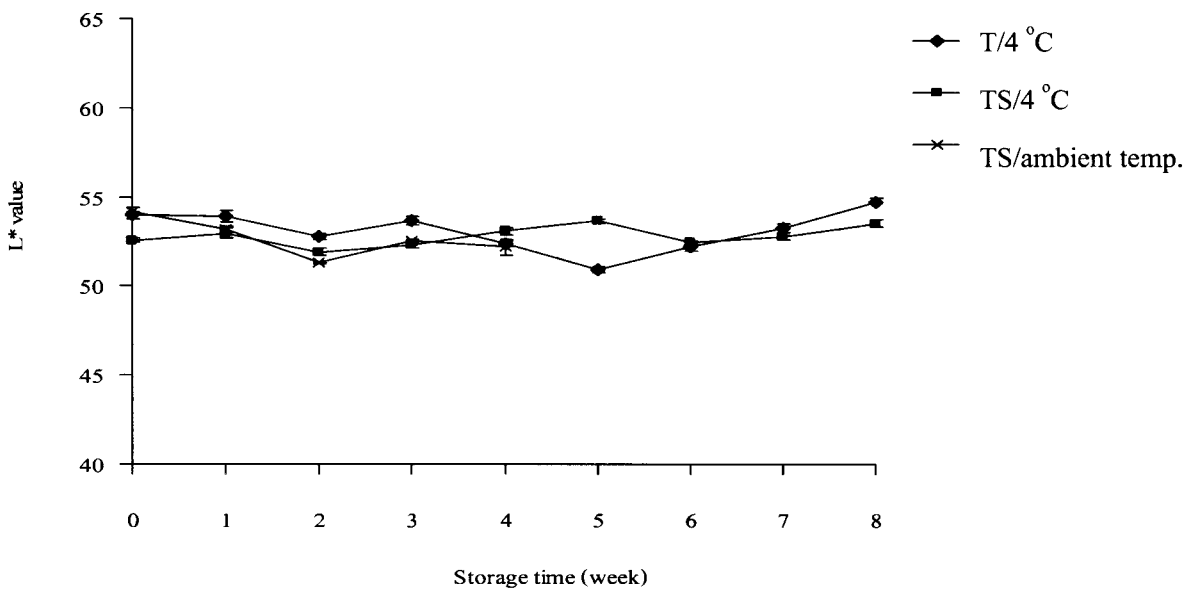


Figure 42. Changes in L\* values of Tom-kha paste with and without added salt during storage at  $4 \pm 2^\circ\text{C}$  and ambient temperature ( $29 \pm 2^\circ\text{C}$ )

Remark: T = Tom-kha without added salt, TS = Tom-kha with added salt

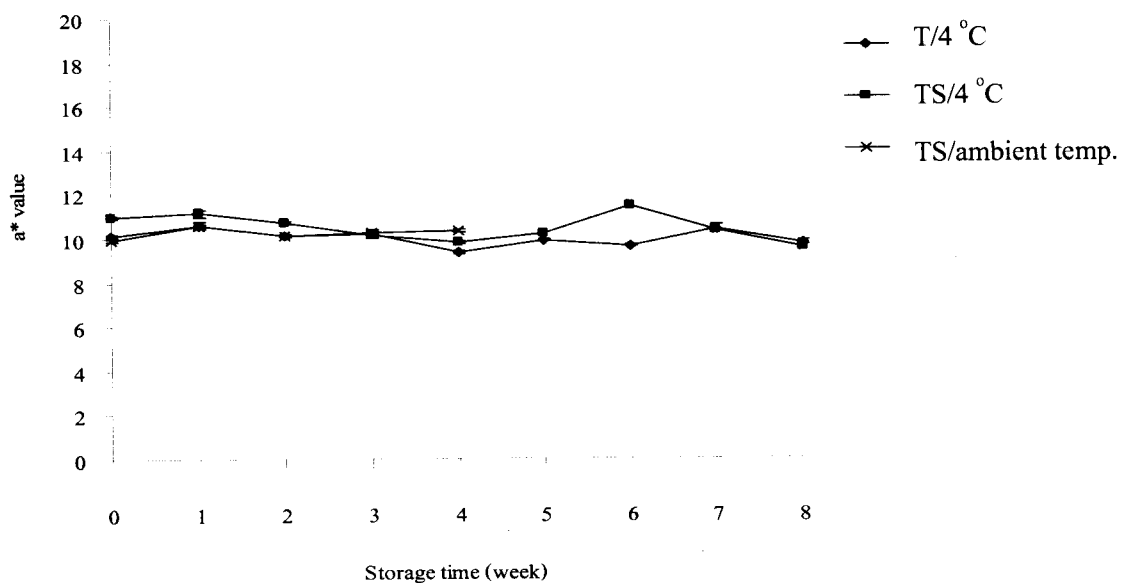


Figure 43. Changes in  $a^*$  values of Tom-kha paste with and without added salt during storage at  $4 \pm 2$  °C and ambient temperature ( $29 \pm 2$  °C)

Remark: T = Tom-kha without added salt, TS = Tom-kha with added salt

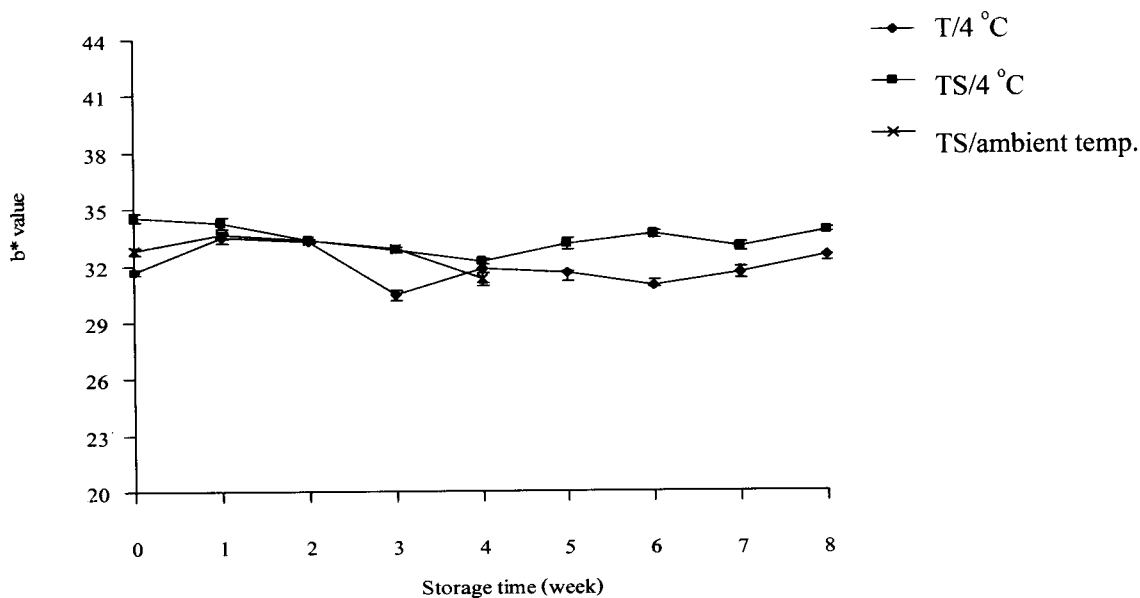


Figure 44. Changes in  $b^*$  values of Tom-kha paste with and without added salt during storage at  $4 \pm 2$  °C and ambient temperature ( $29 \pm 2$  °C)

Remark: T = Tom-kha without added salt, TS = Tom-kha with added salt



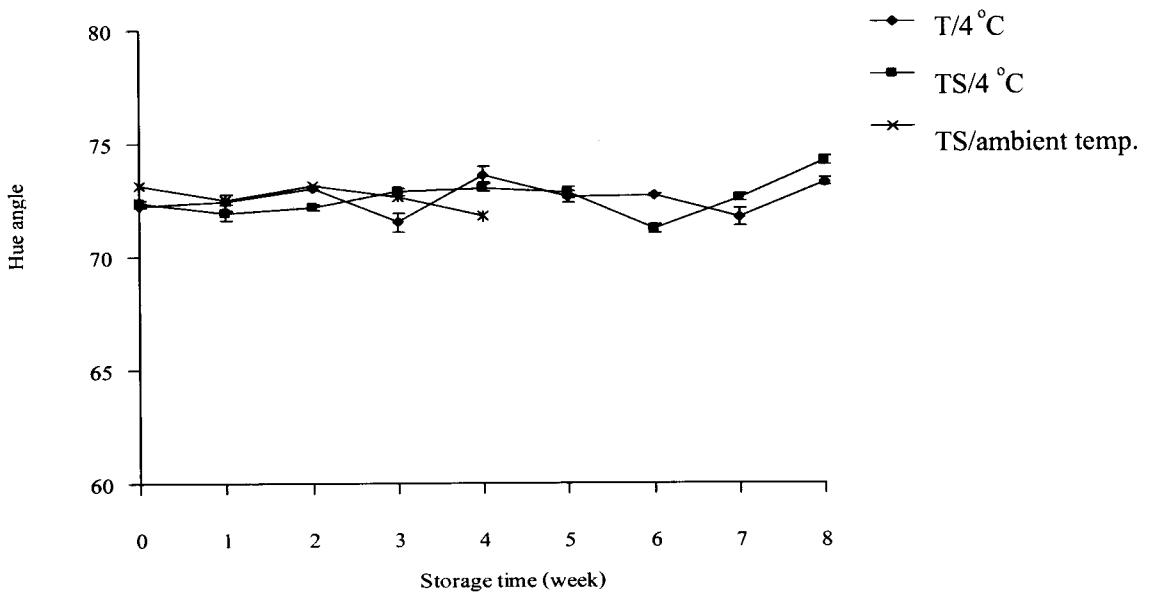


Figure 45. Changes in Hue angle values of Tom-kha paste with and without added salt during storage at  $4 \pm 2^\circ\text{C}$  and ambient temperature ( $29 \pm 2^\circ\text{C}$ )

Remark: T = Tom-kha without added salt, TS = Tom-kha with added salt

## 6.2 พีเอช

การเก็บรักษาเครื่องดัมข่าทั้งที่ไม่เติมและเติมเกลือร้อยละ 8 ที่อุณหภูมิ  $4 \pm 2^\circ\text{C}$  เป็นเวลา 8 สัปดาห์พบว่าเครื่องดัมข่ามีพีเอชค่อนข้างคงที่ (Figure 46) แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิต่ำช่วยควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์และการเกิดปฏิกิริยาเคมีได้ดี

การเก็บรักษาเครื่องดัมข่าไม่เติมเกลือที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 1-7 วัน มีผลทำให้เกิดการบวมของถุงเครื่องดัมข่าและมีพีเอชเท่ากับ  $3.22 \pm 0.01$  ทั้งนี้การบวมของถุง อาจมีผลมาจากการเจริญของแบคทีเรียแลคติกชนิด heterofermentative ซึ่งสามารถสร้างกรดและก๊าซได้แก่ กรดแลคติก คาร์บอนไดออกไซด์ เอทานอลและ/หรือกรดอะซิติก (Axelssona, 2004; Maki, 2004) ส่วนเครื่องดัมข่าเติมเกลือร้อยละ 8 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องพบว่าพีเอชมีค่าลดลงอย่างรวดเร็วเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ โดยพีเอชลดลงจาก  $4.16 \pm 0.01$  ในสัปดาห์ที่ 1 เป็น  $3.31 \pm 0.02$  ในสัปดาห์ที่ 2 และพบว่าพีเอชมีแนวโน้มคงที่ในสัปดาห์ที่ 3 และ 4 ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากการเจริญของ *Pediococcus halophilus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแลคติก ชนิด homofermentative ที่เจริญเติบโตได้ดีในอาหารที่มีเกลือร้อยละ 6-8 และเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ  $25-40^\circ\text{C}$  (ประสิทธิ์ อติวีระกุล, 2527; อรรถวี รอดเจริญ, 2542) นอกจากนี้ Steinkraus (1992) พบว่า *Leuconostoc* และ *Streptococcus* ที่สร้างกรดแลคติกทำให้อาหาร

มีพีเอชต่ำสุดที่ 4.0-4.5 ส่วน *Lactobacillus* และ *Pediococcus* บางสายพันธุ์ทำให้อาหารมีพีเอชต่ำสุดประมาณ 3.5 ก่อนจะมีการยับยั้งการเจริญของตัวเอง Pederson และ Albury (1969 อ้างโดย Maki, 2004) พบว่าอุณหภูมิ 32 °ซ เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *Lactobacillus plantarum* และ *Pediococcus pentosaceus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแลคติกที่มีอัตราการสร้างกรดสูง ดังนั้นการที่พีเอชของเครื่องต้มข้าเดิมเกลือเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องลดลงอย่างรวดเร็วเป็นผลมาจาก (1) การสร้างกรดของแบคทีเรียแลคติก และ (2) เครื่องต้มข้าประกอบด้วยเครื่องเทศซึ่งไม่ใช่แหล่งของโปรตีนเปปไทด์และกรดอะมิโน ส่งผลให้ความสามารถป้องกันการเปลี่ยนแปลงของพีเอช (buffering capacity) ได้น้อย (Maki, 2004)

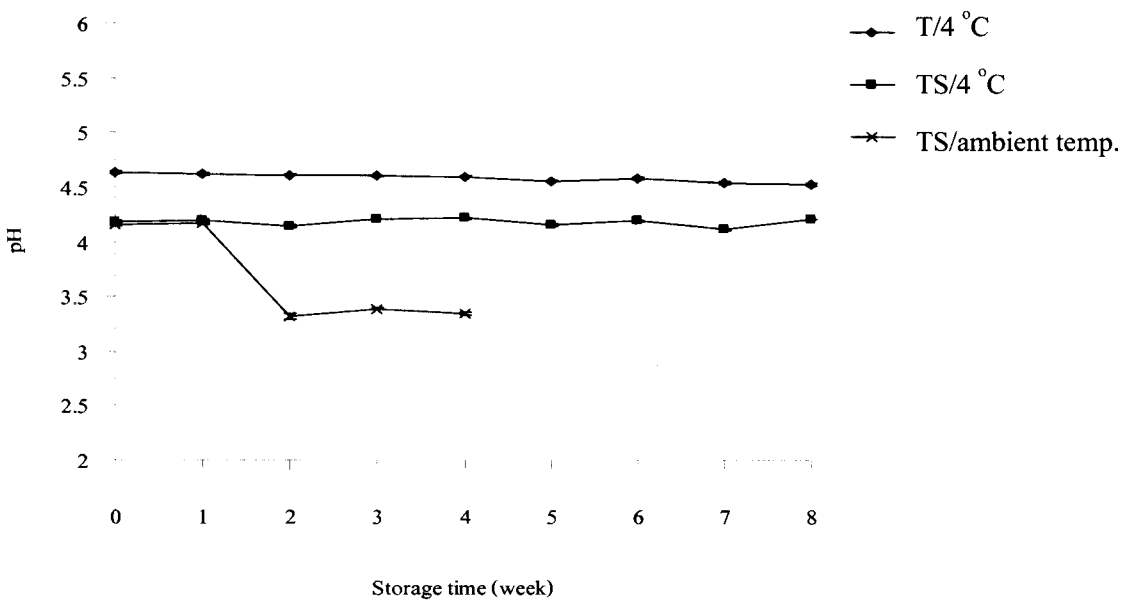


Figure 46. Changes in pH values of Tom-kha paste with and without added salt during storage at  $4 \pm 2^\circ\text{C}$  and ambient temperature ( $29 \pm 2^\circ\text{C}$ )

Remark: T = Tom-kha without added salt, TS = Tom-kha with added salt

### 6.3 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชัน

เมื่อเก็บรักษาเครื่องต้มข้าและเครื่องต้มข้าเดิมเกลือร้อยละ 8 ที่อุณหภูมิ  $4 \pm 2^\circ\text{ซ}$  เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) (Figure 47) ซึ่งอาจเนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาโพลีเมอไรเซชันของสารประกอบฟีนอลิกที่อยู่ในเครื่องต้มข้า เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน (Pinelo *et al.*, 2004a) นอกจากนี้อาจเกิดจากการทำงานของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสเปลี่ยนสารประกอบฟีนอลิกเป็นออกโตควิโนน (Concellon *et al.*, 2004)

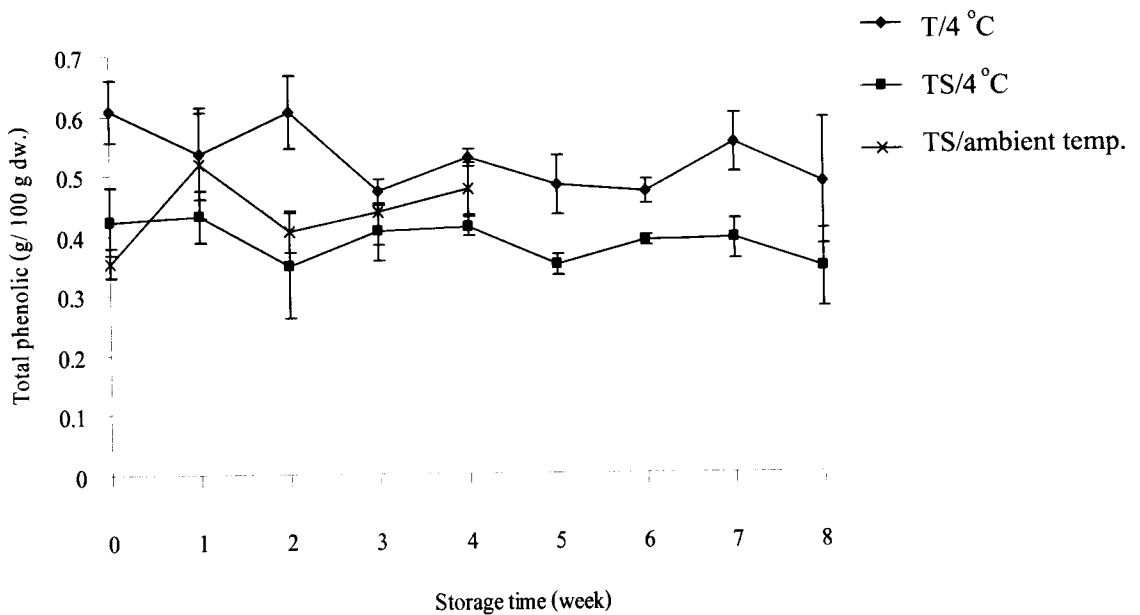


Figure 47. Changes in the total phenolic contents of Tom-kha paste with and without added salt during storage at  $4 \pm 2$  °C and ambient temperature ( $29 \pm 2$  °C)

Remark: T = Tom-kha without added salt, TS = Tom-kha with added salt

เครื่องต้มข่าไม่เติมเกลือมีอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องได้ไม่เกิน 7 วัน อาจเนื่องจากการเจริญของแบคทีเรียแลคติกตามที่กล่าวไปแล้วข้างต้น ในขณะที่เครื่องต้มข่าเติมเกลือเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ทั้งนี้อาจเนื่องจากการเจริญของแบคทีเรียแลคติกซึ่งสามารถสร้างเอนไซม์ เบตาไกลูโคซิเดส ( $\beta$ -glucosidase) ย่อยโกลโคไซด์ ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลิกที่จับอยู่กับน้ำตาล ทำให้เกิดการปลดปล่อยของสารประกอบฟีนอลิกที่จับอยู่กับน้ำตาล (Stechell, 2000; Tsangalis *et al.*, 2002) และทำให้โพลีฟีนอลิกซึ่งเป็นสารเชิงซ้อนถูกย่อยสลายเป็นสารประกอบ ฟีนอลิกอย่างง่ายส่งผลให้สามารถแสดงสมบัติการต้านออกซิเดชันเพิ่มขึ้น (Fernandez-Orozco *et al.*, 2008) การหมักทำให้เกิดการสลายตัวของผนังเซลล์พืชเกิดการปลดปล่อยสารประกอบฟีนอลิกและ/หรือ จุลินทรีย์ทำให้เกิดการสังเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive compound) ในระหว่างการหมัก (Katina *et al.*, 2007) นอกจากนี้การที่แบคทีเรียแลคติกเจริญส่งผลให้เครื่องต้มข่ามีฟิโอสลดซึ่งสภาวะดังกล่าวอาจทำให้เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส ส่งผลให้สารประกอบฟีนอลิกที่จับอยู่กับสารอื่นๆ เกิดการย่อยได้เป็นสารประกอบฟีนอลิกอิสระ (Liyana-Pathirana and Shahidi, 2005)

#### 6.4 สมบัติการต้านออกซิเดชัน

เมื่อพิจารณาความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (Figure 48) พบว่าความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของเครื่องต้มข้าไม่เติมเกลือและเติมเกลือร้อยละ 8 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$  มีแนวโน้มลดลง การลดลงของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ในเครื่องต้มข้า อาจเกิดจาก (1) การทำงานของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสเปลี่ยนสารประกอบฟีนอลิกเป็นออคควิโนน (Concellon *et al.*, 2004) (2) การเกิดปฏิกิริยาโพลีเมอไรเซชันของสารประกอบฟีนอลิกที่อยู่ในเครื่องต้มข้าเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนและทำให้เกิดอุปสรรคทางด้านโครงสร้างทำให้ความสามารถในการให้อิเล็กตรอนหรือไฮโดรเจนอะตอมมีค่าน้อยลง (Pinelo *et al.*, 2004a) (3) การสลายตัวของแคโรทีนอยด์ (Elbe, 1996; Kidmose *et al.*, 2000; Sikorski and Haard, 2007) ตามที่กล่าวไปแล้วข้างต้นในข้อ 6.1 และ (4) อาจเกิดจากการทำงานของเอนไซม์แอสคอร์เบทออกซิเดสส่งผลให้กรดแอสคอร์บิกถูกออกซิไดซ์เป็นกรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก ซึ่งไม่แสดงกิจกรรมการกำจัดอนุมูลอิสระ (Takamura *et al.*, 2002 อ้างโดย Yamaguchi *et al.*, 2003)

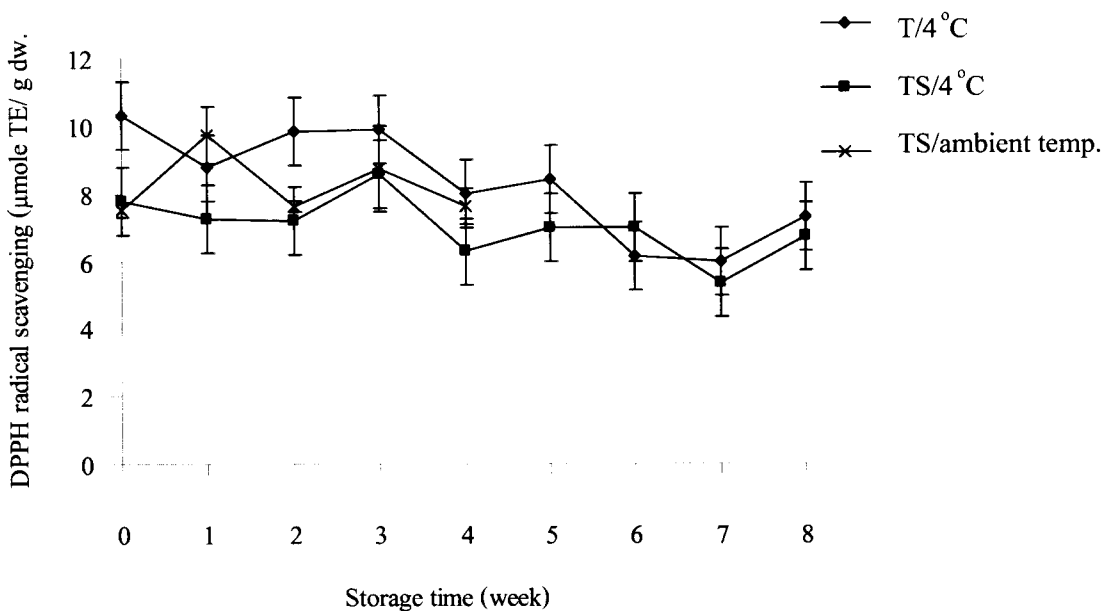


Figure 48. Changes in the DPPH radical scavenging of Tom-kha paste with and without added salt during storage at  $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$  and ambient temperature ( $29 \pm 2^{\circ}\text{C}$ )

Remark: T = Tom-kha without added salt, TS = Tom-kha with added salt

ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS ของเครื่องต้มข้าไม่เติมเกลือและเติมเกลือร้อยละ 8 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$  มีแนวโน้มลดลง และมีค่าต่ำสุดในสัปดาห์ที่ 7

ของการเก็บรักษาแต่เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาในการเก็บรักษา (สัปดาห์ที่ 8) พบว่าความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS ของเครื่องต้มข้าไม่เค็มเกลือและเค็มเกลือร้อยละ 8 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$  เพิ่มขึ้นจนกระทั่งมีค่าไม่แตกต่าง ( $p \geq 0.05$ ) จากเริ่มต้น (วันที่ 0)

ส่วนเครื่องต้มข้าเค็มเกลือเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องพบว่าความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS มีแนวโน้มลดลงและเพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 3 ของการเก็บรักษา (Figure 49)

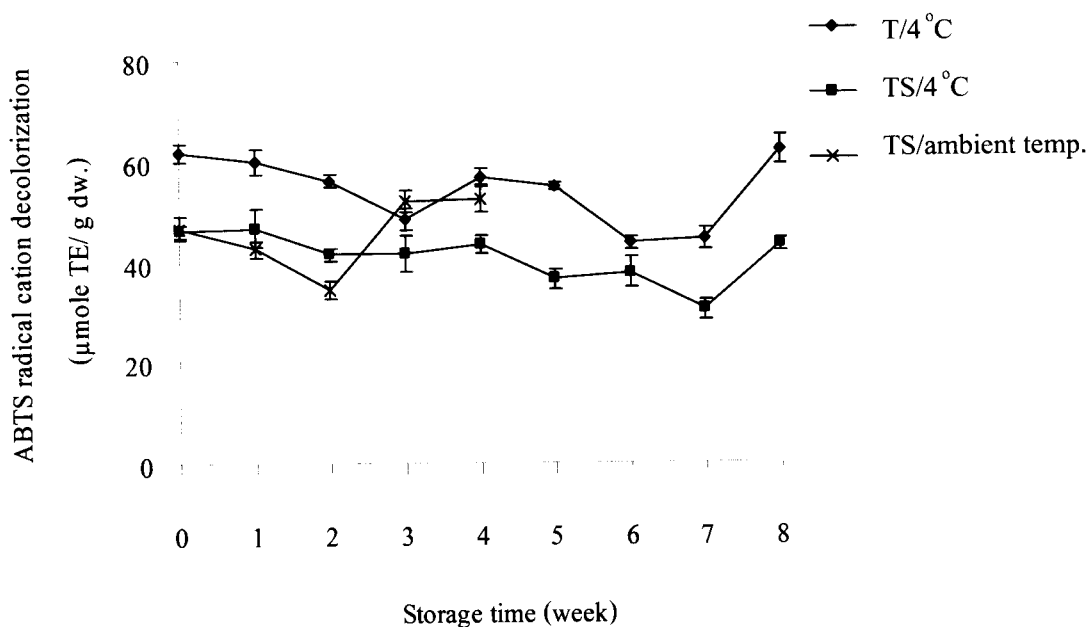


Figure 49. Changes in the ABTS radical cation decolorization of Tom-kha paste with and without added salt during storage at  $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$  and ambient temperature ( $29 \pm 2^{\circ}\text{C}$ )

Remark: T = Tom-kha without added salt, TS = Tom-kha with added salt

ความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP ของเครื่องต้มข้าไม่เค็มเกลือและเค็มเกลือร้อยละ 8 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$  มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในช่วงแรกของการเก็บรักษาและมีค่าลดลงในสัปดาห์ที่ 6 และ 7 แต่เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาในการเก็บรักษา (8 สัปดาห์) พบว่าความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP ของเครื่องต้มข้าไม่เค็มเกลือเก็บรักษาที่  $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$  มีค่าไม่แตกต่าง ( $p \geq 0.05$ ) จากเริ่มต้น (วันที่ 0) (Figure 50) ส่วนเครื่องต้มข้าเค็มเกลือเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องพบว่าความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) เนื่องจากการเจริญของแบคทีเรียแลคติกตามที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น

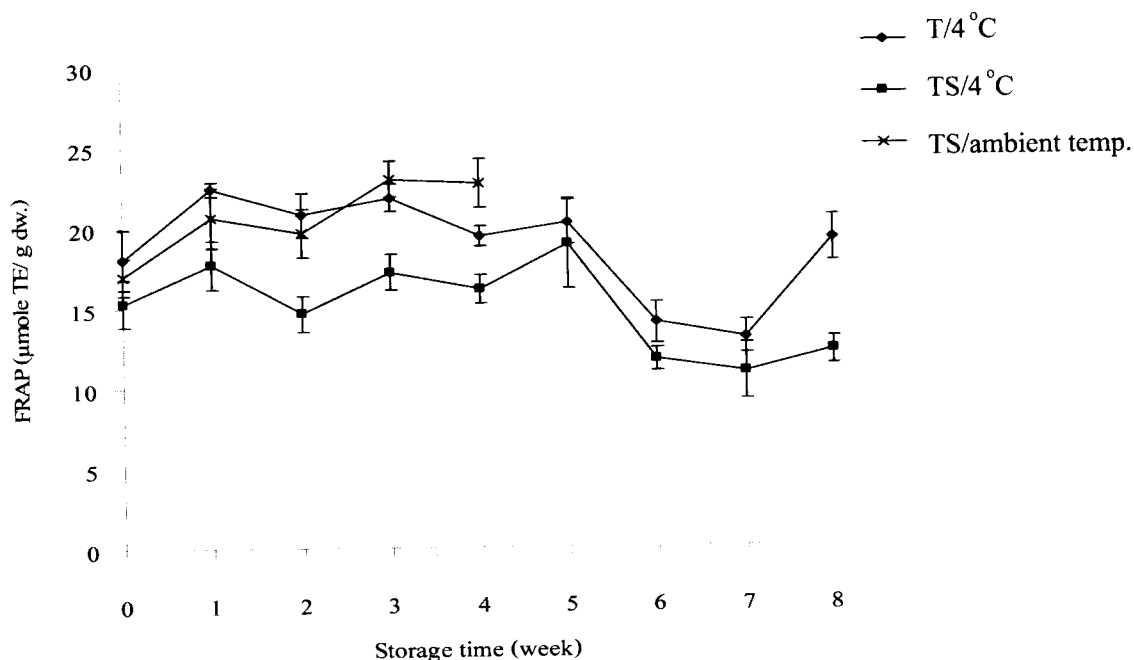


Figure 50. Changes in the FRAP of Tom-kha paste with and without the addition of salt during storage at  $4 \pm 2^\circ\text{C}$  and ambient temperature ( $29 \pm 2^\circ\text{C}$ )

Remark: T = Tom-kha without added salt, TS = Tom-kha with added salt

เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันของเครื่องต้มยำในระหว่างการเก็บรักษา พบว่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสัมพันธ์กับความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP (Table 42) แต่ความสัมพันธ์ของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดกับความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP มีค่าน้อย อาจเนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกที่อยู่ในเครื่องต้มยำในระหว่างการเก็บรักษา มีความสามารถในการให้ไฮโดรเจนอะตอมสูง แต่มีความสามารถในการให้อิเล็กตรอนต่ำ

Table 42. Bivariate correlation of the total phenolic contents, DPPH values, ABTS values and FRAP values from all Tom-kha paste during storage

	Total phenolic (g GAE/100 g dw.)	DPPH value ( $\mu$ mole TE/g dw.)	ABTS value ( $\mu$ mole TE/g dw.)	FRAP value ( $\mu$ mole TE/g dw.)
Total phenolic (g GAE/ 100 g dw.)	1.000	0.552**	0.694**	0.426*
DPPH value ( $\mu$ mole TE/g dw.)	0.552**	1.000	0.558**	0.709**
ABTS value ( $\mu$ mole TE/g dw.)	0.694**	0.558**	1.000	0.577**
FRAP value ( $\mu$ mole TE/g dw.)	0.426*	0.709**	0.577**	1.000

\*\* Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed)

\* Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed)

GAE: Gallic acid equivalent, TE: Trolox equivalent, dw: dry weight of Tom-kha paste

## 6.5 จุลินทรีย์

การเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง จุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิต่ำ จุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการอากาศ แบคทีเรียแลคติกและยีสต์และรา ของเครื่องต้มข้าที่ไม่เติมเกลือและเติมเกลือร้อยละ 8 เก็บรักษาที่  $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$  และอุณหภูมิห้อง ( $29 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) แสดงดัง Table 42 จากการทดลองพบว่าเกลือมีผลต่อปริมาณเริ่มต้นของจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง โดยในเครื่องต้มข้าที่เติมเกลือพบปริมาณเริ่มต้นของจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลางน้อยกว่าเครื่องต้มข้าที่ไม่เติมเกลือ ซึ่งโดยทั่วไปอาหารที่มีเกลือร้อยละ 4-10 สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง (บุษกร อุดรรักษาติ, 2545) เกลือมีกลไกในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์คือ (1) ทำให้ความดันออสโมติกในเซลล์ของจุลินทรีย์สูงกว่าสิ่งแวดล้อมภายนอก เซลล์ส่งผลให้น้ำในเซลล์ของจุลินทรีย์ซึมออกมาข้างนอก (plasmolysis) เพื่อรักษาความสมดุลของความเข้มข้นของของเหลวในเซลล์และในเซลล์ให้เท่าๆกัน ส่งผลให้จุลินทรีย์สูญเสียน้ำและแห้งตาย (2) เกลือทำให้  $a_w$  ของอาหารมีค่าลดลงเนื่องจากเกลือจะแตกตัวเป็นไอออนแล้วดูดน้ำไว้เมื่อ  $a_w$  มีค่าน้อย ทำให้จุลินทรีย์ไม่มีน้ำอิสระใช้ในการเจริญเติบโต (3) เกลือแตกตัวเป็นประจุคลอไรด์ทำให้เกิดการออกซิไดซ์อย่างรุนแรงกับส่วนประกอบของเซลล์และ (4) เกลือมีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในการย่อยสลายโปรตีน (วรารุณี ครุสง, 2538; นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ, 2544)

โดยทั่วไปจุลินทรีย์กลุ่มหลักที่พบในเครื่องต้มข้าคือแบคทีเรีย (Aycicek *et al.*, 2006) สัดส่วนชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ที่พบอาจเปลี่ยนแปลงไปตามชนิดของวัตถุดิบ แหล่งที่มาของวัตถุดิบ การจัดการในระหว่างการปลูก ฤดูกาล สภาพอากาศ การเก็บเกี่ยวและการจัดการหลังการเก็บเกี่ยว เช่น การล้าง การตัดแต่ง ลักษณะของบรรจุภัณฑ์ การเก็บรักษาและวิธีการขนส่ง (Heard, 2002; Aycicek *et al.*, 2006)

ในช่วงแรก (0-2 สัปดาห์) ของการเก็บรักษาเครื่องต้มข้าที่ไม่เติมเกลือที่อุณหภูมิ  $4^{\circ}\text{C}$  พบว่ามีการเพิ่มขึ้นของจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง จุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิต่ำ จุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการอากาศ และแบคทีเรียแลคติก (Table 43) แต่เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นพบว่าปริมาณของจุลินทรีย์ดังกล่าวมีค่าลดลง การลดลงของจุลินทรีย์ดังกล่าวอาจเนื่องจากสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญมีน้อยลง (Thomas and O'Beirne, 2000) หรืออาจเนื่องมาจากสารต้านจุลินทรีย์ที่พบในเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบในเครื่องต้มข้า ได้แก่ ข้า (กฤติกา นรจิตร, 2548; Jantan *et al.*, 2003; Oonmetta-aree *et al.*, 2006; Mayachiew and Devahastin, 2008) และ ตะไคร้ (Sacchetti *et al.*, 2005; Wannissorn *et al.*, 2005)



Table 43. Mesophile, anaerobe, psychrophile, lactic acid bacteria, yeast and mold of Tom-kha paste with and without added salt during storage at  $4 \pm 2^\circ\text{C}$  and ambient temperature ( $29 \pm 2^\circ\text{C}$ )

Type of microbial	Treatment	Storage time (weeks)									
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	
Mesophile (cfu/g)	T/4	$1.04 \times 10^3$	$1.24 \times 10^4$	$1.19 \times 10^5$	$3.00 \times 10^4$	$2.67 \times 10^4$	$9.33 \times 10^2$	$6.33 \times 10^2$	$3.23 \times 10^2$	$8.10 \times 10^2$	
	TS/4	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$	$2.33 \times 10^2$	$7.00 \times 10^2$	$6.63 \times 10^2$	$5.33 \times 10^2$	$4.83 \times 10^2$	$6.96 \times 10^2$	
	TS/R	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$	$<30$	$<30$	-	-	-	-	
Anaerobe (cfu/g)	T/4	$4.00 \times 10^2$	$4.8 \times 10^3$	$8.4 \times 10^4$	$7.8 \times 10^4$	$7.47 \times 10^4$	$7.37 \times 10^4$	$4.63 \times 10^4$	$3.00 \times 10^3$	$2.30 \times 10^3$	
	TS/4	$3.30 \times 10^2$	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$	$6.00 \times 10^2$	$4.97 \times 10^2$	$4.67 \times 10^2$	$5.12 \times 10^3$	$4.03 \times 10^3$	
	TS/R	$1.17 \times 10^2$	$<30$	$<10^2$	$8.37 \times 10^4$	$5.53 \times 10^4$	-	-	-	-	
Psychrophile (cfu/g)	T/4	$<30$	$<30$	$<30$	$<30$	$<30$	$<30$	$<30$	$<30$	$<30$	
	TS/4	$<30$	$<30$	$<30$	$<30$	$<30$	$<30$	$<30$	$<30$	$<30$	
	TS/R	$<30$	$<30$	$<30$	$<30$	$<30$	-	-	-	-	
Lactic acid bacteria (cfu/g)	T/4	$1.78 \times 10^2$	$3.23 \times 10^2$	$1.28 \times 10^5$	$5.50 \times 10^5$	$3.33 \times 10^4$	$1.96 \times 10^4$	$8.17 \times 10^3$	$2.90 \times 10^4$	$8.40 \times 10^3$	
	TS/4	$3.00 \times 10^2$	$5.50 \times 10^2$	$5.47 \times 10^2$	$5.37 \times 10^2$	$5.37 \times 10^2$	$4.60 \times 10^2$	$4.93 \times 10^2$	$3.50 \times 10^2$	$6.00 \times 10^2$	
	TS/R	$1.73 \times 10^3$	$2.14 \times 10^5$	$1.64 \times 10^7$	$<10^6$	$4.07 \times 10^5$	-	-	-	-	
Yeast and mold (cfu/g)	T/4	$<30$	$<30$	$<30$	$<30$	$<30$	$<30$	$<30$	$<30$	$<30$	
	TS/4	$<30$	$<30$	$<30$	$<30$	$<30$	$<30$	$<30$	$<30$	$<30$	
	TS/R	$<30$	$<30$	$<30$	$<30$	$<30$	-	-	-	-	

Remark: - is not analyze, T = Tom-kha without added salt, TS = Tom-kha with added salt, R = ambient temperature ( $29 \pm 2^\circ\text{C}$ )

เมื่อวิเคราะห์ปริมาณของแบคทีเรียแลคติกในเครื่องต้มฆ่าที่ไม่เติมเกลือและมีการบวมของถุง พบว่ามีค่า  $>10^6$  โคโลนีต่อกรัมของเครื่องต้มฆ่า เช่นเดียวกับเครื่องต้มฆ่าเติมเกลือร้อยละ 8 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ( $29 \pm 2$  °ซ) มีการเจริญของแบคทีเรียแลคติกอย่างรวดเร็ว (Table 42) ส่งผลให้ลดการเจริญของจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง ทั้งนี้กลไกการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของกรดแลคติกและกรดอะซิติกที่แบคทีเรียแลคติกสร้างขึ้น คือ (1) ทำให้จุลินทรีย์ถูกทำลายด้วยปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่างๆได้ง่าย เนื่องจากส่วนที่ไม่แตกตัวของกรดแลคติกและกรดอะซิติกผ่านเข้าไปในเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งภายในเซลล์จุลินทรีย์มีพีเอชค่อนข้างเป็นกลางทำให้กรดแลคติกและกรดอะซิติกเกิดการแตกตัวได้  $H^+$  ส่งผลให้เซลล์ต้องใช้พลังงานในการกำจัด  $H^+$  ออกไป ทำให้จุลินทรีย์อ่อนแอ (Davidson, 1997) และ (2) ทำให้เกิดการสูญเสียสภาพธรรมชาติของเอนไซม์และกรดนิวคลีอิกซึ่งมีผลต่อการสังเคราะห์โปรตีนและลักษณะทางพันธุกรรมของจุลินทรีย์ (Davidson, 1997; Garbutt, 1997) นอกจากนี้แบคทีเรียแลคติกอาจสร้างแบคทีเรียโอซินซึ่งมีคุณสมบัติในการต้านจุลินทรีย์ (Uhlman *et al.*, 1992; Garver and Muriana, 1993)

เมื่อนำเครื่องต้มฆ่าไม่เติมเกลือและเครื่องต้มฆ่าเติมเกลือร้อยละ 8 ทั้งที่เก็บที่อุณหภูมิ  $4 \pm 2$  °ซ และที่อุณหภูมิห้อง ( $29 \pm 2$  °ซ) มาวิเคราะห์ *E. coli* และจุลินทรีย์ก่อโรค ได้แก่ *S. aureus*, *B. cereus* และ *C. perfringens* (Table 43) พบว่าตรวจไม่พบการเจริญของ *E. coli* และจุลินทรีย์ก่อโรสดังกล่าว แต่มีการตรวจพบ Coliform ในเครื่องต้มฆ่าไม่เติมเกลือเก็บรักษาที่  $4 \pm 2$  °ซ จำนวน 6.1 MPN ต่อกรัมของเครื่องต้มฆ่า โดยทั่วไป Coliform เป็นจุลินทรีย์ที่สามารถพบในขาและตะไคร้ โดยการปนเปื้อนทั้งจากทางตรงและทางอ้อม เช่น มีการปนเปื้อนจากดินที่ใช้ปลูก จากแมลงและสัตว์ต่างๆ (Baylis, 2006) นอกจากนี้พบว่าเครื่องต้มฆ่าเติมเกลือร้อยละ 8 เก็บรักษาที่  $4 \pm 2$  °ซ ตรวจไม่พบการเจริญของ Coliform เนื่องจากเกลือมีผลต่อ Coliform ตามที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น

จุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลางเป็นตัวบ่งชี้ถึงความเพียงพอของการล้างทำความสะอาด การควบคุมอุณหภูมิในระหว่างการแปรรูป การขนส่งและการเก็บรักษา (Aycicek *et al.*, 2006) Hazard Analysis and Critical Control Points - Total Quality Management (HACCP - TQM) Technical Guidelines กำหนดมาตรฐานคุณภาพทางจุลินทรีย์ของวัตถุดิบอาหาร กำหนดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและคุณภาพของอาหาร ดังนี้ ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด  $<10^4$  โคโลนีต่อกรัม จัดเป็นคุณภาพดี  $10^4 - 5.0 \times 10^6$  โคโลนีต่อกรัม จัดเป็นคุณภาพปานกลาง  $5.0 \times 10^6 - 5.0 \times 10^7$  โคโลนีต่อกรัม จัดเป็นคุณภาพไม่ดี และ  $>5.0 \times 10^7$  โคโลนีต่อกรัม แสดงว่าอาหารเสื่อมเสีย (Anonymous, 1998 อ้างโดย Aycicek *et al.*, 2006) จากการทดลองพบว่า

Table 44. Coliform, *E.coli*, *C.perfringens*, *S. aureus* and *B. cereus* in Tom-kha paste with and without added salt during storage at  $4 \pm 2^\circ\text{C}$  and ambient temperature ( $29 \pm 2^\circ\text{C}$ )

Type of microbial	Sample	Storage time (weeks)									
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	
Coliform (MPN/g)	T/4	6.1	6.1	6.1	6.1	6.1	6.1	6.1	6.1	6.1	6.1
	TS/4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
<i>E. coli</i> (MPN/g)	TS/ R	ND	ND	ND	ND	ND	-	-	-	-	
	T/4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
	TS/4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
<i>C. perfringens</i> (cfu/0.001 g)	TS/ R	ND	ND	ND	ND	ND	-	-	-	-	
	T/4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
	TS/4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
<i>S. aureus</i> (cfu/g)	TS/ R	ND	ND	ND	ND	ND	-	-	-	-	
	T/4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
	TS/4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
<i>B. cereus</i> (cfu/g)	TS/ R	ND	ND	ND	ND	ND	-	-	-	-	
	T/4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
	TS/4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
	TS/ R	ND	ND	ND	ND	ND	-	-	-	-	

Remark: - is not analyzed, ND = not detected, T = Tom-kha without added salt, TS = Tom-kha with added salt, R = ambient temperature

เมื่อเก็บรักษาเครื่องต้มฆ่าไม่เติมและเติมเกลือร้อยละ 8 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) ที่อุณหภูมิ  $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 8 สัปดาห์ เครื่องต้มฆ่ายังมีคุณภาพดี แต่อย่างไรก็ตามเครื่องต้มฆ่าไม่เติมเกลือและเติมเกลือร้อยละ 8 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องมีอายุการเก็บรักษาแค่ 1 และ 23 วัน ตามลำดับ เนื่องจากมีการเจริญของแบคทีเรียแลคติกและมีการสร้างแก๊สส่งผลให้ถุงเครื่องต้มฆ่าบวม ทำให้ไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค และนอกจากนี้กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2536) กำหนดมาตรฐานทางจุลชีววิทยาของอาหารดิบ (อาหารที่ยังบริโภคไม่ได้ต้องผ่านการทำสุกหรือการเตรียมด้วยกรรมวิธีใดๆก่อนบริโภค) กำหนดให้พบปริมาณ *E. coli* < 50 MPN/กรัม, *S. aureus* < 200/กรัม, *B. cereus* < 200/กรัม และไม่พบ *C. perfringens* ในตัวอย่าง 0.001 กรัม ซึ่งจากการทดลองพบว่าเครื่องต้มฆ่าทั้งที่ไม่เติมและเติมเกลือร้อยละ 8 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) มีปริมาณของแบคทีเรียก่อโรคไม่เกินที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์กำหนด

จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าการเติมเกลือร้อยละ 8 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) และการเก็บรักษาเครื่องต้มฆ่าที่อุณหภูมิต่ำมีประสิทธิภาพในการควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์ได้ดีกว่าการเติมเกลือหรือการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเพียงอย่างเดียว อย่างไรก็ตามการเติมเกลือมีอิทธิพลต่ำกว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ ( $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$ )

## 6.6 การทดสอบทางประสาทสัมผัส

เมื่อประเมินผลการยอมรับทางประสาทสัมผัสในด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ ความข้นหนืด รสชาติและความชอบรวมของน้ำซุปล่มฆ่าทั้งที่ไม่เติมและเติมเกลือร้อยละ 8 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) เก็บรักษาที่  $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$  และอุณหภูมิห้อง ( $29 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) โดยผู้ทดสอบชิม 30 คน ซึ่งเป็นบุคลากรและนักศึกษาภายในคณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ พบว่าเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาในการเก็บรักษา (58 วัน) คะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสในด้านกลิ่น รสชาติและรสชาติลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ในขณะที่เครื่องต้มฆ่าเติมเกลือร้อยละ 8 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 30 วัน มีคะแนนการยอมรับทางด้านสี กลิ่น รสชาติและรสชาติลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) แต่อย่างไรก็ตามพบว่าคะแนนการยอมรับของน้ำซุปล่มฆ่าทั้งยังเป็นที่ยอมรับของผู้ทดสอบ โดยมีคะแนนในแต่ละคุณลักษณะมากกว่า 6 ซึ่งหมายถึงผู้ทดสอบยังคงชอบผลิตภัณฑ์ ส่วนเครื่องต้มฆ่าไม่เติมเกลือมีอายุการเก็บรักษาไม่เกิน 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง เนื่องจากมีการบวมของถุงบรรจุเครื่องต้มฆ่าตามที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น

Table 45. Changes in sensory score of Tom-kha soup prepared from Tom-kha paste kept at various storage times evaluated by 30 panelists with 9-point hedonic scale

Treatment	Storage time (days)	Attribute					
		Appearances	Color	Viscosity	Spices odor	Taste	Overall linking
T/4°C	0	7.42 ± 0.89 <sup>a</sup>	7.32 ± 0.95 <sup>ab</sup>	7.00 ± 1.00 <sup>a</sup>	7.27 ± 0.98 <sup>abc</sup>	7.55 ± 1.00 <sup>a</sup>	7.45 ± 1.00 <sup>a</sup>
	9	7.53 ± 0.73 <sup>a</sup>	7.40 ± 0.86 <sup>a</sup>	7.45 ± .87 <sup>a</sup>	7.57 ± 0.77 <sup>a</sup>	7.27 ± 0.64 <sup>a</sup>	7.40 ± 0.72 <sup>ab</sup>
	16	7.20 ± 1.16 <sup>ab</sup>	7.23 ± 1.01 <sup>abc</sup>	7.00 ± 0.98 <sup>a</sup>	7.43 ± 0.86 <sup>ab</sup>	7.37 ± 0.89 <sup>a</sup>	7.33 ± 0.76 <sup>abc</sup>
	23	6.53 ± 0.78 <sup>c</sup>	6.80 ± 0.93 <sup>bc</sup>	6.27 ± 1.11 <sup>b</sup>	7.00 ± 0.83 <sup>bc</sup>	7.10 ± 1.06 <sup>a</sup>	6.89 ± 0.96 <sup>bc</sup>
	30	7.03 ± 0.93 <sup>abc</sup>	7.10 ± 0.96 <sup>abc</sup>	6.93 ± 1.02 <sup>a</sup>	7.17 ± 0.91 <sup>abc</sup>	6.97 ± 1.10 <sup>a</sup>	6.90 ± 0.85 <sup>bc</sup>
	37	7.13 ± 1.14 <sup>ab</sup>	7.27 ± 1.17 <sup>ab</sup>	6.97 ± 1.43 <sup>a</sup>	7.37 ± 0.89 <sup>ab</sup>	7.40 ± 0.93 <sup>a</sup>	7.32 ± 1.00 <sup>abc</sup>
	44	7.33 ± 1.09 <sup>a</sup>	7.30 ± 1.12 <sup>ab</sup>	7.30 ± 0.95 <sup>a</sup>	7.40 ± 1.04 <sup>ab</sup>	7.30 ± 1.18 <sup>a</sup>	7.20 ± 1.13 <sup>abc</sup>
	51	6.73 ± 0.98 <sup>bc</sup>	6.70 ± 1.06 <sup>c</sup>	7.13 ± 0.78 <sup>a</sup>	7.43 ± 0.94 <sup>ab</sup>	7.00 ± 1.11 <sup>a</sup>	6.83 ± 0.91 <sup>c</sup>
	58	7.33 ± 0.71 <sup>a</sup>	7.43 ± 0.90 <sup>a</sup>	7.13 ± 0.82 <sup>a</sup>	6.83 ± 1.09 <sup>c</sup>	7.20 ± 1.19 <sup>a</sup>	7.23 ± 0.94 <sup>abc</sup>

T/4°C = Tom-kha without added salt stored at 4 ± 2 °C

Mean ± SD from thirty determinations

<sup>a-c</sup> Means within columns with a different letter in the same treatments are significantly difference (p<0.05)

Table 45. Changes in sensory score of Tom-kha soup prepared from Tom-kha paste kept at various storage times evaluated by 30 panelists with 9-point hedonic scale (continued)

Treatment	Storage time (days)	Attribute					
		Appearances	Color	Viscosity	Spices odor	Taste	Overall linking
TS/4°C	0	7.26 ± 0.82 <sup>a</sup>	7.32 ± 0.87 <sup>ab</sup>	7.03 ± 1.02 <sup>a</sup>	7.31 ± 0.76 <sup>abc</sup>	7.39 ± 0.84 <sup>a</sup>	7.45 ± 0.68 <sup>a</sup>
	9	7.43 ± 0.73 <sup>a</sup>	7.30 ± 0.88 <sup>ab</sup>	7.30 ± 0.84 <sup>a</sup>	7.27 ± 0.98 <sup>abc</sup>	7.27 ± 0.91 <sup>a</sup>	7.43 ± 0.82 <sup>a</sup>
	16	7.23 ± .94 <sup>a</sup>	7.23 ± 0.97 <sup>ab</sup>	7.00 ± 0.95 <sup>a</sup>	7.63 ± 0.72 <sup>ab</sup>	7.53 ± 0.86 <sup>a</sup>	7.37 ± 0.89 <sup>a</sup>
	23	7.23 ± 0.94 <sup>a</sup>	7.10 ± 0.92 <sup>ab</sup>	7.20 ± 0.76 <sup>a</sup>	7.13 ± 0.78 <sup>bc</sup>	7.30 ± 0.70 <sup>a</sup>	7.23 ± 0.73 <sup>a</sup>
	30	7.17 ± 0.70 <sup>a</sup>	7.30 ± 0.88 <sup>ab</sup>	7.23 ± 0.86 <sup>a</sup>	7.20 ± 0.89 <sup>abc</sup>	7.30 ± 0.84 <sup>a</sup>	7.37 ± 0.85 <sup>a</sup>
	37	7.43 ± 0.97 <sup>a</sup>	7.47 ± 1.01 <sup>a</sup>	7.33 ± 0.71 <sup>a</sup>	7.43 ± 0.86 <sup>abc</sup>	7.43 ± 0.94 <sup>a</sup>	7.47 ± 0.86 <sup>a</sup>
	44	7.03 ± 1.10 <sup>a</sup>	6.87 ± 1.28 <sup>b</sup>	6.97 ± 0.83 <sup>a</sup>	7.23 ± 1.28 <sup>abc</sup>	7.07 ± 1.25 <sup>a</sup>	7.03 ± 1.25 <sup>a</sup>
	51	7.33 ± 0.92 <sup>a</sup>	7.50 ± 0.90 <sup>a</sup>	7.17 ± 0.99 <sup>a</sup>	7.70 ± 0.88 <sup>a</sup>	7.40 ± 1.00 <sup>a</sup>	7.27 ± 1.02 <sup>a</sup>
	58	7.50 ± 0.73 <sup>a</sup>	7.27 ± 0.83 <sup>ab</sup>	7.30 ± 0.75 <sup>a</sup>	7.03 ± 1.30 <sup>c</sup>	7.00 ± 1.17 <sup>a</sup>	6.93 ± 1.14 <sup>a</sup>
TS/RT	0	7.55 ± 1.09 <sup>a</sup>	7.52 ± 1.06 <sup>a</sup>	7.39 ± 0.92 <sup>a</sup>	7.52 ± 0.89 <sup>a</sup>	7.74 ± 0.82 <sup>a</sup>	7.52 ± 0.85 <sup>a</sup>
	9	6.73 ± 1.05 <sup>b</sup>	6.60 ± 1.04 <sup>b</sup>	6.80 ± 1.00 <sup>b</sup>	6.90 ± 0.89 <sup>b</sup>	6.93 ± 1.02 <sup>b</sup>	6.82 ± 0.90 <sup>b</sup>
	16	7.37 ± 1.00 <sup>a</sup>	7.23 ± 0.86 <sup>b</sup>	6.93 ± 1.23 <sup>ab</sup>	6.83 ± 1.34 <sup>b</sup>	6.30 ± 1.77 <sup>b</sup>	6.43 ± 1.55 <sup>b</sup>
	23	7.33 ± 0.80 <sup>a</sup>	7.27 ± 0.64 <sup>b</sup>	7.23 ± 0.90 <sup>ab</sup>	6.87 ± 1.04 <sup>b</sup>	6.78 ± 1.19 <sup>b</sup>	7.00 ± 0.95 <sup>ab</sup>

TS/4°C = Tom-kha with added salt stored at 4 ± 2 °C; TS/RT = Tom-kha with added salt stored at ambient temperature; Mean ± SD from thirty determinations

<sup>a-c</sup> Means within columns with a different letter in the same treatments are significantly difference (p<0.05)

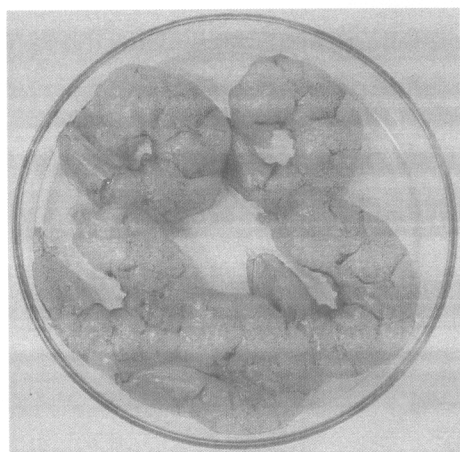
จากการทดลองพบว่าเครื่องต้มฆ่าเค็มเกลือร้อยละ 8 เก็บรักษาที่  $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$  เป็นชุดการทดลองที่ดีที่สุด โดยประเมินจากการเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์และการยอมรับทางประสาทสัมผัส กล่าวคือการเค็มเกลือร้อยละ 8 ลงในเครื่องต้มฆ่าและเก็บรักษาที่  $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$  สามารถควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมดทั้งที่ชอบอากาศและไม่ชอบอากาศได้ อย่างมีประสิทธิภาพ ( $8.10 \times 10^2$  และ  $2.30 \times 10^3$  โคโลนีต่อกรัมของเครื่องต้มฆ่า ตามลำดับ) และตรวจไม่พบ Coliform, *E.coli* และจุลินทรีย์ก่อโรค ได้แก่ *C. perfringens*, *S. aureus* และ *B.cereus* และมีการยอมรับทางประสาทสัมผัสในทุกคุณลักษณะมากกว่า 6.87 ซึ่งมีค่ามากที่สุดเมื่อเทียบกับทุกชุดการทดลอง

#### 7. การเปลี่ยนแปลงของผลิตภัณฑ์กุ้งขาวที่มารีเนตด้วยเครื่องต้มฆ่าระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในสภาวะการบรรจุต่างๆ

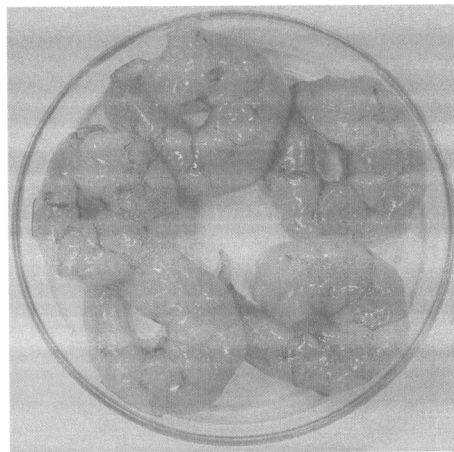
กุ้งขาวแวนนาไมขนาด 60-70 ตัว/ กิโลกรัม ที่ปอกเปลือก เด็ดหัวและเอาไส้ออก มีน้ำหนักเนื้อกุ้งคิดเป็นร้อยละ 50-55 ของน้ำหนักกุ้งขาวทั้งตัวและเมื่อนำเนื้อกุ้งขาวแช่ในสารละลายฟอสเฟต (โซเดียมโพลีฟอสเฟต ร้อยละ 2) ทำให้เนื้อกุ้งมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นร้อยละ 10-15 ดัง Table 46 และมีความขาว สว่างมากขึ้น (Figure 51) เนื้อกุ้งมีค่าความเป็นกรด-ด่าง เริ่มต้น  $6.52 \pm 0.02$  หลังแช่สารละลายโซเดียมฟอสเฟตเนื้อกุ้งมีค่าความเป็นกรด-ด่าง เพิ่มขึ้นเป็น  $6.55 \pm 0.02$  สำหรับเครื่องต้มฆ่าที่นำมาหมักกับกุ้งมีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ  $4.90 \pm 0.01$  ซึ่งจัดว่าเป็นอาหารที่เป็นกรดต่ำ

Table 46. Yield of *Litopenaeus vannamei* shrimp

Treatment	Weight (g)	Yield (%)
1. Whole shrimp	1000	100
2. Peeled and cool head white shrimp	$533.10 \pm 23.74$	$53.31 \pm 2.37$
3. Shrimp after immersing in a solution of sodium polyphosphate	$580.43 \pm 52.28$	$58.04 \pm 5.23$



(C)



(Phos)

Figure 51. *Litopenaeus vannamei* shrimp before immersing in a solution of sodium polyphosphate (C) and after immersing in a solution of sodium polyphosphate (Phos).

## 7.1 การเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางกายภาพของผลิตภัณฑ์กุ้งมาริเนตด้วยเครื่องต้มฆ่า ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C ในสภาวะการบรรจุต่างๆ

### 7.1.1 ค่าสีของกุ้งมาริเนตด้วยเครื่องต้มฆ่า

นำกุ้งขาวชุดควบคุม (T1) กุ้งขาวไม่มาริเนตด้วยเครื่องต้มฆ่าที่บรรจุที่สภาวะต่างๆ (T3 และ T5) และกุ้งขาวหมักเครื่องต้มฆ่า (T2, T4 และ T6) ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C เป็นระยะเวลาต่างๆ มาล้างผ่านน้ำเพื่อล้างเครื่องต้มฆ่าออก พบว่า สีของกุ้งที่มาริเนตด้วยเครื่องต้มฆ่าต่ำกว่าสีของกุ้งขาวชุดควบคุม (T1) เมื่อเก็บรักษานานขึ้นเนื้อกุ้งมีสีส้มปนเขียวชัดเจน อาจพิจารณาเนื่องจาก (1) สารให้สีในเครื่องต้มฆ่า (เบตาแคโรทีน ฟลาโวนอยด์และโคโรฟิลล์) ซึมผ่านเข้าไปในชั้นเนื้อเยื่อกุ้ง (2) สารประกอบฟีนอลิกเกิดการทำปฏิกิริยากับโปรตีนได้สารประกอบที่มีสีคล้ำ แสดงดัง Figure 52

จากการวัดสีด้วยระบบ L\*, a\* และ b\* ของกุ้งขาวที่มาริเนตและไม่มาริเนตด้วยเครื่องต้มฆ่าและเก็บในสภาวะต่างๆ ที่ 4°C พบว่า ค่าความสว่าง (L\*) ของกุ้งขาว ซึ่งวัดที่ตำแหน่งปล้องที่ 2 มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่ออายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น (Figure 53 (a)) ในขณะที่ค่าความเป็นสีแดง (a\*) ในกุ้งขาวมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในทุกชุดการทดลอง ส่วนชุดที่หมักด้วยเครื่องต้มฆ่า (T2, T4 และ T6) มีค่าลดลงหลังการเก็บรักษานาน 8 วัน ยกเว้นชุดการทดลองที่ 2 ซึ่งเป็นกุ้งหมักเครื่องต้มฆ่าและเก็บในสภาวะอากาศปกติ (Figure 53 (b)) อย่างไรก็ตามพบว่า เมื่อเก็บนานขึ้น ค่าความเป็นสีเหลือง (b\*) เพิ่มขึ้น โดยเฉพาะชุดการทดลองที่เป็นกุ้งขาวหมักด้วยเครื่องต้มฆ่า ซึ่งสูง



กว่ากุ้งขาวที่ไม่หมักด้วยเครื่องต้มยำ ส่งผลให้กุ้งขาวที่หมักด้วยเครื่องต้มยำมีค่าความเป็นสีส้ม-ส้ม เหลือง ซึ่งลักษณะที่เกิดขึ้นอาจเป็นผลมาจากการปลดปล่อยสารประกอบคาร์โรทีนจากโครงสร้างของโปรตีน ซึ่งสภาพปกติจะอยู่ในรูปสารประกอบคาร์โรทีนโปรตีน (Caroteno-protein) โดยปรากฏการณ์ดังกล่าวจะเกิดขึ้นได้เมื่อโปรตีนของกุ้งถูกทำลายด้วยการให้ความร้อนหรือถูกย่อยด้วยกรดหรือแม้แต่การย่อยสลายของเอนไซม์ที่มีอยู่ในตัวกุ้งเอง (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2549)

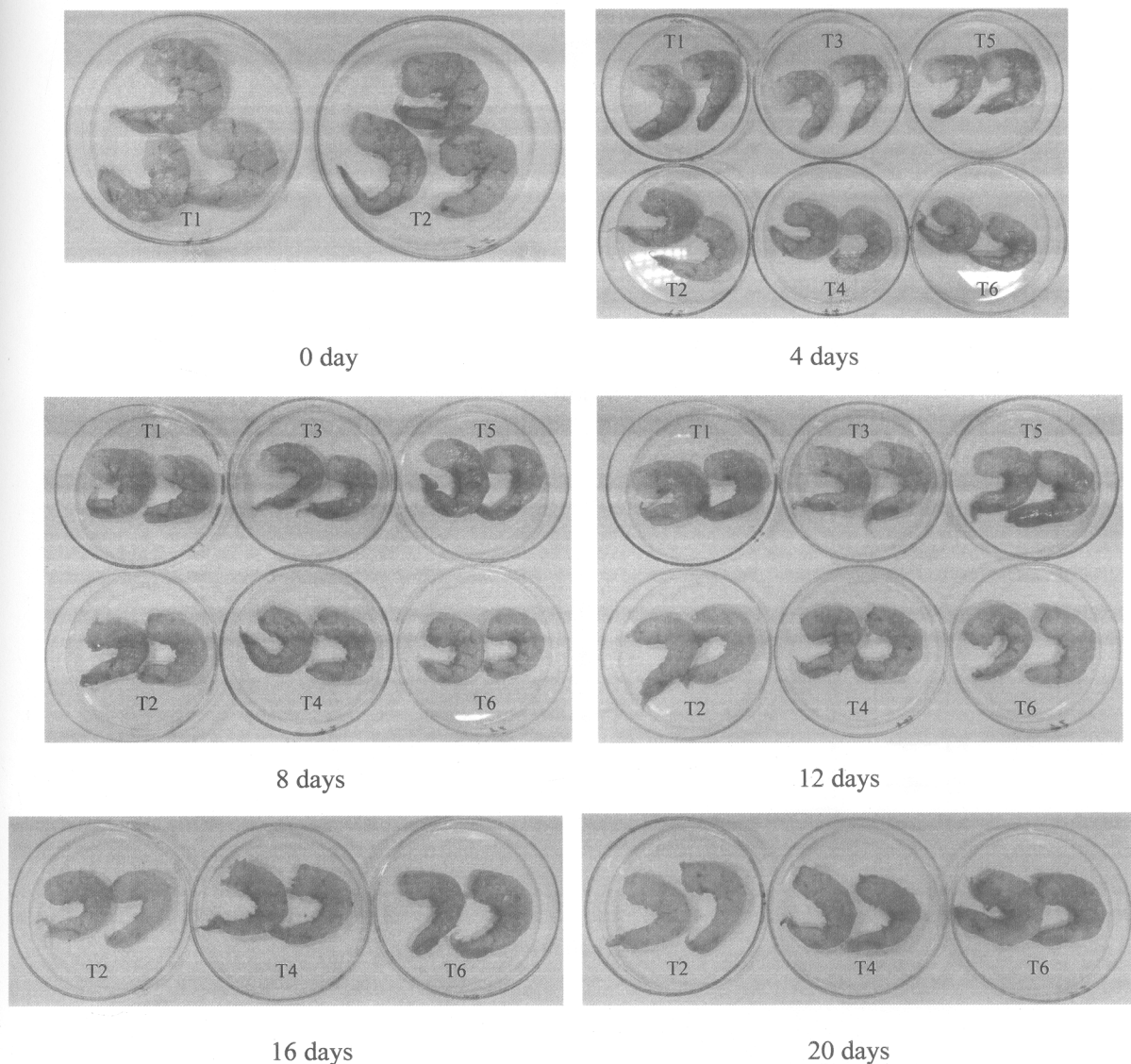
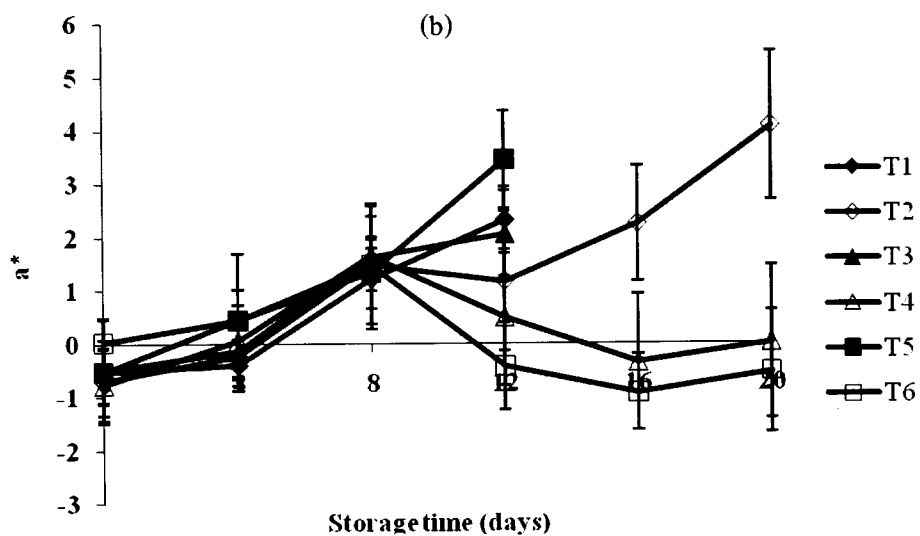
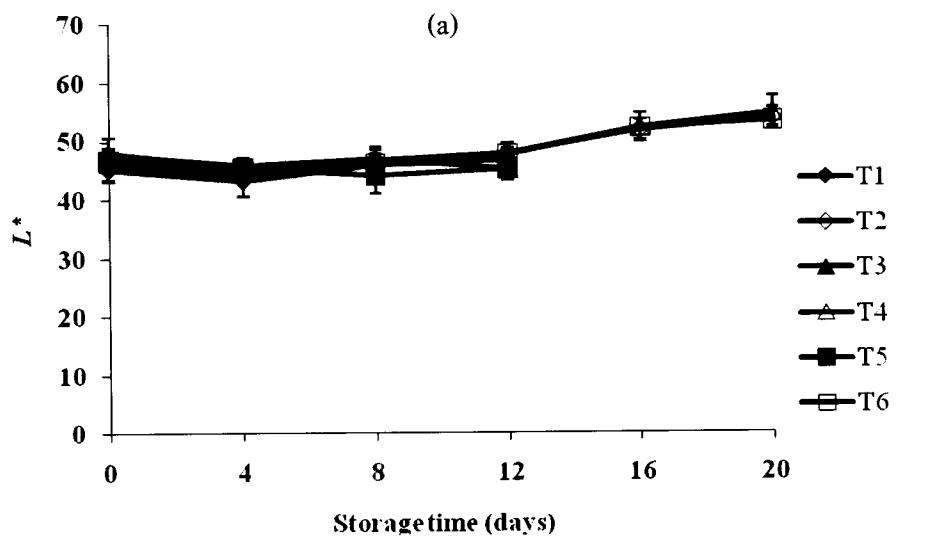


Figure 52. Shrimp marinated without and with Tom-kha paste stored at 4°C for 20 days.

- Remark**
- T1: without marinated with Tom-kha paste and kept under normal air served as control
  - T2: marinated with Tom-kha paste and kept under normal air
  - T3: without marinated with Tom-kha paste and kept under 40% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, 55% N<sub>2</sub>
  - T4: marinated with Tom-kha paste and kept under 40% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, 55% N<sub>2</sub>

T5: without marinated with Tom-kha paste and kept under 50% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, 45% N<sub>2</sub>

T6: marinated with Tom-kha paste and kept under 50% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, 45% N<sub>2</sub>



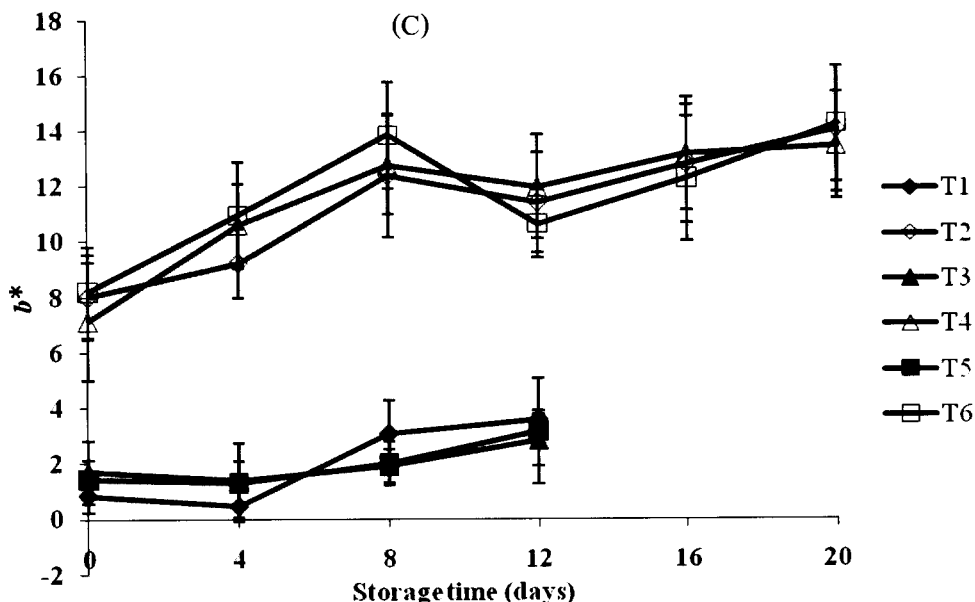


Figure 53. Changes in L\* values a\* values and b\* values of shrimp marinated without and with Tom-kha paste stored at 4°C for 20 days.

**Remark** T1: without marinated with Tom-kha paste and kept under normal air served as control

T2: marinated with Tom-kha paste and kept under normal air

T3: without marinated with Tom-kha paste and kept under 40% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, 55% N<sub>2</sub>

T4: marinated with Tom-kha paste and kept under 40% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, 55% N<sub>2</sub>

T5: without marinated with Tom-kha paste and kept under 50% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, 45% N<sub>2</sub>

T6: marinated with Tom-kha paste and kept under 50% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, 45% N<sub>2</sub>

### 7.1.2 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของกุ้งที่มารีเนตด้วยเครื่องต้มยำ

ค่าความเป็นกรด-ด่างของกุ้งขาวชุดควบคุม (T1) กุ้งขาวที่ไม่มารีเนตด้วยเครื่องต้มยำที่บรรจุที่สภาวะต่างๆ (T3 และ T5) และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C เป็นระยะเวลา 12 วัน มีค่าอยู่ในช่วง 6.32-6.87 มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ส่วนกุ้งขาวที่มารีเนตด้วยเครื่องต้มยำที่บรรจุที่สภาวะต่างๆ (T2, T4 และ T6) และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C มีค่าอยู่ในช่วง 5.60-6.50 เมื่อเก็บเป็นระยะเวลา 20 วัน ซึ่งค่าความเป็นกรด-ด่างของกุ้งขาวที่มารีเนตด้วยเครื่องต้มยำทั้ง 3 สภาวะมีแนวโน้มลดลงเล็กน้อยตั้งแต่วันที่ 12 จนถึงสิ้นสุดอายุของการเก็บรักษาที่ 20 วัน ทั้งนี้อาจเป็นผลมา

จากอิทธิพลของการเก็บแบบตัดแปลงบรรยากาศและการหมักด้วยเครื่องต้มข่ามีผลทำให้เกิดการเจริญของแบคทีเรียแลคติก (Pakawatchai *et al.*, 2009)

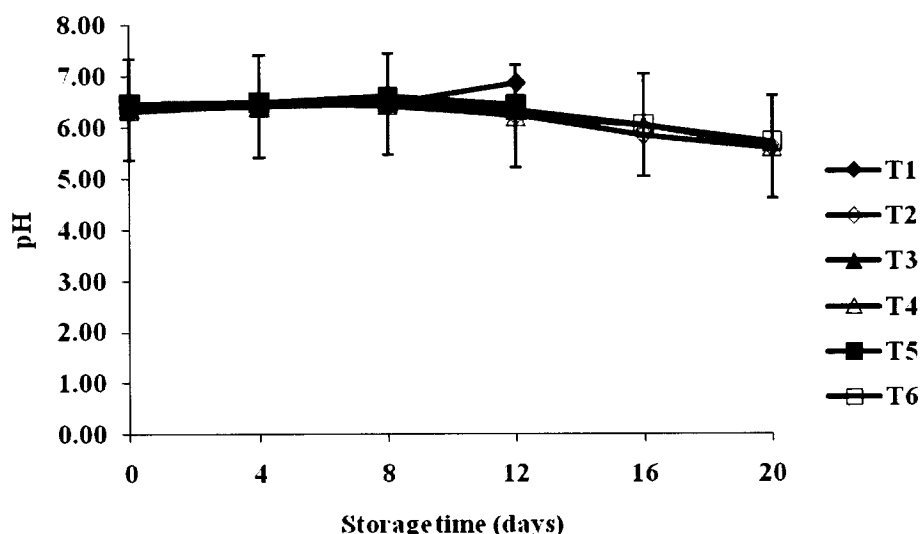


Figure 54. Marination effect on pH of shrimp marinated without and with Tom-kha paste stored at 4°C for 20 days.

**Remark** T1: without marinated with Tom-kha paste and kept under normal air served as control

T2: marinated with Tom-kha paste and kept under normal air

T3: without marinated with Tom-kha paste and kept under 40% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, 55% N<sub>2</sub>

T4: marinated with Tom-kha paste and kept under 40% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, 55% N<sub>2</sub>

T5: without marinated with Tom-kha paste and kept under 50% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, 45% N<sub>2</sub>

T6: marinated with Tom-kha paste and kept under 50% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, 45% N<sub>2</sub>

### 7.1.3 ค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ ( $a_w$ ) ของผลิตภัณฑ์กุ้งที่มารีเนทด้วยเครื่องต้มข่า

ค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ ( $a_w$ ) เป็นปัจจัยสำคัญที่มีอิทธิพลอย่างมากต่อ

คุณภาพและการเน่าเสียของอาหาร เพราะความชื้นในอาหารและค่า  $a_w$  จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของปฏิกิริยาทางเคมีหรือปฏิกิริยาที่เร่งด้วยเอนไซม์อย่างช้าๆ และมีการเจริญของจุลินทรีย์เกิดขึ้น ซึ่งเป็นต้นเหตุที่ทำให้อาหารเน่าเสีย (นิธิยา รัตนานพนนท์, 2549) ดังนั้นอาหารสด ได้แก่ ผัก ผลไม้ เนื้อสัตว์เช่น เนื้อหมู ไก่ เนื้อวัว นม ไข่ ไข่กรอกสุกเช่น ไข่กรอกแฟรงค์เฟอร์เตอร์ ขนบปัง เป็นอาหารที่เน่าเสียง่ายเนื่องจากมีค่า  $a_w$  มากกว่า 0.85 จากการทดลองแสดงให้เห็นว่ากุ้งหมัก/ไม่หมัก

เครื่องต้มยำมีค่า  $a_w$  อยู่ในช่วง 0.99-0.98 ไม่ว่าจะเก็บในสภาวะใด (Figure 55) จึงง่ายแก่การนำเสียบหรืออาจกล่าวได้ว่าค่า  $a_w$  ของตัวอย่างในการทดลองนี้ไม่ต่ำพอจะเป็นปัจจัยควบคุมการนำเสียบ

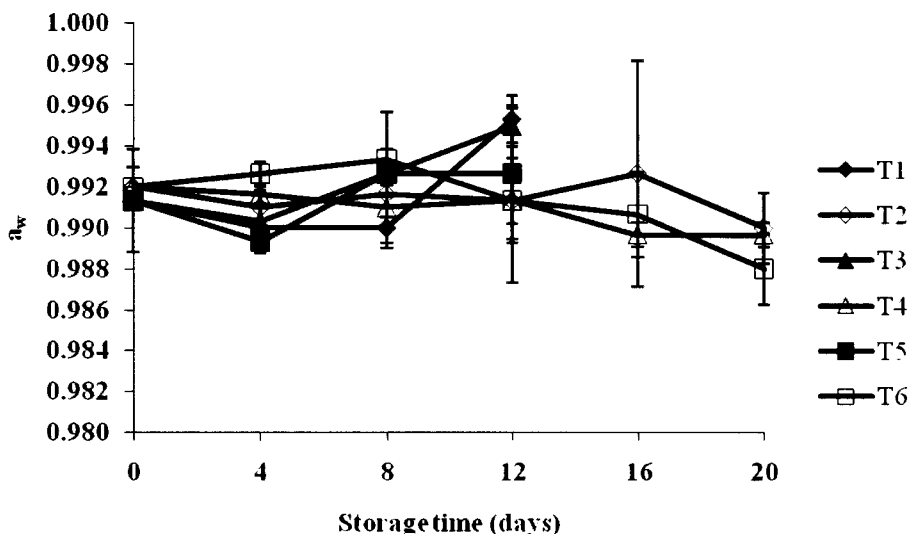


Figure 55. Marination effect on water activity ( $a_w$ ) of shrimp marinated without and with Tom-kha paste stored at 4°C for 20 days.

**Remark** T1: without marinated with Tom-kha paste and kept under normal air served as control

T2: marinated with Tom-kha paste and kept under normal air

T3: without marinated with Tom-kha paste and kept under 40% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, 55% N<sub>2</sub>

T4: marinated with Tom-kha paste and kept under 40% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, 55% N<sub>2</sub>

T5: without marinated with Tom-kha paste and kept under 50% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, 45% N<sub>2</sub>

T6: marinated with Tom-kha paste and kept under 50% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, 45% N<sub>2</sub>

#### 7.1.4 ปริมาณความชื้น (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์กุ้งที่มารีเนทด้วยเครื่องต้มยำ

ปริมาณความชื้น (ร้อยละ) เริ่มต้นของกุ้งที่ไม่มารีเนทด้วยเครื่องต้มยำ และกุ้งที่มารีเนทด้วยเครื่องต้มยำที่บรรจุในถุง Nylon/LLDPE ในสภาวะที่แตกต่างกัน แสดงดัง Figure 56 พบว่า การหมักหรือไม่หมักเครื่องต้มยำและการเก็บในสภาวะอากาศปกติหรือตัดแปลงบรรยากาศไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณความชื้น โดยค่าความชื้นอยู่ในช่วงร้อยละ 80-82 ทั้งนี้อาจเนื่องจากทุกชุดการทดลองเป็นอาหารสดและเก็บรักษาในภาชนะที่ปิดสนิท ซึ่งมีสมบัติในการมีค่าทานการซึมผ่านของอากาศ

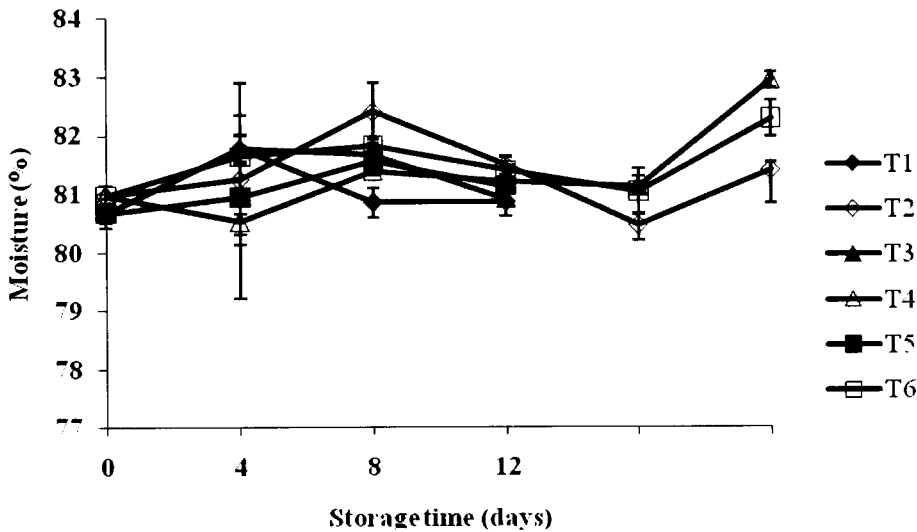


Figure 56. Marination effect on moisture content (%) of shrimp marinated without and with Tom-kha paste stored at 4°C for 20 days.

**Remark** T1: without marinated with Tom-kha paste and kept under normal air served as control

T2: marinated with Tom-kha paste and kept under normal air

T3: without marinated with Tom-kha paste and kept under 40% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, 55% N<sub>2</sub>

T4: marinated with Tom-kha paste and kept under 40% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, 55% N<sub>2</sub>

T5: without marinated with Tom-kha paste and kept under 50% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, 45% N<sub>2</sub>

T6: marinated with Tom-kha paste and kept under 50% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, 45% N<sub>2</sub>

### 7.1.5 การสูญเสียน้ำหนักของกุ้งที่มารีเนตด้วยเครื่องต้มยำ (Drip loss)

การสูญเสียน้ำหนักของเนื้อกุ้งเป็นผลมาจากการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนทั้งจากสาเหตุของเอนไซม์ย่อยโปรตีนที่มีอยู่ในกล้ามเนื้อกุ้งและการทำงานของจุลินทรีย์ จากการทดลองพบว่า เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น กุ้งขาวทุกชุดการทดลองมีการสูญเสียน้ำหนักเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะกุ้งขาวชุดควบคุมและกุ้งที่ไม่มารีเนตด้วยเครื่องต้มยำและเก็บแบบดัดแปลงบรรยากาศมีการสูญเสียน้ำหนักมากกว่ากุ้งที่มารีเนตด้วยเครื่องต้มยำ (Figure 57) เมื่อเก็บรักษานาน 12 วัน โดยวันที่ 0 ของการเก็บรักษา เนื้อกุ้งขาวชุดควบคุมมีการสูญเสียน้ำหนักร้อยละ 5.86 และเมื่อเก็บเป็นเวลา 12 วัน เนื้อกุ้งสูญเสียน้ำหนักเพิ่มขึ้นเป็น 10.31 เมื่อเปรียบเทียบกุ้งขาวที่มารีเนตด้วยเครื่องต้มยำแต่เก็บในสถานะที่แตกต่างกัน (T2, T4 และ T6) พบว่า การเก็บรักษาในสถานะที่มีแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์สูงกว่า (T6) มีแนวโน้มที่จะมีการสูญเสียน้ำหนักสูงกว่าการเก็บที่สถานะอื่น (T2 และ T4) แม้ว่าเมื่อเก็บรักษานาน 20 วัน พบว่าการสูญเสียน้ำหนักไม่

แตกต่างกัน Masniyom (2004) รายงานว่าแม้การบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศส่งผลให้ควบคุมการเน่าเสียของผลิตภัณฑ์ปลากระพงขาวแล้ได้ แต่ส่งผลให้การสูญเสียน้ำหนักเพิ่มมากขึ้นจากการเกิดกรดคาร์บอนิกในกล้ามเนื้อกุ้งมีผลให้โปรตีนมีการเสียด่างมากขึ้น Siripongvutikom และคณะ (2012) รายงานว่า ค่าการสูญเสียน้ำหนักของกุ้งขาวที่หมักด้วยเครื่องดัมยามีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น เนื่องจากการเกิดกรดคาร์บอนิกในกล้ามเนื้อกุ้งมีผลให้โปรตีนมีการเสียด่างมากขึ้น

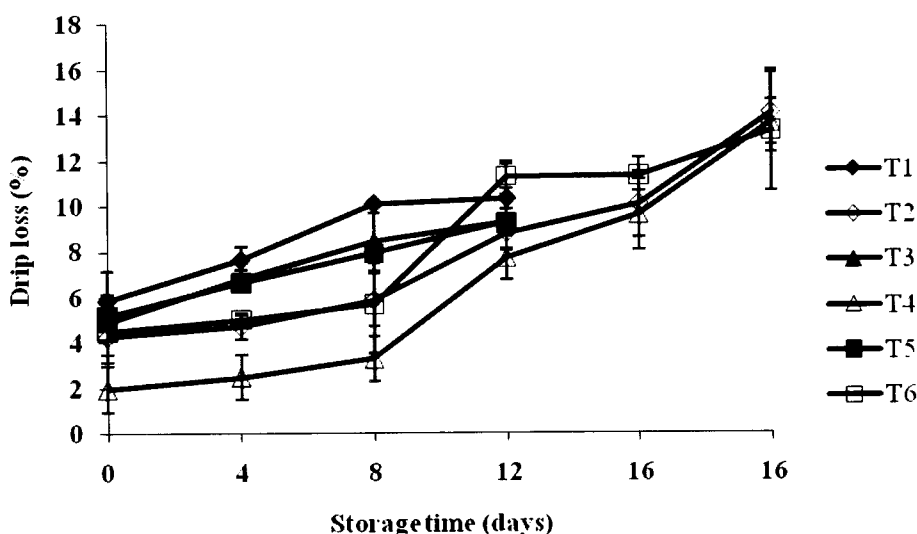


Figure 57. Marination effect on drip losses (%) of shrimp marinated without and with Tom-kha paste stored at 4°C for 20 days.

**Remark** T1: without marinated with Tom-kha paste and kept under normal air served as control

T2: marinated with Tom-kha paste and kept under normal air

T3: without marinated with Tom-kha paste and kept under 40% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, 55% N<sub>2</sub>

T4: marinated with Tom-kha paste and kept under 40% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, 55% N<sub>2</sub>

T5: without marinated with Tom-kha paste and kept under 50% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, 45% N<sub>2</sub>

T6: marinated with Tom-kha paste and kept under 50% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, 45% N<sub>2</sub>

#### 7.1.6 การสูญเสียน้ำหนักของกุ้งที่มารีเนตด้วยเครื่องดัมฆ่าหลังการให้ความร้อน

##### (Cooking loss)

เมื่อนำกุ้งขาวชุดควบคุม (T1) กุ้งที่ไม่มารีเนตด้วยเครื่องดัมฆ่าบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ (T3 และ T5) กุ้งที่มารีเนตด้วยเครื่องดัมฆ่าบรรจุแบบปกติ (T2) และกุ้งที่

มารีเนทด้วยเครื่องต้มชำบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ (T4 และ T6) บรรจุในถุง nylon/LLDPE (ทนความร้อนได้ 110-130 องศาเซลเซียส) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C เป็นระยะเวลาต่างๆ ไปให้ความร้อนในอ่างควบคุมอุณหภูมิ จนกระทั่งเนื้อกุ้งมีอุณหภูมิ 80°C เป็นระยะเวลา 2 นาที พบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น การสูญเสียน้ำหนักหลังให้ความร้อนเพิ่มขึ้นทุกชุดการทดลอง โดยพบว่าที่สภาวะการบรรจุแบบเดียวกัน กุ้งที่ไม่มารีเนทด้วยเครื่องต้มชำมีค่าการสูญเสียน้ำหนักหลังให้ความร้อนน้อยกว่ากุ้งที่มารีเนทด้วยเครื่องต้มชำทุกชุดการทดลองดัง Figure 58 ซึ่งการสูญเสียน้ำหนักหลังการให้ความร้อนของเนื้อกุ้งเกิดจากความร้อน ทำให้โปรตีนในเนื้อกุ้งเสียสภาพ น้ำอิสระบางส่วนในเนื้อกุ้งถูกปลดปล่อยออกมา ทำให้มีค่าการสูญเสียน้ำหนักเพิ่มขึ้นและทำให้กุ้งมีขนาดเล็กลง ตัวอ้อม เนื้อสัมผัสแข็ง สีเนื้อเปลี่ยนจากสีน้ำเงินหรือเทาอมน้ำเงินจากสารแอสตาแซนทิน (Astaxanthin) ซึ่งรวมตัวอยู่กับโปรตีนถูกปลดปล่อยเมื่อโปรตีนเสียสภาพธรรมชาติ ส่งผลให้สีแดงของแคโรทีนอยด์อิสระปรากฏเด่นชัดขึ้น (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2549)

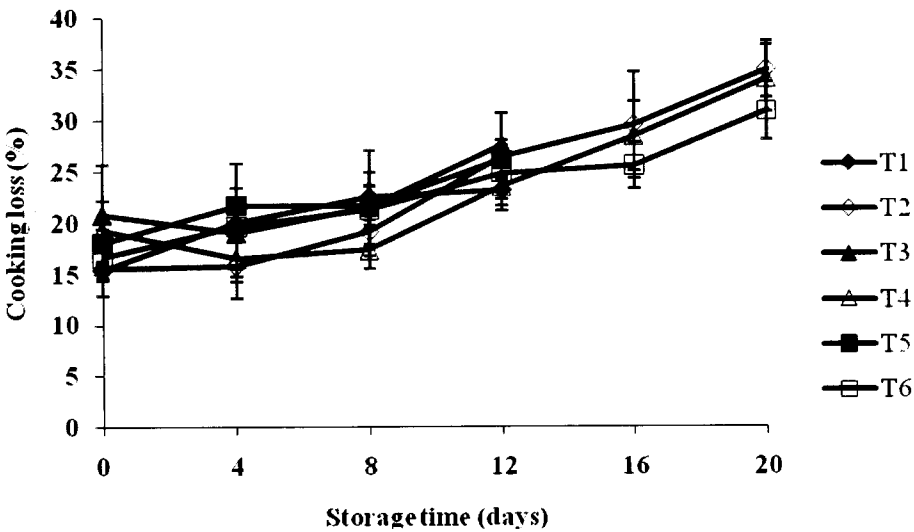


Figure 58. Marination effect on cooking losses (%) of shrimp marinated without and with Tom-kha paste stored at 4°C for 20 days.

