สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

รายงานการวิจัย

ปัจจัยที่มีผลต่อการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้างด้วยสเปกโตรโฟโตมิเตอร์และการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูปด้วยสมุนไพร

Factors affecting residual nitrite content analysis by spectrophotometer and reduction of residual nitrite in processed meat product by herbs

RCH
ย 395ป
2555

ชื่อผู้วิจัย ผศ. ดร. ยุพร พืชกมุทร
นาง วันทนีย์ ช้างน้อย

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 137357
วัน.เดือน.ปี 22 มิ.ย. 2558

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน
ประจำปีงบประมาณ 2555
คณะอุตสาหกรรมเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

b 12621466
i.....

ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) ปัจจัยที่มีผลต่อการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้างด้วยสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ และการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูปด้วยสมุนไพร

ชื่อโครงการ (ภาษาอังกฤษ) Factors affecting residual nitrite content analysis by spectrophotometer and reduction of residual nitrite

แหล่งเงิน งบประมาณแผ่นดิน

ประจำปีงบประมาณ 2555 จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 233,000 บาท

ระยะเวลาการทำวิจัย1ปี ตั้งแต่ ตค 2554 ถึง กย 2555

หัวหน้าโครงการ ผศ. ดร. ยุพร พืชกมุทร คณะอุตสาหกรรมเกษตร

ผู้ร่วมโครงการ นางวันทนีย์ ช้างน้อย คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง kcyuporn@kmitl.ac.th

คำสำคัญ ไนไตรท์ตกค้าง สารสกัดอบเชย

บทคัดย่อ

การวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้างประกอบด้วยปฏิกิริยาสำคัญคือ การเกิดไดอะโซเนียมไอออน และปฏิกิริยาระหว่าง ไดอะโซเนียมไอออนกับ NED ก่อนนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ เพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาต่อค่าการดูดกลืนแสง และเลือกสภาวะเหมาะสมนำไปวิเคราะห์ปริมานไนไตรท์ตกค้างเมื่อใช้ส่วนผสมและสมุนไพรในผลิตภัณฑ์เนื่อสัตว์ ผลการทดลองพบว่า ค่าการดูดกลืนแสงของโซเดียมไนไตรท์ทั้งแปดความเข้มข้นจะให้ค่าสูงสุดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และจะมีค่าลดลงเมื่อใช้อุณหภูมิสูงขึ้นโดยเฉพาะเมื่อความเข้มข้นของโซเดียมไนไตรท์สูง ในกรณีของปฏิกิริยาการเกิดไดอะโซเนียมไอออน ค่าการดูดกลืนแสงจะถึงค่าสูงสุดเมื่อเวลา 5 ถึง 10 นาที และจะมีค่าลดลงเมื่อใช้เวลามากกว่า 15 นาที สำหรับปฏิกิริยาที่สองเวลาที่เหมาะสมคือ 30 นาที

ผลการศึกษาความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างของส่วนผสมและสมุนไพร 13 ชนิดที่นิยมใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ ได้แก่ เม็ดผักชีป่น อบเชยป่น ปาปรีก้าป่น พริกขี้หนูสวนป่น พริกไทยดำป่น พริกไทยขาวป่น กระเทียมป่น ยี่หร่าป่น ตะไคร้ป่น ข่าป่น ใบมะกรูดป่น โปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง และไข่ขาวผง โดยเติมสมุนไพรในสารละลายโซเดียมไนไตรท์ ความเข้มข้น 200 ppm ก่อนเก็บในตู้เย็นเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า อบเชยป่นมีความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างได้ดีที่สุด จากนั้นจึงนำเปลือกอบเชยป่นไปสกัดให้อยู่ในรูปสารสกัด โดยใช้เอทานอล 95 เปอร์เซนต์ หรือน้ำเป็นตัวทำละลาย พบว่า สารสกัดอบเชยที่ได้จากการใช้เอทานอล มีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด เท่ากับ 362.57 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อสารกสัดเริ่มต้น 1 กรัม หรือ 90.64 มิลลิกรัมกรดแกลลิ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กต่ออบเชยป่น 1 กรัม นอกจากนี้ผลการทดสอบในหลอดทดลอง พบว่า สารสกัดอบเชยมีความสามารถในการลดปริมารไนไตรท์ตกค้าง และทำลายไนตริกออกไซด์ได้ดี

เมื่อนำสารสกัดอบเชยเติมในไส้กรอกหมูรมควัน และเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน พบว่า สารสกัดอบเชยสามารถลดปริมารไนไตรท์ตกค้างในไส้กรอกหมูรมควัน โดยพบว่าไส้กรอกหมูรมควันที่เติมสารสกัดอบเชยมีปริมารไนไตรท์ตกค้างน้อยกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทุกวันที่เก็บรักษา อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างของสารสกัดอบเชยในไส้กรอกน้อยกว่าในหลอดทดลอง

ABSTRACT

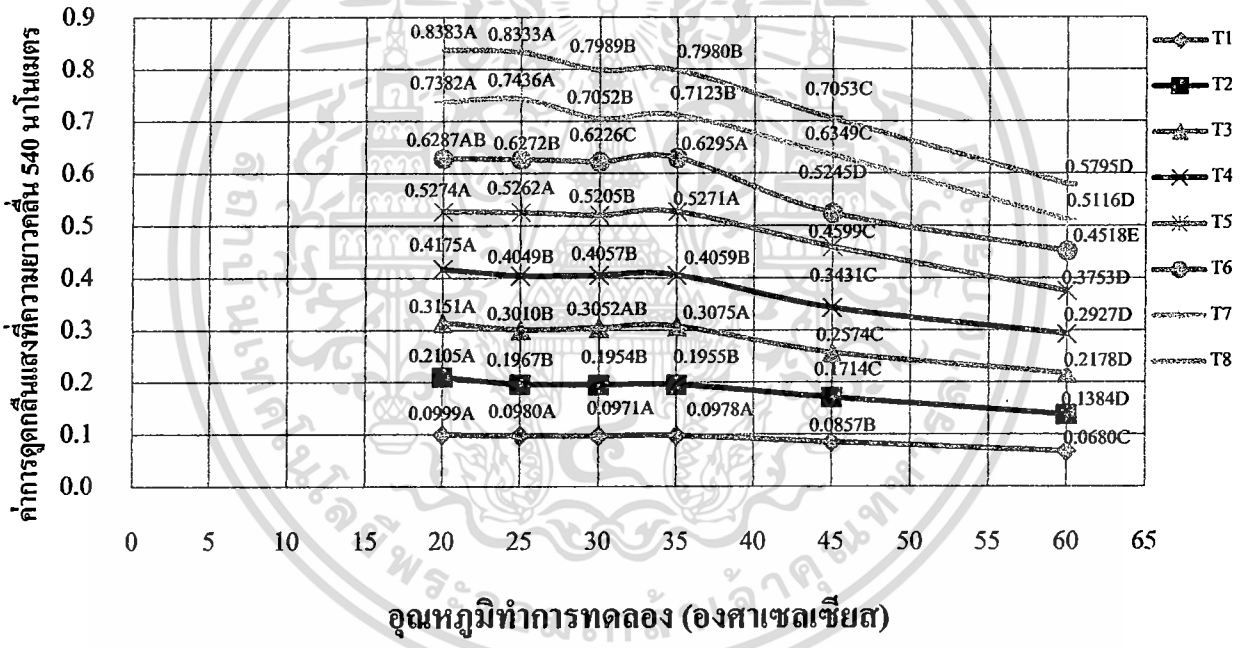
The determination of residual nitrite content is based on two parts of reaction. The first is the reaction to form diazonium ion. The second is the reaction of diazonium ion that coupling with NED in acid medium and determine absorbance by spectrophotometer. The purpose of those study were investigate two factors, incubation temperature and incubation time for the two reactions. On the developing of absorbance before selected the suitable condition to analyze nitrite reduction by meat seasoning. The absorbance that developed from eight concentrations of sodium nitrite was stable at 25 ^{o}C and began decreasing when incubation temperature was increased and obviously significant in high concentration. For the first reaction the absorbance reached maximum at around 5 to 10 minutes and gradually decreased when the reaction time was greater than 15 minutes. In the case of the second reaction, the suitable time that gave optimum absorbance was 15-30 minutes.

Thirteen dry powder meat seasonings (coriander seed, cinnamon, paprika, guinea pepper, black pepper, garlic, cumin, lemon glass, garlinate, kaffir lime leaf, egg white powder and soy protein isolate) were used to study the nitrite reduction property in vitro. Each seasoning was added to 200 ppm sodium nitrite solution and incubated in refrigerator for 24 hours. Then the residual nitrite content was determined. Cinnamon (*Cinnamon burmanii*) was found to be potent in nitrite reduction property. The cinnamon extract was further prepared by solvent extraction of 95 % ethanol or water. The total phenolic content of the cinnamon extract was estimated to be 362.57 mg gallic acid equivalents/g of cinnamon extract or 90.64 mg gallic acid equivalents/g of cinnamon powder. The nitrite

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

scavenging and nitric scavenging properties of the extract in vitro also studied. The result found that the cinnamon extract had a good nitrite scavenging capacity.

The cinnamon extract was added into smoked pork sausage to determine the nitrite scavenging. The products were kept for 5 days at 4 °C prior to determine nitrite residual. The result found that cinnamon extract could reduce the nitrite residual content in smoke pork sausage. All the smoked pork sausages adding cinnamon extract had nitrite residual content less than that of control for every day of incubation. However, the efficiency to reduce nitrite in vitro of cinnamon extract was remarkably higher than in smoked sausage.

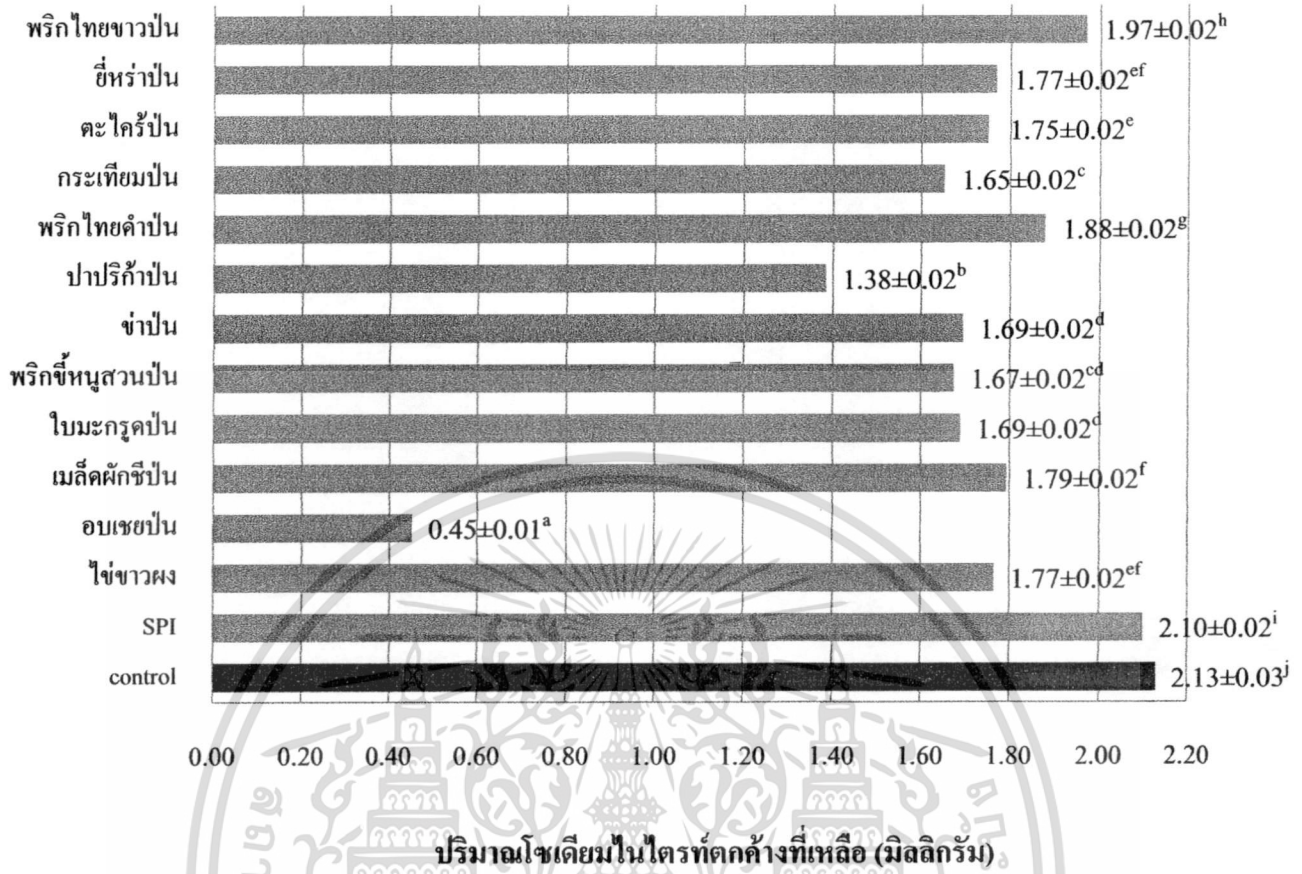


ภาพที่ 1 : ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายโซเดียมไนไตรท์ที่อุณหภูมิ 20, 25, 35, 45 และ 60 องศาเซลเซียส

^{ABCD} ตัวอักษรกำกับต่างกันในเส้นกราฟเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

T1 ถึง T8 หมายถึง ตัวอย่างสารละลายโซเดียมไนไตรท์ที่ความเข้มข้น 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2, 1.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2: ความสามารถด้านการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างของพืชสมุนไพรและส่วนผสมอื่นที่นิยมใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูปปริมาณ 0.5 กรัม

[a-j] อักษรกำกับแตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ นักศึกษาและผู้ร่วมงาน คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง รวมทั้งนางสาวณัฐวดี ตันวิสุทธิ์ ที่มีส่วนสนับสนุนช่วยเหลือให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี คุณค่าและประโยชน์อันพึงมีจากงานวิจัยเล่มนี้ ข้าพเจ้าขอมอบแด่ครูอาจารย์และผู้มีพระคุณทุกท่าน

คณะวิจัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	I
กิตติกรรมมประกาศ	V
สารบัญ	VI
สารบัญตาราง	VIII
สารบัญภาพ	IX
บทที่ 1 บทนำ 1	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 ไนไตรท์	4
2.2 การตรวจหาปริมาณไนไตรท์ตกค้าง	12
2.3 พืชสมุนไพรและส่วนผสมที่นิยมใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูป	14
2.4 อบเชย	15
2.5 การยับยั้งการเกิดไนโตรซามีน	16
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	20
3.1 วัตถุดิบ	20
3.2 เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์	20
3.3 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์	21
3.4 สถานที่ดำเนินการทดลอง	21
3.5 วิธีดำเนินงาน	21
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง	28

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

4.1 ผลการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้าง 28

4.2 ผลการศึกษาความสามารถด้านการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้าง
ของพืชสมุนไพรและส่วนผสมอื่นที่นิยมใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูป 31

4.3 ผลการศึกษาสมบัติของสารสกัดอบเชย 33

4.4 ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้าง
ของสารสกัดอบเชยในไส้กรอกหมูรมควัน 41

4.5 ผลการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของไส้กรอกหมูรมควันที่เติมสารสกัดอบเชย 44

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ 46

5.1 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ 46

บรรณานุกรม 48

ภาคผนวก ก. การวิเคราะห์ทางเคมี 52

1. การวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้าง 53

2. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (Total polyphenol content) 54

3. การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH 56

4. การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก 58

5. การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายไนตริกออกไซด์ (nitric oxide scavenging) 60

ภาคผนวก ข. การทดสอบทางประสาทสัมผัส 61

แบบทดสอบความชอบ (7-point hedonic scale) 62

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
3.1	สูตรในการผลิตไส้กรอกหมูรมควัน	25
4.2	ปริมาณไนไตรท์ตกค้างที่เหลือหลังผ่านการเติมตัวอย่างพืชสมุนไพรและส่วนผสมอื่นที่นิยมใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูป	32
4.3.1	ปริมาณสารสกัดที่ได้โดยเฉลี่ยในแต่ละครั้ง	34
4.3.2	ปริมาณสารประกอบฟีนอลลิคทั้งหมดในสารสกัดและรูปแบบ	35
4.3.3.1	ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดอบเชยรูปแบบต่างๆ	36
4.3.3.2	ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารสกัดอบเชยรูปแบบต่างๆ	37
4.3.4	ความสามารถในการทำลายไนตริกออกไซด์ของสารสกัดอบเชยที่ระดับต่างๆ	39
4.3.3	ความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างของสารสกัดอบเชยที่ความเข้มข้นต่างๆ	40
4.4.1	ปริมาณไนไตรท์ตกค้าง (ppm) ของไส้กรอกหมูรมควันที่เติมสารสกัดอบเชยที่ระดับต่างๆ ในระหว่างการเก็บรักษา	42
4.4.2	ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ระหว่างการเก็บรักษาของไส้กรอกหมูรมควันที่เติมสารสกัดอบเชยที่ระดับต่างๆ	43
4.4.3	เปอร์เซ็นต์ความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างของสารสกัดอบเชยระดับต่างๆ ในตัวอย่างสารละลายโซเดียมไนไตรท์(หลอดทดลอง)และในตัวอย่างไส้กรอกหมูรมควันเมื่อผ่านไป 24 ชั่วโมง	43
4.5.1	คะแนนความชอบของผู้ทดสอบต่อไส้กรอกหมูรมควันที่เติมสารสกัด ก ที่ระดับต่างๆ	45
4.5.2	คะแนนความชอบของผู้ทดสอบต่อไส้กรอกหมูรมควันที่เติมสารสกัด ง ที่ระดับต่างๆ	45

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	การเกิดสีของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูปเนื่องจากไนไตรท์	4
2.2	การเกิดสารก่อโทษจากไนเตรทและไนไตรท์ในอาหาร	7
2.3	การเกิดสารก่อโทษจากไนเตรทและไนไตรท์ในร่างกายมนุษย์	7
2.5	ปฏิกิริยาการเกิดไนโตรซามีนจากเอมีนทุติยภูมิ	10
2.6	สารในกลุ่มกลุ่มไนโตรซาไมด์ ; ก.) เอ็น-ไนโตรโซคาร์บาเมท และ ข.) เอ็น-ไนโตรโซยูเรีย	10
2.7	การเกิดเปอร์ออกซิไนไตรท์ ($ONOO^-$) จากปฏิกิริยาระหว่างซุปเปอร์ออกไซด์ ($O_2^{-}\bullet$) กับไนตริกออกไซด์ (NO)	11
2.8	วงแหวนเอมีนปฐมภูมิ (ซ้าย) และ ไดอะโซเนียมไอออน (ขวา)	13
2.9	การเกิด azo indicator	14
3.1	ขั้นตอนการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้าง	22
3.2	ขั้นตอนการผลิตไส้กรอกหมูรมควัน	26
4.1.1	ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายโซเดียมไนไตรท์ที่อุณหภูมิ 20, 25, 35, 45 และ 60 องศาเซลเซียส	28
4.1.2	ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายโซเดียมไนไตรท์ที่ระยะเวลาที่ใช้ระหว่างการเกิดไดอะโซเนียมไอออน 2, 5, 10, 15 , 20 และ 30 นาที	30
4.1.3	ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายโซเดียมไนไตรท์ที่ระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยาระหว่างไดอะโซเนียมไอออนกับ NED 5, 15, 30, 45 และ60 นาที	31
4.4	ความสามารถด้านการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างของพืชสมุนไพรและส่วนผสมอื่นที่นิยมใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูปปริมาณ 0.5 กรัม	33
ก1	กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิค	55
ก2	กราฟมาตรฐานของสารละลายโทรลอกซ์	58
ก3	กราฟมาตรฐานของสารละลายโทรลอกซ์	60

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ไนไตรท์เป็นวัตถุเจือปนอาหาร มักใช้ในรูปของเกลือโซเดียมหรือโปตัสเซียมไนไตรท์ นิยมนำมาเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูป เพื่อช่วยเพิ่มคุณลักษณะด้าน สี กลิ่น ที่เป็นเอกลักษณ์ของผลิตภัณฑ์ ช่วยในการยืดอายุของผลิตภัณฑ์ คือ ชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Clostridium botulinum* (Vidua-Martos และคณะ, 2009) แต่การใช้ไนไตรท์เพื่อประโยชน์ดังกล่าวจะมีไนไตรท์บางส่วนตกค้างอยู่ในผลิตภัณฑ์และทำหน้าที่เป็นสารตั้งต้น (precursor) ของปฏิกิริยาการเกิดไนโตรซามีน (N-Nitrosation) (ประสงค์, 2549) ซึ่งเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค เมื่อรับประทานเป็นปริมาณมากหรือสม่ำเสมอจนเกิดการสะสมในร่างกาย

การออกกฎหมายควบคุมการใช้ปริมาณไนไตรท์ในอาหาร ทำให้ผู้บริโภคปลอดภัยได้ในระดับหนึ่ง แต่เนื่องจากไนไตรท์เป็นส่วนผสมในอาหารหลายชนิด ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้สูงที่ผู้บริโภคจะได้รับไนไตรท์สะสมในร่างกาย มีงานวิจัยหลายงานวิจัยพบว่าสารพฤกษเคมีจากพืชสามารถทำหน้าที่เป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (antioxidant) ช่วยชะลอกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน เช่น เมล็ดองุ่นพืชตระกูลส้ม และพืชตระกูลเบอร์รี (Jayaprakasha และคณะ, 2001; Zia-ur-Rehman, 2006; Koca และ Karadeniz, 2009) อย่างไรก็ตามงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการทดสอบความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างของสารสกัดจากพืชเหล่านี้ยังมีอยู่จำกัด อาจเนื่องมาจากข้อจำกัดของสีและกลิ่นของสารสกัดจากพืชเหล่านี้ที่อาจทำให้กลิ่นรสของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูปเปลี่ยนไป

ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูป มีการใช้ส่วนผสมจากพืชและเครื่องเทศหลายชนิด รวมทั้งส่วนผสมอื่นที่มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive compound) เช่น โปรตีนจากถั่วเหลือง (สุภาวดี, 2550) และไข่ขาวผง (สุนิษา, 2552) ดังนั้นคณะวิจัยจึงสนใจทดสอบความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างของสมุนไพรและส่วนผสมอื่นๆที่ใช้เป็นส่วนผสมจริงในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูป ส่วนผสมทั้ง 13 ชนิด ที่จะศึกษา คือ เม็ดผักชีป่น อบเชยป่น ปาปรีก้าป่น พริกขี้หนูสวนป่น พริกไทยดำป่น พริกไทยขาวป่น กระเทียมป่นยี่หร่าป่น ตะไคร้ป่น ข่าป่น ใบมะกรูดป่น ไข่ขาวผง และโปรตีนจากถั่วเหลือง โดยจะคัดเลือกสมุนไพร หรือส่วนผสมที่สามารถลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างก่อนนำไปสกัดสารพฤษเคมีหรือสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีอยู่ในวัตถุดิบนั้น เพื่อนำไปทดสอบสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันและความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างในไส้กรอกหมูรมควัน นอกจากนี้การวิเคราะห์ปริมาณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไนไตรท์ตกค้างในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูปนั้นโดยทั่วไปจะใช้ขั้นตอนของ Association of Official Analytical Chemists Official Method 973.31 Nitrites in cured meat (1995) โดยวิธีทางแคลอรีเมตริก (colorimetric method) ซึ่งเป็นวิธีที่ง่าย มีขั้นตอนการวิเคราะห์ที่ไม่ยุ่งยากและใช้เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) ในการตรวจวิเคราะห์ โดยอาศัยหลักการการเกิดสารประกอบที่สามารถดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ระหว่างไนตรัสแอซิด (nitrous acid) กับซัลฟานิลาไมด์ (sulfanilamide) อย่างไรก็ตามการวิเคราะห์โดยวิธีการวัดการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์นั้น สภาวะในการทดลองมีผลต่อความคลาดเคลื่อนของค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้มาก ค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้ที่ปฏิกิริยาเข้าสู่สมดุลกับค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้ที่เวลาก่อนเข้าสู่ปฏิกิริยาสมดุลมีความแตกต่างกัน เพื่อเพิ่มความถูกต้องในการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้าง ผู้วิจัยจึงทำการศึกษาถึงปัจจัยที่มีผลต่อการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้างด้วยวิธีทางแคลอรีเมตริก เพื่อให้ได้วิธีการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้างที่มีประสิทธิภาพ

