ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การอาหาร)

ปริญญา

วิทยาศาสตร์การอาหาร — **สาขา**

วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร — **ภาควิชา**

เรื่อง ผลของการทำแห้งต่อสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถต้านออกซิเดชันของกระชายเหลือง (*Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schltr.)

Effect of Drying on Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of Fingerroot (*Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schltr.)

นามผู้วิจัย นายธนศักดิ์ แซ่เลี่ยว

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์วรรณี จิรภาคย์กุล, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....

(อาจารย์ศศิธร ตรงจิตภักดี, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ธนะบูลย์ สัจจาอนันตกุล, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

.....

(รองศาสตราจารย์กัญจนา ธีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ ..... **เดือน** ..... **พ.ศ.** .....

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ผลของการทำแห้งต่อสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถต้านออกซิเดชัน ของกระชายเหลือง (*Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schltr.)

Effect of Drying on Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of Fingerroot (*Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schltr.)

โดย

นายธนศักดิ์ แซ่เลี่ยว

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การอาหาร)
พ.ศ. 2552

ธนศักดิ์ แซ่เลี่ยว 2552: ผลของการทำแห้งต่อสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถต้านออกซิเดชันของกระชายเหลือง (*Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schltr.) ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การอาหาร) สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผู้ช่วยศาสตราจารย์วรรณี จิรภาคย์กุล, Ph.D. 106 หน้า

งานวิจัยนี้ศึกษาผลของตัวทำละลายที่ใช้สกัด (อะซีโตน เอทานอล 80% เมทานอล 80% และน้ำ) และผลของการทำแห้งกระชายเหลือง (กระชายเหลืองที่ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง กระชายเหลืองที่ทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับกระชายเหลืองแห้งทางการค้า และกระชายเหลืองผงทางการค้า) ต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด สารประกอบฟีนอลิกที่สำคัญบางชนิด รวมทั้งความสามารถต้านออกซิเดชัน สารประกอบฟีนอลิกที่สำคัญบางชนิดวิเคราะห์โดย High Performance Liquid Chromatography (HPLC) และตรวจสอบความสามารถต้านออกซิเดชันด้วยวิธี 2, 2′-azino-biz (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) assay และ 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) assay นอกจากนี้ได้ศึกษาการต้านออกซิเดชันของกระชายเหลืองแห้งชนิดต่าง ๆ ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมูบดปรุงสุก จากผลการศึกษาพบว่ากระชายเหลืองที่สกัดด้วยอะซีโตนมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สำคัญ ได้แก่ pinocembrin และ pinostrobin สูงที่สุด รองลงมา ได้แก่ การสกัดด้วยเอทานอล 80% เมทานอล 80% และน้ำตามลำดับ สารสกัดเอทานอล 80% และอะซีโตนมีความสามารถต้านออกซิเดชันที่วัดด้วยวิธี ABTS และ DPPH สูงที่สุด ส่วนผลของการทำแห้งกระชายเหลือง พบว่ากระชายเหลืองที่ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS, DPPH และปริมาณ pinostrobin สูงที่สุด ส่วนกระชายเหลืองแห้งทางการค้ามีปริมาณ pinocembrin มากที่สุด นอกจากนี้กระชายเหลืองแห้งชนิดต่าง ๆ และ BHA สามารถลดการเกิดออกซิเดชันในเนื้อหมูบดปรุงสุก ซึ่งเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 วัน โดยตัวอย่างควบคุมมีปริมาณเฮกซาแนลและเพนทาแนลสูงกว่าตัวอย่างที่เติมกระชายเหลืองแห้งชนิดต่าง ๆ และ BHA อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยภาพรวมประสิทธิภาพการชะลอปฏิกิริยาออกซิเดชันในเนื้อหมูบดในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา (วันที่ 6) BHA มีประสิทธิภาพดีที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนกระชายเหลืองที่ทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส กระชายเหลืองที่ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง กระชายเหลืองที่ทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส มีประสิทธิภาพไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่ากระชายเหลืองมีศักยภาพที่ดีในการเป็นสารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติ

_____ _____ ___ / ___ / ___

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

Tanasak Sae-leaw 2009: Effect of Drying on Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of Fingerroot (*Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schltr.). Master of Science (Food Science), Major Field: Food Science, Department of Food Science and Technology. Thesis Advisor: Assistant Professor Wannee Jirapakkul, Ph.D. 106 pages.

In this study, effects of extraction solvents (acetone, 80% methanol, 80% ethanol and water) and different dried fingerroots (freeze dried, oven dried at 60°C, oven dried at 70°C compared with commercial dried fingerroot and commercial fingerroot powder) on total phenolic content, total flavonoid content, some major phenolic compounds as well as antioxidant capacity. Some major phenolic compounds were measured using High Performance Liquid Chromatography (HPLC) and antioxidant capacities were tested using 2, 2′-azino-biz (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) radical scavenging and 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity assays. Antioxidative efficiency to inhibit oxidation of different dried fingerroots in cooked ground pork were also investigated using hexanal and pentanal contents. The results suggested that acetone extract showed the highest total phenolic, total flavonoid content and amount of some major phenolic compounds (pinocembrin and pinostrobin) and followed by those prepared with 80% ethanol, 80% methanol and water, respectively. The 80% ethanol and acetone extracts exhibited the highest antioxidant capacity (ABTS and DPPH assays). Freeze dried and oven dried (60°C) fingerroots exhibited the highest total phenolic, total flavonoid content, ABTS and DPPH radical scavenging activities and pinostrobin content, whereas the greatest pinocembrin content was found in commercial dried fingerroot. Different dried fingerroots and BHA could retard oxidation in cooked ground pork during refrigerated storage at 5°C for 6 days. Hexanal and pentanal contents of cooked ground pork in the control sample had significantly higher than those treated with various types of fingerroots or BHA throughout refrigerated storage ($p \leq 0.05$). At the end of storage (day 6), treatment with added BHA was the most effective in retarding oxidation in cooked ground pork. Freeze dried, oven dried (60°C) and oven dried (70°C) fingerroots were not significantly different in reducing hexanal and pentanal formation at the end of storage. On the basis of the results obtained, fingerroot would be served as a potential source of natural antioxidant.

_____ _____ ___ / ___ / ___

Student's signature Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วรรณี จิรภาคย์กุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำแนวทางในด้านการเรียนและการวิจัย ตลอดจนตรวจสอบและแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้ถูกต้องและสมบูรณ์ ขอขอบพระคุณ อาจารย์ ดร. ศศิธร ตรงจิตภักดี อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่อบรมสั่งสอนให้ความรู้แก่ข้าพเจ้า และแนะนำแนวทางในการทำวิจัย กราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วราภา มหากาญจนกุล ประธานการสอบ และรองศาสตราจารย์ ดร. สุนทรี สุวรรณสิชฌน์ ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ที่กรุณาให้คำแนะนำในการแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้ถูกต้องและสมบูรณ์

ขอขอบคุณคุณมนต์วดี หุ่นเจริญ คุณธนิตชัย ปรัชญาถาวรกุล คุณพงศธร ล้อสุวรรณ คุณสุธาสินี ชิ้นทอง คุณสุวรรณา เกิดศรีเล็ก คุณจีสุดา เกตุกราย คุณสุวลี ฟองอินทร์ รวมถึงเพื่อน พี่ ๆ และน้อง ๆ ปริญญาโท และพี่ ๆ ปริญญาเอกที่ให้ความช่วยเหลือ คำปรึกษา และกำลังใจในการทำวิจัย ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหารทุกท่านที่ช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในการทำวิจัย

ขอขอบพระคุณสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สำหรับทุนโครงการวิจัยจัดตั้งหน่วยปฏิบัติการวิจัยเชี่ยวชาญเฉพาะด้านความปลอดภัยของอาหาร และบัณฑิตวิทยาลัยสำหรับทุนสนับสนุนคุณภาพงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ พี่ชาย และน้องสาว ที่คอยให้ความช่วยเหลือสนับสนุน ส่งเสริม และเป็นกำลังใจที่ดีที่สุดแก่ข้าพเจ้าตลอดมา

ธนศักดิ์ แซ่เลี่ยว

พฤษภาคม 2552

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	41
อุปกรณ์	41
วิธีการ	43
ผลและวิจารณ์	50
สรุปและข้อเสนอแนะ	69
สรุป	69
ข้อเสนอแนะ	70
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	71
ภาคผนวก	82
ภาคผนวก ก การวิเคราะห์ทางเคมี	83
ภาคผนวก ข การวิเคราะห์สารกลุ่มฟีนอลิกและความสามารถต้านออกซิเดชัน	86
ภาคผนวก ค การวิเคราะห์ pinocembrin และ pinostrobin	89
ภาคผนวก ง การวิเคราะห์เฮกซาแนลและเพนทาแนล	98
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	106

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	คุณค่าทางอาหารของกระชายเหลืองส่วนที่บริโภคได้ 100 กรัม	4
2	องค์ประกอบทางเคมีของสารในกระชายเหลือง	7
3	อนุมูลอิสระ และ ROS/RNS	13
4	ค่า threshold ของแอลดีไฮด์ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดลิโนเลอิกในน้ำมันพาราฟิน (paraffin oil)	20
5	สารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติในอาหารบางชนิด	29
6	สารต้านออกซิเดชันและปริมาณสูงสุดที่องค์การอาหารและยาสหรัฐอเมริกาอนุญาตให้ใช้	31
7	กลไกของการเกิดปฏิกิริยากับวิธีการตรวจสอบความสามารถต้านออกซิเดชัน	34
8	สมบัติการต้านอนุมูลอิสระของกระชายเหลืองที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างกัน	53
9	ปริมาณ pinocembrin และ pinostrobin ในกระชายเหลืองที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างกันซึ่งวิเคราะห์ด้วย HPLC	55
10	ปริมาณเฮกซาแนลในเนื้อหมูบดปรุงสุกที่เติมกระชายเหลืองแห้งชนิดต่าง ๆ และ BHA เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม ซึ่งเก็บรักษาที่ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน	66
11	ปริมาณเพนทาแนลในเนื้อหมูบดปรุงสุกที่เติมกระชายเหลืองแห้งชนิดต่าง ๆ และ BHA เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม ซึ่งเก็บรักษาที่ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน	68

ตารางผนวกที่

ก1	ปริมาณความชื้นของตัวอย่างกระชายเหลืองแห้งชนิดต่าง ๆ	85
ง1	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณเฮกซาแนลในเนื้อหมูบดปรุงสุกที่เติมกระชายเหลืองแห้งชนิดต่าง ๆ และ BHA เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม ซึ่งเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน	104

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
ง2	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณเพนทาแนลในเนื้อหมูบดปรุงสุกที่เติมกระชายเหลืองแห้งชนิดต่าง ๆ และ BHA เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม ซึ่งเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน	105

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	(a) เหง้ากระชายเหลือง และ (b) ดอกกระชายเหลือง	3
2	โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบบางชนิดในกระชายเหลือง	8
3	โครงสร้างหลักและลำดับการนับจำนวนคาร์บอนของโมเลกุลฟลาโวนอยด์	12
4	บทบาทของอนุมูลอิสระและ ROS ในการทำให้เกิดโรค	14
5	การเกิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์จากปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดลิโนเลอิก	18
6	สาร secondary oxidation products ที่เกิดจากการสลายตัวของไฮโดรเปอร์ออกไซด์	19
7	อนุมูลอิสระและปฏิกิริยาในเซลล์สิ่งมีชีวิต	22
8	การจำแนกสารต้านออกซิเดชัน	24
9	ตัวอย่างสูตรโครงสร้างของสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์	26
10	โครงสร้างทางเคมีของอนุมูลอิสระ 2, 2-diphenly-1-picrylhydrazyl (DPPH)	33
11	โครงสร้างทางเคมีของอนุมูลอิสระ 2, 2′-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS)	34
12	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในกระชายเหลืองที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างกัน	51
13	ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในกระชายเหลืองที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างกัน	52
14	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของตัวอย่างกระชายเหลืองแห้งชนิดต่าง ๆ	57
15	ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของตัวอย่างกระชายเหลืองแห้งชนิดต่าง ๆ	59
16	สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS และ DPPH ของตัวอย่างกระชายเหลือแห้งชนิดต่าง ๆ	61
17	ปริมาณ pinocembrin และ pinostrobin ของตัวอย่างกระชายเหลืองแห้งชนิดต่าง ๆ	63

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่ **หน้า**

ข1	กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิกสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด	87
ข2	กราฟมาตรฐานของ catechin สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด	87
ข3	กราฟมาตรฐานของวิตามินซีสำหรับการวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS	88
ข4	กราฟมาตรฐานของวิตามินซีสำหรับการวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH	88
ค1	ตัวอย่างโครมาโทแกรมของสารมาตรฐาน pinocembrin ที่ความเข้มข้น100 ppm	91
ค2	ตัวอย่างโครมาโทแกรมของสารมาตรฐาน pinostrobin ที่ความเข้มข้น 100 ppm	91
ค3	กราฟมาตรฐานของ pinocembrin	92
ค4	กราฟมาตรฐานของ pinostrobin	92
ค5	ตัวอย่างโครมาโตแกรมของกระชายเหลืองที่สกัดด้วยอะซีโตน ซึ่งวิเคราะห์โดย HPLC ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร (1: pinocembrin; 2: pinostrobin)	93
ค6	ตัวอย่างโครมาโตแกรมของกระชายเหลืองที่สกัดด้วยเอทานอล 80% ซึ่งวิเคราะห์โดย HPLC ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร (1: pinocembrin; 2: pinostrobin)	93
ค7	ตัวอย่างโครมาโตแกรมของกระชายเหลืองที่สกัดด้วยเมทานอล 80% ซึ่งวิเคราะห์โดย HPLC ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร (1: pinocembrin; 2: pinostrobin)	94
ค8	ตัวอย่างโครมาโตแกรมของกระชายเหลืองที่สกัดด้วยน้ำซึ่งวิเคราะห์โดย HPLC ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร (1: pinocembrin; 2: pinostrobin)	94
ค9	ตัวอย่างโครมาโตแกรมของกระชายเหลืองที่ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (FD) ซึ่งวิเคราะห์โดย HPLC ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร (1: pinocembrin; 2: pinostrobin)	95

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่ **หน้า**

ค10 ตัวอย่างโครมาโตแกรมของกระชายเหลืองที่ทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส (OD-60) ซึ่งวิเคราะห์โดย HPLC ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร (1: pinocembrin; 2: pinostrobin) 95

ค11 ตัวอย่างโครมาโตแกรมของกระชายเหลืองที่ทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส (OD-70) ซึ่งวิเคราะห์โดย HPLC ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร (1: pinocembrin; 2: pinostrobin) 96

ค12 ตัวอย่างโครมาโตแกรมของกระชายเหลืองแห้งทางการค้า ซึ่งวิเคราะห์โดย HPLC ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร (1: pinocembrin; 2: pinostrobin) 96

ค13 ตัวอย่างโครมาโตแกรมของกระชายเหลืองผงทางการค้า ซึ่งวิเคราะห์โดย HPLC ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร (1: pinocembrin; 2: pinostrobin) 97

ง1 ตัวอย่างโครมาโทแกรมของสารมาตรฐานความเข้มข้น 5 ppm วิเคราะห์โดย SPME-GC-FID (1: เพนทาแนล; 2: เฮกซาแนล) 99

ง2 ตัวอย่างโครมาโทแกรมของสารระเหยในเนื้อหมูบดปรุงสุกที่ไม่ได้เติมสารต้านออกซิเดชันของการเก็บรักษาในวันที่ 6 วิเคราะห์โดย SPME-GC-FID (1: เพนทาแนล; 2: เฮกซาแนล) 100

ง3 ตัวอย่างโครมาโทแกรมของสารระเหยในเนื้อหมูบดปรุงสุกที่เติมกระชายเหลืองที่ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (FD) ของการเก็บรักษาในวันที่ 6 วิเคราะห์โดย SPME-GC-FID (1: เพนทาแนล; 2: เฮกซาแนล) 100

ง4 ตัวอย่างโครมาโทแกรมของสารระเหยในเนื้อหมูบดปรุงสุกที่เติมกระชายเหลืองที่ทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส (OD-60) ของการเก็บรักษาในวันที่ 6 วิเคราะห์โดย SPME-GC-FID (1: เพนทาแนล; 2: เฮกซาแนล) 101

ง5 ตัวอย่างโครมาโทแกรมของสารระเหยในเนื้อหมูบดปรุงสุกที่เติมกระชายเหลืองที่ทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส (OD-70) ของการเก็บรักษาในวันที่ 6 วิเคราะห์โดย SPME-GC-FID (1: เพนทาแนล; 2: เฮกซาแนล) 101

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่ **หน้า**

ง6 ตัวอย่างโครมาโทแกรมของสารระเหยในเนื้อหมูบดปรุงสุกที่เติมกระชายเหลืองแห้งทางการค้าของการเก็บรักษาในวันที่ 6 วิเคราะห์โดย SPME-GC-FID (1: เพนทาแนล; 2: เฮกซาแนล) 102

ง7 ตัวอย่างโครมาโทแกรมของสารระเหยในเนื้อหมูบดปรุงสุกที่เติมกระชายเหลืองผงทางการค้าของการเก็บรักษาในวันที่ 6 วิเคราะห์โดย SPME-GC-FID (1: เพนทาแนล; 2: เฮกซาแนล) 102

ง8 ตัวอย่างโครมาโทแกรมของสารระเหยในเนื้อหมูบดปรุงสุกที่เติม BHA ของการเก็บรักษาในวันที่ 6 วิเคราะห์โดย SPME-GC-FID (1: เพนทาแนล; 2: เฮกซาแนล) 103

ผลของการทำแห้งต่อสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถต้านออกซิเดชันของกระชายเหลือง (*Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schltr.)

Effect of Drying on Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of Fingerroot (*Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schltr.)

คำนำ

กระชายเหลืองเป็นสมุนไพรวงศ์ขิง ซึ่งมีการใช้ประโยชน์หลากหลาย เช่น ใช้เป็นส่วนประกอบของอาหาร ดับกลิ่นคาวในอาหาร และใช้เป็นยารักษาโรค เป็นต้น ทำให้มีการศึกษาเกี่ยวกับสมบัติต่าง ๆ ของกระชายเหลืองกันอย่างมากมาย รวมถึงสมบัติในการต้านออกซิเดชัน ซึ่งทำหน้าที่ยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ของปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยจับกับอนุมูลอิสระต่าง ๆ ทำให้อนุมูลอิสระเหล่านี้ไม่สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้อีกต่อไป ปัจจุบันมีการใช้สารต้านออกซิเดชันที่สกัดจากธรรมชาติแทนสารสังเคราะห์ เนื่องจากมีรายงานความเป็นพิษของสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์บางชนิดในสัตว์ทดลอง ซึ่งพบว่าทำให้เซลล์ทำงานผิดปกติ และกลายเป็นมะเร็งเมื่อได้รับสารสังเคราะห์อย่างต่อเนื่องในปริมาณที่มากเกินไป

ปัจจุบันมีการแปรรูปกระชายเหลืองโดยเฉพาะการทำแห้งเพื่อจำหน่ายในเชิงการค้า ตัวอย่างของผลิตภัณฑ์กระชายเหลืองแห้ง เช่น กระชายเหลืองแห้งในรูปที่หั่นเป็นเส้นหรือในรูปสไลซ์ กระชายเหลืองผงทั้งแบบบดหยาบและแบบบดละเอียด

ปริมาณสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกและความสามารถต้านออกซิเดชันของพืชมีการเปลี่ยนแปลงได้จากหลายปัจจัย เช่น ชนิดของตัวทำละลายที่ใช้สกัด และวิธีการแปรรูป เป็นต้น การทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ ได้แก่ อะซีโตน เอทานอล 80% เมทานอล 80% และน้ำ ผลของการทำแห้ง (การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง การทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่ 60 และ 70 องศาเซลเซียส) ต่อสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถต้านออกซิเดชันของกระชายเหลือง เพื่อศึกษาวิธีการทำแห้งที่มีประสิทธิภาพในการคงความสามารถต้านออกซิเดชันที่ดี นอกจากนี้ยังศึกษาการต้านออกซิเดชันของกระชายเหลืองแห้งชนิดต่าง ๆ ในเนื้อหมูบดปรุงสุก ซึ่งเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 วัน โดยการวัดปริมาณเฮกซานอลและเพนทานอลที่เกิดขึ้น

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของตัวทำละลายที่ใช้สกัดต่อสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถต้านออกซิเดชันของกระชายเหลือง

2. เพื่อศึกษาผลของการทำแห้งกระชายเหลืองต่อสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถต้านออกซิเดชัน

3. เพื่อศึกษาผลของกระชายเหลืองต่อสมบัติการต้านออกซิเดชันในเนื้อหมูบดปรุงสุก

การตรวจเอกสาร

1. กระชายเหลือง

กระชายเหลืองเป็นพืชในวงศ์ Zingiberaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schltr. ถิ่นกำเนิดอยู่ในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ มีชื่อท้องถิ่น คือ กระแอน ระแอน (ภาคเหนือ) ขิงทราย (มหาสารคาม) ว่านพระอาทิตย์ (กรุงเทพฯ) ชื่อสามัญ เช่น Fingerroot, Chinese ginger, Chinese key และ Lesser ginger เป็นต้น

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์: กระชายเป็นพืชล้มลุก ลำต้นที่อยู่ใต้ดินเรียกว่า เหง้า (rhizome) มีสีน้ำตาลแกมเทาจนถึงสีน้ำตาลแกมส้ม ซึ่งเหง้าที่อยู่ใต้ดินจะแตกรากออกไปเป็นกระจุกจำนวนมากซึ่งเป็นที่สะสมอาหารเช่นเดียวกับขิง ข่า และขมิ้น ตรงกลางของเหง้ากระชายจะพองกว้างกว่าส่วนหัวและส่วนท้าย เนื้อด้านในจะมีสีแตกต่างไปตามชนิดของกระชาย และมีกลิ่นหอม ส่วนที่อยู่เหนือดินประกอบด้วยโคนก้านใบที่เป็นกาบหุ้มซ้อนกัน กาบใบจะมีสีแดงเรื่อ ๆ ตรงแผ่นใบจะเป็นรูปรี ส่วนปลายจะแหลม กว้างประมาณ 4.5-10 ซม. ยาวประมาณ 15-30 ซม. ตรงกลางด้านในของก้านใบจะมีช่องลึก ดอกช่อออกแทรกอยู่ระหว่างกาบใบที่โคนต้น กลีบดอกมีสีขาวหรือสีชมพูอ่อน

a

b

ภาพที่ 1 (a) เหง้ากระชายเหลือง และ (b) ดอกกระชายเหลือง

กระชายเหลืองเป็นสมุนไพรที่นิยมนำไปเป็นส่วนประกอบของเครื่องแกงมากกว่าทำอาหารประเภทอื่น นอกจากนี้ยังใช้เป็นยาหรือส่วนผสมของยา เนื่องจากกระชายเหลืองมีรสเผ็ดร้อนและขม จึงถูกนำไปใช้แก้โรคในปาก เช่น ปากเปื่อยและปากเป็นแผล ใช้ขับลมและระดูขาว

ขับปัสสาวะ บำรุงหัวใจ แก้กระษัย แก้เจ็บปวดบั้นเอว รักษางูสวัด นอกจากการใช้ประโยชน์จากเหง้าแล้ว ลำต้นและใบสามารถนำมาทำเป็นผักจิ้มได้ (บัญญัติ, 2523) ส่วนคุณค่าทางอาหารของกระชายเหลืองส่วนที่บริโภคได้ 100 กรัม แสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 คุณค่าทางอาหารของกระชายเหลืองส่วนที่บริโภคได้ 100 กรัม

คุณค่าทางอาหาร	ปริมาณ
พลังงาน (กิโลแคลอรี่)	49.00
โปรตีน (กรัม)	1.30
ไขมัน (กรัม)	0.80
คาร์โบไฮเดรต (กรัม)	9.20
แคลเซียม (มิลลิกรัม)	80.00
ฟอสฟอรัส (มิลลิกรัม)	72.00
เหล็ก (มิลลิกรัม)	2.30
วิตามินบี 1 (มิลลิกรัม)	0.07
วิตามินบี 2 (มิลลิกรัม)	0.30
ไนอาซีน (มิลลิกรัม)	3.50
วิตามินซี (มิลลิกรัม)	2.00

ที่มา: กองโภชนาการ (2535)

1.1 คุณสมบัติที่สำคัญของกระชายเหลือง

1.1.1 ความสามารถต้านออกซิเดชัน

Zaeoung *et al.* (2005) ศึกษาความสามารถต้านออกซิเดชันของเหง้าพืชวงศ์ขิง โดยนำสารสกัดเมทานอล สารสกัดน้ำ และน้ำมันหอมระเหยจากเหง้าพืชวงศ์ขิงที่ใช้เป็นเครื่องเทศ 5 ชนิด ได้แก่ ขิง กระชายเหลือง ขมิ้นชัน เปราะหอม และขิง มาทดสอบความสามารถต้านออกซิเดชันด้วยวิธี 2, 2-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) assay พบว่าสาร

สกัดเมทานอลของพืชทั้ง 5 ชนิดมีความสามารถต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดี ในขณะที่สารสกัดน้ำและน้ำมันหอมระเหยมีความสามารถต้านออกซิเดชันต่ำมาก

1.1.2 สมบัติต้านเชื้อจุลินทรีย์

Thongson *et al.* (2004) ศึกษาความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ (*Listeria monocytogenes* และ *Salmonella* Typhimurium DT 104) ของสารสกัดสมุนไพรไทย ได้แก่ ขิง กระชาย และขมิ้น โดยใช้ high-intensity ultrasound-assisted (HI-US) ในการสกัด ซึ่งพบว่ากระชายมีฤทธิ์ในการยับยั้ง *L. monocytogene*s ดีที่สุด

Cheenpracha *et al*. (2006) แยกสารสำคัญจากสารสกัดเมทานอลของกระชายเหลือง ได้แก่ panduratin C, panduratin A, hydroxypanduratin A, helichrysetin, 2 ,4 ,6 - trihydroxyhydrochalcone และ uvangoletin แล้วทดสอบสมบัติต้านไวรัส HIV-1 โดยพบว่า panduratin A และ hydroxypanduratin A มีสมบัติที่ดีในการยับยั้งกิจกรรมของ HIV-1 protease (PR) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีความสำคัญต่อการแบ่งตัวของไวรัส HIV-1

1.1.3 สมบัติต้านการอักเสบ

สาร 5,7 - dimethoxyflavone (5,7-DMF) ที่แยกได้จากเหง้ากระชายเหลือง มีสมบัติต้านการอักเสบเทียบได้กับยามาตรฐานหลายชนิด คือ แอสไพริน, indomethacin, hydrocortisone และ prednisolone จากการศึกษาสมบัติต้านการอักเสบของสารดังกล่าวในสัตว์ทดลองด้วยวิธีการต่าง ๆ พบว่าสาร 5,7-DMF สามารถต้านการอักเสบแบบเฉียบพลันได้ดีกว่าแบบเรื้อรัง โดยแสดงสมบัติยับยั้งการบวมของอุ้งเท้าหนูขาว นอกจากนี้สาร 5,7-DMF มีสมบัติในการยับยั้งการสร้างสาร prostaglandin อย่างมีนัยสำคัญเมื่อศึกษาสมบัติต้านการอักเสบในช่องปอดของหนูขาว (rat pleurisy) (Panthong *et al*., 1989) นอกจากนี้ panduratin A และ hydroxypanduratin A ที่แยกได้จากกระชายเหลืองมีสมบัติต้านการอักเสบ เมื่อทดสอบกับหนู (Tuchinda *et al*., 2002)

1.1.4 สมบัติต้านสารก่อการกลายพันธุ์

mutagen คือสารประกอบที่สามารถเปลี่ยนแปลงข้อมูลทางพันธุกรรม (โดยทั่วไปคือ DNA) ของสิ่งมีชีวิต ส่งผลให้เกิดการกลายพันธุ์ ตัวอย่างของสารก่อการกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นในอาหารคือ heterocyclic amines (HCAs) ซึ่งเป็นสารก่อการกลายพันธุ์ที่สำคัญ สามารถพบในผลิตภัณฑ์อาหารประเภทเนื้อ เช่น เนื้อวัว และเนื้อหมู ที่มีการให้ความร้อนสูง เช่น การทอด การปิ้ง และการย่าง จากข้อมูลทางระบาดวิทยาพบว่า การบริโภคผลิตภัณฑ์อาหารที่มี HCAs ในปริมาณมากเกินไป จะเพิ่มความเสี่ยงในการเป็นโรคมะเร็งลำไส้ และมะเร็งอื่น ๆ (Messner and Murkovic, 2004)

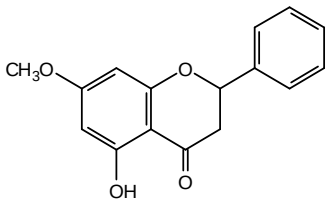
Trakoontivakorn *et al*. (2001) ศึกษาสมบัติในการต้านสารก่อการกลายพันธุ์ (antimutagenic activity) ของสาร 6 ชนิดที่แยกได้จากกระชายเหลืองโดยวิธี Ames/*Salmonella* assay สารสำคัญดังกล่าวได้แก่ pinocembrin chalcone, cardamonin, pinocembrin, pinostrobin, 4-hydroxypanduratin A และ panduratin A โดยพบว่าสารประกอบทั้ง 6 ชนิดที่แยกได้จากสารสกัดเมทานอลของกระชาย มีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งการเกิดสารก่อการกลายพันธุ์ที่พบในอาหาร โดยสาร pinocembrin chalcone, cardamonin, pinocembrin, pinostrobin, 4-hydroxypanduratin A และ panduratin A มีค่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งการเกิดสารก่อกลายพันธุ์ได้ 50% (IC_{50}) เป็น 5.2, 5.9, 6.9, 5.3, 12.7 และ 12.1 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ และความเข้มข้นของสารทั้ง 6 ชนิดที่วิเคราะห์ด้วย HPLC-photodiode array detector มีค่า 28.8, 78.7, 55.9, 118.1, 7.8 และ 29.5 มิลลิกรัม/น้ำหนักสด 100 กรัม ตามลำดับ

1.2 องค์ประกอบทางเคมีของกระชายเหลือง

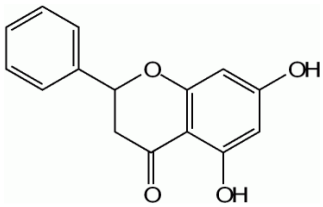
Boesenbergia pandurata (Roxb.) หรือกระชาย สามารถแบ่งได้เป็น 4 ชนิดตามสีของเนื้อข้างในเหง้า ได้แก่ เหลือง ขาว ดำ และแดง แต่กระชายเหลืองเป็นที่นิยมนำมาบริโภคมากที่สุด องค์ประกอบทางเคมีที่พบในกระชายเหลืองแสดงดังตารางที่ 2 ส่วนสูตรโครงสร้างของสารสำคัญบางชนิดแสดงดังภาพที่ 2

ตารางที่ 2 องค์ประกอบทางเคมีของสารในกระชายเหลือง

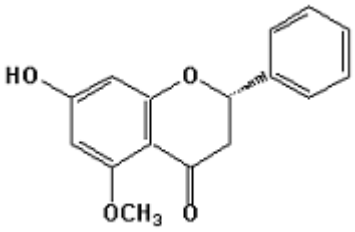
กลุ่มของสาร	ชื่อสาร	เอกสารอ้างอิง
Flavanone	Pinostrobin (1)	Mongkolsuk and Dean (1964); Trakoontivakorn *et al*. (2001)
	Pinocembrin (2)	Mahidol *et al*. (1984); Trakoontivakorn *et al*. (2001)
	Alpinetin (3)	Mongkolsuk and Dean (1964)
	5,7-dimethoxyflavanone (4)	Jaipetch *et al*. (1983)
	Sakuranetin (5)	Tuchinda *et al*. (2002)
Flavone	Dimethoxyflavone (6)	Jaipetch *et al*. (1983)
	3′, 4′, 5, 7-tetramethoxyflavone (7)	Jaipetch *et al*. (1983)
Chalcone	2′, 6′,-dihydroxy-4′-methoxychalcone (8)	Jaipetch *et al*. (1983)
	Cardamonin (9)	Mahidol *et al*. (1984); Trakoontivakorn *et al*. (2001)
	Panduratin A (10)	Tantiwachwuttikul *et al*. (1984); Trakoontivakorn *et al*. (2001)
	Panduratin B (11)	Pancharoen *et al*. (1984)
	Boesenbergin A (12)	Jaipetch *et al*. (1983)
	Boesenbergin B (13)	Mahidol *et al*. (1984)
	Rubranine (14)	Tantiwachwuttikul *et al*. (1984)
	4-Hydroxypanduratin A (15)	Trakoontivakorn *et al*. (2001)
Diterpene	Pimaric acid (16)	Tantiwachwuttikul *et al*. (1984)
Alicyclic	Boesenboxide (17)	Tantiwachwuttikul *et al*. (1984)



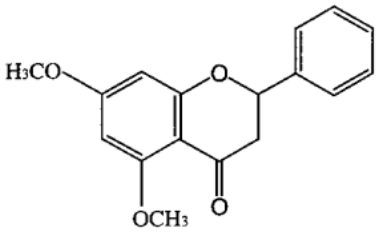
Pinostrobin (1)



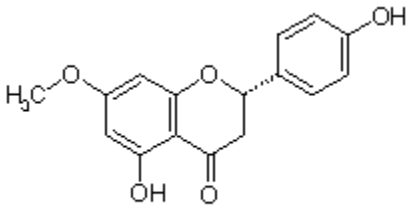
Pinocembrin (2)



Alpinetin (3)

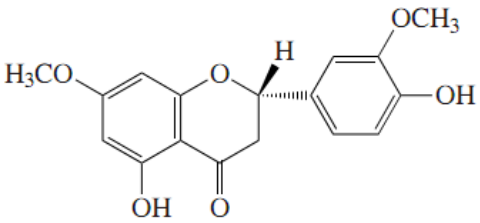


5,7-dimethoxyflavanone (4)

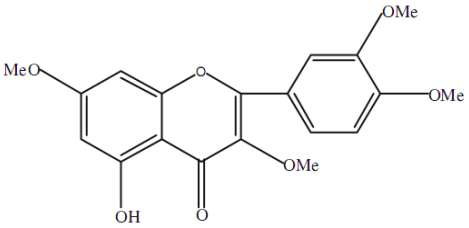


Sakuranetin (5)

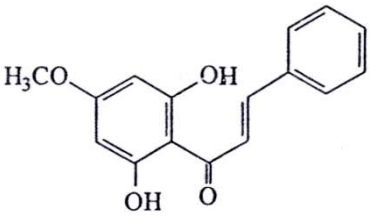
ภาพที่ 2 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบบางชนิดในกระชายเหลือง



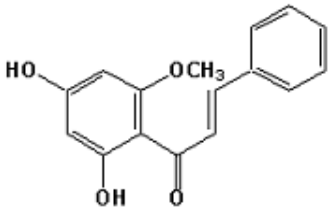
Dimethoxyflavanone (6)



