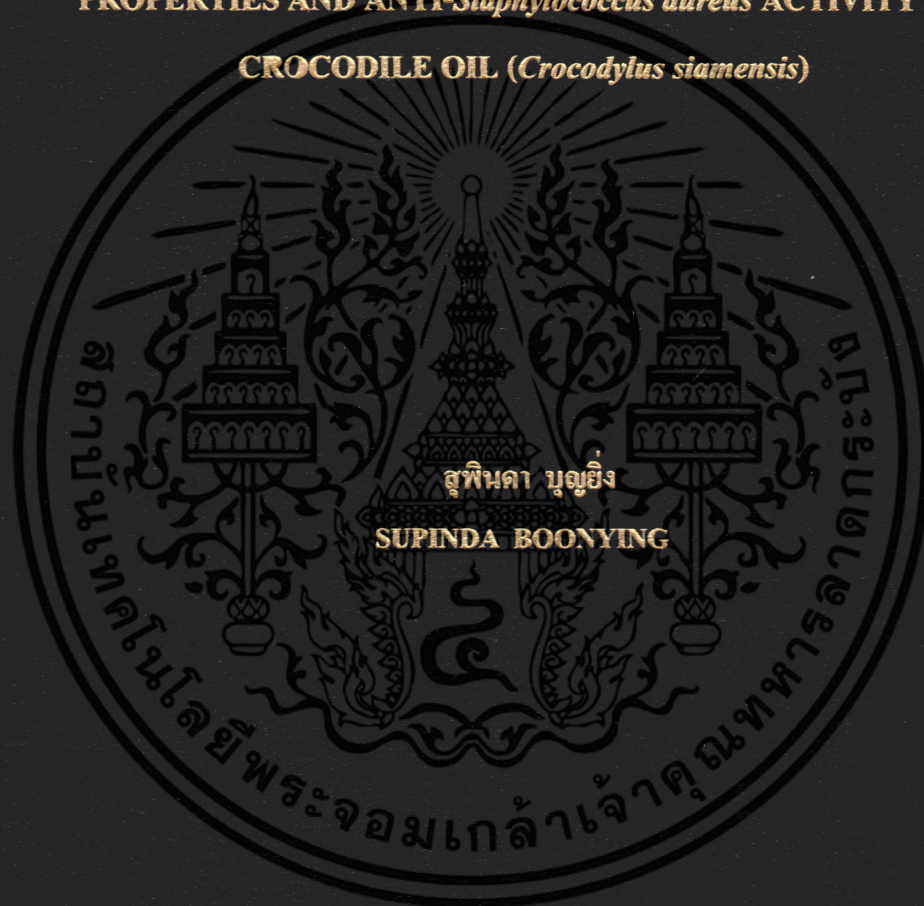


ผลของวิธีการสกัดต่อคุณสมบัติทางเคมีกายภาพและความสามารถในการยับยั้ง  
การเจริญเชื้อ *Staphylococcus aureus* ของน้ำมันจระเข้  
สายพันธุ์ *Crocodylus siamensis*

EFFECT OF EXTRACTION METHODS ON PHYSIOCHEMICAL  
PROPERTIES AND ANTI-*Staphylococcus aureus* ACTIVITY OF  
CROCODILE OIL (*Crocodylus siamensis*)



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

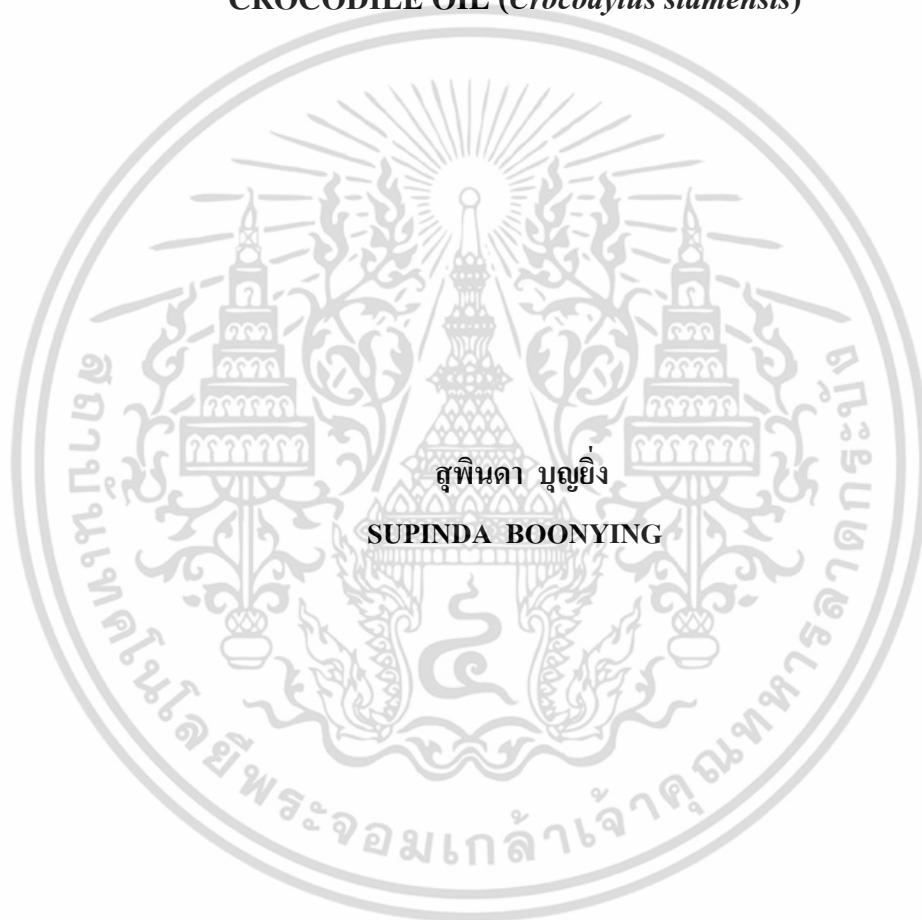
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ.2561

KMITL-2018-AI-M-053-310

ผลของวิธีการสกัดต่อคุณสมบัติทางเคมีกายภาพและความสามารถในการยับยั้ง  
การเจริญเชื้อ *Staphylococcus aureus* ของน้ำมันจระเข้  
สายพันธุ์ *Crocodylus siamensis*

EFFECT OF EXTRACTION METHODS ON PHYSIOCHEMICAL  
PROPERTIES AND ANTI-*Staphylococcus aureus* ACTIVITY OF  
CROCODILE OIL (*Crocodylus siamensis*)



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร  
คณะอุตสาหกรรมเกษตร  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
พ.ศ.2561

KMITL-2018-AI-M-053-310

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**EFFECT OF EXTRACTION METHODS ON PHYSIOCHEMICAL  
PROPERTIES AND ANTI-*Staphylococcus aureus* ACTIVITY OF  
CROCODILE OIL (*Crocodylus siamensis*)**



**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF  
MASTER OF SCIENCE IN FOOD SCIENCE  
FACULTY OF AGRO-INDUSTRY  
KING MONKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG**

**2018**

**KMITL-2018-AI-M-053-310**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



**COPYRIGHT 2018**

**FACULTY OF AGRO-INDUSTRY**

**KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คณะอุตสาหกรรมเกษตร  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์

ผลของวิธีการสกัดต่อคุณสมบัติทางเคมีกายภาพและความสามารถในการยับยั้ง  
การเจริญเชื้อ *Staphylococcus aureus* ของน้ำมันจระเข้สายพันธุ์ *Crocodylus*  
*siamensis*

EFFECT OF EXTRACTION METHODS ON PHYSIOCHEMICAL  
PROPERTIES AND ANTI-*Staphylococcus aureus* ACTIVITY OF  
CROCODILE OIL (*Crocodylus siamensis*)

ชื่อนักศึกษา

นางสาวสุพินดา บุญยิ่ง

รหัสประจำตัว

59608034

ปริญญา

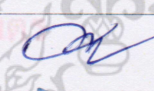

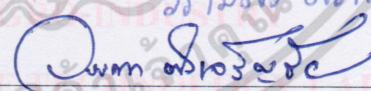
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชา

วิทยาศาสตร์การอาหาร

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผศ.ดร.พอใจ ถามากร

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม -

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.พอใจ ถามากร	
ดร.กิตติชัย บรรจง	
ดร.วิรามศรี ศรีพจนารถ	วิรามศรี ศรีพจนารถ
รศ.ดร.วรรณมา ตั้งเจริญชัย	

วัน / เดือน / ปีที่สอบ 23 กรกฎาคม 2561 เวลา 13.00-16.00 น.

สถานที่สอบ ณ ห้อง A 303 อาคารเจ้าคุณทหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตรรับรองแล้ว



(รองศาสตราจารย์ ดร.ประพันธ์ ปิ่นศิริโรตม)

คณบดีคณะอุตสาหกรรมเกษตร

วันที่...23...เดือน...กรกฎาคม...พ.ศ...2561...

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของวิธีการสกัดต่อคุณสมบัติทางเคมีกายภาพและความสามารถในการยับยั้งการเจริญเชื้อ <i>Staphylococcus aureus</i> ของน้ำมันจระเข้สายพันธุ์ <i>Crocodylus siamensis</i>
ชื่อนักศึกษา	นางสาวสุพินดา บุญยิ่ง
รหัสประจำตัว	59608034
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
หลักสูตร	วิทยาศาสตร์การอาหาร
พ.ศ.	2561
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.พอใจ ฉามากร

### บทคัดย่อ

เนื้อเยื่อไขมันจระเข้เป็นผลพลอยได้จากจระเข้สายพันธุ์ *Crocodylus siamensis* ในประเทศไทย งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาองค์ประกอบหลักของเนื้อเยื่อไขมันจระเข้ ชนิดกรดไขมัน และผลของการสกัดน้ำมันจระเข้ด้วยวิธีสกัดสามวิธี ได้แก่ เจียวเปียก เวลา 240, 300, และ 360 นาที เจียวแห้งที่อุณหภูมิต่ำ ( $100 \pm 0.6$  องศาเซลเซียส) เจียวแห้งที่อุณหภูมิสูง ( $132 \pm 0.6$  องศาเซลเซียส) เวลา 40, 50, และ 60 นาที และเจียวด้วยไมโครเวฟ (กำลังไฟ 800 วัตต์) เวลา 7, 8, และ 9 นาที ต่อผลผลิตและคุณสมบัติเคมีกายภาพและความสามารถยับยั้งการเจริญเชื้อ *Staphylococcus aureus* ผลการทดลองพบว่าไขมันเป็นองค์ประกอบหลักทางเคมีของเนื้อเยื่อไขมันจระเข้มีปริมาณร้อยละ 84.97 ชนิดกรดไขมันในน้ำมันจระเข้ที่พบมากที่สุดคือ กรดโอเลอิก (ร้อยละ 36.90) กรดลิโนเลอิก (ร้อยละ 27.80) และกรดปาล์มมิติก (ร้อยละ 20.50) วิธีเจียวด้วยไมโครเวฟที่เวลา 8 นาทีให้ผลผลิตสูงสุดเท่ากับร้อยละ 69.89 รองลงมาคือ เจียวแห้งที่อุณหภูมิสูงและอุณหภูมิต่ำที่เวลา 40 นาที (ร้อยละ 68.45 และร้อยละ 59.50) และเจียวเปียกที่เวลา 240 นาที (ร้อยละ 50.03) ตามลำดับ ค่าความเป็นกรด ค่าเปอร์ออกไซด์ ค่าสี ( $L^*, a^*, b^*$ ) และความหนืด ของวิธีการสกัดที่เวลาแตกต่างกันแต่ละวิธี ผลของค่าดังกล่าวไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นน้ำมันจระเข้ที่สกัดได้จากวิธีเจียวด้วยไมโครเวฟที่เวลา 9 นาที เนื่องจากเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสและออกซิเดชันที่อุณหภูมิสูง ค่าไอโอดีน ค่าความคงตัวด้วยวิธี Rancimat ความสามารถต้านออกซิเดชันด้วยวิธี ABTS ของน้ำมันจระเข้ที่สกัดด้วยวิธีเจียวไมโครเวฟที่เวลา 8 นาที มีค่าสูงสุดเท่ากับ 98.19, 1.80 ชั่วโมง, และ 44.93 ไมโครโมลโทรลอกซ์ ต่อ 100 กรัมของตัวอย่าง ตามลำดับ และน้ำมันจระเข้ที่ได้จากวิธีดังกล่าวมีความสามารถยับยั้งการเจริญเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้ดีที่สุดลดลงเท่ากับร้อยละ 48.99 ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 25 จุดหลอมเหลวของน้ำมันจระเข้อยู่ในช่วงอุณหภูมิ 31.94 ถึง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

32.86 องศาเซลเซียส จุดแข็งตัวโดยสมบูรณ์ของน้ำมันจระเข้ที่ช่วงอุณหภูมิ -61.96 ถึง -61.19 องศาเซลเซียส



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<b>Thesis Title</b>	Effect of extraction methods on physicochemical properties anti- <i>Staphylococcus aureus</i> activity of crocodile oil ( <i>Crocodylus siamensis</i> )
<b>Student</b>	Miss Supinda Boonying
<b>Student ID.</b>	59608034
<b>Degree</b>	Master of Science
<b>Program</b>	Food Science
<b>Year</b>	2018
<b>Thesis Advisor</b>	Asst. Prof. Dr. Porjai Thamakorn

### ABSTRACT

Crocodile fat is a by-product obtained from slaughter of *Crocodylus siamensis*. The objective of this study was to determine the chemical compositions of crocodile fat, including fatty acid composition of crocodile oil. Three oil extraction methods, including wet rendering 240, 300 or 360 min, dry rendering at  $100\pm 0.6$  and  $132\pm 0.6$  °C for 40, 50 or 60 min, and microwave rendering (800W) for 7, 8 or 9 min on yield, physicochemical properties and antimicrobial *Staphylococcus aureus* activity of crocodile oil were investigated. The fat content was the main component of crocodile fat at 84.97%. The fatty acid in crocodile oil with the highest content were oleic acid (36.90%), linoleic acid (27.80%), and palmitic acid (20.50%). Microwave rendering of crocodile fat for 8 min gave the highest yield of 69.89% followed by dry rendering at high and low temperature for 40 min (68.45 and 59.50%) and wet rendering for 240 min (50.03%) respectively. Acid values, peroxide values, color ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) and viscosity of the extracted oil samples were not significantly different except the crocodile oil extracted from microwave rendering for 9 min due to hydrolysis and oxidation reaction at high temperature. Iodine value, oxidation stability determined by Rancimat method and ABTS value of antioxidant capacity of the oil extracted by microwave rendering in 8 min had the highest value of 98.19, 1.80 h and 44.93  $\mu\text{MTE}/100\text{goil}$ , respectively. The oil had the highest inhibitory activity of *Staphylococcus aureus* decreased at 48.99% in dose with 25% v/v. Melting points of crocodile oil ranged from 31.94 to 32.86 °C. Crystallization temperature of crocodile oils ranged from -61.96 to -61.19 °C.

## กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.พอใจ งามากร อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ เป็นอย่างสูงที่กรุณาถ่ายทอดความรู้ คำแนะนำ ข้อเสนอแนะ สนับสนุนเครื่องมืออุปกรณ์ในการทำวิจัย และประสบการณ์ที่ดีต่อข้าพเจ้าตลอดเวลาที่ศึกษา รวมทั้งการเสียสละเวลาอันมีค่าให้คำแนะนำและตรวจทานแก้ไขรายงานฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณ ดร.กิตติชัย บรรจง เป็นอย่างสูงที่คอยให้คำปรึกษาชี้แนะแนวทงยืมเครื่องมืออุปกรณ์สารเคมี รวมถึงให้ขวัญและกำลังใจ และได้กรุณาให้เกียรติเป็นคณะกรรมการสอบปัญหาพิเศษ

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร.วิรัช อารีกุล และ ดร.วิรามศิริ ศรีพจนารถ เป็นอย่างสูงที่ได้กรุณาให้คำปรึกษา และข้อเสนอแนะในการใช้เครื่องมืออุปกรณ์ และให้ความรู้ในด้านการตรวจวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.จิราภรณ์ สิริสัมพันธ์ เป็นอย่างสูงที่ได้กรุณาให้คำปรึกษา ข้อเสนอแนะในการใช้เครื่องมืออุปกรณ์ และให้ความรู้ในเรื่อง Differential calorimetry scanning (DSC)

ขอกราบขอบคุณคณาจารย์ทุกๆ ท่านที่ประสิทธิ์ประสาทความรู้และวิชาการต่างๆ ให้แก่ข้าพเจ้า ตลอดระยะเวลาที่ได้ศึกษา ณ สถาบันฯ แห่งนี้ จนกระทั่งประสบความสำเร็จ

ขอขอบคุณนักวิทยาศาสตร์ และเจ้าหน้าที่คณะอุตสาหกรรมเกษตรทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือ เป็นกำลังใจ และแนะนำในการใช้อุปกรณ์และเครื่องมือต่างๆ

ขอกราบขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ ที่ให้การสนับสนุนเป็นกำลังใจในการศึกษาครั้งนี้ และขอบคุณรุ่นพี่และรุ่นน้อง และที่สำคัญคือเพื่อนนักศึกษาอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง ที่ให้คำแนะนำ ช่วยเหลือ ทั้งกำลังใจ และกำลังใจตลอดปฏิบัติงานเสมอ มา ทำให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี สุดท้ายนี้ผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่ารายงานสัมมนาฉบับนี้จะเป็นประโยชน์แก่นักศึกษาและผู้ที่เกี่ยวข้องหากมีข้อผิดพลาดประการใดผู้จัดทำยินดีรับคำติชมและขออภัยไว้ ณ ที่นี้

สุพินดา บุญยั้ง

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	III
กิตติกรรมประกาศ.....	IV
สารบัญ.....	VII
สารบัญตาราง.....	VI
สารบัญภาพ.....	VIII
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	2
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตงานวิจัย.....	2
1.4 ประโยชน์ที่ได้รับ.....	3
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 จระเข้.....	4
2.2 ผลพลอยได้จากจระเข้.....	6
2.3 น้ำมันจระเข้.....	7
2.4 การเจียว.....	9
2.5 การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีกายภาพของน้ำมัน.....	11
2.6 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ.....	13
2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	15
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง.....	19
3.1 วัตถุประสงค์.....	19
3.2 เชื้อจุลินทรีย์.....	19
3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ.....	19
3.4 สารเคมี.....	19
3.5 อุปกรณ์และเครื่องมือ.....	20
3.6 วิธีการทดลอง.....	21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์.....	25
4.1 การศึกษาองค์ประกอบหลักของตัวอย่างเนื้อเยื่อไขมันจระเข้.....	25
4.2 การศึกษาผลผลิตและคุณสมบัติเคมีกายภาพของน้ำมันจระเข้ที่สกัดโดยวิธีการเจียว เป็ยกเจียวแห้งที่อุณหภูมิต่ำ-สูงและเจียวด้วยไมโครเวฟ.....	26
4.3 การศึกษาชนิดกรดไขมันของน้ำมันจระเข้.....	33
4.4 การศึกษาคุณสมบัติน้ำมันจระเข้.....	36
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง.....	49
บรรณานุกรม.....	51
ภาคผนวก.....	59
ภาคผนวก ก การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี.....	60
ภาคผนวก ข การวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีกายภาพ.....	68
ภาคผนวก ค การวิเคราะห์คุณสมบัติต้านออกซิเดชัน.....	76
ภาคผนวก ง การวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์.....	86
ภาคผนวก จ การเตรียมตัวอย่างเนื้อเยื่อไขมันจระเข้.....	92
ภาคผนวก ฉ น้ำมันจระเข้ที่สกัดได้ด้วยวิธีเจียว.....	93
ประวัติผู้เขียน.....	95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ชนิดและปริมาณกรดไขมันของน้ำมันจระเข้สายพันธุ์ <i>Crocodylus siamensis</i> .....	11
4.1 องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อเยื่อไขมันจระเข้.....	25
4.2 ผลการสกัดเนื้อเยื่อไขมันจระเข้ด้วยวิธีเจียวเปียก เจียวแห้ง และเจียวด้วยไมโครเวฟ.....	27
4.3 ค่าความเป็นกรด และค่าเปอร์ออกไซด์ของน้ำมันจระเข้ที่สกัดได้โดยวิธีเจียวเปียก เจียวแห้ง และเจียวด้วยไมโครเวฟ.....	28
4.4 ค่าสีระบบ CIE ( $L^*, a^*, b^*$ ) และความหนืดวัดที่อุณหภูมิ $25 \pm 0.1$ องศาเซลเซียส ของน้ำมันจระเข้ที่สกัดได้โดยวิธีเจียวเปียก เจียวแห้ง และเจียวด้วยไมโครเวฟ.....	30
4.5 ค่าสีระบบ Munsell (Hue, Chroma) และความหนืดวัดที่อุณหภูมิ $25 \pm 0.1$ องศาเซลเซียส ของน้ำมันจระเข้ที่สกัดได้โดยวิธีเจียวเปียก เจียวแห้ง และเจียวด้วยไมโครเวฟ.....	31
4.6 เปรียบเทียบของค์ประกอบชนิดกรดไขมันของน้ำมันจระเข้.....	34
4.7 ค่าไอโอดีน ค่าสaponification และค่าความคงตัวของน้ำมันด้วยวิธี Rancimat ของน้ำมันจระเข้แต่ละวิธีการสกัด.....	37
4.8 ผลการศึกษาสมบัติทางความร้อนการเกิดการหลอมเหลว (Melting) ของน้ำมันจระเข้.....	42
4.9 ผลการศึกษาสมบัติทางความร้อนการเกิดการตกผลึก (Crystallization) ของน้ำมันจระเข้.....	43
4.10 ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH (ไมโครโมลโทรลอกซ์ ต่อ 100 กรัมของตัวอย่าง) ABTS (ไมโครโมลโทรลอกซ์ ต่อ 100 กรัมของตัวอย่าง) และปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (มิลลิกรัมกรดแกลลิก ต่อ 100 กรัมของตัวอย่าง) ของน้ำมันจระเข้.....	44
4.11 ผลร้อยละการเจริญของเชื้อ <i>S. aureus</i> ของน้ำมันจระเข้แต่ละวิธีการสกัด ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0, 15, 25, 35 และ 45.....	46

## สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
4.1 เทอร์โมแกรมสมบัติทางความร้อนการหลอมเหลวของน้ำมันจระเข้สกัดด้วยวิธีเจียวเปียกใช้ เวลาสกัด 240 นาที (A) ด้วยวิธีเจียวแห้งอุณหภูมิต่ำ (B) และสูง (C) ใช้เวลาสกัด 40 นาที และ ด้วยวิธีเจียวไมโครเวฟ ใช้เวลาในการสกัด 8 นาที (D) .....	41
4.2 เทอร์โมแกรมสมบัติทางความร้อนการตกผลึกของน้ำมันจระเข้สกัดด้วยวิธีเจียวเปียกใช้เวลา สกัด 240 นาที (A) ด้วยวิธีเจียวแห้งอุณหภูมิต่ำ (B) และสูง (C) ใช้เวลาสกัด 40 นาที และด้วย วิธีเจียวไมโครเวฟใช้เวลาในการสกัด 8 นาที (D) .....	42
ค.1 กราฟมาตรฐานโทรลอคซ์ในการวิเคราะห์คุณสมบัติการต้านออกซิเดชัน DPPH.....	78
ค.2 กราฟมาตรฐานโทรลอคซ์ในการวิเคราะห์คุณสมบัติการต้านออกซิเดชัน ABTS.....	81
ค.3 กราฟมาตรฐานกรดแกลลิกในการวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด.....	84
ง.1 ลักษณะโคโลนีของเชื้อ <i>Staphylococcus aureus</i> บนอาหาร Baird-Parker Agar.....	90
ง.2 ตัวอย่างการทดสอบความสามารถยับยั้งการเจริญเชื้อ <i>Staphylococcus aureus</i> ของน้ำมันจระเข้ที่ สกัดได้ด้วยวิธีเจียวแห้งที่อุณหภูมิสูง ( $132 \pm 0.6$ องศาเซลเซียส) ด้วยไมโครไทดเตอร์เพลท.....	91
จ.1 เนื้อเยื่อไขมันจระเข้สายพันธุ์ <i>Crocodylus siamensis</i> จากฟาร์มจระเข้ จังหวัดราชบุรี ประเทศไทย .....	92
จ.2 เนื้อเยื่อไขมันจระเข้สายพันธุ์ <i>C. siamensis</i> ที่ถูกหั่นลดขนาดด้วยมีด บดด้วยเครื่องบดเนื้อ รู ขนาด 7/32 นิ้ว และการเก็บเนื้อเยื่อไขมันจระเข้ที่บดแล้วในถุงซิปล็อกขนาด 14x20 เซนติเมตร (ซ้าย กลาง และขวา) ตามลำดับ.....	92
ฉ.1 น้ำมันจระเข้ที่สกัดได้โดยวิธีเจียวด้วยไมโครเวฟที่เวลา 7, 8 และ 9 นาที เรียงจากซ้ายไปขวา ตามลำดับ.....	93
ฉ.2 น้ำมันจระเข้ที่สกัดได้โดยวิธีเจียวแห้งที่อุณหภูมิต่ำ ( $100 \pm 0.6$ องศาเซลเซียส) ที่เวลา 40, 50 และ 60 นาที เรียงจาก ซ้ายไปขวา ตามลำดับ.....	93
ฉ.3 น้ำมันจระเข้ที่สกัดได้โดยวิธีเจียวแห้งที่อุณหภูมิสูง ( $132 \pm 0.6$ องศาเซลเซียส) ที่เวลา 40, 50 และ 60 นาที เรียงจากซ้ายไปขวา ตามลำดับ.....	94
ฉ.4 น้ำมันจระเข้ที่สกัดได้โดยวิธีเจียวเปียกที่เวลา 240, 300 และ 360 นาที เรียงจากซ้ายไปขวา ตามลำดับ.....	94

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

จระเข้เป็นสัตว์ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจทำรายได้เข้าสู่ประเทศไทยและมีแนวโน้มในการเพาะเลี้ยงและการส่งออกเพิ่มสูงขึ้นทุกปี เนื่องจากผลผลิตที่ผลิตได้จากประเทศไทยสามารถตอบสนองต่อความต้องการและสร้างความเชื่อมั่นในคุณภาพตามมาตรฐานทั้งจากยุโรปและอเมริกา (Getpech, 2011) ซึ่งความต้องการของการนำส่วนต่างๆ ของจระเข้มาใช้ให้เกิดประโยชน์ทั้งในการอุปโภคและบริโภค โดยเฉพาะอย่างยิ่งหนังจระเข้และเนื้อจระเข้ หนังจระเข้สามารถผลิตในอุตสาหกรรมแฟชั่น เฟอร์นิเจอร์ และเครื่องหนังทำกระเป๋า รวมไปถึงการบริโภคเนื้อจระเข้ ซึ่งถือว่าเป็นเนื้อสัตว์เพื่อสุขภาพ เนื่องจากมีปริมาณ โปรตีนสูง และไขมันต่ำกว่าเนื้อสัตว์ประเภทเนื้อแดง เช่น เนื้อหมู เนื้อวัว เป็นต้น (ครุฑพร จิรกิจอนุสรณ์, 2547) นอกจากนี้ยังเป็นเนื้อสัตว์ที่ปลอดภัยจากสารเคมีตกค้างอีกด้วย จากเหตุผลดังกล่าวเป็นผลทำให้ผลิตภัณฑ์ผลพลอยได้ (by-product) จากจระเข้เพิ่มมากขึ้น ผลิตภัณฑ์ผลพลอยได้ของจระเข้ ยกตัวอย่างเช่น เนื้อเยื่อไขมัน เลือด กระดูก และน้ำดี เป็นต้น โดยมีรายงานวิจัยพบว่าเลือดและน้ำดีของจระเข้ สามารถนำมาใช้กับผู้ที่มิสภาวะหลอดเลือดอักเสบ อาการไอ ปัญหาผิวหนัง ความดันโลหิตสูง และมะเร็งได้ (Shim-Prydon and Camacho-Berreto, 2007) อีกทั้งยังสามารถเพิ่มมูลค่าให้กับเนื้อเยื่อไขมันของจระเข้ได้โดยการนำมาสกัดเป็นน้ำมัน เพื่อก่อให้เกิดประโยชน์แก่ผู้ใช้ได้อีกด้วย

น้ำมันจระเข้สกัดได้จากเนื้อเยื่อไขมันจระเข้ซึ่งเนื้อเยื่อไขมันจระเข้ได้จากฟาร์มหรืออุตสาหกรรมฆ่าและเนื้อและหนังจระเข้ โดยน้ำมันจระเข้อุดมไปด้วยไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวและไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน ได้แก่ กรดโอเลอิก กรดลิโนเลอิก และกรดปาล์มมิติก (Huang *et al.*, 2015) ซึ่งคุณสมบัติของน้ำมันจระเข้ที่สำคัญคือ มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์จำพวกแบคทีเรียและเชื้อราได้ ยกตัวอย่างเช่น *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* และ *Candida albicans* เป็นต้น นอกจากนี้น้ำมันจระเข้ยังมีคุณสมบัติด้านการอักเสบและรักษาบาดแผลได้ (Buthelezi *et al.*, 2012) เมื่อร่างกายมีสุขอนามัยไม่ดี เช่น เกิดบาดแผลหรือเป็นโรคผิวหนัง และมีภูมิคุ้มกันของร่างกายต่ำ ซึ่งทำให้เชื้อประจำถิ่นที่พบตามผิวหนังได้แก่ *Staphylococcus aureus* มีโอกาสทำให้เกิดการอักเสบของผิวหนังได้ ความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของน้ำมันจระเข้ชั้นนี้ ส่งผลช่วยต่อการรักษาบาดแผลเกิดจากการไหม้ แผลพุพอง รวมถึงฝีคัน น้ำมันจระเข้ยังสามารถผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ด้านความสวยความงาม น้ำมันหล่อลื่น หรือแม้กระทั่ง

ผลิตไบโอดีเซลได้อีกด้วย (Ayalasomayajula *et al.*, 2011) วิธีการสกัดไขมันหรือน้ำมันจากจระเข้ ซึ่งเป็นไขมันสัตว์นั้นทำได้หลากหลายวิธี ยกตัวอย่างเช่น การสกัดด้วยซอกซ์เลต (Soxhlet extraction) การสกัดด้วยตัวทำละลาย (Solvent extraction) และการเจียว (Rendering) เป็นต้น (Huang *et al.*, 2015) ซึ่งวิธีการเจียวเป็นวิธีที่ง่ายและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม เนื่องจากไม่ใช้สารเคมีในการสกัด รวมถึงยังสามารถดำเนินงานทั้งในระดับอุตสาหกรรมและครัวเรือนได้อีกด้วย วิธีเจียวเป็นการแยกไขมัน น้ำ และโปรตีนออกจากเนื้อเยื่อไขมันของสัตว์โดยการให้ความร้อนทั้งแบบเปียกและแบบแห้ง นอกจากนี้วิธีเจียวแบบเปียกสามารถใช้ความดันร่วมด้วยเพื่อลดระยะเวลาในการสกัด อีกทั้งปัจจุบันมีการนำเทคนิคไมโครเวฟมาใช้ในการให้ความร้อน ซึ่งเป็นการใช้พลังงานอย่างคุ้มค่าและสามารถลดระยะเวลาในการสกัดลงได้ (Sharma *et al.*, 2013)

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของวิธีการสกัดน้ำมันจากเนื้อเยื่อไขมันจระเข้ ด้วยวิธีการเจียวเปียก เจียวแห้ง และเจียวด้วยไมโครเวฟต่อคุณสมบัติทางเคมีกายภาพและทางจุลชีววิทยา ในด้านความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* เพื่อให้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อื่นๆ และพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ชนิดใหม่ในอุตสาหกรรมต่างๆ ได้

## 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1.2.1 เพื่อศึกษาองค์ประกอบหลักของตัวอย่างเนื้อเยื่อไขมันจระเข้สายพันธุ์ *Crocodylus siamensis*
- 1.2.2 เพื่อศึกษาชนิดกรดไขมันของน้ำมันจระเข้
- 1.2.3 เพื่อศึกษาผลของการสกัดน้ำมันจระเข้ ได้แก่ วิธีเจียวเปียก เจียวแห้งที่อุณหภูมิต่ำสูง และเจียวด้วยไมโครเวฟ ต่อคุณสมบัติทางเคมีกายภาพและความสามารถในการยับยั้งการเจริญเชื้อ *Staphylococcus aureus*

## 1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ศึกษาตัวอย่างเนื้อเยื่อไขมันจระเข้สายพันธุ์ *Crocodylus siamensis* จากฟาร์มจระเข้ จังหวัดราชบุรี ประเทศไทย โดยศึกษาองค์ประกอบหลักของเนื้อเยื่อไขมัน ผลของวิธีการสกัดน้ำมันด้วยวิธีเจียวเปียกที่ระยะเวลา 240, 300 และ 360 นาที เจียวแห้งที่อุณหภูมิต่ำ (100±0.6 องศาเซลเซียส) และที่อุณหภูมิสูง (132±0.6 องศาเซลเซียส) ระยะเวลา 40, 50 และ 60 นาที และเจียวด้วยไมโครเวฟ กำลังไฟ 800 วัตต์ ที่ระยะเวลา 7, 8 และ 9 นาที (ใช้ตัวอย่างเนื้อเยื่อไขมันจระเข้ 150 กรัม) ต่อคุณสมบัติเคมี (ค่าความเป็นกรด ค่าเปอร์ออกไซด์) และคุณสมบัติกายภาพของน้ำมันจระเข้ที่สกัดได้ (สี และความหนืด) จากนั้นนำน้ำมันจระเข้ที่ให้ผลผลิตสูงสุดและคุณภาพน้ำมันดีที่สุดในแต่ละ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการสกัด มาศึกษาคุณสมบัติต่างๆ ได้แก่ ค่าไอโอดีน ค่าความคงตัวของน้ำมันด้วยวิธี Rancimat ค่าสaponนิฟิเคชัน สมบัติทางความร้อนด้วย DSC คุณสมบัติการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH และ ABTS รวมทั้งปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถในการยับยั้งการเจริญเชื้อ *Staphylococcus aureus* ของน้ำมันจระเข้ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0, 15, 25, 35 และ 45

## 1.4 ประโยชน์ที่ได้รับ

1.4.1 ทราบองค์ประกอบหลักของตัวอย่างเนื้อเยื่อไขมันจระเข้สายพันธุ์ *Crocodylus siamensis*

1.4.2 ทราบชนิดกรดไขมันของน้ำมันจระเข้

1.4.3 ทราบสถานะของวิธีสกัดน้ำมันจากเนื้อเยื่อไขมันของจระเข้ที่ให้ผลผลิตสูงสุดและคุณภาพน้ำมันดีที่สุดในแต่ละวิธีการสกัด

1.4.4 ทราบคุณลักษณะของน้ำมันจระเข้ที่สกัดได้ทางคุณสมบัติเคมีกายภาพ และความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus*

## บทที่ 2

# เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.1 จระเข้

จระเข้เป็นสัตว์มีกระดูกสันหลังในกลุ่มเลื้อยคลานและเป็นพวกสัตว์เลือดเย็น (poikilothermous) เป็นสัตว์เลื้อยคลานพวกแรกที่มีพัฒนาการเกี่ยวกับระบบไหลเวียนโลหิตโดยมีหัวใจครบทั้ง 4 ห้อง เช่นเดียวกับสัตว์เลื้อยคลานตัวอื่นทั่วไป (สมโภชน์ อัครกะทิววัฒน์, 2540) จระเข้อาศัยตามเขตร้อนและอบอุ่นทั่วโลก พบทั้งสิ้น 23 ชนิด แต่จำนวนของจระเข้ที่พบในธรรมชาติมีน้อย เนื่องจากการบุกรุกพื้นที่อาศัยของจระเข้และการล่าโดยมนุษย์ (Pough, 1998) ในประเทศไทยพบจระเข้ 3 ชนิด คือ จระเข้ น้ำจืด (freshwater or Siamese crocodile) จระเข้ น้ำเค็ม (saltwater crocodile) และตะโขงหรือจระเข้ปากกระทุงเหว (false gharial) (Ratanakorn *et al.*, 1994)

จระเข้ น้ำจืดเป็นจระเข้สายพันธุ์ *Crocodylus siamensis* มักพบจระเข้สายพันธุ์ดังกล่าวได้ตามธรรมชาติในประเทศกัมพูชา อินโดนีเซีย ลาว ไทย เวียดนาม อาศัยในแหล่งน้ำจืดที่มีการไหลของน้ำค่อนข้างนิ่ง ได้แก่ แม่น้ำลำธาร ทะเลสาบ รวมถึงหนองและบึง แหล่งที่เคยพบจระเข้ชุกชุมคือ บึงบอระเพ็ด จังหวัดนครสวรรค์ บึงสีไฟ จังหวัดพิจิตร อุทยานแห่งชาติปางสีดา จังหวัดสระแก้ว เขตสงวนและรักษาพันธุ์สัตว์ป่าเขาอ่างฤๅไน จังหวัดฉะเชิงเทรา (Ratanakorn *et al.*, 1994) ในช่วงฤดูฝนจะย้ายถิ่นฐานกระจายตัวตามพื้นที่ที่มีน้ำท่วม จระเข้สายพันธุ์ *C. siamensis* เป็นจระเข้ที่มีขนาดปานกลาง ลำตัวป้อมสั้นกว่าจระเข้ น้ำเค็ม ปากค่อนข้างทู่ มีรายงานว่าจระเข้เพศผู้อาจมีความยาวได้มากถึง 4 เมตร ซึ่งโดยทั่วไปมีขนาดไม่เกิน 3.5 เมตร จระเข้เพศเมียจะสร้างรังในช่วงปลายฤดูแล้ง คือ ช่วงเดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนเมษายน สร้างรังโดยใช้พืชที่ลอยน้ำหรืออาศัยตามบริเวณชายฝั่งแม่น้ำหรือทะเลสาบ โดยจระเข้เพศเมียจะเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์เมื่ออายุประมาณ 7-20 ปี เมื่อถึงช่วงฤดูวางไข่ในช่วงปลายฤดูฝนและไข่จะฟักออกมาเป็นตัวหลังจากวางไข่เป็นระยะเวลา 70-80 วัน จระเข้ที่พบตามธรรมชาติในแถบประเทศกัมพูชา ลาว และเวียดนาม วางไข่ราวๆ 31 ฟองในคราวเดียว และอาจมากถึง 50 ฟองที่พบได้ในประเทศไทย จระเข้ น้ำจืดมีนิสัยคุ้ยหาอาหารกินลำพังเหยื่อของจระเข้สายพันธุ์น้ำจืด ได้แก่ สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง กบ สัตว์เลื้อยคลาน นก สัตว์เลื้อยคลานตัวอื่น รวมถึงซากสัตว์ที่เน่าเปื่อยแล้ว จระเข้เป็นสัตว์ที่ไม่มีกระเพาะปัสสาวะ กินโดยไม่เคี้ยวอาหารแต่จะกลืนเหยื่อเป็นชิ้นๆก่อนกลืนลงลำคอ (Simpson and Bezuijen, 2010)