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้างด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์
2. คัดเลือกพืชสมุนไพรรวมทั้งส่วนผสมอื่นซึ่งนิยมใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูป ที่มีความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้าง
3. ศึกษาความสามารถในการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดอบเชยเมื่อใช้น้ำหรือเอทานอลเป็นตัวทำละลาย
4. ศึกษาความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างในไส้กรอกรมควัน เมื่อเติมสารสกัดอบเชยที่ใช้น้ำหรือเอทานอลเป็นตัวทำละลาย

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้างด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์เพื่อใช้วิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้างในงานวิจัย และคัดเลือกพืชสมุนไพรรวมทั้งส่วนผสมอื่นซึ่งนิยมใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูปที่มีความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้าง สกัดพืชสมุนไพรหรือส่วนผสมอื่นที่คัดเลือกได้ พร้อมทั้งศึกษาความสามารถในการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดอบเชยที่ใช้น้ำหรือเอทานอลเป็นตัวทำละลายทั้งในหลอดทดลองและในไส้กรอกหมูรมควัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบวิธีการตรวจวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้างที่มีประสิทธิภาพ

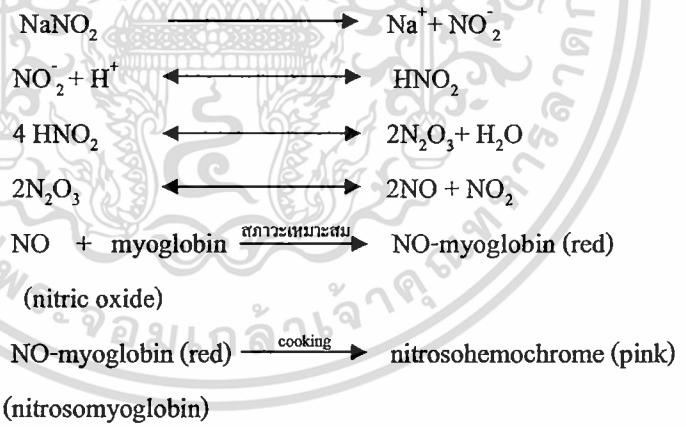
2. สร้างองค์ความรู้ในงานด้านสารแอนตีออกซิแดนซ์จากพืช รวมทั้งการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างในไส้กรอกหมูรมควัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ไนไตรท์

วัตถุเจือปนอาหารกลุ่มไนเตรทและไนไตรท์หรือที่คนทั่วไปเรียกว่าดินประสิว เป็นสารที่ใช้กันมากในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ โดยมักใช้ในรูปเกลือโซเดียมไนไตรท์ หรือโปตัสเซียมไนไตรท์ และเกลือโซเดียมไนเตรทหรือโปตัสเซียมไนเตรท เมื่อเติมในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูปจะช่วยเพิ่มคุณลักษณะของเนื้อสัตว์ที่ผู้บริโภคชื่นชอบ เช่น สี กลิ่นรส รวมทั้งชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน และยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Clostridium botulinum* (Vidua-Martos และ คณะ, 2009) จึงเป็นการยืดอายุการเก็บรักษาได้อีกทางหนึ่ง การเกิดสีของผลิตภัณฑ์นั้นเกลือไนไตรท์จะแตกตัวจนได้เป็นไนตริกออกไซด์ (nitric oxide) และเข้าทำปฏิกิริยากับไมโอโกบิน (myoglobin) ในเนื้อสัตว์ ได้เป็นสารไนโตรโซไมโอโกลบิน (nitrosomyoglobin) จากนั้นเมื่อได้รับความร้อนจากการปรุงอาหารจะกลายเป็นสารไนโตรโซฮีโมโครม (nitrosohemochrome) ซึ่งเป็นสีชมพูที่เกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ ดังภาพที่ 2.1



ภาพที่ 2.1 : การเกิดสีของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูปเนื่องจากไนไตรท์
ที่มา : ดัดแปลงจาก Romans (1994)

ถึงแม้ไนไตรท์จะทำให้ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูปเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคเพิ่มมากขึ้น แต่การเติมเกลือไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์อาจทำให้เกิดไนไตรท์ตกค้างซึ่งเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคได้ โดยการบริโภคอาหารที่มีการเติมเกลือไนไตรท์และไนเตรท์จะส่งผลเสียต่อผู้บริโภค แบ่งได้เป็น 3 ส่วนใหญ่ๆ ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

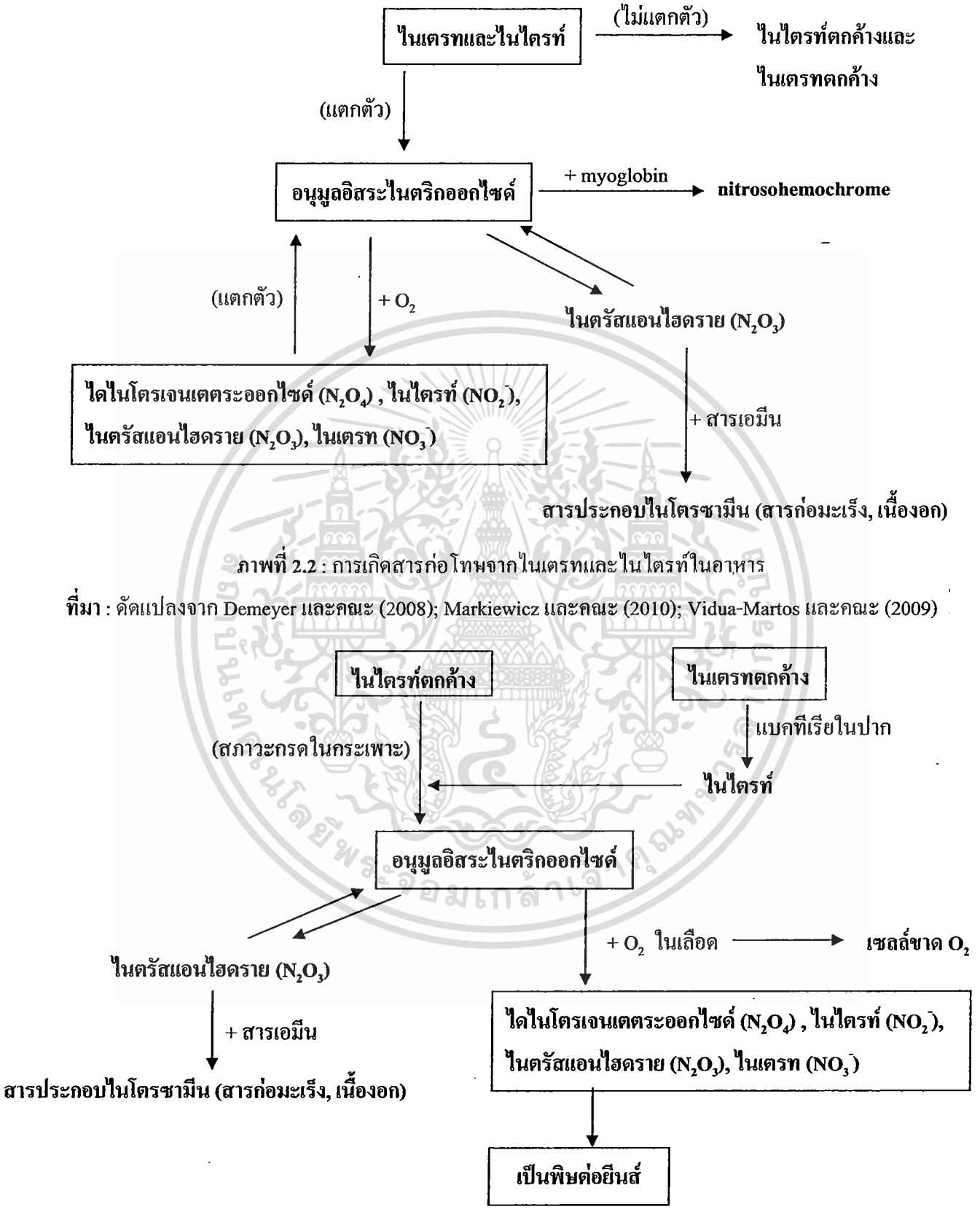
1) เมื่ออยู่ในอาหารไนไตรท์ที่เกิดแตกตัวจะสามารถเกิดปฏิกิริยากับสารกลุ่มเอมีนในเนื้อสัตว์ และกลายเป็นสารประกอบไนโตรซามีนซึ่งจะกล่าวต่อไปในหัวข้อ 2.1.2 โดยสารประกอบไนโตรซามีนมีความเกี่ยวเนื่องกับการเกิดโรคลูคีเมียในเด็ก เนื้องอกในสมอง และมะเร็งลำไส้ใหญ่ ซึ่งสารประกอบไนโตรซามีนที่ผู้บริโภคได้รับจะมีปริมาณเท่ากับความเข้มข้นของไนไตรท์ยกกำลังสอง (Demeyer และคณะ, 2008) และถ้าใช้อุณหภูมิที่สูงในการประกอบอาหารประเภทเนื้อสัตว์ สารประกอบไนโตรซามีนจะยิ่งมีปริมาณที่มากขึ้น (Markiewicz และคณะ, 2010)

2) ไนเตรทบางส่วนที่ยังไม่เกิดการแตกตัวจะถูกแบคทีเรียในปากเปลี่ยนให้เป็นไนไตรท์ จากนั้นเมื่อก้อนอาหารถูกส่งผ่านไปยังกระเพาะหรือลำไส้ที่มีสภาวะเป็นกรดซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมที่ไนไตรท์จะแตกตัวเกิดเป็นไนตริกออกไซด์ (nitric oxide) ในสภาวะที่มีออกซิเจนไนตริกออกไซด์จะเป็นอนุมูลอิสระที่ไม่เสถียรโดยจะสามารถเกิดปฏิกิริยากับออกซิเจนกลายเป็นไนไตรท์ (nitrite, NO_2^-) ไนเตรท (nitrate, NO_3^-) ไนตรัสแอนไฮไดรด์ (nitrous anhydride, N_2O_3) และไดไนโตรเจนเตตระออกไซด์ (dinitrogen tetraoxide, N_2O_4) ดังภาพที่ 2.7 โดยสารดังกล่าวที่เกิดขึ้นจากอนุมูลอิสระไนตริกออกไซด์ (nitric oxide, NO•) โดยเฉพาะอย่างยิ่งไนตรัสแอนไฮไดรด์จะสามารถจับและดึงเบสในกรดนิวคลีอิก เช่น กวานีน (guanine) ไซโตซีน (cytosine) และอาดีนีน (adenine) ออกจากกรดนิวคลีอิก (Vidua-Martos และคณะ, 2009)

3) ไนตริกออกไซด์ (nitric oxide) ที่เกิดขึ้นแล้วในอาหาร รวมทั้งที่เกิดขึ้นในกระเพาะหรือลำไส้ ที่มีสภาวะเป็นกรด จะสามารถเกิดปฏิกิริยากับออกซิเจนในร่างกายอย่างรวดเร็ว แม้จะไม่กระทบต่อเนื้อเยื่อหรือยีนส์โดยตรงแต่จะส่งผลให้เลือดมีปริมาณออกซิเจนต่ำ (Vidua-Martos และคณะ, 2009) และไม่เพียงพอ จึงทำให้เซลล์ในร่างกายขาดออกซิเจน

จากผลเสียทั้ง 3 ส่วนที่กล่าวข้างต้นจะเห็นว่าการเกิดสารก่อโทษต่างๆจากวัตถุเจือปนอาหารประเภทไนเตรทและไนไตรท์ สามารถเกิดได้ตั้งแต่ในอาหารจนถึงในร่างกายของผู้บริโภค โดยปริมาณสารก่อโทษต่างๆจะเปลี่ยนไปตามสภาวะและปริมาณสารตั้งต้น เช่น ไนเตรต ไนไตรท์ สารกลุ่มเอมีน ความเป็นกรด-เบสในอาหารและในกระเพาะ เป็นต้น ซึ่งสามารถอธิบายเป็นแผนภาพโดยรวมได้ดังภาพที่ 2.1 และภาพที่ 2.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.2 : การเกิดสารก่อโทษจากไนเตรทและไนไตรท์ในอาหาร

ที่มา : ดัดแปลงจาก Demeyer และคณะ (2008); Markiewicz และคณะ (2010); Vidua-Martos และคณะ (2009)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 2.3 : การเกิดสารก่อโทษจากไนเตรทและไนไตรท์ในร่างกายมนุษย์

ที่มา : ดัดแปลงจาก Demeyer และคณะ (2008); Markiewicz และคณะ (2010); Vidua-Martos และคณะ (2009)

ประเทศ อันมีสาเหตุมาจากอัตราเสี่ยงของผู้บริโภคในประเทศนั้นๆ โดยคำนึงถึง ความถี่หรือโอกาสที่ผู้บริโภคจะได้รับอาหารที่มีส่วนประกอบเกลือไนไตรท์ ตลอดจนขนาดและน้ำหนักตัวของผู้บริโภคในประเทศนั้นๆ โดยสมบัติต่างๆของวัตถุเจือปนอาหารกลุ่มไนเตรทและไนไตรท์มีดังนี้

1) Sodium nitrite

ชื่อเรียกอื่นๆ : Nitrous acid sodium salt, diazotizing salt, anti-rust

E number : Sodium nitrite (E 250)

สูตรโครงสร้าง : $NaNO_2$

ลักษณะภายนอก : ผลึกสีขาวหรือสีเหลืองอ่อน ไม่มีกลิ่น

น้ำหนักโมเลกุล : ประมาณ 69 กรัม/โมล

จุดหลอมเหลว : 271 องศาเซลเซียส

สมบัติการละลาย : ละลายในน้ำ (82 กรัม/100 มิลลิลิตร ที่ 20 องศาเซลเซียส) แตกตัวได้ดีที่ pH ต่ำ

ปริมาณที่อนุญาตให้ใช้ : - ประเทศไทย กระทรวงสาธารณสุขอนุญาตให้ใช้โซเดียมโซเดียมไนไตรท์ได้ไม่เกิน 125 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักอาหาร 1 กิโลกรัม

- สหภาพยุโรป (EU) กำหนดให้ใช้โซเดียมไนไตรท์ ให้ใช้ได้ไม่เกิน 150 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักอาหาร 1 กิโลกรัม

ความเป็นพิษ : LD_{50} เท่ากับ 180 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (oral rat)

LD_{50} เท่ากับ 178 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (oral rabbit)

2) Sodium nitrate

ชื่อเรียกอื่นๆ : Nitrate of soda, Nitratine, Peru saltpeter, Soda niter

E number : Sodium nitrate (E 251)

สูตรโครงสร้าง : $NaNO_3$

ลักษณะภายนอก : ผลึกสีขาวไม่มีกลิ่น หรือมีกลิ่นจางๆ

น้ำหนักโมเลกุล : ประมาณ 84.9947 กรัม/โมล

จุดหลอมเหลว : 308 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สมบัติการละลาย : ละลายในน้ำ (92.1 กรัม/100 มิลลิลิตร ที่ 25 องศาเซลเซียส หรือ
180 กรัม/100 มิลลิลิตร ที่ 100 องศาเซลเซียส)

ปริมาณที่อนุญาตให้ใช้ : - ประเทศไทย กระทรวงสาธารณสุขอนุญาตให้ใช้โซเดียมไนเตรทใน
ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ได้ไม่เกิน 500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักอาหาร 1 กิโลกรัม
- สหภาพยุโรป (EU) กำหนดให้ใช้โซเดียมไนเตรทได้ไม่เกิน 300 มิลลิกรัม
ต่อน้ำหนักอาหาร 1 กิโลกรัม

ความเป็นพิษ : LD_{50} เท่ากับ 1267 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (oral rat)
LD_{50} เท่ากับ 2680 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (oral rabbit)

3) Potassium nitrite

E number : Potassium nitrite (E 249)

สูตรโครงสร้าง : KNO_2

ลักษณะภายนอก : ผลึกสีขาวหรือสีเหลืองอ่อน ไม่มีกลิ่น

น้ำหนักโมเลกุล : ประมาณ 85.1038 กรัม/โมล

จุดหลอมเหลว : 440 องศาเซลเซียส

สมบัติการละลาย : ละลายในน้ำ (281 กรัม/100 มิลลิลิตร ที่ 0 องศาเซลเซียส หรือ
413 กรัม/100 มิลลิลิตร ที่ 100 องศาเซลเซียส)

ปริมาณที่อนุญาตให้ใช้ : - ประเทศไทย กระทรวงสาธารณสุขอนุญาตให้ใช้โพแทสเซียมไนไตรท์
ได้ไม่เกิน 125 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักอาหาร 1 กิโลกรัม

ความเป็นพิษ : LD_{50} เท่ากับ 200 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (oral rabbit)

4) Potassium nitrate

E number : Potassium nitrate (E 252)

สูตรโครงสร้าง : KNO_3

ลักษณะภายนอก : ผลึกสีขาว

น้ำหนักโมเลกุล : ประมาณ 101.103 กรัม/โมล

จุดหลอมเหลว : 334 องศาเซลเซียส

สมบัติการละลาย : ละลายในน้ำ (13.3 กรัม/100 มิลลิลิตร ที่ 0 องศาเซลเซียส, 36 กรัม/100 มิลลิลิตร
ที่ 25 องศาเซลเซียส หรือ 247กรัม/100 มิลลิลิตร ที่ 100 องศาเซลเซียส)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณที่อนุญาตให้ใช้ : - ประเทศไทย กระทรวงสาธารณสุขอนุญาตให้ใช้โพแทสเซียมไนเตรทในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ได้ไม่เกิน 500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักอาหาร 1 กิโลกรัม

ความเป็นพิษ : LD_{50} เท่ากับ 3750 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (oral rat)

LD_{50} เท่ากับ 1901 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (oral rabbit)

เมื่อผู้บริโภครับประทานไนไตรท์ที่ตกค้างอยู่ในผลิตภัณฑ์ อนุมูลไนไตรท์ (NO_2) จะทำหน้าที่เป็นสารตั้งต้น (precursor) ของปฏิกิริยาการเกิดสารประกอบเอ็น-ไนโตรโซ (N-Nitrosation) เช่น สารไนโตรซามีน (nitrosamine) แม้ว่าเกลือไนไตรท์จะมีความเป็นพิษมากกว่าเกลือไนเตรท แต่การผลิตในระดับอุตสาหกรรมจะนิยมเกลือไนไตรท์มากกว่า เนื่องจากเกลือไนไตรท์สามารถแตกตัวได้ดีกว่าส่งผลให้สีของผลิตภัณฑ์เกิดได้เร็วเป็นที่พอใจกว่า (สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร, 2547 ; ศิวาพร, 2546; Flower, 2002; Madhavi และคณะ, 1995; Romans และคณะ, 1994)

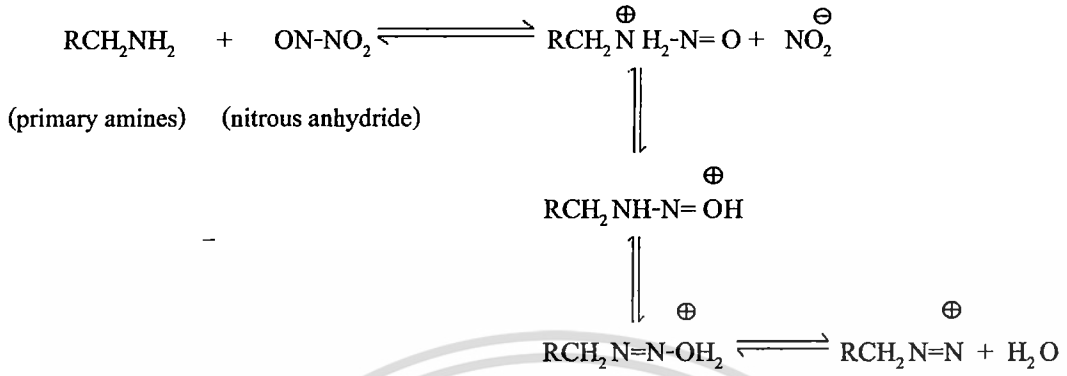
2.1.2 การเกิดสารประกอบเอ็น-ไนโตรโซจากสารไนไตรท์ตกค้าง

สารประกอบเอ็น-ไนโตรโซ (N-Nitroso compounds) มีอยู่หลายชนิดโดยสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม ตามลักษณะโครงสร้างทางเคมี

1) กลุ่มไนโตรซามีน (nitrosamine type) เกิดจากสารที่ทำหน้าที่เป็นไนโตรเซติงเอเจน (nitrosating agents) คือ ไนตรัสแอนไฮไดรด์ (nitrous anhydride, N_2O_3) หรืออนุพันธ์ของไนตรัสแอซิด ซึ่งเกิดจากไนไตรท์ตกค้าง (residual nitrite) ทำปฏิกิริยากับสารที่ทำหน้าที่เป็นไนโตรเซทเอเบิลเอมีน (nitrosatable amines) คือ เอมีนปฐมภูมิ (primary amines) ดังภาพที่ 2.4 (Loeppky, 1994) เอมีนทุติยภูมิ (secondary amines) และ เอมีนตติยภูมิ (tertiary amines) ดังภาพที่ 2.5 (ประสงค์, 2549) ตัวอย่างสารในกลุ่มนี้ที่พบมากในอาหารประเภทเนื้อสัตว์และอาหารหมักดอง คือ สารเอ็น-ไนโตรโซไดเมธิลเอมีน (N-nitrosodimethylamine, NDMA)

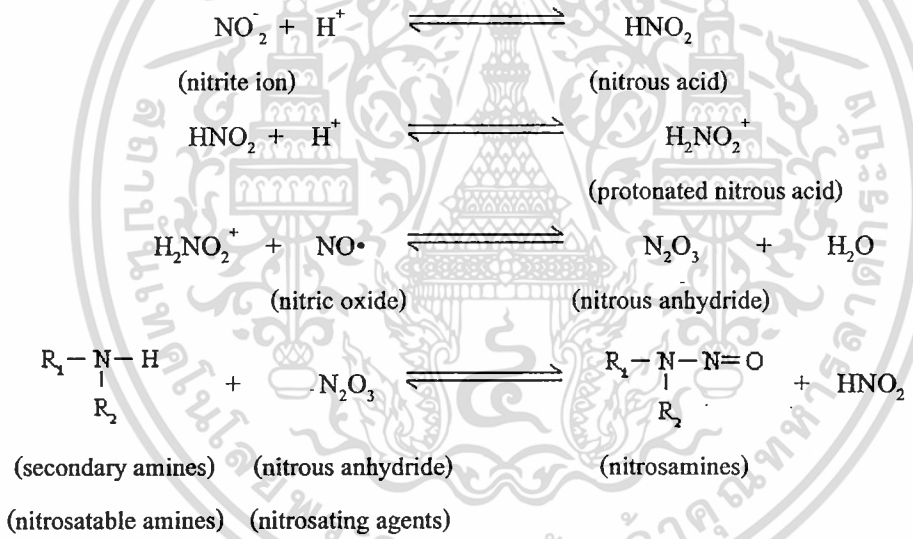
2) กลุ่มไนโตรซาไมด์ (nitrosamide type) เกิดจากสารที่มีหมู่เอไมด์ (amide group) หรือหมู่คาร์บอนิล(carbonyl group) เข้าทำปฏิกิริยากับไนโตรเซติงเอเจน (nitrosating agents) หรือสารที่มีหมู่ไนโตรโซ (Nitroso group, R-N=O) ตัวอย่างสารกลุ่มนี้ คือ เอ็น-ไนโตรโซคาร์บาเมท (N-nitroso-carbamates) และ เอ็น-ไนโตรโซยูเรีย (N-nitrosoureas) โดยมีสูตรโครงสร้างทางเคมีดังภาพที่ 2.6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.4 : ปฏิกิริยาการเกิดไนโตรซามีนจากเอมีนปฐมภูมิ

ที่มา : Loeppky (1994)



ภาพที่ 2.5 : ปฏิกิริยาการเกิดไนโตรซามีนจากเอมีนทุติยภูมิ

ที่มา : ประสงค์ (2549)

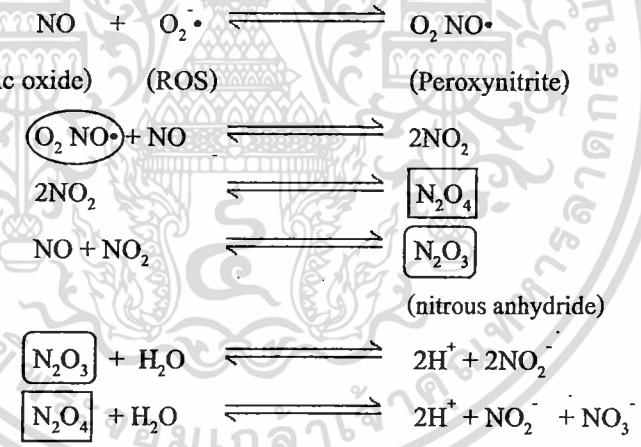
ก.) ข.)

