



ผลของกระบวนการแปรรูปต่อสมบัติการต้านออกซิเดชันของสะตอ
Antioxidant Properties of Stink Bean as Affected by Various Processings

ขวัญใจ แซ่ลิม

Kwanjai Saelim

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

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

Prince of Songkla University

2552

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

(1)

ชื่อวิทยานิพนธ์ ผลของกระบวนการแปรรูปต่อสมบัติการต้านออกซิเดชันของสะตอ
ผู้เขียน นางสาววิญใจ แซ่ลิ้ม
สาขาวิชา วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

คณะกรรมการสอบ

.....
(ดร.เอกสิทธิ์ จงเจริญรักษ์)

.....ประธานกรรมการ
(ดร.มูทิตา มีนุ่น)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

.....กรรมการ
(ดร.เอกสิทธิ์ จงเจริญรักษ์)

.....
(ศาสตราจารย์ ดร.สุทธีวัฒน์ เบญจกุล)

.....กรรมการ
(ศาสตราจารย์ ดร.สุทธีวัฒน์ เบญจกุล)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุปราณี มนุรักษ์จินากร)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็น
ส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และ
เทคโนโลยีอาหาร

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.เกริกชัย ทองหนู)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อวิทยานิพนธ์	ผลของกระบวนการแปรรูปต่อสมบัติการต้านออกซิเดชันของสะดอ
ผู้เขียน	นางสาวขวัญใจ แซ่ลิ่ม
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร
ปีการศึกษา	2552

บทคัดย่อ

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมี สมบัติการต้านออกซิเดชันของสะดอข้าวและสะดอดานและผลของการแปรรูปต่อกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน พบว่าปริมาณความชื้น โปรตีน และไขมันของสะดอดานสูงกว่าสะดอข้าว ในขณะที่ปริมาณเยื่อใยของสะดอข้าวสูงกว่าสะดอดาน ส่วนปริมาณเถ้าของสะดอทั้ง 2 สายพันธุ์ไม่แตกต่างกัน ($P>0.05$) โดยทั่วไปปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันซึ่งรายงานผลในรูป DPPH-, ABTS-, superoxide anion- radical scavenging activity และ ferric reducing antioxidant power ของสะดอดานสูงกว่าสะดอข้าว สำหรับสารสกัดจากสะดอ พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันเพิ่มขึ้นหลังการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50 ถึง 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที นอกจากนี้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันมีค่าสูงสุดที่พีเอชของสารสกัดเท่ากับ 7 ทั้งนี้กิจกรรมการต้านออกซิเดชันเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณสารสกัดเพิ่มขึ้น (0-5,000 $\mu\text{g/ml}$) โดยสารสกัดจากสะดอทั้ง 2 สายพันธุ์ (500 $\mu\text{g/ml}$) มีผลส่งเสริมกิจกรรมการต้านออกซิเดชันกับ trolox, ascorbic acid, protocatechuic acid และ tannic acid (1-100 $\mu\text{g/ml}$)

การเก็บรักษาสะดอทั้ง 2 สายพันธุ์ที่สภาวะต่างๆ มีผลต่อลักษณะเนื้อสัมผัส ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน โดยค่าแรงด้านการเจาะทะลุของสะดอที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและแช่เย็น (4 องศาเซลเซียส) เพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มถึง 28 วัน ($P<0.05$) อย่างไรก็ตามไม่มีการเปลี่ยนแปลงค่าแรงด้านการเจาะทะลุของสะดอแช่แข็งระหว่างการเก็บรักษา เป็นเวลา 8 เดือน ($P>0.05$) แต่ลดลงเมื่อเพิ่มจำนวนการแช่แข็ง-ทำละลายถึง 7 รอบ ($P<0.05$) นอกจากนี้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสะดอทั้ง 2 สายพันธุ์เพิ่มขึ้นระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 7 และ 28 วัน ที่อุณหภูมิห้องและแช่เย็น ตามลำดับ ส่วนปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มจำนวนการแช่แข็ง-ทำละลาย เป็นจำนวน 7 รอบ แต่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงระหว่างการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 เดือน นอกจากนี้ค่าแรงด้านการเจาะทะลุ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของ

สะดอทั้ง 2 สายพันธุ์ ลดลงหลังการให้ความร้อนในน้ำเดือด เป็นเวลา 10 นาที ($P < 0.05$) นอกจากนี้เมล็ดสะดอบดละเอียดซึ่งใช้ในสารละลายที่พีเอชต่างๆ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันที่ต่างกัน โดยปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มพีเอชจาก 2 ถึง 7 แต่ลดลงที่พีเอช 8 ถึง 10 ดังนั้นปัจจัยต่างๆ และสถานะในการแปรรูปจึงมีผลต่อกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสะดอ

Thesis Title Antioxidant Properties of Stink Bean as Affected by Various Processings
Author Miss Kwanjai Saelim
Major Program Food Science and Technology
Academic Year 2009

ABSTRACT

Chemical compositions, antioxidant activities of stink bean, Sataw-Khao and Sataw-Daan, and the effect of processing on the activities were investigated. Moisture, protein and fat contents of Sataw-Daan were higher than Sataw-Khao, while crude fiber content of the latter was higher than the former. However, the ash content of both stink beans was not different ($P>0.05$). In general, the extractable phenolic content and antioxidant activities expressed as DPPH-, ABTS-, superoxide anion- radical scavenging activity and ferric reducing antioxidant power of Sataw-Daan were higher than Sataw-Khao. For stink bean extracts, the extractable phenolic content and antioxidant activities increased after heating at 50-100°C for 60 min. In addition, the highest extractable phenolic content and antioxidant activities of the extract was found at pH 7. The increases in antioxidant activities were observed with increasing amount of stink bean extracts (0-5,000 µg/ml). Both stink bean extracts (500 µg/ml) showed the synergistic effect toward antioxidant activities with trolox, ascorbic acid, protocatechuic acid and tannic acid (1-100 µg/ml).

Effect of storage conditions on textural properties, extractable phenolic content and antioxidant activities of both stink beans was studied. Puncture force of both stink beans stored at room temperature and refrigerated temperature (4°C) increased with increasing storage time up to 28 days ($P<0.05$). However, no changes in puncture force of frozen stink beans were observed during the storage of 8 months ($P>0.05$), but the decreases were noticeable with increasing freeze-thaw cycles up to 7 cycles ($P<0.05$). Extractable phenolic content and antioxidant activities of both stink beans increased with increasing storage time up to 7 and 28 days, when stored at room temperature and refrigerated temperature, respectively. Extractable phenolic content and antioxidant activities increased with increasing freeze-thaw cycles up to 7 cycles but no changes were observed during 8 months of frozen storage at -20°C. Puncture force,

extractable phenolic content and antioxidant activities of both stink beans decreased after heating in boiling water for 10 min ($P < 0.05$). Both ground stink bean subjected to various pHs had different extractable phenolic content and antioxidant activities. The extractable phenolic content and antioxidant activities increased with increasing pH values from pH 2 to 7 but decreased at pH 8 to 10. Therefore, antioxidant activity of stink beans was governed by various factors as well as processing conditions.

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ.....	(8)
LIST OF TABLES.....	(9)
LIST OF FIGURES.....	(10)
บทที่	
1 บทนำ.....	1
บทนำต้นเรื่อง.....	1
การตรวจเอกสาร.....	2
วัตถุประสงค์.....	28
2 วิธีการวิจัย.....	29
วัสดุและอุปกรณ์.....	29
วิธีดำเนินการ.....	31
3 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง.....	37
4 บทสรุปและข้อเสนอแนะ.....	90
เอกสารอ้างอิง.....	92
ภาคผนวก.....	104
ประวัติผู้เขียน.....	124

LIST OF TABLES

Table		Page
1.	Proximate compositions and nutrient compositions of stink bean (based on 100 g wet weight).....	4
2.	Colour and puncture force of stink bean.....	38
3.	Chemical compositions of stink bean seed.....	40
4.	Extractable phenolic content and antioxidant activities of Sataw-Khao seed and Sataw-Daan seed (mg PAE/100 g dry stink bean sample).....	41
5.	Effect of Sataw-Khao extract (A) and Sataw-Daan extract (B) concentration on extractable phenolic content and antioxidant activities.....	56
6.	Puncture force of stink bean seed during storage at room temperature (RT) and chilling temperature (CT).....	67
7.	Puncture force of stink bean seed during frozen storage.....	71
8.	Puncture force of stink bean seed during freeze-thaw cycles.....	72
9.	Puncture force of stink bean seed as affected by heating in boiling water.....	79
10.	Moisture content of stink bean during storage at room temperature (RT) and chilling temperature (CT).....	122
11.	Moisture content of stink bean during frozen storage.....	123
12.	Moisture content of stink bean during freeze-thaw cycles.....	123

LIST OF FIGURES

Figure	Page
1. (A) Sataw-Khao, (B) Sataw-Daan, (C) Stink bean seed.....	3
2. Overall mechanism of lipid oxidation.....	8
3. Type of food antioxidants.....	11
4. Synthetic antioxidants.....	16
5. Natural antioxidants from food sources.....	17
6. Stink bean pod, Sataw-Khao (A), Sataw-Daan (B).....	37
7. Stink bean seed, Sataw-Khao (A), Sataw-Daan (B).....	37
8. Effect of heating at various temperatures and times on extractable phenolic content of Sataw-Khao extract (A) and Sataw-Daan extract (B).....	43
9. Effect of heating at various temperatures and times on DPPH radical scavenging activity of Sataw-Khao extract (A) and Sataw-Daan extract (B).....	44
10. Effect of heating at various temperatures and times on ABTS radical scavenging activity of Sataw-Khao extract (A) and Sataw-Daan extract (B).....	45
11. Effect of heating at various temperatures and times on superoxide anion radical scavenging activity of Sataw-Khao extract (A) and Sataw-Daan extract (B).....	46
12. Effect of heating at various temperatures and times on ferric reducing antioxidant power (FRAP) of Sataw-Khao extract (A) and Sataw-Daan extract (B).....	47
13. Structure of caffeic acid.....	49
14. Effect of pHs and exposure times on extractable phenolic content of Sataw-Khao extract (A) and Sataw-Daan extract (B).....	50
15. Effect of pHs and exposure times on DPPH radical scavenging activity of Sataw-Khao extract (A) and Sataw-Daan extract (B).....	51
16. Effect of pHs and exposure times on ABTS radical scavenging activity of Sataw-Khao extract (A) and Sataw-Daan extract (B).....	52
17. Effect of pHs and exposure times on superoxide anion radical scavenging activity of Sataw-Khao extract (A) and Sataw-Daan extract (B).....	53

LIST OF FIGURES (Cont.)

Figure	Page
18. Effect of pHs and exposure times on ferric reducing antioxidant power (FRAP) of Sataw-Khao extract (A) and Sataw-Daan extract (B).....	54
19. Synergistic effect of Sataw-Khao (A) and Sataw-Daan (B) extract with trolox as determined by DPPH radical scavenging activity.....	58
20. Synergistic effect of Sataw-Khao (A) and Sataw-Daan (B) extract with ascorbic acid as determined by DPPH radical scavenging activity.....	59
21. Synergistic effect of Sataw-Khao (A) and Sataw-Daan (B) extract with trolox as determined by ABTS radical scavenging activity.....	60
22. Synergistic effect of Sataw-Khao (A) and Sataw-Daan (B) extract with ascorbic acid as determined by ABTS radical scavenging activity.....	61
23. Synergistic effect of Sataw-Khao (A) and Sataw-Daan (B) extract with trolox as determined by ferric reducing antioxidant power (FRAP).....	62
24. Synergistic effect of Sataw-Khao (A) and Sataw-Daan (B) extract with ascorbic acid as determined by ferric reducing antioxidant power (FRAP).....	63
25. Synergistic effect of Sataw-Khao (A) and Sataw-Daan (B) extract with tannic acid as determined by superoxide anion radical scavenging activity.....	64
26. Synergistic effect of Sataw-Khao (A) and Sataw-Daan (B) extract with protocatechuic acid as determined by superoxide anion radical scavenging activity.....	65
27. Changes in extractable phenolic content of Sataw-Khao and Sataw-Daan during storage at room temperature (RT) and chilling temperature (CT).....	68
28. Changes in DPPH radical scavenging activity (A) and ABTS radical scavenging activity (B) of Sataw-Khao and Sataw-Daan during storage at room temperature (RT) and chilling temperature (CT).....	69
29. Changes in superoxide anion radical scavenging activity (A) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) (B) of Sataw-Khao and Sataw-Daan during storage at room temperature (RT) and chilling temperature (CT).....	70

LIST OF FIGURES (Cont.)

Figure	Page
30. Changes in extractable phenolic content of Sataw-Khao and Sataw-Daan as affected by frozen storage.....	73
31. Changes in DPPH radical scavenging activity (A) and ABTS radical scavenging activity (B) of Sataw-Khao and Sataw-Daan as affected by frozen storage.....	74
32. Changes in superoxide anion radical scavenging activity (A) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) (B) of Sataw-Khao and Sataw-Daan as affected by frozen storage.....	75
33. Changes in extractable phenolic content of Sataw-Khao and Sataw-Daan as affected by freeze-thaw cycles.....	76
34. Changes in DPPH radical scavenging activity (A) and ABTS radical scavenging activity (B) of Sataw-Khao and Sataw-Daan as affected by freeze-thaw cycles.....	77
35. Changes in superoxide anion radical scavenging activity (A) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) (B) of Sataw-Khao and Sataw-Daan as affected by freeze-thaw cycles.....	78
36. Changes in extractable phenolic content of Sataw-Khao and Sataw-Daan as affected by heating in boiling water for various times.....	81
37. Changes in DPPH radical scavenging activity (A) and ABTS radical scavenging activity (B) of Sataw-Khao and Sataw- Daan as affected by heating in boiling water for various times.....	82
38. Changes in superoxide anion radical scavenging activity (A) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) (B) of Sataw-Khao and Sataw- Daan as affected by heating in boiling water for various times.....	83
39. Extractable phenolic content of ground Sataw-Khao (A) and ground Sataw-Daan (B) after soaking in solution with various pHs for different times.....	85
40. DPPH radical scavenging activity of ground Sataw-Khao (A) and ground Sataw-Daan (B) after soaking in solution with various pHs for different times.....	86

LIST OF FIGURES (Cont.)

Figure		Page
41.	ABTS radical scavenging activity of ground Sataw-Khao (A) and ground Sataw-Daan (B) after soaking in solution with various pHs for different times.....	87
42.	Superoxide anion radical scavenging activity of ground Sataw-Khao (A) and ground Sataw-Daan (B) after soaking in solution with various pHs for different times.....	88
43.	Ferric reducing antioxidant power (FRAP) of ground Sataw-Khao (A) and ground Sataw-Daan (B) after soaking in solution with various pHs for different times.....	89

บทที่ 1

บทนำ

บทนำตั้งเรื่อง

พืชในกลุ่มพืชผัก (legume) มีสารอาหารหลักประเภทโปรตีน คาร์โบไฮเดรตและใยอาหาร นอกจากนี้ยังมีสารอาหารรองประเภทวิตามินและแคโรทีนอยด์ (Adsule and Kadam, 1989) อีกทั้งมีสารประกอบฟีนอลิกเป็นองค์ประกอบสูงอีกด้วย ซึ่งสารประกอบเหล่านี้เป็นสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (De Pascual Teresa *et al.*, 2000; Duenas and Estrella, 2002; Duenas and Estrella, 2004) สะตอ (*Parkia speciosa* Hassk.) เป็นพืชยืนต้นในกลุ่มพืชผัก อยู่ในวงศ์ Leguminosae วงศ์ย่อย Mimosaceae มีถิ่นกำเนิดในภาคใต้ของประเทศไทย โดยปัจจุบันสะตอได้รับความนิยมนิยมจากผู้บริโภคในทั่วทุกภาคของประเทศไทยและมีการปลูกทั่วไป ซึ่งพันธุ์ที่นิยมบริโภคนั้นมี 2 พันธุ์ คือ สะตอข้าวและสะตอดาน สามารถจำแนกโดยลักษณะที่แตกต่างกัน คือ ฝักของสะตอข้าวมีลักษณะบิดเป็นเกลียวและมีขนาดความกว้างของฝักน้อยกว่าสะตอดาน อีกทั้งเมล็ดมีความแน่นเนื้อและกลั่นจุนน้อยกว่าสะตอดาน (วิจิตต์ วรรณชิต, 2527) อย่างไรก็ตามสะตอเป็นพืชที่ออกฝักตามฤดูกาล คือ ออกดอกประมาณเดือนเมษายน ภายหลังจากติดดอก 70 วัน จะสามารถเก็บฝักได้ โดยจะให้ผลผลิตมากในเดือนกรกฎาคม–สิงหาคม (อาภรณ์ เจียมสายใจ และ บุญชนะ วงศ์ชนะ, 2546) จึงจำเป็นต้องมีการเก็บรักษาสะตอเพื่อให้มีผลผลิตเพียงพอสำหรับการบริโภคตลอดปี ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อารเปลี่ยนแปลงของสารสำคัญต่างๆ ที่มีประโยชน์ระหว่างการเก็บรักษา เช่น อุณหภูมิในกระบวนการแปรรูปและเก็บรักษาอาจมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน Siddhuraju และ Becker (2007) ศึกษาสมบัติการต้านออกซิเดชันและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในถั่วกระด้าง (*Vigna sinensis*) พบว่ากระบวนการให้ความร้อนทำให้กิจกรรมการต้านออกซิเดชันและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลง นอกจากนี้ Gil-Izquierdo และคณะ (2001) พบว่าจากการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสารประกอบฟีนอลิกแต่ละชนิดในหัวอาร์ติโชค (artichoke head) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2, 5 และ 7 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน ทำให้ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีปริมาณเพิ่มขึ้น ส่วนชุดที่เก็บที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส มีปริมาณลดลง โดยพบว่าสารประกอบฟีนอลิกชนิด chlorogenic acid, 1,4-dicaffeoylquinic acid และ 4,5-dicaffeoylquinic acid มีปริมาณเพิ่มขึ้น ส่วนสารประกอบฟีนอลิกชนิด 1,5-dicaffeoylquinic acid และ 3,5-dicaffeoylquinic acid มีปริมาณ

ลดลงระหว่างการเก็บรักษา เป็นต้น ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีขึ้นเพื่อศึกษาสมบัติการต้านออกซิเดชันของสะตอ ติดตามการเปลี่ยนแปลง รวมทั้งศึกษาความคงตัวของสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และ กิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสะตอภายหลังกระบวนการแปรรูป เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานด้านคุณค่าทางโภชนาการอีกด้วย

การตรวจเอกสาร

1. สะตอ

1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของสะตอ

สะตอ (*Parkia speciosa* Hassk.) เป็นพืชในวงศ์ Leguminosae วงศ์ย่อย Mimosaceae ชื่อท้องถิ่น คือ กะตอ (ภาคกลางและภาคใต้) ปะตา ปัดเต๊ะ (มาเลย์-ยะลา, ปัตตานี) ปาไต (มาเลย์-สตูล) (เต็ม สมิตินันท์, 2523) ตอ (ระนอง) (กัญญา ดิวิเศษ, 2542) เป็นพืชฝักยืนต้น ขนาดกลางถึงใหญ่ในกลุ่มพืชฝัก มีถิ่นกำเนิดในภาคใต้ของประเทศไทย โดยสะตอออกดอก ประมาณเดือนเมษายน และภายหลังติดดอก 70 วัน สามารถเก็บฝักได้ ฝักอ่อนมีสีเขียว เมื่อแก่เป็นสีดำ เมล็ดรูปรีเกือบกลม เรียงตามขวางกับฝัก เมล็ดมีขนาด 22-25 มิลลิเมตร ยาว 15-20 มิลลิเมตร (กัญญา ดิวิเศษ, 2542) ซึ่งสะตอจะให้ผลผลิตมากในเดือนกรกฎาคม-สิงหาคม (อาภรณ์ เขียมสายใจ และ บุญชนะ วงศ์ชนะ, 2546)

สะตอสามารถแบ่งแยกออกเป็นพันธุ์ที่มีลักษณะต่างกันออกไป ซึ่งสะตอที่นิยมบริโภคมี 2 พันธุ์ คือ สะตอข้าวและสะตอดาน (วิจิตต์ วรรณจิต, 2527) แต่สามารถจำแนกโดยอาศัยลักษณะของฝัก รสชาติและกลิ่นได้ 3 พันธุ์ (ศิรินทรา ต้นพงษ์พิพัฒชัย, 2546) ดังนี้

1. สะตอข้าว (Figure 1A) ลักษณะฝักบิดเป็นเกลียว ฝักมีทั้งขนาดสั้นและยาว ซึ่งแล้วแต่พันธุ์ที่กลายออกไป โดยเฉลี่ยแล้วขนาดของฝักยาวประมาณ 31 เซนติเมตร มีความกว้างของฝักประมาณ 4 เซนติเมตร จำนวนเมล็ดต่อฝักประมาณ 10-20 เมล็ด จำนวนฝักต่อช่อประมาณ 8-20 ฝัก ซึ่งขึ้นอยู่กับความสมบูรณ์ของต้น เมล็ดมีกลิ่นไม่ฉุน เนื้อเมล็ดไม่แน่น อายุการให้ผลผลิต 3-5 ปี หลังปลูก

2. สะตอดาน (Figure 1B) ลักษณะฝักตรงแบนไม่บิดเบี้ยว มีความยาวของฝักประมาณ 32 เซนติเมตร ฝักมีความกว้างกว่าสะตอข้าวเล็กน้อย มีเมล็ดต่อฝักประมาณ 10-20 เมล็ด จำนวนฝักต่อช่อประมาณ 8-15 ฝัก เมล็ดมีกลิ่นฉุน รสเผ็ด เนื้อเมล็ดแน่น อายุการให้ผลผลิต 5-7 ปี หลังปลูก

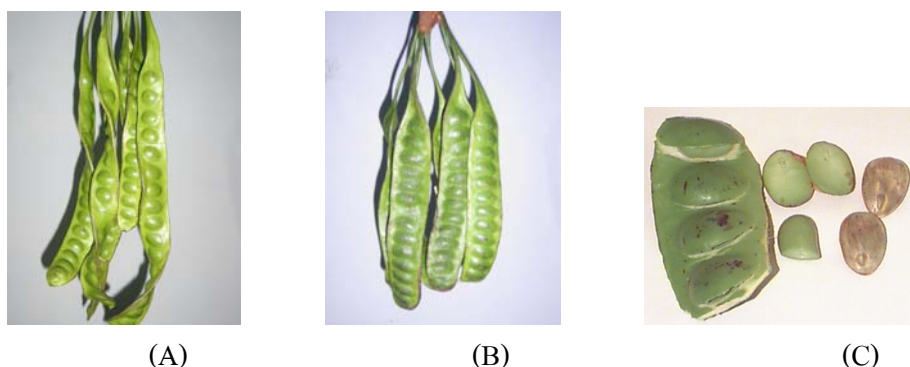


Figure 1. (A) Sataw-Khao, (B) Sataw-Daan, (C) Stink bean seed

3. สะตอแตกหรือสะตอป่า ลักษณะฝักและเมล็ดค่อนข้างแข็งกว่าสะตอข้าวและสะตอดาน สะตอแตกมีขึ้นในป่าลึก รสชาติไม่อร่อยจึงไม่นิยมรับประทาน

1.2 ส่วนประกอบและคุณค่าทางอาหารของสะตอ

Adsule และ Kadam (1989) พบว่าพืชในกลุ่มพืชฝักมีสารอาหารหลักประเภทโปรตีน คาร์โบไฮเดรตและเยื่อใย นอกจากนี้ยังมีสารอาหารรองประเภทวิตามินและแคโรทีนอยด์ อีกทั้งมีสารประกอบฟีนอลิกเป็นองค์ประกอบสูงอีกด้วย ซึ่งสารประกอบเหล่านี้เป็นสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (De Pascual Teresa *et al.*, 2000; Duenas *et al.*, 2004)

1.2.1 คุณค่าทางอาหาร ส่วนของสะตอที่นำมาใช้ปรุงอาหาร ได้แก่ ส่วนของผลหรือฝัก และส่วนของยอดอ่อน โดยเมล็ดสะตอ (Figure 1C) ในส่วนที่กินได้ 100 กรัม มีคุณค่าทางสารอาหารและสารที่มีประโยชน์ต่อร่างกายดังแสดงใน Table 1

Table 1. Proximate compositions and nutrient compositions of stink bean
(based on 100 g wet weight)

Composition	Content	unit
Energy	130.00	Kcal
Water	70.70	g
Carbohydrate	15.50	g
Protein	8.00	g
Lipid	4.00	g
Crude Fiber	0.50	g
Dietary Fiber	-	g
Ash	1.30	g
Calcium	76.00	mg
Phosphorus	83.00	mg
Iron	0.70	ig
Vitamin A	9.00	I.U.
Vitamin B1	0.10	mg
Vitamin B2	0.01	mg
Vitamin C	6.00	mg
Niacin	1.00	mg

ที่มา : กองโภชนาการ กรมอนามัย (2535)

1.2.2 สารประกอบทางเคมี สารประกอบทางเคมีที่พบในส่วนของเมล็ดสะตอส่วนใหญ่
อยู่ในกลุ่มกรดอะมิโนและสารประกอบที่มีซัลเฟอร์ในโมเลกุล ได้แก่

1.2.2.1 กรดอะมิโน อนุพันธ์ของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบในเมล็ดสะตอ
ได้แก่ dichrostachnic acid, djenkolic acid และ thiazolidine-4-carboxylic acid (Susilo and Gmelin,
1982) นอกจากนี้กรดอะมิโนที่พบเป็นปริมาณมากในเมล็ดซึ่งเป็นสารประกอบไกลโคโปรตีนที่
เป็นองค์ประกอบในเมล็ดสะตอ คือ glycine, aspartic acid, isoleucine และ serine แต่พบว่า
methionine และ cysteine อยู่ น้อยมาก (Suvachittanont and Peutpaiboon, 1992)

1.2.2.2 สารประกอบซัลเฟอร์ สารประกอบซัลเฟอร์ที่เป็นองค์ประกอบในเมล็ดสะตอ ได้แก่ hexathionane, 1-2-4-5-7-8, pentatgiepane, 1-2-3-5-6, trithiolane, 1-2-4 และ 1-2-4-6, tetrathiepane (Gmelin *et al.*, 1981)

1.2.2.3 สารประกอบ steroidal ได้แก่ β -sitosterol และ stigmasterol (Jamaluddin *et al.*, 1994)

ส่วนสารประกอบทางเคมีที่พบในส่วนเปลือกของฝักเป็นสารกลุ่ม steroidal ได้แก่ stigmast-4-en-3-one (Jamaluddin *et al.*, 1995)

1.2.3 กุญแจทางเภสัชวิทยาของสารประกอบที่พบในเมล็ดสะตอ

1.2.3.1 ผลต่อการแบ่งตัวของเซลล์ สารเลคตินจากสะตอมีผลกระตุ้นการแบ่งเซลล์ของเม็ดเลือดขาวที่สร้างจากม้าม (Suvachittanont and Peutpaiboon, 1992)

1.2.3.2 ผลยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย สารกลุ่ม polysulfides ที่สกัดได้จากเมล็ดสะตอมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ (Gmelin *et al.*, 1981)

1.2.3.3 ผลยับยั้งการเจริญของเชื้อรา สารกลุ่ม polysulfides ที่สกัดได้จากเมล็ดสะตอมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Candida albican* (Gmelin *et al.*, 1981)

1.2.3.4 ผลต่อการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดง (heamagglutination) สารเลคตินทำให้เกิดการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดงในหนู แต่ไม่มีผลต่อเม็ดเลือดแดงในมนุษย์ (Suvachittanont and Peutpaiboon, 1992)

1.2.3.5 กุญแจลดน้ำตาลในเลือด โพรตีนที่สกัดจากเมล็ดสะตอมีผลยับยั้งอัตราการเพิ่มของระดับน้ำตาลในเลือดของหนูที่ถูกชักนำให้เป็นเบาหวาน (วัลลี สุวจิตตานนท์ และ พูลสุข โพรธีรกิจิต, 2531) เช่นเดียวกับสารที่สกัดโดยใช้คลอโรฟอร์มจากเมล็ดที่มีสาร β -sitosterol และ stigmasterol พบว่ามีผลลดระดับน้ำตาลในเลือดของหนูที่เป็นเบาหวาน แต่ไม่มีผลต่อหนูที่ปกติ (Jamaluddin *et al.*, 1994)

1.2.3.6 กุญแจกระตุ้นการบีบตัวของลำไส้ โพรตีนที่สกัดได้จากเมล็ดสะตอมีฤทธิ์กระตุ้นการหดตัวของลำไส้เล็กส่วนดูโอดินัมของหนู และหนูที่กินสะตอบดจะมีอุจจาระอ่อนกว่าปกติ (วัลลี สุวจิตตานนท์ และ พูลสุข โพรธีรกิจิต, 2531)

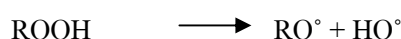
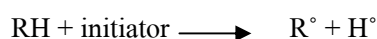
2. กลไกการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน

ปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นกระบวนการสำคัญที่สุดที่ทำให้อาหารเสื่อมคุณภาพลงเนื่องจากมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสี กลิ่นรส และลักษณะเนื้อสัมผัสของอาหาร (Kinsella *et al.*, 1993; Noguchi *et al.*, 1994) โดยปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ได้แก่ ชนิดและปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัว สารโปรออกซิแดนซ์ กรดไขมันอิสระที่เป็นองค์ประกอบออกซิเจน อุณหภูมิ พื้นที่ผิวหน้า แสง ความชื้น และตัวเร่งธรรมชาติ เช่น เอนไซม์ไลพอกซีเดส (Noguchi *et al.*, 1994)

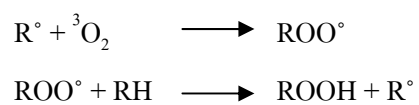
ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน (auto-oxidation)

ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันเป็นการเกิดปฏิกิริยาต่อเนื่องของอนุมูลอิสระ มีกลไกการเกิด 3 ขั้นตอน คือ initiation, propagation และ termination (Shahidi and Wanasundara, 1992)

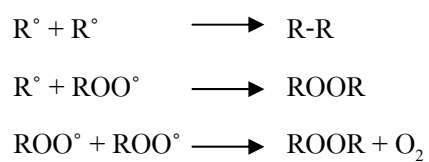
1. initiation เป็นขั้นตอนการเกิดอนุมูลอิสระ (free radical) โดยไฮโดรเจนที่จับกับคาร์บอนที่อยู่ถัดจากคาร์บอนอะตอมซึ่งมีพันธะคู่หลุดออกไปเนื่องจากได้รับพลังงานกระตุ้นจากความร้อนหรือแสงสว่าง (Angelo, 1996) จากนั้นออกซิเจนจะเข้าไปรวมกับไฮโดรคาร์บอนตรงพันธะคู่ได้เป็นอนุมูลเปอร์ออกซี (peroxy radical) อนุมูลเปอร์ออกซีเหล่านี้ทำหน้าที่เป็นตัวเร่งหรือตัวตั้งต้นของปฏิกิริยาออกซิเดชันต่อไป โดยดึงไฮโดรเจนอะตอมจากโมเลกุลอื่นๆ ซึ่งจะทำให้เข้าสู่ปฏิกิริยาในขั้นต่อไป (Frankel, 1984)



2. propagation เป็นปฏิกิริยาต่อเนื่องของอนุมูลอิสระ โดยอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นทำปฏิกิริยากับออกซิเจนได้เป็นอนุมูลเปอร์ออกซี (ROO^\bullet) ซึ่งสามารถดึงไฮโดรเจนจากกรดไขมันไม่อิ่มตัวตัวอื่น ได้เป็นสารไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (ROOH) ที่สามารถแตกตัวต่อเป็นอนุมูลอิสระได้อีกถ้ามีตัวเร่งปฏิกิริยา อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นและอนุมูลเปอร์ออกซีที่เกิดจากกรดไขมันที่ถูกดึงไฮโดรเจนทำปฏิกิริยากับออกซิเจนจากนั้นจะทำปฏิกิริยากับกรดไขมันไม่อิ่มตัวตัวอื่นทำให้เกิดเป็นอนุมูลอิสระได้อีก ซึ่งจะเกิดเป็นลูกโซ่ปฏิกิริยาต่อเนื่องเรื่อยไป (Gordon, 2001)



3. termination เป็นระยะสุดท้ายของการเกิดปฏิกิริยา เมื่อกรดไขมันไม่อิ่มตัวถูกออกซิไดซ์จนหมด อนุมูลอิสระที่เหลือจะเกิดการรวมกันเกิดเป็นสารประกอบที่มีอิเล็กตรอนครบ จึงมีความเสถียรไม่เกิดการเหนี่ยวนำปฏิกิริยาต่อไป (Gordon, 2001)



ลักษณะการเกิดออกโตออกซิเดชันของไขมันแสดงไว้ดัง Figure 2

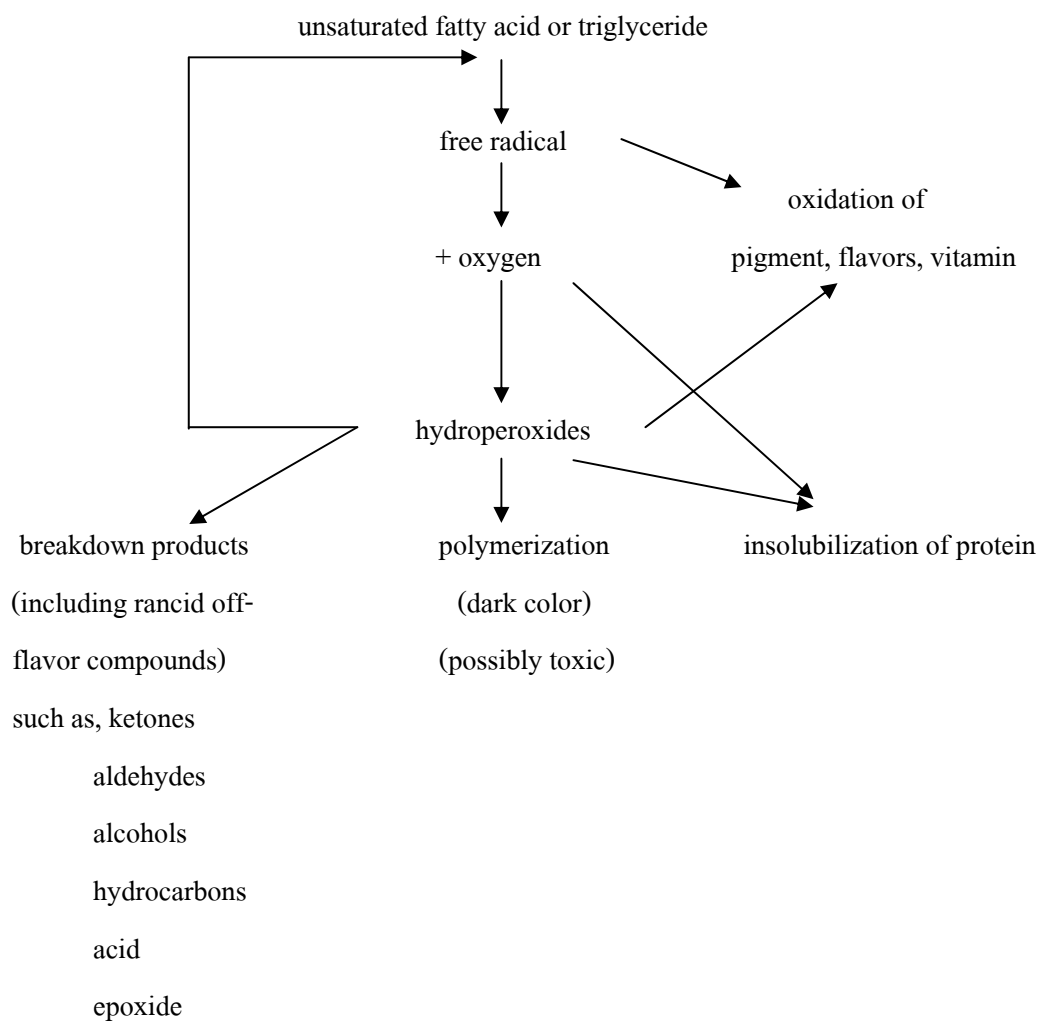


Figure 2. Overall mechanism of lipid oxidation

ที่มา : Jadhav และคณะ (1995)

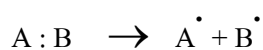
3.อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ

3.1 อนุมูลอิสระ (free radicals)

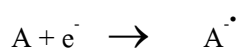
อนุมูลอิสระ คือ โมเลกุลหรืออนุภาคที่อิเล็กตรอนวงนอกมีสภาพอิสระเนื่องจากการรับเพิ่มหรือขาดอิเล็กตรอนไปหนึ่งตัว ทำให้โมเลกุลหรืออนุภาคนั้นไม่เสถียรและมีความว่องไวในการทำปฏิกิริยาสูงมาก ดังนั้นเพื่อให้เกิดความเสถียร โมเลกุลหรืออนุภาคนั้นจึงต้องแย่งอิเล็กตรอนจากโมเลกุลปกติมาหนึ่งตัวทำให้โมเลกุลนั้นขาดอิเล็กตรอนและกลายเป็นอนุมูลอิสระแทนจึงต้องแย่งอิเล็กตรอนจากโมเลกุลอื่นไปเรื่อยๆ หากปรากฏการณ์ดังกล่าวเกิดขึ้นในร่างกายมนุษย์จะก่อให้เกิดการทำลายสารชีวโมเลกุล เช่น คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน และดีเอ็นเอ (Wiseman and Halliwell 1996) ซึ่งก่อให้เกิดโรคเรื้อรังต่างๆ เช่น โรคมะเร็ง โรคผนังหลอดเลือดแข็งตัว โรคเบาหวาน แก่ก่อนวัย และโรคเสื่อมอื่นๆ (Poulson *et al.*, 1998) นอกจากนี้พริททิพย์ วิรัชวงศ์ (2546) กล่าวว่าถ้าโมเลกุลที่สูญเสียอิเล็กตรอนเป็นอนุมูลอิสระหรืออนุมูลอิสระ มีผลทำให้เกิดการสูญเสียหน้าที่ สอรัมเกิดการทํางานมากขึ้นหรือน้อยลง หากเกิดที่เนื้อเยื่อของเซลล์เยื่อหลอดเลือดทำให้เกิดโรคหลอดเลือดแข็งตัว โรคความดันโลหิตสูง โรคเส้นเลือดหัวใจอุดตัน และโรคเส้นเลือดในสมองอุดตัน หากเกิดที่เนื้อเยื่อของเลนส์ตาจะทำให้เกิดต้อกระจก หากเกิดที่เนื้อเยื่อผิวหนังจะสามารถทำให้เกิดรอยเหี่ยวย่นก่อนวัย หากเกิดที่เนื้อเยื่อข้อต่อและกระดูกทำให้เกิดข้อเสื่อม ปวดข้อและเข่า หากเกิดกับเซลล์เม็ดเลือดขาวจะทำให้ระบบภูมิคุ้มกันทำงานผิดปกติ เป็นเหตุให้ภูมิคุ้มกันต่ำ ติดเชื้อง่ายหรือภูมิคุ้มกันต่ำ ไวโรคภูมิแพ้ โรคหอบหืด หากเกิดความผิดปกติขึ้นที่โมเลกุลของดีเอ็นเอ เซลล์ที่สร้างขึ้นใหม่มีลักษณะผิดปกติ ซึ่งอาจเป็นสาเหตุของโรคมะเร็ง ในวงการแพทย์เรียกโรคเหล่านี้ว่า “กลุ่มโรคจากอนุมูลอิสระ”

การเกิดอนุมูลอิสระมีได้หลายกลไกที่แตกต่างกัน (โอภา วัชรคุปต์ และคณะ, 2550) ดังนี้

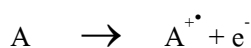
1. การแตกตัวของพันธะโควาเลนต์แบบไฮโมไลซิส



2. การเพิ่มอิเล็กตรอน 1 ตัวให้แก่อะตอมที่เป็นกลางทางไฟฟ้า



3. การสูญเสียอิเล็กตรอน 1 ตัวจากอะตอมที่เป็นกลางทางไฟฟ้า



3.2 สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant)

สารต้านอนุมูลอิสระหรือสารต้านออกซิเดชัน หมายถึง สารที่สามารถป้องกันหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยอนุมูลอิสระชนิดต่างๆ ได้ โดยสารเหล่านี้มีกลไกการทำงานเพื่อกำจัดอนุมูลอิสระด้วยกันหลายแบบ เช่น ดักจับอนุมูลอิสระโดยตรง ยับยั้งการสร้างอนุมูลอิสระหรือเข้าจับกับเหล็ก และป้องกันการสร้างอนุมูลอิสระ เป็นต้น ปกติร่างกายมนุษย์มีสารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติหลากหลายชนิดทั้งที่เป็นเอนไซม์ เช่น superoxide dismutase, catalase และ glutathione peroxidase เป็นต้น และสารต้านอนุมูลอิสระที่ไม่ใช่เอนไซม์ เช่น urate, bilirubin และ transferrin เป็นต้น เนื่องจากสารเหล่านี้มีจำนวนจำกัด ดังนั้นเมื่อมีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นเกินกว่าที่จะกำจัดได้หมดอาจก่อให้เกิดอันตรายต่อร่างกายได้ (โอภา วัชรคุปต์ และคณะ, 2550)

นอกจากนี้สารต้านออกซิเดชันสามารถช่วยรักษาคูณภาพของอาหารได้ โดยการชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน (Kinsella *et al.*, 1993; Noguchi *et al.*, 1994) USDA ได้ให้คำนิยามของสารต้านออกซิเดชันว่า เป็นสารที่ใช้สำหรับยืดอายุการเก็บรักษาของอาหาร โดยชะลอการเสื่อมเสีย การเกิดกลิ่นหืนหรือการเปลี่ยนแปลงสี อันเป็นผลมาจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Shahidi and Wanasundara, 1996)

3.2.1 ชนิดของสารต้านออกซิเดชัน

สามารถแบ่งชนิดของสารต้านออกซิเดชันได้เป็นประเภทต่างๆ คือ สารต้านออกซิเดชันปฐมภูมิ (primary or chain-breaking antioxidants) และสารต้านออกซิเดชันทุติยภูมิ (secondary antioxidants) หรือสารต้านออกซิเดชันที่เสริมฤทธิ์กัน (synergistic antioxidants) (Figure 3) (Rajalakshmi and Narasimhon, 1995)

3.2.1.1 สารต้านออกซิเดชันปฐมภูมิ (primary antioxidant)

สารต้านออกซิเดชันประเภทนี้สามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาต่อเนื่องของอนุมูลอิสระโดยการให้ไฮโดรเจนหรืออิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระและทำให้ผลิตภัณฑ์เกิดความคงตัว (Rajalakshmi and Narasimhon, 1995) สารต้านออกซิเดชันที่อยู่ในกลุ่มนี้ได้แก่ สารประกอบที่มีหมู่ฟีนอลในโมเลกุล เช่น บิวทิลไฮดรอกซีแอนิสอล (butylated hydroxyanisole) บิวทิลไฮดรอกซีทอลูเอิน (butylated hydroxytoluene) เทร์ตบิวทิลไฮดรอกควิโนน (tert-butyl hydroquinone) โทโคฟีรอล (tocopherols) และโพลีไฮดรอกซีลฟีโนลิก (polyhydroxyphenolic) เช่น แกลเลท (gallates) โดยจะให้ผลเป็นสารต้านออกซิเดชันที่ระดับความเข้มข้นต่ำและกลายเป็นโปรออกซิเดนต์ที่ระดับความเข้มข้นสูง (Rajalakshmi and Narasimhon, 1995)

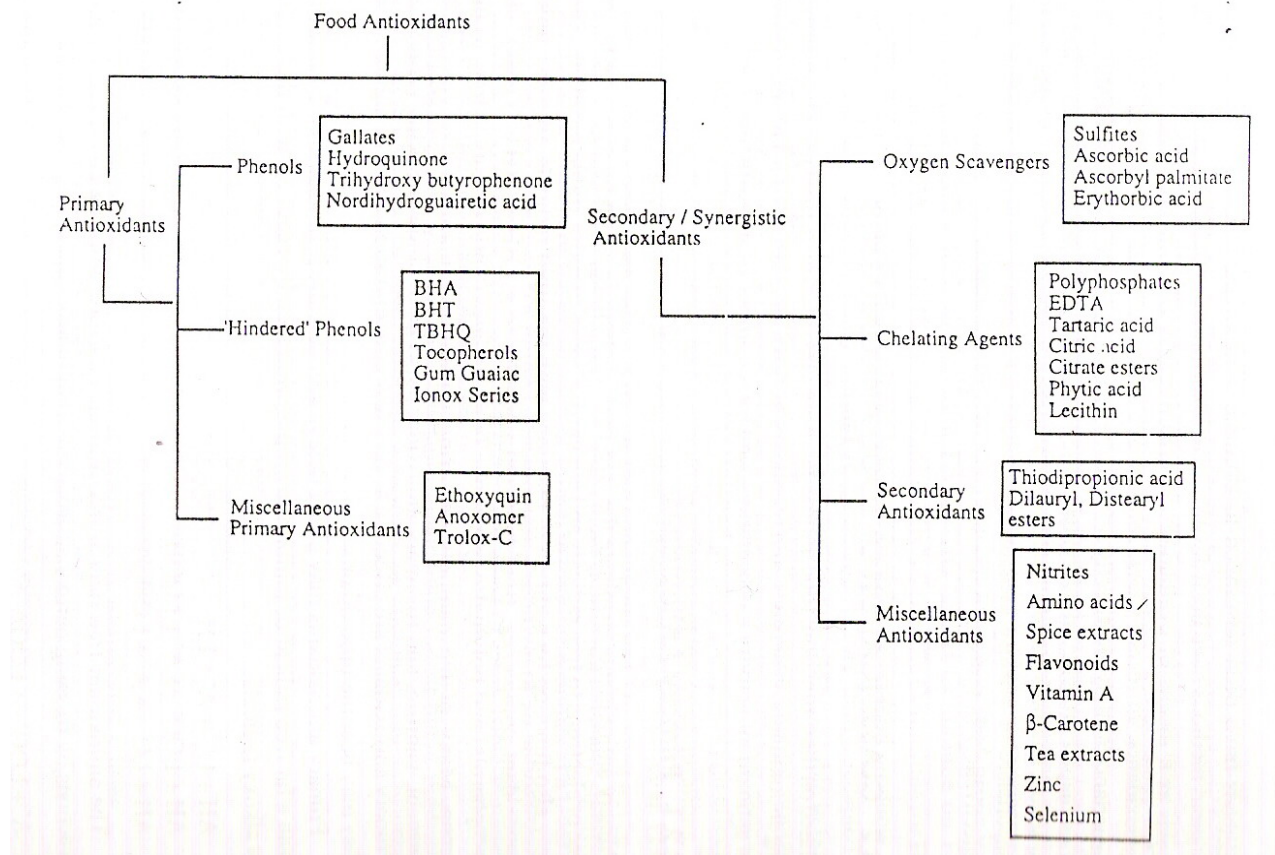


Figure 3. Type of food antioxidants

ที่มา : Madhavi และ Salunkhe (1994)

