ปัจจัยที่มีผลต่อการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้างด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ และการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างในไส้กรอกหมูรมควัน

FACTORS AFFECTING RESIDUAL NITRITE CONTENT ANALYSIS BY SPECTROPHOTOMETER AND REDUCTION OF RESIDUAL NITRITE IN SMOKED PORK SAUSAGE

ณัฐวดี ตันวิสุทธิ์
NATTAWADEE TANWISUT

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร
คณะอุตสาหกรรมเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2554

KMITL-2011-AI-M-058-103

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัจจัยที่มีผลต่อการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้างด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ และการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างในไส้กรอกหมูรมควัน

FACTORS AFFECTING RESIDUAL NITRITE CONTENT ANALYSIS BY SPECTROPHOTOMETER AND REDUCTION OF RESIDUAL NITRITE IN SMOKED PORK SAUSAGE

T116802

ณัฐวดี ตันวิสุทธิ์

NATTAWADEE TANWISUIT

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร
คณะอุตสาหกรรมเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2554

KMITL-2011-AI-M-053-103

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สมทบ.....
เลขทะเบียน 116802
วัน,เดือน,ปี 15 ส.ค. 2554

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

FACTORS AFFECTING RESIDUAL NITRITE CONTENT ANALYSIS BY SPECTROPHOTOMETER AND REDUCTION OF RESIDUAL NITRITE IN SMOKED PORK SAUSAGE

NATTAWADEE TANWISUIT

A THESIS SUMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENT
FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
FACULTY OF AGRO INDUSTRY
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TEACHOLOGY LADKRABANG
2011

KMITL-2011-AI-M-053-103

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COPYRIGHT 2011

FACULTY OF AGRO INDUSTRY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TEACHOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ปัจจัยที่มีผลต่อการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้างด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์และการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างในไส้กรอกหมูรมควัน
นักศึกษา	นางสาวณัฐวดี ตันวิสุทธิ์
รหัสประจำตัว	52680302
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์การอาหาร
พ.ศ.	2554
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผศ.ดร. ยุพร พืชกมุทร

บทคัดย่อ

การวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้างประกอบด้วยปฏิกิริยาสำคัญสองปฏิกิริยาคือ ปฏิกิริยาการเกิดไดอะโซเนียมไอออนและปฏิกิริยาที่สองเป็นปฏิกิริยาระหว่างไดอะโซเนียมไอออนกับ NED ก่อนนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ เพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาต่อค่าการดูดกลืนแสงและเลือกสภาวะเหมาะสมนำไปวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้างเมื่อใช้ส่วนผสมและสมุนไพรในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ โดยใช้โซเดียมไนไตรท์แปดความเข้มข้น (0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2, 1.4 และ 1.6 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ในการทดลอง ผลการทดลองพบว่าค่าการดูดกลืนแสงของโซเดียมไนไตรท์ทั้งแปดความเข้มข้นคงที่ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และจะเริ่มลดลงเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นโดยเฉพาะเมื่อความเข้มข้นของโซเดียมไนไตรท์สูง ในกรณีของปฏิกิริยาการเกิดไดอะโซเนียมไอออนค่าการดูดกลืนแสงจะถึงค่าสูงสุดเมื่อเวลา 5 ถึง 10 นาที และจะมีค่าลดลงเมื่อเวลาที่ใช้มากกว่า 15 นาที สำหรับปฏิกิริยาที่สองเวลาที่เหมาะสมคือ 15 นาที

ผลการศึกษาความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างของส่วนผสมและสมุนไพร 13 ชนิดที่นิยมใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ ซึ่งได้แก่ เม็ดผักชีป่น อบเชยป่น ปาปรีก้าป่น พริกขี้หนูสวนป่น พริกไทยดำป่น พริกไทยขาวป่น กระเทียมป่น ยี่หร่าป่น ตะไคร้ป่น ข่าป่น ใบมะกรูดป่น โปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง และไข่ขาวผง โดยเติมส่วนผสมสมุนไพร 0.05 กรัม ในสารละลายโซเดียมไนไตรท์ความเข้มข้น 200 ppm ก่อนเก็บไว้ที่ตู้เย็นเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าอบเชยป่นมีความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างได้ดีที่สุด คือมีความสามารถในการทำลายไนไตรท์ 26.87 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นจึงนำเปลือกอบเชยป่นไปสกัดให้อยู่ในรูปของสารสกัดโดยใช้เอธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ เป็นตัวทำละลายพบว่า สารสกัดอบเชยมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดเท่ากับ 362.57 ± 26.38 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อสารสกัดเริ่มต้น 1 กรัม หรือ 90.64 ± 6.59 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่ออบเชยป่น 1 กรัม นอกจากนี้ผลการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทดสอบในหลอดทดลองพบว่า สารสกัดอบเชยมีความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างและทำลายไนตริกออกไซด์ได้ดี แต่มีความสามารถในการทำลายเปอร์ออกซิไนไตรท์ได้เล็กน้อย โดยสารสกัดอบเชย 0.5 เปอร์เซ็นต์ มีความสามารถในการทำลายไนไตรท์ 65.89 เปอร์เซ็นต์ และสารสกัดอบเชย 200 ไมโครกรัม มีความสามารถในการทำลายไนตริกออกไซด์ 63.04 เปอร์เซ็นต์

เมื่อนำสารสกัดอบเชยเติมในไส้กรอกหมูรมควัน 5 ระดับ คือ 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ และเก็บไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน พบว่า สารสกัดอบเชยสามารถลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างในไส้กรอกหมูรมควัน โดยพบว่าไส้กรอกหมูรมควันที่เติมสารสกัดอบเชยมีปริมาณไนไตรท์ตกค้างน้อยกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทุกวันที่เก็บรักษา ด้านความเป็นกรด-ด่างไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตลอดการเก็บรักษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis Title	Factors affecting residual nitrite content analysis by spectrophotometer and reduction of residual nitrite in smoked pork sausage
Student	Miss Nattawadee Tanwisuit
Student ID.	52680302
Degree	Master of Science
Program	Food Science
Year	2011
Thesis advisor	Dr. Yuporn Puechkamut

ABSTRACT

The determination of residual nitrite content is based on two parts of reaction, the first is the reaction to form diazonium ion. The second is the reaction of diazonium ion that coupling with NED in acid medium and determine absorbance by spectrophotometer. The purposes of this study were investigate two factors, incubation temperature and incubation time for the two reactions on the developing of the absorbance before selected the suitable condition to analyze nitrite reduction by meat seasoning. Eight concentrations of sodium nitrite (0.2 to 1.6 μg/ml) were used for investigation of these two factors. The absorbance that developed from eight concentrations of sodium nitrite was stable at 25 °C and began decreasing when incubation temperature was increased and obviously significant in high concentration. For the first reaction the absorbance reached maximum at around 5 to 10 minutes and gradually decreased when the reaction time was greater than 15 minutes. In the case of second reaction, the suitable time that gave optimum absorbance was 15 minutes.

Thirteen dry powder meat seasonings (coriander seed, cinnamon, paprika, guinea pepper, black pepper, white pepper, garlic, cumin, lemon grass, galingale, kaffir lime leaf, egg white powder and soy protein isolate) were used to study the nitrite reduction property *in vitro*. The 0.05 g of each seasoning was added to 200 ppm sodium nitrite solution and incubated in refrigerator for 24 hours. Then the residual nitrite content was determined. Cinnamon (*Cinnamomum burmanii*) was found to be potent in nitrite reduction property. The residual nitrite content when adding cinnamon powder significantly decreased by 26.87% compared with the control. Whereas, the other seasonings had low potential in nitrite reduction. Then, the cinnamon extract was

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

obtained by soaking the cinnamon bark powder in 95% ethanol. The total phenolic content of the cinnamon extract was estimated to be 362.57 ± 26.38 mg gallic acid equivalents/g of cinnamon extract or 90.64 ± 6.59 mg gallic acid equivalents/g of cinnamon powder. The nitrite scavenging and nitric oxide scavenging properties of the extract in vitro were also studied. The result found that the nitrite scavenging of 0.5% cinnamon extract was 65.89% and nitric oxide scavenging of 200 μg cinnamon extract was 63.04%.

Five cinnamon extract levels (0.1, 0.2, 0.3, 0.4 and 0.5%) were added into smoked pork sausage to determine the nitrite scavenging. The products were kept for 5 days at 4 °C prior to determine nitrite residual and pH. The result found that cinnamon extract could reduce the nitrite residual content in smoked pork sausage. All the smoked pork sausage adding cinnamon extracted had nitrite residual content significantly less than that of control for every day of incubation. Moreover, pH was not significantly change during period of study.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร. ยุพร พืชกมุทร ที่ให้เกียรติเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รวมทั้งให้ความรู้และคำแนะนำอันมีค่าและเป็นประโยชน์ ข้าพเจ้ารู้สึกซาบซึ้งและขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร. ประพันธ์ ปิ่นศิโรดม และ ดร. นภัสรพี เหลืองสกุล ที่ให้เกียรติเป็นกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์และกรุณาให้คำแนะนำเพิ่มเติมทำให้วิทยานิพนธ์นี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร. ระติพร หาเรือนกิจ ที่สละเวลาอันมีค่ามาเป็นกรรมการร่วมพิจารณาการสอบวิทยานิพนธ์ครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.วรรณา ตั้งเจริญชัย ผศ.ดร. วริพัสย์ อารีกุล รศ. เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์ ดร. ถิรเดช คำรงโภวรรณ ดร. กัลยาณี เต็งพงศธร ดร. บุญเทียม พันธุ์เพ็ง ดร. ธงชัย พุฒทองศิริ และนายทนาวุฒิ ปริญญาพัฒนบุตร ที่กรุณาให้ความรู้เพิ่มเติมและแนวคิดด้านต่างๆอันเป็นประโยชน์แก่การทำวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติที่พิจารณาให้ทุนอุดหนุนการวิจัยครั้งนี้

ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา น้องและเพื่อนของข้าพเจ้าที่ให้การสนับสนุนรวมทั้งให้กำลังใจและให้ความช่วยเหลือข้าพเจ้าทำให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

คุณค่าและประโยชน์อันพึงมีจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ข้าพเจ้าขอมอบแด่อาจารย์และผู้มีพระคุณทุกท่าน หากวิทยานิพนธ์เล่มนี้มีข้อผิดพลาดประการใด ข้าพเจ้าขอน้อมรับไว้แต่ผู้เดียว

ณัฐวดี ตันวิสุทธิ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ III

กิตติกรรมประกาศ V

สารบัญ VI

สารบัญตาราง VIII

สารบัญภาพ IX

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย 2

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย 2

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3

2.1 ไนไตรท์ 3

2.2 การตรวจหาปริมาณไนไตรท์ตกค้าง 11

2.3 พืชสมุนไพรและส่วนผสมที่นิยมใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูป 13

2.4 อบเชย 13

2.5 การยับยั้งการเกิดไนโตรซามีน 15

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัตถุดิบ 18

3.2 เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์ 18

3.3 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ 19

3.4 สถานที่ดำเนินการทดลอง 19

3.5 วิธีดำเนินงาน 20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง 26

4.1 ผลการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้าง 26

4.2 ผลการศึกษาความสามารถด้านการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้าง ของพืชสมุนไพรและส่วนผสมอื่นที่นิยมใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูป..... 29

4.3 ผลการศึกษาสมบัติของสารสกัดอบเชย 30

4.4 ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างของสารสกัดอบเชย ในไส้กรอกหมูรมควัน 35

4.5 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของไส้กรอกหมูรมควันที่เติมสารสกัดอบเชย 38

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ 40

5.2 สรุปผลการทดลอง 40

5.2 ข้อเสนอแนะ 41

บรรณานุกรม 42

ภาคผนวก

ก. การวิเคราะห์ทางเคมี 46

ข. การวิเคราะห์ทางกายภาพและการทดสอบทางประสาทสัมผัส 51

ประวัติผู้เขียน 53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

3.1 สูตรในการผลิตไส้กรอกหมูรมควัน 24

4.1 ความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างของสารสกัดอบเชยที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ 32

4.2 ความสามารถในการทำลายไนตริกออกไซด์ของสารสกัดอบเชยที่ระดับต่างๆ 33

4.3 ความสามารถในการทำลายเปอร์ออกซิไนไตรท์ของสารสกัดอบเชยที่ระดับต่างๆ 34

4.4 ปริมาณไนไตรท์ตกค้างของไส้กรอกหมูรมควันที่เติมสารสกัดอบเชยที่ระดับต่างๆ ในระหว่างการเก็บรักษา 35

4.5 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ระหว่างการเก็บรักษาไส้กรอกหมูรมควันที่เติมสารสกัดอบเชยที่ระดับต่างๆ 36

4.6 เปอร์เซ็นต์ความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างของสารสกัดอบเชยระดับต่างๆ ในตัวอย่างสารละลายโซเดียมไนไตรท์และในตัวอย่างไส้กรอกหมูรมควันเมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง 37

4.7 ปริมาณไนไตรท์ตกค้างของไส้กรอกหมูรมควันที่เติมสารสกัดอบเชยที่ความเข้มข้น 0.04 ถึง 0.08 เปอร์เซ็นต์ระหว่างการเก็บรักษา 37

4.8 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ระหว่างการเก็บรักษาไส้กรอกหมูรมควันที่เติมสารสกัดอบเชยที่ความเข้มข้น 0.04 ถึง 0.08 เปอร์เซ็นต์ 38

4.9 คะแนนความชอบของผู้ทดสอบต่อไส้กรอกหมูรมควันที่เติมสารสกัดอบเชยที่ระดับต่างๆ 39

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

2.1 การเกิดสีของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูปเนื่องจากไนไตรท์ 3

2.2 การเกิดสารก่อโทษจากไนเตรทและไนไตรท์ในอาหาร 5

2.3 การเกิดสารก่อโทษจากไนเตรทและไนไตรท์ในร่างกายมนุษย์ 5

2.4 ปฏิกิริยาการเกิดไนโตรซามีนจากเอมีนปฐมภูมิ 9

2.5 ปฏิกิริยาการเกิดไนโตรซามีนจากเอมีนทุติยภูมิ 9

2.6 สารในกลุ่มกลุ่มไนโตรซาไมด์

ก.) เอ็น-ไนโตรโซคาร์บาเมท 9

ข.) เอ็น-ไนโตรโซยูเรีย 9

2.7 การเกิดเปอร์ออกซิไนไตรท์ ($ONOO^-$) จากปฏิกิริยาระหว่างซุปเปอร์ออกไซด์ ($O_2^{-\bullet}$) กับไนตริกออกไซด์ (nitric oxide) 10

2.8 วงแหวนเอมีนปฐมภูมิ (ซ้าย) และ ไดอะโซเนียมไอออน (ขวา) 12

2.9 การเกิด azo indicator 12

3.1 ขั้นตอนการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้าง 20

3.2 ขั้นตอนการผลิตไส้กรอกหมูรมควัน 23

4.1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายโซเดียมไนไตรท์ที่อุณหภูมิ 25, 35, 45 และ 60 องศาเซลเซียส 26

