ผลของวิธีการทำแห้งต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพ เคมี จุลินทรีย์และประสาทสัมผัสของใบมะกรูดในระหว่างการเก็บรักษา

Effect of Drying Methods on Physical, Chemical, Microbiological and Sensory Characteristics of Kaffir Lime Leaves (*Citrus hystrix* DC.) during Storage

นฤพร เฟื่องฟุ้ง

Naruporn Faungfung

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

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

Prince of Songkla University

2552

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ ผลของวิธีการทำแห้งต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพ เคมี จุลินทรีย์และประสาทสัมผัสของใบมะกรูดในระหว่างการเก็บรักษา

ผู้เขียน นางสาวนฤพร เฟื่องฟุ้ง

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

.....

(ดร.วรพงษ์ อัศวเกศมณี)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

.....

(ดร.สุนิสา ศิริพงศ์วุฒิกร)

.....

(ดร.วริพัสย์ อารีกุล)

คณะกรรมการสอบ

.....ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จักรี ทองเรือง)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เกียรติศักดิ์ ดวงมาลย์)

.....กรรมการ

(ดร.วรพงษ์ อัศวเกศมณี)

.....กรรมการ

(ดร.สุนิสา ศิริพงศ์วุฒิกร)

.....กรรมการ

(ดร.วริพัสย์ อารีกุล)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.เกริกชัย ทองหนู)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อวิทยานิพนธ์ ผลของวิธีการทำแห้งต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพ เคมี จุลินทรีย์และประสาทสัมผัสของใบมะกรูดในระหว่างการเก็บรักษา

ผู้เขียน นางสาวนฤพร เฟื่องฟุ้ง

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร

ปีการศึกษา 2552

บทคัดย่อ

ใบมะกรูดเป็นเครื่องเทศที่ให้ก ลิ่นเฉพาะตัวมีการใช้อย่างแพร่หลายในแถบทวีปเอเชียโดยเฉพาะในการปรุงอาหารไทย แต่เนื่องจากบางฤดูกาล เกิดความขาดแคลน การทำแห้งจึงน่าจะเป็นทางเลือกหนึ่งของการแก้ปัญหาดังกล่าว ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงมีจุดประสงค์ที่จะศึกษาผลของวิธีการทำแห้งต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภา พทางเคมี กายภาพ จุลินทรีย์ และประสาทสัมผัสของใบมะกรูดทั้งระยะแก่ และระยะกึ่งแก่กึ่งอ่อน ตลอดจนศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพระหว่างการเก็บรักษา จากการศึกษาผลของการทำแห้ง 3 วิธีคือ การทำแห้งโดยไมโครเวฟ การทำแห้งโดยลมร้อน และการทำแห้งโดยพลังงานแสงอาทิตย์ พบว่าการทำแห้งทั้ง 3 วิธีช่วยเพิ่มความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระทั้งในใบมะกรูดแก่ และใบมะกรูดกึ่ง แก่กึ่งอ่อน โดยความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ที่แสดงในรูปของค่า IC_{50} ของใบมะกรูดระยะแก่หลังการทำแห้ง โดยไมโครเวฟ และลมร้อน เพิ่มขึ้นจาก 1.04 เป็น 0.42 และ 0.55 มิลลิกรัมน้ำหนักแห้ง /มิลลิลิตร ตามลำดับ ในขณะที่ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ของใบมะกรูดที่ผ่านการทำแห้งโดยแสงอาทิตย์ ซึ่งไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p\varnothing0.05$) ส่วนการทำแห้งใบมะกรูดระยะกึ่งอ่อนกึ่งแก่พบว่า มีเพียงการทำแห้งโดยไมโครเวฟที่เพิ่ม ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระได้ โดยเพิ่มจาก 0.66 เป็น 0.05 มิลลิกรัมน้ำหนักแห้ง /มิลลิลิตร ในขณะที่การทำแห้งโดยลมร้อน และแสงอาทิตย์ไม่ มีผลต่อการเพิ่มความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ อย่างมีนัยสำคัญ ($p\varnothing0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับใบสด โดยปริมาณโพลีฟีนอลของใบม ะกรูดแก่ที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีการต่างๆไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p\varnothing0.05$) แต่ในใบกึ่งแก่กึ่งอ่อน การทำแห้งส่งผลให้ปริมาณโพลีฟีนอลเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยเพิ่มขึ้นจาก 176.80 เป็น 231.44 184.54 และ 191.95ไมโครกรัมกรดแกลลิก /มิลลิกรัมน้ำหนั กแห้ง ในใบมะกรูดที่ผ่านการทำแห้งโดยไมโครเวฟ การทำแห้งโดยลมร้อน และการทำแห้งโดยแสงอาทิตย์ ตามลำดับ นอกจากนี้การทำแห้งมีผลให้ปริมาณเบต้าแคโรทีนเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยในการทำแห้งใบมะกรูดแก่ส่งผลให้เบต้าแคโรทีนเพิ่มขึ้นจาก 16.82 เป็น 93.34 88.50 และ 48.86 ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง ในใบมะกรูดที่ผ่านการทำแห้งโดยไมโครเวฟ การทำแห้งโดยลมร้อ นและการทำแห้งโดย

แสงอาทิตย์ตามลำดับ และในใบมะกรูดกึ่งแก่กึ่งอ่อนปริมาณเบต้าแคโรทีนเพิ่มขึ้นจาก 22.38 เป็น 47.79 37.99 และ 32.41 ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง ในใบมะกรูดที่ผ่านการทำแห้งโดยไมโครเวฟ การทำแห้งโดยลมร้อน และการทำแห้งโดยแสงอาทิตย์ ตามลำดับ สำหรับการศึกษาการต้านจุลินทรีย์พบว่าใบมะกรูดแห้งทั้ง 2 ระยะแสดงผลในการต้านเชื้อ *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus, Pseudomonas fluorescens* และ *Listeria monocytogenes* ในขณะที่ในใบสดไม่แสดงความสามารถในการต้านจุลินทรีย์ต่อเชื้อทั้ง 4 ชนิด นอกจากนี้การทำแห้งมีผลให้ปริมาณ citronellal ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ในใบมะกรูดทั้งสองระยะ อย่างไรก็ตามการทำแห้งโดยไมโครเวฟสามารถรักษาปริมาณ citronellal ได้ดีกว่าวิธีการอื่นๆ และ ได้รับคะแนนความชอบในการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสสูงที่สุดทั้งในใบแก่ และใบกึ่งแก่กึ่งอ่อนเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการทำแห้งอื่นๆ

ผลการทำแห้งใบมะกรูดโดยไมโครเวฟต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมีกายภาพ จุลินทรีย์ และประสาทสัมผัสของใบมะกรูดทั้งระยะแก่ และระย ะกึ่งแก่กึ่งอ่อน โดยบรรจุในถุงลามิเนตฟอยล์ และถุงโพลีเอทธิลีนความหนาแน่นต่ำ (LDPE) ที่เก็บรักษานาน 175 วัน พบว่าการเก็บโดยบรรจุถุงลามิเนตฟอยล์สามารถชะลอการเปลี่ยนแปลงสีของใบมะกรูดที่ผ่านการทำแห้งได้ดีกว่าการบรรจุในถุง LDPE โดยในใบมะกรูดแก่ที่ผ่านการทำแห้งมี ค่าความเตกต่างของสีโดยรวม (ΔE) เพิ่มขึ้นจาก 8.09 ±0.28 ที่เริ่มต้นการเก็บรักษา เป็น 12.19 ±0.15 15.93±0.27 ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 175 วัน ในใบ มะกรูดที่บรรจุในถุงลามิเนตฟอยล์ และ LDPE ตามลำดับ ส่วนใบมะกรูดกึ่งแก่กึ่งอ่อนมีค่า ΔE เพิ่มขึ้น จาก 1.73 ±0.83 ที่เริ่มต้นการเก็บรักษา เป็น 14.73 ±0.17 16.31±0.12 ในใบ มะกรูด ที่บรรจุในถุงลามิเนตฟอยล์ และ LDPE ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณโพลีฟีนอลลดลงจาก 141.49 เป็น 60.89 และ 50.64 ไมโครกรัมกรดแกลลิก/มิลลิกรัมน้ำหนักแห้ง ในใบมะกรูดแก่ที่บรรจุในถุงลามิ เนตฟอยล์ และถุง LDPE ตามลำดับ อย่างไรก็ตามความสามารถ ในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ที่แสดงอยู่ในรูป IC_{50}ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p\varnothing 0.05$) ในใบทั้ง 2 ระยะ นอกจากนี้พบว่า สารสกัดใบมะกรูดหลังการทำแห้งทั้งสองระยะ ที่บรรจุในลามีเนตฟอยล์ และ LDPE สามารถต้านเชื้อทั้ง 4 ชนิด ที่เริ่มต้นการเก็บรักษา และความสามารถการต้านจุลินทรีย์ลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นโดย *S. aureus* เป็นเชื้อที่ไวต่อสารสกัดมากที่สุด ในขณะที่เชื้อ *L . monocytogenes* เป็นเชื้อที่ทนต่อสารสกัดมากที่สุด ซึ่งสารสกัดไม่แสดงฤทธิ์การต้านเชื้อ *L . monocytogenes* เมื่อเก็บรักษาที่ 25 วันในใบมะกรูดแห้งทั้งสองระยะ ที่บรรจุในลามีเนตฟอยล์ และ LDPE อย่างไรก็ตาม ใบมะกรูดที่บรรจุในถุงลามีเนตฟอยล์แสดงความสามารถในการต้านจุลินทรีย์ได้ดีกว่าใบมะกรูดที่บรรจุในถุง LDPE นอกจากนี้การบรรจุด้วยลามีเนตฟอยล์ สามารถชะลอการสูญเสียปริมาณเบต้าแคโรทีน และ citronellal สอดคล้องกับผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส ซึ่งพบว่าเมื่อผ่านการเก็บรักษา

ที่ 175 วัน ผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบในเกณฑ์ที่ยอมรับเฉพาะใบมะกรูดแก่ที่ บรรจุในถุงลามิเนตฟอยล์

Thesis Title	Effect of drying methods on physical, chemical, microbiological and sensory characteristics of kaffir lime leaves *(Citrus hystrix* DC.*)* during storages
Author	Miss Naruporn Faungfung
Major Program	Food Science and Technology
Academies Year	2009

ABSTRACT

Kaffir lime leaves, an unique flavor spice, is widely consumed in Asian particularly used in Thai dish. Due to the shortage of the leaves in some seasons, drying process may be alternative way to solve this problem. Therefore, the aim of this study was to evaluate the effect of drying techniques on chemical, physical, antimicrobial properties and sensory quality in both old and intermediate stage leaves, and their quality changes during storage. In the present study, three drying methods; microwave, hot air and sun drying were applied. It was found that all drying treatments resulted in an increase in the antioxidant activity in both stages leaves compared with the fresh one. DPPH scavenging activity (IC_{50}) of dried old leave sample with microwave and hot air oven drying techniques was improved from 1.04 to 0.42 and 0.55 mg DM/ml, respectively. While IC_{50} of sun drying was not significantly change ($p\varnothing 0.05$). For intermediate stage leaves, only microwave drying could improve IC_{50} from 0.66 to 0.05 mg DM/ml, while hot air oven and sun drying did not change significantly ($p\varnothing 0.05$) from fresh leaves. The total phenolic contents in dried old stage leaves did not change significantly. However, the total phenolic contents in dried intermediate stage leaves increased from 176.80 to 231.44, 184.54 and 191.95 µg gallic acid/ mg after drying by microwave, hot air oven and sun, respectively. Moreover, β-carotene contents increased significantly after drying. The β-carotene in dried old stage leaves increased from 16.82 to 93.34, 88.50 and 48.86 µg/g DM after drying by microwave, hot air oven and sun dryer, respectively. Similarity the β-carotene of dried intermediate stage leaves increased from 22.38 to 47.79, 37.99 and 32.41 µg/g DM after drying by microwave, hot air oven and sun dryer, respectively. The dried leaves showed the inhibition on *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus, Pseudomonas fluorescens* and *Listeria monocytogenes* while fresh leaves showed no activity effect. The citronellal contents of both stage leaves decreased significantly after drying, however microwave drying could preserve the citronellal

contents more than hot air oven and sun drying. Dried leaves by microwave techniques showed higher scores for all sensory attributes compared to those by other techniques.

The changes in chemical, physical, antimicrobial properties and sensory quality of both stages of dried leaves by microwave technique~~, packed~~, packed in laminated foil and LDPE bags, were evaluated every 25 days for 175 days. The laminated foil packaging could control the color change of dried samples better than LDPE bag. ΔE in dried old stage leaves compared with the fresh leaves increased from 8.09 ±0.28 (at 0 day) to 12.19 ±0.15 and 15.93±0.27 (at 175 days) in laminated foil and LDPE, respectively, while ΔE changed from 1.73 ±0.83 (at 0 day) to 14.73 ±0.17 and 16.31±0.12 (at 175 days) in dried intermediate stage leaves packed in laminated foil and LDPE, respectively. The total phenolic contents of dried old stage leaves kept in laminated foil and LDPE reduced from 141.49 to 60.89 and 50.64 µg gallic acid/ mg, respectively during storage while the changes of 197.05 to 70.33 and 57.21 µg gallic acid/ mg were observed in dried intermediate stage leaves kept in laminated foil and LDPE , respectively. However, types of packaging had no effect on IC_{50} ($p \varnothing 0.05$). The dried samples could inhibit *E. coli*, *S. aureus, P. fluorescens* and *L. monocytogenes* at 0 day of storage. However, antibacterial activity decreased as storage time increased. *S. aureus* was the most susceptible bacteria to this extract, while *L. monocytogenes* was the most resistant bacteria. The dried leave extracts showed on inhibitory effect on *L. monocytogenes* after dried leaves stored at 25 days. The kaffir lime leaves packed in laminated foil provided stronger antimicrobial inhibition compared with the leaves packed in LDPE. In addition, laminated foil could better prevent the degradation of β-carotene and citronellal than LDPE. In agreement with sensory test, untrained panelists preferred the old stage leaves. During storage for 175 days, only the dried old kaffir lime leaves packed in laminate foil were accepted by the untrained panelists.

สารบัญ

page

บทคัดย่อ……. (3)

APSTRACT…….. (6)

กิตติกรรมประกาศ……. (8)

สารบัญ…….. (9)

LISE OF TABLES…….. (10)

LISE OF FIGURES…….. (11)

LIST OF APPENDIX TABELS…… (13)

LIST OF APPENDIX FIGURES..... (14)

บทที่

1.บทนำ…….…… 1

บทนำต้นเรื่อง……. 1

บทตรวจเอกสาร……. 2

วัตถุประสงค์…… 33

2. วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ…… 34

3. ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง……. 41

4. สรุปผลการทดลอง……. 80

ข้อเสนอแนะ…….. 82

เอกสารอ้างอิง……. 83

ภาคผนวก……... 92

ภาคผนวก ก……. 93

ภาคผนวก ข……. 94

ภาคผนวก ค……. 100

ประวัติผู้เขียน……. 109

LISE OF TABLES

Table **Page**

1 The chemical composition of kaffir lime leaves…….. 3

2 The phenolic compounds present in plants……..…… 14

3 The compounds of volatile oil from kaffir lime……. 20

4 Carotenoid content in *Rosa mosqueta* Hips…….. 25

5 Physical and chemical properties of β-carotene……... 28

6 Effect of drying methods on CIELAB L* a* b* values of old and intermediate kaffir lime leaves……. 43

7 Effect of drying methods on color difference values of old and intermediate kaffir lime leaves …….. 43

8 Effect of drying methods on moisture contents and water activity (a_w) of old and intermediate kaffir lime leaves…….. 45

9 Effect of drying methods on DPPH scavenging activity (IC_{50}) and total phenolic contents old and intermediate kaffir lime leaves…….. 48

10 Effect of drying methods on β -carotene contents of old and intermediate kaffir lime leaves…… 50

11 Antimicrobial activity of old and intermediate kaffir lime leaves extract by disc diffusion method ……. 53

12 pH and total acidity of old and intermediate kaffir lime leaves drying with different methods…… 54

13 The citronellal contents of old and intermediate kaffir lime leaves drying with different methods……. 55

14 Effect of packaging on CIELAB L* a* b* values during storage of dried old stage kaffir lime leaves by microwave drying…….. 58

15 Effect of packaging on lightness difference (Δ L*), redness difference (Δ a*) and yellowness difference (Δ b*) of old stage kaffir lime leaves dried by microwave during storage compare with fresh leaves……... 59

LISE OF TABLES (Cont.)

Table **Page**

16 Effect of packaging on CIELAB L* a* b* values during storage of dried intermediate stage kaffir lime by microwave drying…….…….. 60

17 Effect of packaging on lightness difference (Δ L*), redness difference (Δ a*) and yellowness difference (Δ b*) of intermediate stage kaffir lime leaves dried by microwave during storage compare with fresh leaves…….. 61

18 The moisture contents and water activity during storage of dried old stage kaffir lime leaves by microwave……... 63

19 The moisture contents and water activity during storage of dried intermediate stage kaffir lime leaves by microwave …… 64

20 Effect of packaging on DPPH scavenging activity (IC_{50}) during storage of dried old stage kaffir lime leaves by microwave drying…….……...…... 65

21 Effect of packaging on total phenolic contents during storage of dried old stage kaffir lime leaves by microwave drying ……..…… 66

22 Effect of packaging on DPPH scavenging activity (IC_{50}) during storage of dried intermediate stage kaffir lime leaves by microwave drying ……...…… 68

23 Effect of packaging on total phenolic contents during storage of dried intermediate stage kaffir lime leaves by microwave drying …… 69

24 Antimicrobial activity of dried old kaffir lime during storage by disc diffusion method…… 72

25 Antimicrobial activity on disc diffusion method during storage of dried intermediate kaffir lime by microwave drying …… 73

26 The citronellal content during storage of dried old stage kaffir lime leaves dried by microwave drying…… 74

27 The citronellal content during storage of dried intermediate stage kaffir lime leaves dried by microwave drying…….. 75

บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

ปัจจุบันอาหารไทยเป็นที่นิยมบริโภคแพร่หลายทั้งภายในและต่างประเทศ เนื่องจากมีรสชาติที่เป็นเอกลักษณ์เฉพาะตัว มีส่วนผสมของเครื่องเทศนานาชนิดที่ถือว่ามีประโยชน์ต่อสุขภาพ ซึ่งมะกรูด (*Citrus hystrix* DC.) เป็นหนึ่งในจำนวน เครื่องเทศที่ นิยมใช้เป็นส่วนประกอบของเครื่องแกงชนิดต่างๆ รวมทั้งใช้ในอาหารประเภทยำ และต้มยำ เนื่องจากมะกรูดสามารถดับกลิ่นคาวและมีกลิ่นหอมเฉพาะตัว โดยทั่วไป ในประเทศไทยนิยมปลูกมะกรูด ไว้เพื่อประกอบอาหารภายในครัวเรือนซึ่ง ใช้ประโยชน์ ได้ทั้งใบและผล องค์ประกอบที่สำคัญของใบมะกรูดได้แก่ แคลเซียม โพแทสเซียม และเบต้าแคโรทีน (β -carotene) (สถาบันแพทย์แผนไทย, 2540; Siripongvutikorn *et al*., 2005) โดยสามารถพบสารเหล่านี้ได้ในผัก ผลไม้ที่มีสีเขียวและเหลือง สถาบันมะเร็งแห่งชาติของสหรัฐอเมริกาได้ เสนอแนะให้ผู้บริโภคควรรับประทานเบต้าแคโรทีนไม่น้อยกว่า 6 มิลลิกรัมต่อวัน เพื่อช่วยเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายให้สามารถต่อต้านโรคต่างๆรวมทั้งโรคมะเร็ง จากการศึกษาถึงประสิทธิภาพของเบต้าแคโรทีนในการต่อต้านการเกิดโรคมะเร็งนั้นพบว่า สามารถป้องกันการเกิดมะเร็งเต้านม มะเร็งปอดและมะเร็งกระเพาะอาหาร (สุภาณี ศุกระฤกษ์, 2540) Crowell (1999) รายงานว่า โมโนเทอร์พีน ในน้ำมันหอมระเหยของมะกรูดมีฤทธิ์ป้องกันและรักษาโรคมะเร็งได้ ใบมะกรูดยังประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหยซึ่งให้กลิ่นเฉพาะตัวพบว่าในน้ำมันหอมระเหยมีสาร citronellal เป็นองค์ประกอบอยู่ร้อยละ 65 นอกจากนี้มะกรูดยังมีสรรพคุณในตำรายาไทย โดยผิวผลสดและผลแห้งมีรสเฉพาะตัว หอมร้อน สรรพคุณแก้ลมหน้ามืด แก้ลมวิงเวียน บำรุงหัวใจ ขับลมในลำไส้ ขับระดู ผลมีรสเปรี้ยวมีสรรพคุณขับเสมหะแก้ไอ แก้น้ำลายเหนียว กัดเถาดานในท้อง แก้ระดูเสีย ฟอกโลหิต ใช้สระผม ทำให้ผมดำเงางาม ไม่มีรังแคและไม่คันศีรษะ และใช้เป็นยาขับลม แก้ปวดท้องในเด็ก ราก มีรสเย็นจืด แก้พิษฝีภายใน ปรุงผสมกับยาตัวอื่นเป็นยาแก้ลมจุกเสียด และใบ แก้ไอ แก้อาเจียนเป็นโลหิต แก้ช้ำใน ได้ (สถาบันแพทย์แผนไทย, 2540)

การใช้ประโยชน์จากใบมะกรูดยังมีข้อจำกัด อยู่เฉพาะในรูปใบมะกรูดสด ในขณะที่ในช่วงฤดูแล้งจะเกิดภาวะขาดแคลนใบมะกรูด และแม้ว่าการยืดอายุ การเก็บรักษาอาจทำได้โดยการแช่เยือกแข็งแต่มีผลทำให้กลิ่น รส และลักษณะทางกายภาพสูญเสียไป เมื่อเก็บไว้เป็นระยะหนึ่ง

เนื่องจากปัญหาการเกิด Freeze burn และมีค่าใช้จ่ายในการเก็บรักษาสูง และการทำแห้งใบมะกรูดโดยวิธีดั้งเดิมส่งผลให้สีผลิตภัณฑ์ไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค นอกจากนี้ยังพบว่ากลิ่นรสในใบมะกรูดแห้งจะด้อยกว่าใบมะกรูดสดมากซึ่งปัญหาดังกล่าวนั้นไม่เพียงกระทบต่อผู้บริโภคเท่านั้นแต่ยังส่งผลต่อเกษตรผู้ปลูกมะกรูดอีกด้วย ดังนั้นการยืดอายุการเก็บรักษาใบมะกรูดให้มีสีกลิ่นรสใกล้เคียงกับใบสดมากที่สุดจึงเป็นสิ่งสำคัญ การทำแห้งใบมะกรูด ให้คงคุณลักษณะที่ดี มีสีกลิ่นที่แตกต่างจากใบมะกรูดสดไม่มากเกินไป รวมทั้งยังคงประสิทธิภาพของสารสำคัญในใบมะกรูด อาจเป็นแนวทางที่จะส่งเสริมให้มีการแปรรูปใบมะกรูด เพื่อลดปัญหาการล้นตลาด ทำให้ราคาตกต่ำ รวมทั้งเป็นทางเลือกใหม่เมื่อมีการขาดตลาดของใบมะกรูดอันเป็นการเพิ่มช่องทางการใช้ประโยชน์จากใบมะกรูดได้มากขึ้น

ตรวจเอกสาร

1. มะกรูด

1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ชื่อพื้นเมือง มะขูด, มะขุน (ภาคเหนือ), ส้มกรูด, ส้มมั่วผี (ภาคใต้), มะหูด (หนองคาย) โกร้ยเขียด (เขมร), มะขู (กะเหรี่ยง-แม่ฮ่องสอน)

ชื่อสามัญ Leech lime, Mauritius Papeda, Kaffir Lime, Porcupine Orange

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Citrus hystrix* DC.

วงศ์ RUTACEAE

มะกรูดมีถิ่นกำเนิดในแถบประเทศมาเลเซีย พม่า ไทย อินโดนีเซีย สิงคโปร์ ฟิลิปปินส์ และอินเดีย มะกรูดเป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็ก ลำต้นและกิ่งมีหนามแข็ง ใบเป็นใบประกอบที่มีใบย่อยใบเดี่ยว มีลักษณะคอดกิ่วที่กลางใบเป็นตอนๆ มีก้านแผ่ออกไปเท่ากับแผ่นใบ ทำให้เห็นใบเป็นสองตอน ใบสีเขียวแก่ค่อนข้างหนา มีกลิ่นหอมมากเพราะมีต่อมน้ำมันอยู่ ดอกออกเป็นกระจุก 3-5 ดอก กลีบดอก มีสีเขียวร่วงง่าย ผลมีหลายแบบแล้วแต่พันธุ์ บางพันธุ์มีผลใหญ่และขรุขระมาก และมีจุกที่ขั้วบางพันธุ์มีผลเล็กเท่ามะนาว ผิวขรุขระน้อยกว่าและไม่มีจุกที่ขั้ว (สถาบันแพทย์แผนไทย, 2540) การขยายพันธุ์สามารถทำได้โดยการเพาะเมล็ด ตอนกิ่งหรือทาบกิ่ง มะกรูดชอบดินร่วนปนทรายที่มีการระบายน้ำดี ชอบแดดจัดจนถึงแดดปานกลาง การเก็บใบมักตัดทั้งยอดเมื่อใบคลี่กางเต็มที่ ส่วนผลจะเก็บเกี่ยวเมื่อผลโตเต็มที่

1.2 คุณค่าทางโภชนาการของใบมะกรูด

ใบมะกรูด 100 กรัม ให้พลังงานต่อร่างกาย 138 กิโลแคลอรี ประกอบด้วยน้ำ คาร์โบไฮเดรตและกากใย นอกจากนี้ยังประกอบด้วยเกลือแร่ชนิดต่างๆ เช่น โ พแทสเซียม โซเดียม เหล็กและสังกะสี (Table 1) และเบต้าแคโรทีน โดยในใบกึ่งอ่อนกึ่งแก่มีปริมาณ 173.60 ± 61.45 ไมโครกรัมต่อใบสด 1 กรัม และใบอ่อน 78.80 ± 34.06 ไมโครกรัมต่ อใบสด 1 กรัม (Siripongvutikorn *et al*., 2005) สำหรับกลิ่นรสของใบมะกรูดเกิดจากน้ำมันหอมระเหยมีปริมาณร้อยละ 1.10 โดยมีสารสำคัญได้แก่ citronellal, β-pinene, citronellyl acetate, citronellol, geranyl acetate, δ-cadinene, isopulegol, caryophyllene (Sato *et al*., 1990) โดยมี citronellal เป็นองค์ประกอบหลัก ในน้ำมันหอมระเหย ประมาณร้อยละ 65 ของปริมาณน้ำมันหอมระเหยทั้งหมด (Lawrence *et al*., 1970)

Table 1. The chemical composition of kaffir lime leaves

Chemical composition	Quantity/100g
water	57.1 g
Carbohydrate	20.8 g
Protein	6.80 g
Fat	3.10 g
Fiber	8.20 g
Calcium	1.67 g
Phosphorous	20 μg
Iron	3.8 μg
Vitamin B1	0.2 μg
Vitamin B2	0.35 μg
Vitamin C	20 μg
Niacin	1.0 μg
Potassium	352 μg
Sodium	23 μg
Zinc	0.5 μg

ที่มา : สถาบันแพทย์แผนไทย (2540)

2. การทำแห้ง

การทำแห้งหรือการกำจัดน้ำ (drying) หมายถึง การดึงเอาน้ำส่วนใหญ่ออกจากอาหารโดยการระเหยน้ำด้วย ความร้อนในสภาวะควบคุมหรือการระเหิดของ น้ำแข็งในการ ทำแห้งแบบระเหิด (freeze drying) เพื่อช่วยยืดอายุการเก็บรักษาอาหาร การทำแห้งเป็น การลดค่าวอเทอร์แอ คติวิตี (a_w) ซึ่งจะยับยั้งการเจริญเติบโตของ แบคทีเรีย และการทำงานของเอนไซม์ นอกจากนั้น ยังเป็นการลดน้ำหนักของอาหาร ช่วยลดค่าใช้จ่ายในการเก็บรักษาและการขนส่ง เพิ่มความหลากหลายและความสะดวกให้แก่ผู้ บริโภค อย่างไรก็ตามการทำแห้ง มีผลทำให้เกิดการสูญเสียทั้งคุณภาพการบริโภคและคุณค่าทางโภชนาการอาหาร (วิไล รังสาดทอง, 2547) ดังนั้น การใช้สภาวะการทำแห้งที่เหมาะสมจะลดการสูญเสียคุณภาพการบริโภคและคุณค่าทางโภชนาการของอาหารได้

2.1 วิธีการทำแห้ง

2.1.2 การอบแห้งโดยพลังงานแสงอาทิตย์ คือการใช้ความร้อนจากแสงอาทิตย์มาช่วยในการระเหยน้ำภายในอาหารโดยสามารถแบ่งเป็น 2 ประเภทตามการไหลของกระแสอากาศภายในเครื่องอบแห้งดังนี้ (จิตนา แจ่มเมฆ, 2539)

2.1.1.2 Natural convection dryer เครื่องอบแห้งชนิดนี้อาศัยหลักการขยายตัวของอากาศร้อนภายในเครื่องอบแห้งและอากาศภายนอก ซึ่งมีความหนาแน่นแตกต่าง กันและเกิดความแตกต่างที่จุดเข้าและจุดออกของอากาศของเครื่องอบแห้ง อัตราการไหลของอากาศจะขึ้นอยู่กับปริมาณรังสีแสงอาทิตย์ โดยอัตราการไหลของอากาศต่ำเมื่อมีรังสีแสงอาทิตย์ต่ำ

2.1.2.2 Forced convection solar dryer เครื่องอบแห้งชนิดนี้จะมีพัดลมเป็นตัวสร้างความดันขับอากาศให้ไหลภายในเครื่องอบแห้ง ประสิทธิภาพเชิงความร้อนของตัวรับรังสีมีค่าสูง เนื่องจากสามารถกำหนดอัตราการไหลของอากาศได้

2.1.2 การอบแห้งแบบไมโครเวฟ เป็นการอบแห้งโดยใช้ช่วงคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่เหมาะสม สามารถทะลุทะลวงเข้าไปในตัวของผลิตภัณฑ์ที่ต้องการทำแห้ง ได้ โดยไมโครเวฟสามารถทำให้เกิดความร้อนขึ้นภายในวัสดุได้โดยการนำของไอออน (ionic conduction) ซึ่งเป็นการเกิดความร้อนเนื่องจากผลของการเคลื่อนที่ของไอออน (ionic polarization) ในสารละลายเมื่อเข้าไปอยู่ในสนามไฟฟ้า แต่ละไอออนซึ่งมีประจุไฟฟ้าประจำตัวอยู่จะถูกกระตุ้นและเร่งให้มีการเคลื่อนที่ จึงทำให้เกิดการเสียดสีกับไอออนอื่นๆ และมีการเปลี่ยนแปลงพลังงานจลน์มาเป็นพลังงานความร้อน และการเกิดความร้อนโดยการหมุนของสารประกอบที่มี 2 ขั้ว ซึ่งเป็นการเกิดความร้อนกับสารประกอบที่มีขั้ว (polar) เช่น น้ำ โดยในสภาพปกติสารประกอบต่างๆจะเรียงประจุลบประจุบวก

อย่างไม่เป็นระเบียบ เมื่อเข้าไปอยู่ในสนามไฟฟ้า ประจุบวกและลบของสารนั้นเปลี่ยนทิศทางเพื่อเรียงตัวอย่างมีระเบียบ การเคลื่อนที่ด้วยการหมุนตัวกลับไปกลับมาเกิดอย่างรวดเร็วตามระดับความถี่ของคลื่นไมโครเวฟ ความเร็วในการหมุนตัวและการเสียดสีกัน ทำให้เกิดความร้อนขึ้น โดยความร้อนทั้งสองรูปแบบดังกล่าวจะเกิดขึ้นที่จุดซึ่งอาหารสัมผัสกับคลื่นไมโครเวฟแล้วจึงค่อยกระจายตัวออกไปยังส่วนอื่นๆ โดยการนำความร้อนเป็นไปอย่างต่อเนื่องและเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็วเมื่อเทียบกับวิธีการแบบดั้งเดิม (Decareau, 1985)

2.1.2.1 ปัจจัยที่มีผลในการให้ความร้อนโดยไมโครเวฟ (Singh, 2001)

2.1.2.1.1 ความถี่ของคลื่นไมโครเวฟ โดยความถี่ของคลื่นไมโครเวฟมี 2 ความถี่ด้วยกันคือ 915 และ 2,450 MHz ซึ่งมีความยาวคลื่นในอากาศ 33 และ 12.2 เซนติเมตร ตามลำดับ คลื่นไมโครเวฟที่มีความถี่ต่ำจะมีความสารถในการทะลุชิ้นอาหารได้ดีกว่า และมีความสม่ำเสมอในการให้ความร้อนได้มากกว่าเมื่อใช้กับอาหารที่มีการสูญเสียไดอีเล็กทริกต่ำหรือมีชิ้นเล็กๆ

2.1.2.1.2 กำลังของไมโครเวฟ (microwave power) และอัตราเร็วในการให้ความร้อน โดยทั่วไปในอุตสาหกรรมใช้กำลังการผลิต อยู่ในช่วง 5-100 kW ซึ่งถ้าใช้กำลังมากก็จะให้ความร้อนได้รวดเร็วและใช้เวลาน้อย กำลังที่ใช้จึงเป็นตัวปรับอัตราเร็วในการให้ความร้อนกับอาหาร

2.1.2.1.3 ปริมาณอาหาร (mass) โดยพิจารณาใน 2 ประการคือ ปริมาณอาหารทั้งหมดที่ถูกให้ความร้อนภายในครั้งเดียว และลักษณะชิ้นอาหาร ซึ่งจะมีความสัมพันธ์โดยตรงกับกำลังของไมโครเวฟ เมื่อปริมาณอาหารมีจำนวนน้อย อาจทำเป็นแบบกะ (batch) แต่หากมีปริมาณอาหารจำนวนมากอาจใช้ระบบสายพาน

2.1.2.1.4 ความชื้นในอาหาร ซึ่งน้ำเป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการดูดซับไมโครเวฟ เนื่องจากน้ำมีค่าสูญเสียไดอีเล็กทริกสูงจึงเพิ่มอุณหภูมิได้รวดเร็ว

2.1.2.1.5 อุณหภูมิของอาหาร โดยอุณหภูมิของอาหาร จะมีผลต่อสัมประสิทธิ์ การเปลี่ยนแปลงพลังงานและมีผลต่อสถานะขององค์ประกอบที่ดูดกลืนพลังงานได้ดีในอาหารเช่น น้ำ

2.1.2.1.6 รูปร่างของอาหาร โดยอาหารทีมีขนาดใหญ่มากหรือมีความหนามาก เมื่อใช้ไมโครเวฟที่มีความถี่สูงไปอาจทำให้คลื่นไมโครเวฟไม่สามารถทะลุผ่านชิ้นอาหารได้ ทำให้การเพิ่มอุณหภูมิไม่สม่ำเสมอทั้งชิ้น โดยอาหารที่มีรูปร่างสม่ำเสมอจะได้รับความร้อนที่สม่ำเสมอ

2.1.2.1.7 การนำไฟฟ้าของอาหาร เนื่องจากการให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟจะเกิดจากการเคลื่อนที่ของโมเลกุลที่มีประจุในอาหาร จึงมีความสำพันธ์กับการนำไฟฟ้าของอาหาร เมื่อเพิ่มการนำไฟฟ้าให้กับอาหาร เช่น เติมเกลือ หรือสารอื่นที่สามารถแตกตัวให้ประจุ จะทำให้อัตราการให้ความร้อนจะสูงขึ้น

2.1.3 การอบแห้งแบบใช้ลมร้อน โดยการหมุนเวียนกระแสลมภายในตู้ซึ่งจะเกิดขึ้นโดยพัดลมเป่าลมผ่านตัวทำความร้อน และมีแผงกั้นช่วยให้ลมร้อนหมุนเวียนผ่านชั้นอาหารอย่างสม่ำเสมอ ลมที่ชื้นจะถูกปล่อยออกและอากาศใหม่จะเข้ามาแทนที่

ภูมิศักดิ์ อินทนนท์ และคณะ (2548) ศึกษาอุณหภูมิอบแห้งที่เหมาะสมกับพืช ที่ใช้ทำเป็นเครื่องเทศจำนวน 6 ชนิดได้แก่ กะเพรา พริก ข่า ใบมะกรูด โหระพาและ ตะไคร้ โดยการควบคุมอุณหภูมิการอบที่ 50 60 70 และ 80 ºC เป็นเวลา 12 18 และ 24 ชั่วโมงเปรียบเทียบกับวิธีของเกษตรกรคือ การตากแดดซึ่งเป็นกรรมวิธีควบคุม (control) เพื่อให้พืชมีความชื้นต่ำกว่าร้อยละ 10 ผลการศึกษาพบว่า การบรรจุ กะเพรา พริก ข่าสไลด์ (ข่าหั่นชิ้น) ใบมะกรูด โหระพา ลงในถุงกระดาษก่อน การอบที่อุณหภูมิ 70 ºC เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ส่งผลให้พืชสามารถ คงสภาพความสวยงามของสีดีที่สุด ส่วนการอบแห้งตะไคร้ให้มีสีสวยงาม จำเป็นต้องทำเป็นตะไคร้หั่นก่อนนำไปบรรจุในถุงกระดาษและอบที่อุณหภูมิ 80 ºC นาน 24 ชั่วโมง ซึ่งอาจเป็นผลเนื่องจากการใส่ถุงกระดาษสามารถลดการสัมผัสกับออกซิ เจนจึงเกิดการเสื่อมสลายของคลอโรฟิลล์เนื่องจากการเกิดออกซิเดชันน้อยลง ในขณะที่การอบแห้งโดยใช้การตากแดดจะต้องใช้ เวลาการตากแดด 3 วันจึงจะทำให้พืชมีความชื้นต่ำกว่าร้อยละ 10 โดยจะทำให้การแห้งของวัตถุดิบไม่สม่ำเสมอ และมีสีซีดจาง

พรรัตน์ สินชัยพาณิชย์ และคณะ (2543) ศึกษาการทำแห้งใบตำลึงแบบทั้งใบและหั่นเป็นชิ้นกว้าง 1 เซนติเมตรด้วยตู้อบแห้งแสงอาทิตย์โดยพบว่าต้องใช้เวลาในการตากแห้ง 8 ชั่วโมงโดยปริมาณความชื้นของผักตำลึงแห้งทั้งใบ และผักตำลึงแห้งแบบหั่นมีค่าเป็นร้อยละ 8.4 และ 6.28 ตามลำดับและค่า a_w มีค่าเท่ากับ 0.47 และ 0.44 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่ามีการสูญเสียวิตามินเอในกระบวนการทำแห้งของใบตำลึงทั้งแบบชนิดเต็มใบและหั่นเท่ากับร้อยละ 27.49 และร้อยละ 28.32 ตามลำดับ และเมื่อเก็บรักษา 1 เดือนส่งผลให้มีการสูญเสียวิตามินเอเพิ่มขึ้นเล็กน้อยโดยมีการสูญเสียเท่ากับร้อยละ 30.10 และร้อยละ 30.50 ในใบตำลึงชนิดเต็มใบและหั่นตามลำดับ

3. การต้านแบคทีเรีย

3.1 กลไกการต้านแบคทีเรีย

สมบัติการต้านแบคทีเรียมีการศึกษากันมาตั้งแต่อดีต แต่กลไกการเกิดปฏิกิริยานั้นยังไม่ได้ศึกษากันมากนัก (Lambert *et al.,* 2001) สารประกอบกลุ่มต่างๆที่พบในสารส กัดจะแสดงกิจกรรมการยับยั้ง แบคทีเรีย โดยจะไม่แสดงความจำเพาะเจาะจงต่อเป้าหมายใดเป้าหมาย หนึ่งแต่มีหลายเป้าหมายในเซลล์ (Carso *et al.,* 2002) เมื่อสารสกัดทำปฏิกิริยากับแบคทีเรีย สารสกัดจะ ส่งผลให้ผนังเซลล์เกิดการฉีกขาด (Souza *et al*., 2005) เยื่อหุ้มเซลล์ถูกทำลาย (Ultee *et al.,* 2002)

โปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์ถูกทำลาย ทำให้ชั้นของไขมันแยกออกจากกัน (Juven *et al.,* 1994) องค์ประกอบของเซลล์ถูกทำลาย (Cox *et al*., 2000) ไซโตพลาสซึมเกิดการตกตะกอน และโปรตอนโมทีฟฟอซ (proton motive force) ถูกทำลาย (Ultee and Smid, 2001) นอกจากนี้ Lanciotti *et al*. (2004) รายงานว่าสารกลุ่มเทอร์ปีนในน้ำมันหอมระเหยมีผลทำให้ผนังเซลล์แบคทีเรียและราถูกทำลาย โดยโมเลกุลส่วนที่ไม่ชอบน้ำของน้ำมันหอมระเหยจะละลายในผนังเซลล์ทำให้ส่วนชอบน้ำเข้าสู้เยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย ทำให้เกิดการยับยั้งแบคทีเรีย (Cox *et al*., 2000) เมื่อมีการฉีกขาดของผนังเซลล์จะเกิดการรั่วไหลของไอออน ต่างๆส่งผลให้ลดการสร้าง ATP (Lanciotti *et al*., 2004) โดยมีรายงานว่า น้ำมันหอมระเหยจาก oregano มีผลให้การซึมผ่านของสารเพิ่มมากขึ้นในเซลล์ของ *Pseudomonas aeruginosa* และ *Staphylococcus aureus* ทำให้โปรตอนฟอสเฟต และโปรตัสเซียมเกิดการรั่วไหล (Lambert *et al.,*2001 อ้างโดย Burt, 2004) นอกจากนี้สารกลุ่มเทอร์ปีนพวก carvacrol ซึ่งพบในน้ำมันหอมระเหยจาก oregano, thyme, marjoram และกานพลู จะทำลายยีนที่ ควบคุมการสร้างพลังงานใน *Bacillus cereus* ทำให้เกิดการ hydrolysis (Ultee *et al.,* 2002) แต่ถึงอย่างไรก็ตาม แบคทีเรียยังสามารถมีชีวิตรอดอยู่ได้ หากยังไม่ถึงจุดที่ทำให้เซลล์สูญเสียองค์ประกอบภายในเซลล์ ในระดับวิกฤตจนซึ่งจะทำให้แบคทีเรียตายในที่สุด (Burt, 2004)