3.2.1.2. สารต้านออกซิเดชันทุติยภูมิ (secondary antioxidants) และสารต้านออกซิเดชันที่เสริมฤทธิ์กัน (synergistic antioxidants)

สารต้านออกซิเดชันทุติยภูมิ (secondary หรือ preventive antioxidants) เช่น กรด thiodipropionic และ dilauryl thiodipropionate มีหน้าที่สลายลิพิดเปอร์ออกไซด์ (lipid peroxide decomposition) ได้เป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่มีความคงตัว (Rajalakshmi and Narasimhon, 1995)

การเสริมฤทธิ์กัน คือ สารนั้น ไปเพิ่มหรือเสริมกิจกรรมของการต้านออกซิเดชัน นอกเหนือจากกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของตัวเอง (Shahidi and Wanasundara, 1992) สามารถแบ่งออกได้เป็นกลุ่มใหญ่ๆ คือ ตัวจับออกซิเจน (oxygen scavengers) หรือสารรีดิวซ์ (reducing agents) เช่น กรดแอสคอร์บิก แอสคอร์บิลปาลมิเตท ซัลไฟต์ และอีริทโรเบท เป็นต้น และตัวจับโลหะ (chelator) เช่น กรดซิตริก โพลีฟอสเฟต และกรดเอซีลินโดเอมีนเตตระอะซีติก (อีดีทีเอ) เป็นต้น สารที่เสริมฤทธิ์กันมีกลไกการทำงานหลายอย่าง เช่น ให้ไฮโดรเจนกับอนุมูลฟีนอกซิล โดยการเปลี่ยนรูปสารต้านออกซิเดชันปฐมภูมิ ดังนั้นสามารถใช้สารประกอบฟีนอลิกได้

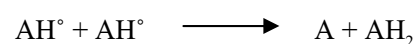
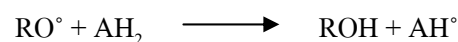
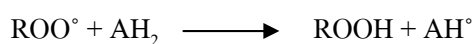
ที่ระดับความเข้มข้นต่ำๆ เมื่อมีการเติมสารเสริมฤทธิ์เข้าไปในผลิตภัณฑ์ด้วย โดยสารที่เสริมฤทธิ์ที่มีสภาพเป็นกรดปานกลางนั้นช่วยให้สารต้านออกซิเดชันปฐมภูมิมีความคงตัวมากขึ้น (Rajalakshmi and Narasimhon, 1995)

นอกจากนี้ยังมีสารประกอบที่จัดเป็นสารต้านออกซิเดชันอื่นๆ (miscellaneous antioxidants) ตัวอย่างเช่น ฟลาโวนอยด์ สารประกอบของฟลาโวนอยด์ และกรดอะมิโน มีหน้าที่เช่นเดียวกับสารต้านออกซิเดชันปฐมภูมิและสารต้านออกซิเดชันที่เสริมฤทธิ์กัน ส่วนใหญ่ใช้ในการถนอมรักษาเนื้อ โดยมีหน้าที่เปลี่ยนฮีม โปรตีนให้อยู่ในรูปของไนตริกออกไซด์ที่ไม่เกิดปฏิกิริยา และจับไอออนของโลหะ โดยเฉพาะไอออนของเหล็กที่ไม่ใช่ฮีม ทองแดง และโคบอลต์ นอกจากนี้เบต้าแคโรทีนและแคโรทีนอยด์มีผลในการจับ singlet oxygen ป้องกันการสร้างไฮโดรเปอร์ออกไซด์อีกด้วย (Rajalakshmi and Narasimhon, 1995) ส่วนสังกะสีสามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ได้ โดยการป้องกันไม่ให้เหล็กสามารถเข้าไปเร่งปฏิกิริยาได้และซลีเนียมมีความจำเป็นต่อการสังเคราะห์และกิจกรรมของกลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส ซึ่งเป็นเอนไซม์ต้านออกซิเดชันภายในเซลล์ นอกจากนี้เอนไซม์กลูโคสออกซิเดสและคาตาเลสมีหน้าที่ในการกำจัดออกซิเจนและป้องกันการสะสมของไฮโดรเปอร์ออกไซด์หรือไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ตามลำดับ (Rajalakshmi and Narasimhon, 1995)

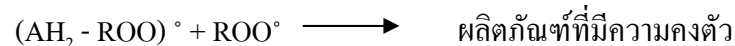
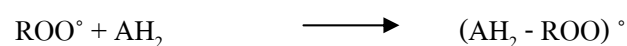
3.2.2 กลไกการทำงานของสารต้านออกซิเดชัน มีหลายกลไก ได้แก่

3.2.2.1 การกำจัดอนุมูลอิสระ (radical scavenger) โดยการให้อะตอมไฮโดรเจนหรืออิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งอัตราการเข้าทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระเร็วกว่าของสารตั้งต้นชนิดอื่นรวมทั้งไขมันและโปรตีน ทำให้ปฏิกิริยาออกซิเดชันไม่ดำเนินต่อไป (Rajalakshmi and Narasimhon, 1995)

การให้ไฮโดรเจน (hydrogen donor)



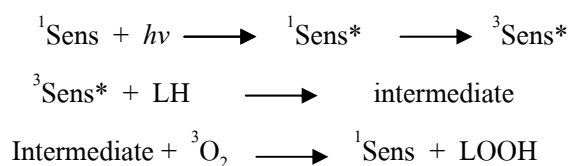
การให้อิเล็กตรอน (electron donor)



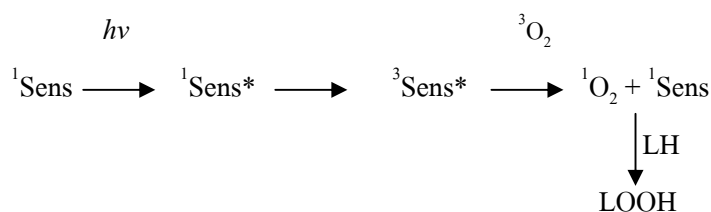
3.2.2.2 การสลายสารเปอร์ออกไซด์ (peroxide decomposer) สารประกอบฟีนอลิกบางชนิด เอมีน ไคโรไฮโดรฟิโอนิก และกรดไฮโดรฟิโอนิก ทำหน้าที่โดยการสลายลิปิดเปอร์ออกไซด์ให้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่มีความคงตัว เช่น แอลกอฮอล์ คีโตน และแอลดีไฮด์ (Namiki, 1990)

3.2.2.3 การจับออกซิเจน (singlet oxygen quencher) photo-oxidation เป็นการเกิดออกซิเดชันของไขมัน โดยมีแสง และมี sensitizer เป็นตัวเร่ง เนื่องจากในสภาวะปกติกรดไขมันและออกซิเจนอยู่ต่างระดับชั้นพลังงานกัน โดยกรดไขมันอยู่ที่ singlet state ในขณะที่ออกซิเจนจะอยู่ที่ triplet state โดยปฏิกิริยาเกิดขึ้นได้ 2 แบบ (Gordon, 2001) คือ

แบบที่ 1 เกิดจากการที่ sensitizer ($^1\text{Sens}$) ที่อยู่ในชั้น singlet state ได้รับการกระตุ้นจากแสงให้เปลี่ยนไปอยู่ในรูป excited state ($^1\text{Sens}^*$) และเปลี่ยนไปอยู่ในชั้นพลังงาน triplet state ($^3\text{Sens}^*$) ซึ่งเหนี่ยวนำให้กรดไขมันไม่อิ่มตัวเกิดเป็นอนุมูลอิสระโดยการส่งผ่านอะตอมไฮโดรเจนหรืออิเล็กตรอนซึ่งอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นสามารถทำปฏิกิริยากับออกซิเจนในชั้นพลังงาน triplet state ($^3\text{O}_2$) ได้โดยตรงกลายเป็นสารประกอบไฮโดรเปอร์ออกไซด์



แบบที่ 2 เกิดจากการที่ sensitizer ที่ได้รับการกระตุ้นจากแสงให้อยู่ในรูป excited state ในชั้นพลังงาน triplet state ($^3\text{Sens}^*$) แล้วถ่ายทอดพลังงานให้แก่ ออกซิเจนในชั้นพลังงาน triplet state ($^3\text{O}_2$) ทำให้ออกซิเจนเปลี่ยนไปอยู่ในชั้นพลังงาน singlet ($^1\text{O}_2$) ซึ่งสามารถทำปฏิกิริยากับกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่อยู่ในชั้นนี้ได้โดยตรง



แคโรทีน แคโรทีนอยด์ และแอลฟาโทโคฟีรอล สามารถยับยั้งการเกิด singlet oxygen ได้ (Jadhav *et al.*, 1995) ซึ่งเบต้าแคโรทีนนั้นสามารถยับยั้งการเกิดลิปิดออกซิเดชัน โดยเอมไซม์แซนทีนออกซิเดสได้ โดยเข้าไปยับยั้งไม่ให้เกิด singlet oxygen (Rajalakshmi and Narasimhon, 1995)

3.2.2.4 การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (enzyme inhibitor) เอนไซม์ไลโปออกซิจีเนสเป็นเอนไซม์ที่พบในเครื่องเทศ แป้งสาลี และพืชผัก ซึ่งสามารถกระตุ้นการเกิดออกซิเดชันของไขมันไม่อิ่มตัวและไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (Jadhav *et al.*, 1995) ในโมเลกุลของเอนไซม์ประกอบด้วยเหล็ก 1 อะตอมที่อยู่ในรูปของ Fe(II) ซึ่งถูกออกซิไดซ์ให้อยู่ในรูปของ Fe(III) ได้โดยกรดไขมันไฮโดรเปอร์ออกไซด์หรือไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เกิดเป็น LOX-Fe^{3+} จากนั้นสารตั้งต้นที่เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวเข้ามาจับ ทำให้ไฮโดรเจนจากหมู่ methylene ถูกดึงออกไปและ Fe(III) ของเอนไซม์ถูกรีดิวซ์กลับมาในรูป Fe(II) เกิดเป็น enzyme-alkyl radical complex ($\text{LOX-Fe}^{2+}\text{-L}^{\cdot}$) ที่สามารถถูกออกซิไดซ์ได้โดยออกซิเจนให้อยู่ในรูปของ $\text{LOX-Fe}^{2+}\text{-LOO}^{\cdot}$ เกิดเป็นวัฏจักรต่อไป (Gordon, 2001) สารต้านออกซิเดชันบางชนิดสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลโปออกซิจีเนสแบบแข่งขันในการทำปฏิกิริยากับสารตั้งต้น คือ กรดไขมันไฮโดรเปอร์ออกไซด์หรือไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Li and Xie, 2000) เช่น บีเอชเอ บีเอชที ทีบีเอชคิว โทโคฟีรอล โพรพิลแกดเลท และฟลาโวนอยด์ (Chen *et al.*, 1992)

3.2.2.5 การเสริมฤทธิ์กัน

ก. การจับออกซิเจนและการรีดิวซ์ โดยสารกลุ่มนี้ทำหน้าที่ให้ไฮโดรเจนกับอนุมูลฟีนอกซิล โดยการเปลี่ยนรูปสารต้านออกซิเดชันปฏุนภูมิหรือเข้าไปจับออกซิเจนอิสระ โดยกรดแอสคอร์บิกและแอสคอร์บิลปาลมิเตทสามารถใช้เสริมฤทธิ์ร่วมกับสารต้านออกซิเดชันปฏุนภูมิได้ โดยเฉพาะกับโทโคฟีรอล (Rajalakshmi and Narasimhon, 1995)

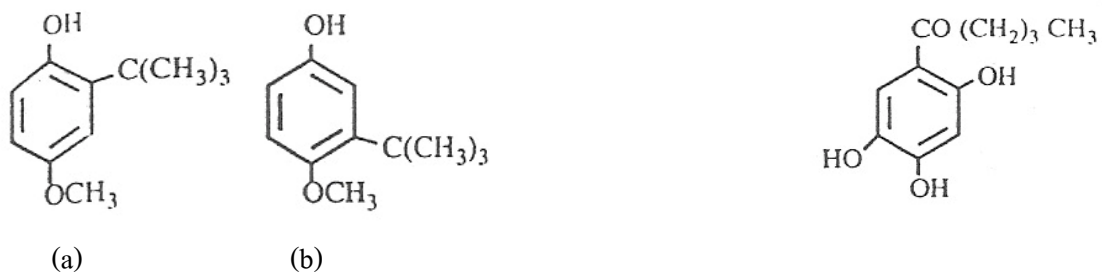
ข. การจับโลหะ ตัวจับโลหะอยู่ในรูปของคอมเพล็กซ์ที่คงตัว ทำหน้าที่จับกับโลหะโปรออกซิแดนซ์ เช่น เหล็กและทองแดง ซึ่งให้ผลสูงเมื่อใช้ร่วมกับสารต้านออกซิเดชันปฏุนภูมิและตัวจับออกซิเจน ทำให้อาหารมีความคงตัว (Rajalakshmi and Narasimhon, 1995)

3.2.3 แหล่งของสารต้านออกซิเดชัน

3.2.3.1 สารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ (synthetic antioxidant)

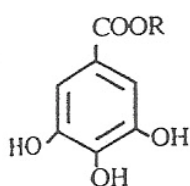
เป็นสารต้านออกซิเดชันที่ได้จากการสังเคราะห์ ส่วนใหญ่ออกแบบให้มีโมเลกุลขนาดเล็ก และใช้โครงสร้างของสารต้านออกซิเดชันที่มีในธรรมชาติมาดัดแปลงให้มีคุณสมบัติทางเคมี และมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันดีขึ้น (โอภา วัชรคุปต์ และคณะ, 2550)

สารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์สามารถแบ่งเป็นกลุ่มใหญ่ๆ ได้ 2 กลุ่ม (โอภา วัชรกุลป์ต์ และคณะ, 2550) คือ กลุ่มสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ที่พัฒนาจากสารต้าน ออกซิเดชันธรรมชาติและสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ที่พัฒนาจากสมุนไพร เช่น trolox เป็นสาร ต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ที่พัฒนามาจากวิตามินอีซึ่งไม่สามารถละลายน้ำได้ให้มีความสามารถในการ ละลายน้ำได้ ทำให้ trolox ออกฤทธิ์ได้เร็วกว่าวิตามินอี ส่วนสาร α -pyridoin เป็นสารต้าน ออกซิเดชันสังเคราะห์ที่พัฒนามาจากวิตามินซีให้ฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันซึ่งทดสอบด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity สูงกว่าวิตามินซีต้นแบบ (Hatanaka *et al.*, 2005) เป็นต้น นอกจากนี้สารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ส่วนใหญ่เป็นกลุ่มอนุพันธ์ของฟินอล ประกอบด้วย บีเอชที บีเอชเอ ทีบีเอชคิว โพรพิล ออกทิล และโคเคซิลไกลเลท สารต้านออกซิเดชันกลุ่ม polymeric เช่น Anoxomer, Ionox-330 และ Ionox-100 โดยปริมาณที่อนุญาตให้ใช้โดยทั่วไปของ บีเอชเอ บีเอชทีหรือทีบีเอชคิวเท่ากับ 100-200 ppm ส่วนไกลเลทเท่ากับ 200-500 ppm สำหรับทำ ให้อิมัลชันและน้ำมันคงตัว (Rajalakshmi and Narasimhon, 1995) สารกลุ่มนี้นิยมใช้มากในโรงงาน อุตสาหกรรมอาหารเพื่อใช้สำหรับยืดอายุการเก็บรักษา (Karpinska *et al.*, 2000) ตัวอย่างสารต้าน ออกซิเดชันสังเคราะห์ดังแสดงใน Figure 4



butylated hydroxyanisole (a) 3-BHA. (b) 2-BHA.

trihydroxy butyrophenone

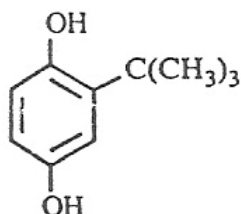


R: C₃H₇ propyl gallate

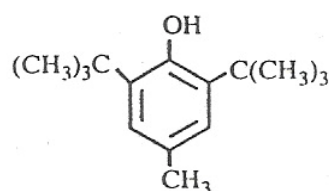
C₈H₁₇ octyl gallate

C₁₂H₂₅ dodecyl gallate

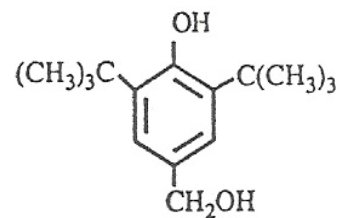
gallates



tertiary butyl hydroquinone



butylated hydroxytoluene



Ionox-100

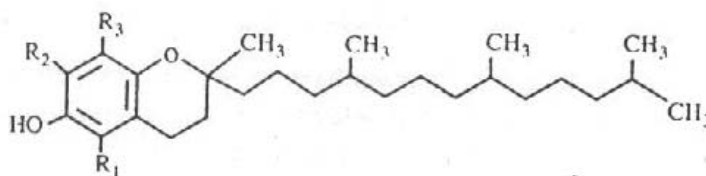
Figure 4. Synthetic antioxidants

ที่มา : Rajalakshmi และ Narasimhon (1995)

3.2.3.2 สารต้านออกซิเดชันธรรมชาติ (natural antioxidant)

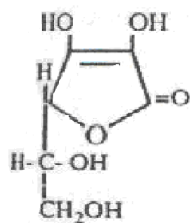
ปัจจุบันสารต้านออกซิเดชันในกลุ่มนี้ได้รับความนิยมมากกว่าสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์เนื่องจากสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์มีพิษต่อร่างกาย โดยพบว่าสารกลุ่มนี้เป็นสารก่อมะเร็งเมื่อได้รับในระยะเวลาอันยาวนาน (Karpinska *et al.*, 2000) ตัวอย่างสารต้านออกซิเดชันธรรมชาติ เช่น โทโคฟีรอล กรดแอสคอร์บิก กรดซิตริก กรดไฟติก กรดทาร์ทาริก และฟอสฟาติลโคลีน เป็นต้น ดังแสดงใน Figure 5 (Rajalakshmi and Narasimhon, 1995) นอกจากนี้

สารต้านออกซิเดชันธรรมชาติที่พบส่วนใหญ่นั้นเป็นสารประกอบฟีนอลิกที่พบในพืช เช่น สารประกอบฟลาโวนอยด์ กรดซินนามิก และคูมาริน เป็นต้น (Shahidi and Wanasndara, 1992)

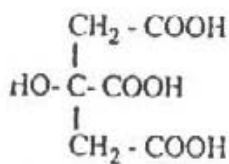


R_1	R_2	R_3	
CH_3	CH_3	CH_3	α -tocopherol
CH_3	H	CH_3	β -tocopherol
H	CH_3	CH_3	γ -tocopherol
H	H	CH_3	δ -tocopherol

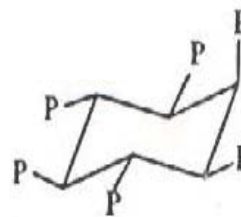
tocopherols



ascorbic acid

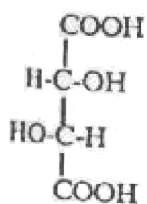


citric acid

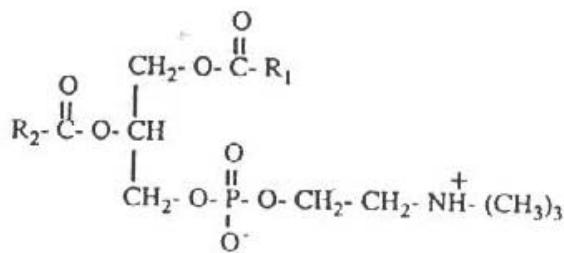


P: H_2PO_4

phytic acid



tartratic acid



phosphatidyl choline

Figure 5. Natural antioxidants from food sources

ที่มา : Rajalakshmi และ Narasimhon (1995)

4. สารต้านออกซิเดชันจากพืชในกลุ่มพืชผัก (legumes)

พืชในกลุ่มพืชผักมีสารประกอบฟีนอลิกเป็นองค์ประกอบสูง ซึ่งสารประกอบเหล่านี้เป็นสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (De Pascual Teresa *et al.*, 2000; Duenas *et al.*, 2004) สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารเคมีในพืชที่มีความสามารถในการป้องกันปฏิกิริยาออกซิเดชัน ความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิกอยู่ในรูปของการกำจัดอนุมูลอิสระ การให้ไฮโดรเจนอะตอม การกำจัดโลหะและการกำจัดออกซิเจนที่ขาดอิเล็กตรอน (พิชญ์อร ไหมสุทธิสกุล, 2549) สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารประกอบที่สูตรโครงสร้างมี OH group บน aromatic ring ตั้งแต่ 1 กลุ่มขึ้นไป โดย Saffan (2008) รายงานสารประกอบฟีนอลิกที่พบในถั่วลิสง (peanut) ได้แก่ vanillic acid, *p*-coumaric, ferulic acid, naringinin-7-*O*-glucoside, isoorhamnetin-3-*O*-rutinoside, quercetin-3-gentiobiside, quercetin-3-glucoside, quercetin-3-galactoside, quercetin-3-*O*-glucosyl, galactoside และ 1,3,6 tri-*O*-gallayl- β -glucopyranose นอกจากนี้ Cai และคณะ (2003) ศึกษาชนิดของสารประกอบฟีนอลิกในถั่วพุ่ม (cowpea) 17 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ MS Silver, AR 91-135, AR 91-245, AR 95-105, AR 95-104, AR 95-552, CT Pinkeye, Early Scarlet, Arkansas, Blackeye, AR 91-333, Excel AR 91-285, AR 92-574, Early Acre, Twxas Pinkeye, Black Crowder, และ Louisiana Purplehull โดยใช้ High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ก่อนการย่อย (hydrolysis) ด้วยเมทานอลและหลังการย่อยด้วยเมทานอล พบว่า protocatechuic acid เป็นสารประกอบฟีนอลิกหลักที่พบในถั่วทั้ง 17 สายพันธุ์ โดยหลังการย่อยถั่วทั้ง 17 สายพันธุ์ มีปริมาณ protocatechuic acid เพิ่มขึ้นจากช่วง 0.2 ถึง 3.6 เป็นช่วง 9.3 ถึง 92.7 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมของแป้ง (mg/100 g of flour) เมื่อเทียบกับก่อนการถูกย่อย ส่วนกรดฟีนอลิกอีก 6 ชนิดที่พบในถั่วทั้ง 17 สายพันธุ์ ได้แก่ *p*-hydroxybenzoic, caffeic acid, *p*-coumaric acid, ferulic acid, 2,4-dimethoxybenzoic acid และ cinnamic acid ในขณะที่ส่วนต่างๆ ที่อยู่ในเมล็ดพืช legumes ได้แก่ ใบแรกของต้นอ่อน เปลือกหุ้มเมล็ด และต้นอ่อนที่อยู่ในเมล็ด มีสารประกอบฟีนอลิกเฉลี่ยร้อยละ 89, 10 และ 1 ของน้ำหนักเมล็ดรวม ตามลำดับ โดยใบแรกของต้นอ่อนพบสารที่สำคัญคือ โพรตีนและคาร์โบไฮเดรต ส่วนเปลือกหุ้มเมล็ดซึ่งเป็นส่วนที่ป้องกันการเกิดใบแรกของต้นอ่อนพบสารประกอบฟีนอลิกเข้มข้นสูงที่สุด (Duenas *et al.*, 2004) โดย Duenas และคณะ (2006) ศึกษาสารสกัดในชั้นเมทานอลจากใบแรกของต้นอ่อนและเปลือกหุ้มเมล็ดของถั่วแขก (lentil bean) 2 สายพันธุ์ คือ Pardina และ Castellana (spain) และถั่วลันเตา (pea) 2 สายพันธุ์ คือ ZP-849 และ Fidelia พบว่าถั่วแขกทั้ง 2 ชนิดแสดงกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน โดยพบว่าเปลือกหุ้มเมล็ดแสดงกิจกรรมการต้านออกซิเดชันที่สูง คือ มีค่าความเข้มข้นที่ยับยั้ง

ปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ร้อยละ 50 (EC_{50}) อยู่ระหว่าง 0.05 และ 0.07 มิลลิกรัมของตัวอย่าง ในขณะที่ไบแรกของต้นอ่อนมีค่าอยู่ระหว่าง 21 และ 29 มิลลิกรัมของตัวอย่าง ซึ่งกิจกรรมการต้านออกซิเดชันในเปลือกหุ้มเมล็ดของถั่วทั้ง 2 ชนิดนั้นมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างสายพันธุ์ ($P < 0.05$) โดยถั่ว *Pardina* แสดงกิจกรรมการต้านออกซิเดชันที่ดีกว่าถั่ว *Castellana* ส่วนในไบแรกของต้นอ่อนแสดงกิจกรรมการต้านออกซิเดชันเพียงเล็กน้อย โดยกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกที่พบในไบแรกของต้นอ่อนถั่วแขก 2 สายพันธุ์ ได้แก่ hydroxybenzoic acid, free hydroxycinnamic acids, combined hydroxycinnamic acid และ catechins ส่วนกลุ่มของสารประกอบฟีนอลิกที่พบในเปลือกหุ้มเมล็ด ได้แก่ hydroxybenzoic acid, free hydroxycinnamic acids, catechins, glycosides of flavones, glycosides of flavonols, dimer procyanidins, trimer procyanidins, procyanidin tetramers, galloylated procyanidins, prodelphinidins และ glycoside of *trans-resveratrol* (Duenas, 2003) ส่วนถั่วลิ้นเต้าทั้ง 2 สายพันธุ์ พบว่ามีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันเช่นกัน โดยในเปลือกหุ้มเมล็ดมีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันที่สูงซึ่งมีค่า EC_{50} อยู่ระหว่าง 0.11 และ 0.14 มิลลิกรัมของตัวอย่าง สูงกว่าไบแรกของต้นอ่อนซึ่งมีค่า EC_{50} อยู่ระหว่าง 8 และ 28 มิลลิกรัมของตัวอย่าง โดยกิจกรรมการต้านออกซิเดชันในเปลือกหุ้มเมล็ดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ในระหว่างพันธุ์ ส่วนในไบแรกของต้นอ่อนแสดงกิจกรรมการต้านออกซิเดชันที่ต่างกัน โดยพันธุ์ *Fidelia* แสดงกิจกรรมการต้านออกซิเดชันที่สูงกว่าพันธุ์ *ZP-849* โดยกลุ่มของสารประกอบฟีนอลิกที่พบในถั่วลิ้นเต้า 2 สายพันธุ์ในไบแรกของต้นอ่อน ได้แก่ glycoside tetrahydroxydihydrochalcone, free hydroxycinnamic acids, combined hydroxycinnamic acid, gallic catechins, glycosides of flavones, glycosides of flavonol และ hydroxybenzoic acid ส่วนกลุ่มของสารประกอบฟีนอลิกที่พบในเปลือกหุ้มเมล็ด ได้แก่ hydroxybenzoic acid, free hydroxycinnamic acids, combined hydroxycinnamic acid, catechins, gallic catechins, dimer prodelphinidins, glycosides of flavones, glycosides of flavonol, glycoside tetrahydroxydihydrochalcone และ glycoside of *trans-resveratrol* (Duenas *et al.*, 2004) นอกจากนี้ Ratanamahasukul (2000) ศึกษากิจกรรมการต้านออกซิเดชันจากเมล็ดถั่ว 19 สายพันธุ์ โดยใช้ระบบที่ประกอบด้วยเบต้าแคโรทีนและกรดลิโนเลอิก พบว่าเมล็ดกระถินและเมล็ดถั่วดำ มีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันสูงที่สุด โดยกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากเมล็ดกระถินและเมล็ดถั่วดำเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณของสารสกัดเพิ่มขึ้น สารสกัดจากเมล็ดกระถินและเมล็ดถั่วดำสามารถเสริมฤทธิ์กับแอลฟาโทโคฟีรอลส่งผลยับยั้งการเกิดออกซิเดชันในระบบที่ประกอบด้วยเบตาแคโรทีนและกรดลิโนเลอิกได้ดีกว่าการใช้แอลฟาโทโคฟีรอลหรือสารสกัดเพียงอย่างเดียว แต่ไม่พบการเสริมฤทธิ์ระหว่างกรดซิตริกและกรดแอสคอร์บิกกับสารสกัดจากเมล็ด

กระถินและเมล็ดถั่วดำ สารสกัดจากเมล็ดกระถินและเมล็ดถั่วดำมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระโดยเป็นตัวให้ไฮโดรเจนและอิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระส่งผลยับยั้งปฏิกิริยาถูกโซ่ของการเกิดออกซิเดชันของไขมันได้ โดยความสามารถในการให้ไฮโดรเจนและอิเล็กตรอนขึ้นอยู่กับปริมาณที่ใช้ นอกจากนี้ยังสามารถจับกับไอออนของเหล็กและทองแดงรวมทั้งสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลพอกซีจีเนส สารต้านออกซิเดชันที่พบเป็นสารจำพวกสารประกอบฟีนอลิกที่ไม่มีไฮดรอกซิลอิสระอยู่ที่ตำแหน่งออโรหรือพาราและมีคุณสมบัติเป็นสารรีดิวซ์ นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดจากเมล็ดกระถินและเมล็ดถั่วดำสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันในเนื้อหมูบดสุกได้เมื่อใช้ร่วมกับกรดซิตริกหรือกรดแอสคอร์บิก

Duh และคณะ (1997) ศึกษากิจกรรมการต้านออกซิเดชันของถั่วเขียว (mung bean) (*Phaseolus aureus*) พบว่าสารสกัดในชั้นเมทานอลของเปลือกถั่วเขียว (mung bean hulls) มีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันในระดับสูง โดยสารสกัดที่ความเข้มข้น 100 ppm มีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันสูงกว่าแอลฟาโทโคฟีรอลหรือบีเอชทีที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน และพบว่ามีสารประกอบฟลาโวนอยด์ซึ่งสามารถจับโลหะและกำจัดอนุมูลอิสระได้ (Duh *et al.*, 1999)

Sandoval และคณะ (1997) รายงานว่า Phytolens เป็นสารประกอบโพลีฟีนอลิกจากพืชในกลุ่ม legume ซึ่งมีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันสูงเมื่อเปรียบเทียบกับกรดแอสคอร์บิก นอกจากนี้ยังพบว่าถั่วฟาบ่า (faba beans) และถั่วลันเตา (pea) มีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันที่สูงด้วยเช่นกัน ทั้งนี้เนื่องจากมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูง โดยเฉพาะสารประกอบฟลาโวนอยด์ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลัก (Amarowicz *et al.*, 2000; Cardador-Martinez *et al.*, 2002; Nilsson *et al.*, 2004; Shahidi *et al.*, 2001) โดย Troszynska และ Ciska (2002) พบว่าในถั่วลันเตาทั้งชนิดที่มีสีและไม่มีสี พบกรดฟีนอลิก ได้แก่ protocatechuic, gentisic, vanillic, caffeic, syringic, *p*-coumaric, ferulic และ *o*-coumaric acid โดยในถั่วทั้ง 2 ชนิด มีปริมาณ protocatechuic acid มากที่สุด ทั้งนี้ Carbonaro และคณะ (1996) พบแทนนินในถั่วฟาบ่า ซึ่งมีสมบัติในการจับอนุมูลไฮดรอกซิล ดังนั้นโพลีฟีนอลิกตัวอื่นๆ เช่น แทนนิน จึงมีบทบาทในการเป็นสารต้านออกซิเดชันด้วย นอกจากนี้ยังพบว่าแป้งจากถั่วฟาบ่ามีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันแม้ว่าแป้งถูกผ่านการให้ความร้อนโดยการนึ่งแล้วก็ตาม (Berghofer *et al.*, 1998)

Tsuda และคณะ (1994a) ศึกษากิจกรรมการต้านออกซิเดชันของเมล็ดถั่วขาว (white bean seed) เมล็ดถั่วแดง (red bean seed) และเมล็ดถั่วดำ (black bean seed) พบว่าเยื่อหุ้มเมล็ดและต้นอ่อนของถั่วขาวหลายสายพันธุ์และถั่วดำไม่มีกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน ในขณะที่ต้นอ่อนของถั่วแดงมีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันน้อยที่สุด ส่วนเยื่อหุ้มเมล็ดของถั่วแดงและถั่วดำมีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันที่ดี นอกจากนี้เมื่อสกัดเยื่อหุ้มเมล็ดของถั่วแดงและถั่วดำโดยใช้

เอทานอลที่มีความเข้มข้นร้อยละ 80 ร่วมกับกรดไตรฟลูออโรอะซิติกที่มีความเข้มข้นร้อยละ 0.5 พบว่ามีสารประกอบแอนโทไซยานินที่สำคัญ 3 ชนิด คือ cyanidin-3-O-β-D-glucoside (C3G) และ pelargonidin-3-O-β-D-glucoside ในถั่วแดง ส่วนสารประกอบ delphinidin-3-O-β-D-glucoside พบได้ในถั่วดำเท่านั้น ในขณะที่ Takeoka และคณะ (1997) พบว่าในถั่วดำมีสารประกอบแอนโทไซยานินที่สำคัญ คือ delphinidin-3-O-β-D-glucoside, petunidin-O-β-D-glucoside และ malvidin-3-O-β-D-glucoside ในปริมาณร้อยละ 56, 26 และ 18 ตามลำดับ

Tsuda และคณะ (1993a) ศึกษากิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสารสกัดในชั้นเมทานอลจากเมล็ดของถั่วที่สามารถรับประทานได้จำนวน 35 ชนิด พบว่าถั่วคินี่ (kidney bean) ถั่วแคว (guar) และเมล็ดมะขาม (tamarind) มีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันที่สูงเมื่อทดสอบในระบบลิโนเลอิก-เอทานอล-ฟอสเฟต ซึ่งมีพีเอชเท่ากับ 7 ในขณะที่ถั่วอะซูกิ (azuki) ถั่วดำ (black soybean) ถั่วกระด้าง (cowpea) ถั่วแขก (lentil) และถั่วฟาบ่า (faba bean) มีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันที่ต่ำกว่าเมื่อทำการทดสอบที่ระดับ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้พบว่าในสารสกัดจากเมล็ดถั่วชนิดต่างๆ มีปริมาณโทโคฟีรอลอยู่ระหว่าง 13 ถึง 152 ppm โดยถั่วที่มีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันสูงที่สุดนั้นพบว่ามีปริมาณโทโคฟีรอลสูงที่สุดด้วยเช่นกัน แต่อย่างไรก็ตามกิจกรรมการต้านออกซิเดชันที่ตรวจพบอาจไม่ได้เป็นผลจากปริมาณโทโคฟีรอลที่มีในถั่วเพียงอย่างเดียว เนื่องจากสีที่เข้มของถั่วที่นำมาทดสอบนั้นบ่งบอกถึงการมีสารประกอบฟลาโวนอยด์เป็นองค์ประกอบในปริมาณที่มากด้วยเช่นกัน

Onyeneho (1990) พบว่าสารสกัดจากเปลือกถั่วเนวี (navy bean hulls) เปลือกถั่วกานานโซ (garbanzo bean hulls) และเปลือกถั่วพินโต (pinto bean hulls) ที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีแช่เยือกแข็ง (freeze dry) สามารถยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของน้ำมันถั่วเหลืองได้ โดยสารสกัดจากเปลือกถั่วเนวีให้ผลการยับยั้งดีที่สุด ส่วนสารสกัดจากเปลือกถั่วพินโตให้ผลการยับยั้งได้ดีรองลงมา และสารสกัดจากเปลือกถั่วกานานโซให้ผลการยับยั้งได้น้อยที่สุด โดยพบว่าสารสกัดจากเปลือกถั่วเนวีมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 191 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักเปลือก 100 กรัม เมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบพบว่ามี protocatechuic acid ร้อยละ 49 ของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ในขณะที่พบ syringic และ salicylic acid ในปริมาณร้อยละ 12 เท่ากัน นอกจากนี้ยังพบสารที่มีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันตัวอื่นๆ ได้แก่ *p*-coumaric acid, *p*-hydroxybenzoic acid, caffeic acid, gentisic acid, gallic acid และ vanillic acid

Karchesy และ Hemingway (1986) พบว่าถั่วลิสง (peanut) ถั่วลันเตา (pea) และถั่วที่กินได้อื่นๆ (edible bean) มีสารต้านออกซิเดชันที่เป็นองค์ประกอบหลัก คือ โพลีฟีนอลิกและกรดฟีนอลิก โดยพบว่าผิวของถั่วลิสงแดง (red peanut) มีโปรไซยานิดินร้อยละ 7-9 โดยร้อยละ 50

เป็นฟีนอลิกโพลิโกลเมอรัที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ นอกจากนี้พบว่าสารสกัดเปลือกถั่วลิสง (peanut hull) ที่สกัดด้วยเมทานอล เอทานอล และอะซีโตน แสดงกิจกรรมการต้านออกซิเดชันดีกว่า สารสกัดที่สกัดด้วยคลอโรฟอร์มและเฮกเซน (Duh *et al.*, 1992) โดยการสกัดด้วยเมทานอล พบว่ามีลูทีโอลิน (luteolin) เป็นสารที่มีฤทธิ์ด้านการเกิดออกซิเดชันที่เป็นองค์ประกอบหลัก ในขณะที่ Yen และคณะ (1993) ศึกษาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากเปลือกถั่วลิสง พบว่าที่ระดับเข้มข้นของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดร้อยละ 1.67 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์ด้านการเกิดออกซิเดชันของกรดลิโนเลอิกได้ถึงร้อยละ 93-95

Ariga และ Hamano (1990) รายงานว่าโปรไซยานิดิน ปี 1 และ ปี 3 จากถั่วอะซูกิ (azuki bean) มีกิจกรรมในการกำจัดอนุมูลอิสระ โดยโปรไซยานิดินสามารถจับอนุมูลอิสระได้ 8 ตัว โดยวงแหวนเอและบีแต่ละวงของโปรไซยานิดินนั้นสามารถจับกับอนุมูลอิสระได้วงละ 4 ตัว ดังนั้นโปรไซยานิดินที่พบในถั่วอื่นๆ หรือเมล็ดถั่วก็สามารถกำจัดอนุมูลอิสระได้ในทำนองเดียวกัน นอกจากนี้ Tsuda และคณะ (1993b) รายงานว่าสารสกัดเมทานอลของถั่วพี (pea bean) มีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันที่สูง และเมื่อนำถั่วพีมาสกัดร่วมกับบิวทานอลและน้ำ พบว่ามีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันที่สูงกว่า โดยพบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 0.31 มิลลิกรัมต่อกรัม ซึ่งสารสกัดที่ได้สามารถออกฤทธิ์เป็นสารเสริมฤทธิ์กันกับแอลฟาโทโคฟีรอลในการกำจัดอนุมูลอิสระได้

5. ผลของการแปรรูปและการเก็บรักษาต่อกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน

5.1 ผลของการเก็บรักษา

5.1.1 การเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่แข็ง

Patthamakanokporn และคณะ (2008) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของผลไม้ต่างๆ ได้แก่ ฝรั่ง (*Psidium guajava*) มะเกี๋ย (*Clethocalyx nervosum* var *paniala*) และมะพลอด (*Elaeagnus iatifolia*, Linn) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือน พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน oxygen radical absorbance capacity ของฝรั่งและมะพลอดลดลงระหว่างการเก็บรักษาที่ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 สัปดาห์ (ร้อยละ 23 และ 62 ตามลำดับ) ในขณะที่มะเกี๋ยไม่มีการเปลี่ยนแปลง โดยฝรั่งมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาเป็นเวลา 3 เดือน (ร้อยละ 67) ในขณะที่ Hunter และ Fletcher (2002) รายงานการศึกษาปริมาณของกรดแอสคอร์บิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของถั่วลิสงและผักขมซึ่งเก็บรักษาที่ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 21 วัน พบว่ากิจกรรมการต้านออกซิเดชันไม่มีการเปลี่ยนแปลง นอกจากนี้ปริมาณของแอนโทไซยานิน

ในบลูเบอร์รี่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่แข็ง (-20 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 3 เดือน (Lohachoompol *et al.*, 2004)

5.1.2 การเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น

Patthamakanokporn และคณะ (2008) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของผลไม้ต่างๆ ได้แก่ ฝรั่ง (*Psidium guajava*) มะเกี๋ยง (*Clethocalyx nervosum* var *paniala*) และมะพลอด (*Elaeagnus iatifolia*, Linn) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน พบว่าการเก็บรักษาที่ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน ทำให้กิจกรรมการต้านออกซิเดชัน oxygen radical absorbance capacity ของมะเกี๋ยงและมะพลอดลดลงร้อยละ 14 และ 70 ตามลำดับ แต่ฝรั่งมีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นร้อยละ 120 ถึง 190 ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา สอดคล้องกับการทดลองของ Gil-Izquierdo และคณะ (2001) พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสารประกอบฟีนอลิกแต่ละชนิดในหัวอาร์ติโชก (artichoke head) ระหว่างเก็บที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส มีปริมาณลดลง แต่การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2, 5 และ 7 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน ทำให้ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีปริมาณเพิ่มขึ้น โดยสารประกอบฟีนอลิกชนิด 1,5-dicaffeoylquinic acid และ 3,5-dicaffeoylquinic acid มีปริมาณลดลงระหว่างการเก็บรักษาในขณะที่สารประกอบฟีนอลิกชนิด chlorogenic acid, 1,4-dicaffeoylquinic acid และ 4,5-dicaffeoylquinic acid มีปริมาณเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ Mosel และ Herrmann (1974) พบว่าความเข้มข้นของ catechin, epicatechin และกรดฟีนอลิกในผลแอปเปิล Boskoop ลดลงระหว่างการเก็บรักษาด้วยวิธีการแช่เย็น ในขณะที่ Kolesnik และคณะ (1977) รายงานว่าความเข้มข้นของแอนโทไซยานินและฟลาโวนอยด์เพิ่มขึ้น ส่วนความเข้มข้นของ catechin และ leucoanthocyanin ลดลง ซึ่งบ่งชี้ถึงลักษณะความคงตัวที่แตกต่างกันของสารประกอบฟีนอลิกที่มีอยู่ในผลไม้ ทั้งนี้กระบวนการสังเคราะห์หรือสลายสารทางชีวภาพของผลไม้เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสารแอนโทไซยานินและฟลาโวนอยด์แต่ละชนิด โดยสามารถเกิดได้ตลอดเวลาในสภาวะที่มีอากาศ แม้ว่าจะเก็บในสภาวะที่อุณหภูมิต่ำและในที่มืดก็ตาม ซึ่งพบว่าการเก็บผลไม้ในสภาวะที่มีการเติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ยับยั้งการสร้างของแอนโทไซยานินได้ (Holcroft, 1998; Holcroft and Kader 1999) แต่อย่างไรก็ตาม Holcroft (1998) พบว่าสารประกอบฟีนอลิก เช่น ellagic acid, catechin, quercetin และอนุพันธ์ของ kaempferol มีปริมาณเพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษาโดย การเติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร่วมระหว่างการเก็บรักษาไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของกระบวนการสร้างสารเหล่านี้ นอกจากนี้ Leja และคณะ (2001) พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของบร็อคโคลี่เพิ่มขึ้นระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3

และ 7 วัน ตามลำดับ เมื่อเทียบกับเริ่มต้น ส่วน Hunter และFletcher (2002) ศึกษาปริมาณของกรดแอสคอร์บิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของถั่วลันเตาและผักขมโดยนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 21 วัน พบว่าปริมาณของกรดแอสคอร์บิกในถั่วลันเตามีค่าลดลงเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ตลอดการเก็บรักษาเป็นเวลา 21 วัน ในขณะที่ผักขมไม่มีการเปลี่ยนแปลง โดยกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของถั่วลันเตาและผักขมลดลงเมื่อเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 21 วัน สอดคล้องกับงานวิจัยของ Polydera และคณะ (2004) พบว่าน้ำส้มมีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันลดลงระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 0, 5, 10 และ 15 องศาเซลเซียส เนื่องจากมีการสูญเสียกรดแอสคอร์บิก

5.1.3 การเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

Granito และคณะ (2008) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณโพลีฟีนอลและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของถั่วแขก (*Phaseolus vulgaris*) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 11 และที่ 50 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 11 และ 80 เป็นเวลา 150 วัน พบว่าปริมาณโพลีฟีนอลของถั่วแขกเพิ่มขึ้น ($P < 0.05$) ระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 90 วัน และลดลงเมื่อเก็บรักษานานกว่า 90 วัน โดยปริมาณโพลีฟีนอลของถั่วแขกที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 80 ลดลงมากที่สุดเมื่อเทียบกับสภาวะอื่น สอดคล้องกับการทดลองของ Srisuma และคณะ (1989) พบว่าปริมาณโพลีฟีนอลเพิ่มขึ้นระหว่างการเก็บรักษาถั่วแขกที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 85 นอกจากนี้ปริมาณฟีนอลิกอิสระของถั่วแขกเพิ่มขึ้นระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 (Garcia และคณะ, 1998) ส่วนกิจกรรมการต้านออกซิเดชันซึ่งทดสอบด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity ของถั่วแขกไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 11 เป็นเวลา 60 วัน แต่ลดลงเมื่อเก็บรักษานานกว่า 60 วัน โดยในวันที่ 150 กิจกรรมการต้านออกซิเดชันของถั่วแขกลดลงร้อยละ 71 ส่วนกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของถั่วแขกลดลงระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 11 และ 80 เป็นเวลา 150 วัน โดยในวันที่ 150 มีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันลดลงร้อยละ 74 และ 90 ตามลำดับ นอกจากนี้ Leja และคณะ (2001) พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของบร็อคโคลี่เพิ่มขึ้นระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 และ 7 วัน ตามลำดับ เมื่อเทียบกับเริ่มต้น แต่ Klimczak และคณะ (2007) รายงานว่าปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกในน้ำส้มทั้งที่อยู่ในรูปอิสระและคอนจูเกตเกิดการเปลี่ยนแปลงลดลงระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 18, 28 และ 38 องศาเซลเซียส ตลอดระยะเวลา 6 เดือน นอกจากนี้ Hunter และFletcher (2002)

