

**สำนักงานคณะกรรมการ**

**การวิเคราะห์ปริมาณมาลอลดีไฮด์ในอาหารชนิดต่างๆ**

**ด้วยวิธีการกลั่นและการสกัดในกรด**

**(Quantitative measurement of malonaldehyde in various foods by  
distillation method and aqueous acid extraction)**



โดย  
**ดร. ยุพร พิชักมูตร**

RCH

+ X

541

ย๑๑๕ก

เลขที่.....  
เลขทะเบียน.....  
วัน,เดือน,ปี.....

83627

10 ก. ย. 2551

**รายงานผลการวิจัยที่ได้รับทุนสนับสนุนเงินรายได้**

**คณะอุตสาหกรรมเกษตร**

**สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง**

**2549**

11๑๘1๔๑๐  
b.....  
i.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไป  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุก

**โครงการวิจัยเรื่อง** การวิเคราะห์ปริมาณมาลonalดีไฮด์ในอาหารชนิดต่างๆ  
ด้วยวิธีการกลั่นและการสกัดในกรด

(Quantitative measurement of malonaldehyde in various foods by  
distillation method and aqueous acid extraction)

**ผู้วิจัย** นางยุพร พิษกมฺุท

**ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัย** สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
ประจำปีงบประมาณ 2549

**หน่วยงานที่สังกัด** คณะอุตสาหกรรมเกษตร

### บทคัดย่อ

การศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีต่อการวิเคราะห์ปริมาณมาลonalดีไฮด์ โดยวิธีการสกัดในกรด ที่อุณหภูมิต่างกัน 3 ระดับ คืออุณหภูมิ 33 (อุณหภูมิห้อง) 60 และ 90 องศาเซลเซียสในผลิตภัณฑ์มันฝรั่งทอดกรอบ และบะหมี่กึ่งสำเร็จรูป พบว่า ที่อุณหภูมิ 33°C เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการวิเคราะห์หาปริมาณมาลonalดีไฮด์ การศึกษาผลของซัลฟานิลาร์ไมด์ที่มีต่อการวิเคราะห์ปริมาณมาลonalดีไฮด์ในผลิตภัณฑ์หมูแผ่นและกุนเชียง พบว่า ค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ทั้ง 2 ชนิด ที่มีการเติมซัลฟานิลาร์ไมด์มีค่าสูงกว่าการไม่เติมและมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) การศึกษาวิธีการตรวจสอบมาลonalดีไฮด์ที่เหมาะสมในอาหารชนิดต่างๆ โดยทำการเปรียบเทียบระหว่างวิธีการกลั่นและการสกัดในกรด พบว่า ค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จาก 2 วิธีมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) โดยที่วิธีการกลั่นจะเหมาะสมกับผลิตภัณฑ์หมูแผ่นและกุนเชียง ในขณะที่ผลิตภัณฑ์มันฝรั่งทอดกรอบและบะหมี่กึ่งสำเร็จรูป จะเหมาะสมกับวิธีการสกัดในกรด

# สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ .....	ก
สารบัญ .....	ข
สารบัญตาราง .....	ค
สารบัญรูปภาพ.....	ง
<b>บทที่ 1 บทนำ .....</b>	<b>1</b>
1.1 ความสำคัญและที่มา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์.....	1
<b>บทที่ 2 วารสารปริทัศน์ .....</b>	<b>2</b>
2.1 การหีน.....	2
2.2 กลไกการเกิดออกซิเดชัน.....	4
2.3 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่ออัตราการเกิดลิพิดออกซิเดชันในอาหาร.....	5
2.4 การวัดและการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน.....	8
2.5 บทบาทของไนเตรตและ ไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์เนื้อ.....	13
2.6 สเปกโทรโฟโตเมทรี (Spectrophotometry).....	14
<b>บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ .....</b>	<b>15</b>
3.1 ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ .....	15
3.2 อุปกรณ์การวิเคราะห์ .....	15
3.3 เครื่องมือวิเคราะห์ .....	15
3.4 สารเคมี .....	16
3.5 วิธีการดำเนินงาน.....	16
3.6 สถานที่ดำเนินการ.....	18
<b>บทที่ 4 ผลการทดลอง.....</b>	<b>19</b>
4.1 ผลของอุณหภูมิที่มีต่อการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนัลดีไฮด์ .....	19
โดยวิธีการสกัดในกรด	
4.2 ผลของซัลฟานิลาร์ไมด์ที่มีต่อการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนัลดีไฮด์.....	22
ในผลิตภัณฑ์กุนเชียงและหมูแผ่น	
4.3 ผลของวิธีการตรวจสอบมาลอนัลดีไฮด์ที่เหมาะสมในอาหาร.....	24
ชนิดต่างๆ โดยทำการเปรียบเทียบระหว่างวิธีการกลั่นและการสกัดในกรด	

ข

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
<b>บทที่ 5</b> สรุปผลการทดลอง.....	25
5.1 ผลของอุณหภูมิที่มีต่อการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนอัลดีไฮด์ .....25	
โดยวิธีการสกัดในกรด	
5.2 ผลของซัลฟานิลาร์ไมด์ที่มีต่อการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนอัลดีไฮด์ .....25	
ในผลิตภัณฑ์กวนเชียงและหมูแผ่น	
5.3 วิธีการตรวจสอบมาลอนอัลดีไฮด์ที่เหมาะสมในอาหารชนิดต่างๆ .....25	
โดยทำการเปรียบเทียบระหว่างวิธีการกลั่นและการสกัดในกรด	
<b>ข้อเสนอแนะ</b> .....	26
<b>บรรณานุกรม</b> .....	27



# สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
ตารางที่ 4.1.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนอัลดีไฮด์ในผลิตภัณฑ์มันฝรั่งทอดกรอบ.....19 และบะหมี่กึ่งสำเร็จรูป ที่ปฏิบัติการดำเนินที่ อุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส เป็น ระยะเวลาต่างๆ	
ตารางที่ 4.1.2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนอัลดีไฮด์ในผลิตภัณฑ์มันฝรั่งทอดกรอบ.....20 และบะหมี่กึ่งสำเร็จรูป ที่ปฏิบัติการดำเนินที่ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็น ระยะเวลาต่างๆ	
ตารางที่ 4.1.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนอัลดีไฮด์ในผลิตภัณฑ์มันฝรั่งทอดกรอบ.....21 และบะหมี่กึ่งสำเร็จรูป ที่ปฏิบัติการดำเนินที่ อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็น ระยะเวลาต่างๆ	
ตารางที่ 4.2.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนอัลดีไฮด์ในผลิตภัณฑ์หมูแผ่น โดย.....22 เปรียบเทียบระหว่างการเค็มและไม่เค็มซัลฟานิลาร์ไมด์	
ตารางที่ 4.2.2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนอัลดีไฮด์ในผลิตภัณฑ์กุ้งแห้ง โดย.....23 เปรียบเทียบระหว่างการเค็มและไม่เค็มซัลฟานิลาร์ไมด์	
ตารางที่ 4.3.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนอัลดีไฮด์โดยเปรียบเทียบวิธีการถนอม.....24 และการสกัดในกรดในผลิตภัณฑ์อาหารแต่ละชนิด	

# สารบัญภาพ

ภาพที่

หน้า

ภาพที่ 2.1 ปฏิกิริยาระหว่าง thiobarbituric acid และ malonaldehyde.....11



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความสำคัญและที่มา

ปฏิกิริยาออกซิเดชัน มีความสำคัญมากในอุตสาหกรรมอาหาร ซึ่งทำให้เกิดการหืนขึ้นในผลิตภัณฑ์อาหารและเกิดขึ้นได้ทั้งในระหว่างการเก็บวัตถุดิบ การแปรรูป การให้ความร้อนและในช่วงการเก็บของผลิตภัณฑ์สุดท้าย ซึ่งส่วนใหญ่นำไปสู่การไม่ยอมรับของผู้บริโภค

การเหม็นหืนของอาหาร ไม่เพียงแต่ทำให้อาหารเสื่อมเสียแต่ยังก่อให้เกิดสารพิษ (Toxic byproducts) รวมทั้งปฏิกิริยาการเสื่อมเสียอื่นๆ เช่น เม็ดสีเกิดการฟอกสี การสูญเสียกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ เป็นต้น ซึ่งการตรวจสอบเพื่อวัดการเกิดออกซิเดชันของลิพิดสามารถทำได้หลายวิธี ได้แก่ การวิเคราะห์หาค่าเพอร์ออกไซด์ (Peroxide Value PV), ค่าแอซิด (Acid Value AV) และค่าไทโอบาบริติกแอซิด รีแอคทีฟ ซับสแตนซ์ (Thiobarbituric acid reactive substance TBARs) เป็นต้น แต่บางวิธีนั้นก็ยังมีข้อจำกัด เช่น ถ้าอุณหภูมิที่ใช้ทอดสูง เมื่อเพอร์ออกไซด์เกิดขึ้นจะสลายตัวเป็นสารประกอบที่ระเหยได้ ทำให้ค่า PV ลดลง ดังนั้นค่า PV อาจใช้ตัดสินคุณภาพของน้ำมันทอด (fry life) ได้ยากและวิธีไม่มีความจำเพาะเจาะจงในอาหารแต่ละชนิด

ดังนั้นการทดลองเพื่อเปรียบเทียบการหาปริมาณมาลอนัลดีไฮด์ในอาหารนี้ จึงเลือกใช้ Thiobarbituric acid reactive substance (TBARs) เนื่องจากเป็นตัวหนึ่งที่มีนิยมนำมาใช้วัดปริมาณเพอร์ออกไซด์ของไขมัน เพราะมีความไวในการเกิดปฏิกิริยา สามารถเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน จากนั้นทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยสามารถวัดค่าได้โดยวิธี Spectrophotometry, Gas Chromatography (GC) และ High Performance Liquid Chromatography (HPLC) เนื่องจากวิธี Spectrophotometry สามารถทำได้ง่าย และเสียค่าใช้จ่ายน้อยจึงได้นำมาใช้วัดค่าการดูดกลืนแสงในการทดลองนี้ และได้ทำการเปรียบเทียบค่า TBARs ระหว่างวิธีการกลั่นและการสกัดในกรด โดยศึกษาผลของอุณหภูมิและซัลฟานิลาร์ไมด์ ที่มีผลต่อค่า TBARs เพื่อเป็นแนวทางที่เหมาะสมในการหาปริมาณมาลอนัลดีไฮด์ในอาหารแต่ละกลุ่ม

### 1.2 วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีต่อการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนัลดีไฮด์ โดยวิธีการสกัดในกรด
2. เพื่อศึกษาผลของซัลฟานิลาร์ไมด์ที่มีต่อการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนัลดีไฮด์ ในผลิตภัณฑ์หมูแผ่นและกุนเชียง
3. เพื่อศึกษาวิธีการตรวจสอบมาลอนัลดีไฮด์ที่เหมาะสมในอาหารชนิดต่างๆ โดยทำการเปรียบเทียบระหว่างวิธีการกลั่นและการสกัดในกรด