ภาพที่ 2.6 : สารในกลุ่มกลุ่มไนโตรซาไมด์ ; ก.) เอ็น-ไนโตรโซคาร์บาเมท และ ข.) เอ็น-ไนโตรโซยูเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่มา : Loeppky (1994)

ปฏิกิริยาการเกิดสารประกอบเอ็น-ไนโตรโซจะสามารถเกิดขึ้นได้อย่างต่อเนื่องกลับไปกลับมาจนกว่าสารตั้งต้น (precursor) จะหมดลง ซึ่งกรณีของสารกลุ่มไนโตรซามีน (nitrosamine type) สารตั้งต้นก็คือ ไนโตรเซติงเอเจนและไนโตรเซทเอเบิลเอมีน โดยปฏิกิริยาการเกิดสารประกอบเอ็น-ไนโตรโซจากสารไนไตรท์ตกค้างนั้นจะมีอนุมูลอิสระไนตริกออกไซด์ (nitric oxide, NO•) เกิดขึ้นด้วยเสมอ ดังภาพที่ 2.5 โดยอนุมูลอิสระไนตริกออกไซด์ไม่จัดว่าเป็นไนโตรเซติงเอเจนโดยตรง (Lu และ Chen, 2007) เพราะอนุมูลอิสระไนตริกออกไซด์ไม่ได้ทำปฏิกิริยากับไนโตรเซทเอเบิลเอมีน แต่อนุมูลอิสระไนตริกออกไซด์เป็นตัวที่สามารถทำปฏิกิริยากับสารอนุมูลอิสระกลุ่มรีแอ็กทีฟออกซิเจน (reactive oxygen species, ROS) เช่น ซุปเปอร์ออกไซด์ (superoxide, O_2^-•) ทำให้เกิดเปอร์ออกซิไนไตรท์ (peroxynitrite, $ONOO^-$) ไนตรัสแอนไฮไดรด์ (nitrous anhydride, N_2O_3) และไดไนโตรเจนเตตระออกไซด์ (dinitrogen tetraoxide, N_2O_4) ดังภาพที่ 2.7 ซึ่งสารทั้งสามนี้สามารถทำให้เกิดสารตั้งต้นของปฏิกิริยาการเกิดสารประกอบเอ็น-ไนโตรโซกลุ่มไนโตรซามีน (nitrosamine type) คือ ไนไตรท์ (nitrite, NO_2^-) และ ไนเตรท (nitrate, NO_3^-)



ภาพที่ 2.7 : การเกิดเปอร์ออกซิไนไตรท์ ($ONOO^-$) จากปฏิกิริยาระหว่างซุปเปอร์ออกไซด์ (O_2^-•) กับไนตริกออกไซด์ (NO)

ที่มา : ดัดแปลงจาก Loeppky (1994)

จากสาเหตุที่อนุมูลอิสระไนตริกออกไซด์ (nitric oxide, NO•) พบได้ในอาหารเนื้อสัตว์แปรรูปทั่วไป อีกทั้งยังไม่เสถียรโดยสามารถเกิดปฏิกิริยากับสารกลุ่มอื่น เช่น อนุมูลอิสระกลุ่มรีแอ็กทีฟออกซิเจน (reactive oxygen species, ROS) และกลายเป็นสารตั้งต้นของปฏิกิริยาการเกิดสารประกอบไนโตร-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซามีน ดังนั้นงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากพืชจึงนิยมวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระไนตริกออกไซด์ (nitric oxide scavenging) ดังนี้

Kumaran และ Joelkarunakaran (2006) ได้ทำการศึกษาสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันและความสามารถในการจับอนุมูลอิสระของสารสกัดจากพืชพืช *Coleus aromaticus* ซึ่งเป็นพืชที่นิยมรับประทานในประเทศอินเดีย โดยรับประทานกับขนมปังและเนย ผู้วิจัยใช้น้ำในการสกัดสารสกัดจากพืช *Coleus aromaticus* และนำมาทำให้แห้งด้วยกระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze-dried) และนำมาวิเคราะห์ความสามารถในการจับอนุมูลอิสระในหลอดทดลองพบว่า สารสกัดสามารถทำลายอนุมูลอิสระซุปเปอร์ออกไซด์ ไนตริกออกไซด์และอนุมูลโลหะเฟอรัสไอออน (ferrous ion chelating)

Wang และ คณะ (2009) ได้ทดสอบสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดผล glossy privet fruit (*Ligustrumlucidum Ait.)* โดยทำการสกัดด้วยน้ำ เอทานอล50 เปอร์เซ็นต์ และเอทานอล75 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสารสกัดที่ได้จากแต่ละตัวทำละลายสามารถทำลายอนุมูลอิสระซุปเปอร์ออกไซด์ ไนตริกออกไซด์ และ ไฮดรอกซิล (hydroxyl radical) โดยที่ความเข้มข้นเท่ากันสารสกัดที่ใช้เอทานอล75 เปอร์เซ็นต์ เป็นตัวสกัดจะมีประสิทธิภาพมากที่สุด แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

2.2 การตรวจหาปริมาณไนไตรท์ตกค้าง

การตรวจหาปริมาณไนไตรท์ตกค้างนั้นมีอยู่หลายวิธี เช่น วิธีทางแคลอรีเมตริก (colorimetric method) และวัดการเปลี่ยนแปลงสีด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ วิธีฟูลออโรเมตริก (fluorometric method) วิธีโพลาโรกราฟฟี (polarography) วิธีโวลท์แอมมิทรี (voltammetry) และวิธีโฟลว์อินเจ็กชัน-สเปคโตรโฟโตเมทรี (flow injection spectrophotometry) (Veena และ Narayana , 2009) แต่วิธีที่นิยมใช้ตรวจหาปริมาณไนไตรท์ตกค้างในอาหารคือวิธีทางแคลอรีเมตริกโดยใช้เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ในการตรวจวิเคราะห์ เนื่องจากวิธีฟูลออโรเมตริก (fluorometric method) และวิธีอื่นๆ จะใช้สารเคมีที่มีราคาสูง มีขั้นตอนยุ่งยาก และใช้เวลานาน (Veena และ Narayana, 2009) แม้มีความไวต่อการวัดสูงมาก แต่หากใช้ตรวจตัวอย่างอาหารที่มีองค์ประกอบหลายประเภท เช่น เกลือ ไขมัน น้ำตาล วิตามินต่างๆ เป็นต้น จะทำให้ค่าที่ได้คาดเคลื่อนสูง หรือต้องเตรียมตัวอย่างให้มีความบริสุทธิ์มาก ส่วนวิธีทางแคลอรีเมตริกมีความไวต่อองค์ประกอบในอาหารน้อยกว่า โดยใช้รีเอเจนต์ (reagent) ที่เจาะจงเข้าทำปฏิกิริยากับไนตรัสแอซิด ที่เป็นสารตัวแรกๆที่ได้จากการที่ไนไตรท์เปลี่ยนสภาพดังภาพที่ 2.9 การวิเคราะห์ไนไตรท์ตกค้างด้วยวิธีทางแคลอรีเมตริก (AOAC, 2000) ใช้หลักการดูดกลืนแสงที่อยู่ช่วง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

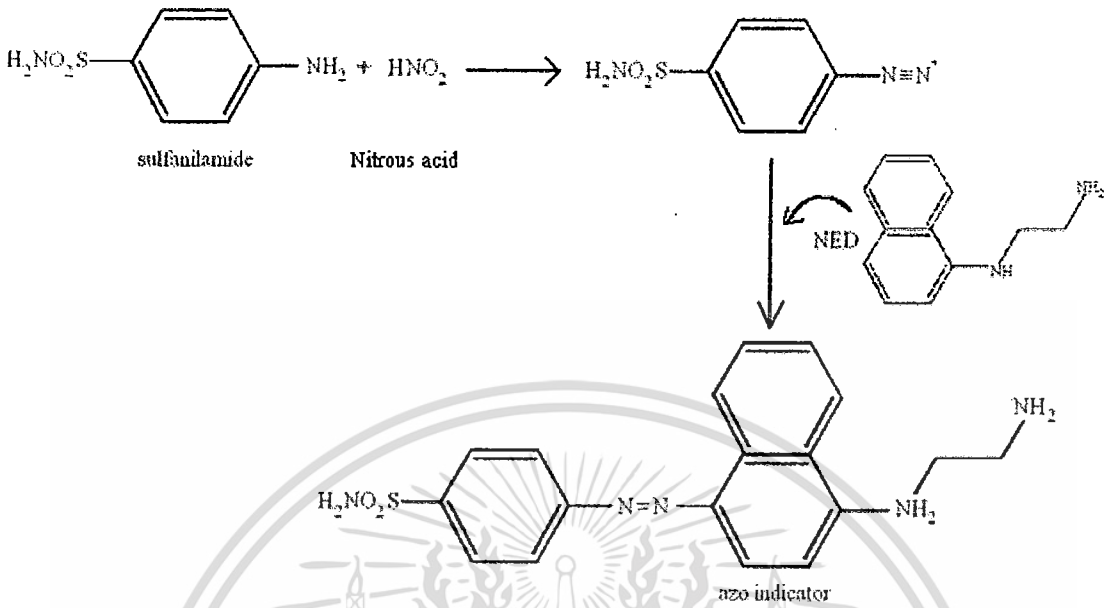
ความยาวคลื่นต่างๆ สารตัวอย่างจะดูดกลืนรังสี หรือแสงบางส่วนไว้ แสงที่ไม่ดูดกลืนจะผ่านออกมายังเครื่องวัดแสง และถูกวัดปริมาณแสงที่ผ่านออกมา โดยการหักล้างกับปริมาณของแสงก่อนดูดกลืน และทำการประมวลผลเป็นกราฟหรือสเปคตรัม ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) และค่าความยาวคลื่น (λ) ซึ่งการตรวจหาปริมาณไนไตรท์ตกค้างในอาหารประเภทเนื้อสัตว์จะวัดที่ช่วงความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร และใช้สารที่สามารถทำปฏิกิริยาเกิดเป็นสารสีสำหรับนำไปใช้วัดค่าการดูดกลืนแสง

2.2.1 กลไกการทำงานของรีเอเจนต์ (reagent)

การวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้างด้วยวิธีทางแคลอรีเมตริก (colorimetric method) ตามวิธีของ AOAC (2000) หลักการคืออาศัยการเข้าทำปฏิกิริยากันระหว่างไนตรัสแอซิดและซัลฟานิลาไมด์ ซึ่งมีวงแหวน เอมีนปฐมภูมิ (aromatic primary amine) ก่อนทำให้เกิดเป็นไดอะโซเนียมไอออน (diazonium ion) ดังภาพที่ 2.8 แล้วให้เกิดการทำปฏิกิริยาต่อ (coupling) กับ NED (N-(1-naphthyl) ethylenediamine) ในสภาวะที่เป็นกรด ได้เป็น azo indicator ดังภาพที่ 2.9 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร

ภาพที่ 2.8 : วงแหวนเอมีนปฐมภูมิ (ซ้าย) และ ไดอะโซเนียมไอออน (ขวา)
ที่มา : Song และKaylor (2007)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.9 : การเกิด azo indicator

ที่มา : Song และ Kaylor (2007)

2.3 พืชสมุนไพรและส่วนผสมที่นิยมใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูป

ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูปในประเทศไทยที่นิยมผลิตได้แก่ ไส้กรอก กุนเชียง หมูแผ่น เป็นต้น นอกจากส่วนผสมหลักคือเนื้อสัตว์แล้วยังมีส่วนผสมอื่นๆดังนี้

2.3.1 โปรตีนจากแหล่งอื่น

โปรตีนจากแหล่งอื่นที่นอกเหนือจากโปรตีนจากเนื้อสัตว์โดยตรง เช่น ไข่ขาวผง โปรตีนถั่วเหลือง เพื่อช่วยเพิ่มความคงตัวของผลิตภัณฑ์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการผลิตปริมาณมากหรือระดับอุตสาหกรรม

2.3.2 เครื่องเทศและสมุนไพร

เครื่องเทศและสมุนไพรที่นิยมเติมลงในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูป เช่น เม็ดผักชี อบเชย ปาปรีก้า พริกขี้หนูสวน พริกไทยดำ พริกไทยขาว กระเทียม ยี่หร่า ตะไคร้ ข่า ใบมะกรูด เป็นต้น โดยแต่ละชนิดจะมีปริมาณการใช้ที่แตกต่างกันออกไป ทำหน้าที่ในการเพิ่มกลิ่นรส และเครื่องเทศบางชนิดพบว่ายังสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้จึงเป็นการยืดอายุของผลิตภัณฑ์ได้อีกด้วย

Lo´pez-Malo และคณะ (2007) ได้ศึกษาความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ*เชื้อ Aspergillus flavus* ของสารสกัดเปลือกอบเชยซึ่งสกัดด้วยเอทธิลอะซิเตต (ethyl acetate) ผลพบว่าสภาวะที่ pH 3.5 อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลา 30 วัน สารสกัดเปลือกอบเชยที่ความเข้มข้น 200

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญ เท่ากับโซเดียมเบ็นโซเอท (sodium benzoate) ที่ความเข้มข้น 400 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

2.4 อบเชย

อบเชยเป็นพืชยืนต้นอยู่ในวงศ์ Lauraceae สกุล Cinnamomum ซึ่งมีความหลากหลายกว่า 50 ชนิด ในทวีปเอเชียและออสเตรเลีย ในประเทศไทยอบเชยสามารถหาได้ตามป่าธรรมชาติ เนื่องจากยังไม่มีการปลูกเป็นพืชเศรษฐกิจ ส่วนอบเชยที่วางจำหน่ายตามตลาดสดและตลาดขายเครื่องเทศยาจีนในกรุงเทพฯ นั้นจะเป็นอบเชยที่นำเข้า ส่วนมากนำเข้าจากประเทศอินโดนีเซีย และประเทศจีน ส่วนอบเชยจากประเทศศรีลังกาจะมีเป็นส่วนน้อยเนื่องจากราคาสูง(สันติสุข โสภณสิริ, 2549) ซึ่งอบเชยที่นำเข้ามาแต่ละประเทศก็จะมีสายพันธุ์ที่แตกต่างกันออกไป โดยงานวิจัยนี้ผู้วิจัย ใช้อบเชยป่นสายพันธุ์ *Cinnamomum burmanii* Blume

อบเชยชวา หรือ *Cinnamomum burmanii* Blume นั้นมีงานวิจัยเกี่ยวกับสารพฤษเคมีค่อนข้างน้อย เมื่อเทียบกับลังกา (*Cinnamomum zelanicum* Linn) และอบเชยจีน (*Cinnamomum cassia* Blume) แต่จากงานวิจัยพบว่า พืชวงศอบเชย (Lauraceae) โดยเฉพาะกลุ่ม cinnamon จะมีสารประกอบที่สำคัญ คือ ซินนามัลดีไฮด์ (cinnamaldehyde) หรือ ซินนามิก อัลดีไฮด์ (cinnamic aldehyde), สารกลุ่มอนุพันธ์ฟีนอลลิค (phenolic derivative) เช่น ยูจีนอล (eugenol), สารกลุ่มโพลีฟีนอล (polyphenol) เช่น แทนนิน (tannins) (Cowan, 1999) ทั้งอดีตและปัจจุบันอบเชยเป็นพืชที่ใช้เป็นประส่วนผสมในอาหารหลายประเภท เช่น ข้าวหมกไก่ ไส้กรอกรมควัน เนื้อสัตว์แปรรูปปรุงรสต่างๆ ผลิตภัณฑ์ขนมอบ เป็นต้น อีกทั้งยังเป็นส่วนผสมในยาหลายชนิด เช่น ยาจีน ยาธาตุอบเชย (สันติสุข โสภณสิริ, 2549) เป็นต้น เหตุที่มีการใช้อบเชยเป็นส่วนผสมทั้งทางยาและอาหารนี้เอง จึงทำให้มีนักวิจัยหลายท่านศึกษาสมบัติและประโยชน์ของอบเชย ดังนี้

พรรณี เด่นรุ่งเรือง และคณะ (2550)ได้ทำการทดสอบสารพฤกษเคมีของพืชวงศ์อบเชย (Lauraceae) ในไทย 8 ชนิด คือ กระทังใบใหญ่ (*Litsea grandis* Hook. f.), เทพทาโร(*Cinnamomum porrectum* Kosterm. syn. *Cinnamomum parthenoxylon* Meissn.), ทังบอน, หมีเหม็น,(*Litsea glutinosa* C.B. Robinson), เชียด (*Cinnamomum iners* Blume), เอียน (*Neolitsea zeylanica* Merr.), ยางบง(*Persea Kurzii* Kosterm.) และทำมัง (*Litsea petiolata* Hook. f.) สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลพบว่าทุกชนิดมีสารกลุ่ม condensed tannins ยกเว้นหมีเหม็น ซึ่ง Condense tannins เป็นพวกสาร Polyphenol ที่โครง-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สร้างซับซ้อน สลายตัวได้ยากและละลายน้ำได้น้อยกว่า Hydrolysable tannins เพราะในโครงสร้างโมเลกุลไม่มีน้ำตาลอยู่

Dragland และคณะ (2003) ได้ทำการศึกษาปริมาณ Total Antioxidants ของพืชหลายชนิด และพบว่าเปลือก *Cinnamomum cassia* Blume มี Total Antioxidants เท่ากับ 120.2 มิลลิโมลต่อตัวอย่าง 100 กรัมสูงสุดในสมุนไพรกลุ่มพืชสมุนไพรจากจีนและญี่ปุ่น

Mathew และ Abraham (2006) ได้ศึกษาสมบัติและประสิทธิภาพการเป็น antioxidant ของสารสกัดอบเชย (*Cinnamomum verum*) ในหลอดทดลองพบว่า สารสกัดอบเชยสายพันธุ์ *Cinnamomum verum* ซึ่งได้จากการสกัดเปลือกอบเชยด้วยเมทานอล (methanol) มีความสามารถในการจับอนุมูลอิสระ (free radical scavenging) DPPH• radicals ได้ดีกว่า 2,3-tert-butyl-4-methoxyphenol (BHA) ในความเข้มข้นที่เท่ากันและเมื่อเพิ่มความเข้มข้นขึ้นคือ 3.125, 6.26 ,12.5,25, 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ความสามารถในการจับอนุมูลอิสระ DPPH• ของสารสกัดอบเชยก็จะดีขึ้นด้วยโดยที่ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สกัดอบเชยสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH• ได้กว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการจับอนุมูลอิสระ ABTS radicals cation พบว่าประสิทธิภาพของสารสกัดอบเชยเพิ่มตามความเข้มข้นและค่อนข้างคงที่ที่ความเข้มข้น 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีค่า trolox equivalent antioxidant capacity เท่ากับ 18.45 ± 0.6 นอกจากนี้สารสกัดอบเชยยังมีความสามารถจับอนุมูลอิสระกลุ่ม reactive oxygen species (ROS) คือ Superoxide radicals (O_2^{-}•) และ hydroxyl radicals (OH•) โดยสารสกัดอบเชยสามารถยับยั้ง superoxide radicals (O_2^{-}•) ได้ที่ความเข้มข้น 12.5 ถึง 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรยับยั้ง hydroxyl radicals (OH•) ได้ที่ความเข้มข้น 15 ถึง 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอล (total phenolic) เท่ากับ 289.0 ± 2.2 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อสารสกัด 1 กรัม

Singh และคณะ (2007) เปรียบเทียบสมบัติทางเคมีของ volatile oils และ oleoresin ทั้งจากใบ (Leaf) และจากเปลือกไม้ (Bark) ของอบเชยสายพันธุ์ *Cinnamomum zeylanicum* Blume พบว่า เมื่อเติม oleoresin ลงไปที่ความเข้มข้น 0.02 เปอร์เซ็นต์ มีความสามารถในการยับยั้งการเกิดสารประกอบจาก primary และ secondary oxidation ในตัวอย่างน้ำมันมัสตาร์ด (mustard oil) เมื่อวิเคราะห์หาค่า peroxide value เรียงลำดับความสามารถในการยับยั้งจากมากไปน้อยจะได้ดังนี้ Leaf oleoresin > BHT > PG ≈ eugenol > Bark oleoresin ≈ BHA > Leaf oil > cinnamaldehyde > bark oil และพบว่ามีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH• และ hydroxyl radicals (OH•) นอกจากนี้ด้านการยับยั้งการเจริญของเชื้อราพบว่า oleoresin จากใบที่ความเข้มข้น 6 ไมโครลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของ *Penicillium*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

citrinum ส่วน oleoresin จากเปลือกที่ความเข้มข้น 6 ไมโครลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของ *Aspergillus flavus A. ochraceus , A. niger, A. terreus, Penicillium citrinum* และ *P. viridicatum* และเมื่อเทียบกับสารปฏิชีวนะ Ampicillin พบว่าที่ความเข้มข้นเท่ากัน oleoresin จากใบ และ volatile oils จากเปลือก มีความสามารถในการยับยั้ง *Salmonella typhi* ได้ดีกว่า และvolatile oils จากใบ และ oleoresin จากเปลือก มีความสามารถในการยับยั้ง เชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้ดีกว่า จากนั้นผู้วิจัยได้ทดสอบหาสารประกอบ volatile oils และ oleoresin ในใบ ด้วยวิธี Gas chromatographic massspectroscopy พบว่ามีองค์ประกอบอยู่ 19 และ 25 องค์ประกอบ ตามลำดับ ซึ่งสารส่วนใหญ่ คือ eugenol มีอยู่ 87.3 เปอร์เซ็นต์ และ 87.2 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วน volatile oils และ oleoresin จากเปลือกมี E-cinnamal-dehyde เป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ โดยมีอยู่ 97.7 เปอร์เซ็นต์ และ 50.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

2.5 การยับยั้งการเกิดไนโตรซามีน

การยับยั้งการเกิดไนโตรซามีนซึ่งเป็นสารประกอบเอ็น-ไนโตรโซกลุ่มหนึ่ง สามารถทำได้ 2 วิธี คือ การเร่งการแตกตัวของไนไตรท์เพื่อลดปริมาณไนไตรท์ และการใช้สารทำลายไนโตรเซตติงเอเจน

1.) การเร่งการแตกตัวของไนไตรท์

การเร่งให้ไนไตรท์แตกตัวเพื่อให้ลดปริมาณไนไตรท์ตกค้าง จะอาศัยการปรับสภาวะให้เป็นกรดหรือค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ต่ำ เพื่อเหมาะสมต่อการแตกตัวของไนไตรท์ โดยในปี 1970 มีการค้นพบว่าพบว่าวิตามินซี (ascorbic acid) เมื่อถูกออกซิไดซ์จะกลายเป็นดีไฮโดรแอสครอบิกแอซิด (dehydroascorbic acid) ซึ่งสามารถรีดิวซ์ไนตรัสแอนไฮไดรด์ (nitrous anhydride, N_2O_3) ให้กลายเป็นไนตริกออกไซด์ (nitric oxide, NO) จึงสามารถช่วยยับยั้งหรือชะลอปฏิกิริยาการเกิดไนโตรซามีนและส่งผลให้เกิดสารไนโตรโซไมโอโกลบินเร็วยิ่งขึ้น แต่ในระดับอุตสาหกรรมจะใช้อีริโธร์บิกแอซิด (erythorbic acid) ที่เป็นอีพิเมอร์ (epimer) ของวิตามินซี แทนเพราะราคาถูกกว่าวิตามินซี (Richard A เข้าถึงจาก: http://lpi. oregonstate.edu/f-w00/nitrosamine.html) แต่ถ้าจะยับยั้งโดยไม่ให้เกิดปฏิกิริยาการเกิดไนโตรซามีนขึ้นอีก ต้องใช้วิตามินซีปริมาณมากพอที่จะรีดิวซ์ไนตรัสแอนไฮไดรด์ที่เกิดขึ้นใหม่เรื่อยๆจนหมด ซึ่งไนตรัสแอนไฮไดรด์ที่เกิดขึ้นใหม่นี้เกิดจากไนตริกออกไซด์ที่สามารถทำปฏิกิริยากับสารอนุมูลอิสระกลุ่มรีแอ็กทีฟออกซิเจน (reactive oxygen species, ROS) เช่น ซูปเปอร์ออกไซด์ ได้เป็นไนไตรท์และไนเตรท ดังภาพที่ 2.7 และสารทั้งสองตัวนี้สามารถก่อให้เกิด ไนตรัสแอนไฮไดรด์ ดังภาพที่ 2.5 และ 2.7 การเติมวิตามินซีในปริมาณมากไม่สามารถทำได้จริงในอาหาร เนื่องจากการเติมวิตามินซีปริมาณมากเกินจะส่งผลต่อรสชาติผู้บริโภคอาจไม่ยอมรับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

citrinum ส่วน oleoresin จากเปลือกที่ความเข้มข้น 6 ไมโครลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของ *Aspergillus flavus A. ochraceus , A. niger, A. terreus, Penicillium citrinum* และ *P. viridicatum* และเมื่อเทียบกับสารปฏิชีวนะ Ampicillin พบว่าที่ความเข้มข้นเท่ากัน oleoresin จากใบ และ volatile oils จากเปลือก มีความสามารถในการยับยั้ง *Salmonella typhi* ได้ดีกว่า และvolatile oils จากใบ และ oleoresin จากเปลือก มีความสามารถในการยับยั้ง เชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้ดีกว่า จากนั้นผู้วิจัยได้ทดสอบหาสารประกอบ volatile oils และ oleoresin ในใบ ด้วยวิธี Gas chromatographic massspectroscopy พบว่ามีองค์ประกอบอยู่ 19 และ 25 องค์ประกอบ ตามลำดับ ซึ่งสารส่วนใหญ่ คือ eugenol มีอยู่ 87.3 เปอร์เซ็นต์ และ 87.2 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วน volatile oils และ oleoresin จากเปลือกมี E-cinnamal-dehyde เป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ โดยมีอยู่ 97.7 เปอร์เซ็นต์ และ 50.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