Meléndez และ Capriles (2006) ทำการศึกษาการต้านแบคทีเรียของพืชตระกูลส้ม มะนาวและมะกรูดในแบคทีเรีย 17 สายพันธุ์ซึ่งเป็นแกรมบวกและ แกรมลบ พบว่าพืชในตระกูล Rutaceae คือ *Citrus aurantifolia* และ *Citrus aurantium* มีฤทธิ์การต้านแบคทีเรียดังกล่าวทั้ง 17 ชนิด นอกจากนี้ รุ่งระวี เต็มสิริฤกษ์กุล และคณะ (2537) รายงานว่ามีเพียงสารสกัดแอลกอฮอล์จากผิวมะกรูดและมะนาวสามารถแสดงฤทธิ์การต้านแบคทีเรียแกรมบวกที่ใช้ในการทดสอบคือ *S. aureus* และ *B. cereus* ส่วนสารสกัดจากเหล้าโรงของผิวพืชตระกูลส้มทั้ง 5 ชนิดได้แก่ มะกรูด มะนาว ส้มเขียวหวาน ส้มเช้ง และส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้งจะไม่แสดงฤทธิ์การต้านแบคทีเรีย และเนื่องด้วยมีเฉพาะสารสกัดแอลกอฮอล์จากผิวมะกรูดและมะนาวที่แสดงฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย โดยเป็นที่ทราบว่าองค์ประกอบที่สำคัญของผิวมะกรูดคือน้ำมันหอมระเหย แต่เมื่อนำเอาเฉพาะน้ำมันหอมระเหยจากผิวมะกรูดมาทดสอบการ ต้านแบคทีเรีย พบว่าไม่สามารถต้านการเจริญของ แบคทีเรียได้ ดังนั้นแสดงว่าฤทธิ์การต้านแบคทีเรียไม่ได้เกิดจากน้ำมันหอมระเหยซึ่งอาจมีผลจากความเข้มข้นที่ใช้ในการทดสอบเจือจางเกินไป นอกจากนี้ pH ยังเป็นปัจจัยหนึ่งต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย โดยที่ pH ต่ำจะส่งผลให้โมเลกุลของสารสกัดมีการยึดเกาะกันได้ดีเมื่อสัมผัสกับเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียด้วยพันธะไฮโดรเจน ทำให้การซึมผ่านของสารสกัดได้ดีส่งผลให้กิจกรรมการยับยั้งแบคทีเรียได้ดีขึ้น (Juven *et al.,* 1994) Stonsaovapak และคณะ (2000) ทำการศึกษาอิทธิพล

ของ pH ต่อความสามารถในการต้านแบคทีเรียของสารสกัดใบพลู (*Piper betle* L.) ต่อ *Escherichia coli* และเปลือกทับทิม (*Punica granatum* Linn.) ต่อการยับยั้ง *Yersinia enterocolitica* พบว่าความสามารถในการต้านแบคทีเรียเกิดขึ้นได้ดีที่ pH 4.5 เมื่อเทียบกับความเข้มข้นเดียวกันที่ pH สูง ซึ่ง *E. coli* และ *Y. enterocolitica* สามารถเจริญได้ในช่วง pH 4.5 -9.5

3.2 แบคทีเรียที่ใช้ทดสอบความสามารถในการต้านแบคทีเรีย

3.2.1 *Escherichia coli (E. coli* O157:H7) เป็นแบคทีเรียแกรมลบ มีรูปร่างเป็นท่อนเส้นตรง ขนาด 1.1 - 1.5 × 2.0-6.0 ไมโครเมตร สามารถเจ ริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 7-45 ºC อุณหภูมิที่เชื้อสามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว คือ 37-42 ºC และสามารถเจริญเติบโตที่อุณหภูมิต่ำกว่า 4 ºC ได้ ดังนั้นการเก็บไว้ในตู้เย็นจึงไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ อีกทั้งแบคทีเรียชนิดนี้ยังสามารถทนต่อกรด เกลือและอุณหภูมิได้ถึง 55 ºC แม้เชื้อจะเจริญเติบโตช้าที่อุณหภูมิ 44-45 ºC (Pai *et al*., 1988; Nisha and Dayle, 1990)

3.2.2 *Pseudomonas fluorescens* ATCC 49839 เป็นแบคทีเรียแกรมลบ เคลื่อนที่ได้โดยใช้ polar flagella ใช้ไฮโดรเจนหรือคาร์บอนมอนอกไซด์เป็นแหล่ งพลังงาน เป็นแบคทีเรียที่ใช้อากาศในกระบวนการ metabolism เจริญได้ตั้งแต่อุณหภูมิ 4 ถึง 43 ºC (ศุภยางค์ วรวุฒิคุณชัย, 2547)

3.2.3 *Staphylococcus aureus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก เชื้อชนิดนี้เมื่อส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์จะเห็นเป็นแบคทีเรียรูปร่างกลม มักพบเป็นคู่เกาะกันด้วยสายสั้นๆ เป็นกิ่งหรือเป็นลักษณะพวงองุ่น ไม่สามารถเคลื่อนที่และไม่สร้างสปอร์ (นันทนา อรุณฤกษ์, 2538) บางสายพันธุ์สามารถสร้างสารพิษที่เป็นโปรตีนซึ่งทนต่อความร้อนได้ดี ซึ่งเชื้อ *S. aureus* จะมีชีวิตอยู่ในอากาศ ฝุ่นละออง ขยะมูลฝอย น้ำ อาหารและนม หรืออาหารบรรจุเสร็จ เชื้อนี้ถูกทำลายที่อุณหภูมิ 72 ºC ในเวลา 15 นาที (กรมควบคุมโรคติดต่อกระทรวงสาธารณสุข , 2541) อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตคือ 35-40 ºC ช่วง pH ที่เหมาะสมในการเติบโตอยู่ที่ 7-7.5 และค่า a_w ต่ำสุดสำหรับการเติบโตคือ 0.86 ในสภาพมีออกซิเจน และ 0.90 ในสภาพไม่มีออกซิเจน (สถาบันอาหารนานาชาติแห่งประเทศไทย 2547)

3.2.4 *Listeria monocytogenes* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ที่มีลักษณะรูปท่อนสั้น มักเรียงตัวเป็นสายต่อกัน 3-4 เซลล์หรือมากกว่านั้น เซลล์อายุ 18-24 ชั่วโมง จะเรียงตัวแบบพาลิเสด ไม่สร้างสปอร์หรือแคปซูล อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเติบโตคือ 37 ºC แต่สามารถเติบโตได้ทุกอุณหภูมิจนต่ำถึง 2.5 ºC สามารถอยู่รอดในที่มีโซเดียมคลอไรด์ ร้อยละ 20 ที่ 4 ºC นานถึง 8 สัปดาห์ และสาม ารถทนความร้อนได้ดี นอกจากนี้เชื้อ *L. monocytogenes* ยังสามารถเจริญได้ที่

อุณหภูมิตู้เย็น และทนความร้อนได้ดีกว่าแบคทีเรียที่ไม่สร้างสปอร์ชนิดอื่นจึงสามารถมีชีวิตอยู่รอดได้ในผลิตภัณฑ์อาหารต่างๆ เช่นนม เนื้อสัตว์ ผัก และไส้กรอก (สถาบันอาหารนานาชาติแห่งประเทศไทย, 2547)

4. การต้านออกซิเดชัน

อนุมูลอิสระ เป็นสารที่มีอิเล็คตรอนอิสระอยู่ในวงนอกของอะตอมหรือโมเลกุลซึ่งจะมีความไวในการเข้าทำปฏิกิริยากับสารอื่นโดยการดึงไฮโดรเจนมาจากสารโมเลกุลอื่นหรือโดยการเพิ่มโมเลกุลของออกซิเจนเข้าไปเพื่อให้ตนเองเสถียรขึ้น แ ละขณะเดียวกันก็ชักนำให้สารที่ให้อิเล็คตรอนนั้นมีอิเล็คตรอนไม่ครบคู่จนกลายเป็นสารที่ไม่เสถียร ถ้าเกิดในสิ่งมีชีวิตอาจทำอันตรายกับส่วนประกอบสำคัญกับเซลล์รอบๆบริเวณนั้น ไม่ว่าจะเป็นโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต หรือดีเอ็นเอ ทำให้สารชีวโมเลกุลเหล่านี้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้ างและสู ญเสียหน้าที่การทำงาน ดังนั้นการสร้างอนุมูลอิสระจำนวนมากจะก่อให้เกิดอันตรายต่อเซลล์ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคต่างๆเช่น มะเร็ง โรคหลอดเลือดหัวใจ ไขข้ออักเสบและต้อกระจก เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีอนุมูลอิสระภายนอกร่างกาย ได้แก่ มลพิษในอากาศ ไนตรัสออก ไซด์ ไนโตรเจนไดออกไซด์ ฝุ่น ควันบุหรี่ อาหารไขมันไม่อิ่มตัวหรือมีองค์ประกอบของธาตุเหล็กมากกว่าปกติ แสงแดด รังสีแกมมา ยาบางชนิด เป็นต้น (Dimitrios, 2006)

4.1 กระบวนการเกิดออกซิเดชันโดยตัวเอง (Autoxidation)

เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดก ลิ่นหืนของอาหาร ซึ่งมีผลเชิงลบ ต่อลักษณะทางประสาทสัมผัสในด้านของกลิ่น และกลิ่นรสของผู้บริโภค ในการเกิดออกซิเดชันด้วยตนเองนั้น ไขมันจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปสารอินเทอร์มีเดียท (intermediates) และจะเปลี่ยนเป็นอนุพันธ์ของกรดไขมัน โดยการเกิดออกซิเดชันของไขมัน (lipid oxidation) เป็นปฏิกิริยาระหว่างออกซิเจนและกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวอิสระหรือที่เป็นองค์ประกอบในโมเ ลกุลของไตรกลีเซอไรด์อยู่ใน ไขมัน ทำให้อาหารเกิดการเสื่อมคุณภาพ เนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่อง เมื่ออาหารที่มีไขมัน เป็นองค์ประกอบสัมผัสกับอากาศ อัตราการเกิดอ อกซิเดชันจะค่อยๆเพิ่มขึ้น เนื่องจากเกิดปฏิกิริยาต่อเนื่องของอนุมูลอิสระ (free radical chain reaction) โดยมีกลไกการเกิด 3 ขั้นตอน

4.1.1 Initiation เป็นขั้นตอนการเกิดอนุมูลอิสระ (free radical)

$$RH + O_2 \longrightarrow R^{o} + RO_2^{o} + OH^{o} + H_2O \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots(1)$$

4.1.2 Propagation เป็นปฏิกิริยาต่อเนื่องของอนุมูลอิสระ

$R^{o} + O \longrightarrow RO_2^{o}$ ……...……(2)

$RO_2^{o} + RH \longrightarrow ROOH + R^{o}$ ……...(3)

Branching

$ROOH \longrightarrow RO^{o} + OH^{o}$ ……(4)

$2\,ROOH \longrightarrow ROO^{o} + RO^{o} + H_2O$ ……...(5)

4.1.3 Termination เป็นปฏิกิริยาขั้นสุดท้ายที่ทำให้สารที่เกิดขึ้นไม่เป็นอนุมูลอิสระ (non – radical products)

$2R^{o} \longrightarrow R^{o}R$ ……...……(6)

$R^{o} + RO_2^{o} \longrightarrow ROOH$ ……..……..……(7)

$2RO_2^{o} \longrightarrow ROOH + O_2$ ……...……...……..(8)

โดยที่ R^{o} = Fatty acid radical

ROOH = Fatty acid hydroperoxide

RO_2^{o} = Peroxy radical

RO^{o} = Alkoxy radical

4.2 สารต้านออกซิเดชัน

สารต้านออกซิเดชัน คือสารที่มีปริมาณน้อยที่สามารถป้องกันหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยอนุมูลอิสระชนิดต่างๆได้ (Halliwell, 1995) รวมไปถึงวิตามินบางชนิด เช่น วิตามินเอ วิตามินซี วิตามินอี ตลอดจนสารประกอบกลุ่ม โพลีฟีนอล ซึ่งมีมากในพืช ผัก และผลไม้ โดยสารที่กล่าวมาข้างต้น จัดเป็นสารออกฤทธิ์ต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติที่ดีอีกกลุ่มหนึ่ง (Sies, 1991) สารในธรรมชาติที่มีสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชันได้ จะเกี่ยวข้องกับความสามารถในการให้ไฮโดรเจนของหมู่ OH ในสารประกอบฟีนอล ความสามารถในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของสารขึ้นอยู่กับตำแหน่งและจำนวนของหมู่ไฮดรอกซิล รวมทั้งโครงสร้างอื่นๆ ของโมเลกุล (Hall, 2001) โดยสารต้านออกซิเดชันสามารถแบ่งเป็น 2 ประเภทตามลักษณะการออกฤทธิ์คือ

4.2.1 สารต้านออกซิเดชันปฐมภูมิ เป็นสารที่หยุดอนุมูลอิสระโดยการให้อนุมูลไฮโดรเจน (H°) หรืออิเล็คตรอนแก่อนุมูลอิสระโดยตรงทำให้อนุมูลนั้นเป็นสารที่มีความเสถียรขึ้น สารที่ออกฤทธิ์ในลักษณะดังกล่าวได้แก่ สารประกอบกลุ่ม ฟีนอลิก เช่น ฟลาโวนอยด์, eugenoid และ vanillin เป็นต้น มีรายงานว่าสารต้านออกซิเดชันชนิดนี้จะทำหน้าที่ได้ดีที่ความเข้มข้นต่ำๆ แต่

เมื่อมีความเข้มข้นสูงขึ้นอาจกลายเป็นสารเสริมฤทธิ์ออกซิเดชันได้ (Rajalakahni and Narasimhan, 1996)

4.2.2 สารต้านออกซิเดชันทุติยภูมิ สารต้านอนุมูลประเภทนี้ไม่ทำปฏิกิริยาโดยตรงกับอนุมูลอิสระ แต่จะช่วยการทำงานของสารต้าน ออกซิเดชันปฐมภูมิในลักษณะต่างๆเช่น จับกับ Fe^{2+}หรือดักจับ O_2 หรือดูดซับรังสีอัลตร้าไวโอเลตไว้เป็นต้น (Gordon, 2001)

4.3 กลไกการทำงานการต้านออกซิเดชัน (Yanishlieva, 2001) สารต้านออกซิเดชันมีกลไกการทำงานแบ่งได้เป็น 6 แบบคือ

4.3.1 การจับอนุมูลอิสระ (radical scavenging)

โดยการให้ไฮโดรเจนหรือ อิเล็คตรอนแก่อนุมูลอิสระ ดังสมการ

$R^{\circ} + AH \longrightarrow RH + A^{\circ}$ ……...……...….(9)

$RO^{\circ} + AH \longrightarrow ROH + A^{\circ}$ ….……..…….……(10)

$R^{\circ} + A^{\circ} \longrightarrow RA$ ….……...……..(11)

$RO^{\circ} + A^{\circ} \longrightarrow ROA$ ….……(12)

4.3.2 การยับยั้งการทำงานของ singlet oxygen (singlet oxygen quenching)

สารกลุ่มแคโรทีนอยด์ (carotenoids) สามารถยับยั้งการทำงานของ singlet oxygen โดยการเปลี่ยนออกซิเจนในรูป singlet oxygen ($^1O_2$*) ให้อยู่ในรูป triplet oxygen ($^3O_2$) และ ปล่อยพลังงานที่ออกไปในรูปความร้อน โดยที่แคโรทีนอยด์ 1 โมเลกุลสามารถทำปฏิกิริยากับ singlet oxygen ได้ถึง 1,000 โมเลกุล

$^1O_2$* + ^{1}Car $\longrightarrow$ $^3O_2$ + ^{3}Car* ……..…….(13)

^{3}Car* $\longrightarrow$ ^{1}Car + thermal energy ……..…….(14)

4.3.3 การจับกับโลหะที่สามารถเร่งการเกิดปฏิกิริยาการเกิดออกซิเดชันได้ (metal chelation)

สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ กรดฟอสโฟริก และกรดซิตริก ซึ่งสารเหล่านี้สามารถจับโลหะที่สำคัญคือ $Fe2^+$ และ Cu^{2+} โดยสารดังกล่าวเป็นตัวเร่งให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน

4.3.4 การหยุดปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระ (chain-breaking)

วิตามินอี (α-tocopherol; Toc-OH) ทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเล็คตรอน (electron acceptor antioxidant) จากอนุมูล peroxyl (ROO°) (Burton and Traber, 1990)

4.3.5 การเสริมฤทธิ์สารต้านออกซิเดชันอื่น (synergism)

สารชนิดนี้จะช่วยเสริมการทำงานของสารต้านออกซิเดชันให้ทำงานได้ดีขึ้นเ ช่น การทำงานร่วมกันระหว่าง α-tocopherol กับ ascorbic acid ซึ่ง ascorbic acid ไม่สามารถทำงานใน

ระบบ hydrophobic แต่จะให้อะตอมไฮโดรเจนแก่ α-tocopherol peroxy ที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่าง α-tocopherol กับอนุมูล peroxyl (ROO°) ทำให้สามารถเปลี่ยนรูปกลับไปเ ป็น α-tocopherol ที่สามารถทำงานได้อีก (Frankel *et al*.,1998)

4.3.6 การ ยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาอนุมูลอิสระ (enzyme inhibition)

สารประกอบฟีนอลิกบางชนิด เช่น ฟลาโวนอยด์, phenolic acid และ gallates สามารถยับยั้ง lipoxygenase ซึ่งสามารถจับกับเหล็กที่เป็นโคแฟกเตอร์ทำให้เอ็นไซม์ดังกล่าวไม่สามารถทำงานได้เต็มที่

4.4 สารต้านออกซิเดชันจากพืชและผลไม้

4.4.1 สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds) เป็นสารกลุ่มใหญ่ที่พบทั่วไปในพืชแทบทุกชนิด มีบทบาทสำคัญในการทำให้เกิดสี กลิ่นและรสชาติในพืชผักและผลไม้ เป็นสารจากกระบวนการเมตตาบอลิซึม สารประกอบเหล่านี้พบมากในกลุ่มของสารพฤกษเคมี (phytochemical) โดยทั่วไปแสดงคุณสมบัติเป็นกรด ซึ่งจะสร้างพันธะไฮโดรเจนกับโมเลกุลอื่นอย่างรวดเร็ว และพบบ่อยที่ทำปฏิกิริยากับพันธะเปปไทด์ของโปรตีน สารประกอบฟีนอลภายในเซลล์ที่อยู่ในรูปอิสระนั้นพบน้อยมาก หลายชนิดพบในรูป glycosides โดยเชื่อมต่อกับโมโนแซคคาไรด์หรือไดแซคคาไรด์ สามารถแบ่งเป็น 3 ชนิดดังนี้

4.4.1.1 ฟลาโวนอยด์ (Figure 1) สารในกลุ่มนี้ปัจจุบันมีการค้นพบว่า มีประมาณ 8,000 ชนิด นอกจากมีบทบาทในการต้านออกซิเดชันแล้วยังมี บทบาทในการต้านแบคทีเรีย ต้านอาการแพ้ ต้านไวรัสและต้านการอักเสบ ตัวอย่างสาร ฟลาโวนอยด์ ได้แก่ catechin พบมากในชาเขียว genistein พบมากในถั่วเหลืองและผลิต ภัณฑ์จากถั่วเหลือง โดยความสามารถในต้านออกซิเดชันจะขึ้นอยู่กับโครงสร้างของ ฟลาโวนอยด์ดังนี้

- หมู่ OH ที่บริเวณวงแหวน B (Figure 2 A) โดยการศึกษาของ Dziedzic and Hudson (1983) และ Rice-Evans และคณะ (1996) พบว่าค่าความสามารถในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของสารของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ขึ้นอยู่กับตำแหน่งและจำนวนหมู่ OH การมีหมู่ OH ที่ตำแหน่งพารา (C4') ของวงแหวน B จะมีผลให้มีสมบัติเป็นสารแอนติออกซิแดนท์มากกว่าหมู่ OH ที่ตำแหน่งออร์โท (C2'และC6') ส่วนหมู่ OH ที่ตำแหน่งมีตา (meta) จะไม่มีผลต่อสมบัติดังกล่าว

- 2,3-double bond ของวงแหวน C (Figure 2 B) โดยพันธะคู่ของ ออกซิเจนที่วงแหวน C สามารถจับกับอนุมูลอิสระได้

- 3 hydroxy group ที่วงแหวน A และC (Figure 2 C) โดยทำหน้าที่เป็น chelating agent ดักจับไอออนของโลหะเข้าไว้ในโมเลกุล เช่น quercetin โดยโครงสร้างของ guercetin มีตำแหน่ง binding site ที่สามารถดักจับไอออนของโลหะได้ 3 ตำแหน่ง คือ 3′,4′dihydroxy ของวงแหวน B, ตำแหน่ง 3-hydroxy,4-keto ของวงแหวน C และตำแหน่ง 5-hydroxy ของวงแหวน A กับตำแหน่ง 4-keto ของวงแหวน C

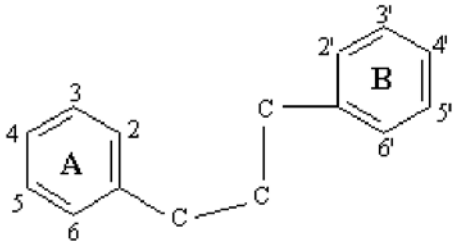
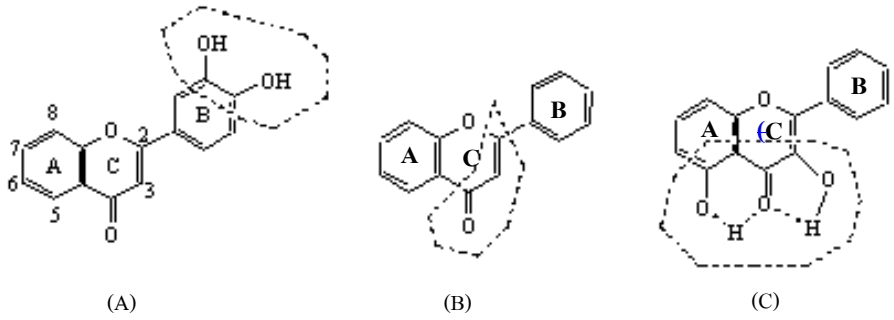


Figure 1. The basic structure of flavonoid (diphynolpropane)

Source : Shi *et al*. (2001)



(A) (B) (C)

Figure 2. Active group and position of flavonoids (A), (B) and (C)

Source : Shi *et al*. (2001)

4.4.1.2 Phenolic acid เช่น chlorogenic acid และ caffeic acid พบมากในชาและกาแฟ gallic acid พบในผักและพบมากในพืชสมุนไพร (Kays,1991)

4.4.1.3 โพลีฟีนอล เช่น tannin และ ellagic acid พบมากในเครื่องเทศและสมุนไพรโดยสมบัติ การต้านออกซิเดชันจะแตกต่างกันซึ่งขึ้นอยู่กับความสามารถในการให้ไฮโดรเจนของหมู่ OH ในสารประกอบ โพลีฟีนอล รวมทั้งตำแหน่งและจำนวนหมู่ไฮดรอกซิลของ

โมเลกุล (Morel *et al.,* 1998) สารประกอบโพลีฟีนอลเหล่านี้ยังอาจแบ่งย่อยลงไปอีกตามจำนวนอะตอมของคาร์บอนและรูปแบบโครงสร้างของคาร์บอนในโมเลกุล ดังแสดงใน Table 2

Table 2. The phenolic compounds present in plant

Number of carbon atom	Basic structure	Type of phenolic compound	Example
6	C6	Simple phenols	Catechol, hydroquinone
		Bensoquinones	2,6-Dimethoxyhenoquinones
7	C6—C1	Phenolic acids	p-Hydroxybenzoic, salicylic
8	C6—C2	Acetophenones	3-Acetyl-6-methoxybenzaldehyde
		Phenylacetic acids	p-Hydroxyphenylacetic
9	C6—C3	Hydroxycinnamic	Caffeic, ferulic
		acids Phenylpropenes	Myristicin, engenol
		Coumarins,	Umbelliferone, aesculetin
		Isocoumarins,	Bergenin
		Chromones	Eugenin
10	C6—C4	Naphthoquinones	Juglone, plumbagin
13	C6—C1—C6	Xanthones	Mangiferin
		Stilbenes,	
14	C6—C2—C6	Anthraquinones	Lunularic acid, Emodin
15	C6—C3—C6	Flavonoids	Quercetin, cyaniding
		Isoflavonoids	Genistein
18	(C6—C3)2	Lignans	Pinoresinol
		Neolignans	Eusiderin
30	(C6—C3—C6)2	Biflavonoids	Amentoflavone
N	(C6—C3)n	Lignins	
	(C6)n	Catechol melanins	
	(C6—C3—C6)n	Flavolans (condensed tannins)	

Source **:** Kays (1991)

สารประกอบฟีนอล ในพืชเกือบทั้งหมดสร้า งจาก phosphoenolpyruvate และ erythrose-4-phosphate (จาก glycolysis และ oxidative pentose phosphate pathway ตามลำดับ) โดยวิถี shikimic acid ซึ่งมี aromatic amino acid เป็นสารตัวกลาง (central intermediate) ดังแสดงใน Figure 3 โดยจะมีการ deaminate และ hydroxylate ในตำแหน่ง para บน phenol ring ให้ p-hydroxycinnamic acid ส่วนในกรณีของ flavonoids นั้น malonate จะเป็นตัวเริ่มต้น โดย 3 โมเลกุลของ malonyl-CoA รวมตัวกับ cinnamic acid (cinnamyl-CoA) เพื่อสร้าง chalcone ซึ่งเมื่อปิด ring แล้วก็จะได้โครงสร้างพื้นฐานของ flavonoids

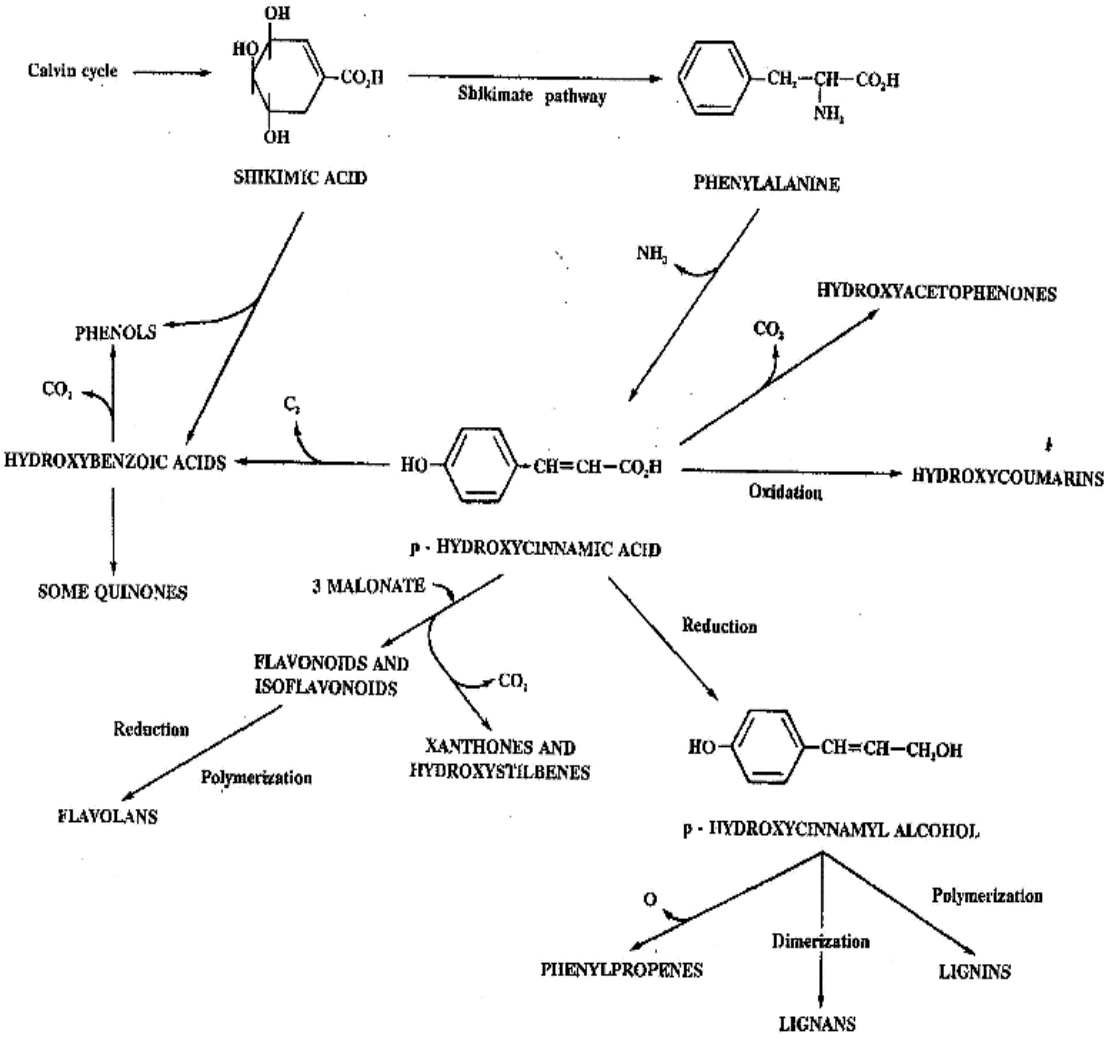


Figure 3. The synthesis of polyphenol in plants

Source : Kays (1991)

4.4.2 วิตามิน (Vitamin) และเกลือแร่

4.4.2.1 วิตามินอี (tocopherol) แหล่งของวิตามินอีได้แก่ น้ำมัน นจากเมล็ดพืชโดย น้ำมัน จากพืชต่างชนิดกัน จะพบวิตามินอีในรูป ที่แตกต่าง กันด้วย วิตามินอี สามารถละลายได้ใน ไขมันและมีความไวต่อแสงและออกซิเจน ดังนั้นเมื่ออยู่ในสภาวะดังกล่าวจะถูกทำลายได้ง่าย

4.4.2.2 วิตามินซี แหล่งของวิตามินซีได้แก่ผักใบเขียวทั่วไป โดยใบที่มีสีเข้มมี วิตามินซีมากกว่าใบสีอ่อนและพบในอาหารที่มีรสเปรี้ยว วิต ามินซีไม่ทนต่อความร้อน อากาศและ สามารถละลายน้ำได้ง่าย ทนกรดแต่ไม่ทนด่าง ผักและผลไม้แต่ละชนิดอาจจะมีวิตามินซีไม่เท่ากัน ขึ้นอยู่กับแหล่งที่ปลูก ระยะเวลาในการเก็บและการนำไปปรุงอาหาร ซึ่งเป็นปัจจัยที่ทำให้วิตามินซี สลายไป

4.4.2.3 Selenium เป็นเกลือแร่ที่มีอยู่ใน ข้าว หอม กระเทียม หอมใหญ่ ต้นหอม ต้นกระเทียม มะเขือเทศ บล็อคโคลี

4.4.3 แคโรทีนอยด์ เป็นสารสำคัญที่พบในคลอโรพลาสต์ของพืช มีบทบาทสำคัญ เกี่ยวกับการสังเคราะห์แสงโดยทำหน้าที่ช่วยคลอฟิลล์ในการรับพลังงานแสง ดังนั้นในผักใบเขียว จึงพบว่ามี carotenoid อยู่และพบ ในผักผลไม้ที่ยังไม่สุกแต่มีปริมาณน้อยกว่าผลไม้ที่สุกแล้วเช่น มะเขือเทศสุกจะมีปริมาณของ carotenoid มากกว่ามะเขือเทศดิบ เป็นต้น สารในกลุ่มนี้มีจำนวน หลายร้อยชนิดซึ่งให้ทั้งสีและมีประโยชน์ต่อร่างกาย สามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม

4.4.3.1 แคโรทีน เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์วิตามินเอ ตัวอย่างในสารกลุ่มนี้ เช่น β-carotene, α-carotene และ γ- carotene โดยเป็นสารที่สำคัญในการป้องกันและลดอัตราเสี่ยง ของการเกิดโรคมะเร็ง พบในพืชที่มีสีเหลืองส้มหรือสีเขียวเข้ม

4.4.3.2 แซนโตฟิลล์ สารกลุ่มนี้พบมากในพริกหยวก ในผักสีเขียวเหลืองและ ผลไม้ที่มีสีส้มแดงหรือเหลือง ตัวอย่างสารกลุ่มนี้ได้แก่ lutein, zeaxanthin และ β-cryptoxanthine ทั้ง lutein และ zeaxanthin สามารถป้องกันความเสื่อมทางสายตา

4.5 ผลของการทำแห้งต่อความคงตัวของสารต้านออกซิเดชันในพืช

Larrauri และคณะ (1997) ทำการศึกษาผล ของอุณหภูมิต่อการคงตัวของโพลีฟีนอล และการต้านออกซิเดชันขององุ่นแดงโดยใช้การทำแห้งแบบลมร้อน (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 60, 100 และ 140 °C พบว่าผลจากการทำแห้งที่อุณหภูมิ 100 °C และ 140 °C มีผลทำให้ปริมาณ โพลีฟีนอล และ แทนนินลดลง อย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่มีความแตกต่าง กันทางสถิติในการทำแห้งที่ อุณหภูมิ 60 °C เมื่อเปรียบเทียบกับการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ซึ่งจากผลดังกล่าวสังเกตให้เห็นว่า โพลีฟีนอล มีความไวต่ออุณหภูมิในการทำแห้งมากกว่าแทนนินเนื่องจากแทนนินเป็นองค์ประกอบ ของสาร ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง หรืออาจจับอยู่กับไฟเบอร์ หรือโปรตีนส่งผลให้ทนต่อการทำลาย

เนื่องจากความร้อนแตกต่างกัน นอกจากนี้ยังรายงานว่าความสามารถในการต้านออกซิเดชันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่อุณหภูมิ 60 °C เมื่อเปรียบเทียบกับการทำแห้งโดยวิธี freeze dry อย่างไรก็ตามมีการศึกษาในพืชตระกูลส้ม โดย Jeong และคณะ (2004) ทำการศึกษาการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50 100 และ 150 °C เป็นเวลา 10 20 30 40 50 และ 60 นาที ในผิวส้ม *Citrus unhiu* พบว่าการให้ความร้อนมีผลในการเพิ่มปริมาณ ฟินอลิกเมื่อเปรียบเทียบกับผิวส้มสดทั้งในการสกัดโดยเอทานอลและน้ำ โดยการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 150°C เป็นเวลา 40 นาที และที่ 100°C เป็นเวลา 60 นาที มีผลในการเพิ่มปริมาณ ฟินอลิกในการสกัดโดยเอทานอล แต่ไม่แตกต่างที่อุณหภูมิ 50°C เปรียบเทียบกับผิวส้มสด และสารสกัดโดยใช้น้ำพบว่าการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 150°C เป็นเวลา 30 นาทีมีผลให้เพิ่มปริมาณ ฟินอลิกอย่างมีนัยสำคัญ สอดคล้องกับการศึกษาของ Xu และคณะ (2006) ได้ทำการศึกษาการให้ความร้อนโดยพืชตระกูลส้มเช่นเดียวกัน โดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่างๆ ดังนี้คือ 90 120 และ 150 °C ที่เวลาต่างๆ เพื่อพิจารณาพันธะของฟินอลิกที่ เกิดขึ้นหลังจากการให้ความร้อน พบว่าการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 120 °C เป็นเวลา 90 นาที ทำให้เกิดปริมาณฟินอลิกอิสระเพิ่มขึ้น ซึ่งส่งผลให้ ความสามารถในการต้านออกซิเดชันเพิ่มขึ้น จากการรายงานเบื้องต้นแสดงให้เห็นว่าความร้อนมีผลในการลดหรือทำลายกิจกรรมของเอนไซม์ ในพืชและช่วยในการทำลายองค์ประกอบของเซลล์ทำให้สารต้านออกซิเดชันถูกปลดปล่อยออกมามากขึ้น นอกจากนี้การให้ความร้อนมีผลให้ฟินอลิกอยู่ในรูปอิสระเพิ่มขึ้น แต่อย่างไรก็ตามองค์ประกอบทางเคมีที่ไม่ทนความร้อนในพืช เช่น วิตมินซีจะมีปริมาณลดลงเมื่อให้ความร้อนระยะเวลานานขึ้น ซึ่งความร้อนจะทำลาย Ascorbic acid เปลี่ยนเป็น dehydroascorbic acid และเกิดการ hydrolysis เป็น 2,3-diketogulonic acid ทำให้ไม่สามารถต้านการออกซิเดชันได้ (Dewanto *et al.,* 2002)

5. น้ำมันหอมระเหย

สารระเหยโดยทั่วไปที่พืชผลิตขึ้นมานั้นมีอยู่ในปริมาณที่ น้อยมากคือเป็นส่วนต่อล้านส่วนเท่านั้น แต่ทั้งนี้พืชหรือส่วนของพืชมีการสร้างสารระเหยจำนวนมากมายหลายชนิด แต่มีเพียงไม่กี่ชนิดที่เป็นกลิ่นเฉพาะ (characteristic aroma) เช่น ในแอปเปิลนั้น ethyl-2-methylbutyrate ซึ่งมีในปริมาณที่น้อยมาก แต่เป็นกลิ่นเฉพาะของแอปเปิ ล สารระเหยที่เป็น critical volatiles ซึ่งให้กลิ่นเฉพาะในพืชนี้ เรียกว่า character impact compounds และเราสามารถแบ่งพืชออกเป็น 4 กลุ่ม โดยพื้นฐานของการมีหรือไม่มี character impact compounds ดังนี้ (Kays, 1991)

- กลุ่มที่กลิ่นหอมเกิดจาก 1 character impact compound

- กลุ่มที่กลิ่นหอมเกิดจากส่วนผสมของสารประกอบไม่กี่ชนิดและมีเพียง 1 ชนิดที่เป็น character impact compounds

- กลุ่มที่กลิ่นหอมเกิดจากสารประกอบจำนวนมาก แต่ไม่มีสารชนิดใดเป็น character impact compounds แต่จากการผสมผสานของสารประกอบหลายชนิดอย่างเหมาะสม ทำให้มีการสร้างกลิ่นหอมขึ้นมาใหม่

- กลุ่มที่กลิ่นหอมเกิดจากส่วนผสมที่ซับซ้อนของสารประกอบหลายชนิด แต่ไม่ใช่เกิดกลิ่นที่สร้างใหม่

เนื่องจากว่ามีสารระเหยมากมายที่มีความสำคัญต่อกลิ่นหอม และการสังเคราะห์มักเกิดจากวิธีใดวิธีหนึ่งจาก 3 วิธีการดัง Figure 4 ซึ่งพบโดยทั่วไปในพืช สารประกอบหลายชนิดเกิดขึ้นตามธรรมชาติโดยการทำงานของเอนไซม์ภายในเนื้อเยื่อพืช ซึ่งเป็นการเกิดของสารระเหยส่วนใหญ่หรือเกือบทั้งหมดจากผลไม้สด ผัก และดอกไม้ ในขณะที่การสังเคราะห์ของสารประกอบหลายชนิดยังไม่มีการศึกษาในรายละเอียด

สำหรับ isoprenoid pathway เกี่ยวข้องในการสังเคราะห์ terpenes (ตัวอย่างเช่น limonene) ในขณะที่ shikimic pathway เกี่ยวข้องในการสังเคราะห์ benzyl alcohol, benzaldehyde และสารระเหยในกลุ่มของสารประกอบฟีนอล ส่วน b -oxidation มีความสำคัญในการสังเคราะห์สารระเหยโดยการออกซิเดชันของกรดไขมัน สารระเหยในกลุ่มที่สองเกิดขึ้นเนื่องจากการทำงานของเอนไซม์หลังจากที่เนื้อเยื่อของพืชได้รับความเสียหาย เช่น กลิ่นของแตงกวา (cis-3-nonenal และ hexanal) เกิดขึ้นเมื่อเนื้อเยื่อถูกทำลาย การที่เซลล์ถูกทำลายจะเป็นการเปิดโอกาสให้เอนไซม์และ substrate ซึ่งเดิมแยกกันอยู่คนละส่วนสามารถเข้าทำปฏิกิริยากันได้

