

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน
ของสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลืองและเปลือกถั่วเขียว

TOTAL POLYPHENOL CONTENT AND ANTIOXIDATION
PROPERTIES OF SOYBEAN AND MUNG BEAN HULL EXTRACTS



T110456

อรนุช หลงทอง

ORANUCH HLONGTHON

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....
วัน,เดือน,ปี.....

T110456

- 2 11 2553

b.....
i.....

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2553

KMITL-2010-AI-M-053-076

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**TOTAL POLYPHENOL CONTENT AND ANTIOXIDATION
PROPERTIES OF SOYBEAN AND MUNG BEAN HULL EXTRACTS**



ORANUCH HLONGTHON

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE

MASTER OF SCIENCE IN FOOD SCIENCE

FACULTY OF AGRO-INDUSTRY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2010

KMITL-2010-AI-M-053-076

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



COPY RIGHT 2010

FACULTY OF AGRO-INDUSTRY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คณะอุตสาหกรรมเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์ ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและสมบัติการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลืองและเปลือกถั่วเขียว
 Total polyphenol content and antioxidation properties of soybean and mung bean hull extracts

ชื่อนักศึกษา นางสาวอรนุช หลงทอน
รหัสประจำตัว 51068502
ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา วิทยาศาสตร์การอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผศ.ดร.ยุพร พิชกมูทร

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.ยุพร พิชกมูทร	
รศ.ดร.ประพันธ์ ปิ่นศิริโรคม	
รศ.เขาวลัคนธ์ สุรพันธ์พิสิทธิ์	
รศ.ดร.ประภาพร ขอไพบูลย์	

วัน/เดือน/ปีที่สอบ 12 พฤษภาคม 2553 เวลา 13.00 น. เป็นต้นไป
 สถานที่สอบ ณ ห้อง A 302 อาคารเจ้าคุณทหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตรรับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์ ดร.ยุพร พิชกมูทร) (รองอธิการบดี)
 คณะอุตสาหกรรมเกษตร
 วันที่ 26 พฤษภาคม 2553

สำนักทะเบียนและประมวลผล สจล.
วันที่ส่งเล่มวิทยานิพนธ์ฉบับสมบูรณ์
วันที่ 3/เดือน ๑๑.๑ พ.ศ. ๕๕
ลงชื่อ.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่สามารถนำออกจำหน่ายหรือทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์

ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและสมบัติการเป็น
สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกถั่ว
เหลืองและเปลือกถั่วเขียว

รียนักศึกษา

นางสาวอรนุช หลงทอน

รหัสประจำตัว

51068502

ปริญญา

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต

พ.ศ.

2553

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ผศ.ดร.ยุพร พิษกมฺุทร

บทคัดย่อ

ในการสกัดสารแอนติออกซิเดนต์จากเปลือกถั่วเหลืองและเปลือกถั่วเขียว ได้ศึกษาผลของ
อุณหภูมิในการอบแห้งเปลือกถั่วเขียว ที่อุณหภูมิ 50, 75, 100 องศาเซลเซียส พบว่าสารสกัดจากเปลือก
ถั่วเขียวสดที่ไม่ผ่านการอบแห้งมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดสูง และมีความสามารถในการ
ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ได้ดีกว่าเปลือกถั่วเขียวที่ผ่านการอบแห้ง การศึกษาผลของอุณหภูมิการสกัด
สารแอนติออกซิเดนต์จากเปลือกถั่วเหลืองและเปลือกถั่วเขียวสด พบว่า เปลือกถั่วเหลืองและเปลือกถั่ว
เขียวสดที่สกัดที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส มีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด และม
ีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงกว่าเปลือกถั่วเหลืองและเปลือกถั่วเขียวที่สกัดที่
อุณหภูมิต่ำกว่า 80 องศาเซลเซียส การศึกษาผลของเวลาในการสกัดสารแอนติออกซิเดนต์จากเปลือก
ถั่วเหลืองและเปลือกถั่วเขียวสดที่สกัดที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1, 3, 5 และ 8 ชั่วโมง
พบว่าเปลือกถั่วเหลืองและเปลือกถั่วเขียวสดที่สกัดเป็นเวลา 8 ชั่วโมง มีปริมาณสารประกอบโพลีฟ
ีนอลทั้งหมด และมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ได้ดีกว่าการสกัดที่เวลาน้อยกว่า 8
ชั่วโมง ผลการใช้สารสกัดจากเปลือกถั่วเหลืองและเปลือกถั่วเขียวเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน
ธรรมชาติในผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปูด โดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัดที่ระดับ 0.5, 1.5 และ 3.0 เปอร์เซ็นต์
โดยน้ำหนัก เก็บผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปูด ในสภาพสุญญากาศ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน
พบว่าสารสกัดจากเปลือกถั่ว สามารถยับยั้งการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน โดยผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปูดที่เติม
สารสกัดมีค่า TBARS เพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษาน้อยกว่าตัวอย่างควบคุม และการฟอร์มตัวของ
conjugated dienes เกิดน้อยลงในระหว่างการเก็บรักษา เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ไม่มีการ
เติมสารสกัด

Thesis	Total polyphenol content and antioxidation properties of soybean and mung bean hull extracts
Student	Miss Oranuch Hlongthon
Student ID.	51068502
Degree	Master of Science
Program	Food Science
Year	2010
Thesis Advisor	Dr. Yuporn Puechkamut

ABSTRACT

The study on extraction of antioxidant compounds from soybean and mung bean hulls were investigated. The effect of drying temperature (50, 75 and 80 °C) on the total polyphenol content and antioxidant capacities of the extracts from mung bean hull were studied. The result showed that the extracts of fresh soaked mung bean hull without drying has the highest content of total polyphenol content and antioxidant capacities compared to those of dried mung bean hull. The effect of extraction temperature was also studied. The result showed that extract temperature at 80 °C gave the highest content of total polyphenol and antioxidant capacities for both soybean and mung bean hulls. Moreover, the effect of extract time was elucidated. The extract time at 8 hours gave the highest content of total polyphenol and antioxidant capacities for both soybean and mung bean hulls. The antioxidant capacity of both soybean and mung bean hulls extracts in cooked ground pork were studied. The cooked ground pork with or without the extracts were vacuum packed and kept at 4 °C for 15 days. The results showed that the extracts from both bean hulls inhibited the formation of TBARS and conjugated dienes.

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร.ยุพร พิชกมฺพทร ที่ให้เกียรติเป็นอาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ รวมทั้งกรุณาให้ความรู้ ข้อคิดเห็น คำแนะนำอันเป็นประโยชน์แก่ข้าพเจ้าในการทำงานวิจัย ตลอดจนช่วยตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสมบูรณ์ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณอย่างสูง

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รศ.เยาวลักษณ์ สุรพันธ์พิศิษฐ์ รศ.ดร.ประพันธ์ ปิ่นศิโรตม และ รศ.ดร.ประภาพร ขอไพบูลย์ ที่ให้เกียรติเป็นกรรมการ ในการสอบวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้ และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่คอยอำนวยความสะดวกให้แก่ข้าพเจ้าในการปฏิบัติงานทุกครั้ง

ขอขอบพระคุณ คุณพ่อและคุณแม่ ที่คอยให้กำลังใจ คอยช่วยเหลือและสนับสนุนข้าพเจ้ามาตลอด คุณค่าและประโยชน์อันมีจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ข้าพเจ้าขอมอบแด่คณาจารย์และผู้มีพระคุณ หากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีข้อผิดพลาดประการใดข้าพเจ้าขอน้อมรับไว้แต่ผู้เดียว

อรนุช หลงทอน

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	II
กิตติกรรมประกาศ.....	III
สารบัญ.....	IV
สารบัญตาราง.....	VII
สารบัญภาพ.....	IX
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของการศึกษา.....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.1 ถั่วเหลือง.....	3
2.2 เปลือกถั่วเหลือง.....	4
2.3 ถั่วเขียว.....	5
2.4 เปลือกถั่วเขียว.....	6
2.5 อนุโมลิสระ.....	7
2.6 สารต้านอนุมูลอิสระ.....	7
2.7 สารประกอบฟีนอลิก.....	8
2.7.1 ลักษณะทางเคมีของสารประกอบฟีนอลิก.....	8
2.7.2 สมบัติการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ของสารประกอบฟีนอลิก.....	9
2.7.3 ความคงตัวของสารประกอบฟีนอลิกในการเป็น สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน	10
2.8 ปฏิกริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน.....	11

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.8.1 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน	
ออกซิเดชันในผลิตภัณฑ์อาหาร.....	14
2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	15
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	18
3.1 วัตถุประสงค์.....	18
3.2 เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์	18
3.3 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์.....	18
3.4 สถานที่ดำเนินการทดลอง.....	19
3.5 วิธีการดำเนินงาน.....	19
3.5.1 การเตรียมเปลือกถั่ว.....	19
3.5.2 ศึกษาผลของอุณหภูมิในการอบแห้งเปลือกถั่วเขียว	
ต่อปริมาณสารประกอบ โพลีฟีนอลทั้งหมด และความสามารถ	
ในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน.....	20
3.5.3 ศึกษาผลของอุณหภูมิในการสกัดต่อปริมาณและ	
ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัด	
จากเปลือกถั่วเหลืองและเปลือกถั่วเขียว.....	21
3.5.4 ศึกษาผลของเวลาการสกัดต่อปริมาณและ	
ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัด	
จากเปลือกถั่วเหลืองและเปลือกถั่วเขียว.....	22
3.5.5 ศึกษาการใช้สารสกัดเปลือกถั่วเป็น	
สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันธรรมชาติในผลิตภัณฑ์หมูปด.....	22
3.6 การวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ผลทางสถิติ.....	23
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง.....	24
4.1 ผลของอุณหภูมิในการอบแห้งเปลือกถั่วเขียวต่อปริมาณ	
สารประกอบ โพลีฟีนอลทั้งหมด และสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน.....	24

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.2 ผลของอุณหภูมิในการสกัดต่อปริมาณและความสามารถในการ ในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลือง และเปลือกถั่วเขียว.....	27
4.3 ผลของเวลาในการสกัดต่อปริมาณและความสามารถในการ ในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัด จากเปลือกถั่วเหลืองและเปลือกถั่วเขียว.....	32
4.4 ผลของการใช้สารสกัดจากเปลือกถั่วเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ธรรมชาติในผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปด.....	36
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....	41
บรรณานุกรม.....	43
ภาคผนวก.....	48
ก การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด.....	48
ข วิเคราะห์ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน.....	50
ค การวิเคราะห์ค่า Thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) และวิเคราะห์ conjugated dienes.....	53
ประวัติผู้เขียน.....	56

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 องค์ประกอบทางเคมีของถั่วเหลือง.....	4
2.2 องค์ประกอบทาง โภชนาการของเปลือกถั่วเหลือง.....	4
2.3 ปริมาณสารอาหารในเมล็ดถั่วเขียว 100 กรัม.....	6
2.4 องค์ประกอบทาง โภชนาการของเปลือกถั่วเขียว 100 กรัม.....	6
4.1 ปริมาณสารประกอบ โพลีฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดจากเปลือกถั่วเขียว.....	24
4.2 ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ของสารสกัดจากเปลือกถั่วเขียวสด และเปลือกถั่วเขียวอบแห้ง.....	26
4.3 ผลของอนุมูลอิสระในการสกัดต่อปริมาณสารและปริมาณสารประกอบ โพลีฟีนอล ทั้งหมดของสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลือง.....	27
4.4 ผลของอนุมูลอิสระในการสกัดต่อปริมาณสารและปริมาณสารประกอบ โพลีฟีนอล ทั้งหมดของสารสกัดจากเปลือกถั่วเขียว.....	28
4.5 ผลของอนุมูลอิสระในการสกัดต่อความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ของสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลือง.....	30
4.6 ผลของอนุมูลอิสระในการสกัดต่อความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสาร สกัดจากเปลือกถั่วเขียว.....	30
4.7 ผลของเวลาในการสกัดต่อปริมาณสารสกัด และปริมาณสารประกอบ โพลีฟีนอล ทั้งหมดของสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลือง.....	32
4.8 ผลของเวลาในการสกัดต่อปริมาณสารสกัด และปริมาณสารประกอบ โพลีฟีนอล ทั้งหมดของสารสกัดจากเปลือกถั่วเขียว.....	33
4.9 ผลของเวลาในการสกัดต่อความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัด จากเปลือกถั่วเหลือง.....	34
4.10 ผลของเวลาในการสกัดต่อความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของ สารสกัดจากเปลือกถั่วเขียว.....	35
4.11 ค่า TBARS (มีล็ดิกิริမ် malondialdehyde/กิโลกิริมตัวอย่าง) ของผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปกที่เติมสารสกัดเปลือกถั่วเหลืองที่ระดับต่างๆ.....	37

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 องค์ประกอบทางเคมีของถั่วเหลือง.....	4
2.2 องค์ประกอบทางโภชนาการของเปลือกถั่วเหลือง.....	4
2.3 ปริมาณสารอาหารในเมล็ดถั่วเขียว 100 กรัม.....	6
2.4 องค์ประกอบทางโภชนาการของเปลือกถั่วเขียว 100 กรัม.....	6
4.1 ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดจากเปลือกถั่วเขียว.....	24
4.2 ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ของสารสกัดจากเปลือกถั่วเขียวสด และเปลือกถั่วเขียวอบแห้ง.....	26
4.3 ผลของอุณหภูมิในการสกัดต่อปริมาณสารและปริมาณสารประกอบ โพลีฟีนอล ทั้งหมดของสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลือง.....	27
4.4 ผลของอุณหภูมิในการสกัดต่อปริมาณสารและปริมาณสารประกอบ โพลีฟีนอล ทั้งหมดของสารสกัดจากเปลือกถั่วเขียว.....	28
4.5 ผลของอุณหภูมิในการสกัดต่อความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ของสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลือง.....	30
4.6 ผลของอุณหภูมิในการสกัดต่อความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสาร สกัดจากเปลือกถั่วเขียว.....	30
4.7 ผลของเวลาในการสกัดต่อปริมาณสารสกัด และปริมาณสารประกอบ โพลีฟีนอล ทั้งหมดของสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลือง.....	32
4.8 ผลของเวลาในการสกัดต่อปริมาณสารสกัด และปริมาณสารประกอบ โพลีฟีนอล ทั้งหมดของสารสกัดจากเปลือกถั่วเขียว.....	33
4.9 ผลของเวลาในการสกัดต่อความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัด จากเปลือกถั่วเหลือง.....	34
4.10 ผลของเวลาในการสกัดต่อความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของ สารสกัดจากเปลือกถั่วเขียว.....	35
4.11 ค่า TBARS (มิลลิกรัม malondialdehyde/กิโลกรัมตัวอย่าง) ของผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปกที่เติมสารสกัดเปลือกถั่วเหลืองที่ระดับต่างๆ.....	37

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.12 Conjugated dienes ($\mu\text{mole/กรัมตัวอย่าง}$) ของผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปค ที่เติมสารสกัดเปลือกถั่วเหลืองที่ระดับต่างๆ.....	37
4.13 ค่า TBARS (มิลลิกรัมmalondialdehyde/กิโลกรัมตัวอย่าง) ของผลิตภัณฑ์เนื้อหมู บคที่เติมสารสกัดเปลือกถั่วเขียวที่ระดับต่างๆ.....	38
4.14 Conjugated dienes ($\mu\text{mole/กรัมตัวอย่าง}$) ของผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปค ที่เติมสารสกัดเปลือกถั่วเขียวที่ระดับต่างๆ.....	39



สารบัญภาพ

ภาพที่

หน้า

3.1 ขั้นตอนการเตรียมผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปค.....23



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

สารแอนติออกซิแดนซ์ที่มีสมบัติชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน เมื่อนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารจะช่วยยืดระยะเวลาการเก็บอาหาร ทำให้สีและกลิ่นของอาหารมีความคงตัวมากขึ้น ช่วยปรับปรุงความคงตัวของน้ำมันและไขมันที่เป็นส่วนผสมของอาหาร โดยที่สารแอนติออกซิแดนซ์ทำหน้าที่ขัดขวางการเกิดกลิ่นหืน การเปลี่ยนสี การเสื่อมสภาพของอาหารเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน การนำสารแอนติออกซิแดนซ์ที่ใช้ในทางการแพทย์ สามารถลดอนุมูลอิสระซึ่งเป็นตัวทำลายเซลล์ของร่างกายให้เสื่อม สารแอนติออกซิแดนซ์จะทำหน้าที่ให้ไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระ ทำให้อนุมูลอิสระกลายเป็นผลิตภัณฑ์ที่คงตัว สารแอนติออกซิแดนซ์ที่สามารถสกัดได้จากพืชหลายชนิด เช่น เครื่องเทศ ได้แก่ กานพลู อบเชย พริกไทยดำ จิง กระเทียม และหัวหอม (Banias *et al.*, 1992) เป็นสารแอนติออกซิแดนซ์ทางธรรมชาติที่มีประสิทธิภาพ

ถั่วเหลืองและถั่วเขียวเป็นพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจ มีการนำถั่วเหลืองและถั่วเขียวมาเป็นวัตถุดิบในผลิตภัณฑ์อาหารต่างๆ เช่น วุ้นเส้น แป้งซ่าหริ่ม การเพาะถั่วงอก เต้าหู้ นมถั่วเหลือง โปรตีนเกษตร และขนมต่างๆ เป็นต้น ทำให้มีอัตราการเติบโตของการใช้ถั่วทั้งสองชนิดภายในประเทศเพิ่มขึ้น ปริมาณการใช้ถั่วเหลืองทั้งประเทศในปี 2544/45 มีปริมาณการใช้ในประเทศ 1,830,950 ตัน และปริมาณการใช้ถั่วเขียวทั้งประเทศในปี 2544/43 มีปริมาณการใช้ในประเทศ 225,157 ตัน (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2542-2545) ในระหว่างการผลิตผลิตภัณฑ์ที่ใช้ถั่วทั้งสองชนิด จะมีส่วนเหลือทิ้งของกากถั่วเหลืองและเปลือกถั่วทั้งสองชนิด ในกรณีของกากถั่วเหลือง มีรายงานวิจัยหลายฉบับสนับสนุนการนำไปใช้ประโยชน์เพื่อการเพิ่มมูลค่า (อุพร, 2550) อย่างไรก็ตามในกรณีของเปลือกถั่วโรงงานนิยมนำไปขายเป็นอาหารสัตว์ มีรายงานการวิจัยพบว่าสารสกัดจากส่วนเปลือกของพืชหลายชนิดมีสมบัติการเป็นสารแอนติออกซิแดนซ์ที่มีประสิทธิภาพ (Gorinstein *et al.*, 2001) เช่น สารสกัดจากเปลือกถั่วลิสงมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ (Lee *et al.*, 2006) ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจที่จะสกัดสารในกลุ่ม โพลีฟีนอลออกจากส่วนเปลือกถั่วเหลืองและเปลือกถั่วเขียว โดยศึกษาสถานะที่เหมาะสมต่อปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด และศึกษาความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารสกัดในหลอดทดลองและในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ นอกจากนี้ถั่วเขียวมีส่วนของเปลือกหุ้มเมล็ดที่มีลักษณะบาง ไม่สามารถกะเทาะออกได้โดยตรงต้องนำเอาเมล็ดถั่วเขียวแช่น้ำ

งานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาผลของอุณหภูมิในการอบเปลือกถั่วเขียวต่อปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด และสมบัติการเป็นสารแอนติออกซิแดนซ์ เพื่อเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของการหาแหล่งสารแอนติออกซิแดนซ์จากธรรมชาติ

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. ศึกษาผลของอุณหภูมิในการอบเปลือกถั่วเขียวต่อปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด และสมบัติการเป็นสารแอนติออกซิแดนซ์
2. ศึกษาผลของอุณหภูมิ และเวลาในการสกัดต่อปริมาณสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลืองและเปลือกถั่วเขียว
3. ศึกษาความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลืองและเปลือกถั่วเขียว
4. ศึกษาการใช้สารสกัดจากเปลือกถั่วเหลืองและเปลือกถั่วเขียวเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันธรรมชาติในผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปด

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารแอนติออกซิแดนซ์จากเปลือกถั่วเหลืองและเปลือกถั่วเขียว ซึ่งได้ศึกษาปริมาณสารสกัด ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลืองและเปลือกถั่วเขียวโดยการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก พร้อมทั้งได้นำสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลืองและเปลือกถั่วเขียวเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปด ที่ทดสอบด้วยวิธีการ TBARS และ คอนจูเกตเต็ด ไดอีน (conjugated dienes)

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบถึงสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารต้านออกซิเดชันจากเปลือกถั่วเหลืองและเปลือกถั่วเขียวที่จะเพาะเปลือกแบบเปียก
2. เป็นแนวทางการนำสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลืองและเปลือกถั่วเขียวมาใช้เป็นสารกันหืนในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ถั่วเหลือง (Soybean)

ถั่วเหลืองเป็นพืชอยู่ในตระกูล Leguminosae มีชื่อวิทยาศาสตร์หลายชื่อ เช่น *Glycine soja*, *Soja hispida*, *Phaseolus max* เป็นต้น แต่ชื่อที่ยอมรับกันในปัจจุบันคือ *Glycine max* (L.) Merrill ส่วนชื่อสามัญเรียกต่างกันไปเช่น Soja bean , Chinese pea และ Soybean ซึ่งชื่อ Soybean เป็นที่ยอมรับกันมากที่สุด (อภิพรธม, 2546)

2.1.1 ลักษณะทางกายภาพของถั่วเหลือง

ถั่วเหลืองเป็นเมล็ดพืชที่มีคุณค่าทางโภชนาการเป็นแหล่งของไขมันและโปรตีนที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ เมล็ดถั่วเหลืองมีหลายขนาด เปลือกถั่วเหลืองที่แก่แล้วจะแข็งแรงทนต่อน้ำ ถ้าส่วนห่อหุ้มเมล็ดแตก ถั่วเหลืองอาจจะไม่งอก และรอยที่คล้ายแผลเป็น สามารถเห็นได้ชัดเจนบนส่วนห่อหุ้มเมล็ดนั้นเรียกว่า hilum หรือ แผลเป็นบนเมล็ดพืช และเป็นคล้ายรูเปิดเล็กๆที่สามารถดูดซึมน้ำเข้าไปได้

2.1.2 ผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลือง

อาหารที่ทำจากถั่วเหลืองของประเทศในแถบเอเชีย เช่น ไทย จีน ญี่ปุ่น และประเทศในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ แบ่งเป็น 2 ประเภท คือ ผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองที่ไม่ผ่านการหมัก และผ่านการหมักก่อน ผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองที่ไม่ผ่านการหมัก ได้แก่ น้านมถั่วเหลือง เต้าหู้ ถั่วงอกที่เพาะจากถั่วเหลือง ส่วนผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักถั่วเหลือง ได้แก่ ถั่วเน่า เทมเป้ ซอสถั่วเหลือง เต้าเจี้ยว เป็นต้น ถั่วเหลืองเป็นพืชน้ำมันที่สำคัญในหลายประเทศ การสกัดน้ำมันถั่วเหลืองด้วยตัวทำละลายส่วนที่เหลือจะเป็นเนื้อถั่วที่อุดมด้วยโปรตีน ซึ่งสามารถนำมาแปรรูปเป็นอาหารได้ เช่น เนื้อเทียม (โปรตีนเกษตร) แป้ง เมกอร์ เป็นต้น ปัจจุบันมีการพัฒนาผลิตภัณฑ์ใหม่เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคในหลายๆประเทศ เพื่อเป็นการขยายตลาดและเพิ่มความนิยมในการบริโภคถั่วเหลือง ผลิตภัณฑ์ที่มีการพัฒนาขึ้นใหม่นั้น ได้แก่ ไอศกรีม โยเกิร์ตถั่วเหลือง เนยถั่วเหลือง อีกทั้งยังมีผลิตภัณฑ์อาหารเสริมจากถั่วเหลืองอีกด้วย (อภิพรธม, 2546)

2.1.3 องค์ประกอบทางเคมีของถั่วเหลือง

ถั่วเหลืองเป็นแหล่งของ โปรตีนและไขมันที่สำคัญของมนุษย์ นอกจากนี้ยังมี องค์ประกอบทางเคมีอื่นๆ ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต ความชื้น เส้นใยและเถ้า

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบทางเคมีของถั่วเหลือง

องค์ประกอบทางเคมี	ปริมาณ (เปอร์เซ็นต์)
โปรตีน	34.81
คาร์โบไฮเดรต	35.6
ไขมัน	19.73
ความชื้น	7.50
เส้นใย	5.29
เถ้า	4.57

ที่มา : Rehman และคณะ (2007)

2.2 เปลือกถั่วเหลือง (Soybean hull)

ถ้าถั่วเหลืองทั้งเมล็ดคิดเป็น 100 ส่วน 8 ส่วน ของถั่วเหลืองทั้งเมล็ด คือเปลือกหุ้มเมล็ด ซึ่งเปลือกหุ้มเมล็ดทำหน้าที่ป้องกันส่วนใบเลี้ยง (cotyledon) และ ต้นอ่อน (hypocotyls) จากการถูกทำลาย จึงทำให้ส่วนของเปลือกเป็นส่วนที่ยากแก่การเอาออก

ตารางที่ 2.2 องค์ประกอบทางโภชนาการของเปลือกถั่วเหลือง

สารอาหาร	ปริมาณ (เปอร์เซ็นต์)
คาร์โบไฮเดรต	85.7
โปรตีน	9
ความชื้น	7.8
เถ้า	4.3
ไขมัน	1

ที่มา: Liu, (1997)

ในส่วนของไขมัน 1 เปอร์เซ็นต์ ประกอบด้วย กรดไขมันหลายชนิดคือ กรดปาล์มมิก 23.2 มิลลิกรัม กรดสเตียริก 14.8 มิลลิกรัม กรดโอเลอิก 14.9 มิลลิกรัม กรดไลโนเลอิก 22.7 มิลลิกรัม อีกทั้งยังประกอบด้วยพวกลสเตอรอย 3 ชนิด คือ แคมเปสเตอร์อล (campesterol) สติกมาสเตอร์อล (stigmasterol) และ เบต้า ซิโตสเตอร์อล (beta-sitosterol) เมื่อคิดเป็นสัดส่วนคือ 1 : 1.5 : 2

เปลือกถั่วเหลืองเป็นส่วนหนึ่งของเหลืองทั้งจากโรงงานผลิตผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลือง ดังนั้นจึงได้มีการนำเอาเปลือกถั่วเหลืองไปเป็นอาหารสัตว์ อีกทั้งยังได้มีผู้ค้นคว้าวิจัยให้เปลือกถั่วเหลืองเป็นแหล่งของใยอาหารที่สำคัญของมนุษย์ และมีคุณสมบัติในการลดระดับคอเลสเตอรอลในน้ำเหลือง (Graf and Eaton., 1993) ด้วยเหตุผลดังกล่าวจึงได้มีผู้พัฒนาเปลือกถั่วเหลือง ไปเป็นแหล่งใยอาหารในผลิตภัณฑ์ขนมอบ และเปลือกถั่วเหลืองยังอุดมไปด้วยธาตุเหล็ก จากการวิเคราะห์ปริมาณธาตุเหล็กในถั่วเหลืองพบว่า มีธาตุเหล็ก 32 เปอร์เซ็นต์ อยู่ในเปลือกถั่วเหลือง ดังนั้นจึงได้มีการนำเปลือกถั่วเหลืองมาเป็นแหล่งของธาตุเหล็กในผลิตภัณฑ์ขนมอบและผลิตภัณฑ์อาหารเข้าซีเรียล (Liu., 1997)

2.3 ถั่วเขียว (Mung bean)

ถั่วเขียวเป็นพืชล้มลุกประเภทใบเลี้ยงคู่ อยู่ในวงศ์ Leguminosae มีชื่อทางพฤกษศาสตร์ว่า *Vigna radiate* (L.) Witzek (ทรงเขาวัว, 2531) เป็นพืชตระกูลถั่วที่คนไทยนิยมบริโภคเป็นอาหารคาว อาหารหวาน แหล่งปลูกถั่วเขียวในประเทศไทย ส่วนใหญ่อยู่ทางภาคเหนือตอนล่าง ภาคกลาง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (อภิพรธ, 2546) ถั่วเขียวเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญและนิยมปลูกกันแพร่หลายในประเทศไทยเพราะเป็นพืชที่ปลูกง่าย ปลูกได้ดีในดินแทบทุกชนิด มีอายุการเก็บเกี่ยวสั้นปลูกได้ตลอดปี การปฏิบัติดูแลน้อยเมื่อเทียบกับพืชเศรษฐกิจชนิดอื่น เกษตรกรนิยมปลูกถั่วเขียวเป็นพืชหมุนเวียนกับข้าวและพืชไร่ต่างๆ ผลผลิตถั่วเขียวที่ได้ทั้งหมดมาจากถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวด้านประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ ส่วนอีก 20 เปอร์เซ็นต์ เป็นถั่วเขียวผิวดำ

โครงสร้างของเมล็ดถั่วเขียวมีลักษณะกลมจนถึงวงรี มีส่วนประกอบที่สำคัญ 3 ส่วน ได้แก่ เปลือกหุ้มเมล็ด (seed coat) 12.1 เปอร์เซ็นต์ คันอ่อน (embryo) 2.3 เปอร์เซ็นต์ และใบเลี้ยง (cotyledon) 85.6 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักเมล็ด แต่ละส่วนของถั่วเขียวมีปริมาณสารอาหารแต่ละชนิดแตกต่างกัน ส่วนของคันอ่อนมีปริมาณ โปรตีนและไขมันมากที่สุด ในขณะที่ส่วนของใบเลี้ยงจะมีแป้งมากที่สุด และในส่วนของเปลือกหุ้มเมล็ดมีกากใยประเภท เซลลูโลส (cellulose) เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) และ ลิกนิน (lignin) มากที่สุด (Adsule et al., 1989) องค์ประกอบทางโภชนาการของเมล็ดถั่วเขียวแสดงในตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 ปริมาณสารอาหารในเมล็ดถั่วเขียว 100 กรัม

สารอาหาร	ปริมาณ (กรัม)
โปรตีน	10.6
ไขมัน	0.6
เถ้า	3
กากใย	25.6
แป้ง	60.2
ฟอสฟอรัส	0.04
แคลเซียม	0.18
เหล็ก (มิลลิกรัม)	7.0

ที่มา: Adsule และคณะ (1989)

2.4 เปลือกถั่วเขียว (Mung bean hull)

ปริมาณสารอาหาร โปรตีน ไขมัน เถ้าและความชื้น ในเปลือกถั่วเขียวแต่ละชนิดมีปริมาณแตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 องค์ประกอบทางโภชนาการของเปลือกถั่วเขียว 100 กรัม

สารอาหาร	ปริมาณสารอาหารของเปลือกถั่วงอก (กรัม)	ปริมาณสารอาหารของเปลือกฝัก (กรัม)	ปริมาณสารอาหารของเปลือกหุ้มเมล็ด (กรัม)
โปรตีน	4.73	5.53	8.15
คาร์โบไฮเดรต	40.67	84.51	78.1
ไขมัน	0.44	1.01	2.06
เถ้า	0.03	0.07	0.04
ความชื้น	54.13	8.88	11.65

ที่มา: Adsule และคณะ (1989)

ปริมาณ โปรตีนพบมากที่สุดในเปลือกหุ้มเมล็ด รองลงมาคือ เปลือกฝักและเปลือกถั่วงอก 8.15 กรัม 5.53 กรัมและ 4.73 กรัม ตามลำดับ ปริมาณ ไขมันพบมากที่สุดในเปลือกหุ้มเมล็ด รองลงมาคือ เปลือกฝักและเปลือกถั่วงอก 2.06 กรัม 1.01 กรัม และ 0.44 กรัม ตามลำดับ ความชื้นมีมากในเปลือก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ถั่วอก รองลงมาคือเปลือกหุ้มเมล็ด และเปลือกฝัก 54.16 กรัม 11.65 กรัม และ 8.88 กรัม ตามลำดับ (Adsule *et al.*, 1989)

2.5 อนุมูลอิสระ (Free radical)

อนุมูลอิสระ คือ โมเลกุลของสารใดๆที่สามารถเกิดขึ้นได้โดยอิสระ โดยที่โมเลกุลจะประกอบด้วยอิเล็กตรอนวงนอกที่ไม่ได้จับคู่ (unpair electron) เพียงหนึ่งหรือมากกว่าหนึ่งขึ้นไป ซึ่งการมีอิเล็กตรอนวงนอกที่ไม่ได้จับคู่ทำให้อนุมูลอิสระไวต่อปฏิกิริยาในการที่จะดึงอิเล็กตรอนจากโมเลกุลอื่นเพื่อกลับคืนเป็นโมเลกุลที่มีความคงตัว (Willcox *et al.*, 2004) และเกิดปฏิกิริยาการดึงอิเล็กตรอนต่อเนื่องกันเป็นลูกโซ่ (เพ็ญญา, 2548)

2.6 สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)

สารต้านอนุมูลอิสระเป็นสารที่สามารถทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระโดยตรง เพื่อกำจัดอนุมูลอิสระให้หมดไป หรือหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ไม่ให้ดำเนินต่อ สารขจัดอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในธรรมชาติ เช่น กรดซูริก บิลิรูบิน จะกำจัดอนุมูลอิสระ ส่วนวิตามินซี วิตามินอี กลูตาไทโอน เบตาแคโรทีน และยูบิควิโนน จะหยุดปฏิกิริยาของการเกิดอนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระประเภทหลังมีบทบาทสำคัญในการทำให้ออกซิเดชันของไขมันสิ้นสุดลง สารต้านอนุมูลอิสระที่กล่าวมามีโครงสร้างทางเคมีและฤทธิ์การต้านออกซิเดชันที่แตกต่างกัน เช่น วิตามินอี มีโครงสร้างเคมีที่ละลายได้ดีในไขมัน ดังนั้นจึงสามารถเข้าไปออกฤทธิ์ที่ผนังเซลล์ได้ วิตามินอี จัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีฤทธิ์แรงสามารถหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ได้ วิตามินอีจะทำปฏิกิริยาขจัดอนุมูลลิพิดเปอร์ออกซี (lipid peroxy) และได้เป็นอนุมูลวิตามินอี ซึ่งเป็นอนุมูลที่มีความไวต่ำ ทำให้ไม่สามารถเกิดลิพิดเปอร์ออกซีเดชันต่อไปได้

สารต้านอนุมูลอิสระสามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ ได้ดังนี้

1.) สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (Synthetic antioxidants)

สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ ได้แก่ บิวทิลไฮดรอกซีโทลูอีน (butylated hydroxytoluene (BHT)) บิวทิลไฮดรอกซีไอโซครอกซีอะนิโซล (butylated hydroxyanisole (BHA)) บิวทิลไฮดรอกซีโกลเลต (butylated hydroxygallate (BHG)) และ โพรพิลแกลเลต (propyl gallate (PG)) ใช้เติมลงในอาหารเพื่อป้องกันการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์อาหาร อันเนื่องมาจากปฏิกิริยาออกซิเดชันขององค์ประกอบของไขมันและน้ำมันในอาหาร (Maisuthisakul *et al.*, 2007 ; Yamazaki *et al.*, 2007)

2.) สารต้านอนุมูลอิสระธรรมชาติ (Natural antioxidants)

สารต้านอนุมูลอิสระที่พบในธรรมชาติมี 4 ประเภท (Frankel and Meyer, 2000) ได้แก่

- (1) สารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มของเอนไซม์ที่สร้างได้ในเซลล์ร่างกาย ได้แก่ คาตาเลส (catalase) ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส (superoxide dismutase) และกลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase) เป็นต้น
- (2) สารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มของวิตามิน ได้แก่ วิตามินอี ซี และเอ
- (3) สารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มของแร่ธาตุ เช่น ซีลีเนียมและสังกะสี ซึ่งเป็นโคแฟกเตอร์ของเอนไซม์ที่ต้านออกซิเดชัน
- (4) สารต้านออกซิเดชันในกลุ่มของสารพฤกษเคมี (phytochemicals) เช่น แครโรทีน (carotene) ไลโคปีน (licopene) และสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) เป็นต้น

2.7 สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds)

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารพฤกษเคมีที่พบได้ทั่วไปในพืชหลายชนิด ปัจจุบันได้รับความสนใจมากขึ้นเนื่องจากสมบัติในการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน จึงมีบทบาทสำคัญในการป้องกันการเจ็บป่วยและการเกิดโรคภัยไข้เจ็บต่างๆ อันมีสาเหตุมาจากภาวะ oxidative stress ภายในร่างกาย นอกจากนี้ยังนำมาใช้กับอาหาร เพื่อเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันธรรมชาติในการป้องกันการเสื่อมเสียคุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหาร อันมีสาเหตุเนื่องมาจากปฏิกิริยาออกซิเดชันขององค์ประกอบไขมันในอาหาร

