ผลของการพาสเจอร์ไรส์ การเก็บรักษาและสารถนอมอาหาร ต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในน้ำส้มเขียวหวาน

THE EFFECTS OF PASTEURIZATION STORAGE AND PRESERVATIVES ON ANTIOXIDANT ACTIVITY IN TANGERINE ORANGE JUICE

สุภาภรณ์ รพีศักดิ์
SUPAPORN RAPEESAK

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร
บัณฑิตวิทยาลัย
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2547

ISBN 974-9680-46-4

ผลของการพาสเจอร์ไรส์ การเก็บรักษาและสารถนอมอาหาร ต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในน้ำส้มเขียวหวาน

THE EFFECTS OF PASTEURIZATION STORAGE AND PRESERVATIVES ON ANTIOXIDANT ACTIVITY IN TANGERINE ORANGE JUICE

สุภาภรณ์ รพีศักดิ์
SUPAPORN RAPEESAK

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร
บัณฑิตวิทยาลัย
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ.2547
ISBN 974-9680-46-4

THE EFFECTS OF PASTEURIZATION STORAGE AND PRESERVATIVES ON ANTIOXIDANT ACTIVITY IN TANGERINE ORANGE JUICE

SUPAPORN RAPEESAK

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE IN FOOD SCIENCE
SCHOOL OF GRADUATE STUDIES
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
2004

ISBN 974-9680-46-4

COPYRIGHT 2004
SCHOOL OF GRADUATE STUDIES
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของการพาสเจอร์ไรส์ การเก็บรักษาและสารถนอมอาหารต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในน้ำส้มเขียวหวาน
นักศึกษา	นางสาว สุภาภรณ์ รพีศักดิ์
รหัสประจำตัว	44066003
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์การอาหาร
พ.ศ.	2547
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์	ผศ.ดร.ระติพร หาเรือนกิจ

บทคัดย่อ

จากการศึกษาผลของการพาสเจอร์ไรส์ การเก็บรักษาและสารถนอมอาหารต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในน้ำส้มเขียวหวาน พบว่า การพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส 30 วินาที ทำให้ปริมาณวิตามินซี สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระลดลงมากกว่าการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส 30 วินาที เป็นร้อยละ 6.06, 10.74 และ 3.71 ตามลำดับ การเก็บรักษาน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ –1 และ 4 องศาเซลเซียส สามารถเก็บได้เป็นเวลา 20 วัน ทำให้ปริมาณวิตามินซีลดลงร้อยละ 12.99 และ 13.61 สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงร้อยละ 10.14 และ 12.17 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นร้อยละ 49.90 และ 47.60 ตามลำดับ การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน ปริมาณวิตามินซี และสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงร้อยละ 17.32 และ 12.17 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นร้อยละ 52.33 การใส่สารถนอมอาหารโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ โซเดียมเบนโซเอตและโปแตสเซียมซอร์เบตในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์และเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 21 วัน พบว่า โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ทำให้ปริมาณวิตามินซี สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าโซเดียมเบนโซเอตและโปแตสเซียมซอร์เบต อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และไม่แตกต่างจากน้ำส้มที่ไม่ใส่สารถนอมอาหารอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

Thesis Title	The Effects of Pasteurization Storage and Preservatives on Antioxidant Activity in Tangerine Orange Juice
Student	Miss Supaporn Rapeesak
Student ID.	44066003
Degree	Master of Science
Programme	Food Science
Year	2004
Thesis Advisor	Assist. Prof. Dr. Ratiporn Haruenkit

ABSTRACT

The effects of pasteurization storage and preservatives on antioxidant activity in Tangerine orange juice showed that pasteurization at 95 °C reduced more vitamin C, total phenolics and antioxidant activity than that at 70 °C in the amount of 6.06%, 10.74% and 3.71% respectively. The vitamin C content of pasteurized orange juice was reduced at storage temperature –1 and 4 °C by 12.99 % and 13.61% the total phenolics by 10.14% and 12.17% the antioxidant activity was increased by 49.90% and 47.60% respectively for 20 days of storage. Storage at 10 °C for 15 days the vitamin C and total phenolics of pasteurized orange juice were reduced by 17.32% and 12.17%, but the antioxidant activity was increased by 52.33%. Addition of sodium metabisulphite, sodium benzoate and potassium sorbate to pasteurized orange juice and stored at 4 °C for 21 days showed that sodium metabisulphite could significantly ($p \leq 0.05$) retained more vitamin C, total phenolics and antioxidant activity than sodium benzoate and potassium sorbate and it was not significantly ($p > 0.05$) different from the untreated juice.

กิตติกรรมประกาศ

การทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้เนื่องด้วยได้รับความกรุณาจากผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ระติพร หาเรือนกิจ ที่ได้ให้เกียรติเป็นอาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ พร้อมทั้งกรุณามอบความรู้ คำแนะนำอันเป็นประโยชน์ในการดำเนินงานวิจัย การเขียนวิทยานิพนธ์รวมทั้งตรวจทานและแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณ ดร.พอใจ ถามากร และ รศ.ดร.วรรณา ตั้งเจริญกิจ ที่ให้เกียรติเป็นคณะกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์ และได้มอบความรู้ คำแนะนำพร้อมตรวจสอบและแก้ไขจนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์เป็นอย่างดี

ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านในโครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตรที่ได้ให้ความรู้และคำแนะนำอันเป็นประโยชน์แก่ข้าพเจ้าตลอดระยะเวลาที่ข้าพเจ้าศึกษาอยู่ ณ ที่นี้

ขอขอบคุณเพื่อนๆ น้องๆ และนิสุดา ทองคำพันธุ์ ที่ได้เป็นกำลังใจ ให้คำแนะนำ และให้ความช่วยเหลือแก่ข้าพเจ้าในการดำเนินงานวิจัย การสอบประมวลความรู้ การสอบวิทยานิพนธ์มาโดยตลอด

ขอกราบขอบพระคุณคุณแม่ พี่สาว ที่ได้ให้การสนับสนุนทั้งกำลังใจและช่วยเหลือข้าพเจ้าในทุกด้านมาด้วยดีโดยตลอด

คุณค่าและประโยชน์อันพึงมีจากวิทยานิพนธ์ข้าพเจ้าขอมอบแด่ครูบาอาจารย์และผู้มีพระคุณทุกท่าน หากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีข้อผิดพลาดประการใด ข้าพเจ้าขอน้อมไว้แต่เพียงผู้เดียว

สุภาภรณ์ รพีศักดิ์

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....II

กิตติกรรมประกาศ.....III

สารบัญ.....IV

สารบัญตาราง.....VI

สารบัญภาพ.....IX

บทที่ 1 บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....1

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....2

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....2

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ส้มเขียวหวาน.....3

2.2 วิตามินซีและปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณวิตามินซี.....4

2.3 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของวิตามินซี.....16

2.4 สารประกอบฟีนอลิกและปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก.....17

2.5 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของฟลาโวนอยด์.....30

2.6 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของไฮดรอกซีซินนะมิก แอซิดและ ไฮดรอกซีเบนโซอิก แอซิด.....34

2.7 วัตถุกันเสีย.....38

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ.....49

3.1 วัตถุดิบและอุปกรณ์ในการผลิต.....49

3.2 อุปกรณ์ในการวิเคราะห์.....49

3.3 สารเคมีในการวิเคราะห์.....50

3.4 สถานที่ดำเนินงาน.....50

3.5 วิธีการดำเนินงาน.....51

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง 54

4.1 ผลของอุณหภูมิในการพาสเจอร์ไรส์/เวลาต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในน้ำส้มเขียวหวาน 54

4.2 ผลของอุณหภูมิ/ระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ 59

4.3 ผลของสารถนอมอาหารต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ 71

บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง 83

บรรณานุกรม 84

ภาคผนวก 93

ก. การวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซี 94

ข. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 96

ค. การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ 99

ง. การวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมด 103

จ. การวิเคราะห์ดัชนีการเกิดสีน้ำตาล 104

ฉ. การวิเคราะห์แอกติวิตีของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส 105

ช. การทำโมเดลผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาเมลลาร์ด 106

ประวัติผู้เขียน 107

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 ปริมาณวิตามินซีในส่วนของน้ำจากพืชตระกูลส้มพันธุ์ต่างๆ 6

2.2 ปริมาณวิตามินซีในส่วนต่างๆ ของพืชตระกูลส้ม 9

2.3 ความคงตัวของวิตามินซีในน้ำส้มที่บรรจุในภาชนะและอุณหภูมิที่แตกต่างกัน 12

2.4 ความคงตัวของวิตามินซีในน้ำส้มเข้มข้นบรรจุในภาชนะที่แตกต่างกัน 13

2.5 ความคงตัวของวิตามินซีในน้ำส้มจากพืชตระกูลส้มแปรรูป
เก็บที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ 14

2.6 การแบ่งกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกและแหล่งที่พบ 18

2.7 ปริมาณฟลาโวนอยด์ชนิดต่างๆ ในส่วนที่กินได้ของพืชตระกูลส้มพันธุ์ต่างๆ 21

2.8 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของพืชตระกูลส้มพันธุ์ต่างๆ
ที่เก็บเกี่ยวในระยะเวลาแตกต่างกัน 27

2.9 ผลของการเชื่อมต่อกับกลูโคสหรือหมู่เมธทิลต่อความสามารถในการยับยั้ง
อนุมูลอิสระของฟลาโวนอล 32

2.10 ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของไฮดรอกซีซินนะมิก แอซิด
และไฮดรอกซีเบนโซอิก แอซิดและสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์บางตัว 36

2.11 หมู่แทนที่ต่างๆ ของไฮดรอกซีซินนะมิก แอซิดและไฮดรอกซีเบนโซอิก แอซิด 37

2.12 ความสามารถในการละลายน้ำและปริมาณของซัลเฟอร์ไดออกไซด์
ในเกลือซัลไฟต์บางชนิด 39

2.13 ผลของอุณหภูมิและความเป็นกรด-ด่างต่ออัตราการสลายตัวของ
สารละลายกรดซอร์บิก 44

2.14 ผลของกรดอะมิโนต่ออัตราการสลายตัวของสารละลายกรดซอร์บิก
ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 45

2.15 ผลของเกลือต่อการสลายตัวของสารละลายกรดซอร์บิก
ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 46

2.16 ผลของซูโครส, กลีเซอรอล, อะเซติก แอซิด และแอลกอร์ฮอล์ต่ออัตราการสลายตัว
ของกรดซอร์บิก ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 47

2.17 ผลของความเป็นกรด-ด่างต่อการแตกตัวของกรดเบนโซอิก 48

4.1 องค์ประกอบทางเคมีในน้ำส้มเขียวหวานคั้นสด 54

4.2 ปริมาณวิตามินซีในน้ำส้มเขียวหวานคั้นสดและน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ 55

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

4.3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำส้มเขียวหวานคั้นสดและ
น้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ 56

4.4 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในน้ำส้มเขียวหวานคั้นสดและ
น้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์เทียบเป็นวิตามินซี 58

4.5 องค์ประกอบทางเคมีในน้ำส้มเขียวหวานคั้นสด 59

4.6 การเปลี่ยนแปลงปริมาณวิตามินซีในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์
เก็บที่อุณหภูมิต่างๆ นาน 20 วัน 60

4.7 การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำส้มเขียวหวาน
พาสเจอร์ไรส์เก็บที่อุณหภูมิต่างๆ นาน 20 วัน 62

4.8 การเปลี่ยนแปลงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในน้ำส้มเขียวหวาน
พาสเจอร์ไรส์เก็บที่อุณหภูมิต่างๆ นาน 20 วัน 64

4.9 การเปลี่ยนแปลงดัชนีการเกิดสีน้ำตาลในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์
เก็บที่อุณหภูมิต่างๆ นาน 20 วัน 68

4.10 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดทั้งหมดในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์
เก็บที่อุณหภูมิต่างๆ นาน 20 วัน 69

4.11 การเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่างในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์
เก็บที่อุณหภูมิต่างๆ นาน 20 วัน 70

4.12 การเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์
เก็บที่อุณหภูมิต่างๆ นาน 20 วัน 70

4.13 องค์ประกอบทางเคมีในน้ำส้มเขียวหวานคั้นสด 71

4.14 การเปลี่ยนแปลงปริมาณวิตามินซีในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์
ที่ใส่สารถนอมอาหารชนิดต่างๆ เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 21 วัน 72

4.15 การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์
ที่ใส่สารถนอมอาหารชนิดต่างๆ เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 21 วัน 74

4.16 การเปลี่ยนแปลงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์
ที่ใส่สารถนอมอาหารชนิดต่างๆ เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 21 วัน 75

4.17 การเปลี่ยนแปลงดัชนีการเกิดสีน้ำตาลในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์
ที่ใส่สารถนอมอาหารชนิดต่างๆ เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 21 วัน 77

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

4.18 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดทั้งหมดในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ที่ใส่สารถนอมอาหารชนิดต่างๆ เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 21 วัน 80

4.19 การเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่างในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ที่ใส่สารถนอมอาหารชนิดต่างๆ เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 21 วัน 81

4.20 การเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ที่ใส่สารถนอมอาหารชนิดต่างๆ เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 21 วัน 81

ข 1 ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ยของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิค 98

ค 1 ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ยของสารละลายมาตรฐานกรดแอสกอร์บิกที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร 101

ค 2 ค่าต่างการดูดกลืนแสงที่เวลา 16 นาที และ 0.6 นาที 102

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

2.1 โครงสร้างภาพตัดขวางของส้มเขียวหวาน 3

2.2 สูตรโครงสร้าง L-ascorbic acid 5

2.3 ผลของความสุกต่อปริมาณวิตามินซี 10

2.4 ผลของทิศทางในการรับแสงและร่มเงาต่อปริมาณวิตามินซีในน้ำส้มวาเลนเซีย 11

2.5 การปลดปล่อยเฟอรูริกแอซิดจากรูปที่มีสารอื่นมาเชื่อมต่อไปเป็นรูปอิสระและ
การเกิดพี-ไวนิลกัวอิเอคอลและวะนิลลินในน้ำจากพืชตระกูลส้ม 25

2.6 โครงสร้างหลักของฟลาโวนอยด์ 30

2.7 โครงสร้างหลักของฟลาโวนอยด์ในการทำลายอนุมูลอิสระ 31

2.8 สูตรโครงสร้างอนุพันธุ์ของซินนะมิก แอซิดและเบนโซอิก แอซิด 37

2.9 รูปแบบทางเคมีของซัลไฟต์ที่เกิดจากการแตกตัวของกรดซัลฟูรัส
ที่ความเป็นกรด-ด่างต่างๆ 40

2.10 การเข้าแทนที่ของไบซัลไฟต์ที่หมู่คาร์บอนิลได้เป็นสารประกอบไฮดรอกซีซัลโฟเนต 41

2.11 รีแอกทีฟอินเตอร์มิเดียทที่เกิดจากการสลายตัวของวิตามินซี 42

2.12 สูตรโครงสร้างของกรดเบนโซอิกและโซเดียมเบนโซเอต 48

4.1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายปฏิกิริยากับเวลาในการต้านอนุมูลอิสระ$ABTS^{+\cdot}$
ในน้ำส้มเขียวหวานคั้นสดและน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ 57

4.2 การเปลี่ยนแปลงปริมาณวิตามินซีในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์
เก็บที่อุณหภูมิต่างๆ นาน 20 วัน 60

4.3 การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์
เก็บที่อุณหภูมิต่างๆ นาน 20 วัน 62

4.4 การเปลี่ยนแปลงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์
เก็บที่อุณหภูมิต่างๆ นาน 20 วัน 64

4.5 การทำงานของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสในน้ำส้มเขียวหวานคั้นสด
และน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ 66

4.6 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 (วัดสีน้ำตาล) และ 730 นาโนเมตร
(วัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ) ของน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ 67

4.7 การเปลี่ยนแปลงดัชนีการเกิดสีน้ำตาลในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์
เก็บที่อุณหภูมิต่างๆ นาน 20 วัน 68

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

4.8 การเปลี่ยนแปลงปริมาณวิตามินซีในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ที่ใส่สารถนอมอาหารชนิดต่างๆ เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 21 วัน 72

4.9 การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ที่ใส่สารถนอมอาหารชนิดต่างๆ เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 21 วัน 74

4.10การเปลี่ยนแปลงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ที่ใส่สารถนอมอาหารชนิดต่างๆ เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 21 วัน 76

4.11การเปลี่ยนแปลงดัชนีการเกิดสีน้ำตาลในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ที่ใส่สารถนอมอาหารชนิดต่างๆ เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 21 วัน 78

ข 1 กราฟมาตรฐานกรดแกลลิคสำหรับการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 98

ค 1 การดูดกลืนแสงเฉลี่ยของสารละลายกรดแอสกอร์บิกมาตรฐาน 101

ค 2 กราฟมาตรฐานกรดแอสกอร์บิกสำหรับการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ 102

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

โภชนาการเป็นปัจจัยสำคัญปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อสุขภาพที่ดี ทำให้มีอายุยืนยาวและลดความเสี่ยงจากการป่วยเป็นโรคเฉพาะต่างๆ ได้เช่น โรคมะเร็ง โรคหัวใจ โรคต้อกระจก และโรคของระบบภูมิคุ้มกัน เป็นต้น สาเหตุที่ทำให้เกิดโรคต่างๆ ขึ้นเนื่องจากสภาพแวดล้อมที่เป็นพิษ อนุมูลอิสระนั้นสามารถเข้าสู่ร่างกายได้หลายทางเช่น จากอากาศที่เราหายใจเข้าไป ได้แก่ ควันพิษ สารตะกั่วในอากาศ ควันไฟ ควันบุหรี่ จากอาหารเช่น สารแต่งสี แต่งกลิ่น สารปรุงรส ยาฆ่าแมลง ตลอดจนกรรมวิธีในการประกอบอาหารเช่น การปิ้ง ย่าง หรือทอดจนเกรียม น้ำมันที่ผ่านความร้อนสูงๆ หรือผ่านการนำมาใช้หลายๆ ครั้ง เป็นต้น วิธีการหลีกเลี่ยงไม่ให้ร่างกายได้รับอนุมูลอิสระเป็นวิธีหนึ่งในการป้องกัน นอกจากนี้การบริโภคอาหารที่มีสารช่วยต้านอนุมูลอิสระได้ก็เป็นอีกแนวทางในการป้องกันโรค ปัจจุบันนี้ได้มีงานวิจัยหลายชิ้นแสดงให้เห็นว่าผลไม้เป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระที่ดี เช่น ส้ม ลูกพลับ บลูเบอร์รี่ และสเตอเบอร์รี่ เป็นต้น

ส้มเขียวหวาน (*Citrus reticulata* Blanco.) เป็นผลไม้ที่ให้คุณค่าทางอาหารสูงโดยเฉพาะวิตามินซีและฟลาโวนอยด์จัดเป็นสารที่พบมากในส้มเขียวหวาน (Kawaii *et al.*,1999) สารดังกล่าวมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพสูง (Bors *et al.*, 1990; Hanasaki *et al.*, 1994) ช่วยควบคุมปริมาณอนุมูลอิสระให้อยู่ในระดับปกติที่ไม่เป็นอันตรายต่อร่างกาย มีผู้บริโภคเป็นจำนวนมากทั้งในรูปผลสดและที่ผ่านการแปรรูป ตามข้อมูลทางสถิติในปี พ.ศ.2541-2543 พบว่า ผลผลิตส้มเขียวหวานในประเทศไทยมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นจาก 586,595 ตัน เป็น 713,027 ตัน ทำให้ผลผลิตมีปริมาณเกินความต้องการ อุตสาหกรรมแปรรูปน้ำผลไม้จึงมีบทบาทมากขึ้นเป็นลำดับ กรรมวิธีในการผลิตรวมถึงกระบวนการให้ความร้อนในระดับอุตสาหกรรมปกติจะแตกต่างกันออกไปซึ่งทำให้คุณค่าทางโภชนาการโดยเฉพาะวิตามินซี สารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระรวมทั้งคุณสมบัติทางด้านกายภาพแตกต่างกันออกไปด้วยเช่นกัน ดังนั้น การจำลองอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการให้ความร้อน อุณหภูมิในการเก็บรักษาและการใช้สารถนอมอาหารให้เหมาะสม เพื่อทำให้ปริมาณสารดังกล่าวมีการสูญเสียไปน้อยที่สุด จึงเป็นแนวทางให้ผู้บริโภคใช้ในการพิจารณาเลือกซื้อน้ำผลไม้และให้ผู้ผลิตหาทางป้องกันการสูญเสียสารต้านอนุมูลอิสระในระหว่างการแปรรูปและการเก็บรักษา โดยสามารถนำสิ่งที่ได้จากการวิจัยนี้ไปประยุกต์ใช้เพื่อให้เหลือสารต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดก่อนถึงมือผู้บริโภค

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 ศึกษาผลของอุณหภูมิ/เวลาในการพาสเจอร์ไรส์ต่อปริมาณวิตามินซี สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและคุณสมบัติทางเคมีบางประการในน้ำส้มเขียวหวาน

1.2.2 ศึกษาผลของอุณหภูมิ/ระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อปริมาณวิตามินซี สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและคุณสมบัติทางเคมีบางประการในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์

1.2.3 ศึกษาผลของสารถนอมอาหารต่อปริมาณวิตามินซี สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและคุณสมบัติทางเคมีบางประการในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

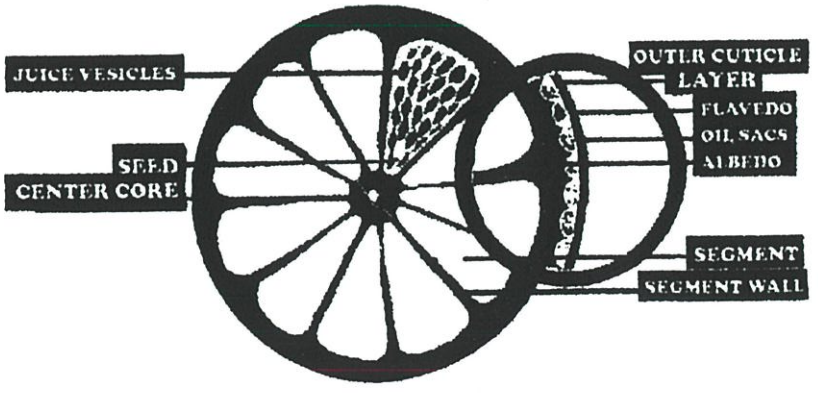
งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาผลของอุณหภูมิ/เวลาในการพาสเจอร์ไรส์ อุณหภูมิ/ระยะเวลาในการเก็บรักษาและสารถนอมอาหารต่อปริมาณวิตามินซี สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและคุณสมบัติทางเคมีบางประการในน้ำส้มเขียวหวาน โดยอุณหภูมิพาสเจอร์ไรส์ที่ศึกษาได้แก่ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที และ อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที อุณหภูมิในการเก็บรักษาได้แก่ อุณหภูมิ –1, 4 และ 10 องศาเซลเซียส และสารถนอมอาหารได้แก่ โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ โซเดียมเบนโซเอตและโปแตสเซียมซอร์เบต

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ส้มเขียวหวาน

ส้มเขียวหวาน มีชื่อสามัญว่า Mandarin หรือ Tangerine และมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Citrus reticulata* Blanco อยู่ในวงศ์ Rutaceae จัดเป็นผลไม้ประเภท non-climateric fruit หมายถึง ผลไม้ที่มีอัตราการหายใจค่อนข้างคงที่และสม่ำเสมอ หรือ อัตราการหายใจจะลดลงอย่างช้าๆ พร้อมกับผลไม้ค่อยๆ สุกและเน่าไปอย่างช้าๆ การเปลี่ยนแปลงทางด้านเคมีและทางกายภาพจะไม่เกิดขึ้นรวดเร็วนักหลังการเก็บเกี่ยวและใช้เวลาตั้งแต่เริ่มออกดอกถึงเก็บผลผลิตประมาณ 9 เดือน แต่จะพบว่าส้มเขียวหวานสามารถให้ผลผลิตออกสู่ตลาดได้ทุกฤดูกาล เนื่องจากสามารถบังคับให้ออกดอกติดผลได้

โครงสร้างภาพตัวขวางของส้มเขียวหวานแสดงดังภาพที่ 2.1 ชั้นนอกสุดเรียกว่า ฟลาวีโด เลเยอร์ (flavedo layer) ประกอบด้วยต่อมน้ำมันเป็นจำนวนมาก ถัดเข้ามาเรียกว่า อัลบีโด เลเยอร์ (albedo layer) มีลักษณะคล้ายฟองน้ำมีความหนาแตกต่างกันขึ้นอยู่กับพันธุ์ ส่วนเนื้อที่รับประทานได้แบ่งออกเป็นชั้นๆ (segment) ด้วยผนังเซลล์ (segment membrane) ภายในประกอบด้วยเวสซิเคิล (vesicles) หรือ แซค (sac) ที่มีน้ำบรรจุอยู่ภายใน ผนังเซลล์ของแซคเรียกว่า อีพิเดอร์มอล วอลล์ (epidermal wall) แกนภายในสุดเรียกว่า คอร์ (core) ส่วนของแกนและเซกเมนท์เมมเบรน (segment membrane) รวมเรียกว่า แรก (rag)



ภาพที่ 2.1 โครงสร้างภาพตัวขวางของส้มเขียวหวาน
ที่มา : Robert (1983)

คุณค่าทางอาหาร

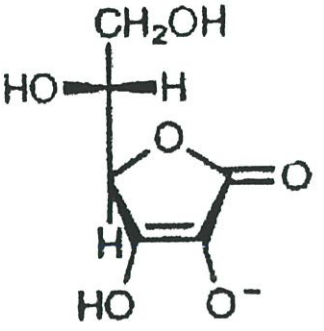
จากการวิเคราะห์ของกองโภชนาการ กรมอนามัย (ไม่ปรากฏปีพิมพ์) พบว่าส่วนของผลส้มที่รับประทานได้จำนวน 100 กรัม จะมีปริมาณสารอาหารต่างๆ ดังนี้

คาร์โบไฮเดรต	9.9	กรัม
โปรตีน	0.6	กรัม
ไขมัน	0.2	กรัม
แคลเซียม	31	มิลลิกรัม
เหล็ก	0.8	มิลลิกรัม
วิตามินเอ	4,000	หน่วยสากล
วิตามินซี	18	มิลลิกรัม
วิตามินบี 1	0.04	มิลลิกรัม
วิตามินบี 2	0.05	มิลลิกรัม
เส้นใย	0.2	กรัม
ความชื้น	88.7	กรัม
แคลอรี่	44	หน่วย

2.2 วิตามินซีและปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณวิตามินซี

2.2.1 วิตามินซี (Vitamin C)

วิตามินซี หรือ กรดแอสกอร์บิก เป็นวิตามินที่ละลายในน้ำ ร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์ได้เอง จำเป็นต้องได้จากอาหาร วิตามินซีมีหน้าที่หลายประการเช่น เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ช่วยในการสร้างคอลลาเจน สังเคราะห์ฮอร์โมนและสารสื่อประสาท ลดประสิทธิภาพการทำงานของ cytochrom P-450 เพิ่มภูมิต้านทานให้กับร่างกาย (Block, 1991) สร้างและบำรุงรักษาองค์ประกอบของของเหลวที่อยู่ระหว่างเซลล์ให้เป็นปกติ เพิ่มความแข็งแรงให้กับหลอดเลือด ควบคุมอัตราการหายใจของเซลล์ให้เป็นปกติ (Sherman, 1952) ช่วยในการสร้างวิตามินอีขึ้นมาใหม่ (Niki, 1991) เป็นต้น โดยวิตามินซีที่มีแอกทิวิตีจะอยู่ในรูปของ L-ascorbic acid หรือ ในรูปรีดิวซ์ฟอร์ม ดังภาพที่ 2.2 และประมาณร้อยละ 90 ของน้ำและผลิตภัณฑ์จากพืชตระกูลส้มจะอยู่ในรูปนี้



L-ascorbate

ภาพที่ 2.2 สูตรโครงสร้าง L-ascorbic acid

ที่มา : Coultate (1996)

2.2.2 ปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณวิตามินซี

(1) พันธุ์ (Variety) ส้มแต่ละพันธุ์จะมีปริมาณวิตามินซีที่แตกต่างกันไป ถึงแม้จะเป็นพันธุ์เดียวกันแต่ถ้าปลูกในสภาพแวดล้อมต่างกัน วิธีการเพาะปลูกต่างกัน หรือมีระยะเวลาในการเก็บเกี่ยวต่างกันก็จะส่งผลให้ปริมาณวิตามินซีแตกต่างกัน Nagy(1980) ได้รวบรวมปริมาณวิตามินซีในส่วนของน้ำและส่วนต่างๆ จากพืชตระกูลส้มพันธุ์ต่างๆ สรุปได้ดังตารางที่ 2.1 และ 2.2 เปลือกส้มจะมีปริมาณวิตามินซีสูงสุดประมาณร้อยละ 53 รองลงมาคือน้ำมีประมาณร้อยละ 26 และส่วนเนื้อที่รวมเนื้อเยื่อสีขาวมีประมาณร้อยละ 21

ตารางที่ 2.1 ปริมาณวิตามินซีในส่วนของน้ำจากพืชตระกูลส้มพันธุ์ต่างๆ

Fruit and variety	Origin	Conc.mg of vitamin C/100ml of juice	Source
Sweet orange			
Seedling	United States(FL)	36-66	Beacham and Bonney(1937)
Pineapple	United States(FL)	40-70	Beacham and Bonney(1937)
Parson Brown	United States(FL)	40-59	Beacham and Bonney(1937)
Conner's seedless	United States(FL)	48-61	Beacham and Bonney(1937)
Valencia	United States(FL)	34-63	Beacham and Bonney(1937)
Hamlin	United States(TX)	47-57	Cruse and Lime(1977a)
Marrs	United States(TX)	34-47	Cruse and Lime(1977a)
Valencia	United States(TX)	29-39	Cruse and Lime(1977a)
Navel	South Africa	52-65	Hamersma(1938)
Seedling	South Africa	69-79	Hamersma(1938)
Valencia	South Africa	41-68	Hamersma(1938)
Navel	Australia	67-74	Council for Scientific and Industrial Research(1947)
Valencia	Australia	48-70	Council for Scientific and Industrial Research(1947)
Early variety	Israel	58-68[a]	Cohen(1956)
Midseason varieties	Israel	51-78[a]	Cohen(1956)
Late varieties	Israel	58-65[a]	Cohen(1956)
Navel varieties	Israel	61-68[a]	Cohen(1956)
Not specified	Lebanon	43-59	Maleki and Sarkissian(1967)
Not specified	Egypt	40-69	El-Zorkani(1968)
Not specifid	Iran	30-64	Edrissi and Kooshkabadi
Not specifid	Ital	50-88	Pennisi(1977)
Not specified	Spain	39-79	Royo Iranzo and Peris Toran (1997)

ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

Fruit and variety	Origin	Conc.mg of vitamin C/100ml of juice	Source
Not specified	Nigeria	28-35	Mudambi and Rajagopal (1977)
Grapefruit			
Marsh	United States(FL)	33-42	Beacham and Bonney (1937)
Duncan	United States(FL)	31-46	Beacham and Bonney (1937)
Duncan	United States(FL)	30-61	Harding and Fisher (1945)
Thompson	United States(TX)	35-47	Krezdorn and Cain (1952)
Marsh	United States(AZ)	26-60	Rygg and Getty (1955)
Ruby Red	United States(TX)	28-44	Cruse and Lime (1977b)
Several varieties	Israel	47-56[a]	Cohen (1956)
Not specified	Iran	33-43	Edrissi and Kooshkabadi (1975)
Not specified	Nigeria	50-61	Mudambi and Rajagopal (1977)
Mandarin tangerine			
Dancy	United States(FL)	19-30	Beacham and Bonney (1937)
Dancy	United States(FL)	21-48	Harding and Sunday (1949)
Several varieties	Israel	37-54[a]	Cohen (1956)
Not specified	India	14-33	Anand and Leisram (1963)
Not specified	Iran	34-49	Edrissi and Kooshkabadi (1975)
Mediterranean			
Avana	Italy	29-60	Schachter (1977)
Tardivo de Ciaculli	Italy	25-48	Schachter (1977)
Comune	Italy	35-55	Schachter (1977)
Not specified	Greece	22-42	Melas-Joannides (1939)
Satsuma			
Not specified	United States(FL)	22-36	Beacham and Bonney (1937)
Not specified	Japan	22-42	Inagaki (1953)

ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

Fruit and variety	Origin	Conc.mg of vitamin C/100ml of juice	Source
Not specified	Israel	33-36	Cohen (1956)
Not specified	Italy	33-47	Schachter (1977)
Lemon			
Perrine	United States(FL)	22-35	Beacham and Bonney (1937)
Not specified	United States(CA)	31-61	Swisher and Swisher (1977)
Lisbon	New Zealand	30-40	Dawes (1969)
Genoa	New Zealand	36-40	Dawes (1969)
Villa Franca	New Zealand	46-52	Dawes (1969)
Not specified	Iran	28-45	Cohen (1956)
Several varieties	Israel	32-51[a]	Cohen (1956)
Lime			
Persian	United States(FL)	18-42	Hatton and Reeder (1971)
Not specified	United States	23-33	Swisher and Swisher (1977)
Not specified	Iran	20-23	Edrissi and Kooshkabadi (1975)

[a] ช่วงของค่าเฉลี่ยจากทุกพันธุ์

ที่มา : Nagy (1980)

ตารางที่ 2.2 ปริมาณวิตามินซีในส่วนต่างๆ ของพืชตระกูลส้ม

	mg of vitamin C/100 g fresh weight					
	peel					
fruit , variety	flavedo	albedo	pulp	rag	seed [a]	juice
orange , pineapple [b]	377	208		68		68
orange , navel [c]	222		57			59
grapefruit , Duncan [b]	237	140		44		40
grapefruit , Marsh [b]	240	155		50		32
grapefruit , Duncan [d]					1.7	
lemon , Eureka [b]	129		53			44
lemon , Eureka [e]	158		44			34

[a] Nongerminated seed

[b] Atkins และคณะ (1945)

[c] Birdsall และคณะ (1961)

[d] Miller and Jablonski (1949)

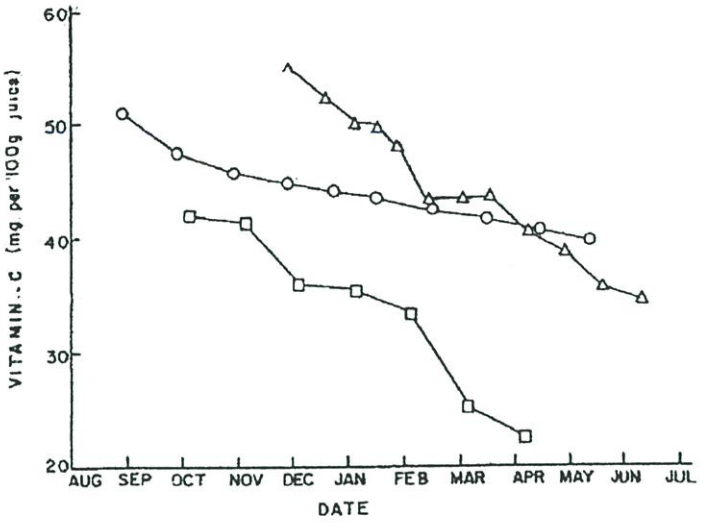
[e] Eaks (1964)

ที่มา : Nagy (1980)

(2) การเพาะปลูก (Cultural practice) แร่ธาตุที่มีอิทธิพลต่อปริมาณวิตามินซีในน้ำส้ม น้ำมะนาวและน้ำส้มแมนดารินได้แก่แร่ธาตุไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียส ได้มีผู้ทดลองศึกษาอิทธิพลของแร่ธาตุทั้ง 3 ต่อปริมาณวิตามินซีพบว่าการใส่ปุ๋ยที่มีปริมาณไนโตรเจนสูงจะทำให้ปริมาณวิตามินซีในน้ำลดลงส่วนการใส่ปุ๋ยที่มีปริมาณฟอสฟอรัสที่พอเหมาะจะช่วยเพิ่มปริมาณวิตามินซี และการเพิ่มปริมาณโพแทสเซียมให้กับต้นมะนาวและส้มมีผลทำให้ปริมาณวิตามินซีในน้ำส้มและน้ำมะนาวเพิ่มขึ้น (Nagy,1980)