2.5 การยับยั้งการเกิดไนโตรซามีน

การยับยั้งการเกิดไนโตรซามีนซึ่งเป็นสารประกอบเอ็น-ไนโตรโซกลุ่มหนึ่ง สามารถทำได้ 2 วิธี คือ การเร่งการแตกตัวของไนไตรท์เพื่อลดปริมาณไนไตรท์ และการใช้สารทำลายไนโตรเซติงเอเจน

1.) การเร่งการแตกตัวของไนไตรท์

การเร่งให้ไนไตรท์แตกตัวเพื่อให้ลดปริมาณไนไตรท์ตกค้าง จะอาศัยการปรับสภาวะให้เป็นกรดหรือค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ต่ำ เพื่อเหมาะสมต่อการแตกตัวของไนไตรท์ โดยในปี 1970 มีการค้นพบว่าพบว่าวิตามินซี (ascorbic acid) เมื่อถูกออกซิไดซ์จะกลายเป็นดีไฮโดรแอสครอบิกแอซิด (dehydroascorbic acid) ซึ่งสามารถรีดิวซ์ไนตรัสแอนไฮไดรด์ (nitrous anhydride, N_2O_3) ให้กลายเป็นไนตริกออกไซด์ (nitric oxide, NO) จึงสามารถช่วยยับยั้งหรือชะลอปฏิกิริยาการเกิดไนโตรซามีนและส่งผลให้เกิดสารไนโตรโซไมโอโกลบินเร็วยิ่งขึ้น แต่ในระดับอุตสาหกรรมจะใช้อีริโธร์บิกแอซิด (erythorbic acid) ที่เป็นอีพิเมอร์ (epimer) ของวิตามินซี แทนเพราะราคาถูกกว่าวิตามินซี (Richard A เข้าถึงจาก: http://lpi. oregonstate.edu/f-w00/nitrosamine.html) แต่ถ้าจะยับยั้งโดยไม่ให้เกิดปฏิกิริยาการเกิดไนโตรซามีนขึ้นอีก ต้องใช้วิตามินซีปริมาณมากพอที่จะรีดิวซ์ไนตรัสแอนไฮไดรด์ที่เกิดขึ้นใหม่เรื่อยๆจนหมด ซึ่งไนตรัสแอนไฮไดรด์ที่เกิดขึ้นใหม่นี้เกิดจากไนตริกออกไซด์ที่สามารถทำปฏิกิริยากับสารอนุมูลอิสระกลุ่มรีแอ็กทีฟออกซิเจน (reactive oxygen species, ROS) เช่น ซูปเปอร์ออกไซด์ ได้เป็นไนไตรท์และไนเตรท ดังภาพที่ 2.7 และสารทั้งสองตัวนี้สามารถก่อให้เกิด ไนตรัสแอนไฮไดรด์ ดังภาพที่ 2.5 และ 2.7 การเติมวิตามินซีในปริมาณมากไม่สามารถทำได้จริงในอาหาร เนื่องจากการเติมวิตามินซีปริมาณมากเกินจะส่งผลต่อรสชาติผู้บริโภคอาจไม่ยอมรับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

137357

2.) การใช้สารทำลายไนโตรเซติงเอเจน(nitrosating agents)

ไนโตรเซติงเอเจน (nitrosating agents) คือสารที่สามารถเข้าเกิดปฏิกิริยากับไนโตรเซทเอเบิลเอมีน (nitrosatable amines)ได้เป็นสารประกอบไนโตรซามีน ไนโตรเซติงเอเจน (nitrosating agents) ได้แก่ ไนตรัสแอนไฮไดรด์ ดังนั้นหากสามารถลดไนโตรเซติงเอเจนได้การเกิดสารประกอบไนโตรซามีนก็จะลดลงตามไปด้วย จึงมีผู้ศึกษาสารต่างๆที่สามารถทำหน้าที่ทำลายสารตั้งต้นดังกล่าว โดยมักศึกษาควบคู่ไปกับการวิเคราะห์ประสิทธิภาพการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันดังนี้

Chung และคณะ (2002) ได้ศึกษาความสามารถในการยับยั้งการเกิดสารเอ็น-ไนโตรโซไดเมธิลเอมีน (N-nitrosodimethylamine, NDMA) ของสารสกัดสตอเบอรี่ กระเทียม และkale (ตระกูลผักกาดหอม) ทั้งในหลอดทดลองและในมนุษย์พบว่า ในหลอดทดลองสารสกัดกระเทียมมีประสิทธิภาพในยับยั้งการเกิด เอ็น-ไนโตรโซไดเมธิลเอมีน ได้ดีกว่าสารสกัดสตอเบอรี่และ kale ส่วนการทดลองในมนุษย์ ผู้วิจัยได้ทำการจัดอาหารเป็น 4 กลุ่ม โดย 1 กลุ่ม ใช้คน 10 คน รวมทั้งหมดเป็น 40 คน มีชาย 27 คน หญิง 13 คน อายุโดยเฉลี่ยอยู่ที่ 24 ±3 ปี ทำการทดลอง 4 วัน โดยวันที่ 1-3 จะเป็นวันควบคุมอาหารเบื้องต้นในทุกกลุ่ม คือ ไม่ให้รับประทานอาหารที่มีสารเอ็น-ไนโตรโซไดเมธิลเอมีน ไนเตรท์ สารกลุ่มเอมีน สารประกอบซัลเฟอร์ วิตามินซี และสารประกอบฟีนอลลิก เป็นส่วนประกอบ จากนั้นวันที่ 4 ทุกกลุ่มจะได้รับอาหารที่มีไนเตรท 400 มิลลิกรัม แต่กลุ่มที่ 2-4 จะมีการให้น้ำที่มีสารสกัดสตอเบอรี่ กระเทียม และ kale อัตราส่วนต่างกัน ส่วนกลุ่มที่ 1 ไม่ได้รับสารสกัดใดๆ จากนั้นเมื่อผ่านไป 18 ชั่วโมง จะทำการวิเคราะห์วิเคราะห์หาปริมาณสารเอ็น-ไนโตรโซไดเมธิลเอมีนที่ถูกขับออกมาในรูปปัสสาวะ ด้วยวิธีแก๊สโครมาโตกราฟฟีกับ thermal energy analysis (GC-TEA) ซึ่งพบว่าเมื่อให้เครื่องดื่มที่เป็นสารสกัดสตอเบอรี่ กระเทียมและ kale ปัสสาวะของผู้ทดสอบมีปริมาณสารเอ็น-ไนโตรโซไดเมธิลเอมีน ลดลง 70 เปอร์เซ็นต์, 71 เปอร์เซ็นต์ และ 44 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องตามการทดลองในหลอดทดลอง

Lu และ Chen (2007) ได้ศึกษาความสามารถในการยับยั้งการเกิดสารเอ็น-ไนโตรโซไดเมธิลเอมีน ของสารสกัดชาเขียวและสารสกัดชาเขียวที่เติมเอนไซม์แทนเนส (tannase) เปรียบเทียบกับวิตามินซี (ascorbic acid) ผลพบว่าชาเขียวที่เติมเอนไซม์แทนเนสมีประสิทธิภาพยับยั้งการเกิดสารเอ็น-ไนโตรโซไดเมธิลเอมีนได้ดีที่สุด รองลงมาคือชาเขียวที่ไม่เติมเอนไซม์ และวิตามินซีตามลำดับ โดยแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นผู้วิจัยได้วิเคราะห์องค์ประ-กอบของชาเขียวที่เติมเอนไซม์แทนเนสด้วยโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง (High-performance liquid chromatography,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

HPLC) ได้สาร 4 กลุ่ม คือ อิพิคาเทชิน (epicatechin, EC) อิพิแกล โลคาเทชิน (epigal-locatechin, EGC) อิพิแกลโลคาเทชินแกลเลต (epigallocatechin gallate, EGCG) และ อิพิคาเทชินแกลเลต (epicatechingallate, ECG) และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์แทนเนสพบว่าปริมาณสาร อิพิแกลโลคาเทชินแกลเลตและอิพิคาเทชินแกลเลตจะลดลง แต่อิพิคาเทชินและอิพิแกลโลคาเทชินจะเพิ่มสูงขึ้น เมื่อทดสอบความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ของสารทั้ง 4 กลุ่ม เปรียบเทียบกับสารคาเทชิน (catechin) กรดแกลลิก (gallic acid) และวิตามินซี พบว่า EGCG และกรดแกลลิกมีความ-สามารถในการลดปริมาณไนไตรท์มากที่สุดเท่ากันรองลงมาคือ อิพิแกลโลคาเทชิน อิพิคาเทชินแกลเลต คาเทชิน อิพิคาเทชิน และสุดท้ายคือวิตามินซี

Choi และคณะ (2009) ได้ศึกษาสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของพืช *Achyranthis radix* (สมุนไพรจีนชนิดหนึ่ง) ที่ตัวสกัดต่างๆซึ่งได้ทำการศึกษาในหลอดทดลองและในหนูทดลอง คณะ-ผู้วิจัยพบว่า เมื่อสกัด *Achyranthis radix* ด้วยเอ็น-บิวทานอล (n-butanol) สารสกัดที่ได้จะมีความ-สามารถในการจับอนุมูลอิสระ DPPH• มากที่สุดที่ 31.09 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และความสามารถในการทำลายไนไตรท์ (nitrite scavenging) ของสารสกัด 1 มิลลิลิตร สูงสุดถึง 90.2 เปอร์เซ็นต์ ที่สภาวะ pH 1.2 โดยมีความสามารถไม่แตกต่างกับ BHT และมากกว่ากลุ่มควบคุม ที่ไม่มีการเติมสารสกัดถึง 90 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัตถุดิบ

เม็ดผักชีป่น	(บริษัท ง่วนสูน (1974) เยาวราช จำกัด, ประเทศไทย)
อบเชยป่น	(บริษัท ง่วนสูน (1974) เยาวราช จำกัด, ประเทศไทย)
ปาปรีก้าป่น	(บริษัท ง่วนสูน (1974) เยาวราช จำกัด, ประเทศไทย)
พริกขี้หนูสวนป่น	(บริษัท ง่วนสูน (1974) เยาวราช จำกัด, ประเทศไทย)
พริกไทยดำป่น	(บริษัท ง่วนสูน (1974) เยาวราช จำกัด, ประเทศไทย)
พริกไทยขาวป่น	(บริษัท ง่วนสูน (1974) เยาวราช จำกัด, ประเทศไทย)
กระเทียมป่น	(บริษัท ง่วนสูน (1974) เยาวราช จำกัด, ประเทศไทย)
ยี่หร่าป่น	(บริษัท ง่วนสูน (1974) เยาวราช จำกัด, ประเทศไทย)
ตะไคร้ป่น	(บริษัท ง่วนสูน (1974) เยาวราช จำกัด, ประเทศไทย)
ข่าป่น	(บริษัท ง่วนสูน (1974) เยาวราช จำกัด, ประเทศไทย)
ใบมะกรูดป่น	(บริษัท ง่วนสูน (1974) เยาวราช จำกัด, ประเทศไทย)
โปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง	(บริษัท The Solae Company, USA)
ไข่ขาวผง	(บริษัท Food EQ จำกัด, ประเทศไทย)
วอดก้า 40 เปอร์เซ็นต์	(บริษัท Absolut Spirits จำกัด, ประเทศไทย)

เนื้อหมูส่วนสะโพก จากตลาดสดหัวตะเข้ เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร

3.2 เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์

เครื่องบดแบบหยาบ	(บริษัท Philip-Cucina, Indonesia)
เครื่องชั่งละเอียด 2 ตำแหน่ง	(บริษัท Pioneer, USA)
เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง	(บริษัท Denver, Germany)
เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge)	(บริษัท Beckman Coulter, USA)
เครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary Evaporator)	(บริษัท B.U.C.H.I B-169, Switzerland)
UV-VIS สเปคโตรโฟโตมิเตอร์	(บริษัท Shimadzu UV-1601, Japan)
water bath shaker	(บริษัท Memmert-WNB 7-45, Germany)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์

2,2-Diphenyl-l-picryl-hydrazyl (DPPH)	(บริษัท Sigma, USA)
Torlox	(บริษัท Aldrich, Germany)
Sodium carbonate (Na_2CO_3)	(บริษัท Merck, Germany)
Gallic acid	(บริษัท Sigma, Germany)
Hydrochlolic acid (HCl)	(บริษัท Merck, Germany)
Sodium acetate (CH_3COONa)	(บริษัท Merck, Germany)
Iron(III)chloride hexahydrate ($FeCl_3.6H2O$)	(บริษัท Sigma, Sweden)
2,4,6-Tris (2-pyridyl)-s-triazine (TPTZ)	(บริษัท Sigma, Switzerland)
Sodium nitrite ($NaNO_2$)	(บริษัท Merck, Germany)
Sulfanilamide	(บริษัท Sigma, Switzerland)
N-(1-naphthyl) ethylenediamine	(บริษัท Merck, Germany)
Acetic acid (CH_3COOH)	(บริษัท Merck, Germany)
Folin-Ciocalteu reagent	(บริษัท BDH, England)
Sodium nitroprusside	(บริษัท Merck, Germany)
Hydrogen peroxide	(บริษัท Merck, Germany)
Diethylene-triamine-pentaacetic acid (DTPA)	(บริษัท Merck, Germany)
Evans Blue	(บริษัท Merck, Germany)
Potassium chloride	(บริษัท Merck, Germany)
Sodium chloride	(บริษัท Merck, Germany)
Ethanol 95 เปอร์เซ็นต์	

3.4 สถานที่ดำเนินการทดลอง

ห้องปฏิบัติการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

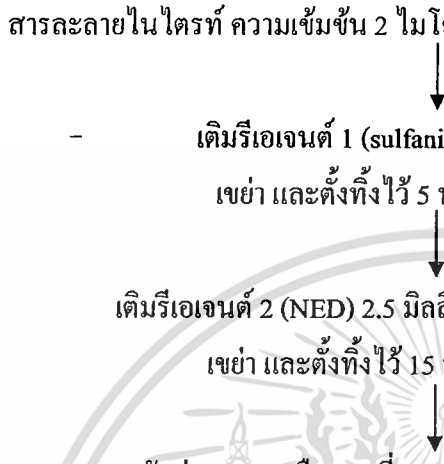
3.5 วิธีดำเนินงาน

3.5.1 การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้าง

การวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้างจะวิเคราะห์ด้วยวิธีทางแคลอรีเมตริก (AOAC Official Method 973.31, Nitrites in cured meat, Colorimetric method 2000) และวัดความเข้มสีที่เปลี่ยนแปลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไปของสารละลายหลังเติมรีเอเจนต์ (reagent) ด้วยวิธีทางสเปคโตรโฟโตเมตรี ดังภาพที่ 10 โดยศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้าง 2 ปัจจัย คือ อุณหภูมิและเวลา



ภาพที่ 3.1 : ขั้นตอนการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้าง

ที่มา : ดัดแปลงจาก AOAC Official Method 973.31 (2000) ดังภาคผนวก ก.

3.5.1.1 การวิเคราะห์ผลของอุณหภูมิที่มีต่อการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้าง

ควบคุมอุณหภูมิที่ทำการทดลอง (ขณะรอให้รีเอเจนต์ 1 (sulfanilamide) และรีเอเจนต์ 2 (NED) เกิดปฏิกิริยา) โดยอุณหภูมิที่ศึกษา คือ 20, 25, 30, 35, 45 และ 60 องศาเซลเซียส จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ทำอุณหภูมิละ 3 ซ้ำ นำค่าเฉลี่ยที่ได้ไปสร้างกราฟระหว่างอุณหภูมิกับค่าการดูดกลืนแสง เพื่อดูแนวโน้มและเลือกอุณหภูมิที่เริ่มทำให้กราฟมีค่าความชันเท่ากับศูนย์ เป็นอุณหภูมิสำหรับการทดลองในข้อ 3.5.3

3.5.1.2 การวิเคราะห์ผลของเวลาที่มีต่อการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้าง

ในการทดลองจะแบ่งเป็น 2 ช่วง ในช่วงที่หนึ่งจะกำหนดเวลาที่ใช้ในการรอให้ รีเอเจนต์ 1 (sulfanilamide) เกิดปฏิกิริยา เป็น 2, 5, 10, 15 , 20 และ 30 นาที และ รีเอเจนต์ 2 (NED) เป็น 15 นาที ทำการทดลอง 3 ซ้ำ นำค่าเฉลี่ยที่ได้ไปสร้างกราฟระหว่างเวลากับค่าการดูดกลืนแสง เพื่อดูแนวโน้มและเลือกเวลาที่เริ่มทำให้กราฟมีค่าความชันเท่ากับศูนย์ มาเป็นเวลาสำหรับช่วงที่สอง

ในช่วงที่สองนี้จะใช้เวลารอให้รีเอเจนต์ 2 (NED) เกิดปฏิกิริยาเป็น 5, 15, 30, 45 และ60 นาที ทดลองตัวอย่างละ 3 ซ้ำ นำค่าเฉลี่ยที่ได้ไปสร้างกราฟระหว่างเวลากับค่าการดูกลืนแสง เพื่อดูแนวโน้ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และเลือกเวลาที่เริ่มทำให้กราฟมีค่าความชันเท่ากับศูนย์ มาเป็นเวลาสำหรับการทดลองต่อๆไป

วิเคราะห์ทางสถิติหาความแตกต่างของปัจจัยที่มีผลต่อการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้างด้วยวิธีทางแคลอรีเมตริก โดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Complete Randomized Design, CRD) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธีของดันแคน (Duncan's New Multiple Range Test)

- **3.5.2 การศึกษาความสามารถด้านการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างของพืชสมุนไพรและส่วนผสมอื่นที่นิยมใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูป**

นำเม็ดผักชีป่น อบเชยป่น ปาปรีก้าป่น พริกขี้หนูสวนป่น พริกไทยดำป่น พริกไทยขาวป่น กระเทียมป่น ยี่หร่าป่น ตะไคร้ป่น ข่าป่น ใบมะกรูดป่น โปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง และไข่ขาวผง มาชั่งตัวอย่างละ 0.05 กรัม ใส่หลอดทดลอง รวมทั้งหมด 13 หลอด จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมไนไตรท์ความเข้มข้น 200 ppm ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ปิดปากหลอดทดลองด้วยพาราฟิล์มและวางไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4-8 องศาเซลเซียส นานข้ามคืน (24 ชั่วโมง) จากนั้นนำมาหมุนเหวี่ยงที่ 8700 รอบ/นาที นาน 15 นาที ดูดส่วนใสมาวิเคราะห์หาความเข้มข้นของโซเดียมไนไตรท์ที่เหลือด้วยวิธีตามข้อ 3.5.1 โดยทำการทดลอง 5 ซ้ำ

3.5.3 การศึกษาสมบัติของสารสกัดอบเชย

3.5.3.1 การเตรียมสารสกัดอบเชย

การเตรียมสารสกัดอบเชยดัดแปลงจากวิธีของ Mathew และ Abraham (2006) โดยนำผงเปลือกอบเชยแช่ตัวทำละลายในอัตราส่วนอบเชยต่อตัวทำละลายเท่ากับ 1 ต่อ 10 ในขวดรูปชมพู่ เขย่าที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง จากนั้นจะนำไปทำเป็นสารสกัดในรูปแบบต่างๆดังนี้

1) กรณีที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย จะนำสารข้นหนืดที่ได้หลังผ่านการแช่ไปแยกส่วนใสและส่วนที่เป็นตะกอนผงอบเชยด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ความเร็ว 9,500 รอบ/นาที เป็นเวลา 20 นาที เก็บส่วนใสด้านบนมาทำให้เข้มข้นขึ้นด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศ (rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ความเร็ว 130 รอบ/นาที เป็นเวลา 90 นาที ได้เป็นสารละลายข้นหนืดสีน้ำตาล (สารสกัด ก)

นำสารละลายข้นหนืดไปอบแห้งด้วยเตาอบรมร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง แล้วบดละเอียดเป็นผง (สารสกัด ข)

นำสารละลายข้นหนืดไปอบแห้งด้วยเตาอบรมร้อนที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง แล้วบดละเอียดเป็นผง (สารสกัด ค)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2) กรณีที่ใช้เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ เป็นตัวทำละลายจะนำสารละลายสีน้ำตาลแดงเข้มที่ได้หลังจากผ่านการแช่มาผ่านการกรองด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์4 ระเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องระเหยแบบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ความเร็ว 40 รอบ/นาที เป็นเวลา 25 นาที จากนั้นนำไปอบแห้งด้วยเตาอบรมร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมงแล้วบดละเอียดเป็นผง(สารสกัด ง)

เก็บสารสกัด ก ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส ส่วนสารสกัดที่อยู่ในรูปผงซึ่งได้แก่ สารสกัด ข ค และ ง จะเก็บในถุงซิบ 2 ชั้นและใส่ในขวดสีชาเก็บที่อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส นำสารสกัดต่างๆมาทำการวิเคราะห์ตามข้อที่ 3.5.3.2 – 3.5.3.4

3.5.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (Total polyphenol contents)

วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดตามวิธีของ ประพันธ์และวันทนีย์ (2545) โดยสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดจะทำปฏิกิริยากับ Folin-Ciocalteu reagent เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงิน ซึ่งสามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร และใช้กรดแกลลิคเป็นสารประกอบฟีนอลมาตรฐาน รายงานผลของปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด ในหน่วยของ มิลลิกรัมกรดแกลลิก/กรัมตัวอย่างแห้ง รายละเอียดการวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ก.

3.5.3.3 การวิเคราะห์ความสามารถด้านการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดอบเชยรูปแบบต่างๆ

1) การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH

วิเคราะห์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH จะใช้วิธี DPPH method ซึ่งดัดแปลงจากรายงานของ Murakami และคณะ (2004) รายละเอียดการวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ก.

2) การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก

วิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก จะใช้วิธี ที่ดัดแปลงจาก BenzieและStrain (1999) รายละเอียดการวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ก.

3) การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายไนตริกออกไซด์ (nitric oxide scavenging)

การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายไนตริกออกไซด์ ตามวิธีของ Govindarajan และคณะ (2003) รายละเอียดการวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ก.