จระเข้ น้ำเค็มหรือจระเข้ปากแม่น้ำ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Crocodylus porosus* มีถิ่นกำเนิดในประเทศศรีลังกา บังคลาเทศ พม่า ไทย เวียดนาม มาเลเซีย อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ และออสเตรเลีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชอบอยู่ตามปากแม่น้ำที่เปิดออกทะเลและป่าชายเลน เป็นจระเข้ที่มีขนาดใหญ่ที่สุด ไม่มีปมเกล็ดที่ท้ายทอย ฤดูผสมพันธุ์และวางไข่ของจระเข้แม่น้ำเค็มจะอยู่ในช่วงเดือนธันวาคมถึงพฤษภาคม (ปานเทพ รัตนากร, 2536) เพศผู้ถึงวัยเจริญพันธุ์เมื่ออายุ 16 ปี หรือยาวประมาณ 3.2 เมตร ส่วนเพศเมียคือ 10 ปี หรือยาวประมาณ 2.2 เมตร วางไข่ในฤดูฝน ครั้งละประมาณ 30-50 ฟอง ระยะเวลาฟักไข่นาน 75-85 วัน มีนิสัยดุร้าย ในประเทศไทยเคยมีรายงานพบตามแม่น้ำที่ไหลลงสู่อ่าวไทย ตลอดแนวชายฝั่งทะเล และมักจะเข้ามาอาศัยแหล่งน้ำในส่วนที่เป็นแผ่นดิน (ปานเทพ รัตนากร, 2536; มนตรี รัตนพงศ์พันธ์, 2542) ปัจจุบันจระเข้แม่น้ำเค็มในธรรมชาติในประเทศไทยจัดอยู่ในภาวะที่ใกล้จะสูญพันธุ์แต่สามารถพบจระเข้แม่น้ำเค็มได้ในฟาร์มเพาะเลี้ยงที่กระจายอยู่ทั่วประเทศไทย

ตะโขงหรือตะโขงมลายู มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Tomistoma shlegelli* มีถิ่นกำเนิดทางตอนใต้ของประเทศไทยและคาบสมุทรมลายู สุมาตรา กะลิมันตัน และบอร์เนียว ตะโขงอาศัยตามพื้นที่น้ำกร่อย บริเวณที่น้ำจืดผสมกับน้ำเค็มเช่น ปากอ่าวและป่าชายเลน จระเข้พันธุ์นี้พบน้อยที่สุด ตะโขงมีขนาดปานกลางยาวประมาณ 2.8-3.0 เมตร ปากแหลมเรียวยาวมาก แต่ไม่มีกล้ามเนื้อตอนปลายจมูก ตะโขงเพศเมียถึงวัยเจริญพันธุ์เมื่ออายุ 5-6 ปี หรือความยาว 2.5-3.0 เมตร ทำรังโดยพูนดินและวัชพืชขึ้นบนชายฝั่ง วางไข่ครั้งละประมาณ 20-60 ฟอง ในฤดูแล้ง ระยะเวลาฟักไข่ 75-90 วัน ไข่จะออกเป็นตัวประมาณต้นฤดูฝน แหล่งที่พบไม่มีหลักฐานการพบที่แน่นอน คาดว่าเคยมีอยู่ที่ป่าพรุโต๊ะแดง จังหวัดนราธิวาส (มนตรี รัตนพงศ์พันธ์, 2542) ปัจจุบันตะโขงจัดเป็นสัตว์ที่ใกล้จะสูญพันธุ์จากธรรมชาติ

ในปี พ.ศ. 2535 รัฐบาลได้มีพระราชบัญญัติสงวนและคุ้มครองสัตว์ป่า มีผลบังคับใช้เมื่อวันที่ 29 กุมภาพันธ์ 2535 โดยกำหนดให้จระเข้แม่น้ำจืดพันธุ์ไทย จระเข้แม่น้ำเค็ม และตะโขงทั้ง 3 ชนิดเป็นสัตว์ป่าคุ้มครองตามกฎหมาย แต่อย่างไรก็ตามกฎหมายให้ทำการเพาะเลี้ยงค้าขายสัตว์ป่าคุ้มครองได้ หากสัตว์ป่าชนิดนั้นสามารถทำการเพาะเลี้ยงในเชิงพาณิชย์ โดยการออกประกาศกฎกระทรวง ตามมาตรา 17 และมาตรา 18 ของพระราชบัญญัติสงวนและคุ้มครองสัตว์ป่า พ.ศ. 2535 เป็นสัตว์ป่าคุ้มครองชนิดเพาะพันธุ์ได้ (เริงฤทธิ์ สัปพัน, 2546)

ประโยชน์ของจระเข้มีมากมาย (เริงฤทธิ์ สัปพัน, 2546; พจนานายก, 2557) ดังนี้

1. การบริโภคและจำหน่ายเนื้อจระเข้ โดยขายเนื้อจระเข้ได้ทั้งเนื้อสดและเนื้อแห้ง เนื่องจากมีรสชาติดี โปรตีนสูง ไขมันต่ำ แต่ราคาจะสูงกว่าเนื้อสัตว์ทั่วไปคือ เนื้อสดจะมีราคา กิโลกรัม 500-450 บาท เนื้อแห้งจะมีราคากิโลกรัมละ 3000- 2500 บาท

2. ผลิตภัณฑ์เครื่องหนังจากหนังจระเข้ โดยหนังจระเข้สามารถนำมาใช้ทำผลิตภัณฑ์เครื่องหนังต่างๆ เช่น กระเป๋า เข็มขัด รองเท้า นาฬิกา เป็นต้น (Getpech, 2011) ซึ่งเป็นที่นิยมของตลาดทั้งในและต่างประเทศ มักขายเป็นหนังดิบแช่เกลือส่งไปยังโรงฟอก และส่งออกในรูปหนังฟอกหรือผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป ผู้ที่จะส่งผลผลิตจากจระเข้ออกไปต่างประเทศได้นั้น จะต้องได้รับการอนุญาต

จากส่วนราชการและองค์กรไซเตส โดยไซเตสต้องจดทะเบียนรับรอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การท่องเที่ยว ปัจจุบันมีหลายฟาร์ม ทำการเลี้ยงจระเข้เพื่อนักท่องเที่ยวได้มาเที่ยวชม เช่น ฟาร์มจระเข้และสวนสัตว์สมุทรปราการ และสวนเสือศรีราชา เป็นต้น
4. กำจัดซากสัตว์ ในฟาร์มเลี้ยงสัตว์เช่น ไก่ หมู ซึ่งในฟาร์มเลี้ยงสัตว์มักจะมีสัตว์ตายซึ่งยากต่อการกำจัด และต้องเสียค่าใช้จ่ายในการกำจัด เช่น ค่าแรงงานในการขุด ฟังซาก แต่ถ้าใช้จระเข้ช่วยกำจัดซากก็จะลดค่าใช้จ่ายในการกำจัดซาก
5. ควบคุมสมดุลระบบนิเวศ ในธรรมชาติจระเข้จะเป็นผู้ล่า ช่วยทำให้เกิดความสมดุลของระบบนิเวศ

## 2.2 ผลพลอยได้จากจระเข้

โดยทั่วไปมักสังเกตเห็นการใช้ประโยชน์ของจระเข้เฉพาะหนังและเนื้อเท่านั้น แต่ผลิตภัณฑ์ผลพลอยได้ที่ได้จากขี้และเพื่อนำหนังและเนื้อของจระเข้มาอุปโภคและบริโภคนั้น สามารถก่อให้เกิดประโยชน์ที่เป็นรายได้และประโยชน์ทางการแพทย์ ดังนี้

### 2.2.1 เครื่องในและกระดูก

เครื่องในของจระเข้ ยกตัวอย่างเช่น หัวใจ ปอด ตับ ม้าม ไต ตี ลำไส้ เป็นต้น สามารถนำกลับไปเป็นส่วนผสมของอาหารจระเข้ได้ และใช้เป็นยาแผนโบราณหรือยาจีน ส่วนกระดูกใช้เป็นยากวาดคอเด็กก่อนและเครื่องประดับ (พจนานา บางแสง, 2557)

### 2.2.2 เลือดจระเข้

ในเลือดจระเข้จะมีส่วนประกอบ คือ น้ำเลือด (ซีรัมและพลาสมา) เม็ดเลือดขาว และเม็ดเลือดแดง พบว่ามีโปรตีนหรือเปปไทด์ในส่วนของเลือด สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา ไวรัส ได้ (สมปอง ธรรมศิริรักษ์, 2550) ขนาดซีรัมจาก *Alligator mississippiensis* มีสเปกตรัมในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบกว้างกว่าซีรัมของมนุษย์อย่างมาก (Merchant *et al.*, 2003) ยับยั้งเชื้อไวรัสก่อโรคเริม (Herpes simplex virus type 1; HSV-1) เชื้อไวรัสก่อโรคเอดส์ (Human immunodeficiency virus type 1; HIV-1) เชื้อ West Nile virus (WNV) อาจเนื่องมาจาก complement ของจระเข้จะกระตุ้นการตอบสนองของ Humoral immune response ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมด้วย (Merchant *et al.*, 2006; Merchant *et al.*, 2005) นอกจากนี้เปปไทด์จากจระเข้ น้ำจืดไทย (*Crocodylus siamensis*) มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ยกตัวอย่างเช่น *Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumoniae*, *S. aureus*, *E. coli* และ *Vibrio cholera* เป็นต้น (Preecharram *et al.*, 2010) ยิ่งไปกว่านั้นเซลล์เม็ดเลือดขาวจาก alligator มีฤทธิ์ต้านเชื้อราอีกด้วย (Kommanee *et al.*, 2012)

### 2.2.3 เนื้อเยื่อไขมันของจระเข้

เนื้อเยื่อไขมันจระเข้สามารถสกัดให้ได้น้ำมันจระเข้เข้าไปใช้ประโยชน์ในการทำยา เครื่องสำอาง รวมถึงไบโอดีเซลได้ (Buthelezi *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2012; Ayalasomayajula *et al.*, 2011) โดยมีหลักฐานพบว่าน้ำมันจระเข้ที่สกัดจากเนื้อเยื่อไขมัน นำมาทาถูวนวดสำหรับบำรุงผิว แก้ ฟกช้ำ แผลพุพอง ผื่นคัน ใช้ทำยารักษาโรคผิวหนังและแผลสด ใช้กันแพร่หลายในหลายประเทศ ยกตัวอย่างเช่น เม็กซิโก มาดากัสการ์ แอฟริกาใต้ และจีน (Shim-Prydon and Camacho-Barreto, 2007) โดยที่คุณสมบัติของน้ำมันจระเข้ที่ได้จากเนื้อเยื่อไขมันจระเข้นั้น มีคุณสมบัติในการต้าน แบคทีเรีย ต้านเชื้อรา ต้านการอักเสบ และช่วยรักษาบาดแผลได้ (Yaraksa *et al.*, 2014; Leelawongtawon *et al.*, 2010; Buthelezi *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2012) โดยการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันจระเข้กับหนูที่มีแผลไฟไหม้มีระดับสอง ผลปรากฏว่า สามารถส่งเสริมการคืนสภาพผิวและการสะสมของคอลลาเจน ทำให้รักษาบาดแผลได้ (Huang *et al.*, 2015) ซึ่งเนื้อเยื่อไขมันจระเข้ ที่เป็นผลพลอยได้จากกระบวนการชำแหละนำเนื้อและหนังมา อุปโภคและบริโภคนั้น พบว่าประเทศสหรัฐอเมริกา ในแถบหลุยเซียนาและฟลอริดามีประชากร ของจระเข้สูงสุด มีเนื้อเยื่อไขมันจระเข้ที่ถูกทิ้งในหลุมฝังกลบเป็นประจำทุกปีน้ำหนักประมาณล้าน ปอนด์ ซึ่งสิ่งเหล่านี้จึงถูกพิจารณานำไปผลิตไบโอดีเซลเพื่อก่อให้เกิดประโยชน์สูงสุด (Ayalasomayajula *et al.*, 2011)

### 2.3 น้ำมันจระเข้

น้ำมันจระเข้สกัดมาจากเนื้อเยื่อไขมันของจระเข้ ประกอบด้วยกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว กล่าวคือกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่ 1 ตำแหน่ง และกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน กล่าวคือกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่ตั้งแต่ 2 ตำแหน่งขึ้นไป ยกตัวอย่างเช่น กรด โอเลอิก และกรดลิโนเลอิก (Gunstone and Russell, 1954) โดยปริมาณองค์ประกอบไขมันสูงสุดที่ สะสมอยู่ในเนื้อของจระเข้ส่วนต่างๆ พบในหางส่วนหลัง (Tail dorsal) ของจระเข้ เมื่อเปรียบเทียบกับส่วนขาและหางส่วนท้อง (Tail ventral) ตามลำดับ และองค์ประกอบไขมันต่ำสุด (ต่ำกว่า 1.50% โดยน้ำหนัก) พบในส่วนคอ ไหล่ และแก้มของจระเข้ (Čemíková *et al.*, 2015) น้ำมันจระเข้ได้ถูก นำมาใช้ประโยชน์เป็นระยะเวลายาวนานหลายร้อยปี ในหลายวัฒนธรรมที่แตกต่างกันไปในแต่ละ ภูมิภาค อาทิเช่น จีน เม็กซิโก มาดากัสการ์ แอฟริกาใต้ และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (Shim-Prydon and Camacho-Berreto, 2007; Tang and Qin, 2007) เป็นต้น โดยน้ำมันของจระเข้และผลิตภัณฑ์จาก น้ำมันจระเข้ที่แปรรูปในรูปแบบของขี้ผึ้งนั้นถูกนำมารักษาในทางการแพทย์และทางยา ในประเทศ เม็กซิโก น้ำมันจระเข้ช่วยรักษาโรคหืด โรคลมโป่งพอง ไขหวัดใหญ่ และอาการไอแห้ง ส่วน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อประโยชน์ในการศึกษาวิจัยเท่านั้น เมื่อผู้ใช้ได้เนื้อหาเอกสารฉบับนี้แล้ว กรุณาอย่าเผยแพร่หรือแจกจ่ายให้ผู้อื่นโดยไม่ได้รับอนุญาต มิฉะนั้นจะถือว่าผิดกฎหมาย

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มาดากัสการ์ มีหลักฐานพบว่าสามารถนำมารักษาบาดแผลที่ถูกไฟไหม้ ผุพองและมะเร็งได้ (Upadhyay *et al.*, 2009; Valacchi *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2004) ในแอฟริกา ช่วยบรรเทาอาการผื่นคัน สมานบาดแผลได้ (Shim-Prydon และ Camacho-Berreto, 2007) องค์ประกอบหลักของกรดไขมันที่มีอยู่ในน้ำมันจระเข้สายพันธุ์ *Crocodylus siamensis* แสดงดังตารางที่ 2.1 คือ palmitic acid, oleic acid และ linoleic acid (Li *et al.*, 2012) Linolenic acid, linoleic acid และ oleic acid จัดเป็นกรดไขมันโอเมก้า (Omega) 3, 6 และ 9 ตามลำดับ สามารถช่วยรักษาโรคหัวใจและหลอดเลือด และกระตุ้นการสร้างสารต้านการอักเสบได้อีกด้วย (Allayee *et al.*, 2009)

ตารางที่ 2.1 ชนิดและปริมาณกรดไขมันของน้ำมันจระเข้สายพันธุ์ *Crocodylus siamensis*

Fatty acid	Content (%)
Lauric acid (12:0)	4.60
Myristic acid (14:0)	3.23
Plamitic acid (16:0)	29.22
Stearic acid (18:0)	1.84
Plamitoleic acid (16:1)	5.67
Oleic acid (18:1)	30.47
Linoleic acid (18:2)	11.74
Linolenic acid (18:3)	1.07
Erucic acid (22:1)	0.42
Nervonic acid (24:1)	0.31
Saturated fatty acid	38.89
Unsaturated fatty acid	49.67
Monounsaturated fatty acid	36.86
Polyunsaturated fatty acid	12.81
Others	11.43

ที่มา: Li *et al.*, 2012

### 2.3.1 คุณสมบัติความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของน้ำมันจระเข้

องค์ประกอบทางเคมีของกรดไขมันของน้ำมันจระเข้แสดงให้เห็นว่าสามารถต้านกิจกรรมของเชื้อจุลินทรีย์ได้ (Kabara *et al.*, 1972; Maroon and Bost, 2006) โดยทั่วไปคุณสมบัติของกรดไขมันนั้นคล้ายคลึงกับสารลดแรงตึงผิวที่มีประจุลบ ซึ่งปัจจุบันพยายามที่จะศึกษาโครงสร้างของกรดไขมันที่ส่งผลกับ ค่า pH ของกิจกรรมเชื้อจุลินทรีย์ (biological activity) โดย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ใดเห็นประโยชน์ในการนำเอกสารนี้ไปใช้ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จำนวนพันธะคู่ของกรดไขมัน ความยาวของโมเลกุลของกรดไขมัน และหมู่ฟังก์ชันของกรดไขมัน มีผลต่อความสามารถต้านเชื้อจุลินทรีย์ (Kabara *et al.*, 1972) กรดไขมันที่ประกอบด้วยพันธะคู่ 2 ตำแหน่ง มีความเป็นพิษต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก แต่กรดไขมันที่ประกอบด้วยพันธะคู่ 3 ตำแหน่ง นั้นไม่มีผลหรือมีผลน้อยต่อเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าว โดยค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้ (Minimum inhibitory concentration, MIC) ของ linoleic acid (C18:2) ต่ำกว่า linolenic acid (C18:3) (Kodicek, 1949) และกรดไขมันไม่อิ่มตัวในรูปของ cis forms นั้นมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ หมู่คาร์บอกซิลิกที่เป็นหมู่ฟังก์ชันของกรดไขมันนั้นจำเป็นต่อคุณสมบัติความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ แต่หมู่เอสเทอร์ของกรดไขมันจะลดความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ โดยการลดลงของหมู่คาร์บอกซิลิกไปเป็นแอลดีไฮด์หรือแอลกอฮอล์แล้วเปลี่ยนไปเป็นเอมีนหรือเอไมด์ เพิ่มประสิทธิภาพในการต้านเชื้อจุลินทรีย์มากขึ้น พบว่าแอลกอฮอล์มีผลต่อความไวของเชื้อจุลินทรีย์ เนื่องจากผลของค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) (Gershon *et al.*, 1970) โดยหมู่ฟังก์ชันส่งผลต่อความสามารถในการยับยั้งเชื้อจากมากไปน้อย ดังนี้ สารประกอบแอมโมเนียมคลอไรด์ ( $\text{NH}_4^+ \text{Cl}^-$ ) เอไมด์ เช่น ไคเมทิลฟอร์มาไรด์ ( $\text{CON}(\text{CH}_3)_2$ ) ไฮดรอกซิล (C-OH) แอลดีไฮด์ (CHO) และคาร์บอกซิล (COOH) ตามลำดับ (Kabara *et al.*, 1972)

## 2.4 การเจียว

การเจียว เป็นวิธีสกัดแยกไขมันที่ใช้มานานแล้ว นิยมใช้กับเนื้อเยื่อไขมันของสัตว์ต่างๆ ซึ่งมีลักษณะเนื้ออ่อนและมีไขมันสูง เช่น ไขมันหมู ไขมันวัว ไขมันไก่ เป็นต้น วิธีนี้เป็นวิธีการสกัดโดยใช้ความร้อน ความร้อนจะทำให้ผนังเซลล์แตกและไขมันจะเปลี่ยนเป็นของเหลวไหลออกมา การหั่นเนื้อเยื่อไขมันเป็นชิ้นเล็กๆและบางๆก็เป็นผลทำให้เนื้อเยื่อไขมันสัตว์มีพื้นที่ผิวสัมผัสกับความร้อนได้มากขึ้นและน้ำมันจะไหลออกมาได้เร็ว (นิธิยา รัตนานพนธ์, 2548) นอกจากนี้ระหว่างการเจียวอาจมีการเติมน้ำ สารเคมีหรือเอนไซม์ลงไป เพื่อช่วยสลายเนื้อเยื่อเชื่อมยึดทำให้น้ำมันแยกตัวออกมาได้ง่ายขึ้น (พจนานา บางแสง, 2557)

### 2.4.1 เจียวเปียก (wet rendering)

วิธีนี้เป็นการเติมน้ำร้อนหรือพ่นไอน้ำลงบนเนื้อเยื่อไขมันในภาชนะปิด ให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่ำกว่า 95 องศาเซลเซียส และเติมน้ำร้อยละ 10-20 หรือถ้าพ่นไอน้ำสภาวะภายใต้ความดันต่ำประมาณ 45-75 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว และมีการไล่เอาอากาศออกเพื่อลดการออกซิเดชันด้วย (คณาจารย์ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร, 2546) ความร้อนจากไอน้ำจะทำให้สารประกอบพวกโปรตีนที่อยู่ตามผนังเซลล์ถูกทำลาย ไขมันก็จะหลอมเหลวกลายเป็นของเหลวไหลออกจากเซลล์ของเนื้อเยื่อ ซึ่งจะใช้เวลาประมาณ 3-6 ชั่วโมง น้ำมันที่ได้แยกออกจากกาก โดยตั้งทิ้งไว้ชั่วระยะเวลาหนึ่งให้กากตกตะกอนหรืออาจแยกโดยใช้เครื่องเหวี่ยง น้ำมันจะลอยตัว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อยู่ข้างบน ส่วนน้ำและกากจะจมอยู่ด้านล่าง น้ำมันที่ได้จากวิธีนี้จะมึกลิ่นอ่อน สามารถนำไปขายได้ โดยไม่ต้องผ่านกระบวนการกำจัดกลิ่น มักนำไปสำหรับทำผลิตภัณฑ์ขนมอบบางชนิด ส่วนที่เป็นกากและน้ำจะมีพวกโปรตีนละลายอยู่ในส่วนที่เป็นน้ำ ซึ่งอาจมีสูงถึงร้อยละ 2 เมื่อระเหยเอาน้ำออกจะได้โปรตีนผงเป็นผลพลอยได้ ข้อเสียของการเจียวเปียก คือ อาจทำให้เกิดอิมัลชันของน้ำและน้ำมัน ซึ่งอิมัลชันที่เกิดขึ้นทำลายได้ยาก เนื่องจากมีโปรตีนทำหน้าที่เป็นอิมัลซิไฟอิงเอเจนต์ จึงเกิดอิมัลชันที่มีความคงตัว (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2548)

#### 2.4.2 เจียวแห้ง (dry rendering)

เป็นวิธีการเจียวโดยใช้เนื้อเยื่อไขมันที่ไม่เปียกน้ำ และเจียวในภาชนะเปิด อุณหภูมิที่ใช้ประมาณ 105-110 องศาเซลเซียส เป็นการให้ความร้อนโดยตรง ความร้อนทำให้ผนังเซลล์ถูกทำลายและปล่อยน้ำมันออกมา ในเนื้อเยื่อไขมันมีความชื้น ดังนั้นความร้อนที่ใช้จึงช่วยในการไล่ความชื้นออกจากวัตถุดิบได้อีกด้วย น้ำมันที่ได้ถูกแยกออกจากกากโดยปล่อยให้ตกตะกอนหรือแยกโดยใช้เครื่องเหวี่ยง หรือการกรอง น้ำมันที่ได้จะมีกลิ่นหอมเฉพาะตัวจากโปรตีนที่เสื่อมสภาพเนื่องจากความร้อน นอกจากนี้ความเข้มข้นของสีจะขึ้นกับอุณหภูมิที่ใช้ (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2548; พจนา บางแสง, 2557)

วิธีการเจียวแห้งนี้เป็นวิธีที่ใช้ทั่วไปในครัวเรือน วิธีที่ใช้ในอุตสาหกรรมจะใช้ระบบภาชนะปิด และอาจมีการดึงอากาศออกด้วย ดังนั้นกลิ่นและสีของน้ำมันที่ได้จะอ่อนกว่าการทำในครัวเรือน เนื่องจากการใช้สภาวะอุณหภูมิต่ำในระดับที่เพียงพอในการหลอมละลายไขมันเท่านั้น จึงไม่ทำให้โปรตีนในผนังเซลล์เสื่อมสภาพจนเกิดกลิ่นเนื้อสัตว์ หลังจากนั้นแยกน้ำมันออกโดยการหมุนเหวี่ยงแล้วทำให้ใสโดยการหมุนเหวี่ยงซ้ำ (พจนา บางแสง, 2557)

#### 2.4.3 เจียวด้วยไมโครเวฟ

การเจียวโดยใช้คลื่นไมโครเวฟซึ่งเป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าในการให้ความร้อน เมื่อวัตถุดิบวางตัวในสนามแม่เหล็กไฟฟ้า สมบัติความเป็นขั้วของโมเลกุลภายในวัตถุดิบเองที่ดำเนินการเคลื่อนที่ทำให้เกิดความร้อนขึ้นซึ่งมีผลต่อเนื้อเยื่อวัตถุและมีผลต่อการละลายของสารที่ต้องการ รวมถึงสมบัติของตัวทำละลายที่แตกต่างกันทำให้มีพฤติกรรมที่แตกต่างกันไปเมื่ออยู่ในสนามแม่เหล็กไฟฟ้า เช่น การดูดซับคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า การสะท้อน การส่งผ่านคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า เป็นต้น ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการสกัด ได้แก่ เวลา อุณหภูมิ กำลังของคลื่นไมโครเวฟ คุณสมบัติของวัตถุดิบ องค์ประกอบที่เป็นความชื้น ความคงตัวของวัตถุดิบ สมบัติของตัวทำละลาย และสมบัติสารที่ต้องการสกัด (ดวงกมล เรือนงาม, 2557) มิงงานวิจัยของ Sheu และ Chen (2002) ศึกษาผลของวิธีการสกัดน้ำมันจากเนื้อเยื่อไขมันส่วนหนังอกไก่ด้วยการเจียวโดยใช้ไมโครเวฟ กำลังไฟ 1100 วัตต์ เวลา 6, 7, 8, และ 9 นาที พบว่าให้ผลผลิตสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญที่เวลา 8 นาที เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดเจียวแบบแห้งที่เวลา 40 นาที เจียวแบบเปียกที่เวลา 40 นาที เจียวโดยใช้กระทะปิ้งที่เวลา 10 นาที และทอดน้ำมันท่วมที่เวลา 8 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.5 การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีกายภาพของน้ำมัน

### 2.5.1 ค่าความเป็นกรด (Acid value) (อนรรฆอร และมาโนชญ์, 2555)

ค่าความเป็นกรดของไขมันหรือน้ำมัน คือ จำนวนมิลลิกรัมของโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ที่ทำปฏิกิริยาพอดีกับกรดไขมันอิสระที่มีอยู่ในไขมันหรือน้ำมันหนัก 1 กรัม เป็นค่าที่บ่งชี้คุณภาพของน้ำมันและไขมัน โดยเป็นค่าที่บ่งชี้ว่าไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) ที่เป็นส่วนประกอบหลักในไขมันและน้ำมัน ถูกย่อยสลายด้วยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (hydrolysis) โดยมีเอนไซม์ไลเปส (lipase) และความชื้นเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ได้ผลิตภัณฑ์ คือกลีเซอรอล และกรดไขมันอิสระ ซึ่งทำให้น้ำมันและไขมันมีความเป็นกรดเพิ่มขึ้น ดังนั้นค่าความเป็นกรดจะเป็นตัวชี้บ่งบอกการหืนของไขมันและน้ำมัน ถ้าค่าความเป็นกรดสูงแสดงว่าไตรกลีเซอไรด์ถูกไฮโดรไลซ์เป็นกรดไขมันอิสระมาก แสดงว่าเกิดการหืนมาก การหาค่ากรดทำได้โดยการนำน้ำมันที่ต้องการวิเคราะห์มาไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐาน KOH โดยมีสารละลายฟีนอล์ฟทาลินเป็นอินดิเคเตอร์ การเข้าทำปฏิกิริยาเป็นกลางของกรดไขมันอิสระในน้ำมันกับสารละลายมาตรฐาน KOH แสดงดังสมการ



หมู่ฟังก์ชันของกรดคือหมู่ COOH จะทำปฏิกิริยาโดยตรงกับสารละลายมาตรฐาน KOH ทำให้ค่า pH เปลี่ยนแปลงไปจนกระทั่งถึงจุดสมมูลซึ่งฟีนอล์ฟทาลินเปลี่ยนสี

### 2.5.2 ค่าเปอร์ออกไซด์ (Peroxide value)

ค่าเปอร์ออกไซด์เป็นค่าที่บ่งบอก degree of lipid oxidation โดยการหาปริมาณเปอร์ออกไซด์ที่เกิดในไขมันหรือน้ำมัน สารเปอร์ออกไซด์จะเกิดขึ้นในไขมันหรือน้ำมันอย่างช้าๆ ในระหว่างที่ไขมันหรือน้ำมันที่เก็บรักษาสัมผัสกับอากาศเรียกว่าเกิด oxidative rancidity โดยเป็นปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นระหว่างพันธะคู่ของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว ดังนั้นไขมันหรือน้ำมันที่มีกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเป็นองค์ประกอบอยู่ในโมเลกุลมากหรือมีค่าไอโอดีนสูงจะเกิด oxidative rancidity ได้ง่าย จึงนิยมวัดค่าเปอร์ออกไซด์เพื่อใช้บ่งชี้การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและน้ำมัน เพราะเปอร์ออกไซด์เป็นสารตัวกลางของปฏิกิริยาออกซิเดชัน (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2548)

โดยค่าเปอร์ออกไซด์ หมายถึง จำนวนมิลลิลิตรของสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตความเข้มข้น 0.01 นอร์มัล ที่ใช้ในการไตเตรทไขมันหรือน้ำมัน 1 กรัม หรือหมายถึงจำนวนมิลลิสมมูลของเปอร์ออกไซด์ออกซิเจนต่อไขมันหรือน้ำมัน 1 กิโลกรัม หรือมิลลิโมลของออกซิเจนต่อกิโลกรัมของไขมัน (1 มิลลิโมลเท่ากับ 2 มิลลิสมมูล) เป็นการวัดปริมาณของเปอร์ออกไซด์

หรือไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่มีอยู่ในน้ำมันโดยวิธี Iodometric titration method โดยจะวัดปริมาณ ไอโอดีนที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างสารละลายอิมตัวของโปแทสเซียมไอโอไดด์ที่เติมลงไป กับเปอร์ออกไซด์ที่มีอยู่ในน้ำมัน ไอโอดีนที่ถูกปลดปล่อยโดยเปอร์ออกไซด์ จะถูกไตเตรทด้วยสารมาตรฐานไทโอซัลเฟตในระหว่างการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันค่าเปอร์ออกไซด์จะเพิ่มขึ้นจนถึงจุดสูงสุดและลดต่ำลง (Rajalakshmi and Narasimhan, 1996) ค่าเปอร์ออกไซด์เป็นตัวบ่งชี้ได้ดีถึงคุณภาพของน้ำมัน โดยน้ำมันพืชที่ผ่านการ refined ใหม่ ๆ จะมีค่าเปอร์ออกไซด์ไม่เกิน 1 มิลลิอิกวิวาเลนซ์ต่อกิโลกรัม น้ำมัน ตามกฎหมายน้ำมันพืชที่ใช้สำหรับบริโภคจะต้องมีค่าเปอร์ออกไซด์ไม่เกิน 10 มิลลิอิกวิวาเลนซ์ต่อกิโลกรัม น้ำมัน โดยทั่วไปน้ำมันหมีจะเริ่มมีกลิ่นหืนที่ค่าเปอร์ออกไซด์มากกว่า 20 มิลลิอิกวิวาเลนซ์ต่อกิโลกรัม น้ำมัน ซึ่งถือว่าเป็นจุดเริ่มต้นของการหืนในไขมันสัตว์ (ฤดีมาศ พุ่มเกล้า, 2555)

### 2.5.3 ค่าสaponification (Saponification Value)

ค่าสaponification ของไขมันหรือน้ำมัน คือจำนวนน้ำหนักของโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เป็นมิลลิกรัม ที่ใช้ในการสaponification (การไฮโดรไลซิสด้วยด่าง) ไขมันหรือน้ำมันจำนวน 1 กรัม

ค่าสaponification ของไขมันและน้ำมัน เป็นตัวชี้บ่งให้ทราบถึงขนาดหรือน้ำหนักโมเลกุลของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบอยู่ในไตรเอซิลกลีเซอรอลที่มีอยู่ในไขมันหรือน้ำมัน ไตรเอซิลกลีเซอรอลที่โมเลกุลประกอบด้วยกรดไขมันที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ หรือขนาดโมเลกุลเล็ก หรือจำนวนคาร์บอนในโมเลกุลน้อยจะมีค่าสaponification สูง ถ้าไตรเอซิลกลีเซอรอลมีโมเลกุลขนาดใหญ่หรือมีจำนวนคาร์บอนในโมเลกุลมากจะมีค่าสaponification ต่ำ ดังนั้นเอสเทอร์ของกรดไขมันที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ จะต้องใช้ด่างจำนวนมากในการไฮโดรไลซิส ค่าสaponification จะแปรผกผันกับน้ำหนักโมเลกุลของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบในโมเลกุลของไตรเอซิลกลีเซอรอลที่มีอยู่ในไขมันหรือน้ำมัน (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2548)

### 2.5.4 ค่าไอโอดีน (Iodine Value)

ค่าไอโอดีนเป็นการวิเคราะห์เพื่อชี้บ่งจำนวนพันธะคู่ในโมเลกุลของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบอยู่ในโมเลกุลของไตรเอซิลกลีเซอรอลที่ผสมรวมกันอยู่ในไขมันหรือน้ำมัน ตัวอย่าง ค่าไอโอดีนของไขมันหรือน้ำมันใดๆ คือ จำนวนกรัมของไอโอดีนที่ถูกดูดซึม โดยไขมันหรือน้ำมันจำนวน 100 กรัม กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่เป็นองค์ประกอบในโมเลกุลของไตรเอซิลกลีเซอรอลจะทำปฏิกิริยากับสารละลายไอโอดีนมากเกินไป ไอโอดีนจะถูกดูดซึมเข้าไปที่ตำแหน่งพันธะคู่ ซึ่งปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นอย่างช้าๆ ในที่มืดไม่มีแสง ถ้ามีจำนวนพันธะคู่มาก ไอโอดีนจะถูกดูดซึมมาก หลังจากนั้นหาปริมาณไอโอดีนที่เหลือ เพื่อคำนวณหาปริมาณไอโอดีนที่ถูกดูดซึมไป ดังนั้นค่าไอโอดีนจึงเป็นตัวชี้บ่งระดับความไม่อิ่มตัว (degree of unsaturation) ของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบอยู่ในโมเลกุลของไตรเอซิลกลีเซอรอลที่รวมกันเป็นไขมันและน้ำมัน ถ้าค่าไอโอดีนสูง

แสดงว่ามีปริมาณกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเป็นองค์ประกอบมากและจะเกิดการหืนชนิด oxidative rancidity ได้ง่ายด้วย นอกจากนี้ไขมันที่มีค่าไอโอดีนสูง ซึ่งแสดงว่ามีปริมาณกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวอยู่ปริมาณมากนั้นยังเป็นตัวบ่งชี้คุณค่าทางโภชนาการของน้ำมันชนิดนั้นด้วย น้ำมันที่มีค่าไอโอดีนสูง จะมีคุณค่าทางโภชนาการสูง เนื่องจากมีปริมาณกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวมาก ซึ่งเป็นกรดไขมันที่จำเป็นต่อร่างกาย (ประทุมพร ชาติไทย, 2553)

### 2.5.5 ค่าความคงตัวของน้ำมัน

เป็นการทดสอบความไวของน้ำมันต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งปฏิกิริยานี้เร่งการเกิดเร็วขึ้นได้ เมื่อลิปิดได้รับความร้อน ออกซิเจน แสง และโลหะคะตะลิสต์บางชนิด นอกจากนี้ยังใช้ทดสอบประสิทธิภาพของสารต้านออกซิเดชัน การทดสอบนี้จะทำให้ทราบว่าน้ำมันสามารถเก็บไว้ได้นานเท่าไรจึงจะเริ่มเกิดออกซิเดชัน หรือ oxidative rancidity (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2548)

### 2.5.6 สี

สีเป็นตัวบ่งชี้คุณภาพของน้ำมันได้ น้ำมันแต่ละชนิดจะมีสีแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสารสีที่มีปนอยู่ในวัตถุดิบที่นำมาใช้สกัดน้ำมันและวิธีการกำจัดสีโดยการฟอกสี น้ำมันที่มีสีเหลืองอ่อนจะมีคุณภาพดีกว่าน้ำมันที่มีสีเหลืองเข้ม (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2548)

### 2.5.7 ความหนืด

บ่งบอกถึงองค์ประกอบและชนิดของกรดไขมัน ความหนืดของน้ำมันเป็นปัจจัยที่สำคัญในการออกแบบระบบขนถ่ายน้ำมัน ความหนืดของน้ำมันจะเพิ่มขึ้นเมื่อจำนวนคาร์บอนในโมเลกุลของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบของไตรเอซิลกลีเซอรอลเพิ่มขึ้น ความหนืดจะลดลงเมื่อจำนวนพันธะคู่ในโมเลกุลของกรดไขมันเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ความหนืดจะขึ้นอยู่กับคุณสมบัติทางเคมี จำพวกค่าสะปอนนิฟิเคชันและค่าไอโอดีนเฉพาะน้ำมันแต่ละชนิด รวมทั้งอุณหภูมิในการวัดด้วย (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2548)

## 2.6 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณเป็นการวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างประเภทต่างๆวิธีที่นิยม ได้แก่ การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระดีดีพีเอช (DPPH•) และวิธีการฟอกสีอนุมูลอิสระเอบีทีเอช (ABTS•<sup>+</sup>) ซึ่งวิธีการดังกล่าวข้างต้นจะมีการสร้างอนุมูลอิสระที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนและวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งหรือกำจัดอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างที่สนใจ โดยวัดปริมาณอนุมูลอิสระที่ลดลงหรือที่เหลือจากการดูดกลืนแสง สารอนุมูลอิสระที่นิยมใช้เช่น DPPH และ ABTS การคำนวณหาปริมาณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารต้านอนุมูลอิสระหาได้จากอัตราส่วนของการลดลงของค่าดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างกับสารมาตรฐาน เช่น trolox, vitamin C และ ferrous sulfate เป็นต้น (บุหรัน พันธุ์สุวรรณค์, 2556)