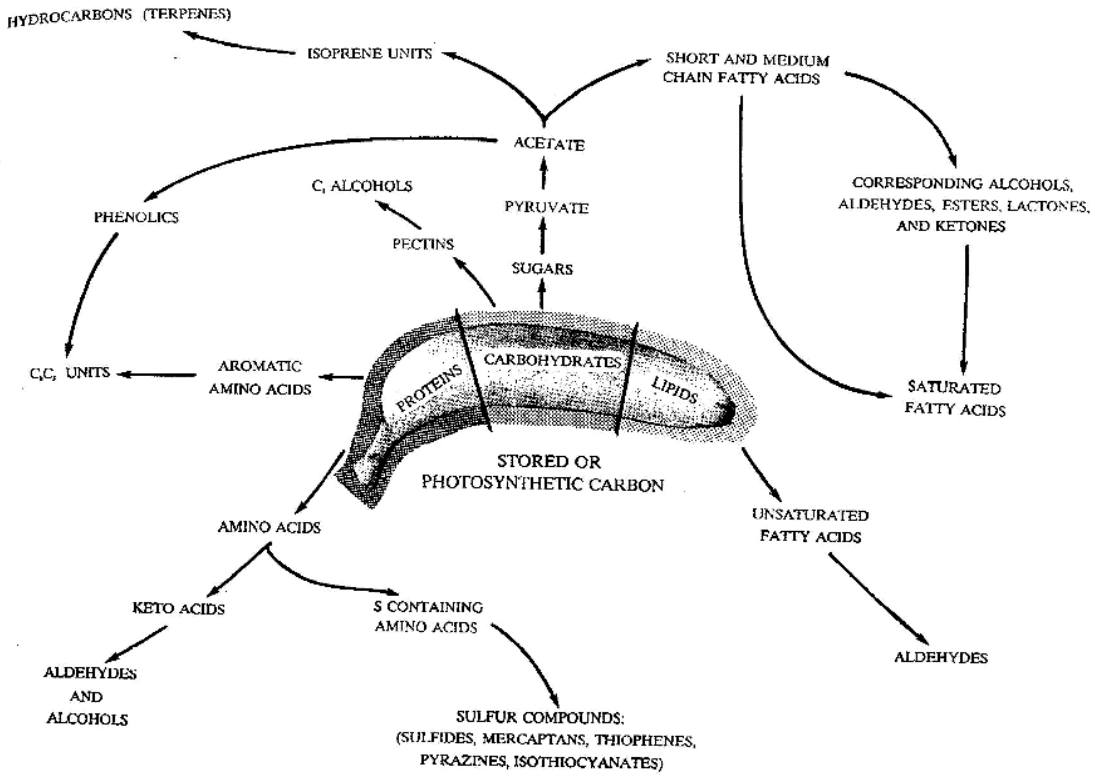


Figure 4. The diagram of synthesis the volatile compounds in plants

Source : Kays (1991)

5.1 สารประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหย

น้ำมันหอมระเหย ในมะกรูด ประกอบด้วยองค์ประกอบพื้นฐานคือ isoprene ซึ่งประกอบด้วยคาร์บอนจำนวน 5 อะตอม เมื่อนำ isoprene 2 ตัวมาต่อกันจะเกิดสารที่มีคาร์บอน 10 อะตอม เรียกสารนี้ว่า โมโนเทอร์พีน ซึ่งมีทั้งที่เรียงตัวเป็นวง (cyclic chain) และแบบไม่เป็นวง (acyclic chain) และสาร กลุ่มที่มีการเรียงตัวกันของ isoprene 3 ตัว เรียกสารกลุ่มนี้ ว่า sesquiterpenes และสารกลุ่มที่เกิดจากการเรียงตัวกันของ isoprene 4 ตัวจะเกิดเป็นสารที่มีคาร์บอน 20 ตัว เรียกสารกลุ่มนี้ว่า diterpenes ซึ่งจะไม่พบในน้ำมันหอมระเหยที่กลั่นโดยไอน้ำ เนื่องจากสารดังกล่าวมีน้ำหนักโมเลกุลสูงเกินจะสามารถกลั่นได้ โดยน้ำมันหอมระเ หยจะประกอบไปด้วยของเหลวที่มีสารประกอบอินทรีย์ที่ระเหยง่าย สารประกอบดังกล่าวมีอยู่หลายชนิด องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยมีส่วนประกอบทางเคมีที่ซับซ้อน ซึ่งสามารถแบ่งได้เป็น 4 กลุ่มหลัก ดังนี้ คือ

5.1.1 สารสายโซ่ยาว (Aliphatic compounds)

5.1.2 สารเทอร์พีนและสารอนุพันธ์ของเทอร์พีน (Terpene derivative)

5.1.3 สารอนุพันธ์ของเบนซีน (Benzene derivative)

5.1.4 สารประกอบอื่นๆ

ใบสดและผลมะกรูดมีน้ำมันหอมระเหยประมาณร้อยละ 1.29 และร้อยละ 6-7 ตามลำดับ (ปิยะ เฉลิมกลิ่น , 2541) โดยสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากใบมะก รูดและผิวมะกรูดแสดงดัง Table 3 ซึ่งในน้ำมันหอมระเหยมะกรูดจะมีกรดซีตริก (citric acid) วิตามินซี และกรดอินทรีย์ชนิดอื่นเป็นส่วนประกอบ (ปฐม จูจันทร์, 2548) นอกจากนี้ Mansori และคณะ (1999) ได้รายงานว่าน้ำมันหอมระเหยจากผิวมะกรูด ซึ่งกลั่นโดยวิธีการกลั่นด้วย ไอน้ำ ประกอบด้วยสารประกอบหลายชนิด เช่น β-pinene (ร้อยละ 30.6) limonene (ร้อยละ 29.2) sabinene (ร้อยละ 22.6) และ citronellal (ร้อยละ 4.2) โดยสารประกอบของน้ำมันหอมระเห ยในพืชแต่ละชนิดขึ้นอยู่กับปัจจัยทางภูมิอากาศ ฤดูกาล ภูมิประเทศ และพันธุกรรม ที่แตกต่างกันไป (Lanciotti *et al.,* 2004; Lota *et al.*, 2000)

Table 3. The compounds of volatile oil from kaffir lime

Plant parts	Compounds	%
Peel of fruit	limonene	19.72
(hydro distillation)	β -pinene	19.01
	citronellal	15.20
	sabinene	12.36
Peel of fruit	limonene	27.70
(expression)	β -pinene	24.52
	sabinene	17.91
	citronellal	13.70
Leaves	citronellal	71.84
(water distillation)	citronellol	12.05
	linalool	5.25

ที่มา : จักรพันธ์ จุลศรีไกวัล (2551)

Citronellal เป็นสารกลุ่มแอลดีไฮด์โมโนเทอร์พีน มีสูตรโมเลกุล คือ $C_{10}H_{18}O$ (Figure 5) เป็นสารให้กลิ่นที่สำคัญที่พบในใบมะกรูด ตะไคร้และพืชตระกูลส้ม (*Citrus sinensis* L)

เป็นสารไม่มีสีจนถึงมีสีเหลืองใส มีจุดเดือดเท่ากับ 206 - 207 ºC สามารถละลายได้ในแอลกอฮอล์ และ fixed oils แต่ไม่สามารถละลายในน้ำและกลีเซอรอล

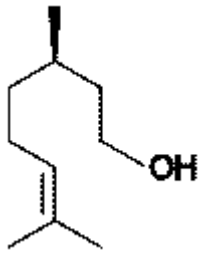


Figure 5. Citronellal

Source : Yadav and Lande (2006)

5.2 วิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหย

5.2.1 การสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction) ตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีคุณสมบัติระเหยได้ เช่น ปิโตรเลียมอีเทอร์ เบนซีน อะซิโตน เฮกเซน เอธิลอะซิเตต และเอทานอล เป็นต้น โดยเฉพาะปิโตรเลียมอีเธอร์นิยมใช้เป็นตัวทำละลายในอุตสาหกรรมน้ำหอมเนื่องจากราคาถูกและมีจุดเดือดต่ำ จึงกำจัด ออกได้ง่าย วิธีนี้จ ะใช้ถังหมักใหญ่มีลักษณะคล้ายเพอร์โคเลเตอร์ (percolater) ภายในมีตระแกรงวางซ้อนกันหลายชั้นบรรจุตัวอย่างพืชและตัวทำละลาย แล้วนำตัวละลายจากการหมักมากลั่นเพื่อแยกน้ำมันหอมระเหยออกมา นอกจากนี้ยังมีการสกัดแบบต่อเนื่องโดยใช้เครื่องมือสกัดแบบต่อเนื่อง (soxhlet apparatus) ซึ่งวิธีนี้เหมาะกับการสกัดน้ำมันหอมระเหยที่มีปริมาณน้อย หรือสกัดจากกากพืชที่เหลือจากการบีบ (ศรีรัตน์ กสิวงศ์, 2534)

ข้อดีของการสกัดด้วยตัวทำละลาย

เนื่องจากตัวทำละลายต่างๆ เช่น เอทานอล เมทธานอล อะซิโตน มีจุดเดือดต่ำจึงกำจัดออกได้ง่าย และราคาถูก

ข้อเสียของการสกัดด้วยตัวทำละลาย

5.2.1.1. ใช้เวลานานในการสกัด เนื่องจากตัวทำละลายที่เป็นของเหลวจะผ่านเข้าไปในโครงสร้างที่แข็งแรงทำให้ละลายออกมาได้ช้าๆ

5.2.1.2.ใช้ตัวทำละลายในปริมาณที่มากเพื่อให้ตัวถูกละลายสามารถละลายออกมาในปริมาณมาก

5.2.1.3. ใช้ตัวละลายที่มีค่าการละลายสูง (high solubility) เพื่อที่จะทำการละลายเอาตัวถูกละลายที่อยู่ภายในโครงสร้างของแข็ง หรืออนุภาคให้มากที่สุด มีผลทำให้ตัวทำละลายเหลือตกค้างอยู่ในผลิตภัณฑ์ในปริมาณมาก (poor purity product)

5.2.1.4. ความสามารถในการเลือกละลายของตัวทำละลายต่ำ (poor selectivity) ทำให้สารอื่นที่มีคุณสมบัติที่ใกล้เคียงกันละลายออกมาด้วย จำเป็นต้องเพิ่มขั้นตอนการกำจัดสารที่ไม่ต้องการออกไปเป็นสาเหตุให้ต้นทุนสูง

5.2.1.5. ประสิทธิภาพการสกัดโดยรวมต่ำ (low efficiency)

5.2.2 การสกัดด้วยไขมัน (enflurage) เป็นวิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหยที่มีปริมาณน้อยๆในกลีบดอกไม้ โดยการนำน้ำมันหรือไขมัน เช่น น้ำมันบริสุทธิ์ใส่ในกระบะที่มีอุณหภูมิต่ำ น้ำ มันจะแข็งตัวแล้วนำกลีบดอกไม้ไปวางเรียงบนไขมัน เก็บในที่เย็น น้ำมันหอ มระเหยจะถูกซับกลิ่นด้วยน้ำมัน ซึ่งเรียกว่าโปเมด (pomade) เมื่อกลีบดอกไม้หมดกลิ่นจะเปลี่ยนกลีบดอกไม้ ในแต่ละครั้งใช้เวลาประมาณ 7 วัน จากนั้นสกัดน้ำมันหอมระเหยจากไขมันด้วยแอลกอฮอล์ได้สารสกัดเรียกว่า extract of flower ส่วนไขมันที่เหลือยังมีกลิ่นสามารถเอามาทำสบู่ได้ ต่ อจากนั้นกำจัดแอลกอฮอล์ออกไปจะได้หัวน้ำหอมซึ่งราคาแพงมาก นิยมใช้ในอุตสาหกรรมทำน้ำหอม (ศรีรัตน์ กสิวงศ์ , 2534)

5.2.3 การกลั่น (distillation) เป็นการกลั่นโดยนำเอาสารอินทรีย์และน้ำออกมาด้วยกัน โดยสารที่กลั่นด้วยวิธีนี้จะต้องไม่รวมเป็นเนื้อเดียวกับน้ำ สารอินทรีย์จะกลั่นออกมาที่อุณหภูมิต่ำกว่าจุดเดือด การกลั่ นด้วยไอน้ำมีประโยชน์ในการแยกสารที่ระเหยง่าย และไม่ละลายน้ำออกจากสารที่เป็นไอได้ง่าย มักใช้แยกผลิตภัณฑ์ธรรมชาติอย่างพวกน้ำมันหอมระเหยจากใบ ดอก ผล เมล็ด รากของพืช โดยขณะกลั่นน้ำมันหอมระเหยจะถูกพาออกมากับไอน้ำร้อนซึ่งผ่านเครื่องควบแน่นและกลั่นตัวเป็นของเหลวตกลงในกรวยแยกโดยน้ำมันหอมระเหยจะลอยอยู่ชั้นบนของน้ำโดยการกลั่นมีหลายวิธีได้แก่

5.2.3.1 การกลั่นด้วยไอน้ำ (hydro distillation) นำตัวอย่างพืชใส่ลงในภาชนะแล้วผ่านไอน้ำลงไปในตัวอย่างเพื่อให้ได้น้ำมันระเหยและน้ำมันหอมระเหยจะออกมาควบแน่นลงในภาชนะรองรับ พืชที่กลั่ นด้วยวิธีนี้จะเป็นพืชสดที่น้ำมันหอมระเหยถูกทำลายได้ง่ายด้วยความร้อน (คมสันต์ หุตะแพทย์, 2545)

5.2.3.2 การกลั่นโดยใช้น้ำ (water distillation) วิธีนี้คือการนำชิ้นส่วนของพืชมาต้มกับน้ำ ส่วนของไอน้ำและน้ำมันหอมระเหยขึ้นมาควบแน่น (condenser) แล้วลงมาในภาชน ะรองรับ พืชที่กลั่นด้วยวิธีนี้ต้องมีน้ำมันหอมระเหยที่ไม่ถูกทำลายด้วยน้ำและความร้อนได้แก่ น้ำมันสน ข้อ

ควรระวังคือพืชอาจจะไหม้ได้หากได้รับความร้อนมากเกินไปทำให้น้ำมันหอมระเหยที่ได้มีกลิ่นไม่ดี (ศรีรัตน์ กสิวงศ์, 2534)

5.2.3.3 การกลั่นโดยใช้น้ำและไอน้ำ (water and hydro distillation) วิธีนี้โดยการนำตัวอย่างพืชมาทำให้ชื้นด้วยน้ำในภาชนะ แล้วผ่านไอน้ำลงในตัวอย่างพืชเพื่อให้น้ำมันหอมระเหยระเหยออกมาพร้อมกับไอน้ำแล้วควบแน่นลงภาชนะรองรับ พืชที่นำมากลั่นโดยวิธีนี้อาจเป็นพืชแห้งหรือสดก็ได้ เหมาะสมกับน้ำมันหอมระเหยที่ ถูกทำลายด้วยความร้อนจากการต้มโดยตรง เช่น เปลือกอบเชย ดอกกานพลู จากการกลั่นทั้งสามวิธีจะมีน้ำมันหอมระเหยและน้ำควบ แน่นลงมาในภาชนะรองรับ ซึ่งในระดับอุตสาหกรรมจะใช้ภาชนะคือ Florentine flask เป็นภาชนะที่มีท่อสำหรับให้ของเหลวไหลออกทั้งด้านบนและด้านล่าง เมื่อน้ำ มันแยกตัวจากน้ำ ซึ่งส่วนใหญ่น้ำมันจะเบากว่าน้ำและลอยอยู่บนผิวน้ำ(ยกเว้นน้ำมันบางชนิด เช่นน้ำมันกานพลูซึ่งหนักกว่าน้ำ) ส่วนน้ำที่อยู่ด้านล่างจะไหลออกไปสู่อีกภาชนะหนึ่ง ซึ่งในน้ำส่วนนี้อาจมีน้ำมันบางส่วนละลายอยู่อาจนำมาใช้เป็นน้ำดอกไม้ (aromatic water) หรือนำมากลั่นเพื่อแยกน้ำมันออกมาอีกครั้งหนึ่งโดยวิธีการนี้เรียกว่า โคโฮเบชัน (cohobation)

ข้อดีของการกลั่น

เป็นวิธีที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายเนื่องจากสามารถสกัดพืชได้ครั้งละมากๆ โดยเป็นวิธีที่ทำได้ไม่ยากตลอดจนไม่มีการปนเปื้อนของสารเคมี และสูญเสียน้ำมันเพียงเล็กน้อย

ข้อเสียของวิธีการกลั่น

ต้องใช้พลังงานในการให้ความร้อนทำให้น้ำกลายเป็นไอเพื่อใช้ในกระบวนการกลั่น และความร้อนจากไอน้ำอาจทำให้สารบางตัวสลายไป

5.2.4 การบีบ (expression) เป็นวิธีการเตรียมน้ำมันหอมระเหย โดยไม่ใช้ความร้อนแต่ ใช้แรงบีบทำให้เซลล์ที่มีน้ำมันแตกออก ซึ่งมีวิธีการแตกต่างดังต่อไปนี้

5.2.4.1 กรรมวิธีใช้ฟองน้ำ (sponge process) เป็นวิธีสกัดเบื้องต้นโดยทั่วไปใช้กับผลส้ม มะนาว โดยการนำผลผ่าซีกตามขวางควักเอาเนื้อออก ส่วนของเปลือกนำมาผ่าเป็น 3 แฉก ล้างน้ำให้สะอาดแล้วกดลงในเครื่องมือซึ่งเป็นไม้เนื้อแข็งสองแผ่นที่มีบานพับ ตรงกลางแผ่นไม้จับบุด้วยฟองน้ำ เมื่อกดบีบน้ำมันจะถูกซับด้วยฟองน้ำ และไหลลงในภาชนะรองรับ (ศรีรัตน์ กสิวงศ์, 2534)

5.2.4.2. วิธีการใช้ของแหลมทิ่มเซลล์ (ecuelle method) วิธีนี้จะใช้เหล็กปลายแหลมทิ่มผิวของเปลือกส้มหรือมะนาว ทำ ให้เซลล์น้ำมันแตกออก หรืออาจทำเป็นถังกลมโดย

ภายในถังจะมีเข็มเล็กๆ อยู่โดยรอบ นำผลส้มใส่ไปข้างในแล้วหมุนถังให้เข็มทิ่มแทงเซลล์เพื่อให้น้ำมันไหลออกมาแล้วเก็บใส่ภาชนะ วิธีนี้จะได้น้ำมันหอมระเหยน้อยกว่ากรรมวิธีใช้ฟองน้ำ

5.2.4.3 กรรมวิธีใช้เครื่องจักร (machine process) วิธีนี้ใช้เครื่องบีบกำลังสูง (hydraulic pressure) บีบเปลือกส้มมะนาวที่ควักเอาเนื้อออก แล้วนำมาทำให้บริสุทธิ์อีกครั้ง โดยการกลั่นหรือสกัดด้วยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย

5.2.5 การสกัดโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์เหนือจุดวิกฤต (supercritical carbon dioxide extraction) ของไหลในสภาวะเหนือจุดวิกฤต (supercritical fluid, SCF) คือสารใดๆที่มีอุณหภูมิอยู่เหนืออุณหภูมิวิกฤต (critical temperature) และมีความดันอยู่เหนือความดันวิกฤต (critical pressure) สภาวะดังกล่าวสารจะไม่ควบแน่นกลายเป็นของเหลว หรือระเหยกลายเป็นก๊าซ ในสภาวะนี้เรียกว่าของไหล (fluid) โดยของไหลเหนือจุดวิกฤตจะมีคุณสมบัติในการเคลื่อนที่ และการแพร่กระจายได้ดีกว่าของเหลว การสกัดสารออกจากของแข็งจึงทำได้รวดเร็ว ความหนาแน่นคล้ายของเหลวซึ่งเป็นการเพิ่มค่าความสามารถการละลาย แต่ความหนืดน้อยคล้ายกับก๊าซและไม่มีแรง ตึงผิวจึงสามารถเคลื่อนเข้าไปในโครงสร้างที่มีรูพรุนได้ง่าย ซึ่งเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัด ภายหลังการสกัดจะระเหยตัวทำละลายออกจากตัวถูกละลายได้อย่างรวดเร็ว และไม่เหลือตกค้างจึงปลอดภัยต่อสุขภาพ

ข้อดีของการสกัดโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์เหนือจุดวิกฤต

ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ มีคุณสมบัติเป็นกาซเฉื่อย ไม่ไวไฟ มีราคาถูก ง่ายต่อการจัดหาไม่มีกลิ่นและความเป็นพิษ เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

ข้อเสียของการสกัดโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์เหนือจุดวิกฤต

เครื่องมือที่ใช้ในการสกัดมีราคาแพง

5.2.6 การกลั่นทำละลาย (destructive distillation) เป็นการกลั่นโดยใช้ความร้อนสูงแต่ไม่เอาอากาศเข้าไป จะได้ส่วนที่ระเหยออกมาและส่วนที่เหลือมีลักษณะเหนียวหรือกลายเป็นถ่าน วิธีการนี้มักใช้กับเนื้อไม้ หรือเรซินของพืชกลุ่มสนเขา สำหรับสารที่ระเหยออกมาแยกออกเป็นสองชั้นประกอบด้วยเมทานอลกับกรดไพโรลิเนียสและชั้ นของเหลวเหนียวๆ ประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหยกับทาร์ของแก่นไม้ ประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ มีกลิ่นคล้ายยาหม้อเรียกว่า empyreumatic oil (ศรีรัตน์ กสิวงศ์, 2534)

สุภาพรรณ มณีบุญ (2543) วิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ซึ่งได้มาจากการสกัดโดยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำอย่างง่าย เมื่อนำไปแยกองค์ประกอบเบื้องต้นโดยใช้เทคนิคคอลัมม์โครมาโทรกราฟี ใช้ตัวชะคือ pentane, pentane : diethyl ether ในอัตราส่วน 97 : 3, 95 : 5, 90 : 10, 80 : 20 และ diethyl ether ตามลำดับพบว่าสารประกอบหลักที่พบคือ Citronellal

6. แคโรทีนอยด์

แคโรทีนอยด์เป็นกลุ่มรงควัตถุจากธรรมชาติที่มีการใช้อย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมอาหาร เป็นสารที่ไม่เกิดสปอนนิไฟด์ (non-saponificable lipid) และจัดเป็นสารประกอบเทอร์ปีนอยด์ (terpenoids) ที่สามารถสังเคราะห์ได้โดยแบคทีเรีย รา สาหร่าย และพืช โดยแคโรทีนอยด์ส่วนใหญ่ (>100 ชนิด) พบในผักและผลไม้ โดยแคโรทีนอยด์ที่พบมากที่สุด คือ ฟิวโคแซนธีน (fucoxanthin) ในสาหร่ายหลายชนิด และแคโรทีนอยด์หลักในพืชเกือบทุกชนิดประกอบด้วย ลูทีน (lutein) ไวโอลาแซนธิน (violaxanthin) และนิโอแซนทีน (neoxanthin) แคโรทีนอยด์ที่มีปริมาณน้อยแต่ พบอยู่ทั่วไปคือ เบต้าแคโรทีน และ ซีแซนทีน (zeaxanthin) (Hendry and Houghton, 1996) โดยแคโรทีนอยด์ในพืชสีเขียวจะอยู่ในคลอ โรพลาสต์ (chloroplast) ซึ่งมีคลอโรฟิลล์อยู่ด้วย โดยสีของคลอโรฟิลล์จะปิดบังสีของแคโรทีนอยด์จนมองไม่เห็น และโคร โมพลาสต์ (Chromoplast) ของผลไม้ และดอกไม้ โดยแคโรทีนอยด์ในพืชมีหน้าที่ดูดกลืนพลังงานแสง และเป็นตัวจับรังสีไวโอเลต จึงปกป้องพืชจากปฏิกิริยาออกซิเดชันอันเนื่องจากแสง (photooxidation) (Tracewell *et al*., 2001) และยังป้องกันการทำลายเซลล์จากอนุมูลอิสระ (free radical) แคโรทีนอยด์ปกป้องพืชในสภาวะที่ไม่เหมาะสม เกิดบาดแผล หรือกระทบกระเทือนกับแสงแดดอย่างรุนแรงเพื่อป้องกันการติดเชื้อและการทำลายจากแสงแดด (Magels *et al.,* 1993) โดยค่าการดูดกลืนแสงและสีจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับจำนวนพันธะคู่ภายในสาย ดังแสดงใน Table 4

Table 4. Carotenoid content in *Rosa mosqueta* Hips

Pigment	TLC		UV-visible(λ_{max}) in acetone		
	R_f	Colour in plate			
β-carotene	0.26	yellow-orange	424	452	476
Lycopene	0.15	deep red	118	474	506
β-crytoxanthin	0.57	yellow	425	449	476
Zeaxanthin	0.42	orange	424	449	476
Rubixanthin	0.37	orange	440	464	494
Gazaniaxanthin	0.37	orange	440	464	494

Source : Hornero and Minguez (2000)

6.1 เบต้าแคโรทีน

สารประกอบแคโรทีนอยด์ มีหลายชนิด ซึ่งสามารถจำแนกสารกลุ่มแคโรทีนอยด์เป็น 2 กลุ่ม คือ Hydrogenated carotenoid derivatives หรือกลุ่มแคโรทีน (carotene) ซึ่งเป็นโมเลกุลที่ประกอบด้วยสารไฮโดรคาร์บอน (hydrocarbon) ทำให้เป็นสารไม่มีขั้วและสามารถละลายได้ในไขมัน ตัวอย่างแคโรทีนอยด์ในกลุ่มนี้ได้แก่ เบต้าแคโรทีน และไลโคพีนเป็นต้น และกลุ่ม oxygenated carotenoid derivatives หรือกลุ่มแซนโทฟิลล์ (xanthophyll) ซึ่งมีอะตอมออกซิเจนอยู่ในโมเลกุล จึงมีความเป็นขั้วมากกว่าและละลายในไขมันได้น้อยกว่าแคโรทีนอยด์กลุ่มแรก ได้แก่ ลูทีน (lutein) ซีแซนทิน (zeaxanthin) และแอสตาแซนทิน (astanxanthin) เป็นต้น โดยเบต้าแคโรทีนเป็นรงควัตถุที่พบในคลอโรพลาสต์ (chloroplast) และโครโมพลาสต์ (Chromoplast) ของผลไม้ ดอกไม้ และใบของพืช ซึ่งมีหน้าที่ดูดกลืนพลังงานแสงเพื่อส่งต่อให้คลอโรฟิลล์ในกระบวนการสังเคราะห์แสง โดยในพืชชั้นสูงมีการสังเคราะห์เบต้าแคโรทีนจากไอโซเพนทีนิลไดฟอสเฟท (isopentenyl diphosphate) ซึ่งสร้างขึ้นจากวัฏจักรไพรูเวท และไกลเซอรอลดีไฮด์ -3-ฟอสเฟท (glyceraldehyde-3-phosphate) ในเซลล์พลาสติก ของพืช โดยไอโซเพนทีนิลไดฟอสเฟท จะถูกสังเคราะห์เป็น gernayl gernayl diphosphate (GGPP) (C_{20}) ซึ่ง gernayl gernayl diphosphate (GGPP) 2 โมเลกุลสามารถสังเคราะห์เป็นสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ (C_{40}) ได้ 1 โมเลกุล จากนั้นเอนไซม์ phytoene synthase จะเติมหมู่ไฮโดรเจนภายในสายไฮโดรคาร์บอนของ gernayl gernayl diphosphate (GGPP) เปลี่ยนรูปเป็น phytoene ทำให้เกิดพันธะคู่ภายในสา ยเกิดการสังเคราะห์เป็นไลโคพีน ซึ่งจะเข้าสู่วัฏจักรเพื่อเปลี่ยนเป็นเบต้าแคโรทีนและแคโรทีนอยด์กลุ่มอื่นๆต่อไป โดยแสดงใน Figure 6 (Gross, 1991) ซึ่งการสังเคราะห์เบต้าแคโรทีนจะถูกกระตุ้นเมื่ออยู่ในสภาวะที่เซลล์มีความเครียดเนื่องจากอนุมูลอิสระของออกซิเจน (oxidative stress) และในสภาวะที่ถูกกระตุ้นโดยแสง และส่งผลให้การสังเคราะห์แซนโทฟิลล์ลดลง (Hirayama *et al.,* 1994 ; Goowin, 1980) โดยหน้าที่ของเบต้าแคโรทีนจะเป็นตัวป้องกันความเสียหายจากอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ดังนั้นในสภาวะที่มีแสงและมีออกซิเจนสูงเซลล์พืชจึงจำเป็นต้องป้องกันความเสียหายจากอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นดังกล่าว

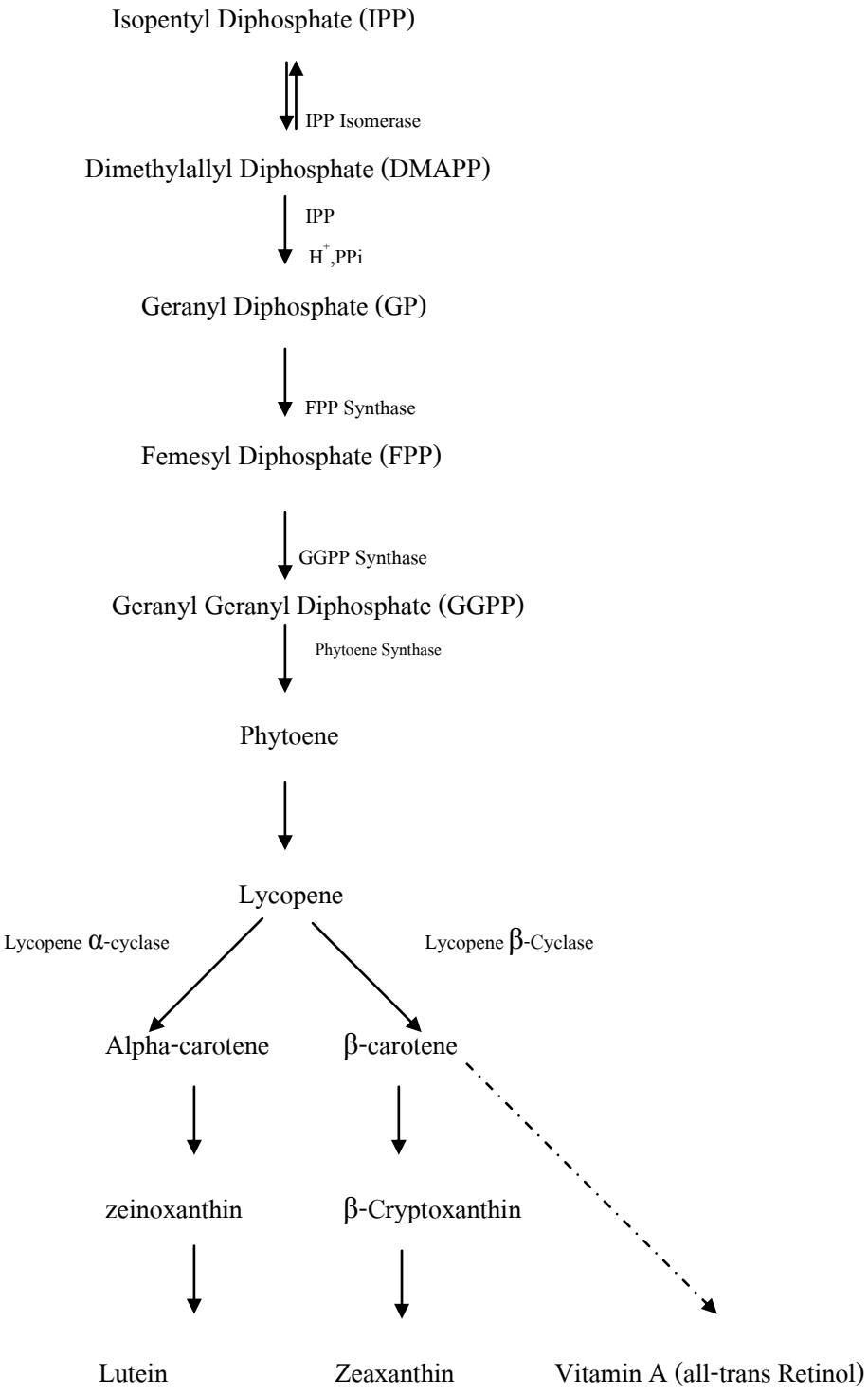


Figure 6. Diagram of the carotenoid synthesis pathway

Source : Gross, (1991)

เบต้าแคโรทีนเป็นสารประเภทแคโรทีนอยด์ซึ่งประกอบด้วยหน่วยของไอโซพรีน (Isoprene) 8 หน่วย มีจำนวนคาร์บอนอะตอมถึง 40 ตัว(C_{40}) (มาลินี ชัยศุภกิจสินธ์, 2527) มีสูตรโมเลกุลคือ $C_{40}H_{56}$ มีน้ำหนักโมเลกุล 536.85 ในธรรมชาติเบต้าแคโรทีนจะ อยู่ในรูปทรานส์ไอโซเมอร์ (Figure 7) โดยมีวงแหวนไอโอโนนที่สมบรูณ์ที่ปลายทั้งสองข้างของโมเลกุลซึ่ง สามารถสังเคราะห์เบต้าแคโรทีนจะได้วิตามินเอ 2 โมเลกุล (รัชนี ตัณฑะพาณิชย์, 2536) เบต้าแคโรทีนมีสมบัติทางกายภาพและเคมีดังเสดงใน Table 5

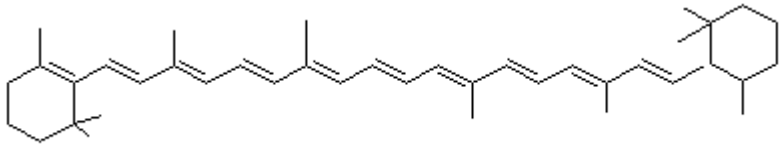


Figure 7. β-carotene structure

Source : Elbe-von and Schwartz (1996)

Table 5. Physical and chemical properties of β-carotene

Properties	β-carotene
Melting point	136-140 ºC
Color of crystals	violet-red
Color of oily solution	light yellow-orange
Aqueous dispersion	yellow-orange
Solubility(g/100mg)	
-Water	Non-soluble
-Vegetable oil/fats	0.05 g/100mg
-Orange oil	0.2-0.5 g/100mg
-Ethanol	Lower 0.01 g/100mg
-Acetone	0.1 g/100mg
Biological activity vitamin A value	1.667IU/mg

ที่มา : วรรณา ตั้งเจริญชัย (2531)

นอกจากนี้เบต้าแคโรทีนยังเป็นสารต้านออกซิเดชันโดยทำหน้าที่เป็นตัวกำจัดออกซิเจนอิสระ (singlet oxygen) และอนุมูลอิสระ (free radicals)ซึ่งออกซิเจนอิสระเป็นออกซิเจนที่มีลักษณะที่ไม่เสถียรโดยอาจเปลี่ยนสภาพเป็นอนุมูลอิสระได้ สารเหล่านี้ถูกสร้างจากปฏิกิริยาชีวเคมีต่างๆภายในร่างกาย เช่น เมตาบอลิซึมที่เกี่ยวข้องกับออกซิเจนในปฏิกิริยาของลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน (lipid peroxidation) โดยอนุมูลอิสระจะเป็นต้นเหตุทำ ให้เกิดโรคต่างๆ จากที่เซลล์ร่างกายถูกทำลาย เช่นสภาวะหลอดเลือดแดงแข็ง (atherosclerosis) และโรคมะเร็ง เบต้าแคโรทีนจึงสามารถป้องกันการทำลายเซลล์จากปฏิกิริยาออกซิเดชันได้โดยจะทำปฏิกิริยาอย่างรวดเร็วกับอนุมูลเปอร์ออกซีดังสมการที่ 15 โดยพันธะคู่ของโมเลกุลเบต้า แคโรทีนมีคุณสมบัติที่เป็นโปรออกซิเดนท์ซึ่งไวต่อการเข้าทำปฏิกิริยากับอนุมูลเปอร์ออกซีได้เป็น β -car^{o} ซึ่ง β -car^{o} ที่เกิดขึ้นจะเกิดปฏิกิริยาอย่างรวดเร็วกับออกซิเจน (O_2) เกิด β-car-OO^{o} ดังสมการที่ 16 ปฏิกิริยาการเกิดออกซิเดชันนี้ขึ้นอยู่กับความดันของออกซิเจ น โดยปฏิกิริยาจะเกิดได้ดีเมื่อความดันของออกซิเจนต่ำ นอกจากนี้ β-car^{o} จะถูกกำจัดออกจากระบบโดยทำปฏิกิริยากับอนุมูลเปอร์ออกซีตัวอื่นแสดงดังสมการที่ 17 (Soontornpas, 1995)

β -carotene + ROO^{o} ⟶ β -car ^{o} + ROOH ..... (15)

β -car ^{o} + O_2 ⟶ β -car - OO ^{o} …...……...….... (16)

β -car ^{o} + ROO^{o} ⟶ inactivate products…....……..... (17)

6.2 การเสื่อมสลายของเบต้าแคโรทีน

6.2.1 การเสื่อมสลายเนื่องจากการออกซิเดชัน

การเสื่อมสลายของเบต้าแคโรทีนนั้นเกิดได้จากหลายสาเหตุคือจากการออกซิเดชัน เนื่องจากโครงสร้างของเบต้าแคโรทีนเป็นสายโซ่ยาวและมีพันธะคู่จึงทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั นได้ง่าย โดยมีแสง ความร้อน และความชื้น ช่วยเร่งให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Arya *et al*., 1979) ซึ่งเป็นปัญหาในผลิตภัณฑ์อาหารอบแห้งอย่างมาก ปฏิกิริยาออกซิเดชันของเบต้าแคโรทีนจะเกิดขึ้นคล้ายกับไขมัน โดยกลไกการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของเบต้าแคโรทีนโดยสรุปย่อเป็นขั้นตอนดังนี้

Initiation RH $\xrightarrow{\triangle h\,.\,v\,.\,O}$ R^{o}……..……....(18)

Propagation R^{o} + O_2 ⟶ ROO..... (19)

ROO^{o} + RH ⟶ ROOH.…….... (20)

$$ROOH \longrightarrow RO^{o} + OH^{o} \quad \text{..... (21)}$$

Termination $ROO^{o} + R^{o}$, $R^{o} + R^{o}$, $R^{o} + ROO^{o}$ } nonradical product

ขั้นแรก (initiation) ไฮโดรเจนถูกดึงออกจากโมเลกุลของเบต้าแคโรทีน (RH) เกิดเป็นอนุมูลอิสระ (free radical) ส่วนขั้นที่ 2 (propagation) เป็นขั้นตอนที่มีบทบาทสำคัญเนื่องจากเป็นขั้นตอนของการเกิดเปอร์ออกไซด์ (peroxide) โดยเป็นขั้นตอนที่ออกซิเจนเข้ารวมตัวกับอนุมูลอิสระเกิดเป็นอนุมูลอิสระตัวใหม่ซึ่งเกิดได้รวดเร็วมากและเกิดปฏิกิริยาต่อไปเรื่อยๆ ส่วนขั้นตอนที่ 3 ปฏิกิริยาจะเกิดช้าลง โดยเป็นขั้นตอนที่อนุมูลอิสระรวมตัวกันเองเกิดเป็นสารประกอบที่เป็นกลางและเสถียรไม่ทำปฏิกิริยาต่อเบต้าแคโรทีนเมื่ออยู่ในสารละลายกรดเปอร์คาร์บอกซิลิก เบต้าแคโรทีนจะเกิดการออกซิเดชั้นแบบอีพอกซิเดชั้น (epoxidation) ซึ่งจะให้สารพวก 5,6 – อีพอกไซด์ และจะเกิดไอโซเมอร์ไรเซชันไปเป็น 5,8- ฟูรานออกไซด์ ดัง Figure 8 การเกิดอีพอกซิเดชันและอีพอกโซด์ไอโซเมอร์ไรเซชันเป็นเหตุให้เกิดการสูญเสียสีของผลไม้กระป๋อง (Wong, 1989)

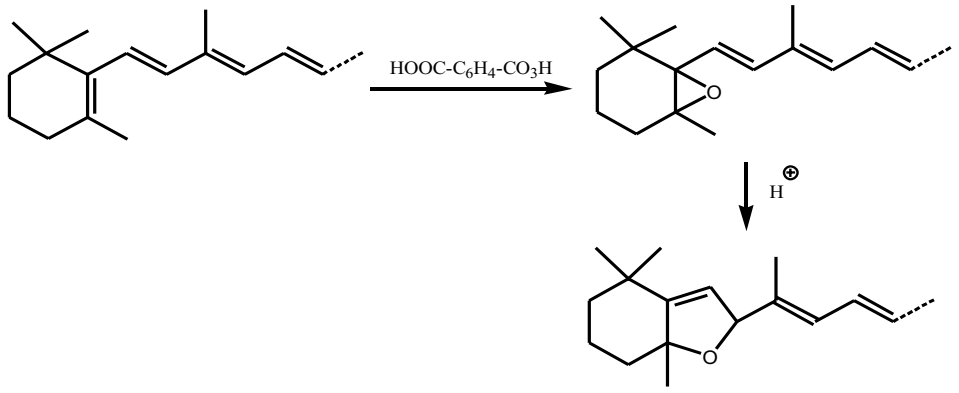


Figure 8. Epoxidation and epoxide isomerization of β-carotene

Source : Wong (1989)

การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันจะช้าหรือเร็วนั้นขึ้นอยู่กับปริมาณออกซิเจน อุณหภูมิ แสง และโลหะ Goldman และคณะ (1983) ศึกษาผลของปริมาณ ออกซิเจนที่มีผลต่อความคงตัวของเบต้าแคโรทีน พบว่าที่อุณหภูมิ 35 ºC และในสภาพที่มีปริมาณ a_w ต่ำ (low water activity) เมื่อปริมาณออกซิเจนเพิ่มขึ้น จะทำให้ความคงตัวของเบต้าแคโรทีนลดลง นอกจากนี้ยังพบว่าแสงเป็นตัวเร่ง หนึ่งที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน แต่ถ้าไม่มีออกซิเจนแคโรทีนอยด์จะสูญเสียเพียง

เล็กน้อยเท่านั้นโดยเกิดการเปลี่ยนแปลงจากซีส-ทรานส์ไอโซเมอร์ ขณะที่เบต้าแคโรทีนสัมผัสแสงจะมีไอโอดีนจะเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาซีส-ทรานส์ไอโซเมอร์ที่อุณหภูมิห้อง (Goodwin, 1980)

