รายงานการวิจัย

ประเภททุนพัฒนานักวิจัย

ประจำปีงบประมาณ พ. ศ. 2551

เรื่อง

การประยุกต์ใช้สารสกัดจากผักพื้นบ้านเพื่อใช้เป็นสารต้านออกซิเดชันและสารต้านจุลินทรีย์จากธรรมชาติในผลิตภัณฑ์เนื้อ

(Application of Thai local vegetable extracts for use as natural antioxidative and antimicrobial agents in meat product)

จัดทำโดย

รศ. ดร. สุรีย์ นานาสมบัติ หัวหน้าโครงการวิจัย

RCH
RS
180
.T5
ส๘๖๓

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....108240
วัน,เดือน,ปี.....18 มิ.ย. 2553

b.....12156435.....
i.....

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทคัดย่อ

ในการศึกษาคุณสมบัติของสารต้านออกซิเดชันและคุณสมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของผงสารสกัดจากผักพื้นบ้านของไทย 3 สูตร ได้แก่ สารสกัดผักแพรว (*Polygonum odoratum* extract, PE) สารสกัดผักผสมสูตร1 (mixed vegetable extract 1, MVE_1) และสูตร2 (mixed vegetable extract 2, MVE_2) ซึ่งประกอบไปด้วยสารสกัดของผักแพรว (*Polygonum odoratum*) ใบขี้เหล็ก (*Cassia siamea*) ใบชะมวง (*Garcinia cowa*) และใบแขยง (*Limnophila aromatica*) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.02, 0.1 และ 0.2 ในกุนเชียงที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในสภาพควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 85 เป็นระยะเวลา 20 วัน ผลปรากฏว่าสารต้านออกซิเดชันจากผักทุกสูตรสามารถช่วยชะลอการเกิดออกซิเดชันของไขมันในกุนเชียงได้และการเติมสารสกัดผักดังกล่าวที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.2 มีผลในการลดค่า TBARS ได้ดีกว่าที่ความเข้มข้นอื่นๆ แต่การเติมสารสกัดปริมาณมากถึงร้อยละ 0.2 มีผลทำให้สีของกุนเชียงไม่เป็นที่ยอมรับและยังพบว่าการเติมสารสกัดผักพื้นบ้านที่ทุกระดับความเข้มข้นไม่มีผลช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในกุนเชียงระหว่างการเก็บรักษา ดังนั้นจึงได้คัดเลือกความเข้มข้นของผงสารสกัดจากผักพื้นบ้านที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 เพื่อนำไปใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

ในการศึกษาคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันและการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากผักพื้นบ้าน (PE, MVE_1 และ MVE_2) ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ร่วมกับโซเดียมแลคเตท (SL) ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 ในกุนเชียงระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในสภาพควบคุมความชื้นสัมพันธ์ร้อยละ 85 เป็นเวลา 21 วัน พบว่าสารสกัดจากผักพื้นบ้านมีผลช่วยต้านออกซิเดชันของไขมันในกุนเชียงได้ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 21 วัน สำหรับการเติมโซเดียมแลคเตทไม่ว่าจะเติมเพียงอย่างเดียวหรือเติมร่วมกับสารสกัดจากพืชมีผลช่วยลดจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในกุนเชียง โดยเฉพาะกุนเชียงที่เติม SL เพียงอย่างเดียว กุนเชียงที่เติม PE ร่วมกับ SL และกุนเชียงที่เติม MVE_2 ร่วมกับ SL มีจำนวนจุลินทรีย์ลดลง 1.36, 1.35, และ 2.42 log CFU ต่อกรัม ตามลำดับ หลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 21 วัน

Abstract

Antioxidant activity and antimicrobial activity of 3-formulation Thai local vegetable extracts, *Polygonum odoratum* extract (PE), mixed vegetable extracts of formulation 1 (MVE_1) and formulation 2 (MVE_2) containing extracts of *Polygonum odoratum*, *Cassia siamea*, *Garcinia cowa* and *Limnophila aromatica* at concentration of 0.02%, 0.1% and 0.2% in ghunchieng, a chinese-style sausage stored at 4°C and 85% relative humidity for 20 days were investigated. All formulations of vegetable extracts were able to delay lipid oxidation in ghunchieng. Addition of 0.2% vegetable extracts resulted in greater decreasing of TBARS value as compared to the other concentrations. However, high amount of vegetable extracts (0.2%) caused unacceptable color of ghunchieng. Moreover, addition of vegetable extracts at all concentration did not cause inhibition of microbial growth in ghunchieng during storage. Therefore, 0.1% vegetable extract was selected for use in the next experiment.

Antioxidant and antimicrobial activities of Thai local vegetable extracts (PE, MVE_1 and MVE_2) at concentration of 0.1% in combination with sodium lactate (SL) at concentration of 2.5% in ghunchieng stored at 4°C and 85% relative humidity for 21 days were studied. These vegetable extracts were able to retard lipid oxidation by lowering TBARS value throughout the 21 day storage. Addition of SL, either alone or in combination with those plant extracts resulted in decreasing number of total viable counts in ghunchieng. The total counts in ghunchieng added with SL alone, PE with SL, and MVE_2 with SL were reduced by 1.36, 1.35, and 2.42 log units after 21 days of storage.

สารบัญ

	หน้า
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง/การทบทวนวรรณกรรม	4
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย	20
บทที่ 4 ผลการวิจัยและวิจารณ์	27
บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ	43
บรรณานุกรม	45
ภาคผนวก ก	49

บทที่ 1
บทนำ

การเสื่อมคุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหารประเภทเนื้อที่มีไขมันสูง ส่วนใหญ่มักเกิดขึ้นจากปฏิกิริยาออกซิเดชันและการเสียโดยเนื่องจุลินทรีย์ ปฏิกริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นนั้นอาจเป็นสาเหตุให้เกิดการสลายตัวของกรดไขมันที่จำเป็นในผลิตภัณฑ์อาหารนั้น หรือการสลายตัวของไวตามินชนิดที่ละลายได้ในไขมันเช่น ไวตามินเอ ดี อี และเค หรืออาจเป็นสาเหตุให้เกิดอันตรายหรือมีสารพิษเกิดขึ้น เช่นสารก่อมะเร็งหรืออาจเป็นสาเหตุให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกลิ่นของอาหาร ปฏิกิริยาออกซิเดชันของอาหารที่มีน้ำมันหรือไขมันเป็นส่วนประกอบมีความสำคัญต่ออุตสาหกรรมอาหารมาก เนื่องจากเป็นสาเหตุให้เกิดกลิ่นหืนขึ้น และปฏิกิริยาสามารถเกิดขึ้นได้เอง(Autoxidation)โดยปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นที่พันธะคู่ของกรดไขมันไม่อิ่มตัว ยิ่งถ้ามีพันธะคู่มากปฏิกิริยาออกซิเดชัน ก็จะยิ่งเกิดเร็วมากขึ้นด้วย ปฏิกริยาที่เกิดขึ้นเป็นปฏิกิริยาแบบลูกโซ่ของกรดไขมันไม่อิ่มตัวกับออกซิเจนและอนุมูลอิสระเกิดเป็นสารไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (hydro peroxide) สารเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นนั้นจะสลายตัวเป็นสารที่มีโมเลกุลเล็กๆที่ทำให้มีกลิ่นหืนและเกิดเป็นอนุมูลอิสระที่เริ่มต้นของปฏิกิริยาลูกโซ่ต่อไปได้อีก (ศิวาพร, 2546; Hamilton, 1994; Stauffer, 1996)

การป้องกันการเกิดออกซิเดชันของไขมันระหว่างการแปรรูปและการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เนื้อเป็นสิ่งสำคัญต่อการรักษาคุณภาพและความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์ การใช้วัตถุกันหืน เป็นวิธีหนึ่งที่จะชะลอหรือยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นในอาหารที่มีไขมันสูงได้ วัตถุกันหืนเป็นวัตถุเจือปนอาหารอีกชนิดหนึ่งที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมอาหาร ซึ่งช่วยป้องกันการเปลี่ยนแปลงต่างๆของอาหารที่เกิดขึ้นเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Nawar, 1996) การที่วัตถุกันหืนสามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้นั้น เนื่องจากวัตถุกันหืนที่เติมลงไปจะไปทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นทำให้ปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นแบบลูกโซ่หยุดชะงัก เมื่อวัตถุกันหืนที่เติมลงไปทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน จะเหลืออนุมูลของวัตถุกันหืน ซึ่งจะเกิดปฏิกิริยาได้ช้ากว่าอนุมูลอิสระมาก และจะเปลี่ยนเป็นสารประกอบที่คงตัว ทำให้วัตถุกันหืนสามารถช่วยชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นในอาหารที่มีน้ำมันหรือไขมันเป็นส่วนประกอบได้ ซึ่งวัตถุกันหืนที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหารซึ่งเป็นสารกันหืนที่ได้จากการสังเคราะห์ เช่น บีเอชเอ (Butylated hydroxyanisole, BHA) บีเอชที(Butylated hydroxytoluene, BHT) ทีบีเอชคิว(TBHQ) (ศิวาพร, 2546; Williams และคณะ, 1999)

ประสิทธิภาพของวัตถุกันหืนจะเพิ่มมากขึ้นตามปริมาณที่ใช้ สำหรับบีเอชเอจะใช้ปริมาณสูงสุดที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.02 เท่านั้น แต่การใช้วัตถุกันหืนในปริมาณที่มากเกินไปพบว่าเป็นสาเหตุให้เกิดอาการผิดปกติแก่ผู้บริโภคได้ จากการศึกษาพบว่าการใช้วัตถุกันหืนในปริมาณที่มากและเป็น

เวลานานเป็นสาเหตุให้เกิดอาการผิดปกติกับสัตว์ทดลองได้เช่น มีผู้ทดลองใช้บีเอชเอความเข้มข้นร้อยละ 0.25ในอาหารแก่หนูทดลองพบว่า ทำให้เนื้อเยื่อเกิดการขยายตัวผิดปกติ และทำให้หนูเป็นเนื้องอกในช่องท้อง และมีรายงานความเป็นพิษของบีเอชที ไวตามินอีว่าการใช้สารเหล่านี้ในปริมาณสูง เป็นสาเหตุให้เกิดเนื้องอกในหนูทดลอง ดังนั้นเพื่อที่จะหลีกเลี่ยงอันตรายต่อสุขภาพจากการใช้วัตถุกันหืนสังเคราะห์ เมื่อเร็วๆนี้จึงได้มีผู้สนใจศึกษาการใช้วัตถุกันหืนจากธรรมชาติกันมากในการป้องกันการเกิดออกซิเดชันของไขมันในผลิตภัณฑ์เนื้อ

สำหรับคุณสมบัติการต้านการเกิดออกซิเดชันของสารในพืช ผัก ธัญพืช ชา และอาหารอื่น ๆ นั้นได้มีผู้รายงานไว้ (Larson, 1988; Shahidi, 2000) กิจกรรมการต้านอออกซิเดชันเป็นผลเนื่องมาจากคุณสมบัติรีดอกซ์ของสารโพลีฟีนอลซึ่งสารนี้กระทำตัวเป็นสารรีดิวซิ่ง เป็นตัวให้ไฮโดรเจน และขจัดอนุมูลออกซิเจนเดี่ยว นอกจากนี้โพลีฟีนอลยังมีบทบาทเกี่ยวกับ metal chelation อีกด้วย (Larson,1988; Parr และ Bolwell, 2000) (ศิวาพร, 2546; Rey และคณะ, 2005) สารฟีนอลิกที่พบในพืชซึ่งมีคุณสมบัติเป็นวัตถุกันหืน รวมถึงกรดฟีนอลิก(phenolic acid) ฟลาโวนอยด์ และอนุพันธ์ (flavonoid and derivatives) เอสเทอร์ของกรดแกลลิก (ester of gallic acid) ลิกแนน (lignan) คูมารีน (coumarine) และ ฟลาโวน (flavone)สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารประกอบหลักในพืชที่มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันมักพบทั่วไปในใบ ลำต้น และเปลือกของพืช กลไกการต้านออกซิเดชันอยู่ในรูปของการกำจัดอนุมูลอิสระ การให้ไฮโดรเจนอะตอม การกำจัดออกซิเจนที่ขาดอิเลคตรอน รวมถึงการรวมตัวกับโลหะ (Shahidi, 2000)

คุณสมบัติการต้านจุลินทรีย์และต้านออกซิเดชันจากพืชผัก ได้มีการรายงานไว้ Joseph และคณะ (2005) พบว่าสารสกัดจากเปลือกชะมวงสามารถยับยั้งการเจริญของ *Aspergillus flavus* (ค่า MIC 3000 ppm) และยังสามารถยับยั้งการสร้าง Aflatoxin B1 เปลือกของต้นชะมวงประกอบด้วยสาร prenylated xanthones ชื่อว่า cowaxanthone, cowanin, cowanol, 1,3,6-trihydroxy-7-methoxy-2,5-bis(3-methyl-2-butenyl)xanthone, β-mangostin, 7-methylgarcinone E และ norcowanin และได้มีผู้ทดสอบคุณสมบัติการยับยั้งเชื้อมาลาเรียและเชื้อจุลินทรีย์ (Krahn, 1968; Lee และChan, 1977; Na Pattalung และคณะ,1994; Likhitwitayawuid และคณะ, 1997, 1998) และ Negi และ Jayapakasha (2004) ได้พบว่า สารสกัดจากพืชสกุลเดียวกับชะมวง คือ *Garcinia indica* สามารถยับยั้งเชื้อ *B. cereus*, *B. coagulans*, *B. subtilis*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. coli* และ *Y. enterocolitica*

สำหรับสารสกัดจากใบแขยง ประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหยที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ เนื่องจากผักแขยงประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหยที่ไม่มีสี ปริมาณร้อยละ 0.1 ซึ่งมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย น้ำมันหอมระเหยนี้ประกอบด้วย limonene และ peril-aldehyde เป็นองค์ประกอบหลัก และยังประกอบด้วยฟลาโวน (flavone) ซึ่งเป็นส่วนผสมของ (5,7-dihydroxy-6,8,4'-trimethoxyflavone) และ salvigenin (5-hydroxy-6,7,4'-trimethoxyflavone) นอกจากนี้ยังพบฟลาโวนอยด์ (flavonoids) อีกหลายชนิดในแขยง ได้แก่ Nevadensin 7-*O*-glycoside และ 8-hydroxylated flavones 3 ชนิด ซึ่งไม่พบบ่อยนักในพืชและยัง

มี flavone aglycones ซึ่งเป็น surface flavonoids (Bui และคณะ, 2004) ส่วนขี้เหล็กประกอบด้วยสารสำคัญหลายชนิดได้แก่ barakol, emodin, β-sitosterol, γ- sitosterol, lupenol, luteolin, D-pinitol, chromone alkaloids, flavinoid glycosides, anthraquinones และ bianthraquinones (Ahn และคณะ, 1978; Shafiullah และคณะ, 1995) บาราคอล (barakol) เป็นสารสำคัญที่แยกได้จากใบและดอกของขี้เหล็ก ในปี ค. ศ. 1969 สารนี้ได้ถูกสกัดขึ้นเป็นครั้งแรกและจำแนกว่าเป็นสาร 3a,4-dihydro-3a,8-dihydroxy-2,5-dimethyl-1,4-dioxaphenalene (Thongsaard และคณะ, 2001) Nanasombat และ Teckchuen (2009) ได้รายงานว่าผักแพรว ผักแขยง ใบขี้เหล็ก และผักชะมวงมีคุณสมบัติต้านออกซิเดชันสูงเมื่อเปรียบเทียบกับผักพื้นบ้านชนิดอื่น โดยเฉพาะผักแพรวมีคุณสมบัติต้านออกซิเดชันสูงสุดและยังพบสารรูทิน (rutin) ซึ่งเป็นฟลาโวนอยด์ในปริมาณสูงสุดอีกด้วยดังนั้นจึงเป็นไปได้ที่จะประยุกต์ใช้สารสกัดจากผักพื้นบ้านได้แก่ ผักแพรว ผักแขยง ใบขี้เหล็ก และผักชะมวงในการเป็นสารต้านจุลินทรีย์และต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติในผลิตภัณฑ์เนื้อที่มีไขมันสูงเช่น กุนเชียงเพื่อประเมินศักยภาพของสารเจือปนอาหารจากผักพื้นบ้านในการต้านออกซิเดชันของไขมันและในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ในกุนเชียงเพื่อชะลอการเสื่อมคุณภาพของกุนเชียงให้เก็บไว้ได้นานและส่งผลให้ผู้บริโภคมีทางเลือกในการบริโภคอาหารที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของสารสกัดจากผักพื้นบ้านที่ความเข้มข้นต่างๆ ในการต้านออกซิเดชันและการยับยั้งจุลินทรีย์ในกุนเชียง
2. เพื่อศึกษาผลของสารสกัดจากผักพื้นบ้านร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของไขมันและการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในกุนเชียง

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง/การทบทวนวรรณกรรม

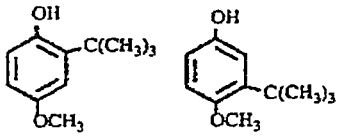
2.1 แหล่งของสารต้านออกซิเดชัน

2.1.1 สารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ (Synthetic antioxidants)

สารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ส่วนใหญ่เป็นสารกลุ่มฟีนอลิก ซึ่งรวมทั้ง BHA, BHT, TBHQ, propyl, octyl และ dodecyl gallates (รูปที่ 2.1) สารต้านออกซิเดชันแบบโพลีเมอริก (polymeric antioxidant) เช่น Anoxomer, Ionox-330 และ Ionox-100 ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ BHT ได้ถูกแนะนำไว้แต่ยังไม่ได้ถูกใช้ในเชิงการค้า โดยทั่วไปสารต้านออกซิเดชันชนิดปฐมภูมิจะถูกกำหนดให้ใช้ในระดับ 100-200 พีพีเอ็มสำหรับ BHT, BHA หรือ TBHQ หรือในระดับ 200-500 พีพีเอ็มสำหรับ gallates ซึ่งในระดับความเข้มข้นเหล่านี้จะทำให้เกิดความคงตัวของไขมันและน้ำมัน ในเชิงการค้าปริมาณของสารที่พร้อมใช้จะมีอยู่ในสารละลาย เช่น propylene glycol หรือ glycerol monooleate สารที่มีฤทธิ์เสริม เช่น กรดซิตริก และสารต้านออกซิเดชันชนิดปฐมภูมิ 1 ชนิดหรือมากกว่าก็สามารถหาได้ง่าย (Madhavi และคณะ, 1996)

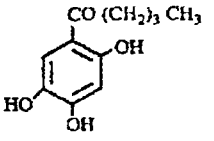
2.1.2 สารต้านออกซิเดชันจากวัตถุดิบที่ใช้ในบรรจุภัณฑ์อาหาร (Antioxidants from food packaging materials)

พลาสติกได้ถูกนำมาใช้เป็นภาชนะบรรจุภัณฑ์ของอาหาร ฟิล์มพลาสติก ภาชนะบรรจุและวัสดุที่นำมาห่อหุ้มจะมีทั้งโพลีเอทีลีน (polyethylenes) แบบความหนาแน่นสูงและความหนาแน่นต่ำโพลีไวนิลคลอไรด์ (polyvinyl chloride) โพลีโพรพีลีน (polypropylene) และโคพอลิเมอร์ของเอทีลีน (copolymers of ethylene) และไวนิลอะซิเตต (vinyl acetate) สารบางอย่างที่เติมลงไปในพลาสติกจะทำหน้าที่เป็นสารต้านออกซิเดชัน ทำให้เกิดความคงตัวต่อความร้อน ทำให้พลาสติกมีความอ่อนตัว (plasticizers) และดูดซับแสงยูวี สารจะถูกเติมลงไปในระหว่างกระบวนการผลิตและการประดิษฐ์ หรือหลังจากการหล่อพิมพ์ สารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ชนิดป้องกันและทำลายปฏิกิริยาลูกโซ่จะถูกเติมลงไปเพื่อป้องกันการเสื่อมสลายของโพลีเมอร์ระหว่างการประดิษฐ์และการเก็บรักษา สารต้านออกซิเดชันหรือสารต้านอนุมูลอิสระที่ทำลายปฏิกิริยาลูกโซ่ประกอบด้วย hindered phenols, aromatic amines, quinines และ nitro compounds สารต้านอนุมูลอิสระชนิดป้องกันประกอบด้วย phosphite esters, sulfides และ dithiophosphates สารต้านออกซิเดชันบางชนิดหรือผลิตภัณฑ์ที่ย่อยสลายได้อาจจะมีการเคลื่อนย้ายเข้าไปอยู่ในผลิตภัณฑ์อาหารกลายเป็นสารที่ถูกเติมลงไปโดยไม่ตั้งใจ (Madhavi และคณะ, 1996)

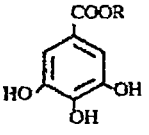


(a) (b)

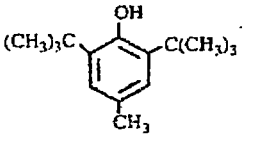
Butylated hydroxyanisole. (a) 3-BHA. (b) 2-BHA.



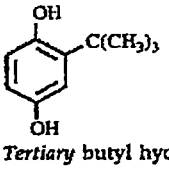
Trihydroxy butyrophenone.



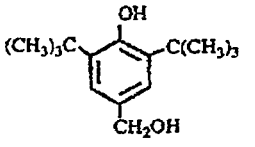
R : C_3H_7 Propyl gallate
C_8H_{17} Octyl gallate
$C_{12}H_{25}$ Dodecyl gallate
Gallates.



Butylated hydroxytoluene.



Tertiary butyl hydroquinone.