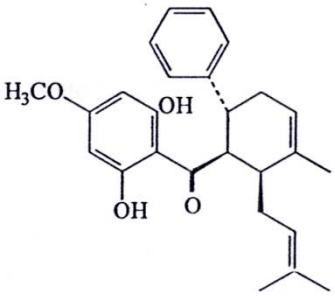
3′,4′,5,7-tetramethoxyflavone (7)



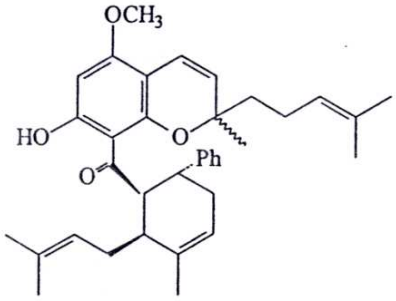
2′,6′-dihydroxy-4′-methoxychalcone (8)



Cardamonin (9)

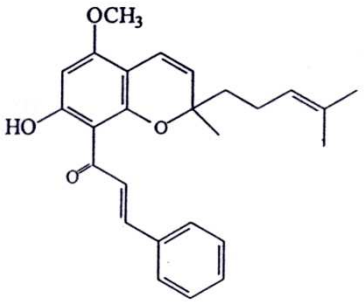


Panduratin A (10)

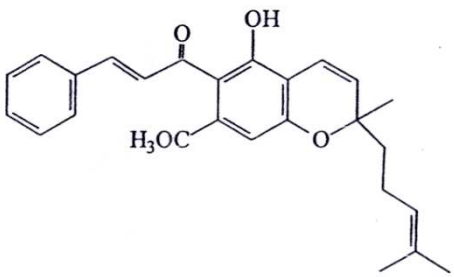


Pandurain B (11)

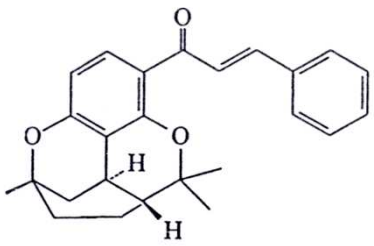
ภาพที่ 2 (ต่อ)



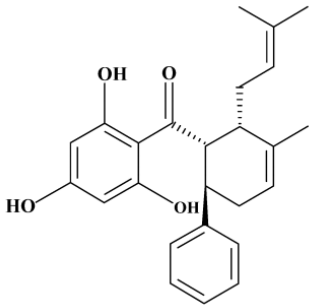
Boesenbergin A (12)



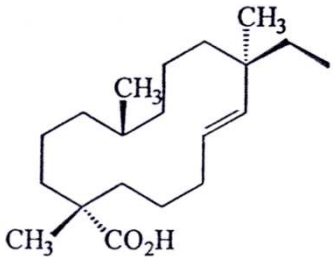
Boesenbergin B (13)



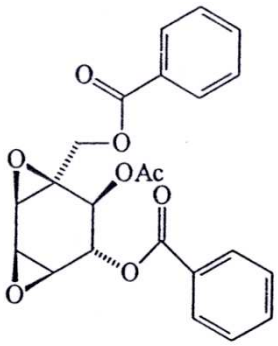
Rubranine (14)



4-Hydroxypanduratin A (15)



Pimaric acid (16)



Boesenboxide (17)

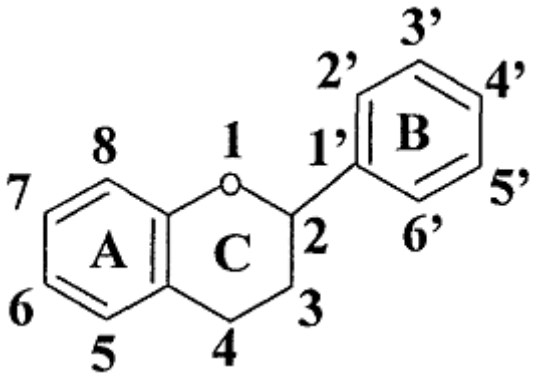
ภาพที่ 2 (ต่อ)

2. สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds)

สารประกอบฟีนอลิกคือสารประกอบที่มีหมู่ฟีนอลเป็นองค์ประกอบสำคัญ และอาจมีหมู่เคมีอื่น ๆ เข้ามาเกาะที่ตำแหน่งต่างๆ ตัวอย่างของสารประกอบฟีนอลิก เช่น กรดซินนามิก (cinnamic acid) กรดแคฟเฟอิก (caffeic acid) กรดคลอโรจินิก (chlorogenic acid) แอนโทไซยานิน (anthocyanins) และแทนนิน (tannin) เป็นต้น (Bravo, 1998)

โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกอาจเกิดการรวมตัวกันระหว่างสารประกอบฟีนอลิกและโมเลกุลน้ำตาลตั้งแต่ 1 โมเลกุลขึ้นไปโดยเชื่อมต่อบริเวณหมู่ไฮดรอกซิล (OH-group) ซึ่งน้ำตาลดังกล่าวอาจจะเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (monosaccharides) น้ำตาลโมเลกุลคู่ (disaccharides) หรือโอลิโกแซคคาไรด์ (oligosaccharide) ก็ได้ แต่น้ำตาลชนิดที่พบมากที่สุดที่รวมตัวกับสารประกอบฟีนอลิกคือ น้ำตาลกลูโคส(glucose) ส่วนน้ำตาลชนิดอื่นที่พบ ได้แก่ น้ำตาลกาแลกโตส (galactose) น้ำตาลแรมโนส (rhamnose) น้ำตาลไซโลส (xylose) อะราบิโนส (arabinose) และอนุพันธุ์ของน้ำตาลเหล่านี้ เช่น กรดกลูโคโรนิก (glucoronic acid) กรดกาแลกตูโรนิก (galacturonic acid) และอื่นๆ นอกจากนี้อาจมีการรวมตัวกันระหว่างสารประกอบฟีนอลิกด้วยกันเองหรือสารประกอบฟีนอลิกกับสารประกอบอื่น ๆ เช่นกรดคาร์บอกซิลิก (carboxylic acid) กรดอินทรีย์ (organic acid) แอมีน (amine) และไขมัน (Bravo, 1998)

ส่วนสารประกอบฟลาโวนอยด์ (flavonoids) เป็นสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกที่พบมากที่สุดในบรรดาสารประกอบฟีนอลิกจากพืชทั้งหมด ปัจจุบันมีการค้นพบสารประกอบฟลาโวนอยด์แล้วมากกว่า 5,000 ชนิด และมีการจำแนกออกเป็นกลุ่มตามลักษณะโครงสร้างมากถึง 13 กลุ่ม โดยมีโครงสร้างพื้นฐานเป็นแบบ diphenylpropanes (C_6-C_3-C_6) ที่ประกอบด้วยวงแหวน 2 วงและเชื่อมกันด้วยคาร์บอน 3 อะตอมซึ่งมักจะอยู่ในลักษณะของ oxygenated heterocycle และมีระบบที่ใช้ในการระบุตำแหน่งของคาร์บอนอะตอมในโมเลกุลของฟลาโวนอยด์ดังภาพที่ 3 โดยทั่วไปสารประกอบฟลาโวนอยด์มักจะเชื่อมต่ออยู่กับโมเลกุลของน้ำตาล (Bravo, 1998)



ภาพที่ 3 โครงสร้างหลักและลำดับการนับจำนวนคาร์บอนของโมเลกุลฟลาโวนอยด์

ที่มา: Cook and Samman (1996)

สารประกอบในกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่พบมากที่สุด คือสารประกอบ ฟลาโวน(flavones) เช่น apigenin, luteolin, diosmetin และสารประกอบฟลาโวนอล (flavonols) เช่น quercetin, myricetin, kaemferol รวมทั้งสารประกอบดังกล่าวที่อยู่ในรูปของไกลโคไซด์ โดยสามารถพบได้ในพืชเกือบทุกชนิด ยกเว้นในกลุ่มของสาหร่ายและเชื้อรา

สำหรับฟลาโวนอยด์ในกลุ่มอื่นๆ ที่น่าสนใจ ได้แก่สารประกอบฟลาวาโนน (flavanones) เช่น naringenin, hesperidin ซึ่งพบมากเฉพาะในพืชตระกูลส้มและลูกพรุน สารประกอบไอโซฟลาโวน (Isoflavone) เช่น genistein, daidzein พบมากในพืชตระกูลถั่วที่มีลักษณะเป็นฝัก (legumes) ฟลาวาแนล (flavanals) เช่น catechin, epicatechin, gallocatechin นอกจากนี้สารประกอบแอนโธไซยานินส์ (anthocyanins) ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลิกในกลุ่มฟลาโวนอยด์ จัดเป็นรงควัตถุที่สามารถละลายน้ำได้ซึ่งมีความความสำคัญมากในพืช เพราะเป็นสารประกอบที่ก่อให้เกิดสีของดอกไม้และผลไม้ในพืชชั้นสูงทั่วไป และมีความสำคัญในการพัฒนาสีของไวน์แดงเนื่องจากการรวมตัวกันของสารประกอบฟลาโวนอยด์ตัวอื่น เกิดเป็นรงควัตถุที่มีขนาดใหญ่ขึ้นได้ (Bravo, 1998)

สารประกอบฟีนอลิกที่พบในกระชายเหลืองส่วนใหญ่เป็นสารประเภทฟลาโวนอยด์และอนุพันธ์ เช่น กลุ่มฟลาวาโนน ได้แก่ pinostrobin, pinocembrin และ alpinetin กลุ่มฟลาโวน ได้แก่ dimethoxyflavone และ 3′,4′,5, 7-tetramethoxyflavone เป็นต้น (ตารางที่2)

3. อนุมูลอิสระและการเกิดออกซิเดชัน

3.1 อนุมูลอิสระ (free radicals)

อนุมูลอิสระ คือ อะตอมหรือโมเลกุลที่ขาดอิเล็กตรอน 1 ตัว ทำให้อนุมูลอิสระไม่เสถียรและค่อนข้างว่องไวต่อปฏิกิริยา และถ้าอนุมูลอิสระนั้นมีออกซิเจนหรือไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ จะเรียกว่า Reactive Oxygen Species (ROS) หรือ Reactive Nitrogen Species (RNS) ดังตัวอย่างในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 อนุมูลอิสระ และ ROS/RNS

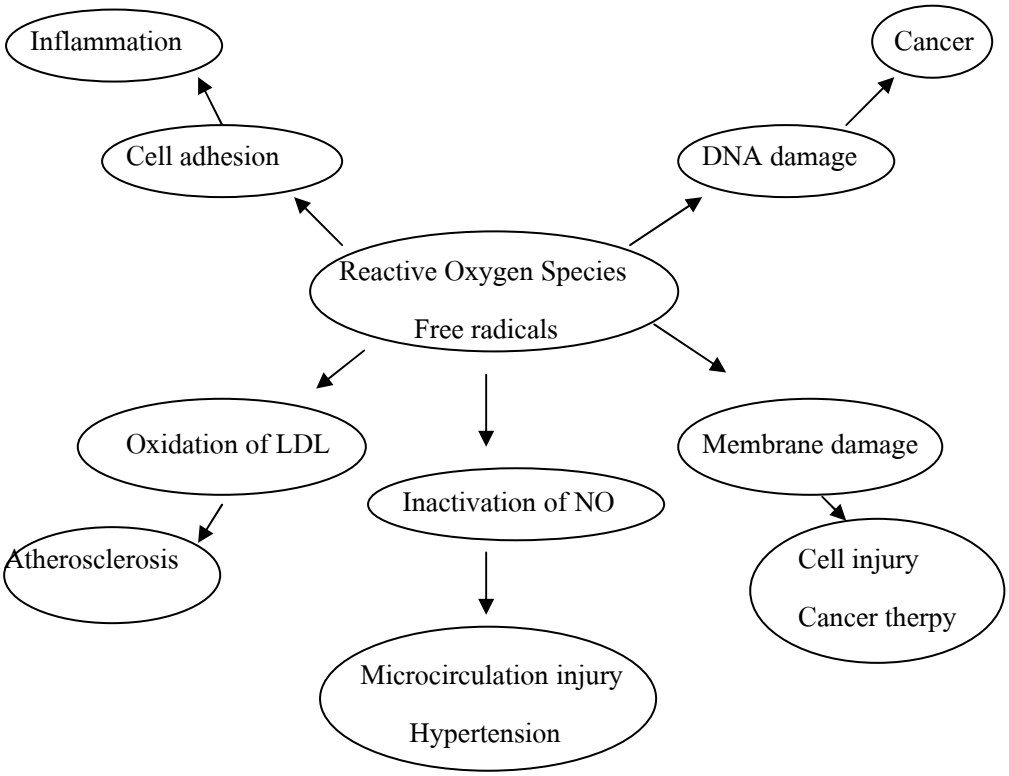
อนุมูลอิสระ และ ROS/RNS	ชื่อ
$O_2^{\bullet-}$	superoxide radical
H_2O_2	hydrogen peroxide
$OH^{\bullet}$	hydroxyl radical
$OOH^{\bullet}$	hydroperoxyl radical
$^1O_2$	singlet oxygen
$ROO^{\bullet}$	alkylperoxyl radical
$RO^{\bullet}$	alkoxyl radical
$NO^{\bullet}$	nitric oxide

ที่มา: Yoshikawa *et al*. (1997)

อนุมูลอิสระสามารถเกิดได้จาก 2 แหล่ง คือ เกิดจากภายในร่างกาย เช่น การหายใจ ปฏิกิริยาของเอนไซม์ และการเกิดออโตออกซิเดชัน เป็นต้น ส่วนภายนอกร่างกายสามารถเกิดได้จากหลายปัจจัย เช่น มลภาวะ บุหรี่ รังสียูวี และการฉายรังสีเพื่อรักษาโรคต่าง ๆ เป็นต้น (Yoshikawa *et al*., 1997)

โดยปกติอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกายจะมีกลไกการกำจัดหรือรักษาให้อยู่ในสมดุล แต่ถ้าอัตราการเกิดอนุมูลอิสระมีมากเกินกว่าระบบการกำจัด จะส่งผลให้เกิด oxidative stress

อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นสามารถทำลายองค์ประกอบของเซลล์ เช่น โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และกรดนิวคลีอิก (DNA) (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 บทบาทของอนุมูลอิสระและ ROS ในการทำให้เกิดโรค

ที่มา: ดัดแปลงจาก Yoshikawa *et al*. (1997)

อนุมูลอิสระเช่น superoxide anion ($O_2^{\bullet -}$) และ hydroxyl radical ($HO^{\bullet}$) เป็นอนุมูลอิสระที่มีความไวในการทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลขนาดใหญ่และรวมถึงการทำให้เนื้อเยื่อเกิดความเสียหาย นอกจากนี้แม้ว่า hydrogen peroxide (H_2O_2) จะมีคุณสมบัติเป็นสารออกซิไดซ์ (oxidizing agent) ที่ไม่รุนแรงแต่ในสภาวะที่มีโลหะหนัก เช่น เหล็ก $O_2^{\bullet -}$ จะเปลี่ยน ferric ให้กลาย เป็น ferrous ซึ่งจะไปทำปฏิกิริยาต่อกับ H_2O_2 และกลายเป็น hydroxyl radical ($HO^{\bullet}$) ในที่สุด โดยทั่วไปแล้วสารประกอบในร่างกายจะถูกสร้างขึ้นมาโดยที่มีอิเล็กตรอนที่เข้าคู่อยู่แล้ว แต่อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจะเข้าไปทำปฏิกิริยากับโมเลกุลที่เสถียรเหล่านั้นแล้วก่อให้เกิดอนุมูลอิสระตัวใหม่ ๆ ขึ้นมา ซึ่ง

อนุมูลอิสระและสารประกอบจำพวก reactive oxygen species (เช่น H_2O_2) เข้าทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลภายในร่างกายและส่งผลให้เกิดสภาวะการก่อให้เกิดโรคขึ้นดังแสดงในภาพที่ 4 (Yoshikawa *et al*., 1997)

อย่างไรก็ตามรูปแบบการเกิดปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระเป็นแบบปฏิกิริยาลูกโซ่ ซึ่งเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องจนกระทั่งอนุมูลอิสระถูกยับยั้งด้วยสารต้านออกซิเดชัน ส่วนใหญ่การศึกษาเกี่ยวกับการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระในระบบสิ่งมีชีวิตมักจะศึกษาเกี่ยวกับสารจำพวก lipid hydroperoxide (LOOH) ซึ่งเป็นสารตัวกลางจากการเกิดปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระ และเชื่อกันว่าเป็นสารตัวสำคัญที่ทำให้เกิดความเสียหายแก่ผนังเซลล์ และทำให้เซลล์เกิดความเสียหายได้

ในระบบชีวโมเลกุลนั้นโมเลกุลเป้าหมายที่สำคัญของอนุมูลอิสระ คือ ไขมัน กรดนิวคลีอิก เอนไซม์ และโปรตีน โดยเฉพาะอย่างยิ่งกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายตำแหน่ง (polyunsaturated fatty acids: PUFAs) ซึ่งเป็นส่วนที่เป็นไขมันบนผนังเซลล์ โดยอนุมูลอิสระจะเข้าทำปฏิกิริยากับ PUFAs และก่อให้เกิด lipid hydroperoxide และเกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ของ lipid peroxidation (Yoshikawa *et al*., 1997)

ภายในโครงสร้างของ PUFAs ประกอบด้วยคาร์บอนที่มีพันธะคู่อย่างน้อย 2 ตำแหน่ง โดยปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันจะเริ่มจากการดึงเอาไฮโดรเจนอะตอมภายในกรดไขมันไม่อิ่มตัวออกไป ภายใต้สภาวะที่มีอนุมูลอิสระและโลหะหนักที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ทำให้เกิด lipid radical ($L^{\cdot}$) จากนั้น lipid radical จะทำปฏิกิริยาต่อกับ oxygen เกิดเป็น lipid peroxyl radical ($LOO^{\cdot}$) โดยที่ lipid peroxyl radical จะไปทำปฏิกิริยาต่อกับโมเลกุลไขมันอื่นๆ โดยดึงเอาอะตอมของไฮโดรเจนของโมเลกุลไขมันอื่นออก ก่อให้เกิดเป็น lipid hydroperoxide และ lipid radical ในเวลาเดียวกัน จากนั้น lipid radial ที่เกิดขึ้นใหม่จะเข้าทำปฏิกิริยาต่อเนื่องเป็นลูกโซ่ตามลำดับ (Yoshikawa *et al*., 1997)

3.2 การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน (lipid oxidation)

ในผลิตภัณฑ์อาหารหลายชนิดมักประกอบไปด้วยไขมันหรือน้ำมัน ซึ่งมีบทบาทสำคัญต่อเนื้อสัมผัส และรสชาติของผลิตภัณฑ์ รวมทั้งช่วยในกระบวนการผลิต เช่น การทอด แต่ผลิตภัณฑ์ที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบเหล่านี้ มีข้อจำกัดในเรื่องของอายุการเก็บ ที่สำคัญที่สุดคือ

การเสื่อมเสียเนื่องจากการหืน ซึ่งเกิดจากการออกซิเดชันของไขมัน ทำให้ผลิตภัณฑ์เหล่านี้เกิดการเปลี่ยนแปลงด้านคุณภาพ ตัวอย่างของการเปลี่ยนแปลงดังกล่าว เช่น การสูญเสียคุณค่าทางอาหาร ซึ่งส่งผลทำให้เนื้อสัมผัสของอาหารเปลี่ยนแปลงไป เกิดสารประกอบที่ทำให้เกิดกลิ่นผิดปกติ และเกิดปฏิกิริยาระหว่างไขมันที่ถูกออกซิไดซ์กับกรดแอมิโนหรือโปรตีน ทำให้เกิดสารให้สีในอาหาร เป็นต้น (Eriksson, 1987) ซึ่งสามารถควบคุมการเกิดออกซิเดชันในอาหารได้โดยการเติมสารกันหืนหรือสารต้านออกซิเดชัน

ออกซิเจนเป็นตัวการสำคัญที่ทำให้ผลิตภัณฑ์ไขมันและน้ำมันเกิดการหืน และเสื่อมเสียมากที่สุด เนื่องจากกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวทำปฏิกิริยากับออกซิเจนในอากาศได้สารประกอบไฮโดรเปอร์ออกไซด์ มีกลไกการเกิดแบบลูกโซ่ (chain reaction) โดยทั่วไปแบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอน (Eriksson, 1987) ดังนี้

3.2.1 initiation

initiation เป็นขั้นตอนที่มีอนุมูลอิสระ (free radical : $R^{\cdot}$) เกิดขึ้น ปัจจัยที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในปฏิกิริยาขั้นนี้เนื่องมาจากอนุมูลอิสระที่แตกต่างกันจำนวนมากสามารถทำให้ไฮโดรเจนจาก RH เกิดเป็นอนุมูลอิสระ $R^{\cdot}$ ตัวอย่างเช่น $X^{\cdot}$ ซึ่งอาจเป็นไอออนของโลหะแทรนซิชัน อนุมูลที่เกิดจากการสลายตัวเนื่องจากแสง (photolysis) หรือรังสีพลังงานสูง (high energy irradiation) หรืออนุมูลที่ได้จากการสลายไฮโดรเปอร์ออกไซด์ เช่น อนุมูลอัลคอกซี (alkoxy radical : $RO^{\cdot}$)

$$X^{\cdot} + RH \longrightarrow R^{\cdot} + XH$$

3.2.2 propagation

propagation เป็นการเกิดปฏิกิริยาระหว่างอนุมูลอิสระกับออกซิเจน ได้อนุมูลเปอร์ออกซี (peroxy radical) ไฮโดรเปอร์ออกไซด์และอนุมูลอิสระไฮโดรคาร์บอน อนุมูลใหม่ที่เกิดขึ้นจะเกิดปฏิกิริยาต่อไป โดยทำปฏิกิริยากับโมเลกุลออกซิเดชันตัวอื่น ๆ

$$R^{\cdot} + O_2 \longrightarrow ROO^{\cdot}$$

$$ROO^{\cdot} + RH \longrightarrow ROOH + R^{\cdot}$$

3.2.3 termination

termination เป็นปฏิกิริยาของสองโมเลกุล (bimolecular rection) ของสารประกอบที่ไม่คงตัวจากปฏิกิริยาเพิ่ม เมื่อรวมตัวกันแล้วจะเกิดเป็นสารประกอบที่มีความคงตัว ซึ่งจะสลายตัวให้สารประกอบที่มีจำนวนคาร์บอนต่ำ เช่น อัลดีไฮด์ คีโตน และกรดที่ระเหยง่าย ทำให้เกิดกลิ่นผิดปกติในอาหาร

$$R^{\cdot} + R^{\cdot} \longrightarrow R - R$$

$$ROO^{\cdot} + ROO^{\cdot} \longrightarrow ROOR + O_2$$

$$RO^{\cdot} + R^{\cdot} \longrightarrow ROR$$

$$ROO^{\cdot} + R^{\cdot} \longrightarrow ROOR$$

$$2\,RO^{\cdot} + 2\,ROO^{\cdot} \longrightarrow 2\,ROOR + O_2$$

เมื่อ RH แทนกรดไขมันไม่อิ่มตัว

$R^{\cdot}$ แทนอนุมูลอิสระ

ROOH แทนไฮโดรเปอร์ออกไซด์

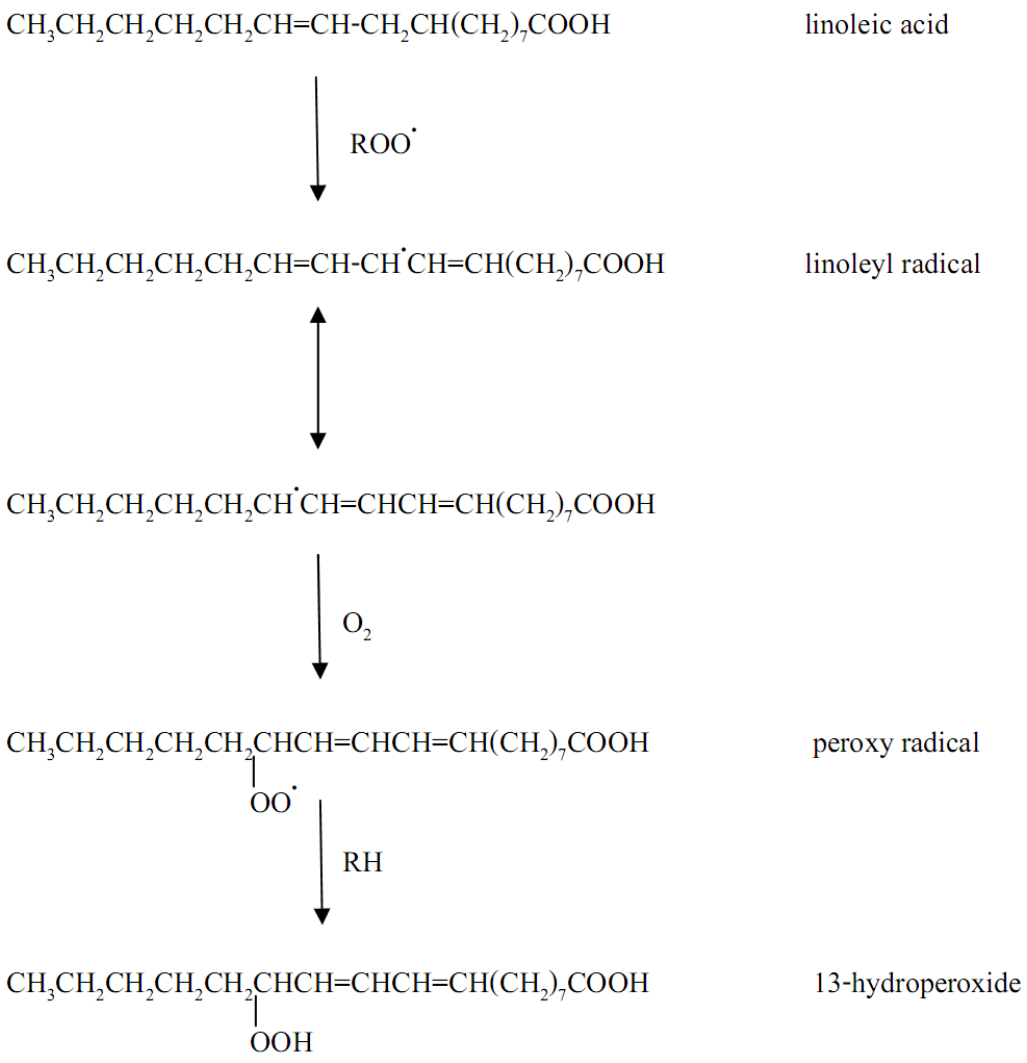
$ROO^{\cdot}$ แทนอนุมูลเปอร์ออกซี

$RO^{\cdot}$ แทนอนุมูลอัลคอกซี

3.3 การเกิดออกซิเดชันในเนื้อสัตว์

ไขมันและฟอสฟอลิปิดซึ่งเป็นองค์ประกอบของเนื้อสัตว์สามารถเกิดออกซิเดชันและทำให้เกิดกลิ่นผิดปกติ โดยมีโลหะ เช่น เหล็ก และ ทองแดง เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน ทำให้เกิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (hydroperoxide) ซึ่งเป็นสารที่ไม่ระเหยและไม่มีกลิ่น แต่

ไฮโดรเปอร์ออกไซด์เป็นสารประกอบที่ไม่คงตัว จึงสลายตัวเป็นอนุมูลอัลคอกซี (alkoxy radical) และสลายตัวต่อไปเป็น secondary oxidation products (ภาพที่ 5)



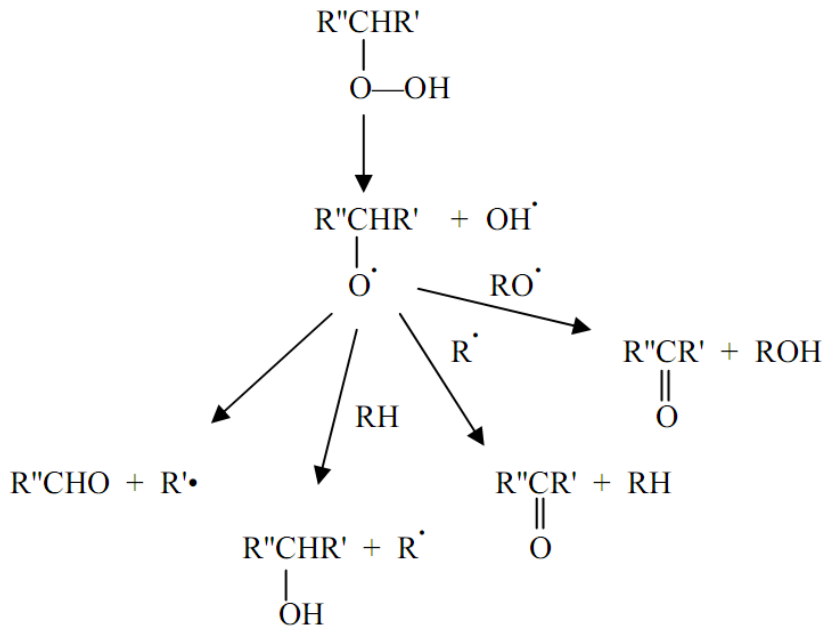
ภาพที่ 5 การเกิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์จากปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดลิโนเลอิก

ที่มา: Pokorny *et al*. (2000)

สาร secondary oxidation products เช่น เฮกซาแนล เฮปทาแนล และสารระเหยอื่น ๆ ที่ทำให้เกิดกลิ่นผิดปกติ จะเกิดขึ้นในระหว่างการเกิดออกซิเดชันของไขมัน เช่น การเกิดออกซิเดชันของกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายตำแหน่งโดยเฉพาะกรดลิโนเลอิก (linoleic acid) ทำให้เกิด 13-ไฮโดรเปอร์ออกไซด์ซึ่งสลายตัวให้เกิดสารระเหยต่าง ๆ เช่น แอลดีไฮด์ คีโตน และ

แอลกอฮอล์ (ภาพที่ 6) โดยค่า threshold ของแอลดีไฮด์ที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดลิโนเลอิกแสดงดังตารางที่ 4

เนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการปรุงสุก เก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำ และนำมาอุ่นหรือนำมาให้ความร้อนอีกครั้ง ทำให้เกิด warmed-over flavor (WOF) ซึ่งเป็นลักษณะของกลิ่นรสที่ผู้บริโภคไม่ต้องการ โดยในระหว่างการให้ความร้อนจะทำให้เกิดสาร secondary oxidation products ดังที่ได้กล่าวมาแล้ว โดยสารระเหยดังกล่าวมีความสัมพันธ์กับการเกิด WOF ในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ (Byrne *et al*., 2002)



ภาพที่ 6 สาร secondary oxidation products ที่เกิดจากการสลายตัวของไฮโดรเปอร์ออกไซด์

ที่มา: Pokorny *et al*. (2000)

ตารางที่ 4 ค่า threshold ของแอลดีไฮด์ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดลิโนเลอิกในน้ำมันพาราฟิน (paraffin oil)

สาร	ค่า threshold (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)
hexanal	0.08-0.6
heptanal	0.04-0.055
octanal	0.04-0.6
trans-2-nonenal	0.04-0.4
cis-2-decenal	0.1
trans,trans-2,4-nonadienal	0.46
trans,cis-2,4-decadienal	0.02

ที่มา: Pokorny *et al*. (2000)

3.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิดชัน

ไขมันแต่ละชนิดมีองค์ประกอบของหน่วยย่อยแตกต่างกัน จึงทำให้สมบัติทั้งทางกายภาพและเคมีแตกต่างกัน รวมทั้งความไวต่อการเกิดออกซิเดชัน ซึ่งปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันมีดังนี้ (Pokorny *et al.,* 2000)

3.4.1 ชนิดของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบ โดยเฉพาะกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่จะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน และอัตราเร็วของการเกิดจะแตกต่างกัน กรดไขมันที่มีพันธะคู่มากกว่าจะเกิดออกซิเดชันเร็วกว่า

3.4.2 ออกซิเจน ในภาวะที่มีออกซิเจนมาก อัตราการเกิดออกซิเดชันจะไม่ขึ้นกับความเข้มข้นของออกซิเจน แต่ในภาวะที่มีออกซิเจนน้อย อัตราการเกิดออกซิเดชันจะขึ้นกับความเข้มข้นของออกซิเจน

3.4.3 อุณหภูมิ อัตราการเกิดออกซิเดชันจะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น

3.4.4 พื้นที่ผิว อัตราการเกิดออกซิเดชันจะเพิ่มขึ้นเป็นสัดส่วนโดยตรงกับพื้นที่ผิวของไขมันที่สัมผัสกับอากาศ

3.4.5 water activity อัตราการเกิดออกซิเดชันจะขึ้นอยู่กับค่า water activity (a_w) อาหารแห้งที่มีความชื้นต่ำมาก (a_w ประมาณ 0.1) ปฏิกิริยาการเกิดออกซิเดชันจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว เมื่อค่า a_w เพิ่มขึ้นถึงประมาณ 0.3 จะยับยั้งการเกิดออกซิเดชันให้น้อยที่สุด และเมื่อค่า a_w เพิ่มขึ้นอีกครั้งในช่วง 0.5-0.85 อัตราการเกิดออกซิเดชันจะเพิ่มขึ้นอีกครั้ง เนื่องจากมีน้ำมากพอที่จะทำให้เกิดการเคลื่อนที่ของตัวเร่งและไขมัน

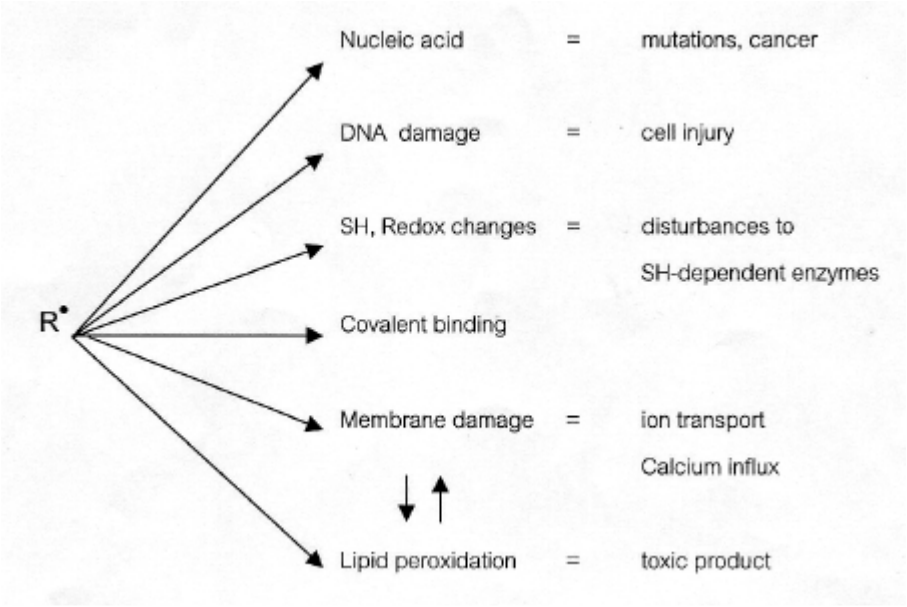
3.4.6 โลหะหรือแร่ธาตุบางชนิด เช่น โคบอลต์ ทองแดง เหล็ก แมงกานีส จะมีคุณสมบัติเป็น pro-oxidants ซึ่งเพียงความเข้มข้นต่ำในระดับ 0.1 ส่วนต่อล้านส่วน ก็สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้