4.2 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายโซเดียมไนไตรท์ที่ระยะเวลาที่ใช้ระหว่างการเกิดไดอะโซเนียมไอออน 2, 5, 10, 15 , 20 และ 30 นาที 28

4.3 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายโซเดียมไนไตรท์ที่ระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยาระหว่างไดอะโซเนียมไอออนกับ NED 5, 15, 30, 45 และ60 นาที 29

4.4 ความสามารถด้านการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างของพืชสมุนไพรและส่วนผสมอื่นที่นิยมใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูป 30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

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

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

ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูป มีการใช้ส่วนผสมจากพืชและเครื่องเทศหลายชนิด รวมทั้งส่วนผสมอื่นที่มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive compound) เช่น โปรตีนจากถั่วเหลือง (สุภาวดี, 2550) และไข่ขาวผง (สุนิษา, 2552) ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจทดสอบความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างของสมุนไพรและส่วนผสมอื่นๆที่ใช้เป็นส่วนผสมจริงในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูป ส่วนผสมทั้ง 13 ชนิดที่จะศึกษา คือ เม็ดผักชีป่น อบเชยป่น ปาปริก้าป่น พริกขี้หนูสวนป่น พริกไทยดำป่น พริกไทยขาวป่น กระเทียมป่นยี่หร่าป่น ตะไคร้ป่น ข่าป่น ใบมะกรูดป่น ไข่ขาวผง และโปรตีนจากถั่วเหลือง โดยจะคัดเลือกสมุนไพร หรือส่วนผสมที่สามารถลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างก่อนนำไปสกัดสารพฤกษเคมีหรือสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีอยู่ในวัตถุดิบนั้น เพื่อนำไปทดสอบสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันและความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างในไส้กรอกหมูรมควัน นอกจากนี้การวิเคราะห์ปริมาณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้างด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์
2. คัดเลือกพืชสมุนไพรรวมทั้งส่วนผสมอื่นซึ่งนิยมใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูป ที่มีความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้าง
3. ศึกษาความสามารถในการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดอบเชยรวมทั้งความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างในไส้กรอกหมูรมควัน

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้างด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์เพื่อใช้วิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้างในงานวิจัย และคัดเลือกพืชสมุนไพรรวมทั้งส่วนผสมอื่นซึ่งนิยมใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูปที่มีความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้าง สกัดพืชสมุนไพรหรือส่วนผสมอื่นที่คัดเลือกได้ พร้อมทั้งศึกษาความสามารถในการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดทั้งในหลอดทดลองและในไส้กรอกหมูรมควัน

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

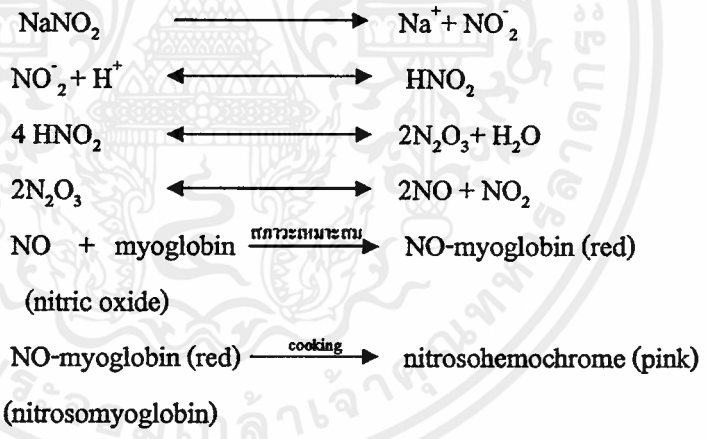
1. ทราบวิธีการตรวจวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้างที่มีประสิทธิภาพ
2. สร้างองค์ความรู้ในงานด้านสารแอนตีออกซิแดนซ์จากพืช รวมทั้งการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างในไส้กรอกหมูรมควัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ไนไตรท์

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



ภาพที่ 2.1 : การเกิดสีของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูปเนื่องจากไนไตรท์
ที่มา : ดัดแปลงจาก Romans (1994)

ถึงแม้ไนไตรท์จะทำให้ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูปเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคเพิ่มมากขึ้น แต่การเติมเกลือไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์อาจทำให้เกิดไนไตรท์ตกค้างซึ่งเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคได้ โดยการบริโภคอาหารที่มีการเติมเกลือไนไตรท์และไนเตรท์จะส่งผลเสียต่อผู้บริโภค แบ่งได้เป็น 3 ส่วนใหญ่ๆ ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

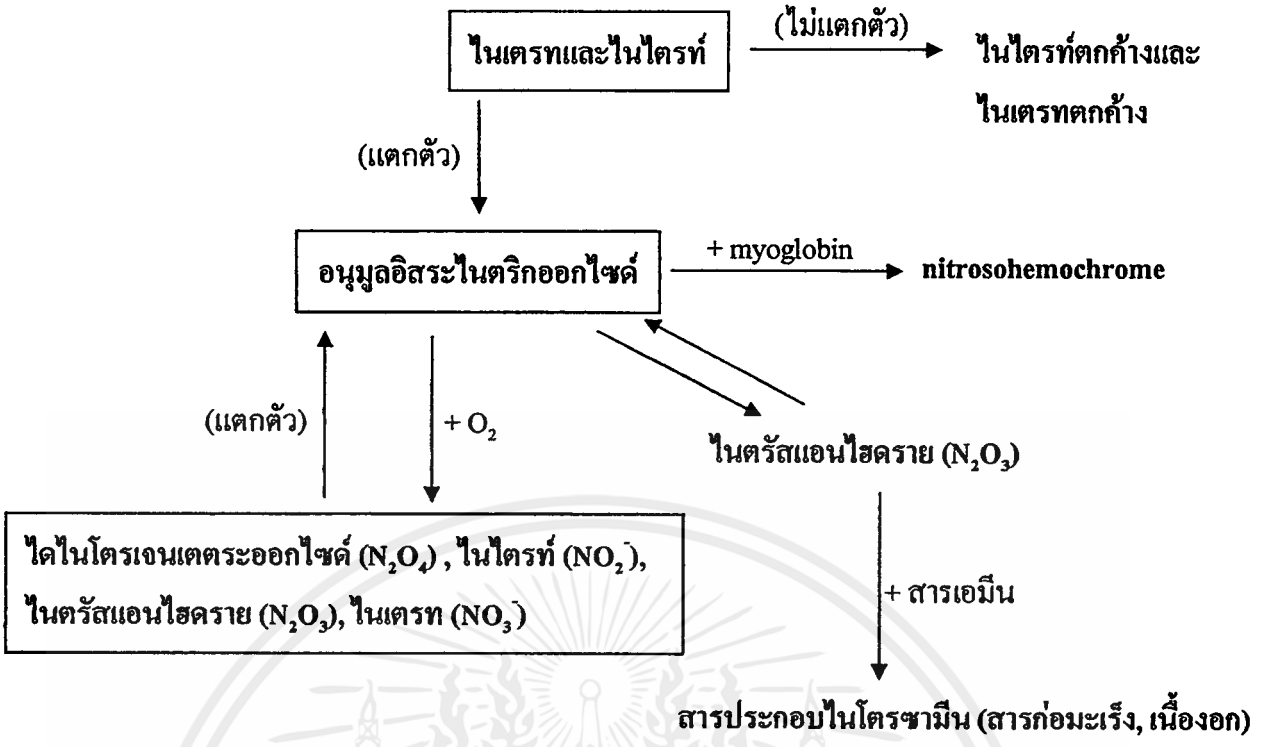
1) เมื่ออยู่ในอาหารไนไตรท์ที่เกิดแตกตัวจะสามารถเกิดปฏิกิริยากับสารกลุ่มเอมีนในเนื้อสัตว์และกลายเป็นสารประกอบไนโตรซามีนซึ่งจะกล่าวต่อไปในหัวข้อ 2.1.2 โดยสารประกอบไนโตรซามีนมีความเกี่ยวเนื่องกับการเกิดโรคลูคีเมียในเด็ก เนื้องอกในสมอง และมะเร็งลำไส้ใหญ่ ซึ่งสารประกอบไนโตรซามีนที่ผู้บริโภคได้รับจะมีปริมาณเท่ากับความเข้มข้นของไนไตรท์ยกกำลังสอง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

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

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

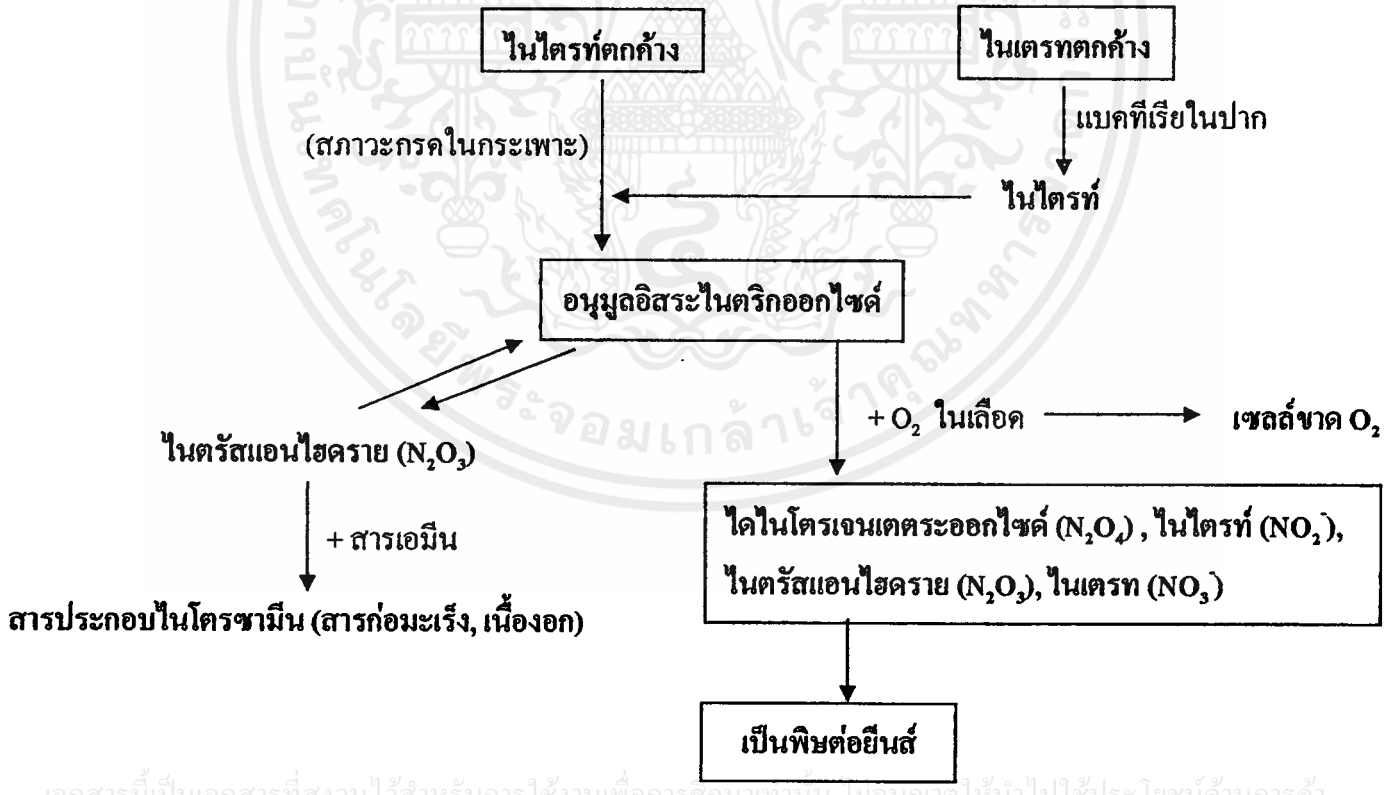
จากผลเสียทั้ง 3 ส่วนที่กล่าวข้างต้นจะเห็นว่าการเกิดสารก่อโทษต่างๆจากวัตถุเจือปนอาหารประเภทไนเตรทและไนไตรท์ สามารถเกิดได้ตั้งแต่ในอาหารจนถึงในร่างกายของผู้บริโภค โดยปริมาณสารก่อโทษต่างๆจะเปลี่ยนไปตามสภาวะและปริมาณสารตั้งต้น เช่น ไนเตรต ไนไตรท์ สารกลุ่มเอมีน ความเป็นกรด-เบสในอาหารและในกระเพาะ เป็นต้น ซึ่งสามารถอธิบายเป็นแผนภาพโดยรวมได้ดังภาพที่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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.2 : การเกิดสารก่อโทษจากไนเตรทและไนไตรท์ในอาหาร

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



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น รวมถึงการนำไปใช้ในการแสวงหากำไร ไม่อนุญาตให้มีการนำไปใช้

ภาพที่ 2.3 : การเกิดสารก่อโทษจากไนเตรทและไนไตรท์ในร่างกายมนุษย์

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

2.1.1 การควบคุมปริมาณไนเตรทและไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูป

การควบคุมปริมาณไนเตรทและไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูป จะแตกต่างกันไปในแต่ละประเทศ อันมีสาเหตุมาจากอัตราเสี่ยงของผู้บริโภคในประเทศนั้นๆ โดยคำนึงถึง ความถี่หรือโอกาสที่ผู้บริโภคจะได้รับอาหารที่มีส่วนประกอบเกลือไนไตรท์ ตลอดจนขนาดและน้ำหนักตัวของผู้บริโภคในประเทศนั้นๆ โดยสมบัติต่างๆของวัตถุเจือปนอาหารกลุ่มไนเตรทและไนไตรท์มีดังนี้

1) Sodium nitrite

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

E number : Sodium nitrite (E 250)

สูตรโครงสร้าง : $NaNO_2$

ลักษณะภายนอก : ผลึกสีขาวหรือสีเหลืองอ่อน ไม่มีกลิ่น

น้ำหนักโมเลกุล : ประมาณ 69 กรัม/โมล

จุดหลอมเหลว : 271 องศาเซลเซียส

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

ปริมาณที่อนุญาตให้ใช้ : - ประเทศไทย กระทรวงสาธารณสุขอนุญาตให้ใช้โซเดียมโซเดียมไนไตรท์ได้ไม่เกิน 125 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักอาหาร 1 กิโลกรัม

- สหภาพยุโรป (EU) กำหนดให้ใช้โซเดียมไนไตรท์ ให้ใช้ได้ไม่เกิน 150 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักอาหาร 1 กิโลกรัม

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

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

2) Sodium nitrate

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

E number : Sodium nitrate (E 251)

สูตรโครงสร้าง : $NaNO_3$

ลักษณะภายนอก : ผลึกสีขาวไม่มีกลิ่น หรือมีกลิ่นจางๆ

น้ำหนักโมเลกุล : ประมาณ 84.9947 กรัม/โมล

จุดหลอมเหลว : 308 องศาเซลเซียส

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

เอกสารนี้ถูกจัดทำขึ้นเพื่อการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้ใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