พบว่าปริมาณของกรดแอสคอร์บิกในถั่วลิสงเตามีค่าลดลงเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน โดยไม่พบกรดแอสคอร์บิกในผักขมเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน นอกจากนี้กิจกรรมการต้านออกซิเดชันของถั่วลิสงเตาและผักขมลดลงเมื่อเก็บรักษาที่ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน สอดคล้องกับงานวิจัยของ Mansour และ Khalil (2000) ซึ่งศึกษาผลของการเก็บรักษาต่อกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกมันฝรั่ง เมล็ดฟีนูกรีก และขิง ในที่มีมืดและสว่าง ที่อุณหภูมิ 25 และ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 21 วัน พบว่ากิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสารสกัดทั้งหมดที่มีการเก็บรักษาในที่มืดไม่มีการเปลี่ยนแปลง ในขณะที่กิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกมันฝรั่ง เมล็ดฟีนูกรีก และขิงลดลงร้อยละ 12.1, 8.9 และ 2.4 ตามลำดับ เมื่อทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ในที่สว่าง นอกจากนี้ Rodriguez de Sotillo และคณะ (1994) พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของเปลือกมันฝรั่งลดลงหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน

5.2 ผลของการแปรรูป

5.2.1 ผลของความร้อน

Xu และ Chang (2008) ศึกษาผลของการให้ความร้อนโดยแช่ในน้ำเดือดต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของกลุ่มพืชผัก ได้แก่ ถั่วเขียว (green pea) ถั่วเหลือง (yellow pea) ถั่วลูกไก่ (chick pea) และถั่วแขก (lentil) พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของกลุ่มพืชผักลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มพืชผักที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน ในทำนองเดียวกัน Granito และคณะ (2008) รายงานว่าปริมาณโพลีฟีนอลและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของถั่วแขก (*Phaseolus vulgaris*) ลดลงเมื่อผ่านการให้ความร้อนด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส สอดคล้องกับการทดลองของ Siddhuraju และ Becker (2007) ซึ่งศึกษาสมบัติการต้านออกซิเดชันและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของถั่วพุ่ม (cowpea) 2 ชนิด คือ light brown seed (LB) และ Dark brown seed (DB) โดยใช้เมล็ดสดมาให้ความร้อนแบบแห้ง (dry heat) และให้ความร้อนโดยการนึ่ง (hydrothermal) แล้วนำมาสกัดด้วยอะซิโตนเข้มข้นร้อยละ 70 นำสารสกัดที่ได้ไปทำแห้งโดยวิธีแช่เยือกแข็ง (freeze-dry) พบว่าเมล็ดสดที่ไม่ได้ผ่านกระบวนการให้ความร้อนของถั่ว LB มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและแทนนินสูงกว่า DB ที่ความเข้มข้นของสารสกัด 800 ไมโครกรัม ส่วนในเมล็ดสดและเมล็ดที่ผ่านการให้ความร้อนแห้งมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์สูงกว่าเมล็ดที่ผ่านการให้ความร้อนโดยการนึ่ง ทั้งนี้สารสกัดของเมล็ดที่ผ่านการให้ความร้อนแห้งของถั่ว LB และ DB มีกิจกรรมการจับอนุมูลไฮดรอกซิลสูงที่สุด คือ ร้อยละ 83.6 และ 68.2 ตามลำดับ

ซึ่งการให้ความร้อนโดยการนึ่งทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันในเมล็ดถั่วแขกลดลงมากกว่าการให้ความร้อนแบบแห้ง โดยการให้ความร้อนทั้ง 2 แบบมีผลทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันลดน้อยลงกว่าถั่วแขกที่ไม่ผ่านกระบวนการให้ความร้อน ($P < 0.05$) นอกจากนี้ถั่วที่พบในเม็กซิโก 3 ชนิด ได้แก่ Flor de Maya, M38 Pinto Villa และ Baya Victoria พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกก่อนและหลังการให้ความร้อนโดยการใช้น้ำร้อนที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5, 7 และ 60 นาที ตามลำดับ ทำให้ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกลดลงร้อยละ 80 (Gusman *et al.* 2007) ในทำนองเดียวกัน Roy และคณะ (2007) รายงานการศึกษาผลของอุณหภูมิในกระบวนการแปรรูปต่อการเปลี่ยนแปลงสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของส่วนที่ละลายน้ำได้ในผัก 6 ชนิด คือ Spinach, Komatsuna, Haruna, Chingensai, White cabbage และ Chinese cabbage โดยการให้ความร้อนกับน้ำผักสกัดที่อุณหภูมิ 50, 75 และ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 และ 30 นาที พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของน้ำผักสกัดลดลงเมื่อใช้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงขึ้นและระยะเวลาที่นานขึ้น สอดคล้องกับงานวิจัยของ Larrauri และคณะ (1996) ซึ่งศึกษาผลของการให้ความร้อนแห้งกับเปลือกองุ่นแดงที่มีการคั้นน้ำออกที่อุณหภูมิ 100 และ 140 องศาเซลเซียส โดยพบว่ากิจกรรมการต้านออกซิเดชันลดลงร้อยละ 28 เมื่อให้ความร้อนแห้งที่ 100 องศาเซลเซียส และลดลงร้อยละ 50 ที่อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส ในขณะที่ Mansour และคณะ (2000) ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกมันฝรั่ง เมล็ดพืงกรีก และขิง พบว่ากิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากขิงไม่มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อต้มที่ช่วงอุณหภูมิ 40 ถึง 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ส่วนกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกมันฝรั่งและเมล็ดพืงกรีกไม่มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อต้มที่ช่วงอุณหภูมิ 40 ถึง 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที แต่กิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากขิงลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ที่อุณหภูมิสูงกว่า 60 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิสูงกว่า 80 องศาเซลเซียส สำหรับสารสกัดจากเปลือกมันฝรั่งและเมล็ดพืงกรีก โดยกิจกรรมการต้านออกซิเดชันลดลงร้อยละ 25, 15 และ 12 ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที สอดคล้องกับงานวิจัยของ Yen และ Duh (1993) ซึ่งศึกษากิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกถั่วลิสงด้วยเมทานอลในระบบอิมัลชันของกรดลิโนเลอิกโดยพบว่าเมื่อให้ความร้อนกับสารสกัดจากเปลือกถั่วลิสงที่อุณหภูมิ 185 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ก่อนนำไปทดสอบ ทำให้ความสามารถในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันลดลงร้อยละ 5 และเมื่อเติมสารสกัดจากเปลือกถั่วลิสงลงในระบบอิมัลชันของกรดลิโนเลอิก แล้วนำแล้วนำไปต้มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทำให้ความสามารถในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันลดลงร้อยละ 7 แต่เมื่อให้ความร้อน

กับสารสกัดจากถั่วพี (pea bean) ที่สกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง ไม่มีผลต่อกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสารสกัด (Tsuda *et al.*, 1993b)

5.2.2 ผลของพีเอช

Amolati และคณะ (2006) ศึกษาผลของพีเอชต่อกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของ caffeic acid พบว่ากิจกรรมการต้านออกซิเดชันของ caffeic acid ขึ้นกับพีเอชของสารละลาย บัฟเฟอร์ที่ใช้ โดยมีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันที่ต่ำในสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีพีเอชเป็นกรด (พีเอช 4) และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันเพิ่มขึ้นเมื่อพีเอชสูงขึ้นจากพีเอช 4-8 โดยกิจกรรมการต้านออกซิเดชันเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่าเมื่อพีเอชของสารละลายบัฟเฟอร์เท่ากับ 8 สอดคล้องกับงานวิจัยของ Ratanamahasukul (2000) ซึ่งศึกษากิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากเมล็ดถั่ว 19 สายพันธุ์ โดยใช้ระบบที่ประกอบด้วยเบต้าแคโรทีนและกรดลิโนเลอิก พบว่าสารสกัดจากเมล็ดกระถินและเมล็ดถั่วดำมีความคงตัวสูงที่พีเอชเป็นกลางและด่าง และมีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันที่สูงกว่าสารสกัดที่มีพีเอชเป็นกรด นอกจากนี้ Mansour และคณะ (2000) รายงานผลของพีเอชต่อกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกมันฝรั่ง เมล็ดพืงูกรีก และขิง พบว่ากิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสารสกัดทั้งหมดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ที่พีเอช 4 ถึง 9 โดยสารสกัดจากเมล็ดพืงูกรีกและขิงมีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันสูงสุดที่พีเอช 7 และลดลงในช่วงพีเอชที่เป็นด่าง ในขณะที่กิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกมันฝรั่งมีค่าสูงสุดในช่วงพีเอช 5 ถึง 6 และลดลงในช่วงพีเอชที่เป็นกลางและด่าง ในขณะที่ Yen และ Duh (1993) ศึกษาผลของสารสกัดในชั้นเมทานอลจากเปลือกถั่วลิสง (peanut hulls) โดยทำให้พีเอชของระบบเพิ่มขึ้นจากพีเอช 3 ถึง 9 พบว่าสารสกัดเมทานอลจากเปลือกถั่วลิสงที่พีเอช 7 มีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันเหลือร้อยละ 80 และสูญเสียกิจกรรมการต้านออกซิเดชันทั้งหมดที่พีเอช 9 นอกจากนี้ Tsuda และคณะ (1994a) รายงานว่าการศึกษากิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากเมล็ดถั่วแดง (red bean seed) และเมล็ดถั่วดำ (black bean seed) โดยใช้ระบบที่ประกอบด้วยกรดลิโนเลอิก-ไลโปโซม พบว่าที่พีเอช 7 สาร pelargonidin-3-O- β -D-glucoside ซึ่งเป็นสารประกอบแอนโทไซยานินที่พบในถั่วแดงและสาร delphinidin-3-O- β -D-glucoside ซึ่งเป็นสารประกอบแอนโทไซยานินที่พบในถั่วดำไม่มีกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน แต่มีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันสูงที่พีเอช 3 และ 5 เช่นเดียวกับ Igarashi และคณะ (1989) พบว่าสาร malvidin 3,5-diglucoside ซึ่งเป็นสารประกอบแอนโทไซยานินที่พบในผลองุ่นแสดงกิจกรรมการต้านออกซิเดชันในสภาวะที่พีเอชเป็นกรดได้ในทำนองเดียวกัน ในขณะที่สาร cyanidin-3-O- β -D-glucoside ซึ่งเป็นสารประกอบแอนโทไซยานินที่พบในถั่วแดงมีการต้านออกซิเดชันสูงที่พีเอช 7 (Tsuda *et al.*, 1994a)

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาลักษณะทางกายภาพ องค์ประกอบทางเคมี ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้ และตรวจสอบกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสะตอข้าวและสะตอดาน
2. เพื่อศึกษาผลของสภาวะและปัจจัยในการแปรรูปต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะเนื้อสัมผัส ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้ และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสะตอข้าวและสะตอดาน
3. เพื่อศึกษาความคงตัวของกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากสะตอข้าวและสะตอดาน ผลรวม และเปรียบเทียบประสิทธิภาพ กับสารต้านออกซิเดชันทางการค้า

บทที่ 2

วิธีการวิจัย

วัสดุและอุปกรณ์

1. วัสดุดิบ

สะตอข้าวและสะตอดานที่ซื้อจากผู้จำหน่ายในตลาดสด อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา ซึ่งมีแหล่งเพาะปลูกอยู่ในจังหวัดสงขลา โดยสะตอมีอายุหลังการติดดอก 70-80 วัน

2. วัสดุและสารเคมี

2.1 บรรจุภัณฑ์สำหรับบรรจุสะตอระหว่างการเก็บรักษา

ถุงพลาสติก polyethylene ขนาด 12 เซนติเมตร x 18 เซนติเมตร และความหนา 0.070 มิลลิเมตร สำหรับบรรจุสะตอข้าวและสะตอดานระหว่างการเก็บรักษา

2.2 สารเคมี

2.2.1 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

2.2.2 สารเคมีสำหรับสกัดสารสกัดจากสะตอ

- methanol
- hydrochloric acid
- hexane

2.2.3 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ

- protocatechuic acid
- iron (III) chloride hexahydrate
- Folin-Ciocalteu reagent
- sodium carbonate anhydrous
- 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)
- absolute ethanol
- 2,4,6-tri (2-pyridyl)-tri-azine (TPTZ)

- acetic acid
- sodium acetate
- iron (II) sulfate heptahydrate
- disodium hydrogen phosphate
- sodium dihydrogen phosphate
- sodium hydroxide
- nitroblue tetrazolium (NBT)
- phenazine methosulphate
- β -nicotinamide adenine dinucleotide reduce disodium salt hydrate (NADH)
- ABTS radical cation (ABTS⁺)
- potassium persulphate

3. อุปกรณ์

3.1 อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับวิเคราะห์ทางกายภาพและเคมี

- เวย์เนยคาลิปเปอร์
- เครื่องชั่งไฟฟ้า 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Sartorius รุ่น BS/BT ประเทศเยอรมนี
- เครื่องวัดค่าสี ยี่ห้อ Hunter Lab รุ่น Colour Quest XT ประเทศสหรัฐอเมริกา
- เครื่องทดสอบความแข็งแรงของวัสดุ ยี่ห้อ LLPYD รุ่น LR30K ประเทศอังกฤษ
- เครื่องวัดพีเอช ยี่ห้อ SCHOTT ประเทศอังกฤษ
- เครื่อง microplate reader ยี่ห้อ Biotek รุ่น Power Wave X ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.2 อุปกรณ์ในการเตรียมสารสกัดจากสะตอ

- เครื่องหมุนเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิ ยี่ห้อ Sorvall รุ่น RC-5B Plus ประเทศสหรัฐอเมริกา
- เครื่องชั่งไฟฟ้า 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Sartorius รุ่น BS/BT ประเทศเยอรมนี
- เครื่องระเหยแบบสุญญากาศ (vacuum rotary evaporator) ยี่ห้อ BUCHI รุ่น Vacuum Controller ประเทศสวิตเซอร์แลนด์
- อ่างควบคุมอุณหภูมิ ยี่ห้อ Memmert รุ่น WNB Memert ประเทศสหรัฐอเมริกา

วิธีดำเนินการ

1. ศึกษาลักษณะทางกายภาพและองค์ประกอบทางเคมีของสะตอ

1.1 ศึกษาลักษณะทางกายภาพโดยตรวจสอบดังนี้

- วัดขนาดความกว้าง ความยาว และความสูง ของเมล็ดสะตอข้าวและสะตอดาน จำนวน 10 เมล็ด โดยใช้เวอร์เนียคาลิเปอร์
- วัดค่าสีของเมล็ดสะตอข้าวและสะตอดาน จำนวน 10 เมล็ด โดยใช้เครื่องวัดค่าสี Hunter Lab และรายงานค่าเป็น L^* , a^* และ b^*
- ตรวจสอบลักษณะเนื้อสัมผัสของสะตอข้าวและสะตอดาน ด้วยเครื่องทดสอบความแข็งแรงของวัสดุ โดยใช้ตัวอย่างเมล็ดสะตอข้าวและสะตอดานที่มีขนาดความยาว ความกว้าง และความหนาของเมล็ด (แต่ละพันธุ์) ใกล้เคียงกัน จำนวน 10 เมล็ด ทดสอบโดยใช้หัวทดสอบชนิด TG.83 Cylinder ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 2.5 มิลลิเมตร ความเร็วในการทดสอบ 1.5 มิลลิเมตรต่อวินาที โดยเจาะทะลุลงไปในตัวอย่างเป็นระยะ 5 มิลลิเมตร แล้วอ่านค่าแรงสูงสุดที่วัดได้ รายงานค่าเป็นแรงต้านทานการเจาะทะลุ (นิวตัน)

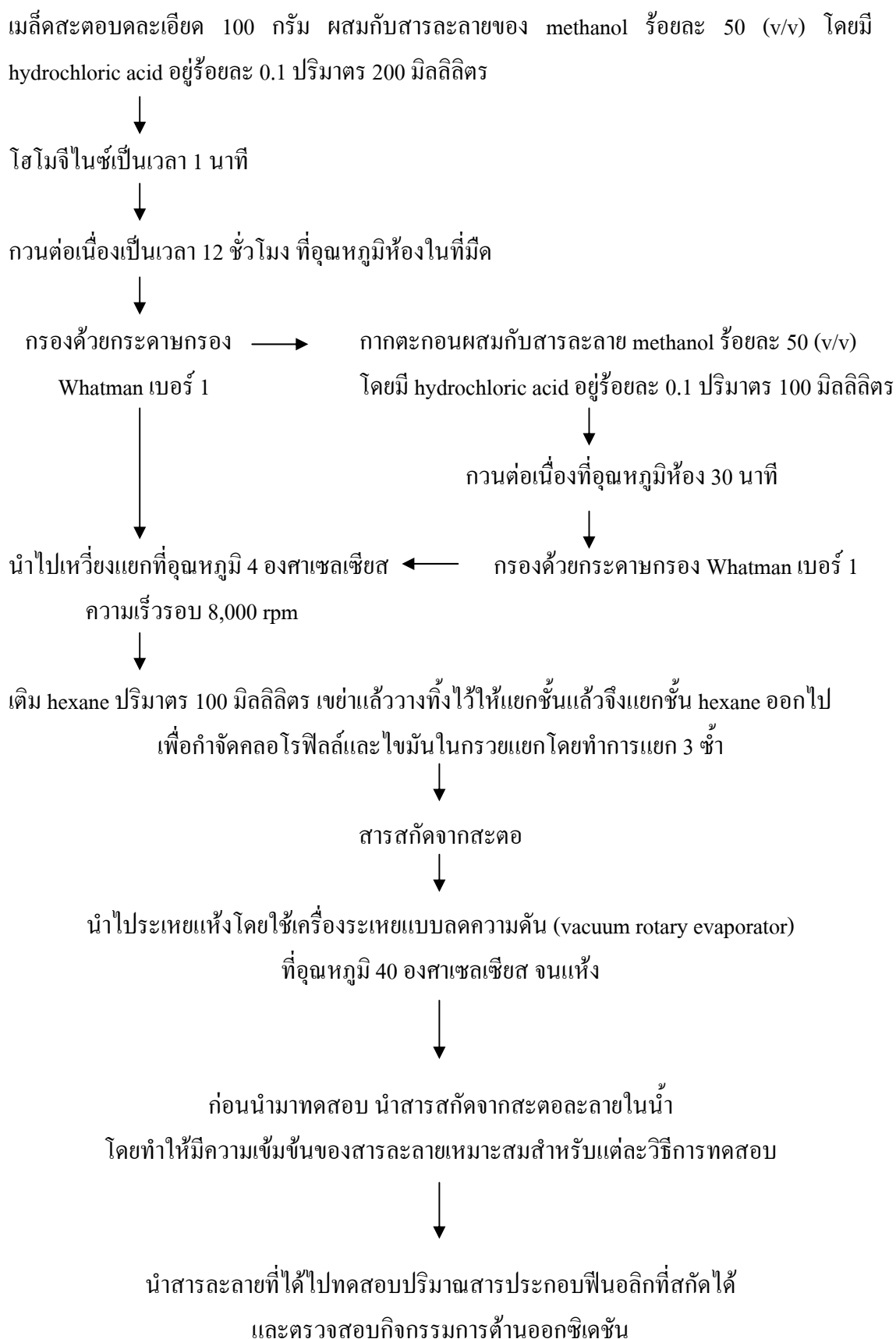
1.2 ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสะตอโดยวิเคราะห์ดังนี้

ความชื้น ไขมัน เถ้า โปรตีน และเยื่อใย ตามวิธี A.O.A.C. (2000) จำนวน 3 ซ้ำ

2. ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมต้านออกซิเดชันของสะตอ

2.1 เตรียมสารสกัดจากสะตอข้าวและสะตอดาน (ดัดแปลงจาก Duenas *et al.*, 2002)

นำเมล็ดสะตอบดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น (ยี่ห้อ Phillips รุ่น Cucina 500W ประเทศอินโดนีเซีย) ที่ความเร็วระดับ 2 ในการบด เป็นระยะเวลา 2 นาที โดยพักทุก 20 วินาที เป็นเวลา 20 วินาที และปั่นจนครบเวลา 2 นาที ทำการสกัดดังต่อไปนี้



2.2 ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมต้านออกซิเดชันในสะตอ

2.2.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้ คัดแปลงจาก Slinkard และ Singleton (1997)

2.2.2 ตรวจสอบกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน โดย

- DPPH radical scavenging activity (คัดแปลงจาก Brand-Williams *et al.*, 1995)
- ABTS radical scavenging activity (คัดแปลงจาก Binsan *et al.*, 2008)
- Superoxide anion radical scavenging activity (คัดแปลงจาก Robak and Gryglewski, 1988)
- Ferric reducing antioxidant power (FRAP) (คัดแปลงจาก Benzie and Strain, 1996)

หมายเหตุ : ใช้ protocatechuic acid เป็นสารมาตรฐานในการทดสอบเปรียบเทียบ และรายงานค่าในรูปมิลลิกรัมสมมูลของ protocatechuic acid ต่อ 100 กรัมของตัวอย่างสะตอแห้ง (mg PAE/100 g dry stink bean sample)

2.3 ศึกษาความคงตัวและปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากสะตอ

2.3.1 ผลของความร้อนต่อความคงตัวของสารสกัดจากสะตอข้าวและสะตอดาน

นำสารละลายของสารสกัดจากสะตอข้าวและสะตอดานที่เตรียมได้จากข้อ 2.1 ความเข้มข้น 10,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองฝาเกลียว นำมาให้ความร้อน โดยบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, และ 100 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 10, 20, 40 และ 60 นาที จากนั้นนำไปทำให้เย็นทันทีในอ่างน้ำผสมน้ำแข็ง อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ทำให้มีความเข้มข้นของสารละลายเหมาะสมสำหรับแต่ละวิธีการทดสอบ ก่อนนำไปวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้ และตรวจสอบกิจกรรมการต้านออกซิเดชันตามวิธีในข้อ 2.2.1 และ 2.2.2

2.3.2 ผลของความเป็นกรดต่อความคงตัวของสารสกัดจากสะตอข้าวและสะตอดาน

นำสารสกัดจากสะตอข้าวและสะตอดานที่เตรียมได้จากข้อ 2.1 มาเติมอะซิเตทฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ที่มีค่าพีเอชเท่ากับ 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 และ 10 ให้มีความเข้มข้น 20,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วปรับพีเอชให้ได้ค่าตามที่ต้องการ บ่มที่อุณหภูมิห้อง ในที่มืด เป็นระยะเวลา 0, 30, 60 และ 120 นาที จากนั้นปรับให้มีค่าพีเอชเท่ากับ 7 ด้วย hydrochloric acid ความเข้มข้น 6 โมลาร์ หรือ sodium hydroxide ความเข้มข้น 6 โมลาร์ ทำให้มีความเข้มข้นของสารละลายเหมาะสมสำหรับแต่ละวิธีการทดสอบโดยใช้อะซิเตทฟอสเฟตบัฟเฟอร์

ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ก่อนนำไปวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้ และตรวจสอบกิจกรรมการต้านออกซิเดชันตามวิธีในข้อ 2.2.1 และ 2.2.2

2.3.3 ผลของปริมาณสารสกัดจากสะตอข้าวและสะตอดานต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน

นำสารละลายของสารสกัดจากสะตอข้าวและสะตอดานที่เตรียมได้จากข้อ 2.1 เตรียมให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 500, 1,000, 2,000, 3,000, 4,000 และ 5,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วนำไปวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้ และตรวจสอบกิจกรรมการต้านออกซิเดชันตามวิธีในข้อ 2.2.1 และ 2.2.2

3. ศึกษาผลของอุณหภูมิและระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะเนื้อสัมผัส ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้ และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสะตอ

3.1 ผลของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและแช่เย็น

นำสะตอข้าวและสะตอดานทั้งฝักบรรจุในถุง polyethylene ขนาด 12 เซนติเมตร x 18 เซนติเมตร และความหนา 0.070 มิลลิเมตร โดยเจาะรูขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 มิลลิเมตร ด้านละ 3 แถว แถวละ 3 รู โดยแต่ละแถวมีระยะห่างกัน 5 เซนติเมตร แล้วเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง (~28 องศาเซลเซียส) และแช่เย็น (4 องศาเซลเซียส) เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ โดยระหว่างการเก็บรักษาที่ระยะเวลา 0, 3, 7, 14, 21, 28, 42 และ 56 วัน หรือจนกว่าสะตอเกิดการเน่าเสีย ตรวจสอบลักษณะเนื้อสัมผัสตามวิธีในข้อ 1.1 นำสะตอไปสกัดตามวิธีในข้อ 2.1 แล้วนำสารสกัดที่ได้ไปวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้ และตรวจสอบกิจกรรมการต้านออกซิเดชันตามวิธีในข้อ 2.2.1 และ 2.2.2

3.2 ผลของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่แข็ง

นำสะตอข้าวและสะตอดานทั้งฝักบรรจุในถุง polyethylene ขนาด 12 เซนติเมตร x 18 เซนติเมตร และความหนา 0.070 มิลลิเมตร เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิแช่แข็ง (-20 องศาเซลเซียส) เป็นระยะเวลา 8 เดือน โดยระหว่างการเก็บรักษาที่ระยะเวลา 0, 0.5, 1, 2, 4, 6 และ 8 เดือน นำสะตอข้าวและสะตอดานมาทำละลายด้วยน้ำประปาไหลผ่านด้วยอัตราการไหล 1 ลิตรต่อนาที ในบีกเกอร์พลาสติกขนาด 5 ลิตร เป็นเวลา 30 นาที ตรวจสอบลักษณะเนื้อสัมผัสตามวิธีในข้อ 1.1 นำสะตอไปสกัดตามวิธีในข้อ 2.1 แล้วนำสารสกัดที่ได้ไปวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้ และตรวจสอบกิจกรรมการต้านออกซิเดชันตามวิธีในข้อ 2.2.1 และ 2.2.2

3.3 ผลของการแช่แข็งและทำลาย

นำสะดอข้าวและสะดอดานทั้งฝักบรรจุในถุง polyethylene ขนาด 12 เซนติเมตร x 18 เซนติเมตร และความหนา 0.07 มิลลิเมตร เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิแช่แข็ง (-20 องศาเซลเซียส) เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนนำมาทำลายด้วยน้ำประปาไหลผ่านด้วยอัตราการไหล 1 ลิตรต่อ นาที ในบีกเกอร์พลาสติกขนาด 5 ลิตร เป็นเวลา 30 นาที จนอุณหภูมิกึ่งกลางเมล็ดเท่ากับอุณหภูมิของน้ำประปา (26 ± 1 องศาเซลเซียส) จากนั้นนำไปแช่แข็งอีกครั้งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส โดยทำการแช่แข็งและทำลายเป็นจำนวน 1, 2, 3, 5 และ 7 รอบ ตรวจสอบลักษณะเนื้อสัมผัสตามวิธีในข้อ 1.1 นำสะดอไปสกัดตามวิธีในข้อ 2.1 แล้วนำสารสกัดที่ได้ไปวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้ และตรวจสอบกิจกรรมการต้านออกซิเดชันตามวิธีในข้อ 2.2.1 และ 2.2.2

3.4 ผลของความร้อน

นำเมล็ดสะดอข้าว เมล็ดสะดอดาน สะดอข้าวทั้งฝัก และสะดอดานทั้งฝัก มาให้ความร้อนในน้ำเดือด โดยใช้อัตราส่วนของสะดอต่อน้ำเท่ากับ 1 ต่อ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (กรัมต่อมิลลิลิตร) วัดให้อุณหภูมิกึ่งกลางเมล็ดเท่ากับ 98 ± 2 องศาเซลเซียส ก่อนเริ่มจับเวลาให้ความร้อนกับสะดอเป็นเวลา 10 นาที โดยระหว่างให้ความร้อนเวลา 0.5, 1, 3, 5 และ 10 นาที นำสะดอไปทำให้เย็นทันทีในอ่างน้ำผสมน้ำแข็งอุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ตรวจสอบลักษณะเนื้อสัมผัสตามวิธีในข้อ 1.1 นำสะดอไปสกัดตามวิธีในข้อ 2.1 แล้วนำสารสกัดที่ได้ไปวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้ และตรวจสอบกิจกรรมการต้านออกซิเดชันตามวิธีในข้อ 2.2.1 และ 2.2.2

4. ศึกษาผลของความเป็นกรดต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสะดอ

นำเมล็ดสะดอข้าวและสะดอดานมาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น (ยี่ห้อ Phillip รุ่น cucina 500W ประเทศอินโดนีเซีย) ที่ความเร็วระดับ 2 ในการบด เป็นระยะเวลา 2 นาที โดยพักทุก 20 วินาที เป็นเวลา 20 วินาที และปั่นจนครบเวลา 2 นาที แล้วนำเมล็ดสะดอบดมาเติมน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (กรัมต่อมิลลิลิตร) ปรับให้มีค่าพีเอชเท่ากับ 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 และ 10 ด้วย hydrochloric acid ความเข้มข้น 6 โมลาร์ หรือ sodium hydroxide ความเข้มข้น 6 โมลาร์ บ่มที่อุณหภูมิห้อง ในที่มืดเป็นระยะเวลา 0, 30, 60 และ 120 นาที จากนั้นปรับให้มีค่า พีเอชเท่ากับ 7 ด้วย hydrochloric acid ความเข้มข้น 6 โมลาร์ หรือ sodium hydroxide ความ

เข้มข้น 6 โมลาร์ ก่อนนำตัวอย่างสะอาดที่ได้ไปสกัดตามวิธีในข้อ 2.1 แล้วนำสารสกัดที่ได้ไปวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้ และตรวจสอบกิจกรรมการต้านออกซิเดชันตามวิธีในข้อ 2.2.1 และ 2.2.2

5. ศึกษาผลร่วมในการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากสะตอกับสารต้านออกซิเดชันทางการค้า

ศึกษาผลร่วมของสารละลายของสารสกัดจากสะตอกับและสะตอกับสารต้านออกซิเดชันทางการค้าต่อกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน โดยใช้ร่วมกับสารต้านออกซิเดชันทางการค้า 2 ชนิด คือ ascorbic acid และ trolox โดยตรวจสอบกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน DPPH-, ABTS-radical scavenging activity และ ferric reducing antioxidant power (FRAP) ส่วนกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน superoxide anion radical scavenging activity ใช้ tannic acid และ protocatechuic acid ในการศึกษาผลร่วม

6. การวิเคราะห์ทางสถิติ

ทำการวิเคราะห์ผลข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ทั้งหมด 3 ซ้ำ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely randomized design, CRD) โดยข้อ 2.3.1, 2.3.2 และ 4 ทำการวางแผนการทดลองแบบแฟกทอเรียล (Factorial design) วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลโดยใช้ ANOVA และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดย Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS สำหรับ Windows version 10.0

บทที่ 3

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ลักษณะทางกายภาพและองค์ประกอบทางเคมีของสะตอ

1.1 ลักษณะทางกายภาพของสะตอ

1.1.1 ขนาดของเมล็ดสะตอ

ลักษณะของฝักสะตอข้าวและสะตอดานแสดงดัง Figure 6A และ 6B ตามลำดับ พบว่าสะตอทั้ง 2 สายพันธุ์ มีลักษณะรูปทรงของฝักที่แตกต่างกัน โดยฝักสะตอข้าวมีลักษณะบิดเป็นเกลียว ฝักแคบ ขอบฝักชิดเมล็ด ส่วนฝักสะตอดานมีลักษณะแบนตรง ฝักกว้าง ขอบฝักห่างจากเมล็ด นอกจากนี้ยังสามารถสังเกตความแตกต่างได้จากลักษณะของเมล็ดสะตอข้าวและสะตอดาน ดังแสดงใน Figure 7A และ 7B ตามลำดับ โดยพบว่าเมล็ดสะตอข้าวมีขนาดเล็กกว่าสะตอดาน โดยมีขนาดความกว้าง ความยาว และความหนา เท่ากับ 1.23 ± 0.05 , 1.75 ± 0.06 และ 0.79 ± 0.04 เซนติเมตร ตามลำดับ สำหรับสะตอข้าว และ 1.56 ± 0.08 , 2.47 ± 0.07 และ 1.14 ± 0.06 เซนติเมตร ตามลำดับ สำหรับสะตอดาน



(A)



(B)

Figure 6. Stink bean pod, Sataw-Khao (A), Sataw-Daan (B)



(A)



(B)

Figure 7. Stink bean seed, Sataw-Khao (A), Sataw-Daan (B)

1.1.2 สีของเมล็ดสะตอ

ค่าสีของเมล็ดสะตอข้าวและสะตอดานซึ่งวัดโดยระบบ CIE Lab แสดงผลในรูปแบบ L^* , a^* และ b^* โดย L^* คือ ค่าความสว่าง มีค่าจาก 0 แสดงสีดำ ถึง 100 แสดงสีขาว a^* คือ ค่าที่บ่งบอกความเป็นสีเขียวและสีแดงของตัวอย่าง โดยค่า $-a^*$ แสดงความเป็นสีเขียว $+a^*$ แสดงความเป็นสีแดง และ b^* คือ ค่าที่บ่งบอกความเป็นสีน้ำเงินและเหลืองที่อยู่ในตัวอย่าง โดยค่า $-b^*$ แสดงความเป็นสีน้ำเงิน $+b^*$ แสดงความเป็นสีเหลือง (Lee and Coates, 1999) จาก Table 2 พบว่าเมล็ดสะตอข้าวและเมล็ดสะตอดานมีค่า L^* เท่ากับ 61.36 ± 2.14 และ 54.57 ± 2.40 ค่า a^* เท่ากับ -10.49 ± 0.52 และ -10.54 ± 0.55 และค่า b^* เท่ากับ 35.15 ± 0.95 และ 31.24 ± 1.53 ตามลำดับ โดยค่าความเป็นสีเขียวของเมล็ดสะตอทั้ง 2 สายพันธุ์ไม่มีความแตกต่างกัน ($P > 0.05$) ในขณะที่เมล็ดสะตอข้าวมีค่าความสว่างและค่าความเป็นสีเหลืองมากกว่าเมล็ดสะตอดาน แสดงให้เห็นว่าเมล็ดสะตอข้าวมีสีสว่างกว่าเมล็ดสะตอดาน นอกจากนี้ในผักสีเขียว เช่น ถั่วลันเตาและถั่วแขกนิยมรายงานผลในรูปค่าตัวแปร ($-a/b$) ซึ่งแสดงความเป็นสีเขียวของผัก (Gold and Weckel, 1959; Hayakawa and Timbers, 1977; คิริทรา ตันพงษ์พิพัฒชัย, 2546) โดยผักที่มีค่า $-a/b$ สูง แสดงว่ามีค่าสีเขียวมาก เมื่อพิจารณาจากค่า $-a/b$ (Table 2) ของเมล็ดสะตอข้าวและเมล็ดสะตอดานมีค่าเท่ากับ 0.30 ± 0.02 และ 0.34 ± 0.04 ตามลำดับ ดังนั้นเมล็ดสะตอข้าวจึงมีค่าความเป็นสีเขียวน้อยกว่าสะตอดาน

Table 2. Colour and puncture force of stink bean

Properties	Sataw-Khao	Sataw-Daan
Color values ¹		
L^*	61.36 ± 2.14^a	54.57 ± 2.40^b
a^*	-10.49 ± 0.52^a	-10.54 ± 0.55^a
b^*	35.15 ± 0.95^a	31.24 ± 1.53^b
$-a/b$	0.30 ± 0.02^b	0.34 ± 0.04^a
Puncture force ² (N)	7.39 ± 0.18^a	6.95 ± 0.17^b

¹Values are given as mean \pm SD from triplicate.

²Values are given as mean \pm SD from 10 replicate.

Different letters in the same row indicate significant difference ($P < 0.05$).

1.1.3 ลักษณะเนื้อสัมผัสของเมล็ดสะตอ

ลักษณะเนื้อสัมผัสของเมล็ดสะตอข้าวและเมล็ดสะตอดาน วัดโดยการใช้อุปกรณ์ทดสอบความแข็งแรงของวัสดุ วัดและรายงานค่าในรูปแบบแรงด้านการเจาะทะลุ (puncture force) แสดงดัง Table 2 พบว่าเมล็ดสะตอข้าวและสะตอดานมีค่าแรงด้านการเจาะทะลุที่วิเคราะห์ได้เท่ากับ 7.39 ± 0.18 และ 6.95 ± 0.17 นิวตัน ตามลำดับ ทั้งนี้ค่าแรงด้านการเจาะทะลุมีผลมาจากหลายปัจจัย ได้แก่ ความแน่นแข็งของเอนโดสเปิร์มและแรงดันเต่ง (turgor pressure) ของเซลล์ซึ่งมีความสัมพันธ์กับปริมาณน้ำภายในเมล็ด (ดิรินทรา ต้นพงษ์พิพัฒน์, 2546) เมื่อพิจารณาจากความแตกต่างของค่าความชื้นของเมล็ดสะตอ (Table 3) พบว่าเมล็ดสะตอข้าวมีค่าความชื้นน้อยกว่าเมล็ดสะตอดาน (ร้อยละ 71.49 ± 0.14 และ 74.07 ± 0.27 ตามลำดับ) ดังนั้นค่าแรงด้านการเจาะทะลุเมล็ดของสะตอข้าวสูงกว่าเมล็ดสะตอดานอาจเนื่องมาจากปริมาณน้ำภายในเมล็ดที่น้อยกว่าสะตอดาน

1.2 องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดสะตอ

องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดสะตอข้าวและเมล็ดสะตอดานแสดงดัง Table 3 พบว่าเมล็ดสะตอดานมีองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ความชื้น โปรตีน และไขมัน มีค่าเท่ากับร้อยละ 74.07 ± 0.27 , 8.15 ± 0.09 และ 14.50 ± 0.02 ตามลำดับ สูงกว่าเมล็ดสะตอข้าว ซึ่งมีค่าเท่ากับร้อยละ 71.49 ± 0.14 , 7.05 ± 0.11 และ 12.21 ± 0.06 ตามลำดับ โดยพบว่าปริมาณไขมันในสะตอทั้ง 2 สายพันธุ์มีค่าสูงซึ่งอาจเนื่องมาจากคลอโรฟิลล์บางส่วนซึ่งสามารถละลายได้ถูกสกัดออกมารวมกันระหว่างการวิเคราะห์ไขมัน ในขณะที่ปริมาณกากใยของเมล็ดสะตอข้าวมีค่าสูงกว่าเมล็ดสะตอดาน (1.83 ± 0.13 และ 1.36 ± 0.07 ตามลำดับ) แต่ปริมาณเถ้าของเมล็ดสะตอทั้ง 2 สายพันธุ์ไม่มีความแตกต่างกัน ($P < 0.05$) ซึ่งองค์ประกอบทางเคมีที่วิเคราะห์ได้นั้นมีค่าใกล้เคียงกับคุณค่าทางอาหารของสะตอ ซึ่งวิเคราะห์โดยกองโภชนาการ กรมอนามัย (2535) จากข้อมูลแม้ว่าสะตอข้าวและสะตอดานจัดเป็นพืชชนิดเดียวกัน แต่ความแตกต่างของสายพันธุ์อาจมีผลทำให้องค์ประกอบทางเคมีของสะตอข้าวและสะตอดานแตกต่างกันไปได้

Table 3. Chemical compositions of stink bean seed

Chemical compositions	Content (g/100 g sample)	
	Sataw-Khao	Sataw-Daan
Moisture	71.49±0.14 ^b	74.07±0.27 ^a
Protein	7.05±0.11 ^b	8.15±0.09 ^a
Fat	12.21±0.06 ^b	14.50±0.02 ^a
Ash	1.51±0.01 ^a	1.50±0.01 ^a
Crude fiber	1.83±0.13 ^a	1.36±0.07 ^b

Values are given as mean±SD from triplicate.

Different letters in the same row indicate significant difference (P<0.05).

2. ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสะตอ

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสะตอข้าวและสะตอดาน แสดงดัง Table 4 พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันซึ่งประกอบด้วย DPPH-, ABTS-, superoxide anion-radical scavenging activity และ FRAP ของสะตอข้าวมีค่าเท่ากับ 248.13±4.37, 302.27±10.00 591.02±2.23, 7,145.81±155.37 และ 27.09±0.09 mg PAE/100 g dry stink bean sample ตามลำดับ ส่วนสะตอดานมีค่าเท่ากับ 322.53±2.74, 334.52±3.09, 701.06±1.46, 9,003.84±885.50 และ 29.23±0.91 mg PAE/100 g dry stink bean sample ตามลำดับ โดยสะตอดานมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันสูงกว่าสะตอข้าว (P<0.05) แสดงให้เห็นถึงความแตกต่างกันของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของพืชระหว่างสายพันธุ์ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Duenas และคณะ (2006) ซึ่งพบว่ากิจกรรมการต้านออกซิเดชันของใบแรกของต้นอ่อนและเปลือกหุ้มเมล็ดของถั่วแขก (lentil bean) 2 สายพันธุ์ คือ Pardina และ Castellana (Spain) และถั่วลิสง 2 สายพันธุ์ คือ ZP-849 และ Fidelia มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) ระหว่างสายพันธุ์ โดยถั่วแขกสายพันธุ์ Pardina แสดงกิจกรรมการต้านออกซิเดชันที่ดีกว่าสายพันธุ์ Castellana ในขณะที่ถั่วลิสงสายพันธุ์ Fidelia แสดงกิจกรรมการต้านออกซิเดชันที่ดีกว่าสายพันธุ์ ZP-849 ดังนั้นความแตกต่างของสายพันธุ์อาจมีผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสะตอข้าวและสะตอดานแตกต่างกันด้วย

Table 4. Extractable phenolic content and antioxidant activities of Sataw-Khao seed and Sataw-Daan seed (mg PAE/100 g dry stink bean sample)

Analyses	Sataw-Khao	Sataw-Daan
Extractable phenolic content	248.13±4.37 ^b	322.53±2.74 ^a
DPPH radical scavenging activity	302.27±10.00 ^b	334.52±3.09 ^a
ABTS radical scavenging activity	591.02±2.23 ^b	701.06±1.46 ^a
Superoxide anion radical scavenging activity	7,145.81±155.37 ^b	9,003.84±885.50 ^a
Ferric reducing antioxidant power (FRAP)	27.09±0.09 ^b	29.23±0.91 ^a

Values are given as mean±SD from triplicate.

Different letters in the same column indicate significant difference (P<0.05).