- Remark** T1: without marinated with Tom-kha paste and kept under normal air served as control  
 T2: marinated with Tom-kha paste and kept under normal air  
 T3: without marinated with Tom-kha paste and kept under 40% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, 55% N<sub>2</sub>  
 T4: marinated with Tom-kha paste and kept under 40% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, 55% N<sub>2</sub>  
 T5: without marinated with Tom-kha paste and kept under 50% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, 45% N<sub>2</sub>  
 T6: marinated with Tom-kha paste and kept under 50% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, 45% N<sub>2</sub>



### 7.1.7 ลักษณะเนื้อสัมผัสของกุ้งที่มาริเนทด้วยเครื่องต้มยำ

ความแน่นเนื้อ (Firmness) เป็นสมบัติด้านเนื้อสัมผัส (Texture properties) ของอาหาร ความแน่นเนื้อ (Firmness) ความแข็ง (Hardness) และความนุ่ม (Softness) เป็นกลุ่มคุณสมบัติด้านเนื้อสัมผัสประเภทเดียวกัน จากการศึกษาพบว่าค่าความแน่นเนื้อของกุ้งที่มาริเนทด้วยเครื่องต้มยำมีค่าสูงกว่าชุดที่ไม่มาริเนทด้วยเครื่องต้มยำ ( $p < 0.05$ ) (Figure 59) Barbut (1993) รายงานว่าเนื้อที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำ มีความนุ่มลดลง การลดลงของค่าแรงเฉือนที่เกิดจากการมาริเนทมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของสัตว์ โดยในสัตว์บางชนิดพบว่ามาริเนทอาจส่งผลให้ตัวอย่างแข็งขึ้น ในขณะที่อาจทำให้อีกตัวอย่างนุ่ม (Sheard, 1999) โดยความนุ่มของผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการมาริเนทโดยเฉพาะในเนื้อวัว หมู หรือเนื้อที่มีคอลลาเจนสูง เกิดจากการทำงานร่วมกันของความเป็นกรด-ด่าง เอนไซม์ในกล้ามเนื้อ ได้แก่ cathepsin และ calpain ชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อ ชนิดและปริมาณของคอลลาเจน (Koochmaraic, 1996) โดย Cathepsin และ calpain ทำงานดีขึ้นที่ความเป็นกรด-ด่าง 4.0-4.5 และ 6.5-7.0 ตามลำดับ (Cheret *et al.*, 2007) การทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า การมาริเนทด้วยเครื่องต้มยำเป็นปัจจัยที่สำคัญเหนี่ยวนำให้เกิดการรวมตัวกันของโปรตีนจากการทำงานของกรด (pH ที่ต่ำลง) และ / หรือการทำงานของสารประกอบฟีนอลิกที่ทำปฏิกิริยากับ โปรตีน ทำให้ความแน่นเนื้อเพิ่มขึ้น

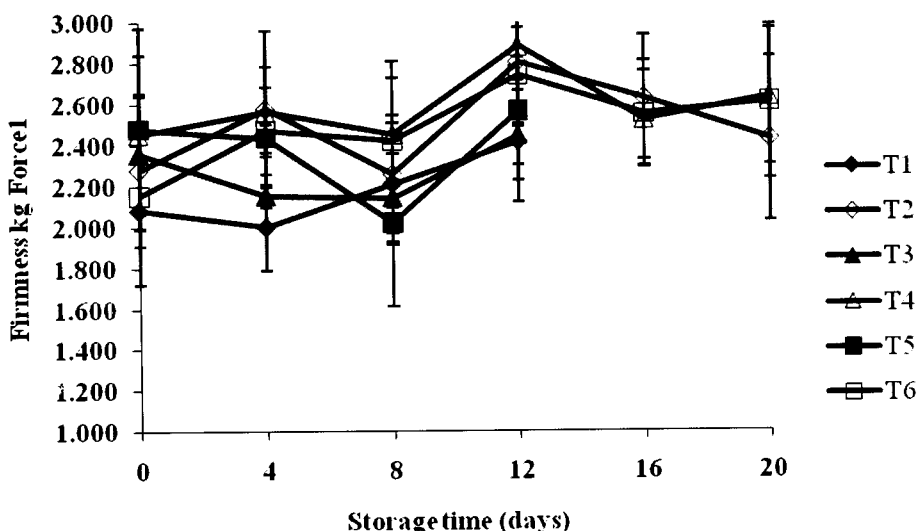


Figure 59. Marination effect on texture (Firmness) of shrimp marinated without and with Tom-kha paste stored at 4°C for 20 days.

**Remark** T1: without marinated with Tom-kha paste and kept under normal air served as control

T2: marinated with Tom-kha paste and kept under normal air

T3: without marinated with Tom-kha paste and kept under 40% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, 55% N<sub>2</sub>

T4: marinated with Tom-kha paste and kept under 40% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, 55% N<sub>2</sub>

T5: without marinated with Tom-kha paste and kept under 50% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, 45% N<sub>2</sub>

T6: marinated with Tom-kha paste and kept under 50% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, 45% N<sub>2</sub>

### 7.1.8 โครงสร้างทางจุลภาคของกุ้งขาวมาริเนทด้วยเครื่องต้มยำ

Figure 60 ซึ่งเป็นภาพตัดตามขวางในวันที่ 0 ของกุ้งขาวชุดควบคุมที่ไม่มาริเนทด้วยเครื่องต้มยำ (T1) และเปรียบเสมือนคุณภาพเริ่มต้นของกุ้งหลังการแช่สารละลายโซเดียมโพลีฟอสเฟต พบว่าช่องว่างระหว่างมัดกล้ามเนื้อและภายในมัดกล้ามเนื้อมีเพียงเล็กน้อย ทั้งนี้เนื่องจากสารละลายโซเดียมโพลีฟอสเฟตทำให้แอคโตไมโอซินแยกออกจากกันจึงทำให้โครงสร้างตาข่ายเส้นใยเกิดการพองตัว (Ruusunen and Poulanne, 2005) แต่เมื่ออายุการเก็บรักษานานขึ้นพบว่า กุ้งขาวชุดควบคุมที่ไม่มาริเนทด้วยเครื่องต้มยำ (T1, T3 และ T5) มีช่องว่างระหว่างมัดกล้ามเนื้อและภายในมัดกล้ามเนื้อเพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะชุดควบคุม (T1) เกิดช่องว่างภายในมัดกล้ามเนื้อและระหว่างมัดกล้ามเนื้อมากที่สุด ทั้งนี้เป็นผลมาจากการย่อยสลายกล้ามเนื้อด้วยเอนไซม์ที่มีอยู่ในกุ้งและจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมา เมื่อเรียงลำดับการเกิดช่องว่างระหว่างมัดกล้ามเนื้อของกุ้งที่ไม่มาริเนทด้วยเครื่องต้มยำ พบว่า T1 > T5 > T3 (Figure 61-63)

ผลของเครื่องต้มยำต่อโครงสร้างทางจุลภาคของกุ้งขาวที่มาริเนทด้วยเครื่องต้มยำ (กำลังขยาย 300 เท่า) แสดงดัง Figure 64-68 พบว่า การเก็บรักษาที่สภาวะต่างกันและอายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น กุ้งที่มาริเนทด้วยเครื่องต้มยำที่เก็บในสภาวะการบรรจุแบบปกติ (T2) มีช่องว่างระหว่างมัดกล้ามเนื้อมากที่สุด รองลงมาคือกุ้งที่มาริเนทด้วยเครื่องต้มยำที่บรรจุในสภาวะคัดแปลงบรรยากาศ ที่มีอัตราส่วนของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์: แก๊สออกซิเจน: แก๊สไนโตรเจน เท่ากับ 40: 5: 55 (T4) และกุ้งที่มาริเนทด้วยเครื่องต้มยำที่บรรจุในสภาวะคัดแปลงบรรยากาศ ที่มีอัตราส่วนของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์: แก๊สออกซิเจน: แก๊สไนโตรเจน เท่ากับ 50: 5: 45 (T6) มีช่องว่างระหว่างมัดกล้ามเนื้อน้อยที่สุด แสดงให้เห็นว่าสภาวะการบรรจุเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางจุลภาคของกุ้ง ซึ่งอาจอธิบายได้ว่า ปริมาณแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ที่เพิ่มขึ้นสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่มีอยู่ในกล้ามเนื้อกุ้ง (endogenous enzyme) และเอนไซม์ที่มาจากการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (exogenous enzyme) ส่งผลให้การย่อยสลายของโปรตีนลดลง

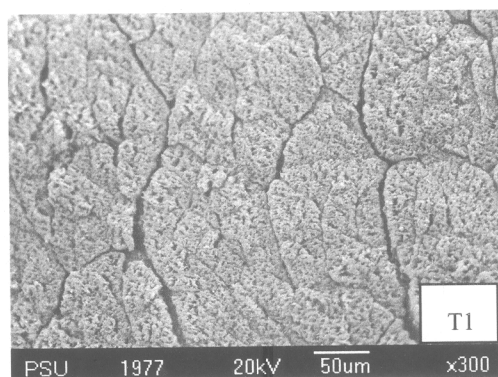


Figure 60. SEM micrographs of transverse orientation of shrimp without marinated Tom-kha paste (control) at 0 day.

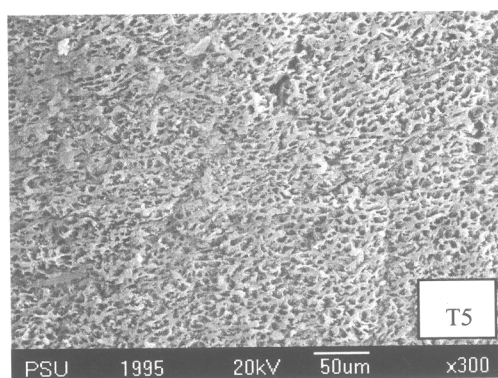
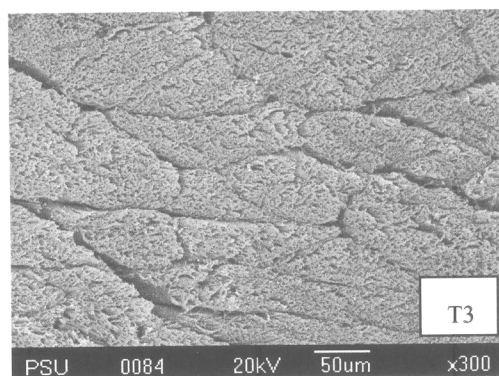
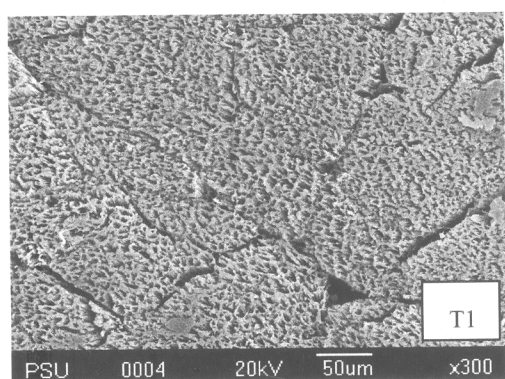


Figure 61. SEM micrographs of transverse orientation of shrimp without marinated Tom-kha paste at 4 days.

**Remark** All legends are corresponding to legends showed in Table 12.

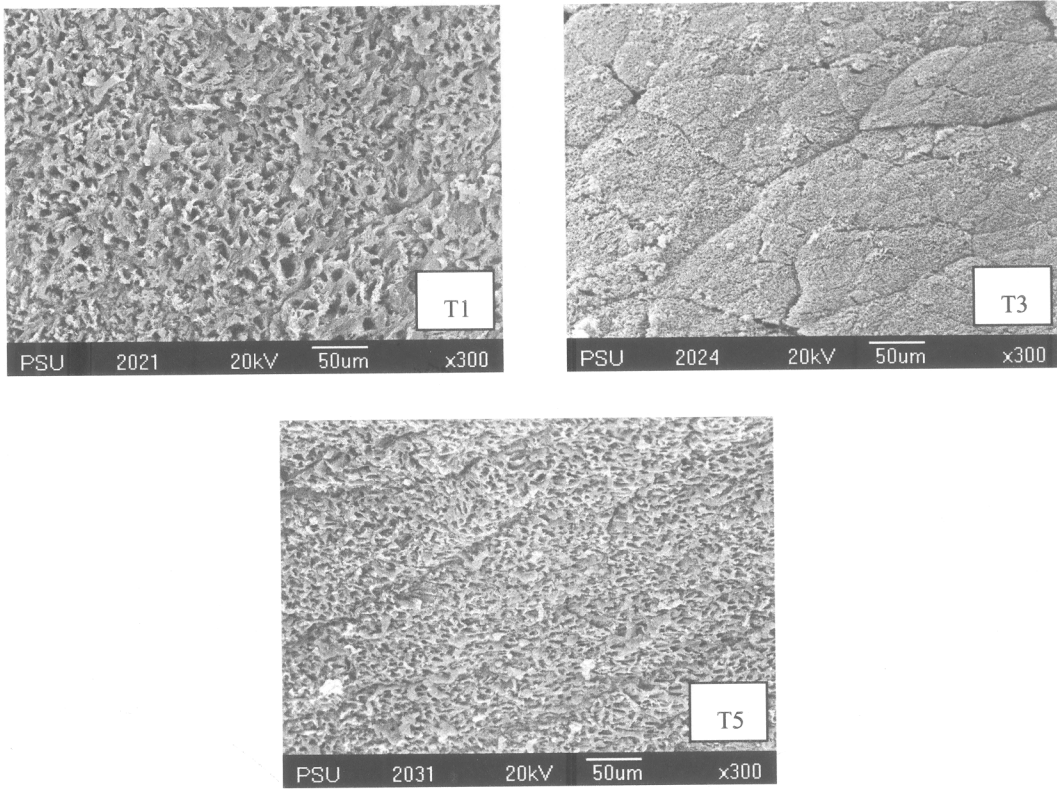


Figure 62. SEM micrographs of transverse orientation of shrimp without marinated Tom-kha paste at 8 days.

**Remark** All legends are corresponding to legends showed in Table 12.

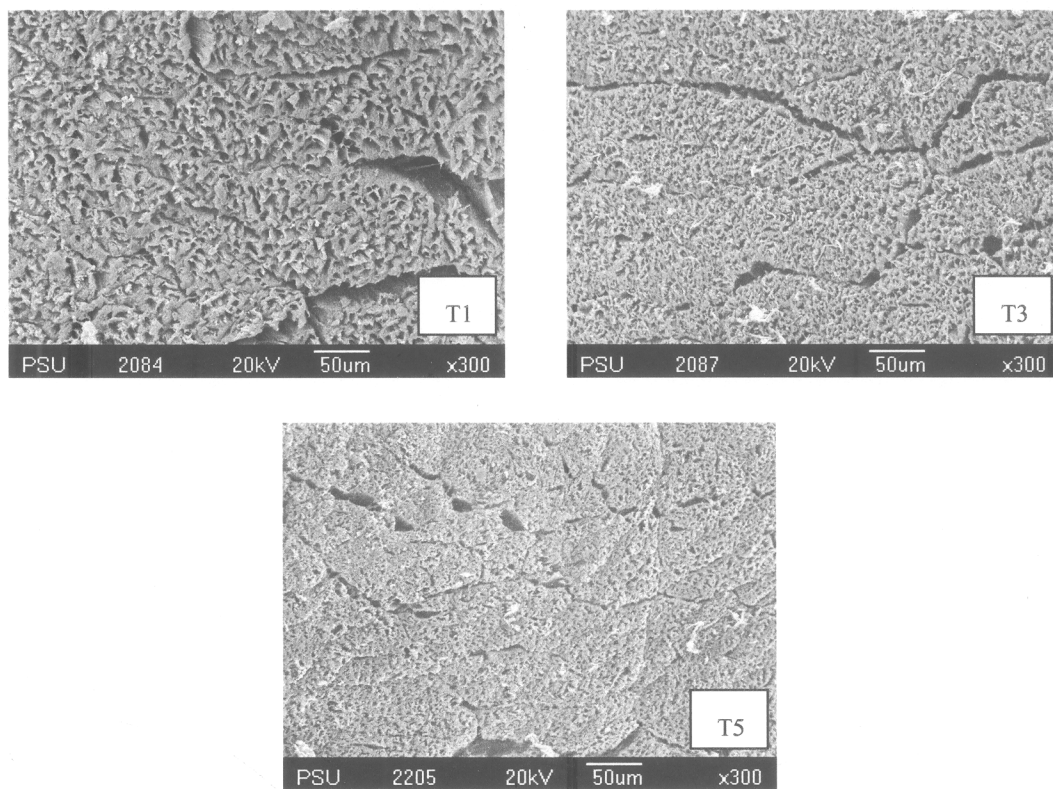


Figure 63. SEM micrographs of transverse orientation of shrimp without marinated Tom-kha paste at 12 days.

**Remark** All legends are corresponding to legends showed in Table 12.

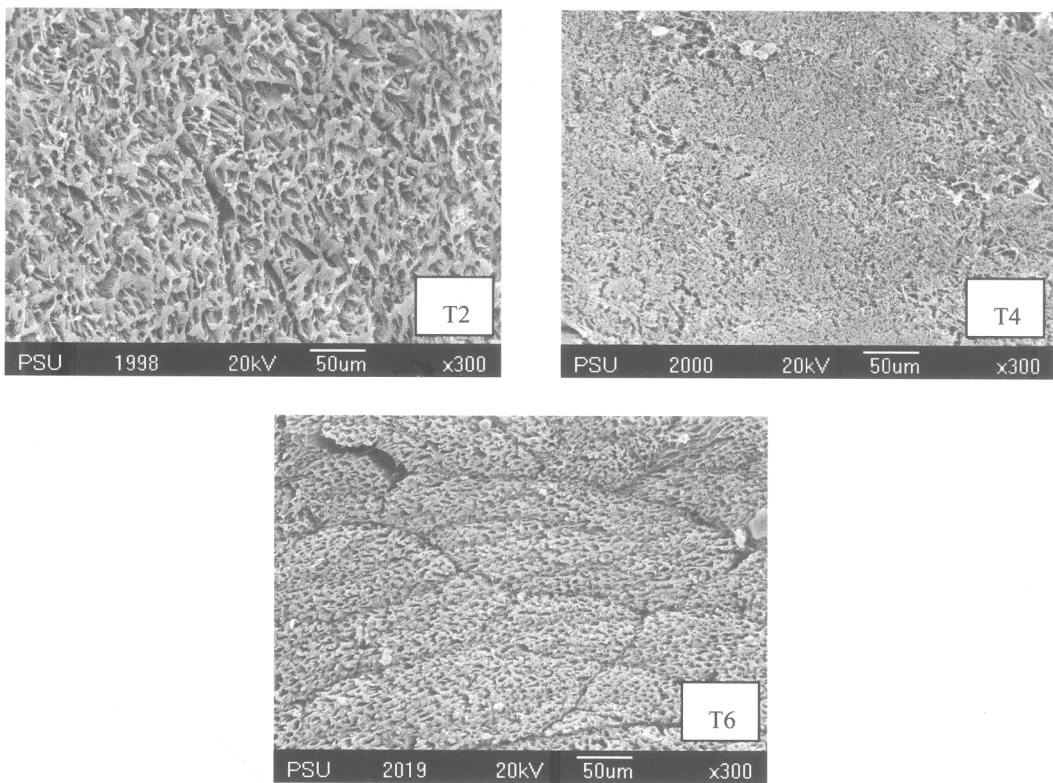


Figure 64. SEM micrographs of transverse orientation of shrimp marinated with Tom-kha paste at 4 days.

**Remark** All legends are corresponding to legends showed in Table 12.

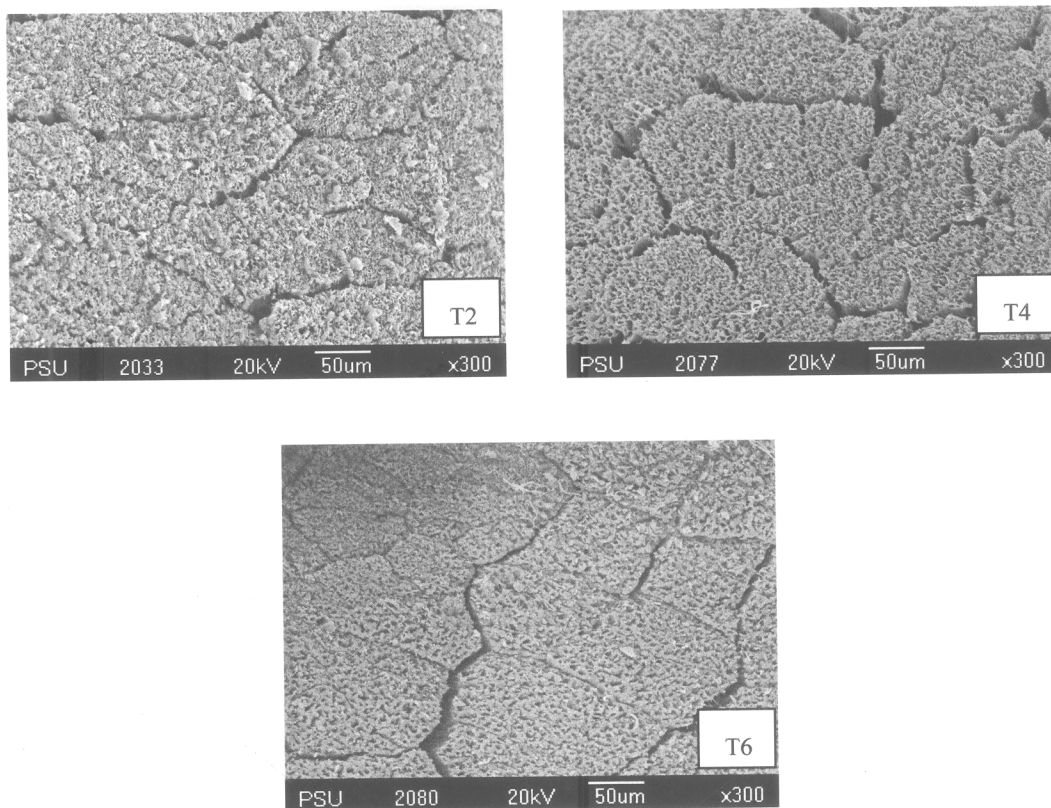


Figure 65. SEM micrographs of transverse orientation of shrimp marinated with Tom-kha paste at 8 days.

**Remark** All legends are corresponding to legends showed in Table 12.

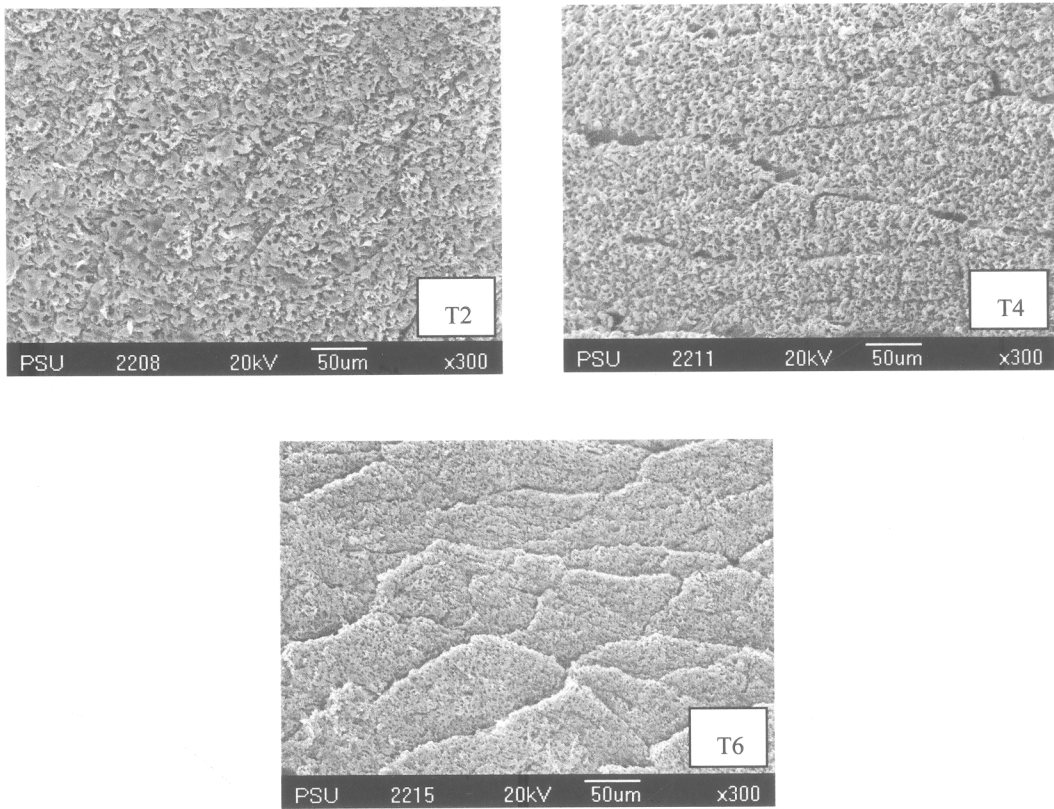


Figure 66. SEM micrographs of transverse orientation of shrimp marinated with Tom-kha paste at 12 days.

**Remark** All legends are corresponding to legends showed in Table 12.



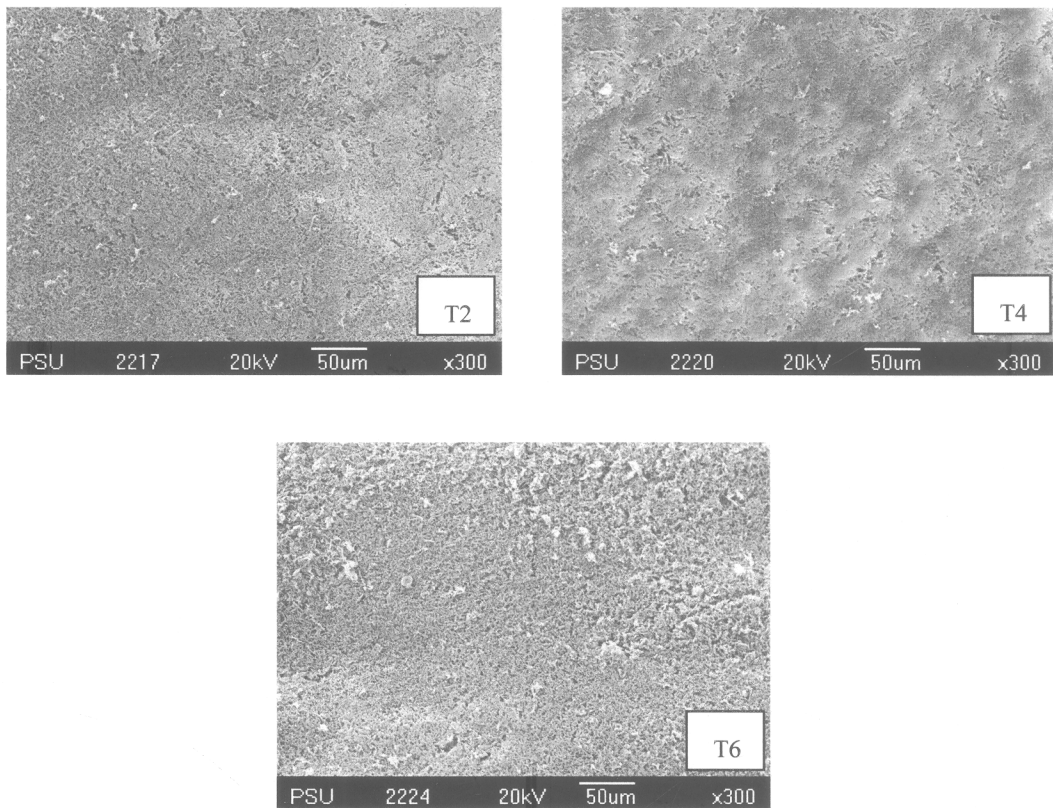


Figure 67. SEM micrographs of transverse orientation of shrimp marinated with Tom-kha paste at 16 days.

**Remark** All legends are corresponding to legends showed in Table 12.

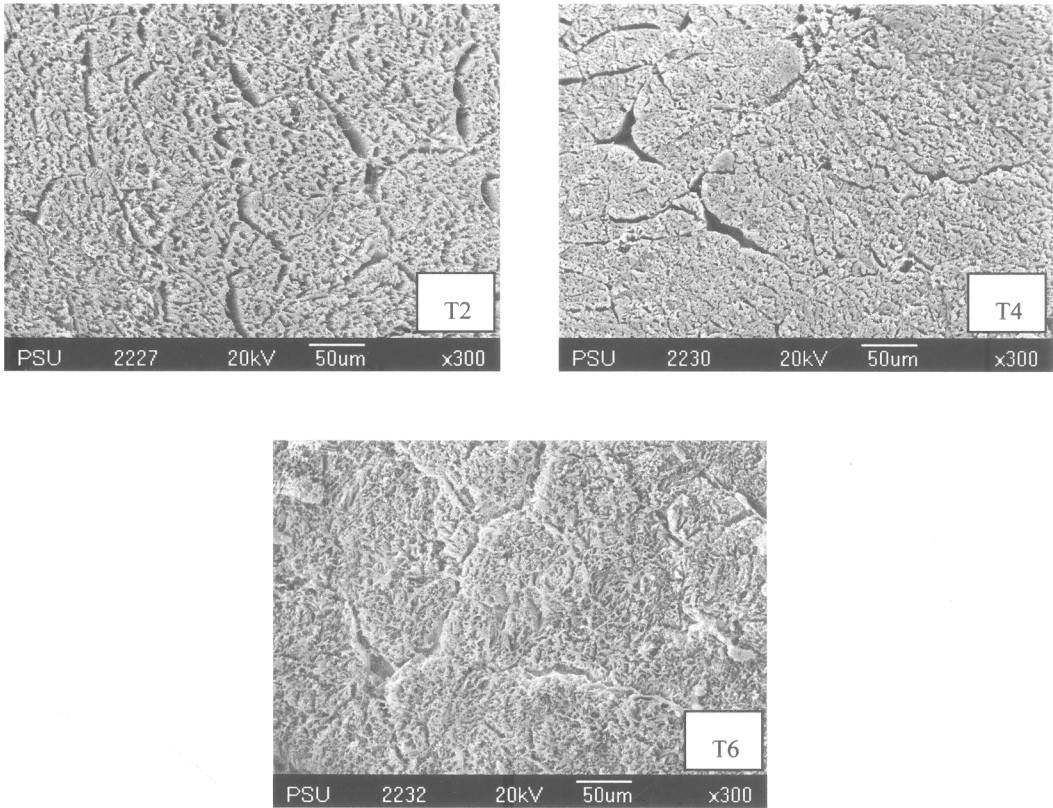


Figure 68. SEM micrographs of transverse orientation of shrimp marinated with Tom-kha paste at 16 days.

**Remark** All legends are corresponding to legends showed in Table 12.

## 7.2 การเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางเคมีของผลิตภัณฑ์กุ้งที่มาริเนทด้วยเครื่องต้มยำ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C ในสภาวะการบรรจุต่างๆ

### 7.2.1 ปริมาณค่าที่ระเหยได้ (TVB) ทั้งหมดและไตรเมทิลอะมีน (TMA)

ค่า TVB เป็นดัชนีบอกความสดของสัตว์น้ำได้ โดยถ้าค่า TVB ต่ำกว่า 20 mg N/100 g ตัวอย่าง ถือว่ามีความสดมาก ค่า TVB ที่เกินกว่า 30 mg N/100 g ตัวอย่าง จะเริ่มไม่สด ถ้าค่า TVB 40 mg N/100 g ตัวอย่าง เป็นคุณภาพที่ไม่เหมาะสมต่อการบริโภค (สุทธวัฒน์ เบญจกุล และไพรัตน์ โสภโณคร, 2544) จากผลการทดลอง พบว่า ในวันแรกของการเก็บรักษา กุ้งขาวชุดควบคุม (T1) มีค่า TVB 6.02 mg N/100 g ตัวอย่าง ในขณะที่กุ้งที่มาริเนทด้วยเครื่องต้มยำบรรจุแบบปกติ (T2) มีค่า TVB 6.31 mg N/100 g ตัวอย่าง ซึ่งสูงกว่าชุดควบคุม (T1) เล็กน้อย (Figure 69) แต่เมื่อถึงวันที่ 8 ของการเก็บรักษา พบว่า กุ้งขาวชุดควบคุม (T1) มีค่า TVB เพิ่มขึ้นเป็น 22.61 mg N/100 g ตัวอย่าง ซึ่งเป็นระดับที่แสดงให้ทราบว่าวัตถุดิบเริ่มไม่สด ส่วนกุ้งขาวที่ไม่มาริเนทด้วยเครื่องต้มยำและเก็บที่สภาวะคัดแปลงบรรยากาศ (T3 และ T5) มีค่า TVB อยู่ในช่วง 6-8 mg N/100 g ตัวอย่าง ซึ่งเป็นระดับที่แสดงให้ทราบว่าวัตถุดิบยังมีความสด ในขณะที่กุ้งที่มาริเนทด้วยเครื่องต้มยำทุกสภาวะการบรรจุ ที่เก็บเป็นระยะเวลา 8 วัน มีค่า TVB อยู่ในช่วง 7-11 mg N/100 g ตัวอย่าง ซึ่งเป็นระดับที่แสดงให้ทราบว่าวัตถุดิบยังมีความสด ส่วนวันที่ 12 ของการเก็บรักษา พบว่า กุ้งขาวชุดควบคุม (T1) มีค่า TVB 56.93 mg N/100 g ตัวอย่าง ซึ่งเป็นระดับที่ไม่เหมาะสมต่อการบริโภค ส่วนกุ้งขาวที่ไม่มาริเนทด้วยเครื่องต้มยำและเก็บที่สภาวะคัดแปลงบรรยากาศ (T3 และ T5) มีค่า TVB อยู่ในช่วง 22-25 mg N/100 g ตัวอย่าง เป็นระดับที่แสดงให้ทราบว่าวัตถุดิบเริ่มไม่สด ในขณะที่กุ้งที่มาริเนทด้วยเครื่องต้มยำบรรจุแบบปกติ (T2) มีค่า TVB 41.77 mg N/100 g ตัวอย่าง ซึ่งเป็นระดับที่ไม่เหมาะสมต่อการบริโภค และกุ้งขาวที่มาริเนทด้วยเครื่องต้มยำและเก็บที่สภาวะคัดแปลงบรรยากาศ (T4 และ T6) มีค่า TVB อยู่ในช่วง 10-14 mg N/100 g ตัวอย่าง ถือว่าวัตถุดิบมีความสดมาก ดังนั้นหากพิจารณาเฉพาะค่า TVB ของกุ้งที่มาริเนทด้วยเครื่องต้มยำจากกล่าวได้ว่ากุ้งยังคงความสดไว้นานกว่า 12 วัน (ประมาณ 20 วัน) โดยเฉพาะการเก็บที่สภาวะคัดแปลงบรรยากาศ ทั้งนี้อธิบายได้ว่าเครื่องต้มยำและสภาวะการบรรจุแบบคัดแปลงบรรยากาศไม่อำนวยความสะดวกของจุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศ ซึ่งเป็นจุลินทรีย์หลักในการทำให้อาหารเน่าเสียจึงส่งผลให้สามารถควบคุมการเปลี่ยนแปลงค่า TVB ได้ดีกว่าการบรรจุแบบอากาศปกติ

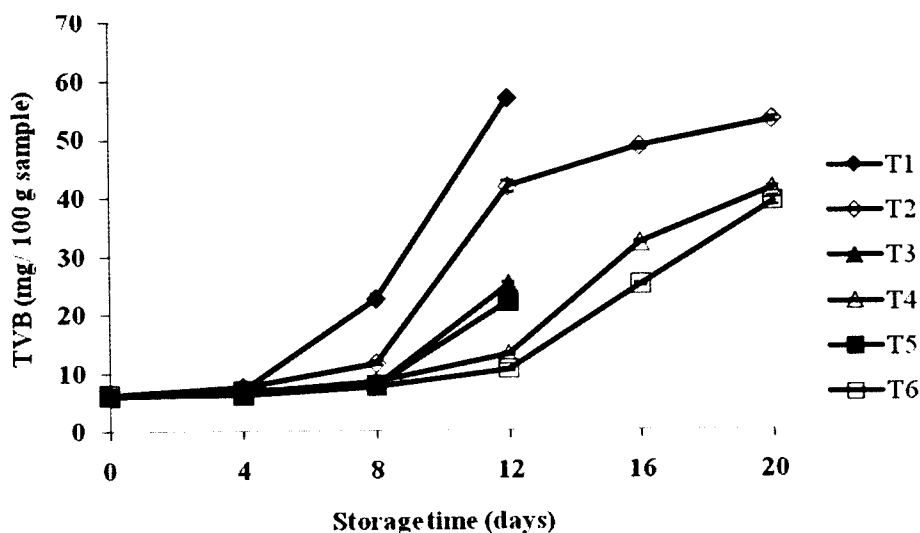


Figure 69. Marination effect on TVB-N value of shrimp marinated without and with Tom-kha paste stored at 4°C for 20 days.

**Remark** T1: without marinated with Tom-kha paste and kept under normal air served as control

T2: marinated with Tom-kha paste and kept under normal air

T3: without marinated with Tom-kha paste and kept under 40% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, 55% N<sub>2</sub>

T4: marinated with Tom-kha paste and kept under 40% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, 55% N<sub>2</sub>

T5: without marinated with Tom-kha paste and kept under 50% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, 45% N<sub>2</sub>

T6: marinated with Tom-kha paste and kept under 50% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, 45% N<sub>2</sub>

ผลจากการทดลองตรวจไม่พบ TMA ซึ่งวิเคราะห์โดยวิธี Conway ในช่วง 0-4 วันแรกของการเก็บรักษาในทุกชุดการทดลอง (Figure 70) อย่างไรก็ตามเมื่อเก็บรักษานาน 12 วันพบว่า ชุดควบคุม (T1) มีการเพิ่มขึ้นของค่า TMA มากที่สุด (1.21 mg/ 100 g sample) รองลงมาคือ กุ้งขาวที่ไม่มารีเนตด้วยเครื่องต้มฆ่าและเก็บรักษาที่สภาวะดัดแปลงบรรยากาศ T3 (0.81 mg/ 100 g sample) และ T5 (0.54 mg/ 100 g sample) ตามลำดับ ในขณะที่การมารีเนตกุ้งขาวร่วมกับการเก็บรักษาที่สภาวะดัดแปลงบรรยากาศพบว่า สามารถควบคุมการเพิ่มขึ้นของค่า TMA ได้อย่างชัดเจน (T4 และ T6) ที่เป็นเช่นนี้อาจเป็นผลมาจากการทำงานร่วมกันระหว่างสมบัติการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ที่ได้จากสารออกฤทธิ์ที่มีอยู่ในเครื่องต้มฆ่าและการลดโอกาสการเจริญของจุลินทรีย์โดยการลดปริมาณออกซิเจนและการเพิ่มปริมาณของคาร์บอนไดออกไซด์ ดังที่ได้กล่าวมาแล้วในประเด็นการเปลี่ยนแปลงของปริมาณต่างๆที่ระเหยได้ทั้งหมด

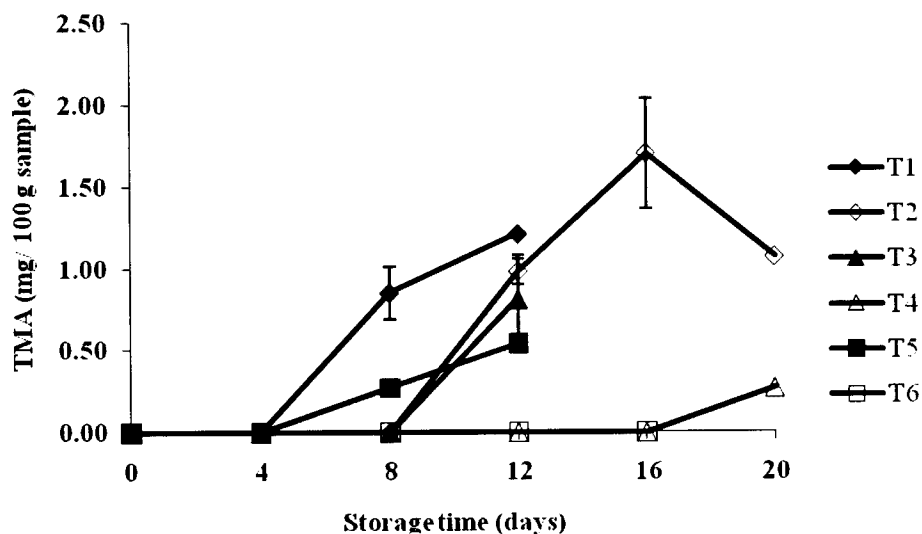


Figure 70. Marination effect on TMA-N value of shrimp marinated without and with Tom-kha paste stored at 4°C for 20 days.

- Remark** T1: without marinated with Tom-kha paste and kept under normal air served as control  
 T2: marinated with Tom-kha paste and kept under normal air  
 T3: without marinated with Tom-kha paste and kept under 40% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, 55% N<sub>2</sub>  
 T4: marinated with Tom-kha paste and kept under 40% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, 55% N<sub>2</sub>  
 T5: without marinated with Tom-kha paste and kept under 50% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, 45% N<sub>2</sub>  
 T6: marinated with Tom-kha paste and kept under 50% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, 45% N<sub>2</sub>

### 7.2.2 การเกิดกลิ่นหืนของไขมัน (TBARS)

TBARS เป็นสารมีสี ได้จากการทำปฏิกิริยาของกรดไทโอบาร์บิฟูริก (thiobarbituric acid) กับมาลอลนไดอัลดีไฮด์ (malonaldehyde, MDA และหรือ aldehyde) ซึ่งเป็นผลผลิตจากการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน ปริมาณของ TBARS วัดจากความเข้มข้นของสีที่เกิดขึ้นที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร โดยค่าความเข้มของสีจะแปรผันตามปริมาณไขมันที่ถูกออกซิไดส์ (สุทธวัฒน์ เบญจกุลและไพรัตน์ โสภโณคร, 2544) นั่นคือ ถ้าความเข้มของสีมากขึ้นแสดงว่ามีปริมาณไขมันที่ถูกออกซิไดส์มาก จากผลการทดลอง พบว่า ปริมาณ TBARS ในกุ้งขาวชุกควบคุม (T1) ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C เป็นระยะเวลา 12 วัน มีค่าเท่ากับ 0.140-0.218 mg malonaldehyde/kg sample ส่วนกุ้งที่ไม่มารีเนตด้วยเครื่องต้มยำบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศมีค่า TBARS อยู่ในช่วง 0.120-0.179 mg malonaldehyde/kg sample ขณะที่ปริมาณ TBARS ในกุ้งที่

มารีเนทด้วยเครื่องต้มยำทุกชุดการทดลองสูงกว่ากุ้งขาวชุดควบคุม (T1) และกุ้งที่ไม่มารีเนทด้วยเครื่องต้มยำบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ (T3, T5) ทั้งนี้อาจเนื่องจาก (1) การรบกวนของสีของเครื่องต้มยำโดยเฉพาะสีของพริก (2) สารประกอบบางชนิดในสมุนไพร/เครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบในเครื่องต้มยำสามารถทำปฏิกิริยากับสารประกอบ TBARS แล้วให้ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร (Figure 71) โดยค่า TBARS ในกุ้งที่มารีเนทด้วยเครื่องต้มยำมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา สอดคล้องกับ Siripongvutikorn และคณะ (2012) ซึ่งพบว่ากุ้งขาวที่มารีเนทด้วยเครื่องต้มยำมีค่า TBARS สูงกว่ากุ้งขาวชุดควบคุม เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น Kilinc and Cakli(2004) รายงานว่าปลาซาร์ดีนที่หมักด้วยสารละลายกรดซิตริกมีค่า TBARS เพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษา อย่างไรก็ตามพบว่า ค่า TBARS ในทุกชุดการทดลองมีค่าน้อยมาก (ต่ำกว่า 2 mg malondialdehyde/kg sample) ทั้งนี้อาจเนื่องจากกุ้งมีปริมาณไขมันค่อนข้างต่ำ ดังนั้นการใช้ค่าความหืนจึงอาจไม่เหมาะสมต่อการตรวจสอบคุณภาพของกุ้งหรือผลิตภัณฑ์กุ้งบางชนิดที่ไม่มีส่วนผสมของไขมันหรือผ่านกระบวนการทอด

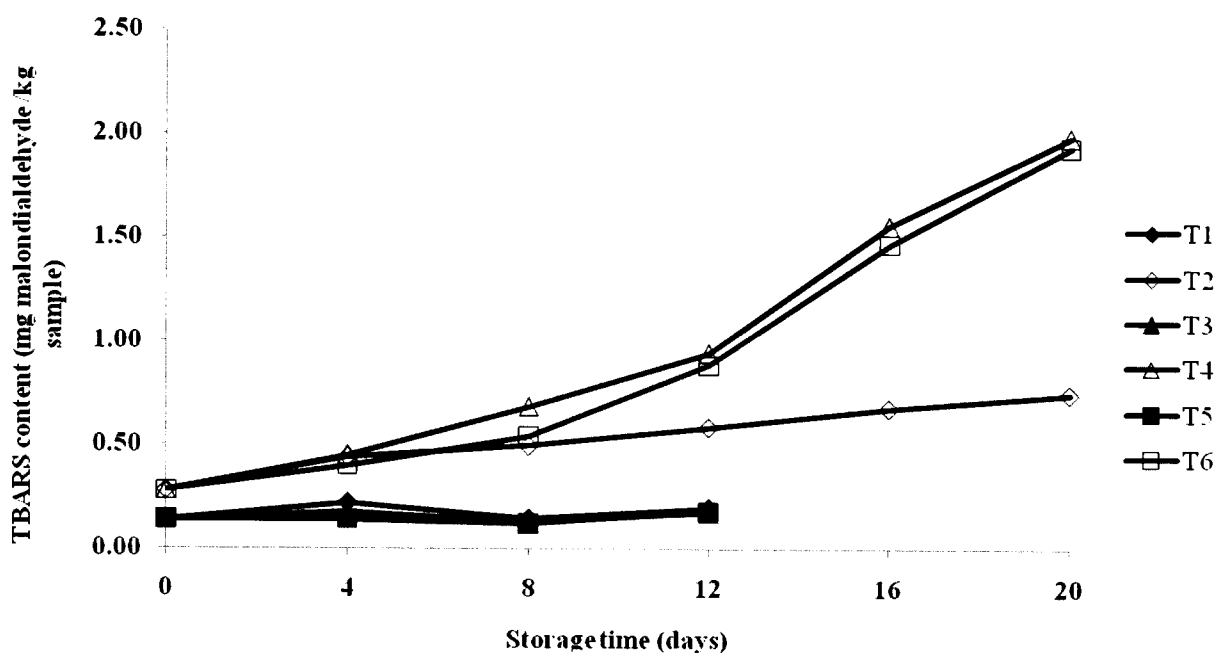


Figure 71. Marination effect on TBARS value of shrimp marinated without and with Tom-kha paste stored at 4°C for 20 days.