## บทที่ 2

### วารสารปริทัศน์

#### 2.1 การหืน (Rancidity)

การหืนเป็นปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของไขมันและน้ำมัน ทำให้มีกลิ่นผิดปกติและสมบัติทั้งทางเคมีและทางกายภาพเปลี่ยนไป การหืนเกิดขึ้นได้ 3 แบบดังนี้ (นิธิยา, 2545)

ก. Lipolysis เป็นปฏิกิริยาการไฮโดรไลซิสที่พันธะเอสเทอร์ในโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์หรือลิพิดด้วยเอนไซม์ไลเปส ความร้อน กรด ค้าง และความชื้น หรือปฏิกิริยาทางเคมีใดๆก็ตาม ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นนี้เรียกว่า ลิโพลีซิส หรือ lipolytic rancidity หรือ hydrolytic rancidity ตัวอย่างเช่น ปฏิกิริยาลิโพลีซิสของไขมันนม ซึ่งมักจะเกิดขึ้นกับน้ำมันดิบที่มีเอนไซม์ไลเปส ทำให้มีผลต่อกลิ่นของน้ำมันและผลิตภัณฑ์นม กรดไขมันที่มีผลทำให้เกิดกลิ่นในไขมันนม คือ กรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอน 4-12 อะตอม เป็นกรดที่ระเหยได้ง่าย เช่น กรดบิวทีริก จึงทำให้เกิดกลิ่นหืนและมีผลต่อคุณภาพของไขมันหรือน้ำมันที่นำไปใช้ปรุงอาหาร หรือ แปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารด้วย การเกิดลิโพลีซิสจะเป็นปฏิกิริยาหลักที่เกิดขึ้นขณะทอดอาหารที่มีน้ำ หรือมีความชื้นสูงและใช้อุณหภูมิสูง ปริมาณกรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาลิโพลีซิส ยังมีผลทำให้อุณหภูมิที่เกิดควันและแรงดึงผิวของน้ำมันลดต่ำลงด้วย น้ำมันจะเกิดควันได้ง่ายขณะทอดอาหาร เช่น การทอดโคนัท จะได้โคนัทที่มีสีคล้ำ ผิวแตก และคือน้ำมันไว้มาก ทำให้โคนัทหรืออาหารที่ทอดนั้นมีคุณภาพต่ำ กรดไขมันที่อยู่ในรูปอิสระยังมีความไวต่อการเกิดออกซิเดชันมากกว่าที่อยู่ในรูปเอสเทอร์กับกลีเซอรอล

Hydrolytic rancidity เป็นการหืนที่เกิดจากปฏิกิริยาการไฮโดรไลซิสไขมัน และน้ำมันด้วยเอนไซม์ไลเปสและความชื้น ทำให้ไขมันและน้ำมันเกิดการสลายตัวได้เป็นกรดไขมันอิสระ โดยเฉพาะกรดไขมันอิสระที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ มีจำนวนคาร์บอน 4-12 อะตอม จะมีกลิ่นเหม็นหืนมาก เช่น การหืนของน้ำมันมะพร้าว เนย และน้ำมันหมู เมื่อเกิดการหืนจะทำให้ไขมันและน้ำมันมีกลิ่นและรสชาติเปลี่ยนไป

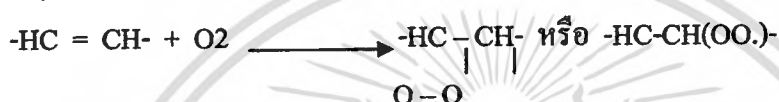
อย่างไรก็ตามไขมันและน้ำมันบางชนิดเมื่อเกิด hydrolytic rancidity แล้วไม่สามารถสังเกตได้ด้วยการดมกลิ่น หรือชิมรส ต้องตรวจวิเคราะห์โดยวิธีทางเคมี คือ ต้องวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้น ค่าที่ได้เรียกว่า Acid Value (A.V.)

ค่า A.V. ของไขมันหรือน้ำมัน คือ จำนวนมิลลิกรัมของโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการทำให้กรดไขมันอิสระที่มีอยู่ในน้ำมันหรือน้ำมันจำนวน 1 กรัม เป็นกลางพอดี ซึ่งนิยมเทียบเป็นเปอร์เซ็นต์ของกรดโอเลอิก ดังนั้น ค่า A.V. จะเป็นตัวบ่งชี้ภาวะหรือระดับการหืนของไขมัน

และน้ำมัน ถ้าค่า A.V. สูง แสดงว่าไตรกลีเซอไรด์ถูกไฮโดรไลซ์เป็นกรดไขมันอิสระมากแสดงว่าเกิดการหืนมาก

ข. การหืนเนื่องจากออกซิเดชัน (Oxidative rancidity) เป็นการหืนที่เกิดขึ้นเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน (autooxidation) ที่พันธะคู่ของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวกับออกซิเจนในอากาศเกิดเป็น peroxide linkage ขึ้นระหว่างพันธะคู่ ออกซิเดชันจะเกิดขึ้นเองแบบต่อเนื่องตลอดเวลาเมื่อไขมันและน้ำมันสัมผัสกับออกซิเจนในอากาศ ทำให้มีกลิ่นและรสชาติผิดปกติ การหืนด้วยปฏิกิริยานี้จะเกิดขึ้นในอาหารที่มีไขมันและน้ำมันผสมอยู่ด้วย โดยเฉพาะในไขมันและน้ำมันที่ใช้ปรุงอาหารจะเกิดขึ้นมากที่สุด การมีโลหะ เช่น ทองแดงและตะกั่ว จะเป็นตัวเร่งให้เกิดปฏิกิริยาได้เร็วขึ้น นอกจากนั้นความร้อนและแสงก็มีผลช่วยเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วย

ปฏิกิริยาการเกิด peroxide linkage ดังสมการ



การเกิดการหืนโดยปฏิกิริยานี้ทำให้กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวซึ่งเป็นกรดไขมันจำเป็นต่อร่างกายถูกทำลาย มีผลทำให้คุณค่าทางโภชนาการของไขมันและน้ำมันลดลงด้วยและยังทำลายพวกวิตามินต่างๆที่ละลายในไขมันและน้ำมันได้อีกด้วย

การหืนที่เกิดโดยปฏิกิริยาออกซิเดชันนี้ยังอาจเกิดขึ้นได้เมื่อมีเอนไซม์ลิพอกซิเดส (lipoxidase) ช่วยเร่งปฏิกิริยาซึ่งจะเป็น enzymatic oxidation

ไขมันและน้ำมันที่เกิดการหืนเนื่องจากออกซิเดชัน จะมีค่า I.N. ลดต่ำลง การตรวจวิเคราะห์ว่าไขมันและน้ำมันเกิดการหืนเนื่องจากออกซิเดชันมากน้อยเท่าใด ทำได้โดยการหาค่าเพอร์ออกไซด์ (Peroxide Value หรือ P.V.) คือการหาปริมาณสารเพอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นในน้ำมันหรือไขมันนั้น

ค่า P.V. หมายถึง จำนวนมิลลิลิตรของสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต ความเข้มข้น 0.002 นอร์มัล ที่ใช้ในการไตเตรตน้ำมันหรือไขมัน 1 กรัม หรือหมายถึง จำนวนมิลลิสมมูลของเพอร์ออกไซด์ออกซิเจน (peroxide oxygen) ที่มีในน้ำมันหรือไขมัน 1 กิโลกรัม ถ้าค่า P.V. สูง แสดงว่าน้ำมันหรือไขมันเกิดการหืนเนื่องจากออกซิเดชันมาก และค่า I.N. ที่วิเคราะห์ที่ได้จะต่ำกว่าค่าที่เป็นจริง

การเกิดการหืนเนื่องจากออกซิเดชัน ยังทดสอบได้โดยใช้ Kreis test คือปฏิกิริยาของ Kreis reagent ซึ่งเป็นสารละลาย phloroglucinol กับไขมันหรือน้ำมันที่ถูกออกซิไดส์ในภาวะที่เป็นกรด จะทำให้เกิดสีแดง

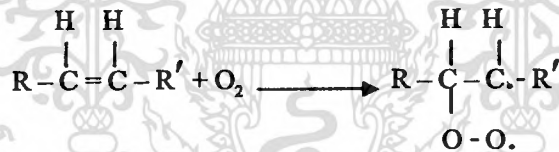
ค. Ketonic rancidity เป็นการเกิดปฏิกิริยา enzymatic oxidation ที่โมเลกุลของกรดไขมันชนิดอิ่มตัว ได้เป็นสารประกอบจำพวกคีโตน

## 2.2 กลไกการเกิดออกซิเดชัน ( Mechanism of oxidation ) (นิธิยา , 2545)

การเกิดออกซิเดชันเป็นปฏิกิริยาทางเคมีระหว่างออกซิเจนกับกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวอิสระหรือที่เป็นองค์ประกอบในโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์ที่อยู่ในลิพิดหรืออาหารที่มีลิพิด ทำให้อาหารเสื่อมคุณภาพ (deterioration) ปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นเป็นไปอย่างต่อเนื่องเมื่อลิพิดหรืออาหารสัมผัสกับออกซิเจนในอากาศ อัตราเร็วของปฏิกิริยาออกซิเดชันจะค่อยๆ เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เนื่องจากเกิดปฏิกิริยาต่อเนื่องของอนุมูลอิสระ (free-radical chain reaction) ซึ่งมีกลไกการเกิดได้เป็น 3 ขั้นตอน ดังนี้

1. Initiation เป็นขั้นตอนการเกิดอนุมูลอิสระ (free radical)
2. Propagation เป็นปฏิกิริยาต่อเนื่องของอนุมูลอิสระ
3. Termination เป็นปฏิกิริยาสุดท้ายที่ทำให้โปรคักต์ที่เกิดขึ้นไม่ได้เป็นอนุมูลอิสระ (non-radical products)

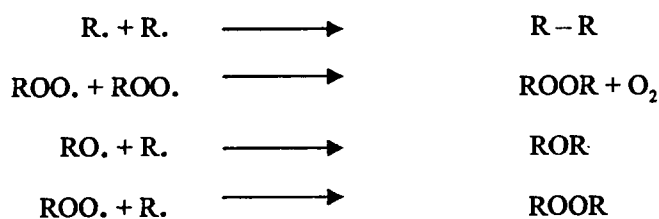
ปฏิกิริยาเริ่มต้นของออกซิเจนกับกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวจะทำให้เกิด ไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (hydroperoxide, ROOH) โดยไฮโดรคาร์บอนตรงตำแหน่งพันธะคู่สูญเสียไฮโดรเจนอะตอมทำให้เกิดเป็นอนุมูลอิสระ



หลังจากนั้นก็เกิดปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระกับออกซิเจนต่อเนื่องไปเรื่อยๆ



ได้เป็นอนุมูลเพอร์ออกไซด์ (ROO·) ไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (ROOH) และอนุมูลไฮโดรคาร์บอน (R·) อนุมูลที่เกิดขึ้นใหม่นี้ก็จะเกิดปฏิกิริยาต่อเนื่องกับออกซิเจนต่อไป และเมื่อใดที่อนุมูลอิสระมาทำปฏิกิริยากันเองจะเกิดเป็นสารประกอบใหม่ที่ไม่นับเป็นอนุมูลอิสระ ปฏิกิริยาก็คจะหยุดลง ตัวอย่างเช่น