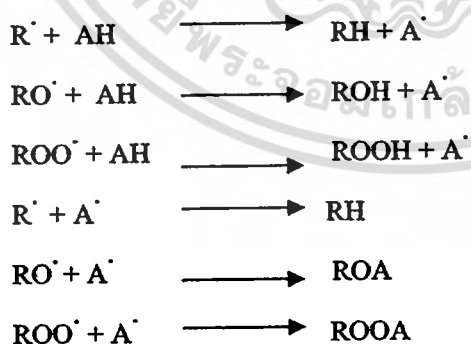
2.7.1 ลักษณะทางเคมีของสารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารประกอบในกลุ่ม secondary metabolite ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของวิถี เพนโตสฟอสเฟตชิคิเมต (pentose phosphate shikimate) และ ฟีนิลโพรพานอยด์ (phenylpropanoid) ที่พบในพืช มีบทบาทสำคัญต่อการเจริญเติบโตและขยายพันธุ์ของพืช รวมทั้งช่วยปกป้องพืชจากการติดเชื้อหรือถูกทำลายโดยจุลินทรีย์ และยังมีหน้าที่เกี่ยวกับการเกิดสีและกลิ่นรสในผักผลไม้อีกด้วย โดยทั่วไปสารประกอบฟีนอลิกจะพบมากบริเวณผิวชั้นนอกของพืช เช่น เปลือก เพื่อทำหน้าที่ปกป้องสารต่างๆที่อยู่ภายใน โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิก ประกอบด้วยวงแหวนอะโรมาติก (aromatic ring) ที่มีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) ตั้งแต่ 1 หมู่ขึ้นไปมาเกาะอยู่ มีโครงสร้างตั้งแต่โมเลกุลอย่างง่ายไปจนถึงโครงสร้างที่เป็นโพลีเมอร์ ในธรรมชาติสารประกอบฟีนอลิกที่อยู่ในรูปอิสระ (free form) จะพบได้เพียงเล็กน้อย โดยส่วนใหญ่จะพบในรูปที่รวมอยู่กับสารประกอบอื่นๆ (bound form) ซึ่ง

มีทั้งชนิดที่ละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ (conjugated forms/soluble phenolics) และที่อยู่ในรูปที่จับกับสารโพลีเมอร์ที่ไม่ละลายน้ำซึ่งเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์พืช (insoluble bound forms/insoluble phenolics) โดยมักพบสารประกอบฟีนอลิกรวมอยู่กับโมเลกุลของน้ำตาล เช่น น้ำตาลกลูโคส (glucose) กาแลคโตส (galactose) แรมโนส (rhamnose) ไซโลส (xylose) อะราบิโนส (arabinose) และอนุพันธ์ของน้ำตาล เช่น กรดกลูโคโรนิก (glucuronic acid) กรดกาแลคทูโรนิก (galacturonic acid) ในรูปไกลโคไซด์ (glycosides) นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิกยังอาจรวมกับสารประกอบอื่นอีกหลายชนิด เช่น โพลีแซคคาไรด์ กรดอินทรีย์ ไขมัน ฟีนอลิก และอะมีน (Balasundram *et al.*, 2006 ; Karakaya, 2004 ; Podsdek, 2007 ; วิวัฒน์, 2545)

2.7.2 สมบัติการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลิกทำหน้าที่เป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันธรรมชาติ ทั้งในอาหารและระบบของสิ่งมีชีวิต โดยการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันขององค์ประกอบไขมันในอาหารหรือกำจัดอนุมูลอิสระที่มากเกินไปอันเป็นสาเหตุของการเกิดภาวะการเจ็บป่วยต่างๆ ซึ่งการที่สารประกอบฟีนอลิกมีสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันนั้น เกี่ยวเนื่องกับความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ โดยการให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลอิสระ ทำให้อนุมูลอิสระมีความคงตัวและมีพลังงานน้อยลงไม่สามารถทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นเพื่อเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระต่อไปได้อีก นอกจากนั้นอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกบางชนิดยังคงสามารถเข้าจับกับอนุมูลอิสระต่อไปได้อีก นอกจากนั้นอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกบางชนิดยังคงสามารถเข้าจับกับอนุมูลอิสระอื่นได้อีก ทำให้สามารถลดจำนวนอนุมูลอิสระลงได้ โดยแสดงดังปฏิกิริยา (พิชญ์อร, 2547 ; วิวัฒน์, 2545 ; Balasundram *et al.*, 2006)



2.7.3 ความคงตัวของสารประกอบฟีนอลิกในการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน

ปัจจัยที่มีผลต่อความคงตัวของสารประกอบฟีนอลิกในการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน คือปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลง โครงสร้างโมเลกุลของสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ แสงและเอนไซม์ รวมถึงการรวมตัวกับโมเลกุลอื่น (วิวัฒน์, 2545)

1. ค่าความเป็นกรด-ด่าง

เนื่องจากหมู่ไฮดรอกซิลในแต่ละตำแหน่งของสารประกอบฟีนอลิกมีบทบาทต่อสมบัติของการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง จะมีผลให้หมู่ไฮดรอกซิลเกิดการเปลี่ยนแปลง จึงน่าจะมีผลต่อสมบัติการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิกด้วยเช่นกัน

2. อุณหภูมิ

อุณหภูมิสูงในระหว่างการแปรรูป มีผลทำให้สารประกอบฟีนอลิกแตกตัวเป็น โมเลกุลเล็กๆ และระเหยกลายเป็น ไอ เช่น ฟลาโวนอยด์ ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลิกที่มีโครงสร้างเป็นแบบ $C_6-C_3-C_6$ ซึ่งมีลักษณะเป็นวงแหวน 3 วงต่อกัน จะเกิดการแตกของวงแหวน C และสายตัวต่อไป โดยวงแหวน B จะเปลี่ยนเป็นกรดคาร์บอกซิลิกและวงแหวน A จะเปลี่ยนไปเป็นคาร์บอกซีอัลดีไฮด์และจะระเหยไปพร้อมกันน้ำ

3. แสง

แสงแดดเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่เร่งการสลายตัวหรือเปลี่ยนแปลง โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิก เช่น หมู่ไฮดรอกซิลที่คาร์บอนอะตอมตำแหน่งที่ 5 ใน โมเลกุลของแอนโทไซยานินจะสามารถเรืองแสงและไวต่อการสลายตัวเมื่อโดนแสงแดด นอกจากนี้แสงแดดยังเป็นปัจจัยเร่งให้เกิดการสลายตัวเนื่องจากความร้อนอีกด้วย

4. เอนไซม์

ในสภาวะที่มีเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (Polyphenol oxidase) อยู่ด้วย จะเร่งการเปลี่ยนแปลงสารประกอบฟีนอลิกบางชนิดให้เกิดเร็วขึ้นได้ แต่อัตราการเร่งปฏิกิริยาจะแตกต่างกันออกไป เช่น เอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส สามารถเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของอพิคาทีชิน ((-)-epicatechin) ได้ดีกว่าคาทีชิน ((+)-catechin)

5. การรวมตัวกับโมเลกุลอื่น

สารประกอบฟีนอลิก สามารถเกิดการรวมตัวกับ โมเลกุลอื่นๆ เช่น โปรตีน โพลีแซคาไรด์ อัลคาร์บอกด์และแอนโทไซยานินได้ง่าย ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นอาจเป็นแบบผันกลับได้หรือไม่ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ในขณะที่เกิดปฏิกิริยา เช่น ออกซิเจน ไอออนโลหะ เอนไซม์ และกรด เป็นต้น ซึ่งจะเป็นตัวการที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสมดุลของปฏิกิริยา เช่น ทำให้สารประกอบในภาวะสมดุลรวมตัวกันและเกิดตะกอนแยกออกมาหรือเกิดพันธะโควาเลนต์ รวมกันเป็นสารใหม่ทำให้ปฏิกิริยาไม่สามารถผันกลับได้ ปรากฏการณ์เหล่านี้มีผลทำให้สารประกอบฟีนอลิกมีการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้าง ทำให้สารประกอบฟีนอลิกสูญเสียสมบัติในการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้

2.8 ปฏิกิริยาออกซิเดชันเปอร์ออกซิเดชัน (Lipid peroxidation)

การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันในผลิตภัณฑ์อาหารเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ผลิตภัณฑ์อาหารเสื่อมคุณภาพ (deterioration) นอกเหนือจากการเสื่อมคุณภาพจากจุลินทรีย์ การเสื่อมคุณภาพผลิตภัณฑ์อาหารเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันมักจะเกิดกับกรดไขมันไม่อิ่มตัว เช่น กรดลิโนเลอิก (linoleic acid) กรดลิโนเลนิก (linolenic acid) และกรดอะราชิโดนิก (arachidonic acid) เป็นต้น ซึ่งกรดไขมันเหล่านี้เป็นกรดไขมันที่มีจำนวนพันธะคู่มากกว่าหนึ่งพันธะในโครงสร้างซึ่งมีความว่องไวสูงจึงเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ง่ายเมื่อสัมผัสกับออกซิเจนในบรรยากาศ

ในผลิตภัณฑ์อาหารที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบ การเสื่อมคุณภาพเนื่องมาจากปฏิกิริยาออกซิเดชันอาจเกิดจากกลไกที่เกี่ยวข้องหรือไปเกี่ยวข้องกับการทำงานของเอนไซม์ก็ได้ การเสื่อมคุณภาพที่มีสาเหตุมาจากการทำงานของเอนไซม์ เช่น การเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลติก (hydrolytic) ในเนยเหลว โดยเอนไซม์ไลเปสจะไปย่อยสลายพันธะเอสเทอร์ในไตรกลีเซอไรด์แล้วให้กรดไขมันสายสั้น เช่น กรดบิวทีริก (butyric acid) กรดคาไพริก (caprylic acid) และกรดคาพริก (capric acid) เป็นต้น ซึ่งผลผลิตที่ได้จะเข้าสู่วงจรของปฏิกิริยาออกซิเดชันต่อไปทำให้เกิดกลิ่น รส ที่ไม่พึงประสงค์ในเนยเหลว เอนไซม์อีกชนิดหนึ่งที่มีส่วนสำคัญในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันคือ เอนไซม์ไลพอกซิเจเนส (lipoxigenase) พบมากในพืชตระกูลถั่ว การทำงานของเอนไซม์ไลพอกซิเจเนส จะไปออกซิไดซ์กรดไขมันไม่อิ่มตัว โดยเฉพาะที่หมู่เมทิลีน (methylene) ซึ่งอยู่ระหว่างพันธะคู่ที่มีโครงสร้างแบบซิส (cis) เช่น กรดลิโนเลอิก กรดลิโนเลนิก และกรดอะราชิโดนิก ทำให้เกิดออกซิเดชันของกรดไขมันไม่อิ่มตัว จนกระทั่งได้อนุมูลอิสระ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และเมื่อไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เกิดการแตกตัวจะให้อนุมูลอิสระในแบบต่างๆทำให้เกิดกลิ่นรสที่ไม่พึงประสงค์ การควบคุมการเกิดออกซิเดชันที่มี

สาเหตุมาจากอนุมูลอิสระสามารถทำได้โดยทำลายอนุมูลอิสระให้หมดสภาพ เช่น การใช้ความร้อน การลดปริมาณความชื้นให้ต่ำหรือการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไว้ที่อุณหภูมิต่ำ

การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในผลิตภัณฑ์อาหารไม่ได้มีสาเหตุมาจากอนุมูลอิสระเพียงอย่างเดียว แต่อาจเกิดจากปฏิกิริยาเคมีระหว่างออกซิเจนกับกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวอิสระ หรือเป็นองค์ประกอบในโมเลกุลของไตรเอซิลกลีเซอรอลที่อยู่ในผลิตภัณฑ์อาหารที่มีไขมันหรือน้ำมันเป็นองค์ประกอบ ซึ่งก็เป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้อาหารเสื่อมคุณภาพ ปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นเป็นไปอย่างต่อเนื่องเมื่อไขมันหรือน้ำมันในผลิตภัณฑ์อาหารสัมผัสกับออกซิเจนในบรรยากาศ อัตราเร็วของปฏิกิริยาจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เนื่องจากเกิดปฏิกิริยาต่อเนื่องของอนุมูลอิสระ (free radical chain reaction) ซึ่งมีกลไกการเกิดได้เป็น 3 ขั้นตอน ดังนี้

1. Initiation เป็นขั้นตอนการเกิดอนุมูลอิสระ

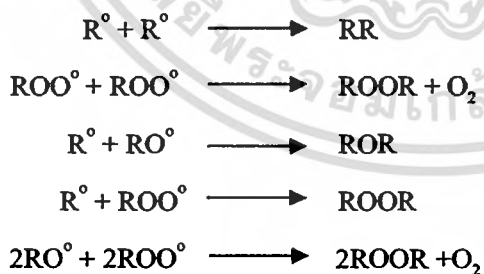


2. Propagation เป็นปฏิกิริยาต่อเนื่องของอนุมูลอิสระ



3. Termination เป็นปฏิกิริยาสุดท้ายที่ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นไม่ได้เป็นอนุมูลอิสระ

(non-radical products)



ปฏิกิริยาเริ่มต้นของการเกิดอนุมูลอิสระ เกิดจากคาร์บอนอะตอมที่อยู่ใกล้ตำแหน่งพันธะคู่ในโมเลกุลของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวสูญเสียไฮโดรเจน โดยมีความร้อน แสงสว่างและโลหะเป็นตัวเร่ง

ทำให้เกิดเป็นอนุมูลอิสระ หลังจากนั้นจะเกิดปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระกับออกซิเจนได้เป็นอนุมูลเพอร์ออกซี (peroxy radical, ROO^\bullet) ซึ่งอนุมูลเพอร์ออกซีจะเข้าทำปฏิกิริยากับกรดไขมัน โมเลกุลใหม่ เพื่อดึงเอาไฮโดรเจนอะตอม ทำให้ได้ไฮโดรเพอร์ออกไซด์ ($ROOH$) และเกิดอนุมูลอิสระไฮโดรคาร์บอน (hydrocarbon radical, R^\bullet) ขึ้นใหม่ ซึ่งอนุมูลอิสระ R^\bullet ที่เกิดขึ้นใหม่นี้จะทำปฏิกิริยากับออกซิเจนและเกิดปฏิกิริยาอย่างต่อเนื่องวนเวียนซ้ำไปเรื่อยๆ ส่วนไฮโดรเพอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นและเป็นผลิตภัณฑ์เริ่มต้นของปฏิกิริยาจะไม่คงตัว จึงเกิดปฏิกิริยาต่อไป โดยการสลายตัวหรือทำปฏิกิริยากับสารอื่น ทำให้เกิดสารประกอบชนิดใหม่ที่มีน้ำหนักโมเลกุลขนาดต่างๆกัน ทำให้เกิดสารให้กลิ่นรสที่ไม่ดี และเมื่ออนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นมีปริมาณมากพอก็จะทำปฏิกิริยากันเองเกิดเป็นสารประกอบใหม่ที่ไม่เป็นอนุมูลอิสระ ปฏิกิริยาที่จะหยุดลงแต่หากยังมีออกซิเจนมากพอก็จะเริ่มต้นเกิดปฏิกิริยาขั้นที่ 1 (Initiation) เพื่อให้เกิดเป็นอนุมูลอิสระใหม่ (นิธิยา, 2545 ; Deman, 1999 ; Hamilton, 1994)

นอกจากการเกิดออกซิเดชันของ ไขมันและน้ำมันที่เป็นองค์ประกอบในผลิตภัณฑ์อาหารแล้ว ปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์การอาหารยังให้ความสนใจกับการเกิดออกซิเดชันของคอเลสเตอรอลมากขึ้น เนื่องจากผลผลิตที่เกิดขึ้นเป็นพิษต่อเซลล์ต่อหลอดเลือด ก่อให้เกิดโรคหลอดเลือดแข็งตัวก่อให้เกิดการกลายพันธุ์และเป็นสารก่อมะเร็ง ผลผลิตที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของคอเลสเตอรอลพบได้ในอาหารแปรรูปหลายชนิดที่มาจากสัตว์ เช่น ไข่แดง ไขมันที่ผ่านความร้อน ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์นม แต่จะไม่พบในน้ำมันที่มาจากพืช (นิธิยา, 2545) การเกิดออกซิเดชันของคอเลสเตอรอลนั้นจะเกิดเมื่อมีการสัมผัสกับออกซิเจน ความร้อน แสง และรังสีต่างๆ สำหรับในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์นั้น อาจเกิดออกซิเดชันของคอเลสเตอรอลจะเกิดในขั้นตอนของการให้ความร้อน การเก็บรักษาแบบแช่แข็ง และขั้นตอนต่างๆ ในระหว่างกระบวนการแปรรูป (Wang *et al.*, 1995)

ลิวคอกซิเดชันเป็นหนึ่งในปัจจัยหลักที่มีผลต่อคุณภาพและการยอมรับในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์และในเนื้อสัตว์ ซึ่งกระบวนการนี้จะมีผลต่อการเปลี่ยนสี กลิ่น รส ที่ไม่พึงประสงค์อีกทั้งยังทำให้เกิดการฟอร์มตัวของสารประกอบที่เป็นพิษในผลิตภัณฑ์ (Morrisey *et al.*, 1998) การเกิดออกซิเดชันของไขมัน เนื่องจากออกซิเจนสัมผัสกับไขมันเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมัน ซึ่งมักเกิดกับกรดไขมันไม่อิ่มตัว กรดไขมันไม่อิ่มตัวเป็นกรดไขมันที่มีจำนวนพันธะคู่มากกว่าหนึ่งพันธะในโครงสร้างและมีความไวสูงจึงเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ง่าย เมื่อเกิดการออกซิเดชันของกรดไขมันไม่อิ่มตัวจะได้เป็นสารประกอบไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (hydroperoxide) ซึ่งเป็น primary oxidation product โดยมีสมบัติที่ไม่เสถียร เมื่อไฮโดรเปอร์ออกไซด์แตกตัวให้อนุมูลอิสระในแบบต่างๆอาจจะสลายตัวหรือเปลี่ยนเป็นสารประกอบอื่น (secondary oxidation product) (Warner, 1997) ในขั้นนี้จะเกิดการฟอร์มตัวของ conjugated dienes ขึ้นเนื่องจากพันธะคู่ของกรดไขมันไม่อิ่มตัวถูกออกซิไดซ์และเกิดการสูญเสีย