180 กรัม/100 มิลลิลิตร ที่ 100 องศาเซลเซียส)

ปริมาณที่อนุญาตให้ใช้ : - ประเทศไทย กระทรวงสาธารณสุขอนุญาตให้ใช้โซเดียมไนเตรทใน ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ได้ไม่เกิน 500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักอาหาร 1 กิโลกรัม

- สหภาพยุโรป (EU) กำหนดให้ใช้โซเดียมไนเตรทได้ไม่เกิน 300 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักอาหาร 1 กิโลกรัม

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

LD_{50} เท่ากับ 2680 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (oral rabbit)

3) Potassium nitrite

E number : Potassium nitrite (E 249)

สูตรโครงสร้าง : KNO_2

ลักษณะภายนอก : ผลึกสีขาวหรือสีเหลืองอ่อน ไม่มีกลิ่น

น้ำหนักโมเลกุล : ประมาณ 85.1038 กรัม/โมล

จุดหลอมเหลว : 440 องศาเซลเซียส

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

ปริมาณที่อนุญาตให้ใช้ : - ประเทศไทย กระทรวงสาธารณสุขอนุญาตให้ใช้โพแทสเซียมไนไตรท์ ได้ไม่เกิน 125 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักอาหาร 1 กิโลกรัม

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

4) Potassium nitrate

E number : Potassium nitrate (E 252)

สูตรโครงสร้าง : KNO_3

ลักษณะภายนอก : ผลึกสีขาว

น้ำหนักโมเลกุล : ประมาณ 101.103 กรัม/โมล

จุดหลอมเหลว : 334 องศาเซลเซียส

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

ปริมาณที่อนุญาตให้ใช้ : - ประเทศไทย กระทรวงสาธารณสุขอนุญาตให้ใช้โพแทสเซียมไนเตรทใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ได้ไม่เกิน 500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักอาหาร 1 กิโลกรัม

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

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

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

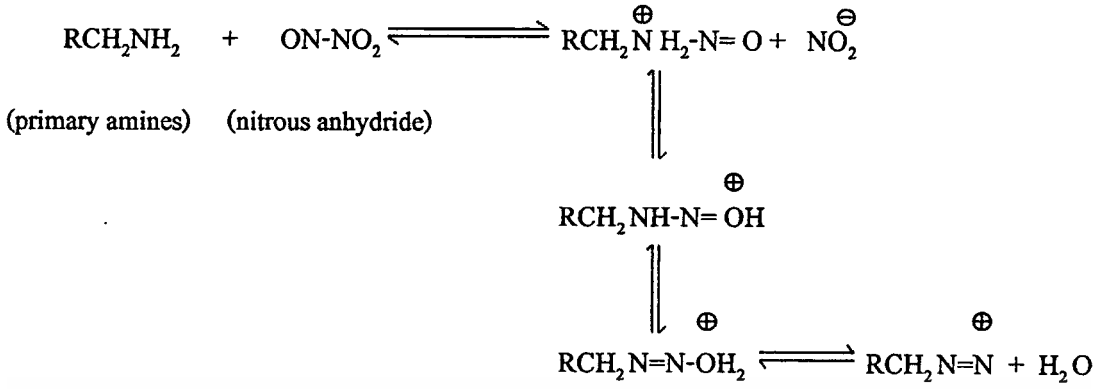
2.1.2 การเกิดสารประกอบเอ็น-ไนโตรโซจากสารไนไตรท์ตกค้าง

สารประกอบเอ็น-ไนโตรโซ (N-Nitroso compounds) มีอยู่หลายชนิด โดยสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม ตามลักษณะโครงสร้างทางเคมี

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

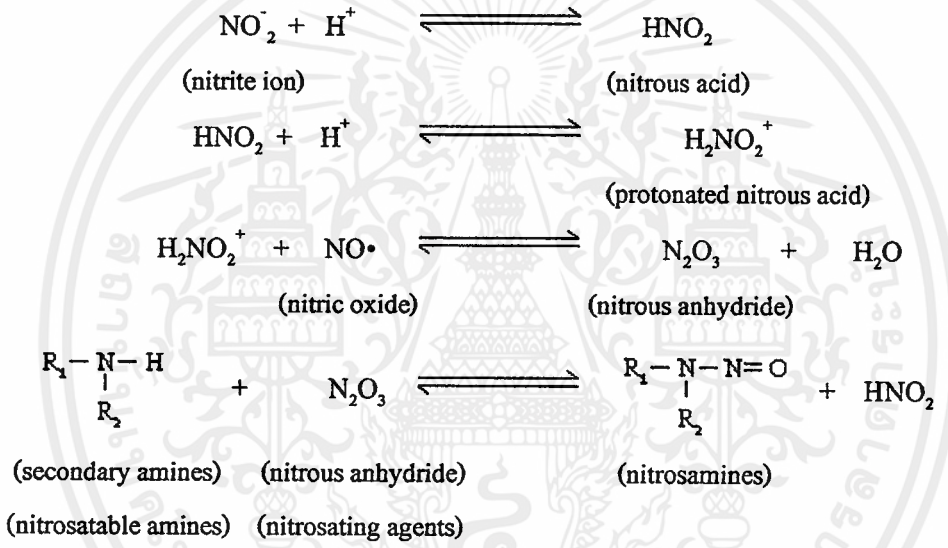
2) กลุ่มไนโตรซาไมด์ (nitrosamide type) เกิดจากสารที่มีหมู่เอไมด์ (amide group) หรือหมู่คาร์บอนิล(carbonyl group) เข้าทำปฏิกิริยากับไนโตรเซติงเอเจน (nitrosating agents) หรือสารที่มีหมู่ไนโตรโซ (Nitroso group, R-N=O) ตัวอย่างสารกลุ่มนี้ คือ เอ็น-ไนโตรโซคาร์บาเมท (N-nitroso-carbamates) และ เอ็น-ไนโตรโซยูเรีย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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.4 : ปฏิกิริยาการเกิดไนโตรซามีนจากเอมีนปฐมภูมิ

ที่มา : Loeppky (1994)



ภาพที่ 2.5 : ปฏิกิริยาการเกิดไนโตรซามีนจากเอมีนทุติยภูมิ

ที่มา : ประสงค์ (2549)

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

ที่มา : Loeppky (1994)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

$NO + O_2^-\bullet \rightleftharpoons O_2NO\bullet$

(Nitric oxide) (ROS) (Peroxynitrite)

$O_2NO\bullet + NO \rightleftharpoons 2NO_2$

$2NO_2 \rightleftharpoons N_2O_4$

$NO + NO_2 \rightleftharpoons N_2O_3$

(nitrous anhydride)

$N_2O_3 + H_2O \rightleftharpoons 2H^+ + 2NO_2^-$

$N_2O_4 + H_2O \rightleftharpoons 2H^+ + NO_2^- + NO_3^-$

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

ที่มา : ดัดแปลงจาก Loeppky (1994)

จากสาเหตุที่อนุมูลอิสระไนตริกออกไซด์ (nitric oxide, NO•) พบได้ในอาหารเนื้อสัตว์แปรรูปทั่วไป อีกทั้งยังไม่เสถียร โดยสามารถเกิดปฏิกิริยากับสารกลุ่มอื่น เช่น อนุมูลอิสระกลุ่มรีแอ็กทีฟออกซิเจน (reactive oxygen species, ROS) และกลายเป็นสารตั้งต้นของปฏิกิริยาการเกิดสารประกอบไนโตรซามีน ดังนั้นงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากพืชจึงนิยมวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระไนตริกออกไซด์ (nitric oxide scavenging) ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

Wang และ คณะ (2009) ได้ทดสอบสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดผล glossy privet fruit (*Ligustrumlucidum Ait.)* โดยทำการสกัดด้วยน้ำ เอทธานอล 50 เปอร์เซ็นต์ และเอทธานอล 75 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสารสกัดที่ได้จากแต่ละตัวทำละลายสามารถทำลายอนุมูลอิสระซุปเปอร์ออกไซด์ ไนตริกออกไซด์ และ ไฮดรอกซิล (hydroxyl radical) โดยที่ความเข้มข้นเท่ากันสารสกัดที่ใช้เอทธานอล 75 เปอร์เซ็นต์ เป็นตัวสกัดจะมีประสิทธิภาพมากที่สุด แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

2.2 การตรวจหาปริมาณไนไตรท์ตกค้าง

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

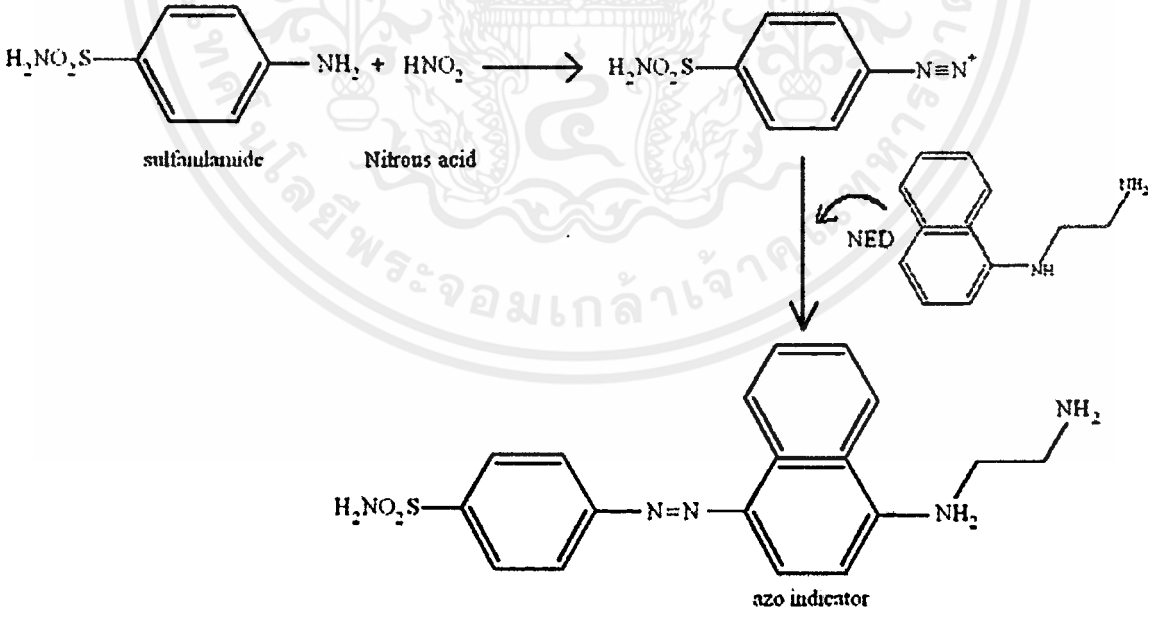
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(absorbance) และค่าความยาวคลื่น (λ) ซึ่งการตรวจหาปริมาณไนไตรท์ตกค้างในอาหารประเภทเนื้อสัตว์จะวัดที่ช่วงความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร และใช้สารที่สามารถทำปฏิกิริยาเกิดเป็นสารสีสำหรับนำไปใช้วัดค่าการดูดกลืนแสง

2.2.1 กลไกการทำงานของรีเอเจนต์ (reagent)

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

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



ภาพที่ 2.9 : การเกิด azo indicator
ที่มา : Song และ Kaylor (2007)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 พืชสมุนไพรและส่วนผสมที่นิยมใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูป

ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูปในประเทศไทยที่นิยมผลิตได้แก่ ไส้กรอก กุนเชียง หมูแผ่น เป็นต้น นอกจากส่วนผสมหลักคือเนื้อสัตว์แล้วยังมีส่วนผสมอื่นๆดังนี้

2.3.1 โปรตีนจากแหล่งอื่น

โปรตีนจากแหล่งอื่นที่นอกเหนือจากโปรตีนจากเนื้อสัตว์โดยตรง เช่น ไข่ขาวผง โปรตีนถั่วเหลือง เพื่อช่วยเพิ่มความคงตัวของผลิตภัณฑ์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการผลิตปริมาณมากหรือระดับอุตสาหกรรม

2.3.2 เครื่องเทศและสมุนไพร

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

Lo´pez-Malo และคณะ (2007) ได้ศึกษาความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ*เชื้อ* *Aspergillus flavus* ของสารสกัดเปลือกอบเชยซึ่งสกัดด้วยเอทธิลอะซิเตต (ethyl acetate) ผลพบว่าสภาวะที่ pH 3.5 อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลา 30 วัน สารสกัดเปลือกอบเชยที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญ เท่ากับโซเดียมเบ็นโซเอท (sodium benzoate) ที่ความเข้มข้น 400 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

2.4 อบเชย

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

อบเชยชวา หรือ *Cinnamomum burmanii* Blume นั้นมีงานวิจัยเกี่ยวกับสารพฤษเคมีค่อนข้างน้อยเมื่อเทียบกับลังกา (*Cinnamomum zelanicum* Linn) และอบเชยจีน (*Cinnamomum cassia* Blume) แต่จากงานวิจัยพบว่า พืชวงศอบเชย (Lauraceae) โดยเฉพาะกลุ่ม cinnamon จะมีสารประกอบที่สำคัญ คือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซินนามัลดีไฮด์ (cinnamaldehyde) หรือ ซินนามิก อัลดีไฮด์ (cinnamic aldehyde), สารกลุ่มอนุพันธ์ฟีนอลลิค (phenolic derivative) เช่น ยูจีนอล (eugenol), สารกลุ่มโพลีฟีนอล (polyphenol) เช่น แทนนิน (tannins) (Cowan, 1999) ทั้งอดีตและปัจจุบันอบเชยเป็นพืชที่ใช้เป็นประส่วนผสมในอาหารหลายประเภท เช่น ข้าวหมกไก่ ไส้กรอกรมควัน เนื้อสัตว์แปรรูปปรุงรสต่างๆ ผลิตภัณฑ์ขนมอบ เป็นต้น อีกทั้งยังเป็นส่วนผสมในยาหลายชนิด เช่น ยาจีน ยาธาตุอบเชย (สันติสุข โสภณสิริ, 2549) เป็นต้น เหตุที่มีการใช้อบเชยเป็นส่วนผสมทั้งทางยาและอาหารนี้เอง จึงทำให้มีนักวิจัยหลายท่านศึกษาสมบัติและประโยชน์ของอบเชย ดังนี้

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

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

Mathew และ Abraham (2006) ได้ศึกษาสมบัติและประสิทธิภาพการเป็น antioxidant ของสารสกัดอบเชย (*Cinnamomum verum*) ในหลอดทดลองพบว่า สารสกัดอบเชยสายพันธุ์ *Cinnamomum verum* ซึ่งได้จากการสกัดเปลือกอบเชยด้วยเมธานอล (methanol) มีความสามารถในการจับอนุมูลอิสระ (free radical scavenging) DPPH• radicals ได้ดีกว่า 2,3-tert-butyl-4-methoxyphenol (BHA) ในความเข้มข้นที่เท่ากันและเมื่อเพิ่มความเข้มข้นขึ้นคือ 3.125, 6.26 ,12.5,25, 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ความสามารถในการจับอนุมูลอิสระ DPPH• ของสารสกัดอบเชยก็จะดีขึ้นด้วยโดยที่ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สกัดอบเชยสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH• ได้กว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการจับอนุมูลอิสระ ABTS radicals cation พบว่าประสิทธิภาพของสารสกัดอบเชยเพิ่มตามความเข้มข้นและค่อนข้างคงที่ที่ความเข้มข้น 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีค่า trolox equivalent antioxidant capacity เท่ากับ 18.45 ± 0.6 นอกจากนี้สารสกัดอบเชยยังมีความสามารถจับอนุมูลอิสระกลุ่ม reactive oxygen species