3.4.7 radiant energy แสงและรังสีต่าง ๆ มีผลช่วยเร่งให้เกิดออกซิเดชันได้เร็ว เพราะแสงและรังสีทำให้ออกซิเจนกลายเป็นซิงเกล็ตออกซิเจน (singlet oxygen) ซึ่งมีคุณสมบัติในการเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันเร็วกว่าออกซิเจน

3.4.8 สารต้านออกซิเดชันในธรรมชาติ ช่วยชะลอการเกิดออกซิเดชัน โดยเฉพาะอาหารที่มีสารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติ เช่น วิตามินอีในน้ำมันพืช สารประกอบฟีนอลิกในสมุนไพร เป็นต้น

3.5 สารที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน

อนุมูลต่าง ๆ ที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นอนุมูลอิสระที่ไวต่อปฏิกิริยา สามารถเกิดปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลต่าง ๆ ในร่างกาย เช่น เมื่อเกิดปฏิกิริยากับโปรตีน จะนำ ไปสู่การเปลี่ยนแปลงของระบบต่าง ๆ หรือเกิดปฏิกิริยากับกรดนิวคลีอิก ทำให้ลำดับของเบสผิดไปจนทำให้เกิดการกลายพันธุ์ (ภาพที่ 7) (Deshpande *et al*., 1996)



ภาพที่ 7 อนุมูลอิสระและปฏิกิริยาในเซลล์สิ่งมีชีวิต

ที่มา: Deshpande *et al*. (1996)

สารมาโลนาลดีไฮด์ (malonaldehyde) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ทุติยภูมิจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน มีความเป็นพิษต่อเซลล์ของสิ่งมีชีวิต โดยทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ เป็นสารก่อมะเร็ง และเป็นสารก่อการกลายพันธุ์ได้ด้วย โดยสารมาโลนาลดีไฮด์จะจับกับไขมัน โปรตีน และเกิดพันธะโควาเลนท์กับกรดนิวคลีอิก ทำให้เกิดความผิดปกติที่เซลล์ผิวหนัง และลดประสิทธิภาพในการสร้างโปรตีนของเซลล์ สารมาโลนาลดีไฮด์สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงระดับโครโมโซมในเซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ซึ่งจะนำไปสู่ความผิดปกติต่าง ๆ ได้ด้วย (Jadhav *et al*., 1996)

3.6 สารต้านออกซิเดชัน (Antioxidants)

สารต้านออกซิเดชันคือสารประกอบเคมีซึ่งสามารถลดอัตราการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยสารต้านออกซิเดชันสามารถทำปฏิกิริยากับสารตัวกลาง ได้แก่สารจำพวกอนุมูลอิสระ และหยุดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้โดยตรง หรือทำปฏิกิริยากับสารประกอบที่จะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน และยับยั้งปฏิกิริยาต่อไป (Pokorny *et al*., 2000) ประเภทของสารต้านออกซิเดชัน (ภาพที่ 8) สามารถแบ่งตามหน้าที่ได้ดังนี้

3.6.1 สารต้านออกซิเดชันปฐมภูมิ (Primary antioxidant)

สารต้านออกซิเดชันกลุ่มนี้ทำหน้าที่ยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ในขั้นต่อเนื่องของปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยจับกับอนุมูลอิสระของกรดไขมันหรือจับกับอนุมูลอิสระอื่น ๆ ทำให้เกิดเป็นอนุมูลอิสระของสารต้านออกซิเดชันที่มีความคงตัวสูงกว่า หรือไม่ก่อให้เกิดผลิตภัณฑ์ที่เป็นอนุมูลอิสระดังสมการ

$$ROO^{\cdot} + AH \longrightarrow ROOH + A^{\cdot}$$

$$A^{\cdot} + ROO^{\cdot} \longrightarrow \text{ผลิตภัณฑ์ที่คงตัว}$$

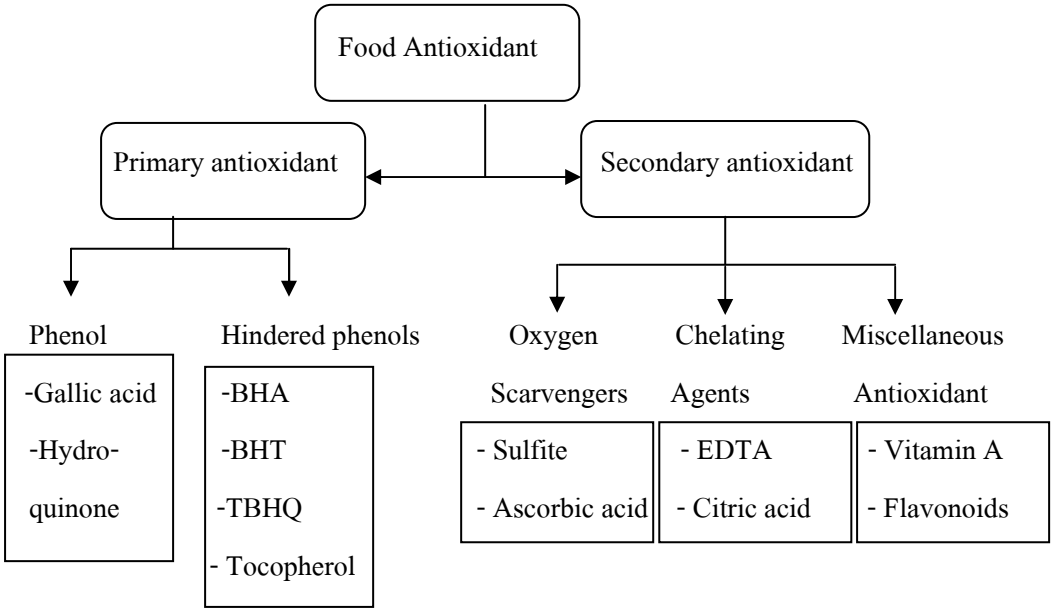
$$A^{\cdot} + A^{\cdot} \longrightarrow \text{ผลิตภัณฑ์ที่คงตัว}$$

เมื่อ AH แทนสารต้านออกซิเดชัน และ $A^{\cdot}$ แทนอนุมูลอิสระของสารต้านออกซิเดชัน

ตัวอย่างของสารต้านออกซิเดชันในกลุ่มนี้ ได้แก่ สารต้านออกซิเดชันที่มีหมู่ฟีนอลในโครงสร้าง เช่น BHA BHT และสารประกอบฟีนอลิกจากธรรมชาติ เป็นต้น (Rajalakshmi and Narasimhan, 1996)

3.6.2 สารต้านออกซิเดชันทุติยภูมิ (Secondary antioxidant)

สารต้านออกซิเดชันกลุ่มนี้ทำหน้าที่ลดอัตราการเกิดออกซิเดชัน โดยรบกวนการเกิดปฏิกิริยาขั้นเริ่มต้นของปฏิกิริยาออกซิเดชัน เช่น ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ช่วยสลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ไปเป็นผลิตภัณฑ์ที่ไม่ว่องไวต่อปฏิกิริยา ช่วยลดความไวของพันธะคู่ของกรดไขมัน ตัวอย่างสารต้านออกซิเดชันกลุ่มนี้ ได้แก่ กรดไทโอไดโพรพิออนิก (thiodipropionic acid) เป็นต้น (Rajalakshmi and Narasimhan, 1996)



ภาพที่ 8 การจำแนกสารต้านออกซิเดชัน

ที่มา: Madhavi *et al*. (1996)

3.6.3 สารต้านออกซิเดชันแบบเสริมฤทธิ์ (Synergistic antioxidant)

สารต้านออกซิเดชันกลุ่มนี้ทำหน้าที่จับกับออกซิเจนและอนุมูลโลหะที่เร่งให้เกิดปฏิกิริยาขั้นเริ่มต้น และช่วยเสริมฤทธิ์ของสารต้านออกซิเดชันแบบปฐมภูมิ โดยการให้อะตอมไฮโดรเจนกับอนุมูลอิสระของสารต้านออกซิเดชัน (Rajalakshmi and Narasimhan, 1996) ตัวอย่างของสารต้านออกซิเดชันในกลุ่มนี้ ได้แก่ กรดแอสคอร์บิกและอนุพันธุ์ กรดซิตริก กรดแอมิโน และเอนไซม์ เป็นต้น

3.7 แหล่งของสารต้านออกซิเดชัน

3.7.1 สารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์

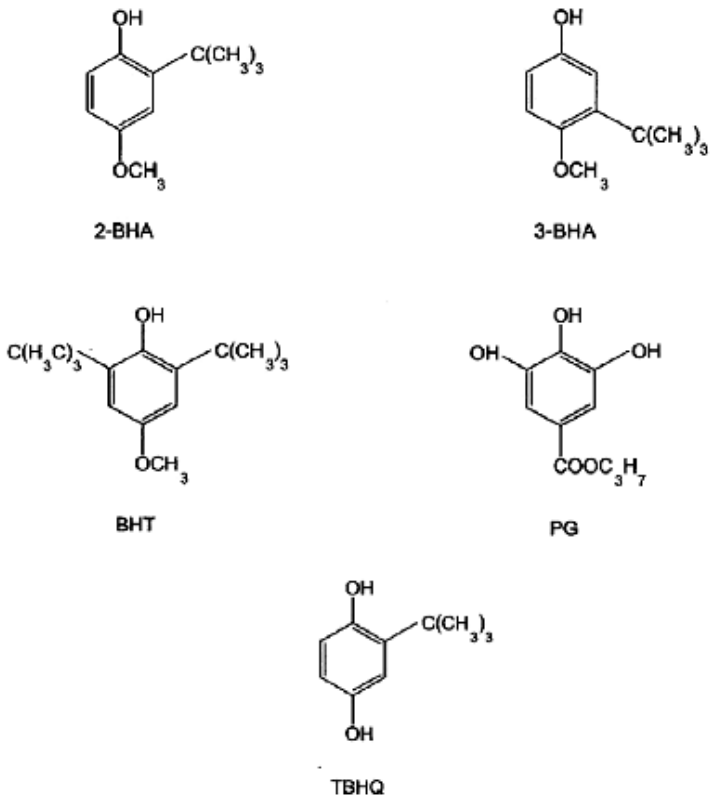
สารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์มีอยู่มากมายหลายชนิด (ภาพที่ 9) แต่ที่นิยมใช้ในอาหาร (Pratt, 1992) อาทิเช่น

Butylated hydroxyanisol (BHA) เป็นสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ที่นิยมใช้มาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งผลิตภัณฑ์อาหารที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบ BHA มีลักษณะเป็นเกล็ดสีขาว เป็นเงา ละลายได้ดีในน้ำมัน โดยมากมักใช้อยู่ในรูปสารผสมของ 2- และ 3-tert-butyl-4-hydroxyanisole และมักเสริมประสิทธิภาพโดยใช้ร่วมกับแกลเลต หรือ BHT

Butylated hydroxytoluene (BHT) ลักษณะเป็นผลึกสีขาว คุณสมบัติทั่วไปใกล้เคียงกับ BHA และมีประสิทธิภาพดีกว่าเล็กน้อย และให้กลิ่นฟีนอลเช่นเดียวกัน มักใช้ร่วมกับสารตัวอื่นเพื่อให้มีประสิทธิภาพดีขึ้น

Propyl Gallate (PG) สังเคราะห์ได้จากปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของกรดแกลลิกและแอลกอฮอล์ เป็นสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ที่มีประสิทธิภาพดีมาก ช่วยป้องกันการเกิดเปอร์ออกไซด์ได้ดี โดยที่ประสิทธิภาพจะขึ้นกับน้ำหนักโมเลกุลและความเข้มข้น แต่มีข้อเสียคือเมื่อใช้ในอาหารที่มีเหล็กปนเปื้อน จะทำให้เกิดสีม่วงขึ้น มักใช้ร่วมกับกรดซิตริกเพื่อช่วยในการจับไอออนของโลหะ

Tertiary butylhydroquinone (TBHQ) มีลักษณะเป็นผงละเอียดสีขาวอมเหลืองแกมเทา (คล้ายทราย) ละลายได้ดีปานกลางในน้ำมัน มีความคงตัวต่อความร้อนดีกว่า BHA และ BHT มักใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารประเภททอด เพราะช่วยป้องกันการเปลี่ยนแปลงของสีได้ดี



ภาพที่ 9 ตัวอย่างสูตรโครงสร้างของสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์

ที่มา: Pratt (1992)

3.7.2 สารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติ สารประกอบนี้พบตามธรรมชาติ มีอยู่ในส่วนต่าง ๆ ของพืช และพบว่าสารต้านออกซิเดชันตามธรรมชาติจะเป็นสารประกอบประเภทพอลิฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลิกจากพืช ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกในพืชนั้นผลิตขึ้นโดยระบบป้องกันตนเองของพืชจากโรคและสิ่งแปลกปลอมต่าง ๆ สารประกอบฟีนอลิกในพืชมีหมู่ฟีนอลอยู่อย่างน้อยหนึ่งหมู่ในสูตรโครงสร้าง สารกลุ่มนี้รวมถึง กรดฟีนอลิก (phenolic acid) ฟลาโวนอยด์และอนุพันธ์ (flavonoid and derivatives) เอสเทอร์ของกรดแกลลิก (ester of gallic acid) เป็นต้น ซึ่งพบได้ในทุกส่วนของพืช ตัวอย่างเช่น เครื่องเทศซึ่งมีองค์ประกอบที่มีสมบัติในการต้านออกซิเดชัน ได้แก่ ออริกาโน ไทม์ โรสแมรี่ เสจ กานพลู พริกไทยดำ อบเชย ขิง กระเทียม และหัวหอม เป็นต้น (Rajalakshmi and Narasimhan, 1996)

กรดแอมิโน เปปไทด์ โปรตีนไฮโดรไลเซต และผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาเมลลาร์ด สารในกลุ่มนี้เป็นสารต้านออกซิเดชันที่สามารถจับกับโลหะที่มีในอาหารหรือปนเปื้อนมากับอุปกรณ์และเครื่องมือในการแปรรูป ให้เป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่คงตัว จึงไม่สามารถกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันขั้นเริ่มต้นได้ (Rajalakshmi and Narasimhan, 1996) ตัวอย่างสารต้านออกซิเดชันในกลุ่มนี้ได้แก่ คาร์โนซีน (carnosine) ซึ่งเป็นสารไดเปปไทด์ที่มีความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน มีการทดสอบใช้สารดังกล่าวในหมูบดแช่แข็งที่มีเกลือเข้มข้นร้อยละ 2 พบว่าสามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดี (Dekker and Crum, 1991) นอกจากนี้ Bishov *et al*. (1977) ได้ทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านออกซิเดชันของ autolyzed yeast protein พบว่ามีประสิทธิภาพดีเช่นกัน แต่สารในกลุ่มนี้ไม่เหมาะในการใช้กับผลิตภัณฑ์ที่มีค่าความเป็นกรด-เบสต่ำ เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้างจากการเสียสภาพธรรมชาติ

กรดไฟติกและไฟเตต สารกลุ่มนี้เป็นสารประกอบที่มีประจุลบสูง พบมากในธัญพืช และถั่วเมล็ดแห้ง มีความสามารถในการจับกับโลหะได้ดี เช่น ทองแดง เหล็ก จึงสามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ (Shahidi, 1997)

ฟอสฟอลิปิด สารนี้เป็นผลพลอยได้จากการรีไฟน์น้ำมัน เช่น น้ำมันถั่วเหลือง มีสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชันหลายแบบ โดยเป็นทั้งสารต้านออกซิเดชันปฐมภูมิและสารต้านออกซิเดชันแบบเสริมฤทธิ์ ตัวอย่างเช่น phosphatidylethanolamine มีประสิทธิภาพในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดี และจะมีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้นเมื่อใช้ร่วมกับทอโคเฟอรอลหรือโพรพิลแกลเลตในปริมาณที่เหมาะสม (Sipos and Szuhaij, 1996)

วิตามินและเอนไซม์ วิตามินมีสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชันในอาหารและในร่างกายได้ดีทั้งในรูปเดี่ยวและผสม ได้แก่ วิตามินอี วิตามินเอ วิตามินซี รวมถึงบีตาแคโรทีน และทอโคเฟอรอล วิตามินเหล่านี้จะจับกับออกซิเจนที่ไวต่อปฏิกิริยาและอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาออกซิเดชันขั้นเริ่มต้น ได้เป็นสารที่คงตัวและเป็นอนุมูลอิสระของสารต้านออกซิเดชันที่ไม่ไวต่อปฏิกิริยา จึงยับยั้งขั้นต่อเนื่องของปฏิกิริยาลูกโซ่ต่อไปได้ (Schuler, 1990)

ส่วนสารในกลุ่มของเอนไซม์ เช่น กลูโคสออกซิเดส (glucose oxidase) และซุเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส (superoxide dismutase) เป็นต้น มีประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านออกซิเดชันได้เช่นกัน เอนไซม์กลูโคสออกซิเดสนั้นจะกำจัดออกซิเจนที่ละลายในอาหารหรือ

บริเวณช่องว่างเหนืออาหารในภาชนะบรรจุได้ดี เอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตสสามารถกำจัดอนุมูลอิสระของซูเปอร์ออกไซด์ที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันขั้นต่อเนื่องได้ โดยเอนไซม์เหล่านี้ส่วนใหญ่ได้มาจากจุลินทรีย์โดยการคัดเลือกสายพันธุ์ที่เหมาะสม (Rajalakshmi and Narasimhan, 1996)

นอกจากนี้ยังมีสารต้านออกซิเดชันอื่น ๆ เช่น สารที่ได้จากการเผาไหม้ของไม้หรือควัน (smoke) สารสกัดจากพืชผัก รวมทั้งสารประกอบที่แยกได้จากจุลินทรีย์และสาหร่าย เป็นต้น (Rajalakshmi and Narasimhan, 1996)

ในปัจจุบัน การใช้สารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติได้รับความนิยมอย่างสูง เนื่องจากมีรายงานความเป็นพิษของสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์บางชนิดในสัตว์ทดลอง ซึ่งพบว่าทำให้เซลล์ทำงานผิดปกติ ทำให้เกิดเป็นเนื้องอก และกลายเป็นมะเร็งเมื่อได้รับสารสังเคราะห์อย่างต่อเนื่องในปริมาณที่มากเกินไป นอกจากนี้ยังอาจเป็นสาเหตุให้เกิดการกลายพันธุ์ขึ้นได้

ข้อดีของสารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติเมื่อเปรียบเทียบกับสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์คือ ผู้บริโภคให้การยอมรับโดยทันที เนื่องจากไม่ใช่สารเคมี และเป็นวัตถุเจือปนอาหารประเภท Generally Recognized As Safe (GRAS) หรือเป็นที่ยอมรับโดยทั่วไปว่าปลอดภัยต่อการบริโภค ส่วนข้อเสียของสารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติ คือมีราคาแพงกว่าสารสังเคราะห์ เนื่องจากต้องผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ เพราะถ้าไม่ทำให้บริสุทธิ์จะมีประสิทธิภาพต่ำ นอกจากนั้นสารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติบางชนิดเมื่อเติมลงไปในผลิตภัณฑ์แล้วอาจทำให้สี รสชาติเปลี่ยนแปลง หรืออาจเกิดกลิ่นรสแปลกปลอมได้ (Rajalakshmi and Narasimhan,1996) ตัวอย่างของสารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติที่พบในอาหารบางชนิดแสดงดังตารางที่ 5

ในปัจจุบันผู้บริโภคมีความรู้และได้รับข่าวสารมากขึ้น ทำให้ตระหนักถึงความปลอดภัยและห่วงใยสุขภาพกันมากขึ้น ดังจะเห็นได้จากการขยายตัวของตลาดอาหารเพื่อสุขภาพ การผลิตอาหารที่พยายามใช้สารจากธรรมชาติให้มากที่สุด และระบุไว้ในฉลากเพื่อให้เป็นจุดขายของผลิตภัณฑ์ ดังนั้นการนำสารจากธรรมชาติมาใช้ในการผลิตอาหารจึงเป็นทางเลือกที่น่าสนใจ เพราะตลาดมีความสนใจและมีแนวโน้มความต้องการที่เพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ในอนาคต

ตารางที่ 5 สารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติในอาหารบางชนิด

แหล่งอาหาร	ชนิดของสารต้านออกซิเดชัน
น้ำมันและพืชน้ำมัน	ทอโคเฟอรอล และทอโคไตรอีนอล สารเซซามอล (sesamol) ในเมล็ดงาเรซิน (resins) ในน้ำมันมะกอก สารฟอสโฟลิปิด
ข้าวโอ๊ต และรำข้าว	สารจำพวกลิกนินและอนุพันธ์ กรดไฟติกและไฟเตต
ผลไม้และผัก	กรดแอสคอร์บิก กรดไฮดรอกซีคาร์บอกซิลิก ฟลาโวนอยด์ แคโรทีนอยด์
เครื่องเทศ สมุนไพร ชา และโกโก้	สารประกอบฟีนอลิก
โปรตีนและโปรตีนไฮโดรไลเสต	กรดแอมิโน สารไดไฮโดรไพริดีน (dihydropyridine) ผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาเมลลาร์ด

ที่มา: ดัดแปลงจาก Rajalaksami and Narasimhan (1996)

3.7.3 อันตรายจากการใช้สารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์

สารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์อาจมีความปลอดภัยเมื่อใช้ในปริมาณที่กำหนด แต่จากการรายงานความเป็นพิษของวัตถุกันหืนพบว่าสารต้านออกซิเดชันเป็นสารที่ก่อให้เกิดอาการผิดปกติ เกิดเป็นมะเร็งและเนื้องอกขึ้นได้ จากการศึกษาในสัตว์ทดลองโดยมีการผสม BHA ในอาหารแก่หนูที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.25 ทำให้เกิดการขยายตัวของเนื้อเยื่ออย่างผิดปกติ และเกิดเป็นเนื้องอกที่ช่องท้องเมื่อให้บีเอชเอในอาหารหนูที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.50 ในการทดลองผสม BHA ในอาหารหนูที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.50 เป็นเวลา 21 วันทำให้หนูเกิดอาการเลือดคั่งในปอดและอวัยวะอื่นอีกหลายส่วน (Madhavi and Salunkhe,1996) จากการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าการได้รับสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ในระยะยาว จะส่งผลให้เกิดอันตรายต่อร่างกายได้ เนื่องจากการสะสมของสารทีละน้อยจนถึงระดับที่มากพอ สามารถทำให้เกิดอาการผิดปกติได้ ปัจจุบันผู้บริโภคเอาใจใส่สุขภาพมากขึ้น และเชื่อว่าการที่ใช้สารจากธรรมชาติจะดีต่อสุขภาพมากกว่าสารสังเคราะห์ จึงมีการนำสารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติเข้ามาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารมากขึ้น

3.7.4 ประโยชน์จากสารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติ

ป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระ วิตามินอี เป็นสารต้านออกซิเดชันทางธรรมชาติที่นิยมใช้กันอย่างมากพบในพืชหลายชนิด เช่น ถั่วเหลือง เมล็ดธัญพืชต่างๆ วิตามินอีจะทำปฏิกิริยาโดยตรงกับอนุมูลอิสระ ช่วยลดอนุมูลอิสระได้ สารในกลุ่มฟีนอลและฟลาโวนอยด์เป็นสารที่ผลิตขึ้นโดยธรรมชาติซึ่งมีสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชันที่สำคัญเนื่องจากมีกลุ่มไฮดรอกซิล บนวงเบนซีน

ยับยั้งมะเร็งและเนื้องอก โดย Yoshida *et al*. (1990) รายงานว่าสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ เช่น เควอซิทิน มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเซลล์มะเร็งในกระเพาะมนุษย์ได้ Scambia *et al*. (1994) รายงานว่าสารเควอซิทินสามารถยับยั้งเซลล์มะเร็ง MCF-7 Human Breast-Cancer Cell line ได้เช่นกัน

ป้องกันโรคหัวใจและโรคหลอดเลือดหัวใจอุดตัน โดย Rauma and Mykkanen (2000) พบว่า วิตามินซีจากผักใบเขียว มันสัมปะหลัง มะละกอ มีสารต้านออกซิเดชันที่ทำหน้าที่ water-soluble chain-breaking antioxidant ในพลาสมาและไซโตซอล regenerated-tocopherol radicals สามารถป้องกันการเกิด โรคหัวใจและโรคโลหิตจางได้ บีตาแครอทีนในผลแอปริคอท มะเขือเทศ และฝักทอง มีสารต้านออกซิเดชันที่ลดการความเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจได้

ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ Yildirim *et al*. (2001) พบว่าสารสกัดจากใบและเมล็ดของ *Rumex crispus* แสดงสมบัติการเป็นสารต้านออกซิเดชันและสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Staphylococcus aureus* และ *Bacillus subtilis* ได้

มีการใช้สารต้านออกซิเดชันทั้งจากธรรมชาติและแบบสังเคราะห์ในผลิตภัณฑ์อาหารในทางการค้า เพื่อช่วยชะลอการหืนเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน ทำให้ผลิตภัณฑ์อาหารมีอายุการเก็บรักษานานขึ้น ผลิตภัณฑ์ที่มีการใช้สารต้านออกซิเดชัน เช่น น้ำมันเนยเทียม เนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ เป็นต้น ตัวอย่างของสารต้านออกซิเดชันและปริมาณสูงสุดที่องค์การอาหารและยาสหรัฐอเมริกาอนุญาตให้ใช้แสดงดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 สารต้านออกซิเดชันและปริมาณสูงสุดที่องค์การอาหารและยาสหรัฐอเมริกาอนุญาตให้ใช้

สารต้านออกซิเดชัน	ผลิตภัณฑ์	ปริมาณสูงสุดที่อนุญาตให้ใช้
BHA, BHT, propyl gallate และ TBHQ	ไส้กรอกแห้ง	0.003% (โดยน้ำหนักทั้งหมด)
BHA, BHT, propyl gallate และ TBHQ	เนื้อหมูสด ไส้กรอก และเนื้อวัวบดปรุงสุก	0.01% (โดยปริมาณไขมัน)
BHA, BHT, propyl gallate และ TBHQ	เนื้อสัตว์แห้ง	0.01% (โดยน้ำหนักทั้งหมด)
tocopherol	ไส้กรอกแห้ง เนื้อสัตว์แห้ง และเนื้อวัวบดปรุงสุก	0.03% (โดยปริมาณไขมัน)
BHA, BHT, propyl gallate , TBHQ และ ascorbyl palmitate	เนยเทียม	0.02% (โดยน้ำหนักของผลิตภัณฑ์)

ที่มา: U.S. Food and Drug Administration (1999)

3.8 การเตรียมสารต้านออกซิเดชันโดยการสกัดจากส่วนประกอบของอาหาร

โดยทั่วไปในวัตถุดิบจากธรรมชาติมีปริมาณสารต้านออกซิเดชันต่ำ เมื่อนำมาใช้กับผลิตภัณฑ์จะต้องเติมในปริมาณมาก ซึ่งอาจทำให้เกิดผลเสียต่อผลิตภัณฑ์ เช่น มีผลต่อกลิ่นรส หรือทำให้สมบัติเชิงหน้าที่เปลี่ยนแปลง ดังนั้นต้องมีการทำให้มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น โดยการกำจัดน้ำออกไปก่อนที่ทำการสกัด (Pokorny *et al*., 2000)

3.8.1 การสกัดสารต้านออกซิเดชันด้วยไขมันและน้ำมัน

วิธีการสกัดสารต้านออกซิเดชันด้วยไขมันและน้ำมันเป็นวิธีที่สามารถทำได้ง่าย วัตถุดิบจากธรรมชาติที่มีสารต้านออกซิเดชัน เช่น สมุนไพรและเครื่องเทศจะถูกนำมาผสมกับไขมัน และ/หรือ น้ำมัน จากนั้นตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง หรืออาจมีการให้ความร้อน (ในกรณีของไขมัน เช่น มันหมูหรือไขวัว) ภายในระยะเวลาที่กำหนด จากนั้นกรองเอาส่วนน้ำมันที่ได้ซึ่ง

สามารถนำไปใช้กับอาหารได้โดยตรง ข้อดีของการสกัดด้วยน้ำมันหรือไขมันคือ ง่ายและปลอดภัย เนื่องจากไม่มีการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ในการสกัด แต่วิธีนี้เหมาะสมสำหรับบางกรณีเท่านั้น เช่น การใช้น้ำมันปริมาณมากในสูตรอาหาร นอกจากนี้ยังพบว่าสารต้านออกซิเดชันส่วนใหญ่ละลายได้น้อยในน้ำมัน (Pokorny *et al*., 2000)

3.8.2 การสกัดสารต้านออกซิเดชันด้วยตัวทำละลายอินทรีย์

การสกัดด้วยวิธีนี้ต้องเลือกตัวทำละลายที่ใช้สกัดให้เหมาะสมตัวอย่าง เช่น การสกัดสารต้านออกซิเดชันจากโรสแมรี่และเสจด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ ได้แก่ เฮกเซน อะซีโตน เอทิลอะซีเตท และเมทานอล พบว่าตัวทำละลายที่มีขั้วปานกลางสามารถสกัดสารต้านออกซิเดชันได้ดีกว่าตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว และมีขั้วสูง (Pokorny *et al*., 2000)

3.8.3 การสกัดสารต้านออกซิเดชันด้วย Supercritical fluid carbon dioxide

วิธีนี้ใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในการสกัดร่วมกับการใช้ความดันสูง นอกจากนี้อาจใช้โพรเพน/บิวเทน เมทานอล เอทานอล หรือสารอื่นเป็น co-solvent ซึ่งวิธีนี้เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพดีกว่าการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ ข้อเสียของการสกัดด้วยวิธีนี้คือ เครื่องมือที่ใช้มีราคาแพง เนื่องจากต้องใช้ความดันสูงในการสกัด แต่มีข้อดีคือมีประสิทธิภาพในการสกัดที่ดี และได้สารสกัดที่มีความบริสุทธิ์สูง (Pokorny *et al*., 2000)

4. การตรวจสอบความสามารถต้านออกซิเดชัน

สามารถแบ่งการตรวจสอบออกเป็น 2 ประเภทตามลักษณะกลไกการเกิดปฏิกิริยาได้แก่ การตรวจสอบแบบ Hydrogen atom transfer (HAT) และ Electron transfer (ET) ซึ่งมีหลายปฏิกิริยาที่สามารถใช้ทดสอบความสามารถต้านออกซิเดชัน (Huang *et al*., 2005) ดังตารางที่ 7

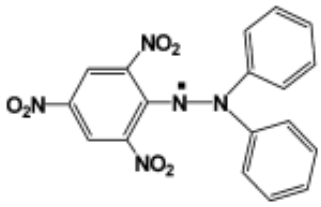
ในแต่ละวิธีมีความเหมาะสมกับการตรวจสอบสารต่าง ๆ กัน เช่น Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) เหมาะสำหรับการวิเคราะห์สารต้านออกซิเดชันทั่ว ๆ ไปในอาหาร DPPH assay เหมาะสำหรับการตรวจสอบสารสกัดจากผักและผลไม้ Total Radical Trapping Antioxidant Parameter (TRAP) ใช้สำหรับการตรวจสอบทั่ว ๆ ไป เป็นต้น

4.1 Total phenolic content by Folin-Ciocalteu Reagent

เป็นวิธีวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยสาร Folin-Ciocalteu จะทำให้เกิดปฏิกิริยารีดักชัน ในสภาวะที่เป็นเบส เกิดเป็นสารประกอบสีน้ำเงิน แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 725 nm ซึ่งมีข้อเสียคือถ้ามีสารรีดิวซ์ จะรบกวนการวิเคราะห์ได้ โดยมีการเปรียบเทียบกับอิควิวาเลนต์ของกรดแกลลิก (Huang *et al*., 2005)

4.2 DPPH Radical scavenging activity assay

นิยมนำมาใช้กับการตรวจสอบสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผักและผลไม้ (Chang *et al*, 2005) โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH ที่เปลี่ยนแปลงไป DPPH คืออนุมูลอิสระที่มีความเสถียรสูง (ภาพที่ 10) มีสีม่วง ปกติดูดกลืนแสงดีที่สุดช่วง 517 nm โดยที่ทำปฏิกิริยากับสารที่มีสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชัน ค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH จะลดลงเนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารต้านออกซิเดชันและอนุมูลอิสระ โดยจะเปลี่ยนจากสีม่วงเป็นสีเหลือง

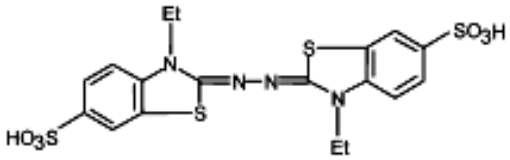


ภาพที่ 10 โครงสร้างทางเคมีของอนุมูลอิสระ 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

ที่มา: Huang *et al*. (2005)

4.3 ABTS Radical scavenging activity assay

การตรวจสอบสมบัติของสารในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS (ภาพที่ 11) เป็นวิธีที่ง่าย รวดเร็ว สามารถทำได้ในช่วงกรด-เบสที่กว้าง นอกจากนั้นอนุมูลอิสระ ABTS ยังสามารถละลายได้ทั้งในน้ำ และตัวทำละลายอินทรีย์ ดังนั้นจึงสามารถศึกษาได้ในตัวทำละลายที่หลากหลายทั้งในสารสกัดที่ละลายในน้ำมัน และในน้ำ (Awika *et al*., 2003)



ภาพที่ 11 โครงสร้างทางเคมีของอนุมูลอิสระ 2, 2′-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS)

ที่มา: Huang *et al*. (2005)

ตารางที่ 7 กลไกของการเกิดปฏิกิริยากับวิธีการตรวจสอบความสามารถต้านออกซิเดชัน

กลไกของการเกิดปฏิกิริยา	วิธีการตรวจสอบความสามารถต้านออกซิเดชัน
การแลกเปลี่ยนไฮโดรเจน	ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity)
$ROO^{\cdot} + AH \longrightarrow ROOH + A^{\cdot}$	TRAP (Total Radical Trapping Antioxidant Parameter)
$ROO^{\cdot} + LH \longrightarrow ROOH + L^{\cdot}$	Crocin bleaching assay
	IOU (inhibit oxygen uptake)
	Inhibition of linoleic acid oxidation
	Inhibition of LDL oxidation
	TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity)
การแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอนเดี่ยว	FRAP (Ferric Ion Reducing Antioxidant Parameter)
M(n) + e (จากสารต้านออกซิเดชัน) $\longrightarrow$	DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)
$AH^{\cdot+}$ + M(n-1)	Copper (II) reduction capacity
	Total phenols assay by Folin-Ciocalteu reagent
	TOSC (Total Oxidant Scavenging Capacity)
	Inhibition of Briggs-Rauscher oscillation reaction
ปฏิกิริยาอื่น ๆ	Chemiluminescence
	Electrochemiluminescence

ที่มา : Huang *et al*. (2005)