Kearsley และ Rodriguez (1981) ศึกษาผลของแสงต่อความคงตัวของเบต้าแคโรทีน ที่ pH เท่ากับ 4.0 อุณหภูมิ 25 ºC พบว่าความคงตัวของเบต้าแคโรทีนจะลดลงคือมีสีอ่อนลง เมื่อเก็บไว้ในสภาพที่มีแสง

Chen และ Tang (1998) ศึกษาผลของแสงที่มีต่อความเข้มข้นของทรานส์- เบต้าแคโรทีน พบว่าความเข้มข้นของทรานส์ - เบต้าแคโรทีนจะลดลงร้อยละ 65.59 เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ส่วน 9 – ซีส- เบต้าแคโรทีน 13- ซีส- เบต้าแคโรทีน 15- ซิส-เบต้าแคโรทีน และ 13,15-ได-ซีส-เบต้าแคโรทีนจะมีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นร้อยละ 59.72 14.33 14.46และ 23.64 ตามลำดับจะเห็นว่าแสงมีผลต่อการลดลงของ ทรานส์ไอโซเมอร์ และการเปลี่ยนแปลงของซีส -ทรานส์ ไอโซเมอร์นี้มีผลทำให้สีของผลิตภัณฑ์จางลง

นอกจากนี้ไอออนของโลหะ เช่น ทองแดง เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน ทำให้แคโรทีนอยด์เสื่อมสลายลง โดยเฉพาะเมื่อมีไขมันอยู่ด้วยจะเร่งป ฏิกิริยาออกซิเดชันทำให้ไลโคปีนเสื่อมสภาพเนื่องจากความร้อนเร็วขึ้น 3.5 เท่า โดยไอออนของทองแดง (cupric ion) จะเป็นตัวทำให้เกิดอนุมูลอิสระ (Gross, 1991)

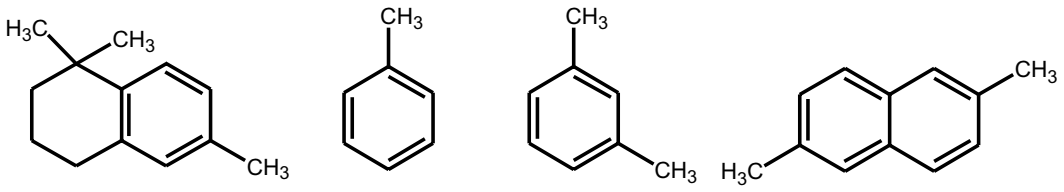
เบต้าแคโรทีนที่อยู่ในรูปของทรานส์สามารถเสื่อมสลายได้ง่ายโดยจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูป 9-cis-β-carotene และ 13-cis-β-carotene เป็นส่วนใหญ่ หรือในรูปของ cis รูปอื่นๆเช่น 15-cis-β-carotene และ 13-15-di-β-carotene เมื่อได้รับความร้อนและแสง ซึ่งทำให้สีและความสามารถในการเปลี่ยนเป็นวิตามินเอลดลง (Chen *et al*., 1995)

6.2.2 การเสื่อมสลายเนื่องจากได้รับความร้อน

กระบวนการ ทำแห้งด้วยความร้อนถือเป็นปัจจัยสำคัญที่จะส่งผลต่อการคงของเบต้าแคโรทีน โดยความร้อนจะทำให้โครงสร้างของเบต้าแคโรทีนเกิดการแตกสลายได้เป็นสารประกอบที่ระเหยได้หรือเกิดไอโซเมอร์ซึ่งจะทำให้ผลิตภัณฑ์มีสีอ่อนลง ความร้อนจะทำให้เบต้าแคโรทีนเปลี่ยนแปลงได้ดังนี้

6.2.2.1 Thermal degradation

เมื่อถูกความร้อนที่อุณหภูมิประมาณ 190 ºC จะเกิดการแตกสลายของโครงสร้างทำให้ได้สารประกอบพวกไอโอนีน (ionene) ทูลูอีน (toluene) เอ็ม-ไซลีน (m-xylene) และ 2,6 ไดเมทธิลแนพทาลีน (2,6-dimethyl napthalene) ดัง Figure 9 ซึ่งสารเหล่านี้มีสีเหลืองถึงน้ำตาลและเป็นยางเหนียว (Mader, 1964; Wong, 1989)



Ionene Toluene *m*-Xylene 2,6-Dimethylnaphthalene

Figure 9. Degradation products of thermal degradation of β-carotene

Source : Wong (1989)

6.2.2.2 Thermal isomerization

ในธรรมชาติเบต้าแคโรทีนส่วนใหญ่อยู่ในรูปทรานส์ แต่เมื่อเบต้าแคโรทีนถูกแสง ความร้อน หรือกรดจะเกิดปรากฏการณ์ที่เรียกว่าไอโซเมอร์ไรเซชัน (isomerization) ดังแสดงใน Figure 10

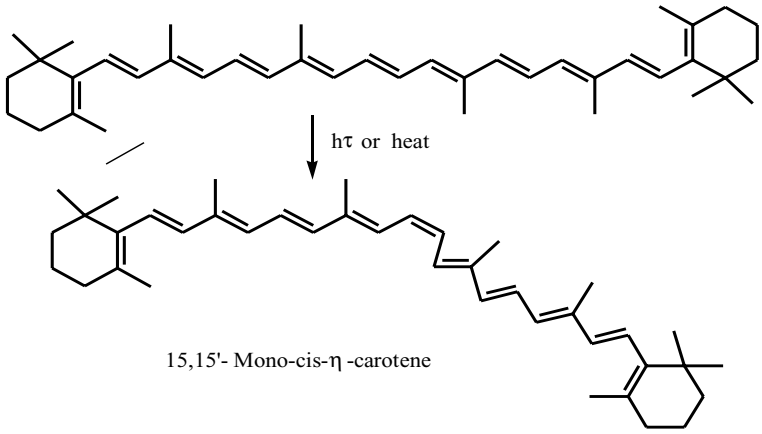


Figure 10. The isomerization of β-carotene

Source: Wong (1989)

จาก Figure 10 เบต้าแคโรทีนจะเกิดไอโซเมอร์ไรเซชัน (isomerization) ด้วยความร้อนหรือแสงซึ่งจะเปลี่ยนเป็น 15, 15'-โมโน-ซีส-เบต้าแคโรทีน (15,15'-momo-cis-β-carotene) การเปลี่ยนแปลงรูปจากทรานส์เป็นซีสจะทำให้ผลิตภัณฑ์มีสีจางลง

6.2.3 การเสื่อมสลายเนื่องจากเอนไซม์ในเซลล์พืช

ในระดับเซลล์แคโรทีนจะอยู่ในรูปสารประกอบเชิงซ้อนของแคโรทีนอ ยด์กับโปรตีนที่มีความเสถียรภาพ ซึ่งจะทำหน้าที่ป้องกันสารในเซลล์ ที่ยังไม่ถูกทำลาย ระหว่างการเก็บเกี่ยว แต่เมื่อเนื้อเยื่อถูกทำลายจะมีการปล่อยเอนไซม์ออกมา ทำให้เป็นจุดเริ่มต้นขอ งการสูญเสียแคโรทีนอยด์ (Bauernfeind, 1981; Dewento *et al*., 2002) โดยมีกลไกคือเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส

(peroxidase) จะเปลี่ยนแคโรทีนอยด์ทั้งทางตรงดังแสดงในสมการ (22) และทางอ้อม ซึ่งการสูญเสียโดยทางอ้อม คือ การเกิดออกซิเดชันของไขมันทำให้แคโรทีนอยด์เกิดการออกซิ ไดซ์ตามไปด้วย โดยเอนไซม์ไลพอกซิเดส (lipoxidase) จะทำให้เกิดอนุมูลอิสระจากไขมันไม่อิ่มตัวทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกับแคโรทีนอยด์

แคโรทีนอยด์ $\xrightarrow{\text{เอมไซม์เปอร์ออกซิเดส}}$ 5,6 -อีพอกไซด์ $\xrightarrow{\text{กรดในพืช}}$ 5,8 – อีพอกไซด์..(22)

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาลักษณะทางกายภาพและ ทางเคมีของใบมะกรูดสดในระยะใบแก่และใบกึ่งอ่อนกึ่งแก่
2. ศึกษาผลของวิธีการทำแห้งต่อลักษณะทางกายภาพ ทางประสาทสัมผัส คุณสมบัติ การทำลายอนุมูลอิสระ DPPH และการต้านแบคทีเรียของใบมะกรูดในระยะใบแก่และใบกึ่งอ่อนกึ่งแก่
3. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของ ใบมะกรูดแห้งในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องโดยบรรจุในถุงลามิเนตฟอยล์ และ ถุง LDPE

บทที่ 2

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

1.วัตถุดิบ

1.1 ใบมะกรูดสดจากอำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา ใน 2 ช่วงเวลา คือเดือนมกราคม 2550 และเดือนกรกฎาคม 2550

2. วัสดุ

2.1 ภาชนะบรรจุใบมะกรูดที่ผ่านการทำแห้ง ถุงพลาสติกชนิด LDPE และ ลามิเนตฟอยล์ (20 μ OPP/12 μ MPET/ 70 μ LLDPE)

2.2 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ การทำลายอนุมูลอิสระ DPPH และปริมาณโพลีฟีนอล

2.3 สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการวิเคราะห์การต้านแบคทีเรีย

2.4 สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณเบต้าแคโรทีนและวิเคราะห์หาปริมาณ citonellal

3. แบคทีเรียที่ใช้ศึกษา

Escherichia coli (*E. coli* O157:H7)

Staphylococcus aureus

Pseudomonas fluorescens ATCC 49839

Listeria monocytogenes

4. อุปกรณ์

4.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำแห้ง

เครื่องไมโครเวฟ ยี่ห้อ SHARP รุ่น R-6G65 ประเทศญี่ปุ่น

เครื่องทำแห้งแบบลมร้อน ยี่ห้อ Toyler

เครื่องตากแห้งโดยแสงอาทิตย์ แบบ Natural convection dryer ภาควิชาเทคโนโลยีวัสดุภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมการเกษตร

4.2 อุปกรณ์ตรวจสอบทางกายภาพ

เครื่องวัดสี ยี่ห้อ HunterLab รุ่น ColorFlex ประเทศสหรัฐอเมริกา

เครื่อง water activity ยี่ห้อ Novasina รุ่น Thermoconstanter ประเทศสวิตเซอร์แลนด์

ตู้อบลมร้อน ยี่ห้อ Binder รุ่น FD115 ประเทศเยอรมัน

เครื่อง digital pH meter ยี่ห้อ CyberScan รุ่น pH510 ประเทศสิงคโปร์

เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ METTLER รุ่น AB 204-S ประเทศสวิตเซอร์แลนด์

เครื่องชั่งหยาบทศนิยม 2 ตำแหน่ง SATORIUS รุ่น BP 2100 S ประเทศเยอรมัน

4.3 อุปกรณ์วิเคราะห์การทำลายอนุมูลอิสระ DPPH และปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด

เครื่อง Spectrophotometer ยี่ห้อ Jasco รุ่น V350 ประเทศญี่ปุ่น

4.4 อุปกรณ์วิเคราะห์การต้านแบคทีเรีย

เครื่องระเหยสุญญากาศ ยี่ห้อ Eyala รุ่น N-100 ประเทศ ญี่ปุ่น

ตู้ปลอดเชื้อ ยี่ห้อ Hotlen รุ่น Safe 2010 บริษัท Heto-Holten จำกัด ประเทศเดนมาร์ก

เครื่องฆ่าเชื้อ ยี่ห้อ Tomy รุ่น SS-325 บริษัท Tomy Seiko จำกัด ประเทศญี่ปุ่น

ตู้บ่มเชื้อ ยี่ห้อ memmert รุ่น Tv40b บริษัท memmert จำกัด ประเทศเยอรมัน

Paper Disc เส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ยี่ห้อ Becton Dickinson ประเทศสหรัฐอเมริกา

4.5 อุปกรณ์การวิเคราะห์หาปริมาณเบต้าแคโรทีนและวิเคราะห์หาปริมาณ citonellal

HPLC ยี่ห้อ Agilent รุ่น 1100 บริษัท Analytical Instrument Recycle Inc. ประเทศสหรัฐอเมริกา

HPLC Guard Cartridge ยี่ห้อ Phenomenex ประเทศสหรัฐอเมริกา

HPLC column μBondclone 10μ C18 ขนาด 300×3.90 mm ยี่ห้อ Phenomenex ประเทศสหรัฐอเมริกา

Nylon Syring Filter Model SPFN02522 25MM DIA, 0.22 micron ประเทศจีน

Gas Chromatograph - Mass Spectrometer รุ่น HP5890GC - HP5972MSD ยี่ห้อ Hewlett Packard, ประเทศสหรัฐอเมริกา

Rtx-5MS capillary column ขนาด30 m ×0.25 มิลลิเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.25 ไมครอน

เครื่องกลั่นน้ำมันหอมระเหย ภาควิชาเภสัชเวทย์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

วิธีการทดลอง

1. การเตรียมวัตถุดิบและ คุณลักษณะของวัตถุดิบ

1.1 การเตรียมวัตถุดิบ

นำใบมะกรูดสดจากตลาดสด อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลามาแยกส่วนที่เป็นก้านและตัดแต่งส่วนที่มีตำหนิออก จากนั้นทำการคัดแยกออกเป็น 2 กลุ่ม คือใบกึ่งอ่อนกึ่งแก่และใบแก่ ซึ่งคัดแยกโดยการใช้ สีในระบบ Munsell โดยใบแก่ใช้โทนสี 2.5G5/8 – 5G3/4 และใบกึ่งแก่กึ่งอ่อนใช้โทนสี 7.5GY8/8 – 10GY5/8 หลังจากนั้นล้างทำความสะอาดและสะเด็ดน้ำ นำไปศึกษาคุณสมบัติต่างๆได้แก่

1.2 การศึกษาคุณภาพเริ่มต้นของวัตถุดิบ

1.2.1 คุณภาพทางกายภาพ

- ค่าสีในระบบ CIE (L*, a*, b*) โดยเครื่องวัดสีที่มีแหล่งกำเนิดแสง D65 ที่ 10^{o} CIE Standard Observer และใช้ Sample Port ขนาด 1.25 นิ้ว สอบเทียบด้วย White tile No. C2-19913 (X\82.51, Y \84.46, Z\101.44) และ Black tile ทำการวัดตัวอย่างใบแก่และใบกึ่งแก่กึ่งอ่อนโดยทำการบดใบมะกรูดด้วยเครื่องบดไฟฟ้าให้ละเอียดก่อนทำการวัดค่าสี
- ค่าวอเตอร์แอกติวิตีที่อุณหภูมิ 25 ºC
- ความชื้น (AOAC, 2000) ดังแสดงในภาคผนวก ก1

1.2.2 คุณภาพทางเคมี

1.2.2.1 สมบัติการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH และปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด

การเตรียมสารสกัดของใบมะกรูดตามวิธีของ Toda (2005) โดยนำใบมะกรูดที่ผ่านการบดจนละเอียด แช่ในน้ำเย็นที่อุณหภูมิ 4 ºC เป็นเวลา 12 ชั่วโมง และกวนโดยเครื่องกวนแม่เหล็ก หลังจากนั้นกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 และนำส่วนกากมาสกัดอีกครั้งด้วยน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาทีโดยกวนตลอดเวลาด้วยเครื่องกวนแม่เหล็ก และตั้งแช่ไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12 ชั่วโมง กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 นำสารสกัดทั้งสองส่วนรวมกันและวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด โดยใช้ใบมะกรูดสดต่อน้ำ ที่ใช้ในการสกัดในอัตราส่วน 1:10 (w/v) และ 1:20 (w/v) ในใบแห้ง โดยขั้นตอนการสกัดดังแสดงใน Figure 10

การทดสอบฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ตามวิธีของ Yen และ Hsieh (1997) ตามภาคผนวก ข1

การวิเคราะห์หาปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด โดยดัดแปลงวิธีการของ Toda (2005) ตามภาคผนวก ข2

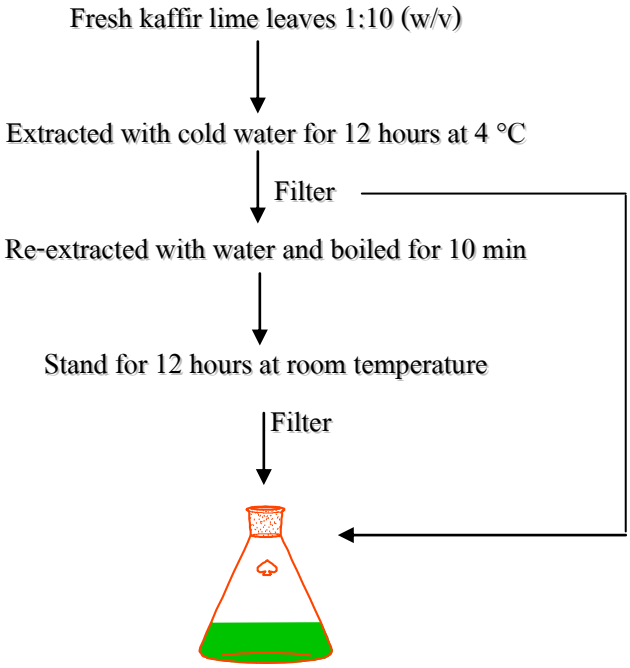


Figure 11. The extraction procedure for total phenolic content and DPPH radical scavenging activity analysis

Source : Toda (2005)

1.2.2.2 วิเคราะห์ปริมาณเบต้าแคโรทีนด้วยวิธี HPLC ดัดแปลงจากวิธีของ Barba และคณะ (2006) โดยนำใบมะกรูดบดปริมาณ 5 กรัมมาสกัดด้วยสารละลาย hexane / acetone / ethanol (50:25:25v/v/v) โดยกวนเป็นเวลา 30 นาทีสกัดซ้ำจนใบมะกรูดไม่มีสี แล้วนำมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 หลังจากนั้นแยกเอาชั้นของ hexaneโดยนำสารสกัดใส่ในกรวยแยกแล้วเติมน้ำ 10 มิลลิลิตร นำชั้น hexane มาระเหยสารละลายโดยใช้แก๊สไนโตรเจนจนแห้ง หลังจากนั้นนำของแข็งที่เหลืออยู่มาละลายใน tetrahydrofuran (THF) / acetonitrile / methanol (15:30:55v/v/v) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร กรองโดยเมมแบรนขนาด 0.22 ไมครอนเพื่อให้สารมีความบริสุทธิ์

ทำการวิเคราะห์ โดยใช้ HPLC คอลัมน์ µBondclone 10µ C18 ขนาด 300×3.90 มิลลิเมตร โดยมี HPLC Guard Cartridge เพื่อกรองสารก่อนเข้าคอลัมน์ และใช้ mobile phase คือ methanol/acetonitrile (90:10v/v) อัตราการไหล 0.9 มิลลิลิตร/นาที ภายใต้อุณหภูมิ 30 ºC Detector

ชนิด UV-vis detector ที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตรเทียบกับสารมาตรฐานเบต้าแคโรทีนที่ความเข้มข้นต่างๆ คือ 1 2 5 10 20 และ 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

1.2.2.3 ศึกษาสมบัติการต้านแบคทีเรียของสารสกัดโดยวิธี disc diffusion ดัดแปลงจากวิธีของ Lorian (1996) ตามภาคผนวก ข3

-วิเคราะห์ค่า pH ของสารสกัดที่ใช้ในการศึกษาสมบัติการต้านแบคทีเรีย โดยดัดแปลงวิธีจาก Bozkurt และ Erkmen (2002) ดังแสดงในภาคผนวก ข4

-วิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดของสารสกัดที่ใช้ในการศึกษาสมบัติการต้านแบคทีเรีย (AOAC, 2000) ในรูปกรดสมมูลย์ของซิตริก ดังแสดงในภาคผนวก ข5

1.2.2.4 วิเคราะห์ ปริมาณ citronellal ด้วยวิธี Gas Chromatography/Mass Spectrometry

การเตรียมสารสกัดโดยการกลั่นด้วยไอน้ำโดยตรง นำใบมะกรูดบดจำนวน 300 กรัมใส่ในขวดก้นกลมเติมน้ำให้ท่วมใบมะกรูด น้ำมันหอมระเหยที่กลั่นได้จะลอยอยู่เหนือน้ำ ไขวาล์วเก็บน้ำมันหอมระเหยโดยเก็บในหลอดทดลองที่มีฝาปิด หุ้มหลอดทดลองด้วยแผ่นอลูมิเนียมและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -18 ºC เพื่อรอทำการวิเคราะห์ต่อไป

นำน้ำมันหอมระเหยที่กลั่นได้ วิเคราะห์หาปริมาณ citronellal โดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี – แมสสเปกโตรเมตรี (GC-MS) โดยการวิเคราะห์ดัดแปลงวิธีจาก Agnihotri และคณะ (2004) โดยใช้คอลัมน์ Rtx-5MS ขนาด 30 เมตร × 0.25 มิลลิเมตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.25 ไมครอน โดยใช้สภาวะ อุณหภูมิคอลัมน์เริ่มต้นที่ 70°C เป็นเวลา 2 นาทีแล้วเพิ่มอุณหภูมิ 4 ºC ต่อนาทีจนถึง 220 ºC คงอุณหภูมิไว้ 5 นาที ภายใต้สภาวะที่มีการไหลของแก๊ สฮีเลียม นำพื้นที่ใต้พีกเปรียบเทียบกับ mass spectra ฐานข้อมูล Wiley 275. L โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน citronellal

2. ศึกษาวิธีการทำแห้งและคุณสมบัติของใบมะกรูดที่ผ่านการทำแห้ง

2.1 ศึกษาการทำแห้งโดยธรรมชาติ (Natural convection dryer): นำใบมะกรูดไปอบแห้งโดยใช้แสงแดดในตู้อบแห้งแบบแสงอาทิตย์ที่ออกแบบโดยภาควิชาเทคโนโลยีวัสดุภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร โดยให้ความชื้นสุดท้ายไม่เกินร้อยละ 10 ± 2 บันทึกเวลา

2.2 การทำแห้งโดยใช้เครื่องอบแห้งลมร้อน : ที่อุณหภูมิ 60ºC จนความชื้นสุดท้ายไม่เกินร้อยละ 10 ± 2

2.3 การทำแห้งโดยใช้ไมโครเวฟ (Microwave heating): ใช้ระดับพลังงานสูงปานกลาง (High medium) โดยใช้ไมโครเวฟที่ใช้ในครัวเรือน ที่มีความถี่ 2,450 เมกกะเฮิร์ต กำลัง

850 วัตต์ จนความชื้นสุดท้ายไม่เกินร้อยละ10 ± 2 โดยทำแห้งครั้งละ 30 กรัมใบสด จัดเรียงในจานแก้วขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 30 เซนติเมตร

2.4 นำใบมะกรูดที่ผ่านการทำแห้งทั้ง 4 แบบ มาตรวจสอบคุณภาพตามข้อ 1.2.1

- ค่าสีในระบบ CIE (L*, a*, b*) และคำนวณค่า numerical total color difference (Δ E) ระหว่างค่าสีของใบมะกรูดก่อนและหลังการทำแห้ง จากสูตร

$$\Delta E = [(L^* - L^*_{ref})^2 + (a^* - a^*_{ref})^2 + (b^* - b^*_{ref})^2]^{1/2}$$

$$\Delta L^* = L^* - L^*_{ref}$$

$$\Delta a^* = a^* - a^*_{ref}$$

$$\Delta b^* = b^* - b^*_{ref}$$

- ค่า a_w

- ความชื้น (AOAC, 2000)

-สมบัติในการทำลายอนุมูลอนุมูลอิสระ DPPH และหาปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดตามข้อ1.2.2.1

- ปริมาณเบต้าแคโรทีนด้วยวิธี HPLC ตามข้อ 1.2.2.2

- สมบัติการต้านแบคทีเรีย ตามข้อ 1.2.2.3

- ปริมาณ Volatile Oil ด้วยวิธี Gas Chromatography/Mass Spectrometry ตามข้อ 1.2.2.4

2.5 ทำการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้วยวิธีให้คะแนนความชอบ 9-Point Hedonic Scale โดยพิจารณาจากคุณภาพสี กลิ่น ลักษณะปรากฏ และความชอบ รวม ใช้ผู้ทดสอบโดยใช้ผู้บริโภคทั่วไปจำนวน 30 คน (ไพโรจน์ วิริยะจารี , 2545) วางแผนการทดสอบเพื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ เพื่อนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) เพื่อคัดเลือกวิธีการทำแห้งที่ได้คะแนนความชอบรวมที่สูงที่สุด

3. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของใบมะกรูดที่ผ่านการทำแห้งในระหว่างการเก็บรักษา

3.1 นำใบมะกรูดที่ผ่านการทำแห้งตามสภาวะที่คัดเลือกวิธีการทำแห้งใบมะกรูดจากข้อ 2 มาศึกษาการเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษาโดยบรรจุตัวอย่างในถุงพลาสติกชนิด LDPE และ ลามิเนตฟอยล์ เก็บรักษาใบมะกรูดที่ผ่านการแห้งที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 6 เดือน โดยสุ่มตัวอย่างทดสอบในวันที่ 0, 25, 50, 75, 100, 125, 150 และ 175 ตามลำดับ เพื่อทำการตรวจวัดคุณภาพใบมะกรูดตามข้อ 1.2

3.2 ทดสอบคุณสมบัติทางประสาทสัมผัส ได้แก่สี กลิ่น ลักษณะปรากฏและความชอบโดยรวมของใบมะกรูดที่เก็บรักษา โดยใช้ 9-Point Hedonic Scale กับผู้ทดสอบ 30คน

บทที่ 3

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. คุณภาพทางกายภาพของใบมะกรูดสดและใบที่ผ่านการทำแห้ง

1.1 ค่าสีใบมะกรูดแก่

ค่าสีของใบมะกรูดแก่โดยการวัดค่าสีในระบบ CIELAB โดยค่า L* เป็นค่ากำหนดความสว่าง (L* = 0 (มืดสนิท), L* = 100 (สว่างที่สุด) ค่า a* แสดงค่าความเป็นสีแดง (a* เป็น + วัตถุมีสีออกแดง, a* เป็น – วัตถุมีสีออกเขียว) และค่า b* แสดงค่าความเป็นสีเหลือง (b* เป็น + วัตถุมีสีออกเหลือง, b* เป็น– วัตถุมีสีออกน้ำเงิน) โดยผลค่าสีใบมะกรูดสดและผ่านการทำแห้ง แสดงใน Table 6 จากผลการทดลอง พบว่า ใบมะกรูดที่ผ่านการทำแห้งโดยวิ ธีการต่างๆ จะมีค่าความสว่าง (L*) เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อ เปรียบเทียบกับใบสด ($p<0.05$) และค่า a* เพิ่มขึ้นซึ่งแสดงความเป็นสีเขียวลดลงหลังการทำแห้งอย่างมีนัยสำคัญเมื่อ เปรียบเทียบกับใบสด ($p<0.05$) โดยใบมะกรูดที่ทำแห้งด้วยไมโครเวฟจะมีสีเขียวใกล้เคียงกับสีขอ งใบมะกรูดสดมากที่สุด ส่วนใบมะกรูดที่ทำแห้งด้วย พลังงานแสงอาทิตย์จะมีค่าความเป็นสีเขียวน้อยที่สุด ในขณะที่ค่า b* ซึ่งเป็นค่าแสดงโทนสีน้ำเงินและสีเหลืองมีค่าคงที่ ยกเว้นใบมะกรูดที่ทำแห้งด้วยไมโครเวฟที่มีค่า b*เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และเมื่อพิจารณา การเปลี่ยนแปลงของค่าสีโดยรวม (ΔE) เมื่อเปรียบเทียบกับใบมะกรูดสด พบว่า การทำแห้ง ด้วยไมโครเวฟ จะทำให้การเปลี่ยนแปลง สีของใบมะกรูดมีค่า น้อยที่สุด (6.57±1.73) ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงของค่า a* (Δ a*) จะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าสีโดยรวมมากกว่าการเปลี่ยนแปลงความสว่าง (L*) และค่าความเป็นสีเหลือง (b*)

1.2 ค่าสีใบมะกรูดกึ่งแก่กึ่งอ่อน

การศึกษาค่าสีในใบมะกรูดกึ่งแก่กึ่งอ่อนหลังจากการทำแห้งพบว่า ค่า L* ไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p\geq0.05$) ยกเว้นในใบมะกรูดที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีการทำแห้งแบบลมร้อนซึ่งมีค่า L* เพิ่มขึ้นกว่าใบสดอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) นั้นคือหลังการทำแห้งโดยลมร้อนมีผลให้สีใบมะกรูดสว่างขึ้น ส่วนค่า a* เพิ่มขึ้น คือ ใบมะกรูดมีความเป็นสีเขียวลดลง อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ในทุกวิธีการทำแห้ง (Table 7) โดยการทำแห้งด้วยพลังงานแสงอาทิตย์ พบการเพิ่มขึ้นของ a* มากที่สุดเมื่อเทียบกับใบสด ในขณะที่ค่า b* ลดลงทุกวิธีการทำแห้ง เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงค่าสีโดยรวม (ΔE) พบว่า ใบมะกรูดที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีการไมโครเวฟมีการเปลี่ยนแปลงน้อยที่สุด (3.64±2.16) เมื่อ เปรียบ เทียบกับใบสด ตามด้วยการทำแห้งแบ บลมร้อน

(12.68±0.66) และการทำแห้งโดยพลังงานแสงอาทิตย์ (16.47±2.14) ตามลำดับ ดังนั้นการทำแห้งด้วยไมโครเวฟ เป็นวิธีการที่สามารถ รักษาสีของผลิตภัณฑ์ได้ดีกว่าวิธีอื่นๆ โดยผลของการเปลี่ยนแปลงค่าสีโดยรวม (ΔE) มีผลมาจากการเปลี่ยนแปลงของค่า Δa^* มากที่สุด เช่นเดียวกับในใบมะกรูดแก่

เนื่องจากพืชใบเขียวจะมีคลอโรฟิลล์เป็นรงควัตถุหลัก ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงของสีเนื่องจากการทำแห้ง มีผลจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของคลอโรฟิลล์เป็นสำคัญ ซึ่งปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของคลอโรฟิลล์ มีหลายสาเหตุ โดยอาจเกิดจากเอนไซม์ โดยเอนไซม์คลอโรฟิลเลสจะตัดหมู่ของ phytol ของคลอโรฟิลล์ เปลี่ยนไปอยู่ในรูป chlorophyllin ทำให้มีสีสว่างขึ้น เป็นผลให้ค่า L* เพิ่มขึ้นในใบมะกรูดทั้ง 2 ระยะ หลังการทำแห้ง นอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่น เช่น แสง ออกซิเจน ความร้อน รวมถึงสภาวะที่เป็นกรด ซึ่งส่งผลให้เกิดการแตกออกของวงแหวงแมกนีเซียม โดยอาจถูกแทนที่โดยไฮโดรเจนในระหว่างกระบวนการทำแห้งทำให้คลอโรฟิลล์เปลี่ยนไปอยู่ในรูป pheophytin ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงจากสีเขียวสดเป็นสีเขียวน้ำตาล (olive brown) หรือ pheophorbide ซึ่งจะให้สีน้ำตาล (Elbevon and Schwartz, 1996) โดยจากการทำแห้งทั้ง 3 วิธีพบว่าการทำแห้งโดยไมโครเวฟสามารถรักษาคุณสมบัติของสีไว้ได้ดีที่สุดทั้งในใบแก่ และใบกึ่งแก่กึ่งอ่อน เนื่องจากไมโครเวฟเป็นวิธีการทำแห้งซึ่งใช้หลักการ สลับขั้วของประจุในสนามไฟฟ้า ทำให้โมเลกุลของน้ำในอาหารหมุน เพื่อให้ขั้วสัมพันธ์ กับสนามไฟฟ้า พร้อมกับดูดซับพลังงาน การเคลื่อนที่ของโมเลกุลและการจัดเรียงตัวของโมเลกุล ทำให้เกิดความร้อนขึ้นภายในตัวอาหารเอง อย่างรวดเร็ว ดังนั้นจึงสามารถทำแห้งใบมะกรูดได้ ในระยะเวลาที่สั้นมาก ส่งผลให้ใบมะกรูดสัมผัสกับความร้อนและออกซิเจนน้อยกว่าวิธีอื่นๆ ในขณะที่การทำแห้งโดยลมที่อุณหภูมิประมาณ 55-60^{o}C ร้อนเป็นวิธีที่ใบมะกรูดสัมผัสกับออกซิเจนมาก และนานที่สุด ทำให้เกิดการสลายตัวของคลอโรฟิลล์สูง ส่วนการทำแห้งด้วยพลังงานแสงอาทิตย์ซึ่งมีอุณหภูมิ 60-70 ^{o}C มีทั้งปัจจัยของแสง และออกซิเจน มาเกี่ยวข้อง จึงงมีผลให้เกิดการ สลายตัวของคลอโรฟิลล์ สูงสุดโดยแสง และออกซิเจนเป็นตัวเร่งการเกิดออกซิเดชันที่สำคัญในการทำให้วงไพรรอลแตกออกจากกันทำให้คลอโรฟิลล์เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ซึ่งจะสังเกตด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนในใบมะกรูดที่ผ่านการทำแห้งโดยลมร้อน และการทำแห้งโดยแสงอาทิตย์

Table 6. Effect of drying methods on CIELAB L* a* b* values of old and intermediate kaffir lime leaves

Treatment	Old leaves			Intermediate leaves		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*
Fresh (control)	36.32±0.61^{B}	-12.39±0.33^{D}	27.83±0.62^{B}	47.18±4.06^{B}	-13.73±1.42^{D}	35.09±0.92^{A}
Microwave	41.56±1.51^{A}	-9.28±1.39^{C}	30.14±0.61^{A}	48.50±1.45^{AB}	-11.21±0.38^{C}	34.73±0.53^{A}
Hot air oven	44.54±2.54^{A}	-2.29±1.39^{B}	27.51±0.85^{B}	50.76±3.32^{A}	-2.17±0.70^{D}	31.55±1.84^{B}
Sun dryer	41.07±5.38^{A}	0.30±0.57^{A}	27.18±2.89^{B}	49.76±0.65^{AB}	1.38±0.12^{A}	29.83±0.10^{C}

Note: Data are expressed as mean ± SD of triplicate experiments.

^{ABCD} Mean values in a column with different letters are significantly different ($p<0.05$).

Table 7. Effect of drying methods on numerical total color difference values of old and intermediate kaffir lime leaves

	old leaves				intermediate leaves			
Treatment	ΔE	ΔL*	Δa*	Δb*	ΔE	ΔL*	Δa*	Δb*
Fresh (control)								
Microwave	6.57±1.73^{B}	5.24±1.23^{B}	3.11±1.48^{C}	2.31±0.37^{A}	3.64±2.16^{C}	1.33±2.70^{A}	2.52±1.59^{C}	-0.36 ±0.93^{A}
Hot air oven	13.09±2.54^{A}	8.21±2.27^{A}	10.10±1.47^{B}	-0.32±2.14^{B}	12.68±0.66^{B}	3.58±0.80^{A}	11.56±0.83^{B}	-3.55±1.08^{B}
Sun dryer	14.46±1.75^{A}	4.75±5.12^{B}	12.69±0.66^{A}	- 0.65± 2.51^{B}	16.47±2.14^{A}	2.59±3.44^{A}	15.12±1.49^{A}	-5.26±0.72^{C}

Note: Data are expressed as mean ± SD of triplicate experiments.

^{ABCD} Mean values in a column with different letters are significantly different ($p<0.05$).

1.3 ปริมาณความชื้นและค่า a_w

การศึกษาปริมาณความชื้นของใบมะกรูดสด พบว่าใบมะกรูดแก่มีความชื้น ร้อยละ 65.22 ±0.30 น้อยกว่าใบมะกรูดในระยะ กึ่งแก่กึ่งอ่อน ซึ่งมีความชื้นร้อยละ 73.00±0.20 (Table 8) โดยความชื้นหลังการทำแห้ง ด้วยวิธีต่างๆ ของใบมะกรูดแก่อยู่ในช่วง ร้อยละ 7.43 - 11.88 และในใบมะกรูดกึ่งแก่กึ่งอ่อนความชื้นอยู่ในช่วงร้อยละ 8.14 -12.21 ส่วนค่า a_w ในใบมะกรูดแก่ที่ผ่านการทำแห้งด้วยวิธีต่างๆ อยู่ในช่วง 0.5415 - 0.6706 และค่า a_w ในใบมะกรูดกึ่งแก่กึ่งอ่อน ที่ผ่านการทำแห้งอยู่ในช่วง 0.5119 - 0.6657 โดยการทำแห้งทั้ง 3 วิธีมีผลให้ลดค่า a_w ซึ่งส่งผลในการลดการทำงานของเอนไซม์ และลดการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ เพื่อช่วยยืดอายุการเก็บรักษาในผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการทำแห้ง (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2545)

Table 8. Effect of drying methods on moisture contents and water activity (a_w) of old and intermediate kaffir lime leaves

Treatments	old leaves			intermediate leave		
	Moisture content (%)	a_w	Drying time (min)	Moisture content (%)	a_w	Drying time (min)
Fresh	65.22±0.30^{A}	0.999±0.001^{A}	-	73.00±0.20^{A}	0.999±0.001^{A}	-
Microwave	7.60±0.49^{C}	0.578±0.005^{C}	8	8.14±0.18^{C}	0.542±0.001^{C}	8
Hot air oven	11.88±0.26^{B}	0.666±0.006^{B}	360	12.21±0.29^{B}	0.672±0.004^{B}	360
Sun dryer	7.43±0.11^{C}	0.512±0.001^{C}	240	8.68±0.12^{C}	0.542±0.001^{C}	240

Note: Data are expressed as mean ± SD of triplicate experiments.

^{ABCD} Mean values in a column with different letters are significantly different ($p<0.05$).