Ionox-100

รูปที่ 2.1 สารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์

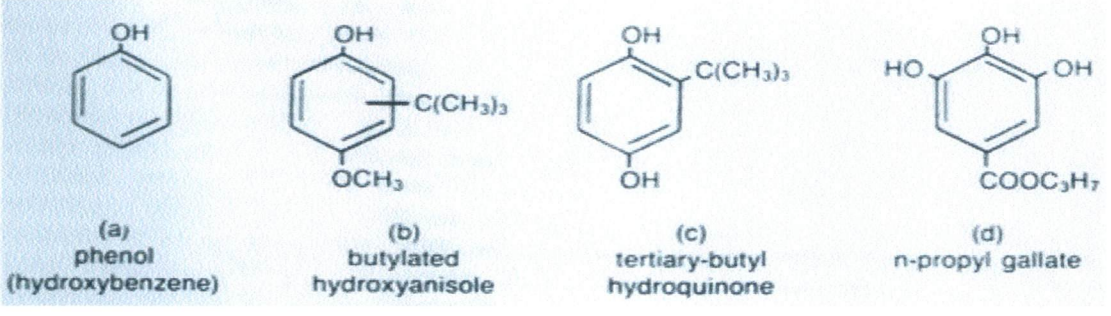
ที่มา : Madhavi และคณะ (1996)

การทำให้สารต้านออกซิเดชันผ่านการเคลื่อนย้ายจากวัสดุที่ใช้ทำบรรจุภัณฑ์ก็สามารถทำได้ เป็นเพราะคุณสมบัติการระเหยได้ของสารเหล่านี้ BHA และ BHT เป็นสารสำคัญที่ใช้เติมลงไปในวัสดุของบรรจุภัณฑ์ซึ่งจะทำให้เกิดการเคลื่อนย้ายของสารเข้าไปสู่อาหารที่อยู่ในบรรจุภัณฑ์ได้ ในการประยุกต์ใช้สารเหล่านี้สามารถเติมลงไปในวัสดุที่ใช้ทำบรรจุภัณฑ์ทั้งที่เป็นแบบขี้ผึ้งพาราฟินที่ใช้สำหรับบุรองอยู่ภายในหรือใช้ในแผ่นกระดานที่ทำบรรจุภัณฑ์เพื่อเป็นอิมัลชัน ซึ่งจะเป็นประโยชน์มากโดยเฉพาะในอาหารที่มีไขมันต่ำ เช่น อาหารเช้าที่เป็นธัญพืช หรือผสมลงในเค้ก ซึ่งเป็นการยากที่จะได้รับการสัมผัสอย่างเหมาะสมกับไขมัน เพราะทั้ง BHA และ BHT เป็นสารที่ระเหยได้ที่อุณหภูมิโดยรอบจึงสามารถแพร่ได้ทีละน้อยจากขี้ผึ้งเข้าสู่ผลิตภัณฑ์ (Madhavi และ คณะ, 1996)

2.1.3 สารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติ (Natural antioxidants)

สารต้านออกซิเดชันในอาหาร (food antioxidants) เป็นสารประกอบที่ช่วยในการยับยั้งหรือขัดขวางการเกิดปฏิกิริยาออโตออกซิเดชัน (free-radical autooxidation reaction) ซึ่งทำให้เกิดอนุมูลอิสระ ปฏิกิริยานี้เป็นพื้นฐานของการเกิดออกซิเดชันของกลีเซอไรด์ (glyceride oxidation) ความสามารถในการต้านออกซิเดชันเกิดขึ้นจากโครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิก หรือ Phenolic configuration ภายในโครงสร้างของโมเลกุล (รูปที่ 2.2) ดังนั้นสารต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันหลักในอาหารประเภทไขมันและน้ำมันหรืออาหารที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบคือสารประกอบฟีนอลิก

(phenolic compound) และโดยทั่วไปแล้วสารประกอบฟีนอลิกก็คือ phenolic antioxidant (Sherwin, 1990)



รูปที่ 2.2 โครงสร้างสารต้านออกซิเดชันชนิดต่างๆ
(a) ฟีนอล (b, c, d) ฟีนอลิกแอนติออกซิแดนซ์
ที่มา: Sherwin (1990)

สารต้านออกซิเดชันธรรมชาติได้ถูกพัฒนาขึ้นอย่างมากในรอบ 10 ปีที่ผ่านมาเพราะว่าข้อจำกัดที่เพิ่มขึ้นในการใช้สารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์และเพื่อปรับปรุงการบอกกล่าวให้ทราบเกี่ยวกับเรื่องสุขภาพให้ดียิ่งขึ้น โดยปกติผู้บริโภคจะชอบสารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติมากกว่าเพราะถูกพิจารณาแล้วว่าปลอดภัย ข้อดีและข้อเสียของสารต้านออกซิเดชันธรรมชาติได้เปรียบเทียบกับสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ซึ่งแสดงไว้ในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ข้อดีและข้อเสียของสารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติเมื่อเปรียบเทียบกับสารต้านอนุมูลออกซิเดชันสังเคราะห์

ข้อดี	ข้อเสีย
1. เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคเนื่องจากพิจารณาแล้วว่ามีความปลอดภัยและไม่ใช่สารเคมี 2. ไม่ต้องทดสอบเรื่องความปลอดภัยตามกฎหมาย ถ้าเป็นสารที่ถูกพิจารณาแล้วว่าปลอดภัย (Generally Recognized as Safe, GRAS)	1. สารที่บริสุทธิ์จะมีราคาแพงมาก และถ้าสารไม่มีความบริสุทธิ์จะทำให้มีประสิทธิภาพลดน้อยลง 2. คุณสมบัติในการเตรียมสารจะแตกต่างกันถ้าสารไม่บริสุทธิ์ 3. บ่อยครั้งที่ไม่ทราบถึงความปลอดภัย 4. บางทีอาจมีสี รสชาติ หรือกลิ่นรสที่เปลี่ยนไปเกิดขึ้นในอาหาร

ที่มา : Madhavi และคณะ (1996)

ส่วนประกอบในอาหารโดยทั่วไปมีสารประกอบที่เป็นสารต้านออกซิเดชัน (ตารางที่ 2.2) อย่างไรก็ตามส่วนประกอบเหล่านี้จะสามารถใช้ได้ในผลิตภัณฑ์เท่านั้น ซึ่งจะเข้ากันได้กับลักษณะเนื้อสัมผัส สี และรสชาติของผลิตภัณฑ์ที่ได้ ดังนั้นการวิเคราะห์และการทำให้บริสุทธิ์ของสารประกอบที่เป็นสารต้านออกซิเดชันจึงกลายเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการใช้สารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติอย่างมีประสิทธิภาพในทางการค้า สารธรรมชาติที่มีคุณสมบัติต้านออกซิเดชัน ได้แก่ กรดอะมิโน กรดซิตริก ยูจีนอล โปรตีน ฟลาโวนอยด์ วิตามินอี วิตามินซี เบต้าเคโรทีน สเตอรอยด์ กรดยูริก วานิลลิน กรดฟีนอลิก เลซิทิน (lecithin) กรดไฟติก (phytic acid) กรดทาร์ทาริก (tartaric acid) กรดโรสมารินิก (rosmarinic acid) ลิกแนน (lignans) เคอร์คูมิน (curcumin) คาร์นอซีน (carnosine) คาร์โนซอล (carnosol) และ nordihydroguaiaretic acid (Madhavi และคณะ, 1996)

วิตามินอี (α-tocopherol) และวิตามินซีเป็นสารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติที่ใช้กันอย่างกว้างขวางในผลิตภัณฑ์อาหาร ซึ่งเป็นสารที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นในระดับการค้า วิตามินอีสังเคราะห์และอะซิเตทของวิตามินอี คือ *dl*-α-tocopherol และ *dl*-α-tocopheryl acetate สำหรับ trolox-C เป็นอนุพันธ์ของ α-tocopherol และ *d*-α-tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate ซึ่งเป็นรูปแบบของ α-tocopherol ที่ละลายน้ำได้ กรดซิตริก กรดทาร์ทาริก และเลซิทิน เป็นสารประกอบที่พบในส่วนประกอบของอาหารซึ่งถูกใช้เป็นสารที่ออกฤทธิ์เสริมในผลิตภัณฑ์อาหาร กรดไฟติกเป็นสารประกอบหลักในเมล็ดพืชทั้งหมดซึ่งเป็นสาระสำคัญในการรวมตัวกับโลหะ (chelating agent) (Madhavi และคณะ, 1996)

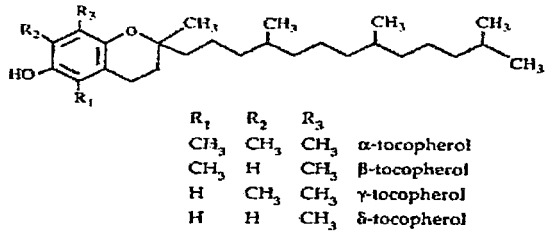
ตารางที่ 2.2 สารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติที่พบในส่วนประกอบของอาหาร

แหล่งที่พบ	สารต้านอนุมูลอิสระ
น้ำมันและน้ำมันจากเมล็ด	Tocopherols, tocotrienols, sesamol และสารที่เกี่ยวข้อง olive oil resins ฟอสโฟลิปิด
ข้าวโอ๊ต และรำข้าว	สารประกอบที่เป็นอนุพันธ์ของลิกนินหลากหลายชนิด
ผลไม้และผัก	กรดแอสคอบิก กรดไฮดรอกซีคาร์บอกซีลิก ฟลาโวนอยด์; คาโรทีนอยด์
เครื่องเทศ สมุนไพร ชา โกโก้	สารประกอบฟีนอลิก
โปรตีนและโปรตีนไฮโดรไลเซท	กรดอะมิโน ไดไฮโดรไพริดีน ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยา Maillard

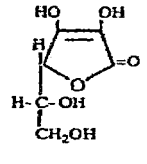
2.1.3.1 สารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติที่สำคัญ

ในปัจจุบันมีรายงานมากมายที่ได้ตีพิมพ์เกี่ยวกับการวิเคราะห์สารต้านออกซิเดชันที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติจากพืช สัตว์ จุลินทรีย์ และผลิตภัณฑ์อาหาร สารต้านอนุมูลอิสระที่พบในพืช ได้แก่ เปลือกแอปเปิ้ล กานพลู เปลือกเมล็ดโกโก้ กระเทียม ดอกและลูกจันทน์เทศ มะกอก ข้าวโอ๊ต ออริกาโน พริกไทย เปลือกหอมแดง โรสแมรี่ น้ำมันงา และชา

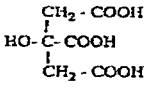
สารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติส่วนใหญ่เป็นสารประกอบฟีนอลิก ยกเว้น tocopherols ซึ่งมี ortho-substituted active groups ในขณะที่สารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ยกเว้น gallates เป็น para-substituted สารสำคัญที่เป็นสารประกอบหลักบางชนิดที่ได้มีรายงานจนถึงทุกวันนี้ คือ ฟลาโวนอยด์ และสารประกอบที่เกี่ยวข้องในสารสกัดพืช ฟีนอลิกในเครื่องเทศและสมุนไพร โปรตีน และโปรตีนไฮโดรไลเซส เปปไทด์ กรดอะมิโน และผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาเมล์ลาร์ด (Maillard reaction product) (Madhavi และคณะ, 1996)



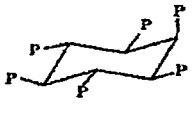
Tocopherols.



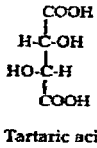
Ascorbic acid.



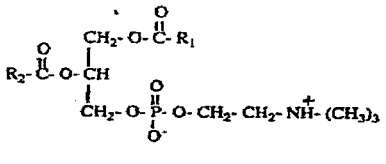
Citric acid.



P : H_2PO_4
Phytic acid



Tartaric acid.



Phosphatidyl choline.

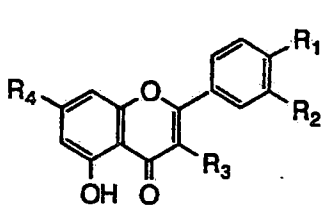
รูปที่ 2.2 สารต้านอนุมูลอิสระบางชนิดที่ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร
ที่มา: Madhavi และคณะ (1996)

ก) ฟลาโวนอยด์และสารประกอบที่เกี่ยวข้อง

ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) เป็นสารในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกที่พบตามธรรมชาติในพืช สามารถพบได้ในเกือบทุกส่วนของของพืช โครงสร้างเคมีจะเป็นโครงสร้างแบบ C_6-C_3-C_6 โดยกลุ่มย่อยต่างๆจะถูกจัดแบ่งกลุ่มโดยขึ้นอยู่กับการแทนที่ในวงแหวน C และตำแหน่งในวงแหวน B กลุ่มย่อยหลักๆของสารในกลุ่มนี้ คือ ฟลาโวนอล (flavonols) ฟลาโวน (flavones) ไอโซฟาโวน (isoflavones) แคทีชิน (catechins) โปรแอนโธไซยานิดิน (proanthocyanidins) และ แอนโธไซยานิน (anthocyanins) (รูปที่ 2.3) ชาลโคน (chalcones) ฟลาวาโนน (flavonones) ลิวโคแอนโธไซยานิน (leucoanthocyanins) และไดไฮโดรฟลาโวนอล (dihydroflavonols) เป็นสารตั้งต้นสำหรับกลุ่มย่อยที่แตกต่างกันในวิถีชีวสังเคราะห์ (biosynthesis pathway) กรดซินนามิก (cinnamic acid) และกรดฟีนอลิกเป็นสารที่มีสัมพันธ์ใกล้ชิดกับฟลาโวนอยด์ และบางชนิดยังเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ฟลาโวนอยด์ด้วย สารประกอบเหล่านี้ส่วนมากจะเป็นลักษณะเฉพาะของกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระในระบบจำลอง คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระได้ถูกรายงานไว้ในสารสกัดจำนวนมากจากใบไม้ เมล็ดและเปลือกของเมล็ด ผล และลำต้น ซึ่งส่วนใหญ่มักเป็นฟลาโวนอยด์ และกรดซินนามิก

ฟลาโวนอยด์ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระปฐมภูมิ ตัวกำจัดโลหะ และตัวขจัดซุปเปอร์ออกไซด์ไอออน การพบหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง 3'-, 4'- และ 5'- ในวงแหวน B จะเพิ่มกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระได้มากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับการที่พบหมู่ไฮดรอกซิลเพียงตำแหน่งเดียว และการพบหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่งที่ 3 และมีการเกิดพันธะคู่ขึ้น 2-3 พันธะในวงแหวน C ดูเหมือนว่าจะทำให้มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระมีประสิทธิภาพขึ้นด้วย (Madhavi และคณะ, 1996)

คุณสมบัติของฟลาโวนอยด์ในการต้านออกซิเดชันและการจับกับอนุมูลอิสระได้มีการศึกษากันอย่างดีแล้ว การศึกษาก่อนหน้านี้ Haraguchi และคณะ (1992) ได้แยกสารฟลาโวนอยด์ออกจากพืชสกุลเดียวกันกับผักแพรวที่มีชื่อว่า *Polygonum hydropiper* พืชชนิดนี้เป็น medicinal herb ที่ใช้เป็นเครื่องเทศในการปรุงอาหารญี่ปุ่น สารที่แยกได้จากพืชชนิดนี้คือ sulfated, methylated and glycosidal flavonoids สารประกอบเหล่านี้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งปฏิกิริยาเปอร์ออกซิเดชันของกรดลิโนเลอิก (linoleic acid) และป้องกันการสร้าง superoxide anion ในบรรดาสารฟลาโวนอยด์หลายชนิดที่พบในพืชชนิดนี้พบว่า สารควอเซทิน (quercetin) (หมายเลข 1 ในรูปที่ 2.3) ไอโซแรมนีทิน (isorhamnetin)(หมายเลข 3 ในรูปที่ 2.3) และแรมนาซิน (rhamnazin) (หมายเลข 6 ในรูปที่ 2.3) มีศักยภาพในการยับยั้งปฏิกิริยาเปอร์ออกซิเดชันของไขมันซึ่งถูกชักนำโดย Fe (III) ADP/NADPH (Haraguchi, 2001)

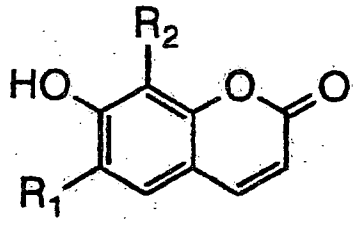


	R_1	R_2	R_3	R_4
1	OH	OH	OH	OH
2	OH	OH	OSO_3K	OH
3	OH	OCH_3	OH	OH
4	OH	OCH_3	OSO_3K	OH
5	OH	OCH_3	OSO_3K	OSO_3K
6	OH	OCH_3	OH	OCH_3
7	OH	OCH_3	OSO_3K	OCH_3
8	OH	OH	O-Glc	OH
9	OCH_3	OH	O-Glc	OSO_3K
10	OH	OH	O-Glucur	OH
11	OH	OH	O-Gal	OH

รูปที่ 2.3 สารฟลาโวนอยด์ที่มีคุณสมบัติต้านออกซิเดชันแยกได้จาก *Polygonum hydropiper*
ที่มา : Haraguchi (2001)

ข) ควอมาริน

สารควอมาริน (coumarins) ซึ่งเป็นเบนโซไพโรน (α-pyrone) เป็นสารประกอบฟีนอลิกกลุ่มใหญ่ซึ่งพบมากในพืช (รูปที่ 2.4) Payá และคณะ (1992) ได้ทดสอบผลของควอมารินกับสารที่ใช้ทดแทนอื่นๆต่อการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมันและอนุมูลอิสระของออกซิเจนบางชนิด ซึ่งในบรรดาควอมารินที่ได้จากพืชพบว่าสาร fraxetin (หมายเลข 31 ในรูปที่ 2.4) esculetin (หมายเลข 32 ในรูปที่ 2.4) และ dephnetin (หมายเลข 33 ในรูปที่ 2.4) ซึ่งเป็น *o*- dihydroxy substitutions ที่มีประสิทธิภาพในการเป็นตัวยับยั้งของปฏิกิริยาเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน (microsomal lipid peroxidation) ซึ่งชักนำโดย Fe^{3+}- ascorbate

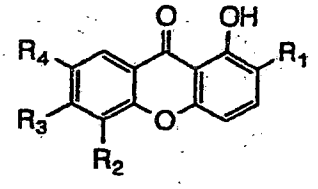


	R_1	R_2
31	OCH3	OH
32	OH	H
33	H	OH

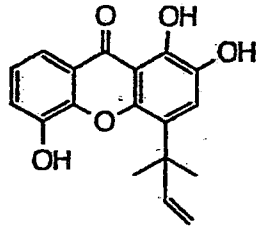
รูปที่ 2.4 ควอมาริน (Coumarin) สารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติ
ที่มา : Haraguchi (2001)

ค) แซนโทน

แซนโทน (xanthones) ประกอบด้วย γ - pyrone เหมือนกับฟลาโวนอยด์ และมีกิจกรรมชีวภาพกว้าง Minami และคณะ (1994) ได้แยกสารไฮดรอกซีแซนโทน hydroxylxanthone จากเนื้อไม้ของต้นพืชสกุลเดียวกับชะมวงคือ *Garcinia subelliptica* และได้ศึกษาคุณสมบัติในการต้านออกซิเดชันของพืชชนิดนี้ ในบรรดาสารแซนโทนต่างๆ ที่พบ ปรากฏว่า สาร 1,2-dihydroxy-5,6-dimethoxyxanthone (หมายเลข 35 ในรูปที่ 2.5) และสาร 1,8- dihydroxy-6-dimethoxyxanthone (หมายเลข 36 ในรูปที่ 2.5) มีประสิทธิภาพในการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาเปอร์ออกซิเดชันของไขมันในสมองของหนู (rat brain homogenate) และสาร1,2,5-trihydroxy xanthone (หมายเลข 34 ในรูปที่ 2.5) เป็นสารที่มีศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระของ DPPH และ O_2^- ที่ได้จาก Xanthine-xanthine oxidase system และยังพบว่าสาร globuxanthone (หมายเลขที่ 37 ในรูปที่ 2.5) มีประสิทธิภาพในการจับอนุมูล O_2^- และป้องกันการเกิดปฏิกิริยาเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน (Haraguchi, 2001)



	R_1	R_2	R_3	R_4
34	OH	OH	H	H
35	OH	OMe	OMe	H
36	H	H	OMe	OH



37

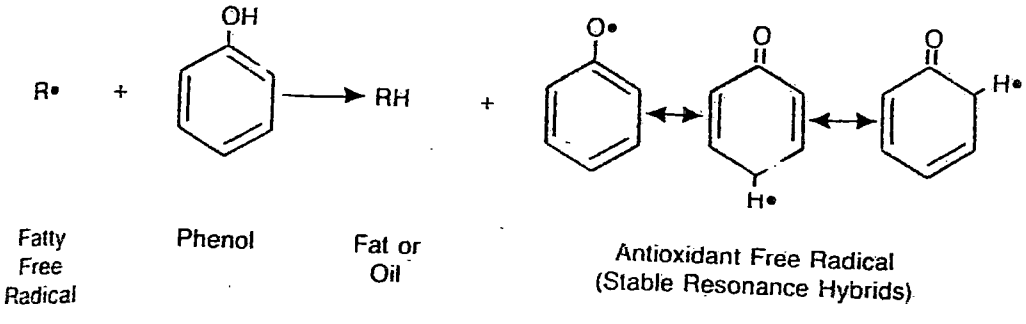
รูปที่ 2.5 แซนโทนที่แยกได้จาก *Garcinia subelliptica*
ที่มา : Haraguchi (2001)

ง) ฟีนอลิกจากเครื่องเทศและสมุนไพร

สารต้านออกซิเดชันจากเครื่องเทศและสมุนไพรมีความสำคัญสำหรับการประยุกต์ในระดับใหญ่ เครื่องเทศไม่เพียงแต่ให้กลิ่นรสเท่านั้นแต่ยังสามารถถนอมอาหารเป็นเวลา 100 ปีมาแล้ว ได้มีการศึกษาทางวิทยาศาสตร์เกี่ยวกับกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระมาก่อนหน้านี้โดยใช้เครื่องเทศหรือสารสกัดจากเครื่องเทศ จากการศึกษาได้ชี้ให้เห็นว่ามีสารสกัดจากสมุนไพรมากมายที่มีคุณสมบัติต้านออกซิเดชันได้ ต่อมาได้มีการศึกษาเกี่ยวกับการคัดแยกและการวิเคราะห์ active components จากสมุนไพรและเครื่องเทศหลากหลายชนิด เช่น โรสแมรี่ งา ไทม์ ดอกจันทน์ ออริกาโน ขมิ้น ขิง พริกไทย กานพลู และพืชจำพวกพริก ส่วนมากสารประกอบเหล่านี้จะถูกรายงานประสิทธิภาพ

เหมือนกับ BHA, BHT และ α-tocopherol ข้อเสียหลักของสารสกัดจากเครื่องเทศ คือ สี กลิ่นรส และรสชาติของเครื่องเทศ มีการศึกษามากมายที่ได้ทำการวิเคราะห์และแยกสารประกอบให้ไม่มีกลิ่นและรสชาติ ถึงแม้ว่าสารประกอบที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระมากมายได้ถูกวิเคราะห์ขึ้นในสมุนไพรและเครื่องเทศ แต่มีเพียงกระบวนการผลิตระดับใหญ่ของโรสแมรี่และงาเท่านั้นที่ได้มีการพัฒนาเพื่อผลิตเป็นสารบริสุทธิ์ที่ไม่มีรสชาติ และไม่มีกลิ่น ในทางการค้ามีสารต้านออกซิเดชันจากโรสแมรี่ซึ่งได้ทำให้อยู่ในรูปผงละเอียดซึ่งสามารถละลายในไขมันและน้ำมัน แต่ไม่สามารถละลายในน้ำได้ และได้แนะนำให้ใช้ในปริมาณ 200-1000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของผลิตภัณฑ์อาหารจะทำให้อาหารคงตัวได้

กิจกรรมของสารประกอบฟีนอลิกในการยับยั้งปฏิกิริยาออโตออกซิเดชัน ดังรูปที่ 2.6 ซึ่งชี้ให้เห็นว่าฟีนอลทำหน้าที่เป็นตัวให้โปรตอน (proton doner) ซึ่งจะขัดขวางการสร้างอนุมูลอิสระของกรดไขมัน ($R^{\bullet}$) ในขั้นแรก ดังนั้นจึงช่วยชะลอการเริ่มต้นของการเกิดออโตออกซิเดชันของไขมันหรือน้ำมัน (RH) อนุมูลอิสระของสารต้านออกซิเดชันที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยานี้ไม่เหมือนกับอนุมูลอิสระของกรดไขมันคือไม่มีความสามารถในการเริ่มต้นหรือทำให้ออกซิเดชันของไขมันหรือน้ำมันดำเนินต่อไปได้ สิ่งนี้ชี้ให้เห็นว่าสารต้านออกซิเดชันไม่ได้ช่วยในการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออโตออกซิเดชันเพียงแต่ช่วยชะลอการเริ่มต้นของปฏิกิริยาเท่านั้น การชะลอให้ปฏิกิริยาเกิดช้าลงนี้ขึ้นอยู่กับกิจกรรมของสารต้านออกซิเดชันที่เฉพาะ และความเข้มข้นของสารต้านออกซิเดชัน และยังขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ เช่น ความร้อน แสง โลหะ และสารโพรออกซิแดนซ์ (prooxidant) ที่มีอยู่ และมีรายงานว่าการใช้สารต้านออกซิเดชันที่เป็นสารประกอบฟีนอลิก (Phenolic antioxidant) จะให้ประสิทธิภาพสูงสุดเมื่อเติมลงไปอย่างรวดเร็วทันทีเพียงพอที่ยับยั้งการสร้างอนุมูลอิสระของกรดไขมัน ซึ่งเป็นตัวเริ่มต้นปฏิกิริยาออโตออกซิเดชันได้ สารประกอบนี้ไม่ได้ทำหน้าที่เป็นตัวดูดออกซิเจน (oxygen absorber) แต่ช่วยป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระของกรดไขมันที่จะทำปฏิกิริยาหรือดูดออกซิเจนในกระบวนการออโตออกซิเดชัน (Sherwin, 1990)



รูปที่ 2.6 กลไกการทำงานของ phenolic antioxidant ในไขมันหรือน้ำมัน

ที่มา: Sherwin (1990)

จ) โปรตีน เปปไทด์ กรดอะมิโน และผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาเมลลาร์ด

โปรตีน เปปไทด์ กรดอะมิโน และผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาเมลลาร์ด เป็นสารที่รู้กันดีว่ามีประสิทธิภาพในด้านคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ โดยทั่วไปสารเหล่านี้จะมีหน้าที่เป็นสารที่ออกฤทธิ์เสริมหรือสารต้านอนุมูลอิสระปฐมภูมิ กลูเทน (gluten) อัลบูมินของไข่ (egg albumen) และเคซีน (casein) เป็นสารที่มีประสิทธิภาพในน้ำมันดอกคำฝอย และน้ำมันซาร์ดีน การผสมกันของโปรตีนจากถั่วเหลืองและไกลอะดิน (gliadin) จะมีประสิทธิภาพในน้ำมันดอกคำฝอย โปรตีนถั่วเหลืองเป็นสารที่มีประสิทธิภาพมากกว่าเส้นใยของถั่วในการรักษาสีของเนื้อสับ soy protein hydrolysate, autolyzed yeast proteins และ hydrolyzed vegetable proteins จะมีหน้าที่เป็นสารที่ออกฤทธิ์เสริมกับสารต้านอนุมูลอิสระปฐมภูมิ เมื่อใช้เพียงลำพัง autolyzed yeast proteins ร้อยละ 10 จะเทียบเท่ากับ BHA ร้อยละ 0.02 ในน้ำมันข้าวโพด แต่เมื่อใช้ร่วมกันจะเทียบเท่ากับ BHA เพียงร้อยละ 0.005 เท่านั้น (Madhavi และคณะ, 1996)

สารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มของเปปไทด์ เช่น เทอร์มิริน (turmerin) เป็นเปปไทด์ที่ละลายน้ำได้ ประกอบไปด้วยกรดอะมิโน 40 ชนิดซึ่งพบอยู่ในขมิ้น (*Curcuma longa*) และเป็นสารที่มีประสิทธิภาพในระบบจำลอง เปปไทด์จะยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของไขมันได้ร้อยละ 70-88 เมื่อเปรียบเทียบกับเคอร์คูมิน (curcumin) จะยับยั้งได้ร้อยละ 70-85 และ BHA ร้อยละ 80 ซึ่งเกิดขึ้นใน L-α-phosphatidylcholine vesicles, liposomes และ erythrocyte ghosts นอกจากนี้ carnosine และ β-alanine-histidine dipeptide ที่พบใน skeleton muscles เป็นสารที่มีประสิทธิภาพมากในการยับยั้ง oxidative rancidity ในอาหาร และยังพบว่า carnosine ในเนื้อหมูบดที่แช่แข็งมีประสิทธิภาพมากกว่า BHT, α-tocopherol และ sodium tripolyphosphate นอกจากนี้ carnosine อาจจะมีหน้าที่เป็นตัวกำจัดโลหะหรือสารต้านอนุมูลอิสระปฐมภูมิ (Madhavi และคณะ, 1996)

กรดอะมิโนส่วนมากมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระซึ่งขึ้นอยู่กับค่าพีเอชของอาหารและความเข้มข้น และได้มีการพบว่าไกลซีน (glycine) เมตไทโอนีน (methionine) ฮีสทีดีน (histidine) ทริปโตฟาน (tryptophan) โพรลีน (proline) และไลซีน (lysine) เป็นกรดอะมิโนที่0มีประสิทธิภาพในไขมันและน้ำมัน ไกลซีนยังเป็นกรดอะมิโนที่มีอยู่ในรายชื่อของสาร GRAS เพื่อเติมในไขมันและน้ำมันที่ความเข้มข้นถึงร้อยละ 0.01 กรดอะมิโนมีหน้าที่เป็นตัวเสริมฤทธิ์กับสารต้านอนุมูลอิสระอื่นๆ มีรายงานจำนวนมากที่แสดงผลของประสิทธิภาพการเป็นตัวเสริมฤทธิ์ของกรดอะมิโนในระบบจำลองของไขมัน น้ำมัน ผลิตภัณฑ์นม และผลิตภัณฑ์เนื้อ Trolox-amino acid เกิดได้จากการสร้างพันธะของ Trolox-C กับกรดอะมิโนหลายชนิดซึ่งมีประสิทธิภาพมากกว่า Trolox-C ในระบบของ linoleate emulsion ได้มีรายงานว่าการรวมกันของฮีสทิดีนและกรดแอสคอบิกจะมีประสิทธิภาพสูงในน้ำมันข้าวโพด และการรวมกันของซิสทีนกับ BHT หรือ tocopherols จะทำให้มีประสิทธิภาพสูงในไขมันนม (Madhavi และคณะ, 1996)

ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาเมลลาร์ดจะเกิดขึ้นระหว่างกระบวนการความร้อนหรือการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหารเป็นที่ทราบกันว่าเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพ ซึ่งมีหน้าที่เป็นตัวกำจัดโลหะ เมื่อไม่นานนี้ได้มีรายงานเกี่ยวกับการวิเคราะห์และประเมินสารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นสารประกอบที่ระเหยได้ประเภทเฮเทอโรไซคลิกซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาเมลลาร์ด เช่น 1-methylpyrrole เป็นสารต้านอนุมูลอิสระเกิดขึ้นในช่องว่างเหนือตัวอย่างของน้ำมันข้าวโพดที่ผ่านความร้อน บางรายงานได้แสดงให้เห็นว่า thaizoles, oxazoles และ furanones จะเกิดขึ้นในระบบจำลองของ L-cysteine และ D-glucose ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เช่นเดียวกันกับ alkylthiophenes, 2-thiophenethiol, 2-methyl-3-furanthiol และ furfuryl mercaptan ที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระเช่นเดียวกัน ระดับของการไม่อิ่มตัวในวงแหวนเฮเทอโรไซคลิก และชนิดของสารที่แทนที่จะทำให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารประกอบเหล่านี้แตกต่างกัน (Madhavi และคณะ, 1996)

2.2 สารต้านออกซิเดชันจากผักและผลไม้

อนุมูลอิสระ (free radicals) ถูกสร้างขึ้นในร่างกายจากเมแทบอลิซึมปกติของร่างกาย ตัวอย่างเช่น ซุปเปอร์ออกไซด์ ($O_2^{\cdot -}$) และไนตริกออกไซด์ ($NO^{\cdot}$) ซึ่งมีหน้าที่ที่สำคัญทางสรีรวิทยาโดยทั่วไป อนุมูลอิสระสามารถทำปฏิกิริยาได้สูง (highly reactive) และสามารถกระทำกับไขมันในเยื่อหุ้มเซลล์ ให้อนุมูลคาร์บอน (carbon radical) ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับออกซิเจนให้อนุมูลเปอร์ออกซิล (peroxyl radical) ซึ่งอาจกระทำกับกรดไขมันที่อยู่ติดกันให้อนุมูลคาร์บอนโมเลกุลใหม่ กระบวนการนำไปสู่การเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ให้ผลิตภัณฑ์จาก lipid peroxidation (Halliwell, 1994) โดยวิธีนี้อนุมูลอิสระอาจทำลายหลายๆโมเลกุลโดยเป็นตัวเริ่มต้นปฏิกิริยาลูกโซ่ของ lipid peroxidation การที่ธรรมชาติของอนุมูลอิสระซึ่งมีศักยภาพสูงในการเข้าทำลาย ร่างกายจึงมีกลไกการต้านอนุมูลอิสระได้แก่เอนไซม์ซุปเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (superoxide dismutase) คะตะเลส (catalase) มีการขนส่งธาตุเหล็ก ทองแดงและโปรตีนที่เก็บไว้ (storage protein) และโมเลกุลของสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ที่ละลายได้ในน้ำและละลายได้ในไขมัน ร่างกายอาจเกิด oxidative stress ขึ้นได้ถ้ากลไกการต้านอนุมูลอิสระไม่สามารถต้านอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นได้และอาจเป็นผลจากการกระทำของสารพิษบางชนิดหรือการกระทำของสภาพเครียด (physiological stress) ของร่างกาย (Halliwell, 1994)

ในผักและผลไม้มีสารต้านออกซิเดชันหลายชนิดที่ผลดีต่อสุขภาพ ผักและผลไม้เป็นแหล่งของสารแอนติออกซิแดนท์ที่ช่วยเพิ่มความสามารถของพลาสมาในการต้านการออกซิเดชัน (plasma antioxidant capacity) เป็นผลให้เกิดการต้านโรค atheroscerosis related diseases ในคน (Cao และคณะ, 1998) สารต้านออกซิเดชันที่พบส่วนใหญ่ในผักผลไม้เป็นสารฟลาโวล (flavone) แอนโทไซยานิน (anthocyanin) และสารที่เกี่ยวข้อง (Davidson และ Zivanovic, 2003) จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าสารที่อยู่ในผักและผลไม้มีส่วนช่วยไม่ให้เกิดโรคมะเร็งและโรคหัวใจ ได้มีการศึกษาคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันในผักหลายชนิด ได้แก่ ผักที่มาจากรากและหัว เช่น แครอท มันฝรั่ง มันเทศ เรดบีท

(red beet) ผักกะหล่ำปลี ถั่วงอก บร็อคโคลี่ ผักกาดหอม ผักโขม (spinach) หัวหอม มันฝรั่ง และผักชนิดอื่นๆ (Yanishlieva - Maslarova, 2001) Karakaya และ Kavas (1999) ได้รายงานว่า ส่วนประกอบ (dietary component) ที่มีอยู่ในผักและผลไม้ที่กระทำตัวในฐานะของสารแอนติออกซิแดนท์ได้แก่ เส้นใยอาหาร (fibre) โพลีฟีนอล (polyphenol) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) คอนจูเกตไอโซเมอร์ของกรดลิโนเลอิก (conjugated isomers of linoleic acid) ดี-ลิโมนีน (D-limonene) อิพิแกลโลคาเทชิน (epigallocatechin) คาเทชิน (catechin) แกลเลต (gallate) โปรตีนจากถั่วเหลือง ไอโซฟลาโวน (isoflavones) วิตามิน เอ บี ซี อี (vitamins A, B, C, E) โทโคเฟอรอล (tocopherols) แคลเซียม คลอโรไฟลิน (chlorophyllin) อะลิฟลาริน (alipharin) ซัลไฟด์ (sulphides) เตตราไฮโดรคิวเรคิวมิน (tetrahydrocurecumin) ซีซามินอล (seasaminol) กลูตาไทโอน (glutathione) กรดยูริก อินโดล (indoles) ไทโอไซยาเนต (thiocyanates) และสารยับยั้งโพรติเอส (protease inhibitors)

สารฟลาโวนอยด์ (flavonoid) และกรดฟีนอลิก (phenolic acid) ที่มีอยู่ในผักผลไม้ สามารถทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ และที่สำคัญที่สุดคือเป็นตัวจับอนุมูลอิสระ โดยสารโพลีฟีนอลสามารถทำลายปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ (free radical chain reaction) สำหรับสารที่จะเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ได้จะต้อง 1) เมื่อมีอยู่ในระดับความเข้มข้นต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับ oxidizable substrate จะสามารถชะลอหรือป้องกันการเกิดออกซิเดชันของสับสเตรทได้ และ 2) อนุมูลอิสระที่เกิดจากสารโพลีฟีนอลจะต้องคงตัวเพื่อว่าจะได้ป้องกันตัวเองในการเข้าทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain propagating radical) (Halliwell และคณะ, 1995) กรดฟีนอลิกอาจเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ดีโดยเฉพาะสารที่มีโครงสร้างประเภท catechol-type structure เช่นกรดคาเฟอิก (caffeic acid)

2.3 กลไกการทำงานของสารต้านออกซิเดชัน

สารต้านออกซิเดชันหรือสารต้านอนุมูลอิสระสามารถจำแนกได้อย่างกว้าง ๆ จากกลไกการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระได้แก่สารต้านอนุมูลอิสระปฐมภูมิและสารต้านอนุมูลอิสระทุติยภูมิ บางปฏิกิริยาของสารต้านอนุมูลอิสระมีกลไกการทำงานมากกว่า 1 กลไกและจะทำหน้าที่หลาย ๆ อย่างในแต่ละกลไก ปฏิกิริยาต่าง ๆ ของสารต้านอนุมูลอิสระค่อนข้างผันแปรมากและสามารถทำปฏิกิริยาได้ทุกขั้นตอนในปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระปฐมภูมิ หรือ chain-breaking antioxidant เป็นตัวรับอนุพันธ์อิสระที่ทำให้ปฏิกิริยาออกซิเดชันอัตโนมัติในขั้นตอนแรกเกิดความล่าช้าหรือถูกยับยั้งได้ การเริ่มต้นของ autoxidation เริ่มแรกจะเกิดขึ้นเมื่อโมเลกุลของ α-methylenic hydrogen ถูกดึงจากกรดไขมันไม่อิ่มตัวออกมาอยู่ในรูปของกรดไขมันอิสระ ($R^{\cdot}$) ดังสมการที่ 1

$$RH \longrightarrow R^{\cdot} + H^{\cdot} \qquad (1)$$

กรดไขมันอิสระนี้จะเกิดปฏิกิริยาได้สูง สามารถทำปฏิกิริยากับออกซิเจนเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของเปอร์ออกไซด์อิสระ ($ROO^{\cdot}$) ดังสมการที่ 2

$$R^{\cdot} + O_2 \longrightarrow ROO^{\cdot} + H^{\cdot} \qquad (2)$$

ในระหว่างปฏิกิริยาการถ่ายทอดอนุมูลเปอร์ออกไซด์จะทำปฏิกิริยากับไขมันทำให้เกิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์และได้อนุมูลของกรดไขมันอิสระตัวใหม่ที่ไม่เสถียรดังสมการที่ 3 กรดไขมันอิสระนี้จะทำปฏิกิริยากับออกซิเจนให้อนุมูลเปอร์ออกไซด์อิสระอีกตัวหนึ่ง ปฏิกิริยานี้จะมีกลไกดังสมการที่ 4

$$ROO^{\cdot} + RH \longrightarrow ROOH + R^{\cdot} \qquad (3)$$

$$R^{\cdot} + O_2 \longrightarrow ROO^{\cdot} + H^{\cdot} \qquad (4)$$

ไฮโดรเปอร์ออกไซด์ไม่เสถียรและสามารถแตกสลายให้อนุมูลที่จะไปเร่งปฏิกิริยาต่อไป ปฏิกิริยาเหล่านี้คือปฏิกิริยาลูกโซ่ในสมการที่ 5 และ 6

$$ROOH \longrightarrow RO^{\cdot} + OH^{\cdot} \qquad (5)$$

$$RO^{\cdot} + RH \longrightarrow ROH + R^{\cdot} \qquad (6)$$

ไฮโดรเปอร์ออกไซด์แตกสลายทำให้เกิดกลิ่นและรสชาติไม่ดีคล้าย ๆ กับการเกิดกลิ่นเหม็นหืนในปฏิกิริยาออกซิเดชัน สารต้านอนุมูลอิสระปฐมภูมิจะทำปฏิกิริยากับอนุมูลไขมันและเปอร์ออกไซด์อิสระจะเปลี่ยนแปลงไปอยู่ในรูปที่เสถียรมากขึ้น สารต้านอนุมูลอิสระจะให้อะตอมของไฮโดรเจนแก่กรดไขมันอิสระทำให้เกิดอนุพันธ์ของไขมันและอนุพันธ์อิสระจากสารต้านอนุมูลอิสระ ($A^{\cdot}$) ซึ่งจะมีความเสถียรและมีน้อยลงที่จะไปทำปฏิกิริยา autoxidation สารต้านอนุมูลอิสระปฐมภูมิในฐานะที่เป็นตัวให้ไฮโดรเจนจะมีความเฉพาะเจาะจงกับเปอร์ออกไซด์อิสระมากกว่าไขมัน ดังนั้นปฏิกิริยา autoxidation ที่เกิดขึ้นต่อกันจะถูกยับยั้งโดยสารต้านอนุมูลอิสระปฐมภูมิ (ดังสมการ 7 และ 8) สารต้านอนุมูลอิสระจะมีปฏิกิริยากับกรดไขมันอิสระโดยตรง (ดังสมการ 9)

$$ROO^{\cdot} + AH \longrightarrow ROOH + A^{\cdot} \qquad (7)$$

$$RO^{\cdot} + AH \longrightarrow ROH + A^{\cdot} \qquad (8)$$

$$R^{\cdot} + AH \longrightarrow RH + A^{\cdot} \qquad (9)$$

อนุมูลของสารต้านอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นเมื่อให้ไฮโดรเจนไปแล้วจะมีความเสถียร โดยจะทำปฏิกิริยากับไขมันได้น้อยมากซึ่งจะทำให้เกิดปฏิกิริยาต่อไปได้น้อย อนุมูลของสารต้านออกซิเดชันสามารถเข้าร่วมในปฏิกิริยาสุดท้ายโดยทำปฏิกิริยากับอนุมูลเปอร์ออกซี (สมการที่ 10) ออกซี (สมการที่ 11) และอนุมูลของสารต้านอนุมูลอิสระอื่นๆ (สมการที่ 12) ปฏิกิริยาเหล่านี้คือการหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระอัตโนมัติ

$$ROO^{\cdot} + A^{\cdot} \longrightarrow ROOA \qquad (10)$$

$$RO^{\cdot} + A^{\cdot} \longrightarrow ROA \qquad (11)$$

$$A^{\cdot} + A^{\cdot} \longrightarrow AA \qquad (12)$$

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ก่อนที่จะเริ่มปฏิกิริยา autoxidation จะต้องผ่านช่วงเวลาเหนี่ยวนำซึ่งจะมีการเกิดอนุมูลอิสระและสารต้านออกซิเดชันถูกใช้ไป ดังนั้น สารต้านอนุมูลอิสระปฐมภูมิจะมีประสิทธิภาพมากถ้ามีการเติมลงไปในช่วงแรกของการเกิดออกซิเดชันเมื่อยังไม่เกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ต่อไป การเติมสารต้านอนุมูลอิสระลงไปในไขมันซึ่งมีปริมาณเปอร์ออกไซด์สูงอยู่แล้วจะเป็นผลให้สารต้านอนุมูลอิสระสูญเสียการทำงานไปอย่างรวดเร็ว นอกเหนือจากหน้าที่ในการจับอนุมูลอิสระแล้วสารต้านอนุมูลอิสระปฐมภูมิยังสามารถรีดิวซ์ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ไปเป็นสารประกอบไฮดรอกซี อย่างไรก็ตามกลไกในการต้านอนุมูลอิสระของสารต้านก็คือการจับกับอนุมูลอิสระ

2.4 การใช้วัตถุกันหืนในผลิตภัณฑ์อาหาร

ในปัจจุบันมีการใช้วัตถุกันหืนที่ได้จากการสังเคราะห์และที่ได้จากสารธรรมชาติอย่างกว้างขวาง ซึ่งจะนำมาใช้เป็นวัตถุกันหืนในผลิตภัณฑ์อาหารต่างๆ ดังต่อไปนี้คือ

2.4.1 น้ำมันและไขมันพืช

น้ำมันพืชและผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น น้ำมันถั่วเหลือง มาการีน น้ำมันสลัดและเนยขาว เป็นต้น ปัจจุบันได้มีปริมาณความต้องการบริโภคน้ำมันและไขมันที่เพิ่มสูงขึ้นมากเนื่องจากเหตุผลที่ต้องการรักษาสุขภาพเพราะผู้บริโภคส่วนใหญ่เริ่มมีความรู้ดีขึ้นจึงมักจะพยายามหลีกเลี่ยงการบริโภคไขมันและน้ำมันสัตว์ น้ำมันพืชและผลิตภัณฑ์จากน้ำมันพืชที่กล่าวเป็นผลิตภัณฑ์ที่เป็นองค์ประกอบเป็นกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวเป็นส่วนใหญ่จึงมักจะเกิดการเสียเนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส การเกิดโพลิเมอไรเซชันและปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ได้กล่าวเกือบทุกขั้นตอนของการแปรรูป อาทิเช่น การสกัด การแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์และระหว่างการเก็บรักษาเพื่อรอบริโภค เป็นต้น เพื่อเป็นการป้องกันหรือชะลอการเสียต่างๆ ให้เกิดช้าลงจึงได้มีการใช้วัตถุกันหืนช่วยโดยทั่วไปแล้วในน้ำมันพืชหรือผลิตภัณฑ์จะมีวัตถุกันหืนธรรมชาติหรือโทโคฟีรอลอยู่แล้วแต่ มักจะไม่เพียงพอในการป้องกันการเสียดังกล่าวจึงต้องมีการใช้วัตถุกันหืนสังเคราะห์ ซึ่งจาการทดลองของ Sherwin (1978) แสดงให้เห็นว่าวัตถุกันหืนที่มีหมู่ไฮดรอกซิลหลายๆ หมู่หรือวัตถุกันหืนประเภทที่เป็นสารประกอบโพลิไฮดรอกซีฟีนอลิก (polyhydroxy phenolics antioxidants) เช่น ทีบีเอชคิวและโพรพิลแกลเลตจะมีประสิทธิภาพที่ดีที่สุดสำหรับผลิตภัณฑ์ประเภทน้ำมันพืช ส่วนพวก sterically hindered phenol เช่น บีเอชเอและบีเอชทีจะมีประสิทธิภาพรองลงมา ส่วนการวัตถุกันหืนธรรมชาติจะสามารถช่วยได้น้อยมากหรือแทบไม่มีเลย (ศิวาพร, 2546)

2.4.2 ไขมันและน้ำมันสัตว์

ไขมันและน้ำมันสัตว์แตกต่างจากไขมันและน้ำมันพืช คือไขมันและน้ำมันสัตว์จะประกอบไปด้วยกรดไขมันที่อิ่มตัวเป็นส่วนใหญ่ วัตถุกันหืนที่ใช้ในไขมันและน้ำมันสัตว์นั้นนอกจากมีวัตถุประสงค์เพื่อช่วยชะลอปฏิกิริยาออกซิเดชันแล้วยังต้องมีคุณสมบัติ carry through ในผลิตภัณฑ์อาหารที่ใช้ไขมันหรือน้ำมันนี้ด้วย บีเอชเอจัดเป็นวัตถุกันหืนที่มีประสิทธิภาพดีมากในน้ำมันหมูและ

108240

พบประสิทธิภาพที่ดียิ่งขึ้น ถ้าหากมีการใช้ร่วมกับสารเสริมฤทธิ์วัตถุกันหืนไม่ว่าจะเป็นกรดซิตริก กรดฟอสฟอริก เลซิทิน (lecithin) หรือเมไทโอนิน (methionine) การใช้บีเอชเอร่วมกับโพรพิลแกลเลตและกรดซิตริกจะให้ผลดีที่สุดซึ่งการใช้บีเอชเอนั้น นอกจากจะช่วยชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันแล้วโดยทั่วไปจะใช้วัตถุกันหืนที่ประกอบด้วยสารสังเคราะห์จำพวกบีเอชเอร้อยละ 20 โพรพิลแกลเลตร้อยละ 6 และกรดซิตริกร้อยละ 6 (ศิวาพร, 2546)

2.4.3 ผลิตภัณฑ์อาหารประเภทเนื้อสัตว์

ผลิตภัณฑ์อาหารประเภทเนื้อสัตว์รวมถึงผลิตภัณฑ์จากหมู วัว ไก่ เป็นต้น ทั้งในรูปที่ยังไม่ได้มีการทำให้สุกหรือสุกแล้วก็ตามมักจะมีการเสียจากปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นเนื่องจากในอาหารประเภทเนื้อสัตว์ นอกจากนี้จากการศึกษาพบว่าปัจจัยที่เร่งให้มีการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเร็วขึ้นในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์คือ รงควัตถุในเนื้อ เกลือ กรรมวิธีในการแปรรูป และภาชนะในการบรรจุ เป็นต้น สำหรับการศึกษาถึงผลของวัตถุกันหืนในการชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันและรงควัตถุในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์นั้นและยังมีรายงานว่า บีเอชเอและโพรพิลแกลเลตจะช่วยป้องกันการเกิดออกซิเดชันของไขมันและรงควัตถุในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ที่ผ่านการทำให้สุกนอกจากนี้ยังได้มีรายงานผลการทดลองใช้บีเอชเอร่วมกับโพรพิลแกลเลตและแอสคอร์บิลพาลมิเทตในเนื้อบด สารทั้ง 3 จะช่วยเสริมฤทธิ์ในการยืดอายุของเนื้อบดได้เป็นอย่างดี เป็นต้น แต่โดยทั่วไปแล้วการเสื่อมของเสียของอาหารนั้นมักมีสาเหตุเนื่องมาจากจุลินทรีย์เป็นส่วนใหญ่ ซึ่ง จุลินทรีย์มักจะมีการปนเปื้อนมาตั้งแต่วัตถุดิบ กระบวนการผลิต การบรรจุรวมถึงการขนส่งจึงมีการเติมสารต้านจุลินทรีย์ลงในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาโดยไปชะลอหรือยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในอาหาร (ศิวาพร, 2546)

2.5 สารต้านการเจริญของจุลินทรีย์ (Antimicrobial)

สารต้านการเจริญของจุลินทรีย์ หมายถึง สารเคมีที่เติมลงในอาหารเพื่อป้องกันหรือชะลอการเสื่อมเสียของอาหารอันเนื่องมาจากจุลินทรีย์ ซึ่งอาจเป็น ยีสต์ ราหรือแบคทีเรีย คุณสมบัติของสารต้านการเจริญของจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในอาหารนั้น ต้องเป็นสารที่ให้ผลดีในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีภายใต้เงื่อนไขกว้างขวางมีช่วงในการทำงานอย่างเพียงพอมีความคงตัวในอาหารและไม่ทำปฏิกิริยากับสารอื่น ๆ ที่เติมลงไปหรือองค์ประกอบของอาหารไม่ก่อให้เกิดสี กลิ่น รส ที่ไม่ต้องการ นอกจากนี้ต้องไม่เป็นสารที่ทำให้เกิดพิษต่อร่างกายด้วยการใช้สารต้านจุลินทรีย์ในอาหารต้องใช้ในปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดเท่านั้น ซึ่งประสิทธิภาพของสารต้านจุลินทรีย์จะขึ้นอยู่กับปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นและองค์ประกอบทางเคมีและความเป็นกรดเบสของอาหาร ตัวอย่างสารต้านการเจริญของจุลินทรีย์ในอาหารที่นิยมใช้กันทั่วไป เช่น เบนโซ และเบนโซเอทมักใช้ในอาหารพวก มาการิน มายองเนส ผักดอง มาร์เนด แยม เยลลี่ สารไนเตรตและไนไตรต์ นิยมใช้ในอาหารพวกเนื้อหมักการผลิตเนยแข็งและมีการใช้กรดซอร์บิกในการทำเนยแข็ง มาการีน ผลิตภัณฑ์ปลาและผักผลไม้ดอง เป็นต้น (Caldwell และคณะ, 1964) ผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์เป็นอาหารอีกชนิดหนึ่งที่เกิดการเสื่อมเสีย

ได้ง่ายทั้งเกิดจากการปฏิกิริยาออกซิเดชัน และเกิดจากจุลินทรีย์เนื่องจากเนื้อสัตว์มีองค์ประกอบที่เป็นไขมันรวมอยู่ด้วยอีกทั้งยังต้องผ่านกระบวนการฆ่าสัตว์ กระบวนการแปรรูปรวมถึงการเก็บรักษาแต่ถึงกระนั้นการบริโภคเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ก็ยังคงมีความจำเป็นอยู่เนื่องจากเนื้อสัตว์เป็นอาหารที่ให้โปรตีนคุณภาพดี ร่างกายต้องการสารอาหารโปรตีนเป็นอันดับที่ 2 รองจากคาร์โบไฮเดรต จึงเป็นเหตุให้มีการผลิตเนื้อ การเก็บรักษาและการแปรรูปเนื้อสัตว์เพื่อให้ได้เนื้อสัตว์ที่มีปริมาณมากและมีคุณภาพดีเหมาะสมต่อการบริโภค ซึ่งเนื้อสัตว์จะถูกนำมาดำเนินการใดๆ เพื่อให้คุณสมบัติเดิมของเนื้อสดถูกแปรเปลี่ยนไปโดยการใช้วิธีการเพียงหนึ่งหรือหลายๆ วิธีด้วยกัน ได้แก่ การหั่น การบด การสับบดละเอียด การเติมสารปรุงรสและแต่งสี การใช้ความร้อน การทำแห้งและการรมควัน เป็นต้น (Caldwell และคณะ, 1964)

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์

3.1.1 วัตถุดิบ

3.1.1.1 ผักพื้นบ้านที่ใช้ในการดำเนินงานได้แก่ ส่วนใบของผักแพรว (*Polygonum odoratum*Lour.) ผักแขยง (*Limnophila aromatica* Merr.) ผักชะมวง (*Garcinia cowa*) ใบขี้เหล็ก (*Cassia siamea* Lamk.) จากตลาดในกรุงเทพมหานครและโรสแมรี่ (*Rosmarinus officinalis'* L.)