ไฮโดรเจนอะตอมตรงตำแหน่งพันธะคู่ การเกิดการฟอร์มตัวของ conjugated dienes สามารถใช้บ่งชี้คุณภาพของอาหารประเภทไขมัน ซึ่งสามารถติดตามการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น โดยวิเคราะห์ตัวอย่างอาหารด้วยวิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสง โดยวัดในช่วงความยาวคลื่น 233-268 นาโนเมตร (Ronald *et al.*, 2004) จากการที่สารประกอบไฮโดรเปอร์ออกไซด์มีสมบัติไม่เสถียรจึงสามารถเปลี่ยนเป็นสารประกอบอื่น และเกิดการแตกตัวเป็นสารประกอบอื่นที่มีน้ำหนักโมเลกุลขนาดต่างๆกันทำให้เกิดสารให้กลิ่น ได้แก่ อัลเคน (alkanes) อัลคีน (alkenes) อัลดีไฮด์ (aldehydes) คีโตน (ketones) แอลกอฮอล์ (alcohols) เอสเทอร์ (esters) ซึ่งสารเหล่านี้ทำให้ผลิตภัณฑ์อาหารมีกลิ่นหืน และสามารถตรวจติดตามการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นได้โดยการวิเคราะห์ค่า thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) ใช้หลักการของวิธีการวัดความเข้มของสารสีชมพูแดงที่ความยาวคลื่น 530-532 นาโนเมตร ที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างไฮโอบาร์บิวริก (thiobarbituric) กับ oxidized lipids ได้เป็นสารประกอบที่มีสีชมพูแดง

2.8.1 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในผลิตภัณฑ์อาหาร

ไขมันและน้ำมันที่อยู่ในอาหารมีองค์ประกอบเป็นกรดไขมันชนิดต่างๆ หลายชนิดซึ่งมีความแตกต่างกันทั้งสมบัติทางกายภาพและทางเคมี รวมทั้งความไวต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน นอกจากนี้ส่วนประกอบอื่นๆ ในอาหารอาจทำหน้าที่ร่วมกันออกซิไดซ์ (co-oxidize) หรือทำปฏิกิริยากับไขมันหรือน้ำมันที่ถูกออกซิไดซ์แล้ว หรือผลผลิตที่เกิดจากการออกซิเดชัน ดังนั้นการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันหรือน้ำมันจึงเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องและค่อนข้างสลับซับซ้อน ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันมีดังนี้

2.8.1.1 ชนิดของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบ เนื่องจากชนิดของกรดไขมันในโมเลกุลของไขมันและน้ำมันมีผลกระทบต่ออัตราเร็วของปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งการเกิดออกซิเดชันสามารถเกิดได้ทั้งกับกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัว แต่อัตราเร็วของการเกิดปฏิกิริยาจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับปริมาณกรดไขมันและระดับความไม่อิ่มตัว โดยกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่มากจะเกิดได้เร็วกว่าดังนี้ กรดอะราชิโคนิก (20:4) > กรดลิโนเลนิก (18:3) > กรดลิโอเลอิก (18:2) > กรดโอเลอิก (18:1) นอกจากนี้ตำแหน่งและโครงสร้างของพันธะคู่ยังมีผลด้วยคือ กรดไขมันที่มีโครงสร้างแบบซิสไอโซเมอร์ (cis isomer) จะถูกออกซิไดซ์ได้เร็วกว่าทรานไอโซเมอร์ (trans isomer) และตำแหน่งที่เป็นพันธะคู่แบบคอนจูเกต (conjugated double bond) จะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้เร็วกว่าพันธะคู่ที่ไม่ใช่แบบคอนจูเกต (non conjugated double bond) การเก็บรักษาอาหารที่อุณหภูมิห้องไม่มีผลต่อการเกิดออกซิเดชันของกรดไขมันอิ่มตัว แต่จะมีผลต่อการเกิดออกซิเดชันของกรดไขมันไม่อิ่มตัว และเมื่อใช้

อุณหภูมิสูงในการแปรรูปอาหารเช่น การทอด กรดไขมันชนิดอิ่มตัวก็อาจเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้เช่นเดียวกัน

2.8.1.2 ปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวในเนื้อเยื่อสัตว์ ในสัตว์แต่ละชนิดจะมีการสะสมไขมันอยู่ตามส่วนต่างๆของร่างกายแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ เพศ อายุ และตำแหน่งเนื้อเยื่อ เมื่อนำเนื้อเยื่อจากสัตว์แต่ละชนิดมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์จึงทำให้มีอัตราการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันแตกต่างกัน จากการศึกษาของ Rhee และคณะ (1996) พบว่าเนื้อวัว และเนื้อหมูบด (เนื้อเยื่อส่วน longissimus dorsi และ semimembranosus) ที่เก็บรักษาในสภาวะแช่แข็งมีอัตราการเกิดออกซิเดชันสูงกว่าเนื้อไก่ (เนื้อเยื่อส่วน thigh) เนื่องจากในเนื้อวัวและเนื้อหมูมีรงควัตถุสีเป็นองค์ประกอบมากกว่าเนื้อไก่ แต่ในทางตรงกันข้ามเมื่อนำเนื้อสัตว์ดังกล่าวมาทำให้สุกเนื้อไก่จะมีอัตราการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้มากที่สุด เนื่องจากตำแหน่งของเนื้อไก่ที่นำมาใช้มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวมากกว่าเนื้อวัวและเนื้อหมู ซึ่งแสดงให้เห็นว่าจำนวนกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่เป็นองค์ประกอบอยู่ตามเนื้อเยื่อต่างๆเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้เนื้อสัตว์เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันแตกต่างกัน และยังพบอีกว่าตำแหน่งของเนื้อเยื่อที่แตกต่างกันก็มีผลทำให้กรดไขมันไม่อิ่มตัวเป็นองค์ประกอบที่แตกต่างกันจึงมีผลทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันต่างกัน ไป

2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Lee และคณะ (2006) ศึกษาผลของการให้ความร้อนต่อสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของเปลือกถั่วลิสง โดยให้ความร้อนกับเปลือกถั่วที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5, 10, 15, 20, 40 และ 60 นาที ก่อนทำการสกัดด้วยน้ำ พบว่า สารสกัดจากเปลือกถั่วลิสง มีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเพิ่มขึ้น เมื่อเวลาในการให้ความร้อนเพิ่มขึ้น โดยเปลือกถั่วลิสงที่ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที จะให้สารสกัดที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงสุดเมื่อเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน

Katsube และคณะ (2009) ศึกษาผลของอุณหภูมิอบลมร้อนต่อความสามารถการต้านออกซิเดชัน และความคงตัวของสารประกอบโพลีฟีนอลในส่วนของกากผลมัลเบอร์รี่ (*Morus alba* L.) พบว่ากากของผลมัลเบอร์รี่เมื่อนำมาผ่านกระบวนการอบแห้งด้วยลมร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสขึ้นไปจะมีผลต่อการต้านออกซิเดชัน และปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดลดลง แต่เมื่อเปรียบเทียบกับกากของผลมัลเบอร์รี่ที่อบลมร้อนที่อุณหภูมิต่ำกว่า 60 องศาเซลเซียส และกากที่แช่เย็นพบว่าทั้งคู่มีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด และความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูงกว่ากากของผลมัลเบอร์รี่ที่ผ่านการอบลมร้อนที่อุณหภูมิสูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

Kang และคณะ (2006) ศึกษาผลของการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส แก่ตัวอย่างสารสกัดจากเปลือกส้ม พบว่าการให้ความร้อนในสภาวะดังกล่าวไม่ได้เป็นสาเหตุที่ทำให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดลดลง ซึ่งสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจะยังคงเดิม การเพิ่มขึ้นหรือลดลงของความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน เกิดจากการเกิดสารประกอบชนิดใหม่ในระหว่างการให้ความร้อน ซึ่งมีสมบัติเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน หรือส่งเสริมปฏิกิริยาออกซิเดชัน (prooxidations)

Sousa และคณะ (2008) ศึกษาผลของสารละลายและอุณหภูมิในการสกัดสารสกัดจากมะกอก (*alcaparras*) โดยเปรียบเทียบการสกัดด้วยน้ำ และเมธานอลที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิจุดเดือดของน้ำ และเมธานอล ได้พบว่าสารสกัดจากมะกอก (*alcaparras*) ทำการสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้องและเมธานอลที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิจุดเดือดของเมธานอลเอง

Kirca และคณะ (2006) ศึกษาผลของอุณหภูมิ และพีเอชต่อความคงตัวของแอนโทไซยานินในแครอทสีดํา พบว่าการสกัดสารแอนโทไซยานินจากแครอทสีดําที่อุณหภูมิ 70-80 องศาเซลเซียส พีเอช 4.3 ให้ปริมาณแอนโทไซยานินสูงสุด และเมื่อทดสอบความสามารถในการต้านออกซิเดชันก็พบว่า สารสกัดจากแครอทสีดํา ที่สกัดที่อุณหภูมิ 70-80 องศาเซลเซียส แสดงความสามารถในการเป็นสารแอนติออกซิเดนต์ที่ได้ดีกว่าการสกัดที่อุณหภูมิต่ำกว่า 70 องศาเซลเซียส

Chandrika และ Fereidoon (2005) ศึกษาการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากข้าวสาลีโดยเปรียบเทียบอุณหภูมิและเวลาในการสกัด พบว่าการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากข้าวสาลีโดยทำการสกัดที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 12 ชั่วโมง จะให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูง และยังมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันดีกว่าการสกัดที่อุณหภูมิต่ำกว่า 95 องศาเซลเซียส และใช้เวลาการสกัดน้อยกว่า 12 ชั่วโมง

Pena-Ramos และ Xiong (2003) ศึกษาโปรตีนเวย์สกัดและโปรตีนถั่วเหลืองสกัด ยับยั้งลิวติคออกซิเดชันในแพทตี้หมู โดยทำการย่อยโปรตีนเวย์และโปรตีนถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์ แล้วนำมาทดสอบความสามารถในการต้านลิวติคเปอร์ออกซิเดชันเปรียบเทียบกับโปรตีนเวย์สกัดและโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่ผ่านการคัดแปร พบว่าโปรตีนเวย์สกัดและโปรตีนถั่วเหลืองสกัดสามารถยับยั้งการฟอร์มตัวของ คอนจูเกตเต็ดไดอิน (conjugated dienes) และความสามารถในการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยา ลิวติคเปอร์ออกซิเดชันของไขมันในแพทตี้หมูที่ทดสอบด้วยวิธีการ TBARS ได้ดีกว่าโปรตีนเวย์และโปรตีนถั่วเหลืองที่ไม่ผ่านการคัดแปร

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

Juntachote และคณะ (2007) ศึกษาผลของผงข่าแห้ง และสารสกัดจากข่าต่อความคงตัวของการเกิดออกซิเดชันในเนื้อหมูปอด โดยเปรียบเทียบระดับความเข้มข้นของผงข่าแห้ง (0.05%, 0.1% และ 0.15% w/w) และสารสกัดจากข่า (0.17%, 0.43% และ 0.51% w/w) พบว่าเนื้อหมูปอดที่ใช้ผงข่าแห้งและสารสกัดจากข่าแสดงการยับยั้งการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยการใช้ผงข่าแห้งที่ระดับ 0.15% และสารสกัดจากข่าที่ระดับ 0.51% สามารถยับยั้งการเกิด TBARS (thiobarbituric acid-reactive substances), ค่าเปอร์ออกไซด์ (peroxide value), คอนจูเกตเต็ดไดอิน (conjugated dienes) และ เฮกซานอล คอนเทน (hexanol content) ได้ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม



110456

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ในวงการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุคืบ

3.1.1 ถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่

3.1.2 ถั่วเขียว คราไรท์พีช บริษัท ไร่ชัยฤๅญะ จำกัด

3.2 เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์

3.2.1 เครื่องกะเทาะเปลือก	
3.2.2 เครื่องบดแบบหยาบ	ชี่ห้อ Philip รุ่น Cucina , Indonesia
3.2.3 เครื่องบดแบบเข็ม (pin mill)	Retsh ZM 1000, Gemany
3.2.4 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)	Memmert UM 400, Germany
3.2.5 เครื่องสกัดแบบหมุนเหวี่ยง (Centrifuge)	Beckman Coulter, USA
3.2.6 เครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary Evaporator)	B.U.C.H.I B-169, Switzerland
3.2.7 UV-VIS สเปกโตรโฟโตมิเตอร์	Shimadzu UV-1601, Japan
3.2.8 เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง	Denver, Germany
3.2.9 เครื่องชั่งละเอียด 2 ตำแหน่ง	Pioneer, USA
3.2.10 Hot plate Stirrer	Ceramag, Thailand
3.2.11 เตาหลอมให้ความร้อน	J.Seecta, Spain
3.2.12 เครื่องทำความเย็น (Cooling)	รุ่น CBD1, Germany
3.2.10 อ่างควบคุมอุณหภูมิ	Memmert, Germany
3.2.12 ชุดกรองแบบสุญญากาศ	Sibata รุ่น WJ-20, Japan

3.3 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์

3.3.1 Ethanol 95 %	
3.3.2 Diphenyl-l-picryl-hydrazyl (DPPH)	Sigma USA
3.3.3 Folin-Ciocalteu reagent	BDH England

3.3.4 Sodium carbonate (Na_2CO_3)	Merck Germany
3.3.5 Gallic acid	Sigma Germany
3.3.6 Hydrochloric acid (HCl)	Merck Germany
3.3.7 Sodium acetate (CH_3COONa)	Merck Germany
3.3.8 Iron(III)chloride hexahydrate ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	Sigma Sweden
3.3.9 2,4,6-Tris (2-pyridyl)-s-triazine (TPTZ)	Sigma Switzerland
3.3.10 Thiobarbituric acid	Fluka Germany
3.3.11 Acetic acid	Labscan analytical science Thailand

3.4 สถานที่ดำเนินการทดลอง

ห้องปฏิบัติการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.5 วิธีดำเนินงาน

3.5.1 การเตรียมเปลือกถั่ว (เปลือกถั่วเหลือง เปลือกถั่วเขียวสด และเปลือกถั่วเขียวแห้ง)

3.5.1.1 การเตรียมเปลือกถั่วเหลือง

นำเมล็ดถั่วเหลืองมาแกะเปลือกออกด้วยเครื่องแกะ และแยกเปลือกออกจากส่วนของเนื้อเมล็ด จากนั้นนำเปลือกมาบดหยาบด้วยเครื่องบดแห้ง แล้วนำไปบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบดแบบเข็ม (Pin mill) จากนั้นนำตัวอย่างเก็บในถุงพอลิเอทิลีน เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3.5.1.2 การเตรียมเปลือกถั่วเขียว

นำเมล็ดถั่วเขียวล้างให้สะอาดแล้วนำมาแช่ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาแยกเอาเปลือกออกจากเมล็ด นำเปลือกใส่ตะแกรงเพื่อให้สะเด็ดน้ำ แล้วนำมาบดด้วยเครื่องบดหยาบจึงนำเปลือกที่ได้เก็บในถุงพอลิเอทิลีน เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เปลือกถั่วเขียวในขั้นตอนนี้เรียกว่า เปลือกถั่วเขียวสด

3.5.2 ศึกษาผลของอุณหภูมิในการอบแห้งเปลือกถั่วเขียวต่อปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด และความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน

นำเปลือกถั่วเขียวอบแห้งที่อุณหภูมิ 50, 75 และ 100 องศาเซลเซียส (จนมีความชื้นประมาณ 4 ± 0.02 เปอร์เซ็นต์ (w/w)) เปลือกถั่วเขียวที่ได้จากขั้นตอนนี้เรียกว่า เปลือกถั่วเขียวแห้ง จากนั้นนำเปลือกถั่วเขียวแห้ง บดหยาบด้วยเครื่องบดแห้งแล้วนำไปบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบดแบบเข็ม (Pim mill) นำตัวอย่างเก็บในถุงพอลิเอทิลีน เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

นำตัวอย่างเปลือกถั่วเขียวแห้ง และตัวอย่างเปลือกถั่วเขียวสด (เตรียมจากข้อ 3.5.1.2) ตัวอย่างละ 10 กรัม ผสมกับเอทานอล 100 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ เขย่าที่อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส (ambient temperature)) เป็นเวลา 5 ชั่วโมง จากนั้นนำสารละลายตัวอย่างปั่นแยกตะกอน (centrifuge) ที่ความเร็วรอบ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เพื่อแยกเอาส่วนของแข็งออก นำสารสกัดที่ได้กรองผ่านกระดาษกรอง whatman เบอร์ 4 จากนั้นระเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องระเหยแบบสูญญากาศ (rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ปรับปริมาตรด้วยเอทานอล ให้ได้ 20 มิลลิลิตร และเก็บตัวอย่างสารสกัดในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดตามวิธีในข้อ 3.5.2.2 และวิเคราะห์ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันตามวิธีในข้อ 3.5.2.3

3.5.2.2 วิธีวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในตัวอย่างสารสกัด

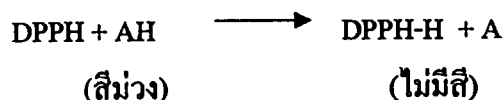
การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด ใช้วิธีที่รายงานโดย ประพันธ์และวันทนี (2545) โดยมีหลักการคือ สารประกอบโพลีฟีนอลจะทำปฏิกิริยากับ Folin-Ciocalteu reagent เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงินซึ่งสามารถติดตามโดยการตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 730 นาโนเมตร โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารประกอบโพลีฟีนอลมาตรฐาน รายละเอียดวิธีวิเคราะห์ดูได้จากภาคผนวก ก.

3.5.2.3 วิธีวิเคราะห์ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของตัวอย่างสารสกัด

1.) วิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl)

วิเคราะห์ตามวิธีที่รายงาน โดย Murakami และคณะ (2004) ซึ่งวิธีนี้เป็นวิธีที่นิยมใช้ในการตรวจวัดความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากพืช โดยมีหลักการคือ เมื่ออนุมูลอิสระสังเคราะห์ DPPH ทำปฏิกิริยากับสารที่มีสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน จะมีผลทำให้

อนุมูลอิสระ DPPH เปลี่ยนเป็นโมเลกุล DPPH เนื่องจากได้รับไฮโดรเจนอะตอมจากสารที่มีสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (แสดงคังสมการ) และจะเกิดการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายจากสีม่วงแดง เป็น ไม่มีสีหรือมีสีจางลง ซึ่งตรวจวัดได้จากค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร วิธีวิเคราะห์ดูได้จากภาคผนวก ข.