(3) ความสุกของผลไม้ (Maturation) Nagy (1980) รายงานถึงผลของความสุกใน valencia orange, duncan grapefruit และ dancy tangerine ว่า ผลไม้ที่ยังไม่สุกจะมีปริมาณวิตามินซีสูงสุด (หน่วยมิลลิกรัม/ 1 มิลลิลิตร) ในระหว่างการสุกปริมาณวิตามินซีจะลดลงและในผลไม้ที่สุกแล้วปริมาณวิตามินซีจะต่ำสุด ภาพที่ 2.3 แสดงผลของความสุกต่อปริมาณวิตามินซี ถึงแม้ว่าปริมาณวิตามินซีจะลดลงในระหว่างที่ผลไม้เริ่มสุกแต่ปริมาณวิตามินซีต่อผลมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเนื่องจากปริมาณน้ำและขนาดของผลที่ใหญ่ขึ้น เช่น ในมะนาวปริมาณวิตามินซีเพิ่มขึ้นเมื่อน้ำหนักของผลหนักถึง 20 กรัม และปริมาณวิตามินซีเพิ่มขึ้นในอัตราที่ช้าลงในขณะที่น้ำหนักเพิ่มขึ้นหลัง

จากนั้น แต่ความเข้มข้นของวิตามินซี (มิลลิกรัม/1 มิลลิลิตร) ลดลงในขณะที่มะนาวมีน้ำหนักมากขึ้น



ภาพที่ 2.3 ผลของความสุกต่อปริมาณวิตามินซีใน Valencia orange (Δ) , Duncan grapefruit (○) และ Dancy tangerine (□)

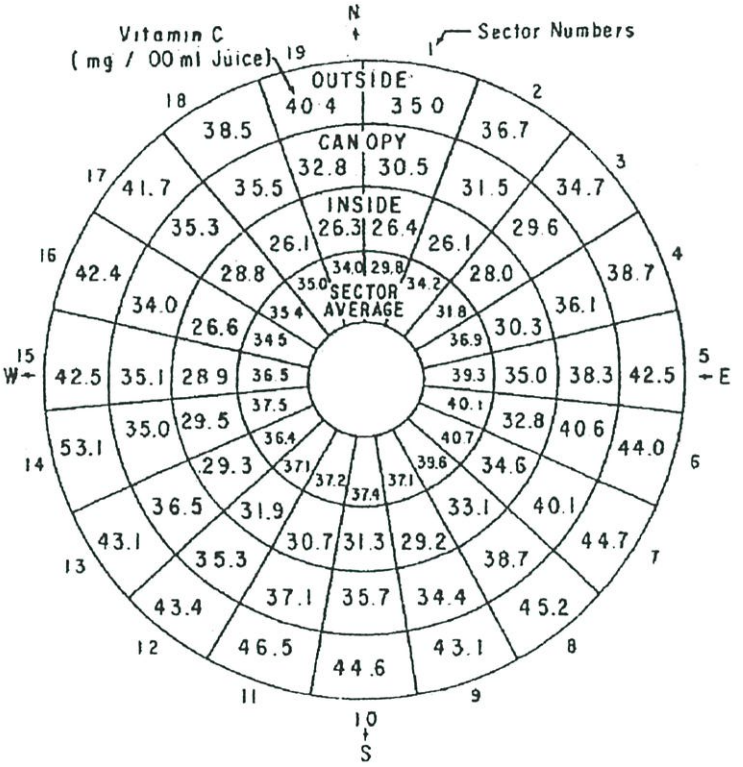
ที่มา : Nagy (1980)

(4) สภาพภูมิอากาศ (Climate) Nagy (1980) กล่าวว่า ผลเกรฟฟรุตที่ปลูกตามชายฝั่งมีปริมาณวิตามินซีมากกว่าผลเกรฟฟรุตที่ปลูกในทะเลทรายเมื่อเก็บเกี่ยวในวันเดียวกัน และส้มซัทซุมาที่เจริญเติบโตที่อุณหภูมิ 20-22 องศาเซลเซียสในตอนกลางวัน และ อุณหภูมิ 11-13 องศาเซลเซียสในตอนกลางคืน มีปริมาณวิตามินซีมากกว่าส้มที่เจริญเติบโตที่อุณหภูมิ 30-35 องศาเซลเซียสในตอนกลางวัน และ 20-25 องศาเซลเซียสในตอนกลางคืน

(5) สภาวะที่ใช้ในการแปรรูป (Processing condition) วิตามินซีสูญเสียง่ายเมื่อโดนความร้อน (Saguy *et al.*,1978) การใช้ Pulsed electric fields (PEF) ที่ 35 kV/cm นาน 59 μs พบว่า สามารถรักษาปริมาณวิตามินซีได้นานกว่าการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 94.6 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) อีกทั้งเป็นวิธีที่ช่วยรักษากลิ่น รส คุณค่าทางโภชนาการของอาหารพร้อมทั้งทำลายจุลินทรีย์ได้ดีและทำให้น้ำส้มมีสีน้ำตาลน้อยกว่า (Yeom *et al.*, 2000) การใช้ความดันสูง (High hydrostatic pressure) ในน้ำส้ม non pasteurized orange juice reconstituted from frozen ที่ความดัน 500 Mpa นาน 5 นาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่า สามารถลดการสูญเสียวิตามินซีในระหว่างการเก็บรักษาและช่วยยืดอายุการเก็บรักษาให้นานขึ้นพร้อมรักษากลิ่น

รสของน้ำส้มให้ใกล้เคียงน้ำส้มสดได้มากกว่าการใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส 30 วินาที (Polydera *et al.*, 2002)

(6) ตำแหน่งของผลไม้บนต้น (Position of fruit on tree) ถึงแม้ว่าแสงจะไม่จำเป็นต่อการสังเคราะห์วิตามินซีแต่ Nagy (1980) กล่าวว่า ตำแหน่งของผลไม้ที่อยู่บนต้นมีความสัมพันธ์กับปริมาณวิตามินซี โดยผลไม้ที่อยู่ในตำแหน่งที่ได้รับแสงจะมีปริมาณวิตามินซีสูงกว่าผลไม้ที่อยู่ในตำแหน่งร่มเงาและผลไม้ที่อยู่ในตำแหน่งที่ได้รับแสงอย่างเต็มที่จะมีปริมาณวิตามินซีสูงที่สุด ภาพที่ 2.4 แสดงตำแหน่งของส้มวาเลนเซีย 1 ต้น



ภาพที่ 2.4 ผลของทิศทางในการรับแสงและร่มเงาต่อปริมาณวิตามินซีในน้ำส้มวาเลนเซีย
ที่มา : Nagy (1980)

(7) ประเภทของภาชนะบรรจุ (Container type) การเก็บรักษาน้ำส้ม (single strength orange juice) ในภาชนะบรรจุที่เป็นขวดแก้วจะสูญเสียวิตามินซีน้อยที่สุด รองลงมาเป็นพลาสติก (โพลีเอทธีลีน) และกล่องกระดาษตามลำดับ (Berry *et al.*,1971) ดังแสดงในตารางที่ 2.3 จะเห็นว่า การเก็บรักษาน้ำส้มในขวดแก้วสามารถรักษาวิตามินซีได้สูงถึงร้อยละ 90-94 นาน 32 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ -1.1 และ 4 องศาเซลเซียส ขวดแก้วสามารถรักษาปริมาณวิตามินซีได้มากที่สุดเนื่องจากขวดแก้วสามารถป้องกันการซึมผ่านของออกซิเจนได้ดีกว่าพลาสติกและกล่อง

กระดาษทำให้ลดการสูญเสียวิตามินซีเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันได้และภาชนะบรรจุที่เป็นกระป๋องเคลือบดีบุกจะมีการสูญเสียวิตามินซีน้อยกว่าภาชนะที่เป็นแก้วในช่วงแรกของการเก็บรักษาเนื่องจากดีบุกจะแย่งวิตามินซีในการจับออกซิเจนในช่องว่างของอากาศแต่หลังจากที่ออกซิเจนถูกใช้หมดอัตราการลดลงของวิตามินซีในภาชนะบรรจุทั้ง 2 จะใกล้เคียงกัน (Nagy, 1980) ส่วนการสูญเสียวิตามินซีในน้ำส้มเข้มข้น 45 องศาบริกซ์ บรรจุในภาชนะที่ทำจากวัตถุดิบชนิดต่างๆ เก็บที่อุณหภูมิ –5 องศาฟาเรนไฮต์ นาน 12 เดือน แสดงดังตารางที่ 2.4 และการถนอมรักษาน้ำส้มด้วยวิธี pulsed electric field (PEF) พบว่า เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ภาชนะบรรจุที่ทำจากขวดแก้วและขวดพลาสติกชนิดโพลีเอทธิลีน เทอเรพทาเลท (polyethylene terephthalate,PET) สามารถรักษาปริมาณวิตามินซีได้สูงกว่าขวดพลาสติกชนิดโพลีเอทธิลีนประเภทความหนาแน่นต่ำและความหนาแน่นสูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (Ayhan *et al.*, 2001)

ตารางที่ 2.3 ความคงตัวของวิตามินซีในน้ำส้มที่บรรจุในภาชนะและอุณหภูมิที่แตกต่างกัน

	Storage		Ascorbic acid
Container	Temperature (^{o}F)	Weeks	% Retention
Glass bottles	30	32	90
	40	32	94
	60	24	88
	85	20	80
Plastic bottles	30	8	85
	40	8	70
	60	4	fermented
Cardboard cartons	30	8	55
	40	4	fermented

ที่มา : Berry และคณะ (1971)

ตารางที่ 2.4 ความคงตัวของวิตามินซีในน้ำส้มเข้มข้นบรรจุในภาชนะที่แตกต่างกัน

Container	% Ascorbic acid retention
Tin	93
Aluminum	93
Polyethylene Pouch	95
Laminates	
Aluminum / Fiber	96
Aluminum / Fiber / Aluminum	95
Polyethylene / Fiber	91
Polyethylene / Fiber / polyethylene	93

ที่มา : Berry และคณะ (1971)

(8) สภาวะที่ใช้ในการเก็บรักษา (Storage condition) สาเหตุสำคัญ 2 ประการของการสูญเสียวิตามินซีในระหว่างการเก็บรักษาคือ อุณหภูมิและระยะเวลาในการเก็บรักษา การเพิ่มอุณหภูมิในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์จากพืชตระกูลส้มมีผลทำให้วิตามินซีสลายตัวเพิ่มขึ้น (Nagy,1980; Graumlich *et al.*,1986; Kennedy *et al.*, 1992) โดยทั่วไปแล้วน้ำส้มควรเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส หรือต่ำกว่า (Berry *et al.*, 1971) และการเก็บน้ำส้มที่อุณหภูมิต่ำกว่า –20 องศาเซลเซียส จะทำให้ปริมาณวิตามินซีคงที่ไม่เปลี่ยนแปลง (วีระศักดิ์ เหล่าตระกูล, 2542) นอกจากนี้การสลายตัวของวิตามินซียังสัมพันธ์กับระดับของปริมาณออกซิเจนเริ่มต้นและระยะเวลาในการเก็บรักษาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.001, r^2=0.078$) การเพิ่มปริมาณออกซิเจนมีผลต่อการสลายตัวของวิตามินซีเนื่องจากไปเพิ่มการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยปริมาณวิตามินซีจะลดลงอย่างรวดเร็วในช่วงต้นของการเก็บรักษา การสลายตัวจะเป็น first order reaction และจะชะลอลงเมื่อออกซิเจนในช่องว่างเหนืออาหารลดลง (Trammell *et al.*,1986; Kacem *et al.*,1987; Kennedy *et al.* ,1992; Solomon and Svanberg, 1995) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิด้วยเช่น การสูญเสียวิตามินซีในปริมาณสูงจะเกิดขึ้นในวันที่ 0-3 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และ วันที่ 0-7 ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (Zerdin *et al.*, 2003) การกำจัดออกซิเจนไปอย่างสมบูรณ์โดยเก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์แก้วไม่ให้มีอากาศอยู่ในช่องว่างเหนืออาหารเลยพบว่า อัตราการลดลงของวิตามินซีจะมีน้อยมากโดยยังคงเหลือวิตามินซีอยู่ร้อยละ 70 หลังเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 24 องศาเซลเซียส นาน 10 สัปดาห์ (Johnson and Toledo, 1975) อย่างไรก็ตามการสลายตัวของวิตามินซีสามารถเกิดได้ภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนแต่จะมีวิถีทางการสลายตัวที่แตกต่างกันออกไปจาก

สภาวะที่มีออกซิเจนกล่าวคือ ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนวิตามินซีจะเปลี่ยนไปเป็น 2-ฟูโรอิกแอซิด (2-furoic acid) และ 3-ไฮดรอกซี-2-ไพโรน (3-hydroxy-2-pyrone) ผ่านทางดีไฮโดรแอสกอร์บิกแอซิด (dehydroascorbic acid) แต่ถ้าภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน วิตามินซีจะเปลี่ยนไปเป็นเฟอฟูราล (furfural) โดยไม่ผ่านดีไฮโดรแอสกอร์บิกแอซิด (Yuan and Chen,1998) นอกจากปริมาณออกซิเจนจะมีผลต่อการสูญเสียวิตามินซีแล้ว ยังมีผลต่อการเกิดสีน้ำตาลและทำให้แบคทีเรียที่ชอบอากาศและราเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วส่งผลให้อายุการเก็บรักษาน้ำส้มสั้นลงด้วย

จากการเปรียบเทียบอิทธิพลของปริมาณช่องว่างเหนืออาหาร (headspace volume) อุณหภูมิ/เวลาในการพาสเจอร์ไรส์และอุณหภูมิในการเก็บรักษาต่อคุณภาพของน้ำส้มซัทซุมาแมนดาริน (Satsuma mandarin juice) พบว่า ปริมาณช่องว่างเหนืออาหารและอุณหภูมิในการเก็บรักษามีอิทธิพลต่อคุณภาพของน้ำส้มมากกว่าอุณหภูมิและเวลาในการพาสเจอร์ไรส์มาก ส่วนการเก็บรักษาน้ำส้มเข้มข้น 60 องศาบริกซ์โดยให้มีช่องว่างเหนืออาหารร้อยละ 20 ไม่มีผลต่อคุณภาพน้ำส้มในระหว่าง 10 เดือน ที่อุณหภูมิ 0-2 องศาเซลเซียส และถ้าปริมาณช่องว่างเหนืออาหารมากกว่าร้อยละ 20 ควรเก็บภายใต้สภาวะที่เป็นไนโตรเจนเพื่อรักษาปริมาณวิตามินซีและรสชาติของน้ำส้ม และเมื่อเปรียบเทียบวิธีการไล่อากาศในช่องว่างเหนืออาหารออกโดยการทำให้เป็นสูญญากาศ การบรรจุน้ำส้มในขณะร้อน และการแทนที่ช่องว่างในอาหารด้วยไนโตรเจนต่อคุณภาพของน้ำเกรฟฟรุตเข้มข้นพบว่า วิธีการไล่อากาศออกทั้ง 3 วิธี ไม่ทำให้คุณภาพของน้ำเกรฟฟรุตเข้มข้นแตกต่างกันและมีระยะเวลาในการเก็บรักษาที่ไม่แตกต่างกัน (Graumlich *et al.*, 1986)

ตารางที่ 2.5 ความคงตัวของวิตามินซีในน้ำจากพืชตระกูลส้มแปรรูปเก็บที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ

	Storage		%retention of vitamin C
Product [a]	temp, °C	month	
SSOJ (canned)	9,24,37	12	94,75,17
SSOJ (canned)	10 to 26.5	24	95 to 50
SSOJ (canned)	4.5,24.5	18	93,60
SSOJ (canned)	1.7,22.2,37.8	12	100,80,5
SSOJ (bottled)	4.5,24.5	18	89,51
SSGJ (canned)	21	11	89
SSGJ (canned)	10,20,30,40,50	3	99,97,90,70,29
SSGJ (canned)	10,18,27	18	93,84,62
SSGJ (canned)	23.9	12	83

ตารางที่ 2.5 (ต่อ)

Product [a]	Storage		%retention of vitamin C
	temp, °C	month	
FCOJ	-20,-15,-12.2	60	100,100,100
FCOJ	-22,-12,-7,0,4	12	99,98,98,97,96
FCGJ	-22,-12,-7,0,4	12	98,98,98,98,97
FTCJ	-22,-12,-7,0,4	12	94,94,91,91,90
FTCJ	-29,-18,-12,-4	3	100,98,95,98

[a] SSOJ = single-strength orange juice; SSGJ = single-strength grapefruit juice; SSTJ = single-strength tangerine juice; FCOJ = frozen concentrated orange juice; FCGJ = frozen concentrated grapefruit juice; FCTJ = frozen concentrated tangerine juice.

ที่มา : Nagy (1980)

(9) แสง (Light) Solomon และ Svanberg(1995) ศึกษาผลของแสง (fluorescent light) ต่อปริมาณวิตามินซีในน้ำส้ม reconstituted from frozen concentrate ที่มีความเข้มข้น 11.8 องศาบริกซ์ บรรจุในภาชนะแก้วหุ้มด้วยอลูมิเนียมฟอยด์ ปิดฝาที่ทำจากวัสดุ 4 ประเภท ที่มีความสามารถในการยอมให้แสงและออกซิเจนผ่านได้ไม่เท่ากัน คือ แก้ว ยอมให้แสงผ่านได้มากที่สุด แต่ออกซิเจนผ่านได้น้อยที่สุด, กระดาษ (carton paper) ไม่ยอมให้แสงผ่านได้แต่ออกซิเจนผ่านได้มากที่สุด, โพลีเอทธิลีนชนิดที่ให้แสงผ่านได้น้อย [low light transparency, PE (LT)] ออกซิเจนผ่านได้ปานกลาง และ โพลีเอทธิลีนชนิดที่ให้แสงผ่านได้มาก [high light transparency, PE(HT)] ออกซิเจนผ่านได้ปานกลาง เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส ในที่มืดและที่มีแสง นาน 52 วัน พบว่า แสงมีผลต่อการสลายตัวของวิตามินซีน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับผลของออกซิเจนต่อการสลายตัวของวิตามินซี ภายใต้สภาวะที่ศึกษา สอดคล้องกับการทดลองของ Mottar (1989) พบว่า แสง (sunlight) มีอิทธิพลต่อคุณภาพของน้ำส้มน้อยเมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 5 และ 20 องศาเซลเซียส นาน 3 เดือน ในขณะที่ Sattar และคณะ (1989) พบว่า แสง (fluorescent ligh) มีผลต่อการสลายตัวของวิตามินซีและการยอมรับทางด้านประสาทสัมผัสของน้ำส้ม (orange drink) เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส นาน 32 วัน

2.3 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของวิตามินซี

จากการรายงานของ Duell (1996) และ Kitts (1997) ได้เสนอสมการการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของวิตามินซีไว้ ดังนี้

$$AH^- + {}^{\bullet}OH \longrightarrow H_2O + A^{\bullet -}$$

$$AH^- + O_2^{\bullet -} + H^+ \longrightarrow H_2O_2 + A^{\bullet -}$$

$$AH^- + ROO^{\bullet} \longrightarrow RH + A^{\bullet -}$$

$$AH^- + H_2O_2 + H^+ \longrightarrow 2\,H_2O + A$$

โดย AH^- = ascorbate, A = dehydroascorbic acid (DHAA), $A^{\bullet -}$ = ascorbyl radical

$^{\bullet}OH$ = hydroxyl radicals, $O_2^{\bullet -}$ = superoxide radicals, $ROO^{\bullet}$ = peroxyl radicals

H_2O_2 = hydrogen peroxide

โดยแอสกอร์บิล แรดดิคอล [Ascorbyl radical ($A^{\bullet -}$)] ที่เป็นผลจากการเข้าทำปฏิกิริยาของกรดแอสกอร์บิกกับอนุมูลอิสระนั้นสามารถเปลี่ยนกลับไปเป็นแอสกอร์เบต [ascorbate (AH^-)] ได้โดยเอนไซม์เอนเอดีเอช-ดีเพนเดนท์ เซมิดีไฮโดรแอสกอร์เบต รีดักเทส (NADH-dependent semidehydroascorbate reductase) และ ดีไฮโดรแอสกอร์บิกแอซิด [dehydroascorbic acid (DHAA)] สามารถเปลี่ยนกลับไปเป็นแอสกอร์เบตได้โดยเอนไซม์ดีไฮโดรแอสกอร์เบต ออกซิโดรีดักเทส (dehydroascorbate oxidoreductase) หรือ เอนเอดีพีเอช-ดีเพนเดนท์ซีลีโนเอนไซม์ไธโอรีดอกซิน รีดักเทส (NADPH-dependent selenoenzyme thioredoxin reductase) ที่มีอยู่ภายในร่างกาย ดังสมการข้างล่างนี้ (Carr and Frei, 1999) ดังนั้น จะเห็นว่าแอสกอร์บิล แรดดิคอล ที่เกิดขึ้นไม่สามารถไปทำลายเซลล์ข้างเคียงได้อีก จึงไม่เป็นอันตรายต่อเซลล์ภายในร่างกาย

$$AH^- \longleftrightarrow A^{\bullet -} \longleftrightarrow A$$

โดย AH^- = ascorbate, A = dehydroascorbic acid (DHAA), $A^{\bullet -}$ = ascorbyl radical

2.4 สารประกอบฟีนอลิกและปัจจัยที่ผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

2.4.1 สารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลิก ประกอบด้วยสารที่มีโครงสร้างและหน้าที่แตกต่างกันไปเป็นจำนวนมากมาย จัดเป็น secondary metabolites ที่ได้จากกระบวนการ Shikimate pathway และ Phenylpropanoid metabolism โดยทั่วไปโครงสร้างจะประกอบด้วยวงแหวนอะโรมาติกอาจมีหมู่ไฮดรอกซิล 1 หมู่หรือมากกว่า พบในผักและผลไม้เป็นส่วนใหญ่ คนบางกลุ่มจัดสารประกอบเหล่านี้ว่าเป็นสารประกอบโพลีฟีนอลแต่ก็ไม่ถูกต้องนักเนื่องจากไม่ใช่ทั้งหมดที่เป็น polyhydroxy derivatives เช่น ซินนะมิก แอซิด (cinnamic acid), อีลีโนลิก (elenolic), ชิคิมิก แอซิด (shikimic acid) และ ควินิก แอซิด (quinic acid) ดังนั้นหากพิจารณาในแง่ของกระบวนการเมตาบอลิก สารดังกล่าวจึงควรจัดว่าเป็นสารประกอบโพลีฟีนอลิกแม้ว่าจะไม่มีหมู่ฟีนอลิก (phenolic grop) หรือวงแหวนอะโรมาติกเป็นองค์ประกอบก็ตาม

ความสำคัญของสารประกอบฟีนอลิก เช่น มีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ยับยั้งการแข็งตัวของเกล็ดเลือด ต่อต้านอาการอักเสบและบวม รักษาแผลในกระเพาะอาหาร ต่อต้านอาการแพ้จากการหลั่งของสารฮีสตามีน ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ เป็นต้น (Middleton Jr. and Kandaswami, 1994)

<u>ประเภทของสารประกอบฟีนอลิก</u>

การแบ่งกลุ่มของสารประกอบฟีนอลิก สามารถแบ่งออกได้เป็นหลายกลุ่ม (class) ตามจำนวนคาร์บอนอะตอมและโครงสร้างหลัก (basic skeleton) ซึ่งในแต่ละกลุ่มยังสามารถแบ่งออกเป็นกลุ่มย่อย (subclass) ดังตารางที่ 2.6

ตารางที่ 2.6 การแบ่งกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกและแหล่งที่พบ

Basic skeleton	Class	Common fruit source	Examples
C_6	Simple phenols		Catechol, hydroquinone, resorcinol
	Benzoquinones		
C_6-C_1	Phenolic acids	Widely distribute	p-Hydroxybenzoic acid, Salicylic acid
C_6-C_2	Phenylacetic acids		p-Hydroxyphenylacetic acid
C_6-C_3	Cinnamic acids	Widely distributed	Caffeic acid, Ferulic acid
	Phenylpropenes		Eugenol, myristicin
	Coumarins	Citrus	Umbelliferone, aesculetin, scopolin
	Chromones		Eugenin
C_6-C_4	Naphtoquinones	Walnut	Juglone
C_6-C_1-C_6	Xanthones	Mango, Mangostin	mangiferin
C_6-C_2-C_6	Stilbenes	Grape	Resveratrol
	Anthraquinones		Emodin
C_6-C_3-C_6	Flavonoids		
	Flavones	Sweet orange	Sinensetin, nobiletin, tangeretin, Isoinensitin, various polymethoxylated Flavones
		Grapefruit	Tangeretin, various polymethoxylated Flavones
		Lemon	Diosmin, luteolin-7-rutinoside
	Flavonols	Apple	quercetin, kaempferol
		Pear	quercetin, kaempferol
	Flavonol glycosides	Widely distributed	Rutin
	Flavanonols	Grape	Dihydroquercetin and Dihydrokaempferol glycosides
	Flavanones	Usually found in citrus fruits such as grapefruit, oranges and lemons	Hesperitin, naringenin
		Tomato	Naringenin
	Flavanone glycosides	Citrus	Hesperidin, neohesperidin, narirutin, naringin, eriocitrin
		Strawberry	naringin
	Anthocyanins	Apple	Cyanidin glycosides including acylated

ตารางที่ 2.6 (ต่อ)

Basic skeleton	Class	Common fruit source	Examples
			Derivatives
		Sweet orange	Glycosides of pelargonidin, peonidin,
			Delphinidin, petunidin
		Grape	Glycosides of cyanidin, peonidin,
			Delphinidin, petunidin, malvidin
			Including acylated forms
		Pear	Cyanidin glycosides
		Cherry	Cyanidin 3-glucoside and 3-rutinoside
		Peach	Cyanidin glycosides
		Plum	Glycosides of cyanidin, peonidin
		Sweet cherry	Cyanidin glycosides
	Flvonols(catechins)	Apple	(+)-catechin, (-)-epicatechin
		Grape	(+)-catechin, (-)-epicatechin
			(+)-gallocatechin, (-)-epigallocatechin
		Pear	(+)-catechin, (-)-epicatechin
		Peach	(+)-catechin, (-)-epicatechin
	Chalcones	Apple	Phloretin derivatives notably phloridzin
		Pear	Arbutin, phloretin glucoside
		Tomato	Chalconaringenin
$(C_6\text{-}C_3)_2$	Lignins		Pinoresinol
$(C_6\text{-}C_3\text{-}C_6)_2$	Biflavonoids		Agathisflavone

ที่มา : Robards และคณะ (1999)

2.4.2 ปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

(1) พันธุ์ (Variety) ผลไม้แต่ละชนิดประกอบด้วยสารประกอบฟีนอลิกที่แตกต่างกันไปทั้งชนิดและปริมาณเช่น ส้มมีเฮสเปอริดิน (hesperidin) และนาริรูทิน (narirutin) สูง แอปเปิ้ลมีคลอโรจีนิก (chlorogenic acid) สูง เชอร์รี่มีแอนโธไซยานิน (anthocyanin) สูง ลูกพลัมมีแทนนิน (tannin) สูง พีชมีโพรไซยานิดิน (procyanidin) สูง เป็นต้น ส้มจัดเป็นผลไม้ที่ประกอบไปด้วยฟลาวาโนน (flavanone) เป็นจำนวนมากส่วนใหญ่ได้แก่ เฮสเปอริดินและนาริรูทิน (Albach and Redman, 1969) นอกจากนั้นยังพบอนุพันธุ์ของไฮดรอกซีซินนะมิกแอซิด (hydroxycinnamic acid) (Risch and Herrmann, 1988) และโพลีเมทธอกซีฟลาโวน (polymethoxyflavone) เช่น โน

บิเลติน (nobiletin), แทงเจอเลติน (tangeretin), ซินเนนซีติน (sinensetin) เป็นต้น (Park *et al.*,1983) สารประกอบฟีนอลิกดังกล่าวมีความสำคัญในการพัฒนาสี กลิ่น รสในผลไม้ Kawaii และคณะ(1999) ได้รวบรวมปริมาณฟลาโวนอยด์ชนิดต่างๆ ในส่วนที่กินได้ของพืชตระกูลส้มพันธุ์ต่างๆ ไว้ ดังตารางที่ 2.7

ส่วนความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมักขึ้นอยู่กับปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดกล่าวคือ ถ้าปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดสูง ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระก็จะสูงเช่นกัน เช่น ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดของ blood orange juice สูงกว่า blond orange juice ทั้งในน้ำส้มคั้นสด (freshly squeezed juiced) น้ำส้มแปรรูป (processed juice) และน้ำส้มที่ได้จากทางการค้า (commercial juice) เป็นเพราะปริมาณแอนโธไซยานิน ไฮดรอกซีซินนะมิกแอซิดและวิตามินซีใน blood orange juice สูงกว่าใน blond orange juice (Arena *et al.*, 2001)

(2) ชนิดของเนื้อเยื่อ (Type of tissue) ภายในเนื้อเยื่อของผลไม้เองสารประกอบฟีนอลิกยังกระจายตัวไม่สม่ำเสมอเช่น ในระดับของเนื้อเยื่อ (tissue level) ฟีนอลิกจะอยู่ที่ epidermal และ subepidermal layer ในขณะที่ในระดับเซลล์ (subcellular level) ฟีนอลิกจะอยู่ที่ผนังเซลล์และที่แวคิวโอล (Macheix *et al.*, 1990) และส่วนต่างๆ ของผลไม้ก็มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในปริมาณที่ไม่เท่ากันโดยพบว่า ส่วนเปลือกของพืชตระกูลส้มจะมีมากกว่าส่วนผลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เช่น เฟอรูลิก แอซิด (ferulic acid), ซินนะพิก แอซิด (sinapic acid), พี-คูมาลิก แอซิด (p-coumaric acid) และ แคฟเฟอิก แอซิด (caffeic acid) พบในเปลือกมากกว่าในผล โดยสารประกอบฟีนอลิกส่วนใหญ่อยู่ในรูปที่เชื่อมต่อกับสารอื่น (bound form) เช่น น้ำตาล กรดอินทรีย์ Tanizawa และคณะ (1992) พบว่า เปลือกของพืชตระกูลส้ม (exocarp) มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมากกว่าส่วนของผล (sarcocarp) ในส่วนของผลพบว่า ส่วนที่เป็นของแข็งได้แก่ อัลบีโด เลเยอร์, เซกเมนท์ และ เมมเบรน มีปริมาณฟลาวาโนนมากกว่าในส่วนของน้ำ (Tomás-Barberán and Clifford, 2000)

ตารางที่ 2.7 ปริมาณฟลาโวนอยด์ชนิดต่างๆ ในส่วนที่กินได้ของพืชตระกูลส้มพันธุ์ต่างๆ

Scientific name	Conventional Name	QCT	NGEN	LTN	NPNC	HSP	KMP	APG	SNT	NBL	HPT	NRTN	TNG
C. reticulata	Ponkan	0	0	0.2	32.8	1199	0	0	0	12.8	0	148	9.1
C. reticulata	Ota ponkan	0	0	0	13.5	676	0	0	0	5.3	0	73.4	5.2
C. tangerina	Dancy tangerin	1.5	0.2	0.4	21.2	1513	0	0	0	4.5	0.1	192	1.5
C. sinensis	Valencia	3.1	0	0	9.8	698	0	0	4.0	1.3	4.0	75.7	0.3
C. aurantium	Sour orange	0	0	0	21.6	10.6	0	0	0	0.7	0.5	11.8	0.5
C. latifolia	Tahiti lime	0	0	0	0.2	572	0	0	0	0	2.5	0	1.4
C. bergamia	Bergamot	0	0	0	222	42.0	0	0	0	0.1	0.2	20.9	0.2
C. limon	Eureka lemon	0	0	0	0	358	0	0	0	0.1	0.1	0	0
C. limonia	Rangpur lime	1.0	0	0.2	0.9	472	0	0	0	0.6	0.1	2.2	1.4
C. meyerii	Sweet lemon	0.8	0	0	2.5	1099	0	0	0	0.1	0	14.1	0
C. meyerii	Meyer lemon	0.3	0	0	1.4	855	0	0	0	0.4	0.2	2.4	0.1
C. grandis	Hirado buntan	0.3	0	0	9.3	8.5	0	0	0	0.1	0	0	0.7
C. paradisi	Red blush	0	0	0	15.1	19.0	0	0	0	0.4	0.2	285	0.1
C. paradisi	Marsh grapefruit	0	0	0	12.2	5.0	0	0	0	0.2	0.2	500	0.2
C. sulcata	Sanbokan	0	0	0	1.1	189	0	0	0	0.9	1.6	502	1.1
C. glaberrima	Kinukawa	0	0	0	2.7	0	0	0	0	0.1	0.2	42.6	0.2
C. hassaku	Hassaku	0	0	0	3.0	33.7	0	0	0	0.2	0.5	98.2	0.3

ตารางที่ 2.7 (ต่อ)

Scientific name	Conventional Name	QCT	NGEN	LTN	NPNC	HSP	KMP	APG	SNT	NBL	HPT	NRTN	TNG
C. tengu	Tengu	0	0	0	8.2	29.1	0	0	0	0.4	0.1	634	0.2
C. natsudaidai	Natsudaidai	0	0	0	7.4	9.7	0	0	0	0.4	0.5	61.2	1.0
C. natsudaidai	Kawano Natsudaidai	0.3	0	0	9.7	11.9	0	0	0	0.6	0.2	45.8	0.5
C. aurantium	Sour orange	0	0	0	21.6	10.6	0	0	0	0.7	0.5	11.8	0.5
C. Clementina	Clementine	0.9	0	0	8.1	852	0	0	0	0.8	0.8	51.1	0.3
C. madurensis	Shikikitsu	0	0	0	0.7	50.3	0	0	0	2.0	0.1	142	1.0
C. nobilis	King	0.7	0	0	45.9	1172	0	0	0	1.4	4	319	2.0
C. hanayu	Hanayu	0	0	0	0.8	2001	0	0	0	4.6	0	35.6	2.4
C. unshu	Sugivama unshiu	1.1	0	0	34.7	664	0	0	0	0.9	1.2	625	0.5
C. oto	Oto	1.3	0	0.1	5.3	1030	0	0	0	1.7	1.8	22.6	1.1
C. deliciosa	Mediterranean mandarin	0	0	0	25.7	1464	0	0	0	5.7	0	174	3.5

ที่มา : ดัดแปลงจาก Kawaii และคณะ (1999)

หมายเหตุ : quercetin (QCT), naringenin (NGEN), luteolin (LTN), neoponcirin (NPNC), hesperidin (HSP), kaempferol (KMP), apigenin (APG), sinensetin (SNT), nobiletin (NBL), heptamethoxyflavone (HPT), narirutin (NRTN) tangeretin (TNG)