5. การทำแห้ง

การทำแห้งเป็นวิธีการยืดอายุการเก็บรักษาอาหารที่ทำได้ง่ายและเก่าแก่ที่สุดวิธีหนึ่ง ซึ่งเป็นกระบวนการกำจัดน้ำในอาหาร เพื่อป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียของอาหาร โดยปริมาณความชื้นที่จะป้องกันการเน่าเสียของอาหารเนื่องจากจุลินทรีย์ได้โดยทั่วไป คือ ความชื้นต่ำกว่าร้อยละ 10 ทั้งนี้ขึ้นกับชนิดของอาหารเป็นสำคัญ (สมบัติ, 2526) นอกจากนี้การทำแห้งยังเป็นวิธีการที่ช่วยลดต้นทุนในการขนส่งอาหารโดยการลดน้ำหนักและขนาดของภาชนะบรรจุที่ใช้ การทำแห้งเป็นวิธีการให้พลังงานเพื่อระเหยน้ำออกจากอาหาร โดยตัวกลางที่นิยมใช้ในการระเหยน้ำออกจากอาหารคืออากาศ ขั้นตอนหลักที่เกี่ยวข้องกับการระเหยน้ำออกจากอาหารคือการเคลื่อนย้ายน้ำจากภายในอาหารออกสู่ผิวนอกของอาหาร และการเคลื่อนย้ายไอน้ำออกจากพื้นผิวนอกของอาหาร เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพดีควรทำแห้งโดยใช้เวลาน้อยที่สุด โดยปัจจัยที่ส่งผลต่อการทำแห้ง ได้แก่ ขนาดและโครงสร้างทางชีวภาพของวัตถุดิบ คุณสมบัติของตัวกลางที่ใช้ในการเคลื่อนย้ายน้ำออกจากอาหาร และลักษณะของเครื่องมือที่ใช้ในการทำแห้ง (Bassey, 1981)

5.1 หลักการพื้นฐานของการทำแห้ง

น้ำที่อยู่ในอาหารมีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการทำแห้งของอาหาร น้ำในอาหารแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ (1) น้ำอิสระ (free water) เป็นน้ำที่แทรกอยู่ในช่องว่างของอาหาร อาจมีการเกาะตัวกับองค์ประกอบของอาหารบ้างด้วยแรงที่ไม่แข็งแรงมากนัก สามารถแยกจากองค์ ประกอบอื่น ๆ ได้ง่าย และ (2) bound water เป็นน้ำส่วนที่เกาะอยู่กับโครงสร้างของสารอื่นหรือส่วนประกอบอื่นในอาหารด้วยพันธะทางเคมีที่แข็งแรง ระดับความยากง่ายของการกำจัดน้ำออกจากอาหารจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับว่าน้ำนั้นอยู่ในกลุ่มใด โดยน้ำอิสระจะระเหยและถูกกำจัดไปในตอนแรก จากนั้นจะเป็นโมเลกุลน้ำที่ยึดจับด้วยพันธะไฮโดรเจน และสุดท้ายจะเป็นน้ำที่ยึดจับด้วยพันธะอิออนิก นอกจากนี้กลไกที่แตกต่างกันของน้ำที่ยึดจับกับของแข็งยังมีผลต่อลักษณะเฉพาะของคุณภาพอาหารระหว่างการเก็บรักษา โดยการยึดจับกันระหว่างน้ำและองค์ประกอบภายในอาหารมีหลายประเภท (รุ่งนภา, 2535) เช่น แรงยึดจับแวนเดอร์วาวล์ (London-van der Waals dispersion force) พันธะไฮโดรเจน (hydrogen bound) แรงคูลอมป์ (Coulomb force) ระหว่างน้ำอิออน และกลุ่มโมเลกุลที่แยกตัวออกจากกัน ผลจากการละลาย (dissolution effect) การเปลี่ยนแปลงการเคลื่อนที่ของส่วนที่เป็นโพลีเมอร์ (change in mobility of polymer segments) และ แรงคาปิลารี (capillary force) (Vega-Mercado, 2001)

การทำแห้งอาหารโดยทั่ว ๆ ไป ทำได้ 2 วิธี (สมบัติ, 2526) คือ

5.1.1 การทำให้อาหารแห้งโดยธรรมชาติ

การทำแห้งวิธีนี้อาศัยความร้อนจากแสงอาทิตย์ หรือลม โดยแสงอาทิตย์และลมจะช่วยพัดพาเอาไอน้ำที่ระเหยออกจากอาหาร วิธีนี้เป็นวิธีที่ใช้เวลาในการทำแห้งนานเนื่องจากอัตราการทำแห้งต่ำ และยังขึ้นกับสภาวะอากาศ แต่วิธีนี้ยังใช้กันอยู่อย่างแพร่หลายในประเทศกำลังพัฒนาและมีแสงพอเพียง แต่ปัจจุบันการทำแห้งด้วยแสงอาทิตย์ได้มีการพัฒนาขึ้นเป็นตู้อบพลังงานแสงอาทิตย์ เพื่อทำให้สามารถควบคุมอัตราเร็วในการทำแห้งอาหารได้

5.1.2 การทำให้อาหารแห้งด้วยวิธีเชิงกล

การทำแห้งด้วยวิธีนี้เป็นการทำแห้งที่ใช้เทคนิคและหลักวิชาการทางวิทยาศาสตร์เข้ามาเกี่ยวข้องเป็นอย่างมาก ทำให้สามารถควบคุมอัตราการทำแห้งได้ ส่งผลให้ผลิตอาหารได้เร็ว คุณภาพดีขึ้น และมีปริมาณความชื้นตามที่ต้องการ วิธีการนี้อาศัยหลักของการส่งผ่านความร้อนเข้าไปในชิ้นอาหาร ทำให้น้ำกลายเป็นไอ และระเหยออกไปจากผิวหน้าของอาหาร ความร้อนที่ส่งเข้าไปอาจจะมีกลไกที่แตกต่างกัน ได้แก่ (1) การนำความร้อน (conduction) เช่น เครื่องทำแห้งแบบลูกกลิ้งทรงกระบอก (drum dryer) และเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dryer) เป็นต้น (2) การพาความร้อน (convection) เช่น เครื่องทำแห้งแบบตู้หรือแบบห้อง (cabinet dryer) เครื่องทำแห้งแบบอุโมงค์ (tunnel dryer) และเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray dryer) เป็นต้น หรือ (3) การแผ่รังสี (radiation) เช่น เครื่องทำแห้งแบบรังสีอินฟาเรด (infrared dryer) และเครื่องทำแห้งแบบไมโครเวฟ (microwave dryer) เป็นต้น

5.2 การทำแห้งสมุนไพร

การทำแห้งเป็นวิธีการหนึ่งที่ช่วยยืดอายุการเก็บรักษาของสมุนไพรให้คงอยู่ได้ในช่วงฤดูที่สมุนไพรไม่มีผลผลิตที่จะนำมาใช้ปรุงอาหาร และแม้ว่าการใช้สมุนไพรสดจะให้กลิ่นรสแก่อาหารได้ดีกว่า แต่ในฤดูที่ขาดแคลนสมุนไพรทำแห้งก็สามารถนำมาใช้ทดแทนได้ นอกจากนั้นยังมีพืชบางชนิดที่ใช้ประกอบอาหารในลักษณะสมุนไพรทำแห้ง เช่น เครื่องเทศ หรือชา เป็นต้น การทำแห้งส่งผลต่อคุณภาพของสมุนไพร เช่น การเปลี่ยนแปลงทางด้านลักษณะปรากฏ และกลิ่นรส

ของสมุนไพร ซึ่งมีสาเหตุมาจากการสูญเสียสารระเหยไปในระหว่างการทำแห้ง หรือการเกิดสารระเหยชนิดใหม่จากปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation reaction) หรือ ปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน (esterificaton reaction) เป็นต้น

วิธีการที่มีการศึกษาและนิยมใช้ทำแห้งสมุนไพร ได้แก่ การตากแห้งในที่ร่ม(shade drying) การทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อน (oven drying) การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze drying หรือ lyophilization) และ การทำแห้งด้วยไมโครเวฟในสภาวะสุญญากาศ (microwave assisted vacuum drying)

5.2.1 การตากแห้งในที่ร่ม (shade drying)

การตากแห้งในที่ร่มเป็นวิธีการทำแห้งสมุนไพรแทนการทำแห้งด้วยแสงอาทิตย์ เนื่องจากการทำแห้งด้วยแสงอาทิตย์ทำให้เกิดการสูญเสียกลิ่นรสและทำให้สีเปลี่ยนแปลงจนไม่เป็นที่ยอมรับ โดยแสงอัลตร้าไวโอเลตทำให้สีของสมุนไพรซีดจางและเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ การตากแห้งในที่ร่มเป็นวิธีการที่มีต้นทุนต่ำที่สุดในการถนอมและยืดอายุการเก็บรักษาอาหาร เนื่องจากเป็นวิธีที่ใช้พลังงานความร้อนตามธรรมชาติ การตากแห้งในที่ร่มนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในระดับอุตสาหกรรมได้ ในประเทศเขตร้อนที่มีความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศต่ำ และไม่มีฝนในช่วงหลังการเก็บเกี่ยว วัตถุดิบที่เหมาะกับการตากแห้งในที่ร่มควรมีพื้นผิวสัมผัสกับอากาศสูง เพื่อให้น้ำระเหยออกไปได้เร็ว เนื่องจากวิธีการนี้เป็นวิธีที่ใช้อุณหภูมิต่ำ หากการเคลื่อนที่ของน้ำออกจากอาหารเป็นไปได้ช้าอาจเกิดการเสื่อมเสียจากจุลินทรีย์ หรืออาจเกิดความเสียหายจากแมลงหรือสัตว์รบกวนอื่น ๆ ดังนั้นจึงอาจมีการประยุกต์เครื่องมือเพื่อช่วยให้การทำแห้งมีประสิทธิภาพและทำให้อาหารมีความปลอดภัยในการบริโภคมากขึ้น เช่น การใช้ระบบหมุนเวียนอากาศเพื่อให้ตัวอย่างสัมผัสอากาศแห้งมากขึ้น (Bassey, 1981)

5.2.2 การทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อน (oven drying)

การทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนเป็นการใช้อากาศร้อนในการทำแห้งอาหาร ซึ่งเป็นวิธีที่มีการพัฒนาปรับปรุงเพื่อลดข้อจำกัดบางอย่างของการทำแห้งด้วยวิธีธรรมชาติ วิธีการนี้สามารถควบคุมตัวแปรในการทำแห้งได้หลายอย่างมากขึ้น ได้แก่ อุณหภูมิของอากาศที่ใช้ในการทำแห้ง ความเร็วลม เวลาที่ใช้ในการทำแห้ง และความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศเหนือตัวอย่าง ความชื้น

ในอาหารจะถูกเคลื่อนย้ายออกจากผิวหน้าของอาหารและตู้อบด้วยระบบการทำงานในขั้นตอนเดียว ดังนั้นอากาศร้อนที่ใช้ในการทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนต้องมีการควบคุมระบบหมุนเวียน เพื่อให้อากาศร้อนสัมผัสอาหารอย่างทั่วถึง และต้องมีระบบระบายอากาศร้อนชื้นออกอย่างพอเหมาะ เพื่อทำให้การระบายไอน้ำที่ระเหยออกจากอาหารเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องและทำให้อุณหภูมิในตู้อบไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก (สมบัติ, 2526; Barbosa-Cánovas and Vega-Mercado, 1996)

การทำแห้งโดยใช้ตู้อบลมร้อนเป็นวิธีการที่มีต้นทุนในการผลิตต่ำ จึงนิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหารแบบดั้งเดิม นอกจากนี้ยังเป็นวิธีที่เหมาะสำหรับการทำแห้งผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบสูง อาหารที่ทำแห้งด้วยลมร้อนจะผ่านช่วงเวลาการทำแห้ง 3 ช่วงหลัก ๆ ได้แก่ (1) ช่วงที่อุณหภูมิเพิ่มขึ้น (2) ช่วงอัตราการทำแห้งคงที่ และ (3) ช่วงอัตราการทำแห้งลดลง ซึ่งเป็นช่วงที่อาจเกิดขึ้น 1 ครั้งหรือมากกว่า 1 ครั้งก็ได้ การทำแห้งด้วยลมร้อนเป็นวิธีการที่ใช้เวลานาน และประสิทธิภาพของพลังงานต่ำ โดยเฉพาะในช่วงอัตราการทำแห้งลดลง ซึ่งมีสาเหตุมาจากการลดลงอย่างรวดเร็วของความชื้นบริเวณผิวหน้าอาหาร ทำให้ผิวหน้าอาหารเกิดการหดตัวและการถ่ายเทความชื้นลดลง ในบางกรณีการถ่ายเทความร้อนก็ลดลงด้วย และเมื่อต้องใช้เวลาในช่วงเพิ่มอุณหภูมินานขึ้นส่งผลให้คุณภาพบางประการลดลง ได้แก่ สี คุณค่าทางอาหาร เนื้อสัมผัส และ กลิ่นรส (Zhang *et al*., 2005)

5.2.3 การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze drying)

การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze drying) หรือที่เรียกอีกอย่างหนึ่งว่า lyophilization มีการเริ่มใช้ในระดับอุตสาหกรรมครั้งแรกในปี 1940 เพื่อการผลิตพลาสมาแห้ง (dry plasma) และผลิตภัณฑ์เกี่ยวกับเลือด (blood products) (Vega-Mercado *et al*., 2001) หลักการของการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง คือ การทำให้ตัวทำละลายหรือตัวกลางซึ่งมักเป็นน้ำกลายเป็นผลึกน้ำแข็งที่อุณหภูมิต่ำ และกำจัดผลึกน้ำแข็งโดยการเปลี่ยนสถานะจากของแข็งให้กลายเป็นไอทันที จึงเป็นวิธีการทำแห้งที่เหมาะสำหรับสมุนไพรซึ่งเป็นอาหารที่ไวต่อความร้อน นอกจากนี้ยังสามารถป้องกันการสูญเสียลักษณะโครงสร้างภายนอกของอาหารจากการทำแห้งได้อีกด้วย แต่อย่างไรก็ตามการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งเป็นวิธีการที่ใช้เวลานานและมีต้นทุนในการผลิตสูง

5.2.4 การทำแห้งด้วยไมโครเวฟแบบสุญญากาศ (microwave assisted vacuum drying)

ในปี ค.ศ. 1945 บริษัทเรย์เธอร์น ประเทศสหรัฐอเมริกาได้นำหลักการของคลื่นไมโครเวฟจากเรดาร์ในสงครามโลกครั้งที่สองมาใช้ในการปรุงอาหาร เตาไมโครเวฟจึงเริ่มเกิดขึ้น และได้มีการวิวัฒนาการเทคโนโลยีใหม่ ๆ จนถึงปัจจุบัน

คลื่นไมโครเวฟเป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่อยู่ระหว่างคลื่นวิทยุและคลื่นอินฟราเรดมีความถี่ 300 เมกะเฮิร์ทซ์ (MHz) ถึง 300 กิกะเฮิร์ทซ์ (GHz) ความยาวคลื่นประมาณ0.25 ถึง 0.75 เมตร เนื่องจากความถี่ของคลื่นไมโครเวฟมีค่าใกล้เคียงกับคลื่นวิทยุและซ้อนทับกับคลื่นเรดาห์ ซึ่งอาจรบกวนระบบสื่อสารได้ จึงมีการจำกัดการใช้ความถี่ของคลื่นไมโครเวฟ สำหรับการใช้ในอาหารความถี่ที่อนุญาตให้ใช้ได้ คือ 915 MHz และ 2,450 MHz (Nijhuis *et al*., 1998) ความร้อนที่เกิดขึ้นจากการใช้ไมโครเวฟเป็นผลิตภัณฑ์ทุติยภูมิจากการทำปฏิกิริยาระหว่างสนามแม่เหล็กไฟฟ้าและอาหารเมื่อคลื่นไมโครเวฟผ่านเข้าไปในอาหารโมเลกุลของน้ำ ไขมัน และ น้ำตาล ที่อยู่ในอาหารจะดูดซับพลังงานของคลื่นที่ผ่านเข้าไปและเกิดเป็นความร้อนขึ้น ด้วยกระบวนการที่เรียกว่า การเกิดความร้อนในสารไดอีเล็กทริก (dielectric heating) โครงสร้างโมเลกุลของน้ำประกอบด้วยอะตอมของออกซิเจนที่มีประจุลบ ซึ่งแยกออกจากอะตอมของไฮโดรเจนที่มีประจุบวก ลักษณะเช่นนี้ เรียกว่า ไดโพลทางไฟฟ้า (electrical dipole) ลักษณะไดโพลของปริมาณน้ำในอาหารมีบทบาทสำคัญต่อการเกิดความร้อนด้วยไมโครเวฟ เนื่องจากประจุของไฟฟ้าบวกและลบของโมเลกุลน้ำวางอยู่ในตำแหน่งที่ไม่สมมาตรกัน เมื่อให้รังสีไมโครเวฟหรือสนามแม่เหล็กอย่างรวดเร็วแก่อาหาร ไดโพลในน้ำจะพยายามจัดเรียงตัวตามการเปลี่ยนทิศของสนามแม่เหล็กไฟฟ้า ซึ่งมีการเปลี่ยนทิศหลายล้านครั้งต่อวินาที (Vega-Mercado *et al*., 2001) ทำให้น้ำหรือโมเลกุลที่มีขั้วต่าง ๆ หมุนเพื่อรักษาการจัดเรียงตัวด้วยการเปลี่ยนขั้วอย่างรวดเร็ว การหมุนของโมเลกุลเหล่านี้ทำให้เกิดแรงเสียดทานระหว่างโมเลกุลที่อยู่รอบ ๆ และเกิดความร้อนขึ้น นอกจากนี้ไมโครเวฟทำให้เกิดความร้อนขึ้นเมื่อทำปฏิกิริยากับวัตถุ โดยไอออนหรืออนุภาคที่มีประจุจะถูกดูดหรือผลักออกภายในสนามแม่เหล็กไฟฟ้า ซึ่งถูกเร่งหรือชนกับโมเลกุลอื่น ๆ ทำให้เกิดความร้อนขึ้น การให้ความร้อนแบบไดอิเล็กทริกเป็นการทำให้เกิดความร้อนภายในวัตถุโดยตรง ทำให้อุณหภูมิเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วมากกว่าวิธีการทำแห้งวิธีอื่น ปัจจุบันมีการใช้พลังงานไมโครเวฟในการถนอมอาหารหลายประเภท เช่น ใช้พาสเจอร์ไรซ์เบียร์ สเตอริไลซ์ไวน์ ใช้เพื่อการป้องกันการงอกของมันฝรั่ง และใช้ในการทำแห้งสมุนไพร เป็นต้น (Nijhuis *et al*., 1998)

การทำแห้งด้วยไมโครเวฟยังมีข้อเสียหลายประการ ได้แก่ การให้ความร้อนที่ไม่สม่ำเสมอ ต้นทุนในการผลิตสูง การสูญเสียลักษณะเนื้อสัมผัส และอาจทำให้ผลิตภัณฑ์คุณภาพต่ำเมื่อนำไปประยุกต์ใช้อย่างไม่เหมาะสม (Bondaruk *et al*., 2007) ดังนั้นจึงมีการนำระบบสุญญากาศมาใช้ร่วมกับการให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟเพื่อให้บรรลุวัตถุประสงค์หลัก 4 ประการ ได้แก่ ความรวดเร็วในการทำงาน เพิ่มประสิทธิภาพของพลังงาน ลดต้นทุนในการผลิตและรักษาคุณภาพที่ดีของผลิตภัณฑ์

การทำแห้งด้วยไมโครเวฟแบบแบบสุญญากาศ จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการพัฒนาคุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหารทำแห้ง ซึ่งมีข้อดี คือ การใช้อุณหภูมิในการทำแห้งต่ำและมีการถ่ายเทมวลสารสูงด้วยระบบสุญญากาศร่วมกับการถ่ายเทพลังอย่างรวดเร็วด้วยการให้ความร้อนแบบไมโครเวฟทำให้เกิดการทำแห้งที่รวดเร็วที่อุณหภูมิต่ำ ระบบสุญญากาศช่วยให้โมเลกุลน้ำที่มีพลังงานสูงจะแพร่อย่างรวดเร็วสู่ผิวหน้าอาหารและระเหยเข้าสู่ห้องสุญญากาศ ซึ่งช่วยลดความเข้มข้นไอน้ำบริเวณผิวหน้าของอาหาร และนอกจากนั้นยังช่วยลดจุดเดือดของน้ำภายในอาหาร ทำให้เกิดความแตกต่างของความดันไอระหว่างภายในและผิวหน้าอาหาร ส่งผลให้อัตราการทำแห้งสูง การไม่มีอากาศในห้องทำแห้งช่วยลดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งส่งผลดีต่อสี เนื้อสัมผัส และกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์อาหารทำแห้ง ปัจจุบันการทำแห้งด้วยไมโครเวฟแบบสุญญากาศได้ถูกประยุกต์ใช้ในการทำแห้งอาหารหลายชนิด เช่น แครอทสไลด์ ออริกาโน มันฝรั่ง และพริกแห้ง เป็นต้น (Lin *et al.,* 1998)

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. วัตถุดิบ

1.1 กระชายเหลืองสด (*Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schltr.) จากตลาดยิ่งเจริญ สะพานใหม่ กรุงเทพมหานคร

1.2 กระชายเหลืองแห้งทางการค้า

1.3 กระชายเหลืองผงทางการค้า

1.4 เนื้อหมูบดตราซีพี

2. สารเคมี

2.1 กรดแกลลิก (Gallic acid; $(HO)_3C_6H_2CO_2H$; Analytical grade, Sigma-Aldrich, St. Louise, MO, U.S.A.)

2.2 โฟลิน-ซีโอเคาทู (Folin-Ciocalteu reagent; Analytical grade, Sigma-Aldrich, St. Louise, MO, U.S.A.)

2.3 โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium carbonate; Na_2CO_3; Analytical grade, Ajax Finechem, Auckland, New Zealand)

2.4 โพแทสเซียม ได-ไฮโดรเจน ฟอสเฟต(Potassium di-hydrogen phosphate; KH_2PO_4: Analytical grade, Ajax Finechem, Auckland, New Zealand)

2.5 ได-โพแทสเซียม ไฮโดรเจน ฟอสเฟต (Di-potassium hydrogen phosphate; K_2HPO_4, Ajax Finechem, Auckland, New Zealand)

2.6 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide; NaOH, Analytical grade, Merck, Germany)

2.7 โซเดียมไนไตรท์ (Sodium nitrite; $NaNO_2$, Ajax Finechem, Auckland, New Zealand)

2.8 อะลูมิเนียมคลอไรด์ (Aluminium chloride; $AlCl_3$, Ajax Finechem, Auckland, New Zealand)

2.9 อะซีโตไนไตรล์ (Acetronitrile; CH_3CN, HPLC grade, Mallinckrodt Baker Inc., Phillipsburg, NJ, U.S.A.)

2.10 เมทานอล (Methanol; CH_3OH, Analytical grade, Mallinckrodt Baker Inc., Phillipsburg, NJ, U.S.A.)

2.11 เมทานอล (Methanol; CH_3OH, HPLC grade, Mallinckrodt Baker Inc., Phillipsburg, NJ, U.S.A.)

2.12 เอทานอล (Ethanol; C_2H_5OH, Analytical grade, Mallinckrodt Baker Inc., Phillipsburg, NJ, U.S.A.)

2.13 อะซีโตน (Acetone; $(CH_3)_2CO$, Analytical grade, Merck, Germany)

2.14 คาทีชิน (Catechin, Sigma-Aldrich, St. Louise, MO, U.S.A.))

2.15 กรดแอสคอร์บิก (L(+)-Ascorbic acid; $C_6H_8O_6$, Polskie Odczynniki, Chemicznze, S.A., Poland)

2.16 2,2,'-Azo-bis(2-amidinopropane) HCl (AAPH, Aldrich, Steinheim, Germany)

2.17 2,2,'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS, Aldrich, Steinheim, Germany)

2.18 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH, Aldrich, Steinheim, Germany)

2.19 กรดอะซิติก (Acetic acid, Analytical grade, Merk, Germany)

2.20 เฮกซาแนล (Hexanal, Aldrich, Steinheim, Germany)

2.21 เพนทาแนล (Pentanal, Aldrich, Steinheim, Germany)

2.22 พิโนเซมบริน (Pinocembrin, Sigma-Aldrich, St. Louise, MO, U.S.A.)

2.23 พิโนสโตรบิน (Pinostrobin, Fluka, Switzerland)

2.24 Butylated hydroxyanisole (BHA, Fluka, Switzerland)

3. อุปกรณ์และเครื่องมือ

3.1 เครื่องทำแห้งแบบเยือกแข็ง (Freeze dryer, Dura-Top, Fst Systems, U.S.A.)

3.2 เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer, Model Spectronic Genesys 10 UV Scanning Thermo Electron Corporation, U.S.A.)

3.3 ตู้อบลมร้อน (Oven dryer, Memmert, Schwach, Germany)

3.4 เครื่องบด (Blender, MX-T31GN, National, Japan)

3.5 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Memmert, Model WB 7/14/22/29/45, Schwach, Germany)

3.6 เครื่องผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน (Homogenizer, T10 basic, IKA, Australia)

3.7 เครื่องสั่นสะเทือนด้วยระบบคลื่นเสียง (Sonicator, Bandelin Sonorex, Model RK 52, Berlin, Germany)

3.8 เครื่องผสมสารละลาย (Vortex mixer, Genie II, U.S.A.)

3.9 เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography, Waters™ 996, Waters corporation, Massachusetts, U.S.A.)

3.10 เครื่องระเหยสารแบบพาราเลล (Parallel evaporator, Buchi, Switzerland)

3.11 เครื่องผสมอาหารอเนกประสงค์ (Kitchen aid mixer, KV-05, Kittiwattana, Thailand)

3.12 เครื่อง Gas Chromatography (HP 6890N, Agilent Technologies, U.S.A.) ต่อกับ flame ionization detector (G 1530N, Agilent Technologies, U.S.A.)

3.13 Solid Phase Microextraction fiber (SPME fiber, carboxen/polydimethylsiloxane, CAR/PDMS, 75µm thickness, Supelco, Bellefonte, PA, U.S.A.)

วิธีการ

1. การศึกษาผลของตัวทำละลายที่ใช้สกัดต่อสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถต้านออกซิเดชันของกระชายเหลือง

1.1 การเตรียมตัวอย่าง

นำกระชายเหลืองสดมาตัดเอาส่วนที่มีตำหนิทิ้ง ล้างด้วยน้ำให้สะอาด ผึ่งให้แห้ง แล้วหั่นให้มีความหนาประมาณ 0.2 เซนติเมตร จากนั้นนำกระชายเหลืองที่หั่นแล้วไปทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง โดยใช้อุณหภูมิในการแช่เยือกแข็ง -40 องศาเซลเซียส และใช้อุณหภูมิในการทำแห้งที่ 40 องศาเซลเซียส เมื่อแห้งแล้วบดให้เป็นผงด้วยเครื่องบด ร่อนด้วยตะแกรง บรรจุในถุงอะลูมิเนียม และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

1.2 การสกัด

ทำการสกัดกระชายเหลืองดัดแปลงจากวิธีของ Hamida *et al*. (2002) โดยนำกระชายเหลืองผงจากข้อ 1.1 หนัก 2.5000 กรัม ทำการสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ (อะซีโตน เอทานอล 80% เมทานอล 80% และน้ำ) ปริมาตร 25 มิลลิลิตร โฮโมจีไนซ์เป็นเวลา 1 นาที แล้วนำไป sonicate เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำไปกรองด้วยระบบสุญญากาศ โดยใช้กระดาษกรอง whatman # 4 นำสารละลายที่กรองได้ไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยภายใต้สภาวะสุญญากาศ แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายด้วยเมทานอล 80% ให้ได้ปริมาตร 25 มิลลิลิตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสจนกระทั่งทำการวิเคราะห์

1.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดยวิธี Total phenols assay ดัดแปลงจากวิธีของ Kim and Lee (2002) โดยดูดสารสกัดกระชาย 0.1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง เติมน้ำกลั่น 0.5 มิลลิลิตร จากนั้นเติม Folin-Ciocalteu reagent 0.1 มิลลิลิตร ทิ้งไว้นาน 6 นาที เติม 7% โซเดียมคาร์บอเนต 1 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร วางไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 90 นาที นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 760 นาโนเมตร ทำการสกัดและวัดค่าเช่นเดียวกันนี้จำนวน 3 ครั้ง นำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิกช่วงความเข้มข้น 20-100 ppm รายงานผลเป็นปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิก /100 กรัม น้ำหนักแห้ง)

1.4 การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

วิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดซึ่งดัดแปลงจากวิธีของ Kim *et al*. (2003) โดยดูดสารสกัดกระชาย 0.05 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง เติมน้ำกลั่น 2 มิลลิลิตร และ 5% โซเดียมไนไตรท์ 0.15 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที แล้วเติม 10% อะลูมิเนียมคลอไรด์ 0.15 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 โมลาร์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 1.2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร รายงานผลเป็นปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (มิลลิกรัมสมมูลของคาทีชิน/100 กรัม น้ำหนักแห้ง)

1.5 การตรวจสอบสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ 2, 2'–azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS)

การตรวจสอบสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ดัดแปลงจากวิธีของ Kim *et al.* (2002)โดยนำขวด Duran ที่บรรจุสารละลาย Phosphate buffer (PBS) 100 มิลลิลิตร วางใน water bath ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จากนั้นเติม 1.0 มิลลิโมลาร์ AAPH และ 2.5 มิลลิโมลาร์ ABTS (AAPH 27.117 มิลลิกรัม + ABTS 137.175 มิลลิกรัม)/100 มิลลิลิตร PBS= radical solution) ลงไปให้ความร้อนที่ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที โดยคนทุก 5 นาที และตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที กรองสารละลาย radical ที่ได้ด้วยชุดกรอง GHP Acrodisc® 25 mm Syringe Filter with 0.45 µm GHP membrane เจือจางสารละลายที่ได้ด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ จนกระทั่งได้ค่าการดูดกลืนแสง 0.650 ± 0.020 นาโนเมตร บ่มสารละลายที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จนกระทั่งวัด ผสมตัวอย่าง 20 ไมโครลิตร และ radical solution 980 ไมโครลิตร และ นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตรเทียบกับกราฟมาตรฐานของวิตามินซีความเข้มข้น 20-100 ppm รายงานผลเป็นสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS (มิลลิกรัมสมมูลของวิตามินซี/100 กรัม น้ำหนักแห้ง)

1.6 การตรวจสอบสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ 2, 2-Diphenly-1-picrylhydrazyl (DPPH)

การตรวจสอบสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ซึ่งดัดแปลงจากวิธีของ Singh *et al.* (2002) นำสารสกัดกระชาย 0.1 มิลลิลิตร (หากต้องเจือจางให้ใช้ เมทานอล) จากนั้นเติมสาร ละลาย DPPH 0.1 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เขย่าและตั้งที่ไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร เทียบกับกราฟมาตรฐานของวิตามินซีช่วงความเข้มข้น 20-100 ppm รายงานผลเป็นสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (มิลลิกรัมสมมูลของวิตามินซี/100 กรัม น้ำหนักแห้ง)

1.7 การวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกที่สำคัญบางชนิดด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography: HPLC)

นำตัวอย่างสารสกัดกระชายเหลืองมาวิเคราะห์ปริมาณ pinocembrin และ pinostrobin ด้วยเทคนิค HPLC โดยสภาวะในการวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ค ซึ่งใช้ในการวิเคราะห์สารมาตรฐาน pinocembrin และ pinostrobin และตัวอย่างสารสกัดแล้วเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน

(ดังแสดงในภาคผนวกที่ ค2 และ ค3) รายงานผลเป็นมิลลิกรัมของ pinocembrin และ pinostrobin/100 กรัมน้ำหนักแห้ง

2. การศึกษาผลของการทำแห้งกระชายเหลืองต่อสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถต้านออกซิเดชัน

2.1 การเตรียมตัวอย่าง

เตรียมตัวอย่างกระชายเหลืองที่ทำแห้งด้วยวิธีต่างกัน ได้แก่ การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (FD) การทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนโดยใช้อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง (OD-60) และการทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนโดยใช้อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง (OD-70) บดตัวอย่างแห้งให้เป็นผงด้วยเครื่องบด ร่อนด้วยตะแกรง บรรจุในถุงอะลูมิเนียม และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

นำกระชายเหลืองแห้งทางการค้ามาบดให้เป็นผงด้วยเครื่องบด บรรจุในถุงอะลูมิเนียมและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ส่วนกระชายเหลืองผงทางการค้ามีลักษณะเป็นผงแห้ง บรรจุในถุงอะลูมิเนียมและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

2.2 การสกัด

นำกระชายเหลืองผงแต่ละตัวอย่างจากข้อ 2.1 (5 ตัวอย่าง) ชั่งน้ำหนัก 2.5000 กรัม สกัดด้วยเอทานอล 80% ปริมาตร 25 มิลลิลิตร โฮโมจีไนซ์เป็นเวลา 1 นาที แล้วนำไป sonicate เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำไปกรองด้วยระบบสุญญากาศ โดยใช้กระดาษกรอง whatman # 4 นำสารละลายที่กรองได้ไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยภายใต้สภาวะสุญญากาศ แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายด้วยเมทานอล 80% ให้ได้ปริมาตร 25 มิลลิลิตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสจนกระทั่งทำการวิเคราะห์

2.3 \การวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกและความสามารถต้านออกซิเดชัน

ในการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS และ DPPH และการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สำคัญบางชนิดด้วย HPLC ทำเช่นเดียวกับวิธีในข้อ 1.3 - 1.7

3. การศึกษาผลของกระชายเหลืองต่อสมบัติการต้านออกซิเดชันในเนื้อหมูบดปรุงสุก

3.1 การเตรียมเนื้อหมูบดปรุงสุก

เตรียมเนื้อหมูบดปรุงสุก โดยแบ่งการทดลองเป็น treatment ดังนี้

- ตัวอย่างควบคุม (ไม่เติมกระชายเหลือง)
- เนื้อหมูบดที่เติมกระชายเหลืองที่ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (FD) (0.5% ของน้ำหนักเนื้อหมูบด)
- เนื้อหมูบดที่เติมกระชายเหลืองที่ทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส (OD-60) (0.5% ของน้ำหนักเนื้อหมูบด)
- เนื้อหมูบดที่เติมกระชายเหลืองที่ทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส (OD-70) (0.5% ของน้ำหนักเนื้อหมูบด)
- เนื้อหมูบดที่เติมกระชายเหลืองแห้งทางการค้า (0.5% ของน้ำหนักเนื้อหมูบด)
- เนื้อหมูบดที่เติมกระชายเหลืองผงทางการค้า (0.5% ของน้ำหนักเนื้อหมูบด)
- เนื้อหมูบดที่เติมBHA (0.01% ของปริมาณไขมัน)