3.1.1.2 ส่วนผสมที่ใช้ในการผลิตกุนเชียง

ส่วนผสมที่ใช้ได้แก่ เนื้อหมู มันหมู ไส้หมู น้ำตาลทราย เกลือ สารละลายโซเดียมแลคเตท (sodium lactate, มีชื่อทางการค้า S-LAC FG60 ได้มาจากบริษัทวิคกี้ เอนเตอร์ไพรซ์จำกัด เป็นสารที่อยู่ในรูปของเหลวมีความเข้มข้นร้อยละ 58.5-61.5) มอลโตเด็กซ์ตริน (maltodextrin, DE Value = 17-19% ได้มาจากบริษัทกฤติยา รอยัลจำกัด) และบีเอชที (butylated hydroxyl toluene, BHT มีชื่อทางการค้า yoshinox BHT ได้จากบริษัท Food EQ)

3.1.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการดำเนินงานได้แก่ Plate count agar (PCA) และสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1

3.1.3 สารเคมี

สารเคมีที่ใช้ในการดำเนินงานได้แก่ กรดไทโอบาบิทูริก (thiobarbituric) กรดแอซิติก (acetic acid) 1,1,3,3 เตตราอิทอกซิลโพเพน (1,1,3,3-tetraethoxypropane, Sigma-Aldrich, Inc., Germany) เมทานอล (methanol) สารละลายโพแทสเซียมอะซิเตท (potassium acetate) สารละลายแมกนีเซียมคลอไรด์ (magnesium chloride) สารละลายโซเดียมโบรไมด์ (sodium bromide) สารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ (potassium iodide) สารละลายโซเดียมคลอไรด์ (sodium chloride) สารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ (potassium chloride) สารละลายโพแทสเซียมซัลเฟต (potassium sulphate)

3.1.4 เครื่องมือ

เครื่องมือที่ใช้ในการดำเนินงานได้แก่ ตู้ปลอดเชื้อ (BossTech, VT 90) เครื่องตีป่น (BEC THAI) เครื่องระเหยสุญญากาศ (Heidolph, LABOROTA 4001) หม้อนึ่งความดัน (HIRAMA) เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (SHIMADZU, Spectrophotrometer UV - 1601) เครื่องเขย่า (Orbital Shaker, FTOI/156) เครื่องทำแห้งเยือกแข็ง (LABCONCO, BIO. 31/02) ชุดอุปกรณ์เครื่องกลั่น เครื่องสกัดไขมัน (Soxhlet Apparatus) เครื่องวัดพีเอช (Testo 205) เครื่องวัด a_w (Novasina Thermoconstanter) เครื่อง Automated Spiral Plater (Autoplate® 4000, Spiral Biotech) และเครื่องแก้วพร้อมอุปกรณ์ต่างๆ ที่จำเป็น

จากกนั้นจึงพิจารณาผลการต้านออกซิเดชันและผลการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากผักพื้นบ้านที่ความเข้มข้นต่างๆ แล้วเลือกความเข้มข้นที่เหมาะสมมาทำการทดลองต่อไป

3.2 วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.2.1 การศึกษาผลของสารสกัดจากผักพื้นบ้านที่ความเข้มข้นต่างๆ ในการต้านออกซิเดชันของไขมันและการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในกุนเชียง

3.2.1.1 การเตรียมสารสกัดผักพื้นบ้าน

นำผักพื้นบ้านแต่ละชนิดได้แก่ ผักแพรว ผักแขยง ผักชะมวงและใบขี้เหล็ก ล้างให้สะอาดนำผักไปแช่แข็งเป็นเวลา 24 ชั่วโมงแล้วไปทำให้แห้งโดยเครื่องทำแห้งเยือกแข็ง (freeze dryer, LABCONCO, BIO.31/02) นำผักแห้งที่ได้ไปบดให้ละเอียดชั่งผงผักแห้ง 10 กรัม เติมเมทานอล 150 มิลลิลิตร ใส่ลงไปในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตรผสมให้เข้ากันแล้วนำไปทำการเขย่าที่ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นนำมากรองด้วยผ้าขาวบางและนำสารสกัดที่กรองได้มาระเหยเมทานอลโดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศ (rotary evaporator) จากนั้นนำไปทำแห้งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสจะได้สารสกัดจากผักพื้นบ้าน

3.2.1.2 การผลิตสารต้านออกซิเดชันจากผักพื้นบ้านเพื่อใช้เป็นวัตถุเจือปนอาหาร

นำสารสกัดผักที่ได้แต่ละชนิดมาผลิตเป็นผงสารสกัดผักแห้ง 4 สูตรโดยผสมสารสกัดผักกับมอลโตเด็กซ์ตริน (maltodextrin, DE value = 17-19%) ในอัตราส่วน 40:60 ได้แก่ 1) ผงสารสกัดผักแพรว (PE) ซึ่งประกอบด้วยผงสารสกัดผักแพรวอย่างเดียว 2) ผงสารสกัดผักผสมสูตร 1 (MVE_1) ซึ่งประกอบด้วยสารสกัดผักแพรวร้อยละ 15 สารสกัดจากใบขี้เหล็กร้อยละ 10 สารสกัดจากผักแขยงร้อยละ 5 และสารสกัดจากผักชะมวงร้อยละ 10 3) ผงสารสกัดผักผสมสูตร 2 (MVE_2) ซึ่งประกอบด้วยสารสกัดผักแพรวร้อยละ 15 สารสกัดจากใบขี้เหล็กร้อยละ 10 สารสกัดจากผักแขยงร้อยละ 10 และสารสกัดจากผักชะมวงร้อยละ 5 และ 4) ผงสารสกัดโรสแมรี่ (RM) ซึ่งประกอบด้วยผงสารสกัดโรสแมรี่อย่างเดียว เมื่อนำสารสกัดผักแห้งแต่ละสูตรมาผสมกับมอลโตเด็กซ์ตรินแล้วนำไปทำแห้งให้สมบูรณ์อีกครั้งด้วยเครื่องทำแห้งเยือกแข็งที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 วัน

3.2.1.3 การเปรียบเทียบผลของสารสกัดจากผักพื้นบ้านที่ความเข้มข้นต่างๆ ในการต้านออกซิเดชันของไขมันและการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในกุนเชียง

ทำการเตรียมกุนเชียงโดยมีส่วนผสมดังนี้ เนื้อหมูร้อยละ 62.30 มันหมูร้อยละ 23.36 น้ำตาลทรายร้อยละ 9.97 และเกลือร้อยละ 0.62 ผสมส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากันจากนั้นแบ่งส่วนผสมออกเป็น 14 ส่วน ส่วนละ 400 กรัม ในการทดลองนี้ได้เปรียบเทียบการเติมผงสารสกัดจากผักพื้นบ้านของไทย (PE, MVE_1 และ MVE_2) และสารสกัดจากโรสแมรี่ (RM) เพื่อให้มีเนื้อสารสกัดจากพืชความเข้มข้นร้อยละ 0.02, 0.1 และ 0.2 (ไม่รวมน้ำหนักของมอลโตเด็กซ์ตริน) โดยเปรียบเทียบกับการเติม BHT ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.02 (ความเข้มข้นสูงสุดที่กฎหมายอนุญาตให้เติมในอาหารได้) และการ

ไม่เติมสารต้านออกซิเดชันชนิดใดๆ (ชุดควบคุม) ดังนั้นในการทดลองนี้จึงแบ่งการทดลองออกเป็น 14 ทรีตเมนต์ (treatment) ได้แก่ ชุดที่ 1 กุนเชียงชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมสารต้านออกซิเดชันชนิดใดๆลงไป ชุดที่ 2 กุนเชียงที่เติม BHT ร้อยละ 0.02 ชุดที่ 3 กุนเชียงที่เติม PE ร้อยละ 0.02 ชุดที่ 4 กุนเชียงที่เติม PE ร้อยละ 0.1 ชุดที่ 5 กุนเชียงที่เติมสารต้าน PE ร้อยละ 0.2 ชุดที่ 6 กุนเชียงที่เติม MVE_1 ร้อยละ 0.02 ชุดที่ 7 กุนเชียงที่เติม MVE_1 ร้อยละ 0.1 ชุดที่ 8 กุนเชียงที่เติม MVE_1 ร้อยละ 0.2 ชุดที่ 9 กุนเชียงที่เติม MVE_2 ร้อยละ 0.02 ชุดที่ 10 กุนเชียงที่เติม MVE_2 ร้อยละ 0.1 ชุดที่ 11 กุนเชียงที่เติม MVE_2 ร้อยละ 0.2 ชุดที่ 12 กุนเชียงที่เติม RM ร้อยละ 0.02 ชุดที่ 13 กุนเชียงที่เติม RM ร้อยละ 0.1 ชุดที่ 14 กุนเชียงที่เติม RM ร้อยละ 0.2

เมื่อทำการผสมส่วนผสมทุกชนิดของสูตรกุนเชียงกับสารต้านออกซิเดชันชนิดต่างๆ แต่ละทรีตเมนต์แล้วทำการบรรจุเนื้อหมูใส่ลงไปในไส้หมูนำไปอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 43 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสในสภาพควบคุม ความชื้นสัมพัทธ์ 85 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 20 วัน แล้วทำการวิเคราะห์กุนเชียงแต่ละชุดที่เวลา 0, 5, 12, 16 และ 20 วันของการเก็บรักษาโดยวัดค่ากรดไทโอบาบิทูริก (thiobarbituric acid value, TBA value) ตามวิธีการของ Kirk และ Sawyer (1991) วิเคราะห์หาจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (total viable counts) ในกุนเชียง วิเคราะห์หาปริมาณไขมัน วัดค่า a_w โดยเครื่องวัด a_w (Novasina Thermoconstanter รุ่น TH 200) วัดค่าพีเอชโดยเครื่องวัดพีเอช (Testo 205) และวัดค่าสีของกุนเชียงด้วยเครื่องวัดสีของมินอลต้า รุ่น CR-300 ซึ่งวิธีการวิเคราะห์มีดังนี้

ก) การวัดค่าการเกิดปฏิกิริยาของกรดไทโอบาบิทูริกตามวิธีการของ Kirk และ Sawyer (1991)

การทดลองนี้จะเป็นการตรวจสอบการเกิดออกซิเดชันของไขมันโดยทำการวัดค่าการเกิดปฏิกิริยาของกรดไทโอบาบิทูริกโดยนำตัวอย่างกุนเชียงมา 10 กรัมและทำการเติมน้ำกลั่นปริมาตร 50 มิลลิลิตร ทำการผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้เครื่องตีป่นเป็นเวลา 1 นาทีแล้วชะล้างด้วยน้ำอีก 47.5 มิลลิลิตรใส่ลงไปในฟลาสก์สำหรับกลั่น เติมกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 4 โมลาร์ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร เติมลูกแก้ว (เล็กน้อย) ลงไปในฟลาสก์ให้ความร้อนโดยใช้เตาไฟฟ้ากลั่น เก็บสารละลายที่ได้จากการกลั่นปริมาตร 50 มิลลิลิตร ปิเปตต์สารที่กลั่นได้ 5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองที่มีฝาปิดเติมสาร TBA ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ปิดจุกเขย่าให้เข้ากัน โดยใช้เครื่อง Vortex และนำไปทำการต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 35 นาทีโดยตัวอย่างที่ได้จะเกิดสีแดงขึ้นมาและหลังจากนั้นนำมาแช่ในน้ำเย็นเป็นเวลา 10 นาทีสารที่ได้พร้อมที่จะนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 538 นาโนเมตรโดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (SHIMADZU,spectrophotro meter UV-1601) การเตรียมแบลงค์ (blank) ทำได้โดยใช้น้ำกลั่นปริมาตร 5 มิลลิลิตร แทนสารละลายที่กลั่นได้ จากนั้นทำการทดลองขั้นต่อไปเช่นเดียวกับการหาค่า TBA ของตัวอย่างทุกประการ ในการวัดค่าการดูดกลืนแสงจะวัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างเปรียบเทียบกับแบลงค์ นำค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่

วัดได้มาคูณกับค่า K จะได้ค่า TBA ซึ่งเป็นค่าความเข้มข้นของมาลโลนาลดีไฮด์ (malonaldehyde) ที่มีอยู่ในตัวอย่าง (mg MAD/kg sample) ซึ่งค่า K หาได้จากการทำกราฟมาตรฐานของสาร 1,1,3,3-tetraethoxypropane (TEP) ค่า TBA (thiobarbituric acid) ที่คำนวณได้แสดงอยู่ในรูปของค่า TBARS (thiobarbituric acid reactive substance) ซึ่งมีหน่วยเป็นมิลลิกรัมของมาลโลนาลดีไฮด์ต่อตัวอย่าง 1 กิโลกรัม (mg MAD/kg sample)

การเตรียม Malonaldehyde standard curve

ในการทำกราฟมาตรฐานเริ่มจากการเตรียมสารละลาย stock solution ของสาร TEP จนได้ระดับความเข้มข้น 10^{-4} และ 10^{-5} โมลต่อลิตร จากนั้นนำมาทำการเจือจางต่อเพื่อให้ได้สารละลายของ TEP ที่มีความเข้มข้นของมาลโลนาลดีไฮด์ 8 ระดับคือ $1x10^{-8}$ ถึง $8x10^{-8}$ โมลของมาลโลนาลดีไฮด์ในสารละลาย 5 มิลลิลิตร (รายละเอียดการเตรียม TEP ความเข้มข้นต่างๆ แสดงในภาคผนวก ก) จากนั้นปิเปตสารละลายมาตรฐานของ TEP ที่ความเข้มข้นของมาลโลนาลดีไฮด์ทั้ง 8 ระดับ ระดับละ 5 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลองเติมสาร TBA (thiobarbituric acid) ปริมาตร 5 มิลลิลิตรลงไปในหลอดและผสมให้เข้ากันโดยใช้เครื่อง Vortex แล้วนำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 35 นาทีหลังจากนั้นนำมาแช่ในน้ำเย็นเป็นเวลา 10 นาทีและนำสารที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 538 นาโนเมตร และทำการเตรียมแบลงค์โดยใช้น้ำกลั่นปริมาตร 5 มิลลิลิตรแทนสาร TEP นำค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานไปเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 538 นาโนเมตร กับปริมาณสารมาลโลนาลดีไฮด์ในสารละลาย 5 มิลลิลิตร (แสดงในภาคผนวก ก) จากกราฟมาตรฐานสามารถคำนวณหาค่า K ได้ดังสมการต่อไปนี้

$$K = (S/A) \times MW \times (10^6/E) \times (100/P)$$

S = ค่าความเข้มข้นมาตรฐานของสาร TEP ($1x10^{-8}$โมลใน 5 มิลลิลิตร)

A = ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน TEP ($1x10^{-8}$โมลใน 5 มิลลิลิตร)

MW = ค่าน้ำหนักโมเลกุลของมาลโลนาลดีไฮด์ ($C_3H_4O_2$) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 72

E = sample equivalent มีค่าเท่ากับ 1 ซึ่งคำนวณได้จากสัดส่วนของน้ำหนักตัวอย่างในสารที่กลั่นได้ที่นำมาใช้ เช่น ถ้าสารที่กลั่นได้ 50 มิลลิลิตร มาจากตัวอย่าง 10 กรัมดังนั้นเมื่อใช้สารที่ได้จากการกลั่นเพียง 5 มิลลิลิตร ซึ่งมาจากตัวอย่าง 1 กรัม

P = percent recovery ซึ่งหาค่าได้โดยเติมสาร TEP ปริมาตร 10ไมโครลิตร ที่ทราบปริมาณสารแน่นอนลงในกุนเชียง 10 กรัมที่เตรียมใหม่ๆ จากนั้นนำกุนเชียงที่เติมสาร TEP รวมทั้งกุนเชียงที่ไม่ได้เติมสาร TEP ไปหาค่า TBA ตามวิธีของ Tarladgis และคณะ (1960) โดยเตรียมสาร TEP เพื่อใช้เติมลงในกุนเชียงจะเตรียมที่

ความเข้มข้น 2 ระดับเพื่อให้มีปริมาณสาร TEP เป็น 0.0919 มิลลิกรัม และ 0.1838 มิลลิกรัม ในสารละลาย TEP ปริมาตร 10 ไมโครลิตรที่จะใช้เติมในกุนเชียง (วิธีการเตรียมแสดงในภาคผนวก ก) โดยเติมสาร TEP แต่ละระดับความเข้มข้นลงในกุนเชียง 2 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 10 กรัม หาค่า TBA ในตัวอย่างดังกล่าวเช่นเดียวกับวิธีการข้างต้น คำนวณหาปริมาณสารมาลโลนาลดีไฮด์ที่มีในตัวอย่างทุกตัวอย่าง คำนวณหาปริมาณสารมาลโลนาลดีไฮด์ที่ได้หลังกลั่น (หลังจากหักลบออกจากปริมาณสารนี้ในกุนเชียงชุดควบคุม) เปรียบเทียบกับปริมาณ TEP เริ่มต้นที่เติมลงไปจะได้ค่า percent recovery

ข) การวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์ที่อยู่ในกุนเชียง

ชั่งกุนเชียง 25 กรัม ใส่ลงไปในจานแก้วที่ผ่านการฆ่าเชื้อ นำกุนเชียงที่ได้ใส่ลงไปในถุงตีป่นปลอดเชื้อเติมสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตร 225 มิลลิลิตรลงในถุงตีป่นนั้น ตีป่นด้วยเครื่องตีป่นอาหารนาน 1 นาทีด้วยความเร็วปานกลางทำการเจือจางต่อไปจนได้ระดับความเจือจางถึง 10^{-4} ปิเปตตัวอย่างที่ระดับความเจือจาง 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4} ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงบนจานอาหาร PCA เกลี่ยตัวอย่างให้ทั่วอาหารด้วยแท่งแก้วงอที่ปราศจากเชื้อคว่ำจานแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงนับโคโลนีบนจานที่มีจำนวน 25-250 โคโลนี คำนวณในรูป CFU ต่อมิลลิกรัมของตัวอย่าง

ค) การวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน

ชั่งตัวอย่าง 3 กรัม ใส่ลงใน extraction thimble ปิดด้านบนด้วยสำลีปราศจากไขมัน นำไปอบในตู้อบอุณหภูมิ 97-100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำ thimble ดังกล่าวใส่ลงใน soxhlet tube ประกอบเข้ากับ condenser และฟลาสก์ (flask) ที่สะอาดและทราบน้ำหนักที่แน่นอนแล้ว เติมปิโตรเลียมอีเทอร์ (petroleum ether) ลงไปให้มากเกินพอปรับระดับความร้อนให้กับ soxhlet tube จนอีเทอร์ระเหยเป็นไอและควบแน่นหยดลงบนตัวอย่างอย่างต่อเนื่องกันเป็นเวลา 2 ชั่วโมงนำฟลาส์กที่มีสารที่สกัดได้ไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นทิ้งไว้ให้เย็นใน desicator แล้วชั่งจนได้น้ำหนักที่คงที่ น้ำหนักของฟลาสก์ที่เพิ่มขึ้นเป็นน้ำหนักปริมาณไขมัน (crude fat) คำนวณหาน้ำหนักของไขมันในอาหารตามสมการดังนี้

$$\text{ร้อยละของปริมาณไขมัน (crude fat) ในอาหาร} = \frac{(B-A) \times 100}{W}$$

A คือน้ำหนักของฟลาสก์ที่รองรับ

B คือน้ำหนักของฟลาสก์ + น้ำหนักของ crude fat

W คือของตัวอย่างอาหาร

ง) วัดค่า a_w และค่าพีเอช

ทำการวัดค่า a_w โดยเครื่องวัด a_w (Novasina Thermoconstanter) โดยตัดตัวอย่างกุนเชียง 3 กรัมให้ละเอียดใส่ในตลับวัด นำไปเข้าเครื่องวัดรอให้เครื่องอ่านค่า (สังเกตจากลูกศรที่แสดงบนเครื่องครบทั้ง 8) และค่าพีเอชโดยเครื่องวัดพีเอช (testo 205)

จ) การวัดค่าสี

ทำการวิเคราะห์สีของกุนเชียงด้วยเครื่องวัดสีของมินอลต้า รุ่น CR-300 วัดค่าสีระบบ CIE L* a* b* โดยใช้ตัวอย่างในการวิเคราะห์สีปริมาตร 10 กรัม โดยนำหลอดฉายแสงวางลงบนกุนเชียง กดปุ่ม measure บนเครื่องประมวลผลข้อมูล เครื่องวัดสีจะทำการวัด 3 ครั้ง ข้อมูลที่วัดได้จะแสดงเป็นค่าความสว่าง (L*) ความเป็นสีแดง (a*) ความเป็นสีเหลือง (b*)

3.2.2 การศึกษาผลของสารต้านออกซิเดชันชนิดต่างๆ ร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของไขมันและการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในกุนเชียง

การทดลองในขั้นนี้ได้ทำการเปรียบเทียบคุณสมบัติการต้านการเกิดออกซิเดชันของไขมันและการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารต้านออกซิเดชันชนิดต่างๆ ที่ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมที่คัดเลือกได้ผลจากการทดลองข้อ 3.2.1.3 ร่วมกับโซเดียมแลคเตทในกุนเชียงโดยทำการเตรียมกุนเชียงเช่นเดียวกับข้อ 3.2.2 และแบ่งกุนเชียงออกเป็น 11 ส่วน ส่วนละ 550 กรัม นำมาเติมสารต้านออกซิเดชันชนิดต่างๆ ซึ่งเปรียบเทียบการใช้สารต้านออกซิเดชันชนิดต่างๆ อย่างเดียวได้แก่ ผงสารสกัดจากผักพื้นบ้านของไทย (PE , MVE_1 และ MVE_2) กับผงสารสกัดจากโรสแมรี่ (RM) ความเข้มข้นที่เหมาะสมที่คัดเลือก สารกันหืนสังเคราะห์ (BHT) ความเข้มข้นร้อยละ 0.02 โซเดียมแลคเตทในรูปของเหลวความเข้มข้นร้อยละ 2.5 (22.94 กรัมต่อกุนเชียง 550 กรัม) และสารต้านออกซิเดชันแต่ละชนิดดังกล่าวที่ความเข้มข้นเหมาะสมร่วมกับโซเดียมแลคเตทความเข้มข้นร้อยละ 2.5 ซึ่งจะแบ่งการทดลองได้เป็น 11 ทรีตเมนต์ ดังนี้ ชุดที่ 1 กุนเชียงชุดควบคุมที่ไม่มีการใส่สารใดๆ ชุดที่ 2 กุนเชียงที่เติม BHT ความเข้มข้นร้อยละ 0.02 ชุดที่ 3 กุนเชียงที่เติมโซเดียมแลคเตทความเข้มข้นร้อยละ 2.5 (22.94 กรัม) ชุดที่ 4 กุนเชียงที่เติม PE ความเข้มข้นที่เหมาะสม ชุดที่ 5 กุนเชียงที่เติม MVE_1 ความเข้มข้นที่เหมาะสม ชุดที่ 6 กุนเชียงที่เติม MVE_2 ความเข้มข้นที่เหมาะสม ชุดที่ 7 กุนเชียงที่เติม RM ความเข้มข้นที่เหมาะสม ชุดที่ 8 กุนเชียงที่เติม PE ความเข้มข้นที่เหมาะสมร่วมกับโซเดียมแลคเตท ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 ชุดที่ 9 กุนเชียงที่เติม MVE_1 ความเข้มข้นที่เหมาะสมร่วมกับโซเดียมแลคเตท ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 ชุดที่ 10 กุนเชียงที่ เติม MVE_2 ความเข้มข้นที่เหมาะสมร่วมกับโซเดียมแลคเตทความเข้มข้นร้อยละ 2.5 และชุดที่ 11 กุนเชียงที่เติม RM ความเข้มข้นที่เหมาะสมร่วมกับโซเดียมแลคเตทความเข้มข้นร้อยละ 2.5