2.) วิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (Ferric reducing antioxidant potential, FRAP)

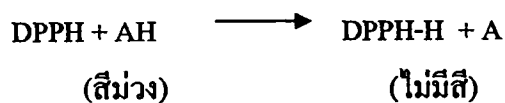
การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกใช้วิธีที่รายงานโดย Benzie และ Strain (1996) ซึ่งเป็นวิธีที่สามารถใช้ทดสอบความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้โดยตรง โดยมีหลักการคือ ภายใต้สภาวะที่เป็นกรด สารที่มีสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันจะรีดิวซ์สารประกอบเชิงซ้อน ferric tripyridyltriazine (Fe^{III} -TPTZ) ให้เปลี่ยนไปอยู่ในรูปของเกลือเฟอร์รัส (Fe^{II} -TPTZ) เกิดการเปลี่ยนแปลงที่ให้สารสีน้ำเงิน ซึ่งสามารถติดตามโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร รายละเอียดวิธีวิเคราะห์ดูได้จากภาคผนวก ข.



3.5.3 ศึกษาผลของอุณหภูมิในการสกัดต่อปริมาณ และความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลือง และเปลือกถั่วเขียว

นำเปลือกถั่วเหลือง ที่เตรียมได้ในข้อ 3.5.1.1 และเปลือกถั่วเขียว ที่ให้ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดสูง และมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ดี (โดยคัดเลือกจากผลการทดลองในข้อ 3.5.2) ตัวอย่างละ 10 กรัม ผสมกับเอทานอล 100 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ เขย่าที่อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส (ambient temperature)) และในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 50 และ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง จากนั้นนำสารละลายตัวอย่างปั่นแยกตะกอน (centrifuge) ที่ความเร็วรอบ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เพื่อแยกเอาส่วนของแข็งออก นำสารสกัดที่ได้กรองผ่านกระดาษกรอง whatman เบอร์ 4 จากนั้นระเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องระเหยแบบสูญญากาศ (rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ปรับปริมาตรด้วยเอทานอล ให้ได้ 20

อนุมูลอิสระ DPPH เปลี่ยนเป็น โมเลกุล DPPH เนื่องจากได้รับ ไฮโดรเจนอะตอมจากสารที่มีสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (แสดงดังสมการ) และจะเกิดการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายจากสีม่วงแดง เป็นไม่มีสีหรือมีสีจางลง ซึ่งตรวจวัดได้จากค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร วิธีวิเคราะห์คู่ได้จากภาคผนวก ข.



2.) วิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (Ferric reducing antioxidant potential, FRAP)

การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกใช้วิธีที่รายงาน โดย Benzie และ Strain (1996) ซึ่งเป็นวิธีที่สามารถใช้ทดสอบความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้โดยตรง โดยมีหลักการคือ ภายใต้สภาวะที่เป็นกรด สารที่มีสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันจะรีดิวซ์สารประกอบเชิงซ้อน ferric tripyridyltriazine (Fe^{III} -TPTZ) ให้เปลี่ยนไปอยู่ในรูปของเกลือเฟอร์รัส (Fe^{II} -TPTZ) เกิดการเปลี่ยนแปลงที่ให้อาร์สีน้ำเงิน ซึ่งสามารถติดตามโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร รายละเอียดวิธีวิเคราะห์คู่ได้จากภาคผนวก ข.



3.5.3 ศึกษาผลของอุณหภูมิในการสกัดต่อปริมาณ และความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลือง และเปลือกถั่วเขียว

นำเปลือกถั่วเหลือง ที่เตรียมได้ในข้อ 3.5.1.1 และเปลือกถั่วเขียว ที่ให้ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดสูง และมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ดี (โดยคัดเลือกจากผลการทดลองในข้อ 3.5.2) ตัวอย่างละ 10 กรัม ผสมกับเอทานอล 100 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ เขย่าที่อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส (ambient temperature)) และในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 50 และ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง จากนั้นนำสารละลายตัวอย่างปั่นแยกตะกอน (centrifuge) ที่ความเร็วรอบ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เพื่อแยกเอาส่วนของแข็งออก นำสารสกัดที่ได้กรองผ่านกระดาษกรอง whatman เบอร์ 4 จากนั้นระเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องระเหยแบบสูญญากาศ (rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ปรับปริมาตรด้วยเอทานอล ให้ได้ 20

มิลลิลิตร และเก็บตัวอย่างสารสกัดในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดตามวิธีในข้อ 3.5.2.2 และวิเคราะห์ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันตามวิธีในข้อ 3.5.2.3

3.5.4 ศึกษาผลของเวลาการสกัดต่อปริมาณ และความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลือง และเปลือกถั่วเขียว

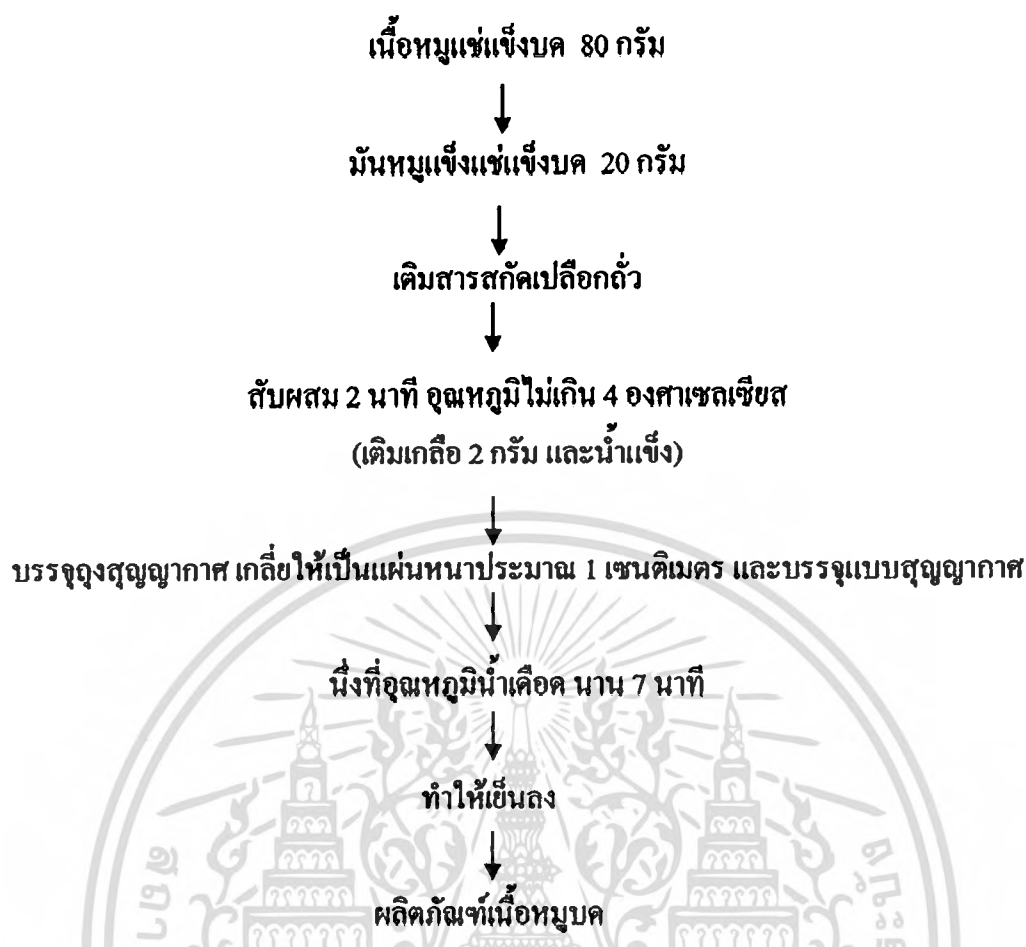
นำเปลือกถั่วเหลือง และเปลือกถั่วเขียว ตัวอย่างละ 10 กรัม ผสมกับเอทานอล 100 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ เขย่าที่อุณหภูมิที่คัดเลือกจากการทดลองในข้อ 3.5.3 เป็นเวลา 1, 3, 5 และ 8 ชั่วโมง จากนั้นนำสารละลายตัวอย่างปั่นแยกตะกอน (centrifuge) ที่ความเร็วรอบ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เพื่อแยกเอาส่วนของแข็งออก นำสารสกัดที่ได้กรองผ่านกระดาษกรอง whatman เบอร์ 4 และระเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องระเหยแบบสูญญากาศ (rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ปรับปริมาตรด้วยเอทานอล ให้ได้ 20 มิลลิลิตร และเก็บตัวอย่างสารสกัดในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดตามวิธีในข้อ 3.5.2.2 และวิเคราะห์ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันตามวิธีในข้อ 3.5.2.3

3.5.5 ศึกษาการใช้สารสกัดเปลือกถั่วเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันธรรมชาติในผลิตภัณฑ์หมูปด

เลือกตัวอย่างสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลือง และเปลือกถั่วเขียว โดยคัดเลือกจากผลการทดลองในข้อ 3.5.4 ทดสอบการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันธรรมชาติในผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปด โดยเติมสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลือง และเปลือกถั่วเขียวที่ระดับ 0, 0.5, 1.5 และ 3.0 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักทั้งหมด ดังภาพที่ 3.1 เก็บรักษาผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปด ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในสภาวะสูญญากาศ เป็นเวลา 15 วัน โดยเก็บตัวอย่างทุกๆ 5 วัน เพื่อนำมาวิเคราะห์ติดตามการเกิดออกซิเดชันของไขมัน โดยการวิเคราะห์ ด้วยวิธีดังนี้

3.5.5.1 วิเคราะห์ค่า Thiobarbituric Acid Reactive Substance (TBARS) ตามวิธีที่รายงานโดย Shahidi และคณะ (1995) รายละเอียดวิธีวิเคราะห์ดูได้จากภาคผนวก ก.

3.5.5.2 วิเคราะห์ค่าการเกิดการฟอร์มตัวของ conjugated dienes ตามวิธีของ Sirinivasan และคณะ (1996) รายละเอียดวิธีวิเคราะห์ดูได้จากภาคผนวก ก.



ภาพที่ 3.1 ขั้นตอนการเตรียมผลิตภัณฑ์เนื้อหยาบ

ที่มา : คัดแปลงจาก Juntachote และคณะ (2007)

3.5.6 การวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของปริมาณสารประกอบ โพลีฟีนอลทั้งหมด และความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกกล้วยเหลืองและเปลือกกล้วยเขียว โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Complete Randomized Design) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 การวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของการใช้สารสกัดจากเปลือกกล้วยเป็นสารกันหืนในผลิตภัณฑ์เนื้อหยาบ วางแผนการทดลองแบบแฟกทอเรียล (Factorial design) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 ผลของอุณหภูมิในการอบแห้งเปลือกถั่วเขียวต่อปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด และสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน

4.1.1 ผลของอุณหภูมิในการอบแห้งเปลือกถั่วเขียวต่อปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด

จากการวิเคราะห์สารประกอบ โพลีฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดจากเปลือกถั่วเขียวสด และเปลือกถั่วเขียวอบแห้งที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50, 75 และ 100 องศาเซลเซียส (จนมีความชื้นประมาณ 4 ± 0.02 เปอร์เซ็นต์ (w/w)) โดยคำนวณปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด ในหน่วยของ มิลลิกรัม gallic acid/กรัมตัวอย่างแห้ง ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดจากเปลือกถั่วเขียว

อุณหภูมิอบแห้ง (องศาเซลเซียส)	ปริมาณสารประกอบ โพลีฟีนอลทั้งหมด (มิลลิกรัม gallic acid/กรัมตัวอย่างแห้ง)
เปลือกถั่วเขียวสด	17.57 ± 0.004^c
50	1.7 ± 0.002^a
75	2.49 ± 0.002^b
100	1.65 ± 0.002^a

^{abc} ตัวอักษรกำกับต่างกัน ในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

จากข้อมูลในตารางที่ 4.1 เมื่อพิจารณาปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดของเปลือกถั่วเขียวสด (ไม่ผ่านการอบแห้ง) และเปลือกถั่วเขียวที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิต่างๆกัน จะเห็นว่า อุณหภูมิมีผลต่อปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดของตัวอย่างเปลือกถั่วเขียว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) จากตารางที่ 4.1 จะเห็นว่าตัวอย่างเปลือกถั่วเขียวสดมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด 17.57 มิลลิกรัม gallic acid/กรัมตัวอย่างแห้ง เมื่อให้ความร้อนกับเปลือกถั่วเขียวที่อุณหภูมิ

50, 75 และ 100 องศาเซลเซียส เปลือกถั่วเขียวมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดลดลงเป็น 1.7, 2.49 และ 1.65 มิลลิกรัม gallic acid/กรัมตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ เนื่องจากอุณหภูมิสูงในระหว่างการอบแห้ง อาจมีผลทำให้สารประกอบฟีนอลิกแตกตัวเป็น โมเลกุลเล็กๆ และระเหยกลายเป็นไอ เช่น ฟลาโวนอยด์ ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลิกที่มีโครงสร้างเป็นแบบ $C_6-C_3-C_6$ ซึ่งมีลักษณะเป็นวงแหวน 3 วงต่อกัน จะเกิดการแตกของวงแหวน C และสลายตัว โดยวงแหวน B จะเปลี่ยนเป็นกรดคาร์บอกซิลิกและวงแหวน A จะเปลี่ยนไปเป็นคาร์บอกซีอัลดีไฮด์และจะระเหยไปพร้อมกับน้ำ (วิวัฒน์, 2545) ในการทดลองยังให้ผลสอดคล้องกับการทดลองของ Weider และคณะ (2002) พบว่าปริมาณของฟีนอลิกในข้าวไรย์มีปริมาณลดลงเมื่อนำมาผ่านกระบวนการอบแห้ง และจะมีปริมาณลดลงเป็นลำดับเมื่อใช้เวลานานขึ้น และยังสอดคล้องกับการทดลองของ Mausour และ Khaili (2000) ที่พบว่า การลดลงของสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดจากขิงจะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการทำแห้ง โดย gingerol ในสารสกัดจากขิงที่เป็นสารในกลุ่มฟีนอลิกคือ โคนจะไม่ถูกทำลาย ถ้าใช้อุณหภูมิในการทำแห้งไม่เกิน 60 องศาเซลเซียส

4.1.2 ผลของอุณหภูมิในการอบแห้งเปลือกถั่วเขียวต่อสมบัติการต้านออกซิเดชัน

การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (FRAP) ของสารสกัดจากเปลือกถั่วเขียวสด (ไม่ผ่านการอบแห้ง) และเปลือกถั่วเขียวที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50, 75 และ 100 องศาเซลเซียส โดยคำนวณความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกในหน่วย มิลลิกรัม Trolox Equivalent/กรัมตัวอย่างแห้ง ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ของสารสกัดจากเปลือกถั่วเขียวสดและเปลือกถั่วเขียวอบแห้ง

อุณหภูมิอบแห้ง (องศาเซลเซียส)	ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (หน่วย มิลลิกรัม Trolox Equivalent /กรัมตัวอย่างแห้ง)	
	ความสามารถการต้านอนุมูลอิสระDPPH	ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก
เปลือกถั่วเขียวสด	4.43 ± 0.19 ^c	7.81 ± 0.02 ^c
50	0.28 ± 0.00 ^b	1.17 ± 0.01 ^a
75	0.30 ± 0.02 ^b	1.34 ± 0.007 ^b
100	0.15 ± 0.009 ^a	1.18 ± 0.007 ^a

^{abc} ตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

จากตารางที่ 4.2 จะเห็นได้ว่าอุณหภูมิในการอบแห้งมีผลต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของเปลือกถั่วเขียวสด และเปลือกถั่วเขียวอบแห้งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และเป็นไปในทิศทางเดียวกับการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด โดยเปลือกถั่วเขียวสดมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก สูงถึง 14.37 และ 7.81 มิลลิกรัม Trolox Equivalent/กรัมตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ และเมื่อให้ความร้อนกับเปลือกถั่วเขียว พบว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกลดลง อุณหภูมิสูงจะมีผลต่อกิจกรรมในการเป็นสารแอนติออกซิแดนท์ ซึ่งอุณหภูมิอาจจะไปลดองค์ประกอบทางเคมีของพืชและเพิ่มการสูญเสียจากการระเหยกลายเป็นไอ (Larrauri และคณะ, 1997) โดยเมื่ออบแห้งที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ทำให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกลดลงเป็น 0.15 และ 1.18 มิลลิกรัม Trolox Equivalent/กรัมตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ การอบแห้งทำให้ผนังเซลล์ของเปลือกถั่วเขียวเกิดการแห้งแข็ง เมื่อนำมาสกัดจึงอาจทำให้ตัวทำละลายแทรกผ่านเข้าไปด้านในเซลล์ได้ยาก และเข้าไปทำละลายได้น้อยจึงมีผลให้การปลดปล่อยสารประกอบฟีนอลิกในเปลือกถั่วเขียวที่อยู่ในรูปที่ละลายได้ (soluble phenolic) ออกมาได้น้อย อีกทั้งการอบแห้งที่อุณหภูมิสูงอาจทำให้สารประกอบฟีนอลิกแตกตัวเป็น โมเลกุลเล็กๆ และระเหยกลายเป็นไอดังที่ได้กล่าวข้างต้น (วิวัฒน์, 2545)

จากการทดลองจะเห็นว่าสารสกัดจากเปลือกถั่วเขียวมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเพิ่มขึ้น ในลักษณะที่สัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบ โพลีฟีนอลทั้งหมด โดยพบว่าสารสกัดจากเปลือกถั่วเขียวสดให้ปริมาณสารประกอบ โพลีฟีนอลทั้งหมด และสมบัติการต้านออกซิเดชันสูงกว่า สารสกัดที่ได้จากเปลือกถั่วเขียวแห้ง ดังนั้นจึงเลือกเปลือกถั่วเขียวสดเป็นวัตถุดิบในการทดลองต่อไป

4.2 ผลของอุณหภูมิในการสกัดต่อปริมาณและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลืองและเปลือกถั่วเขียว

4.2.1 ผลของอุณหภูมิในการสกัดต่อปริมาณสารสกัดและปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลืองและเปลือกถั่วเขียว

การวิเคราะห์ปริมาณสารสกัด และการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลืองและเปลือกถั่วเขียวสดที่สกัดที่อุณหภูมิต่างๆกัน คือ 25, 50 และ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง โดยคำนวณปริมาณสารสกัดที่ได้ในหน่วยของ กรัม/กรัมตัวอย่างแห้ง และคำนวณปริมาณสารประกอบ โพลีฟีนอลทั้งหมดในหน่วยของ มิลลิกรัม gallic acid/กรัมตัวอย่างแห้ง ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.3 และ 4.4 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.3 ผลของอุณหภูมิในการสกัดต่อปริมาณสารและปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลือง

อุณหภูมิในการสกัด (องศาเซลเซียส)	ปริมาณสารสกัด (กรัม/กรัมตัวอย่างแห้ง)	ปริมาณสารประกอบ โพลีฟีนอลทั้งหมด (มิลลิกรัม gallic acid/กรัมตัวอย่างแห้ง)
25	0.077 ± 0.007 ^a	0.80 ± 0.07 ^a
50	0.082 ± 0.000 ^a	0.87 ± 0.02 ^b
80	0.087 ± 0.007 ^a	1.40 ± 0.013 ^c

^{abc} ตัวอักษรกำกับต่างกัน ในแนวดิ่งแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.4 ผลของอุณหภูมิในการสกัดต่อปริมาณสารและปริมาณสารประกอบ โพลีฟีนอลทั้งหมดของ สารสกัดจากเปลือกถั่วเขียว

อุณหภูมิในการสกัด (องศาเซลเซียส)	ปริมาณสารสกัด (กรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง)	ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (มิลลิกรัม gallic acid/กรัมตัวอย่างแห้ง)
25	0.283 ± 0.024 ^a	18.01 ± 0.014 ^b
50	0.316 ± 0.024 ^a	17.43 ± 0.042 ^a
80	0.283 ± 0.024 ^a	25.05 ± 0.20 ^c

^{abc} ตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

จากข้อมูลในตารางที่ 4.3 เมื่อพิจารณาปริมาณสารสกัด และปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลืองที่สกัดที่อุณหภูมิต่างๆกัน จะเห็นว่าอุณหภูมิในการสกัดไม่มีผลต่อปริมาณสารสกัดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แต่เมื่อพิจารณาปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด พบว่าอุณหภูมิในการสกัดมีผลต่อปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลืองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อทำการสกัดเปลือกถั่วเหลืองที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส จะให้ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดเป็น 0.795 มิลลิกรัม gallic acid/กรัมตัวอย่างแห้ง เมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดเป็น 50 และ 80 องศาเซลเซียส ก็พบว่าปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดเพิ่มสูงขึ้นเป็น 0.87 และ 1.40 มิลลิกรัม gallic acid/กรัมตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับกรณีของตัวอย่างเปลือกถั่วเขียวสด (ตารางที่ 4.4) พบว่าอุณหภูมิในการสกัดไม่มีผลต่อปริมาณสารสกัดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แต่อุณหภูมิในการสกัดมีผลต่อปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดจากเปลือกถั่วเขียวสดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อทำการสกัดเปลือกถั่วเขียวสดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบว่ามีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดเป็น 18.01 มิลลิกรัม gallic acid/กรัมตัวอย่างแห้ง และเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดเป็น 80 องศาเซลเซียส ก็พบว่าที่อุณหภูมิสูงสารสกัดจากเปลือกถั่วเขียวสด มีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดเพิ่มขึ้นเป็น 25.05 มิลลิกรัม gallic acid/กรัมตัวอย่างแห้ง ทั้งนี้เนื่องจากในธรรมชาติสารประกอบโพลีฟีนอลที่พบในพืชส่วนใหญ่จะพบในรูปที่อยู่รวมกับสารอื่นที่เป็นองค์ประกอบของพืช (bound form) ซึ่งก็มีทั้งชนิดที่ละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ และอยู่ในรูปที่จับกับสารโพลีเมอร์ที่ไม่ละลายน้ำ ซึ่งเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์พืช โดยเชื่อมต่อกันด้วยพันธะโควาเลนต์ จึงทำให้ไม่สามารถสกัดได้ด้วยตัวทำละลายโดยทั่วไปได้ง่าย (Balasundram *et al.*, 2006 ; Choi *et al.*, 2006) ดังนั้นการใช้ความร้อนใน

การสกัดนั้น ความร้อนอาจจะไปทำลายพันธะ โควาเลนต์ จึงทำให้สามารถปลดปล่อยสารประกอบโพลีฟีนอลที่มีอยู่ในพืชให้อยู่ในรูปที่ละลายได้ ขณะเดียวกันความร้อนก็สามารถปลดปล่อยสารประกอบโพลีฟีนอลที่อยู่ในรูปที่จับกับสารอื่นให้อยู่ในรูปที่สามารถละลายได้เช่นกัน (Dewanto *et al.*, 2002 ; Podsedek., 2007) จึงทำให้สามารถสกัดสารประกอบโพลีฟีนอลจากพืชได้มากขึ้น ซึ่งผลการทดลอง คังกล่าวสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Kirca และคณะ (2006) พบว่าปริมาณแอนโทไซยานินจากแคโรทีนมีปริมาณเพิ่มขึ้น ที่อุณหภูมิในการสกัด 70-80 องศาเซลเซียส และยังคงสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sousa และคณะ (2008) ทำการสกัดสารสกัดจากมะกอก (*alcaparras*) โดยเปรียบเทียบการสกัดด้วยน้ำและเมธานอลและเปรียบเทียบการสกัดที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิจุดเดือดของน้ำและเมธานอล พบว่าการสกัดสารสกัดจากมะกอก (*alcaparras*) ด้วยน้ำและเมธานอลที่อุณหภูมิจุดเดือดของทั้งน้ำและเมธานอลจะให้ได้ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงกว่าเมื่อเทียบกับการสกัดด้วยน้ำและเมธานอลที่อุณหภูมิห้อง และจากข้อมูลที่ได้ในตารางที่ 4.3 และ 4.4 จะเห็นว่าตัวอย่างเปลือกถั่วเหลืองและตัวอย่างเปลือกถั่วเขียวมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลต่างกัน ทั้งนี้เนื่องจากว่าพืชแต่ละชนิดอาจมีสารประกอบโพลีฟีนอลเป็นองค์ประกอบในรูปแบบและ/หรือ โครงสร้างที่แตกต่างกัน และพบว่าเปลือกถั่วเขียวสดให้ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงกว่าเปลือกถั่วเหลือง

4.2.2 ผลของอุณหภูมิในการสกัดต่อความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลือง และเปลือกถั่วเขียว

การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (FRAP) ของสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลืองและเปลือกถั่วเขียว ทำการสกัดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (อุณหภูมิห้อง), 50 และ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 5 ชั่วโมง โดยคำนวณความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกในหน่วย มิลลิกรัม Trolox Equivalent/กรัมตัวอย่างแห้ง ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.5 และ 4.6

ตารางที่ 4.5 ผลของอุณหภูมิในการสกัดต่อความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลือง

อุณหภูมิสกัด (องศาเซลเซียส)	ความสามารถการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (มิลลิกรัม Trolox Equivalent / กรัมตัวอย่างแห้ง)	
	ความสามารถการต้านอนุมูลอิสระDPPH	ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก
25	0.33 ± 0.024 ^a	0.28 ± 0.003 ^a
50	0.77 ± 0.005 ^b	0.3 ± .003 ^b
80	1.40 ± 0.004 ^c	0.37 ± 0.0007 ^c

^{abc} ตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.6 ผลของอุณหภูมิในการสกัดต่อความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกถั่วเขียว

อุณหภูมิสกัด (องศาเซลเซียส)	ความสามารถการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (มิลลิกรัม Trolox Equivalent / กรัมตัวอย่างแห้ง)	
	ความสามารถการต้านอนุมูลอิสระDPPH	ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก
25	14.13 ± 0.106 ^a	7.84 ± 0.021 ^a
50	16.01 ± 0.192 ^b	8.21 ± 0.021 ^b
80	42.10 ± 0.226 ^c	17.19 ± 0.00 ^c

^{abc} ตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

จากข้อมูลในตารางที่ 4.5 วิเคราะห์ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลือง พบว่าอุณหภูมิในการสกัดมีผลต่อความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันทั้งความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยการสกัดเปลือกถั่วเหลืองที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ทำให้สารสกัดจากเปลือกถั่วเหลือง มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก เป็น 0.33 และ 0.28 มิลลิกรัม Trolox Equivalent/กรัมตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ และพบว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดเป็น 50 และ 80 องศาเซลเซียส ทำให้สารสกัดจากเปลือกถั่วเหลืองมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เพิ่มขึ้นเป็น 0.77 และ 1.4 มิลลิกรัม Trolox Equivalent/กรัมตัวอย่างแห้ง

ตามลำดับ และมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกเพิ่มขึ้นเป็น 0.3 และ 0.37 มิลลิกรัม Trolox Equivalent/กรัมตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ

จากผลการทดลองความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลือง ได้ผลสอดคล้องในทิศทางเดียวกับความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกถั่วเขียวสด แสดงดังตารางที่ 4.6 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกถั่วเขียว พบว่าอุณหภูมิจากการสกัดมีผลต่อความสามารถในการปฏิกิริยาออกซิเดชันทั้งความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อทำการสกัดเปลือกถั่วเขียวสดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ทำให้สารสกัดจากเปลือกถั่วเขียวสดมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เป็น 14.13 มิลลิกรัม Trolox Equivalent/กรัมตัวอย่างแห้ง เมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดเป็น 50 และ 80 องศาเซลเซียส ทำให้สารสกัดจากเปลือกถั่วเขียวสดมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เพิ่มขึ้นเป็น 16.01 และ 42.1 มิลลิกรัม Trolox Equivalent/กรัมตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ เช่นเดียวกับความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก พบว่าเปลือกถั่วเขียวสดทำการสกัดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกเป็น 7.84 มิลลิกรัม Trolox Equivalent/กรัมตัวอย่างแห้ง เมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดเป็น 50 และ 80 องศาเซลเซียส พบว่าสารสกัดจากเปลือกถั่วเขียวสดมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกเพิ่มขึ้นเป็น 8.21 และ 17.19 มิลลิกรัม Trolox Equivalent/กรัมตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากระหว่างการสกัด ความร้อนอาจจะไปทำลายพันธะ โควาเลนต์ทำให้สารประกอบ โพลีฟีนอลถูกสกัดออกมาได้เพิ่มมากขึ้น โดยปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลจะสัมพันธ์กับความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (ตารางที่ 4.3 และ 4.4) ดังนั้นจึงทำให้สารสกัดจากเปลือกถั่วเหลืองและเปลือกถั่วเขียวที่สกัดที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกดีกว่าการสกัดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (อุณหภูมิห้อง) และ 50 องศาเซลเซียส ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการรายงานของ Siriwardhana and Shahidi (2002) กล่าวว่ากระบวนการสกัดสารประกอบฟีนอลิกในส่วนของ เมล็ด ผิว และเปลือกของอัลมอนด์ สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดคือการใช้เอทานอลความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์ สกัดที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ทำให้ได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูง อีกทั้งยังทำให้มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันเพิ่มขึ้นด้วย และยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Padda และ Picha (2008) พบว่าเนื้อมันเทศที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำเมื่อนำมาทำการสกัดโดยใช้อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส จะแสดงความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดีกว่าการสกัดที่อุณหภูมิต่ำกว่า 80 องศาเซลเซียส

จากการวิเคราะห์ผลของอุณหภูมิในการสกัดต่อปริมาณสารสกัด ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด และความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลืองและเปลือกถั่วเขียวสด พบว่าสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลืองและเปลือกถั่วเขียวสดที่สกัดที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดสูง และแสดงความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงกว่าการสกัดที่อุณหภูมิ 25 และ 50 องศาเซลเซียส ดังนั้นจึงได้เลือกอุณหภูมิในการสกัดที่ 80 องศาเซลเซียส เพื่อใช้สกัดตัวอย่างเปลือกถั่วเหลืองและเปลือกถั่วเขียวสด ในการทดลองต่อไป

4.3 ผลของเวลาในการสกัดต่อปริมาณและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลืองและเปลือกถั่วเขียว

4.3.1 ผลของเวลาในการสกัดต่อปริมาณสารสกัด และปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลืองและเปลือกถั่วเขียว

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารสกัด และปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลืองและเปลือกถั่วเขียวที่สกัดที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1, 3, 5 และ 8 ชั่วโมง โดยคำนวณปริมาณสารสกัดที่ได้ในหน่วยของกรัม/กรัมตัวอย่างแห้ง และคำนวณปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในหน่วยของ มิลลิกรัม gallic acid/กรัมตัวอย่างแห้ง ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.7 และ 4.8

ตารางที่ 4.7 ผลของเวลาในการสกัดต่อปริมาณสารสกัด และปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลือง

เวลาสกัด (ชั่วโมง)	ปริมาณสารสกัด (กรัม/กรัมตัวอย่างแห้ง)	ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (มิลลิกรัม gallic acid/กรัมตัวอย่างแห้ง)
1	0.087 ± 0.007 ^a	0.98 ± 0.002 ^a
3	0.082 ± 0.014 ^a	1.21 ± 0.007 ^b
5	0.093 ± 0.014 ^a	1.37 ± 0.010 ^c
8	0.092 ± 0.00 ^a	1.8 ± 0.002 ^d

^{abc} ตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.8 ผลของเวลาในการสกัดต่อปริมาณสารสกัด และปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดจากเปลือกถั่วเขียว

เวลาสกัด (ชั่วโมง)	ปริมาณสารสกัด (กรัม/กรัมตัวอย่างแห้ง)	ปริมาณสารประกอบ โพลีฟีนอลทั้งหมด (มิลลิกรัม gallic acid/กรัมตัวอย่างแห้ง)
1	0.260 ± 0.00 ^a	25.38 ± 0.056 ^a
3	0.283 ± 0.023 ^a	26.39 ± 0.000 ^b
5	0.283 ± 0.023 ^a	27.19 ± 0.330 ^c
8	0.300 ± 0.047 ^a	32.59 ± 0.113 ^d

^{abc} ตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

จากข้อมูลในตารางที่ 4.7 เมื่อพิจารณาการปริมาณสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลืองที่สกัดในเวลาที่แตกต่างกัน จะเห็นว่าเวลาในการสกัดไม่มีผลต่อปริมาณสารสกัดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แต่เวลาในการสกัดมีผลต่อปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลืองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) จากตารางที่ 4.7 จะเห็นได้ว่าเปลือกถั่วเหลืองทำการสกัดที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง มีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดเป็น 0.98 มิลลิกรัม gallic acid/กรัมตัวอย่างแห้ง และเมื่อเพิ่มเวลาในการสกัดนานขึ้นทำให้ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดเพิ่มขึ้น โดยจะเห็นได้จากเมื่อเพิ่มเวลาในการสกัดเป็น 3, 5 และ 8 ชั่วโมง ทำให้มีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดเพิ่มขึ้นเป็น 1.21, 1.37 และ 1.8 มิลลิกรัม gallic acid/กรัมตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ ซึ่งได้ให้ผลเช่นเดียวกับผลการทดลองของสารสกัดจากเปลือกถั่วเขียว ดังข้อมูลในตารางที่ 4.8 ที่ทำการสกัดเปลือกถั่วเขียวที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลาต่าง ๆ กัน พบว่าเวลาในการสกัดไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารสกัดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แต่เวลาในการสกัดมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดจากเปลือกถั่วเขียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยเวลาในการสกัด 1 ชั่วโมง จะมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดเป็น 25.38 มิลลิกรัม gallic acid/กรัมตัวอย่างแห้ง เมื่อเพิ่มเวลาในการสกัดเป็น 3, 5 และ 8 ชั่วโมง จะเห็นว่าปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดมีปริมาณเพิ่มขึ้นเป็น 26.39, 27.19 และ 32.59 มิลลิกรัม gallic acid/กรัมตัวอย่างแห้ง ทั้งนี้อาจเนื่องจากการใช้ความร้อนในการสกัดมีผลทำให้ผนังเซลล์พืชถูกทำลายและมีผลต่อการทำลายพันธะโควาเลนต์ ทำให้สารประกอบฟีนอลิกที่อยู่ในรูปที่ละลายได้ ถูกปลดปล่อยออกมาได้มากหากใช้เวลาในการสกัดนานขึ้นก็จะทำให้สารประกอบฟีนอลิก

ถูกสกัดได้ในปริมาณที่เพิ่มขึ้น ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Chandrika และ Fereidoon (2005) ศึกษาการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากข้าวสาลีโดยเปรียบเทียบอุณหภูมิและเวลาในการสกัด พบว่าการสกัดสารสกัดจากข้าวสาลี โดยใช้อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 12 ชั่วโมง จะให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่าการสกัดที่อุณหภูมิต่ำกว่า 95 องศาเซลเซียส และใช้เวลาการสกัดน้อยกว่า 12 ชั่วโมง

4.3.2 ผลของเวลาในการสกัดต่อความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลืองและเปลือกถั่วเขียว

การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (FRAP) ของสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลืองและเปลือกถั่วเขียว เมื่อทำการสกัดที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 1, 3, 5 และ 8 ชั่วโมงโดยคำนวณความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกในหน่วย มิลลิกรัม Trolox Equivalent/กรัมตัวอย่างแห้ง ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.9 และ 4.10

ตารางที่ 4.9 ผลของเวลาในการสกัดต่อความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลือง

เวลาสกัด (ชั่วโมง)	ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (มิลลิกรัม Trolox Equivalent/กรัมตัวอย่างแห้ง)	
	ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH	ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก
1	0.65 ± 0.003 ^a	0.30 ± 0.000 ^a
3	1.01 ± 0.014 ^b	0.33 ± 0.004 ^b
5	1.41 ± 0.007 ^c	0.39 ± 0.001 ^c
8	1.76 ± 0.007 ^d	0.44 ± 0.002 ^d

^{abc} ตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.10 ผลของเวลาในการสกัดต่อความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกถั่วเขียว

เวลาสกัด (ชั่วโมง)	ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (มิลลิกรัม Trolox Equivalent/กรัมตัวอย่างแห้ง)	
	ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH	ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก
1	28.65 ± 0.495 ^a	14.67 ± 0.014 ^a
3	37.90 ± 0.361 ^b	15.77 ± 0.049 ^b
5	55.76 ± 0.537 ^c	19.77 ± 0.028 ^c
8	67.23 ± 0.332 ^d	20.60 ± 0.042 ^d