ผสมกระชายเหลืองชนิดต่าง ๆ และ BHA กับเนื้อหมูบด (100.00 กรัม) ด้วยเครื่อง Kitchen aid mixer เป็นเวลา 40 วินาที จากนั้นนำเนื้อหมูบดหนักประมาณ 40 กรัมที่ผสมกับกระชายเหลือง และ BHA มาขึ้นรูปเป็น patties หนาประมาณ 1.8 เซนติเมตร และมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 8.4 เซนติเมตร นำไปทำให้สุกด้วยไมโครเวฟที่ 700 W เป็นเวลา 2 นาที แล้วนำไปวางบนถาดโฟม หุ้มด้วยฟิล์ม PVC และเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน

3.2 การวิเคราะห์ปริมาณเฮกซาแนลและเพนทาแนลด้วย SPME-GC-FID

นำตัวอย่างเนื้อหมูบดที่เก็บไว้วันที่ 0 2 4 และ 6 หนัก 3.0000 กรัม ใส่ในขวด headspace ขนาด 25 มิลลิลิตร ปิดด้วย silicone/PTFE septum และ aluminium cap ทิ้งตัวอย่างให้เข้าสู่สมดุลเป็นเวลา 15 นาทีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จากนั้นใช้ไฟเบอร์ชนิด 75µm StableFlex CAR/PDMS ดูดซับสารระเหยเป็นเวลา 30 นาทีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

วิเคราะห์สารระเหยด้วยเครื่อง Gas Chromatography-Flame Ionization Detector (GC-FID) จากวิธีการของ Ahn *et al*. (2002) และ Juntachote *et al*. (2006) การฉีดตัวอย่างเป็นแบบ splitless mode อุณหภูมิของ inlet คือ 250 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการปลดปล่อยสารระเหยเข้าสู่เครื่อง 5 นาที ใช้ก๊าซฮีเลียมบริสุทธิ์ 99.999% เป็น carrier gas ด้วยอัตราไหลคงที่ที่ 1.5 มิลลิลิตร/นาที แยกสารด้วย 5% diphenyl capillary column (HP-5) ยาว 30 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.25 มิลลิเมตร ชั้นเคลือบหนา 0.25 ไมโครเมตร โดยตั้งอุณหภูมิของตู้อบไว้ที่ 40 องศาเซลเซียส แล้วเพิ่มอุณหภูมิด้วยอัตรา 20 องศาเซลเซียส/นาที จนถึง 220 องศาเซลเซียส และคงอุณหภูมินี้เป็นเวลา 2 นาที ใช้เวลาในการวิเคราะห์ 15 นาที ระบุชนิดของสารโดยการเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน external standard (เฮกซาแนลและเพนทาแนล)

4. การประเมินผลทางสถิติ

ในการทดลองข้อ 1 และ 2 ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยวางแผนการทดลองแบบ Complete Randomized Design (CRD) ส่วนข้อ 3 ทำการทดลอง 2 ซ้ำ โดยวางแผนการทดลองแบบ Split-plot in CRD

ทุกการทดลองวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดย LSD (Least Significant Difference) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient) ด้วย Pearson ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 99

5. สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลและวิจารณ์

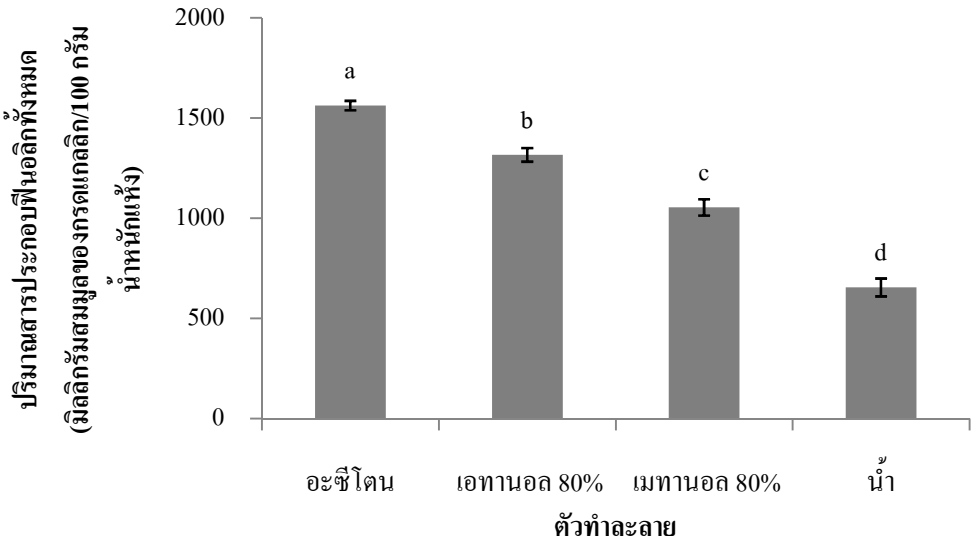
1. การศึกษาผลของตัวทำละลายที่ใช้สกัดต่อสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถต้านออกซิเดชันของกระชายเหลือง

ตัวอย่างกระชายเหลืองที่ใช้ศึกษาคือกระชายเหลืองที่ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ 4 ชนิด ได้แก่ อะซีโตน เอทานอล 80% เมทานอล 80% และน้ำ

1.1 การศึกษาปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกในกระชายเหลืองโดยใช้ตัวทำละลายในการสกัดต่างกัน

1.1.1 การศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

สารประกอบกลุ่มฟีนอลิกเป็นสารกลุ่มสำคัญซึ่งมีสมบัติต้านออกซิเดชันในผัก ผลไม้ และสมุนไพร จากผลการตรวจสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยนำสารสกัดกระชายเหลืองที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกัน ได้แก่ อะซีโตน เอทานอล 80% เมทานอล 80% และน้ำ ตัวทำละลายต่าง ๆ ที่ใช้สกัดมีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยสารสกัดอะซีโตนมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ซึ่งเทียบเท่ากับ 1561.99 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิก/100 กรัม น้ำหนักแห้ง (mg GAE/100 g dry weight basis) รองลงมา ได้แก่ สารสกัดเอทานอล 80% เมทานอล 80% และน้ำตามลำดับดังภาพที่ 12 ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Zhou and Yu (2004) ที่รายงานว่าการสกัดรำข้าวสาลีด้วยอะซีโตน 50% มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากกว่าการสกัดด้วยเอทานอล 70% และเมทานอล 70% ตามลำดับ ทั้งนี้อาจเนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกในกระชายส่วนใหญ่มีคุณสมบัติในการละลายในตัวทำละลายที่มีขั้วใกล้เคียงกับอะซีโตน โดยทั่วไปสารประกอบฟีนอลิกเป็นสารต้านออกซิเดชันกลุ่มหลักในสมุนไพร (Pokorny *et al*., 2000) นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิกยังมีหมู่ฟีนอลบนวงเบนซีน ซึ่งสามารถให้อิเล็กตรอน หรือไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระ จึงช่วยยับยั้งหรือชะลอปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ (Hu and Kitts, 2000)

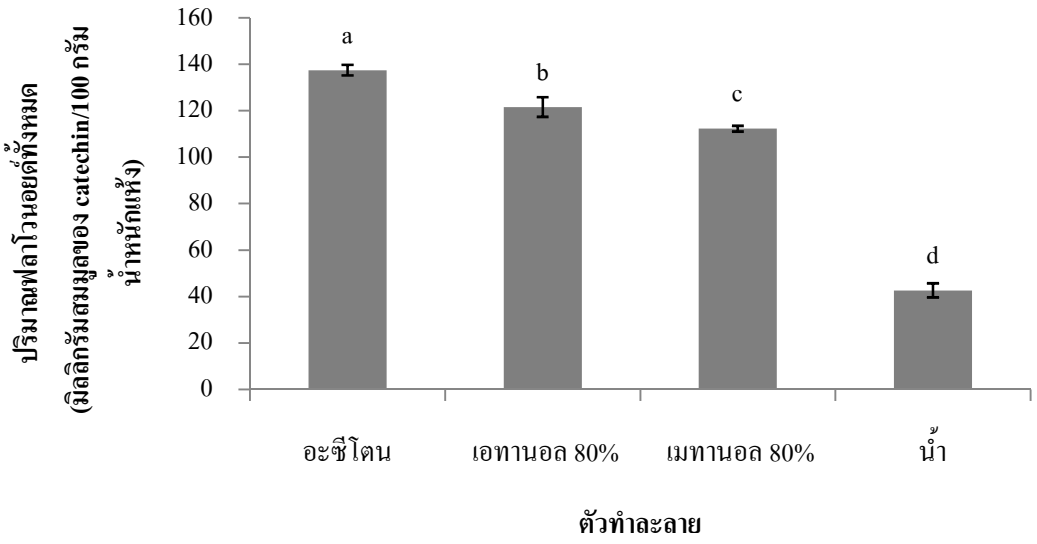


ภาพที่ 12 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในกระชายเหลืองที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างกัน

หมายเหตุ ตัวอักษร a-d ที่แตกต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

1.1.2 การศึกษาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

ฟลาโวนอยด์เป็นสารประกอบในกลุ่มฟีนอลิก ซึ่งมีคุณสมบัติในการต้านออกซิเดชันที่ดี เนื่องจากโครงสร้างทางเคมีของฟลาโวนอยด์สามารถให้อิเล็กตรอน หรือไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระ ทำให้อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นมีความคงตัวมากขึ้น จึงช่วยยับยั้งหรือชะลอปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ (Cook and Samman, 1996) จากการตรวจสอบปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดกระชายเหลืองทั้ง 4 ชนิด (ภาพที่ 13) พบว่าสารสกัดอะซีโตนมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากที่สุด คือ 137.47 มิลลิกรัมสมมูลของ catechin /100 กรัม น้ำหนักแห้ง (mg CE/100 g dry weight basis) รองลงมาได้แก่ สารสกัด เอทานอล 80% เมทานอล 80% และน้ำตามลำดับ ซึ่งมีแนวโน้มเดียวกับการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด



ภาพที่ 13 ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในกระชายเหลืองที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างกัน

หมายเหตุ ตัวอักษร a-d ที่แตกต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

1.2 การศึกษาความสามารถต้านออกซิเดชันของสารสกัดกระชายเหลือง

1.2.1 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS

การตรวจสอบสมบัติของสารในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS เป็นวิธีที่ง่าย รวดเร็ว สามารถทำได้ในช่วงความเป็นกรด-เบสที่กว้าง นอกจากนั้นอนุมูลอิสระ ABTS ยังสามารถละลายได้ทั้งในน้ำ และตัวทำละลายอินทรีย์ ดังนั้นจึงสามารถศึกษาได้ในตัวทำละลายที่หลากหลายทั้งในสารสกัดที่ละลายในน้ำมัน และในน้ำ (Awika *et al*., 2003) ซึ่งวิธีนี้เป็นการทดสอบความสามารถของสารในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานซึ่งในการศึกษานี้ใช้วิตามินซี แสดงผลเป็นมิลลิกรัมสมมูลของวิตามินซี/100 กรัม น้ำหนักแห้ง (mg VCEAC/ 100 g dry weight basis) โดยถ้าค่าดังกล่าวมีค่ามาก แสดงว่าสารนั้นมีสมบัติในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS ได้ดี จากตารางที่ 8 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS มีแนวโน้มเดียวกัน กล่าวคือกระชายเหลืองที่สกัดด้วยเอทานอล 80% และอะซีโตน มีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS มากที่สุด คือ 1732.05 และ 1574.14 มิลลิกรัมสมมูลของวิตามินซี/100 กรัม น้ำหนักแห้ง (mg VCEAC/100 g dry weight basis) ตามลำดับ รองลงมาคือสารสกัดเมทานอล 80%

และน้ำ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Zhou and Yu (2004) ที่ศึกษาผลของตัวทำละลายต่อความสามารถต้านออกซิเดชันของรำข้าวสาลี พบว่าสารสกัดอะซีโตน 50% มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS มากที่สุด รองลงมาได้แก่ เอทานอล 70% และเมทานอล 70% ตามลำดับ เช่นเดียวกันกับ Zhao *et al*. (2006) ที่รายงานว่าสารสกัดอะซีโตน80% ของข้าวบาร์เลย์มีความสามารถต้านอนุมูลอิสระ ABTS ได้ดีกว่าสารสกัดเมทานอล 80% เอทานอล 80% และน้ำตามลำดับ

ตารางที่ 8 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระของกระชายเหลืองที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างกัน

ตัวทำละลาย	สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ	
	ABTS (มิลลิกรัมสมมูลของวิตามินซี/100 กรัม น้ำหนักแห้ง)	DPPH (มิลลิกรัมสมมูลของวิตามินซี/100 กรัม น้ำหนักแห้ง)
อะซีโตน	1574.14 ± 62.75^{*A}	587.42 ± 32.23^{a}
เอทานอล 80%	1732.05 ± 73.87^{A}	540.20 ± 36.41^{a}
เมทานอล 80%	1195.01 ± 54.16^{B}	403.37 ± 30.64^{b}
น้ำ	368.74 ± 64.56^{C}	93.63 ± 5.07^{c}

หมายเหตุ * ข้อมูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
ตัวอักษร A-C ที่แตกต่างกันระหว่างตัวอย่างกระชายเหลืองที่ทดสอบสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)
ตัวอักษร a-c ที่แตกต่างกันระหว่างตัวอย่างกระชายเหลืองที่ทดสอบสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

1.2.2 สมบัติต้านอนุมูลอิสระ DPPH

วิธี DPPH radical scavenging activity assay เป็นการวัดความสามารถของสารในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ที่เกิดขึ้น ซึ่งจะวัดออกมาเป็น % radical scavenging activity แล้วเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน ซึ่งในการทดลองนี้ใช้วิตามินซีเป็นสารมาตรฐาน โดย % radical scavenging activity ที่ได้ จะถูกนำไปคำนวณเป็นค่ามิลลิกรัมสมมูลของวิตามินซีในตัวอย่าง

กระชายแห้ง 100 กรัม ดังตารางที่ 8 ซึ่งพบว่าสารสกัดอะซีโตน และเอทานอล 80% มีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH สูงที่สุด คือ 587.42 และ 540.20 มิลลิกรัมสมมูลของวิตามินซี/100 กรัม น้ำหนักแห้ง รองลงมาคือ สารสกัดเมทานอล 80% และน้ำ ตามลำดับ จากตารางที่ 13 สังเกตได้ว่าเมื่อความมีขั้วของตัวทำละลายเพิ่มมากขึ้น ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH จะลดลง ซึ่งมีแนวโน้มเดียวกับผลการทดลองของ Zhao *et al*. (2006) ที่นำข้าวบาร์เลย์มาสกัดด้วยตัวทำละลายต่างกัน 4 ชนิด ปรากฏว่าสารสกัดอะซีโตน 80% มีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH มากที่สุด รองลงมาคือสารสกัดเอทานอล 80% เมทานอล 80% และน้ำตามลำดับ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ มีการเลือก (selectivity) สกัดสารที่มีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ต่างกัน ในปี 2004 Pinelo *et al.* ศึกษาผลของตัวทำละลาย ได้แก่ เอทานอล เมทานอล และน้ำ ต่อความสามารถต้านออกซิเดชันของ quercetin ซึ่งเป็นสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ พบว่า quercetin ที่ละลายในเอทานอลมีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ดีที่สุด รองลงมาคือ เมทานอล และน้ำตามลำดับ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างตัวทำละลายและสารประกอบฟีนอลิกจะทำให้ความสามารถในการให้อะตอมไฮโดรเจนของสารประกอบฟีนอลิกเปลี่ยนแปลงไป ส่งผลให้ความสามารถต้านอนุมูลอิสระลดต่ำลง (Valgimigli *et al*., 1995) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Pedrielli *et al*. (2001) รายงานว่าสมบัติต้านออกซิเดชันของ quercetin ในตัวทำละลายที่เป็น non-hydrogen bonding มีค่ามากกว่าตัวทำละลายที่เป็น water-like

1.3 การศึกษาสารประกอบฟีนอลิกที่สำคัญบางชนิดในกระชายเหลืองด้วย HPLC

สารสำคัญในกระชายเหลืองที่วิเคราะห์ด้วย HPLC นี้เป็นสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ ซึ่งฟลาโวนอยด์มีสมบัติในการต้านออกซิเดชันที่ดี เนื่องจากโครงสร้างทางเคมีของฟลาโวนอยด์สามารถให้อิเล็กตรอน หรือไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระ ทำให้อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นมีความคงตัวมากขึ้น จึงสามารถยับยั้งหรือชะลอปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ (Cook and Samman, 1996)

สารประกอบที่สำคัญในกลุ่มฟลาโวนอยด์จากกระชายเหลืองที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างกันซึ่งวิเคราะห์โดย HPLC ได้แก่ pinostrobin และ pinocembrin ซึ่งสารทั้ง 2 ชนิดดังกล่าวมีสมบัติที่ดีในการยับยั้งสารก่อการกลายพันธุ์ (Trakoontivakorn *et al*., 2001) สมบัติต้านการอักเสบ (Tuchinda *et al*., 2002) โครมาโตแกรมและปริมาณของ pinpstrobin และ pinocembrin ในกระชายเหลืองที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างกันแสดงดังภาพผนวกที่ค 5-8 และตารางที่ 9 ตามลำดับ จากผลการวิเคราะห์พบว่ากระชายเหลืองที่สกัดด้วยอะซีโตนมีปริมาณของทั้ง pinostrobin และ

pinocembrin มากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) คือ 226.14 และ 349.35 มิลลิกรัม/ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง (ตารางที่ 9) ทั้งนี้อาจเนื่องจากสารดังกล่าวมีสมบัติในการละลายได้ดีในตัวทำละลายที่มีขั้วใกล้เคียงกับอะซีโตน ส่วนกระชายเหลืองที่สกัดด้วยน้ำมีปริมาณของสารทั้ง 2 ชนิดน้อยที่สุด

ตารางที่ 9 ปริมาณ pinocembrin และ pinostrobin ในกระชายเหลืองที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างกันซึ่งวิเคราะห์ด้วย HPLC

ตัวทำละลาย	ปริมาณสาร (มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้ง)	
	pinocembrin	pinostrobin
อะซีโตน	$349.35 \pm 3.15^{*A}$	226.41 ± 5.21^{a}
เอทานอล 80%	312.38 ± 1.78^{B}	179.16 ± 2.53^{b}
เมทานอล 80%	304.13 ± 0.41^{C}	83.95 ± 3.54^{c}
น้ำ	58.98 ± 0.13^{D}	62.37 ± 0.05^{d}

หมายเหตุ * ข้อมูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษร A-D ที่แตกต่างกันของปริมาณ pinocembrin หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตัวอักษร a-d ที่แตกต่างกันของปริมาณ pinostrobin หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดกระชายเหลือง ได้แก่ อะซีโตน เอทานอล 80% เมทานอล 80% และน้ำ มีผลต่อสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถต้านออกซิเดชัน โดยกระชายเหลืองที่สกัดด้วยอะซีโตนมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และความสามารถต้านออกซิเดชันซึ่งวิเคราะห์ด้วยวิธี ABTS และ DPPH radical scavenging activity มากที่สุด รวมทั้งปริมาณสารสำคัญในกลุ่มฟลาโวนอยด์ ได้แก่ pinocembrin และ pinostrobin มากที่สุด ส่วนกระชายเหลืองที่สกัดด้วยน้ำมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ความสามารถต้านออกซิเดชัน และปริมาณสารสำคัญน้อยที่สุด

2. การศึกษาผลของการทำแห้งกระชายเหลืองต่อสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถต้านออกซิเดชัน

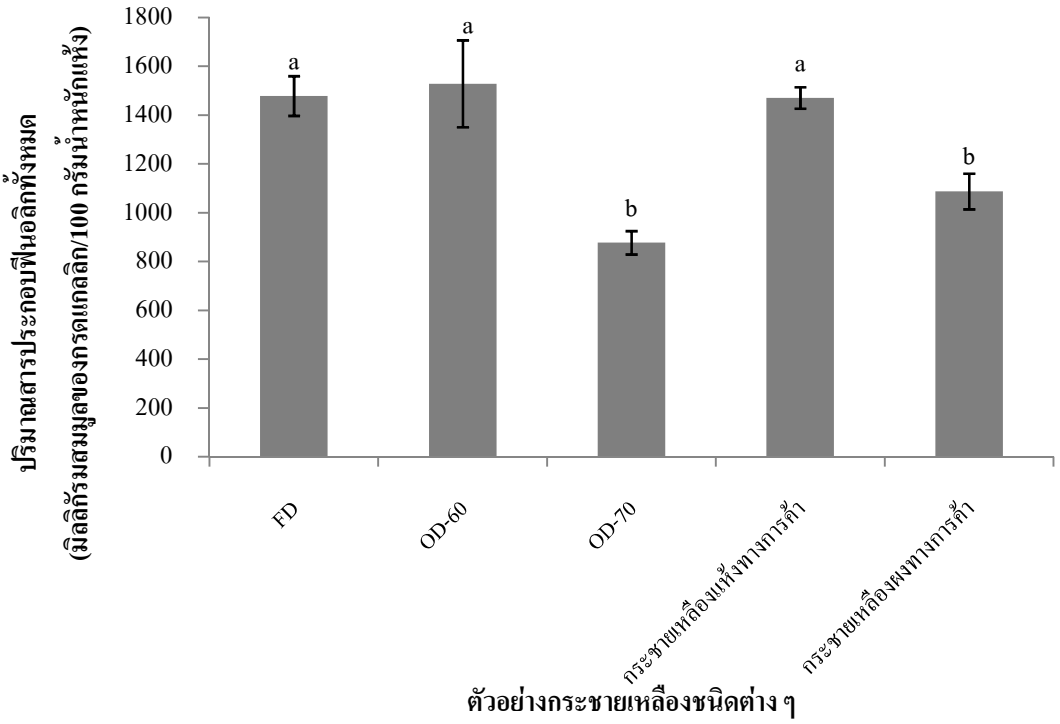
ตัวอย่างกระชายเหลืองแห้งที่ใช้ ได้แก่ กระชายเหลืองที่ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (FD) กระชายเหลืองที่ทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส (OD -60) กระชายเหลืองที่ทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส (OD-70) เปรียบเทียบกับกระชายเหลืองแห้งในทางการค้า ได้แก่ กระชายเหลืองแห้งทางการค้า และกระชายเหลืองผงทางการค้า โดยสกัดตัวอย่างกระชายเหลืองแห้งทั้งหมดด้วยเอทานอล 80% เนื่องจากเอทานอล 80% สามารถสกัดสารประกอบในกลุ่มฟีนอลิกได้ในปริมาณมาก และมีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS และ DPPH มากที่สุด ซึ่งไม่แตกต่างกับอะซีโตน นอกจากนี้เอทานอล 80% ยังมีความเป็นพิษและการตกค้างในสิ่งแวดล้อมน้อยกว่าอะซีโตน จึงเลือกเอทานอล 80% ซึ่งมีประสิทธิภาพในการสกัดที่ดีและมีความเหมาะสมในการใช้กับอาหารได้ดีเป็นตัวทำละลายในการทดลองนี้

2.1 การศึกษาปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกในกระชายเหลืองแห้งชนิดต่าง ๆ

2.1.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของกระชายเหลืองแห้งชนิดต่าง ๆ

ภาพที่ 14 แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของกระชายเหลืองแห้งทั้ง 5 ชนิด การทำแห้งมีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดอย่างมีนัยสำคัญ กระชายเหลืองแห้งทางการค้า กระชายเหลืองที่ทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส (OD-60) และกระชายที่ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (FD) มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด ส่วนกระชายเหลืองผงทางการค้า และกระชายเหลืองที่ทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส (OD-70) มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดต่ำที่สุด Chan *et al*. (2009) ศึกษาผลของวิธีทำแห้งใบของพืชวงศ์ขิง 5 วิธี คือ การทำแห้งด้วยไมโครเวฟ (microwave drying) การทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อน (oven drying) การทำแห้งโดยแสงอาทิตย์ (sun drying) การทำแห้งโดยใช้ลม (air drying) และการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze drying) ต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยใบของพืชวงศ์ขิงที่ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากกว่าตัวอย่างสดอย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งนั้น สารสำคัญไม่ได้ถูกทำลายด้วยความร้อน นอกจากนั้นการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งยังส่งผลให้ทำการสกัดสารได้ดียิ่งขึ้น เนื่องจากผลึกน้ำแข็งที่เกิดขึ้นภายใน matrix ของพืชสามารถทำลายโครงสร้างของเซลล์ ทำให้มี

การปลดปล่อยองค์ประกอบที่อยู่ภายในเซลล์ได้ง่ายขึ้น จึงสามารถสกัดด้วยตัวทำละลายได้ดี (Asami *et al*., 2003)



ภาพที่ 14 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของตัวอย่างกระชายเหลืองแห้งชนิดต่าง ๆ

หมายเหตุ FD คือ กระชายเหลืองที่ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง OD-60 คือ กระชายเหลืองที่ทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และ OD-70 คือ กระชายเหลืองที่ทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส
ตัวอักษร a-b ที่แตกต่างกันระหว่างตัวอย่างกระชายเหลืองหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

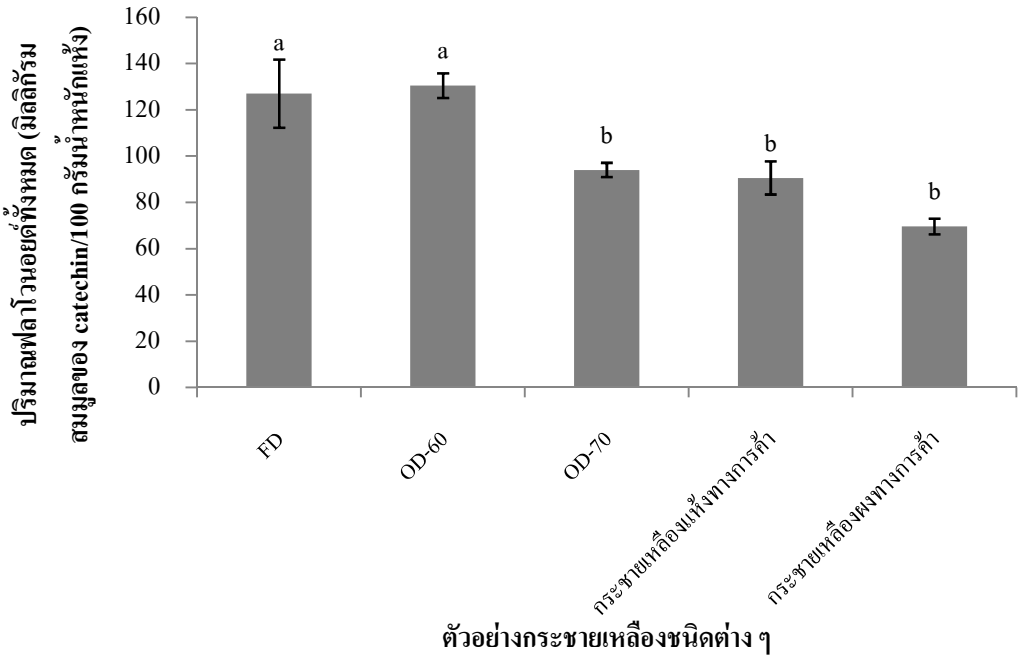
กระชายเหลือง OD-60 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากกว่า FD เล็กน้อย แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) อาจเนื่องจากความร้อนที่ใช้ในการทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนอาจทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ และผนังเซลล์ของพืช ทำให้มีการปลดปล่อยสารประกอบฟีนอลิกออกมาจากเซลล์พืชเพิ่มมากขึ้น (Roy *et al*., 2007) เช่นเดียวกับบรอคโคลี่ซึ่งเมื่อนำไปทำให้สุกด้วยการนึ่งจะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถต้านออกซิเดชันสูง

กว่าบรอคโคลี่สด (Gliszczynska-Swiglo *et al*., 2006) แต่ตัวอย่างกระชายเหลือง OD-70 พบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดต่ำที่สุด อาจเป็นเพราะความร้อนระดับ 70 องศาเซลเซียสอาจทำลายสารประกอบฟีนอลิกบางชนิดที่ไม่ทนความร้อน สอดคล้องกับการทำแห้งกากมะนาว กล่าวคือตัวอย่างที่ทำแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด และมีค่าลดลงเมื่ออุณหภูมิที่ใช้ทำแห้งเพิ่มสูงขึ้นกว่า 65 องศาเซลเซียส (Kuljarachanan *et al*., 2009)

2.1.2 ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของกระชายเหลืองแห้งชนิดต่าง ๆ

ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของตัวอย่างกระชายเหลืองแห้งชนิดต่าง ๆ แสดงดังภาพที่ 15 กระชายเหลือง OD-60 และ FD มีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากที่สุด และไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) รองลงมา คือ OD-70 กระชายเหลืองแห้งทางการค้า และกระชายเหลืองผงทางการค้า ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

แนวโน้มปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของกระชายเหลือง FD, OD-60, OD-70 และกระชายเหลืองผงทางการค้า เป็นในทำนองเดียวกันกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด แต่กระชายเหลืองแห้งทางการค้ามีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดต่ำกว่ากระชายเหลืองแห้งชนิดอื่น ๆ ในขณะที่มีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดอยู่ในปริมาณสูง อาจเนื่องจากวิธีการตรวจสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเป็นการตรวจวัดสมบัติการให้อิเล็กตรอน (reducing property) ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่ากระชายเหลืองแห้งทางการค้ามีปริมาณสารประกอบที่สามารถให้อิเล็กตรอนได้ดี จึงทำให้ตรวจพบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูง



ภาพที่ 15 ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของตัวอย่างกระชายเหลืองแห้งชนิดต่าง ๆ

หมายเหตุ FD คือ กระชายเหลืองที่ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง OD-60 คือ กระชายเหลืองที่ทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และ OD-70 คือ กระชายเหลืองที่ทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส
ตัวอักษร a-b ที่แตกต่างกันระหว่างตัวอย่างกระชายเหลืองหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

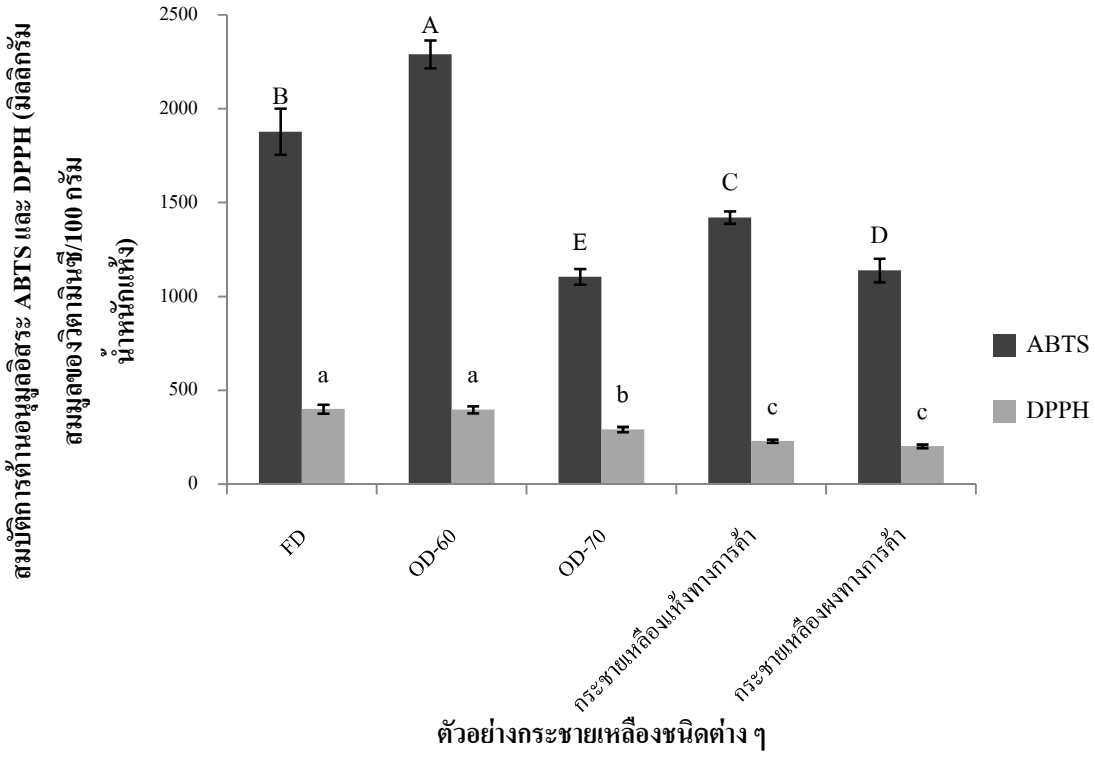
2.2 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS และ DPPH ของกระชายเหลืองแห้งชนิดต่าง ๆ

ตัวอย่างกระชายเหลือง OD-60 มีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS มากกว่ากระชายเหลืองชนิดอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) รองลงมาคือตัวอย่าง FD กระชายเหลืองแห้งทางการค้า และกระชายเหลืองผงทางการค้า ตามลำดับ ส่วนตัวอย่างกระชาย OD-70 มีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ต่ำที่สุด (ภาพที่ 16) อาจเนื่องมาจากตัวอย่าง OD-60 มีการใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ซึ่งที่อุณหภูมินี้อาจทำให้สารที่มีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ถูกปลดปล่อยออกมาจากผนังเซลล์ของกระชายมากขึ้น ส่วนตัวอย่าง OD-70 ถึงแม้ว่าจะมีการใช้ความร้อน แต่ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสอาจทำให้สารที่มีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ถูก

ทำลาย ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (ภาพที่ 14) และสมบัติต้านอนุมูลอิสระ ABTS มีแนวโน้มในทางเดียวกัน เนื่องจากกลไกในการเกิดปฏิกิริยาเป็นแบบเดียวกัน คือเป็นวิธีการวัดสมบัติในการแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอนเดี่ยว (single electron transfer reaction) (Huang *et al*., 2005)

ส่วนสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH นั้น ตัวอย่าง FD และ OD-60 มีประสิทธิภาพมากที่สุด รองลงมาคือ OD-70 ส่วนกระชายเหลืองแห้งทางการค้า และกระชายเหลืองผงทางการค้ามีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ต่ำที่สุด เมื่อพิจารณากระชายเหลืองที่ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนพบว่าตัวอย่าง FD และ OD-60 มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH มากกว่า OD-70 ($p \leq 0.05$) เนื่องจากที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสอาจทำลายสารที่มีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ในทำนองเดียวกันกับกระชายเหลืองแห้งทางการค้า และกระชายเหลืองผงทางการค้า ซึ่งอาจมีการใช้อุณหภูมิสูงในการทำแห้ง จึงทำให้มีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ต่ำ

เป็นที่น่าสังเกตว่าสมบัติต้านอนุมูลอิสระ ABTS และ DPPH ของกระชายเหลืองแห้งทางการค้าและกระชายเหลืองผงทางการค้าที่มีค่าดังกล่าวไม่เป็นแนวโน้มเดียวกัน อาจเป็นเพราะการกระจายตัวและโครงสร้างของสารสำคัญแตกต่างกัน ยกตัวอย่างเช่นในการวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH สาร *p*-coumaric acid มีสมบัติด้อยกว่า caffeic acid ในทางตรงกันข้าม *p*-coumaric acid มีสมบัติต้านอนุมูลอิสระ ABTS ที่ดีกว่า caffeic acid (Re *et al*., 1999; Brand-Williams *et al*., 1995) เช่นเดียวกับสมบัติการต้านอนุมูลไฮดรอกซีที่ไม่เป็นไปในทิศทางเดียวกันกับสมบัติต้านอนุมูลอิสระ DPPH (Zhao *et al*., 2006) ความแตกต่างกันของสมบัติต้านอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกขึ้นอยู่กับจำนวนของหมู่ไฮดรอกซิลที่เกาะอยู่กับแอโรมาติก และการแทนที่ของหมู่เมทอกซี (Brand-Williams *et al*., 1995)