เมื่อไม่มีอนุมูลอิสระเหลือสำหรับทำปฏิกิริยาต่อเนื่องกับออกซิเจนแล้ว หากยังมีออกซิเจนมากพออยู่ ก็จะเริ่มต้นเกิดปฏิกิริยาขั้นที่ 1 (Initiation reaction) เพื่อให้เกิดเป็นอนุมูลอิสระได้ใหม่

### 2.3 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่ออัตราการเกิดลิพิดออกซิเดชันในอาหาร (กฤษณี, 2543 และนิธิยา, 2545)

เนื่องจากลิพิดที่อยู่ในอาหารมีองค์ประกอบเป็นกรดไขมันชนิดต่างๆ มากมาย ซึ่งมีความแตกต่างกันทั้งสมบัติทางกายภาพและทางเคมี รวมทั้งความไวต่อการเกิดออกซิเดชัน นอกจากนี้ส่วนประกอบอื่นๆ ในอาหารอาจทำหน้าที่ร่วมออกซิไดส์ (cooxidize) หรือทำปฏิกิริยากับลิพิดที่ถูกออกซิไดส์แล้ว หรือโปรดักต์ที่เกิดจากการออกซิเดชัน ดังนั้นปฏิกิริยาการเกิดออกซิเดชันของลิพิด จึงเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องและค่อนข้างสลับซับซ้อน ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเกิดลิพิดออกซิเดชัน มีดังนี้

1. ชนิดของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบ เนื่องจากชนิดของกรดไขมันในโมเลกุลของไขมันและน้ำมันมีผลกระทบต่ออัตราเร็วของปฏิกิริยาออกซิเดชัน กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเท่านั้นที่จะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน และอัตราเร็วของการเกิดจะแตกต่างกัน กรดไขมันที่มีพันธะคู่มากจะเกิดได้เร็วกว่า ดังนี้

กรดอะราคิโดนิก : กรดลิโนเลนิก : กรดลิโนเลอิก : กรดโอเลอิก = 40 : 20 : 10 : 1

กรดไขมันที่อยู่ในรูปซิสไอโซเมอร์ เกิดออกซิไดส์ได้เร็วกว่า ทรานส์ไอโซเมอร์ และตำแหน่งที่เป็น conjugated double bond จะเกิดได้ไวกว่า nonconjugated double bond การเก็บรักษาอาหารที่อุณหภูมิห้อง กรดไขมันชนิดอิ่มตัวจะไม่เกิดออกซิเดชัน จะเกิดเฉพาะกับกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเท่านั้น แต่ที่อุณหภูมิสูงกรดไขมันชนิดอิ่มตัวก็อาจเกิดออกซิเดชันได้บ้าง

2. กรดไขมันอิสระ กรดไขมันที่อยู่ในรูปอิสระจะถูกออกซิไดส์ได้ง่ายกว่าที่อยู่ในรูปเอสเทอร์กับกลีเซอรอล

3. ความเข้มข้นของออกซิเจน ในภาวะที่มีออกซิเจนมาก อัตราการเกิดออกซิเดชันจะไม่ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของออกซิเจน แต่ในภาวะที่มีออกซิเจนน้อยอัตราการเกิดออกซิเดชันจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของออกซิเจน อย่างไรก็ตามผลของออกซิเจน ยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่นด้วย เช่น อุณหภูมิและพื้นที่ผิวที่สัมผัสกับออกซิเจน

#### 4. อุณหภูมิ

การเพิ่มอุณหภูมิมีผลทำให้การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเพิ่มขึ้น เนื่องจากอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นทำให้เกิดปฏิกิริยาถูกโซในชั้นโทรพาแกนเพิ่มขึ้น และยังเร่งให้เกิดการแตกตัวของเปอร์ออกไซด์ ทำให้มีอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้น จึงเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเพิ่มขึ้น และจากการศึกษาของ Bloukas และ Honokel ในปี 1992 พบว่าระยะเวลาการเก็บที่อุณหภูมิสูงมีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยการเก็บนานขึ้นทำให้ค่า TBA และปริมาณเปอร์ออกไซด์สูงขึ้น แต่อย่างไรก็ตามเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นมากๆ ทำให้การละลายของออกซิเจนลดลงจึงเป็นการลดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันลงได้

#### 5. Radiant energy

แสงและรังสีต่างๆ เช่น visible light แสงอัลตราไวโอเล็ต และแกมมาเรดิเอชัน มีผลช่วยเร่งให้เกิดออกซิเดชันได้เร็วขึ้น โดย Ultraviolet เร่งปฏิกิริยาได้ดีกว่า เพราะมีพลังงานสูงกว่า ( $\lambda$  ของ UV เท่ากับ 200-350, visible light = 350-800 nm) แสงและรังสีต่างๆ เช่น visible light แสงอัลตราไวโอเล็ต และแกมมาเรดิเอชัน มีผลช่วยเร่งให้เกิดออกซิเดชันได้เร็วขึ้น

#### 6. การบด หรือ พื้นที่ผิวสัมผัส

อัตราเร็วของการเกิดออกซิเดชันจะเพิ่มขึ้นเป็นสัดส่วนโดยตรงต่อพื้นที่ผิวของลิพิดที่สัมผัสกับอากาศ ดังนั้น หากอัตราส่วนของพื้นที่ผิวต่อปริมาตรเพิ่มขึ้น การเกิดออกซิเดชันจะเร็วขึ้น สำหรับอาหารที่เป็นอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ การเกิดออกซิเดชันจะขึ้นอยู่กับอัตราการแพร่กระจายของออกซิเจนเข้าไปยังส่วนที่เป็นน้ำมัน

#### 7. โซเดียมคลอไรด์

โซเดียมคลอไรด์ มักใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์เพื่อเพิ่มรสชาติและสกัด โปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือออกมา นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่พบว่าโซเดียมคลอไรด์เร่งการเกิดออกซิเดชันในเนื้อสัตว์ โดยการใช้โซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นเพิ่มขึ้นทำให้ค่า thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) เพิ่มขึ้น เนื่องจากโซเดียมคลอไรด์ไปลดกิจกรรมของเอนไซม์ที่ยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (antioxidant enzyme) คือ catalase (CAT), glutathione peroxidase (GSH-Px) และ superoxide dismutase (SOD) โดยการใช้โซเดียมคลอไรด์ 2 เปอร์เซ็นต์ในเนื้อหมูจะทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ CAT, Gsh-Px และ SOD ลดลง 18, 41 และ 58 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

#### 8. ตัวกระตุ้นให้เกิดออกซิเดชัน (prooxidation)

ตัวกระตุ้นให้เกิดออกซิเดชันที่สำคัญคือ อีออนของ โลหะเช่น เหล็ก,ทองแดงและซีโมโกลบิน ซึ่งมีอีออนของเหล็กเป็นองค์ประกอบก็ถือเป็นตัวกระตุ้นให้เกิดออกซิเดชันด้วย โดยซีโมโกลบินจะสามารถกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้มากกว่าอีออนของเหล็ก และเมื่อพีเอชเพิ่มขึ้นการกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยซีโมโกลบินจะเพิ่มขึ้นจนสูงสุดที่พีเอช 6.6 และที่พีเอช 7.5 การกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันจะลดลง เนื่องจาก การเกิดปฏิกิริยา ionization ของโมเลกุลน้ำที่นับที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 6 บนฮีม (pk 8.9) และการเกิดปฏิกิริยารีดักชันบางส่วนเป็นเฟอร์รัส นอกจากนี้การมีโซเดียมคลอไรด์อยู่ด้วยทำให้ เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเพิ่มขึ้นประมาณ 3-5 เท่าของตัวอย่างที่มีอีออนเหล็กเพียงอย่างเดียว เนื่องจากอีออนเหล็กที่เดิมส่วนใหญ่เกิดปฏิกิริยากับโปรตีนจึงเป็นการป้องกันไม่ให้อีออนเหล็กเกิดปฏิกิริยากับลิพิดและป้องกันปฏิกิริยาที่อีออน

เหล็กเป็นตัวเร่งให้เกิดออกซิเดชัน ส่วนโซเดียมคลอไรด์จะมีผลกับปฏิกิริยาระหว่างอ็อกซิเจนเหล็กกับโปรตีนทำให้เกิดอ็อกซิเดชันอิสระขึ้นจำนวนมาก จึงเกิดออกซิเดชันเพิ่มขึ้น

แร่ธาตุหรือโลหะบางชนิด เช่น โคบอลต์ ทองแดง เหล็ก แมงกานีสและนิกเกิล มีสมบัติเป็น pro-oxidants ได้ ที่ความเข้มข้นต่ำเพียง 0.1 ส่วนต่อล้านส่วน ซึ่งจะเร่งอัตราการเกิดออกซิเดชันได้ แร่ธาตุหรือโลหะเหล่านี้ได้มาจากดินที่ปลูกพืช และปนเปื้อนอยู่ในน้ำมันพืชหรือมาจากสัตว์ และอุปกรณ์โลหะที่ใช้ในกระบวนการแปรรูปและเก็บรักษา

## 9. เอนไซม์

เอนไซม์ไลเปส (lipase) และไลพอกซีจีเนส (lipoxygenase) จะเพิ่มอัตราการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของรงควัตถุและลิปิด โดยไลเปสมีผลต่อการเกิดออกซิเดชันมากกว่าไลพอกซีจีเนส ในขณะที่ฟอสโฟไลเปสเอ (phospholipase A) ยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของรงควัตถุ ซึ่งอาจเกิดเนื่องจากฟอสโฟไลเปสเอ ไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์บางอย่างหรือระบบของไลโปโปรตีน (lipoprotein) ที่เกี่ยวข้องกับความไม่เสถียรของไมโครโกลบิน โดยความไม่เสถียรนี้เกิดจากผลตรงข้ามหรือทางอ้อมขององค์ประกอบของลิปิดด้วย (Govindarajan และ Hultin, 1977)

## 10. ความชื้น

อัตราเร็วของการเกิดออกซิเดชันขึ้นอยู่กับค่า  $a_w$  อาหารแห้งที่มีความชื้นต่ำมาก ( $a_w$  น้อยประมาณ 0.1) ปฏิกิริยาออกซิเดชันจะเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็ว เมื่อค่า  $a_w$  เพิ่มขึ้นถึงประมาณ 0.3 จะยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของลิพิดให้เกิดน้อยที่สุด อย่างไรก็ตามเมื่อค่า  $a_w$  เพิ่มมากขึ้นอยู่ในช่วง 0.55 – 0.85 อัตราการเกิดออกซิเดชันจะเพิ่มขึ้นอีกครั้งหนึ่ง เนื่องจากมีปริมาณน้ำมากพอที่จะทำให้เกิดการเคลื่อนที่ของคะตะลิสต์และออกซิเจน

## 11. การเกิดอิมัลชันไขมัน

ในอาหารที่เป็นอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ หยदन้ำมันจะกระจายตัวอยู่ในตัวกลางที่เป็นน้ำ ออกซิเจนจะต้องแพร่กระจายผ่านตัวกลางที่เป็นน้ำเข้าไปยังหยदन้ำมันผ่านชั้นระหว่างผิวของน้ำกับน้ำมัน ดังนั้นอัตราการเกิดออกซิเดชันจึงขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่นๆ ร่วมด้วยเช่น ชนิดและความเข้มข้นของอิมัลซิไฟอิงเอเจนต์ ขนาดของอนุภาคหยदन้ำมัน พื้นที่ผิวของ interface ความหนืดของตัวกลางที่เป็นน้ำ ค่าพีเอช ส่วนประกอบและ porosity ของตัวกลาง