เมื่อทำการผสมส่วนผสมของกุนเชียงและสารต้านออกซิเดชันชนิดต่างๆ ดังกล่าวลงไปในแต่ละชุดแล้วทำการบรรจุเนื้อหมูใส่ลงไปในไส้หมูนำไปอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 43 องศา

เซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสที่ความชื้นสัมพัทธ์ 85 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 21 วัน ทำการวิเคราะห์ค่าของกรดไทโอบาบิทูริกตามวิธีการของ Kirk และ Sawyer (1991) วิเคราะห์จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดโดยใช้เทคนิค Spiral plater ด้วยเครื่อง Automated Spiral Plater และวัดค่าพีเอชในวันที่ 0, 3, 7, 14 และ 21 ของการเก็บรักษาและวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน วัดค่า a_w และประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของกุนเชียงในวันที่ 0 และวันที่ 21 ของการเก็บรักษา

ในการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้วยวิธีการพรรณนาเชิงทั่วไป (descriptive analysis) ของสเกลลำดับคุณภาพโดยใช้ผู้ทดสอบชิมที่ผ่านการฝึกฝนมาก่อนจำนวน 7 คน ประเมินคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสในด้านสีที่ปรากฏ (color) ลักษณะเนื้อสัมผัส (texture) กลิ่นหืน (rancid flavour) ความหวาน (sweetness) และความชอบรวม (overall acceptibility) โดยผู้ทดสอบชิมให้คะแนนของคุณลักษณะดังกล่าว ซึ่งแบ่งสเกลการให้คะแนนเป็น 5 ระดับ (คะแนน 1- 5) ซึ่งบ่งบอกความเข้มของคุณลักษณะจากอ่อนไปจนถึงเข้มมากดังนี้

1) คุณลักษณะของสีที่ปรากฏ; คะแนน 1 หมายถึง สีแดงซีด คะแนน 2 หมายถึง สีแดง คะแนน 3 หมายถึง สีแดงเข้ม คะแนน 4 หมายถึง สีแดงผสมเขียว และคะแนน 5 หมายถึง สีแดงผสมน้ำตาล

2) คุณลักษณะของกลิ่นหืน; คะแนน 1 หมายถึง ไม่มีกลิ่น คะแนน 2 หมายถึง กลิ่นหืนเล็กน้อย คะแนน 3 หมายถึง กลิ่นหืนปานกลาง คะแนน 4 หมายถึง กลิ่นค่อนข้างหืน และคะแนน 5 หมายถึง กลิ่นหืนมาก

3) คุณลักษณะของความหวาน; คะแนน 1 หมายถึง หวานน้อย คะแนน 2 หมายถึง หวาน คะแนน 3 หมายถึง หวานปานกลาง คะแนน 4 หมายถึง หวานมาก และคะแนน 5 หมายถึง หวานมากที่สุด

4) คุณลักษณะด้านเนื้อสัมผัส; คะแนน 1 หมายถึง เนื้อละเอียดมาก คะแนน 2 หมายถึง ละเอียดปานกลาง คะแนน 3 หมายถึง เนื้อละเอียดน้อย คะแนน 4 หมายถึง เนื้อหยาบ และคะแนน 5 หมายถึง เนื้อหยาบมาก

5) คุณลักษณะด้านความชอบรวม; คะแนน 1 หมายถึง ชอบ คะแนน 2 หมายถึง ชอบเล็กน้อย คะแนน 3 หมายถึง ชอบปานกลาง คะแนน 4 หมายถึง ชอบมาก และคะแนน 5 หมายถึง ชอบมากที่สุด

ในการทดลองนี้ได้จะแบ่งกุนเชียงแต่ละทรีตเมนต์ไปทอด แล้วหั่นเป็นชิ้นๆ ใส่ในภาชนะสำหรับทดสอบซึ่งติดรหัสเป็นตัวเลข 3 หลักไว้ ให้ผู้ทดสอบชิมและประเมินตัวอย่างตามรหัสที่ติดไว้ที่ภาชนะ

3.2.3 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำผลการทดลองทั้ง 2 ซ้ำ มาวิเคราะห์ทางสถิติ โดยใช้ analysis variance (ANOVA) และ Duncan's multiple range test ในการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของข้อมูลแต่ละทรีตเมนต์ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 คำนวณโดยใช้โปรแกรม SAS version 6.12

บทที่ 4
ผลการวิจัยและวิจารณ์

4.1 ผลการวิจัย

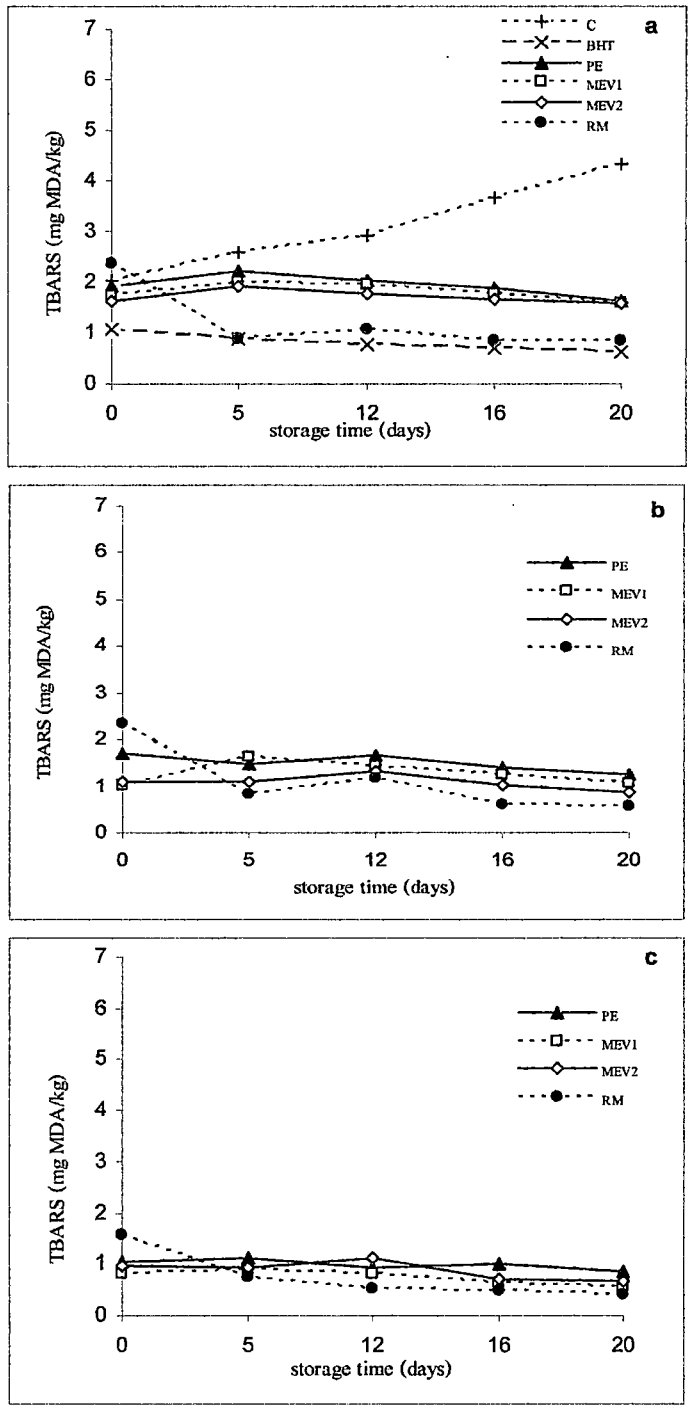
4.1.1. ผลของสารสกัดจากผักพื้นบ้านที่ความเข้มข้นต่างๆ ในการต้านออกซิเดชันของไขมันและการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในกุนเชียง

จากการศึกษาผลของการใช้สารต้านออกซิเดชันธรรมชาติจากพืชได้แก่ PE, MVE_1, MVE_2และ RM รวมทั้งสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์คือ BHT ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.02, 0.1 และ 0.2 ต่อการต้านออกซิเดชันในกุนเชียงที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 20 วัน การเปลี่ยนแปลงของค่า TBARS ในกุนเชียงแสดงดังรูปที่ 4.1 จะเห็นได้ว่ากุนเชียงชุดควบคุมคือกุนเชียงที่ไม่ได้เติมสารต้านออกซิเดชันชนิดใดๆ จะมีค่า TBARS สูงขึ้นเรื่อยๆ ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาตั้งแต่วันที่ 0 ถึงวันที่ 20 โดยค่า TBARS ของกุนเชียงชุดควบคุมมีค่ามากกว่าค่า TBARS ของกุนเชียงที่เติม BHT, RM, PE, MVE_1 และ MVE_2 ที่ทุกช่วงเวลาของการเก็บรักษาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เมื่อพิจารณาการเติมสารต้านออกซิเดชันที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.02 (รูปที่ 4.1a) จะเห็นว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นค่า TBARS ของกุนเชียงที่เติมสารต้านออกซิเดชัน PE, MVE_1 และ MVE_2 มีค่าเพิ่มขึ้นมากกว่ากุนเชียงที่เติมสารต้านออกซิเดชัน RM และกุนเชียงที่เติม BHT เมื่อเก็บรักษาครบ 20 วัน ค่า TBARS ของกุนเชียงที่เติม BHT จะลดต่ำลงที่สุด (0.61) ตามด้วยกุนเชียงที่เติม RM, PE, MVE_1, MVE_2และชุดควบคุมซึ่งมีค่า TBARS ลดลงเป็น 0.85, 1.65, 1.61, 1.60 และ 4.33 มิลลิกรัมของมาลโลนาลดีไฮด์ต่อกิโลกรัมของตัวอย่าง (mg malonaldehyde (MDA)/kg sample) ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับค่า TBARS เริ่มต้นซึ่งมีค่า 1.09, 2.39, 1.94, 1.75, 1.61 และ 2.02 (mg MDA/kg) ตามลำดับ เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของสารต้านออกซิเดชันที่เติมในกุนเชียงเป็นร้อยละ 0.1 และ 0.2 พบว่าค่า TBARS ของกุนเชียงส่วนใหญ่ที่เติมสารต้านออกซิเดชันความเข้มข้นร้อยละ 0.2 (รูปที่ 4.1c) และกุนเชียงที่เติมสารต้านออกซิเดชันร้อยละ 0.1 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) (รูปที่ 4.1b) แต่มีความแตกต่างกับกุนเชียงที่เติมสารต้านออกซิเดชันความเข้มข้นร้อยละ 0.02 ที่ทุกช่วงเวลาการเก็บรักษาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P< 0.05$) สำหรับกุนเชียงที่เติมสารต้านออกซิเดชันที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.2 พบว่าค่า TBARS ของกุนเชียงที่เติม PE, MVE_1 และ MVE_2 มีค่า TBARS เพิ่มขึ้นในช่วง 5 วันแรกของการเก็บรักษาและหลังจากวันที่ 12 ค่า TBARS ได้ลดลงเรื่อยๆ ตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษาจนครบ 20 วันส่วนค่า TBARS ของกุนเชียงที่เติมสาร RM และ BHT ลดน้อยลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาซึ่งการเติม BHT มีผลทำให้ค่า TBARS ลดลงมากที่สุด ดังนั้นจะเห็นว่าการเติมสารกันหืนปริมาณมากในกุนเชียงจะช่วยชะลอการเกิดออกซิเดชัน

ของไขมันได้ดีกว่าการเติมสารกันหืนปริมาณน้อยเนื่องจากระดับความเข้มข้นสูงจะทำให้ค่า TBARS ลดลงอย่างเห็นได้ชัด

เมื่อพิจารณาคุณลักษณะทางเคมีและจุลินทรีย์ของกุนเชียงที่เติมสารต้านออกซิเดชันชนิดต่างๆ ในช่วงระยะเวลาการเก็บรักษา 20 วันที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 4.1) จะพบว่ากุนเชียงที่ใช้ในการทดลองมีปริมาณไขมันใกล้เคียงกันโดยอยู่ในช่วงร้อยละ 9.96-12.99 ค่าa_w (วัดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส) อยู่ในช่วง 0.731-0.882 และค่าพีเอชของกุนเชียงส่วนใหญ่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาเพิ่มขึ้นคืออยู่ในช่วง 4.99-5.65 จุลินทรีย์ทั้งหมดในกุนเชียงทุกทรีตเมนต์มีปริมาณค่อนข้างสูงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาคืออยู่ในช่วง $1.9 \times 10^9 - 9.9 \times 10^5$ CFU ต่อกรัม

ในการวัดค่าสีของกุนเชียงที่เติมสารต้านออกซิเดชันชนิดต่างๆ และชุดควบคุมด้วยระบบสี L* a* b* ซึ่งค่า L* แสดงถึงความสว่างของวัตถุ ส่วนค่า a* ถ้าหากวัดได้ค่าบวกแสดงว่าวัตถุมีสีแดงและถ้าหากวัดได้ค่าลบแสดงว่าวัตถุมีสีเขียว สำหรับค่า b* ถ้ามีค่าเป็นบวกแสดงว่าวัตถุมีสีเหลืองและถ้าเป็นค่าลบแสดงว่าวัตถุมีสีน้ำเงิน จากข้อมูลการวัดสี (ตารางที่ 4.1) พบว่าตลอดระยะเวลาการเก็บรักษากุนเชียงที่เติม BHT, PE, MVE_1, MVE_2 และ RM ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.02 รวมทั้งกุนเชียงชุดควบคุมจะมีค่าความสว่างมากกว่ากุนเชียงที่เติมสารต้านออกซิเดชันชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 และ 0.2 ซึ่งค่าที่ได้อยู่ในช่วง 37.32-42.74, 34.56-38.94, 35.59-40.18, 35.49-40.35, 34.00-41.10 และ 35.40-42.12 ตามลำดับและพบว่ากุนเชียงที่เติม PE, MVE_1, MVE_2 และ RM ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.2 ให้ค่าความสว่างน้อยที่สุดค่าที่ได้อยู่ในช่วง 34.44-37.01, 32.80-37.66, 35.53-38.63 และ 32.10-50.30 ตามลำดับและยังพบว่าตลอดระยะเวลาการเก็บรักษานั้นกุนเชียงที่เติม RM ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.2 มีการเปลี่ยนแปลงของสีมากที่สุด เมื่อพิจารณาค่า a* ซึ่งแสดงถึงสีแดงนั้นพบว่ากุนเชียงที่เติม BHT, PE, MVE_1, MVE_2 และ RM ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.02 รวมทั้งกุนเชียงชุดควบคุมให้ค่า a* มากกว่ากุนเชียงที่เติมสารต้านออกซิเดชันชนิดต่างๆ ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.1 และ 0.2 ซึ่งค่าที่ได้อยู่ในช่วง 5.83-8.09, 6.85-9.50, 7.04-9.00, 6.41-9.32, 5.70-8.85 และ 5.57-11.47 ตามลำดับและพบว่ากุนเชียงที่เติม PE, MVE_1, MVE_2 และ RM ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.2 ให้ค่าน้อยที่สุดค่าที่ได้อยู่ในช่วง 3.32-6.99, 4.15-6.08, 1.55-7.04 และ 2.62-9.65 อีกทั้งยังพบว่าตลอดระยะเวลาการเก็บรักษากุนเชียงที่เติม PE, MVE_1, MVE_2 และ RM ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.2 นั้นมีการเปลี่ยนแปลงของสีมากที่สุด ส่วนค่า b* นั้นพบว่าตลอดระยะเวลาการเก็บรักษากุนเชียงชุดควบคุม กุนเชียงที่เติม PE, MVE_1, MVE_2 และ RM ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.02, 0.1 และ 0.2 ต่างก็ให้ค่า b* ใกล้เคียงกันซึ่งให้ค่าที่ต่ำและมีการเปลี่ยนแปลงของสีเพียงเล็กน้อยเท่านั้น



รูปที่ 4.1 ผลของสารต้านออกซิเดชันชนิดต่างๆ ต่อการเปลี่ยนแปลงค่า TBARS ในกุนเชียง ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (รูป a : ความเข้มข้นร้อยละ 0.02 รูป b : ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 และรูป c : ความเข้มข้นร้อยละ 0.2)

เมื่อพิจารณาคุณลักษณะทางเคมีและจุลินทรีย์ของกุนเชียงที่เติมสารต้านออกซิเดชันชนิดต่างๆ พบว่ากุนเชียงที่เติมสารต้านออกซิเดชันชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 นั้นมีคุณลักษณะด้านสีที่ดี แต่ให้ผลในการต้านออกซิเดชันที่ต่ำ ส่วนกุนเชียงที่เติมสารต้านออกซิเดชันชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.2 นั้นให้ผลในการต้านออกซิเดชันได้ดีที่สุดแต่ไม่เป็นที่ยอมรับสำหรับผู้บริโภคเนื่องจากมีผลทำให้กุนเชียงมีสีเขียวคล้ำไม่สวยอีกทั้งยังไม่พบความแตกต่างในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในกุนเชียง ดังนั้นจึงพิจารณาเลือกผงสารสกัดจากผักพื้นบ้านที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 นำมาใช้ในการศึกษาผลของสารสกัดจากผักพื้นบ้านร่วมกับโซเดียมแลคเตทในการต้านออกซิเดชันของไขมันและยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในกุนเชียงในขั้นต่อไป

ตารางที่ 4.1 คุณลักษณะทางเคมีและจุลินทรีย์ของกุนเชียงที่เติมสารต้านออกซิเดชันชนิดต่างๆ ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20 วัน

ทรีตเมนต์	ปริมาณไขมัน (ร้อยละ) [a]	a_w (30 °C)[a]	พีเอช[a]	จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (CFU/g)[a]	ค่าสี[a]		
					L*	a*	b*
ชุดควบคุม	10.25-12.42	0.814-0.882	5.16-5.57	$2.1x10^8$-$1.9x10^9$	35.40-42.12	5.57-11.47	2.21-5.44
BHT (0.02%)	11.42-13.53	0.778-0.831	5.23-5.65	$9.9x10^5$-$6.1x10^7$	37.32-42.74	5.83-8.09	0.26-3.25
PE (0.02%)	11.27-11.95	0.817-0.850	5.28-5.53	$1.2x10^7$-$1.0x10^9$	34.56-38.94	6.85-9.50	1.50-6.00
MVE_1 (0.02%)	9.96-11.99	0.820-0.855	5.31-5.53	$1.2x10^7$-$1.1x10^9$	35.59-40.18	7.04-9.00	0.84-5.79
MVE_2 (0.02%)	11.27-12.40	0.827-0.878	5.29-5.54	$1.4x10^7$x$7.0x10^8$	35.49-40.35	6.41-9.32	0.66-3.58
RM (0.02%)	11.95-12.11	0.830-0.876	5.17-5.47	$2.0x10^7$-$1.9x10^9$	34.00-41.10	5.70-8.85	1.32-3.30
PE (0.1%)	9.98-13.62	0.830-0.853	5.12-5.36	$6.8x10^6$-$6.4x10^8$	34.21-39.53	3.61-7.25	0.13-3.50
MVE_1 (0.1%)	10.76-11.35	0.810-0.851	5.23-5.37	$8.5x10^5$-$8.1x10^8$	34.17-38.90	2.90-6.92	1.53-4.81
MVE_2 (0.1%)	11.79-12.99	0.745-0.873	5.19-5.32	$2.2x10^6$-$9.4x10^7$	35.66-39.53	3.65-7.18	0.87-4.29
RM (0.1%)	11.14-12.13	0.736-0.856	5.15-5.38	$1.7x10^7$-$8.4x10^8$	35.50-43.30	4.51-7.02	1.04-7.16
PE (0.2%)	10.37-10.96	0.731-0.848	4.99-5.38	$2.0x10^6$-$3.8x10^8$	34.44-37.01	3.32-6.99	1.85-3.05
MVE_1 (0.2%)	10.85-11.06	0.827-0.848	5.12-5.31	$1.5x10^6$-$3.9x10^7$	32.80-37.06	4.15-6.08	1.64-3.29
MVE_2 (0.2%)	10.73-12.59	0.837-0.856	4.98-5.28	$1.7x10^6$-$7.8x10^7$	35.53-38.63	1.55-7.04	0.99-2.60
RM (0.2%)	10.73-11.39	0.830-0.878	4.99-5.30	$1.2x10^7$-$2.7x10^8$	32.10-50.30	2.62-9.65	0.986.04

[a]ค่าเฉลี่ยของผลการทดลอง 2 ซ้ำ

4.1.2 ผลของสารสกัดจากผักพื้นบ้านร่วมกับโซเดียมแลคเตทในการต้านออกซิเดชันของไขมันและการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในกุนเชียง

4.1.2.1 การเปลี่ยนแปลงของค่า TBARS ในกุนเชียง

ในการศึกษาผลของการใช้สารต้านออกซิเดชันชนิดต่างๆ ทั้งสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์และสารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติได้แก่ BHT, PE, MVE_1, MVE_2 และ RM ความเข้มข้นที่เหมาะสมคือร้อยละ 0.1 โดยเปรียบเทียบการใช้สารต้านออกซิเดชันดังกล่าวอย่างเดียว และการใช้ร่วมกับโซเดียมแลคเตทในกุนเชียงที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 21 วันผลการเปลี่ยนแปลงของค่า TBARS ในกุนเชียงระหว่างการเก็บรักษาแสดงดังตารางที่ 4.2 จะเห็นได้ว่ากุนเชียงชุดควบคุมซึ่งไม่มีการเติมสารใดๆ ลงไปมีค่า TBARS สูงขึ้นเรื่อยๆ ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาและกุนเชียงชุดควบคุมมีค่า TBARS มากกว่าค่า TBARS ของกุนเชียงทรีตเมนต์อื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เมื่อพิจารณาผลของการเติมสารต้านออกซิเดชันชนิดใดชนิดหนึ่งกับการเติมและการไม่เติมโซเดียมแลคเตทในกุนเชียง (ตารางที่ 4.2) พบว่าการเติมโซเดียมแลคเตท (SL) ไม่มีผลในการช่วยลดค่า TBARS ของกุนเชียงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 21 วัน เนื่องจากไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่ในทางตรงกันข้ามค่า TBARS ของกุนเชียงส่วนใหญ่ที่เติมสารต้านออกซิเดชันร่วมกับโซเดียมแลคเตทมีค่าสูงกว่าค่า TBARS ของกุนเชียงที่เติมสารต้านออกซิเดชันอย่างเดียว ดังจะเห็นได้จากค่า TBARS ของกุนเชียงที่เติม PE, MVE_1 และ MVE_2 อย่างเดียวมีค่าเป็น 0.57-1.01, 0.49-0.77 และ 0.54-0.83 (mg MDA/kg) ที่เวลา 0–21 วันของการเก็บรักษาขณะที่ค่า TBARS ของกุนเชียงที่เติม PE ร่วมกับโซเดียมแลคเตท (PE+SL) กุนเชียงที่เติม MVE_1 ร่วมกับโซเดียมแลคเตท (MVE_1+SL) กุนเชียงที่เติมMVE_2 ร่วมกับโซเดียมแลคเตท (MVE_2+SL) มีค่าสูงกว่าที่ทุกช่วงของการเก็บรักษาโดยมีค่าอยู่ในช่วง 0.59-1.08, 0.58-0.98 และ 0.62-1.03 (mg MDA/kg) ตามลำดับ สำหรับกุนเชียงที่เติมโซเดียมแลคเตทอย่างเดียวมีค่า TBARS น้อยกว่ากุนเชียงชุดควบคุมเกือบทุกช่วงระยะเวลาการเก็บรักษาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และกุนเชียงที่เติมโซเดียมแลคเตทอย่างเดียวมีค่า TBARS มากกว่ากุนเชียงที่เติมสารสกัดจากธรรมชาติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) แต่อย่างไรก็ตามการเติมโซเดียมแลคเตทเพียงเล็กน้อยจะช่วยในการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันแต่ก็ต้านได้ไม่ดีเท่ากับกุนเชียงที่เติมสารสกัดจากผัก

ตารางที่ 4.2 ผลของสารต้านออกซิเดชันชนิดต่างๆ และโซเดียมแลคเตทต่อการเปลี่ยนแปลงค่า TBARS[a] ในกุนเชียงหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 21 วัน