2. คุณภาพทางเคมีของใบมะกรูดสดและใบที่ผ่านการทำแห้ง

2.1 สมบัติการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH และปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด

2.1.1 สมบัติการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH และปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด ในใบมะกรูดแก่

สมบัติการ ทำลายอนุมูลอิสระ DPPH โดยแสดงในรูป IC_{50} (The half maximal inhibitory concentration) คือความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถทำลาย อนุมูลอิสระ DPPH ได้ร้อยละ 50 โดยจากการศึกษาสมบัติในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดจาก ใบมะกรูดแก่ พบว่าสารสกัดจาก ใบมะกรูดแก่ที่ผ่านการทำแห้ง แบบลมร้อน และไมโครเวฟ มีความสามารถทำลายอนุมูลอิสระ DPPHเพิ่มมากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับใบสด (Table 9) ส่วน สารสกัดจากใบมะกรูดแก่ จาก การทำแห้ง ด้วยพลังงานแสงอาทิตย์ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเ มื่อเทียบกับใบสด ($p \geq 0.05$) โดยความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ที่สูงที่สุดคือ สารสกัดจากใบมะกรูดแก่ที่ผ่านการทำแห้งโดยการใช้ไมโครเวฟ และลมร้อน โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.42±0.02 และ 0.55±0.20 มิลลิกรัมน้ำหนักแห้ง /มิลลิลิตร ตามลำดับ แต่ความสามารถในการทำ ลายอนุมูลอิสระของสารสกัดจากการทำแห้งทั้งสองวิธีนี้ไม่มีความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$) และเมื่อพิ จารณาปริมาณสาร โพลีฟีนอ ลทั้งหมดพบว่า การทำแห้งทั้ง 3 วิธีไม่ส่งผลให้ปริมาณ โพลีฟีนอลทั้งหมดลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับ ใบมะกรูด สดแก่ (Table 9) ซึ่ง Dewanto และคณะ (2002) พบว่าการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 88 ºC ไม่มีผลให้ปริมาณโพลีฟีนอลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับมะเขือเทศสด ในขณะที่ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นซึ่งอาจเป็นผลมาจากโพลีฟีนอลเปลี่ยนมาอยู่ในรูปอิสระมากขึ้นจึ่ง เพิ่มความสามารถ ในการทำลายอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น ด้วย แต่อย่างไรก็ตามใบมะกรูดแก่ที่ผ่านการทำแห้งโดย ใช้พลังงานแสงอาทิตย์ มีแนวโน้มการลดลงของปริมาณ โพลีฟีนอลมากกว่าการทำแห้งโดยวิธีอื่นๆ ซึ่งอาจมีผลมาจากการทำงานของเอนไซม์ polyphenol oxidase ในระหว่างการทำแห้ง เนื่ องจากอุณหภูมิระหว่าง การทำแห้งโดยแสงอาทิตย์ไม่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้อย่างสมบรูณ์ในทันทีเนื่องจากต้องใช้ระยะเวลาในการเพิ่มของอุณหภูมิ (Lim and Murtijaya, 2007) ซึ่งเอนไซม์ polyphenol oxidase จะสามารถทำงานได้ดีที่อุณหภูมิ 40 ^{o}C และกิจกรรมจะลดลง เมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 40 ^{o}C (Nagai and Suzuki, 2001) จากผลการทดลองในครั้งนี้จะเห็นได้ว่าแม้การทำแห้ง จะไม่มีผลต่อปริมาณโพลีฟีนอลอย่างชัดเจน แต่มีผลทำให้ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH เพิ่มสูงขึ้น ทั้ง นี้ Xu และคณะ (2007) ได้รายงาน ว่าโดยธรรมชาติของสาร โพลีฟีนอล จะจับอยู่ในเซลล์ในรูปที่ยึดกับผนังเซลล์ การให้ความร้อน ที่ 150 ^{o}C อาจมีผลให้ โพลีฟีนอลที่ อยู่ในรูป bound

phenolic compound เปลี่ยนไปอยู่ในรูปอิสระ (free phenolic compound) มากขึ้น ซึ่งจากผลการทดลองอาจเป็นไปได้ว่าไมโครเวฟก่อให้เกิดความร้อนสูงกว่าวิธีอื่นในเวลาอันสั้น ทำให้เกิดสารประกอบฟีนอลิกอิสระมากขึ้น ส่งผลให้เพิ่มความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH มากขึ้นไปด้วย

2.1.2 สมบัติการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH และปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดในใบมะกรูดกึ่งแก่กึ่งอ่อน

สมบัติการ ทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ที่แสดงในรูป IC_{50} ของสารสกัดจาก ใบมะกรูดแสดงให้เห็นว่าใบมะกรูดที่ผ่านการทำแห้งโดยใช้ไมโครเวฟมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับใบสด (Table 9) ซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกัน ที่เกิดขึ้นในใบมะกรูดแก่ ในขณะที่ การทำแห้งโดยลมร้อน และแสงอาทิตย์ไม่มี ผลการเพิ่มสมบัติการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับใบสด ($p \geq 0.05$) ส่วนปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดในใบมะกรูด กึ่งแก่กึ่งอ่อน มีแนวโน้มการเพิ่มขึ้น หลังการทำ แห้งด้วยวิธีการต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการทำแห้งโดยใช้ ไมโครเวฟ (Table 9) โดย Liazid และคณะ (2007) ได้ทำการทดลองให้ความร้อนแก่เมล็ดองุ่น โดยไมโครเวฟ และรายงานว่าสารประกอบโพลีฟีนอล ส่วนใหญ่ทนต่อความร้อนได้มากกว่า 125 ºC โดยสารโพลีฟีนอลกลุ่ม benzoic acids สามารถทนต่อความร้อนได้ที่อุณหภูมิ 150 ºC ในขณะที่สารโพลีฟีนอลบางตัวเท่านั้นคือ kaempferol, resveratrol และ myricetin ซึ่งถูกทำลายอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) เมื่อให้ความร้อนที่ 125 ºC โดยการเสื่อมสลายของสารกลุ่มโพลีฟีนอล มีความสัมพันธ์กับโครงสร้างทางเคมี ของสาร โดยสารที่มีหมู่ hydroxyl ในโครงสร้างของโมเลกุลมากจะเสื่อมสลายได้ง่ายเมื่อได้รับความร้อน ซึ่งการทำแห้งดังกล่าวไม่ได้ใช้อุณหภูมิสูงพอที่จะทำลายโครงสร้างของโพลีฟีนอลได้

เมื่อพิจารณาในใบมะกรูดสดทั้งสองระยะพบว่าปริ มาณของสารโพลีฟีนอลทั้งหมด ในใบมะกรูดแก่ มีปริมาณ 135±19.73 ไมโครกรัมกรดแกลลิก /มิลลิกรัมน้ำหนักแห้ง ในขณะที่ในใบมะกรูดกึ่งแก่กึ่งอ่อนมีปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด 176±11.28 ไมโครกรัมกรดแกลลิก/มิลลิกรัมน้ำหนักแห้ง ซึ่งในใบมะกรูด กึ่งแก่กึ่งอ่อน มีมากกว่าใบมะกรูดแก่ ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจาก ระยะดังกล่าว เป็นช่วงการเจริญเติบโตของพืชจึง จำเป็นต้อง สังเคราะห์ สารป้องกันปฏิกิริยาจากกระบวน การเมทตาบอลิซึม และการเกิดออกซิเดชันระหว่างกระบวนการเจริญเติบโต ซึ่งสารโพลีฟีนอลเป็นตัวทำลายอนุมูลอิสระในเซลล์พืชเพื่อรักษาสมดุลให้กับเซลล์ (Witzell *et al*., 2003) ส่วน Bano และคณะ (2003) ได้รายงานว่าใบ พืชในระยะที่มีการเจริญเติบโตจะมีปริมาณสาร โพลีฟีนอลค่อยๆเพิ่มขึ้นและลดลงอย่างรวดเร็วเมื่อใบแก่ขึ้นเนื่องจากมีการลำเลียงสาร โพลีฟีนอลไปยังส่วนของพืชที่เจริญเติบโตขึ้นใหม่ เช่น ดอก และยอดอ่อน

Table 9. Effect of drying methods on DPPH radical scavenging activity (IC_{50}) and total phenolic contents of old and intermediate kaffir lime leaves

Treatment	Old leaves		Intermediate leaves	
	IC_{50} (mgDM/ml)	Total phenolics (µg gallic acid /mg DM)	IC_{50} (mg DM /ml)	Total phenolics (µg gallic acid /mg DM)
Fresh	1.04 ± 0.17^{A}	135.27 ± 19.73^{A}	0.66 ± 0.27^{A}	176.80 ± 11.28^{B}
Microwave	0.42 ± 0.02^{B}	130.19 ± 12.42^{A}	0.05 ± 0.00^{C}	231.44 ± 38.11^{A}
Hot air oven	0.55 ± 0.20^{B}	133.37 ± 8.60^{A}	0.40 ± 0.11^{AB}	184.54 ± 8.04^{B}
Sun dryer	1.07 ± 0.23^{A}	125.63 ± 3.75^{A}	0.41 ± 0.22^{AB}	191.95 ± 10.28^{B}

Note: Data are expressed as mean ± SD of triplicate experiments (on dry basis).

^{ABCD} Mean values in a column with different letters are significantly difference ($p<0.05$).

2.2 ปริมาณเบต้าแคโรทีน

2.2.1 ปริมาณเบต้าแคโรทีนของใบมะกรูดแก่ที่ผ่านการทำแห้ง

ปริมาณเบต้าแคโรทีนในใบมะกรูดแก่หลังการทำแห้ง ทั้ง 3 วิธีมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับใบมะกรูดสด ซึ่งมีปริมาณเบต้า แคโรทีน 16.28±0.04 ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (Table 10) ในขณะที่ใบมะกรูดที่ผ่านการทำแห้ง โดยใช้ไมโครเวฟมีปริมาณเบต้าแคโรทีน 93.34±0.17 ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง ซึ่งมีค่าสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบการทำแห้งด้วย วิธีการ อื่น ตามด้วยการทำแห้งโดยลมร้อน มีปริมาณเบต้าแคโรทีน 88.50.±0.17 ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง และการทำแห้งโดยแสงอาทิตย์มีปริมาณเบต้าแคโรทีน 48.86±0.04 ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ในแต่ละวิธีการทำแห้ง

2.2.2 ปริมาณเบต้าแคโรทีนของใบมะกรูดกึ่งแก่กึ่งอ่อนที่ผ่านการทำแห้ง

การศึกษาปริมาณเบต้าแคโรทีนในใบมะกรูดกึ่งแก่กึ่งอ่อน หลังการทำแห้งพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงในทำนองเดียวกันกับการทำแห้งใบมะกรูดแก่ โดยใบมะกรูดกึ่งแก่กึ่งอ่อน ที่ผ่านการทำแห้งทั้ง 3 วิธีมีปริมาณเบต้าแคโรทีนเพิ่มมากขึ้นเมื่อเทียบกับใบสด (22.38±0.05 ไมโครกรัม/

กรัมน้ำหนักแห้ง) ดังแสดงใน Table 10 โดยใบมะกรูดที่ผ่านการทำแห้งโดยไมโครเวฟมีปริมาณเบต้าแคโรทีนสูงที่สุดคือ 47.79±0.36 ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง รองลงมาคือใบมะกรูดที่ผ่านการทำแห้งแบบลมร้อนโดยมีปริมาณเบต้าแคโรทีน 37.99±0.12 ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง ตามด้วยใบมะกรูดที่ผ่านการทำแห้งโดยแสงอาทิตย์ (32.41±0.06 ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักแห้)

ผลการศึกษาปริมาณเบต้าแคโรทีนของใบมะกรูดที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีการต่างๆทั้งสองระยะการเจริญเติบโต พบว่าเป็นไปในทิศทางเดียวกัน คือใบมะกรูดที่ผ่านการทำแห้งมีปริมาณเบต้าแคโรทีนเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ($p<0.05$) โดยเฉพาะอย่างยิ่งใบมะกรูดที่ทำแห้งโดยใช้ไมโครเวฟส่งผลให้ปริมาณเบต้าแคโรทีนเพิ่มสูงขึ้นกว่าวิธีการอื่นๆ ในทั้งสองระยะการเจริญเติบโต ซึ่งสอดคล้องกับ Khachick และคณะ (1992) พบว่าการให้ความร้อน แก่ผักใบเขียวได้แก่ บร็อคโคลี ผักขม รวมถึงมะเขือเทศ โดยไมโครเวฟ และการให้ความร้อนโดยใช้ไอน้ำ มีผลให้ปริมาณเบต้าแคโรทีนเพิ่มขึ้น โดย Rodriguez-Amaya (1997) ได้อธิบายว่าความร้อนมีผลต่อความสามารถในการละลายของเบต้าแคโรทีนที่เพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ในพืชใบเขียว จะจับอยู่กับโปรตีนอยู่ ในรูป carotenoid-protein-complex การให้ความร้อนส่งผลให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพทำให้เบต้าแคโรทีนอยู่ในรูปอิสระ และเซลล์พืชมีความอ่อนตัวขึ้นจึงทำเบต้าแคโรทีนถูกปลดปล่อยจากโครงสร้างของเซลล์ได้ง่ายขึ้น อีกทั้งวิธีการทำแห้งโดยไมโครเวฟ เป็นการทำแห้งในเวลาอันสั้นและ เป็นวิธีการทำแห้งที่ใบมะกรูด สัมผัสกับแสงและออกซิเจนในระยะเวลาที่น้อยกว่าวิธีการอื่นๆ ส่งผลให้มีการออกซิเดชันเบต้าแคโรทีนน้อย อย่างไรก็ตามจะเห็นได้ว่าใบมะกรูดสดระยะกึ่งแก่กึ่งอ่อนมีปริมาณเบต้าแคโรทีนสูงกว่าใบแก่ ทั้งนี้อาจเนื่องจากในใบมะกรูดสดทั้งสองระยะมีลักษณะโครงสร้างของ เซลล์ต่างกันเช่น ไฟเบอร์ และสารเคลือบใบ (wax) โดยใบมะกรูดระยะแก่มีปริมาณสารเคลือบผิว และปริมาณไฟเบอร์ที่สูงกว่า จึงอาจเป็นตัวขัดขวางการสกัดเบต้าแคโรทีน ซึ่งในการสกัดเบต้าแคโรทีนในใบสดไม่ ได้ผ่านการให้ความร้อน โดยการทำแห้งมีผลให้เบต้าแคโรทีน ยังคงอยู่ในรูป carotenoid-protein-complex มีผลให้ปริมาณเบต้าแคโรทีนในใบมะกรูด สดแก่มีปริมาณน้อยกว่าในใบ กึ่งแก่กึ่งอ่อน แต่เมื่อผ่านการให้ความร้อนมีผลทำลายสารเคลือบผิว และ ทำให้เซลล์อ่อนตัวลงทำให้การสกัดสารเบต้าแคโรทีนได้ดีขึ้นในใบมะกรูดแก่ นอกจากนี้อาจเป็นไปได้ว่าในใบมะกรูดสด แก่อาจมีการยึดเกาะของเบต้าแคโรทีนภายในเมททริกซ์ของเซลล์ ที่แข็งแรงกว่า เนื่องจาก จะเห็นได้ว่าใบมะกรูดแก่ที่ผ่านการทำแห้งสามารถวิเคราะห์เบต้าแคโรทีนได้เพิ่มขึ้นและมีปริมาณสูง กว่าใบมะกรูดในระยะกึ่งแก่กึ่งอ่อน ซึ่งหน้าที่เบต้าแคโรทีนจะเป็นตัวป้องกันความเสียหายจากอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นภายในเซลล์จากกระบวนการสังเคราะห์แสงของพืช (Hirayama *et al.,* 1994 ; Goowin, 1980) โดย Camara และคณะ (1995) รายงานว่าปริมาณเบต้าแคโรทีนจะมีปรีมาณสัมพันธ์กับปริมาณคลอโรฟิลล์ ในเซลล์พืชที่มี

หน้าที่สังเคราะห์แสงจึงเป็นสาเหตุให้ปริมาณเบต้าแคโรทีนในใบมะกรูดแก่หลังการทำแห้งมีปริมาณเบต้าแคโรทีนสูงกว่าใบมะกรูดกึ่งแก่กึ่งอ่อน

Table 10. Effect of drying methods on β-carotene contents of old and intermediate kaffir lime leaves

Treatment	β -carotene content (μg/g DM)	
	Old leaves	Intermediate leaves
Fresh	16.82 ± 0.04^{D}	22.38 ± 0.05^{D}
Microwave	93.34 ± 0.17^{A}	47.79 ± 0.36^{A}
Hot air oven	$88.50.\pm0.17^{B}$	37.99 ± 0.12^{B}
Sun dryer	48.86 ± 0.04^{C}	32.41 ± 0.06^{C}

Note: Data are expressed as mean ± SD of triplicate experiments (on dry basis)

^{ABCD} Mean values in a column with different letters are significantly difference ($p<0.05$).

2.3 สมบัติการต้านแบคทีเรีย

2.3.1 สมบัติการต้านแบคทีเรียของใบมะกรูดแก่

จากการศึกษาความสามารถในกา รต้านแบคทีเรียของใบมะกรูด พบว่าใบมะกรูดสดแก่ ไม่มีความสามารถในการต้านแบคทีเรีย ทั้ง 4 ชนิดที่ทดสอบ (*S. aureus, E. coli, P. fluorescens, L. monocytogenes*) แต่เมื่อนำใบมะกรูดไปผ่านการทำแห้งพบว่า ประสิทธิ ภาพความสามารถในการต้านแบคทีเรียเพิ่มขึ้น โดย *S. aureus* เป็นเชื้อที่มีความไวต่อสารสกัด ในมะกรูดมากที่สุดเมื่อเทียบกับ *E. coli, P. fluorescens* และ *L. monocytogenes* (Table 11) และเมื่อพิจารณาวิธีการทั้ง 3 วิธีทำแห้งพบว่าสารสกัด ของใบมะกรูด จากการทำแ ห้งโดยพลังงานแสงอาทิตย์ไม่แสดงฤทธิ์ในการต้าน *L. monocytogenes*

2.3.2 สมบัติการต้านแบคทีเรียของใบมะกรูดกึ่งแก่กึ่งอ่อน

จากการศึกษา สมบัติการต้านแบคทีเรียของใบมะกรูด กึ่งแก่กึ่งอ่อน พบว่าความสามารถในการต้านแบคทีเรียคล้ายคลึงกับใบมะกรูดแก่ คือในใบสดไม่มีความสามารถในการต้านแบคทีเรีย โดยความสามารถในการต้านแบคทีเรียของสารสกัดจะมี ประสิทธิภาพเพิ่มขึ้นเมื่อ

ผ่านการทำแห้ง (Table 11) ซึ่งเชื้อ *S. aureus* เป็นเชื้อที่มีความไวต่อสารสกัดมากที่สุด แต่อย่างไรก็ตามสารสกัดของใบมะกรูดที่ทำแห้งโดยพลังงานแสงอาทิตย์ไม่แสดงฤทธิ์ ในการต้านเชื้อ *E. coli, P. fluorescens* และ *L. monocytogenes*

แม้ว่าสารสกัดจากใบมะกรูดสดทั้ง 2 ระยะจะไม่มีความสามารถใน การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิด แต่เมื่อผ่านการทำแห้ง โดยเฉพาะการทำแห้งด้วย ไมโครเวฟส่งผลให้ความสามารถในการต้านแบคทีเรียเพิ่มขึ้น โดยเชื้อ *S. aureus* เป็นเชื้อที่ไวต่อสารสกัดมากที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับร ายงานหลายฉบับที่ระบุว่าเชื้อชนิดนี้มีความไวต่อสารสกัดจากพืชมากที่สุด (Grosvenor *et al.,* 1995; Martínes *et al.,* 1996; Chariandy *et al.,* 1999; Siripongvutikorn *et al.,* 2005) สำหรับการทำแห้งมีผลส่งเสริ มการต้านแบคทีเรียนั้น อาจเป็นผลมาจากการเพิ่มความสามารถในกา รสกัดสารออกฤทธิ์เช่น สารประกอบโพลีฟีนอล ซึ่งรายงานว่ามีสมบัติในการต้านแบคทีเรีย (Puupponen-Pimiä *et al.,* 2001) โดยสารประกอบโพลีฟีนอลสามารถสร้างพันธะไฮโดรเจนกับโมเลกุลอื่นอย่างรวดเร็ว รวมถึงโปรตีนซึ่งเป็นองค์ประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์มีผลให้เยื่อหุ้มเซลล์เสี ยสภาพเชิงหน้าที่ ซึ่งกลไกการต้านแบคทีเรียของสารประกอบโพลีฟีนอลจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสาร โดยกรณีที่มีความเข้มข้นต่ำ สารประกอบโพลีฟีนอลจะมีผลต่อ การทำงานของเอนไซม์ในเซลล์แบคทีเรีย แต่หากความเข้มข้นสูงขึ้นจะมีผลต่อ การตกตะกอนของโปรตีนในไซโทรพลา สซึม (Aurelio *etal*., 2006) แต่ทั้งนี้ยัง ขึ้นอยู่กับชนิดของโพลีฟีนอล ในการยับยั้งแบคทีเรียแต่ละชนิด โดย Vequero และคณะ (2007) รายงานว่าสารโพลีฟีนอล กลุ่ม hydroxycinnamic acids มีฤทธิ์การต้าน *L. monocytogenes* ได้ดีกว่าสารกลุ่ม hydroxybenzoic acids เนื่องจากเป็นสารที่มี ความเป็นขั้วต่ำกว่าสารกลุ่ม hydroxybenzoic acids มากจึงสามารถซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของ *L. monocytogenes* ได้ดีกว่านี้จึงอาจเป็นสาเหตุที่สารสกัดไม่สามารถแสดงฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *L. monocytogenes* ส่งผลต่อการตกตะกอนของโปรตีนในไซโทรพลาสซึม

เมื่อพิจารณาค่า pH หลังการทำแห้งพบว่า ค่า pH ของใบมะกรูดลดลงเมื่อผ่านกระบวนการทำแห้ง จาก pH 5.87 ในใบมะกรูดแก่ลดลงในช่วง pH 5.75-5.81 และ pH 5.83 ในใบมะกรูดกึ่งแก่กึ่งอ่อนลดลงอยู่ในช่วง pH 5.47-5.77 (Table 12) โดยค่ากรดของใบมะกรูดสดระยะแก่เท่ากับ 0.018 เปอร์เซ็นต์กรดซิตริก และเมื่อผ่า นการทำแห้งค่ากรดของใบมะกรูด เพิ่มขึ้น อยู่ในช่วง 0.019-0.022 เปอร์เซนต์กรดซิตริก สอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงค่ากรดในใบมะกรูดกึ่งแก่กึ่งอ่อนที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีการต่างๆ ซึ่งค่ากรดเพิ่มจาก 0.016 เปอร์เซนต์กรดซิตริกในใบสดระยะกึ่งแก่กึ่งอ่อน โดยเพิ่ม มาอยู่ในช่วง 0.018-0.022 เปอร์เซนต์กรดซิตริกในใบ กึ่งแก่กึ่งอ่อน หลังการทำแห้ง ซึ่ง pH เป็นปัจจัยที่ช่วยในการเสริมฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียเช่นกัน (Davidson, 2001;

Marquis *et al*., 2003) ซึ่งความสำคัญของค่า pH ในการออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของกรดอินทรีย์เกี่ยวข้องกับการแตกตัวของกรด ในกรณีที่ค่า pH ต่ำ กรดอินทรีย์ส่วนใหญ่อยู่ในรูปที่ไม่แตกตัว กรดอินทรีย์ที่ไม่แต กตัวดังกล่าว สามารถ ดูดซึมผ่านเข้าสู่เซลล์แบคทีเรีย เมื่อเข้าสู่ส่วนไซโทรพลาสซึมเซลล์แบคทีเรียที่มีค่า pH สูง กรดจึงเกิดการแตกตัวภายในเซลล์แบ คทีเรีย ส่งผลให้ลดระดับค่า pH ภายในเซลล์ ยับยั้งปฏิกิริยาของเอนไซม์ แม้ว่าฤทธิ์ความสามารถในการต้านแบคทีเรียของสารสกัดในใบมะกรูดจะน้อยมากเมื่อเทียบกับ tetracycline แต่ก็เป็นทางเลือกหนึ่งในการเป็นสารต้านแบคทีเรียในอาหารเนื่องจากเป็นสารสกัดจากธรรมชาติ

Table 11. Antimicrobial activity (10^5 CFU/ml) of old and intermediate kaffir lime leaves by disc diffusion method

Treatment	Old leaves				Intermediate leaves			
	S.au	*E.coli*	*Ps.fl*	*L.mono*	*S.au*	*E.coli*	*Ps.fl*	*L.mono*
Fresh	0	0	0	0	0	0	0	0
Microwave	++	+	+	+	++	+	+	+
Hot air oven	++	+	+	+	++	+	+	+
Sun dryer	++	+	+	0	+	0	+	0
Negative control (ethanol 70%)	0	0	0	0	0	0	0	0
positive control (tetracycline 30 µg)	2.97±0.06	2.5±0.00	2.5±0.00	3.3±0.17	2.97±0.06	2.5±0.00	2.5±0.00	3.3±0.17

Note: *S. au = Staphylococcus aureus, E. coli = Escherichia coli, Ps.fl = Pseudomonas fluorescens, L.mono = Listeria monocytogenes*

0 = no inhibition zone, + = 0.7-0.89 cm, ++ = >0.9 cm – 1.0 cm

Table 12. pH and total acidity of old and intermediate kaffir lime leaves drying with different methods

	old leaves		intermediate leaves	
Treatment	pH	% acidity (/ml)	pH	% acidity (/ml)
Fresh	5.87±0.01^{A}	0.018±0.000^{A}	5.83±0.01^{A}	0.016±0.003^{A}
Microwave	5.75±0.01^{C}	0.022±0.003^{A}	5.47±0.01^{D}	0.022±0.003^{A}
Hot air oven	5.81±0.01^{B}	0.021±0.003^{A}	5.52±0.01^{C}	0.019±0.000^{A}
Sun dryer	5.82±0.01^{B}	0.019±0.003^{A}	5.77±0.01^{B}	0.018±0.006^{A}

Note: Data are expressed as mean ± SD of triplicate experiments.

^{ABC} Mean values in a column with different letters are significantly difference ($p<0.05$).

2.4 ปริมาณ citronellal

2.4.1 ปริมาณ citronellal ของใบมะกรูดระยะใบแก่

จากการศึกษาปริมาณน้ำมันหอมระเหย citronellal ดังแสดงใน Table 13 ซึ่งเป็นเป็นสารประกอบหลักในใบมะกรูด (ร้อยละ 65.4) (Lawrence *et al*., 1970) พบว่าใบมะกรูดที่ผ่านการทำแห้งทั้ง 3 วิธีมีปริมาณของ citronellal ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับใบสดซึ่งมีปริมาณ citronellal โดยเฉลี่ยเท่ากับ 195.93±0.95 ไมโครลิตร/100 กรัมน้ำหนักแห้ง อย่างไรก็ตาม การทำแห้งแบบไมโครเวฟ สามารถคงปริมาณ citronellal ในใบมะกรูดไว้ได้มากที่สุด (110.49 ไมโครลิตร/100 กรัมน้ำหนักแห้ง) ตามด้วย การทำแห้งแบบลมร้อน และการทำแห้งโดยพลังงานแสงอาทิตย์

2.4.2 ปริมาณ citronellal ของใบมะกรูดระยะใบกึ่งแก่กึ่งอ่อน

ผลการศึกษาปริมาณ citronellal ของใบมะกรูดสดและที่ผ่านการทำแห้งใ นระยะใบกึ่งแก่กึ่งอ่อน ดังแสดงใน Table 13 ซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับปริมาณ citronellal ในใบมะกรูดแก่ กล่าวคือปริมาณ citronellal ของใบมะกรูดระยะ กึ่งแก่กึ่งอ่อน ที่ผ่านการทำแห้งทั้ง 3 วิธี ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อ เปรียบเทียบกับใบมะกรูดสด 157.68±1.66 ไมโครลิตร/100 กรัมน้ำหนักแห้ง โดยใบมะกรูดที่ผ่านกา รทำแห้งโดยใช้ ไมโครเวฟ,การทำแห้งแบบลมร้อน และการทำแห้งโดยพลังงานแสงอาทิตย์ มีปริมาณ citronellal 71.87 13.65 และ19.43 ไมโครลิตร/100 กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

จากการศึกษาพบว่าการทำแห้งโดยไมโครเวฟสามารถรักษาปริมาณ citronellal ไว้ได้สูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการทำแห้งวิธีอื่นๆ ทั้งนี้อาจเนื่องจากการทำแห้งโดยไมโครเวฟเป็นการทำแห้งในระยะเวลาอันสั้นทำให้เกิดการออกซิเดชันของน้ำมันหอมระเหย โดยแสง และออกซิเจนได้น้อยกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับการทำแห้งแบบลมร้อนและพลังงานแสงอาทิตย์ที่ ใบมะกรูดสัมผัสกับแสง และอากาศโดยตรง ซึ่ง Sinki และคณะ (1997) ได้รายงานว่าน้ำมันหอมระเหยจะเกิดการออกซิเดชันเนื่องจากปัจจัยของอุณหภูมิ แสง โลหะ และออกซิเจน

Table 13. The citronellal contents of old and intermediate kaffir lime leaves drying with different methods

Treatments	Citronellal contents (µl/100g dry basis)	
	Old leaves	Intermediate leaves
Fresh	195.93±0.95^{A}	157.68±1.66^{A}
Microwave	110.49±0.82^{B}	71.87±0.70^{B}
Hot air oven	22.41±0.07^{C}	19.43±0.09^{C}
Sun dryer	18.49±0.03^{D}	13.65±0.24^{D}

Note: Data are expressed as mean ± SD of triplicate experiments (on dry basis)

^{ABCD} Mean values in a column with different letters are significantly difference ($p<0.05$).

3. การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

3.1 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของใบมะกรูดแก่

จากการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสทางด้านสี กลิ่น ลักษณะปรากฏ และความชอบรวมดังแสดงใน Figure 12 A พบว่าใบมะกรูดที่ผ่านการทำแห้งโดยไมโครเวฟมีคะแนนความชอบทางประสาทสัมผัส สูงที่สุดในทุกคุณลักษณะซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับ ใบมะกรูดที่ผ่าน การทำแห้งโดยวิธีอื่น รองลงมาได้แก่ใบมะกรูดที่ ทำแห้งโดยพลังงานแสงอาทิตย์และการทำแห้งโดยลมร้อน ตามลำดับ แต่ใบมะกรูดที่ได้จากวิธีการทั้ง 2 ไม่แตกต่างกันทางสถิติยกเว้นคุณลักษณะของกลิ่น

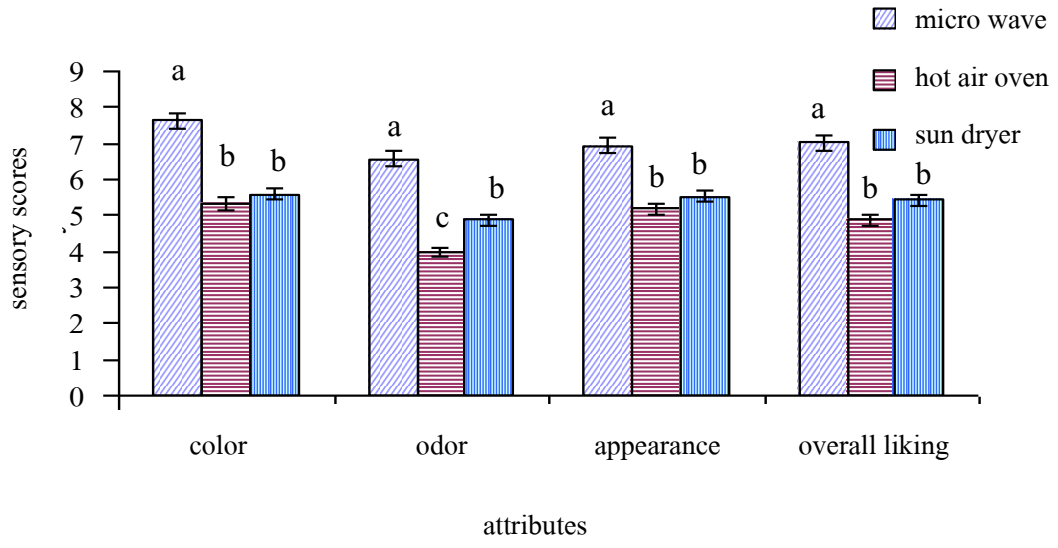
3.2 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของใบมะกรูดกึ่งแก่กึ่งอ่อน

ผลของการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของใบมะกรูด กึ่งแก่กึ่งอ่อน เป็นไปในทิศทางเดียวกับผลการประเมินคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของใบมะกรูดแก่ ดัง แสดง

ใน Figure 12 B ซึ่งจะเห็นว่าคะแนนการ ประเมินทางประสาทสัมผัสของ ใบมะกรูดที่ผ่านการทำแห้งโดยไมโครเวฟมีคะแนนสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ในทุกคุณลักษณะ ตามด้วยการทำแห้งโดยพลังงานแสงอาทิตย์และการทำแห้งโดยลมร้อน โดยการประเมินทางประสาทสัมผัส ของใบมะกรูดที่ทำแห้งด้วยลมร้อนและพลังงานแสงอาทิตย์ ไม่มีคว ามแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p\geq0.05$) ยกเว้นคุณลักษณะเรื่องกลิ่นซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการทำแห้งใบมะกรูดทั้ง 2 ระยะด้วยไมโครเวฟสามารถคงคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสไว้ได้ดีที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงค่ าสี Δ E โดยพบว่าค่าΔE ใบมะกรูดที่ผ่านการทำแห้งโดยใช้ไมโครเวฟ มีสีใกล้เคียงกับใบสดมากที่สุด นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับปริมาณ citronellal ซึ่งเป็นสารประกอบหลักในการกำหนดคุณลักษณะของกลิ่นเฉพาะ ของใบมะกรูด ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าการทำ แห้งใบมะกรูดด้วย ไมโครเวฟเป็นวิธี ที่ได้รับคะแนนการยอมรับมากที่สุด ซึ่งเป็นวิธีที่นำมาศึกษา การเปลี่ยนแป ลงระหว่าง การเก็บรักษาของใบมะกรูดที่ผ่านการทำแห้งต่อไป

(A)



(B)

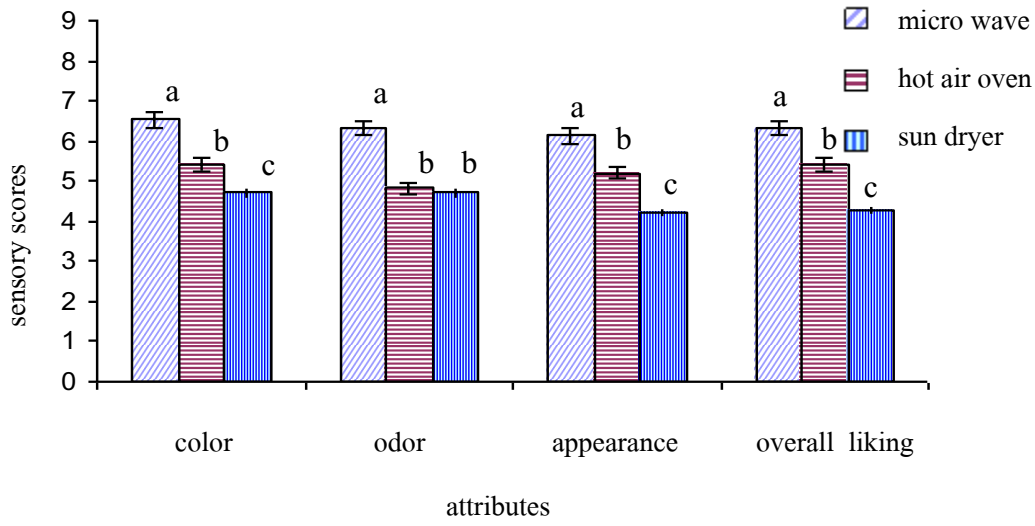


Figure 12. (A) Sensory analysis of old stage kaffir lime leaves, (B) Sensory analysis of intermediate kaffir lime leaves after drying.
The data are expressed as means ± SD.

4. การเปลี่ยนแปลง ทางกายภาพ ของใบมะกรูดที่ผ่านการทำแห้ง โดยไมโครเวฟในระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 175 วัน

4.1 การเปลี่ยนแปลงค่าสีของใบมะกรูดแก่ที่ผ่านการทำแห้งโดยไมโครเวฟในระหว่างการเก็บรักษา 175 วัน

การเปลี่ยนแปลงค่าสีของใบมะกรูด แก่ที่ผ่านการทำแห้งโดยไมโครเวฟ โดยบรรจุในถุง 2 ชนิดคือ ลามีเนตฟอยล์ และLDPE (Table 14) พบว่าค่า L* ของใบมะกรูดแห้งที่บรรจุในถุงลามีเนตฟอยล์ลดลงจาก 41.56±1.51 ที่เก็บในวันแรก เป็น 39.67±0.22 เมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษา ในขณะที่ค่า a* เพิ่มขึ้นจาก -9.28±1.39 เป็น -0.72±0.09 โดยมีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเก็บรักษา 175 วัน แสดงให้เห็นว่าเมื่อการเก็บรักษานานขึ้นใบมะกรูดแห้ง มีค่าความเป็นสีเขียวลดลง สำหรับการเก็บรักษาของใบมะกรูดที่ผ่านการทำแห้งบรรจุในถุง LDPE พบว่าค่า L* เพิ่มขึ้นจาก 41.56±1.51 เป็น 45.76±0.52 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าใบมะกรูดแห้ง ที่บรรจุในถุง LDPE มีสีสว่างขึ้นเมื่อผ่านการเก็บรักษา ส่วนค่า a* มีค่าเพิ่มขึ้นจาก -9.28±1.39 เป็น 0.16±0.03 แสดงว่ามีความเป็นสีเขียวลดลง ในขณะที่ค่า b* มีค่าเพิ่มขึ้นทั้งในการบรรจุด้วยลามิเนต ฟอยล์ และ LDPE เมื่อผ่านเก็บรักษานานขึ้น เมื่อพิจารณา ΔL^*, Δa^* และ Δb^* ที่แสดงใน Table 15 เปรียบเทียบกับ

ค่าสีของใบมะกรูดสดพบว่า ใบมะกรูดที่ผ่านการเก็บรักษาทั้งที่บรรจุในถุง ลามีเนตฟอยล์ และถุง LDPE มีแนวโน้มที่ Δa^* เพิ่มขึ้นหลังการเก็บรักษา ในขณะที่ ใบมะกรูดที่เก็บรักษาในถุงลามีเนตฟอยล์มีค่า ΔL^* ลดลงใกล้เคียงกับค่าความสว่างของ ในใบสดมากขึ้น ส่วนใบมะกรูดที่เก็บรักษาในถุง LDPE มีค่า ΔL^* และค่า Δa^* เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญระหว่าง 2 บรรจุภัณฑ์ ($p<0.05$) เนื่องจากบรรจุภัณฑ์ไม่สามารถป้องกันแสง ได้ส่งผลให้เกิดการเสื่อมสลายของคลอโรฟิลล์ แต่อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนแปลงของค่า Δb^* ไม่มีรูปแบบที่แน่ชัดในทั้ง 2 บรรจุภัณฑ์ จากผลการทดลองพบว่า ΔE (Figure 13) ของใบมะกรูดที่ผ่านการทำแห้งและ บรรจุโดยถุง LDPE มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) เมื่อเก็บรักษาได้ 50 วัน ในขณะที่ใบมะกรูดที่บรรจุด้วยถุงลามิเนตฟอยล์มีการเปลี่ยนแปลงค่าสี ΔE อย่างชัดเจนเมื่ออายุการเก็บรักษา 100 วัน จึงแสดงให้เห็นว่าการเก็บใบมะกรูดโดยบรรจุในถุง LDPE สามารถรักษาคุณลักษณะด้าน สีไว้ได้เพียง 25 วันแรกของการเก็บรักษา ในขณะที่ใบมะกรูดที่เก็บรักษาในถุงลามีเนตฟอลย์สามารถรักษาคุณลักษณะด้านสีไว้ได้เมื่อเก็บรักษาที่ 75 วัน

Table 14. Effect of packaging on CIELAB L* a* b* values during storage of dried old kaffir lime leaves by microwave drying

Storage	Laminated foil			LDPE		
(days)	L*	a*	b*	L*	a*	b*
0	41.56 ± 1.51^{Aa}	-9.28 ± 1.39^{Ea}	30.14 ± 0.61^{Aa}	41.56 ± 1.51^{Ca}	-9.28 ± 1.39^{Da}	30.14 ± 0.61^{Aa}
25	38.71 ± 0.65^{BCb}	-5.83 ± 0.28^{Da}	27.84 ± 0.90^{Ca}	39.76 ± 0.50^{Da}	-5.14 ± 0.73^{Ca}	27.26 ± 1.02^{BCa}
50	37.16 ± 0.26^{Cb}	-6.03 ± 0.60^{Db}	27.25 ± 0.18^{Cb}	42.56 ± 0.22^{BCa}	-1.18 ± 0.15^{Ba}	29.28 ± 0.43^{Ba}
75	38.17 ± 0.28^{BCb}	-5.53 ± 0.09^{Db}	29.02 ± 0.27^{Ba}	43.84 ± 0.28^{BCa}	-1.11 ± 0.12^{Ba}	27.38 ± 0.41^{BCb}
100	38.64 ± 0.13^{BCb}	-2.42 ± 0.11^{Cb}	27.66 ± 0.17^{Ca}	44.20 ± 0.21^{Ba}	0.16 ± 0.22^{ABa}	26.56 ± 0.36^{Db}
125	38.94 ± 0.62^{BCb}	-1.03 ± 0.08^{Bb}	28.66 ± 0.25^{Ba}	44.71 ± 0.40^{ABa}	0.42 ± 0.10^{Aa}	27.55 ± 0.34^{BCb}
150	39.71 ± 0.30^{Bb}	-1.22 ± 0.15^{BCb}	29.18 ± 0.13^{Ba}	42.53 ± 0.28^{BCa}	0.48 ± 0.05^{Aa}	27.90 ± 0.63^{Cb}
175	39.67 ± 0.22^{Bb}	-0.72 ± 0.09^{Ab}	28.91 ± 0.08^{Ba}	45.76 ± 0.52^{Aa}	0.16 ± 0.03^{ABa}	23.97 ± 0.13^{Eb}

Note: Data are expressed as mean ± SD of triplicate experiments

^{ABCDE} Mean values in a column with different letters are significantly difference ($p<0.05$).

^{ab} Mean values in row with different letters at the same value are significantly difference ($p<0.05$).

Table 15. Effect of packaging on lightness difference (Δ L*), redness difference (Δ a*) and yellowness difference (Δ b*) of old kaffir lime leaves dried by microwave during storage compare with fresh leaves

Storage	Laminated foil			LDPE		
(days)	ΔL*	Δa*	Δb*	ΔL*	Δa*	Δb*
0	6.28±0.33^{Aa}	4.46±0.06^{Fa}	2.45±0.05^{Aa}	6.28±0.33^{Da}	4.46±0.06^{Ea}	2.45±0.50^{Aa}
25	2.39±0.65^{CDb}	6.56±0.28^{Eb}	0.01±0.90^{Ca}	3.44±0.50^{Ea}	7.25±0.73^{Da}	-0.57±1.02^{CDb}
50	0.84±0.26^{Eb}	6.36±0.60^{Eb}	-0.58±0.18^{Cb}	6.24±0.22^{Da}	11.21±0.15^{Ca}	1.45±0.43^{Ba}
75	1.85±0.28^{Db}	6.86±0.10^{Db}	1.19±0.27^{Ba}	7.52±0.28^{Ca}	11.28±0.12^{Ca}	-0.45±0.41^{CDb}
100	2.32±0.13^{CDb}	9.97±0.11^{Cb}	-0.17±0.17^{Ca}	7.88±0.21^{BCa}	12.55±0.22^{Ba}	-1.27±0.36^{Db}
125	2.62±0.13^{Cb}	11.36±0.08^{Bb}	0.83±0.25^{Ba}	8.34±0.40^{Ba}	12.81±0.10^{Aa}	-0.28±0.34^{Cb}
150	3.39±0.30^{Bb}	11.17±0.15^{Bb}	1.35±0.13^{Ba}	6.21±0.27^{Da}	12.87±0.05^{Aa}	0.07±0.63^{Cb}
175	3.35±0.22^{Bb}	11.67±0.09^{Ab}	1.08±0.08^{Ba}	9.44±0.52^{Aa}	12.23±0.03^{BCa}	-3.86±0.13^{Eb}

Note: Data are expressed as mean ± SD of triplicate experiments.

^{ABCDE} Mean values in a column with different letters are significantly difference ($p<0.05$).

^{ab} Mean values in row with different letters at the same value are significantly difference ($p<0.05$).