## 12. สารต้านออกซิเดชัน

สารต้านออกซิเดชันจะช่วยยับยั้ง หรือชะลอการเกิดออกซิเดชันได้ ซึ่งมีทั้งสารต้านออกซิเดชันในธรรมชาติ เช่น วิตามินอีในน้ำมันพืช และสารต้านออกซิเดชันที่เป็นสารสังเคราะห์ และอนุญาตให้เติมลงในอาหารได้ เช่น โพรพิลกาแลคต BHA และ BHT เป็นต้น

## 2.4 การวัดและการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (ภุชณี, 2543)

การวัดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในผลิตภัณฑ์อาหารเป็นปัจจัยหลักในการควบคุมคุณภาพและลักษณะกลิ่นรส ซึ่งวิธีการวิเคราะห์การเกิดออกซิเดชันของไขมันมีหลาย แต่วิธีที่นิยมใช้ในการวิเคราะห์การเกิดออกซิเดชันคือ TBA method (วิธีทางเคมี) direct gas chromatography (วิธีทางกายภาพ) และ descriptive analysis (วิธีทางประสาทสัมผัส)

### วิธีการตรวจสอบการเกิดลิพิดออกซิเดชัน

การเกิดลิพิดออกซิเดชันเป็นปฏิกิริยาทางเคมีที่ซับซ้อน และมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทั้งทางกายภาพและทางเคมีของลิพิด การตรวจสอบเพื่อวัดการเกิดออกซิเดชันของลิพิดทำได้หลายวิธี ตัวอย่าง ได้แก่ (Allen และคณะ, 1994)

#### ก. การหาค่าเปอร์ออกไซด์ (Peroxide value)

เปอร์ออกไซด์เป็นโปรดักต์แรกของการเกิดออกซิเดชันออกซิเดชัน ซึ่งวัดปริมาณที่เกิดขึ้นได้โดยใช้ความสามารถของเปอร์ออกไซด์ ที่จะทำปฏิกิริยากับโพแทสเซียมไอโอไดด์ได้เป็นไอโอดีนแล้วหาปริมาณไอโอดีนที่เกิดขึ้นโดยการไตเตรชันหรือไอโอดิเมตรี (iodimetry)



หรือออกซิไดส์เฟอร์รัสไอออนให้เป็นเพอร์ริกไอออน โดยวิธีไทโอไซยานิด

ค่าเปอร์ออกไซด์ หมายถึง มิลลิสมมูลของเปอร์ออกไซด์ออกซิเจนต่อกิโลกรัมของไขมันหรือน้ำมัน ระหว่างการเกิดออกซิเดชันค่าเปอร์ออกไซด์จะเพิ่มขึ้นจนถึงจุดสูงสุดและลดต่ำลง

#### ข. การทดสอบกรดโทโอบาบิฟูริก

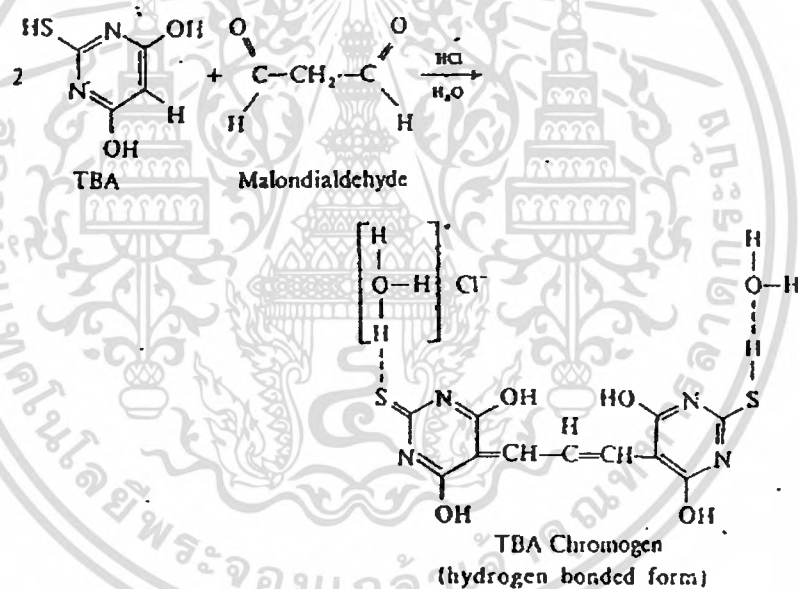
โปรดักต์จากปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว จะทำปฏิกิริยากับกรดโทโอบาบิฟูริกทำให้เกิดสี ซึ่งเชื่อว่าเกิดจากปฏิกิริยา condensation ของมาลอนไดอัลดีไฮด์ (malondialdehyde, MDA) กับกรดโทโอบาบิฟูริก 2 โมเลกุล อย่างไรก็ตาม การเกิดออกซิเดชันอาจไม่จำเป็นต้องเกิดมาลอนไดอัลดีไฮด์เสมอไป เพราะสารประกอบพวกแอลคานาล (alkanals) แอลคีนาล (alkenals) และ 2,4-ไดอีนาล (2,4-dienals) สามารถทำปฏิกิริยากับกรดโทโอบาบิฟูริกได้และดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530-532 นาโนเมตร ได้เช่นเดียวกับมาลอนไดอัลดีไฮด์ ดังนั้นจึงเปลี่ยนการเรียกชื่อวิธีการวิเคราะห์จาก TBA เป็น TBARS (Thiobarbituric acid reactive substance) เนื่องจากการเรียกชื่อแบบเดิมจะหมายถึงสารมาลอนไดอัลดีไฮด์เพียงชนิดเดียว แต่ TBARS จะหมายถึงกลุ่มของสารดังกล่าวด้วย การรายงานผลการวิเคราะห์ค่า TBARS จะรายงานผลเป็นมิลลิกรัมของมาลอนไดอัลดีไฮด์ต่อกิโลกรัมตัวอย่าง (milligrams of malondialdehyde equivalents/kg of sample)

วิธีนี้เป็นวิธีที่ใช้บ่อยในการวัดออกซิเดชันของลิพิดและมีความสัมพันธ์กับระดับของอัลดี

ไฮด์ (aldehydes) โดยวิธีนี้เป็นสารสีแดง (red chromogen) ที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

thiobarbituric acid (TBA) กับ malonaldehyde ด้วย spectrophotometer ปฏิกริยาระหว่างสาร thiobarbituric acid กับ malonaldehyde แสดงดังภาพที่ 1 ซึ่งนอกจาก thiobarbituric acid จะเกิดปฏิกริยากับ malonaldehyde ได้สารสีแดงแล้ว สารอัลดีไฮด์อื่นก็จะสามารถทำปฏิกริยากับ thiobarbituric acid ให้สารสีแดง นอกจากนี้ลิปิดที่ไม่สามารถสกัดออกมาได้ (non-extractable lipid) ยูเรีย น้ำตาล โปรตีนที่ถูกออกซิเดชัน (oxidize protein) หรือสารอื่นในอาหารที่ถูกออกซิเดชัน (oxidize material) ก็สามารถเกิดปฏิกริยาให้สารที่มีสีได้เช่นกัน ดังนั้นการวัดผลผลิตจากปฏิกริยาออกซิเดชัน ต้องเลือกความยาวคลื่นที่เห็นความแตกต่างของสารสีแดงจากปฏิกริยาที่แตกต่างกัน โดย alka-2,4-dienals และ alk-2-enals ผลิตสารสีแดงที่ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร และอัลดีไฮด์ที่ผลิตสารสีเหลือง (yellow chromogen) จะดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร นอกจากนี้การแยกสารที่มีสารที่มีสียังสามารถใช้ High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ที่มีความยาวคลื่น 546 นาโนเมตรด้วย



ภาพที่ 2.1 ปฏิกริยาระหว่าง thiobarbituric acid และ malonaldehyde  
ที่มา : กฤษณี (2543)

วิธีพื้นฐานที่ใช้ในการทดสอบมาลอนอัลดีไฮด์มี 2 วิธี คือการสกัดรงควัตถุที่มีสีออกมาโดยตรงและการกลั่นด้วยไอน้ำ จากนั้นนำสารที่สกัดได้มาทำปฏิกริยากับ reagent วิธีการทำได้โดยนำอาหารมา 10 กรัมผสมกับน้ำกลั่น 96.5 มิลลิลิตรนาน 2 นาที ถ่ายตัวอย่างใส่แก้วขวดขนาด 250 มิลลิลิตร เติมกรดไฮโดรคลอริก 4 โมลาร์จำนวน 1.5 มิลลิลิตรและเติมสารละลายซัลฟานิลาร์ไมด์ 0.5 % ที่ละลายในกรดไฮโดรคลอริก 20 % จำนวน 2 มิลลิลิตร จากนั้นนำตัวอย่างไปกลั่นจนได้ส่วนใส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จำนวน 50 มิลลิลิตร (ใช้เวลา 30-45 นาที) นำส่วนใสที่กรองได้จำนวน 5 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง แล้วเติมกรดไทโอบาร์บิทูริกจำนวน 0.02 โมลาร์ ที่ละลายใน 90% กรดอะซิติกจำนวน 5 มิลลิลิตร ปิดฝาหลอดทดลอง เขย่าสารละลายและจุ่มลงในอ่างน้ำเดือดนานประมาณ 35 นาที เมื่อครบกำหนดเวลาทำให้เย็นลงภายในเวลา 10 นาที จึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร ค่า TBA number ถูกคำนวณในหน่วยมิลลิกรัมของ malondialdehyde ต่อตัวอย่าง 1 กิโลกรัม มีหลายงานวิจัยกล่าวว่า TBA test มีประโยชน์ในการวัดการเหม็นหืนในชั้นแรกของน้ำมันพืช, มันหมู (lard), ไขมันที่ทำให้สุกและอาหารสด

#### ค. direct gas chromatography

การวัดปริมาณไฮโดรเปอร์ออกไซด์ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ขั้นปฐมภูมิของปฏิกิริยาออกซิเดชันสามารถใช้วิธี gas chromatography ได้โดยกลุ่มไฮโดรเปอร์ออกไซด์จะถูกรีดิวซ์ไปเป็นแอลกอฮอล์ด้วยโซเดียมโบโรไฮไดรด์ (sodium borohydride) และอะซิติกคลอไรด์ (acetyl chloride) เกิดปฏิกิริยา methylation ได้ methyl ester ความไวของการวิเคราะห์เพิ่มขึ้นโดยใช้ pentafluorobenzyl ester แทน methyl ester และใช้ electrolytic conductivity เป็นตัววัดค่า

#### การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส (กฤษณี, 2543)

การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสเป็นการประเมินคุณภาพโดยอาศัยลักษณะที่เห็นหรือได้รับกลิ่น ซึ่งถือว่าเป็นคุณลักษณะหนึ่งที่มีความสำคัญ ถ้าเกิดกลิ่นหรือกลิ่นรสที่ไม่ดีอาจทำให้ไม่ยอมรับอาหารนั้นๆ ในอนาคตได้ จึงทำให้มีการศึกษาเกี่ยวกับการประเมินทางด้านกลิ่นรส ทั้งที่ต้องการและไม่ต้องการ โดยกลิ่นรสที่ไม่ดีหรือกลิ่นหืนเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันที่มีความไม่อิ่มตัวสูง ซึ่งถูกเร่งโดยอิออนของโลหะ อนุมูลอิสระอื่นๆ ที่สร้างขึ้นในระบบกลิ่นรสที่ไม่ดีจะเพิ่มขึ้นและกลิ่นรสที่ดีจะลดลงเมื่ออายุการเก็บเพิ่มขึ้น นักวิทยาศาสตร์การอาหารจะมีส่วนร่วมในการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส โดยการพัฒนาคำศัพท์เพื่อใช้อธิบายลักษณะของกลิ่นให้เข้าใจ โดยคำที่ใช้พรรณนานั้นมีมากมายเช่น rancid painty beany green metallic stale และยังพยายามที่จะพรรณนาความรู้สึกต่อกลิ่นที่ไม่ดีที่เกิดจากผลิตภัณฑ์สุดท้ายของปฏิกิริยาออกซิเดชันในไขมันหรือน้ำมันแม้ในปริมาณเพียงเล็กน้อย โดยเฉพาะอัลดีไฮด์ซึ่งมีลักษณะเฉพาะ

## การควบคุมการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (กฤษณี, 2543)

### 1 การใช้สารกันหืน (antioxidant)

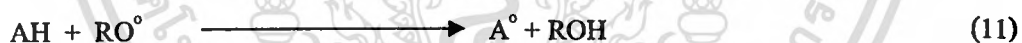
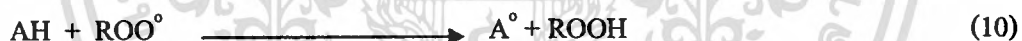
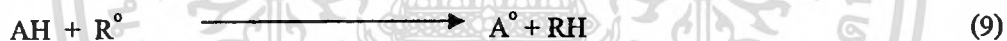
สารกันหืนตามความหมายของ FDA คือสารที่ใช้รักษาอาหารโดยชะลอการเสื่อมเสีย การหืน หรือสูญเสียจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน

#### 1.1 ชนิดของสารกันหืนในอาหารแบ่งเป็น

##### 1.1.1 สารกันหืนปฐมภูมิ (primary antioxidant)

สารกันหืนกลุ่มนี้จะเป็นตัวให้ไฮโดรเจนหรืออิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระและเปลี่ยนไปอยู่ในรูปที่เสถียรมากกว่า นอกจากนี้ยังอาจมีหน้าที่ในปฏิกิริยาของอนุมูลลิปิด สารในกลุ่มนี้ทำหน้าที่เป็นสารกันหืนได้เมื่อใช้ในความเข้มข้นต่ำ แต่ถ้าใช้ในความเข้มข้นสูงมันจะทำหน้าที่เป็นตัวกระตุ้นให้เกิดออกซิเดชัน ตัวอย่างสารในกลุ่มนี้ เช่น BHA, BHT, TBHQ, tocopherols, polyhydroxyphenolic ส่วนสารที่เกิดตามธรรมชาติ เช่น flavonoids, eugenol, vanillin และ rosemary

สารในกลุ่มนี้มีผลในการชะลอและยับยั้งปฏิกิริยาในขั้นแรกของการเกิดออกซิเดชัน โดยสารกลุ่มนี้จะทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระของไขมันหรือยับยั้งในขั้นโพรพาเกชัน โดยทำปฏิกิริยากับอนุมูลเปอร์ออกซีหรืออนุมูลอัลโคซิลดังสมการที่ (9) ถึง (11) นอกจากนี้อนุมูลอิสระของสารกันหืนยังเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาโพรพาเกชัน โดยการเกิดปฏิกิริยากับกับอนุมูลเปอร์ออกซีได้ peroxy antioxidant compounds ดังสมการที่ (12) และ (13)



##### 1.1.2 สารกันหืนเสริมฤทธิ์ (synergistic antioxidant)

สารกันหืนเสริมฤทธิ์แบ่งออกเป็นสารจับกับออกซิเจน (oxygen scavengers) และสารจับกับโลหะ (chelators) โดยสารนี้มีหน้าที่หลายๆกลไกอาจให้ออกซิเจนแก่อนุมูล phenoxy ตัวอย่างของสารจับกับออกซิเจน คือกรดแอสคอร์บิก, แอสคอร์บิวพาลมีเตท (ascorbylpalmitate), ซัลไฟด์ และอีริทอร์เบท (erythorbates) ซึ่งจะเกิดปฏิกิริยากับออกซิเจนอิสระและดึงออกซิเจนออกจากระบบ นอกจากนี้กรดแอสคอร์บิกและแอสคอร์บิวพาลมีเตท ยังส่งเสริมการทำงานของสารกันหืนปฐมภูมิโดยเฉพาะโทโคเฟอรอล (tocopherols)

สารจับกับโลหะเช่น ethylenediaminetetraacetic acid, กรดซิตริกและฟอสเฟต ตัวมันเองไม่ใช่สารกันหืน แต่ช่วยส่งเสริมการทำงานของสารกันหืนปฐมภูมิและสารจับกับออกซิเจนให้ดียิ่งขึ้น

### 1.1.3 สารกันหืนทุติยภูมิ (secondary antioxidants)

เรียกอีกอย่างว่า preventive antioxidant สารในกลุ่มนี้เช่น thioldipropionic acid และ dilauryl thiodipropionate ที่หน้าที่ในการทำให้เปอร์ออกไซด์ของลิปิดแตกตัวและได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความเสถียร

### 1.1.4 สารกันหืนอื่นๆ (miscellaneous antioxidant)

สารกันหืนในกลุ่มนี้เช่น flavonoids และกรดอะมิโนที่มีหน้าที่เป็นสารกันหืนปฐมภูมิและสารเสริมฤทธิ์  $\beta$  - carotene และสารพวก carotenoids ที่ป้องกันการเกิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์เป็นต้น

## 1.2 หน้าที่ของสารกันหืน

หน้าที่ของสารกันหืนในการป้องกันการเสื่อมเสียสามารถจัดแบ่งตามประสิทธิภาพการทำงานคือ

1.2.1 จับกับกลุ่มอนุมูล (Radical scavenger) โดยให้ไฮโดรเจน (hydrogen donor) หรืออิเล็กตรอน (electron donor)

1.2.2 ทำให้เปอร์ออกไซด์แตกตัว (peroxide decomposer)

1.2.3 กำจัด singlet oxygen (singlet oxygen quencher)

1.2.4 ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (enzyme inhibitor)

1.2.5 เป็นสารเสริมฤทธิ์ (synergist) จับกับโลหะหรือเป็นสารเสริมฤทธิ์

## การบรรจุแบบสุญญากาศหรือดัดแปลงบรรยากาศ

เป็นการป้องกันการเสื่อมเสียเนื่องจากออกซิเจนโดยกำจัดแหล่งออกซิเจน สามารถทำได้โดยบรรจุเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์แบบสุญญากาศหรือดัดแปลงบรรยากาศโดยผสมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์กับก๊าซไนโตรเจนหรือก๊าซออกซิเจน จะช่วยรักษาสีและป้องกันการเกิดกลิ่นหืนได้ดีพอสมควร และยังมีประโยชน์ในด้านจุลินทรีย์ด้วยเช่นในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักที่ทำให้สุก ส่วนในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักที่ไม่ได้ผ่านการทำให้สุกเช่นในเบคอนที่ไม่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ เมื่อบรรจุแบบสุญญากาศจะมีประโยชน์ในด้านจุลินทรีย์ และมีความสัมพันธ์เล็กน้อยกับสีและกลิ่นหืน

## หลักเชิงสารที่กระตุ้นให้เกิดออกซิเดชันเพิ่มขึ้น

การควบคุมการเกิดออกซิเดชันในขั้นนี้จะคล้ายกับการกำจัดออกซิเจน คือต้องมีการกำจัดหรือลดการปนเปื้อนของสารที่กระตุ้นให้เกิดออกซิเดชัน โดยสารหรือสภาวะที่กระตุ้นให้เกิดออกซิเดชันเพิ่มขึ้นคือ

- คลอรีนและสารทำความสะอาดที่มีคลอรีน
- โอโซน (อาจเกิดจากประกายไฟของเครื่องมือที่ใช้เชื่อมโลหะเป็นต้น)
- อีออนโลหะ โดยเฉพาะเหล็กและทองแดง
- อนุภาคอิสระ การโค่นแสง โดยเฉพาะแสงอัลตราไวโอเล็ต ซึ่งทำให้เกิดการทำลายสีของเนื้อหมักที่ทำให้สุกและเกิดกลิ่นหืน

## 2.5 บทบาทของไนเตรตและไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์เนื้อ (เปรมศิริ , 2545)

ไนไตรท์ (Nitrite :  $\text{NO}_2$ ) เป็นสารประกอบไนโตรเจนที่ได้จากกระบวนการไนตริฟิเคชัน (Nitrification) เป็นกระบวนการเปลี่ยนแปลงโดยอาศัยแบคทีเรียช่วยเปลี่ยนแอมโมเนียเป็นไนไตรท์และไนไตรท์เป็นไนเตรต

สารไนเตรตและไนไตรท์ที่ใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อ จะใช้ในรูปแบบของเกลือโซเดียมหรือโปแตสเซียม เกลือไนไตรท์เป็นสารที่ทำลายได้ด้วยความร้อน ส่วนเกลือไนเตรตนั้นทนต่อความร้อนได้ดีกว่า แต่ถูกรีดิวซ์ไปเป็นไนไตรท์ได้โดยแบคทีเรียบางชนิดเช่น *Micrococcus spp.* (Furia, 1972)

ไนเตรตและไนไตรท์ เป็นสารที่นำมาใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อ เพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์บางชนิด โดยปฏิกิริยาของกรดไนตริก ( $\text{HNO}_2$ ) กับกรดอะมิโน มีผลกระทบต่อโครงสร้างของเอนไซม์ดีไฮโดรจีเนส (dehydrogenase) ของจุลินทรีย์ นอกจากนี้ไนไตรท์ยังอาจเกิดปฏิกิริยาร่วมกับสารพวกโมโนฟีนอล (mono-phenol) เช่น ไทโรซีน (tyrosine) ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของผนังเซลล์จุลินทรีย์ ไนเตรตและไนไตรท์จะทำปฏิกิริยาร่วมกับฮีโม (heme) ทำให้มีผลกระทบต่อระบบไซโตโครม (cytochrome system) ของเซลล์ด้วย

หน้าที่อีกประการหนึ่งของไนเตรตและไนไตรท์ คือการทำให้เกิดสีในผลิตภัณฑ์เนื้อ การเปลี่ยนแปลงของสีในผลิตภัณฑ์เนื้อเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาต่าง ๆ หลายขั้นตอน กล่าวคือ ไนเตรตและไนไตรท์จะให้ไนตริกออกไซด์ ซึ่งเข้าทำปฏิกิริยากับไมโอโกลบินได้ในไตรโซไมโอโกลบินสีแดง เมื่อถูกความร้อนในช่วงของการรมควันและการต้มจะเปลี่ยนเป็นไนโตรโซฮีโมโครมที่มีสีแดงซึ่งค่อนข้างคงตัว