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(ROS) คือ Superoxide radicals (O_2^{-}•) และ hydroxyl radicals (OH•) โดยสารสกัดอบเชยสามารถยับยั้ง superoxide radicals (O_2^{-}•) ได้ที่ความเข้มข้น 12.5 ถึง 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรยับยั้ง hydroxyl radicals (OH•) ได้ที่ความเข้มข้น 15 ถึง 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และมีปริมาณสารประกอบโพลี-ฟีนอล (total phenolic) เท่ากับ 289.0 ± 2.2 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อสารสกัด 1 กรัม

Singh และคณะ (2007) เปรียบเทียบสมบัติทางเคมีของ volatile oils และ oleoresin ทั้งจากใบ (Leaf) และจากเปลือกไม้ (Bark) ของอบเชยสายพันธุ์ *Cinnamomum zeylanicum* Blume พบว่า เมื่อเติม oleoresin ลงไปที่ความเข้มข้น 0.02 เปอร์เซ็นต์ มีความสามารถในการยับยั้งการเกิดสารประกอบจาก primary และ secondary oxidation ในตัวอย่างน้ำมันมัสตาร์ด (mustard oil) เมื่อวิเคราะห์หาค่า peroxide value เรียงลำดับความสามารถในการยับยั้งจากมากไปน้อยจะได้ดังนี้ Leaf oleoresin > BHT > PG ≈ eugenol > Bark oleoresin ≈ BHA > Leaf oil > cinnamaldehyde > bark oil และพบว่ามีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH• และ hydroxyl radicals (OH•) นอกจากนี้ด้านการยับยั้งการเจริญของเชื้อราพบว่า oleoresin จากใบที่ความเข้มข้น 6 ไมโครลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของ *Penicillium citrinum* ส่วน oleoresin จากเปลือกที่ความเข้มข้น 6 ไมโครลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของ *Aspergillus flavus A. ochraceus , A. niger, A. terreus, Penicillium citrinum* และ *P. viridicatum* และเมื่อเทียบกับสารปฏิชีวนะ Ampicillin พบว่าที่ความเข้มข้นเท่ากัน oleoresin จากใบ และ volatile oils จากเปลือก มีความสามารถในการยับยั้ง *Salmonella typhi* ได้ดีกว่า และvolatile oils จากใบ และ oleoresin จากเปลือก มีความสามารถในการยับยั้ง เชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้ดีกว่า จากนั้นผู้วิจัยได้ทดสอบหาสารประกอบ volatile oils และ oleoresin ในใบ ด้วยวิธี Gas chromatographic massspectroscopy พบว่ามีองค์ประกอบอยู่ 19 และ 25 องค์ประกอบ ตามลำดับ ซึ่งสารส่วนใหญ่ คือ eugenol มีอยู่ 87.3 เปอร์เซ็นต์ และ 87.2 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วน volatile oils และ oleoresin จากเปลือกมี E-cinnamal-dehyde เป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ โดยมีอยู่ 97.7 เปอร์เซ็นต์ และ 50.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

2.5 การยับยั้งการเกิดไนโตรซามีน

การยับยั้งการเกิดไนโตรซามีนซึ่งเป็นสารประกอบเอ็น-ไนโตรโซกลุ่มหนึ่ง สามารถทำได้ 2 วิธี คือ การเร่งการแตกตัวของไนไตรท์เพื่อลดปริมาณไนไตรท์ และการใช้สารทำลายไนโตรเซติงเอเจน

1.) การเร่งการแตกตัวของไนไตรท์

การเร่งให้ไนไตรท์แตกตัวเพื่อให้ลดปริมาณไนไตรท์ตกค้าง จะอาศัยการปรับสภาวะให้เป็น

เอกสารนี้เป็นการ... ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

2.) การใช้สารทำลายไนโตรเซติงเอเจน(nitrosating agents)

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

Chung และคณะ (2002) ได้ศึกษาความสามารถในการยับยั้งการเกิดสารเอ็น-ไนโตรโซไดเมธิลเอมีน (N-nitrosodimethylamine, NDMA) ของสารสกัดสตอเบอรี่ กระเทียม และkale (ตระกูลผักกาดหอม) ทั้งในหลอดทดลองและในมนุษย์พบว่า ในหลอดทดลองสารสกัดกระเทียมมีประสิทธิภาพในยับยั้งการเกิด เอ็น-ไนโตรโซไดเมธิลเอมีน ได้ดีกว่าสารสกัดสตอเบอรี่และ kale ส่วนการทดลองในมนุษย์ ผู้วิจัยได้ทำการจัดอาหารเป็น 4 กลุ่ม โดย 1 กลุ่ม ใช้คน 10 คน รวมทั้งหมดเป็น 40 คน มีชาย 27 คน หญิง 13 คน อายุโดยเฉลี่ยอยู่ที่ 24 ±3 ปี ทำการทดลอง 4 วัน โดยวันที่ 1-3 จะเป็นวันควบคุมอาหารเบื้องต้นในทุกกลุ่ม คือ ไม่ให้รับประทานอาหารที่มีสารเอ็น-ไนโตรโซไดเมธิลเอมีน ไนเตรท์ สารกลุ่มเอมีน สารประกอบซัลเฟอร์ วิตามินซี และสารประกอบฟีนอลลิก เป็นส่วนประกอบ จากนั้นวันที่ 4 ทุกกลุ่มจะได้รับอาหารที่มีไนเตรท 400 มิลลิกรัม แต่กลุ่มที่ 2-4 จะมีการให้น้ำที่มีสารสกัดสตอเบอรี่ กระเทียม และ kale

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

อัตราส่วนต่างกัน ส่วนกลุ่มที่ 1 ไม่ได้รับสารสกัดใดๆ จากนั้นเมื่อผ่านไป 18 ชั่วโมง จะทำการวิเคราะห์วิเคราะห์หาปริมาณสารเอ็น-ไนโตรโซไดเมธิลเอมีนที่ถูกขับออกมาในรูปปัสสาวะ ด้วยวิธีแก๊สโครมาโตกราฟฟีกับ thermal energy analysis (GC-TEA) ซึ่งพบว่าเมื่อให้เครื่องดื่มที่เป็นสารสกัดสตอเบอรี่ กระเทียมและ kale ปัสสาวะของผู้ทดสอบมีปริมาณสารเอ็น-ไนโตรโซไดเมธิลเอมีน ลดลง 70 เปอร์เซ็นต์, 71 เปอร์เซ็นต์ และ 44 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องตามการทดลองในหลอดทดลอง

Lu และ Chen (2007) ได้ศึกษาความสามารถในการยับยั้งการเกิดสารเอ็น-ไนโตรโซไดเมธิลเอมีน ของสารสกัดชาเขียวและสารสกัดชาเขียวที่เติมเอนไซม์แทนเนส (tannase) เปรียบเทียบกับวิตามินซี (ascorbic acid) ผลพบว่าชาเขียวที่เติมเอนไซม์แทนเนสมีประสิทธิภาพยับยั้งการเกิดสารเอ็น-ไนโตรโซไดเมธิลเอมีนได้ดีที่สุด รองลงมาคือชาเขียวที่ไม่เติมเอนไซม์ และวิตามินซีตามลำดับ โดยแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นผู้วิจัยได้วิเคราะห์องค์ประ-กอบของชาเขียวที่เติมเอนไซม์แทนเนสด้วยโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง (High-performance liquid chromatography, HPLC) ได้สาร 4 กลุ่ม คือ อิพิคาเทชิน (epicatechin, EC) อิพิแกล โลคาเทชิน (epigal-locatechin, EGC) อิพิแกลโลคาเทชินแกลเลต (epigallocatechin gallate, EGCG) และ อิพิคาเทชินแกลเลต (epicatechingallate, ECG) และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์แทนเนสพบว่าปริมาณสาร อิพิแกลโลคาเทชินแกลเลตและอิพิคาเทชินแกลเลตจะลดลง แต่อิพิคาเทชินและอิพิแกลโลคาเทชินจะเพิ่มสูงขึ้น เมื่อทดสอบความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ของสารทั้ง 4 กลุ่ม เปรียบเทียบกับสารคาเทชิน (catechin) กรดแกลลิก (gallic acid) และวิตามินซี พบว่า EGCG และกรดแกลลิกมีความ-สามารถในการลดปริมาณไนไตรท์มากที่สุดเท่ากันรองลงมาคือ อิพิแกลโลคาเทชิน อิพิคาเทชินแกลเลต คาเทชิน อิพิคาเทชิน และสุดท้ายคือวิตามินซี

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

116802

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัตถุดิบ

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

เนื้อหมูส่วนสะโพก จากตลาดสดหัวตะเข้ เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร

3.2 เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์

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

3.4 สถานที่ดำเนินการทดลอง

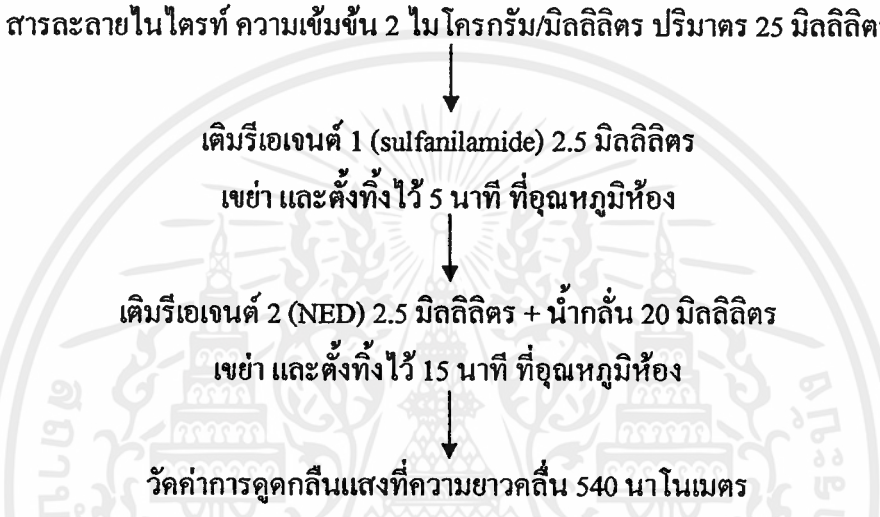
ห้องปฏิบัติการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5 วิธีดำเนินงาน

3.5.1 การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้าง

การวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้างจะวิเคราะห์ด้วยวิธีทางแคลอรีเมตริก (AOAC Official Method 973.31, Nitrites in cured meat, Colorimetric method 2000) และวัดความเข้มสีที่เปลี่ยนแปลงไปของสารละลายหลังเติมรีเอเจนต์ (reagent) ด้วยวิธีทางสเปคโตรโฟโตเมตรี ดังภาพที่ 10 โดยศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้าง 2 ปัจจัย คือ อุณหภูมิและเวลา



ภาพที่ 3.1 : ขั้นตอนการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้าง
ที่มา : ดัดแปลงจาก AOAC Official Method 973.31 (2000) ดังภาคผนวก ก.

3.5.1.1 การวิเคราะห์ผลของอุณหภูมิที่มีต่อการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้าง

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

3.5.1.2 การวิเคราะห์ผลของเวลาที่มีต่อการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้าง

ในการทดลองจะแบ่งเป็น 2 ช่วง ในช่วงที่หนึ่งจะกำหนดเวลาที่ใช้ในการรอให้ รีเอเจนต์ 1 (sulfanilamide) เกิดปฏิกิริยา เป็น 2, 5, 10, 15 , 20 และ 30 นาที และ รีเอเจนต์ 2 (NED) เป็น 15 นาที ทำ

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลอง 3 ซ้ำ นำค่าเฉลี่ยที่ได้ไปสร้างกราฟระหว่างเวลากับค่าการดูดกลืนแสง เพื่อดูแนวโน้มและเลือกเวลาที่เริ่มทำให้กราฟมีค่าความชันเท่ากับศูนย์ มาเป็นเวลาสำหรับช่วงที่สอง

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

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

3.5.2 การศึกษาความสามารถด้านการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างของพืชสมุนไพรและส่วนผสมอื่นที่นิยมใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูป

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

3.5.3 การศึกษาสมบัติของสารสกัดอบเชย

3.5.3.1 การเตรียมสารสกัดอบเชย

การเตรียมสารสกัดอบเชยดัดแปลงจากวิธีของ Mathew และ Abraham (2006) โดยนำผงเปลือกอบเชย 40 กรัม แช่ในเอธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 400 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ เขย่าที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง จากนั้นนำสารละลายกรองผ่านกระดาษกรอง whatman เบอร์4 ระเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องระเหยแบบสุญญากาศ (rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ความเร็ว 40 รอบ/นาที เป็นเวลา 25 นาที จะได้สารสกัดเริ่มต้น (CE) หนัก 10 กรัม (ลักษณะหนืดเคลือบติดภาชนะ) ซึ่งยากต่อการใช้วิเคราะห์จึงต้องชะสารสกัดเริ่มต้นและปรับปริมาตรสุดท้ายด้วยเอธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ เป็น 100 มิลลิลิตร เก็บตัวอย่างสารสกัดหลังปรับปริมาตร (CEE) ในขวดสี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้ทำซ้ำ ดัดแปลง เผยแพร่ หรือนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชาที่อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส นำสารสกัดหลังปรับปริมาตรที่ได้มาทำการวิเคราะห์ตามข้อที่ 3.5.3.2 – 3.5.3.6

3.5.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (Total polyphenol contents)

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

3.5.3.3 การวิเคราะห์ความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างของสารสกัดอบเชย

นำสารสกัดหลังปรับปริมาตร 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลายโซเดียมไนไตรท์ ความเข้มข้น 200 ppm ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ปิดปากหลอดทดลองด้วยพาราฟิล์ม วางไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4-8 องศาเซลเซียส นานข้ามคืน(24 ชั่วโมง) จากนั้นนำมาหมุนเหวี่ยงที่ 9000 รอบ/นาที นาน 15 นาที ดูดส่วนใสมาวิเคราะห์หาความเข้มข้นของไนไตรท์ที่เหลือตามวิธีข้อ 3.5.1

3.5.3.4 การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายไนตริกออกไซด์ (nitric oxide scavenging)

การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายไนตริกออกไซด์ (nitric oxide scavenging) ตามวิธีของ Govindarajan และคณะ (2003) รายละเอียดการวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ก.