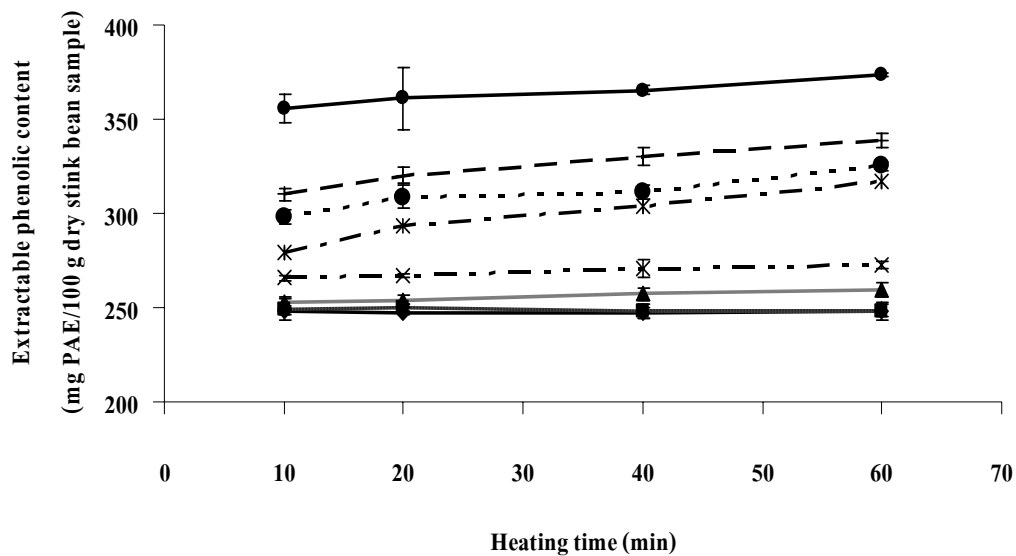
3. ความคงตัวและปัจจัยที่มีผลต่อการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากสะตอ

3.1 ผลของอุณหภูมิต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากสะตอ

การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากสะตอข้าวและสะตอดานภายหลังการให้ความร้อนในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 และ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10, 20, 40 และ 60 นาที แสดงดัง Figure 8-12 พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้ของสารสกัดจากสะตอข้าวและสะตอดานไม่มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 30 และ 40 องศาเซลเซียส แต่เมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงขึ้นและเป็นระยะเวลาเพิ่มขึ้น ที่อุณหภูมิ 50 ถึง 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 ถึง 60 นาที ทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) โดยการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที ทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้มีค่าเพิ่มขึ้นสูงสุดเมื่อเทียบกับสะตอสด โดยเพิ่มขึ้นจาก 248.13±4.37 เป็น 373.58±0.92 mg PAE/100 g dry stink bean sample และ 322.53±2.74 เป็น 475.06±3.27 mg PAE/100 g dry stink bean sample ตามลำดับ สำหรับสารสกัดจากสะตอข้าวและสารสกัดจากสะตอดาน โดยกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน DPPH-, ABTS-radical scavenging activity และ FRAP ไม่มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อให้ความร้อนในช่วงอุณหภูมิ 30 ถึง 50 องศาเซลเซียส แต่เมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงขึ้นและเป็นระยะเวลาเพิ่มขึ้นทำให้กิจกรรมการต้านออกซิเดชันมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) โดยการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที มีค่า

เพิ่มขึ้นสูงสุดสำหรับสารสกัดจากสะตอข้าวและสะตอดาน แต่อย่างไรก็ตามพบว่ากิจกรรมการต้านออกซิเดชัน superoxide anion radical scavenging activity ไม่มีการเปลี่ยนแปลงหลังการให้ความร้อนในช่วงอุณหภูมิ 30 ถึง 60 องศาเซลเซียส แต่เมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงกว่า 60 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาสั้นๆ ทำให้กิจกรรมการต้านออกซิเดชันลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) สำหรับสะตอทั้ง 2 สายพันธุ์ เมื่อเทียบกับสะตอสด สอดคล้องกับรายงานการศึกษาโดย Xu และคณะ (2007) ซึ่งพบว่าอุณหภูมิและเวลาที่เพิ่มขึ้นมีผลทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน ABTS-radical scavenging activity และ FRAP ของสารสกัดจากเปลือก Huyou เพิ่มขึ้น เมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90, 120 และ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที โดยพบว่าที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันสูงที่สุดเมื่อเทียบกับสารสกัดที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน นอกจากนี้เมื่อนำสารสกัดจากเปลือก Huyou ไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 30, 60 และ 90 นาที พบว่าที่เวลา 90 นาที มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันสูงที่สุด เมื่อเทียบกับที่เวลาอื่นๆ ($P < 0.05$) ทั้งนี้เนื่องจากความร้อนที่ทำให้ที่อุณหภูมิสูงมีผลทำลายพันธะเอสเทอร์และพันธะไกลโคไซด์ ซึ่งเชื่อมต่อกันระหว่างโมเลกุลของสารประกอบฟีนอลิกกับสารประกอบอื่นหรือระหว่างสารประกอบฟีนอลิกด้วยกัน ทำให้เกิดสารประกอบฟีนอลิกที่เป็นโมเลกุลเล็กลงหรือเป็นโมเลกุลอิสระเพิ่มมากขึ้น เช่น chlorogenic acid เป็นสารประกอบฟีนอลิกหลักที่พบในเปลือก Huyou ซึ่งเป็นสารประกอบของ caffeic acid และ quinic acid ต่อกันด้วยพันธะเอสเทอร์ เมื่อมีการให้ความร้อน พันธะเอสเทอร์ถูกทำลาย เกิดเป็น caffeic acid และ quinic acid อิสระ นอกจากนี้ flavanone glycoside ซึ่งมีสารกลุ่มฟลาโวนอยด์จับอยู่กับโมเลกุลของน้ำตาลด้วยพันธะไกลโคไซด์ เมื่อมีการให้ความร้อน พันธะไกลโคไซด์จะถูกทำลาย เกิดเป็นสารประกอบฟีนอลิกกลุ่มฟลาโวนอยด์ เป็นต้น (Xu *et al.*, 2007) ดังนั้นเมื่อมีการให้ความร้อนกับสารสกัดจากสะตอที่อุณหภูมิสูงขึ้นและเป็นระยะเวลาสั้นๆ อาจมีผลทำลายพันธะเอสเทอร์หรือพันธะไกลโคไซด์ที่เชื่อมต่อกันระหว่างโมเลกุลของสารประกอบฟีนอลิกหรือโมเลกุลของสารประกอบฟีนอลิกกับสารอื่นๆ ได้ เป็นสารประกอบฟีนอลิกที่มีโมเลกุลเล็กลงหรือโมเลกุลอิสระเพิ่มมากขึ้น ทำให้กิจกรรมการต้านออกซิเดชัน DPPH-, ABTS-radical scavenging activity และ FRAP เพิ่มขึ้นด้วย ในขณะที่กิจกรรมการต้านออกซิเดชัน superoxide anion radical scavenging activity ลดลง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการสลายตัวของสารประกอบฟีนอลิกบางชนิดที่มีกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน superoxide anion

(A)



(B)

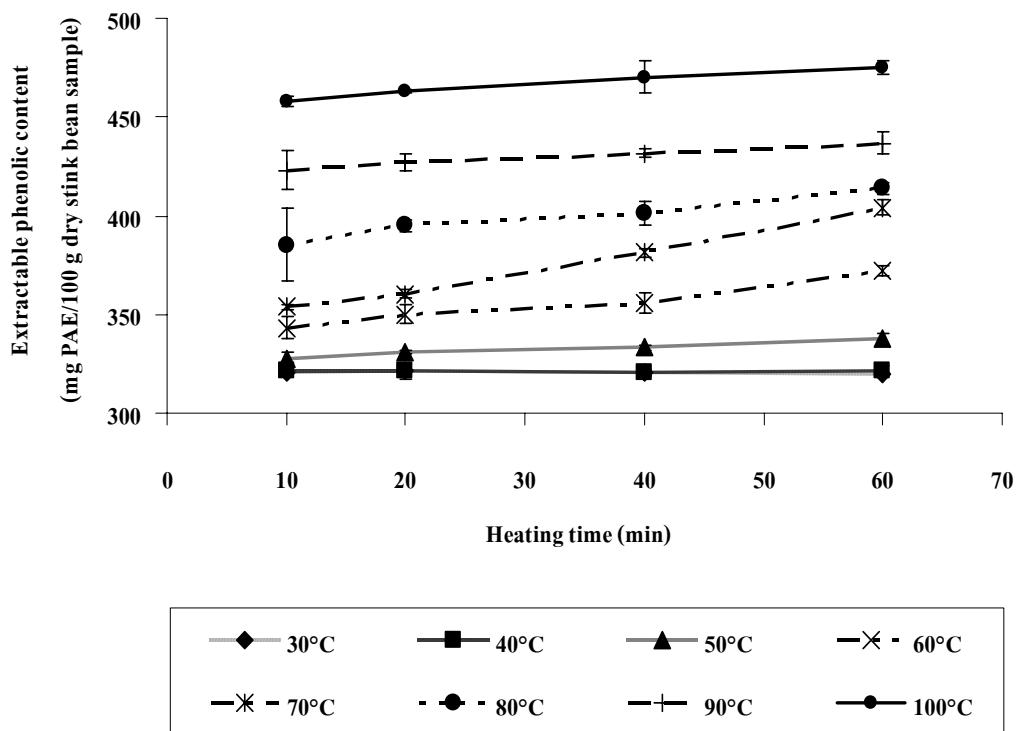
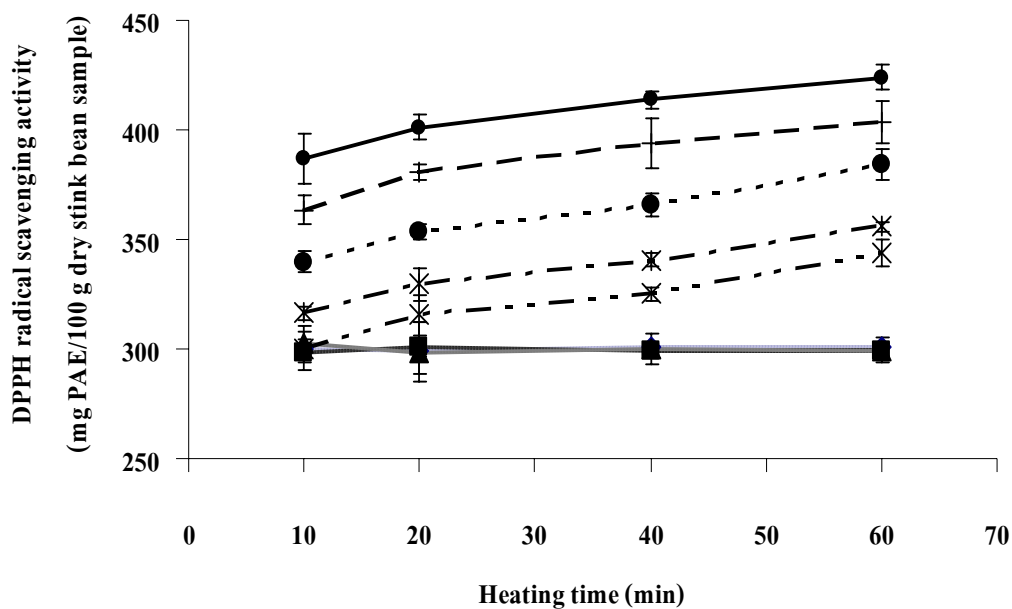


Figure 8. Effect of heating at various temperatures and times on extractable phenolic content of Sataw-Khao extract (A) and Sataw-Daan extract (B)

(A)



(B)

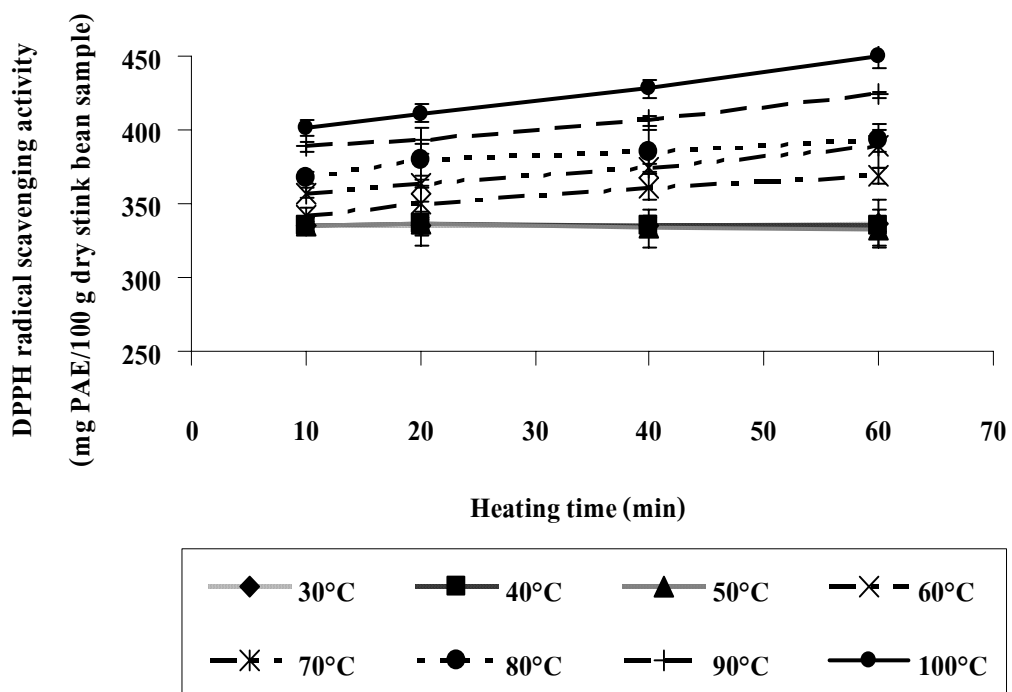
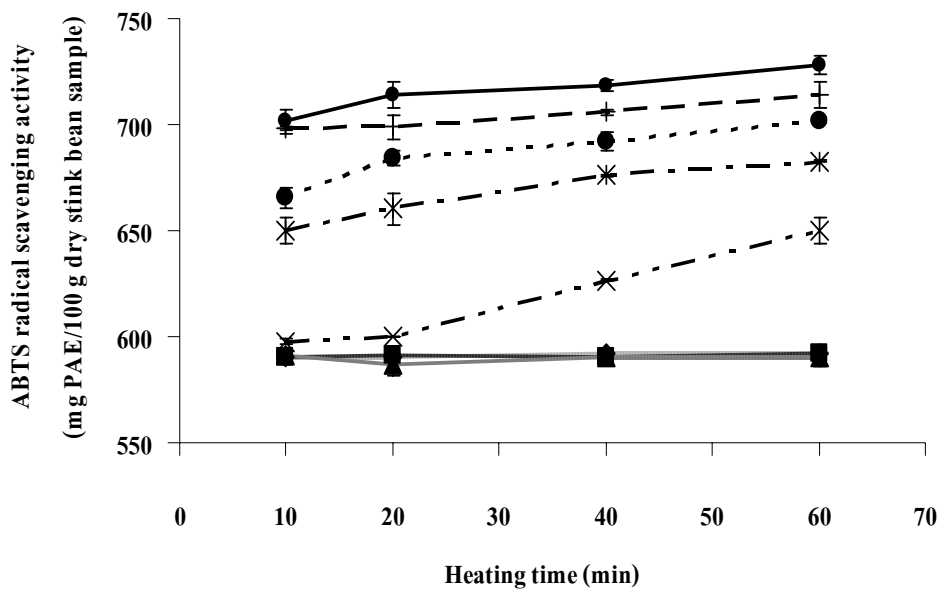


Figure 9. Effect of heating at various temperatures and times on DPPH radical scavenging activity of Sataw-Khao extract (A) and Sataw-Daan extract (B)

(A)



(B)

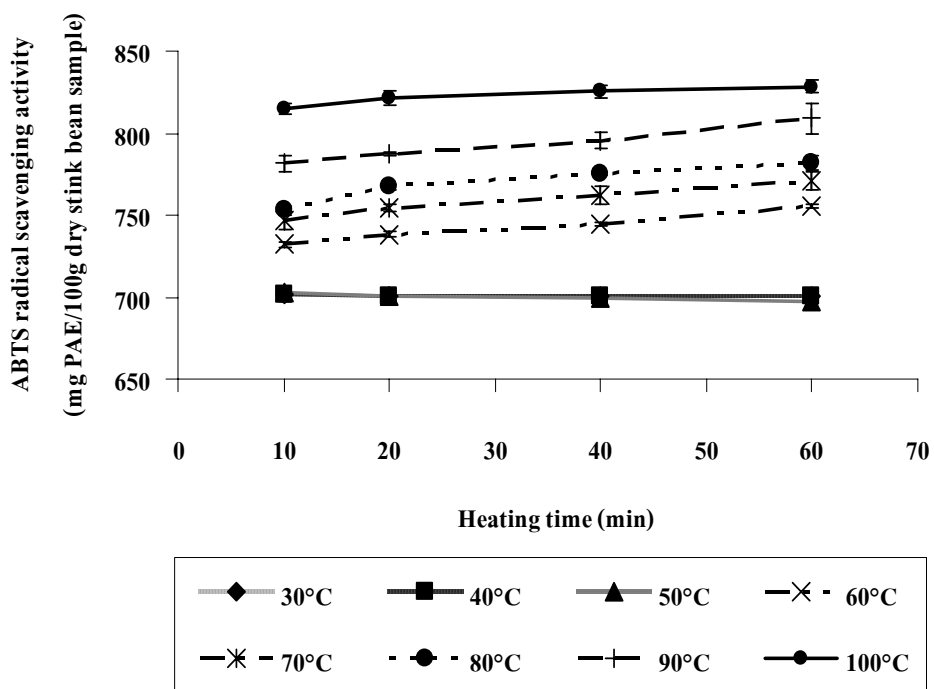
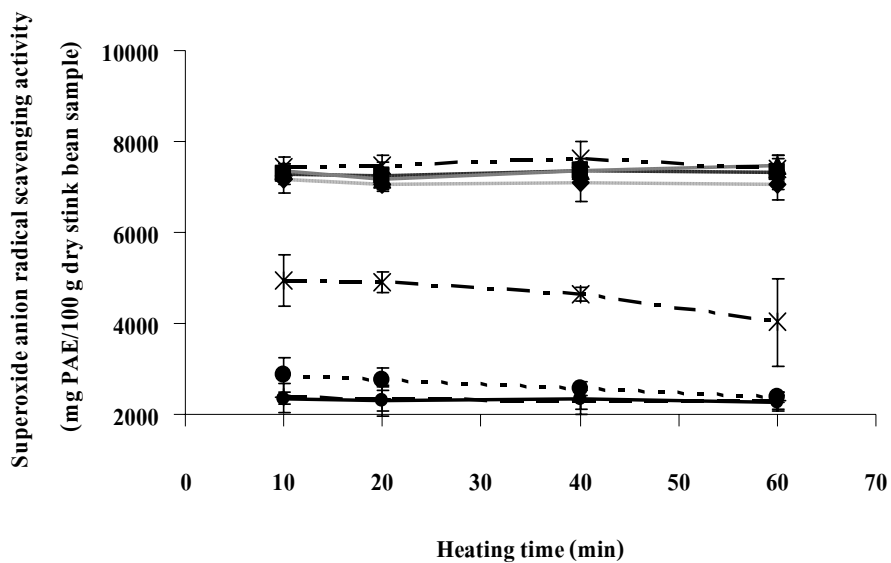


Figure 10. Effect of heating at various temperatures and times on ABTS radical scavenging activity of Sataw-Khao extract (A) and Sataw-Daan extract (B)

(A)



(B)

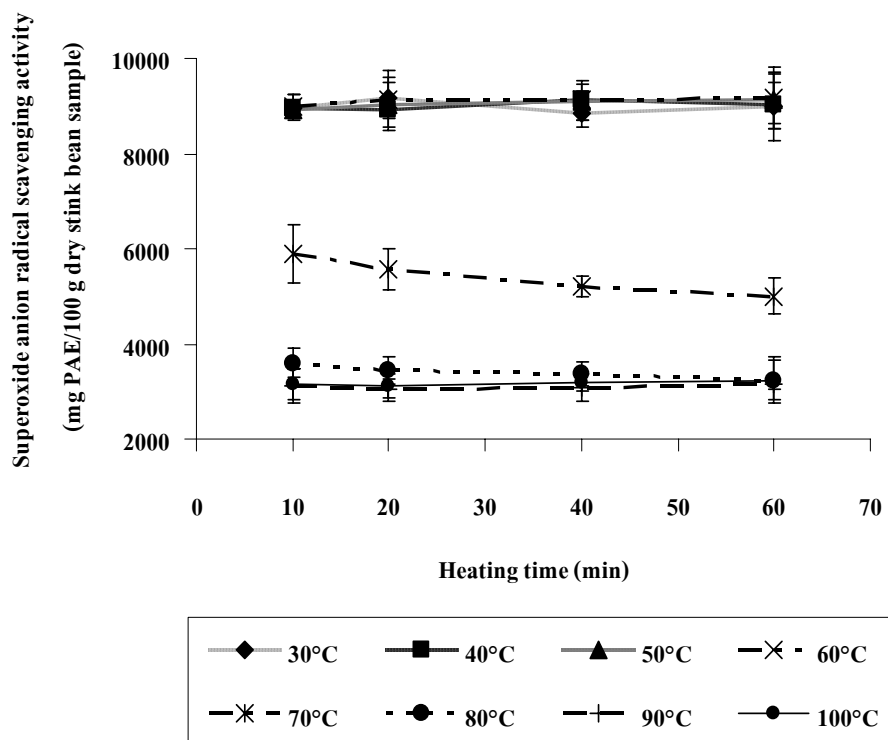
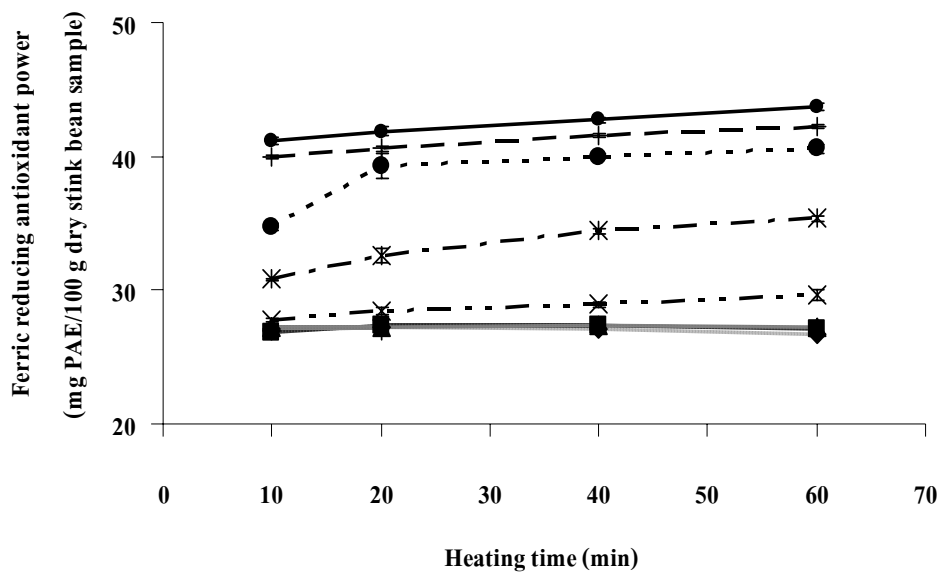


Figure 11. Effect of heating at various temperatures and times on superoxide anion radical scavenging activity of Sataw-Khao extract (A) and Sataw-Daan extract (B)

(A)



(B)

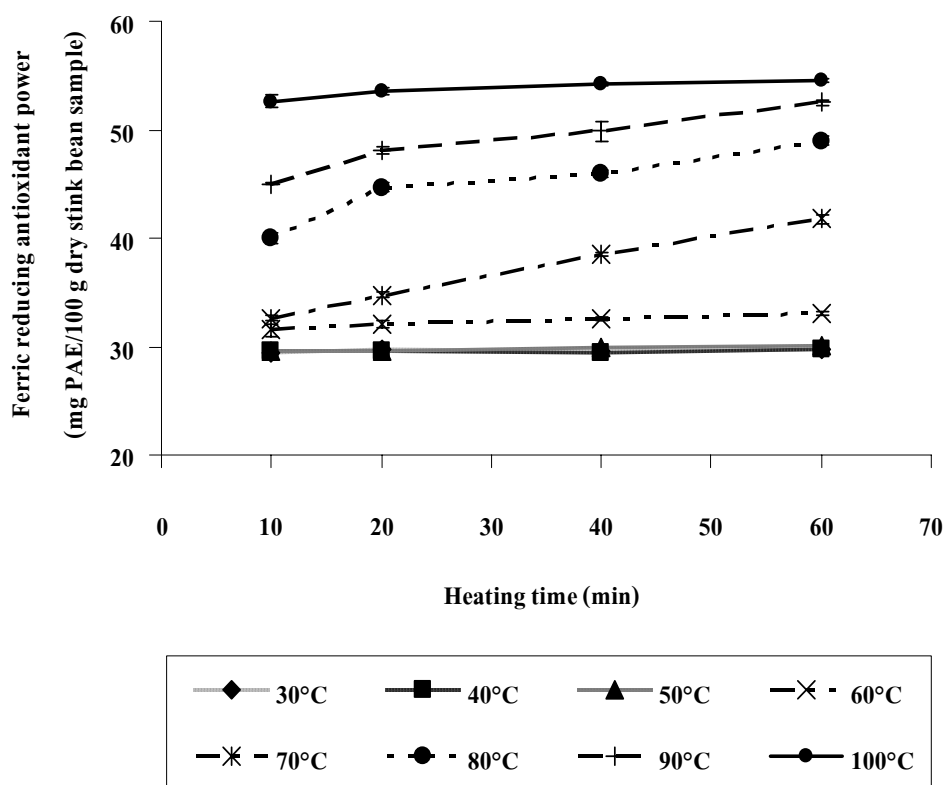
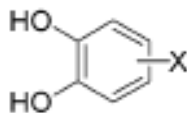


Figure 12. Effect of heating at various temperatures and times on ferric reducing antioxidant power (FRAP) of Sataw-Khao extract (A) and Sataw-Daan extract (B)

3.2 ผลของความเป็นกรดต่างต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากสะตอ

ผลของความเป็นกรดต่างต่อความคงตัวของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากสะตอข้าวและสะตอดานแสดงดัง Figure 14-18 จากการศึกษาพบว่าที่พีเอชช่วงกรด (พีเอช 2 ถึง 4) มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันต่ำกว่าพีเอชที่เป็นกลางและด่าง โดยที่พีเอช 7 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน DPPH-, ABTS-radical scavenging activity และ FRAP สูงที่สุด คือ 271.42 ± 0.71 , 328.06 ± 7.85 , 640.86 ± 5.23 และ 22.91 ± 0.69 mg PAE/100 g dry stink bean sample ตามลำดับ สำหรับสารสกัดจากสะตอข้าว และมีค่าเท่ากับ 343.58 ± 1.94 , 368.83 ± 8.93 , 786.78 ± 5.00 และ 25.89 ± 0.09 mg PAE/100 g dry stink bean sample ตามลำดับ สำหรับสารสกัดจากสะตอดาน โดยปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากสะตอข้าวและสะตอดานที่เวลา 0, 30, 60 และ 120 นาที ของแต่ละค่าพีเอชไม่มีการเปลี่ยนแปลง ($P > 0.05$) แต่อย่างไรก็ตามพบว่ากิจกรรมการต้านออกซิเดชัน superoxide anion radical scavenging activity ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง (Figure 17) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Mansour และคณะ (2000) ซึ่งรายงานว่ากิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกมันฝรั่ง เมล็ดพืงูกรีก และขิง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ที่พีเอช 4 ถึง 9 โดยสารสกัดจากเมล็ดพืงูกรีกและขิงมีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันสูงที่สุดที่พีเอช 7 และลดลงในช่วงพีเอชที่เป็นด่าง ในทำนองเดียวกัน Tsuda และคณะ (1994a) รายงานว่าสาร cyanidin-3-O- β -D-glucoside ซึ่งเป็นสารประกอบแอนโทไซยานินที่พบในถั่วแดงมีการต้านออกซิเดชันสูงที่พีเอช 7 นอกจากนี้ Amorati และคณะ (2006) รายงานว่า caffeic acid มีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันต่ำในสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีพีเอชเป็นกรด (พีเอช 4) โดยกิจกรรมการต้านออกซิเดชันเพิ่มขึ้นที่พีเอชประมาณ 7 ทั้งนี้เนื่องจาก caffeic acid มีค่า pK_a ซึ่งเป็นค่าคงที่การแตกตัวของกรด (acid dissociation constant) เท่ากับ 4.4, 8.9 และ 11.2 แสดงว่า caffeic acid สามารถแตกตัวให้โปรตอนได้ 3 ครั้ง โดยที่พีเอชประมาณ 7 caffeic acid (X จาก Figure 13 คือ $CH=CHCOOH$) เกิดการแตกตัวและเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของฟีนอเลทไอออน (X จาก Figure 13 คือ $CH=CHCOO^-$) ซึ่งสามารถจับกับอนุมูลเปอร์ออกไซด์ได้ดีกว่า caffeic acid เดิม โดยที่พีเอช 8 caffeic acid เปลี่ยนไปอยู่ในรูปของฟีนอเลทไอออนได้เกือบทั้งหมด แต่ที่พีเอชช่วงกรดแสดงกิจกรรมการต้านออกซิเดชันที่ต่ำเนื่องจาก caffeic acid เกิดการเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของฟีนอเลทไอออนได้น้อย (Amorati *et al.*, 2006) เมื่อพิจารณาจากค่า pK_a ของ protocatechuic acid ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลิกหลักที่พบในกลุ่มพืชผัก พบว่ามีค่า pK_a 3 ค่าเช่นเดียวกับ caffeic acid ซึ่งมีค่าเท่ากับ 4.4, 8.9 และ 10.8 ดังนั้นที่

พืช 7 สารประกอบฟีนอลิกที่พบในสารสกัดจากสะตออาจเกิดการแตกตัวและเปลี่ยนไปอยู่ในรูปที่สามารถแสดงกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน DPPH-, ABTS-radical scavenging activity และ FRAP ได้ดีกว่าที่พืชอื่นๆ แต่กิจกรรมการต้านออกซิเดชัน superoxide anion radical scavenging activity ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง

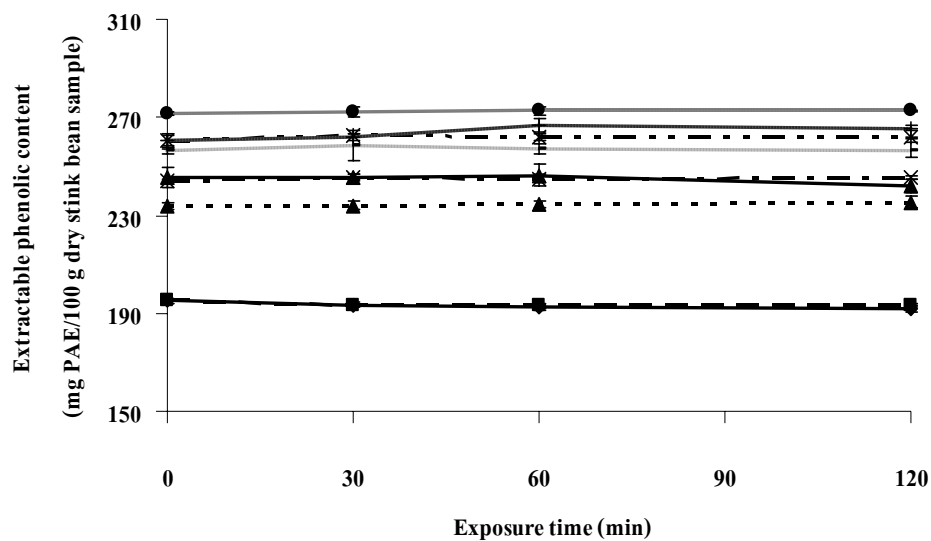


X คือ $\text{CH}=\text{CHCOOH}$

Figure 13. Structure of caffeic acid

ที่มา : Amorati และคณะ (2006)

(A)



(B)

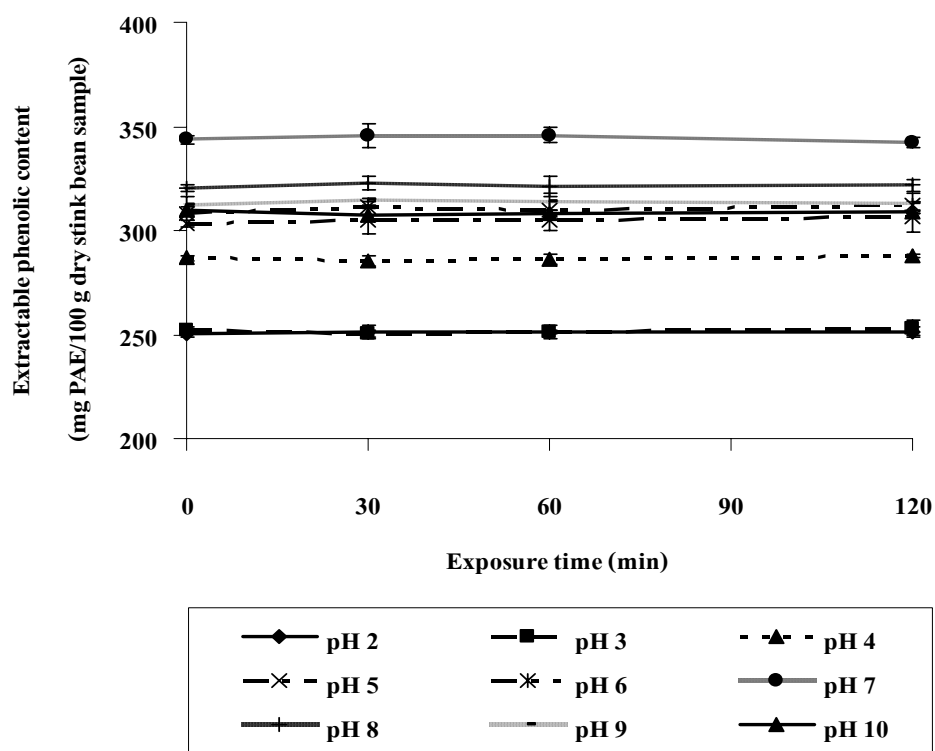
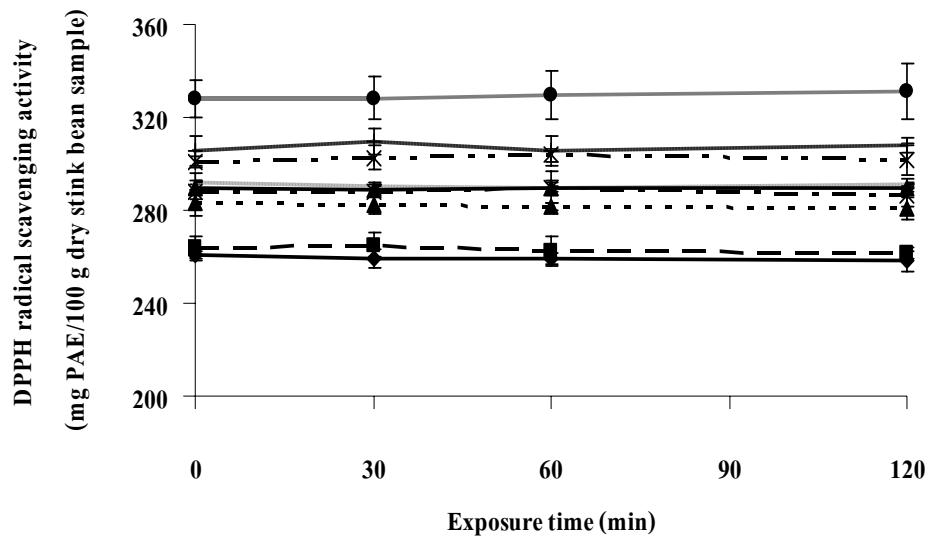


Figure 14. Effect of pHs and exposure times on extractable phenolic content of Sataw-Khao extract (A) and Sataw-Daan extract (B)

(A)



(B)

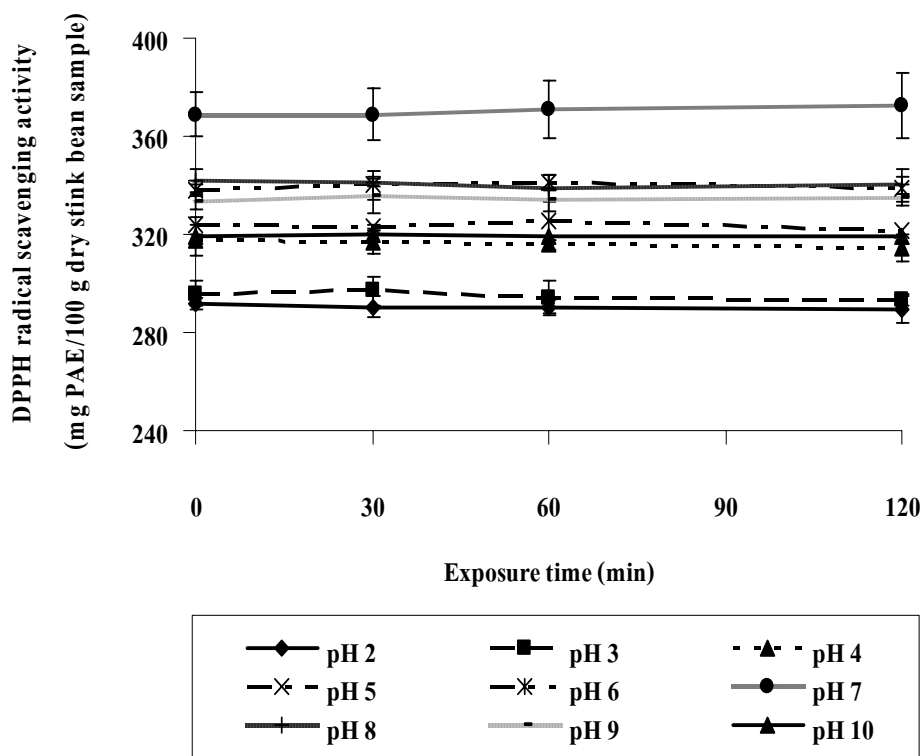
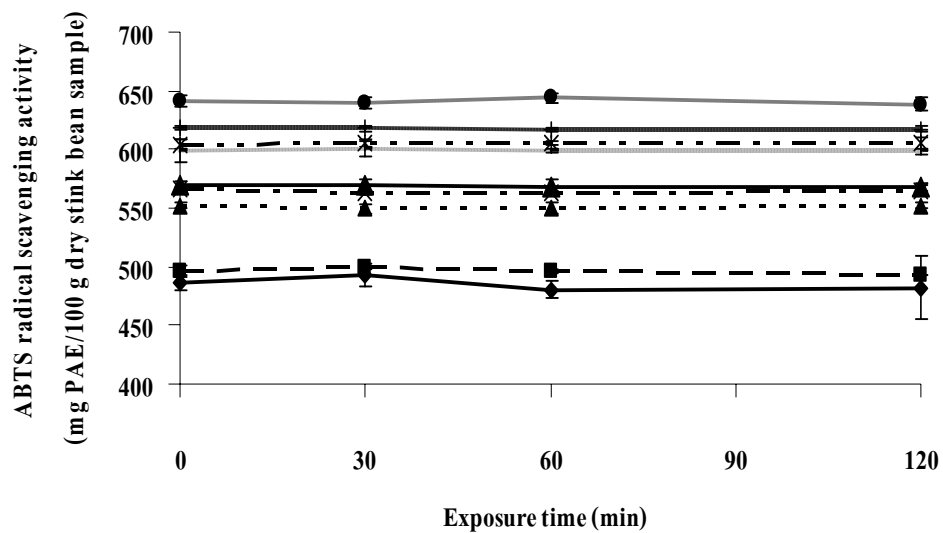


Figure 15. Effect of pHs and exposure times on DPPH radical scavenging activity of Sataw-Khao extract (A) and Sataw-Daan extract (B)

(A)



(B)

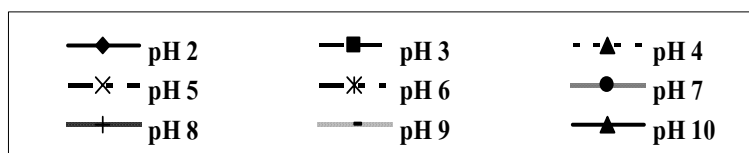
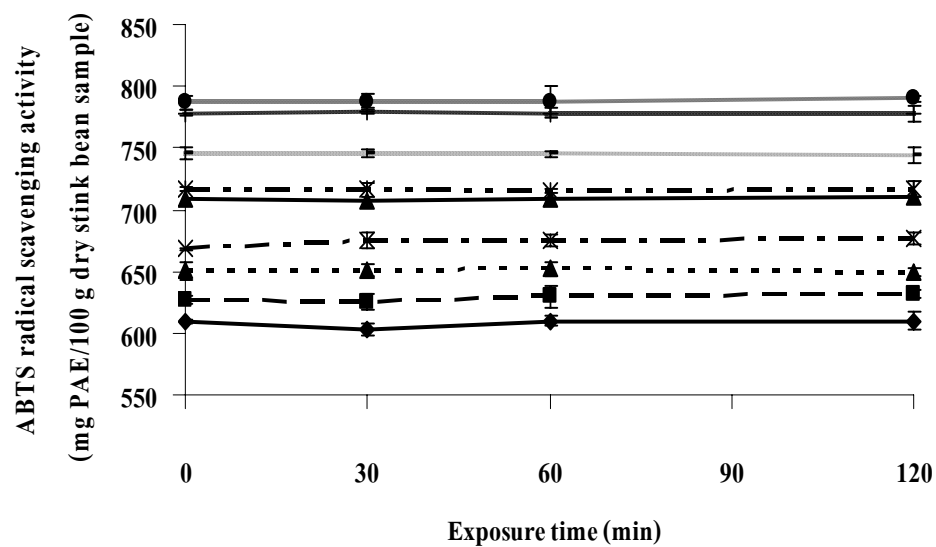
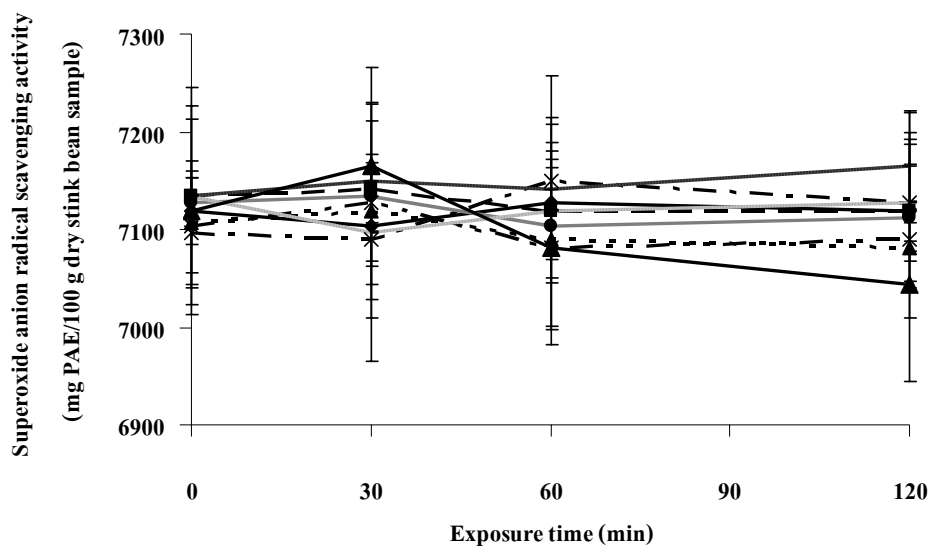


Figure 16. Effect of pHs and exposure times on ABTS radical scavenging activity of Sataw-Khao extract (A) and Sataw-Daan extract (B)

(A)



(B)

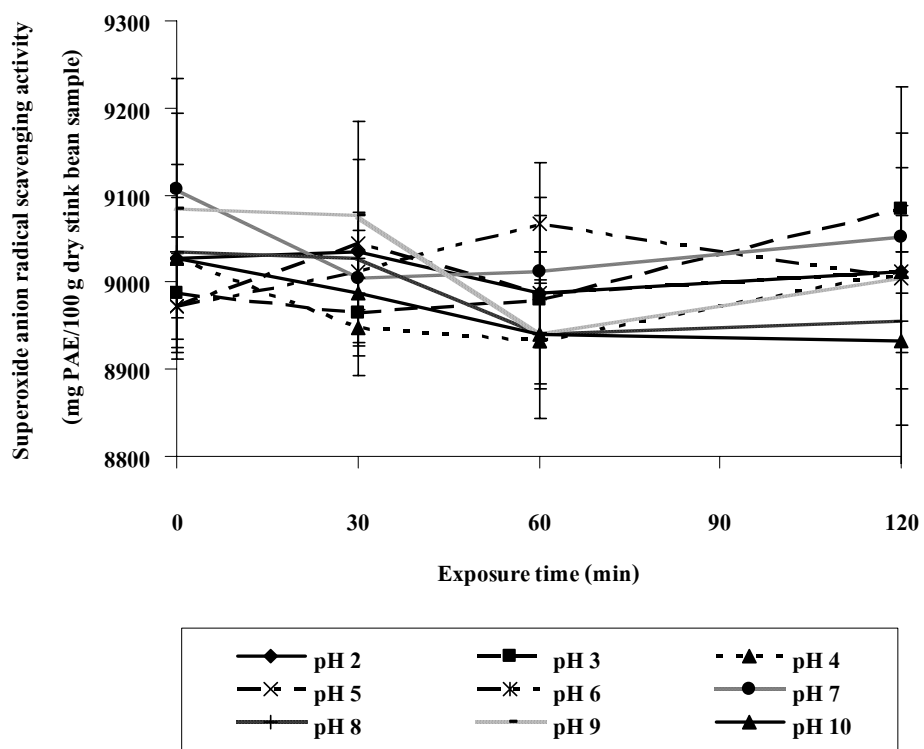
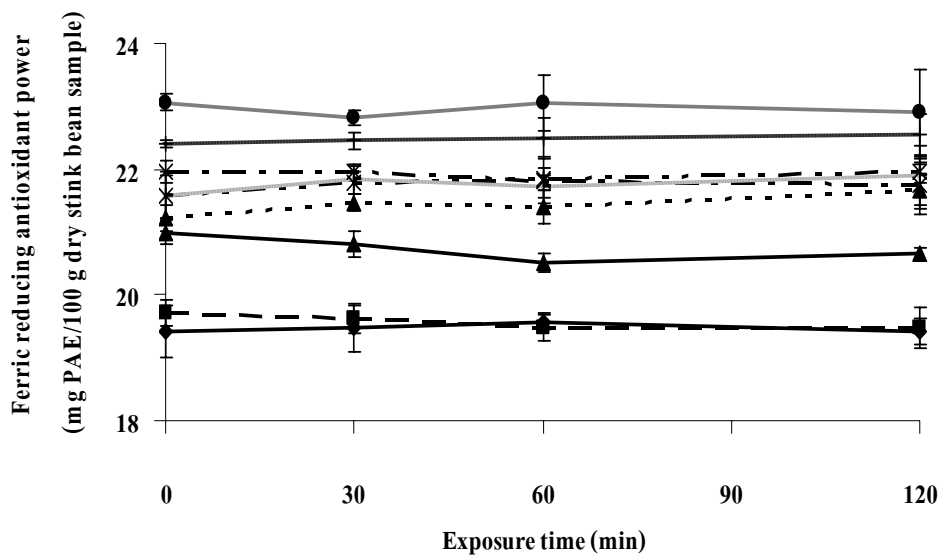


Figure 17. Effect of pHs and exposure times on superoxide anion radical scavenging activity of Sataw-Khao extract (A) and Sataw-Daan extract (B)

(A)



(B)

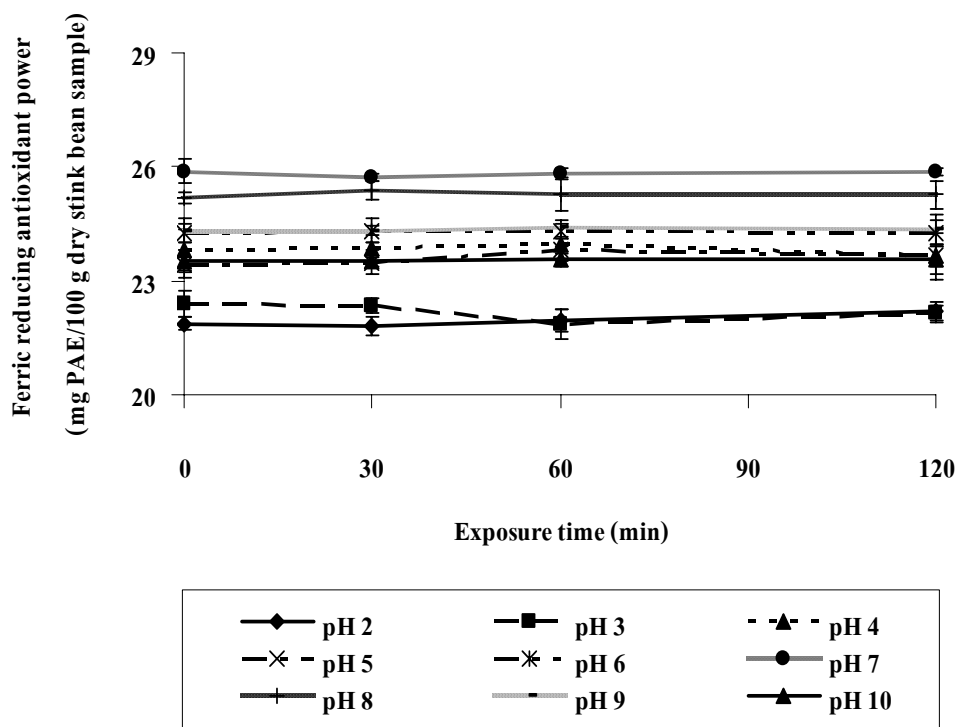


Figure 18. Effect of pHs and exposure times on ferric reducing antioxidant power (FRAP) of Sataw-Khao extract (A) and Sataw-Daan extract (B)

3.3 ผลของปริมาณสารสกัดจากสะตอต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน

ผลของปริมาณสารสกัดต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน แสดงดัง Table 5 พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากสะตอข้าวและสะตอดานมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) เมื่อปริมาณสารสกัดเพิ่มขึ้นจาก 500 ถึง 5,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ($\mu\text{g/ml}$) แต่อย่างไรก็ตาม กิจกรรมการต้านออกซิเดชัน DPPH radical scavenging activity ของสารสกัดจากสะตอข้าวและสะตอดานที่ระดับความเข้มข้นมากกว่า 2,000 $\mu\text{g/ml}$ มีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันที่สูงเกินกว่าการตรวจวัดในช่วงค่าการดูดกลืนแสงที่ทดสอบ ซึ่งการตรวจสอบกิจกรรม DPPH radical scavenging activity เป็นการวัดความสามารถในการจับอนุมูลอิสระของสารทดสอบ โดยใช้ 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระที่มีความคงตัวที่มีสีม่วง (Kaur and Geetha, 2006) เมื่ออนุมูล DPPH รับโปรตอน (H^+) จากสารต้านอนุมูลอิสระ อนุมูล DPPH จะเปลี่ยนจากสีม่วงเป็นสีเหลือง ส่งผลให้การดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ลดลงด้วย ซึ่งจากการทดสอบปริมาณสารสกัดจากสะตอข้าวและสะตอดานที่ 2,000 $\mu\text{g/ml}$ สีของอนุมูล DPPH ถูกเปลี่ยนเป็นสีเหลืองทั้งหมด แสดงว่าที่ความเข้มข้นนี้อนุมูล DPPH ทั้งหมดในปฏิกิริยาเกิดปฏิกิริยากับสารสกัดจนหมดไปแล้ว จึงทำให้ที่ความเข้มข้นของสารสกัดมากกว่า 2,000 $\mu\text{g/ml}$ ปริมาณของสารสกัดมีมากกว่าปริมาณของอนุมูล DPPH ทำให้สามารถจับอนุมูล DPPH ได้ทั้งหมดและไม่สามารถตรวจวัดกิจกรรมการต้านออกซิเดชันโดยการตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยา ซึ่งสอดคล้องกับ Duh และคณะ (1997) โดยพบว่ากิจกรรมการต้านออกซิเดชันของถั่วเขียว (*mung bean*) (*Phaseolus aureus*) เพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณสารสกัดเพิ่มขึ้นถึง 100 ppm และไม่มีการเปลี่ยนแปลงที่ปริมาณสารสกัดจาก 100 ถึง 500 ppm นอกจากนี้ Ratanamahasakul (2000) พบว่าสารสกัดจากเมล็ดกระถินและเมล็ดถั่วดำมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระโดยเป็นตัวให้โปรตอนและอิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระส่งผลยับยั้งปฏิกิริยาถูกโอโซนของการเกิดออกซิเดชันของไขมันได้ โดยความสามารถในการให้โปรตอนและอิเล็กตรอนขึ้นอยู่กับปริมาณที่ใช้ ซึ่งกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากเมล็ดกระถินและเมล็ดถั่วดำเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณของสารสกัดเพิ่มขึ้น ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณของสารสกัดจากสะตอในการทำปฏิกิริยาเพิ่มขึ้น

Table 5. Effect of Sataw-Khao extract (A) and Sataw-Daan extract (B) concentration on extractable phenolic content and antioxidant activities

Sample concentration (µg/ml)	Extractable phenolic content (µg PAE/ml)	Antioxidant activities (µg PAE/ml)			
		DPPH assay	ABTS assay	Superoxide anion assay	FRAP assay
(A) Sataw-Khao extract					
500	6.14±0.40 ^f	7.36±0.20 ^c	14.79±0.41 ^f	173.00±5.00 ^f	46.79±0.43 ^f
1,000	12.37±0.53 ^e	14.87±0.55 ^b	29.56±0.25 ^e	348.00±10.00 ^e	49.62±0.44 ^e
2,000	24.56±0.92 ^d	67.29±0.50 ^a	59.30±0.33 ^d	696.33±10.41 ^d	51.54±0.44 ^d
3,000	37.46±0.85 ^c	ND	89.73±0.39 ^c	1,056.33±20.21 ^c	68.56±0.86 ^c
4,000	49.65±1.10 ^b	ND	118.25±0.57 ^b	1,383.00±18.03 ^b	90.19±0.93 ^b
5,000	61.84±0.26 ^a	ND	125.25±1.39 ^a	1,731.33±12.58 ^a	113.03±0.12 ^a
(B) Sataw-Daan extract					
500	7.72±0.76 ^f	8.92±0.20 ^c	17.03±0.25 ^f	186.50±5.00 ^f	47.71±0.44 ^f
1,000	15.00±0.91 ^e	18.02±0.61 ^b	34.11±0.51 ^e	369.83±17.56 ^e	51.75±0.44 ^e
2,000	29.74±0.70 ^d	67.96±0.77 ^a	67.66±0.38 ^d	738.17±12.58 ^d	53.67±0.44 ^d
3,000	45.26±0.70 ^c	ND	102.89±0.29 ^c	1,128.17±10.41 ^c	77.28±0.86 ^c
4,000	59.74±0.79 ^b	ND	122.47±0.33 ^b	1,494.83±7.64 ^b	101.04±0.93 ^b
5,000	75.18±1.45 ^a	ND	127.45±0.51 ^a	1,869.83±12.58 ^a	126.08±0.61 ^a

ND = Non Detected.