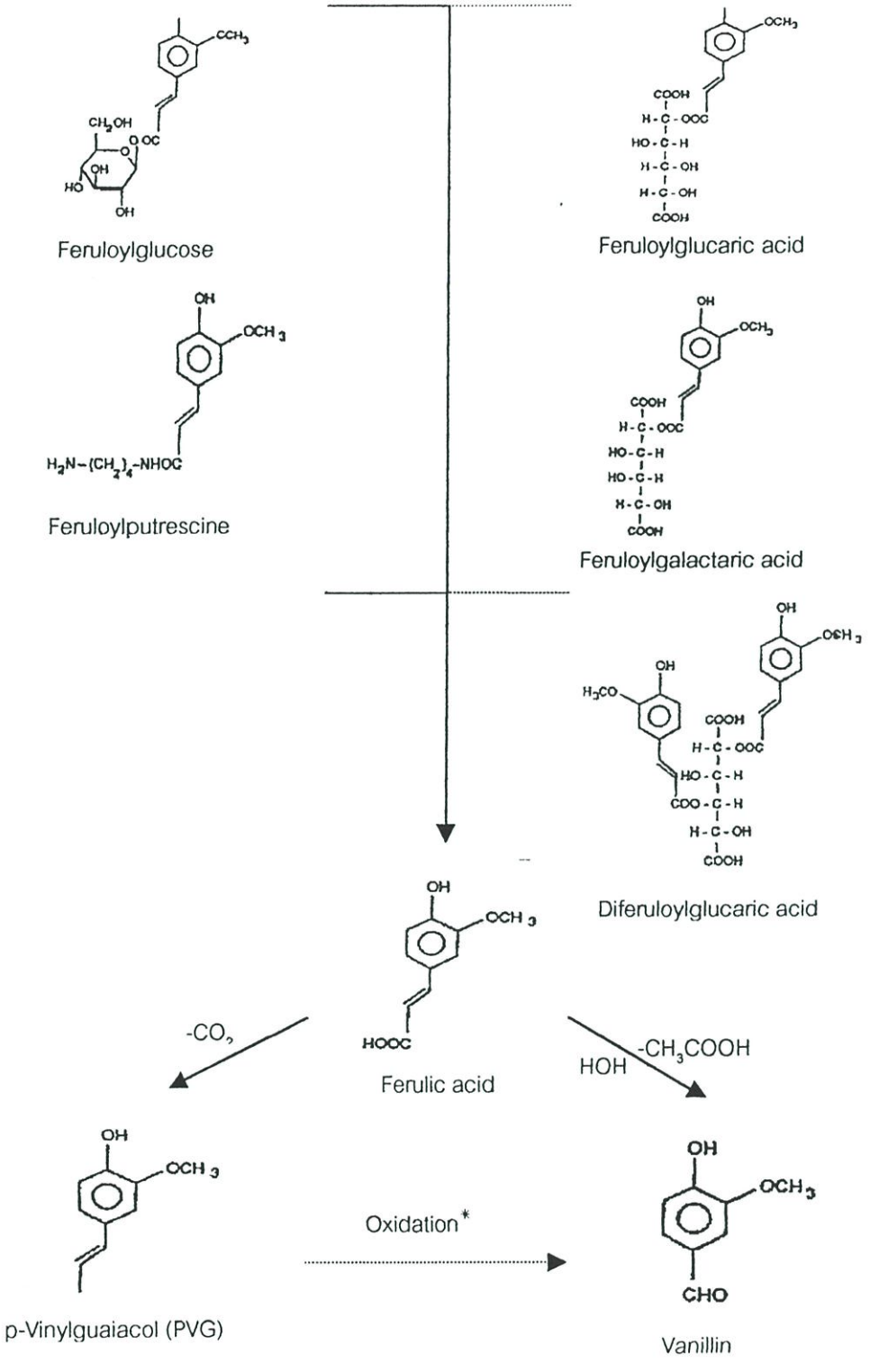
(3) โลหะ (Metal) โลหะเช่น ทองแดง เหล็ก เหล่านี้มีอยู่ทั่วไปในสิ่งแวดล้อมและเข้าสู่ผลไม้ได้โดยผ่านทางดิน สารเคมีที่ใช้ในการเกษตรและเครื่องมือต่างๆ ที่ใช้ในการแปรรูป ทองแดงถือเป็นปัจจัยหลักในการเร่งปฏิกิริยาทำให้สารประกอบฟีนอลิก (ในน้ำผลไม้) โดยเฉพาะลิวโคแอนโธไซยานิน (leucoanthocyanins) และ อีพิคาเทอชิน (epicatechin) ลดลง และนำไปสู่การเกิดเป็นตะกอน นอกจากนี้เหล็กก็เป็นตัวหนึ่งที่ทำปฏิกิริยากับสารประกอบฟีนอลิกทำให้ผลิตภัณฑ์เป็นสีน้ำตาลแต่ไม่มากเท่าทองแดง (Robards *et al.*, 1999)

ในผลไม้ทั่วไปมีทองแดงอยู่ 0.03-0.15 มิลลิกรัม/100 กรัม และมีเหล็กอยู่ 0.06-0.4 มิลลิกรัม/100 กรัม ถึงแม้ว่าความเข้มข้นของโลหะในน้ำผลไม้ค่อนข้างต่ำ แต่ทองแดงก็สนับสนุนการเกิดสีน้ำตาลและนำไปสู่การเกิดตะกอนขึ้นได้ กลไกในการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลยังไม่เป็นที่เข้าใจดีนัก มีสมมุติฐานว่าเกี่ยวข้องกับความสามารถของสารประกอบฟีนอลิกในการรวมตัวกับโลหะเกิดเป็นสารประกอบที่ซับซ้อนขึ้น เช่น การลดลงของคาเทอชิน (catechin) ในไวน์มีเพิ่มมากขึ้นหากมีเหล็กอยู่ด้วย นอกจากนี้หากมีทองแดงอยู่ร่วมด้วยจะเพิ่มปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิก (Robards *et al.*, 1999)

(4) สภาวะในการเก็บรักษา (Storage condition) การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เป็นเวลานานสามารถสนับสนุนการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเนื่องจากเอนไซม์หรือเคมี (enzymatic or chemical oxidation) ของสารประกอบฟีนอลิกได้ การเกิดปฏิกิริยาเหล่านี้ดำเนินไปในอัตราที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับปัจจัยภายในของอาหารและสภาวะในการแปรรูป เช่น ความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ ระยะเวลา ปริมาณออกซิเจน ความชื้น เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบว่าในสภาวะการเก็บรักษาที่เป็นกรดและความร้อนที่ใช้ในการแปรรูป สามารถกระตุ้นให้ไฮดรอกซีซินนะมิกแอซิดที่อยู่ในรูปที่มีสารอื่นมาเชื่อมต่อ (bound form) เปลี่ยนไปเป็นรูปอิสระ (free form) ได้ Naim และคณะ (1988) แสดงให้เห็นว่าเฟอรูริกแอซิดในรูปที่มีสารอื่นมาเชื่อมต่อในน้ำส้มถูกไฮโดรไลซ์ให้อยู่ในรูปอิสระได้ และจากการศึกษาของ Naim และคณะ (1992) โดยจำลองสภาวะของน้ำส้มให้มี feruloylputrescine และ feruloylglucose เป็นองค์ประกอบแล้วนำไปเก็บรักษาพบว่า เฟอรูริกแอซิดมีการปลดปล่อยออกมาจากสารทั้งสองดังกล่าว ภาพที่ 2.5 แสดงการปลดปล่อยเฟอรูริกแอซิดจากรูปที่มีสารอื่นเชื่อมต่อไปเป็นรูปอิสระและการเกิดพี-ไวนิลกัวอิเอคอล (p-vinylguaiacol, PVG) และ วะนิลลิน (vanillin) ซึ่งเป็นสารให้กลิ่นเหม็นในน้ำจากพืชตระกูลส้มที่เก็บรักษาไว้นานๆ

จากการศึกษาของ Asami และคณะ (2003) ได้ทำการเก็บรักษาพีช (clingstone peach) แปรรูปบรรจุกระป๋องที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลานาน 3 เดือน พบว่า สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูญเสียไปร้อยละ 30-43 ในตัวอย่างทั้งหมด การลดลงของสารประกอบฟีนอลิกเนื่องจากตัวมันเองย่อยสลายตัวมันเอง และจากการทดลองของ Piga และคณะ (2002) ได้ทำการเก็บรักษาน้ำส้มแมนดารินคั้นสด ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่า ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

(chain breaking activity) ลดลงภายในวันที่ 0 –12 ยกเว้นในวันที่ 15 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงขึ้น การเพิ่มขึ้นของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเนื่องสารประกอบฟีนอลิกบางตัวเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเนื่องจากเอนไซม์และเคมี (enzymatic and chemical oxidation) จะแสดงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นเมื่ออยู่ในอินเตอร์มิเดียทออกซิเดชันสเตท (intermediate oxidation state) นอกจากนี้ Brand-Williams และคณะ (1995) ได้ศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำชา (black tea beverage) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส พบว่า ภายใน 2 ชั่วโมงแรก ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจะเพิ่มสูงขึ้น เมื่อความเข้มสี (วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 390 นาโนเมตร) เพิ่มขึ้นสาเหตุเนื่องจาก สารประกอบฟีนอลิกเกิดการโพลีเมอร์ไรส์จากปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาล ทำให้อนุมูลอิสระที่ขาดอิเล็กตรอนวิ่งรอบๆ ภายในโมเลกุลของสารประกอบฟีนอลิกได้มากขึ้น แต่หลังจากนั้นความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระลดลงเนื่องจากโครงสร้างโมเลกุลที่ใหญ่และซับซ้อนมากขึ้น (จำนวนโมโนเมอร์มากกว่า 4) จึงไปลดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระลง



ภาพที่ 2.5 การปลดปล่อยเฟอรูริกแอซิดจากรูปที่มีสารอื่นเชื่อมต่อไปเป็นรูปอิสระและการเกิดพี-ไวนิลกัวอิเอคอล และ วะนิลลิน ในน้ำจากพืชตระกูลส้ม

หมายเหตุ เส้นปะ หมายถึง วิถีทางสมมุติฐาน , * ไม่สามารถแสดงให้เห็นได้ในโมเดลที่ศึกษานี้

ที่มา : Naim และคณะ (1992)

(5) ความสุกของผลไม้ (Maturity) การสะสมของสารประกอบฟีนอลิกในระหว่างที่ผลไม้เจริญเติบโตจะเกิดการเปลี่ยนแปลงอยู่ตลอดเวลาเนื่องจากการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์และกระบวนเมตาบอลิซึมที่เอื้อต่อการสังเคราะห์พรีเคอเซอร์และสารอินเตอร์มิเดียทต่างๆ ซึ่งการทำงานของเอนไซม์ยังขึ้นอยู่กับปัจจัยทั้งภายในและภายนอกเช่น แสง อุณหภูมิ ฮอร์โมน สารอาหาร เป็นต้น อย่างไรก็ตามโดยทั่วไปแล้วจะพบว่า ในสัปดาห์แรกของการเจริญเติบโตสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจะมีปริมาณสูงสุด แต่หลังจากนั้นปริมาณสารจะลดลงอย่างต่อเนื่อง เนื่องจากการขยายตัวของเซลล์และในระหว่างการสุกสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในผลไม้บางชนิดยังคงลดลงอย่างต่อเนื่อง เช่น มะม่วง กล้วย องุ่นขาว แต่ในผลไม้บางชนิดสารแอนโธไซยานินและฟลาโวนอยด์จะมีปริมาณสูงขึ้น ซึ่งพบได้ในผลไม้ที่มีสีแดง การลดลงของสารประกอบฟีนอลิกทำให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระลดลงด้วย

ในระหว่างที่ผลไม้เจริญเติบโตจนกระทั่งผลไม้สุกสารประกอบฟีนอลิกมีการเปลี่ยนแปลงอยู่ตลอดเวลา เช่น เฮสเปอริดินเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้น้ำคั้นขุ่นจะมีปริมาณลดลงในระยะที่ผลไม้เริ่มมีการขยายตัวของเซลล์ (Rouseff, 1980)สารประกอบฟีนอลิกที่ให้รสขมในส้มและเกรฟฟรุตได้แก่ ลิโมนิน (limonin) และนารินจิน (naringin) พบว่า ปริมาณลิโมนินและนารินจินจะลดลงเมื่อผลไม้สุก การลดลงของลิโมนินเนื่องจาก เอนไซม์ลิโมเนต ดีไฮโดรจีเนส (limonate dehydrogenase) เปลี่ยนลิโมนินไปเป็นสารที่ไม่มีรสขมและลดลิโมนิก แอซิด เอ-ริง แลคโตน (limonic acid A-ring lactone) ซึ่งเป็นพรีเคอเซอร์ของลิโมนิน ส่วนการลดลงของนารินจินเนื่องจากการขยายตัวของเซลล์ทำให้ปริมาณนารินจินลดลง(Noomhorm and Kasemsuksakul, 1992) ระหว่างการสุกไม่มีผลต่อปริมาณไฮดรอกซีซินนะมิกแอซิดที่อยู่ในรูปที่เชื่อมต่อกับสารอื่น แต่จะมีผลทำให้ไฮดรอกซีซินนะมิกแอซิดที่อยู่ในรูปอิสระลดลงเนื่องจากเฟอรูริกแอซิดที่อยู่ในรูปอิสระ (free ferulic acid) อาจเป็นพรีเคอเซอร์ของพี-ไวนิลกัวอิเอคอล (PVG) ซึ่งเป็นสารประกอบหลักที่ให้กลิ่นเหม็นในผลไม้ที่เก็บรักษาไว้นาน PVGเกิดจากปฏิกิริยาดีคาร์บอกซิลเลชัน (decarboxylation) ของเฟอรูริกแอซิดภายใต้สภาวะที่เป็นกรด ส่วนไฮดรอกซีซินนะมิกแอซิดตัวอื่นอาจเกิดการดีคาร์บอกซิลเลชันไปเป็นไวนิลฟีนอล (vinylphenol) ได้ แต่การให้กลิ่นยังไม่ทราบแน่ชัด (Johnson and Heinz, 1949; Pyysalo *et al.*, 1977; Naim *et al.*, 1988) ตารางที่ 2.8 แสดงผลของความสุกต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในส้มพันธุ์ต่างๆ จากตารางจะเห็นว่า ส้มที่เก็บเกี่ยวในเดือนกรกฎาคม มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้สูงสุด และลดลงเมื่อส้มสุกมากขึ้นในเดือนกันยายนและธันวาคม โดยส้ม ponkan (*Citrus recticulata* Blanco.) ที่เก็บเกี่ยวในเดือนกรกฎาคมมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด รองลงมาคือ daidai, navel orange, lemon และ Iyokan ตามลำดับ

ตารางที่ 2.8 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของพืชตระกูลส้มพันธุ์ต่างๆ ที่เก็บเกี่ยวในระยะเวลาแตกต่างกัน

Sample name	Latin name	MeOH extract yield (g)[a]			Inhibition* (%)		
Exocarp		July	Sept.	Dec.	July	Sept.	Dec.
Daidai	*Citrus aurantium* LINN	4.42	2.89	4.81	81.7	54.7	46.4
Natsu-daidai	*C. natudaidai* HAYATA	2.71	5.53	4.49	60.0	34.9	27.0
Iyokan	*C. iyo* HORT.ex TANAKA	1.96	2.48	5.63	70.0	37.9	26.7
Navel orange	*C. sinensis* OSBECK	1.76	1.77	4.45	75.1	47.2	24.4
Hyuga-natsu	*C. tamurana* HORT.ex TANAKA	2.55	2.75	5.40	47.4	38.5	28.7
Hassaku	*C. hassaku* HORT.ex TANAKA	4.23	2.24	5.4	51.6	35.3	25.9
Buntan	*C. grandis* OSBECK	5.62	2.92	5.22	44.5	35.1	32.5
Lemon	*C. limon* BURMANN form.Lisbon	2.11	2.73	4.15	71.8	47.4	45.7
Ponkan	*C. reticulata* BLANCO	1.59	3.09	5.82	100.0	82.5	36.7
Sarcocarp							
Unshu-mikan	*C. unsiu* MARC.	2.24	6.32	8.80	41.8	45.3	36.2
Ponkan	*C. reticulata* BLANCO	2.15	5.24	7.10	46.5	47.4	29.8

* วิเคราะห์โดยวิธี Rat liver microsomal lipid peroxidation induced by NADPH-ADP

ที่มา : ดัดแปลงจาก Tanizawa และคณะ (1992)

[a] MeOH extract yield (g): of MeOH extract, obtained from extracting each dried peel (20 g) with 100 MeOH and each freeze-dried flesh (20 g) with 200 ml MeOH, under reflux for 30 min.

N.D., not determind due to immaturity or maturity of fruit

(6) สภาวะการแปรรูป (Processing condition) สภาวะที่ใช้ในการแปรรูปเช่น วิธีการสกัด อุณหภูมิในการให้ความร้อน รวมถึงเอนไซม์มีส่วนทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเปลี่ยนแปลงที่อาจทำให้เกิดการสร้างสารใหม่ขึ้น (formation) และ/หรือเปลี่ยนแปลงโครงสร้างสาร (transformation) และ/หรือ ทำให้เกิดการสลายตัวของสารประกอบฟีนอลิก (degradation of phenolic compound) ซึ่งจะมีผลต่อคุณภาพและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์

- วิธีการสกัด พบว่า มีผลทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกบางตัวเพิ่มขึ้น เนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกส่วนใหญ่อยู่ในแวคิวโอล มีเพียงเล็กน้อยในช่องว่างภายในเซลล์ (free space) และไม่พบในไซโตพลาสซึม (การสะสมของฟลาโวนอยด์และเอสเทอร์ของเฟอรูริกแอซิดจะสะสมในผนังเซลล์) สารประกอบฟีนอลิกในพืชอยู่ในรูปแบบต่างๆ กัน เช่น ละลายน้ำได้ (soluble) แขวนลอย (suspended form) คอลลอยด์ (colloidal form) และที่รวมตัวกับองค์ประกอบของผนังเซลล์ (cell wall component) (Robards *et al.*, 1999) ซึ่งอาจมีผลต่อการสกัด Noomhorm และ Kasemsuksakul (1992) พบว่า การสกัดด้วยวิธี lever press จะมีปริมาณนารินจินมากกว่าการสกัดด้วยวิธี screw press อาจเนื่องจากการสกัดด้วยวิธี lever press ใช้แรงมากกว่าวิธี screw press ทำให้สารประกอบฟีนอลิกจากเปลือกผ่านเข้าสู่น้ำได้ และเนื่องจากเฮสเปอริดินเป็นสารประกอบฟีนอลิกตัวหนึ่งที่ทำให้น้ำส้มขุ่น จากการศึกษาของ Klim และ Nagy (1988) พบว่า การสกัดด้วยเครื่องจะได้น้ำส้มที่มีความขุ่นมากกว่าการสกัดด้วยมือ ความขุ่นของน้ำส้มเนื่องจากมีสารเฮสเปอริดินมาก แต่ในการผลิตน้ำแอปเปิ้ลพบว่า การสกัดทำให้ปริมาณของซินนะมิกแอซิดน้อยที่สุดเนื่องจากการทำงานของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (Spanos *et al.*, 1990)

- อุณหภูมิในการให้ความร้อน ความร้อนมีผลทำให้สารประกอบฟีนอลิกโมเลกุลเล็กๆ เช่น ฟีนอล (phenol), ฟีนิลโพรพานอยด์ (phenylpropanoid) เช่น พี-คูมาริก แอซิด, แคฟเฟอิก แอซิด, เฟอรูลิก แอซิด, ซินนะพิก แอซิด ระเหยกลายเป็นไอไปได้ในขณะที่ฟลาโวนอยด์ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลิกที่มีโครงสร้างแบบ C6-C3-C6 โดยมีลักษณะเป็นวงแหวน 3 วงต่อกัน จะเกิดการแตกของวงแหวน C และสลายตัวต่อไป โดยวงแหวน B จะเปลี่ยนเป็นกรดคาร์บอกซิลิก และวงแหวน A จะเปลี่ยนไปเป็นคาร์บอกซีอัลดีไฮด์ ตามลำดับ (Jackman and Smith,1996) และระเหยไปพร้อมกับไอน้ำ (Kim and Pratt,1992) จากการศึกษาของ Gil-Izquierdo และคณะ (2001) พบว่าการพาสเจอร์ไรส์น้ำส้มพันธุ์นาเวลที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที (mild pasteurization) จะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากกว่าการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที (pasteurization) อุณหภูมิสูงมีผลทำให้ฟลาวาโนนตกตะกอนเพิ่มมากขึ้นแต่ไม่มีผลต่อไฮดรอกซีซินนะมิกแอซิดและมีผลเพียงเล็กน้อยต่อฟลาโวน Asami และคณะ (2003) พบว่า การใช้อุณหภูมิต่ำสามารถป้องกันการสูญเสียปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

ในพีช (clingstone peaches)บรรจุกระป๋องได้เนื่องจากความร้อนอาจมีผลต่อการเกิดโพลีเมอร์ไรส์เซชัน (polymerization) ของสารประกอบฟีนอลิก แต่ยังไม่ทราบชัดเจนว่าฟีนอลิกที่เกิดการโพลีเมอร์ไรส์มีแอกทิวิตีเช่นเดียวกับฟีนอลิกที่มีโมเลกุลต่ำหรือไม่ และที่โพลีเมอร์ไรส์ขนาดเท่าใดที่มีประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ นอกจากนี้การใช้ความร้อนสูงเวลาสั้นในน้ำแอปเปิ้ล (Granny smith) พบว่า ช่วยป้องกันสารประกอบฟีนอลิกไม่ให้สูญเสียเนื่องจากการทำงานของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (Spanos *et al.*, 1990)

ถึงแม้ความร้อนจะเป็นสาเหตุทำให้สารประกอบฟีนอลิกลดลง แต่ Manzocco และคณะ (1998) พบว่า คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำชาพาสเจอร์ไรส์บรรจุขวด (air-bottled tea extract) สูงกว่าน้ำชาที่ไม่พาสเจอร์ไรส์

- การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิก มักเกิดขึ้นระหว่างการแปรรูป (เช่น การปอกเปลือก การตัดและการหั่น) และการเก็บรักษา และเป็นสาเหตุทำให้สารประกอบฟีนอลิกบางตัวลดลงพร้อมกับทำให้ผลิตภัณฑ์เกิดสีน้ำตาล สาเหตุของการเกิดสีน้ำตาลเนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกหลายตัวเป็นทั้งสารต้านอนุมูลอิสระและเป็นซับสเตรทสำหรับเอนไซม์ โพลีฟีนอลออกซิเดส [polyphenoloxidase (PPO)] และ เปอร์ออกซิเดส [peroxidase (POD)] เช่น คาเทอชิน, แคฟเฟอิก เอสเทอร์ (caffeic ester), คลอโรจีนิก แอซิด ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจัดเป็นปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่ต้องใช้เอนไซม์ (enzymatic browning reaction) ส่วนในน้ำส้มมีรายงานเกี่ยวกับการเกิดสีน้ำตาลที่ต้องใช้เอนไซม์น้อยมาก เนื่องจากในน้ำส้มมีความเป็นกรดสูงไม่เหมาะต่อการทำงานของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (Robards *et al.*, 1999) การเกิดสีน้ำตาลในน้ำส้มและน้ำมะนาวส่วนใหญ่เกิดจากสารประกอบคาร์บอนิลที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของวิตามินซีทำปฏิกิริยากับหมู่อะมิโนและเกิดการโพลีเมอร์ไรส์ (Clegg and Morton, 1965) ซึ่งมีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภคและทำให้อายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์สั้นลง

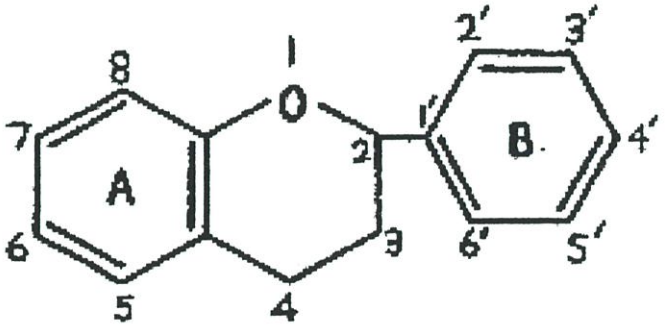
ถึงแม้ว่าปฏิกิริยาออกซิเชันเนื่องจากปฏิกิริยากิริยาทางเคมีและจากการทำงานของเอนไซม์ (chemical oxidation and enzymatic oxidation) เป็นสาเหตุให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกลดลงและสีของผลิตภัณฑ์เปลี่ยนไป แต่สารประกอบอินเตอร์มิเดียทออกซิเดชัน (intermediated oxidation product) ของสารประกอบฟีนอลิกที่ถูกออกซิไดส์ มีความสามารถในการจับอนุมูลอิสระได้สูงกว่าสารประกอบฟีนอลิกที่ไม่ได้ถูกออกซิไดส์ เนื่องจากมีความสามารถในการให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลอิสระ และ/หรือ ความสามารถของโครงสร้างของวงแหวนที่สนับสนุนให้อนุมูลอิสระที่ขาดอิเล็กตรอนวิ่งรอบ π-electron system ได้ (unpaired electron through delocalization around the π-electron system) (Nicoli *et al.*, 1999) เช่น คาเทอชินเมื่อเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยเอนไซม์มีความสามารถในการต้านอนุมูล

อิสระ (chain breaking activity) เพิ่มขึ้นก่อนจะฟอร์มเป็นสารประกอบสีน้ำตาลที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ (Cheigh *et al.*, 1995)

(7) ฤดูกาล (Season) ฤดูกาลมีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเช่น ในฤดูหนาวพบว่า ปริมาณเฮสเปอริดินในส้มฟลอริดา (Florida orange) มีปริมาณสูงขึ้นและนารินจินในเกรฟฟรุตเพิ่มขึ้นหลังจากทำการเก็บไว้ที่อุณหภูมิเยือกแข็ง (Nagy and Attaway, 1980)

2.5 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของฟลาโวนอยด์

ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) เป็นสารประกอบประเภทโพลีฟีนอล โครงสร้างหลักประกอบด้วยหมู่เบนซีน 2 หมู่ เชื่อมต่อด้วยวงแหวนไพแรน หรือ มีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบ 15 ตัว (C6-C3-C6) พบมากในพืชชั้นสูง ทั้งราก ลำต้น ดอก ผล เมล็ด เปลือก ก้านดอก และละอองเกสรดอกไม้ ฟลาโวนอยด์ที่พบในพืชสามารถจำแนกออกได้มากกว่า 5000 ชนิด ภาพที่ 2.6 แสดงถึงโครงสร้างหลักของฟลาโวนอยด์



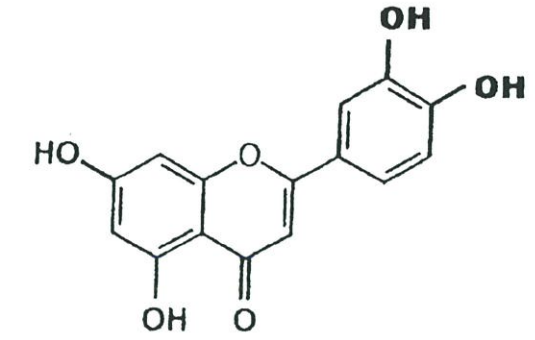
ภาพที่ 2.6 โครงสร้างหลักของฟลาโวนอยด์
ที่มา : Rouseff (1980)

โครงสร้างหลักของฟลาโวนอยด์ที่มีความสำคัญในการทำลายอนุมูลอิสระหรือมีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ได้แก่ (Benavente-Garcia *et al.*,1997)

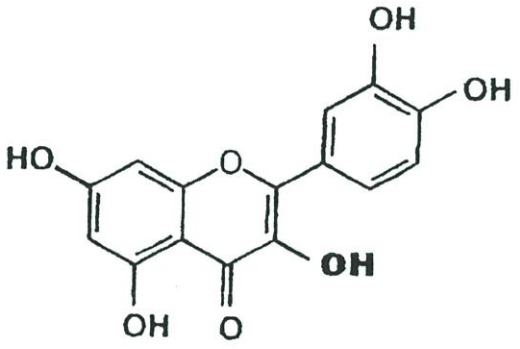
(1) โครงสร้างที่ B-ring มีหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง 3′ และ 4′ (O-dihydroxy หรือ catechol) ภาพที่ 2.7 (1)

(2) โครงสร้างที่มีพันธะคู่ที่ตำแหน่ง 2 และ 3 และ ที่ตำแหน่ง 4 เชื่อมต่อกับหมู่คาร์บอนิล ภาพที่ 2.7 (2)

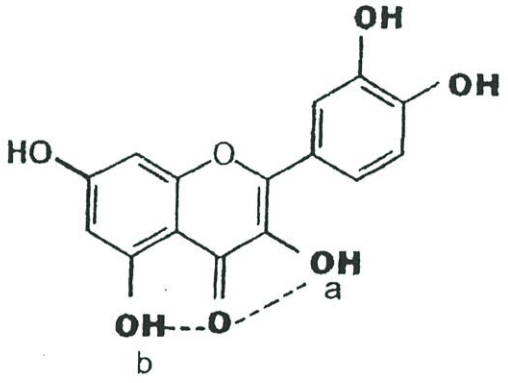
(3) โครงสร้างที่ตำแหน่ง 3 และ 5 มีหมู่ไฮดรอกซิล ภาพที่ 2.7 (3)



(1)



(2)



(3)

ภาพที่ 2.7 โครงสร้างหลักของฟลาโวนอยด์ในการทำลายอนุมูลอิสระ

ที่มา : Benavente-Garcia และคณะ (1997)

อย่างไรก็ตามความสามารถหรือประสิทธิภาพของแต่ละโครงสร้างในการทำลายอนุมูลอิสระหรือ Active oxygen species ของแต่ละตัวจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับกลไกในการจับอนุมูลอิสระของในแต่ละโครงสร้าง การเชื่อมต่อกับกลูโคส (glucosides) หรือไม่มีกลูโคส (aglycons) และตำแหน่งของกลูโคสที่จับอยู่ในโครงสร้างของฟลาโวนอยด์ จำนวนและตำแหน่งของหมู่ไฮดรอกซิลในโครงสร้างของฟลาโวนอยด์ เหล่านี้ล้วนมีผลต่อการจับอนุมูลอิสระของฟลาโวนอยด์ ดังตารางที่ 2.9 เป็นการเปรียบเทียบให้เห็นว่าฟลาโวนอล (flavonol) เช่น แคมเฟอรอล (Kaempferol) เควอร์เซติน (Quercetin) ที่ในโครงสร้างมีหมู่ไฮดรอกซิลเกาะอยู่ที่ตำแหน่ง C-3 มีความสามารถใน

การยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของเบตา-แคโรทีน(β-carotene)ในระบบที่เป็นเฮทเทอโรจีเนียส (heterogenous system) ได้มากกว่าฟลาโวนอลที่ตำแหน่ง C-3 ถูกแทนที่ด้วยน้ำตาล (glycosylation) หรือ หมู่เมทธิล (methylation)

ตารางที่ 2.9 ผลของการเชื่อมต่อกับกลูโคสหรือหมู่เมธทิลต่อความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของฟลาโวนอล

flavonol (aglycon)	antioxidant activity (%)	glucoside or methoxyl derivative	antioxidant activity (%)
kaempferol	65.3	kaempferide	60.0
kaempferol	65.3	kaempferol 3,7-*O*-dirhamnoside	-17.5
quercetin	63.6	quercetin 3-*O*-glucoside-7-*O*-rhamnoside	-6.2
quercetin	63.6	quercetin 3-*O*-rhamnoglucoside (rutin)	-10.2
quercetin	63.6	3,5,7,3′,4′-pentamethoxyflavone	1.1
laricytrin	28.5	laricytrin 3′-*O*-glucoside	26.2
laricytrin	28.5	laricytrin 3, 3′- diglucoside	1.1
laricytrin	28.5	laricytrin 3,7,3′-*O*-triglucoside	-6.2
laricytrin	28.5	3,5,7, 3′,4′,5′-hexamethoxyflavone	2.6
myricetin	18.4	3,5,7, 3′,4′,5′-hexamethoxyflavone	2.6

ที่มา : Burda และ Oleszek (2001)

2.5.1 ความสามารถของฟลาโวนอยด์ในการทำลาย Singlet Oxygen ($^1O_2$)

ความสามารถของฟลาโวนอยด์ในการทำลาย singlet oxygen ($^1O_2$) แบ่งออกเป็น (Benavente-García *et al.*, 1997)

(1) ความไวของฟลาโวนอยด์ในการเข้าทำปฏิกิริยากับ singlet oxygen (The rate constant of chemical reaction) เป็นอัตราความเร็วที่คงที่แต่จะยับยั้งอนุมูลอิสระได้หรือไม่ต้องดูที่ความสามารถในการทำลาย singlet oxygen (The rate constant of physical quenching) ความไวของฟลาโวนอยด์ในการเข้าทำปฏิกิริยากับ singlet oxygen สามารถจัดเรียงได้ดังนี้

naringenin < eriodictyol < tangeretin < luteolin < kaempferol < quercetin

และหากพิจารณาที่โครงสร้าง พบว่า A < C(b) < C(a) < B

(2) ความสามารถของฟลาโวนอยด์ในการทำลาย singlet oxygen (The rate constant of physical quenching) สามารถจัดเรียงได้ดังนี้

naringenin < tangeretin < kaempferol < luteolin < eriodictyol < quercetin

และหากพิจารณาที่โครงสร้าง พบว่า C(b) < C(a) < B << A

<u>หมายเหตุ</u> ดูโครงสร้าง A, B, C(a), C(b) ในภาพที่ 2.6 และ 2.7

2.5.2 ความสามารถของฟลาโวนอยด์ในการทำลาย Superoxide ($O_2^{\cdot -}$)

(Benavente-García *et al.*, 1997)

ความสามารถในการทำลายซุปเปอร์ออกไซด์ขึ้นกับความเข้มข้นของฟลาโวนอยด์ กล่าวคือ ถ้าความเข้มข้นของฟลาโวนอยด์เพิ่มขึ้น จะทำให้ความสามารถในการทำลายซุปเปอร์ออกไซด์เพิ่มขึ้น แต่ถ้าความเข้มข้นมากเกินไปจะทำให้ความสามารถในการทำลายซุปเปอร์ออกไซด์ลดลง โดยโครงสร้างหลักในการทำลายซุปเปอร์ออกไซด์ คือที่ C-ring ร่วมกับการมีหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง C 3 เนื่องจากเป็นการกระตุ้นที่ตำแหน่ง 2,3 double bond ทำให้ความสามารถในการเป็นต้านอนุมูลอิสระเพิ่มสูงขึ้น ส่วนโครงสร้าง B-ring (catechol structure) มีความสำคัญต่อการทำลายซุปเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้นน้อยกว่า 100 ไมโครโมลาร์ แต่ถ้าความเข้มข้นสูงขึ้นจะกลายเป็นโปรออกซิแดนท์ นอกจากนั้นฟลาโวนอยด์ที่มีหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง 3 จะมีความสามารถในการทำลายซุปเปอร์ออกไซด์ได้ดีแม้ว่าจะไม่มีโครงสร้าง B-ring และการมี 2,3 double bond จะทำให้ฟลาโวนอยด์มีแอกทิวิตีเพิ่มมากขึ้น เช่น เอพิเจนิน (Apigenin) มีแอกทิวิตีมากกว่า นาริงเจนิน (narigenin)

2.5.3 ความสามารถของฟลาโวนอยด์ในการทำลาย Hydroxyl Radical ($OH^{\cdot}$)

(Benavente-García *et al.*,1997)

ฟลาโวนอยด์มีความสามารถในการทำลายไฮดรอกซิล แรดดิคอลได้ดีมาก โดยประสิทธิภาพในการทำลายไฮดรอกซิล แรดดิคอล เรียงลำดับดังนี้ คือ

FOL-4′-OH << FLO-4′-OH ≤ FLA-4′-OH ≤ FLA-3′,4′-OR ≤ FLO-3′,4′-OR < FOL-3′,4′-OR

โดย R = H หรือ CH_3 ; FLA = Flavanone , FLO = Flavone , FOL = Flavonol

จะเห็นว่าการมีหมู่ไฮดรอกซิล หรือ หมู่เมธิล ก็ตามที่ตำแหน่ง 3′ และ 4′ ในโครงสร้าง B-ring จะมีความสามารถในการทำลายไฮดรอกซิล แรดดิคอลที่ดี

2.6 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของไฮดรอกซีซินนะมิก แอซิด (Hydroxycinnamic acid) และ ไฮดรอกซีเบนโซอิก แอซิด (Hydroxybenzoic acid)