3.5.3.5 การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายเปอร์ออกซีไนไตรท์ (peroxynitrite scavenging)

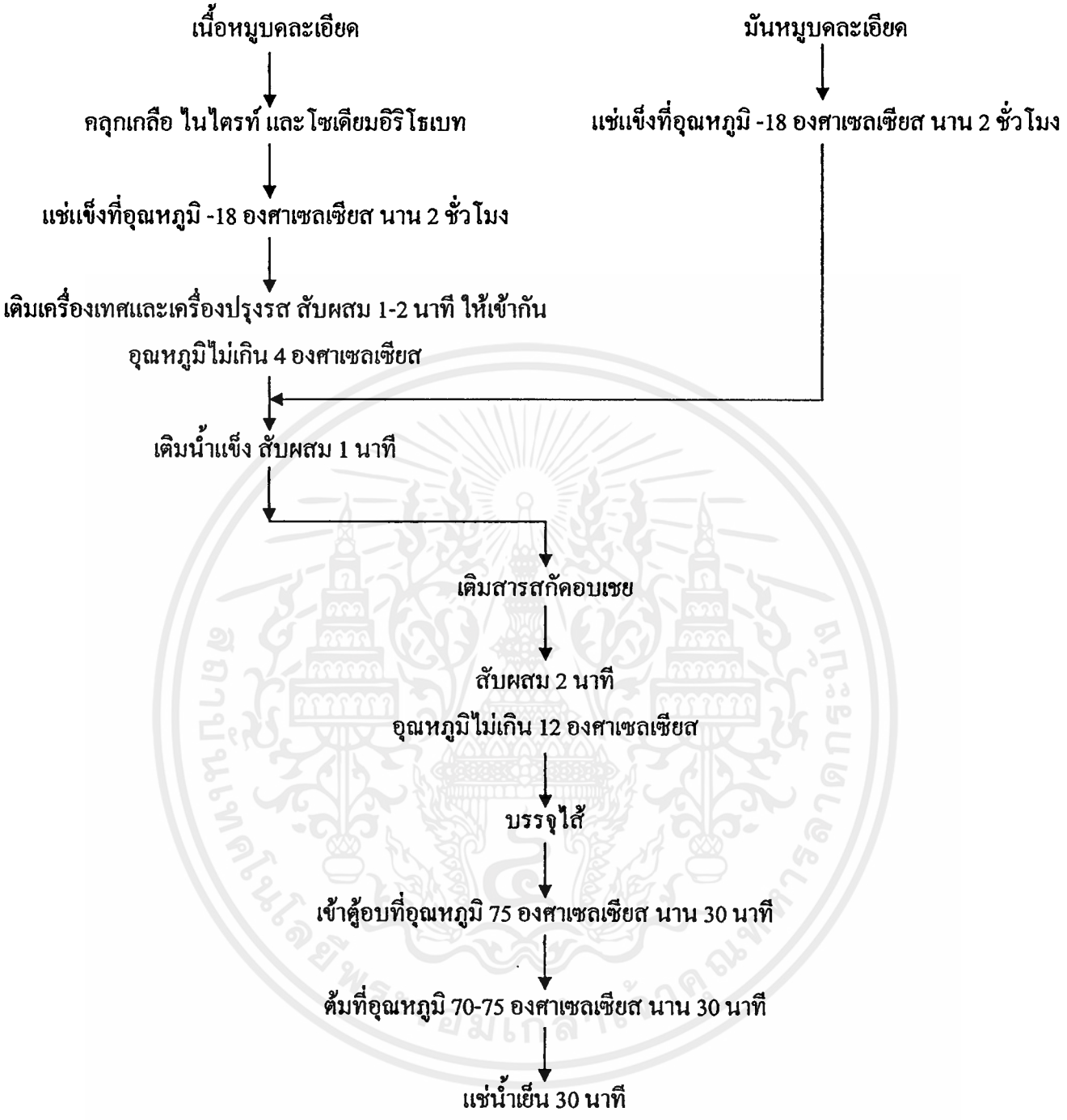
การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายเปอร์ออกซีไนไตรท์ (peroxynitrite scavenging) ตามวิธีของ Hazra และ คณะ (2008) รายละเอียดการวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ก.

3.5.4 การวิเคราะห์ความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างของสารสกัดอบเชยในไส้กรอกหมูรมควัน

3.5.4.1 การเตรียมไส้กรอกหมูรมควัน

ทำการเตรียมไส้กรอกหมูรมควันดังภาพที่ 3.2 โดยใช้ส่วนผสมตามตารางที่ 3.1 และเติมสารสกัดอบเชยในปริมาณต่างๆ จากนั้นนำไส้กรอกหมูรมควันที่ผลิตได้เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปวิเคราะห์ตามข้อ 3.5.4.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3.2 : ขั้นตอนการผลิตไส้กรอกหมูรมควัน

ที่มา : ดัดแปลงจากปรวัล (2552) และ เยาวลักษณ์ (2551)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.1 สูตรในการผลิตไส้กรอกหมูรมควัน

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

ที่มา : ดัดแปลงจากปรวัล (2552)

3.5.4.2 การวิเคราะห์ความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างของสารสกัดอบเชยในไส้กรอกหมูรมควันและการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ระหว่างการเก็บรักษา

นำไส้กรอกหมูรมควันที่เก็บเป็นเวลา 0, 1, 3 และ 5 วัน มาเตรียมตัวอย่างซึ่งดัดแปลงวิธีการเตรียมตัวอย่างจาก AOAC (2000) โดยนำไส้กรอกหมูรมควันมาบดละเอียดและชั่งน้ำหนัก 5 กรัม เติมน้ำกลั่น ปริมาณ 50 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน 30 วินาที วัดค่า pH และวิเคราะห์ความเป็นกรด-ด่างตามวิธีของ Bloukas และคณะ (2000) โดยใช้เครื่อง pH meter ขั้วอิเล็คโทรดแก้ว จากนั้นจึงเติมน้ำกลั่นอีก 50 มิลลิลิตร ปิดภาชนะด้วยอะลูมิเนียมฟลอย นำมาแช่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 70 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง เขย่าขวดเป็นระยะ เมื่อครบเวลา ทำให้เย็นแล้วนำไปหมุนเหวี่ยงที่ 8000 รอบ/นาที นาน 10 นาที ดูดส่วนใส่ปริมาตร 1 มิลลิลิตร มาวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์ตกค้างด้วยวิธีตามข้อ 3.5.1 ทำทั้งหมด 3 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.5 การทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของไส้กรอกหมูรมควันที่เติมสารสกัดอบเชย

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

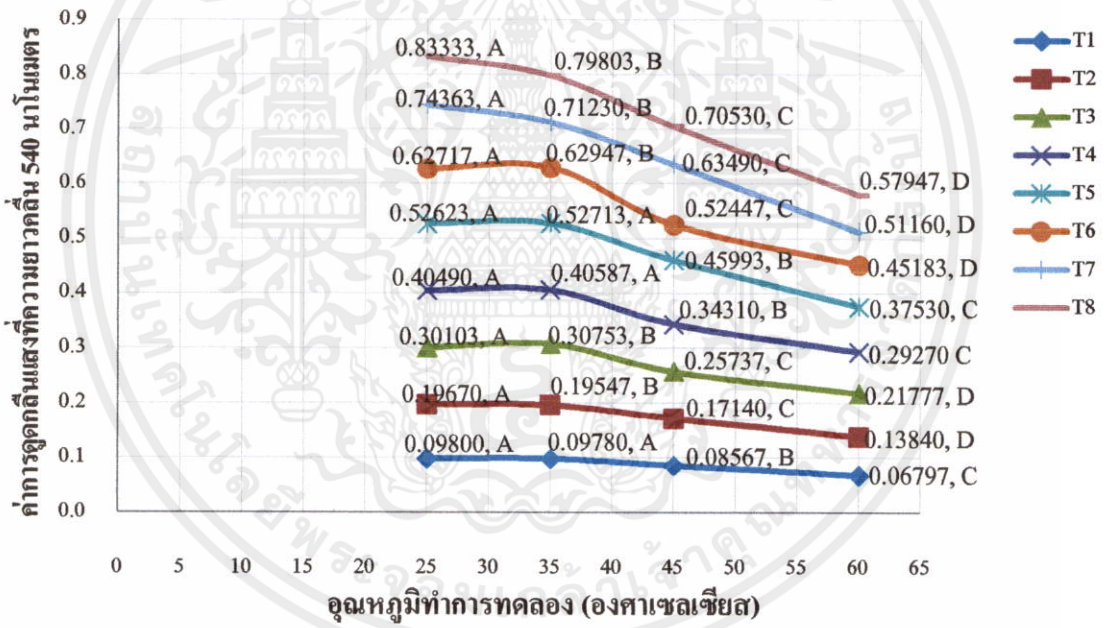
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 ผลการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้าง

4.1.1 ผลของอุณหภูมิที่มีต่อการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้าง

จากการวิเคราะห์ผลของอุณหภูมิที่มีต่อการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้างในตัวอย่างสารละลายโซเดียมไนไตรท์ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธีทางแคลอรีเมตริก (AOAC Official Method 973.31, Nitrites in cured meat, Colorimetric method 2000) โดยควบคุมอุณหภูมิที่ใช้ทำการทดลอง คือ 25, 35, 45 และ 60 องศาเซลเซียส ได้ผลดังภาพที่ 4.1 ค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้มีความสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณไนไตรท์ตกค้าง



ภาพที่ 4.1 : ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายโซเดียมไนไตรท์ที่อุณหภูมิ 25, 35, 45 และ 60 องศาเซลเซียส

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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากภาพที่ 4.1 เมื่อพิจารณาค่าการดูดกลืนแสงที่อุณหภูมิการทดลองต่างๆกัน จะพบว่าส่วนใหญ่ค่าการดูดกลืนแสงค่อยๆลดลงเมื่ออุณหภูมิในการทำการทดลองสูงขึ้น และมีแนวโน้มลดลงอย่างรวดเร็วในตัวอย่างที่มีความเข้มข้นสูง คือ ตัวอย่างสารละลายโซเดียมไนไตรท์ที่ความเข้มข้น 1.2, 1.4 และ 1.6 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยพบว่าค่าการดูดกลืนแสงที่อุณหภูมิทดลอง 35 องศาเซลเซียส มีค่าน้อยกว่าค่าการดูดกลืนแสงที่อุณหภูมิทดลอง 25 องศาเซลเซียส อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับการทดลองของ Narayana และ Sunil (2009) พบว่าการทำปฏิกิริยาต่อ (coupling) ระหว่างไดอะโซเนียมไอออนกับเมธิลแอนธาไนเลท (methyl anthranilate) ได้เป็นสารประกอบให้สีนั้นจะเกิดสีได้ดีที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และความเข้มสีจะลดลงในกรณีที่อุณหภูมิที่ทำการทดลองสูงกว่า 35 องศาเซลเซียส ดังนั้นจึงเลือกอุณหภูมิที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้างเป็น 25 องศาเซลเซียส

4.1.2 ผลของเวลาต่อการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้าง

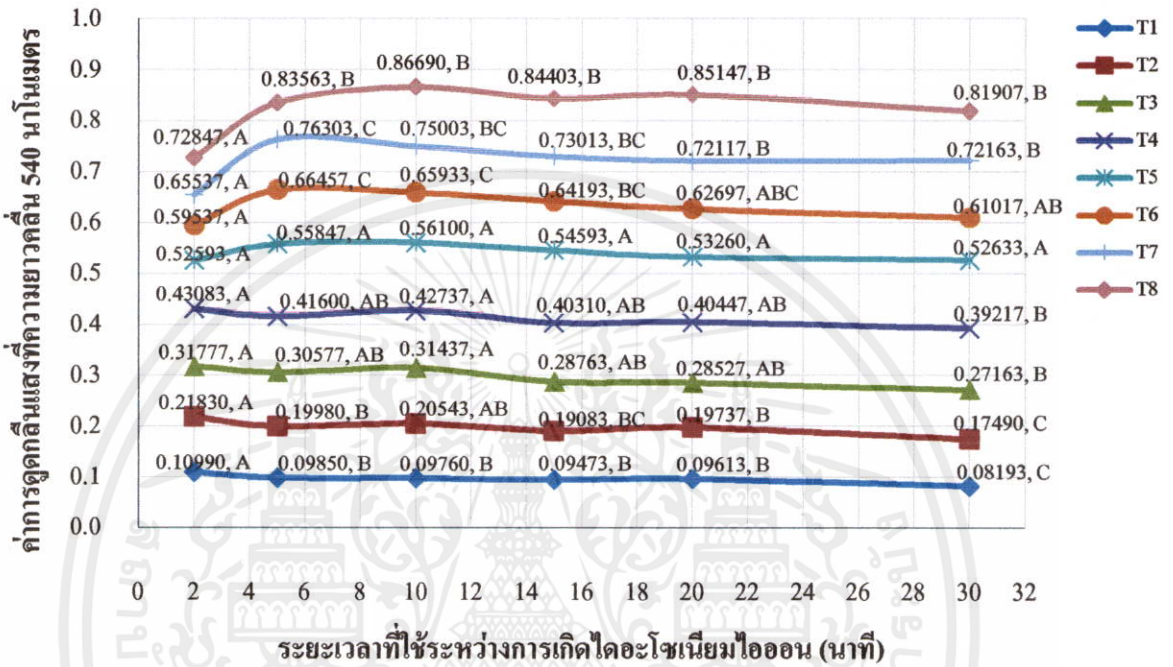
1.) เมื่อทำการศึกษาระยะเวลาที่ใช้ระหว่างการเกิดไดอะโซเนียมไอออนที่ 2, 5, 10, 15 , 20 และ 30 นาที โดยใช้อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิทำการทดลอง และใช้เวลาการเกิดปฏิกิริยาร่วมกัน (coupling) ระหว่างไดอะโซเนียมไอออนกับ NED (N-(1-naphthyl) ethylenediamine) ตามวิธีของ AOAC (2000) ได้ผลแสดงดังภาพที่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

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

2.) เมื่อทำการศึกษาระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยาระหว่างไดอะโซเนียมไอออนกับ NED (N-(1-naphthyl) ethylenediamine) ที่ 5, 15, 30, 45 และ60 นาที โดยใช้อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสและระยะเวลาที่ใช้ระหว่างการเกิดไดอะโซเนียมไอออน 5 นาที ได้ผลดังภาพที่ 4.3 พบว่าเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้นจาก 5 นาที ไปเป็น 15, 30, 35, 45 และ 60 นาที ส่วนใหญ่ถ้าค่าการดูดกลืนแสงมีค่าเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ยกเว้นเมื่อเปรียบเทียบที่ระยะเวลา 5 นาที กับที่ระยะเวลา 30, 35, 45 และ 60 นาที ของ T6 และ T7 และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ความเข้มข้นต่ำ T1 และT2 พบว่ามีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แสดงว่า ระยะเวลา 5 นาที อาจไม่เพียงพอให้ปฏิกิริยาเกิดสมบรูณ์ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกสภาวะเวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาระหว่างไดอะโซเนียมไอออนกับ NED เป็น 15 นาที ตามวิธีการของ AOAC (2000) ซึ่งค่าการดูดกลืนแสงส่วนใหญ่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับที่เวลา 30, 45 และ 60 นาที