### 2.6.1 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH radical scavenging assay) (บุหรัน พันธุ์สุวรรณค์, 2556)

เป็นการทดสอบด้วยวิธีทางเคมีโดยใช้สารที่มีคุณสมบัติเป็นอนุมูลอิสระในที่นี้คืออนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH•, diphenyl-picrylhydrazyl radical) ซึ่งเป็นสารสังเคราะห์ที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระที่คงตัวและมีสีม่วงสามารถดูดกลืนแสงได้สูงสุดโดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร เมื่อ DPPH• ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระที่ละลายด้วยเอทานอล (สารที่ให้อิเล็กตรอน) จะทำให้สีม่วงจางลงจนเป็นสีเหลือง ซึ่งก่อนนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงต้องตั้งทิ้งไว้ที่มีคเป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยา ทำให้สามารถหาการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ดังสมการ



สารมาตรฐานที่ใช้ในการเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ คือ โทรลอกซ์ (trolox, 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchlorman-2-carboxylic acid) แต่คงค่าเป็น TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity) มีหน่วยเป็น mM/mg หรือ  $\mu\text{M}/\text{mg}$  ข้อดีของวิธีนี้ คือ ง่าย สะดวก และรวดเร็ว ส่วนข้อเสียคือ DPPH• ค่อนข้างเสถียรไม่ไวต่อปฏิกิริยาเหมือนอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกายจริง จึงทำให้เกิดปฏิกิริยาได้ช้าทำให้ค่าการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่วัดได้น้อยกว่าความเป็นจริง

### 2.6.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยการฟอกสีอนุมูลอิสระเอบีทีเอส (ABTS radical cation decolorization assay) (บุหรัน พันธุ์สุวรรณค์, 2556)

เป็นวิธีการวัดความสามารถในการฟอกสีอนุมูลอิสระเอบีทีเอส เป็นสารสังเคราะห์ที่มีสีเขียวปนน้ำเงินสามารถดูดกลืนแสงได้สูงสุดที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร เนื่องจากสีของ  $\text{ABTS}\cdot^+$  ปกติจะมีค่าการดูดกลืนแสงสูง จึงต้องทำการเจือจาง  $\text{ABTS}\cdot^+$  ด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ จากนั้นนำ  $\text{ABTS}\cdot^+$  ทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่างที่ละลายด้วยเอทานอลเจือจางซึ่งจะทำให้สีจางลงดังสมการ



จากนั้นตั้งทิ้งไว้เพื่อให้เกิดปฏิกิริยา จึงสามารถหาความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างได้จากการคำนวณสีที่จางลงของการยับยั้งอนุมูลอิสระ  $\text{ABTS}\cdot^+$  ซึ่งคำนวณและการเทียบกับสารมาตรฐาน trolox เช่นเดียวกับวิธี DPPH ข้อดีของวิธีนี้คือ  $\text{ABTS}\cdot^+$  ละลายได้ดีในน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์จึงทำปฏิกิริยาได้อย่างรวดเร็ว และทำปฏิกิริยาได้ดีในช่วง pH กว้าง ส่วนข้อเสียคือ  $\text{ABTS}\cdot^+$  ไม่เป็นสารธรรมชาติที่พบในร่างกายหรือในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตและต้องมีการทำปฏิกิริยากับสารอื่นก่อนถึงจะเกิดเป็นอนุมูลอิสระ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.6.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิก (Total phenolic compound contents) (เนตรนภา เมฆกลาง และ ดร.เฉลิม เรืองวิริยะชัย, 2557)

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารประกอบที่เป็นวงแหวนอะโรมาติก และมีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH group) อย่างน้อย 1 หมู่ รวมไปถึงอนุพันธ์ของสารประกอบฟีนอล ซึ่งมีการแทนที่ด้วยหมู่ฟังก์ชันต่างๆ ตั้งแต่กลุ่มที่มีโครงสร้างอย่างง่าย เช่น ลิกนิน กลุ่มใหญ่ที่สุดที่พบคือ สารประกอบพวกฟลาโวนอยด์ สารประกอบฟีนอลที่พบในพืช มักจะรวมอยู่ในโมเลกุลของน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ น้ำตาลชนิดที่พบมากที่สุดไนโมเลกุลของสารประกอบฟีนอล ได้แก่ น้ำตาลกลูโคส และพบว่าอาจมีการรวมตัวกันระหว่างสารประกอบฟีนอลด้วยกันเอง หรือจะเป็นสารประกอบฟีนอลกับสารประกอบอื่นๆ เช่น กรดอินทรีย์ รวมอยู่ในโมเลกุลของโปรตีน แอลคาลอยด์ และเทอร์ปีนอยด์ เป็นต้น

การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกของสารสกัดทั้งหมดโดยใช้ Folin-Ciocalteu reagent ซึ่งเป็นสารละลายที่มีสีเหลือง เมื่อเติมสารต้านอนุมูลอิสระลงไป สารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีม่วงหรือน้ำเงิน ซึ่งเป็นสีของ Molybdate (V) วัดค่าการดูดกลืนที่ความยาวคลื่น 765 nm โดยใช้สารมาตรฐาน Gallic acid เป็นสารมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 0-600 ppm และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 nm และนำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ไปสร้างกราฟมาตรฐาน Gallic acid จากนั้นปีเปิดสารละลายตัวอย่าง 20 ไมโครลิตร แล้วเติม 2N Folin-Ciocalteu reagent 100 ไมโครลิตร และเติม  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  80 ไมโครลิตร ตามลำดับ โดยใช้เอทานอลเป็น Blank เขย่าและวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 765 nm นำค่าที่ได้คำนวณหาปริมาณฟีนอลิก นำไปเทียบกับกราฟมาตรฐาน Gallic acid และแสดงผลเป็นค่า Gallic acid equivalents ต่อน้ำหนักตัวอย่าง 1 กรัม (GAE/g sample)

## 2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Kabara และคณะ (1972) ศึกษาคุณสมบัติของกรดไขมันและอนุพันธ์ของกรดไขมันในการเป็นสารต้านเชื้อจุลินทรีย์ ศึกษาความสัมพันธ์ของโครงสร้างกรดไขมันรวมถึงอนุพันธ์ 30 ชนิด กับแบคทีเรียแกรมลบ 8 ชนิด และแกรมบวก 12 ชนิด ตัวแปรที่พิจารณา คือ ความยาวโมเลกุล ความไม่อิ่มตัวของกรดไขมัน และหมู่ฟังก์ชันของกรดไขมัน จากผลการทดลองพบว่า lauric acid (C12:0) มีความสามารถในการต้านเชื้อแกรมบวกได้เป็นส่วนใหญ่ Monoenoic acid (C18:1) ยับยั้งเชื้อประเภทแกรมบวกได้มากกว่ากรดไขมันอิ่มตัว แต่ยับยั้งได้น้อยกว่าอนุพันธ์ของ dienoic (C18:2) ส่วนกรดไขมันไม่อิ่มตัวอื่นนั้นมีความสามารถยับยั้งได้น้อยกว่าอนุพันธ์ของ dienoic (C18:2) กรดไขมันที่ประกอบด้วยหมู่แอลกอฮอล์และเอสเทอร์กลีเซอรอลนั้นสามารถยับยั้งเชื้อแกรมบวกเท่านั้น ส่วนกรดไขมันที่ประกอบด้วยอนุพันธ์ของหมู่เอมีนสามารถยับยั้งเชื้อแกรมบวกและลบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Sheu และ Chen (2002) ศึกษาผลของวิธีการสกัดน้ำมันจากเนื้อเยื่อไขมันส่วนหนังอกไก่ ด้วยการเจียวแบบต่างๆ ได้แก่ เจียวโดยใช้ไมโครเวฟ เจียวแบบแห้ง เจียวแบบเปียก เจียวโดยใช้กระทะปิ้ง และทอดน้ำมันท่วม วิธีเจียวโดยใช้ไมโครเวฟได้ปริมาณสูงสุดเท่ากับร้อยละ 47.5 ซึ่งวิธีทอดน้ำมันท่วม เจียวแบบแห้ง เจียวโดยใช้กระทะปิ้ง และเจียวแบบเปียก ได้ปริมาณเท่ากับร้อยละ 33.4, 31.6, 25.8 และ 24.8 ตามลำดับ และวิเคราะห์ปริมาณความชื้น ปริมาณกรดไขมันอิสระ ค่าเปอร์ออกไซด์ ค่า 2-thiobarbituric acid (TBA) และสีของน้ำมันจากเนื้อเยื่อไขมันส่วนหนังอกไก่ ด้วยวิธีที่กล่าวข้างต้น ได้ผลดังนี้ เมื่อใช้วิธีเจียวแบบเปียกมีปริมาณความชื้นของน้ำมันสูงสุดเท่ากับ 1.43% และต่ำสุดเมื่อใช้วิธีเจียวแบบแห้งเท่ากับ 0.19% วิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันอิสระพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p>0.05$ ) ของปริมาณกรดไขมันอิสระเมื่อใช้การเจียวที่แตกต่างกัน วิธีเจียวโดยใช้กระทะปิ้งค่าเปอร์ออกไซด์และค่า 2-thiobarbituric acid (TBA) มีค่ามากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดอื่น และในการวิเคราะห์สีของน้ำมันเมื่อใช้วิธีเจียวโดยใช้ไมโครเวฟสีของน้ำมันที่ได้มีความสว่างมากที่สุด บ่งบอกโดยค่า  $L^*$  สูงสุด รองลงมาคือ เจียวแบบเปียก เจียวแบบแห้ง ตามลำดับ รวมถึงวิธีเจียวโดยใช้ไมโครเวฟสีของน้ำมันที่ได้มีสีเหลืองมากกว่าวิธีอื่น ผลของชนิดกรดไขมันจากวิธีการสกัดด้วยการเจียวทั้งห้าวิธีที่กล่าวไปข้างต้น ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p>0.05$ )

Osthoff และคณะ (2010) เปรียบเทียบความแตกต่างของคุณสมบัติเนื้อเยื่อไขมันกระเซ่ที่ถูกเลี้ยง กระเซ่ที่พบตามธรรมชาติ และกระเซ่ที่ได้รับสารอาหารที่ผิดปกติทำให้มีสถานะของโรคไขมันสีเหลือง (pansteatitis) เป็นกระเซ่สายพันธุ์ *Crocodylus niloticus* ซึ่งการเกิดสถานะของโรคดังกล่าวสาเหตุมาจากขาดสารอาหารจำพวกวิตามินอี ส่งผลต่อการอักเสบของเนื้อเยื่อไขมัน (adipose tissue) และทำให้ตำแหน่งเม็ดสี ceroid ในไขมันเปลี่ยนไป และการขาดวิตามินอีในเนื้อเยื่อไขมันกระเซ่อาจกระตุ้นการเกิดเปอร์ออกไซด์ในเนื้อเยื่อไขมันได้ โดยเปรียบเทียบองค์ประกอบของกรดไขมันพบว่าเนื้อเยื่อไขมันกระเซ่ที่พบตามธรรมชาติที่สุขภาพดีมีกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวมากกว่าเนื้อเยื่อไขมันกระเซ่ที่พบตามธรรมชาติที่มีสถานะของโรคไขมันสีเหลืองที่ร้อยละ 37.3 และ 43.2 ตามลำดับ ขณะที่กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนน้อยกว่าที่ร้อยละ 27.3 และ 21.9 ตามลำดับ ศึกษาปริมาณไขมันทั้งหมดและความชื้นของเนื้อเยื่อไขมันกระเซ่ พบว่าปริมาณไขมันของเนื้อเยื่อไขมันของกระเซ่ที่ถูกเลี้ยงด้วยไก่ เนื้อวัว และเนื้อหมูมีปริมาณไขมันน้อยกว่ากระเซ่ที่พบตามธรรมชาติอยู่ที่ร้อยละ 78.9 และ 80.9 ตามลำดับ ผลดังกล่าวอาจเนื่องมาจากแหล่งอาหาร ที่อยู่อาศัยของกระเซ่ที่มีผลต่อองค์ประกอบของเนื้อเยื่อไขมัน อีกทั้งปริมาณความชื้นของเนื้อเยื่อไขมันกระเซ่ที่พบตามธรรมชาติมีมากกว่ากระเซ่ที่ถูกเลี้ยงเท่ากับร้อยละ 17.1 และ 11.8 ตามลำดับ ศึกษาจุดหลอมเหลวของเนื้อเยื่อไขมันกระเซ่โดยใช้วิธี differential scanning calorimetry พบว่าอยู่ในช่วง 7-36 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Ayalasomayajula และคณะ (2011) ศึกษาการนำไขมันจระเข้ (alligator fat) ที่เหลือทิ้งจากโรงงานแปรรูปมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตไบโอดีเซล สกัดด้วยตัวทำละลายและเจียวด้วยไขมันโครเวฟ แล้ววิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมัน (fatty acid profile) จากนั้นไปผลิตเป็นไบโอดีเซล พบว่าสกัดเนื้อเยื่อไขมันจระเข้ ด้วยวิธีเจียวด้วยไขมันโครเวฟนั้น มีความสามารถในการสกัดน้ำมันได้ (oil recovery) เท่ากับร้อยละ 61 และองค์ประกอบหลักของกรดไขมันในน้ำมันจระเข้ ได้แก่ กรดปาล์มิติก (C16:0) กรดปาล์มิตโอเลอิก (C16:1) และกรดโอเลอิก (C18:1) พบในปริมาณร้อยละ 89-92 ของไขมันทั้งหมด พบกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวร้อยละ 30 และกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวร้อยละ 70 จากนั้นนำน้ำมันที่ได้มาผลิตไบโอดีเซลสัดส่วนโดยโมลเมทานอลต่อน้ำมันที่ 4:1, 5:1 และ 6:1 น้ำมันจระเข้สามารถเกิดปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอร์ฟิเคชันได้ ที่สภาวะอุณหภูมิเท่ากับ 60 องศาเซลเซียส โดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในอัตราส่วนร้อยละ 1 โดยน้ำหนักของน้ำมัน เป็นเวลา 1.5, 2, 2.5 และ 3 ชั่วโมง พบว่าสภาวะที่เหมาะสมคือสัดส่วนโดยโมลของเมทานอลต่อน้ำมันเท่ากับ 4:1 อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา 60 องศาเซลเซียส ที่เวลา 1.5 ชั่วโมง และนำมาเปรียบเทียบกับมาตรฐาน ASTM ของไบโอดีเซลที่เกี่ยวกับความหนืด ซัลเฟต กลีเซอริน ทั้งหมด จุดวาบไฟ จุดชนุม้วนหรือจุดชนุมหอก และค่าความเป็นกรด ซึ่งผ่านตามมาตรฐาน ASTM จึงเห็นว่าน้ำมันไบโอดีเซลจากไขมันจระเข้มีความเหมาะสมที่จะใช้กับเครื่องยนต์ดีเซล

Buthelezi และคณะ (2012) ศึกษาชนิดและปริมาณกรดไขมันในน้ำมันสกัดจากเนื้อเยื่อจระเข้ด้วยวิธี Gas chromatography น้ำมันจระเข้มีกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบหลักดังนี้ โอเลอิก (20%) ปาล์มิติก (15%) และลิโนเลอิก (4%) พบกรดไขมัน 16 ชนิด ได้แก่ undecanoic acid (0.139%) tridecanoic acid (0.017%) myristic acid (1.156%) pentadecanoic acid (0.250%) palmitoleic acid (3.138%) palmitic acid (15.436%) heptadecanoic acid (0.476%) linoleic acid (4.031%) linoleic acid (0.161%) oleic acid (19.593%) elaidic acid (0.205%) stearic acid (1.359%) eicosenoic acid (0.051%) arachidic acid (0.002%) erucic acid (<0.001%) lignoceric acid (1.339%) และศึกษากิจกรรมต้านหรือยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* และ *Candida albicans* ด้วยวิธี microplate พบว่าปริมาณที่เหมาะสมในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและราเท่ากับ 15% และ 6% (w/v) ตามลำดับ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างแบคทีเรียที่ต่างสปีชีส์กัน แต่เชื้อรายับยั้งได้ไวมากกว่าแบคทีเรีย และศึกษาความสามารถในการต้านการอักเสบของน้ำมันจระเข้ด้วยวิธีการกินและการทา มีหนูเป็นสัตว์ทดลองซึ่งใช้น้ำมันเมล็ดสลอด (croton oil) ทำให้อักเสบพบว่าหลังจากการกินและการทาน้ำมันจระเข้ เวลาที่เหมาะสมสามารถต้านการอักเสบคือ 3 ชั่วโมง และ 6 ชั่วโมงตามลำดับ

Li และคณะ (2012) ศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันจระเข้ของจระเข้สายพันธุ์ *Crocodylus siamensis* โดยทดสอบกับสัตว์ทดลองที่มีบาดแผลถูกไฟไหม้ระดับที่สอง จากผลการทดลองพบว่า น้ำมันจระเข้สามารถช่วยเร่งสมานแผลให้หายได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีส่วนกระตุ้น TGF- $\beta$  เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$\beta 1$  และ Smad3 ในผิวหนังของหนูได้ โดยการรักษายาบาดแผลไฟไหม้ที่ขึ้นขึ้นอยู่กับลำดับของ โมเลกุล และกิจกรรมของเซลล์ เช่น การอักเสบ การอพยพเคลื่อนย้ายของเซลล์ประสาท (cell migration) การสร้างเส้นเลือดใหม่ (angiogenesis) สารสื่อสารระหว่างเซลล์ และ Transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) ซึ่ง TGF- $\beta$  เป็นโปรตีนในการกระตุ้นการเชื่อมประสานของเนื้อเยื่อ โดย TGF- $\beta 1$  และ TGF- $\beta 2$  ช่วยเนื้อเยื่อสมานแผลขณะที่ TGF- $\beta 3$  ช่วยลดรอยแผลเป็น รวมถึง สารสื่อสารระหว่างเซลล์ โดยเฉพาะ Smad ที่มีความสำคัญในการตอบสนอง TGF- $\beta$  ในเซลล์ผิวที่ คอยผลิตคอลลาเจนและอีลาสติน หรือเรียกว่า ไฟโบรบลาสต์ (Fibroblast)

Schmeda-Hirschmann และคณะ (2014) ศึกษาผลของการต้านการอักเสบและกิจกรรมด้าน เชื้อจุลินทรีย์รวมถึงองค์ประกอบของกรดไขมันของน้ำมันสัตว์แถบอะเมซอนประเทศเปรู โดยนำ เนื้อเยื่อไขมันสัตว์หรือชื้อน้ำมันมาจากตลาดเพื่อศึกษา สามารถแบ่งจำพวกเป็น ปลา ได้แก่ ปลา ไหลไฟฟ้า (*Electrophorus electricus*) ปลากระเบนโมโตรโ ( *Potamotrygon motoro*) สัตว์เลื้อยคลาน ได้แก่ งู (*Boa constrictor*) เต่า (*Chelonoidis denticulata*) เคนแมนดำ (*Melanosuchus niger*) ซึ่งเป็น จระเข้ในวงศ์ย่อย Caimaninae สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ได้แก่ โลมา (*Inia geoffrensis*) ซึ่งผลของ ความสามารถต้านการอักเสบของน้ำมันสัตว์ตัวอย่างนั้นดูจากการทดสอบอาการบวมของใบหู สัตว์ทดลองที่ใช้ arachidonic acid (AA) และ 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) ที่ 3 mg ของน้ำมันสัตว์ตัวอย่าง/ใบหูของสัตว์ทดลอง เปรียบเทียบกับยาต้านการอักเสบ พบว่าการใช้ 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) จากน้ำมันสัตว์ มีประสิทธิภาพในการลดการอักเสบ ได้มากกว่าการใช้ arachidonic acid (AA) ผล TPA ของน้ำมันเคแมนดำมีประสิทธิภาพรองลงมาจาก ปลากระเบนโมโตรโ มีอาการบวมลดลงเท่ากับร้อยละ 54.1 และ 60 ตามลำดับ ส่วนผลของการต้าน เชื้อจุลินทรีย์นั้นทดสอบด้วยวิธี microdilution เชื้อที่นำมาทดสอบได้แก่ *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella enteritidis* ผลการวิเคราะห์พบว่าน้ำมันเคแมนดำไม่ สามารถต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้ โดยมีค่า MIC (Minimum Inhibitory Concentration) > 1000  $\mu\text{g/ml}$  ยกเว้นปลาไหลไฟฟ้าและปลากระเบนโมโตรโที่ปริมาณต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญ *Salmonella enteritidis* ได้เท่ากับ 250 ไมโครกรัมน้ำมัน/มิลลิลิตรสารละลายเชื้อ และองค์ประกอบหลักของกรด ไขมันน้ำมันเคแมนดำ คือ กรดโอเลอิก (36.14%) กรดปาล์มมิติก (20.58%) กรดปาล์มมิโตเลอิก (6.91%)

# บทที่ 3

## อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

### 3.1 วัสดุดิบ

เนื้อเยื่อไขมันของจระเข้สายพันธุ์ *Crocodylus siamensis* ฟาร์มจระเข้ จังหวัดราชบุรี ประเทศไทย

### 3.2 เชื้อจุลินทรีย์

*Staphylococcus aureus* (ATCC strain 12600) จากสาขาวิชาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

### 3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ

- |                                      |                               |
|--------------------------------------|-------------------------------|
| 3.3.1 Trypticase (Tryptic) Soy Broth | (KemmarRCI Labscan, Thailand) |
| 3.3.2 Baird-Parker Agar              | (KemmarRCI Labscan, Thailand) |
| 3.3.3 Nutrient Agar (NA)             | (KemmarRCI Labscan, Thailand) |
| 3.3.4 Mueller Hinton Broth           | (Becton Dickinson, USA)       |

### 3.4 สารเคมี

- |   |                               |
|---|-------------------------------|
| 3.4.1 ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)diammonium) | (Sigma, Canada)               |
| 3.4.2 Acetic acid   | (Merck, Germany)              |
| 3.4.3 Chloroform  | (RCI Labscan, Europe and USA) |
| 3.4.4 Cyclohexane   | (RCI Labscan, Europe and USA) |
| 3.4.5 Dimethyl sulphoxide (DMSO)  | (Merck, Germany)              |
| 3.4.6 DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)                                    | (Sigma, Canada)               |
| 3.4.7 Ethanol   | (Merck, Germany)              |
| 3.4.8 Folin-ciocalteau reagent  | (Carlo Erba, Italy)           |
| 3.4.9 Hexane  | (Carlo Erba, Italy)           |
| 3.4.10 Hydrochloric acid  | (Merck, Germany)              |
| 3.4.11 Isopropanol  | (Carlo Erba, Italy)           |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.12 Iron(III) chloride hexahydrate	(Sigma, Canada)
3.4.13 Methanol	(Merck, Germany)
3.4.14 <i>p</i> -Indonitrotetrazolium chloride violet ( <i>p</i> -INT)	(Merck, Germany)
3.4.15 Petroleum ether	(Carlo Erba, Italy)
3.4.16 Phenolphthalein	(Merck, Germany)
3.4.17 Potassium di-chromate	(Carlo Erba, Italy)
3.4.18 Potassium iodide	(Carlo Erba, Italy)
3.4.19 Potassium hydroxide	(Carlo Erba, Italy)
3.4.20 Potassium persulfate	(Sigma, Canada)
3.4.21 Starch	(Fluka, Germany)
3.4.22 Sodium acetate trihydrate	(Merck, Germany)
3.4.23 Sodium thiosulfate	(Merck, Germany)
3.4.24 Toluene	(Merck, Germany)
3.4.25 Trolox ((±)-6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethyl-chromane-2-carboxylic acid)	(ALDRICH chemistry, Russian)
3.4.26 TPTZ(2,4,6-tris(2-pyridyl)-s-triazine)	(ALDRICH chemistry, Russian)
3.4.27 Wijs solution	(RCI Labscan, Europe and USA)

### 3.5 อุปกรณ์และเครื่องมือ

3.5.1 กรวยแยก	
3.5.2 เข็มเขี่ยเชื้อ	
3.5.3 จานเพาะเลี้ยงเชื้อ	
3.5.4 ตะเกียงแอลกอฮอล์	
3.5.5 ห่วงถ่ายเชื้อ	
3.5.6 เครื่องชั่งน้ำหนัก 2 ตำแหน่ง	(Ohaus, USA)
3.5.7 เครื่องชั่งน้ำหนัก 4 ตำแหน่ง	(Denver Instrument, Germany)
3.5.8 เครื่องบดเนื้อ รุ่น TC12E	(Sirman, Italy)
3.5.9 เครื่องวิเคราะห์เชื้อใย	(Foss, Thailand)
3.5.10 เครื่องวิเคราะห์ความคงตัวของน้ำมัน	(Metrohm's 743 Rancimat, Switzerland)

3.5.11 เครื่องวัดสี (Hunter Lab, USA)

3.5.12 เครื่องวัดความหนืด (Brookfield, USA)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้เพื่อการศึกษานี้เท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 3.5.13 เครื่อง Differential Scanning Calorimetry (DSC) (Mettler Toledo, Switzerland)
- 3.5.14 เครื่องสกัดไขมัน (Soxtherm) (Gerhardt S306AK, Germany)
- 3.5.15 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Shimadzu, Japan)
- 3.5.16 เตาเผา (Muffle furnace) (Nabertherm, Germany)
- 3.5.17 เตาหลุม
- 3.5.17 เตาไมโครเวฟ รุ่น NN-ST342M (Panasonic, Malaysia)
- 3.5.18 โถสำหรับดูดความชื้น (Desiccator)
- 3.5.19 ตู้เย็น รุ่น NR-BT264 (Panasonic, Thailand)
- 3.5.20 ตู้ถ่ายเชื้อ
- 3.5.21 ตู้บ่มควบคุมอุณหภูมิ
- 3.5.22 ตู้แช่แข็ง รุ่น SNH-0203D41C (Sandenintercool, Thailand)
- 3.5.24 อินฟราเรดเทอร์โมมิเตอร์ รุ่น UT301A (UNI-T, China)
- 3.5.25 ออโตปีเปต (100-1000 ไมโครลิตร) (Witeg, Germany)
- 3.5.26 อ่างควบคุมอุณหภูมิ รุ่น WNB7-45 (Mettler, Germany)
- 3.5.27 Syringe filter Non-sterile PTFE-membrane 0.45  $\mu\text{m}$  (Sartorius, Thailand)
- 3.5.28 Vortex mixer รุ่น SI-0236 (Scientific Industries, USA)
- 3.5.29 อุปกรณ์เครื่องแก้ว

### 3.6 วิธีการทดลอง

#### 3.6.1 การเตรียมตัวอย่างเนื้อเยื่อไขมันกระเซ้

นำเนื้อเยื่อไขมันกระเซ้สายพันธุ์ *Crocodylus siamensis* จากฟาร์มกระเซ้ จังหวัดราชบุรี ประเทศไทย เก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ  $-18\pm 1$  องศาเซลเซียสระหว่างรอการเตรียมตัวอย่างเตรียมตัวอย่างโดยนำมาละลายน้ำแข็ง ล้างทำความสะอาด ตัดแต่งเศษเนื้อออก หั่นเป็นชิ้นขนาดเล็กด้วยมีด จากนั้นบดด้วยเครื่องบดเนื้อ รุ่นขนาด 7/32 นิ้ว แบ่งใส่ถุงซิปล็อคขนาด 14x20 เซนติเมตร น้ำหนักบรรจุลงละ 150 กรัม และเก็บรักษาในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ  $-18\pm 1$  องศาเซลเซียส ก่อนการสกัดนำตัวอย่างที่เตรียมไว้มาละลายให้เนื้อเยื่ออ่อนนุ่มที่อุณหภูมิตู้เย็น ( $4\pm 1$  องศาเซลเซียส) ประมาณ 5 นาที

#### 3.6.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบเคมีของเนื้อเยื่อไขมันกระเซ้

นำตัวอย่างที่เตรียมแล้ววิเคราะห์องค์ประกอบหลักทางเคมี ได้แก่

3.6.2.1 ความชื้น (AOAC, 2000)

3.6.2.2 โปรตีน (AOAC, 2011)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้ในเพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.2.3 ไขมัน (AOAC, 2011)

3.6.2.4 เถ้า (AOAC, 2011)

3.6.2.5 เยื่อใย (AOAC, 2011)

3.6.2.6 คาร์โบไฮเดรต

### 3.6.3 วิธีการสกัดน้ำมัน

สกัดน้ำมันด้วยวิธีต่างๆกัน 3 วิธี ดังนี้

#### 3.6.3.1 เจียวแบบเปียก (Sheu and Chen, 2002)

นำตัวอย่าง 150 กรัม ต้มกับน้ำ โดยมีอัตราส่วน ไขมัน/น้ำ = 1:3 (w/w) ในหม้อ นาน 240, 300 และ 360 นาที ตามลำดับ กรองแยกส่วนเนื้อเยื่อไขมันที่เหลือออกด้วยผ้าขาวบางที่พับ 2 ชั้น จะได้ชั้นน้ำมันกับน้ำที่แยกชั้นกันในบีกเกอร์ขนาด 400 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิตู้เย็น ( $4\pm 1$  องศาเซลเซียส) เพื่อให้ไขมันชั้นบนแข็งตัว จากนั้นตักส่วนน้ำมันที่แข็งตัวมาหลอมเหลวโดยให้ความร้อนอุณหภูมิประมาณ 30 องศาเซลเซียส จากนั้นนำน้ำมันที่ได้กรองเอาน้ำส่วนเกินออกด้วยกรวยแยก (separatory funnel) ทำซ้ำ 2 ครั้ง คำนวณหาผลผลิตน้ำมันที่สกัดได้ (%) ร้อยละของปริมาณน้ำมันทั้งหมด จากนั้นเก็บรักษาน้ำมันที่สกัดได้ใส่ขวดสีชาปิดสนิทเก็บที่อุณหภูมิตู้เย็น ( $4\pm 1$  องศาเซลเซียส) เพื่อทำการวิเคราะห์ต่อไป และวิเคราะห์คุณสมบัติน้ำมันที่สกัดได้ ดังนี้

1. คุณสมบัติทางเคมีของน้ำมัน ได้แก่ ค่าความเป็นกรด (AOCS Cd 3d-63, 2009) ค่าเปอร์ออกไซด์ (AOCS Cd 8-53, 2009)

2. คุณสมบัติทางกายภาพของน้ำมัน ได้แก่ สี ( $L^*, a^*, b^*, H^*, C^*$ ) โดยใช้ Hunter lab colorimeter และความหนืด โดยใช้ Brook field viscometer

#### 3.6.3.2 เจียวแบบแห้ง (Sheu and Chen, 2002)

ใส่ตัวอย่าง 150 กรัม ลงในกระทะเคลือบ non-stick (Teflon pan) ตั้งไฟบนเตาไฟฟ้าซึ่งสามารถควบคุมอุณหภูมิได้ที่อุณหภูมิ  $100\pm 0.6$  และ  $132\pm 0.6$  องศาเซลเซียส นาน 40, 50 และ 60 นาที ตามลำดับ กรองแยกส่วนกากออกด้วยผ้าขาวบางที่พับ 2 ชั้น จากนั้นเก็บน้ำมันที่สกัดได้ในขวดสีชาปิดสนิท เก็บที่อุณหภูมิตู้เย็น ( $4\pm 1$  องศาเซลเซียส) คำนวณหาผลผลิตน้ำมันที่สกัดได้ (%) ร้อยละของปริมาณน้ำมันทั้งหมด และวิเคราะห์คุณสมบัติน้ำมันที่สกัดได้ เช่นเดียวกับ 3.6.3.1

#### 3.6.3.3 เจียวโดยใช้ไมโครเวฟ (Sheu and Chen, 2002)

ใส่ตัวอย่าง 150 กรัม ลงในชามแก้ว (glass casserole) นำเข้าไมโครเวฟ กำลังไฟ 800 วัตต์ ให้ความร้อนระดับสูงสุด นาน 7, 8 และ 9 นาที ตามลำดับ หลังจากเย็นลงที่อุณหภูมิห้องแล้ว กรองแยกส่วนกากออกด้วยผ้าขาวบางที่พับ 2 ชั้น จากนั้นออกแรงกด

น้ำมันที่เหลือออกจากกากที่ยังอยู่บนผ้าขาวบางด้วยช้อน คำนวณหาผลผลิตน้ำมันที่สกัดได้ (%) ร้อยละของปริมาณน้ำมันทั้งหมด และวิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำมันที่สกัดได้ เช่นเดียวกับ 3.6.3.1

### 3.6.4 การวิเคราะห์ชนิดของกรดไขมันของน้ำมันจระเข้

โดยสุ่มตัวอย่างน้ำมันจระเข้ในวิธีการสกัดเจียวแห้ง มาศึกษาชนิดกรดไขมัน โดยวิธี Gas Chromatography (The Laboratory of ALS Laboratory Group (Thailand) Co., LTD in-house method based on AOAC (2012), 996.06)

### 3.6.5 การวิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำมันจระเข้

นำตัวอย่างน้ำมันจระเข้ที่มีผลผลิตและคุณสมบัติเคมีกายภาพที่ดีที่สุดแต่ละวิธีการสกัด มาศึกษาคุณสมบัติดังนี้

3.6.5.1 ค่าไอโอดีน (Wijs method AOCS Cd 1-25, 2009)

3.6.5.2 ค่าสaponification value (saponification value) (AOCS Cd 3-25, 2009)

3.6.5.3 ค่าความคงตัวของน้ำมันด้วยวิธี Rancimat (Metrohm's 743 Rancimat)

3.6.5.4 สมบัติความร้อนด้วยเครื่อง Differential Scanning Calorimetry

3.6.5.5 คุณสมบัติการต้านออกซิเดชัน ด้วยวิธี

1. DPPH free radical scavenging (Lee *et al.*, 2007)

2. ABTS free radical scavenging (Sevim *et al.*, 2013)

3. Total phenolic content (Teixeira *et al.*, 2013)

3.6.5.6 คุณสมบัติการยับยั้งการเจริญเชื้อ *Staphylococcus aureus* ของน้ำมันจระเข้ มีขั้นตอนดังนี้

เตรียมน้ำมันจระเข้ให้ปราศเชื้อโดยกรองผ่าน Syringe filter PTFE-membrane ที่มี Pore Size 0.45 ไมครอน และเตรียมเชื้อ *S. aureus* โดยเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Mueller Hinton เมื่อได้ค่าการดูดกลืนแสงประมาณ 0.600-0.650 ที่ 490 นาโนเมตร (Elloff, 1998) จึงนำไปใช้ในการตรวจสอบกิจกรรมต้านจุลินทรีย์ต่อไป

การวิเคราะห์กิจกรรมต้านจุลินทรีย์โดยใช้ไมโครไตเตอร์เพลทด้วยวิธีของ Elloff (1998) มีขั้นตอนดังนี้ เติมหาอาหารเลี้ยงเชื้อลงในไมโครไตเตอร์เพลทหลุมละ 50 ไมโครลิตร เติมน้ำปริมาตร 144, 99, 69, 39 และ 9 ไมโครลิตรต่อหลุม เติมตัวอย่างน้ำมันจระเข้ที่สกัดได้ 0, 45, 75, 105 และ 135 ไมโครลิตรต่อหลุม เพื่อให้มีความเข้มข้นต่างๆกัน ได้แก่ ร้อยละ 0, 15, 25, 35 และ 45 ตามลำดับ หลังจากนั้นเติมไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (Dimethyl sulphoxide, DMSO) หลุมละ 6 ไมโครลิตร และเติมเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่เลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไว้ หลุมละ 50 ไมโครลิตร ส่วน positive control ทำเช่นเดียวกันแต่ใช้ Neomycin sulfate แทน ตัวอย่างน้ำมันจระเข้ และ negative control เติมหอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Mueller Hinton หลุมละ 300 ไมโครลิตร จากนั้นบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง หลังจากนั้นเติมพาราอินโดไนโตรเตตราโซไคลด์ไวโอเล็ต (*p*-Indonitrotetrazolium chloride violet, *p*-INT) ความเข้มข้น 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร หลุมละ 50 ไมโครลิตร บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำไปวัดการเจริญเติบโตของเชื้อที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร

### 3.6.6 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยนำข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวน (ANOVA) และวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 4

### ผลการทดลองและวิจารณ์

#### 4.1 การศึกษาองค์ประกอบเคมีของตัวอย่างเนื้อเยื่อไขมันจระเข้

การศึกษาผลขององค์ประกอบหลักทางเคมี ได้แก่ ความชื้น ไขมัน โปรตีน เถ้า เยื่อใย และ คาร์โบไฮเดรต ของตัวอย่างเนื้อเยื่อไขมันจระเข้สายพันธุ์ *Crocodylus siamensis* แสดงผลดังตารางที่ 4.1 พบว่าองค์ประกอบที่มีปริมาณมากที่สุดของตัวอย่างเนื้อเยื่อไขมันจระเข้ คือ ไขมัน ได้ผลเท่ากับ ร้อยละ 84.97 รองลงมาคือ ความชื้น (ร้อยละ 10.32) คาร์โบไฮเดรต (ร้อยละ 4.14) โปรตีน (ร้อยละ 0.29) เถ้า (ร้อยละ 0.13) และเยื่อใย (ร้อยละ 0.01) ตามลำดับ พบว่าปริมาณไขมันและความชื้นของ จระเข้สายพันธุ์ *C. siamensis* นั้นใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Osthoff และคณะ (2010) ซึ่งศึกษา ปริมาณไขมันและความชื้นของจระเข้เลี้ยงสายพันธุ์ *C. niloticus* ซึ่งมีค่าเท่ากับร้อยละ 78.9 และ 11.8 ตามลำดับ อย่างไรก็ตามปริมาณองค์ประกอบของไขมันสัตว์ขึ้นอยู่กับแหล่งที่อยู่อาศัย สายพันธุ์ อายุ อาหาร รวมถึงเพศของสัตว์อีกด้วย

ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อเยื่อไขมันจระเข้

องค์ประกอบ	ปริมาณ (% , น้ำหนักเปียก)
ความชื้น	10.32±0.39
ไขมัน	84.97±0.12
โปรตีน	0.29±0.04
เถ้า	0.13±0.01
เยื่อใยหยาบ	0.01±0.0
คาร์โบไฮเดรต	4.28±0.11