^{abc} ตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

จากข้อมูลในตารางที่ 4.9 แสดงผลของเวลาในการสกัดต่อความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลือง พบว่าเวลาในการสกัดมีผลต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) การสกัดเปลือกถั่วเหลืองที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จะเห็นว่าสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลืองมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เป็น 0.65 มิลลิกรัม Trolox Equivalent/กรัมตัวอย่างแห้ง เมื่อเพิ่มเวลาในการสกัดนานขึ้นเป็น 3, 5 และ 8 ชั่วโมง พบว่าสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลืองมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เพิ่มขึ้นเป็น 1.01, 1.41 และ 1.76 มิลลิกรัม Trolox Equivalent/กรัมตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก สารสกัดจากเปลือกถั่วเหลือง ทำการสกัดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง สารสกัดจากเปลือกถั่วเหลืองมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกเป็น 0.30 มิลลิกรัม Trolox Equivalent/กรัมตัวอย่างแห้ง และเมื่อเพิ่มเวลาในการสกัดนานขึ้นเป็น 3, 5 และ 8 ชั่วโมง ก็พบว่าสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลืองมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกเพิ่มสูงขึ้นเป็น 0.33, 0.39 และ 0.44 มิลลิกรัม Trolox Equivalent/กรัมตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ

ในกรณีของตัวอย่างเปลือกถั่วเขียว ให้ผลในทิศทางเดียวกับผลการทดลองของตัวอย่างเปลือกถั่วเหลือง จากข้อมูลในตารางที่ 4.10 แสดงผลของเวลาการสกัดต่อความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน พบว่าเวลาในการสกัดมีผลต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ซึ่งการสกัดเปลือกถั่วเขียวที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง พบว่าสารสกัดจากเปลือกถั่วเขียวมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เป็น 28.65 มิลลิกรัม Trolox Equivalent/กรัมตัวอย่างแห้ง และเมื่อเพิ่มเวลาสกัด

นานขึ้นเป็น 3, 5 และ 8 ชั่วโมง พบว่าสารสกัดจากเปลือกถั่วเขียวมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เพิ่มขึ้นเป็น 37.90, 55.76 และ 67.23 มิลลิกรัม Trolox Equivalent/กรัมตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ และให้ผลเช่นเดียวกับความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารสกัดจากเปลือกถั่วเขียว พบว่าเวลาในการสกัด 1 ชั่วโมง จะมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกเป็น 14.67 มิลลิกรัม Trolox Equivalent/กรัมตัวอย่างแห้ง และเมื่อเพิ่มเวลาการในการสกัดนานขึ้นเป็น 3, 5 และ 8 ชั่วโมง ก็พบว่า สารสกัดจากเปลือกถั่วเขียวมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกเพิ่มขึ้นเช่นกัน โดยมีค่าเป็น 15.77, 19.77 และ 20.60 มิลลิกรัม Trolox Equivalent/กรัมตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ

จากการเปรียบเทียบเวลาในการสกัดจะเห็นว่าเมื่อเพิ่มเวลาในการสกัดนานขึ้นส่งผลให้ ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเพิ่มขึ้น โดยความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน จะสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอล หากปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลเพิ่มขึ้น ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันก็เพิ่มขึ้นเช่นกัน (ตารางที่ 4.7 และ 4.8) จากการวิเคราะห์ ผลของเวลาในการสกัดต่อปริมาณสารสกัด ปริมาณสารประกอบ โพลีฟีนอลทั้งหมด และความสามารถ ในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลืองและเปลือกถั่วเขียว พบว่าสารสกัดจาก เปลือกถั่วเหลืองและเปลือกถั่วเขียวสด สกัดที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 8 ชั่วโมง ให้ ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกสูงกว่าสารสกัดเปลือกถั่วเหลืองและเปลือกถั่วเขียวที่สกัดที่เวลา 1, 3 และ 5 ชั่วโมง ดังนั้นจึงได้เลือกตัวอย่างสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลืองและเปลือกถั่วเขียวสด ที่ทำการ สกัดที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง ใช้ในการทดลองต่อไป

4.4 ผลของการใช้สารสกัดจากเปลือกถั่วเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันธรรมชาติในผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปด

จากการศึกษาสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลืองใน ผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปด โดยเติมสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลือง ที่ความเข้มข้นระดับต่างๆกันคือ 0.5, 1.5, 3.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และตัวอย่างผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปดที่ไม่เติมสารสกัด (ตัวอย่างควบคุม) เก็บ รักษาที่สภาวะสุญญากาศ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส วิเคราะห์ค่า TBARS และ คอนจูเกตเต็ด ไดอีน (conjugated dienes) ของตัวอย่างผลิตภัณฑ์หมูปดทุก 5 วัน เป็นเวลา 15 วัน ผลการทดลองแสดงดัง ตารางที่ 4.11 และ 4.12 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.11 ค่า TBARS (มิลลิกรัม malondialdehyde/กิโกรัมตัวอย่าง) ของผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปดที่เติม สารสกัดเปลือกถั่วเหลืองที่ระดับต่างๆ

ความเข้มข้น (%)	ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)			
	0	5	10	15
0	1.945±0.017 ^{bD}	2.857±0.070 ^{aC}	3.306±0.013 ^{bB}	4.487±0.022 ^{aA}
0.5	2.014±0.027 ^{aD}	2.384±0.034 ^{cB}	2.038±0.031 ^{cC}	3.750±0.447 ^{bA}
1.5	1.616±0.013 ^{cD}	2.290±0.015 ^{dC}	3.425±0.018 ^{aB}	3.438±0.040 ^{dA}
3.0	1.417±0.023 ^{dD}	2.447±0.040 ^{bB}	1.945±0.013 ^{dC}	3.468±0.047 ^{cA}

^{abc} ตัวอักษรกำกับต่างกัน ในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

^{ABC} ตัวอักษรกำกับต่างกัน ในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.12 ค่า Conjugated dienes ($\mu\text{mole/กรัมตัวอย่าง}$) ของผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปดที่เติมสารสกัด เปลือกถั่วเหลืองที่ระดับต่างๆ

ความเข้มข้น (%)	ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)			
	0	5	10	15
0	1.885±0.016 ^{aA}	1.841 ± 0.007 ^{aD}	1.843 ± 0.006 ^{aB}	1.824 ± 0.002 ^{aC}
0.5	1.815 ± 0.004 ^{cA}	1.815 ± 0.005 ^{bB}	1.600 ± 0.003 ^{cC}	1.600 ± 0.003 ^{bD}
1.5	1.802 ± 0.003 ^{dA}	1.769 ± 0.007 ^{dB}	1.695 ± 0.012 ^{bC}	1.583 ± 0.004 ^{cD}
3.0	1.874 ± 0.008 ^{bA}	1.785 ± 0.001 ^{cB}	1.600 ± 0.008 ^{cB}	1.555 ± 0.002 ^{dD}

^{abc} ตัวอักษรกำกับต่างกัน ในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

^{ABC} ตัวอักษรกำกับต่างกัน ในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เมื่อพิจารณาผลของระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลืองและระยะเวลาการเก็บรักษาต่อการเปลี่ยนแปลงค่า TBARS และ คอนจูเกตเต็ด ไดอิน (conjugated dienes) หลังจากเก็บเป็นเวลา 15 วัน ของผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปด พบว่าผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปดที่เติมสารสกัดเปลือกถั่วเหลืองที่ระดับ 0.5-3.0 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักทั้งหมด ผลิตภัณฑ์มีค่า TBARS เพิ่มขึ้น ในระหว่างการเก็บรักษาแต่เพิ่มขึ้นช้ากว่าตัวอย่างควบคุม และการฟอร์มตัวของ คอนจูเกตเต็ด ไดอิน (conjugated dienes) ลดลงระหว่างการเก็บและลดลงกว่าตัวอย่างควบคุม แสดงให้เห็นว่าสารสกัดเปลือกถั่วเหลืองมีประสิทธิภาพ

ในการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปด ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับรายงานของ Bastida และคณะ (2009) กล่าวว่าสารสกัดจาก carob fruit มีสมบัติในการเป็นสารแอนติออกซิแดนท์ธรรมชาติซึ่งสามารถยับยั้งการเกิดลิพิดออกซิเดชันของไขมันในเนื้อหมูปดสุกที่เก็บระหว่างการแช่เย็นและแช่แข็งได้

กรณีของสารสกัดจากเปลือกถั่วเขียว พบว่าให้ผลในทิศทางเดียวกับผลของสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลือง ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.13 และ 4.14 ผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปดที่เติมสารสกัดเปลือกถั่วเขียวที่ระดับ 0.5-3.0 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักทั้งหมด การเพิ่มขึ้นของค่า TBARS ในระหว่างการเก็บรักษาช้ากว่าตัวอย่างควบคุม และการฟอร์มตัวของ คอนจูเกตเต็ดไดอีน (conjugated dienes) ลดลงระหว่างการเก็บรักษา แสดงให้เห็นว่าสารสกัดเปลือกถั่วเขียวมีประสิทธิภาพในการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปด ผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปดที่เติมสารสกัดเปลือกถั่วเขียวที่ระดับ 3.0 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักทั้งหมด จะสามารถป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม โดยมีค่า TBARS หลังจากเก็บรักษาเป็นเวลา 15 วัน เท่ากับ 2.974 มิลลิกรัม malondialdehyde/กิโลกรัมตัวอย่าง และการฟอร์มตัวของ คอนจูเกตเต็ดไดอีน (conjugated dienes) หลังจากเก็บรักษาเป็นเวลา 15 วัน เท่ากับ 1.474 ไมโครโมล/กรัมตัวอย่าง

ตารางที่ 4.13 ค่า TBARS (มิลลิกรัม malondialdehyde/กิโลกรัมตัวอย่าง) ของผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปดที่เติมสารสกัดเปลือกถั่วเขียวที่ระดับต่างๆ

ความเข้มข้น (%)	ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)			
	0	5	10	15
0	1.945±0.017 ^{aD}	2.857±0.070 ^{aC}	3.306±0.013 ^{bB}	4.487±0.022 ^{AA}
0.5	1.653±0.032 ^{cD}	2.556±0.011 ^{bC}	3.611±0.021 ^{aB}	3.773±0.032 ^{bA}
1.5	1.740±0.025 ^{bD}	1.829±0.017 ^{cC}	2.471±0.032 ^{cB}	3.281±0.105 ^{cA}
3.0	1.065±0.021 ^{dD}	1.667±0.029 ^{dC}	1.750±0.017 ^{dB}	2.974±0.036 ^{dA}

^{abc} ตัวอักษรกำกับต่างกัน ในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

^{ABC} ตัวอักษรกำกับต่างกัน ในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.14 ค่า Conjugated dienes ($\mu\text{mole/กรัมตัวอย่าง}$) ของผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปกที่เติมสารสกัดเปลือกถั่วเขียวที่ระดับต่างๆ

ความเข้มข้น (%)	ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)			
	0	5	10	15
0	1.885 \pm 0.016 ^{aA}	1.841 \pm 0.007 ^{cC}	1.843 \pm 0.006 ^{aB}	1.824 \pm 0.002 ^{aD}
0.5	1.881 \pm 0.003 ^{bA}	1.864 \pm 0.003 ^{aB}	1.596 \pm 0.001 ^{bC}	1.587 \pm 0.001 ^{bD}
1.5	1.871 \pm 0.001 ^{dA}	1.843 \pm 0.002 ^{bB}	1.530 \pm 0.002 ^{cC}	1.511 \pm 0.005 ^{cD}
3.0	1.880 \pm 0.002 ^{cA}	1.826 \pm 0.013 ^{dB}	1.527 \pm 0.01 ^{dC}	1.474 \pm 0.006 ^{dD}

^{abc} ตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

^{ABC} ตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เมื่อพิจารณาผลการทดลองการวิเคราะห์ค่า TBARS และค่าคอนจูเกตเต็ดไดอีน (conjugated dienes) ของผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปกที่เติมสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลืองและเปลือกถั่วเขียว พบว่าสารสกัดจากเปลือกถั่วเขียวมีความสามารถในการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันดีกว่าสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลืองเล็กน้อย แต่เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบกับผลการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (ตารางที่ 4.7 - 4.10) พบว่าสารสกัดจากเปลือกถั่วเขียวแสดงความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดีกว่าสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลืองในค่าที่สูงกว่ามาก อาจเป็นไปได้ว่าการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันแบบในหลอดทดลอง สารสกัดจากเปลือกถั่วทั้งสองชนิดสามารถเข้าทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระได้โดยไม่มีสารประกอบอื่นขัดขวาง เช่น โปรตีน ไขมัน เป็นต้น และสภาวะในการวิเคราะห์อาจเหมาะสมต่อการทำปฏิกิริยาของสารสกัดจึงให้ผลการวิเคราะห์ที่ดีกว่า เมื่อเทียบกับการนำสารสกัดเปลือกถั่วเหลืองและเปลือกถั่วเขียวเติมเพื่อเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปก

สารประกอบโพลีฟีนอลสามารถแบ่งได้เป็นหลายกลุ่ม ในการทดลองข้างต้นเป็นการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด ซึ่งไม่ได้บ่งชี้ว่าเป็นสารประกอบโพลีฟีนอลในกลุ่มใด สารประกอบโพลีฟีนอลแต่ละกลุ่มจะแสดงความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้แตกต่างกัน เนื่องจากโครงสร้างต่างกัน (Balasundram *et al.*, 2006) จากการทดลองแบบในหลอดทดลองแม้สารประกอบโพลีฟีนอลของสารสกัดจากเปลือกถั่วเขียว จะแสดงความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดีกว่าสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลือง แต่ก็ไม่ได้หมายความว่าเมื่อนำสารสกัดจากเปลือกถั่วเขียวเติมในผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปกแล้วสารประกอบโพลีฟีนอลจะต้องแสดงความสามารถในการต้าน

ปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดีเหมือนการทดลองแบบในหลอดทดลอง ซึ่งอาจเนื่องจากสภาวะการทดลองที่เปลี่ยนไปและอาจมีองค์ประกอบของสารอื่นเข้ามาเกี่ยวข้องจึงส่งผลต่อการแสดงความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลืองและเปลือกถั่วเขียว และอาจเป็นไปได้ว่าเมื่อนำสารสกัดจากเปลือกถั่วทั้งสองชนิดเติมในผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปด ซึ่งในระหว่างกระบวนการเตรียมผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปด ความร้อนจากกระบวนการแปรรูปอาจทำให้สารประกอบโพลีฟีนอลที่เป็นองค์ประกอบอยู่ในสารสกัดจากเปลือกถั่วถูกทำลายจึงส่งผลต่อการแสดงความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน เช่นเดียวกับการรายงานของ Xu และคณะ (2007) กล่าวว่า การให้ความร้อนในกระบวนการแปรรูป ความร้อนสามารถทำลายพันธะเอสเทอร์ (ester) และไกลโคไซด์ (glycoside) ที่เชื่อมต่อกันระหว่างกรดฟีนอลิกกับสารอื่นๆได้ ดังนั้นกระบวนการแปรรูปอาจมีผลต่อความไม่เสถียรของสารประกอบโพลีฟีนอลและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลืองและเปลือกถั่วเขียว



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

1.) จากการศึกษาผลของอุณหภูมิในการอบแห้งเปลือกถั่วเขียวต่อปริมาณสารประกอบ โพลีฟีนอลทั้งหมด และสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยเปรียบเทียบระหว่างเปลือกถั่วเขียวสด (ไม่ผ่านการอบ) และเปลือกถั่วเขียวที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 50, 75 และ 100 องศาเซลเซียส (จนมีความชื้นประมาณ 4 ± 0.02 เปอร์เซ็นต์ (w/w)) พบว่าอุณหภูมิมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบ โพลีฟีนอลทั้งหมด ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของตัวอย่างสารสกัดจากเปลือกถั่วเขียว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยเปลือกถั่วเขียวสดมีปริมาณสารประกอบ โพลีฟีนอลสูง และมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดีกว่าเปลือกถั่วเขียวอบแห้งที่อุณหภูมิต่างๆ

2.) จากการศึกษาผลของอุณหภูมิในการสกัดต่อปริมาณสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลือง และเปลือกถั่วเขียวสด โดยสกัดที่อุณหภูมิ 25, 50 และ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง พบว่าอุณหภูมิกักมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบ โพลีฟีนอลทั้งหมด ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของตัวอย่างสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลือง และเปลือกถั่วเขียวสดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) การให้ความร้อนในการสกัดที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส กับตัวอย่างสารสกัดเปลือกถั่ว สามารถเพิ่มปริมาณสารประกอบ โพลีฟีนอลทั้งหมด ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก

3.) จากการศึกษาผลของเวลาในการสกัดต่อปริมาณสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลือง และเปลือกถั่วเขียวสด โดยสกัดที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1, 3, 5 และ 8 ชั่วโมง พบว่าเวลาในการสกัดมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบ โพลีฟีนอลทั้งหมด ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยตัวอย่างสารสกัดจากเปลือกถั่ว สกัดที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ที่เวลาในการสกัด 8 ชั่วโมง สามารถเพิ่มปริมาณ

สารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก

4.) จากการศึกษาผลของการใช้สารสกัดจากเปลือกถั่วเหลืองและเปลือกถั่วเขียวเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันธรรมชาติในผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปด โดยศึกษาการใช้ระดับความเข้มข้นต่างๆกันคือ 0.5%, 1.5%, 3.0% โดยน้ำหนัก เก็บผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน วิเคราะห์ค่า TBARS และ conjugated dienes ของผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปด พบว่าผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปดที่เติมสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลืองและเปลือกถั่วเขียวสามารถยับยั้งการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันได้

5.) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลืองและเปลือกถั่วเขียว พบว่าปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดจากเปลือกถั่วเขียวมากกว่าสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลือง ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารสกัดจากเปลือกถั่วเขียวสูงกว่าสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลือง

5.2 ข้อเสนอแนะ

1.) ในการทดสอบอายุการเก็บผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปด ควรมีการทดสอบทางประสาทสัมผัสควบคู่กับการวิเคราะห์ค่า TBARS และ Conjugated dienes เพื่อให้ทราบว่ากลิ่นที่ไม่พึงประสงค์เริ่มเกิดขึ้นในวันที่เท่าไร

2.) การวิเคราะห์องค์ประกอบของสารประกอบโพลีฟีนอลของสารสกัดจากเปลือกถั่วทั้งสองชนิด อาจช่วยในการวิเคราะห์สมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากถั่วเหลืองและถั่วเขียว

3.) กรรมวิธีการแยกเปลือกถั่วเขียว มีทั้งการกะเทาะแบบแห้งและแยกเปลือกแบบเปียก (งานวิจัยนี้เป็นการแยกเปลือกแบบเปียก) อาจศึกษากรรมวิธีการแยกเปลือกถั่วเขียวต่อปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด และความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกถั่วเขียว เพื่อให้ทราบว่า การแยกเปลือกถั่วเขียวแบบใดให้ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดมาก และมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูง

4.) การนำสารสกัดจากเปลือกถั่วเหลืองและเปลือกถั่วเขียว ประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์อาหาร ที และกลิ่นของสารสกัดจากเปลือกถั่วอาจไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ดังนั้นการนำสารสกัดจากเปลือก ถั่วมาใช้กับผลิตภัณฑ์อาหาร อาจหาวิธีการกำจัด สีและกลิ่นให้เหมาะสมกับผลิตภัณฑ์อาหารนั้นๆ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

- ทรงเขาว์ อินสมพันธ์. 2531. **พืชไร่สำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย**. เล่ม 1. ภาควิชาพืชไร่
คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่.
- นิธิยา รัตนพานนท์ .2545. **เคมีอาหาร**. กรุงเทพฯ : โอเดียนส โตร์.
- ประพันธ์ ปิ่นศิริโรคม และ วันทนีชัย ช้างน้อย. 2545. การเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอล
ทั้งหมดและศักยภาพการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเมล็ดพืชตระกูลถั่วฝักยาว
พันธุ์ต่างๆที่ปลูกในประเทศไทย. **อาหาร**. 32(4) : 300-307.
- พิชญ์อร ไหมสุทธิสกุล. 2547. ศักยภาพการต้านอนุมูลอิสระและการตรวจประเมินกิจกรรมการเป็น
สารต้านอนุมูลอิสระของสารจากพืช. **วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยหอการค้าไทย**. 24(2) : 18-
35.
- เพ็ญนภา ททรัพย์เจริญ. 2548. อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระบ่อเกิดของโรคและการต้านโรค.
วารสารจารย์พา. 12(87) : 40-41.
- บุพร พืชกมูทร. 2550. การใช้ประโยชน์จากถั่วเหลือง. **วารสารพระจอมเกล้าลาดกระบัง**. 15(2) : 34-
41.
- วิวัฒน์ หวังเจริญ. 2545. บทบาทของสารประกอบฟีนอลต่อสุขภาพ. **อาหาร**. 32(4) : 245-253.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2545. **พืชเศรษฐกิจที่สำคัญ**. กรมวิชาการเกษตร. แหล่งที่มา :
<http://www.doae.go.th/plant/plant.htm> (7/11/52)
- อภิพรธม พุกภักดี. 2546. **ถั่วเหลืองพืชทองของไทย**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ
- Adsule, R. N., Kadam, S. S. and Salunkhe, D. K. 1989. Green Gram, pp65-89. In D. K. Salunkhe
and S. S. Kadam (eds). **CRC Handbook of World Food Legumes : Nutritional Chemistry,
Processing Technology, and Utilization Vol.II**. CRC Press Inc., Boca Raton, Florida.
- Balasundram, N., Sundram, K. and Samman, S. 2006. Phenolic compounds in plants and
agriindustrial by-product : Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chem**.
99(1) : 191-203.
- Banias, C., Oreopoulou, V. and Thomopoulos, C. D. 1992. The effect of primary antioxidants and
synergists on the activity of plant extracts in lard. **JAOCS**. 69(6) : 520-524.

- Bastida, S., Sanchez-Muniz, F. J., Olivero, R., Olleros-Perez, L., Roso-Ruiz, B. and Jimenez-Colmenero, F. 2009. Antioxidant activity of carob fruit extracts in cooked pork meat systems during chilled and frozen storage. **Food Chem.** 116 : 748-754.
- Benzie, F. F. and Strain, J. J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "Antioxidant Power" : The Frap assay. **Anal. Biochem.** 239(1) : 70-76.
- Chandrika, L. P. and Fereidoon, S. 2005. Optimization of extract of phenolic compounds from wheat using response surface methodology. **Food Chem.** 93 : 47-56.
- Cordenunsi, B. R., Genovese, M. I., Nascimento, J. R. O., Hassimotto, N. M. A, Santos, R. J. and Lajolo F. M. 2004. Effect of temperature on the chemical composition and antioxidant activity of three strawberry cultivars. **Food Chem.** 91 : 113-121.
- Choi, Y., Lee, S. M., Chun, J., Lee, H. B. and Lee, J. 2006. Influence of heat treatment on the antioxidant activities and polyphenolic compounds of shiitake (*Lentinus edodes*) mushroom. **Food Chem.** 99(2) : 381-387.
- Demian, J. M. 1999. **Principles of Food Chem.** 3rd ed. Malyland : Aspen.
- Dewanto, V., Wu, X. and Liu., R. H. 2002. Processed sweet corn has higher antioxidant activity. **J. Agric. Food. Chem.** 50(17) : 4959-4964.
- Frankel, E. N. and Meyer, A. S. 2000. The problems of using one-dimensional method of evaluate multifunctional food and biological antioxidant. **J. Sci. Food Agric.** 80(13) : 1925-1941.
- Gorinstein, S., Marti-Belloso, O. M., Park, Y. S., Haruenkit, R., Lojek, A., Ciz, M., Caspi, A., Libmon, I. and Trakhtenberg, S. 2001. Comparison of some biochemical characteristics of different citrus fruit. **Food Chem.** 74(1) : 309-315.
- Graf, E. and Eaton, J. W. 1993. Suspression of colon cancer by dietary phytic acid. **Nutr. Cancer.** 19 : 11.
- Hamilton, R. J. 1994. The chemistry of rancidity in foods.7-10. in Allen, J. C. and Hamilton, R. J. **Rancidity in Foods.** 3rd ed. Glasgow : Chapman and Hull.
- Jimenez, P. J., Arranz, S., Tabernero, M., Rubio, M. E. D., Serrano, J., Goni, I. and Calixto, F. S. 2008. Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant food, oil and beverages : Extraction, measurement and expression of results. **Food Research-International.** 41 : 274-285.

- Juntachot, T., Berghofe, E., Siebenhanbl, S. and Bauer, F. 2007. The effect of dried galangal powder and its ethanolic extracts on oxidative stability in cooked ground pork. **LWT-Food Sci. Technol.** 40 : 324-320.
- Kang, H. J., Chawla, S. P., Jo, C., Kwon, J. H. and Byun, M. W. 2006. Studies on the development of functional powder of citrus peel. **Bio Tec.** 97(4) : 614-620.
- Karakaya, S. 2004. Bioavailability of phenolic compounds. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.** 44(6) : 453-464.
- Katsube, T., Tsurunaga, Y., Sugiyama, M., Furuno, T. and Yamasaki, Y. 2009. Effect of air-drying temperature on antioxidant capacity and stability of polyphenolic compounds in mulberry (*Morus alba* L.) leaves. **Food Chem.** 113 : 964-969.
- Kirca, A., Ozkan, M., and Cemeroglu, B. 2006. Stability of black carrot anthocyanins in various fruit juices and nectars. **Food Chem.** 97 : 598-605.
- Larrauri, J. A., Ruperez, P. and Saura-Calixro, F. A. 1997. A proposed of commelinin a sky-blue anthocyanin complex obtained from the flower petals of commelina. **J. Agr. Food Chem.** 45 : 1390-1393.
- Lee, S. C., Jeong, S. M., Kim, S. Y., Park, H. R., Nam, K. C. and Ahn, D. U. 2006. Effect of far-infrared radiation and heat treatment on the antioxidant activity of water extracts from peanut hulls. **Food Chem.** 94(4) : 489-493.
- Liu, K. 1997. **Soybean : Chemistry, Technology and Utilization.** New York : Chapman & Hall.
- Mausour, E. H. and Khalil, A. H. 2000. Evaluation of antioxidant activity of some plant extracts and their application to ground beef patties. **Food Chem.** 65 : 135-141.
- Murakami, M., Yamakuchi, T., Takamura, H. and Matoba, T. 2004. Effect of thermal treatment on radical-scarvenging activity of single and mixed polyphenolic compounds. **J. Food. Sci.** 69 : FCT7-FCT10.
- Mohsen, S. S. and Ammar, S. M. A. 2009. Total phenolic contents and antioxidant activity of corn tassel extracts. **Food Chem.** 112 : 595-598.
- Morrissey, P. A., Sheehy, P. J. A., Galvin, K., Kerry, J. P. and Buckley, D. J. 1998. Lipid oxidation in meat and meat product. **Meat sci.** 49 : S73-S86.

- Podsedek, A. 2007. Natural antioxidants and antioxidant capacity of brassica vegetables : A review. **LWT-Food Sci. Technol.** 40(1) : 1-11.
- Padda, M. S. and Picha, D. H. 2008. Effect of low temperature strong on phenolic composition and antioxidant activity of sweet potatoes. **Posth Bio Tec.** 47 : 176-180.
- Pena-Ramos, E. A. and Xiong, Y. L. 2003. Whey and soy protein hydrolysates lipid oxidation in cooked pork patties. **Meat Sci.** 64 : 259-263.
- Rehman, S., Nawaz, H., Ahmad, M. M., Hassain, S., Murtaza, S. and Shahid, H. 2007. Physico-chemical and sensory evaluation of ready to drink soy-cow milk blend. **J. Nutr.** 6(3) : 283-285.
- Rhee, K. S., Anderson, L. M. and Same, A. R. 1996. Lipid oxidation potential of beef, chicken, and pork. **J. Food. Sci.** 61(1) : 8-12.
- Shahidi, F., Rubin, L. J., Diosady, L. L. and Wood, D. F. 1995. Effect of sulfanilamide on the TBA values of cured meats. **J. Food Sci.** 50(7) : 274-275.
- Siriwardhana, S. and Shahidi, F. 2002. Antiradical activity of extracts of almond and its by-products. **JAOCS.** 79 : 903-908.
- Sirinivasan, S., Xiong, Y. L. and Decker, E. A. 1996. Inhibition of protein and lipid oxidation in beef heart surimi-like material by antioxidants and combinations of pH, NaCl, and buffer type in the washing media. **J. Agric. Food Chem.** 44 : 119-125.
- Sousa, A., Ferreira, I. C. F. R., Barros, L., Bento, A. and Pereira, A. J. 2008. Effect of solvent and extraction temperatures on the antioxidant potential stoned table olives "alcaparras". **LWT-Food Sci. Technol.** 41 : 739-745.
- Volden, J., Grethe, I., Borge, A., Gunnar, B., Magnor, B. and Ingrid, H. 2008. Effect of thermal treatment on glucosinolates and antioxidant-related parameters in red cabbage (*Brassica oleracea* L. spp. Capitata f. rubra). **Food Chem.** 109(3) : 595-605.
- Wang, F. S., Jiang, Y. N. and Lin, C. W. 1995. Lipid and cholesterol oxidation in Chinese-style sausage using vacuum and modified atmosphere packaging. **Meat Sci.** 40(1) : 93-101.
- Warner, K. 1997. Chemistry of frying fats. In Akoh C. C. and Min D. B. **Food lipid chemistry, Nutrition, and Biotechnology.** Merceel Bekker Inc.

- Weider, S., Amarowicz, M. and Fraccek, E. 2002. Changes in endogenous phenolic acid during development of scale cereal caryopses and after dehydration treatment of unripe rye. **Biochem.** 38 :595-602.
- Willcox, J.K., Ash, S.L. and Catignani, G.I. 2004. Antioxidant and prevention of chronic disease. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.** 44(4) : 275-295.
- Xu, G., Ye, X., Chen, J. and Liu, D. 2007. Effect of heat treatment on the phenolic compounds and antioxidant capacity of citrus peel extract. **J. Agric. Food Chem.** 55(2) : 330-335.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก.

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (Total polyphenol content)

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

1.1 สารเคมี

1.1 Folin-Ciocalteu

1.2 โซเดียมคาร์บอเนต (NaCO_3) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์

1.3 สารละลายกรดแกลลิกความเข้มข้น 400 ไมโครกรัม / มิลลิลิตร

1.2. การเตรียมกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

2.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้นเริ่มต้น 400 ไมโครกรัม / มิลลิลิตร

2.2 ปิเปตสารละลายมาตรฐานดังกล่าวใส่หลอดทดลองหลอดละ 0, 0.05, 0.10, 0.15, 0.20, 0.25, 0.30, 0.35 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ปริมาตรรวมในแต่ละหลอดเป็น 10 มิลลิลิตร

2.3 เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน วางตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที

2.4 เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน วางตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที

2.5 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร โดยใช้ น้ำกลั่นเป็น blank

2.6 เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณกรดแกลลิกในหน่วยไมโครกรัม

1.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในตัวอย่างสารสกัด

3.1 ปิเปตตัวอย่างสารสกัดใส่ในหลอดทดลอง และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ปริมาตรรวมในแต่ละหลอดเป็น 10 มิลลิลิตร

3.2 เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน วางตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที

3.3 เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน วางตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที

3.4 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร โดยใช้ น้ำกลั่นเป็นblank

3.5 คำนวณปริมาณสารประกอบ โพลีฟีนอลทั้งหมดในตัวอย่างสารสกัด



ภาคผนวก ข.

วิเคราะห์ความสามารถในการต้านปฏิกริยาออกซิเดชัน

1. ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (Murakami และคณะ, 2004)

การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH จะใช้วิธีที่รายงานโดย Murakami และคณะ (2004) โดยมีหลักการคือ สารละลายอนุมูลอิสระ DPPH จะมีสีม่วงแดง ซึ่งดูดกลืนแสงได้ที่ 517 นาโนเมตร ในกรณีตัวอย่างสารสกัดที่มีฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลอิสระได้ดี จะทำให้สีม่วงแดงของสารละลาย DPPH จางลง ได้มากกว่าตัวอย่างสารสกัดที่มีฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลอิสระได้น้อย

1.1 สารเคมี

1.1.1 สารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.8 มิลลิโมลาร์ โดยชั่ง 0.0158 กรัม ละลายในเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ปรับปริมาตรให้เป็น 50 มิลลิลิตร

1.1.2 เอทานอลความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์

1.2 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ในตัวอย่างสารสกัด

1.2.1 ปิเปตสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.8 มิลลิโมลาร์ 0.6 มิลลิลิตร

1.2.2 ปิเปตตัวอย่างสารสกัดและเอทานอลความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตรรวม

5.4 มิลลิลิตร

1.2.3 ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30

นาที

1.2.4 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้เอทานอลความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ เป็น blank

1.2.5 คำนวณความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH โดยแทนค่าในสมการ $(1 - (\text{ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง} / \text{ค่าการดูดกลืนแสงของหลอดควบคุม})) \times 100$

2. วิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (Ferric reducing antioxidant potential, FRAP) (Benzie และ Strain, 1996)

การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกใช้วิธีที่รายงาน โดย Benzie และ Strain (1996) ซึ่งเป็นวิธีที่สามารถใช้ทดสอบความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้โดยตรง โดยมีหลักการคือ ภายใต้สภาวะที่เป็นกรด สารที่มีสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันจะรีดิวซ์สารประกอบเชิงซ้อน ferric tripyridyltriazine (Fe^{III} -TPTZ) ให้เปลี่ยนไปอยู่ในรูปของเกลือเฟอร์รัส (Fe^{II} -TPTZ) เกิดการเปลี่ยนแปลงที่ให้สารสีน้ำเงิน ซึ่งสามารถติดตามโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร



2.1 สารเคมี

2.1.1 Acetate buffer pH 3.6 ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ เตรียมโดยชั่ง Sodium acetate trihydrate 3.1 กรัม ผสมกับ glacial acetic acid 16 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1 ลิตร

2.1.2 สารละลาย TPTZ (2,4,6- Tris (2-pyridyl)-s-triazine) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ใน HCl ความเข้มข้น 40 มิลลิลิตร โมลาร์ เตรียมโดยชั่ง TPTZ 0.156 กรัมละลายใน HCl ความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์แล้วปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร

2.1.3 สารละลาย $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ ชั่ง $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.27 กรัมละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้เป็น 50 มิลลิลิตร

2.1.4 FRAP reagent เตรียมโดยผสมสารละลายทั้งหมดที่เตรียมไว้เข้าด้วยกันโดยใช้ อัตราส่วนของ Acetate buffer : สารละลาย TPTZ : สารละลาย $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ เป็น 10 : 1 : 1 โดยปริมาตร ตามลำดับ ซึ่งต้องเตรียมใหม่ทุกวัน

2.2 การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกในตัวอย่างสารสกัด

2.2.1 บีบคั้นตัวอย่างสารสกัดลงในหลอดทดลองที่ปรับปริมาตรด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ให้ปริมาตรรวมแต่ละหลอดเป็น 0.5 มิลลิลิตร

2.2.2 เติมสารละลาย FRAP reagent 6 มิลลิลิตร

2.2.3 ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) วางตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 8 นาที

2.2.4 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร

2.2.5 สำหรับ blank ให้ใช้ตัวทำละลายแทนตัวอย่างสารสกัดในปริมาณที่เท่ากัน

คำนวณความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกในตัวอย่างสารสกัด



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่า TBARS number (mg malondialdehyde/kg sample) = 8.1 x absorbance

2. วิเคราะห์ conjugated dienes

การวิเคราะห์ผลการเกิดการฟอร์มตัวของ conjugated dienes ใช้วิธีที่รายงานโดย Sirinivasan และคณะ (1996) ซึ่งรายงานผลเป็น ไมโครโมลต่อกรัมตัวอย่าง ($\mu\text{mole/g sample}$) มีวิธีวิเคราะห์ ดังนี้

2.1 ชั่งตัวอย่าง 0.5 กรัม ปั่นกับน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร จนเป็นเนื้อเดียวกัน

2.2 นำส่วนที่ปั่นรวมกันแล้วมา 0.5 มิลลิลิตร

2.3 เติมนิวเฮกเซน 3:2 hexane : isopropanal จำนวน 5 มิลลิลิตร

2.4 ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) วางตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 1 นาที

2.5 นำไปปั่นแยกตะกอน (centrifuge) ที่ความเร็ว 2000 รอบ/นาที เป็นเวลา 5 นาที

2.6 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 233 นาโนเมตร

2.7 คำนวณ conjugated dienes จากสูตร

$$C_{CD} = A_{233} / (\epsilon \times l)$$

$$CD \text{ value} = [C_{CD} \times (2.5 \times 10^4)] / W$$

เมื่อ $\epsilon = 2.525 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

$l = 1 \text{ cm}$

$W = \text{น้ำหนักตัวอย่าง}$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล

นางสาวอรนุช หลงทอน

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2548 ครุศาสตร์อุตสาหกรรมบัณฑิต สาขาอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ประวัติการทำงาน

สถาบันคั้นคว่ำและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร

แห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ตำแหน่งผู้ช่วยนักวิจัย

บริษัทชัยทิพย์ จำกัด ตำแหน่งเจ้าหน้าที่ควบคุมคุณภาพ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้