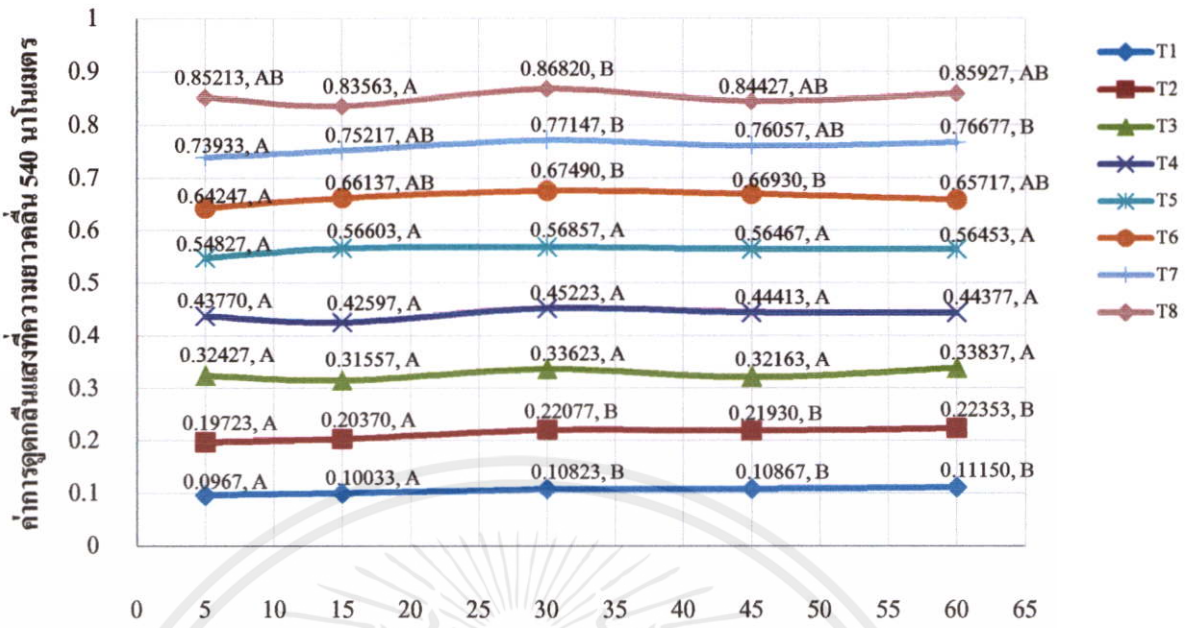


ภาพที่ 4.2 : ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายโซเดียมไนไตรท์ที่ระยะเวลาที่ใช้ระหว่างการเกิดไดอะโซเนียมไอออน 2, 5, 10, 15 , 20 และ 30 นาที

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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.3 : ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายโซเดียมไนไตรท์ที่ระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยาระหว่างไดอะโซเนียมไอออนกับ NED 5, 15, 30, 45 และ60 นาที

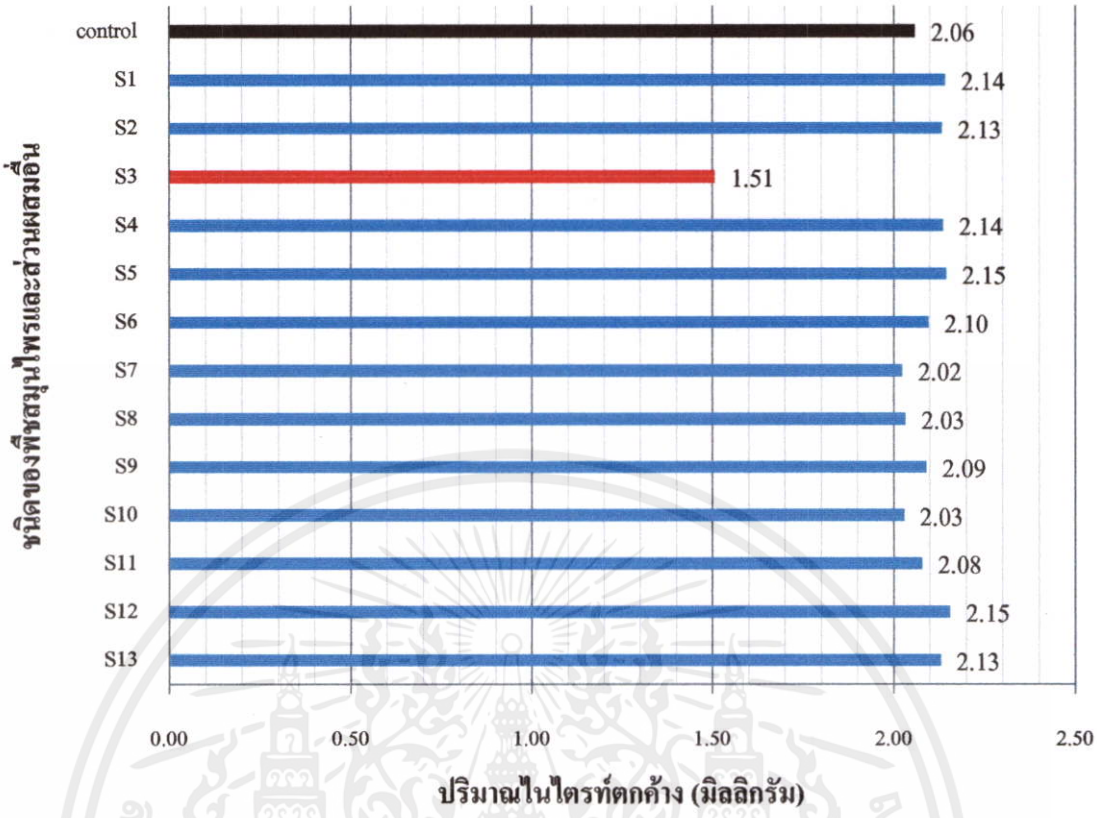
AB ตัวอักษรกำกับต่างกันในเส้นกราฟเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

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

4.2 ผลการศึกษาความสามารถด้านการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างของพืชสมุนไพรและส่วนผสมอื่นที่นิยมใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูป

ผลการศึกษาความสามารถด้านการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างของเม็ดผักชีป่น อบเชยป่น ปาปรีก้าป่น พริกขี้หนูสวนป่น พริกไทยดำป่น พริกไทยขาวป่น กระเทียมป่น ยี่หร่าป่น ตะไคร้ป่น ข่าป่น ใบมะกรูดป่น โปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง และไข่ขาวผง ทำในสภาวะในหลอดทดลอง โดยการเติมพืชสมุนไพรหรือส่วนผสมดังกล่าว ในหลอดทดลองที่มีปริมาณโซเดียมไนไตรท์ 2 มิลลิกรัม (control) ก่อนนำไปวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้างตามสภาวะที่คัดเลือกได้จากข้อ 4.1 ได้ผลดังภาพที่ 4.4 พบว่าอบเชยป่นมีความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างได้ดีที่สุด โดยมีความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างได้ถึง 26.87 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ไม่ได้เติมสมุนไพร ดังนั้นจึงคัดเลือกอบเชยไปทำการสกัดและศึกษาสมบัติด้านต่างๆ ในการศึกษาต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.4 : ความสามารถด้านการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างของพืชสมุนไพรและส่วนผสมอื่นที่นิยมใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูป

S1-S13 หมายถึง โปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง ไข่ขาวผง อบเชยป่น เม็ดผักชีป่น ใบมะกรูดป่น พริกขี้หนูสวนป่น ข่าป่น ปาปรีก้าป่น พริกไทยดำป่น กระเทียมป่น ตะไคร้ป่น ยี่หร่าป่น และ พริกไทยขาวป่น ตามลำดับ

4.3 ผลการศึกษาสมบัติของสารสกัดอบเชย

4.3.1 ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดอบเชย

เมื่อทำการสกัดเปลือกอบเชย 40 กรัม ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง และระเหยตัวทำละลายโดยใช้เครื่องระเหยแบบสุญญากาศ (rotary evaporator) จะได้สารสกัดเริ่มต้น (CE) หนัก 10 กรัม มีสีน้ำตาลเข้ม กลิ่นหอมอบเชยชัดเจนและมีลักษณะหนืดเคลือบติดขวดแก้วขุดออกได้ยาก เมื่อทดสอบรสชาติพบว่าสารสกัดที่ได้มีรสหวานที่ปลายลิ้นและมีรสขมมากทิ้งท้ายเมื่ออมหรือกลืน (รสขมคล้ายแอลกอฮอล์) แต่เมื่อเกลี่ยสารสกัดอบเชยให้บางและวางทิ้งไว้ในที่อากาศถ่ายเทนาน 2 วัน พบว่าสารสกัดจะแห้งสนิทกะเทาะออกได้เป็นผงสีน้ำตาลแดงมีรสหวานเช่นเดียวกับผงอบเชยก่อนนำมาสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จึงอาจสรุปได้ว่ารสขมของสารสกัดอบเชยมาจากตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด คือ เอธานอล 95 เปอร์เซ็นต์

ด้านสมบัติการละลายเมื่อทำการทดสอบสมบัติในการละลายของผงสารสกัดอบเชยที่แห้งสนิท โดยแช่ผงสารสกัดอบเชยที่แห้งสนิทในน้ำและเอธานอลที่ความเข้มข้นต่างๆพบว่า ผงสารสกัดอบเชยที่แห้งสนิทนั้นไม่มีสมบัติในการละลายน้ำแต่จะละลายได้ดีในเอธานอลที่ความเข้มข้นสูงคือตั้งแต่เอธานอล 40 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไป ส่วนเอธานอลที่ต่ำกว่า 40 เปอร์เซ็นต์ จะเกิดการละลายในช่วงแรกแต่เมื่อตั้งทิ้งไว้ประมาณ 10 นาที สารสกัดอบเชยจะเกิดการตกอยู่ด้านล่าง

4.3.2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (Total polyphenol contents)

จากการนำสารสกัดอบเชยไปวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดพบว่าสารสกัดอบเชย (*Cinnanomum burmanii Blume*) มีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดเท่ากับ 362.57 ± 26.38 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อสารสกัดเริ่มต้น 1 กรัม หรือเท่ากับ 90.64 ± 6.59 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่ออบเชยป่น 1 กรัม ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลในอบเชยสายพันธุ์อื่นๆดังนี้ Mathew และ Abraham (2006) ได้ศึกษาสมบัติของสารสกัดจากเปลือกอบเชย (*Cinnamomum verum*) พบว่าสารสกัดจากเปลือกอบเชยที่ใช้เมธานอลเป็นตัวทำละลาย มีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดเท่ากับ 289.0 ± 2.2 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อสารสกัดเริ่มต้น 1 กรัม Ho และคณะ (2008) พบว่าสารสกัดจากเปลือกอบเชย (*Cinnamomum cassia* Presl) มีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดเท่ากับ 269 ± 3 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อสารสกัดเริ่มต้น 1 กรัม นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดกับสารสกัดจากพืชสมุนไพรชนิดอื่น พบว่าสารสกัดอบเชย (*Cinnanomum burmanii* Blume) มีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด มากกว่า โรสแมรี่ (rosemary) ยี่หร่าฝรั่ง (fennel) จันทน์เทศ (nutmeg) ออริกาโน (oregano) (Kong และคณะ , 2010) องุ่นที่นิยมใช้ทำไวน์ในประเทศบราซิล 4 สายพันธุ์ Cabernet Sauvignon, Merlot, Bordeaux และ Isabel (Rockenbach และคณะ, 2011)

4.3.3 ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างของสารสกัดอบเชย

เมื่อนำสารสกัดอบเชยมาวิเคราะห์ความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างโดยเติมสารสกัดอบเชยที่ความเข้มข้นระดับต่างๆคือ 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ได้ผลดังตารางที่ 4.1 พบว่าสารสกัดอบเชยมีความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างและความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างนั้นจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารสกัดอบเชยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่มีการเติมสารสกัดอบเชย 0.5 เปอร์เซ็นต์ จะมีความสามารถในการทำลายไนไตรท์ (nitrite scavenging) ดีที่สุดที่ 65.89 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม (control) ที่ไม่มีการเติมสารสกัด

ตารางที่ 4.1 ความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างของสารสกัดอบเชยที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ

ความเข้มข้น (เปอร์เซ็นต์)	ปริมาณไนไตรท์ตกค้าง (ไมโครกรัม)	ความสามารถในการทำลายไนไตรท์ (เปอร์เซ็นต์)
control	1830.76 ± 2.48^{a}	0.00^{a}
0.1	1371.55 ± 32.71^{b}	25.08^{b}
0.2	1076.27 ± 31.07^{c}	41.21^{c}
0.3	881.60 ± 34.41^{d}	51.85^{d}
0.4	784.94 ± 33.13^{e}	57.13^{e}
0.5	624.53 ± 15.31^{f}	65.89^{f}

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

เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างของสารสกัดอบเชยในตารางที่ 4.1 กับสารสกัดชนิดอื่นพบว่า สารสกัดอบเชย 0.5 เปอร์เซ็น หรือ สารสกัดอบเชย 0.5 มิลลิลิตร (ผ่านการชะและปรับปริมาตรด้วยเอธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ หลังระเหยตัวทำละลาย) มีความสามารถในการทำลายไนไตรท์ สูงกว่าสารสกัดเปลือกส้มที่ใช้เอธานอล 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นตัวทำละลาย โดยสารสกัดเปลือกส้ม 1 มิลลิลิตร มีความสามารถในการทำลายไนไตรท์ 60 % (Kang และคณะ, 2006) นอกจากนี้ Choi และคณะ (2009) พบว่า BHT 1 มิลลิลิตร หรือ สารสกัด *Achyranthis radix* 1 มิลลิลิตร มีความสามารถในการทำลายไนไตรท์ ใกล้เคียงกันคือประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์

4.3.4 ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายไนตริกออกไซด์ (nitric oxide scavenging)

ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายไนตริกออกไซด์ของสารสกัดอบเชย ปริมาณ 50, 100, 150 และ 200 ไมโครกรัม เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม (control) ได้ผลดังตารางที่ 4.2 ซึ่งพบว่าสารสกัดอบเชยมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระไนตริกออกไซด์ โดยค่า เปอร์เซ็นต์ความสามารถในการทำลายไนตริกออกไซด์ จะสูงขึ้นตามปริมาณของสารสกัดอบเชยที่เติมลงไป ซึ่งสารสกัดอบเชยปริมาณ 200 ไมโครกรัม จะมี เปอร์เซ็นต์ ความสามารถในการทำลายไนตริกออกไซด์ สูงถึง 63.04 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ไม่ได้เติมสารสกัด และเมื่อเปรียบเทียบ เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้ ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความสามารถในการทำลายไนตริกออกไซด์ระหว่างสกัดอบเชยกับสารสกัดของต้นโบราจ (*Coleus aromaticus*) (Kumaran และ Joelkarunakaran, 2006) พบว่าสารสกัดอบเชย มีเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการทำลายไนตริกออกไซด์มากกว่าสารสกัดของต้นโบราจ ซึ่งสารสกัดของต้นโบราจความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการทำลายไนตริกออกไซด์ เท่ากับ 55.6 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4.2 ความสามารถในการทำลายไนตริกออกไซด์ของสารสกัดอบเชยที่ระดับต่างๆ