ภาพที่ 16 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS และDPPH ของตัวอย่างกระชายเหลืองแห้งชนิดต่าง ๆ

หมายเหตุ FD คือ กระชายเหลืองที่ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง OD-60 คือ กระชายเหลืองที่ทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และ OD-70 คือ กระชายเหลืองที่ทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส
ตัวอักษร A-E ที่แตกต่างกันระหว่างตัวอย่างกระชายเหลืองที่ทดสอบสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)
ตัวอักษร a-c ที่แตกต่างกันระหว่างตัวอย่างกระชายเหลืองที่ทดสอบสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

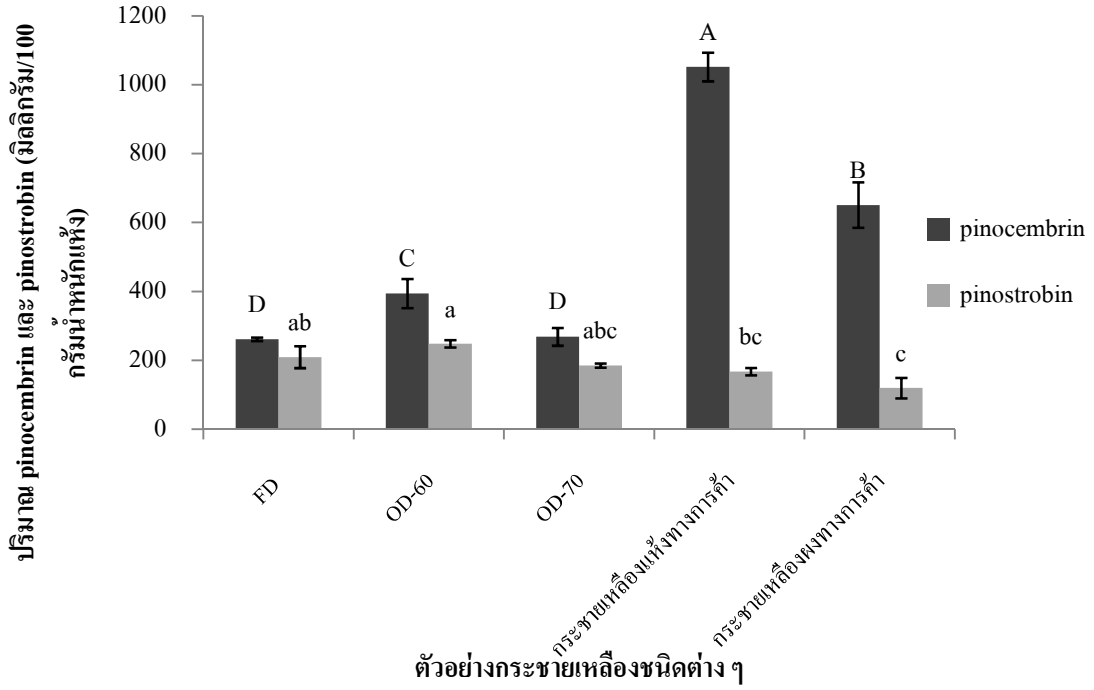
2.3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สำคัญบางชนิดในกระชายเหลืองแห้งชนิดต่าง ๆ

ปริมาณของ pinocembrin และ pinostrobin ในกระชายเหลืองแห้งชนิดต่าง ๆ แสดงดังภาพที่ 17 กระชายเหลืองแห้งทางการค้ามีปริมาณของ pinocembrin มากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) รองลงมาได้แก่กระชายเหลืองผงทางการค้า และ OD-60 ตามลำดับ ส่วน FD และ OD-70 มีปริมาณของ pinocembrin น้อยที่สุด สาเหตุที่กระชายเหลืองแห้งทางการค้าและกระชายเหลืองผง

ทางการค้ามีปริมาณ pinocembrin มากกว่ากระชายเหลืองที่ทำแห้งในห้องปฏิบัติการอาจเนื่องจากหลายปัจจัย เช่น กระชายเหลืองที่จำหน่ายทางการค้ามีวิธีการทำแห้งที่ต่างกัน ฤดูที่เก็บเกี่ยว การเกษตรกรรม และระยะเวลาการเก็บรักษา เป็นต้น นอกจากนี้กระชายเหลืองแห้งที่จำหน่ายทางการค้ามีปริมาณ pinocembrin ไม่สอดคล้องกับสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS อาจเนื่องจาก pinocembrin อาจมีบทบาทในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS น้อย หรือมีสารประกอบฟีนอลิกชนิดอื่นที่มีบทบาทมากกว่า

เมื่อเปรียบเทียบตัวอย่าง FD, OD-60 และ OD-70 พบว่า OD-60 มีปริมาณของ pinocembrin มากกว่า FD อาจเนื่องจากเหตุผลเดียวกันกับสมบัติต้านอนุมูลอิสระ ABTS คือ การปลดปล่อยของสารพฤกษเคมีออกจาก matrix โดยความร้อนเข้าไปทำลายเยื่อหุ้มเซลล์และผนังเซลล์ (Roy *et al*., 2009) ในปี 2006 Gliszczynska-Swiglo *et al.* ศึกษาเกี่ยวกับบรอคโคลี่ที่ผ่านการนึ่งกับตัวอย่างสด ปรากฏว่าบรอคโคลี่ที่ผ่านการนึ่งทำให้ปริมาณสารสำคัญบางชนิดมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับตัวอย่างสด เช่น บีตาแครอทีน ลูทีน แอลฟา- และแกมมา- ทอโคเฟอรอล เป็นต้น

ส่วนปริมาณของ pinostrobin พบมากที่สุดในตัวอย่าง OD-60, FD และ OD-70 ซึ่งมีค่าไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ส่วนกระชายเหลืองแห้งทางการค้าและกระชายเหลืองผงทางการค้ามีปริมาณ pinostrobin ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) (ภาพที่ 18) เมื่อพิจารณากระชายเหลือง OD-60, FD และ OD-70 พบว่ามีแนวโน้มเดียวกันกับงานวิจัยของ Kuljarachanan *et al*. (2009) ซึ่งศึกษาผลของการทำแห้งกากมะนาวที่อุณหภูมิ 60, 80, 100 และ 120 องศาเซลเซียส ต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก nomilin และ limonin โดยปริมาณของ nomilin และ limonin มีค่าสูงสุดในตัวอย่างที่ทำแห้งในช่วงอุณหภูมิ 55-65 องศาเซลเซียส แต่เมื่ออุณหภูมิในการทำแห้งสูงกว่านี้ ปริมาณสารดังกล่าวจะลดลงอย่างรวดเร็ว เนื่องจากอุณหภูมิที่สูงกว่า 65 องศาเซลเซียสจะทำลายเอนไซม์ เช่น limonin D-ring lactone hydrolase ซึ่งทำหน้าที่เปลี่ยน limonoate A-ring lactone ไปเป็น limonin ดังนั้นอุณหภูมิในการทำแห้งจึงเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อปริมาณสารสำคัญ



ภาพที่ 17 ปริมาณ pinocembrin และ pinostrobin ของตัวอย่างกระชายเหลืองแห้งชนิดต่าง ๆ

หมายเหตุ FD คือ กระชายเหลืองที่ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง OD-60 คือ กระชายเหลืองที่ทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และ OD-70 คือ กระชายเหลืองที่ทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส
ตัวอักษร A-D ที่แตกต่างกันระหว่างตัวอย่างกระชายเหลืองที่วิเคราะห์ปริมาณ pinocembrin หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)
ตัวอักษร a-c ที่แตกต่างกันระหว่างตัวอย่างกระชายเหลืองที่วิเคราะห์ปริมาณ pinostrobin หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

Senevirathne *et al*. (2009) ศึกษาผลของการทำแห้งเปลือกส้มด้วยวิธี high speed drying (HSD) ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที กับการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งซึ่งใช้เวลา 24 ชั่วโมง เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชันและปริมาณสารสำคัญ พบว่าตัวอย่างที่ทำแห้งแบบ HSD และแบบแช่เยือกแข็งมีปริมาณฟลาโวนอยด์ที่สำคัญบางชนิดใกล้เคียงกัน ส่วนสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของเปลือกส้มที่ทำแห้งแบบ HSD มีประสิทธิภาพดีกว่าการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

กระบวนการแปรรูปอาจส่งผลต่อความสามารถต้านออกซิเดชันของพืช ผัก ผลไม้ หรือสมุนไพรชนิดต่าง ๆ ในทิศทางที่แตกต่างกัน กล่าวคือ ลดน้อยลง เพิ่มขึ้น หรือไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลง (Nicoli *et al*., 1999) เนื่องจากกระบวนการแปรรูปส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติของสารต้านออกซิเดชันบางชนิด หรือสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดสารชนิดอื่นขึ้น (Tomaino *et al*., 2005) สมบัติการต้านออกซิเดชันที่เพิ่มขึ้นเมื่อนำผักและผลไม้ไปผ่านกระบวนการแปรรูป เช่น ข้าวโพดหวาน (Dewanto *et al*., 2002) Shiitake mushroom (Choi *et al*., 2006) และโสม (Kang *et al*., 2006) ส่วนงานวิจัยที่เกี่ยวกับกับแปรรูปด้วยความร้อนแล้วทำให้สมบัติการต้านออกซิเดชันลดลงส่วนใหญ่พบในในผัก เช่น ผักโขม กะหล่ำปลี บรอคโคลี่ เป็นต้น (Ismail *et al*., 2004; Roy *et al*., 2007; Zhang and Hamauzu, 2004)

3. ผลของกระชายเหลืองต่อสมบัติการต้านออกซิเดชันในเนื้อหมูบดปรุงสุก

เนื้อสัตว์ที่ผ่านการปรุงสุกสามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันและทำให้เกิด secondary oxidative compounds เช่น เฮกซาแนล, เพนทาแนล, 2,4-decadienal, 2,3-octanedione และ 2-octenal เป็นต้น (St. Angelo *et al*., 1987; Trout and Dale, 1990) ดังนั้นจำเป็นที่จะต้องควบคุมปฏิกิริยาออกซิเดชันเพื่อลดการพัฒนาของกลิ่นผิดปกติ ในทางการค้ามีการใช้สารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ เช่น BHT, BHA, propyl gallate และ TBHQ ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ทั้งแบบดิบและปรุงสุก เช่น สัตว์ปีก เนื้อหมู และเนื้อวัว เพื่อชะลอปฏิกิริยาออกซิเดชันในระหว่างการเก็บรักษา องค์การอาหารและยาของประเทศสหรัฐอเมริกาอนุญาตให้ใช้สารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ดังกล่าวในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ แต่จำกัดปริมาณการใช้ เช่น อนุญาตให้ใช้ BHA, BHT, propyl gallate และ TBHQ สำหรับเนื้อสัตว์บดปรุงสุกในปริมาณไม่เกิน 0.01% ของปริมาณไขมัน ซึ่งข้อดีของ BHA และ BHT คือ สามารถละลายได้ดีในน้ำมัน ทนความร้อนสูง จึงสามารถใช้ได้ดีกับอาหารที่ต้องผ่านกระบวนการให้ความร้อน มีงานวิจัยมากมายที่ศึกษาเกี่ยวกับการใช้สารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติแทนสารสังเคราะห์ในการชะลอปฏิกิริยาออกซิเดชันในเนื้อหมูบดปรุงสุกโดยการวัดปริมาณเฮกซาแนล (Vara-Ubol and Bowers, 2001; Juntachote *et al*., 2006 และ Ahn *et al*., 2002)

ค่าเฮกซาแนลบ่งชี้ถึงปริมาณ secondary oxidation product ซึ่งทำให้เกิดกลิ่นผิดปกติของเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ ผลของกระชายเหลืองต่อปริมาณเฮกซาแนล (วิเคราะห์ด้วยเทคนิค SPME-GC-FID) ของเนื้อหมูบดปรุงสุกซึ่งเก็บรักษาเป็นเวลา 6 วัน ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส แสดงดัง

ตารางที่ 10 ในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา เฮกซาแนลของเนื้อหมูบดที่เติมกระชายเหลืองชนิดต่าง ๆ และ BHA มีปริมาณต่ำกว่าตัวอย่างควบคุมที่ไม่ได้เติมอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แสดงให้เห็นว่ากระชายเหลืองสามารถลดหรือชะลอปฏิกิริยาออกซิเดชันในระหว่างและหลังจากการปรุงสุกทันที โดยเนื้อหมูบดที่เติม BHA มีประสิทธิภาพในการลดออกซิเดชันซึ่งวัดโดยปริมาณเฮกซาแนลได้ดีที่สุดเมื่อเทียบกับตัวอย่างอื่น ๆ รองลงมาคือเนื้อหมูบดที่เติมกระชายเหลือง FD OD-60 และกระชายเหลืองแห้งทางการค้า ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ส่วนเนื้อหมูบดที่เติมกระชายเหลือง OD-70 และกระชายเหลืองผงทางการค้ามีปริมาณเฮกซาแนลมากที่สุด อย่างไรก็ตามปริมาณเฮกซาแนลยังมีค่าต่ำกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ซึ่งความสามารถต้านออกซิเดชันของกระชายเหลืองชนิดต่าง ๆ อาจมีส่วนสัมพันธ์กับสารประกอบฟีนอลิกและโครงสร้างทางเคมีของสารสำคัญ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Juntachote *et al*. (2006) ซึ่งศึกษาถึงประสิทธิภาพของสารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติ ได้แก่ ใบกระเพราผง ข่าผง และสารสกัดเอทานอลของใบกระเพราและข่าในการชะลอปฏิกิริยาออกซิเดชันในเนื้อหมูบดปรุงสุกเปรียบเทียบกับสารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติที่จำหน่ายทางการค้าซึ่งเป็นสารผสมของกรดซิตริก กรดแอสคอร์บิก และแอลฟา-ทอโคเฟอรอล หลังจากการปรุงสุกในวันที่ 0 เนื้อหมูบดที่เติมสารต้านออกซิเดชันทุกชนิดมีปริมาณเฮกซาแนลต่ำกว่าตัวอย่างควบคุมที่ไม่ได้เติมสารต้านออกซิเดชันอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ Ahn *et al*. (2002) รายงานว่าสารสกัดจากเมล็ดองุ่น (ActiVin™) สารสกัดจากเปลือกสน (Pycnogenol®) โรสแมรี่ แอลฟา-ทอโคเฟอรอล และ BHA/BHT ที่เติมลงไปในเนื้อวัวบดปรุงสุกมีปริมาณเฮกซาแนลต่ำกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญหลังจากการปรุงสุกทันที (วันที่ 0) เนื่องจากสารสกัดดังกล่าวมีองค์ประกอบที่เป็นสารประกอบฟีนอลิกหลายชนิด เช่น phenolic acids, caffeic acid, quercetin, myricetin, proanthocyanidins, catechin epicatechin และ resveratrol เป็นต้น

ปฏิกิริยาออกซิเดชันในเนื้อหมูบดเกิดจากการที่มีการปลดปล่อยเหล็กจาก heme pigments ในระหว่างการทำให้เนื้อสัตว์สุก ทำให้ปริมาณของ non-heme iron เพิ่มสูงขึ้น ซึ่งมีความสัมพันธ์กับการเกิดออกซิเดชัน (Love and Pearson, 1974) นอกจากนี้ primary substate ของปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งก็คือฟอสฟอลิปิดที่เป็นองค์ประกอบของเมมเบรนก็มีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิดออกซิเดชันเช่นเดียวกัน Love and Pearson (1974) กล่าวว่าฟอสฟอลิปิดซึ่งมีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวอยู่สูง มีส่วนสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของปฏิกิริยาออกซิเดชันในช่วงแรกของการเก็บรักษา

วันสุดท้ายของการเก็บรักษา (วันที่ 6) BHA ยังคงมีประสิทธิภาพในการลดออกซิเดชันในเนื้อหมูบดซึ่งวัดโดยปริมาณเฮกซาแนลดีที่สุด รองลงมาคือเนื้อหมูที่เติม OD-60 FD OD-70 และกระชายเหลืองผงทางการค้า ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ส่วนเนื้อหมูบดที่เติมกระชายเหลืองแห้งทางการค้ามีปริมาณเฮกซาแนลมากที่สุด แต่มีค่าน้อยกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ สังเกตได้ว่ากระชายเหลืองแห้งที่ผลิตในห้องปฏิบัติการมีประสิทธิภาพในการลดออกซิเดชันในเนื้อหมูบดโดยการวัดปริมาณเฮกซาแนล ได้ดีกว่ากระชายเหลืองที่จำหน่ายทางการค้า อาจเนื่องจากหลายปัจจัยที่มีความแตกต่างกัน เช่น แหล่งของการปลูก ฤดูการเก็บเกี่ยว และกระบวนการผลิต เป็นต้น

ตารางที่ 10 ปริมาณเฮกซาแนลในเนื้อหมูบดปรุงสุกที่เติมกระชายเหลืองแห้งชนิดต่าง ๆ และ BHA เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม ซึ่งเก็บรักษาที่ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน

ตัวอย่าง	ปริมาณเฮกซาแนล (มิลลิกรัม/เนื้อหมู 100 กรัม)			
	วันที่ 0	วันที่ 2	วันที่ 4	วันที่ 6
ตัวอย่างควบคุม	$_{w}0.131\pm0.001^{*d}$	$_{x}0.181\pm0.017^{c}$	$_{y}0.443\pm0.007^{e}$	$_{z}0.482\pm0.006^{d}$
FD	$_{w}0.108\pm0.002^{b}$	$_{w}0.110\pm0.001^{a}$	$_{x}0.244\pm0.004^{bc}$	$_{x}0.276\pm0.031^{b}$
OD-60	$_{w}0.107\pm0.001^{b}$	$_{w}0.114\pm0.000^{a}$	$_{xy}0.213\pm0.036^{b}$	$_{y}0.264\pm0.107^{b}$
OD-70	$_{w}0.1140.000^{c}$	$_{w}0.142\pm0.001^{b}$	$_{x}0.284\pm0.027^{c}$	$_{x}0.298\pm0.037^{b}$
กระชายเหลืองแห้งทางการค้า	$_{w}0.109\pm0.000^{b}$	$_{x}0.136\pm0.001^{b}$	$_{y}0.350\pm0.013^{d}$	$_{z}0.387\pm0.008^{c}$
กระชายเหลืองผงทางการค้า	$_{w}0.116\pm0.002^{c}$	$_{x}0.166\pm0.000^{c}$	$_{y}0.240\pm0.016^{bc}$	$_{z}0.307\pm0.022^{b}$
BHA	$_{w}0.097\pm0.001^{a}$	$_{x}0.134\pm0.000^{b}$	$_{y}0.161\pm0.001^{a}$	$_{z}0.195\pm0.001^{a}$

หมายเหตุ FD คือ กระชายเหลืองที่ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง OD-60 คือ กระชายเหลืองที่ทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และ OD-70 คือ กระชายเหลืองที่ทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส

* ข้อมูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษร a-e ที่แตกต่างกันในคอลัมน์หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$)

ตัวอักษร w-z ที่แตกต่างกันในแถวหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$)

ตารางที่ 11 แสดงปริมาณเพนทาแนลในเนื้อหมูบดปรุงสุกซึ่งเก็บรักษาที่ 5 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 วัน ซึ่งโดยรวมแล้วระยะเวลาในการเก็บรักษามีผลต่ออัตราการเกิดออกซิเดชันในเนื้อหมูบดปรุงสุกอย่างมีนัยสำคัญ โดยจะเห็นได้จากปริมาณของเพนทาแนลที่เพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลา 6 วันของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส สมุนไพรและเครื่องเทศหลายชนิดประกอบด้วยสารประกอบฟีนอลิกซึ่งมีสมบัติต้านออกซิเดชัน มีงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับสมบัติต้านออกซิเดชันของพืชวงศ์ขิง เช่น การศึกษาการใช้ข่าเปรียบเทียบกับสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์เพื่อต้านออกซิเดชันในเนื้อวัว ตัวอย่างที่เติมข่า 10% มีประสิทธิภาพในการลด TBARS เทียบเท่ากับการเติม BHT 0.02% และ แอลฟา-ทอโคเฟอรอล 0.10% (Cheah and Hasim, 2000)

ในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา (ตารางที่ 11) ปริมาณเพนทาแนลของตัวอย่างที่เติมกระชายผงชนิดต่าง ๆ และ BHA มีค่าต่ำกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) ซึ่งเห็นได้ว่าสารต้านออกซิเดชันที่เติมลงไปในเนื้อหมูสามารถลดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ทันทีหลังจากการปรุงสุก เช่นเดียวกับปริมาณเฮกซาแนล โดย BHA มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณเพนทาแนลในเนื้อหมูบดได้ดีที่สุด รองลงมาได้แก่การเติมกระชายเหลือง FD, OD-60, กระชายเหลืองผงทางการค้า และ OD-70 ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับเนื้อหมูบดที่เติม BHA ส่วนกระชายเหลืองแห้งทางการค้ามีประสิทธิภาพในการลดปริมาณเพนทาแนลในวันที่ 0 น้อยที่สุด แต่มากกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$)

วันสุดท้ายของการเก็บรักษา (วันที่ 6) ปริมาณเพนทาแนลของเนื้อหมูบดที่เติม BHA มีค่าต่ำที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) รองลงมาคือเนื้อหมูบดที่เติมกระชายเหลือง FD ซึ่งไม่แตกต่างกับเนื้อหมูบดที่เติมกระชายเหลือง OD-60 ส่วนเนื้อหมูบดที่เติมกระชายเหลืองแห้งทางการค้ามีปริมาณเพนทาแนลมากที่สุดในวันที่ 6 เมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อหมูบดที่เติมกระชายเหลืองชนิดอื่น แต่ยังคงมีปริมาณเพนทาแนลต่ำกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$)

ปริมาณของเฮกซาแนลและเพนทาแนลในเนื้อหมูบดปรุงสุกที่เติมกระชายเหลืองชนิดต่าง ๆ มีแนวโน้มเดียวกัน กล่าวคือในระหว่างการเก็บรักษาปริมาณของเฮกซาแนลและเพนทาแนลมีค่าเพิ่มขึ้น และเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วหลังจากวันที่ 2 อย่างไรก็ตามค่าดังกล่าวยังคงมีปริมาณต่ำกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ โดย BHA มีประสิทธิภาพในการชะลอปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยการวัดทั้งปริมาณเฮกซาแนลและเพนทาแนลในเนื้อหมูบดได้ดีที่สุด ส่วนเนื้อหมูบดที่เติมกระชายเหลืองแห้งทางการค้ามีค่าดังกล่าวสูงที่สุดเมื่อเทียบกับกระชายเหลืองชนิดอื่น ๆ ค่าสหสัมพันธ์

ระหว่างปริมาณเฮกซาแนลและเพนทาแนลในเนื้อหมูบดปรุงสุกที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน มีค่า 0.9663 ($p \leq 0.01$) แสดงให้เห็นว่าสารดังกล่าวทั้ง 2 ชนิดมีความสัมพันธ์กันในเชิงบวก ความสามารถในการต้านออกซิเดชันของกระชายเหลืองในเนื้อหมูบดซึ่งวัดโดยปริมาณเฮกซาแนลและเพนทาแนลอาจเนื่องมากจากสารประกอบฟีนอลิกในกระชายเหลืองซึ่งมีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ

ตารางที่ 11 ปริมาณเพนทาแนลในเนื้อหมูบดปรุงสุกที่เติมกระชายเหลืองแห้งชนิดต่าง ๆ และ BHA เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม ซึ่งเก็บรักษาที่ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน

ตัวอย่าง	ปริมาณเพนทาแนล (มิลลิกรัม/เนื้อหมู 100 กรัม)			
	วันที่ 0	วันที่ 2	วันที่ 4	วันที่ 6
ตัวอย่างควบคุม	$_{w}0.040\pm0.016^{*c}$	$_{w}0.052\pm0.018^{c}$	$_{x}0.093\pm0.004^{c}$	$_{x}0.127\pm0.010^{e}$
FD	$_{w}0.014\pm0.001^{ab}$	$_{w}0.017\pm0.004^{a}$	$_{x}0.056\pm0.000^{ab}$	$_{y}0.071\pm0.004^{b}$
OD-60	$_{w}0.016\pm0.001^{ab}$	$_{x}0.035\pm0.001^{bc}$	$_{y}0.046\pm0.005^{ab}$	$_{z}0.071\pm0.001^{b}$
OD-70	$_{w}0.021\pm0.001^{ab}$	$_{w}0.026\pm0.000^{ab}$	$_{x}0.060\pm0.013^{b}$	$_{x}0.073\pm0.007^{bc}$
กระชายเหลืองแห้งทางการค้า	$_{w}0.025\pm0.000^{b}$	$_{x}0.033\pm0.000^{ab}$	$_{y}0.081\pm0.001^{c}$	$_{z}0.097\pm0.004^{d}$
กระชายเหลืองผงทางการค้า	$_{w}0.017\pm0.003^{ab}$	$_{w}0.032\pm0.001^{ab}$	$_{y}0.059\pm0.007^{b}$	$_{y}0.087\pm0.009^{cd}$
BHA	$_{w}0.009\pm0.001^{a}$	$_{x}0.022\pm0.001^{ab}$	$_{y}0.042\pm0.000^{a}$	$_{z}0.053\pm0.001^{a}$

หมายเหตุ FD คือ กระชายเหลืองที่ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง OD-60 คือ กระชายเหลืองที่ทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และ OD-70 คือ กระชายเหลืองที่ทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส

* ข้อมูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษร a-e ที่แตกต่างกันในคอลัมน์หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตัวอักษร w-z ที่แตกต่างกันในแถวหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

ตัวทำละลายที่ใช้สกัดกระชายเหลืองมีผลต่อสารประกอบกลุ่มฟีนอลิก และความสามารถต้านออกซิเดชัน โดยสารสกัดอะซีโตนมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโว-นอยด์ทั้งหมด และความสามารถต้านออกซิเดชันซึ่งวิเคราะห์ด้วยวิธี ABTS และ DPPH radical scavenging activity assay มากที่สุด รวมทั้งยังสามารถสกัดสารสำคัญในกลุ่มฟลาโวนอยด์ คือ pinocembrin และ pinostrobin ได้มากที่สุด สารสกัดเอทานอล 80% มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และปริมาณสารสำคัญในกลุ่มฟลาโวนอยด์รองจากสารสกัดอะซีโตน ส่วนความสามารถต้านออกซิเดชันของสารสกัดเอทานอล 80% มีค่าไม่แตกต่างกับสารสกัดอะซีโตน สารสกัดน้ำมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และความสามารถต้านออกซิเดชันต่ำที่สุด

เมื่อเปรียบเทียบวิธีการทำแห้งกระชายเหลืองต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และความสามารถต้านออกซิเดชัน เปรียบเทียบกับกระชายเหลืองแห้งทางการค้า พบว่ากระชายเหลืองที่ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (FD) กระชายเหลืองที่ทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส (OD-60) มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด สมบัติต้านอนุมูลอิสระ ABTS และ DPPH และปริมาณ pinostrobin สูงที่สุด นอกจากนี้กระชายเหลืองแห้งชนิดต่าง ๆ มีผลในการต้านออกซิเดชันในเนื้อหมูบดปรุงสุกด้วยการวัดปริมาณสาร secondary oxidation compounds ที่สำคัญ 2 ชนิด คือ เฮกซานอลและเพนทานอล โดยภาพรวมประสิทธิภาพในการชะลอปฏิกิริยาออกซิเดชันเรียงลำดับจากดีที่สุดดังนี้ BHA กระชายเหลืองที่ทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส (OD-60) กระชายเหลืองที่ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (FD) กระชายเหลืองที่ทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส (OD-70) กระชายเหลืองผงทางการค้า กระชายเหลืองแห้งทางการค้า และตัวอย่างควบคุมตามลำดับ จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่ากระชายเหลืองมีศักยภาพในการเป็นสารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติที่ดี

ข้อเสนอแนะ

1. เนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันเกิดขึ้นได้จากหลายกลไก ดังนั้นควรศึกษาวิธีการทดสอบความสามารถต้านออกซิเดชันด้วยวิธีอื่น ๆ และวิเคราะห์สารสำคัญเพิ่มเติม

2. ควรศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงของสาร secondary oxidation products กับการเปลี่ยนแปลงด้านกลิ่นหืนจากการทดสอบทางประสาทสัมผัสของเนื้อหมูบดปรุงสุก และการยอมรับของผู้บริโภค

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กองโภชนาการ. 2535. **คุณค่าทางโภชนาการของอาหารไทย**. กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข, นนทบุรี

บัญญัติ สุขศรีงาม. 2523. **สมุนไพร**. ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ, กรุงเทพฯ.

รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต. 2535. **วิศวกรรมแปรรูปอาหาร: การถนอมอาหาร**. โอ.เอส.พริ้นติ้งเฮ้าส, กรงเทพฯ.

วิทย์ เที่ยงบูรณธรรม. 2539. **พจนานุกรมสมุนไพรไทย**. ประชุมทองการพิมพ์, กรุงเทพฯ.

สมบัติ ขอทวีวัฒนา. 2526. **หลักการทำแห้ง**. ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรงเทพฯ.

Ahn, J., I.U. Grün and L.N. Fernando. 2002. Antioxidant properties of natural plant extracts containing polyphenolic compounds in cooked ground beef. **J. Food Sci**. **67**: 1364–1369.

AOAC. 2000. Official Method of Analysis. 17th ed. **Association of Official Analytical Chemists**. Arlington, Virginia.

Asami, D.K, Y.J. Hong, D.M. Barrett and A.E. Mitchell. 2003. Comparison of the total phenolic and ascorbic acid content of freeze-dried and air-dried marionberry, strawberry, and corn grown using conventional, organic, and sustainable agricultural practices. **J. Agric. Food Chem.** 51 (5): 1237-1241.

Awika, J.M., L.W. Rooney, X. Wu , R.L. Prior and L. Cisneros-Zevallos. 2003. Screening methods to measure antioxidant activity of sorghum (*Sorghum bicolor*) and sorghum products. **J. Agric. Food Chem.** 51(23): 6657-6662.

Barbosa-Cánovas, G. and H. Vega-Mercado. 1996**. Dehydration of Foods**. International Thomsom Publishing, New York.

Bassey, M.W. 1981. Solar energy as a heat source in crop drying in Sierra Leone. pp. 73-80. *In* G. Yaciuk, ed. **Food Drying**. International Development Research Centre, Ottawa, Canada.

Bishov, S.J., Y. Masuoka and J.G. Kapsalis. 1977. Antioxidant effect of spices, herbs and protein hydrolyzates in freeze-dried model systems: synergistic action with synthetic phenolic antioxidants. **J. Food Proc. and Preserv**. 1: 153-166.

Bondaruk, J., M. Markowski and W. Blaszczak. 2007. Effect of drying on the quality of vacuum-microwave dried potato cubes**. J. Food Eng**. 81: 306-312.

Brand-Williams, W., M.E. Cuvelier and C. Berset. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensm.-Wiss. Technol**. 28: 25-30.

Bravo, L. 1998. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. **Nutr. Rev.** 56: 317-333.

Byrne, D.V., W.L.P. Bredie, D.S. Mottram and M. Martens. 2002. Sensory and chemical investigations on the effect of oven cooking on warmed-over flavour development in chicken meat. **Meat Sci.** 61 (2): 127-139.

Chan, E.W.C., Y.Y. Lim, S.K. Wong, K.K. Lim, S.P. Tan, F.S. Lianto and M.Y. Yong. 2009. Effects of different drying methods on the antioxidant properties of leaves and tea of ginger species. **Food Chem**. 113 (1): 166–172.

Chang, C.H., H.Y. Lin, C.Y. Chang and Y.C. Liu. 2005. Comparisons on the antioxidant properties of fresh, freeze-dried and hot-air-dried tomatoes. **J. Food Eng.** 77 (3): 478-485.

Cheah, P.B. and N.H.A. Hasim. 2000. Natural antioxidant extract from galangal (*Alpinia galanga*) for minced beef**. J Sci Food Agric.** 80: 1565-1571.

Cheenpracha, S., C. Karalai , C. Ponglimanont , S. Subhadhirasakul and S. Tewtrakul . 2006. Anti-HIV-1 protease activity of compounds from *Boesenbergia pandurata*. **Bioorg Med Chem**. 14 (6): 1710-1714.

Choi, Y., S.M. Lee, J. Chun, H.B. Lee and J. Lee. 2006. Influence of heat treatment on the antioxidant activities and polyphenolic compounds of Shiitake (*Lentinus edodes*) mushroom. **Food Chem**. 99 (2): 381-387.

Cook, N.C. and S. Samman. 1996. Flavonoids-Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. **J. Nutr. Biochem.** 7 (2): 66-76.

Dekker, E.A. and A.D. Crum. 1991. Inhibition of oxidative rancidity in salted ground pork by carnosine. **J. Food Sci.** 56(5): 1179-1181.

Deshpande, S.S. U.S. Deshpande and D.K. Salunkhe. 1996. Nutritional and health aspects of food antioxidant, pp. 361-470. *In* D.L. Madhavi, S.S. Deshpande and D.K. Sulnkhe (eds.). **Food Antioxidants: Technological, Toxicological, and HealthPerspectives**. Marcel Dekker, Inc., New York.

Dewanto, V., X. Wu and R.H. Liu. 2002. Processed sweet corn has higher antioxidant activity. **J. Agric. Food Chem**. 50 (17): 4959-4964.

Eriksson, C.E. 1987. Oxidation of lipids in food systems, pp 207-231. *In* H.W.S. Chan (ed.). **Autoxidation of Unsaturated Lipids**. Academic Press Inc., London.

Gliszczynska-swiglo, A., E. Ciska, K. Pawlak-Lemanska, J. Chmielewski, T. Borkowski and B. Tyrakowska. 2006. Changes in the content of health-promoting compounds and antioxidant activity of broccoli after domestic processing. **Food Addit. Contam**. 23 (11): 1088-1098.

Hamida, A.A., Z.M. Shaha, R. Museb and S. Mohameda. 2002. Characterisation of antioxidative activities of various extracts of *Centella asiatica* (L) Urban. **Food Chem**. 77 (4): 465-469.

Hu, C. and D.D. Kitts. 2000. Studies on the antioxidant activity of *Echinacea* root extract. **J. Agric. Food Chem.** 48 (5): 1466-1472.

Huang, D., B. Ou, R.L. Prior. 2005. The chemistry behind dietary antioxidant capacity assays. **J. Agric. Food Chem**. 3(6): 1841-1856.

Ismail, A., Z.M. Marjan and C.W. Foong**.** 2004. Total antioxidant activity and phenolic content in selected vegetables. **Food Chem**. 87 (4): 581-586.