**Remark** T1: without marinated with Tom-kha paste and kept under normal air served as control

T2: marinated with Tom-kha paste and kept under normal air

T3: without marinated with Tom-kha paste and kept under 40% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, 55% N<sub>2</sub>

T4: marinated with Tom-kha paste and kept under 40% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, 55% N<sub>2</sub>

T5: without marinated with Tom-kha paste and kept under 50% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, 45% N<sub>2</sub>

T6: marinated with Tom-kha paste and kept under 50% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, 45% N<sub>2</sub>

### 7.3 การเปลี่ยนแปลงทางจุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์กุ้งที่มารีเนทด้วยเครื่องต้มยำ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C ในสภาวะการบรรจุต่างๆ

กุ้งขาวสดที่ไม่มารีเนทด้วยเครื่องต้มยำในถุง Nylon/LLDPE บรรจุแบบปกติเป็นชุดควบคุม (T1) กุ้งที่ไม่มารีเนทด้วยเครื่องต้มยำบรรจุด้วยสภาวะดัดแปลงบรรยากาศ ด้วยแก๊สผสมระหว่าง CO<sub>2</sub>: O<sub>2</sub>: N<sub>2</sub> จำนวน 2 อัตราส่วน คือ 40: 5: 55 (T3) และ 50: 5: 45 (T5) กุ้งที่มารีเนทด้วยเครื่องต้มยำบรรจุแบบปกติ (T2) และกุ้งที่มารีเนทด้วยเครื่องต้มยำบรรจุด้วยสภาวะดัดแปลงบรรยากาศ ด้วยแก๊สผสมระหว่าง CO<sub>2</sub>: O<sub>2</sub>: N<sub>2</sub> จำนวน 2 อัตราส่วน คือ 40: 5: 55 (T4) และ 50: 5: 45 (T6) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C พบว่าวันที่ 0 ของการเก็บรักษา ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (TVC) ของทุกชุดการทดลองอยู่ในช่วง  $2.6 \times 10^4$  และ  $3.8 \times 10^4$  CFU/g (Table 47) เมื่ออายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ชุดควบคุม (T1) มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเพิ่มสูงขึ้นเร็วที่สุด รองลงมาคือ ชุดการทดลอง T2 ซึ่งเป็นกุ้งขาวมารีเนทด้วยเครื่องต้มยำและเก็บในสภาวะปกติ และ T5 ซึ่งเป็นกุ้งขาวที่ไม่มารีเนทด้วยเครื่องต้มยำและเก็บที่สภาวะดัดแปลงบรรยากาศ ผลจากการทดลองพบว่า การควบคุมปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดเกิดขึ้นได้ดีเมื่อมีการมารีเนทกุ้งด้วยเครื่องต้มยำร่วมกับการเก็บด้วยสภาวะดัดแปลงบรรยากาศ แสดงให้เห็นว่า การต้านจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพเกิดจากการทำงานร่วมกันระหว่างสารออกฤทธิ์ที่มีอยู่ในเครื่องต้มยำและการดัดแปลงบรรยากาศ ซึ่งสอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมีโดยการวิเคราะห์ค่า TVB และ TMA

สำหรับการวิเคราะห์หาเชื้อ *E. coli* และจุลินทรีย์ก่อโรค ได้แก่ *S. aureus* พบว่าตรวจไม่พบการเจริญของ *E. coli* แต่ตรวจพบ *S. aureus* เล็กน้อย (3.6 MPN/g) ในตัวอย่างกุ้งที่มารีเนทด้วยเครื่องต้มยำ แต่มีการตรวจพบ Coliform ในทุกชุดตัวอย่างและทุกสภาวะตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ยกเว้นวันแรกของการเก็บรักษา (วันที่ 0) ของกุ้งขาวที่ไม่มารีเนทด้วยเครื่องต้มยำ โดยทั่วไป Coliform เป็นจุลินทรีย์ที่สามารถพบในน้ำและตะไคร้ (Siripongvutikorn, 2005; สุจิรา อายุสุข, 2553) โดยการปนเปื้อนทั้งจากทางตรงและทางอ้อม เช่น มีการปนเปื้อนจากดินที่ใช้ปลูก จากแมลงและสัตว์ต่างๆ (Baylis, 2006) นอกจากนี้กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2536) กำหนดมาตรฐานทางจุลชีววิทยาของอาหารดิบ (อาหารที่ยังบริโภคไม่ได้ต้องผ่านการทำสุกหรือการเตรียมด้วยกรรมวิธีใดๆ ก่อนบริโภค) กำหนดให้พบปริมาณ *E. coli* < 50 MPN/กรัม และ

*S. aureus* < 200/กรัม ซึ่งจากการทดลองพบว่า กุ้งที่ไม่มารีเนตด้วยเครื่องต้มยำและกุ้งที่มารีเนตด้วยเครื่องต้มยำทุกชุดการทดลองมีปริมาณของแบคทีเรียก่อโรคไม่เกินที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กำหนด



Table 47. Total viable count, Coliform, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in shrimp marinated without and with Tom-kha paste stored at 4°C for 20 days.

Bacterial type	Treatment	Storage time (days)					
		0	4	8	12	16	20
Total viable count (CFU/g)	T1	$2.6 \times 10^4$	$5.5 \times 10^5$	$2.2 \times 10^8$	$6.1 \times 10^8$	-	-
	T2	$3.8 \times 10^4$	$9.2 \times 10^4$	$2.2 \times 10^8$	$1.7 \times 10^8$	$3.8 \times 10^7$	$3.1 \times 10^8$
	T3	$2.6 \times 10^4$	$9.5 \times 10^4$	$1.9 \times 10^7$	$2.1 \times 10^8$	-	-
	T4	$3.8 \times 10^4$	$5.1 \times 10^4$	$2.1 \times 10^6$	$1.8 \times 10^7$	$2.1 \times 10^6$	$3.0 \times 10^8$
	T5	$2.6 \times 10^4$	$1.2 \times 10^5$	$1.0 \times 10^8$	$2.3 \times 10^8$	-	-
	T6	$3.8 \times 10^4$	$5.8 \times 10^4$	$6.9 \times 10^6$	$9.0 \times 10^6$	$6.9 \times 10^6$	$3.0 \times 10^8$
Coliform (MPN/g)	T1	< 3	9.2	21	240	-	-
	T2	240	23	43	43	93	43
	T3	< 3	9.2	23	9.2	-	-
	T4	240	9.3	43	43	43	75
	T5	< 3	3.6	3.6	23	-	-
	T6	240	43	2.3	43	2.3	3.6

Table 47. Total viable count, Coliform, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in shrimp marinated without and with Tom-kha paste stored at 4°C for 20 days. (Continued)

Bacterial type	Treatment	Storage time (days)					
		0	4	8	12	16	20
<i>Escherichia coli</i> (MPN/g)	T1	< 3	< 3	< 3	< 3	-	-
	T2	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3
	T3	< 3	< 3	< 3	< 3	-	-
	T4	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3
	T5	< 3	< 3	< 3	< 3	-	-
	T6	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3
<i>Staphylococcus aureus</i> (MPN/g)	T1	< 3	< 3	< 3	< 3	-	-
	T2	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	3.6
	T3	< 3	< 3	< 3	< 3	-	-
	T4	< 3	< 3	3.6	3	3.6	< 3
	T5	< 3	< 3	< 3	< 3	-	-
	T6	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3

#### 7.4 การทดสอบทางประสาทสัมผัสผลิตภัณฑ์ต้มฆ่ากุ้ง

ผลการนำผลิตภัณฑ์กุ้งที่ไม่มารีเนทด้วยเครื่องต้มฆ่าและกุ้งที่มารีเนทด้วยเครื่องต้มฆ่าที่เก็บรักษาอุณหภูมิ 4°C เป็นระยะเวลา 0, 4, 8 และ 12 วัน ที่บรรจุที่สภาวะต่างๆ มาปรุงให้สุกตามวิธีการปรุงต้มฆ่ากุ้ง ที่กล่าวไว้ในวิธีการวิจัยข้อ 7.4.4 (Figure 23 และ 24) ทดสอบความชอบทางประสาทสัมผัสของน้ำซุปรดต้มฆ่ากุ้ง โดยให้ผู้ทดสอบชิม 30 คน ซึ่งเป็นบุคลากรและนักศึกษาภายในคณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ให้คะแนนความชอบของน้ำซุปรดต้มฆ่ากุ้งในด้านลักษณะปรากฏ (Appearance) สี (Color) ความข้นหนืด (Viscosity) กลิ่นเครื่องเทศ (Spices odor) รสชาติ (Taste) และความชอบรวม (Overall liking) จากการทดสอบทางประสาทสัมผัส พบว่า กุ้งที่ไม่มารีเนทด้วยเครื่องต้มฆ่าและกุ้งที่มารีเนทด้วยเครื่องต้มฆ่าทุกชุดการทดลอง ที่เก็บรักษาเป็นระยะเวลาต่างๆ เมื่อปรุงเป็นต้มฆ่ากุ้งแล้วเป็นที่ยอมรับของผู้ทดสอบ โดยมีคะแนนในแต่ละคุณลักษณะมากกว่า 6 ซึ่งหมายถึงผู้ทดสอบยังคงชอบผลิตภัณฑ์ดัง Table 48 แต่เมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เป็นระยะเวลา 8 วัน พบว่ากุ้งที่ไม่มารีเนทด้วยเครื่องต้มฆ่าบรรจุแบบปกติ (T1) และบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศที่มีอัตราส่วนของ CO<sub>2</sub>: O<sub>2</sub>: N<sub>2</sub> เท่ากับ 50: 5: 45 (T5) และกุ้งที่มารีเนทด้วยเครื่องต้มฆ่าที่บรรจุแบบปกติ (T2) เริ่มเกิดการเน่าเสีย โดยตรวจพบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (TVC) มีค่าเป็น 2.2×10<sup>8</sup>, 1.0×10<sup>8</sup> และ 2.2×10<sup>8</sup> CFU/g ตามลำดับ ซึ่งมีค่า > 5.0×10<sup>7</sup> โคโลนีต่อกรัม แสดงว่าอาหารเสื่อมเสีย (Anonymous, 1998 อ้างโดย Aycicek *et al*, 2006) จึงไม่ได้ทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสเนื่องจากอาจเป็นอันตรายต่อผู้ทดสอบ ดังนั้นเมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เป็นระยะเวลา 12 วัน พบว่ามีเพียง 2 ผลิตภัณฑ์เท่านั้นที่ทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสคือ กุ้งที่มารีเนทด้วยเครื่องต้มฆ่าที่บรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ (T4 และ T6) เมื่อปรุงเป็นต้มฆ่ากุ้งแล้วเป็นที่ยอมรับของผู้ทดสอบ โดยมีคะแนนในแต่ละคุณลักษณะมากกว่า 6 ซึ่งหมายถึงผู้ทดสอบยังคงชอบผลิตภัณฑ์ส่วนผลิตภัณฑ์อื่นพบว่ามีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (TVC) > 5.0×10<sup>7</sup> โคโลนีต่อกรัม แสดงว่าอาหารเสื่อมเสีย จึงไม่ได้ทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสเนื่องจากอาจเป็นอันตรายต่อผู้ทดสอบ

Table 48. Marination effect on sensory values of shrimp marinated without and with Tom-kha paste stored at 4°C for 12 days.

Treatment	Storage time (days)	Attribute					
		Apperance	Color	Viscosity	Spices odor	Taste	Overall liking
T1	0	7.03±0.96	7.00±1.08	6.80±1.19	7.27±1.01	7.08±1.25	7.10±1.03
T2		6.93±0.87	6.93±0.87	7.07±1.20	6.87±1.07	6.80±1.00	7.03±0.93
T1	4	7.13±1.11	7.17±0.99	7.23±0.77	6.90±0.96	7.17±1.05	7.33±0.88
T2		6.67±1.40	7.13±1.04	7.03±0.93	6.97±1.13	6.73±1.20	6.83±1.05
T3		7.00±1.11	7.00±1.17	7.13±1.01	7.13±1.28	7.10±1.32	7.23±1.17
T4		6.70±1.39	6.87±1.41	6.63±1.38	6.93±1.08	6.70±1.15	6.70±1.02
T5		7.03±1.03	7.17±0.91	7.03±0.93	7.17±1.02	6.92±1.40	7.23±0.90
T6		6.23±1.45	6.43±1.28	6.53±1.11	6.40±1.07	6.07±1.41	6.20±1.16
T1	8	-	-	-	-	-	-
T2		-	-	-	-	-	-
T3		6.60±1.25	6.48±1.29	6.63±1.30	7.15±1.01	6.77±1.22	6.82±1.04
T4		6.90±1.16	6.93±1.20	6.18±1.45	6.67±1.24	6.37±1.54	6.53±1.28
T5		-	-	-	-	-	-
T6		7.03±1.16	6.87±1.22	6.13±1.38	6.70±1.24	6.13±1.38	6.45±1.29

Table 48. Marination effect on sensory values of shrimp marinated without and with Tom-kha paste stored at 4°C for 12 days. (Continued)

Treatment	Storage time (days)	Attribute					
		Apperance	Color	Viscosity	Spices odor	Taste	Overall liking
T1	12	-	-	-	-	-	-
T2		-	-	-	-	-	-
T3		-	-	-	-	-	-
T4		7.04±0.93	7.22±1.04	6.78±0.90	6.91±0.73	6.48±0.99	6.65±0.88
T5		-	-	-	-	-	-
T6		7.00±0.95	7.22±1.20	6.91±1.00	7.00±1.00	6.61±1.27	6.65±1.03

## บทที่ 4

### บทสรุป

สูตรพื้นฐานของเครื่องต้มฆ่า ที่ได้รับการคัดเลือกหลังการประเมินคะแนนความชอบทางประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบชิม คือเครื่องต้มฆ่าที่ประกอบด้วย ฆ่า ตะไคร้ ฟริกซ์หนู และใบมะกรูดร้อยละ 41.84, 47.42, 8.25 และ 2.51 ตามลำดับ

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารออกฤทธิ์ด้านออกซิเดชันในเครื่องต้มฆ่าและเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบในเครื่องต้มฆ่า ได้แก่ ฆ่า ตะไคร้ ฟริกซ์หนูและใบมะกรูด พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดคือการสกัดด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 ที่อัตราส่วนของตัวอย่างต่อตัวทำละลาย 1:10

สารสกัดหยาบของฆ่า ตะไคร้ ฟริกซ์หนู ใบมะกรูดและเครื่องต้มฆ่าด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70, 80, 90 และ 100°ซ เป็นเวลา 10, 20 และ 30 นาที พบว่าสารสกัดหยาบของฆ่ามีความคงตัวต่ออุณหภูมิและเวลาในการให้ความร้อน ในขณะที่สารสกัดหยาบของตะไคร้ ฟริกซ์หนู ใบมะกรูดและเครื่องต้มฆ่า ไม่มีความคงตัวต่ออุณหภูมิและเวลาในการให้ความร้อน

สารสกัดหยาบของฆ่า ตะไคร้ ฟริกซ์หนู ใบมะกรูดและเครื่องต้มฆ่าด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 ที่ปรับพีเอชเป็น 2, 5, 7, 8 และ 9 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วปรับพีเอชให้เท่ากับพีเอชเดิมของสารสกัด พบว่าสารสกัดหยาบของฆ่า ฟริกซ์หนูและใบมะกรูด มีสมบัติการต้านออกซิเดชันเพิ่มขึ้นเมื่อปรับพีเอชเป็นกรด สารสกัดหยาบของตะไคร้ ไม่คงตัวที่พีเอช 2 และ 9 ในขณะที่สารสกัดหยาบของเครื่องต้มฆ่า ไม่คงตัวที่พีเอชเป็นค่าซึ่งมีลักษณะคล้ายคลึงกับสารสกัดหยาบของตะไคร้และฆ่า

การพัฒนาสูตรของเครื่องต้มฆ่าให้มีสมบัติการต้านออกซิเดชันสูง และเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค โดยศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของฆ่าและฟริกซ์หนู ซึ่งเป็นเครื่องเทศที่แสดงสมบัติการต้านออกซิเดชันและมีความคงตัวต่ออุณหภูมิและเวลาในการให้ความร้อนและพีเอช พบว่าสูตรของเครื่องต้มฆ่าหลังจากปรับเปลี่ยนคือ เครื่องต้มฆ่าที่ประกอบด้วย ฆ่า ตะไคร้ ฟริกซ์หนู และใบมะกรูด ร้อยละ 41.43, 47.00, 8.57 และ 3.00 ตามลำดับ ซึ่งใกล้เคียงกับสูตรพื้นฐานที่คัดเลือกได้ในตอนที่ 1

เครื่องต้มฆ่าที่ไม่เติมเกลือและเติมเกลือร้อยละ 8 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) มีอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเพียงแค่ 1 และ 23 วัน ตามลำดับ เนื่องจากมีการบวมของถุงบรรจุเครื่องต้มฆ่า ซึ่งคาดว่าเกิดจากการเจริญของแบคทีเรียแลคติก นอกจากนี้ยังพบว่าการเก็บรักษาเครื่อง

ต้มฆ่าเติมเกลือร้อยละ 8 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) ที่อุณหภูมิห้อง ( $29 \pm 2$  °ซ) เป็นเวลา 28 วัน ทำให้เครื่องต้มฆ่ามีค่า  $a^*$  ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น แต่พีเอชลดลง ส่วนเครื่องต้มฆ่าไม่เติมเกลือและเติมเกลือร้อยละ 8 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) เก็บรักษาที่  $4 \pm 2$  °ซ เป็นเวลา 56 วัน มีค่า  $a^*$  และ  $b^*$  ลดลง มีพีเอชค่อนข้างคงที่ แต่ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS มีแนวโน้มลดลง

เครื่องต้มฆ่าไม่เติมเกลือและเติมเกลือร้อยละ 8 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) เก็บรักษาที่  $4 \pm 2$  °ซ เป็นเวลา 56 วัน มีปริมาณของจุลินทรีย์ทั้งหมดทั้งที่ชอบอากาศและไม่ชอบอากาศน้อยกว่า  $10^4$  โคโลนีต่อกรัมของเครื่องต้มฆ่า ( $8.10 \times 10^2$ ,  $6.96 \times 10^2$ ,  $2.30 \times 10^3$ ,  $4.30 \times 10^3$  โคโลนีต่อกรัมของเครื่องต้มฆ่า ตามลำดับ) และตรวจไม่พบ *E.coli* และจุลินทรีย์ก่อโรค ได้แก่ *C. perfringens*, *S. aureus* และ *B.cereus* ส่วนเครื่องต้มฆ่าเติมเกลือร้อยละ 8 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ( $29 \pm 2$  °ซ) เป็นเวลา 28 วัน มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดทั้งที่ชอบอากาศและไม่ชอบอากาศน้อยกว่า 30 และ  $5.53 \times 10^4$  โคโลนีต่อกรัมของเครื่องต้มฆ่า ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่าเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาในการเก็บรักษาผู้ทดสอบชิมยังให้การยอมรับเครื่องต้มฆ่าไม่เติมเกลือและเติมเกลือร้อยละ 8 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) เก็บรักษาที่  $4 \pm 2$  °ซ และอุณหภูมิห้อง ( $29 \pm 2$  °ซ) (คะแนนมากกว่า 6.87)

เกลือที่ความเข้มข้นร้อยละ 8 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) และการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ ต่ำ มีประสิทธิภาพในการควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์ได้ดีกว่าการเติมเกลือหรือการเก็บรักษาที่ อุณหภูมิต่ำเพียงอย่างเดียวใดอย่างหนึ่ง อย่างไรก็ตามการเติมเกลือมีอิทธิพลต่ำกว่าการเก็บรักษาที่ อุณหภูมิต่ำ ( $4 \pm 2$  °ซ)

เครื่องต้มฆ่าเติมเกลือร้อยละ 8 เก็บรักษาที่  $4 \pm 2$  °ซ เป็นชุดการทดลองที่ดีที่สุด โดยประเมินจากการเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์และการยอมรับทางประสาทสัมผัส เนื่องจากการ เติมเกลือร้อยละ 8 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) ในเครื่องต้มฆ่าและเก็บรักษาที่  $4 \pm 2$  °ซ สามารถควบคุม การเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมดทั้งที่ชอบอากาศและไม่ชอบอากาศได้อย่างมีประสิทธิภาพ ( $8.10 \times 10^2$  และ  $2.30 \times 10^3$  โคโลนีต่อกรัมของเครื่องต้มฆ่า ตามลำดับ) ตรวจไม่พบ Coliform, *E.coli* และจุลินทรีย์ก่อโรค ได้แก่ *C. perfringens*, *S. aureus* และ *B.cereus* และมีการยอมรับทาง ประสาทสัมผัสในทุกคุณลักษณะมากกว่า 6.87 ซึ่งมีค่ามากที่สุดเมื่อเทียบกับทุกชุดการทดลอง

กึ่งมารินทด้วยเครื่องต้มฆ่าซึ่งประกอบด้วยข้าว ตะไคร้ พริกชี้หนูและใบมะกรูด ร้อยละ 41.43, 47.00, 8.57 และ 3.00 ตามลำดับ โดยนำเครื่องต้มฆ่าตามสูตรดังกล่าวมาหมักกับกึ่ง ขาวในอัตราส่วน 1:3 ก่อนนำไปบรรจุในสภาวะการบรรจุต่างๆ ได้แก่ การบรรจุแบบปกติและ

บรรจุในสภาวะตัดแปลงบรรยากาศ ในถุง nylon/LLDPE ภายใต้สภาวะแก๊สผสมระหว่างแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (CO<sub>2</sub>) แก๊สออกซิเจน (O<sub>2</sub>) และแก๊สไนโตรเจน (N<sub>2</sub>) จำนวน 2 อัตราส่วน คือ 40: 5: 55 และ 50: 5: 45 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °ซ เป็นระยะเวลาต่างๆ

ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของกุ้งขาวที่มารีเนตด้วยเครื่องต้มยำมีแนวโน้มลดลงเมื่ออายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น จากอิทธิพลของการเก็บแบบตัดแปลงบรรยากาศและการมารีเนตด้วยเครื่องต้มยำมีผลทำให้เกิดการเจริญของแบคทีเรียแลคติก แต่การมารีเนตหรือไม่มารีเนตด้วยเครื่องต้มยำและเก็บในสภาวะปกติหรือตัดแปลงบรรยากาศไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณความชื้น

จากการศึกษาโครงสร้างทางจุลภาคของกุ้งขาวมารีเนตด้วยเครื่องต้มยำซึ่งเก็บรักษาที่สภาวะต่างกันพบว่า เมื่ออายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น กุ้งขาวชุดควบคุมที่ไม่มารีเนตด้วยเครื่องต้มยำที่เก็บในสภาวะการบรรจุแบบปกติ มีช่องว่างระหว่างมัดกล้ามเนื้อมากที่สุด รองลงมาคือกุ้งที่ไม่มารีเนตด้วยเครื่องต้มยำที่บรรจุในสภาวะตัดแปลงบรรยากาศ ที่มีอัตราส่วนของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์: แก๊สออกซิเจน: แก๊สไนโตรเจน เท่ากับ 40: 5: 55 ส่วนกุ้งที่ไม่มารีเนตด้วยเครื่องต้มยำที่บรรจุในสภาวะตัดแปลงบรรยากาศ ที่มีอัตราส่วนของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์: แก๊สออกซิเจน: แก๊สไนโตรเจน เท่ากับ 50: 5: 45 มีช่องว่างระหว่างมัดกล้ามเนื้อน้อยที่สุด และกุ้งที่มารีเนตด้วยเครื่องต้มยำที่เก็บในสภาวะการบรรจุแบบปกติ มีช่องว่างระหว่างมัดกล้ามเนื้อมากที่สุด รองลงมาคือกุ้งที่มารีเนตด้วยเครื่องต้มยำที่บรรจุในสภาวะตัดแปลงบรรยากาศ ที่มีอัตราส่วนของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์: แก๊สออกซิเจน: แก๊สไนโตรเจน เท่ากับ 40: 5: 55 ส่วนกุ้งที่มารีเนตด้วยเครื่องต้มยำที่บรรจุในสภาวะตัดแปลงบรรยากาศ ที่มีอัตราส่วนของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์: แก๊สออกซิเจน: แก๊สไนโตรเจน เท่ากับ 50: 5: 45 มีช่องว่างระหว่างมัดกล้ามเนื้อน้อยที่สุด

เมื่อพิจารณาค่าปริมาณค่าที่ระเหยได้ (TVB) ทั้งหมดของกุ้งที่มารีเนตด้วยเครื่องต้มยำพบว่า กุ้งยังคงความสดนานถึง 12 วัน เมื่อเก็บในสภาวะตัดแปลงบรรยากาศที่มีอัตราส่วนของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์: แก๊สออกซิเจน: แก๊สไนโตรเจน เท่ากับ 40: 5: 55 (TVB เท่ากับ 13.09 mg N/100 g ตัวอย่าง) และ 50: 5: 45 (TVB เท่ากับ 10.57 mg N/100 g ตัวอย่าง) ทั้งนี้เนื่องจากเครื่องต้มยำและสภาวะการบรรจุแบบตัดแปลงบรรยากาศไม่อำนวยความสะดวกการเจริญของจุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศ ส่งผลให้สามารถควบคุมการเปลี่ยนแปลงค่า TVB ได้ดีกว่าการบรรจุแบบอากาศปกติ ส่วนค่าTBARSในทุกชุดการทดลองมีค่าน้อยมาก (ต่ำกว่า 2 mg malondialdehyde/kg sample) ทั้งนี้อาจเนื่องจากกุ้งมีปริมาณไขมันค่อนข้างต่ำ ดังนั้นการใช้ค่าความหืนจึงอาจไม่เหมาะสมต่อการตรวจสอบคุณภาพของกุ้งหรือผลิตภัณฑ์กุ้งบางชนิดที่ไม่มีส่วนผสมของไขมัน



กึ่งขาวชุดควบคุมที่ไม่มารีเนทด้วยเครื่องต้มฆ่าเก็บในสภาวะการบรรจุแบบปกติ (T1) และเก็บในสภาวะดัดแปลงบรรยากาศที่มีอัตราส่วนของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์: แก๊สออกซิเจน: แก๊สไนโตรเจน เท่ากับ 50: 5: 45 (T5) และกึ่งขาวที่มารีเนทด้วยเครื่องต้มฆ่าเก็บในสภาวะการบรรจุแบบปกติ (T2) มีอายุการเก็บรักษา 4 วัน โดยมีปริมาณของจุลินทรีย์ทั้งหมดน้อยกว่า  $5.0 \times 10^7$  CFU/g ( $5.5 \times 10^5$ ,  $1.2 \times 10^5$  และ  $9.2 \times 10^4$  CFU/g ตามลำดับ) ส่วนกึ่งขาวที่ไม่มารีเนทด้วยเครื่องต้มฆ่าเก็บในสภาวะดัดแปลงบรรยากาศที่มีอัตราส่วนของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์: แก๊สออกซิเจน: แก๊สไนโตรเจน เท่ากับ 40: 5: 55 (T3) มีอายุการเก็บรักษา 8 วัน และกึ่งขาวที่มารีเนทด้วยเครื่องต้มฆ่าเก็บในสภาวะดัดแปลงบรรยากาศที่มีอัตราส่วนของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์: แก๊สออกซิเจน: แก๊สไนโตรเจน เท่ากับ 40: 5: 55 (T4) และ 50: 5: 45 (T6) มีอายุการเก็บรักษา 16 วัน โดยมีปริมาณของจุลินทรีย์ทั้งหมดน้อยกว่า  $5.0 \times 10^7$  CFU/g ( $1.9 \times 10^7$ ,  $2.1 \times 10^6$  และ  $6.9 \times 10^6$  CFU/g ตามลำดับ) และจากการทดสอบทางประสาทสัมผัส พบว่า กึ่งที่ไม่มารีเนทด้วยเครื่องต้มฆ่าและกึ่งที่มารีเนทด้วยเครื่องต้มฆ่าทุกชุดการทดลองดังกล่าว เมื่อปรุงเป็นต้มฆ่ากึ่งแล้วเป็นที่ยอมรับของผู้ทดสอบ โดยมีคะแนนในแต่ละคุณลักษณะมากกว่า 6 ซึ่งหมายถึงผู้ทดสอบยังคงยอมรับผลิตภัณฑ์

กึ่งขาวที่มารีเนทด้วยเครื่องต้มฆ่าและเก็บในสภาวะดัดแปลงบรรยากาศที่มีอัตราส่วนของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์: แก๊สออกซิเจน: แก๊สไนโตรเจน เท่ากับ 50: 5: 45 เป็นชุดการทดลองที่ดีที่สุด โดยสามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้นานถึง 16 วัน ประเมินจากการเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์และปริมาณค่าที่ระเหยได้ (TVB) ทั้งหมด เนื่องจากการทำงานร่วมกันระหว่างสารออกฤทธิ์ที่มีอยู่ในเครื่องต้มฆ่าและการดัดแปลงบรรยากาศ สามารถควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมดได้อย่างมีประสิทธิภาพ ( $6.9 \times 10^6$  CFU/g) และส่งผลให้สามารถควบคุมการเปลี่ยนแปลงค่า TVB (25.01 mg N/100 g ตัวอย่าง) นอกจากนี้ยังพบว่าตรวจไม่พบ *E. coli* และจุลินทรีย์ก่อโรค ได้แก่ *S. aureus* แต่มีการตรวจพบ Coliform (2.3 MPN/g) จากการศึกษาโครงสร้างทางจุลภาคของกึ่งขาวมารีเนทด้วยเครื่องต้มฆ่าและเก็บในสภาวะดังกล่าวยังสามารถรักษาโครงสร้างของกึ่งได้

### ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการใช้ส้อมแชกในการให้รสเปรี้ยวแทนมะนาว เพราะการใช้มะนาวในน้ำซุปรดัมข่ากึ่งที่เก็บไว้เป็นเวลา 2-3 ชั่วโมง ทำให้น้ำซุปรดัมข่ากึ่งมีรสชาติเปลี่ยนแปลง ส่งผลต่อการทดสอบความชอบทางประสาทสัมผัส
2. ในระบบของอาหารประกอบด้วยโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต ซึ่งองค์ประกอบเหล่านี้อาจส่งผลต่อสารออกฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในเครื่องดัมข่า จึงควรมีการศึกษาผลของโปรตีน ไขมัน หรือคาร์โบไฮเดรต ต่อสมบัติการต้านออกซิเดชันของเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบในเครื่องดัมข่าและเครื่องดัมข่า เพื่อให้ผลการทดลองตอบสนองต่อระบบของอาหารมากขึ้น
3. ควรมีการศึกษาผลของความร้อนและเวลาที่ใช้ในการฆ่าเชื้อแบบสเตอริไรส์ ต่อความคงตัวของสมบัติการต้านออกซิเดชันในเครื่องดัมข่า เพื่อให้ผลการทดลองครอบคลุมถึงผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแบบสเตอริไรส์
4. การยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เครื่องดัมข่า นอกจากมีการเติมเกลือในผลิตภัณฑ์และเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำแล้ว ควรมีการศึกษาผลของการเติมส้อมแชก เพื่อให้เครื่องดัมข่ามีอายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น

## เอกสารอ้างอิง

- กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2536. เอกสารแนบท้ายประกาศ เรื่อง เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหารสำหรับอาหารพร้อมบริโภค (ออนไลน์). สืบค้นจาก: <http://www.dmsc.moph.go.th/webroot/BQSF/file/useful.htm> (1 ธันวาคม 2552)
- กฤติกา นรจิตร์. 2548. คุณสมบัติของสารสกัดจากพืชวงศ์จิง: อิทธิพลของวิธีการสกัดต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียและการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.
- กองสุขาภิบาลอาหาร สำนักอนามัย. 2552. เครื่องปรุงรสของไทย: คุณค่าต้องมาพร้อมความปลอดภัย (ออนไลน์). สืบค้นจาก: [http://www.foodsafety.bangkok.go.th/new2/read\\_article.php?cat\\_id=4&txt\\_id=160](http://www.foodsafety.bangkok.go.th/new2/read_article.php?cat_id=4&txt_id=160) (11 กรกฎาคม 2552)
- เกียรติคุณ สุทธจิตต์และไมตรี สุทธจิตต์. 2548. มหัศจรรย์แห่งพืชผักและผลไม้. สำนักวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยนเรศวร วิทยาเขตสารสนเทศพะเยา.
- คณาจารย์ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 2539. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- เคล็ดลับสุขภาพ. 2550. ต้มข่าไก่ (ออนไลน์). สืบค้นจาก: <http://www.healthnet.in.th/text/forum2/food/food-new%5B14%5D.htm> (16 มิถุนายน 2550).
- จรงค์ แก้วประสิทธิ์. 2552. พริกตอนที่ 3. สาขาเคมีสายวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- จันทนา เวสพันธ์. 2552. การปนเปื้อนจุลินทรีย์ในสารสกัดและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ (ออนไลน์). สืบค้นจาก: <http://202.129.59.198/rdi/Present7.ppt> (20 พฤศจิกายน 2552)
- ชลลดา กุลสถาพร และอมรทิพย์ สมสุข. 2545. การศึกษาฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตะไคร้. ภาควิชาเภสัชเวทและเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ครุณี ธนะนันท์กุล. 2543. เทคโนโลยีในการผลิตอาหาร. มหาวิทยาลัยรามคำแหง. กรุงเทพฯ.

ชีวินท์ นฤนาท. 2548. เสน่ห์เครื่องแกงไทยสดใสดังแดน. ว. สถาบันอาหาร 8(45): 55-59.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ. 2544. จุลชีววิทยาทั่วไป. พิมพ์ครั้งที่ 3.  
สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ.

นิจศิริ เรืองรังษี. 2545. เครื่องเทศ. โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ.

นิธิยา รัตนาปนนท์. 2549. เคมีอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 2. โอ. เอส. พรินติ้ง เฮ้าส์. กรุงเทพฯ.

นุชรี ชาติวังสากุล. 2552. เครื่องดื่มขำสามแซกสำเร็จรูป: ผลของชนิดของบรรจุภัณฑ์และเทคนิคการ  
บรรจุต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพระหว่างการศึกษา. วิทยานิพนธ์ วิทยา  
ศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

บรรจบ ชุณหสวัตติกุล. 2544. ป้องกันความเสื่อมโทรม เสริมสร้างความอ่อนเยาว์วิตามิน เอ.ซี.อี.  
สารต้านอนุมูลอิสระ. ถนนหนทาง. 58-60.

บรรณาธิการอุตสาหกรรมสาร. 2545a. บรรจุภัณฑ์พลาสติก. อุตสาหกรรม. 45: 46-51.

บรรณาธิการอุตสาหกรรมสาร. 2545b. บรรจุภัณฑ์ หัวใจแห่งความปลอดภัยของอาหาร.  
อุตสาหกรรมสาร. 45: 33-39.

บัญญัติ สุขศรีงาม. 2527. เครื่องเทศที่ใช้เป็นสมุนไพร เล่ม 2. อมรการพิมพ์. กรุงเทพฯ.

บุษกร อุดรภิชชาติ. 2545. จุลชีววิทยาทางอาหาร. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัย  
ทักษิณ.

ปกิต กำบุญมา, นันทิยา มะโนศิลป์, สิรินันท์ คมขำ, ชนกพร เผ่าศิริ และฉวี เย็นใจ. ไม่ระบุปี.  
องค์ประกอบทางเคมี ฤทธิ์ทางชีวภาพและการปรับเปลี่ยน โครงสร้างของสารแคพไซซิน  
และไดไฮโดรแคพไซซินจากพริก. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ปณัฐฐา ไชยมุติ. 2546. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของพืชสมุนไพร 7 ชนิด. วิทยานิพนธ์  
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ประสิทธิ์ อติวีระกุล. 2527. เทคโนโลยีของผลไม้และผัก. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร  
คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

- ประเสริฐ ประภานภสินธุ์. 2544. เปรียบเทียบเทคนิคการสกัดสารแคปไซซินในพริกพันธุ์ต่างๆ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ปราณี อ่านเปรื่อง. 2543. เอ็นไซม์ทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 3. โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ.
- พงศ์ศักดิ์ ทรงพระนาม. 2547. อาหารไทย. บริษัท ซีเอ็ดดูเคชั่น จำกัด. กรุงเทพฯ.
- มนัสวี เจ็ยศิริเจริญวงษ์, ษรยุช นนทรักษ์ และ อรุณศรี ลีจียรจำเนียร. 2546. ผลของการบรรจุแบบปรับสภาพบรรยากาศและแบบสุญญากาศต่อการเจริญของแบคทีเรียบางชนิดที่ปนเปื้อนในอาหาร. คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม. มหาวิทยาลัยศิลปากร.
- มยุรี ภาคลำเจียก. 2544. เทคนิคการบรรจุหีบห่อ “เนื้อแดง”. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย. กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. ค้นจาก <http://www.tistr.or.th>. (7 กันยายน 2550).
- รัตนา อินทรานุปกรณ์. 2545. การตรวจสอบและสกัดแยกสารสำคัญจากพืชสมุนไพร. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ.
- วราวุฒิ ครุสง. 2538. จุลชีววิทยาในกระบวนการแปรรูปอาหาร. โอ. เอส. พรินติ้ง เฮาส์. กรุงเทพฯ.
- วัชรีย์ หาญยิ่ง. 2549. อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระในกลไกของการเกิดมะเร็ง. ว. วิทยาศาสตร์ มข. 34: 199-208.
- วัลยา เนาวรัตน์วัฒนาและพัชรี บุญศิริ. 2542. โปรออกซิแดนซ์: อีกโฉมหน้าของแอนติออกซิแดนซ์. ว. วิทยาศาสตร์. 53(3): 196-198.
- วิวัฒน์ หวังเจริญ. 2545. บทบาทของสารประกอบฟีนอลต่อสุขภาพ. อาหาร 32 (4): 245-253.
- วิลาวัลย์ เจริญตระกูล. 2537. การนำเสียของอาหารเนื่องจากจุลินทรีย์. พิมพ์ครั้งที่ 1. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- วิไล รังสาตทอง. 2543. เทคโนโลยีการแปรรูปอาหาร. บริษัท แท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่น จำกัด. กรุงเทพฯ.
- วิไลลักษณ์ อิสระมงคลพันธุ์. 2549. อาหารไทยครบรส. บริษัท สำนักพิมพ์แม่บ้าน จำกัด. กรุงเทพฯ.

- ศรีวัฒนา ทรงจิตสมบุญ, ปาจริย์ อับดุลลาฮาซิม และสุรัตน์ โคมินทร์. 2548. สารต้านอนุมูลอิสระ จำเป็นต่อร่างกายอย่างไร. หมอชาวบ้าน. 27: 27-31.
- ศูนย์อัครริยะเพื่ออุตสาหกรรมอาหาร. 2552. อุตสาหกรรมเครื่องเทศเครื่องปรุงรส (ออนไลน์). สืบค้นจาก: <http://fic.nfi.or.th/th/thaifood/product52-condiment.asp> (11 กรกฎาคม 2552)
- สถาบันการแพทย์แผนไทย. 2542. ไม้ริมรั้ว. โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก. กรุงเทพฯ.
- สมาคมภัตตาคารไทย. 2550. 10 อันดับอาหารไทยที่ต่างชาตินิยม (ออนไลน์). สืบค้นจาก: <http://www.thairestaurantassociation.com/> (5 มิถุนายน 2550)
- สำนักงานประมงจังหวัดสตูล. 2549. สภาวะการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเล ปี 2548. ค้นจาก <http://www.fisheries.go.th> (7 กันยายน 2550).
- สุจิรา อายุสุข. 2553. สมบัติการต้านออกซิเดชันและความคงตัวของเครื่องดื่มข่า. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- สุพร นุชดำรงค์. 2549. อนุมูลอิสระ คุณและโทษต่อมนุษย์. ว. วิทยาศาสตร์ มข. 34: 97-102.
- สุทธวัฒน์ เบญจกุลและไพรัตน์ โสภโณดร. 2544. บทปฏิบัติการ: การควบคุมตรวจสอบและปฏิบัติเกี่ยวกับสัตว์น้ำ. ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร. คณะอุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. หน้า 47-50.
- สุทธวัฒน์ เบญจกุล. 2548. เคมีและคุณภาพสัตว์น้ำ. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. กรุงเทพฯ.
- สุทธวัฒน์ เบญจกุล. 2554. เคมีและคุณภาพสัตว์น้ำ. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. 146 หน้า.
- สมณฑา วัฒนสินธุ์. 2537. ความรู้เกี่ยวกับอันตรายในอาหาร. ใน ความปลอดภัยของอาหาร (การใช้ระบบ HACCP) หน้า 90-118. สำนักพิมพ์ ส.ส.ท. (สมาคมส่งเสริมเทคโนโลยี (ไทย-ญี่ปุ่น). กรุงเทพฯ.
- สมณฑา วัฒนสินธุ์. 2545. จุลชีววิทยาทางอาหาร. โรงพิมพ์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- สุวิมล กิรติพิบูล. 2546. จุลินทรีย์กับการควบคุมสุขลักษณะการผลิตในโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร. สำนักพิมพ์ ส.ส.ท. (สมาคมส่งเสริมเทคโนโลยี ไทย-ญี่ปุ่น). กรุงเทพฯ.

เสก อักษรานุเคราะห์. 2546. อนุมูลอิสระจากการออกกำลังกาย. จุฬาลงกรณ์เวชสาร. 47: 139-148.

อาทินันท์ ประสมพงศ์. 2546. เทคนิคการเลี้ยงกุ้งขาว หรือ วานาไม. ค้นจาก

<http://www.nicaonline.com>. (7 กันยายน 2550).

อาสินะ หมัดเจริญ. 2547. ผลของสารประกอบฟอสเฟตต่อคุณภาพและสมบัติกล้ามเนื้อของกุ้งกุลาดำ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

อบเชย วงศ์ทอง และชนิษฐา พูนผลกุล. 2545. หลักการประกอบอาหาร. ภาควิชาคหกรรมศาสตร์ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อรตรี รอดเจริญ. 2542. การแยกเชื้อและลักษณะของเชื้อ *Pediococcus* spp. จากอาหารหมักดองพื้นบ้านภาคใต้ของไทย. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

Adegoke, G. O. and Odesola, B. A. 1996. Storage of maize and cowpea and inhibition of microbial agents of biodeterioration using the powder and essential oil of lemongrass (*Cymbopogon citratus*). Int. Biodeter. Biodegr. 37: 81-84.

Adeneye, A. A. and Agbaje, E. O. 2007. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of fresh leaf aqueous extract of *Cymbopogon citratus* Stapf. in rats. J. Ethnopharmacol. 112: 440-444.

Akhtar, M. S., Khan, M. A. and Malik, M. T. 2002. Hypoglycaemic activity of *Alpinia galanga* rhizome and its extracts in rabbits. Fitoterapia. 73: 623-628.

Alemela, L., Nieto-Snadoval, J. M. and Lopez, F. J. A. 2002. Microbial inactivation of parika by a high temperature short-time treatment. Influence on color properties. J. Agric. Food Chem. 50: 1435-1440.