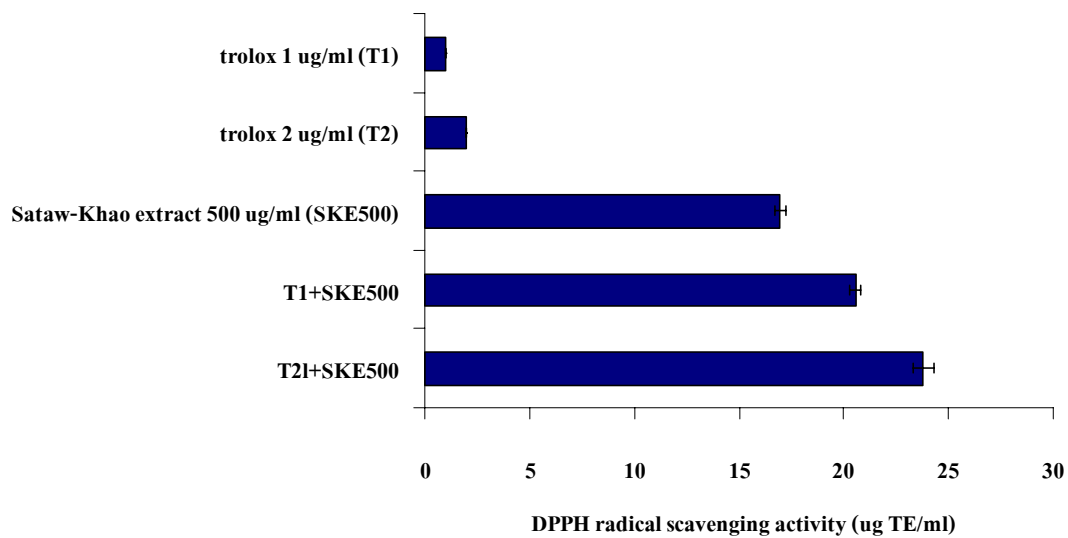
Values are given as mean±SD from triplicate.

Different letters in the same column indicate significant difference (P<0.05).

4. ผลร่วมของสารสกัดจากสะตอกับสารต้านออกซิเดชันทางการค้าต่อกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน

กิจกรรมการต้านออกซิเดชันของผลร่วมระหว่างสารต้านออกซิเดชันทางการค้ากับสารสกัดจากสะตอก้าวและสะตอดานแสดงดัง Figure 19-26 โดยทดสอบกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน DPPH-, ABTS-radical scavenging activity และ FRAP ของสารสกัดจากสะตอร่วมกับสารต้านออกซิเดชันทางการค้า 2 ชนิด คือ trolox รายงานผลในรูปแบบไมโครกรัมสมมูลของ trolox ต่อมิลลิลิตร ($\mu\text{g TE/ml}$) และ ascorbic acid รายงานผลในรูปแบบไมโครกรัมสมมูลของ ascorbic acid ต่อมิลลิลิตร ($\mu\text{g AAE/ml}$) ส่วนกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน superoxide anion radical scavenging activity ทดสอบร่วมกับสารต้านออกซิเดชันทางการค้า 2 ชนิด คือ tannic acid รายงานผลในรูปแบบไมโครกรัมสมมูลของ tannic acid ต่อมิลลิลิตร ($\mu\text{g TAE/ml}$) และ protocatechuic acid รายงานผลในรูปแบบไมโครกรัมสมมูลของ protocatechuic acid ต่อมิลลิลิตร ($\mu\text{g PAE/ml}$) ทั้งนี้เนื่องจาก trolox และ ascorbic acid ไม่มีกิจกรรมการจับอนุมูล superoxide anion จากผลการศึกษาพบว่ากิจกรรมการต้านออกซิเดชันของผลร่วมระหว่างสารต้านออกซิเดชันทางการค้ากับสารสกัดจากสะตอก้าวและสะตอดานเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของการใช้สารต้านออกซิเดชันทางการค้าหรือสารสกัดจากสะตอเพียงอย่างเดียว แสดงว่าการใช้สารสกัดจากสะตอร่วมกับสารต้านออกซิเดชันทางการค้ามีผลส่งเสริมฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชัน ทำให้กิจกรรมการต้านออกซิเดชันสูงขึ้น ทั้งนี้สารต้านออกซิเดชันที่เสริมฤทธิ์กันจะไปเพิ่มหรือเสริมกิจกรรมของการต้านออกซิเดชันนอกเหนือจากกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของตัวเอง (Shahidi and Wanasundara, 1992) เมื่อสารประกอบ ฟีนอลิกให้โปรตอนหรืออิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระแล้ว สารประกอบฟีนอลิกจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปอนุมูลฟีนอกซิล เมื่อมีการเติมสารต้านออกซิเดชันที่เสริมฤทธิ์กันเข้าร่วมไปด้วย สารเหล่านี้จะทำหน้าที่ให้โปรตอนหรืออิเล็กตรอนกับอนุมูลฟีนอกซิล ทำให้อนุมูลฟีนอกซิลกลับมาอยู่ในรูปของสารประกอบฟีนอลิก และสามารถให้โปรตอนหรืออิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระได้อีกครั้ง (Rajalakshmi and Narasimhon, 1995) ซึ่งจากผลการทดลองพบว่า trolox, ascorbic acid, tannic acid และ protocatechuic acid ให้ผลร่วมหรือส่งเสริมให้กิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากสะตอก้าวและสะตอดานสูงขึ้นได้ ดังนั้นการนำสารสกัดจากสะตอไปประยุกต์ใช้จึงอาจใช้ร่วมกับสารต้านออกซิเดชันทางการค้าได้ เนื่องจากให้ผลส่งเสริมกันในการแสดงกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน อีกทั้งยังสามารถลดปริมาณการใช้สารต้านออกซิเดชันทางการค้าเพียงตัวใดตัวหนึ่งลงได้ นอกจากนี้สารสกัดจากสะตอยังมีกลไกในการต้านออกซิเดชันโดยการจับอนุมูลอิสระที่หลากหลายอีกด้วย

(A)



(B)

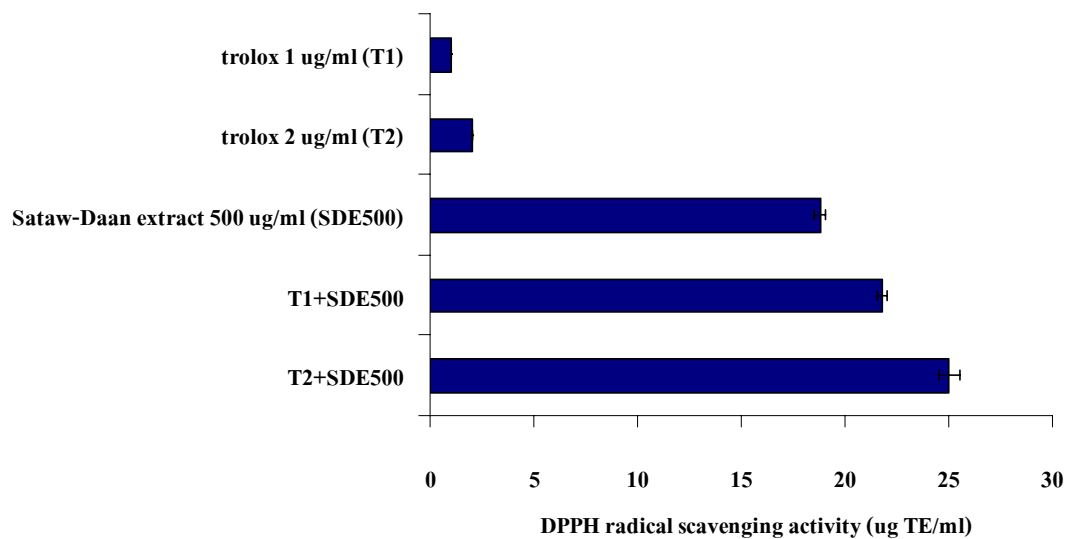
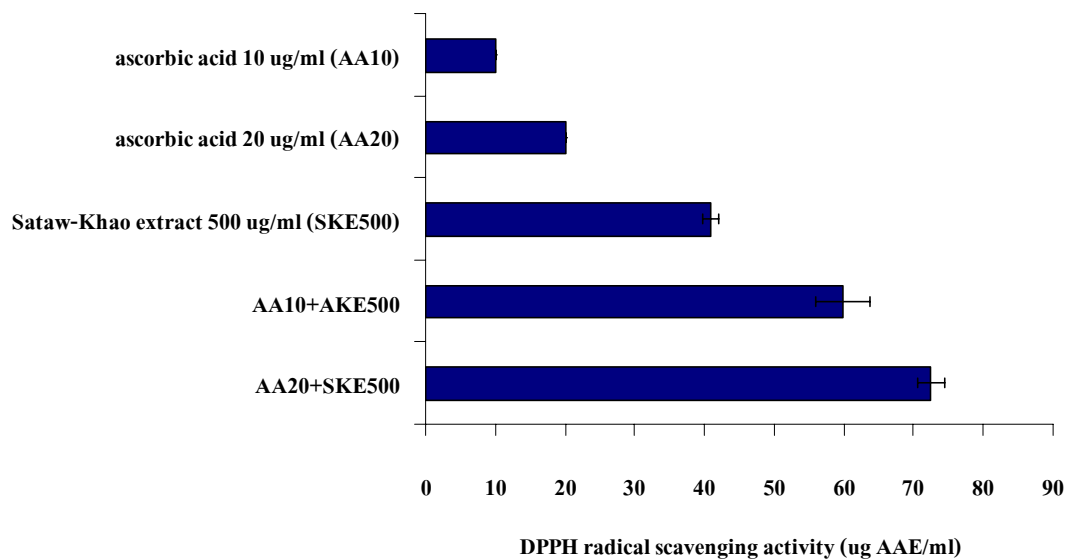


Figure 19. Synergistic effect of Sataw-Khao (A) and Sataw-Daan (B) extract with trolox as determined by DPPH radical scavenging activity

(A)



(B)

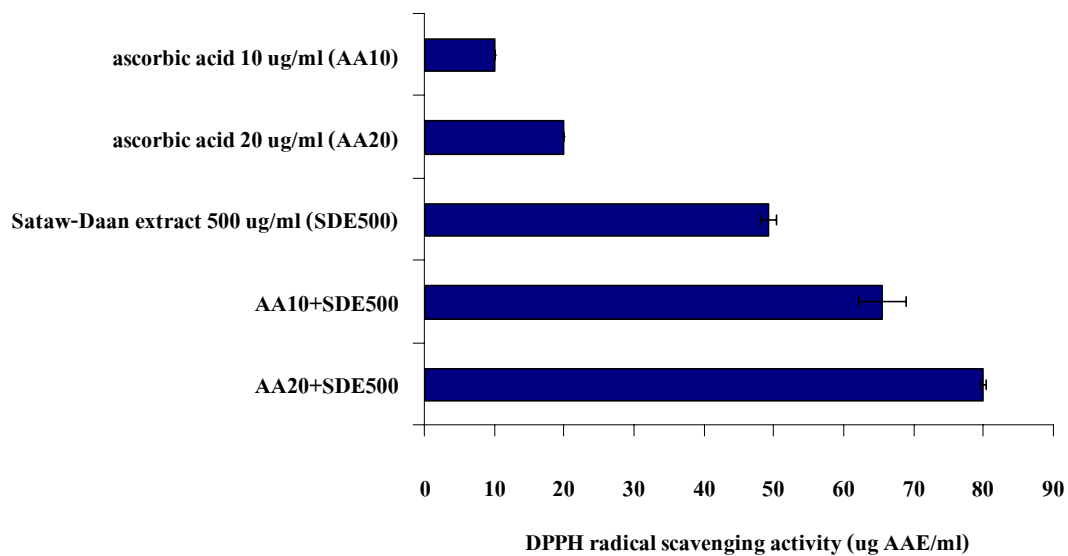
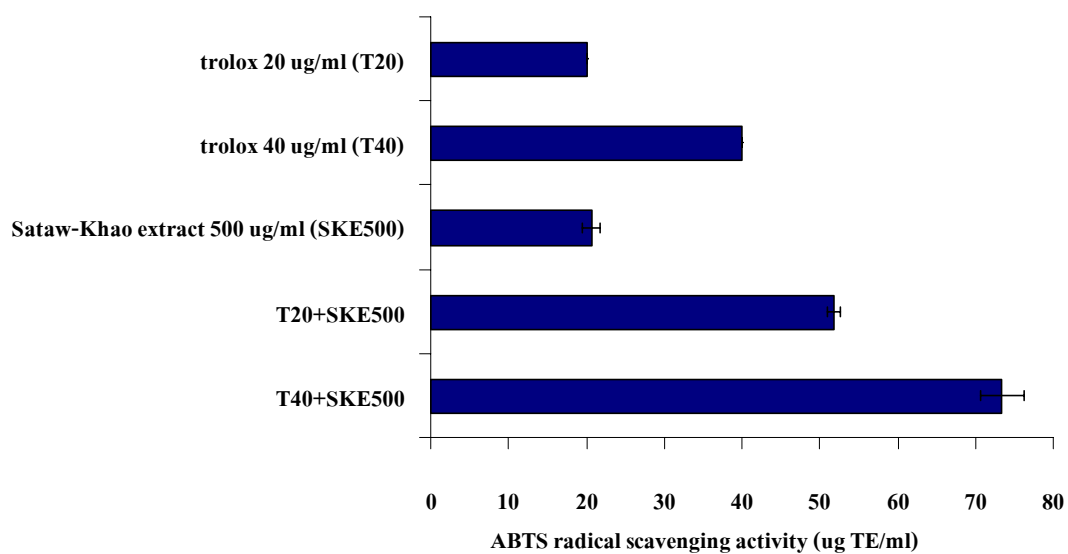


Figure 20. Synergistic effect of Sataw-Khao (A) and Sataw-Daan (B) extract with ascorbic acid as determined by DPPH radical scavenging activity

(A)



(B)

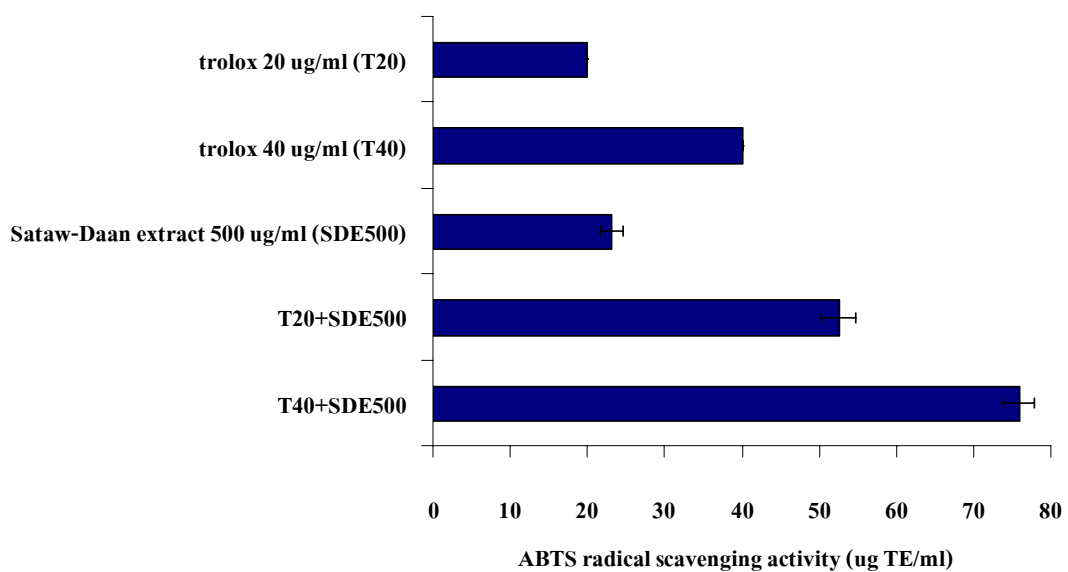
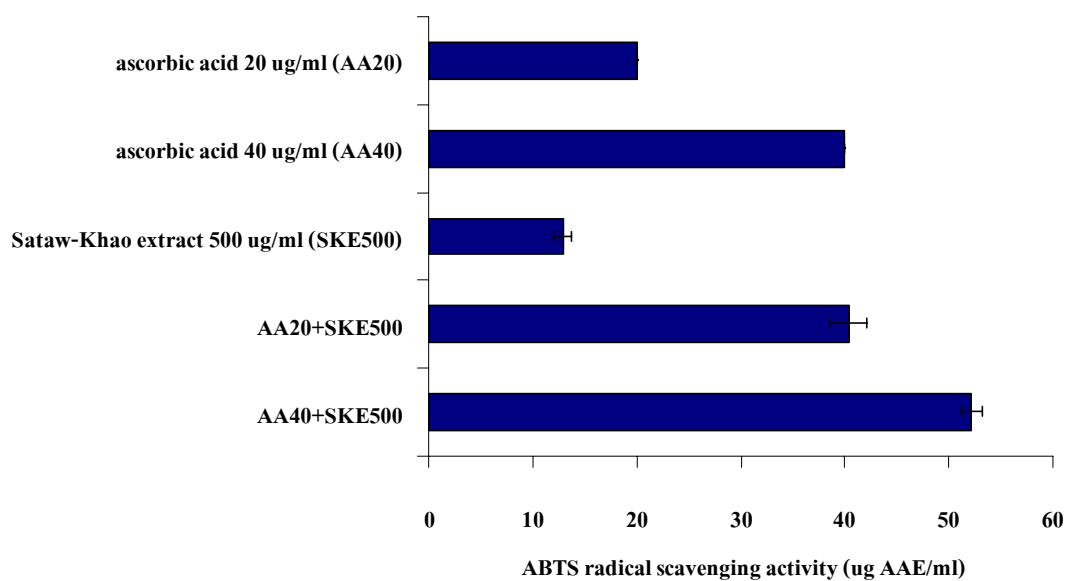


Figure 21. Synergistic effect of Sataw-Khao (A) and Sataw-Daan (B) extract with trolox as determined by ABTS radical scavenging activity

(A)



(B)

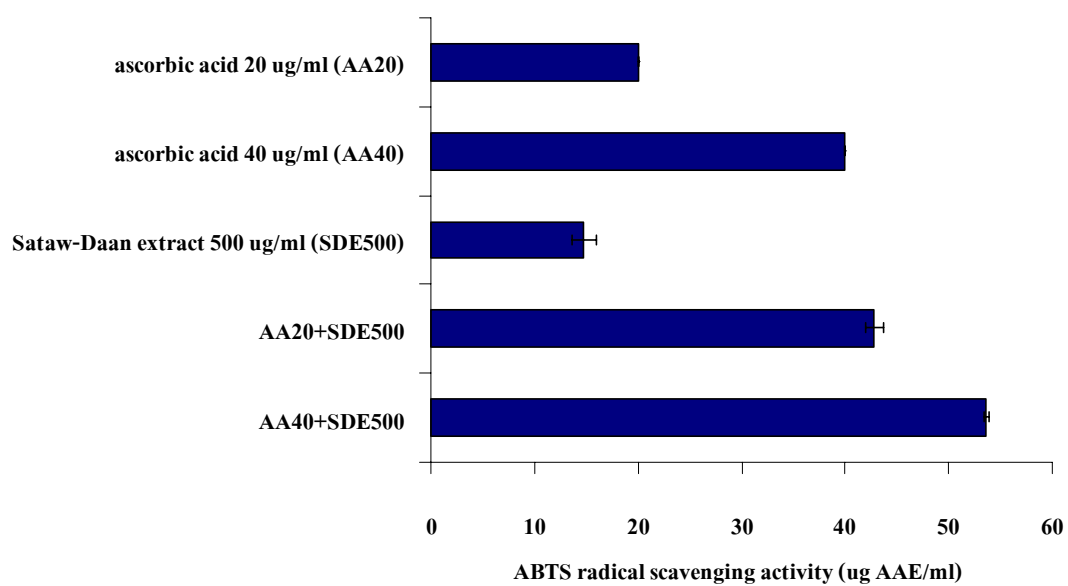
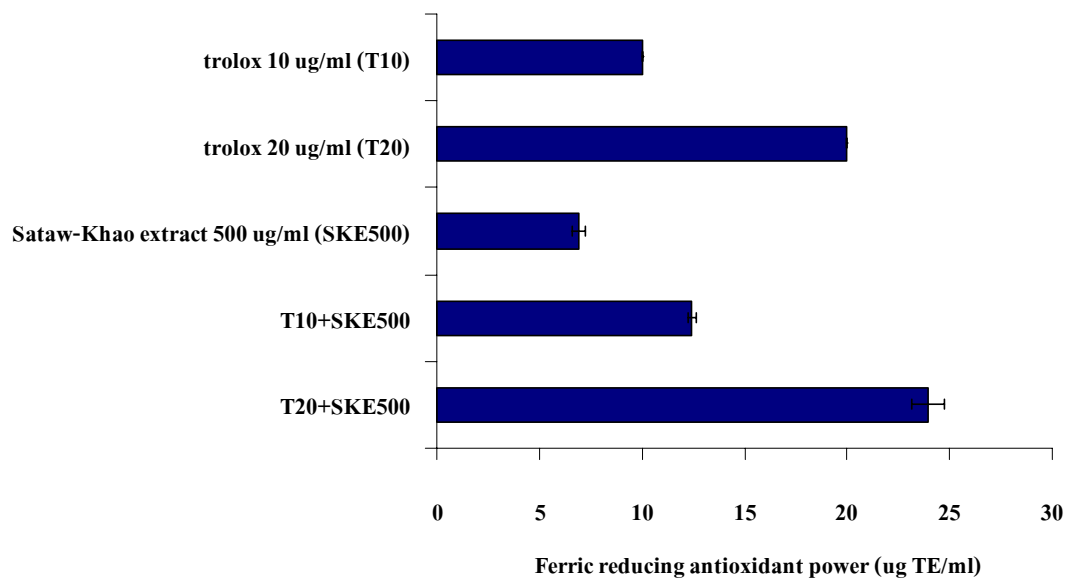


Figure 22. Synergistic effect of Sataw-Khao (A) and Sataw-Daan (B) extract with ascorbic acid as determined by ABTS radical scavenging activity

(A)



(B)

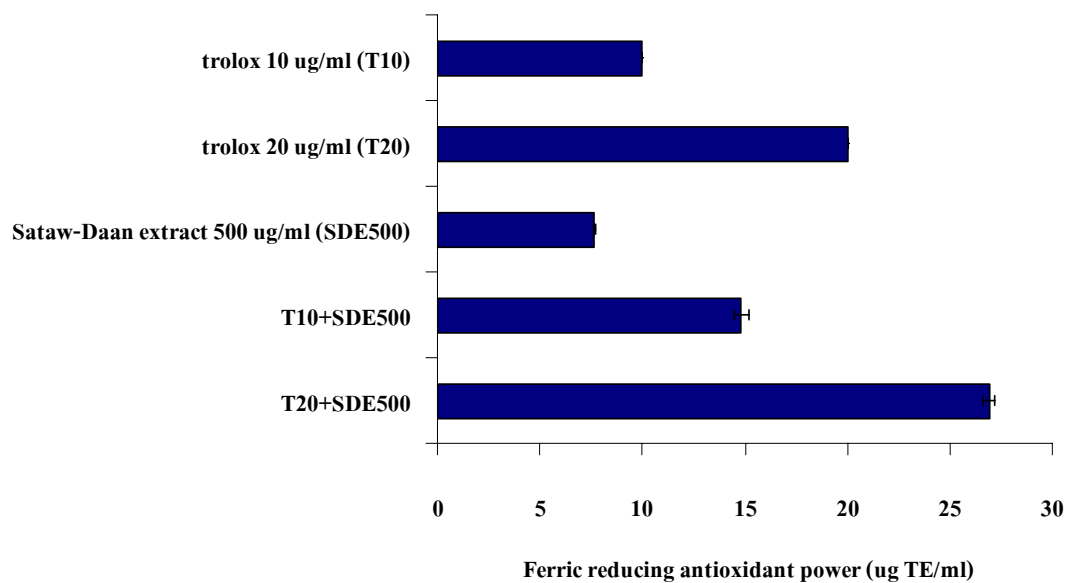
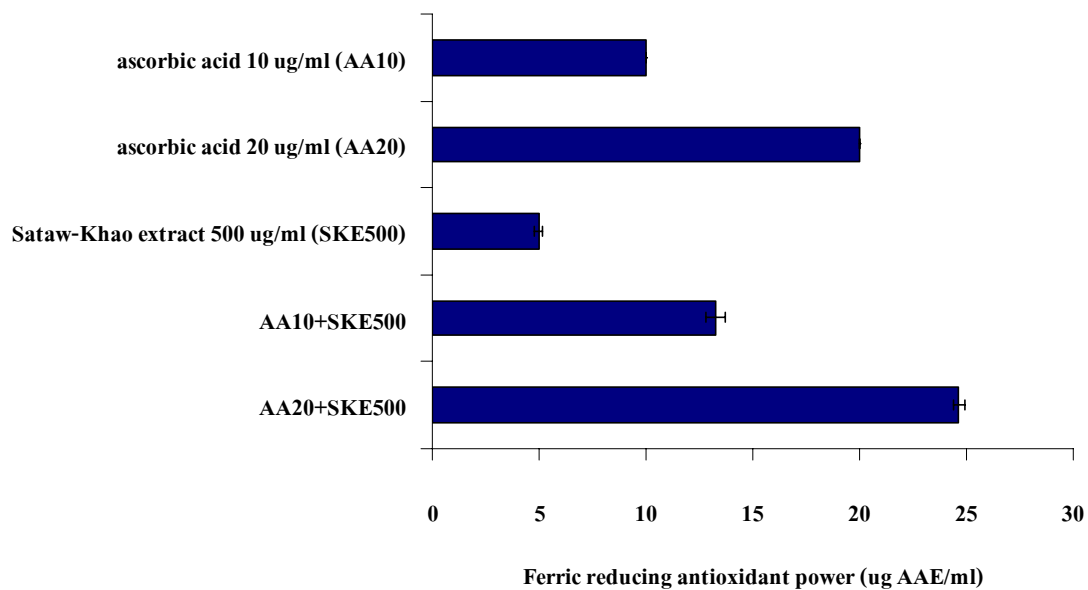


Figure 23. Synergistic effect of Sataw-Khao (A) and Sataw-Daan (B) extract with trolox as determined by ferric reducing antioxidant power (FRAP)

(A)



(B)

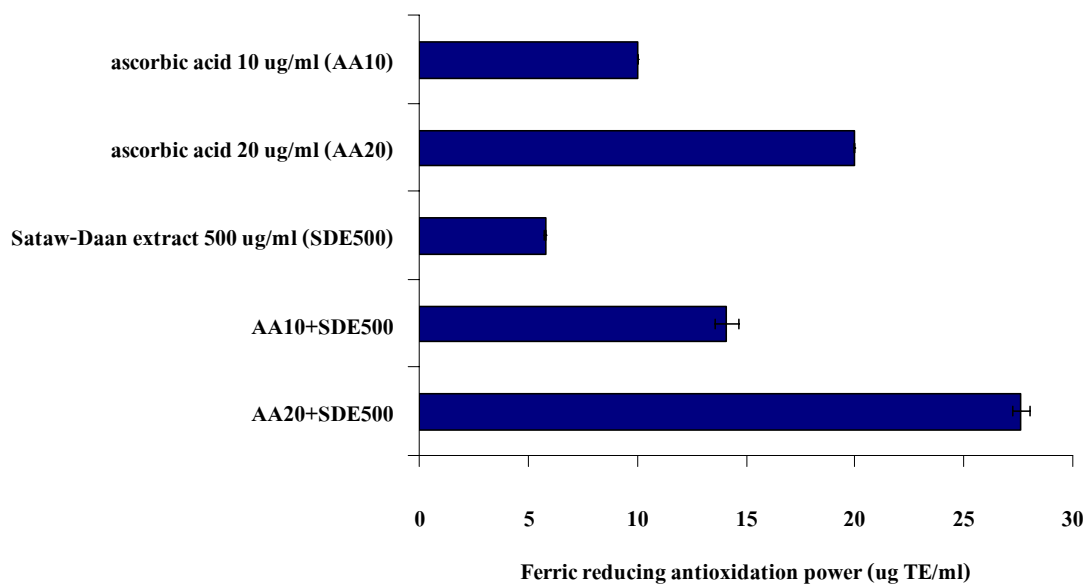


Figure 24. Synergistic effect of Sataw-Khao (A) and Sataw-Daan (B) extract with ascorbic acid as determined by ferric reducing antioxidant power (FRAP)

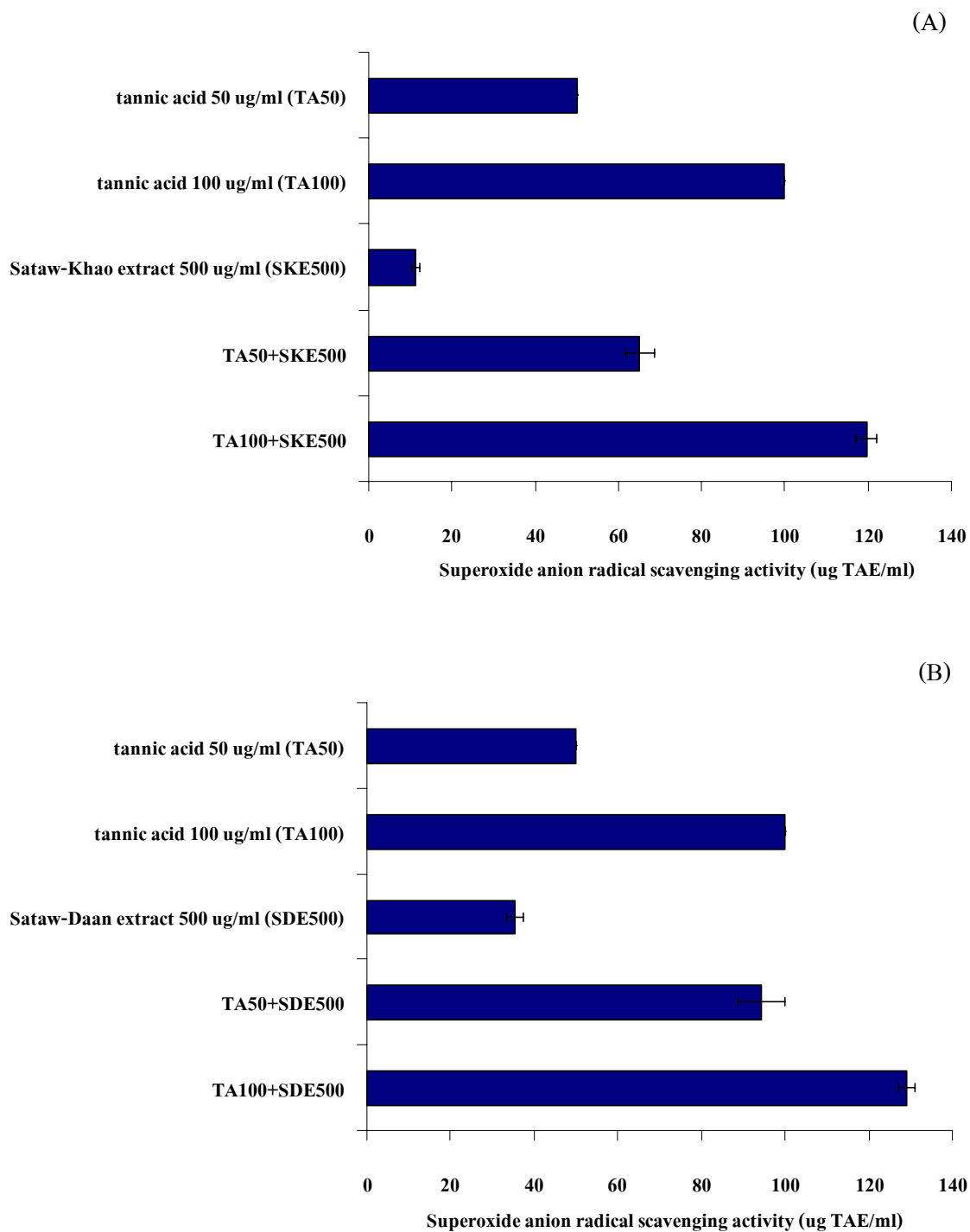
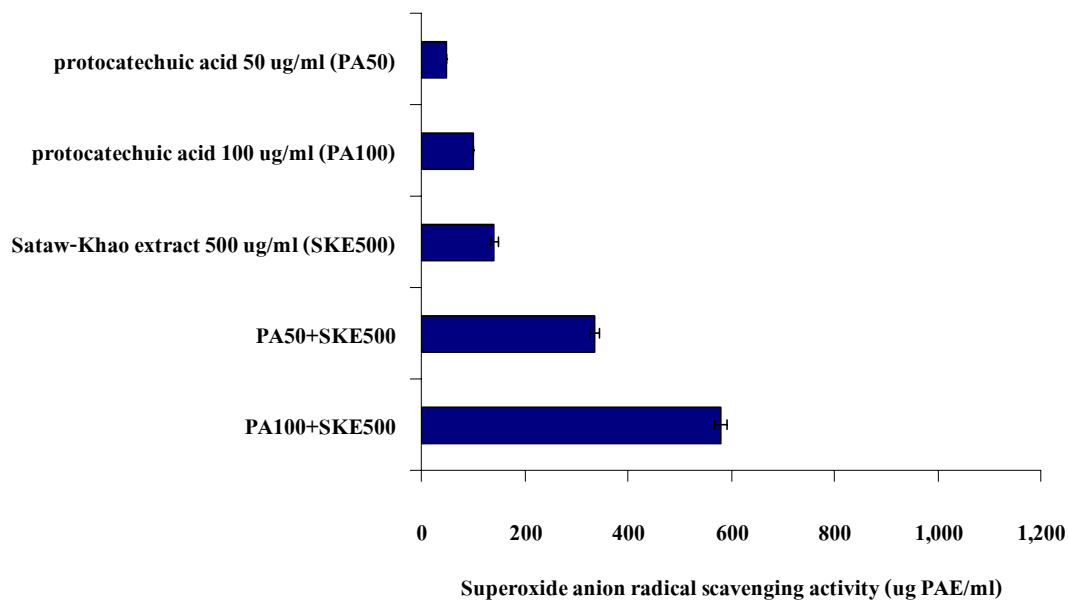


Figure 25. Synergistic effect of Sataw-Khao (A) and Sataw-Daan (B) extract with tannic acid as determined by superoxide anion radical scavenging activity

(A)



(B)

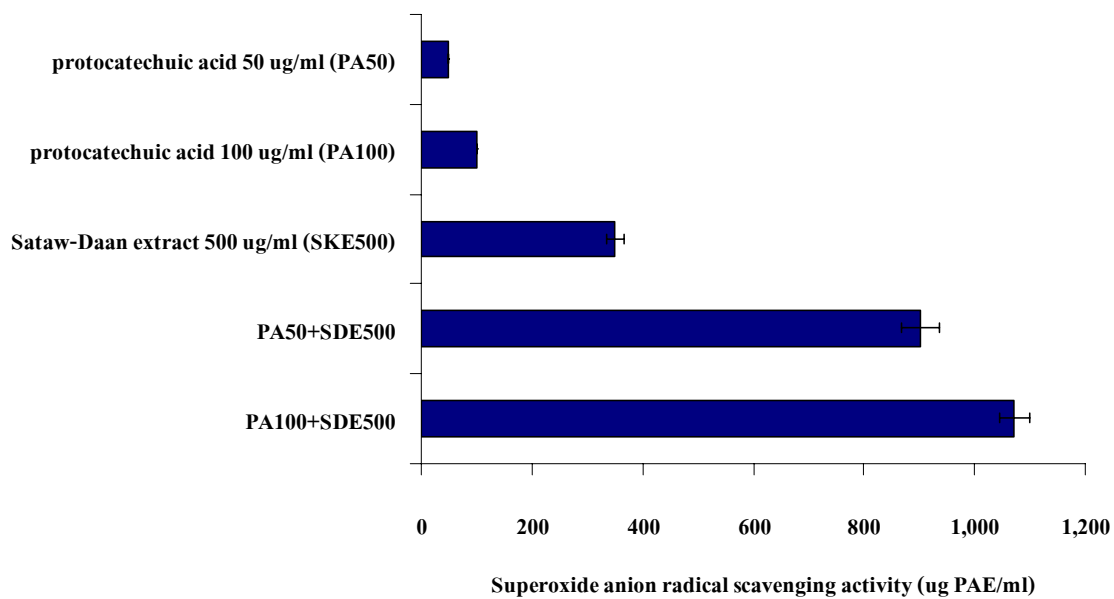


Figure 26. Synergistic effect of Sataw-Khao (A) and Sataw-Daan (B) extract with protocatechuic acid as determined by superoxide anion radical scavenging activity

5. ผลของอุณหภูมิและระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อลักษณะเนื้อสัมผัส ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสะตอ

5.1 ผลของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและแช่เย็น

การเปลี่ยนแปลงค่าแรงต้านการเจาะทะลุของสะตอข้าวและสะตอดานหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและแช่เย็น แสดงดัง Table 6 พบว่าการเก็บรักษาสะตอทั้ง 2 สายพันธุ์ ที่อุณหภูมิห้อง ทำให้ค่าแรงต้านการเจาะทะลุเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นตั้งแต่วันที่ 0 จนถึงวันที่ 7 จาก 7.39 ± 0.18 เป็น 9.57 ± 0.28 นิวตัน และ 6.95 ± 0.17 เป็น 8.21 ± 0.13 นิวตัน สำหรับสะตอข้าวและสะตอดาน ตามลำดับ หลังจากนั้นสะตอเกิดการเน่าเสียจึงหยุดทำการเก็บรักษา ในขณะที่ค่าแรงต้านการเจาะทะลุของสะตอข้าวและสะตอดานที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็นไม่มีการเปลี่ยนแปลง เมื่อทำการเก็บรักษาตั้งแต่วันที่ 0 ถึง 5 แต่มีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) หลังการเก็บรักษาตั้งแต่วันที่ 5 ถึงวันที่ 28 โดยมีค่าเพิ่มขึ้นจาก 7.53 ± 0.18 ถึง 10.49 ± 0.17 นิวตัน และ 6.05 ± 0.17 และ 9.87 ± 0.57 นิวตัน สำหรับสะตอข้าวและสะตอดาน ตามลำดับ หลังจากนั้นสะตอเกิดการเน่าเสียจึงหยุดทำการเก็บรักษา จากผลดังกล่าวสอดคล้องกับรายงานการศึกษาของ Guyer และคณะ (1989) พบว่าเนื้อสัมผัสของถั่วแขกที่เก็บรักษานานขึ้น มีค่า shear value เพิ่มขึ้น เนื่องจากมีการสูญเสียน้ำและการเพิ่มขึ้นของเพคตินที่ไม่ละลายน้ำ (Guyer *et al.*, 1989) โดยค่าความแน่นเนื่องจากการวัดแรงต้านการเจาะทะลุมีผลมาจากหลายปัจจัย ได้แก่ ความแน่นแข็งของเอนโดสเปิร์มและแรงดันเต่ง (turgor pressure) ของเซลล์ซึ่งมีความสัมพันธ์กับปริมาณน้ำภายในเมล็ด (ดิรินทรา ต้นพงษ์พิพัฒชัย, 2546) เมื่อพิจารณาจากการเปลี่ยนแปลงความชื้นของสะตอระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและแช่เย็น (ภาคผนวก Table 10) พบว่าสะตอทั้ง 2 สายพันธุ์ มีค่าความชื้นลดลงระหว่างการเก็บรักษา ดังนั้นเมื่อเก็บรักษาสะตอที่อุณหภูมิห้องและแช่เย็น สะตออาจเกิดการสูญเสียน้ำเนื่องจากการคายน้ำ จึงทำให้เมล็ดสะตอแห้งและแข็งมากขึ้น โดยการเก็บรักษาสะตอที่อุณหภูมิแช่เย็นสามารถชะลอการคายน้ำ แต่ไม่สามารถหยุดการคายน้ำของสะตอได้ จึงทำให้ค่าแรงต้านการเจาะทะลุเพิ่มขึ้นเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลานานขึ้น

การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสะตอข้าวและสะตอดานระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและแช่เย็นแสดงดัง Figure 27-29 พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสะตอข้าวและสะตอดานเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน หลังจากนั้นสะตอเกิดการเน่าเสียจึงหยุดทำการเก็บรักษา ส่วนปริมาณ

สารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสะตอที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 14 และ 21 วัน สำหรับสะตอข้าวและสะตอดาน ตามลำดับ และพบว่าเมื่อทำการเก็บรักษาเป็นระยะเวลาที่นานขึ้นปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันลดลง โดยสะตอเกิดการเน่าเสียหลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 21 และ 28 วัน สำหรับสะตอข้าวและสะตอดาน ตามลำดับ จึงหยุดทำการเก็บรักษา ทั้งนี้กิจกรรมการต้านออกซิเดชันของผักและผลไม้ส่วนใหญ่เกิดจากสารประกอบฟีนอลิก (Kalt *et al.*, 1999) จากผลการทดลองที่ได้ใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Patthamakanokporn และคณะ (2008) ซึ่งรายงานว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของผลฝรั่งเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน นอกจากนี้ Granito และคณะ (2008) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของถั่วแขก (*Phaseolus vulgaris*) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 11 และที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 11 และ 80 เป็นเวลา 150 วัน พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของถั่วแขกเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 90 วัน และมีการเปลี่ยนแปลงลดลงเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลานานขึ้น และสอดคล้องกับการศึกษาของ Srisuma และคณะ (1989) ซึ่งพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของถั่วแขกเพิ่มขึ้น

Table 6. Puncture force of stink bean seed during storage at room temperature (RT) and chilling temperature (CT)

Storage time (day)	Puncture force (N)			
	Sataw-Khao		Sataw-Daan	
	RT	CT	RT	CT
0	7.39±0.18 ^d	7.39±0.18 ^c	6.95±0.17 ^d	6.95±0.17 ^e
3	8.00±0.10 ^c	7.43±0.12 ^c	7.58±0.12 ^c	7.17±0.13 ^e
5	9.13±0.40 ^b	7.53±0.12 ^c	8.00±0.33 ^b	7.27±0.13 ^e
7	9.57±0.28 ^a	8.12±0.36 ^d	8.62±0.13 ^a	8.25±0.10 ^d
14	-	8.50±0.13 ^c	-	8.82±0.11 ^c
21	-	9.56±0.24 ^b	-	9.51±0.30 ^b
28	-	10.49±0.17 ^a	-	9.87±0.57 ^a

Values are given as mean±SD from 10 replicates.