4.2 การเปลี่ยนแปลงค่าสีของใบมะกรูดกึ่งแก่กึ่งอ่อนที่ผ่านการทำแห้งโดยไมโคร เวฟในระหว่างการเก็บรักษา 175 วัน

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่าสี L*, a* และ b* ของใบมะกรูดแห้งระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งแสดงใน Table 16 พบว่าใบมะกรูดที่ผ่านการทำแห้งโดยไมโครเวฟในระยะใบ กึ่งแก่กึ่งอ่อนและบรรจุในถุงลามิเนตฟอยล์เก็บรักษานาน 175 วัน มีการเปลี่ยนแปลงของค่า L* ลดลงจาก 48.50±1.45 เป็น 46.85±0.23 ในขณะที่ใบมะกรูดที่เก็บรักษา ในถุง LDPE นาน 175 วัน มีค่า L* เพิ่มขึ้นจาก 48.50±1.45 เป็น 51.16±0.30 อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ในขณะที่ค่า a* มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น และค่า b* มีแนวโน้มลดลง ทั้งในใบมะกรูดที่บรรจุใน ถุงลามิเนตฟอยล์และถุง LDPE และเมื่อพิจารณาค่า ΔL*, Δa* และ Δb* ใน Table 17 พบว่า ใบมะกรูดแห้งที่บรรจุในถุง ลามีเนตฟอยล์มีค่า ΔL* ลดลง และใบมะกรูดที่บรรจุในถุง LDPE มีค่า ΔL* เพิ่มขึ้นเมื่ออายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ในขณะที่การเปลี่ยนแปลง Δa* มีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นทั้งในใบมะกรูดที่เก็บใน ถุงลามิเนตฟอยล์ และLDPE โดยมีการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจนเมื่อเก็บรักษาที่ 25 วัน ซึ่งสอดคล้องกับ การ

เปลี่ยนแปลงค่าสีโดยรวม (ΔE) ที่แสดงใน Figure 13 พบว่าการเปลี่ยนแปลงของค่า ΔE มีการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจนเมื่อเก็บรักษาที่ 25 วัน ในทั้งสองบรรจุภัณฑ์

Table 16. Effect of packaging on CIELAB L* a* b* values during storage of dried intermediate kaffir lime by microwave drying

Storage (days)	Laminated foil			LDPE		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*
0	48.50 ± 1.45^{Aa}	-11.21 ± 0.38^{Ja}	34.73 ± 0.53^{A}	48.50 ± 1.45^{Ca}	-11.21 ± 0.38^{Fa}	34.73 ± 0.53^{Aa}
25	44.82 ± 0.03^{DEb}	-3.89 ± 0.06^{Fb}	31.47 ± 0.04^{Ca}	47.39 ± 0.03^{Ca}	-1.68 ± 0.08^{Ea}	29.51 ± 0.07^{Cb}
50	45.57 ± 0.40^{DEb}	-1.85 ± 0.11^{Eb}	32.73 ± 0.16^{Ba}	47.25 ± 0.87^{Ca}	-0.25 ± 0.21^{BCa}	28.30 ± 0.52^{Db}
75	44.42 ± 0.42^{Eb}	-1.30 ± 0.17^{Db}	31.59 ± 0.32^{Ca}	47.31 ± 0.28^{Ca}	0.09 ± 0.02^{Ba}	30.82 ± 0.38^{Bb}
100	46.09 ± 0.61^{CDb}	-1.20 ± 0.16^{Db}	31.67 ± 0.73^{Ca}	51.07 ± 0.10^{Ba}	0.10 ± 0.09^{Ba}	26.80 ± 0.50^{EFb}
125	46.61 ± 0.13^{BCb}	-0.73 ± 0.16^{Cb}	31.29 ± 0.15^{Ca}	52.80 ± 0.15^{Aa}	-0.43 ± 0.12^{CDa}	26.71 ± 0.32^{Ab}
150	47.67 ± 0.15^{ABb}	0.55 ± 0.02^{Aa}	31.02 ± 0.13^{Ca}	50.75 ± 0.07^{Ba}	0.64 ± 0.10^{Aa}	27.44 ± 0.03^{Eb}
175	46.85 ± 0.23^{BCb}	-0.17 ± 0.15^{Ba}	30.22 ± 0.14^{Ca}	51.16 ± 0.30^{Ba}	-0.67 ± 0.07^{Db}	26.16 ± 0.13^{Fb}

Note: Data are expressed as mean ± SD of triplicate experiments.

^{ABCDEF} Mean values in a column with different letters are significantly difference ($p<0.05$).

^{ab} Mean values in row with different letters at the same value are significantly difference ($p<0.05$).

Table 17. Effect of packaging on lightness difference (Δ L*), redness difference (Δ a*) and yellowness difference (Δ b*) of intermediate kaffir lime leaves dried by microwave during storage compare with fresh leaves

Storae	Laminated foil			LDPE		
(days)	ΔL*	Δa*	Δb*	ΔL*	Δa*	Δb*
0	-1.10±0.69^{CDa}	1.11±0.54^{Fa}	0.34±0.75^{Aa}	-1.10±0.69^{Da}	1.11±0.54^{Fa}	0.34±0.75^{Aa}
25	-2.36±0.03^{Eb}	9.84±0.06^{Eb}	-3.62±0.04^{Ca}	0.21±0.03^{Ca}	12.05±0.08^{Ea}	-5.58±0.07^{Cb}
50	-1.61±0.40^{Db}	11.88±0.11^{Db}	-2.36±0.16^{Ba}	0.70±0.87^{Ca}	13.48±0.21^{BCa}	-6.79±0.52^{Db}
75	-2.76±0.42^{Eb}	12.43±0.17^{Cb}	-3.50±0.32^{Ca}	0.13±0.28^{Ca}	13.82±0.02^{Ba}	-4.27±0.38^{Bb}
100	-1.09±0.61^{CDb}	12.53±0.16^{Cb}	-3.42±0.73^{Ca}	3.89±0.10^{Ba}	13.83±0.09^{Ba}	-8.29±0.50^{EFb}
125	-0.57±0.13^{BCb}	13.00±0.16^{Bb}	-3.80±0.15^{Ca}	5.62±0.15^{Aa}	13.30±0.12^{CDa}	-8.38±0.32^{EFb}
150	0.49±0.15^{Ab}	14.28±0.02^{Aa}	-4.07±0.13^{Ca}	3.57±0.07^{Ba}	14.37±0.10^{Aa}	-7.65±0.32^{Eb}
175	-0.33±0.23^{Bb}	13.90±0.15^{Ab}	-4.87±0.14^{Da}	3.98±0.30^{Ba}	13.06±0.07^{Da}	-8.93±0.13^{Fb}

Note: Data are expressed as mean ± SD of triplicate experiments.

^{ABCDEF} Mean values in a column with different letters are significantly difference ($p<0.05$).

^{ab} Mean values in row with different letters at the same value are significantly difference ($p<0.05$).

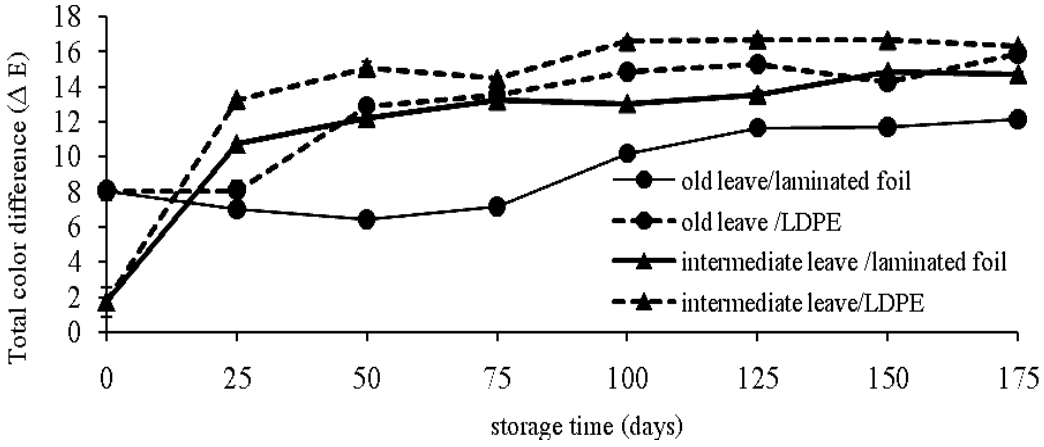


Figure 13. The effect of packaging on the numerical total color difference (Δ E) of dried kaffir lime leaves by microwave during storage

4.3 ปริมาณความชื้นและวอเตอร์แอกติวิตี (a_w)

4.3.1 การเปลี่ยนแปลงความชื้นแ ละค่า a_w ของใบมะกรูดแก่ที่ผ่านการทำแห้งโดยไมโครเวฟในระหว่างการเก็บรักษา 175 วัน

ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษาใบมะกรูด แก่ที่ผ่านการทำแห้งบรรจุในถุงลามิเนต ฟอยล์ ต่อความชื้น และค่า a_w (Table 18) พบว่า ความชื้นเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการเก็บรั กษาเพิ่มขึ้น จากร้อยละ 7.60±0.49 เป็นร้อยละ 8.79±0.01 แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p\geq0.05$) ในช่วงการเก็บรักษา 100 วันแรก ในขณะที่ค่า a_w ก็มีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นเมื่ออายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นเช่นกัน โดยค่า a_w เท่ากับ 0.5188±0.001 เมื่อเก็บรักษาได้ 175 วัน ในขณะที่ใบมะกรูดที่บรรจุในถุง LDPE มีความชื้นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) เมื่อเก็บรักษาได้ 25 วัน และมีการเปลี่ยนแปลง เพิ่มขึ้น อย่าง ไม่มีนัยสำคัญ ($p\geq0.05$) ในระหว่างการเก็บรักษาที่ 25 วันถึง 175 วัน โดยความชื้นอยู่ในช่วงร้อยละ 8.23±0.27 ถึงร้อยละ 9.23±0.74 โดยเมื่อพิจารณาถึงปริมาณความชื้นของใบมะกรูดที่บรรจุในทั้งสอง บรรจุภัณฑ์พบว่าความชื้นไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p\geq0.05$) ซึ่งอาจเป็นผลมาช่องว่าง เหนืออาหาร ภายในถุงจึงเกิดการเคลื่อนย้ายน้ำจากใบมะกรูดเข้าสู่ช่องว่าง ภายในถุงเพื่อให้เข้าสู่สม ดุลของน้ำในภาชนะบรรจุ นอกจากนี้อาจเป็นผลมาจากใบมะกรูดมีการดูดความชื้นถึงจุดอิ่มตัวแล้วในสภาวะดังกล่าว จึงไม่มีการเปลี่ยนแปลงของความชื้นอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อระยะการเวลาเก็บรักษาเพิ่มขึ้น

Table 18. The moisture contents and water activity during storage of dried old kaffir lime leaves by microwave drying

Storage (days)	Laminated foil		LDPE	
	Moisture content (%)	a_w	Moisture content (%)	a_w
0	7.60 ± 0.49^{Ba}	0.4135 ± 0.001^{Fa}	7.60 ± 0.50^{Ca}	0.4135 ± 0.001^{Ha}
25	8.08 ± 0.15^{ABb}	0.4157 ± 0.001^{Eb}	8.77 ± 0.25^{ABa}	0.4314 ± 0.001^{Ga}
50	8.08 ± 0.58^{ABa}	0.4188 ± 0.001^{Eb}	8.23 ± 0.27^{ABa}	0.4388 ± 0.001^{Fa}
75	8.08 ± 0.15^{ABb}	0.4212 ± 0.001^{Eb}	8.77 ± 0.25^{ABa}	0.4480 ± 0.001^{Ea}
100	8.20 ± 0.32^{ABb}	0.4279 ± 0.001^{Db}	8.68 ± 0.06^{ABa}	0.4591 ± 0.004^{Da}
125	8.67 ± 0.36^{Aa}	0.4313 ± 0.001^{Cb}	8.73 ± 0.21^{BCa}	0.4871 ± 0.009^{Ca}
150	8.49 ± 0.38^{Aa}	0.4417 ± 0.001^{Bb}	8.66 ± 0.05^{ABa}	0.5043 ± 0.001^{Ba}
175	8.79 ± 0.01^{Aa}	0.5188 ± 0.001^{Ab}	9.23 ± 0.74^{Aa}	0.5524 ± 0.004^{Aa}

Note: Data are expressed as mean ± SD of triplicate experiments.

^{ABCDEFGH} Mean values in a column with different letters are significantly difference($p<0.05$).

^{ab} Mean values in row with different letters at the same value are significantly difference ($p<0.05$).

4.3.2 การเปลี่ยนแปลงความชื้นและค่า a_w ของใบมะกรูดกึ่งแก่กึ่งอ่อนที่ผ่านการทำแห้งโดยไมโครเวฟในระหว่างการเก็บรักษา 175 วัน

การเปลี่ยนแปลงความชื้น และค่า a_w ของใบมะกรูดกึ่งแก่กึ่งอ่อน ที่ผ่านการทำแห้งโดยไมโครเวฟระหว่างการเก็บรักษามีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงรูปแบบเดียวกันกับการเก็บรักษาของใบมะกรูดแก่ โดยพบว่าใบมะกรูดที่ผ่านการทำแห้งที่บรรจุในถุงลามิเนต ฟอยล์ มีการเปลี่ยนแปลงอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p\geq0.05$) (Table 19) ในระหว่างการเก็บรักษา 100 วันแรก แต่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 125 วัน หลังจากนั้นมีการเปลี่ยนแปลงอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p\geq0.05$) ในระหว่างการเก็บรักษาที่ 125 ถึง 175 วัน โดยมีความชื้นร้อยละ 9.53 ± 0.11 เมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษา ในขณะที่ค่า a_w เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) หลังจากเก็บรักษาที่ 25 วัน และเพิ่มขึ้นเป็น 0.5144 ± 0.006 เมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษาที่ 175 วัน สำหรับใบมะกรูดที่ผ่านการทำแห้งบรรจุในถุง LDPE พบว่าความชื้นมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ในระหว่างการเก็บรักษาจน

ความชื้นเท่ากับร้อยละ 10.73±0.13 เมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษาที่ 175 วัน และค่า a_w เพิ่มขึ้น อย่างต่อเนื่องจาก 0.4250±0.002 เป็น 0.5496±0.001 เมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษา

Table 19. The moisture contents and water activity during storage of dried intermediate kaffir lime by microwave drying

Storage (days)	Laminated foil		LDPE	
	Moisture content (%)	a_w	Moisture content (%)	a_w
0	8.14 ± 0.18^{Ba}	0.4250 ± 0.002^{Fa}	8.14 ± 0.18^{Da}	0.4250 ± 0.002^{Ha}
25	8.60 ± 0.28^{Ba}	0.4278 ± 0.002^{Fb}	8.56 ± 0.15^{BCDa}	0.4365 ± 0.001^{Ga}
50	8.65 ± 0.03^{Ba}	0.4376 ± 0.001^{Eb}	8.72 ± 0.22^{BCa}	0.4443 ± 0.003^{Fa}
75	8.60 ± 0.28^{Ba}	0.4477 ± 0.002^{Db}	8.38 ± 0.19^{CDa}	0.4513 ± 0.001^{Ea}
100	8.53 ± 0.42^{Ba}	0.4604 ± 0.003^{Cb}	8.93 ± 0.38^{Ba}	0.4584 ± 0.004^{Da}
125	9.26 ± 0.19^{Ab}	0.4978 ± 0.005^{Bb}	10.50 ± 0.13^{Aa}	0.5065 ± 0.005^{Ca}
150	9.44 ± 0.41^{Ab}	0.5104 ± 0.001^{Ab}	10.60 ± 0.30^{Aa}	0.5323 ± 0.002^{Ba}
175	9.53 ± 0.11^{Ab}	0.5144 ± 0.006^{Ab}	10.73 ± 0.13^{Aa}	0.5496 ± 0.001^{Aa}

Note: Data are expressed as mean ± SD of triplicate experiments.

^{ABCDEFGH} Mean values in a column with different letters are significantly difference($p<0.05$).

^{ab} Mean values in row with different letters are significantly difference ($p<0.05$).

5. การเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมีของของใบมะกรูดที่ผ่านการทำแห้งในระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 175 วัน

5.1 สมบัติการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH และปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด

5.1.1 สมบัติการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH และปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดของใบมะกรูดแก่ที่ผ่านการทำแห้งโดยไมโครเวฟระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 175 วัน

จากการศึกษาความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ของใบมะกรูดแห้งที่บรรจุในถุงลามิเนตฟอยล์ พบว่าความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH มีการเปลี่ยนแปลงอย่าง ไม่มีนัยสำคัญ ($p\geq0.05$) ในช่วงของการเก็บรักษา 75 วันแรก ดังแสดงใน Table 20 แต่ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) เมื่อเก็บรักษานานกว่า 75 วัน ในขณะที่ ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ของใบมะกรูดแห้งที่บรรจุในถุง

LDPE พบว่ามีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการเก็บรักษาใบมะกรูดระยะแก่ที่ผ่านการทำแห้งในบรรจุภัณฑ์ทั้ง 2 ชนิดไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปล งความสามารถการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) และเมื่อพิจารณาปริมาณโพลีฟีนอลพบว่าใบมะกรูดที่ผ่านการทำแห้งมีปริมาณโพลีฟีนอลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) เมื่อบรรจุในบรรจุภัณฑ์ที่แตกต่างกัน โดยการเก็บรักษาในถุงลามีเนต ฟอยล์ช่วยป้องกันการสลายตัวของสารประกอบโพลีฟีนอลได้ดีกว่าการเก็บรักษาในถุง LDPE (Table 21) อย่างไรก็ตาม ปริมาณโพลีฟีนอลมีแนวโน้มลดลง อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) เมื่อเก็บรักษาได้ 25 วัน ในทั้ง 2 ชนิดบรรจุภัณฑ์

Table 20. Effect of packaging on DPPH scavenging activity (IC_{50}) during storage of dried old kaffir lime by microwave drying

Storage (days)	IC_{50} (mg DM/ml)	
	Laminated foil	LDPE
0	0.42 ± 0.03^{Da}	0.42 ± 0.03^{Fa}
25	0.42 ± 0.02^{Da}	0.40 ± 0.01^{Fa}
50	0.38 ± 0.03^{Da}	0.49 ± 0.01^{Ea}
75	0.42 ± 0.02^{Da}	0.41 ± 0.01^{Fa}
100	0.55 ± 0.01^{Ca}	0.54 ± 0.01^{Ca}
125	0.62 ± 0.07^{Ba}	0.62 ± 0.02^{Ba}
150	0.69 ± 0.01^{Aa}	0.70 ± 0.01^{Aa}
175	0.70 ± 0.01^{Aa}	0.69 ± 0.03^{Aa}

Note: Data are expressed as mean ± SD of triplicate experiments

^{ABCDEF} Mean values in a column with different letters are significantly difference ($p<0.05$)

^{ab} Mean values in row with different letters are significantly difference ($p<0.05$).

Table 21. Effect of packaging on total phenolic contents during storage of dried old kaffir lime by microwave drying

Storage (days)	Total phenolic contents (μg gallic acid)/mg DM	
	Laminated foil	LDPE
0	141.49 ± 0.90^{Aa}	141.49 ± 0.90^{Aa}
25	111.07 ± 0.37^{Ba}	93.59 ± 3.76^{Bb}
50	98.70 ± 5.17^{Ca}	83.11 ± 0.91^{Db}
75	94.36 ± 0.82^{Da}	83.85 ± 0.50^{Db}
100	88.77 ± 0.41^{Ea}	86.52 ± 0.21^{Cb}
125	83.99 ± 0.91^{Fa}	77.38 ± 0.03^{Eb}
150	77.21 ± 0.45^{Ga}	73.27 ± 0.35^{Fb}
175	60.89 ± 0.69^{Ha}	50.64 ± 1.73^{Gb}

Note: Data are expressed as mean ± SD of triplicate experiments

^{ABCDEFGH} Mean values in a column with different letters are significantly difference($p<0.05$).

^{ab} Mean values in row with different letters are significantly difference ($p<0.05$).

5.1.2 สมบัติการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH และปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด ของใบมะกรูดกึ่งแก่กึ่งอ่อนที่ผ่านการทำแห้งโดยไมโครเวฟระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 175 วัน

ผลของการศึกษาความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ของใบมะกรูดกึ่งแก่กึ่งอ่อน ที่ผ่านการทำแห้งโดยไมโครเวฟในระหว่างการเก็บรักษา พบว่าความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) (Table 22) เมื่อเก็บรักษาที่ 25 วัน ทั้งในการบรรจุในถุงลามิเนต ฟอยล์ และ LDPE แต่อย่างไรก็ตาม พบว่าบรรจุภัณฑ์ทั้ง 2 ชนิดไม่มีผลต่อความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH อย่างมีนัยสำคัญ ($p\geq0.05$) และเมื่อพิจารณาปริมาณสารโพลีฟีนอลพบว่า ปริมาณสารโพลีฟีนอลลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) เมื่อเก็บรักษาที่ 25 วัน แต่การบรรจุในบรรจุภัณฑ์ทั้ง 2 ชนิดไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณโพลีฟีนอลอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยใบมะกรูดที่บรรจุในถุงลามิเนต ฟอยล์สามารถรักษาปริมาณโพลีฟีนอลได้ดีกว่าถุง LDPE

จากการศึกษาปริมาณโพลีฟีนอลระหว่างการเก็บรักษา ในทั้ง 2 บรรจุภัณฑ์ทั้งในใบมะกรูดแก่และใบมะกรูดกึ่งแก่กึ่งอ่อน พบว่ามีปริมาณลดลงตามอายุการเก็บรักษา ที่เพิ่มขึ้น ซึ่งอาจมีผลมาจากเอนไซม์ peroxidase ที่เหลือจากการยับยั้งหลังจากทำแห้ง เนื่องจากเป็นเอนไซม์ที่ทำ

ให้เกิดการออกซิเดชั นของสารกลุ่มโพลีฟีนอล ส่งผลให้ปริมาณโพลีฟีนอลลดลง (Amiot *et al.,* 1997) ซึ่งเอนไซม์ ดังกล่าว เป็นเอนไซม์ที่ทนต่อความร้อน โดย Yemenicioglu และคณะ (1998) ศึกษาการลดลงของการทำงานของเอนไซม์ peroxidase พบว่าจะต้องใช้อุณหภูมิ 70^{o}C เป็นเวลา 5 นาที จึงสามารถลดการทำงานของเอนไซม์ได้ ร้อยละ 97 อีกทั้งการเกิดฟีนอลลิก โพลีเมอร์ไรเซชัน (phenolic polymerization) เนื่องจากการเกิดการออกซิเดชันตัวเอง (autoxidation) ทำให้เกิดเป็นสารโมเลกุลใหญ่ขึ้น เมื่อมีการเร่งปฏิกิริยา ด้วยออกซิเจน (Talcott และ Howard, 1999) ส่งผลให้การละลายและการทำปฏิกิริยากับ Folin-ciocaltue ลดลง แต่อย่างไรก็ตาม หากพิจารณาถึงความสัมพันธ์ปริมาณโพลีฟีนอลกับความสามารถในการทำ ลายอนุมูลอิสระ พบว่าแม้ปริ มาณโพลีฟีนอลไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) ระหว่างบรรจุภัณฑ์ แต่ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างบรรจุภัณฑ์ทั้ง 2 ชนิด อาจเป็นผลมาจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสาร โพลีฟีนอลซึ่ง Odriozola-Sarrano และคณะ (2009) รายงานว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นพบว่า caffeic acid ซึ่งเป็นสารกลุ่มหนึ่งของสารโพลีฟีนอลเพิ่มขึ้น ในขณะที่สารกลุ่มโพลีฟีนอลกลุ่มอื่นๆลดลง โดยอาจเกิดจากปฏิกิริยา hydroxylation ของ *p*-coumaric acid เปลี่ยนเป็น caffeic acid ซึ่งมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระสูงกว่า *p*-coumaric acid เนื่องจากมีหมู่ hydroxyl 2 หมู่ที่ตำแหน่ง ortho (Macheix *et al.,*1990) แต่อย่างไรก็ตาม ความสามารถใน การให้อีเล็กตรอนของสารโพลีฟีนอล มิได้อยู่ภายใต้อิทธิพลของจำนวนหมู่ฟีนอลลิกอย่างเดียว แต่ยังขึ้นอยู่กับจำนวนห มู่ hydroxyl และตำแหน่งที่อยู่ในโครงสร้าง เนื่องจากมีหลักฐานว่า หมู่ hydroxyl ที่อยู่ตำแหน่ง ortho บนวงแหวนบี (B-ring) สามารถให้อีเล็กตรอนได้ดีว่าตำแหน่งอื่น (Morel *et al.,*1998) นอกจากนี้การลดลงของปริมาณโพลีนอลอาจมีผลมาจากการเสื่อมสลายของคลอโรฟิลล์ซึ่งเสื่ อมสลายได้ง่ายในสภาวะที่มีแสงทำให้ไฮโดรเจนของโพลีฟีนอลแทนที่แมกนีเซียมในโครงสร้างของโครงฟิลล์ในวงแหวนไพรอลส่งผลให้ความสามารถการทำลายอนุมูลอิสระและปริมาณโพลีฟีนอลลดลงเมื่ออายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น

Table 22. Effect of packaging on DPPH scavenging activity (IC_{50}) during storage of dried intermediate kaffir lime by microwave drying

Storage (days)	IC_{50}(mg DM/ml)	
	Laminated foil	LDPE
0	0.05 ± 0.00^{Da}	0.05 ± 0.00^{Ea}
25	0.30 ± 0.03^{Ca}	0.20 ± 0.06^{Da}
50	0.45 ± 0.07^{Ba}	0.35 ± 0.01^{Ca}
75	0.45 ± 0.01^{Ba}	0.42 ± 0.03^{Ba}
100	0.47 ± 0.02^{Ca}	0.44 ± 0.01^{BCa}
125	0.52 ± 0.03^{Ba}	0.59 ± 0.01^{Aa}
150	0.60 ± 0.00^{Aa}	0.62 ± 0.03^{Aa}
175	0.62 ± 0.07^{Aa}	0.65 ± 0.02^{Aa}

Note: Data are expressed as mean ± SD of triplicate experiments.

^{ABCD} Mean values in a column with different letters are significantly difference ($p<0.05$).

^{ab} Mean values in row with different letters are significantly difference ($p<0.05$).

Table 23. Effect of packaging on total phenolic contents during storage of dried intermediate kaffir lime by microwave drying

Storage (days)	(μg gallic acid)/mg DM	
	Laminated foil	LDPE
0	197.05±7.76^{Aa}	197.05±7.76^{Aa}
25	130.18±4.66^{Ba}	129.2±7.05^{Ba}
50	122.58±2.52^{Ca}	102.0±2.69^{Cb}
75	116.03±1.66^{Da}	99.52±2.01^{Cb}
100	95.79±0.45^{Ea}	97.51±1.23^{Ca}
125	89.81±0.07^{Fa}	87.01±0.08^{Db}
150	85.04±0.12^{Ga}	76.10±0.13^{Eb}
175	70.33±0.63^{Ha}	57.21±0.55^{Fb}

Note: Data are expressed as mean ± SD of triplicate experiments

^{ABCDEFGH} Mean values in a column with different letters are significantly difference($p<0.05$).

^{ab} Mean values in a row with different letters are significantly difference ($p<0.05$).

5.2 ปริมาณเบต้าแคโรทีน

5.2.1 ปริมาณเบต้าแคโรทีนของใบมะกรูดแก่ ที่ผ่านการทำแห้งโดยไมโครเวฟ ระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 175 วัน

จากการศึกษาปริมาณเบต้าแคโรทีน ของใบมะกรูดแก่ที่ผ่านการทำแห้งโดยไมโครเวฟที่บรรจุในถุงลามีเนต ฟอยล์ และ LDPE พบว่าหลังจากเก็บรักษา 25 วันใบมะกรูดที่เก็บรักษาในถุง LDPE มีปริมาณเบต้าแคโรทีนลดลง อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ในขณะที่ใบมะ กรูดที่เก็บรักษาในถุงลามีเนตฟอยล์จะมีปริมาณเบต้าแคโรทีนลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) หลังจาก 75 วัน (Figure 13) จึงกล่าวได้ว่าการเก็บรักษาใบมะกรูดโดยบรรจุในถุงลามิเนต ฟอยล์สามารถชะลอการเสื่อมสลายของเบต้าแคโรทีนได้ดีกว่าใบมะกรูดที่บรรจุในถุง LDPE

5.2.2 ปริมาณเบต้าแคโรทีนของใบมะกรูด กึ่งแก่กึ่งอ่อน ที่ผ่านการทำแห้งโดยไมโครเวฟระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 175 วัน

จากการศึกษาปริมาณเบต้าแคโรทีนในระหว่างการเก็บรักษาของใบมะกรูด กึ่งแก่กึ่งอ่อน ที่ผ่านการทำแห้งพบว่า ใบมะกรูดที่บรรจุในถุงลามิเนต ฟอยล์มีปริมาณเบต้าแคโรทีน ลดลงอย่างต่อเนื่องจนไม่สามารถตรวจพบได้เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 125 วัน และเมื่อเปรียบเทียบกับการเปลี่ยนแปลงปริมาณเบต้าแคโรทีนของใบมะกรูดที่บรรจุในถุง LDPE พบว่าการลดลงของปริมาณเบต้าแคโรทีนมากกว่าใบมะกรูดที่บรรจุในถุงลามิเนตฟอยล์ และไม่สามารถตรวจวัดได้ เมื่อเก็บรักษาที่ 125 วัน

ผลการศึกษาการเก็บรักษาใบมะกรูดทั้งสองระยะความอ่อนแก่ของใบพบว่า ใบมะกรูดที่บรรจุในถุงลามิเนต ฟอยล์สามารถรักษาปริมาณเบต้าแคโรทีนได้ดีกว่าการบรรจุในถุง LDPE เนื่องจากการเก็บรักษาโดยถุงลามิเนต ฟอยล์สามารถป้องกัน การซึมผ่านของออกซิเจนแล ะแสงซึ่งต่างเหนี่ยวนำให้เกิด การออกซิเดชันของเบต้าแคโรทีน เนื่องจากโครงสร้างของเบต้าแคโรทีนมีพันธะคู่ภายในสายไฮโดรคาร์บอน จึงสามารถถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการออกซิเดชันตัวเองได้เมื่อมีออกซิเจน หรือการเกิดออกซิเดชันโดยแสง (photooxidation) (Gross, 1991) ดังนั้นใบมะกรูดอบแห้งที่เก็บรักษาในถุง LDPE ซึ่งมีคุณสมบัติในการป้องกันการซึมผ่านของออกซิเจนและการส่องผ่านของแสงไม่ดี จึงไม่สามารถป้องกันการสลายตัวของเบต้าแคโรทีน เนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้น ทำให้ปริมาณเบต้าแคโรทีน ลดลงอย่างชัดเ จน Tang and Chen (2000) ได้รายงานว่าการเก็บรักษาแครรอทที่อุณหภูมิต่ำโดยการแช่เยือกแข็งในสภาวะ ไม่มีแสงสามารถป้องกันการเสื่อมสลายของเบต้าแคโรทีนได้ อย่างไรก็ตาม การเก็บรักษา แครรอทในถุง LDPE อุณหภูมิ 27°C, 37°C และ 47°C ไม่มีผลต่อการลดลง ของปริมาณเบต้าแคโรที นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) (Koca *et al.,* 2005) การลดลง ของเบต้าแคโรทีนอาจ เป็นผลมาจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ ไอโซเมอร์ จาก cis เป็น trans และการเปลี่ยนรูปเป็น epoxide โดย Dutta และคณะ (2005) รายงานว่าปริมาณเบต้าแคโรทีน ในแครอทลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) เมื่อเก็บรักษาได้ 80 วัน นอกจากปัจจัยของอุณหภูมิ Lavelli และคณะ (2007) ได้รายงานว่า ค่า a_w ก็เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการคงตัวของเบต้าแคโรทีน โดยค่า a_w ที่ 0.34-0.54 ที่ความชื้น 6-11 % จะส่งผลให้เบต้าแคโรทีนในแครอทความมีคงตัวมากที่สุด เนื่องจากน้ำในอาหารอาจทำให้สารเกิดการละลายมีผลให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเพิ่มขึ้น แต่อย่างไรก็ตามน้ำในอาหา รยังมีผลในการลดการเกิดออกซิเดชันเนื่องจากไปเจือจางโลหะ หรืออาจไปจับทำให้เกิดการตกตะกอน ซึ่งโลหะดังกล่าวเป็นตัวเหนี่ยวนำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน

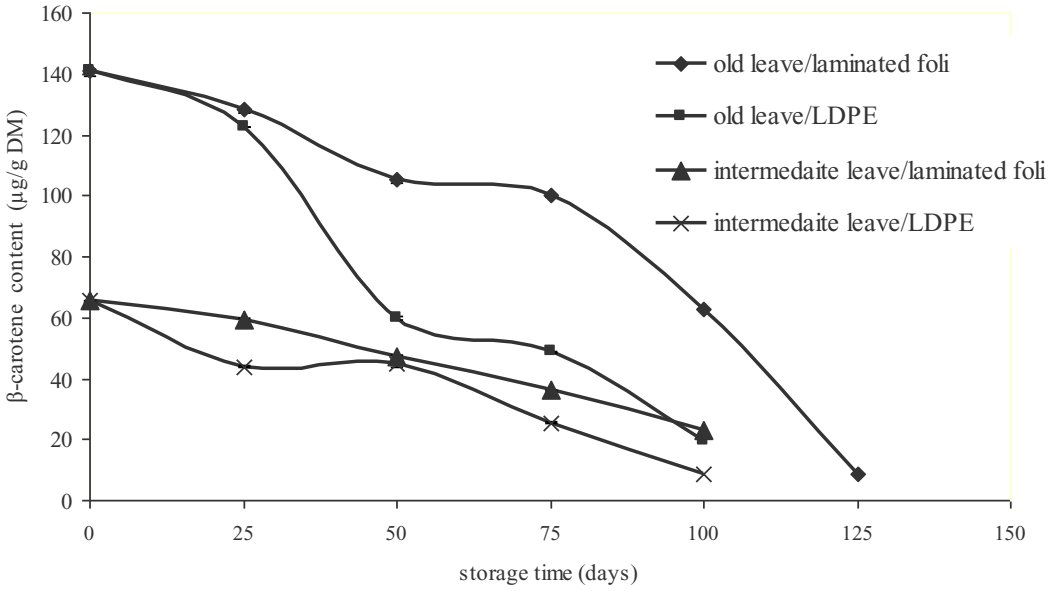


Figure 14.The effect of packaging on β-carotene of kaffir lime leaves dried by microwave during storage

5.3 สมบัติการต้านแบคทีเรีย

5.3.1 สมบัติการต้านแบคทีเรีย ของใบมะกรูดแก่ ที่ผ่านการทำแห้งโดยไมโครเวฟ ระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 175 วัน

จากกา รศึกษา สมบัติการต้านแบคทีเรีย ของใบมะกรูด แก่ระหว่างการเก็บรักษา พบว่าใบมะกรูดแห้งที่ผ่านการเก็บรักษายังคงมีความสามารถในการต้านเชื้อ *S. aureus, E. coli* และ *P. fluorescens* แม้เก็บรักษาไปแล้ว 175 วัน (Table 24) ยกเว้นความสามรถในการต้านเชื้อ *L. monocytogenes* ซึ่งพบว่าสารสกัดใบมะกรูด ไม่แสดงฤทธิ์การต้านแบคทีเรีย เมื่อผ่านการ เก็บรักษา นาน 25 วัน โดยใบมะกรูดที่บรรจุในถุงลามิเนต ฟอยล์สามารถรักษา สมบัติการ ต้านแบคทีเรียได้ ดีกว่าใบมะกรูดที่บรรจุในถุง LDPE โดยความสามารถในการต้านเชื้อ *S. aureus* และ *P. fluorescens* ลดลงเมื่อเก็บรักษาที่ 25 วัน และที่ 50 วัน ตามลำดับ

Table 24. Antimicrobial activity of dried old kaffir lime during storage by disc diffusion method

storage	Laminated foil				LDPE			
(days)	*S. au*	*E. coli*	*Ps.fl*	*L.mono*	*S. au*	*E. coli*	*Ps.fl*	*L.mono*
0	++	+	++	+	++	+	++	+
25	++	+	++	0	+	+	++	0
50	++	+	++	0	+	+	+	0
75	++	+	++	0	+	+	+	0
100	++	+	++	0	+	+	+	0
125	++	+	+	0	+	+	+	0
150	++	+	+	0	+	+	+	0
175	++	+	+	0	+	+	+	0

Note: *S. au = Staphylococcus aureus, E. coli = Escherichia coli, Ps. fl = Pseudomonas fluorescens, L. mono = Listeria monocytogenes*

0 = no inhibition zone, + = 0.7-0.89 cm, ++ = >0.9-1.0 cm

5.3.2 สมบัติการต้านแบคทีเรียของใบมะกรูด กึ่งแก่กึ่งอ่อน ที่ผ่านการทำแห้ งโดยไมโครเวฟระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 175 วัน

สมบัติการต้านแบคทีเรียของใบมะกรูด กึ่งแก่กึ่งอ่อน ที่ผ่านการทำแห้งในระหว่างการเก็บรักษาแสดงใน Table 25 พบว่า ใบมะกรูดที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 175 วันยังคงแสดงฤทธิ์การต้านเชื้อ *S. aureus* มากที่สุด รองลงมาคือ *P. fluorescens* และ *E. coli* ตามลำดับ ในขณะที่ใบมะกรูดเมื่อผ่ านการเก็บรักษาไม่สามารถต้านเชื้ อ *L. monocytogenes* ได้ และใบมะ กรูดที่เก็บรักษาในถุงลามิเนต ฟอยล์สามารถรักษา สมบัติการ ต้านแบคทีเรียได้ดีกว่าใบมะกรูดที่บรรจุในถุง LDPE จากผลการทดลองสามารถกล่าวได้ว่าสมบัติในการต้านแบคที เรียของสารสกัดใบมะกรูดกึ่งแก่กึ่งอ่อนคล้ายคลึงกับใบมะกรูดแก่ อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาโดยภาพรวม จะพบว่าใบมะกรูดแก่มีสมบัติการต้านแบคทีเรียได้สูงกว่าใบมะกรูดกึ่งแก่กึ่งอ่อนในระหว่างการเก็บรักษา

จากการศึกษา สมบัติการต้านแบคทีเรียแสดงให้เห็นว่ าความสาม ารถการต้านแบคทีเรียลดลงเมื่อระยะเวลา การเก็บรักษาเ พิ่มขึ้นทั้งในใบแก่และใบ กึ่งแก่กึ่งอ่อน แต่ยังคงแสดงฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียแม้มีการเก็บรักษาไปแล้ว 175 วัน ทั้งนี้สอดคล้องกับปริมาณปริมาณโพลีฟี

นอล และปริมาณ citronellal ที่ลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษา เพิ่มขึ้น แต่อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียพบว่าใบมะกรูดแก่ที่บรรจุในถุงลามีเนตฟอยล์มีความสามารถในการยับยั้ง เชื้อ *S. aureus* ได้ดีกว่าใบมะกรูดที่เก็บรักษาในถุง LDPE ในขณะที่ความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียไม่แสดงฤทธิ์แตกต่างกันในใบมะ กรูดกึ่งแก่กึ่งอ่อนที่บรรจุในทั้ง 2 บรรจุภัณฑ์

Table 25. Antimicrobial activity on disc diffusion method during storage of dried intermediate kaffir lime by microwave drying

Storage	Laminated foil				LDPE			
(days)	*S.au*	*E.coli*	*Ps.fl*	*L.mono*	*S.au*	*E.coli*	*Ps.fl*	*L.mono*
0	++	+	++	+	++	+	+	+
25	++	+	++	0	+	+	+	0
50	++	+	++	0	+	+	+	0
75	++	+	+	0	+	+	+	0
100	++	+	+	0	+	+	+	0
125	+	+	+	0	+	+	+	0
150	+	+	+	0	+	+	+	0
175	+	+	+	0	+	+	+	0

Note: *S. au = Staphylococcus aureus, E. coli = Escherichia coli, Ps. fl = Pseudomonas fluorescens, L. mono = Listeria monocytogenes*

0 = no inhibition zone, + = 0.7-0.89 cm, ++ = > 0.9 cm

5.4 ปริมาณ citronellal

5.4.1 ปริมาณ citronellal ของใบมะกรูดแก่ ที่ผ่านการทำแห้งโดยไมโครเวฟระ หว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 175 วัน

การเปลี่ยนแปลงของ citronellal ระหว่างการเก็บรักษาพบว่าปริมาณ citronellal มีปริมาณลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อ ระยะเวลา การเก็บรักษาเพิ่มขึ้น โดยมีการลดลงอย่างรวดเร็วเมื่อเก็บรักษานาน 25 วัน ซึ่งลดลงจาก 119.177±0.65 ไมโครลิตร /100 กรัมน้ำหนักแห้ง เป็น 33.446±2.64 ไมโครลิตร /100 กรัมน้ำหนักแห้ง ในใบมะกรูดที่บรรจุในลามิเนต ฟอยล์ และ

22.921±1.14 ไมโครลิตร/100 กรัมน้ำหนักแห้ง (Table 26) ในใบมะกรูดที่บรรจุในถุง LDPE และลดลงอย่างต่อเนื่อง โดยที่ระยะเวลา การเก็บรักษา 175 วันพบว่าใบมะกรูดที่บรรจุในถุง LDPE ไม่สามารถตรวจวัด ปริมาณ citronellalได้ ในขณะที่ ใบมะกรูดที่บรรจุในถุงลามิเนต ฟอยล์มีปริมาณ citronellal 0.210±0.01 ไมโครลิตร/100 กรัมน้ำหนักแห้ง ซึ่งจากผลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าใบมะกรูดที่เก็บรักษาในถุงลามีเนตฟอยล์สามารถรักษาปริมาณ citronellal ได้ดีกว่าถุง LDPE

Table 26. The citronellal content during storage of dried old kaffir lime by microwave drying

storage	citronellal content (µl/100g DW.)	
(days)	Laminated foil	LDPE
0	119.177±0.65^{Aa}	119.177±0.65^{Aa}
25	33.446±2.64^{Ba}	22.921±1.14^{Bb}
50	22.992±0.60^{Ca}	12.353±0.41^{Cb}
75	12.841±1.52^{Da}	11.215±1.03^{Db}
100	9.363±0.43^{Ea}	2.743±0.19^{Eb}
125	0.330±0.05^{Fa}	0.089±0.01^{Fb}
150	0.256±0.01^{Fa}	0.050±0.01^{Fb}
175	0.210±0.01^{Fa}	nd

Note: Data are expressed as mean ± SD of triplicate experiments

^{ABCDEF} Mean values in a column with different letters are significantly difference ($p<0.05$).