Jadhav, S.T., S.S. Nimbalkar, A.D. Kulkarni and D.L. Madhavi. 1996. Lipid oxidation in biological and food systems, pp. 5-64. *In* D.L. Madhavi, S.S. Deshpande and D.K. Sulnkhe (eds.). **Food Antioxidants: Technological, Toxicological, and Health Perspectives**. Marcel Dekker, Inc., New York.

Jaipetch, T., V. Reutrakul, P. Tantiwachwuttikul and T. Santisuk. 1983. Flavonoids in the black rhizomes of *Boesenbergia pandurata*. **Phytochemistry.** 22: 625–626**.**

Juntachote, T., E. Berghofer , S. Siebenhandl and F. Bauer. 2006. The antioxidative properties of holy basil and galangal in cooked ground pork. **Meat Sci**. 72 (3): 446-456.

Kang, K.S., H.Y. Kim, J.S. Pyo and T. Yokozawa. 2006. Increase in the free radical scavenging activity of ginseng by heat-processing. **Biol. Pharm. Bull**. 29 (4): 750-754.

Kim, D.O. and C.Y. Lee. 2002. Extraction and isolation of polyphenolics**. Current Protocols in Food Analytical Chemistry**. R.E. Wrolstad. New York, Wiley: I1.2.1-I1.2.12.

_____, K.W. Lee, H.J. Lee and C.Y. Lee. 2002. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. **J. Agric. Food Chem**. 50 (13): 3713-3717.

_____, S.W. Jeong and C.Y. Lee. 2003. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. **Food Chem**. 81 (3): 321-326.

Kuljarachanan, T., S. Devahastin and N. Chiewchan**.** 2009. Evolution of antioxidant compounds in lime residues during drying. **Food Chem**. 113 (4): 944-949.

Lin, T.M., T.D. Durance and C.H. Scaman. 1998. Characteristization of vacuum microwave, air and freeze dried carrot slices. **Food Res. Int**. 31: 111-117.

Love, J.D. and A.M. Pearson. 1974. Metmyoglobin and nonheme iron as prooxidants in cooked meat. **J. Agric. Food Chem**. 22 (6): 1032-1034.

Madhavi, D.L. and D.K. Salunkhe. 1996. Toxicological aspects of food antioxidant., pp. 267-361. *In* D.L. Madhavi, S.S. Deshpande, and D.K. Sulnkhe (eds.). **Food Antioxidants: Technological, Toxicological, and Health Perspectives**. Marcel Dekker, Inc., New York.

Mahidol, C., P. Tantiwachwuttikul, V. Reutrakul and W.C. Taylor. 1984. Constituents of *Boesenbergia pandurata* (syn. *Kaempferia pandurata*). III Isolation and synthesis of (±)-boesenbergin B. **Aust. J. Chem**. 37: 1739–1745.

Messner, C. and M. Murkovic. 2004. Evaluation of a new model system for studying the formation of heterocyclic amines**. J. Chromatogr. B.** 802**:** 19–26.

Mongkolsuk, S. and F.M. Dean. 1964. Pinostrobin and alpinetin from *Kaempferia pandurata*. **J. Chem. Soc**. 4654–4655.

Nicoli, M.C., M. Anese and M. Parpinel. 1999. Influence of processing on the antioxidant properties of fruit and vegetables. **Trends Food Sci. Technol.** 10 (3): 94-100.

Nijhuis, H.H., H.M. Torringa, S. Muresan, D. Yuksel, C. Leguijt and W. Kloek. 1998. Approaches to improving the quality of dried fruit and vegetables. **Trends Food Sci. Technol.** 9: 13-20.

Pancharoen, O., V.A. Patrick, V. Reutrakul, P. Tantiwachwuttikul and A.H. White. 1984. Constituents of *Boesenbergia* sp. Isolation and crystal structure of crotepoxide ([1*R*-1α,2α,4α,5β,6α,7α)]-4-(benzoyloxy)methyl]-3,8-dioxatricylclo[5,1,0,$0^{2,4}$]octane-5,6-diyl diacetate). **Aust. J. Chem**. 37**:** 221–225.

Panthong, A., W. Tassaneeyakul**,** D. Kanjanapothi, P. Tantiwachwuttikul and V. Reutrakul. 1989. Anti-inflammatory activity of 5,7-dimethoxyflavone. **Planta Med**. 55 (2): 133-136.

Pedrielli, P., G.F. Pedulli and L.H. Skibsted. 2001. Antioxidant mechanism of flavonoids: Solvent effect on rate constant for chain breaking reaction of quercetin and epicatechin in autoxidation of methyl linoleate. **J. Agric. Food Chem**. 49 (6): 3034-3040.

Pinelo, M., M. Lara, J.S. Maria and C.N. Maria. 2004. Solvent effect on quercetin antioxidant capacity. **Food Chem**. 88 (2): 201-207.

Pokorny, J., N. Yanishieava and M. Gordon. 2000. **Antioxidant in food**. Woodhead publishing limited, England.

Pratt, D.E. 1992. Natural antioxidants from plant material, pp. 54-71. *In* M-T. Houng, CT. Ho and C.Y. Lee (eds.). **Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health**. Vol. 2. Antioxidants and Cancer Prevention, American Chemical Society, Washington, DC.

Rajalakshmi, D. and S. Narasimhan. 1996. Food antioxidants: sources and methods of evaluation, pp. 65-156. *In* D.L. Madhavi, S.S. Deshpande, and D.K. Sulnkhe (eds.). **Food Antioxidants: Technological, Toxicological, and Health Perapectives**. Marcel Dekker, Inc., New York.

Rauma, A.L. and Mykkanen. 2000. Antioxidant status in vegetarian versus omnivores. **Nutrition**. 116-119

Re, R., N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M.Yang and C. Rice-Evans**.** 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biol. Med.** 26: 1231-1237.

Roy, M.K., M. Takenaka, S. Isobe and T. Tsushida. 2007. Antioxidant potential, anti-proliferative activities, and phenolic content in water-soluble fractions of some commonly consumed vegetables: Effects of thermal treatment. **Food Chem**. 103 (1): 106–114.

Schuler, P. 1990. Natural antioxidants exploited commercially, pp. 99-100. *In* B.J.F. Hudson (ed.). **Food Antioxidants**. Elsevier Science Pub., Ltd., New York.

Senevirathne, M., Y.J. Jeon, J.H. Ha and S.H. Kim. 2009. Effective drying of citrus by-product by high speed drying: A novel drying technique and their antioxidant activity**. J. Food Eng.** 92 (2): 157-163.

Shahidi, F. 1997. **Natural Antioxidants: Chemistry, Health Effects, and Applications**. AOCS Press, Illinois.

Singh, R.P., K.N. C. Murthy and G.K. Jayaprakasha. 2002. Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. **J. Agric. Food Chem**. 50 (1): 81-86.

Sipos, E.F. and B.F. Szuhaij. 1996. Lecithins, pp. 311-391. *In* Y.H. Hui (ed.). **Bailey's Industrial Fat Products**. Vol.1. General Applications, 5th ed., John Wiley and Sons, Inc., New York.

St. Angelo, A.J., J.R. Vercellotti, M.G. Legendre, C.H. Vinnett, J.W. Kuan, C. James Jr. and H.P. Dupuy. 1987. Chemical and instrumental analyses of warmed-over flavor in beef. **J. Food Sci**. **52**: 1163–1168.

Tantiwachwuttikul, P., O. Pancharoen, V. Reutrakul and L.T. Byrne. 1984. (1′*RS*, 2′*SR*, 6′*RS*)-(2,6-di hydroxy-4-methoxyphenyl)[3′-methyl-2′-(3″-methylbut-2″-enyl)-6′-phenylcyclohex-3′-enyl]methanone (panduratin A)-a constituent of the red rhizomes of a variety of *Boesenbergia pandurata*. **Aust. J. Chem**. 37: 449–453.

Thongson, C., P.M. Davidson, W. Mahakarnchanakul, and J. Weiss. 2004. Antimicrobial activity of ultrasound-assisted solvent-extracted spices. **Lett. Appl. Microbiol**. 39: 401–406.

Tomaino, A., F. Cimino, V. Zimbalatti, V. Venuti, V. Sulfaro, A. De Pasquale and A. Saija. 2005. Influence of heating on antioxidant activity and the chemical composition of some spice essential oils. **Food Chem**. 89 (4): 549-554.

Trakoontivakorn, G., N. Kazuhiko, S. Hiroshi, T. Makiko, O.K. Mayumi, O. Hiroshi, Y. Mitsuru, N. Tadahiro and T. Tojiro. 2001. Structural analysis of a novel antimutagenic compound, 4-hydroxypanduratin A, and the antimutagenic activity of flavonoids in a Thai spice, fingerroot (*Boesenbergia pandurata* Schult.) against mutagenic heterocyclic amines. **J. Agric. Food Chem.** 49: 3046-3050.

Trout, G.R. and S. Dale. 1990. Prevention of warmed-over flavor in cooked beef: effect of phosphate type, phosphate concentration, a lemon juice/phosphate blend, and beef extract. **J. Agric. Food Chem.** 38 (3): 665-669.

Tuchinda, P., V. Reutrakul, P. Claesona, U. Pongprayoonb, T. Sematongb, T. Santisukc and W. C. Taylor. 2002. Anti-inflammatory cyclohexenyl chalcone derivatives in *Boesenbergia pandurata*. **Phytochemistry.** 59 (2002): 169–173.

U.S. Food and Drug Administration. 1999. **Code of federal regulations**. The office of the Federal Register. 9 (2): 245-247.

Valgimigli, L., J.T. Banks, KU. Ingold and J. Lusztyk. 1995. Kinetic solvent effect on hydroxylic hydrogen atom abstractions are independent of the nature of the abstraction radicals. Two extreme tests using vitamin E and phenol. **J. Am. Chem. Soc**. 117 (40): 9966-9971.

Vara-Ubol, S. and J.A. Bowers. 2001. Effect of α-tocopherol, β-carotene, and sodium tripolyphosphate on lipid oxidation of refrigerated, cooked ground turkey and ground pork. **J. Food Sci**. 66 (5)**:** 662–667.

Vega-Mercado, H., M.M. Góngora-Nieto and G. V. Barbosa-Cánovas. 2001. Advance in dehydration of foods**. J. Food Eng**. 271-289.

Yildirim, A., A. Mavi and A.A. Kara. 2001. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts **J. Agric. Food Chem**. 49 (8): 4083-4089.

Yoshida, M., T. Sakai, N. Hosakawa, N. Marui, K. Matsumoto, A. Fujioka, H. Nishino an A. Aoike. 1990. The effect of quercetin on cell progression and growth of human gastric cancer cell. **FEB**. 260 (1): 10-13.

Yoshikawa, T., Y. Naito and M. Kondo. 1997. Free radicals and diseases, 11-19. *In* M. Hiramatsu, T. Yoshikawa and M. Inoue, eds. **Food and Free Radicals**, Plenum Press, New york and London.

Zaeoung, S., A. Plubrukarn and N. Keawpradub. 2005. Cytotoxic and free radical scavenging activities of Zingiberaceous rhizomes. **Songklanakarin J. Sci. Technol**. 27(4): 799-812.

Zhang, D. and Y. Hamauzu. 2004. Phenolics, ascorbic acid, carotenoids and antioxidant activity of broccoli and their changes during conventional and microwave cooking. **Food Chem**. 88 (4): 503-509.

Zhang, M., C.L. Li and X.L. Ding. 2005. Effect of heating conditions on thermal denaturation of white mushroom suitable for dehydration. **Drying Technol**. 21 (3): 1119-1125.

Zhao, H., J. Dong, J. Lu, J. Chen, Y. Li, L. Shan, Y. Lin, W. Fan and G. Gu. 2006. Effects of extraction solvent mixtures on antioxidant activity evaluation and their extraction capacity and selectivity for free phenolic compounds in barley (*Hordeum vulgare* L.). **J. Agric. Food Chem**. 54 (19): 7277-7286.

Zhou, K. and L. Yu. 2004. Effects of extraction solvent on wheat bran antioxidant activity estimation. **Lebensm.-Wiss. Technol**. 37 (7): 717-721.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์ทางเคมี

ก1. ข้อมูลตัวอย่างกระชายเหลือง

ตัวอย่างกระชายเหลืองแห้งทางการค้า ผลิต 8 ก.ค. 2551 หมดอายุ 8 ก.ค. 2552 น้ำหนักสุทธิ 50 กรัม

เตรียมตัวอย่างกระชายเหลืองโดยนำกระชายเหลืองที่ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (FD) กระชายเหลืองที่ทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส (OD-60) กระชายเหลืองที่ทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส (OD-70) และกระชายเหลืองแห้งทางการค้า บดให้เป็นผงด้วยเครื่องบด แล้วนำไปร่อนผ่านตะแกรงในช่วง 40 เมช บรรจุในถุงอะลูมิเนียม เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกระทั่งวิเคราะห์ ส่วนกระชายเหลืองผงทางการค้ามีลักษณะเป็นผงละเอียด บรรจุในถุงอะลูมิเนียม เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกระทั่งวิเคราะห์

ก2. การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (AOAC, 2000)

1.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

1.1.1 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
1.1.2 ตู้อบลมไฟฟ้า
1.1.3 ถ้วยอะลูมิเนียม
1.1.4 เดซิกเคเตอร์

1.2 วิธีการวิเคราะห์

อบถ้วยอะลูมิเนียมพร้อมฝาที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นในเดซิกเคเตอร์ ชั่งให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอน ชั่งตัวอย่างน้ำหนักที่แน่นอน 2 กรัม ลงในถ้วยอะลูมิเนียมที่อบแห้งแล้ว นำไปอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในเดซิกเคเตอร์ ชั่งน้ำหนัก นำไปอบอีกจนได้น้ำหนักคงที่

1.3 วิธีคำนวณ

ปริมาณความชื้น (ร้อยละ) = (A / B) x 100
เมื่อ A คือ น้ำหนักของตัวอย่างที่หายไป (กรัม)
B คือ น้ำหนักของตัวอย่างที่ใช้ (กรัม)

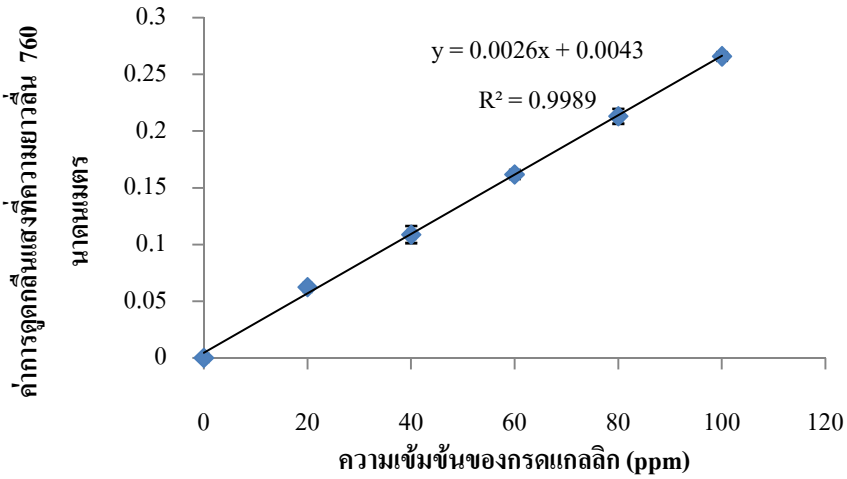
ตารางผนวกที่ ก1 ปริมาณความชื้นของตัวอย่างกระชายเหลืองแห้งชนิดต่าง ๆ

ตัวอย่างกระชายเหลือง	ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)
FD	9.04±0.00*
OD-60	14.95±0.17
OD-70	6.31±0.19
กระชายเหลืองแห้งทางการค้า	10.53±0.12
กระชายเหลืองผงทางการค้า	6.74±0.09

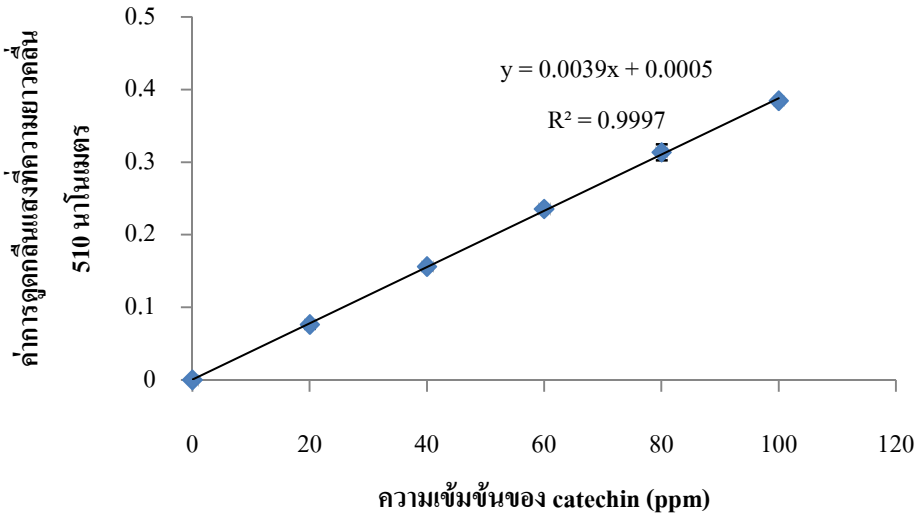
หมายเหตุ * ข้อมูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
FD คือ กระชายเหลืองที่ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง OD-60 คือ กระชายเหลืองที่ทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และ OD-70 คือ กระชายเหลืองที่ทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส

ภาคผนวก ข

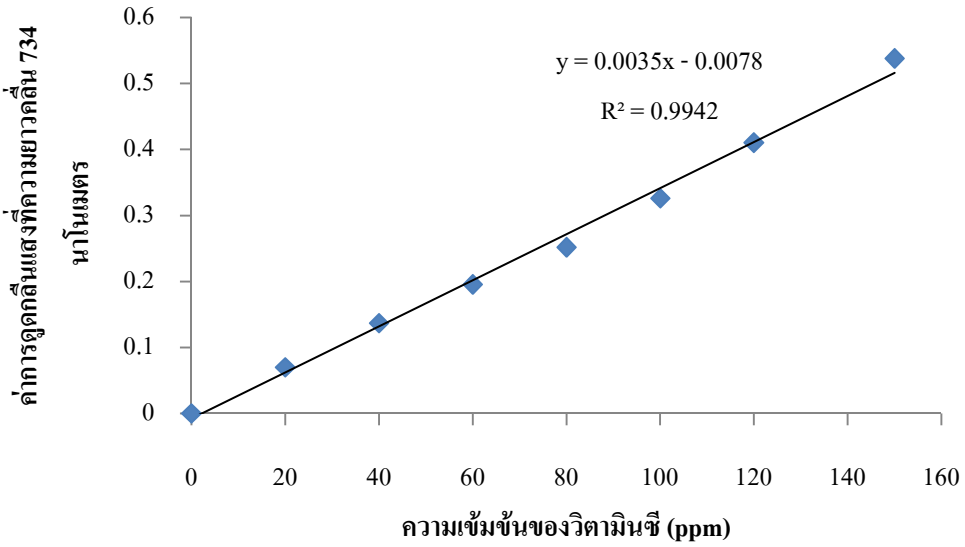
การวิเคราะห์สารกลุ่มฟีนอลิกและความสามารถต้านออกซิเดชัน



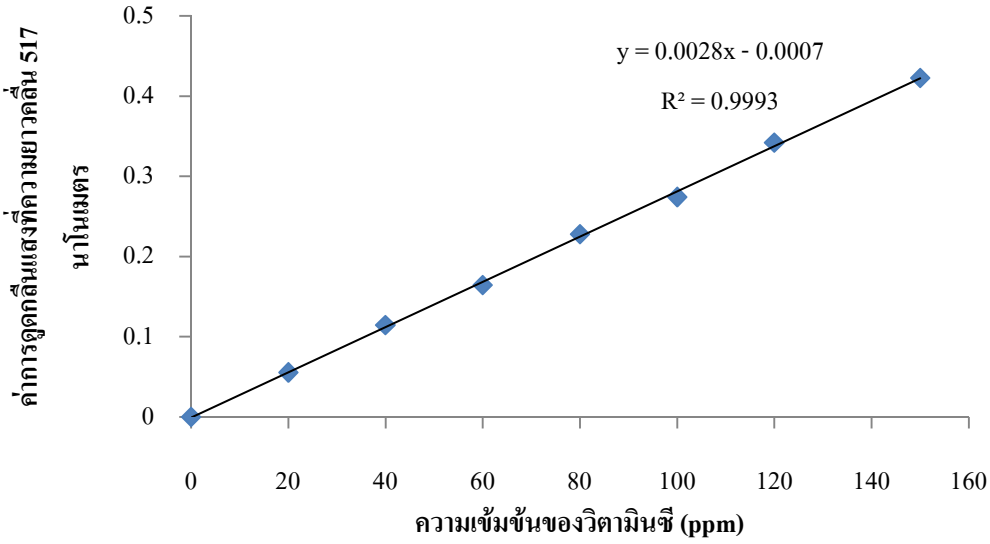
ภาพผนวกที่ ข1 กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิกสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด



ภาพผนวกที่ ข2 กราฟมาตรฐานของ catechin สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด



ภาพผนวกที่ ข3 กราฟมาตรฐานของวิตามินซีสำหรับการวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS



ภาพผนวกที่ ข4 กราฟมาตรฐานของวิตามินซีสำหรับการวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์ pinocembrin และ pinostrobin

ค1. สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์ pinocembrin และ pinostrobin ด้วย HPLC

1.1 สภาวะในการวิเคราะห์

เครื่อง HPLC (Waters™)	
Column	RP-C18 (Symmetry®, 4.6 มิลลิเมตร × 250 มิลลิเมตร)
Mobile phase	0.5% Acetic acid:Acetonitrile (45:55)
ระบบ Mobile phase	Isocratic
Flow rate	1.0 มิลลิลิตร/นาที
Detector	Photodiode Array Detector
Wavelength	280 นาโนเมตร
Stop time	60 นาที
Injection volume	20 ไมโครลิตร

1.2 วิธีการวิเคราะห์

1.2.1 เจือจางตัวอย่างกระชายเหลืองที่สกัดด้วยอะซีโตน เอทานอล 80% และ เมทานอล 80% ด้วย 100% เมทานอล ส่วนตัวอย่างที่สกัดด้วยน้ำไม่ต้องทำการเจือจาง จากนั้นนำสารสกัดกระชายเหลืองและสารมาตรฐานมากรองผ่านตัวกรองชนิด Regenerated cellulose ขนาดรูพรุน 0.45 ไมโครเมตร

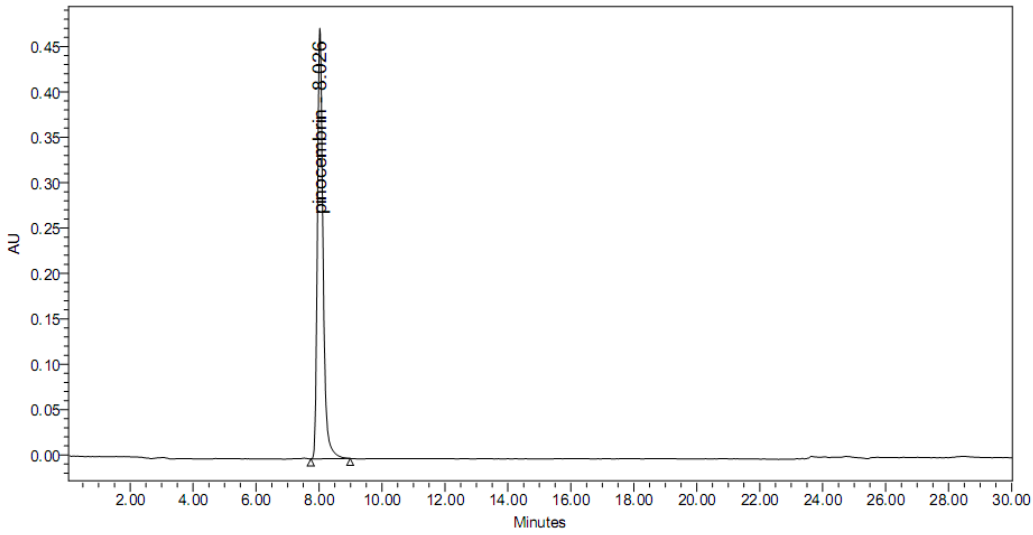
1.2.2 ฉีดตัวอย่างและสารมาตรฐานเข้าสู่เครื่อง HPLC เพื่อทำการวิเคราะห์

1.2.3 นำพื้นที่ใต้พีคมาสร้างกราฟมาตรฐาน pinocembrin และ pinostrobin ดังแสดงในภาพผนวกที่ ค3 และ ค4 ตัวอย่างของสารมาตรฐานแสดงดังภาพผนวกที่ ค1 และ ค2

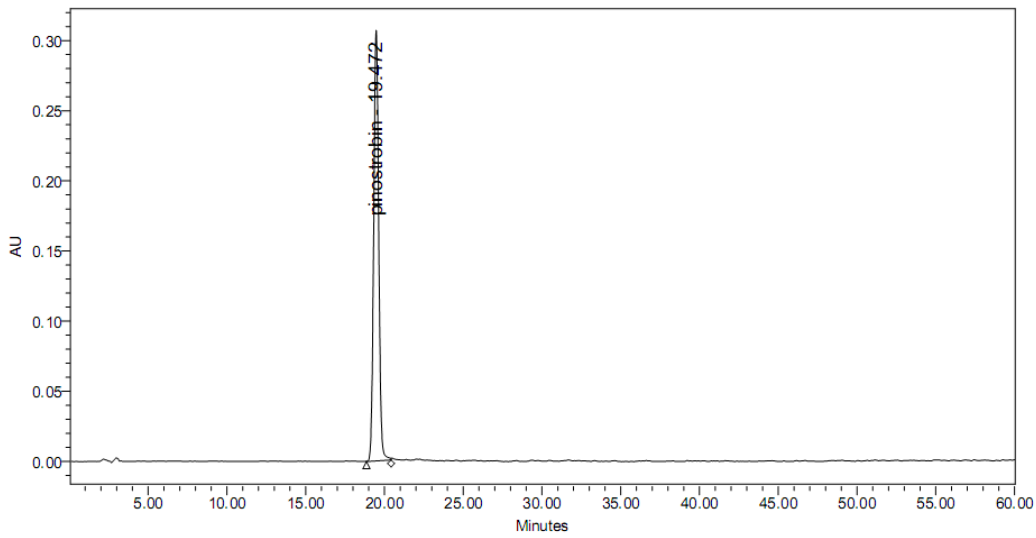
1.3 วิธีการคำนวณ

1.3.1 อ่านค่าพื้นที่ใต้พีคของสารที่ retention time ตรงกับเวลาของสารมาตรฐาน โดยพื้นที่ใต้พีคถูกคำนวณจากโปรแกรมสำเร็จรูป Empower 2 chromatography data software (Waters, Mailford, MA, USA)

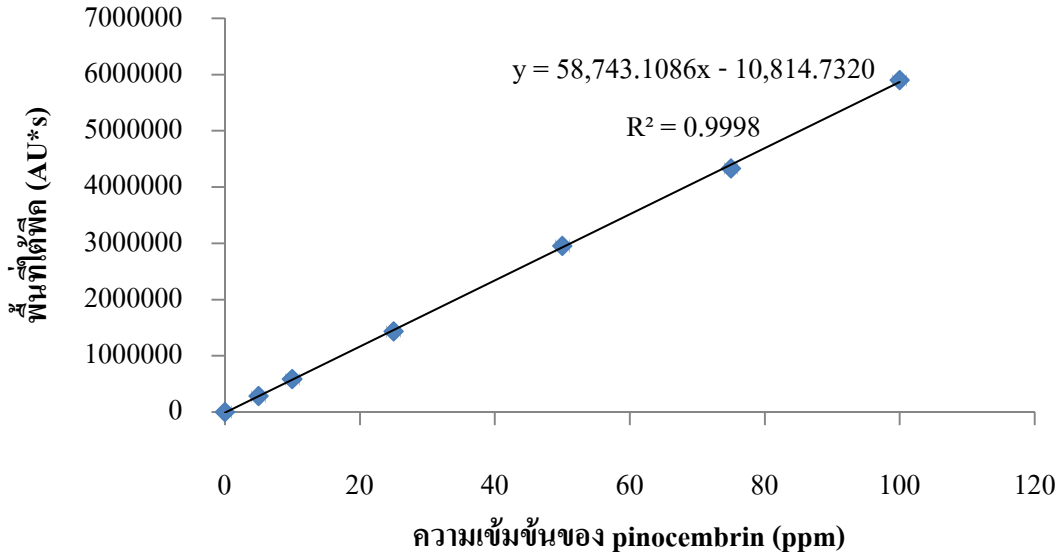
1.3.2 ปริมาณสารต่าง ๆ ที่พบในตัวอย่างคำนวณได้โดยแทนพื้นที่ใต้พีคที่ได้ลงในสมการจากกราฟมาตรฐาน



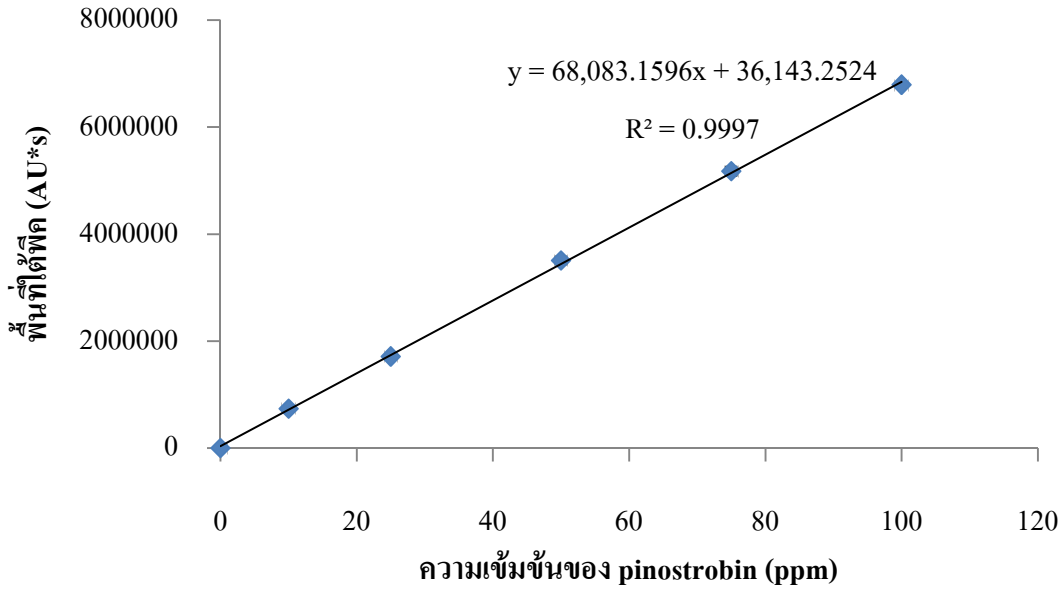
ภาพผนวกที่ ค1 ตัวอย่างโครมาโทแกรมของสารมาตรฐาน pinocembrin ที่ความเข้มข้น 100 ppm



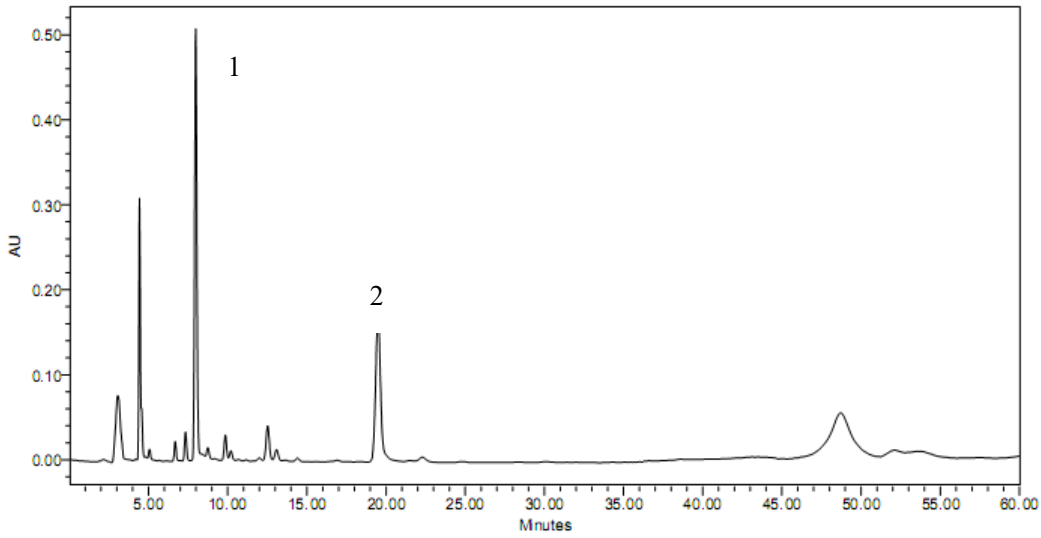
ภาพผนวกที่ ค2 ตัวอย่างโครมาโทแกรมของสารมาตรฐาน pinostrobin ที่ความเข้มข้น 100 ppm



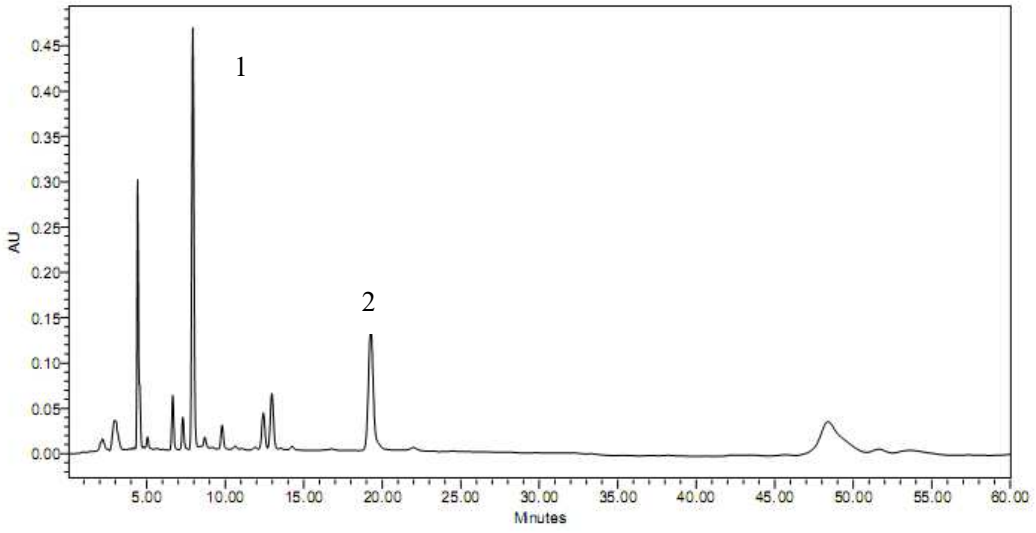
ภาพผนวกที่ ค3 กราฟมาตรฐานของ pinocembrin