Different letters in the same column indicate significant difference ($P<0.05$).

ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 85 นอกจากนี้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกอิสระของถั่วแขกเพิ่มขึ้นระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 (Garcia *et al*, 1998) ทั้งนี้เนื่องจากระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องหรือแช่เย็นผักและผลไม้ยังคงมีการหายใจเกิดขึ้น ทำให้เกิดการใช้และสังเคราะห์สารต่างๆ ขึ้นได้ โดยในกระบวนการหายใจของพืชมีการสังเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกโดยใช้กรดอะมิโนที่มีวงแหวนอะโรมาติก (aromatic amino acids) ได้แก่ L-phenylalanine และ L-tyrosine เป็นสารตั้งต้น โดยอาศัย shikimate pathway ซึ่งกรดอะมิโนทั้ง 2 ชนิด สามารถถูกกำจัดหมู่อะมิโน (deamination) ได้โดยเอนไซม์ phenylalanine ammonium lyase และ tyrosine ammonium lyase ได้เป็นกรดฟีนอลิก hydrocinnamic acid นอกจากนี้อาจเกิดกรดฟีนอลิกโมเลกุลอิสระได้ โดยการย่อย (hydrolysis) สารประกอบโพลีฟีนอล ทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกอิสระที่วิเคราะห์ได้เพิ่มขึ้นระหว่างการเก็บรักษา (Granito *et al.*, 2008) ดังนั้นปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสะตอข้าวและสะตอดานที่เพิ่มขึ้นระหว่างการเก็บรักษาอาจเนื่องมาจากสาเหตุดังกล่าว

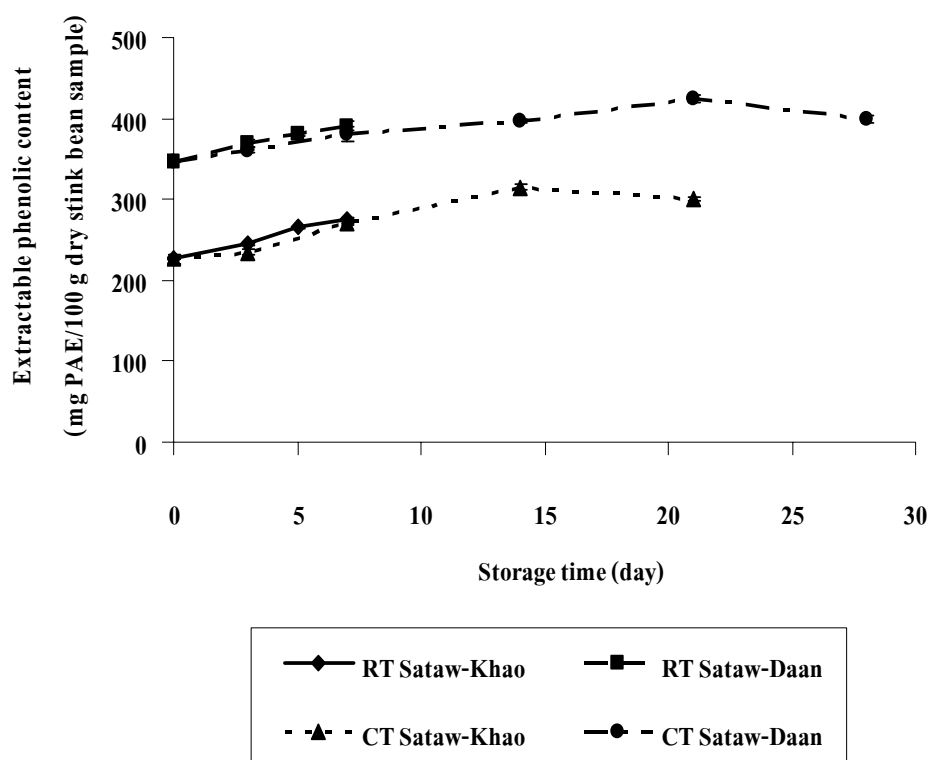
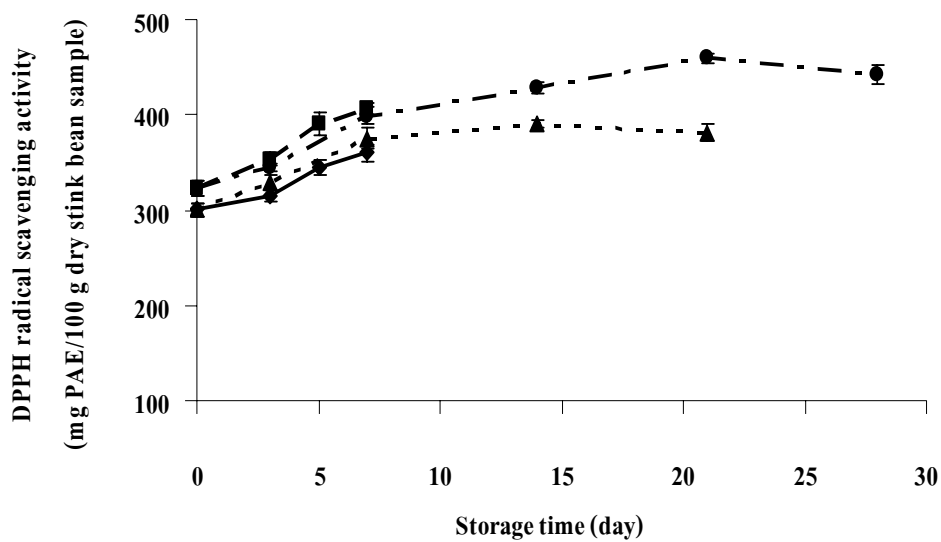


Figure 27. Changes in extractable phenolic content of Sataw-Khao and Sataw-Daan during storage at room temperature (RT) and chilling temperature (CT)

(A)



(B)

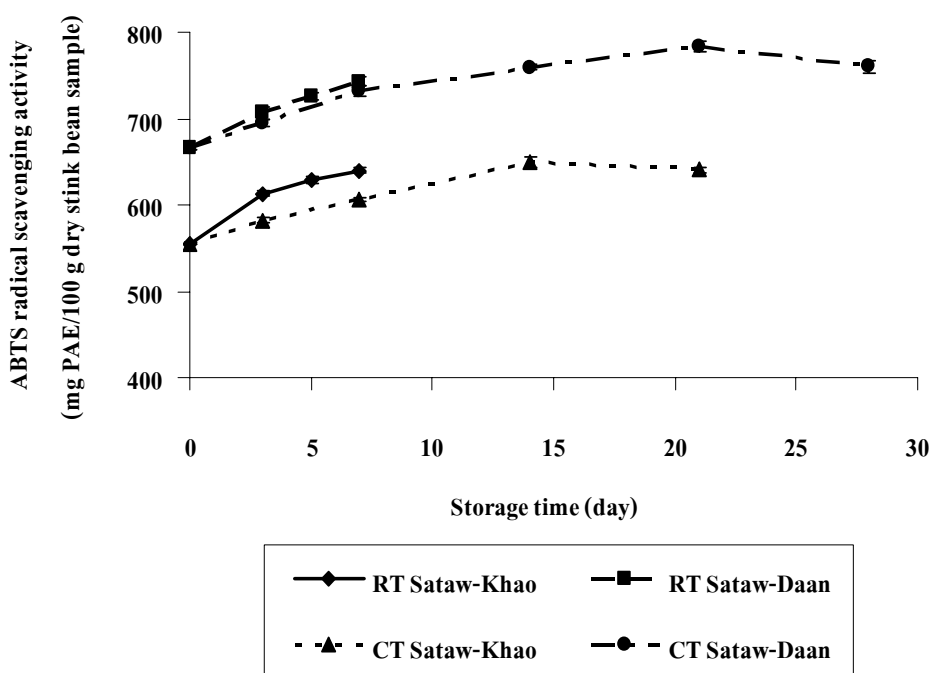
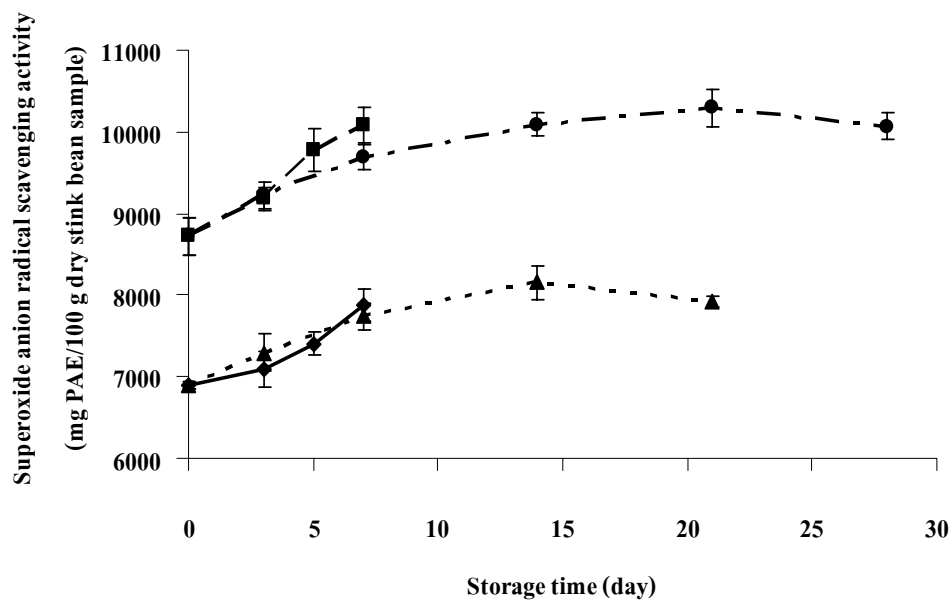


Figure 28. Changes in DPPH radical scavenging activity (A) and ABTS radical scavenging activity (B) of Sataw-Khao and Sataw-Daan during storage at room temperature (RT) and chilling temperature (CT)

(A)



(B)

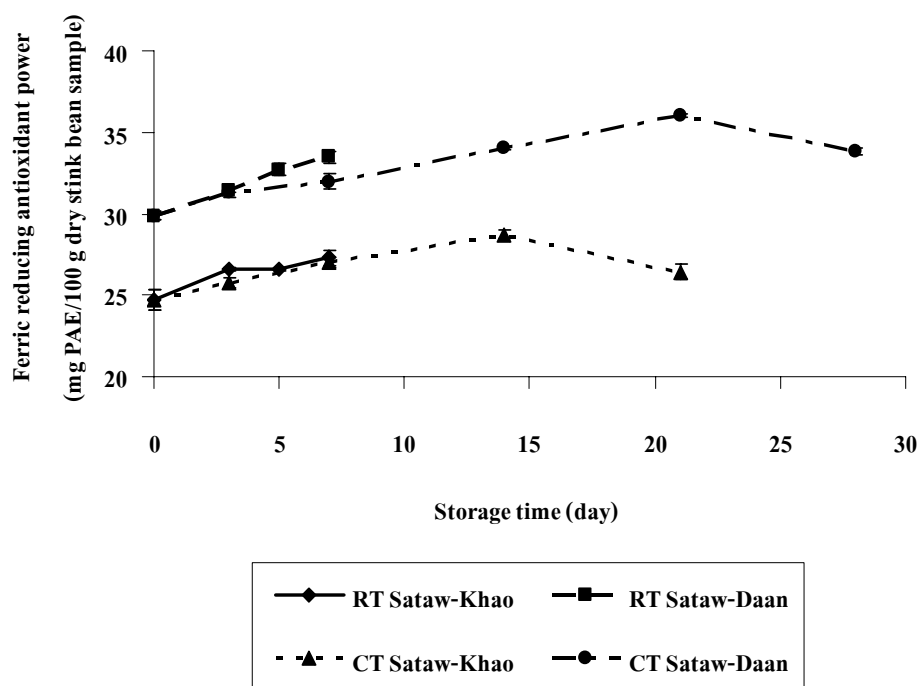


Figure 29. Changes in superoxide anion radical scavenging activity (A) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) (B) of Sataw-Khao and Sataw-Daan during storage at room temperature (RT) and chilling temperature (CT)

5.2 ผลของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่แข็งและการแช่แข็ง-ทำละลาย

การเปลี่ยนแปลงค่าแรงด้านการเจาะทะลุของสะดอข้าวและสะดอดานระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่แข็งและการแช่แข็ง-ทำละลายแสดงดัง Table 7 และ 8 พบว่าค่าแรงด้านการเจาะทะลุของสะดอข้าวและสะดอดานไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่แข็ง (-20 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 8 เดือน (Table 7) ในขณะที่ค่าแรงด้านการเจาะทะลุของสะดอทั้ง 2 สายพันธุ์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) เมื่อทำการการแช่แข็งแล้วทำละลายมากกว่า 1 รอบ (Table 8) โดยค่าแรงด้านการเจาะทะลุลดลงต่ำสุดที่จำนวนการแช่แข็ง-ทำละลาย 7 รอบ จาก 7.37 ± 0.22 เป็น 2.02 ± 0.39 และจาก 6.92 ± 0.08 เป็น 2.92 ± 0.23 นิวตัน สำหรับสะดอข้าวและสะดอดาน ตามลำดับ ซึ่งการแช่แข็งและทำละลายมีผลทำให้ค่าแรงด้านการเจาะทะลุของสะดอลดลงอย่างมากเมื่อเทียบกับสะดอสอดที่ไม่ผ่านการแช่แข็งและทำละลาย เนื่องจากในระหว่างกระบวนการแช่แข็ง ผักและผลไม้ได้รับความเสียหายจากผลึกน้ำแข็งที่เกิดขึ้น เมื่อทำการละลายน้ำแข็งเซลล์ที่ถูกทำลายจะไม่กลับมาอีรูปร่างและความแข็งแรงเหมือนเดิม ผักและผลไม้จึงมีเนื้อสัมผัสที่นิ่มลง (วิล รังสาตทอง, 2547) ดังนั้นเมื่อนำสะดอมาทำละลายและแช่แข็งอีกครั้งอาจทำให้เซลล์ภายในของสะดอถูกทำลายเพิ่มมากขึ้น ทำให้ค่าแรงด้านการเจาะทะลุของสะดอลดลงเมื่อจำนวนครั้งของการแช่แข็ง-ทำละลายเพิ่มขึ้น โดยจำนวนครั้งของการแช่แข็ง-ทำละลายที่เท่ากันสะดอข้าวมีค่าแรงด้านการเจาะทะลุลดลงต่ำกว่าสะดอดาน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากความแตกต่างระหว่างโครงสร้างของเนื้อเยื่อภายในเมล็ดสะดอ ซึ่งอาจมีการจัดเรียงโครงสร้างแตกต่างกันไปหรือความคงทนต่อการถูกทำลายของเซลล์โดยผลึกน้ำแข็งที่เกิดขึ้น

Table 7. Puncture force of stink bean seed during frozen storage

Storage time (month)	Puncture force (N)	
	Sataw-Khao	Sataw-Daan
0	7.39 ± 0.18^a	6.95 ± 0.20^a
0.5	7.30 ± 0.04^a	6.90 ± 0.20^a
1	7.30 ± 0.18^a	6.89 ± 0.14^a
2	7.28 ± 0.12^a	6.89 ± 0.10^a
4	7.29 ± 0.11^a	6.89 ± 0.09^a
6	7.29 ± 0.12^a	6.89 ± 0.11^a
8	7.29 ± 0.09^a	6.89 ± 0.14^a

Values are given as mean \pm SD from 10 replicates.

Different letters in the same column indicate significant difference ($P<0.05$).

Table 8. Puncture force of stink bean seed during freeze-thaw cycles

Freeze-thaw (cycles)	Puncture force (N)	
	Sataw-Khao	Sataw-Daan
0	7.39±0.18 ^a	6.95±0.17 ^a
1	7.37±0.22 ^a	6.92±0.08 ^a
2	5.74±0.54 ^b	6.19±0.25 ^b
3	4.15±0.65 ^c	4.37±0.52 ^c
5	2.50±0.21 ^d	3.29±0.21 ^d
7	2.02±0.39 ^d	2.92±0.23 ^c

Values are given as mean±SD from 10 replicates.

Different letters in the same column indicate significant difference (P<0.05).

การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสะตอข้าวและสะตอดานระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่แข็งและการแช่แข็ง-ทำละลายแสดงดัง Figure 30-35 พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสะตอข้าวและสะตอดานไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ (P>0.05) ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่แข็ง เป็นเวลา 8 เดือน สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Hunter และ Fletcher (2002) ซึ่งพบว่ากิจกรรมการต้านออกซิเดชันของถั่วลิ้นเต่าและผักขมไม่มีการเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 21 วัน ในทำนองเดียวกัน Patthamakanokporn และคณะ (2008) รายงานว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของมะเขือขี้ (Clestocalyx nervosum var paniala) ไม่มีการเปลี่ยนแปลงหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือน นอกจากนี้ปริมาณของแอนโทไซยานินในบลูเบอร์รี่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่แข็งเป็นเวลา 3 เดือน (Lohachoompol et al., 2004) ทั้งนี้อัตราการเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์และชีวเคมีลดลงเมื่อมีการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่แข็ง (Fellows, 2000) ในขณะที่ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสะตอข้าวและสะตอดานที่ทำการแช่แข็ง-ทำละลาย มีค่าเพิ่มขึ้นระหว่างการแช่แข็งแล้วนำไปทำละลาย โดยปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อทำการแช่แข็งและทำละลายจำนวน 3 รอบ แต่ค่าเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยและค่อนข้างคงที่เมื่อผ่านการแช่แข็งและทำละลายจำนวน 5 และ 7 รอบ ตามลำดับสำหรับสะตอข้าวและสะตอดาน โดยระหว่างกระบวนการแช่แข็งผักและผลไม้ เซลล์จะได้รับความ

เสียหายจากผลึกน้ำแข็งที่เกิดขึ้น และเมื่อทำการละลายน้ำแข็ง สารต่างๆ ที่อยู่ในเซลล์จะไหลออกมา (วิลโลว์ รังสาตทอง, 2547) ดังนั้นสารประกอบฟีนอลิกอาจถูกปลดปล่อยออกมาระหว่างการแช่แข็ง-ทำละลายมากขึ้น เนื่องจากผนังเซลล์และโครงสร้างของเซลล์ต่างๆ ของสวะตอถูกทำลาย ทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสวะตอเพิ่มขึ้นเมื่อจำนวนครั้งของการแช่แข็ง-ทำละลายเพิ่มขึ้น

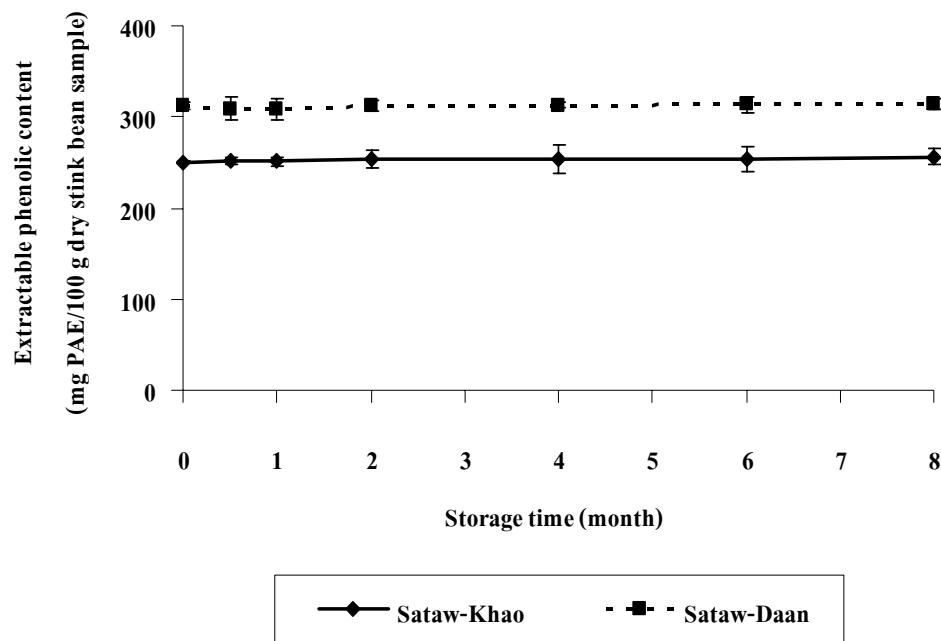
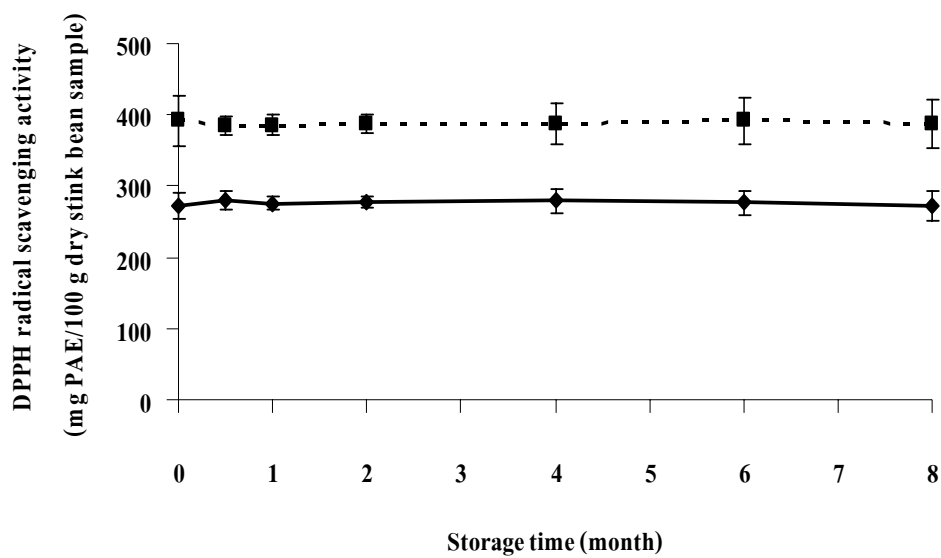


Figure 30. Changes in extractable phenolic content of Sataw-Khao and Sataw-Daan as affected by frozen storage

(A)



(B)

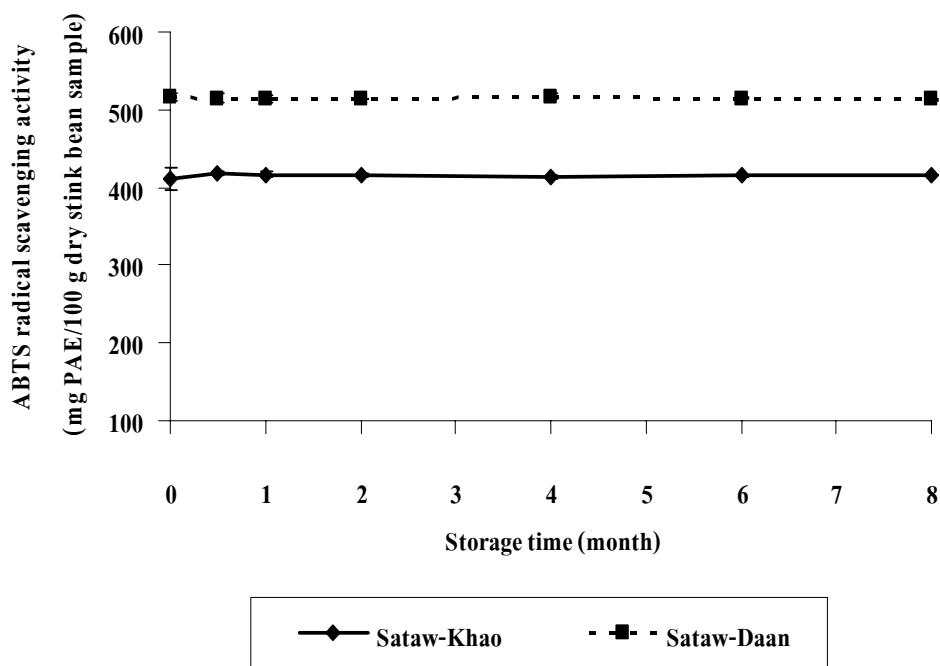
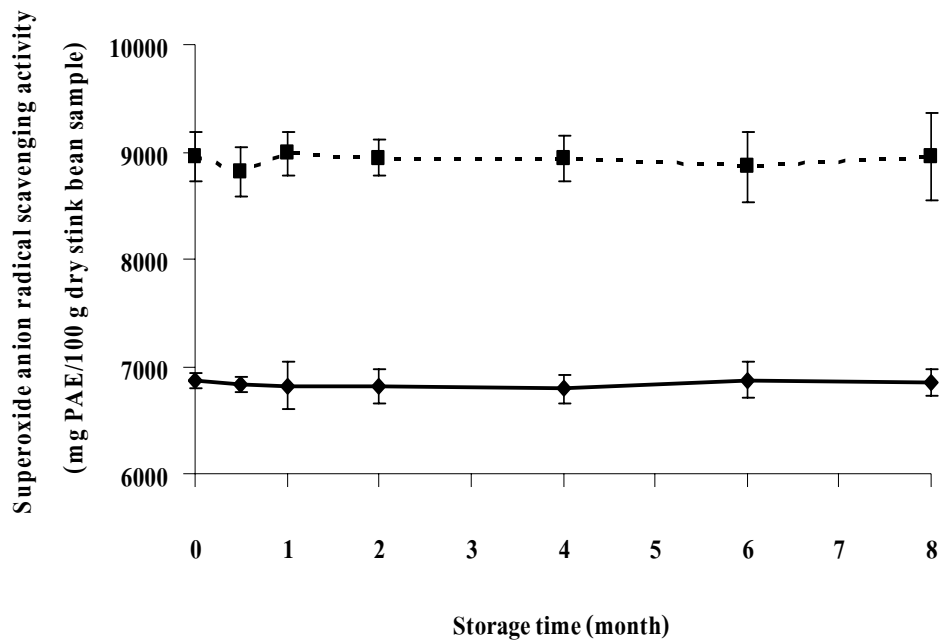


Figure 31. Changes in DPPH radical scavenging activity (A) and ABTS radical scavenging activity (B) of Sataw-Khao and Sataw-Daan as affected by frozen storage

(A)



(B)

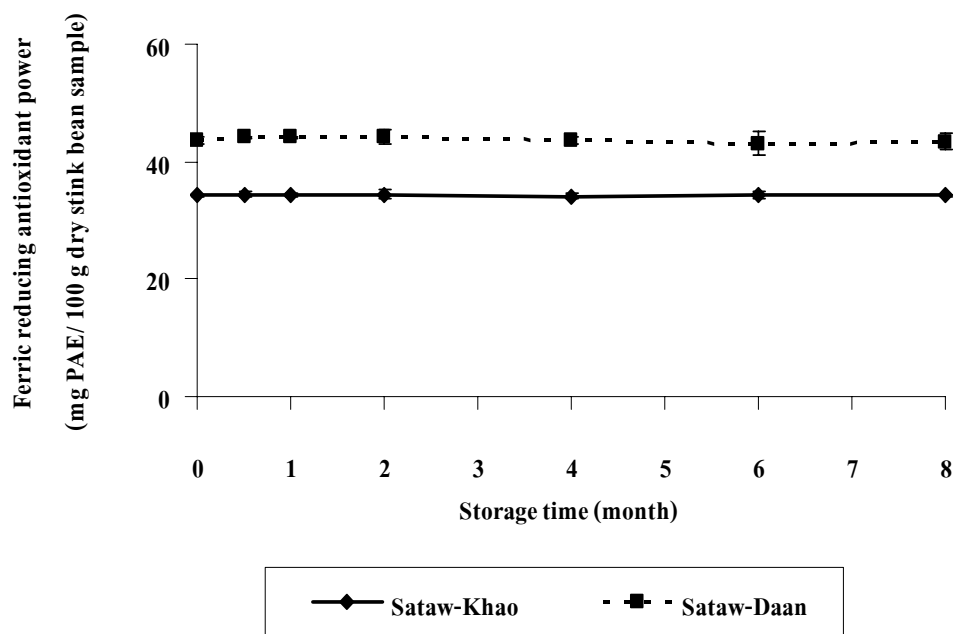


Figure 32. Changes in superoxide anion radical scavenging activity (A) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) (B) of Sataw-Khao and Sataw-Daan as affected by frozen storage

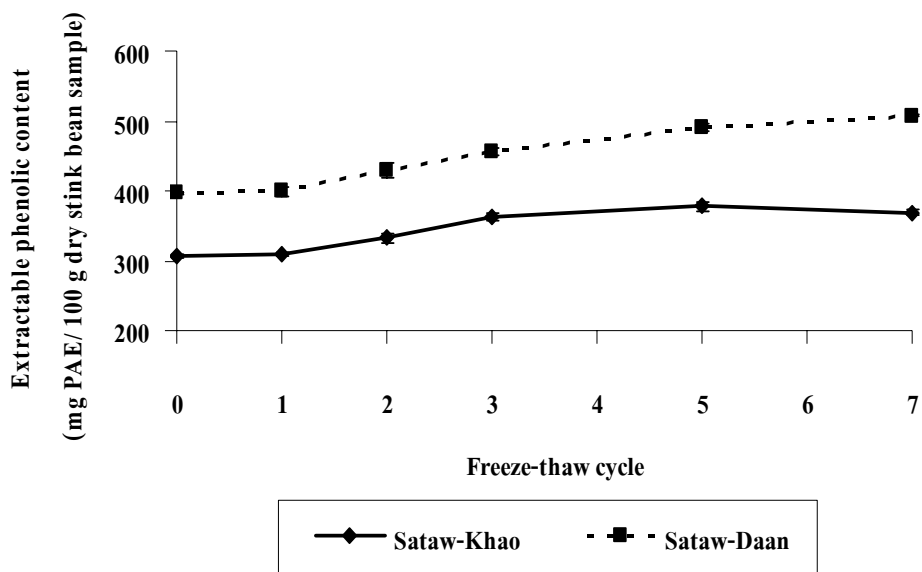
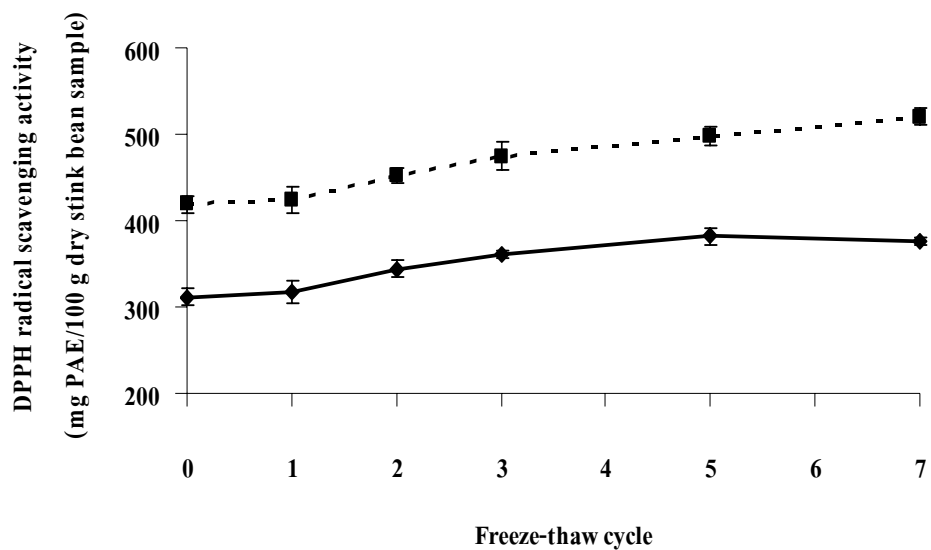


Figure 33. Changes in extractable phenolic content of Sataw-Khao and Sataw-Daan as affected by freeze-thaw cycles

(A)



(B)

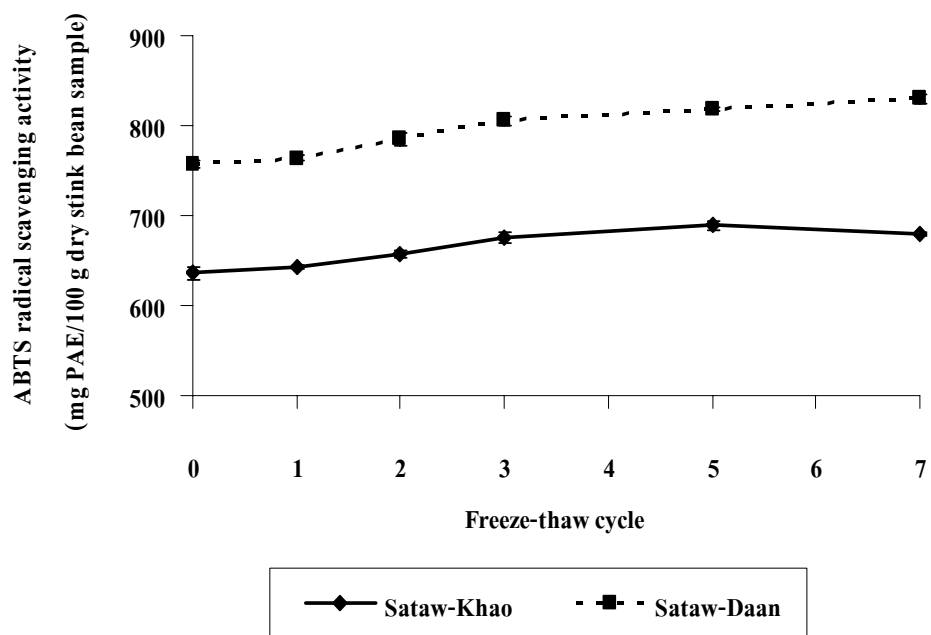
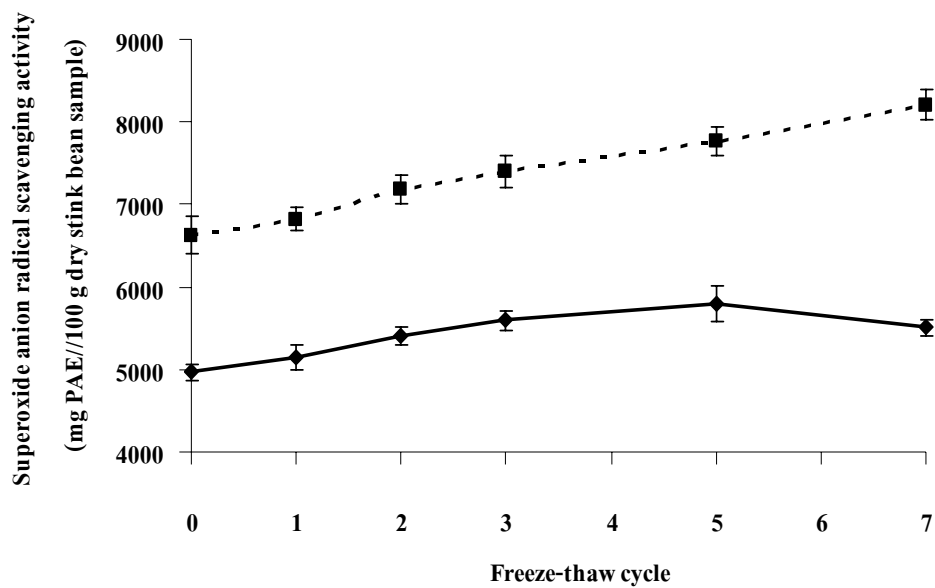


Figure 34. Changes in DPPH radical scavenging activity (A) and ABTS radical scavenging activity (B) of Sataw-Khao and Sataw-Daan as affected by freeze-thaw cycles

(A)



(B)

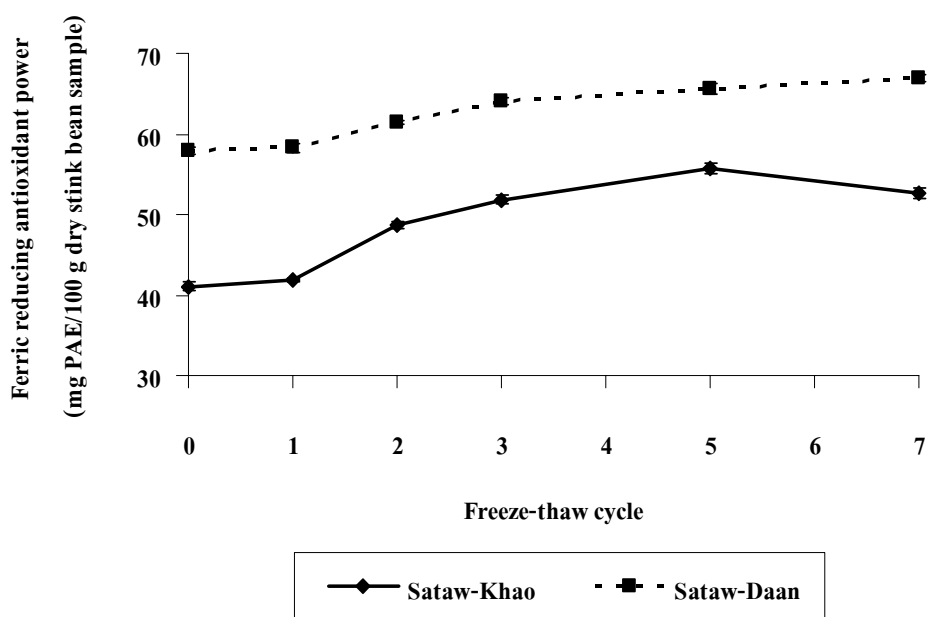


Figure 35. Changes in superoxide anion radical scavenging activity (A) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) (B) of Sataw-Khao and Sataw-Daan as affected by freeze-thaw cycles

6. ผลของความร้อนต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะเนื้อสัมผัส ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้ และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสะตอ

ผลของการให้ความร้อนในน้ำเดือดต่อการเปลี่ยนแปลงค่าแรงต้านการเจาะทะลุของเมล็ดสะตอข้าวและสะตอดานแสดงดัง Table 9 จากการศึกษาพบว่าค่าแรงต้านการเจาะทะลุของเมล็ดสะตอข้าวและสะตอดานที่แกะออกจากฝักและที่นำไปให้ความร้อนทั้งฝักมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) หลังนำไปให้ความร้อนในน้ำเดือดจนกระทั่งอุณหภูมิ ถึงกลางเมล็ดเท่ากับ 98 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เทียบกับสะตอที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน โดยพบว่าที่ระยะเวลาการให้ความร้อนเท่ากัน เมล็ดสะตอที่แกะออกจากฝักมีค่าแรงต้านการเจาะทะลุลดลงมากกว่าเมล็ดสะตอที่นำไปให้ความร้อนทั้งฝัก จากรายงานการศึกษาของ Halpin และ Lee (1987) พบว่าเนื้อสัมผัสของถั่วลิสงเตาต้มลงภายหลังการให้ความร้อนโดยการลวกที่อุณหภูมิสูง เนื่องจากการใช้อุณหภูมิสูงสามารถทำลายผนังเซลล์ของถั่วลิสงเตาทำให้น้ำและสารต่างๆ ภายในเซลล์เคลื่อนที่ออกนอกเซลล์ มีผลให้เซลล์เกิดการยุบตัวลง เนื้อสัมผัสจึงอ่อนนุ่มมากขึ้น ดังนั้นผนังเซลล์ของสะตอจึงอาจถูกทำลายระหว่างนำสะตอไปให้ความร้อนในน้ำเดือด จึงทำให้ค่าแรงต้านการเจาะทะลุลดลงเมื่อให้ความร้อนในน้ำเดือดเป็นเวลานานขึ้น

Table 9. Puncture force of stink bean seed as affected by heating in boiling water

Heating time (min)	Puncture force (N)			
	Sataw-Khao with pod	Sataw-Khao seed	Sataw-Daan with pod	Sataw-Daan seed
Fresh	8.00±0.10 ^a	8.00±0.10 ^a	7.65±0.10 ^a	7.65±0.10 ^a
0.5	7.70±0.10 ^b	7.57±0.12 ^b	7.41±0.12 ^b	7.22±0.20 ^b
1	7.46±0.21 ^c	6.95±0.24 ^c	7.19±0.16 ^c	6.70±0.13 ^c
3	6.80±0.10 ^d	6.13±0.13 ^d	6.49±0.11 ^d	5.80±0.11 ^d
5	5.92±0.21 ^e	5.07±0.15 ^e	5.63±0.17 ^e	4.75±0.15 ^e
10	4.69±0.16 ^f	4.03±0.21 ^f	4.36±0.19 ^f	3.77±0.17 ^f

Values are given as mean±SD from 10 replicates.

Different letters in the same column indicate significant difference ($P < 0.05$).

การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของเมล็ดสะตอหลังนำไปให้ความร้อนในน้ำเดือดแสดงดัง Figure 36-38 พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของเมล็ดสะตอที่แกะออกจากฝักและที่นำไปให้ความร้อนทั้งฝักมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ภายหลังให้ความร้อนในน้ำเดือดจนกระทั่งอุณหภูมิถึงกลางเมล็ดเท่ากับ 98 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เมื่อเปรียบเทียบกับสะตอสดที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน โดยพบว่าที่ระยะเวลาการให้ความร้อนเท่ากันเมล็ดสะตอที่แกะออกจากฝักมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันลดลงมากกว่าเมล็ดสะตอที่นำไปให้ความร้อนทั้งฝัก สอดคล้องกับการทดลองของ Xu และ Chang (2008) ซึ่งรายงานว่ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของถั่วเขียว (green pea) ถั่วเหลือง (yellow pea) ถั่วลูกไก่ (chick pea) และถั่วแขก (lentil) ที่ผ่านการให้ความร้อนด้วยน้ำเดือดและไอน้ำลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ผ่านกระบวนการให้ความร้อน ในทำนองเดียวกัน Granito และคณะ (2008) รายงานว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของถั่วแขก (*Phaseolus vulgaris*) ลดลงเมื่อผ่านการให้ความร้อนด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ทั้งนี้อุณหภูมิที่ให้ความร้อนมีผลโดยตรงต่อการลดลงของปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (Ismail *et al.*, 2004) โดยการให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงกับฝัก (95 ถึง 121 องศาเซลเซียส) เป็นเวลานาน มีผลให้สารต้านออกซิเดชันเกิดการสลายตัว นอกจากนี้สารต้านออกซิเดชันที่สามารถละลายน้ำได้ถูกปลดปล่อยออกมาในน้ำที่ใช้ในกระบวนการให้ความร้อน (Hunter and Fletcher, 2002) ดังนั้นการลดลงของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสะตอหลังการนำสะตอไปให้ความร้อนในน้ำเดือด อาจเกิดจากกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกที่สามารถละลายน้ำได้ถูกปลดปล่อยจากเซลล์ที่ถูกทำลายรวมถึงละลายในน้ำที่ให้ความร้อนกับสะตอ นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิกบางส่วนอาจเกิดการสลายตัวเป็นผลให้กิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสะตอลดลงด้วย

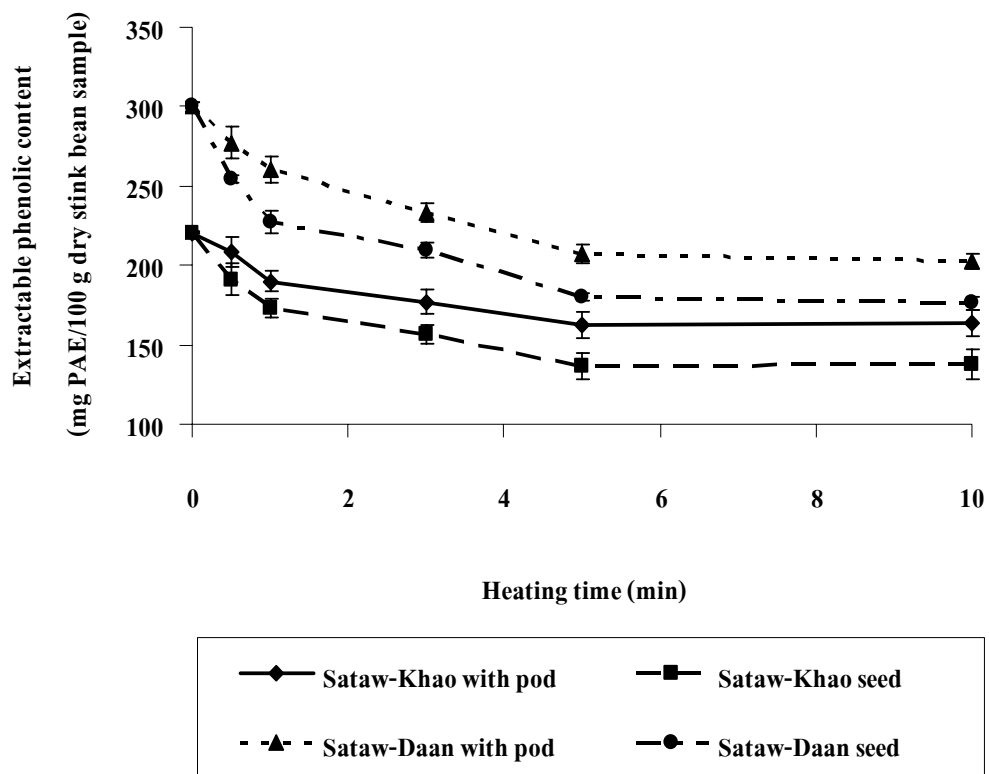
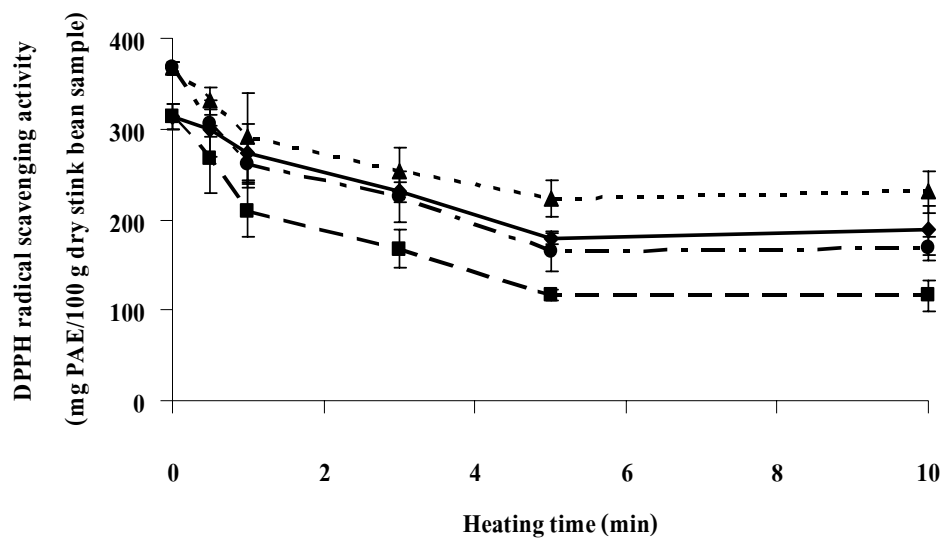


Figure 36. Changes in extractable phenolic content of Sataw-Khao and Sataw-Daan as affected by heating in boiling water for various times

(A)



(B)

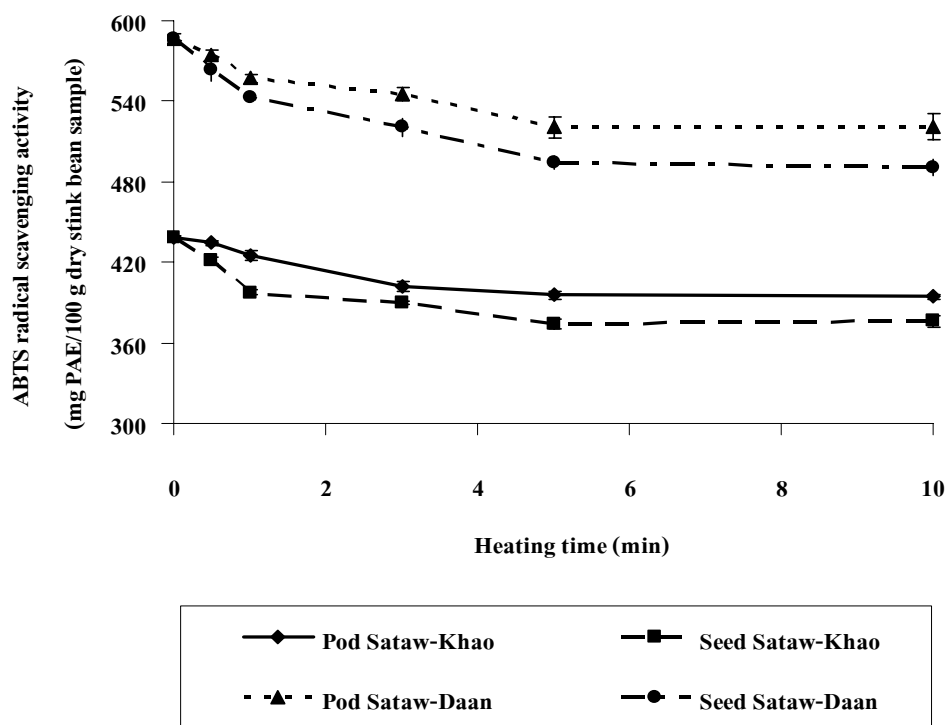
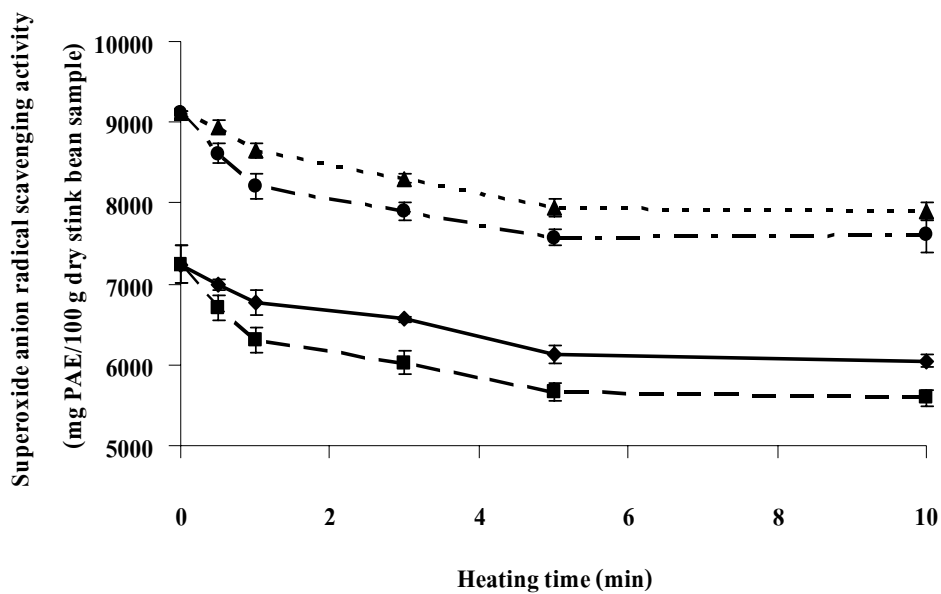


Figure 37. Changes in DPPH radical scavenging activity (A) and ABTS radical scavenging activity (B) of Sataw-Khao and Sataw- Daan as affected by heating in boiling water for various times

(A)



(B)

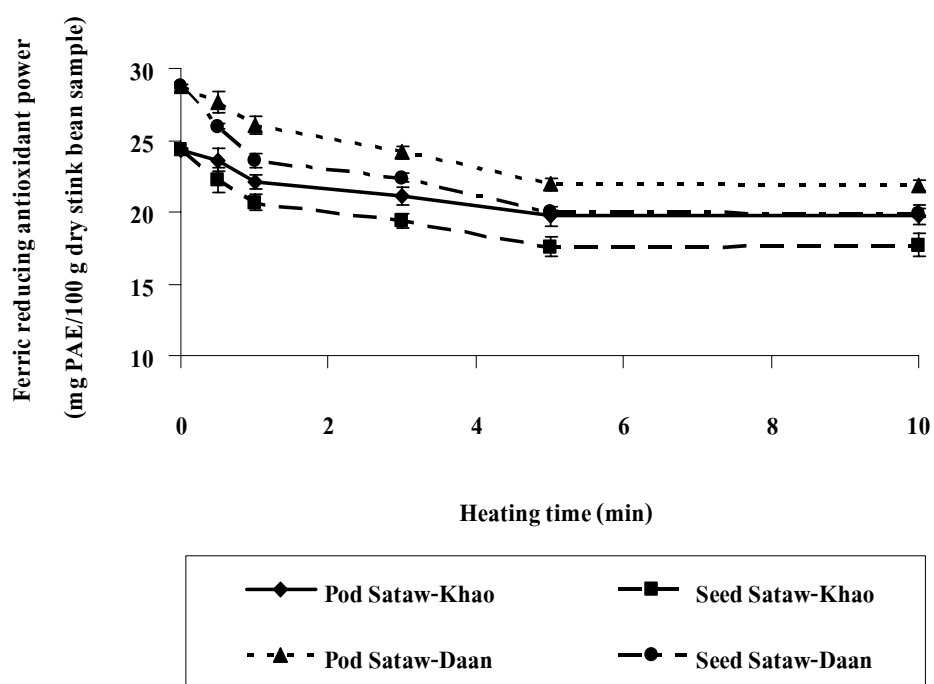
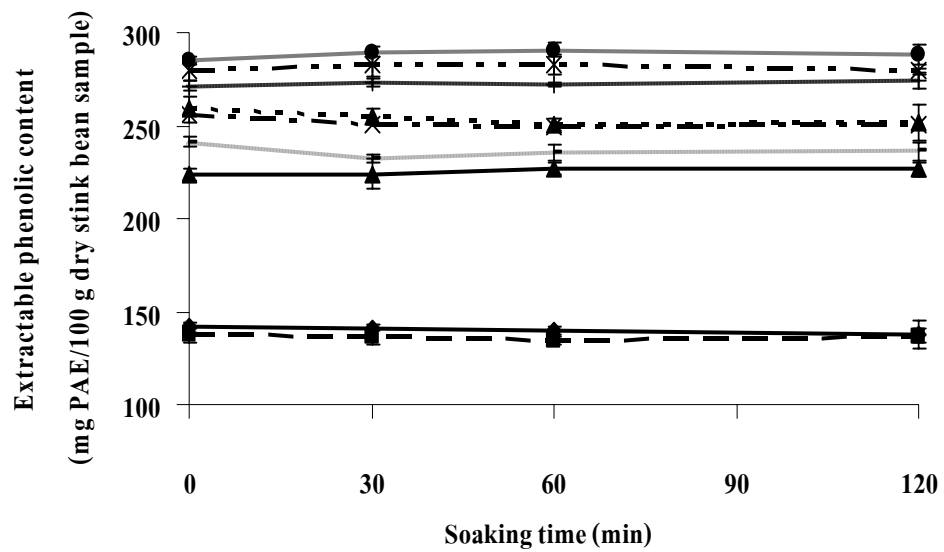


Figure 38. Changes in superoxide anion radical scavenging activity (A) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) (B) of Sataw-Khao and Sataw- Daan as affected by heating in boiling water for various times

7. ผลของความเป็นกรดต่างต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสะตอ

ผลของความเป็นกรดต่างต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสะตอข้าวและสะตอดานบดละเอียดที่ค่าพีเอชและเวลาต่างๆ แสดงดัง Figure 39-43 พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน DPPH-, ABTS-radical scavenging activity และ FRAP ของสะตอข้าวและสะตอดานมีค่าเพิ่มขึ้นหลังการแช่เมล็ดสะตอบดละเอียดทั้ง 2 สายพันธุ์ ในสารละลายจากพีเอชช่วงกรดไปถึงพีเอชช่วงกลางและมีค่าลดลงที่พีเอชเป็นด่าง โดยพีเอชช่วงกรดมาก (พีเอช 2 และ 3) ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันต่ำสุด ส่วนพีเอชที่เป็นกลาง (พีเอช 7) ให้ค่าสูงสุด ในขณะที่กิจกรรมการต้านออกซิเดชัน superoxide anion radical scavenging activity ไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) โดยไม่พบการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันภายหลังการแช่เป็นเวลา 0, 30, 60 และ 120 นาทีที่แต่ละค่าพีเอช ($P>0.05$) จากผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Ratanamahasukul (2000) ซึ่งพบว่ากิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากเมล็ดถั่วกระถิน มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อพีเอชเพิ่มขึ้นจากพีเอช 3 ถึง 9 โดยที่พีเอชช่วงกลางและด่างมีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันสูงกว่าช่วงกรด จากการศึกษาของ Yen และ Duh (1993) ซึ่งศึกษาผลของสารสกัดในชั้นเมทานอลจากเปลือกถั่วลิสง (peanut hulls) โดยทำให้พีเอชของระบบเพิ่มขึ้นจากพีเอช 3 ถึง 9 พบว่าสารสกัดเมทานอลจากเปลือกถั่วลิสงที่พีเอช 7 มีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันเหลือร้อยละ 80 และสูญเสียกิจกรรมการต้านออกซิเดชันทั้งหมดที่พีเอช 9 เนื่องจากเกิดการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้าง โดยเกิดการสลายตัวของสารประกอบฟีนอลิกทำให้สูญเสียความสามารถในการให้ไฮโดรเจนไปด้วย ดังนั้นที่พีเอชต่างๆ อาจมีผลทำให้สารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้ของสะตอทั้ง 2 สายพันธุ์เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างไป ทำให้กิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสารสกัดของสะตอที่นำไปแช่ที่พีเอชต่างๆ มีความแตกต่างกันไปด้วย แต่อย่างไรก็ตามไม่ทำให้กิจกรรมการต้านออกซิเดชัน superoxide anion radical scavenging activity เกิดการเปลี่ยนแปลง

(A)



(B)

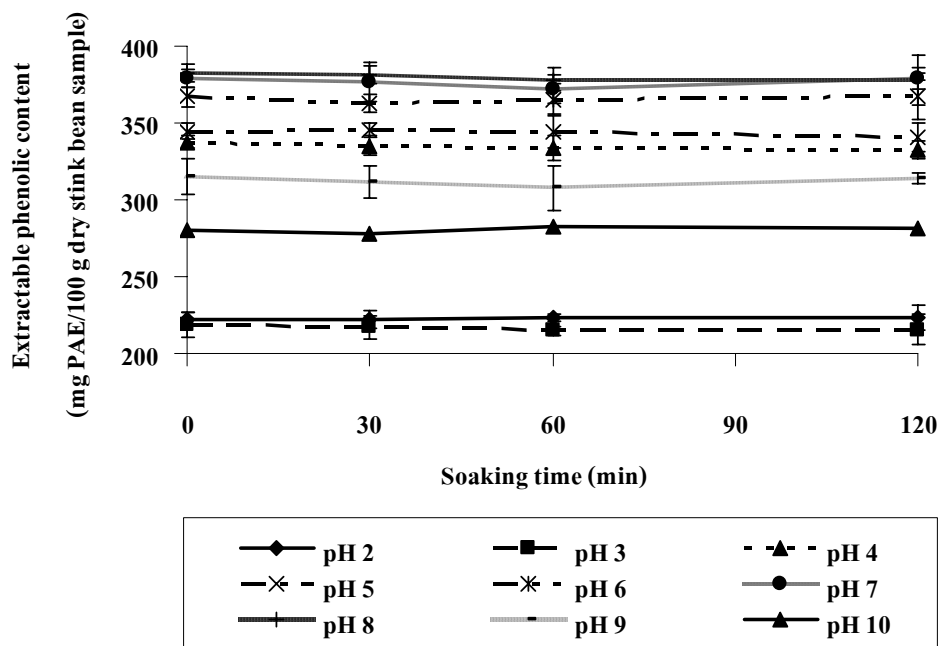
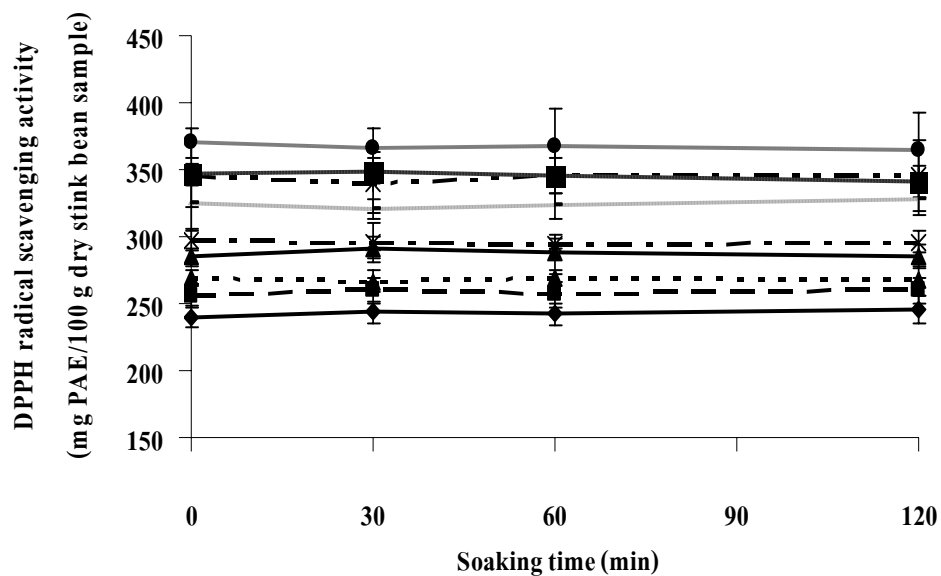


Figure 39. Extractable phenolic content of ground Sataw-Khao (A) and ground Sataw-Daan (B) after soaking in solution with various pHs for different times

(A)



(B)

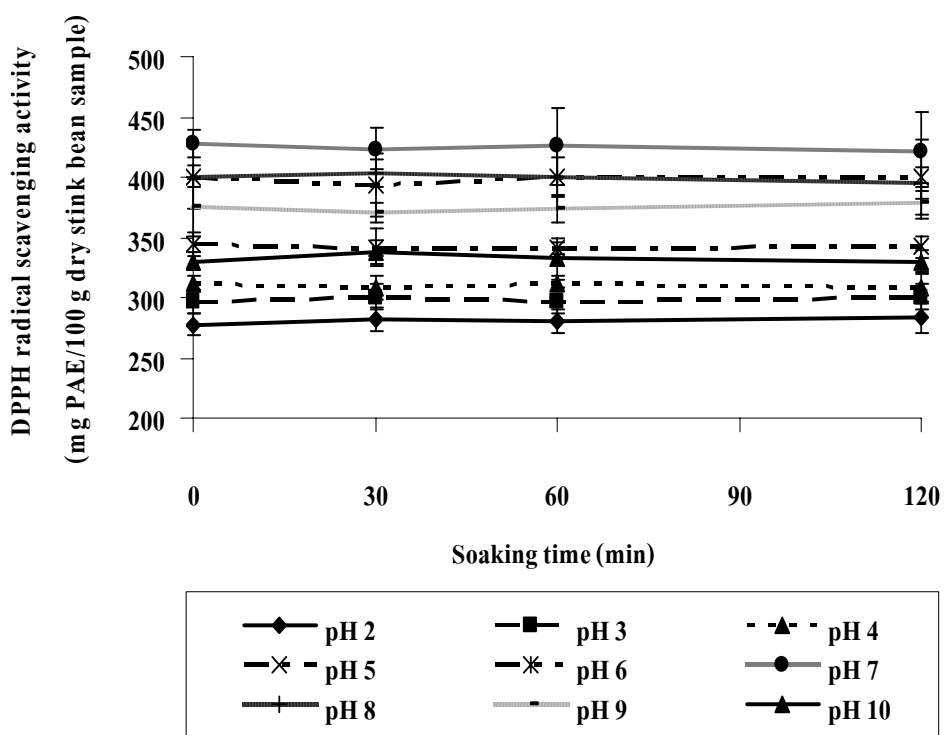
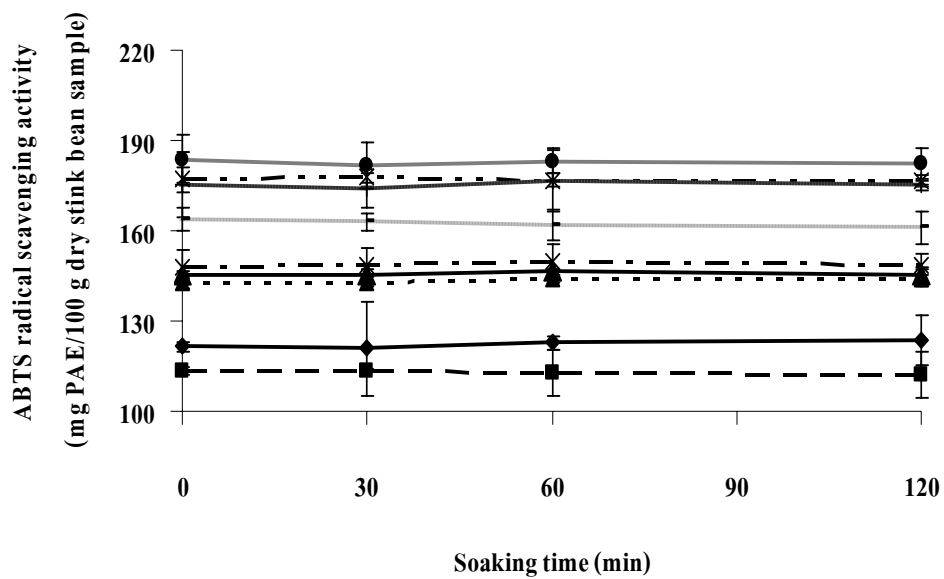


Figure 40. DPPH radical scavenging activity of ground Sataw-Khao (A) and ground Sataw-Daan (B) after soaking in solution with various pHs for different times

(A)



(B)

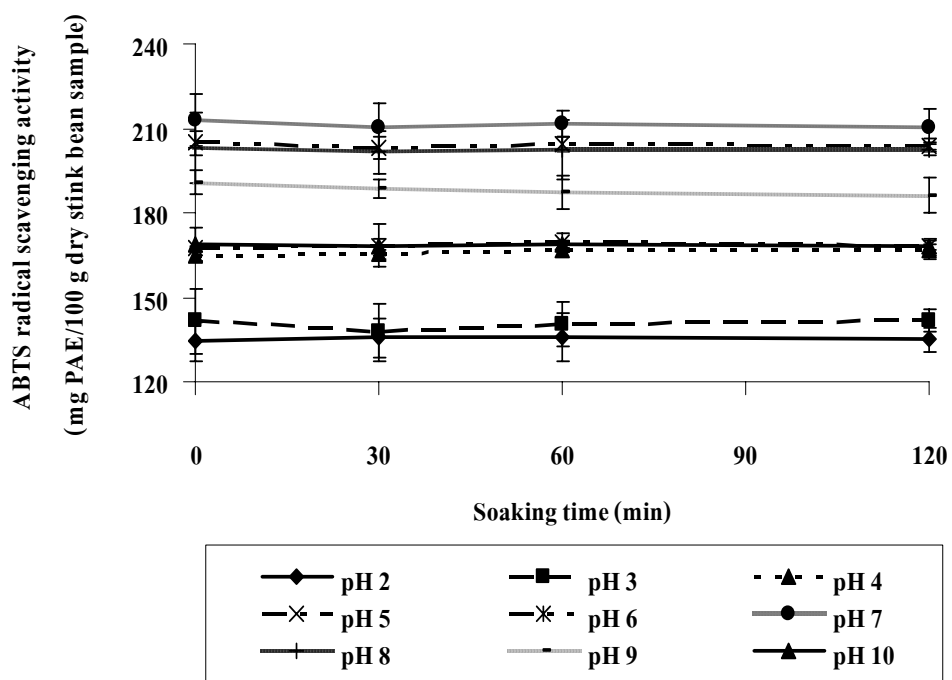
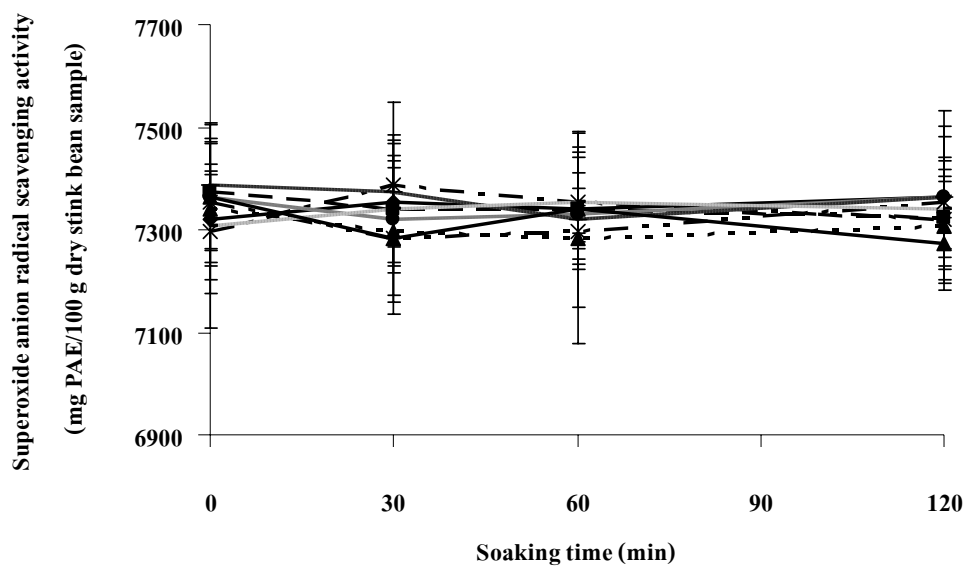


Figure 41. ABTS radical scavenging activity of ground Sataw-Khao (A) and ground Sataw-Daan (B) after soaking in solution with various pHs for different times

(A)



(B)

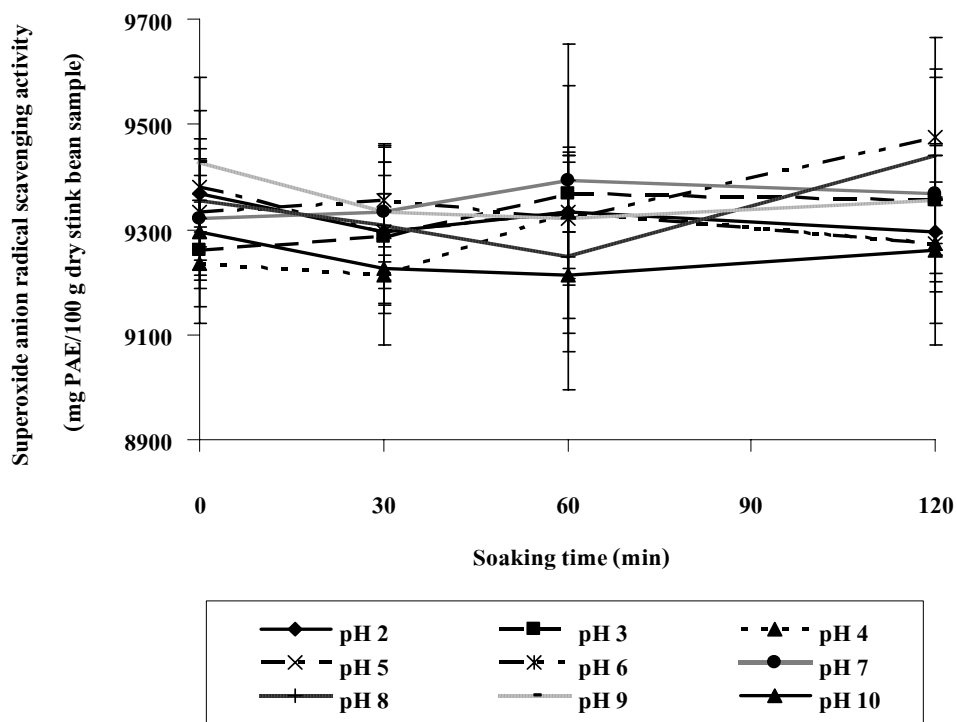
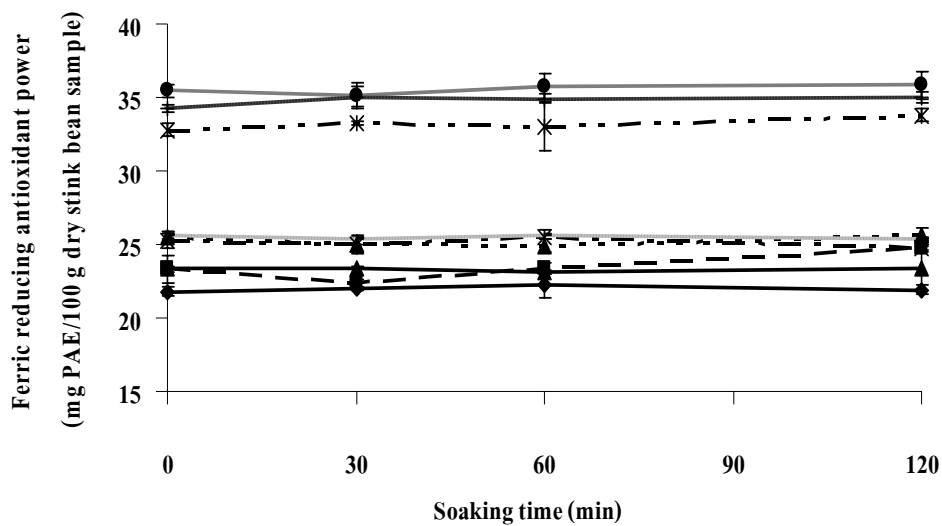


Figure 42. Superoxide anion radical scavenging activity of ground Sataw-Khao (A) and ground Sataw-Daan (B) after soaking in solution with various pHs for different times

(A)



(B)

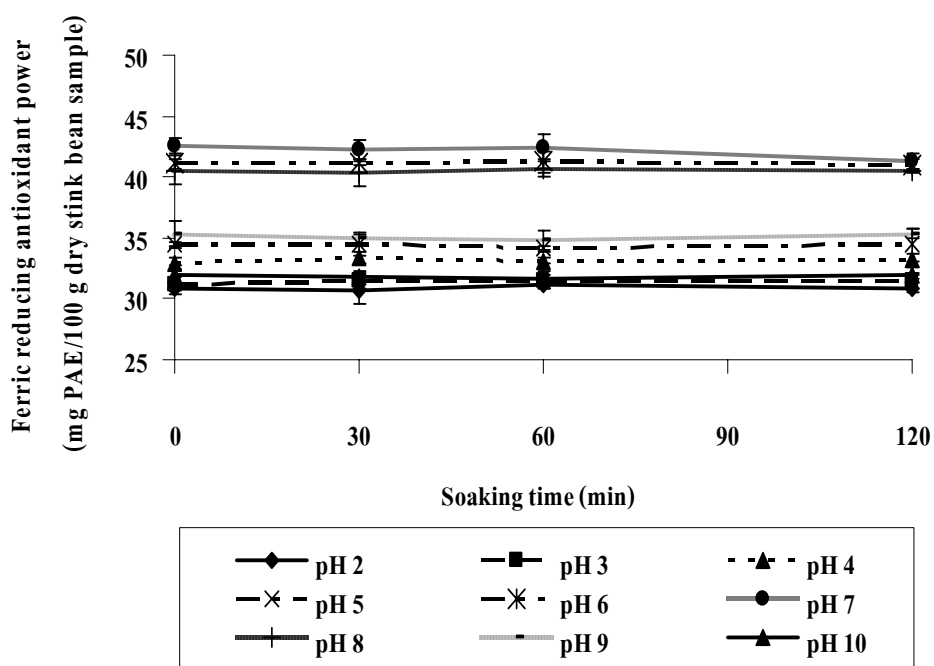


Figure 43. Ferric reducing antioxidant power (FRAP) of ground Sataw-Khao (A) and ground Sataw-Daan (B) after soaking in solution with various pHs for different times

บทที่ 4

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

บทสรุป

1. สะตอข้าวและสะตอดานมีลักษณะทางกายภาพที่แตกต่างกัน โดยฝักของสะตอข้าวมีลักษณะบิดเป็นเกลียวและมีขนาดความกว้างของฝักน้อยกว่าสะตอดาน นอกจากนี้เมล็ดสะตอข้าวมีขนาดเล็ก มีสีสว่าง และมีค่าแรงต้านการเจาะทะลุสูงกว่าเมื่อเทียบกับสะตอดาน
2. ปริมาณความชื้น โปรตีน และไขมันของเมล็ดสะตอดานมีค่าสูงกว่าเมล็ดสะตอข้าว ในขณะที่ปริมาณกากใยของเมล็ดสะตอข้าวมีค่าสูงกว่าเมล็ดสะตอดาน แต่ปริมาณเถ้าของ เมล็ดสะตอทั้ง 2 สายพันธุ์ไม่มีความแตกต่างกัน
3. ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสะตอดานมีค่าสูงกว่าสะตอข้าว โดยกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากสะตอทั้ง 2 สายพันธุ์ มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณของสารสกัดมากขึ้นรวมถึงเมื่อนำสารสกัดจากสะตอไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงขึ้นและเป็นเวลานานขึ้น แต่ความร้อนมีผลให้กิจกรรมการต้านออกซิเดชัน superoxide anion radical scavenging activity มีค่าลดลง นอกจากนี้ที่พีเอชช่วงกรด (พีเอช 2 ถึง 4) สารสกัดจากสะตอทั้ง 2 สายพันธุ์ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันต่ำกว่าพีเอชที่เป็นกลางและด่าง โดยที่พีเอช 7 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันสูงสุด แต่กิจกรรมการต้านออกซิเดชัน superoxide anion radical scavenging activity ไม่มีการเปลี่ยนแปลง
4. ค่าแรงต้านการเจาะทะลุของสะตอข้าวและสะตอดานซึ่งเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและแช่เย็นมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อทำการเก็บรักษาเป็นเวลานานขึ้น ในขณะที่การเก็บรักษาแช่เยือกแข็งค่าแรงต้านการเจาะทะลุไม่มีการเปลี่ยนแปลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 8 เดือน แต่เมื่อทำการแช่แข็งแล้วทำละลายจำนวน 2 ถึง 7 รอบ ทำให้ค่าแรงต้านการเจาะทะลุลดลง นอกจากนี้การเก็บรักษาสะตอที่อุณหภูมิห้อง แช่เย็น และการแช่แข็ง-ทำละลาย ทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันเพิ่มขึ้น แต่ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงเมื่อเก็บรักษาแช่เยือกแข็ง
5. การให้ความร้อนสะตอข้าวและสะตอดานในน้ำเดือดทำให้ค่าแรงต้านการเจาะทะลุ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้ และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันลดลง

6. เมล็ดสะตอแต่ละเย็บคั้ง 2 สายพันธุ์ ซึ่งใช้ในสารละลายที่พีเอชต่างๆ มีปริมาณสารประกอบ ฟีนอลิกที่สกัดได้และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันที่ต่างกัน โดยมีค่าเพิ่มขึ้นจากพีเอช 2 ถึง 7 แต่มีค่าลดลงที่พีเอช 8 ถึง 10 ซึ่งมีค่าสูงสุดที่พีเอช 7

7. สารสกัดจากสะตอมีผลส่งเสริมกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสารต้านออกซิเดชันทางการค้า โดยทำให้กิจกรรมการต้านออกซิเดชันดีขึ้นเมื่อเทียบกับการใช้สารต้านออกซิเดชันทางการค้าหรือสารสกัดจากสะตอเพียงอย่างเดียว

ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาสกัดสารสกัดจากสะตอพบว่า มีสารประกอบฟีนอลิกเป็นองค์ประกอบในปริมาณมาก อีกทั้งมีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันสูงและมีกลไกในการจับอนุมูลอิสระที่หลากหลาย ดังนั้นสะตอจึงเป็นแหล่งของสารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติที่ดีอีกแหล่งหนึ่ง แต่อย่างไรก็ตามหากต้องการนำสารสกัดจากสะตอไปใช้ประโยชน์ในทางอาหารหรืออาหารเพื่อสุขภาพจำเป็นต้องมีการศึกษาสกัดสารสกัดจากสะตอด้วยตัวทำละลายที่ปลอดภัยต่อการบริโภค เช่น น้ำ หรือ เอทานอล เป็นต้น รวมทั้งจำเป็นต้องศึกษากิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสารสกัดที่เตรียมได้ เนื่องจากการใช้ตัวทำละลายที่ต่างกันอาจมีผลให้ได้องค์ประกอบของสารต้านออกซิเดชันในสารสกัดและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันแตกต่างกันได้ อีกทั้งหากศึกษาชนิดของสารประกอบฟีนอลิกที่เป็นองค์ประกอบที่ทำให้กิจกรรมการต้านออกซิเดชันในสารสกัดจากสะตอจะทำให้ได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ต่อการนำสารสกัดจากสะตอไปใช้ประโยชน์ได้มากยิ่งขึ้น

เอกสารอ้างอิง

กัญญา ดิวีเศษ. 2542. สะตอ. ใน ผักพื้นบ้านภาคใต้. หน้า 218-219. โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก. กรุงเทพฯ

กองโภชนาการ กรมอนามัย. 2535. สะตอ (ออนไลน์). สืบค้นจาก :

http://www.doa.go.th/pl_data/02_LOCAL/oard8/satua/main.html (22 พฤศจิกายน 2549)

เจริญขวัญ วนะบดีมิตร, ศักรินทร์ ภูมिरัตน์, ทิพาพร อยู่วิทยา และ นภาพร รัตนสมบูรณ์. 2539.

การอบแห้งเห็ดหอม : ผลของการอบแห้งเห็ดหอมต่อสารให้กลิ่น (lenthionine). ว.วิจัยและพัฒนา สจร. 19 : 77-89.

ศิรินทรา ดันพงษ์พิพัฒน์ชัย. 2546. ผลของการใช้วิธีการแปรรูปขั้นต่ำสำหรับการเก็บรักษาสะตอในสถานะแช่เย็นและแช่แข็ง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เต็ม สมิตินันท์. 2523. ใน ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย (ชื่อพฤกษศาสตร์-ชื่อพื้นเมือง). หน้า 253. หจก. ฟีนีฟับบลิชซิ่ง. กรุงเทพฯ

พิชญ์อร ไหมสุทธิสกุล. 2549. การใช้สารประกอบฟีนอลิกของพืชเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ.

ว.วิชาการมหาวิทยาลัยหอการค้าไทย. 26(3) : 222-238.

วัลดี สุวจิตตานนท์ และ พูลสุข โปธิรักจิต. 2531. โปर्टินจากสะตอ. สงขลานครินทร์เวชสาร. 6(3) : 23-30.

วิจิตต์ วรรณชิต. 2527. สะตอ. พืชศาสตร์สาส์น (ออนไลน์). สืบค้นจาก :

http://www.doa.go.th/pl_data/02_LOCAL/oard8/satua/body.html (22 พฤศจิกายน 2549)

วิไล รังสาตทอง. 2547. การแช่เยือกแข็ง. ใน เทคโนโลยีการแปรรูปอาหาร. หน้า 408-411.

บริษัทเท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชัน. กรุงเทพฯ

อาภรณ์ เขียมสายใจ และ บุญชนะ วงศ์ชนะ. 2546. สะตอ. ฐานความรู้ด้านพืช กรมวิชาการเกษตร

(ออนไลน์). สืบค้นจาก : http://www.doa.go.th/pl_data/02_LOCAL/oard8/satua/body.html

(22 พฤศจิกายน 2549)

- โอภา วัชรคุปต์, ปรีชา บุญจุง และจันทนา บุญยะรัตน์. 2550. อนุมูลอิสระ. ใน สารต้านอนุมูลอิสระ. หน้า 1-3. โรงพิมพ์นิวไทยมิตรการพิมพ์ (1996) จำกัด. กรุงเทพฯ
- Adsule, R. N. and Kadam, S. S. 1989. Proteins. *In Handbook of World Food Legumes: Nutritional Chemistry, Processing Technology and Utilization*. Vol. II. 2nd ed. p. 75-97. FL : CRC Press. Boca Raton.
- Amarowicz, R., Naczek, M., Zadernowski, R. and Shahidi, F. 2000. Antioxidant activity of condensed tannins of beach pea, canola hulls, evening primrose and faba bean. *J. Food Lipids*. 7 : 195-205.
- Amorati, R., Pedulli, G. F., Cabrini, L., Zamboni, 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.
- Angelino, S. 1991. Beer. *In Volatile Compounds in Foods and Beverage* (ed. Marse, H.). p. 581-612. Marcal Dekker, Inc. New York.
- Angelo, A. J. S. 1996. Lipid oxidation in food. *J. Crit. Rev. Food Sci Nutr.* 36 : 175-224.
- A.O.A.C. 2000. Official Methods of Analysis. 17th ed. Association of official analytical chemists. Washington, DC.
- Ariga, T. and Hamano, M. 1990. Radical scavenging action and its mode in procyanidin B-1 and B-3 from azuki beans to peroxy radical. *Agric. Biol. Chem.* 54 : 2499-2504.
- Berghofer, E., Grzekowiak, B., Mundigler, N., Sentall, W. and Walczak, J. 1998. Antioxidative properties of fata bean, soybean and oat tempeh. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 49 : 45-54.
- 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.

- 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.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. and Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensm Wiss Technol. 28 : 25-30.
- Cai, R., Hettiarachchy, N. S. and Jalaluddin, M. 2003. High-performance liquid chromatography determination of phenolic constituents in 17 varieties of cowpeas. J. Agric. Food Chem. 51 : 1623-1627.
- Cardador, M. A., Loarca, P. G. L. and Oomah, B. D. 2002. Antioxidant activity in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). J. Agric. Food Chem. 50 : 6975-6980.
- Carbonaro, M., Virgili, F. and Carnovale, E. 1996. Evidence for protein-tannin interaction in legumes: implications in the antioxidant properties of fata bean tannin. Lebensm Wiss Technol. 29 : 743-50.
- Chen, Q., Shi, H. and Ho, C. T. 1992. Effect of rosemary extracts and major constituents on lipid oxidation and soy bean lipoxygenase activity. J. Am. Oil Chem Soc. 69 : 999-1002.
- Clifford, H. 2001. Antioxidant in Food. Academic Press. New York.
- Coppen, P. P. 1983. Use of antioxidants. In Rancidity in Foods (eds. Allen, J. C. and Hamilton, R. J.) p. 76-95. Applied Science. London.
- De Pascual Teresa, S., Santos-Buelga, C. and Rivas-Gonzalo, J. C. 2000. Quantitative analysis of flavan-3-ols in spanish foodstuffs and beverages. J. Agric. Food Chem. 48 : 5331-5337.
- Duenas, M., Hernandez, T. and Estrella I. 2002. Phenolic composition of the cotyledon and the seed coat of lentils (*Lens culinaris* L.). Eur. J. Lipid Sci Technol. 215 : 478-483.

- Duenas, M., Hernandez, T. and Estrella I. 2004. Occurrence of phenolic compounds in the seed coat and the cotyledon of peas (*Pisum sativum* L.). *Eur. J. Lipid Sci Technol.* 219 : 116-123.
- Duenas, M., Hernandez, T. and Estrella I. 2006. Assesment of in vitro antioxidant capacity of the seed coat and the cotyledon of legumes in relation to their phenolic contents. *Food Chem.* 98 : 95-103.
- Duh, P., Yeh, D. and Yen, G. 1992. Extraction and identification of an antioxidative component from peanut hulls. *J. Am. Oil Chem Soc.* 69 : 814-818.
- Duh, P. D., Yen, W. J., Du, P. C. and Yen, G. C. 1997. Antioxidant activity of mung bean hull. *J. Am. Oil Chem Soc.* 74 : 1059-1063.
- Duh, P. D., Du, P. C. and Yen, G. C. 1999. Action of methanolic extract of mung bean hulls as inhibitors of lipid peroxidation and non-lipid oxidative damage. *Food Chem. Toxicol.* 37 : 1055-1061.
- Fellows, P. J. 2000. *Food Processing Technology*. 2nd ed. CRC press. Boca Raton.
- Frankel, E. N. 1984. Lipid oxidation: mechanisms, products and biological significance. *J. Am. Oil. Chem Soc.* 61 : 1908-1917.
- Frankel, E. N., Hugang, S. W., Aeschbach, R. and Prior, E. 1996. Antioxidant activity of rosemary and its constituents, carnosic acid and rosmarinic acid, in bulk oil and oil-in-water emulsion. *J. Agric. Food Chem.* 44 : 131-135.
- Gacia, E., Filisetti, T., Udaeta, J. and Lajolo, F. 1998. Hard-to-cook beans (*Phaseolus vulgaris*): Involvement of phenolic compounds and pectates. *J. Agric Food Chem.* 46 : 2110-2116.

- Guzman, N. E. R., Laredo, R. F. G., Perez, F. J. I., Berumem, C. A. N. and Infante, J. A. G. 2007. Effect of pressure cooking on the antioxidant activity of extracts from three common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars. J. Agric. Food chem. 100 : 31-35.
- Gil-Izquierdo, A., Gil, M. I., Conesa, M. A. and Ferreres, F. 2001. The effect of storage temperatures on vitamin C and phenolics content of artichoke (*Cynara scolymus* L.) heads. Innovat Food Sci Emerg Tech. 2 : 199-202.
- Gmelin, R., Susilo, R. and Fenwick, G. R. 1981. Cyclic polysulphides from *Parkia speciosa*. Phytochem. 20 : 2521-2523.
- Gold, H. J. and Weckel, K. G. 1959. Degradation of chlorophyll to pheophytin during sterilization of canned green peas by heat. J. Food Technol. 13 : 281-286.
- Gonzalez, A. R., Mays, J. and Prokakis, G. 1989. Field performance and quality evaluation of raw product, frozen and canned snap bean cultivars. Ark. Ag. Expt. Sta. 387 : 1-16.
- Gordon, M. H. 2001. Antioxidants in Food. (eds. Porkorny, P., Yanishlieva, N. and Gordon, M.). CRC Press. New York.
- Granito, M., Paolini, M. and Perez, S. 2008. Polyphenol and antioxidant capacity of *Phaseolus vulgaris* stored under extreme conditions and processed. Lebensm Wiss Technol. 41 : 994-999.
- Hapin, B. E., Pressey, R., Jen, J. and Mondy, N. 1989. Purification and characterization of peroxidase isoenzymes from green peas (*Pisum Sativum*). J. Food Sci. 54 : 644-649.
- Hatanaka, M., Takahashi, K., Nakamura, S. and Mashino, T. 2005. Preparation and antioxidant activity of α -pyridoin and its derivatives. Bioorg. Med. Chem. 13 : 6763-6770.
- Hayakawa, K. I. and Timbers, G. E. 1977. Influence of heat treatment on the quality of vegetables: change in visual green color. J. Food Sci. 42 : 249-253.