^{ab} Mean values in a row with different letters are significantly difference ($p<0.05$).

nd = not-detected

5.4.2 ปริมาณ citronellal ของใบมะกรูด กึ่งแก่กึ่งอ่อน ที่ผ่านการทำแห้งโดยไมโครเวฟระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 175 วัน

ปริมาณ citronellal ของใบกระกรูด กึ่งแก่กึ่งอ่อน ที่ผ่านการทำแห้งและเก็บรักษา (Table 27) พบว่าไม่สามารถตรวจวัด ปริมาณ citronellal ได้หลังการเก็บรักษาเป็นระยะเวลานานกว่า 25 วันทั้งในใบมะกรูดที่บรรจุในถุง LDPE และลามีเนตฟอยล์ ซึ่งจะเห็นได้ว่าใบมะกรูดกึ่งแก่กึ่งอ่อนมีการสูญเสีย citronellal อย่างรวดเร็วเมื่อเปรียบเทียบกับใบมะกรูดแก่

Table 27. The citronellal content during storage of dried intermediate kaffir lime by microwave drying

storage (days)	The citronellal content (µl/100g DW.)	
	Laminated foil	LDPE
0	84.156 ± 0.77^{Aa}	84.156 ± 0.77^{Ab}
25	2.737 ± 0.11^{Ba}	1.117 ± 0.25^{Bb}
50	nd	nd
75	nd	nd
100	nd	nd
125	nd	nd
150	nd	nd
175	nd	nd

Note: Data are expressed as mean ± SD of triplicate experiments

^{AB} Mean values in a column with different letters are significantly difference ($p<0.05$).

^{ab} Mean values in a row with different letters are significantly difference ($p<0.05$).

nd = not-detected

จากการศึกษาปริมาณ citronellal พบว่าปริมาณ citronellal ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นซึ่งสอดคล้องกับการรายงานขอ งChoi และคณะ (2001) ที่รายงานว่าปริมาณ citronellal ของผิวส้มลดลงอย่างรวดเร็วเมื่อเก็บรักษาได้เพียง 63 วัน ที่อุณหภูมิ 30 °C นอกจากนี้ Sun และ Petracek (1999) ได้รายงานว่าการเสื่อมสลายของ citronellal มีปัจจัยมาจากระยะเวลาการเก็บรักษามากกว่าอุณหภูมิที่ใช้ เก็บรักษา และเมื่อพิจารณาผลของบรรจุภัณฑ์ทั้ง 2 ในการทดลองนี้ คือถุงลามิเนตฟอยล์ และถุง LDPE พบว่าการเก็บรักษาในถุงลามิเนตฟอยล์สามารถชะลอการลดลงของ citronellal ได้ดีกว่าถุง LDPE เนื่องจากถุงลามิเนตฟอยล์มีความสามารถป้องกันแสง สามารถการชะลอการเกิดออกซิเดชั นของ citronellal เนื่องจากแสงได้ ซึ่ง Misharina และ Polshkov (2005) รายงานว่าการเก็บน้ำมันหอมระเหยในสภาวะที่มีแสงมีอัตราการเกิดออกซิเดชันอย่างรวดเร็ว ในขณะที่การเก็บในสภาวะที่ไม่ มีแสงจะทำให้มีอัตราการเกิดออกซิเดชันที่ต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

6. ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

6.1 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของใบมะกรูดแก่ ที่ผ่านการทำแห้งโดยไมโครเวฟระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 175 วัน

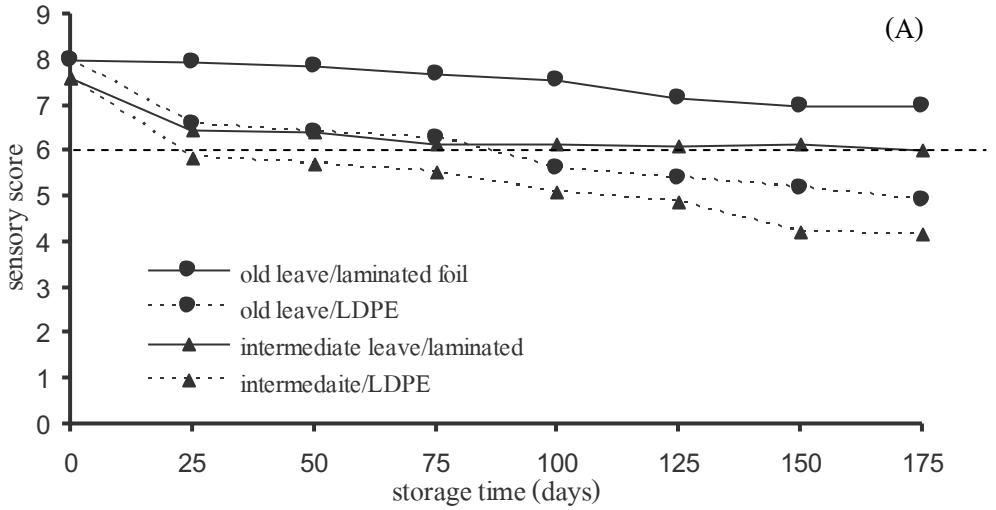
การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของใบมะกรูดแก่ที่บรรจุในถุงลามิเนตฟอยล์ และถุง LDPE พบว่า ใบมะกรูดที่ผ่านการทำแห้งที่ บรรจุในถุงลามีเนต ฟอยล์ยังคงเป็นที่ยอมรับของผู้ทดสอบในทุกคุณลักษณะ (มากกว่า 6 คะแนน) ในระหว่างการเก็บรักษาไปแล้ว 175 วัน ในขณะที่ใบมะกรูดที่บรรจุในถุง LDPE ไม่เป็นที่ยอมรับของผู้ทดสอบเมื่อเก็บรักษานานกว่า 75 วันในด้านลักษณะปรากฏ , สี และความชอบรวม ส่วนคุณลั กษณะด้านกลิ่นไม่เป็นที่ยอมรับที่การเก็บรักษา 125 วัน

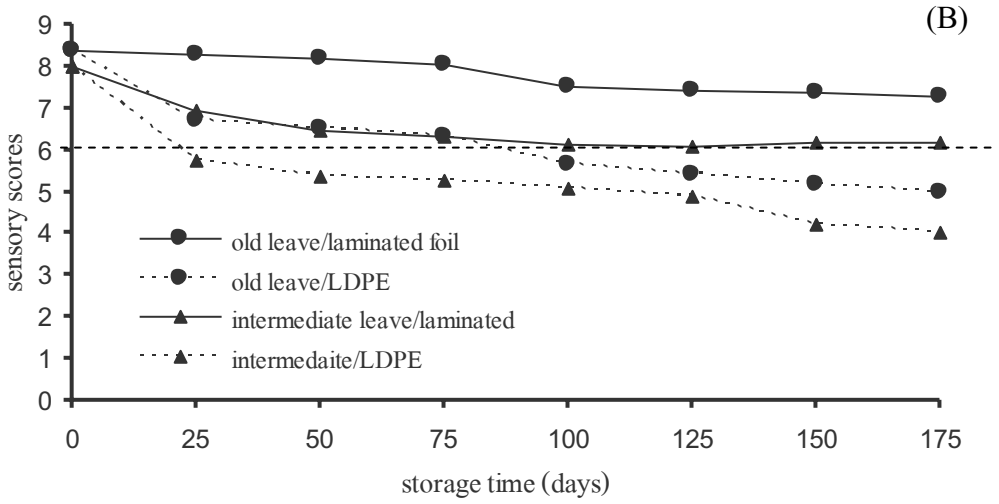
6.2 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของใบมะกรูดกึ่งแก่กึ่งอ่อน ที่ผ่านการทำแห้งโดยไมโครเวฟระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 175 วัน

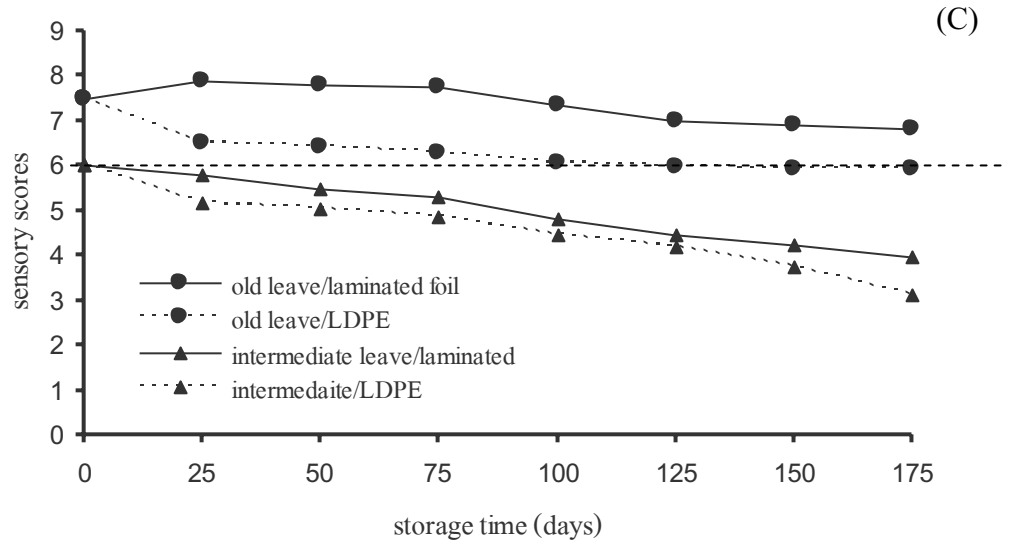
การประเมินคุณภาพ ทางประสาทสัมผัส ของใบมะกรูดที่ผ่านการ ทำแห้งระหว่างการเก็บรักษาพบว่าผู้ทดสอบยังให้การยอมรับในด้านลักษณะปรากฏและด้านสีของใบมะกรูดกึ่งแก่กึ่งอ่อนที่บรรจุในถุงลามีเนต ฟอยล์แม้เก็บรักษานาน 175 วัน แต่ผู้ทดสอบ ไม่ยอมรับ คุณลักษณะด้านความชอบโดยรวม เมื่อเก็บรักษาได้ 100 วันและเมื่อพิจารณาคุณลักษณะด้านกลิ่นพบว่า ผู้ทดสอบไม่ยอมรับเมื่อเก็บรักษานานกว่า 25 วันทั้งในใบมะกรูดที่บรรจุในถุงลามีเนต ฟอยล์ และถุง LDPE ซึ่งเป็นคุณลักษณะที่ไวต่อการยอมรับของ ผู้ทดสอบมากที่สุด ส่วนคะแนนการยอมรับของ ผู้ทดสอบในใบมะกรูดกึ่งแก่กึ่งอ่อนที่บรรจุในถุง LDPE มีค่าคะแนนการยอมรับของผู้ทดสอบต่ำกว่าการบรรจุในถุงลามีเนตฟอยล์ โดยคุณลักษณะด้านสี พบว่า ผู้ทดสอบ ไม่ยอมรับที่ผ่าน การเก็บรักษานานกว่า 25 วัน เนื่องจากสีที่ปรากฏของใบมะกรูดที่เก็บในถุง LDPE มีลักษณะสีที่ซีดจางอย่างเห็นได้ชัด เพราะ การบรรจุในถุงดังกล่าวไม่สามารถป้องกันการเสื่อมสลายของสีเนื่องจากแสงได้ ซึ่งใกล้เคียงกับการยอมรับคุณลักษณะด้านลักษณะปรากฏและความชอบรวมซึ่ง ผู้ทดสอบที่ไม่ยอมรับเมื่อผ่านการเก็บรักษานานกว่า 25 วันเช่นกัน (Figure 15)

ในการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของใบมะกรูดที่ผ่านการทำแห้งทั้ง 2 ระยะ พบว่าใบมะกรูดที่เก็บรักษาในถุงลามีเนต ฟอยล์ สามารถค งคะแนนการความชอบ ของผู้ทดสอบได้นานกว่าใบมะกรูดที่บรรจุในถุง LDPE โดยเฉพาะอย่างยิ่งในระยะใบแก่ซึ่ง ผู้ทดสอบให้การยอมรับทุกคุณลักษณะเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 175 วัน ในขณะที่ใบมะกรูดกึ่งแก่กึ่งอ่อนที่บรรจุในถุงลามีเนตฟอลย์สามารถรักษาคะแนนการยอมรับเพียงในด้านของสี และลักษณะปรากฏเมื่อเก็บรักษาที่ 175 วันในขณะที่การยอมรับด้านความชอบรวมที่อายุการเก็บรักษา 100 วัน นอกจากนี้

พบว่าในใบมะกรูดกึ่งแก่กึ่งอ่อนการ บรรจุด้วยถุงลามีเนต ฟอยล์ หรือถุง LDPE ไม่สามารถคงคะแนนการยอมรับในด้านของกลิ่นได้เมื่อผ่านการเก็บรักษาที่ 25 วัน ซึ่งการไม่ยอมรับของ ผู้ทดสอบมีผลมาจากการทำแห้ง มากกว่าการเก็บรักษา และเมื่อพิจารณาใบมะกรูดที่ผ่านการทำแห้งทั้ง 2 ระยะที่บรรจุในถุง LDPE พบว่า การเก็บรักษาใบมะกรูดแก่ในถุง LDPE มีผลให้ผู้ทดสอบไม่ยอมรับเมื่อเก็บรักษานานกว่า 75 วันในทุกคุณลักษณะ ในขณะที่ในใบกึ่งแก่ กึ่งอ่อนที่บรรจุในถุง LDPE สามารถคงคะแนนความชอบเมื่อเก็บรักษา กว่า 25 วันในคุณลักษณะด้าน ลักษณะปรากฏ สี และความชอบรวมเท่านั้น




(B)
sensory scores
storage time (days)
old leave/laminated foil
old leave/LDPE
intermediate leave/laminated
intermedaite/LDPE
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
0
25
50
75
100
125
150
175


(C)
sensory scores
storage time (days)
old leave/laminated foil
old leave/LDPE
intermediate leave/laminated
intermedaite/LDPE
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
0
25
50
75
100
125
150
175

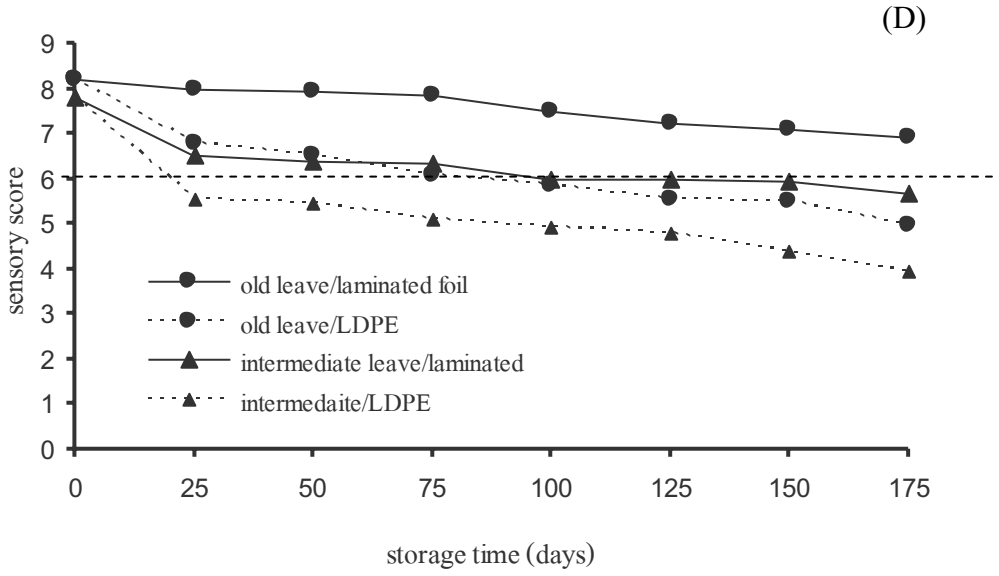


Figure15. Sensory analysis of kaffir lime leaves dried by microwave during storage

(A) = appearance, (B) = color, (C) = odor, (D) = overall liking

บทที่ 4

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาผลของวิธีการทำแห้งทั้ง 3 วิธีที่มีต่อคุณภาพทางกายภาพ คุณภาพทางเคมี คุณสมบัติการต้านแบคทีเรีย และการเปลี่ยนแปลงคุณภาพระหว่างการเก็บรักษา ของใบมะกรูดในระยะแก่ และระยะกึ่งแก่กึ่งอ่อน พบว่า การทำแห้งโดยไมโครเวฟมีผลให้การเปลี่ยนแปลงของสีน้อยที่สุด โดยมีค่า ΔE เท่ากับ 6.57±1.73 และ 3.64±2.16 เมื่อเทียบกับใบสดในระยะแก่ และกึ่งแก่กึ่งอ่อนตามลำดับ ในขณะที่การทำแห้งโดยวิธีลมร้อน และแสงอาทิตย์ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสีไปใน เฉดสีน้ำตาลเขียว (olive brown) มากขึ้นในใบทั้ง 2 ระยะ สำหรับคุณภาพทางเคมี พบว่าผลของการทำแห้งทั้ง 3 วิธีทำให้ปริมาณโพลีฟีนอลมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น ส่งผลให้ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระเพิ่มสูงขึ้น ยกเว้นการทำแห้งโดยแสงอาทิตย์ ที่ไม่พบความ แตกต่าง ทางสถิติ นอกจากนี้ การทำแห้ง ยังส่งผลให้ปริมาณเบต้าแคโรทีนเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งการทำแห้งโดยไมโครเวฟส่งผลให้ปริมาณเบต้าแคโรทีนเพิ่มขึ้นจาก 16.82±0.04 เป็น 93.34±0.17 ไมโครกรัม /กรัมน้ำหนักแห้ง และในใบกึ่งแก่กึ่งอ่อนมีปริมาณเบต้าแคโรทีน 22.38±0.05 เพิ่มขึ้นเป็น 47.79±0.36 ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักแห้งจากใบสด การศึกษาคุณสมบัติการต้านแบคทีเรีย พบว่าการทำแห้ง โดยไมโครเวฟ และการใช้ตู้อบลมร้อน ทำให้ความสามารถในการต้านแบคทีเรียเพิ่มขึ้น แต่การทำแห้งโดยแสงอาทิตย์ในใบแก่ มีผลให้ไม่สามารถแสดงฤทธิ์การต้านเชื้อ *L. monocytogenes* ในขณะที่การทำแห้งโดยแสงอาทิตย์ในใบ กึ่งแก่กึ่งอ่อน ไม่แสดงฤทธิ์ในการต้านเชื้อ *E. coli, P. fluorescens* และ *L. monocytogenes* แม้ว่าการทำแห้งส่งผลในการเพิ่มความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ การเพิ่มขึ้นของปริมาณเบต้าแคโรทีน และการเพิ่มความสามารถในการต้านแบคทีเรีย แต่ กลับ พบว่าการทำแห้งส่งผลให้มีการลดลงของปริมาณ citronellal ซึ่งเป็นน้ำมันหอมระเหยหลักของใบมะกรูด นอกจากนี้ การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสทางด้านสี กลิ่น ลักษณะปรากฏ และความชอบรวม พบว่าการทำแห้งใบมะกรูดด้วยไมโครเวฟเป็นวิธีที่ผู้ทดสอบประเมินให้คะแนนความชอบสูงที่สุด ซึ่งเมื่อพิจารณาผลของวิธีการทำแห้งต่อคุณภาพของ ใบมะกรูด พบว่าการทำแห้งใบมะกรูดด้วยไมโครเวฟ เป็นวิธีการที่ ทำให้ใบมะกรูดมีคุณภาพดีที่สุด จึงเลือกวิธีการทำแห้งใบมะกรูดโดยไมโครเวฟ เป็นวิธีที่นำมาศึกษา การเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษาใบมะกรูดที่ผ่านการทำแห้งต่อไป

ผลการศึกษา การเปลี่ยนแปลงระหว่าง การเก็บรักษ าใบมะกรูดที่ ผ่านการทำแห้งโดยไมโครเวฟที่ ระยะเวลา การเก็บรักษา 175 วัน โดยบรรจุในถุง ลามีเนตฟอยล์ และถุง LDPE

พบว่า ใบมะกรูดแก่ที่เก็บรักษาในถุงลามีเนตฟอยล์สามารถชะลอการเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะด้านสีของใบมะกรูดไว้ได้ดีกว่า การเก็บรักษาในถุง LDPE แต่ในใบมะกรูดกึ่งแก่กึ่งอ่อนพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของสีอย่างชัดเจนเมื่อเก็บรักษาที่ 25 วันทั้งที่บรรจุในถุงลามีเนตฟอยล์ และถุง LDPE นอกจากนี้การศึกษาคุณภาพด้านเคมีพบว่า ปริมาณโพลีฟีนอล และความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อ ระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ในขณะที่การบรรจุด้วยถุง ลามีเนตฟอยล์สามารถชะลอการลดลงของโพลีฟีนอลได้ ทั้งในใบแก่และใบกึ่งแก่กึ่งอ่อน แต่อย่างไรก็ตามความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระไม่แตกต่างกันในทั้ง 2 บรรจุภัณฑ์ และการบรรจุในถุงลามีเนตฟอยล์สามารถชะลอการสูญเสียเบต้าแคโรทีน เนื่อ งจากลดการเกิดออกซิเดชันจากแสงและออกซิเจน ส่วนคุณสมบัติการต้านแบคทีเรียของใบมะกรูดที่ผ่านการเก็บรักษาพบว่ายังคงแสดงความสามารถในการต้านแบคทีเรีย หลังจากเก็บรักษา 175 วัน ยกเว้นเชื้อ *L. monocytogenes* ซึ่งแสดงฤทธิ์การต้านแบคทีเรียที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 25 วัน ในใบแก่และใบกึ่งแก่กึ่งอ่อน ที่เก็บในทั้งสอง บรรจุภัณฑ์ นอกจากนี้ ใบมะกรูดที่บรรจุในถุงลามีเนต ฟอยล์ สามารถชะลอการสูญเสีย citronellal ได้ การประเมินทางประสาทสัมผัสในระหว่างการเก็บรักษาพบว่า ผู้ทดสอบ ยังคงยอมรับใบมะกรูดแก่ที่ บรรจุในถุงลามิเนตฟอยล์ ที่ผ่านการเก็บ รักษา 175 วัน ในทั้ง 4 คุณลักษณะ และไม่ยอมรับในส่วนของใบมะกรูดแก่ที่บรรจุในถุง LDPE ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 75 วัน ส่วนใบมะกรูดกึ่งแก่กึ่งอ่อนที่ผ่านการเก็บรักษา ผู้ทดสอบไม่ยอมรับใบมะกรูดกึ่งแก่กึ่งอ่อนที่บรรจุในถุง ถุงลามิเนตฟอยล์ และLDPE ในด้านของกลิ่นที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 25 วัน

จากการศึกษา ในครั้งนี้ พบว่าการทำแห้งโดยไมโครเวฟสามารถรักษาคุณสมบัติทางกายภาพ เคมี และเพิ่มความสามารถในการต้านแบคทีเรีย ตลอดจน ผู้ทดสอบให้การยอมรับมากที่สุด และ ในระหว่าง การเก็บรักษาพบว่าการบรรจุในถุงลามี เนตฟอยล์สามารถชะลอการสู ญเสียคุณสมบัติทางกายภาพ เคมี คุณสมบัติการต้านแบคทีเรีย ซึ่งผู้ทดสอบให้คะแนนการยอมรับสูงกว่าการบรรจุโดยถุง LDPE โดยเฉพาะอย่างยิ่งในใบมะกรูดแก่

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการศึกษาชนิดของโพลีฟีนอลที่มีอยู่ในใบมะกรูดระยะแก่ และระยะกึ่งแก่กึ่งอ่อน

2. ควรมีการศึกษาผลของความร้อนต่อการเปลี่ยนแปลงของชนิดโพลีฟีนอล

3. ควรมีการศึกษาสารที่มีคุณสมบัติต้านแบคทีเรียในใบมะกรูดเพื่อประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารต่อไป

4. ควรมีการศึกษาในเครื่องเทศชนิดอื่นๆ เพื่อเพิ่มช่องทางการใช้ประโยชน์ให้มากขึ้น

เอกสารอ้างอิง

กรมควบคุมโรคติดต่อ กระทรวงสาธารณสุข . 2541. โรคติดต่อที่เป็นปัญหาใหม่ . *ใน* การดำเนินมาตรการทางสาธารณสุขในภาวะฉุกเฉินจากโรคระบาด . หน้า 119. ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรจำกัดแห่งประเทศไทย. กรุงเทพฯ

คมสัน หุตะแพทย์. 2545. เครื่องสกัดน้ำมันหอมระเหยด้วยการกลั่น. ว. เกษตรธรรมชาติ 10 : 10-13.

จิตนา แจ่มเมฆ, สายสนม ประดิษฐ์ดวง , ทะนง ภัครัชพันธุ์, ปรียา วิบูลย์เศรษฐ์, เนื้อทอง วนนุวัธ, มาลัยวรรณ อารยะกุล , ศิวพร ศิวเวช ช, สมจิต สุรพัฒน์ , นภาศรี ไวศยะนันท์, สุคนธ์ชื่น ศรีงาม, อรอนงค์ นัยวิกุล , วรรณวิบูลย์ กาญจนกุญชร , โชคชัย ธีรกุลเกียรติ , อนุกูล วัฒนสุข, ธนะบูลย์, สัจจาอนันตกุล , วราภา มหากาญจนกุล , สิริ ชัยสิริ และ ปริศนา สุวรรณภรณ์. 2539. กระบวนการทำแห้ง. *ใน* วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร . พิมพ์ครั้งที่ 1. หน้า 164-171. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ

นันทนา อรุณฤกษ์ . 2538. การจำแนกแบคทีเรียกลุ่มแอโรปส์ . พิมพ์ครั้งที่ 1. โอเดียนสโตร์ . กรุงเทพฯ

นิธิยา รัตนาปนนท์ . 2545. รงควัตถุ. *ใน* เคมีอาหาร . พิมพ์ครั้งที่ 1. หน้า 421-428. โอเดียนสโตร์ . กรุงเทพฯ

ปฐม จูจันทร์. 2548. ประสิทธิภาพยาทากันยุงในรูปเจลจากน้ำมันหอมระเหยแมงลักและน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูด. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ปิยะ เฉลิมกลิ่น. 2541. รั้วกินได้. โรงพิมพ์ไทยวัฒนาพานิช. กรุงเทพฯ. หน้า 18-20.

ทัศนีย์ ลิ้มสุวรรณ. 2540. บทบาทใหม่ของเบต้าแคโรทีน. ว. ฟิตเนส. 90 : 101-104.

พรรัตน์ สนชัยพาณิชย์, กิติมา จิตตินนท์ และ สุทธิลักษณ์ สมิติสิริ . 2543. การผลิตใบตำลึงแห้งที่มีวิตามินเอสูงด้วยตู้ตากแสงอาทิตย์. ว. อาหาร 30 : 98-106.

ไพโรจน์ วิริยจารี . 2543. การประเมินลักษณะทางประสาทสัมผัส. คณะอุตสาหกรรมการเกษตร มหาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่.

ภูมิศักดิ์ อินทนนท์, ธนู ทองแก้ว, วิภา หอมหวน, จตุรพร รักษ์งาร, มยุรี กระจายกลาง และ พีรศักดิ์ ฉายประสาท. 2548. การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตพืชเครื่องปรุงอาหารไทยเพื่อการส่งออก (ออนไลน์).สืบค้นจาก: http://www.thaifoodtoworld.com/home (10 ธันวาคม 2548)

มาลินี ชัยศุภกิจสินธ์ . 2527. เคมีอินทรีย์ 2. โครงการตำรา คณะคุรุศาสตร์อุตสาหกรรม . สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ

รัชนี ตัณฑะพานิชกุล . 2536. เคมีอาหาร . ภาควิชาเคมี คณะวิ ทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง กรุงเทพฯ.

รุ่งระวี เต็มสิริฤกษ์กุล , พร้อมจิต ศรลัมพ์ , ธิราภา แสนเสนา , นภดล กิตติวราฤทธิ์ และ มาลิน จุลศิริ . 2537. ฤทธิ์ต้านเชื้อและต้านก่อกลายพั นธุ์ของพืชตระกูลส้ม . ว. เภสัช ศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. 21 : 7-15.

วรรณา ตั้งเจริญชัย. 2531. ท่านจะใช้แคโรทีนอยด์ในเครื่องดื่มได้อย่างไร. ว. อาหาร.18 : 126-130.

วิไล รังสาดทอง. 2547. การทำแห้ง .*ใน* การแปรรูปอาหาร . พิมพ์ครั้งที่ 4. หน้า 273-298.เทคโนโลยี การแปรรูปอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ. กรุงเทพฯ

ศรีรรัตน์ กสิวง ศ์. 2534 . น้ำมันหอมระเหยจากพืช . หน้า 17- 21 . คณะเภสัชศา สตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ศุภยางค์ วรวุฒิคุณชัย . 2547. การพิ สูจน์เอกลักษณ์ของแบคทีเรีย กรัมบวกและกรัมลบ . พิมพ์ครั้งที่ 1. (จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย , กองบรรณาธิก าร). จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย . กรุงเทพฯ

สถาบันแพทย์แผนไทย . 2540. มะกรูด. *ใน* สมุนไพร กับวัฒนธ รรมไทย ตอนที่ 1 ต้นไม้ตามทิศ . พิมพ์ครั้งที่ 1. (เพ็ญนภา ทรัพย์เจริญ , บรรณาธิการ). หน้า 10- 113 . ชุมนุมสหกรณ์ การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. กรุงเทพฯ

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย. 2549. ผลไม้แห้ง (ออนไลน์). สืบค้นจาก : http://www.tistr-foodprocess.net/fruit_dry.html (5 ธันวาคม 2549).

สถาบันอาหารนานาชาติแห่งประเทศไทย2547. ภัยในอาหาร *ใน* สถาบันอาหาร หน้า 21-22. กรุงเทพฯ

สุภาณี ศุกระฤกษ์ 2540. เบต้าแคโรทีน ว. ใกล้หมอ. 21 : 23.

สุภาพรรณ มณีบุญ. 2543. การแยกองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ต้นโดยเทคนิค โครมาโทรกราฟีคอลัมน์. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

Agnihotri, K.V., Thappa, K.R., Meena, B., Kapahi, K.B., Saxena, K.R., Qazi, N.G. and Agarwal, G.S. (2004). Essential oil composition of aerial parts of Angelica glauca growing wild in North-West Himalaya (India). Phytochemistry. 65 . 2411–2413.

Amiot, M.J., Fleuriet, A., Cheynier, V., Nicolas, J., 1997. Phenolic compounds and oxidative mechanisms in fruit and vegetables. *In* Phytochemistry of fruit and vegetables, Proceeding of the Phytochemical Society of Europe 41. Tomas-Barberan. F.A. and Robins, R.J., Eds., Clarendon Press, Oxford, U.K., 51-86.

Aurelio, L.M., Enrigue, P., Reyna, L.C. and Stella, M.A. 2006. Mixtures of natural and synthetic antifungal agents. *In* Advance in Food Mycology. eds. (Hocking, A.D., Pitt, J.I., Samson, R.A. and Thrane, U., eds.) p.261-287. Sprinker-Verlag. New York.

AOAC. 2000. Offical Method of Analysis. 17th ed. The Association of Offical Analysis Chemists. Inc, Paithersdurg, Verginia : Arlington.

Arya, S.S., Natesan, V., Parihar, D.B. and Vijayaraghavan, P.K. 1979. Stability of ß-carotene in isolated systems. J. Food Technol. 14 : 571-578.

Bano, M.J., Lorente, J., Castillo, J., Benavente-Garcia, O., Rio, J.A., Ortuno, A., Quirin, K. and Gerard, D. 2003. Phenolic diterpenes, flavones, and rosmarinic acid distribution during the development of leaves, flowers, stems, and roots of rosmarinus officinalis. antioxidant activity. J. Agric. Food. Chem. 51: 4247-4253.

Barba, O.A.I., Hurtado, C.M., Mata,S.M.C., Ruiz, F.V. and Tejada, LS.M. 2006. Application of a UV – vis detection- HPLC method for a rapid determination of lycopene and ß carotene in vegetables . Food Chem. 95: 328-336

Bauernteind, C. 1981. Caroteniods. *In* Caroteniod as colorant and vitamin A. Acadamic Press. New York.

Bozkurt, H. and Bayram, M, 2006. Colour and textural attributes of sucuk during ripening. J. Meat Science. 73: 344-350.

Burt. S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. Int. J. Food Microbiol. 94: 223-253.

Burton, G. W. and Traber, M.G. 1990. Vitamin E antioxidant activity biokinetics and bioavailability. Annu. Rev. Nutr. 10: 357-382.

Camara, B., Hugueney, P., Bouvier, F., Kuntz, M. and Moneger, R. 1995. Biochemistry and molecular biology of chromoplast development. Int. Rev. Cytol. 163. 175-247.

Carso, C.F., Mee, B.J. and Riley, T.V., 2002. Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage and salt tolerance assays and electron microscopy. J. Antimicrob. Chemoth. 46: 1914–1920.

Chen, B. H. and Tang, Y. C. 1998. Processing and stability of powder from carrot pulp waste. J. Agric. Food. Chem. 46 : 2312-2318.

Choi, H.S., Kondo, Y. and Sawamura, M. 2001. Characterization of o dor-active volatiles in citrus Hyuganatus (Citrus tamura hort. ex Tanaka). J. Agric. Food. Chem. 49(5): 2404-2408.

Cox, D. S., Mann, M.C., Markham, L. J., Bell, C.H., Gustafron, E.J., Warmington, R. J., and Wyllie, G.S. 2000. The mode of antimicrobial action of essential oil of Melaleuca alternifolia (tea tree oil). J. Appl. Microbiol. 88: 170-175.

Crowell, P.L., 1999. Prevention and therapy of cancer by dietary monoterpenes. J. Nutr. 129: 775-778.

Dewanto, V., Wu X.Z., Adom K.K. and Liu R.H. 2002. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. J. Agric. Food. Chem. 50: 3010-3014.

Dewanto, V., Wu X.Z. and Liu, R.,H. 2002. Processed sweet corn has higher antioxidant activity. J. Agric. Food. Chem. 50: 4959-4964.

Dimitrios, B. 2006. Sources of natural phenolic antioxidants. Trends. Food Sci. Technol. 17: 505-512.

Division of Health Statistics. 1989. Office of the Permanent Secretary, Ministry of Public Health. Public Health Statistic. Thailand.

Decareau and Robert, V. 1985. Microwaves in the food processing industry. Orlando. USA.

Dutta D., Raychaudhuri U. and Chakraborty R. 2005. Retention of β-carotene in frozen carrots under varying conditions of temperature and time of storage. Afr. J. Biotechnol. 4: 102–108.

Dziedzic, S.Z. and Hudson, B.J.F., 1983. Polyhydroxychalcones and flavanones as antioxidants for edible oils. Food. Chem. 12 : 205–212.

Elbevon. J.H. and Schwartz, J.S. 1996. colorents. *In* Food chemistry. 3nd ed. (Fennema, R.,O.,ed.). P.651-722. University of Wisconsin-Madison. New York.

Frankel, E. N., Bosanek, C. A., Meyer, A. S., Siliman, K. and Kirk, L.L. 1998. Commercial grape juices inhibit the *in vitro* oxidation of human low-density lipoproteins. J. Am. Oil Chem. Soc. 46 : 834-838

Hall, C. 2001. Sources natural antioxidants. *In* Antioxidants in Food. (Nedyalka, Gordon, M. eds.). p.159-209.Woodhead publishing Ltd. Cambridge.

Halliwell, B., Aeschbach, R., Loliger, J., Arouma, O.I. 1995. The characterization of antioxidants. J. Food Chem. Toxic. 33: 601-617.

Hendry, G. A. F., Houghton, J. D. (Eds.). (1996). Natural food colorants. London: Blackie.

Hirayama, O., Nakamura, K., Hamada, S. and Kobayasi, Y. (1994). Singlet oxygen quenching ability of naturally occurring carotenoids. Lipids. 29: 149-150.

Hornero, M. D. and Mínguez, M. M.I., 2000. Carotenoid pigments in Rosa mosqueta hips, an alternative carotenoid source for foods. J. Agric. Food. Chem. 48: 425-420.

Goldman, M. Horev, B. and Saguy, I. 1983. Decolorization of β-carotene in model systems simulating dehydrated foods. Mechanism and kinetic principles. J. Food Sci. 48: 751-754.

Goodwin. T.W. 1980. The biochemistry of the carotenoids vol.1 plans. London

Gordon, M. 2001. The development of oxidative rancidity in foods. *In* J. Pokorny, (Yanishlieva, N. and Gordon, M. eds.), p. 7-12. CRC Press. New York.

Gross, J. 1991. Pigments in vegetables : chlorophylls and carotenoids, AVI book. New York.

Grosvenor PW, Gothard PK, Willianm NC, Supriono A, Gray DO. 1995. Medicinal plants from Riau province, Sumatra, Indonesia. Part 2: Antibacterial and antifungal activity. J. Ethnopharmacol 45: 97-111.

Jeong, S., Kim, S., Kim, D., Jo, S., Nam, K.C., Ahn, D.U. and Lee, S., 2004. Effect of heat treatment on the antioxidant activity of extracts from citrus peels. J. Agric. Food. Chem. 52: 3389-3393.

Juven, B.J., Kanner, J., Schved, F. and Weisslowicz, H., 1994. Factors that interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents. J. Appl. Bacteriol. 76: 626–631.

Kays, S.J., 1991. Postharvest physiology of perishable plant product. New York.

Kearsley, M. W. and Rodriguez, N. 1981. The stability and use of natural colours in Food: anthocyanin. β-carotene and riboflavin. J. Food Technol. 16 :421-431.

Khachik. F., Goli, M.b., Beecher, G.R., Holden, J., Lusby, W.R., Tenorio,. M. D. and Barrera, M. 1992. Effect of food preparation on qualitative and quantitative distribution of major carotenoid constituents of tomatoes and several green vegetables. J. Agric. Food. Chem. 40: 390-398.

Lanciotti. R., Gianotti A., Patrignanai, F., Belletti, N., Guerzoni, E. M. and Gardini, F. 2004. Use of natural aroma compounds to improve shelf life and safety of minimally process fruits. Trends Food Sci. Tech. 15 : 201-205.

Lamburt, R.J.W., Skandamis, P.N., Coote, P. and Nychas, G.-J.E., 2001. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. J. Appl. Microbiol. 91**:** 453–462.

Lavelli, V., Zanoni, B. and Zaniboni, A. 2007. Effect of water activity on carotenoid degradation in dehydrated carrots. Food Chem. 104 : 1705–1711.

Lawrence, B.M., Hogg, J.W., Terhune, S.T. and Podimuang, V. 1970 The Leaf and Peel Oils of Citrus hystrix DC. Bangkok, ASRCT.

Liazid, A., Palma, M., Brigui, J. and Barroso, C.,G. 2007. Investigation on phenolic compounds stability during microwave-assisted extraction. J.Chromatogr. 1140. 29-34.

Lim, Y.Y., and Murtijara, J. 2007. Antioxidant properties of *Phyllanthus amarus* extracts as affected by different drying methods. J. Food Sci. Tech. 40 :1664-1669.

Lorian V. 1996. Antibiotics in Laboratory Medicine, 4th ed. Batimore : Williams &Wilkins.

Lota, M.L., Serra, D.R., Tomi, F. and Casanova, J. 2000. Chemical variability of peel and leaf essential oils of mandarins from *Citrus reticulate* Blanco. J. Biol. Syst. Ecol. 28: 61-78.

Mader, I. 1964. Beta-carotene : Thermal degradation. Science. 144 : 533-534.

Macheix, J.J., Fleuriet, A., and Billot, J. 1990. Fruitphenolics. Florida, BocaRaton :CRC Press.

Magels AR., Holden JM., Beecher GB., Forman MR. and Lanza E., 1993. Carotenoids content of fruits and vegetables: An evaluation of analytical data. J. Am. Diet. Assoc. 93. 284-296.

Manosri, A., Abe, M. and Manosroi, J. 1999. Hair care : Fruitful pursuits an investigation into the effects of porcupine orange (*Citrus hystrix* DC.) extract in hair treatment. J.SPC 16: 13-17.

Marquis RE, Clock SA, Mota-Meira M. 2003. Fluoride and organic weak acids as modulators of microbial physiology. FEMS Microbiol Rev. 760: 1–18.

Martinez-Valverde, I., Periago, M. J., Provan, G. and Chesson, A. 2002. Phenolic compounds, lycopene and antioxidant capacity in commercial varieties of tomato (Lycopersicumesculentum). J. Sci. Food Agric. 82 : 323-330.

Meléndez, P.A. and Capriles, V.A. 2006. Antibacterial properties of tropical plants from Puerto Rico. J. Phytomedicine 13 : 272-276.

Misharina, T. and Polshkov, A. 2005. Antioxidant properties of essential oils: Autoxidation of essential oils from laurel and fennel and of their mixture with essential oil from coriander. Appl. Biochem. Micro. 41: 610-618.

Morel, I., Cillard, P. and Cillard, J. 1998. Flavonoid-metal interactions in biological system. In C. A.

Munsell Book of Color, matte collection, Macbeth Division of Kollmorgen Instruments Corporation, New York.

Odriozola-Sarrano, I., Soliva-Fortuny, R., Hernandez-Jover, T. and Martin-Belloso, O. 2009. Carotenoid and phenolic profile of tomato juices processed by high intensity pulsed electric fields compared with conventional thermal treatments. Food Chem. 112 : 258-259.