ปริมาณสารสกัด (ไมโครกรัม)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร	ความสามารถในการทำลายไนตริกออกไซด์ (เปอร์เซ็นต์)
0 (control)	0.8876 ± 0.0065^{a}	0^{a}
50	0.7097 ± 0.0093^{b}	20.04^{b}
100	0.6234 ± 0.0050^{c}	29.77^{c}
150	0.5244 ± 0.0039^{d}	40.92^{d}
200	0.3281 ± 0.0036^{e}	63.04^{e}

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

4.3.5 ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายเปอร์ออกซีไนไตรท์ (peroxynitrite scavenging)

จากการวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายเปอร์ออกซีไนไตรท์โดยใช้ โดยใช้อีเว้นท์บลู (evans blue) เป็นสารสีในการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 611 นาโนเมตร ได้ผลดังตารางที่ 4.3 พบว่าสารสกัดอบเชยที่ปริมาณ 6 ถึง 400 ไมโครกรัม มีความสามารถในการทำลายเปอร์ออกซีไนไตรท์ได้เล็กน้อย ซึ่งสารละลายที่ได้จะเปลี่ยนจากสีฟ้า (ควบคุม) เป็นสีฟ้าอ่อนเกือบไม่มีสี แต่ถ้าปริมาณสารสกัดอบเชยที่ใช้หากน้อยกว่า 6 ไมโครกรัม สีของสารละลายที่ได้จะไม่เปลี่ยนแปลง และถ้าหากใช้ปริมาณสารสกัดอบเชยสูงกว่า 400 ไมโครกรัม จะพบว่าค่าความสามารถในการทำลายเปอร์ออกซีไนไตรท์จะลดต่ำลง เนื่องจากสีของสารสกัดอบเชย (สีน้ำตาล) มีผลต่อการวัดค่าการดูดกลืนแสง ส่งผลให้สีของสารละลายที่ได้เปลี่ยนจากสีฟ้าเป็นสีฟ้าอมเขียวจนถึงสีเขียวอ่อน

เมื่อทำการเปรียบเทียบกับสารสกัดจากพืชชนิดอื่นได้แก่ สารสกัดจากผลของต้น *Terminalia chebula* Retz, *Terminalia belerica* Roxb, และ *Emblica officinalis* Gaertn (Hazra และคณะ, 2010) พบว่าสารสกัดอบเชยมีความสามารถในการทำลายเปอร์ออกซีไนไตรท์ได้น้อยกว่าเมื่อใช้ปริมาณสารสกัดที่เท่ากัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 ความสามารถในการทำลายเปอร์ออกซิไนไตรท์ของสารสกัดอบเชยที่ระดับต่างๆ

ปริมาณสารสกัด (ไมโครกรัม)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 611 นาโนเมตร	ความสามารถในการทำลายเปอร์ออกซิไนไตรท์ (เปอร์เซ็นต์)
0	0.3311 ± 0.0068^{efg}	0.00
1.5	0.3315 ± 0.0032^{efg}	-0.11
3.0	0.3321 ± 0.0059^{efg}	-0.30
4.5	0.3339 ± 0.0058^{fg}	-0.85
6.0	0.3274 ± 0.0009^{def}	1.13
9.0	0.3241 ± 0.0061^{def}	2.10
12.0	0.3244 ± 0.0019^{def}	2.01
15.0	0.3238 ± 0.0050^{def}	2.19
30.0	0.3215 ± 0.0023^{cde}	2.91
50.0	0.3182 ± 0.0044^{bcd}	3.91
100.0	0.3165 ± 0.0012^{abcd}	4.41
150.0	0.3121 ± 0.0044^{abc}	5.73
200.0	0.3120 ± 0.0015^{abc}	5.78
300.0	0.3052 ± 0.0050^{a}	7.81
400.0	0.3093 ± 0.0021^{ab}	6.57
500.0	0.3397 ± 0.0045^{g}	-2.61
600.0	0.3702 ± 0.0157^{h}	-11.81
700.0	0.4780 ± 0.0092^{i}	-44.38
800.0	0.6118 ± 0.0109^{k}	-84.78
900.0	0.5349 ± 0.0097^{j}	-61.56
1000.0	0.5362 ± 0.0022^{j}	-61.96

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างของสารสกัดอบเชยในไส้กรอกหมูรมควัน

4.4.1 ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างของสารสกัดอบเชยในไส้กรอกหมูรมควันและการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ระหว่างการเก็บรักษา

จากการเติมสารสกัดอบเชยปริมาณ 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ลงในไส้กรอกหมูรมควันเพื่อวิเคราะห์ความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างได้ผลดังตารางที่ 4.4 พบว่าไส้กรอกหมูรมควันที่เติมสารสกัดอบเชยจะมีปริมาณไนไตรท์ตกค้างน้อยกว่าไส้กรอกหมูรมควันที่ไม่เติมสารสกัด (control) และในระหว่างการเก็บรักษาพบว่าปริมาณไนไตรท์ตกค้างในไส้กรอกหมูรมควันจะลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทุกๆความเข้มข้น อย่างไรก็ตามค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ไม่มีการเปลี่ยนแปลงดังแสดงในตารางที่ 4.5 แสดงให้เห็นว่าสารสกัดอบเชยที่เติมไม่ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างเปลี่ยนแปลง และเมื่อระยะเวลาการเก็บเพิ่มขึ้นเป็น 5 วัน ค่าความเป็นกรดด่างไม่เปลี่ยนแปลงอาจเกิดจากการอบและการต้มไส้กรอกที่ 75 องศาเซลเซียส นานรวม 1 ชั่วโมง รวมทั้งการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ช่วยชลอหรือยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มที่สร้างกรดแลคติค ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างไม่เปลี่ยนแปลงในช่วงเวลาเก็บรักษาเป็นเวลา 5 วัน

ตารางที่ 4.4 ปริมาณไนไตรท์ตกค้าง (ppm) ของไส้กรอกหมูรมควันที่เติมสารสกัดอบเชยที่ระดับต่างๆ ในระหว่างการเก็บรักษา

สารสกัดอบเชย (เปอร์เซ็นต์)	ระยะเวลาในการเก็บรักษา (วัน)			
	0	1	3	5
0 (control)	$168.14 \pm 0.30^{c, A}$	$162.52 \pm 0.23^{a, B}$	$145.56 \pm 1.05^{a, C}$	$123.19 \pm 1.18^{a, D}$
0.1	$167.84 \pm 0.21^{c, A}$	$161.33 \pm 0.08^{b, B}$	$142.92 \pm 0.75^{b, C}$	$112.86 \pm 1.38^{b, D}$
0.2	$166.33 \pm 1.07^{d, A}$	$160.79 \pm 0.24^{c, B}$	$141.07 \pm 0.58^{c, C}$	$110.82 \pm 3.12^{bc, D}$
0.3	$166.82 \pm 0.37^{cd, A}$	$160.16 \pm 0.26^{d, B}$	$138.75 \pm 1.05^{d, C}$	$108.35 \pm 1.09^{cd, D}$
0.4	$166.39 \pm 1.08^{d, A}$	$158.87 \pm 0.30^{e, B}$	$136.42 \pm 0.81^{e, C}$	$107.27 \pm 1.14^{d, D}$
0.5	$166.23 \pm 0.73^{d, A}$	$157.67 \pm 0.40^{f, B}$	$133.56 \pm 1.34^{f, C}$	$105.77 \pm 2.01^{d, D}$

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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ระหว่างการเก็บรักษาของไส้กรอกหมูรมควันที่เติมสารสกัดอบเชยที่ระดับต่างๆ

ความเข้มข้น (เปอร์เซ็นต์)	ระยะเวลาในการเก็บรักษา (วัน)[ns]			
	0	1	3	5
0 (control)	6.21	6.18	6.16	6.18
0.1	6.20	6.18	6.19	6.17
0.2	6.19	6.18	6.14	6.18
0.3	6.20	6.18	6.16	6.18
0.4	6.20	6.19	6.19	6.18
0.5	6.20	6.20	6.20	6.19

[ns] อักษรกำกับแสดงถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

เมื่อเปรียบเทียบ เปอร์เซ็นต์ความสามารถในการทำลายไนไตรท์ ของสารสกัดอบเชยกรณีวิเคราะห์ในหลอดทดลอง (ตารางที่ 4.1) กับกรณีวิเคราะห์ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมูรมควัน (ตารางที่ 4.4) พบว่าเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการทำลายไนไตรท์ ของสารสกัดอบเชยกรณีวิเคราะห์ในหลอดทดลองมีค่าสูงกว่ากรณีวิเคราะห์ในไส้กรอกหมูรมควันมาก ดังแสดงในตารางที่ 4.6 อาจเนื่องมาจากในตัวอย่างไส้กรอกหมูรมควันมีสารประกอบอื่น เช่น โปรตีน ไขมัน เกลือ ฯลฯ ที่อาจขัดขวางการเข้าทำปฏิกิริยาระหว่างสารสกัดและไนไตรท์ หรือสภาวะในการผลิตไส้กรอก เช่น การตีปั่น การใช้ความร้อน อาจทำให้โครงสร้างของสารสกัดอบเชยเปลี่ยนแปลงไป เป็นผลให้ความสามารถในการทำลายไนไตรท์ ลดลง Pedraza-Chaverrí และคณะ (2007) ได้ศึกษาผลของความร้อนที่มีต่อความสามารถในการทำลายเปอร์ออกซิไนไตรท์ของสารสกัดกระเทียมพบว่า ความร้อนส่งผลต่อสมบัติด้านต่างๆของสารสกัดกระเทียม และลดความสามารถในการทำลายเปอร์ออกซิไนไตรท์ของสารสกัดกระเทียม นอกจากนี้สมบัติการละลายก็มีผลต่อการทำหน้าที่ของสารสกัด เช่น งานวิจัยของ Lara และคณะ (2011) พบว่า สารสกัดโรสแมรี่ และ BHT มีสมบัติการเป็นแอนติออกซิแดนท์ในแพตตี้หมูดีกว่าสารสกัดสะระแหน่ (lemon balm) เนื่องจากสารสกัดสะระแหน่นั้นสามารถละลายได้ดีในน้ำ แต่สารสกัดโรสแมรี่และ BHT สามารถละลายได้ในไขมันหรือน้ำมันในแพตตี้หมู

จากการทดสอบรสชาติเบื้องต้นพบว่าไส้กรอกหมูรมควันที่เติมสารสกัดอบเชยมีรสชาติขมของเอธานอลทิ้งไว้ภายหลังกลืน แม้ผ่านช่วงระยะการเก็บวันที่ 5 ความขมก็ไม่ลดลง ดังนั้นในการทดสอบทางประสาทสัมผัสจึงจำเป็นต้องลดปริมาณการเติมสารสกัดอบเชยลง และทดลองใช้วอดก้า 40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปอร์เซ็นต์เป็นตัวชะสารสกัดภายหลังระเหยตัวทำละลายเอธทานอลออก ก่อนนำมาวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้างและค่าความเป็นกรดด่างเมื่อเก็บไส้กรอกเป็นเวลาต่างๆ ได้ผลดังตารางที่ 4.7 และ 4.8 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.6 เปอร์เซ็นต์ความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างของสารสกัดอบเชยระดับต่างๆ ในตัวอย่างสารละลายโซเดียมไนไตรท์และในตัวอย่างไส้กรอกหมูรมควันเมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (เปอร์เซ็นต์)	ตัวอย่างสารละลายโซเดียมไนไตรท์	ตัวอย่างไส้กรอกหมูรมควัน
0.1	25.08	0.73
0.2	41.21	1.07
0.3	51.85	1.46
0.4	57.13	2.25
0.5	65.89	2.99

ตารางที่ 4.7 ปริมาณไนไตรท์ตกค้างของไส้กรอกหมูรมควันที่เติมสารสกัดอบเชยที่ความเข้มข้น 0.04 ถึง 0.08 เปอร์เซ็นต์ระหว่างการเก็บรักษา

ความเข้มข้น (เปอร์เซ็นต์)	ระยะเวลาในการเก็บรักษา (วัน)			
	0	1	3	5
0 (control)	$170.96 \pm 0.18^{ns, A}$	$165.46 \pm 0.38^{ns, B}$	$148.29 \pm 0.62^{ns, C}$	$126.61 \pm 0.37^{b, D}$
0.04	$170.90 \pm 0.32^{ns, A}$	$165.27 \pm 0.46^{ns, B}$	$148.00 \pm 2.51^{ns, C}$	$126.49 \pm 0.39^{b, D}$
0.06	$170.63 \pm 0.24^{ns, A}$	$165.05 \pm 0.67^{ns, B}$	$147.47 \pm 3.39^{ns, C}$	$126.01 \pm 0.11^{ab, D}$
0.08	$170.41 \pm 0.34^{ns, A}$	$164.81 \pm 0.85^{ns, B}$	$147.17 \pm 4.15^{ns, C}$	$125.48 \pm 0.32^{a, D}$

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

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

^{ns} อักษรกำกับแสดงถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ระหว่างการเก็บรักษาของไส้กรอกหมูรมควันที่เติมสารสกัดอบเชยที่ความเข้มข้น 0.04 ถึง 0.08 เปอร์เซ็นต์

ความเข้มข้น (เปอร์เซ็นต์)	ระยะเวลาในการเก็บรักษา (วัน)[ns]			
	0	1	3	5
0 (control)	6.20	6.20	6.17	6.18
0.04	6.21	6.19	6.18	6.18
0.06	6.20	6.20	6.19	6.19
0.08	6.21	6.20	6.19	6.19

[ns] อักษรกำกับแสดงถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตารางที่ 4.7 แสดงให้เห็นว่า จากการใช้วอดก้า 40 เปอร์เซ็นต์ เป็นตัวชะสารสกัด และลดปริมาณสารสกัดอบเชยที่เติมในไส้กรอกหมูรมควัน เป็น 0.04, 0.06 และ 0.08 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปริมาณไนไตรท์ตกค้างในไส้กรอกหมูรมควันที่เติมสารสกัดอบเชยไม่มีความแตกต่างจากไส้กรอกหมูรมควันที่ไม่เติมสารสกัด ทั้งนี้อาจเกิดจากปริมาณสารสกัดอบเชยที่เติมน้อยเกินไปที่จะแสดงความสามารถลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างได้ชัดเจนทางสถิติ อย่างไรก็ตามแต่ปริมาณไนไตรท์ตกค้างจะค่อยๆลดลงภายหลังการเก็บรักษา ส่วนค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) (ตารางที่ 4.7) ผลพบว่าไส้กรอกแต่ละความเข้มข้นมีค่าความเป็นกรด-ด่างไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ตั้งแต่วันแรกตลอดจนวันสุดท้ายของการเก็บรักษาสอดคล้องกับผลการทดลองในตารางที่ 4.5

4.5 ผลการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของไส้กรอกหมูรมควันที่เติมสารสกัดอบเชย

ผลการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสไส้กรอกหมูรมควันที่เติมสารสกัดอบเชยที่ใช้วอดก้า 40 เปอร์เซ็นต์เป็นตัวชะสารสกัดภายหลังระเหยตัวทำละลายเอธานอล ที่ความเข้มข้น 0.04 ถึง 0.08 เปอร์เซ็น ด้วยวิธีหาอัตราความชอบ (hedonic scaleing) โดยใช้ผู้ทดสอบที่ไม่ฝึกฝน 30 คน ได้ผลดังตารางที่ 4.9 พบว่า เมื่อเติมสารสกัดอบเชย 0.04 เปอร์เซ็นต์ คะแนนด้านกลิ่นไม่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุม นอกจากนี้สารสกัดอบเชยไม่ส่งผลต่อเนื้อสัมผัสและสีของผลิตภัณฑ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนในด้านของรสชาติพบว่า คะแนนด้านรสชาติมีแนวโน้มลดลง เมื่อมีการเติมสารสกัดอบเชย โดยเฉพาะตัวอย่างที่ใช้สารสกัดอบเชย 0.08 เปอร์เซ็นต์ ถึงแม้ใช้วอดก้าเป็นตัวชะสารสกัด ผู้ชิมสามารถรับรู้รสขมของเอธานอลได้ ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสพบว่าคะแนนความชอบรวมของผู้ชิมมีแนวโน้มลดลงเมื่อปริมาณสารสกัดอบเชยที่เติมเพิ่มขึ้นจาก 0.04 ไปหา 0.08 เปอร์เซ็นต์ ซึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาเหตุน่าจะมาจาก after taste ของตัวทำละลายเอธานอล ปริมาณสารสกัดอบเชยที่สามารถเติมได้ในการทดลองนี้คือ 0.04 เปอร์เซ็นต์ โดยผู้ชิมให้คะแนนความชอบอยู่ในช่วงเฉยๆถึงชอบเล็กน้อย ในงานวิจัยต่อไปจึงควรศึกษาถึงตัวทำละลายอื่นเช่น แอลกอฮอล์ที่ได้จากการหมักผลไม้หรือธัญพืชเพื่อลดปัญหา after taste ที่เกิดจากการใช้เอธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ หรืออาจทดลองเติมสารสกัดอบเชยในรูปของผง (powder) โดยการนำสารสกัดภายหลังระเหยตัวทำละลายไปอบแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบเยือกแข็ง

ตารางที่ 4.9 คะแนนความชอบของผู้ทดสอบต่อไส้กรอกหมูรมควันที่เติมสารสกัดอบเชยที่ระดับต่างๆ

ความเข้มข้น (เปอร์เซ็นต์)	สี ^{ns}	กลิ่น	รสชาติ	เนื้อสัมผัส ^{ns}	ความชอบรวม
0 (control)	4.73 ± 0.94	4.97 ± 1.13^{a}	5.17 ± 1.26^{a}	4.57 ± 1.14	5.07 ± 1.14^{a}
0.04	4.67 ± 1.06	4.93 ± 0.94^{a}	3.70 ± 1.18^{b}	4.33 ± 0.99	4.40 ± 1.13^{b}
0.06	4.60 ± 1.00	4.23 ± 1.17^{b}	3.20 ± 1.49^{b}	4.20 ± 0.71	3.67 ± 1.06^{c}
0.08	4.40 ± 0.93	4.07 ± 0.98^{b}	2.33 ± 0.88^{c}	4.20 ± 1.03	2.97 ± 1.03^{d}

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

^{ns} อักษรกำกับแสดงถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.2 สรุปผลการทดลอง

1. ผลจากการศึกษาปัจจัยด้านอุณหภูมิและเวลาที่มีต่อการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้าง พบว่าค่าการดูดกลืนแสงจะคงที่ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสและจะลดลงในกรณีที่อุณหภูมิที่ทำการทดลองสูงกว่า 35 องศาเซลเซียส ส่วนด้านเวลาพบว่าระยะเวลาที่ใช้ระหว่างการเกิดไดอะโซเนียมไอออนที่ 5 นาที และระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยาระหว่างไดอะโซเนียมไอออนกับ NED ที่ 15 นาที เป็นเวลาที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้าง

2. จากการศึกษาความสามารถด้านการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างของพืชสมุนไพรและส่วนผสมอื่นที่นิยมใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูป ทั้งหมด 13 ชนิด ได้แก่ เม็ดผักชีป่น อบเชยป่น ปาปรีก้าป่น พริกขี้หนูสวนป่น พริกไทยดำป่น พริกไทยขาวป่น กระเทียมป่น ยี่หร่าป่น ตะไคร้ป่น ข่าป่น ใบมะกรูดป่น โปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง และไข่ขาวผง ในหลอดทดลองพบว่า อบเชยป่นมีความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างได้ดีที่สุด คือ 26.87 เปอร์เซ็นต์

3. ผลการศึกษาสมบัติของสารสกัดอบเชยพบว่า สารสกัดอบเชยสายพันธุ์ *Cinnamomum burmanii* Blume มีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดเท่ากับ 362.57 ± 26.38 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อสารสกัดเริ่มต้น 1 กรัม หรือเท่ากับ 90.64 ± 6.59 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่ออบเชยป่น 1 กรัม ผลการทดสอบในหลอดทดลองพบว่า ความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณสารสกัดอบเชยที่ใช้เพิ่มขึ้น โดยพบว่าสกัดอบเชย 0.5 เปอร์เซ็นต์ จะมีความสามารถในการทำลายไนไตรท์ 65.89 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ไม่มีการเติมสารสกัด นอกจากนี้สารสกัดอบเชยยังมีความสามารถในการทำลายไนตริกออกไซด์ โดยสารสกัดอบเชยปริมาณ 200 ไมโครกรัม จะมีความสามารถในการทำลายไนตริกออกไซด์ 63.04 เปอร์เซ็นต์

4. จากการวิเคราะห์ความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างของสารสกัดอบเชยในไส้กรอกหมูรมควันและการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ระหว่างการเก็บรักษา พบว่าไส้กรอกหมูรมควันที่เติมสารสกัดอบเชยปริมาณ 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ0.5 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณไนไตรท์ตกค้างน้อยกว่าไส้กรอกหมูรมควันที่ไม่เติมสารสกัดและค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ไม่มีการเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 5 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. การสกัดสารสกัดอบเชยหากต้องนำมาเติมลงในผลิตภัณฑ์ ควรเลือกตัวทำละลายหรือวิธีการสกัดที่ไม่ทิ้งสารตกค้างที่เป็นอันตรายหรือมีรสชาติแฝงไปรบกวนรสชาติของผลิตภัณฑ์

2. การสกัดสารสกัดอบเชยหากใช้น้ำเป็นตัวทำละลายควรทำการสกัดที่อุณหภูมิต่ำ และอัตราส่วนของผงอบเชยต่อน้ำควรสูงกว่า 1 ต่อ 10 เพราะการสกัดโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส อัตราส่วนของผงอบเชยต่อน้ำเท่ากับ 1 ต่อ 10 ทำให้เกิดเป็นก้อนเจล ไม่สามารถกรองหรือนำไปวิเคราะห์ได้

3. การวิเคราะห์สมบัติของสารสกัดอบเชยควรคำนึงถึงสีของสารสกัดที่มีสีน้ำตาลเข้ม เพราะอาจส่งผลต่อการวิเคราะห์ที่วัดผลจากการเปลี่ยนแปลงของสี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. 2547 กฎระเบียบของสหภาพยุโรปเกี่ยวกับวัตถุเจือปนอาหาร. ภาคผนวกที่15

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Acta. 657 : 123-130.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Wang, Z.H., Hsu, C.C. and Yin, M.C. 2009. Antioxidative characteristics of aqueous and ethanol extracts of glossy privet fruit. **Food Chemistry**. 112 : 914-918.

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.
การวิเคราะห์ทางเคมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. การวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้าง

1.1 การเตรียมสารทดสอบและสารละลายมาตรฐาน

- NED Reagent

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

- Sulfanilamide Reagent

ละลาย salicylic acid 0.5 กรัมในกรดอะซิติกความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 150 มิลลิลิตร เก็บในขวดสีชา

1.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานโซเดียมไนไตรท์

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

ละลาย $NaNo_2$ 1.0 กรัม ด้วยน้ำกลั่นและปรับปริมาตรสุดท้ายด้วยน้ำกลั่นเป็น 1 ลิตร

- Intermediat solution (สารละลายโซเดียมไนไตรท์ 100 ไมโครกรัม / มิลลิลิตร)

ปิเปต Stock solution จำนวน 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรสุดท้ายด้วยน้ำกลั่นเป็น 1 ลิตร

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

ปิเปต intermediat solution มา 20 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรสุดท้ายด้วยน้ำกลั่นเป็น 1 ลิตร

1.3 การเตรียมกราฟมาตรฐาน

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

1.4 การคำนวณและแปลผล

การแปลผลนั้นจะนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้างของตัวอย่างมาคำนวณกับสมการกราฟมาตรฐานได้เป็นค่าปริมาณไนไตรท์ตกค้าง นอกจากนี้ยังสามารถนำค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณเป็นความสามารถในการทำลายไนไตรท์ ของสารสกัดโดย เปอร์เซ็นต์ความสามารถในการทำลายไนไตรท์ (nitrite scavenging) เท่ากับ

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (Total polyphenol content)

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

2.1 สารเคมี

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

2.2. การเตรียมกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

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

2.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในตัวอย่างสารสกัด

1. ปิเปตตัวอย่างสารสกัดอบเชย (CEE) 0.5 มิลลิลิตร เจือจางและปรับปริมาตรด้วยเอธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ปิเปตสารสกัดที่เจือจางใส่ในหลอดทดลอง 0.5 มิลลิลิตรและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ปริมาตรรวมในแต่ละหลอดเป็น 10 มิลลิลิตร
2. เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน วางตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที
3. เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน วางตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที
4. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร โดยใช้น้ำกลั่นเป็นblank
5. คำนวณปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในตัวอย่างสารสกัด

เอกสารนี้เป็นลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ห้ามนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายไนตริกออกไซด์ (nitric oxide scavenging)

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

3.1 สารเคมี

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

3.2 การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายไนตริกออกไซด์ของสารสกัดอบเชย

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

จากเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการทำลายไนตริกออกไซด์

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายเปอร์ออกซิไนไตรท์ (peroxynitrite scavenging)

การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายเปอร์ออกซิไนไตรท์ (peroxynitrite scavenging) ตามวิธีของ Hazra และ คณะ (2008)

4.1 สารเคมี

1. 20 mM ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.4
2. 0.1 mM Diethylene-triamine-pentaacetic acid (DTPA)
3. 90 mM Sodium chloride
4. 5 mM Potassium chloride
5. 12.5 μM Evans Blue
6. 1 mM peroxynitrite (จากการสังเคราะห์)

4.2 การสังเคราะห์เปอร์ออกซิไนไตรท์ (การเกิดปฏิกิริยาทำในสภาวะเย็นทั้งหมด)

1. เติม 1.85 M HNO_3 ลงใน 2.1 M H_2O_2 และผสมกับ 2 M $NaNO_2$
2. เทสารละลายผสมลงใน 4.2 M NaOH รอจนเปอร์ออกซิไนไตรท์อิ่มตัว
3. ทำการแพ็ค MnO_2 เป็นคอลัมน์แล้วค่อยๆเทสารละลายจากข้อ 2. ผ่านคอลัมน์ เพื่อให้ MnO_2 จับ H_2O_2 ที่ทำปฏิกิริยาไม่หมด
4. แช่สารละลายที่ผ่านคอลัมน์แล้ว ไว้ในที่เย็นอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส นานข้ามคืน
5. ปิเปตเก็บส่วนใสสีเหลืองด้านบน
6. ทดสอบความเข้มข้นของเปอร์ออกซิไนไตรท์ด้วย 1.2 NaOH และทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 302 นาโนเมตร ซึ่งค่าความเข้มข้นที่ได้ควรเท่ากับ $\varepsilon_{302\ nm}/1670\ M^{-1}cm^{-1}$

4.3 การวัดค่าความสามารถในการทำลายเปอร์ออกซิไนไตรท์ของตัวอย่าง

1. ทำการผสม DTPA 10 ไมโครลิตร, Sodium chloride 10 ไมโครลิตร, Potassium chloride 10 ไมโครลิตร, Evans Blue 500 ไมโครลิตร, peroxynitrite (จากการสังเคราะห์) 5 ไมโครลิตร, สารสกัดอบเชย (0-1000 ไมโครกรัม/0.5 มิลลิลิตร) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร และฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 435 ไมโครลิตร รวมทั้งหมดเป็น 1 มิลลิลิตรทิ้งให้เกิดปฏิกิริยา 30 นาที ที่ 25 องศาเซลเซียส
2. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 611 นาโนเมตร
3. คำนวณค่าความสามารถในการทำลายเปอร์ออกซิไนไตรท์ โดยเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการทำลายเปอร์ออกซิไนไตรท์ เท่ากับ $(A_{611\ nm\ of\ control} - A_{611\ nm\ of\ sample}) \times 100 / A_{611\ nm\ of\ control}$

Blank : ใช้ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ แทนส่วนของ Evans Blue และสารสกัดอบเชย

Control : ใช้เอธานอล 95 % แทนส่วนของ สารสกัดอบเชย

เอกสารนี้มีไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข.
การทดสอบทางประสาทสัมผัส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบบทดสอบความชอบ (7-point hedonic scale)

ชื่อผู้ทดสอบ.....**วันที่ทำการทดสอบ**.....

ชื่อผลิตภัณฑ์ ไส้กรอกหมูรมควัน

กรุณาชิมตัวอย่างจากซ้ายไปขวา และให้คะแนนความชอบตามระดับคะแนนที่ท่านคิดว่าเหมาะสมในระหว่างการชิมกรุณาดื่มน้ำก่อนชิมตัวอย่างรหัสถัดไป

ระดับคะแนน

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

	รหัสตัวอย่าง			
	_____	_____	_____	_____
สี (color)	_____	_____	_____	_____
กลิ่น (odor)	_____	_____	_____	_____
รสชาติ (flavor)	_____	_____	_____	_____
เนื้อสัมผัส (texture)	_____	_____	_____	_____
ความชอบโดยรวม (overall liking)	_____	_____	_____	_____

ข้อเสนอแนะ (suggestion)

_____

_____

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวณัฐวดี ตันวิสุทธิ์
วันเดือนปีเกิด	วันที่ 8 กรกฎาคม พ.ศ. 2530
ที่อยู่	523/1 ซอยมาตุลี 31 ถนนมาตุลี ตำบลนครสวรรค์ตก อำเภอเมือง จังหวัดนครสวรรค์ 60000
	โทรศัพท์ : 089-5676677, e-mail : naannoom@hotmail.com
ประวัติการศึกษา	2552 จบการศึกษาระดับปริญญาตรี หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
	2552 เข้าศึกษาต่อระดับปริญญาโท หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้