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ย±SD จากการทดลอง 3 ซ้ำ

## 4.2 การศึกษาผลผลิตและคุณสมบัติเคมีกายภาพของน้ำมันจระเข้ที่สกัดโดยวิธีการเจียวเปียก เจียวแห้งที่อุณหภูมิต่ำ-สูง และเจียวด้วยไมโครเวฟ

### 4.2.1 การศึกษาผลผลิตของน้ำมันจระเข้ที่สกัดได้

จากการศึกษาผลของการสกัดเนื้อเยื่อไขมันจระเข้ด้วยวิธีการเจียวที่แตกต่างกันสามวิธี ได้แก่ วิธีเจียวด้วยไมโครเวฟ วิธีเจียวแห้ง และวิธีเจียวเปียก ได้ผลดังตารางที่ 4.2 พบว่าประสิทธิภาพของวิธีการสกัดที่ให้ผลผลิตน้ำมันจระเข้ออกมาได้มากที่สุดคือ วิธีเจียวด้วยไมโครเวฟ ซึ่งให้ผลผลิตสูงสุด รองลงคือวิธีเจียวแห้งที่อุณหภูมิสูง เจียวแห้งที่อุณหภูมิต่ำ และเจียวเปียกตามลำดับ โดยวิธีเจียวด้วยไมโครเวฟสามารถสกัดน้ำมันออกจากเนื้อเยื่อไขมันจระเข้ได้เท่ากับร้อยละ 70.16 จากปริมาณไขมันที่มีอยู่ทั้งหมดของเนื้อเยื่อไขมันจระเข้ประมาณร้อยละ 84.97 คิดเป็นร้อยละ 82.57 ของปริมาณน้ำมันทั้งหมด จากการศึกษาระยะเวลาสกัดเนื้อเยื่อไขมันจระเข้ของวิธีเจียวด้วยไมโครเวฟพบว่า เมื่อระยะเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้น ส่งผลต่อผลผลิตของน้ำมันจระเข้ที่สกัดได้มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) แสดงให้เห็นว่าเนื้อเยื่อไขมันจระเข้สามารถดูดซับและถูกแทรกซึมผ่านของพลังงานคลื่นไมโครเวฟได้ เนื่องจากโมเลกุลน้ำที่มีอยู่ในเนื้อเยื่อไขมันจระเข้ ซึ่งมีขั้วบวกขั้วลบพยายามเรียงตัวตามสนามไฟฟ้าของคลื่นที่ส่งผ่านเข้ามา ทำให้เกิดการสั่นสะเทือนของโมเลกุลจนเกิดเป็นความร้อนกระจายทั่วภายในเนื้อเยื่อไขมันจระเข้ทุกส่วนที่คลื่นผ่านเข้าไป ความร้อนเพิ่มสูงขึ้น เมื่อเพิ่มเวลาในการสกัด ซึ่งอุณหภูมิในการสกัดที่เวลา 7, 8 และ 9 นาที มีค่าเท่ากับ  $193 \pm 5.6$ ,  $237 \pm 4.0$  และ  $248 \pm 8.2$  องศาเซลเซียส ตามลำดับ ทำให้ผลผลิตสูงสุดที่เวลาในการสกัดเท่ากับ 9 นาที (ร้อยละ 70.16) อย่างไรก็ตามไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับเวลาในการสกัดที่ 8 นาที (ร้อยละ 69.89) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sheu และ Chen (2002) พบว่าการสกัดเนื้อเยื่อไขมันหนังอกไก่โดยใช้วิธีเจียวด้วยไมโครเวฟให้ผลผลิตสูงที่สุดเท่ากับร้อยละ 47.5 รองลงมากคือวิธีทอดแบบน้ำมันท่วม เจียวแห้ง เจียวโดยใช้กระทะปิ้ง และเจียวเปียก ตามลำดับ

ในทางตรงกันข้ามประสิทธิภาพของวิธีการสกัดที่ให้ผลผลิตน้ำมันจระเข้ออกมาได้น้อยที่สุดคือ วิธีเจียวเปียก เนื่องจากเป็นการถ่ายเทความร้อนโดยใช้น้ำ ส่งผลให้อุณหภูมิในการเจียวต่ำกว่าจุดเดือดของน้ำวัดอุณหภูมิได้เท่ากับ  $91 \pm 0.1$  องศาเซลเซียส ความร้อนจากอุณหภูมิดังกล่าว ทำให้ความสามารถในการปลดปล่อยน้ำมันออกจากเซลล์เนื้อเยื่อไขมันจระเข้เกิดได้อย่างช้าๆ จึงใช้เวลานานในการสกัด เพื่อทำให้ได้ผลผลิตเท่ากับร้อยละ 53.16 ที่เวลา 360 นาที ซึ่งระยะเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้น จาก 240 นาที เป็น 300 นาที ทำให้ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้เพิ่มขึ้นแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) แสดงให้เห็นว่าระยะเวลาในการสกัดด้วยวิธีเจียวเปียกมีผลต่อผลผลิตของน้ำมันจระเข้ที่สกัดได้แต่เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยเท่านั้น

ส่วนผลของการสกัดเนื้อเยื่อไขมันกระเช้ด้วยวิธีเจียวแห้งที่อุณหภูมิต่ำและสูง ซึ่งให้ผลผลิตสูงกว่าวิธีเจียวเปียก แต่ต่ำกว่าวิธีเจียวไมโครเวฟที่เวลา 8 นาที ให้ผลผลิตเท่ากับร้อยละ 59.50 และ 68.45 ตามลำดับ ที่เวลา 40 นาที อันเนื่องมาจากอุณหภูมิในการสกัดของวิธีเจียวดังกล่าวมีอุณหภูมิสูงกว่าวิธีเจียวเปียก แต่ต่ำกว่าวิธีเจียวไมโครเวฟซึ่งมีค่าเท่ากับ  $100 \pm 0.6$  และ  $132 \pm 0.6$  องศาเซลเซียส ตามลำดับ ซึ่งเป็นการให้ความร้อนโดยตรงต่อเนื้อเยื่อไขมันกระเช้ ความร้อนทำให้ผนังเซลล์ถูกทำลายและปล่อยน้ำมันออกมา นอกจากนี้พบว่าระยะเวลาในการสกัดด้วยวิธีเจียวแห้งที่อุณหภูมิต่ำและสูงในการศึกษานี้ ไม่มีผลต่อผลผลิตของน้ำมันกระเช้ที่สกัดได้แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) กล่าวคือไม่มีความแตกต่างกันของผลผลิตเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการสกัด 40, 50 และ 60 นาที โดยการเจียวแห้งที่อุณหภูมิสูงให้ผลผลิตสูงกว่าเจียวแห้งที่อุณหภูมิต่ำที่เวลา 40 นาที เท่ากับร้อยละ 68.45 และ 59.50 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.2 ผลการสกัดเนื้อเยื่อไขมันกระเช้ด้วยวิธีเจียวเปียก เจียวแห้ง และเจียวด้วยไมโครเวฟ

วิธีเจียว	เวลาที่ใช้สกัด (นาที)	ปริมาณผลผลิต (ร้อยละ)	ร้อยละของปริมาณน้ำมันทั้งหมด
เจียวเปียก	240	$50.03 \pm 0.97^b$	$58.88 \pm 1.14$
	300	$52.97 \pm 0.46^a$	$62.34 \pm 0.54$
	360	$53.16 \pm 1.05^a$	$62.57 \pm 1.24$
เจียวแห้งที่อุณหภูมิต่ำ ( $100 \pm 0.6$ °C)	40	$59.50 \pm 2.78^{ns}$	$70.03 \pm 3.27$
	50	$60.67 \pm 5.97^{ns}$	$71.40 \pm 7.02$
	60	$64.25 \pm 2.48^{ns}$	$75.61 \pm 2.91$
เจียวแห้งที่อุณหภูมิสูง ( $132 \pm 0.6$ °C)	40	$68.45 \pm 0.55^{ns}$	$80.56 \pm 0.64$
	50	$66.19 \pm 1.50^{ns}$	$77.90 \pm 1.76$
เจียวด้วยไมโครเวฟ	7	$67.79 \pm 0.59^b$	$79.78 \pm 0.70$
	8	$69.89 \pm 0.78^a$	$82.25 \pm 0.92$
	9	$70.16 \pm 1.07^a$	$82.57 \pm 1.25$

หมายเหตุ : <sup>a-b</sup> หมายถึง ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์ของแต่ละวิธีการสกัดที่มีตัวอักษรที่ต่างกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

<sup>ns</sup> หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ )

## 4.2.2 ผลของคุณสมบัติทางเคมีของน้ำมันจระเข้ที่สกัดได้

### 4.2.2.1 ค่าความเป็นกรด

ค่าความเป็นกรดของน้ำมันจระเข้ บ่งบอกถึงปริมาณกรดไขมันอิสระที่ได้จากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของไตรกลีเซอไรด์ รวมไปถึงผลิตภัณฑ์ดังกล่าวสามารถบ่งบอกคุณภาพของน้ำมันที่สกัดได้ โดยปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดกรดไขมันอิสระ ได้แก่ ความชื้น อุณหภูมิของความร้อน เป็นต้น เมื่อทำการสกัดเนื้อเยื่อไขมันของจระเข้ด้วยวิธีเจียวทั้งสามวิธี จากนั้นนำน้ำมันจระเข้ที่สกัดได้มาวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี โดยศึกษาค่าความเป็นกรด ได้ผลดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ .43 ค่าความเป็นกรด และค่าเปอร์ออกไซด์ของน้ำมันจระเข้ที่สกัดได้โดยวิธีเจียวเปียก เจียวแห้ง และเจียวด้วยไมโครเวฟ

วิธีเจียว	เวลาที่ใช้สกัด (นาทีก)	ค่าความเป็นกรด (mgKOH/g)	ค่าเปอร์ออกไซด์ (meq/kg)
เจียวเปียก	240	0.50±0.06 <sup>ns</sup>	5.98±0.004 <sup>a</sup>
	300	0.56±0.06 <sup>ns</sup>	3.99±0.01 <sup>b</sup>
	360	0.60±0.03 <sup>ns</sup>	5.32±1.17 <sup>ab</sup>
เจียวแห้ง ที่อุณหภูมิต่ำ (100±0.6 °C)	40	0.52±0.04 <sup>ns</sup>	4.65±1.15 <sup>ns</sup>
	50	0.58±0.03 <sup>ns</sup>	6.64±2.30 <sup>ns</sup>
	60	0.56±0.06 <sup>ns</sup>	5.99±2.00 <sup>ns</sup>
เจียวแห้ง ที่อุณหภูมิสูง (132±0.6 °C)	40	0.56±0.06 <sup>ns</sup>	3.33±1.15 <sup>ns</sup>
	50	0.58±0.03 <sup>ns</sup>	3.98±0.04 <sup>ns</sup>
	60	0.60±0.08 <sup>ns</sup>	5.31±2.29 <sup>ns</sup>
เจียวด้วยไมโครเวฟ	7	0.56±0.001 <sup>b</sup>	2.65±0.58 <sup>b</sup>
	8	0.56±0.006 <sup>b</sup>	2.6 ±1.18 <sup>b</sup>
	9	0.69±0.03 <sup>a</sup>	6.64±1.17 <sup>a</sup>

หมายเหตุ : <sup>a-b</sup> หมายถึง ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์ของแต่ละวิธีการสกัดที่มีตัวอักษรที่ต่างกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

<sup>ns</sup> หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ )

จากผลการศึกษาค่าความเป็นกรดของการสกัดเนื้อเยื่อไขมันจระเข้ด้วยวิธีเจียวที่แตกต่างกันและระยะเวลาต่างกัน มีค่าดังกล่าวไม่แตกต่างกันมากนัก แต่ผลการศึกษากการสกัดเนื้อเยื่อไขมันจระเข้ด้วยวิธีเจียวด้วยไมโครเวฟ พบว่าที่เวลาในการสกัด 9 นาที ผลของค่าความไม่วากรณ์ใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นกรดสูงสุดมีค่าเท่ากับ 0.69 มิลลิกรัม โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ต่อน้ำมัน 1 กรัม ซึ่งเป็นผลเนื่องมาจากอุณหภูมิในระหว่างการสกัดดังกล่าวมีค่าสูงถึง 248 องศาเซลเซียส และมีน้ำที่เป็นองค์ประกอบอยู่ภายในเนื้อเยื่อไขมันจะระเหย จึงเป็นผลทำให้เร่งการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสมากขึ้น การเกิดปฏิกิริยานี้จะทำให้ปริมาณของกรดไขมันอิสระเพิ่มสูงขึ้น ดังนั้นค่าความเป็นกรดจึงสูง ถึงแม้ว่าการสกัดเนื้อเยื่อไขมันจะระเหยด้วยวิธีเจียวเปียกจะใช้อุณหภูมิต่ำในการสกัด แต่ค่าความเป็นกรดก็มีค่าใกล้เคียงกับวิธีเจียวแห้งที่อุณหภูมิต่ำและสูง แสดงให้เห็นว่าปริมาณน้ำที่ใช้ในการให้ความร้อนของวิธีเจียวเปียกนั้นก็เป็นปัจจัยในการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสได้อีกด้วย รวมถึงอุณหภูมิที่เพิ่มสูงขึ้นเร่งอัตราการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสมากขึ้น

#### 4.2.2.2 ค่าเปอร์ออกไซด์

ค่าที่บ่งบอกถึงคุณภาพของน้ำมันอีกค่าหนึ่งคือ ค่าเปอร์ออกไซด์ โดยค่าเปอร์ออกไซด์จะวัดอัตราการเกิดออกซิเดชัน ระหว่างออกซิเจนทำปฏิกิริยากับกรดไขมันในตำแหน่งพันธะคู่ โดยปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้แก่ ออกซิเจน อุณหภูมิของความร้อน แสง เป็นต้น โดยการศึกษาค่าเปอร์ออกไซด์ ได้ผลดังตารางที่ 4.3 ค่าเปอร์ออกไซด์ของน้ำมันจะระเหยที่สกัดได้ด้วยวิธีเจียวด้วยไมโครเวฟ เมื่อใช้เวลาในการสกัดที่ 7 และ 8 นาที ค่าเปอร์ออกไซด์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) แต่เวลาในการสกัดที่ 9 นาที ค่าเปอร์ออกไซด์มีค่าเพิ่มสูงขึ้นเท่ากับ 6.64 มิลลิอิกวาเลนซ์ต่อกิโลกรัม น้ำมัน ซึ่งเป็นผลเนื่องมาจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่อุณหภูมิสูง โดยความร้อนเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ปฏิกิริยานี้ทำให้เกิดสารประกอบไฮโดรเปอร์ออกไซด์ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ออกซิเดชันอันดับหนึ่ง ไม่มีกลิ่นรส แต่จะก่อให้เกิดสารประกอบตัวอื่นที่มีผลต่อคุณภาพน้ำมันได้ (O'Brien, 2009) และถึงแม้ว่าวิธีการสกัดเนื้อเยื่อไขมันของจะระเหยด้วยวิธีเจียวเปียกจะใช้อุณหภูมิที่ต่ำกว่าวิธีเจียวแห้งและวิธีเจียวด้วยไมโครเวฟก็ตาม แต่ค่าเปอร์ออกไซด์ของวิธีเจียวเปียกนั้นใกล้เคียงกับวิธีเจียวอื่น สาเหตุมาจากการให้ความร้อนในการสกัด ในสถานะที่มีออกซิเจน ติดต่อกันเป็นเวลานานจะทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเพิ่มขึ้น ค่าเปอร์ออกไซด์จึงมีค่าสูง นอกจากนี้ค่าเปอร์ออกไซด์ของน้ำมันจะระเหยที่สกัดได้ทั้งสามวิธีมีค่าเปอร์ออกไซด์ไม่เกิน 10 มิลลิอิกวาเลนซ์ต่อกิโลกรัม น้ำมัน ถือว่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานน้ำมันปาล์มที่สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมของไขมันและน้ำมัน (Gunstone, 2009; สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2528)

#### 4.2.3 ผลของคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำมันจะระเหยที่สกัดได้

##### 4.2.3.1 สี

คุณสมบัติทางกายภาพของน้ำมันจะระเหยที่สกัดโดยวิธีเจียวเปียก เจียวแห้ง และเจียวด้วยไมโครเวฟ ได้แก่ สี ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $H^*$ ,  $C^*$ ) และความหนืด โดยสีและความหนืดเป็นตัวบ่งชี้คุณภาพของน้ำมันได้ น้ำมันแต่ละชนิดจะมีสีแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสารสีจากธรรมชาติ หรือสารประกอบที่เกิดระหว่างกระบวนการสกัดน้ำมัน วิธีเจียวที่แตกต่างกันส่งผลทำให้เกิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารประกอบมีสีที่มาจากโปรตีนที่เหลือจากกระบวนการสกัดหรือกากของเนื้อเยื่อไขมันจะเข้มข้น มีผลต่อค่าสีของน้ำมัน ซึ่งผลของค่าสีแสดงดังตารางที่ 4.4 และ 4.5 ดังนี้

ตารางที่ 4.4 ค่าสีระบบ CIE ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) ของน้ำมันกระเข้ที่สกัดได้โดยวิธีเจียวเปียก เจียวแห้ง และ เจียวด้วยไมโครเวฟ

วิธีเจียว	เวลาที่ใช้		$L^*$	$a^*$	$b^*$
	สกัด	(นาที)			
เจียวเปียก	240		98.56±0.12 <sup>a</sup>	-1.90±0.15 <sup>ns</sup>	12.16±0.39 <sup>ns</sup>
	300		99.05±0.78 <sup>b</sup>	-1.38±0.35 <sup>ns</sup>	11.32±0.78 <sup>ns</sup>
	360		100.97±0.09 <sup>b</sup>	-1.77±0.04 <sup>ns</sup>	10.90 ± 0.28 <sup>ns</sup>
เจียวแห้งที่ อุณหภูมิต่ำ (100±0.6 °C) <sup>ns</sup>	40		99.80±0.09	-1.62±0.19	11.21±0.28
	50		99.77±0.07	-1.92±0.09	12.18±0.66
	60		99.63±0.06	-1.80±0.32	12.12±1.00
เจียวแห้งที่ อุณหภูมิสูง (132±0.6 °C)	40		99.76±0.05 <sup>b</sup>	-2.18±0.12 <sup>ns</sup>	14.66±0.40 <sup>b</sup>
	50		98.53±0.20 <sup>b</sup>	-2.20±0.32 <sup>ns</sup>	18.48±0.87 <sup>a</sup>
	60		98.39±0.13 <sup>a</sup>	-1.98±0.03 <sup>ns</sup>	19.69±0.45 <sup>a</sup>
เจียวด้วย ไมโครเวฟ	7		94.60±0.55 <sup>a</sup>	-1.98±0.29 <sup>b</sup>	33.12±2.00 <sup>c</sup>
	8		87.01±2.40 <sup>ab</sup>	0.89±1.25 <sup>ab</sup>	48.40±3.59 <sup>b</sup>
	9		78.78±8.13 <sup>b</sup>	6.68±5.39 <sup>a</sup>	61.35±7.01 <sup>a</sup>

หมายเหตุ : <sup>a-b</sup> หมายถึง ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์ของแต่ละวิธีการสกัดที่มีตัวอักษรที่ต่างกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

<sup>ns</sup> หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ )

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 ค่าสีระบบ Munsell (Hue, Chroma) และความหนืดวัดที่อุณหภูมิ  $25\pm 0.1$  องศาเซลเซียสของน้ำมันจระเข้ที่สกัดได้โดยวิธีเจียวเปียก เจียวแห้ง และเจียวด้วยไมโครเวฟ

วิธีเจียว	เวลาที่ใช้		Hue	Chroma	ความหนืด (cP)
	สกัด	(นาที)			
เจียวเปียก		240	$98.88\pm 0.41^{ns}$	$12.31\pm 0.40^a$	$61.64\pm 0.34^{ns}$
		300	$97.01\pm 1.93^{ns}$	$11.41\pm 0.77^{ab}$	$61.27\pm 0.77^{ns}$
		360	$99.22\pm 0.10^{ns}$	$11.04\pm 0.28^b$	$61.24\pm 0.40^{ns}$
เจียวแห้งที่อุณหภูมิต่ำ ( $100\pm 0.6$ °C) <sup>ns</sup>		40	$98.23\pm 0.74$	$11.33\pm 0.31$	$59.08\pm 0.58$
		50	$98.94\pm 0.08$	$12.33\pm 0.67$	$59.16\pm 0.37$
		60	$98.41\pm 0.77$	$12.26\pm 1.04$	$57.87\pm 1.24$
เจียวแห้งที่อุณหภูมิสูง ( $132\pm 0.6$ °C)		40	$98.46\pm 0.24^a$	$14.82\pm 0.41^b$	$58.81\pm 0.85^b$
		50	$96.77\pm 0.70^b$	$18.61\pm 0.90^a$	$59.62\pm 0.32^b$
		60	$95.75\pm 0.22^c$	$19.79\pm 0.45^a$	$61.51\pm 0.15^a$
เจียวด้วยไมโครเวฟ		7	$93.45\pm 0.72^a$	$33.18\pm 1.98^c$	$58.08\pm 0.34^b$
		8	$89.02\pm 1.47^{ab}$	$48.42\pm 3.60^b$	$58.28\pm 0.40^b$
		9	$84.13\pm 4.21^b$	$61.82\pm 7.57^a$	$59.47\pm 0.71^a$

หมายเหตุ : <sup>a-c</sup> หมายถึง ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์ของแต่ละวิธีการสกัดที่มีตัวอักษรที่ต่างกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p\leq 0.05$ )

<sup>ns</sup> หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p>0.05$ )

พบว่าน้ำมันจระเข้ที่สกัดโดยวิธีเจียวไมโครเวฟมีแนวโน้มให้สีสว่างน้อยที่สุด บ่งบอกโดยค่า  $L^*$  ค่า  $a^*$  และ  $b^*$  มีค่าไปทางบวก ตัวอย่างน้ำมันที่ใช้เวลาในการสกัดเท่ากับ 9 นาที มีค่า  $a^*$  และ  $b^*$  เท่ากับ 6.68 และ 61.35 ตามลำดับ และค่า Hue และ Chroma บ่งบอกว่าน้ำมันมีสีส้มแดงถึงสีเหลืองและมีความอึมครึมหรือมีความเข้มของสีมาก เนื่องจากค่า Hue อยู่ในช่วง 45-90 องศา และ Chroma เข้าใกล้ 60 รวมทั้งสังเกตได้ว่าผลค่าสีจากวิธีเจียวด้วยไมโครเวฟที่เวลาในการสกัด 9 นาที มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) สูงเมื่อเปรียบเทียบกับสิ่งทดลองอื่น เนื่องมาจากคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าซึ่งเป็นแหล่งพลังงานของไมโครเวฟ ส่งคลื่นแนวบัพและแนวปฏิบัพที่ทำให้ความร้อนไม่สม่ำเสมอ (Chandrasekaran *et al.*, 2013) เป็นผลทำให้โปรตีนที่แยกออกมาจากการเจียวหรือเอกซแทรกชันเป็นเอกซแทรกชันไวสำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หากมีตำแหน่งความใหม่แตกต่างกัน การเกิดสีน้ำตาลและการไหม้ของโปรตีนดังกล่าว เกิดได้จากการใช้ความร้อนในการสกัดสูง เหาใหม่สารประกอบอินทรีย์เป็นคาร์บอน ซึ่งเป็นปฏิกิริยาเดียวกับการเผาถ่าน คือปฏิกิริยาคาร์บอนในเซชัน และสันนิฐานเกิดจากปฏิกิริยามอลาร์ด ทำให้เกิดสารสีน้ำตาล ส่งผลต่อสีของน้ำมันที่สกัดได้ โดยเมื่อน้ำตาลแอสโดสหรือคีโตสได้รับความร้อนในภาวะที่มีน้ำกับหมู่อะมิโนโมเลกุลของแอมโมเนีย กรดอะมิโน และโปรตีน ได้เป็นไกลโคซิลเอมีน และจะเกิดปฏิกิริยาต่อเนื่องจนได้สารสีน้ำตาล (วิล รังสาตทอง, 2545; Idowu *et al.*, 2017)

#### 4.2.3.2 ค่าความหนืด

การเกิดสารประกอบพอลิเมอร์มีผลต่อความหนืดของน้ำมันนั้น เกิดจากปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชัน ทั้งแบบ oxidative และ thermal polymerization สารดังกล่าวจะทำให้น้ำมันมีความหนืดสูงขึ้น ผลของความหนืดของน้ำมันจะขึ้นอยู่กับวิธีสกัดได้โดยวิธีเจียวแตกต่างกัน แสดงดังตารางที่ 4.5 พบว่าความหนืดของน้ำมันจะเพิ่มขึ้นที่สกัดด้วยวิธีเจียวเปียกที่เวลา 240 300 และ 360 นาที ไม่มีผลแตกต่างอย่างมีระดับนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) และแนวโน้มค่าความหนืดของน้ำมันมีค่าสูงเนื่องจากน้ำมันจะสกัดได้จากวิธีเจียวเปียก สามารถเกิดอิมัลชันของน้ำและน้ำมัน ซึ่งอิมัลชันที่เกิดขึ้นทำลายได้ยาก เนื่องจากมีโปรตีนทำหน้าที่เป็นอิมัลซิฟิเอเจนต์ จึงเกิดอิมัลชันที่มีความคงตัว ส่งผลให้น้ำมันจะสกัดด้วยวิธีเจียวเปียกมีแนวโน้มของค่าความหนืดสูง ในการสกัดน้ำมันจะเพิ่ม เมื่อให้ความร้อนแก่น้ำมันที่อุณหภูมิสูงในสภาวะที่มีออกซิเจน นอกจากจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันแล้ว หากยังมีการให้ความร้อนต่อเป็นเวลานานจะทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเพิ่มขึ้นเป็นผลทำให้เกิดปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชัน ซึ่งจะทำให้ไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเกิดการสร้างพันธะระหว่างออกซิเจนกับคาร์บอน (-O-C-) ได้เป็นสารประกอบพอลิเมอร์ ทั้งชนิดโคเมอร์และพอลิเมอร์ แต่บางครั้งก็เกิดพันธะระหว่างคาร์บอนกับคาร์บอน (-C-C-) เช่น R-O-O-R, R-O-R และ R-R เป็นต้น (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2548) ซึ่งสารประกอบดังกล่าวส่งผลต่อความหนืดของน้ำมันเป็นผลทำให้ค่าความหนืดของน้ำมันจะเพิ่มขึ้นด้วยไมโครเวฟที่เวลา 9 นาที และเจียวแห้งที่อุณหภูมิสูงที่เวลา 60 นาที มีค่าความหนืดเท่ากับ 59.47 และ 61.51 เซนติพอยส์ ตามลำดับ น้ำมันจะสกัดด้วยวิธีเจียวแห้งที่อุณหภูมิต่ำเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการสกัดไม่มีผลต่อความหนืดอย่างแตกต่างระดับนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) โดยที่เวลาสกัด 60 นาที มีความหนืดเท่ากับ 57.87 เซนติพอยส์ ซึ่งใกล้เคียงกับน้ำมันจะสกัดด้วยวิธีเจียวไมโครเวฟที่เวลา 7 และ 8 นาที มีความหนืดเท่ากับ 58.08 และ 58.28 เซนติพอยส์ ตามลำดับ อย่างไรก็ตามไม่มีความแตกต่างของความหนืดในน้ำมันจะสกัดด้วยวิธีเจียวต่างกัน

### 4.3 การศึกษาชนิดกรดไขมันของน้ำมันจระเข้

จากการนำตัวอย่างน้ำมันจระเข้ที่สกัดได้ด้วยวิธีการเจียวจากตัวอย่างเนื้อเยื่อไขมันจระเข้สายพันธุ์ *Crocodylus siamensis* ในประเทศไทย มาวิเคราะห์องค์ประกอบชนิดกรดไขมันด้วยวิธี Gas Chromatography แสดงผลดังตารางที่ 4.6 ตรวจพบชนิดกรดไขมัน 36 ชนิด พบว่าน้ำมันจระเข้ที่สกัดได้มีปริมาณของชนิดกรดไขมันไม่อิ่มตัวแบบเชิงเดี่ยวและเชิงซ้อนสูง โดยชนิดกรดไขมันที่พบมากที่สุด คือ กรดโอเลอิก (C18:1) ร้อยละ 36.90 กรดลิโนเลอิก (C18:2) ร้อยละ 27.80 ซึ่งกรดไขมันดังกล่าวเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวจัดอยู่ในกลุ่มโอเมก้า 9 และ 6 ตามลำดับ และมีกรดไขมันอิ่มตัว คือ กรดปาล์มมิติก (C16:0) ร้อยละ 20.50 กรดไขมันที่กล่าวมาข้างต้นทำให้น้ำมันจระเข้มีจุดหลอมเหลวต่ำ จึงเป็นของเหลวที่อุณหภูมิห้อง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Li และคณะ (2012) ที่พบองค์ประกอบของกรดไขมันสามชนิดดังกล่าวเป็นองค์ประกอบหลักในจระเข้สายพันธุ์ *Crocodylus siamensis* แต่ปริมาณของกรดลิโนเลอิกมีค่าต่ำกว่าเท่ากับร้อยละ 11.74 อาจเป็นผลมาจากสุขภาพและอาหารการกินของสัตว์ซึ่งมีผลต่อองค์ประกอบของกรดไขมัน (Peplow *et al.*, 1990) ถึงแม้จะเป็นจระเข้ต่างสายพันธุ์แต่ก็มีกรดโอเลอิกและปาล์มมิติกที่พบเป็นส่วนใหญ่เช่นเดียวกับจระเข้สายพันธุ์ *Crocodylus siamensis* ยกตัวอย่างเช่น *Crocodylus niloticus* และ Alligator เป็นต้น (Ayalasomayajula *et al.*, 2011; Buthelezi *et al.*, 2012) นอกจากนี้องค์ประกอบชนิดกรดไขมันของน้ำมันจระเข้ที่ศึกษายังคล้ายคลึงกับน้ำมันพืชบางชนิด ยกตัวอย่างเช่น น้ำมันเมล็ดฝ้าย และน้ำมันถั่วลิสง เป็นต้น โดยน้ำมันเมล็ดฝ้ายมีปริมาณกรดโอเลอิกเท่ากับร้อยละ 25.7 กรดลิโนเลอิกร้อยละ 48.5 และกรดปาล์มมิติกร้อยละ 19.9 น้ำมันถั่วลิสงมีปริมาณกรดโอเลอิกเท่ากับร้อยละ 47.8 กรดลิโนเลอิกร้อยละ 29.2 และกรดปาล์มมิติกร้อยละ 13.3 (Abranham and Hron, 1992) อย่างไรก็ตามการนำน้ำมันจระเข้ที่มีองค์ประกอบของกรดไขมันชนิดกรดโอเลอิก กรดลิโนเลอิก และกรดปาล์มมิติก ที่พบมากที่สุดมาใช้ประโยชน์ในด้านเครื่องสำอาง หรือผลิตภัณฑ์ทางการแพทย์นั้นก่อให้เกิดประโยชน์มาก อันเนื่องมาจากกรดไขมันดังกล่าวอาจมีส่วนช่วยบำรุงผิวหนัง กระตุ้นการผลิตคอลลาเจนและอีลาสติน รวมไปถึงกระตุ้นการสร้างสารต้านการอักเสบได้อีกด้วย (Allayee *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2012)

ตารางที่ 4.6 เปรียบเทียบองค์ประกอบชนิดกรดไขมันของน้ำมันจระเข้สามสายพันธุ์

ชนิดกรดไขมัน	ปริมาณ (ร้อยละ)		
	ผลที่ได้	Ayalasomayajula และคณะ (2011)*	Buthelezi และคณะ (2012)**
Butyric acid (C4:0)	<0.008	-	-
Caproic acid (C6:0)	<0.008	-	-
Caprylic acid (C8:0)	0.06	-	-
Capric acid (C10:0)	0.18	-	-
Lauric acid (C12:0)	0.14	-	-
Tridecanoic acid (C13:0)	0.06	-	0.02
Myristic acid (C14:0)	0.42	1.27	1.15
Tetradeceneic acid (C14:1)	0.08	-	-
Pentadecanoic acid (C15:0)	0.07	-	0.25
Pentadecenoic acid (C15:1)	<0.008	-	-
Palmitic acid (C16:0)	20.5	23.30	15.44
Palmitoleic acid (C16:1)	3.50	12.11	3.14
Margaric acid (C17:0)	0.12	-	0.48
Margaroleic acid (C17:1)	<0.008	-	-
Stearic acid (C18:0)	5.53	5.30	1.36
trans-Elaidic acid (C18:1trans)	0.14	-	0.21
Oleic acid (C18:1, Omega-9)	36.9	55.54	19.59
trans9,12-Linolelaidicacid (C18:2trans)	<0.008	-	-
Linoleic acid (C18:2, Omega-6)	27.8	-	4.03
Arachidic acid (C20:0)	0.10	-	-
g-Linolenic acid (C18:3, Omega-6)	0.34	-	0.16
Eicosenoic acid (C20:1, Omega-9)	0.37	1.56	0.05
Linolenic acid (C18:3, ALA, Omega-3)	1.73	-	-
Heneicosanoic acid (C21:0)	0.04	-	-
Eicosadienoic acid (C20:2, Omega-6)	0.28	-	-
Behenic acid (C22:0)	0.06	-	-
Eicosatrienoic acid (C20:3, Omega-6)	0.55	0.28	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารลิขสิทธิ์สงวนไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้ไปใช้ประโยชน์อื่นใด

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 เปรียบเทียบองค์ประกอบชนิดกรดไขมันของน้ำมันจระเข้สามสายพันธุ์ (ต่อ)

ชนิดกรดไขมัน	ปริมาณ (ร้อยละ)		
	ผลที่ได้	Ayalasomayajula และคณะ (2011)*	Buthelezi และคณะ (2012)**
Erucic acid (C22:1, Omega-9)	0.03	-	<0.001
g-Eicosatrienoic acid (C20:3, Omega-3)	0.73	-	-
Arachidonic acid (C20:4, Omega-6)	<0.008	0.64	0.002
Tricosanoic acid (C23:0)	<0.008	-	-
Docosadienoic acid (C22:2, Omega-6)	<0.008	-	-
Lignoceric acid (C24:0)	0.02	-	1.34
Eicosapentaenoic acid (C20:5,EPA, Omega-3)	0.04	-	-
Nervonic acid (C24:1, Omega-9)	0.04	-	-
Docosahexaenoic acid (C22:6,DHA, Omega-3)	0.15	-	-
Monounsaturated Fat	40.9	-	-
Polyunsaturated Fat	31.6	-	-
Saturated Fat	27.3	-	-
Omega-3	1.95	-	-
Omega-6	29.7	-	-
Omega-9	37.4	-	-
Trans Fat	0.14	-	-

หมายเหตุ : ผลที่ได้ คีจายจระเข้สายพันธุ์ *Crocodylus siamensis*

\* คีจายจระเข้สายพันธุ์ Alligator

\*\* คีจายจระเข้สายพันธุ์ *Crocodylus niloticus*

- ไม่ได้รายงาน

#### 4.4 การศึกษาคุณสมบัติของน้ำมันจระเข้

การศึกษาผลผลิตและคุณสมบัติเคมีกายภาพของน้ำมันจระเข้จากแต่ละวิธีการสกัดที่มีระยะเวลาการสกัดแตกต่างกัน

ในวิธีการสกัดน้ำมันจระเข้ด้วยวิธีเจียวเปลือกผลผลิตที่ระยะเวลาการสกัด 240 นาที ให้ผลผลิตเท่ากับร้อยละ 50.03 แตกต่างอย่างมีระดับนัยสำคัญทางสถิติกับเวลา 300 และ 360 ตามลำดับ ( $p < 0.05$ ) ซึ่งผลผลิตที่น้อยกว่าระยะเวลาการสกัดอื่น แต่ผลของคุณภาพของน้ำมันนั้นดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับระยะเวลาการสกัดอื่น ซึ่งดูได้จากคุณสมบัติเคมีกายภาพของน้ำมันนั้น พบว่าไม่มีความแตกต่างของค่าความเป็นกรดและค่าความหนืดอย่างมีระดับนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) รวมทั้งระยะเวลาที่ 240 นาที มีค่าเปอร์ออกไซด์ไม่มีความแตกต่างกับระยะเวลาที่ 300 นาที อย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) และค่าสี โดยค่าความสว่าง ( $L^*$ ) มีค่าสูงสุด รวมทั้งค่าความเป็นสีเหลือง ( $b^*$ ) ต่ำสุดเท่ากับ 100.97 และ 33.12 ตามลำดับ ดังนั้นการเจียวที่ 300 หรือ 360 นาที จึงเป็นการเสียเวลาและสิ้นเปลืองพลังงาน ไม่คุ้มค่ากับผลผลิตที่เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย

วิธีการสกัดน้ำมันจระเข้ด้วยวิธีเจียวแห้ง ที่อุณหภูมิต่ำและอุณหภูมิสูง พบว่าผลของระยะเวลาในการสกัดไม่มีผลต่อปริมาณผลผลิต ค่าความเป็นกรด ค่าเปอร์ออกไซด์ ค่าความเป็นสีแดง ( $a^*$ ) ของน้ำมันที่สกัดได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีระดับนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) ซึ่งผลผลิตที่ใช้ระยะเวลาต่ำที่สุดเหมาะสมที่สุดเนื่องจากไม่เปลืองพลังงาน ใช้พลังงานในการสกัดต่ำกว่า นั่นคือระยะเวลาในการสกัดเท่ากับ 40 นาที

วิธีการสกัดน้ำมันจระเข้ด้วยวิธีเจียวด้วยไมโครเวฟ พบว่าระยะเวลาในการสกัดน้ำมันที่ให้ผลผลิตและคุณสมบัติเคมีกายภาพที่ดีที่สุดคือ ระยะเวลาเท่ากับ 8 นาที เนื่องจากระยะเวลาในการสกัดที่เวลา 9 นาทีถึงแม้จะมีผลผลิตที่สูง แต่ค่าความเป็นกรด ค่าเปอร์ออกไซด์ ค่าความหนืด มีค่าที่สูงอย่างมีความแตกต่างอย่างมีระดับนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) แสดงให้เห็นว่าน้ำมันถูกออกซิเดชันและไฮโดรไลซิสที่อุณหภูมิสูง รวมถึงเกิดสารประกอบพอลิเมอร์ ทำให้น้ำมันมีคุณภาพไม่ดี และถึงแม้ว่าระยะเวลาในการสกัดที่เวลา 7 นาที ให้ผลของคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำมันที่สกัดได้ไม่ต่างจากเวลาที่ 8 นาที อย่างมีระดับนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ยกตัวอย่างเช่น ค่าความเป็นกรด ค่าเปอร์ออกไซด์ เป็นต้น แต่ผลผลิตที่ปริมาณสูงกว่านั้นย่อมดีที่สุด