Cuvelier และคณะ(1992) เปรียบเทียบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของไฮดรอกซีซินนะมิก แอซิด และ ไฮดรอกซีเบนโซอิก แอซิดบางตัว พร้อมหาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกดังกล่าว ทำการทดลองโดย การกระตุ้นให้เมธทิล ลิโนลีเอท (methyl linoleate) เกิดปฏิกิริยาออโตออกซิเดชันที่รุนแรงภายใต้อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียสและออกซิเจนที่มากพอในตัวทำละลายที่ละลายไขมันได้ดี (lipophilic solvent) วัดปริมาณเมธทิล ลิโนลีเอทที่หายไปจากความเข้มข้นเริ่มต้น โดยใช้แกสโครมาโตรกราฟฟี และวัดประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยเปรียบเทียบปริมาณสารที่ใช้ในการยืดเวลาการเกิดอนุมูลอิสระให้นานกว่าชุดควบคุมที่ไม่ได้ใส่สารต้านอนุมูลอิสระ ดังนั้นหากใช้ปริมาณสารน้อย (efficient quantity, EQ) แสดงว่ามีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระได้ดี ตารางที่ 2.10 แสดงถึงประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกชนิดต่างๆ และสารที่ได้จากการสังเคราะห์เช่น บีเอชเอ (BHA) บีเอชที (BHT) และ โพรพิล แกลเลต (propyl gallate) ค่า EQ แสดงในหน่วย ppm และ mol/liter โดย หน่วย mol/liter ใช้พิจารณาหาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างกับความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในตัวกลางสารละลายปฏิกิริยาและหน่วย ppm เป็นหน่วยที่นิยมนำมาเปรียบเทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระที่ซับซ้อน เช่น สารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากพืช จากตารางที่ 2.10 สรุปได้ว่า

(1) บีเอชเอ และ สารประกอบฟีนอลิกที่มีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH group) 2 หมู่ เช่น โพรโทคาทาชูอิก (protocatachuic acid), แคฟเฟอิก แอซิด, คลอโรจีนิก แอซิด มีประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระมากกว่าสารประกอบฟีนอลิกที่มีหมู่ไฮดรอกซิล 1 หมู่ เนื่องจากมีค่า EQ น้อยกว่า และ แกลลิค แอซิด (gallic acid) ที่มีหมู่ไฮดรอกซิล 3 หมู่ มีประสิทธิภาพดีกว่า โพรโทคาทาชูอิก แอซิด อย่างไรก็ตามการมีหมู่ไฮดรอกซิลมากกว่า 3 หมู่ ไม่ได้ช่วยให้ประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระดีขึ้น และสารต้านอนุมูลอิสระที่มีขั้วจะมีประสิทธิภาพในตัวกลางที่ไม่มีขั้ว ในทางตรงกันข้ามสารต้านอนุมูลอิสระที่ไม่มีขั้วจะมีประสิทธิภาพในตัวกลางที่มีขั้ว ดังจะเห็นจากการทดลองที่มีตัวกลางเป็นไขมันพบว่า แกลลิค แอซิด, แคฟเฟอิก แอซิด และ โพรพิล แกลเลต มีประสิทธิภาพดีกว่าบีเอชเอและบีเอชที ส่วนในตัวกลางที่เป็นอิมัลชัน บีเอชเอและบีเอชทีจะมีประสิทธิภาพดีกว่า สอดคล้องกับที่ Chen และ Ho (1997) ได้ศึกษาความสามารถของไฮดรอกซีซินนะมิก แอซิด ในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันในอิมัลชันแบบน้ำมันในน้ำพบว่า บีเอชที > แคฟเฟอิก แอซิด > แคฟเฟอิก แอซิด ฟีเนธทิล เอสเทอร์ (caffeic acid phenethyl ester) > โรสมารินิก แอซิด

(rosmarinic acid) > เฟอรูลิก แอซิด > คลอโรจีนิก แอซิด > แอลฟา-โทโคฟีรอล (∝-tocopherol) > เฟอรูลิก แอซิด ฟีเนธทิล เอสเทอร์ (ferulic acid phenethyl ester)

(2) ประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant efficientcy) ของโมโนฟีนอล (monophenol) จะเพิ่มขึ้นถ้ามีหมู่เมธทอกซิล (methoxyl group) แทนที่ตรงตำแหน่ง ออโธ (ortho) 1 หรือ 2 ตำแหน่งเช่น ซินนะพิก แอซิด มีประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระมากกว่า เฟอรูลิก แอซิด และ เฟอรูลิก แอซิด มีประสิทธิภาพมากกว่า พี-คูมาริก แอซิด (ดูตารางที่ 2.10 และ 2.11) ในกรณีของอนุพันธ์ของไฮดรอกซีเบนโซอิก แอซิด พบว่า ไซริงจิก แอซิด (syringic acid) มีประสิทธิภาพมากกว่า วะนิลลิก แอซิด (vanillic acid) และ พี-ไฮดรอกซีเบนโซอิก แอซิด (p-hydroxybenzoic acid) ตามลำดับ เนื่องจากการแทนที่ตำแหน่ง ออโธ ด้วย หมู่เมธทอกซี จะเพิ่มความเสถียรให้กับ แอริลลอกซิล แรดดิคอล (aryloxyl radical) อย่างไรก็ตามการแทนที่ด้วยหมู่เมธทอกซิล มีประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่าการมีหมู่ไฮดรอกซิล 2 หมู่ เช่น เฟอรูลิก แอซิด และ วะนิลลิก แอซิด มีประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่า แคฟเฟอิก แอซิด และ โพรโทคาทาชูอิก แอซิด ที่มีหมู่ไฮดรอกซิล 2 หมู่

(3) การเกิดเอสเทอร์ (esterification) และ การรวมตัวกัน (condensation) ของสารประกอบฟีนอลิก อาจทำให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น ลดลง หรือคงที่ได้ เช่น

(3.1) แกลลิค แอซิด เมื่อถูก เอสเทอร์ริไฟต์ (esterified) ด้วย แอลคิล (alkyl) ได้เป็น โพรพิล แกลเลต จะพบว่าทั้ง แกลลิค แอซิด และ โพรพิล แกลเลต มีประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระไม่แตกต่างกัน

(3.2) แคฟเฟอิก แอซิด เมื่อถูกเอสเทอร์ริไฟต์ด้วยควินิก แอซิด ได้เป็นคลอโรจีนิก แอซิด ทำให้ประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระลดลง

(3.3) การรวมตัวกันของสารประกอบฟีนอลิกทำให้ประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระดีขึ้น เช่น เคอร์คูมิน (curcumin) เป็นผลจากการรวมตัวกันระหว่างเฟอรูลิก แอซิด 2 โมเลกุล ทำให้ประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของเคอร์คูมินเพิ่มขึ้น

(4) จากการเปรียบเทียบการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระระหว่างซินนะมิก แอซิด และ เบนโซอิก แอซิด พบว่า การมีกลุ่ม CH=CH—COOH ในโครงสร้างของซินนะมิก แอซิด มีประสิทธิภาพมากกว่าการมีกลุ่ม COOH ในโครงสร้างของเบนโซอิก แอซิด เช่น แคฟเฟอิก แอซิด, ซินนะพิก แอซิด, เฟอรูลิก แอซิด และ พี-คูมาริก แอซิด จะมีประสิทธิภาพมากกว่า โพรโทคาทาชูอิก แอซิด, ไซริงจิก, วะนิลลิก และ พี-ไฮดรอกซีเบนโซอิก แอซิด อาจเป็นไปได้ว่า C=C มีส่วนร่วมทำให้อนุมูลอิสระเสถียรโดยการเกิดเรโซแนน ภาพที่ 2.8 แสดงโครงสร้างอนุพันธ์ของซินนะมิก แอซิดและเบนโซอิก แอซิด

สรุปได้ว่าความสัมพันธ์ระหว่างประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระและโครงสร้างโมเลกุลของสารประกอบฟีนอลิกขึ้นอยู่กับจำนวนหมู่ไฮดรอกซิลและความสามารถในการทำให้อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นอยู่ในรูปที่เสถียรได้โดยการเกิดเป็น อิเลคตรอน ดีโลเคิลไรส์เซชัน (electron delocalization) เพิ่มขึ้น

ตารางที่ 2.10 ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของไฮดรอกซีซินนะมิก แอซิด ไฮดรอกซีเบนโซอิก แอซิดและสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์บางตัว

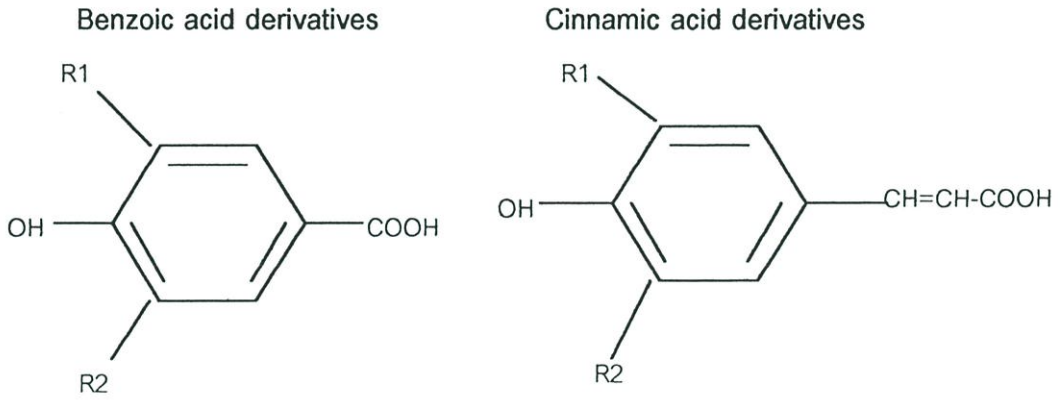
Phenols	Number of phenolic OH	EQ (ppm)	Molecular weight	EQ (10^{-5} mol/litre)
Rosmarinic acid	2 × 2	13	360	3.6
Propyl gallate	3	9	212	4.2
Caffeic acid	2	8	180	4.4
Gallic acid	3	8	170	4.7
Pyrocatechol	2	6	110	5.5
BHA	1	12	180	6.6
Gentisic acid	2	10.5	154	6.8
Protocatechuic acid	2	11.5	154	7.5
Chlorogenic acid	2	28	354	7.9
Curcumin	2 × 1	34	368	9.2
BHT	1	28	220	13
Sinapic acid	1	47	224	21
Ferulic acid	1	72	194	37
Syringic acid	1	120	198	61
p-coumaric acid	1	126	164	77
Vanillic acid	1	> 300	168	> 100
p-Hydroxybenzoic acid	1	> 300	138	> 100
Salicylic acid	1	> 300	138	> 100

ที่มา : Cuvelier และคณะ (1992)

ตารางที่ 2.11 หมู่แทนที่ต่างๆ ของไฮดรอกซีซินนะมิก แอซิด และ ไฮดรอกซีเบนโซอิก แอซิด

Substitution position (relative to the acid function)	Hydroxybenzoic acids	Hydroxycinamic acids
1 OH (para)	*p*-Hydroxybenzoic	*p*-coumaric
1 OH (ortho)	Salicylic	
1 OH (para) OCH_3(meta)	Vanillic	Ferulic
1 OH (para) 2 OCH_3 (meta)	Syringic	Sinapic
2 OH (para-meta)	Protocatechuic	Caffeic
2 OH (ortho-meta)	Gentisic	
3 OH (para-meta)	Gallic	

ที่มา : Cuvelier และคณะ (1992)



	R 1	R 2	
p-Hydroxybenzoic	H	H	p-coumaric
Protocatechuic	H	OH	Caffeic
Vanillic	CH3O	H	Ferulic
Syringic	CH3O	CH3O	Sinapic

ภาพที่ 2.8 สูตรโครงสร้างอนุพันธ์ของซินนะมิก แอซิด และ เบนโซอิก แอซิด

ที่มา : Natella และคณะ (1999)

2.7 วัตถุกันเสีย (Preservatives)

วัตถุกันเสีย (Preservatives) เป็นสารประกอบเคมีหรือของผสมของสารประกอบเคมีที่ใช้ช่วยในการถนอมหรือยืดอายุการเก็บของอาหารหรืออีกนัยหนึ่งคือสารที่ช่วยในการยับยั้งการเจริญเติบโตหรือทำลายจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ที่เป็นสาเหตุให้อาหารเกิดการเน่าเสียผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มส่วนใหญ่จะมีความเป็นกรด-ด่างค่อนข้างต่ำหรือมีองค์ประกอบของกรดอยู่สูง ฉะนั้นวัตถุกันเสียที่เหมาะสมสำหรับผลิตภัณฑ์เหล่านี้ จึงเป็นวัตถุกันเสียประเภทที่เป็นกรดต่างๆ เช่น เบนโซเอท ซอร์เบต ซัลไฟต์และพาราเบนส์ เป็นต้น เพราะเป็นวัตถุกันเสียที่จะมีประสิทธิภาพสูงในรูปที่ไม่แตกตัว สำหรับการใช้อาจใช้เพียงชนิดเดียวหรือใช้มากกว่า 1 ชนิดผสมกันก็ได้ขึ้นกับชนิดของผลิตภัณฑ์ แต่ปริมาณจะต้องไม่เกินปริมาณที่กระทรวงสาธารณสุขกำหนด

2.7.1 ซัลเฟอร์ไดออกไซด์และเกลือซัลไฟต์ (Sulfur dioxide and sulfite salts)

2.7.1.1 คุณสมบัติทางกายภาพ

- ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (sulfur dioxide, SO_2) เป็นกาซ ไม่มีสี ไม่ติดไฟ มีกลิ่นแรงแสบจมูก ทำให้สำลักได้ เป็นของเหลวที่อุณหภูมิ –10 องศาเซลเซียส (+14 องศาฟาเรนไฮต์) เตรียมได้จากการเผาซัลเฟอร์ในอากาศหรือปลดปล่อยออกจากคาร์บอนไดออกไซด์เหลว

- เกลือซัลไฟต์ (sulfite salts) เช่น

โซเดียมซัลไฟต์ (sodium sulphite, Na_2SO_3) เป็นผงสีขาวจนถึงสีเหลืองหรือสีชมพูเล็กน้อย ไม่มีกลิ่นหรือเกือบจะไม่มีกลิ่น 1 กรัมละลายน้ำได้ 4 มิลลิลิตร ไม่ละลายในแอลกอฮอล์

โพแทสเซียมซัลไฟต์ (potassium sulphite, K_2SO_3) เป็นเม็ดเล็กๆ สีขาว ไม่มีกลิ่น 1 กรัมละลายน้ำได้ 3.5 มิลลิลิตร

โซเดียมไบซัลไฟต์ (sodium bisulphite, $NaHSO_3$) เป็นผลึกผงสีขาว มีกลิ่นของซัลเฟอร์ไดออกไซด์ 1 กรัมละลายได้ในน้ำเย็น 3.5 มิลลิลิตร, น้ำเดือด 2 มิลลิลิตร และประมาณ 70 มิลลิลิตรในแอลกอฮอล์

โพแทสเซียมไบซัลไฟต์ (potassium bisulphite, $KHSO_3$) เป็นผลึกผงสีขาว มีกลิ่นของซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ละลายได้ดีในน้ำ ไม่ละลายในแอลกอฮอล์

โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์(sodium metabisulphite, $Na_2S_2O_5$) เป็นผลึกหรือเป็นผงสีขาว มีกลิ่นของซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ละลายได้ดีในน้ำ ละลายได้เล็กน้อยในแอลกอฮอล์

โพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ (potassium metabisulphite, $K_2S_2O_5$) เป็นผลึกหรือเป็นผงสีขาว มีกลิ่นของซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ละลายได้ดีในน้ำ เล็กน้อยในแอลกอฮอล์

ข้อดีของเกลือซัลไฟต์คือ เก็บรักษาง่าย ปัญหาการจัดการน้อยกว่าในรูปของกาซและของเหลว ละลายน้ำและแตกตัวง่าย เกลือซัลไฟต์เมื่อสัมผัสกับอากาศจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันทำให้ปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์น้อยลง โดยเฉพาะในสภาวะที่มีความชื้น ความเสถียรน้อยลงตามลำดับดังนี้คือ ซัลไฟต์ (sulfite) > ไบซัลไฟต์ (bisulfite) > เมตาไบซัลไฟต์ (metabisulfite) (Mason, 1928 and Philips, 1928) ตารางที่ 2.12 แสดงความสามารถในการละลายน้ำและปริมาณของซัลเฟอร์ไดออกไซด์ในเกลือซัลไฟต์บางชนิด

ตารางที่ 2.12 ความสามารถในการละลายน้ำและปริมาณของซัลเฟอร์ไดออกไซด์ในเกลือซัลไฟต์บางชนิด

Compound	Formula	Theoretical yield (%)	Solubility (H_2O) (g/liter)
Sulfur dioxide	SO_2	100	110 (20 อซ.)
Potassium sulfite	K_2SO_3	33	250 (20อซ.)
Sodium sulfite	Na_2SO_3	50.8	280 (40อซ.)
Sodium sulfite heptahydrate	$Na_2SO_3 \cdot 7H_2O$	25.4	240 (25อซ.)
Potassium bisulfite	$KHSO_3$	53.5	1000 (20อซ.)
Sodium bisulfite	$NaHSO_3$	61.6	3000 (20อซ.)
Potassium metabisulfite	$K_2S_2O_5$	57.6	250 (0 อซ.)
Sodium metabisulfite	$Na_2S_2O_5$	67.4	540 (20 อซ.)

ที่มา : Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additive (1978)

2.7.1.2 คุณสมบัติทางเคมี

เกลือซัลไฟต์และซัลเฟอร์ไดออกไซด์เมื่อละลายน้ำจะได้กรดซัลฟูรัส (H_2SO_3) เกิดขึ้น เมื่อพิจารณาสมดุลของปฏิกิริยาเคมีของซัลไฟต์ในอาหาร เป็นดังสมการนี้

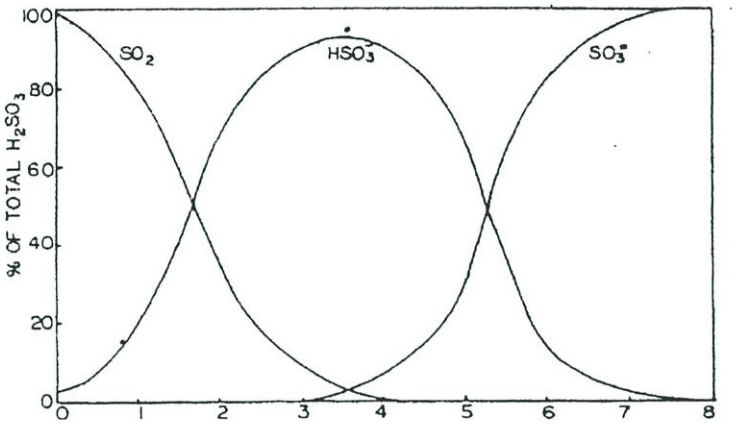
$$SO_2 + H_2O \rightleftharpoons HSO_3^- + H^+ \quad pK_1 = 1.89$$

$$HSO_3^- \rightleftharpoons SO_3^{2-} + H^+ \quad pK_2 = 7.18$$

$$2\,HSO_3^- \rightleftharpoons S_2O_5^{2-} + H_2O \quad K = 0.05\ L/mol$$

จากสมการข้างต้นรูปแบบทางเคมีของสารประกอบซัลไฟต์และค่า pK สามารถเปลี่ยนแปลงได้ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบทางเคมีในอาหาร เช่น

- ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของอาหาร ต่ำกว่า 2 สารประกอบซัลไฟต์ที่พบอยู่ในรูปกรดซัลฟูรัส (H_2SO_3) และ ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (SO_2) อยู่ในช่วง 2-5 พบในรูปของไบซัลไฟต์อิออน (HSO_3^-) และมากกว่า 5 พบในรูปซัลไฟต์อิออน (SO_3^{2-}) ภาพที่ 2.9 แสดงรูปแบบทางเคมีของซัลไฟต์ที่เกิดจากการแตกตัวของกรดซัลฟูรัสที่ความเป็นกรด-ด่างต่างๆ จะเห็นว่ามีสัดส่วนแตกต่างกันไปในผลิตภัณฑ์แต่ละชนิด



ภาพที่ 2.9 รูปแบบทางเคมีของซัลไฟต์ที่เกิดจากการแตกตัวของกรดซัลฟูรัสที่ความเป็นกรด-ด่างต่างๆ
ที่มา : Ough (1993)

- เกลืออิออนิก การเติมเกลือลงในสารละลายมีแนวโน้มทำให้ค่า pK_1 และ pK_2 ลดลง

- นอนอิเล็กโทรไลท์ (nonelectrolytes) เช่น เอธานอล มีผลทำให้ค่าpKเพิ่มขึ้น

- น้ำตาล การเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสมีผลต่อค่า pK เพียงเล็กน้อย

- ความเข้มเข้นของสารประกอบซัลไฟต์ เช่น ความเข้มข้นของสารประกอบซัลไฟต์เพิ่มขึ้นจาก 0.1เป็น1.0 โมลาร์ ทำให้ความเข้มข้นของสารละลายไบซัลไฟต์ (HSO_3^-) เพิ่มขึ้นจาก 1 เป็น 14 โมลเปอร์เซ็นต์ และแนวโน้มในการเพิ่มขึ้นของเมตาไบซัลไฟต์อิออน ($S_2O_5^{2-}$) จะเพิ่มขึ้น นอกจากนั้นการเพิ่มความเข้มข้นนำไปสู่การเกิดอินเตอร์แอกชันระหว่างอิออนประจุลบและอิออนประจุบวก (anion-cation interactions) หรือ ได้เป็นไอออนแพร์ (ion-pair) ดังเช่น

$$Na^+ + SO_3^{2-} \rightleftharpoons NaSO_3^-$$

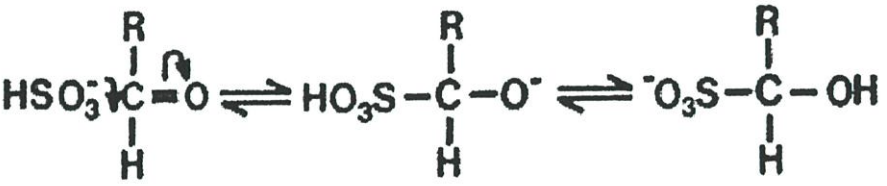
$$Na^+ + S_2O_5^{2-} \rightleftharpoons NaS_2O_5^-$$

ปฏิกิริยานี้มีแนวโน้มที่จะลดแอกติวิตีของสารประกอบซัลไฟต์เนื่องจากเป็นการรวมตัวกันได้เป็นไอออนที่เสถียร นอกจากนั้นความเสถียรของไอออนแพร์นี้จะเพิ่มขึ้นเมื่อเติม

สารละลายนอนเอเควียส (non-aqueous) และ สารดูดความชื้น (humectant) ลงในสารละลายซัลไฟต์

2.7.1.3 ความสามารถในการควบคุมการเกิดสีน้ำตาล

เนื่องจากสารประกอบซัลไฟต์และไฮโดรเจนซัลไฟต์ไอออนเป็นสารประกอบที่มีประจุลบหนาแน่น (good nucleophiles) ดังนั้นจึงเข้าทำปฏิกิริยาตรงตำแหน่งที่มีประจุบวกหรือมีส่วนร่วมในการเข้าแทนที่ในสารประกอบตรงตำแหน่งที่มีประจุลบหนาแน่นด้วยเช่นกัน (nucleophilic displacement) ตัวอย่างเช่น การเข้าแทนที่ของไบซัลไฟต์ (HSO_3^-) หรือ ซัลไฟต์(SO_3^{2-})ที่หมู่คาร์บอนิลของแอลดีไฮด์และคีโตนได้เป็นสารประกอบไฮดรอกซีซัลโฟเนต (hydroxysulphonate) ที่ไม่สามารถทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโน กลไกในการเข้าทำปฏิกิริยาแสดงดังภาพที่ 2.10

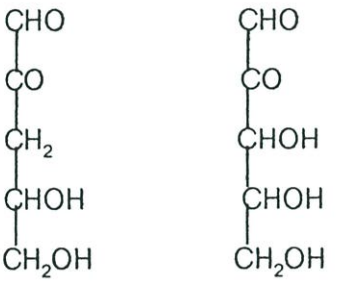


ภาพที่ 2.10 การเข้าแทนที่ของไบซัลไฟต์ที่หมู่คาร์บอนิลได้เป็นสารประกอบไฮดรอกซีซัลโฟเนต
ที่มา : Wedzicha (1981)

อย่างไรก็ตามไม่ใช่ไบซัลไฟต์จะทำปฏิกิริยากับคีโตนทุกตัวและจะเข้าแทนที่ตรงหมู่อัลดีไฮด์ของน้ำตาลอย่างช้าๆ ในขอบเขตที่จำกัดและได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความเสถียรต่ำ (Gehman and Osman, 1954; Joslyn and Braverman, 1954) โดยสามารถเรียงลำดับความเร็วในการเข้าแทนที่ของไบซัลไฟต์กับน้ำตาลได้ดังนี้ กาแลคโตส, แมนโนส, อะราบิโนส > มอลโตส, แลคโตส, กลูโคส > > ราฟฟิโนส และไม่ทำปฏิกิริยากับฟรุกโตสและซูโครส (Ingram and Vas, 1950) ความเป็นกรด-ด่างมีผลต่อความเสถียรของผลิตภัณฑ์โดยที่ความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 2-6 จะเสถียรที่สุด (สำหรับกลูโคส ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส) ส่วนค่าความเป็นกรด-ด่างนอกจากนี้จะไม่เสถียรและสลายตัวไป อย่างไรก็ตามอัตราการสลายตัวจะช้าในสารละลายกรด เช่นที่ ความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 1 ครึ่งชีวิตของการสลายตัวของกลูโคสไฮดรอกซีซัลโฟเนต เท่ากับ 31 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส และจากการเติมซัลเฟอร์ไดออกไซด์ 400 ppm ลงในไวน์ พบ ไฮดรอกซีซัลโฟเนตร้อยละ75เนื่องจากซัลไฟต์มีความสามารถในการทำปฏิกิริยากับกลูโคสตรง

ตำแหน่งคาร์บอนิลต่ำจึงมีผลทำให้ที่จุดสมดุลมีกลูโคสหรือน้ำตาลรีดิวซ์อิสระที่สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับเอมีนเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลแบบไม่ใช่เอนไซม์ได้ (Wedzicha, 1981)

นอกจากนี้ยังพบว่าสารประกอบซัลไฟต์สามารถกำจัดผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการสลายตัวของกลูโคสในขั้นตอนของ Amadori rearrangement คือ 2-ออกโซ-4,5,6-ไตรไฮดรอกซีเฮกซานอล (2-oxo-4,5,6-trihydroxyhexanal) และ ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการสลายตัวของวิตามินซีในที่ไม่มีออกซิเจนคือ 4,5-ไดไฮดรอกซี-2-ออกโซเพนทานอล (4,5-dihydroxy-2-oxopentanal) ได้เป็นไฮดรอกซีซัลโฟเนตที่ค่อนข้างเสถียร เช่น สารประกอบ 2-ออกโซ-3,4,5-ไตรไฮดรอกซีเพนทานอล (2-oxy-3,4,5-trihydroxypentanol) ซึ่งเป็นสารอินเตอร์มิเดียทจากปฏิกิริยาเมลลาร์ดและการสลายตัวของกรดแอสกอร์บิกทั้งที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน มีค่าคงที่การสลายตัวของไฮดรอกซีซัลโฟเนตเท่ากับ 1.4×10^{-3} M ที่ความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 3-4 และถึงแม้ว่าผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการสลายตัวของวิตามินซี (ภาพที่ 2.11) จะประกอบด้วยหมู่คาร์บอนิล 2 หมู่ แต่จะพบว่ามีแค่สารประกอบซัลไฟต์เพียง 1 โมเลกุลที่ทำปฏิกิริยากับหมู่คาร์บอนิล (Wedzicha, 1981)



ภาพที่ 2.11 รีแอกทีฟอินเตอร์มิเดียทที่เกิดจากการสลายตัวของวิตามินซี (1) 4,5-dihydroxy-2-oxopentanal formed ในที่ไม่มีอากาศ (2) 2-oxo-3,4,5-trihydroxypentanal formed ในที่มีอากาศ

ที่มา : Wedzicha (1981)

2.7.2 กรดซอร์บิกและเกลือซอร์เบต (Sorbic acid and its salts)

2.7.2.1 คุณสมบัติทางกายภาพ

- กรดซอร์บิก (sorbic acid, CH_3-CH=CH-CH=CH-COOH) มีชื่อทางเคมีว่า 2,4-hexadienoic acid เป็นกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัว สายโซ่ตรง ลักษณะเป็นผงหรือเม็ดสีขาวกลิ่นฉุน มีรสเปรี้ยว ละลายได้ในน้ำ น้ำมัน นอกจากนั้นยังสามารถละลายได้ดีในแอลกอฮอล์โดยเฉพาะเอทธานอลและในแกลเซียอะซีติกแอซิด ความสามารถในการละลายน้ำเท่ากับ 0.15

กรัม/100 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส การละลายน้ำจะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น หรือความเป็นกรด-ด่างเพิ่มขึ้น หรือ เพิ่มขึ้นทั้งอุณหภูมิและความเป็นกรด-ด่าง

- เกลือซอร์เบต เช่น

โพแทสเซียมซอร์เบต (potassium sorbate,CH3-CH=CH-CH=CH-COOK) มีชื่อทางเคมีว่า 2,4-hexadienoic acid potassium salt เป็นผงหรือเม็ดสีขาว ละลายได้ดีในน้ำมากกว่าร้อยละ 50 ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ละลายได้เล็กน้อยในแอลกอฮอล์ และน้ำมันบางชนิดมีประสิทธิภาพในการต่อต้านจุลินทรีย์ร้อยละ 74 มีความเสถียรและผลิตได้ง่าย จึงมักนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารหลายชนิด

โซเดียมซอร์เบต (sodium sorbate, CH_3-CH=CH-CH=CH-COONa) มีชื่อทางเคมีว่า 2,4-hexadienoic acid sodium salt เป็นผงสีขาว ละลายน้ำได้ร้อยละ 32

2.7.2.2 คุณสมบัติทางเคมี

สารละลายซอร์เบตไม่เสถียรและสลายตัวได้โดยปฏิกิริยาออกซิเดชัน ทำให้เกิดสารประกอบคาร์บอนิลมากมายเช่น crotonaldehyde, malonaldehyde, acetaldehyde และ β–carboxyl aetolein (Arya and Thakur, 1988) อัตราการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในสารละลายขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ เช่น อุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง กรดอะมิโน เกลือ โลหะ น้ำตาล กลีเซอรอล กรดอะซีติก และ เอทธิลแอลกอฮอล์ ดังนี้

- อุณหภูมิ อัตราการสลายตัวของกรดซอร์บิกขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ โดยที่อุณหภูมิสูงขึ้นมีผลทำให้ กรดซอร์บิกสลายตัวเพิ่มมากขึ้น ดังตารางที่ 2.13

- ความเป็นกรด-ด่าง อัตราการสลายตัวของกรดซอร์บิกเพิ่มมากขึ้นเมื่อความเป็นกรด-ด่างลดลงดังตารางที่ 2.13 เนื่องจาก pKa ของกรดซอร์บิกเท่ากับ 4.75 ดังนั้นโมเลกุลของกรดซอร์บิกที่อยู่ในรูปไม่แตกตัวจะไวต่อการสลายตัวเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน ส่วนกรดซอร์บิกที่แตกตัวจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเพียงเล็กน้อย

- กรดอะมิโน กรดอะมิโนส่วนใหญ่จะสนับสนุนการสลายตัวของกรดซอร์บิก ยกเว้นฮีสทิดีนและอาร์จินีนช่วยทำให้กรดซอร์บิกมีความคงตัวมากขึ้น จากการทดลองเติมฮีสทิดีนและอาร์จินีนลงในสารละลายพบว่า ทำให้ความเป็นกรด-ด่างของสารละลายเพิ่มขึ้นจาก 3.3 เป็น 4.9 และการปรับความเป็นกรด-ด่างของสารละลายลงเป็น 3.3 จะไปทำลายเสถียรภาพของกรดซอร์บิกอีกครั้ง ดังตารางที่ 2.14

จากการทดลองทำให้ทราบได้ว่าหมู่คาร์บอกซิลของกรดซอร์บิกสร้างพันธะกับอะตอมของไนโตรเจนกรดอะมิโนที่มีคุณสมบัติเป็นเบสให้อยู่ในรูปของเกลือ (form a salt linkage with the basic nitrogen atom in the amino acid molecule) เป็นการช่วยสนันสนุนให้

กรดซอร์บิกเกิดการไอออไนส์และช่วยเพิ่มความคงตัว และเมื่อปรับความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 3.3 อีกครั้ง ไนโตรเจนอะตอมในโมเลกุลกรดอะมิโนอยู่ในรูปของโปรตอน (protonate form) ดังนั้น จึงไม่สามารถฟอร์มตัวให้อยู่ในรูปของเกลือของกรดซอร์บิกได้

ตารางที่ 2.13 ผลของอุณหภูมิและความเป็นกรด-ด่างต่ออัตราการสลายตัวของสารละลายกรดซอร์บิก

reaction condition		rate constant
temp , ^{o}C	pH	$(K_{obsd}) \times 10^{3}, h^{-1}$
30	3.3	1.15 ± 0.05
37	3.3	2.10 ± 0.06
46	3.3	2.95 ± 0.10
37	2.6	2.75 ± 0.09
37	3.6	0.70 ± 0.04
37	4.0	0.18± 0.02
37	4.6	0.12 ± 0.02
37	5.0	0.09 ± 0.02
37	7.0	0.03 ± 0.01

ที่มา : Arya (1980)

ตารางที่ 2.14 ผลของกรดอะมิโน (1×10^{-3} โมล/100มิลลิลิตร) ต่ออัตราการสลายตัวของสารละลายกรดซอร์บิก (aqueous solution) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

amino acid	pH	rate constant $(K_{obsd}) \times 10^3$, h^{-1}
SA	3.3	2.10 ± 0.06
SA plusGly	3.5	2.25 ± 0.08
SA plus Ala	3.4	2.78 ± 0.09
SA plus phe	3.5	2.42 ± 0.09
SA plus Ser	3.4	2.66 ± 0.10
SA plus His	4.9	1.20 ± 0.05
SA plus His[a]	3.3	2.40 ± 0.06
SA plus Arg	4.9	0.50 ± 0.05
SA plus Arg[a]	3.3	2.12 ± 0.08
SA plus Asp	3.3	2.48 ± 0.08
SA plus Cys-HCl	2.8	2.71 ±0.10
SA plus Lys-HCl	3.4	2.61 ± 0.12

[a] ปรับความเป็นกรด-ด่างของสารละลายปฏิกิริยาเท่ากับ 3.3 ด้วยไฮโดรเจนคลอไรด์

ที่มา : Arya (1980)

- เกลือ ผลของเกลือต่อความเสถียรของกรดซอร์บิกจากการทดลองพบว่า การเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ และ โปแตสเซียมคลอไรด์จะช่วยเพิ่มความเสถียรให้กับกรดซอร์บิก โดยความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นจะทำให้เสถียรภาพของกรดซอร์บิกเพิ่มขึ้น ดังตารางที่ 2.15 ในขณะที่ LiCl และ NH_4Cl ทำให้เสถียรภาพของกรดซอร์บิกในสารละลายลดลง ส่วนซัลเฟตของ Na^+ K^+, NH_4 ได้แก่ Na_2SO_4, K_2SO_4 และ $(NH_4)_2SO_4$ พบว่า ช่วยเพิ่มการสลายตัวของกรดซอร์บิก (pro-oxidant) ส่วนผลของฟอสเฟตอิออนพบว่า ค่อนข้างซับซ้อนคือ การเติม Na_2HPO_4 และ Na_3PO_4 ทำให้ความเป็นกรด-ด่างสูงขึ้นจึงช่วยเพิ่มความเสถียรให้กับกรดซอร์บิก และเมื่อปรับความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 3.3 หรือเมื่อเปรียบเทียบอัตราการสลายตัวที่ความเป็นกรด-ด่างเท่ากัน ที่ตาราง 2.13 และ 2.15 ฟอสเฟตอิออนมีผลต่อการสลายตัวของกรดซอร์บิกโดยทำหน้าที่เป็นโปรออกซิแดนท์ ซึ่งเป็นที่น่าสนใจว่ากรดซิตริกและกรดฟอสฟอริกเป็นตัวเพิ่มความเสถียรให้กับไขมันโดยรวมตัวกับโลหะไอออน ป้องกันการเกิดออโตออกซิเดชัน (autoxidation) ของกรดไขมันไม่อิ่มตัว