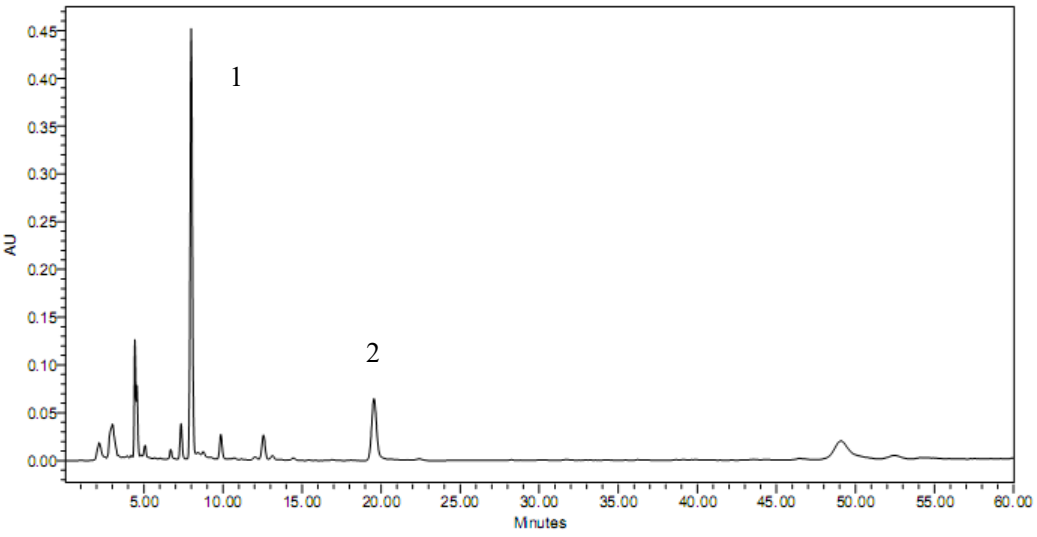
ภาพผนวกที่ ค4 กราฟมาตรฐานของ pinostrobin



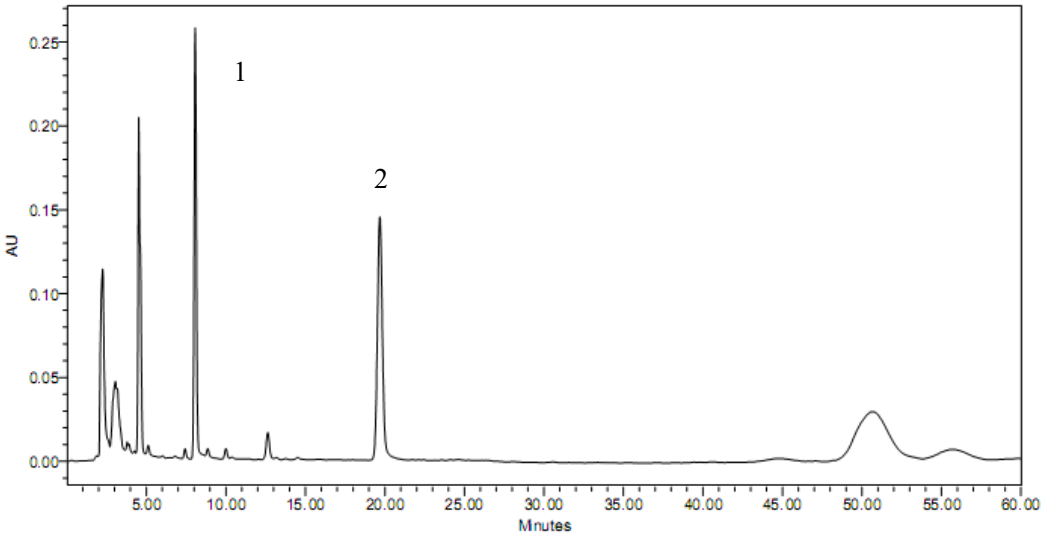
ภาพผนวกที่ ค5 ตัวอย่างโครมาโตแกรมของกระชายเหลืองที่สกัดด้วยอะซีโตน ซึ่งวิเคราะห์โดย HPLC ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร (1: pinocembrin; 2: pinostrobin)



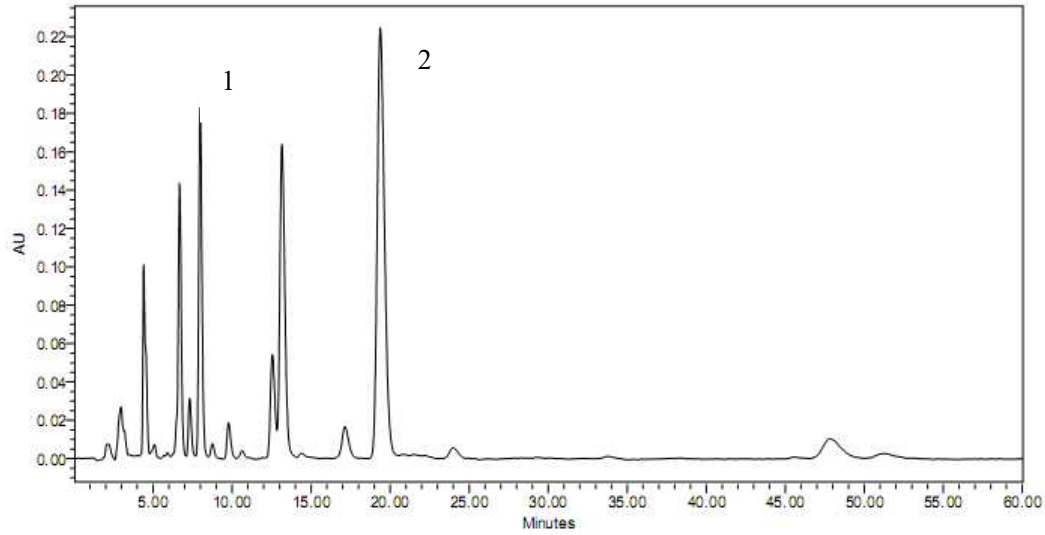
ภาพผนวกที่ ค6 ตัวอย่างโครมาโตแกรมของกระชายเหลืองที่สกัดด้วยเอทานอล 80% ซึ่งวิเคราะห์โดย HPLC ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร (1: pinocembrin; 2: pinostrobin)



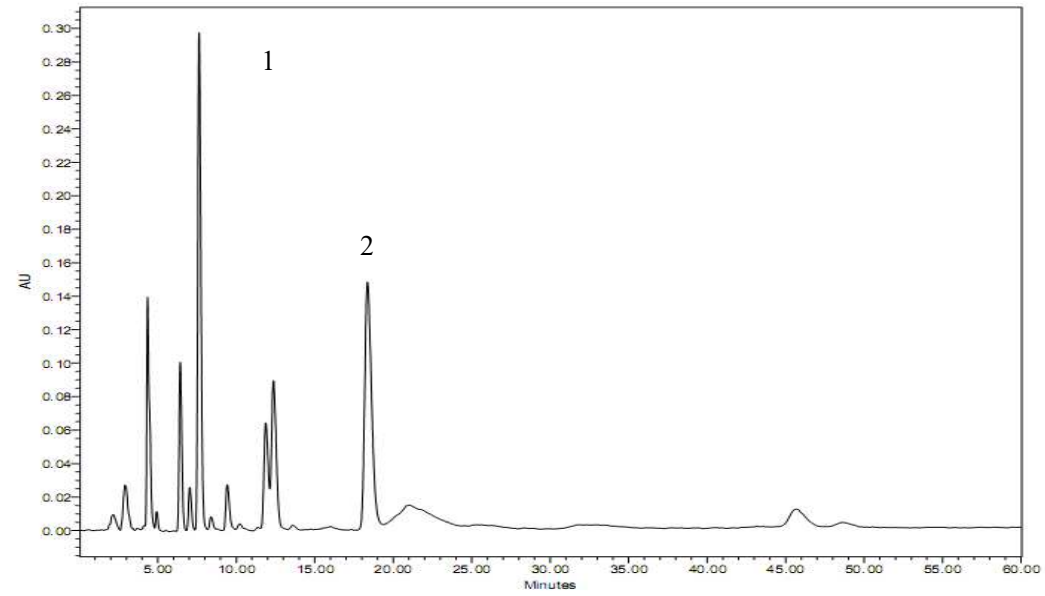
ภาพผนวกที่ ค7 โครมาโตแกรมของกระชายเหลืองที่สกัดด้วยเมทานอล 80% ซึ่งวิเคราะห์โดย HPLC ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร(1: pinocembrin; 2: pinostrobin)



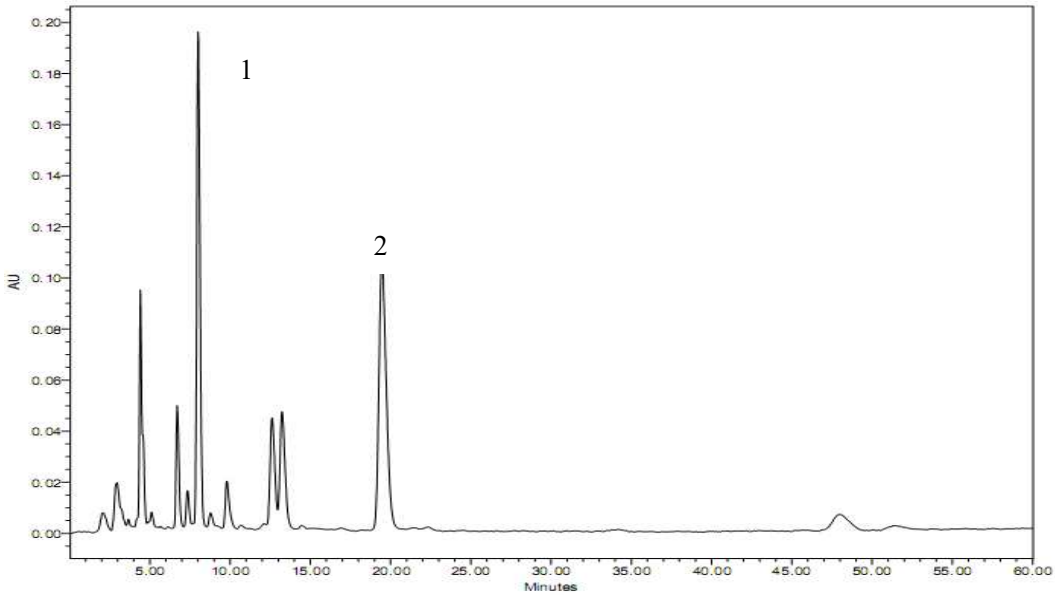
ภาพผนวกที่ ค8 โครมาโตแกรมของกระชายเหลืองที่สกัดด้วยน้ำ ซึ่งวิเคราะห์โดย HPLC ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร (1: pinocembrin; 2: pinostrobin)



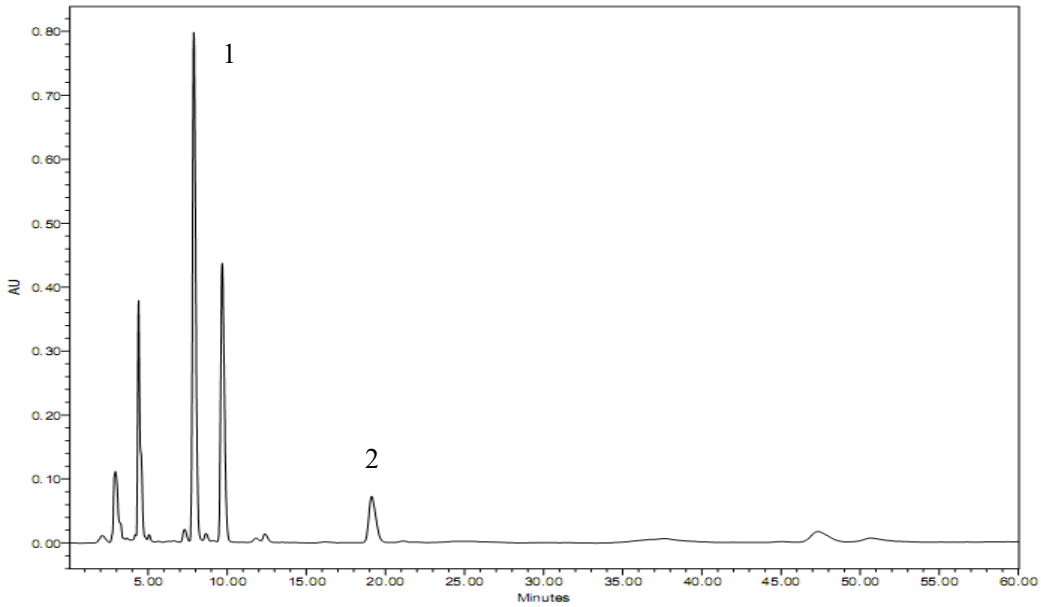
ภาพผนวกที่ ค9 โครมาโตแกรมของกระชายเหลืองที่ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (FD) ซึ่งวิเคราะห์โดย HPLC ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร (1: pinocembrin; 2: pinostrobin)



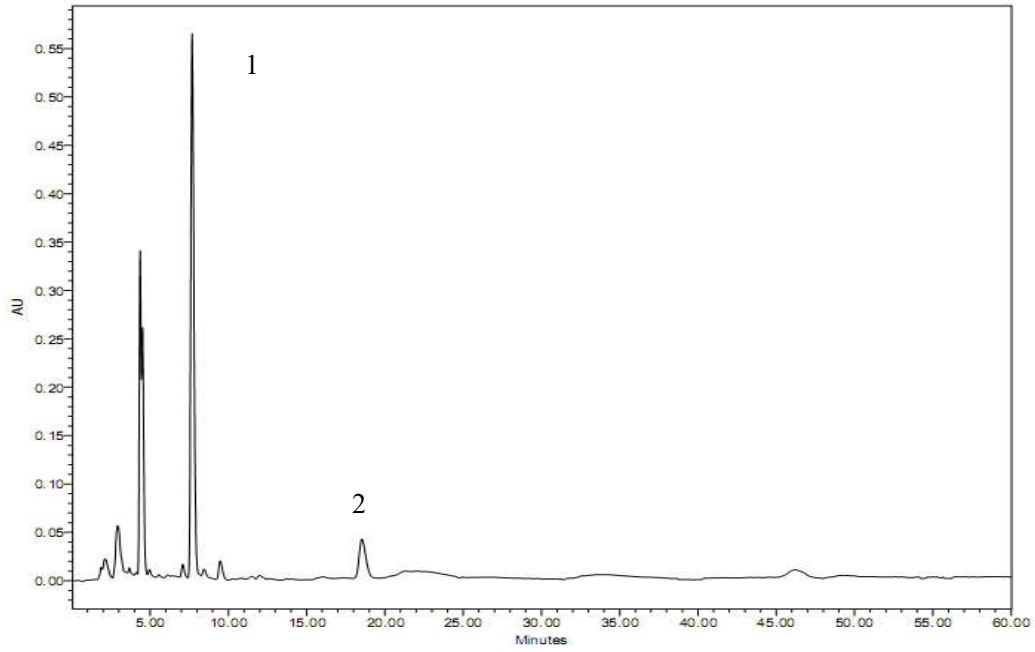
ภาพผนวกที่ ค10 โครมาโตแกรมของกระชายเหลืองที่ทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส (OD-60) ซึ่งวิเคราะห์โดย HPLC ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร (1: pinocembrin; 2: pinostrobin)



ภาพผนวกที่ ค10 โครมาโตแกรมของกระชายเหลืองที่ทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส (OD-70) ซึ่งวิเคราะห์โดย HPLC ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร (1: pinocembrin; 2: pinostrobin)



ภาพผนวกที่ ค12 โครมาโตแกรมของกระชายเหลืองแห้งทางการค้า ซึ่งวิเคราะห์โดย HPLC ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร (1: pinocembrin; 2: pinostrobin)



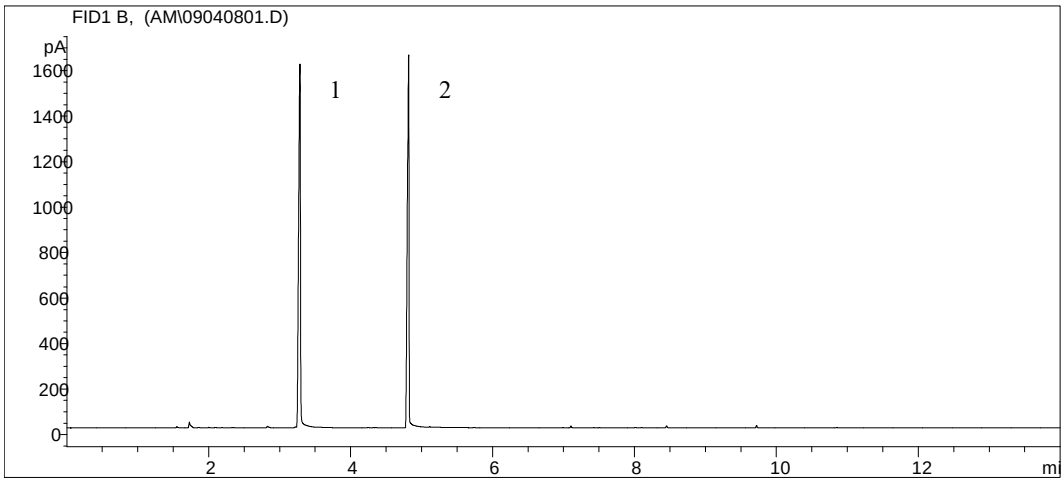
ภาพผนวกที่ ค13 โครมาโตแกรมของกระชายเหลืองผงทางการค้า ซึ่งวิเคราะห์โดย HPLC ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร (1: pinocembrin; 2: pinostrobin)

ภาคผนวก ง

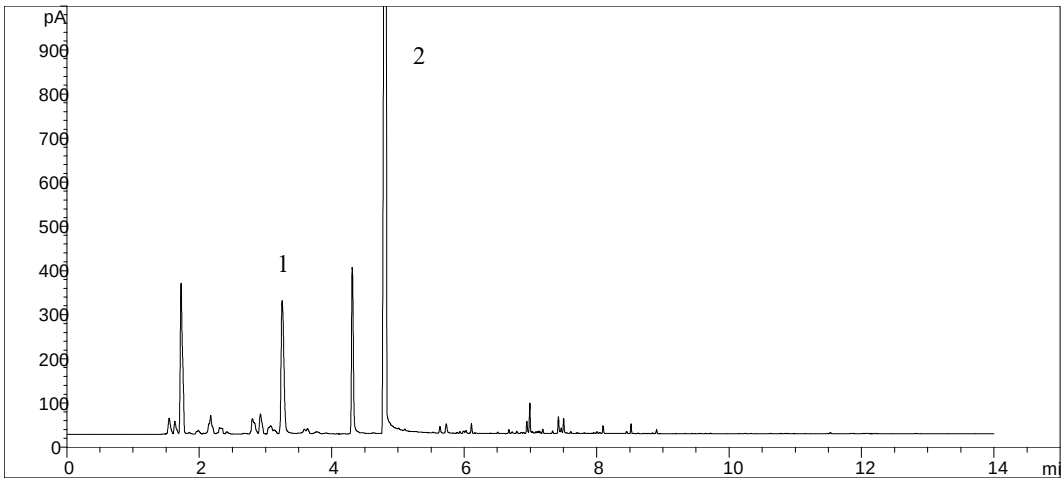
การวิเคราะห์เฮกซาแนลและเพนทาแนล

ง1. การเตรียมสารละลายมาตรฐานเฮกซาแนลและเพนทาแนล

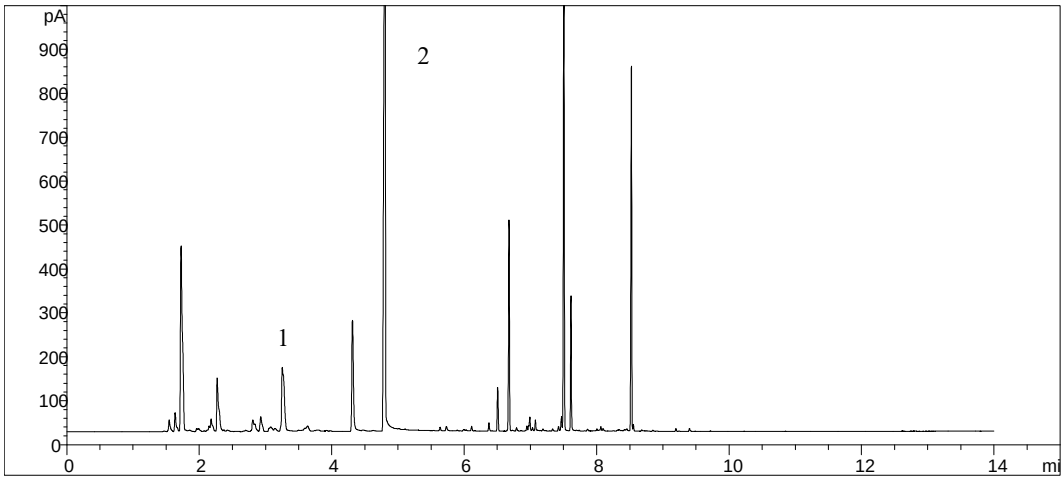
เตรียมสารละลายมาตรฐานของเฮกซาแนลและเพนทาแนลในช่วงความเข้มข้น 2.5-50 ppm โดยเจือจางในเมทานอล จากนั้นนำสารละลายมาตรฐาน 3 มิลลิลิตรใส่ในขวด headspace ขนาด 25 มิลลิลิตร ปิดด้วย silicone/PTFE septum และ aluminium cap ทิ้งตัวอย่างให้เข้าสู่สมดุลเป็นเวลา 15 นาทีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จากนั้นใช้ไฟเบอร์ชนิด 75µm StableFlex CAR/PDMS ในการดูดซับสารระเหยเป็นเวลา 30 นาทีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส



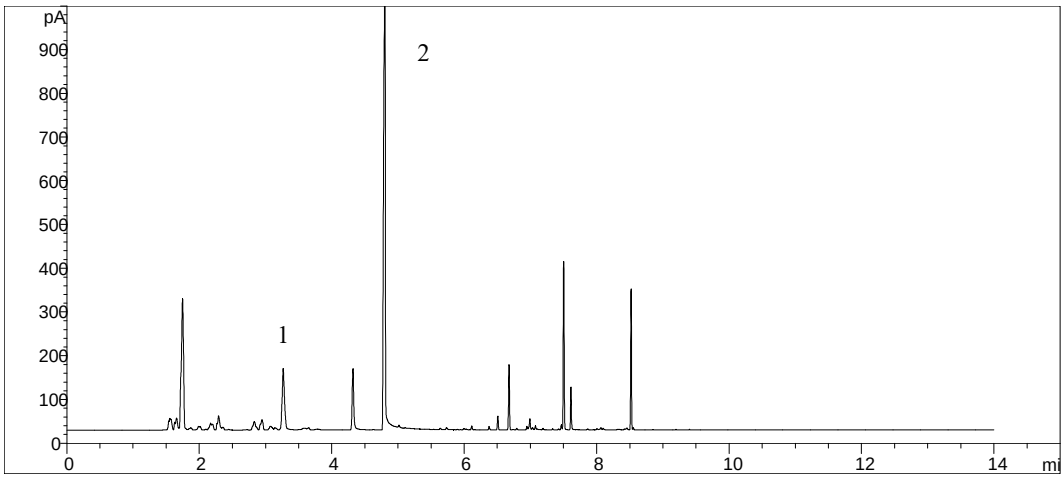
ภาพผนวกที่ ง1 ตัวอย่างโครมาโทแกรมของสารมาตรฐานความเข้มข้น 5 ppm วิเคราะห์โดย SPME-GC-FID (1: เพนทาแนล; 2: เฮกซาแนล)



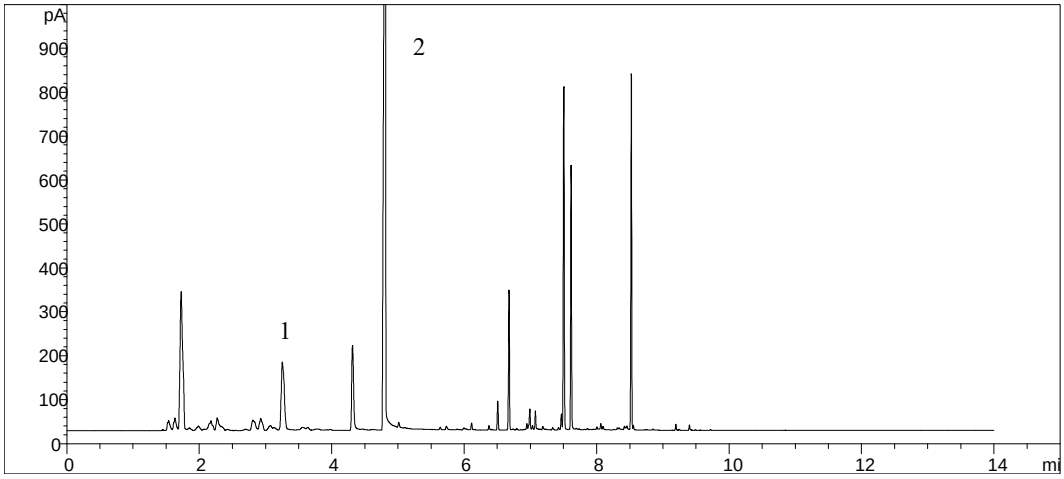
ภาพผนวกที่ ง2 ตัวอย่างโครมาโทแกรมของสารระเหยในเนื้อหมูบดปรุงสุกที่ไม่ได้เติมสารต้านออกซิเดชันของการเก็บรักษาในวันที่ 6 วิเคราะห์โดย SPME-GC-FID (1: เพนทาแนล; 2: เฮกซาแนล)



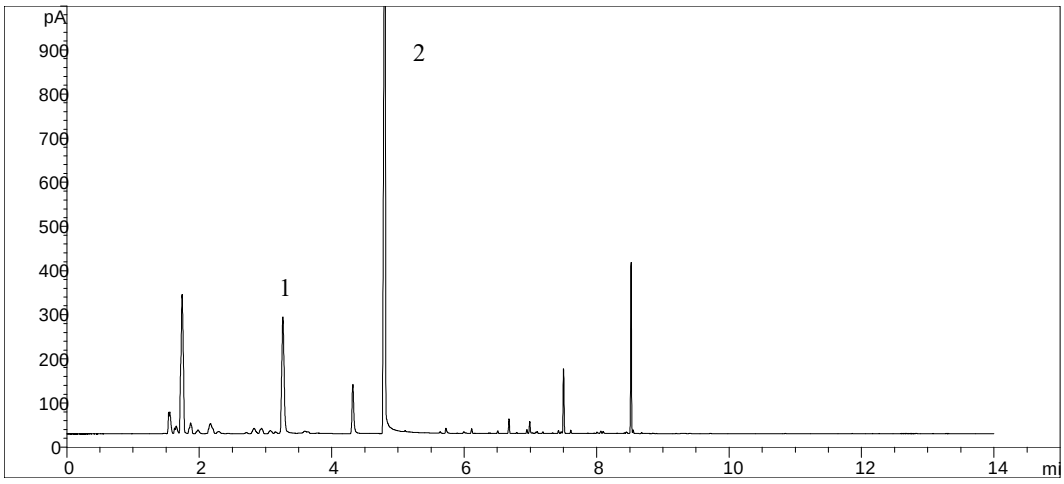
ภาพผนวกที่ ง3 ตัวอย่างโครมาโทแกรมของสารระเหยในเนื้อหมูบดปรุงสุกที่เติมกระชายเหลืองที่ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (FD) ของการเก็บรักษาในวันที่ 6 วิเคราะห์โดย SPME-GC-FID (1: เพนทาแนล; 2: เฮกซาแนล)



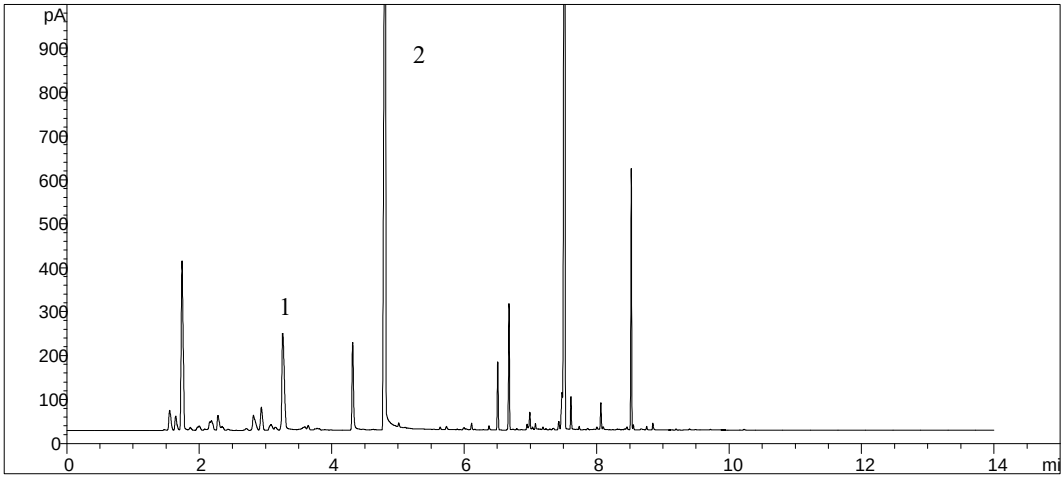
ภาพผนวกที่ ง4 ตัวอย่างโครมาโทแกรมของสารระเหยในเนื้อหมูบดปรุงสุกที่เติมกระชายเหลืองที่ทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส (OD-60) ของการเก็บรักษาในวันที่ 6 วิเคราะห์โดย SPME-GC-FID (1: เพนทาแนล; 2: เฮกซาแนล)



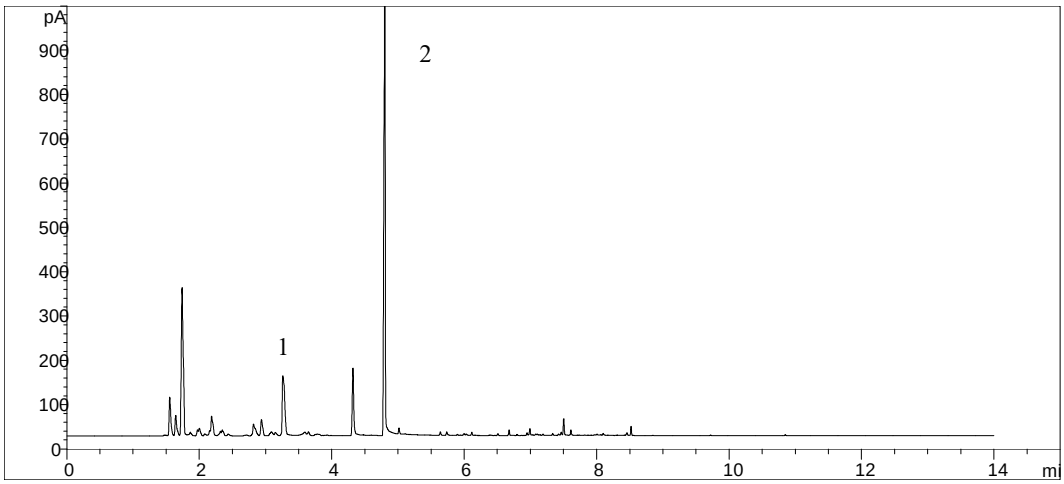
ภาพผนวกที่ ง5 ตัวอย่างโครมาโทแกรมของสารระเหยในเนื้อหมูบดปรุงสุกที่เติมกระชายเหลืองที่ทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส (OD-70) ของการเก็บรักษาในวันที่ 6 วิเคราะห์โดย SPME-GC-FID (1: เพนทาแนล; 2: เฮกซาแนล)



ภาพผนวกที่ ง6 ตัวอย่างโครมาโทแกรมของสารระเหยในเนื้อหมูบดปรุงสุกที่เติมกระชายเหลืองแห้งทางการค้าของการเก็บรักษาในวันที่ 6 วิเคราะห์โดย SPME-GC-FID (1: เพนทาแนล; 2: เฮกซาแนล)



ภาพผนวกที่ ง7 ตัวอย่างโครมาโทแกรมของสารระเหยในเนื้อหมูบดปรุงสุกที่เติมกระชายเหลืองผงทางการค้าของการเก็บรักษาในวันที่ 6 วิเคราะห์โดย SPME-GC-FID (1: เพนทาแนล; 2: เฮกซาแนล)



ภาพผนวกที่ ง8 ตัวอย่างโครมาโทแกรมของสารระเหยในเนื้อหมูบดปรุงสุกที่เติม BHA ของการเก็บรักษาในวันที่ 6 วิเคราะห์โดย SPME-GC-FID (1: เพนทาแนล; 2: เฮกซาแนล)

ตารางผนวกที่ ง1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณเฮกซาแนลในเนื้อหมูบดปรุงสุกที่เติมกระชายเหลืองแห้งชนิดต่าง ๆ และ BHA เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม ซึ่งเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน

Dependent Variable: hexanal

Source		Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F
Intercept	Hypothesis	2.486	1	2.486	3867777.778*
	Error	6.43E-007	1	6.43E-007	
Batch of pork (b)	Hypothesis	6.43E-007	1	6.43E-007	.227 ns
	Error	.	.	.	
Antioxidant treatment (a)	Hypothesis	.133	6	.022	101.834*
	Error	.001	6	.000	
Storage time (t)	Hypothesis	.418	3	.139	3890.308*
	Error	.000	3	3.58E-005	
a × t	Hypothesis	.081	18	.005	16.283*
	Error	.005	18	.000	
a × b	Hypothesis	.001	6	.000	.785 ns
	Error	.005	18	.000	
t × b	Hypothesis	.000	3	3.58E-005	.129 ns
	Error	.005	18	.000	
a × t × b	Hypothesis	.005	18	.000	.
	Error	.000	0	.	

หมายเหตุ * คือ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ns คือ ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

ตารางผนวกที่ ง2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณเฮกซาแนลในเนื้อหมูบดปรุงสุกที่เติมกระชายเหลืองแห้งชนิดต่าง ๆ และ BHA เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม ซึ่งเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน

Dependent Variable: pentanal

Source		Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F
Intercept	Hypothesis	.135	1	.135	6541.955*
	Error	2.06E-005	1	2.06E-005	
Batch of pork (b)	Hypothesis	2.06E-005	1	2.06E-005	.385 ns
	Error	.000	1.979	5.36E-005	
Antioxidant treatment (a)	Hypothesis	.011	6	.002	54.732*
	Error	.000	6	3.44E-005	
Storage time (t)	Hypothesis	.035	3	.012	196.982*
	Error	.000	3	5.91E-005	
a × t	Hypothesis	.002	18	.000	3.356*
	Error	.001	18	3.99E-005	
a × b	Hypothesis	.000	6	3.44E-005	.861 ns
	Error	.001	18	3.99E-005	
t × b	Hypothesis	.000	3	5.91E-005	1.481 ns
	Error	.001	18	3.99E-005	
a × t × b	Hypothesis	.001	18	3.99E-005	.
	Error	.000	0	.	

หมายเหตุ * คือ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ns คือ ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นายธนศักดิ์ แซ่เลี่ยว
วัน เดือน ปี ที่เกิด	1 เมษายน 2526
สถานที่เกิด	อำเภอท่าศาลา จังหวัดนครศรีธรรมราช
ประวัติการศึกษา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร) ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	ทุนสนับสนุนคุณภาพงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา ประจำปีงบประมาณ 2551