ทรีตเมนต์	ค่า TBARS[a] (mg MDA/kg) ± SD				
	0 วัน	3 วัน	7 วัน	14 วัน	21 วัน
ชุดควบคุม	1.59±0.17A[b]	2.22±0.08A	2.67±0.32A	3.78±0.19A	3.97±0.09A
BHT (0.02%)	1.04±0.33B	0.98±0.25B	0.66±0.22C	0.45±0.01DE	0.34±0.03B
SL (2.5%)	0.96±0.03BC	1.85±0.12A	1.45±0.03B	1.43±0.16B	1.03±0.03B
PE (0.1%)	0.65±0.04BCD	1.01±0.13B	0.84±0.05C	0.66±0.03DC	0.57±0.04C
PE (0.1%)+ SL (2.5%)	0.67±0.02BCD	1.08±0.19B	0.87±0.01C	0.74±0.01C	0.59±0.08C
MVE_1 (0.1%)	0.56±0.03CD	0.77±0.09B	0.67±0.02C	0.57±0.05DC	0.49±0.02DC
MVE_1 (0.1%)+ SL (2.5%)	0.58±0.17CD	0.98±0.03B	0.71±0.01C	0.61±0.03CDE	0.61±0.08C
MVE_2 (0.1%)	0.67±0.02BCD	0.83±0.06B	0.71±0.04C	0.63±0.06CDE	0.54±0.01C
MVE_2 (0.1%)+SL (2.5%)	0.63±0.18BCD	1.03±0.32B	0.86±0.15C	0.69±0.06C	0.62±0.05DE
RM (0.1%)	0.73±0.27BCD	0.87±0.18B	0.62±0.01C	0.43±0.09E	0.37±0.05DE
RM (0.1%)+ SL (2.5%)	0.42±0.17D	0.75±0.08B	0.64±0.04C	0.45±0.06DE	0.36±0.06DC

[a] ค่าเฉลี่ยของผลการทดลอง 2 ซ้ำ

[b] ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่แตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

4.1.2.2 การเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในกุนเชียงระหว่างการเก็บรักษา

เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในกุนเชียงที่เติมสารต้านออกซิเดชันชนิดต่างๆ ร่วมกับการเติมและไม่เติมโซเดียมแลคเตทในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 21 วัน พบว่าจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นในกุนเชียงที่เติมสารต้านออกซิเดชันชนิดใดชนิดหนึ่งอย่างเดียวซึ่งไม่เติมโซเดียมแลคเตท ได้แก่ กุนเชียงที่เติม BHT, PE, MVE_1, MVE_2 และ RM รวมทั้งกุนเชียงชุดควบคุมมีจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นสูงซึ่งอยู่ระหว่าง 6.93-7.66 log CFU ต่อกรัม เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นจำนวนจุลินทรีย์ในกุนเชียงค่อยๆ เพิ่มขึ้นเล็กน้อยตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาพบว่ากุนเชียงที่เติม BHT, PE, MVE_1, MVE_2 และ RM รวมทั้งกุนเชียงชุดควบคุมมีจำนวนจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นอยู่ในช่วง 7.24-8.35 log CFU ต่อกรัมหลังจากการเก็บรักษาเป็นเวลา 21 วัน (ตารางที่ 4.3) โดยจุลินทรีย์ในกุนเชียงที่เติมโซเดียมแลคเตทส่วนใหญ่มีจำนวนจุลินทรีย์น้อยกว่าในกุนเชียงที่ไม่เติมโซเดียมแลคเตทอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ที่ทุกช่วงเวลาของการเก็บรักษาโดยจำนวนจุลินทรีย์เกือบทุกทรีตเมนต์ที่เติมโซเดียมแลคเตทมีแนวโน้มลดลงระหว่างการเก็บรักษาเช่น กุนเชียงที่

เติมโซเดียมแลคเตท (SL) อย่างเดียว กุนเชียงที่เติม PE ร่วมกับ SL กุนเชียงที่เติม MVE_2 ร่วมกับ SL และกุนเชียงที่เติม RM ร่วมกับ SL มีจำนวนจุลินทรีย์ลดลง 1.36, 1.35, 2.42 และ 0.85 log CFU ต่อกรัม หลังจากเก็บรักษาเป็นเวลา 21 วัน

ตารางที่ 4.3 ผลของสารต้านออกซิเดชันชนิดต่างๆ และโซเดียมแลคเตทต่อการเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ในกุนเชียงระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 21 วัน

ทรีตเมนต์	จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด[a] (log cfu/g) ±SD				
	0 วัน	3 วัน	7 วัน	14 วัน	21 วัน
ชุดควบคุม	7.60±0.57A[b]	7.80±0.54A	7.42±0.17A	7.93±0.67A	8.35±0.01A
BHT (0.02%)	6.93±1.5ABC	7.46±0.39A	7.39±0.44A	7.33±0.04AB	7.65±0.60A
SL (2.5%)	5.61±0.16BCD	5.61±0.16B	4.50±0.64CD	4.89±0.58C	4.25±0.92C
PE (0.1%)	7.33±0.95AB	7.42±0.59A	7.53±0.35A	7.63±0.21A	7.49±0.22A
PE (0.1%)+SL (2.5%)	5.55±0.49CD	5.25±0.66B	5.53±1.09CD	6.06±1.12C	4.20±0.13C
MVE_1 (0.1%)	7.26±0.76ABC	7.44±0.2A	7.39±0.55A	6.80±1.39ABC	7.24±0.34A
MVE_1 (0.1%)+SL (2.5%)	4.77±0.54D	4.84±0.65B	5.18±0.20CD	4.88±0.39C	5.48±0.33B
MVE_2 (0.1%)	7.66±0.48A	7.58±0.36A	7.37±0.27A	7.07±1.00AB	7.37±0.21A
MVE_2 (0.1%)+SL (2.5%)	7.00±1.02ABC	5.16±0.65B	5.82±0.94BC	5.44±0.86BC	4.58±0.31BC
RM (0.1%)	7.25±0.85ABC	6.97±1.05A	7.08±1.24AB	7.85±1.56A	8.30±0.50A
RM (0.1%)+ SL (2.5%)	5.09±0.30D	4.74±0.23B	4.26±0.08CD	4.91±0.29C	4.24±0.72C

[a] ค่าเฉลี่ยของการทดลอง 2 ซ้ำ

[b] ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่แตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

4.1.2.3 การเปลี่ยนแปลงปริมาณไขมันและค่า a_w ในกุนเชียงระหว่างการเก็บรักษา

เมื่อพิจารณาปริมาณไขมันเริ่มต้นของกุนเชียงที่ใช้ในการทดลองพบว่ากุนเชียงทุกทรีตเมนต์มีปริมาณไขมันใกล้เคียงกันอยู่ระหว่างร้อยละ 9.95 ถึง 12.41 และเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นจนถึงวันที่ 21 พบว่ากุนเชียงชุดควบคุม กุนเชียงที่เติม BHT กุนเชียงที่เติมโซเดียมแลคเตท (SL) กุนเชียงที่เติม PE ร่วมกับ SL กุนเชียงที่เติม MVE_1 ร่วมกับ SL กุนเชียงที่เติม MVE_2 ร่วมกับ SL และกุนเชียงที่เติม RM ร่วมกับ SL มีปริมาณไขมันลดลงระหว่างร้อยละ 0.34-2.00 ส่วนกุนเชียงที่เติม MVE_1, MVE_2 และ RM พบว่ามีปริมาณไขมันเพิ่มขึ้นระหว่างร้อยละ 0.48-1.26 (ตารางที่ 4.4) และเมื่อพิจารณาค่า a_w เริ่มต้นของกุนเชียงเกือบทุกทรีตเมนต์พบว่ามีค่าใกล้เคียงกันอยู่ระหว่าง 0.749 ถึง 0.859 ยกเว้นค่า a_w เริ่มต้นของกุนเชียงที่เติม RM ร่วมกับ SL มีค่า a_w น้อยที่สุดคือ 0.430 และเมื่อเก็บรักษา

กุนเชียงไว้จนครบ 21 วัน พบว่ากุนเชียงส่วนใหญ่มีค่า a_w เพิ่มขึ้น ยกเว้นกุนเชียงที่เติม MVE_2 และ RM มีค่า a_w ลดลงเล็กน้อยจาก 0.843 เป็น 0.841 และ 0.859 เป็น 0.856 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.4 ผลของสารต้านออกซิเดชันชนิดต่างๆ และโซเดียมแลคเตทต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณไขมันและค่า a_w ในกุนเชียงระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 21 วัน

ทรีตเมนต์	ปริมาณไขมัน (ร้อยละ)[a]		a_w (30 °C)[a]	
	0 วัน	21 วัน	0 วัน	21 วัน
ชุดควบคุม	11.39	10.42	0.857	0.862
BHT (0.02%)	11.38	9.38	0.786	0.792
SL (2.5%)	12.41	11.25	0.831	0.843
PE (0.1%)	10.98	10.03	0.841	0.843
PE (0.1%)+SL (2.5%)	11.88	10.89	0.753	0.830
MVE_1 (0.1%)	10.13	11.39	0.848	0.851
MVE_1 (0.1%)+SL (2.5%)	11.73	11.39	0.749	0.803
MVE_2 (0.1%)	11.89	12.53	0.843	0.841
MVE_2 (0.1%)+SL (2.5%)	11.09	9.54	0.837	0.813
RM (0.1%)	9.95	10.43	0.859	0.856
RM (0.1%)+ SL (2.5%)	11.83	11.44	0.430	0.825

[a] ค่าเฉลี่ยของผลการทดลอง 2 ซ้ำ

4.1.2.4 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชในกุนเชียงระหว่างการเก็บรักษา

จากการพิจารณาการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของกุนเชียงที่เติมสารต้านออกซิเดชันชนิดต่างๆ และกุนเชียงที่เติมสารต้านออกซิเดชันร่วมกับโซเดียมแลคเตทเมื่อทำการเก็บรักษาตั้งแต่วันที่ 0 ถึงวันที่ 21 ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสพบว่าค่าพีเอชของกุนเชียงแต่ละทรีตเมนต์ค่อยๆ เพิ่มขึ้นเล็กน้อยตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา กุนเชียงชุดควบคุมมีค่าพีเอชอยู่ในช่วง 5.50-5.66 และกุนเชียงที่เติม BHT มีค่าพีเอชอยู่ในช่วง 5.56-5.76 ตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษาซึ่งไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ระหว่างกุนเชียงทั้ง 2 ชุด ส่วนกุนเชียงที่เติมโซเดียมแลคเตท (SL) อย่างเดียวมีค่าพีเอชอยู่ในช่วง 5.83 ถึง 5.85 ซึ่งสูงกว่าค่าพีเอชของกุนเชียงที่เติม PE, MVE_1, MVE_2 และ RM อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 5.25-5.62, 5.45-5.70, 5.48-5.73

และ 5.50-5.76 ตามลำดับ ส่วนกุนเชียงที่เติม PE ร่วมกับโซเดียมแลคเตท กุนเชียงที่เติม MVE_1 ร่วมกับโซเดียมแลคเตท กุนเชียงที่เติม MVE_2 ร่วมกับโซเดียมแลคเตทและกุนเชียงที่เติม RM ร่วมกับโซเดียมแลคเตทมีค่าพีเอชอยู่ในช่วง 5.76-5.85, 5.79-5.89, 5.81-5.89 และ 5.84-5.90 ตามลำดับ ค่าพีเอชของกุนเชียงดังกล่าวสูงกว่าค่าพีเอชของกุนเชียงที่เติมโซเดียมแลคเตทเพียงอย่างเดียวเพียงเล็กน้อย แต่ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

ตารางที่ 4.5 ผลของสารต้านออกซิเดชันชนิดต่างๆ และโซเดียมแลคเตทต่อการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชในกุนเชียงระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 21 วัน

ทรีตเมนต์	ค่าพีเอช [a] ±SD				
	0 วัน	3 วัน	7 วัน	14 วัน	21 วัน
ชุดควบคุม	5.50±0.03B[b]	5.54±0.12DE	5.61±0.02B	5.61±0.01C	5.66±0.04DC
BHT (0.02%)	5.56±0.04B	5.62±0.07BDC	5.67±0.07B	5.72±0.05B	5.76±0.04ABCD
SL (2.5%)	5.83±0.06A	5.84±0.04A	5.83±0.04A	5.84±0.08A	5.85±0.06ABCD
PE (0.%)	5.25±0.11C	5.37±0.01E	5.50±0.01C	5.53±0.01D	5.62±0.03D
PE (0.1%)+SL (2.5%)	5.76±0.04A	5.83±0.01A	5.81±0.05A	5.85±0.00A	5.85±0.03ABC
MVE_1 (0.1%)	5.45±0.11B	5.53±0.12DE	5.58±0.06BC	5.60±0.01C	5.70±0.08BCD
MVE_1 (0.1%)+SL (2.5%)	5.79±0.06A	5.79±0.08ABC	5.82±0.04A	5.84±0.02A	5.89±0.10BA
MVE_2 (0.1%)	5.48±0.11B	5.53±0.07DE	5.60±0.05BC	5.66±0.06BC	5.73±0.09ABCD
MVE_2 (0.1%)+SL (2.5%)	5.81±0.03A	5.81±0.06BA	5.82±0.04A	5.84±0.02A	5.89±0.13BA
RM (0.1%)	5.50±0.03B	5.60±0.04AC	5.61±0.06B	5.71±0.06B	5.76±0.02ABCD
RM (0.1%)+ SL (2.5%)	5.84±0.05A	5.84±0.05A	5.85±0.07A	5.85±0.07A	5.90±0.12A

[a] ค่าเฉลี่ยผลการทดลอง 2 ซ้ำ

[b] ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่แตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

4.1.2.5 การเปลี่ยนแปลงปริมาณค่าสีในกุนเชียงระหว่างการเก็บรักษา

จากการพิจารณาการเปลี่ยนแปลงค่าสีของกุนเชียงจากการวัดในระหว่างการเก็บรักษา (ตารางที่ 4.6) พบว่าค่าความสว่างของกุนเชียงทุกทรีตเมนต์ในช่วงเวลาเริ่มต้นจนถึงวันที่ 3 ของการเก็บรักษาไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) และเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น พบว่าการเปลี่ยนแปลงค่า L* ของกุนเชียงส่วนใหญ่มีแนวโน้มลดลงยกเว้นกุนเชียงที่เติม MVE_1 ร่วมกับ SL ซึ่งให้ค่า L* เพิ่มขึ้นจาก 37.44 เป็น 38.33 หลังจากเก็บรักษาครบ 21 วัน ส่วนกุนเชียงที่เติม

BHT และกุนเชียงที่เติมโซเดียมแลคเตท (SL) มีการเปลี่ยนแปลงค่าความสว่างน้อยที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกุนเชียงทรีตเมนต์อื่นๆ โดยมีค่า L* ลดลงจาก 41.81 เป็น 40.31 และ 40.54 เป็น 39.57 ตามลำดับ หลังจากสิ้นสุดการเก็บรักษาและเมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงค่า L* ระหว่างการเก็บรักษาในช่วงวันที่ 7 - 21 พบว่ากุนเชียงชุดควบคุมและกุนเชียงที่เติม BHT จะให้ค่าความสว่างสูงกว่ากุนเชียงชุดอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

เมื่อพิจารณาค่าความเป็นสีแดง (a*) พบว่าที่ระยะเวลาเริ่มต้นของการเก็บรักษา กุนเชียงชุดควบคุมให้ค่า a* มากที่สุดคือ 8.83 ซึ่งมีค่ามากกว่าค่า a* ของกุนเชียงชุดอื่นๆ เกือบทุกทรีตเมนต์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นกุนเชียงที่เติม BHT และ กุนเชียงที่เติม SL นอกจากนี้ยังพบว่ากุนเชียงที่เติมผงสารสกัดจากพืชให้ค่า a* ต่ำกว่ากุนเชียงชุดควบคุม กุนเชียงที่เติม BHT และ กุนเชียงที่เติม SL และเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นพบว่าค่า a* ของกุนเชียงทุกทรีตเมนต์ มีค่าลดลงเรื่อยๆ จาก 4.48-8.83 จนเหลือ 3.73-6.55 เมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษากุนเชียงชุดควบคุม กุนเชียงที่เติม BHT และ กุนเชียงที่เติม MVE_1 ร่วมกับ SL มีการเปลี่ยนแปลงค่า a* ในระหว่างการเก็บรักษามากที่สุดจาก 8.83, 8.16 และ 5.14 เป็น 6.55, 6.42 และ 3.73 ตามลำดับ แต่ค่า a* ของกุนเชียงทุกทรีตเมนต์ที่เก็บรักษาจนถึงวันที่ 21 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

เมื่อพิจารณาค่าความเป็นสีเหลือง (b*) พบว่าที่ระยะเวลาของการเก็บรักษาเริ่มต้น กุนเชียงที่เติม MVE_2 ให้ค่า b* สูงสุดคือ 4.79 ซึ่งมีค่ามากกว่าค่า b* ของกุนเชียงที่เติม MVE_1 ร่วมกับ SL และกุนเชียงที่เติม PE ร่วมกับ SL ซึ่งให้ค่า b* น้อยสุดคือ 2.65 และ 2.69 ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ค่า b* ของกุนเชียงเกือบทุกทรีตเมนต์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจนกระทั่งถึงวันที่ 21 ของการเก็บรักษา ยกเว้นค่า b* ชุดควบคุม กุนเชียงที่เติม BHT กุนเชียงที่เติม MVE_2 และกุนเชียงที่เติม RM ให้ค่า b* เพิ่มขึ้นจนถึงวันที่ 14 ของการเก็บรักษาเท่านั้นหลังจากนั้นค่า b* จึงลดลง

ตารางที่ 4.6 ผลของสารต้านออกซิเดชันชนิดต่างๆ และโซเดียมแลคเตทต่อการเปลี่ยนแปลงค่าสี ของกุนเชียงระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 21 วัน

ทรีตเมนต์	การเปลี่ยนแปลงค่าสีระหว่างการเก็บรักษา[a]				
	0 วัน	3 วัน	7 วัน	14 วัน	21 วัน
L*-value					
ชุดควบคุม	40.24±3.44A[b]	39.09±0.62A	41.23±6.42A	39.72±1.73A	37.84±0.69AB
BHT (0.02%)	41.81±4.07A	39.26±3.82A	40.76±1.82AB	41.93±1.18A	40.31±6.39A
SL (2.5%)	40.54±0.09A	37.70±0.72A	39.19±8.06AB	37.16±0.13ABCD	39.57±1.83A
PE (0.1%)	37.17±6.44A	36.18±3.92A	36.16±3.08B	34.90±4.64BCD	33.98±5.31AB
PE (0.1%)+SL (2.5%)	38.39±1.63A	35.86±3.68A	37.86±0.59AB	33.57±1.92D	35.59±6.26AB
MVE_1 (0.1%)	38.24±5.13A	35.14±0.73A	39.58±4.45AB	35.72±0.26BCD	33.40±1.27B
MVE_1 (0.1%)+SL (2.5%)	37.44±4.80A	38.66±3.60A	37.68±1.54B	36.42±1.99ABCD	38.33±2.26AB
MVE_2 (0.1%)	40.73±5.35A	40.87±5.02A	39.03±2.54AB	33.80±2.75CD	36.22±6.42AB
MVE_2 (0.1%)+SL (2.5%)	39.20±3.61A	34.72±4.19A	36.18±3.33B	33.64±4.22D	33.90±3.00AB
RM (0.1%)	41.48±1.87A	35.67±2.48A	37.83±0.03AB	38.02±0.86ABC	36.21±3.04AB
RM (0.1%)+ SL (2.5%)	40.66±6.63A	39.98±0.64A	40.55±2.22AB	39.58±2.59AB	37.84±5.71AB
a*-value					
ชุดควบคุม	8.83±2.06A	8.95±0.93AB	5.59±1.80ABC	6.55±2.38AB	6.55±2.06A
BHT (0.02%)	8.16±1.62AB	6.64±0.08AB	5.99±1.20ABC	5.65±2.62AB	6.42±3.73A
SL (2.5%)	7.08±0.61ABC	8.30±1.77AB	7.76±0.91A	7.58±0.94A	6.20±0.16A
PE (0.1%)	6.51±0.24BD	5.52±0.60AB	5.76±0.81ABC	4.81±0.28AB	5.51±1.12A
PE (0.1%)+SL (2.5%)	4.48±0.89D	5.32±0.37A	3.79±1.06C	5.65±1.93AB	4.19±1.76A
MVE_1 (0.1%)	5.30±0.99CD	5.36±0.15AB	4.19±2.31BC	5.03±0.77AB	5.10±0.21A
MVE_1 (0.1%)+SL (2.5%)	5.14±0.28CD	4.26±0.40AB	4.18±0.25BC	4.21±0.11B	3.73±0.52A
MVE_2 (0.1%)	5.43±0.14CD	3.31±1.20B	4.71±0.31BC	5.47±0.05AB	4.56±0.39A
MVE_2 (0.1%)+SL (2.5%)	4.93±0.29CD	5.51±0.24AB	4.70±0.16BC	5.75±0.93AB	4.78±0.64A
RM (0.1%)	6.02±1.22BCD	8.55±0.66AB	6.87±1.68AB	6.12±0.42AB	5.76±0.81A
RM (0.1%)+ SL (2.5%)	6.10±1.38BCD	6.20±1.15AB	5.04±0.01ABC	4.83±1.27AB	5.28±0.86A
b*-value					
ชุดควบคุม	4.55±0.96ABC	5.40±0.33A	5.69±0.88ABCD	5.40±0.86A	4.32±1.63A
BHT (0.02%)	4.47±1.07ABC	3.88±0.10A	5.80±0.75ABCD	5.88±1.26A	4.34±0.57A
SL (2.5%)	3.43±1.22ABC	4.11±0.19A	4.47±0.40D	3.31±0.71A	4.19±0.44A
PE (0.1%)	4.65±2.01AB	4.58±0.74A	4.28±0.36BCD	3.27±0.01A	4.77±0.76A
PE (0.1%)+SL (2.5%)	2.69±2.12BC	3.02±0.42A	5.20±1.16BCD	2.99±2.82A	5.09±0.38A
MVE_1 (0.1%)	3.14±0.86ABC	4.46±1.88A	8.00±1.18A	5.91±1.75A	3.64±1.36A
MVE_1 (0.1%)+SL (2.5%)	2.65±0.28ABC	5.88±0.88A	5.14±2.52BCD	6.47±2.97A	3.55±0.26A
MVE_2 (0.1%)	4.79±0.28A	6.10±2.91A	7.52±0.58ABC	4.93±0.86A	3.30±2.63A
MVE_2 (0.1%)+SL (2.5%)	3.23±0.81ABC	6.09±0.47A	7.24±0.36AB	3.86±0.71A	4.48±1.06A
RM (0.1%)	4.45±0.06ABC	5.17±1.07A	6.29±1.32BCD	6.56±0.19A	2.74±1.29A
RM (0.1%)+ SL (2.5%)	3.41±1.18ABC	6.35±1.14A	4.55±1.35CD	4.31±0.16A	4.39±0.40A

[a] ค่าเฉลี่ยของผลการทดลอง 2 ซ้ำ

[b] ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่แตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

4.1.2.6 การเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของกุนเชียง

จากผลการประเมินคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของกุนเชียงในด้านสี (color) พบว่าที่เวลาเริ่มต้นของการเก็บรักษาผู้ทดสอบชิมให้คะแนนในด้านสีของกุนเชียงซึ่งสรุปได้ว่ากุนเชียงที่เติม PE กุนเชียงที่เติม MVE_1 กุนเชียงที่เติม MVE_1 ร่วมกับ SL และกุนเชียงที่เติม MVE_2 ร่วมกับ SL มีสีเข้ม (แดงผสมเขียว) มากกว่ากุนเชียงทรีตเมนต์อื่นที่มีสีแดงซีดใกล้เคียงกันและวันที่ 21 ของการเก็บรักษาพบว่าผู้ทดสอบชิมให้คะแนนกุนเชียงดังกล่าวมีสีแดงอ่อนยกเว้นกุนเชียงที่เติม MVE_2 ที่ยังคงมีสีเข้มอยู่ ส่วนกุนเชียงทรีตเมนต์อื่นผู้ทดสอบชิมให้คะแนนมีสีแดงซีดถึงสีแดง