ตารางที่ 2.15 ผลของเกลือต่อการสลายตัวของสารละลายกรดซอร์บิก (aqueous solution) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

Salt	pH	rate constant $(K_{obsd}) \times 10^3$, h^{-1}
SA	3.3	2.10 ± 0.06
SA plus NaCl (0.1%)	3.3	1.24 ± 0.03
SA plus NaCl (0.5%)	3.3	0.61 ± 0.03
SA plus NaCl (2%)	3.3	0.14 ± 0.02
SA plus KCl (2%)	3.3	0.45 ± 0.04
SA plus LiCl (2%)	3.3	3.33 ± 0.10
SA plus Na_2SO_4 (2%)	3.4	4.26 ± 0.10
SA plus K_2SO_4 (2%)	3.4	4.26 ± 0.11
SA plus $(NH_4)_2$ SO_4(2%)	3.5	4.35 ± 0.10
SA plus Na_2HPO_4 (2%)	4.0	1.77 ± 0.06
SA plus Na_3 PO_4 (2%)	7.5	0.04 ± 0.01

ที่มา : Arya (1980)

- โลหะ เช่น Cu^{2+}, Fe^{2+}, Mn^{2+} ช่วยในการเพิ่มความเสถียรให้กับกรดซอร์บิก Ni^{2+} เป็นตัวเร่งให้กรดซอร์บิกสลายตัวเล็กน้อย Zn^{2+} ไม่มีผลต่อความเสถียรของสารละลาย กรดซอร์บิก

- น้ำตาลซูโครส, กลีเซอรอล, กรดอะเซติก และเอธิลแอลกอฮอล์ต่อการสลายตัวของกรดซอร์บิก แสดงดังตารางที่ 2.16 ซูโครสที่ความเข้มข้นน้อยกว่าร้อยละ 5 ไม่มีอิทธิพลต่อการสลายตัวของกรดซอร์บิกอย่างมีนัยสำคัญ แต่ที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 น้ำตาลซูโครสจะลดอัตราการสลายตัวของกรดซอร์บิก ส่วนกลีเซอรอลและกรดอะซีติกเป็นโพรออกซิแดนท์กระตุ้นให้กรดซอร์บิกสลายตัวในขณะที่เอธิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 25 ไม่มีผลต่อการเสื่อมสลายของกรดซอร์บิกเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน

ตารางที่ 2.16 ผลของซูโครส, กลีเซอรอล, อะเซติก แอซิด และ แอลกอฮอล์ ต่ออัตราการสลายตัวของกรดซอร์บิก ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

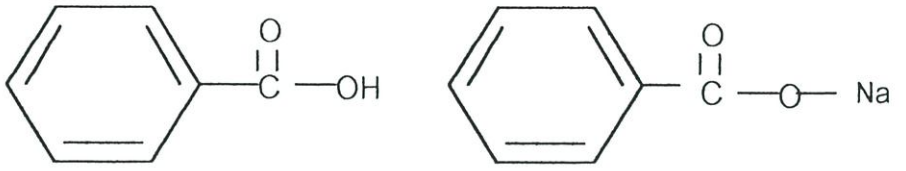
additive	rate constant (K_{obsd}) $\times 10^3$, h^{-1}
SA	2.11 ± 0.06
SA plus sucrose (1%)	2.11 ± 0.06
SA plus sucrose (5%)	2.08 ± 0.05
SA plus sucrose (10%)	1.78 ± 0.04
SA plus acetic acid (5%)	2.88 ± 0.08
SA plus glycerol (1%)	2.18 ± 0.08
SA plus glycerol (5%)	2.20 ± 0.06
SA plus ethyl alcohol (10%)	2.10 ± 0.05
SA plus ethyl alcohol (25%)	2.09 ± 0.04

ที่มา : Arya (1980)

2.7.3 กรดเบนโซอิก และ โซเดียมเบนโซเอต (Benzoic acid and sodium benzoate)

กรดเบนโซอิก (benzoic acid, C_6H_5COOH) มีชื่อทางเคมีว่า phenylformic acid หรือ benzenecarboxylic acid มีลักษณะคล้ายเข็มหรือเป็นแผ่น ไม่มีสีหรือมีสีขาว ละลายน้ำได้เล็กน้อย การละลายเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นคือ 0.18, 0.27 แล 2.2 กรัม/100 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 4, 18, 75 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ในธรรมชาติยังพบกรดเบนโซอิกในผลไม้บางชนิด เช่น เครนเบอร์รี่, พรุน, กรีนเกจ พลัม (greengage plum), พลัม (cinnamon) และ ripe cloves สูตรโครงสร้างของกรดเบนโซอิกและโซเดียมเบนโซเอต แสดงดังภาพที่ 2.12

โซเดียมเบนโซเอต (sodium benzoate, C_6H_5COONa) เป็นเม็ดเล็กๆหรือเป็นผงผลึกหรือเป็นแผ่นสีขาว ไม่มีกลิ่นหรือเกือบไม่มีกลิ่น ละลายในน้ำได้ดีกว่ากรดเบนโซอิก การละลายเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นคือ 62.8, 66.0 และ 74.2 กรัม/100 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 0, 20, 100 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ละลายได้บ้างในแอลกอฮอล์คือ 1.3 กรัม/100 มิลลิลิตร



(1) (2)

ภาพที่ 2.12 สูตรโครงสร้างของกรดเบนโซอิก (1) และโซเดียมเบนโซเอต (2)
ที่มา : Chipley (1993)

เนื่องจากในรูปของกรดอิสระความสามารถในการละลายน้ำต่ำ โดยปกติกรดเบนโซอิกจะอยู่ในรูปของเกลือโซเดียมและเมื่อนำไปใช้งานโดยการละลายน้ำเกลือเบนโซเอตจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปแอกทีฟฟอร์มคือรูปของกรดซึ่งมีประสิทธิภาพในการผ่านเข้าสู่ผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ได้ดีกว่า ค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมในการยับยั้งจุลินทรีย์ของกรดเบนโซอิกอยู่ในช่วง 2.5-4.0 เนื่องจากค่าความเป็นกรด-ด่างที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ต่ำกว่ากรดซอร์บิกหรือกรดโพรไพโอนิก ดังนั้นจึงมีการนำเอาเกลือเบนโซเอตมาใช้ในการถนอมอาหารที่เป็นกรดมากกว่าเช่นเครื่องดื่มที่มีการอัดกาซคาร์บอนไดออกไซด์ น้ำผลไม้ แตงกวาดอง ผักกาดดอง เป็นต้น

ตารางที่ 2.17 ผลของความเป็นกรด-ด่างต่อการแตกตัวของกรดเบนโซอิก

pH	undissociated acid (%)
3	93.5
4	59.3
5	12.8
6	1.44
7	0.144
8	4.19

ที่มา : Baird-Parker (1980)

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 วัตถุดิบและอุปกรณ์ในการผลิต

3.1.1 ส้มเขียวหวานรังสิตเบอร์ 3

3.1.2 ขวดแก้วสีชาขนาด 70 มิลลิลิตร

3.1.3 หม้อสแตนเลส

3.1.4 ทัพพี

3.1.5 น้ำแข็ง

3.1.6 ผ้าขาวบาง

3.1.7 บีกเกอร์พร้อมฝาปิด

3.1.8 ที่คั้นน้ำผลไม้ไฟฟ้า

3.1.9 เทอร์โมมิเตอร์

3.1.10 เตาไฟฟ้า

3.2 อุปกรณ์ในการวิเคราะห์

3.2.1 เครื่องชั่งชนิดละเอียด	Mettler AE 3000 , Switzerland
3.2.2 เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์	Spectrophotometer 22
3.2.3 รีเฟลกโตมิเตอร์	Atago N 1 Brix 0-32% , Japan
3.2.4 เครื่องพีเอชมิเตอร์	CG 842 Schott , Germany
3.2.5 เครื่องระเหยสูญญากาศ	Rotavapor BÜCHI R-114, Switzerland
3.2.6 อ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิ	BÜCHI B-480 , Switzerland
3.2.7 เครื่องทำความเย็น	
3.2.8 เทอร์โมมิเตอร์	
3.2.9 เตาไฟฟ้า	
3.2.10 เครื่องปั่น	
3.2.11 นาฬิกาจับเวลา	
3.2.12 เครื่องหมุนเหวี่ยง	

3.2.13 วอร์เทก มิกเซอร์ (vortex mixer)

3.2.14 อุปกรณ์เครื่องแก้วและน้ำกลั่น

3.3 สารเคมีในการวิเคราะห์

3.3.1 2,6-ไดคลอโรฟีนอลอินโดฟีนอล (2,6-dichlorophenolindophenol)

3.3.2 เมตาฟอสฟอริกแอซิด (Metaphosphoric-acid)

3.3.3 แกลเซียอะซิติกแอซิด (Glacial acetic acid)

3.3.4 แอล-แอสกอร์บิกแอซิด (L-ascorbic acid)

3.3.5 เอทธานอล 95%(Ethanol 95%)

3.3.6 กรดแกลลิค (Gallic acid)

3.3.7 Folin-Ciocalteu reagent

3.3.8 โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3)

3.3.9 ไดแอมโมเนียม ไฮโดรเจน ฟอสเฟต เฮปตะไฮเดรต ($Na_2HPO_4 \cdot 7\ H_2O$)

3.3.10แอมโมเนียม ไดไฮโดรเจน ฟอสเฟต โมโนไฮเดรต ($NaH_2PO_4 \cdot\ H_2O$)

3.3.11 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)

3.3.12ไมโอโกลบิน (Myoglobin)

3.3.13 โพแทสเซียม เฟอริไซยาไนด์ [$K_3Fe(CN)_6$]

3.3.14 ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2)

3.3.15 โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)

3.3.16 ฟีนอฟทาลีน 1%

3.3.17 2,2-azino-bis (3-ethylbenzthiazolinesulfonate) (ABTS)

3.3.18 สารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 4 , 7

3.3.19 โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ (Sodium metabisulfite)

3.3.20 โซเดียมเบนโซเอต (Sodium benzoate)

3.3.21 โพแทสเซียมซอร์เบต (Potassium sorbate)

3.4 สถานที่ดำเนินงาน

ภาควิชาอุตสาหกรรม โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.5 วิธีการดำเนินงาน

3.5.1 การศึกษาผลของอุณหภูมิ/เวลาในการพาสเจอร์ไรส์ต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในน้ำส้มเขียวหวาน

อุณหภูมิที่ทำการศึกษาแบ่งออกเป็น 2 ระดับ คือ

- อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที (mild pasteurization)
- อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที (full pasteurization)

3.5.1.1 การเตรียมวัตถุดิบ

- ส้มเขียวหวานรังสิตเบอร์ 3 ซื้อจากตลาดสี่มุมเมือง จ. ปทุมธานี
- คัดเลือกผลส้มที่ไม่มีตำหนิหรือรอยช้ำบริเวณผิว
- ล้างน้ำให้สะอาดด้วยน้ำยาล้างผลไม้ (ยี่ห้อ St.Andrews)
- ปล่อยให้แห้งก่อนนำมาคั้นด้วยเครื่องคั้นน้ำผลไม้ไฟฟ้าอย่างรวดเร็ว หลีกเลี่ยงในที่มีแสงแดด
- กรองด้วยผ้าขาวบางลงในหม้อสแตนเลสที่แช่อยู่ในน้ำแข็ง
- คนให้เข้ากัน แบ่งออกเป็น 3 ส่วน เท่าๆ กัน ได้แก่ น้ำส้มไม่พาสเจอร์ไรส์, น้ำส้มพาสเจอร์ไรส์ 70 องศาเซลเซียส 30 วินาที, น้ำส้มพาสเจอร์ไรส์ 95 องศาเซลเซียส 30 วินาที

3.5.1.2 การพาสเจอร์ไรส์น้ำส้ม

- นำน้ำส้มที่คั้นได้จากข้อ 3.5.1.1 มาบรรจุลงในบีกเกอร์แก้วที่มีฝาปิดเจาะรูเล็กน้อยสำหรับเสียบเทอร์โมมิเทอร์
- ตั้งลงในหม้อน้ำเดือดที่วางอยู่บนเตาไฟฟ้ากวนจนกระทั่งถึงอุณหภูมิและเวลาที่กำหนด โดยใช้เวลาจนถึงอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส (come up time) ประมาณ 10-12 นาที (น้ำส้ม 500 มิลลิลิตร) และใช้เวลาจนถึงอุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส (come up time) ประมาณ 12-15 นาที (น้ำส้ม 500 มิลลิลิตร)
- จากนั้นทำให้เย็นลงทันทีโดยแช่ลงในน้ำแข็งที่มีปริมาณมากพอสมควร
- กวนให้น้ำส้มเข้ากันจากนั้นบรรจุลงในขวดแก้วสีชาขนาด 70 มิลลิลิตร ให้เต็มขวด ปิดฝาให้แน่นเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อรอการวิเคราะห์

<u>หมายเหตุ</u> ขวดและฝาจะต้องทำการต้มในน้ำเดือดนาน 20 นาที ทิ้งให้แห้งก่อนนำมาบรรจุ

3.5.1.3 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีมีดังนี้

- ปริมาณวิตามินซี (L-ascorbic acid) (Jame,1995)
- ปริมาณกรดทั้งหมด (Total acidity) (A.O.A.C.1990)

- ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolics)
  (Gorinstein *et al.*,2001 และ Känkönen *et al.*,1999)
- ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant activity)
  (Landrault *et al.*, 2001 และ Kim *et al.*, 2002)
- ดัชนีการเกิดสีน้ำตาล (Browning index) (Meydav *et al.*,1977)
- ความเป็นกรด-ด่าง (pH) โดยใช้เครื่องพีเอชมิเตอร์
- ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (Total soluble solids) โดยใช้รีเฟรกโตมิเตอร์

วิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติในข้อ 3.5.1 ด้วยแผนการทดลองแบบ Complete Randomized Design (CRD) ทดลอง 3 ซ้ำ ใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS Version 9 เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของข้อมูลด้วยวิธี Duncan's new multiple range test เลือกอุณหภูมิที่ใช้ในการฆ่าเชื้อที่รักษาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้สูงสุด

3.5.2 การศึกษาผลของอุณหภูมิ/ระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์

อุณหภูมิที่ใช้แบ่งออกเป็น

- อุณหภูมิ -1 ± 0.5 องศาเซลเซียส
- อุณหภูมิ 4 ± 0.5 องศาเซลเซียส
- อุณหภูมิ 10 ± 0.5 องศาเซลเซียส

3.5.2.1 การเตรียมวัตถุดิบ เหมือนข้อ 3.5.1.1

3.5.2.2 การพาสเจอร์ไรส์น้ำส้ม เหมือนข้อ 3.5.1.2 โดยใช้เวลาจนถึงอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส (come up time) ประมาณ 20-22 นาที (น้ำส้ม 2000 มิลลิลิตร)

3.5.2.3 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมี เหมือนข้อ 3.5.1.3 โดยจะวัดทุกๆ 5 วัน นาน 20 วัน

วิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติในข้อ 3.5.2 ด้วยแผนการทดลองแบบ Complete Randomized Design (CRD) ทดลอง 3 ซ้ำ ใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS Version 9 เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของข้อมูลด้วยวิธี Duncan's new multiple range test

3.5.3 การศึกษาผลของสารถนอมอาหารต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์

สารถนอมอาหารที่ใช้แบ่งออกเป็น

- โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ 0.35 กรัม/1000 มิลลิลิตร
- โปแตสเซียมซอร์เบต 2.1 กรัม/1000 มิลลิลิตร
- โซเดียมเบนโซเอต 2.1 กรัม/1000 มิลลิลิตร

3.5.3.1 การเตรียมวัตถุดิบ เหมือนข้อ 3.5.1.1

3.5.3.2 การพาสเจอร์ไรส์น้ำส้ม เหมือนข้อ 3.5.1.2 โดยใช้เวลาจนถึงอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส (come up time) ประมาณ 20-22 นาที (น้ำส้ม 2000 มิลลิลิตร)

3.5.3.3 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมี เหมือนข้อ 3.5.1.3 โดยจะวัดทุกๆ 7 วัน นาน 21 วัน

วิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติในข้อ 3.5.3 ด้วยแผนการทดลองแบบ Complete Randomized Design (CRD) ทดลอง 3 ซ้ำ ใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS Version 9 เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของข้อมูลด้วยวิธี Duncan's new multiple range test

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 ผลของอุณหภูมิในการพาสเจอร์ไรส์/เวลาต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในน้ำส้มเขียวหวาน

4.1.1 องค์ประกอบทางเคมีในน้ำส้มเขียวหวานคั้นสด

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในน้ำส้มเขียวหวานคั้นสดที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ แสดงดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำส้มเขียวหวานคั้นสด

องค์ประกอบทางเคมี	ค่าที่วัดได้
ปริมาณกรดทั้งหมด	1.12 % เทียบเป็นกรดซิตริค
ความเป็นกรด-ด่าง	3.52
ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด	8.8%
^{o}Brix/Acid ratio	7.86

จากตารางที่ 4.1 พบว่า น้ำส้มมีปริมาณกรดทั้งหมดเท่ากับร้อยละ 1.12 เทียบเป็นกรดซิตริค ความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 3.52 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (^{o}Brix) เท่ากับร้อยละ 8.8 และมีอัตราส่วนของ ^{o}Brix/acid เท่ากับ 7.86 Salumkhe และ Desai (1986) แบ่งระดับความสุกของส้มโดยใช้ อัตราส่วน^{o}Brix/acid กำหนดให้ อัตราส่วน^{o}Brix/acid ช่วง 8-10 หมายถึงผลไม้ที่มีความสุกเล็กน้อย ช่วง 10-16 จะหมายถึงผลไม้มีความสุกได้ที่ และมากกว่า 20 หมายถึงผลไม้ที่สุกมาก ส้มที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้จึงอยู่ในช่วงที่สุก

4.1.2 ผลของอุณหภูมิพาสเจอร์ไรส์/เวลาต่อปริมาณวิตามินซีในน้ำส้มเขียวหวาน

จากการวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีในน้ำส้มเขียวหวานคั้นสดและน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ แสดงดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ปริมาณวิตามินซีในน้ำส้มเขียวหวานคั้นสดและน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์

อุณหภูมิพาสเจอร์ไรส์	ปริมาณวิตามินซี (มิลลิกรัม/100มิลลิลิตร)
น้ำส้มคั้นสด	28.22 ± 0.59^{a} *
อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที	27.88 ± 0.58^{a}
อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที	26.34 ± 0.59^{b}

* อักษรกำกับต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลอง 3 ซ้ำ

จากตารางที่ 4.2 พบว่า การพาสเจอร์ไรส์น้ำส้มที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที มีผลทำให้ปริมาณวิตามินซีลดลงเพียงเล็กน้อยจาก 28.22 มิลลิกรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร เป็น 27.88 มิลลิกรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร และมีค่าแตกต่างจากน้ำส้มคั้นสดอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ส่วนการพาสเจอร์ไรส์น้ำส้มที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาทีทำให้ปริมาณวิตามินซีลดลงในปริมาณมากกว่าคือ จาก 28.22 มิลลิกรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร เป็น 26.34 มิลลิกรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร ซึ่งแตกต่างจากน้ำส้มคั้นสดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) จะเห็นว่าการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส มีผลทำให้ปริมาณวิตามินซีลดลงมากกว่าการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส 30 วินาที สาเหตุเนื่องจากวิตามินซีสูญเสียได้ง่ายเมื่อโดนความร้อน (Saguy *et al.*, 1978) ดังนั้นการให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงมากเท่าใดวิตามินซีจะสูญเสียไปมากเท่านั้น

4.1.3 ผลของอุณหภูมิพาสเจอร์ไรส์/เวลาต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำส้มเขียวหวาน

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำส้มเขียวหวานคั้นสดและน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ แสดงดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำส้มเขียวหวานคั้นสดและน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์

อุณหภูมิพาสเจอร์ไรส์	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (มิลลิกรัม/100มิลลิลิตร เทียบเป็นกรดแกลลิค)
น้ำส้มคั้นสด	24.12 ± 0.78^{a} *
อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที	21.42 ± 0.39^{b}
อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที	19.12 ± 0.00^{c}

* อักษรกำกับต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

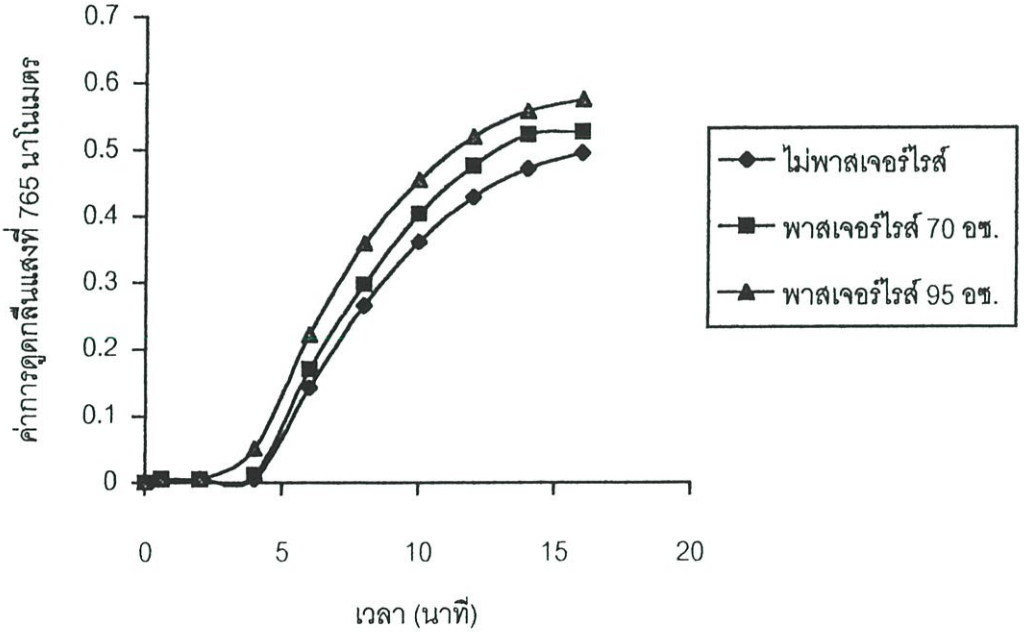
ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลอง 3 ซ้ำ

จากตารางที่ 4.3 พบว่า การพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที ทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงจากน้ำส้มคั้นสดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) คือจาก 24.12 มิลลิกรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร เป็น 21.42 มิลลิกรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร เทียบเป็นกรดแกลลิค ส่วนการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที ทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงจากน้ำส้มคั้นสดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เช่นกัน คือจาก 24.12 มิลลิกรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร เป็น 19.12 มิลลิกรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร จะเห็นว่าการพาสเจอร์ไรส์มีผลทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกลดลง การลดลงของสารประกอบฟีนอลิกเนื่องจากความร้อนมีผลทำให้สารประกอบฟีนอลิกโมเลกุลเล็กๆ เช่น ฟีนอล (phenol), ฟีนิลโพรพานอยด์ (phenylpropanoid) เช่น พี-คูมาริก แอซิด (p-coumaric acid), แคฟเฟอิก แอซิด (caffeic acid), เฟอรูลิก แอซิด (ferulic acid), ซินนะพิก แอซิด (sinapic acid) และฟลาโวนอยด์ที่สามารถแตกตัวได้เมื่อได้รับความร้อนระเหยไปกับไอน้ำจึงทำให้สารประกอบฟีนอลิกลดลง (Kim and Pratt,1992) เช่นเดียวกับการทดลองของ Asami และคณะ (2003) พบว่าการใช้อุณหภูมิต่ำสามารถป้องกันการสูญเสียปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในพีช (clingstone peaches) บรรจุกระป๋องได้ เนื่องจากความร้อนอาจมีผลต่อการเกิดโพลีเมอร์ไรส์เซชันของสารประกอบฟีนอลิกได้ และการทดลองของ Gil-Izquierdo และคณะ (2001) พบว่า การพาสเจอร์ไรส์น้ำส้มพันธุ์นาเวลที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากกว่า

การพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที โดยอุณหภูมิสูงมีผลทำให้ฟลาวาโนนตกตะกอนเพิ่มมากขึ้นแต่ไม่มีผลทำให้ไฮดรอกซีซินนะมิกแอซิดตกตะกอนและมีผลเพียงเล็กน้อยในฟลาโวน โดยฟลาโวนเปลี่ยนแปลงไปเป็นสารอื่น

4.1.4 ผลของอุณหภูมิพาสเจอร์ไรส์/เวลาต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในน้ำส้มเขียวหวาน

จากการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ โดยติดตามความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระABTS$^{\bullet+}$ถ้าการต้านการเกิดอนุมูลอิสระได้ดี จะทำให้อัตราการเกิดสีน้ำเงินแกมเขียวของสารละลายปฏิกิริยาช้า ค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จะมีค่าต่ำ แสดงดังภาพที่ 4.1 จากภาพจะเห็นว่า การพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส มีอัตราการเกิดสีน้ำเงินแกมเขียวช้ากว่าการพาสเจอร์ไรส์ที่ 95 องศาเซลเซียส แสดงว่าการพาสเจอร์ไรส์น้ำส้มที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีว่าการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส ส่วนความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเมื่อเทียบเป็นวิตามินซี แสดงดังตารางที่ 4.4



ภาพที่ 4.1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายปฏิกิริยากับเวลาในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS$^{\bullet+}$ในน้ำส้มเขียวหวานคั้นสดและน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์

ตารางที่ 4.4 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในน้ำส้มคั้นเขียวหวานสดและน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์เทียบเป็นวิตามินซี

อุณหภูมิพาสเจอร์ไรส์	ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (มิลลิกรัม / 100 มิลลิลิตรเทียบเป็นวิตามินซี)
น้ำส้มคั้นสด	36.48 ± 2.59^{a} ✳
อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที	33.97 ± 1.12^{ab}
อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที	32.71 ± 1.28^{b}

✳ อักษรกำกับต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลอง 3 ซ้ำ

จากตารางที่ 4.4 พบว่า การพาสเจอร์ไรส์น้ำส้มที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 33.97 มิลลิกรัม ต่อ 100 มิลลิลิตรเทียบเป็นวิตามินซี ส่วนการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 32.71 มิลลิกรัม ต่อ 100 มิลลิลิตรเทียบเป็นวิตามินซี ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระขึ้นอยู่กับปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดไม่ใช่แค่สารตัวใดตัวหนึ่ง (Rapisarda *et al.*,1998) ซึ่งในน้ำส้มจะหมายถึงทั้งวิตามินซีและสารประกอบฟีนอลิกที่ละลายน้ำได้ (Miller and Rice-Evans, 1997) ดังนั้น เมื่อการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส 30 วินาทีมีผลทำให้ปริมาณวิตามินซีและสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีมากกว่าการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส 30 วินาที จึงทำให้มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมากกว่าด้วยเช่นกัน

ถึงแม้ว่าการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส 30 วินาที ทำให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระแตกต่างจากการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส 30 วินาที อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แต่หากพิจารณาปริมาณวิตามินซีและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจะเห็นว่า การพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส 30 วินาที ทำให้ปริมาณสารดังกล่าวมีมากกว่าการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส 30 วินาที อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ดังนั้น จึงเลือกการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส 30 วินาที มาศึกษาผลของอุณหภูมิ/ระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อไป

4.2 ผลของอุณหภูมิ/ระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์

4.2.1 องค์ประกอบทางเคมีในน้ำส้มเขียวหวานคั้นสด

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในน้ำส้มเขียวหวานคั้นสดที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ แสดงดังตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 องค์ประกอบทางเคมีในน้ำส้มเขียวหวานคั้นสด

องค์ประกอบทางเคมี	ค่าที่วัดได้
ปริมาณกรดทั้งหมด	1.28 % เทียบเป็นกรดซิตริค
ความเป็นกรด-ด่าง	3.52
ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด	10.6
^{o}Brix/Acid ratio	8.28

น้ำส้มคั้นสดมีปริมาณกรดทั้งหมดเท่ากับ 1.28% เทียบเป็นกรดซิตริค ความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 3.52 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดเท่ากับ 10.6 อัตราส่วน ^{o}Brix/Acid เท่ากับ 8.28 ดังนั้น ส้มที่ใช้ทดลองในครั้งนี้เป็นส้มที่สุกแล้วเล็กน้อย

4.2.2 ผลของอุณหภูมิ/ระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อปริมาณวิตามินซีในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์

จากการศึกษาผลของอุณหภูมิ/ระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อปริมาณวิตามินซีในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ แสดงดังตารางที่ 4.6 และ ภาพที่ 4.2 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณวิตามินซี เก็บที่อุณหภูมิต่างๆ นาน 20 วัน

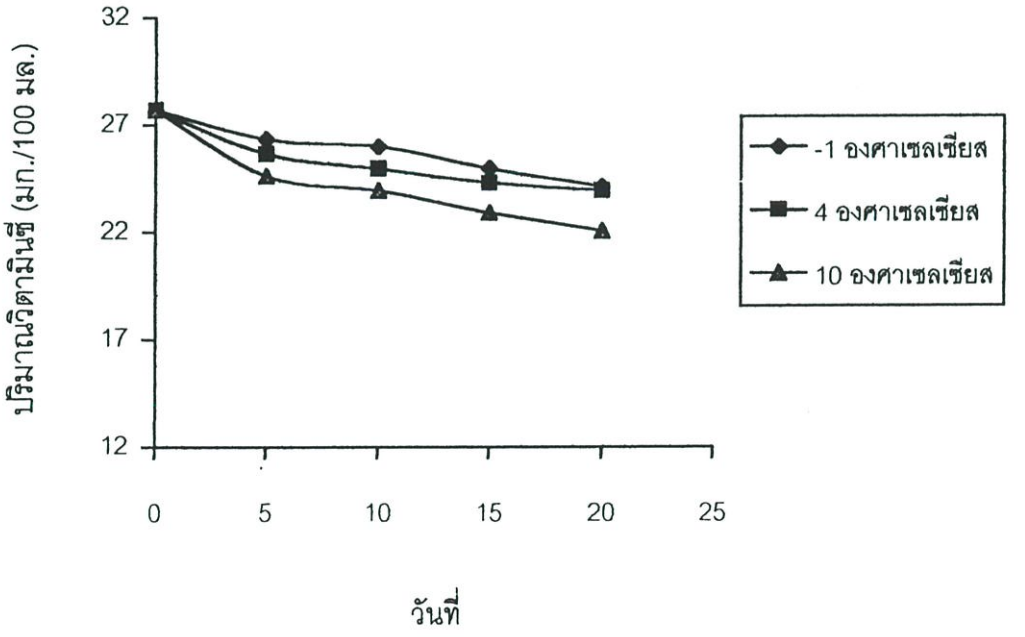
ตารางที่ 4.6 การเปลี่ยนแปลงปริมาณวิตามินซีในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ เก็บที่อุณหภูมิต่างๆ นาน 20 วัน

วันที่	ปริมาณวิตามินซี (มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร)		
	- 1 องศาเซลเซียส	4 องศาเซลเซียส	10 องศาเซลเซียส
0	$27.71 \pm 0.017_{a}^{X}$	$27.71 \pm 0.017_{a}^{X}$	$27.71 \pm 0.017_{a}^{X}$
5	$26.34 \pm 0.59_{b}^{X}$	$25.65 \pm 0.00_{b}^{Y}$	$24.62 \pm 0.00_{b}^{Z}$
10	$25.99 \pm 0.59_{b}^{X}$	$24.96 \pm 0.59_{bc}^{XY}$	$23.94 \pm 0.58_{b}^{Y}$
15	$24.96 \pm 0.59_{c}^{X}$	$24.28 \pm 0.58_{cd}^{X}$	$22.91 \pm 0.59_{c}^{Y}$
20	$24.11_{c}^{X} \pm 0.51$	$23.94_{d}^{X} \pm 0.29$	เสีย

$^{xyz...}$ หมายถึง อักษรกำกับต่างกันในแนวนอนมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

$^{abc...}$ หมายถึง อักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลอง 3 ซ้ำ



ภาพที่ 4.2 การเปลี่ยนแปลงปริมาณวิตามินซีในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ เก็บที่อุณหภูมิต่างๆ นาน 20 วัน

จากตารางที่ 4.6 จะเห็นว่า น้ำส้มเก็บที่อุณหภูมิ –1 องศาเซลเซียส ปริมาณวิตามินซีจะลดลงจาก 27.71 มิลลิกรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร เป็น 24.11 มิลลิกรัม ต่อ100 มิลลิลิตร ส่วนน้ำส้มเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ปริมาณวิตามินซีลดลงจาก 27.71 มิลลิกรัม ต่อ 100

มิลลิลิตร เป็น 23.94 มิลลิกรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร ภายใน 20 วัน และน้ำส้มเก็บที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ปริมาณวิตามินซีลดลงจาก 27.71 มิลลิกรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร เป็น 22.91 มิลลิกรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร ภายใน 15 วัน จากผลการทดลองจะเห็นว่า อุณหภูมิในการเก็บรักษามีผลต่อความคงตัวของปริมาณวิตามินซีในน้ำส้มพาสเจอร์ไรส์ โดยน้ำส้มเก็บที่อุณหภูมิ –1 และ 4 องศาเซลเซียส จะมีปริมาณวิตามินซีมากกว่าน้ำส้มเก็บที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ภายใน 15 วันของการเก็บรักษา ส่วนน้ำส้มเก็บที่อุณหภูมิ –1 องศาเซลเซียส และ 4 องศาเซลเซียส จะแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เฉพาะในวันที่ 5 ของการเก็บรักษา สอดคล้องกับการรายงานของ Nagy(1980), Graumlich และคณะ(1986), Kaanane และคณะ(1988) และ Kennedy และคณะ(1992) พบว่า การเพิ่มอุณหภูมิในการเก็บรักษาน้ำจากพืชตระกูลส้มมีผลทำให้วิตามินซีสลายตัวเพิ่มมากขึ้นนอกจากนี้จากการทดลองยังพบว่า ในวันที่ 0-5 ของการเก็บรักษา ปริมาณวิตามินซีจะลดลงอย่างรวดเร็วในทุกอุณหภูมิของการเก็บรักษาและหลังจากนั้นปริมาณวิตามินซีจะลดลงอย่างช้าๆ สาเหตุเนื่องจากการสลายตัวของวิตามินซีสัมพันธ์กับปริมาณออกซิเจนเริ่มต้น (ช่องว่างเหนือน้ำส้มภายในภาชนะบรรจุ, ละลายอยู่ในน้ำส้มและละลายในระหว่างการเทน้ำส้มลงในภาชนะบรรจุ) และระยะเวลาในการเก็บรักษาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.001$, $r^2 = 0.078$) ดังผลการทดลองของ Solomon และ Svanberg (1995) ที่ศึกษาผลของปริมาณออกซิเจนต่อการสลายตัวของวิตามินซีในน้ำส้มพาสเจอร์ไรส์ เก็บที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส นาน 1 อาทิตย์ พบว่า ปริมาณวิตามินซีลดลงประมาณร้อยละ 20 จากปริมาณเริ่มต้น ปริมาณออกซิเจนเริ่มต้นก่อนถ่ายไปยังภาชนะบรรจุมีค่าเท่ากับ 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร และจากการศึกษาของ Trammell และคณะ(1986), Kacem และคณะ(1987) พบว่า ระดับของปริมาณออกซิเจนไม่มีผลต่อคุณภาพด้านรสชาติและกลิ่น (sensory quality) ของน้ำส้มที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

4.2.3 ผลของอุณหภูมิ/ระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์

จากการศึกษาผลของอุณหภูมิ/ระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ แสดงดังตารางที่ 4.7 และ ภาพที่ 4.3 แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เก็บที่อุณหภูมิต่างๆ นาน 20 วัน