ดังนั้นระยะเวลาในการสกัดน้ำมันจระเข้ที่ให้ผลผลิตและคุณสมบัติทางเคมีกายภาพที่ดีที่สุดโดยการสกัดด้วยวิธีเจียวเปียก วิธีเจียวแห้งที่อุณหภูมิต่ำและสูง วิธีเจียวด้วยไมโครเวฟ ใช้ระยะเวลาในการสกัดเท่ากับ 240, 40 และ 8 นาที ตามลำดับ ซึ่งนำมาศึกษาคุณสมบัติของน้ำมันต่อไป

#### 4.4.1 ค่าไอโอดีน

ค่าไอโอดีน เป็นตัวบ่งชี้ว่าไขมันหรือน้ำมันมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวเป็นส่วนประกอบอยู่ในโมเลกุลมากหรือน้อย ถ้ามีค่าไอโอดีนสูง แสดงว่าไขมันหรือน้ำมันมีปริมาณกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเป็นส่วนประกอบมาก และจะเกิดการหืน (rancidity) แบบ lipid oxidation ได้ง่าย (นิธิยา รัตนานพนธ์, 2548) จากการทดลองวิเคราะห์ค่าไอโอดีนของน้ำมันจะเข้ที่สกัดได้ในแต่ละวิธี แสดงผลดังตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 ค่าไอโอดีน ค่าสปอนนิฟิเคชัน และค่าความคงตัวของน้ำมันด้วยวิธี Rancimat ของน้ำมันจะเข้แต่ละวิธีการสกัด

วิธีการเจียว	เวลาที่ใช้สกัด (นาท)	ค่าไอโอดีน	ค่าสปอนนิฟิเคชัน <sup>ns</sup>	ระยะเวลาความคงทน
				ต่อการเกิด ออกซิเดชัน (ชั่วโมง)
เจียวเปียก	240	88.55±1.71 <sup>b</sup>	184.49±1.36	0.53±0.21 <sup>c</sup>
เจียวแห้ง ที่อุณหภูมิต่ำ (100±0.6 °C)	40	89.73±5.17 <sup>b</sup>	185.05±1.72	0.88±0.18 <sup>b</sup>
เจียวแห้ง ที่อุณหภูมิสูง (132±0.6 °C)	40	91.20±0.71 <sup>b</sup>	184.43±4.47	1.18±0.12 <sup>b</sup>
เจียวด้วย ไมโครเวฟ	8	98.19±0.58 <sup>a</sup>	185.99±1.43	1.80±0.15 <sup>a</sup>

หมายเหตุ : <sup>a-b</sup> หมายถึง ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์ของแต่ละวิธีการสกัดที่มีตัวอักษรที่ต่างกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

<sup>ns</sup> หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ )

พบว่าค่าไอโอดีนของน้ำมันจะเข้ที่สกัดโดยวิธีเจียวด้วยไมโครเวฟที่เวลา 8 นาที มีค่าสูงสุดเท่ากับ 98.19 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีเจียวอื่น ซึ่งความแตกต่างของค่าไอโอดีนดังกล่าว เกิดจากออกซิเจนเข้าไปทำปฏิกิริยากับไฮโดรคาร์บอนที่ไม่อิ่มตัวในน้ำมันตรงตำแหน่งพันธะคู่ ซึ่งเรียกปฏิกิริยานี้ว่า ปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยความร้อนจะเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาทำให้พันธะคู่เกิดการแตกออกเกิดเป็นสารประกอบไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (ROOH) ซึ่งเป็นสารประกอบที่ไม่คงสภาพ (Cuesta *et al.*, 1991) ในทางตรงกันข้ามน้ำมันจะเข้ที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้เผยแพร่เชิงพาณิชย์  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เวลานาน ทำให้โอกาสเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันมีมาก ปฏิกิริยาทำให้พันธะคู่แตกออก เมื่อจำนวนพันธะคู่ในโมเลกุลน้ำมันลดลงจะทำให้ค่าไอโอดีนที่วัดได้มีค่าลดลง เช่นเดียวกับค่าไอโอดีนของน้ำมันที่สกัดด้วยวิธีเจียวแห้งที่อุณหภูมิต่ำและสูง ซึ่งไม่มีความแตกต่างของค่าไอโอดีนกับวิธีเจียวเปียกอย่างมีระดับนัยสำคัญทางสถิติ ( $p>0.05$ ) ซึ่งค่าไอโอดีนของน้ำมันจระเข้ที่สกัดด้วยวิธีเจียวที่แตกต่างกันนั้นมีค่าไอโอดีนอยู่ในช่วง 88.55-98.19 สอดคล้องกับงานวิจัยของ Gunstone และ Russell (1954) ที่ศึกษาค่าไอโอดีนของน้ำมันจระเข้สายพันธุ์ *Crocodylus porosus* และ *Crocodylus niloticus* พบว่ามีค่าไอโอดีนเท่ากับ 80.5 และ 93.3 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าวิธีการสกัดเป็นปัจจัยที่ทำให้ค่าไอโอดีนมีโอกาสต่างกันได้

#### 4.4.3 ค่าสaponification value

ค่าสaponification value เป็นตัวชี้บ่งขนาดของโมเลกุล หรือน้ำหนักโมเลกุลของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบในโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ ซึ่งถ้าไตรกลีเซอไรด์ประกอบด้วยกรดไขมันสายสั้น จะทำให้มีค่าสaponification value สูง ในทำนองเดียวกันถ้าค่าสaponification value ต่ำแสดงว่ากรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบในโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์มีน้ำหนักโมเลกุลมาก (นิธิยา รัตนานพนนท์, 2548) จากตารางที่ 4.7 โดยค่าสaponification value ของน้ำมันจระเข้ที่เจียวด้วยวิธีแตกต่างกัน ได้แก่ วิธีเจียวเปียก เจียวแห้งที่อุณหภูมิต่ำและสูง วิธีเจียวด้วยไมโครเวฟ ไม่มีความแตกต่างกันของค่าสaponification value อย่างมีระดับนัยสำคัญทางสถิติ ( $p>0.05$ ) ซึ่งค่าดังกล่าวอยู่ในช่วง 184.43-185.99 มิลลิกรัมโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ต่อน้ำมัน 1 กรัม และมีรายงานของงานวิจัยของ Gunstone และ Russell (1954) ที่ศึกษาค่าสaponification value ของน้ำมันจระเข้สายพันธุ์ *Crocodylus porosus* และ *Crocodylus niloticus* พบว่ามีค่าสaponification value เท่ากับ 278.9 และ 283.2 ตามลำดับ ดังนั้นสายพันธุ์จระเข้เป็นปัจจัยที่ทำให้ค่าสaponification value มีโอกาสต่างกันได้

#### 4.4.2 ค่าความคงตัวของน้ำมันด้วยวิธี Rancimat

ผลของน้ำมันจระเข้ที่สกัดด้วยวิธีเจียวเปียก เจียวแห้งที่อุณหภูมิต่ำและสูง และเจียวด้วยไมโครเวฟ มาวิเคราะห์ค่าระยะเวลาความคงทนต่อการเกิดออกซิเดชัน ด้วยวิธี Rancimat โดยเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมัน โดยการให้ความร้อนและอากาศเข้าไปในตัวอยางน้ำมันจระเข้ เพื่อทำให้เกิดการแตกตัวของไขมัน และเกิดสารประกอบในรูป volatile acids ที่เป็นผลจากการออกซิเดชัน สารประกอบดังกล่าวจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงค่าการนำไฟฟ้าของน้ำกลั่น เมื่อสิ้นสุดปฏิกิริยาจะประมวลออกมาเป็นกราฟโดยอัตโนมัติ ซึ่งรายงานเสถียรภาพต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นค่า induction time (period) หรือ Oil Stability Index (OSI) ดังแสดงในตารางที่ 4.7 พบว่าน้ำมันจระเข้ที่สกัดด้วยวิธีเจียวไมโครเวฟมีความคงตัวต่อการเกิดออกซิเดชันมากที่สุด รองลงมาคือเจียวแห้งที่อุณหภูมิสูง เจียวแห้งที่อุณหภูมิต่ำ และเจียวเปียก มีค่าเท่ากับ 1.80, 1.18, 0.88 และ 0.53 ชั่วโมง ตามลำดับ

ค่าความคงตัวของน้ำมันบ่งบอกถึงการเสื่อมเสียของน้ำมัน เนื่องจากเกิดปฏิกิริยาทางเคมี เช่น ปฏิกิริยาออกซิเดชัน ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส และปฏิกิริยาพอลิเมอร์ไรเซชัน (Chang *et al.*, 1978) ซึ่งน้ำมันจะแข็งที่สกัดด้วยวิธีเจียวเปียกที่ระยะเวลาสกัด 240 นาที มีค่าความคงตัวน้อยที่สุด แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) สาเหตุมาจากระยะเวลาในการสกัดน้ำมันค่อนข้างนาน ทำให้ปฏิกิริยาระหว่างออกซิเจนกับพันธะคู่ไตรกลีเซอไรด์ที่มีโอกาสเกิดมาก และมีความร้อนเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา รวมถึงน้ำที่ใช้ในการให้ความร้อนของวิธีเจียวเปียกนั้นก็ปัจจัยในการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส ซึ่งสารประกอบที่ได้จากปฏิกิริยาออกซิเดชันคือ สารประกอบไฮโดรเปอร์ออกไซด์ ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ปฐมภูมิ มีคุณสมบัติไม่เสถียร สามารถเปลี่ยนแปลงต่อไปให้ผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์ คีโตน แอลดีไฮน์ ไฮโดรคาร์บอน ซึ่งผลิตภัณฑ์ดังกล่าวเป็นสารประกอบสลายตัวระเหยได้ (volatile decomposed products) (Lomanno and Nawar, 1982) สามารถเปลี่ยนแปลงค่านำไฟฟ้าเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ส่งผลให้ค่าระยะเวลาเสถียรภาพต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันต่ำ จึงเป็นสาเหตุให้น้ำมันจะแข็งที่สกัดด้วยวิธีเจียวเปียกมีอายุการเก็บรักษาต่ำเมื่อเทียบกับน้ำมันจะแข็งที่สกัดด้วยวิธีอื่น

นอกจากนี้สารต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันจะมีส่วนช่วยเพิ่มความคงตัว และชะลอการเสื่อมเสียของน้ำมันที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ การสกัดน้ำมันจะแข็งด้วยวิธีเจียวแห้งที่อุณหภูมิต่ำและสูง และเจียวด้วยไมโครเวฟ อาจเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด ซึ่งเป็นปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลระหว่าง reducing sugar กับ amino group ของโปรตีนในไขมันจะแข็ง โดยมีความร้อนเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ให้สารประกอบรีดักโตน (reductone) และเมลานอยดิน (melanoidins) ซึ่งมีความสามารถในการต้านการเกิดออกซิเดชันได้ (Eichner, 1981; Yamaguchi *et al.*, 1981) และสามารถแยกจับกับโลหะหนัก และลดสารประกอบไฮโดรเปอร์ออกไซด์ที่เป็น non-radical product ได้อีกด้วย (Kajimoto and Yoshida, 1975; Gomyo and Horikoshi, 1976; Eichner, 1981)

#### 4.4.4 สมบัติทางความร้อนของน้ำมันจะแข็ง

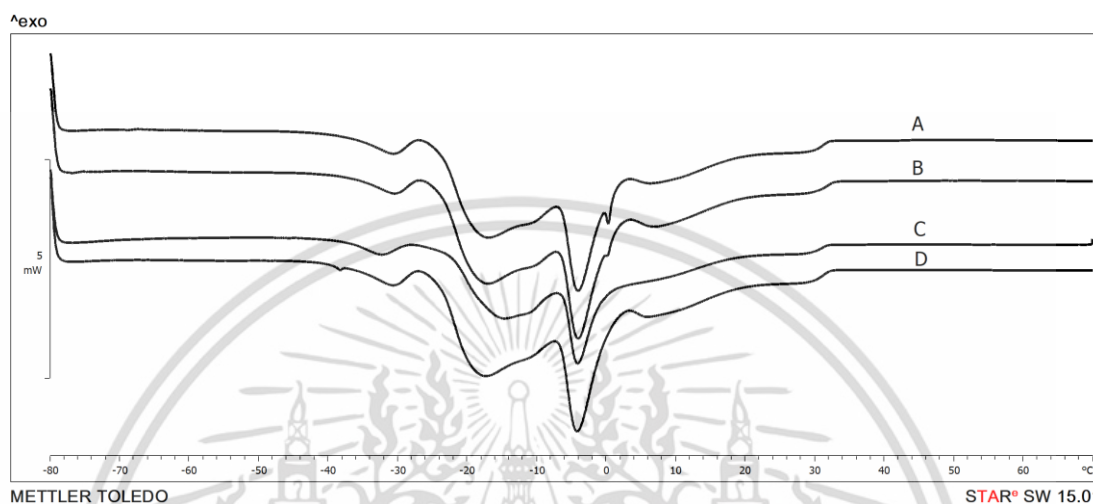
ในการศึกษาสมบัติทางความร้อนของน้ำมันจะแข็ง ตรวจวัดด้วยวิธี Differential scanning calorimetry (DSC) โดยศึกษาในช่วงอุณหภูมิ -80 ถึง 70 องศาเซลเซียส (อัตรา 5 องศาเซลเซียสต่อนาที) ของน้ำมันจะแข็งจากการสกัดโดยวิธีเจียวเปียกเวลาในการสกัด 240 นาที เจียวแห้งที่อุณหภูมิต่ำและอุณหภูมิสูงเวลาในการสกัด 40 นาที และเจียวด้วยไมโครเวฟเวลาในการสกัด 8 นาที แสดงพีการดูดความร้อน (Endotherm) และการคายความร้อน (Exotherm) ดังภาพที่ 4.1 และ 4.2 ตามลำดับ ซึ่งแสดงถึงการใช้พลังงานในการหลอมละลายผลึกและการตกผลึกของน้ำมัน สามารถวิเคราะห์อุณหภูมิเริ่มเกิดการหลอมเหลว (onset temperature;  $T_{OM}$ ) และอุณหภูมิเริ่มการตกผลึก (onset temperature;  $T_{OC}$ ) อุณหภูมิสูงสุดในการเกิดการหลอมเหลว (summit of melting peak;  $T_{PM}$ ) และอุณหภูมิสูงสุดในการเกิดผลึก (summit of crystallization peak ;  $T_{PC}$ ) อุณหภูมิสุดท้ายของ

การเกิดการหลอมเหลว (offset temperature;  $T_{FM}$ ) และเกิดผลึก (offset temperature;  $T_{FC}$ ) พลังงานในการเกิดการหลอมเหลวและเกิดผลึก (Enthalpy) แสดงผลสรุปดังตารางที่ 4.8 และตารางที่ 4.9

การเปลี่ยนแปลงสถานะของไขมันหรือน้ำมันที่สำคัญ คือ จุดหลอมเหลว กล่าวคือ อุณหภูมิที่ทำให้ไขมันเปลี่ยนสถานะจากของแข็งเป็นของเหลวทั้งหมด ไขมันส่วนใหญ่มีจุดหลอมเหลวเป็นช่วงอุณหภูมิ อาจเป็นช่วงกว้างหรือแคบขึ้นอยู่กับชนิดของไตรกลีเซอไรด์ที่เป็นส่วนประกอบของไขมัน (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2548) จากภาพที่ 4.1 พบว่าน้ำมันจระเข้ที่อยู่ในสถานะที่มีอุณหภูมิต่ำ (-80 องศาเซลเซียส) เมื่อให้ความร้อนเพิ่มขึ้นจะเริ่มเกิดการหลอมเหลวของน้ำมัน ( $T_{OM}$ ) ที่อุณหภูมิช่วง -37.84 ถึง -36.76 องศาเซลเซียส ซึ่งวิธีการสกัดที่แตกต่างกันมีผลทำให้ค่าดังกล่าวมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) และหลอมเหลวเป็นของเหลวทั้งหมด ( $T_{FM}$ ) ช่วงอุณหภูมิ 31.94 ถึง 32.86 องศาเซลเซียส ซึ่งน้ำมันจระเข้ที่สกัดด้วยวิธีเจียวแห้งที่อุณหภูมิสูงที่สกัดด้วยเวลา 40 นาที มีพลังงานที่ใช้ในการเกิดการหลอมเหลวต่ำสุดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับน้ำมันจระเข้ที่สกัดโดยวิธีเจียวอื่น ( $p < 0.05$ ) เท่ากับ 66.72 จูล/กรัม ความแตกต่างของอุณหภูมิเริ่มเกิดการหลอมเหลวและอุณหภูมิสุดท้ายของการเกิดการหลอมเหลวดังกล่าวที่แตกต่างกัน อันเนื่องมาจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในขั้นตอนการสกัดน้ำมัน ซึ่งทำลายพันธะคู่ เกิดการแตกของพันธะ และเกิด โพลีเมอร์ไรเซชัน ส่งผลให้ความยาวของกรดไขมัน กิ่งก้านของกรดไขมัน และความไม่อิ่มตัวของกรดไขมันที่มีผลต่อจุดหลอมเหลว (Cuesta *et al.*, 1991; Timilsena *et al.*, 2017) โดยงานวิจัยของ Osthoff และคณะ (2010) ที่ศึกษาจุดหลอมเหลวของน้ำมันจระเข้จากเนื้อเยื่อไขมันและไขมันในมัดกล้ามเนื้อของจระเข้เลี้ยงและจระเข้ที่พบตามธรรมชาติสายพันธุ์ *Crocodylus niloticus* มีค่าจุดหลอมเหลวประมาณ 33 ถึง 36 องศาเซลเซียส ผลของจุดหลอมเหลวที่หลอมเหลวเป็นของเหลวทั้งหมด ( $T_{FM}$ ) ของน้ำมันจระเข้สายพันธุ์ *Crocodylus siamensis* ที่สกัดได้อยู่ในช่วงดังกล่าว เท่ากับ 31.94 ถึง 32.86 องศาเซลเซียส และงานวิจัยของ Timilsena และคณะ (2017) อธิบายถึงจำนวนพีคของกราฟการหลอมเหลวที่บ่งบอกถึงกลุ่มของไตรกลีเซอไรด์ สนวนกับงานวิจัยของ Osthoff และคณะ (2010) อธิบายถึงพีคของกราฟการหลอมเหลวอุณหภูมิต่ำกว่า 1-7 องศาเซลเซียส เกิดจากการหลอมละลายของผลึกที่ประกอบไปด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (polyunsaturated fatty acids) ที่อยู่ในรูปแอลฟา ( $\alpha$ -form) ซึ่งเป็นผลึกที่มีความเสถียรน้อยที่สุด ถ้าอุณหภูมิสูงกว่าอุณหภูมิดังกล่าว จะแสดงถึงการหลอมละลายของกรดไขมันอิ่มตัว (saturated fatty acids) กรด โอเลอิก (18:1) หรือกรดโอเลอิกที่รวมตัวกับกรดปาล์มมิติก (16:0) ที่อยู่ในรูปแอลฟาแบบละเอียด (soft  $\alpha$ -form) หรือเบต้าไพรม ( $\beta$  form) แสดงให้เห็นว่าน้ำมันจระเข้มีส่วนประกอบของไตรเอซิลกลีเซอไรด์หลายชนิด ดังภาพที่ 4.1 จุดหลอมเหลวของน้ำมันขึ้นอยู่กับ ความยาวของกรดไขมัน กิ่งก้านของกรดไขมัน และความไม่อิ่มตัวของกรดไขมัน ซึ่งโดยทั่วไปจุดหลอมเหลวของกรดไขมันเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความยาวของกรดไขมันและลดลงจากการเพิ่มขึ้นของความไม่อิ่มตัวของกรดไขมัน (Formo, 1979; Osthoff *et al.*, 2010; Timilsena *et al.*, 2017) ซึ่งน้ำมันจระเข้ที่สกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้ด้วยวิธีการเจียวแตกต่างกันดังกล่าว พบว่าช่วงจุดหลอมเหลวนั้นต่ำและกว้าง เนื่องจากมีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวอยู่เป็นจำนวนมากและประกอบด้วยชนิดไตรกลีเซอไรด์ที่หลากหลาย ซึ่งอุณหภูมิการเกิดการหลอมเหลวนั้นไม่ได้ขึ้นอยู่กับประเภทของกรดไขมันหรือน้ำมันอย่างเดียว แต่ขึ้นอยู่กับต้นกำเนิดของลิพิด และกระบวนการสกัดน้ำมัน (Hagemann, 1988)



ภาพที่ 41 เทอร์โมแกรมสมบัติทางความร้อนการหลอมเหลวของน้ำมันจะแช่สกัดด้วยวิธีเจียวเปียก ใช้เวลาสกัด 240 นาที (A) ด้วยวิธีเจียวแห้งอุณหภูมิต่ำ (B) และสูง (C) ใช้เวลาสกัด 40 นาที และด้วยวิธีเจียวไมโครเวฟ ใช้เวลาในการสกัด 8 นาที (D)

เมื่อทำให้น้ำมันจะแช่เย็นลงจนถึงอุณหภูมิที่เปลี่ยนสถานะกลายเป็นของแข็ง แสดงสมบัติทางความร้อนดังภาพที่ 4.2 และสรุปผลดังตารางที่ 4.9 พบว่าจุดเริ่มต้นการเกิดผลึกของน้ำมันจะแช่ที่ศึกษาอยู่ในช่วง 7.70 ถึง 8.32 องศาเซลเซียส และเกิดผลึกโดยสมบูรณ์ที่อุณหภูมิช่วง -61.96 ถึง -61.19 องศาเซลเซียส จุดเริ่มต้นของการตกผลึกโดยมีการจัดเรียงตัวใหม่ของโมเลกุลและการสิ้นสุดของการตกผลึกนั้น เกิดจากการรวมและการบีบอัดของโมเลกุล (Tan and Che Man, 2002) โดยความสามารถของน้ำมันในการตกผลึกให้เกิดรูปร่างของผลึกที่แตกต่างกันนั้น เรียกว่า polymorphism การเกิดผลึกของไขมันเป็นแบบตาข่าย 3 มิติ เกาะกันด้วยแรง van der Waals เป็น weak bond (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2548) ซึ่งพลังงานในการเกิดผลึกน้อยกว่าการหลอมเหลว พลังงานในการเกิดผลึกอยู่ในช่วง 60.83-65.67 จูล/กรัม (ดังตารางที่ 4.9) โดยชนิดและปริมาณกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบในโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมัน มีผลโดยตรงต่อจุดหลอมเหลว และจุดแข็งตัวของน้ำมัน (Osthoff *et al.*, 2010)

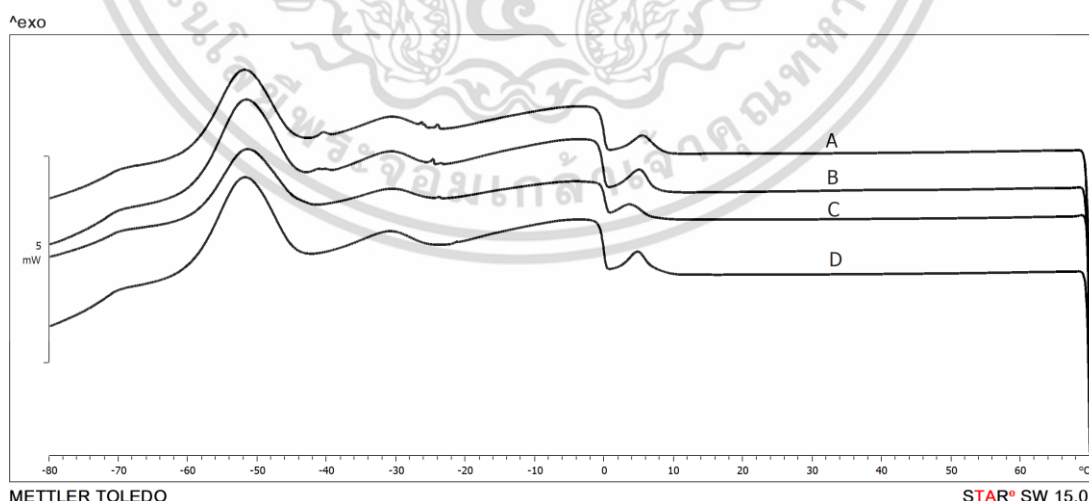
ตารางที่ 4.8 ผลการศึกษาสมบัติทางความร้อนการเกิดการหลอมเหลว (Melting) ของน้ำมันจระเข้

วิธีการสกัด	เวลาที่ ใช้สกัด (นาท)	อุณหภูมิการหลอมเหลว			พลังงานใน การเกิด หลอมเหลว (J/g)
		T <sub>OM</sub>	T <sub>PM</sub> <sup>ns</sup>	T <sub>FM</sub>	
เจียวเปียก	240	-37.84±0.38 <sup>b</sup>	-4.11±0.13	32.10±0.18 <sup>b</sup>	73.58±2.19 <sup>a</sup>
เจียวแห้ง ที่อุณหภูมิต่ำ (100±0.6 °C)	40	-36.76±0.38 <sup>a</sup>	-4.14±0.17	32.82±0.32 <sup>a</sup>	70.53±2.44 <sup>ab</sup>
เจียวแห้ง ที่อุณหภูมิสูง (132±0.6 °C)	40	-37.57±0.46 <sup>b</sup>	-3.86±0.27	31.94±0.44 <sup>b</sup>	66.72±2.51 <sup>c</sup>
เจียวด้วย ไมโครเวฟ	8	-37.59±0.57 <sup>b</sup>	-3.94±0.40	32.86±0.41 <sup>a</sup>	74.35±3.10 <sup>a</sup>

หมายเหตุ : T<sub>OM</sub> = onset temperature, T<sub>PM</sub> = peak temperature, T<sub>FM</sub> = offset temperature

<sup>a-c</sup> หมายถึง ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์ของแต่ละวิธีการสกัดที่มีตัวอักษรที่ต่างกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p≤0.05)

<sup>ns</sup> หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05)



ภาพที่ .42 เทอร์โมแกรมสมบัติทางความร้อนการตกผลึกของน้ำมันจระเข้สกัดด้วยวิธีเจียวเปียกใช้เวลากัด 240 นาที (A) ด้วยวิธีเจียวแห้งอุณหภูมิต่ำ (B) และสูง (C) ใช้เวลากัด 40 นาที และด้วยวิธีเจียวไมโครเวฟ ใช้เวลาในการสกัด 8 นาที (D)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.9 ผลการศึกษาสมบัติทางความร้อนการเกิดการตกผลึก (Crystallization) ของน้ำมันจระเข้

วิธีการสกัด	เวลาที่ ใช้สกัด (นาทีก)	อุณหภูมิการเกิดผลึก			พลังงานใน การเกิดผลึก (J/g)
		T <sub>OC</sub> <sup>ns</sup>	T <sub>PC</sub> <sup>ns</sup>	T <sub>FC</sub> <sup>ns</sup>	
เจียวเปียก	240	7.83±0.69	-51.86±0.13	-61.96±0.50	64.82±2.68 <sup>a</sup>
เจียวแห้ง ที่อุณหภูมิต่ำ (100±0.6 °C)	40	7.70±0.50	-51.28±0.39	-61.50±0.30	65.67±4.67 <sup>a</sup>
เจียวแห้ง ที่อุณหภูมิสูง (132±0.6 °C)	40	8.32±1.12	-52.14±0.70	-60.76±1.05	63.90±4.74 <sup>a</sup>
เจียวด้วย ไมโครเวฟ	8	7.81±0.40	-52.17±0.52	-61.19±1.44	60.83±2.71 <sup>a</sup>

หมายเหตุ : T<sub>OC</sub> = onset temperature, T<sub>PC</sub> = peak temperature, T<sub>FC</sub> = offset temperature

<sup>a</sup> หมายถึง ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์ของแต่ละวิธีการสกัดที่มีตัวอักษรที่ต่างกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

<sup>ns</sup> หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ )

การศึกษาพฤติกรรมการเปลี่ยนแปลงทางความร้อนของน้ำมันหรือไขมันที่แตกต่างกันนั้น ช่วยทำให้การนำไปใช้น้ำมันจระเข้มีทิศทางที่ถูกต้องเหมาะสม ซึ่งในโรงงานหรือห้องปฏิบัติการอาจมีการเพิ่มส่วนผสมจำพวกน้ำมันจระเข้ในขั้นตอนกระบวนการผลิต การเพิ่มส่วนผสมที่ไม่อยู่ในอุณหภูมิที่เหมาะสม อาจทำให้เกิดอนุภาคที่ไม่ต้องการได้ รวมไปถึงลักษณะที่เกิดขึ้นในระหว่างการเก็บรักษาน้ำมันจระเข้ (Heussen, 2011)

#### 4.4.5 คุณสมบัติการต้านออกซิเดชัน

การวิเคราะห์คุณสมบัติต้านออกซิเดชัน หรือคุณสมบัติการเป็นตัวจับอนุมูลอิสระ (free radical scavenger) ด้วยวิธี DPPH และ ABTS รวมถึงการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด แสดงผลดังตารางที่ 4.10 พบว่าน้ำมันจระเข้ที่สกัดโดยวิธีเจียวด้วยไมโครเวฟที่เวลา 8 นาที เป็นน้ำมันที่กำจัดอนุมูลอิสระชนิดเปอร์ออกซิไดส์ บ่งบอกได้จากการวัดความสามารถในการยับยั้งอนุมูล ABTS<sup>•+</sup> และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูง เท่ากับ 44.93 ไมโครโมลโทรลอกซ์ ต่อ 100 กรัมของตัวอย่าง และ 363.51 มิลลิกรัมกรดแกลลิก ต่อ 100 กรัมของตัวอย่าง ตามลำดับ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประกอบด้วยผลิตภัณฑ์หรือสารประกอบที่ได้จากปฏิกิริยามอลดาร์ด์ในขั้นตอนการสกัดน้ำมันด้วยอุณหภูมิสูง ได้แก่ สารประกอบ reductone และ melanoidins ซึ่งมีความสามารถในการต้านการเกิดออกซิเดชันได้เป็นอย่างดี (Eichner, 1981; Yamaguchi *et al.*, 1981) รวมทั้งสารประกอบฟีนอลิกที่มีคุณสมบัติยับยั้งอนุมูลอิสระที่สามารถละลายในน้ำมัน ได้แก่ โทโคฟีรอล ยูบิควิโนน และแคโรทีนอยด์ โดยสัตว์จะสะสมวิตามินอีหรือโทโคฟีรอล ไว้ในชั้นไขมันภายใต้ผิวหนัง เนื้อเยื่อไขมัน และน้ำมัน ซึ่งการสกัดโดยการให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูง ทำให้เนื้อเยื่อไขมันแตก ส่งผลทำให้สารดังกล่าวที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่อยู่ภายในออกมามากในขั้นตอนการสกัด (ฉันทานนท์, 2553)

ตารางที่ 4.10 ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH (ไมโครโมลโทรลอกซ์ ต่อ 100 กรัมของตัวอย่าง) ABTS (ไมโครโมลโทรลอกซ์ ต่อ 100 กรัมของตัวอย่าง) และปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (มิลลิกรัมกรดแกลลิก ต่อ 100 กรัมของตัวอย่าง) ของน้ำมันจระเข้

วิธีการสกัด	เวลาที่ใช้สกัด (นาที)	การต้านออกซิเดชัน		Total phenolic contents (mgGAE/100goil)
		DPPH ( $\mu$ MTE/100goil)	ABTS ( $\mu$ MTE/100goil)	
เจียวเปียก	240	30.71 $\pm$ 2.16 <sup>a</sup>	15.32 $\pm$ 4.71 <sup>b</sup>	275.78 $\pm$ 5.07 <sup>b</sup>
เจียวแห้งที่อุณหภูมิต่ำ (100 $\pm$ 0.6 °C)	40	21.86 $\pm$ 0.31 <sup>b</sup>	9.96 $\pm$ 1.95 <sup>b</sup>	296.25 $\pm$ 22.08 <sup>b</sup>
เจียวแห้งที่อุณหภูมิสูง (132 $\pm$ 0.6 °C)	40	17.91 $\pm$ 1.12 <sup>c</sup>	11.09 $\pm$ 2.24 <sup>b</sup>	278.70 $\pm$ 5.07 <sup>b</sup>
เจียวด้วยไมโครเวฟ	8	17.71 $\pm$ 0.60 <sup>c</sup>	44.93 $\pm$ 4.4 <sup>a</sup>	363.51 $\pm$ 36.53 <sup>a</sup>

หมายเหตุ : <sup>a-c</sup> หมายถึง ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์ของแต่ละวิธีการสกัดที่มีตัวอักษรที่ต่างกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

<sup>ns</sup> หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ )

สอดคล้องกับงานวิจัยของ Xu (1994) พบว่าปริมาณแอลฟา-โทโคฟีรอล และแกมมา-โทโคฟีรอลในเนื้อเยื่อไขมัน (adipose fat) มีค่าสูงสุดเมื่อเทียบกับตับ หัวใจ และกล้ามเนื้อลาย โดยมีค่าดังกล่าวประมาณ 7.6 และ 3.1 มิลลิกรัมโทโคฟีรอลต่อกิโลกรัมของเนื้อเยื่อตัวอย่าง ซึ่งแหล่งของเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิตามินอีหรือโทโคฟีรอลที่จะเข้าสู่ได้รับมาจากอาหาร โดยส่วนใหญ่จะเข้จากปลาหรือเนื้อสัตว์ เป็นอาหาร (Osthoff *et al.*, 2010) แต่จะเห็นว่าผลของน้ำมันจะเข้ที่สกัดโดยวิธีเจียวเปียกที่เวลา 240 นาที สามารถกำจัดอนุมูลอิสระโดยให้ไฮโดรเจนอะตอมกับ DPPH ได้ดี มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดเท่ากับ 30.71 ไมโครโมลโทรลอกซ์ ต่อ 100 กรัมของตัวอย่าง ซึ่งไม่สอดคล้องกับการวิเคราะห์ ABTS และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เนื่องมาจากการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ใช้ตัวทำละลายเอทิลอะซิเตทเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขี้ แต่จะมีความเป็นขี้้นน้อยกว่าเมื่อเทียบกับเอทานอลและเมทานอล จึงสามารถสกัดสารสำคัญที่เป็นพวก non polar และ polar ที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งอนุมูลอิสระซึ่งเป็นองค์ประกอบในน้ำมันจะเข้ได้ในปริมาณที่มากกว่า (อรพิน โคมุติบาล, 2557) รวมทั้งการสกัดเนื้อเยื่อไขมันจะเข้ด้วยวิธีเจียวเปียกนั้นสามารถสกัดสารที่เป็น polar ออกมาได้มากเนื่องจากใช้น้ำในการสกัด สอดคล้องกับงานวิจัยของ Dasgupta และคณะ (2004) ที่กล่าวว่า สารที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีหลายชนิดทั้งมีขี้และไม่มีขี้ ค่าในการวิเคราะห์คุณสมบัติการต้านออกซิเดชันด้วยเทคนิค DPPH และ ABTS จึงไม่จำเป็นต้องสอดคล้องกัน นอกจากนี้มีงานวิจัยของ Huang และคณะ (2015) เมื่อวิเคราะห์คุณสมบัติต้านออกซิเดชันด้วยเทคนิค DPPH ของน้ำมันจะเข้จากเนื้อเยื่อไขมันจะเข้แม่น้ำไนล์ พบว่าการสกัดน้ำมันจะเข้ด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกันมีผลต่อคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันของน้ำมัน ซึ่งสกัดด้วย 50% ของไดคลอโรมีเทนผสมกับ 46.7% เมทานอล มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันมากกว่า (77.5%) สกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ (56.0%)

#### 4.4.6 คุณสมบัติการยับยั้งการเจริญเชื้อ *Staphylococcus aureus* ของน้ำมันจะเข้

น้ำมันจะเข้สายพันธุ์ *Crocodylus siamensis* ซึ่งสกัดด้วยวิธีที่แตกต่างกัน 4 วิธี คือ 1) เจียวเปียกที่เวลา 240 นาที 2) เจียวแห้งอุณหภูมิต่ำที่เวลา 40 นาที 3) เจียวแห้งที่อุณหภูมิสูงที่เวลา 40 นาที และ 4) เจียวด้วยไมโครเวฟที่เวลา 8 นาที มาศึกษาความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ที่ระดับความเข้มข้นของน้ำมันร้อยละ 0, 15, 25, 35 และ 45 ทดสอบโดยคัดแปลงจากวิธีไมโครเพลท (microplate) ของ Eloff (1998) และ Buthelezi และคณะ (2012) ได้ผลแสดงดังตารางที่ 4.11 พบว่าน้ำมันจะเข้ที่สกัดด้วยวิธีการเจียวแตกต่างกันนั้น มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ได้เติมน้ำมันจะเข้ ทิศการเจริญของเชื้อ *S. aureus* เท่ากับร้อยละ 100 พบว่าวิธีการสกัดน้ำมันจะเข้ที่ให้คุณสมบัติของน้ำมันมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้ดีที่สุด คือ วิธีเจียวด้วยไมโครเวฟที่ใช้เวลาในการสกัด 8 นาที และวิธีเจียวเปียกใช้เวลาในการสกัด 240 นาที ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 25 ให้ผลยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ลดลงเท่ากับร้อยละ 48.99 และ 52.06 ตามลำดับ ซึ่งในงานวิจัยของ Buthelezi และคณะ (2012) พบว่าน้ำมันจะเข้สายพันธุ์

*Crocodylus niloticus* สามารถยับยั้งการเจริญเชื้อ *S. aureus* ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 15 ยับยั้ง

การเจริญได้เท่ากับร้อยละ 58.4 โดยน้ำมันที่นำมาทดสอบใช้คลอโรฟอร์มต่อเมทานอลในอัตราส่วนเท่ากับ 2:1 เป็นตัวทำละลายในการสกัด