เมื่อพิจารณาพิจารณาลักษณะเนื้อสัมผัส (texture) และความหวาน (sweetness) ของกุนเชียงในวันแรกของการเก็บรักษาพบว่า ผู้ทดสอบชิมให้คะแนนลักษณะเนื้อสัมผัสซึ่งสรุปได้ว่า กุนเชียงทุกทรีตเมนต์มีลักษณะเนื้อสัมผัสละเอียดน้อยถึงละเอียดปานกลางไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) และกุนเชียงเกือบทุกทรีตเมนต์มีความหวานในระดับหวานถึงหวานปานกลางโดยส่วนใหญ่ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ยกเว้นกุนเชียงที่เติม MVE_1 ร่วมกับ SL ซึ่งผู้ทดสอบชิมให้คะแนนความหวานมากกว่ากุนเชียงชุดอื่น และในวันที่ 21 ของการเก็บรักษากุนเชียงส่วนใหญ่มีความหวานอยู่ในระดับเดิมยกเว้นกุนเชียงที่เติม MVE_1 ได้รับคะแนนความหวานมากกว่ากุนเชียงชุดอื่นสำหรับลักษณะเนื้อสัมผัสของกุนเชียงส่วนใหญ่ยังคงมีลักษณะเนื้อสัมผัสละเอียดน้อยถึงละเอียดปานกลางยกเว้นกุนเชียงที่เติม SL อย่างเดียว และ MVE_2 ร่วมกับ SL ได้คะแนนลักษณะเนื้อสัมผัสมากกว่ากุนเชียงทรีตเมนต์อื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

เมื่อพิจารณากลิ่นหืนในวันแรกของการเก็บรักษากุนเชียงทุกทรีตเมนต์มีกลิ่นหืนเล็กน้อย และในวันที่ 21 ของการเก็บรักษา ผู้ทดสอบชิมพบว่ากุนเชียงชุดควบคุมมีกลิ่นหืนใกล้เคียงระดับหืนปานกลางซึ่งมีกลิ่นหืนมากกว่ากุนเชียงชุดอื่นๆ และกุนเชียงที่มีกลิ่นหืนมากในอันดับ 2 คือ กุนเชียงที่เติม MVE_1ร่วมกับ SL ส่วนกุนเชียงที่มีกลิ่นหืนน้อยที่สุดคือ กุนเชียงที่เติม PE ร่วมกับ SL

เมื่อพิจารณาความชอบโดยรวมของการเก็บรักษาพบว่า ผู้ทดสอบชิมมีความชอบกุนเชียงทุกทรีตเมนต์ใกล้เคียงกันอยู่ในระดับชอบเล็กน้อยถึงปานกลางโดยมีความชอบในกุนเชียงที่เติม MVE_1 ร่วมกับ SL มากที่สุด และในวันที่ 21 ของการเก็บรักษา ผู้ทดสอบชิมให้คะแนนความชอบในกุนเชียงที่เติม MVE_1 มากที่สุดและมีความชอบในกุนเชียงที่เติม PE ร่วมกับ SL น้อยที่สุด

ตารางที่ 4.7 ผลของสารต้านออกซิเดชันชนิดต่างๆ และโซเดียมแลคเตทต่อการเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของกุนเชียง

ทรีตเมนต์	คุณลักษณะทางประสาทสัมผัส[a] ± SD				
	สี	ลักษณะเนื้อสัมผัส	ความหวาน	กลิ่นหืน	ความชอบ
วันที่ 0 ของการเก็บรักษา					
ชุดควบคุม	1.21±0.30E[b]	2.09±0.28A	2.89±0.21AB	1.99±0.21A	2.79±0.11A
BHT (0.02%)	1.72±0.60DE	3.14±1.61A	2.64±0.51AB	2.00±0.10A	2.86±0.61A
SL (2.5%)	1.86±0.21CDF	3.28±0.11A	2.64±1.92AB	1.86±0.21A	2.50±0.10AB
PE (0.1%)	3.50±1.12AB	3.07±1.73A	2.50±0.71AB	1.93±0.10A	2.36±0.50AB
PE (0.1%)+ SL (2.5%)	2.71±0.30BCD	2.57±0.51A	1.26±0.11B	2.07±0.60A	2.00±1.32AB
MVE_1 (0.1%)	2.93±0.61ABC	2.93±0.60A	2.78±0.51AB	1.72±0.71A	2.50±0.09AB
MVE_1 (0.1%)+ SL (2.5%)	4.01±0.00A	3.49±1.31A	3.78±0.60A	1.71±1.51A	2.99±0.18A
MVE_2 (0.1%)	2.70±0.40BCD	2.99±0.40A	2.07±0.11B	2.50±0.51A	1.93±0.41AB
MVE_2 (0.1%)+SL (2.5%)	3.79±0.18AB	2.22±1.31A	2.59±0.50AB	2.00±0.41A	2.24±1.21AB
RM (0.1%)	2.00±0.11CDE	3.22±0.50A	1.43±0.42B	2.07±0.81A	2.13±0.21AB
RM (0.1%)+ SL (2.5%)	1.86±0.21CDE	2.27±0.30A	2.39±0.30AB	1.79±0.70A	1.43±0.21B
วันที่ 21 ของการเก็บรักษา					
ชุดควบคุม	2.29±0.21D	2.14±0.20C	1.86±0.01CDE	2.72±0.40A	2.95±0.08B
BHT (0.02%)	1.36±0.11EF	2.36±0.10C	2.43±0.20B	1.93±0.11BC	2.22±0.30CD
SL (2.5%)	1.78±0.10E	2.95±0.08A	2.07±0.10BCD	1.71±0.30D	2.73±0.23B
PE (0.1%)	3.72±0.21B	2.50±0.10BC	1.43±0.20E	1.65±0.30BCD	2.50±0.10BC
PE (0.1%)+ SL (2.5%)	2.28±0.11B	2.45±0.17BC	1.73±0.00CD	1.38±0.20CD	1.43±0.12E
MVE_1 (0.1%)	3.78±0.30B	2.45±0.10BC	3.00±0.20A	1.43±0.20CD	3.79±0.21A
MVE_1 (0.1%)+ SL (2.5%)	4.28±0.07A	2.38±0.21BC	2.00±0.11BCD	2.254±0.30B	2.11±0.30CD
MVE_2 (0.1%)	4.36±0.01A	2.50±0.17BC	2.14±0.18BCD	1.71±0.07BCD	2.88±0.20B
MVE_2 (0.1%)+SL (2.5%)	2.92±0.40C	3.22±0.07A	2.43±0.41CD	1.78±0.30BCD	2.50±0.23B
RM (0.1%)	1.38±0.11EF	2.71±0.10BC	2.21±0.10BC	1.64±0.11BCD	2.80±0.10B
RM (0.1%)+ SL (2.5%)	1.31±0.02E	2.64±0.30A	1.93±0.11CD	1.79±0.11BCD	1.43±0.10D

[a] ค่าเฉลี่ยผลการทดลอง 2 ซ้ำ

[b] ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่แตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

4.2 วิจารณ์

4.2.1 คุณสมบัติการต้านออกซิเดชันของผงสารสกัดผักพื้นบ้าน

ในการผลิตผงสารสกัดจากผักพื้นบ้านของไทยได้นำการผสมสารสกัดกับ maltodextrin (DE 17-19 เปอร์เซ็นต์) ซึ่ง Blanchard และ Katz (2006) ได้กล่าวว่า maltodextrin คือสารละลายเข้มข้นของแซคคาไรด์ (Saccharide) บริสุทธิ์ที่ได้จาก edible starch หรือ maltodextrin อาจอยู่ในรูปของแห้งที่มีลักษณะเป็นผงได้มาจากสารละลายเข้มข้นของแซคคาไรด์ (Saccharide) บริสุทธิ์ดังกล่าว มีค่า Dextrose Equivalent (DE) ต่ำกว่า 20 เป็นสารที่ไม่มีรส สำหรับสารสกัดจากผักพื้นบ้านที่ใช้ในการทดลอง 3 สูตร ได้แก่ PE, MVE_1 และ MVE_2 นั้นพบว่ามีคุณสมบัติในการต้านออกซิเดชันของไขมันได้บ้างแต่ยังไม่ดีเท่า BHT และสารสกัดจากโรสแมรี่ (RM) ซึ่งคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันของผักที่นำมาศึกษานั้นประกอบด้วยสารประกอบฟีนอล เช่น ในผักแพรว อาจเป็นไปได้ที่จะมีสารฟลาโวนอยด์เป็นส่วนประกอบ ดังเช่นการรายงานของ Haraguchi และคณะ (1992), Haraguchi และคณะ (1996) และ Yagi และคณะ (1996) ได้ทำการแยกสาร sulphated, methylated และ glycosidal flavonoids จาก *Polygonum hydropiper* สารฟลาโวนอยด์ เป็นสารประกอบฟีนอลิกชนิดหนึ่งที่พบมากในพืชหลายชนิดรวมทั้งผัก ผลไม้ และชา มีผู้รายงานว่า ในยางและเปลือกของต้นชะมวงมีสาร prenylated xanthones, cowaxanthone, cowanin, cowano, 1,1,3,6-trihydroxy-7-methoxy-2,5-bis (3-methyl-2-butenyl) xanthone, ß-mangotin, 7-methoxygacinone E และ norcowanin ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Mahabusarakam และคณะ (2005) ได้ทำการทดลองศึกษา Xanthones ที่ได้จากยางของ *Garcinia cowa* Roxb. พบว่ามี xanthone 5 ชนิดให้ชื่อว่า A-E และชนิดที่ 6 คือ xanthone ที่รายงานมาก่อนหน้านี้ในยางของ *Garcinia cowa* Roxb. ส่วนในผักแขยงก็มีสารประกอบฟีนอลลิกเช่นเดียวกัน Bui และคณะ (2004) ได้ตรวจพบสารฟลาโวนอยด์ในผักแขยงได้แก่ 7-0-glycoside และ 8-hydroxylatate flavones 3 ชนิด ซึ่งเป็นชนิดที่ไม่พบบ่อยนักในพืชทั่วไปและจากการทดลองพบว่า โรสแมรี่สามารถต้านออกซิเดชันของไขมันได้ดีเนื่องจากมีสารประกอฟีนอลิกเป็ส่วนประกอบในปริมาณสูง Bauman และคณะ (1999) กล่าวโรสแมรี่ประกอบด้วย monoterpenes (eteric oils), diterpene phenols (carnosic acid, carnosol, rosmanol, epirosmanol isorosmanol, methyl carnosate) phenolic acid (rosmarinic acid), flavonols และ triterpene acids (ursolic acid, olemolic acid และ butilinic acid) การทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองของ Riznar และคณะ (1991) ซึ่งได้ทำการทดลองกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน และการต้านจุลินทรีย์ของโรสแมรี่ที่อยู่ในรูปที่ละลายในน้ำมัน (Vivox 20 และVivox 4) ที่มี carnosic acid เป็นส่วนประกอบหลักในสารสกัดร้อยละ 20 และ 4 (น้ำหนักโดยน้ำหนัก) ตามลำดับ ในไส้กรอกไก่แฟรงค์เฟอร์เตอร์พบว่า โรสแมรี่มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันของไขมันและการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ซึ่งสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหารได้

สำหรับการเติมโซเดียมแลคเตท (SL) อย่างเดียวลงในกุนเชียงให้ผลในการต้านออกซิเดชันได้บ้าง เนื่องจากค่า TBA ของกุนเชียงที่เติมโซเดียมแลคเตทอย่างเดียว มีค่าต่ำกว่ากุนเชียงชุดควบคุมทุกช่วงเวลาของการเก็บรักษาแต่มีค่าสูงกว่า TBA ของกุนเชียงชุดอื่นๆ ที่เติมผงสารสกัดจากพืชอย่างเดียวหรือเติมร่วมกับโซเดียมแลคเตทซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองของ Sallam (2007) ที่พบว่าโซเดียมแลคเตทมีคุณสมบัติในการต้านออกซิเดชันได้แต่ไม่ดีนักซึ่งคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันของโซเดียมแลคเตทนั้นต่ำกว่าคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันของโซเดียมซิเตรทและโซเดียมอะซิเตท

4.2.2. คุณสมบัติการต้านจุลินทรีย์ของผงสารสกัดผักพื้นบ้าน

เมื่อพิจารณาผลการศึกษาคุณสมบัติการต้านจุลินทรีย์ของผงสารสกัดจากพืชได้แก่ PE, MVE_1 MVE_2 และ RM พบว่าการเติมสารสกัดจากพืชดังกล่าวไม่มีผลต่อการยับยั้งจุลินทรีย์ในกุนเชียงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาอาจเป็นเพราะสารสกัดจากผัก (ร้อยละ 0.1) ที่เติมลงในกุนเชียงมีความเข้มข้นไม่สูงพอที่จะยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้แต่ถ้าเติมสารสกัดผักปริมาณมากจนเกินไปจะมีผลต่อคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของกุนเชียง โดยทำให้กุนเชียงมีสีออกเขียวและมีกลิ่นฉุนของผัก ซึ่งไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค แต่อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าสารสกัดจากผักพื้นบ้านที่นำมาใช้ในการทดลองนี้มีคุณสมบัติในการเจริญของจุลินทรีย์ได้ ดังเช่น ผักแขยงซึ่งเป็นผักสมุนไพรที่ใช้กันมากในหลายประเทศในแถบทวีปเอเชียตะวันออกเฉียงใต้มีรายงานว่า ผักแขยงให้น้ำมันหอมระเหย ร้อยละ 0.1 เป็นน้ำมันที่ไม่มีสีและมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียในน้ำมันหอมระเหยของผักแขยงมีสารลิโมนิน (limonene) และเพอริลอัลดีไฮด์เป็นองค์ประกอบหลัก นอกจากนี้ยังมีผู้แยกสารฟลาโวน (flavone) ออกจากผักแขยงพบว่า เป็นสารประกอบของ 5,7-dihydroxy-6,8,4-trimethoxy flavone และ 5-hydroxy-6,7,4-trimethoxy flavone นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าพบสาร chlorogenic และ caffeic acid นอกจากนี้ Nanasombat และ Teckchuen (2009) ได้ทำการทดลองพบว่า สารสกัดจากผักแพรว ใบแขยง ใบขี้เหล็ก และใบชะมวงมีฤทธิ์ต้านการเจริญของจุลินทรีย์หลายชนิด เช่น *Bacillus cereus, Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus, Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Rissen, *Pseudomonas fluorescens* และ *Yesinia enterocolitica* ได้ดีโดยเฉพาะผักแขยงสามารถยับยั้ง การเจริญของ *B. cereus* และ *Staphylococcus aureus* ได้ดีที่สุด ส่วนในใบชะมวงสามารถยับยั้งการเจริญของ *Listeria monocytogenes* และ *Yesinia enterocolitica*

จากการทดลองนี้พบว่าการเติมโซเดียมแลคเตท (SL) ในกุนเชียงมีผลช่วยลดจำนวนจุลินทรีย์ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาเป็นผลมาจากโซเดียมแลคเตทมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ซึ่งอาจเป็นไปได้ที่โซเดียมแลคเตทอยู่ในรูปที่ไม่แตกตัวจะผ่านเข้าสู่เซลล์ของจุลินทรีย์และเกิดการแตกตัวภายในเซลล์ของจุลินทรีย์ทำให้เซลล์ภายในมีสภาพเป็นกรดเมื่อเซลล์พยายามที่จะรักษาสภาพพีเอชภายในให้คงที่ จึงทำให้เซลล์ใช้พลังงานหมดไปทำให้อัตราการเจริญของเซลล์ลดลง (Shelef, 1994) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Mbandi และ Shelef (2001) พบว่าการเติมโซเดียม

แลคเตทร้อยละ 1.8 ลงในเนื้อบดและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสและ 10 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20 วัน สามารถลดอัตราการเจริญของ *L. monocytogeness* และ *Salmonella* Enteritidis และยังพบว่าการใช้โซเดียมแลคเตทร้อยละ 2.5 ร่วมกับโซเดียมไดแอซิเตท (sodium diacetat) ร้อยละ 0.2 สามารถทำลาย *Salmonella* Enteritidis หลังจากเก็บรักษาเนื้อไว้ที่ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 วัน นอกจากนี้ Houtsma และคณะ (1996) ยังได้รายงานว่าความเข้มข้นต่ำสุด (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) ของโซเดียมแลคเตทในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย จะลดลงในสภาพที่มีพีเอชต่ำ เช่น ในสภาพที่พีเอชเท่ากับ 5.7 การเติมโซเดียมแลคเตท (ไม่น้อยกว่า 268 มิลลิโมลาร์) จะไม่ทำให้มีการเจริญของแบคทีเรียเกิดขึ้นได้และแบคทีเรียจะมีความไวต่อโซเดียมแลคเตทมากกว่ายีสต์

เมื่อพิจารณาค่าพีเอชของกุนเชียงพบว่า ค่าพีเอชของกุนเชียงมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเป็นเล็กน้อย สาเหตุเนื่องมาจากการที่กุนเชียงมีจำนวนจุลินทรีย์สูง เมตาบอลิซึมของจุลินทรีย์มีผลทำให้ค่าพีเอชของสิ่งแวดล้อมสูงขึ้นสอดคล้องกับรายงานของ Jay และคณะ (2005) ที่ว่าเมื่อกรดอะมิโนเกิดดีคาร์บอกซิเลต (decarboxylate) เอมีน (amines) ที่เกิดขึ้นเป็นผลทำให้ค่าพีเอชเพิ่มขึ้น

บทที่ 5
สรุปและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาผลของการใช้สารต้านออกซิเดชันธรรมชาติจากผักพื้นบ้านรวมทั้งสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.02, 0.1 และ 0.2 ต่อการต้านออกซิเดชันของไขมันในกุนเชียงที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ 85 เปอร์เซ็นต์เป็นระยะเวลา 20 วัน พบว่าการเติมสารสกัดจากผักพื้นบ้าน 3 สูตร ได้แก่ PE, MVE_1 และ MVE_2 ที่ความเข้มข้นทั้ง 3 ระดับ มีผลต่อการต้านออกซิเดชันของไขมันในกุนเชียงได้ดี เนื่องจากให้ค่า TBARS ที่ต่ำกว่าค่า TBARS ของกุนเชียงชุดควบคุมแต่คุณสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากผักพื้นบ้านดังกล่าวยังด้อยกว่าคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันของ BHT และสารสกัดจากโรสแมรี่ (RM) และพบว่าการเติมผงสารสกัดดังกล่าวที่ความเข้มข้นสูงช่วยชะลอการเกิดออกซิเดชันของไขมันในกุนเชียงได้ดีกว่าเติมผงสารสกัดที่ความเข้มข้นต่ำ นอกจากนี้ยังพบว่าการเติมสารสกัดจากผักรวมทั้งการเติม BHT ไม่มีผลช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา เนื่องจากจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในกุนเชียงมีปริมาณค่อนข้างสูง (10^7 -10^8 CFU ต่อกรัม) ที่ทุกช่วงระยะเวลาการเก็บรักษาและพบว่ากุนเชียงที่เติมผงสารสกัดผักชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้นสูง (ร้อยละ 0.2) ถึงแม้ว่าจะให้ผลการต้านออกซิเดชันของไขมันได้ดีที่สุดแต่ปริมาณที่เติมนั้นมีผลทำให้สีของกุนเชียงไม่เป็นที่ยอมรับสำหรับผู้บริโภค ดังนั้นจึงพิจารณาเลือกความเข้มข้นของสารสกัดผักที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 มาใช้ในการศึกษาผลของสารสกัดดังกล่าวร่วมกับโซเดียมแลคเตท (SL) ในการต้านออกซิเดชันของไขมันและการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในกุนเชียง

ในการศึกษาผลของการใช้สารต้านออกซิเดชันชนิดต่างๆ ทั้งสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์และสารต้านออกซิเดชันธรรมชาติจากผัก ได้แก่ BHT, PE, MVE_1, MVE_2 และ RM ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยเปรียบเทียบกับกุนเชียงที่เติม SL อย่างเดียวและการใช้สารสกัดผักแต่ละชนิดร่วมกับ SL พบว่าการเติมสารต้านออกซิเดชันจากผักร่วมกับ SL มีผลเล็กน้อยในการลดค่า TBARS ของกุนเชียง เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในกุนเชียง ที่เติมสารต้านออกซิเดชันจากผักร่วมกับ SL พบว่าจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในกุนเชียงมีแนวโน้มลดลงระหว่างการเก็บรักษา การเปลี่ยนแปลงปริมาณไขมันเกือบทุกทรีตเมนต์มีค่าใกล้เคียงกันอยู่ในช่วงร้อยละ 9.38 -12.53 ค่า a_w ในช่วงเริ่มต้นมีค่าใกล้เคียงกันอยู่ในช่วง 0.749-0.859 เมื่อเก็บรักษาไว้ 21 วันพบว่าค่า a_w เปลี่ยนแปลงเล็กน้อย ค่าพีเอชของกุนเชียงเพิ่มมากขึ้นเล็กน้อยตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา การเปลี่ยนแปลงค่าสีของกุนเชียงแต่ละทรีตเมนต์ เมื่อพิจารณาค่าความสว่าง (L*) ของกุนเชียงมีแนวโน้มลดลง ค่าความเป็นสีแดง (a*) มีแนวโน้มลดลง และค่าความเป็นสีเหลือง (b*) มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา

จากผลการทดลองในครั้งนี้ทำให้ทราบว่าผักพื้นบ้านของไทยที่นำมาศึกษามีคุณสมบัติต้านออกซิเดชันของไขมันได้แต่ยังไม่ดีพอ ดังนั้นจึงควรค้นหาพืชผักสมุนไพรของไทยชนิดอื่นต่อไป เพื่อนำมาศึกษาคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันและการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์เพื่อจะได้ทราบชนิดของพืชที่มีคุณสมบัติในการต้านออกซิเดชันและการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น และนำมาประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อเพื่อทดแทนการใช้สารกันหืนสังเคราะห์และสามารถใช้ในความเข้มข้นสูงโดยที่ผลิตภัณฑ์ยังคงมีคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

บรรณานุกรม

ศิวพร ศิวเวชช. (2546). วัตถุเจือปนอาหาร. เล่ม1. สำนักศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่ง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม

Ahn, B. Z., Degen, U., Lienjayetz, C., Pachaly, P., & Zymalkowski, F. (1978). Constituents of *Cassia siamea*. *Archives of Pharmacology,* 311, 569-578.

Bauman, D., Hadolin, M., Riner, H.A., & Knez, Z. (1999). Supercritical fluid extraction of rosemary and sage antioxidants. *Acta Aliment*, 28(1), 15-28.

Blanchard, P.H., & Katz, F.R. (2006). Starch hydrolysates. In A.M. stephen, G.O. Phillips, & P.A. Williams, *Food polysaccharides and their application, 2nd ed* (pp. 119-145). Boca Raton, Florida: Taylor & Francis Group.

Bui, M-L., Grayer, R.J., Veitch, N.C., Kite, G.C., Tran, H., & Nguyen, Q. K. (2004). Uncommon 8-oxygenated flavonoids from *Limnophila aromatica* (Scrophulariaceae). *Biochemical Systematics and Ecology,* 32, 943-947.

Caldwell, E.F., Nehring, E.W., Postweiler, J., Smith, G.M., & Wilbur, C.J. (1964). Package treatment versus direct application as a means of incorporating antioxidant in shredded breakfast cereals. *Food Technology*, 18(3), 125-128.

Cao, G., Booth, S. L., Sadowski, J. A., & Prior, R. L. (1998). Increase in human plasma antioxidant capacity after consumption of controlled diets high in fruits and vegetables. *American Journal of Clinical Nutrition*, *68*, 1081-1087.

Davidson, P.M., & Zivanovic, S. (2003). The use of natural antimicrobials. In P. Zeuthen, & L. BØgh – SØrensen, *Food presention techniques* (pp. 5-30). Cornwall, England: TJ International Limited Padstow.

Halliwell, B. (1994). Free radicals, antioxidants and human disease: curiosity, cause or consequence? *Lancet*, *344*, 721-724.

Halliwell, B., Aeschbach, R., Loliger, J. & Aruoma, O. I. (1995). The characterization of antioxidants. *Food Chemical Toxicology*, 33, 601-617.

Hamilton, R. J. (1994). The chemistry of rancidity in foods, In J. C. Allen, & R. J. Hamilton, *Rancidity in food* (pp. 1-21). Suffolk: Chapman and Hall.

Haraguchi, H., Hashimoto, K., & Yagi, A. (1992). Antioxidative substances in leaves of *Polygonum hydropiper*. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, *40*, 1349-1351.

Haraguchi, H., Ohmi, I., Fukuda, A., Toihara, Y., Okamura, N., & Yagi, A. (1996). Effect of *Polygonum hydropiper* sulfated flavonoids on lens aldose reductase and related enzyme. *Journal of Natural Products*, 59, 443-445.

Haraguchi, H. (2001). Antioxidative plant constituents. In C. Tringali, *Bioactive compound from natural sources* (pp. 339-377). London: Taylor & Francis Group.

Houtsma, P.C., Dewit J.C., & Rombouts, F.M. (1996). Minimum inhibitiory concentration (MIC) of sodium acetate and sodium chloride for spoilage organisms and pathogens at different pH values and temperatures. *Journal of Food Protection*, 59(12), 1300-1304.

Jay, J. M., Loessner, M. J., & Golden, D.A. (2005). *Modern Food Microbiology,* 7 th ed. New York: Springer Science+Business Media, Inc.

Joseph, G.S., Jayaprakasha, G.K., Selvi, A.T., Jena, B.S., & Sakariah, K.K. (2005). Antiaflatoxigenic and antioxidant activities of *Garcinia* extracts. *International Journal of Food Microbiology,* 101, 153-160.