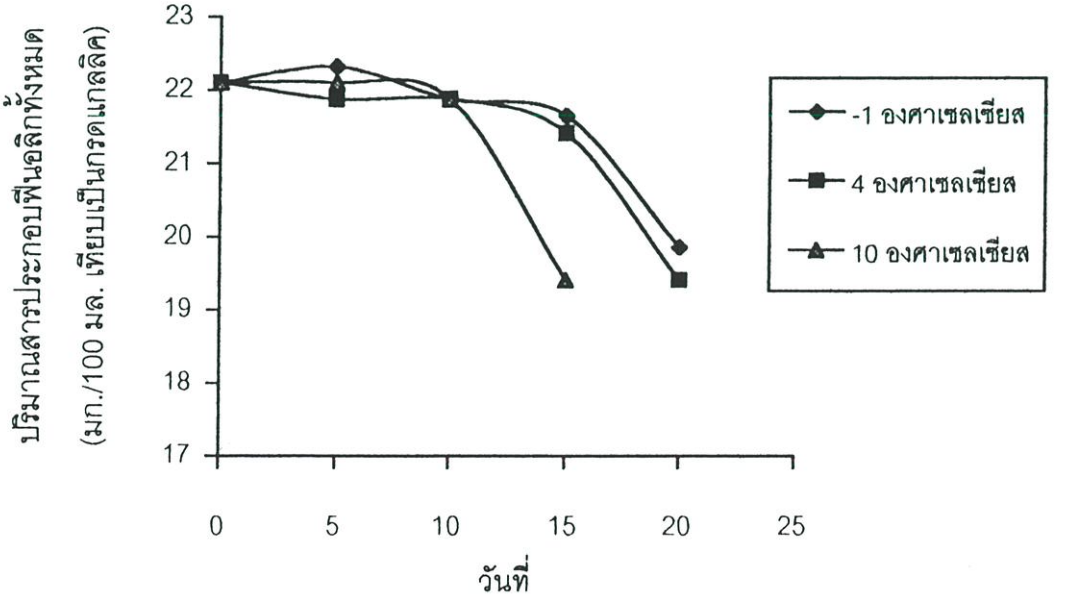
ตารางที่ 4.7 การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ เก็บที่อุณหภูมิต่างๆนาน 20 วัน

วันที่	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (มก./100 มล.เทียบเป็นกรดแกลลิค)		
	-1 องศาเซลเซียส	4 องศาเซลเซียส	10 องศาเซลเซียส
0	$22.10^{x}_{a}\pm0.39$	$22.10^{x}_{a}\pm0.39$	$22.10^{x}_{a}\pm0.39$
5	$22.32^{x}_{a}\pm0.77$	$21.88^{x}_{ab}\pm0.00$	$22.10^{x}_{a}\pm0.39$
10	$21.88^{x}_{a}\pm0.00$	$21.88^{x}_{ab}\pm0.00$	$21.88^{x}_{a}\pm0.00$
15	$21.65^{x}_{a}\pm0.39$	$21.42^{x}_{b}\pm0.39$	$19.41^{y}_{b}\pm0.39$
20	$19.86^{x}_{b}\pm0.00$	$19.41^{x}_{c}\pm0.39$	เสีย

$^{xyz...}$ หมายถึง อักษรกำกับต่างกันในแนวนอนมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

$^{abc...}$ หมายถึง อักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ



ภาพที่ 4.3 การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ เก็บที่อุณหภูมิต่างๆ นาน 20 วัน

จากตารางที่ 4.7 พบว่า น้ำส้มเก็บที่อุณหภูมิ –1 องศาเซลเซียส ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงจาก 22.10 มิลลิกรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร เป็น 19.86 มิลลิกรัม ต่อ 100 มิลลิลิตรเทียบเป็นกรดแกลลิค และ น้ำส้มเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงจาก 22.10 มิลลิกรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร เป็น 19.41 มิลลิกรัม ต่อ 100 มิลลิลิตรเทียบเป็นกรดแกลลิค ภายใน 20 วัน ส่วนน้ำส้มเก็บที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงจาก 22.10 มิลลิกรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร เป็น 19.41 มิลลิกรัม ต่อ 100 มิลลิลิตรเทียบเป็นกรดแกลลิค ภายใน 15 วัน และน้ำส้มได้เสียหลังจากวันนั้น

นอกจากนี้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำส้มเก็บที่อุณหภูมิ –1 และ 4 องศาเซลเซียส จะมีความแตกต่างจากน้ำส้มเก็บที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) หลังเก็บไว้นาน 15 วัน กล่าวคือภายในวันที่ 0 ถึงวันที่ 10 น้ำส้มเก็บที่อุณหภูมิ –1, 4 และ 10 องศาเซลเซียส จะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดไม่แตกต่างกันอย่างนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) และในแต่ละอุณหภูมิของการเก็บรักษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงเพียงเล็กน้อย โดยการเก็บที่อุณหภูมิ –1 และ 4 องศาเซลเซียสการลดลงของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจะมากที่สุดในวันที่ 20 ส่วนที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียสจะลดลงมากที่สุดในวันที่ 15 พร้อมกับน้ำส้มเริ่มเสียไป สังเกตได้จากกลิ่นที่เปลี่ยนไปพร้อมกับมีเชื้อราเกิดขึ้น สาเหตุการลดลงของสารประกอบฟีนอลิกในระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เป็นเวลานานเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันเนื่องจากปฏิกิริยาทางเคมีหรือจากการทำงานของเอนไซม์ (chemical or enzymatic oxidation) ต่อสารประกอบฟีนอลิก การเกิดปฏิกิริยาเหล่านี้ดำเนินไปในอัตราที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับปัจจัยภายในของอาหารและสภาวะในการแปรรูป เช่น ความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ ระยะเวลา ปริมาณออกซิเจน ความชื้น เป็นต้น จากการทดลองสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงอย่างช้าๆ ในระหว่างการเก็บรักษา เนื่องจากฟลาโวนอยด์ที่พบในน้ำส้มส่วนใหญ่ได้แก่ เฮสเปอริดิน นาริรูทิน และไฮดรอกซีซินนะมิกแอซิด ซึ่ง Lea (1992) กล่าวว่าฟลาโวนอยด์จะไม่ถูกออกซิไดส์หรือถูกออกซิไดส์อย่างช้าๆ โดยออกซิเดทีฟ เอนไซม์ ในขณะที่ถ้าเป็นคาเทอชิน และคลอโรจีนิก แอซิด จะถูกออกซิไดส์อย่างเร็วและฟอร์มเป็นไดเมอร์ในขั้นแรกของการเกิดสีน้ำตาล ทำให้สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงอย่างรวดเร็วด้วยเช่นกัน (Robards *et al.*, 1999) นอกจากนี้การลดลงของสารประกอบฟีนอลิกอาจเนื่องจากตัวมันเองย่อยตัวมันเอง (Asami *et al.*, 2003)

การลดลงของสารประกอบฟีนอลิกในระหว่างการเก็บรักษาสอดคล้องกับการทดลองของ Asami และคณะ(2003) ศึกษาผลของการเก็บรักษาต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในพีช (Clingstone peaches) แปรรูป เก็บที่อุณหภูมิห้อง นาน 3 เดือน พบว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงร้อยละ 30-43 ของตัวอย่างทั้งหมด

4.2.4 ผลของอุณหภูมิ/ระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์

จากการศึกษาผลของอุณหภูมิ/ระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์เทียบเป็นวิตามินซี แสดงดังตารางที่ 4.8 และภาพที่ 4.4 แสดงการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ เก็บที่อุณหภูมิต่างๆ นาน 20 วัน

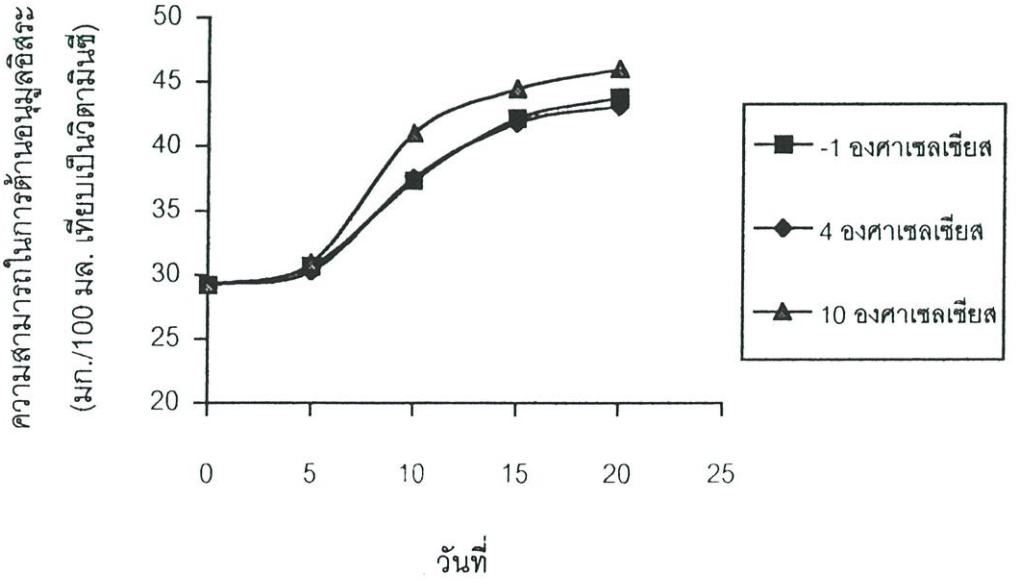
ตารางที่ 4.8 การเปลี่ยนแปลงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ เก็บที่อุณหภูมิต่างๆ นาน 20 วัน

วันที่	ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (มก./100 มล. เทียบเป็นวิตามินซี)		
	-1 องศาเซลเซียส	4 องศาเซลเซียส	10 องศาเซลเซียส
0	$29.20^{x}_{a}\pm0.29$	$29.20^{x}_{a}\pm0.29$	$29.20^{x}_{a}\pm0.29$
5	$30.67^{x}_{b}\pm0.65$	$30.29^{x}_{b}\pm0.43$	$30.50^{x}_{b}\pm0.39$
10	$37.31^{x}_{c}\pm0.42$	$37.55^{x}_{c}\pm0.44$	$41.04^{y}_{c}\pm1.64$
15	$42.17^{x}_{d}\pm0.35$	$41.82^{x}_{d}\pm0.36$	$44.48^{y}_{d}\pm0.19$
20	$43.77_{e}{}^{x}\pm0.55$	$43.10_{e}{}^{x}\pm0.37$	เสีย

$^{xyz...}$หมายถึง อักษรกำกับต่างกันในแนวนอนมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

$^{abc...}$หมายถึง อักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลอง 3 ซ้ำ



ภาพที่ 4.4 การเปลี่ยนแปลงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ เก็บที่อุณหภูมิต่างๆ นาน 20 วัน

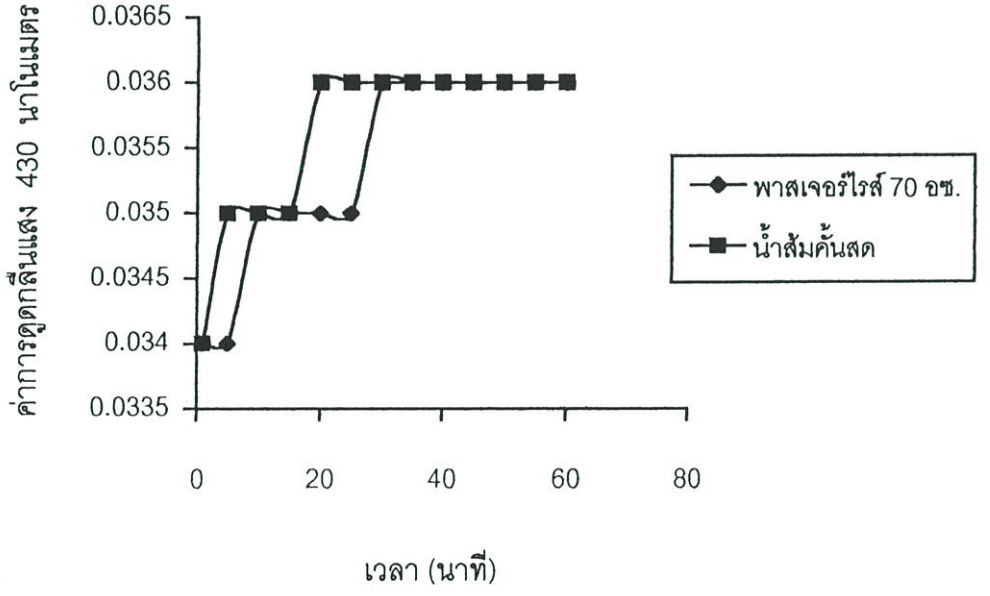
จากตารางที่ 4.8 พบว่าน้ำส้มเก็บที่อุณหภูมิ –1 องศาเซลเซียส ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นจาก 29.20 มิลลิกรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร เป็น 43.77 มิลลิกรัม ต่อ 100 มิลลิลิตรเทียบเป็นวิตามินซี ส่วนน้ำส้มเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นจาก 29.20 มิลลิกรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร เป็น 43.10 มิลลิกรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร เทียบเป็นวิตามินซี ภายใน 20 วัน และน้ำส้มเก็บที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นจาก 29.20 มิลลิกรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร เป็น 44.48 มิลลิกรัม ต่อ 100 มิลลิลิตรเทียบเป็นวิตามินซี ภายใน 15 วัน สอดคล้องกับงานของ Piga และคณะ(2002) ที่ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (chain-breaking activity) ในน้ำส้มคั้นสดพันธุ์แมนดารินและซัทซุมา เก็บรักษานาน 15 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นในวันที่ 15 ของการเก็บรักษา เนื่องมาจากสารประกอบฟีนอลิกบางตัวถูกออกซิไดซ์เนื่องจากการทำงานของเอนไซม์ และปฏิกิริยาทางเคมีอื่นๆ (enzymatic or chemical oxidation) เป็นการแสดงให้เห็นว่า สารต้านอนุมูลอิสระอื่นๆ ที่มีปริมาณน้อยมีความสามารถในการเพิ่มประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระให้กับผลิตภัณฑ์ทั้งหมดได้ และสอดคล้องกับการศึกษาของ Manzocco และคณะ (1998) พบว่า น้ำชาพาสเจอร์ไรส์บรรจุขวดมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นภายใน 30 วัน ของการเก็บรักษา

จะเห็นว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นทุกอุณหภูมิการเก็บรักษา เนื่องจากผลิตภัณฑ์ที่มีการแปรรูปและเก็บรักษามักเกิดสารสีน้ำตาล (brown pigments) ที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ (Murakami *et al.*, 2002; Nicoli *et al.*, 1999) และในน้ำส้มมีการตั้งสมมุติฐานว่าน่าจะเป็นรีดักโตน (reductone) และเอทธิลไกลออกซอล (ethylglyoxal) ซึ่งเป็นสารอินเตอร์มิเดียทที่เกิดจากการสลายตัวของวิตามินซี (Roig *et al.*,. 1999) มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ดี ส่วนสารประกอบไดคาร์บอนิล เช่น เมทธิลไกลออกซอล และน้ำตาลที่มีโมเลกุลต่ำพบว่าเมื่อทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนจะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีมาก (Namiki, 1990) อย่างไรก็ตามผลิตภัณฑ์เมลลาร์ดที่เกิดขึ้นอาจจะมีความสามารถในการเป็นได้ทั้งแอนตีมิวทาจีนิกและมิวทาจีนิก (antimutagenic and mutagenic) ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบและสภาวะในการแปรรูปโดยหากผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาเมลลาร์ดมีความสามารถในการเป็นแอนตีมิวทาจีนิกก็จะเกี่ยวข้องกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (Nicoli *et al.*, 1999)

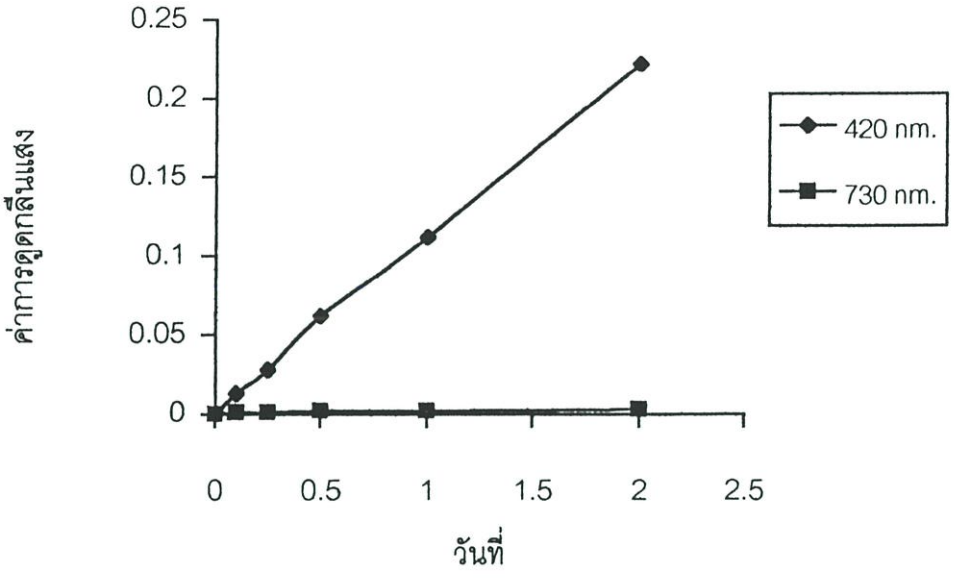
การเกิดสารสีน้ำตาลนั้นสามารถเกิดได้หลายทางเช่น จากปฏิกิริยาที่ใช้เอนไซม์ (enzymatic browning reaction) จากปฏิกิริยาระหว่างกรดอะมิโนและสารประกอบคาร์บอนิล (non-enzymatic browning reaction) และจากการเสื่อมสลายของวิตามินซี แต่การเกิดสีน้ำตาลเนื่องจากเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสนั้นพบว่า พีเอชที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาจะอยู่ที่ 5-7 แต่พีเอชที่วัดได้ในน้ำส้มที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้เท่ากับ 3.52 และได้ทำการยืนยันโดยทดลองวัดแอก

ทิวิตีของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสได้ผลการทดลอง ดังภาพที่ 4.5 จากภาพจะเห็นว่าแอกทิวิตีของเอนไซม์มีน้อยมาก ดังนั้นเอนไซม์จึงอาจเป็นสาเหตุหนึ่งในการเกิดสีน้ำตาลแต่ไม่ได้เป็นสาเหตุหลัก นอกจากนี้ยังยืนยันผลการทดลองว่าสีน้ำตาลที่เกิดขึ้นไม่ได้ถูกดูดกลืนที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร ซึ่งเป็นความยาวคลื่นที่ใช้วัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ดังภาพที่ 4.6

สำหรับการเกิดสีน้ำตาลเนื่องจากปฏิกิริยาระหว่างกรดอะมิโนและสารประกอบคาร์บอนิลนั้น พบว่าในระบบที่มีความเป็นกรดสูงสารประกอบคาร์บอนิลที่แอกทีฟที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างน้ำตาลและกรดอะมิโนไม่ใช่สาเหตุหลักที่ทำให้เกิดการสร้างสารสีน้ำตาล (melanoidin pigment) และได้รับการสนับสนุนจาก Clegg and Morton (1965) ที่ว่า ในสภาวะที่เป็นกรดการเกิดสารสีน้ำตาลน่าจะเป็นผลจากสารประกอบคาร์บอนิลที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของวิตามินซีทำปฏิกิริยากับหมู่อะมิโนและเกิดการโพลีเมอไรส์ ทำให้เกิดสารสีน้ำตาลขึ้น สอดคล้องกับ Roig และคณะ (1999) พบว่า การเก็บรักษาน้ำส้มที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส ปริมาณวิตามินซีจะคงที่หลังจากเก็บไว้ในช่วงเดือนที่ 2-3 และ การเสื่อมสลายของวิตามินซีไปเป็นสารประกอบคาร์บอนิลนี้จัดเป็นช่วงต้นของการเกิดปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาล (early stage of nonenzymic reaction) และปฏิกิริยาดำเนินต่อไป โดยสารประกอบคาร์บอนิลที่แอกทีฟอาจทำปฏิกิริยากับสารประกอบอะมิโนหรือผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการเสื่อมสลายของวิตามินซี จากนั้นตามด้วยปฏิกิริยาคอนเดนเซชันของผลิตภัณฑ์ด้วยกันหรือกับสารอินเตอร์มิเดียทอื่นๆ ที่ไม่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ (nitrogen-free intermediates) (Clegg and Morton, 1965)



ภาพที่ 4.5 การทำงานของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสในน้ำส้มเขียวหวานคั้นสดและน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์



ภาพที่ 4.6 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 (วัดสีน้ำตาล) และ 730 นาโนเมตร (วัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ) ของน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์

นอกจากนี้การเพิ่มขึ้นของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเนื่องจาก สารอินเตอร์มิเดียทออกซิเดชันโปรดักส์ (intermediate oxidation product) พร้อมกับสารประกอบฟีนอลิกมีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สูงกว่าสารประกอบฟีนอลิกที่ไม่ได้ถูกออกซิไดซ์ เนื่องจากมีความสามารถในการให้ไฮโดรเจนอะตอมจากหมู่ไฮดรอกซิลในวงแหวนอะโรมาติก (aromatic hydroxyl group) แก่อนุมูลอิสระ และ/หรือ ความสามารถของโครงสร้างอะโรมาติกที่จะสนับสนุนให้อนุมูลอิสระที่ขาดอิเล็กตรอนวิ่งรอบ π-electron system ได้ (Nicoli *et al.*, 1999)

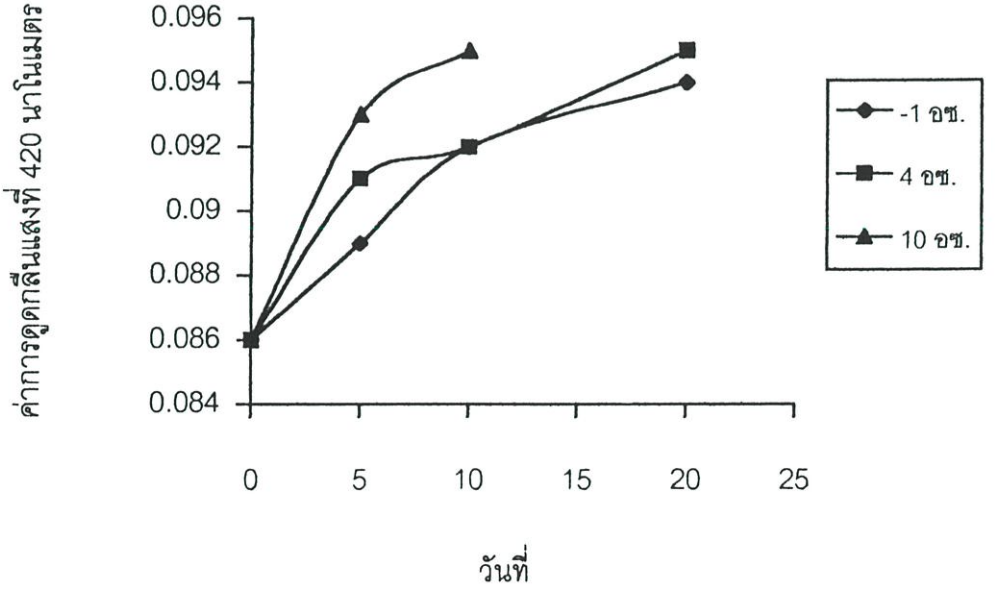
4.2.5 ผลของอุณหภูมิ/ระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อดัชนีการเกิดสีน้ำตาลในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์

ผลของอุณหภูมิ/ระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อดัชนีการเกิดสีน้ำตาลในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ แสดงดังตารางที่ 4.9 และ ภาพที่ 4.7 แสดงการเปลี่ยนแปลงดัชนีการเกิดสีน้ำตาล เก็บที่อุณหภูมิต่างๆ นาน 20 วัน

ตารางที่ 4.9 การเปลี่ยนแปลงดัชนีการเกิดสีน้ำตาลในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ เก็บที่อุณหภูมิต่างๆ นาน 20 วัน

วันที่	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร		
	-1 องศาเซลเซียส	4 องศาเซลเซียส	10 องศาเซลเซียส
0	0.086[a]	0.086[a]	0.086[a]
5	0.089[a]	0.091[b]	0.093[c]
10	0.092[a]	0.092[a]	0.095[b]
20	0.094[a]	0.095[a]	เสีย

[abc...] หมายถึง อักษรต่างกันในแนวนอนมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)



ภาพที่ 4.7 การเปลี่ยนแปลงดัชนีการเกิดสีน้ำตาลในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ เก็บที่อุณหภูมิต่างๆ นาน 20 วัน

จากตารางที่ 4.9 จะเห็นได้ว่า อุณหภูมิในการเก็บรักษามีผลต่อการเกิดสีน้ำตาล โดยการเก็บน้ำส้มที่อุณหภูมิ –1 และ 4 องศาเซลเซียส จะเกิดสีน้ำตาลได้น้อยกว่าน้ำส้มที่เก็บที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงค่าสีน้ำตาลที่เกิดขึ้นกับการลดลงของวิตามินซีนั้นสวนทางกัน หมายความว่า ถ้าวิตามินซีมีมาก สีน้ำตาลจะน้อย แต่ถ้าวิตามินซีน้อยสีน้ำตาลจะเกิดขึ้นมาก (Roig *et al.*, 1999) สาเหตุเนื่องจากการลดลงของวิตามินซีเป็นกลไกหลักในการเกิดสีน้ำตาล (Robertson and Samaniego, 1986)

ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลแบ่งออกเป็น 3 ขั้น ได้แก่ early stage, intermediate stage และ advance stage ในขั้น early stage เป็นขั้นที่อยู่ระหว่างไม่มีสี (uncolor) ถึง มีสีเล็กน้อย (bright color) การเกิดสีแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของกรดอะมิโนที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์ (Murakami *et al.*, 2002) ส่วนการเกิดสีน้ำตาลจะเกิดขึ้นในขั้น advance stage เป็นการเกิดโพลีเมอร์ไรส์เซชันระหว่างสารอินเทอร์มิเดียทคือควิโนนร่วมกับสารโมเลกุลใหญ่เกิดเป็นเมลานอยดิน จากผลการทดลองการเกิดสีน้ำตาลไม่ได้เปลี่ยนแปลงมากนัก ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าในระหว่างการเก็บรักษาปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลยังอยู่ในขั้น early stage ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นในขั้น early stage นี้พบว่ามีคุณสมบัติในการต่อต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพดี (Murakami *et al.*, 2002)

4.2.6 ผลของอุณหภูมิ/ระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อปริมาณกรดทั้งหมด ความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์

ผลของอุณหภูมิ/ระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อปริมาณกรดทั้งหมด ความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ แสดงดังตารางที่ 4.10, 4.11 และ 4.12

ตารางที่ 4.10 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดทั้งหมดในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ เก็บที่อุณหภูมิต่างๆ นาน 20 วัน

วันที่	ปริมาณกรดทั้งหมด (% เทียบเป็นกรดซิตริค)		
	-1 องศาเซลเซียส	4 องศาเซลเซียส	10 องศาเซลเซียส
0	1.33^{ns}	1.33^{ns}	1.33^{ns}
5	1.33^{ns}	1.33^{ns}	1.33^{ns}
10	1.33^{ns}	1.33^{ns}	1.33^{ns}
15	1.33^{ns}	1.33^{ns}	1.33^{ns}
20	1.33^{ns}	1.33^{ns}	1.33^{ns}

^{ns} หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตารางที่ 4.11 การเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่างในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ เก็บที่อุณหภูมิต่างๆ นาน 20 วัน

วันที่	ค่าความเป็นกรด-ด่าง		
	-1 องศาเซลเซียส	4 องศาเซลเซียส	10 องศาเซลเซียส
0	3.52^{ns}	3.52^{ns}	3.52^{ns}
5	3.52^{ns}	3.52^{ns}	3.52^{ns}
10	3.50^{ns}	3.52^{ns}	3.50^{ns}
15	3.50^{ns}	3.50^{ns}	3.50^{ns}
20	3.46^{a}	3.47^{a}	3.50^{b}

$^{abc...}$หมายถึง อักษรต่างกันในแนวนอนมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

^{ns} หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางที่ 4.12 การเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ เก็บที่อุณหภูมิต่างๆ นาน 20 วัน

วันที่	ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (^{o}Brix)		
	-1 องศาเซลเซียส	4 องศาเซลเซียส	10 องศาเซลเซียส
0	10.8^{ns}	10.8^{ns}	10.8^{ns}
5	10.6^{ns}	10.6^{ns}	10.6^{ns}
10	10.6^{ns}	10.6^{ns}	10.6^{ns}
15	10.6^{ns}	10.6^{ns}	10.6^{ns}
20	10.6^{ns}	10.6^{ns}	10.6^{ns}

^{ns} หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

จากตารางที่ 4.10, 4.11 และ 4.12 พบว่า ปริมาณกรดทั้งหมด ค่าความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ไม่เปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ที่ทุกอุณหภูมิของการเก็บรักษานาน 15-20 วัน ปริมาณกรดทั้งหมดไม่เปลี่ยนแปลงเนื่องจาก ปริมาณกรดในน้ำส้มส่วนใหญ่เป็นกรดซิตริคและกรดมาลิกจะพบในอัตราส่วนโดยประมาณคือ 95 : 5 (Kaanane *et al.*, 1988) กรดซิตริคและกรดมาลิกจะรวมตัวกับเกลือโปแตสเซียมและโซเดียมสร้างสภาพความเป็นบัฟเฟอร์ (กรดอ่อนรวมตัวกับเกลือของกรดอ่อน) ซึ่งจะมีประมาณร้อยละ 20 ขององค์ประกอบที่เป็นกรดและเกลือทั้งหมด จึงทำให้ปริมาณกรดทั้งหมดและความเป็นกรด-ด่างไม่เปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ในระหว่างการเก็บรักษา

การทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองของ Kaanane และคณะ (1988) พบว่า น้ำส้มพาสเจอร์ไรส์เก็บที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 14 สัปดาห์ ปริมาณกรดทั้งหมด ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ ความเป็นกรด-ด่าง และน้ำตาลทั้งหมดไม่เปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ Smoot และNagy (1980) พบว่า น้ำเกรฟฟรุตเก็บที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 12 สัปดาห์ ปริมาณกรดซิตริค ความเป็นกรด-ด่าง ไม่เปลี่ยนแปลงในระหว่างการเก็บรักษา นอกจากนั้น Robertson และ Samaniego(1986) พบว่า ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ และอัตราส่วน °Brix/acid ในน้ำมะนาวไม่เปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส นาน 6 สัปดาห์

4.3 ผลของสารถนอมอาหารต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์

4.3.1 องค์ประกอบทางเคมีในน้ำส้มเขียวหวานคั้นสด

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในน้ำส้มเขียวหวานคั้นสดที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ แสดงดังตารางที่ 4.13

ตารางที่ 4.13 องค์ประกอบทางเคมีในน้ำส้มเขียวหวานคั้นสด

องค์ประกอบทางเคมี	ค่าที่วัดได้
ปริมาณกรดทั้งหมด	3.06 %เทียบเป็นกรดซิตริค
ความเป็นกรด-ด่าง	2.98
ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด	9.2
°Brix/Acid ratio	2.99

จากตารางที่ 4.13 พบว่า น้ำส้มคั้นสดมีปริมาณกรดทั้งหมดเท่ากับ 3.06% เทียบเป็นกรดซิตริค ความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 2.98 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดเท่ากับ 9.2 และอัตราส่วน °Brix/Acid เท่ากับ 2.99 ดังนั้น ส้มที่ใช้ทดลองในครั้งนี้เป็นส้มที่ยังไม่สุก

4.3.2 ผลของสารถนอมอาหารชนิดต่าง ๆต่อปริมาณวิตามินซีในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์

ผลของสารถนอมอาหารชนิดต่างๆ ต่อปริมาณวิตามินซีในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ แสดงดังตารางที่ 4.14 และ ภาพที่ 4.8 แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาณวิตามินซีในน้ำส้มพาสเจอร์ไรส์ ที่ใส่สารถนอมอาหารชนิดต่างๆ เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 21 วัน

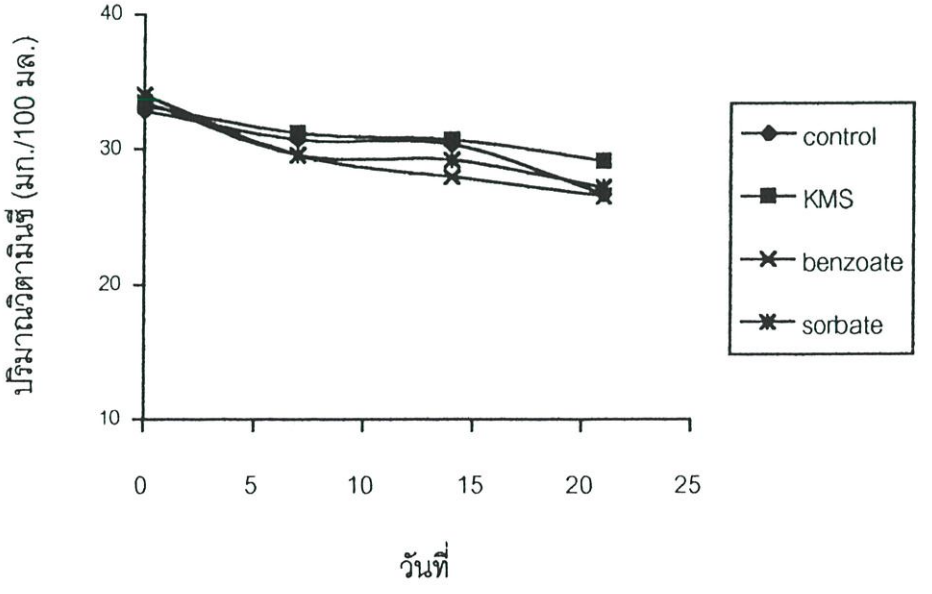
ตารางที่ 4.14 การเปลี่ยนแปลงปริมาณวิตามินซีในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ ที่ใส่สารถนอมอาหารชนิดต่างๆ เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 21 วัน

วันที่	ปริมาณวิตามินซี (มก./100 มล.)			
	ควบคุม	โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์	โซเดียมเบนโซเอต	โปแตสเซียมซอร์เบต
0	$32.87\pm0.44^{y}_{a}$	$33.25\pm0.33^{xy}_{a}$	$34.03\pm0.67^{x}_{a}$	$33.54\pm0.44^{xy}_{a}$
7	$30.76\pm0.16^{y}_{b}$	$31.22\pm0.00^{x}_{b}$	$29.59\pm0.00^{z}_{b}$	$29.59\pm0.00^{z}_{b}$
14	$30.37\pm0.32^{x}_{b}$	$30.76\pm0.16^{x}_{b}$	$27.96\pm0.09^{z}_{c}$	$29.24\pm0.32^{y}_{b}$
21	$26.72\pm0.27^{yz}_{c}$	$29.15\pm0.11^{x}_{c}$	$26.56\pm0.00^{z}_{d}$	$27.18\pm0.54^{y}_{c}$

^{wxz}... หมายถึง อักษรกำกับต่างกันในแนวนอนมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

^{abc}... หมายถึง อักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ



ภาพที่ 4.8 การเปลี่ยนแปลงปริมาณวิตามินซีในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ ที่ใส่สารถนอมอาหารชนิดต่างๆ เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 21 วัน