- He, Z. S., Jin, S. L., Coa, Z. H. and Cui, Z. W. 2004. Photometric determination of hydroxyl free radical in Fenton system by brilliant green. *Am. J. Chin Med.* 6 : 236-237, 243.
- Holcroft, D. M. 1998. Biochemical basis of changes in the colour of strawberry fruit stored in controlled atmosphere. Ph.D. Dissertation. University of California, Davis.
- Holcroft, D. M. and Kader, A. A. 1999. Controlled atmosphere-induced changes in pH and organic acid metabolism may affect color of stored strawberry fruit. *Postharvest Biol Technol.* 17 : 19-32.
- Hunter, K. J and Fletcher, J. M. 2002. The antioxidant activity and composition of fresh, frozen, jarred and canned vegetables. *Innovat Food Sci Emerg Tech.* 3 : 399-406.
- Igarashi, K., Takanashi, K., Makin, M. and Yasui, T. 1989. Antioxidative activity of major anthocyanin isolated from wide grapes. *Jpn J. Food Sci Technol.* 36 : 852-856.
- Ismail, A., Marjan, Z. M. and Foong, C. W. 2004. Total antioxidant activity and phenolic content in selected vegetables. *Food Chem.* 87 : 581-586.
- Jadhav, S. J., Nimbalkar, S. S., Kulkarni, A. D. and Madhavi, D. L. 1995. Lipid oxidation in biological and food systems. *In Food Antioxidant : technological, toxicology and health perspectives.* (eds. Madhavi, D. L., Deshpande, S. S. and Salukhe, D. K.). p. 5-64. Marcel Dekker, Inc. New York.
- Jamaluddin, F., Mohamed, S. and Lajis, M. N. 1994. Hypoglycaemic effect of *Parkia speciosa* seed due to the synergistic action of β -sitosterol and stigmaterol. *Food Chem.* 49 : 339-345.
- Jamaluddin, F., Mohamed, S. and Lajis, M. N. 1995. Hypoglycaemic effect of stigmast-4-en-3-one, from *Parkia speciosa* empty pods. *Food Chem.* 54 : 9-13.

- Kalt, W., Forney, C. H., Martin, A. and Prior, R. L., 1999. Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics and anthocyanins after fresh storage of small fruits. *J. Agric. Food Chem.* 47 : 4638-4644.
- Karchesy, J. and Hemingway, R. 1986. Condensed tannins: (4 β \rightarrow 8; 2 β \rightarrow O \rightarrow 7) linked procyanidins in *Arachis hypogea* L. *J. Agric. Food Chem.* 34 : 966-970.
- Karpinska, M., Borowski, J. and Danowska, O. M. 2000. The use of natural antioxidants in ready-to-serve food. *Food Chem.* 72 : 5-9.
- Kaur, I. P. and Geetha, T. 2006. Screening methods for antioxidant-a review. *J. Med Chem.* 6 : 305-312.
- Kinsella, J. E., Frankel, E., German, B. and Kanner, J. 1993. Possible mechanisms for the protective role of antioxidants in wine and plant foods. *Food Technol.* 47(4) : 85-89.
- Klimczak, I., Malecka, M., Szlachta, M. and Swiglo, A. G. 2007. Effect of storage on the content of polyphenol, vitamin C and antioxidant activity of orange juices. *J. Food Comp. Anal.* 20 : 313-322.
- Kolesnik, A., Elizarova, L. G., Starodubsteva, T. V., Afanasyeva, V. S. and Erokhina, T. S. 1977. Changes in polyphenols during storage of fruits and vegetables. *J. Prikl. Biokhim. Mikrobiol.* 13 : 333-339.
- Larrauri, J. A., Rupe`rez, 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.
- Lee, H. S. and Coates, G. A. 1999. Thermal pasteurization effect on color of red grapefruit juice. *J. Food Sci.* 64 : 663-666.

- Lee, Y. B., Kim, Y. S. and Ashmore, C. R. 1986. Antioxidant property in ginger rhizome and its application of meat product. *J. Food Sci.* 51 : 20-23.
- Leja, M., Mareczek, A., Starzynska, A. and Rozek, S. 2001. Antioxidant ability of broccoli flower bud during short-term storage. *Food Chem.* 72 : 219-222.
- Li, C. and Xie, B. 2000. Evaluation of the antioxidant and pro-oxidant effects of tea catechin oxypolymers. *J. Agric. Food Chem.* 48 : 6362-6366.
- Lohachoompol, V., Srzednicki, G. and Craske, J. 2004. The change of total anthocyanins in blueberries and their antioxidant effect after drying and freezing. *J. Biomed. Biotechnol.* 5 : 248-252.
- Madhavi, D. L. and Salunkhe, D. K. 1994. *Food Additive Toxicology* (eds. Maga, J. A. and Tu, A. J.). p. 89. Marcel Dekker, Inc. New York.
- 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.
- Mosel, H. D. and Herrmann, K. 1974. Changes in catechins and hydroxycinnamic acid derivatives during development of apples and pears. *J. Food Agric.* 25 : 251-256.
- Nakayama, T., Osawa, T., Mendoza, E. N. T., Laurena, A. C. and Kawakishi, S. 1994. *Postharvest Biochemistry of Plant Food-Materials in the Tropics.* (eds. Uritani, I., Garcia V. V. and Mendoza E. M. T.). Japan Scientific Societies Press. Japan.
- Namiki, M. 1990. Antioxidant/Antimutagens in food. *J. Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 29 : 273-300.
- Nawar, W. W. 1996. Lipid. *In Food Chemistry.* (ed. Fennema, O. R.). p.210-243. New York.
- Nilsson, J., Stegmark, R. and Akesson, B. 2004. Total antioxidant capacity in different pea (*Pisum sativum*) varieties after blanching and freezing. *Food Chem.* 86 : 501-507.

- Noguchi, N., Komuro, E., Niki, E. and Wilson, R. L. 1994. Action of curcumin as an antioxidant against lipid peroxidation. *J. Jpn Oil Chem Soc.* 43 : 1045-1051.
- Onyeneho, S. 1990. Natural Antioxidants from North Dakota Crops. Ph.D. Dissertation. North Dakota State University.
- Ozcelik, B., Lee, J. H. and Min, D. B. 2003. Effect of light, oxygen and pH on the absorbance of 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl. *J. Food Sci.* 68 : 487-490.
- Patthamakanokporn, O., Puwastein, P and Nitithamyong, A. 2008. Changes of antioxidant activity and total phenolic compounds during storage of selected fruits. *J. Food Comp. Anal.* 21 : 241-248.
- Polydera, A. C., Stoforos, N. G and Taoukis, P. S. 2004. The effect of storage on the antioxidant activity of reconstituted orange juice which had been pasteurized by high pressure or heat. *Inter J. Food Sci.* 39 : 783-791.
- Poulson, H. E., Prieme, H. and Loft, S. 1998. Role of oxidative DNA damage in cancer initiation and promotion. *Eur. J. Canc. Prev.* 7 : 9-16.
- Pulido, L. B. and Saura, C. F. 2000. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. *J. Agric. Food Chem.* 48 : 3396-3402.
- Rajalakshmi, D. and Narasimhan, F. 1995. Food Antioxidants. (eds. Madhavi, D. L., Deshpande, S. S. and Salunkhe, D. K.). Marcel Dekker, Inc. New York.
- Ratanamahasukul, C. 2000. Antioxidant of Some Legumes Seed: Extraction, Some Properties and Application. Master of Science Thesis in Food Technology. Prince of Songkhla University.
- Reblova, Z. 2006. The effect of temperature on the antioxidant activity of tocopherols. *Eur. J. Lipid Sci Technol.* 108 : 858-863.

- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice, E. C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med.* 26 : 1231-1237.
- Robak, J. and Gryglewski, R. J. 1988. Flavonoids are scavenging of superoxide anions. *Biochem. Pharmacol.* 37 : 837-841.
- Rodriguez de Sotillo, D. R., Hadley, M. and Holm, E.T. 1994. Phenolics in aqueous potato peel extract: extraction, identification and degradation. *J. Food Sci.* 59 : 649-651.
- Roy, M. K., Takenaka, M., Isoby, S. and Tsushida, T. 2007. Antioxidant potential, anti-proliferative activities, and phenolic content in water-soluble fractions of some commonly consumed vegetables: effects of thermal treatment. *Food Chem.* 103 : 106–114.
- Saffan, S. E. S. 2008. Effect of heat stress on phytochemical composition of peanut seedling. *Res. J. Agric and Biol Sci.* 4(2) : 167-174.
- Sandoval, M., Ronzio, R. A., Muanza, D. N., Clark, D. A. and Miller, M. J. S. 1997. Peroxynitrite-induced apoptosis in epithelial (T84) and macrophage (RAW 264.7) cell lines: effect of legume-derived polyphenols (phytolens). *Nitric Oxide.* 1 : 476-483.
- Satue, G. M., Heinonen, M. and Frankel, E. 1997. Anthocyanins as antioxidants on human low-density lipoprotein and lecithin-liposome system. *J. Agric. Food Chem.* 45 : 3,363-3,377.
- Shahidi, F. and Wannasundara, P. K. 1992. Phenolic antioxidants. *J. Crit. Rev. Food Sci Nutr.* 32 : 67-103.
- Shahidi, F. and Wannasundara, U. 1996. Stabilization of seal blubber and menhaden oil with green tea catechins. *J. Am. Oil. Chem.* 73 : 1183-1190.

- Shahidi, F., Chavan, U. D., Naczk, M. and Amarowicz, R. 2001. Nutrient distribution and phenolic antioxidants in air-classified fractions of Beach pea (*Lathyrus maritimus* L.). *J. Agric. Food Chem.* 49 : 926-933.
- Siddhuraju, P. and Becker, K. 2007. The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) seed extracts. *Food Chem.* 101 : 10-19.
- Slinkard, K. and Singleton, V. L. 1997. Total phenol analyses: automation and comparison with manual methods. *Am. J. Enol. Viticult.* 28 : 49-55.
- Srisuma, N., Hammerschmidt, R., Uebersax, S., Ruengsakulrach, S., Bennink, M. R., and Hosfield, G. L. 1989. Storage induced changes of phenolic acids and development of Hard-to-Cook in dry beans (*Phaseolus vulgaris*, var. Seafarer). *J. Food Sci.* 54 : 311-314.
- Susilo, R. and Gmelin, R. 1982. Precursor of cyclic polysulphides in seeds of *Parkia Speciosa* Hassk. *Z. Naturforsch.* 37 : 584-586.
- Suvachittanont, W., Kurashima, Y., Esumi, H. and Tsuda, M. 1996. Formation of thiazolidine-4-carboxylic acid (thioprolin), and effective nitrite trapping agent in human body in *Parkia speciosa* seeds and other Leguminous seeds in Thailand. *Food Chem.* 55 : 359-363.
- Suvachittanont, W. and Peutpaiboon, A. 1992. Lectin from *Parkia speciosa* seeds. *Phytochem.* 31 : 4065-4070.
- Takeoka, G., Doa, L., Full, G., Wong, R., Harden, L., Edwards, R. and Berrios, J. 1997. Characterization of black bean (*Phaseolus vulgaris* L.) anthocyanins. *J. Agric. Food Chem.* 45 : 3395-3400.
- Taungbodhitham, A. K. 1995. Thiamin content and activity of antithiamin factor in vegetables of southern Thailand. *Food Chem.* 52 : 285-288.

- Tsuda, T., Makino, Y., Kato, H., Osawa, T. and Kawakishi, S. 1993a. Screening for antioxidative activity of edible bean pulses. *Biosci. Biotech. Biochem.* 57 : 1606-1608.
- Tsuda, T., Osawa, T., Nakayama, T., Kawakishi, S. and Ohshima, K. 1993b. Antioxidant activity of pea bean (*Phaseolus vulgaris* L.) extract. *J. Am. Oil Chem Soc.* 70 : 909-913.
- Tsuda, T., Ohshima, K., Kawakishi, S. and Osawa, T. 1994a. Antioxidative pigments isolated from seeds of *Phaseolus vulgaris* L. *J. Agric. Food Chem.* 42 : 248-251.
- Tsuda, T., Watanabe, M., Ohshima, K., Norinobu, S., Choi, S-W., Kawakishi, S. and Osawa, T. 1994b. Antioxidative activity of the anthocyanin pigments Cyanidin 3-O- β -D-glucoside and cyanidin. *J. Agric. Food Chem.* 42 : 2407-2410.
- Wiseman, H. and Halliwell, B. 1996. Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: Role of inflammatory disease and progression to cancer. *J. Biochem.* 313 : 17-29.
- Xu, B. and Chang, S. K. C. 2008. Effect of soaking, boiling, and steaming on total phenolic content and antioxidant activities of cool season food legumes. *Food Chem.* 110 : 1-13.
- Xu, G., Ye, X., Chen, J. and Lui, D. 2007. Effect of heat treatment on the phenolic compounds and antioxidant capacity of citrus peel extract. *J. Agric. Food Chem.* 55 : 330-335.
- Yen, G. and Duh, P. 1993. Antioxidative properties of methanolic extracts of peanut hull. *J. Am. Oil Chem Soc.* 70 : 383-385.
- Yen, G., Duh, P. and Tsi, C. 1993. Relationship between antioxidant activity and maturity of peanut hulls. *J. Agric. Food Chem.* 41 : 66-70.

ภาคผนวก ก การวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ

1. การวัดค่าสีของเมล็ดสะตอ

1.1 อุปกรณ์

เครื่องวัดค่าสียี่ห้อ Colour Quest XT

1.2 วิธีการ

1. เลือกโปรแกรม Hunter Lab ($L^* a^* b^*$)
2. ปรับมาตรฐานสีโดยใช้แผ่นเทียบสีดำและขาวมาตรฐาน
3. นำตัวอย่างไปวางในตำแหน่งที่วัดค่าสี
4. อ่านค่าที่ได้เป็น $L^* a^* b^*$

ภาคผนวก ข การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

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

1.1 อุปกรณ์

1. เครื่องบดผสมตัวอย่าง (blender)
2. ตู้อบไฟฟ้า ยี่ห้อ Memmert รุ่น D-91126 ประเทศสหรัฐอเมริกา
3. ภาชนะหาคความชื้น (ถ้วยอะลูมิเนียมพร้อมฝา)
4. โถคูคความชื้น
5. เครื่องชั่งไฟฟ้า 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Sartorius รุ่น BS/BT ประเทศเยอรมนี

1.2 วิธีการ

1. อบถ้วยอะลูมิเนียมพร้อมฝา ในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสนาน 3 ชั่วโมง วางให้เย็นในโถคูคความชื้น ชั่งน้ำหนักแล้วนำไปอบซ้ำเป็นเวลา 30 นาทีจนทราบน้ำหนักที่แน่นอน
2. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 1-2 กรัม ใส่ลงในถ้วยอะลูมิเนียม เกลี่ยตัวอย่างให้กระจายทั่ว
3. นำไปอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส ค้างคืน นำออกมาวางให้เย็นในโถคูคความชื้นนาน 30 นาที แล้วชั่งน้ำหนัก นำไปอบซ้ำครั้งละ 30 นาที จนได้น้ำหนักที่

แน่นอนซึ่งทั้งสองครั้งติดต่อกัน ไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม แล้วนำค่าที่ได้ไปคำนวณปริมาณความชื้นจากสูตร

1.3 การคำนวณ

$$\text{ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)} = \frac{(W_1 - W_2) \times 100}{W_1}$$

W_1 = น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)

W_2 = น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ (กรัม)

2. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธี Kjeldahl (A.O.A.C., 2000)

2.1 อุปกรณ์

1. หลอดย่อยโปรตีน (Kjeldahl tube)
2. เครื่องชั่งไฟฟ้า 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Sartorius รุ่น BS/BT ประเทศเยอรมนี
3. อุปกรณ์ย่อยและกลั่นโปรตีน ยี่ห้อ FOSS TECATOR รุ่น 2006 และ 2200

ตามลำดับ ประเทศสวีเดน

4. ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 และ 500 มิลลิลิตร
5. ขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร
6. ปิเปต ขนาด 5 และ 10 มิลลิลิตร
7. บิวเรต ขนาด 25 มิลลิลิตร
8. กระจกทรง
9. กระจกดวงขนาด 20 และ 50 มิลลิลิตร

2.2 สารเคมี

1. กรดซัลฟูริกเข้มข้น
2. สารเร่งปฏิกิริยาใช้คอปเปอร์ซัลเฟต 1 ส่วนผสมกับ โพแทสเซียมซัลเฟต 9 ส่วน
3. โซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 40 และ 20
4. กรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 4

5. กรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้นมาตรฐาน 1 นอร์มัล เตรียมโดยชั่งโซเดียมเตตราโบเรต (borax) ให้ได้น้ำหนักแน่นอน (4 ตำแหน่ง) 4 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ละลายด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 50 มิลลิลิตร ทำซ้ำ 3 ขวด แต่ละขวดเติม 2-3 หยดของเมทิลเรด (อินดิเคเตอร์) แล้วไตเตรตกับสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่เตรียมไว้ สีของสารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีชมพูที่จุดยุติสามารถคำนวณความเข้มข้นที่แน่นอนของกรดไฮโดรคลอริกจากสูตร

$$\text{ความเข้มข้นของสารละลายไฮโดรคลอริก} = \frac{W_1}{W_2 \times 0.1907}$$

W_1 = น้ำหนักของโซเดียมเตตราโบเรต (กรัม)

W_2 = ปริมาตรของสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไตเตรต (มิลลิลิตร)

กรัมสมมูลของโซเดียมเตตราโบเรต = 190.72

6. อินดิเคเตอร์ เตรียมโดย ก. ชั่ง 0.125 กรัม เมทิลเรด และ 0.2 กรัม เมทิลีนบลู (methylene blue) ละลายในเอทานอลปริมาตร 100 มิลลิลิตร ข. ชั่ง 0.1 กรัม โบโรโมครีซอลกรีน (bromocresol green) ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร นำมาผสมกันในอัตราส่วน ก:ข เท่ากับ 5:1

2.3 วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างบนกระดาษกรองให้ได้น้ำหนักแน่นอน (4 ตำแหน่ง) ประมาณ 1-2 กรัม ห่อให้มิดชิดลงในขวดย่อยโปรตีน
2. เติมสารเร่งปฏิกิริยา 5 กรัม และกรดซัลฟูริกเข้มข้น 20 มิลลิลิตร
3. นำไปย่อยที่อุณหภูมิ 300 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และย่อยที่อุณหภูมิ 400 องศาเซลเซียส จนได้สารละลายใส แล้วตั้งทิ้งไว้เย็น
4. เติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร ในหลอดย่อยโปรตีน
5. ต่อกหลอดย่อยโปรตีนในส่วนเครื่องกลั่นโปรตีน และวางขวดรูปชมพู่ที่เติมกรดบอริกปริมาตร 40 มิลลิลิตร แล้ววางที่ตำแหน่งรับสารละลายของเครื่องกลั่น โดยให้ปลายจุ่มในสารละลายกรดบอริก เติมอินดิเคเตอร์ 2 หยด ทำการกลั่นโปรตีนตามโปรแกรมที่ตั้งไว้ ปริมาตรสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 40 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร และกลั่นเป็นเวลา 4 นาที

6. ไตเตรทของเหลวที่กลั่นได้ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกมาตรฐานจนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวอมฟ้าเป็นสีชมพูที่จุดยุติ นำข้อมูลที่ได้ไปคำนวณปริมาณไนโตรเจนหรือปริมาณโปรตีน
7. ทำ blank โดยใช้กระดาษกรองไม่ใส่ตัวอย่างแล้วทำตามข้อ 2-6

2.4 การคำนวณ

$$\text{ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (ร้อยละ)} = \frac{1.4007 \times N \times (V_s - V_b)}{W}$$

$$\text{ปริมาณโปรตีนทั้งหมด (ร้อยละ)} = \frac{1.4007 \times N \times (V_s - V_b) \times F}{W}$$

N = ความเข้มข้นของสารละลายกรดไฮโดรคลอริกมาตรฐาน (นอร์มอล)

V_s = ปริมาตรของสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไตเตรทตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

V_b = ปริมาตรของสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไตเตรทแบลนค์ (มิลลิลิตร)

W = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

F = แฟกเตอร์ (เท่ากับ 6.25)

3. การวิเคราะห์ปริมาณไขมันโดยวิธี Soxhlet Extraction Method (A.O.A.C., 2000)

3.1 อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ชุดสกัดไขมัน (soxhlet apparatus) ยี่ห้อ Selecta รุ่น 6003286 ประเทศสเปน
2. หลอดใส่ตัวอย่าง (extraction thimble)
3. เครื่องบดผสมตัวอย่าง (blender)
4. ตู้อบไฟฟ้า ยี่ห้อ Memmert รุ่น D-91126 ประเทศสหรัฐอเมริกา
5. โถดูดความชื้น
6. เครื่องชั่งไฟฟ้า 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Sartorius รุ่น BS/BT ประเทศเยอรมนี
7. เครื่องระเหยสุญญากาศ ยี่ห้อ EYELA รุ่น SB-1000 ประเทศญี่ปุ่น

3.2 สารเคมี

ปิโตรเลียมอีเทอร์

3.3 วิธีการ

1. อบขวดก้นกลมในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง วางให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักแล้วนำไปอบซ้ำเป็นเวลา 30 นาที จนทราบน้ำหนักที่แน่นอน (4 ตำแหน่ง)
2. นำตัวอย่างที่อบแห้งแล้วมาชั่งให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน (4 ตำแหน่ง) ประมาณ 2-3 กรัม ในกระดาษกรอง ห่อให้มีคิซิดแล้วใส่ลงในหลอดสำหรับใส่ตัวอย่าง คลุมด้วยสำลีเพื่อให้สารทำละลายมีการกระจายอย่างสม่ำเสมอ
3. นำหลอดตัวอย่างใส่ลงใน soxhlet
4. เทปิโตรเลียมอีเทอร์ในขวดก้นกลม ปริมาตร 250 มิลลิลิตร
5. ประกอบหลอดใส่ตัวอย่าง และขวดก้นกลมเข้ากับเครื่องสกัดไขมันแล้วทำการสกัดไขมัน เป็นเวลา 14 ชั่วโมง โดยปรับความร้อนให้หยดของสารทำละลายกลั่นตัวจากอุปกรณ์ควบแน่นด้วยอัตรา 150 หยดต่อนาที
6. เมื่อครบ 14 ชั่วโมง นำหลอดใส่ตัวอย่างออกจาก soxhlet แล้วระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศ
7. นำขวดหาไขมันไปอบที่อุณหภูมิ 80-90 องศาเซลเซียส จนแห้ง ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น
8. ชั่งน้ำหนักแล้วอบซ้ำครั้งละ 30 นาที จนกระทั่งผลต่างของน้ำหนัก 2 ครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

3.4 การคำนวณ

$$\text{ปริมาณไขมัน (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักไขมันหลังอบ} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้นก่อนอบ}}$$

4. การวิเคราะห์ปริมาณแถ้ (A.O.A.C., 2000)

4.1 อุปกรณ์

1. เตาเผา (muffle furnace) ยี่ห้อ Ney รุ่น Vulcan3-1750 ประเทศสหรัฐอเมริกา
2. ถ้วยกระเบื้องเคลือบ (porcelain crucible)
3. โถดูดความชื้น
4. เครื่องชั่งไฟฟ้า 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Sartorius รุ่น BS/BT ประเทศเยอรมนี

4.2 วิธีการ

1. เเผาถ้วยกระเบื้องเคลือบในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ปิดสวิทช์เตาเผาแล้วรอประมาณ 30-45 นาที เพื่อให้อุณหภูมิภายในเตาเผาตกลง แล้วนำออกจากเตาเผาใส่ในโถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก
2. เเผาซ้ำครั้งละ 1 ชั่วโมงและทำเช่นข้อ 1 จนได้ผลต่างของน้ำหนักทั้ง 2 ครั้ง ติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม
3. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างให้ได้น้ำหนักแน่นอน (4 ตำแหน่ง) ประมาณ 1 กรัม ใส่ในถ้วยกระเบื้องเคลือบที่ทราบน้ำหนักแน่นอนแล้ว นำไปเผาในตู้ควันจนหมดควัน แล้วจึงนำเข้าเตาเผาอุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส และกระทำซ้ำเช่นเดียวกับข้อ 1-2

4.3 การคำนวณ

$$\text{ปริมาณแถ้ (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างหลังเผา} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}}$$

5. การวิเคราะห์ปริมาณเยื่อใย (A.O.A.C., 2000)

5.1 อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ชุดหาปริมาณเยื่อใย (labconco) ซึ่งประกอบด้วยบีกเกอร์ขนาด 600 มิลลิลิตร อุปกรณ์ควมแน่น และอุปกรณ์ให้ความร้อน
2. กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 54
3. ขวดกรองแบบสุญญากาศ (suction flask)
4. กรวยกรอง (buchner funnel)
5. ถ้วยกระเบื้องเคลือบ
6. ตู้อบไฟฟ้า
7. เตาเผา
8. โถดูดความชื้น
9. เครื่องเครื่องชั่งไฟฟ้า 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Sartorius รุ่น BS/BT ประเทศเยอรมนี

5.2 สารเคมี

1. กรดซัลฟูริก เข้มข้นร้อยละ 1.25
2. โซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้นร้อยละ 1.25
3. เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95

5.3 วิธีการ

1. นำกระดาษกรองวางบนกระดาษฟิวส์ ออบในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วนำออกมาใส่ในโถดูดความชื้นและชั่งน้ำหนัก เก็บไว้ใช้กรองในขั้นตอนต่อไป
2. ชั่งตัวอย่างซึ่งผ่านการสกัดไขมันออกแล้วลงในบีกเกอร์ทรงสูงสำหรับวิเคราะห์เยื่อใยขนาด 600 มิลลิลิตร
3. เติมกรดซัลฟูริกที่มีความเข้มข้น ร้อยละ 1.25 ปริมาตร 200 มิลลิลิตร
4. วางบีกเกอร์บนอุปกรณ์ให้ความร้อนซึ่งต่อเข้ากับอุปกรณ์ควมแน่น แล้วเปิดน้ำหล่อเย็นอุปกรณ์ควมแน่น พร้อมเปิดสวิทซ์ไฟ ต้มให้เดือดนาน 30 นาที
5. กรองขณะร้อนผ่านกระดาษกรองที่ชั่งน้ำหนักแล้ว ล้างด้วยน้ำร้อนจนกระทั่งหมดความเป็นกรด
6. ถ่ายกากที่ได้ลงในบีกเกอร์ใบเดิม แล้วเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 1.25 ปริมาตร 200 มิลลิลิตร

7. วางบีกเกอร์บนอุปกรณ์ให้ความร้อนซึ่งต่อเข้ากับอุปกรณ์ควบแน่นเช่นเดิม และต้มต่ออีก 30 นาที
8. กรองขณะร้อนผ่านกระดาษกรองแผ่นเดิมแล้วล้างด้วยน้ำร้อนจนหมดความเป็นด่าง
9. ล้างด้วยด้วยเอทานอล (ร้อยละ 95) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร
10. นำกระดาษกรองพร้อมภากล้างลงในถ้วยกระเบื้องเคลือบ อบแห้งในตู้อบไฟฟ้าอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส 3 ชั่วโมง แล้วทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น
11. ชั่งน้ำหนักแล้วอบซ้ำครั้งละ 30 นาที จนกระทั่งได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม
12. นำถ้วยกระเบื้องเคลือบพร้อมภาที่อบแห้งแล้วไปเผา เช่นเดียวกับวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณแล้ว

5.4 การคำนวณ

$$\text{ปริมาณสารเชื้อใย (ร้อยละ)} = \frac{\text{ผลต่างของนน.ตัวอย่างอบและหลังเผา} \times 100}{\text{นน. ตัวอย่างเริ่มต้น}}$$

ภาคผนวก ค การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้และทดสอบกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน

1. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้ (ดัดแปลงจาก Slinkard และ Singleton, 1997)

1.1 อุปกรณ์

1. ไมโครปิเปตขนาด 10-200 และ 100-1,000 ไมโครลิตร
2. microplate ขนาด 96 หลุม
3. เครื่อง microplate reader

1.2 สารเคมี

1. Folin-Ciocalteu phenol reagent
2. protocatechuic acid
3. sodium carbonate anhydrous (Na_2CO_3): เตรียมโดยละลาย Na_2CO_3 7.0 กรัมในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

1.3 วิธีการ

1.3.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน protocatechuic acid

เตรียม protocatechuic acid ให้มีความเข้มข้น 0, 25, 50, 100, 150 และ 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้ น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย

1.3.2 การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

เตรียมตัวอย่างให้มีความเข้มข้น 5,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้ น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย

1.3.3 วิธีการทดสอบ

สารละลายตัวอย่าง/ protocatechuic acid ปริมาตร 12.5 ไมโครลิตร ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 50 ไมโครลิตร และสารละลาย Folin-Ciocalteu ปริมาตร 12.5 ไมโครลิตร



ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 6 นาที ที่อุณหภูมิห้อง



เติมสารละลาย Na_2CO_3 เข้มข้นร้อยละ 7 ปริมาตร 125 ไมโครลิตร ผสมกับน้ำกลั่น 100 ไมโครลิตร

↓
ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 90 นาที ที่อุณหภูมิห้อง
↓
วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 760 นาโนเมตร

1.4 การคำนวณ

1. นำค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน protocatechuic acid มาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นที่ระดับต่างๆ (แกน x) กับค่าการดูดกลืนแสง (แกน y) และหาสมการเส้นตรงจากกราฟที่ได้ คือ $y = mx + c$
2. แทนค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างลงในสมการสารละลายมาตรฐานเพื่อคำนวณหาความเข้มข้นของตัวอย่างเทียบกับสารมาตรฐาน
3. นำค่าที่คำนวณได้จากข้อ 2 มาคำนวณเพื่อรายงานค่าในรูปของมิลลิกรัมสมมูลของ protocatechuic acid ต่อ 100 กรัมตัวอย่างแห้ง (mg PAE/100 g dry stink bean sample) ดังสมการ

$$\text{ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้} = \frac{A \times 2 \times 10 \times B \times 100}{0.1 \times 1,000 \times (100 - C)}$$

A คือ ค่าความเข้มข้นของตัวอย่างเทียบกับสารมาตรฐาน

B คือ ร้อยละของผลผลิตที่ได้ (%yield)

C คือ ค่าความชื้น

2. การทดสอบกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน DPPH radical scavenging activity (ดัดแปลงจาก Brand-Williams *et al.*, 1995)

2.1 อุปกรณ์

1. ไมโครปิเปตขนาด 10-200 และ 100-1,000 ไมโครลิตร
2. microplate ขนาด 96 หลุม
3. เครื่อง microplate reader

2.2 สารเคมี

1. absolute ethanol
2. DPPH (2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl)
3. protocatechuic acid

2.3 วิธีการ

2.3.1 การเตรียมสารละลายของ DPPH ในเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95

เตรียม DPPH ให้มีความเข้มข้น 200 ไมโครโมลาร์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร โดยชั่งน้ำหนัก DPPH 0.0039 กรัม ละลายด้วยเอทานอล โดยกวนต่อเนื่องอย่างน้อย 3 ชั่วโมงเพื่อให้ DPPH ละลายหมด

2.3.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน protocatechuic acid

เตรียม protocatechuic acid ให้มีความเข้มข้น 0, 1, 2.5, 5, 10 และ 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้ น้ำกลั่น เป็นตัวทำละลาย

2.3.3 การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

เตรียมตัวอย่าง ให้มีความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้ น้ำกลั่น เป็นตัวทำละลาย

2.3.4 วิธีการทดสอบ

สารละลายตัวอย่าง/สารละลายมาตรฐาน 100 ไมโครลิตร

ผสมกับสารละลายของ DPPH 100 ไมโครลิตร



ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที ในที่มืด



วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร

2.4 การคำนวณ

1. นำค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน protocatechuic acid มาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง \log ความเข้มข้นต่างๆ ของสารละลายมาตรฐาน (แกน x) กับค่าการดูดกลืนแสง (แกน y) และหาสมการเส้นตรงจากกราฟที่ได้ คือ $y = mx + c$

2. แทนค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างลงในสมการสารละลายมาตรฐานเพื่อคำนวณหาความเข้มข้นของตัวอย่างเทียบกับสารมาตรฐาน

3. นำค่าที่คำนวณได้จากข้อ 2 มาคำนวณเพื่อรายงานค่าในรูปของมิลลิกรัมสมมูลของ protocatechuic acid ต่อ 100 กรัมตัวอย่างแห้ง (mg PAE/100 g dry stink bean sample) ดังสมการ

$$\text{DPPH radical scavenging activity} = \frac{A \times 20 \times 10 \times B \times 100}{0.1 \times 1,000 \times (100-C)}$$

A คือ ค่าความเข้มข้นของตัวอย่างเทียบกับสารมาตรฐาน

B คือ ร้อยละของผลผลิตที่ได้ (%yield)

C คือ ค่าความชื้น

3. การทดสอบกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน ABTS radical scavenging activity (ดัดแปลงจาก Binsan *et al.*, 2008)

3.1 อุปกรณ์

1. ไมโครปิเปตขนาด 10-200 และ 100-1,000 ไมโครลิตร
2. microplate ขนาด 96 หลุม
3. เครื่อง microplate reader

3.2 สารเคมี

1. ABTS radical cation (ABTS⁺)
2. potassium persulphate
3. protocatechuic acid
4. methanol

3.3 วิธีการ

3.3.1 การเตรียมสารละลาย ABTS⁺

1. เตรียม ABTS⁺ ให้มีความเข้มข้น 7.4 มิลลิโมลาร์ โดยชั่ง ABTS⁺ 0.0203 กรัม ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 5 มิลลิลิตร
2. เตรียม potassium persulphate ให้มีความเข้มข้น 2.6 มิลลิโมลาร์ โดยชั่ง potassium persulphate 0.0035 กรัม ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 5 มิลลิลิตร

3. นำสารละลายในข้อ 1.1 และ 1.2 ผสมกันในอัตราส่วน 1:1 ตั้งทิ้งไว้ในที่มีอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12-16 ชั่วโมง

4. ปิเปตสารละลาย ABTS⁺ 1 มิลลิลิตรลงในเมทานอลปริมาตร 25 มิลลิลิตรผสมให้เข้ากันแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ปรับสารละลายจนกว่าจะได้ค่าการดูดกลืนแสงในช่วง 1.1 ± 0.02

3.3.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน protocatechuic acid

เตรียม protocatechuic acid ให้มีความเข้มข้น 0, 5, 10, 25, 50 และ 75 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้ น้ำกลั่น เป็นตัวทำละลาย

3.3.3. การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

เตรียมตัวอย่าง ให้มีความเข้มข้น 3,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้ น้ำกลั่น เป็นตัวทำละลาย

3.3.4 วิธีการทดสอบ

สารละลายตัวอย่าง/สารละลายมาตรฐาน 10 ไมโครลิตร
ผสมกับสารละลายของ ABTS ที่เตรียมไว้ 190 ไมโครลิตร
↓
ตั้งทิ้งไว้ในที่มีอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 120 นาที ในที่มีมืด
↓
วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร

3.4 การคำนวณ

1. นำค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน protocatechuic acid มาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นที่ระดับต่างๆ (แกน x) กับค่าการดูดกลืนแสง (แกน y) และหาสมการเส้นตรงจากกราฟที่ได้ คือ $y = mx + c$

2. แทนค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างลงในสมการสารละลายมาตรฐานเพื่อคำนวณหาความเข้มข้นของตัวอย่างเทียบกับสารมาตรฐาน

3. นำค่าที่คำนวณได้จากข้อ 2 มาคำนวณเพื่อรายงานค่าในรูปของมิลลิกรัม สมมูลของ protocatechuic acid ต่อ 100 กรัมตัวอย่างแห้ง (mg PAE/100 g dry stink bean sample) ดังสมการ

$$\text{ABTS radical scavenging activity} = \frac{A \times 3.33 \times 10 \times B \times 100}{0.1 \times 1,000 \times (100-C)}$$

A คือ ค่าความเข้มข้นของตัวอย่างเทียบกับสารมาตรฐาน

B คือ ร้อยละของผลผลิตที่ได้ (%yield)

C คือ ค่าความชื้น

4. การทดสอบกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน Ferric reducing antioxidant power (ดัดแปลงจาก Benzie and Strain, 1996)

4.1 อุปกรณ์

1. ไมโครปิเปตขนาด 10-200 และ 100-1,000 ไมโครลิตร
2. microplate ขนาด 96 หลุม
3. เครื่อง microplate reader
4. อ่างควบคุมอุณหภูมิ

4.2 สารเคมี

1. iron (III) chloride hexahydrate ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)
2. acetic acid
3. sodium acetate
4. protocatechuic acid
5. hydrochloric acid
6. 2, 4, 6-tri (2-pyridyl)-tri-azine (TPTZ)

4.3 วิธีการ

4.3.1 การเตรียมสารละลาย FRAP reagent

1. การเตรียม $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ให้มีความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ โดยชั่ง $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.0270 กรัม แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร
2. การเตรียมบัพเฟอร์อะซิเตทให้มีความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ พีเอช 3.6 โดยชั่ง sodium acetate 2.4609 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น แล้วนำไปปรับพีเอช ด้วย acetic acid จนได้พีเอช 3.6 จึงปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

3. การเตรียม hydrochloric acid ให้มีความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ โดยเปิด hydrochloric acid เข้มข้น 12 โมลาร์ มา 0.33 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร

4. การเตรียม TPTZ ให้มีความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ โดยชั่ง TPTZ 0.0156 กรัม ละลายใน hydrochloric acid ที่มีความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 5 มิลลิลิตร

5. นำสารละลาย TPTZ ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และสารละลาย acetate buffer ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 25 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปบ่มในอ่างควบคุม อุณหภูมิที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นวางทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วจึงนำสารละลายที่ได้ (FRAP reagent) ไปทดสอบ

4.3.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน protocatechuic acid

เตรียมสารละลายมาตรฐาน protocatechuic acid ให้มีความเข้มข้น 0, 10, 25, 50, 75 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้ น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย

4.3.3 การเตรียมสารตัวอย่าง

เตรียมตัวอย่างให้มีความเข้มข้น 5,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้ น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย

4.3.4 วิธีการทดสอบ

สารละลายตัวอย่าง/สารละลายมาตรฐาน 30 ไมโครลิตร
ผสมกับสารละลาย FRAP reagent ปริมาตร 270 ไมโครลิตร



ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที ในที่มืด



วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร

4.4 การคำนวณ

1. นำค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นที่ระดับต่างๆ (แกน x) กับค่าการดูดกลืนแสง (แกน y) และหาสมการเส้นตรงจากกราฟที่ได้ คือ $y = mx + c$

2. แทนค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างลงในสมการสารละลายมาตรฐานเพื่อคำนวณหาความเข้มข้นของตัวอย่างเทียบกับสารมาตรฐาน

3. นำค่าที่คำนวณได้จากข้อ 2 มาคำนวณเพื่อรายงานค่าในรูปของมิลลิกรัม สมมูลของ protocatechuic acid ต่อ 100 กรัมตัวอย่างแห้ง (mg PAE/100 g dry stink bean sample) ดังสมการ

$$\text{FRAP} = \frac{A \times 2 \times 10 \times B \times 100}{0.1 \times 1,000 \times (100-C)}$$

A คือ ค่าความเข้มข้นของตัวอย่างเทียบกับสารมาตรฐาน

B คือ ร้อยละของผลผลิตที่ได้ (%yield)

C คือ ค่าความชื้น

5. การทดสอบกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน **Superoxide anion radical scavenging activity** (ดัดแปลงจาก Robak and Gryglewski, 1988)

5.1 อุปกรณ์

1. ไมโครปิเปตขนาด 10-200 และ 100-1,000 ไมโครลิตร
2. microplate ขนาด 96 หลุม
3. เครื่อง microplate reader

5.2 สารเคมี

1. disodium hydrogen phosphate (Na_2HPO_4)
2. hydrochloric acid
3. nitroblue tetrazolium (NBT)
4. phenazine methosulphate
5. β -nicotinamide adenine dinucleotide, reduce disodium salt hydrate (NADH)

5.3 วิธีการ

5.3.1 การเตรียมสารในการทดสอบ

1. การเตรียมบัฟเฟอร์ฟอสเฟต ให้มีความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ พีเอช 7.4 โดยชั่ง Na_2HPO_4 1.78 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น แล้วนำไปปรับพีเอช ด้วย hydrochloric acid เข้มข้น 6 โมลาร์ จนได้พีเอช 7.4 จึงปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร

2. การเตรียมสารละลาย NBT ให้มีความเข้มข้น 300 ไมโครโมลาร์ โดยชั่ง NBT 0.0025 กรัม ละลายในบัฟเฟอร์ฟอสเฟตความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ พีเอช 7.4 แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 10 มิลลิลิตร

3. การเตรียมสารละลาย phenazine methosulphate ให้มีความเข้มข้น 120 ไมโครโมลาร์ โดยชั่ง phenazine methosulphate 0.0018 กรัม ละลายในบัฟเฟอร์ฟอสเฟตความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ พีเอช 7.4 แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 50 มิลลิลิตร

4. การเตรียมสารละลาย NADH ให้มีความเข้มข้น 936 ไมโครโมลาร์ โดยชั่ง NADH 0.0066 กรัม ละลายในบัฟเฟอร์ฟอสเฟตความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ พีเอช 7.4 แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 10 มิลลิลิตร

5.3.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน protocatechuic acid

เตรียม protocatechuic acid ให้มีความเข้มข้น 0, 100, 200, 400, 600 และ 800 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้ น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย

5.3.3 การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

เตรียมตัวอย่างให้มีความเข้มข้น 2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้ น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย

5.3.4 วิธีการทดสอบ

สารละลายตัวอย่าง/สารละลายมาตรฐาน 50 ไมโครลิตร

ผสมกับสารละลาย NBT, phenazine methosulphate และ NADH

ปริมาตรอย่างละ 50 ไมโครลิตร ตามลำดับ



ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด เป็นเวลา 5 นาที



วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร

5.4 การคำนวณ

1. นำค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน protocatechuic acid มาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นที่ระดับต่างๆ (แกน x) กับค่าการดูดกลืนแสง (แกน y) และหาสมการเส้นตรงจากกราฟที่ได้ คือ $y = mx + c$

2. แทนค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างลงในสมการสารละลายมาตรฐานเพื่อคำนวณหาความเข้มข้นของตัวอย่างเทียบกับสารมาตรฐาน

3. นำค่าที่คำนวณได้จากข้อ 2 มาคำนวณเพื่อรายงานค่าในรูปของมิลลิกรัมสมมูลของ protocatechuic acid ต่อ 100 กรัมตัวอย่างแห้ง (mg PAE/100 g dry stink bean sample) ดังสมการ

$$\text{Superoxide anion radical scavenging activity} = \frac{A \times 5 \times 10 \times B \times 100}{0.1 \times 1,000 \times (100-C)}$$

A คือ ค่าความเข้มข้นของตัวอย่างเทียบกับสารมาตรฐาน

B คือ ร้อยละของผลผลิตที่ได้ (%yield)

C คือ ค่าความชื้น

ภาคผนวก ง ผลของอุณหภูมิและระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะเนื้อสัมผัส ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้ และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสะตอข้าวและสะตอदान

Table 10. Moisture content of stink bean during storage at room temperature (RT) and chilling temperature (CT)

Storage time (day)	Moisture content (%)			
	Sataw-Khao		Sataw-Daan	
	RT	CT	RT	CT
0	71.49±0.24	71.49±0.14	74.07±0.24	74.07±0.10
3	69.50±0.15	70.69±0.23	70.68±0.27	73.68±0.22
5	66.57±0.29	-	66.99±0.13	-
7	64.70±0.34	70.01±0.27	65.01±0.09	73.07±0.14
14	-	67.79±0.34	-	70.11±0.11
21	-	65.75±0.19	-	69.20±0.24
28	-	-	-	66.70±0.28

Values are given as mean±SD from triplicate.

Table 11. Moisture content of stink bean during frozen storage

Storage time (month)	Moisture content (%)	
	Sataw-Khao	Sataw-Daan
0	72.34±0.32	74.87±0.21
0.5	73.25±0.22	74.99±0.19
1	73.13±0.29	75.83±0.12
2	72.89±0.30	75.09±0.28
4	72.77±0.21	74.97±0.14
6	73.04±0.19	75.62±0.20
8	72.93±0.32	75.49±0.40

Values are given as mean±SD from triplicate.

Table 12. Moisture content of stink bean during freeze-thaw cycles

Freeze-thaw (cycles)	Moisture content (%)	
	Sataw-Khao	Sataw-Daan
0	72.34±0.12	74.87±0.42
1	73.59±0.22	75.77±0.12
2	76.52±0.29	77.49±0.22
3	80.03±0.17	79.12±0.37
5	85.49±0.25	82.53±0.41
7	89.90±0.18	86.79±0.25

Values are given as mean±SD from triplicate.

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล	นางสาวขวัญใจ แซ่ลิ่ม	
รหัสประจำตัวนักศึกษา	5011020003	
วุฒิการศึกษา		
วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีอาหาร)	มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์	2548

ทุนการศึกษา (ที่ได้รับในระหว่างการศึกษา)

- ทุนการศึกษาระดับปริญญาโทจากสถานวิจัยผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและอาหารเพื่อสุขภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ พ.ศ.2551
- ทุนสนับสนุนทุนช่วยวิทยานิพนธ์จากโครงการพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว พ.ศ.2550
- ทุนสนับสนุนการวิจัยจากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ พ.ศ.2551

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

Saelim, K., Jongjareonrak, A. and Benjakul, S. 2008. Effect of storage condition on total phenolic content and antioxidant activity of stink bean (*Parkia speciosa* Hassk.). KMITL Sci. J. 8(2) : 26-30.

Saelim, K., Jongjareonrak, A. and Benjakul, S. 2008. Effect of storage condition on total phenolic content and antioxidant activity of stink bean (*Parkia speciosa* Hassk.). In Proceeding of the 34th Congress on Science and Technology of Thailand. 31 October - 2 November, Thailand.