ในผลิตภัณฑ์เนื้อไนไตรท์สามารถชะลอการเกิดปฏิกิริยาลิปิดออกซิเดชันหรือการเกิด warmed-over flavor (WOF) ได้ ไขมันเป็นตัวสนับสนุนสำคัญในการเกิดกลิ่นรสโดยรวมของอาหาร และกลิ่นที่ไม่น่าพอใจจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันไม่อิ่มตัว เช่น โอลิสิก ลิโนเลอิก และ ลิโนเลนิก (Gray, 1978) สารไฮโดรเปอร์ออกไซด์ เป็นผลิตภัณฑ์เริ่มแรกหลักของ

ปฏิกิริยาไลโปออกซิเดชัน และจะสลายตัวเป็นผลิตภัณฑ์ที่ให้ off-flavor ได้แก่สารประกอบ hexanal และ pentanal เป็นต้น สารเหล่านี้พบเป็นปริมาณมากในผลิตภัณฑ์เนื้อปรงสุกที่ผ่านการหมักโดยใช้ไนโตรส ปฏิกิริยาออกซิเดชันในเนื้อนั้นจะถูกเร่งโดยการบด การปรงสุก ซึ่งทำให้เมมเบรนของเนื้อเยื่อถูกทำลาย

ไนเตรทและไนโตรสถ้าบริโภคในปริมาณมากกว่า 4 กรัมต่อวัน หรือรับประทานครั้งเดียวมากกว่า 1 กรัม จะทำให้เกิดอาการเป็นพิษได้ กล่าวคือ จะทำให้กล้ามเนื้อเรียบคลายตัวโดยเฉพาะหลอดเลือดขนาดเล็ก ทำให้เกิดการระคายต่อกระเพาะอาหาร ถ้าใส่เด็กและเยื่อหูทางเดินอาหารทำให้เกิดอาการอุจจาระเป็นเลือด หรืออาเจียนเป็นเลือด ถ้าบริโภคมากกว่า 8 กรัมต่อวันจะถึงแก่ความตายได้ ทั้งนี้เพราะไนเตรทและไนโตรสสามารถรวมตัวกับฮีโมโกลบินเกิดเป็นเมทฮีโมโกลบิน ทำให้การขนถ่ายออกซิเจนของเม็ดเลือดแดงเสียไป นอกจากนี้สารไนเตรทและไนโตรสทำให้เกิดสารไนโตรซามีนที่เป็นสารก่อมะเร็งอีกด้วย เนื่องจากความเป็นพิษดังกล่าวทำให้มีการจำกัดปริมาณสารไนเตรทและไนโตรส โดยประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 84 (พ.ศ. 2527) อนุญาตให้เติมโปแตสเซียมไนเตรทหรือโซเดียมไนเตรท เพื่อป้องกันการเสื่อมเสียในเนื้อสัตว์ทุกชนิดได้ในปริมาณสูงสุดไม่เกิน 500 ppm และอนุญาตให้ใช้โปแตสเซียมไนโตรสหรือโซเดียมไนโตรสเพื่อถนอมเนื้อสัตว์ทุกชนิดได้ในปริมาณสูงสุดไม่เกิน 125 ppm

## 2.6 สเปกโตรโฟโตเมทรี (Spectrophotometry) (นิพนธ์, 2547)

สเปกโตรโฟโตเมทรี (Spectrophotometry) หรือสเปกโตรเมทรี (Spectrometry) และวิธีสเปกโตรเมทรีเป็นการวัดความเข้มของคลื่นแสงด้วยอุปกรณ์ที่แปลงค่าความเข้มของคลื่นแสงเป็นสัญญาณไฟฟ้า (photoelectric transducer) หรืออุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ (electronic device) อื่นๆ เครื่องมือที่ใช้ทางด้านวิธีสเปกโตรเมทรีเรียกว่า สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer)

### หลักการการทำงานของเครื่อง Spectrophotometer

เครื่องวัดสีทำงานโดยใช้หลักการของ Spectrophotometry ดังนี้ ให้แสงจากแหล่งกำเนิดแสงภายในตัวเครื่อง ตกกระทบบนผิววัสดุ อนุภาคของสีบนผิววัสดุจะดูดกลืนแสงบางช่วงคลื่นไว้ และสะท้อนแสงบางช่วงคลื่นออกมา และถูกบันทึกโดยชุดรับสัญญาณ (Spectrometer) และนำข้อมูลมาประมวลผลการตอบสนองของตามนุษย์ที่ไวต่อแสงสีแดง สีเขียว และสีน้ำเงิน คำนวณค่าสีออกมาเป็นตัวเลขตามระบบ CIE (Commission Internationale de l'Eclairage)

## บทที่ 3

### อุปกรณ์และวิธีการ

#### 3.1 ตัวอย่างผลิตภัณฑ์

- 3.1.1 หมูแผ่น บริษัท อุตสาหกรรมอาหาร ส.ขอนแก่น จำกัด (มหาชน)
- 3.1.2 กุนเชียง บริษัท อุตสาหกรรมอาหาร ส.ขอนแก่น จำกัด (มหาชน)
- 3.1.3 มันฝรั่งทอดกรอบ บริษัท เป๊ปซี่-โคล่า (ไทย) เทรคคิง จำกัด
- 3.1.4 บะหมี่กึ่งสำเร็จรูป บริษัท ไทยเพรซิเดนท์ฟู้ดส์ จำกัด (มหาชน)

#### 3.2 อุปกรณ์การวิเคราะห์

- 3.2.1 ชุดเครื่องกลั่น
- 3.2.2 ขวดปริมาตรขนาด 100 มล.
- 3.2.3 ปีเปิดขนาด 5 มล.
- 3.2.4 หลอดทดลองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 10-15 มม. พร้อมฝาเกลียว
- 3.2.5 ฟาส์กรุปมะเฟือง
- 3.2.6 กระดาษกรอง Whatman No.1
- 3.2.7 บุชเนอร์
- 3.2.8 ชักชั้นฟาส์ก

#### 3.3 เครื่องมือวิเคราะห์

- 3.3.1 เตาหลุม
- 3.3.2 อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)
- 3.3.3 Spectrophotometer พร้อม Glass cell ขนาด 10 mm.
- 3.3.4 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)
- 3.3.5 Homogenizer
- 3.3.6 vortex mixer
- 3.3.7 เครื่อง Vacuum filter
- 3.3.8 เครื่องชั่งน้ำหนัก 2 ตำแหน่ง
- 3.3.9 เครื่องชั่งน้ำหนัก 4 ตำแหน่ง

### 3.4 สารเคมี

- 3.4.1 กรดฟอสฟอริก 85%
- 3.4.2 กรดไทโอบาร์บิทรिक
- 3.3.3 กรดไฮโดรคลอริก
- 3.3.4 สารละลายซัลฟานิลนาร์ไมค์
- 3.3.5 กรดอะซีติก
- 3.3.6 กรดไตรคลอโรอะซีติก
- 3.3.7 น้ำกลั่น

### 3.5 วิธีการดำเนินงาน

#### 3.5.1 การเตรียมตัวอย่าง

ตัวอย่างของการทดลองคือ กุนเชียง หมูแผ่น มันฝรั่งทอดกรอบ และบะหมี่กึ่งสำเร็จรูป เก็บตัวอย่างดังกล่าวในตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 80 °C เพื่อเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันให้ดำเนินไปได้เร็วขึ้น ตรวจสอบการหืนโดยการดมกลิ่นหืนที่เกิดขึ้นเป็นระยะ ๆ แล้วนำมาวิเคราะห์ปริมาณมาลอนอัลดีไฮด์

#### 3.5.2 ศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีต่อการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนอัลดีไฮด์ โดยวิธีการสกัดในกรด (aqueous acid extraction method)

ทำการวิเคราะห์หาปริมาณมาลอนอัลดีไฮด์ของมันฝรั่งทอดกรอบ และ บะหมี่กึ่งสำเร็จรูป ที่เตรียมได้จากข้อ 5.1 โดยวิธีการสกัดในกรด ดังต่อไปนี้

1. ชั่งตัวอย่างที่บดหยาบแล้วจำนวน 10 กรัม ใส่ลงในฟาส์กรูบมะเฟือง
2. เติมสารละลายกรดไตรคลอโรอะซีติก 20 % ที่ละลายในกรดฟอสฟอริกความเข้มข้น 2 โมลาร์จำนวน 50 มิลลิลิตร (สารละลายที่ใช้ต้องมีอุณหภูมิ 4 °C)
3. ปั่นผสมตัวอย่างด้วยเครื่อง Homogeniser ที่ความเร็วสูงนาน 1.5 นาที
4. เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน
5. กรองด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ ใช้กระดาษกรอง Whatman No.1 จนได้ส่วนใสจำนวน 50 มิลลิลิตร
6. บีบส่วนใสที่กรองได้จำนวน 5 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง เติมสารละลาย 0.005 โมลาร์ กรดไทโอบาร์บิทรिकจำนวน 5 มิลลิลิตร เขย่าด้วย vortex mixer 5 วินาที แล้วเก็บในที่มืด. ที่อุณหภูมิและเวลาตามที่กำหนด
7. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร

## สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

### 8. คำนวณค่า TBARS จากสูตร

$$\text{ค่า TBARS number (mg malondialdehyde / kg sample)} = 5.2 \times \text{absorbance}$$

โดยศึกษาผลของอุณหภูมิที่ใช้ในการบ่มเพื่อการศึกษาการเกิดปฏิกิริยาระหว่างกรดโทโอบาบิฟูริก กับสารละลายตัวอย่าง ทำการวางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomize Design) ใช้ อุณหภูมิทั้งหมด 3 ระดับ คือ อุณหภูมิห้อง (33 °C) อุณหภูมิ 60 °C และอุณหภูมิ 90 °C ทำการ คัดตามวัดค่า TBARS ทุกๆ 1 ชั่วโมง จนกว่าจะได้ค่าที่จุดสมดุล นำข้อมูลผลการทดลองที่ได้มา วิเคราะห์หาความแตกต่างด้วย DMRT (Duncan's Multiple Range Test) และ โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 11.0 เพื่อหาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อวิธีการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนอัลดีไฮด์โดย วิธีการสกัดในกรด

### 3.5.3 ศึกษาผลของซัลฟานิลาร์ไมด์ที่มีต่อการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนอัลดีไฮด์ ใน ผลิตภัณฑ์กุ้งแห้งและหมูแผ่น