จากตารางที่ 4.14 ปริมาณวิตามินซีในน้ำส้มที่ใส่สารถนอมอาหารและไม่ใส่สารถนอมอาหารมีการเปลี่ยนแปลงที่ชัดเจนคือ น้ำส้มที่ใส่โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์, โซเดียมเบนโซเอต, โปแตสเซียมซอร์เบต และไม่ใส่สารถนอมอาหาร ปริมาณวิตามินซีลดลง 4.10 7.47 6.36 และ 6.15 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร ตามลำดับ ภายใน 21 วัน จะเห็นได้ว่าน้ำส้มที่ใส่สารโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์จะช่วยชะลอการสลายตัวของวิตามินซีได้มากกว่าน้ำส้มที่ใส่สารถนอมอาหารชนิดอื่นๆ และที่ไม่ใส่สารถนอมอาหารเลย อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เนื่องจากโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ไปยับยั้งปฏิกิริยาออโซออกซิเดชันของวิตามินซี กลไกการยับยั้งยังไม่เป็นที่เข้าใจนักแต่มันอาจจะเข้าไปทำปฏิกิริยากับสารอินเตอร์มิเดียทที่เป็นอนุมูลอิสระ (free radical intermediate หรือ semi dehydroascorbicacid) เพื่อขัดขวางการเกิดแอล-ดีไฮโดรแอสกอร์บิกแอซิด (L-dehydroascorbic acid) และซัลไฟต์อาจเข้าจับกับรีแอกทีฟออกซิเจน (reactive oxygen) ซึ่งเป็นอินเตอร์มิเดียทที่เป็นอนุมูลอิสระ(free radical intermediate) ก็ได้ หรือ ถ้าวิตามินซีเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้เป็นแอล-ดีไฮโดรแอสกอร์บิกแอซิดแล้ว ซัลไฟต์ยังสามารถเข้าไปรวมตัวกับหมู่คาร์บอนิลที่รีแอกทีฟได้และกลายเป็นไฮดรอกซีซัลโฟเนต (Wedzicha, 1984)

นอกจากนี้จากการทดลองยังพบว่าภายในสัปดาห์ที่ 1 และสัปดาห์ที่ 3 ของการเก็บรักษาและปริมาณวิตามินซีจะลดลงอย่างรวดเร็วในทุกทรีตเมนท์ การลดลงของวิตามินซีใน 7 วันแรกจะลดลงอย่างรวดเร็วอาจจะเนื่องจากปริมาณออกซิเจนเริ่มต้นมีเป็นจำนวนมากและหลังจากปริมาณออกซิเจนเหลือน้อยลง การสลายตัวของวิตามินซีจะช้าลง และลดลงอย่างมากอีกครั้งในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนเลย (Robertson *et al.*,1986; Singh *et al.*, 1976; Lin and Agalloco,1979)

4.3.3 ผลของสารถนอมอาหารชนิดต่างๆ ต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์

ผลของสารถนอมอาหารชนิดต่างๆ ต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ แสดงดังตารางที่ 4.15 และ ภาพที่ 4.9 แสดงการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบฟีนอลิกในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ที่ใส่สารถนอมอาหารชนิดต่างๆ เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 21 วัน

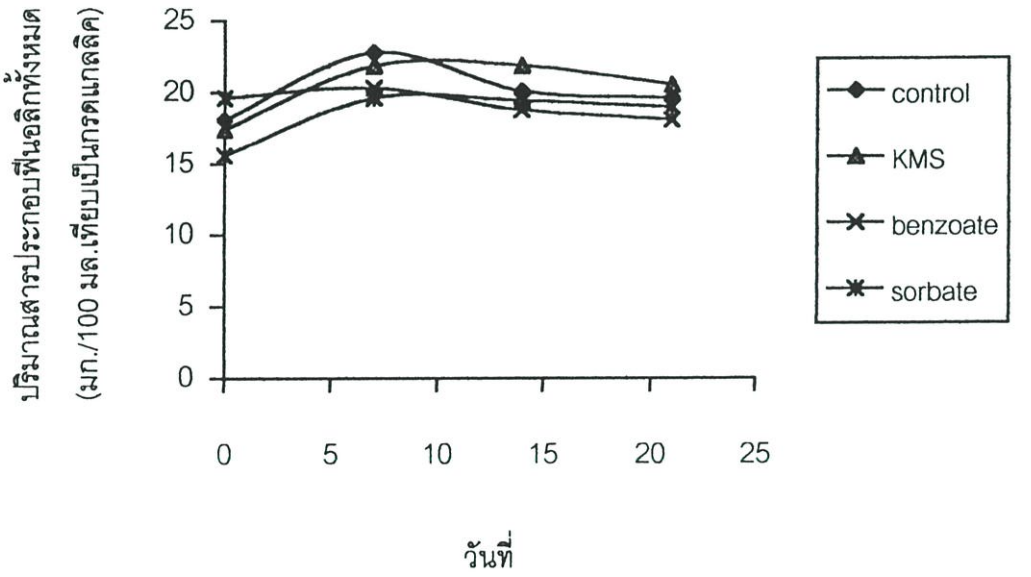
ตารางที่ 4.15 การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ ที่ใส่สารถนอมอาหารชนิดต่างๆ เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 21 วัน

วันที่	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด(มก./100 มล.เทียบเป็นกรดแกลลิค)			
	ควบคุม	โซเดียม เมตาไบซัลไฟต์	โซเดียม เบนโซเอต	โปแตสเซียม ซอร์เบต
0	$18.06\pm0.39^{y}_{d}$	$17.39\pm0.39^{y}_{d}$	$19.63\pm0.39^{x}_{a}$	$15.59\pm0.39^{z}_{c}$
7	$22.77\pm0.39^{w}_{a}$	$21.88\pm0.00^{x}_{a}$	$20.31\pm0.38^{y}_{a}$	$19.63\pm0.39^{z}_{a}$
14	$20.08\pm0.39^{x}_{a}$	$21.88\pm0.00^{x}_{a}$	$18.76\pm0.31^{z}_{b}$	$19.40\pm0.39^{y}_{a}$
21	$19.63\pm0.39^{y}_{bc}$	$20.53\pm0.00^{x}_{b}$	$18.06\pm0.39^{z}_{c}$	$18.96\pm0.39^{y}_{ab}$

^{wxz}... หมายถึง อักษรกำกับต่างกันในแนวนอนมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

^{abc}... หมายถึง อักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ



ภาพที่ 4.9 การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ ที่ใส่สารถนอมอาหารชนิดต่างๆ เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 21 วัน

จากตารางที่ 4.15 จะเห็นว่าในวันที่ 7 สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจะเพิ่มขึ้นในน้ำส้มที่ใส่สารถนอมอาหารทุกชนิด แต่หลังจากนั้นจะลดลงอย่างช้าๆ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะสารประกอบฟีนอลิกที่พบในพืชตระกูลส้มส่วนใหญ่มักพบในรูปที่มีสารอื่นมาเชื่อมต่อ (bound form) เช่น น้ำตาล กรดอินทรีย์ สารประกอบเอมีน ไขมัน เทอร์พีนอยด์ (terpenoids) เป็นต้น ดังนั้นในระหว่างการเก็บรักษาและการพาสเจอร์ไรส์อาจเป็นการกระตุ้นให้ฟีนอลิกที่อยู่ในรูปที่มีสารอื่นมา

เชื่อมต่อเปลี่ยนไปเป็นรูปอิสระซึ่งทำให้การวัดค่าของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงขึ้น Naim และคณะ (1988) ชี้ให้เห็นว่า เฟอรูริกแอซิดในน้ำส้มถูกปลดปล่อยออกจากรูปที่มีสารอื่นมาเชื่อมต่อและจากการทดลองจำลองสภาวะของน้ำส้มขึ้นมาโดยมี feruloylputrescineและ feruloylglucose เป็นองค์ประกอบแล้วนำไปเก็บรักษาพบว่า เฟอรูริกแอซิดมีการปลดปล่อยออกมาจากสารทั้งสองตัวดังกล่าว แสดงให้เห็นว่าภายใต้สภาวะที่เป็นกรด feruloyglucose และ feruloylputrescine ถูกไฮโดรไลซ์ไปเป็นเฟอรูริกแอซิดอิสระ (Naim, 1992)

ในทำนองเดียวกับ Caro และคณะ (2004) พบว่า น้ำเกรฟฟรุตเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีปริมาณฟลาโวนอยด์และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดเพิ่มขึ้นในวันที่ 5 ของการเก็บรักษา การเพิ่มขึ้นเป็นเพราะการสร้างไฮดรอกซีซินนะมิกแอซิดใหม่ขึ้นมาเนื่องจากการทำงานของฟีนิลอะลานีน แอมโมเนียไลเอส [phenylalanine ammonialyase (PAL)] และซินนะเมต 4-ไฮดรอกซีเลส [cinnamate 4-hydroxylase (C4H)] อย่างไรก็ตามการเพิ่มขึ้นนี้เป็นการเพิ่มขึ้นชั่วขณะเพราะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิกในระหว่างการเก็บรักษา

4.3.4 ผลของสารถนอมอาหารชนิดต่าง ๆต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์

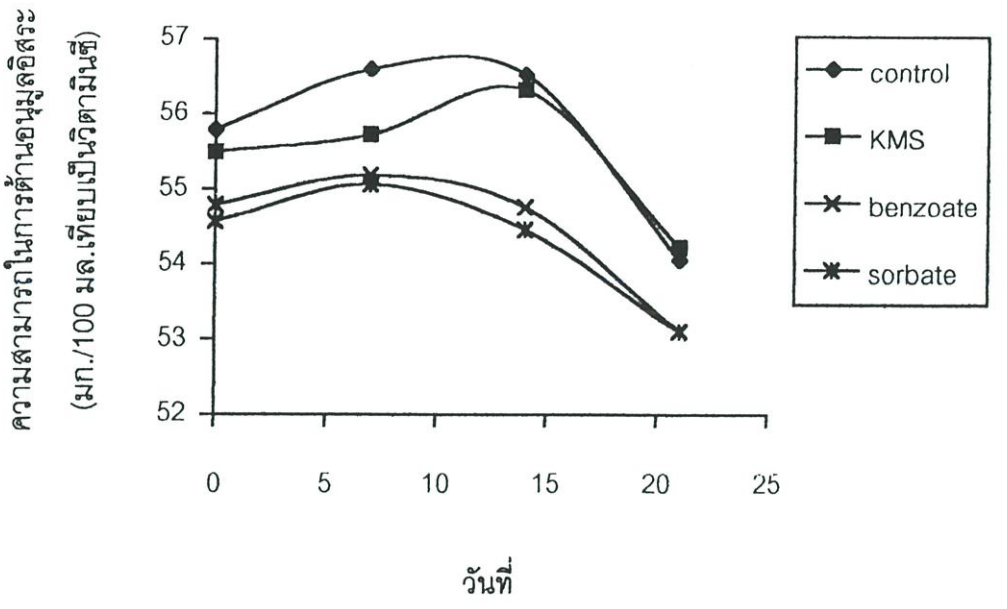
ผลของสารถนอมอาหารชนิดต่างๆ ต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ แสดงดังตารางที่ 4.16 และ ภาพที่ 4.10 แสดงการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ ที่ใส่สารถนอมอาหารชนิดต่างๆ เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 21 วัน

ตารางที่ 4.16 การเปลี่ยนแปลงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ ที่ใส่สารถนอมอาหารชนิดต่างๆ เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 21 วัน

วันที่	ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (มก./100 มล.เทียบเป็นวิตามินซี)			
	ควบคุม	โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์	โซเดียมเบนโซเอต	โปแตสเซียมซอร์เบต
0	$55.79\pm0.166^{x}{}_{b}$	$55.49\pm0.20^{x}{}_{b}$	$54.79\pm0.12^{y}{}_{a}$	$54.57\pm0.31^{y}{}_{b}$
7	$56.60\pm0.22^{x}{}_{a}$	$55.73\pm0.19^{y}{}_{b}$	$55.19\pm0.67^{y}{}_{a}$	$55.06\pm0.19^{y}{}_{a}$
14	$56.53\pm0.17^{x}{}_{a}$	$56.32\pm0.17^{x}{}_{a}$	$54.76\pm0.13^{y}{}_{a}$	$54.46\pm0.23^{y}{}_{b}$
21	$54.06\pm0.37^{x}{}_{c}$	$54.23\pm0.16^{x}{}_{c}$	$53.12\pm0.07^{y}{}_{b}$	$53.1\pm0.10^{y}{}_{c}$

^{xyz}... หมายถึง อักษรกำกับต่างกันในแนวนอนมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

^{abc}... หมายถึง อักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งมีความหมายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)



ภาพที่ 4.10 การเปลี่ยนแปลงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ ที่ใส่สารถนอมอาหารชนิดต่างๆ เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 21 วัน

จากตารางที่ 4.16 พบว่า น้ำส้มที่ใส่โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์มีผลทำให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าน้ำส้มที่ใส่โซเดียมเบนโซเอตและโปแตสเซียมซอร์เบตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และมีค่าไม่แตกต่างจากน้ำส้มที่ไม่ใส่สารถนอมอาหารอย่างมีนัยสำคัญสถิติ ($p > 0.05$) เนื่องจากน้ำส้มที่ไม่ใส่สารถนอมอาหารทำให้เกิดสารสีน้ำตาลมากกว่าซึ่งสารสีน้ำตาลพบว่า สามารถเสริมประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระเมื่ออยู่ในระบบที่มีทั้งวิตามินซีและสารประกอบฟีนอลิกได้ ดังนั้นความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ได้จึงใกล้เคียงกับน้ำส้มที่ใส่โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ ส่วนน้ำส้มที่ใส่โซเดียมเบนโซเอตและโปแตสเซียมซอร์เบตมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่าน้ำส้มที่ใส่โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์และที่ไม่ใส่สารถนอมอาหารเนื่องจากมีปริมาณวิตามินซี สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและเกิดสารสีน้ำตาลน้อยกว่า

การเพิ่มขึ้นของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระอาจเนื่องจาก ผลิตภัณฑ์ที่มีการให้ความร้อนและเก็บรักษามักเกิดสารสีน้ำตาลที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ (Murakami *et al.*, 2002) นอกจากนี้อาจเกิดอินเตอร์แอกชันระหว่างสารแอนติออกซิเดนท์ที่มีอยู่แล้วในน้ำส้มกับผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาเมลลาร์ดอาจเสริมฤทธิ์ซึ่งกันและกัน (synergist) (Wagner *et al.*, 2002) ส่วนการลดลงของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในสัปดาห์ที่สามอาจเนื่องจาก สารประกอบฟีนอลิกที่เกิดการโพลีเมอร์ไรส์และผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการสลายตัวของวิตามินซีกลายเป็นสารประกอบที่มีโมเลกุลใหญ่ขึ้นทำให้ไปลดประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระลง เห็นได้จากการเปลี่ยนแปลงสีน้ำตาลที่เกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว แสดงในตารางที่ 4.17

การทดลองในครั้งนี้สอดคล้องกับการทดลองของ Cheigh และคณะ(1995) พบว่า คาเทอชิน(catechin)เมื่อเกิดการออกซิเดชันโดยเอนไซม์และทางเคมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นก่อนที่จะเกิดสารประกอบสีน้ำตาลโมเลกุลใหญ่ และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระลดลงเมื่อปฏิกิริยาออกซิเดชันอยู่ในขั้นสุดท้าย (advance stage) เช่นเดียวกับ Caro และคณะ(2004) พบว่า น้ำส้ม Shamouti (*Citrus sinensis* L.Osbeck) เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมีค่าคงที่ภายใน 15 วัน ของการเก็บรักษา แต่จะลดลงในน้ำส้ม Salustiana (*Citrus sinensis* L.Osbeck) และเพิ่มขึ้นในเกรฟฟรุต (*Citrus paradisi* Macf.)

4.3.5 ผลของสารถนอมอาหารชนิดต่างๆต่อดัชนีการเกิดสีน้ำตาลในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์

ผลของสารถนอมอาหารชนิดต่างๆ ต่อดัชนีการเกิดสีน้ำตาลในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ แสดงดังตารางที่ 4.17 และ ภาพที่ 4.11 แสดงการเปลี่ยนแปลงดัชนีการเกิดสีน้ำตาลในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ ที่ใส่สารถนอมอาหารชนิดต่างๆ เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 21 วัน

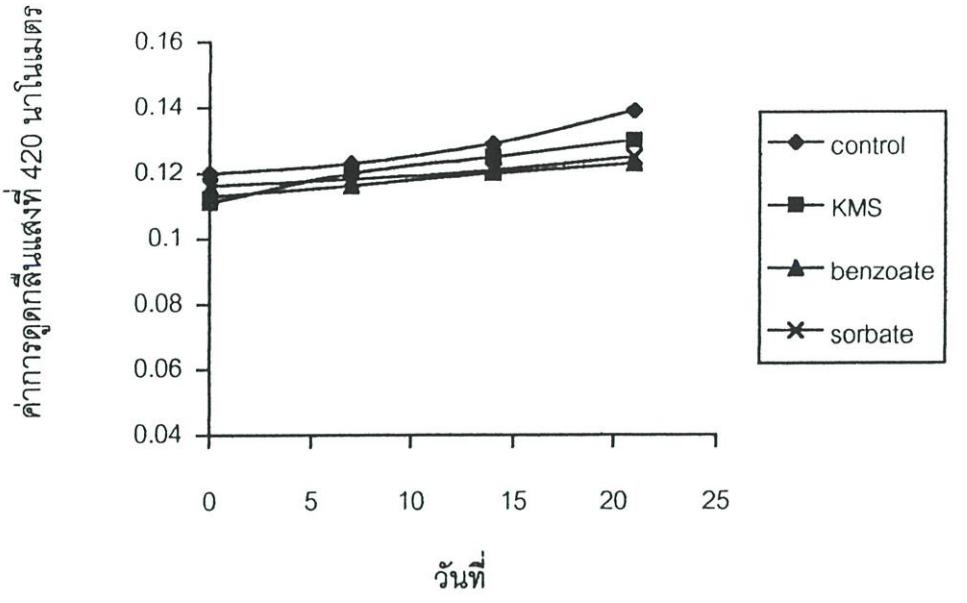
ตารางที่ 4.17 การเปลี่ยนแปลงดัชนีการเกิดสีน้ำตาลในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ ที่ใส่สารถนอมอาหาร ชนิดต่างๆ เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 21 วัน

วันที่	ดัชนีการเกิดสีน้ำตาล			
	ควบคุม	โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์	โซเดียมเบนโซเอต	โปแตสเซียมซอร์เบต
0	$0.120^{w}{}_{d}$	$0.111^{z}{}_{d}$	$0.113^{y}{}_{d}$	$0.116^{x}{}_{d}$
7	$0.123^{x}{}_{c}$	$0.120^{y}{}_{c}$	$0.116^{z}{}_{c}$	$0.118^{z}{}_{c}$
14	$0.129^{w}{}_{b}$	$0.125^{x}{}_{b}$	$0.120^{z}{}_{b}$	$0.121^{y}{}_{b}$
21	$0.139^{w}{}_{a}$	$0.130^{x}{}_{a}$	$0.123^{z}{}_{a}$	$0.125^{y}{}_{a}$

$^{wxy\cdots}$ หมายถึง อักษรกำกับต่างกันในแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

$^{abc\cdots}$ หมายถึง อักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ



ภาพที่ 4.11 การเปลี่ยนแปลงดัชนีการเกิดสีน้ำตาลในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ ที่ใส่สารถนอมอาหารชนิดต่างๆ เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 21 วัน

จากตารางที่ 4.17 พบว่า น้ำส้มที่ไม่ใส่สารถนอมอาหารจะมีดัชนีการเกิดสีน้ำตาลสูงสุด รองมาคือน้ำส้มที่ใส่โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ โปแตสเซียมซอร์เบต และโซเดียมเบนโซเอต ตามลำดับ ภายใน 21 วัน ของการเก็บรักษา จากการทดลองพบว่า น้ำส้มที่ใส่โซเดียมเบนโซเอตและโปแตสเซียมซอร์เบตมีอัตราในการเกิดสีน้ำตาลต่ำสุด อาจเนื่องจาก โซเดียมเบนโซเอตและโปแตสเซียมซอร์เบตเมื่อละลายน้ำจะได้กรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกโดยหมู่คาร์บอกซิลของกรดซอร์บิกและกรดเบนโซอิกสร้างพันธะกับอะตอมไนโตรเจนของกรดอะมิโนที่มีคุณสมบัติเป็นเบสในน้ำส้มให้อยู่ในรูปของเกลือ สังเกตได้จากความเป็นกรด-ด่าง (pH) สูงขึ้นจาก 2.99 (น้ำส้มที่ไม่ใส่สารถนอมอาหาร) เป็น 3.04 และ 3.06 (ตารางที่ 4.19) ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ความเป็นกรด-ด่างที่เพิ่มขึ้นนี้จะช่วยเพิ่มความคงตัวให้โปแตสเซียมซอร์เบตและโซเดียมเบนโซเอตเกิดปฏิกิริยาออกซิชันเพียงเล็กน้อยโดยช่วยสนับสนุนให้กรดซอร์บิกและกรดเบนโซอิกเกิดการไอออไนส์ทำให้ลดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ในทางตรงกันข้าม ถ้าความเป็นกรด-ด่างต่ำโมเลกุลของกรดซอร์บิกและกรดเบนโซอิกจะอยู่ในรูปที่ไม่แตกตัว ดังนั้นจะไวต่อการสลายตัวเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันทำให้สีน้ำตาลเกิดขึ้นมากด้วยเช่นกัน (Arya,1980)

ถึงแม้ว่าโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์จะมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาล แต่จากการทดลองพบว่า ดัชนีการเกิดสีน้ำตาลเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษา แต่การเพิ่มขึ้นจะเกิดในอัตราที่ช้ากว่าน้ำส้มที่ไม่สารถนอมอาหาร โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์สามารถยับยั้งการ

เกิดสีน้ำตาลได้เนื่องจาก ในสภาวะที่เป็นกรดเกลือซัลไฟต์จะอยู่ในรูปของไบซัลไฟต์ (HSO_3^-) ที่สามารถแทนที่ตำแหน่งที่มีประจุลบหนาแน่นในหมู่คาร์บอนิลของสารประกอบ 2-ออกโซ-3,4,5-ไตรไฮดรอกซีเพนทานอล (2-oxo-3,4,5-trihydroxypentanal) และ 4,5-ไดไฮดรอกซี-ออกโซเพนทานอล (4,5-dihydroxy-oxopentanal) ที่เกิดจากการสลายตัวของวิตามินซีในสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจนได้เป็นสารประกอบไฮดรอกซีซัลโฟเนตที่มีแอกติวีตีต่อการเกิดสารสีน้ำตาลต่ำ อย่างไรก็ตามปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นสามารถเปลี่ยนกลับไปกลับมาได้และมีหมู่คาร์บอนิลเพียง 1 หมู่จาก 2 หมู่ที่ทำปฏิกิริยากับสารประกอบซัลไฟต์ (Wedzicha,1981) ดังนั้น การใส่โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์จึงเป็นเพียงการชะลอการเกิดสีน้ำตาลเท่านั้น สอดคล้องกับการทดลองของ Wedzicha (1981) ที่พบไฮดรอกซีซัลโฟเนตเพียงร้อยละ 75 จากการเติมซัลเฟอร์ไดออกไซด์ 400 ppm ลงในไวน์ เนื่องจากซัลไฟต์มีความสามารถในการทำปฏิกิริยากับกลูโคสตรงตำแหน่งคาร์บอนิลต่ำ จึงทำให้ที่จุดสมดุลมีกลูโคสหรือน้ำตาลรีดิวส์อิสระที่สามารถทำปฏิกิริยากับเอมีนเกิดเป็นสารสีน้ำตาลขึ้นได้

4.3.6 ผลของการใส่สารถนอมอาหารชนิดต่างๆ ต่อปริมาณกรดทั้งหมด ความเป็นกรด-ด่างและปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์

ผลของการใส่สารถนอมอาหารชนิดต่างๆ ต่อปริมาณกรดทั้งหมด ความเป็นกรด-ด่างและปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 21 วัน แสดงดังตารางที่ 4.18, 4.19 และ 4.20 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.18 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดทั้งหมดในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ ที่ใส่สารถนอมอาหารชนิดต่างๆ เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 21 วัน

วันที่	ปริมาณกรดทั้งหมด (%เทียบเป็นกรดซิตริค)			
	ควบคุม	โซเดียม เมตาไบซัลไฟต์	โซเดียม เบนโซเอต	โปแตสเซียม ซอร์เบต
0	$3.01\pm0.04^{x}{}_{a}$	$3.03\pm0.09^{x}{}_{a}$	$2.96\pm0.00^{y}{}_{a}$	$2.96\pm0.00^{y}{}_{a}$
7	$2.88\pm0.00^{x}{}_{b}$	$2.88\pm0.00^{x}{}_{b}$	$2.91\pm0.04^{x}{}_{b}$	$2.93\pm0.04^{x}{}_{a}$
14	$2.88\pm0.00^{x}{}_{b}$	$2.85\pm0.04^{x}{}_{b}$	$2.88\pm0.00^{x}{}_{b}$	$2.88\pm0.00^{x}{}_{b}$
21	$2.88\pm0.00^{x}{}_{b}$	$2.88\pm0.00^{x}{}_{b}$	$2.88\pm0.00^{x}{}_{b}$	$2.88\pm0.00^{x}{}_{b}$

^{xyz} หมายถึง อักษรต่างกันแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

^{abc} หมายถึง อักษรต่างกันแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลอง 3 ซ้ำ

จากตารางที่ 4.18 พบว่า ปริมาณกรดทั้งหมดลดลงทั้งในน้ำส้มที่ไม่ใส่สารถนอมอาหารและใส่สารถนอมอาหารชนิดต่างๆ ภายใน 21 วัน ของการเก็บรักษา การลดลงอาจเนื่องมาจากกรดซิตริคมีส่วนร่วมในการพัฒนาการเกิดสีน้ำตาล โดยกรดซิตริคอาจประพฤติตัวคล้ายกับกรดอะมิโนและไปทำปฏิกิริยากับผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการสลายตัวของวิตามินซีนำไปสู่การเกิดรงควัตถุสีน้ำตาล หรือ แตกตัวภายใต้สภาวะการเก็บรักษาและทำให้เกิดเป็นสารประกอบคาร์บอนิลที่หลากหลาย (Clegg,1966)

การมีบทบาทของกรดซิตริคดังกล่าวอาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ดัชนีการเกิดสีน้ำตาลเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว สอดคล้องกับการทดลองของ Buglione and Lozano (2002) พบว่า yellow muscal juice concentrate มีปริมาณกรดลดลงเล็กน้อยหลังเก็บรักษาไว้นาน 17 สัปดาห์ ส่วนหนึ่งอาจเนื่องจากการมีส่วนร่วมในการเกิดโพลีเมอร์ไรเซชันของกรดอินทรีย์กับผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาล

ตารางที่ 4.19 การเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่างในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ ที่ใส่สารถนอมอาหารชนิดต่างๆ เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 21 วัน

วันที่	ความเป็นกรด-ด่าง			
	ควบคุม	โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์	โซเดียมเบนโซเอต	โปแตสเซียมซอร์เบต
0	2.99^{y}_{a}	2.96^{y}_{a}	3.06^{x}_{a}	3.04^{x}_{a}
7	2.98^{z}_{a}	2.98^{z}_{a}	3.06^{x}_{a}	3.02^{y}_{b}
14	2.98^{z}_{a}	2.96^{y}_{a}	3.04^{x}_{a}	3.05^{x}_{a}
21	2.99^{y}_{a}	2.96^{z}_{a}	3.04^{x}_{a}	3.05^{x}_{a}

^{xyz} หมายถึง อักษรกำกับแตกต่างกันในแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

^{abc} หมายถึง อักษรกำกับแตกต่างกันในแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลอง 3 ซ้ำ

ตารางที่ 4.20 การเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ ที่ใส่สารถนอมอาหารชนิดต่างๆ เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 21 วัน

วันที่	ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (^{o}Brix)			
	ควบคุม	โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์	โซเดียมเบนโซเอต	โปแตสเซียมซอร์เบต
0	9.2^{ns}	9.2^{ns}	9.2^{ns}	9.2^{ns}
7	9.2^{ns}	9.2^{ns}	9.2^{ns}	9.2^{ns}
14	9.2^{ns}	9.2^{ns}	9.2^{ns}	9.2^{ns}
21	9.2^{ns}	9.2^{ns}	9.2^{ns}	9.2^{ns}

^{ns} หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

จากตารางที่ 4.19 พบว่า น้ำส้มที่ใส่โซเดียมเบนโซเอตและโปแตสเซียมซอร์เบตทำให้ความเป็นกรด-ด่างสูงกว่าน้ำส้มที่ไม่ใส่สารถนอมอาหารและใส่โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) อาจเนื่องจาก โซเดียมเบนโซเอตและโปแตสเซียมซอร์เบตเมื่อละลายน้ำจะได้เป็นกรดซอร์บิกและกรดเบนโซอิกหมู่คาร์บอกซิลของกรดทั้งสองสร้างพันธะกับอะตอมไนโตรเจนของกรดอะมิโนที่มีคุณสมบัติเป็นเบสในน้ำส้มให้อยู่ในรูปของเกลือ (Arya, 1980) จึงทำให้ความเป็นกรด-ด่างสูงขึ้น

จากตารางที่ 4.20 พบว่า ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงในระหว่างการเก็บรักษานาน 21 วัน สอดคล้องกับการทดลองของ Robertson และ Samaniego (1986) พบว่า ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ และ อัตราส่วน ^{o}Brix/acid ในน้ำมะนาวไม่เปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส นาน 6 สัปดาห์

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

1. อุณหภูมิในการพาสเจอร์ไรส์/เวลามีผลทำให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในน้ำส้มเขียวหวานลดลง โดยการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส ทำให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระลดลงมากกว่าการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ร้อยละ 3.71 โดยปริมาณวิตามินซีลดลงมากกว่าร้อยละ 6.06 และ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงมากกว่าร้อยละ 10.74

2. อุณหภูมิ/ระยะเวลาในการเก็บรักษามีผลทำให้ปริมาณวิตามินซีและสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ลดลง แต่ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นที่ทุกอุณหภูมิในการเก็บรักษา โดยที่อุณหภูมิ -1 และ 4 องศาเซลเซียส ทำให้ปริมาณวิตามินซีลดลงร้อยละ 12.99 และ 13.61 ตามลำดับ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงร้อยละ 10.14 และ 12.17 ตามลำดับ และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้นร้อยละ 49.90 และ 47.60 ตามลำดับ ภายใน 20 วัน ส่วนการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ทำให้ปริมาณวิตามินซีลดลงร้อยละ 17.32 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงร้อยละ 12.17 และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นร้อยละ 52.33 ภายใน 15 วัน

3. การใส่สารถนอมอาหาร โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ โซเดียมเบนโซเอต โปแตสเซียมซอร์เบต เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 21 วัน พบว่า น้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ที่ใส่โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์มีผลทำให้ปริมาณวิตามินซี สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าน้ำส้มเขียวหวานพาสเจอร์ไรส์ที่ใส่โซเดียมเบนโซเอตและโปแตสเซียมซอร์เบตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และมีค่าไม่แตกต่างจากน้ำส้มเขียวหวานที่ไม่ใส่สารถนอมอาหารอย่างมีนัยสำคัญสถิติ ($p > 0.05$)

บรรณานุกรม

วีระศักดิ์ เหล่าตระกูล. 2542. *ปัจจัยที่มีผลต่อความคงตัวของปริมาณวิตามินซีในน้ำส้ม* บทความทางวิชาการ. กลุ่มงานคุ้มครองผู้บริโภคและเภสัชสาธารณสุข สำนักงานสาธารณสุขจังหวัดนครปฐม.

Albach, R.F. and Redman, G.H. 1969. Composition and inheritance of flavanones in citrus fruit. *Phytochem.* 8 : 530-534.

A.O.A.C. 1990. *Official method of analytical chemists.* 15 th edition. Washington, D.C. Association of Official Analytical Chemist.

Arena, E., Fallico, B. and Maccarone, E. 2001. Evaluation of antioxidant capacity of blood orange juices as influenced by constituents, concentration process and storage. *Food Chem.* 74 : 423-427.

Arya, S.S. 1980. Stability of sorbic acid in aqueous solutions. *J.Agric.Food Chem.* 28 : 1246-1249

Arya, S.S. and Thakur, B.R. 1988. Degradation products of sorbic acid in aqueous solution. *Food Chem.* 29 : 41-49.

Asami, D.K.,Hong, Y.J., Barrett, D.M. and Mitchell, A.E. 2003. Processing-induced changes in total phenolics and procyanidins in clingstone peaches. *J.Sci. Food Agric.* 83 : 56-63.

Ayhan, Z., Yeom, H.W., Zhang, Q.H. and Min, D.B. 2001. Flavor, color, and vitamin C retention of pulsed electric field processed orange juice in different packaging materials. *J.Agric.Food Chem.* 49 : 669-674.

Baird-Parker, A.C. 1980. Organic acids. In *Antimicrobials in foods.* Davidson, P.M. and Branen, A.L.(Ed.). New York : Marcel Dekker.

Benavente-García, O., Castillo, J., Marin, F.R., Ortuño, A. and Del Río, J.A. 1997. Uses and properties of citrus flavonoids. *J.Agric.Food Chem.* 45 : 4505-4514.

Berry, R.E., Bissett, O.W. and Veldhuis, M.K. 1971. Vitamin C retention in orange juice as related to container type. *The citrus industry.* June : 12-13.

Block, G. 1991. Epidemiologic evidence regarding vitamin C and cancer. *Am J Clin Nutr.* 54 : 1310s-1314s.

Bors, W., Werner, H., Michel, C. and Saran, M. 1990. Flavonoids as antioxidants

determination of radical scavenging efficiencies. *Methods in Enzymology.* 186 : 343-355.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. and Berset, C. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm.-Wiss.U.-Technol.* 28 : 5-30.

Buglione, M. and Lozano, J. 2002. Nonenzymatic browning and chemical changes during grape juice storage. *J.Food Sci.* 67 : 1538-1543.

Burda, S. and Oleszek, W. 2001. Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. *J.Agric.Food Chem.* 49 : 2774-2779.

Caro, A.D., Piga, A., Vacca, V. and Agabbio, M. 2004. Changes of flavonoids, vitamin C and antioxidant capacity in minimally processed citrus segments and juices during storage. *Food Chem.* 84 : 99-105.

Carr, A.C. and Frei, B. 1999. Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans. *Am J Clin Nutr.* 69 : 1086-1107.

Chen, J.H. and Ho, C.T. 1997. Antioxidant activities of caffeic acid and its related hydroxycinnamic acid compounds. *J.Agric.Food Chem.* 45 : 2374-2378.

Cheigh, H-S., Um, S-H., Lee, C.Y. 1995. Antioxidant characteristics of Melanin-related products from enzymatic browning reaction of catechin in a model system. In *ACS symposium series 600.* Washington, D.C. : American Chemical Society.

Chipley, J.R. 1993. Sodium benzoate and benzoic acid. In *Antimicrobials in foods.* Davidson, P.M. and Branen, A.L.(Ed.). New York : Marcel Dekker.

Clegg, K.M. 1966. Citric acid and the browning of solutions containing ascorbic acid. *J.Sci.Food Agric.* 17 : 546-549.

Clegg, K.M. and Morton, A.D. 1965. Carbonyl compounds and the non-enzymic browning of lemon juice. *J.Sci.Food Agric.* 16 : 191-198.

Coultate, T.P. 1996. *Food the chemistry of its components.* 3th. Cambride : Athenaeum Press.

Cuvelier, M.E., Richard, H. and Berset, C. 1992. Comparison of the antioxidative activity of some acid-phenols : structure-activity relationship. *Biosci. Biotech. Biochem.* 52 : 324-325.

Duell, P.B. 1996. Prevention of atherosclerosis with dietary and antioxidants : fact or fiction. *Journal of nutrition*. 126 : 1067S-1071S.

Gehman, H. and Osman, E.M. 1954. The chemistry of sugar-sulfite reaction and its relationship to food problems. In *Antimicrobials in foods*. Davidson, P.M. and Branen, A.L.(Ed.). New York : Marcel Dekker.

Gil-Izquierdo, A., Gil, M.I., Ferreres, F. and Tomás-Barberán, F.A. 2001. In vitro availability of flavonoids and other phenolics in orange juice. *J.Agric.Food Chem.* 49 : 1035-1041.

Gorinstein, S., Martin-Belloso, O., Park, Y.S., Haruenkit, R., Lojek, A., Ciz, M., Caspi, A., Libman, I. and Tralchtenberg, S. 2001. Comparison of some biochemical characteristics of different citrus fruit. *Food Chem.* 74 : 309-315.