Amorati, R., Pedulli, G. F., Cabrini, L., Zambonin, L. and Landi, L. 2006. Solvent and pH effects on the antioxidant activity of caffeic and other phenolic acids. J. Agric. Food Chem. 54: 2932-2937

A.O.A.C. 1999. Official Analytical Chemists. 16<sup>th</sup> ed. The Association of Official Analytical Chemists. Inc. Washington, DC.

- Arabshahi-Delouee, S., Devi, D. V. and Urooj, A. 2007. Evaluation of antioxidant activity of some plant extracts and their heat, pH and storage stability. *Food Chem.* 100: 1100-1105.
- Arambewelaa, L. S. R., Pereraa, A. and Wijesunderab, R. L. C. 1999. Antibacterial activity of *Kaempferia galangal*. *Fitoterapia.* 70: 425-427.
- Arias, R., Lee, T. C., Logendra, L. and Janes, H. 2000. Correlation of lycopene measured by HPLC with the L\*, a\*, b\* color readings of a hydroponic tomato and the relationship of maturity with color and lycopene content. *J. Agric. Food Chem.* 48: 1697-1702.
- Arnao, M. B., Cano, A. and Acosta, M. 2001. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food Chem.* 73: 239-244.
- Arritt, F. M. 2004. The Effects of Modified Atmosphere Packaging on Toxin Production by *Clostridium botulinum* in Raw Aquacultured Flounder Fillets and Fully Cooked Breaded and Battered Pollock Portions. Doctor of Philosophy in Food Science and Technology. Virginia.
- Arts, I. C. W. and Hollman, P. C. H. 1998. Optimization of a quantitative method for the determination of catechins in fruits and legumes. *J. Agric. Food Chem.* 46: 5156-5162.
- Axelssona, L. 2004. Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology. *In Lactic Acid Bacteria Microbiological and Functional Aspects.* 3<sup>rd</sup> ed. (Salminen, S., Wright, A. and Ouwehand, A., eds). p. 1-66. Marcel Dekker. New York.
- Aycicek, H., Oguz, U. and Karci, K. 2006. Determination of total aerobic and indicator bacteria on some raw eaten vegetables from wholesalers in Ankara, Turkey. *Int. J. Hyg. Envir. Heal.* 209: 197-201.
- Babji, A. S., Froning, G. W. and Ngoka, D. A. 1982. The effect of Short-term tumbling and salting on the quality of turkey breast muscle. *Poultry Sci.* 61: 300-303.



- Bacteriological Analytical Manual. 2001. U. S. Department of Health and Human Service. U. S. Food and Drug Administration Center of Food Safety and Applied Nutrition.
- Bahorun, T., Luximon-Ramma, A., Crozier, A. and Aruoma, O. I. 2004. Total phenol, flavonoid, proanthocyanidin and vitamin C levels and antioxidant activities of Mauritian vegetables. *J. Sci. Food Agric.* 84: 1553-1561.
- Banerjee, M and Sarkar, P. K. 2003. Microbiological quality of some retail spices in India. *Food Res. Int.* 36: 469-474.
- Barbut, S. 1993. Colour measurements for evaluating the pale soft exudative (PSE) occurrence in turkey meat. *Food Res. Int.* 26: 39-43.
- Bartolome, A. P., Ruperez, P. and Fuster, C. 1995. Pineapple fruit: morphological characteristics, chemical composition and sensory analysis of Red Spanish and Smooth Cayenne cultivars. *Food Chem.* 53: 75-79.
- Baydar, H., Sagdic, O., Ozkan, G. and Karadogan, T. 2004. Antibacterial activity and composition of essential oils of *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. *Food Control.* 15: 169-172.
- Baylis, C. L. 2006. Enterobacteriaceae. *In* Food Spoilage Microorganisms. (Blackburn, C.W., ed.). p. 624-659. CRC Press LLC. New York.
- Benavente-Garcia, O., Castillo, J., Marin, F. R., Ortuno, A. and Del Rio, J. A. 1997. Uses and properties of citrus flavonoids. *J. Agric. Food Chem.* 45: 454-451.
- Bendjedou, D., Lalaoui, K. and Satta, D. 2003. Immunostimulating activity of the hot water-soluble polysaccharide extracts of *Anacyclus pyrethrum*, *Alpinia galanga* and *Citrullus colocynthis*. *J. Ethnopharmacol.* 88: 155-160.
- Bengoechea, M. L., Sancho, A. I., Bartolome, B., Estrella, I., Gomez-Cordoves, C. and Hernandez, T. 1997. Phenolic composition of industrially manufactured purees and concentrates from peach and apple fruits. *J. Agric. Food Chem.* 45: 4071-4075.

- Benjakul, S., Visessanguan, W., Phongkanpai, V. and Tanaka, M. 2005. Antioxidant activity of caramelisation products and their preventive effect on lipid oxidation in fish mince. *Food Chem.* 90: 231-239.
- 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.
- Berge, P., Ertbjerg, P., Larsen, L. M., Astruc, T., Vignon, X. and Moller, A. J. 2001. Tenderization of beef by lactic injected at different times post mortem. *Meat Sci.* 57: 347-357.
- Berhow, M. A., Fong, C. H. and Hasegawa, S. 1996. Limonoid and flavonoid composition in varieties of papeda and papedocitrus. *Biochem. Syst. Ecol.* 24: 237-242.
- Berke, T. G. and Shieh, S. C. 2001. Capsicum, Chillies, Parpikas, Bird’s Eye Chili. *In Hand Book of Herbs and Spices.* (Peter, K. V., ed). p. 111-112. Woodhead Publishing Limited. Cambridge.
- Binsan, W. 2007. Antioxidative Activity of Mungoong, an Extract Paste, from White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) Cephalothorax. Degree of master of science in food technology. Prince of Songkla University.
- Binsan, W., Benjakul, S., Visessanguan, W., Roytrakul, S., Tanaka, M. and Kishimura, H. 2008. Antioxidative activity of Mungoong, an extract paste from the cephalothorax of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Food Chem.* 106: 185-193.
- Buettner, G. R. 1993. The pecking order of free radical and antioxidant: lipid peroxidation,  $\alpha$ -tocopherol and ascorbate. *Arch. Biochem. Biophys.* 300: 535-543.
- Burda, S. and Oleszek, W. 2001. Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. *J. Agric. Food Chem.* 49: 2774-2777.
- Cacace, J. E. and Mazza, G. 2003. Mass transfer process during extraction of phenolic compounds from milled berries. *J. Food Eng.* 59: 379-389.

- Cadun, A., Cakli, S., and Kislá, D. 2005. A study of marination of deepwater pink shrimp (*Parapenaeus longirostris*, Lucas, 1846) and its shelf life. *Food Chem.* 90: 53-59.
- Cai, Y., Luo, Q., Sun, M. and Harold, C. 2004. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sci.* 74: 2157-2184.
- Castenmiller, J. J. M., Linssen, J. P. H., Heinonen, I. M., Hopia, A. I., Schwarz, K., Hollmann, P. C. H. and West, C. E. 2002. Antioxidant properties of differently processed spinach products. *Nahrung.* 46: 290-293.
- Cheah, P. B. and Hasim, N. H. A. 2000. Natural antioxidant extract from galangal (*Alpinia galanga*) for minced beef. *J. Sci. Food Agr.* 80: 1565-1571.
- Cheel, J., Theoduloz, C., Rodriaguez, J. and Schmeda-Hirschmann, G. 2005. Free radical scavengers and antioxidants from lemongrass (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.). *J. Agric. Food Chem.* 53: 2511-2517.
- Chen, G. and Xiong, Y. L. 2008. Shelf-stability enhancement of precooked red claw crayfish (*Cherax quadricarinatus*) tails by modified CO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub>/N<sub>2</sub> gas packaging. *LWT.* 41: 1431-1436. Available online at [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com).
- Chen, Q., Shi, H. and Ho, C. T. 1992. Effects of rosemary extracts and major constituents on lipid oxidation and soy bean lipoxygenase activity. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* 69: 999-1002.
- Cheret, R., Delbarre-Ladrat, C., Lamballerie-Anton, M., and Verrez-Bagnis, V. 2007. Calpain and cathepsin activities in post mortem fish and meat muscles. *Food Chem.* 101: 1474-1479.
- Ching, L. S. and Mohamed, S. 2001. Alpha-tocopherol content in 62 edible tropical plants. *J. Agric. Food Chem.* 49: 3101-3105.
- Choi, H. S., Song, H. S., Ukeda, H. and Sawamura, M. 2000. Radical scavenging activities of citrus essential oils and their components: Detection using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. *J. Agric. Food Chem.* 48: 4156-4161.

- Chu, Y. H., Chang, C. L. and Hsu, H. F. 2000. Flavonoid content of several vegetables and their antioxidant activity. *J. Sci. Food Agric.* 80: 561-566.
- Chuah, A. M., Lee, Y. C., Yamaguchi, T., Takamura, H., Yin, L. J. and Matoba, T. 2008. Effect of cooking on the antioxidant properties of coloured peppers. *Food Chem.* 111: 20-28.
- Chyau, C. C., Tsaib, S. Y., Kob, P. T. and Maub, J. L. 2002. Antioxidant properties of solvent extracts from *Terminalia catappa* leaves. *Food Chem.* 78: 483-488.
- Concellon, A., Anon, M. C. and Chaves, A. R. 2004. Characterization and changes in polyphenol oxidase from eggplant fruit (*Solanum melongena* L.) during storage at low temperature. *Food Chem.* 88: 17-24.
- Conway, E. J. and Byrne, A. 1936. An absorption apparatus for the micro-determination of certain volatile substances. I The micro-determination of ammonia. *J. Biochem.* 27: 413-529.
- Crawford, M. J. 2000. Fighting Free Radicals: Antioxidants to the Rescue. *Healthy & Natural.* 7: 38.
- Croft, K. D. 1999. Antioxidant Effects of Plant Phenolic Compounds. *In* Antioxidants in Human Health and Disease. (Basu, T. K., Temple, N. J. and Garg, M. L., eds.) p. 109-121. CABI pub. New York.
- Crozier, A., Lean, M. E. J., McDonald, M. S. and Black, C. 1997. Quantitative analysis of the flavonoid content of commercial tomatoes, onions, lettuce, and celery. *J. Agric. Food Chem.* 45: 590-595.
- Crozier, A., Jaganath, I. B. and Clifford, M. N. 2006. Phenols, Polyphenols and Tannins: an Overview. *In* Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet. (Crozier, A., Clifford, M. N. and Ashihara, H., eds.) p. 1-24. Blackwell Publishing, Ltd. UK.
- Daferera, D. J., Ziogas, B. N. and Polissiou, M. G. 2000. GC-MS analysis of essential oils from Greek aromatic plants and their fungitoxicity on *Penicillium digitatum*. *J. Agric. Food Chem.* 48: 2576-2581.

- Daood, H. G., Vinkler, M., Markus, F., Hebshi, E. A. and Biacs, P. A. 1996. Antioxidant vitamin content of spice red pepper (paprika) as affected by technological and varietal factors. *Food Chem.* 55: 365-372.
- Davidson, P. M. 1997. Chemical Preservatives and Natural Antimicrobial Compounds. *In Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers.* (Doyle, M. P., Beuchat, L. R. and Montville, T. J., eds.). A. S. M. Press. Washington D. C. USA.
- Dorantes, L., Colmenero, R., Hernandez, H., Mota, L., Jaramillo, M. E. , Fernandez, E., Solano, C. 2000. Inhibition of growth of some foodborne pathogenic bacteria by *Capsicum annum* extracts. *Int. J. Food. Microbiol.* 57: 125-128.
- Du, G., Li, M., Ma, F. and Liang, D. 2009. Antioxidant capacity and the relationship with polyphenol and vitamin C in *Actinidia* fruit. *Food Chem.* 113: 557-562.
- Duangmal, K. and Apenten, R. K. O. 1999. A comparative study of polyphenoloxidases from taro (*Colocasia esculenta*) and potato (*Solanum tuberosum* var. Romano). *Food Chem.* 64: 351-359.
- Dumri, K. 2001. Study on the Pro-oxidative Activity in Thai spices. Master's degree (Biotechnology). Mahidol University.
- Durling, N. E., Catchpole, O. J., Grey, J. B., Webby, R. F., Mitchell, K. A., Foo, L. Y. and Perry, N. B. 2007. Extraction of phenolics and essential oil from dried sage (*Salvia officinalis*) using ethanol-water mixtures. *Food Chem.* 101: 1417-1424.
- Dziezak, J. D. 1990. Phosphates improve many foods. *Food Technol.* 44: 80-92.
- Egan, H., Kirk, R.S. and Sawyer, R. 1981. Pearson's Chemical Analysis of Foods. London: Churchill Livingstone.
- Elbe, J. H. 1996. Colorants. *In Food Chemistry.* 3<sup>rd</sup> ed. (Fennema, O.R., ed.). p. 651-722. Merceel Dekker. New York.
- Elliott, R. P., Straka, R. P. and Garibaldi, J. A. 1964. Polyphosphate inhibition of growth of pseudomonads from poultry meat. *J. Appl. Microbiol.* 12: 517-522.

- Endo, Y., Usuki, R. and Kaneda, T. 1985. Antioxidant effects of chlorophyll and pheophytin on the autooxidation of oils in the dark. II. The mechanism of antioxidative action of chlorophyll. *J. Am. Oil Chem Soc.* 62: 1387- 1390.
- Engelberth, J. 2006. Secondary Metabolites and Plant Defense. *In Plant Physiology*. 4<sup>th</sup> ed. (Taiz, L, and Zeiger, E., eds.), p. 315-341. Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts.
- Eriksson, C. E. and Na, A. 1995. Antioxidant agents in raw materials and processed foods. *Biochem. Soc. Symp.* 61: 221-234.
- Fellows, P. 2000. Packaging. *In Food Processing Technology: Principles and Practice*. 2<sup>nd</sup> ed. (Fellows, P., ed) p. 462-510. Woodhead Publishing Limited. England.
- Fernandez-Orozco, R., Frias, J., Munoz, R., Zielinski, H., Piskula, M. K., Kozłowska, H. and Vidal-Valverde, C. 2008. Effect of fermentation conditions on the antioxidant compounds and antioxidant capacity of *Lupinus angustifolius* cv. *zapaton*. *Eur. Food Res. Technol.*: 227:979-988.
- Ferruzzi, M. G., Bohm, V., Courtney, P. D. and Schwartz, S. J. 2002. Antioxidant and antimutagenic activity of dietary by radical scavenging and bacterial reverse mutagenesis assays. *J. Food Sci.* 67: 2589-2595.
- Ferruzzi, M. G. and Blakeslee, J. 2007. Digestion, absorption, and cancer preventative activity of dietary chlorophyll derivatives. *Natural Res.* 27: 1-12.
- Ficker, C. E., Smith, M. L., Susiarti, S., Leamanb, D. J., Irawati, C. and Arnason J. T. 2003. Inhibition of human pathogenic fungi by members of Zingiberaceae used by the Kenyah (Indonesian Borneo). *J. Ethnopharmacol.* 85: 289-293.
- Figueirinha, A., Paranhos, A., Perez-Alonso, J. J., Santos-Buelga, C. and Batista, M. T. 2008. *Cymbopogon citratus* leaves: Characterisation of flavonoids by HPLC-PDA-ESI/MS/MS and an approach to their potential as a source of bioactive polyphenols. *Food Chem.* 110: 718-728.

- Frankel, E. N., Bosanek, C. A., Meyer, A. S., Silliman, K. and Kirk, L. L. 1998. Commercial grape juices inhibit the in vitro oxidation of human low-density lipoproteins. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* 46: 834-838.
- Friedman, M. and Jürgens, H. S. 2000. Effect of pH on the stability of plant phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem.* 48: 2101-2110.
- Fogliano, V., Verde, V., Randazzo, G. and Ritieni, A. 1999. Method for measuring antioxidant activity and its application to monitoring the antioxidant capacity of wines. *J. Agric. Food Chem.* 47: 1035-1040.
- Fukumoto, L. R. and Mazza, G. 2000. Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem.* 48: 3597-3604.
- Gao, X., Ohlander, M., Jeppsson, N., Bjork, L. and Trajkovski, V. 2000. Changes in antioxidant effects and their relationship to phytonutrients in fruits of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) during maturation. *J. Agric. Food Chem.* 48: 1485-1490.
- Garbutt, J. 1997. *Essentials of Food Microbiology*. A Member of Hodder Headline Group. London.
- Garver, K. I. and Muriana, P. M. 1993. Detection, identification and characterization of bacteriocin-producing lactic acid bacteria from retail food products. *Int. J. Food Microbiol.* 19: 241-258.
- Gazzani, G., Papetti, A., Massolini, G. and Daglia, M. 1998. Anti- and prooxidant activity of water soluble components of some common diet vegetables and the effect of thermal treatment. *J. Agric. Food Chem.* 48: 4118-4122.
- Gertenbach, D. D. 2002. Solid-Liquid Extraction Technologies for Manufacturing Nutraceuticals. *In Functional Foods: Biochemical and Processing Aspects*. Vol. II. (Shi, J., Mazza, G. and Maguer, M. L., eds.), p. 331-366. CRC Press LLC. New York.
- Gökglu, N., Cengiz, E. and Yerlikaya P. 2004. Determination of the shelf life of marinated sardine (*Sardina pilchardus*) stored at 4°C. *Food Control*.15: 1-4.

- González-Montelongo, R., Gloria Lobo, M. and González, M. 2010. Antioxidant activity in banana peel extracts: Testing extraction conditions and related bioactive compounds. *Food Chem.* 3: 1030-1039.
- Gordon, M. H. 2001. The Development of Oxidative Rancidity in Foods. *In* Antioxidants in Food Practical Applications. 1<sup>st</sup> ed. (Pokorny, J., Yanishlieva-Maslarova, N. and Gordon, M., eds). p. 7-21. CRC Press LLC. New York. and Woodhead Publishing limited. England.
- Gourmetthai. 2007. Tom-kha kai (Online). Available:  
<http://www.gourmetthai.com/Recipes/Content.asp?ID=88> (17 June 2007).
- Gregory, J. F. 1996. Vitamins. *In* Food Chemistry. 3<sup>rd</sup> ed. (Fennema, O. R., Ed.). p. 531-616. Dekker. New York.
- Hall, C. 2001. Sources of Natural Antioxidants: Oilseeds, Nuts. Cereals, Legumes, Animal Products and Microbial Sources. *In* Antioxidants in Food Practical Applications. 1<sup>st</sup> ed. (Pokorny, J., Yanishlieva, N. and Gordon, M. eds.). p. 147-158. CRC Press LLC. New York. and Woodhead Publishing limited. England.
- Halliwell, B. 1999. Antioxidant defence mechanisms: From the beginning to the end (of the beginning). *Free Radical Res.* 31: 261-272.
- Hamama, A. A. and Nawar, W. W. 1991. Thermal decomposition of some phenolic antioxidants. *J. Agric. Food Chem.* 39: 1063-1069.
- Heard, G. M. 2002. Microbiology of Fresh-Cut Produce. *In* Fresh-Cut Fruits and Vegetables: Science, Technology, and Market. (Lamikanra, O., ed.). p. 187-248. CRC Press LLC. USA.
- Hogg, J. S., Lohmann, D. H. and Russell, K. E. 1961. The kinetics of reaction of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl with phenols. *Can. J. Chem.* 39: 1588-1594.
- Hojnik, M., Skerget, M. and Knez, Z. 2007. Isolation of chlorophylls from stinging nettle (*Urtica dioica* L.). *Sep. Purif. Technol.* 57: 37-46.
- Hopia, A. and Heinonen, M. 1999. Antioxidant activity of flavonol aglycones and their glycosides in methyl linoleate. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 76:139-144.



- Hornero-Mendez, D., Gomez-Ladron, R. and Minguez-Mosquera, M. I. 2000. Carotenoid biosynthesis changes in five red pepper (*Capsicum annuum* L.) cultivars during ripening. Cultivar selection for breeding. J. Agri. Food Chem. 48: 3857-3864.
- Hoshina, C., Tomita, K. and Shioi, Y. 1998. Antioxidant activity of chlorophylls its structure activity relationship. Photo Mechanic Effects. 4: 3281-3284.
- Hourant, P. 2004. General Properties of the Alkaline Phosphate: Major Food and technical Applications. Phosphorus Bulletin. 15: 85-94.
- Howard, L. R., Talcott, S. T., Brenes, C. H. and Villalon, B. 2000. Changes in phytochemical and antioxidant activity of selected pepper cultivars (*Capsicum* species) as influenced by maturity. J. Agric. Food Chem. 48: 1713-1720.
- Hu, R. 1999. Food Product Design: A Computer-aid Statistical Approach. Technomic Publishing Co., Inc. Pennsylvania.
- Hutadilok-Towatana, N., Chaiyamutti, P., Panthong, K., Mahabusarakam, W. and Rukachaisirikul, V. 2006. Antioxidative and free radical scavenging activities of some plants used in Thai folk medicine. Pharm. biol. 44(3): 221-228.
- Iorizzi, M., Lanzotti, V., DeMario, S., Zollo, F., Blanco-Molina, M., Macho, A. and Munoz, E. 2001. New glycosides from *Capsicum annuum* L. var. *acuminatum*. Isolation, structure determination and biological activity. J. Agric. Food Chem. 49: 2022-2029.
- Ittah, Y., Kanner, J. and Granit, R. 1993. Hydrolysis study of carotenoid pigment of paprika (*Capsicum annum* L. variety Lehava) by HPLC/photodiode array detection. J. Agric. Food Chem. 41: 899-901.
- Jackman, R. L. and Smith, J. L. 1996. Anthocyanins and Betalains. In Natural Food Colorants. 2<sup>nd</sup> ed. (Hendry, G. A. F. and Houghton, J. D., eds.). p. 244-309. Blackie Academic & Professional. UK.
- Jadhav, S. J., Nimbalkar, S. S., Kulkarni, A. D. and Madhavi, D. L. 1995. Lipid Oxidation in Biological and Food Systems. In Food Antioxidants: Technological, Toxicological, and

Health Perspectives. (Madhavi, D. L., Deshpande, S. S. and Salunkhe, D. K., eds.) p. 5-53. Marcel Dekker, Inc. New York.

- Jantan, I. B., Ahmad, F. B. and Ahmad, A. S. 2004. Constituents of the rhizome and seed oils galangal *Alpinia galangal* (L) from Malaysia. J. Essent. Oil Res. 16: 174-176.
- Jantan, I., Rafi, I. A. A. and Jalil, J. 2005. Platelet-activating factor (PAF) receptor-binding antagonist activity of Malaysian medicinal plants. Phytomedicine 12: 88-92.
- Jayaprakasha, G. K., Girenavar, B. and Patil, B. S. 2008. Antioxidant capacity of pummelo and navel oranges: Extraction efficiency of solvents in sequence. Lebensm. Wiss. Technol. 41: 376-384.
- Jensen, J. M., Robbins, K. L., Ryan, K. J., Homco-Ryan, C., McKeith, F. K. and Brewer, M. S. 2003. Effect of lactic and acetic acid salts on quality characteristics of enhanced pork during retail display. Meat Sci. 63: 501-508.
- Jeong, S. M., Kim, S. Y., Kim, D. R., Jo, S. C., Nam, K. C., Ahn, D. U. and Lee, S. C. 2004. Effect of heat treatment on the antioxidant activity of extracts from citrus peels. J. Agric. Food Chem. 52: 3389-3393.
- Jimenez-Escrig, A., Rincon, M., Pulido, R. and Saura-Calixto, F. 2001. Guava fruit (*Psidium guajava* L.) as a new source of antioxidant dietary fiber. J. Agric. Food Chem. 49: 5489-5493.
- Jirovetz, L., Buchbauer, G., Shafj, M. P. and Leela, N. K. 2003. Analysis of the essential oils of the leaves, stems, rhizomes and roots of the medicinal plant *Alpinia galanga* from southern India. Acta Pharm. 53: 73-81.
- Julsrigival, J., Chansakaow, S., Vajabhikul, S., and Chaiyasut, C. 2006. Antiradical activity of volatile oil and extract from Thai *Zingiberaceous* plants. Department of Pharmaceutical Sciences, Faculty of Pharmacy. Chiang Mai University. Chiang Mai.
- Juntachote, T., and Berghofer, E. 2005. Antioxidative properties and stability of ethanolic extracts of holy basil and galangal. Food Chem. 92: 193-202.

- Juntachote, T., Berghofer, E., Siebenhandl, S. and Bauer, F. 2006a. The antioxidative properties of holy basil and galangal in cooked ground pork. *Meat Sci.* 72: 446-456.
- Juntachote, T., Berghofer, E., Bauer, F. and Siebenhandl, S. 2006b. The application of response surface methodology to the production of phenolic extracts of lemon grass, galangal, holy basil and rosemary. *J. Food Sci. Tech.* 41: 121-133.
- Juntachote, T., Berghofer, E., Siebenhandl, S. and Bauer, F. 2007. The effect of dried galangal powder and its ethanolic extracts on oxidative stability in cooked ground pork. *Lebensm. Wiss. Technol.* 40: 324-330.
- Kahkonen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S. and Heinonen, M. 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem.* 47: 3954-3962.
- Katina, K., Liukkonen, K. H., Kaukovirta-Norja, A., Adlercreutz, H., Heinonen, S. M., Lampi, A. M., Pihlavad, J. M. and Poutanen, K. 2007. Fermentation-induced changes in the nutritional value of native or germinated rye. *J. Cereal Sci.* 46: 348-355.
- Katsube, T., Tsurunaga, Y., Sugiyama, M., Furuno, T. and Yamasaki, Y. 2009. Effect of air-drying temperature on antioxidant capacity and stability of polyphenolic compounds in mulberry (*Morus alba* L.) leaves. *Food Chem.* 113: 964-969.
- Kerth, C. R., Miller, M. F. and Ramsey, C. B. 1995. Improvement of beef Tenderness and quality trails with calcium chloride injection in beef loins 48 hours postmortem. *J. Anim. Sci.* 73: 750-756.
- Khattaka, S., Rehmana, S., Shahb, H. U., Ahmadc,W. and Ahmadd, M. 2005. Biological effects of indigenous medicinal plants *Curcuma longa* and *Alpinia galangal*. *Fitoterapia.* 76: 254-257.
- Kidmose, U., Edelenbos, M., Norbeak, R. and Christensen, L. P. 2000. Colour Stability in Vegetables. *In Colour in Food: Improving Quality.* (MacDougall, D. B., ed). p. 179-218. Woodhead Publishing Limited and CRC Press, LLC. USA.

- Kilinc, B. and Cakli, S. 2004. Chemical, microbiological and sensory changes in thawed frozen fillets of sardine (*Sardina pilchardus*) during marination. *Food Chemistry* 88: 275-280.
- Kim, M. C. and Pratt, D. E. 1992. Thermal Degradation of Phenolic Antioxidants. *In Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health II: Antioxidation & Cancer Prevention*. (Huang, M. T., Ho, C. T. and Lee, C. Y., eds.). p. 200-218. American Chemical Society, Washington, D. C.
- Klimczak, I., Malecka, M., Szlachta, M. and Gliszczynska-Swiglo, A. 2007. Effect of storage on the content of polyphenols, vitamin C and the antioxidant activity of orange juices. *J. Food Compos. Anal.* 20: 313-322.
- Koleva, I. I., van Beek, T. A., Linssen, J. P. H., de Groot, A., and Evstatieva, L. N. 2002. Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phytochem. Analysis.* 13: 8-17.
- Kondo, K., Kurihara, M., Fukuhara, K., Tanaka, T., Suzuki, T., Miyata, N. and Toyoda, M. 2000. Conversion of procyanidin B-type (catechin dimer) to A-type: evidence for abstraction of C-2 hydrogen in catechin during radical oxidation. *Tetrahedron Lett.* 41: 485-488.
- Koohmaraie, M. 1996. Biochemical factors regulating the toughening and tenderization processes in meat. *Meat Sci.* 43: 193-201.
- Kubota, K., Nakamura, K. and Kobayashi, A. 1998. Acetoxy-1,8-cineoles as aroma constituents of *Alpinia galangal* Willd. *J. Agric. Food Chem.* 46: 5244-5247.
- Kubota, K., Someya, Y., Yoshida, R., Kobayashi, A., Morita, T. and Koshino, H. 1999. Enantiomeric purity and odor characteristics of 2- and 3-acetoxy-1,8-cineoles in the rhizomes of *Alpinia galangal* Willd. *J. Agric. Food Chem.* 47: 685-689.
- Kulicic, T., Radonic, A., Katalinic, V., and Milos, M. 2004. Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food Chem.* 85: 633-640.
- Lafka, T., Sinanoglou, V. and Lazos, E. 2007. On the extraction and antioxidant activity of phenolic compounds from winery wastes. *Food Chem.* 104: 1206-1214.

- Lamikanra, O. 2002. Enzymatic Effects on Flavor and Texture of Fresh-Cut Fruits and Vegetables. *In* Fresh-Cut Fruits and Vegetables: Science, Technology, and Market. (Lamikanra, O., ed). p. 125-187. CRC Press, LLC. USA.
- Larrauri, J. A., Ruperez, P. and Saura-Calixto, F. 1997. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. *J. Agric. Food Chem.* 45: 1390-1393.
- Lean, L. P. and Mohamed, S. 1999. Antioxidative and antimycotic effects of turmeric, lemongrass, betel leaves, clove, black pepper leaves and *Garcinia atriviridis* on butter cakes. *J Sci. Food Agric.* 79: 1817-1822.
- Lee, C. C. and Houghton, P. 2005. Cytotoxicity of plants from Malaysia and Thailand used traditionally to treat cancer. *J. Ehtopharmacol.* 100: 237-243.
- Lee, S. Y. and Baek, S. Y. 2008. Effect of chemical sanitizer combined with modified atmosphere packaging on inhibiting *Escherichia coli* O157:H7 in commercial spinach. *Food Microbiology* 25: 582-587.
- Lee, Y., Howard, L. R. and Villalon, B. 1995. Flavonoids and antioxidant activity of fresh pepper (*Capsicum annuum*) cultivars. *J. Food Sci.* 60: 473-476.
- Lee, J. H. and Schwartz, S. J. 2005. Analysis of Carotenoids and Chlorophylls in Foods. *In* Methods of Analysis of Food Components and Additives. (Ogles, S., ed). Taylor & Francis Group, LLC. USA.
- Lemos, A. L. S. C., Nunes, D. R. M., and Viana, A. G. 1999. Optimization of the still-marinating process of chicken parts. *Meat Sci.* 52: 227-234.
- Leong, L. P. and Shui, G. 2002. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore market. *Food Chem.* 76: 69-75.
- Li-E, J., Qing, C. and Ke-Chang, X. 2008. Antioxidant activities and composition of extracts from chili. *Int. J. Food Sci Tech.* 43: 666-672.

- Lien, E. J., Ren, S., Bui, H. H. and Wang, R. 1999. Quantitative structure-activity relationship analysis of phenolic antioxidants. *Free Radical Bio. Med.* 26: 285-294.
- Lissi, E., Modak, B., Torres, R., Esocbar, J. and Urzua, A. 1999. Total antioxidant potential of resinous exudates from *Heliotropium* species, and a comparison of the ABTS and DPPH methods. *Free Radical Res.* 30: 471-477.
- Liyana-Pathirana, C. and Shahidi, F. 2005. Antioxidant activity of commercial soft and hard wheat (*Triticum aestivum* L.) as affected by gastric pH conditions. *J. Agric. Food Chem.* 53: 2433-2440.
- MacDougall, D. B. 2002. Colour Measurement of Food. *In Colour in Food Improving Quality.* (MacDougall, D.B. ed). p. 33-63. CRC Press LLC. USA.
- Mahae, N. and Chaiseri, S. 2009. Antioxidant activities and antioxidative components in extracts of *Alpinia galangal* (L.) Sw. *Kasetsart J. (Nat. Sci.)* 43: 358-369.
- Maki, M. 2004. Lactic Acid Bacteria in Vegetable Fermentations. *In Lactic Acid Bacteria Microbiological and Functional Aspects.* 3<sup>rd</sup> ed. (Salminen, S, Wright, A. and Ouwehand, A., eds). p. 419-430. Marcel Dekker. New York.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Remesy, C. and Jimenez, L. 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am. J. Clin. Nutr.* 79: 727-747.
- 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.
- Manzocco, L., Calligaris, S., Mastrocola, D., Nicoli M. C. and Lericci, C. R. 2001. Review of nonenzymatic browning and antioxidant capacity in processed foods. *Trends Food Sci. Tech.* 11: 340-346.
- Maoka, T., Mochida, K., Kozuka, M., Ito, Y., Fujiwara, Y., Hashimoto, K., Enjo, F., Ogata, M., Nobukuni, Y., Tokuda, H., Nishino, H. 2001. Cancer chemopreventive activity of carotenoids in the fruits of red paprika *Capsicum annuum* L. *Cancer Lett.* 172: 103-109.

- Marinova, E. M. and Yanishlieva, N. V. 1997. Antioxidative activity of extracts from selected species of the family *Lamiaceae* in sunflower oil. *Food Chem.* 58: 245-248.
- Markus, F., Daood, H. G., Kapitany, J. and Biacs, P. A. 1999. Change in the carotenoid and antioxidant content of spice red pepper (paprika) as a function of ripening and some technological factors. *J. Agric. Food Chem.* 47: 100-107.
- Marques, U. M. L., Barros, R. M. C. and Patricia, S. P. 2005. Antioxidant activity of chlorophylls and their derivatives. *Food Res. Int.* 38: 885-891.
- Marques, V. and Farah, A. 2009. Chlorogenic acids and related compounds in medicinal plants and infusions. *Food Chem.* 113: 1370-1376.
- Marston, A. and Hostettmann, K. 2006. Separation and Quantification of Flavonoids. *In Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications.* (Adersen, O. M. and Markham, K. R. eds.). p. 1-37. CRC Press Taylor & Francis group. USA.
- Masniyom, P. 2004. Shelf-Life Extension of Refrigerated Seabass (*Lates calcalifer*) Slices under Modified Atmosphere Packaging. Doctor of Philosophy Thesis in Food Technology. Prince of Songkla University.
- Materska, M., Piacente, S., Stochmal, A., Pizza, C., Oleszek, W. and Perucka, I. 2003. Isolation and structure elucidation of flavonoid and phenolic acid glycosides from pericarp of hot pepper fruit *Capsicum annuum* L. *Phytochemistry.* 63: 893-898.
- Materska, M., and Perucka, I. 2005. Antioxidant activity of the main phenolic compounds isolated from hot pepper fruit (*Capsicum annuum* L.). *J. Agric. Food Chem.* 53: 1750-1756.
- Matsufuji, H., Nakamura, H., Chino, M. and Takeda, M. 1998. Antioxidant activity of capsanthin and the fatty acid esters in paprika (*Capsicum annuum*). *J. Agric. Food Chem.* 46: 3468-3472.
- Matsuda, H., Morikawa, T., Managi, H. and Yoshikawa, M. 2003a. Antiallergic principles from *Alpinia galanga*: structural requirements of phenylpropanoids for inhibition of

degranulation and release of TNF- $\alpha$  and IL-4 in RBL-2H3 Cells. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 13: 3197-3202.

Matsuda, H., Pongpiriyadacha, Y., Morikawa, T., Ochi, M. and Yoshikawa, M. 2003b. Gastroprotective effects of phenylpropanoids from the rhizomes of *Alpinia galanga* in rats: structural requirements and mode of action. *Eur. J. Pharmacol.* 471: 59-67.

Mayachiewa, P. and Devahastin, S. 2008. Antimicrobial and antioxidant activities of Indian gooseberry and galangal extracts. *LWT- Food Sci. Tech.* 41: 1153-1159.

McKee, L. H. 1995. Microbial contamination of spices and herbs: a review. *Lebensm. Wiss. Technol.* 28: 1-11.

Meilgaard, M., Civille, G. V. and Carr, B. T. 1999. *Sensory Evaluation Technique*. 3<sup>rd</sup> ed. CRC Press Inc. Boca Raton.

Mejlholm, O., Kjeldgaard, J., Modberg, A., Vest, M. B., Boknaes, N., Koort, J., Björkroth, J. and Dalgaard, P. 2008. Microbial changes and growth of *Listeria monocytogenes* during chilled storage of brined shrimp (*Pandalus borealis*). *Inter. J. Food Micro.* 124: 250-259.

Miean, K. H. and Mohamed, S. 2001. Flavonoid (myricetin, quercetin, kaempferol, luteolin, and apigenin) content of edible tropical plants. *J. Agric. Food Chem.* 49: 3106-3112.

Miller, N. J., Sampson, J., Candeias, L. P., Bramley, P. M. and Rice-Evans, C. A. 1996. Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. *FEBS Letters.* 384: 240-242.

Modly, C. E., Das, M., Don, P. C. S., Marcelo, C. L., Mukhtar, H. and Bickers, D. K. 1986. Capsaicin as an in vitro inhibitor of benzopyrene metabolism and its DNA binding in human and murine keratinocytes. *Drugs Metab.* 14: 413-416.

Moffatt, J., Hashimoto, M., Kojima, A., Kennedy, D. O., Murakami, A., Koshimizu, K., Ohigashi, H., Matsui-Yuasa, I. 2000. Apoptosis induced by 1'-acetoxychavicol acetate in Ehrlich ascites tumor cells is associated with modulation of polyamine metabolism and caspase-3 activation. *Carcinogenesis* 21: 2151-2157.



- Moller, J. K. S., Madsen, H. L., Aaltonen, T. and Skibsted, L. H. 1999. Dittany (*Origanum dictamnus*) as a source of water-extractable antioxidants. *Food Chem.* 64: 215-219.
- Montgomery, D.C. 2001. *Design and Analysis of Experiments*. John Wiley & Sons, Inc. New York. USA.
- Moon, J. K. and Shibamoto, T. 2009. Antioxidant Assays for Plant and Food Components J. *Agric. Food Chem.* 57: 1655-1666
- Mukai, M., Oka, W., Watanabe, K., Egawa, Y. and Nagaoka, S. 1997. Kinetic study of free-radical-scavenging action of flavonoids in homogeneous and aqueous triton x-100 micellar solutions. *J. Phys. Chem. A.* 101: 3746-3753.
- Naczki, M. and Shahidi, F. 2006. Review Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *J. Pharmaceut. Biomed.*: 1523-1542
- Nanasombat, S. and Lohasupthawee, P. 2005. Antibacterial activity of crude ethanolic extracts and essential oils of spices against salmonellae and other enterobacteria. *KMITL. Sci. Tech. J.* 5: 527-538.
- Natakami, N. and Ikeda, K. 1984. Isolation of antioxidative lignan from papua mace. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 32: 67-103.
- Natta, L., Orapin, K., Krittika, N. and Pantip, B. 2008. Essential oil from five Zingiberaceae for anti food-borne bacteria. *Int. Food Research J.* 15: 337-346.
- Nauss, K. M., Kitakawa, S., and Gergely, J. 1969. Pyrophosphate binding to and adenosine triphosphatase activity of myosin and its proteolytic fragments. *J. Biol. Chem.* 244: 755-765.
- Nawar, W. W. 1996. Lipid. *In Food Chemistry*. 3<sup>rd</sup> ed. (Fennema, O. R. ed.). p. 210-243. Marcel Dekker, Inc. New York.
- Nicoli, C., Anese, M., Parpinel, M. T., Franceschi, S. and Lericci, C. R. 1997. Loss and/or formation of antioxidants during food processing and storage. *Cancer Lett.* 114: 71-74.

- Nicoli, M. C., Anese, M. and Parpine, M. 1999. Influence of processing on the antioxidant properties of fruit and vegetables. *Trends Food Sci Tech.* 10: 94-100.
- Nishi, A., Kubota, K., Kameoka, H. And Osawa, T. 1991. Antioxidizing component, musizin in *Rumex japonicus* Houtt. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* 68: 735-739.
- Noguchi, N. and Niki, E. 1999. Chemistry of Active Oxygen Species and Antioxidants. *In* Antioxidant Status, Diet, Nutrition, and Health. (Papas, A. M., ed). p. 1-20. Boca Raton. U.S.A.
- Nordberg, J. and Arner, E. S. J. 2001. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system (Review article). *Free Radical Bio. Med.* 31: 1287–1312.
- O'Connor, T. P. and O'Brien, N. M. 2006. Lipid Oxidation. *In* Advanced Dairy Chemistry Volume 2: Lipids. 3<sup>rd</sup> ed. (Fox, P. F. and McSweeney, P. L. H., eds.). p. 557-585. Springer Science Business Media, Inc. USA.
- Oonmetta-aree, J. 2005. Effects of the Zingiberaceae Spice Extracts on Growth and Morphological Changes of Foodborne Pathogens. Degree of Doctor of Philosophy in Food Technology. Suranaree University of Technology.
- Oreopoulou, V. 2003. Extraction of Natural Antioxidants. *In* Extraction Optimization in Food Engineering. (Tzia, C. and Liadakis, G., eds.). p. 329-346. Marcel Dekker, Inc. USA.
- Orhan, I., Eryilmaz, B. and Bingol, F. 2002. A comparative study on the fatty acid contents of *Capsicum annuum* varieties. *Biochem. Syst. Ecol.* 30: 901-904.
- Osada, Y. and Shibamoto, T. 2006. Antioxidative activity of volatile extracts from Maillard model system. *Food Chem.* 98: 522-528.
- Othman, R., Ibrahim, H., Mohd, M. A., Mustafac, M. R. and Awang, K. 2006. Bioassay-guided isolation of a vasorelaxant active compound from *Kaempferia galanga* L. *Phytomedicine.* 13: 61-66.
- Osman, A. M., Wong, K. K. Y. and Fernyhough, A. 2006. ABTS radical-driven oxidation of polyphenols: isolation and structural elucidation of covalent adducts. *Biochem. Bioph. Res. Co.* 346: 321-329.

- Osuna-Garcia, J. A., Wall, M. M. and Waddell, C. A. 1998. Endogenous levels of tocopherols and ascorbic acid during fruit ripening of New Mexican-type chile (*Capsicum annuum* L.). *J. Agric. Food Chem.* 46: 5093-5096.
- Othmana, R., Ibrahim, H., Mohd, M. A., Mustafac, M. R., and Awang, K. 2006. Bioassay-guided isolation of a vasorelaxant active compound from *Kaempferia galanga* L. *Phytomedicine.* 13: 61-66.
- Packer, L., Hiramatsu, M. and Yoshikawa, T. 1999. Antioxidant food supplements in human health. Academic Press, USA.
- Pakawatchai, C., Siripongvutikorn, S., and Usawakesmanee, W. 2009. Effect of herb and spice pastes on the quality changes in minced salmon flesh waste during chilled storage. *Asian Journal of Food and Agro-Industry* 2(04): 481-492.
- Palevitch, D. and Craker, L. E. 1995. Nutritional and medicinal importance of red pepper (*Capsicum* spp.). *J. Herbs Spices Med. Plants.* 3: 55-83.
- Peleg, H., Naim, M., Rouseff, R. L. and Zehavi, U. 1991. Distribution of bound and free phenolic acids in oranges (*Citrus sinensis*) and grapefruit (*Citrus paradise*). *J. Sci. Food Agric.* 57: 417-426.
- Pereira, R. P., Fachineto, R., Prestes, A. S., Puntel, R. L., Silva, G. N. S., Heinzmann, B. M., Boschetti, T. K., Athayde, M. L., Burger, M. E., Morel, A. F., Morsch, V. M. and Rocha, J. B. T. 2009. Antioxidant Effects of Different Extracts from *Melissa officinalis*, *Matricaria recutita* and *Cymbopogon citrates*. *Neurochem Res.* 34: 973-983.
- Peterson, D. M., Emmons, C. L. and Hibbs, A. H. 2001. Phenolic antioxidants and antioxidant activity in pearling fractions of oat groats. *J. Cereal Sci.* 33: 97-103.
- Pietta, P. G. 2000. Flavonoids as antioxidants. *J. Nat. Prod.* 63: 1035-1042.
- Pinelo, M., Manzocco, L., Nunez, M. J. and Nicoli, M. C. 2004a. Interaction among phenols in food fortification: negative synergism on antioxidant capacity. *J. Agric. Food Chem.* 52: 1177-1180.

- Pinelo, M., Rubilar, M., Sineiro, J. And Nunez, M. J. 2004b. Extraction of antioxidant phenolics from almond hulls (*Prunus amygdalus*) and pine sawdust (*Pinus pinaster*). Food Chem. 85: 267-273.
- Pinelo, M., Rubilar, M., Sineiro, J. And Nufiez, M. J. 2005. A thermal treatment to increase the antioxidant capacity of natural phenols: catechin, resveratrol and grape extract cases. Eur. Food Res. Technol: 284-290.
- Polozza, P. 1998. Pro-oxidant actions of carotenoids in biologic systems (review). Nut. Rev. 56: 257-265.
- Prachayabreud, W., Leelaprude, V., and Muadcheingka, M. 1996. Effects of *Alpinia galanga*, *Cassia alata*, and *Rhinacanthus nasutus* extracts on *Candida albicans*. Mahidol Dental Journal 16 (2): 67-74.
- Prasad, K., Lardal, M. A., Yu, M. and Raney, B. L. 1996. Evaluation of hydroxyl radical-scavenging property of garlic. Mol. Cell. Biochem. 154: 55-63.
- Prior, R. L., Xianli, W. and Schaich, K. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in food and dietary supplements. J. Agric. Food Chem. 53: 4290-4302.
- Puerta, T. 1999. Inhibition of leukocytes lipoxygenase by phenolics from virgin olive oil. Biochem. Pham. J. 57: 445-449.
- Pulido, R., Bravo, L. and Saura-Calixto, F. 2000. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reductin antioxidant power assay. J. Agric. Food Chem. 48: 3396-3402.
- Purseglove, J. W., Brown, E. G., Green, C. L. and Robbins, S. R. J. 1981. Spices. Vol. I. D. Van Nostrand Co. New York.
- Pyo, Y. H., Lee, T. C., Logendra, L. and Rosen, R. T. 2004. Antioxidnt activity and phenolic compounds of Swiss chard (*Beta vulgaris* subspecies *cycla*) extracts. Food Chem. 85: 19-26.