ทำการวิเคราะห์หาปริมาณมาลอนอัลดีไฮด์ของกุ้งแห้ง และหมูแผ่นที่เตรียมได้จากข้อ

#### 5.1 โดยวิธีการกลั่น

1. ชั่งตัวอย่างที่บดหยาบแล้วจำนวน 10 กรัม ใส่ลงในฟาส์กรูปมะเฟืองปั่นกับน้ำ กลั่น 96.5 มิลลิลิตร นาน 2 นาที
2. ถ่ายตัวอย่างใส่ในขวดขนาด 250 มิลลิลิตร เติมกรดไฮโครคลอริก 4 โมลาร์จำนวน 1.5 มิลลิลิตรและเติมสารละลายซัลฟานิลาร์ไมด์ 0.5 % ที่ละลายในกรดไฮโคร คลอริก 20 % จำนวน 2 มิลลิลิตร
3. นำตัวอย่างไปกลั่นจนได้ส่วนใสจำนวน 50 มิลลิลิตร (ใช้เวลา 30-45 นาที)
4. ส่วนใสที่กรองได้จำนวน 5 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง แล้วเติมกรดโทโอบาร์บิฟูริก จำนวน 0.02 โมลาร์ ที่ละลายใน 90% กรดอะซิติกจำนวน 5 มิลลิลิตร ปิดฝาหลอด ทดลอง
5. เขย่าสารละลายและขุ่นลงในอ่างน้ำเดือดนานประมาณ 35 นาที
6. เมื่อครบกำหนดเวลาทำให้เย็นลงภายในเวลา 10 นาที
7. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร
8. คำนวณค่า TBARS จากสูตร

$$\text{ค่า TBARS number (mg malondialdehyde / kg sample)} = 8.1 \times \text{absorbance}$$

โดยศึกษาผลของปริมาณซัลฟานิลาร์ไมด์ โดยการเติมและไม่เติมสารละลายซัลฟานิลาร์ไมด์ นำข้อมูลผลการทดลองที่ได้มาวิเคราะห์หาความแตกต่างด้วย DMRT (Duncan's Multiple Range Test) และ โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 11.0 เพื่อสรุปหาแนวทางที่เหมาะสมต่อการวิเคราะห์หาปริมาณมาลอนอัลดีไฮด์ของผลิตภัณฑ์ทั้ง 2 ชนิด โดยวิธีการกลั่น

### 3.5.4 ศึกษาวิธีการตรวจสอบมาลอนอัลดีไฮด์ที่เหมาะสมในอาหารชนิดต่างๆ โดยทำการเปรียบเทียบระหว่างวิธีการกลั่นและการสกัดในกรด

โดยนำตัวอย่างทั้ง 4 ตัวอย่าง ที่เตรียมได้จากวิธีที่ 5.1 มาทำการวิเคราะห์หาปริมาณมาลอนอัลดีไฮด์ ด้วยวิธีการสกัดในกรดและการกลั่น ดังวิธีการที่สรุปได้ในข้อ 5.2 และข้อ 5.3 ตามลำดับ โดยทำการเก็บตัวอย่างจากข้อ 5.1 ทุกๆ 5 วัน

ทำการวิเคราะห์หาความแตกต่างด้วย DMRT (Duncan's Multiple Range Test) เพื่อหาความเหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณมาลอนอัลดีไฮด์ในผลิตภัณฑ์ดังกล่าว

### 3.6 สถานที่ดำเนินการ

ห้องปฏิบัติการเคมีอาหาร ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

## บทที่ 4

### ผลการทดลอง

#### 4.1 ผลของอุณหภูมิที่มีต่อการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนอัลดีไฮด์ โดยวิธีการสกัดในกรด

จากตารางที่ 4.1.1 แสดงให้เห็นถึงผลการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนอัลดีไฮด์ ในเวลาต่างๆกันพบว่า ค่าการดูดกลืนแสงของมันฝรั่งทอดกรอบจะมีค่าลดลงเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น ที่เวลา 1 ชั่วโมงจะมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดและมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) กับค่าการดูดกลืนแสงที่ช่วงเวลาอื่นๆ ส่วนค่าการดูดกลืนแสงที่ชั่วโมงที่ 15 นั้นจะมีค่าต่ำสุดและมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) กับค่าการดูดกลืนแสงที่ช่วงเวลาอื่นๆเช่นกัน และที่ชั่วโมงที่ 2, 3 และ 4 มีค่าการดูดกลืนแสงที่ใกล้เคียงกันและ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ )

สำหรับในผลิตภัณฑ์บะหมี่กึ่งสำเร็จรูปพบว่าค่าการดูดกลืนแสงที่ชั่วโมงที่ 1 และ 2 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) เช่นเดียวกับค่าการดูดกลืนแสงที่ชั่วโมงที่ 1 และ 5 จะเห็นว่าการเพิ่มเวลา จาก 1 ชม ไม่ได้ทำให้ปริมาณมาลอนอัลดีไฮด์ที่วิเคราะห์ได้เพิ่มขึ้น

ตารางที่ 4.1.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนอัลดีไฮด์ในผลิตภัณฑ์มันฝรั่งทอดกรอบและบะหมี่กึ่งสำเร็จรูป ที่ปฏิบัติการคำนวณที่ อุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส (อุณหภูมิห้อง) เป็นระยะเวลาต่างๆ

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าการดูดกลืนแสง <sup>^</sup>	
	มันฝรั่งอบกรอบ(เลย์)	บะหมี่กึ่งสำเร็จรูป(มาม่า)
1	0.954 <sup>a</sup>	0.411 <sup>ab</sup>
2	0.928 <sup>b</sup>	0.405 <sup>a</sup>
3	0.920 <sup>b</sup>	0.407 <sup>ab</sup>
4	0.917 <sup>b</sup>	0.410 <sup>ab</sup>
15	0.837 <sup>c</sup>	0.414 <sup>b</sup>

อักษรตัวพิมพ์เล็ก ในแนวดิ่งที่ต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ( $p \leq 0.05$ )

<sup>^</sup> ค่าการดูดกลืนแสงมีความสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณมาลอนอัลดีไฮด์

จากตารางที่ 4.1.2 แสดงให้เห็นถึงผลการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนอัลดีไฮด์ ในเวลาต่างๆกัน พบว่าค่าการดูดกลืนแสงของมันฝรั่งทอดกรอบ ที่นาทีที่ 50 จะมีค่าสูงสุดและมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) กับค่าการดูดกลืนแสงที่ช่วงเวลาอื่นๆ ส่วนในนาทีที่ 90 ค่าการดูดกลืนแสงจะมีค่าต่ำสุด

ค่าการดูดกลืนแสงของบะหมี่กึ่งสำเร็จรูป ที่นาทีที่ 50 และ 60 จะมีค่าสูงสุด และมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) กับค่าการดูดกลืนแสงที่ช่วงเวลาอื่นๆ ส่วนนาทีที่ 10 ค่าการดูดกลืนแสงจะมีค่าต่ำสุด

ตารางที่ 4.1.2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนอัลดีไฮด์ในผลิตภัณฑ์มันฝรั่งทอดกรอบ และบะหมี่กึ่งสำเร็จรูป ที่ปฏิบัติการดำเนินที่ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลาต่างๆ

เวลา (นาที)	ค่าการดูดกลืนแสง <sup>A</sup>	
	มันฝรั่งอบกรอบ	บะหมี่กึ่งสำเร็จรูป
10	0.861 <sup>abc</sup>	0.344 <sup>a</sup>
40	0.867 <sup>bcd</sup>	0.369 <sup>bc</sup>
50	0.895 <sup>c</sup>	0.376 <sup>c</sup>
60	0.874 <sup>cd</sup>	0.376 <sup>c</sup>
90	0.848 <sup>ab</sup>	0.368 <sup>b</sup>

อักษรตัวพิมพ์เล็กในแนวดิ่งที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ( $p \leq 0.05$ )

<sup>A</sup> ค่าการดูดกลืนแสงมีความสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณมาลอนอัลดีไฮด์

จากตารางที่ 4.1.3 แสดงให้เห็นถึงผลการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนอัลดีไฮด์ ในเวลาต่างๆกัน พบว่าค่าการดูดกลืนแสงของมันฝรั่งทอดกรอบ และบะหมี่กึ่งสำเร็จรูป ณ เวลาต่างๆคือ 5, 30, 40, 50 และ 60 นาทีพบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ และในนาทีที่ 60 ของมันฝรั่งทอดกรอบและบะหมี่กึ่งสำเร็จรูป พบว่ามีค่าการดูดกลืนแสงต่ำที่สุด ดังนั้นในการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนอัลดีไฮด์โดยวิธีการสกัดในกรดจะเลือกการใช้อุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียสสององศาเซลเซียสสององศาเซลเซียสและเวลา 1 ชม

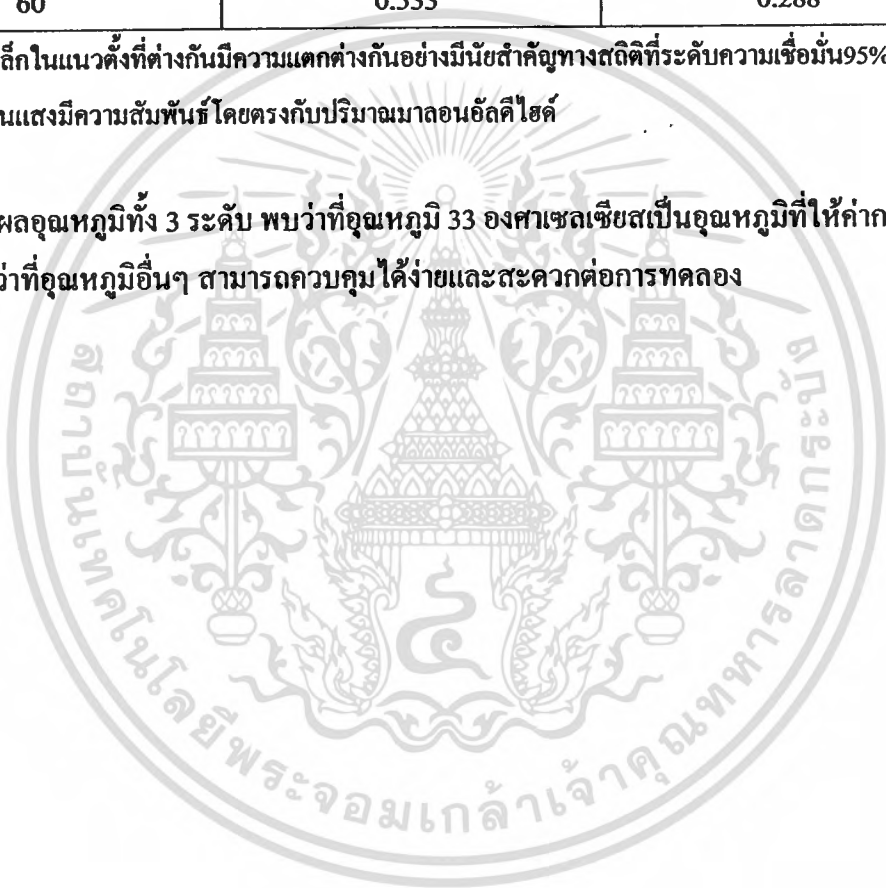
**ตารางที่ 4.1.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนอัลดีไฮด์ในผลิตภัณฑ์มันฝรั่งทอดกรอบ และบะหมี่กึ่งสำเร็จรูป ที่ปฏิบัติยาคำเนินที่ อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาต่างๆ**