3.5.3.4 การวิเคราะห์ความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างของสารสกัดอบเชย

เติมสารสกัดอบเชยรูปแบบ ก ข ค และ ง (รูปแบบละ 5 ความเข้มข้น 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรัมน้ำหนักแห้ง/มิลลิลิตร) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในสารละลายโซเดียมไนไตรท์ ความเข้มข้น 200 ppm ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ปิดปากหลอดทดลองด้วยพาราฟิล์ม วางไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4-8 องศาเซลเซียส นานข้ามคืน(24 ชั่วโมง) จากนั้นนำมาหมุนเหวี่ยงที่ 9000 รอบ/นาที นาน 15 นาที ดูดส่วนใสมาวิเคราะห์หาความเข้มข้นของไนไตรท์ที่เหลือตามวิธีข้อ 3.5.1

3.5.4 การวิเคราะห์ความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างของสารสกัดอบเชยในไส้กรอกหมูรมควัน

3.5.4.1 การเตรียมไส้กรอกหมูรมควัน

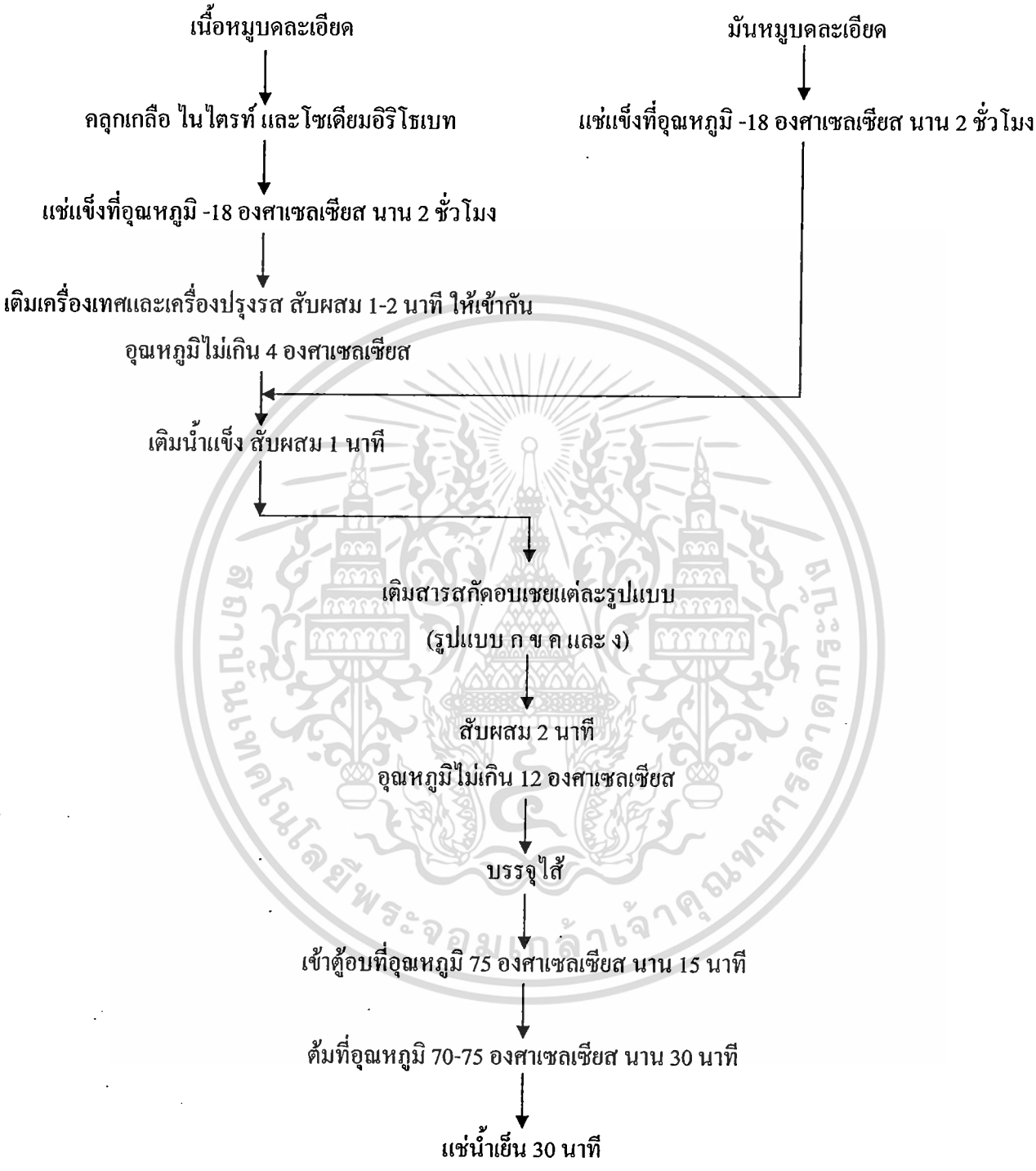
ทำการเตรียมไส้กรอกหมูรมควันดังภาพที่ 3.2 โดยใช้ส่วนผสมตามตารางที่ 3.1 และเติมสารสกัดอบเชยในปริมาณต่างๆ จากนั้นนำไส้กรอกหมูรมควันที่ผลิตได้เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปวิเคราะห์ตามข้อ 3.5.4.2

ตารางที่ 3.1 สูตรในการผลิตไส้กรอกหมูรมควัน

ส่วนผสม	น้ำหนัก (กรัม)
เนื้อหมู	800
มันแข็ง	200
น้ำแข็งป่น	240
เกลือ	15
ไนไตรท์ (200 ppm)	0.26
ฟอสเฟต	3
ไข่ขาวผง	15
กระเทียมผง	6
ลูกผักชีป่น	2.5
ดอกจันทน์ป่น	2.5
พริกไทยดำป่น	6
น้ำตาล	9
ผงควัน	3.5
โซเดียมอิริโธเบท	0.25

ที่มา : ดัดแปลงจากปรวัล (2552)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3.2 : ขั้นตอนการผลิตไส้กรอกหมูรมควัน

ที่มา : ดัดแปลงจากปรวัล (2552) และ เยาวลักษณ์ (2551)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.4.2 การวิเคราะห์ความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างของสารสกัดอบเชยในไส้กรอกหมูรมควันและการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ระหว่างการเก็บรักษา

นำไส้กรอกหมูรมควันที่เก็บเป็นเวลา 0, 1, 3 และ 5 วัน มาเตรียมตัวอย่างซึ่งดัดแปลงวิธีการเตรียมตัวอย่างจาก AOAC (2000) โดยนำไส้กรอกหมูรมควันมาบดละเอียดทั้งชิ้น(ห้ามตัดแต่หัวหรือท้ายของไส้กรอกมาวัดเพราะส่วนหัวและส่วนท้ายของไส้กรอกจะมีไนไตรทตกค้างน้อยกว่าบริเวณกลางแท่งของไส้กรอกเสมอ) และชั่งน้ำหนัก 5 กรัม ใน flask 250 ml เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เขย่าหรือใช้แท่งแก้วให้เข้ากัน 30 วินาที แต่อย่าคนแรงมากระวังชิ้นไส้กรอกติดข้างๆภาชนะหรือแท่งแก้ว(ถ้าเนื้อไส้กรอกคนหรือเขย่าเบาๆแล้วไม่กระจายตัวและจำเป็นต้องเขย่าแรงๆควรเปลี่ยนจากการเติมน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร เป็นเติมเพียง 50 มิลลิลิตรแล้วเขย่าแรงๆจนไส้กรอกกระจายตัวแล้วจึงใช้น้ำกลั่นอีก 50 มิลลิลิตร ริ้นส์เศสไส้กรอกที่ติดตามขอบภาชนะให้หล่นลงไปรวมจะได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เท่าเดิม) จากนั้นปิดภาชนะด้วยอะลูมิเนียมฟลอย นำมาแช่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 70 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง เขย่าเบาๆขวดเป็นระยะ เมื่อครบเวลาจึงนำมากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 หากสารละลายที่ได้ยังมีความขุ่นอยู่ให้นำไปหมุนเหวี่ยงที่ 8000 รอบ/นาที นาน 10 นาที จากนั้นค่อยๆเทส่วนใสออกมาใส่หลอดทดลอง(ไม่เอาส่วนตะกอนด้านล่าง) นำตัวอย่างในหลอดทดลองไปแช่ในตู้เย็นนาน 15-20 นาที จนไขมันลอยแข็ง จากนั้นใช้แท่งแก้วค่อยๆแหวกแผ่นฟิล์มไขมันมันที่ผิวหน้าออก แล้วคนตัวอย่างด้านล่างด้วยปลายปิเปตก่อนดูดตัวอย่างใสขึ้นมา 1 มิลลิลิตร (ถ้าเครื่อง centrifuge คุมอุณหภูมิได้ ให้เลือกที่ 4 °C พอเสร็จแล้วไม่ต้องไปแช่ตู้เย็น ดูส่วนใสไปวิเคราะห์ได้เลย) วิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์ตกค้าง

วิเคราะห์ความเป็นกรด-ด่างตามวิธีของ Bloukas และคณะ (2000) โดย นำไส้กรอกหมูรมควันมาบดละเอียดทั้งชิ้นและชั่งน้ำหนัก 5 กรัม เติมน้ำกลั่น ปริมาณ 50 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน 30 วินาที วัดค่า pH และวิเคราะห์ความเป็นกรด-ด่าง ด้วยเครื่อง pH meter ขั้วอิเล็คโทรดแก้ว

3.5.5 การทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของไส้กรอกหมูรมควันที่เติมสารสกัดอบเชย

ทำการเตรียมไส้กรอกหมูรมควันที่เติมสารสกัดอบเชยด้วยวิธีการในข้อ 3.5.4.1 ก่อนนำมาทดสอบความชอบ (affective test) ด้วยวิธีการหาอัตราความชอบ (hedonic scaling) โดยใช้สเกลความชอบ 1 ถึง 7 คะแนน (รายละเอียดดังภาคผนวก ข.) โดยใช้ผู้ชิมที่ไม่ผ่านการฝึก 30 คน ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อคสมบูรณ์ (randomized complete block design) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธีของดันแคน (Duncan's New Multiple Range Test)

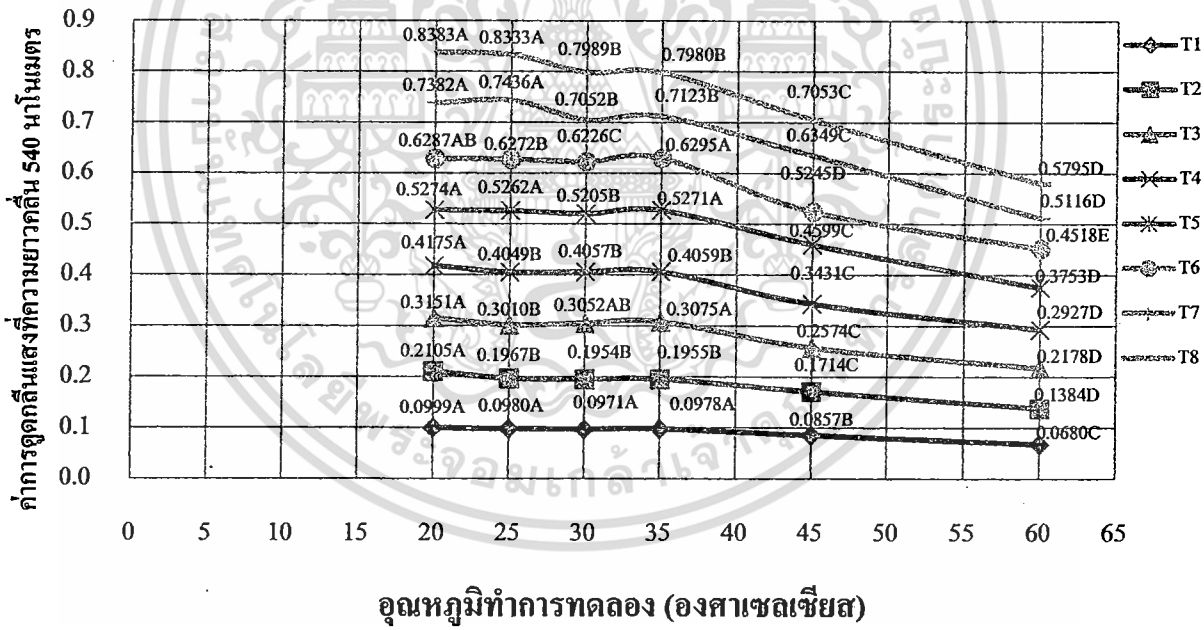
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 ผลการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้าง

4.1.1 ผลของอุณหภูมิที่มีต่อการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้าง

จากการวิเคราะห์ผลของอุณหภูมิที่มีต่อการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้างในตัวอย่างสารละลายโซเดียมไนไตรท์ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธีทางแคลอรีเมตริก (AOAC Official Method 973.31, Nitrites in cured meat, Colorimetric method 2000) โดยควบคุมอุณหภูมิที่ใช้ทำการทดลอง คือ 20, 25, 35, 45 และ 60 องศาเซลเซียส ได้ผลดังภาพที่ 4.1.1 ค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้มีความสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณไนไตรท์ตกค้าง



ภาพที่ 4.1.1 : ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายโซเดียมไนไตรท์ที่อุณหภูมิ 20, 25, 35, 45 และ 60 องศาเซลเซียส

^{ABCD} ตัวอักษรกำกับต่างกันในเส้นกราฟเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

T1 ถึง T8 หมายถึง ตัวอย่างสารละลายโซเดียมไนไตรท์ที่ความเข้มข้น 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2, 1.4 และ 1.6 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากภาพที่ 4.1 เมื่อพิจารณาค่าการดูดกลืนแสงที่อุณหภูมิการทดลองต่างๆกัน จะพบว่าส่วนใหญ่ค่าการดูดกลืนแสงค่อยๆลดลงเมื่ออุณหภูมิในการทำการทดลองสูงขึ้น และมีแนวโน้มลดลงอย่างรวดเร็วในตัวอย่างที่มีความเข้มข้นสูง คือ ตัวอย่างสารละลายโซเดียมไนไตรท์ที่ความเข้มข้น 1.2, 1.4 และ 1.6 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยพบว่าค่าการดูดกลืนแสงเริ่มลดลงที่อุณหภูมิทดลอง 35 องศาเซลเซียส ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับการทดลองของ Narayana และ Sunil (2009) พบว่าการทำปฏิกิริยาต่อ (coupling) ระหว่างไดอะโซเนียมไอออนกับเมธิลแอนธาไนเลท (methyl anthranilate) ได้เป็นสารประกอบให้สีนั้นจะเกิดสีได้ดีที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และความเข้มสีจะลดลงในกรณีที่อุณหภูมิที่ทำการทดลองสูงกว่า 35 องศาเซลเซียส ดังนั้นจึงเลือกอุณหภูมิที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้างเป็น 25 องศาเซลเซียส

4.1.2 ผลของเวลาต่อการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้าง

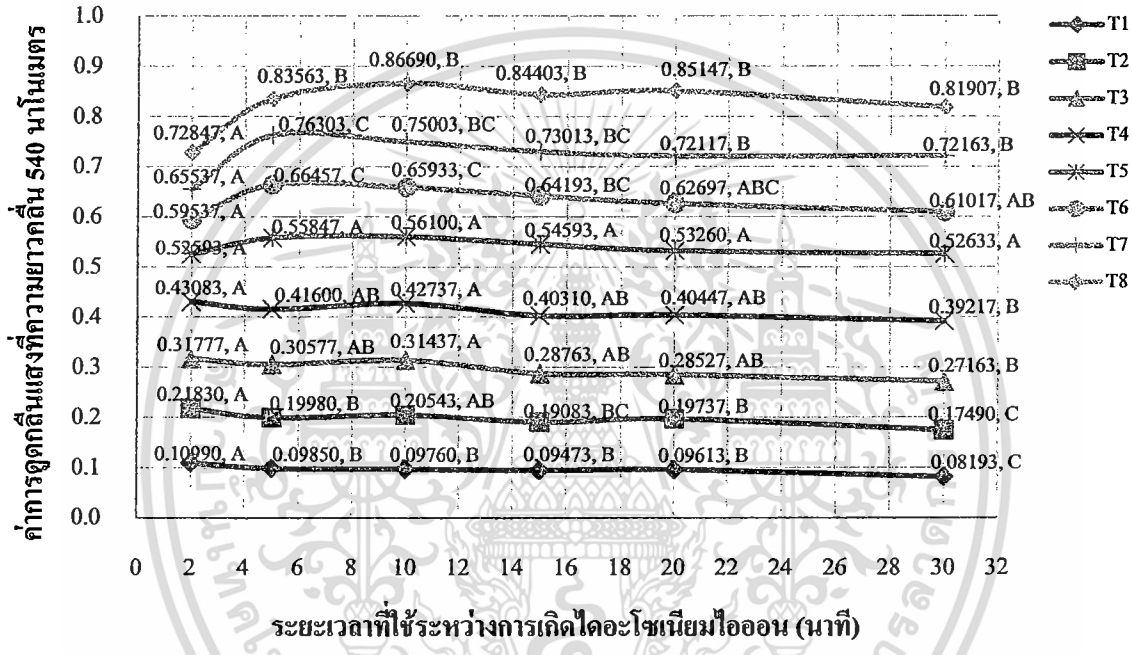
1.) เมื่อทำการศึกษาระยะเวลาที่ใช้ระหว่างการเกิดไดอะโซเนียมไอออนที่ 2, 5, 10, 15 , 20 และ 30 นาที โดยใช้อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิทำการทดลอง และใช้เวลาการเกิดปฏิกิริยาร่วมกัน (coupling) ระหว่างไดอะโซเนียมไอออนกับ NED (N-(1-naphthyl) ethylenediamine) ตามวิธีของ AOAC (2000) ได้ผลแสดงดังภาพที่ 4.2 ซึ่งพบว่า ระยะเวลา 2 นาทียังไม่เพียงพอให้ไดอะโซเนียมไอออนเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ ระยะเวลาที่ใช้ระหว่างการเกิดไดอะโซเนียมไอออนที่ 5, 10 ,15 และ 20 นาที พบว่าค่าการดูดกลืนแสงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) มีเพียงตัวอย่าง T7 ที่มีค่าการดูดกลืนแสงที่ 20 นาที แตกต่างจาก 5, 10 และ 15 นาที และเมื่อระยะเวลาที่ใช้ระหว่างการเกิดไดอะโซเนียมไอออนเพิ่มเป็น 30 นาที พบว่าเมื่อเปรียบเทียบกับที่ระยะ 5 นาที ส่วนใหญ่ค่าการดูดกลืนแสงลดลง โดยเฉพาะในกรณี T1, T2, T6 และ T7 มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สาเหตุอาจเกิดจากวงแหวนเอมีนถูกออกซิไดซ์เมื่อสัมผัสกับอากาศเป็นเวลานาน (Song และ Kaylor, 2007).

จากการที่ระยะเวลาที่ใช้รอให้เกิดไดอะโซเนียมไอออนที่ 5, 10 ,15 และ 20 นาที แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ไม่แตกต่างกัน ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเลือกระยะเวลาที่ 5 นาที เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ขั้นต่อไป

2.) เมื่อทำการศึกษาระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยาระหว่างไดอะโซเนียมไอออนกับ NED (N-(1-naphthyl) ethylenediamine) ที่ 5, 15, 30, 45 และ60 นาที โดยใช้อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสและระยะเวลาที่ใช้ระหว่างการเกิดไดอะโซเนียมไอออน 5 นาที ได้ผลดังภาพที่ 4.3 พบว่าเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้นจาก 5 นาที ไปเป็น 15, 30, 35, 45 และ 60 นาที ส่วนใหญ่ถ้าค่าการดูดกลืนแสงมีค่าเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ยกเว้นเมื่อเปรียบเทียบที่ระยะเวลา 5 นาที กับที่ระยะเวลา 30, 35, 45 และ 60 นาที ของ T6 และ T7 และที่ความเข้มข้นต่ำ T1 และT2 พบว่ามีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แสดงว่า ระยะเวลา 5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นาที อาจไม่เพียงพอให้ปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์ และจากภาพดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าค่าการดูดกลืนแสงเริ่มมีความเสถียรที่ระยะเวลาการเกิดปฏิกิริยาระหว่างไดอะโซเนียมไอออนกับ NED 30-35 นาที และเมื่อเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงของระยะเวลาการเกิดปฏิกิริยาระหว่างไดอะโซเนียมไอออนกับ NED ที่ 30 และ 35 นาที พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($p \leq 0.05$) ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกสภาวะเวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาระหว่างไดอะโซเนียมไอออนกับ NED เป็น 30 นาที

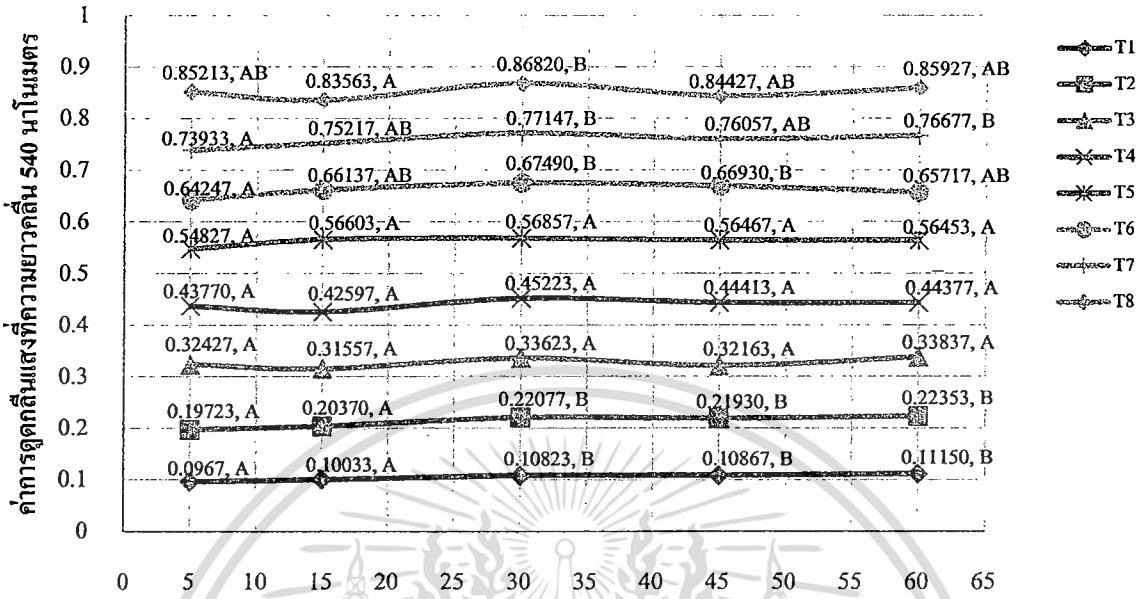


ภาพที่ 4.1.2 : ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายโซเดียมไนไตรท์ที่ระยะเวลาที่ใช้ระหว่างการเกิดไดอะโซเนียมไอออน 2, 5, 10, 15 , 20 และ 30 นาที

^{ABCD} ตัวอักษรกำกับต่างกันในเส้นกราฟเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

T1 ถึง T8 หมายถึง ตัวอย่างสารละลายโซเดียมไนไตรท์ที่ความเข้มข้น 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2, 1.4 และ 1.6 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.1.3 : ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายโซเดียมไนไตรท์ที่ระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยาระหว่างไดอะโซเนียมไอออนกับ NED 5, 15, 30, 45 และ60 นาที

T1 ถึง T8 หมายถึง ตัวอย่างสารละลายโซเดียมไนไตรท์ที่ความเข้มข้น 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2, 1.4 และ 1.6 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

4.2 ผลการศึกษาความสามารถด้านการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างของพืชสมุนไพรและส่วนผสมอื่นที่นิยมใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูป

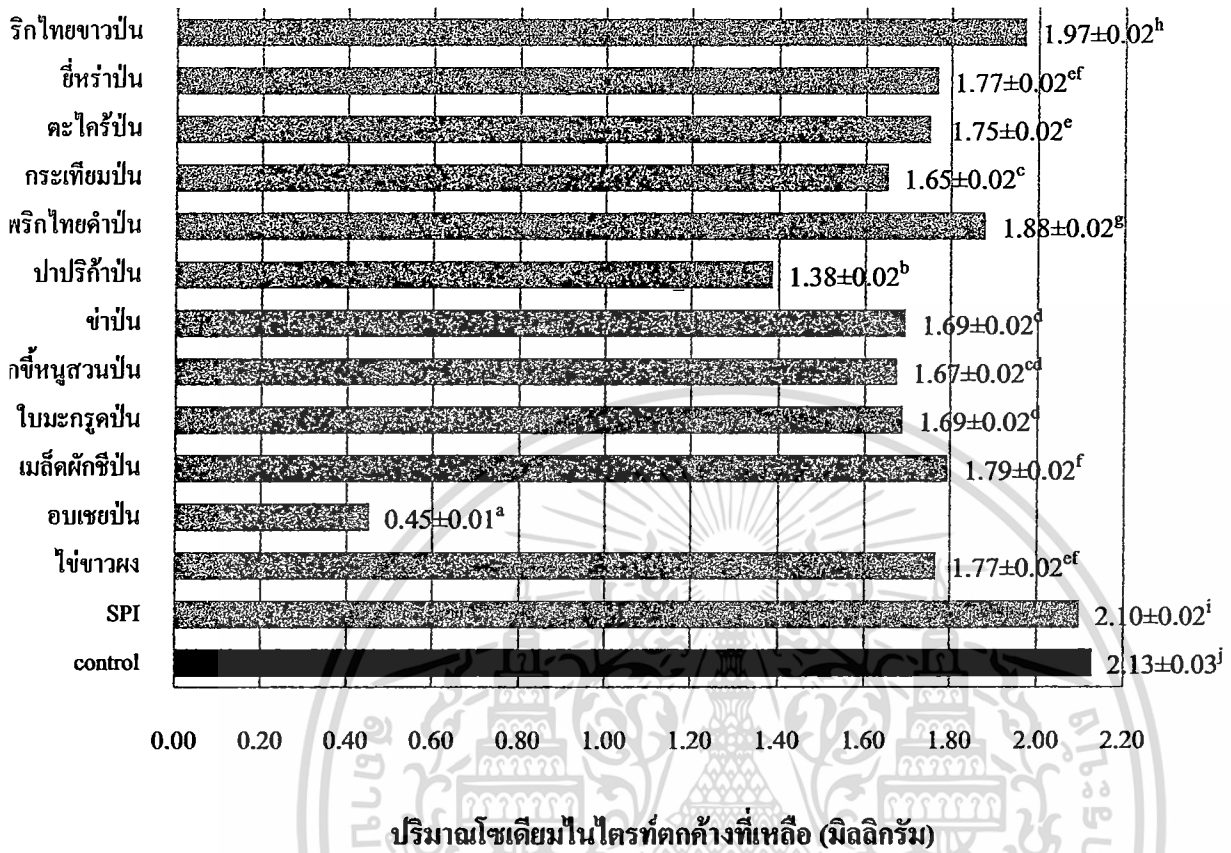
ผลการศึกษาความสามารถด้านการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างของเม็ดผักชีป่น อบเชยป่น ปาปรีก้าป่น พริกขี้หนูสวนป่น พริกไทยดำป่น พริกไทยขาวป่น กระเทียมป่น ยี่หร่าป่น ตะไคร้ป่น ข่าป่น ใบมะกรูดป่น โปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง และไข่ขาวผง ทำในสภาวะในหลอดทดลอง โดยการเติมพืชสมุนไพรหรือส่วนผสมดังกล่าว ในหลอดทดลองที่มีปริมาณโซเดียมไนไตรท์ 2 มิลลิกรัม (control) ก่อนนำไปวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้างที่เหลือตามสภาวะที่คัดเลือกได้จากข้อ 4.1 ได้ผลดังตารางที่ 4.1 และภาพที่ 4.4 พบว่าอบเชยป่นมีความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างได้ดีที่สุด โดยอบเชยป่นปริมาณ 1.5 และ2 กรัมมีความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างได้ถึง 98.92 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ไม่ได้เติมอบเชยป่น ดังนั้นจึงคัดเลือกอบเชยไปทำการสกัดและศึกษาสมบัติด้านต่างๆ ในการศึกษาต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 : ปริมาณไนไตรท์ตกค้างที่เหลือหลังผ่านการเติมตัวอย่างพืชสมุนไพรและส่วนผสมอื่นที่นิยมใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูป

ตัวอย่าง	ปริมาณตัวอย่างที่ทำการทดลอง (กรัม)												
	0.03	0.05	0.07	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.5	0.7	1	1.5	2
พริกไทยขาวป่น	1.82±0.02^{c}	1.85±0.01^{f}	1.70±0.02^{de}	1.70±0.02^{h}	1.70±0.01^{h}	1.92±0.02^{g}	1.92±0.01^{i}	1.97±0.02^{h}	1.97±0.02^{h}	1.98±0.01^{h}	1.73±0.01^{j}	1.62±0.01^{j}	1.60±0.01^{k}
ขี้หร่าป่น	1.84±0.04^{c}	1.82±0.05^{def}	1.73±0.02^{fg}	1.64±0.01^{e}	1.64±0.01^{e}	1.85±0.03^{f}	1.82±0.01^{f}	1.80±0.02^{f}	1.77±0.02^{ef}	1.77±0.02^{f}	1.51±0.02^{g}	1.38±0.01^{h}	1.20±0.01^{h}
ตะไคร้ป่น	1.81±0.02^{bc}	1.80±0.02^{cd}	1.71±0.01^{ef}	1.60±0.01^{c}	1.59±0.01^{d}	1.75±0.02^{d}	1.75±0.01^{de}	1.76±0.01^{e}	1.75±0.02^{e}	1.75±0.02^{f}	1.52±0.02^{g}	1.38±0.01^{h}	1.20±0.01^{h}
กระเทียมป่น	1.78±0.02^{b}	1.76±0.01^{b}	1.64±0.01^{c}	1.65±0.01^{ef}	1.65±0.01^{e}	1.76±0.03^{de}	1.75±0.01^{de}	1.67±0.02^{c}	1.65±0.02^{c}	1.63±0.02^{c}	1.28±0.01^{d}	0.93±0.01^{c}	0.78±0.01^{d}
พริกไทยดำป่น	1.81±0.06^{bc}	1.77±0.03^{bc}	1.79±0.02^{i}	1.70±0.01^{h}	1.66±0.01^{f}	1.87±0.02^{f}	1.88±0.02^{g}	1.87±0.02^{g}	1.88±0.02^{g}	1.88±0.02^{g}	1.59±0.03^{i}	1.57±0.01^{i}	1.54±0.01^{j}
ปาปริก้าป่น	1.78±0.05^{b}	1.81±0.04^{de}	1.57±0.01^{b}	1.50±0.01^{b}	1.49±0.01^{b}	1.63±0.02^{b}	1.37±0.01^{b}	1.40±0.02^{b}	1.38±0.02^{b}	1.37±0.02^{b}	1.02±0.02^{b}	0.54±0.01^{b}	0.53±0.01^{b}
ข่าป่น	1.77±0.01^{b}	1.76±0.00^{b}	1.76±0.02^{h}	1.67±0.01^{g}	1.66±0.01^{f}	1.70±0.02^{c}	1.72±0.01^{c}	1.71±0.02^{d}	1.69±0.02^{d}	1.68±0.02^{e}	1.31±0.02^{e}	1.12±0.02^{f}	0.84±0.02^{e}
พริกขี้หนูสวนป่น	1.82±0.03^{bc}	1.82±0.04^{def}	1.71±0.02^{ef}	1.69±0.01^{h}	1.68±0.01^{g}	1.84±0.02^{f}	1.82±0.01^{f}	1.69±0.02^{cd}	1.67±0.02^{cd}	1.66±0.02^{d}	1.43±0.02^{f}	0.96±0.01^{d}	0.60±0.02^{c}
ใบมะกรูดป่น	1.84±0.03^{c}	1.85±0.01^{def}	1.75±0.01^{gh}	1.62±0.01^{d}	1.56±0.01^{c}	1.79±0.01^{e}	1.74±0.02^{d}	1.69±0.02^{cd}	1.69±0.02^{d}	1.68±0.02^{e}	1.44±0.02^{f}	1.23±0.01^{g}	1.14±0.02^{g}
เม็ดผักชีป่น	1.84±0.02^{c}	1.84±0.02^{ef}	1.83±0.02^{j}	1.80±0.01^{i}	1.80±0.01^{i}	2.04±0.02^{h}	1.90±0.01^{h}	1.86±0.02^{g}	1.79±0.02^{f}	1.77±0.02^{f}	1.55±0.01^{h}	1.56±0.02^{i}	1.47±0.02^{i}
อบเชยป่น	1.46±0.03^{a}	1.38±0.01^{a}	0.95±0.01^{a}	0.67±0.01^{a}	0.62±0.00^{a}	0.65±0.01^{a}	0.62±0.01^{a}	0.47±0.01^{a}	0.45±0.01^{a}	0.44±0.01^{a}	0.26±0.01^{a}	0.02±0.01^{a}	0.02±0.01^{a}
ไข่ขาวผง	1.84±0.03^{c}	1.83±0.03^{def}	1.69±0.01^{d}	1.66±0.01^{fg}	1.67±0.00^{g}	1.84±0.02^{f}	1.77±0.01^{e}	1.77±0.02^{e}	1.77±0.02^{ef}	1.76±0.01^{f}	1.12±0.01^{c}	0.98±0.01^{e}	1.12±0.01^{f}
โปรตีนถั่วเหลือง	1.84±0.03^{c}	1.84±0.02^{ef}	1.82±0.01^{j}	1.80±0.01^{i}	1.87±0.01^{j}	2.14±0.02^{i}	2.13±0.01^{j}	2.09±0.02^{i}	2.10±0.02^{i}	2.10±0.02^{i}	1.96±0.02^{l}	-	-
control	1.84±0.02^{c}	1.83±0.02^{def}	1.87±0.01^{k}	1.87±0.01^{j}	1.87±0.02^{j}	2.11±0.02^{i}	2.12±0.02^{j}	2.12±0.01^{i}	2.13±0.03^{j}	2.14±0.01^{j}	1.86±0.01^{k}	1.86±0.02^{k}	1.86±0.01^{l}

$^{a-l}$ อักษรกำกับแตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)



กาพที่ 4.4 : ความสามารถด้านการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างของพืชสมุนไพรและส่วนผสมอื่นที่นิยม ใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูปปริมาณ 0.5 กรัม

[j] อักษรกำกับแตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

4.3 ผลการศึกษาสมบัติของสารสกัดอบเชย

4.3.1 ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดอบเชย

เมื่อทำการสกัดสารสกัดอบเชยโดยนำผงเปลือกอบเชยแช่ตัวทำละลายในอัตราส่วนอบเชยต่อตัวทำละลายเท่ากับ ต่อ 10 ในขวดรูปชมพู่ เขย่าที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง จากนั้นนำไปทำเป็นสารสกัดในรูปแบบ ต่างๆ โดยการสกัดแต่ละครั้งมีปริมาณสารสกัดที่ได้เฉลี่ยแสดงดังตารางที่ 4.3.1

1) สารสกัด ก ใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย สารละลายข้นหนืดสีน้ำตาล

2) สารสกัด ข ได้จากการนำสารสกัด ก ไปอบแห้งด้วยเตาอบรมร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง ล้วบดละเอียดเป็นผงสีน้ำตาล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3) สารสกัด ค ได้จากการนำสารสกัด ก ไปอบแห้งด้วยเตาอบรมร้อนที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง แล้วบดละเอียดเป็นผงสีน้ำตาล

4) สารสกัด ง ใช้เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ เป็นตัวทำละลาย จากนั้นนำไปอบแห้งด้วยเตาอบรมร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมงแล้วบดละเอียดเป็นผงสีน้ำตาลแดง

ตารางที่ 4.3.1 : ปริมาณสารสกัดที่ได้โดยเฉลี่ยในแต่ละครั้ง

อบเชยป่น : ตัวทำละลาย เท่ากับ 60 : 600 (g:ml)	ชนิดตัวทำละลาย	
	น้ำ	ethanol 95 %
ปริมาณเริ่มต้นตอนแช่ (ml)	600.00	600.00
น้ำหนักหลังหมุนเหวี่ยง(สกัดด้วยน้ำ) หรือกรอง(สกัดด้วย ethanol 95 %) (g)	297.94	571.72
ปริมาณสารละลายที่เสียไป	302.06	28.28
น้ำหนักหลังทำให้เข้มข้น (g)	62.35	27.11
%total solid	5.20	40.23
สารสกัดเหลว(ทำให้เข้มข้นอย่างเดียว) (g)	62.35	27.11
สารสกัดผง (หลังอบ 90 °C 5 ชั่วโมง) (g)	3.22	10.91
สารสกัดผง (หลังอบ 130 °C 5 ชั่วโมง)(g)	3.26	-

4.3.2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (Total polyphenol contents)

จากการนำสารสกัดอบเชยไปวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดพบว่าสารสกัดอบเชย (*Cinnanomum burmanii Blume*) มีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดแสดงดังตารางที่ 4.3.2 โดยกรณีที่เป็นสารสกัดด้วยน้ำและไม่ผ่านการอบมีปริมาณสารประกอบฟีนอลลิคทั้งหมด 13.912 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่ออบเชยป่น 1 กรัม ซึ่งน้อยกว่าปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดอบเชยสายพันธุ์ *Cinnamomum Zeylanicum* ที่มี 7.6 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่ออบเชยป่น 1 กรัม (Areewan และคณะ, 2011) ส่วนสารสกัดอบเชยที่มีethanol 95 % เป็นตัวทำละลายมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด 362.57 ± 26.38 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อสารสกัดเริ่มต้น 1 กรัม หรือเท่ากับ 90.64 ± 6.59 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่ออบเชยป่น 1 กรัม ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลในอบเชยสายพันธุ์อื่นๆดังนี้ Mathew และ Abraham (2006) ได้ศึกษาสมบัติของสารสกัดจากเปลือกอบเชย (*Cinnamomum verum*) พบว่าสารสกัดจากเปลือกอบเชยที่ใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย มีปริมาณสารประกอบโพลีฟี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอลทั้งหมดเท่ากับ 289.0 ± 2.2 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อสารสกัดเริ่มต้น 1 กรัม Ho และคณะ (2008) พบว่าสารสกัดจากเปลือกอบเชย (*Cinnamomum cassia* Presl) มีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดเท่ากับ 269 ± 3 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อสารสกัดเริ่มต้น 1 กรัม นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดกับสารสกัดจากพืชสมุนไพรชนิดอื่น พบว่าสารสกัดอบเชย (*Cinnanomum burmanii* Blume) มีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด มากกว่า โรสแมรี่ (rosemary) ยี่หร่าฝรั่ง (fennel) จันทน์เทศ (nutmeg) ออริกาโน (oregano) (Kong และคณะ , 2010) องุ่นที่นิยมใช้ทำไวน์ในประเทศบราซิล 4 สายพันธุ์ Cabernet Sauvignon, Merlot, Bordeaux และ Isabel Rockenbach และคณะ, 2011)

ารางที่ 4.3.2 : ปริมาณสารประกอบฟีนอลลิคทั้งหมดในสารสกัดและรูปแบบ

รูปแบบสารสกัด	ปริมาณสารประกอบฟีนอลลิคทั้งหมด (มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิคต่อตัวอย่างป่น 1 กรัม)
สารสกัด ก	13.912±0.10
สารสกัด ข	17.418±0.03
สารสกัด ค	15.145±0.07
สารสกัดเหลว (ethanol 95 %)	90.64 ± 6.59
สารสกัด ง	50.860±0.10

เมายเหตุ สารสกัด ก คือสารสกัดอบเชยที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย
สารสกัด ข คือสารสกัด ก ที่อบแห้งที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง
สารสกัด ค คือสารสกัด ก ที่อบแห้งที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง
สารสกัด ง คือสารสกัดอบเชยที่ใช้เอทานอล 95 % เป็นตัวทำละลาย และอบแห้งที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง

4.5.3 การวิเคราะห์ความสามารถด้านการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดอบเชยรูปแบบต่างๆ

4.3.3.1 ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH

การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดอบเชย โดยดัดแปลงจากวิธีของ Kurakami และคณะ (2004) พบว่าสารสกัดอบเชยที่ใช้ตัวทำละลายต่างชนิดกัน และความเข้มข้นต่างกัน มีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH แตกต่างกัน ดังในตารางที่ 4.3.3.1 โดยสารสกัดอบเชยมี % DPPH scavenging แปรผันตรงกับความเข้มข้นของสารสกัด และสารพฤกษเคมีที่ได้จากการใช้ตัวทำละลายต่างชนิดกันจะมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ที่ต่างกัน โดยพบว่า สารสกัดอบเชยรูปแบบ ข และ ง ซึ่งผ่าน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระบวนการสกัดแบบเดียวกัน แต่สารสกัดอบเชยรูปแบบ ข ที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลายนั้นมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ต่ำ กว่าสกัดอบเชยรูปแบบ ง ที่ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อสารสกัดอบเชยโดนความร้อนในการทำให้เป็นผง ยังส่งผลทำให้ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ลดลง

ตารางที่ 4.3.3.1 : ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดอบเชยรูปแบบต่างๆ

สารสกัดอบเชย	% สารสกัด	% DPPH Scavenging	ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH (มิลลิกรัมสมมูล โทรอกซ์ต่อ 1 กรัมตัวอย่างป่น) (โดยคำนวณจากการใช้ความเข้มข้น 0.0001 %)
สารสกัด ก	0.0001	2.92	9.002 ± 0.31^{B}
	0.0002	12.66	
	0.0003	23.27	
	0.0004	34.48	
	0.0005	43.85	
สารสกัด ข	0.0001	1.089	0.3333 ± 0.01^{C}
	0.0002	1.856	
	0.0003	2.538	
	0.0004	3.252	
	0.0005	3.889	
สารสกัด ค	0.0001	0.428	0.1327 ± 0.03^{D}
	0.0002	0.604	
	0.0003	0.663	
	0.0004	0.813	
	0.0005	1.111	
สารสกัด ง	0.0001	0.98	10.150 ± 1.57^{A}
	0.0002	7.07	
	0.0003	11.07	
	0.0004	15.54	
	0.0005	21.75	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมายเหตุ สารสกัด ก คือสารสกัดอบเชยที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย
สารสกัด ข คือสารสกัด ก ที่อบแห้งที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง
สารสกัด ค คือสารสกัด ก ที่อบแห้งที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง
สารสกัด ง คือสารสกัดอบเชยที่ใช้เอทานอล 95 % เป็นตัวทำละลาย และอบแห้งที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง

4.3.3.2 ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก

การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารสกัดอบเชย โดยใช้วิธีที่ดัดแปลงจากการทดลองของ Benzieและ Strain (1999) ได้ผลดังตารางที่ 4.3.3.2 โดยพบว่า สารสกัดอบเชยมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกแปรผันตามความเข้มข้น แต่เมื่อนำมาคำนวณความสามารถในการริดิวเฟอร์ริก (มิลลิกรัมสมมูล โทรลอกซ์ต่อกรัมตัวอย่างผงสด) เพื่อหาความเข้มข้นของสารสกัดที่มีประสิทธิภาพในการริดิวเฟอร์ริกที่ดีที่สุดพบว่า กรณีสารสกัด ก ที่ความเข้มข้น 100 µg/ml มีประสิทธิภาพในการริดิวเฟอร์ริกดีที่สุด โดยมีความสามารถในการริดิวเฟอร์ริก 45.15±2.93 มิลลิกรัมสมมูล โทรลอกซ์ต่อกรัมตัวอย่างผงสด กรณีสารสกัด ข ที่ความเข้มข้น 50 µg/ml มีประสิทธิภาพในการริดิวเฟอร์ริกดีที่สุด โดยมีความสามารถในการริดิวเฟอร์ริก 37.77±0.61 มิลลิกรัมสมมูล โทรลอกซ์ต่อกรัมตัวอย่างผงสด กรณีสารสกัด ค ที่ความเข้มข้น 100 µg/ml มีประสิทธิภาพในการริดิวเฟอร์ริกดีที่สุด โดยมีความสามารถในการริดิวเฟอร์ริก 24.49±2.41 มิลลิกรัมสมมูล โทรลอกซ์ต่อกรัมตัวอย่างผงสด และกรณีสารสกัด ง ที่ความเข้มข้น 400 µg/ml มีประสิทธิภาพในการริดิวเฟอร์ริกดีที่สุด โดยมีความสามารถในการริดิวเฟอร์ริก 50.36±0.22 มิลลิกรัมสมมูล โทรลอกซ์ต่อกรัมตัวอย่างผงสด

ตารางที่ 4.3.3.2 : ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารสกัดอบเชยรูปแบบต่างๆ

สารสกัดอบเชย	ความเข้มข้นของสารสกัด (µg/ml)	ความสามารถในการริดิวเฟอร์ริก (ไมโครกรัมสมมูลโทรลอกซ์)	ความสามารถในการริดิวเฟอร์ริก (มิลลิกรัมสมมูล โทรลอกซ์ต่อกรัมตัวอย่างผงสด)
สารสกัด ก	400	25.09±1.09^{p}	33.90±1.48^{e}
	300	18.67±0.88^{n}	33.63±1.58^{e}
	200	13.80±0.58^{l}	37.28±1.56^{f}
	100	8.36±0.54^{h}	45.15±2.93^{g}
	50	3.60±0.03^{d}	38.92±0.36^{f}
สารสกัด ข	400	23.65±0.40^{o}	31.76±0.54^{e}
	300	16.29±0.46^{m}	29.17±0.82^{d}

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

	200	12.63±0.09^{k}	33.92±0.25^{c}
	100	6.94±0.14^{f}	37.27±0.78^{f}
	50	3.52±0.06^{d}	37.77±0.61^{f}
สารสกัด ค	400	13.39±0.27^{l}	18.21±0.36^{a}
	300	10.12±0.09^{i}	18.35±0.15^{a}
	200	8.15±0.70^{gh}	22.17±1.90^{b}
	100	4.50±0.44^{e}	24.49±2.41^{c}
	50	1.85±0.01^{b}	20.16±0.16^{ab}
สารสกัด ง	400	11.08±0.05^{j}	50.36±0.22^{h}
	300	7.45±0.05^{fg}	45.15±0.32^{g}
	200	5.08±0.15^{e}	46.18±1.40^{g}
	100	2.68±0.06^{c}	48.79±1.13^{h}
	50	1.06±0.03^{a}	38.41±1.15^{f}

หมายเหตุ สารสกัด ก คือสารสกัดอบเชยที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย

สารสกัด ข คือสารสกัด ก ที่อบแห้งที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง

สารสกัด ค คือสารสกัด ก ที่อบแห้งที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง

สารสกัด ง คือสารสกัดอบเชยที่ใช้เอทานอล 95 % เป็นตัวทำละลาย และอบแห้งที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง

4.3.3.3 ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายไนตริกออกไซด์ (nitric oxide scavenging)

ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายไนตริกออกไซด์ของสารสกัดอบเชย ปริมาณ 50, 100, 200, 300 และ 400 ไมโครกรัม เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม (control) ได้ผลดังตารางที่ **4.3.4** ซึ่งพบว่าสารสกัดอบเชยมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระไนตริกออกไซด์ โดยค่า เปอร์เซ็นต์ความสามารถในการทำลายไนตริกออกไซด์ จะสูงขึ้นตามปริมาณของสารสกัดอบเชยที่เติมลงไป ซึ่งพบว่าสกัดอบเชยที่สกัดด้วยน้ำทั้งที่ไม่ผ่านการอบ(สารสกัด ก) และผ่านการอบที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง แล้วบดละเอียดเป็นผง (สารสกัด ข) ที่ความเข้มข้น 400 มีความสามารถในการทำลายไนตริกออกไซด์สูงที่สุดไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือ 63.31 และ 63.02 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการทำลายไนตริกออกไซด์ระหว่างสกัดอบเชยดังกล่าวกับสารสกัดของต้นโบราจ (*Coleus aromaticus*) (Kumaran และ Joelkarunakaran, 2006) พบว่าสารสกัดอบเชยทั้งรูปแบบ ก และ ข ที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการทำลายไนตริ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กออกไซด์ใกล้เคียงกับสารสกัดของต้นโบราจ ซึ่งสารสกัดของต้นโบราจความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการทำลายไนตริกออกไซด์ เท่ากับ 55.6 เปอร์เซ็นต์ แต่ยังมีเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการทำลายไนตริกออกไซด์น้อยกว่าสารสกัดอบเชยที่สกัดด้วยเอทานอลที่ไม่ผ่านการอบ เมื่อเทียบที่ความเข้มข้นเท่ากัน.