- Rajalakshmi, D. and Narasimhan, S. 1996. Food Antioxidants: Sources and Methods of Evaluation. *In* Food Antioxidants (Madhavi, D. L., Despande, S. S. and Salunkhe, D. K., eds.). p. 5-64. Marcel Decker, Inc. 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.
- Rice-Evans, C., Miller, N. J., Bolwell, P. G., Bramley, P. M., and Pridham, J. B. 1995. The relative antioxidant activities of plant derived polyphenolic flavonoids. *Free Radical Res.* 22: 375-383.
- Rice-Evans, C. A. and Miller, N. J. 1996. Antioxidant activities of flavonoids as bioactive compounds of foods. *Biochem Soc. Trans.* 24: 790-795.
- Rice-Evans, C., Miller, N. J. and Paganga, G. 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Bio. Med.* 20: 933-956.
- Rice-Evans, C. A., Miller, J. and Paganga, G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends Plant Sci.* 2: 152-159.
- Robbins, R. J. 2003. Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology. *J. Agric. Food Chem.* 51: 2866-2887.
- Robert, R. E., 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.
- Roginsky, V. and Lissi, E. 2005. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food chem.* 92: 235-254.
- Rutherford, T. J., Marshalla, D. L., Andrews, L. S., Cogginsa, P. C., Schillinga, M. W. and Gerardc, P. 2007. Combined effect of packaging atmosphere and storage temperature on growth of *Listeria monocytogenes* on ready-to-eat shrimp. *Food Microbiology* 24: 703-710.

- Ruusunen, E., and Poulanne, M. 2005. Average muscle fiber cross sectional area varies considerably in pork loins. In Proceedings of the 51<sup>st</sup> international congress of meat science and technology (pp.1506-1510), August 7-12, 2005, Baltimore, Maryland, USA.
- 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.
- Saura-Calixto, F. and Goni, I. 2006. Antioxidant capacity of the Spanish Mediterranean diet. *Food Chem.* 94: 442-447.
- Schaneberg, B. T. and Khan, I. A. 2002. Comparison of extraction methods for marker compounds in the essential oil of lemon grass by GC. *J. Agric. Food Chem.* 50: 1345-1349.
- Schroeder, M. J. A., 2003. The Visual Appeal of Food and Beverages. *In Food Quality and Consumer Value: Delivering Food that Satisfies.* (Schroeder, M. J. A. ed.). p. 232-238. Springer publisher. Berlin. New York.
- Shahidi, F., Janitha, P. K. and Wanasundara, P. D. 1992. Phenolic antioxidant. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 32: 67-103.
- Shahidi, F. and Naczk, M. 1995. *Food Phenolics: Sources, Chemistry, Effects and Applications.* Technomic Pub. Co., Inc. Pennsylvania.
- Shahidi, F. and Naczk, M. 2004. *Phenolics in Food and Nutraceuticals.* CRC Press. New York. USA.
- Shahidi, F. and Naczk, M. 2005. Analysis of Polyphenols in Foods. *In Methods of Analysis of Food Components and Additives.* (Ottles, S., ed) p. 199-160. Taylor & Francis Group, LLC. USA.
- Sheard, P. R., Nute, G. R., Richardson, R. I., Perry, A. and Taylor, A. A. 1999. Injection of water and polyphosphate in to pork to improve juiciness and tenderness after cooking. *Meat Sci.* 51: 371-376.

- Sheard, P. R. and Tali, A. 2004. Injection of salt, tripolyphosphate and bicarbonate marinade solutions to improve the yield and tenderness of cooked pork loin. *Meat Sci.* 68: 305-311.
- Shi, H., Noguchi, N. and Niki, E. 2001. Introducing Natural Antioxidants. *In Antioxidants in Food Practical Applications*. 1<sup>st</sup> ed. (Pokorny, J., Yanishlieva, N. and Gordon, M. eds.) p. 147-158. Woodhead publishing Ltd. Newyork. and CRC Press LLC Cornwall. England.
- Shobana, S. and Naidu, K. A. 2000. Antioxidant activity of selected Indian spices. *Prostag Leukotr Ess.* 62: 107-110.
- Sikorski, Z. E. and Haard, N. F. 2007. Interactions of Food Components. *In Chemical and Functional Properties of Food Components*. 3<sup>rd</sup> ed. (Sikorski, Z. E., ed.). p. 330-353. Taylor & Francis Group, LLC. USA.
- Singleton, V. L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventos, R. M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Method Enzymol.* 299: 152-178.
- Siripongvutikorn, S., Thummaratwasik, P. and Huang, Y. 2005. Antimicrobial and antioxidation effects of Thai seasoning, Tom-Yum. *Lebensm. Wiss. Technol.* 38: 347-352.
- Siripongvutikorn, S., Usawakesmanee, W., Wittaya, T., Koonpaew, B. and Pongseng, N. 2012. Combined effect of low acid paste and modified atmospheric condition on quality changes of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) during chilled storage. *International Food Research Journal.* 19(4): 1573-1580.
- Speck, M. L. 1976. *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. American Public Health Association, Inc. Washington, DC.
- Stechell, K. D. R. 2000. Absorption and metabolism of soy isoflavones from food to dietary supplements and adults to infants. *J. Nutr.* 130: 654S-655S.

- Steinkrus, H. K. 1992. Lactic Acid Fermentation. *In Applications of Biotechnology to Traditional Fermented Food.* (Gaden, E. L., Bokanga, M., Harlander, S. and Hesseltine, G. W., eds). p. 43-51. Nation Academy Press. Washington, D.C.
- Sultana, B., Anwar, F. and Ashraf, M. 2009. Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. *Molecules.* 14: 2167-2180.
- Sun, T and Ho, C. T. 2005. Antioxidant activities of buckwheat extracts. *Food Chem.* 90: 743-749.
- Thai food to world. 2007. Tom-kha kai (Online). Available <http://www.thaifoodtoworld.com/home/index.php> (18 June 2007).
- Thepnuan, R. 2007. Studies on Some Enzymes and the Effect of Modified Atmosphere Packaging and Some Chemicals on Quality Changes of Black Tiger and White Shrimps during Refrigerated Storage.
- Thomas, C. and O'Beirne, D. 2000. Evaluation of the impact of short-term temperature abuse on the microbiology and shelf life of a model ready-to-use vegetable combination product. *Int. J. Food Microbiol.* 59: 47-57.
- Tomas-Barberan, F. A. and Robins, R. J. 1997. *Phytochemistry of Fruit and Vegetables.* Oxford: Clarendon Press. New York.
- Tsangalis, D., Ashton, J. F., McGill, A. E. J. and Shah, N. P. 2002. Enzymic transformation of isoflavone phytoestrogens in soymilk by  $\beta$ -glucosidaseproducing bifidobacteria. *J. Food Sci.* 67: 3104-3113.
- Uhlman, L., Schillinger, U., Rupnow, J. R. and Holzapfel, W. H. 1992. Identification and characterization of two bacteriocin-producing strains of *Lactococcus lactis* isolated from vegetables. *Int. J. Food Microbiol.* 16: 141-151.
- Valko, M., Rhodes, C. J., Moncola, J., Izakovic, M. and Mazura, M. 2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem. Biol. Interact.* 160: 1-40.



- Velioglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L., and Oomah, B. D. 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. *J. Agric. Food Chem.* 46: 4113-4117.
- Viana, G. S. B., Vale, T. G., Pinho, R. S. N. and Matos, F. J. A. 2000. Antinociceptive effect of the essential oil from *Cymbopogon citratus* in mice. *J. Ethnopharmacol.* 70: 323-7.
- Vinitketkumnuen, U., Puatanachokchai, R., Kongtawelert, P., Lertprasertsuke, N. and Matsushima, T. 1994. Antimutagenicity of lemon grass (*Cymbopogon citratus* Stapf) to various known mutagens in salmonella mutation assay. *Mutat. Res.* 341: 5-71.
- Vuddhakul, V., Bhoopong, P., Hayeebilan, F. and Subhadhirasakul, S. 2007. Inhibitory activity of Thai condiments on pandemic strain of *Vibrio parahaemolyticus*. *Food microbiol.* 24: 413-418.
- Wang, W. D. 2004. Carotenoid Oxidative/Degradative Products and Their Biological Activity. *In* Carotenoids in Health and Disease. (Krinsky, N. I., Mayne, S. and Sies, H., eds.). p. 313-337. Marcel Dekker, Inc. USA.
- Wangcharoen, W. and Morasuk, W. 2007a. Antioxidant capacity and phenolic content of chilies. *Kasetsart J. (Nat. Sci.)* 41: 561-569.
- Wangcharoen, W. and Morasuk, W. 2007b. Antioxidant capacity and phenolic content of some Thai culinary plants. *Mj. Int. J. Sci. Tech.* 1(2): 100-106.
- Wangcharoen, W. and Morasuk, W. 2009. Antioxidant capacity changes of bird chili (*Capsicum frutescens* Linn.) during hot air drying. *Kasetsart J. (Nat. Sci.)* 43: 12-20.
- Wannissorn, B., Jarikasem, S., Siriwangchai, T. and Thubthimthed, S. 2005. Antibacterial properties of essential oils from Thai medicinal plants. *Fitoterapia.* 76: 233-236.
- Waterman, P. G. and Mole, S. 1994. Analysis of phenolic plant metabolites. Blackwell Scientific Publications. Oxford.

- Wattanachant, S., Benjakul, S. and Ledwardt, D. A. 2005. Processing, Product, and Food safety: Microstructure and thermal characteristics of thai indigenous and broiler chicken muscles. *J. Poultry Sci.* 84: 328-333.
- Wettasinghe, M. and Shahidi, F. 1999. Antioxidant and free radical-scavenging properties of ethanolic extracts of defatted borage (*Borago officinalis* L.) seeds. *Food Chem.* 67: 399-414.
- Wheeler, T. L., Koohmaraie, M., Lansdell, J. L., Siragusa, G. R., and Miller, M. F. 1993. Effect of postmortem injection time, injection level, and concentration of calcium chloride on beef quality traits. *J. Anim. Sci.* 71: 2965-2974.
- Wikipedia, 2008. Modified atmosphere. Available online at [http://en.wikipedia.org/wiki/Modified\\_atmosphere](http://en.wikipedia.org/wiki/Modified_atmosphere). (11 June 2008).
- Wilska-Jeszka, J. 2007. Food Colorants. *In* Chemical and Functional Properties of Food Components. 3<sup>rd</sup> ed. (Sikorski, Z. E., ed). p. 191-210. Taylor & Francis Group, LLC. USA.
- Wojdylo, A, Oszmiariski, R. and Czemerys, R. 2007. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chem.* 105: 940-949.
- Wu, H. C., Chen, H. M. and Shiau, C. Y. 2003. Free amino acid and peptide as related to antioxidant properties in protein hydrolysates of mackerel (*Scomber austriasicus*). *Food Res. Int.* 36: 949-957.
- Xu, G., Ye, X., Chen, J. and Liu, D. 2007. Effect of heat treatment on the phenolic compounds and antioxidant capacity of citrus peel extract. *J. Agric. Food Chem.* 55: 330-335.
- Yamaguchi, T., Katsuda, M., Oda, Y., Terao, J., Kanazawa, K., Oshima, S., Inakuma, T. Ishiguro, Y., Takamura, H. and Matoba, T. 2003. Influence of polyphenol and ascorbate oxidases during cooking process on the radical-scavenging activity of vegetables. *Food Sci. Technol. Res.* 9: 79-83.

- Yanagimoto, K., Lee, K. G., Ochi, H. and Shibamoto, T. 2002. Antioxidative activity of heterocyclic compounds formed in Maillard reaction products. *Int. Congr. Ser.* 1245: 335-340.
- Yang, X. and Eilerman, R. G. 1999. Pungent principal of *Alpinia galangal* (L.) Swartz and its applications. *J. Agric. Food Chem.* 47: 1657-1662.
- Yanishlieva-Maslarova, N. 2001. Inhibiting Oxidation. *In Antioxidants in Food Practical applications.* (Pokorny, J., Yanishlieva-Maslarova, N. and Gordon, M., eds.) p. 22-70. CRC Press LLC. New York. and Woodhead Publishing Limited. England.
- Yen, G. C. and Hung, C. Y. 2000. Effects of alkaline and heat treatment on antioxidant activity and total phenolics of extracts from Hsian-tsoa (*Mesona procumbens Hemsi.*). *Food Res. Int.* 33: 487-492.
- Yilmaz, Y. and Toledo, R. 2005. Antioxidant activity of water-soluble maillard reaction products. *Food Chem.* 93: 273-278.
- Young, A. J., Phillip, D. M. and Lowe, G. M. 2004. Carotenoid Antioxidant Activity. *In Carotenoids in Health and Disease.* (Krinsky, N. I., Mayne, S. and Sies, H., eds.) p. 105-127. Marcel Dekker, Inc. USA.
- Young, L. L. and Lyon, C. E. 1997. Effect of calcium marination on biochemical and texture properties of peri-rigor chicken breast meat. *Poultry Sci.* 76: 197-201.
- Yu, L., Haley, S., Perret, J., Harris, M., Wilson, J. and Qian, M. 2002. Free radical scavenging properties of wheat extracts. *J. Agric. Food Chem.* 50: 1619-1624.
- Zaeoung, S. 2004. Cytotoxic Activity Against Tumour Cells and Free Radical Scavenging Activity of Zingiberaceous Rhizomes Used as Spices. Master of Pharmacy thesis in Pharmaceutical Sciences. Prince of Songkla University.
- Zaeoung, S., Plubrukarn, A. and Keawpradub, N. 2005. Cytotoxic and free radical scavenging activities of Zingiberaceous rhizomes. *Songklanakar J. Sci. Technol.* 27: 799-812.

- Zewdie, Y. and Bosland, P. W. 2001. Capsaicinoid profiles are not good chemotaxonomic indicators for *Capsicum* species. *Biochem. Syst. Ecol.* 29: 161-169.
- Zheng, W. and Wang, S. Y. 2001. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *J. Agric. Food Chem.* 49: 5165-5170.
- Zielinski, H. and Kozłowska, H. 2000. Antioxidant activity and total phenolics in selected cereal grains and their different morphological fractions. *J. Agric. Food Chem.* 48: 2008-2016.

**ภาคผนวก**

## ภาคผนวก ก การวิเคราะห์ทางกายภาพ

ก1. การวัดค่าสีของเครื่องต้มฆ่า น้ำชุบต้มฆ่ากุ้ง และสารสกัดหยาบของฆ่า ตะไคร้ พริกชี้หนู ใบมะกรูดและเครื่องต้มฆ่า และกุ้งที่ไม่มารีเนท/มารีเนทด้วยเครื่องต้มฆ่า

### อุปกรณ์

เครื่องวัดค่าสี ยี่ห้อ Hunter Lab รุ่น Color Flex ประเทศสหรัฐอเมริกา

### วิธีการ

นำเครื่องต้มฆ่า น้ำชุบต้มฆ่ากุ้ง สารสกัดหยาบของฆ่า ตะไคร้ พริกชี้หนู ใบมะกรูดและเครื่องต้มฆ่า ด้วยน้ำ เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50, 75 และ 95 และเนื้อกุ้งที่ไม่มารีเนทด้วยเครื่องต้มฆ่าและกุ้งที่มารีเนทด้วยเครื่องต้มฆ่าที่ผ่านการล้างเครื่องต้มฆ่าออกแล้ว โดยวัดบริเวณปล้องที่ 2 ของตัวกุ้ง ไปวัดค่าสี ด้วยเครื่องวัดค่าสี Hunter Lab รายงานค่าสีในระบบ CIE Lab scale คือ  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  และคำนวณ Hue angle ( $H^\circ$ ) และ  $C^*$  (chroma) จากสูตร (Arias *et al.*, 2000)

$$H^\circ = \tan^{-1} (b^*/a^*) \text{ เมื่อ } a^* > 0 \text{ และ } b^* \geq 0$$

$$H^\circ = 180 + \tan^{-1} (b^*/a^*) \text{ เมื่อ } a^* < 0$$

$$C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$$

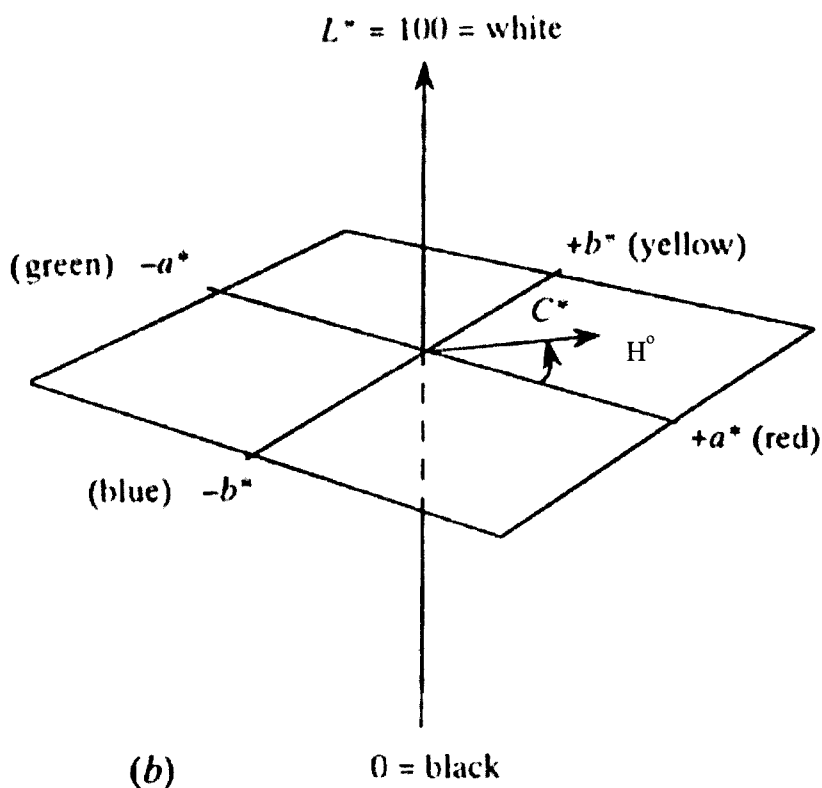
$L^*$  บ่งบอกถึงความสว่างของสี (lightness) โดยมีค่าตั้งแต่ 0 (สีดำ) ถึง 100 (สีขาว)

$a^*$  บ่งบอกถึงสีแดงและสีเขียว โดยค่าเป็นบวกก็จะเป็นสีแดงมากขึ้น และถ้าค่าเป็นลบก็จะเป็นสีเขียวมากขึ้น

$b^*$  บ่งบอกถึงสีเหลืองและสีน้ำเงิน โดยค่าเป็นบวกก็จะเป็นสีเหลือง และถ้าค่าเป็นลบก็จะเป็นสีน้ำเงินมากขึ้น

$C^*$  แสดงค่า chroma ซึ่งเป็นค่าที่แสดงถึงความบริสุทธิ์ของสี

$H^\circ$  แสดงค่า hue angle เป็นค่ามุม โดยค่า  $0^\circ$  เท่ากับ  $+a^*$  (red) ค่า  $90^\circ$  เท่ากับ  $+b^*$  (yellow) ค่า  $180^\circ$  เท่ากับ  $-a^*$  (green) และค่า  $270^\circ$  เท่ากับ  $-b^*$  (blue)



Appendix figure 1. Color diagrams: CIE LAB uniform diagram showing relationship of red/green ( $a^{*+/-}$ ) and yellow/blue ( $b^{*+/-}$ ) opponent co-ordinates to lightness  $L^*$ , chroma  $C^*$  and hue angle ( $H^\circ$ )

ที่มา: MacDougall (2002)

## ก2. การวิเคราะห์ค่าพีเอช (Bartolome *et al*, 1995)

### อุปกรณ์

1. เครื่องวัดพีเอช (Mettler 350)

### วิธีการวิเคราะห์

1. นำเครื่องต้มฆ่า/ตัวอย่างเนื้อกุ้งที่ไม่มีการนึ่งด้วยเครื่องต้มฆ่า/กุ้งที่มีการนึ่งด้วยเครื่องต้มฆ่าที่เจี่ยเครื่องต้มฆ่าออก สับให้ละเอียดไปโม่โมจิในซ้ด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1: 4 (น้ำหนักต่อปริมาตร)

2. นำไปวัดค่าพีเอชโดยใช้เครื่องวัดพีเอช (Mettler 350) ที่ผ่านการสอบเทียบโดยใช้บัฟเฟอร์ที่มีพีเอชเท่ากับ 4.00 และ 7.00

### ก3. การวิเคราะห์ปริมาณความชื้นโดยวิธีของ A. O. A. C. (1999)

#### อุปกรณ์

1. ภาชนะอลูมิเนียมสำหรับหาความชื้น
2. ตู้อบไฟฟ้า (Electric oven)
3. โถดูดความชื้น (Desiccator)
4. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

#### วิธีวิเคราะห์

1. ล้างภาชนะสำหรับหาความชื้นให้สะอาด อบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105°ซ เป็นเวลา 2-3 ชั่วโมง ทำให้เย็นเท่าอุณหภูมิห้องในโถดูดความชื้น แล้วนำมาชั่งน้ำหนัก
2. กระทำเช่นเดียวกับข้อ 1 ซ้ำ จนได้น้ำหนักคงที่ ซึ่งผลต่างของน้ำหนักที่ชั่ง 2 ครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม
3. ชั่งตัวอย่างข้าว ตะไคร้ พริกขี้หนู ใบมะกรูด เครื่องดื่มช้ำ และกึ่งที่ต้องการวิเคราะห์ ปริมาณความชื้นให้มีความละเอียดของน้ำหนักอยู่ในช่วง 1-2 กรัม ในภาชนะหาความชื้นที่ทราบน้ำหนักแล้ว
4. นำไปอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105°ซ เป็นเวลา 5-6 ชั่วโมง
5. นำออกจากตู้อบปล่อยให้เย็นเท่าอุณหภูมิห้องในโถดูดความชื้น (ประมาณ 45 นาที) แล้วนำมาชั่งน้ำหนัก
6. อบซ้ำอีกครั้งประมาณ 30 นาที และกระทำเช่นเดิมจนได้น้ำหนักคงที่ ซึ่งผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้ง 2 ครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม
7. คำนวณหาปริมาณความชื้นของตัวอย่าง จากสูตร

$$\text{ปริมาณความชื้นคิดเป็นร้อยละโดยน้ำหนัก} = \frac{\text{ผลต่างของน้ำหนักก่อนและหลังอบ}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ}} \times 100$$

### ก4. การวิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมด (ดัดแปลงจาก A. O. A. C., 1999)

#### อุปกรณ์

1. ภาชนะอลูมิเนียม



2. ตู้อบไฟฟ้า (Electric oven)
3. โถดูดความชื้น (Desiccator)
4. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

### วิธีวิเคราะห์

1. ล้างภาชนะอลูมิเนียมให้สะอาด อบให้แห้งในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105°C เป็นเวลา 2-3 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบเก็บในโถดูดความชื้น แล้วนำมาชั่งน้ำหนัก
2. กระทำเช่นเดียวกับข้อ 1 ช้า จนได้น้ำหนักคงที่ ซึ่งผลต่างของน้ำหนักที่ชั่ง 2 ครั้ง ติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม
3. ชั่งตัวอย่างสารสกัดหยาบของข้า ตะไคร้ พริกขี้หนู ใบมะกรูดและเครื่องต้มข้า ด้วยน้ำ เอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 50, 75 และ 95 ที่ต้องการวิเคราะห์ให้มีความละเอียดของน้ำหนัก อยู่ในช่วง 1-2 กรัม ในภาชนะอลูมิเนียมที่ทราบน้ำหนักแล้ว
4. นำไปอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105°C เป็นเวลา 5-6 ชั่วโมง
5. นำออกจากตู้อบเก็บในโถดูดความชื้น แล้วนำมาชั่งน้ำหนัก
6. อบซ้ำอีกครั้งประมาณ 30 นาที และกระทำเช่นเดิมจนได้น้ำหนักคงที่ ซึ่งผลต่างของ น้ำหนักที่ชั่งทั้ง 2 ครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม
7. กำหนดหาปริมาณของแข็งของตัวอย่างสารสกัดหยาบ จากสูตร

ปริมาณของแข็งทั้งหมด

คิดเป็นร้อยละโดย

น้ำหนักต่อกรัมของ

ตัวอย่างแห้ง

$$= \frac{\text{น้ำหนักของแข็ง} \times 100}{\text{น้ำหนักของสารสกัดหยาบก่อนอบ} \times \text{น้ำหนักแห้งของตัวอย่าง}}$$

### ตัวอย่างการคำนวณปริมาณของแข็งของสารสกัดหยาบของข้าด้วยน้ำ

น้ำหนักของแข็งคือ  $7.3667 \times 10^{-3}$  กรัม

น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบคือ 1.0035 กรัม

น้ำหนักแห้งของข้าคำนวณจาก

ข้าสดมีความชื้นร้อยละ 91.6842 แสดงว่าข้าสดมีปริมาณของแข็งร้อยละ 8.3158

ข้าสด 100 กรัม มีปริมาณของแข็ง 8.3158 กรัม

$$\text{ข้าสด } 80.49 \text{ กรัม มีปริมาณของแข็ง } \frac{8.3158 \times 80.49}{100} = 6.6934 \text{ กรัม}$$

ดังนั้น ปริมาณของแข็งทั้งหมดคิดเป็นร้อยละโดยน้ำหนักต่อกรัมของข้าแห้ง

$$= \frac{7.3667 \times 10^{-3} \times 100}{1.0035 \times 6.6934}$$

$$= 0.1097$$

ปริมาณของแข็งทั้งหมดของสารสกัดข้าด้วยน้ำมีค่าเท่ากับร้อยละ 0.1097 ต่อกรัมของข้าแห้ง หมายถึง เมื่อนำข้าน้ำหนักแห้ง 1 กรัม มาสกัดด้วยน้ำ ได้สารละลายที่มีของแข็งร้อยละ 0.1097

#### ก5. การวิเคราะห์ค่าวอเตอร์แอกทิวิตี (water activity, $a_w$ )

##### อุปกรณ์

1. เครื่องวัดค่าวอเตอร์แอกทิวิตี ยี่ห้อ Novasina รุ่น Thermoconstanter
2. เครื่องคอมพิวเตอร์พร้อมโปรแกรมสำเร็จรูป

##### วิธีการวิเคราะห์

1. เปิดเครื่องวัดค่าวอเตอร์แอกทิวิตีและตั้งค่าอุณหภูมิของเครื่องวัดค่าวอเตอร์แอกทิวิตีที่ 25°C รอให้อุณหภูมิของเครื่องอยู่ที่ 25°C แล้ว Calibrate เครื่องวัดค่าวอเตอร์แอกทิวิตีด้วยสารละลายเกลือมาตรฐาน
2. เปิดคอมพิวเตอร์และเลือกโปรแกรมสำเร็จรูป
3. บรรจุตัวอย่างลงในตลับพลาสติกให้ได้ปริมาณ  $\frac{3}{4}$  ของตลับพลาสติก แล้วนำตลับตัวอย่างใส่ใน measuring chamber
4. เริ่มวัดค่าวอเตอร์แอกทิวิตี จนกระทั่งเครื่องเตือน บันทึกค่าวอเตอร์แอกทิวิตี

#### ก.6 ค่า Drip loss (ตามรายงานของอาลีนะ หมัดเจริญ, 2547)

##### อุปกรณ์

1. กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 เส้นผ่านศูนย์กลาง 11 เซนติเมตร
2. เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 4 ตำแหน่ง

**วิธีการ**

1. ชั่งน้ำหนักก่อนและหลังการเก็บรักษา

**การคำนวณ**

$$\text{Drip loss (ร้อยละ)} = \frac{\text{ผลต่างของน้ำหนักก่อนและหลังการเก็บรักษา} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนการเก็บรักษา}}$$

น้ำหนักตัวอย่างก่อนการเก็บรักษา

**ก7. ค่า Cooking loss (ตามรายงานของอาสินะ หมัดเจริญ, 2547)****อุปกรณ์**

1. กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 เส้นผ่านศูนย์กลาง 11 เซนติเมตร
2. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
3. อ่างควบคุมอุณหภูมิ
4. นาฬิกาจับเวลา

**วิธีการ**

1. ชั่งน้ำหนักกึ่งก่อนการเก็บรักษา
2. นำตัวอย่างให้ความร้อนที่ 80°C 2 นาที
3. นำตัวอย่างมาวางบนกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1
4. ปิดทับด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1
5. นำชิ้นตัวอย่างออกจากกระดาษกรอง แล้วนำมาชั่งน้ำหนัก

**การคำนวณ**

$$\text{Cooking loss (ร้อยละ)} = \frac{(A1-A2)}{A1} \times 100$$

A1 =

น้ำหนักตัวกึ่งก่อนการเก็บรักษา

A2 =

น้ำหนักชิ้นตัวอย่างที่ออกจากกระดาษกรอง

## ก8. การวัดค่าเนื้อสัมผัส

### อุปกรณ์

1. เครื่องวัดเนื้อสัมผัส ยี่ห้อ Texture Analyzer รุ่น TA-XT2i
2. หัววัด Warner-Bratzler (WB)

### วิธีการ

นำตัวอย่างกุ้งมาวัดค่าเนื้อสัมผัส โดยใช้หัววัด Warner-Bratzler (WB) ความเร็ว 2 มิลลิเมตรต่อวินาที ตัดชิ้นตัวอย่างตรงปล้องที่ 2 ของลำตัวกุ้ง จากนั้นรายงานผลเป็นค่าความแน่นเนื้อ (Firmness) หน่วยเป็น kg Force1

## ก9. วิธีการเตรียมตัวอย่างสำหรับการตรวจสอบโครงสร้างทางจุลภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (ดัดแปลงจาก Palka and Daun, 1999)

### สารเคมี

1. กลูทารอลดีไฮด์ (glutaraldehyde) เข้มข้นร้อยละ 2.5 ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ค่าความเป็นกรดต่าง 7.2 โดยปริมาตรต่อปริมาตร
2. สารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 70 80 90 และ 100 โดยปริมาตรต่อปริมาตร

### วิธีการ

1. ตัดตัวอย่างตรงปล้องที่ 2 หลังจากนั้นตัดชิ้นตัวอย่างให้เป็น fragment บางๆ โดยตัดแบบขวาง (โดยใช้ liquid nitrogen)
2. แช่ชิ้นตัวอย่างในสารละลายกลูทารอลดีไฮด์ ให้สารละลายท่วมชิ้นตัวอย่าง นาน 1-2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 4 °C ล้างตัวอย่างด้วยน้ำกลั่นจนน้ำที่ล้างไม่มีสีเหลือง
3. ค้างน้ำออกจากตัวอย่างโดยการแช่ในสารละลายเอทานอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 50 70 80 90 และ 100 อย่างละ 2 ครั้ง ตามลำดับ โดยแช่เป็นเวลา 15-30 นาที ในแต่ละความเข้มข้น
4. ทำ critical point dry โดยใช้ liquid carbon dioxide
5. ทำการติด fragments ของตัวอย่างกับ holder stab และทำการเคลือบด้วย AuPd 20 nm จำนวน 2 ครั้ง
6. ทำการตรวจสอบตัวอย่างด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM JEOL

JSM-5800) ใช้กำลังขยาย  $\times 300$  เพื่อตรวจสอบตัวอย่างในแนวขวาง (transverse section) working distance 50  $\mu\text{m}$  20 kv

## ภาคผนวก ข การวิเคราะห์ทางเคมี

### ข1. การวิเคราะห์ปริมาณเยื่อใยโดยวิธีของ A. O. A. C. (1999)

#### วัสดุอุปกรณ์

1. อุปกรณ์ชุดหาปริมาณสารเยื่อใย ซึ่งประกอบด้วย บีกเกอร์ขนาด 600 มิลลิลิตร อุปกรณ์ควมแน่น และอุปกรณ์ให้ความร้อน
2. กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 54
3. ขวดกรองสุญญากาศ
4. กรวยกรอง
5. ถ้วยกระเบื้องเคลือบ
6. ตู้อบไฟฟ้า
7. เตาเผา
8. โถดูดความชื้น
9. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

#### สารเคมี

1. กรดซัลฟูริก ความเข้มข้นร้อยละ 1.25
2. โซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 1.25
3. เอทิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้นร้อยละ 95

#### วิธีการวิเคราะห์

1. นำกระดาษกรองวางบนกระจกนาฬิกา ออบในตู้อบที่อุณหภูมิ  $105^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วเก็บในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนักเก็บไว้ใช้ในการกรอง ในขั้นตอนต่อไป
2. ชั่งตัวอย่างลงในบีกเกอร์ทรงสูงสำหรับวิเคราะห์สารเยื่อใยขนาด 600 มิลลิลิตร
3. เติมกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1.25 ปริมาตร 200 มิลลิลิตร
4. วางบีกเกอร์บนอุปกรณ์ให้ความร้อนซึ่งต่อเข้ากับอุปกรณ์ควมแน่น แล้วเปิดน้ำหล่ออุปกรณ์ควมแน่น พร้อมเปิดสวิตซ์ไฟ
5. ต้มจนเดือดนาน 30 นาที

6. กรองขณะร้อนผ่านกระดาษกรองที่ชั่งน้ำหนักแล้ว
7. ล้างด้วยน้ำร้อนจนกระทั่งน้ำล้างหมดความเป็นกรด
8. ถ่ายกากที่ได้ลงในบีกเกอร์เดิม
9. เติมนโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 1.25 ปริมาตร 200 มิลลิลิตร
10. วางบีกเกอร์บนอุปกรณ์ให้ความร้อนซึ่งต่อกับอุปกรณ์ควบแน่นเช่นเดิม และต้มต่ออีก 30 นาที
11. กรองขณะร้อนผ่านกระดาษกรองแผ่นเดิม
12. ล้างด้วยน้ำร้อนจนกระทั่งน้ำล้างหมดความเป็นด่าง
13. ล้างด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร
14. นำกระดาษกรองพร้อมทั้งกากวางในถ้วยกระเบื้องเคลือบ นำไปเผาบน hot plate จนหมดควัน แล้วนำไปอบในตู้อบไฟฟ้า ที่อุณหภูมิ 105°C ประมาณ 3 ชั่วโมง แล้ววางพักไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น
15. ชั่งน้ำหนักแล้วอบซ้ำอีก ครั้งละ 30 นาที จนกระทั่งได้น้ำหนักคงที่ ซึ่งผลต่างของน้ำหนักที่ชั่ง 2 ครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม
16. นำถ้วยกระเบื้องเคลือบพร้อมกากที่อบแห้งแล้วไปเผา เช่นเดียวกับวิธีการวิเคราะห์ปริมาณเถ้า
17. คำนวณปริมาณสารเยื่อใยของตัวอย่าง จากสูตร

$$\text{ปริมาณเยื่อใยคิดเป็นร้อยละโดยน้ำหนัก} = \frac{\text{ผลต่างของน้ำหนักตัวอย่างหลังอบและหลังเผา} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}}$$

## ข2. วิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (Kahkonen *et al.*, 1999)

### หลักการ

เป็นการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด โดยอาศัยการทำปฏิกิริยาระหว่าง Folin-Ciocalteu (Phosphomolybdic-phosphotungstic acid) กับสารประกอบฟีนอลิก ในสถานะที่เป็นด่าง เกิดเป็นสารประกอบสีน้ำเงิน ซึ่งสามารถดูดกลืนแสงได้ดีในช่วง 765 นาโนเมตร ข้อเสียของวิธีนี้คือ ถ้าตัวอย่างมีสารรีดิวซ์อื่นๆที่ไม่ใช่สารฟีนอลิก ได้แก่ อะดีนีน อะดีโนซีน อะลานีน อะนิลีน กรดอะมิโนเบนโซอิก กรดแอสคอร์บิก เบนซาลดีไฮด์ ครีเอทีนีน ซีสเทอีน ไซทีดิน ไซโทซีน ไคเมทิลอะนิลีน ไคฟีนิลเอมีน อีดีทีเอ ฟรักโทส กัวนีน กัวโนซีน ไกลซีน ฮีสตามีน ฮีสทีดิน อินโดล เมทิลเอมีน กรดไนโตรโลอะซิดิก กรดโอเลอิก โพรตีน

ไพริดอกซีน ซูโครส กรดซัลฟานิลิก ไชมีน ไชมีดีน ไตรเมทิลเอมีน ทริปโตเฟน ยูราซิล กรดยูริก และแซนธิน เป็นต้น (Prior *et al.*, 2005; Dordevic *et al.*, 2010) จะรบกวนการวิเคราะห์ได้ โดยทำให้ค่าสูงกว่าที่เป็นจริง (Shahidi and Naczk, 1995)

### วัสดุและอุปกรณ์

1. เครื่องวัดไมโครเพลท (microplate reader, PowerWaveX, Biotek, U.S.A.)
2. ไมโครเพลท (microplate)
3. ไมโครปิเปต (micropipette)

### สารเคมี

1. กรดแกลลิก (gallic acid)
2. Folin-Ciocalteu's reagent
3. โซเดียมคาร์บอเนต ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) ร้อยละ 7.5

### การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Gallic acid

เตรียมสารมาตรฐานกรดแกลลิกให้มีความเข้มข้น 6 ระดับ คือ 0.017, 0.034, 0.069, 0.137, 0.274 และ 0.549 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ความเข้มข้นละ 5 มิลลิลิตร โดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย

### การเตรียมสารละลาย Folin-Ciocalteu's reagent

ปิเปต Folin reagent มา 10 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 100 มิลลิลิตร แล้วปิดด้วยอลูมิเนียมฟอยล์

### การเตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต

ชั่งโซเดียมคาร์บอเนตมา 7.5 กรัม ถ่ายลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 100 มิลลิลิตร

## การเตรียมตัวอย่าง

นำสารสกัดหยาบของข้า ตะไคร้ พริกชี้หนู ใบมะกรูดและเครื่องต้มข้า มาเจือจาง ให้ได้ความเข้มข้นที่เหมาะสมโดยใช้เอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 75

## การทดสอบ

ปีเปตตัวอย่างสารสกัดหยาบของข้า ตะไคร้ พริกชี้หนู ใบมะกรูดและเครื่องต้มข้า ความเข้มข้นที่เหมาะสมปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงใน 96-well microplate ปีเปตสารละลาย Folin-Ciocalteu's reagent ลงในสารตัวอย่าง หลุมละ 100 ไมโครลิตร จากนั้นปีเปตสารละลายไซเดียมคาร์บอเนตลงในสารตัวอย่าง หลุมละ 80 ไมโครลิตร พักไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate Reader (PowerWaveX, Biotek, U.S.A.) โดยใช้น้ำกลั่น 180 ไมโครลิตรผสมกับสารสกัดหยาบจำนวน 20 ไมโครลิตร เป็น blank sample

## วิธีแปลผล

คำนวณความเข้มข้นของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในรูปของสมมูลกรดแกลลิก โดยใช้กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก ดังสมการ

$$C = c \times V/m$$

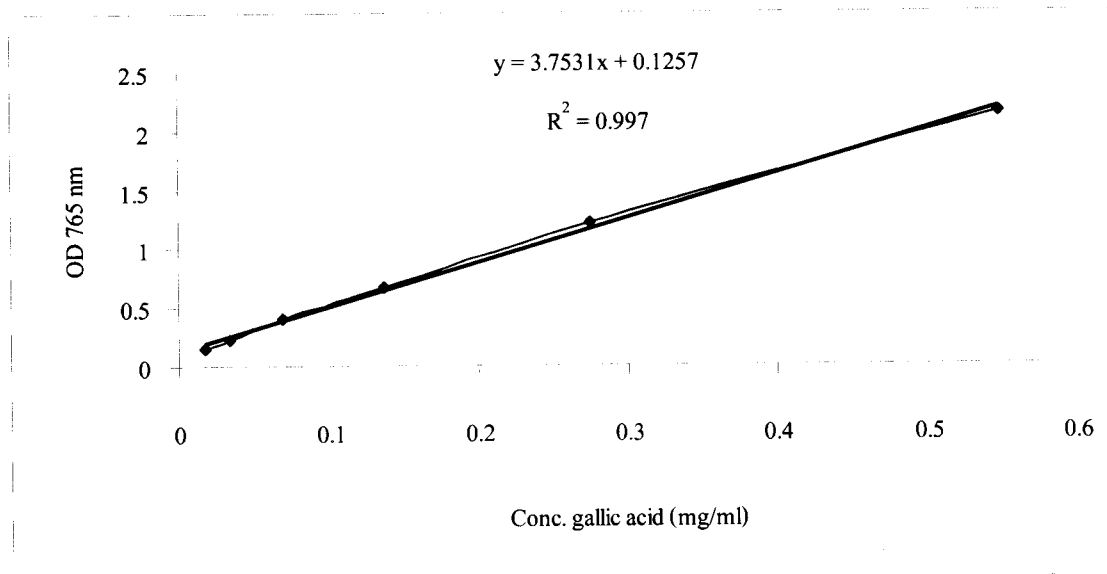
โดยที่ C = ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด คิดเป็นกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมของน้ำหนักแห้งของตัวอย่าง

c = ความเข้มข้นของกรดแกลลิกเปรียบเทียบจากกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร (OD765nm) ของตัวอย่างลบค่าการดูดกลืนแสงของ blank sample ออก แล้วแทนค่าเป็นค่า y ในสมการที่ได้จากกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก (Appendix figure 1) คำนวณหาค่า x

V = ปริมาตรของสารสกัด (มิลลิลิตร)

m = น้ำหนักแห้งของตัวอย่าง (กรัม)





Appendix figure 2. Standard phenolic content of gallic acid using Folin–Ciocalteu colorimetric

#### Method

#### ตัวอย่างการคำนวณสารสกัดหยาบของพริกชี้หนูด้วยน้ำ

นำพริกชี้หนูสด 81.31 กรัม สกัดด้วยน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร นำไปประเหยสารสกัดออกไปร้อยละ 75 ได้สารสกัดหยาบของพริกชี้หนูด้วยน้ำ 200 มิลลิลิตร

#### คำนวณค่า c

จากกราฟ  $y = 3.7531x + 0.1257$  ดังนั้น  $x = (y - 0.1257) / 3.7531$

OD765nm ของสารสกัดหยาบของพริกชี้หนู - OD765nm ของ blank sample = 0.6657

$x = (0.6657 - 0.1257) / 3.7531 = 0.1439$  มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ปริมาตรของตัวอย่างพริกชี้หนู 200 มิลลิลิตร ทำให้เจือจาง 12 เท่า

#### คำนวณน้ำหนักแห้งของพริกชี้หนู

พริกชี้หนูสดมีของแข็งร้อยละ 22.1748

พริกชี้หนูสด 100 กรัม มีของแข็ง 22.1748 กรัม

พริกชี้หนูสด 81.31 กรัม มีของแข็ง  $(22.1748 \times 81.31) / 100 = 18.0303$  กรัม

$$\begin{aligned}
 \text{จากสูตร } C &= c \times V/m \\
 &= (0.1439 \text{ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร} \times 200 \text{ มิลลิลิตร} \times 12) / 18.0303 \text{ กรัม} \\
 &= 19.1544 \text{ มิลลิกรัมต่อกรัม} \\
 &= 19.1544 \times 10^{-1} \text{ กรัมต่อ } 100 \text{ กรัม} = 1.9154 \text{ กรัมต่อ } 100 \text{ กรัม}
 \end{aligned}$$

ดังนั้น สารสกัดพริกชี้หนูด้วยน้ำ มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 1.9154 กรัม สมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัม ของน้ำหนักแห้งของพริกชี้หนู

### ข3. วิเคราะห์คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

การศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของผลไม้ พืชผักและผลิตภัณฑ์จากพืชไม่สามารถใช้วิธีในการทดสอบแค่เพียงวิธีเดียว เนื่องจากความซับซ้อนทางธรรมชาติของสารพฤษเคมี (Chu *et al.*, 2000) ดังนั้น วิธีการทดสอบเพียงวิธีเดียวไม่สามารถสะท้อนค่าที่ถูกต้องของสารต้านอนุมูลอิสระในระบบผสมหรือระบบเชิงซ้อนของอาหารได้ (Du *et al.*, 2009) เช่น การวิเคราะห์สมบัติการต้านออกซิเดชัน โดยวิธี  $\beta$ -carotene bleaching เป็นวิธีที่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์สารต้านออกซิเดชันที่ชอบไขมัน (Kulisic *et al.*, 2004) ในขณะที่หากวิเคราะห์สารต้านออกซิเดชันที่มีขั้ว เช่น กรดแอสคอร์บิก กรดโรสมารินิกและกรดคาเฟอิก โดยวิธี  $\beta$ -carotene bleaching ทำให้พบกิจกรรมการต้านออกซิเดชันน้อย ทั้งๆที่สารดังกล่าวมีสมบัติการต้านออกซิเดชันสูงเมื่อใช้วิธีอื่นๆในการทดสอบ แสดงให้เห็นว่าคุณสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชันขึ้นอยู่กับวิธีการวิเคราะห์ ความเข้มข้น ธรรมชาติและคุณสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ เช่น สมบัติการละลายของสารต้านอนุมูลอิสระที่ใช้ในการศึกษา (Koleva *et al.*, 2002)

การศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบในเครื่องต้มยำและเครื่องต้มยำ ใช้วิธีในการวิเคราะห์ 3 วิธี ได้แก่ การศึกษาความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP การศึกษาความสามารถของสารสกัดในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH เป็นวิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระที่มีความสามารถในการให้อิเล็กตรอนอะตอม (Baumann *et al.*, 1979) อ้างโดย Leong and Shui, 2002) ซึ่งมีหลักการคือ อนุมูลอิสระ DPPH ในสารละลายมีสีม่วงสามารถดูดกลืนแสงได้ดีในช่วง 517 นาโนเมตร เมื่ออนุมูลอิสระ DPPH ให้อิเล็กตรอนหรืออะตอมของไฮโดรเจน จากสารต้านอนุมูลอิสระที่ใช้ในการทดสอบ เกิดเป็น DPPH-H (Hogg *et al.*, 1961) ซึ่งมีสีจางลงและเป็นสารที่เสถียรขึ้น

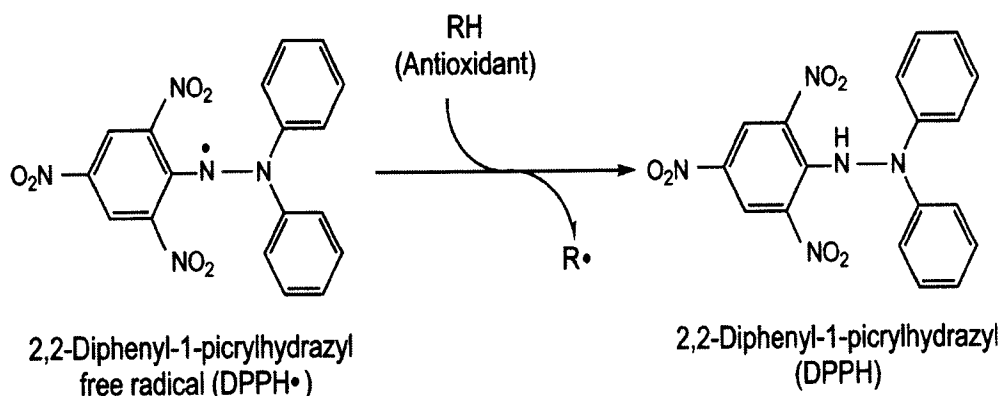
สำหรับการศึกษาความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS เป็นวิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระที่มีความสามารถในการให้ไฮโดรเจนอะตอมและยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ (Rice-Evans *et al.*, 1995; Rice-Evans *et al.*, 1996; Robert *et al.*, 1999) ซึ่งมีหลักการคล้ายคลึงกับ การศึกษาความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH แต่ข้อแตกต่างของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS คือ ABTS เป็นสารที่สามารถละลายได้ในน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์ ดังนั้นจึงสามารถวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระได้ทั้งสารต้านอนุมูลอิสระที่มีคุณสมบัติชอบน้ำและไม่ชอบน้ำ ในขณะที่ DPPH สามารถละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์เพียงอย่างเดียว ดังนั้นจึงสามารถวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระที่มีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำได้มากกว่า (Wojdylo *et al.*, 2007) และตำแหน่งในการทำปฏิกิริยาระหว่างอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS กับสารต้านอนุมูลอิสระก็แตกต่างกัน (Kondo *et al.*, 2000; Osman *et al.*, 2006)

นอกจากนี้พบว่าการทำปฏิกิริยาระหว่างสารต้านอนุมูลอิสระบางชนิดกับอนุมูลอิสระ ABTS เกิดได้ช้า (Lissi *et al.*, 1999) ทำให้ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS ของสารต้านอนุมูลอิสระขึ้นอยู่กับระยะเวลาในการบ่มและอัตราส่วนระหว่างสารต้านอนุมูลอิสระและความเข้มข้นของอนุมูลอิสระ ABTS (Roginsky and Lissi, 2005) สำหรับ FRAP เป็นวิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์สมบัติการรีดิวซ์เฟอร์ริกไอออน ซึ่งอยู่ในรูปของสารประกอบเชิงซ้อนของ  $Fe^{3+}$ -TPTZ (Ferric tripyridyl triazine) ไปเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของเหล็กเฟอร์รัส  $Fe^{2+}$ -TPTZ (Ferrous tripyridyl triazine) ซึ่งมีสีฟ้า (Wojdylo *et al.*, 2007)

### ข3.1 DPPH radical scavenging assay (ดัดแปลงจาก Wu *et al.*, 2003)

#### หลักการ

เป็นการทดสอบความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของสารที่ใช้ทดสอบ โดยอนุมูลอิสระต้นแบบที่ใช้ในการทดสอบคือ DPPH ซึ่งมีหลักการ คือ DPPH ในสารละลายเป็นอนุมูลอิสระที่มีความเสถียร สามารถดูดกลืนแสงได้ดีในช่วง 517 นาโนเมตร เมื่อทำปฏิกิริยากับสารทดสอบที่มีสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชัน ค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH จะลดลงเนื่องจากเกิดปฏิกิริยาระหว่างโมเลกุลของสารต้านออกซิเดชันและอนุมูลอิสระ โดยที่อนุมูลอิสระจะได้รับไฮโดรเจนอะตอม (hydrogen donation) (Appendix figure 3) สังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของปฏิกิริยาจากสีม่วงเป็นสีเหลือง ความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระรายงานค่าเทียบกับสารละลายมาตรฐานโทรลอคซ์



Appendix figure 3. Reaction between DPPH<sup>•</sup> and antioxidant to form DPPH

ที่มา: Moon และ Shibamoto (2009)

### วัสดุและอุปกรณ์

1. เครื่องวัดไมโครเพลท
2. ไมโครเพลท
3. ไมโครปิเปต

### สารเคมี

1. DPPH ความเข้มข้น 0.15 มิลลิโมลต่อลิตร
2. absolute ethanol

### การเตรียม DPPH stock solution ใน Absolute ethanol

เตรียมสารละลาย DPPH ให้มีความเข้มข้น 0.15 มิลลิโมลต่อลิตร โดยการชั่ง DPPH 0.0024 กรัม ละลายและปรับปริมาตรในขวดปรับปริมาตร ให้ครบ 100 มิลลิลิตร ด้วย absolute ethanol เก็บไว้ในขวดสีชา ที่อุณหภูมิ  $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$  (ควรเตรียมก่อนใช้ 2-3 ชั่วโมง)

### การเตรียมสารมาตรฐาน

สารมาตรฐานที่ใช้คือโทรลอกซ์ ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของวิตามินอีที่ละลายน้ำได้ เตรียมให้มีความเข้มข้น 6 ระดับ คือ 10, 20, 30, 40, 50 และ 60 ไมโครโมลต่อลิตร ความเข้มข้นละ 5 มิลลิลิตร โดยใช้ absolute ethanol เป็นตัวทำละลาย

## การเตรียมตัวอย่าง

นำสารสกัดหยาบของข่า ตะไคร้ พริกขี้หนู ใบมะกรูดและเครื่องดัมข่า มาเจือจาง ให้ได้ความเข้มข้นที่เหมาะสมโดยใช้เอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 75

## การทดสอบ

ปีเปตสารละลายตัวอย่างความเข้มข้นที่เหมาะสมปริมาตร 150 ไมโครลิตร ลงใน 96-well microplate แล้วเติมสารละลาย DPPH ที่มีความเข้มข้น 0.15 มิลลิโมลต่อลิตร ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ลงในสารตัวอย่างผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่า พักไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate Reader (PowerWaveX, Biotek, U.S.A.)