Graumlich, T.R., Marcy, J.E. and Adams, J.P. 1986. Aseptically packaged orange juice and concentrate : A review of the influence of processing and packaging conditions on quality. *J.Agric.Food Chem.* 34 : 402-405.

Hanasaki, Y., Ogawa, S. and Fukui, S. 1994. The correlation between action oxygen scavenging and antioxidative effects of flavonoids. *Free Radical Biology and Medicine*. 16 : 840-850.

Ingram, M. and Vas, K. 1950. Combination of sulfur dioxide with concentrated orange juice.I.Equilibrium states. *J.Sci.Food Agric.* 1 : 21-27.

Jackman, R.L. and Smith, J.L. 1996. Anthocyanins and betalains. In *Natural food colorants*. Hendry, G.A.F. and Houghton, J.D.(Ed.). New York : Blackie Academic & Professional.

James, C.S. 1995. *Analytical chemistry of foods.* Great Britain : Blackie Academic & Professional.

Johnson, W.S. and Heinz, W.E. 1949. The acid-catalyzed decarboxylation of cinnamic acids. *J Amer Chem Soc.* 71 : 2913-2918.

Johnson, R.L. and Toledo, R.T. 1975. Storage stability of 55 ^{o}Brix orange juice concentrate aseptically packaged in plastic and glass containers. *J.Food Sci.* 40 : 433-434.

Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. 1978. Specifications for identity and purity of thickening agents, anticaking agents, antimicrobials, antioxidants,

and emulsifiers. In *Antimicrobials in foods*. Davidson, P.M. and Branen, A.L. (Ed.). New York : Marcel Dekker.

Joslyn, M.A., and Braverman, J.B.S. 1954. The chemistry and technology of the pretreatment and preservation of fruit and vegetable products with sulfur dioxide and sulfites. In *Antimicrobials in foods*. Davidson, P.M. and Branen, A.L.(Ed.). New York : Marcel Dekker.

Kaanane, A., Kane, D. and Labuza, T.P. 1988. Time and temperature effect on stability of Moroccan processed orange juice during storage. *J.Food Sci.* 53 : 1470-1473.

Kacem, B., Matthews, R.F., Crandall, P.G. and Cornell, J.A. 1987a. Nonenzymatic browning in aseptically packaged orange juice and orange drinks.Effect of amino acids deaeration and anaerobic storage. *J.Food Sci.* 52 : 1668-1672.

Känkönen,M.P.,Hopia,A.I.,Vuorela,H.J.,Rauha,J.P.,Pihlaja,K.,Kujala,T.S. and Heinonen,M. 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J.Agric.Food Chem.* 47 : 3954-3962.

Kawaii, S., Tomono, Y., Katase, E., Ogawa, K. and Yano, M. 1999. Quantitation of flavonoid constituents in citrus fruits. *J.Agric.Food Chem.* 47 : 3565-3571.

Kennedy, J.F., Rivera, Z.S., Lloyd, L.L., Warner, F.P. and Jumel, K. 1992. L-ascorbic acid stability in aseptically processed orange juice in Tetra Brik cartons and the effect of oxygen. *Food Chem.* 45 : 327-331.

Kim, D.O., Lee, K.W., Lee, H.J. and Lee, C.Y. 2002. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. *J.Agric.Food Chem.* 50 : 3713-3717.

Kim, M-C. and Pratt, D.E. 1992. Thermal degradation of phenolic antioxidants In *Phenolic compounds in food and their effects on health II : Antioxidant & cancer prevention.* Washington, D.C. : American Chemical Society.

Kitts, D.D. 1997. An evaluation of the multiple effects of the antioxidant vitamins. *Trends in food science and technology.* 8 : 198-203.

Klim, M. and Nagy, S. 1988. An improved method to determine nonenzymic browning in citrus juice. *J.Agric.Food Chem.* 36 : 1271-1274.

Landrault, N., Poucheret, P., Ravel, P., Gasc, F., Cros, G. and Teissedre, P.L. 2001. Antioxidant capacities and phenolic levels of french wines from different varieties and vintages. *J.Agric.Food Chem.* 49 : 3341-3345.

Lea, A.G.H. 1992. Flavor, color and stability in fruit products : the effects of polyphenols. In phenolic compounds and their role in oxidative process in fruits. *Food Chem.* 1999. 66 : 401-436.

Lin, S.H. and Agalloco, J. 1979. Degradation kinetics of ascorbic acid. *Process Biochem.* 14 : 22-26.

Macheix, J.J., Fleuriet, A. and Billot, J. 1990. *Fruit phenolics.* Boca Raton : CRC Press.

Manzocco, L., Anese, M. and Nicoli, M.C. 1998. Antioxidant properties of tea extracts as affected by processing. *Lebensm.-Wiss.u. Techol.* 10 : 94-100.

Mason, H.M. 1928. Note on the oxidation of sulfite by air. In *Antimicrobials in foods.* Davidson, P.M. and Branen, A.L.(Ed.). New York : Marcel Dekker.

Meydav, S., Saguy, I. and Kopelman, J.I. 1977. Browning determination in citrus product. *J.Agric.Food Chem.* 25 : 602-604.

Middleton Jr, E. and Kandaswami, C. 1994. Potential health-promoting properties of citrus flavonoids. *Food Technol.* November : 115-119.

Miller, N.J. and Rice-Evans, C.A. 1997. The reletive contributions of ascorbic acid and phenolic antioxidants to the total antioxidant activity of orange and apple fruit juices and blackcurrant drink. *Food Chem.* 60 : 331-337.

Mottar, J. 1989. The usefulness of polypropylene for the aseptic packaging of orange juices. *Z. Lebensm. Unters Forsch.* 189 : 119-122.

Murakami, M., Shigeeda, A., Danjo, K., Yamaguchi, T., Takamura, H. and Matoba, T. 2002. Radical-scavenging activity and brightly colored pigments in the early stage of the maillard reaction. *J.Food Sci.* 67 : 93-96.

Nagy,S. 1980. Vitamin C contents of citrus fruit and their products : A review. *J.Agric.Food Chem.* 28 : 8-18.

Nagy, S. and Attaway, J.A. 1980. *Citrus nutrition and quality.* Washington, D.C. : American Chemical.

Naim, M., Striem, B.J., Kanner, J., Peleg, H. 1988. Potential of ferulic acid as a precursor to off-flavors in stored orange juice. *J.Food Sci.* 512 : 500-503.

Naim, M., Zehavi, U., Nagy, S., Rouseff, R.L. 1992. Hydroxycinnamic acids as off-flavor precursors in citrus fruits and their products. In *Phenolic compounds in food and their effects on health I : Analysis, occurrence, and chemistry.* Ho,C.T., Lee, C.Y. and Huang, M.T.(Ed.). New York : American Chemical Society.

Namiki, M. 1990. Antioxidants/Antimutagens in food. *Food Science and Nutrition.* 29 : 273-299.

Natella, F., Nardini, M., Felice, M.D. and Scaccini, C. 1999. Benzoic and cinnamic acid derivatives as antioxidants : structure-activity relation. *J.Agric.Food Chem.* 47 : 1453-1459.

Nicoli, M.C., Anese, M. and Parpinel, M. 1999. Influence of processing on the antioxidant properties of fruit and vegetables. *Food Science. & Technology.* 10 : 94-100.

Niki, E. 1991. Action of ascorbic acid as a scavenger of active and stable oxygen radicals. *Am J Clin Nutr.* 54 : 1119s-1124s

Noomhorm, A. and Kasemsuksakul, N. 1992. Effect of maturity and processing on bitter compounds in Thai tangerine juice. *International Journal of Food Science and Technology.* 27 : 65-72.

Ough, C.S. 1993. Sulfur dioxide and sulfites. In *Antimicrobials in foods.* Davidson, P.M. and Branen, A.L.(Ed.). New York : Marcel Dekker.

Park, G.L., Avery, S.M., Byers, J.L. and Nelson, D.B. 1983. Identification of bioflavonoids from citrus. *Food Technol.* 37 : 98-105.

Peleg, H., Naim, M., Rouseff, R.L. and Zehavi, U. 1991. Distribution of bound and free phenolic acids in oranges (*Citrus sinensis*) and grapefruits (*Citrus paradisi*). *J.Sci.Food Agric.* 57 : 417-426.

Philips, R.J. 1928. Note on the stability of solutions of potassium metabisulfite. In *Antimicrobials in foods.* Davidson, P.M. and Branen, A.L.(Ed.). New York : Marcel Dekker.

Piga, A., Agabbio, M., Gambella, F. and Nicoli, M.C. 2002. Retention of antioxidant activity in minimally processed Mandarin and Satsuma fruit. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* 35 : 344-347.

Polydera, A., Stoforos, N.G. and Taoukis, P.S. 2002. Kinetic studies of storage effect on nutritional parameters of high pressure processed reconstituted orange juice. [online]. Available : http: www.ift.confex.com/ift/2002/techprogram/paper_13359.htm

Pyysalo, T., Torkkeli, H., Honkanen, E. 1977. The thermal decarboxylation of some substituted cinnamic acids. *Lebensm.-Wiss.u.-Technol.* 10 : 145-147.

Rapisarda, P., Carollo, G., Fallico, B., Tomaselli, F. and Maccarone, E. 1998. Hydroxycinnamic acids as markers of Italian blood orange juices. *J.Agric.Food Chem.* 46 : 464-470.

Risch, B. and Herrmann, K. 1988. Hydroxycinnamic acid derivatives in citrus fruit. *Z.Lebensm.Unters.-Forsch.* 187 : 530-534.

Robards, K., Prenzler, P.D., Tucker, G., Swatsitang, P. and Glover, W. 1999. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chem.* 66 : 401-436.

Robert, C. 1983. Quality of citrus juices as related to composition and processing practices. *Food Technol.* 37 : 68-71,133.

Robertson, G.L. and Samaniego, C.M.L. 1986. Effect of initial dissolved oxygen levels on the degradation of ascorbic acid and the browning of lemon juice during storage. *J.Food Sci.* 51 : 184-187.

Roig, M.G., Bello, J.F., Rivera, Z.S. and Kennedy, J.F. 1999. Studies on the occurrence of non-enzymatic browning during storage of citrus juice. *Food Research International.* 32 : 609-619.

Rouseff, R.L. 1980. Flavonoids and citrus quality. In *Citrus nutrition and quality.* Nagy, S. and Attaway, J.A.(Ed.). Washington, D.C. : Marcel Deckker.

Saguy, I., Kopelman, I.J. and Mizrahi, S. 1978. Simulation of ascorbic acid stability during heat processing and concentration of grapefruit juices. *Journal of Food Process Engineering.* 2 : 213-225.

Salumkhe, D.K. and Desai, B.B. 1986. *Postharvest biotechnology of fruits Vol.1.* Boca Raton : CRC Press.

Sattar, A., Durrani, M.J., Khan, R.N. and Hussain, B.H. 1989. Effect of packaging materials and fluorescent light on HTST-pasteurized orange drink. *Z.Lebensm.Unters Forsch.* 188 : 430-433.

Sherman, H.C. 1952. *Chemistry of food and nutrition.* 8 th New York : The macmillan.

Singh, R.P., Heldman, D.R. and Kirk, J.R. 1976. Kinetics of quality degradation : ascorbic acid oxidation in infant formula during storage. *J.Food Sci.* 41 : 304-308.

Smoot, J.M. and Nagy, S. 1980. Effects of storage temperature and duration on the total vitamin C content of canned single-strenght grapefruit juice. *J.Agric.Food Chem.* 28 : 417.

Solomon, O. and Svanberg, U. 1995. Effect of oxygen and fluorescent light on the quality of orange juice during storage at 8 °C. *Food Chem.* 53 : 363-368.

Spanos, G.A., Wrolstad, R.E. and Heatherbell, D.A. 1990. Influence of processing and storage on the phenolic composition of apple juice. *J.Agric.Food Chem.* 38 : 1572-1579.

Taneja S,R. and Sachar, R.C. 1974. Induction of polyphenoloxidase in germinating wheat seeds. *Phytochem.* 13 : 2695-2702.

Tanizawa, H., Ohkawa, Y., Takino, Y., Miyase, T., Ueno, A., Kageyama, T. and Hara, S. 1992. Studies on natural antioxidants in citrus species. I. Determination of antioxidative activities of citrus fruits. *Chem. Pharm. Bull.* 40 : 1940-1942.

Tomás-Barberán, F.A. and Clifford, M.N. 2000. Review flavanones, chalcones and dihydrochalcones nature, occurrence and dietary burden. *J.Sci.Food Agric.* 80 : 1073-1080.

Trammell, D.J., Dalsis, D.E. and Malone, C.T. 1986. Effect of oxygen on taste, ascorbic acid loss and browning for HTST-pasteurized, single-strength orange juice. *J.Food Sci.* 51 : 1021-1023.

Wagner, K-H., Derkits, S., Herr, M., Schuh, W. and Elmadfa, I. 2002. Antioxidative potential of melanoidins isolated from a roasted glucose-glycine model. *Food Chem.* 78: 375-382.

Wedzicha, B.L. 1981. Sulphur dioxide: the reaction of sulphite species with food component. *Nutrition and Food Science.* Sep./Oct. : 12-13.

Wedzicha, B.L. 1984. *Chemistry of sulphur dioxide in food.* Exsex : Elsevier Applied Science.

Wijewickreme, A.N., Kitts, D.D. and Durance, T.D. 1997. Reaction conditions influence the elementary composition and metal chelating affinity of nondialyzable model maillard reaction products. *J.Agric.Food Chem.* 45 : 4577-4583.

Yeom, H.W., Streaker, C.B., Howard Zhang, Q. and Min, D.B. 2000. Effect of pulsed electric fields on the quality of orange juice and comparison with heat pasteurization. *J.Agric.Food Chem.* 48 : 4597-4605.

Yuan, J.P. and Chen, F. 1998. Degradation of ascorbic acid in aqueous solution. *J.Agric.Food Chem.* 46 : 5078-5082.

Zerdin, K., Rooney, M.L. and Vermuë, J. 2003. The vitamin C content of orange juice packed in an oxygen scavenger material. *Food Chem.* 82 : 387-395.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
การวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซี
(Jame, 1995)

สารเคมี

1. สารละลาย 2,6-dichlorophenolindophenol (DCP) หรือ dye solution

วิธีเตรียม ละลาย 2,6-dichlorophenolindophenol จำนวน 800 มิลลิกรัม ในน้ำกลั่นต้มเดือดและทำให้เย็นลง 250 มิลลิลิตร กรองถ้าจำเป็น และปรับปริมาตรให้ได้ 500 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น เก็บรักษาในที่เย็นและบรรจุในขวดสีชา ให้ใช้ภายใน 7 วัน

2. สารละลาย Metaphosphoric-acetic acid (MPA)

วิธีเตรียม ละลาย Metaphosphoric acid จำนวน 30 กรัม ในแกลเซียอะซีติกแอซิด 80 มิลลิลิตร และ น้ำ 400 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร และนำไปกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 บรรจุในขวดสีชาเก็บไว้ในตู้เย็นได้นาน 7 วัน

3. สารละลายมาตรฐานกรดแอสกอร์บิก

วิธีเตรียม ละลาย L-ascorbic acid จำนวน 0.2 กรัม ในสารละลาย MPA ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตรครบ 100 มิลลิลิตร ต่อจากนั้นทำการเจือจางโดยดูดสารละลายจากข้างต้น 1 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่นจนครบ 100 มิลลิลิตร เก็บรักษาในตู้เย็น เพราะฉะนั้นจะประกอบไปด้วยกรดแอสกอร์บิก 2 มิลลิลิตร/100 มิลลิลิตร

วิธีการ

1. การทำสารละลายมาตรฐาน dye solution (standardisation of reagent)
   a) โดยการปิเปตสารละลายกรดแอสกอร์บิก 5 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่
   b) ทำการไทเทรตอย่างรวดเร็วด้วย dye solution ตอนแรกสีของ dye solution จะจางหายไปเนื่องจากกรดแอสกอร์บิก ให้ทำการไทเทรตไปเรื่อยๆ พร้อมกับเขย่าไปด้วย จนกระทั่งเป็นสีชมพูจางๆ คงอยู่นาน 15 วินาที และเนื่องจากกรดแอสกอร์บิกไม่เสถียร การทำสารละลายมาตรฐานจึงควรทำทุกวัน
   c) การคำนวณ ให้คำนวณว่า dye solution A มิลลิลิตร ใช้ในการทำปฏิกิริยากับสารละลายกรดแอสกอร์บิก 5 มิลลิลตร ดังนั้นถ้า dye solution 1 มิลลิลิตร จะใช้ทำปฏิกิริยากับกรดแอสกอร์บิกกี่มิลลิกรัม

2. การตรวจสอบปริมาณกรดแอสกอร์บิกในน้ำผลไม้

   a) ปิเปตน้ำผลไม้ 5 มิลลิลิตร (กรองด้วยผ้าขาวบาง) ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร

   b) เติม MPA ให้ครบ 100 มิลลิลิตร และ เขย่าให้เข้ากัน

   c) ปิเปตสารละลายน้ำส้มข้างต้น 10 มิลลิลิตร

   d) ทำการไทเทรตด้วย dye solution พร้อมกับเขย่าไปด้วย จนกระทั่งเป็นสีชมพูจางๆ คงอยู่นาน 15 วินาที

   e) การคำนวณ ให้คำนวณออกมาว่าในน้ำส้ม 100 มิลลิลิตร จะมีปริมาณกรดแอสกอร์บิกอยู่กี่มิลลิกรัม

ภาคผนวก ข
การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด
(Gorinstein *et al.*, 2001 และ Känkönen *et al.*,1999)

สารเคมี

1. Folin-Ciocalteu reagent
2. กรดแกลลิค 0.015 w/v ใน 95% เอทธานอล
3. โซเดียมคาร์บอเนต 7.5% w/v
4. เอทธานอล 95%

การเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิค

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิคความเข้มข้น 150 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ใน 95% เอทธานอล
2. ปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิคปริมาตร 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรให้ครบ 10 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น
3. ปิเปตสารละลายมาตรฐานแต่ละความเข้มข้น 0.2 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่
4. ปิเปต Folin-Ciocalteu reagent 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแรงๆ
5. ปิเปตโซเดียมคาร์บอเนต 7.5% จำนวน 0.8 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแรงๆ
6. ปิเปตน้ำ 8 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแรงๆ
7. ผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที
8. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร
9. ใช้ 95% เอทธานอล เป็นแบลงค์

การสกัดสารประกอบฟีนอลิก

1. ชั่งน้ำส้มมา 10 มิลลิลิตร
2. นำมาสกัดด้วย 95% เอทธานอล จำนวน 125 มิลลิลิตร ปั่นด้วยเครื่องเบลนเดอร์ นาน 1 นาที เทใส่บีกเกอร์ปากขอบเรียบและปิดปากบีกเกอร์ด้วยกระจกนาฬิกา
3. ทำการรีฟลักซ์โดยการให้ความร้อนในอ่างควบคุมความร้อนหรือในหม้อน้ำเดือดบนเตาไฟฟ้า จนกระทั่งเดือดเบาๆ นาน 2 นาที
4. นำสารที่สกัดได้ทิ้งไว้ในเย็น
5. กรองโดยใช้กระดาษกรอง Whatman No. 1 จากนั้นระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสูญญากาศ ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนเหลือปริมาตร 10 มิลลิลิตร

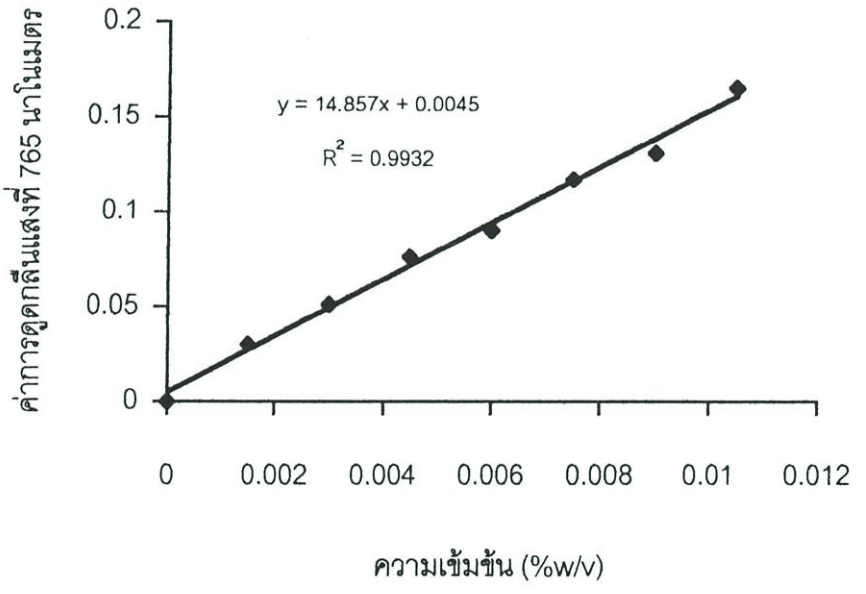
6. ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น ในขวดวัดปริมาตร
7. นำไปเซนตริฟิวจ์ที่ความเร็วรอบ 10000 รอบ/นาที นาน 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำส่วนใสไปวิเคราะห์ต่อไป

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำส้ม

1. ปิเปตสารสกัดที่ได้ 0.2 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่
2. ปิเปต Folin-Ciocalteu reagent 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแรงๆ
3. ปิเปตโซเดียมคาร์บอเนต 7.5% จำนวน 0.8 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแรงๆ
4. ปิเปตน้ำ 8 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแรงๆ
5. ผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที
6. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร
7. ใช้ 95% เอทธานอล เป็นแบลงค์

ตารางที่ ข1 ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ยของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิค

ความเข้มข้นของกรดแกลลิค (%w/v)	ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ย
0	0
0.0015	0.03
0.003	0.051
0.0045	0.076
0.006	0.09
0.0075	0.117
0.009	0.131
0.0105	0.165



ภาพที่ ข1 กราฟมาตรฐานกรดแกลลิคสำหรับการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

ภาคผนวก ค
การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ
(Landrault *et al.*, 2001 และ Kim *et al.*, 2002)

สารเคมี

1. สารละลาย Phosphate buffer saline (PBS) 10 mM

   1.1. เตรียม stock solution 100 mM PBS

   a) ชั่ง Na_2HPO_4มา 26.81 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร

   b) ชั่ง $NaH_2PO_4 \cdot 7H_2O$ มา 13.80 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร

   c) นำสารละลายทั้งสองมาผสมกันจนได้สารละลายผสมที่มี pH 7.4 เติมโซเดียมคลอไรด์ 87.66 กรัม คนให้เข้ากัน ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่นโดยใช้ขวดวัดปริมาตร เทใส่ขวดสีชาเก็บไว้ในตู้เย็น

   1.2. เตรียม 10 mM PBS (working solution)

   นำสารละลาย stock solution ในข้อ 1.1 มาเจือจาง 10 เท่าด้วยน้ำกลั่น

2. สารละลาย 2.5 mM 2,2-azino-bis (3-ethylbenzthiazolinesulfonate) (ABTS)

   ชั่ง ABTS มา 0.0137 กรัม ละลายในสารละลาย 10 mM PBS 10 มิลลิลิตร เก็บไว้ในตู้เย็น เตรียมใหม่ทุกครั้งที่ทดลอง

3. Metmyoglobin (MetMG)

   a) ชั่ง myoglobin มา 18.8 มิลลิกรัม ละลายในสารละลาย 10 mM PBS 10 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดวัดปริมาตร

   b) ชั่ง potassium ferricyanide [$K_3Fe(CN)_6$] มา 0.0122 กรัม ละลายในสารละลาย 10 mM PBS 200 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดวัดปริมาตร

   c) นำสารละลายในข้อ 3 a) และ 3 b) มาผสมกันในอัตราส่วน 1 : 1 โดยปริมาตร เก็บไว้ในตู้เย็น เตรียมใหม่ทุกครั้งที่ทดลอง กรองถ้าจำเป็น

4. สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 10 mM

   ปิเปตสารละลาย 30% ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ มา 0.091 มิลลิลิตร เจือจางในน้ำกลั่น 1 ลิตร โดยใช้ขวดวัดปริมาตร เก็บในตู้เย็นเตรียมใหม่ทุกครั้งที่ทดลอง

การเตรียมกราฟมาตรฐานสารละลายกรดแอสกอร์บิก

1. เตรียมสารละลายกรดแอสกอร์บิกเข้มข้น 0.05% w/v เป็น stock solution จากนั้นทำการดูดสารละลายกรดแอสกอร์บิกเข้มข้น 0.05% w/v มา 80 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น จะได้สารละลายกรดแอสกอร์บิกเข้มข้น 0.04% w/v จากนั้นดูดสารละลายกรดแอสกอร์บิกเข้มข้น 0.04% w/v มา 75 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น จะได้สารละลายกรดแอสกอร์บิกเข้มข้น 0.03% w/v
2. การเตรียมสารละลายปฏิกิริยาของกรดแอสกอร์บิก

   ปิเปตสารละลายดังต่อไปนี้ลงในหลอด Eppendrope tube

   a) สารละลาย ABTS 100 ไมโครลิตร
   b) สารละลาย Metmyoglobin 180 ไมโครลิตร
   c) สารละลาย PBS 775 ไมโครลิตร
   d) สารละลายกรดแอสกอร์บิกเข้มข้นที่เตรียมได้จากข้อ 1 25 ไมโครลิตร
   e) สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์120 ไมโครลิตร
   f) ผสมให้เข้ากันด้วยวอร์เทก มิกเซอร์ พร้อมกับจับเวลาทันที
   g) ถ่ายสารละลายปฏิกิริยาใส่คิวเวต นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 730 นาโนเมตร อ่านผลทุกๆ 30 วินาที นาน 16 นาที
   h) ทำการพลอตกราฟระหว่างผลต่างของค่าดูดกลืนแสงที่นาที 16 และ 0.6 นาที กับความเข้มข้น

การเตรียมตัวอย่างน้ำส้ม

นำน้ำส้มไปหมุนเวี่ยงที่ความเร็วรอบ 12000 รอบ/นาที นาน 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำส่วนใส่ที่ได้ไปวิเคราะห์

การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำส้ม

ปิเปตสารละลายดังต่อไปนี้ลงในหลอด Eppendrope tube

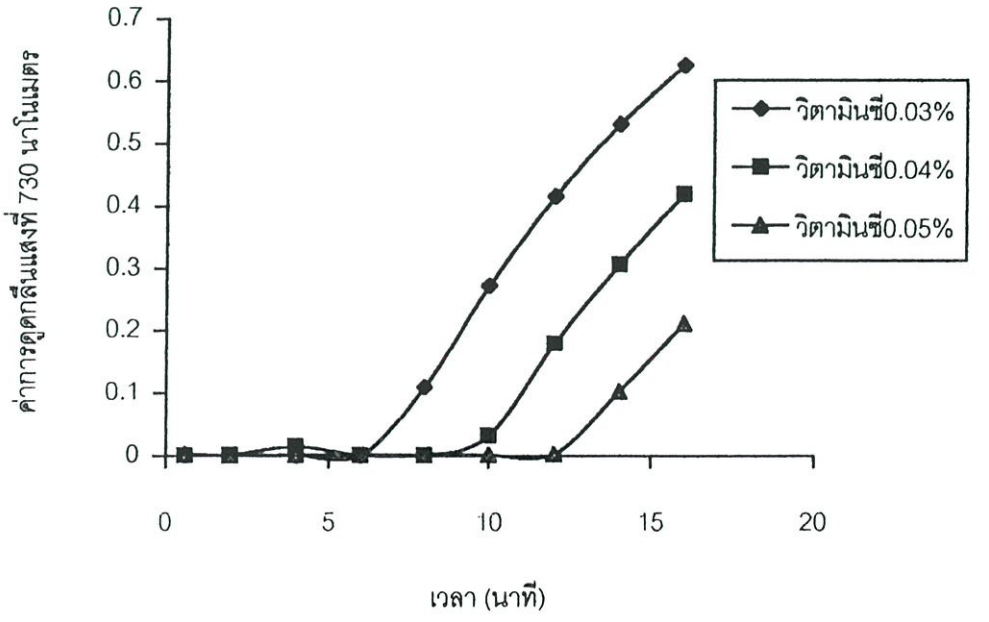
a) สารละลาย ABTS 100 ไมโครลิตร
b) สารละลาย Metmyoglobin 180 ไมโครลิตร
c) สารละลาย PBS 775 ไมโครลิตร
d) น้ำส้มที่หมุนเหวี่ยงแล้ว 25 ไมโครลิตร
e) สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 120 ไมโครลิตร
f) ผสมให้เข้ากันด้วยวอร์เทก มิกเซอร์ พร้อมกับจับเวลาทันที

g) ถ่ายสารละลายปฏิกิริยาใส่คิวเวต นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 730 นาโนเมตร อ่านผลทุกๆ 30 วินาที นาน 16 นาที

h) การแปรผลโดยการหาค่าความแตกต่างของค่าการดูดกลืนแสงที่นาที 16 และ 0.6 เทียบกับกราฟมาตรฐานสารละลายกรดแอสกอร์บิกจะเทียบได้เป็นความเข้มข้นของสารละลายกรดแอสกอร์บิก

ตารางที่ ค1 ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ยของสารละลายมาตรฐานกรดแอสกอร์บิกที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร

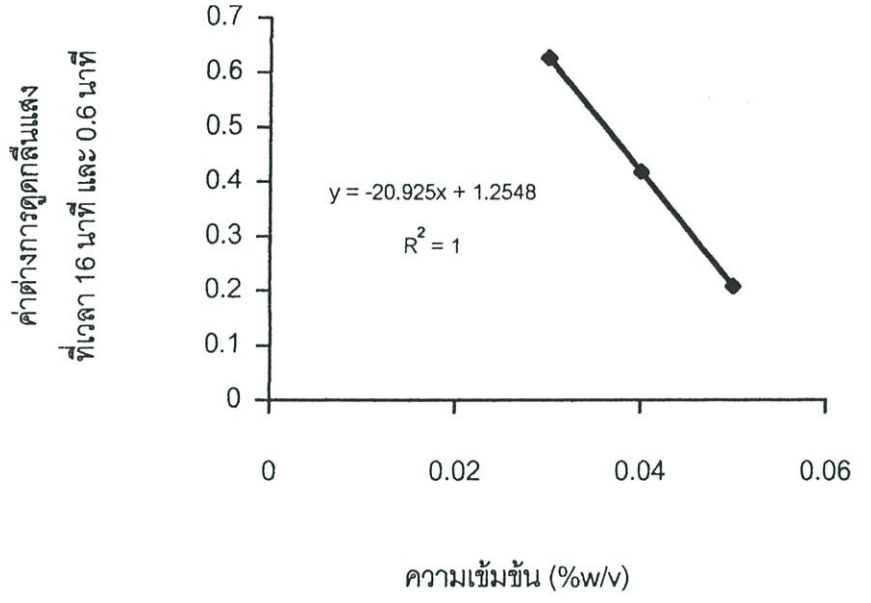
เวลา (นาที)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแสง 730 นาโนเมตร		
	วิตามินซี 0.03%	วิตามินซี 0.04%	วิตามินซี 0.05%
0.6	0	0.0005	0.003
2	0	0.0015	0.001
4	0.0005	0.0155	0.002
6	0.0005	0.0015	0.002
8	0.1105	0.002	0.002
10	0.273	0.0325	0.002
12	0.0416	0.179	0.0025
14	0.532	0.307	0.01025
16	0.6265	0.4195	0.0211



ภาพที่ ค1 การดูดกลืนแสงเฉลี่ยของสารละลายกรดแอสกอร์บิกมาตรฐาน

ตารางที่ ค2 ค่าต่างการดูดกลืนแสงที่เวลา 16 นาที และ 0.6 นาที

ความเข้มข้นวิตามินซี (%w/v)	ค่าต่างการดูดกลืนแสงที่เวลา 16 นาที และ 0.6 นาที
0.03	0.6265
0.04	0.419
0.05	0.208



ภาพที่ ค2 กราฟมาตรฐานกรดแอสกอร์บิกสำหรับการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

ภาคผนวก ง
การวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมด
(A.O.A.C.1990)

สารเคมี

1. ฟีนอล์ฟธาลีน 1%
2. 0.1 N โซเดียมไฮดรอกไซด์

วิธีการ

1. กรองน้ำส้มประมาณ 30 มิลลิลิตร ผ่านกระดาษกรองเบอร์ 4
2. ปิเปตน้ำส้มที่ผ่านการกรองแล้วมา 10 มิลลิลิตร จากนั้นเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 250 มิลลิลิตร
3. หยดฟีนอล์ฟธาลีน 0.75 มิลลิลิตร
4. ปิเปตสารละลาย 10 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง
5. นำไปไทเทรตกับ 0.1 N โซเดียมไฮดรอกไซด์ จนได้สีชมพูจางๆ นาน 30 วินาที บันทึกปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ
6. การคำนวณ

$$\text{ปริมาณกรดทั้งหมด (\%)} = \frac{(V)\,(N)\,(\text{eq.wt.})\,(100)}{(1000)\,(v)}$$

V = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์

N = นอร์มอลิตี้ของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์

v = ปริมาตรของสารละลายน้ำส้ม

eq.wt. = น้ำหนักสมมูลย์ของกรดเป็นกรัม (กรดซิตริค = 64)

ภาคผนวก จ
การวิเคราะห์ดัชนีการเกิดสีน้ำตาล
(Meydav *et al.*, 1977)

วิธีการ

1. นำน้ำส้มไปเซนติฟิวจ์ที่ความเร็วรอบ 8000 รอบ/นาที นาน 20 นาที
2. นำส่วนใสที่ได้มาเจือจางด้วย 95% เอทธานอล ในอัตราส่วน 1 : 1
3. คนให้เข้ากันและนำไปไปกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.42
4. นำส่วนใสที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร

ภาคผนวก ฉ

การวิเคราะห์แอกติวิตีของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส

(Taneja and Sachar, 1974)

สารเคมี

1. 0.05 M Phosphate buffer pH 6.6
2. 1% catechol ใน 0.05 M Phosphate buffer pH 6.6

การเตรียมตัวอย่างน้ำส้ม

นำน้ำส้มไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 12000 รอบ/นาที นาน 10 นาที อุณภูมิ 4 องศาเซลเซียส

วิธีการ

1. เติมสารละลาย 1% catechol 2 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง
2. เติม 0.05 M Phosphate buffer pH 6.6 1.4 มิลลิลิตร
3. เติมน้ำส้มที่หมุนเหวี่ยงแล้ว 0.6 มิลลิลิตร
4. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 430 นาโนเมตร บันทึกค่าทุกๆ 30 วินาที นาน 1 ชั่วโมง
5. ใช้ boiled enzyme extract เป็นแบลงค์

ภาคผนวก ช
การทำโมเดลผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาเมลลาร์ด
(Wijewickreme *et al.*, 1997)

สารเคมี

1. 0.8 M Lysine ใน 100 mM phosphate buffer pH 8.41
2. 0.8 M Glucose ใน 100 mM phosphate buffer pH 8.41

วิธีการ

1. นำสารละลาย 0.8 M Lysine และ 0.8 M Glucose มาผสมกันในอัตราส่วน 1 : 1
2. จากนั้นนำไปให้ความร้อนใน hot air oven ที่อุณหภูมิ 129 องศาเซลเซียส นาน 71 นาที
3. จากนั้นทำให้เย็นลงทันทีในน้ำแข็ง

ประวัติผู้เขียน

นางสาว สุภาภรณ์ รพีศักดิ์ เกิดวันที่ 28 มิถุนายน พ.ศ.2518 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีบัณฑิต (วท.บ) สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร วิชาเอกสัตวศาสตร์ วิชาโทวิทยาศาสตร์การอาหาร จากมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ปีการศึกษา 2539

ปี พ.ศ.2541-2543 ทำงานที่บริษัทลอนดอน บริวเวอรี่ จำกัด ในตำแหน่งผู้ช่วยบรูมาสเตอร์ ปีการศึกษา 2544 เข้าศึกษาต่อในระดับวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต ณ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ในสาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร และสำเร็จการศึกษาในปีการศึกษา 2546