การยับยั้งกิจกรรมของเชื้อ *S. aureus* เป็นผลเนื่องมาจากกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบอยู่ในไตรเอซิลกลีเซอรอลของน้ำมันจระเข้ คือ กรดคาปริก กรดไมริสติก กรดไมริสโตเลอิก กรดปาล์มมิโตเลอิก และกรดลิโนเลนิก (Kabara *et al.*, 1972) โดยกรดไขมันจะเข้าเป็นส่วนหนึ่งของเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียและทำลายเสถียรภาพของเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์อ่อนแอลง นอกจากนี้ยังมีผลต่อการหายใจระดับเซลล์โดยยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในการดูดซึมออกซิเจน (Galbraith and Miller, 1973) และยับยั้งการขนส่งของกรดอะมิโนเข้าสู่เซลล์ (Gale and Folkes, 1976) นอกจากนี้การสกัดน้ำมันจระเข้ด้วยวิธีเจียวด้วยไมโครเวฟ เป็นการสกัดโดยใช้อุณหภูมิสูง (ประมาณ 238 องศาเซลเซียส) ส่งผลต่อการเกิดปฏิกิริยามอลาร์คของเนื้อเยื่อไขมันจระเข้ ก่อให้เกิดผลิตภัณฑ์หรือสารประกอบสีน้ำตาล ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงได้ ยกตัวอย่างเช่น เฮเทอโรไซคลิกเอมีน (heterocyclic amines) และ เมลานอยดิน (melanoidins) (Tamanna and Mahmood, 2015; Morales *et al.*, 2010) ซึ่งสารประกอบดังกล่าวมีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ โดยสามารถสร้างความเสียหายของการทำงานและทำลายความสามารถซึมผ่านของเยื่อหุ้มเซลล์ (Mu *et al.*, 2016)

ตารางที่ 4.11 ผลร้อยละการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ของน้ำมันจระเข้แต่ละวิธีการสกัด ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0, 15, 25, 35 และ 45

ความเข้มข้น (ร้อยละ)	วิธีการสกัด				positive control
	เจียวเปียกที่เวลา 240 นาที	เจียวแห้ง อุณหภูมิต่ำที่เวลา 40 นาที	เจียวแห้ง อุณหภูมิสูงที่เวลา 40 นาที	เจียวด้วยไมโครเวฟที่เวลา 8 นาที	
0	100±0.0 <sup>a</sup>	100±0.0 <sup>c</sup>	100±0.0 <sup>b</sup>	100±0.0 <sup>a</sup>	100±0.0 <sup>a</sup>
15 <sup>NS</sup>	87.46±12.58 <sup>a</sup>	90.69±1.90 <sup>d</sup>	98.16±3.25 <sup>b</sup>	96.20±6.43 <sup>a</sup>	25.87±1.24 <sup>b</sup>
25	<sup>C</sup> 52.06±4.70 <sup>b</sup>	<sup>B</sup> 125.80±3.28 <sup>a</sup>	<sup>A</sup> 134.33±5.15 <sup>a</sup>	<sup>C</sup> 48.99±3.17 <sup>d</sup>	25.94±1.40 <sup>b</sup>
35	<sup>C</sup> 38.56±16.16 <sup>b</sup>	<sup>A</sup> 115.32±0.34 <sup>b</sup>	<sup>A</sup> 125.780±7.65 <sup>a</sup>	<sup>B</sup> 71.99±1.58 <sup>b</sup>	19.25±0.62 <sup>b</sup>
45	<sup>B</sup> 41.47±19.64 <sup>b</sup>	<sup>A</sup> 75.22±9.74 <sup>c</sup>	<sup>A</sup> 72.93±6.51 <sup>c</sup>	<sup>AB</sup> 62.14±6.60 <sup>c</sup>	22.46±12.82 <sup>b</sup>

หมายเหตุ : positive control ใช้ Neomycin sulfate แทนตัวอย่างน้ำมันทดสอบ

<sup>a-b</sup> หมายถึง ค่าเฉลี่ยของข้อมูลในคอลัมน์แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

<sup>A-D</sup> หมายถึง ค่าเฉลี่ยของข้อมูลในแถวแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

<sup>NS</sup> หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ )

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รวมทั้งคุณสมบัติของสารต้านอนุมูลอิสระจำพวกสารประกอบฟีนอลิก ที่พบในน้ำมันจระเข้ โดยกลไกของสารประกอบดังกล่าวจะเปลี่ยนแปลงความสามารถในการซึมผ่านของผนังเซลล์จุลินทรีย์ ทำให้สูญเสียโมเลกุลจากภายใน สาเหตุนี้เองจึงมีผลต่อผนังเซลล์ ทำให้โปรตีนในผนังเซลล์เกิดการเสียรูปและมีการทำงานที่ผิดปกติ (Fung *et al.*, 1977) นอกจากนี้ปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่พบมากในน้ำมันจระเข้ที่สกัดโดยวิธีเจียวด้วยไมโครเวฟที่บ่งบอกได้จากค่าไอโอดีน มีค่าสูงเท่ากับ 98.19 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับวิธีเจียวอื่น ( $p < 0.05$ ) ส่งผลต่อความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ (Davidson, 1993; Kabara *et al.*, 1972) ยืนยันได้จากรายงานของ Fuller และ Moore (1967) กล่าวว่ากรดไขมันไม่อิ่มตัวพันธะคู่มีประสิทธิภาพยับยั้งแบคทีเรียมากกว่ากรดไขมันอิ่มตัว โดยกรดลิโนเลอิกที่เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวพันธะคู่มีความสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกมากกว่ากรดโอเลอิก ซึ่งเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวพันธะเดี่ยว

ส่วนสาเหตุของน้ำมันจระเข้ที่ได้จากวิธีเจียวเป็ยกมีความสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้ดี อาจเนื่องมาจากความสามารถในการละลายในสารประกอบที่มีขี้ ซึ่งในขั้นตอนการสกัดด้วยวิธีเจียวเป็ยกอาจทำให้เกิดอิมัลชันของน้ำและน้ำมันขึ้นได้ การเกิดอิมัลชันของน้ำมันดังกล่าว ส่งผลให้สามารถซึมผ่านเข้าไปในเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียได้มาก จึงมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อได้ดี ซึ่งกิจกรรมของน้ำมันจระเข้บนเยื่อหุ้มเซลล์แบคทีเรียอาจเกี่ยวข้องกับคุณสมบัติของความไม่ชอบน้ำ ความแข็งแรงของหมู่ฟังก์ชัน และความสามารถในการละลายของน้ำมันดังกล่าวในน้ำ โดยความสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เป็นผลมาจากการปฏิสัมพันธ์ของน้ำมันจระเข้กับส่วนประกอบโครงสร้างของเซลล์แบคทีเรีย เช่น phospholipid bilayer ของเยื่อหุ้มเซลล์ รวมถึงการเพิ่มความสามารถในการซึมผ่านและการยึดติดกับส่วนประกอบที่สำคัญของเยื่อแบคทีเรีย ส่งผลทำให้สามารถทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียและก่อให้เกิดการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้ (Ziech *et al.*, 2013)

ผลของน้ำมันจระเข้ที่สกัดโดยวิธีเจียวแห้งที่อุณหภูมิต่ำและสูงให้ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 45 ลดลงเท่ากับร้อยละ 75.22 และ 72.93 ตามลำดับ ซึ่งที่ระดับความเข้มข้นต่ำกว่าร้อยละ 45 กล่าวคือความเข้มข้นร้อยละ 25 และ 35 ไม่เพียงพอต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ จึงไม่ส่งผลต่อการลดลงของเชื้อและมีโอกาสที่เชื้อสามารถเจริญเพิ่มขึ้นได้ รวมถึงสารต้านอนุมูลอิสระ และสารประกอบสีน้ำตาลในน้ำมันจระเข้สกัดโดยวิธีเจียวแห้งที่อุณหภูมิต่ำและสูง ที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์นั้น (Tamanna and Mahmood, 2015; Fung *et al.*, 1977) โดยสารต้านอนุมูลอิสระฟีนอลิกทั้งหมดมีค่าน้อยกว่าประมาณ 67 มิลลิกรัมกรดแกลลิก ต่อ 100 กรัมของตัวอย่าง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) และสันนิฐานว่ามีปริมาณสารประกอบสีน้ำตาลต่ำกว่าน้ำมันจระเข้ที่สกัดโดยวิธีเจียวด้วยไมโครเวฟ บ่งบอกจากสีของน้ำมัน นอกจากนี้ความสามารถในการละลายของน้ำมันจระเข้ดังกล่าวกับเชื้อที่บ่มในอาหารเลี้ยงเชื้อมีความสามารถในการละลายที่น้อยกว่าน้ำมันจระเข้ที่สกัดด้วยวิธีเจียวเปียก จึงทำให้มีประสิทธิภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่บนสื่อออนไลน์  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการยับยั้งเชื้อต่ำกว่า ดังนั้นจึงไม่มีความสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* เมื่อเทียบกับ น้ำมันจระเข้ที่เจียวด้วยวิธีไมโครเวฟและเจียวเปียกแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ความเข้มข้นร้อยละ 25

ทำนองเดียวกันของผลของน้ำมันจระเข้ที่สกัดด้วยไมโครเวฟมีการเจริญของเชื้อ *S. aureus* เพิ่มขึ้น ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 35 และ 45 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เนื่องจากปริมาณของน้ำมันที่เพิ่มขึ้น ส่งผลต่อความสามารถการละลายของน้ำมันจระเข้กับเชื้อที่บ่มในอาหารเลี้ยงเชื้อน้อยลง มีโอกาสที่เชื้อสามารถเจริญเพิ่มขึ้นได้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลอง

1. องค์ประกอบหลักของเนื้อเยื่อไขมันจะเข้าสู่สายพันธุ์ *Crocodylus siamensis* ที่มีปริมาณมากที่สุดคือ ไขมัน เท่ากับร้อยละ 84.97 รองลงมาคือ ความชื้น (ร้อยละ 10.32) คาร์โบไฮเดรต (ร้อยละ 4.14) โปรตีน (ร้อยละ 0.29) เถ้า (ร้อยละ 0.13) และเยื่อใย (ร้อยละ 0.01) ตามลำดับ
2. ชนิดกรดไขมันที่พบมากที่สุดใต้น้ำมันจระเข้ คือ กรดโอเลอิก (ร้อยละ 36.90) กรดลิโนเลอิก (ร้อยละ 27.80) และกรดพาล์มมิก (ร้อยละ 20.50)
3. วิธีการสกัดเนื้อเยื่อไขมันจระเข้ที่สามารถสกัดน้ำมันจระเข้ออกมาให้ผลผลิตสูงที่สุดคือ เจียวด้วยไมโครเวฟที่เวลา 8 นาที (ร้อยละ 69.89) รองลงมาคือ เจียวแห้งที่อุณหภูมิสูงที่เวลา 40 นาที (ร้อยละ 68.45) เจียวแห้งที่อุณหภูมิต่ำที่เวลา 40 นาที (ร้อยละ 59.50) และเจียวเปียกที่เวลา 240 นาที (ร้อยละ 50.03) ตามลำดับ
4. คุณสมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำมันจระเข้ พบว่าค่าความเป็นกรด ค่าเปอร์ออกไซด์ ค่าสี ( $L^*, a^*, b^*, H^*, C^*$ ) และความหนืด ของวิธีการสกัดที่เวลาแตกต่างกันแต่ละวิธี ไม่มีความแตกต่างกันมากอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นน้ำมันจระเข้ที่สกัดได้จากวิธีเจียวด้วยไมโครเวฟที่เวลา 9 นาที มีค่าสูงเท่ากับ 0.69 มิลลิกรัมโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ต่อน้ำมัน 1 กรัม และ 6.64 มิลลิควาเลนซ์ต่อกิโลกรัมไขมัน ตามลำดับ เนื่องจากเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสและออกซิเดชันที่อุณหภูมิสูงรวมทั้งการไหม้ของเนื้อเยื่อไขมันจระเข้
5. ค่าไอโอดีน และค่าความคงตัวด้วยวิธี Rancimat ของน้ำมันจระเข้ที่สกัดด้วยวิธีเจียวไมโครเวฟที่เวลา 8 นาที มีค่าสูงสุดเท่ากับ 98.19 และ 1.80 ชั่วโมง ตามลำดับ เนื่องจากใช้ระยะเวลาในการสกัดสั้นเมื่อเทียบกับวิธีเจียวอื่น มีโอกาสเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วยความร้อนน้อย ทำให้พันธะคู่ของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวแตกตัวน้อย ค่าไอโอดีนจึงสูงและคงทนต่อการเกิดออกซิเดชัน และค่าสปอนนิฟิเคชันไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อยู่ในช่วง 184.43-185.99 มิลลิกรัมโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ต่อน้ำมัน 1 กรัม
6. คุณสมบัติทางความร้อน จุดหลอมเหลวของน้ำมันจระเข้อยู่ในช่วงอุณหภูมิ 31.94 ถึง 32.86 องศาเซลเซียส จุดแข็งตัวโดยสมบูรณ์ของน้ำมันจระเข้ที่ช่วงอุณหภูมิ -61.96 ถึง -61.19 องศาเซลเซียส ซึ่งปริมาณกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบในโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมันจระเข้ มีผลโดยตรงต่อจุดหลอมเหลว และจุดแข็งตัวของน้ำมัน
7. น้ำมันจระเข้ที่สกัดโดยวิธีเจียวด้วยไมโครเวฟที่เวลา 8 นาที มีค่าไอโอดีนสูง (98.19) คุณสมบัติด้านออกซิเดชันวิธี ABTS และปริมาณพีนอลิกทั้งหมดมีค่าสูง เท่ากับ 44.93 ไมโครโมลโทรลอคซ์ต่อ 100 กรัมของตัวอย่าง และ 0.36 มิลลิกรัมกรดแกลลิก ต่อ 100 กรัมของตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. ความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้ดีที่สุด คือ วิธีเจียวด้วยไมโครเวฟที่ใช้เวลาในการสกัด 8 นาที และวิธีเจียวเปียกใช้เวลาในการสกัด 240 นาที ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 25 ให้ผลยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ลดลงไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเท่ากับร้อยละ 48.99 และ 52.06 ตามลำดับ เป็นผลเนื่องมาจากกรดไขมันจะเข้าเป็นส่วนหนึ่งของเชื้อหุ้มเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียและทำลายเสถียรภาพของเชื้อหุ้มเซลล์ ทำให้เชื้อหุ้มเซลล์อ่อนแอลง รวมไปถึงสารสีน้ำตาลจากปฏิกิริยาเมลลาร์ดที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้

#### ข้อเสนอแนะ

ในขั้นตอนการกำจัดน้ำที่อยู่ในรูปอิมัลชันคงตัวของน้ำมันจะแช่ที่สกัดด้วยวิธีการเจียวเปียกนั้นค่อนข้างกระทำได้น่าสนใจและมีน้ำมันจะแช่ที่สกัดได้บางส่วนสูญเสียไปจากขั้นตอนดังกล่าว ทำให้ต้องพัฒนาและปรับปรุงเพื่อหาวิธีการกำจัดอิมัลชันได้อย่างสมบูรณ์และสูญเสียผลผลิตในปริมาณน้อยที่สุด



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บรรณานุกรม

- คณาจารย์ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. 2546. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. คณะอุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 528 หน้า.
- ณัฐฐา แซ่กั้ง. 2553. ปริมาณแคโรทีนและโทโคฟีรอลในโยปาล์มน้ำมันที่หีบแล้ว. วิทยานิพนธ์ปริญญา มหาบัณฑิต. สาขาเคมีอุตสาหกรรม. คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.
- ดวงกมล เรือนงาม. 23. วารสารวิทยาศาสตร์ลาดกระบัง. การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ. 2557. : 120-139.
- ดวงพร อมรเลิศพิศาล ยุวดี พิรพรพิศาล ชวีช แต่โสติดิกุล อุเทน จำใจ มั่นทนา นวลเจริญ และดวงดา กาญจนโพธิ์. 2551.ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ *Sagassumpolycystum* C. Agardh. วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง, 2(2):96-103.
- ดร.ณพร จิรกีจอนุสรณ์. 2547. การวิเคราะห์ความได้เปรียบเชิงแข่งขันในผลิตภัณฑ์เนื้อจระเข้ของประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญา มหาบัณฑิต. เศรษฐศาสตร์บัณฑิตวิทยาลัย. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- นิธิยา รัตนานพนธ์. 2545. เคมีอาหาร. กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์. 504 หน้า
- นิธิยา รัตนานพนธ์. 2548. วิทยาศาสตร์การอาหารของไขมันและน้ำมัน. กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์. 54-179
- เนตรนภา เมฆกลาง และดร.เฉลิม เรื่องวิริยะชัย. 2557. การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในเครื่องดื่มน้ำผลไม้. วารสารวิจัย ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 14(4): 69-79.
- บุหรัน พันธุ์สุวรรณค์. 2556. อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 21: 275-286.
- ปานเทพ รัตนกร. 2536. สรีรวิทยาการสืบพันธุ์ การฟักไข่และการอนุบาลลูกจระเข้. หน้า 1-25. ใน สรีรวิทยาการผลิตสัตว์ป่าเพื่อเศรษฐกิจและการอนุรักษ์. การอบรมวิชาการ สรีรวิทยา-พยาธิ สรีรวิทยา ครั้งที่ 11. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ประทุมพรชาติไทย. 2553. ลักษณะของน้ำมันเมล็ดมะรุมสกัดด้วยวิธีแตกต่าง. วิทยานิพนธ์ปริญญา มหาบัณฑิต. สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร. คณะอุตสาหกรรมเกษตร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผ่องพรรณ หลาวทอง และแจ่มจันทร์ พิริยะพงศ์. 2533. จระเข้. การเพาะเลี้ยงและการขยายพันธุ์. วนสาร 48(4): 33-39.

พจนา บางแสง. 2557. การศึกษาการผลิตไบโอดีเซลจากไขมันจระเข้โดยการใช้ตัวเร่งปฏิกิริยา CaO จากเปลือกไข่จระเข้. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารธุรกิจ. สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวเคมี. คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

วิไล รังสาดทอง. 2545. เทคโนโลยีการแปรรูปอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: บริษัท เท็กซ์ แอนด์เจอร์นัล พับลิเคชัน จำกัด.

ฤดีมาศ พุ่มกล้า. 2555. ความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกอบเชยอินโดนีเซีย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารธุรกิจ. สาขาเทคโนโลยีการอาหาร. คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม. มหาวิทยาลัยศิลปากร.

มนตรี รัตนพงศ์พันธ์. 2542. ความรู้เกี่ยวกับฟาร์มจระเข้. สำนักพิมพ์เพื่อการเกษตร. นนทบุรี.

เริงฤทธิ์ สัปพันธ์ .2546 .ประสิทธิภาพของน้ำเลือดจากจระเข้ในน้ำจืดพันธุ์ไทย (*Crocodylus siamensis*) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ศึกษาศาสตร์. วิทยาลัย. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สมปอง ธรรมศิริรักษ์. 2550. การศึกษาเปปไทด์ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียในเลือดจระเข้สายพันธุ์ไทย (*Crocodylus siamensis*) .คณะวิทยาศาสตร์. ภาควิชาชีวเคมี สำนักวิทยบริการ. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

สมโภชน์ อัครกะทิววัฒน์. 2540. ภาพปลาและสัตว์น้ำของไทย. พิมพ์ครั้งที่ 3. องค์การค้าของคุรุสภา, กรุงเทพฯ.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2528. กระทรวงอุตสาหกรรม. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำมันปาล์ม. มอก.288-2521 พิมพ์ครั้งที่ 2. โรงพิมพ์สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 12 หน้า.

อนรรฆอร ศรีไสยเพชร และมานิชย์ อนุวัฒน์. 2555. การพัฒนาวิธีการสกัดแยกและวิเคราะห์ปริมาณ น้ำมันโดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารธุรกิจ. สาขาวิชาเคมี. คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

อรพิน โภมุตินบาล. 2557. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากแก่นมะหาด. วารสารวิจัยมสค สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต. 7(2): 33-42.

Abraham, G. and Hron, R.J. 1992. Oilseeds and their oils. In Encyclopedia of Food Science and Technology. (Hui, Y.H. ed.) John Wiley & Sons, Inc., New York. 1901-1910.

Allayee, H., Roth, N., Hodis, H.N. 2009. Polyunsaturated fatty acids and cardiovascular disease:

Implications for nutrigenetics. Journal of Nutrigenetics and Nutrigenomics. 2: 140– 148.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับบริการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Ayalasomayajula, S., Subramaniam, R., Gallo, A., Dufreche, S., Zappi, M. and Bajpai R. 2011. Potential of Alligator fat as source of lipids for biodiesel production. *Industrial and Engineering Chemistry Research*. 51(4): 2166–2169.
- AOAC. 2000. Association of Official Analytical Chemists. Official methods of Analysis of analysis, 17th ed. Association of Official Analytical Chemists Inc., Arlington, Virginia.
- AOAC. 2011. Official methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 18th ed. Association of Official Analytical Chemists Inc., Arlington, Virginia.
- AOAC. 2012. Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis, 996.06. The Association of Official Analytical Chemists Arlington, Virginia.
- AOCS. 2009. Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society 6th ed. Champaign Illinois, USA.
- Bellairs, A. 1969. *The Life of Retile*. August A. Unwin Bros. Ltd., Great Britain.
- Buthelezi, S., Southway, C., Govinden, U., Bodenstein, J. and Toit, K. 2012. An investigation of the antimicrobial and anti-inflammatory activities of crocodile oil. *Journal of Ethnopharmacology*. 143: 325-330.
- Chandrasekaran, S., Ramanathan, S. and Basak, T. (2013). Microwave food processing—A review. *Food Research International*. 52(1): 243-261.
- Chang, S. S., Peterson, R. J. and Ho, C. T. 1978. Chemical reactions involved in the deep-fat frying of foods. *Journal American Oil Chemists' Society*. 55: 718-727.
- Černíková, M., Gál, R., Polášek, Z., Janíček, M., Pachlová, V. and Buňka, F. 2015. Comparison of the nutrient composition, biogenic amines and selected functional parameters of meat from different parts of Nile crocodile (*Crocodylus niloticus*). *Journal of Food Composition and Analysis*. 43: 82-87.
- Cuesta, C., Muniz, F. and Hernández, I. 1991. Evaluation of nonpolar methyl esters by column and gas chromatography for the assessment of used frying olive oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 68(6): 443-445.
- Daniali, G., Jinap, S., Sanny, M. and Tan, C. 2018. Effect of amino acids and frequency of reuse frying oils at different temperature on acrylamide formation in palm olein and soy bean oils via modeling system. *Food Chemistry*. 245: 1-6.
- Dasgupta, N., De, B. 2004. Antioxidant activity of Piper betle L. leaf extract in vitro. *Food Chemistry*. 88(2): 219-24.

- Davidson, P.M. 1993. Paraben and phenolic compound. In Davidson, P.M. and Branen, A. L., Eds., *Antimicrobials in Foods*. 2nd ed. Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 263-305.
- Dennis, C., Karim, F. and Smith, J. 2015. Evaluation of Maillard Reaction Variables and Their Effect on Heterocyclic Amine Formation in Chemical Model Systems. *Journal of Food Science*. 80(2): 472-478.
- Eloff, J.N. 1998. A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. *Planta Medica*. 64: 711-713.
- Eichner, K. 1981. Antioxidative effects of Maillard reaction intermediates. *Progress in Food & Nutrition Science*. 5:441-451.
- Folch, J., Lees, M., Stanley, G.H., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*. 226: 497-509.
- Formo, M.W. 1979. Physical properties of fats and fatty acid. In: Swern D. *Bailey's Industrial Oil and Fat Product*. 4th ed. New York. (1): 177-232.
- Franco, I., Escamilla C.M., García, J., G. Fontán, M.C. and Carballo, J. .2006 Fatty acid profile of the fat from Celta pig breed fattened using a traditional feed: Effect of the location in the carcass. *Journal of Food Composition and Analysis*. .799-792 :19.
- Fuller, R. and Moore, J. H. 1967. The inhibition of the growth of *Clostridium welchii* by lipids isolated from the contents of the small intestine of the pig. *Journal of general microbiology*. 46:23-41.
- Fung, D.Y.C., Taylor, S., and Kahan, J. 1977. Effects of butylated hydroxyanisole (BHA) and butylated hydroxytoluene (BHT) on growth and aflatoxin production of *Aspergillus flavus*. *Journal of Food Safety*. 1:39-51.
- Galbraith, H. and Miller, T. B. 1973. Effect of metal cation and pH on the antibacterial activity and uptake of long chain fatty acids. *Journal of applied bacteriology*. 36:635-646.
- Gale, E. F. and Folkes, E. S. 1967. The effect of lipids on the accumulation of certain amino acids by *Staphylococcus aureus*. *Biochimica et Biophysica Acta*. 144: 461-466.
- Gershon, H., Rodin, R.L., Parmegiani, R. and Godfrey, P.K. 1970. Organic fluorine compounds. IV. Synthesis and antifungal properties of a 2-fluoro fatty acid amides. *Journal of Medicinal Chemistry*. 13: 1237-1239.
- Getpech, Y. 2011. Crocodile conservation and captive breeding in Thailand. In: *Crocodiles. Proceedings of the 1st Regional Species Meeting of the IUCN SSC Crocodile Specialist Group*, pp. 27-28. Crocodile Specialist Group, Darwin, Australia.

- Gomyo, T. and Horikoshi, M. 1976. On the interaction of melanoidin with metalions. *Agricultural and biological chemistry*. 40: 33-40.
- Gunstone, F.D. and Russell, W.C. 1954. The component acids of crocodile fat. *Biochem Journal*. 57: 462-465.
- Gunstone, F. (2009). *Oils and fats in the food industry*. 1sted. Chichester: John Wiley and Sons.
- Hagemann, J.W. 1988. Thermal behavior and polymorphism of acylglycerides. In:Garti, N., Sati, K. (Eds.). *Crystallization and Polymorphism of Fats and Fatty acids*. Marcel Dekker, New York, 9-96.
- Heussen P. 2011. Practical food applications of differential scanning calorimetry (DSC) In Ye P., editor,; Menard K., editor; and Courtney P., editor. (Eds.), Page application note. Perkin Elmer, Shelton.
- Huang, Y., Dong, S. and Liu, Y. 2015. Effects of solvent polarity and acidity on the extraction efficiency and fatty acid compositions of oil from Nile crocodile. *International Journal of Engineering and Advanced Research Technology*. 1(1): 1-6.
- Idowu, I., Li, L., Flora, J., Pellechia, P., Darko, S., Ro, K. and Berge, N. 2017. Hydrothermal carbonization of food waste for nutrient recovery and reuse. *Waste Management*. 69: 480-491.
- Kabara, J.J., Swieczkowski, M.D., Conley, J.A. and Truant, P.J. 1972. Fatty acids and derivatives as antimicrobial agents. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2(1): 223-28.
- Kajimoto, G. and Yoshida, H. 1975. Studies on the metal-protein complex VII. *Journal of Japan Oil Chemists' Society*. 24: 297-300.
- Kodicek, E. 1949. The effect of unsaturated fatty acids on gram-positive bacteria. *Symposia of the Society for Experimental Biology*. 3: 217-232.
- Kommanee, J., Preecharram, S., Daduang, S., Temsiripong, Y., Dhiravisit, A., Yamada, Y., and Thammasirirak, S. 2012. Antibacterial activity of plasma from crocodile (*Crocodylus siamensis*) against pathogenic bacteria. *Ann Clin Microciol Antimicrob*. 11(1): 22.
- Lee, J., Chung, H. and Chang, P.-S. (2007). Development of a method predicting the oxidative stability of edible oils using 2,2-diphenyl- 1-picrylhydrazyl (DPPH). *Food Chemistry*. 103(2):662–669.
- Leelawongtawon, R., Siruntawineti, J. Chaeychomsri, W. and Sattaponpan, C. 2010. Antibacterial and antifungal activities from Siamese crocodile blood. *Journal of the Medical Association of Thailand*. 93:58-64.

- Li, H. L., Chen, L. P., Hu, Y. H., Qin, Y., Liang, G., Xiong, Y. X., and Chen, Q. X. 2012. Crocodile oil enhances cutaneous burn wound healing and reduces scar formation in rats. *Academic Emergency Medicine*. 19(3): 265-273.
- Li, Z.Q., Wang, J.H., Ren, J.L. and Yi, Z.H. 2004. Effect of topical emu oil on wound healing in scalded rats. *Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao*. 24: 1255-1256.
- Lomanno, S. S., and Nawar, W. W. 1982. Efect of heating temperature and time on the volatile oxidative decomposition of linolenate. *Journal of Food Science*. 47: 744-747.
- Maroon, J.C., Bost, J.W. 2006.  $\omega$ -3 Fatty acids (fish oil) as an anti-inflammatory: an alternative to nonsteroidal anti-inflammatory drugs for discogenic pain. *Surgical Neurology*. 65: 326-331.
- Martins, S., Jongen, W. and van Boekel, M. 2000. A review of Maillard reaction in food and implications to kinetic modelling. *Trends in Food Science & Technology*. 11: 364-373.
- Merchant, M. E., Pallansch, M., Paulman, R. L., Wells, J. B., Nalca, A., and Ptak, R. 2005. Antiviral activity of serum from the American alligator (*Alligator mississippiensis*). *Antiviral Res*. 66(1): 35-38.
- Merchant, M. E., Mills, K., Leger, N., Jerkins, E., Vliet, K. A., and McDaniel, N. 2006. Comparisons of innate immune activity of all known living crocodylian species. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 143(2): 133-137.
- Morales, F., Somoza, V. and Fogliano, V. 2010. Physiological relevance of dietary melanoidins. *Amino Acids*. 42(4):1097-1109.
- Mu, K., Wang, S. and D Kitts, D. (2016). Evidence to indicate that maillard reaction products can provide selective antimicrobial activity. *Integrative Food, Nutrition and Metabolism*. 3(4):330-335.
- Osthoff, G., Hugo, A., Bouwman, H., Buss, P., Govender, D., Joubert, C. C., & Swarts, J. C. 2010. Comparison of the lipid properties of captive, healthy wild, and pansteatitis-affected wild Nile crocodiles (*Crocodylus niloticus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*. 155(1): 64-69.
- O'Brien, R. (2009). *Fats and oils*. 1st ed. Boca Raton: CRC Press.
- Peplow, A., Balaban, M. and Leak, F. 1990. Lipid Composition of fat trimmings from farm raised alligator. *Aquaculture*. 91: 339-348.
- Pough, H.F. 1998. *Herpetology*. Prentice-Hall Inc., New York.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Preecheram, S., Daduang, S., Bunyatratchata, W., Araki, T., and Thammasirirak, S. 2008. Antibacterial activity from Siamese crocodile (*Crocodylus siamensis*) serum. African Journal of Biotechnology. 7:3121-3128.
- Prindle, R.F. and Wright, E. S. 1977. Phenolic compounds. In Block, S. S., Ed., Disinfection, Sterilization and Preservation. Lea & Febiger, Philadelphia.
- Ratanakorn, P., Amget, B. and Ottley, B. 1994. Preliminary surveys of crocodiles in Thailand. 35-49. In Proceeding of the 12th Working Meeting of the Crocodile Specialist Group of the Species Survival Commission of IUCN The World Conservation Union. Crocodiles. Switzerland.
- Russell AD. 2003. Similarities and differences in the responses of microorganisms to biocides. J Antimicrob Chemo. 52:750-763.
- Schmeda-Hirschmann, G., Delporte, C., Valenzuela-Barra, G., Silva, X., Vargas-Arana, G., Lima, B., and Feresin, G. E. 2014. Anti-inflammatory activity of animal oils from the Peruvian Amazon. Journal of ethnopharmacology, 156: 9-15.
- Sevim, D., Tuncay, O. and Koseoglu, O. 2013. The effect of olive leaf addition on Antioxidant content and Antioxidant activity of “Memecik” olive oils at Two maturity stages. Journal of the American Oil Chemists’ Society. 90(9): 1359–1369.
- Sharma, H., Giriprasad, R. and Goswami, M. 2013. Animal fat-processing and its quality control. Journal of food process engineering and Technology. 4: 252-256.
- Sheu, K.S. and Chen, T.C. 2002. Yield and quality characteristics of edible broiler skin fat as obtained from five rendering methods. Journal of Food Engineering. 55: 263-269.
- Shim-Prydon, G. and Camacho-Barreto, H. 2007. New animal products. New uses and markets for by-products and the co-products of crocodile, emu, goat, kangaroo and rabbit. A report for the Rural Industries Research and Development Corporation. RIRDC publication no. 06/117. RIRDC project no. DAQ 320A. 58-65.
- Simpson, B.K. and Bezuijen, M.R. 2010. Siamese crocodile *Crocodylus siamensis*. 120-126 in Crocodile. Status Survey and Conservation Action Plan. 3rd ed. Crocodile Specialist Group: Darwin.
- Tamanna, N. and Mahmood, N. 2015. Food Processing and Maillard Reaction Products: Effect on Human Health and Nutrition. International Journal of Food Science. 1-6.

- Tan, C. and Che Man, Y. (2002). Differential scanning calorimetric analysis of palm oil, palm oil based products and coconut oil: effects of scanning rate variation. *Food Chemistry*. 76(1): 89-102.
- Tang, L., Qin, M.Z. 2007. The medicinal research and development prospects of crocodile. *World Health Digest (in Chinese)*. 4: 66-8.
- Teixeira, C., Macedo, G., Macedo, J., da Silva, L. and Rodrigues, A. (2013). Simultaneous extraction of oil and antioxidant compounds from oil palm fruit (*Elaeis guineensis*) by an aqueous enzymatic process. *Bioresource Technology*. 129: 575-581.
- Timilsena, Y., Vongsivut, J., Adhikari, R. and Adhikari, B. 2017. Physicochemical and thermal characteristics of Australian chia seed oil. *Food Chemistry*. 228: 394-402.
- Upadhyay, N.K., Kumar, R., Mandotra, S.K., Meenaa, R.N., Siddiquib, M.S., Sawhneya, R.C. and Guptaa, A. 2009. Safety and healing efficacy of Sea Buckthorn (*Hippophaerhamnoides L.*) seed oil on burn wounds in rats. *Food Chem Toxicol*. 47: 1146-53.
- Valacchi, G., Lim, Y., Belmonte, G., Miracco, C., Zanardi, I., Bocci, V. and Travagli, V. 2011. Ozonated sesame oil enhances cutaneous wound healing in SKH1 mice. *Wound Repair Regen*. 19: 107-115.
- Xu, Z. 1994. Vitamin E vitamins and cholesterol content and oxidative stability of pork from pigs fed either non-rancid or rancid rice bran. M.S. thesis, Louisiana State University, Baton Rouge.
- Yamaguchi, N., Koyama, K. and Fujimaki, M. 1981. Fractionation of antioxidative activity of browning reaction products between D-xylose and glycine. *Progress in Food & Nutrition Science*. 5: 429- 439.
- Yaraksa, N., Anunthawan, T., Theansungnoen, T., Daduang, S., Araki, T., Dhiravisit, A. and Thammasirirak, S. 2014. Design and synthesis of cationic antibacterial peptide based on Leucocin I sequence, antibacterial peptide from crocodile (*Crocodylus siamensis*) while blood cell extracts. *Journal of Antibiotics*. 67: 205-212.
- Ziech, R., Farias, L., Balzan, C., Ziech, M., Heinzmann, B., Lameira, O. and Vargas, A. 2013. Atividade antimicrobiana do oleorresina de copaíba (*Copaifera reticulata*) frente a *Staphylococcus coagulase positiva* isolados de casos de otite em cães. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 33(7): 909-913.



ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ก

### การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

#### ก.1 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (AOAC, 2000)

การวิเคราะห์หาความชื้น เป็นวิธีการระเหยน้ำออกจากตัวอย่าง ปริมาณน้ำในอาหารจะหาได้จากน้ำหนักของอาหารเริ่มต้นลบน้ำหนักของอาหารแห้ง เนื่องจากจุดเดือดของน้ำในอาหารมีค่าต่ำกว่าองค์ประกอบหลักต่างๆในอาหาร

#### อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง
2. ถ้วยอะลูมิเนียม (aluminum can)
3. ตู้อบลมร้อน (hot air oven)
4. โถดูดความชื้น (desiccator)
5. ที่คีบ (Tong)

#### วิธีการทดลอง

1. นำถ้วยอะลูมิเนียมไปอบไล่ความชื้นที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วนำออกจากตู้อบใส่ในโถดูดความชื้น รอทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำมาชั่งจนได้น้ำหนักแน่นอน (4 ตำแหน่ง) ( $W$ )
2. ใส่ตัวอย่างอาหารที่บดแล้วลงในถ้วยอะลูมิเนียม ให้น้ำหนักตัวอย่างอาหารที่บดแล้ว 3-5 กรัม บันทึกน้ำหนักของถ้วยอะลูมิเนียมกับตัวอย่าง (น้ำหนักที่แน่นอน) ( $W_1$ )
3. นำเข้าไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยเปิดฝาถ้วยอะลูมิเนียม
4. เมื่อครบเวลานำมาทำให้เย็นในโถดูดความชื้นก่อนนำมาชั่งน้ำหนัก อบซ้ำอีกครั้ง ครั้งละครึ่งชั่วโมงจนน้ำหนักคงที่ หรือผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งได้ 2 ครั้งต้องแตกต่างกันไม่เกิน 0.003-0.005 กรัม ( $W_2$ )
5. คำนวณเปอร์เซ็นต์ความชื้นของอาหาร จากสมการ

$$\text{ความชื้น (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{\text{น้ำหนักอาหารเริ่มต้น}(W-W_1) - \text{น้ำหนักอาหารแห้ง}(W-W_2)}{\text{น้ำหนักอาหารเริ่มต้น}(W-W_1)} \times 100$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อ W = น้ำหนักของถ้วยอะลูมิเนียม

W<sub>1</sub> = น้ำหนักของถ้วยอะลูมิเนียมกับน้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ

W<sub>2</sub> = น้ำหนักของถ้วยอะลูมิเนียมกับน้ำหนักตัวอย่างหลังอบ

หมายเหตุ: เก็บตัวอย่างไว้เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน

## ก.2 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (AOAC,2011)

เถ้า (ash) คือ ส่วนของสารอนินทรีย์ (inorganic) หรือส่วนที่เหลือจากการเผา ซึ่งได้แก่แร่ธาตุต่างๆ เมื่อนำตัวอย่างไปเผาที่อุณหภูมิ 550-600 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง ส่วนที่เป็นสารอนินทรีย์จะถูกเผาไหม้หมดไป เหลืออยู่แต่ส่วนของสารอนินทรีย์ ค่าของเถ้าที่หาได้สามารถบอกถึงคุณภาพของอาหาร ถ้าค่าของเถ้าสูงมากกว่าปกติอาจจะมีการปลอมปน

อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งชนิดทศนิยม 4 ตำแหน่ง
2. เตาเผา (hot phat)
3. เตาเผาไฟฟ้า (muffle furnace)
4. ถ้วยสำหรับเผาเถ้า (crucible)
5. โถดูดความชื้น (desiccator)

วิธีการทดลอง

1. เเผาถ้วยกระเบื้องที่แห้งและสะอาดในเตาเผาที่ 600 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง แล้วทำให้เย็นใน โถดูดความชื้นชั่งน้ำหนักละเอียด (4 ตำแหน่ง) บันทึก (W)
2. ชั่งตัวอย่างที่บดแล้ว 3-5 กรัม (4 ตำแหน่ง) ใส่ในถ้วยกระเบื้อง (W<sub>1</sub>)
3. เเผาตัวอย่างบนเตาไฟฟ้า (ทำในตู้ดูดควัน) จนหมดควัน
4. นำไปเผาในเตาเผาไฟฟ้าที่ 600 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8-10 ชั่วโมง หรือจนกระทั่งตัวอย่างกลายเป็นเถ้าสีขาวหรือสีเทา
5. รอให้เตาเผาไฟฟ้าเย็นลง จึงคีบถ้วยกระเบื้องออกจากเตาเผาไฟฟ้า ทำให้เย็นใน โถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนักของถ้วยกระเบื้องหลังเผา (W<sub>2</sub>)
6. คำนวณเปอร์เซ็นต์เถ้าของอาหาร จากสมการ

$$\text{เปอร์เซ็นต์เถ้า} = \frac{W_2 - W}{W_1 - W} \times 100$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อ W = น้ำหนักของถ้วยกระเบื้อง

W1 = น้ำหนักของถ้วยกระเบื้องกับน้ำหนักตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์

W2 = น้ำหนักของถ้วยกระเบื้องกับน้ำหนักถ้ำหลังเผา

### ก.3 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (AOAC,2011)

โปรตีนเป็นโพลีเมอร์ของกรดอะมิโน เกิดจากกรดอะมิโนจับกันด้วยพันธะเปปไทด์ ดังนั้น การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนส่วนใหญ่อาศัยความเฉพาะเจาะจงของกรดอะมิโนหรือพันธะเปปไทด์ การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนทำได้หลายวิธี แต่ในการทดลองนี้ใช้หลักการวิเคราะห์โปรตีนอาศัย การวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนในอาหาร โดยวิธีการที่นิยมเรียกว่าเจลดดาห์ (kjeldahl method) เนื่องจากโปรตีนเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีธาตุไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ

#### อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง
2. หลอดย่อยโปรตีน
3. อุปกรณ์ชุดวิเคราะห์โปรตีน (kjeldahl apparatus)
4. บิวเรตขนาด 50 มิลลิลิตร
5. ขวดชมพูขนาด 250 และ 500 มิลลิลิตร
6. Boiling chip

#### สารเคมี

1. กรดซัลฟูริกเข้มข้น
2. กรดบอริก 2 เบอร์เซนต์ เตรียมได้จากการละลายกรดบอริก 2 กรัมลงในน้ำกลั่น ปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร
3. สารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริก 1 นอโมลล์ ปิเปต 37% กรดไฮโดรคลอริก 8.26 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น
3. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 32% เตรียมจากซิงโซเดียมไฮดรอกไซด์ 32 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร
4. ตัวเร่ง (catalyst)(เตรียมจาก 1:8 ของ  $\text{CuSO}_4/\text{K}_2\text{SO}_4$ )
5. สารละลายอินดิเคเตอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. เตรียม 0.1% เมทิลกรีนใน alcohol 95 เปอร์เซ็นต์
7. เตรียม 0.2% เมทิลเรดใน alcohol 95 เปอร์เซ็นต์

## วิธีการทดลอง

1. การย่อย
  - 1.1 ชั่งตัวอย่าง 0.5–5 กรัม (4 ตำแหน่ง) ถ้าเป็นของเหลว 10-30 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดย่อยโปรตีน พยายามอย่าให้ตัวอย่างเป็นขังขวด (ปริมาณของตัวอย่างขึ้นอยู่กับปริมาณโปรตีนในตัวอย่าง ถ้าปริมาณโปรตีนน้อยให้ใช้ตัวอย่างมาก) เติมตัวเร่ง 10 กรัม เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 25 มิลลิลิตร ใส่ boiling chip 2-3 ลูก (ปริมาณ ตัวเร่ง และกรดซัลฟูริกที่ใช้ขึ้นอยู่กับรุ่นของเครื่องย่อยที่ใช้)
  - 1.2 นำหลอดย่อยโปรตีนวางลงในแลค ก่อนนำไปประกอบเข้ากับเครื่องย่อย ปิดที่บังความร้อน และสวมที่ดูดควัน ที่ต่อเข้ากับชุดกำจัดไอกรด ก่อนเปิดสวิตช์
  - 1.3 ตั้งอุณหภูมิที่ใช้อยู่ 380-400 องศาเซลเซียส (ถ้าตัวอย่างเป็นของเหลวหรือมีฟองขณะทำการย่อย อาจลดอุณหภูมิมาที่ 250 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที) ก่อนปรับไปที่อุณหภูมิที่ใช้อยู่
  - 1.4 ทำการย่อยจนได้สารละลายใสหรือสีฟ้าใส ซึ่งเวลาในการย่อยขึ้นอยู่กับตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์
  - 1.5 ปิดสวิตช์ พร้อมยกแลคที่มีหลอดย่อยตัวอย่างขึ้นพัก รอให้สารละลายสีฟ้าเย็นลง ซึ่งในช่วงนี้ยังคงเปิดชุดกำจัดไอกรดไว้จนไม่มีไอกรด (สังเกตจากควันสีขาว) ก่อนนำไปต่อเข้าชุดกลั่น
2. การกลั่น
  - 2.1 นำหลอดย่อยตัวอย่างต่อเข้ากับชุดกลั่นโปรตีน ตรวจสอบเช็คความเรียบร้อยของระบบน้ำสำหรับหล่อเย็น ถังน้ำกลั่น ถังโซเดียมไฮดรอกไซด์ 32 เปอร์เซ็นต์ โดยสายยางต้องจุ่มลงในถังของน้ำกลั่นหรือโซเดียมไฮดรอกไซด์
  - 2.2 เติมกรดบอริกเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 60 มิลลิลิตร ใส่ขวดชมพูขนาด 500 มิลลิลิตร หยดอินดิเคเตอร์ทั้งสอง อย่างละ 1 หยดจะได้สารละลายสีชมพูม่วง วางขวดชมพูลงในชุดกลั่นเสียบท่อพลาสติกที่ต่อจากคอนเด็นเซอร์ลงกรดบอริก เพื่อคักจับแก๊สแอมโมเนียที่กลั่นออกมาได้
  - 2.3 เปิดเครื่องเพื่อเติมน้ำกลั่นและโซเดียมไฮดรอกไซด์ลงในหลอดย่อย สารละลายในหลอดย่อยจะเปลี่ยนเป็นสีดำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 เปิดไอน้ำและตั้งเวลาในการกลั่น เวลาที่ใช้ในการกลั่นขึ้นกับปริมาณไนโตรเจนในตัวอย่าง

### 3. การไตเตรท

3.1 นำขวดชมพูที่บรรจุสารละลายที่กลั่นเสร็จแล้วซึ่งมีสีเขียว มาไตเตรทกับกรดไฮโดรคลอริก เข้มข้น 1 หรือ 0.1 N จนสารละลายเปลี่ยนไปเป็นสีชมพูม่วง บันทึกปริมาณกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้

### 4. การคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนในตัวอย่าง

$$\text{เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนในอาหาร} = \frac{(A-B) \times N \times 14}{W \times 1000} \times 100$$

เมื่อ A = ปริมาณของสารละลายไฮโดรคลอริกที่ใช้ไตเตรทกับตัวอย่าง

B = ปริมาณของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไตเตรทกับ blank

N = ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ (N)

W = น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)

### 5. การคำนวณหาเปอร์เซ็นต์โปรตีนในตัวอย่าง

$$\text{เปอร์เซ็นต์โปรตีนในอาหาร} = \text{เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน} \times 6.25$$

## ก.4 การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (AOAC,2011)

ไขมันเป็นองค์ประกอบหลักตัวหนึ่งของอาหาร เป็นสารอินทรีย์ที่ส่วนใหญ่ไม่สามารถละลายในน้ำ แต่ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น บีโทเลียมอีเทอร์ เฮกเซน คลอโรฟอร์ม อีเธอร์ ฟอสโฟลิปิด สเตอรอล แครอทินอยด์ วิตามินเอและอี ดังนั้นไขมันในอาหารจึงมีองค์ประกอบที่ซับซ้อน อย่างไรก็ตามไขมันในอาหารส่วนใหญ่ประกอบด้วยไตรกลีเซอไรด์มากกว่าร้อยละ 95 ของไขมันทั้งหมด

### อุปกรณ์

1. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
2. ชุดสกัดซอกซ์เล็ท (soxhlet apparatus) พร้อมทิมเบิล (thimble) และบีกเกอร์
3. ตู้อบไฟฟ้า (hot air oven)
4. โถดูดความชื้น (desiccator)
5. ที่คีบ (tong)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 6. Boiling chip

### สารเคมี

1. ปีโตรเลียมอีเทอร์

### วิธีการทดลอง

1. อบบิกเกอร์ไขมันพร้อมกับ boiling chip ที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน ( $W_1$ )
2. ชั่งตัวอย่างที่บดละเอียด อบไล่ความชื้นแล้ว 5-10 กรัม (ปริมาณของตัวอย่างขึ้นอยู่กับปริมาณไขมันในตัวอย่าง ถ้าปริมาณไขมันน้อยให้ใช้ตัวอย่างมาก) บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน ( $W$ ) ห่อด้วยกระดาษกรองใส่ในทิมเบิล
3. ตวงตัวทำละลายปีโตรเลียมอีเทอร์จำนวน 140-180 มิลลิลิตร ใส่ในบิกเกอร์ไขมันต่อทิมเบิล ใส่ตัวอย่างและบิกเกอร์ไขมันเข้ากับเครื่องสกัดไขมัน ทำการสกัดไขมันตามโปรแกรมของเครื่อง
4. เมื่อครบกำหนดเวลานำบิกเกอร์ไขมันไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส 30 นาที เพื่อระเหยปีโตรเลียมอีเทอร์ออก
5. นำบิกเกอร์ไขมันใส่ในโถดูดความชื้น เพื่อให้เย็น ก่อนนำบิกเกอร์ไขมันไปชั่งน้ำหนักที่แน่นอน ( $W_2$ )
6. การคำนวณเปอร์เซ็นต์ไขมันในตัวอย่าง

$$\text{เปอร์เซ็นต์ไขมัน} = \frac{W_2 - W_1}{W} \times 100$$

เมื่อ  $W$  = น้ำหนักตัวอย่าง

$W_1$  = น้ำหนักของบิกเกอร์ไขมันก่อนสกัด

$W_2$  = น้ำหนักของบิกเกอร์ไขมันหลังสกัด

## ก.5 การวิเคราะห์ปริมาณใยอาหาร (AOAC, 2011)

ใยอาหาร (crude fiber) คือ คาร์โบไฮเดรตที่ย่อยไม่ได้ประกอบด้วย เซลลูโลสเป็นส่วนใหญ่ hemi-cellulose และแร่ธาตุบางชนิด ตามปกติจะใช้เป็นตัววัดคุณค่าทางอาหารหลายชนิด เพราะใยอาหารย่อยยาก นอกจากนี้ปริมาณใยอาหารยังใช้ในการตรวจการปลอมปนในอาหาร

1. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. เครื่องวิเคราะห์ไขมันอาหาร
3. ถ้วยชนิดทนไฟ
4. เตาเผาไฟฟ้า
5. ตู้อบลมร้อน
6. โถสุกความชื้น
7. ที่ลึบ
8. กาต้มน้ำ
9. กาแก้ว
10. กรวยกรอง
11. กระจกชนิดน้ำ
12. เตาไฟฟ้า

#### สารเคมี

1. กรดซัลฟูริก ( $H_2SO_4$ ) เข้มข้น 0.255 N (1.25%)
2. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 0.313 N
3. n-Octanol
4. อะซีโตน (acetone)

#### วิธีการทดลอง

1. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่แห้งและสกัดไขมันออกแล้ว 1 กรัม (น้ำหนักที่แน่นอน) ใส่ในถ้วยชนิดทนความร้อน (ในกรณีตัวอย่างกรอกได้ยาก อาจมีการเติมสารช่วยกรองหรือซีไรท์ ประมาณ 1 กรัมลงบนตัวอย่าง)
2. นำถ้วยชนิดทนไฟต่อเข้ากับเครื่องวิเคราะห์ไขมันอาหาร ในส่วนของ hot extraction unit ปิดสวิตช์ให้แน่น
3. เปิดฝาด้านบนของเครื่อง เติมกรดซัลฟูริก 0.255 N ที่อุ่นๆ จำนวน 150 มิลลิลิตร ลงในขวดย่อยของแต่ละตัวอย่าง
4. เติม n-Octanol ปริมาณ 2-3 หยด เพื่อป้องกันการเกิดฟองสั่น ให้ความร้อนจนเดือด
5. ลดความร้อนลง และต้มต่อเป็นเวลา 30 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. กรองเอากรดออก โดยเลื่อนคันโยกไปที่ตำแหน่ง vacuum ถ้ากรองไม่ลงให้ใช้แรงดันที่ตำแหน่ง pressure ช่วย
7. ล้างกากด้วยน้ำกลั่นร้อนสามครั้ง ครั้งละประมาณ 30 มิลลิลิตร กรองจนแห้ง
8. เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.313 N ที่อุณหภูมิลงไป 150 มิลลิลิตร เติม n-Octanol ปริมาณ 2-3 หยด ให้ความร้อนจนเดือด
9. ทำซ้ำข้อ 5-7
10. ล้างกากด้วยอะซีโตน 25 มิลลิลิตร กรองจนแห้ง
11. นำถ้วยชนิดทนไฟ ไปอบที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นในโถสุญญากาศ นำไปชั่งน้ำหนัก บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน (W1)
12. นำไปเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส นานประมาณ 3 ชั่วโมง แล้วนำออกมาใส่ในโถสุญญากาศ ทิ้งไว้ให้เย็น นำไปชั่งน้ำหนัก บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน (W2)
13. คำนวณเปอร์เซ็นต์ไขมันของอาหาร จากสมการ

$$\text{เปอร์เซ็นต์ไขมันของอาหาร} = \frac{W1 - W2}{W} \times 100$$

เมื่อ W = น้ำหนักตัวอย่าง

W1 = น้ำหนักถ้วยชนิดทนไฟและกากหลังอบแห้ง (กรัม)

W2 = น้ำหนักถ้วยชนิดทนไฟและถ้ำหลังอบแห้ง (กรัม)

## ภาคผนวก ข

### การวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีกายภาพ

#### ข.1 การวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด (AOCS Cd 3d-63, 2009)

การวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด (Acid value) ของไขมันหรือน้ำมัน คือ จำนวนมิลลิกรัมของ โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ที่ใช้ในการทำให้กรดไขมันอิสระที่มีอยู่ในไขมันหรือน้ำมันจำนวน 1 กรัม เป็นกลาง ซึ่งนิยมเทียบเป็นร้อยละของ acid value ดังนั้นค่าความเป็นกรดจะเป็นตัวชี้บ่งบอก การหืนของไขมันและน้ำมัน ถ้าค่าความเป็นกรดสูงแสดงว่าไตรกลีเซอไรด์ถูกไฮโดรไลซ์เป็นกรด ไขมันอิสระมาก แสดงว่าเกิดการหืนมาก

#### สารเคมี

1. สารละลาย Potassium hydroxide เข้มข้น 0.1 M
2. Phenolphthalein indicator 1.0%
3. Ethyl alcohol 95%

#### วิธีการทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างน้ำมัน  $5 \pm 0.01$  กรัม จดบันทึกน้ำหนักที่แน่นอน ในขวดรูปชมพู่ 250 มิลลิลิตร
2. เติม Ethyl alcohol 95% 30 มิลลิลิตร นำไปอุ่นในอ่างควบคุมอุณหภูมิประมาณ 60 องศา เซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที
3. หยด Phenolphthalein เป็นอินดิเคเตอร์ 3-4 หยด นำไปไตเตรทกับสารละลาย Potassium hydroxide จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพูจาง สีต้องคงที่เป็นเวลา 30 วินาที
4. บันทึกปริมาตรที่ใช้ในการไตเตรท
5. คำนวณค่าปริมาณกรดไขมันอิสระ

#### วิธีการคำนวณ

$$\text{Acid value} = [(A-B) \times N \times 56.1] / W$$

เมื่อ A = ปริมาตรของสารละลายที่ใช้ในการไตเตรทตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

B = ปริมาตรของสารละลายที่ใช้ในการไตเตรท blank (มิลลิลิตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

N = ความเข้มข้นของสารละลายที่ใช้ไตเตรท

W = น้ำหนักของตัวอย่างน้ำมัน (กรัม)

## ข.2 การวิเคราะห์ค่าเปอร์ออกไซด์ (AOCS Cd 8-53, 2009)

ค่าเปอร์ออกไซด์ (Peroxide value) คือ ปริมาณออกไซด์ที่มีอยู่ในน้ำมันและไขมัน หมายถึง จำนวนมิลลิลิตรของสารละลายโซเดียมโซโอซัลเฟตที่ใช้ในการไทเทรตไขมันหรือน้ำมัน 1 กรัม เป็นค่าที่บ่งชี้ถึงการเสื่อมเสียของน้ำมันและไขมัน รวมทั้งอาหารที่มีไขมันสูง ถ้าเปอร์ออกไซด์สูง แสดงว่าไขมันหรือน้ำมัน เกิด lipid oxidation มาก มีกลิ่นหืนมาก เกิดปฏิกิริยา oxidative rancidity มาก

### สารเคมี

1. Sodium thiosulfate solution เข้มข้น 0.1 N
2. Chloroform : acetic acid (2:3)
3. Potassium Iodide อิมตัว
4. น้ำแข็ง เข้มข้น 1%

### วิธีการทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างน้ำมัน  $5 \pm 0.05$  g ใส่ใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร
2. เติม Chloroform : acetic acid (2:3) 30 มิลลิลิตร
3. ใส่ KI อิมตัว 3 หยด ลงใน flask เขย่าทันทีในที่มีคนาน 1 นาที
4. เติมน้ำกลั่นทันที 30 มิลลิลิตร
5. ไตเตรทด้วยสารละลายโซเดียมโซโอซัลเฟตความเข้มข้น นอร์มอล 0.1 จนสารละลายเป็นสี เหลืองอ่อนและเติมสารละลายน้ำแข็งความเข้มข้น 1% ปริมาณ มิลลิลิตร และไตเตรทต่อจนสี 2 น้ำเงินจางหาย
6. บันทึกปริมาตรสารละลายโซเดียมโซโอซัลเฟต ที่ใช้ในการไตเตรท
7. ทำ blank ตามวิธีเดียวกับที่กล่าวมาข้างต้น แต่ไม่ใส่ตัวอย่างน้ำมัน
8. คำนวณค่าเปอร์ออกไซด์

### วิธีการคำนวณ

$$\text{Peroxide Value} = [(S-B) \times N \times 1000] / W$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- เมื่อ B = ปริมาตรของสารละลายที่ใช้ในการไตเตรท blank (มิลลิลิตร)  
 S = ปริมาตรของสารละลายที่ใช้ในการไตเตรทตัวอย่าง (มิลลิลิตร)  
 N = ความเข้มข้นของสารละลายที่ใช้ไตเตรท  
 W = น้ำหนักของตัวอย่างน้ำมัน (กรัม)

### ข.3 การวิเคราะห์ความหนืดด้วยเครื่อง Brookfield Viscometer รุ่น DV-III

Brookfield Viscometer เป็นมาตรฐานความหนืด (viscometer) ประเภท (rotational viscometer) ที่ใช้ความหนืด (viscosity) ของของเหลว มีหน่วยเป็นเซ็นติพอยส์ (centipoise) นิยมใช้กันอย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรมอาหาร ตัวเครื่องประกอบด้วย แท่งโลหะทรงกระบอก (Spindle) จะหมุนอยู่ในของเหลวที่ต้องการวัด โลหะทรงกระบอกนี้หมุนได้โดยต่อกับมอเตอร์ การวัดความหนืดจะวัดแรงเสียดทานของของเหลวออกมาเป็นค่า Torque และนำมาคำนวณ โดยการคูณด้วยค่าคงที่ตามที่กำหนดมากับเครื่อง หรือสามารถอ่านค่าเป็น centipoise ได้โดยตรงจากเครื่อง

#### อุปกรณ์

1. Brookfield Viscometer รุ่น DV-III
2. ชุดการวิเคราะห์แบบ Small sample adapter
3. หัววัด (Spindle) เบอร์ 18

#### วิธีการทดลอง

1. เช็กระดับลูกน้ำ ปรับระดับลูกน้ำให้อยู่ที่จุดกึ่งกลางของกรอบ และใส่ guard
2. เปิดสวิทช์เครื่องด้านหลังตัวฐานของเครื่อง
3. กดปุ่มใดๆเครื่องจะทำการ Calibrate โดยอัตโนมัติ เมื่อการ Calibrate เสร็จสิ้น หน้าจอจะขึ้น ข้อความว่าให้ใส่หัววัดได้ จึงใส่หัววัดที่จะใช้วัด หัววัดความหนืดมี 7 ขนาด หัววัดหมายเลข 1 จะวัด ความหนืดในช่วงความข้นต่ำ หัววัดหมายเลขสูงจะวัดความหนืดในช่วงที่สูงขึ้น
4. การวัดความข้นหนืดต้องเลือกหัววัดและความเร็วรอบให้เหมาะสมกับผลิตภัณฑ์
5. ปิดตัวอย่างน้ำมันงาม้อน 8 มิลลิลิตร ใส่ใน chamber ซึ่งติดตั้งเข้ากับชุด small sample adapter และควบคุมการวัดที่อุณหภูมิ  $25 \pm 1$  องศาเซลเซียส
6. ใส่หัววัดที่เบอร์ 18 และจุ่มหัววัดลงในตัวอย่างจนถึงขีดที่กำหนดในแกนหัววัด
7. กด select spindle เพื่อเลือกขนาดของหัววัด และกด select spindle อีกครั้งเพื่อตอบตกลง
8. เลือกความเร็วรอบ โดยพิจารณาความเร็วรอบจากค่าทอร์ก (torque) ที่เข้าใกล้ 100 หลังจากนั้นอ่านค่าความหนืดของตัวอย่างเป็นเซ็นติพอยส์ (cP)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### ข.4 การวัดสีด้วยเครื่อง Spectrophotometer ยี่ห้อ Hunter Lab รุ่น Color Quest XE

เครื่องวัดสีทำงานโดยใช้หลักการของ Spectrophotometry ดังนี้ ให้แสงจากแหล่งกำเนิดแสงภายในตัวเครื่อง ตกกระทบบนพื้นของวัตถุ อนุภาคสีบนผิวของวัตถุจะดูดกลืนแสงบางช่วงคลื่นไว้ และจะสะท้อนแสงบางช่วงคลื่นออกมาและจะถูกบันทึกโดยชุดรับสัญญาณ (spectrometer) และนำข้อมูลมาประมวลผลตามการตอบสนองของตามนุษย์ที่ไวต่อแสงสีแดง สีเขียว และสีน้ำเงิน คำนวณค่าสีออกมาเป็นตัวเลขระบบ CIE (Commission International de l' Eclairage)

#### อุปกรณ์

1. Hunter Lab รุ่น Color Quest XE
2. ชุด calibration

#### วิธีการทดลอง

1. เสียบปลั๊กแล้วเปิดเครื่องวัดสี พร้อมทั้งเปิดคอมพิวเตอร์
2. เข้า Windows เลือก Double Click ที่ Icon Universe
3. เมื่อเข้าโปรแกรม Universal สิ่งที่ต้องทำตอนแรกคือ ทำ STANDADIZE
4. ใช้ Mouse Click ที่ Menu Bar STANDADIZE
5. การเลือกค่าในการทำ STANDADIZE MODE มีให้เลือกอยู่ 4 ค่า
  - 5.1 RSIN สำหรับการวัดแบบ Reflectance วัดสีโดยไม่รวมลักษณะพื้นผิว
  - 5.2 RSEX สำหรับการวัดแบบ Reflectance วัดสีโดยรวมลักษณะพื้นผิว
  - 5.3 TTRAN สำหรับการวัดแบบ Transmittance รวม regular + diffuse (นิยม ใช้)
  - 5.4 RTRAN สำหรับการวัดแบบ Transmittance วัดเฉพาะค่า regular ไม่รวมค่า diffuse (ตัวอย่างใส่มากๆ)
6. ทำการ Calibration เครื่องก่อนวัดครั้งแรกด้วยชุด Calibration โดยทำตามขั้นตอนที่โปรแกรมกำหนด
  - 6.1 นำแผ่นเทียบสีค่ามาตรฐาน วางที่ transmission port กด OK เมื่อทำการ standardize สมบูรณ์แล้วนำแผ่นเทียบสีค่ามาตรฐานออก
  - 6.2 นำแผ่นเทียบสีขาวมาตรฐาน วางที่ reflectance port กด OK เมื่อทำการ standardize สมบูรณ์แล้วนำแผ่นเทียบสีขาวมาตรฐานวางไว้ตลอดการวัดโดยไม่เอาออก
  - 6.3 นำ cell blank วางที่ transmission port
  - 6.4 ทำการกดอ่านค่า cell blank โดยค่า  $L^*$  ที่วัดได้จะเท่ากับ 100 หรือใกล้เคียง 100 ค่า  $a^*$  และ ค่า  $b^*$  จะเท่ากับ 0 หรือใกล้เคียง 0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6.5 จากนั้นเปลี่ยนจาก cell blank เป็นตัวอย่างน้ำมัน วัดค่าวิของน้ำมันในระบบ CIE

$L^*a^*b^*$  โดยทำการวัดซ้ำ 3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ย

$L^*$  หมายถึง ค่าความสว่าง ที่มีอยู่ในช่วง 0 (สีดำ) ถึง 100 (สีขาว)

$a^*$  หมายถึง ค่าความเป็นสีแดง ถ้าเป็นบวก (+) และความเป็นสีเขียว (-)

$b^*$  หมายถึง ค่าความเป็นสีเหลือง ถ้าเป็นบวก (+) และความเป็นสีน้ำเงิน (-)

#### การคำนวณค่า Hue angle

ค่า Hue angle เป็นค่าที่แสดงสีที่แท้จริงของวัตถุ ซึ่งเป็นมุมตกกระทบของค่า  $a^*$  ซึ่ง hue angle มีค่าอยู่ระหว่าง 0-360 องศา คำนวณได้จากสมการดังนี้

$$\text{Hue angle} = \arctangent (b^*/a^*) \quad \text{เมื่อ } a^* > 0 \text{ เมื่อ } b^* > 0$$

$$= \arctangent (b^*/a^*) + 180^\circ \quad \text{เมื่อ } a^* < 0$$

$$= \arctangent (b^*/a^*) + 360^\circ \quad \text{เมื่อ } a^* > 0 \text{ เมื่อ } b^* < 0$$

#### การคำนวณค่า Chroma

ค่า Chroma เป็นค่าที่แสดงให้เห็นถึงความอิ่มตัวของสี เมื่อมีค่าเข้าใกล้ 0 หมายถึงวัตถุมีสีจาง เมื่อมีค่าเข้าใกล้ 60 หมายถึงวัตถุมีสีเข้ม

$$\text{Chroma} = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$$

#### ข.5 การวิเคราะห์ค่าไอโอดีน (Wijs method AOCS Cd 1-25, 2009)

ค่าไอโอดีน (Iodine value) คือ จำนวนกรัมของไอโอดีนที่เข้าไปทำปฏิกิริยากับพันธะคู่ของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่เป็นองค์ประกอบในโมเลกุลของไขมันหรือน้ำมันจำนวน 100 กรัม ค่าไอโอดีนเป็นตัวชี้บ่งว่าไขมันหรือน้ำมันมีกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่เป็นองค์ประกอบอยู่ในโมเลกุลมากน้อยเพียงใด หรือ degree of unsaturation ของไขมัน ถ้าค่าไอโอดีนสูงแสดงว่ามีปริมาณกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเป็นองค์ประกอบมาก และจะทำให้เกิดการหืนได้ง่ายด้วย

#### สารเคมี

1. สารละลาย Wij's
2. Sodium thiosulfate solution เข้มข้น 0.1 N
3. Cyclohexane : acetic acid (1:1)
4. Potassium Iodide เข้มข้น 15%
5. น้ำแข็ง เข้มข้น 1%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างน้ำมัน 0.1 g ใส่ใน Iodine flask 500 ml
2. เติม Cyclohexane : acetic acid (1:1) 20 ml
3. เติม สารละลาย Wij's 25 ml แล้วเก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที
4. เติม KI 20 ml และเติมน้ำกลั่น 100 ml
5. หยดน้ำแป้ง 1% ประมาณ 2-3 หยด
6. ไทเทรตด้วย 0.1 N  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีใส บันทึกปริมาตรที่ใช้ในการไทเทรต

## วิธีการคำนวณ

$$\text{Iodine value} = [(B-A) \times N \times 12.69] / W$$

- เมื่อ
- A = ปริมาตรของสารละลายที่ใช้ในการไทเทรตตัวอย่าง (มิลลิลิตร)
  - B = ปริมาตรของสารละลายที่ใช้ในการไทเทรต blank (มิลลิลิตร)
  - N = ความเข้มข้นของสารละลายที่ใช้ไทเทรต
  - W = น้ำหนักของตัวอย่างน้ำมัน (กรัม)

## ข.6 การวิเคราะห์ค่าสaponนิฟิเคชัน (AOCS CD 3-25,2009)

ค่าสaponนิฟิเคชัน (Saponification value) หมายถึง จำนวนมิลลิกรัมของ KOH ที่ใช้ในการไฮโดรไลซ์ไขมันหรือน้ำมันอย่างสมบูรณ์ จำนวน 1 กรัม ได้เป็นสบู่และกลีเซอรอล นิยมหาค่าสaponนิฟิเคชันของลิปิดโดยต้มลิปิดที่รู้น้ำหนักแน่นอนกับสารมาตรฐาน KOH ปริมาณเกินพอ หลังจากปฏิกิริยาเกิดขึ้นสมบูรณ์แล้วหาปริมาณ KOH ที่เหลือ โดยนำไปไทเทรตกับกรด ซึ่งจะทำให้ทราบปริมาณ KOH ที่ใช้ไป

## สารเคมี

1. Hydrochloric acid 0.5 N
2. Potassium hydroxide (KOH) 0.5N
3. Phenolphthalein indicator 1.0%

### วิธีการ

1. ชั่งน้ำมัน  $5 \pm 0.01$  กรัม ใส่ขวดก้นกลม ขนาด 250 มิลลิลิตร
2. เติมสารละลาย โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) 50 มิลลิลิตร
3. ทำสารละลาย blank โดยทำเช่นเดียวกับวิธีดังกล่าว
4. นำขวดตัวอย่างน้ำมันต่อกับเครื่อง air condensers แล้วต้มน้ำมันให้เกิดการ saponified อย่างสมบูรณ์ ใช้เวลาอย่างน้อย 60 นาที
5. นำขวดตัวอย่างน้ำมันออกทิ้งไว้ให้เย็น (ไม่เย็นจนเกินไป)
6. เติมฟีนอล์ฟทาลีน 2-3 หยด และไตเตรทด้วยสารละลายไฮโดรคลอริก 0.5 N จนสารละลายสีชมพูหายไป บันทึกปริมาตรที่ใช้ในการไตเตรท

### วิธีการคำนวณ

$$\text{Saponification value} = [(B-A) \times N \times 56.1] / W$$

เมื่อ A = ปริมาตรของสารละลายที่ใช้ในการไตเตรทตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

B = ปริมาตรของสารละลายที่ใช้ในการไตเตรท blank (มิลลิลิตร)

N = ความเข้มข้นของสารละลายที่ใช้ไตเตรท

W = น้ำหนักของตัวอย่างน้ำมัน (กรัม)

### ข.7 การวิเคราะห์คุณสมบัติทางความร้อน (Thermal properties)

Differential calorimetry scanning (DSC) เป็นเทคนิคการวิเคราะห์เชิงความร้อน ซึ่งใช้วิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงทางความร้อน (thermal transition) ของสารตัวอย่างที่ใช้วัดการเปลี่ยนแปลงพลังงาน (การดูดหรือคายพลังงาน) ของสารตัวอย่าง เมื่อถูกเพิ่ม (หรือลด) อุณหภูมิในบรรยากาศที่ถูกควบคุม นำมาใช้ในการกำหนดหาลักษณะอุณหภูมิของน้ำมันในขณะเกิดการเปลี่ยนสถานะ การเปลี่ยนสถานะที่อุณหภูมิสูงสุด คือการเปลี่ยนสถานะจากของแข็งเป็นของเหลวซึ่งสัมพันธ์กับการหลอมเหลวโดยสมบูรณ์ การเปลี่ยนสถานะนี้ช่วยให้แนวทางในการเลือกอุณหภูมิที่เหมาะสมในการใช้งานและการเก็บรักษา การเปลี่ยนสถานะจากของแข็งเป็นของเหลว นอกจากนี้ยังสามารถใช้จำแนกความแตกต่างของตัวอย่าง ตัวอย่างจะถูกวางบนจานอะลูมิเนียมที่อยู่ภายในเตาที่ควบคุมอุณหภูมิได้ โดยภายในเตาจะมีสารอ้างอิงซึ่งเป็นจานอะลูมิเนียมเปล่าเพื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างภายใต้สภาวะเดียวกัน

## อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. Differential calorimetry scanning รุ่น DSC 204F1
2. Aluminium volatile pan

## วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่าง 8-10 มิลลิกรัม ใส่ลงใน aluminium volatile pan
2. ทำตัวอย่างให้เย็นอุณหภูมิคงที่ -80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นทำให้ร้อนอุณหภูมิจาก -80 ถึง 70 องศาเซลเซียส อัตราการให้ความร้อน 5 องศาเซลเซียสต่อนาที จากนั้นทำให้เย็นอุณหภูมิจาก 70 ถึง -80 องศาเซลเซียส คงอุณหภูมิที่ -80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที และให้ความร้อนจาก -80 ถึง 70 องศาเซลเซียส
3. เครื่องทำการบันทึกข้อมูล จุดเริ่มต้น (onset) จุดสูงสุด (peak) และจุดสิ้นสุด (offset)

## ข.8 การวิเคราะห์ความคงตัวของน้ำมัน (Rancimat method)

เครื่อง Rancimat เป็นเครื่องวิเคราะห์หาค่าความหืนของไขมัน โดยเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันหรือไขมันโดยการให้ความร้อนและอากาศเข้าไปในตัวอย่าง เพื่อทำให้เกิดการแตกตัวของไขมัน และเกิดสารประกอบในรูป volatile acids ที่เป็นผลจากการออกซิเดชัน สารประกอบดังกล่าวจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงค่าการนำไฟฟ้าของน้ำกลั่น เมื่อสิ้นสุดปฏิกิริยาจะประมวลออกมาเป็นกราฟโดยอัตโนมัติ ซึ่งรายงานเสถียรภาพต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นค่า induction time (period) หรือ Oil Stability Index (OSI)

### วิธีการวิเคราะห์ตัวอย่าง

1. เตรียมชั่งตัวอย่าง  $3 \pm 0.01$  กรัม ลงใน reaction vessel ประกอบอุปกรณ์ต่างๆกับเครื่อง Rancimat ตามคู่มือการใช้งานเครื่อง (743 rancimat) เลือกการให้อากาศไหลผ่านอัตราการไหลคงที่และอุณหภูมิ โดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส และอัตราการให้อากาศ 20 ลิตรต่อชั่วโมง
2. เมื่อเครื่องวิเคราะห์ตัวอย่างเสร็จ เครื่องจะแสดงผลอัตโนมัติ ทำการบันทึกข้อมูลแสดงค่าเป็น induction time

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ก

### การวิเคราะห์คุณสมบัติต้านออกซิเดชัน

#### ก.1 การวิเคราะห์คุณสมบัติต้านออกซิเดชันด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH radical scavenging activity) ตามวิธีของ Lee และคณะ (2007)

การวิเคราะห์คุณสมบัติต้านออกซิเดชัน DPPH มีหลักการคือ สารละลายของอนุมูลอิสระ DPPH จะมีสีม่วงแดง ซึ่งดูดกลืนแสงได้ที่ 515 นาโนเมตร ในกรณีตัวอย่างสารสกัดที่มีฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลอิสระได้ดี จะทำให้สีม่วงแดงของสารละลาย DPPH เจือจางลงได้มากกว่าตัวอย่างสารสกัดที่มีฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลอิสระได้น้อย

#### สารเคมี

1. สารละลาย DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil)
2. Trolox โดยซิ่ง 0.025 กรัม ปรับปริมาตรด้วยเอทิลอะซิเตท 100 มิลลิลิตร
3. ethyl acetate

#### การเตรียมสารละลาย DPPH

1. เตรียม stock solution สารละลาย DPPH ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ โดยซิ่ง DPPH 0.0039 กรัม ละลายในเอทิลอะซิเตทปรับปริมาตรให้เป็น 10 มิลลิลิตร
2. เตรียม working solution โดยดูด stock solution สารละลาย DPPH ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ มา 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยเอทิลอะซิเตทให้ได้ 50 มิลลิลิตร ไปวัดค่าดูดกลืนแสงให้อยู่ในช่วง  $1.1 \pm 0.02$  ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร

#### การเตรียมกราฟมาตรฐานโทรลอกซ์

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานโทรลอกซ์ โดยเตรียมโทรลอกซ์ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ โดยซิ่งโทรลอกซ์ 0.025 กรัม ปรับปริมาตรด้วยเอทิลอะซิเตท 100 มิลลิลิตร ปิเปตมา 0, 20, 40, 80, 120, 160, 180 และ 200 ไมโครลิตร ตามลำดับ ปรับปริมาตรด้วยเอทิลอะซิเตทให้ปริมาตรรวมในแต่ละหลอดเป็น 1000 ไมโครลิตร จะได้ความเข้มข้นโดยรวมในหลอดทดลองเป็น 0, 0.02, 0.04, 0.08, 0.12, 0.16, 0.18 และ 0.20 มิลลิโมลาร์ (ไมโครโมล/กรัม) ตามลำดับ
2. เติมสารละลาย DPPH ปริมาณ 4500 ไมโครลิตร ในแต่ละหลอดทดลอง
3. ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) วางตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืด 60 นาที
4. วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร โดยใช้เอทิลอะซิเตทเป็น blank