Nagai, T. and Suzuki, N. 2001. Partial purification of polyphenol oxidase from Chinese cabbage *Brassica rapa* L. J. Agric. Food. Chem, 49: 3922-3926.

Nisha V.P. and Dayle. M.P. 1995. *Escherichia coli* O157: H7 , epidemiology, pathogenesis and method for detection in food. J. Food Prot. 55: 555-565.

Oboh, G. 2005. Effect of Blanching on Antioxidant property of some tropical green leafy vegetables. LWT. 38:513-517.

Pai, C.H., Ahmed, N., Lior, H., Johnson, W.M., Sims, H.V. and Woods, D.E. 1988. Epidemiology of sporadic diarrhea due to verocytotoxin-producing *Escherichia coli* : a two year prospective study. Actual. Pharm. Biol. Clin. 157: 1054-1057.

Rajalakshmi, D. and Narasimhan. R. 1996. Food antioxidants: Sources and method of evaluation. *In* Food Antioxidants. (Madhavi, D.L. Despande, S.S. and Salunkhe,D.K., eds.). p. 5-64. Marcel Decker. New York.

Ramesh, M.N., Wolf , W., Tevini, D. and Jung, G. 2001. Influence of processing parameters on drying of spice paprika. J. Food Eng. 49 : 63-72.

Rice-Evans and L. Packer(eds.), Flavonoids in health and disease (3rd), pp.163-177. New York: Marcel Dekker.

Rodriguez-Amaya DB (1997) Carotenoids and food preparation: the retention of provitamin A carotenoids in prepared, processed, and stored foods. OMNI, Washington DC.

Sato, A., Asano, K. and Sato T. 1990. The chemical composition of *Citrus hystrix* (swangi) .J. Essent. Oil Res. 24: 179-183.

Shi, Y.Q., Fukai, T., Sakagami, H., Chang, W.J., Yang, P.Q., Wang, F.P. and Nomura, T., 2001. Cytotoxic flavonoids with isoprenoid groups from *Morus mongolica*. J. Nat. Prod. 64 : 181–188.

Sinki G., Assaf, R. and Lombardo, J. 1997. Flavor changes: A review of the principal causes and reactions, Perfumer. Flavo . 22 : 23–31.

Singh, R.P. and Heldman, D.R. 2001. Microwave Heating. *In* Introduction to Food Engineering. 3rd ed. Academic Press, London.

Sies, H. Stahl, W. and Sundquist, A. 1992. Antioxidants functions of vitamins, vitamin E and C, beta – carotene and other carotenoids. Ann. NY Acad. Sci. 368: 7-19.

Sies, H. 1991. Oxidative Stress, oxidants and antioxidants. Acedemic Press. New York.

Siripongvutikorn, S.,Thummaratwasik, P. and Huang, Y.W. 2005. Antimicrobial and antioxidation effects of Thai seasoning, Tom-Yum. LWT. 38: 347-352

Soontornpas, C. 1995. Pharmacokinetics of beta-carotene in health Thai volunteers. Thesis master of science (pharmacy) . Mahidol University.

Souza, E.L., Stamford, T.L.M., Lima, E. O., Trajano, V. N. and Filho, J. M. B. 2005. Antimicrobial effectiveness of spices : An approach for use in food conservation systems. Int. J. technol. 48: 549-558.

Stonsaovapak S., Chareonthamawat, P. and Boonyaratanakornkit. M. 2000. Inhibitory effects selected Thai spices and medicinal plants on *Escherichia coli* 0157:H7 and *Yersinia enterocolitica.* Kasetsart J. Nat. Sci. 34: 510-517.

Sun, D. and Petracek, P.D. 1999. Grapefruit gland oil composition is affected by wax application, storage temperature, and storage time. J. Agric. Food. Chem. 47: 2067-2069.

Talcott, S.T. and L.R. Howard. 1999. Determination and distribution of 6-methoxymellein in fresh and processed carrot puree by a rapid spectrophotometric assay. J. Agric. Food. Chem. 47:3237-3242.

Tang, Y.C. and Chen, B.H. 2000. Pigment change of freeze-dried caroteniod powder during storage. Food. Chem. 69:11-17.

Tracewell, C.A., Vrettos, J.S., Baytiata, J.A., Frank, H.A. and Brudvig, G.W. 2001. Arch. Biochem. Biophys. 385 : 61-69.

Toda, S. 2005. Antioxidative effects of polyphenols from leaves of *Artemisia princes pamp*. On lipid peroxidation in vitro. J. Food Biochem. 29: 305-311.

Ultee, A., Bennink, M.H.J. and Moezelaar, R., 2002. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. Appl. Environ. Microbiol. 68 : 1561–1568 .

Ultee, A., Kets, E.P.W. and Smid, E.J., 1999. Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. Appl. Environ. Microbiol. .65 : 4606–4610.

Veronica, D., Wu, X.Z., Adom, K.K. and Liu, R.H. 2002. Thermal processing enhances the nutritiona value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. J. Agric. Food. Chem. 50 : 3010-3014.

Witzell, J., Gref, R. and Nasholm, T. 2003. Plant-part specific and temporal variation in phenolic compounds boreal biberry (Vaccinium myrillus) plants. Biochem. Syst. Eco. 31: 115-127.

Wong. D. W. S. 1989. Mechanism and theory in food chemistry. AVI book. New York.

Xu, G., Ye, X., Chen, J. and Liu, D. 2007. Effect of heat treatment on the phenolic compounds and antioxidant capacity of citrus peel extract. J. Agric. Food. Chem. 55: 330-335.

Yanishlieva, N.V. 2001. Inhibiting oxidation. *In* Antioxidants in Food. (Yanishlieva, N.V. and Gordon, M. eds.). p.22-57. CRC Press. New York.

Yadav. D. G. and Lande. V. S., 2006. Novelties of kinetics of chemoselective reduction of citronellal to citronellol by sodium borohydride under liquid–liquid phase transfer catalysis. J. Mol. Catal. A: Chem. 247 : 253–259.

Yemenicioglu, A., Ozkan, M., Velioglu, S., and Cemeroglu, B. 1998. Thermal inactivation kinetics of peroxidase and lipoxygenase from fresh pinto beans (Phaseolus vulgaris). Z. Lebensm. Unters. Forsch. 206: 294-296.

Yen ,G-C. and Hsieh, G.-L. 1997. Antioxidant effects on dopamine and relate compounds. Biosci. Biotechnol. Biochem. 61: 1646-16469.

ภาคผนวก

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก. การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

ก 1. การวิเคราะห์ปริมาณความชื้นโดยวิธี No.920.36 (AOAC, 2000)

อุปกรณ์

1. ภาชนะอลูมิเนียมสำหรับหาความชื้น
2. ตู้อบไฟฟ้า
3. โถดูดความชื้น
4. เครื่องชั่งไฟฟ้า 4 ตำแหน่ง

วิธีการ

1. อบภาชนะสำหรับหาความชื้นในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 ºC นาน 2-3 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ในโถดูดความชื้น จนอุณหภูมิของภาชนะเท่ากับอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก

2. กระทำเช่นข้อ 1 ซ้ำ จนผลแตกต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

3. สุ่มตัวอย่างใบมะกรูด หลังจากนั้นบดด้วยเครื่องบดไฟฟ้า และชั่งน้ำหนักที่แน่นอน 1-3 กรัม ใส่ลงในภาชนะหาความชื้นที่ทราบน้ำหนักแล้ว

4. นำไปอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 ºC นาน 4-5 ชั่วโมง

5. นำออกจากตู้อบใส่ในโถดูดความชื้น หลังจากนั้นชั่งหาน้ำหนัก

6. อบซ้ำอีกครั้ง ครั้งละ 30 นาที และกระทำเช่นเดิมจนผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณความชื้น} = \frac{\text{ผลต่างของน้ำหนักก่อนอบและหลังอบ} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ}}$$

ภาคผนวก ข. การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

ข 1 การทดสอบฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ตามวิธีของ Yen และ Hsieh (1997)

อุปกรณ์

1. หลอดทดลอง
2. เครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์

สารเคมี

1. 1,1-Diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมล
2. เอทธานอล

วิธีการ

1.นำสารสกัดมาเตรียมเป็นสารละลายที่มีความเข้มข้นต่างๆกันในน้ำกลั่นปริมาตร 1 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลาย 0.2 mM DPPH ในเอทธานอล ปริมาตร 1 มิลลิลิตรลงไปผสมให้เข้ากัน

2. ทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที

3. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 518 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับชุดควบคุมซึ่งใช้น้ำกลั่นแทนสารสกัด และใช้น้ำกลั่นเป็น blank

4. นำค่าที่วัดได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การทำลายอนุมูลอิสระ DPPH จากสูตร

$$\% \text{ scavenging} = [(A_{control} - A_{sample}) / A_{control}] \times 100$$

A_{sample} = ค่าดูดกลืนแสงของชุดทดสอบ

$A_{control}$ = ค่าดูดกลืนแสงของชุดควบคุม

จากนั้นคำนวณหาค่า IC_{50} (ค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ได้ 50 %) จากกราฟระหว่าง % scavenging กับความเข้มข้นของสารสกัด

ข 2 การหาปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด โดยดัดแปลงวิธีการของ Toda (2005)

อุปกรณ์

1. หลอดทดลอง
2. เครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์

สารเคมี

1. Folin-Ciocalteu reagent
2. โซเดียมคาร์บอเนต 10 %
3. สารละลายมาตรฐาน gallic acid

วิธีการ

1. โดยนำสารสกัดปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 5 มิลลิลิตรแล้วผสมกับสารละลาย Folin-Ciocalteu reagent ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 3 นาที
2. เติม 10 % (w/v) Na_2CO_3 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่นไปจนครบ 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันทิ้งไว้นาน 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง
3. นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตรเทียบกับ blank ซึ่งใช้น้ำกลั่นแทนสารสกัด
4. หาปริมาตรโพลีฟีนอลในสารสกัดโดยเปรียบเทียบค่า ที่วัดได้กับกราฟตราฐานของ gallic acid

ข 3. วิเคราะห์คุณสมบัติการต้านจุลินทรีย์ โดยวิธี disc diffusion ดัดแปลงจากวิธีของ Lorian (1996)

อุปกรณ์

1. จานเพาะเชื้อ
2. โกร่งตัวอย่าง
3. ผ้าขาวบาง
4. เครื่องระเหยสุญญากาศ
5. ปิเปต

6. paper disc

7. กระบอกตวง 10 มิลลิลิตร

สารเคมี และอาหารเลี้ยงเชื้อ

Plat Count Agar Merck

Mueller Hinton Agar (MHA) Merck

Brain Heart Infusion Broth (BHI) Merck

เอทธานอล 70 %

วิธีการ

1. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.1 Plat Count Agar มีส่วนประกอบคือ

Casein enzyme hydrolysate	5.00	กรัมต่อลิตร
Yeast extract	2.50	กรัมต่อลิตร
Dextrose	1.00	กรัมต่อลิตร
Agar	15.00	กรัมต่อลิตร

ชั่งอาหาร 23.5 กรัมต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร คนให้ส่วนผสมเข้ากันด้วย magnetic stirrer แล้วทำให้ปราศจากเชื้อด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอน้ำ ที่ ความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 ºC เป็นเวลา 15 นาที

1.2 Mueller Hinton Agar มีส่วนประกอบคือ

Beef infusion	300	กรัมต่อลิตร
Casein acid hydrolysate	17.50	กรัมต่อลิตร
Starch	1.50	กรัมต่อลิตร
Agare	17.00	กรัมต่อลิตร

วิธีการเตรียม

ชั่งอาหาร 38.0 กรัมต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร คนให้ส่วนผสมเข้ากันด้วย magnetic stirrer แล้วทำให้ปราศจากเชื้อด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอน้ำ ที่ความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 ºC เป็นเวลา 15 นาที

1.3 Brain Heart Infusion Broth มีส่วนประกอบคือ

Calf Brains	200	กรัมต่อลิตร
Beef Heart	250	กรัมต่อลิตร

Bacto Proteose Peptone	10	กรัมต่อลิตร
Bacto Dextrose	2	กรัมต่อลิตร
Sodium Chloride	5	กรัมต่อลิตร
Disodium Phosphate	2.5	กรัมต่อลิตร

วิธีการเตรียม

ชั่งอาหาร 37.0 กรัมต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร คนให้ส่วนผสมเข้ากันด้วย magnetic stirrer แล้วทำให้ปราศจากเชื้อด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอน้ำ ที่ความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 ºC เป็นเวลา 15 นาที

2. การเตรียมเชื้อที่ใ ช้ในการทดสอบคือ *Escherichia coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus, Pseudomonas fluorescens* ATCC 49839, *Listeria monocytogenes* โดยเพาะเลี้ยงเชื้อดังกล่าวด้วยอาหารเหลว BHI ปริมาตร 5 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 35 ºC เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาทำ 10 fold dilution ในอาหารเหลว BHI 9 มิลลิลิตร เพื่อใช้ในการทดสอบการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ต่อไป

3. การหาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด โดยการปิเปตจุลินทรีย์ที่ทำการเจือจางที่ความเข้มข้น 10^{-7}-10^{-8} ปริมาณ 1 มิลลิลิตร จากแต่ละความเจือจางลงในจานเพาะเชื้อที่ปลอ ดเชื้อ และเททับด้วยอาหาร PCA ประมาณ 15 มิลลิลิตร แกว่งจานเลี้ยงเชื่อเบาๆแล้วตั้งทิ้งไว้ให้อาหารแข็งตัว จากนั้นนำมาบ่มที่อุณหภูมิ 37 ºC เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ตรวจนับจำนวนโคโลนีที่อยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนี เพื่อหาความเข้มข้นของจุลินทรีย์ที่ใช้ทำการทดสอบความสามารถในการต้านจุลินทรีย์

การคำนวณ

$$\text{Total viable count (CFU/มิลลิลิตร)} = \frac{\text{ค่าเฉลี่ยของจำนวนโคโลนี} \times \text{ระดับความเจือจาง}}{\text{ปริมาณตัวอย่าง (มิลลิลิตร)}}$$

4. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อใช้ในการโหลดเชื้อ โดยใช้ Muller Hinton agar (MHA) 13 มิลลิลิตรพักให้แห้ง หลังจากนั้นเติมเชื้อที่ต้องการทดสอบที่ผ่านการเจือจางในระดับต่างๆลงไป 1 มิลลิลิตรทำการเกลี่ยให้ทั่วผิวหน้าอาหาร

5. การเตรียมสารสกัดที่ใช้ในการทดสอบความสามารถในการต้านจุลินทรีย์ โดยการสกัดด้วยเอทธานอล 70% ปริมาตร 60 มิลลิลิตร บดกับใบมะกรูด 30 กรัมด้วยโกร่งเป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นคั้นสารสกัดโดยผ้าขาวบาง นำสารสกัดดังกล่าวระเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศจนปริมาตรสุดท้าย 10 มิลลิลิตร แล้วนำสารสกัดแช่แผ่น paper disc ไร้เชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นผึ่งจนแผ่น paper disc แห้งจึงนำไปทดสอบต่อไป

6. การทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ นำแผ่น paper disc วางบนอาหารเลี้ยงเชื่อที่เตรียมไว้ โดยแต่ละแผ่นห่างกันประมาณ 15-20 มิลลิเมตร และห่างจากขอบจานอาหารเลี้ยงเชื้อประมาณ 15 มิลลิเมตร โดยมีชุดควบคุมคือเอทธานอล 70% แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 ºC เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ

7. การอ่านค่า โดยการสังเกตการเกิดวงใส (inhibition zone) และวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสด้วย vernier caliper

ข 4. การวัดค่า pH

อุปกรณ์

1. เครื่อง digital pH meter ยี่ห้อ CyberScan รุ่น pH510
2. บีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร

วิธีการ

1. นำสารสกัดจากการทดสอบการต้านแบคทีเรีย ทำการวัดค่า pH ทั้งในตัวอย่างใบกึ่งอ่อนกึ่งแก่และใบแก่โดยใช้เครื่อง digital pH meter

ข 5. วิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมด (AOAC, 2000) ในรูปกรดสมมูลย์ของซิตริก

อุปกรณ์

1. บิวเรต
2. ขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร
3. ผ้าขาวบาง

สารเคมี

1. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์มาตรฐาน (NaOH)
2. ฟีนอฟทาลีน อินดิเคเตอร์
3. น้ำกลั่น
4. เอทธานอล
5. โพแทสเซียมเอซิดพาทาเลท (Potassiam acid phathalate)

การเตรียม สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์มาตรฐาน 0.1 N

เตรียมโดยก ารเตรียม stock solution ของ 0.5 N โซเดียมไฮดรอกไซด์ โดยการชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 20 กรัม จากนั้นเติมน้ำกลั้น จนมีปริมาตร 100 มิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจาง stock solution โดยการปิเปต stock solution 1 มิลลิลิตร เจือจางด้วยน้ำกลั่นจนมีปริมาตร 50 มิลลิลิตร และนำสารละลายที่ได้หาความเข้มข้นมาตรฐาน

การหาความเข้มข้น สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์มาตรฐาน โดยการชั่ง โพแทสเซียมเอซิดพาทาเลท อบ 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 110 ºC แล้วทำให้เย็นในโถดูดความชื้น จากนั้นนำมาชั่งน้ำหนักที่แน่นอน 0.8 กรัมลงในขวดรูปชมพู่ เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 25 มิลลิลิตร หยดสารฟีนอฟทาลีน 3 หยด และนำมาไตเตรทโดยสารละลาย โซเดียมไฮดรอกไซด์มาตรฐาน 0.1 N หลังจากนั้นคำนวณความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์มาตรฐาน จากสูตร

$$\text{ความเข้มข้นมาตรฐาน (N)} = \frac{\text{กรัมของโพแทสเซียมเอซิดพาทาเลท} \times 1000}{\text{มิลลิกรัมของโซเดียมไฮดรอกไซด์} \times 204.22}$$

สมมูลโพแทสเซียมเอซิดพาทาเลท = 204.216

การเตรียม ฟีนอฟทาลีน

ชั่งฟีนอฟทาลีน 1 กรัม ละลายในเอทธานอล 95 % ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

วิธีการ

1. นำสารสกัดจากการวัดค่า pH มาบีบคั้นน้ำโดยใช้ผ้าขาวบาง หลังจากนั้นปิเ ปตสารสกัด 0.5 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่น 60 มิลลิลตรที่ไตรเตรดหาจุดยุติแล้ว

2. ทำการไตรเตรตด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์มาตรฐาน โดยใช้ฟีนอฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์

3. การคำนวณ

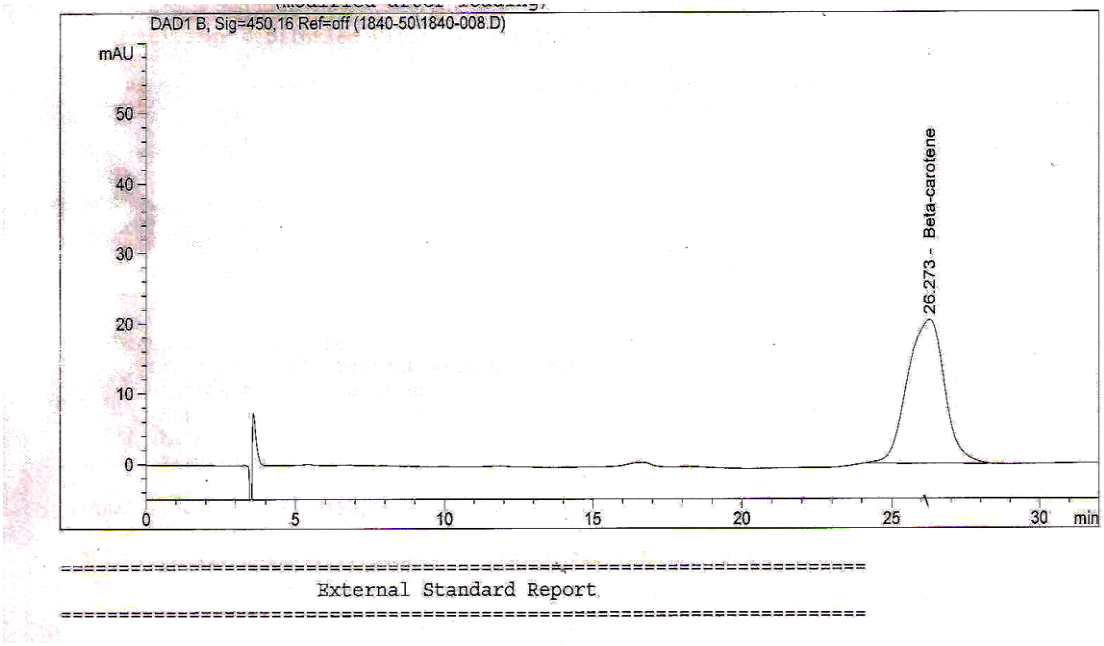
$$\text{ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดซิตริก (ร้อยละ)} = \frac{0.7 \times V \times N \times 100}{\text{ปริมาณตัวอย่าง (มิลลิลิตร)}}$$

กำหนดให้

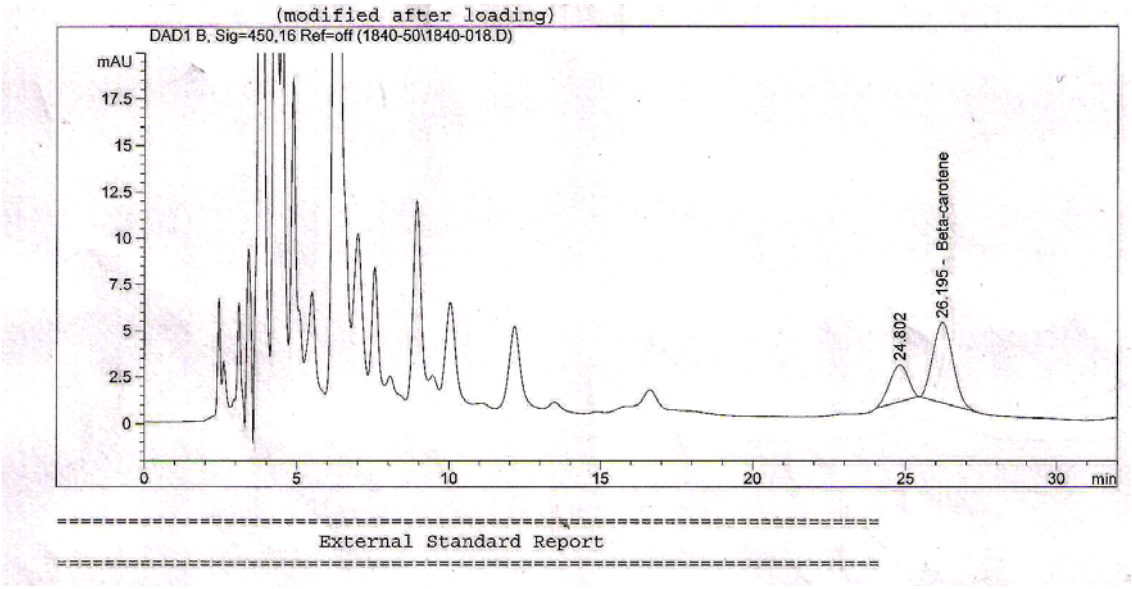
V = ปริมาณสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์มาตรฐานที่ใช้ไตรเตรต

N = ความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายมาตรฐาน (นอร์มอล)

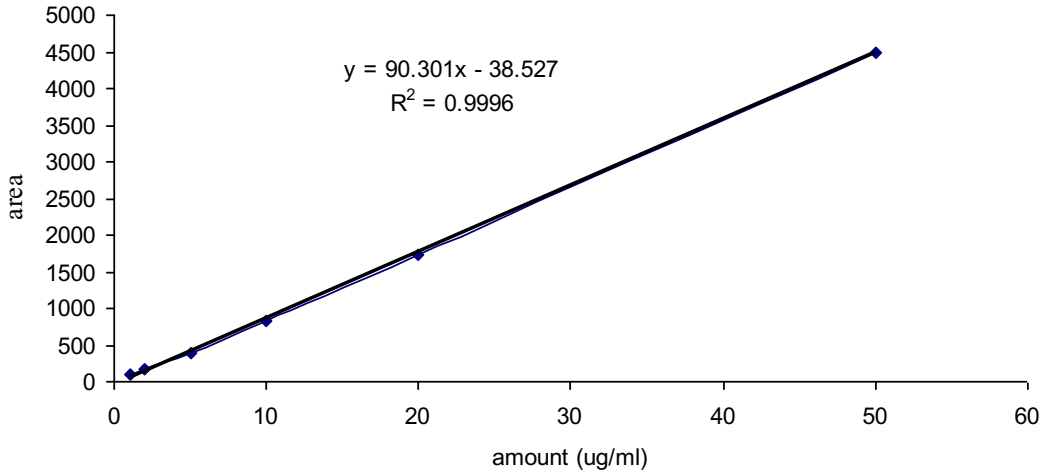
ภาคผนวก ค. ผลการทดลอง



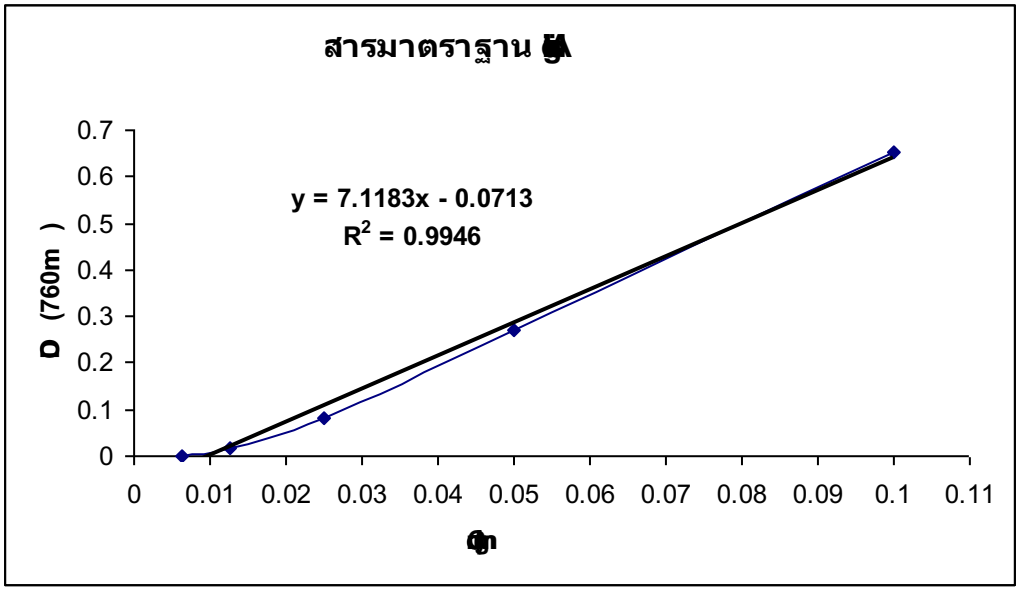
Appendix figure 1. Chromatogram of β-carotene standard



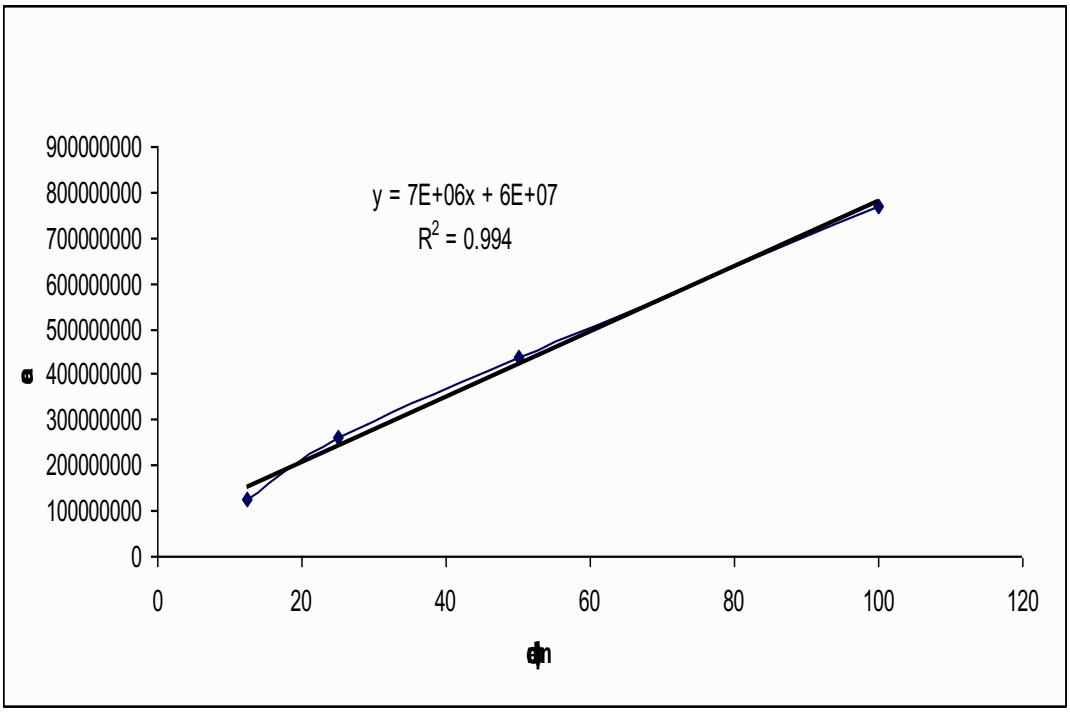
Appendix figure 2. Chromatogram of old stage fresh kaffir lime leaves



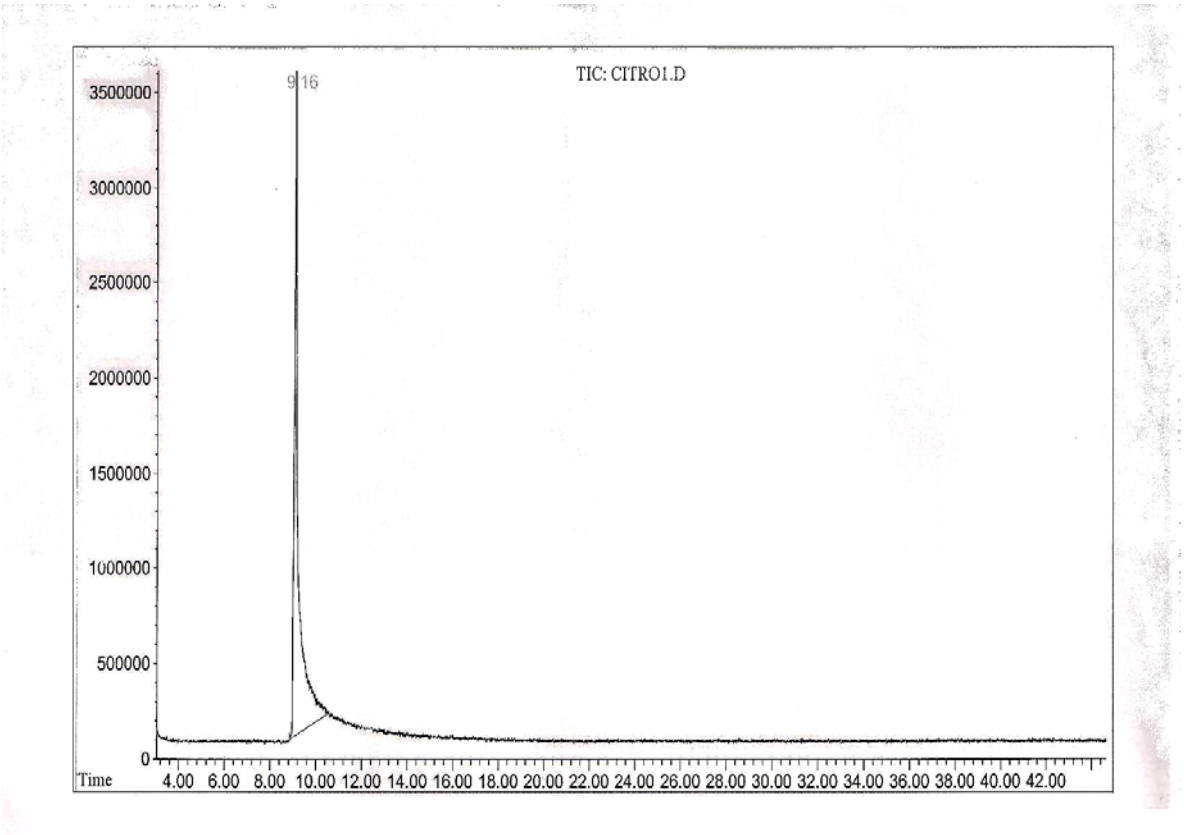
Appendix figure 3. Standard curve of β -carotene to determine qualitative of β -carotene content from kaffir lime leaves



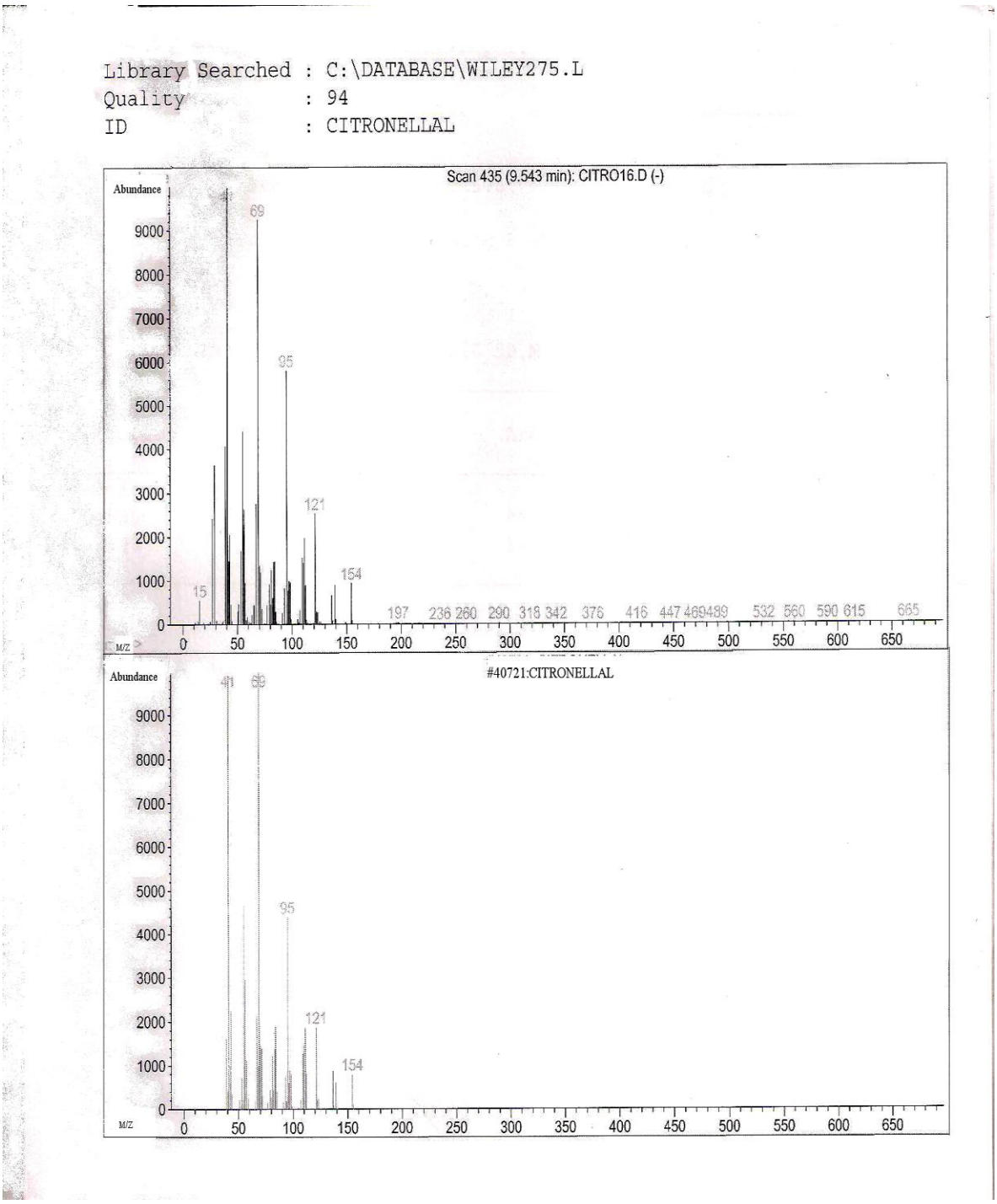
Appendix figure 4**.** Standard curve of gallic acid to determine qualitative of total phenolic content from kaffir lime leaves.



Appendix figure 5. Standard curve of citronellal to determine qualitative of citronellal from kaffir lime leaves



Appendix figure 6. GC chromatogram of citronellal standard



Appendix figure 7. Mass spectrum of citronellal standard

Appendix table 1. Yield of citronellal contents of fresh and dried kaffir lime leaves

Treatment	%yield citronellal content	
	Old	Intermediate
fresh	0.82	0.53
microwave	1.08	0.63
hot air oven	0.76	0.55
sun dryer	0.62	0.44

Appendix table 2**.** The effect of packaging on the numerical total color difference (Δ E) during storage of dried old kaffir lime leaves by microwave drying

storage time (days)	ΔE	
	Laminated foil	LDPE
0	8.09 ± 0.28^{Da}	8.09 ± 0.23^{Ea}
25	7.05 ± 0.12^{Eb}	8.10 ± 0.57^{Ea}
50	6.45 ± 0.08^{Fb}	12.91 ± 0.17^{Da}
75	7.21 ± 0.11^{Eb}	13.57 ± 0.11^{Da}
100	10.24 ± 0.10^{Cb}	$14.88\pm0.33B^{Ca}$
125	11.69 ± 0.05^{Bb}	$15.32\pm0.23A^{Ba}$
150	11.75 ± 0.24^{Bb}	14.31 ± 0.14^{Ca}
175	12.19 ± 0.15^{Ab}	15.93 ± 0.27^{Aa}

Note: Data are expressed as mean ± SD of triplicate experiments.

^{ABCDEF} Mean values in a column with different letters are significantly difference ($p<0.05$).

^{ab} Mean values in row with different letters at the same value are significantly difference ($p<0.05$).

Appendix table 3. The effect of packaging on the numerical total color difference (Δ E) during storage of dried intermediate kaffir lime leaves by microwave drying

storage time (days)	Δ E	
	Laminated foil	LDPE
0	1.73 ± 0.83^{Ea}	1.73 ± 0.83^{Ea}
25	10.74 ± 0.05^{Db}	13.28 ± 0.07^{Da}
50	12.22 ± 0.19^{Cb}	15.11 ± 0.38^{Ba}
75	13.21 ± 0.34^{Bb}	14.47 ± 0.10^{Ca}
100	13.06 ± 0.07^{Bb}	16.59 ± 0.21^{Aa}
125	13.55 ± 0.20^{Bb}	16.70 ± 0.22^{Aa}
150	14.86 ± 0.03^{Ab}	16.67 ± 0.11^{Aa}
175	14.73 ± 0.17^{Ab}	16.32 ± 0.12^{Aa}

Note: Data are expressed as mean ± SD of triplicate experiments.

^{ABCDEF} Mean values in a column with different letters are significantly difference ($p<0.05$).

^{ab} Mean values in row with different letters at the same value are significantly difference ($p<0.05$).

Appendix table 4. The effect of packaging on β-carotene during storage of dried old kaffir lime leaves by microwave drying

storage time (days)	β-carotene content	
	Laminated foil	LDPE
0	141.19 ± 1.55^{Aa}	141.19 ± 1.55^{Aa}
25	128.14 ± 2.05^{Ba}	122.71 ± 0.16^{Bb}
50	105.55 ± 1.18^{Ca}	59.72 ± 0.13^{Cb}
75	99.92 ± 1.13^{Da}	48.65 ± 0.68^{Db}
100	62.61 ± 0.48^{Ea}	19.33 ± 0.05^{Eb}
125	8.60 ± 0.02^{Fa}	nd

Note: Data are expressed as mean ± SD of triplicate experiments.

^{ABCDEF} Mean values in a column with different letters are significantly difference ($p<0.05$).

^{ab} Mean values in row with different letters at the same value are significantly difference ($p<0.05$).

nd = not-detected

Appendix table 5. The effect of packaging on β-carotene of intermediate stage kaffir lime leaves dried by microwave during storage

storage time (days)	β-carotene content	
	Laminated foil	LDPE
0	65.35 ± 1.45^{Aa}	62.35 ± 1.45^{Aa}
25	59.30 ± 0.20^{Ba}	43.81 ± 0.06^{Bb}
50	47.23 ± 0.33^{Ca}	44.77 ± 0.26^{Cb}
75	36.09 ± 0.42^{Ea}	25.53 ± 0.84^{Eb}
100	23.27 ± 0.44^{Fa}	8.49 ± 0.16^{Fb}
125	nd	nd

^{ABCD} Mean values in a column with different letters are significantly difference ($p<0.05$).

^{ab} Mean values in row with different letters at the same value are significantly difference ($p<0.05$).

nd = not-detected

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นางสาวนฤพร เฟื่องฟุ้ง

รหัสประจำตัวนักศึกษา 4911020014

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (สัตวศาสตร์)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2548

ทุนการศึกษา (ที่ได้รับในระหว่างการศึกษา)

- ทุนการพัฒนาสาขาอุตสาหกรรมเกษตรสู่ความเป็นเลิศ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
- ทุนอุดหนุนงานวิจัยบัณฑิตวิทยาลัย

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

การเผยแพร่ในการประชุมทางวิชาการ

Faungfung, N., Usawakesmanee, W., Siripongvutikorn, S. and Arekul, V. 2007. Effect of different drying methods on total phenolic contents, antioxidant and antimicrobial activities of kaffir lime leaves (*citrus hystrix* DC.). In Proceeding of 9th National Grad Research Conference. Burapha University, Bangsaen Chonburi, Thailand. 14-15 March 2007.