Karaya, S., & Kavas, A. (1999). Antimutagenic activities of some foods. *Journal of Agricultural & Food Chemistry, 79*, 237-242.

Kirk, R.S., & Sawyer, R. (1991). *Pearson's composition and analysis of foods*. Singapore: Longman Scientific & Technical.

Krahn, M.M. (1968). Structures of cowaxanthone, cowanin and cowanol. Chem. Abstr. 70, 19870a.

Larson, R.A. (1988). The antioxdants of higher plants. *Phytochemistry,* 27, 969-978.

Lee, H-H. and Chan, H.-K, 1977. 1,3,6-Trihydroxy-7-methoxy-8-(3,7-dimethyl-2,6-octadienyl) xanthone from *Garcinia cowa. Phytochemistry*, 16, 2038-2040.

Likhitwitayawuid, K., Phadungcharoen, T., Mahidol, C., & Ruchirawat, S. (1997). 7-*O*-Methylgarcinone E from *Garcinia cowa. Phytochemistry*, 45, 1299-1301.

Likhitwitayawuid, K., Phadungchroen, T. , & Krungkrai, J. (1998). Antimalarial xanthones from *Garcinia cowa. Planta Med.* 64, 70-72.

Madhavi, D.L., Deshpande, S.S., & Salunkhe, D.K. (1996). Food antioxidants: Technological, Toxicological, and Health Perspectives. New York : Marcel Dekker.

Mahabusarakam, W., Chairerk, P., & Taylor, W.C. (2005). Xanthones from *Garcinia cowa* Roxb Latex. *Phytochemistry*, 66, 1148-1153.

Mbandi, E., & Shelef, L.A. (2001). Enhanced inhibition of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella Enteritidis* in meat by combinations of sodium lactate and diacetate. *Journal of Food Protection*, 64(5), 640-644.

Nanasombat, S., & Teckchuen, N. (2009). Antimicrobial, antioxidant and anticancer activities of Thai local vegetables. *Journal of Medicinal Plants Research*, 3(5), 443-449.

Na Pattalung, P., Thongtheeraparp, W., Wiriyachitra, P., & Taylor, W.C. (1994). Xanthones of *Garcinia cowa. Planta Med.*, 60, 365–368.

Nawar, W.W. (1996). Chemistry, pp. 410-420. In Y.H. Hui (ed.). Bailey's Industrial Fat Products Vol.l. General Application, 5th ed. John Wiley and Sons, Inc., New York.

Negi, P.S., & Jayaprakasha, G.K. (2004). Control of Foodborne Pathogenic and Spoilage Bacteria by *Garcinol* and *Garcinia indica* extracts, and their Antioxidant Activity. Journal of Food Science. 69 : 61-65.

Parr, A., & Bolwell, G. P. (2000). Phenols in the plant and in man: The potential for possible nutritional enhancement of the diet by modifying the phenols content or profile. *Journal of the Science of food and Agriculture*, 80, 985-1012.

Payá, M., Halliwell, B., & Hoult, J.R.S. (1992). Interaction of a series of coumarins with reactive oxygen species. *Biochemical & Pharmaceutical Bulletin*, *44*, 205-214.

Rey, A. I., Hopia, A., Kivikari, R., & Kahkonen, M. (2005). Use of natural food/plant extracts: clouderry (*Rubus chamaemorus*), Beetroot (*Beta vulgaris* "Vulgaris") or willow herb (*Epilobium angustifolium*) to reduce lipid oxidation of cooked pork patties. LWT 38: 363-370.

Riznar, K., Celan, S., Knez, Z., Skerjet, M., Bauman, D., & Glaser, R. (1991). Antioxidant and antimicrobial activity of rosemary extract in chicken frankfurters. *Journal of Food Science,* 71(7), 425–429.

Sallam, K.I. (2007). Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. *Food Control,* 18, 566-575.

Schuler, P. (1990). Natural antioxidant exploited commercially, In B. J. F. Hudson, *Food Antioxidants* (pp. 99-100). New York: Elsevier Science Publischer, Ltd.,

Shelef, L.A. (1994). Antimicrobial effects of lactates. *Journal of Food Protection*, 57(5), 445-450.

Sherwin, E.R. (1978). Oxidation and antioxidants in fat and oil processing. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 55(11), 809-812.

Sherwin, E.R. (1990). Antioxidants. In A.L. Branen, P.M. Davidson, & S. Salminen, *Food additives* (pp. 139-183). New York: Marcel Dekker, Inc.

Shahidi, F. (2000) . Antioxidants in food and food antioxidants. *Nahrung*, 44: 158-163.

Shafiullan, M., Parveen, M., Kamil, M., & Illyas, M. (1995). A new isoflavone C-glycoside from *Cassia siamea*. *Fitoterapia*, 65, 339-341.

Stauffer, C. E. (1996). Fats and oil: Practical Guides for the Food Industry. American Association of Cereal Chemists, Inc., Minnesota.

Tarladgis, B.G., Watts, B.M., & Yournathan, M.T. (1960). A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid food. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 37, 44-48.

Yagi, Q., Kadota, S., Tani, T.I., & Namba, T. (1996). Antioxidative effects of phenylethanoids from *Cistanche deserticola*. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 21, 123-140.

ภาคผนวก ก

การเตรียม Malonaldehyde standard curve เพื่อหาค่า K

การหาค่า K

1. การทำกราฟมาตรฐานของสาร 1,1,3,3-tetraethoxypropane (TEP)

1.1 การเตรียม stock solution ของสาร1,1,3,3-tetraethoxypropane (TEP)เพื่อทำกราฟมาตรฐาน

สาร 1,1,3,3-tetraethoxypropane มีความหนาแน่นเท่ากับ 0.919 กรัมต่อมิลลิลิตรและมีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 220.31 กรัม เมื่อมีสารนี้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

1.1.1 ต้องการทราบมวลของสารสามารถคำนวณหาได้จากสูตร $d = \frac{m}{V}$

เมื่อ d = ความหนาแน่น, m = มวล และ V = ปริมาตร

$$0.919\ g/ml = \frac{m}{100\ มิลลิลิตร}$$

ดังนั้นมวลของสาร TEP = 91.9 กรัม

1.1.2 ต้องการทราบจำนวนโมลของสาร TEP ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เมื่อ 220.31 กรัม = 1 โมล

$$ดังนั้นจำนวนโมลของสาร\ TEP = \frac{91.9\ g}{220.30} = 0.41713\ โมลต่อ100\ มิลลิลิตร$$

$$= 4.1713\ โมลต่อลิตร$$

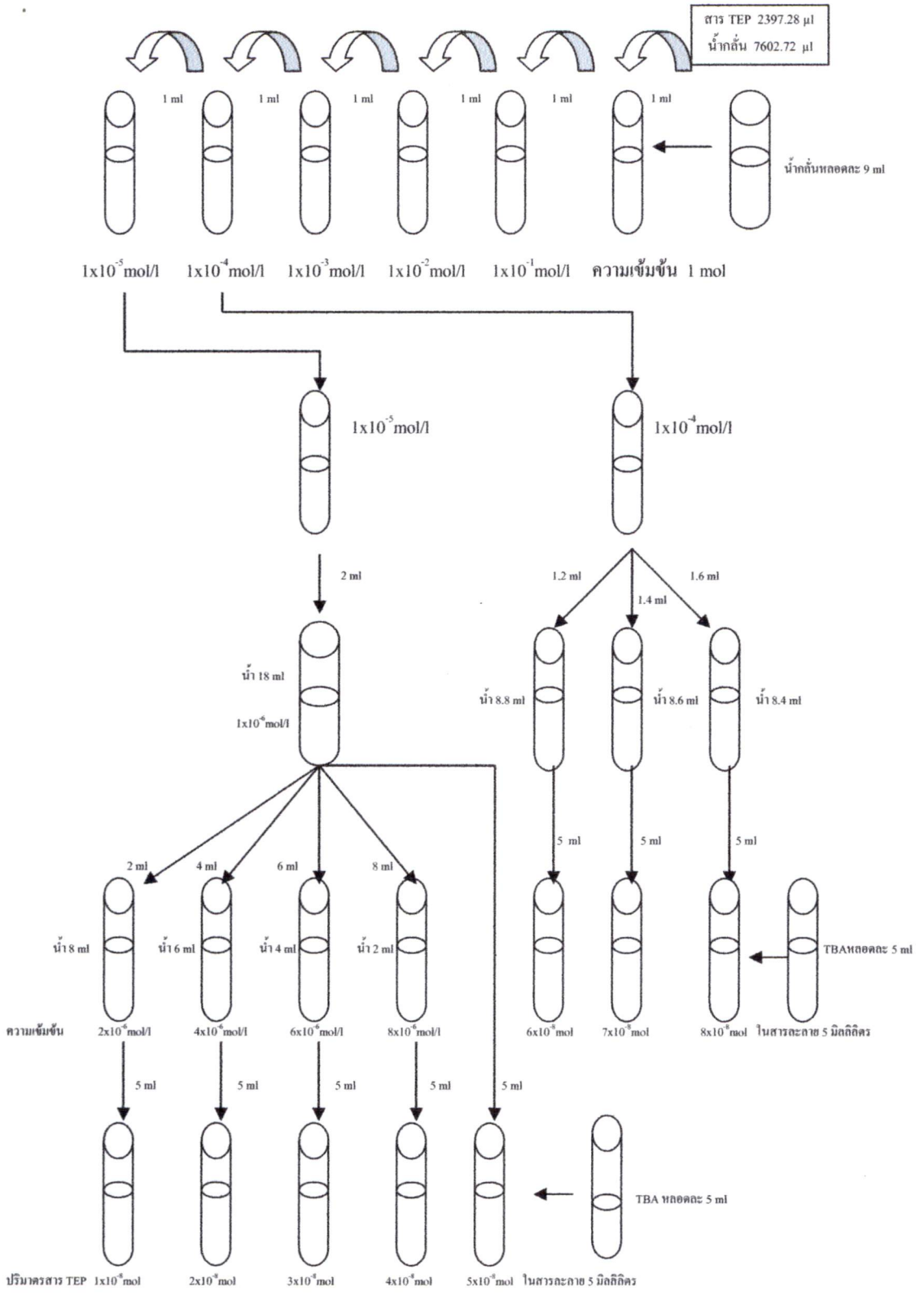
1.1.3 ถ้าต้องการเตรียมสาร TEP ความเข้มข้น 1 โมลต่อลิตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตรจะต้อง ปิเปตสาร TEP บริสุทธิ์มาปริมาตรเท่าไร คำนวณได้โดยจากสูตร

$$M_1V_1 = M_2V_2$$

$$4.1713V_1 = 1 \times 10$$

$$V_1 = 2.3972\ มิลลิลิตร$$

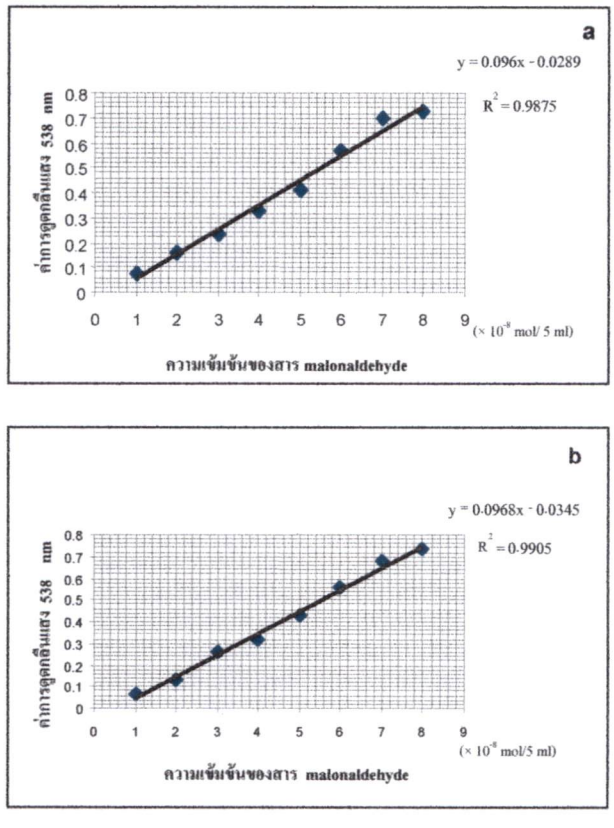
ดังนั้นการเตรียมสาร TEP บริสุทธิ์ความเข้มข้น 1 โมลต่อลิตร หรือ 1 โมลาร์ ปริมาตรทั้งหมด 10 มิลลิลิตรจะต้องปิเปตสาร TEP บริสุทธิ์ 2397.28 ไมโครลิตร ผสมกับน้ำกลั่น 7602.72ไมโครลิตร จะได้ปริมาตรสารละลาย TEP ทั้งหมด 10 มิลลิลิตรแสดงขั้นตอนการเตรียมดังต่อไปนี้



ปิเปตสารละลาย TEP ทั้ง 8 ระดับคือ 1×10^{-8} - 8×10^{-8} ปริมาตร 5 ml ใส่ลงในหลอดทดลอง แล้วเติม TBA 5 ml นำไปต้มในน้ำเดือด 35 นาที และแช่ในน้ำเย็น 10 นาทีนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 538 นาโนเมตรและนำค่าการดูดกลืนแสงทั้ง 8 ระดับไปเขียนกราฟมาตรฐาน

ตารางที่ ก.1 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 538 นาโนเมตรของสารละลายมาตรฐาน TEP

ความเข้มข้นสารละลาย TEP	OD_{538}	
(mol/5ml)	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2
0(blank)	0.000	0.000
$1x10^{-8}$	0.076	0.064
$2x10^{-8}$	0.159	0.134
$3x10^{-8}$	0.236	0.258
$4x10^{-8}$	0.324	0.319
$5x10^{-8}$	0.412	0.424
$6x10^{-8}$	0.566	0.559
$7x10^{-8}$	0.694	0.683
$8x10^{-8}$	0.729	0.734



รูปที่ ก.1 กราฟมาตรฐานของสาร 1,1,3,3-tetraethoxypropane (TEP) รูป a: ครั้งที่ 1 ; รูป b: ครั้งที่ 2

2. การหาค่า K ครั้งที่ 1

หลังจากที่ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายเพื่อสร้างกราฟมาตรฐานของสาร TEP แล้วต้องการทราบค่า percent recovery เพื่อแทนค่าในสมการหาค่า K ดั้งต่อไปนี้

ตารางที่ ก.2 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 538 นาโนเมตรที่วัดได้หลังจากการหาค่า TBA ของกุนเชียงที่เติม TEP บริสุทธ์

ปริมาณสาร TEP มิลลิกรัมใน กุนเชียงตัวอย่าง 10 กรัม	OD_{538}	
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่2
0.0000	0.138	0.365
0.0919	0.697	1.420
0.1838	0.719	1.450

ตัวอย่างการคำนวณเพื่อหา percent recovery

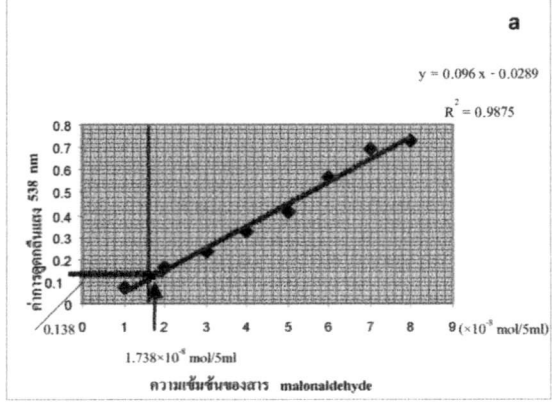
2.1 การคำนวณหาปริมาณ malonaldehyde ที่ได้หลังการกลั่นและทำปฏิกิริยากับสาร TBA

อาจหาได้โดยลากเส้นที่แกน y ณ จุดที่วัดค่า OD_{538} ได้ เช่น วัดได้ 0.138 โดยลากส้นขนานไปตัดกับกราฟมาตรฐาน ณ จุดตัดนั้นให้ลากเส้นตรงตามแนวดิ่งลงมาตัดที่แกน X ตัดที่จุดไหนอ่านค่าความเข้มข้น ณ จุดนั้น (ดังรูปที่ ข.1 a) หรืออีกวิธีหนึ่งทำได้โดยคำนวณจากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานโดยแทนค่า y ด้วยค่า OD_{538} ที่วัดได้ (เช่นวัดได้ 0.138) แล้วแก้สมการเพื่อหาค่า X ค่า X ที่ได้คือปริมาณสาร malonaldehyde ที่ได้หลังการกลั่น ดังนี้

จากสมการเส้นตรง $y = 0.096X - 0.0289$ แทนค่า y ด้วย 0.138

$$0.138 = 0.096X - 0.0289$$

$$X = \frac{0.138 + 0.0289}{0.096} = 1.738 \times 10^{-8} \text{ โมลต่อ 5 มิลลิลิตร}$$



ทำการเปลี่ยนหน่วยจากโมลเป็นมิลลิกรัม

สาร TEP 1 โมล = 220.31 กรัม = 220, 310 มิลลิกรัม

ดังนั้น 1.738×10^{-8} โมลต่อ 5 มิลลิลิตร = $220.31 \times 1.738 \times 10^{-8}$

= 0.0038 มิลลิกรัมต่อ 5 มิลลิลิตร

2.2 หา percent recovery ของสาร TEP ที่เติมในกุนเชียง

2.2.1 การเตรียมสาร TEP

ทำการเตรียมสาร TEP บริสุทธิ์ 2 ระดับความเข้มข้นคือ 0.0919 มิลลิกรัมและ 0.1838 มิลลิกรัมในสารละลาย TEP ปริมาตร 10 ไมโครลิตรที่ใช้เติมในกุนเชียง 10 กรัม ทำได้ดังนี้

2.2.2.1 เตรียมสาร TEP (0.0919 มิลลิกรัมในสารละลาย 10 ไมโครลิตร)

ปิเปตสาร TEP บริสุทธิ์ 10 ไมโครลิตรเติมน้ำกลั่น 990 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันจะได้สารละลาย TEP เจือจางปริมาตรทั้งหมด 1000 ไมโครลิตรซึ่งมีสาร TEP ปริมาตร 9.19 มิลลิกรัม จากนั้นจึงปิเปตสารละลาย TEP เจือจางนี้มา 10 ไมโครลิตร (มีเนื้อสาร TEP = 9.19×10/1000 = 0.0919 มิลลิกรัม) เติมลงในกุนเชียง 10 กรัม ดั้งนั้นในกุนเชียง 10 กรัมจึงมีสาร TEP เท่ากับ 0.0919 มิลลิกรัม และกุนเชียง 1 กรัมจึงมีสาร TEP เท่ากับ 0.00919 มิลลิกรัม

หมายเหตุ : ในสาร TEP ปริมาณ 1 มิลลิลิตรหรือ 1000 ไมโครลิตร มีเนื้อสารเท่ากับ 0.919 กรัมหรือ 919 มิลลิกรัม ดั้งนั้นถ้าสาร TEP ปริมาตร 10 ไมโครลิตร มีเนื้อสาร เท่ากับ 9.19 กรัมต่อมิลลิลิตร

2.2.2.2 เตรียมสาร TEP (0.1838 มิลลิกรัมในสารละลาย 10 ไมโครลิตร)

ปิเปตสาร TEP บริสุทธิ์ 20 ไมโครลิตรเติมน้ำกลั่น 980 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันจะได้สารละลาย TEP เจือจางปริมาตรทั้งหมด 1000 ไมโครลิตรซึ่งมีสาร TEP ปริมาตร 18.38 มิลลิกรัม จากนั้นจึงปิเปตสารละลาย TEP เจือจางนี้มา 20 ไมโครลิตร (มีเนื้อสาร TEP = 18.38 ×20/1000 = 0.1838 มิลลิกรัม) เติมลงในกุนเชียง 10 กรัม ดั้งนั้นในกุนเชียง 10 กรัมจึงมีสาร TEP เท่ากับ 0.1838 มิลลิกรัมและกุนเชียง 1 กรัมจึงมีสาร TEP เท่ากับ 0.01838 มิลลิกรัม

ผลของการคำนวณหาปริมาณสาร malonaldehyde ในกุนเชียงที่เติมสาร TEP รวมทั้งการหา percent recovery แสดงในตารางที่ ก. 3

ตารางที่ ก. 3 ค่าปริมาณสาร malonaldehyde ในกุนเชียงที่เติมสาร TEP และค่า percent recovery

ปริมาณสาร TEP เริ่มต้นที่เติมในกุนเชียง (มิลลิกรัมต่อกุนเชียง10กรัม)	ครั้งที่	OD_{535}	ปริมาณสาร malonaldehyd หลังกลั่น (ต่อ 5 มิลลิลิตร)		ปริมาณสาร malonaldehyde ที่ได้จริงจากสาร TEP บริสุทธิ์ที่เติมลงไป (มิลลิกรัม)	recovery (%)	เฉลี่ย
			โมล	มิลลิกรัม			
0.0000	1	0.138	1.738×10^{-8}	0.0038	-	-	
	2	0.365	4.020×10^{-8}	0.0088	-	-	
0.0919	1	0.697	7.561×10^{-8}	0.0166	0.0128	139.49	106.115
0.1838	1	0.719	7.790×10^{-8}	0.0172	0.0134	72.74	
0.0919	2	1.420	15.656×10^{-8}	0.0344	0.0256	278.56	211.095
0.1838	2	1.450	15.986×10^{-8}	0.0352	0.0264	143.63	

2.3 ตัวอย่างการคำนวณปริมาณสาร malonaldehyde และ percent recovery

สารTEP บริสุทธิ์ปริมาณ 0.0919 มิลลิกรัมที่เติมในกุนเชียง 10 กรัม (ครั้งที่ 1 ค่า OD ที่วัดได้เท่ากับ 0.697)

จากสมการเส้นตรง $y = 0.096X - 0.0289$

แทน y ด้วย 0.697

$$0.697 = 0.096X - 0.0289$$

$$X = \frac{0.697 + 0.0289}{0.096}$$

$$= 7.561\times 10^{-8} \text{ โมลต่อ 5 มิลลิลิตร}$$

ทำการเปลี่ยนหน่วยจากโมลเป็นมิลลิกรัม

สาร TEP 1 โมล = 220.31 กรัม

= 220, 310 มิลลิกรัม

ดังนั้น 7.561×10^{-8} โมลต่อ 5 มิลลิลิตร $= 220.31\times 7.561\times 10^{-8}$

= 0.0166 มิลลิกรัมต่อ 5 มิลลิลิตร

ปริมาณสาร malonaldehyde ที่ได้จริงจากสาร TEP ที่เติมลงในกุนเชียง = 0.0166 – X

เมื่อ X คือ ปริมาณสาร malonaldehyde ที่มีอยู่ในกุนเชียงชุดควบคุม(ไม่มีการเติมสาร TEP)

ดังนั้นปริมาณสาร malonaldehyde ที่ได้จริงจากสาร TEP = 0.0166 - 0.038

= 0.0128 มิลลิกรัม

$$\text{recovery (\%)} = \frac{100\,(0.0128)}{0.0919} = 139.49\%$$

เมื่อหา % recovery ครั้งที่ 2 (คำนวณด้วยวิธีเช่นเดียวกับข้างต้น) ได้ = 72.74 %

ดังนั้น recovery (%) เฉลี่ย $= \frac{139.49 + 72.74}{2} = 106.115\ \%$

นำ % recovery ที่คำนวณได้มาคำนวณหาค่า K ดังสมการข้างล่าง

<u>การหาค่า K</u>

ค่า K หาได้จากสมการต่อไปนี้

$$K = (S/A) \times MW \times (10^6/E) \times (100/P)$$

S = ค่าความเข้มข้นมาตรฐานของ 1,1,3,3-tetraethoxypopane (TEP)($1x10^{-8}$ โมลใน 5 มิลลิลิตร)

A = ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน TEP

MW = ค่าน้ำหนักโมเลกุลของมาลโลนาลดีไฮด์ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 72

E = คือ sample equivalent มีค่าเท่ากับ 1 ซึ่งคำนวณได้โดยสารที่กลั่นได้ 50 มิลลิลิตรมาจากตัวอย่าง 10 กรัม ดังนั้นเมื่อใช้สารที่ได้จากการกลั่นเพียง 5 มิลลิลิตรซึ่งมาตัวอย่าง 1 กรัม

P = คือ percent recovery ซึ่งหาค่าได้โดย เติมสาร TEP ที่ทราบปริมาณแน่นอนลงในกุนเชียง 10 กรัม

ดังนั้น ค่า K ครั้งที่ 1 คำนวณได้ดังนี้

$$K = \frac{10^{-8}}{0.076} \times 72 \times \frac{10^6}{1} \times \frac{100}{106.115} = 8.89$$

ค่า K ครั้งที่ 2 คำนวณเช่นเดียวกัน ได้ค่า = 4.48

เมื่อทำการคำนวณหาค่า K ทั้ง 2 ครั้ง นำมาทำการคำนวณหาค่าเฉลี่ยที่แท้จริงดังต่อไปนี้

ดังนั้นค่า K ที่แท้จริง $= \frac{K_1 + K_2}{2}$

$$= \frac{8.89 + 4.48}{2}$$

$$K = 6.7$$