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. เขียนกราฟมาตรฐานโทรลอกซ์ โดยคำนวณฤทธิ์ทำลายอนุมูลอิสระ (DPPH radical scavenging (%)) และเขียนกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของโทรลอกซ์ (มิลลิโมลาร์สมมูลย์ของโทรลอกซ์ หรือไมโครโมล/มิลลิตร) กับเปอร์เซ็นต์ฤทธิ์ทำลายอนุมูลอิสระ

#### วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งน้ำมัน 0.5 กรัม ละลายในเอทิลอะซิเตท 1 มิลลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม
2. คูดสารละลายจากข้อที่ 1 มา 1 มิลลิตร และผสมกับ 4500 ไมโครลิตรของสารละลาย

DPPH

วางตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มีด 60 นาที

3. วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร โดยใช้เอทิลอะซิเตทเป็น blank
4. คำนวณฤทธิ์ทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ของตัวอย่างน้ำมันเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายโทรลอกซ์

#### การคำนวณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH

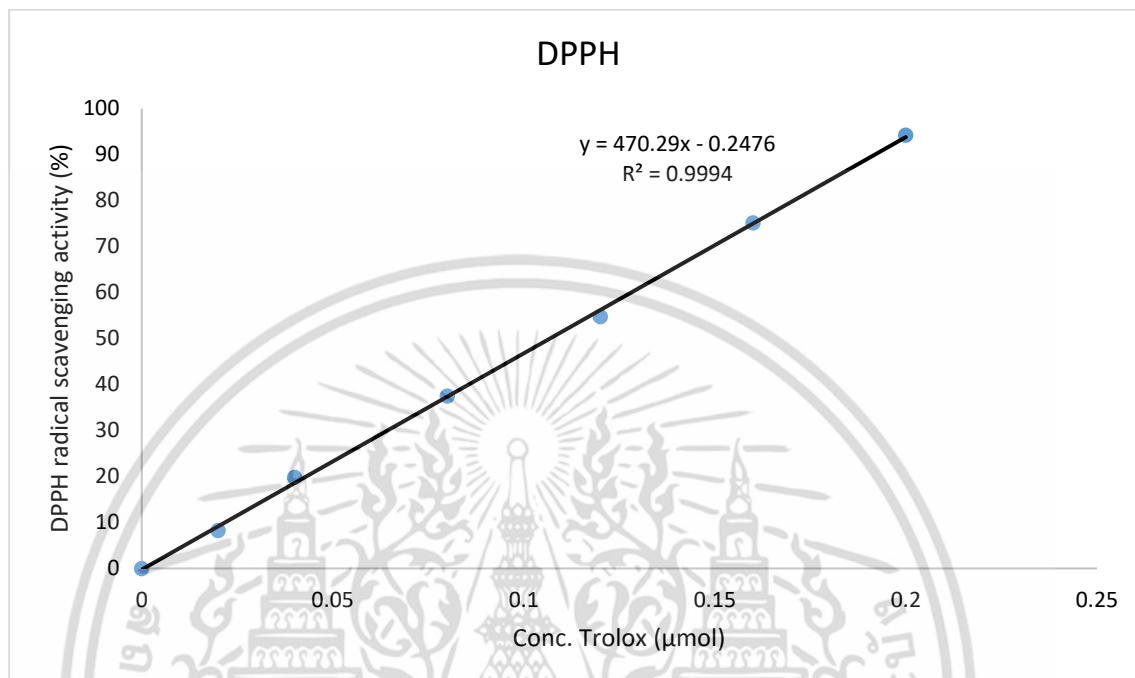
การคำนวณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารละลายมาตรฐานหรือตัวอย่างโดยคำนวณเปอร์เซ็นต์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH (DPPH radical scavenging (%)) ตามสมการต่อไปนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH} = \left[ 1 - \left( \frac{A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}}} \right) \right] \times 100$$

โดยที่  $A_{\text{sample}}$  = ค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาของสารละลายมาตรฐานหรือตัวอย่างน้ำมัน

$A_{\text{control}}$  = ค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาควบคุม

นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ มาแทนค่าในสมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟมาตรฐาน Trolox ซึ่งดังภาพที่ ข.1



ภาพที่ ข.1 กราฟมาตรฐาน Trolox ในการวิเคราะห์คุณสมบัติการต้านออกซิเดชัน DPPH

$$y = 470.29x - 0.2476 \quad (R^2 = 0.9994)$$

เมื่อ  $y$  = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายน้ำมันตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร

$x$  = ความเข้มข้นของสารละลาย Trolox (ไมโครกรัม/สารละลายน้ำมันตัวอย่าง 1

มิลลิลิตร)

$c$  = จุดตัดแกน  $y$

### ตัวอย่างการคำนวณ

ตัวอย่างน้ำมันจระเข้ที่สกัดได้ด้วยวิธีเจียวไมโครเวฟ 8 นาทีซ้ำที่ 1

จากการวิเคราะห์ตัวอย่าง 0.5 กรัม ของสารละลายน้ำมันจระเข้ที่สกัดได้ด้วยวิธีเจียวไมโครเวฟ 8 นาทีซ้ำที่ 1 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร เท่ากับ 0.547 และค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างควบคุมเท่ากับ 0.926 แทนค่าในสมการกราฟมาตรฐานของ Trolox (ภาพที่ ข.1) จะได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\begin{aligned} \text{เปอร์เซ็นต์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH} &= [1-(0.547/0.926)] \times 100 \\ &= 40.93 \end{aligned}$$

แทนค่าในสมการกราฟมาตรฐานของสารละลายโทรลอกซ์

$$40.93 = 470.29x - 0.2476$$

$$x = 0.0875 \text{ ไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์/สารละลายน้ำมันตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร}$$

เนื่องจากการนำสารละลายน้ำมันมาวัดค่าการดูดกลืนแสง ได้เจือจางตัวอย่างโดยการละลายน้ำมัน 0.5 กรัม ในเอทิลอะซิเตท 1 มิลลิลิตร และปิเปตสารละลายน้ำมันมาวัดค่าปริมาตร 1 มิลลิลิตร จึงมีน้ำมันตัวอย่างอยู่ในสารละลายเท่ากับ  $[(0.5/1) \times 1] = 0.5$  กรัม มีปริมาณโทรลอกซ์เท่ากับ 0.0875 ไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ เพราะฉะนั้น ตัวอย่างน้ำมันคิดเป็น 100 กรัม จะมีฤทธิ์ทำลายอนุมูลอิสระ  $\text{DPPH} = (0.0875/0.5) \times 100$  เท่ากับ 17.51 ไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อน้ำมันตัวอย่าง 100 กรัม

## ค.2 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS (ABTS radical scavenging activity) โดยดัดแปลงจากวิธีของ Sevim และคณะ (2013)

สารเคมี

1. สารละลาย ABTS ความเข้มข้น 7 มิลลิโมลาร์ โดยชั่ง ABTS 0.0384 กรัม ละลายน้ำปรับปริมาตรรวมให้เป็น 10 มิลลิลิตร
2. สารละลายโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต (potassium persulfate) ความเข้มข้น 2.45 มิลลิโมลาร์ โดยชั่ง 0.033 กรัม ละลายน้ำปรับปริมาตรรวมให้เป็น 50 มิลลิลิตร
3. เอทานอล 95%
4. เฮกเซน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### การเตรียมกราฟมาตรฐานโทรลอกซ์

1. เตรียมสารละลาย ABTS<sup>•+</sup> โดยให้สารละลาย ABTS ทำปฏิกิริยากับสารละลายโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต ในอัตราส่วน 1:1 นำสารละลายผสมเก็บในที่มืด ที่อุณหภูมิห้อง ก่อนการใช้งาน 12-16 ชั่วโมง เมื่อนำมาใช้งานให้เจือจางด้วยเอทานอลจนวัดค่าการดูดกลืนแสงได้  $0.70 \pm 0.02$  ที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร

2. เตรียมสารละลายมาตรฐานโทรลอกซ์ โดยเตรียมโทรลอกซ์ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ โดยชั่งโทรลอกซ์ 0.025 กรัม ปรับปริมาตรด้วยเอทานอล ปิเปตมา 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48 และ 60 ไมโครลิตร ตามลำดับ ปรับปริมาตรด้วยเอทานอลให้ปริมาตรรวมในแต่ละหลอดทดลองเป็น 300 ไมโครลิตร จะได้ความเข้มข้นโดยรวมในแต่ละหลอดทดลองเป็น 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.10, 0.12, 0.14, 0.16 และ 0.20 มิลลิโมลาร์ (ไมโครโมล/มิลลิลิตร) ตามลำดับ

3. เติมสารละลาย ABTS<sup>•+</sup> 4000 ไมโครลิตร

4. ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) วางตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 15 นาทีในที่มืด

5. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร โดยใช้เอทานอลเป็น blank

6. เขียนกราฟมาตรฐานโทรลอกซ์ โดยคำนวณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (ABTS radical scavenging (%)) และเขียนกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของโทรลอกซ์ (มิลลิโมลาร์สมมูลย์ของโทรลอกซ์ หรือ ไมโครโมล/มิลลิลิตร) กับเปอร์เซ็นต์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

### วิธีวิเคราะห์ตัวอย่าง

1. ชั่งน้ำมัน 0.5 กรัม ละลายในเฮกเซน 5 มิลลิลิตร

2. ปิเปตตัวอย่างสารละลายน้ำมัน 300 ไมโครลิตร และสารละลาย ABTS<sup>•+</sup> 4000 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืด 15 นาที

3. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร โดยใช้เอทานอลเป็น blank

4. คำนวณฤทธิ์ทำลายอนุมูลอิสระ ABTS ของตัวอย่างน้ำมันเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายโทรลอกซ์

## การคำนวณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS

การคำนวณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของสารละลายมาตรฐานหรือตัวอย่างโดยคำนวณเปอร์เซ็นต์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS (ABTS radical scavenging (%)) ตามสมการต่อไปนี้

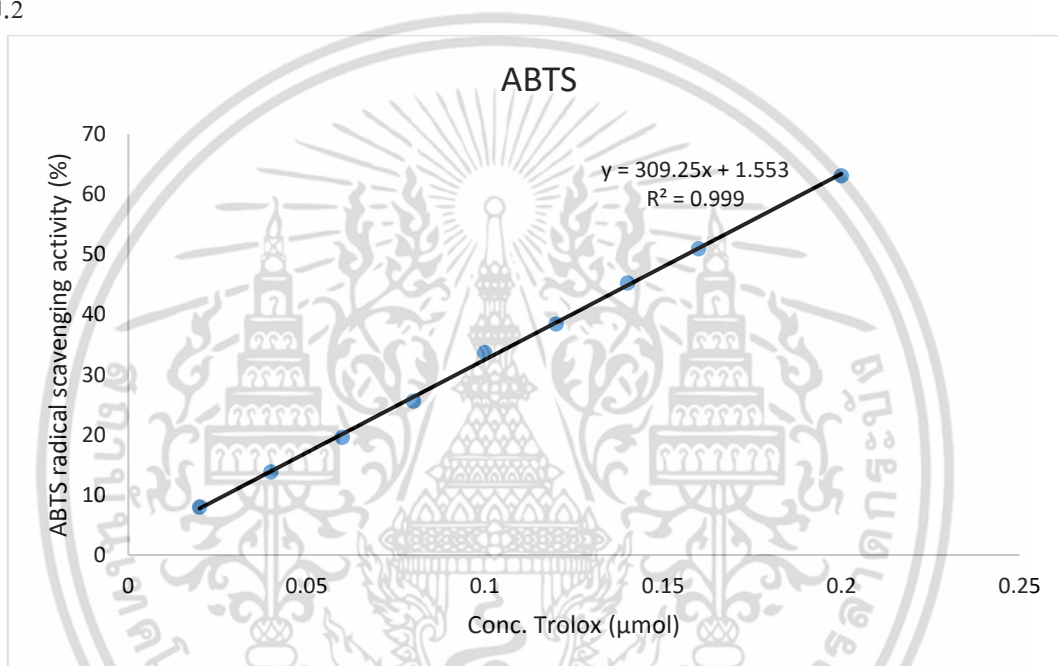
$$\text{เปอร์เซ็นต์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS} = \left[ 1 - \left( \frac{A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}}} \right) \right] \times 100$$

โดยที่  $A_{\text{sample}}$  = ค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาของสารละลายมาตรฐานหรือตัวอย่างน้ำมัน

$A_{\text{control}}$  = ค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาควบคุม

นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ มาแทนค่าในสมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟมาตรฐานโทรลอคซ์ดังภาพที่

ข.2



ภาพที่ ค.2 กราฟมาตรฐานโทรลอคซ์ในการวิเคราะห์คุณสมบัติการต้านออกซิเดชัน ABTS

$$y = 309.25x + 1.553 \quad (R^2 = 0.9990)$$

เมื่อ  $y$  = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายน้ำมันตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร

$x$  = ความเข้มข้นของสารละลายโทรลอคซ์ (ไมโครกรัม/สารละลายน้ำมันตัวอย่าง 0.3 มิลลิลิตร)

$c$  = จุดตัดแกน  $y$

## ตัวอย่างการคำนวณ

ตัวอย่างน้ำมันจระเข้ที่สกัดได้ด้วยวิธีเจียวไมโครเวฟ 8 นาทีซ้ำที่ 1

จากการวิเคราะห์ตัวอย่าง 0.3 มิลลิลิตร ของสารละลายน้ำมันกระเซ้ที่สกัดได้ด้วยวิธีเจียว ไมโครเวฟ 8 นาทีซ้ำที่ 1 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร เท่ากับ 0.578 และ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างควบคุมเท่ากับ 0.637 แทนค่าในสมการกราฟมาตรฐานของ โทรลอกซ์ (ภาพที่ ข.2) จะได้

$$\begin{aligned} \text{เปอร์เซ็นต์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS} &= [1-(0.578/0.637)] \times 100 \\ &= 9.26 \end{aligned}$$

แทนค่าในสมการกราฟมาตรฐานของสารละลายโทรลอกซ์

$$9.26 = 309.25x + 1.553$$

$$x = 0.0249 \text{ ไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์/สารละลายน้ำมันตัวอย่าง 0.3 มิลลิลิตร}$$

เนื่องจากในการนำสารละลายน้ำมันมาวัดค่าการดูดกลืนแสง ได้เจือจางตัวอย่างโดยการละลายน้ำมัน 1 กรัม ในเฮกเซน 5 มิลลิลิตร และบีบเปิดสารละลายน้ำมันมาวัดค่าปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร จึงมีน้ำมันตัวอย่างอยู่ในสารละลายเท่ากับ  $[(1/5) \times 0.3] = 0.06$  กรัม มีปริมาณโทรลอกซ์เท่ากับ 0.0249 ไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ เพราะฉะนั้น ตัวอย่างน้ำมันคิดเป็น 100 กรัม จะมีฤทธิ์ทำลายอนุมูลอิสระ  $\text{ABTS} = (0.0249/0.06) \times 100$  เท่ากับ 41.55 ไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อน้ำมันตัวอย่าง 100 กรัม

**ค.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic compound contents)** โดยดัดแปลงจากวิธีของ Teixeira และคณะ (2013)

สารเคมี

1. Galic acid
2. Folin-ciocalteu
3. เมทานอล
4.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  อิมตัว (20%v/v)

วิธีวิเคราะห์

1. การสกัดสารตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.1 ชั่งน้ำมัน 1 กรัม ผสมกับเมทานอล 3 มิลลิลิตร นำไปผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงที่ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที

1.2 นำสารละลายที่เป็น supernatant เก็บไว้ 2 มิลลิลิตร และนำส่วนที่เหลือสกัดอีกสองครั้งโดยผสมกับเมทานอล 3 มิลลิลิตร โดยทำซ้ำขั้นตอนเดียวกัน จากนั้นปรับปริมาตรสุดท้ายด้วยเมทานอลให้มีปริมาตรรวมเท่ากับ 10 มิลลิลิตร

## 2. การวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง

2.1 ปิเปตสารสกัดที่ได้ 0.1 มิลลิลิตรผสมกับ Folin-ciocalteu 0.5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองเขย่าแล้วเก็บไว้ในที่มืด 3 นาที

2.2 ปิเปตสาร  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  อิ่มตัว (20%v/v) 1.5 มิลลิลิตร ใส่น้ำกลั่นให้ครบ 10 มิลลิลิตรเก็บไว้ในที่มืด 2 ชั่วโมง

2.3 วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร โดยใช้เมทานอลเป็น blank

## 3. การวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน Gallic acid

3.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก (โดยชั่งแกลลิก 0.02 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำ ให้มีปริมาตรรวมเป็น 50 มิลลิลิตร) โดยปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกใส่หลอดทดลอง 0, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400 และ 450 ไมโครลิตร ตามลำดับ แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำให้มีปริมาตรรวมในแต่ละหลอดเป็น 10 มิลลิลิตร จะได้ความเข้มข้นโดยรวมในหลอดทดลองเป็น 0, 0.05, 0.1, 0.15, 0.2, 0.25, 0.3, 0.35, 0.4 และ 0.45 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

3.2 ปิเปตสารละลาย Folin-ciocalteu 0.5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองเขย่าแล้วเก็บไว้ในที่มืด 3 นาที

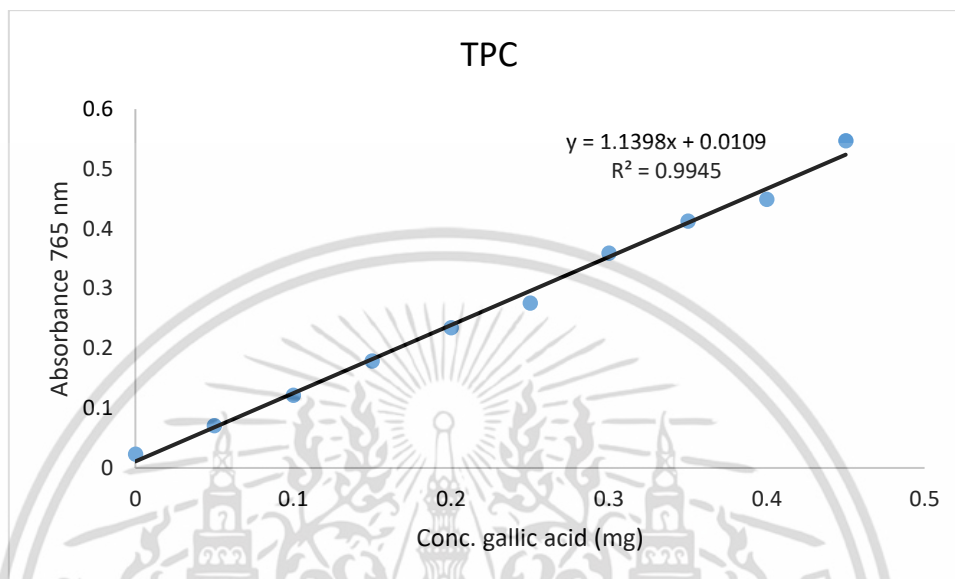
3.3 ปิเปตสาร  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  อิ่มตัว (20%v/v) 1.5 มิลลิลิตร เก็บไว้ในที่มืด 2 ชั่วโมง

3.4 วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร โดยใช้เมทานอลเป็น blank

3.5 คำนวณปริมาณสารฟีนอลิก ของตัวอย่างน้ำมันเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก

## การคำนวณปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด

การคำนวณปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด ของสารละลายตัวอย่างโดยคำนวณจากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก ตามสมการต่อไปนี้



ภาพที่ ค.3 กราฟมาตรฐานกรดแกลลิกในการวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด

$$y = 1.1398x + 0.0109 \quad (R^2 = 0.9945)$$

เมื่อ  $y$  = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายน้ำมันตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร

$x$  = ความเข้มข้นของสารละลายกรดแกลลิก (มิลลิกรัม/สารละลายน้ำมันตัวอย่าง 0.1 มิลลิลิตร)

$c$  = จุดตัดแกน  $y$

### ตัวอย่างการคำนวณ

ตัวอย่างน้ำมันจระเข้ที่สกัดได้ด้วยวิธีเจียวไมโครเวฟ 8 นาทีซ้ำที่ 1

จากการวิเคราะห์ตัวอย่าง 0.1 มิลลิลิตร ของสารละลายน้ำมันจระเข้ที่สกัดได้ด้วยวิธีเจียวไมโครเวฟ 8 นาทีซ้ำที่ 1 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร เท่ากับ 0.057 แทนค่าในสมการกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก (ภาพที่ ค.3) จะได้

แทนค่าในสมการกราฟมาตรฐานของสารละลายโทรลอคซ์

$$0.057 = 1.1398x + 0.0109$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$x = 0.0404$  มิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิก/สารละลายน้ำมันตัวอย่าง 0.1 มิลลิลิตร

เนื่องจากการนำสารละลายน้ำมันมาวัดค่าการดูดกลืนแสง ได้เจือจางตัวอย่างโดยการละลายน้ำมัน 1 กรัม ในปริมาตรรวมสารละลายเมทานอล 10 มิลลิลิตร และปีเปิดสารละลายน้ำมันมาวัดค่าปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร จึงมีน้ำมันตัวอย่างอยู่ในสารละลายเท่ากับ  $[(1/10) \times 0.1] = 0.01$  กรัม มีปริมาณของกรดแกลลิกเท่ากับ 0.040 มิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิก เพราะฉะนั้น ตัวอย่างน้ำมันคิดเป็น 100 กรัม จะมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด  $= (100 \times 0.0404 / 0.01) = 404.45$  มิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิก/สารละลายน้ำมันตัวอย่าง 100 กรัม



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ง

### การวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์

#### ง.1 เตรียมเชื้อ *Staphylococcus aureus*

##### ง.1.1 เชื้อจุลินทรีย์

*Staphylococcus aureus* (ATCC strain 12600)

##### ง.1.2 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ *Staphylococcus aureus*

###### 1. Trypticase (Tryptic) Soy Broth

Trypticase peptone	17	g
Phytone peptone	3	g
NaCl	5	g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	2.5	g
Glucose	2.5	g
น้ำกลั่น	1	L
Final pH	7.3±0.2	

ละลายส่วนผสมทั้งหมด ถ้วยอาหารปริมาตร 225 มิลลิลิตร ลงในพลาสติกหรือขวดที่มีจุกสำลีหรือฝาปิด เข้ามาเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

###### 2. Baird-Parker Agar

###### 2.1 Base medium

Tryptone	10	g
Beef extract	1	g
Yeast extract	1	g
Sodium pyruvate	10	g
Glycine	12	g
Lithium chloride	5	g
Agar	15	g
น้ำกลั่น	900	ml
Final pH	7.0±0.2	

ละลายส่วนผสมทั้งหมด ถ้วยอาหารปริมาตร 225 มิลลิลิตร ลงในพลาสติกหรือขวดที่มีจุก

สำลีหรือฝาปิด เข้ามาเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.2 สารละลาย 1% Potassium tellurite

Potassium tellurite	1	g
น้ำกลั่น	100	ml

ละลาย Potassium tellurite ในน้ำกลั่น กรองผ่านแผ่นกรองปลอดเชื้อ เก็บในขวดปลอดเชื้อที่ปิดสนิทเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิตั้งที่  $4\pm 1$  องศาเซลเซียส

## 2.3 Egg yolk-tellurite emulsion

ล้างไข่ไก่ให้สะอาด แช่ไข่ไก่ไว้ใน 0.1%  $HgCl_2$  เป็นเวลาประมาณ 1 นาที จากนั้นนำไปแช่ใน 70% ethanol เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ตอกไข่ไก่และทำการแยกไข่ขาวโดยเทคนิคปลอดเชื้อ แยกไข่แดงใส่ลงในขวดปราศจากเชื้อที่มีขีดบอกปริมาตร ผสมไข่แดงและน้ำเกลือ 0.85% (normal saline) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ผสมในอัตราส่วนน้ำเกลือ 0.85% 5 ส่วน และ ไข่แดง 5 ส่วน จากนั้นนำ Egg yolk emulsion ที่ได้จำนวน 50 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย 1% Potassium tellurite ที่กรองปลอดเชื้อแล้ว 10 มิลลิลิตร ปิดฝาเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิตั้งที่  $4\pm 1$  องศาเซลเซียส

## 2.4 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Baird-Parker Agar

แบ่งอาหาร Baird-Parker base medium 95 มิลลิลิตร (อุณหภูมิตั้งที่ประมาณ  $45-50$  องศาเซลเซียส) เติมน้ำ Egg yolk-tellurite emulsion ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันระวังฟองอากาศ แล้วเทใส่ลงในจานเพาะเชื้อที่ปราศจากเชื้อ

## 3. Nutrient Agar (NA)

Beef extract	3	g
Peptone	5	g
Agar	15	g
น้ำกลั่น	1	L

ต้มละลายส่วนผสมทั้งหมด ถ่ายใส่หลอดทดลอง 6 มิลลิลิตร จำนวน 30 หลอด และที่เหลือถ่ายใส่ขวดที่มีจุกหรือฝาปิด เข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิตั้งที่  $121$  องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เมื่อครบเวลาออกจากเครื่อง autoclave นำหลอดทดลองที่ใส่อาหาร Nutrient Agar ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว มาวางเอียงจนอาหารแข็งตัว ได้เป็น Nutrient Agar Slant และนำขวดที่ใส่อาหาร Nutrient Agar ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว เทใส่ลงในจานเพาะเชื้อที่ปราศจากเชื้อ

## 4. Mueller Hinton Broth

Beef extract	2	g
Acid Digest of Casein	17.5	g
Soluble Starch	1.5	g
น้ำกลั่น	1	L

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ละลายส่วนผสมทั้งหมด ถ่ายอาหารปริมาตร 20 มิลลิลิตร ลงในพลาสติกหรือขวดที่มีจุกสำลี หรือฝาปิด เข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

### ง.1.3 เพาะเลี้ยงเชื้อ *Staphylococcus aureus*

คู่ออาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase (Tryptic) Soy Broth ผสมกับเชื้อ *Staphylococcus aureus* (ATCC strain 12600) แล้วแยกเชื้อบริสุทธิ์ลงบนอาหาร Baird-Parker Agar บ่มที่ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อครบเวลากำหนดเลือกโคโลนีของเชื้อที่มีลักษณะสีดำ กลม นูน ขอบเรียบ เป็นมันวาว มีตะกอนขุ่นรอบโคโลนี ล้อมด้วยโซนใส ถ่ายเชื้อลงในอาหาร Nutrient Agar Slant บ่มที่ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

### ง.1.4 เตรียมเชื้อ *Staphylococcus aureus*

ถ่ายเชื้อลงในพลาสติกอาหาร Mueller Hinton Broth 20 มิลลิลิตร บ่มแบบเขย่า ควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเจือจางและวัดค่าการดูดกลืนแสงให้มีค่าเท่ากับ 0.600-0.650 ที่ 490 นาโนเมตร จึงนำไปใช้ในการตรวจสอบกิจกรรมต้านจุลินทรีย์ต่อไป

## ง.2 วิธีทดสอบคุณสมบัติการยับยั้งการเจริญเชื้อ *Staphylococcus aureus*

การวิเคราะห์กิจกรรมต้านจุลินทรีย์โดยใช้ไมโครไตเตอร์เพลทด้วยวิธีของ Eloff (1998) มีขั้นตอนดังนี้

1. เตรียมน้ำมันระเหยให้ปราศเชื้อโดยกรองผ่าน Syringe filter PTFE-membrane ที่มี Pore Size 0.45 ไมครอน
2. เติมหาอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton Broth หลุมละ 50 ไมโครลิตร เติมน้ำปริมาตร 144, 99, 69, 39 และ 9 ไมโครลิตรต่อหลุม เติมห่วงน้ำมันระเหยที่สกัดได้แต่ละวิธีการสกัด 0, 45, 75, 105 และ 135 ไมโครลิตรต่อหลุม เพื่อให้มีความเข้มข้นต่างกัน ได้แก่ ร้อยละ 0, 15, 25, 35 และ 45 ตามลำดับ
3. เติมไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (Dimethyl sulphoxide, DMSO) หลุมละ 6 ไมโครลิตร และเติมเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่เลี้ยงไว้หลุมละ 50 ไมโครลิตร ส่วน positive control ทำเช่นเดียวกัน แต่ใช้ Neomycin sulfate แทนตัวอย่างน้ำมันระเหย แล้วบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง
4. เมื่อบ่มครบ 18 ชั่วโมง เติมหาารอินโดไนโตรเตตราไซเคียมคลอไรด์ไวโอเล็ต (*p*-Indonitrotetrazolium chloride violet, *p*-INT) ความเข้มข้น 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร หลุมละ 50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไมโครลิตร บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำไปวัดการเจริญเติบโตของเชื้อที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร

5. ทำ blank ของตัวอย่าง โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton Broth หลุมละ 100 ไมโครลิตร เติมน้ำปริมาตร 144, 99, 69, 39 และ 9 ไมโครลิตรต่อหลุม เติมตัวอย่างน้ำมันจระเข้ที่สกัดได้แต่ละวิธีการสกัด 0, 45, 75, 105 และ 135 ไมโครลิตรต่อหลุม เพื่อให้มีความเข้มข้นต่างกันได้แก่ ร้อยละ 0, 15, 25, 35 และ 45 ตามลำดับ เติมไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (Dimethyl sulphoxide, DMSO) หลุมละ 6 ไมโครลิตร เติมพาราอินโดโนโตรเตตราโซเลียมคลอไรด์ไวโอเล็ต (*p*-Indonitrotetrazolium chloride violet, *p*-INT) ความเข้มข้น 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร หลุมละ 50 ไมโครลิตร แล้วนำไปวัดการเจริญเติบโตของเชื้อที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร

6. คำนวณค่าการดูดกลืนแสงการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในน้ำมันจระเข้

$$Agrowth = A_{sample} - A_{blank}$$

โดย Agrowth คือ ค่าการดูดกลืนแสงการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ในน้ำมันจระเข้

A<sub>sample</sub> คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ทดสอบกับเชื้อ *S. aureus*

A<sub>blank</sub> คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ blank (ไม่ใช่เชื้อ *S. aureus*)

7. คำนวณร้อยละการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในตัวอย่างทดสอบที่ความเข้มข้นร้อยละ 15, 25, 35 และ 45 เปรียบเทียบกับความเข้มข้นร้อยละ 0 (หลุมที่ไม่ได้เติมน้ำมันจระเข้) คัดการเจริญของเชื้อ *S. aureus* เท่ากับร้อยละ 100

#### ตัวอย่างการคำนวณ

ทดสอบความสามารถของการเจริญเชื้อ *S. aureus* ของน้ำมันจระเข้ที่สกัดด้วยวิธีเจียวด้วยไมโครเวฟที่ระยะเวลา 8 นาที ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0

พบว่าค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ทดสอบกับเชื้อ *S. aureus* (A<sub>sample</sub>) มีค่าเท่ากับ 1.711 และค่าการดูดกลืนแสงของ blank (A<sub>blank</sub>) มีค่าเท่ากับ 0.154 แทนค่าในสมการดังนี้

$$\begin{aligned} Agrowth &= A_{sample} - A_{blank} \\ &= 1.711 - 0.154 \\ &= 1.557 \end{aligned}$$

ค่าการดูดกลืนแสงการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในน้ำมันจระเข้ที่สกัดด้วยวิธีเจียวด้วยไมโครเวฟที่ระยะเวลา 8 นาที (Agrowth) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0 มีค่าเท่ากับ 1.557

ทดสอบความสามารถของการเจริญเชื้อ *S. aureus* ของน้ำมันจระเข้ที่สกัดด้วยวิธีเจียวด้วยไมโครเวฟที่ระยะเวลา 8 นาที ที่ความเข้มข้นร้อยละ 15

พบว่าค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ทดสอบกับเชื้อ *S. aureus* (Asample) มีค่าเท่ากับ 1.557 และค่าการดูดกลืนแสงของ blank (Ablank) มีค่าเท่ากับ 0.153 แทนค่าในสมการดังนี้

$$\begin{aligned} \text{Agrowth} &= \text{Asample} - \text{Ablank} \\ &= 1.557 - 0.153 \\ &= 1.404 \end{aligned}$$

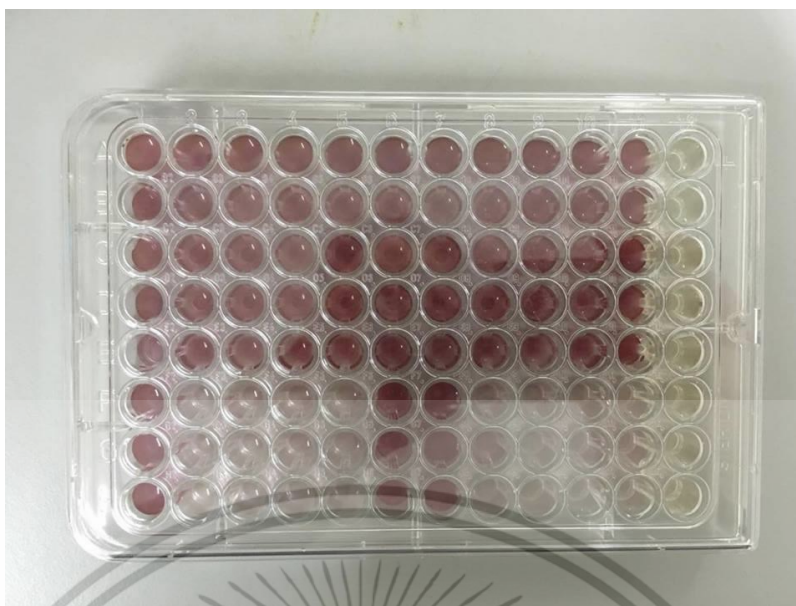
ค่าการดูดกลืนแสงการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในน้ำมันจระเข้ที่สกัดด้วยวิธีเจียวด้วยไมโครเวฟที่ระยะเวลา 8 นาที (Agrowth) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 15 มีค่าเท่ากับ 1.557

ดังนั้นความสามารถการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ในน้ำมันจระเข้ที่เจียวด้วยไมโครเวฟที่เวลา 8 นาทีที่ความเข้มข้นร้อยละ 15 เปรียบเทียบกับความเข้มข้นร้อยละ 0 (หลุมที่ไม่ได้เติมน้ำมันจระเข้) คัดการเจริญของเชื้อ *S. aureus* เท่ากับร้อยละ 100 จะได้  $(1.404/1.557) \times 100\%$  มีค่าเท่ากับ ร้อยละ 90.17



ภาพที่ ง.1 ลักษณะโคโคณีของเชื้อ *Staphylococcus aureus* บนอาหาร Baird-Parker Agar

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ ง.2 ตัวอย่างการทดสอบความสามารถยับยั้งการเจริญเชื้อ *Staphylococcus aureus* ของน้ำมัน  
จระเข้ที่สกัดได้ด้วยวิธีเขียวแห่งที่อุณหภูมิสูง ( $132 \pm 0.6$  องศาเซลเซียส) ด้วยไมโครไตเตอร์เพลท

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก จ

### การเตรียมตัวอย่างเนื้อเยื่อไขมันจระเข้



ภาพที่ จ.1 เนื้อเยื่อไขมันจระเข้สายพันธุ์ *Crocodylus siamensis* จากฟาร์มจระเข้ จังหวัดราชบุรี ประเทศไทย



ภาพที่ จ.2 เนื้อเยื่อไขมันจระเข้สายพันธุ์ *C. siamensis* ที่ถูกหั่นลดขนาดด้วยมีด บดด้วยเครื่องบดเนื้อ รูขนาด 7/32 นิ้ว และการเก็บเนื้อเยื่อไขมันจระเข้ที่บดแล้วในถุงซีปส์ลือคขนาด 14x20 เซนติเมตร (ซ้าย กลาง และขวา) ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ฉ

### น้ำมันจระเข้ที่สกัดได้ด้วยวิธีเจียว



ภาพที่ ฉ.1 น้ำมันจระเข้ที่สกัดได้โดยวิธีเจียวด้วยไมโครเวฟที่เวลา 7, 8 และ 9 นาที  
เรียงจากซ้ายไปขวา ตามลำดับ



ภาพที่ ฉ.2 น้ำมันจระเข้ที่สกัดได้โดยวิธีเจียวแห้งที่อุณหภูมิต่ำ ( $100 \pm 0.6$  องศาเซลเซียส)  
ที่เวลา 40, 50 และ 60 นาที เรียงจากซ้ายไปขวา ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ จ.3 น้ำมันระเหยที่สกัดได้โดยวิธีเจียวแห้งที่อุณหภูมิสูง ( $132 \pm 0.6$  องศาเซลเซียส) ที่เวลา 40, 50 และ 60 นาที เรียงจากซ้ายไปขวา ตามลำดับ



ภาพที่ จ.4 น้ำมันระเหยที่สกัดได้โดยวิธีเจียวเปียกที่เวลา 240, 300 และ 360 นาที เรียงจากซ้ายไปขวา ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	สุพินดา บุญยิ่ง
วัน เดือน ปี เกิด	13 ธันวาคม 2536
ประวัติการศึกษา นุสรณ์	สำเร็จการศึกษาประถมศึกษาตอนต้น-ตอนปลาย: โรงเรียนโสมมาภา สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนต้น-ตอนปลาย: โรงเรียนเตรียม อุดมศึกษาน้อมเกล้า สำเร็จการศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิศวกรรมแปรรูป อาหาร คณะ-อุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณ ทหารลาดกระบัง ปีการศึกษา 2559
ประสบการณ์การทำงาน จำกัด(	นักศึกษาฝึกงาน A S World Trading Ltd. Part (บริษัท กรีนเดย์ โกลบอล
ผลงานวิจัย	สุพินดา บุญยิ่ง. 2559. คุณลักษณะเนื้อเยื่อไขมันของหมูลูกเจี๊วโดยวิธี เจี๊วเปียก เจี๊วแห้ง และเจี๊วด้วยไมโครเวฟ. ปัญหาพิเศษหลักสูตรวิทยาศา ศาสตรบัณฑิต สาขาวิศวกรรมแปรรูปอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอม เกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. Supinda Boonying and Porjai Thamakorn. 2017. Characteristics of rendered crocodile fat by wet, dry and microwave rendering processes. In Proceedings of the 19 <sup>th</sup> Agro Industrial Conference “Food Innovation Asia Conference 2017”. June 15-17 2017, BITEC, Bangkok, Thailand.
รางวัลที่เคยได้รับ	Certificate of participation to the AOAC Contest for University students on 27 <sup>th</sup> May 2015

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้