ตารางที่ 4.3.4 ความสามารถในการทำลายไนตริกออกไซด์ของสารสกัดอบเชยที่ระดับต่างๆ

ตัวอย่าง	ความเข้มข้น (µg/ml)	% nitric oxide scavengine
Control	-	0^{a}
สารสกัด ก	50	22.74^{d}
	100	42.43^{g}
	200	55.36^{i}
	300	60.05^{j}
	400	63.31^{k}
สารสกัด ข	50	23.08^{d}
	100	42.60^{g}
	200	56.42^{i}
	300	59.74^{j}
	400	63.02^{k}
สารสกัด ค	50	13.16^{cd}
	100	26.77^{e}
	200	42.85^{g}
	300	54.29^{hi}
	400	56.82^{i}
สารสกัด ง	50	11.56^{b}
	100	15.13^{c}
	200	31.20^{f}
	300	42.64^{g}
	400	51.88^{h}

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมายเหตุ ^{abcde} อักษรกำกับแตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

สารสกัด ก คือสารสกัดอบเชยที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย

สารสกัด ข คือสารสกัด ก ที่อบแห้งที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง

สารสกัด ค คือสารสกัด ก ที่อบแห้งที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง

สารสกัด ง คือสารสกัดอบเชยที่ใช้เอทานอล 95 % เป็นตัวทำละลาย และอบแห้งที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง

4.3.4 การวิเคราะห์ความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างของสารสกัดอบเชย

เมื่อนำสารสกัดอบเชยมาวิเคราะห์ความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างในหลอดทดลองโดยเติมสารสกัดอบเชยที่ความเข้มข้นระดับต่างๆคือ 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ได้ผลดังตารางที่ **4.3.3** พบว่าสารสกัดอบเชยมีความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างและความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างนั้นจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารสกัดอบเชยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยพบว่าสารสกัดอบเชยที่สกัดด้วยน้ำและไม่ผ่านการอบ(สารสกัด ก) ที่ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ มีความสามารถในการลดไนไตรท์(nitrite scavenging) ได้ดีที่สุด คือ 71.25 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม (control) ที่ไม่มีการเติมสารสกัด โดยเหลือไนไตรท์เพียง 499.29 µg

ตารางที่ 4.3.3 ความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างของสารสกัดอบเชยที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้น (%)	ปริมาณไนไตรท์ที่เหลือ (µg)				% ความสามารถในการลดไนไตรท์			
	สารสกัด ก	สารสกัด ข	สารสกัด ค	สารสกัด ง	สารสกัด ก	สารสกัด ข	สารสกัด ค	สารสกัด ง
	1238.59±5.37^{h}	1397.93±5.13^{k}	1620.50±5.11^{p}	1653.55±2.57^{q}	28.69^{L}	19.51^{H}	6.70^{C}	4.79^{B}
	994.57±4.86^{c}	1260.06±3.87^{i}	1540.45±4.80^{n}	1556.41±8.13^{o}	42.74^{O}	27.45^{K}	11.31^{E}	10.39^{D}
	812.93±3.58^{c}	1054.6±10.67^{f}	1389.64±8.15^{k}	1491.75±2.89^{m}	53.19^{Q}	39.28^{N}	19.99^{I}	14.11^{F}
	619.45±3.49^{b}	959.57±7.60^{d}	1361.43±4.60^{j}	1436.75±3.62^{l}	64.33^{R}	44.75^{P}	21.61^{J}	17.28^{G}
	499.29±3.31^{a}	816.07±1.91^{c}	1245.31±3.89^{h}	1204.19±1.86^{g}	71.25^{S}	53.01^{Q}	28.30^{L}	30.67^{M}
rol	1736.80±2.03^{r}				0^{A}			

มายเหตุ $^{a-r}$ อักษรกำกับแตกต่างกันในคอลมน์ปริมาณไนไตรท์ที่เหลือแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

$^{A-S}$ อักษรกำกับแตกต่างกันในคอลมน์% ความสามารถในการลดไนไตรท์ แสดงถึงความแตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

สารสกัด ก คือสารสกัดอบเชยที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย

สารสกัด ข คือสารสกัด ก ที่อบแห้งที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง

สารสกัด ค คือสารสกัด ก ที่อบแห้งที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง

สารสกัด ง คือสารสกัดอบเชยที่ใช้เอทานอล 95 % เป็นตัวทำละลาย และอบแห้งที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง

เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างของสารสกัดอบเชยในตารางที่ 4.3.3 กับสารสกัดชนิดอื่นพบว่า สารสกัดอบเชยที่ผ่านการสกัดรูปแบบ ก ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็น มีความสามารถในการทำลายไนไตรท์ สูงกว่าสารสกัดเปลือกส้มที่ใช้เอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นตัวทำละลาย โดยสารสกัดเปลือกส้ม 1 มิลลิลิตร มีความสามารถในการทำลายไนไตรท์ 60 % (Kang และคณะ, 2006) นอกจากนี้ Choi และคณะ (2009) พบว่า BHT 1 มิลลิลิตร หรือ สารสกัด *Achyranthis radix* 1 มิลลิลิตร มีความสามารถในการทำลายไนไตรท์ ใกล้เคียงกันคือประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์

4.4 ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างของสารสกัดอบเชยในไส้กรอกหมูรมควัน

4.4.1 ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างของสารสกัดอบเชยในไส้กรอกหมูรมควันและการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ระหว่างการเก็บรักษา

จากการเติมสารสกัดอบเชยปริมาณ 0.1, 0.3, และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ลงในไส้กรอกหมูรมควัน(มีโซเดียมไนไตรท์อยู่ 20 ppm) เพื่อวิเคราะห์ความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างได้ผลดังตารางที่ 4.4.1 พบว่าไส้กรอกหมูรมควันที่เติมสารสกัดอบเชยจะมีปริมาณไนไตรท์ตกค้างน้อยกว่าไส้กรอกหมูรมควันที่ไม่เติมสารสกัด (control) และระหว่างการเก็บรักษาพบว่าปริมาณไนไตรท์ตกค้างในไส้กรอกหมูรมควันจะลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทุกๆความเข้มข้น อย่างไรก็ตามค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ไม่มีการเปลี่ยนแปลงดังแสดงในตารางที่ 4.4.2 แสดงให้เห็นว่าสารสกัดอบเชยที่เติมไม่ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างเปลี่ยนแปลง และเมื่อระยะเวลาการเก็บเพิ่มขึ้นเป็น 5 วัน ค่าความเป็นกรดด่างไม่เปลี่ยนแปลงอาจเกิดจากการอบและการต้มไส้กรอกที่ 75 องศาเซลเซียส นานรวม 1 ชั่วโมง รวมทั้งการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ช่วยชะลอหรือยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มที่สร้างกรดแลคติค ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างไม่เปลี่ยนแปลงในช่วงเวลาเก็บรักษาเป็นเวลา 5 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4.1 ปริมาณไนไตรท์ตกค้าง (ppm) ของไส้กรอกหมูรมควันที่เติมสารสกัดอบเชยที่ระดับต่างๆในระหว่างการเก็บรักษา

ความเข้มข้น (เปอร์เซ็นต์)	ระยะเวลาเก็บรักษา (วัน)							
	0		1		3		5	
	สารสกัด ก	สารสกัด ง	สารสกัด ก	สารสกัด ง	สารสกัด ก	สารสกัด ง	สารสกัด ก	สารสกัด ง
0 (control)	$170.21\pm1.18^{F,d}$	$170.21\pm1.45^{F,d}$	$165.04\pm1.35^{G,c}$	$165.04\pm1.10^{G,c}$	$147.87\pm1.48^{G,b}$	$147.87\pm1.48^{G,b}$	$126.19\pm1.51^{E,a}$	$126.52\pm1.28^{E,a}$
0.1	$150.67\pm1.05^{C,e}$	$166.95\pm1.42^{E,g}$	$146.10\pm1.19^{D,d}$	$161.88\pm1.08^{F,f}$	$130.90\pm1.31^{D,c}$	$145.03\pm1.45^{F,d}$	$111.71\pm1.34^{C,a}$	$124.10\pm1.25^{E,b}$
0.3	$134.01\pm0.88^{B,e}$	$160.60\pm1.37^{D,h}$	$129.94\pm1.00^{B,d}$	$155.72\pm1.04^{E,g}$	$116.42\pm1.14^{B,b}$	$139.52\pm1.40^{E,f}$	$99.36\pm1.15^{B,a}$	$119.38\pm1.21^{D,c}$
0.5	$120.26\pm2.18^{A,e}$	$147.79\pm2.11^{C,h}$	$116.61\pm2.65^{A,d}$	$143.30\pm1.71^{C,g}$	$104.47\pm1.95^{A,b}$	$128.38\pm1.09^{C,f}$	$89.16\pm1.58^{A,a}$	$109.86\pm1.65^{C,c}$

^{ABCD} อักษรกำกับแตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

^{abcdef} อักษรกำกับแตกต่างกันในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

สารสกัด ก คือสารสกัดอบเชยที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย

สารสกัด ง คือสารสกัดอบเชยที่ใช้เอทานอล 95 % เป็นตัวทำละลาย และอบแห้งที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง

ตารางที่ 4.4.2 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ระหว่างการเก็บรักษาของไส้กรอกหมูรมควันที่เติมสารสกัดอบเชยที่ระดับต่างๆ

ความเข้มข้น (เปอร์เซ็นต์)	ระยะเวลาในการเก็บรักษา (วัน)[ns]							
	0		1		3		5	
	สารสกัด ก	สารสกัด ง	สารสกัด ก	สารสกัด ง	สารสกัด ก	สารสกัด ง	สารสกัด ก	สารสกัด ง
0 (control)	6.19	6.19	6.20	6.20	6.16	6.19	6.20	6.19
0.1	6.20	6.20	6.18	6.19	6.17	6.17	6.17	6.17
0.3	6.20	6.18	6.18	6.18	6.19	6.16	6.19	6.16
0.5	6.19	6.20	6.20	6.20	6.20	6.20	6.19	6.19

[s] อักษรกำกับแสดงถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ารางที่ 4.4.3 เปอร์เซ็นต์ความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างของสารสกัดอบเชยระดับต่างๆ ในตัวอย่างสารละลายโซเดียมไนไตรท์(หลอดทดลอง)และในตัวอย่างไส้กรอกหมูรมควันเมื่อผ่านไป 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้น เปอร์เซ็นต์)	เวลาที่ศึกษา (24 ชั่วโมง)[ns]			
	ในหลอดทดลอง		ในตัวอย่างไส้กรอกหมูรมควัน	
	สารสกัด ก	สารสกัด ง	สารสกัด ก	สารสกัด ง
) (control)	0.00	0.00	0.00	0.00
0.1	28.69	4.79	11.48	1.92
0.3	53.19	14.11	21.26	5.64
0.5	71.25	30.67	29.34	13.17

ารสกัด ก คือสารสกัดอบเชยที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย

ารสกัด ง คือสารสกัดอบเชยที่ใช้เอทานอล 95 % เป็นตัวทำละลาย และอบแห้งที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง

เมื่อเปรียบเทียบ เปอร์เซ็นต์ความสามารถในการทำลายไนไตรท์ ของสารสกัดอบเชยกรณีวิเคราะห์ในหลอดลอง (ตารางที่ 4.3.3) กับกรณีวิเคราะห์ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมูรมควัน (ตารางที่ 4.4.3) พบว่า เปอร์เซ็นต์ามสามารถในการทำลายไนไตรท์ ของสารสกัดอบเชยกรณีวิเคราะห์ในหลอดทดลองมีค่าสูงกว่ากรณีวิเคราะห์ในไส้กรอกหมูรมควันมาก อาจเนื่องมาจากในตัวอย่างไส้กรอกหมูรมควันมีสารประกอบอื่น เช่น โปรตีน ไขมัน เกลือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ารฯ ที่อาจขัดขวางการเข้าทำปฏิกิริยาระหว่างสารสกัดและไนไตรท์ หรือสภาวะในการผลิตไส้กรอก เช่น การตีปั่น การใช้ความร้อน อาจทำให้โครงสร้างของสารสกัดอบเชยเปลี่ยนแปลงไป เป็นผลให้ความสามารถในการทำลายไนไตรท์ ลดลง Pedraza-Chaverrí และคณะ (2007) ได้ศึกษาผลของความร้อนที่มีต่อความสามารถในการทำลายเปอร์ออกซิไนไตรท์ของสารสกัดกระเทียมพบว่า ความร้อนส่งผลต่อสมบัติด้านต่างๆของสารสกัดกระเทียมและลดความสามารถในการทำลายเปอร์ออกซิไนไตรท์ของสารสกัดกระเทียม นอกจากนี้สมบัติการละลายก็มีผลต่อการทำหน้าที่ของสารสกัด เช่น งานวิจัยของ Lara และคณะ (2011) พบว่า สารสกัดโรสแมรี่ และ BHT มีสมบัติการเป็นแอนติออกซิแดนท์ในแพตตี้หมูดีกว่าสารสกัดสะระแหน่ (lemon balm) เนื่องจากสารสกัดสะระแหน่นั้นสามารถละลายได้ดีในน้ำ แต่สารสกัดโรสแมรี่และ BHT สามารถละลายได้ในไขมันหรือน้ำมันในแพตตี้หมู

.5 ผลการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของไส้กรอกหมูรมควันที่เติมสารสกัดอบเชย

ผลการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสไส้กรอกหมูรมควันที่เติมสารสกัด ก (สารสกัดอบเชยที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย) และไส้กรอกหมูรมควันที่เติมสารสกัด ง (สารสกัดอบเชยที่ใช้เอทานอล 95 % เป็นตัวทำละลาย และอบแห้งที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง) ด้วยวิธีหาอัตราความชอบ (7 point-hedonic scaleing) โดยใช้ผู้ทดสอบที่ไม่ฝึกฝน 90 คน ได้ผลดังตารางที่ 4.5.1 และ 4.5.2 ตามลำดับ โดยไส้กรอกหมูรมควันที่เติมสารสกัด ก ได้คะแนนด้านสีสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเติมสารสกัด ก 0.1 และ 0.3% (ไส้กรอกสีเข้มสวยขึ้น) คะแนนด้านกลิ่นนั้นพบว่าสารสกัด ก 0.1 และ 0.3% ทำให้กลิ่นไส้กรอกหอมขึ้นและคาวน้อยกว่า control แต่ถ้าเติมถึง 0.5% จะมีกลิ่นอบเชยแรงเกินไป คะแนนด้านรสชาติและเนื้อสัมผัสพบว่าสารสกัด ก ไม่ส่งผลต่อรสชาติและเนื้อสัมผัส ด้านคะแนนความชอบรวมพบว่าไส้กรอกที่เติมสารสกัด ก 0.1 และ 0.3% มีความชอบรวมไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากไส้กรอก control ส่วนไส้กรอกหมูรมควันที่เติมสารสกัด ง มีคะแนนด้านสี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัสและความชอบรวมที่ต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5.1 คะแนนความชอบของผู้ทดสอบต่อไส้กรอกหมูรมควันที่เติมสารสกัด ก ที่ระดับต่างๆ

ความเข้มข้น %	สี	กลิ่น	รสชาติ	เนื้อสัมผัส	ความชอบรวม
0(control)	4.60±1.35[a]	4.98±1.02[a]	5.00±1.37	5.06±1.25	5.16±1.10[b]
0.1	5.18±1.12[b]	5.08±1.10[b]	5.00±0.95	5.12±1.11	5.27±0.87[b]
0.3	5.32±0.96[b]	5.06±1.17[b]	4.84±1.16	5.06±1.03	5.14±1.05[b]
0.5	4.71±1.10[a]	4.53±1.33[a]	4.92±1.02	5.06±1.06	4.77±1.17[a]

[bcd] อักษรกำกับแตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

[s] อักษรกำกับแสดงถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ารสกัด ก คือสารสกัดอบเชยที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย

ารางที่ 4.5.2 คะแนนความชอบของผู้ทดสอบต่อไส้กรอกหมูรมควันที่เติมสารสกัด ง ที่ระดับต่างๆ

ความเข้มข้น %	สี	กลิ่น	รสชาติ	เนื้อสัมผัส	ความชอบรวม
0(control)	4.94±1.26[bc]	5.33±1.02[d]	4.59±1.33[c]	4.99±1.14[b]	5.09±0.92[d]
0.1	5.00±1.02[c]	4.59±1.30[c]	4.31±1.21[c]	4.76±1.14[ab]	4.66±1.24[c]
0.3	4.58±1.44[ab]	4.19±1.36[b]	3.59±1.62[b]	4.58±1.43[a]	4.03±1.55[b]
0.5	4.27±1.36[a]	3.64±1.26[a]	3.02±1.80[a]	4.49±1.42[a]	3.30±1.51[a]

[d] อักษรกำกับแตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ารสกัด ง คือสารสกัดอบเชยที่ใช้เอทานอล 95 % เป็นตัวทำละลาย และอบแห้งที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

1. อุณหภูมิที่ทำการทดลองมีผลต่อการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้าง โดยค่าการดูดกลืนแสงจะค่อยๆลดลง มื่ออุณหภูมิในการทำการทดลองสูงขึ้น และลดลงอย่างรวดเร็วในตัวอย่างที่มีความเข้มข้นสูง ดังนั้นจึงควรควบคุม ุณหภูมิที่ใช้ทำการทดลองให้เท่าๆกันในทุกๆการทดลองที่ต้องการใช้ผลมาเปรียบเทียบกัน

2. ระยะเวลาที่ใช้รอการเกิดไดอะโซเนียมไอออนที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงเสถียรที่สุดและเหมาะสมในการทำการ เดลองวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้างที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส คือ 5 นาที และระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยา ะหว่างไดอะโซเนียมไอออนกับ NED (N-(1-naphthyl) ethylenediamine) ที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงที่สูงและเสถียร นการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้าง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส คือ 30 นาที

3. อบเชยป่นมีความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างในสภาวะในหลอดทดลองได้ดีที่สุด เมื่อ ปรียบเทียบกับเม็ดผักชีป่น อบเชยป่น ปาปรีก้าป่น พริกขี้หนูสวนป่น พริกไทยดำป่น พริกไทยขาวป่น กระเทียมป่น หร่าป่น ตะไคร้ป่น ข่าป่น ใบมะกรูดป่น โปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง และไข่ขาวผง

4. สารสกัดอบเชยที่ใช้ ethanol 95 % ในการสกัดจะได้ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดมากกว่าสารสกัด บเชยที่ใช้น้ำในการสกัด แต่กลุ่มสารประกอบโพลีฟีนอลที่ได้จากการสกัดด้วย ethanol 95 % จะไวต่อการถูกทำลาย วยความร้อนมากกว่ากลุ่มสารประกอบโพลีฟีนอลที่ได้จากการสกัดอบเชยด้วยน้ำ

5. สารสกัดอบเชยที่ใช้เอทานอล 95 % เป็นตัวทำละลาย และอบแห้งที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ดีที่สุด รองลงมาคือ สารสกัดอบเชยที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย

6. สารสกัดอบเชยมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกโดยจะมีความสามารถในการรีดิวซ์ได้ดีขึ้นเมื่อความ ข้มข้นสูงขึ้น

7. สารสกัดอบเชยมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระไนตริกออกไซด์และความสามารถจะเพิ่มขึ้นเมื่อ วามเข้มข้นสูงขึ้น โดยสกัดอบเชยที่สกัดด้วยน้ำมีความสามารถในการทำลายได้ดีกว่าสารสกัดอบเชยที่สกัดด้วยเอทา อล 95%

8. สารสกัดอบเชยมีความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างในหลอดทดลองและความสามารถในการลด ปริมาณไนไตรท์ตกค้างนั้นจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้น และสารสกัดอบเชยที่สกัดด้วยน้ำจะมีความสามารถดีกว่าสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สกัดอบเชยที่สกัดด้วยเอทานอล 95% ที่วิธีการสกัดแบบเดียวกัน โดยอุณหภูมิในการสกัดที่สูงขึ้นจะทำให้ประสิทธิภาพของสารสกัดลดลง

9. สารสกัดอบเชยที่เติมในไส้กรอกหมูรมควันไม่ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างเปลี่ยนแปลง และสารสกัดอบเชยมีความสามารถในการลดไนไตรท์ตกค้างในไส้กรอกหมูรมควันได้แต่ประสิทธิภาพจะไม่ดีเท่ากับในหลอดทดลอง

10. สารสกัดอบเชยที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลายทำให้ไส้กรอกหมูรมควันสีเข้มเล็กน้อยซึ่งสวยงามขึ้น ช่วยดับกลิ่นหืนได้แต่ถ้าใช้มากไปจะฉุนและไม่ส่งผลต่อรสชาติและเนื้อสัมผัส ส่วนสารสกัดอบเชยที่ใช้เอธานอลในการสกัดแล้วอบแห้งเมื่อเติมในไส้กรอกจะทำให้สีไม่สวยเพราะเห็นเป็นจุดดำๆกระจายอยู่เนื่องจากผงสารสกัดไม่สามารถละลายได้ในเบสที่เป็นน้ำ และทำให้รสชาติแย่ลงเมื่อเคี้ยวไปโดนเกล็ดผงสารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

ระพันธ์ ปิ่นศิโรดม และ วันทนีย์ ช้างน้อย. 2545. การเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและศักยภาพการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเมล็ดพืชตระกูลส้มสายพันธุ์ต่างๆที่ปลูกในประเทศไทย. **อาหาร**. 32(4) : 300-307.

ระสงค์ คุณานุวัฒน์ชัยเดช. 2549. สารก่อมะเร็งไนโตรซามีน. จดหมายข่าว ชีวเคมี หน่วยวารสารวิชาการ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. หน้า 4.

รวัล นาคแสง. 2552. การใช้ถั่วแดงหลวงบดทดแทนเนื้อหมูในไส้กรอกเวียนนา วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์ มหาบัณฑิต. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ

ษไนไตรท์กับไนเตรท. เข้าถึงได้จาก http://www.nfi.or.th/publication/thairath/thairath47.html เข้าถึงเมื่อวันที่ 14 ตุลาคม 2553

าวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์. 2551. บทปฏิบัติการวิชาเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์. คณะอุตสาหกรรมเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

ลักษณ์ ปัญญาธิติพงศ์. 2545. การศึกษากระบวนการผลิตผงเต้าหู้และการใช้ประโยชน์ของผงเต้าหู้ในลูกชิ้นหมู วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ

าพร ศิวเวชช. 2546. วัตถุเจือปนอาหาร เล่ม 1. นครปฐม : ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน. หน้า 47, 306, 365.

วิษา ปั้นสุข. 2552. ผลการดัดแปรด้วยกระบวนการทางเอนไซม์และเคมีต่อสมบัติเชิงหน้าที่ของไข่ขาวผง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ

าวดี ทรัพย์สิริไพบูลย์. 2550. ความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชันของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ดัดแปรด้วยวิธีทางเอนไซม์และวิธีทางเคมี. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ

ติสุข โสภณสิริ. 2549. ยาธาตุอบเชย ภูมิปัญญาไทยเพื่อสุขภาพอันยั่งยืน. กรุงเทพฯ: วี.พริ้นท์

นักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. 2547

กฎระเบียบของสหภาพยุโรปเกี่ยวกับวัตถุเจือปนอาหาร. ภาคผนวกที่15

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

AOAC. 2000Association of Official Analytical Chemists Official Method. Nitrites in cured meat 973.31

Benzie, I. and Strain, J. 1999. Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. **Methods Enzymol.** 299 : 15-27.

Cheeptham, N. and Towers, G.H.N. 2002. Light-mediated activities of some Thai medicinal plant teas. **Fitoterapia**. 73 : 651-662.

Choi, H.S., Lee, M.J., Na, M.S., Lee, M.Y. and Choi, D. 2009. Antioxidant properties of *Achyranthis radix* extract in rats. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**. 15 : 275-280.

Choi, S.Y., Chung, M.J., Lee, S.J., Shin, J.H. and Sung, N.J. 2007. N-nitrosamine inhibition by strawberry, garlic, kale, and the effects of nitrite-scavenging and N-nitrosamine formation by functional compounds in strawberry and garlic. **Food Control**. 18 : 485-491.

Chung, M.J., Lee, S.H. and Sung, N.J. 2002. Inhibitory effect of whole strawberries, garlic juice or kale juice on endogenous formation of N-nitrosodimethylamine in humans. **Cancer Letters**. 182 : 1-10

Cowan, M.M. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. **Clinical Microbiology Reviews**. 12(4) : 564-582

Demeyer, D., Honikel, K. and DeSmet, S. 2008. The World Cancer Research Fund report 2007 : A challenge for the meat processing industry. **Meat Science**. 80 : 953-959.

Dower, D.W. 2002. **Food chemical safty**. In : Watson, D.H., editor. Abington : Woodhead Publishing. Abington. p. 34-35.

Govindarajan, R., Rastogi, S., Vijayakumar, M., Shirwaikar, A., Rawat, A.K.S., Mehrotra, S. and Pushpangadan, P. 2003. Studies on the antioxidant activities of *Desmodium angeticum*. **Biological and Pharmaceutical Bulletin.** 26(10) : 1424-1427.

Ozra, B., Biswa, S. and Mandal, N. 2008. Antioxidant and free radical scavenging activity of *Spondias pinnata*. **BioMed Central Complementary and Alternative Medicine**. 8 : 63.

Ozra, B., Sarkar, R., Biswas, S. and Mandal, N. 2010. Comparative study of the antioxidant and reactive oxygen species scavenging properties in the extracts of the fruits of *Terminalia chebula*,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Terminalia belerica and *Emblica officinalis*. **BioMed Central Complementary and Alternative Medicine**. 10 : 20.

Ho, S.C., Tsai, T.H., Tsai, P.J. and Lin, C.C. 2008. Protective capacities of certain spices against peroxynitrite-mediated biomolecular damage. **Food and Chemical Toxicology**. 46: 920–928

ayaprakasha, G.K., Singh, R.P. and Sakariah, K.K. 2001. Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation model in vitro. **Food Chemistry**. 73 : 285-290.

Kang, H.J., Chawla, S.P., Jo, C., Kwon, J.H. and Byun, M.W. 2006. Studies on the development of functional powder from citrus peel. **Bioresource Technology.** 97 : 614–620 Research

Koca, I. and Karadeniz, B. 2009. Antioxidant properties of blackberry and blueberry fruits grown in the Black Sea Region of Turkey. **Scientia Horticulturae.** 121 : 447-450.

Kong, B., Zhang, H. and Xiong, L.Y. 2010. Antioxidant activity of spice extracts in a liposome system and in cooked pork patties and the possible mode of action. **Meat Science.** 85 : 772–778

Kumaran, A. and Joelkarunakaran, R. 2006. Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of *Coleus Aromaticus*. **Food Chemistry**. 97 : 109-114.

ara, M.S., Gutierrez, J.I., Timón, M. and Andrés, A.I. 2011. Evaluation of two natural extracts *(Rosmarinus offcinalis* L. *and Melissa offcinalis* L.) as antioxidants in cooked pork patties packed in MAP. **Meat Science.** 88 : 481–488

oeppky, R.N. 1994. **Nitrosamine and N-Nitroso compound chemistry and biochemistry.** In : Loeppky, R.N. and Michejda, C. J., editors. Washington, D.C. : American Chemical Society. p. 2, 126, 130, 148, 287.