## หมายเหตุ

Blank sample คือ สารตัวอย่างปริมาตร 150 ไมโครลิตร + absolute ethanol ปริมาตร 150 ไมโครลิตร

Control คือ สารละลาย DPPH ปริมาตร 150 ไมโครลิตร + ethanol ความเข้มข้น ร้อยละ 75 ปริมาตร 150 ไมโครลิตร

## วิธีแปลผล

คำนวณความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ในรูปของสมมูล ไทรลอกซ์ โดยใช้กราฟมาตรฐานของไทรลอกซ์ ดังสมการ

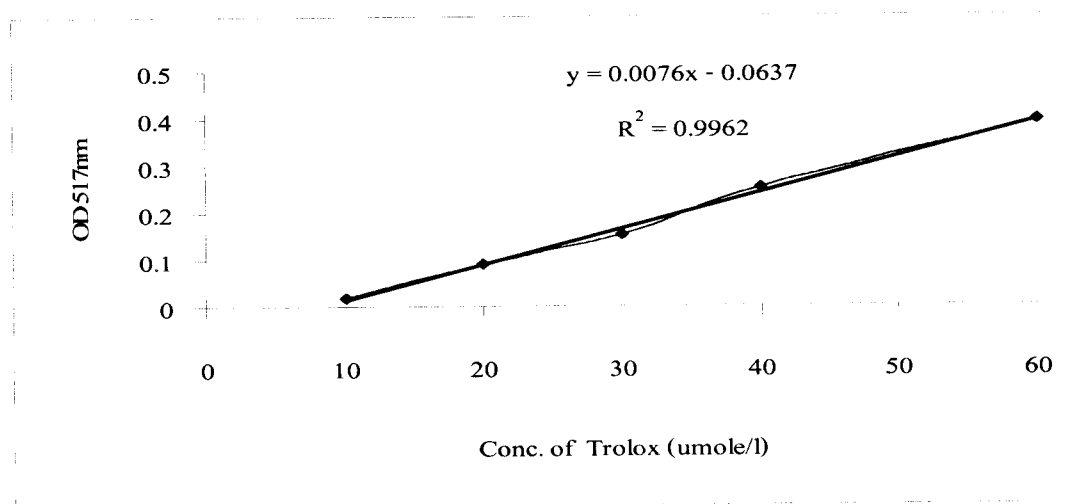
$$C = c \times V/m$$

โดยที่ C = ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH เทียบกับสารมาตรฐานไทรลอกซ์ (ไมโครโมลสมมูลย์ของไทรลอกซ์ต่อกรัมของน้ำหนักแห้งของตัวอย่าง)

c = ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH เปรียบเทียบจากกราฟมาตรฐานของไทรลอกซ์ (ไมโครโมลต่อลิตร) โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร (OD517nm) ของ control ลบค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง และ blank sample ออก แล้วแทนค่าเป็นค่า y ในสมการที่ได้จากกราฟมาตรฐานของไทรลอกซ์ (Appendix figure 4) คำนวณหาค่า x

V = ปริมาตรของสารสกัด (ลิตร)

m = น้ำหนักแห้งของตัวอย่าง (กรัม)



Appendix figure 4. Standard antioxidants of trolox using DPPH radical scavenging method

#### ตัวอย่างการคำนวณสารสกัดหยาบของพริกชี้หนูด้วยน้ำ

นำพริกชี้หนูสด 81.31 กรัม สกัดด้วยน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร นำไประเหยสารสกัดออกไปร้อยละ 75 ได้สารสกัดหยาบของพริกชี้หนูด้วยน้ำ 200 มิลลิลิตร

#### คำนวณค่า c

จากกราฟ  $y = 0.0076x - 0.0637$  ดังนั้น  $x = (y + 0.0637) / 0.0076$

OD517nm ของ control - ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง - blank sample = 0.2058

$x = (0.2058 + 0.0637) / 0.0076 = 35.4605$  ไมโครโมลต่อลิตร

ปริมาตรของตัวอย่างพริกชี้หนู 200 มิลลิลิตร ทำให้เจือจาง 96 เท่า

#### คำนวณน้ำหนักแห้งของพริกชี้หนู

พริกชี้หนูสดมีของแข็งร้อยละ 22.7482

พริกชี้หนูสด 100 กรัม มีของแข็ง 22.7482 กรัม

พริกชี้หนูสด 81.31 กรัม มีของแข็ง  $(22.7482 \times 81.31) / 100 = 18.4966$  กรัม

จากสูตร  $C = c \times V/m$

$= (35.4605 \text{ ไมโครโมลต่อลิตร} \times 0.2 \text{ ลิตร} \times 96) / 18.4966 \text{ กรัม}$

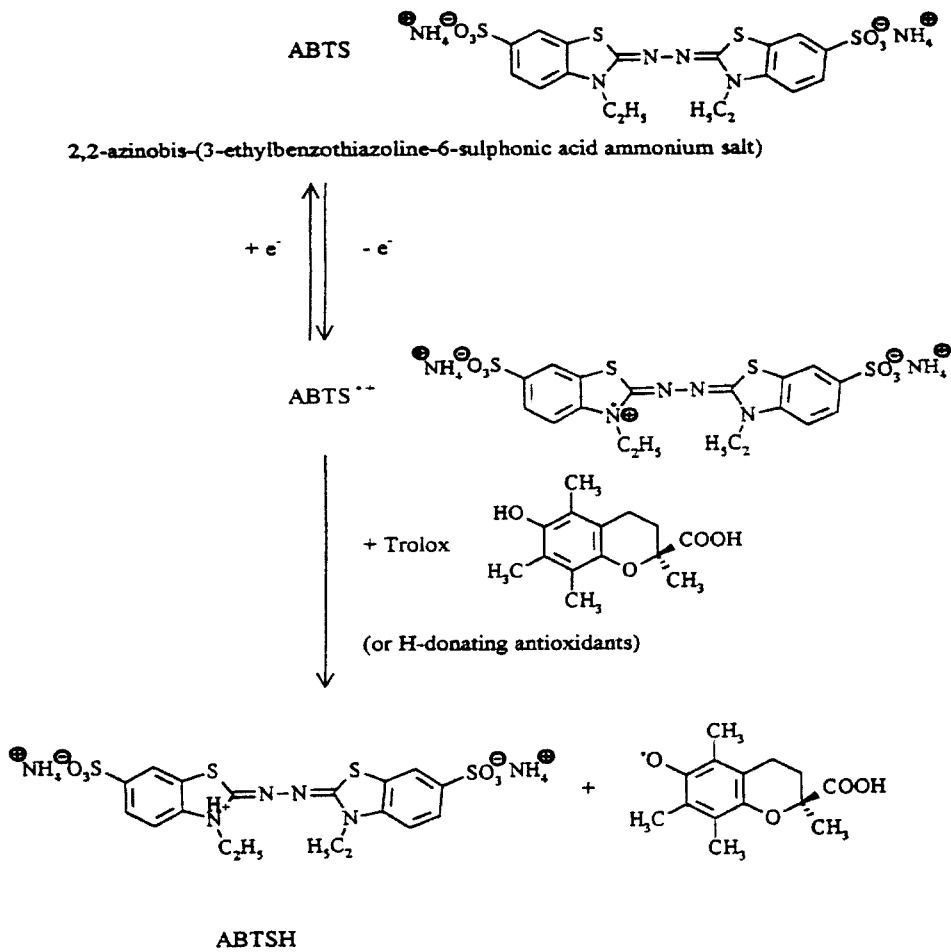
$= 36.8090 \text{ ไมโครโมลต่อกรัม}$

ดังนั้น สารสกัดพริกชี้หนูด้วยน้ำ มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 36.8090 ไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของน้ำหนักแห้งของพริกชี้หนู

### ข3.2 ABTS radical cation scavenging assay (ดัดแปลงจาก Armao *et al.*, 2001)

#### หลักการ

เป็นการทดสอบความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของสารที่ใช้ทดสอบ โดยอนุมูลอิสระต้นแบบที่ใช้ในการทดสอบคือ ABTS อนุมูลอิสระ ABTS เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของ ABTS กับโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต หลักการของวิธีนี้คืออนุมูลอิสระ ABTS มีสีเขียวแกมน้ำเงินสามารถดูดกลืนแสงได้ดีในช่วง 734 นาโนเมตร ในระบบที่มีสารต้านออกซิเดชัน สารดังกล่าวจะเป็นตัวรีดิวซ์อนุมูลอิสระ ABTS เกิดเป็นอนุมูลอิสระ ABTS ที่มีความเสถียรทำให้การดูดกลืนแสงในช่วง 734 นาโนเมตรลดลง (Appendix figure 5) รายงานความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS ในรูปของสมมูลโทรลอกซ์ (Re *et al.*, 1999)



Appendix figure 5. ABTS radical cation scavenging

ที่มา: Lien และคณะ (1999)

### วัสดุและอุปกรณ์

1. เครื่องวัดไมโครเพลท (microplate reader, PowerWaveX, Biotek, U.S.A.)
2. ไมโครเพลท (microplate)
3. ไมโครปิเปต (micropipette)

### สารเคมี

1. ABTS ความเข้มข้น 7.4 มิลลิโมล/ลิตร
2. potassium persulfate ( $K_2S_2O_8$ ) ความเข้มข้น 2.6 มิลลิโมล/ลิตร
3. absolute ethanol



### การเตรียมสารละลายอนุโมลลิธระ ABTS

เตรียม ABTS ความเข้มข้น 0.014 โมลต่อลิตร โดยชั่ง ABTS มา 0.7682 กรัม ละลายและปรับปริมาตรในขวดปรับปริมาตร ให้ครบ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นเก็บไว้ในขวดแก้วสีชา ที่อุณหภูมิห้อง

เตรียมโพแทสเซียมเพอร์ซัลเฟต ( $K_2S_2O_8$ ) ความเข้มข้น 4.8 มิลลิโมลต่อลิตร โดยชั่ง  $K_2S_2O_8$  มา 0.1324 กรัม ละลายและปรับปริมาตรในขวดปรับปริมาตร ให้ครบ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น เก็บไว้ในขวดสีชา ที่อุณหภูมิห้อง

เตรียมสารละลายอนุโมลลิธระ ABTS โดยนำ ABTS ความเข้มข้น 0.014 โมลต่อลิตร ทำปฏิกิริยากับโพแทสเซียมเพอร์ซัลเฟต ความเข้มข้น 4.8 มิลลิโมลต่อลิตร ในอัตราส่วน 1:1 (ความเข้มข้นสุดท้ายของ ABTS และโพแทสเซียมเพอร์ซัลเฟต คือ 7.0 และ 2.4 มิลลิโมลาร์) เก็บในที่มืด ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12-16 ชั่วโมง จากนั้นนำสารละลายที่ได้มาเจือจางด้วย absolute ethanol เพื่อให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ  $1.1 \pm 0.02$  ที่ 734 นาโนเมตร ควรเตรียมทันทีก่อนใช้

### การเตรียมสารมาตรฐาน

สารมาตรฐานที่ใช้คือโทรลอกซ์ เตรียมให้มีความเข้มข้น 8 ระดับ คือ 50, 60, 100, 300, 400 และ 500 ไมโครโมลต่อลิตร ความเข้มข้นละ 5 มิลลิลิตร โดยใช้ absolute ethanol เป็นตัวทำละลาย

### การเตรียมตัวอย่าง

นำสารสกัดหยาบของข่า ตะไคร้ พริกขี้หนู ใบมะกรูดและเครื่องต้มข่า มาเจือจาง ให้ได้ความเข้มข้นที่เหมาะสมด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 75

### การทดสอบ

ปิเปตสารละลายตัวอย่างความเข้มข้นที่เหมาะสมปริมาตร 15 ไมโครลิตร ลงใน 96-well microplate ปิเปตสารละลายอนุโมลลิธระ ABTS ลงในสารตัวอย่างหลุมละ 285 ไมโครลิตร พักไว้ในที่มืดเป็นเวลา 120 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate Reader (PowerWaveX, Biotek, U.S.A.)

## หมายเหตุ

Blank sample คือ สารตัวอย่างปริมาตร 15 ไมโครลิตร + absolute ethanol ปริมาตร 285 ไมโครลิตร

Control คือ ethanol ความเข้มข้นร้อยละ 75 ปริมาตร 15 ไมโครลิตร + สารละลายอนุมูลอิสระ ABTS ปริมาตร 285 ไมโครลิตร

## วิธีแปลผล

คำนวณความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS ในรูปของสมมูลย์ Trolox (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity; TEAC) โดยใช้กราฟมาตรฐานของ Trolox ดังสมการ

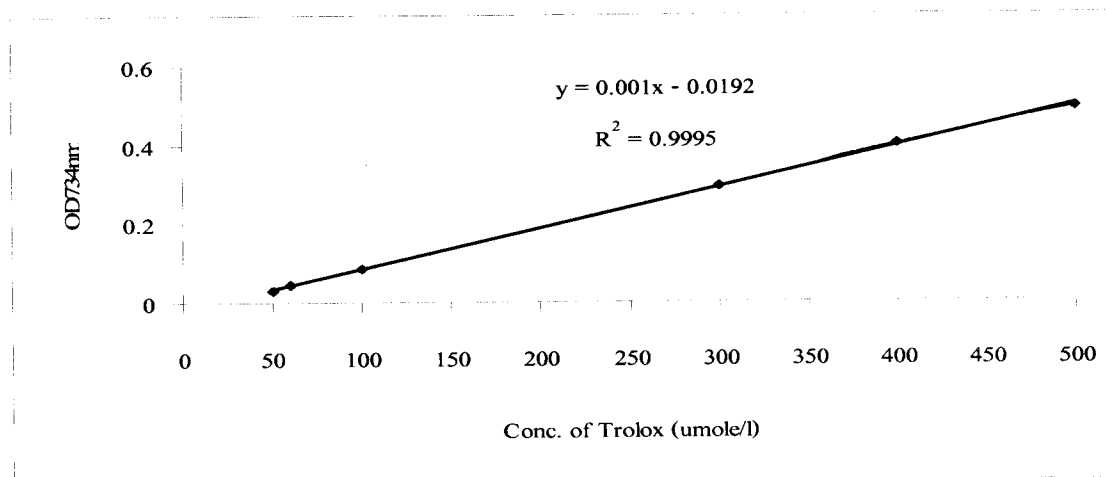
$$C = c \times V/m$$

โดยที่ C = ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS เทียบกับสารมาตรฐาน Trolox (ไมโครโมลสมมูลย์ของ Trolox ต่อกรัมของน้ำหนักแห้งของตัวอย่าง)

c = ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS เปรียบเทียบจากกราฟมาตรฐานของ Trolox (ไมโครโมลต่อลิตร) โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร (OD734nm) ของ control ลบค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง และ blank sample ออก แล้วแทนค่าเป็นค่า y ในสมการที่ได้จากกราฟมาตรฐานของ Trolox (Appendix figure 6) คำนวณหาค่า x

V = ปริมาตรของสารสกัด (ลิตร)

m = น้ำหนักแห้งของตัวอย่าง (กรัม)



Appendix figure 6. Standard antioxidants of Trolox using ABTS radical cation scavenging method

### ตัวอย่างการคำนวณสารสกัดหยาบของพริกชี้หนูด้วยน้ำ

นำพริกชี้หนูสด 81.31 กรัม สกัดด้วยน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร นำไปประเหยสารสกัดออกไปร้อยละ 75 ได้สารสกัดหยาบของพริกชี้หนูด้วยน้ำ 200 มิลลิลิตร

### คำนวณค่า c

จากกราฟ  $y = 0.001x - 0.0192$  ดังนั้น  $x = (y + 0.0192) / 0.001$

OD734nm ของ control - ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง - blank sample = 0.475

$x = (0.475 + 0.0192) / 0.001 = 494.2$  ไมโครโมลต่อลิตร

ปริมาตรของตัวอย่างพริกชี้หนู 200 มิลลิลิตร ทำให้เจือจาง 48 เท่า

### คำนวณน้ำหนักของพริกชี้หนูแห้ง

พริกชี้หนูสดมีของแข็งร้อยละ 22.7482

พริกชี้หนูสด 100 กรัม มีของแข็ง 22.7482 กรัม

พริกชี้หนูสด 81.31 กรัม มีของแข็ง  $(22.7482 \times 81.31) / 100 = 18.4966$  กรัม

จากสูตร  $C = c \times V/m$

$= (494.2 \text{ ไมโครโมลต่อลิตร} \times 0.2 \text{ ลิตร} \times 48) / 18.4966 \text{ กรัม}$

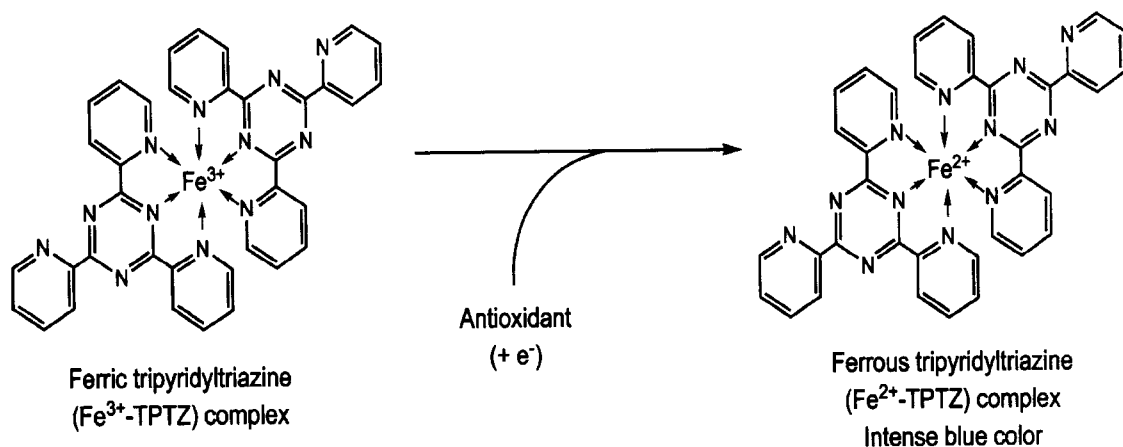
$= 256.4969 \text{ ไมโครโมลต่อกรัม}$

ดังนั้น สารสกัดพริกชี้หนูด้วยน้ำ มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS เท่ากับ 256.4969 ไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของพริกชี้หนูแห้ง

### ข3.3 Ferric reducing antioxidant power assay (ดัดแปลงจาก Benzie and Strain, 1996)

#### หลักการ

เป็นการวัดความสามารถในการรีดิวซ์ของสารที่มีสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชัน โดยการรีดิวซ์เฟอร์ริกไอออน ( $Fe^{3+}$ ) ซึ่งอยู่ในรูปสารประกอบเชิงซ้อนของ  $Fe^{3+}$ -TPTZ (ferric tripyridyl triazine) ไปเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของเหล็กเฟอร์รัส  $Fe^{2+}$ -TPTZ (ferrous tripyridyl triazine) ซึ่งเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่มีสีน้ำเงิน (Appendix figure 7) และสามารถดูดกลืนแสงได้ดีในช่วง 593 นาโนเมตร ภายใต้สภาวะที่มีพีเอชต่ำ (pH~3.6)



Appendix figure 7. Formation of ( $Fe^{2+}$ -TPTZ) complex from ( $Fe^{3+}$ -TPTZ) complex by antioxidant

ที่มา: Moon และ Shibamoto (2009)

#### วัสดุและอุปกรณ์

1. เครื่องวัดไมโครเพลท (microplate reader, PowerWaveX, Biotek, U.S.A.)
2. ไมโครเพลท (microplate)
3. ไมโครปิเปต (micropipette)

## สารเคมี

1. โซเดียมอะซีเตตไตรไฮเดรต ( $\text{CH}_3\text{COONa}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ) 300 มิลลิโมลต่อลิตร
2. กรดอะซีติก ( $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ )
3. TPTZ ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลต่อลิตร
4. กรดไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้น 40 มิลลิโมลต่อลิตร
5. เฟอริกคลอไรด์เฮกซะไฮเดรต ( $\text{FeCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) 20 มิลลิโมลต่อลิตร

## การเตรียมสารละลาย FRAP

เตรียมสารละลาย FRAP โดยการนำอะซีเตตบัฟเฟอร์ 300 มิลลิโมลต่อลิตรผสมกับ TPTZ ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลต่อลิตร ในกรดไฮโดรคลอริก และเฟอริกคลอไรด์เฮกซะไฮเดรต 20 มิลลิโมลต่อลิตร มาทำปฏิกิริยากันในอัตราส่วน 10:1:1 จากนั้นบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 °ซ เป็นเวลา 30 นาที

### การเตรียมอะซีเตตบัฟเฟอร์ 300 มิลลิโมลต่อลิตร (พีเอช 3.6)

ชั่งโซเดียมอะซีเตตไตรไฮเดรตมา 3.1 กรัม ละลายในกรดอะซีติก ปริมาตร 16 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรในขวดปรับปริมาตร ให้ครบ 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น

### การเตรียม TPTZ ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลต่อลิตร ในกรดไฮโดรคลอริก 40 มิลลิโมลต่อลิตร

เตรียมกรดไฮโดรคลอริก 40 มิลลิโมลต่อลิตร โดยการเปิดกรดไฮโดรคลอริกมา 0.3312 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรในขวดปรับปริมาตร ให้ครบ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น ชั่ง TPTZ มา 0.3123 กรัม ละลายในไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 40 มิลลิโมลต่อลิตร และปรับปริมาตรในขวดปรับปริมาตร ให้ครบ 100 มิลลิลิตร ด้วยไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 40 มิลลิโมลต่อลิตร

### การเตรียมเฟอริกคลอไรด์เฮกซะไฮเดรต 20 มิลลิโมลต่อลิตร

ชั่งเฟอริกคลอไรด์เฮกซะไฮเดรต มา 0.5406 กรัม ละลายและปรับปริมาตรในขวดปรับปริมาตร ให้ครบ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

## การเตรียมสารมาตรฐานโทรลอกซ์

สารมาตรฐานที่ใช้คือโทรลอกซ์ เตรียมให้มีความเข้มข้น 7 ระดับ คือ 50, 60, 100, 200, 300, 400 และ 600 ไมโครโมลต่อลิตร ความเข้มข้นละ 5 มิลลิลิตร โดยใช้ absolute ethanol เป็นตัวทำละลาย

## การเตรียมตัวอย่าง

นำสารสกัดหยาบของข้าว ตะไคร้ พริกขี้หนู ใบมะกรูดและเครื่องต้มข้าวมาเจือจาง ให้ได้ความเข้มข้นที่เหมาะสม ด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 75

## การทดสอบ

ปิเปตสารละลายตัวอย่างความเข้มข้นที่เหมาะสมปริมาตร 15 ไมโครลิตร ลงใน 96-well microplate ปิเปตสารละลาย FRAP ลงในสารตัวอย่างทุกหลุม หลุมละ 285 ไมโครลิตร พักไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate Reader (PowerWaveX, Biotek, U.S.A.)

## หมายเหตุ

Blank sample คือ สารตัวอย่าง 15 ไมโครลิตร + น้ำกลั่น 285 ไมโครลิตร

## วิธีแปลผล

คำนวณความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP ในรูปของสมมูลโทรลอกซ์ โดยใช้กราฟมาตรฐานของโทรลอกซ์ ดังสมการ

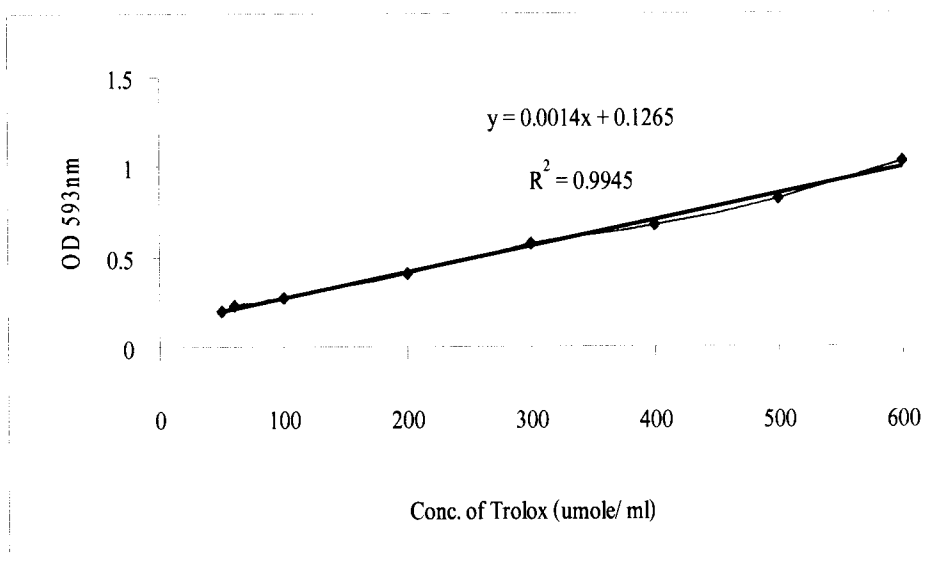
$$C = c \times V/m$$

โดยที่ C = ความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP เทียบกับสารมาตรฐานโทรลอกซ์ (ไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของน้ำหนักแห้งของตัวอย่าง)

c = ความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP เปรียบเทียบจากกราฟมาตรฐานของโทรลอกซ์ (ไมโครโมลต่อลิตร) โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร (OD593nm) ของตัวอย่างลบค่าการดูดกลืนแสงของ blank sample ออกแล้วแทนค่าเป็นค่า y ในสมการที่ได้จากกราฟมาตรฐานของโทรลอกซ์ (Appendix figure 8) คำนวณหาค่า x

V = ปริมาตรของสารสกัด (ลิตร)

m = น้ำหนักแห้งของตัวอย่าง (กรัม)



Appendix figure 8. Standard antioxidants of Trolox using Ferric reducing antioxidant power method

#### ตัวอย่างการคำนวณสารสกัดหยาบของพริกชี้หนูด้วยน้ำ

น้ำพริกชี้หนูสด 81.31 กรัม สกัดด้วยน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร นำไประเหยสารสกัดออกไปร้อยละ 75 ได้สารสกัดหยาบของพริกชี้หนูด้วยน้ำ 200 มิลลิลิตร

#### คำนวณค่า c

จากกราฟ  $y = 0.0014x + 0.1265$  ดังนั้น  $x = (y - 0.1265) / 0.0014$

OD593nm ของตัวอย่าง – blank sample = 0.279

$x = (0.279 - 0.1265) / 0.0014 = 108.9285$  ไมโครโมลต่อลิตร

ปริมาตรของตัวอย่างพริกชี้หนู 200 มิลลิลิตร ทำให้เจือจาง 32 เท่า

#### คำนวณน้ำหนักแห้งของพริกชี้หนู

พริกชี้หนูสดมีของแข็งร้อยละ 22.7482

พริกชี้หนูสด 100 กรัม มีของแข็ง 22.7482 กรัม

พริกชี้หนูสด 81.31 กรัม มีของแข็ง  $(22.7482 \times 81.31) / 100 = 18.4966$  กรัม

$$\begin{aligned}
 \text{จากสูตร } C &= c \times V/m \\
 &= (108.929 \text{ ไมโครโมลต่อลิตร} \times 0.2 \text{ ลิตร} \times 32) / 18.4966 \text{ กรัม} \\
 &= 37.690 \text{ ไมโครโมลต่อกรัม}
 \end{aligned}$$

ดังนั้น สารสกัดพริกชี้หนูด้วยน้ำ มีความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP เท่ากับ 37.690 ไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของน้ำหนักแห้งของพริกชี้หนู

#### ข4. การวิเคราะห์ค่า TVB และค่า TMA (Conway and Byrne, 1936)

##### อุปกรณ์

1. จาน Conway unit
2. Volumetric pipette
3. Micro burette
4. ถ้วยบด
5. กระดาษกรอง
6. กรวย

##### สารเคมี

1. Mixed indicator: ละลาย 0.01 กรัม ของ Bromocresol green และ 0.02 กรัม methyl red ด้วย ethanol แล้วปรับจนได้ปริมาตร 10 มิลลิลิตร
2. Inner ring solution L: ละลาย 10 กรัม ของ Boric acid ใน 200 มิลลิลิตร ethanol แล้วเติม 10 มิลลิลิตร Mix indicator (จากข้อ 1) ปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่นที่กำจัดอ็อกซิเจนแล้ว ซึ่งจะได้สารละลายสีชมพู
3. HCl 0.02 นอร์มอล
4. Saturated  $K_2CO_3$  solution: ละลาย 60 กรัม  $K_2CO_3$  ด้วย 50 มิลลิลิตร น้ำกลั่น ต้มประมาณ 10 นาที ทำให้เย็นแล้วกรองผ่านกระดาษกรอง
5. TCA เข้มข้นร้อยละ 4: ละลาย 40 กรัม trichloro acetic acid ( $CCl_3COOH$ ) ใน 960 มิลลิลิตร น้ำกลั่น
6. 10% formaldehyde solution: โดยเติม 10 กรัม  $MgCO_3$  ลงใน 100 มิลลิลิตร Formalin



(formaldehyde solution เข้มข้นร้อยละ 35) เขย่าให้เข้ากัน กรองผ่านกระดาษกรอง แล้วทำให้เจือจาง 3 เท่า ด้วยน้ำกลั่น

### การสกัด

ชั่งตัวอย่าง 2 กรัม บดผสมกับ TCA เข้มข้นร้อยละ 4 ปริมาตร 8 มิลลิลิตร ในถ้วยบด บดให้ทั่วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที แล้วกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 41 (หรือเข้าเครื่องแยกเหวี่ยงที่ 3000 rpm เวลา 10 นาที) ปรับปริมาตรให้ได้ 10 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาค่า TVB-N และค่า TMA-N หรือเก็บในตู้เย็นเพื่อรอวิเคราะห์ (ควรปิดให้แน่น) ถ้าจำเป็นอาจเก็บไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส

### วิธีการวิเคราะห์ค่า TVB

1. คูณสารละลายตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ใส่ชั้นนอกของ Conway unit
2. คูณ inner ring solution 1 มิลลิลิตร ลงที่วงกลมชั้นในของจาน Conway unit
3. เอียงจาน Conway unit
4. คูณ Saturated  $K_2CO_3$  1 มิลลิลิตร ใส่ชั้นนอก แต่ให้อยู่คนละด้านกับสารละลายตัวอย่างตามข้อ 1
5. ปิดฝาจาน Conway unit เขย่าเบาๆ ให้ Potassium carbonate ผสมกับสารละลายตัวอย่างระวังอย่าให้เกิดการผสมกับ indicator ที่วงกลมชั้นในเป็นอันขาด
6. บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส 45-60 นาที หรือทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 3 ชั่วโมง
7. เปิดฝา Conway unit แล้วไตเตรทวงกลมชั้นในด้วย HCl 0.02 นอร์มอล จนกระทั่งสีเขียวจางหายไป จดปริมาณการใช้ HCl ไว้คำนวณ
8. ทำ blank โดยใช้ TCA เข้มข้นร้อยละ 4 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร แทนสารสกัดตัวอย่าง แล้วคำนวณตามวิธีการตั้งแต่ข้อ 1-8

### การคำนวณ

$$TVB \text{ (มก. ใน ไตรเจน/100 กรัมตัวอย่าง)} = \frac{N \times 14 \times (A-B) \times V \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

น้ำหนักตัวอย่าง

N = นอร์มัลลิตีของ HCl ที่ใช้ไตเตรท

A = มิลลิลิตร HCl ที่ใช้ไตเตรทตัวอย่าง

- B = มิลลิลิตร HCl ที่ใช้ไตรเตรท blank  
 V = ปริมาตรรวมของตัวอย่างและ TCA ที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่าง

### วิธีการวิเคราะห์ค่า TMA

1. ทำเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ TVB ตั้งแต่ 1-2
2. เติม formaldehyde solution เข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมกับตัวอย่าง
3. คุก saturated  $K_2CO_3$  1 มิลลิลิตร ใส่ชั้นนอก ปิดฝาแล้วค่อยๆ หมุนสารละลายผสมกัน
4. ทิ้งไว้ที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 1-2 ชั่วโมง
5. ไตรเตรทส่วนที่อยู่ในวงแหวนในด้วย HCl 0.02 นอร์มอล จนกระทั่งสีเขียวเปลี่ยนเป็นสี

ชมพู

6. ทำ blank โดยใช้ TCA เข้มข้นร้อยละ 4 จำนวน 1 มิลลิลิตร ดำเนินการเช่นเดียวกับตัวอย่าง

### การคำนวณ

$$\text{TMA (มก. ใน ไตรเจน/100 กรัมตัวอย่าง)} = \frac{N \times 14 \times (C-B) \times V \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

- N = นอร์มัลลิตีของ HCl ที่ใช้ไตรเตรท  
 C = มิลลิลิตร HCl ที่ใช้ไตรเตรทตัวอย่าง  
 B = มิลลิลิตร HCl ที่ใช้ไตรเตรท blank  
 V = ปริมาตรรวมของตัวอย่างและ TCA ที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่าง

### ข5. การวิเคราะห์ค่า TBARS (Egan *et al.*, 1981)

#### อุปกรณ์

1. ชุดกลั่น (flask, condenser, receiver)
2. ลูกแก้ว
3. เตาไฟฟ้า
4. ปิเปต
5. หลอดทดสอบชนิดมีจุก
6. Spectrophotometer

#### สารเคมี

1. 4 N Hydrochloric acid

2. Antifoam liquid

3. Thiobarbituric acid reagent – ละลาย 0.2883 กรัม ใน 100 มล. ของ 90% glacial acetic acid

## วิธีการ

1. ปั่นตัวอย่าง 10 กรัม กับน้ำกลั่น 50 มล. เป็นเวลา 2 นาที แล้วถ่ายลงในขวดกลั่น ใช้น้ำ 47.5 มล. ล้างภาชนะที่ใส่ตัวอย่างแล้วเทลงขวด

2. เติม 2.5 มล. 4 N HCl (pH ควรจะเป็น 1.5) และเติมลูกแก้วและ antifoam

3. กลั่นให้ใสของเหลว 50 มล. ภายใน 10 นาที

4. ดูดสารที่กลั่นได้ 5 มล. ลงในหลอดทดสอบที่มีจุกปิด

5. เติม 5 มล. TBA reagent เขย่าและให้ความร้อนด้วยน้ำเดือดเป็นเวลา 35 นาที

6. ทำ blank โดยวิธีเดียวกัน โดยใช้ 5 มล. ของน้ำให้ความร้อน 35 นาที

7. ทำตัวอย่างและ blank ให้เย็นแล้ววัดค่า OD ที่ 532 nm

## การคำนวณ

$$\text{TBA value (mg malonaldehyde/kg sample)} = 7.8 \times A$$

(A = absorbance of sample ที่หักค่า blank แล้ว)

หมายเหตุ ต้องปฏิบัติตามโดยเคร่งครัดจึงจะใช้ค่า 7.8 เป็น factor ได้

## ภาคผนวก ค การวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์

**ค1. การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Viable Count)** ได้แก่ จุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิต่ำ จุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง และจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการอากาศในการเจริญด้วยเทคนิค pour plate (BAM, 2001)

### สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Plate count agar (PCA)

2. peptone water ร้อยละ 0.1

## วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างเครื่องต้มฆ่า 25 กรัม ลงในถุงที่มี peptone water ร้อยละ 0.1 ที่ปลอดเชื้อ จำนวน 225 มิลลิลิตร แล้วทำให้เข้ากันโดยการเขย่าเป็นเวลา 1 นาที
2. ทำการเจือจางให้  $10^{-1}$ - $10^{-6}$  โดยใช้ peptone water ร้อยละ 0.1
3. คูดตัวอย่างความเจือจางที่เหมาะสมจากข้อ 1.2 อย่างละ 1.0 มิลลิลิตร (ทำ 3 ซ้ำ) ลงในงานเพาะเชื้อ ที่ฆ่าเชื้อแล้ว
4. เทอาหาร PCA ซึ่งกำลังหลอมเหลวและมีอุณหภูมิประมาณ  $45^{\circ}\text{C}$  ลงในงานเพาะเชื้องานละประมาณ 15-20 มิลลิลิตร
5. เขย่างานเพาะเชื้อให้อาหารเลี้ยงเชื้อผสมกับตัวอย่างเครื่องต้มฆ่าที่เจือจาง โดยการหมุนงานเพาะเชื้อในทิศตามเข็มนาฬิกา 5 ครั้ง ทวนเข็มนาฬิกา 5 ครั้ง ทำอย่างระมัดระวังและรวดเร็วเพื่อไม่ให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัวก่อน
6. ตั้งทิ้งไว้ให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว
7. สำหรับจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการอากาศในการเจริญ นำไปใส่ใน anaerobic jar แล้วกำจัดอากาศออก
8. บ่มเพาะเชื้อที่  $4^{\circ}\text{C}$  (จุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิต่ำ) และ  $35-37^{\circ}\text{C}$  (จุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง และจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการอากาศในการเจริญ) ในลักษณะคว่ำงานเพาะเชื้อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง
9. ตรวจสอบจำนวนโคโลนีจากงานเพาะเชื้อประมาณ 30- 300 โคโลนี รายงานผลเป็นจำนวนโคโลนีต่อกรัมของตัวอย่าง

$$\text{โคโลนีต่อกรัมของตัวอย่าง} = \text{ค่าเฉลี่ยของจำนวนโคโลนี} \times \text{ระดับความเจือจาง}$$

## ค2. การวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียแลคติก (BAM, 2001)

### สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Lactobacilli MRS agar
2. แคลเซียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 1
3. peptone water ร้อยละ 0.1

## วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างเครื่องดัดฆ่า 25 กรัม ลงในถุงที่มี peptone water ร้อยละ 0.1 ที่ปลอดเชื้อจำนวน 225 มิลลิลิตร แล้วทำให้เข้ากันโดยการเขย่าเป็นเวลา 1 นาที
2. ทำการเจือจางให้เป็น  $10^{-1}$ - $10^{-6}$  โดยใช้ peptone water ร้อยละ 0.1
3. คูดตัวอย่างความเจือจางที่เหมาะสมจากข้อ 1.2 อย่างละ 0.1 มิลลิลิตร ลงในงานเพาะเชื้อที่มีอาหาร MRS agar ที่ฆ่าเชื้อแล้ว จำนวน 3 ซ้ำ
4. ใช้แท่งแก้วปราศจากเชื้อเกลี่ยตัวอย่างให้กระจายทั่วจาน
5. บ่มเพาะเชื้อที่  $35-37^{\circ}\text{C}$  ในลักษณะคว่ำงานเพาะเชื้อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในขวดโหลแก้วที่ปราศจากอากาศ
6. ตรวจสอบจำนวนโคโลนีจากงานเพาะเชื้อประมาณ 30-300 โคโลนี รายงานผลเป็นจำนวนโคโลนีต่อกรัมของตัวอย่าง

$$\text{โคโลนีต่อกรัมของตัวอย่าง} = \text{ค่าเฉลี่ยของจำนวนโคโลนี} \times \text{ระดับความเจือจาง}$$

### ค3. การวิเคราะห์ยีสต์และรา (BAM, 2001)

#### สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Potato dextrose agar (PDA)
2. peptone water ร้อยละ 0.1
3. tartaric acid ร้อยละ 10

## วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างเครื่องดัดฆ่า 25 กรัม ลงในถุงที่มี peptone water ร้อยละ 0.1 ที่ปลอดเชื้อจำนวน 225 มิลลิลิตร แล้วทำให้เข้ากันโดยการเขย่าเป็นเวลา 1 นาที
2. ทำการเจือจางให้เป็น  $10^{-1}$ - $10^{-6}$  โดยใช้ peptone water ร้อยละ 0.1
3. คูดตัวอย่างความเจือจางที่เหมาะสมจากข้อ 1.2 อย่างละ 0.1 มิลลิลิตร ลงในงานเพาะเชื้อที่มีอาหาร PDA ที่ฆ่าเชื้อแล้ว จำนวน 3 ซ้ำ
4. ใช้แท่งแก้วปราศจากเชื้อเกลี่ยตัวอย่างให้กระจายทั่วจาน
5. บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิห้อง ในลักษณะหงายงานเพาะเชื้อเป็นเวลา 5-7 วัน
6. ตรวจสอบจำนวนโคโลนีจากงานเพาะเชื้อประมาณ 30-300 โคโลนี รายงานผลเป็นจำนวนโคโลนีต่อกรัมของตัวอย่าง

โคโลนีต่อกรัมของตัวอย่าง = ค่าเฉลี่ยของจำนวนโคโลนี  $\times$  ระดับความเจือจาง

#### ค4. การวิเคราะห์ปริมาณ Coliforms และ *E. coli* (BAM, 2001)

##### อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. EC broth (พร้อม Durham)
2. Lauryl sulphate tryptose broth (LST)
3. peptone water ร้อยละ 0.1

##### วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างเครื่องคัมฆ่า 25 กรัม ลงในถุงที่มี peptone water ร้อยละ 0.1 ที่ปลอดเชื้อจำนวน 225 มิลลิลิตร แล้วทำให้เข้ากันโดยการเขย่าเป็นเวลา 1 นาที
2. ทำการเจือจางให้เป็น  $10^{-1}$ - $10^{-3}$  โดยใช้ 0.1% peptone water
3. คูดตัวอย่างที่มีความเจือจาง  $10^{-1}$ - $10^{-3}$  อย่างละ 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดสอบที่มี durham tube และ LST 10 มิลลิลิตร ที่ฆ่าเชื้อแล้ว ความเจือจางละ 3 หลอด
4. บ่มเพาะเชื้อที่  $35^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง
5. ตรวจสอบครั้งแรกเมื่อครบ 24 ชั่วโมง โดยสังเกตฟองอากาศใน durham tube สำหรับหลอดที่ยังไม่ให้ผล ทำการบ่มเพาะเชื้อต่อไปจนครบ 48 ชั่วโมง รายงานผลเป็น MPN โคลิฟอร์มแบคทีเรียขั้นแรก (presumptive)
6. เลือกหลอดที่เกิดแก๊สมาทำ Confirmed test โดยใช้เข็มเขี่ยเชื้อที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้วจุ่มลงในหลอดที่เลือกไว้ แล้วเขี่ยลงในหลอดเลี้ยงเชื้อที่มี EC broth พร้อม Durham tube
7. บ่มเพาะเชื้อ EC broth ที่  $44.5 \pm 0.2$  เป็นเวลา  $48 \pm 2$  ชั่วโมง
8. กำหนดหา MPN ของ *E. coli* ต่อกรัมอาหาร โดยดูจากจำนวนหลอด LST ที่ผลิตแก๊ส

#### ค5. การวิเคราะห์ *S. aureus* (Speck, 1976)

##### อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Baird parker medium (BP)
2. potassium tellurite ร้อยละ 0.1
3. peptone water ร้อยละ 0.1

## วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่าง 25 กรัม ลงในถุงที่มี peptone water ร้อยละ 0.1 ที่ปลอดเชื้อจำนวน 225 มิลลิลิตร แล้วทำให้เข้ากันโดยการเขย่าเป็นเวลา 1 นาที
2. ทำการเจือจางให้เป็น  $10^{-1}$ - $10^{-3}$  โดยใช้ peptone water ร้อยละ 0.1
3. คูดตัวอย่างที่มีระดับความเจือจางที่เหมาะสมจำนวน 0.1 มิลลิลิตร ลงบน BP agar plate จำนวน 3 ซ้ำ
4. ใช้แท่งแก้วปราศจากเชื้อเกลี่ยตัวอย่างให้กระจายทั่วงาน
5. บ่มเพาะเชื้อที่  $35^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
6. ตรวจสอบลักษณะโคโลนี เลือกนับโคโลนีที่มีสีดำ ขอบขาว และแหวใส รอบโคโลนีมีบริเวณใส (clear zone) รายงานผลเป็นจำนวนโคโลนีต่อกรัมของตัวอย่าง  
โคโลนีต่อกรัมของตัวอย่าง = ค่าเฉลี่ยของจำนวนโคโลนี  $\times$  ระดับความเจือจาง

### ก6. การวิเคราะห์ปริมาณ *S. aureus* (BAM, 2001)

ในวิธีนี้จะเหมาะสมต่อการวิเคราะห์เชื้อ *S. aureus* ในอาหารที่มีเชื้อไม่เกิน 100 เซลล์/กรัม โดยมีขั้นตอนการวิเคราะห์ ดังนี้ (Bennett and Lancette; 2001)

#### อุปกรณ์

1. Loop และ needle
2. หลอดทดสอบ
3. ตู้ laminar flow สำหรับทำให้ผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อแห้ง
4. แท่งแก้วปลอดเชื้อมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 3-4 มิลลิเมตร ยาว 15-20 เซนติเมตร
5. ปิเปตขนาด 0.1 และ 1.0 มิลลิลิตร

#### อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

1. Baird-Parker medium (BPA)
2. Trypticase (tryptic) soy agar (TSA)
3. Brain heart infusion (BHI) broth
4. Coagulase plasma (rabbit) ใน EDTA
5. Toluidine blue-DNA agar

6. Lysostaphin
7. Tryptone yeast extract agar
8. Paraffin oil ปลอดเชื้อ
9. 0.02 M phosphate-saline buffer ที่เติม 1 เปอร์เซ็นต์ NaCl
10. Catalase test

### การเตรียมตัวอย่าง

ทำการเจือจางตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารที่จะทดสอบให้ได้จำนวนโคโลนีอยู่ในช่วงระหว่าง 20-200 โคโลนี

### การแยกเชื้อและการตรวจนับเชื้อ *S. aureus*

1. ปิเปตสารละลายที่จะทดสอบมาความเข้มข้นละ 1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ

Baird Parker agar โดยแบ่งปริมาตรของสารละลาย 1 มิลลิลิตร ในอาหารเลี้ยงเชื้อ 3 จาน (0.3 0.3 และ 0.4 มิลลิลิตร) จากนั้นเกลี่ยสารละลายให้ทั่วบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยใช้แท่งแก้วอ วาจ จานอาหารหงายไว้จนกว่าผิวหน้าจะแห้ง (ประมาณ 10 นาที) ถ้าผิวหน้ายังไม่แห้งให้นำไปบ่มในตู้ laminar flow เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อผิวหน้าแห้งให้คว่ำจานอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วนำไปบ่ม 45-48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เล็กจานอาหารที่มีปริมาณโคโลนี 20-200 โคโลนี นำไปนับโคโลนีที่มีลักษณะเฉพาะที่น่าจะเป็น *S. aureus* ซึ่งเมื่อเจริญบนอาหาร Baird Parker agar จะมีโคโลนีกลมมน ขอบเรียบ ผิวมันเป็นวาว มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2-3 มิลลิเมตร ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีโคโลนีหนาแน่นเกินไป มีโคโลนีสีดำ ขอบโคโลนีเป็นสีขาว รอบโคโลนีจะมีโซนใส และโคโลนีจะเหี่ยวเมื่อนำเข็มเขี่ยเชื้อไปแตะ

2. นับและเก็บโคโลนี *S. aureus* ถ้าพบว่าโคโลนีที่สังเกตมีลักษณะเป็นโคโลนี *S. aureus*

นับจำนวนโคโลนีของแต่ละชนิดและจุดบันทึก ถ้ามีโคโลนีน้อยกว่า 20 โคโลนี ยังสามารถใช้นับได้ แต่หากจำนวนโคโลนีมีมากกว่า 200 โคโลนี ให้นับในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเจือจางสูงขึ้น แต่ไม่ต้องนับลักษณะโคโลนีที่ไม่ใช่ *S. aureus* เลือกมากกว่า 1 โคโลนี ในแต่ละชนิดที่นับแล้ว และนำไปทดสอบการเกิด coagulase เมื่อพบผลเป็นบวกแสดงว่าเป็น *S. aureus* นำไปคำนวณค่า *S. aureus* ทั้งหมดต่อกรัมของอาหารเริ่มต้น

### การทดสอบ Coagulase

นำโคโลนีที่สงสัยว่าเป็น *S. aureus* มาถ่ายลงในหลอด BHI broth ที่มี 0.2-0.3 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน และถ่ายเชื้อจาก BHI broth ลงใน TSA slant เพื่อเก็บเชื้อไว้ หรืออาจต้องทดสอบอีก



ครั้ง นำ BHI และ TSA ไปบ่มที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง เติม coagulase plasma ที่มี EDTA 0.5 มิลลิลิตร ลงใน BHI broth และผสมให้เข้ากันนำไปบ่มที่ 35 องศาเซลเซียส อ่านผลการแข็งตัวของ plasma ภายใน 6 ชั่วโมง จะยืนยันได้ว่าเป็น *S. aureus* เมื่อเกิดการแข็งตัวอย่างสมบูรณ์ (+4) หากผลเป็น +2 และ +3 จะต้องทำการทดสอบยืนยันในขั้นต้นต่อไปอีก ย้อมแกรมโคโลนีทั้งหมดที่สงสัยว่าเป็น *S. aureus* และการทดสอบ agglutination เป็นอีกขั้นตอนหนึ่งในการทดสอบแทนการทดสอบ coagulase ถ้าต้องการผลรวดเร็ว

### การทดสอบอื่นๆ เพื่อเป็นการตรวจสอบยืนยันให้แน่ใจว่าเป็น *S. aureus*

1. ทดสอบเอนไซม์ catalase ใช้เชื้อจาก TSA slant มาทดสอบเอนไซม์ catalase โดยใช้ loop ตระเชื้อแล้วป้ายบนกระจกสไลด์ หรือ ในจานเลี้ยงเชื้อ จากนั้นหยด  $H_2O_2$  ลงไปแล้วสังเกตแก๊สที่เกิดขึ้นอ่านผลเป็นบวก
2. ทดสอบการใช้กลูโคสในสภาวะไร้อากาศ (Anaerobic utilization of glucose) โดยถ่ายเชื้อลงในหลอดทดลองที่มี carbohydrate fermentation medium + glucose (0.5 เปอร์เซ็นต์) ปิดทับผิวหน้าของอาหารด้วย agar หรือพาราฟินหลอดเชื้อหนา 25 มิลลิลิตร บ่มเป็นเวลา 5 วัน ที่ 37 องศาเซลเซียส จะเกิดการสร้างกรด หากมีการเปลี่ยนสีของสารบ่งชี้เป็นสีเหลืองทั้งหลอดแสดงว่าเป็น *S. aureus*
3. ทดสอบการใช้แมนนิทอลในสภาวะไร้อากาศ (Anaerobic utilization of mannitol) เหมือนการทดสอบในข้อ 2 ข้างต้น แต่ใช้แมนนิทอลแทนกลูโคส
4. ทดสอบความไวต่อ Lysostaphin โดยถ่ายเชื้อที่เป็น โคโลนีเดี่ยวจากจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ลงใน 0.2 มิลลิลิตร phosphate-saline buffer ผสมให้เข้ากัน และถ่ายสารละลายทั้งหมดครึ่งหนึ่งลงไปหลอดทดลองอีกหลอด เติม phosphate-saline buffer 0.1 มิลลิลิตร เพื่อใช้เป็น control เติม 0.1 มิลลิลิตร lysostaphin (ละลายใน 0.02 M phosphate-saline buffer ที่มี 1 เปอร์เซ็นต์ NaCl) ลงในหลอดเดิมเพื่อให้ได้ความเข้มข้นของ lysostaphin 25 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร บ่มหลอดทั้ง 2 ที่ 35 องศาเซลเซียส ไม่เกิน 2 ชั่วโมง ถ้าสารละลายผสมนี้ไม่ขุ่นจะให้ผลเป็นบวก ถ้าหากขุ่นภายใน 2 ชั่วโมงให้ผลเป็นลบ แสดงว่าไม่ใช่ *S. aureus*
5. การสร้างเอนไซม์ nuclease ซึ่งทนอุณหภูมิสูง (Thermostable nuclease production) การทดลองนี้เป็นการยืนยันโดยมีความจำเพาะเช่นเดียวกับการทดสอบ coagulase เพราะเป็นผลทำให้เกิดการเปลี่ยนจากสีน้ำเงินเป็นสีชมพูอ่อน การทดสอบนี้ไม่สามารถใช้แทนการทดสอบ coagulase แต่จะใช้เพื่อเป็นการยืนยันมากกว่า โดยเฉพาะอย่างยิ่ง coagulase ที่ให้ผลปฏิกิริยา +2

วิธีการทดสอบเอนไซม์นี้ ต้องเตรียมสไลด์ที่เคลือบด้วย toluidine blue-deoxyribo nucleic acid agar ปริมาตร 3 มิลลิลิตร บนผิวขิง micro slide เมื่ออาหารแข็งแล้วตัดให้เป็นหลุมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 มิลลิเมตร 10-12 ช่อง ต่อ 1 สไลด์ และควั่นออก เติม 0.01 มิลลิลิตรของสารแขวนลอย (suspension) ที่ใช้ทดสอบ coagulase ที่ต้มจนเดือด 15 นาที ใน water bath เติมลงในหลุมของสไลด์ที่เตรียมไว้ บ่มสไลด์ใน moist chamber นาน 4 ชั่วโมง ที่ 35 องศาเซลเซียส สังเกตโซนสีชมพู ขนาดไม่น้อยกว่า 1 มิลลิเมตร จากขอบของหลุมให้ผลของปฏิกิริยาเป็นบวก (Bennett และ Lancette, 1998)

#### ก7. การวิเคราะห์ *B. cereus* (BAM, 2001)

##### อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Manitol-Egg Yolk Polymyxin agar (MYP)
2. peptone water ความเข้มข้นร้อยละ 0.1
3. ไข่แดง (egg yolk)
4. NaCl ความเข้มข้นร้อยละ 0.85
5. เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 70
6. Polymyxin B sulphate ความเข้มข้นร้อยละ 0.1

##### วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่าง 25 กรัม ลงในถุงที่มี peptone water ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ที่ปลอดเชื้อจำนวน 225 มิลลิลิตร แล้วทำให้เข้ากันโดยการเขย่าเป็นเวลา 1 นาที
2. ทำการเจือจางให้เป็น  $10^{-1}$ - $10^{-3}$  โดยใช้ peptone water ความเข้มข้นร้อยละ 0.1
3. ดูดตัวอย่างที่มีระดับความเจือจางที่เหมาะสม จำนวน 0.1 มิลลิลิตร ลงบน MYP จำนวน 3 ซ้ำ
4. ใช้แท่งแก้วปราศจากเชื้อเกลี่ยตัวอย่างให้กระจายทั่วจาน
5. บ่มเพาะเชื้อที่  $30^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
6. ตรวจสอบโคโลนี *B. cereus* ที่มีวงใส รอบๆ โคโลนีสีชมพู และจะพุ่งมากขึ้นเมื่อบ่มนานขึ้น รายงานผลเป็นจำนวนโคโลนีต่อกรัมของตัวอย่าง

โคโลนีต่อกรัมของตัวอย่าง = ค่าเฉลี่ยของจำนวนโคโลนี  $\times$  ระดับความเจือจาง

## ค8. การวิเคราะห์ *C. perfringens* (ดัดแปลงจาก BAM, 2001)

### สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Tryptose Sulfite Cycloserine Agar (TSC)
2. peptone water ความเข้มข้นร้อยละ 0.1
3. ไข่แดง (egg yolk)
4. NaCl ความเข้มข้นร้อยละ 0.85
5. เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 70
6. D-cycloserine ความเข้มข้นร้อยละ 0.5

### วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่าง 25 กรัม ลงในถุงที่มี peptone water ร้อยละ 0.1 ที่ปลอดเชื้อจำนวน 225 มิลลิลิตร แล้วทำให้เข้ากัน โดยการเขย่าเป็นเวลา 1 นาที
2. ทำการเจือจางให้เป็น  $10^{-1}$ - $10^{-3}$  โดยใช้ peptone water ร้อยละ 0.1
3. คูดตัวอย่างที่มีระดับความเจือจางที่เหมาะสม จำนวน 0.1 มิลลิลิตร ลงบน TSC agar จำนวน 3 ซ้ำ
4. ใช้แท่งแก้วปราศจากเชื้อเกลี่ยตัวอย่างให้กระจายทั่วจาน
5. เทอาหาร TSC agar ลงไปอีก 5 มิลลิลิตร แล้วหมุนจานให้อาหารกระจายปิดอาหารชั้นแรก
6. นำไปใส่ใน anaerobic jar แล้วกำจัดอากาศออก นำไปบ่มเพาะเชื้อที่  $35^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
7. ตรวจสอบจำนวนโคโลนีที่มีสีดำแล้วนำไปคำนวณหาจำนวน *C. perfringens* โดยรายงานเป็นโคโลนีต่อ 0.001 กรัมของตัวอย่าง คำนี้นี้เป็น presumptive count ของ *C. perfringens*

โคโลนีต่อ 0.001 กรัมของตัวอย่าง = ค่าเฉลี่ยของจำนวนโคโลนี  $\times$  ระดับความเจือจาง  $\times 0.001$

### ภาคผนวก ง เกณฑ์มาตรฐานคุณภาพทางจุลชีววิทยา

เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร ประเภทอาหารดิบ ซึ่งหมายถึง อาหารที่ยังบริโภคไม่ได้ ต้องผ่านการทำสุกหรือการเตรียมด้วยกรรมวิธีใดๆก่อนบริโภค ได้แก่ เนื้อสด ปลาสด ไข่กรอกอีกสานดิบ ปลาแห้ง และเนื้อเค็มดิบ ไข่ เครื่องแกง เป็นต้น

Appendix table 1. Standard of microorganism content of raw food

Microoragnism	Content
<i>Escherichia coli</i> (MPN/g)	< 50
<i>Staphylococcus aureus</i> /g	< 200
<i>Bacillus cereus</i> / g	< 200
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> /g	< 200
<i>Clostridium perfringens</i> /0.001 g	Negative
<i>Salmonellae</i> /25 g	Negative
<i>Vibrio cholerae</i> /25 g	Negative

ที่มา: กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2536)

## ภาคผนวก จ การทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส

## จ1. แบบทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส ด้วยวิธี 9-point hedonic scale

## เรื่อง การให้คะแนนความชอบ

ผลิตภัณฑ์ ต้มข่ากุ้ง

ชื่อผู้ตัดสิน..... วันที่.....เวลา.....

ข้อแนะนำ กรุณาทดสอบตัวอย่างที่เสนอให้จากซ้ายไปขวา แล้วให้คะแนนความชอบตัวอย่างในแต่ละปัจจัยที่ตรงกับความรู้สึกของท่านมากที่สุด โดยกำหนดให้

- |                  |                               |                     |
|------------------|-------------------------------|---------------------|
| 9 = ชอบมากที่สุด | 6 = ชอบน้อยที่สุด             | 3 = ไม่ชอบปานกลาง   |
| 8 = ชอบมาก       | 5 = บอกไม่ได้ว่าชอบหรือไม่ชอบ | 2 = ไม่ชอบมาก       |
| 7 = ชอบปานกลาง   | 4 = ไม่ชอบเล็กน้อย            | 1 = ไม่ชอบมากที่สุด |

คุณลักษณะทางประสาทสัมผัส	คะแนนความชอบ			
	รหัส.....	รหัส.....	รหัส.....	รหัส.....
ลักษณะปรากฏ				
สี				
ความขื่นหนืด				
กลิ่นเครื่องเทศ/สมุนไพร				
รสชาติ				
ความชอบรวม				

ข้อเสนอแนะ.....  
 .....  
 .....  
 .....

ขอบคุณค่ะ

**จ2. แบบทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส ด้วยวิธี just about right**

ใบรายงานผลการทดสอบ

เรื่อง just about right

ผลิตภัณฑ์ ต้มข่ากุ้ง

ชื่อ.....วันที่.....เวลา.....

คำแนะนำ กรุณาทดสอบตัวอย่างที่เสนอให้ทีละตัวอย่าง แล้วให้คะแนนความชอบตัวอย่างในแต่ละปัจจัยที่ตรงกับความรู้สึกของท่านมากที่สุด โดยทำเครื่องหมาย / ในช่องสี่เหลี่ยม แล้วบอกเหตุผลของความชอบโดยขีดเส้นตั้งฉากกับเส้นคะแนน

**กลิ่นเครื่องเทศ** รหัส.....

- |   |  |                                     |  |   |
|---|--|-------------------------------------|--|---|
| <input type="checkbox"/> ชอบมากที่สุด   | <input type="checkbox"/> ชอบมาก        | <input type="checkbox"/> ชอบปานกลาง | <input type="checkbox"/> ชอบน้อยที่สุด   | <input type="checkbox"/> บอกไม่ได้ว่าชอบหรือไม่ |
| <input type="checkbox"/> ไม่ชอบเล็กน้อย | <input type="checkbox"/> ไม่ชอบปานกลาง | <input type="checkbox"/> ไม่ชอบมาก  | <input type="checkbox"/> ไม่ชอบมากที่สุด |   |



**ความหวาน** รหัส.....

- |   |  |                                     |  |   |
|---|--|-------------------------------------|--|---|
| <input type="checkbox"/> ชอบมากที่สุด   | <input type="checkbox"/> ชอบมาก        | <input type="checkbox"/> ชอบปานกลาง | <input type="checkbox"/> ชอบน้อยที่สุด   | <input type="checkbox"/> บอกไม่ได้ว่าชอบหรือไม่ |
| <input type="checkbox"/> ไม่ชอบเล็กน้อย | <input type="checkbox"/> ไม่ชอบปานกลาง | <input type="checkbox"/> ไม่ชอบมาก  | <input type="checkbox"/> ไม่ชอบมากที่สุด |   |



**ความเปรี้ยว** รหัส.....

- |   |  |                                     |  |   |
|---|--|-------------------------------------|--|---|
| <input type="checkbox"/> ชอบมากที่สุด   | <input type="checkbox"/> ชอบมาก        | <input type="checkbox"/> ชอบปานกลาง | <input type="checkbox"/> ชอบน้อยที่สุด   | <input type="checkbox"/> บอกไม่ได้ว่าชอบหรือไม่ |
| <input type="checkbox"/> ไม่ชอบเล็กน้อย | <input type="checkbox"/> ไม่ชอบปานกลาง | <input type="checkbox"/> ไม่ชอบมาก  | <input type="checkbox"/> ไม่ชอบมากที่สุด |   |



**ความเค็ม** รหัส.....

- |   |  |                                     |  |   |
|---|--|-------------------------------------|--|---|
| <input type="checkbox"/> ชอบมากที่สุด   | <input type="checkbox"/> ชอบมาก        | <input type="checkbox"/> ชอบปานกลาง | <input type="checkbox"/> ชอบน้อยที่สุด   | <input type="checkbox"/> บอกไม่ได้ว่าชอบหรือไม่ |
| <input type="checkbox"/> ไม่ชอบเล็กน้อย | <input type="checkbox"/> ไม่ชอบปานกลาง | <input type="checkbox"/> ไม่ชอบมาก  | <input type="checkbox"/> ไม่ชอบมากที่สุด |   |



ภาคผนวก ฉ ผลของอุณหภูมิและเวลาต่อความคงตัวของสมบัติการต้านออกซิเดชันในเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบในเครื่องต้มยำและเครื่องต้มยำ

Appendix table 2. Effect of temperatures and heating times on the total phenolic contents and antioxidant properties of crude galangal extracts

Temp (°C)	Heating time	Total phenolic (g/100 g dw.)	DPPH value (μmole TE/g dw.)	ABTS value (μmole TE/g dw.)	FRAP value (μmole TE/g dw.)	Relative activity (%)			
						Total phenolic	DPPH	ABTS	FRAP
ambient	0	1.80 ± 0.05 <sup>dc</sup>	60.66 ± 2.76 <sup>abc</sup>	167.48 ± 6.32 <sup>a</sup>	104.38 ± 6.62 <sup>cd</sup>	100.00	100.00	100.00	100.00
70	10	2.46 ± 0.05 <sup>a</sup>	58.19 ± 8.10 <sup>bc</sup>	149.58 ± 5.81 <sup>cd</sup>	151.49 ± 8.95 <sup>a</sup>	136.32	95.92	89.31	145.14
	20	2.38 ± 0.07 <sup>a</sup>	59.93 ± 6.72 <sup>bc</sup>	152.21 ± 6.26 <sup>bc</sup>	153.48 ± 5.38 <sup>a</sup>	131.81	98.79	90.88	147.05
	30	1.78 ± 0.27 <sup>c</sup>	56.70 ± 8.27 <sup>cd</sup>	163.74 ± 2.08 <sup>a</sup>	145.18 ± 7.60 <sup>a</sup>	98.59	93.48	97.77	139.10
80	10	1.87 ± 0.16 <sup>dc</sup>	59.67 ± 2.03 <sup>bc</sup>	163.03 ± 6.89 <sup>ab</sup>	143.54 ± 6.68 <sup>a</sup>	103.70	98.37	97.34	137.52
	20	2.29 ± 0.11 <sup>ab</sup>	55.48 ± 0.44 <sup>cd</sup>	161.44 ± 10.10 <sup>ab</sup>	130.81 ± 6.88 <sup>b</sup>	126.97	91.46	96.39	125.31
	30	2.29 ± 0.15 <sup>ab</sup>	56.06 ± 3.25 <sup>cd</sup>	159.05 ± 7.99 <sup>abc</sup>	111.14 ± 6.36 <sup>c</sup>	126.70	92.41	94.96	106.48
90	10	2.36 ± 0.34 <sup>a</sup>	58.06 ± 4.77 <sup>bc</sup>	141.07 ± 7.47 <sup>d</sup>	146.89 ± 5.97 <sup>a</sup>	131.00	95.71	84.23	140.73
	20	2.11 ± 0.18 <sup>bc</sup>	56.70 ± 0.76 <sup>cd</sup>	163.98 ± 6.42 <sup>a</sup>	125.32 ± 5.34 <sup>b</sup>	116.88	93.48	97.91	121.02
	30	2.29 ± 0.11 <sup>ab</sup>	48.25 ± 3.33 <sup>d</sup>	156.90 ± 10.90 <sup>abc</sup>	126.77 ± 9.71 <sup>b</sup>	126.97	79.54	93.68	121.46
100	10	1.67 ± 0.14 <sup>c</sup>	68.58 ± 5.35 <sup>a</sup>	157.70 ± 10.20 <sup>abc</sup>	144.84 ± 6.72 <sup>a</sup>	92.87	113.00	94.16	138.77
	20	2.02 ± 0.23 <sup>cd</sup>	66.83 ± 7.88 <sup>ab</sup>	158.81 ± 9.45 <sup>abc</sup>	127.17 ± 11.60 <sup>b</sup>	112.11	110.20	94.82	121.84
	30	1.88 ± 0.07 <sup>dc</sup>	59.16 ± 5.62 <sup>bc</sup>	159.21 ± 10.00 <sup>abc</sup>	101.08 ± 7.18 <sup>d</sup>	104.24	97.52	95.06	96.84

<sup>a-c</sup> means within a column with the different letters are significantly difference (p<0.05)

GAE: Gallic acid equivalent, TE: Trolox equivalent, dw: dry weight of galangal

Appendix table 3. Effect of temperatures and heating times on the total phenolic contents and antioxidant properties of crude lemon grass extracts

Temp (°C)	Heating time	Total phenolic (g/100 g dw.)	DPPH value (μmole TE/g dw.)	ABTS value (μmole TE/g dw.)	FRAP value (μmole TE/g dw.)	Relative activity (%)			
						Total phenolic	DPPH	ABTS	FRAP
ambient	0	0.46 ± 0.06 <sup>a</sup>	14.04 ± 0.56 <sup>bcd</sup>	35.47 ± 3.67 <sup>a</sup>	19.69 ± 0.68 <sup>abc</sup>	100	100	100	100
70	10	0.41 ± 0.03 <sup>ab</sup>	14.14 ± 0.74 <sup>bcd</sup>	23.43 ± 1.06 <sup>fg</sup>	18.65 ± 0.80 <sup>bcd</sup>	90.16	100.73	66.06	94.72
	20	0.40 ± 0.06 <sup>ab</sup>	13.51 ± 0.39 <sup>bcd</sup>	20.82 ± 1.53 <sup>h</sup>	21.32 ± 2.81 <sup>a</sup>	86.83	96.25	58.71	108.30
	30	0.44 ± 0.03 <sup>a</sup>	11.05 ± 0.61 <sup>e</sup>	23.15 ± 0.83 <sup>gh</sup>	20.13 ± 1.27 <sup>ab</sup>	94.73	78.68	65.26	102.26
80	10	0.45 ± 0.04 <sup>a</sup>	16.12 ± 2.37 <sup>a</sup>	23.13 ± 1.52 <sup>gh</sup>	19.05 ± 0.37 <sup>bc</sup>	89.59	114.81	65.21	96.78
	20	0.44 ± 0.03 <sup>a</sup>	15.41 ± 1.25 <sup>ab</sup>	25.74 ± 1.22 <sup>def</sup>	15.14 ± 1.09 <sup>e</sup>	95.05	109.79	72.56	76.41
	30	0.44 ± 0.10 <sup>a</sup>	15.09 ± 1.18 <sup>abc</sup>	29.01 ± 0.96 <sup>b</sup>	18.94 ± 1.16 <sup>bc</sup>	96.05	107.49	81.78	96.23
90	10	0.37 ± 0.05 <sup>b</sup>	14.19 ± 0.56 <sup>bcd</sup>	24.83 ± 2.63 <sup>defg</sup>	17.89 ± 3.35 <sup>cd</sup>	79.56	101.05	70.02	90.88
	20	0.41 ± 0.05 <sup>ab</sup>	13.96 ± 0.56 <sup>bcd</sup>	24.11 ± 3.83 <sup>efg</sup>	17.51 ± 1.14 <sup>cd</sup>	93.17	99.42	67.98	88.96
	30	0.44 ± 0.05 <sup>a</sup>	12.40 ± 0.84 <sup>de</sup>	26.21 ± 1.08 <sup>cde</sup>	19.40 ± 0.99 <sup>abc</sup>	95.42	88.29	73.89	98.56
100	10	0.42 ± 0.02 <sup>ab</sup>	13.71 ± 0.67 <sup>bcd</sup>	25.64 ± 1.43 <sup>defg</sup>	16.66 ± 0.97 <sup>de</sup>	90.53	97.67	72.29	84.64
	20	0.42 ± 0.04 <sup>ab</sup>	13.34 ± 1.58 <sup>cd</sup>	28.23 ± 1.63 <sup>bc</sup>	17.77 ± 1.46 <sup>cd</sup>	96.18	95.05	79.59	90.26
	30	0.46 ± 0.04 <sup>a</sup>	12.27 ± 1.61 <sup>de</sup>	27.02 ± 1.60 <sup>bcd</sup>	16.62 ± 1.16 <sup>de</sup>	91.97	87.41	76.18	84.43

<sup>a-h</sup> means within a column with the different letters are significantly difference (p<0.05)

GAE: Gallic acid equivalent, TE: Trolox equivalent, dw: dry weight of lemon grass



Appendix table 4. Effect of temperatures and heating times on the total phenolic contents and antioxidant properties of crude chili extracts

Temp (°C)	Heating time	Total phenolic (g/100 g dw.)	DPPH value (μmole TE/g dw.)	ABTS value (μmole TE/g dw.)	FRAP value (μmole TE/g dw.)	Relative activity (%)			
						Total phenolic	DPPH	ABTS	FRAP
ambient	0	1.87 ± 0.20 <sup>ab</sup>	55.75 ± 4.89 <sup>a</sup>	223.32 ± 5.55 <sup>a</sup>	56.38 ± 3.01 <sup>bc</sup>	100	100	100	100
70	10	1.82 ± 0.27 <sup>abcd</sup>	38.06 ± 2.88 <sup>cd</sup>	200.45 ± 4.71 <sup>c</sup>	55.62 ± 3.09 <sup>bc</sup>	97.26	68.27	89.76	98.65
	20	1.64 ± 0.23 <sup>bcd</sup>	35.01 ± 1.20 <sup>def</sup>	193.53 ± 4.44 <sup>d</sup>	52.10 ± 4.21 <sup>cd</sup>	87.80	62.79	86.66	92.42
	30	1.51 ± 0.17 <sup>cd</sup>	35.15 ± 2.90 <sup>def</sup>	204.71 ± 7.08 <sup>c</sup>	49.13 ± 3.56 <sup>d</sup>	80.79	63.05	91.66	87.14
80	10	1.70 ± 0.17 <sup>abcd</sup>	40.54 ± 1.22 <sup>c</sup>	203.73 ± 4.97 <sup>c</sup>	57.49 ± 2.21 <sup>ab</sup>	90.83	72.72	91.23	101.97
	20	1.98 ± 0.21 <sup>a</sup>	40.69 ± 1.07 <sup>c</sup>	205.06 ± 6.04 <sup>c</sup>	61.35 ± 5.58 <sup>a</sup>	80.50	72.98	91.82	108.82
	30	1.75 ± 0.42 <sup>abc</sup>	37.09 ± 1.16 <sup>de</sup>	224.48 ± 5.31 <sup>a</sup>	56.54 ± 3.13 <sup>bc</sup>	93.50	66.53	100.52	100.28
90	10	1.47 ± 0.14 <sup>d</sup>	32.96 ± 2.45 <sup>f</sup>	175.45 ± 5.36 <sup>e</sup>	48.27 ± 2.38 <sup>d</sup>	78.34	59.12	78.56	85.62
	20	1.46 ± 0.21 <sup>d</sup>	33.35 ± 1.76 <sup>f</sup>	215.08 ± 3.64 <sup>b</sup>	57.26 ± 3.82 <sup>ab</sup>	77.83	59.83	96.31	101.57
	30	1.51 ± 0.16 <sup>cd</sup>	34.36 ± 0.66 <sup>ef</sup>	215.97 ± 7.86 <sup>b</sup>	56.28 ± 5.07 <sup>bc</sup>	105.92	61.63	96.70	99.83
100	10	1.64 ± 0.18 <sup>bcd</sup>	48.59 ± 3.54 <sup>b</sup>	201.34 ± 4.29 <sup>c</sup>	56.57 ± 1.78 <sup>bc</sup>	87.58	87.16	90.15	100.34
	20	1.74 ± 0.26 <sup>abcd</sup>	48.92 ± 1.36 <sup>b</sup>	216.41 ± 1.81 <sup>b</sup>	59.61 ± 1.45 <sup>ab</sup>	88.59	87.74	96.90	105.73
	30	4.53 ± 0.27 <sup>cd</sup>	46.58 ± 1.47 <sup>b</sup>	214.90 ± 5.89 <sup>b</sup>	50.27 ± 3.48 <sup>d</sup>	81.59	83.55	96.23	89.16

<sup>a-f</sup> means within a column with the different letters are significantly difference (p<0.05)

GAE: Gallic acid equivalent, TE: Trolox equivalent, dw: dry weight of chili

Appendix table 5. Effect of temperatures and heating times on the total phenolic contents and antioxidant properties of crude kaffir lime leaves extracts

Temp (°C)	Heating time	Total phenolic (g/100 g dw.)	DPPH value (µmole TE/g dw.)	ABTS value (µmole TE/g dw.)	FRAP value (µmole TE/g dw.)	Relative activity (%)			
						Total phenolic	DPPH	ABTS	FRAP
ambient	0	1.21 ± 0.15 <sup>ab</sup>	17.65 ± 1.78 <sup>b</sup>	73.75 ± 1.49 <sup>abc</sup>	37.22 ± 0.09 <sup>c</sup>	100	100	100	100
70	10	1.16 ± 0.05 <sup>abc</sup>	11.97 ± 1.01 <sup>f</sup>	67.51 ± 3.97 <sup>cde</sup>	40.44 ± 3.26 <sup>bc</sup>	95.71	67.80	91.54	108.64
	20	1.03 ± 0.11 <sup>bc</sup>	14.08 ± 2.54 <sup>e</sup>	60.00 ± 3.62 <sup>fg</sup>	37.35 ± 3.26 <sup>c</sup>	86.95	79.77	81.35	100.34
	30	1.16 ± 0.15 <sup>abc</sup>	13.68 ± 0.80 <sup>ef</sup>	78.50 ± 4.79 <sup>a</sup>	41.68 ± 3.11 <sup>bc</sup>	93.39	77.49	106.44	111.97
80	10	1.11 ± 0.27 <sup>abc</sup>	15.00 ± 0.82 <sup>cde</sup>	70.28 ± 8.04 <sup>bcd</sup>	38.06 ± 5.52 <sup>c</sup>	96.16	84.98	95.29	102.24
	20	1.28 ± 0.16 <sup>a</sup>	14.77 ± 1.44 <sup>de</sup>	72.93 ± 6.94 <sup>abc</sup>	41.33 ± 3.03 <sup>bc</sup>	92.13	83.68	98.89	111.02
	30	1.30 ± 0.35 <sup>a</sup>	13.71 ± 1.08 <sup>ef</sup>	67.16 ± 1.98 <sup>cde</sup>	45.55 ± 3.23 <sup>ab</sup>	96.69	77.66	91.06	122.37
90	10	0.93 ± 0.11 <sup>c</sup>	16.78 ± 0.90 <sup>bc</sup>	58.22 ± 6.28 <sup>g</sup>	37.20 ± 2.55 <sup>c</sup>	79.53	95.08	78.95	99.93
	20	0.94 ± 0.14 <sup>c</sup>	16.65 ± 0.37 <sup>bcd</sup>	65.42 ± 2.86 <sup>def</sup>	43.33 ± 2.66 <sup>b</sup>	77.65	94.34	88.71	116.39
	30	1.13 ± 0.12 <sup>abc</sup>	16.41 ± 0.67 <sup>bcd</sup>	75.41 ± 6.96 <sup>ab</sup>	45.73 ± 2.99 <sup>ab</sup>	105.70	92.96	102.26	122.85
100	10	1.07 ± 0.11 <sup>abc</sup>	20.07 ± 1.20 <sup>a</sup>	73.00 ± 4.27 <sup>abc</sup>	48.57 ± 1.95 <sup>a</sup>	88.20	113.72	98.99	130.47
	20	1.10 ± 0.13 <sup>abc</sup>	17.74 ± 0.72 <sup>b</sup>	71.94 ± 2.41 <sup>abcd</sup>	43.45 ± 8.66 <sup>b</sup>	87.58	100.53	97.55	116.73
	30	1.16 ± 0.11 <sup>abc</sup>	20.89 ± 0.98 <sup>a</sup>	64.89 ± 5.79 <sup>ef</sup>	41.65 ± 2.71 <sup>bc</sup>	94.28	118.36	87.99	111.90

<sup>a-g</sup> means within a column with the different letters are significantly different (p<0.05)

GAE: Gallic acid equivalent, TE: Trolox equivalent, dw: dry weight of kaffir lime leaves

Appendix table 6. Effect of temperatures and heating times on the total phenolic contents and antioxidant properties of crude Tom-kha paste extracts

Temp (°C)	Heating time	Total phenolic (g/100 g dw.)	DPPH value (µmole TE/g dw.)	ABTS value (µmole TE/g dw.)	FRAP value (µmole TE/g dw.)	Relative activity (%)			
						Total phenolic	DPPH	ABTS	FRAP
ambient	0	0.59 ± 0.04 <sup>a</sup>	13.07 ± 0.04 <sup>ab</sup>	48.50 ± 2.28 <sup>a</sup>	16.50 ± 1.31 <sup>b</sup>	100	100	100	100
70	10	0.44 ± 0.02 <sup>d</sup>	11.98 ± 0.13 <sup>bcd</sup>	31.77 ± 3.48 <sup>e</sup>	14.53 ± 0.66 <sup>c</sup>	74.12	91.64	65.51	88.07
	20	0.51 ± 0.03 <sup>bc</sup>	12.21 ± 0.68 <sup>abc</sup>	32.96 ± 3.27 <sup>de</sup>	15.01 ± 2.06 <sup>bc</sup>	86.47	93.44	68.95	90.95
	30	0.46 ± 0.04 <sup>bcd</sup>	12.13 ± 0.23 <sup>bcd</sup>	39.39 ± 3.24 <sup>bc</sup>	13.54 ± 1.13 <sup>c</sup>	78.60	92.80	81.21	82.03
80	10	0.36 ± 0.11 <sup>e</sup>	12.02 ± 0.46 <sup>bcd</sup>	39.24 ± 3.37 <sup>bc</sup>	11.44 ± 2.22 <sup>d</sup>	61.13	91.96	80.91	69.33
	20	0.47 ± 0.06 <sup>bcd</sup>	11.58 ± 0.64 <sup>cde</sup>	38.58 ± 1.95 <sup>bc</sup>	14.28 ± 0.95 <sup>c</sup>	80.70	88.60	79.53	86.54
	30	0.51 ± 0.06 <sup>bc</sup>	10.54 ± 0.56 <sup>ef</sup>	37.43 ± 3.26 <sup>c</sup>	13.76 ± 0.76 <sup>c</sup>	87.33	80.66	77.18	83.38
90	10	0.48 ± 0.04 <sup>bcd</sup>	13.12 ± 0.59 <sup>ab</sup>	35.77 ± 1.95 <sup>cd</sup>	15.27 ± 0.95 <sup>bc</sup>	81.99	100.3	73.74	92.52
	20	0.51 ± 0.06 <sup>bcd</sup>	12.67 ± 0.64 <sup>abc</sup>	32.02 ± 1.72 <sup>e</sup>	14.92 ± 1.62 <sup>bc</sup>	86.09	96.93	66.02	90.41
	30	0.45 ± 0.04 <sup>cd</sup>	12.48 ± 0.70 <sup>abc</sup>	33.67 ± 1.85 <sup>de</sup>	13.65 ± 0.65 <sup>c</sup>	77.20	95.44	69.41	82.12
100	10	0.47 ± 0.05 <sup>bcd</sup>	13.43 ± 1.34 <sup>a</sup>	36.18 ± 2.56 <sup>cd</sup>	14.76 ± 1.00 <sup>bc</sup>	79.14	102.70	74.60	89.46
	20	0.51 ± 0.03 <sup>bc</sup>	10.93 ± 0.31 <sup>def</sup>	39.05 ± 2.24 <sup>bc</sup>	15.36 ± 2.46 <sup>bc</sup>	87.39	83.63	80.52	93.11
	30	0.53 ± 0.03 <sup>ab</sup>	9.95 ± 1.57 <sup>f</sup>	41.70 ± 2.55 <sup>b</sup>	20.18 ± 0.46 <sup>a</sup>	90.62	76.08	85.97	122.29

<sup>a-f</sup> means within a column with the different letters are significantly difference (p<0.05)

GAE: Gallic acid equivalent, TE: Trolox equivalent, dw: dry weight of Tom-kha paste

ภาคผนวก ข การตรวจสอบค่าทำนายจากสมการและค่าจริง

Appendix table 7. Predicted and actual values of sensory testing of shrimp Tom-kha soup evaluated by 30 panalists with 9-point hedonic scale

Formula	Value	Attribute					
		Appearance	Color	Viscosity	Herb odor	Taste	Overall
1	Predicted value	7.14	7.24	7.16	7.16	7.14	7.01
2		7.29	7.32	7.26	7.25	7.2	7.33
3		7.43	7.4	7.33	7.33	6.9	7.4
4		7.56	7.47	7.4	7.4	6.39	6.73
1	Actual value*	7.06 ± 0.63	7.00 ± 0.73	7.10 ± 0.70	7.48 ± 0.77	7.19 ± 1.08	7.03 ± 0.87
2		7.16 ± 0.69	7.19 ± 0.65	7.10 ± 0.83	7.45 ± 0.81	7.26 ± 0.96	7.23 ± 0.67
3		7.58 ± 0.76	7.58 ± 0.76	7.10 ± 0.94	7.29 ± 0.97	6.90 ± 1.37	7.13 ± 0.92
4		7.48 ± 0.57	7.48 ± 0.68	7.16 ± 0.64	7.06 ± 1.09	6.35 ± 1.28	6.68 ± 1.22

\* Actual value was sensory testing of shrimp Tom-kha soup evaluated by 30 panalists with 9 point-hedonic scale

Appendix table 8. Predicted and actual values of the total phenolic contents and antioxidant properties of crude Tom-kha paste extracts

Formula	Value	Total phenolic (g/100 g dw.)	DPPH value ( $\mu\text{mole TE/g dw.}$ )	ABTS value ( $\mu\text{mole TE/g dw.}$ )	FRAP value ( $\mu\text{mole TE/g dw.}$ )
1	Predicted value	0.62	17.34	54.26	26.6
2		0.56	15.70	50.17	24.7
3		0.51	14.06	71.79	19.28
4		0.47	12.66	110.81	11.82
1	Actual value*	$0.65 \pm 0.03$	$16.45 \pm 0.78$	$48.59 \pm 4.59$	$40.78 \pm 1.61$
2		$0.66 \pm 0.06$	$15.47 \pm 0.90$	$48.00 \pm 4.69$	$33.31 \pm 2.91$
3		$0.61 \pm 0.02$	$13.86 \pm 1.11$	$83.16 \pm 4.95$	$28.21 \pm 2.23$
4		$0.63 \pm 0.03$	$14.73 \pm 0.29$	$98.53 \pm 8.13$	$26.34 \pm 1.81$

\* Actual value: Mean  $\pm$  SD from hexaplicate determination