เวลา (นาที)	ค่าการดูดกลืนแสง <sup>^</sup>	
	มันฝรั่งอบกรอบ	บะหมี่กึ่งสำเร็จรูป
5	0.625 <sup>a</sup>	0.722 <sup>a</sup>
30	0.619 <sup>b</sup>	0.446 <sup>b</sup>
40	0.603 <sup>c</sup>	0.455 <sup>c</sup>
50	0.612 <sup>d</sup>	0.325 <sup>d</sup>
60	0.533 <sup>e</sup>	0.288 <sup>e</sup>

อักษรตัวพิมพ์เล็กในแนวตั้งที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ( $p \leq 0.05$ )

<sup>^</sup> ค่าการดูดกลืนแสงมีความสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณมาลอนอัลดีไฮด์

จากผลอุณหภูมิทั้ง 3 ระดับ พบว่าที่อุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียสเป็นอุณหภูมิที่ให้ค่าการดูดกลืนสูงกว่าที่อุณหภูมิอื่นๆ สามารถควบคุมได้ง่ายและสะดวกต่อการทดลอง



## 4.2 ผลของซัลฟานิลาร์ไมด์ที่มีต่อการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนัลดีไฮด์ในผลิตภัณฑ์หมูแผ่นและ กุนเชียงโดยวิธีการถนอม

### 4.2.1 ผลิตภัณฑ์หมูแผ่น

จากตารางที่ 4.2.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของหมูแผ่นพบว่าแบบไม่เติมซัลฟานิลาร์ไมด์ ที่เวลาต่างๆจะมีค่าน้อยกว่าค่าการดูดกลืนแสงแบบที่เติมซัลฟานิลาร์ไมด์ และมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) และค่าการดูดกลืนแสงจะมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อตัวอย่างถูกเก็บเป็นเวลานานขึ้น

ตารางที่ 4.2.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนัลดีไฮด์ในผลิตภัณฑ์หมูแผ่น โดยเปรียบเทียบระหว่างการเติมและไม่เติมซัลฟานิลาร์ไมด์

จำนวนวันในการเก็บตัวอย่าง	ค่าการดูดกลืนแสง	
	ไม่เติมซัลฟานิลาร์ไมด์	เติมซัลฟานิลาร์ไมด์
0	0.022 <sup>aA</sup>	0.151 <sup>aB</sup>
5	0.114 <sup>bA</sup>	0.287 <sup>bB</sup>
8	0.137 <sup>bcA</sup>	0.286 <sup>bB</sup>
11	0.145 <sup>ca</sup>	0.306 <sup>bb</sup>

อักษรตัวพิมพ์เล็กในแนวนอนที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ( $p \leq 0.05$ )

อักษรตัวพิมพ์ใหญ่ในแนวนอนที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ( $p \leq 0.05$ )

### 4.2.2 ผลิตภัณฑ์กุนเชียง

จากตารางที่ 4.2.2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของกุนเชียง พบว่า แบบที่ไม่เติมและไม่เติมซัลฟานิลาร์ไมด์มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) และในวันที่ 8 และ 11 พบว่าค่าการดูดกลืนแสงของกุนเชียงแบบเติมซัลฟานิลาร์ไมด์จะมีค่าสูงกว่าแบบที่ไม่เติมซัลฟานิลาร์ไมด์ ค่าการดูดกลืนแสงแบบไม่เติมซัลฟานิลาร์ไมด์ในวันที่ 0 จะมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับจำนวนวันอื่นๆ ส่วนค่าการดูดกลืนแสงของกุนเชียงแบบเติมซัลฟานิลาร์ไมด์ในวันที่ 0 และ 11 พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับจำนวนวันอื่นๆ โดยในวันที่ 0 มีค่าการดูดกลืนแสงน้อยที่สุด ส่วนในวันที่ 11 มีค่าการดูดกลืนแสงสูงที่สุด

จากการทดลองพบว่าการเติมซัลฟานิลาร์ไมด์จะมีค่าการดูดกลืนแสงสูงกว่าไม่เติม เนื่องจากมาลอนัลดีไฮด์จะเกิดปฏิกิริยากับไนไตรท์ในสภาวะเป็นกลาง ที่อุณหภูมิห้อง สารประกอบเชิงซ้อนของ TBA มีความคงตัวในไนไตรท์ การเติมซัลฟานิลาร์ไมด์จึงเพื่อป้องกันการแทรกแซงการทำงานของไนไตรท์ ซัลฟานิลาร์ไมด์จะทำให้ค่า TBA เพิ่มขึ้นในตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื้อสัตว์ที่มีไนโตรเจน Kolodziejska (1990) รายงานว่าซัลฟานิลาร์ไมด์จะเข้าไปขวางการเกิดปฏิกิริยาของมาลอนอัลดีไฮด์และไนโตรเจน โดยการจับมาลอนอัลดีไฮด์เอาไว้ไม่ให้ไปทำปฏิกิริยากับไนโตรเจนเพื่อให้ได้ค่า TBA

ตารางที่ 4.2.2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนอัลดีไฮด์ในผลิตภัณฑ์กุ้งแช่แข็ง โดยเปรียบเทียบระหว่างการเติมและไม่เติมซัลฟานิลาร์ไมด์

จำนวนวันในการเก็บตัวอย่าง	ค่าการดูดกลืนแสง	
	ไม่เติมซัลฟานิลาร์ไมด์	เติมซัลฟานิลาร์ไมด์
0	0.229 <sup>aA</sup>	0.142 <sup>aB</sup>
5	0.628 <sup>bA</sup>	0.708 <sup>bB</sup>
8	0.681 <sup>bA</sup>	0.743 <sup>bB</sup>
11	0.679 <sup>bA</sup>	0.786 <sup>cB</sup>

อักษรตัวพิมพ์เล็กในแนวตั้งที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ( $p \leq 0.05$ )

อักษรตัวพิมพ์ใหญ่ในแนวนอนที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ( $p \leq 0.05$ )



#### 4.3 ผลของวิธีการตรวจสอบมาลอนอัลดีไฮด์ที่เหมาะสมในอาหารชนิดต่างๆโดยทำการเปรียบเทียบระหว่างวิธีการกลั่นและการสกัดในกรด

ค่าการดูดกลืนแสงของหมูแผ่น, กุนเชียง, มันฝรั่งทอดกรอบและบะหมี่กึ่งสำเร็จรูปที่ตรวจด้วยวิธีการกลั่นและการสกัดด้วยกรดนั้นมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) (ตารางที่ 4.3.1) โดยที่ค่าการดูดกลืนแสงของหมูแผ่นและกุนเชียงโดยใช้วิธีการกลั่นจะมีค่าสูงกว่าการสกัดในกรด และค่าการดูดกลืนแสงของมันฝรั่งทอดกรอบและบะหมี่กึ่งสำเร็จรูป ในวิธีการสกัดด้วยกรดจะมีค่าสูงกว่าวิธีการกลั่น

ตารางที่ 4.3.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนอัลดีไฮด์โดยเปรียบเทียบระหว่างวิธีการกลั่นและการสกัดในกรดในผลิตภัณฑ์อาหารต่างๆ

ผลิตภัณฑ์	ค่าการดูดกลืนแสง	
	การกลั่น	การสกัดในกรด
หมูแผ่น	0.450 <sup>a</sup>	0.357 <sup>b</sup>
กุนเชียง	0.785 <sup>a</sup>	0.386 <sup>b</sup>
มันฝรั่งทอดกรอบ	0.248 <sup>a</sup>	0.664 <sup>b</sup>
บะหมี่กึ่งสำเร็จรูป	0.474 <sup>a</sup>	0.699 <sup>b</sup>

อักษรตัวพิมพ์เล็กในแนวนอนที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ( $p \leq 0.05$ )

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลอง

5.1 อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการวิเคราะห์หาปริมาณมาลอนอัลดีไฮด์ โดยวิธีการสกัดในกรด ในผลิตภัณฑ์มันฝรั่งทอดกรอบและบะหมี่กึ่งสำเร็จรูป คืออุณหภูมิที่ 33 °C หรือที่อุณหภูมิห้อง

5.2 ในวิธีการกลั่น ซัลฟานิลาร์ไมด์มีผลต่อการวิเคราะห์หาปริมาณมาลอนอัลดีไฮด์ใน ผลิตภัณฑ์กุนเชียงและหมูแผ่น โดยค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เดิมและไม่เติมซัลฟานิลาร์ไมด์มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) โดยที่การดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์แบบที่เติมซัลฟานิลาร์ไมด์มีค่าสูงกว่าการไม่เติมซัลฟานิลาร์ไมด์

5.3 วิธีการสกัดในกรดเป็นวิธีที่เหมาะสมในการตรวจสอบมาลอนอัลดีไฮด์ในผลิตภัณฑ์ มันฝรั่งทอดกรอบ และบะหมี่กึ่งสำเร็จรูป และสำหรับผลิตภัณฑ์หมูแผ่นและกุนเชียงนั้น วิธีที่เหมาะสมในการตรวจสอบมาลอนอัลดีไฮด์คือ วิธีการกลั่น



## ข้อเสนอแนะ

1. การวิเคราะห์หาปริมาณมาลอนัลดีไฮด์ของผลิตภัณฑ์มันฝรั่งทอดกรอบและบะหมี่กึ่งสำเร็จรูป ซึ่งเป็นตัวแทนของอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรต พบว่าค่าการดูดกลืนแสงด้วยวิธีการสกัดในกรณีค่ามากกว่าการกลั่นเพียงเล็กน้อย เพื่อให้เกิดความมั่นใจในการเลือกใช้วิธีวิเคราะห์หาปริมาณมาลอนัลดีไฮด์ จึงควรศึกษาต่อโดยการการวิเคราะห์หาปริมาณมาลอนัลดีไฮด์กับอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตหลายๆชนิด เพื่อหาวิธีการที่เหมาะสม



## บรรณานุกรม

- กฤษณี สิริโชค. 2543. ผลของสารกันหืน การบรรจุและอุณหภูมิการเก็บต่อคุณภาพไส้กรอกหมู. ปรินญาโท. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ นิพนธ์ และ คณิตา ตังคณานุรักษ์. 2547. สเปกโทรสโกปีด้านการวิเคราะห์. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- นิธิยา รัตนปนนท์. 2545. เคมีอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : โอ.เอส. พรินติ้ง เฮาส์
- เปรมศิริ โรจน์สังจะกุล. 2545. ผลของปริมาณโซเดียมไนไตรท์และเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น *Lactobacillus curvatus* ต่อการเกิดสารระเหยในแฮม. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- ศิริวรรณ เนติวรานนท์ 2544 คู่มือปฏิบัติการเคมีอาหาร คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น
- Allen, J.C. and Hamilton R.J. (1994). Rancidity in Foods. 3<sup>rd</sup> ed. Chapman & Hall, 290 p.
- AOCS. (1990). Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society, 4<sup>th</sup> ed. American Oil Chemists's Champaign, Illinois.
- S. Raharjo and J. N. Sofos (1992). Methodology for Measuring Malonaldehyde as a Product of Lipid Peroxidation in Muscle Tissues. Departments of Animal Sciences and Food Science and Human Nutrition, Colorado State University, USA.
- Witte, V. C., Krause, G. F. and Bailey, M. E. (1970). A new extraction method for determining 2-thiobarbituric acid values of pork and beef during storage. *J. Food Sci.* 35: 582—585.