ɔ´pez-Malo, A., Barreto-Valdivieso, J., Palou, E. and Martı´n , F.S. 2007. *Aspergillus flavus* growth response to cinnamon extract and sodium benzoate mixtures. **Food Control.** 18 : 1358-362.

ı, M.J. and Chen, C. 2007. Enzymatic tannase treatment of green tea increases in vitro inhibitory activity against N-nitrosation of dimethylamine. **Process Biochemistry.** 42 : 1285-1290.

adhavi, D.L., Salunkhe, D.K., Sofos, J.N., and Raharjo, S. 1995. **Food additives Toxicology** :Antioxidant Curing Agent. In: Maga, J.A. and Tu, A.T., editors. New York : Marcel Dekker

ırkiewicz, G.D., Dejaegher, B., Meya, E.D., Impens, S., Kowalska, T., Paelinck, H. and Heyden, Y.V. 2010. Evaluation of the influence of proline, hydroxyproline or pyrrolidine in the presence of sodium nitrite on N-nitrosamine formation when heating cured meat. **Analytica Chimica**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Acta. 657 : 123-130.

Mathew S and Abraham TE. 2006. Studies on the antioxidant activities of cinnamon (*Cinnamomum verum*) bark extracts, through various in vitro models. **Food Chemistry** 94 : 520-528.

Murakami, M., Yamaguchi, T., Takamura, H. and Matoba, T. 2004. Effects of thermal treatment on radical-scavenging activity of single and mixed polyphenolic compounds. **Journal of Food Science.** 69(1) : FCT7-FCT10.

Narayana B. and Sunil K. 2009. A spectrophotometric method for the determination of nitrite and nitrate. **Eurasian Journal of Analytical Chemistry**. 4(2):204-214.

Pedraza-Chaverrí, J., Medina-Campos, O.M. and Segoviano-Murillo, S. 2007. Effect of heating on peroxynitrite scavenging capacity of garlic. **Food and Chemical Toxicology.** 45 : 622–627

Pokpong, A., Srisa-Ard, K., Phongsakad, P., and Khuwijitjaru, P. 2011. Total Phenolic Content and Radical Scavenging Activity of Extracts from Cinnamon (*Cinnamomum Zeylanicum*) Bark Obtained by Ultrasound Assisted Aqueous Extraction. The 12th ASEAN FOOD CONFERENCE 2011, 260.

Richard A. Scanlan, Nitrosamines and Cancer. เข้าถึงได้จาก http://lpi.oregonstate.edu/f-w00/nitrosamine.html เข้าถึงเมื่อวันที่ 14 เมษายน 2554

Rockenbach, I.I., Gonzaga, V.L., Caliari, V., Genovese, I.M., Gonçalves, A.E. de S.S. and Fett, R. 2011. Phenolic compounds content and antioxidant activity in pomace from selected red grapes (*Vitis vinifera* L. and *Vitis labrusca* L.) widely produced in Brazil. **Food Chemistry.** 127 : 174–179

Romans, J.R. 1994. **The meat we eat.** Illinois : interstate publishers 730-734, 741-761, 766-768

Song, X. and Kaylor, R.M.M., inventors; Kimberly-Clark Worldwide, Inc, assignee. Nitrite detection Technique. **United States patent US 0048182 A1**. 1 March 2007 .

Tabak, M., Armon, R. and Neeman, I. 1999. Cinnamon extracts inhibitory effect on *Helicobacter pylori*. **Journal of Ethnopharmacology**. 67 : 269–277.

Veena, K. and Narayana, B. 2009. Spectrophotometric determination of nitrite using new coupling agents. **Journal of Chemical Technology.** 16 : 89-92.

Vidua-Martos, M., Ferna´ndez-L´opez, J., Sayas-Barbera, E., Sendra, E., Navarro, C. and Pe´rez-A´lvarez, J.A. 2009. Citrus co-products as technological strategy to reduce residual nitrite content in meat products. **Journal of Food Science**. 74 : 93-100.

Wang, Z.H., Hsu, C.C. and Yin, M.C. 2009. Antioxidative characteristics of aqueous and ethanol

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

extracts of glossy privet fruit. **Food Chemistry**. 112 : 914-918.

Zia-ur-Rehman. 2006. Citrus peel extract–A natural source of antioxidant. **Food Chemistry**. 99 : 450-454.

ภาคผนวก ก.
การวิเคราะห์ทางเคมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ւ. การวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้าง

1.1 การเตรียมสารทดสอบและสารละลายมาตรฐาน

- NED Reagent

ละลาย N-(1-naphthyl) ethylenediamine 0.2 กรัม ในกรดอะซิติกความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 150 มิลลิลิตร เก็บในขวดสีชา

- Sulfanilamide Reagent

ละลาย salicylic acid 0.5 กรัมในกรดอะซิติกความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 150 มิลลิลิตร เก็บในขวดสีชา

1.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานโซเดียมไนไตรท์

- Stock solution (สารละลายโซเดียมไนไตรท์ 1,000 ppm หรือ 1,000 ไมโครกรัม / มิลลิลิตร)

ละลาย $NaNo_2$ 1.0 กรัม ด้วยน้ำกลั่นและปรับปริมาตรสุดท้ายด้วยน้ำกลั่นเป็น 1 ลิตร

- Intermediat solution (สารละลายโซเดียมไนไตรท์ 100 ไมโครกรัม / มิลลิลิตร)

ปิเปต Stock solution จำนวน 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรสุดท้ายด้วยน้ำกลั่นเป็น 1 ลิตร

- Working solution (สารละลายโซเดียมไนไตรท์ 2 ppm หรือ 2 ไมโครกรัม / มิลลิลิตร)

ปิเปต intermediat solution มา 20 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรสุดท้ายด้วยน้ำกลั่นเป็น 1 ลิตร

1.3 การเตรียมกราฟมาตรฐาน

1. ปิเปต working solution มา 0, 1, 2, 3, 3, 4, 5, 6, 7 และ 8 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง
2. เติม sulfanilamide reagent หลอดละ 0.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที
3. เติม NED reagent หลอดละ 0.5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

1.4 การคำนวณและแปลผล

การแปลผลนั้นจะนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้างของตัวอย่างมาคำนวณกับสมการกราฟมาตรฐานได้เป็นค่าปริมาณไนไตรท์ตกค้าง นอกจากนี้ยังสามารถนำค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณเป็นความสามารถในการทำลายไนไตรท์ ของสารสกัดโดย เปอร์เซ็นต์ความสามารถในการทำลายไนไตรท์ (nitrite scavenging) เท่ากับ

$$(A_{540\ nm\ of\ control} - A_{540\ nm\ of\ sample}) \times 100 \ / \ A_{540\ nm\ of\ control}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (Total polyphenol content)

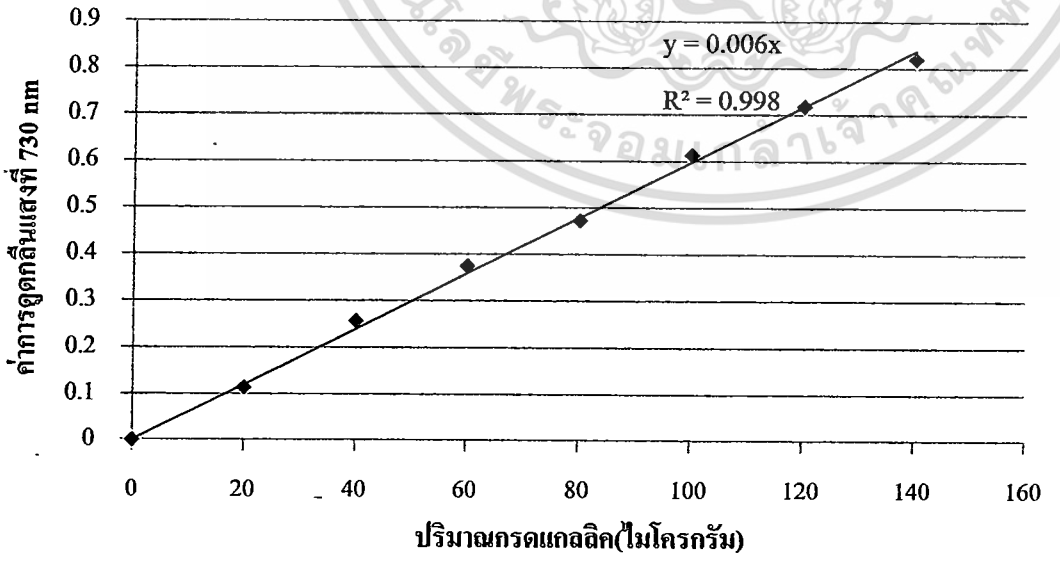
การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด จะใช้วิธีที่รายงานโดยประพันธ์และวันทนีย์ (2545) โดยมีหลักการคือ สารประกอบโพลีฟีนอลจะทำปฏิกิริยากับ Folin-Ciocalteu reagent เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงิน ซึ่งสามารถติดตามโดยการตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร และใช้กรดแกลลิกเป็นสารประกอบโพลีฟีนอลมาตรฐาน

2.1 สารเคมี

1. Folin-Ciocalteu
2. โซเดียมคาร์บอเนต ($NaCO_3$) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์
3. สารละลายกรดแกลลิกความเข้มข้น 400 ไมโครกรัม / มิลลิลิตร

2.2. การเตรียมกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้นเริ่มต้น 400 ไมโครกรัม / มิลลิลิตร
2. ปิเปตสารละลายมาตรฐานดังกล่าวใส่หลอดทดลองหลอดละ 0, 0.05, 0.10, 015, 0.20, 0.25, 0.30, 0.35 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ปริมาตรรวมในแต่ละหลอดเป็น 10 มิลลิลิตร
3. เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที
4. เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน วางตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที
5. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร โดยใช้น้ำกลั่นเป็นblank
6. เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณกรดแกลลิกในหน่วยไมโครกรัม



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในตัวอย่างสารสกัด

1. ปิเปตตัวอย่างสารสกัดอบเชย (CEE) 0.5 มิลลิลิตร เจือจางและปรับปริมาตรด้วยเอทานอล95 เปอร์เซ็นต์ ปิปตสารสกัดที่เจือจางใส่ในหลอดทดลอง 0.5 มิลลิลิตรและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ปริมาตรรวมในแต่ละหลอดปีน 10 มิลลิลิตร

2. เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน วางตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที

3. เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน วางตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที

4. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร โดยใช้น้ำกลั่นเป็นblank

5. คำนวณปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในตัวอย่างสารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

. การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH

ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH จะใช้วิธี DPPH method ซึ่งดัดแปลงจากรายงานของ Murakami ละคณะ (2004) หลักการคือ สารละลายอนุมูลอิสระ DPPH จะมีสีม่วงแดง ซึ่งดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นา นเมตร ในกรณีที่ตัวอย่างสารสกัดมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPHได้ดี จะทำให้สีม่วงแดงของ ารละลายอนุมูลอิสระ DPPH จางลงมากกว่าตัวอย่างสารสกัดที่มีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ต่ำ

3.1 สารเคมี

1. สารละลายอนุมูลอิสระ DPPH ความเข้มข้น 0.8 มิลลิโมลาร์ เตรียมโดยชั่ง DPPH 0.0158 กรัม ละลายในเอ ทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ปรับปริมาตรให้เป็น 50 มิลลิลิตร
2. เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์
3. โทรลอกซ์

3.2 วิธีวิเคราะห์

3.2.1 การเตรียมกราฟมาตรฐานโทรลอกซ์

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานสารละลายอนุมูลอิสระ DPPH ความเข้มข้น 0.8 มิลลิโมลาร์ เตรียมโดยชั่ง PPH 0.0158 กรัม ละลายในเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ปรับปริมาตรให้เป็น 50 มิลลิลิตร
2. เตรียมสารละลายมาตรฐานสารละลายโทรลอกซ์ที่ความเข้มข้นรวมในหลอดทดลองเป็น 5, 10, 15, 20, , 30 และ 35 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยเตรียมสารละลายโทรลอกซ์ที่ความเข้มข้น 250 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ชั่งโทร กซ์ 0.025 กรัม ปรับปริมาตรด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ให้มีปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร จากนั้นปิเปตมา 0.02, 4, 0.06, 0.08, 0.1, 0.12 และ 0.14 มิลลิลิตร ตามลำดับแล้วปรับปริมาตรด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ให้ มาตรรวมแต่ละหลอดเป็น 5.4 มิลลิลิตร
3. เติมสารละลาย DPPH 0.6 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที ในที่มืด
4. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ เป็น blank
5. คำนวณเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH

$$(A_{517\ nm\ of\ control} - A_{517\ nm\ of\ sample}) \times 100 \ / \ A_{517\ nm\ of\ control}$$

ที่ $A_{517\ nm\ of\ control}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาควบคุม

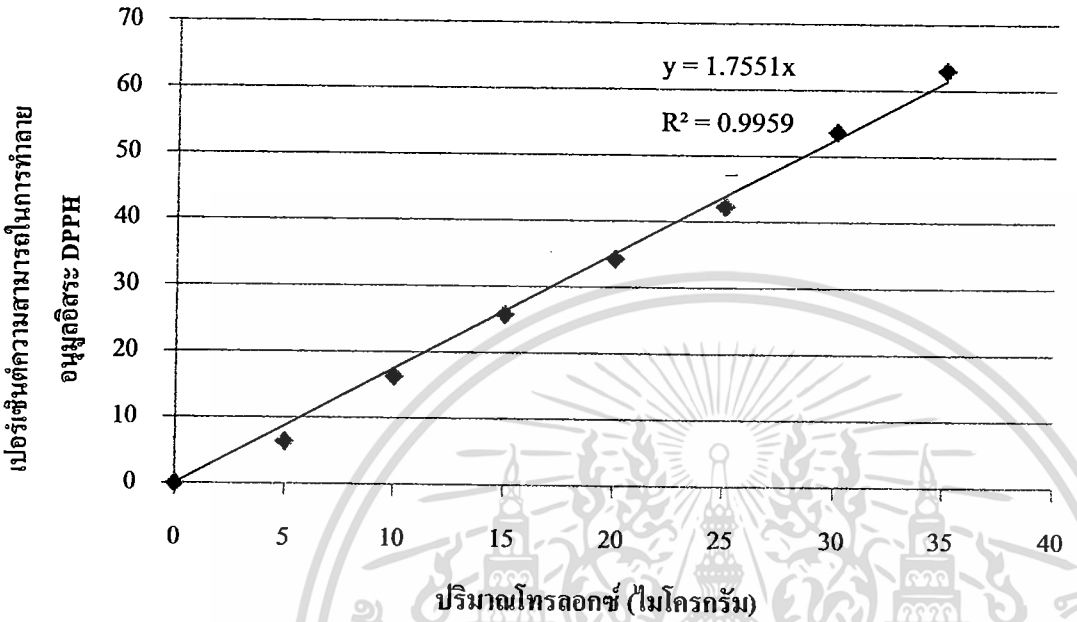
(ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายอนุมูลอิสระ DPPH)

$A_{517\ nm\ of\ sample}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาระหว่างสารละลายอนุมูลอิสระ DPPH กับสารละลายโทร ซ์หรือตัวอย่างสารสกัด

7. เขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการทำลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นุมูลอิสระ DPPH กับปริมาณโทรลอกซ์หน่วยไมโครกรัม



ภาพที่ ก1 กราฟมาตรฐานของสารละลายโทรลอกซ์

3.2.1 การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดอบเชย

1. นำสารสกัดอบเชยรูปแบบต่างมาเจือจางที่ความเข้มข้นแต่ละระดับให้เหมาะสม
2. ปรับปริมาตรด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ให้ปริมาตรรวมแต่ละหลอดเป็น 5.4 มิลลิลิตร
3. เติมสารละลายอนุมูลอิสระ DPPH 0.6 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที ในที่มืด
4. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ เป็น blank
5. คำนวณเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH จากสมการใน 3.2.1ข้อ 5และคำนวณ

ามสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลย์โทรลอกซ์ต่อกรัมอบเชยป่น โดยใช้สมการ
ากราฟมาตรฐานของสารละลายโทรลอกซ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก

ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก จะใช้วิธี ที่ดัดแปลงจาก BenzieและStrain (1999) มีหลักการคือ ดู วามสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก(Fe^{3+})ให้เป็นเฟอร์รัส (Fe^{2+})ซึ่งทำปฏิกิริยากับสารละลาย TPTZ ภายใต้สภาวะที่ นกรด ได้เป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงิน ที่ดูดกลืนแสงได้ที่ 593 นาโนเมตร

4.1 สารเคมี

1. อะซิติกบัฟเฟอร์ pH 3.6 ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ชั่งโซเดียมอะซิเตตไตรไฮเดรต 3.1 กรัม ผสมกับกรดแกล ยลอะซิติก 16 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1 ลิตร

2. สารละลาย TPTZ(2,4,6-tripyridyl-s-triazine) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ใน HCl ความเข้มข้น 40 มิลลิโม ร์ โดยชั่ง TPTZ 0.156 กรัมละลายใน HCl ความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 50 มิลลลิลิตร

3. สารละลาย $FeCl_3.6H_2O$ ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ โดยชั่ง $FeCl_3.6H_2O$ 0.27 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้ว ับปริมาตรเป็น 50 ml

4. FRAP reagent โดยน้ำสารที่เตรียมจากข้อ 1-3 มาผสมกัน ในอัตราส่วนอะซิติกบัฟเฟอร์:สารละลาย TPTZ: รละลาย $FeCl_3.6H_2O$ เท่ากับ 10:1:1 (ต้องเตรียมใหม่ทุกวัน)

รเตรียมกราฟมาตรฐานโทรลอกซ์

เตรียมสารละลายมาตรฐานโทรลอกซ์ความเข้มข้นหลอดละ 5, 10, 15, 20, 25, 30 ไมโครกรัม โดยเตรียมสารละลาย รลอกซ์ 250 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร(ชั่งโทรลอกซ์ 0.025 กรัม ปรับปริมาตรด้วยเอธานอลเป็น 100 มิลลิลิตร) และปิ าใส่แต่ละหลอด 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05 และ 0.06 มิลลิลิตร ตามลำดับ แล้วปรับปริมาตรรวมแต่ละหลอดเป็น มิลลิลิตร

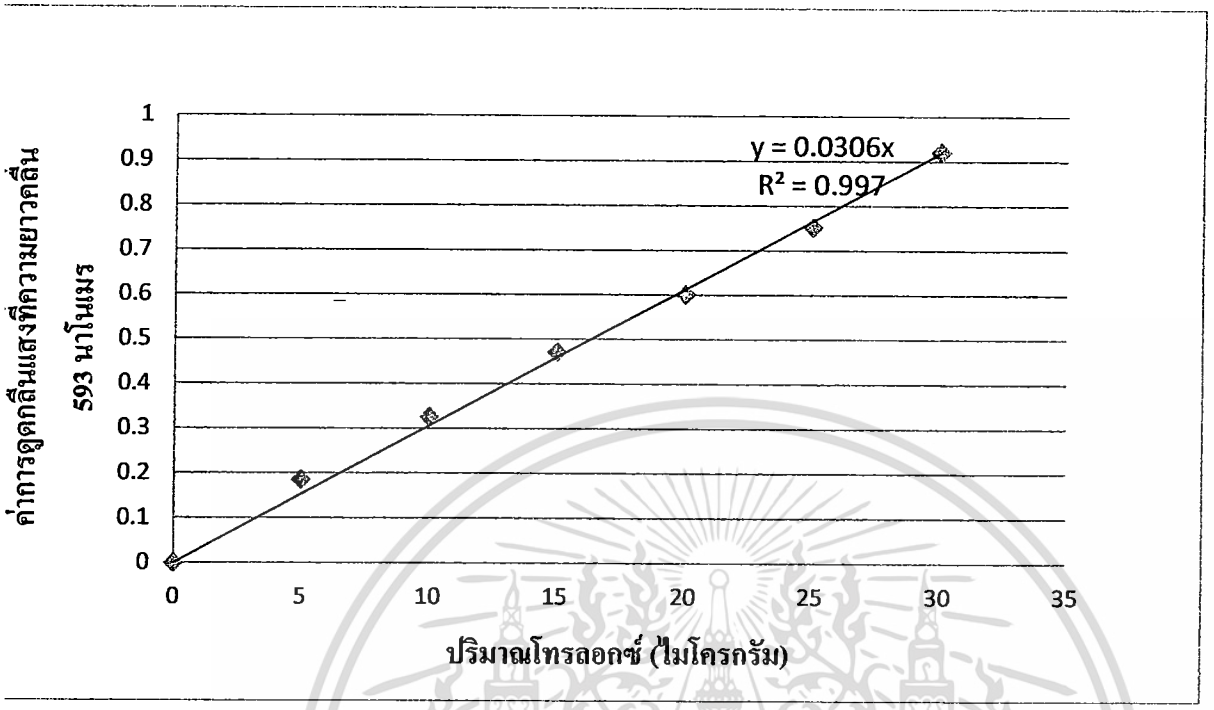
เติมสารละลาย FRAP reagent 3 มิลลิลิตร (ใช้ 6 มิลลิลิตร ถ้าปิเปตสารละลายโทรลอกซ์0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0 และ 0.12 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรรวมแต่ละหลอดเป็น 0.2 มิลลิลิตร)

งสมให้เข้ากัน ด้วย vortex mixer และตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 8 นาที

ัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร

ขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณโทรลอกซ์ในหน่วยไมโครกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ ก1 กราฟมาตรฐานของสารละลายโทรลอกซ์

วิธีวิเคราะห์

ปิเปตตัวอย่างสารสกัด ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร

เติมสารละลาย FRAP reagent 3 มิลลิลิตร

ผสมให้เข้ากัน ด้วย vortex mixer และตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 8 นาที

วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร

จำนวณความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก จากสมการกราฟมาตรฐานของวารละลายโทรลอกซ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

. การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายไนตริกออกไซด์ (nitric oxide scavenging)

การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายไนตริกออกไซด์ (nitric oxide scavenging) ตามวิธีของ Govindarajan ละคณะ (2003)

3.1 สารเคมี

1. ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.2-7.4
2. กรดอะซิติกความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์
3. Sodium nitroprusside 10 mM
4. Sulfanilamide reagent (ละลาย Sulfanilamide 0.33 กรัม ปรับปริมาตรด้วยกรดอะซิติกความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์เป็น 100 มิลลิลิตร)
5. 0.1 % NED reagent (ละลาย N-(1-naphthyl) ethylenediamine 0.1 กรัม ปรับปริมาตรด้วยกรดอะซิติกความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์เป็น 100 มิลลิลิตร)

3.2 การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายไนตริกออกไซด์ของสารสกัดอบเชย

1. เตรียมตัวอย่างสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ (50-200ไมโครกรัมต่อ 0.5 มิลลิลิตร)
2. เติมสารละลาย Sodium nitroprusside 2 มิลลิลิตร ในตัวอย่างสารสกัด 0.5 มิลลิลิตร
3. เติมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.5 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ที่ 25 องศาเซลเซียส นาน 150 นาที
4. ปีเปตมา 1 มิลลิลิตร เติม Sulfanilamide reagent 2 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ที่ 5 นาที
5. เติม 0.1 % NED reagent 2 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ที่ 30 นาที
6. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร
7. คำนวนเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการทำลายไนตริกออกไซด์

จากเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการทำลายไนตริกออกไซด์

$$= (A_{540\ nm\ of\ control} - A_{540\ nm\ of\ sample}) \times 100 \ / \ A_{540\ nm\ of\ control}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข.
การทดสอบทางประสาทสัมผัส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบบทดสอบความชอบ (7-point hedonic scale)

อผู้ทดสอบ.....วันที่ทำการทดสอบ.....

อผลิตภัณฑ์ ไส้กรอกหมูรมควัน

กรุณาชิมตัวอย่างจากซ้ายไปขวา และให้คะแนนความชอบตามระดับคะแนนที่ท่านคิดว่าเหมาะสมใน
ะหว่างการชิมกรุณาดื่มน้ำก่อนชิมตัวอย่างรหัสถัดไป

ะดับคะแนน

7	ชอบมากที่สุด (Like extremely)
6	ชอบมาก (Like very much)
5	ชอบเล็กน้อย (Like slightly)
4	เฉยๆ (Neither like nor dislike)
3	ไม่ชอบเล็กน้อย (Dislike slightly)
2	ไม่ชอบมาก (Dislike very much)
1	ไม่ชอบมากที่สุด (Dislike extremely)

	รหัสตัวอย่าง			
	_____	_____	_____	_____
color)	_____	_____	_____	_____
น (odor)	_____	_____	_____	_____
ชาติ (flavor)	_____	_____	_____	_____
สัมผัส (texture)				
มชอบโดยรวม (overall liking)	_____	_____	_____	_____

สนอแนะ (suggestion)

_____

_____

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้